



**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ-СОФИЯ**  
**ФАРМАЦЕВТИЧЕН ФАКУЛТЕТ**

---

**ИЛИЯ МАНЛОВ ИЛИЕВ**

**СИНТЕЗ, СТРУКТУРА, СВОЙСТВА И**  
**ФАРМАКОЛОГИЧНА АКТИВНОСТ НА ПРОИЗВОДНИ НА**  
**4-ХИДРОКСИКУМАРИНА**

**АВТОРЕФЕРАТ НА ДИСЕРТАЦИЯ**

за присъждане на научната степен

“ДОКТОР НА НАУКИТЕ”

Област: Здравеопазване и спорт

Научно направление: Фармация

Научна специалност: Биоорганична химия, химия на природните и  
биологически физиологично активни вещества

София , 2011 г

## ВЪВЕДЕНИЕ

Кумарините са широко разпространена група природни биологичноактивни вещества, производни на пропилбензена. В свежите растителни тъкани се съдържат гликозиди на о-хидрокси-транс-канелената киселина, които са предшественици на природните кумарини. В процеса на сушене гликозидите се хидролизират, изомеризират в цис-конфигурация, след което се лактонизират, като оформят скелета на кумариновата молекула.

Химически кумарините представляват производни на 2Н-1-бензопиран-2-он. Характерна особеност на незаместените в пирановото ядро кумарини е силната им флуоресценция, която се дължи на системата от спрегнати двойни връзки.

Природните кумарини се характеризират с разнообразна биологична активност. В медицинската практика най-много се използват производните на 4-хидроксикумарина. Лекарствените продукти от тази група имат мощен антикоагулантен ефект и намират приложение за лечение на тромбози, емболии, миокарден инфаркт. По-известните от тях са Warfarin, Acenocoumarol, Phenprocoumon, Coumachlor.

Установена и е анти-HIV активност на 4-хидроксикумаринови производни чрез инхибиране на ензимите HIV-1 протеаза и интеграза. Инхибитори на HIV-1 интеграза са главно бис- и тетракис-4-хидроксикумарини. Открити са също така и цитотоксична, антиметастатична, спазмолитична, антибактериална и хербицидна активност на 4-хидроксикумарина и производните му. Някои 4-хидроксикумарини се прилагат като флуоресцентни багрила в лазерната техника.

На основата на връзката структура-активност с помощта на изчислителната химия се търсят нови 4-хидроксикумарини с по-висока активност и по-ниска токсичност за човека и околната среда.

С помощта на рентгеноструктурния анализ се установява структурата на синтезираните съединения, както и ходът на химичните взаимодействия.

## ЦЕЛ

Целта на настоящия труд е да се изследват химичните свойства, структурните особености и фармакологичното действие на производните на 4-хидроксикумарина.

Във връзка с това са формулирани и следните

### ЗАДАЧИ:

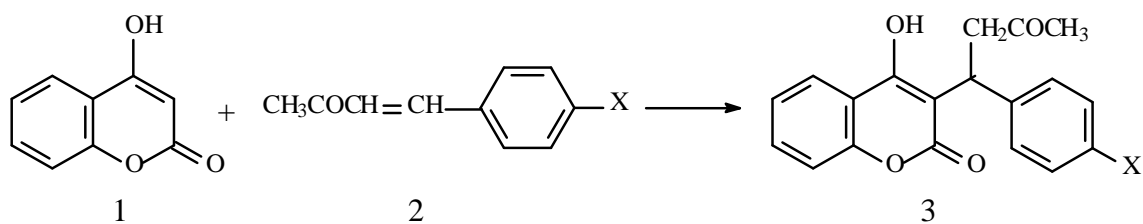
1. Да се разработи патентно чиста технология за синтез на антикоагуланти от кумаринов тип с клинично приложение.
2. Да се синтезират структурни аналози на антикоагулантите от кумаринов тип, да се докаже строежът им и да се изследва антикоагулантното им действие.
3. Да се изследва взаимодействието на 4-хидроксикумарин с Шифови бази и се докаже структурата на получените съединения.
4. Да се изучи взаимодействието и ходът на реакцията между 4-хидроксикумарин и 3-ацетилкумарин с помощта на рентгеноструктурен анализ.
5. Да се синтезират бискумарини по реакцията на Кнъовенагел и да се докаже структурата им. Веществата да се изследват за антикоагулантно, цитотоксично, антиоксидантно действие и анти-HIV-активност.
6. Да се синтезират комплексни съединения на кумаринови лиганди с йоните на биогенни d- и f-елементи и да се изучи фармакологичното им действие.

## ОБСЪЖДАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

### I.1. Лабораторна технология за производство на антикоагуланти от кумаринов тип с клинично приложение

Първите стъпки в областта на производните на 4-хидроксикумарина бяха свързани с опити да се разработи патентно чиста лабораторна технология за получаване на 4-хидрокси-3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксобутил]-2H-хромен-2-он, известен в клиничната практика с наименованията Асепосумарол (Sintrom), а впоследствие и с българското наименование Niffcoumar. В хода на изследванията бяха разработени лабораторни технологии за синтез на Warfarin и Coumachlor. Процесът за получаване на Niffcoumar трае 6 ч., за Warfarin – 42 ч., а за Coumachlor – 14 ч.

Изучихме влиянието на междуфазови катализатори върху хода на реакцията на Михаел, тъй като взаимодействието между 4-хидроксикумарин и 4-фенил-3-бутен-2-он се осъществява в хетерогенна система.



2, 3	a	b	c
X	H	NO <sub>2</sub>	Cl

Таблица 1. Влияние на междуфазовите катализатори върху продължителността на реакцията на Михаел, добива на продуктите и чистотата им

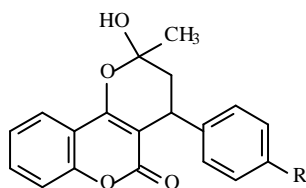
№	Продукт	Катализатор (количество в %)	Продължителност на процеса	Добив, %	Т.т., °C
1	3a	Без катализатор	42	46	160-161
2		Бензилтриетиламониев хлорид (2.5 мол. %)	2	66	155-158
3		Бензилтриетиламониев хлорид (5.0 мол. %)	2	83	155-158
4		Бензилтриетиламониев хлорид (10.0 мол. %)	2	84	155-158
5		Тетрабутиламониев хлорид (5.0 мол. %)	3	77	150-154
6		Бензилтрибутиламониев хлорид (5.0 мол. %)	2	83	156-159
7		Тетраоктиламониев бромид (5.0 мол. %)	3	75	155-157
8		Аликват 336 (5.0 мол. %)	2	68	158-160
9		Калиев флуорид (5.0 мол. %)	20	71	158-162
10		Триетиламин (7.7 мол. %)	3	67	159-161
11		Тринариев фосфат (6.0 мол. %)	10	57	159-161
12	3b	Без катализатор	6	78	192-196
13		Калиев флуорид (5.0 мол. %)	2	77	192-196
14		Калиев флуорид (10.0 мол. %)	2	83	192-196
15		Натриев флуорид (15.0 мол. %)	2	75	192-196
16		Натриев флуорид (5.0 мол. %)	2	79	192-196
17		Бензилтриетиламониев хлорид (5.0 мол. %)	3	88	192-196
18		Калиев флуорид (5.0 мол. %) + бензилтриетиламониев хлорид (5.0 мол. %)	2	92	157-180 (оцветен)
19	3c	Без катализатор	14	75	162-163
20		Бензилтриетиламониев хлорид (5.0 мол. %)	0.5	74	162-163

Използването на бензилтриетиламониев хлорид за синтеза на Warfarin съкращава реакционното време двадесеткратно. Алкалните флуориди са по-подходящи за получаване на Асепосоумарол. Те съкращават реакционното време трикратно, докато бензилтриетиламониевият хлорид – наполовина.

Получаването на Coumachlor се осъществява за 14 ч. Използването на бензилтриетиламониев хлорид съкращава реакционното време 28 пъти.

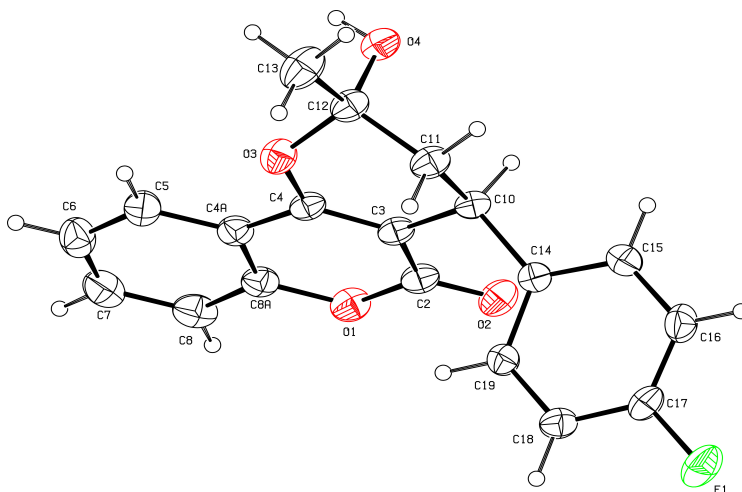
## I.2. Модификация на хидроксилната група в молекулата на 4-хидроксикумариновите антикоагуланти. Рентгеноструктурен анализ

Установено е, че в организма антикоагулантите образуват цикличен полукетал, който е структурен аналог на активната форма на витамин К:



Ние показаме, че оксобензопиранодихидробензопиранол се образува и в твърдо състояние. При изследване на 4-хидрокси-3-[1-(4-флуорофенил)-3-оксобутил]-2H-хромен-2-он се доказва образуването на вътрешномолекумен полукетал.

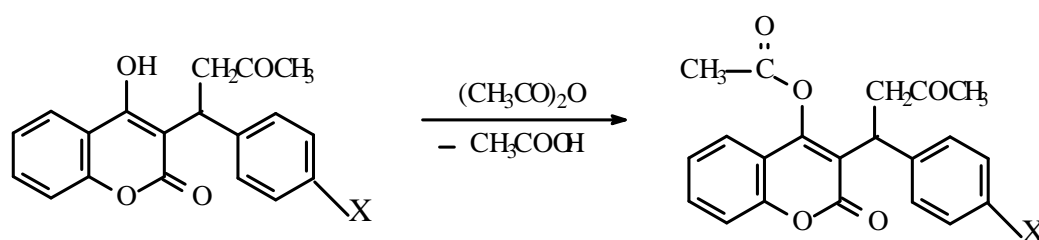
Фигура 1. Структура на 4-(4-флуорофенил)-2-хидрокси-2-метил-3,4-дихидро-2H,5H-пирано[3,2-с]хромен-5-он



Наложено е схващането, че за проява на антикоагулантно действие на кумарините от особена важност е наличието на хидроксилна група на четвърто място в кумариновия пръстен, четири въглеродни атома в страничната верига, както и наличие на карбонилна група при третия въглероден атом в страничната верига.

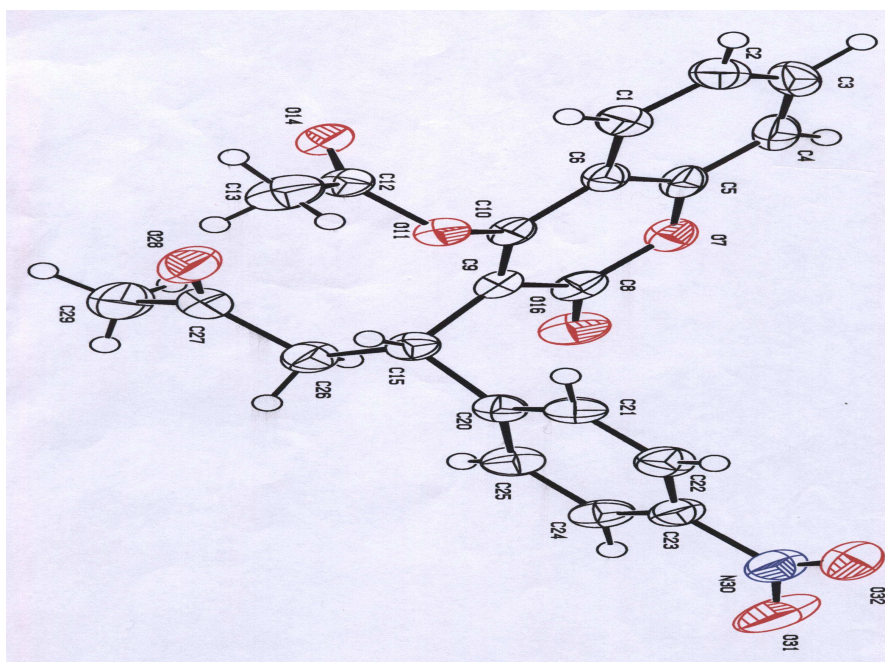
Синтезирахме поредица производни с оглед системна промяна на споменатите структурни фрагменти.

Модификацията на хидроксилната група осъществихме с оцетен анхидрид. Синтезирахме ацетилни производни на Warfarin, Асеносоумарол и неговия изомер по следната схема:



4	a	b	c
X	H	p-NO <sub>2</sub>	m-NO <sub>2</sub>

Фигура 2. Структура на 4-ацетокси-3-[1-(4-нитрофенил)-3- оксобутил]-2Н-1-бензопиран-2-он :



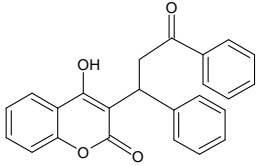
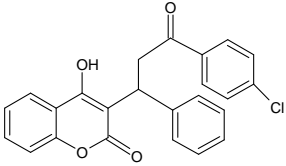
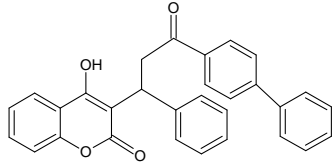
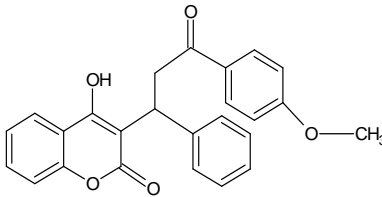
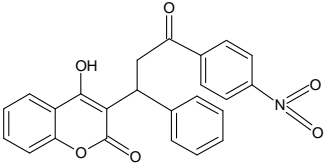
Структурата на 4-ацетокси-3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксобутил]-2Н-1-бензопиран-2-он е доказана с помощта на рентгеноструктурен анализ. Според данните от анализа веществото образува кристали, принадлежащи към моноклинната система, пространствена група  $P2_1/a$ . Съединението кристализира в отворено-верижна кето-форма.

### 1.3. Модификации в страничната верига в молекулата на 4-хидроксикумариновите антикоагуланти. Рентгеноструктурен анализ

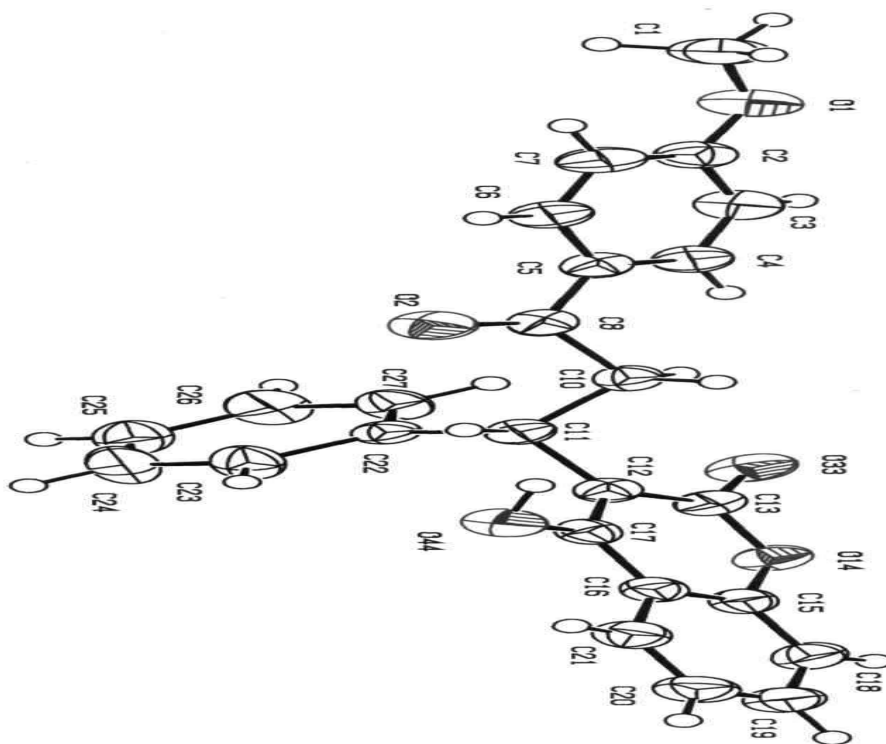
#### 1.3.1. Замяна на метиловата група от страничната верига

Промяната в страничната верига е осъществена в няколко направления. В първото метиловата група се заменя с ароматно ядро, съдържащо електронодонорни или електроноакцепторни заместители. Взаимодействието е осъществено между 4-хидроксикумарин и бензилиденацетофенон, бензилиден-4'-хлороацетофенон, бензилиден-4'-метоксиацетофенон, бензилиден-4'-фенилацетофенон и бензилиден-4'-нитроацетофенон. Процесът на присъединяване е проведен във водна среда при кипене с различна продължителност (от 1 до 200 часа).

Таблица 2. Адукти на 4-хидроксикумарин с арилиденацетофенони

 <p>4-Хидрокси-3-(1-фенил-2-бензоилетил)-2Н-1-бензопиран-2-он</p>	 <p>4-Хидрокси-3-[1-фенил-2-(4'-хлоробензоил)етил]-2Н-1-бензопиран-2-он</p>	 <p>4-Хидрокси-3-[1-фенил-2-(4'-фенилбензоил)етил]-2Н-1-бензопиран-2-он</p>
 <p>4-Хидрокси-3-[1-фенил-2-(4'-метоксибензоил)етил]-2Н-1-бензопиран-2-он</p>	 <p>4-Хидрокси-3-[1-фенил-2-(4'-нитробензоил)етил]-2Н-1-бензопиран-2-он</p>	

Фигура 3: Структура на 4-хидрокси-3-[3-(4-метоксифенил)-3-оксо-1-фенилпропил]-2Н-хромен-2-он



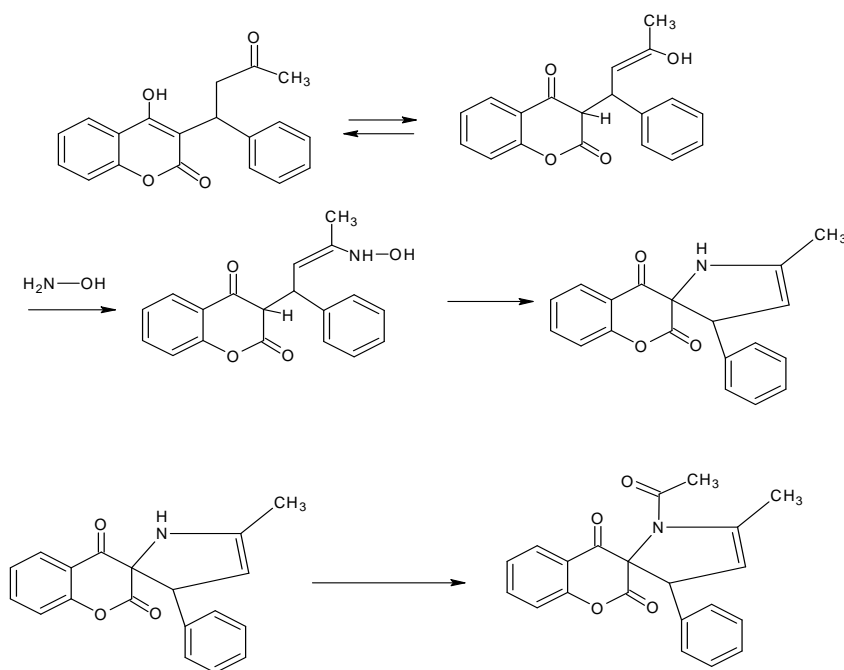
Данните от рентгеноструктурния анализ показват, че съединението кристализира в отворено-верижна кето-форма. Наличието на заместители в страничната верига на производните на Warfarin, различни от метилова група, поради пространствено пречене не позволяват образуването на вътрешномолекулен полукетал.

### 1.3.2. Модификация на карбонилната група в страничната верига на 4-хидроксикумариновите антикоагуланти. Рентгеноструктурен анализ

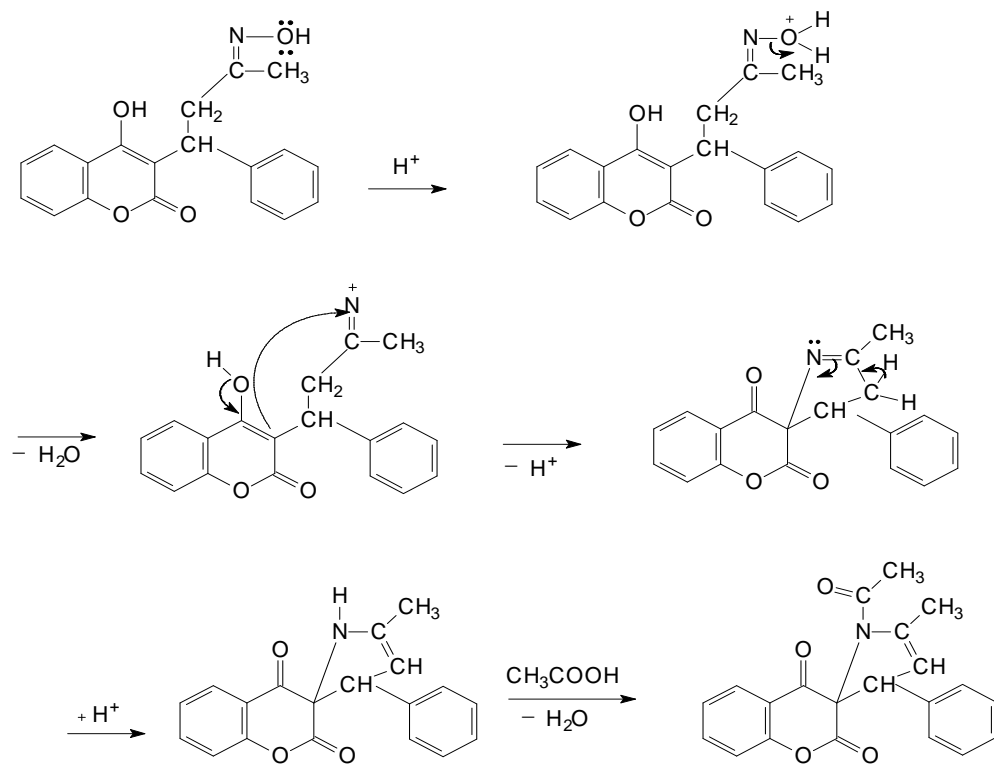
Карбонилната група в страничната верига беше превърната в оксим. Проведени бяха опити с Warfarin, Асепосумарол, неговия мета-изомер и Coumachlor.

Взаимодействието между Warfarin и хидроксиламин хидрохлорид показва, че вместо 4-хидрокси-3-[(3*E*)-3-(хидроксиимино)-1-фенилбутил]-2*H*-хромен-2-он се получава неописано в литературата спиро-съединение.

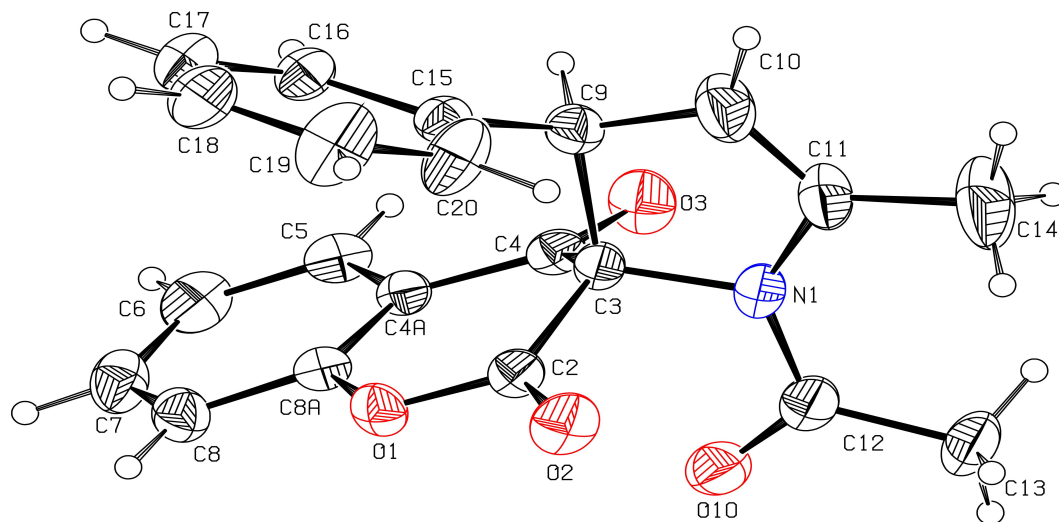
Фигура 4. Взаимодействие между Warfarin и гидроксилламин гидрохлорид



Фигура 5. Вероятен механизъм на превръщането на оксим в спиро-съединение:



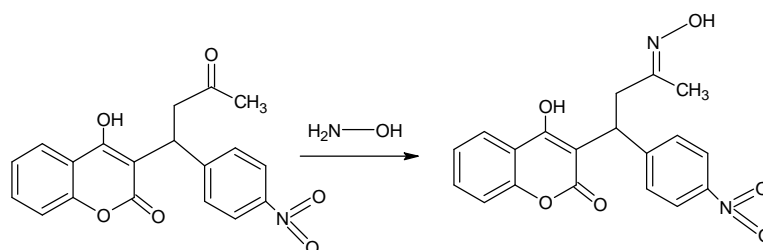
Фигура 6. Структура на 1'-ацетил-5'-метил-3'-фенил-1',3'-дихидроspиро[хроман-3,2'-пирол]-2,4-дион:



Оксимът претърпява прегрупировка, аналогична на прегрупиовката на Beckmann.

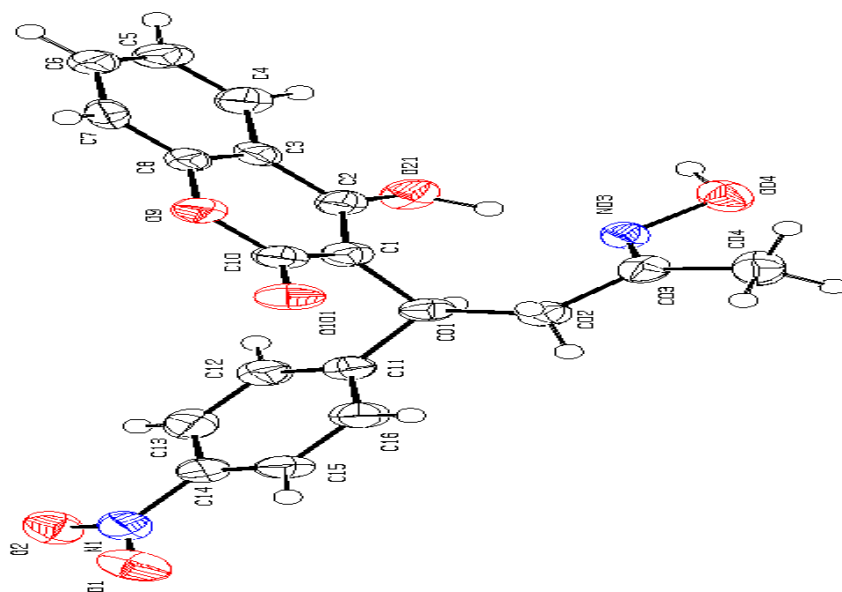
Изучихме взаимодействието на Аспеносуmarol с хидроксиламин хидрохлорид.

Установихме, че продуктът на взаимодействието е оксим.



Оксимът на Аспеносуmarol е траен поради влиянието на нитро групата в р-положение в ароматното ядро от страничната верига.

Фигура 7. Структура на 4-хидрокси-3-[(3E)-3-хидроксиимино-1-(4-нитрофенил)бутил]-2H-хромен-2-он



### 1.3.3. Модификация на цялата странична верига на антикоагулантите с клинично приложение.

#### 1.3.3.1. Взаимодействие на арилметилен- $\beta$ -кетоестери с 4-хидроксикумарин

Арилметилен- $\beta$ -кетоестерите взаимодействат с 4-хидроксикумарин по реакцията на Михаел. Продуктите съдържат арилметилен- $\beta$ -кетоестерна странична верига. Реакцията може да се представи със следната схема:

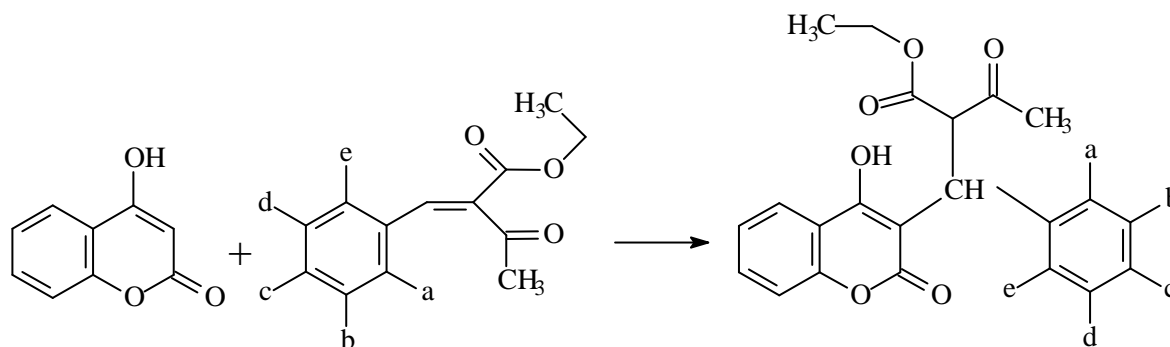


Таблица 3. Адукти на 4-хидроксикумарин с арилметилен-β-кетоестери

Съединение	a	b	c	d	e
Етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2H-хромен-3-ил)(4-нитрофенил)метил]-3-оксобутаноат	H	H	NO <sub>2</sub>	H	H
Етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2H-хромен-3-ил)(4-хидроксифенил)метил]-3-оксобутаноат	H	H	OH	H	H
Етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2H-хромен-3-ил)(3,4-дихидроксифенил)метил]-3-оксобутаноат	H	OH	OH	H	H
Етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2H-хромен-3-ил)(4-карбоксифенил)метил]-3-оксобутаноат	H	H	COOH	H	H
Етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2H-хромен-3-ил)(3-нитрофенил)метил]-3-оксобутаноат	H	NO <sub>2</sub>	H	H	H
Етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2H-хромен-3-ил) 2H- (3,4,5-триметоксифенил)-метил]- 3-оксобутаноат	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
Етил -2- [(4-хидрокси-2-оксо-хромен-3-ил)(3-метокси-5-нитро-4-хидрокси)метил]-3-оксобутаноат	H	OCH <sub>3</sub>	OH	NO <sub>2</sub>	H

На базата на всички спектрални данни и данни от елементния анализ се потвърждават очакваните структури.

### 1.3.3.2. Взаимодействие на 3-арилметилен-2,4-пентандиони с 4-хидроксикумарин

Арилметилен-2,4-пентандионите взаимодействат с 4-хидроксикумарин по реакцията на Михаел в присъствие на пиперидин и продължително кипене в среда от метанол или диоксан. Реакционната схема е представена по-долу:

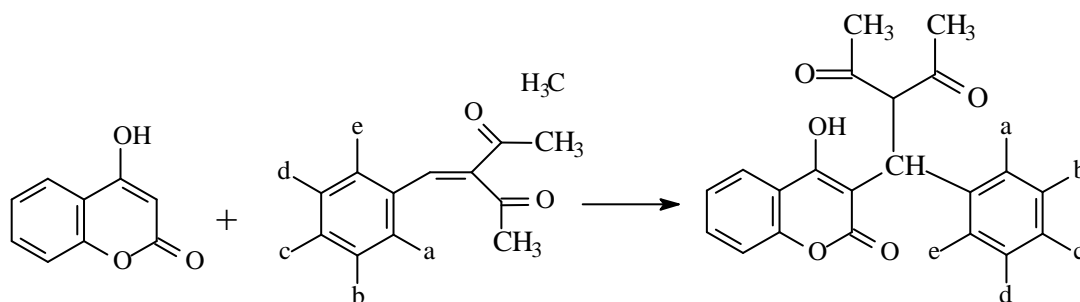


Таблица 4. Адукти на 4-хидроксикумарин с 3-арилметилен-2,4-пентандиони

Съединение	a	b	c	d	e
3-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(4-хидроксифенил)метил]-2,4-пентандион	Н	Н	ОН	Н	Н
3-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(3-хидроксифенил)метил]-2,4-пентандион	Н	ОН	Н	Н	Н
3-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(3,4-дихидроксифенил)метил]-2,4-пентандион	Н	ОН	ОН	Н	Н
4-[2-ацетил-1-(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)-3-оксобутил]бензоена киселина	Н	СООН	Н	Н	Н
3-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(4-флуорофенил)метил]-2,4-пентандион	Н	Н	F	Н	Н
3-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(3-флуорофенил)метил]-2,4-пентандион	Н	F	Н	Н	Н

## **I.4. Токсичност и фармакологично действие на синтезираните кумаринови производни**

### **I.4.1. Изследване на противотуморното и цитогенетичното действие на антикоагулантите свойства**

Резултатите от изследванията показват противометастатично действие на Warfarin и инхибиращо влияние върху спонтанния процес на образуване на хематогенни метастази.

Данните от цитогенетичния анализ показват, че Warfarin по-малко уврежда хромозомния апарат на костномозъчни клетки от мишки в сравнение с Acenocoumarol.

### **I.4.2. Родентицидно действие**

Родентицидният препарат “ВАРФАТОКС” с активно вещество Warfarin е дератизационен препарат и би могъл да се произвежда от достъпни и евтини местни суровини.

### **I.4.3. Токсичност и антикоагулантно действие на модифицирани молекули**

Изучени са токсичността и антикоагулантното действие на 4-ацетокси-3-(3-оксо-1-фенилбутил)-2Н-1-бензопиран-2-он, 4-ацетокси-3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксобутил]-2Н-1-бензопиран-2-он, 4-хидрокси-3-[1-(4-хлорофенил)-3-оксобутил]-2Н-1-бензопиран-2-он. Резултатите показват, че ацетилираният продукт на Acenocoumarol има по-ниска токсичност от Warfarin както при орално, така и при интраперитонеално приложение. Ефектът на съединението върху времето на съсирване на кръвта е значително по-добър от този на Warfarin.

Проведени са изследвания на токсикологичното и фармакологичното действие на оксимите на Acenocoumarol, неговия m-изомер, Warfarin и Coumachlor. Резултатите показват, че и четирите съединения проявяват по-висока токсичност от Warfarin. Оксимите на Acenocoumarol и Coumachlor удължават времето на съсирване.

Фармакологично са охарактеризирани модифицираните в страничната верига производни на 4-хидроксикумарина. Експерименталните данни показват, че най-висока активност проявява 4-хидрокси-3-[1-фенил-2-(4'-хлоробензоил)-етил]-2Н-1-бензопиран-2-он.

### **I.4.4. Фармакологична активност на синтезираните съединения с напълно модифицирана странична верига**

Съединенията на 4-хидроксикумарин с арилметилеи- $\beta$ -кетоестери са изследвани за цитотоксична активност върху EJ-клетки и HL-клетки, използвайки МТТ-тест. На

основата на резултатите и в двете клетъчни линии етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(3,4-дихидроксифенил)метил]-3-оксобутаноат може да се използва като модел за по-нататъшно разработване на цитотоксични кумаринови производни.

Изследването за антиоксидантна активност в система от хипохлоритни аниони показва, че етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(4-хидроксифенил)метил]-3-оксобутаноатът проявява най-висока антиоксидантна активност.

Изследвана е и растеж-регулирущата активност. Най-силно хербицидно действие проявява етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(3,4,5-триметоксифенил)метил]-3-оксобутаноат. Най-висока степен на инхибиране на азотфиксиращата активност се отчита при етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(4-хидроксифенил)метил]-3-оксобутаноат.

### **I.5. Основни приноси**

- Разработени са лабораторни технологии за синтез на антикоагулантите Асеносоумарол, Warfarin и Coumachlor. При използване на алкални флуориди и кватернерни амониеви халогениди времетраенето на реакцията е съкратено от 3 до 28 пъти. Методите са патентовани.

- Модифицирани са хидроксилната група при четвъртия въглероден атом в кумариновия цикъл, метиловата и карбонилната група от страничната верига на молекулите на антикоагулантите. Структурата на продуктите е доказана с рентгеноструктурен анализ.

- В резултат на третиране на карбонилната група при третия въглероден атом в страничната верига на Warfarin с хидроксиламин хидрохлорид за първи път е установено, че вместо оксим се получава спиро-съединение, а именно: 1'-ацетил-5'-метил-3'-фенил-1',3'-дихидроспиро-[хроман-3,2'-пирол]-2,4-дион. Структурата е доказана с рентгеноструктурен анализ.

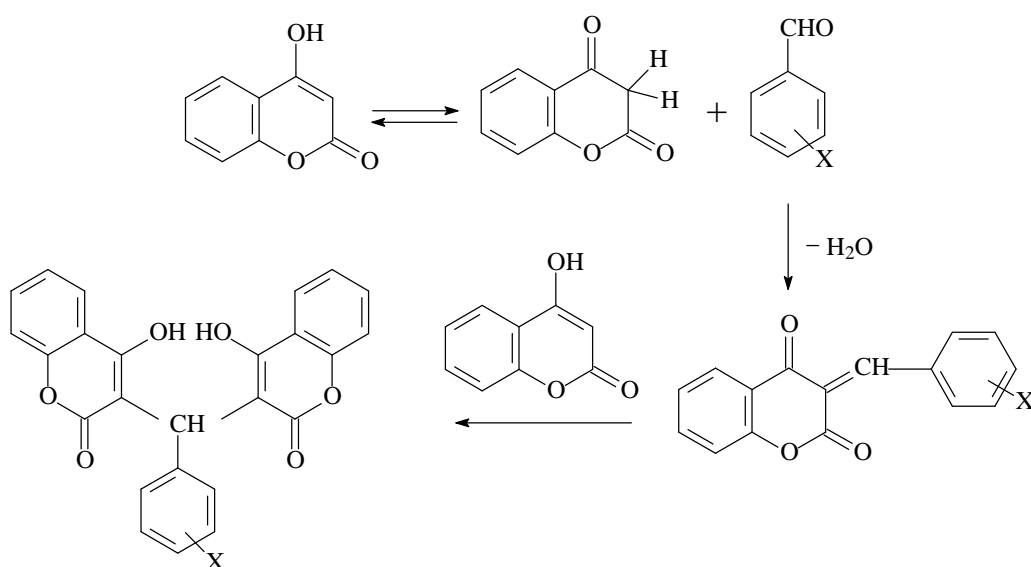
- Изследвано е противометастатичното действие на Warfarin при карцинома на Люис. Показано е, че Warfarin намалява броя на белодробните метастази и действа инхибиращо върху спонтанния процес на образуване на хематогенни метастази.

- Изучена е токсичността и антикоагулантното действие на 4-ацетокси-3-(3-оксо-1-фенилбутил)-2Н-1-бензопиран-2-он, 4-ацетокси-3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксобутил]-2Н-1-бензопиран-2-он, 4-хидрокси-3-[1-(4-хлорофенил)-3-оксобутил]-2Н-1-бензопиран-2-он. Резултатите показват, че ацетиленият продукт на Асеносоумарол проявява по-ниска токсичност от тази на Warfarin .

## II.1. Синтез, структура и свойства на някои бискумаринови съединения.

### Рентгеноструктурен анализ

При взаимодействие на 4-хидроксикумарин с ароматни алдехиди по реакцията на Кнъвенагел са синтезирани бискумарини. Използваните ароматни алдехиди съдържат електронодонорни или електроноакцепторни заместители. Броят на заместителите достига до четири. Различна е и позицията им в ароматното ядро. Кондензационният процес е провеждан във вода, етанол или оцетна киселина при кипене и продължителността му варира от няколко минути до 240 ч по схемата:



Данни за синтезираните бискумаринови производни (реакция на Кнъвенагел)

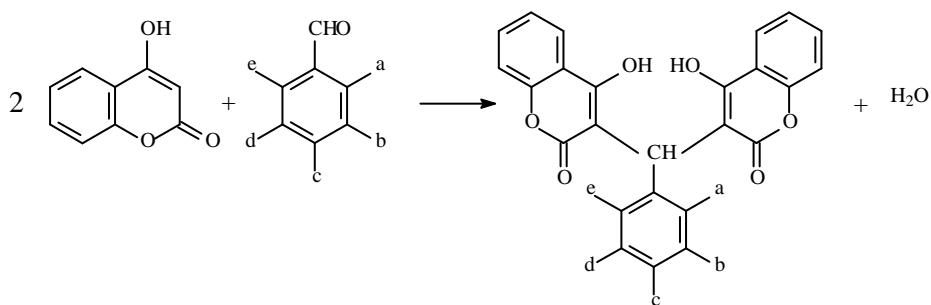
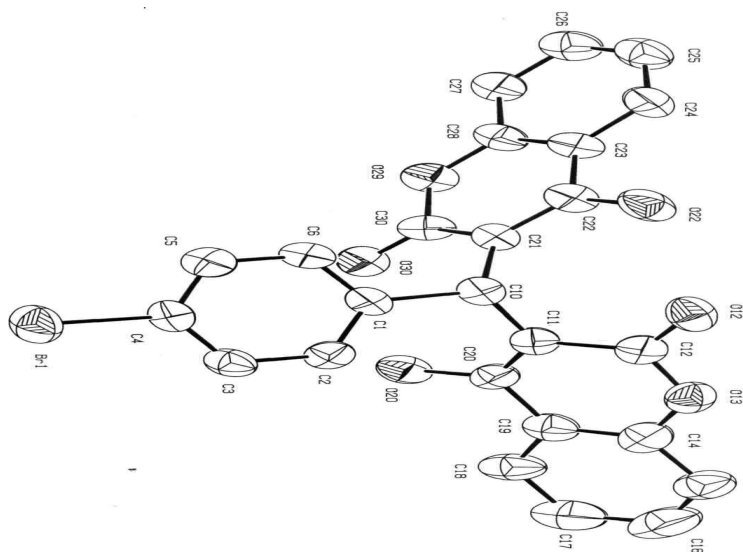


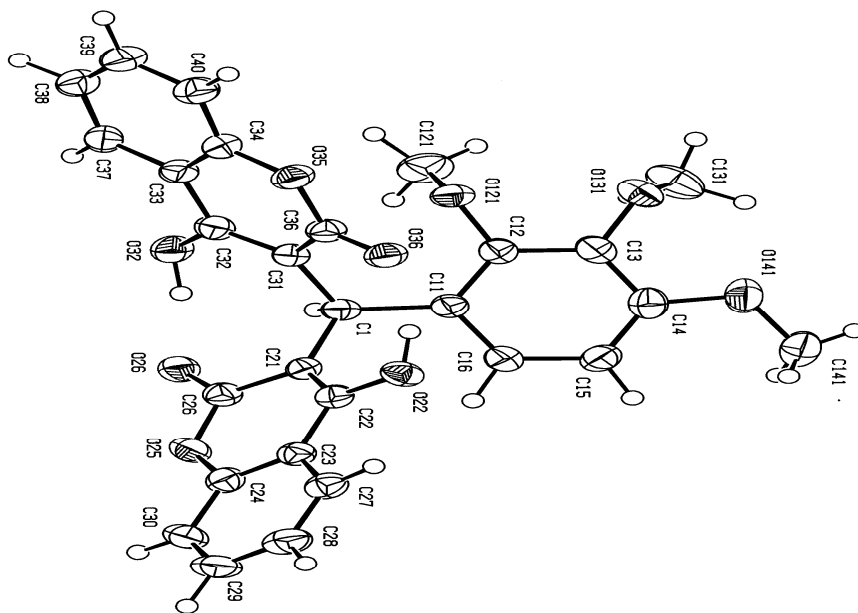
Таблица 5. Бискумаринови производни

Съединение №	a	b	c	d	e
III-1	H	H	F	H	H
III-2	H	H	Br	H	H
III-3	H	H	Cl	H	H
III-4	H	H	NO <sub>2</sub>	H	H
III-5	H	NO <sub>2</sub>	H	H	H
III-6	NO <sub>2</sub>	H	H	H	H
III-7	OH	H	H	Br	H
III-8	H	OH	OH	H	H
III-9- β-нафтил	H	-	-	H	H
III-10α-нафтил	H	H	H	-	-
III-11	N	H	H	H	H
III-12	H	N	H	H	H
III-13	H	H	N	H	H
III-14	N	N	H	H	x
III-15	H	H	H	H	H
III-16	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	H
III-17	H	H	OCH <sub>3</sub>	H	H
III-18	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H	H
III-19	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H	H
III-20	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H
III-21	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H
III-22	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
III-23	H	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	H
III-24	H	OCH <sub>3</sub>	OH	NO <sub>2</sub>	H
III-25	H	H	CH <sub>3</sub>	H	H
III-26	H	NO <sub>2</sub>	Cl	H	H
III-27	H	H	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub> O-	H	H
III-28	COOH	H	H	H	H
III-29	H	H	OH	H	H

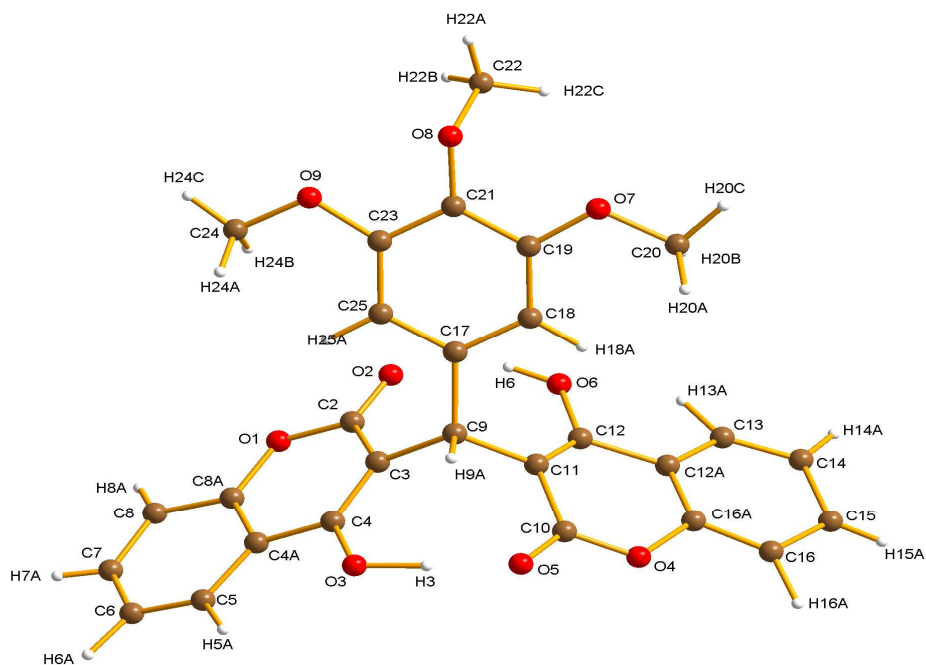
Фигура 8. Структура на 3,3'-[(4-бромофенил)метилен]-бис-[4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он] (**III-2**)



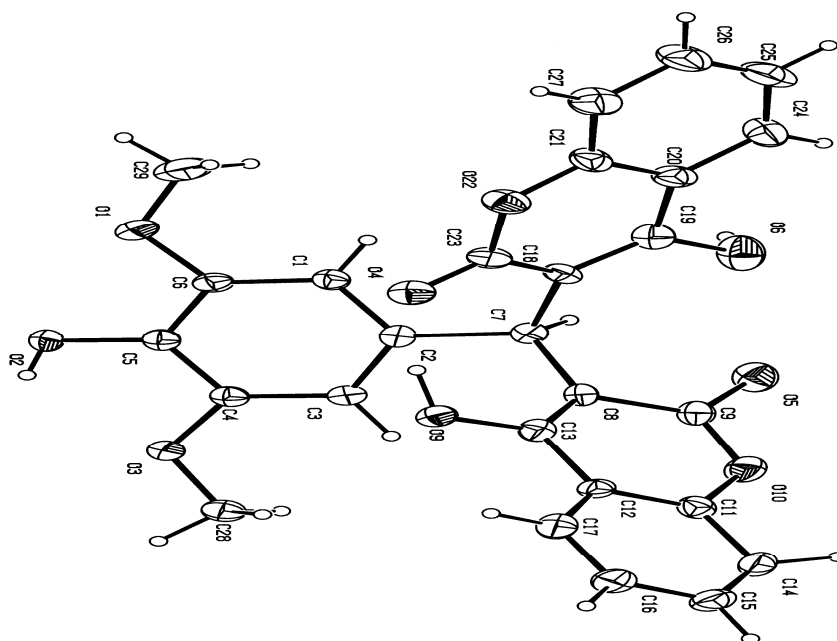
Фигура 9. Структура на 3,3'-(2,3,4-триметоксифенил-метилен)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он) (**III-21**)



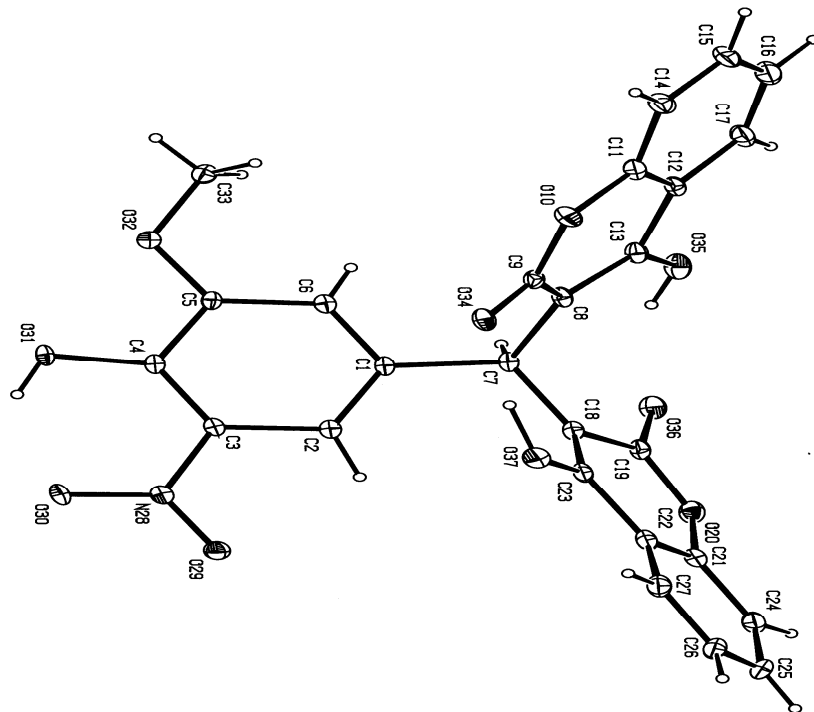
Фигура 10. Структура на 3,3'-(3,4,5-триметоксифенилметилден)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он) (III-22)



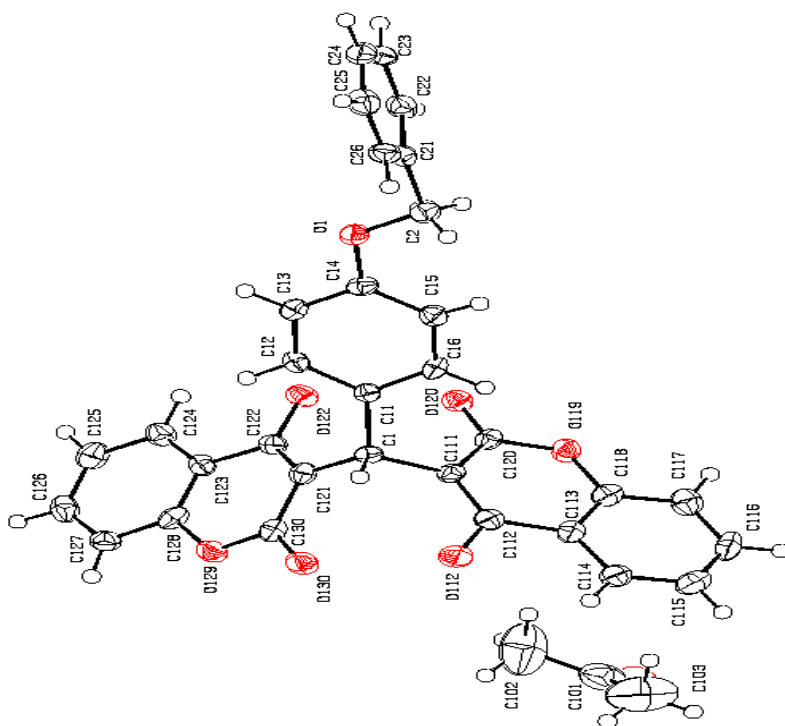
Фигура 11. Структура на 3,3'-(3,5-диметокси-4-хидроксифенилметилден)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он) (III-23)



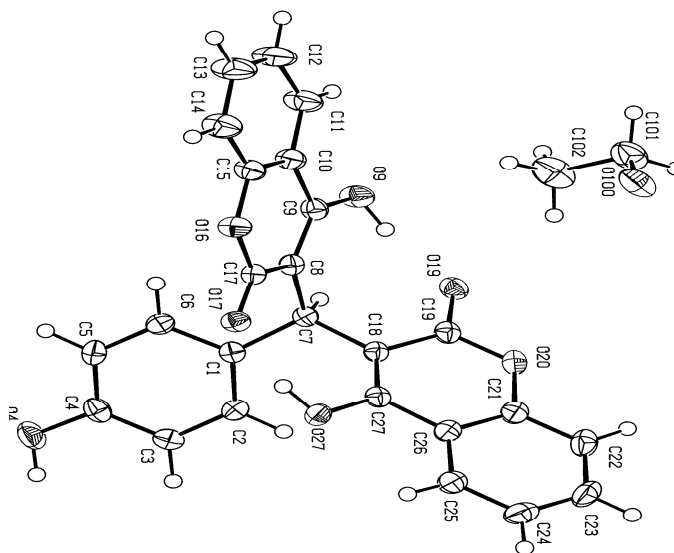
Фигура 12. Структура на 3,3'-(3-метокси-5-нитро-4-хидроксифенилметилен)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он) (III-24)



Фигура 13. Структура на 3,3'-[(4-бензилоксифенил)-метилен]бис-(4-хидрокси-2Н-хромен-2-он) (III-27)



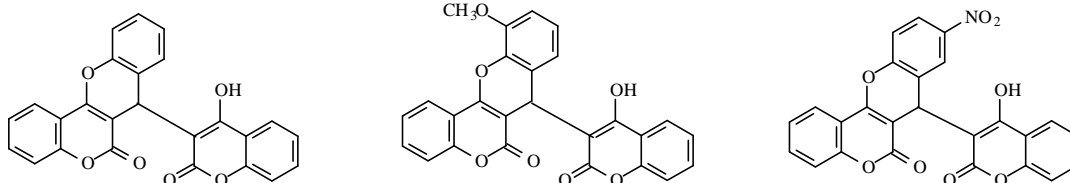
Фигура 14. Структура на 3,3'-(4-хидроксифенилметилен)-бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он) (III-29)



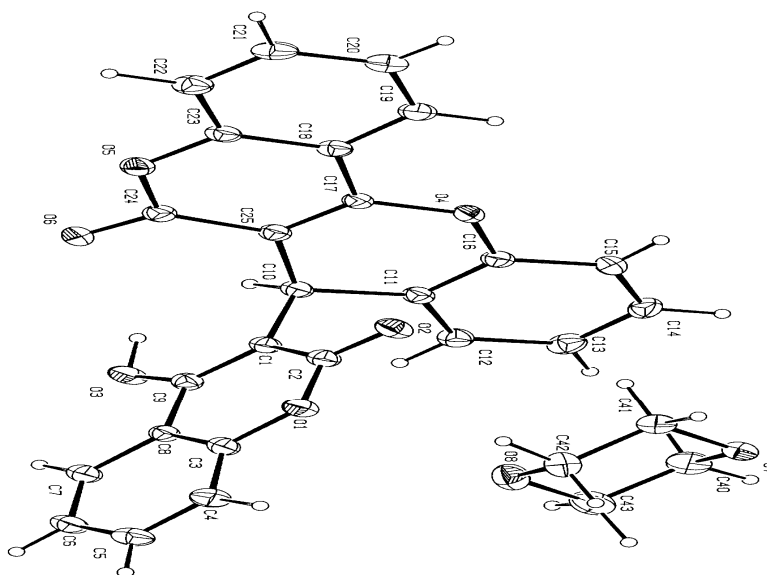
Резултатите от рентгеноструктурния анализ за всички изследвани съединения показват, че двата 4-хидроксикумаринови остатъка са свързани посредством метиленов мост и разположението им позволява образуването на две вътрешномолекулни водородни връзки между хидроксилната група на единия кумаринов фрагмент и лактонния карбонил на другия.

## II.2. Хроманокумарини

Още в първата половина на миналия век е установено, че салициловият алдеhid и аналозите му при взаимодействието си с 4-хидроксикумарин образуват бискумарини. В хода на реакцията продуктите претърпяват вътрешномолекулна дехидратация и се получават хроманокумарини. Доказателство на това твърдение са продуктите на салицилов алдеhid, 3-метокси-2-хидроксибензалдеhid или 5-нитро-2-хидроксибензалдеhid с 4-хидроксикумарин.

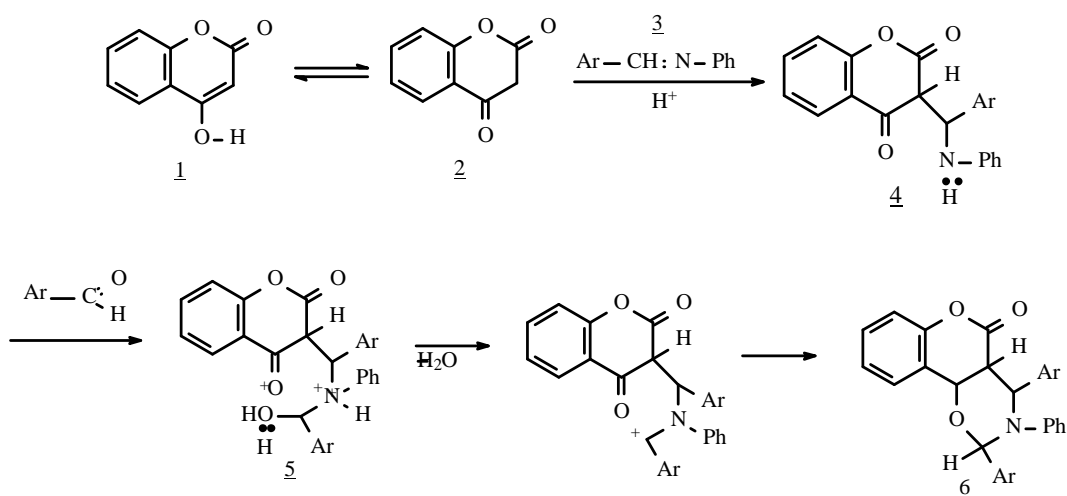


Фигура 15. Структура на 3-[6-оксо-(6Н,7Н)-бензопирано-[4,3-в] бензопиран-7-ил]-4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он (III-32)

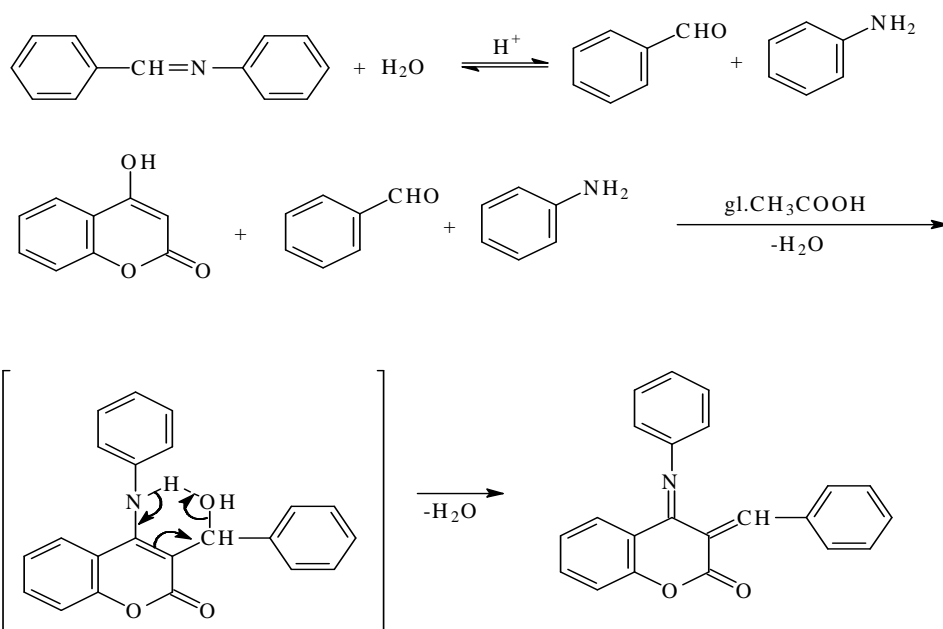


### II.3. Взаимодействие на 4-хидрокумарин с Шифови бази

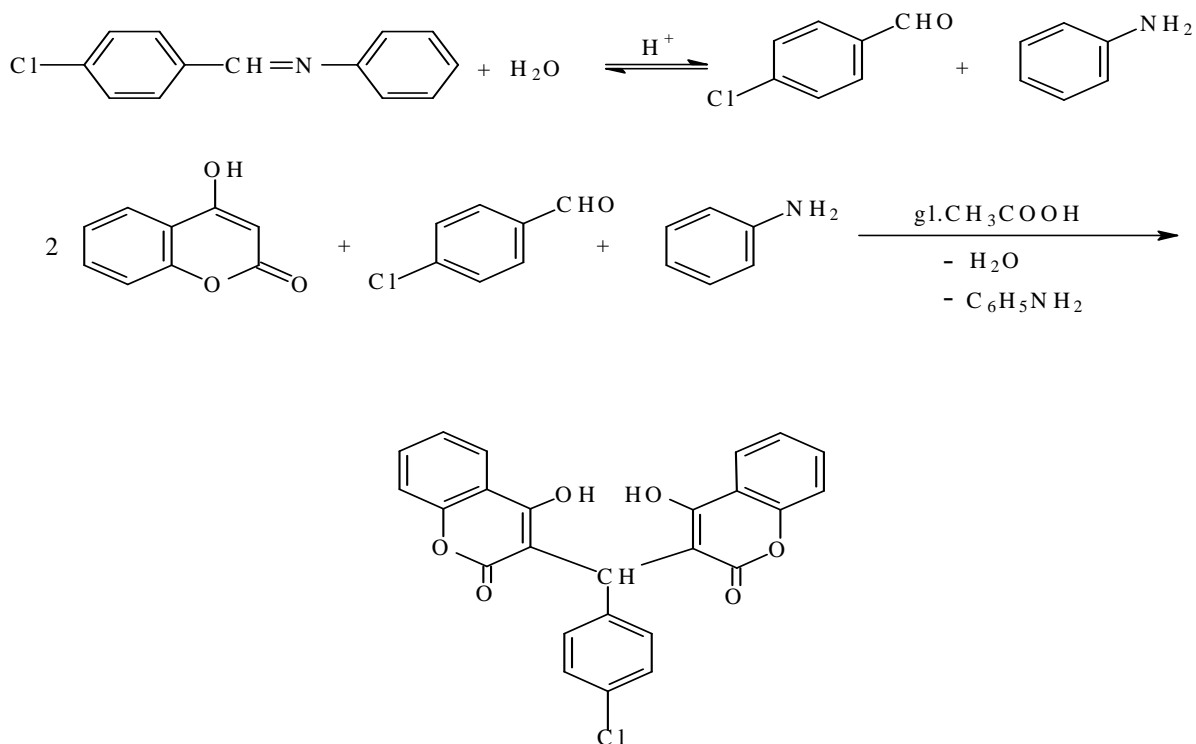
Индийски изследователи съобщават, че при взаимодействие на 4-хидрокумарин с Шифови бази в оцетнокисела среда се получават сложно заместени оксазини. Взаимодействието се осъществява между една молекула 4-хидрокумарин и две молекули бензилиденанилин в лед. оцетна киселина. Реакцията може да се представи със схемата:



При описаните реакционни условия (съотношение между реагентите, температурен режим, разтворител) изходните вещества не се променят. При продължително кипене на реакционната смес се изолира кристален продукт с молекулна формула  $C_{22}H_{15}NO_2$ . Крайният продукт е 3-бензилиден-4-фенилиминокумарин след последователно или едновременно отделяне на две молекули вода. Осъществихме взаимодействие между 4-хидроксикумарин и анилин. Получава се 4-фенилиминокумарин. 4-Фенилиминокумаринът с бензалдехид в лед. оцетна киселина при кипене образува същия продукт, който се получава при взаимодействие на 4-хидроксикумарин с бензилиденанилин.



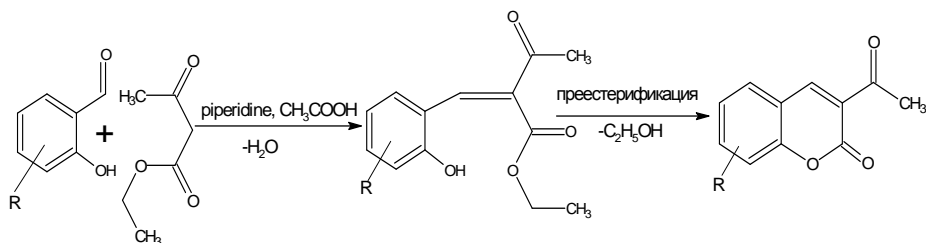
Ако в ароматното ядро на алдехида от Шифовата база има заместител, напр. хлорен атом (4-хлорбензилиденанилин) или метокси група (4-метоксибензилиденанилин) при взаимодействието с 4-хидроксикумарин се получават 3,3'-(арилметилен)бис-4-хидроксикумарини по схемата:



### III. Синтез и изследване на диоксибициклононани

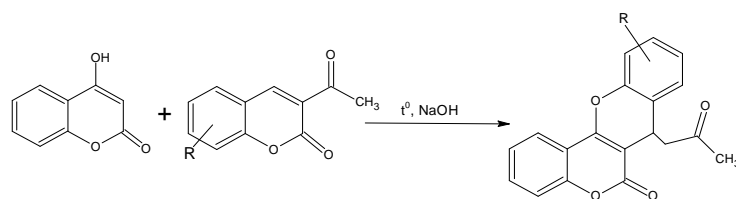
#### III.1. Получаване на 3-ацетилкумаринови производни

Взаимодействието между ароматни алдехиди и ацетоцетов естер води до получаването на бензилиденетилацетоацетати. Използването на салицилов алдехид и негови производни показва, че процесът не спира до получаване на посочения продукт. Осъществява се преестерификация и се получават 3-ацетилкумаринови производни по схемата:

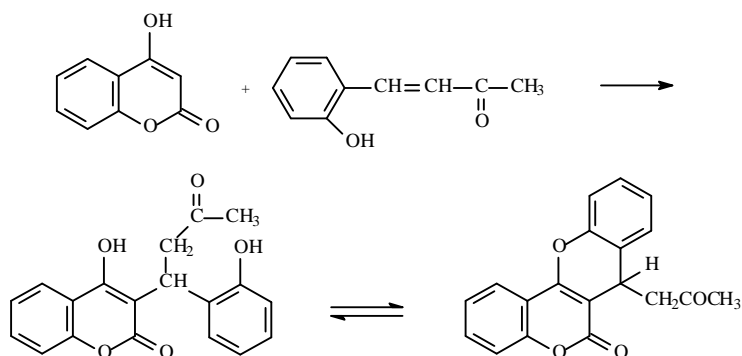


#### III.2. Взаимодействие на 4-хидроксикумарин с 3-ацетилкумаринови производни

Присъединяването на 4-хидроксикумарин и 3-ацетилкумаринови производни протича по реакцията на Михаел във воден разтвор и разр. NaOH при кипене.

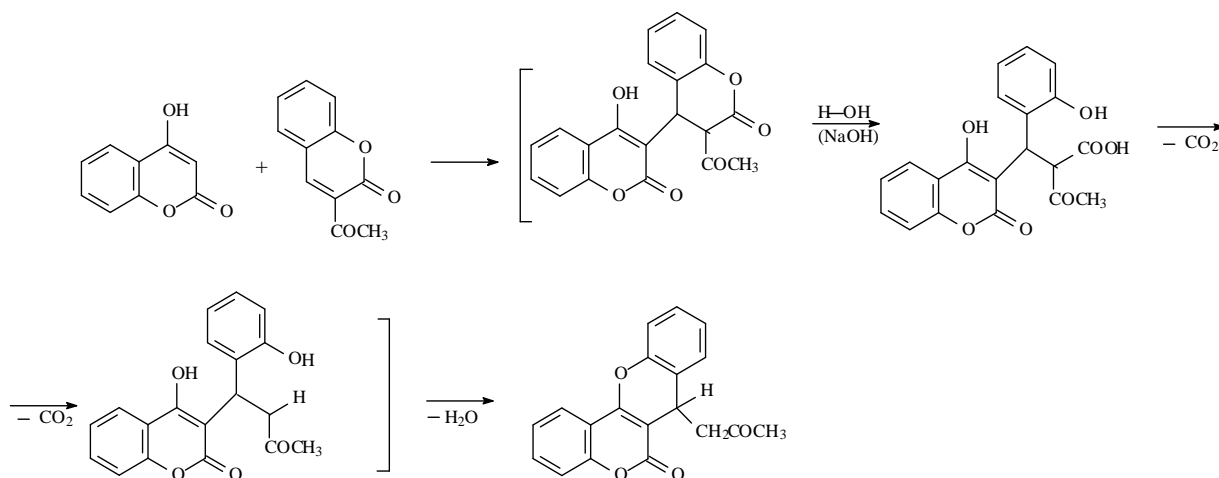


Икава et al. (1943 г.) установяват, че когато  $\alpha,\beta$ -ненаситени кетони, производни на салициловия алдехид, взаимодействат с 4-хидроксикумарин по реакцията на Михаел, продуктите на присъединяване претърпяват дехидратация и се получават високотопими, неразтворими в алкални основи и ограничено разтворими в етанол вещества. Според Икава се получават 6-оксо-7-заместени-6H,7H-[1]бензопирано[4,3-b][1]-бензопирани.

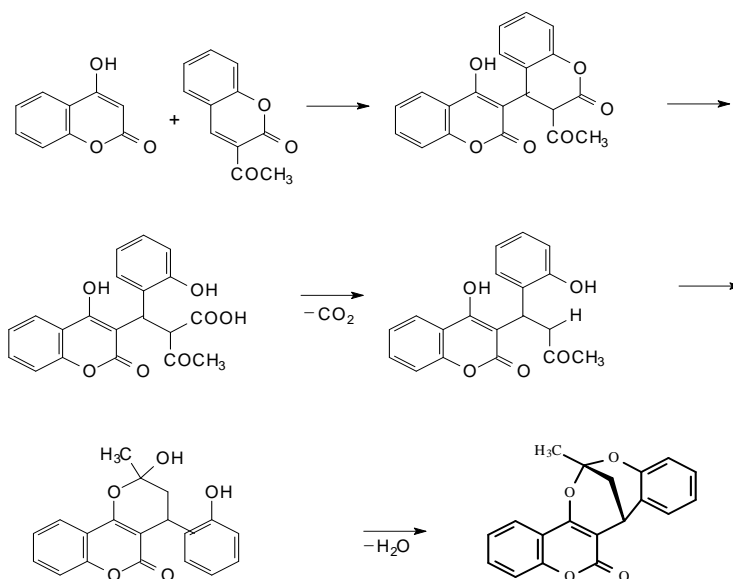


Ние изучихме взаимодействието между 3-ацетилкумарин и 4-хидроксикумарин в еквимоларни количества с натриева основа във водна среда. Според Икава процесът би трябвало да протича по схемата:

#### А. Ход на взаимодействието по Икава:



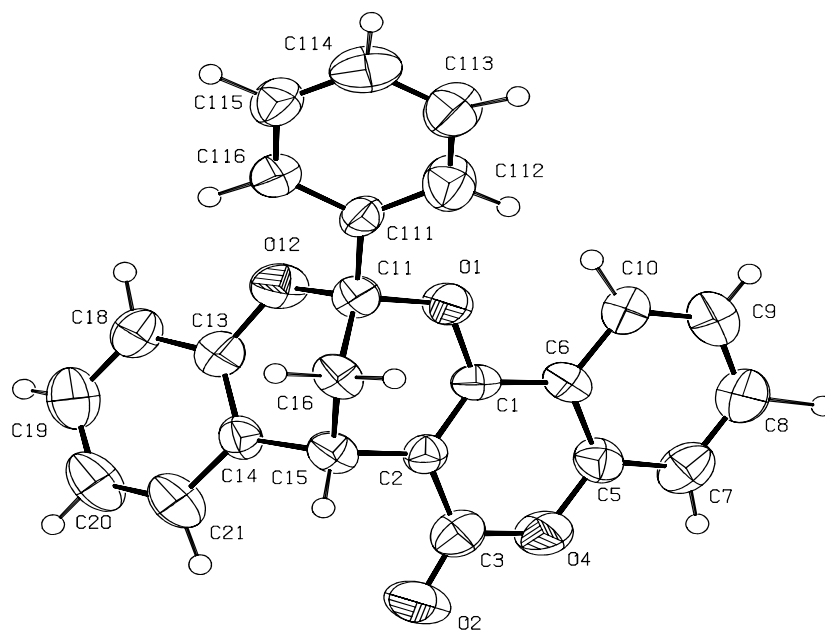
Б. Ход на взаимодействието според нашите изследвания:



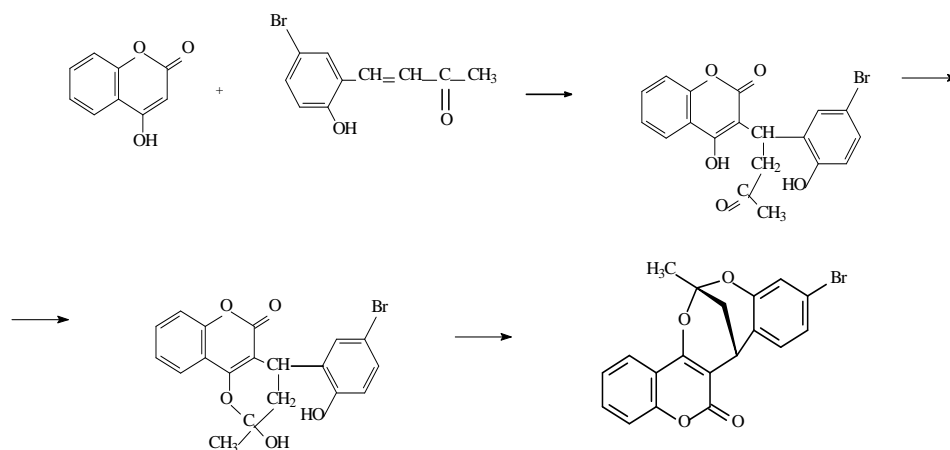
Двете структури: бензопиранобензопиран и диоксабициклононан са изомерни.

Резултатите от рентгеноструктурния анализ показват нов тип продукти – диоксабициклононани.

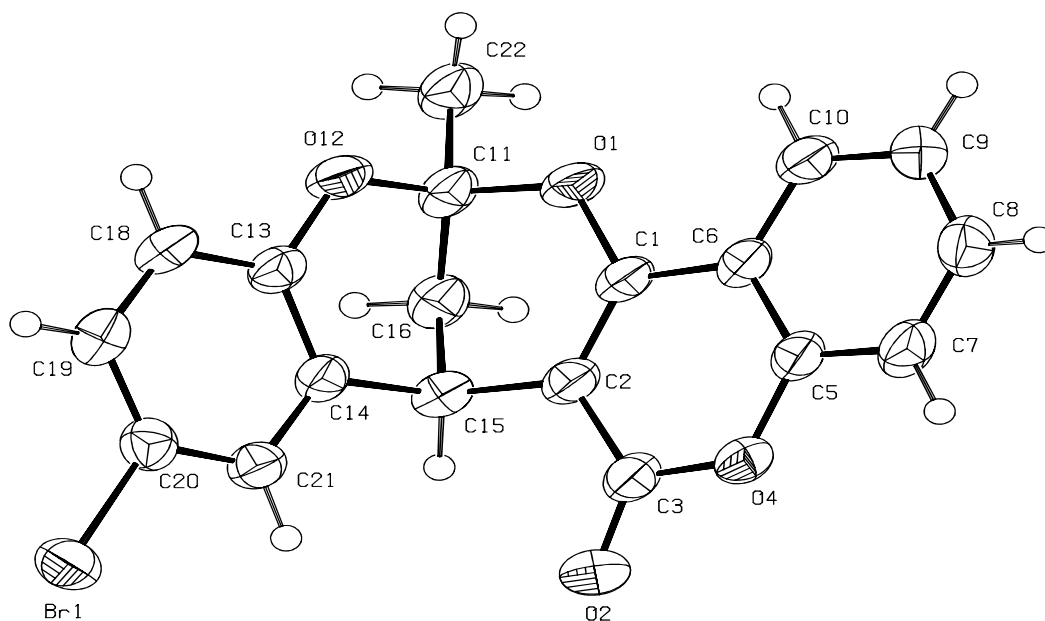
Фигура 16. Структура на 1-фенилкумарино-[4',3'-с]бензо-[3'',4''-f]-2,8-диоксабицикло[3.3.1]нонан



Ние изследвахме взаимодействието на 4-(5-бромо-2-хидроксифенил)-3-бутен-2-он с 4-хидроксикумарин, при което карбонилната група от страничната верига и хидроксилната група при С-4 от кумариновия цикъл образуват цикличен полукетал. Дехидратацията между полукеталната хидроксилна група и хидроксилната група от 5-бромо-2-хидроксифениловия фрагмент води до получаване на 1-метилкумарино-[4',3'-с]бромобензо-[3'',4''-f]-2,8-диоксибицикло-[3.3.1]нонан. Данните от рентгеноструктурния анализ потвърждават очакванията ни.



Фигура 17. Структура на 1-метилкумарино-[4',3'-с]бромобензо-[3'',4''-f]-2,8-диоксибицикло[3.3.1]нонан

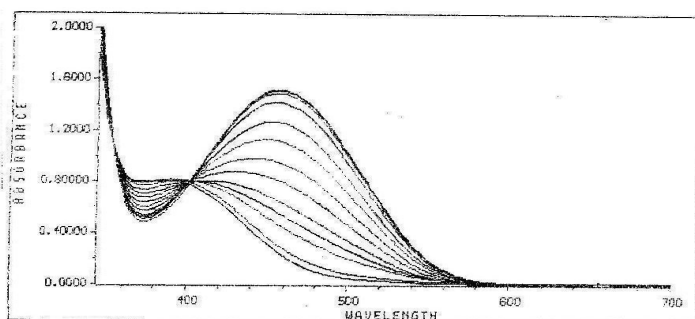


### III.3. Киселинно-основни свойства на 4-хидроксикумаринови производни

Някои 4-хидроксикумаринови производни проявяват свойството на киселинно-основни индикатори. Изследвани са веществата III-8, III- 23 и III-24 (Табл.6).

Проучена е зависимостта рН на средата–цветна промяна чрез потенциометрично и спектрофотометрично титруване. Определени са интервалът на превръщане и протолизната константа на III-24. Представени са абсорбционните спектри на разтвора на съединението в 96% етанол.

Фигура 18. Насложени абсорбционни спектри на съединение (III-24) след титруване с 0.01 N NaOH



#### Основание за използване на 3,3'-(3- метокси-5-нитро-4-хидроксифенилметилден)бис-(4-хидроксикумарин) като индикатор при киселинно-основно титруване

- Разтворим е в 96% етанол.
- Притежава най-висока моларна абсорбируемост във видимата област.
- Киселинно-основното равновесие се установява бързо за определено рН, така че промените в интензивността на оцветяването с времето са минимални.

3,3'-(3-Метокси-5-нитро-4-хидроксифенилметилден)-бис-(4-хидроксикумарин) III-24 може да се използва като киселинно-основен индикатор при титруване на протолити, чиято еквивалентна част включва цветния преход на съединението във вода – рН = 6.6 – 8.4.

### III.4. Токсикологични и фармакологични изследвания на бискумариновите производни

Проведени са токсикологични и фармакологични изследвания на бискумаринови производни с оглед установяване на тяхната остра токсичност, индекса им на резорбция и влиянието им върху времето на съсирване на кръвта. Установено е, че веществата III-2,

III-3, III-11, III-27, III-28 (Табл. 9) показват неколкостранно по-висок антикоагулантен ефект в сравнение с ефекта на Warfarin.

Таблица 6. Остра токсичност на бискумарините след интраперитонеално и перорално приложение на бели мъжки мишки и антикоагулантно действие при еднократно приложение

В-во №	LD <sub>50</sub> (мг/кг) i. p.	LD <sub>50</sub> (мг/кг) p.o.	IA (%)	Време на съсирване - % спрямо контрола
<b>III-2</b>	<b>945.5</b> (674.4 – 1325.5)	<b>&gt; 5000</b>	<b>18.9</b>	<b>633.6 %</b>
<b>III-3</b>	<b>2447.4</b> (2247.6 – 2665.0)	<b>2735.6</b> (2632.9 – 2842.3)	<b>89.4</b>	<b>364.3 %</b>
<b>III-11</b>	<b>256.2</b> (188.3 – 324.2)	<b>4500.0</b> (3600.0 – 5400.0)	<b>5.7</b>	<b>435.8 %</b>
<b>III-27</b>	<b>1612.1</b> (1418.0 – 1833.7)	<b>&gt; 5000</b>	<b>32.4</b>	<b>1412.5 %</b>
<b>III-28</b>	<b>626.3</b> (577.9 – 678.8)	<b>2209.2</b> (1885.8 – 2588.0)	<b>28.3</b>	<b>421.1 %</b>
<b>Warfarin</b>	<b>750.1</b> (581.7 – 966.6)	<b>1468.6</b> (1212.7 – 1778.6)	<b>51.0</b>	<b>350.4 %</b>
Контрола	-	-	-	100.0 %

### **III.5. Сравнителна цитотоксичност на бискумарини върху туморни и нетуморни клетъчни линии**

За първи път бяха изследвани за анти-HIV активност 15 бискумарини. В клетъчна култура МТ-2 в условията на остра инфекция бяха определени максималната нетоксична концентрация (МНК) и цитотоксична доза (ЦД<sub>50</sub>).

Таблица 7. МНК и ЦД<sub>50</sub> на изследваните съединения (48 часа след инкубация на съответното вещество с МТ-2 клетки)

В-во №	Мол.маса	ЦД <sub>50</sub> μg/ml	ЦД <sub>50</sub> μM	МНК μg/ml	МНК μM
<b>III-20 (ИМ-7)</b>	<b>472</b>	<b>472</b>	<b>1 000</b>	<b>0.0472</b>	<b>0.1</b>
<b>III-21 (ИМ-8)</b>	<b>502</b>	<b>5020</b>	<b>10 000</b>	<b>0.502</b>	<b>1</b>
<b>III-22 (ИМ-10)</b>	<b>502</b>	<b>502</b>	<b>1 000</b>	<b>0.00502</b>	<b>0.01</b>

Резултатите показват, че макар сходни по строеж и с близки молекулни маси съединенията силно се различават по цитотоксичност.

I група (с най-висока цитотоксичност): III-17 (ИМ-3) = III-19 (ИМ-5) = 100 μM

II група (умерена цитотоксичност): III-2 (ИМ-2) = III-16 (ИМ-4) = III-18 (ИМ-6) = III-20 (ИМ-7) = III-22 (ИМ-10) = III-26 (ИМ-11) = III-27 (ИМ-13) = 1 000 μM

III група (с най-ниска цитотоксичност): III-15 (ИМ-1) = III-21 (ИМ-8) = III-23 (ИМ-9) = III-25 (ИМ-12) = III-24 (ИМ-14) = III-3 (ИМ-16) = 10 000 μM.

Пет от веществата и референтното вещество III-15 (ИМ-1) (анти-НIV активно с доказано антиинтеградно действие) са с еднакво ниска цитотоксичност. Всички останали са с един или два порядъка по-висока цитотоксичност.

Данните показват, че МНК за всички вещества е от 10 до 100 000 пъти по-ниска от цитотоксичната концентрация, което определя голямото разнообразие в терапевтичната им ширина.

Установихме, че нито едно от съединенията не проявява директно вирусцидно действие.

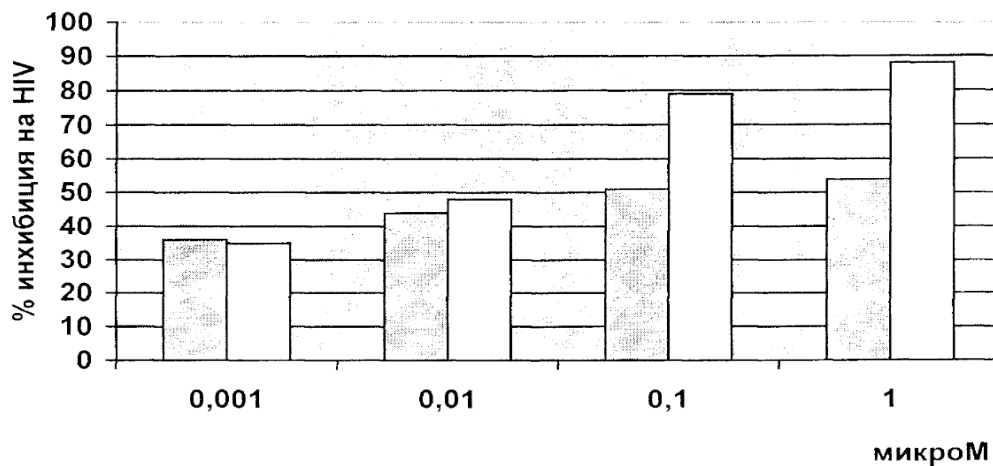
Единствените вещества, показали анти-НIV ефект, са III-20 (ИМ-7), III-21 (ИМ-8) и III-22 (ИМ-10), както и референтното вещество III-15 (ИМ-1) (IN). Всички останали вещества не показват антивирусен ефект. ИК<sub>50</sub> за трите вещества, които се изследват за първи път и показват анти-НIV активност, (ИМ-7, ИМ-8 и ИМ-10) е доста близка до МНК:

За III-20 (ИМ-7), – ИК 50 = МНК, т.е. 0.1 μM

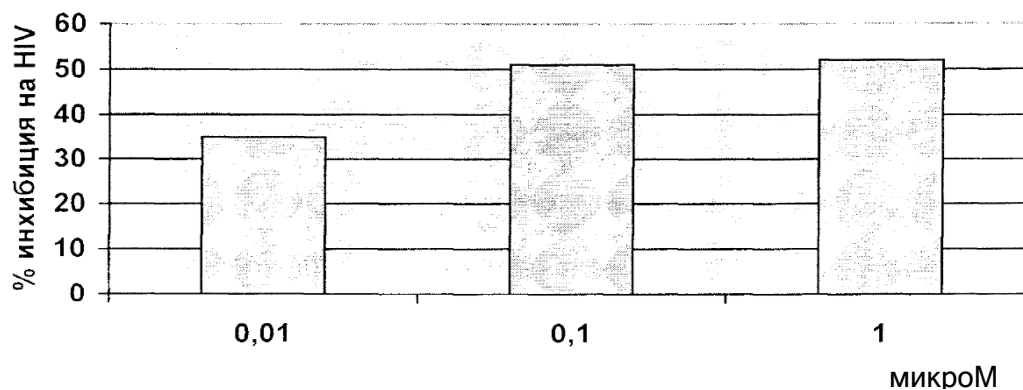
За III-21 (ИМ-8) – ИК 50 е 10 пъти по-ниска от МНК, т.е. 0.1 μM

За III-22 (ИМ-10) – ИК 50 е 10 пъти по-ниска от МНК, т.е. 0.001  $\mu\text{M}$

Фигура 19. Зависимост „доза – анти-НIV-ефект“ за III-20 (ИМ-7) – данни от два отделни опыта



Фигура 20. Зависимост „доза – анти-НIV-ефект“ за III-21 (ИМ-8)



Фигура 21. Зависимост „доза – анти-НIV-ефект“ за III-22 (ИМ-10)

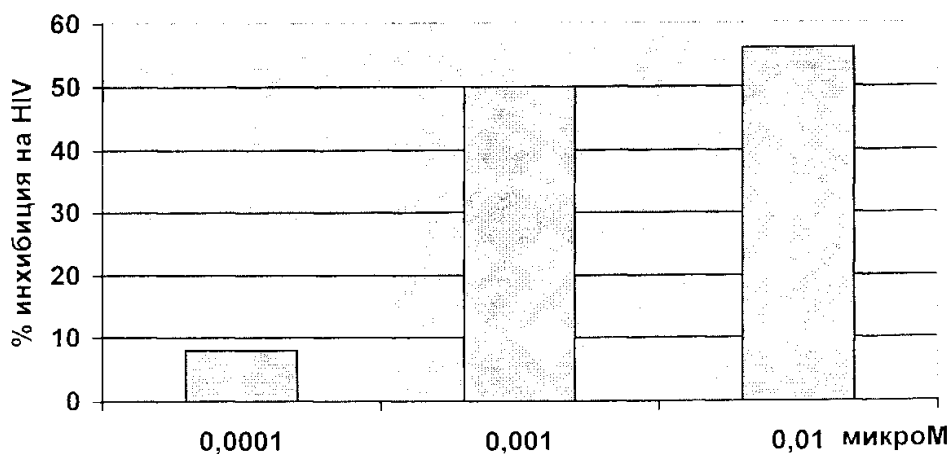


Таблица 8. Селективен индекс на активните анти-НIV бис-кумарини

Вещество	ЦД 50 ( $\mu\text{M}$ )	ИК 50 ( $\mu\text{M}$ )	СИ
III-20 (ИМ-7)	1 000	0.1	10 000
III-21 (ИМ-8)	10 000	0.1	100 000
III-22 (ИМ-10)	1 000	0.001	1 000 000
III-15 (ИМ-1) (IN)	10 000	0.01	1 000 000

Определен е селективният индекс (СИ) на веществата, проявили анти-НIV активност в клетъчна култура. Получените резултати показват, че трите изследвани съединения са със селективен индекс 1 – 2 порядъка по-нисък или равен на референтното вещество. Това е указание за антивирусната активност на веществата и за бъдещ рационален синтез на високоселективни и специфични анти-НIV инхибитори.

### **III.6. Антиоксидантно действие на някои бискумарини**

Изследвана е антиоксидантната активност на следните пет съединения: III-8, III-20, III-22, III-23 и III-24 (Табл. 6). Резултатите показват, че съединение III-8 проявява най-мощна антиоксидантна активност. Съединение III-23 проявява умерена активност, а при всички останали – липсва активност. Съединения III-8 и III-23 проявяват радикал-улавяща активност. Останалите съединения не проявяват подобно действие.

### **III.7. Растеж регулираща активност на някои бискумарини**

Изследвана е растеж регулиращата активност на пет бискумаринови съединения, съдържащи нитро група (три позиционни изомери) (III-4), (III-5), (III-6) (Табл. 6), метокси група (III-17) и хлорен атом (III-3) в ароматното ядро. Показано е, че използваните бискумарини забавят растежа на изследваните растителни видове и ефектът е по-силно изразен в сравнение с други монокумаринови производни.

### **III.8. Основни приноси**

- Синтезирани са около 40 бискумарини и техни производни. На осем от тях е доказан строежът с помощта на рентгеноструктурен анализ. Установено е, че в твърдо състояние двата 4-хидроксикумаринови остатъка се разполагат по такъв начин, че се образуват две вътрешномолекулни водородни връзки – между водородния атом от

хидроксилната група на четвърто място в кумариновия остатък и кислородния атом от лактонната карбонилна група.

- При взаимодействие на 4-хидроксикумарин с Шифови бази вместо заместени оксазини, получихме бензилиденфенилиминохромани. Ако алдехидът от Шифовата база има заместител в ароматното ядро (метокси група или хлорен атом), крайният продукт е бискумарин.

- Установихме, че взаимодействието между 4-хидроксикумарин и 3-ацетилкумарин не води до получаването на бензопиранобензопирани, а до нов тип продукти – диоксабициклононани.

- Изследвани са киселинно-основните свойства на някои бискумарини. 3,3'-(3-Метокси-5-нитро-4-хидроксифенилметил)бис-(4-хидроксикумарин) III-24 може да бъде използван в аналитичната практика като индикатор при киселинно-основно титруване.

- Проведени са токсикологични и фармакологични изследвания на бискумаринови производни. Пет от тях практически показват липса на токсичност. Те удължават времето на кръвосъсирване (приложени в доза 1/20 част от LD<sub>50</sub>) повече от 4-6 пъти в сравнение с Warfarin.

- Изучена е цитотоксичността на бискумарини върху туморни и нетуморни клетъчни линии. Определени са максималната нетоксична концентрация (МНК) и цитотоксична доза (ЦД<sub>50</sub>). За първи път бяха изследвани за анти-HIV активност 15 бискумарини като три от съединенията – III-20 (ИМ-7), III-21 (ИМ-8) и III-22 (ИМ-10) са активни.

- Изследвана е антиоксидантната активност на пет съединения. Резултатите показват, че съединение III-8 проявява най-мощна антиоксидантна активност.

- Изследвана е растеж-регулирущата активност на пет бискумаринови съединения, съдържащи нитро група III-4, III-5, III-6, метокси група III-17 и хлорен атом III-3 в ароматното ядро. Те забавят растежа на изследваните растителни видове и ефектът е по-силно изразен в сравнение с монокумаринови производни.

#### **IV. Комплексни съединения и комплексообразуване**

Литературните данни показват, че:

- Липсват данни за синтез на комплексни съединения на 4-метил-7-хидроксикумарин с лантаноиди;

- Не са синтезирани и описани комплексни съединения на кумаринови производни с клинично приложение Асеносоумарол, Warfarin и Coumachlor;
- Практически липсват данни за използване на натриеви соли на хидроксикумарини при синтез на комплексни съединения;
- Комплексните съединения на производните на кумарините не са били обект на фармакологични проучвания.

Това насочи вниманието ни към синтез на комплексните съединения на производни на 4-хидроксикумарина. Mendiaxon, Асеносоумарол, Warfarin и Coumachlor са неразтворими във вода, което налага провеждането на експеримента в органичен разтворител (напр. етанол). Прибавянето на неорганичната сол към разтвора на лиганда предизвиква изсолване. Това даде основание да използваме натриевите соли на лигандите, което позволява комплексообразуването да се осъществи във водна среда.

#### IV.1. Синтез и анализ на комплексни съединения на 4-метил-7-хидроксикумарин (Mendiaxon) с лантаноиди (лантан, церий и неодим) и с йоните на някои преходни биогенни метали

Комплексните съединения на Mendiaxon с йоните на d- и f- елементи са получени при смесване на водни разтвори на съответната сол и натриевата сол на Mendiaxon. Комплексните съединения са високотопими неелектролити. Разтварят се в диметилсулфоксид, ограничено в етанол и ацетон и са неразтворими във вода.

Таблица 9. Елементен анализ, т.т. и кондуктометрични данни за комплекси на Mendiaxon с лантаноиди

Комплекс	т.т., °C	$\lambda$ $\mu\text{S}/\text{cm}$	добив %	данни от елементния анализ, % изчислено/намерено			
				C	H	Metal	H <sub>2</sub> O
La(HL) <sub>3</sub> .6 H <sub>2</sub> O	250-253	2.12	83	46.63	4.27	18.00	13.99
				46.98	3.75	19.50	14.40
Ce(HL) <sub>2</sub> (OH).5H <sub>2</sub> O	162-164	2.11	81	40.20	4.19	23.45	15.07
				39.71	3.77	24.80	15.00
Nd(HL) <sub>3</sub> .6 H <sub>2</sub> O	250-252	2.12	94	46.33	4.25	18.53	13.89
				46.34	3.94	20.00	14.00

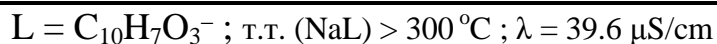


Таблица 10. Елементен анализ, т.т. и кондуктометрични данни за комплекси на Mendiaxon с йоните на биогенни елементи

Комплекс (ЦВЯТ)	т.т., °C	$\lambda$ $\mu\text{S}/\text{cm}$	добив %	данни от елементния анализ, % изчислено/намерено			
				C	H	Metal	H <sub>2</sub> O
Cu(HL) <sub>2</sub> .4 H <sub>2</sub> O (зелен)	163-165	2.12	87	49.48	4.53	12.99	14.84
				50.10	4.07	14.61	15.25
Zn(HL) <sub>2</sub> .2 H <sub>2</sub> O (безцветен)	285-288	2.33	92	53.21	3.99	14.41	7.98
				52.61	3.80	15.84	7.50
Ni(HL) <sub>2</sub> .3 H <sub>2</sub> O (зелен)	250-253	2.14	73	51.95	4.33	12.70	11.69
				52.16	3.93	12.30	11.30
Co(HL) <sub>2</sub> .4 H <sub>2</sub> O (тъмно сив)	169-172	2.70	85	49.89	4.57	12.26	14.97
				49.75	4.62	12.63	15.00
Fe(HL) <sub>3</sub> .5 H <sub>2</sub> O (кафяв)	155-157	1.98	79	53.65	4.62	8.34	13.41
				53.64	4.69	7.15	13.00

$$L = C_{10}H_7O_3^-; \text{т.т. (NaL)} > 300^\circ\text{C}; \lambda(L) = 39.6 \mu\text{S}/\text{cm}$$

#### IV.2. Термогравиметричен анализ

Таблица 11. Данни от термогравиметричния анализ за комплекси на Mendiaxon с лантаноиди

Изследвано съединение	Термичен ефект	t, °C	$\Delta m$ ( $\Delta m_{\text{изчисл.}}$ ), %
C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> O <sub>3</sub> Na	Endo	140; 180	7.0; 8.0
	Exo	355; 420; 475	10.5; 30.5; 40.0
	Endo	618; 86	50.0; 75.0
Ce(HL) <sub>2</sub> (OH).5H <sub>2</sub> O	Endo	120; 360	6.50 (6.03); 18.40 (17.92)
	Exo	540	50.0
	Endo	900	71.0
Nd(HL) <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	Endo	110; 215	7.00 (6.95); 14.00 (13.89)
	Exo	500	50.0
	Endo	900	77.5

Разпадните процеси при нагряване и редуцията на масата съответстват на стехиометрията на комплексите. Комплексът на церий с Mendiaxon показва ендотермичен ефект при 120 °С. Масата се редуцира с 6.50 %. Вторият ендотермичен ефект е при относително висока температура ~ 360 °С, при което масата се редуцира с 18.40 %. Разграждането при тази относително висока температура най-вероятно се дължи на разкъсване на връзки във вътрешната координационна сфера на комплекса. Комплексът на неодим с Mendiaxon показва също два изразени ендотермични ефекта при температури 110 °С и 215 °С, свързани с редукция на масата, съотв. със 7.00 % и 14.00 %. Комплексите показват изразен екзотермичен ефект при температура 500-550 °С, който съответства на деструкция на органичната част на молекулата и редукция на масата на пробата с около 50 %. При максималната температура 900 °С остатъкът съответства на стабилните оксиди на металите.

Съставът на комплексите на мед, цинк, никел и кобалт също е потвърден чрез диференциален термичен и термогравиметричен анализ.

#### IV.3. Мас-спектрален анализ

Таблица 12. Мас-спектрални данни за натриевата сол на Mendiaxon и комплексите му с церий, мед и цинк

Съединение	m/z	%	Съединение	m/z	%
C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> O <sub>3</sub> Na	198	80	Cu(HL) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	353	15
	176	100		176	100
	154	60		154	27
	136	60		136	35
	120	17		120	13
	107	22		107	17
Ce(HL) <sub>2</sub> (OH).5H <sub>2</sub> O	352	17	Zn(HL) <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	353	16
	176	100		176	100
	154	35		154	38
	136	35		136	45
	120	14		120	11
	107	17	107	22	

#### IV.4. Абсорбционен спектрален анализ

Проведен е абсорбционен спектрален анализ на разтворите на Mendiaxon и на комплексите му с лантан, церий, неодим, никел и желязо в DMSO. Разтворът на

Mendiaxon показва ивица при 324 nm. Наблюдават се и ивици с малък интензитет във видимата област на спектъра. Комплексите на церий, лантан и неодим поглъщат съответно при 396 nm и 400 nm. Ивицата на комплекса на никела е при 402 nm, а на комплекса на желязото при 396 nm.

#### IV.5. Спектри в инфрачервената област

Данните за комплексните съединения, сравнени с тези на лиганда потвърждават комплексобразуването.

Таблица 13. ИЧ-спектри на комплекси на Mendiaxon с лантаноиди ( $\text{cm}^{-1}$ )

Съединение	$\nu_{(\text{OH}/\text{H}_2\text{O})}$	$\nu_{\text{C}=\text{O}}$	$\nu_{\text{C}=\text{C}}$	$\nu_{\text{C}-\text{C}}$	$\nu_{\text{C}-\text{O}}$	$\nu_{\text{C}-\text{O}-\text{C}}$
$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{O}_3\text{Na}$	3655	1726	1576	1291-1210	1138	1070
$\text{La}(\text{HL})_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	3480	1669	1607	1277-1213	1161	1077
$\text{Ce}(\text{HL})_2(\text{OH}) \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	3487	1668	1607	1276-1213	1159	1076
$\text{Nd}(\text{HL})_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	3493	1671	1607	1276-1213	1163	1076

Данните от инфрачервените спектри на комплексните съединения на мед, цинк, кобалт, никел и желязо, сравнени с тези на натриевата сол на лиганда, са представени в следващата таблица.

Таблица 14. ИЧ-спектри на комплекси на Mendiaxon с йоните на биогенни елементи ( $\text{cm}^{-1}$ )

Съединение	$\nu_{(\text{OH}/\text{H}_2\text{O})}$	$\nu_{\text{C}=\text{O}}$	$\nu_{\text{C}=\text{C}}$	$\nu_{\text{C}-\text{C}}$	$\nu_{\text{C}-\text{O}}$	$\nu_{\text{C}-\text{O}-\text{C}}$
$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{O}_3\text{Na}$	3655	1726	1576	1291-1210	1138	1070
$\text{Cu}(\text{HL})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	3493	1668	1607	1276-1211	1159	1076
$\text{Zn}(\text{HL})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	3493	1671	1607	1277-1210	1161	1077
$\text{Ni}(\text{HL})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	3493	1671	1607	1277-1213	1163	1076
$\text{Co}(\text{HL})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	3489	1671	1607	1277-1210	1161	1077
$\text{Fe}(\text{HL})_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	3495	1671	1607	1276-1210	1163	1076

При всички комплекси се появява широка ивица в областта  $3500\text{-}3400 \text{ cm}^{-1}$ , характеризираща наличието на координирана или кристализационна вода. Ивицата при  $1726 \text{ cm}^{-1}$  в спектъра на натриевата сол на Mendiaxon, отговаряща на  $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ , се отмества с около  $50 \text{ cm}^{-1}$  към нисковълновите стойности при комплексните съединения, което служи за доказателство относно участието на лактонната карбонилна група в

координация с металния йон. Ивиците на С-О и С-О-С връзките се отместват към високите честоти (1160 и 1076  $\text{cm}^{-1}$ ) в комплексите. Подобни изменения на честотата са доказателство за комплексообразуване между метален йон и кислородния атом от лактонната карбонилна група на кумариновата структура.

Отместването на ивицата за хидроксилната група в комплексните съединения е указание за наличие на връзка между депротонираната хидроксилна група и съответния метален йон.

#### IV.6. Спектри в далечната ИЧ-област

Таблица 15. Данни от ИЧ-спектрите на Mendiaxon, натриевата сол на Mendiaxon и комплекса му с никел в нискочестотната област ( $\text{cm}^{-1}$ )

$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_3$	$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{O}_3\text{Na}$	$\text{Ni}(\text{HL})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$
640	652	640
583	606	584
529	535	535, 505*
457, 439, 415	441	456, 441, 420
345, 327	334	382*
271	269	274

В спектъра на никеловия комплекс се появяват нови ивици при 505 и при 382  $\text{cm}^{-1}$ , характерни за химичните връзки метал-кислород.

#### IV.7. $^1\text{H}$ ЯМР спектрални изследвания

Промените, наблюдавани в спектрите на комплексите, сравнени с тези на лиганда, дефинират връзката на металите с карбонилната група от лактонния пръстен и с фенолатния анион на седмо място. Най-съществени отмествания се наблюдават при протона на трето място, най-близо разположен до карбонилната група от кумарина, както и при протоните на шесто и осмо място, разположени в близост до депротонираната хидроксилна група.

Таблица 16.  $^1\text{H}$  ЯМР-спектрални данни на лантаноидни комплекси на Mendiaxon, 100 (250) MHz

$C_n - \text{H}$	Мултиплетност на сигнала	$\delta$ (ppm)			
		лиганд	комплекси		
			Ce	La	Nd
$C_8 - \text{H}$	s, 1H	5.9 (5.91)	6.8 (6.71)	6.7	6.8
$C_6 - \text{H}$	d, 1H; J = 7 Hz	6.2 (6.17)	6.9 (6.82)	6.8	6.9
$C_5 - \text{H}$	d, 1H; J = 7 Hz	7.2 (7.15)	7.7 (7.61)	7.6	7.8
$C_3 - \text{H}$	s, 1H	5.5 (5.44)	6.1 (6.13)	6.0	6.2
$C_4 - \text{CH}_3$	s, 3H	2.1 (2.19)	2.3 (2.36)	2.3	2.4

Таблица 17.  $^1\text{H}$  ЯМР-спектрални данни на комплекси на Mendiaxon с йоните на биогенни елементи, 100 (250) MHz

$C_n - \text{H}$	Мултиплетност на сигнала	$\delta$ (ppm)					
		лиганд	комплекси				
			Cu	Zn	Ni	Co	Fe
$C_8 - \text{H}$	s, 1H	5.9 (5.91)	6.8 (6.67)	6.7 (6.69)	6.7	6.7	6.8
$C_6 - \text{H}$	d, 1H; J = 7 Hz	6.2	6.9	6.8	6.8	6.8	6.9
$C_5 - \text{H}$	d, 1H; J = 7 Hz	7.2 (7.15)	7.7 (7.53)	7.8 (7.59)	7.6	7.6	7.7
$C_3 - \text{H}$	s, 1H	5.5 (5.45)	6.2 (6.02)	6.1 (6.11)	6.0	6.0	6.2
$C_4 - \text{CH}_3$	s, 3H	2.1 (2.19)	2.4 (2.33)	2.3 (2.34)	2.4	2.4	2.4

#### IV.8. $^{13}\text{C}$ ЯМР спектри на комплексите на Mendiaxon

Резултатите от  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектрите на натриевата сол на Mendiaxon, на цериевия и цинковия комплекси показват отместване на сигнала на въглеродния атом от лактонната карбонилна група.

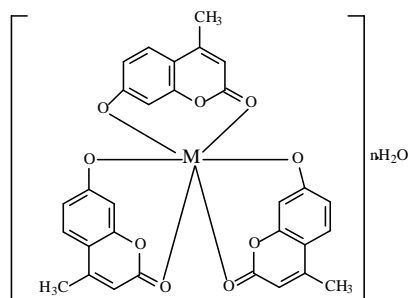
Таблица 18.  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектри на комплекси на Mendiaxon, 62.9 MHz,  $\delta$  (ppm)

$\text{C}_n$	$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{O}_3\text{Na}$	$\text{Ce}(\text{HL})_2(\text{OH})\cdot 5\text{H}_2\text{O}$	$\text{Zn}(\text{HL})_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$
$\text{CH}_3$	18.08	18.11	18.01
$\text{C}_5$	101.44	102.18	102.15
$\text{C}_3$	103.03	110.25	110.08
$\text{C}_4$	104.13	111.91	111.85
$\text{C}_6$	118.66	112.87	112.87
$\text{C}_8$	125.03	126.63	126.49
$\text{C}_{4'}$	153.56	153.57	153.45
$\text{C}_{8'}$	157.46	155.13	154.79
$\text{C}_7$	162.02	160.29	160.22
$\text{C}=\text{O}$	175.99	161.16	161.19

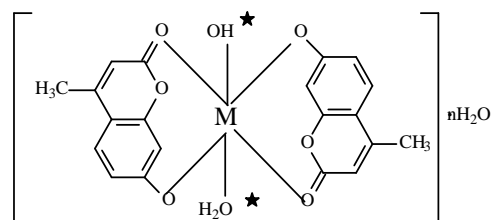
Данните от ЯМР-спектрите потвърждават комплексообразването и координацията на металните йони с кислородните атоми от лактонната карбонилна група и от депротонираната хидроксилна група.

#### IV.9. Рентгеноструктурен прахов анализ

Заснети са рентгенограми на натриевата сол на Mendiaxon и комплексите на Mendiaxon с церий, лантан, неодим, никел и кобалт.



Предполагаема структура на комплекси на Mendiaxon с йони на f- и d-елементи (M = La, Nd, Fe)



Предполагаема структура на комплекси на Mendiaxon йони на f- и d-елементи (M = Ce\*, Cu, Zn, Co, Ni)

#### IV.10. Синтез и анализ на комплексни съединения на лантаноиди с производни на 4-хидроксикумарина

Комплексните съединения на Асепосоумарол, Warfarin и Coumachlor с йоните на рядкоземните f-елементи и йоните на биогенните d-елементи се получават и анализират аналогично на комплексните съединения на Mendiaxon.

Таблица 19. Данни от термогравиметричния анализ за комплекси на Асеносcoumarol

Изследвано съединение	Термичен ефект	t, °C	$\Delta m$ ( $\Delta m_{\text{изчисл.}}$ ), %
$C_{19}H_{15}NO_6$	Endo	240, 465	1.6, 30.7
	Exo	540, 620, 738	42.0, 58.0, 80.6
$C_{19}H_{14}NaNO_6$	Endo	170	10.2
	Exo	300	40.9
	Endo	450	47.7
	Exo	480	56.8
	Endo	630	65.9
$La(HN)_3 \cdot 4H_2O$	Endo	110, 220	3.00 (2.84), 5.70 (5.68)
	Exo	355, 465	27.1, 45.7
	Endo	810	85.7
$Ce(HN)_3 \cdot 4H_2O$	Endo	100, 220	3.00 (2.84), 6.00 (5.68)
	Exo	360	22.0
	Endo	755	68.2
$Nd(HN)_3 \cdot 6H_2O$	Endo	105, 220	4.00 (4.13), 8.00 (8.25)
	Exo	350, 500	25.9, 46.0
	Endo	727	75.3

Таблица 20. Данни от термогравиметричния анализ на Warfarin, натриевата му сол и комплекс с церий

Изследвано съединение	Термичен ефект	t, °C	$\Delta m$ ( $\Delta m_{\text{изчисл.}}$ ), %
$C_{19}H_{16}O_4$	Endo	190	0.73
	Exo	523, 605, 765	61.8, 77.9, 89.7
$C_{19}H_{15}O_4Na$	Exo	200	2.5
	Endo	260, 340, 505	8.2, 20.0, 55.3
	Exo	588	64.7
$Ce(HW)_3 \cdot 4H_2O$	Endo	760	84.7
	Endo	220	6.00 (6.35)
	Exo	580	60.0
	Endo	900	86.0

Таблица 21. Данни от термогравиметричния анализ на Coumachlor и комплекса му с церий

Изследвано съединение	Термичен ефект	t, °C	Δm (Δm <sub>изчисл.</sub> ), %
C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> ClO <sub>4</sub>	Endo	180, 575	1.0, 53.7
	Ехо	660	75.0
	Endo	775	91.2
Ce(НС) <sub>3</sub> .5Н <sub>2</sub> О	Endo	170, 260	2.90 (2.87), 7.50 (7.18)
	Ехо	550	56.0
	Endo	810	80.0

#### IV.11. Мас-спектрален анализ

Данните от мас-спектралния анализ на Асеносоумарол, Warfarin и Coumachlor, на техните натриеви соли и комплексите им с лантан, церий, и неодим потвърждават стехиометричния състав и молекулните маси на комплексните съединения. При комплексите ходът на фрагментацията е:

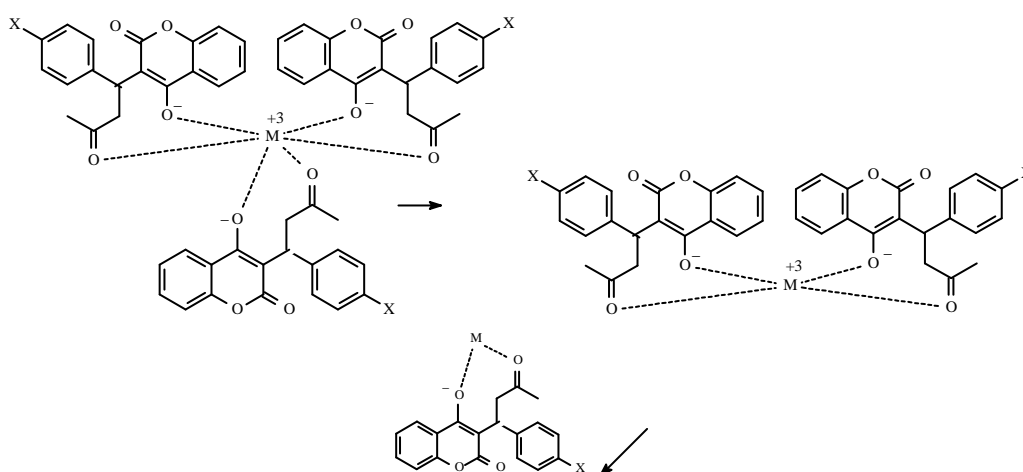
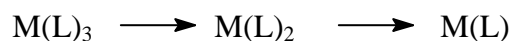


Таблица 22. Мас-спектрални данни за Асеносумарол, натриевата сол на Асеносумарол и комплексите му с церий, лантан и неодим

Съединение	m/z	%	Съединение	m/z	%
C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>6</sub>	354	100	La(HN) <sub>3</sub> .4H <sub>2</sub> O	1196 La(HN) <sub>3</sub>	0.27
	295	17		843 La(HN) <sub>2</sub>	1.23
	163	27		490 La(HN)	3
C <sub>19</sub> H <sub>14</sub> NaNO <sub>6</sub>	375	17		354	38
	352	22		295	19
	176	100		176	12
				163	22
Ce(HN) <sub>3</sub> .4H <sub>2</sub> O	1197 Ce(HN) <sub>3</sub>	0.27	Nd(HN) <sub>3</sub> .4H <sub>2</sub> O	1200 Nd(HN) <sub>3</sub>	0.03
	844 Ce(HN) <sub>2</sub>	0.93		847 Nd(HN) <sub>2</sub>	0.17
	492 Ce(HN)	1		496 Nd(HN)	0.5
	354	48		354	33
	295	19		295	27
	176	32		176	20
	163	20		163	18

#### IV.12. Абсорбционни спектри

Проведено е спектрофотометрично изследване на разтворите на Асеносумарол и комплексите му с церий и неодим в диметилсулфоксид. Разтворът на Асенокумарол поглъща при 286, 298 и 310 nm. Абсорбционните ивици на комплексите на церий и неодим са съответно при 296, 312 и 396 nm. Поглъщането във видимата област на спектъра при двата комплекса е свързано с d-d преходи, обуславящи цвета на комплексните съединения. Подобни ивици във видимата област са наблюдавани и при комплексите на Mendiaxon с лантаноиди и други метали.

#### IV.13. Спектри в инфрачервената област

Характеристичните ивици за карбонилните групи в спектрите на съединенията са отместени към нискочестотната област, поради равновесие между спрегнати енолни системи – карбонилна и хромонна. Вероятно това е причината характеристичната ивица на карбонилната група от страничната верига на Асеносумарол да се отмества значително към по-ниски честоти (1686 cm<sup>-1</sup>). Характеристичната ивица за лактонната карбонилна група, която е в равновесие с карбонилната група при четвъртия въглероден атом в структурата на хромона, се явява при 1619 cm<sup>-1</sup>. Това се потвърждава от ИЧ-

спектрите на Асепосоумарол в разтвор на хлороформ и метиленхлорид, където ивицата за карбонилната група от страничната верига се явява съответно при 1705 и 1711  $\text{cm}^{-1}$ .

Таблица 23. ИЧ-спектрални данни за Асепосоумарол, заснети в нуйол, хлороформ и метиленхлорид

Разтворител	$\nu^k_{\text{C=O}}$	$\nu^l_{\text{C=O}}$	$\nu_{\text{C=C}}$	$\nu_{\text{Ar}}$
Нуйол	1686	1619	1572	1512
Хлороформ	1705	1626	1576	1520
Метиленхлорид	1711	1626	1576	1522

В ИЧ-спектъра на натриевата сол на Асепосоумарол ивицата за карбонилната група от страничната верига е при 1715  $\text{cm}^{-1}$ , а тази за лактонната карбонилна група е при 1653  $\text{cm}^{-1}$ . Тя не променя положението си и в комплексните съединения, което означава, че лактонната карбонилна група не участва в комплексобразуването.

За разлика от лактонната карбонилна група от хетероцикъла, карбонилната група от страничната верига в комплексите е отместена с около 20  $\text{cm}^{-1}$  към нискочестотната област, което е указание за участието ѝ в координация с металния йон. Пространствената близост на карбонилната група от страничната верига с депротонираната хидроксилна група от кумариновия хетероцикъл дава основание да се предположи, че Асепосоумарол се проявява като едновалентен бидентатен лиганд. Ивицата при 3295  $\text{cm}^{-1}$  в спектъра на Н-формата на лиганда може да бъде свързана с валентните трептения на хидроксилната група. Тази ивица липсва при комплексите, което означава, че хидроксилната група е депротонирана и кислородният атом участва в координация с метала. Положителното отместване на  $\nu_{\text{C-O}}$  (енол) с около 10  $\text{cm}^{-1}$  при комплексите потвърждава тази координация.

Таблица 24. ИЧ-спектрални данни за Асепосоumarol, натриевата сол  
и комплексите с церий, лантан и неодим

Съединение	$\nu_{\text{OH}}$	$\nu^{\text{k}}_{\text{C=O}}$	$\nu^{\text{l}}_{\text{C=O}}$	$\nu_{\text{C=C}}$	$\nu_{\text{Ar}}$	$\nu_{\text{C-C}}$	$\nu_{\text{C-O}}$	$\nu_{\text{C-O-C}}$
$\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{NO}_6$	3295	1686	1619	1572	1512	1249-1212	1173	1101
$\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{NaNO}_6$	3364	1715	1653	1595	1516	1267-1226	1163	1076
$\text{La}(\text{HN})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	3432	1696	1651	1597	1514	1280-1228	1181	1110
$\text{Ce}(\text{HN})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	3400	1696	1650	1598	1514	1280-1227	1177	1111
$\text{Nd}(\text{HN})_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	3392	1697	1650	1598	1514	1281-1229	1179	1111

Таблица 25. ИЧ-спектрални данни за Warfarin, натриевата сол  
и комплексите с церий и неодим

Съединение	$\nu_{\text{OH}}$ ( $\text{H}_2\text{O}$ )	$\nu^{\text{k}}_{\text{C=O}}$	$\nu^{\text{l}}_{\text{C=O}}$	$\nu_{\text{C=C}}$	$\nu_{\text{Ar}}$	$\nu_{\text{C-C}}$	$\nu_{\text{C-O}}$	$\nu_{\text{C-O-C}}$
$\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{O}_4$	3272	1680	1617	1570	1492	1277-1243	1191	1075
$\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{NaO}_4$	3400	1721	1668	1597	1516	1265-1223	1163	1092
$\text{Ce}(\text{HW})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	3280	1685	1650	1580	1500	1279-1244	1178	1108
$\text{Nd}(\text{HW})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	3394	1695	1651	1580	1505	1280-1245	1179	1108

Таблица 26. ИЧ-спектрални данни за Coumachlor, натриевата сол  
и комплексите с церий, лантан и неодим

Съединение	$\nu_{\text{OH}}$	$\nu^{\text{k}}_{\text{C=O}}$	$\nu^{\text{l}}_{\text{C=O}}$	$\nu_{\text{C=C}}$	$\nu_{\text{Ar}}$	$\nu_{\text{C-C}}$	$\nu_{\text{C-O}}$	$\nu_{\text{C-O-C}}$
$\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{ClO}_4$	3286	1679	1615	1569	1492	1277-1243	1190	1075
$\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{NaClO}_4$	3400	1722	1668	1598	1522	1266-1223	1159	1087
$\text{La}(\text{HC})_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	3204	1695	1650	1599	1510	1283-1228	1182	1090
$\text{Ce}(\text{HC})_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	3300	1700	1650	1599	1510	1282-1228	1181	1091
$\text{Nd}(\text{HC})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	3378	1693	1651	1598	1514	1282-1229	1180	1092

#### IV.14. Спектри в далечната инфрачервена област

Спектрите в далечната инфрачервена област ( $700\text{-}200\text{ cm}^{-1}$ ) се използват за доказване на връзки метал-лиганд. В спектрите на изследваните съединения се наблюдава появата на нови ивици (отбелязани със звездичка).

Таблица 27. ИЧ-спектрални данни в областта  $700\text{-}200\text{ cm}^{-1}$  за Асепосоумарол, натриевата сол и комплексите с лантан, церий и неодим

$\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{NO}_6$	$\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{NaNO}_6$	$\text{La}(\text{HN})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$\text{Ce}(\text{HN})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$\text{Nd}(\text{HN})_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
699	692	685	686	686
632	579	575	575	578
525, 511	544, 531	542	542	542
472	458	463*	463*	464*
409	395	402	401	402
312, 295	322, 298	306*	305*	305*
236	225	235	238	231

Таблица 28. ИЧ-спектрални данни в областта  $700\text{-}200\text{ cm}^{-1}$  за Warfarin, натриевата сол и комплексите с лантан и неодим

$\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{O}_4$	$\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{NaO}_4$	$\text{La}(\text{HW})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$\text{Nd}(\text{HW})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
700	690	700	700
638	660, 630	638	638
603, 575	559	564*	565*
466	458	464	464
409	397	404	404
308, 287, 274	295	305	307
259, 244, 223	262, 243, 235	226	233

Таблица 29. ИЧ-спектрални данни в областта 700-200  $\text{cm}^{-1}$  за Coumachlor, натриевата сол и комплексите с лантан и неодим

$\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{ClO}_4$	$\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{NaClO}_4$	$\text{La}(\text{HC})_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	$\text{Nd}(\text{HC})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
680	690	682	684
574	580	575	578
526, 515	521	535*	535*
456	457	460	462
418	405	403	402
309, 291	299	304	304
280	261	262	262

#### IV.15. $^1\text{H}$ - и $^{13}\text{C}$ ЯМР спектрални изследвания

Таблица 30.  $^1\text{H}$  ЯМР-спектрални данни за Асепосоуमारол, натриевата сол и комплексите с лантан, церий и неодим ( $\text{DMSO-d}_6$ , 100 MHz)

Съединение	$\delta$ , ppm				
	$\text{H}_5 - \text{H}_8$	$\text{H}_9$	$\text{H}_{10}$	$\text{H}_{12}$	$\text{H}_{14,15}$
$\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{NO}_6$	7.36-7.66 m	4.18 s	3.47	1.94	7.83-8.12 dd
$\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{NaNO}_6$	6.95-7.40 m	5.05 t	3.40 d	2.52 s	7.60-8.10 dd
$\text{La}(\text{HN})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	6.90-7.35 m	4.35 t	3.30 b d	2.05 s	7.50-8.10 dd
$\text{Ce}(\text{HN})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	6.90-7.40 m	4.40 s	3.35 b s	1.90 s	7.50-8.00 dd
$\text{Nd}(\text{HN})_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	7.20-7.60 m	6.80 s	3.50 b s	1.90 s	7.50-7.90 dd

При комплексите на церия и лантана с Асепосоуमारол има слаб отрицателен отместващ ефект спрямо лиганда. При комплекса на неодим има силно изразен положителен ефект на отместване на  $\text{H}_9$ - и по-слаб за  $\text{H}_{10}$ -протона. Най-силно са повлияни протоните на 9- и 10 място, което се обяснява с близостта им до функционалните групи, участващи в комплексообразуването.

Таблица 31.  $^1\text{H}$  ЯМР-спектрални данни за натриевата сол на Warfarin  
и комплексите с лантан, церий и неодим ( $\text{DMSO-d}_6$ , 100 MHz)

Съединение	$\delta$ , ppm				
	$\text{H}_5 - \text{H}_8$	$\text{H}_9$	$2\text{H}_{10}$	$3\text{H}_{12}$	$\text{H}_{14,15,16}$
$\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{NaO}_4$	7.00-7.50 m	4.90 t	3.25 d	2.05 s	7.50-7.80 m
$\text{La}(\text{HW})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	7.00-7.50 m	4.65 bs	3.25 bs	1.95 bs	7.50-7.90 m
$\text{Ce}(\text{HW})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	7.00-7.50 m	5.60 bs	3.20 bs	1.70 bs	7.50-7.90 m
$\text{Nd}(\text{HW})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	6.95-7.20 m	6.85 bs	3.45 bs	1.85 bs	7.40-7.70 m

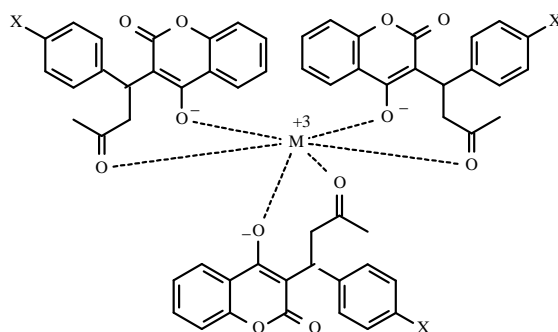
Таблица 32.  $^1\text{H}$  ЯМР-спектрални данни за натриевата сол на Coumachlor  
и комплексите с лантан, церий и неодим ( $\text{DMSO-d}_6$ , 100 MHz)

Съединение	$\delta$ , ppm				
	$\text{H}_5 - \text{H}_8$	$\text{H}_9$	$2\text{H}_{10}$	$3\text{H}_{12}$	$\text{H}_{14,15}$
$\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{NaClO}_4$	6.95-7.30 m	4.90 t	3.27 d	2.05 s	7.55-7.80 d
$\text{La}(\text{HC})_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	6.95-7.30 m	4.70 bt	3.21 bd	2.05 s	7.55-7.85 d
$\text{Ce}(\text{HC})_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	6.90-7.30 m	5.50 bs	3.30 bs	1.90 s	7.20-7.50 d
$\text{Nd}(\text{HC})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	7.35-7.65 m	6.85 bs	3.45 bs	1.90 s	7.15-7.60 d

Заснети са  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектрите на Асеносоумарол, натриевата сол и комплексите му с лантаноиди. Наблюдават се разлики в химичните отмествания на карбонилните групи.

#### IV.16. Рентгеноструктурен прахов анализ

Проведен е рентгеноструктурен прахов анализ на Асеносоумарол, Warfarin и Coumachlor, както и на комплексните им съединения с лантаноиди. Предполагаемата структура на комплексите може да се представи със следната формула:



#### IV.17. Определяне на протолизните константи на изследваните лиганди

Определени са киселинно-основните константи на лигандите чрез потенциометрично титруване в 96 % етанол със стъклен електрод. Данните от титруването са обработени с компютърна програма NABTIT на PC "Hewlett Packard 85 B".

При титруване са получени следните стойности за дисоциационните константи на изследваните вещества:

Mendiaxon:	$pK_a = 8.79 \pm 0.01$
Acenocoumarol:	$pK_a = 5.15 \pm 0.01$
Warfarin:	$pK_a = 5.88 \pm 0.01$
Coumachlor:	$pK_a = 5.33 \pm 0.01$

Предвид сходството в свойствата на лантаноидите, както и близките по структура лиганди, логично е да се очакват неголеми различия в стабилността на техните съединения.

От комплексите на лантаноидите (церий, лантан и неодим) най-малко стабилни са комплексите на неодим, а с близка стабилност са комплексите на церий и лантан. Разликата между комплексите на неодим и другите два метала е съществена. Сравнявайки комплексите на трите лиганда (Acenocoumarol, Warfarin и Coumachlor) по висока стабилност показват комплексите на Warfarin и Coumachlor, а по-малка стабилност – комплексите на Acenocoumarol.

#### IV.18. Комплексни съединения на бискумариин с йоните на редкоземни елементи

Проявената анти-HIV-активност на бискумариини с две и три метокси групи в ароматното ядро (хомолози и изомери) беше основание да пристъпим към синтез и изследване на техни комплексни съединения.

Таблица 33. Данни от елементния анализ на комплексите на La(III), Ce(III), и Nd(III) с 3,3'-(3,4-диметоксифенилметиле)бис-(4-хидрокски-2H-1-бензопиран-2-он)

Съединение	Изчислено	Намерено
La (L-1) (C <sub>27</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub> La)	% C = 53.20 % H = 2.95	% C = 53.56 % H = 3.28

Съединение	Изчислено	Намерено
Ce (L-1) (C <sub>27</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub> Ce)	% C = 53.11 % H = 2.95	% C = 53.58 % H = 3.14
Nd (L-1) (C <sub>27</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub> Nd)	% C = 52.77 % H = 2.93	% C = 52.98 % H = 3.24

Таблица 34. Данни от елементния анализ на комплексите на La(III), Ce(III) и Nd(III) с 3,3'-(2,3,4-триметоксифенилметилеи)бис-(4-хидрокски-2H-1-бензопиран-2-он)

Съединение	Изчислено	Намерено
La (L-2) (C <sub>28</sub> H <sub>21</sub> O <sub>9</sub> La)	% C = 51.14 % H = 3.50	% C = 51.02 % H = 4.11
Ce (L-2) (C <sub>28</sub> H <sub>21</sub> O <sub>9</sub> Ce)	% C = 52.42 % H = 3.28	% C = 52.65 % H = 3.68
Nd (L-2) (C <sub>28</sub> H <sub>21</sub> O <sub>9</sub> Nd.H <sub>2</sub> O)	% C = 50.68 % H = 3.46	% C = 51.02 % H = 3.78

Таблица 35. Данни от елементния анализ на комплексите на La(III), Ce(III) и Nd(III) с 3,3'-(3,4,5-триметоксифенилметилеи)бис-(4-хидрокски-2H-1-бензопиран-2-он)

Съединение	Изчислено	Намерено
La (L-3) (C <sub>28</sub> H <sub>21</sub> O <sub>9</sub> La)	% C = 51.14 % H = 3.50	% C = 50.82 % H = 3.32
Ce (L-3) (C <sub>28</sub> H <sub>21</sub> O <sub>9</sub> Ce)	% C = 52.42 % H = 3.28	% C = 52.86 % H = 3.35
Nd (L-3) (C <sub>28</sub> H <sub>21</sub> O <sub>9</sub> Nd.H <sub>2</sub> O)	% C = 50.68 % H = 3.46	% C = 51.22 % H = 3.54

Данните от ИЧ-спектралните изследвания показват образуване на комплексни съединения. В областта  $700 - 250 \text{ cm}^{-1}$  се появяват ивици, принадлежащи на връзката метал-кислород.

Таблица 36. ИЧ-Спектрална характеристика на комплексите на 3,3'-(3,4-диметокси-фенилметил)ен)бис-(4-хидрокски-2Н-1-бензопиран-2-он) (**1**) с La(III), Ce(III) и Nd(III) в областта  $3600 - 700 \text{ cm}^{-1}$

Съединение	Характеристични ивици						
	$\nu_{\text{OH}}$	$\nu_{\text{C=O}}$	$\nu_{\text{C=C}}$	$\nu_{\text{Ar}}$	$\nu_{\text{C-C}}$	$\nu_{\text{C-O}}$	$\nu_{\text{C-O-C}}$
$\text{C}_{27}\text{H}_{20}\text{O}_8$ (L-1)							
La (L-1)		1600	1597	1505	1446	1249	1107
Ce (L-1)		1600	1597	1505	1445	1249	1108
Nd (L-1)	3395	1600	1596	1504	1445	1242	1108

Таблица 37. ИЧ-Спектрална характеристика на лиганда 3,3'-(3,4-диметоксифенил-метил)ен)бис-(4-хидрокски-2Н-1-бензопиран-2-он) (**1**) и комплексите му с La(III), Ce(III) и Nd(III) в областта  $700 - 250 \text{ cm}^{-1}$

$\text{C}_{27}\text{H}_{20}\text{O}_8$ (L-1)	La (L-1)	Ce (L-1)	Nd (L-1)
671.6	686.0	686.0	687.0
507.9	515.5	515.6	515.7
462.3	471.9	472.2	473.8
405.8	421.2	421.2	421.2
317.4	319.7	320.4	320.4
278.7	299.5	299.2	299.0
-	254.0	258.6	253.8

Таблица 38. ИЧ-Спектрална характеристика на лиганда 3,3'-(2,3,4-триметокси-фенилметилен)бис-(4-хидрокски-2Н-1-бензопиран-2-он) (**2**) и комплексите му с La(III), Ce(III) и Nd(III) в областта 3600 – 700 cm<sup>-1</sup>

Съединение	Характеристични ивици						
	$\nu_{OH}$	$\nu_{C=O}$	$\nu_{C=C}$	$\nu_{Ar}$	$\nu_{C-C}$	$\nu_{C-O}$	$\nu_{C-O-C}$
C <sub>28</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub> (L-2)	3852	1661	1603	1568	1464	1311	1103
La (L-2)	3380	1600	1596	1494	1444	1281	1094
Ce (L-2)	3380	1600	1595	1494	1444	1272	1095
Nd (L-2)	3392	1600	1595	1493	1445	1280	1094

Таблица 39. ИЧ-Спектрална характеристика на лиганда 3,3'-(2,3,4-триметокси-фенилметилен)бис-(4-хидрокски-2Н-1-бензопиран-2-он) (**2**) и комплексите му с La(III), Ce(III) и Nd(III) в областта 700 – 250 cm<sup>-1</sup>

C <sub>28</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub> (L-2)	La (L-2)	Ce (L-2)	Nd (L-2)
698.4	690.3	691.6	689.5
498.9	473.4	473.7	477.6
460.6	-	-	-
439.9	440.0	443.4	443.6

Таблица 40. ИЧ-Спектрална характеристика на лиганда 3,3'-(3,4,5-триметокси-фенилметилен)бис-(4-хидрокски-2Н-1-бензопиран-2-он) (**3**) и комплексите му с La(III), Ce(III) и Nd(III) в областта 3600 – 700 cm<sup>-1</sup>

Съединение/ Характ. ивица	$\nu_{OH}$	$\nu_{C=O}$	$\nu_{C=C}$	$\nu_{Ar}$	$\nu_{C-C}$	$\nu_{C-O}$	$\nu_{C-O-C}$
C <sub>28</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub> (L-3)							
La (L-3)	3382	1600	1597	1504	1415	1235	1122
Ce (L-3)	3411	1600	1597	1504	1447	1235	1107
Nd (L-3)	3410	1600	1596	1502	1446	1234	1107

Таблица 41. ИЧ-Спектрална характеристика на лиганда 3,3'-(3,4,5-триметокси-фенилметилен)бис-(4-хидрокски-2Н-1-бензопиран-2-он) (**3**) и комплексите му с La(III), Ce(III) и Nd(III) в областта 700 – 250 cm<sup>-1</sup>

C <sub>28</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub> (L-3)	La (L-3)	Ce (L-3)	Nd (L-3)
672.6	686.3	688.0	688.8
654.7	-	-	-
588.1	573.8	574.8	577.8
505.4	511.8	511.5	511.6
460.7	471.1	472.1	473.8
406.9	421.6	420.3	421.5
351.3	-	-	-
319.4	285.8	277.6	320.6

Таблица 42. Данни от протонните ЯМР-спектрални изследвания на 3,3'-(3,4,5-триметоксифенилметилден)бис-(4-хидроксифенил)-2Н-1-бензопиран-2-он) и комплексите му с La(III), Ce(III) и Nd(III)

Съединение	(OCH <sub>3</sub> )	(OH)	(CH)	(H-Arom.)	(OH)
Лиганд C <sub>28</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	3.2 – 3.6 (d, 9H); 4.4 – 4.6 (s, 1H);		6.0 – 6.4 (d, 1H);	6.8 – 7.8 (m, 10H)	
La (L-3) (C <sub>28</sub> H <sub>21</sub> O <sub>9</sub> La)	3.3 – 3.9 (s, 9H)	-	6.4 – 6.5 (d, 1H)	7.1 – 7.8 (m, 10H)	14.0 (s, 1H)
Ce (L-3) (C <sub>28</sub> H <sub>21</sub> O <sub>9</sub> Ce)	3.2 – 3.5 (s, 9H)	-	6.2 – 6.4 (d, 1H)	7.0 – 7.7 (m, 10H)	13.9 (s, 1H)
Nd (L-3) (C <sub>28</sub> H <sub>21</sub> O <sub>9</sub> Nd.H <sub>2</sub> O)	3.1 – 3.7 (s, 9H)	-	6.3 – 6.5 (d, 1H)	7.1 – 7.8 (m, 10H)	13.9 (s, 1H)

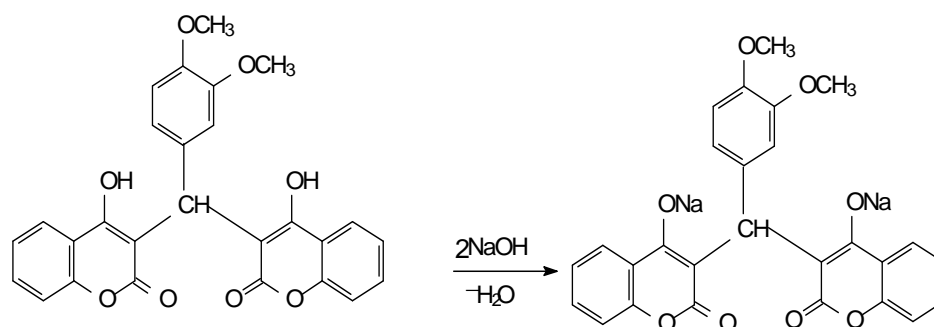
#### IV.19. Получаване на натриева сол на 3,3'-(3,4-диметоксифенилметилен)бис(4-хидрокски-2Н-1-бензопиран-2-он). Доказване строежа на солта

Превръщането на кумариновите съединения в алкални соли улеснява разтворимостта им във вода и процеса на комплексообразуване.

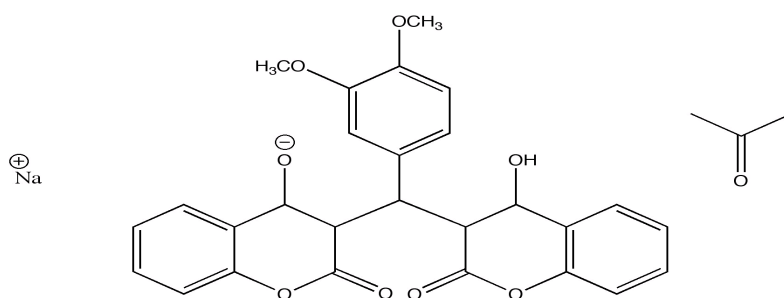
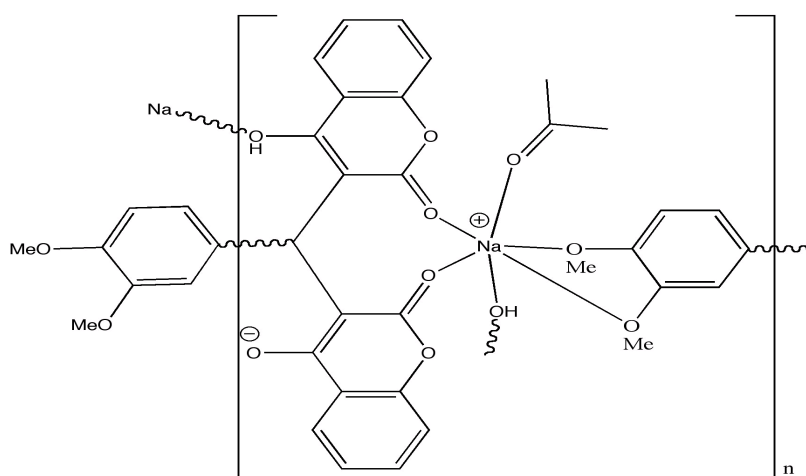
От дълги години съществува схващането, че в алкална среда кумарините са нестабилни дори и при стайна температура. В резултат на хидролиза лактонният пръстен се отваря и кумарините, проявяващи специфична фармакологична активност, се превръщат в други, неактивни съединения (фенолни киселини).

При синтеза на натриевата сол на 3,3'-(3,4-диметоксифенилметилен)бис(4-хидрокски-2Н-1-бензопиран-2-он) ние получихме различни резултати. Рентгеноструктурният анализ показва, че кумариновият пръстен се запазва в силно алкална среда (рН ≈ 10) при стайна температура, както и при нагряване. Вместо сол с йоннокристален строеж се получава комплексно съединение с полимерна структура с шесткоординиран натриев йон. Координацията с натриевия йон се осъществява между карбонилния кислороден атом от бензопирановия пръстен, кислородния атом от двете метокси групи в ароматното ядро и кислородния атом от карбонилната група на ацетона, използван като разтворител при кристалния растеж.

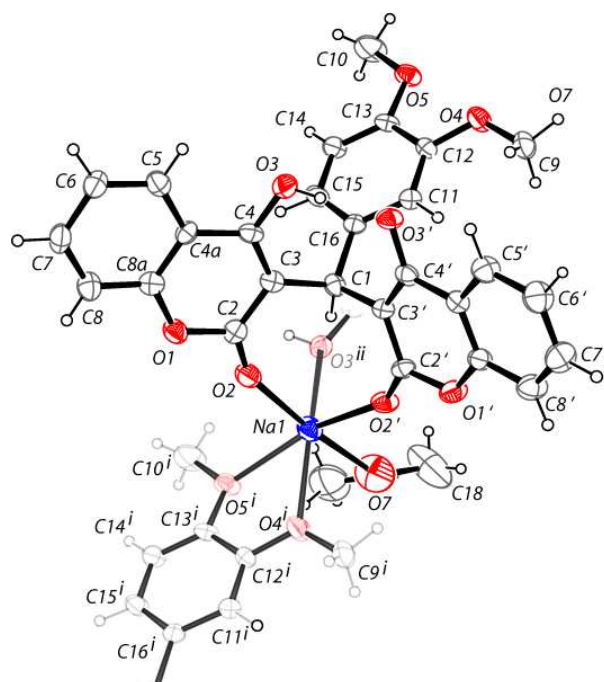
Фигура 22. Очакван ход на реакцията

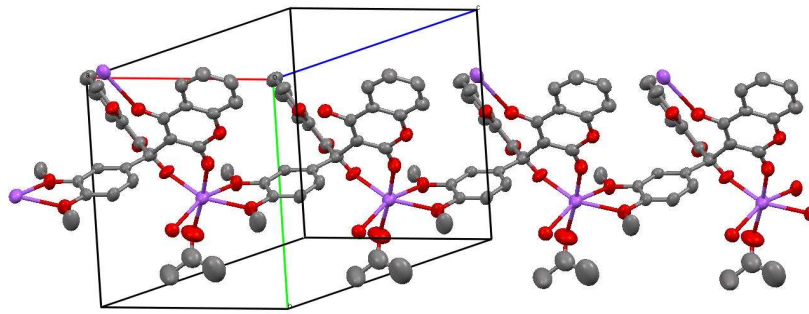


Фигура 23. Действителен ход на реакцията



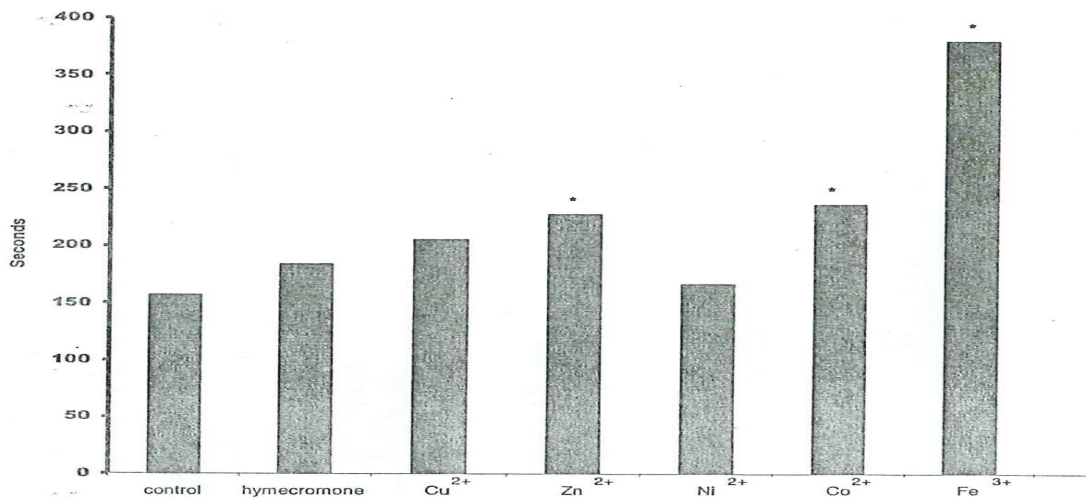
Фигура 24. Структура на натриев поли[(ацетон-О)-3-((3,4- диметоксифенил)(4- хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)метил)-(2-оксо-2Н-хромен-4-олат)]



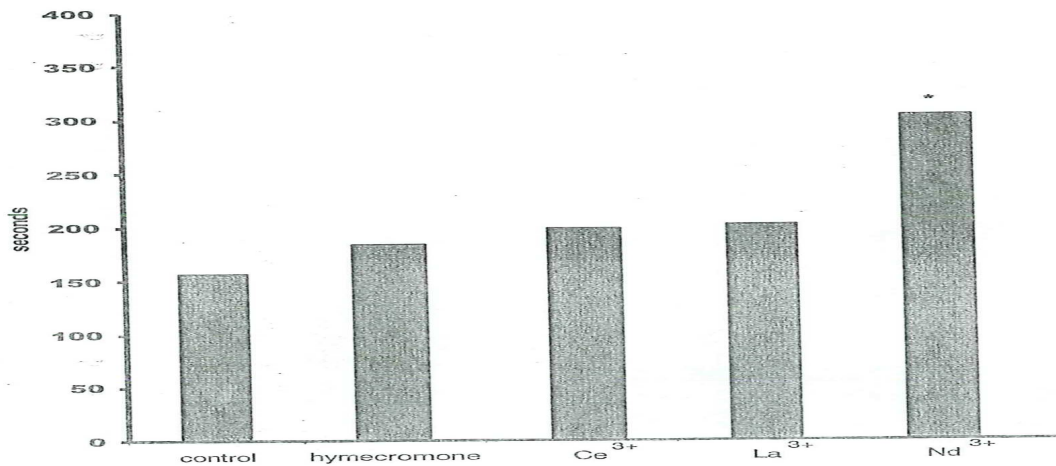


#### IV.20. Фармакологични изследвания на комплексните съединения

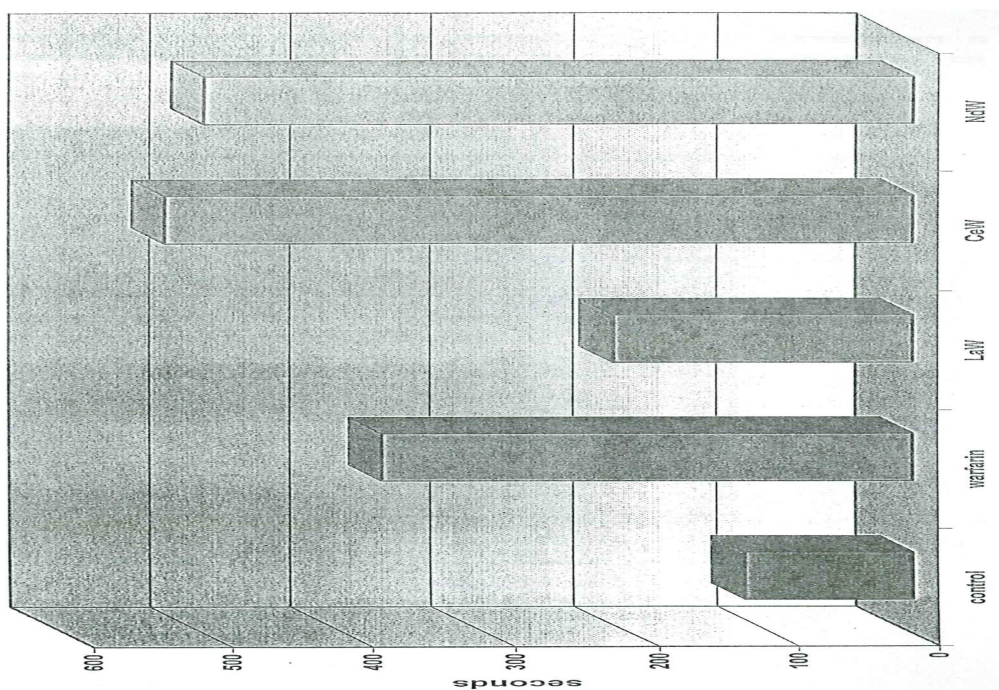
Фигура 25. Влияние на комплекси на Mendiахон с йони на биогенни метали върху времето на кръвосъсирване



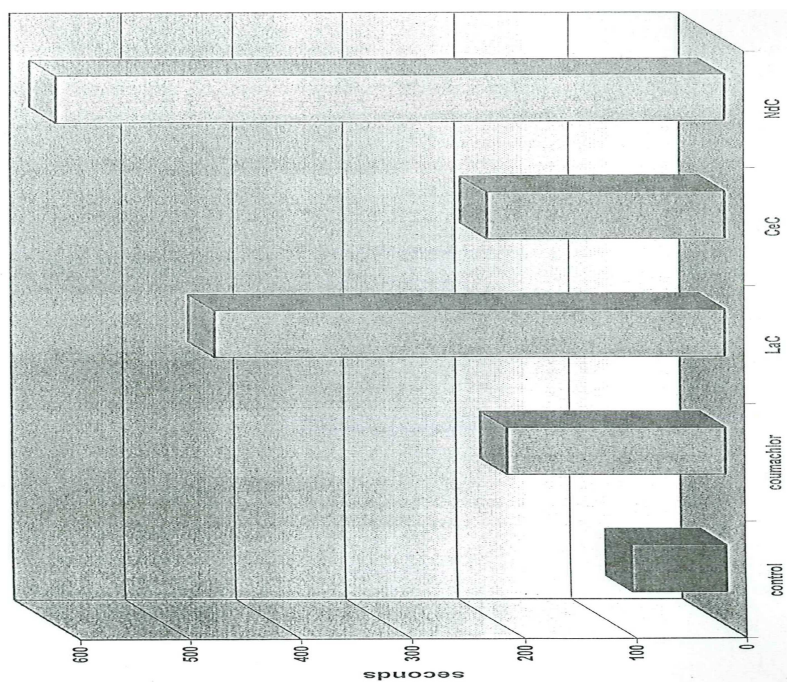
Фигура 26. Влияние на комплекси на Mendiахон с лантаноиди върху времето на кръвосъсирване



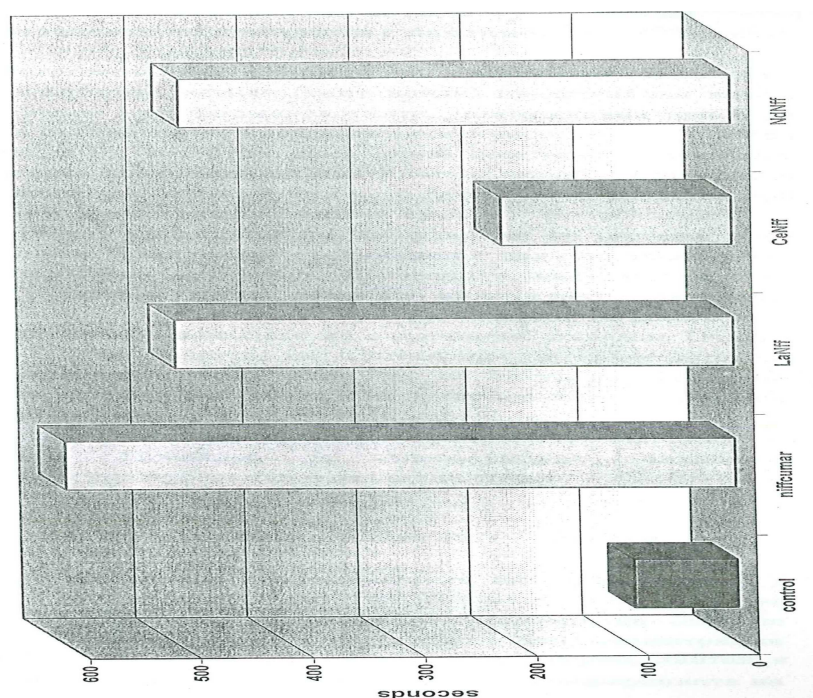
Фигура 27. Влияние на лантаноидните комплекси на Warfarin върху времето на кръвосъсирване



Фигура 28. Влияние на лантаноидните комплекси на Coumachlor върху времето на кръвосъсирване



Фигура 29. Влияние на лантаноидните комплекси на Асеносоумарол върху времето на кръвосъсирване



#### IV.21. Цитотоксична активност *in vitro* на комплексите на кумарини с лантаноиди (МТТ-тест)

Таблица 43. Спектрофотометрични данни от МТТ-теста за комплексите на Mendiaxon върху клетъчна линия РЗНR1

Съединение	Абсорбция на МТТ-formazan при 580 nm			
	Нетрет. контр.	25 $\mu$ M	100 $\mu$ M	400 $\mu$ M
La(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O ( $\pm$ SD)	0.3936 0.0672	0.4429 0.0579	0.4258 0.0801	0.4142 0.0775
Ce(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O ( $\pm$ SD)	0.3936 0.0672	0.4835 0.0419	0.4216 0.0511	0.3649 0.0823
Nd(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O ( $\pm$ SD)	0.3936 0.0672	0.4874 0.0885	0.4143 0.0245	0.3613 0.0955
La(HL) <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O ( $\pm$ SD)	0.8167 0.0566	0.6280 0.0842	0.7164 0.0877	0.5256 0.0244
Ce(HL) <sub>2</sub> (OH).5H <sub>2</sub> O ( $\pm$ SD)	0.8167 0.0565	0.7670 0.0443	0.7508 0.0397	0.5180 0.0170
Nd(HL) <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O ( $\pm$ SD)	0.8167 0.0565	1.0138 0.0565	0.6034 0.0469	0.4592 0.0488

Таблица 44. Спектрофотометрични данни от МТТ-теста за комплексите на Warfarin върху клетъчна линия РЗНR1

Съединение	Абсорбция на МТТ-formazan при 580 nm			
	Нетрет. контр.	25 $\mu$ M	100 $\mu$ M	400 $\mu$ M
La(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.3936	0.4429	0.4258	0.4142
( $\pm$ SD)	0.0672	0.0579	0.0801	0.0775
Ce(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.3936	0.4835	0.4216	0.3649
( $\pm$ SD)	0.0672	0.0419	0.0511	0.0823
Nd(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.3936	0.4874	0.4143	0.3613
( $\pm$ SD)	0.0672	0.0885	0.0245	0.0955
La(HW) <sub>3</sub> .4H <sub>2</sub> O	0.3332	0.3681	0.3138	0.3503
( $\pm$ SD)	0.0393	0.0472	0.0400	0.0540
Ce(HW) <sub>3</sub> .4H <sub>2</sub> O	0.3332	0.3649	0.3466	0.2795
( $\pm$ SD)	0.0393	0.0704	0.0489	0.0476
Nd(HW) <sub>3</sub> .4H <sub>2</sub> O	0.3332	0.3939	0.4313	0.4218
( $\pm$ SD)	0.0393	0.0698	0.0545	0.0548

Таблица 45. Спектрофотометрични данни от МТТ-теста за комплексите на Coumachlor върху клетъчна линия РЗНR1

Съединение	Абсорбция на МТТ-formazan при 580 nm			
	Нетрет. контр.	25 $\mu$ M	100 $\mu$ M	400 $\mu$ M
La(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.3936	0.4429	0.4258	0.4142
( $\pm$ SD)	0.0672	0.0579	0.0801	0.0775
Ce(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.3936	0.4835	0.4216	0.3649
( $\pm$ SD)	0.0672	0.0419	0.0511	0.0823
Nd(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.3936	0.4874	0.4143	0.3613
( $\pm$ SD)	0.0672	0.0885	0.0245	0.0955
La(HC) <sub>3</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.4099	0.3941	0.3129	0.3030
( $\pm$ SD)	0.0808	0.0942	0.0334	0.0945
Ce(HC) <sub>3</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.4099	0.4019	0.3313	0.2819
( $\pm$ SD)	0.0808	0.1001	0.1220	0.0470
Nd(HC) <sub>3</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.4099	0.4441	0.4354	0.3700
( $\pm$ SD)	0.0808	0.0612	0.1478	0.0962

Таблица 46. Спектрофотометрични данни от МТТ-теста за комплексите на Асеносoumarol върху клетъчна линия РЗHR1

Съединение	Абсорбция на МТТ-formazan при 580 nm			
	Нетрет. контр.	25 $\mu$ M	100 $\mu$ M	400 $\mu$ M
La(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O ( $\pm$ SD)	0.3936 0.0672	0.4429 0.0579	0.4258 0.0801	0.4142 0.0775
Ce(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O ( $\pm$ SD)	0.3936 0.0672	0.4835 0.0419	0.4216 0.0511	0.3649 0.0823
Nd(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O ( $\pm$ SD)	0.3936 0.0672	0.4874 0.0885	0.4143 0.0245	0.3613 0.0955
La(HN) <sub>3</sub> .4H <sub>2</sub> O ( $\pm$ SD)	0.8167 0.0565	0.7454 0.0363	0.7154 0.0939	0.6494 0.1234
Ce(HN) <sub>3</sub> .4H <sub>2</sub> O ( $\pm$ SD)	0.8167 0.0565	0.7270 0.0270	0.7346 0.1086	0.6410 0.0163
Nd(HN) <sub>3</sub> .4H <sub>2</sub> O ( $\pm$ SD)	0.8167 0.0565	0.8485 0.0732	0.7710 0.0712	0.6531 0.1327

#### IV.22. Цитотоксична активност на бискумарини и техни лантаноидни координационни съединения

Получените данни дават основание да се заключи, че изследваните кумаринови производни и техните лантаноидни комплекси са цитотоксични биологичноактивни вещества, потискащи пролиферацията на спектър от малигнени клетъчни линии при ниски микромолярни концентрации. Цитотоксичната активност, както и установената способност на подбрани аналози да индуцират програмирана клетъчна смърт, ги прави перспективни като лидерни структури за разработване на по-големи серии от хомолози, чието биологично охарактеризиране би позволило изясняване на връзката структура-активност за този клас антинеопластични съединения, както и провеждането на рационален дизайн за разработване на по-активни аналози.

**IV.23. Изследване на антивирусната активност (анти-НIV-1) на лантаноидните комплекси в сравнение с лигандите**

Таблица 47. Цитотоксичност (ЦД50 -  $\mu\text{M}$ ), максимална нетоксична концентрация (МНК -  $\mu\text{M}$ ) и терапевтичен индекс (ТИ) на изследваните изходни 4-хидроксикумарини и техните комплекси (ТИ = ЦД50/МНК) на клетки МТ-4 и при култивиране 72 ч.

Вещество	МНК ( $\mu\text{M}$ )	I. ЦД50 ( $\mu\text{M}$ )	Терапевтичен индекс (ТИ)
$\text{C}_{27}\text{H}_{20}\text{O}_8$ (L-1)	0,1	1 000	10 000
II. Ce (L-1)	0,001	50	50 000
Nd (L-1)	0,01	50	50 000
La (L-1)	0,01	90	9 000
III. $\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{O}_9$ (L-2)	1	10 000	10 000
III. Ce (L-2)	0,01	100	10 000
IV. Nd (L-1)	0,001	75	75 000
La(L-1)	0,001	100	100 000
$\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{O}_9$ (L-3)	0,01	1 000	100 000
V. Ce (L-3)	0,001	600	600 000
VI. Nd (L-3)	0,001	500	500 000
VII. La (L-3)	0,001	400	400 000

Таблица 48. Определяне на анти-НIV-активност на изходните 4-хидроксикумарини и новосинтезираните комплексни съединения по МТТ теста

Вещество (1)	МТТ тест % инх./концентрация (2)	RT в култ. течност % инх./концентрация (3)	rRT /директен ефект/ % инх./концентрация (4)
$\text{C}_{27}\text{H}_{20}\text{O}_8$ (L-1)	> 95 - МНК 72,3 - МНК <sup>-1</sup>	86,4 - МНК 65,5 - МНК <sup>-1</sup>	0 - МНК 0 - МНК <sup>-1</sup>
Ce (L-1)	91,1 - МНК 53,3 - МНК <sup>-1</sup> 55,2 - МНК <sup>-2</sup>	56,4 - МНК 91,9 - МНК <sup>-1</sup> 69,3 - МНК <sup>-2</sup>	0 - МНК 0 - МНК <sup>-1</sup> 0 - МНК <sup>-2</sup>
Nd (L-1)	0 - МНК 0 - МНК <sup>-1</sup> 0 - МНК <sup>-2</sup>	0 - МНК 0 - МНК <sup>-1</sup> 0 - МНК <sup>-2</sup>	0 - МНК 0 - МНК <sup>-1</sup> 0 - МНК <sup>-2</sup>
La (L-1)	> 95 - МНК 62,6 - МНК <sup>-1</sup> 56,6 - МНК <sup>-2</sup>	0 - МНК 0 - МНК <sup>-1</sup> 35,1 - МНК <sup>-2</sup>	0 - МНК 0 - МНК <sup>-1</sup> 0 - МНК <sup>-2</sup>
$\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{O}_9$ (L-2)	> 95 - МНК 90,2 - МНК <sup>-1</sup> 0 - МНК <sup>-2</sup>	91,3 - МНК 81,4 - МНК <sup>-1</sup> 0 - МНК <sup>-2</sup>	0 - МНК 0 - МНК <sup>-1</sup> 0 - МНК <sup>-2</sup>

продължение

Ce (L-2)	> 95 - МНК 92,3 - МНК <sup>-1</sup> 90,3 - МНК <sup>-2</sup>	28.2 - МНК 76.7 - МНК <sup>-1</sup> 87.2 - МНК <sup>-2</sup>	0 МНК 0 - МНК <sup>-1</sup> 0 - МНК <sup>-2</sup>
Nd (L-2)	> 95 - МНК > 95 - МНК <sup>-1</sup> > 95 - МНК <sup>-2</sup>	18.0 - МНК 19.0 - МНК <sup>-1</sup> 21.0 - МНК <sup>-2</sup>	0 - МНК 0 - МНК <sup>-1</sup> 0 - МНК <sup>-2</sup>
La (L-2)	> 95 - МНК 90.3 - МНК <sup>-1</sup> 90.0 - МНК <sup>-2</sup>	99.3 - МНК 82.1 - МНК <sup>-1</sup> 0 - МНК <sup>-2</sup>	0 - МНК 0 - МНК <sup>-1</sup> 0 - МНК <sup>-2</sup>
C <sub>28</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub> (L-3)	80.1 - МНК 75.4 - МНК <sup>-1</sup> 26.3 - МНК <sup>-2</sup>	88.5 - МНК 71.2 - МНК <sup>-1</sup> 15.3 - МНК <sup>-2</sup>	0 - МНК 0 - МНК <sup>-1</sup> 0 - МНК <sup>-2</sup>
Ce (L-3)	68.2 - МНК 63.5 - МНК <sup>-1</sup> 61.2 - МНК <sup>-2</sup>	51.3 - МНК 50.5 - МНК <sup>-1</sup> 48.3 - МНК <sup>-2</sup>	0 - МНК 0 - МНК <sup>-1</sup> 0 - МНК <sup>-2</sup>
Nd (L-3)	67.1 - МНК 64.6 - МНК <sup>-1</sup> 77.7 - МНК <sup>-2</sup>	58.2 - МНК 52.6 - МНК <sup>-1</sup> 54.1 - МНК <sup>-2</sup>	0 - МНК 0 - МНК <sup>-1</sup> 0 - МНК <sup>-2</sup>
La (L-3)	77.4 - МНК 60.9 - МНК <sup>-1</sup> 24.6 - МНК <sup>-2</sup>	61.2 - МНК 53.9 - МНК <sup>-1</sup> 13.5 - МНК <sup>-2</sup>	0 - МНК 0 - МНК <sup>-1</sup> 0 - МНК <sup>-2</sup>

- Установена е активност на по-голяма част от комплексните съединения. Някои от тях – напр. La (L-2) в биологичен тест проявяват дори по-висока активност от лигандите. Останалите две производни с неодим показват значителна антивирусна активност [вж. Nd (L-2) и Nd (L-3)].
- От всички изследвани съединения комплексите на 4-хидроксикумарините с лантан и церий показват най-постоянно и отчетливо потискане на вирусната репликация.

#### IV.24. Основни приноси

- Синтезирани са нови комплексни съединения на анти-HIV-активни бис-4-хидроксикумаринови производни с тривалентни лантаноидни йони. Веществата са охарактеризирани и идентифицирани с помощта на елементен анализ и спектроскопски изследвания. Установено е, че независимо от използваните количествени съотношения между реагентите, комплексните съединения са със състав метал:лиганд 1:1.
- При опитите да се синтезира натриева сол на 3,3'-(3,4-диметоксифенил-метил)бис-(4-хидрокси-2H-1-бензопиран-2-он) се установи, че вместо сол се получава комплексно съединение с полимерна структура с шест координиран натриев йон.

Кумариновата структура не се повлиява от присъствието на алкална основа при стайна температура.

- Бискумарините и техните лантаноидни комплекси проявяват изразена цитотоксична активност върху спектър от човешки туморни клетъчни линии, при което изомерните триметокси производни са значително по-активни от диметокси производното. Цериевите комплекси проявяват най-висока цитотоксична активност, докато съответните лантанови и неодимови координационни съединения са по-слабо активни.

- Третирането на KE-37 клетки с лиганд **3** както и с неговите цериев (**3a**), лантанов (**3b**) и неодимов (**3c**) комплекси води до значително натрупване на хистоно-асоциирани ДНК-фрагменти, индукция на програмирана клетъчна смърт.

Установена е висока активност на новосинтезираните комплексни съединения. Някои от тях – напр. (L-2)La в биологичен тест показват по-висока активност от лигандите. (L-1)Nd не показва антивирусна активност. От всички редкоземни метални производни La с трите лиганда показва най-постоянно и отчетливо подтискане на вирусната репликация.

### Публикации, свързани с дисертацията:

1. **Манолов И.**, М. Х. Караиванова. Синтез и противометастатични свойства на 4-хидрокси-3-(3-оксо-1-фенилбутил)-2Н-1-бензопиран-2-он (Варфарин), *Фармация*, 1990, 40 (2), 1-6.
2. Ivanov I., **I. Manolov**, L. A. Alexandrova. New Efficient Catalysts in the Synthesis of Warfarin and Acenocoumarol, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, 1990,323, 521-522.
3. Ivanov I., S. Karagiosov, **I. Manolov**. Synthesis of 4-(Monoalkylamino)-coumarins, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, 1991, 324, 61-62. **IF = 0.611**)
4. Panushev A., G. Velinov, **I. Manolov**. Automated method for the Quantitative Determination of Warfarin Sodium, *Die Pharmazie*, 1992,47 (4), 302-303. (**IF = 0.340**)
5. Alexieva V., **I. Manolov**, E. Karanov. Plant Growth Regulating Activity of Some Derivatives of Hydroquinone and Coumarin, *Compt. rend. Acad. bulg. Sci.*, 1992, 45 (7), 85-88.
6. **Манолов И.**, М. Топашка-Анчева, Е. Клоучек. Синтез, токсикологична и сравнителна цитогенетична характеристика на антикоагуланта Варфарин, *Експ. мед. и морфология*, 1993, 31 (3-4), 49-60.
7. Karaivanova V., **I. Manolov**, M. Minassyan, N. Danchev, S. Samurova. Metal Complexes of Warfarin Sodium, *Die Pharmazie*, 1994, 49(11), 856-857. (**IF = 0.340**)
8. Topashka-Ancheva M., M. Markova, **I. Manolov**. Clastogenic Effect of Some Coumarin Anticoagulants, *Compt. rend. Acad. bulg. Sci.*, 1994, 47 (12), 95-98.
9. Tabakova S., **I. Manolov**, E. Golovinsky. In vitro Antibacterial Activity and Effect on Protein Synthesis of Nitrophenyl- and Phenylbutene Derivatives, *Compt. rend. Acad. bulg. Sci.*, 1995, 48 (3), 63-66.
10. **Manolov I.**, N. D. Danchev. Synthesis, Toxicological and Pharmacological Assessment of Some 4-Hydroxycoumarin Derivatives, *Eur. J. Med. Chem.*, 1995, 30, 531-535. (**IF = 0.746**)
11. **Manolov I.** Aldehyde condensation products of 4-hydroxycoumarin and Schiff bases, *Tetrahedron Lett.*, 1998, 39 (19), 3041-3042. (**IF = 2.617**)
12. Pencheva I., I. Kostova, S. Konstantinov, E. Naidenova, M. Karaivanova, **I. Manolov**. Cardioprotective efficacy of new esculin metal complexes, *Acta Pharm.*, 1998, 48 (2), 127-131.
13. Kostova I., **I. Manolov**, S. Konstantinov, M. H. Karaivanova. Synthesis, Physicochemical Characterisation and Cytotoxic Screening of new Complexes of Cerium, Lanthanum and Neodymium with Warfarin and Coumachlor Sodium Salts, *Eur. J. Med. Chem.*, 1999, 34, 63-68. (**IF = 1.074**)

14. Tabakova S., **I. Manolov**, T. Kantardjiev, G. Mateev, K. Stoichkov, A. Braykova, V. Vakhan and E. Golovinsky. Anticandidial Effect of Phenylbutene Derivatives and Their Interaction with Ergosterol, *Z. Naturforsch.*, 1999, 54c, 61-64. (IF = 0.561)
15. **Manolov I.** and N. D. Danchev. Synthesis, Toxicological and Pharmacological Assessment of Some Oximes and Aldehyde Condensation Products of 4-Hydroxycoumarin, *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, 1999, 332 (7), 243-248. (IF = 1.074)
16. **Manolov I.**, I. Kostova, S. Konstantinov, M. Karaivanova. Synthesis, physicochemical characterisation and cytotoxic screening of new complexes of cerium, lanthanum and neodymium with Nifcoumar sodium salt, *Eur. J. Med. Chem.*, 1999, 34, 853-858. (IF = 1.074)
17. **Manolov I.**, I. Kostova, T. Netzeva, S. Konstantinov, M. Karaivanova. Cytotoxic Activity of Cerium Complexes with Coumarin Derivatives. Molecular Modeling of the Ligands, *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, 2000, 333 (4), 93-98. (IF = 0.923)
18. Kostova I., **I. Manolov**, M. Karaivanova. Synthesis, physicochemical characterization, and cytotoxic screening of new zirconium complexes with coumarin derivatives, *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, 2001, 334 (5), 157-162. (IF = 0.891)
19. Kostova I., **I. Manolov**, I. Nicolova, S. Konstantinov, M. Karaivanova. New lanthanide complexes of 4-methyl-7-hydroxycoumarin and their pharmacological activity, *Eur. J. Med. Chem.*, 2001, 36, 339-347. (IF = 1.077)
20. Kostova I., **I. Manolov**, I. Nicolova, N. Danchev. New metal complexes of 4-methyl-7-hydroxycoumarin sodium salt and their pharmacological activity, *Il Farmaco*, 2001, 56, 707-713.
21. Alexieva V., I. Sergiev, **I. Manolov**, E. Karanov. Plant Growth Regulating Activity of Some Coumarins and Biscoumarins, *Compt. Rend. Acad. Bulg. Sci.*, 2002, 55 (9), 91-98.
22. Mitcheva M., V. Vitcheva, **I. Manolov**, I. Valkova. Effects of two newly synthesized 4-Hydroxycoumarin derivatives (4-OHC) on isolated rat hepatocytes, *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2002, 24 (6): 345-349. (IF = 0.489)
23. Момеков, Г., **И. Манолов**, С. Константинов, М. Х. Караиванова. Цитотоксична активност in vitro на производни на 4-хидроксикумарина върху човешката промиелоцитна левкемична клетъчна линия HL-60, *Фармация (София)*, 2002, 1-4, 23-27.
24. **Manolov, I.**, N. Danchev. Synthesis and Pharmacological Investigations of Some 4-Hydroxycoumarin Derivatives, *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* 2003, 336 (2), 83-94. (IF = 0.624)
25. Младенова З., С. Ралева, Р. Аргирова, Д. Дундарова, **И. Манолов**. Натурални растителни продукти – инхибитори на репликацията на човешкия имунодефицитен вирус (HIV). *Pharma News* 2003, 33 (3), 21-35.

26. Kostova I., **I. Manolov**, M. Radulova. Stability of the complexes of some lanthanides with coumarin derivatives. I. Cerium (III)-4-methyl-7-hydroxycoumarin, *Acta Pharm.* 2004, 54 (1), 37-47.
27. Kostova I., **I. Manolov**, M. Radulova. Stability of the complexes of some lanthanides with coumarin derivatives. II. Neodymium (III)-acenocoumarol, *Acta Pharm.* 2004, 54 (1), 119-131.
28. Kostova I., **I. Manolov**, G. Momekov. Cytotoxic activity of new neodymium (III) complexes of bis-coumarins. *Eur. J. Med. Chem.*, 2004, 39, 765-775. (IF = 1.673)
29. Костова И., **И. Манолов**, П. Атанасов. Биологични свойства на кумарините, *Медицински преглед*, 2004, 60, Приложение 1, 26 стр.
30. Trendafilova N., I. Kostova, **I. Manolov**, G. Bauer, T. Mihaylov, I. Georgieva. Synthesis and Spectroscopic Study of a New Lanthanum (III) Complex of 3,3'-Benzylidenedi-4-hydroxycoumarin. *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry* 2004, 34 (9), 1635 – 1650. (IF = 0.715)
31. Raleva S., A. Savov, L. Froloshka, D. Dundarova, **I. Manolov**, R. Argirova. Examination for anti human immunodeficiency virus – type 1 (HIV-1) effect of three 4-hydroxycoumarin (4-hc) derivatives. *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.* 2005, 19 (2), 11-17.
32. Genova P., D. Dundarova, S. Raleva, R. Argirova, **I. Manolov**. Comparative cytotoxicity of some novel synthesized 4-hydroxycoumarin (4-hc) derivatives against tumor and nontumor cell lines. *Pharmacia (Sofia)* 2005, LII (1-2), 74-76.
33. Zaneva O., **I. Manolov**, and N. Danchev. Toxicological and pharmacological investigations of newly synthesized derivatives of 4-hydroxycoumarin. *Pharmacia (Sofia)* 2005, LII (1-2), 85-89.
34. Kostova I., **I. Manolov**, G. Momekov, Tz. Tzanova, S. Konstantinov, M. Karaivanova. Cytotoxic activity of new cerium (III) complexes of bis-coumarins. *Eur. J. Med. Chem.* 2005, 40, 1246-1254. (IF = 2.022)
35. **Manolov I.**, C. Maichle-Moessmer, E. Niquet. Synthesis and Structure of 1-Substituted Benzopyrano[4',3'-c]benzo[3'',4''-f]-2,8-dioxabicyclo[3.3.1]-nonane. *Z. Naturforsch.* **61b**, 207-212 (2006). (IF = 0.825)
36. **Manolov I.**, C. Maichle-Moessmer, I. Nicolova, N. Danchev. Synthesis and Anticoagulant Activities of Substituted 2,4-Diketochromans, Biscoumarins and Chromanocoumarins. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **339**, 319-326 (2006). (IF = 1.076)
37. **Manolov I.**, C. Maichle-Moessmer, N. Danchev. Synthesis, structure, toxicological and pharmacological investigations of 4-hydroxycoumarin derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* 2006, 41, 882-890. (IF = 2.187)

38. **Manolov I.**, S. Raleva, P. Genova, A. Savov, L. Froloshka, D. Dundarova, and R. Argirova. Antihuman Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Activity of Rare Earth Metal Complexes of 4-Hydroxycoumarins in Cell Culture. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, Vol. **2006**, Article ID 71938, Pages 1-7. (IF = **0.767**)
39. Mihaylov Tz., I. Georgieva, G. Bauer, I. Kostova, **I. Manolov**, N. Trendafilova. Theoretical Study of the Substituent Effect on the Intramolecular Hydrogen Bonds in di(4-Hydroxycoumarin) Derivatives. *Int. J. Quant. Chem.* **106**, 1304-1315 (2006). (IF = **1.182**)
40. **Manolov I.**, C. Maichle-Moessmer. Synthesis and Structure of 3,3'-[(4-Bromophenyl)methylene]bis-[4-hydroxy-2H-1-benzopyran-2-one]. *Analytical Sciences – X-ray Structure Analysis Online* **23** (4), 63-64 (2007). (IF = **1.508**)
41. **Manolov I.**, C. Maichle-Moessmer. Synthesis and Structure of 4-Hydroxy-3-[1-phenyl-2-(4-methoxybenzoyl)ethyl]-2H-1-benzopyran-2-one. *Analytical Sciences – X-ray Structure Analysis Online* **23** (5), 79-80 (2007). (IF = **1.508**)
42. Stanchev S., C. Maichle-Mössmer, **I. Manolov**. Synthesis, Structure and Acid-Base Behaviour of Some 4-Hydroxycoumarin Derivatives. *Z. Naturforsch.* **62b**, 737-741 (2007). (IF = **0.770**)
43. **Manolov I.**, C. Maichle-Moessmer. Crystal Structure of 4-Acetoxy-3-[1-(4-nitrophenyl)-3-oxobutyl]-2H-1-benzopyran-2-one. *Analytical Sciences – X-ray Structure Analysis Online* **23** (7), 171-172 (2007). (IF = **1.508**)
44. Stanchev S., F. Jensen, **I. Manolov**. Synthesis and DFT Study of the Spectral Behaviour of New 4-Hydroxycoumarins. *Int. J. Quant. Chem.* **108**, 1340-1351 (2008). (IF = **1.317**)
45. **Manolov I.**, M. Ströbele, and H.-J. Meyer. Crystal Structure of 4-Hydroxy-3-[(2-oxo-2H-chromen-3-yl)-(3,4,5-trimethoxyphenyl)methyl]chromen-2-one. *Analytical Sciences – X-ray Structure Analysis Online* **24** (7), 135-136 (2008). (IF = **1.735**)
46. Stanchev S., A. Penkova, P. Retailleau, G. Avdeev, and **I. Manolov**. Crystal Structure of 3-Acetyl-6-methoxy-2H-1-benzopyran-2-one. *Analytical Sciences – X-ray Structure Analysis Online* **24** (9), 183-184 (2008). (IF = **1.735**)
47. Stanchev S., G. Momekov, F. Jensen, **I. Manolov**. Synthesis, computational study and cytotoxic activity of new 4-hydroxycoumarin derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **43** (4), 694-706 (2008). (IF = **2.882**)
48. Stanchev S., V. Hadjimitova, T. Traykov, T. Boyanov, **I. Manolov**. Investigation of the antioxidant properties of some new 4-hydroxycoumarin derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* 2009, **44**, 3077-3082. (IF = **2.882**)
49. Penkova A., P. Retailleau, and **I. Manolov**. Crystal Structure of (4-(4-Fluorophenyl)-2-hydroxy-2-methyl-3,4-dihydropyrano[3,2-c]chromen-5(2H)-one. *X-ray Structure Analysis Online*, 2009, **25**, 89-90. (IF = **1.735**)

50. Penkova A., P. Retailleau, and **I. Manolov**. Crystal Structure of 1'-Ethanoyl-5'-methyl-3'-phenyl-1',3'-dihydrospiro[chroman-3,2'-pyrrole]-2,4-dione. *X-ray Structure Analysis Online*, 2009, **25**, 125-126. (IF = 1.735)
51. Stanchev S., T. Boyanov, M. Geneva, M. Boychinova, I. Stancheva, **I. Manolov**. Growth-Regulating Activity of Three 4-Hydroxycoumarin Derivatives on Inoculated Soybean Plants, *J. Plant. Growth. Regul.*, 2010, **29**, 1-5. (IF = 2.695)
52. Kancheva V. D., P. V. Boranova, J. T. Nechev, **I. Manolov**. Structure-activity relationships of new bis-coumarins as radical scavengers and chain-breaking antioxidants. *Biochimie*, 2010, 1-9. doi: 10.1016/j.biochi.2010.02.033. (IF = 3.897)
53. Penkova A., P. Retailleau, and **I. Manolov**. Crystal Structure of Poly[(acetone-O)-3-((3,4-dimethoxyphenyl)(4-hydroxy-2-oxo-2H-chromen-3-yl)methyl)-(2-oxo-2H-chromen-4-olate)sodium]. *Hindawi Publishing Corporation, Org. Chem. Intern.* 2010, Article ID 564256, 7 pages, doi: 10.1155/2010/564256.
54. Kancheva V., P. Boranova, **I. Manolov**. Antioxidant properties of new 4-hydroxycoumarin derivatives. *Oxidation Commun.* 2010, **33** (3), 698-708. (IF = 0.241)
55. **Manolov I.**, C. Maichle-Moessmer. Crystal Structures of Two Derivatives of 2,4-pentandione. *Asian Chem. Lett.* 2010, **14** (3), 55-60.

**Авторски свидетелства за изобретения:**

1. **Манолов И.**, И. Иванов, С. Карагъзов, П. Василев. Метод за получаване на 4-хидрокси-3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксобутил]-2Н-1-бензопиран-2-он, Авт. свид. № 45469/21.03.1988 г.
2. **Манолов И.**, И. Иванов, С. Александрова, С. Карагъзов, П. Василев. Метод за получаване на 4-хидрокси-3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксобутил]-2Н-1-бензопиран-2-он (НИФФКУМАР), Авт. свид. № 48268/08.08.1989 г.

Патентното ведомство на Република България с **Решение № 2371 от 10.10.1994 г. трансформира авторското свидетелство № 48268 в патент за изобретение.**

3. **Манолов И.**, И. Иванов. Метод за получаване на 4-хидрокси-3-(3-оксо-1-фенилбутил)-2Н-1-бензопиран-2-он, Авт. свид. № 48021/14.04.1989 г.

Патентното ведомство на Република България с **Решение № 2370 от 10.10.1994 г. трансформира авторското свидетелство № 48021 в патент за изобретение.**

4. Караиванова В., **И. Манолов**, М. Минасян, Н. Данчев, С. Самурова. Метални комплекси на Варфарин натрий, метод за получаването им и приложение като родентициди, Авт. свид. 51871/18.12.1992 г.

#### **Рационализации :**

1. **Манолов И.**, С. Карагъзов, И. Иванов. Метод за получаване на р-нитробензилиденацетон, Рационализация № 5058/16.05.1988 г.
2. Василев П., С. Александрова, С. Карагъзов, **И. Манолов**. Метод за получаване на р-нитробензилиденацетон, Рационализация рег. № 211/1989 г.
3. Матева М., **И. Манолов**, К. Арабаджиев. Дератизационен препарат "ВАРФАТОКС", Рационализация № 7047/13.11.1992 г.

**Участие в научни форуми:** 56 на национални и международни конгреси  
(приложен списък)

#### **Защитени докторантури под ръководството на И. Манолов**

1. И. Костова, Синтез и охарактеризиране на метални комплексни съединения на кумаринови производни, Дисертация за присъждане на образователна и научна степен "доктор", 2002 г., София
2. Ст. Станчев, Синтез, свойства, теоретично проучване и биологична активност на нови 4-хидроксикумаринови производни, Дисертация за присъждане на образователна и научна степен "доктор", декември 2008 г., София.

#### **Защитени дипломни работи под ръководството на И. Манолов:**

**40, от които 34 са посветени на 4-хидроксикумаринови производни**

#### **Забелязани цитати:**

Цитати от чуждестранни учени:.....375

Цитати от български учени:.....14

Цитати от чуждестранни и български учени

(съвместни публикации):.....17

---

**Общ брой забелязани цитати..... 406** (01.12.2011 г.)

## Използвани съкращения

Съкращение	Термин
АТС	Антагонист на витамин К
ФПК	Фактори на протромбиновия комплекс
AGP	Гликопротеин
HAS	Човешки серумен албумин
HPLC	Високоэффективна течна хроматография
ФДЕ	Ензим фосфодиестераза
РНК	Рибонуклеинова киселина
ДНК	Дезоксирибонуклеинова киселина
цАМФ	Цикличен аденозин монофосфат
АТФ	Аденозин трифосфат
ГТФ	Гуанозинтрифосфат
4-MUG	Глюкурониди
4-MUS	Сульфати
IDEC	Инхибиращо действие върху dora декарбоксилаза
DPPH	1,1-Дифенил-2-пикрилхидразин
LOOH	Пероксид на линоленовата киселина
RAE	Относителна антиоксидантна активност
MTT	[3-(4,5-Диметилтиазол-2-ил)-2,5- дифенилтетразолиев бромид]
PUVA	Терапия при псориазис
HIV	Human Immunodeficiency Virus
СЕМ	Клетки
FISH	Флуоресцентна in situ хибридизация
UV	Ултравioletова спектроскопия
DMSO	Диметилсулфоксид
ФТОК	Трифлуороцетна киселина
CCDC	The Cambridge Crystallographic Data Center
СЕМ-клетки	Човешки лимфобластоидни клетки
IC <sub>50</sub>	Инхибиторна концентрация 50
USP XXI –	XXI фармакопея на САЩ

UV-VIS	Спектроскопия в ултравиолетовата и видимата област
IR	Инфрачервена спектроскопия
<sup>1</sup> H NMR	Протонна спектроскопия на ядрено-магнитния резонанс
EIMS	Масспектрометрия с електронен удар
DMSO-d <sub>6</sub>	Деутериран диметилсулфоксид
CDCl <sub>3</sub>	Деутериран хлороформ
MHK	Максимална нетоксична концентрация
ЦД <sub>50</sub>	Цитотоксична доза
СИ	Индекс на селективност
ТОН	α-Токоферол
СА	Кафеена киселина
SA	Синапова киселина
FA	Ферулова киселина
p-CumA	p-Кумаринова киселина
ЕДТА	Етилендиаминтетраоцетна киселина
HL-60	Клетъчна линия с произход от човешка промиелоцитна левкемия
ТИ	Терапевтичен индекс
MT-2	Човешки лимфобластoidни нлетки (суспензионни)
ICRF-159	Кардиоксол, аналог на ЕДТА с кардиопротективна и противотуморна активност
РИОКОЗ	Районен инспекторат за опазване и контрол на общественото здраве
KE-37	Клетъчна линия с произход от Т-клетъчна левкемия
SKW-3	Клетъчна линия с произход от Т-клетъчна левкемия
BV-173	Клетъчна линия с произход от човешка хронична миелоидна левкемия
MGH-U1	Клетъчна линия с произход от човешки карцином на пикочния мехур
MCF-7	Клетъчна линия с произход от карцином на млечната жлеза
MDA-MB-231	Клетъчна линия с произход от карцином на млечната жлеза