



**ХИМИКОТЕХНОЛОГИЧЕН И МЕТАЛУРГИЧЕН
УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ**



АГРАРЕН УНИВЕРСИТЕТ – ПЛОВДИВ

ДЕПАРТАМЕНТ ПО ХИМИЧНИ НАУКИ

КАТЕДРА „ОРГАНИЧНА ХИМИЯ”

ас. инж. Румяна Йорданова Проданова-Камалиева

**“СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧНА АКТИВНОСТ НА
СПИРОХИДАНТОИНОВИ ПРОИЗВОДНИ”**

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

на дисертация

за придобиване на образователната и научна степен „доктор”
по научна специалност 4.2. Химически науки – Органична химия

Научни ръководители:

проф. д-р инж. Емилия Димитрова Найденова

доц. д-р инж. Марин Нейков Маринов

НАУЧНО ЖУРИ:

1. доц. д-р Петър Тодоров – рецензент, председател
2. проф. дн Пантелей Денев - рецензент
3. проф. д-р Емилия Найденова
4. проф. дн Иво Грабчев
5. проф. дн Иван Петков

София, 2017 г.

Дисертационният труд е написан на 135 страници, съдържа 42 фигури и 33 таблици. Цитирани са 184 източника.

Представеният дисертационен труд е обсъден и приет за защита на заседание на разширения, специализиран научен съвет на научното звено на катедра „Органична химия” в ХИМИКОТЕХНОЛОГИЧЕН И МЕТАЛУРГИЧЕН УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ, състояло се на 17.02.2017 г.

Благодарности

Изказвам сърдечна признателност и благодарност на научните ми ръководители проф. д-р инж. Емилия Найденова и доц. д-р инж. Марин Маринов за оказаната ми помощ и ценни съвети при разработването на настоящата дисертация. Изказвам специална благодарност и на всички колеги взели участие в подготовката на дисертацията.

Публичната защита на дисертационния труд ще се проведе на 12.04.2017 г. от 13 часа в зала 424, сграда „А” на ХТМУ.

Материалите са на разположение на интересувашите се на интернет страницата на ХТМУ и в отдел „Научни дейности”, стая 406, етаж 4, сграда „А” на ХТМУ.

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

ATR	- attenuated total reflection (пълно вътрешно отражение)
BOC	- <i>трет</i> -бутилоксикарбонилна защитна група
DCC	- <i>N,N'</i> -дициклохексилкарбодиимид
DDP	- цис-диаминодихлороплатина(II)
DEPT	- distortionless enhanced by polarization transfer (деполяризация на сигналите в ^{13}C -ЯМР спектъра)
DFT	- density functional theory (теория на функционала на плътността)
DMAP	- 4-диметиламинопиридин
DMF	- <i>N,N</i> -диметилформамид
DMSO- d_6	- деутериран диметилсулфоксид
HMDO	- хексаметилдисилоксан
Et	- етил
LR	- Lawesson's reagent (реагент на Лавесон)
Me	- метил
Ph	- фенил
Pr	- пропил
<i>t</i> -Bu	- <i>трет</i> -бутил
TEA	- триетиламин
THF	- тетраhydroфуран
TMS	- тетраметилсилан

Номерацията на приложените схеми, таблици и фигури в автореферата е в съответствие с тези от дисертационната работа.

УВОД

Подчертаният интерес към синтезирането и изучаването на спирохидантоини и техни производни се дължи на широкото им приложение в различни области.

От една страна, те са съединения, притежаващи важни за хуманната медицина свойства. В тази насока трябва да се отбележи тяхното антитуморно, антиконвулсивно, антиепилептично и антиаритмично действие, както и възможността да се използват при лечение на астма. Редица техни представители са известни и като алдозоредуктазни инхибитори.

В областта на аграрните науки, интересът към подобни вещества е обусловен от наличието на фунгицидна, инсектицидна и хербицидна активност. Нещо повече, известни са данни относно азаспирохидантоини, които са полезни при лечение на заболявания на централната и периферната нервна система на бозайници.

Важна група биологично активни вещества са непротеиногенните аминокарбоксилни киселини, известни още като $C^{\alpha,\alpha}$ -дизаместени глицини, съединения които се получават при хидролитично разграждане на хидантоиновия пръстен на спирохидантоини. Установено е, че техни представители притежават антитуморна, фунгицидна и инсектицидна активност, както и че се използват при изучаване на механизма на транспортиране на аминокиселини.

От друга страна, различни 1,8-нафталимидни производни могат да се използват като ензимни инхибитори, хромофори, антитуморни, антиканцерогенни и антиревматични средства.

При взаимодействието на 1,8-нафталенов анхидрид с глицин е получен продуктът алрестатин $/(1,3\text{-диоксо-}1H\text{-бензо}[de]\text{изохинолин-}2(3H)\text{-ил})\text{оцетна киселина}/$, принадлежащ към групата на алдозоредуктазните инхибитори – съединения, които са полезни при лечение на хронични усложнения при диабет.

Посочените възможности за приложение, както на различни спирохидантоини и непротеиногенни аминокарбоксилни киселини, така и на производни на 1,8-нафталеновия анхидрид, основани на проявяваните биологични свойства, мотивират бъдещите изследвания върху тези групи органични вещества. Ето защо, основната цел на настоящата дисертация е синтезирането на нови азотсъдържащи хетероциклени продукти, при комбинация на цитираните по-горе съединения.

2. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Описаните тенденции в литературния преглед определиха основната цел на настоящата дисертация, а именно: проучване на оптималните условия за синтез, изолиране и охарактеризиране на нови азотсъдържащи хетероциклени съединения и техни производни с потенциална биологична активност.

От така дефинираната цел произтичат следните конкретни задачи:

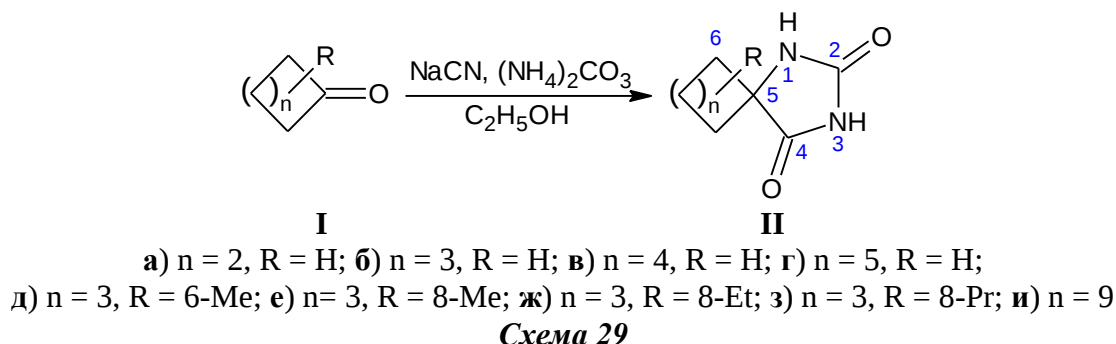
1. Синтез на различни спирохидантоини и техни производни.
2. Синтез на 1,8-нафталимидни производни с непротеиногенни аминокарбоксилни киселини.
3. Синтез на 1,8-нафталимидни производни с 3-аминоспиро-5-хидантоини.
4. Синтез на 3-аминоциклоалканспиро-5-хидантоинови производни с биологично активни вещества, като индометацин, налидиксова киселина, 2-тиофеноцетна киселина, миристинова киселина и алрестатин.
5. Структурно охарактеризиране на получените съединения чрез физикохимични показатели, спектрални данни и квантово-химични методи.
6. Изследване на биологичната активност на новосинтезираните вещества, с цел да се направи оценка на тяхното антимикробно действие спрямо Gram-положителни и Gram-

отрицателни бактерии, плесенни гъби, дрожди и фитопатогени, както и да се определят противовъзпалителните им свойства.

3. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

3.1. Синтез на спирохидантони

Вследствие направления литературен преглед и нашите експериментални резултати установихме, че най-подходящ метод за синтез на циклоалканспиро-5-хидантони е методът на Bucherer-Lieb. При неговото прилагане спрямо различни циклоалканони (**I**) получихме съответните спирохидантони (**II**). Реакциите проведохме при взаимодействие на изходните кетони с натриев цианид, амониев карбонат и етанол (схема 29).



Всички продукти бяха охарактеризирани чрез физикохимични показатели и спектрални данни. Получените резултати за съединения (**IIa-IIг**): циклопентанспиро-5-хидантоин /1,3-дiazаспиро[4.4]нонан-2,4-дион/ (**IIa**), циклохексанспиро-5-хидантоин /1,3-дiazаспиро[4.5]декан-2,4-дион/ (**IIб**), циклохептанспиро-5-хидантоин /1,3-дiazаспиро[4.6]ундекан-2,4-дион/ (**IIв**), циклооктанспиро-5-хидантоин /1,3-дiazаспиро[4.7]додекан-2,4-дион/ (**IIг**) и циклододеканспиро-5-хидантоин /1,3-дiazаспиро[4.11]хексадекан-2,4-дион/ (**IIи**) бяха идентични със съществуващите литературни данни.

Поради факта, че замесените спирохидантони са по-слабо проучени в сравнение с незамесените вещества (**IIa-IIг**), ще разгледаме продукти **IIд-IIз** по-подробно. Физикохимичните показатели, резултатите от елементния анализ, както и спектралните данни (ИЧ, ^1H и ^{13}C ЯМР) на дискутираните съединения, които недвусмислено доказват предложените структури, са представени съответно в таблици 1-3.

Таблица 1. Физикохимични параметри на съединения IIд-IIз

Съединение*	Наименование	Добив, %	Т. т., °C	Rf**
IIд	6-метил-1,3-дiazаспиро[4.5]декан-2,4-дион	55	217-218	0.56
IIе	8-метил-1,3-дiazаспиро[4.5]декан-2,4-дион	88	276-277	0.53
IIж	8-етил-1,3-дiazаспиро[4.5]декан-2,4-дион	91	265-266	0.62
IIз	8-пропил-1,3-дiazаспиро[4.5]декан-2,4-дион	95	301-302	0.59

* Номерирането на съединенията е съгласно схема 29.

** Елуентна система: бензен : етанол = 5 : 1.

Таблица 2. Данни от елементния анализ на съединения IIδ-IIз

Съединение	Молекулна формула	Елементен анализ, %					
		Изчислено			Намерено		
		C	H	N	C	H	N
IIд	C ₉ H ₁₄ N ₂ O ₂ 182.22	59.32	7.74	15.37	59.18	7.61	15.17
IIе	C ₉ H ₁₄ N ₂ O ₂ 182.22	59.32	7.74	15.37	59.07	7.58	15.20
IIж	C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₂ 196.25	61.20	8.22	14.27	61.01	8.00	14.11
IIз	C ₁₁ H ₁₈ N ₂ O ₂ 210.27	62.83	8.63	13.32	62.68	8.45	13.18

Таблица 3. Експериментални ИЧ, ¹H и ¹³C ЯМР спектрални данни за съединения IIδ-IIз

Съединение	ИЧ (KBr) ν _{max} / cm ⁻¹	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ / ppm	¹³ C ЯМР (DMSO-d ₆) δ / ppm *
IIд	3273, 3066, 2935, 1767, 1725	0.67 (s, CH ₃), 1.21-2.52 (m, 8H), 8.25 (s, 1H), 10.60 (s, 1H)	15.9 (CH ₃), 21.1, 25.5, 29.6 (CH ₂), 36.2 (CH), 66.4 (C ₅), 157.5 (C=O), 178.8 (C=O)
IIе	3254, 3068, 2925, 1773, 1734	0.91 (s, CH ₃), 1.19-2.52 (m, 8H), 8.18 (s, 1H), 10.33 (s, 1H)	15.7 (CH ₃), 25.1, 29.5 (CH ₂), 37.1 (CH), 65.8 (C ₅), 158.2 (C=O), 178.1 (C=O)
IIж	3188, 3048, 2929, 1777, 1734	0.95 (s, CH ₃), 1.26-2.52 (m, 10H), 8.28 (s, 1H), 10.51 (s, 1H)	15.1 (CH ₃), 27.8, 34.1 (CH ₂), 32.1 (CH ₂ , алиф.), 35.9 (CH), 64.7 (C ₅), 157.0 (C=O), 178.8 (C=O)
IIз	3194, 3070, 2936, 1776, 1734	0.86 (s, CH ₃), 1.15-2.52 (m, 12H), 8.45 (s, 1H), 10.57 (s, 1H)	14.7 (CH ₃), 27.7, 33.6 (CH ₂), 24.5, 39.1 (CH ₂ , алиф.), 35.8 (CH), 62.8 (C ₅), 156.9 (C=O), 179.2 (C=O)

* Тези отнасяния са потвърдени от DEPT-135 спектралните данни.

За разлика от реакционните условия, цитирани по-горе, при третиране на съответните кетони (III, V и VII) с посочените реагенти при повишени температура и налягане, като следвахме известни в специализираната литература техники, синтезирахме следните съединения:

- Spiro(адамантан-2,4'-имидазолидин)-2',5'-дион (**IV**, схема 30).

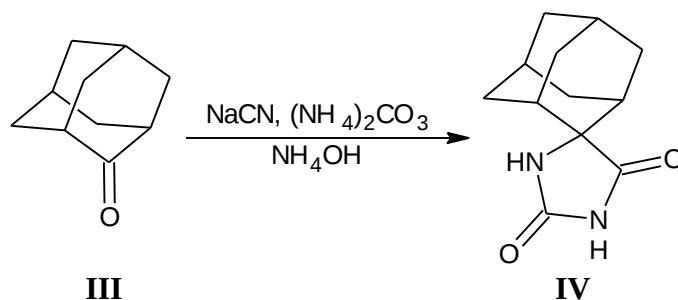


Схема 30

- Spiro-(флуорен-9,4'-имидазолидин)-2',5'-дион (**VI**, схема 31).

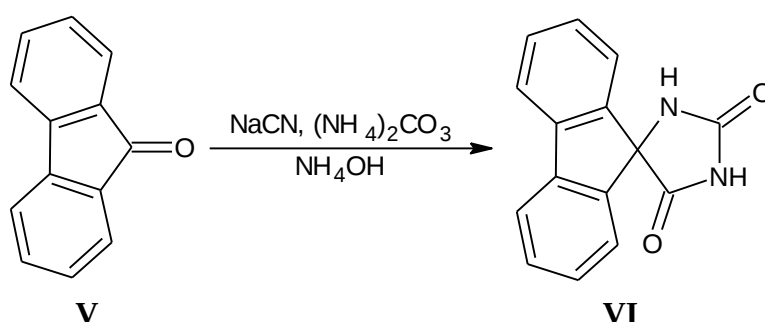


Схема 31

- 3',4'-Дихидро-2H,2'H,5H-спиро[имидазолидин-4,1'-нафтален]-2,5-дион (**VIII**, схема 32).

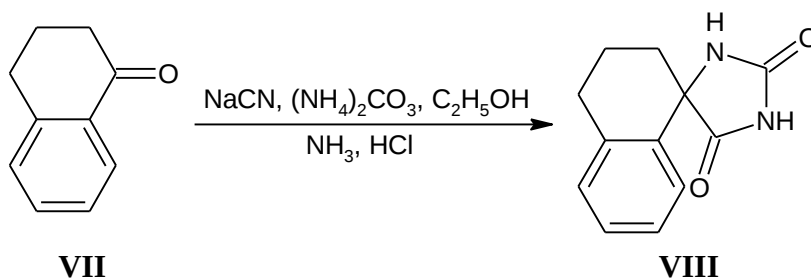


Схема 32

Съединения **IV**, **VI** и **VIII** бяха охарактеризирани чрез съответните физикохимични стойности и набор от спектрални анализи. Доказателство за успешно проведените синтети са получените резултати, които са напълно съпоставими с наличните литературни данни.

3.2. Синтез на аминопроизводни на спирохидантоини

Следваща стъпка в хода на изпълнение на настоящата дисертация, съгласно поставените цел и задачи, беше превръщането на коментираните досега спирохидантоини в техни аминопроизводни. Като отчетохме представените в литературния преглед тенденции в тази насока, базирани на вариране на реакционните условия, като основен метод за синтез на аминоспирохидантоини използвахме процедурата, докладвана от Marinov и сътрудници. Съгласно нея, подложихме на взаимодействие различни

спирохидантоини с концентриран хидразин хидрат и нагряване при кипене на обратен хладник в продължение на пет часа. Осъществените реакции са обобщени в схема 33.

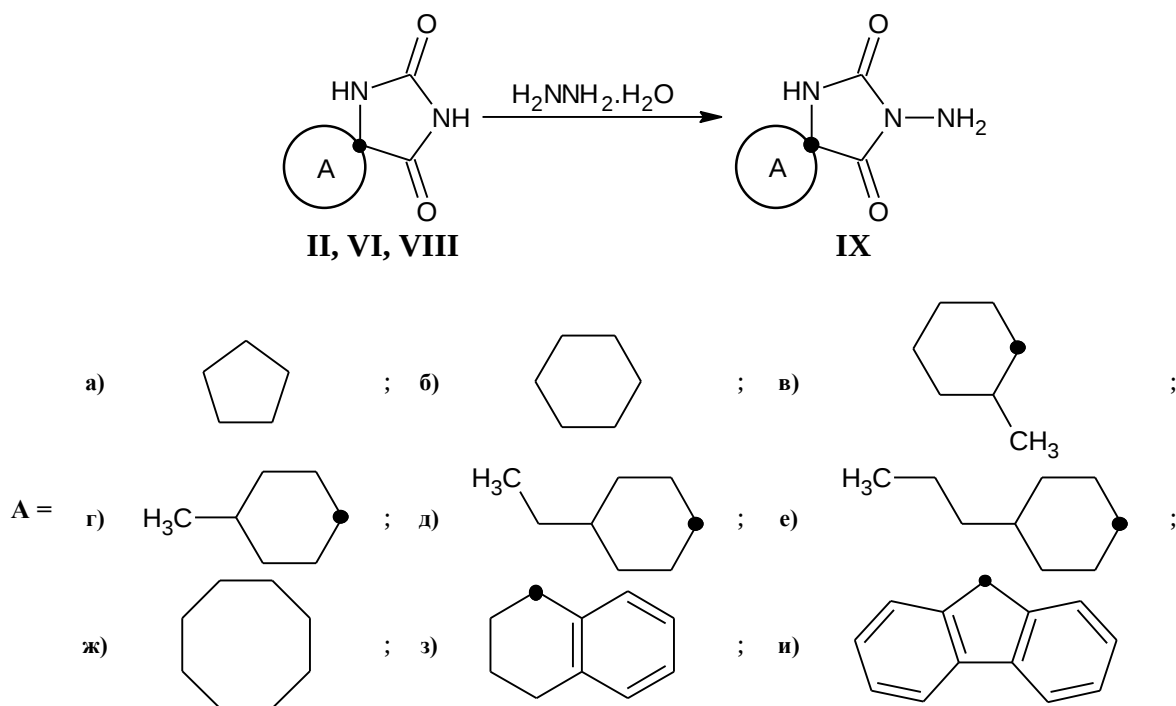


Схема 33

Структурата на съединения **IX** беше потвърдена от направените физикохимични и спектрални анализи. Получените резултати за продукти **IXа**, **IXб**, **IXж**, **IXз** и **IXи** са идентични с публикуваните в литературата. Поради оскъдните данни за подобни съединения със заместители в циклоалкановия пръстен, синтезирахме и охарактеризирахме съответните заместени 3-аминоциклохексанспиро-5-хидантоини (**IXв**-**IXе**). Физикохимичните показатели и данните от елементния анализ на получените съединения са посочени в таблици 4 и 5.

Таблица 4. Физикохимични параметри на съединения IXв-IXе

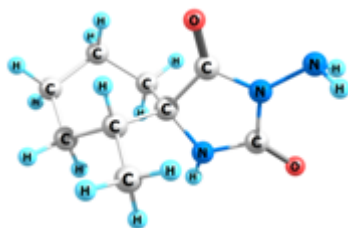
Съединение	Наименование	Добив, %	Т. т., °C	R _f *
IXв	3-амино-6-метил-1,3- дiazаспиро[4.5]декан-2,4-дион	80	215-216	0.47
IXг	3-амино-8-метил-1,3- дiazаспиро[4.5]декан-2,4-дион	95	211-212	0.44
IXд	3-амино-8-етил-1,3- дiazаспиро[4.5]декан-2,4-дион	92	190-191	0.56
IXе	3-амино-8-пропил-1,3- дiazаспиро[4.5]декан-2,4-дион	97	205-206	0.52

* Елуентна система: бензен : етанол = 5 : 1.

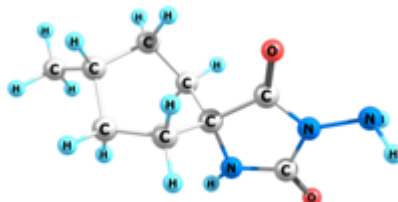
Таблица 5. Данни от елементния анализ на съединения **IXв-IXе**

Съединение	Молекулна формула	Елементен анализ, %					
		Изчислено			Намерено		
		С	Н	Н	С	Н	Н
IXв	C ₉ H ₁₅ N ₃ O ₂ 197.23	54.81	7.67	21.30	54.63	7.51	21.09
IXг	C ₉ H ₁₅ N ₃ O ₂ 197.23	54.81	7.67	21.30	54.72	7.57	21.15
IXд	C ₁₀ H ₁₇ N ₃ O ₂ 211.26	56.85	8.11	19.89	56.66	8.02	19.79
IXе	C ₁₁ H ₁₉ N ₃ O ₂ 225.29	58.64	8.50	18.65	58.53	8.37	18.55

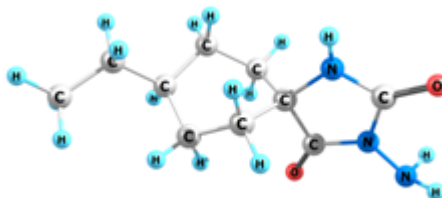
За изясняване структурата на съединения **IXв-IXе** бяха направени квантово-химични изчисления на ниво B3LYP/6-31G(d,p). Две от структурите (**IXв** и **IXг**) са позиционни изомери и според изчислените им свободни енергии, изомер **IXг** е по-стабилен от изомер **IXв** с 1.02 kcal / mol. Разликата в позицията на метиловата група (от 6-метил- в 8-метил-) не води до никакви промени в дължините на връзките в петчленния пръстен на двете съединения (Фигура 32). Изменения настъпват само в циклоалкановия пръстен – връзките C5-C6 и C5-C10 стават по-къси в **IXг**, докато C8-C7 и C8-C9 се удължават. Дължините на връзките в циклохексановата част и в имидазолидиновия пръстен не търпят промени при удължаването на въглеродната верига от метилова до пропилова група. Продуктите **IXв-IXе** бяха охарактеризирани с помощта на ИЧ, ¹H и ¹³C ЯМР спектроскопии. Структурите на посочените съединения бяха оптимизирани с помощта на Теорията на функционала на плътността на ниво B3LYP/6-31G(d,p). Със същия функционал бяха изчислени теоретичните ИЧ и ЯМР (протонни и въглеродни) спектри на съединенията, като за предсказване на ¹H и ¹³C ЯМР спектри беше използван 6-31+G(2d,p) базисен набор, а за предсказване на ИЧ спектрите – 6-31G(d,p) базисен набор, поради високата чувствителност на химичните отмествания в ¹³C ЯМР - спектъра към присъствието на поляризационни и дифузни функции в базисния набор. ¹H и ¹³C ЯМР - спектрите бяха изчислени в разтвор на DMSO с помощта на метода на самосъгласуваното реакционно поле, в което разтворителя се разглежда като непрекъсната среда - PCM//B3LYP/6-31+G(2d,p). Намерено беше добро съответствие между теоретичните и експерименталните резултати. Получените данни са посочени в таблица 6. Оптимизирани структури на заместените 3-аминоциклохексанспиро-5-хидантоини (**IXв-IXе**) на ниво B3LYP/6-31G(d,p) са представени на фигура 32.



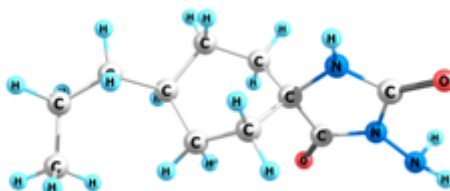
3-амино-6-метил-1,3-диазаспиро[4.5]декан-2,4-дион (**IXв**)



3-амино-8-метил-1,3-диазаспиро[4.5]декан-2,4-дион (**IXг**)



3-амино-8-етил-1,3-диазаспиро[4.5]декан-2,4-дион (**IXд**)



3-амино-8-пропил-1,3-диазаспиро[4.5]декан-2,4-дион (**IXе**)

Фигура 32. Оптимизирани структури на заместените 3-аминоциклохексанспиро-5-хидантоини (**IXв-IXе**) на ниво B3LYP/6-31G(d,p)

Промяната в позицията на заместителя от 6-метил- в 8-метил- води до промени в ЯМР-спектъра на съединения **IXв** и **IXг**. Най-съществени промени се наблюдават в химичните отмествания за въглеродните ядра от CH_3 -, CH_2 - и CH -групите. От друга страна, удължаването на въглеводородната верига в съединения **IXг-IXе** не повлиява съществено спектрите (само незначителни изменения за химичните отмествания на въглеродните ядра от алифатната CH_2 -група). Подобна е и картината при протонните спектри – измененията са свързани единствено с промяната в позицията на метиловата група в циклохексановия пръстен при съединения **IXв** и **IXг**, като най-значимите промени се наблюдават за отместванията на протоните от метиловата група и циклохексановата част на структурите **IXг-IXе**.

Изчислените на ниво B3LYP/6-31G(d,p) ИЧ-спектри на новосинтезираните съединения **IXв-IXе** бяха сравнени с експерименталните такива в KBr, като всички резултати са представени в Таблица 6. Наблюдава се много добро съответствие между

експерименталните и теоретично предсказаните ИЧ-спектри на четирите съединения. Някои честоти, като валентните N-H, C=O, N-N и деформационните NH₂ бяха намерени като характеристични за изследваните съединения. Типичните интензивни ивици за карбонилната група при 1775-1778 cm⁻¹ бяха изчислени да бъдат при 1773-1774 cm⁻¹. Добро съответствие се наблюдава и за характеристичните честоти ν (N-H), ν (NH₂), деформационните в една равнина δ (NH₂) и някои нискочестотни ивици. Теоретично намерените вибрационни честоти δ (NH₂) са предсказани да бъдат при 1609-1610 cm⁻¹, докато експериментално установените са в областта 1610-1613 cm⁻¹. Най-общо казано, промените във вида или позицията на заместителите в циклохексановия пръстен не води до промени в характеристичните честоти в ИЧ-спектъра на съединения **IXв-IXе**.

Таблица 6. Експериментални и теоретично изчислени (удебелен шрифт) спектрални данни на съединения **IXв-IXе**

№	ИЧ (KBr) $\nu_{\max}$ / cm ⁻¹	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ / ppm	¹³ C ЯМР (DMSO-d ₆) δ / ppm
IXв	3503, 3421, 3273, 2932, 1778, 1726, 1610	0.62; 0.77 (s, CH ₃), 1.56-2.52; 1.43-2.37 (m, 8H), 4.74; 3.6 (s, 2H), 8.25;	14.8; 18.1 (CH ₃), 20.6, 25.1, 29.5, 33.6; 21.9, 25.4, 30.0, 36.0 (CH ₂), 35.7; 38.9 (CH), 67.6;
	3429, 3341, 3264, 2929, 1773, 1732, 1610	4.7 (s, 1H)	67.5 (C ₅), 157.1; 157.6 (C=O), 177.5; 176.9 (C=O)
IXг	3500, 3432, 3269, 2930, 1775, 1729, 1612	0.88; 0.97 (s, CH ₃), 1.51-2.52; 1.21-2.21 (m, 8H), 4.71; 3.8 (s, 2H), 8.18;	15.2; 23.8 (CH ₃), 24.7, 29.0; 29.6, 34.3 (CH ₂), 34.3; 31.6 (CH), 66.1;
	3429, 3344, 3267, 2928, 1774, 1733, 1610	5.01 (s, 1H)	64.6 (C ₅), 157.9; 157.2 (C=O), 177.9; 176.8 (C=O)
IXд	3492, 3416, 3243, 2932, 1776, 1731, 1613	0.86; 0.90 (s, CH ₃), 1.48-2.52; 1.27-2.21 (m, 10H), 4.75; 3.56 (s, 2H), 8.28;	14.6; 14.9 (CH ₃), 27.6, 34.0; 27.3, 34.2 (CH ₂), 29.9; 33.1 (CH ₂ , алиф.), 35.2; 38.3 (CH), 65.6;
	3430, 3342, 3264, 2931, 1774, 1733, 1609	5.02 (s, 1H)	64.6 (C ₅), 156.8; 157.2 (C=O), 178.7; 176.7 (C=O)
IXе	3495, 3421, 3240, 2930, 1775, 1728, 1610	0.83; 0.99 (s, CH ₃), 1.50-2.52; 1.21-2.21 (m, 12H), 4.77; 3.59 (s, 2H), 8.45;	14.4; 17.1 (CH ₃), 28.2, 34.5; 29.7, 34.2 (CH ₂), 24.1, 38.4; 30.3, 40.8 (CH ₂ , алиф.), 35.7; 37.8 (CH), 64.9; 64.2 (C ₅), 158.7; 157.1 (C=O), 178.6; 176.8 (C=O)
	3427, 3341, 3263 2935, 1773, 1732, 1610	5.00 (s, 1H)	

При сравняване на ¹H ЯМР данните на изходните спирохидантоини и съединения **IX** се наблюдава почти запазване на стойността на N¹-H. Промяната, свързана с изчезването на единичен сигнал при N³ и появяването на друг сигнал (дублет), показва наличието на amino група в молекулата на съединенията.

Както вече беше споменато в литературния преглед, въвеждането на amino група в хидантоиновия пръстен води до увеличаване на биологичното действие на съответните съединения. Поради тази причина, за нас беше интересно да проведем изследвания за наличие на антимикробна активност на заместените 3-аминоциклохексанспиро-5-хидантоини (**IXв-IXе**).

Като тест микроорганизми бяха използвани Грам положителните бактерии *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 и *Bacillus subtilis* ATCC 6633; Грам отрицателните бактерии *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Salmonella abony* NTCC 6017; гъби – плесени *Penicillium chrisogenum*, *Aspergillus niger* и дрождите *Candida albicans* ATCC 10231 и *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763, както и фитопатогенните гъби *Fusarium oxysporum* и *Pythium ultimum* и фитопатогенната бактерия *Pseudomonas syringae*. Антимикробното действие на съединения **IXв-IXе** беше изследвано по метода на дифузия в агарова среда.

Беше установено, че изследваните продукти **IXв-IXе** не проявяват активност спрямо тестовите микроорганизми.

3.3. Синтез на непротеиногенни аминокарбоксилни киселини

В резултат на проведените от нас множество опити за получаване на непротеиногенни аминокарбоксилни киселини установихме, че най-ефективният метод е алкалната хидролиза на спирохидантоини с бариев хидроксид при повишено налягане. Именно тази техника беше приложена спрямо спирохидантоините, обект на разглеждане в настоящата дисертация. Експериментите бяха проведени при взаимодействие на съответните спирохидантоини (**II**, **IV** и **VIII**) с бариев хидроксид в автоклав и нагряване при 160 °C на солна баня в продължение на два часа, съгласно Stoyanov и Marinov. В резултат на това бяха изолирани непротеиногенните аминокарбоксилни киселини (**X**, схема 34). Данните за съединения **Ха**, **Хб**, **Хж-Хи** са идентични с публикуваните в литературата, а тези на останалите продукти са посочени в таблици 7-10.

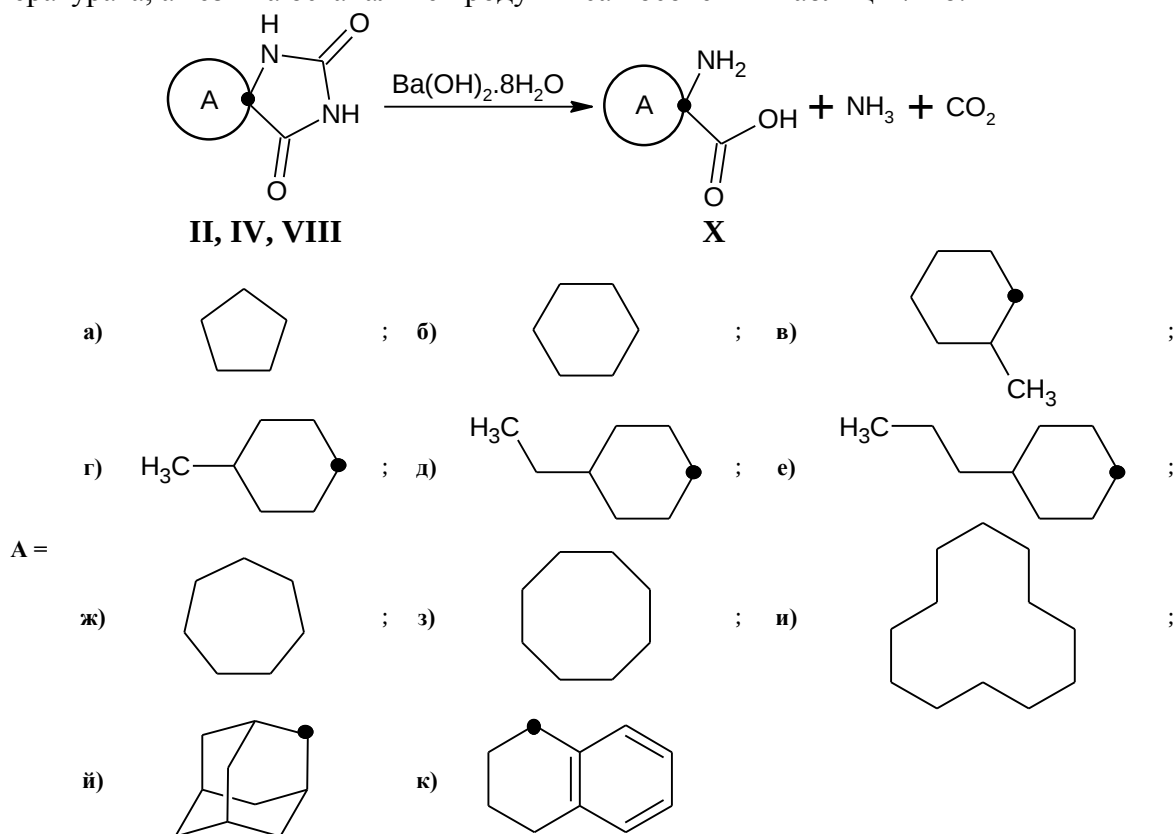


Схема 34

Таблица 7. Физикохимични параметри на съединения Хв-Хе, Хи, Хй

Съединение ¹	Наименование	Добив, %	Т.т., °C	R _f ²
Хв	1-амино-2-метилциклохексан-1-карбоксилна киселина	65	> 300 °C	0.41
Хг	1-амино-4-метилциклохексан-1-карбоксилна киселина	77	> 300 °C	0.48
Хд	1-амино-4-етилциклохексан-1-карбоксилна киселина	68	> 300 °C	0.43
Хе	1-амино-4-пропилциклохексан-1-карбоксилна киселина	64	> 300 °C	0.42
Хй	2-аминоадамантан-2-карбоксилна киселина	80	> 300 °C	0.36
Хк	1-амино-1,2,3,4-тетрахидронафтален-1-карбоксилна киселина	86	253- 254 °C	0.45

¹ Номерацията на съединенията е в съответствие със схемата 1.

² Елуентна система: n-бутанол: ледена оцетна киселина: вода = 4: 1: 5.

Таблица 8. Данни от елементния анализ на съединения Хв-Хе, Хи, Хй

Съединение	Молекулна формула	Елементен анализ, %					
		Изчислено			Намерено		
		С	Н	Н	С	Н	Н
Хв	C ₈ H ₁₅ NO ₂	61.12	9.62	8.91	60.89	9.47	8.84
Хг	C ₈ H ₁₅ NO ₂	61.12	9.62	8.91	60.96	9.55	8.81
Хд	C ₉ H ₁₇ NO ₂	63.13	10.01	8.18	62.95	9.98	7.97
Хе	C ₁₀ H ₁₉ NO ₂	64.83	10.34	7.56	64.75	10.19	7.53
Хи	C ₁₁ H ₁₇ NO ₂	67.66	8.78	7.17	67.48	8.64	7.05
Хй	C ₁₁ H ₁₃ NO ₂	69.09	6.85	7.32	68.93	6.75	7.22

Таблица 9. ИЧ спектрални данни на съединения Хв-Хе, Хи, Хй

Съединение	ИЧ (KBr, cm ⁻¹)
Хв	3026, 2955, 2868, 2928, 2568, 2077, 1615
Хг	3035, 2961, 2871, 2931, 2570, 2075, 1616
Хд	3040, 2959, 2870, 2929, 2921, 2571, 2081, 1598

Таблица 9. ИЧ спектрални данни на съединения Xв-Xе, Хи, Хй (продължение)

Съединение	ИЧ (KBr, cm ⁻¹)
Xе	3044, 2957, 2872, 2933, 2927, 2566, 2084, 1595
Хи	3031, 2926, 2564, 2081, 1562
Хй	3028, 2931, 2571, 2085, 1573

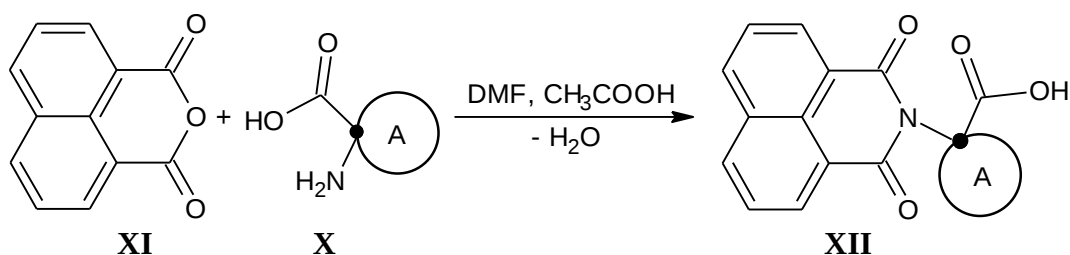
Таблица 10. ЯМР спектрални данни на съединения Xв-Xе, Хи, Хй

№	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆), δ / ppm	¹³ C ЯМР (DMSO-d ₆), δ / ppm	¹³ C DEPT 135 (DMSO-d ₆), δ / ppm
Xв	1.07 (s, CH ₃), 1.39-1.90 (m, 8H, CH ₂), 2.15 (s, H, CH), 8.28 (s, 2H, NH ₂), 10.9 (s, H, OH)	11.8 (CH ₃), 19.5-31.8 (CH ₂), 36.1 (CH), 67.2 (C ¹), 180.8 (C=O)	11.8 (CH ₃), 19.5-31.8 (CH ₂), 36.1 (CH)
Xг	1.04 (s, CH ₃), 1.40-1.88 (m, 8H, CH ₂), 1.60 (s, H, CH), 8.33 (s, 2H, NH ₂), 10.8 (s, H, OH)	19.6 (CH ₃), 26.0-32.2 (CH ₂), 28.6 (CH), 61.3 (C ¹), 181.2 (C=O)	19.6 (CH ₃), 26.0-32.2 (CH ₂), 28.6 (CH)
Xд	0.95 (s, CH ₃), 1.28 (s, CH ₂), 1.38-1.91 (m, 8H, CH ₂ , циклохекс. пръстен), 1.41 (s, CH), 8.42 (s, 2H, NH ₂), 11.2 (s, H, OH)	12.1 (CH ₃), 23.5-32.4 (CH ₂ , циклохекс. пръстен), 27.7 (CH ₂), 34.6 (CH), 59.9 (C ¹), 181.4 (C=O)	12.1 (CH ₃), 23.5-32.4 (CH ₂ , циклохекс. пръстен), 27.7 (CH ₂), 34.6 (CH)
Xе	0.97 (s, CH ₃), 1.23 (s, CH ₂), 1.31 (s, CH ₂), 1.39-1.88 (m, 8H, CH ₂ , циклохекс. пръстен), 1.42 (s, CH), 8.45 (s, 2H, NH ₂), 11.6 (s, H, OH)	14.5 (CH ₃), 21.1 (CH ₂), 37.3 (CH ₂), 24.1-32.6 (CH ₂ , циклохекс. пръстен), 31.3 (CH), 60.5 (C ¹), 182.2 (C=O)	14.5 (CH ₃), 21.1 (CH ₂), 37.3 (CH ₂), 24.1-32.6 (CH ₂ , циклохекс. пръстен), 31.3 (CH)
Хи	1.37 (s, 10H, CH ₂), 1.42 (s, 2H, CH), 1.99 (s, 2H, CH), 8.11 (s, 2H, NH ₂), 11.5 (s, H, OH)	28.6 (CH), 29.9 (CH ₂), 35.6 (CH), 63.4 (C ²), 181.7 (C=O)	28.6 (CH), 29.9 (CH ₂), 35.6 (CH)
Хй	1.57-2.87 (m, 6H, CH ₂), 6.92-7.03 (m, 4H, CH), 8.27 (s, 2H, NH ₂), 11.8 (s, H, OH)	26.8-42.2 (CH ₂), 65.1 (C ¹), 125.4-128.8 (CH), 139.3 (C=C), 177.3 (C=O)	26.8-42.2 (CH ₂), 125.4-128.8 (CH).

3.4. Синтез на 1,8-нафталимидни производни с непротеиногенни аминокарбоксилни киселини

Заплануваните модифицирани с непротеиногенни аминокарбоксилни киселини 1,8-нафталимиди синтезирахме по разработен от нас метод, представен на схема 35.

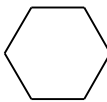
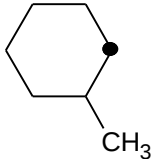
Нагряхахме при кипене необходимите количества 1,8-нафталенов анхидрид (XI) и съответната непротеиногенна аминокарбоксилна киселина (X) в разтвор на *N,N*-диметилформаид (DMF) и ледена оцетна киселина в продължение на пет часа. След охлаждане до стайна температура, изливахме реакционната смес в ледена вода. Отделените продукти прекристализирахме из ледена оцетна киселина. В резултат на това бяха изолирани хроматографски чисти светложълти кристални вещества (XII).



Синтезираните съединения (XII) бяха охарактеризирани чрез физикохимични показатели (таблица 11), елементен анализ (таблица 12) и спектрални данни (таблицы 13 и 14), като получените резултати доказаха превръщането на изходните продукти в съответните 1,8-нафталимидни производни.

Спектралните данни показват недвусмислено синтеза на крайните продукти XII, и най-вече факта, че в ¹H ЯМР спектрите им има сигнали, показващи наличие на водороден атом от -COOH група в областта 10.48-13.8 ppm, а липсват такива сигнали за -NH₂ група, което показва пълното взаимодействие на изходните съединения.

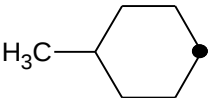
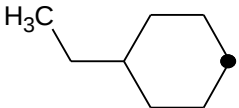
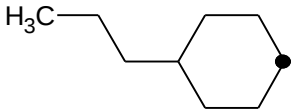
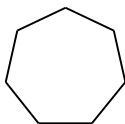
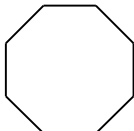
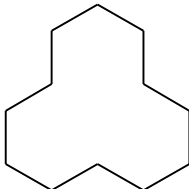
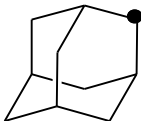
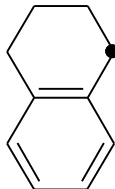
Таблица 11. Физикохимични параметри на съединения XII

№	A	Наименование	Добив, %	Т. т., °C	R _f *
XIIa		1-(1,3-диоксо-1 <i>H</i> -бензо[<i>de</i>]изохинолин-2(3 <i>H</i>)-ил)циклопентанкарбоксилна киселина	74	268-269	0.51
XIIб		1-(1,3-диоксо-1 <i>H</i> -бензо[<i>de</i>]изохинолин-2(3 <i>H</i>)-ил)циклохексанкарбоксилна киселина	78	261-262	0.43
XIIв		1-(1,3-диоксо-1 <i>H</i> -бензо[<i>de</i>]изохинолин-2(3 <i>H</i>)-ил)-2-метилциклохексанкарбоксилна киселина	75	236-237	0.54

* Елуентна система:

пиридин : *n*-бутанол : ледена оцетна киселина : вода = 10 : 15 : 3 : 12

Таблица 11. Физикохимични параметри на съединения XII (продължение)

№	A	Наименование	Добив, %	Т. т., °C	R _f *
XIIг		1-(1,3-диоксо-1H-бензо[de]изохинолин-2(3H)-ил)-4-метилциклохексан-карбоксилна киселина	62	261-262	0.45
XIIд		1-(1,3-диоксо-1H-бензо[de]изохинолин-2(3H)-ил)-4-етилциклохексан-карбоксилна киселина	61	268-269	0.48
XIIе		1-(1,3-диоксо-1H-бензо[de]изохинолин-2(3H)-ил)-4-пропилциклохексан-карбоксилна киселина	69	257-258	0.39
XIIж		1-(1,3-диоксо-1H-бензо[de]изохинолин-2(3H)-ил)циклохептанкарбоксилна киселина	75	257-258	0.33
XIIз		1-(1,3-диоксо-1H-бензо[de]изохинолин-2(3H)-ил)циклооктанкарбоксилна киселина	76	247-248	0.40
XIIи		1-(1,3-диоксо-1H-бензо[de]изохинолин-2(3H)-ил)циклододекан-1-карбоксилна киселина	81	218-219	0.36
XIIй		2-(1,3-диоксо-1H-бензо[de]изохинолин-2(3H)-ил)-адамантан-2-карбоксилна киселина	57	259-260	0.29
XIIк		1-(1,3-диоксо-1H-бензо[de]изохинолин-2(3H)-ил)-1,2,3,4-тетрахидронафта-лен-1-карбоксилна киселина	59	273-274	0.35

* Елуентна система:

пиридин : n-бутанол : ледена оцетна киселина : вода = 10 : 15 : 3 : 12

Таблица 12. Данни от елементния анализ на съединения XII

Съединение	Молекулна формула	Елементен анализ, %					
		Изчислено			Намерено		
		C	H	N	C	H	N
XIIa	C ₁₈ H ₁₅ NO ₄	69.89	4.89	4.53	69.57	4.45	4.23
XIIб	C ₁₉ H ₁₇ NO ₄	70.58	5.30	4.33	70.33	5.21	4.09
XIIв	C ₂₀ H ₁₉ NO ₄	71.20	5.68	4.15	71.16	5.55	4.04
XIIг	C ₂₀ H ₁₉ NO ₄	71.20	5.68	4.15	71.23	5.60	4.10
XIIд	C ₂₁ H ₂₁ NO ₄	71.78	6.02	3.99	71.57	5.78	4.06
XIIе	C ₂₂ H ₂₃ NO ₄	72.31	6.34	3.83	71.96	6.06	4.01
XIIж	C ₂₀ H ₁₉ NO ₄	71.20	5.68	4.15	71.00	6.04	4.27
XIIз	C ₂₁ H ₂₁ NO ₄	71.78	6.02	3.99	71.96	5.78	4.15
XIIи	C ₂₅ H ₂₉ NO ₄	73.68	7.17	3.44	73.44	7.11	3.19
XIIй	C ₂₃ H ₂₁ NO ₄	73.58	5.64	3.73	73.23	5.51	3.54
XIIк	C ₂₃ H ₁₇ NO ₄	74.38	4.61	3.77	74.09	4.56	3.95

Структурите на новосинтезираните съединения **XIIa-XIIк** бяха оптимизирани на ниво B3LYP/6-31G(d). Структурите **XIIв** и **XIIг** са позиционни изомери и според изчислените свободни енергии, изомер **XIIг** е по-стабилен от изомер **XIIв** с 3.69 kcal/mol.

Разглеждайки геометричните параметри в молекулите на 1,8-нафталимидни производни (**XIIa-XIIк**) се вижда, че промяната във вида на заместителя не води до някакви значителни промени във връзките от нафталимидната част и от карбоксилната група (фигури 33-38). Промяна се наблюдава единствено в дължината на връзките C-N и C-C, свързващи въглеродния атом съответно с нафталимидния пръстен и карбоксилната група. Най-къса е връзката C-N при съединения **XIIa**, **XIIк** и **XIIг** – съответно 1.499, 1.502 и 1.509 Å. С промяната във вида на заместителя тази връзка се удължава с от 0.003 до 0.022 Å, като става най-дълга в **XIIв**, **XIIз** и **XIIй**. При всички останали съединения тя е от порядъка на 1.512–1.518 Å. От фиг. 33 се вижда, че връзката C-C, свързваща въглеродния атом с карбоксилната група е най-скъсена в съединение **XIIг** (1.538 Å) и най-удължена в съединение **XIIк** (1.556 Å).

Съединенията **XIIa-XIIк** бяха охарактеризирани с помощта на ИЧ, ¹H и ¹³C ЯМР спектроскопия. В таблица 13 са представени вибрационните честоти, изчислени на теоретично ниво B3LYP/6-31G(d) за молекули **XIIa-XIIк**. Намерените от нас честоти за всички изследвани съединения, като цяло са в съгласие с експерименталните данни. Слабо отклонение се наблюдава за пресметнатото валентно трептене ν(O-H), което е от порядъка на 57-129 cm⁻¹. Вероятна причина за тази разлика е образуването на водородна връзка в карбоксилната група при геометричната оптимизация на всички изследвани съединения. Експериментално намерените стойности за характеристичното валентно трептене ν(C=O) при различните съединения са около 1740 cm⁻¹ за едната карбонилна група и 1700 cm⁻¹ за другата, а теоретично предсказаните вибрационни честоти ν(C=O) са съответно около 1680 cm⁻¹ за едната C=O-група и 1645 cm⁻¹ за другата. Анализът на

теоретично изчислените ИЧ спектри показва, че промяната в заместителя не оказва силно влияние върху валентните трептения в молекулите на 1,8-нафталимидните производни.

Таблица 13. Експериментални и теоретично изчислени (с наклонен шрифт) ИЧ спектрални (KBr, cm^{-1}) данни на съединения XII

№	ν_{OH}	ν_{CH} (аром.)	ν_{as} (CH ₂)	ν_{s} (CH ₂)	$\nu_{\text{C=O}}$ (COOH)	$\nu_{\text{C=O}}$	ν_{CC} (аром.)	ν_{CN} (имид)
XIIa	3481	3058	2940	2865	1781	1742, 1708	1581, 1511	1384
	3542	3046	2946	2888	1740	1683, 1647	1585, 1543	1376
XIIб	3473	3066	2927	2860	1772	1738, 1704	1584, 1511	1384
	3530	3058	2931	2889	1728	1675, 1641	1584, 1544	1376
XIIв	3444	3065	2934	2860	1770	1741, 1713	1580, 1511	1384
	3573	3061	2926	2866	1732	1682, 1642	1585, 1543	1380
XIIг	3472	3066	2951	2865	1772	1739, 1698	1581, 1511	1373
	3544	3046	2940	2866	1744	1683, 1647	1584, 1543	1377
XIIд	3474	3072	2927	2863	1773	1738, 1698	1581, 1512	1384
	3545	3049	2930	2862	1736	1679, 1642	1585, 1543	1379
XIIе	3468	3067	2925	2861	1774	1737, 1695	1581, 1512	1383
	3545	3050	2933	2862	1736	1680, 1641	1586, 1544	1379
XIIж	3468	3065	2933	2862	1771	1741, 1703	1584, 1511	1379
	3543	3047	2933	2864	1725	1672, 1636	1583, 1541	1375
XIIз	3471	3066	2923	2854	1771	1741, 1702	1584, 1511	1384
	3581	3058	2928	2863	1735	1674, 1638	1585, 1543	1378
XIIи	3465	3065	2925	2857	1771	1741, 1701	1584, 1511	1384
	3568	3046	2936	2862	1769	1683, 1650	1583, 1541	1373
XIIй	3470	3066	2919	2856	1772	1737, 1699	1581, 1511	1384
	3532	3047	2913	2862	1728	1683, 1646	1583, 1544	1377
XIIк	3471	3066	2934	2857	1771	1741, 1701	1580, 1511	1384
	3547	3045	2938	2846	1730	1680, 1646	1586, 1540	1374

Теоретичните ЯМР (протонни и въглеродни) спектри на съединенията **XIIa-XIIк** бяха изчислени на нива MP2 и HF, както и с различни функционали - B3LYP, B3PW91, mPW1PW91, O3LYP, M062X в комбинация с базисните набори: 6-31+G(d,p), 6-31+G(2d,p), 6-311++G(2df,p), 6-31+G(2df,p), 6-311+G(d,p), DGDZVP. Най-близки до експерименталните данни, особено що се касае до химичните отмествания на спиро въглеродния атом в молекулата на структури **XIIa-XIIк** се оказаха резултатите, получени на ниво HF/6-31+G(2d,p). На всички останали теоретични нива отклоненията от експерименталните данни бяха от порядъка на 20 ppm. Ето защо са представени само резултатите, получени на ниво HF/6-31+G(2d,p), поради високата чувствителност на химичните отмествания в ¹³C ЯМР спектъра към присъствието на поляризационни и дифузни функции в базисния набор. ¹H и ¹³C ЯМР спектрите на структурите **XIIa-XIIк**

бяха изчислени в разтвор на DMSO с помощта на метода на самосъгласуваното реакционно поле, в което разтворителя се разглежда като непрекъсната среда - РСМ//B3LYP/6-31+G(2d,p). Намерено беше добро съответствие между теоретичните и експерименталните резултати. Разглеждайки ^{13}C ЯМР спектри на изследваните съединения (таблица 14) се вижда, че видът на заместителя при спиро-С атом оказва влияние единствено върху химичните отмествания на този атом. От таблица 14 се вижда, че когато е включен заместител с циклоалканов пръстен (**XIIб**, **XIIг** и **XIIк**), стойностите за химичните му отмествания са по-ниски с 5-9 ppm, както в експерименталните, така и в теоретично предсказаните спектри.

Предсказани са и ^1H спектри на синтезираните съединения, които са представени също на таблица 14. Вижда се, че има много добро съответствие между експерименталните и теоретичните резултати, особено за химичните отмествания на протоните от CH_3 - и CH_2 - групите от заместителите. Наблюдават се малки отклонения при изчислените отмествания за протоните от CH -групите от нафталимидната част в сравнение с експериментално получените, които са от порядъка 0.32-1.20 ppm. Съществена е обаче разликата между теоретичните и експерименталните резултати за химичните отмествания на протона от OH -групата, като отклоненията са от порядъка 3.43-6.86 ppm. Най-близки до експерименталните данни са изчислените отмествания за OH -протоните на съединение **XIIи** (7.10 ppm при експериментално намерено 10.53 ppm), а най-голямо е отклонението при съединение **XIIа** (6.94 ppm при експериментално намерено 13.80 ppm). Както в ИЧ спектри, вероятна причина за тази разлика е образуването на водородна връзка в карбоксилната група при геометричната оптимизация на всички изследвани съединения.

Таблица 14. Експериментални и теоретични (с наклонен шрифт) ^1H и ^{13}C ЯМР спектрални данни на съединения **XII**

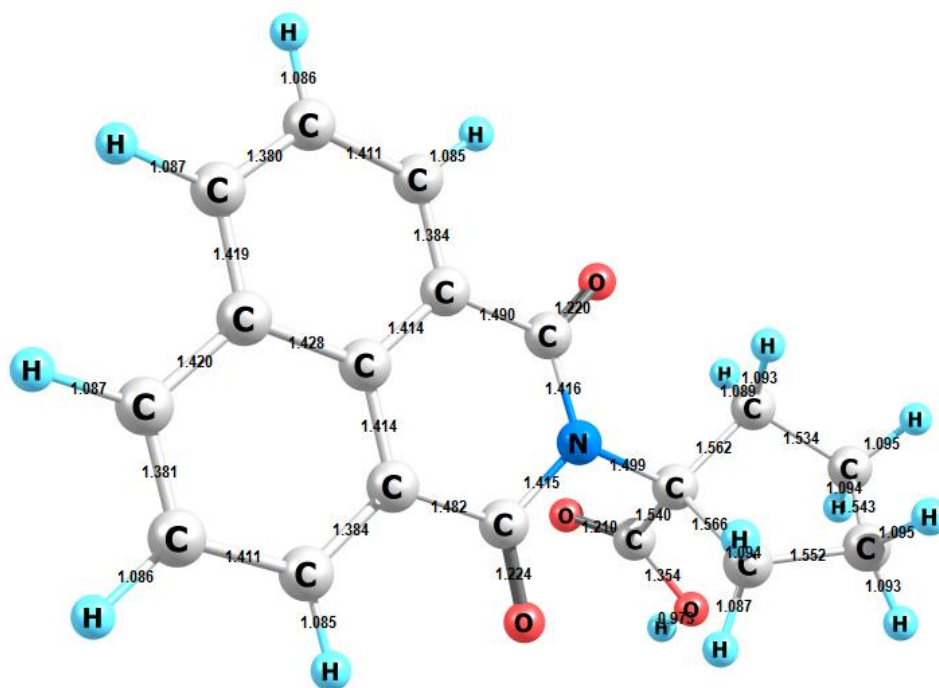
№	^1H NMR (DMSO- d_6), δ / ppm	^{13}C NMR (DMSO- d_6), δ / ppm*
XIIа	1.53 1.50 (s, CH_2), 2.51 2.93 (s, CH_2), 7.91-8.55 8.27-9.70 (m, 6H, нафт. ядро), 13.80 6.94 (s, OH)	21.7 23.0 (CH_2), 39.3 36.7 (CH_2), 60.1 68.1 (C), 137.8 123.4 (CH), 139.0 139.7 (CH), 139.5 140.0 (CH), 161.3 173.2 (C=O), 182.3 180.4 (C=O, карбокс. група)
XIIб	1.90 1.56 (s, CH_2), 2.50 1.68 (s, CH_2), 2.87 2.64 (s, CH_2), 7.59-8.54 8.24-9.66 (m, 6H, нафт. ядро), 12.50 7.09 (s, OH)	28.7 22.9 (CH_2), 39.5 24.7 (CH_2), 39.8 29.3 (CH_2), 54.5 62.9 (C), 129.6 123.4 (CH), 137.8 139.6 (CH), 139.2 140.2 (CH), 161.2 173.4 (C=O), 181.5 180.1 (C=O, карбокс. група)
XIIв	1.17 1.02 (s, CH_3), 1.54 1.50 (s, CH_2), 1.68 1.78 (s, CH_2), 2.51 2.23 (s, CH_2), 2.87 2.60 (s, CH), 7.59-8.55 8.26-9.25 (m, 6H, нафт. ядро), 10.61 6.42 (s, OH)	15.8 18.9 (CH_3), 21.1 23.5 (CH_2), 25.5 25.3 (CH_2), 29.6 28.6 (CH_2), 34.7 33.0 (CH_2), 66.4 63.6 (C), 128.2 123.4 (CH), 133.1 140.3 (CH), 135.9 140.4 (CH), 161.2 173.4 (C=O), 178.9 177.8 (C=O, карбокс. група)
XIIг	1.88 1.13 (s, CH_3), 2.48 1.46 (s, CH_2), 2.50 1.56 (s, CH), 2.88 2.63 (s, CH_2), 7.60-8.55 8.25-9.22 (m, 6H, нафт. ядро), 11.02 6.87 (s, OH)	22.4 19.1 (CH_3), 38.6 26.9 (CH_2), 39.5 25.6 (CH), 40.1 26.9 (CH_2), 54.8 63.7 (C), 128.1 123.5 (CH), 133.0 139.2 (CH), 135.9 139.8 (CH), 161.2 173.2 (C=O), 180.2 179.3 (C=O, карбокс. група)

* Тези отнасяния са потвърдени от DEPT-135 спектралните данни.

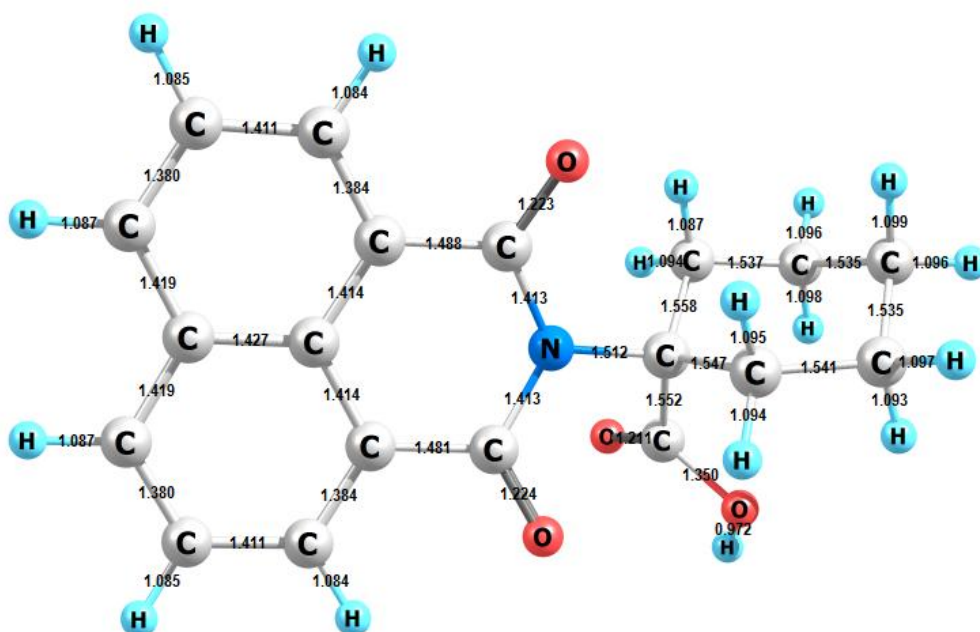
Таблица 14. Експериментални и теоретични (с наклонен шрифт) ^1H и ^{13}C ЯМР спектрални данни на съединения **XII** (продължение)

№	^1H NMR (DMSO- d_6), δ / ppm	^{13}C NMR (DMSO- d_6), δ / ppm*
XIIд	0.84 1.03 (s, CH ₃ , Et), 0.94 1.15 (s, CH ₂ , Et), 1.90 1.64 (s, CH ₂), 2.50 1.30 (s, CH), 2.88 2.48 (s, CH ₂), 7.60-8.54 8.24-9.62 (m, 6H, нафт. ядро), 10.89 6.80 (s, OH)	13.7 14.5 (CH ₃), 25.8 25.9 (CH ₂), 27.8 24.9 (CH ₂ , Et), 29.7 26.9 (CH ₂), 38.5 31.4 (CH), 67.5 64.5 (C), 128.2 123.3 (CH), 133.1 139.9 (CH), 135.9 140.0 (CH), 161.2 173.8 (C=O), 177.5 180.2 (C=O, карбокс. група)
XIIе	0.83 1.16 (s, CH ₃ , Pr), 1.16 0.97 (s, CH ₂ , Pr), 1.51 1.27 (s, CH ₂ , Pr), 1.60 1.20 (s, CH), 1.62 1.42 (s, CH ₂), 1.90 2.47 (s, CH ₂), 7.51-8.01 8.25-9.75 (m, 6H, нафт. ядро), 11.1 6.77 (s, OH)	14.1 16.5 (CH ₃), 21.3 22.4 (CH ₂), 24.2 28.9 (CH ₂) 31.5 34.6 (CH), 37.7 37.6 (CH ₂), 62.2 64.2 (C), 128.5 123.4 (CH), 135.3 139.6 (CH), 137.8 140.0 (CH), 163.6 172.6 (C=O), 179.3 180.2 (C=O, карбокс. група)
XIIж	1.46 1.69 (m, 8H, CH ₂), 1.87 2.72 (m, 4H, CH ₂), 7.60-8.44 8.25-9.69 (m, 6H, нафт. ядро), 10.50 6.98 (s, OH)	22.6 21.6 (CH ₂), 29.6 23.0 (CH ₂), 35.8 31.2 (CH ₂), 61.2 67.2 (C), 128.1 123.4 (CH), 133.0 139.9 (CH), 135.9 140.2 (CH), 161.2 173.8 (C=O), 178.5 180.0 (C=O, карбокс. група)
XIIз	1.47 1.55 (m, 10H, CH ₂), 1.90 2.65 (m, 4H, CH ₂), 7.62-8.45 8.24-9.70 (m, 6H, нафт. ядро), 10.48 6.53 (s, OH)	21.2 23.5 (CH ₂), 28.5 27.6 (CH ₂), 32.7 30.0 (CH ₂), 61.3 66.3 (C), 128.1 123.3 (CH), 133.0 139.9 (CH), 135.9 140.2 (CH), 161.2 173.4 (C=O), 179.6 176.7 (C=O, карбокс. група)
XIIи	1.43 1.55 (m, 22H, CH ₂), 7.58-8.51 8.26-9.66 (m, 6H, нафт. ядро), 10.53 7.10 (s, OH)	21.6 (CH ₂), 31.3 (CH ₂), 64.8 66.5 (C), 127.3 123.4 (CH), 133.6 140.2 (CH), 136.5 140.8 (CH), 162.4 173.4 (C=O), 178.8 173.9 (C=O, карбокс. група)
XIIй	1.90 1.76 (m, 10H, CH ₂), 2.49 2.28 (d, 2H, CH), 2.51 2.66 (d, 2H, CH), 7.60-8.47 8.24-9.65 (m, 6H, нафт. ядро), 10.75 7.19 (s, OH)	28.1 26.5 (CH), 30.3 32.1 (CH), 32.2 31.9 (CH ₂), 38.1 35.5 (CH ₂), 66.4 69.0 (C), 128.1 123.6 (CH), 137.2 138.9 (CH), 139.5 139.5 (CH), 161.2 174.7 (C=O), 178.8 181.4 (C=O, карбокс. група)
XIIк	1.64 2.22 (s, CH ₂), 2.03 2.83 (s, CH ₂), 2.88 3.03 (s, CH ₂), 6.95-7.14 7.57-8.46 (m, 4H, тетрахидронафт. ядро), 7.58-8.52 8.18-9.65 (m, 6H, нафт. ядро), 10.66 6.89 (s, OH)	27.2 22.9 (CH ₂), 32.5 28.9 (CH ₂), 36.7 30.8 (CH ₂), 59.9 60.6 (C), 119.5 123.4 (CH), 128.1 127.4 (CH), 128.9 130.1 (CH), 137.4 139.4 (CH), 138.6 140.3 (CH), 161.2 172.8 (C=O), 180.4 178.8 (C=O, карбокс. група)

* Тези отнасяния са потвърдени от DEPT-135 спектралните данни.

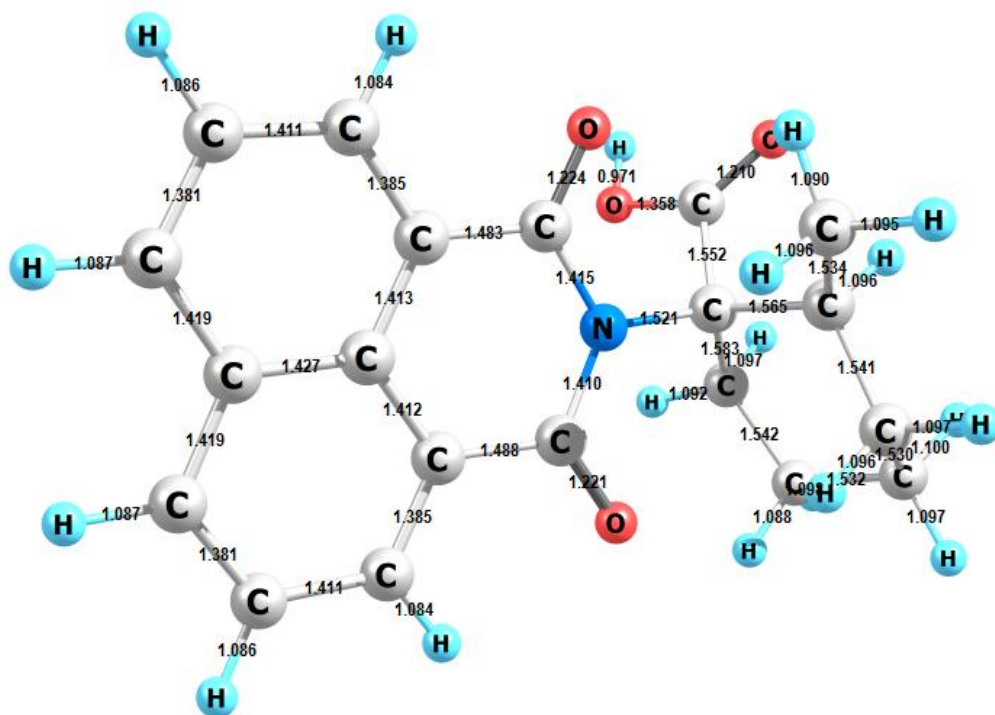


1-(1,3-диоксо-1H-бензо[de]изохинолин-2(3H)-ил)циклопентанкарбоксилна киселина (XIIa)

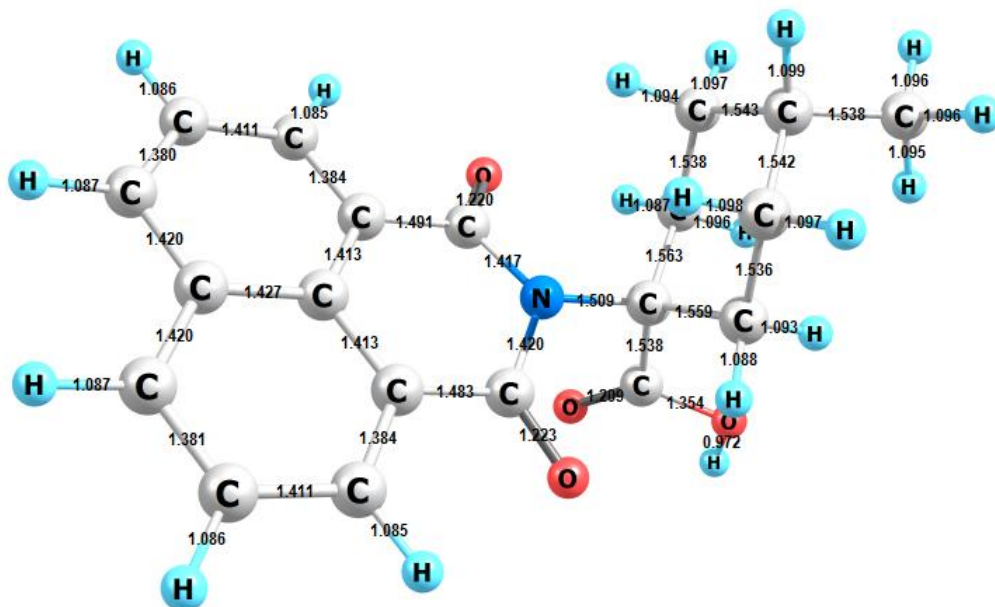


1-(1,3-диоксо-1H-бензо[de]изохинолин-2(3H)-ил)циклохексанкарбоксилна киселина (XIIb)

Фигура 33. Структури на съединения XIIa и XIIb, оптимизирани на теоретично ниво MP2/6-31+G(d,p). Показани са и дължините на връзките в молекулите в Å.

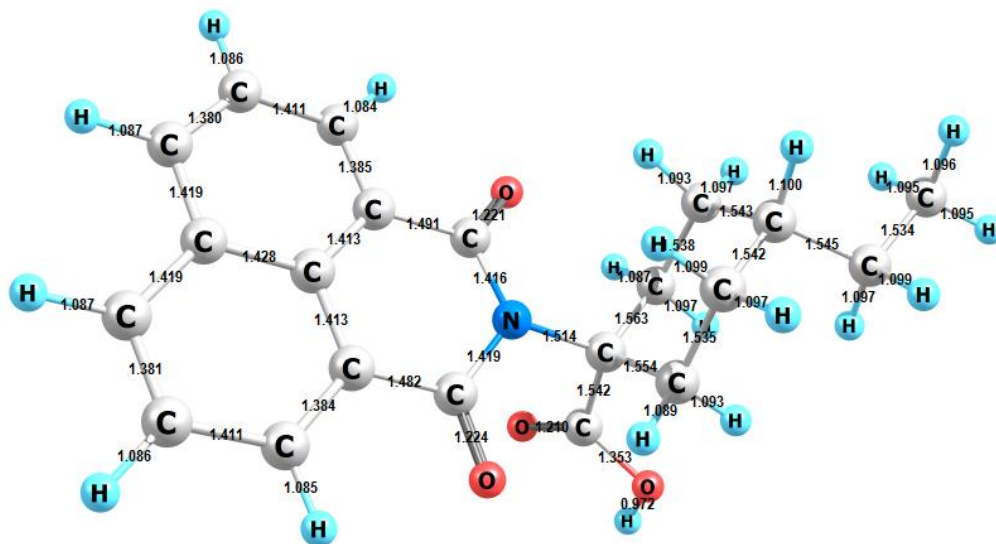


1-(1,3-диоксо-1H-бензо[de]изохинолин-2(3H)-ил)-2-метилциклохексан-карбоксилна киселина (XIIv)

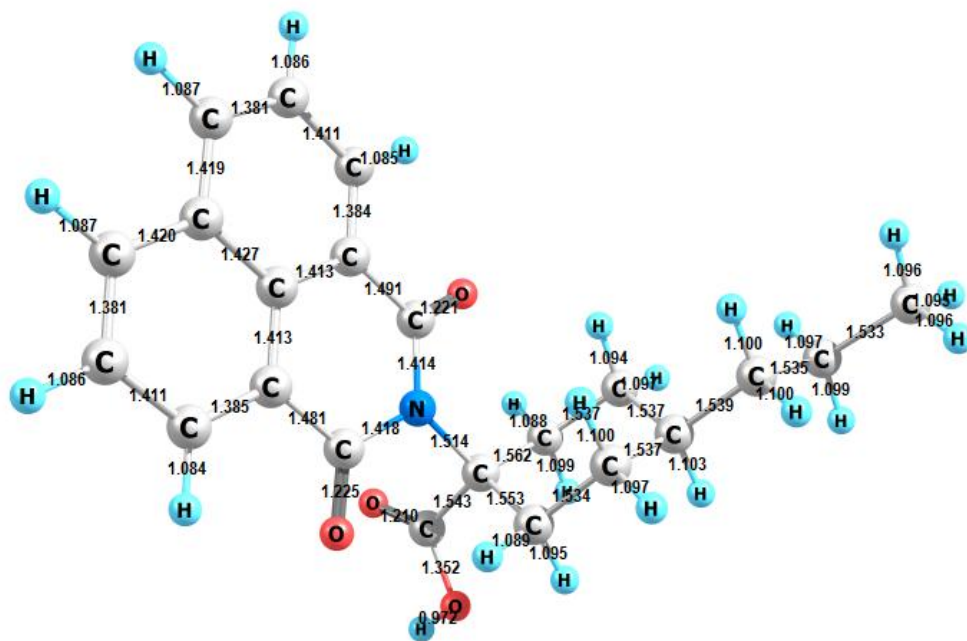


1-(1,3-диоксо-1H-бензо[de]изохинолин-2(3H)-ил)-4-метилциклохексан-карбоксилна киселина (XIIg)

Фигура 34. Структури на съединения XIIv и XIIg, оптимизирани на теоретично ниво MP2/6-31+G(d,p). Показани са и дължините на връзките в молекулите в Å.

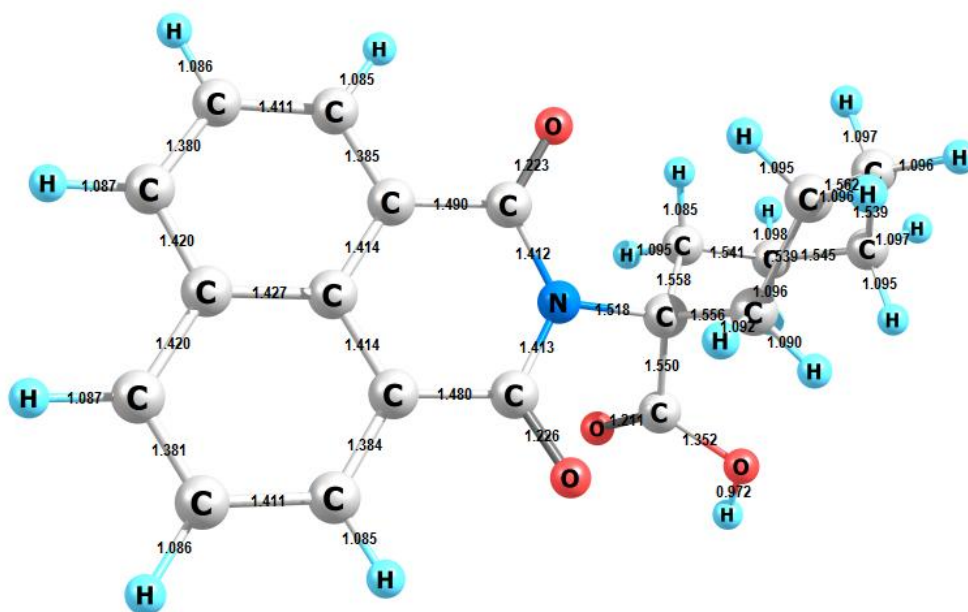


1-(1,3-диоксо-1H-бензо[de]изохинолин-2(3H)-ил)-4-етилциклохексан-карбоксилна киселина (XIIId)

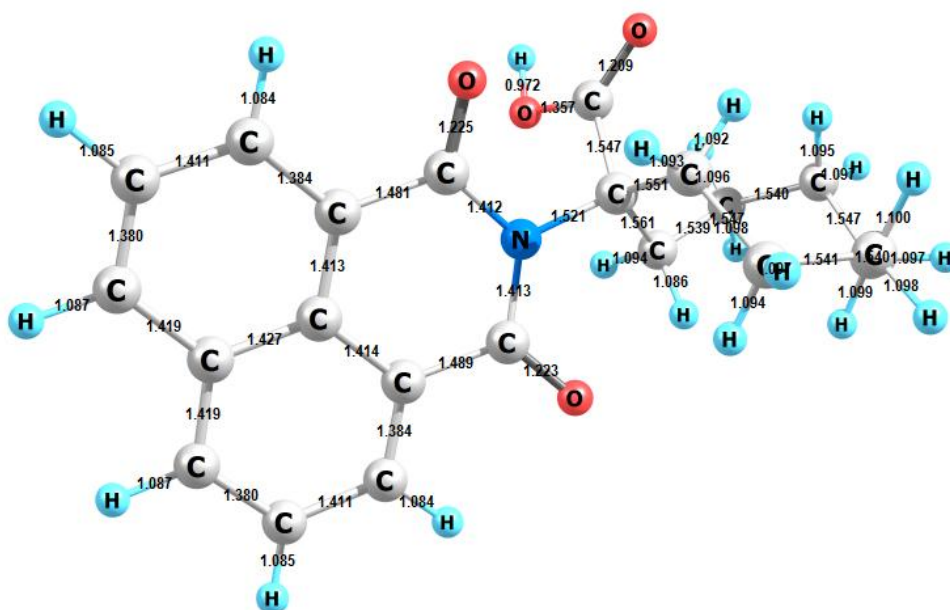


1-(1,3-диоксо-1H-бензо[de]изохинолин-2(3H)-ил)-4-пропилциклохексан-карбоксилна киселина (XIIIf)

Фигура 35. Структури на съединения XIIId и XIIIf, оптимизирани на теоретично ниво MP2/6-31+G(d,p). Показани са и дължините на връзките в молекулите в Å.

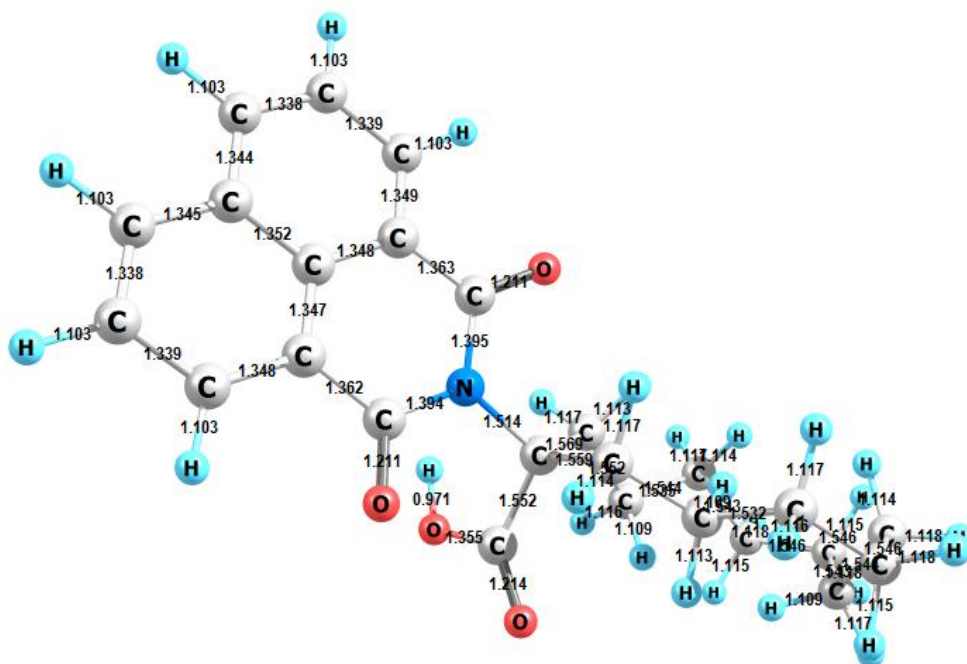


1-(1,3-диоксо-1H-бензо[de]изохиолин-2(3H)-ил)циклохептанкарбоксилна киселина (XIIЖ)

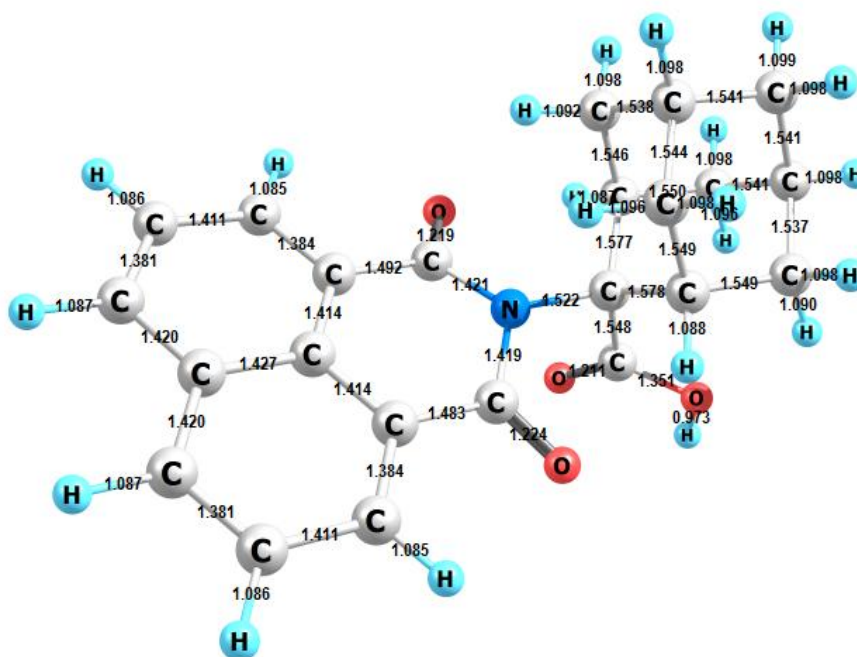


1-(1,3-диоксо-1H-бензо[de]изохиолин-2(3H)-ил)циклооктанкарбоксилна киселина (XIIЗ)

Фигура 36. Структури на съединения XIIЖ и XIIЗ, оптимизирани на теоретично ниво MP2/6-31+G(d,p). Показани са и дължините на връзките в молекулите в Å.

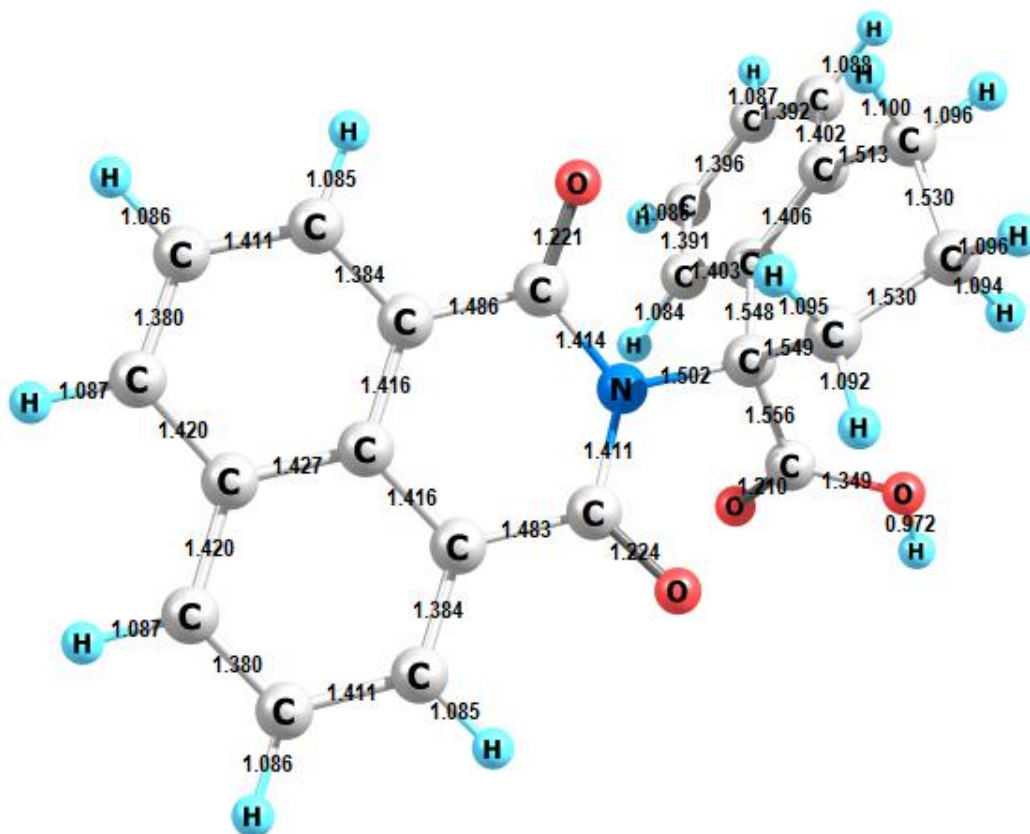


1-(1,3-диоксо-1H-бензо[de]изохинолин-2(3H)-ил)циклододекан-1-карбоксилна киселина (XIII)



2-(1,3-диоксо-1H-бензо[de]изохинолин-2(3H)-ил)-адамантан-2-карбоксилна киселина (XIV)

Фигура 37. Структури на съединения XIII и XIV, оптимизирани на теоретично ниво MP2/6-31+G(d,p). Показани са и дължините на връзките в молекулите в Å.



1-(1,3-диоксо-1H-бензо[de]изохинолин-2(3H)-ил)-1,2,3,4-тетрахидронафтален-1-карбоксилна киселина (**XIIIk**)

Фигура 38. Структура на съединение **XIIIk**, оптимизирана на теоретично ниво MP2/6-31+G(d,p). Показани са и дължините на връзките в молекулата в Å.

Бяха проведени изследвания за наличие на антимикробна активност на синтезираните 1,8-нафталимидни производни с непротеиногенни аминокарбоксилни киселини (**XIIa-XIIIk**). Като тест микроорганизми бяха използвани Грам положителните бактерии *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 и *Bacillus subtilis* ATCC 6633; Грам отрицателните бактерии *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Salmonella abony* NTCC 6017 и *Providencia rettgeri*; плесенните гъби *Penicillium chrisogenum* и *Aspergillus niger*; дрождите *Candida albicans* ATCC 10231 и *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763; фитопатогенните гъби *Fusarium oxysporum* и *Pythium ultimum* и фитопатогенната бактерия *Pseudomonas syringae*.

Антимикробното действие на веществата беше изследвано по метода дифузия в агар с използване на ямки ($\varnothing = 7 \text{ mm}$). Опитите бяха проведени върху хранителна среда Соево-казеинов агар (Scharlau) – за бактерии и Сабуро декстрозен агар (Scharlau) за дрождите и плесенните гъби, Сабуро декстрозен агар (Biolife) и Картофено декстрозен агар (Merck) за патогенни гъби при растенията, Соево-казеинов агар (Biolife) за фитопатогенни бактерии.

От всяко съединение беше приготвен 1 % разтвор с разтворител диметилсулфоксид, който беше накапван по 50 μl в ямките. След 30 min предифузия при стайна температура, петриевите блюда бяха поставени в термостат при температура 37 °C за 24 h за култивиране на бактериите; 28 °C за 24 h – за дрождите и за 72 h – за плесенните гъби. След култивирането бяха отчетени диаметрите на зоните на инхибиране на растежа в mm.

Опитите бяха извършени паралелно с контрола от разтворителя, като беше отчетено и неговото действие. Данните за антимикробната активност са средно аритметични от три измервания и са представени в таблица 15.

Таблица 15. Антимикробна активност на съединения XIIa-XIIk

Тест микроорганизъм	Диаметър на зоната на инхибиране (mm)										
	XIIa	XIIб	XIIв	XIIг	XIIд	XIIе	XIIж	XIIз	XIIи	XIIй	XIIк
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	-	6.4	-	9.2	-	6.8	-	-	6.4	-	7.9
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	-	8.4	-	10.6	-	8.0	-	-	7.6	-	9.8
<i>Salmonella abony</i> NCTC 6017	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	8.1	13.5	10.2	13.7	12.1	11.4	11.6	11.4	10.8	13.0	14.2
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	5.4	6.5	5.8	6.8	7.1	7.0	6.3	5.8	6.6	5.7	7.9
<i>Penicillium chrysogenum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pythium ultimum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas syringae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Fusarium oxysporum</i>	12	12	14	13	15	13	10	10	12	11	15
<i>Providencia rettgeri</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* - Липса на зона на инхибиране

Наблюдава се биологична активност, изразена в потискане на растежа върху агаризирана среда спрямо някои от изследваните микроорганизми. Тази биологична активност не е проявена към определена група, а към отделни видове микроорганизми. Изключение правят дрождите, към които и при двата изследвани щама (*Candida albicans* ATCC 10231 и *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763) се наблюдава потискане на растежа.

От останалите микроорганизми чувствителност към изпитваните съединения проявяват *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 и фитопатогенната гъба *Fusarium oxysporum*.

3.5. Синтез на 1,8-нафталимидни производни с 3-аминоспиро-5-хидантоини

Следващата задача, свързана с реализиране на настоящата дисертация беше проучване на взаимодействието между съответните 3-аминоспиро-5-хидантоини (IX) с 1,8-нафталенов анхидрид (XI). Проведохме синтезите съгласно методът, описан в т. 3.4., в резултат на което бяха получени заплануваните модифицирани продукти (XIII, схема 36).

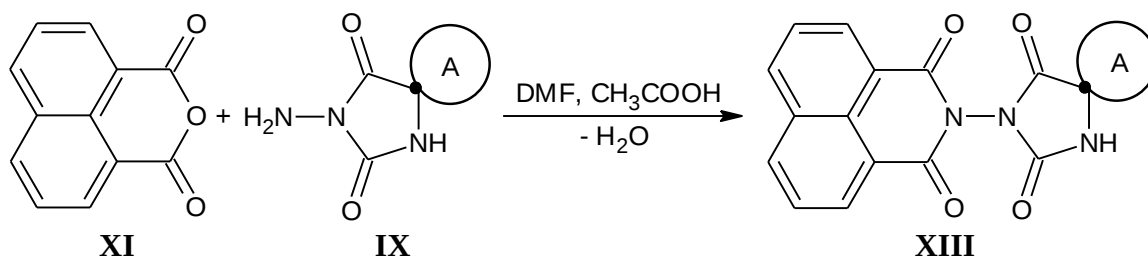
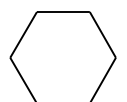
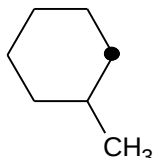


Схема 36

С цел намиране на оптималните условия на синтез, реакцията беше проведена в различни разтворители, като: етанол, 2-метоксиетанол, *N,N*-диметилформамид и ледена оцетна киселина. Установихме, че най-високи добиви на продукти се получават при използване на смес от *N,N*-диметилформамид и ледена оцетна киселина.

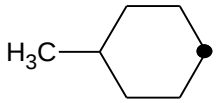
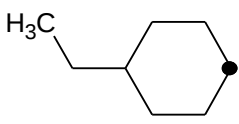
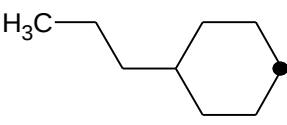
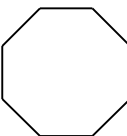
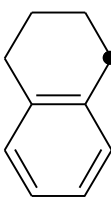
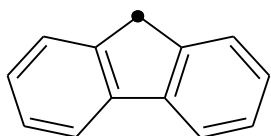
Структурата на новосинтезираните съединения (XIII) беше доказана чрез физикохимични характеристики (таблица 16), елементен анализ (таблица 17) и спектрални данни (таблицы 18 и 19), като получените резултати са посочени по-долу.

Таблица 16. Физикохимични параметри на съединения XIII

№	A	Наименование	Добив, %	Т. т., °C	R _f *
XIIIa		2-(2,4-диоксо-1,3-дiazаспиро[4.4]нонан-3-ил)-1 <i>H</i> -бензо[<i>de</i>]изохинолин-1,3(2 <i>H</i>)-дион	69	305-306	0.77
XIIIб		2-(2,4-диоксо-1,3-дiazаспиро[4.5]декан-3-ил)-1 <i>H</i> -бензо[<i>de</i>]изохинолин-1,3(2 <i>H</i>)-дион	84	360-361	0.57
XIIIв		2-(6-метил-2,4-диоксо-1,3-дiazаспиро[4.5]декан-3-ил)-1 <i>H</i> -бензо[<i>de</i>]изохинолин-1,3(2 <i>H</i>)-дион	56	266-267	0.29

* Елуентна система: бензен : етанол = 5 : 1

Таблица 16. Физикохимични параметри на съединения XIII (продължение)

№	A	Наименование	Добив, %	Т. т., °C	R _f *
XIIIг		2-(8-метил-2,4-диоксо-1,3- дiazаспиро[4.5]декан-3-ил)- 1H-бензо[de]изохинолин- 1,3(2H)-дион	75	342-343	0.62
XIIIд		2-(8-етил-2,4-диоксо-1,3- дiazаспиро[4.5]декан-3-ил)- 1H-бензо[de]изохинолин- 1,3(2H)-дион	84	333-334	0.58
XIIIе		2-(8-пропил-2,4-диоксо-1,3- дiazаспиро[4.5]декан-3-ил)- 1H-бензо[de]изохинолин- 1,3(2H)-дион	78	319-320	0.51
XIIIж		2-(2,4-диоксо-1,3- дiazаспиро[4.7]додекан-3- ил)-1H-бензо[de]изохинолин- 1,3(2H)-дион	77	301-302	0.58
XIIIз		1-(1,3-диоксо-1H- бензо[de]изохинолин-2(3H)- ил)-3',4'-дихидро-2H,2'H,5H- спиро[имидазолидин-4,1'- нафтаден]-2,5-дион	72	263-264	0.44
XIIIи		1'-(1,3-диоксо-1H- бензо[de]изохинолин-2(3H)- ил)-спиро[флуорен-9,4'- имидазолидин]-2',5'-дион	90	> 370	0.43

* Елуентна система: бензен : етанол = 5 : 1

Таблица 17. Данни от елементния анализ на съединения XIII

Съединение	Молекулна формула	Елементен анализ, %					
		Изчислено			Намерено		
		C	H	N	C	H	N
XIIIа	C ₁₉ H ₁₅ N ₃ O ₄	65.32	4.33	12.03	65.56	4.09	12.46
XIIIб	C ₂₀ H ₁₇ N ₃ O ₄	66.11	4.72	11.56	66.04	4.57	11.11
XIIIв	C ₂₁ H ₁₉ N ₃ O ₄	66.83	5.07	11.13	66.43	4.97	11.32
XIIIг	C ₂₁ H ₁₉ N ₃ O ₄	66.83	5.07	11.13	66.45	5.19	11.05
XIIIд	C ₂₂ H ₂₁ N ₃ O ₄	67.51	5.41	10.74	67.43	5.32	11.09
XIIIе	C ₂₃ H ₂₃ N ₃ O ₄	68.13	5.72	10.36	68.36	5.56	9.98

Таблица 17. Данни от елементния анализ на съединения XIII (продължение)

Съединение	Молекулна формула	Елементен анализ, %					
		Изчислено			Намерено		
		C	H	N	C	H	N
XIIIж	C ₂₂ H ₂₁ N ₃ O ₄	67.51	5.41	10.74	67.82	5.23	10.57
XIIIз	C ₂₄ H ₁₇ N ₃ O ₄	70.07	4.16	10.21	69.94	3.98	10.34
XIIIи	C ₂₇ H ₁₅ N ₃ O ₄	72.80	3.39	9.43	72.96	3.84	9.31

Таблица 18. ИЧ спектрални данни (KBr, cm⁻¹) на съединения XIII

№	ν_{NH}	ν_{CH} (аром.)	ν_{as} (CH ₂)	ν_{s} (CH ₂)	$\nu_{\text{C=O}}$	ν_{CC} (аром.)	ν_{CN} (имид)
XIIIа	3220	3074	2970	2874	1772, 1739, 1719	1591, 1513	1370
XIIIб	3301	3063	2966	2872	1771, 1740, 1709	1585, 1511	1371
XIIIв	3313	3067	2934	2871	1771, 1741, 1706	1580, 1511	1384
XIIIг	3251	3078	2924	2867	1772, 1741, 1702	1582, 1512	1371
XIIIд	3247	3068	2920	2856	1772, 1741, 1703	1592, 1511	1371
XIIIе	3255	3068	2927	2860	1772, 1737, 1703	1582, 1512	1370
XIIIж	3311	3076	2920	2855	1772, 1715, 1703	1583, 1512	1370
XIIIз	3235	3076	2935	2869	1772, 1741, 1703	1582, 1513	1370
XIIIи	3261	3038	-	-	1741, 1727, 1689	1587, 1531	1384

Таблица 19. ¹H и ¹³C ЯМР спектрални данни на съединения XIII

№	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆), δ / ppm	¹³ C ЯМР (DMSO-d ₆), δ / ppm*
XIIIа	1.81-2.14 (m, 8H, CH ₂), 7.87-8.60 (m, 6H, нафт. ядро), 9.24 (s, NH)	25.1 (CH ₂), 38.0 (CH ₂), 67.5 (C, спиро), 128.2 (CH), 133.0 (CH), 136.9 (CH), 151.9 (C=O, спирохид. пръстен), 161.0 (C=O, нафт. анх.), 174.7 (C=O, спирохид. пръстен)
XIIIб	1.37-1.90 (m, 10H, CH ₂), 7.95-8.62 (m, 6H, нафт. ядро), 9.44 (s, NH)	21.1 (CH ₂), 24.6 (CH ₂), 34.0 (CH ₂), 61.5 (C, спиро), 128.2 (CH), 133.0 (CH), 136.9 (CH), 152.1 (C=O, спирохид. пръстен), 161.0 (C=O, нафт. анх.), 173.7 (C=O, спирохид. пръстен)

* Тези отнасяния са потвърдени от DEPT-135 спектралните данни.

Таблица 19. ^1H и ^{13}C ЯМР спектрални данни на съединения XIII (продължение)

№	^1H ЯМР (DMSO-d_6), δ / ppm	^{13}C ЯМР (DMSO-d_6), δ / ppm*
XIIIв	0.95 (s, CH_3), 1.49-1.67 (m, 8H, CH_2), 2.50 (s, CH), 7.90-8.60 (m, 6H, нафт. ядро), 9.28 (s, NH)	15.9 (CH_3), 21.1 (CH_2), 25.5 (CH_2), 29.6 (CH_2), 34.7 (CH_2), 36.2 (CH), 128.1-135.9 (CH, нафт. ядро), 66.4 (C, спиро), 159.4 (C=O, спирохид. пръстен), 161.2 (C=O, нафт. анх.), 176.3 (C=O, спирохид. пръстен)
XIIIг	0.93 (s, CH_3), 1.32-1.90 (m, 8H, CH_2), 2.50 (s, CH), 7.60-8.67 (m, 6H, нафт. ядро), 9.50 (s, NH)	22.5 (CH_3), 29.2 (CH_2), 31.2 (CH), 33.8 (CH_2), 61.5 (C, спиро), 128.2 (CH), 133.0 (CH), 136.0 (CH), 137.0 (CH), 158.2 (C=O, спирохид. пръстен), 160.9 (C=O, нафт. анх.), 174.5 (C=O, спирохид. пръстен)
XIIIд	0.88 (s, CH_3), 1.25 (s, CH_2 , Et), 1.27 (CH), 1.75-2.50 (m, 8H, CH_2), 7.60-8.66 (m, 6H, нафт. ядро), 9.51 (s, NH)	11.7 (CH_3), 27.0 (CH_2), 29.4 (CH_2), 33.8 (CH_2), 37.6 (CH), 61.9 (C, спиро), 128.2 (CH), 133.0 (CH), 135.9 (CH), 136.9 (CH), 152.1 (C=O, спирохид. пръстен), 160.9 (C=O, нафт. анх.), 174.0 (C=O, спирохид. пръстен)
XIIIе	0.84 (s, CH_3), 1.15 (s, CH_2 , Pr), 1.21 (s, CH_2 , Pr), 1.28 (s, CH), 1.70-2.70 (m, 8H, CH_2), 7.58-8.60 (m, 6H, нафт. ядро), 10.45 (s, NH)	14.9 (CH_3), 21.1 (CH_2), 36.1 (CH_2), 39.3 (CH), 62.1 (C, спиро), 128.1 (CH), 133.1 (CH), 136.0 (CH), 137.1 (CH), 156.2 (C=O, спирохид. пръстен), 161.8 (C=O, нафт. анх.), 174.1 (C=O, спирохид. пръстен)
XIIIж	1.52-2.09 (m, 14H, CH_2), 7.60-8.55 (m, 8H, нафт. ядро), 9.27 (s, NH)	21.6 (CH_2), 23.9 (CH_2), 27.6 (CH_2), 32.9 (CH_2), 65.4 (C, спиро), 128.1 (CH), 133.0 (CH), 135.9 (CH), 156.1 (C=O, спирохид. пръстен), 161.0 (C=O, нафт. анх.), 185.7 (C=O, спирохид. пръстен)
XIIIз	1.94 (s, CH_2), 2.51 (CH_2), 2.87 (s, CH_2), 7.32-7.91 (m, 4H, тетрахидронафт. ядро), 7.94-8.67 (m, 6H, нафт. ядро), 9.67 (s, NH)	18.2 (CH_2), 28.9 (CH_2), 34.3 (CH_2), 65.8 (C, спиро), 159.1 (C=O, спирохид. пръстен), 161.3 (C=O, нафт. анх.), 171.4 (C=O, спирохид. пръстен)
XIIIи	7.33-7.48 (m, 8H, флуореново ядро), 7.49-8.70 (m, 6H, нафт. ядро), 10.73 (s, NH)	54.5 (C, спиро), 158.6 (C=O, спирохид. пръстен), 162.2 (C=O, нафт. анх.), 169.7 (C=O, спирохид. пръстен)

* Тези отнасяния са потвърдени от DEPT-135 спектралните данни.

Всички новосинтезирани съединения бяха (XIIIa-XIIIи) изпитани за наличие на антимикробна активност. Тестовите бяха проведени съгласно посочените в т. 3.4. условия. Получените от анализите резултати са обобщени в таблица 20.

Таблица 20. Антимикробна активност на съединения XIIIa-XIIIu

Тест микроорганизъм	Диаметър на зоната на инхибиране (mm)								
	XIII а	XIII б	XIII в	XIII г	XIII д	XIII е	XIII ж	XIII з	XIII и
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella abony</i> NCTC 6017	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	11.5	-	14.6	11.9	13.4	14.3	12.2	14.1	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	8.4	-	8.9	8.2	10.0	8.9	8.9	8.8	-
<i>Penicillium chrysogenum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	-	-	11.2	11.2	10.2	13.1	-
<i>Pythium ultimum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas syringae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Fusarium oxysporum</i>	15	15	14	15	15	14	14	16	11

* - Липса на зона на инхибиране

Както е видно от представените данни, изпитваните съединения (XIIIa-XIIIu) проявяват активност спрямо изследваните шамове дрожди (*Candida albicans* ATCC 10231 и *Saccharomyces cerevisiae*). Същото беше установено и спрямо *Fusarium oxysporum* и *Aspergillus niger*. Към изследваните бактериални шамове и изолати, активност не беше установена.

3.6. Синтез на 3-аминоциклоалканспиро-5-хидантоинови производни с биологично активни вещества

На следващ етап от изпълнение на планираните дейности, усилията ни бяха насочени към проучване на оптималните условия за синтез и получаване на нови биологично активни производни на спирохидантоини. За тази цел, осъществихме взаимодействие на 3-аминоциклохексанспиро-5-хидантоин (**IX6**) с други биологично активни вещества, с доказано приложение в медицинската практика, като например: индометацин, налидиксова киселина, 2-тиофеноцетна киселина и миристинова киселина. Реакциите проведохме в съответствие с DCC метода.

Към суспензия на 3-аминоциклохексанспиро-5-хидантоин (**IX6**) и съответното биологично активно вещество, а именно: индометацин (**XIV**, схема 37), налидиксова киселина (**XVI**, схема 38), 2-тиофеноцетна киселина (**XVIII**, схема 39) и миристинова киселина (**XX**, схема 40) в тетраhydroфуран, при разбъркване на стайна температура прибавяхме на капки *N,N*-диметилформамид до получаване на пълно разтваряне. След добавяне на *N,N'*-дициклохексилкарбодиимид (DCC) към реакционната смес, оставяхме последната да престои в продължение на 24 часа и филтрувахме. Към филтратата прибавяхме ледена оцетна киселина и разбърквахме допълнително за 2 часа. След повторно филтруване, изпарявахме разтворителя до сухо на вакуум-ротационен изпарител. Отделеният твърд остатък обработихме с петролев етер. Полученият продукт прекристализирахме из етанол.

В резултат на описаните дейности синтезирахме съответните амиди (**XV**, **XVII**, **XIX** и **XXI**), представени на схеми 37-40.

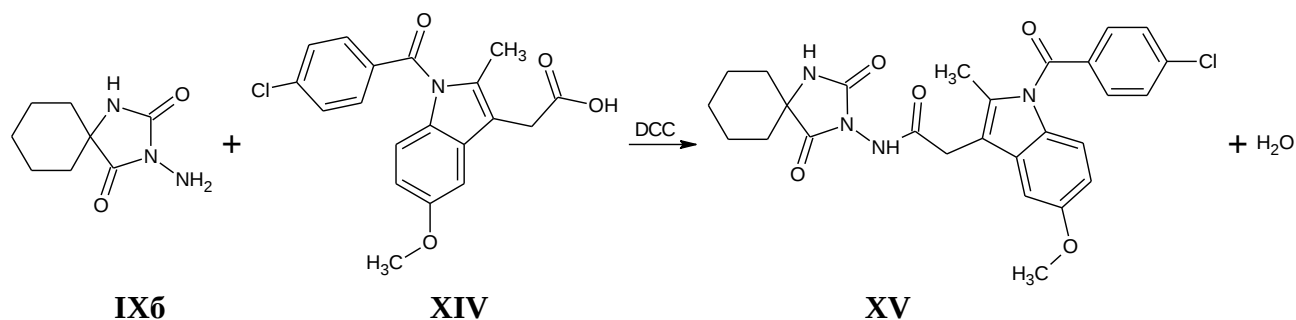


Схема 37

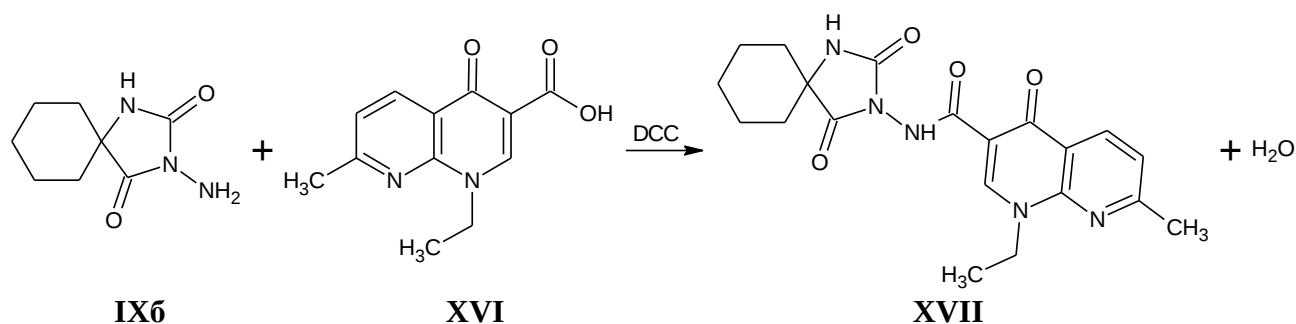


Схема 38

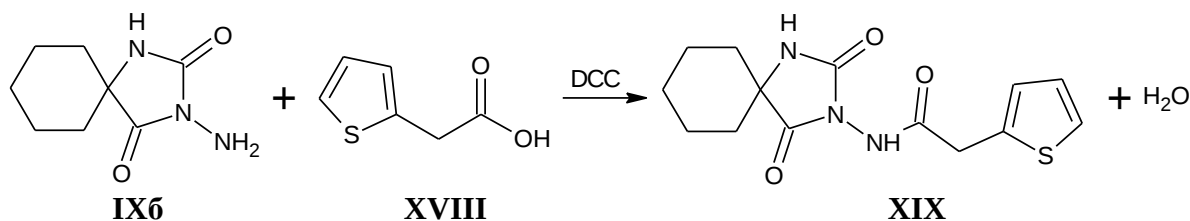


Схема 39

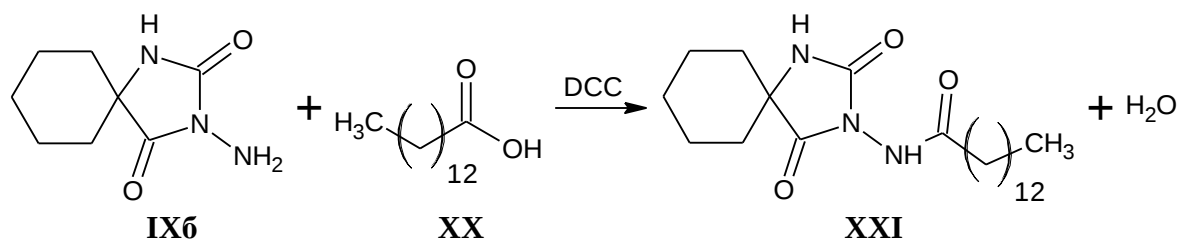


Схема 40

Получаването на съединения (**XV**, **XVII**, **XIX** и **XXI**) беше проведено на стайна температура в среда на тетраhydroфуран. Синтезът на упоменатите съединения беше осъществен чрез използване и на други подходящи разтворители като етилацетат, диоксан и ацетонитрил, но получените добиви бяха по-ниски в сравнение с използването на тетраhydroфуран. Изолираните амиди (**XV**, **XVII**, **XIX** и **XXI**) представляват от безцветни до бледожълти кристални вещества. Техните физикохимични характеристики, данни от елементарен анализ и спектрални резултати са посочени съответно в таблици 21-25.

Таблица 21. Физикохимични характеристики на съединения XV, XVII, XIX и XXI

Съединение	Молекулна формула	Добив, %	Т. т., °C	R _f *
XV	C ₂₇ H ₂₇ ClN ₄ O ₅ / 522.98	89	234-235	0.57
XVII	C ₂₀ H ₂₃ N ₅ O ₄ / 397.43	96	206-207	0.49
XIX	C ₁₄ H ₁₇ N ₃ O ₃ S / 307.37	78	147-148	0.62
XXI	C ₂₂ H ₃₉ N ₃ O ₃ / 393.56	66	82-83	0.66

* Елуентна система: етилацетат : петролев етер = 1 : 2

Таблица 22. Данни от елементния анализ на съединения XV, XVII, XIX и XXI

№	Елементарен анализ, %									
	Изчислено					Намерено				
	C	H	N	S	Cl	C	H	N	S	Cl
XV	62.01	5.20	10.71		6.78	61.84	5.11	10.59		6.61
XVII	60.44	5.83	17.62			60.27	5.73	17.55		
XIX	54.71	5.57	13.67	10.43		54.56	5.41	13.43	10.16	
XXI	67.14	9.99	10.68			66.95	9.86	10.54		

Таблица 23. ИЧ Спектрални (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}) данни на съединения XV, XVII, XIX и XXI

№	ν_{NH}	ν_{CH} (аром.)	ν_{CH} (алиф.)	$\nu_{\text{C=O}}$	$\nu_{\text{C=O}}$ (амид)	ν_{CC} (аром.)	ν_{CN}	$\nu_{2\text{-тиоф. ядро}}$
XV	3247	3007	2915	1789, 1738	1685	1596	1368	
XVII	3296		2948	1775, 1763, 1704	1701	1599	1355	
XIX	3287		2944	1763, 1738, 1715	1678	1588	1376	816
XXI	3338		2949	1765, 1736, 1712	1683		1379	

Таблица 24. ATR ($\nu_{\max}$, cm^{-1}) спектрални данни на съединения XV, XVII, XIX и XXI

№	ν_{NH}	ν_{CH} (аром.)	ν_{CH} (алиф.)	$\nu_{\text{C=O}}$	$\nu_{\text{C=O}}$ (амид)	ν_{CC} (аром.)	ν_{CN}	$\nu_{2\text{-тиоф. ядро}}$
XV	3253	3001	2926	1800, 1735	1681	1599	1372	
XVII	3300		2956	1785, 1767, 1707	1701	1601	1358	
XIX	3291		2948	1767, 1743, 1716	1683	1592	1379	825
XXI	3343		2951	1773, 1740, 1719	1679		1381	

Таблица 25. Раманови спектрални данни на съединения XV, XVII, XIX и XXI

№	$\nu_{\max}$, cm^{-1}
XV	3068, 3002, 2928, 2852, 1782, 1738, 1680, 1590, 1577, 1447, 1393, 1350, 1222, 1182, 1124, 1066, 830, 736, 663
XVII	3077, 3042, 2986, 2928, 1759, 1714, 1614, 1561, 1468, 1444, 1382, 1329, 1296, 1274, 1198, 1093, 969, 877, 781, 725, 708, 557, 539, 486, 430, 314
XIX	2966, 2919, 2898, 2864, 2849, 2833, 2716, 1758, 1672, 1456, 1361, 1290, 1257, 1188, 1117, 1053, 1018, 912, 877, 835, 801, 766, 481, 365
XXI	2956, 2925, 2901, 2881, 2860, 2848, 2726, 1767, 1680, 1468, 1372, 1296, 1267, 1195, 1127, 1064, 1028, 910, 892, 856, 807, 787, 457, 344

За нас беше интересно да получим информация относно антимикробното действие на новосинтезираните съединения срещу различни Gram-положителни и Gram-отрицателни бактерии, дрожди и плесени.

Антимикробната активност на продукти **XV**, **XVII**, **XIX** и **XXI** беше определена срещу Gram-положителните бактерии *Staphylococcus aureus* ATCC6538 и *Bacillus subtilis* ATCC 6633, Gram-отрицателните бактерии *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 and *Salmonella abony* NTCC 6017, дрождите *Candida albicans* ATCC 10231 и *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 и плесенните гъби *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger* и *Fusarium moniliforme*.

Тестовите бяха проведени чрез използване на метода дифузия в агар с използване на ямки ($\varnothing = 7 \text{ mm}$). Опитите бяха извършени върху хранителна среда Соево-казеинов агар (Scharlau) – за бактерии и Сабуро декстрозен агар (Scharlau) за дрождите и плесенните гъби.

От всяко съединение беше приготвен разтвор в етиленгликол (0.5, 1, 2 и 5 %), който беше накапван по 50 μl в ямките. След 30 min предифузия при стайна температура, петриевите блюда бяха поставени в термостат при температура 37 °C за 24 h за култивиране на бактериите; 28 °C за 24 h – за дрождите и за 72 h – за плесенните гъби. След култивирането бяха отчетени диаметрите на зоните на инхибиране на растежа в mm.

Опитите бяха извършени паралелно с контрола от разтворителя, като беше отчетено и неговото действие. Данните за антимикробната активност са средно аритметични от три измервания. Получените резултати от микробиологичните анализи са посочени в таблица 26.

Таблица 26. Антимикробна активност на съединения XV, XVII, XIX и XXI

Микроорганизъм	Зона на инхибиране (mm)															
	Концентрация на продукт XV (mg/ml)				Концентрация на продукт XVII (mg/ml)				Концентрация на продукт XIX (mg/ml)				Концентрация на продукт XXI (mg/ml)			
	0.5	1	2	5	0.5	1	2	5	0.5	1	2	5	0.5	1	2	5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	-	-	-	-	-	13.3	16.9	20.8	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	-	-	-	-	-	18.9	19.7	26.8	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	-	-	-	-	-	15.4	17.3	23.1	-	-	-	13.1	-	-	-	13.4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	-	-	-	-	-	13.7	16.0	20.2	-	-	-	14.6	-	-	-	14.3
<i>Salmonella abony</i> NTCC 6017	-	-	-	-	-	13.7	14.4	20.0	-	-	-	12.7	-	-	-	10.3

* - Липса на зона на инхибиране

3-Аминоциклохексанспиро-5-хидантоин (**IX6**), индометацин (**XIV**), 2-тиофеноцетна киселина (**XVIII**) и миристинова киселина (**XX**) не притежават антимикробна активност. Налидиксовата киселина (**XVI**), известна като средство при лечение на инфекции на пикочните пътища, има изразено бактериостатично действие срещу Gram-положителни бактерии. Амидите, представени в това проучване (**XV**, **XVII**, **XIX** и **XXI**) не проявиха активност срещу тестваните дрожди и плесени. Посочените в таблица 26 резултати показват наличие на слаба антибактериална активност на

съединения XIX и XXI и липса на такова действие на съединение XV. За разлика от посочените примери, изключително важно действие беше установено относно съединение XVII (в концентрация над 1 mg/ml), което прояви ясно изразена антимикробна активност едновременно срещу тестваните Gram-положителни и Gram-отрицателни бактерии.

Следващата ни цел беше да синтезираме модифицирани продукти между 3-аминоциклоалканспиро-5-хидантоини и биологично активното съединение алрестатин, принадлежащо към групата на алдозоредуктазните инхибитори. Алрестатинът / (1,3-диоксо-1H-бензо[de]изохинолин-2(3H)-ил)оцетна киселина/ (XXIII) беше получен при взаимодействие на 1,8-нафталенов анхидрид (XI) и глицин (XXII) съгласно схема 41. Реакцията беше проведена чрез нагряване при кипене на обратен хладник на реактантите в смес от N,N-диметилформаид и ледена оцетна киселина в продължение на 8 часа. След охлаждане до стайна температура и изливане на реакционната смес в ледена вода изолирахме съединение XXIII. Продуктът беше прекристализиран из ледена оцетна киселина.

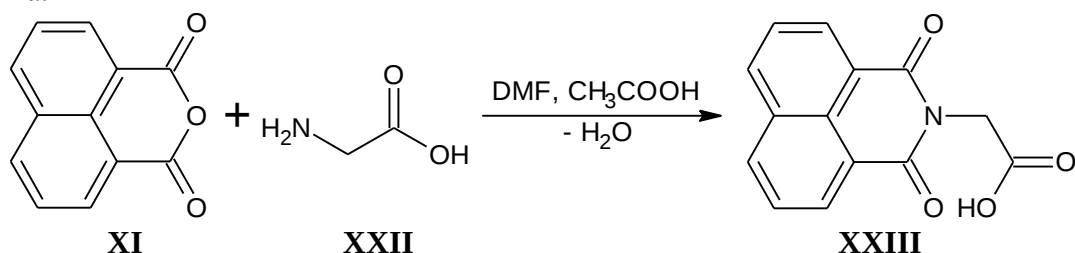


Схема 41

Полученият алрестатин (XXIII) подложихме на взаимодействие със съответните 3-аминоциклоалканспиро-5-хидантоини (IX) в среда от тетраhydroфуран и N,N-диметилформаид съгласно DCC метода (схема 42). В резултат на това синтезирахме съответните модифицирани продукти XXIV. Структурата на съединенията беше потвърдена чрез физикохимични показатели (таблица 27), елементен анализ (таблица 28) и спектрални данни (таблица 29).

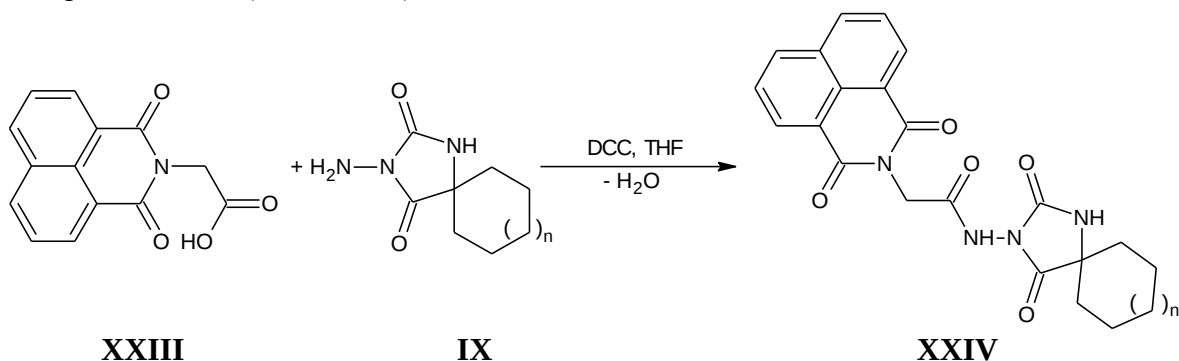


Схема 42

Таблица 27. Физикохимични параметри на съединения XXIV

№	n	Наименование	Добив, %	Т. т., °C	R _f *
XXIVa	0	2-(1,3-диоксо-1H-бензо[de]изохинолин-2(3H)-ил)-N-(2,4-диоксо-1,3-дiazаспиро[4.4]нонан-3-ил)ацетамид	58	206-207	0.57
XXIVb	1	2-(1,3-диоксо-1H-бензо[de]изохинолин-2(3H)-ил)-N-(2,4-диоксо-1,3-дiazаспиро[4.5]декан-3-ил)ацетамид	69	189-190	0.63

* Елуентна система: етилацетат : петролев етер = 1 : 2

Таблица 28. Данни от елементния анализ на съединения XXIV

Съединение	Молекулна формула	Елементен анализ, %					
		Изчислено			Намерено		
		C	H	N	C	H	N
XXIVa	C ₂₁ H ₁₈ N ₄ O ₅	62.06	4.46	13.79	62.35	4.23	13.57
XXIVб	C ₂₂ H ₂₀ N ₄ O ₅	62.85	4.79	13.33	62.55	4.45	13.49

Таблица 29. ИЧ спектрални данни (KBr, cm⁻¹) на съединения XXIV

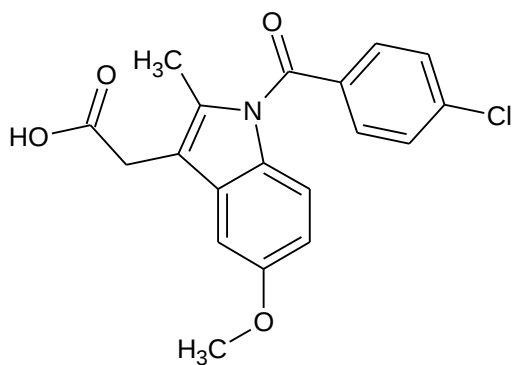
№	ν_{NH}	ν_{CH} (аром.)	ν_{as} (CH ₂)	ν_s (CH ₂)	$\nu_{C=O}$ (амид)	$\nu_{C=O}$	ν_{CC} (аром.)	ν_{CN} (имид)
XXIVa	3328	3065	2933	2854	1698	1775, 1660	1590, 1537	1380
XXIVб	3328	3066	2933	2853	1696	1766, 1658	1590, 1537	1380

3.7. Синтез на 3-аминоспирохидантоинови производни с индометацин

Известно е, че нестероидните противовъзпалителни средства намират широко приложение в медицината при лечение на възпалителни процеси от различно естество. Основният механизъм, по който тези лекарствени средства осъществяват действието си е инхибиране на двата изоензима на циклооксигеназата (COX) - COX1 и COX2. По този начин се потиска синтезирането и намаляване количеството на простагландините, което се повишава при възпаление. Независимо от многобройните странични ефекти на лекарствата от тази група (аспирин, парацетамол, индометацин, ибупрофен, диклофенак, и т.н.), те често се използват в случаи на остри и хронични възпалителни заболявания поради значителния им терапевтичен ефект.

Различни заместени хидантоини и техни производни са показали множество биологични ефекти, включително инхибиране на алергични реакции, медириани от серотонинергичните, холинергичните, адренергичните, допаминергичните медиаторни системи. Spiroхидантоинови производни са синтезирани интензивно и изследвани като лекарства и за психични заболявания - шизофрения, тревожност или депресия, а също и като антитуморни средства. Някои от тях показват добра ефективност при потискането на възпалителните процеси, съпътстващи алергични заболявания като астма, алергичен ринит и атопичен дерматит. Установено е също така, че индометацинът и спирохидантоиновите производни имат донякъде сходен механизъм при потискането на алергични възпалителни процеси.

По тази причина, освен дискутираният вече продукт **XV**, допълнително синтезирахме серия нови амиди, въз основа на взаимодействието на различни 3-аминоспирохидантоини и 3-амино-5-метил-5-фенилимидазолидин-2,4-дион с индометацин (фигура 39), с цел получаване на продукти с потенциално противовъзпалително действие. Реакциите проведохме по DCC метода, съгласно схема 43.



Фигура 39. Индометацин /Indometacin (INN, BAN), Indomethacin (AAN, USAN, BAN)/
/2-[1-(4-хлоробензоил)-5-метокси-2-метил-индол-3-ил] оцетна киселина/

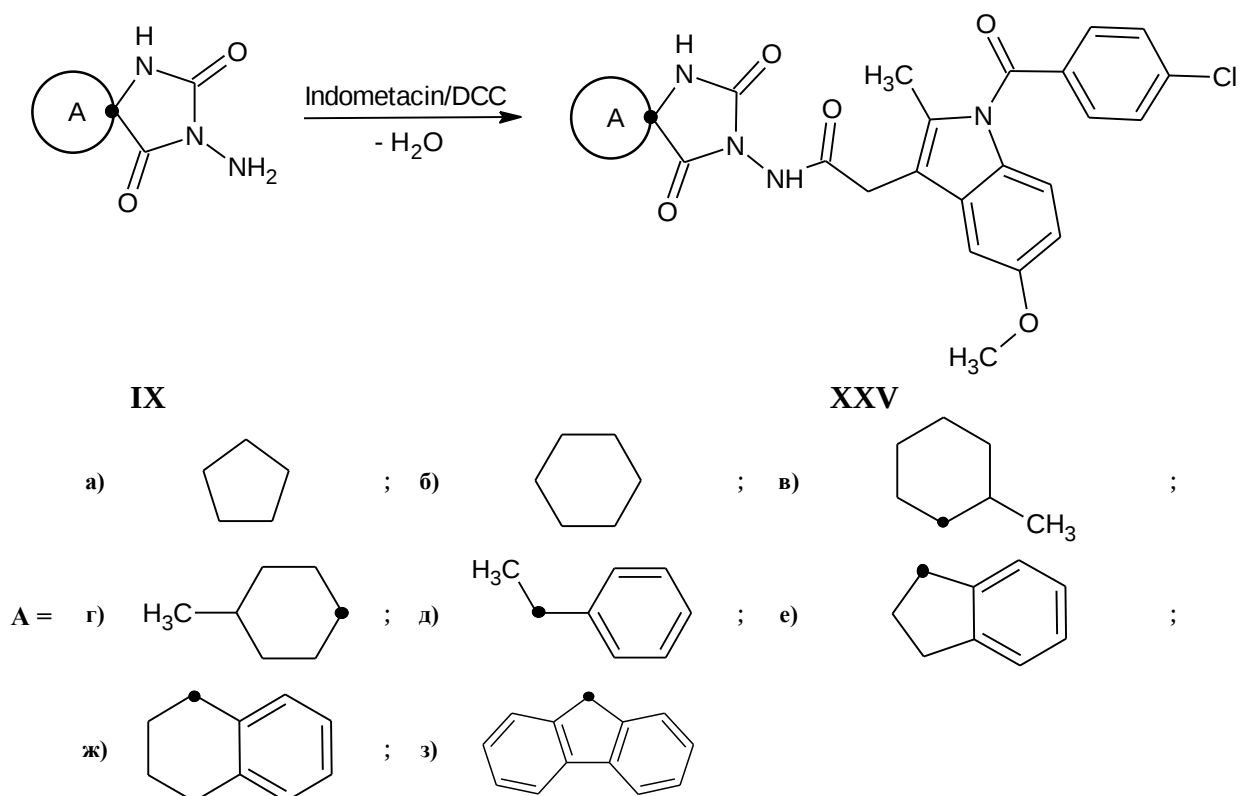


Схема 43

Физикохимичните параметри, FTIR-ATR, Рамановите и ЯМР спектралните данни на синтезираните съединения (**XXVa-XXVz**) са посочени в Таблицы 30-33.

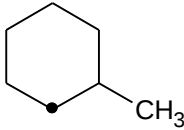
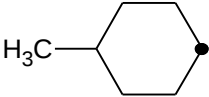
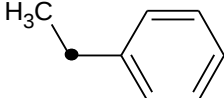
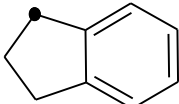
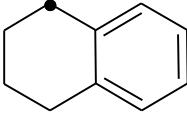
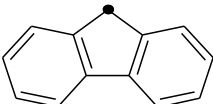
Таблица 30. Физикохимични параметри на съединения **XXVa-XXVz**

№*	A	Систематично наименование	Добив, %	Т.т., °C	Rf**
XXVa		2-[1-(4-хлоробензоил)-5-метокси-2-метил-1 <i>H</i> -индол-3-ил]- <i>N</i> -(2,4-диоксо-1,3-дiazаспиро[4.4]нонан-3-ил) ацетамид	85	224-225	0.65
XXVб (XV)		2-[1-(4-хлоробензоил)-5-метокси-2-метил-1 <i>H</i> -индол-3-ил]- <i>N</i> -(2,4-диоксо-1,3-дiazаспиро[4.5]декан-3-ил) ацетамид	89	234-235	0.57

* Номерацията на съединения е в съответствие със схема 43.

** Елуентна система: етилацетат: петролев етер = 1 : 2.

Таблица 30. Физикохимични параметри на съединения XXVa-XXVз (продължение)

№*	A	Систематично наименование	Добив, %	Т.т., °C	R _f **
XXVв		2-[1-(4-хлоробензоил)-5-метокси-2-метил-1H-индол-3-ил]-N-(6-метил-2,4-диоксо-1,3-дiazаспиро[4.5]декан-3-ил)ацетамид	83	188-189	0.45
XXVг		2-[1-(4-хлоробензоил)-5-метокси-2-метил-1H-индол-3-ил]-N-(8-метил-2,4-диоксо-1,3-дiazаспиро[4.5]декан-3-ил)ацетамид	92	236-237	0.52
XXVд		2-[1-(4-хлоробензоил)-5-метокси-2-метил-1H-индол-3-ил]-N-(4-метил-2,5-диоксо-4-фенилимидазолидин-1-ил)ацетамид	94	148-149	0.63
XXVe		2-[1-(4-хлоробензоил)-5-метокси-2-метил-1H-индол-3-ил]-N-(2,5-диоксо-2',3'-дихидроспиро [имидазолидин-4,1'инден]-1-ил)-ацетамид	87	186-187	0.54
XXVж		2-[1-(4-хлоробензоил)-5-метокси-2-метил-1H-индол-3-ил]-N-(2,5-диоксо-3',4'-дихидро-2'H-спиро [имидазолидин-4,1'-нафтаден]-1-ил)ацетамид	91	207-208	0.51
XXVз		2-[1-(4-хлоробензоил)-5-метокси-2-метил-1H-индол-3-ил]-N-(2',5'-диоксоспиро [флуорен-9,4'-имидазолидин]-1'-ил)ацетамид	84	181-182	0.46

* Номерацията на съединения е в съответствие със схема 43.

** Елуентна система: етилацетат: петролев етер = 1 : 2.

Таблица 31. FTIR-ATR спектрални данни (cm⁻¹) на съединения XXVa-XXVз

№	ν _{NH}	ν _{CH} (аром.)	ν _{aliph.}		ν _{C=O}	ν _{C=O} (амид)	ν _{CC} (аром.)	ν _{CN}
			ν _{as}	ν _s				
XXVa	3279	3022	2933	2854	1798, 1736, 1706	1681	1596	1371
XXVб (XV)*	3253	3001	2926	2856	1800, 1735, 1705	1681	1599	1372
XXVв	3165	3057	2932	2859	1766, 1731, 1708	1647	1590	1343

Таблица 31. FTIR-ATR спектрални данни (cm^{-1}) на съединения XXVa-XXVз (продължение)

№	ν_{NH}	ν_{CH} (аром.)	$\nu_{\text{aliph.}}$		$\nu_{\text{C=O}}$	$\nu_{\text{C=O}}$ (амид)	$\nu_{\text{C=C}}$ (аром.)	ν_{CN}
XXVГ	3266	3019	2929	2856	1786, 1727, 1683	1656	1591	1356
XXVД	3280	3015	2930	2857	1795, 1741, 1692	1678	1595	1369
XXVe	3221	3008	2931	2852	1794, 1737, 1715	1690	1592	1378
XXVЖ	3223	3014	2931	2855	1792, 1737, 1715	1687	1593	1379
XXVЗ	3282	3018	2930	2853	1798, 1740, 1687	1660	1573	1358

Таблица 32. Раманови спектрални данни (cm^{-1}) на съединения XXVa-XXVз

№	mW	$\nu_{\text{max}}, \text{cm}^{-1}$
XXVa	250	3069, 2930, 1679, 1591, 1446, 1372, 1259, 1224, 1150, 1089, 831, 756, 412
XXVБ (XV)	200	3068, 3002, 2928, 2852, 1782, 1738, 1680, 1590, 1577, 1447, 1393, 1350, 1222, 1182, 1124, 1066, 830, 736, 663
XXVB	250	3072, 2930, 1728, 1689, 1680, 1649, 1616, 1580, 1457, 1395, 1226, 1093, 742, 413
XXVГ	200	3070, 2932, 1682, 1651, 1610, 1458, 1396, 1369, 1356, 1223, 1090, 739, 411
XXVД	500	3069, 2929, 1693, 1679, 1613, 1579, 1456, 1396, 1369, 1089, 904, 754, 401
XXVe	250	3068, 2932, 1667, 1652, 1620, 1591, 1447, 1394, 1366, 1226, 1090, 758, 409
XXVЖ	200	3068, 2929, 1787, 1651, 1626, 1593, 1580, 1459, 1434, 1387, 1266, 1177, 1090, 973, 760, 741, 402
XXVЗ	200	3070, 2945, 1672, 1648, 1610, 1583, 1458, 1395, 1372, 1229, 1089, 739, 416

Таблица 33. ЯМР спектрални данни на съединения XXVa-XXVз

№	^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$), δ / ppm
XXVa	1.22-1.73 (m, 4H, CH_2), 2.15 (s, 3H, CH_3), 3.74 (s, 3H, CH_3), 6.68-7.58 (m, 7H, CH), 7.70 (s, 1H, NH, урея), 8.79 (s, 1H, NH, втор. амид)
XXVБ	1.39-1.86 (m, 10H, CH_2), 2.22 (s, 3H, CH_3), 3.38 (s, 3H, CH_3), 6.16-6.77 (m, 3H, CH, индол), 7.43-7.64 (m, 4H, CH, бензен), 7.83 (s, 1H, NH, карбамид), 8.95 (s, 1H, NH, втор. амид)

Таблица 33. ЯМР спектрални данни на съединения XXVa-XXVz (продължение)

XXVb	1.08 (s, 3H, CH ₃), 1.42-1.95 (m, 8H, CH ₂ , циклохексан), 2.29 (s, 3H, CH ₃), 2.47 (s, 2H, CH, циклохексан), 3.30 (s, 2H, CH ₂), 3.76 (s, 3H, CH ₃), 6.18-6.73 (m, 3H, CH, индол), 7.42-7.68 (m, 4H, CH, бензен), 7.87 (s, 1H, NH, карбамид), 9.10 (s, 1H, NH, втор. амид)
XXVг	1.11 (s, 3H, CH ₃), 1.54 (s, 1H, CH, циклохексан), 1.38-1.89 (m, 8H, CH ₂ , циклохексан), 2.33 (s, 3H, CH ₃), 3.35 (s, 2H, CH ₂), 3.82 (s, 3H, CH ₃), 6.29-6.81 (m, 3H, CH, индол), 7.48-7.76 (m, 4H, CH, бензен), 7.94 (s, 1H, NH, карбамид), 10.2 (s, 1H, NH, втор. амид)
XXVд	1.85 (s, 3H, CH ₃), 2.23 (s, 3H, CH ₃), 3.55 (s, 2H, CH ₂), 3.74 (s, 3H, CH ₃), 6.56-7.02 (m, 7H, CH), 7.49 (m, 5H, CH), 7.71 (s, 1H, NH, карбамид), 8.84 (s, 1H, NH, втор. амид)
XXVe	2.25 (s, 3H, CH ₃), 2.49 (s, 2H, CH ₂ , индан), 3.02 (s, 2H, CH ₂ , индан), 3.43 (s, 2H, CH ₂), 6.68-6.91 (m, 3H, CH, индол), 7.24-7.36 (m, 4H, CH, индан), 7.41-7.63 (m, 4H, CH, бензен), 7.87 (s, 1H, NH, карбамид), 8.58 (втор. амид)
XXVж	1.51 (s, 2H, CH ₂ , 1,2,3,4-тетрахидронафтаден), 1.72 (s, 3H, CH ₃), 2.07 (s, 2H, CH ₂ , 1,2,3,4-тетрахидронафтаден), 2.73 (s, 2H, CH ₂ , 1,2,3,4-тетрахидронафтаден), 3.01 (s, 2H, CH ₂), 3.75 (s, 3H, CH ₃), 6.13-6.92 (m, 3H, CH, индол), 6.95-7.15 (m, 4H, CH, 1,2,3,4-тетрахидронафтаден), 7.20-7.61 (m, 4H, CH, бензен), 7.94 (s, 1H, NH, карбамид), 8.99 (s, 1H, NH, втор. амид)
XXVз	2.15 (s, 3H, CH ₃), 3.27 (s, 2H, CH ₂), 3.76 (s, 3H, CH ₃), 6.22-6.71 (m, 3H, CH, индол), 7.39-7.47 (m, 4H, CH, бензен), 7.31-7.88 (m, 8H, CH, флуорен), 8.11 (s, 1H, NH, карбамид), 9.8 (s, 1H, NH, втор. амид)
¹³C ЯМР (DMSO-d₆), δ / ppm	
XXVa	191.1 (C=O), 175.7 (C=O, амид), 168.4 (C=O, спирохид. пръстен), 156.1 (C=O, спирохид. пръстен), 138.1 (CH, индол), 136.1 (CH, индол), 134.5 (CH, бензен), 129.3 (CH, бензен), 113.3 (CH, индол), 66.5 (спиро C-атом), 55.8 (CH ₃), 29.2 (CH ₂), 25.8 (CH ₂), 25.1 (CH ₂), 13.7 (CH ₃)
XXVб	189.9 (C=O), 176.6 (C=O, амид), 165.7 (C=O, спирохид. пръстен), 156.4 (C=O, спирохид. пръстен), 132.2 (CH, бензен), 139.6 (CH, бензен), 114.4 (CH, индол), 108.3 (CH, индол), 104.9 (CH, индол), 62.4 (спиро C-атом), 56.3 (CH ₃), 33.1 (CH ₂ , циклохексан), 29.2 (CH ₂ , циклохексан), 26.9 (CH ₂ , циклохексан), 19.8 (CH ₂ , циклохексан), 13.4 (CH ₃)
XXVв	192.3 (C=O), 178.6 (C=O, амид), 167.6 (C=O, спирохид. пръстен), 158.2 (C=O, спирохид. пръстен), 132.6 (CH, бензен), 129.6 (CH, бензен), 114.3 (CH, индол), 108.3 (CH, индол), 104.5 (CH, индол), 69.1 (спиро C-атом), 58.8 (CH ₃), 35.4 (CH, циклохексан), 30.8 (CH ₂ , циклохексан), 27.2 (CH ₂ , циклохексан), 25.3 (CH ₂ , циклохексан), 20.5 (CH ₂ , циклохексан), 17.4 (CH ₂), 13.2 (CH ₃)

Таблица 33. ЯМР спектрални данни на съединения XXVa-XXVz (продължение)

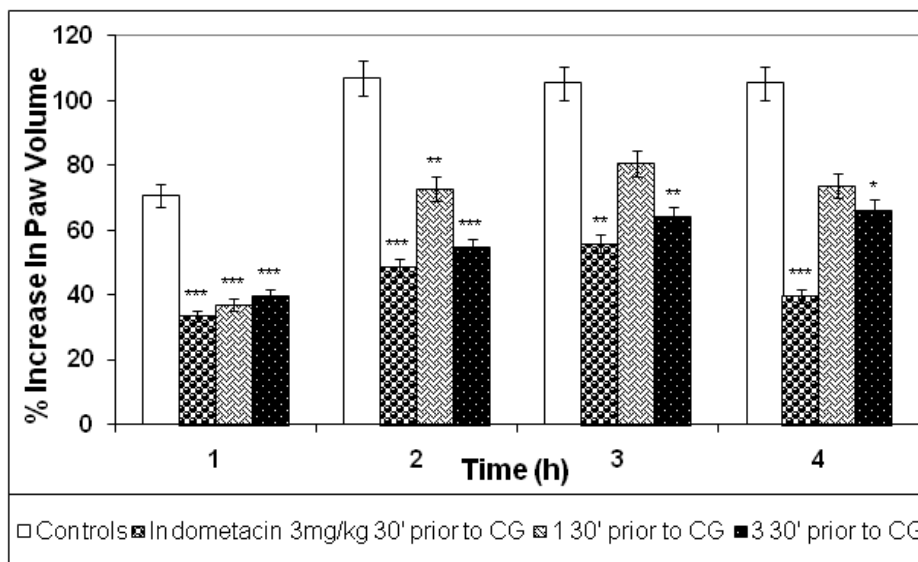
XXVг	195.2 (C=O), 178.6 (C=O, спирохид. пръстен), 171.3 (C=O, амид), 158.2 (C=O, спирохид. пръстн), 133.4 (CH, бензен), 130.6 (CH, бензен), 115.4 (CH, индол), 110.1 (CH, индол), 105.7 (CH, индол), 64.1 (спиро C-атом), 58.3 (CH ₃), 31.6 (CH ₂ , циклохексан), 29.4 (CH ₂), 28.6 (CH, циклохексан), 26.4 (CH ₂ , циклохексан), 19.3 (CH ₃), 14.1 (CH ₃)
XXVд	188.1 (C=O), 172.6 (C=O, амид), 168.4 (C=O, хид. пръстен), 156.1 (C=O, хид. пръстен), 138.1 (CH, индол), 135.6 (CH, индол), 134.6 (CH, бензен), 131.6 (CH, бензен), 131.2 (CH, бензен), 130.6 (CH, бензен), 115.0 (CH, бензен), 111.7 (CH, индол), 68.3 (C), 55.8 (CH ₃), 29.9 (CH ₂), 25.3 (CH ₃), 13.6 (CH ₃)
XXVe	190.5 (C=O), 172.3 (C=O, амид), 167.9 (C=O, спирохид. пръстен), 158.2 (C=O, спирохид. пръстен), 132.3 (CH, бензен), 130.6 (CH, бензен), 129.5 (CH, индан), 126.3 (CH, индан), 115.5 (CH, индол), 108.3 (CH, индол), 106.1 (CH, индол), 68.5 (спиро C-атом), 55.8 (CH ₃), 32.1 (CH ₂ , индан), 25.8 (CH ₂ , индан), 24.8 (CH ₂ , алиф.), 13.7 (CH ₃)
XXVж	189.6 (C=O), 174.1 (C=O, амид), 168.4 (C=O, спирохид. пръстен), 157.8 (C=O, спирохид. пръстен), 138.2 (CH, бензен), 136.1 (CH, бензен), 134.5 (CH, 1,2,3,4-тетрахидронафтален), 131.7 (CH, 1,2,3,4-тетрахидронафтален), 130.7 (CH, индол), 129.5 (CH, индол), 112.3 (CH, индол), 65.2 (спиро C-атом), 55.8 (CH ₃), 39.6 (CH ₂ , 1,2,3,4-тетрахидронафтален), 39.4 (CH ₂ , 1,2,3,4-тетрахидронафтален), 29.5 (CH ₂ , 1,2,3,4-тетрахидронафтален), 27.6 (CH ₂), 13.7 (CH ₃)
XXVз	192.6 (C=O), 171.3 (C=O, амид), 168.2 (C=O, спирохид. пръстен), 158.4 (C=O, спирохид. пръстен), 132.3 (CH, бензен), 130.1 (CH, бензен), 129.2 (CH, флуорен), 128.4 (CH, флуорен), 127.1 (CH, флуорен), 125.9 (CH, флуорен), 113.3 (CH, индол), 108.4 (CH, индол), 104.3 (CH, индол), 67.2 (спиро C-атом), 56.6 (CH ₃), 29.4 (CH ₂), 12.8 (CH ₃)
¹³C DEPT 135 (DMSO-d₆), δ / ppm	
XXVa	138.1 (CH, индол), 136.1 (CH, индол), 134.5 (CH, бензен), 129.3 (CH, бензен), 113.3 (CH, индол), 55.8 (CH ₃), 29.2 (CH ₂), 25.8 (CH ₂), 25.1 (CH ₂), 13.7 (CH ₃)
XXVб	132.2 (CH, бензен), 139.6 (CH, бензен), 114.4 (CH, индол), 108.3 (CH, индол), 104.9 (CH, индол), 56.3 (CH ₃), 33.1 (CH ₂ , циклохексан), 29.2 (CH ₂ , циклохексан), 26.9 (CH ₂ , циклохексан), 19.8 (CH ₂ , циклохексан), 13.4 (CH ₃)
XXVв	132.6 (CH, бензен), 129.6 (CH, бензен), 114.3 (CH, индол), 108.3 (CH, индол), 104.5 (CH, индол), 58.8 (CH ₃), 35.4 (CH, циклохексан), 30.8 (CH ₂ , циклохексан), 27.2 (CH ₂ , циклохексан), 25.3 (CH ₂ , циклохексан), 20.5 (циклохексан), 17.4 (CH ₂), 13.2 (CH ₃)
XXVг	133.4 (CH, бензен), 130.6 (CH, бензен), 115.4 (CH, индол), 110.1 (CH, индол), 105.7 (CH, индол), 58.3 (CH ₃), 31.6 (CH ₂ , циклохексан), 29.4 (CH ₂), 28.6 (CH, циклохексан), 26.4 (CH ₂ , циклохексан), 19.3 (CH ₃), 14.1 (CH ₃)

Таблица 33. ЯМР спектрални данни на съединения XXVa-XXVz (продължение)

XXVд	138.1 (CH, индол), 135.6 (CH, индол), 134.6 (CH, бензен), 131.6 (CH, бензен), 131.2 (CH, бензен), 130.6 (CH, бензен), 115.0 (CH, бензен), 111.7 (CH, индол), 55.8 (CH ₃), 29.9 (CH ₂), 25.3 (CH ₃), 13.6 (CH ₃)
XXVe	132.3 (CH, бензен), 130.6 (CH, бензен), 129.5 (CH, индан), 126.3 (CH, индан), 115.5 (CH, индол), 108.3 (CH, индол), 106.1 (CH, индол), 55.8 (CH ₃), 32.1 (CH ₂ , индан), 25.8 (CH ₂ , индан), 24.8 (CH ₂ , алиф.), 13.7 (CH ₃)
XXVж	138.2 (CH, бензен), 136.1 (CH, бензен), 134.5 (CH, 1,2,3,4-тетрахидронафтален), 131.7 (CH, 1,2,3,4-тетрахидронафтален), 130.7 (CH, индол), 129.5 (CH, индол), 112.3 (CH, индол), 55.8 (CH ₃), 39.6 (CH ₂ , 1,2,3,4-тетрахидронафтален), 39.4 (CH ₂ , 1,2,3,тетрахидронафтален), 29.5 (CH ₂ , 1,2,3,4-тетрахидронафтален), 27.6 (CH ₂), 13.7 (CH ₃)
XXVз	132.3 (CH, бензен), 130.1 (CH, бензен), 129.2 (CH, флуорен), 128.4 (CH, флуорен), 127.1 (CH, флуорен), 125.9 (CH, флуорен), 113.3 (CH, индол), 108.4 (CH, индол), 104.3 (CH, индол), 56.6 (CH ₃), 29.4 (CH ₂), 12.8 (CH ₃)

Противовъзпалителното действие на съединения **XXVa-XXVз** беше изследвано върху мъжки полове зрели плъхове от линия Wistar (160-200 g), като използвахме модел на карагенан-предизвикано възпаление на плъхове. Повечето новосинтезирани съединения показаха противовъзпалително действие, но тяхната ефикасност не е по-голяма от тази на индометацина.

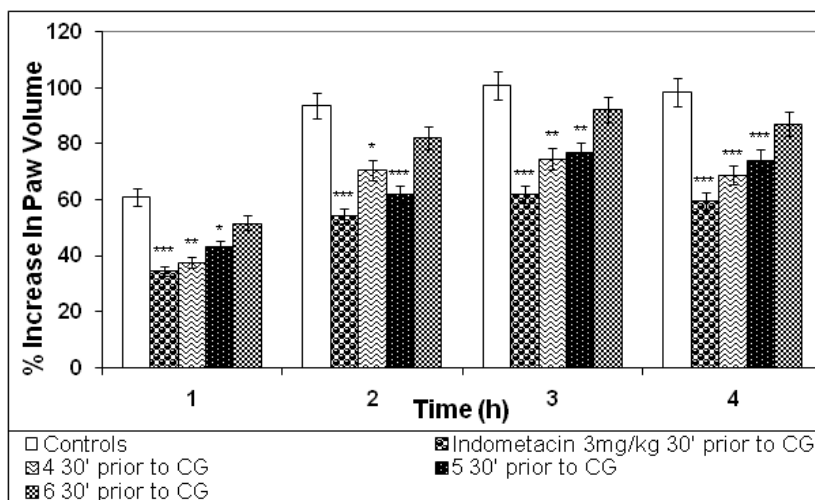
Противовъзпалителните ефекти на съединения **XXVa-XXVз** върху остро периферно възпаление са представени на фигури 40-42.



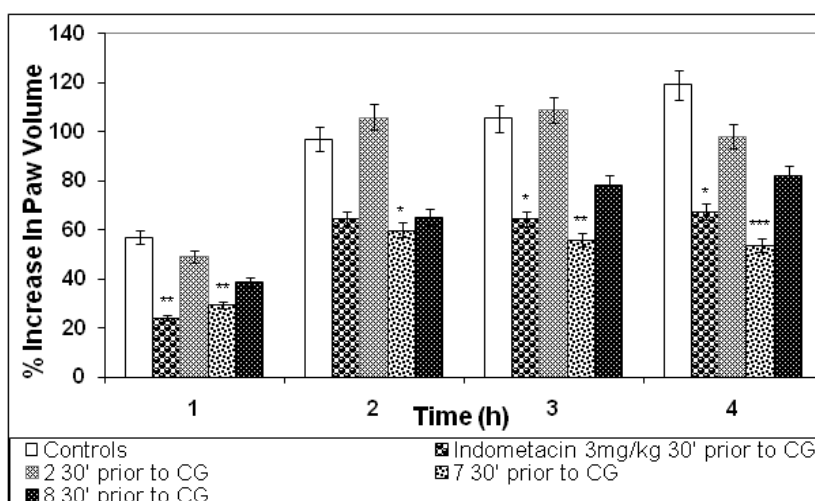
Фигура 40. Противовъзпалителен ефект на индометацин (3 mg/kg) и неговите производни 1 (XXVa) и 3 (XXVв) в дози еквимоларни на индометацин, приложен 30 min преди карагенана (CG). Данните представляват средната стойност $\pm$ SEM от 5-7 животни.

Наличието на C5-пръстен към спирохидантоиновата част (продукт **XXVa**) не повишава противовъзпалителните свойства на индометацина. Приложен в дози, еквимоларни на 3 mg/kg индометацин, продукт **XXVa** намалява обема на лапата значително в сравнение с контролата през първите 120 min от наблюдението, но ефектът до края на експеримента не е статистически достоверен.

Уголемяването на пръстена (C6 вместо C5) в спирохидантоиновия остатък премахва напълно противовъзпалителния ефект (съединение **XXVb**, фигура 42). Съединението не повлиява нарастването на отока, предизвикано от карагенан, като увеличаването на обема на възпалената лапа не се различава от това в контролната група.



Фигура 41. Противовъзпалителен ефект на индометацин (3 mg/kg) и неговите производни - 4 (**XXV₂**), 5 (**XXV₀**) и 6 (**XXV_e**) в дози еквимоларни на индометацина, приложен 30 min преди карагенана (CG). Данните представляват средната стойност $\pm$ SEM от 5-7 животни.



Фигура 42. Противовъзпалителен ефект на индометацин (3 mg/kg) и неговите производни - 2 (**XXV₆**), 7 (**XXV_ж**) и 8 (**XXV_з**) в дози еквимоларни на индометацина, приложен 30 min преди карагенана (CG). Стойностите представляват средната стойност $\pm$ SEM от 5-7 животни.

Експериментите показват, че въвеждането на метилов остатък в C6 пръстена (съединения **XXVb** и **XXVg**) възстановява инхибиторния потенциал на тези

новосинтезирани производни и води до ефекти сравними с тези на еквимоларно количество индометацин. Нашите изследвания показаха също, че степента на потискане не зависи от положението на метиловия остатък. Процентите на инхибиране при двата изомера бяха много подобни през целия период на наблюдение. Резултатите ни дават основание да предположим, че метиловата група води до конформационни промени, повлияващи активността.

При втората група съединения (**XXVд-XXXVз**), продукти **XXVe** и **XXVз**, в дози еквивалентни на 3 mg/kg индометацин, показват тенденция към незначително намаляване на обема на възпалената лапа, докато съединение **XXVд** и съединение **XXVж** инхибират възпалението толкова силно, колкото и индометацин.

Получените резултати показват, че повечето от изследваните производни на индометацин с 3-аминоспирохидантоини и 3-амино-5-метил-5-фенилимидазолидин-2,4-дион притежават противовъзпалителна активност, но не по-голяма от неговата.

ИЗВОДИ

1. Синтезирани са различни спирохидантоини и техни производни, като:
 - а) 3-аминоспиро-5-хидантоини;
 - б) непротеиногенни аминокарбоксилни киселини.
2. Синтезирани са нови 1,8-нафталимидни производни с непротеиногенни аминокарбоксилни киселини.
3. Синтезирани са нови 1,8-нафталимидни производни с 3-аминоспиро-5-хидантоини.
4. Синтезирани са нови 3-аминоциклоалканспиро-5-хидантоинови производни с биологично активни вещества, като индометацин, налидиксова киселина, 2-тиофеноцетна киселина, миристинова киселина и алрестатин.
5. Получените съединения са структурно охарактеризирани чрез физикохимични показатели, спектрални данни и квантово-химични методи.
6. Изследвано е антимикробното действие на новосинтезираните съединения спрямо Gram-положителни и Gram-отрицателни бактерии, плесенни гъби, дрожди и фитопатогени.
7. Изследвано е противовъзпалителното действие на новосинтезираните производни с индометацин.

Общо в дисертационния труд са описани 66 синтезирани съединения, за 39 от които не бяха открити данни в специализираната литература.

ПРИНОСИ

От резултатите, получени в настоящия дисертационен труд, могат да се констатира следните приноси от научен и научно-приложен характер:

1. Синтезирани са нови спирохидантоини, 3-аминоспирохидантоини, непротеиногенни аминокарбоксилни киселини, 1,8-нафталимидни производни с непротеиногенни аминокарбоксилни киселини, 1,8-нафталимидни производни с 3-аминоспирохидантоини, производни на 3-аминоциклохексанспиро-5-хидантоин с биологично активни вещества като индометацин, налидиксова киселина, 2-тиофеноцетна киселина, миристинова киселина и алрестатин, серия от 3-аминоспирохидантоинови производни с индометацин.
2. Разработени са подходящи реакционни условия за синтез и пречистване на всяка една от новополучените структури. Те са охарактеризирани чрез физикохимични показатели и спектрални данни. Използвани са и квантово-химични методи на

съответното изчислително ниво. Наблюдавано е добро съответствие между теоретично изчислените ИЧ и ЯМР спектри и експериментално получени резултати.

3. Получени са нови биологично активни съединения, проявяващи антимикробна активност. Изпитваните 1,8-нафталимидни производни с 3-аминоспирохидантоини проявяват активност спрямо изследваните щамове дрожди, плесенни гъби и фитопатогени.

4. Получени са 3-аминоспирохидантоинови производни с индометацин проявяващи противовъзпалително действие. Установена е зависимост между структурата на спирохидантоиновия остатък и проявявания ефект.

Публикации във връзка с дисертацията:

1. Marin Marinov, Iliana Kostova, Emilia Naydenova, **Rumyana Prodanova**, Petja Marinova, Plamen Penchev, Neyko Stoyanov, "Synthesis and antimicrobial activity of new 3-substituted cyclohexanespiro-5-hydantoin derivatives", *University of Ruse "Angel Kanchev" Proceedings*, **54** (10.2), Biotechnologies and food technologies, 62-67 (2015).

2. Marin Marinov, Emilia Naydenova, **Rumyana Prodanova**, Nadezhda Markova, Petja Marinova, Iliana Kostova, Iliyana Valcheva, Donka Draganova, Mladen Naydenov, Plamen Penchev, Neyko Stoyanov, "Synthesis, characterization, theoretical calculations and antimicrobial studies of substituted 3-aminocyclohexanespiro-5-hydantoins", *Agricultural Sciences*, **VIII** (19) 117-122, (2016).

3. Marin N. Marinov, Emilia D. Naydenova, **Rumyana Y. Prodanova**, Neyko M. Stoyanov, "Synthesis of some non-protein amino acids derived from spirohydantoins", *Journal Scientific and Applied Research*, **10**, 39-46 (2016).

4. M. N. Marinov, E. D. Naydenova, **R. Y. Prodanova**, S. H. Tsoneva, N. M. Stoyanov, "Synthesis of new Indomethacin derivatives with 3-aminospirhydantoins and 3-amino-5methyl-5-phenylimidazolidine-2,4-dione", *Bulgarian Chemical Communications*, **B 49** (2017), in press.

5. P. I. Mateeva, **R. Y. Prodanova**, M. N. Marinov, E. D. Naydenova, P. T. Todorova, R. N. Zamfirova, "Rapid screening of anti-inflammatory properties of newly synthesized derivatives of indomethacin", *Bulgarian Chemical Communications*, **B 49** (2017), in press.

Участия в научни форуми /конференции/:

1. Marin Marinov, Iliana Kostova, Emilia Naydenova, **Rumyana Prodanova**, Petja Marinova, Plamen Penchev, Neyko Stoyanov, "Synthesis and antimicrobial activity of new 3-substituted cyclohexanespiro-5-hydantoin derivatives", *Научна конференция РУ & ДХТ & СУ'2015, Секция "Биотехнологии и хранителни технологии"*, Разград, 16-17.10.2015.

2. Marin Marinov, Emilia Naydenova, **Rumyana Prodanova**, Nadezhda Markova, Petja Marinova, Iliana Kostova, Iliyana Valcheva, Donka Draganova, Mladen Naydenov, Plamen Penchev, Neyko Stoyanov, "Synthesis, characterization, theoretical calculations and antimicrobial studies of substituted 3-aminocyclohexanespiro-5-hydantoins", *Юбилейна научна конференция Аграрен Университет, Пловдив, Традиции и предизвикателства пред аграрното образование, наука и бизнес*, 29-31.10.2015.

3. С. Алфонсова, **Р. Проданова**, Е. Найденова, П. Маринова, Н. Стоянов, М. Маринов, "Алрестатинови производни на спирохидантоини с пет- и шест- членен циклоалканов пръстен", *Трета научна конференция за студенти и докторанти "Предизвикателства в Химията"*, Пловдив, 11.2015.