Synthesis of New Phenytoin Derivatives with Both 2,4-Dinitrophenylhydrazine and *ortho*-Aminobenzoic Acid via Mannich Reaction and Study of their Biological Activity

* Thanaa Shriteh

Abstract

This study aimed to develop novel derivatives of the anticonvulsant drug phenytoin via a three-component Mannich reaction to enhance its biological activity: Phenytoin was synthesized and subsequently reacted with 2,4-dinitrophenylhydrazine and 2-aminobenzoic acid in the presence of formaldehyde, yielding two new derivatives (M1) and (M2). The structures of the synthesized compounds were confirmed using Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy, Proton Nuclear Magnetic Resonance (^{1}H NMR), and Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance (^{13}C NMR) spectroscopy. The results showed the characteristic signals for the methylene bridge protons at approximately 4.73 ppm and 4.34 ppm in the derivatives, confirming the successful formation of the Mannich base. Biological studies revealed a significant improvement in activity. While the parent phenytoin showed no antimicrobial efficacy, the Mannich derivative (M1) exhibited dose-dependent inhibitory activity against Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*). This indicates that chemical modification via the Mannich reaction is a promising strategy for enhancing the pharmacological profile of the parent drug.

Keywords: Phenytoin, Three-component synthesis, Mannich base, Antibacterial activity, NMR spectroscopy.

*) Dr. for organic chemistry: Department of chemistry–Faculty of science–Homs university, SYRIA

اصطناع مشتقات جديدة من الفينتوين مع كل من 4,2- ثنائي نترو فينيل هيدرازين وحمض أورتو الأنثرانيلك وفق تفاعل مانيخ ودراسة فعاليتها البيولوجية

د. ثناء شريتح *

ملخص البحث

في هذه الدراسة تم تطوير مشتقات جديدة لمركب الفينتوين عبر تفاعل مانيخ ثلاثي المكونات، وذلك لتعزيز نشاطه البيولوجي. تم تحضير الفينتوين ومن ثم تفاعله مع كل من 4,2-ثنائي نترو فينيل هيدرازين وحمض 2-أمينو البنزوئيك (كل على حدة) بوجود فورم الدهيد، لينتج مشتقين جديدين (M1) و (M2) . تم تأكيد بنية المركبات المحضرة باستخدام مطيافية الأشعة تحت الحمراء (FT-IR) والطنين النووي المغناطيسي البروتوني والكربوني .

أظهرت النتائج ظهور إشارة بروتونات جسر الميتيلين حوالي(4.73ppm و4.34ppm) في المشتقين، مما يؤكد نجاح تفاعل مانيخ. كشفت الدراسة البيولوجية تحسناً ملحوظاً في النشاط، حيث لم يظهر الفينتوين الأصلي أي فعالية مضادة للميكروبات، بينما أبدى المشتق (M1) فعالية متزايدة مع زيادة التركيز ضد البكتيريا موجبة الغرام(*Staphylococcus aureus*) ، مما يشير إلى أن التعديل الكيميائي عبر تفاعل مانيخ يعد طريقة ناجحة لتعزيز الفعالية الدوائية للمركب الأصلي.

كلمات مفتاحية: فنتوين، اصطناع ثلاثي المكون، النشاط المضاد للجراثيم، الطنين النووي المغناطيسي ، مشتق مانيخ.

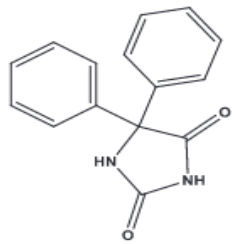
*) أستاذ مساعد في قسم الكيمياء- كلية العلوم – جامعة حمص – سورية

1- مقدمة:

يُعد الفينتوين من أكثر الأدوية المضادة للصرع استخداماً، إلا أن ذوبانيته المائية المنخفضة تمثل تحدياً كبيراً فتحضيره الصيدلاني. غالباً ما يعطي عموماً على شكل ملح الصوديوم في وسط قاعدي قوي (pH= 10–12)، مما يسبب تهيجاً معوياً للمرضى، في حين يؤدي الحقن العضلي لترسب الدواء في موقع الحقن وبطء امتصاصه، مما يجعله غير مناسب لحالات الطوارئ. ويتم حقنه وريدياً في محلول يحتوي على 40 %بروبيلين غليكول و10% إيثانول بوسط أساسي(pH= 12) ، مما يحمل مخاطر عالية بسبب قلويته الشديدة وإمكانية ترسب الدواء[1,2].

كما يُعد الفينتوين، المشتق من مركبات الهيدانتوين (انظر الشكل(1))، دواءً كلاسيكياً مضاداً للصرع وعلاجاً شائعاً للنوبات التشنجية الحادة [3]. تتجاوز فعالية هذا المركب مجال علم الأعصاب لتشمل تأثيرات علاجية متعددة، مثل تنظيم اضطراب القلب، وتثبيط تكاثر الفيروسات، وتخفيف القلق، وغيرها [4–6].

أدى التطوير الكيميائي لمشتقات الهيدانتوين إلى توسيع نطاق تطبيقاتها الحيوية بشكل كبير، حيث اكتسبت الأنواع الجديدة خصائص دوائية متنوعة تشمل مضادات الالتهاب، ومضادات الميكروبات، ومضادات السكري والملاريا، بالإضافة إلى فعاليتها كمثبطات للتآكل المعدني [7–10].



الشكل(1): الصيغة التركيبية للفنتوين

في عام 2019، تم من قبل الباحث Walid Guerrab وفريقه اصطناع مركب جديد من الثيوهيدانتوين، وهو
2,2−diphenyl−2H,3H,5H,6H, 7H−imidazo[2,1−b][1,3]thiazin−3−one (PIT).

تم التحقق من البنية البلورية للمركب باستخدام SC−XRD وأظهرت توافقاً ممتازاً مع الحسابات النظرية (DFT). بين تحليل سطح هيرشفيلد هيمنة تفاعلات H···H و H···C في استقرار الشبكة البلورية. كما تم دراسة الخصائص الإلكترونية باستخدام HOMO−LUMO وMEP وNBO لفهم التفاعلية ونمط التهجين وشحنة الالكترون ضمن بنية الجزيء المدروس [11].

في دراسة حديثة عام 2022، قام رهول تشوهان (Rahul Chauhan) وفريقه بتصنيع سلسلة جديدة من مشتقات الفينيتوين عبر اقترانه بأنيلينات مختلفة، وتقييمها حسابياً ودوائياً. أظهر المشتق الحاوي على مجموعتي كلور (C2 وC5) فعالية واعدة مضادة للقلق ومرخية للعضلات ومضادة للاختلاج، مقاربة للديازيبام، مما يرشحه لتطوير علاجات لاضطرابات الجهاز العصبي المركزي [12].

في عام 2024، نجح الباحث عبد الرزاق المعتوق الله وزملاؤه في اصطناع مشتق جديد للفينتوين باستخدام الأحماض الأمينية، الذي أظهر في النمذجة الحاسوبية قدرة عالية على تثبيط الإنزيم الرئيسي لفيروس كوفيد−19 (Mpro) مع طاقة ارتباط بلغت −7.3kcal/mol ، متفوقاً على الفينيتوين الأصلي. كما تنبأت الدراسات الحاسوبية بملف دوائي محسن من حيث التوافر الحيوي والسمية، مما يجعله مرشحاً واعداً للدراسات المخبرية اللاحقة [13].

في عام 2025، تم من قبل الباحثة Amil−Miranda وفريقها تصنيع ملح الفينتوين−بيبيريدين لتحسين ذوبانيته باستخدام تقنية الطحن الميكانيكي المدعوم بمذيب، والتي

تعتبر طريقة خضراء وفعّالة. أظهرت التحاليل الطيفية والأشعة السينية انتقال البروتون وتشكل طور صلب جديد يتوافق مع تشكل الملح، مؤكدة نجاح الاستراتيجية في تطوير شكل دوائي محسن[14] .

2- هدف البحث:

يهدف هذا البحث إلى:

1) اصطناع مشتقين جديدين للفينتوين وفق تفاعل مانخ.
2) توصيف المركبان الناتجان باستخدام أطياف الأشعة تحت الحمراء والطنين النووي البروتوني والكربوني.
3) دراسة الفعالية البيولوجية للمركبات اتجاه بكتريا ايجابية وسلبية الغرام .

3- 3- القسم التجريبي:

3-1- الأجهزة والمواد الكيميائية المستخدمة:

- جهاز طيف الطنين النووي المغناطيسي بروتوني وكربوني نموذج 400MHz من شركة Bruker السويسرية.
- جهاز درجة الانصهار Electrothermal Melting Point Apparatus
- ميزان حساس نوع artorius BL-210S
- سخان مزود بمحرك مغناطيسي Agimatic P-Selecta 243
- مبخر دوار نموذج 4.91 من شركة Normschiff الألمانية
- مصباح UV مزود بلمبتين 254 nm و366 nm من شركة DESAGA الألمانية.

3-2- المواد الكيميائية المستخدمة :

- بنزل (Benzil) ، يوريا، 4,2 – ثنائي نترو فنيل هيدرازين،2- أمينو حمض البنزوئيك من شركتي ALDRICH & FLUKA .

– ألواح كرماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC تحليلية وتحضيرية من الألمنيوم مطلية بالسيليكاجل $F_{254}{}_{60}$ بقياس 20X20 من شركة MERK الألمانية.

– فورم ألدهيد37%، إيثانول مطلق، حمض كلور الماء، هيدروكسيد الصوديوم

بارا كزايلين– خلات الايتيل – ايتانول – كلوروفورم – نظامي هكسان.

جميع المواد المستخدمة من النوع النقي .

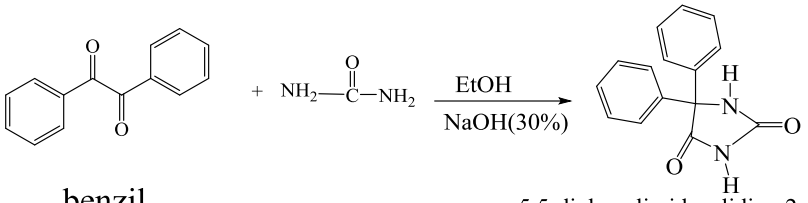
- فرن تعقيم بالحرارة الجافة .
- حاضنة
- برادC°4.
- أطباق بيتري معقمة قطر 9mm مع وسط الآغار المغذي.
- ماسحة زجاجية معقمة .
- موقد تعقيم باللهب .
- ماسحة زجاجية معقمة .
- ماصات الكترونية معقمة .
- أطباق ماكونكي مع عزلات من جراثيم إيجابية الغرام (***Staphylococcus Aureeus)***، وسلبية الغرام الإيشريشيا القولونية *(E.Coli)*.

3-3– اصطناع الفينتوين:

تم إذابة (24mmol, 0.5g) بنزل، و (42mmol, 2.5g) يوريا في 75mL ايثانول في حوجلة كروية سعة100mL مزودة بسخانة ومحرك مغناطيسي وحمام مائي مع التحريك، ثم أُضيف إلى المحلول 15mL هيدروكسيد الصوديوم (30%) .

سُخّن المزيج تحت التكثيف لمدة ساعتين، وبعد التبريد أضيف 100mL من الماء المقطر، ثم رُشّح للتخلص من المواد غير الذائبة. حُمض الراشح بحمض كلور الماء(7N) مما أدى إلى ترسيب الفينيتوين. نُقّي المنتج باستخدام الكحول والفحم النشط لإزالة الشوائب اللونية ليعطي بلورات بيضاء جُففت في فرن عند درجة حرارة C°100

لمدة ساعتين، حيث تم الحصول على بلورات بيضاء ووزنها 4.25g بمردود 85%، ودرجة انصهار 297–298°C .



benzil

5,5-diphenylimidazolidine-2,4-dione

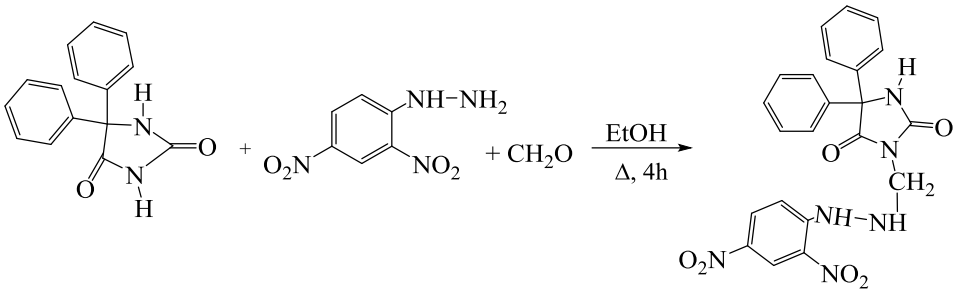
3–4– اصطناع مشتقين للفينتوين وفق تفاعل مانيخ:

تم اصطناع مشتقين للفنتيوين من خلال تفاعله مع كل من 4,2– ثنائي نترو فينيل هيدرازين و2– أمينو حمض البنزوئيك وفق تفاعل مانيخ:

3–4–1– تفاعل الفينيوين مع 4,2 – ثنائي نترو فينيل هيدرازين المشتق (M1):

تم إذابة (6mmol, 1.5g) فينيتوين، و (6mmol, 1.19g) 4,2 – ثنائي نترو فينيل هيدرازين، (6mmol, 0.18g) فورم ألدهيد في 25mL من الكحول الإيثيلي داخل حوجلة كروية سعة100mL مزودة بسخانة ومحرك مغناطيسي وحمام مائي.

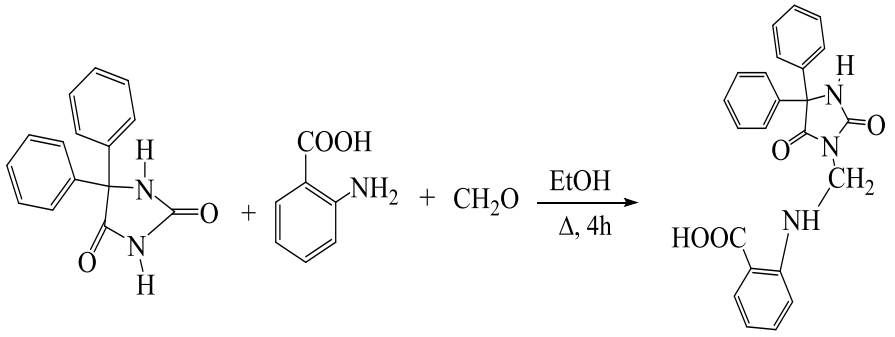
سُخن المزيج بالغليان المرتد تحت التكثيف لمدة أربع ساعات متواصلة مع التحريك المستمر(تم تتبع سير التفاعل باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة). بعد انتهاء التفاعل تم تبخير المذيب وتكثيف المحلول، ثم أُضيف 100mL من الماء المقطر إلى المحلول وترك لمدة 24 ساعة. رُشح الراسب المتكون وغُسل بـ 50mL من الماء المقطر، ثم أُعيد بلورته باستخدام مزيج من الإيثانول والماء. جُفف الراسب الناتج في فرن على درجة حرارة 80°C لمدة ثلاث ساعات، فتم الحصول على مركب بلوري أصفر اللون وزنه 1.25g بمردود 83%، ودرجة انصهار 207–209°C .



3-4-2- تفاعل الفينتوين مع 2– أمينو حمض البنزوئيك المشتق (M2):

تم تحضير مشتق مانيخ (M2) عن طريق تفاعل (6mmol, 1.5g) فينتوين مع (6mmol, 0.82g) 2- أمينو حمض البنزوئيك و(6mmol, 0.18g) فورم الدهيد في 25mL من الكحول الإيثيلي. أُجري التفاعل تحت غليان مرتد مع التحريك المستمر لمدة أربع ساعات، بُخر المذيب وتُرك المحلول للبرد. أُضيف المزيج إلى 100mL من الماء المقطر وترك ليترسب لمدة يوم كامل. بعد الترشيح والغسيل بـ 50m من الماء المقطر، أُعيد بلورة الراسب باستخدام الدايوكسان. جُفف المركب النهائي عند 80°C لمدة ثلاث ساعات، ليعطي راسباً بلون بني غامق وزنه 0.8g بمردود 53.3%، ودرجة انصهار

243–245°C .



3–5– تحديد الفعل المضاد للفنتيوين ومشتق مانيخ (M1) اتجاه الجراثيم:

تم في هذه الدراسة استخدام نوعين من البكتيريا؛ أحدهما موجب لصبغة غرام (Gram–positive)، وهو بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية (Staphylococcus aureus)، والثاني سالب لصبغة غرام (Gram–negative)، وهو بكتيريا القولون (Escherichia coli).

لقد استخدمت طريقة انتشار القرص لتقييم التأثير المثبط للمركبات المصنعة، وذلك على النحو الآتي:

1) **السلالات البكتيرية المستخدمة:**

شملت الدراسة تقييم الفعالية ضد نوعين من البكتيريا ذات الأهمية السريرية، تم عزلهما من عينات بول لمرضى مصابين بعدوى المسالك البولية:

*Escherichia coli*سلبية الغرام، *Staphylococcus aureus*موجبة الغرام. وتم تأكيد هوية كل عزلة باستخدام الاختبارات الكيموحيوية المتخصصة.

2) **تحضير التراكيز للمركبات قيد الاختبار:**

حُضرت سلسلة من التراكيز التنازلية للمركبات هي:

50mg/mL 25,40 12.5,20, 10, 5, 2.5. أُذيبت المركبات في المذيب العضوي ثنائي ميثيل السلفوكسيد(DMSO) ، بعد التأكد من خلوه من أي نشاط مثبط ضد السلالات البكتيرية المستخدمة. أظهرت جميع محاليل المركبات لوناً أصفر غامقاً الشكل(2).

الشكل(2): محاليل المركبات المصنعة مجهزة لاختبار الفعالية

3) **تنشيط العزلات:**

نُقلت مستعمرة بكتيرية نقية عمرها 18 ساعة إلى 5mL من مرق مغذي (خلاصة القلب والدماغ) وحُضنت عند الدرجة $37^{O}C$ لمدة ساعتين للحصول على نمو فعال. ضُبطت كثافة المعلق البكتيري لتعادل عكارة 0.5 على مقياس ماكفارلاند القياسي، وذلك باستخدام المطياف الضوئي عند طول موجي 600nm نانومتر، حيث سجلت قيمة امتصاصية قريبة من 0.09.

4) **تحضير وسط مولر-هينتون آغار:**

ذُوب 38 غراماً من مسحوق مولر-هينتون آغار في لتر من الماء المقطر،حسب تعليمات الشركة المصنعة. عُقم الوسط في الأوتوكلاف عند الدرجة $121^{O}C$ وضغط 15 رطل/بوصة² لمدة 15 دقيقة، ثم ترك ليبرد إلى حوالي $50\ ^{O}C$. صُب حوالي 20mL من الوسط المعقم في كل طبق بتري معقم (قطر 9mm)، وتُرِكَ ليتجمد. لتعقيم السطح، عُرّضت الأطباق المغلقة للأشعة فوق البنفسجية داخل خزانة السلامة الحيوية لمدة 15-20 دقيقة.

5) **تحضير أقراص الترشيح الورقية:**

قُطع ورق الترشيح واتمان إلى أقراص دائرية قطرها 6mm باستخدام ثاقب

ورقي معقم. عُقم الأقراص في الفرن الجاف عند درجة حرارة ^{O}C 180−160 لمدة ساعتين، ثم خُزنت في وعاء معقم حتى وقت الاستخدام.

6) **إجراء اختبار الفعالية:**

بعد تجهيز المعلق البكتيري، وُضع 100µL منه على سطح وسط مولر− هينتون آغار ونُشر بشكل موحد باستخدام قضيب معقم أو مسحة زجاجية. تُرِكَت الأطباق لمدة 10−15 دقيقة حتى يجف السطح. خُصص عدة أقراص ورقية لكل تركيز من المركب، حيث غُمست كل مجموعة من الأقراص (مكدسة فوق بعضها لضمان التشرب الكامل) في 50µL من المحلول المناسب لمدة 30 دقيقة في الثلاجة عند الدرجة $4^{O}C$. بعد التشرب، وُضع قرص واحد من كل مجموعة على سطح الآغار المُلَقح في كل طبق. حُضنت الأطباق مقلوبة عند الدرجة $37^{O}C$ لمدة 24 ساعة.

7) **قياس النتائج وتسجيلها:**

بعد فترة الحضانة، قيست أقطار مناطق التثبيط (المناطق الخالية من النمو البكتيري) المحيطة بكل قرص بالميليمتر باستخدام مسطرة معايرة دقيقة.

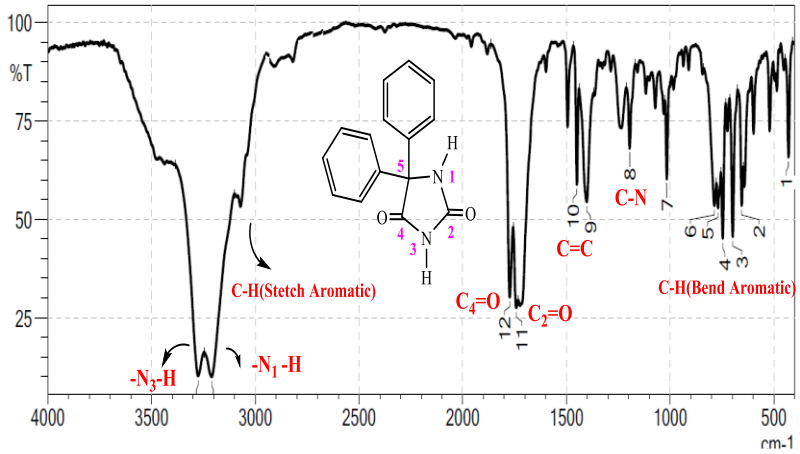
4− النتائج والمناقشة:

44−1− دراسة تفاعل اصطناع الفينتوين:

تم اصطناع الفينتوين وفق الدراسة المرجعية [15]،من خلال تفاعل البنزل مع اليوريا بالغليان المرتد لمدة (2) ساعة باستخدام مذيب الإيثانول.

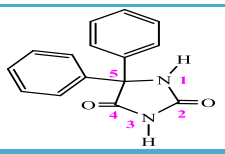
تم تأكيد البنية الجزيئية للفنيتوين المُحَضَّر باستخدام مطيافية الأشعة تحت الحمراء (FT−IR)، كما هو موضح في الشكل (3). أظهر الطيف عصابات امتصاص مميزة تتوافق تماماً مع الزمر الوظيفية المتوقعة في بنية الفينتوين، وهي مُلخَّصة في الجدول (1) .

يوضح الجدول(1) والشكل(3) وجود عصابتي امتصاص قويتين عند $1770cm^{-1}$و $1742cm^{-1}$، تُعزى إلى اهتزازات الشدّ (stretching) لرابطتي الكربونيل $C_4=O$ و $C_2=O$على التوالي، وهو ما يتماشى مع البنية الحلقية للمركب. كما سُجِّلت عصابتان عند $3275cm^{-1}$،$3210cm^{-1}$ ، تعودان إلى اهتزازات شدّ الرابطة N–H للمجموعتين $-N_3-H$، و$-N_1-H$، بالإضافة إلى ذلك، ظهرت عصابة امتصاص 1595– $1494cm^{-1}$ تُعزى إلى اهتزازات C=C في حلقات البنزن، مع ظهور عصابات أخرى مميزة موضحة بالجدول (1) .



الشكل (3): طيف الأشعة تحت الحمراء للفنيتوين

الجدول (1): بيانات طيف الأشعة تحت الحمراء (FT–IR) لمركب الفينتوين



الزمرة الوظيفية	العدد الموجي $\bar{\nu}$ (Cm^{-1})
$-N_3-H$	3275
$-N_1-H$	3210
C-H(Stretch Aromatic)	3071

1773	**C_4=O**
1742	**C_2=O**
1595-1494	**C=C**
1238	**C-N**
787	**C-H(Bend Aromatic)**

2-4- دراسة بنية مشتقي مانيخ (M1) و (M2):

4-2-1- دراسة بنية المشتق (M1):

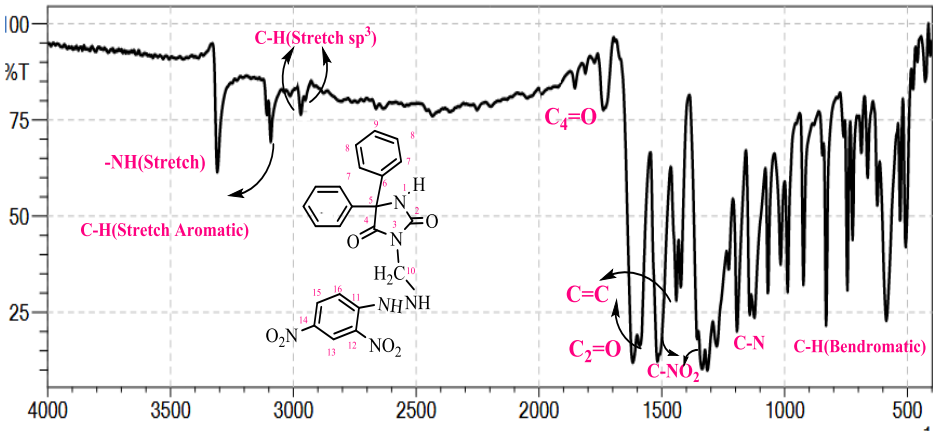
تم تحضير مشتق مانيخ (M1) من خلال تفاعل تكاثف مانيخ ثلاثي المكونات، حيث تفاعل الفينتوين (كربونيل نشط) مع 4,2–ثنائي نترو فنيل هيدرازين والفورم الدهيد في وسط من الإيثانول، لمدة 4 ساعات .

للتأكد من بنية المركب الناتج (M1) وتوصيفه ، تم استخدام التقنيات الطيفية: مطيافية الأشعة تحت الحمراء والطنين النووي البروتوني والكربوني.

- يُظهر طيف الأشعة تحت الحمراء (FT–IR) للمشتق (M1) الموضح في الشكل (4) البنية الأساسية للفينتوين مع تعديلات واضحة. تؤكد العصابات وجود المجموعات الوظيفية الرئيسية: الرابطة N–H عند $3270cm^{-1}$، ومجموعتي الكربونيل C_4=O و C_2=O عند $1745cm^{-1}$و $1690cm^{-1}$ على الترتيب.

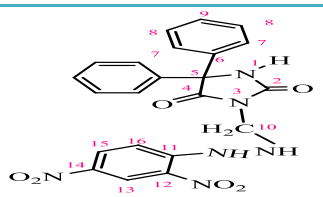
يلاحظ انخفاض ملحوظ في ترددات امتطاط مجموعتي الكَربونيل من 1773/1742 cm^{-1} في الفينتوين الأصلي إلى 1745/1690 cm^{-1}في المشتق M1، و يعزى ذلك إلى تكوين نظام طنين موسع عبرى أساس مانيخ ، إذ تؤدي مجموعات النيترو (NO_2) في المواقع 2 و4 إلى زيادة استقرار بنية المركب، مما يقلل من طابع الرابطة المزدوجة للكربونيل وهذا يتوافق مع المبادئ العامة لتأثير الطنين على ترددات الكربونيل في الأنظمة المترافقة[16]. الدليل الأهم على التعديل هو ظهور قمتي مجموعة النيترو

(NO_2)عند $1517cm^{-1}$ و $1337\ cm^{-1}$، مما يؤكد نجاح إدخال هذه المجموعة إلى الهيكل الأصلي للفينتوين، بالإضافة إلى امتصاصات أخرى موضحة بالجدول(2) .



الشكل (4): طيف الأشعة تحت الحمراء لمشتق مانيخ (M1)

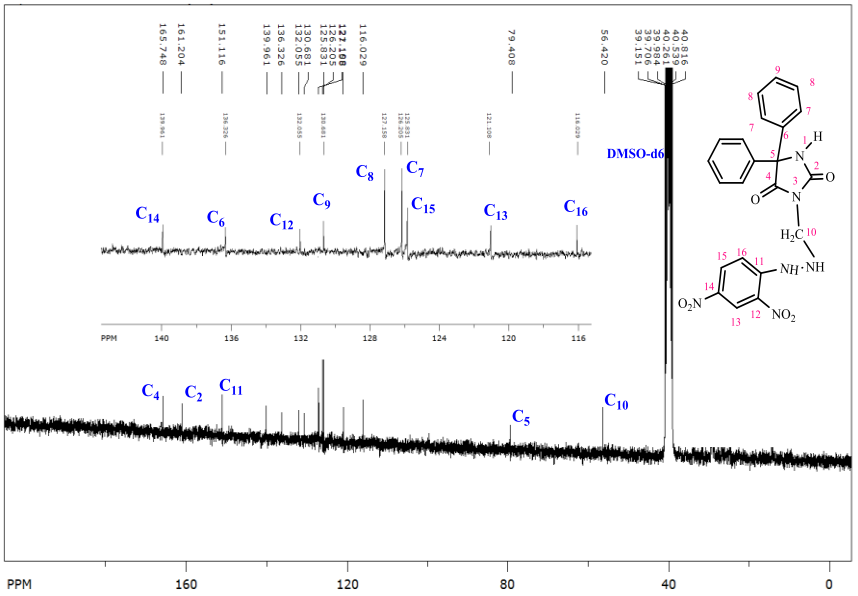
الجدول (2): بيانات طيف الأشعة تحت الحمراء (FT–IR) للمشتق(M1)



العدد الموجي (Cm^{-1}) $\bar{\upsilon}$	الزمرة الوظيفية
3270	**-NH**
3040	**C-H(Stretch Aromatic)**
2930-2882	**C-H(Stretch Sp^3)**
1745	**C_4=O**
1690	**C_2=O**
1595-1494	**C=C**
1514sy-1337asy	**C-NO_2**
1277	**C-N**

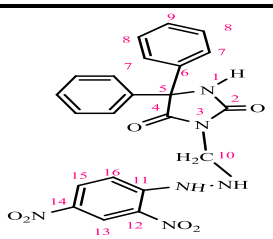
831	**C-H(Bend Aromatic)**

- سجل الطنين النووي المغناطيسي الكربوني الشكل (5) للمشتق (M1) في ثنائي ميتيل سيلفوكسيد المديتر (DMSO-d6). تُظهر البيانات الطيفية توافقاً تاماً مع البنية المتوقعة لأساس مانيخ، حيث يقدم الانزياح عند (56.42 ppm) دليلاً مباشراً على تشكل رابطة الميثيلين الجسرية($-CH_2-$) المميزة لهذا التفاعل، وهي قيمة تتطابق مع المجال المرجعي المعروف لكربونات النيتروميثيلين($N-CH_2$) . كما تعكس الانزياحات المنخفضة نسبياً لكربوني الكربونيل لـ ($C_4=O$) و($C_2=O$) (165.75 ppm) و (161.20 ppm) ، تأثير نظام الطنين الموسع الناتج عن اقترانها مع الحلقات العطرية والمستبدلات النيتروجينية في الجزيء، بالإضافة إلى ظهور انزياحات اخرى موضحة في الجدول (3) [17].



الشكل(5): طيف الطنين النووي المغناطيسي الكربوني ^{13}C-NMR للمشتق(M1)

الجدول(3): قيم الانزياحات لطيف الطنين النووي المغناطيسي الكربوني ^{13}C-NMR للمشتق(M1)



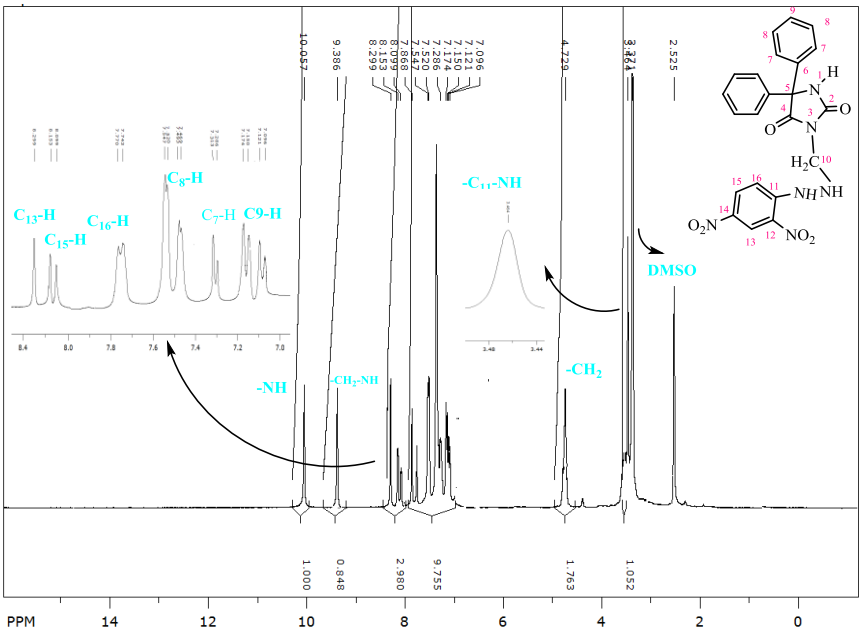
الانزياح الكيميائي ppm	No	الانزياح الكيميائي ppm	No
56.42	**C_{10}**	**161.20**	**C_1=O**
151.12	**C_{11}**	**165.75**	**C_4=O**
132.06	**C_{12}**	**79.41**	**C_5**
121.11	**C_{13}**	**136.33**	**C_6**
139.96	**C_{14}**	**126.21**	**C_7**
125.03	**C_{15}**	**127.16**	**C_8**
116.03	**C_{16}**	**130.60**	**C_9**

- يؤكد طيف الطنين النووي المغناطيسي البروتوني الشكل (6) والجدول (4) للمشتق (M1) في DMSO–d6 تشكل ناتج أساس مانيخ، حيث يبين الطيف ظهور ثلاثة اشارات تدعم هذه البنية: إولاً– ظهور إشارة احادية عند (4.73ppm, s,1H) تعود إلى بروتونات مجموعة الميثيلين الجسرية (–CH_2–) المميزة لتفاعل مانيخ.

ثانياً–وجود بروتون أمين ثانوي جديد قابل للتبادل عند (9.39ppm, s,1H) إلى جانب بروتون الأميد الأصلي للفنيتوين عند (10.06ppm, s,1H)، مما يؤكد التعديل الوظيفي على النواة الأم.

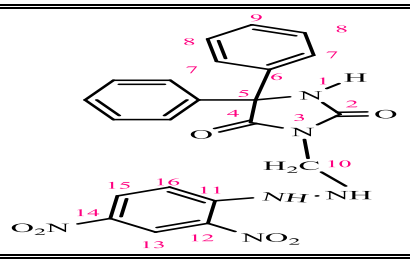
ثالثاً– ظهور إشارات في المنطقة العطرية عند (7.77ppm)، (8.15ppm) و (8.30ppm)، التي تشير إلى البروتونات الواقعة بالقرب من مجموعات النيترو (NO_2)

القوية الساحبة للإلكترونات، مما يؤكد دمج حلقة عطرية مستبدلة في المركب الناتج (M1) .



الشكل(6): طيف الطنين النووي المغناطيسي البروتوني ^{1}H-NMR للمشتق(M1)

الجدول(4): قيم الانزياحات لطيف الطنين النووي المغناطيسي البروتوني ^{1}H– NMR للمشتق(M1)



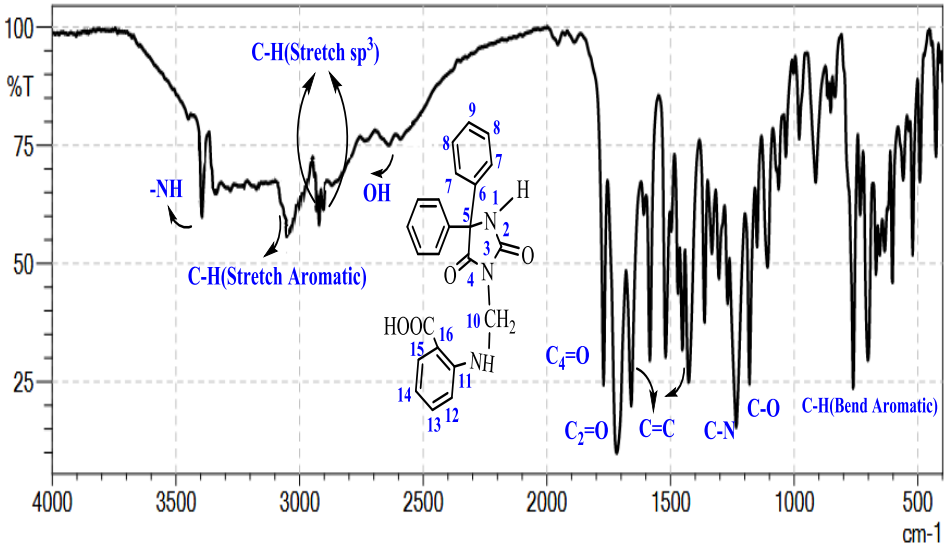
الانزياح الكيميائي ppm	No	الانزياح الكيميائي ppm	No
7.10-7.17 (dd,2H,j_1=j_2=8Hz)	**C_9-H**	**3.46(s,1H)**	**C_{11}-NH**
4.733.46(s,2H)	**C_{10}-H**	**9.39 (s,1H)**	**C_{10}-NH**
8.30(s,2H)	**C_{13}-H**	**10.06 (s,1H)**	**C_5-NH**
8.15 (d,1H,j=20Hz)	**C_{15}-H**	**7.31 (d,4H,j=8Hz**	**C_7-H**
7.77 (d,1H,j=12Hz)	**C_{16}-H**	**7.46-7.55 (dd,4H,j_1=j_2=12Hz)**	**C_8-H**

4-2-2- دراسة بنية المشتق (M2):

حُضّر مشتق مانيخ (M2) بتفاعل مركب الفينتوين مع حمض 2-أمينو البنزويك والفورمالدهيد في إيثانول تحت الغليان المرتد لمدة 4 ساعات، وتم تأكيد بنيته باستخدام مطيافية الأشعة تحت الحمراء (FT-IR) وطيفي الطنين النووي المغناطيسي ^{1}H- NMR والكربون ^{13}C- NMR.

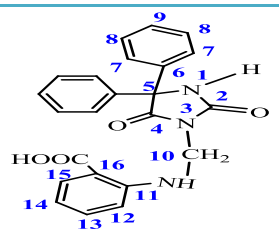
- بناءً على بيانات طيف الأشعة تحت الحمراء (FT-IR) المسجل للمشتق (M2) ، يمكن تفسير الطيف وتحديد الزمر الوظيفية الرئيسية الموجودة في الجزيء. حيث يظهر امتصاص عريض عند العدد الموجي $3350Cm^{-1}$، وهو عائد لامتطاط لرابطة (N-H) . كما يُلاحظ امتصاص في المجال $2600-3350\ Cm^{-1}$، وهو عائد لامتطاط الرابطة (O-H) الحمضية، وامتصاص عند $2882-2930\ Cm^{-1}$ مميز لامتطاط الرابطة (C-H) في الكربون ذي التهجين sp^3 .

كما يظهر امتصاصان عند $1761Cm^{-1}$ يعزى إلى مجموعة كربونيلية (C4=O)، و عند $1725Cm^{-1}$ يعزى لمجموعة الكربونيل (C2=O)، كما يظهر امتصاص عند $1470-1584\ Cm^{-1}$ ، وهو مميز لامتطاط الرابطة (C=C) في الحلقات العطرية، كما يظهر امتصاصات أخرى موضحة بالجدول (5).



الشكل (7): طيف الأشعة تحت الحمراء لمشتق مانيخ (M2)

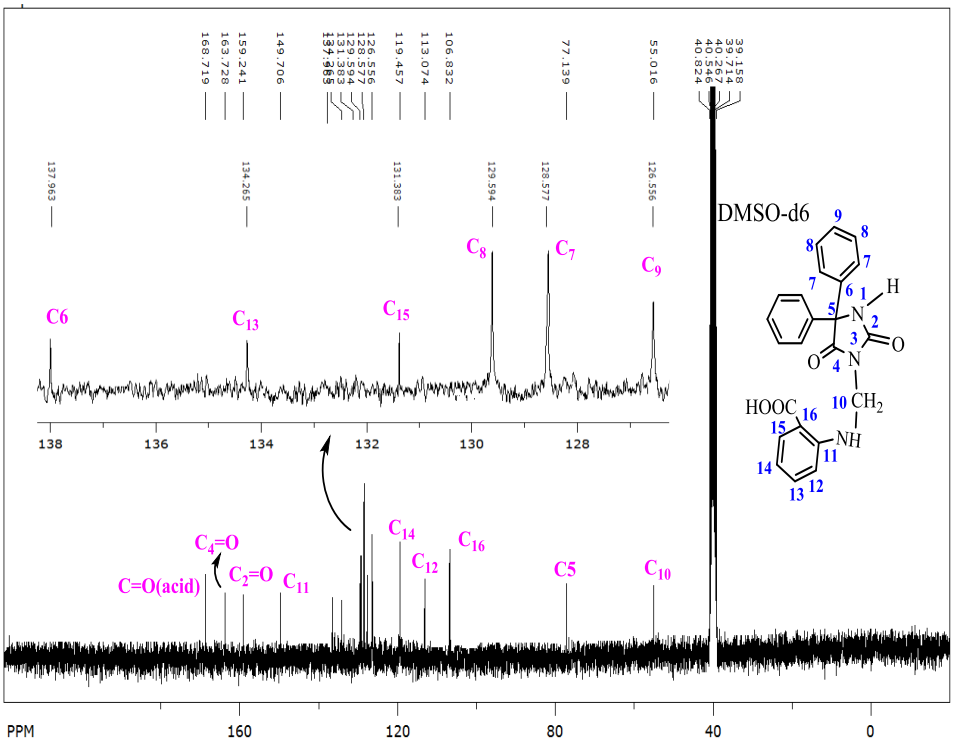
الجدول (5): بيانات طيف الأشعة تحت الحمراء (FT–IR) للمشتق(M2)



العدد الموجي (Cm^{-1}) $\overline{\nu}$	الزمرة الوظيفية
3350	**-NH**
2600-3350	**-OH(acid)**
3040	**C-H(Stetch Aromatic)**
2930-2882	**C-H(Stetch Sp^3)**
1761	**C_4=O**
1725	**C_2=O**
1584-1470	**C=C**

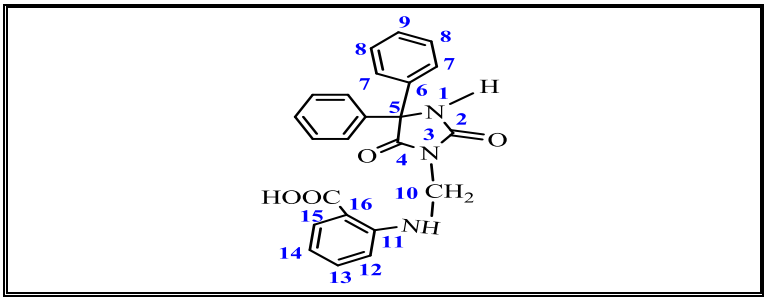
1250	**C-N**
1180	**C-O**
762	**C-H(Bend Aromatic)**

- بناءً على بيانات طيف الطنين النووي المغناطيسي الكربوني ($^{13}C-NMR$) المسجل للمشتق(M2) (انظر الشكل (8)، يمكن تفسير الإشارات الرئيسية وتوزيعها الكيميائي، حيث تظهر إشارات المجموعات الكربونيلية عند الإنزياح 168.72ppm، والتي تُعزى إلى كربون مجموعة الكربوكسيل الحمضية (C=O)، وعند 163.73ppm وتنسب إلى الكربونيل(C4=O)، و عند 159.24ppm وتنسب إلى الكربونيل(C1=O)، كما تظهر مجموعة من الإنزياحات المميزة للكربونات الحلقية غير المشبعة في المجال من 106.83ppm إلى 149.11ppm، من بينها، انزياح عند 149.11ppm يشير إلى كربون مرتبط بذرة نيتروجين ، وإشارة عند 137.93 ppm للكربون (C11) تمثل مركز استبدال في الحلقة، كما تظهر بقية ذرات الكربونات عند الانزياحات الموضحة في الجدول(6).



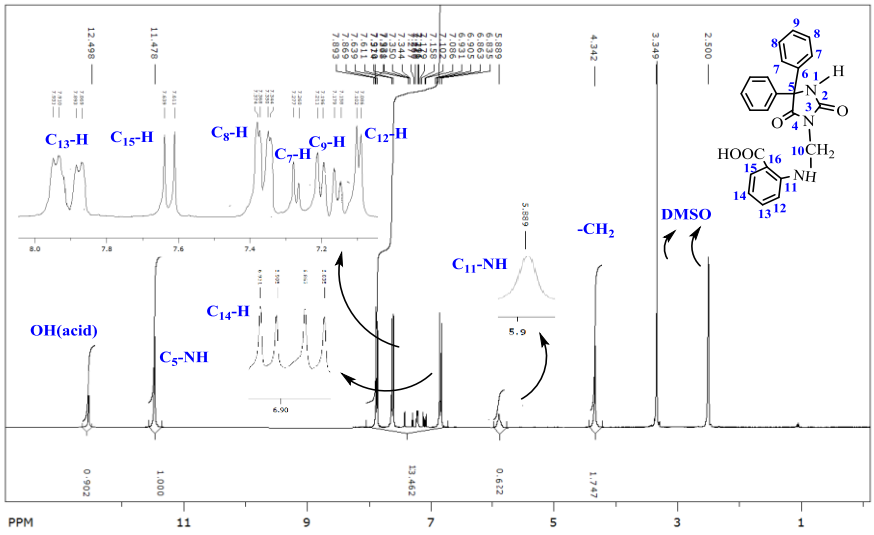
الشكل(8): طيف الطنين النووي المغناطيسي الكربوني ^{13}C-NMR للمشتق(M2)

الجدول(6): قيم الانزياحات لطيف الطنين النووي المغناطيسي الكربوني ^{13}C-NMR للمشتق(M2)



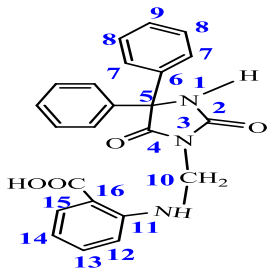
الانزياح الكيميائي ppm	No	الانزياح الكيميائي ppm	No
55.02	**C_{10}**	**168.72**	**C=O(acid)**
149.11	**C_{11}**	**159.24**	**C_1=O**
113.04	**C_{12}**	**163.73**	**C_4=O**
134.27	**C_{13}**	**77.14**	**C_5**
119.46	**C_{14}**	**137.93**	**C_6**
131.39	**C_{15}**	**128.58**	**C_7**
106.83	**C_{16}**	**129.59**	**C_8**
		126.57	**C_9**

- بناءً على بيانات طيف الـ^{1}H–NMR المسجل لمشتق مانيخ (M2) باستخدام مذيب ثنائي متيل سلفوكسيد المديتر(الذي يظهر له اشارتين عند 2.50ppm و 3.37ppm)، يظهر الطيف إشارة مميزة عند 12.49 ppm تعود لبروتون مجموعة الهيدروكسيل الحمضية(حمض الأنترانيلك). كما تظهر إشارتان عند الانزياح11.47ppm و 5.88ppm تنسبان إلى بروتوني مجموعتي الأميد والأمين الثانوي على الترتيب، مما يدعم اندماج نوى الفينتوينوالأنترانيلك عبر تفاعل مانيخ. يُظهر بروتون جسر الميتيلين للجسر الناتج عن هذا التفاعل إشارة واضحة عند 3.34ppm، كما تظهر انزياحات أخرى موضحة بالجدول (7) .



الشكل(9): طيف الطنين النووي المغناطيسي البروتوني ^{1}H-NMR للمشتق(M2)

الجدول(7): قيم الانزياحات لطيف الطنين النووي المغناطيسي البروتوني ^{1}H– NMR للمشتق(M2)

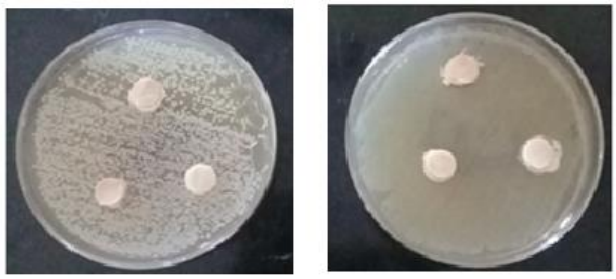


الانزياح الكيميائي ppm	No	الانزياح الكيميائي ppm	No
4.34 (s,2H)	**C_{10}-H**	**5.88 (s,1H)**	**C_{11}-NH**
7.10 (d,1H,j=8Hz)	**C_{12}-H**	**12.49 (s,1H)**	**-OH**
7.87-7.93 (dd,1H,j_1=j_2=8Hz)	**C_{13}-H**	**11. 47(s,1H)**	**C_5-NH**
6.83-6.91 (dd,1H,j_1=12Hz, j_2=8Hz)	**C_{14}-H**	**7.28 (d,4H,j=8Hz)**	**C_7-H**

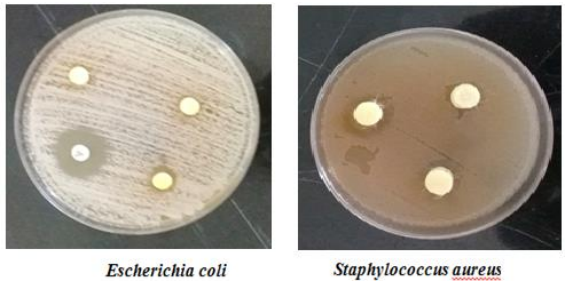
7.64 (d,1H,j=12Hz)	C_{15}-H	7.34-7.37 (dd,4H,$j_1=j_2$=4Hz)	C_8-H
		7.17-7.21 (dd,2H,$j_1=j_2$=8Hz)	C_9-H

3-4- دراسة النشاط البيولوجي للفنتوين والمشتق (M1):

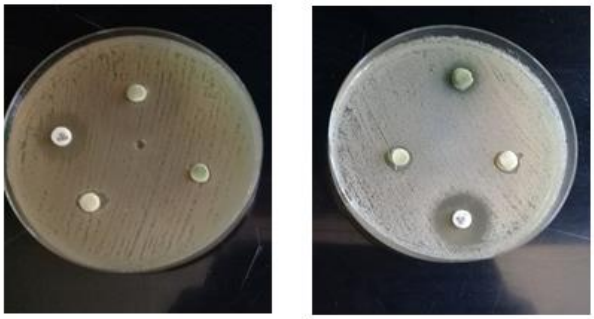
تم دراسة النشاط البيولوجي في مخبر الجراثيم في مديرية الصحة في حمص على جرثومة إيجابية الغرام (*Staphylococcus Aureus S.T*)، وجرثومة سلبية الغرام (*E.Coli*). وبوجود شاهد إيجابي من الجينتاميسين كمضاد حيوي و تم تقدير الفعالية بعد إجراء هذه الدراسة بقياس قطر هالة تثبيط نمو الجراثيم في الأطباق، ودونت النتائج وفق الجدول (8) من خلال الاشكال (10) و (11) و(12).



الشكل(10): مناطق التثبيط للفنيتوين اتجاه الجراثيم



الشكل(11): مناطق التثبيط لـ (M1) اتجاه الجراثيم وفق التراكيز (12.5,25,50mg/mL)



Escherichia coli *Staphylococcus aureus*

الشكل(12): مناطق التثبيط لـ (M1) اتجاه الجراثيم وفق التراكيز (10,20,40mg/mL)

الجدول (8): أقطار مناطق التثبيط للفنيتوين والمشتق (M1) اتجاه الجراثيم

نوع الجرثومة	العينة	التركيز mg/mL	قطر منطقة الشبيط (mm)
Staphylococcus aureus ايجابية الغرام	الفينيتوين	2.5	0
		5	0
		10	0
Escherichia coli سلبية الغرام		2.5	0
		5	0
		10	0
P Staphylococcus aureus ايجابية الغرام	(M1)	12.5	0
		25	0
		50	12
	جنتاميسين	10	18
Escherichia coli سلبية الغرام	(M1)	12.5	8
		25	11
		50	16
	جنتاميسين	10	18
P Staphylococcus aureus ايجابية الغرام	(M1)	10	8
		20	10
		40	14
	جنتاميسين	10	18
Escherichia coli	(M1)	10	0
		20	0
		40	0
	جنتاميسين	10	16

يبين الجدول السابق: أن الفينتوين الأصلي لم يملك أي نشاط تثبيطي حتى عند تركيز 10mg/mL [18]، مما يوضح افتقاره للنشاط المضاد للميكروبات في شكله الأساسي. في المقابل، أبدى المشتق الجديد (M1) فعالية واضحة ضد البكتيريا موجبة الغرام، حيث تزايد قطر منطقة التثبيط مع زيادة التركيز، إذ بلغ 14mm عند التركيز 40mg/mLمع ذلك، اختلف نشاط المشتق ضد البكتيريا سالبة الغرام؛ فبينما سجل نشاطاً ملحوظاً في إحدى التجارب، لم يُظهر أي تأثير في تجربة أخرى [19]. أما الجنتاميسين فقد أظهر، كما هو متوقع، فعالية قوية ضد كلا السلالتين، مما يؤكد موثوقية طريقة الاختبار المتبعة.

5- الاستنتاجات والتوصيات:

1. تم بنجاح تحضير مركب الفينتوين الأصلي ومشتقين جديدين له (M1) و (M2) عبر تفاعل مانيخ ثلاثي المكونات. وأكدت التحاليل الطيفية (أشعة تحت الحمراء، الطنين النووي المغناطيسي للبروتون والكربون) البنية المقترحة لهذه المركبات.
2. أدى التعديل الكيميائي عبر تفاعل مانيخ إلى تحسين الخصائص الدوائية بشكل ملحوظ، حيث أظهر المشتق (M1) نشاطاً مضاداً للميكروبات (خاصة ضد البكتيريا موجبة الغرام) بينما المركب الأصلي لم تبدي أي فعالية.
3. هناك علاقة واضحة بين بنية الجزيء وفعاليته البيولوجية. فقد أدى إدخال زمر وظيفية جديدة مثل مجموعة النيترو في المشتق (M1) إلى تغيير في النشاط البيولوجي.

التوصيات:

1. تحضير مشتقات إضافية باستخدام أمينات مختلفة (أمينات حلقية غير متجانسة، أمينات عطرية متعددة الوظائف، أمينات مشتقة من الأحماض الأمينية) لتحضير مشتقات مانيخ ذات خواص متنوعة.

2. استخدام ألدهيدات أخرى (عطرية مثل بنزألدهيد، أو أليفاتية) بدلاً من الفورم ألدهيد للحصول على جسور ميتيلين مستبدلة(−CHR−)، مما يزيد من تنوع البنية الجزيئية ويمكن أن يحسن من خصائصها الدوائية.

6- المراجع: References

[1]. Malawska, B. Current Topics in Medicinal Chemistry,2005,5, 69.
[2]. Yang, C.; Mitra, A. J. Pharm. Sci.,2001,90, 340.
[3]. Trišović N, Valentić N, Ušćumlić G. Solvent effects on the structure-property relationship of anticonvulsant hydantoin derivatives: A solvatochromic analysis. Chemistry Central Journal. 2011 Oct 14;5(1):62.
[4]. Werzer O, Baumgartner R, Zawodzki M, Roblegg E. Particular Film Formation of Phenytoin at Silica Surfaces. Molecular Pharmaceutics. 2014 Feb 3;11(2):610-6.
[5]. Reischl D, Röthel C, Christian P, Roblegg E, Ehmann HM, Salzmann I, Werzer O. Surface-induced polymorphism as a tool for enhanced dissolution: the example of phenytoin. Crystal Growth & Design. 2015 Sep 2;15(9):4687-93.
[6]. Tot K, Lazić A, Božić B, Mandić A, Djaković Sekulić T. QSAR characterization of new synthesized hydantoins with antiproliferative activity. Biomedical Chromatography. 2019 Aug;33(8):e4539.
[7]. da Silva Guerra AS, do Nascimento Malta DJ, Laranjeira LP, Maia MB, Colaço NC, de Lima MD, Galdino SL, da Rocha Pitta I, Gonçalves-Silva T. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of indole–imidazolidine derivatives. International Immunopharmacology. 2011 Nov 1;11(11):1816-22.
[8]. Handzlik J, Szymańska E, Chevalier J, Otrębska E, Kieć-Kononowicz K, Pagès JM, Alibert S. Amine–alkyl derivatives of hydantoin: New tool to combat resistant

bacteria. European journal of medicinal chemistry. 2011 Dec 1;46(12):5807-16.

[9]. Meyers MJ, Anderson EJ, McNitt SA, Krenning TM, Singh M, Xu J, Zeng W, Qin L, Xu W, Zhao S, Qin L. Evaluation of spiropiperidine hydantoins as a novel class of antimalarial agents. Bioorganic & medicinal chemistry. 2015 Aug 15;23(16):5144-50.

[10]. Olasunkanmi LO, Moloto BP, Obot IB, Ebenso EE. Anticorrosion studies of some hydantoin derivatives for mild steel in 0.5 M HCl solution: Experimental, quantum chemical, Monte Carlo simulations and QSAR studies. Journal of Molecular Liquids. 2018 Feb 1;252:62-74.

[11]. Guerrab W, Chung IM, Kansiz S, Mague JT, Dege N, Taoufik J, Salghi R, Ali IH, Khan MI, Lgaz H, Ramli Y. Synthesis, structural and molecular characterization of 2, 2-diphenyl-2H, 3H, 5H, 6H, 7H-imidazo [2, 1-b][1, 3] thiazin-3-one. Journal of Molecular Structure. 2019 Dec 5;1197:369-76.

[12]. Chauhan, Rahul; Verma, Shweta; Shrivasatava, Alankar. Synthesis and CNS Activity of Phenytoin Derivatives. Central Nervous System Agents in Medicinal ChemistryChemistry-Central Nervous System Agents), 2022, 22.1: 57-67.

[13]. A Allah,, Abderrazzak El Moutaouakil Ala, et al. Phenytoin from antiepileptic to covid-19: Synthesis, crystal structure, DFT, HSA, MEP and green biological study of phenytoin derivative as potential covid-19 drug candidates. Journal of Molecular Structure, 2024, 1318: 139430.

[14]. Amil-Miranda MI, Pineda-Contreras A, Martínez-Martínez FJ, Flores-Álamo M, García-Ortega H, González-González JS. Mechanochemical Synthesis, Spectroscopic Characterization and Molecular Structure of Piperidine–Phenytoin Salt. Organics. 2025 Aug 22;6(3):38.

[15]. Long Jr RC, Goldstein JH. Carbon-13 NMR spectra of enriched phenobarbital, pentobarbital, and dilantin. Journal of Magnetic Resonance (1969). 1974 Nov 1;16(2):228-34.

[16]. Coates J. Interpretation of infrared spectra, a practical approach. Encyclopedia of analytical chemistry. 2000 Sep 15;12:10815-37.

[17]. Mathapati SR, Suryawanshi VB, Bondge AS, Dawale JK. Synthesis of Some New N-Mannich Bases Derivatives of Phenytoin. Asian Journal of Research in Chemistry. 2018;11(2):236-40.

[18]. Löscher W, Schmidt D. Experimental and clinical evidence for loss of effect (tolerance) during prolonged treatment with antiepileptic drugs. Epilepsia. 2006 Aug;47(8):1253-84.

[19]. Karimatu H, Yunusa IA, Musa MA, Nasiru HA, Auwal HS, Maryam A. Synthesis and In Vitro Antibacterial Studies of Two New Hydrazone Derivatives. Chemistry Proceedings. 2024 Nov 14;16(1):118.