

## ОРИГІНАЛЬНІ СТАТТІ

УДК 543. 42:[615.31:547.587.5]:615.273

О. В. Гречана, канд. фарм. наук., Б. О. Прийменко, д-р фарм. наук, проф.,

В. П. Буряк, д-р фарм. наук, проф.

Запорізький державний медичний університет

### СПЕКТРАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТА ЕЛЕКТРОННА БУДОВА СИНТЕТИЧНИХ ПОХІДНИХ КУМАРИНУ

#### П О В І Д О М Л Е Н Н Я Ш

#### ФАРМАКОФОРИ ТА ХІМІКО-ФАРМАКОЛОГІЧНА СТРУКТУРА ДИКУМАРИНУ ТА ЕТИЛБІСКУМАЦЕТАТУ (НЕОДИКУМАРИНУ)

**Ключові слова:** похідні 4-оксикумарину, фармакофори, біологічна активність

Найбільш широко використовуваними у клінічній практиці ентеральними антикоагулянтами, серед яких дикумарин та етилбіскумацетат (неодикумарин), є структурні похідні 4-гідроксикумарину – сполуки, які виділено з Конюшини солодкої (*Melilotus alba* Medik.). Після виявлення того факту, що саме кумарини здатні пригнічувати синтез протромбіну, було здійснено інтенсивні дослідження в галузі синтезу похідних кумарину, внаслідок чого в медицину було впроваджено дикумарин (дикумарол), етилбіскумацетат (неодикумарин) та інші похідні кумарину [1].

Їхня терапевтична дія залежить від здатності пригнічувати у печінці низку функціональних факторів, що сприяють згортанню крові. Ці фактори описані як вітамін К-залежні фактори, оскільки їх біосинтез гепатоцитами частково пов'язаний із метаболізмом гепатичного вітаміну К [2].

Оральні антикоагулянти, до яких відносять досліджувані нами сполуки, ефективні тільки *in vivo*, оскільки принцип їхньої дії полягає у пригніченні в печінці синтезу протромбіну, білка, проконвертину та інших факторів згортання крові. Їх іноді умово називають антагоністами вітаміну К [3].

Завищена доза пероральних антикоагулянтів спричинює низку побічних дій з боку центральної нервової системи, серцево-судинної системи та крові, шлунково-кишкового тракту, печінки та нирок, а також інші захворювання на основі алергійних реакцій організму до прийнятих ліків [4, 5, 6, 7, 8].

Відомо, що ультрафіолетові спектри дикумарину та етилбіскумацетату (неодикумарину) вивчено лише частково і недостатньо [9, 10, 11].

Результати дослідження і обговорення закономірностей між спектрами та будовою дикумарину і етилбіскумацетату описані нами раніше [12]. Встановлено, що на кривій спектрів вбирання похідних 4-оксикумарину (дикумарину та етилбіскумацетату) спостерігаються дві смуги вбирання в межах 276–291 нм та 310–314 нм, причому перша смуга типу  ${}^1L_b$  часто проявляє коливальну структуру в малополярних розчинниках – циклогексані, діоксані, хлороформі, а більш характерна друга смуга відповідає  $p \rightarrow \pi$ -супраженню бензольного та піранового-2 циклів.

**Метою** дослідження є пояснення природи атомів в молекулах дикумарину та етилбіскумацетату і виявлення суті спостерігаємих смуг вбирання на підставі розгляду взаємозв'язку структурних формул досліджуваних речовин та проведення квантово-хімічних розрахунків електронної густини за методом Хюккеля (табл. 1, 2) з використанням програми Chemoffice 11.0.1. (оптимізація MM2).

## Матеріали та методи дослідження

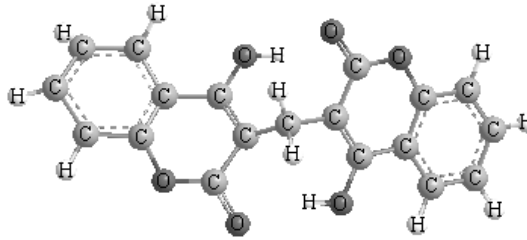
Ступінь чистоти досліджуваних сполук перевіряли методом тонкошарової хроматографії за методикою, рекомендованою Державною Фармакопеею України для виявлення домішок у лікарських засобах [13]. Ультрафіолетові спектри вивчаємих сполук досліджували в межах від 220 до 400 нм за допомогою спектрофотометра SPECORD-200 (Німеччина) у кварцових кюветах з шаром завтовшки 10 мм за концентрації розчинів у всіх випадках для дикумарину –  $3,0 \cdot 10^{-5}$  М, для етилбіскумацетату –  $2,5 \cdot 10^{-5}$  М. Як розчинники використовували: воду очищену, 0,1 М розчин натрію гідроксиду, 0,1 М розчин кислоти хлоридної, оцтовий буферний розчин з рН 3,85, кислоту сульфатну концентровану, циклогексан, етанол, 25%-й розчин натрію гідроксиду, діоксан та хлороформ.

## Результати дослідження та обговорення

Для виявлення реакційної здатності та визначення фармакофорних угруповань, а також для пояснення їхньої токсичності в дикумарині (3,3'-метиленбіс(4-гідрокси-2Н-хромен-2-он) та неодикумарині (етиловий етер ди(4-оксикумариніл-3)етанової кислоти), здійснено квантовохімічні розрахунки електронної густини вищезазначених сполук, що дало змогу визначити реакційні центри, які можуть піддаватися електрофільній та нуклеофільній атаці, а також припустити, які фрагменти можуть впливати на згортання крові [14].

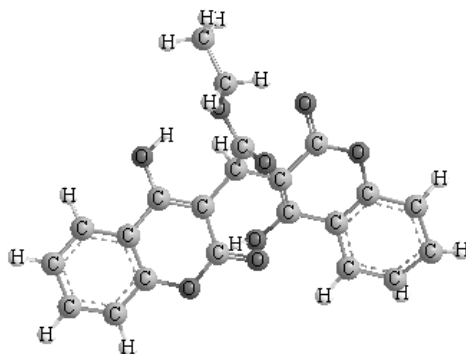
Т а б л и ц я 1

### Квантовохімічний розрахунок електронної густини дикумарину (3,3'-метиленбіс(4-гідрокси-2Н-хромен-2-он)



Нумерація атомів	Характер атомів	Електронна густина	Нумерація атомів	Характер атомів	Електронна густина
O (1)	O carboxyl	0,0704867	C (20)	C alkene	- 0,0723637
C (2)	C carbonyl	0,522109	C (21)	C alkene	0,031689
O (3)	O carbonyl	- 0,829171	C (22)	C alkene	- 0,0980021
C (4)	C alkene	- 0,19006	C (23)	C alkene	0,25493
C (5)	C alkene	0,300648	O (24)	O enol	- 0,157284
C (6)	C alkene	- 0,00341881	O (25)	O enol	- 0,228569
C (7)	C alkene	- 0,0479563	H (26)		0,0313997
C (8)	C alkene	- 0,0909168	H (27)		0,0420998
C (9)	C alkene	- 0,0990029	H (28)		0,0412849
C (10)	C alkene	- 0,0977992	H (29)		0,0319452
C (11)	C alkene	0,244989	H (30)		0,0380692
C (12)	C alkene	- 0,0508245	H (31)		0,0274466
O (13)	O carboxyl	- 0,0148359	H (32)		0,0227526
C (14)	C carbonyl	0,519931	H (33)		0,0249261
O (15)	O carbonyl	- 0,732214	H (34)		0,0248105
C (16)	C alkene	- 0,139368	H (35)		0,0283126
C (17)	C alkene	0,265232	H (36)	H enol	0,218313
C (18)	C alkene	- 0,0398844	H (37)	H enol	0,209879
C (19)	C alkene	- 0,0360993			

**Квантовохімічний розрахунок електронної густини недикумарину  
(етиловий етер ди(4-оксикумариніл-3)етанової кислоти)**



Нумерація атомів	Характер атомів	Електронна густина	Нумерація атомів	Характер атомів	Електронна густина
O (1)	O carboxyl	0,0450895	O (24)	O enol	- 0,141461
C (2)	C carbonyl	0,524554	O (25)	O enol	- 0,246041
O (3)	O carbonyl	- 0,838131	C (26)	C carbonyl	0,597495
C (4)	C alkene	- 0,197744	O (27)	O carboxyl	- 0,653336
C (5)	C alkene	0,297148	O (28)	O carboxyl	- 0,111125
C (6)	C alkene	- 0,0185854	C (29)	C alkane	0,161902
C (7)	C alkene	- 0,0160713	C (30)	C alkane	- 0,144195
C (8)	C alkene	- 0,134564	H (31)		0,0285931
C (9)	C alkene	- 0,0866325	H (32)		0,0492056
C (10)	C alkene	- 0,135062	H (33)		0,0478716
C (11)	C alkene	- 0,286868	H (34)		0,0390482
C (12)	C alkene	- 0,0596893	H (35)		0,0774587
O (13)	O carboxyl	0,0165044	H (36)		0,022711
C (14)	C carbonyl	0,511897	H (37)		0,0249011
O (15)	O carbonyl	- 0,735316	H (38)		0,0248106
C (16)	C alkene	- 0,110375	H (39)		0,0283392
C (17)	C alkene	0,275516	H (40)	H enol	0,0213193
C (18)	C alkene	- 0,0397767	H (41)	H enol	0,216545
C (19)	C alkene	- 0,036008	H (42)		0,0180357
C (20)	C alkene	- 0,071816	H (43)		0,0148044
C (21)	C alkene	0,0317485	H (44)		0,0444912
C (22)	C alkene	- 0,0977409	H (45)		0,0416274
C (23)	C alkene	0,254789	H (46)		0,0420807

Дикумарин (3,3'-метиленбіс(4-гідрокси-2Н-хромен-2-он) у своїй структурі вміщує два фрагменти  $\alpha$ -пірону, до складу яких входять атоми оксигену та по п'ять атомів вуглецю, що знаходяться у  $sp^2$ -гібридації. Неподілена пара електронів гетероатома кисню знаходиться у супряженні із  $\pi$ -елекtrонами двох подвійних зв'язків циклу та карбонільної групи. Делокалізацію електронної густини можливо собі уявити у вигляді двох резонансних структур, одна з яких являє собою супряжений димер (А), а друга – ароматичну систему (Б), внаслідок чого збільшується ОН- та СН-кислотність (рис. 1).

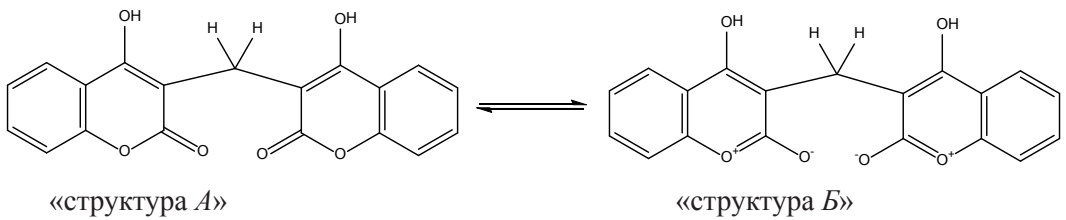


Рис. 1. Резонансні структури: *A* – 3,3'-метилєнбїс(4-гїдрокси-2Н-хромон-2-он); *B* – 3,3'-метилєнбїс(4-гїдроксїхромонїї-2-олат)

Неодїкумарїн [етїлбїс(4-гїдрокси-2-оксо-2Н-хромон-3-їл)ацетат], також, як і дїкумарїн може їснувати у виглядї двох резонансних структур *A* та *B* (рис. 2).

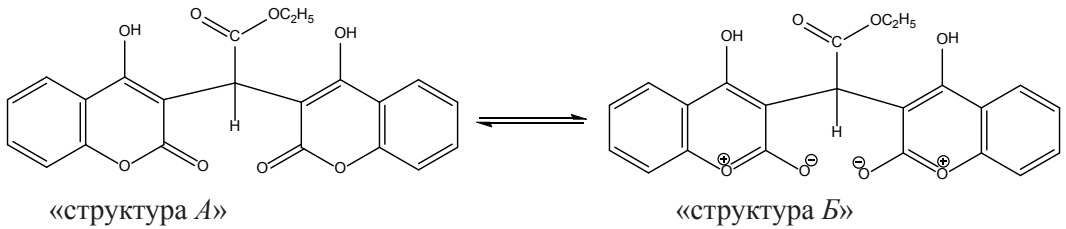


Рис. 2. Резонансні структури: *A* – [етїлбїс(4-гїдрокси-2-оксо-2Н-хромон-3-їл)ацетат]; *B* – [етїлбїс(4-гїдрокси-2-оксонїї-2Н-хромон-3-їл)ацетат]

На підставї квантово-хімічного розрахунку дїкумарїну (табл. 1) можливо визначити, що реакція  $S_E$  в першу чергу буде проходити по  $C_8$  (-0,0980021) та  $C_7'$  (-0,0990029), потїм  $C_6$  (-0,0723063) та  $C_8'$  (-0,0977992), а у подальшому  $C_6'$  (-0,09099168) та  $C_7$  (-0,0314689); в останню чергу по  $C_5$  (-0,0360993) та по  $C_5'$  (-0,0479563), а також може їти нуклеофїльна атака та електрофїльне приєднання (рис. 3).

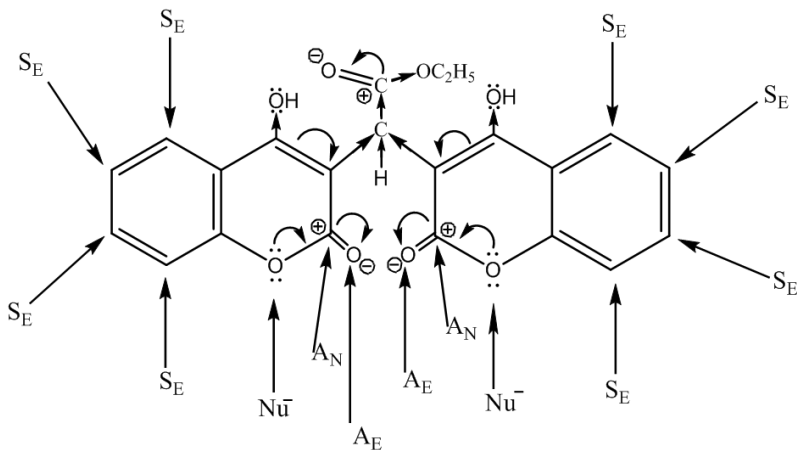


Рис. 3. Розрахунок реакційних центрів молекули дїкумарїну (3,3'-метилєнбїс(4-гїдрокси-2Н-хромон-2-он)

На підставї квантово-хімічних розрахунків електронної густини молекул неодїкумарїну можна зробити висновок, що реакції  $S_E$ ,  $S_N$ ,  $A_E$ ,  $A_N$  будуть протїкати аналогічно, як у випадку дїкумарїну.

Слід зазначити, що наявність складноєфірного фрагмента в неодїкумарїні призводить до збільшення  $S_H$ -кислотності у атома вуглецю, пов'язаного з вищезазначеним електронноакцепторним угрупованням (рис. 4).

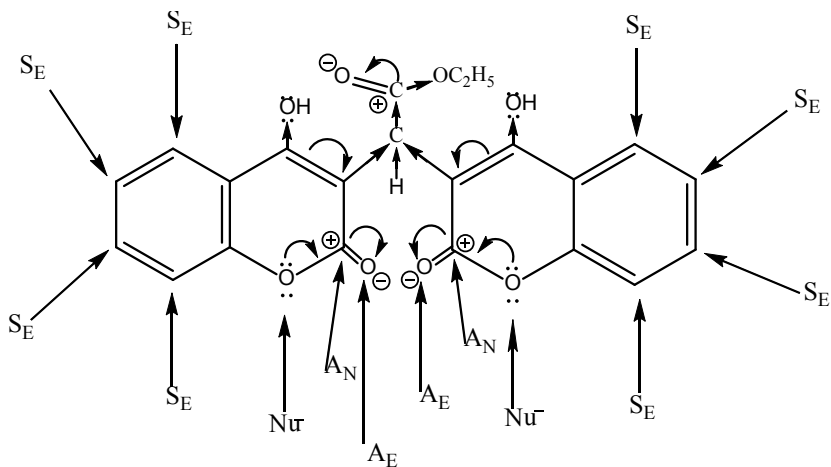


Рис. 4. Розрахунок реакційних центрів молекули неодикумарину (етилбіс(4-гідрокси-2-оксо-2H-хромон-3-іл)ацетат)

На підставі квантово-хімічних розрахунків електронної густини молекул дикумарину (3,3'-метилєнбіс(4-гідрокси-2H-хромен-2-ону) та неодикумарину (етилбіс(4-гідрокси-2-оксо-2H-хромон-3-іл)ацетату) встановлено, що фармакофорами в молекулах досліджуваних сполук є –OH та CH – кислотні центри, а також фрагменти складноефірного угруповання, ароматичних кілець, які є в молекулі ацетилсаліцилової кислоти, яка також проявляє антиагрегантну активність (рис. 5):

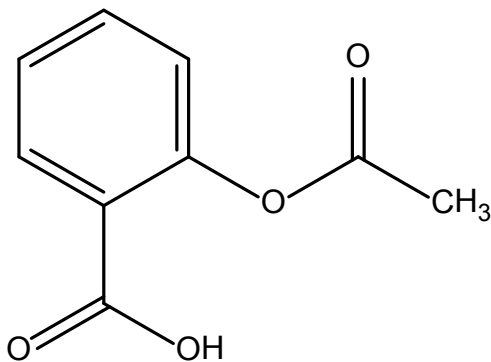


Рис. 5. Структурна формула кислоти ацетилсаліцилової

### Висновки

1. Встановлено, що криві УФ-спектрів дикумарину та етилбісцумацетату (неодикумарину) мають дві смуги вбирання в межах 276–291 нм та 310–314 нм.
2. Максимуми першої смуги вбирання (276–291 нм) мають коливальні структури, зумовлені світловбиранням бензольного циклу типу  ${}^1L_b$ , а другої – від 310 до 314 нм відповідають  $p \rightarrow \pi$ -супряженню бензольного та піранового-2 циклів.
3. Проведено розрахунки електронної густини досліджуваних сполук за методом Хюккеля з використанням програми Chemoffice 11.0.1. (оптимізація MM2).

## ЛІТЕРАТУРА

1. *Машковский М. Д.* Лекарственные средства. 15-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: Новая волна, 2005. – 1200 с.
2. *Бурбелло А. Т., Шабров А. В., Денисенко П. П.* Современные лекарственные средства: Клинико-фармакологический справочник практического врача. – СПб: Изд. дом «Нева», М.: «ОЛМА-ПРЕСС Звездный мир», 2003. – 978 с.
3. *Вартанян Р. С.* Синтез основных лекарственных средств. – М.: «Мед. информ. агентство», 2004. – 844 с.
4. *Дрогвозов С. М., Гудзенко А. П., Будко Я. А., Дрогвозов В. В.* Побочное действие лекарств. – Харьков: «СИМ», 2010. – 280 с.
5. *Bowie E. J. W., Told M., Thompson J. H. et al.* Anticoagulant malingers (the «dicumarol – eaters») // *Am. J. Med.* – 1965. – V. 39. – P. 855–864.
6. *Cole E. R., Bachman F.* Spectrofotometric assay for warfarin sodium and dicumarol // *Arch. Int. Med.* – 1976. – V. 136. – P. 474–479.
7. *O'Reily R. A., Aggeler P. M., Gibbs J. O.* Hemorrhagic state due to surreptitious ingestion of bishydroxycoumarin // *New Eng. J. Med.* – 1962. – V. 267. – P. 19–24.
8. *O'Reily R. A., Aggeler P. M.* Surreptitious ingestion of coumarin anticoagulant drugs // *Ann. Int. Med.* – 1966. – V. 64. – P. 1034–1041.
9. *Буряк В. П., Старчевская Н. К.* УФ-спектрофотометрия лекарственных средств, производных 4-оксикумарина // *Фармация.* – 1981. – № 5. – С. 26–30.
10. *Перельсон М. Е., Шейкер Ю. Н., Савона А. А.* Спектры и строение кумаринов, хромонов и ксантонов. – М.: Медицина, 1975. – 232 с.
11. *Masrani K. V., Randa H. S., Bafna S. L.* Ultraviolet absorption spectra some substituted coumarins // *J. Appl. Chem. Biotechnol.* – 1974. – V. 24, N 6. – P. 331–341.
12. *Гречана О. В.* Спектральна характеристика та електронна будова синтетичних похідних кумарину. Повідомлення II. Вивчення УФ-спектрів дикумарину та етилбіскумацетату (неодикумарину) // *Фармац. журн.* – 2013. – № 3. – С. 67–73.
13. *Тонкошарова хроматографія / Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний центр».* 1-е вид., доп. 1. – Харків: PIPER. 2001. – С. 41–44; 2004. – С. 1.
14. *Kier L. B.* Molecular orbital in chemical pharmacology. – N. J.: Acad. Press, 1991. – 314 p.

Надійшла до редакції 24. 12. 2013.

*Е. В. Гречаная, Б. А. Прийменко, В. П. Буряк*  
*Запорожский государственный медицинский университет*

## СПЕКТРАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ЭЛЕКТРОННОЕ СТРОЕНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ КУМАРИНА

### С О О Б Щ Е Н И Е III

#### ФАРМАКОФОРЫ И ХИМИКО-ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ДИКУМАРИНА И ЭТИЛБИСКУМАЦЕТАТА (НЕОДИКУМАРИНА)

**Ключевые слова:** производные 4-оксикумарина, фармакофоры, биологическая активность

### А Н Н О Т А Ц И Я

Наиболее широко используемыми в клинической практике энтеральными антикоагулянтами, среди которых дикумарин и этилбискумацетат (неодикумарин), являются структурные производные 4-гидроксикумарина – соединения, выделенного из клевера сладкого. После обнаружения того факта, что именно кумарины способны подавлять синтез протромбина, были проведены интенсивные исследования в области синтеза производных кумарина, вследствие чего в медицине были внедрены дикумарин (дикумарол), этилбискумацетат (неодикумарин) и другие производные кумарина. Их терапевтическое действие зависит от способности подавлять в печени ряд функциональных факторов, способствующих свертыванию крови. Эти факторы описаны как витамин К-зависимые факторы, поскольку их биосинтез гепатоцитами частично связан с метаболизмом в печени витамина К.

Целью настоящего исследования является объяснение природы атомов в молекулах дикумарина и этилбискумацетата и выявление сути наблюдаемых полос поглощения на основании рассмотрения взаимосвязи структурных формул исследуемых веществ и проведения квантово-химических расчетов электронной плотности по методу Хюккеля с использованием программы Chemoffice.

Установлено, что кривые УФ-спектров дикумарина и этилбискумацетата (неодикумарина) имеют две полосы поглощения в пределах 276–291 нм и 310–314 нм. Максимумы первой полосы имеют колебательные структуры, обусловленные светопоглощением бензольного цикла типа  ${}^1L_b$ , а второй соответствуют  $p \rightarrow \pi$ -сопряжению бензольного и пиранового-2 циклов. Проведены расчеты электронной плотности исследуемых соединений по методу Хюккеля с использованием программы Chemoffice 11.0.1. (оптимизация MM2).

*O. V. Grechana, B. O. Prijmenko, V. P. Buryak*  
*Zaporizhzhia State Medical University*

## SPECTRAL CHARACTERISTICS AND ELECTRONIC STRUCTURES OF SYNTHETIC DERIVATIVES OF COUMARIN

### PART III

#### PHARMACOPHORE AND CHEMICAL-PHARMACOLOGY STRUCTURE OF BICOUMARIN AND ETHYLBISCOUMACETAS (NEODICOUMARINE)

**Key words:** derivatives of 4-oxycoumarine's, pharmacophors, biological activity

### ABSTRACT

Most widely used in clinical practice enteral anticoagulants among which common dicoumarin and ethylbiscoumacetas (neodicoumarin) are the structural derivatives of 4-hydroxycoumarin – compounds isolated from sweet clover. After detection of the fact, that it's coumarins able to inhibit the synthesis of prothrombin, have conducted intensive studies on the synthesis of coumarin derivatives, whereby in the medicine were introduced dicoumarin (dicoumarol) ethylbiscoumacetas (neodicoumarin), and other coumarin's derivatives.

Their therapeutic effect depends on the ability to suppress in liver a number of functional factors are contributing to coagulation of blood. These factors are described as the vitamin K-dependent factors because their biosynthesis in the hepatocytes is partly linked to the metabolism of vitamin K in the liver.

The aim of this study is the explanation of the nature of atoms in molecules of dicoumarin and ethylbiscoumacetas; revealling the essence of the observed absorption bands, which are based on the consideration of interrelation of the structural formulas of the test substances and quantum-chemical calculations of the electron density (Huckel method), using the program Chemoffice.

Found that on the curve UV-spectr of the dicoumarin and ethylbiscoumacetates (neodicoumarin) observed two absorption bands at the range 276–291 nm and 310–314 nm. Maxima of the first band have the vibrational structure due to a light absorption of the benzene ring type  ${}^1L_b$ , and the second corresponds to a  $p \rightarrow \pi$ -conjugation of the benzene and pyran-2 cycles. In this work was conducted calculation of the electron density of the test compounds (by the Huckel method), using the program Chemoffice 11.0.1. (MM2 optimization).

*Електронна адреса для листування з авторами: 1310grechanaya@ukr.net*