

ФАРМАЦИЯ PHARMACIA

Том/Volume LVIII

2011

Книжка/Number 1-4

СПИСАНИЕ НА БЪЛГАРСКОТО НАУЧНО ДРУЖЕСТВО ПО ФАРМАЦИЯ

Главен редактор: Ст. Николов

Секретар: Ал. Златков

Редакционна колегия:

Зл. Димитрова, Св. Богданова, И. Иванов, Г. Китанов, И. Йонкова, Н. Данчев, Г. Петрова,
Д. Обрешкова, Ст. Титева, И. Костадинова, Ф. Клерфьой, Е. Х. Хансен,
М. Шефер, Р. Грьонинг, Л. Пистели, М. Унзета

JOURNAL OF THE BULGARIAN PHARMACEUTICAL SCIENTIFIC SOCIETY

Editor in Chief: St. Nikolov

Assistant Editor: Al. Zlatkov

Editorial Board:

Zl. Dimitrova, Sv. Bogdanova, I. Ivanov, G. Kitanov, I. Jonkova, N. Danchev, G. Petrova, D. Obreshkova, St. Titeva, I.
Kostadinova, F. Clerfeuille, E. H. Hansen, M. Schaefer,
R. Gröning, L. Pistelli, M. Unzeta

Адрес на редакцията

Фармацевтичен факултет
ул. "Дунав" 2, София 1000
Факс (02) 987 987 4

Гл. редактор: ☎ (02) 987 987 4

E-mail: snikolov@mbox.pharmfac.acad.bg

Address of Editorial Board

Faculty of Pharmacy
2, Dunav str., Sofia 1000
Fax (02) 987 987 4

Editor in Chief: ☎(+359 2) 987 987 4

E-mail: snikolov@mbox.pharmfac.acad.bg

СЪДЪРЖАНИЕ

Оригинални статии

<i>I. Манолов.</i> Синтез, структурни изследвания и свойства на някои производни на 4-хидроксикумарина.....	3
<i>A. Златков, B. Цветкова, Л. Андонова и П. Пейков.</i> Синтез, структурен анализ и определяне на лекарствено подобие на някои имидазолови производни.....	18
<i>M. Георгиева, A. Бижев и И. Ненчева.</i> Изолиране и характеризирание на пиролови хидразони с евентуална туберкулостатична активност. сравняване на методи за сепарирание.....	26
<i>И. Манолов, Ч. Майхле-Мьосмер, E. Нике, Г. Момеков и X.-Ю. Махула.</i> Синтез, структура и цитотоксична активност на производно на 2-нитрофенилаланина.....	32
<i>B. Николова-Младенова, Г. Момеков и Д. Иванов.</i> Синтез на физикохимична характеристика на нов дериват на салицилалдехид бензол хидразона с висока цитотоксична активност.....	41
<i>Л. Пейкова, И. Пенчева, М. Манова и Г. Петрова.</i> Изследване с високоефективна течна хроматография на двойни и тройни смеси, съдържащи Venlafaxine, Citalopram, Sibutramine.....	45
<i>M. Манова, И. Пенчева, П. Пейков, Г. Петрова и B. Цветкова.</i> Валидиране на течнохроматографски метод за количествено определяне на HMG Co-A редуктазни инхибитори.....	50
<i>A. Тачев.</i> Бързи методи за количествено определяне на флавоноиди и танини в козметични продукти.....	55
<i>B. Костова, P. Попова и Д. Рачев.</i> Получаване и оптимизиране на матрични системи с включено лекарствено вещество със слабобазични свойства на база Kollidon® Sr.....	59
<i>C. Георгиева и Я. Колева.</i> Естрогенна активност на метаболитите на някои съединения, действащи върху ендокринната система.....	65
<i>C. Лазаров, P. Николов, A. Момчилова и E. Янев.</i> Ефекти на Nimesulide върху фосфолипидния състав на алвеоларния сърфактант при плъхове с модел на септичен респираторен дистрес синдром.....	77
<i>A. Стоименова, A. Савова, M. Манова, Г. Драганов, Г. Петрова и A. Златков.</i> Взаимодействия на Ginkgo biloba с лекарствени продукти.....	83
<i>E. Кожухарова, П. Михнев, Pier-Luigi Nimis.</i> Проектът „Ключ към природата” – интерактивно електронно пособие за изучаване и разпознаване на лечебни растения.....	91
<i>X. Лебанова, E. Григоров и И. Гетов.</i> Материовигиланс – основни понятия и законодателна рамка.....	98
<i>B. Кирилов, E. Григоров и И. Гетов.</i> Проучване на приложението на витамини с антиоксидантни свойства и анализ на пазара в България.....	104
Обзори	
<i>Д. Обрешкова.</i> Аналитично проучване и качествен контрол на български продукти от растителен произход с антиоксидантна активност.....	108
Инструкции към авторите	115

CONTENTS

Original articles

<i>I. Manolov.</i> Synthesis, structure investigations and properties of some 4-hydroxycoumarin derivatives.....	3
<i>Al. Zlatkov, B. Tsvetkova, L. Andonova and P. Peykov.</i> Synthesis, structural analysis and drug-likeness estimation of some imidazole derivatives.....	18
<i>M. Georgieva, A. Bijev and I. Nenchewa.</i> Isolation and characterization of isomers of pyrrole-hydrazones with possible tuberculostatic activity. comparison of methods for separation.....	26
<i>I. Manolov, C. Maichle-Mössmer, E. Niquet, G. Momekov and H.-J. Machulla.</i> Synthesis, structure and cytotoxic activity of a 2-nitrophenylalanine derivative.....	32
<i>B. Nikolova-Mladenova, G. Momekov and D. Ivanov.</i> Synthesis and physicochemical characterization of new salicylaldehyde benzoyl hydrazone derivative with high cytotoxic activity.....	41
<i>L. Peykova, I. Pencheva, M. Manova and G. Petrova.</i> HPLC study of binary and triple mixtures containing venlafaxine, citalopram and sibutramine.....	45
<i>M. Manova, I. Pencheva, P. Peikov, G. Petrova and B. Tsvetkova.</i> Validation of hplc method for determination of HMG Co-A reductase inhibitors.....	50
<i>A. Tachev.</i> Rapid methods for quantitation of flavonoids and tannins in cosmetic products.....	55
<i>B. Kostova, R. Popova and D. Rachev.</i> Obtaining and optimization of matrix systems which contain drug with weak basic properties based on Kollidon® SR.....	59
<i>S. Georgieva and Y. Koleva.</i> Metabolic estrogenic activity of some endocrine disruptor chemicals.....	65
<i>S. Lazarov, R. Nikolov, A. Momtchilova and E. Yanev.</i> Effects of nimesulide on the phospholipid composition of the alveolar surfactant in rats with model of the septic respiratory distress syndrome.....	77
<i>A. Stoimenova, A. Savova, M. Manova, G. Draganov, G. Petrova and A. Zlatkov.</i> Medicine interactions with Ginkgo biloba.....	83
<i>E. Kozuharova, P. Mihnev and Pier-Luigi Nimis.</i> The Key-to-Nature Project – interactive e-tool for studying and identification of medicinal plants.....	91
<i>H. Lebanova, E. Grigorov and I. Getov.</i> Materiovigilance – Basic Concepts And Legislative Framework.....	98
<i>B. Kirilov, E. Grigorov and I. Getov.</i> Study on the use of antioxidant vitamins on the bulgarian market.....	104
Reviews	
<i>Д. Обрешкова.</i> Analytical study and quality control of bulgarian drugs with antioxidant activity.....	108
Instructions To Authors	118

ФАРМАЦИЯ 1-4/2011

ISSN 0428-0296

УДК 615

Организационен секретар *Св. Цветанова*
Стилова редакция *Св. Цветанова и д-р Б. Станчева (на англ. ез.)*
Корекция *Св. Цветанова*
Терминологичен и семантичен контрол *д-р Б. Станчева*
Форматиране *О. Маркова*

Подписана за печат на 09.01.2011 г.

Печатни коли 15, формат 60 x 90/8

Централна медицинска библиотека
1431 София, ул. „Св. Г. Софийски” № 1, тел. 952-16-45, Fax: 851 82 65
e-mail: svetlamu@mail.bg

СИНТЕЗ, СТРУКТУРНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ И СВОЙСТВА НА НЯКОИ ПРОИЗВОДНИ НА 4-ХИДРОКСИКУМАРИНА

И. Манолов

Катедра по фармацевтична химия, Фармацевтичен факултет, МУ – София

Резюме. За проява на антикоагулантни свойства важно е наличието на хидроксилна група на 4-то място в кумариновата структура, четири въглеродни атома, както и карбонилна група при третия въглероден атом в страничната верига. Бяха синтезирани различни производни на антикоагулантите. Хидроксилната група при четвъртия въглероден атом в кумариновия цикъл беше ацетилирана с оцетен анхидрид. Метилната група в страничната верига беше заменена с фенилова, 4-хлорофенилова, 4-метоксифенилова, 4-нитрофенилова и бифенилова група. Модификацията на карбонилната група при третия въглероден атом беше осъществена с хидроксиламин хидрохлорид и вместо очаквания оксим се получи спиро-съединението 1'-ацетил-5'-метил-3'-фенил-1',3'-дихидро-4Н-спиро-[хромен-3,2'-пирол]-2,4-дион. Резултатите показаха, че когато се модифицира хидроксилната група при четвъртия въглероден атом в кумариновия фрагмент (ацетилиран продукт) или метилната група от страничната верига се замести с ароматно ядро, веществата кристализират в отвореноверижна кето-форма и имат само един стереогенен център.

Ключови думи: 4-хидроксикумарини, рентгеноструктурен анализ, антикоагулантна активност

SYNTHESIS, STRUCTURE INVESTIGATIONS AND PROPERTIES OF SOME 4-HYDROXYCOUMARIN DERIVATIVES

I. Manolov

Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Medical University – Sofia

Summary. It is known that the manifestation of the anticoagulant activity of 4-hydroxycoumarin derivatives is due to the hydroxyl group at C-4 of the coumarin, as well as to four carbon atoms and the carbonyl group at C-3 of the side chain of the molecule. We made modifications of these molecules. The hydroxyl group was acetylated by acetic acid anhydride. The methyl group of the side chain was substituted by phenyl-, 4-chlorophenyl-, 4-methoxyphenyl-, 4-nitrophenyl-, and biphenyl groups. The modification of the carbonyl group at C-3 of the side chain by hydroxylamine hydrochloride resulted in 1'-acetyl-5'-methyl-3'-phenyl-1',3'-dihydro-4H-spiro-[chromen-3,2'-pyrol]-2,4-dione (substituted spiro compound). The modification of the hydroxyl group at C-4 or the substitution of the methyl group of the side chain by an aromatic nucleus left the side chain open and the compounds had only one asymmetric C-atom.

Key words: 4-hydroxycoumarins, X-ray analysis, anticoagulant activity

Въведение

Производните на 4-хидроксикумарина от десетилетия представляват интерес за изследователите поради техните уникални биологични и фармакологични свойства [26]. Те проявяват антикоагулантна [16, 17, 21, 31], противовирусна [10, 15, 20, 31], антиоксидантна [6, 8, 9], цитотоксична [7, 24], спазмолитична [35], бактериостатична, както и родентицидна активност. Най-широко прилаганият антикоагулант в САЩ и Канада е Warfarin – рацемична натриева сол. Химичната модификация на молекулата на Warfarin е надежден подход за по-

лучаване на съединения с подчертана биологична активност, с по-ниска токсичност и по-малко странични действия.

Целта на настоящата работа е да се синтезират производни на Warfarin и неговите аналози, да се докаже тяхната структура и промяната на молекулата да се оцени фармакологично.

Материал и методи

Изходните вещества са от Merck (Германия), Fluka (Швейцария) и Sigma-Aldrich (САЩ). Температурите на топене са определени на апа-

рат Büchi 535 в отворени капиларни тръбички. Елементният анализ е извършен в Лабораторията по елементен анализ в Химическия факултет на СУ „Св. Кл. Охридски“. UV-Vis спектрите са снети на HP 8452A UV-VIS спектрофотометър (Hewlett-Packard) със скорост на сканиране 1 спектър за секунда, стъпка 2 nm и дебелина на кюветата 1 cm. Инфрачервените спектри са снети на апарат Shimadzu FT-IR 8101 M в нуйол. Вибрационните честоти са регистрирани в cm^{-1} . ^1H NMR спектри са снети на апарат Bruker 250 MHz или 600 MHz в DMSO-d_6 , ацетон- d_6 или хлороформ CDCl_3 . TMS се използва като вътрешен стандарт. Означенията са както следва: **s** – синглет, **d** – дублет, **dd** – дублет от дублети, **dq** – дублет от квартети, **dqui** – дублет от квинтети; **t** – триплет, **m** – мултиплет. J константите са измерени в Hz, ^{13}C NMR са снети на апарат 67 MHz, използвайки TMS като вътрешен стандарт.

Масспектрите са получени на апарат Hewlett-Packard 5973 чрез електронен удар при 70 eV. Тънкослойната хроматография се провежда на готови плаки Kieselgel F254 Merck (Германия) с дебелина на слоя 0.25 mm и UV детекция (254 nm).

2-оксо-3-(3-оксо-1-фенилбутил)-2Н-хромен-4-ил ацетат (1) 6.16 g (20.0 mmol) Warfarin и 30 ml оцетен анхидрид се нагряват при кипене на обратен хладник 1 час. Добивът е 5 g (72%), т.т. – 116-118°C [12].

3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксобутил]-2-оксо-2Н-хромен-4-ил ацетат (2) 3.53 g (10.0 mmol) Аспеносуарол и 15 ml оцетен анхидрид се нагряват при кипене на обратен хладник 1 час. Добивът е 2 g (50%), т.т. – 149-150.5°C (фиг. 2) [12].

4-хидрокси-3-(3-оксо-1,3-дифенилпропил)-2Н-хромен-2-он (3) 1.62 g (10.0 mmol) 4-хидроксикумарин и 2.08 g (10.0 mmol) бензилиденацетофенон се смесват с 50 ml вода. Сместа се нагрява при кипене на обратен хладник и енергично разбъркване до втвърдяване на органичната фаза (57 ч). Добивът е 1.0 g (26%), т.т. – 163-164°C [2, 14]. Използването на бензилтриетиламониев хлорид (5 mol % спрямо количеството на 4-хидроксикумарина) като междуфазов катализатор скъсява реакционното време на 6 часа, а добивът се повишава до 93%.

3-[3-(4-хлорофенил)-3-оксо-1-фенилпропил]-4-хидрокси-2Н-хромен-2-он (4) 1.62 g (10.0 mmol) 4-хидроксикумарин и 2.43 g (10.0 mmol) бензилиден-4'-хлороацетофенон, 0.11 g (0.05 mmol) бензилтриетиламониев хлорид се смесват с 50 ml

вода. Сместа се нагрява при кипене на обратен хладник 5 часа. Добивът е 1.5 g (76%), т.т. – 179-181°C [2, 14].

4-хидрокси-3-(3-оксо-1-фенил-3-бифенилпропил)-2Н-хромен-2-он (5) 1.62 g (10.0 mmol) 4-хидроксикумарин и 2.84 g (10.0 mmol) бензилиден-4'-фенилацетофенон се смесват с 50 ml вода. Сместа се нагрява при кипене на обратен хладник 1 час. Добивът е 1.15 g (52%), т.т. – 189-192°C [2, 14].

4-хидрокси-3-[3-(4-метоксифенил)-3-оксо-1-фенилпропил]-2Н-хромен-2-он (6) 1.62 g (10.0 mmol) 4-хидроксикумарин и 2.84 g (10.0 mmol) бензилиден-4'-метоксиацетофенон се смесват с 50 ml вода. Сместа се нагрява при кипене на обратен хладник 200 часа. Добивът е 1.25 g (31%), т.т. – 175-178°C (фиг. 3) [2, 14].

4-хидрокси-3-[3-(4-нитрофенил)-3-оксо-1-фенилпропил]-2Н-хромен-2-он (7) 1.62 g (10.0 mmol) 4-хидроксикумарин и 2.52 g (10.0 mmol) бензилиден-4'-нитроацетофенон, 0.11 g (0.05 mmol) бензилтриетиламониев хлорид се смесват със 100 ml вода. Сместа се нагрява при кипене на обратен хладник 5 часа. Добивът е 1.98 g (48%), т.т. – 206-208°C [14].

4-хидрокси-3-[(3E)-3-хидроксиимино-1-(4-нитрофенил)бутил]-2Н-хромен-2-он (8) 3.53 g (10 mmol) 4-хидрокси-3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксобутил]-2Н-хромен-2-он, 0.69 g (10 mmol) хидроксиламин хидрохлорид, 3 ml пиридин, 0.4 g NaOH и 150 ml етанол. Разтворът престоява около 12 часа, след което кипи на обратен хладник 6 часа. Добивът е 2.58 g (70%), т.т. – 191-193°C (фиг. 5) [13].

4-хидрокси-3-[(3E)-3-(хидроксиимино)-1-фенилбутил]-2Н-хромен-2-он (9) 3.08 g (10 mmol) 4-хидрокси-3-[3-оксо-1-фенилбутил]-2Н-хромен-2-он, 0.69 g (10 mmol) хидроксиламин хидрохлорид, 3 ml пиридин, 0.4 g NaOH и 150 ml етанол. Разтворът престоява около 12 часа, след което кипи на обратен хладник 6 часа. Добивът е 2.75 g (77%), т.т. – 194-195°C. Вместо 4-хидрокси-3-[(3E)-3-(хидроксиимино)-1-фенилбутил]-2Н-хромен-2-он ние установихме ново, неописано в литературата спиро-съединение: 1'-ацетил-5'-метил-3'-фенил-1',3'-дихидроспиро[хроман-3,2'-пирол]-2,4-дион (фиг. 4) [13, 22].

4-хидрокси-3-[(3E)-3-хидроксиимино-1-(4-хлорофенил)бутил]-2Н-хромен-2-он (10) 3.42 g (10 mmol) 4-хидрокси-3-[1-(4-хлорофенил)-3-оксобутил]-2Н-хромен-2-он, 0.69 g (10 mmol) хидрок-

силамин хидрохлорид, 3 ml пиридин, 0.4 g NaOH и 150 ml етанол. Разтворът престоява около 12 часа, след което кипи на обратен хладник 6 часа. Добивът е 2.65 g (74%), т.т. – 192-194°C [13, 34].

Етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(4-нитрофенил)метил]-3-оксо-бутаноат (11) 1.32 g (0.005 mol) 4-нитробензилиденацетоацетат, 0.81 g (0.005 mol) 4-хидроксикумарин и 0.16 g (0.003 mol) натриев метоксид се разтварят в 25-30 ml абсолютен метанол. Разбърква се при кипене на обратен хладник 60 часа. Добивът е 0.71 g (34%), т.т. – 250-254°C [4].

Етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(4-хидроксифенил)метил]-3-оксобутаноат (12) 1.17 g (0.005 mol) 4-хидроксифенилметиленацетоацетат, 0.81 g (0.005 mol) 4-хидроксикумарин и 0.16 g (0.003 mol) натриев метоксид се разтварят в 25-30 ml абсолютен метанол. Разбърква се при кипене на обратен хладник 60 часа. Добив – 0.4 g (21%), т.т. – 195-197°C с разл. [4].

Етил 2-[(3,4-дихидроксифенил)(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил) метил]-3-оксобутаноат (13) 1.25 g (0.005 mol) 3,4-дихидроксифенилметиленацетоацетат, 0.81 g (0.005 mol) 4-хидроксикумарин и 0.16 g (0.003 mol) натриев метоксид или 2-3 капки пиперидин. Веществата се разтварят в 20 ml абсолютен метанол. Реакционната смес се разбърква при кипене на обратен хладник 60 часа. Добивът е 0.1 g (5%), т.т. – 243.4-247°C [4].

4-[1-(4-хидроксикумарин-3-ил)-2-(етокси-карбонил)-3-оксобутил] бензоена киселина или етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)-4-карбоксифенил]-метил]-3-оксобутаноат (14) 1.31 g (0.005 mol) 4-Карбоксибензилиденацетоацетат, 0.81 g (0.005 mol) 4-хидроксикумарин и 0.16 g (0.003 mol) натриев метоксид. Веществата се разтварят в 25-30 ml абсолютен метанол. Реакционната смес се разбърква при кипене на обратен хладник 48 часа. Добивът е 0.6 g (28%), т.т. – 150-155°C [4].

Етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(3-нитрофенил)метил]-3-оксобутаноат (15) 1.15 g (0.004 mol) 3-нитрофенилметиленацетоацетат, 0.65 g (0.004 mol) 4-хидроксикумарин и 0.11 g (0.002 mol) натриев метоксид. Веществата се разтварят в 25-30 ml абсолютен метанол. Сместа се разбърква при кипене на обратен хладник 24 часа. Добивът е 0.7 g (37%), т.т. – 135-140°C [4].

Етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(3,4,5-триметоксифенил) метил]-3-оксобутаноат (16) 1.99 g (0.0064 mol) етил 2-(3,4,5-

триметоксифенил)метиленацетоацетат, 2.09 g (0.0257 mol) 4-хидроксикумарин, 1-2 ml пиперидин и 20 ml диоксан се смесват и реакционната смес се нагрява при кипене на обратен хладник 62 ч. Добивът е 0.98 g (32%), т.т. – 155-157°C [4].

Етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(3-метокси-5-нитро-4-хидрокси-фенил)метил]-3-оксобутаноат (17) 0.65 g (0.004 mol) 4-хидроксикумарин, 0.77 g (0.0025 mol) 4-хидрокси-3-метокси-5-нитрофенилметиленацетоацетат, 20 ml диоксан, 15 ml вода и няколко капки пиперидин. Сместа се нагрява при кипене на обратен хладник 50 часа. Добивът е 0.23 g (20%), т.т. – 251-256°C [4].

3-[4-Хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(4-хидроксифенил)(метил)-2,4-пентандион (18) 0.81 g (0.005 mol) 4-хидроксикумарин, 1.02 g (0.005 mol) 4-хидроксифенилметиленацетилацетон, 10 ml метанол и 2-3 капки пиперидин. Реакционната смес се нагрява при кипене на обратен хладник и разбъркване в продължение на 60 часа. Добивът е 0.07 g (5%), т.т. – 209-210°C [4].

3-[3,4-дихидроксифенил)(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)метил]-пентан-2,4-дион (19) 0.81 g (0.005 mol) 4-хидроксикумарин, 1.10 g (0.005 mol) 3,4-дихидроксифенилметиленацетилацетон, 15 ml метанол и 2-3 капки пиперидин. Реакционната смес се нагрява при кипене на обратен хладник 50 часа. Изолира се жълтокафяво кристално вещество, което се пречиства чрез колонна хроматография с височина на стълба силикагел 16.0 cm, диаметър на колоната 3.0 cm и подвижна фаза хептан:ацетон = 1:2. Пречистеният продукт представлява червена гъстовискозна течност. $R_f = 0.85$, добивът е 2.4 g (33%) [4].

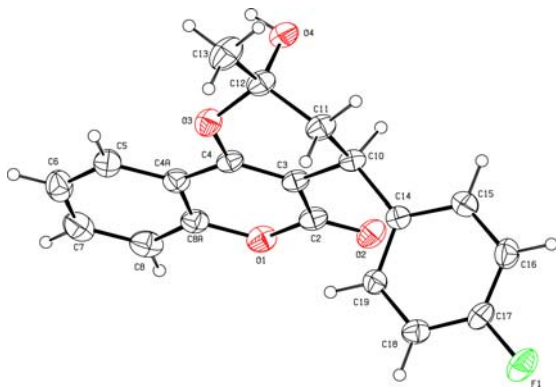
3-[3-хидроксифенил)(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)метил]-пентан-2,4-дион (20) 1.62 g (0.01 mol) 4-хидроксикумарин, 1.02 g (0.005 mol) 3-хидроксифенилметиленацетилацетон, 10 ml метанол и 2-3 капки пиперидин. Реакционната смес се нагрява при кипене на обратен хладник в продължение на 60 часа. Изолира се жълтокафява аморфна маса – суров продукт, който се разтваря в хлороформ и се пречиства чрез колонна хроматография с височина на стълба силикагел 15.5 cm, диаметър на колоната 3.0 cm и подвижна фаза хексан:ацетон = 2:1. Полярността на подвижната фаза се увеличава постепенно. Пречистеният продукт представлява жълточервеникава гъстовискозна течност. Добивът е 0.9 g (49%) [4].

4-[2-ацетил-1-(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)-3-оксобутил] бензоена киселина (21) 1.62 g

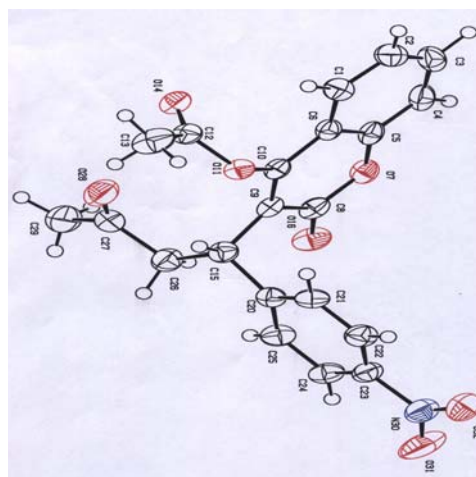
(0.01 mol) 4-хидроксикумарин и 1.16 g (0.005 mol) 3-карбоксифенилметиленацетилацетон в 25 ml диоксан. Прибавят се и няколко капки пиперидин. Реакционната смес се нагрява при кипене на обратен хладник и разбъркване в продължение на 50 часа. Добивът е 0.35 g (18%), т.т. – 288-290°C [4].

3-[(4-флуорофенил)(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)метил]-пентан-2,4-дион (22) 0.97 g (0.006 mol) 4-Хидроксикумарин и 0.62 g (0.003 mol) 4-флуорофенилметиленацетилацетон в 10 ml диоксан и 10 ml вода. Прибавят се и няколко капки пиперидин. Реакционната смес се нагрява при кипене на обратен хладник и разбъркване в продължение на 50 часа. Продуктът се разтваря в метанол и се пречиства чрез колонна хроматография с височина на стълба силикагел 27.0 cm, диаметър на колоната 3.0 cm и подвижна фаза хептан:ацетон = 4:1. Полярността на подвижната фаза се увеличава постепенно. Пречистеният продукт представлява оранжево-червено аморфно вещество. Добивът е 0.15 g (14%) [4].

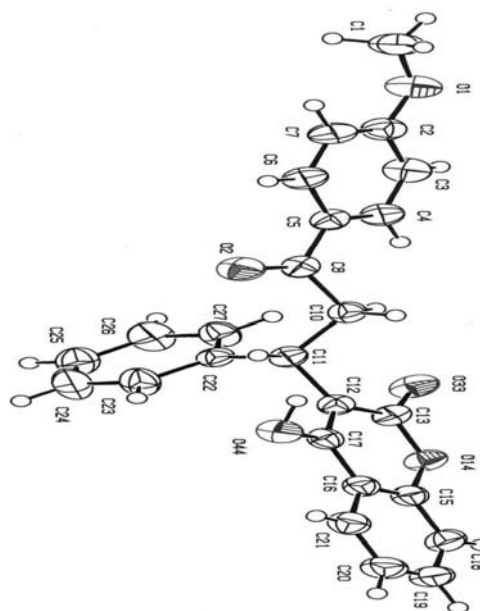
3-[(3-Флуорофенил)(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)метил]-пентан-2,4-дион (23) 0,97 g (0.006 mol) 4-хидроксикумарин и 0,62 g (0,003 mol) 3-флуорофенилметиленацетилацетон в смес от 10 ml диоксан и 10 ml вода. Прибавят се и няколко капки пиперидин. Реакционната смес се нагрява при кипене на обратен хладник и разбъркване в продължение на 60 часа. Суровият продукт се разтваря в метанол и се пречиства чрез колонна хроматография с височина на стълба силикагел 32.0 cm диаметър на колоната 3.0 cm и първоначална подвижна фаза хептан:ацетон = 5:1. Полярността на подвижната фаза се увеличава постепенно. Пречистеният продукт представлява жълто-оранжева аморфна маса. Добивът е 0.2 g (18%) [4].



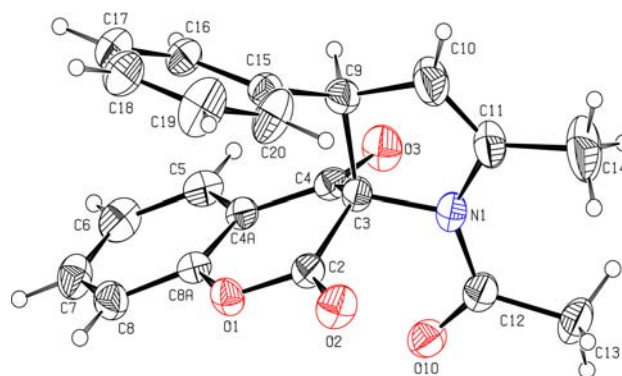
Фиг. 1. Кристалографска структура на 4-(4-флуорофенил)-2-хидрокси-2-метил-3,4-дихидро-2Н,5Н-пирано[3,2-с]хромен-5-он



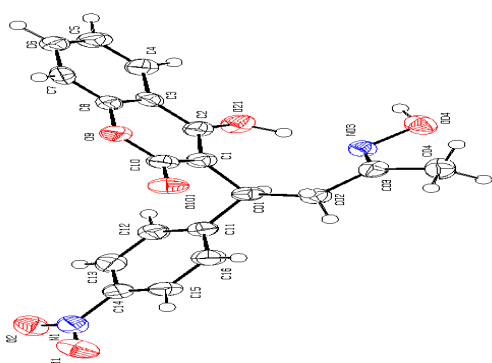
Фиг. 2. Кристалографска структура на 3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксобутил]-2-оксо-2Н-хромен-4-ил ацетат (2)



Фиг. 3. Кристалографска структура на 4-хидрокси-3-[3-(4-метоксифенил)-3-оксо-1-фенилпропил]-2Н хромен-2-он (6)



Фиг. 4. Кристалографска структура на 1'-ацетил-5'-метил-3'-фенил-1',3'-дихидро-4Н-стиро[хромен-3,2'-пирол]-2,4-дион (9)



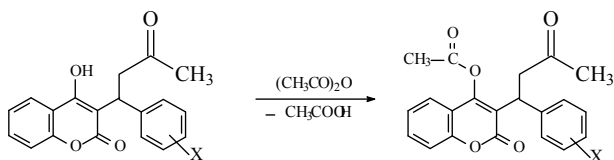
Фиг. 5. Кристалографска структура на 4-хидрокси-3-[(3E)-3-хидроксиимино-1-(4-нитрофенил)бутил]-2H-хромен-2-он (8)

Резултати и обсъждане

В литературата се е наложило схващането, че за проява на антикоагулантни свойства на производните на 4-хидроксикумарина от особена важност е наличие на хидроксилна група на 4-то място в кумариновия цикъл, четири въглеродни атома в страничната верига, както и карбонилна група при втория въглероден атом [1].

За ревизиране на схващането ние синтезирахме поредица производни с оглед системна промяна на споменатите структурни фрагменти.

Модификацията на хидроксилната група в кумариновия фрагмент на антикоагулантите бе осъществена с помощта на оцетен анхидрид. Получени са ацетилни производни на Warfarin и Асепосоумарол (схема 1) [18, 33, 34]. Според данните от рентгеноструктурния анализ продуктът образува кристали, принадлежащи към моноклинната система, пространствена група $P2_1/a$. Съединението кристализира в отвореноверижна кето-форма и има само един асиметричен център при C15 [5, 11, 12, 18, 25].

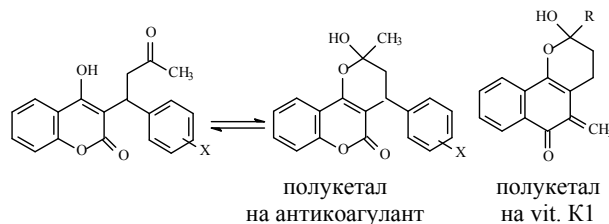


X = H, p-NO₂, m-NO₂ (**1,2,2a**)

Схема 1. Синтез на ацетилни производни

При изучаване на метаболизма на 4-хидроксикумарините антикоагуланти е установено, че в организма те образуват цикличен полукетал,

който е структурен аналог на активната форма на витамин К:



Изследванията показаха, че оксобензопиранодихидробензопиранол се образува не само в организма, но и в твърдо кристално състояние. Рентгеноструктурният анализ на 4-хидрокси-3-[1-(4-флуорофенил)-3-оксобутил]-2H-хромен-2-он доказва образуването на вътрешномолекулен полукетал в твърдо състояние. Появява се нов стереогенен център (фиг. 1) [22].

Промяната в страничната верига е осъществена в няколко направления. В едното се заменя метиловата група с ароматно ядро, съдържащо електрондонорни или електроноакцепторни заместители. Взаимодействието е осъществено между 4-хидроксикумарин и бензилиденацетофенон, бензилиден-4'-хлороацетофенон, бензилиден-4'-метоксиацетофенон, бензилиден-4'-фенилацетофенон и бензилиден-4'-нитроацетофенон. Процесът на присъединяване е проведен във водна среда при кипене с различна продължителност (от 1 до 200 часа) [2, 12, 17, 30]. Данните от анализа са представени в табл. 1.

Рентгеноструктурният анализ на 4-хидрокси-3-[3-(4-метоксифенил)-3-оксо-1-фенилпропил]-2H-хромен-2-он (фиг. 3) показва, че веществото образува кристали, принадлежащи към моноклинната система. Съединението кристализира в отвореноверижна кето-форма. Очевидно наличието на заместители в страничната верига на производните на Warfarin, различни от метилова група, поради пространствено пречене не позволяват образуването на вътрешномолекулен полукетал [17].

Друг тип модифициране на страничната верига в молекулата на антикоагуланта е карбонилната група при третия въглероден атом да бъде превърната в оксим. Проведохме опити с Warfarin и Асепосоумарол.

Модификацията се осъществява с хидроксиламин хидрохлорид, разтворен в етанол с пиридин и натриева основа [13].

Таблица 1. Адукти на 4-хидроксикумарин с арилиденацетофенони

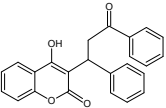
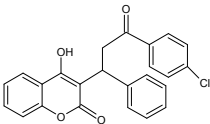
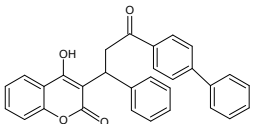
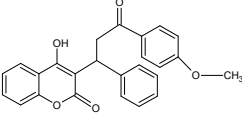
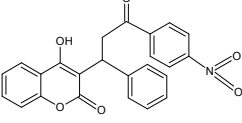
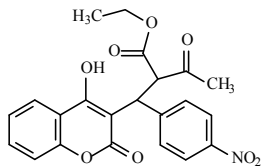
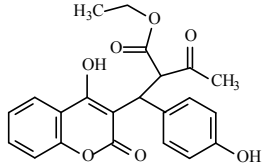
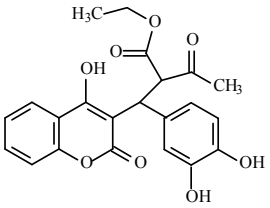
Структурна формула	Брутна формула	Елементен анализ (изч/нам)	IR (нуйол) cm^{-1}	^1H NMR	EIMS
 <p>4-хидрокси-3-(3-оксо-1,3-дифенилпропил)-2Н-хромен-2-он (3)</p>	$\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{O}_4$ (мол. м. 370)	% C = 80.67; % H = 5.88 % C = 80.91; % H = 5.78	3220, 1680, 1616, 1572, 1331, 1123, 984, 941, 820, 762, 696	Acetone- d_6 : 3.9-4.1 (d, 2H), 5.0-5.1 (t, 1H), 7.1-8.2 (m, 14H), 8.8-9.0 (s, 1H)	370 (4), 265 (33), 209 (53), 207 (98), 162 (32), 130 (53), 120 (54), 92 (31), 77 (100)
 <p>4-3-[3-(4-хлорофенил)-3-оксо-1-фенилпропил]-4-хидрокси-2Н-хромен-2-он (4)</p>	$\text{C}_{24}\text{H}_{17}\text{ClO}_4$ (мол. м. 404)	% C = 71.20; % H = 4.20 % Cl = 8.78 % C = 71.37; % H = 4.42 % Cl = 8.99	3225, 1682, 1616, 1574, 1277, 1244, 1111, 1040, 982, 939, 820, 762	CDCl_3 : 3.8-3.9 (d, 2H), 4.95-5.15 (t, 1H), 7.2-8.2 (m, 13H), 9.8- 9.9 (s, 1H)	404/406 (8), 265 (100), 162 (3), 139/141 (27), 120 (34), 111 (20), 92 (8)
 <p>4-хидрокси-3-(3-оксо-1-фенил-3-бифенилпропил)-2Н-хромен-2-он (5)</p>	$\text{C}_{30}\text{H}_{22}\text{O}_4$ (мол. м. 446)	% C = 80.72; % H = 4.93 % C = 80.53; % H = 4.97	3216, 1682, 1616, 1572, 1275, 1127, 910, 762, 748, 696	CDCl_3 : 3.8-3.9 (d, 2H), 4.9-5.0 (t, 1H), 7.2-8.0 (m, 18H), 9.55-9.7 (s, 1H)	446 (15), 283 (33), 265 (100), 181 (67), 162 (14), 152 (72), 120 (23), 92 (17), 77 (22)
 <p>4-хидрокси-3-[3-(4-метоксифенил)-3-оксо-1-фенилпропил]-2Н-хромен-2-он (6)</p>	$\text{C}_{25}\text{H}_{20}\text{O}_5$ (мол. м. 400)	% C = 75.00; % H = 5.00 % C = 75.05; % H = 5.05	1669, 1647, 1597, 1561, 1458, 1287, 1175, 753, 700	Acetone- d_6 : 3.9 (s, 3H), 4.2-4.3 (d, 2H), 4.4-4.7 (t, 1H), 6.9-8.2 (m, 13H), 9.6-9.7 (s, 1H)	400 (6), 265 (24), 249 (13), 238 (51), 237 (58), 162 (26), 135 (100), 120 (40), 92 (40)
 <p>4-хидрокси-3-[3-(4-нитрофенил)-3-оксо-1-фенилпропил]-2Н-хромен-2-он (7)</p>	$\text{C}_{24}\text{H}_{17}\text{NO}_6$ (мол. м. 415)	% C = 69.40; % H = 4.10 % N = 3.37 % C = 69.10; % H = 4.43 % N = 3.59	3240, 1691, 1616, 1578, 1278, 1121, 915, 762, 746, 694		

Таблица 2. Адукти на 4-хидроксикумарин с арилметилен-β-кетоестери

Структурна формула	Брутна формула	Елементен анализ (изч/нам)	IR (нуйол) cm ⁻¹	¹ H NMR	EIMS
 <p>Етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(4-нитрофе-нил)метил]-3-оксобу- ноат (11)</p>	C ₂₂ H ₁₉ NO ₈ (мол.м. 426)	% C = 62.12; % H = 4.50; % N = 3.29 % C = 62.02; % H = 4.38; % N = 3.21	3362, 1732, 1651, 1616, 1601, 833, 765.	(DMSO-d ₆): 1.0 (t, 3H), 2.0 (s, 3H), 3.9 (q, 2H), 4.36-4.40 (m, 1H), 4.62 (dq, 1H), 7.17-7.25 (m, 3H), 7.38 (dq, 1H), 7.46- 7.51 (m, 2H), 7.77-7.83 (m, 1H), 7.94-7.98 (m, 1H), 10.0 (s, 1H)	426 (0.8), 380 (0.8), 368 (0.8), 368 (0.4), 343 (0.8), 327 (5.3), 317 (3.5), 302 (1.8), 284 (0.9), 274 (0.8), 256 (7), 242 (3), 230 (6), 213 (27), 202 (4.4), 187 (4.4), 176 (5.3), 163 (10), 162 (81), 149 (8), 134 (2), 121 (48), 120 (100), 105 (4.4), 92 (57), 77 (8), 63 (18), 51 (6.1), 46 (2)
 <p>Етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(4-хидроксифе-нил)-метил]-3-оксо- бутаноат (12)</p>	C ₂₂ H ₂₀ O ₇ (мол.м. 396)	% C = 66.66 % H = 5.09 % C = 66.36 % H = 5.13	3391, 1700, 1622, 1599, 821, 760.	(DMSO-d ₆): 1.0 (t, 3H), 2.0 (s, 3H), 4.1 (q, 2H), 4.36-4.40 (m, 1H), 4.62 (dq, 1H), 6.82-6.87 (m, 2H), 7.17-7.23 (m, 1H), 7.4 (dq, 1H), 7.49-7.55 (m, 2H), 7.77-7.83 (m, 1H), 7.94- 7.98 (m, 1H), 8.6 (s, 2H)	396 (0.09), 364 (0.09), 350 (0.09), 321 (0.09), 307 (0.9), 279 (0.4), 266 (56), 265 (100), 249 (31.6), 237 (10.5), 221 (2.6), 210 (2.6), 181 (1.8), 165 (1.8), 153 (2.6), 146 (7), 130 (7), 121 (19.3), 118 (17.5), 102 (4.4), 92 (15.8), 85 (12.3), 76 (2.6), 63 (10.5), 53 (2.6), 46 (0.09)
 <p>Етил 2-[(3,4-дихидрокси-фенил) (4- хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3- ил)метил]-3-оксобутаноат (13)</p>	C ₂₂ H ₂₀ O ₇ (мол.м. 412)	% C = 64.07 % H = 4.89 % C = 64.44 % H = 4.52	3451, 1732, 1663, 1609, 1181, 1109, 826, 756.	(DMSO-d ₆): 1.2 (t, 3H), 2.1 (s, 3H), 4.1 (q, 2H), 4.35-4.39 (m, 1H), 4.62 (dq, 1H), 6.86 (dq, 1H), 7.11 (dt, 1H), 7.17-7.25 (m, 2H), 7.38 (dq, 1H), 7.77-7.83 (m, 1H), 7.94-7.98 (m, 1H), 8.1 (s, 3H)	412(0.09), 396 (0.09), 374(0.9), 348(0.5), 331 (0.9), 317(5.3), 282 (8.8), 281(12.3), 265 (9.6), 241(1.8), 228 (26.3), 213(0.9), 200 (48.2), 189(1.8), 171 (8.8), 162(93), 144 (7), 134(5.3), 120(100), 110(58.8), 92 (74.6), 81(8.8), 64(35), 51 (11.4), 45 (3.5)

Продължение на таблица 2

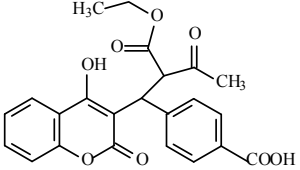
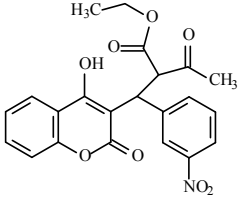
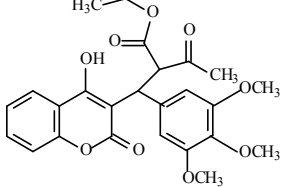
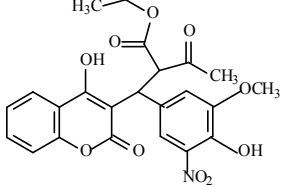
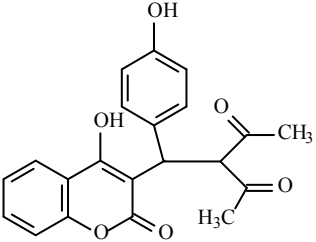
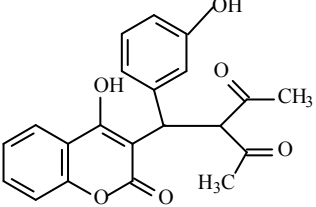
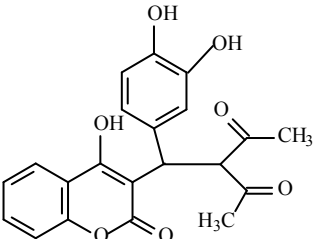
 <p>Етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(4-карбоксо-фенил)метил]-3-оксобутаноат (14)</p>	<p>$C_{23}H_{20}O_8$ (мол.м. 424)</p>	<p>% C = 65.09 % H = 4.75 % C = 65.07 % H = 4.90</p>	<p>3442, 3300-2400, 1732, 1694, 1613, 1109, 846, 756</p>	<p>(DMSO-d_6): 1.0 (t, 3H), 2.1 (s, 3H), 3.9 (q, 2H), 4.36-4.40 (m, 1H), 4.62 (dq, 1H), 7.17-7.24 (m, 1H), 7.38 (dq, 1H), 7.45-7.50 (m, 2H), 7.57-7.62 (m, 2H), 7.77-7.83 (m, 1H), 7.94-7.98 (m, 1H), 12.83 (s, 2H).</p>	<p>424 (1.3), 392 (0.4), 378 (17.5), 360 (1.8), 335 (48.2), 317 (19.3), 307 (9.6), 294 (44.7), 293 (34.2), 265 (6.1), 257 (50.9), 250 (22.8), 249 (100), 239 (5.3), 229 (1.8), 215 (12.3), 205 (1.8), 187 (2.6), 173 (2.6), 165 (4.4), 146 (2.6), 130 (6.1), 120 (19.3), 102 (6.1), 92 (30.7), 75 (6.1), 64 (8.8), 51 (2.6)</p>
 <p>Етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(3-нитрофе-нил)метил]-3-оксобу- ноат (15)</p>	<p>$C_{22}H_{19}NO_8$ (мол.м. 426)</p>	<p>% C = 65.09 % H = 4.75 % C = 65.07 % H = 4.90</p>	<p>3335, 1732.3, 1674.4, 1620.4, 1529.7, 1068.7, 763, 736.</p>	<p>(DMSO-d_6): 1.0 (t, 3H), 1.9 (s, 3H), 3.9 (q, 2H), 4.61-4.68 (m, 2H), 7.17-7.23 (m, 1H), 7.4 (dq, 1H), 7.46-7.52 (m, 1H), 7.60-7.64 (m, 1H), 7.77-7.83 (m, 1H), 7.84-7.86 (m, 1H), 7.94-7.98 (m, 1H), 9.8 (s, 1H)</p>	<p>426 (4.4), 382 (4.4), 361 (12.3), 336 (38.6), 320 (1.8), 308 (2.6), 294 (58.8), 278 (100), 266 (8.8), 257 (14.9), 249 (48.2), 248 (91.2), 239 (1.8), 220 (8.8), 205 (1.8), 176 (3.5), 165 (10.5), 139 95.3), 130 (15.8), 120 (71.9), 101 (13.2), 92 (68.4), 85 (18.4), 75 (14.9), 64 (17.5), 51 (6)</p>
 <p>Етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил) (3,4,5-триметоксифенил)-метил]-3-оксобутаноат (16)</p>	<p>$C_{25}H_{26}O_9$ (мол.м. 470)</p>	<p>% C = 63.83 % H = 5.53 % C = 63.67 % H = 5.39</p>		<p>(DMSO-d_6): 1.0 (t, 3H), 2.0 (s, 3H), 3.8 (s, 9H), 4.2 (q, 2H), 6.77-6.78 (m, 2H), 7.17-7.23 (m, 1H), 7.6 (dq, 1H), 7.77-7.83 (m, 1H), 7.94-7.98 (m, 1H), 11.2 (s, 1H)</p>	<p>470 (0.4), 450 (0.4), 420 (44.7), 406 (0.4), 392 (0.4)374 (17.4), 359 (0.8), 347 (28), 331 (4.5), 318 (1.5), 301 (100), 286 (6.1), 260 (26.5), 245 (9.8), 232 (8.3), 210 (1.5), 199 (4.5), 181 (5.3), 168 (8.3), 153 (5.3), 135 (5.3), 115 (6.8), 98 (9.8), 77 (6.1), 65 (2.3), 53 (4.5)</p>
 <p>Етил -2- [(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(3-метокси-5-нитро-4-хидроксифенил)-метил]-3-оксобутаноат (17)</p>	<p>$C_{23}H_{21}NO_{10}$ (мол.м. 471)</p>	<p>% C = 58.60 % H = 4.46 % N = 2.97 % C = 58.79 % H = 4.39 % N = 2.75</p>	<p>3445, 1744, 1636, 1463, 1377, 772</p>	<p>(DMSO-d_6): 1.2(s,3H),1.6(s,3H),3.8 (s, 3H), 4.1 (q, 2H), 4.6 (dq, 1H), 4.80-4.84 (m, 1H), 7.17-7.23 (m, 1H), 7.38 (dq, 1H), 7.77-7.83 (m, 1H), 7.93-7.98 (m, 1H), 9.9 (s, 2H)</p>	

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

Структурна формула	Брутна формула	Елементен анализ (изч/нам)	IR (нуйол) cm^{-1}	^1H NMR	EIMS
 <p>3-[(4-Хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(4-хидроксифенил)метил]-2,4-пентандион (18)</p>	$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_6$ (мол.м. 366)	% C = 68.85 % H = 4.95 % C = 68.73 % H = 4.92	3449, 1719, 1674, 1617, 1570, 1384, 833, 744	(DMSO- d_6): 1.5 (s, 3H), 2.0 (s, 3H), 4.50-4.55 (m, 1H), 4.9 (dqui, 1H), 6.87-6.93 (m, 2H), 7.17-7.23 (m, 1H), 7.38 (dq, 1H), 7.50-7.55 (m, 2H), 7.77-7.83 (m, 1H), 7.99-8.03 (s, 1H), 9.2 (s, 2H)	
 <p>3-[(3-Хидроксифенил) (4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)-метил]-2,4-пентандион (19)</p>	$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_6$ (мол.м. 366)	% C = 68.85 % H = 4.95 % C = 68.67 % H = 4.79	3448, 1728, 1600, 1581, 1381, 772	(DMSO- d_6): 1.6 (s, 6H), 4.21-4.25 (m, 1H), 4.9 (dqui, 1H), 7.17-7.23 (m, 1H), 7.38 (dq, 1H), 7.51-7.56 (m, 2H), 7.58-7.63 (m, 2H), 7.77-7.83 (m, 1H), 7.99-8.03 (m, 1H), 10.2 (s, 2H)	
 <p>3-[(3,4-Дихидроксифенил)- (4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)метил]- пентан-2,4-дион (20)</p>	$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_7$ (мол.м. 382)	% C = 65.97 % H = 4.71 % C = 65.74 % H = 4.52	3443, 1726, 1682, 1612, 1462, 1380, 759	(DMSO- d_6): 2.3 (s, 6H), 4.19-4.23 (m, 1H), 4.6 (dqui, 1H), 6.89-6.93 (m, 1H), 7.11-7.12 (m, 1H), 7.17-7.25 (m, 2H), 7.38 (dq, 1H), 7.77-7.83 (m, 1H), 7.99-8.03 (m, 1H), 8.1 (s, 3H)	

Продължение на таблица 3

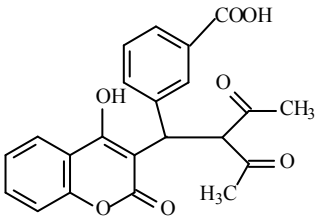
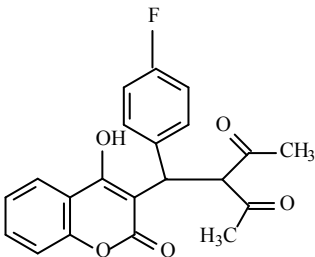
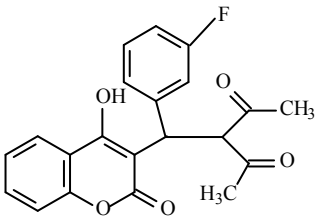
 <p>4-[2-Ацетил-1-(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)-3-оксобутил]бензоена киселина (21)</p>	<p>C₂₂H₁₈O₇ (мол.м. 394)</p>	<p>% C = 67.00 % H = 4.57</p> <p>% C = 67.27 % H = 4.73</p>		<p>(DMSO-d₆): 1.8 (s,3H), 3.0 (s, 3H), 4.38-4.43 (m, 1H), 5.0 (dqui, 1H), 7.17-7.23 (m, 1H), 7.4 (dq, 1H), 7.45-7.51 (m, 1H), 7.63-7.67 (m, 1H), 7.77-7.83 (m, 1H), 7.99-8.03 (m, 1H), 8.21-8.25 (m, 2H), 11.0 (s, 2H)</p>	<p>394 (0.4), 365 (0.4), 336 (3.1), 317 (11.5), 304 (0.8), 293 (44.6), 277 (6.9), 249 (100), 221 (6.2), 205 (1.5), 187 (1.5), 173 (3.0), 146 (1.5), 120 (33.8), 105 (2.3), 92 (36.9), 75 (4.6), 64 (9.2), 51 (3.8)</p>
 <p>3-[(4-Флуорофенил)-(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)метил]-пентан-2,4-дион (22)</p>	<p>C₂₁H₁₇FO₅ (мол.м. 368)</p>	<p>% C = 68.48 % H = 4.62</p> <p>% C = 68.27 % H = 4.71</p>	<p>3421, 1730, 1668, 1613, 1570, 1379, 801, 757</p>	<p>(CDCl₃): 1.9 (s, 6H), 3.90-3.95 (m,1H),4.5 (dqui, 1H), 6.2 (s, 1H), 6.99-7.07 (m, 2H), 7.17-7.23 (m, 1H), 7.4 (dq, 1H), 7.52-7.58 (m, 2H), 7.77-7.83 (m, 1H), 7.99-8.03 (m, 1H)</p>	
 <p>3-[(3-Флуорофенил)- (4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)метил]-пентан-2,4-дион (23)</p>	<p>C₂₁H₁₇FO₅ (мол.м. 368)</p>	<p>% C = 68.48 % H = 4.62</p> <p>% C = 68.59 % H = 4.47</p>	<p>3420,1715, 1670, 1612, 1589, 1381, 787, 721</p>	<p>(CDCl₃): 1.9 (s, 3H), 2.1 (s, 3H), 3.92-3.97 (m, 1H), 4.6 (dqui, 1H), 6.88-6.95 (m, 1H), 7.08-7.12 (m, 1H), 7.17-7.28 (m, 2H), 7.4 (dq, 1H), 7.44-7.48 (m, 1H), 7.77-7.83 (m, 1H), 7.99-8.03 (m, 1H), 10.1 (s, 1H)</p>	<p>369 (0.4), 351 (0.4), 338 (0.8), 322 (43.2), 304 (23.5), 289 (5.3), 276 (1.5), 261 (7.6), 245 (50.8), 231 (15.9), 231 (11.4), 201 (84.8), 187 (20.5), 165 (12.1), 154 (3), 121 (100), 93 (18.9), 77 (18.2), 53 (10.6)</p>

Таблица 4. Токсичност и антикоагулантно действие на вещества с ацелилирана хидроксилна група в кумариновия цикъл

Съединение	LD ₅₀ (р.о.) (mg/kg)	LD ₅₀ (i.p.) (mg/kg)	Време на съсирване (i.p. – еднократно)	Време на съсирване (р.о. – трикратно)	Съединение
2-оксо-3-(3-оксо-1-фенилбутил)-2Н-1-хромен-4-ил ацетат (1)	> 5000	1479.9	209.5 ± 4.0 (доза 500 mg)	321.2 ± 47.8 (доза 250 mg) 1080.1 ± 241.1 (доза 500 mg)	2-оксо-3-(3-оксо-1-фенилбутил)-2Н-1-хромен-4-ил ацетат (1)
3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксобутил]-2-оксо-2Н-хромен-4-ил ацетат (2)	> 5000	1330.9	391.4 (доза 500 mg)	870.4 ± 68.3 (доза 250 mg) 1200 ± 0 (доза 500 mg)	3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксобутил]-2-оксо-2Н-хромен-4-ил ацетат (2)
4-хидрокси-3-[1-фенил-3-оксобутил]-2Н-хромен-2-он (Warfarin)	1468.6	750.0	290.0 ± 35.9 (доза 150 mg)	561.7 ± 69.8 (доза 75 mg) 1172.8 ± 45.4 (доза 150 mg)	4-хидрокси-3-[1-фенил-3-оксобутил]-2Н-хромен-2-он (Warfarin)

Таблица 5. Токсичност и антикоагулантно действие на вещества с модифицирана карбонилна група в страничната верига (оксими и спиросъединения)

Съединение	LD ₅₀ (р.о.) (mg/kg)	LD ₅₀ (i.p.) (mg/kg)	Време на съсирване (i.p. – еднократно)	Време на съсирване (р.о. – трикратно)	Съединение
4-хидрокси-3-[(3E)-3- хидроксиимино-1-(4-нитрофенил)бутил]-2Н-хромен-2-он (8)	265.7	523.4	138.8 ± 45.7 (доза 50 mg)	422.5 ± 61.2 (доза 50 mg)	4-хидрокси-3-[(3E)-3- хидроксиимино-1-(4-нитрофенил)бутил]-2Н-хромен-2-он (8)
1'-ацетил-5'-метил-3'-фенил-1',3'-дихидро-4Н-спиро[хромен-3,2'-пирол]-2,4-дион (9)	349.1	588.4	322.5 ± 56.9 (доза 50 mg)	205.0 ± 41.9 (доза 50 mg)	1'-ацетил-5'-метил-3'-фенил-1',3'-дихидро-4Н-спиро[хромен-3,2'-пирол]-2,4-дион (9)
4-хидрокси-3-[(3E)-3- хидроксиимино-1-(4-хлорофенил)бутил]-2Н-хромен-2-он (10)	265.7	546.7	243.8 ± 46.6 (доза 50 mg)	980.1 ± 98.0 (доза 50 mg)	4-хидрокси-3-[(3E)-3- хидроксиимино-1-(4-хлорофенил)бутил]-2Н-хромен-2-он (10)
4-хидрокси-3-[1-фенил-3-оксобутил]-2Н-хромен-2-он (Warfarin)	–	–	280.3 ± 31.9 (доза 147 mg)	1082.8 ± 55.4 (доза 147 mg)	4-хидрокси-3-[1-фенил-3-оксобутил]-2Н-хромен-2-он (Warfarin)

Взаимодействието между варфарин и хидроксиламин хидрохлорид показва неочаквани резултати. Вместо 4-хидрокси-3-[(3E)-3-(хидроксиимино)-1-фенилбутил]-2Н-хромен-2-он установихме ново, неописано в литературата спиро-съединение (схеми 2 и 3) [5, 20, 23, 30, 31]. Оксимът претърпява прегрупировка, аналогична на прегрупировката на Beckmann [3]. Осъществява се вътрешномолекулна дехидратация, съпроводена с образуването на полизаместено дихидроспиро съединение.

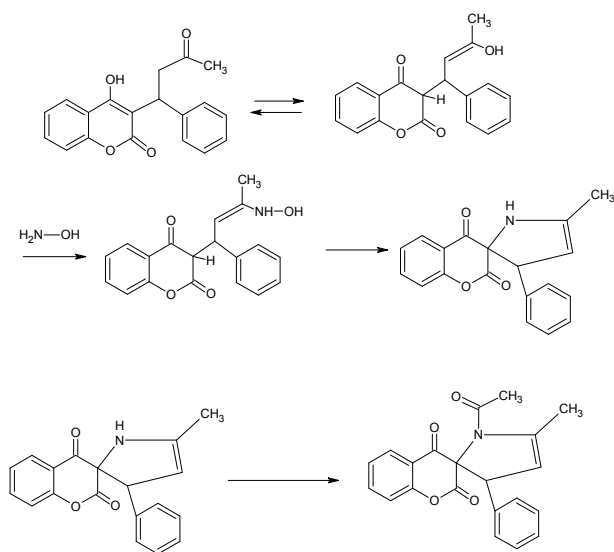


Схема 2. Взаимодействие между варфарин и хидроксиламин хидрохлорид

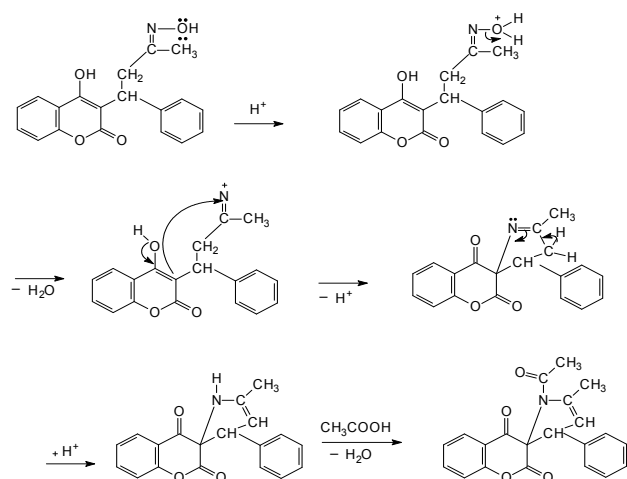


Схема 3. Вероятен механизъм на превръщането на оксим в спиро-съединение

Продуктът на взаимодействието на аценокумарол с хидроксиламин хидрохлорид е оксим

(схема 4). Оксимът на аценокумарола е траен най-вероятно поради влиянието на нитро групата в р-положение в ароматното ядро от страничната верига. Тя е причина за стабилизиране на съединението и пречатства участието му в прегрупировка, аналогична на прегрупировката на Beckmann.

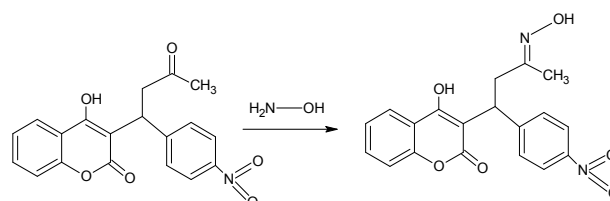


Схема 4. Синтез на оксими

Арилметилен-β-кетоестерите взаимодействат с 4-хидроксикумарин по реакцията на Михаел. Продуктите съдържат арилметилен-β-кетоестер на странична верига. Реакцията може да се представи по следния начин – схема 5.

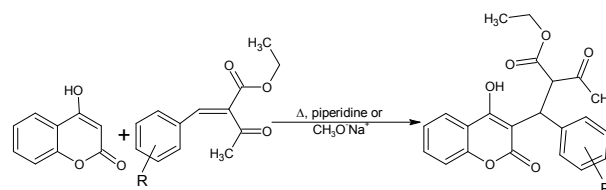


Схема 5. Синтез на адукти на 4-хидроксикумарин с арилметилен-β-кетоестери

Взаимодействието се осъществява при продължително кипене в присъствие на пиперидин като катализатор. Като реакционна среда при получаването на етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(3,4,5-триметоксифенил)метил]-3-оксобутаноат и етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(3-метокси-5-нитро-4-хидрокси-фенил)метил]-3-оксобутаноат се използват метанол или диоксан/вода [27].

Арилметилен-2,4-пентандионите взаимодействат с 4-хидроксикумарин по реакцията на Михаел в присъствие на пиперидин и продължително кипене в среда от метанол или диоксан [4, 27] (схема 6).

Изучени са токсичността и антикоагулантното действие на 2-оксо-3-(3-оксо-1-фенилбутил)-2Н-хромен-4-ил ацетат (**1**), 3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксобутил]-2-оксо-2Н-хромен-4-ил ацетат (**2**) и 4-хидрокси-3-[1-(4-хлорофенил)-3-оксобутил]-2Н-хромен-2-он. Резултатите показват, че ацети-

лираният продукт на Асепосумарол (**2**) има ниска токсичност както при орално, така и при интраперитонеално приложение. Токсичността на веществото е значително по-ниска от тази на Warfarin. От друга страна, ефектът на съедине-

нието върху времето на съсирване на кръвта е значително по-добър от този на Warfarin. Данните дават основание да се приеме, че съединение (**2**) представлява интерес за бъдещи фармакологични и токсикологични проучвания.

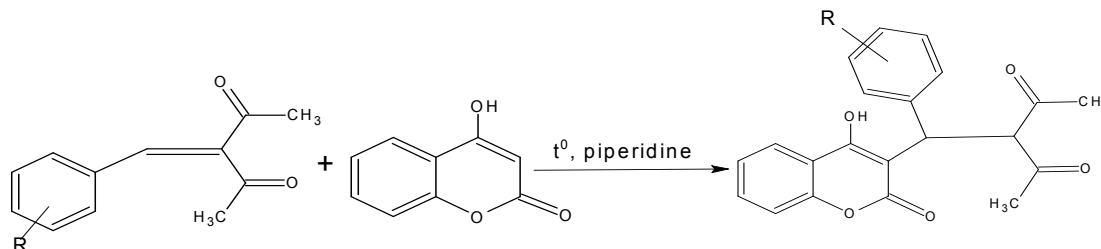


Схема 6. Синтез на адукти на 4-хидроксикумарин с 3-арилметилен-2,4-пентандиони

Проведени са токсикологични и фармакологични изследвания на оксимите на Асепосумарол и Warfarin. Резултатите показват, че съединенията проявяват по-висока токсичност от Warfarin. Токсичността на 4-хидрокси-3-[(3E)-3-хидроксиимино-1-(4-нитрофенил)бутил]-2Н-хромен-2-он (**8**) е съизмерима с тази на Coumachlor. Данните за времето на съсирване на кръвта показват, че оксимите на Асепосумарол и Coumachlor удължават времето на съсирване. Оксимът на Coumachlor проявява антикоагулантен ефект, съизмерим с ефекта на Warfarin и Coumachlor.

Фармакологично са охарактеризирани и модифицираните в страничната верига производни на 4-хидроксикумарина. Експерименталните данни показват, че съединенията удължават времето на съсирване, с изключение на 4-хидрокси-3-(3-оксо-1-фенил-3-бифенилпропил)-2Н-хромен-2-он (**5**). 4-Хидрокси-3-(3-оксо-1,3-дифенилпропил)-2Н-хромен-2-он (**3**) и 3-[3-(4-хлорофенил)-3-оксо-1-фенилпропил]-4-хидрокси-2Н-хромен-2-он (**4**) са по-високо токсични от Warfarin. Антикоагулантната активност на 3-[3-(4-хлорофенил)-3-оксо-1-фенилпропил]-4-хидрокси-2Н-хромен-2-он (**4**) е сравнима с тази на Warfarin. Заместването на метиловата група в страничната верига с ароматно ядро (специално две ароматни ядра в молекулата 4-хидрокси-3-(3-оксо-1-фенил-3-бифенилпропил)-2Н-хромен-2-он (**5**) води до понижаване на острата токсичност. Съединение (**4**) е с най-силно изразена антикоагулантна активност.

Адуктите на 4-хидроксикумарин с арилметилен- β -кетоестери са изследвани за цитотоксична активност върху EJ-клетки и HL-клетки, използвайки МТТ-тест. Резултатите и в двете изслед-

вани клетъчни линии показват, че съединението етил 2-[(3,4-дихидроксифенил)(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)метил]-3-оксобутират (**13**) може да се използва като модел за по-нататъшно разработване на цитотоксични кумаринови производни.

Новосинтезираните вещества са изследвани за антиоксидантна активност в система от хипохлоритни аниони. От тях етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(4-хидроксифенил)метил]-3-оксобутиратът показва най-висока антиоксидантна активност [28].

Изследвана е растеж-регулирущата активност. Най-силно проявен хербициден ефект се отчита при прилагане на етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(3,4,5-триметоксифенил)метил]-3-оксобутират (**16**). Най-висока степен на инхибиране на азотфиксиращата активност се отчита при етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(4-хидроксифенил)метил]-3-оксобутират (**12**).

Етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(3,4,5-триметоксифенил)-метил]-3-оксобутират (**16**) значително потиска важни процеси, свързани с усвояването на азота и фосфора в растенията [30].

Заклучение

Синтезирани са различни производни на 4-хидрокси-3-(3-оксо-1-фенилпропил)-2Н-хромен-2-он (Warfarin). Промените в молекулата на Warfarin засягат хидроксилната група на четвъртото място в кумариновия цикъл, метиловата група в страничната верига, карбонилната група при третия въглероден атом. Синтезирани са и ана-

лози на Warfarin с напълно променена странична верига (на основата на арилметилден-2,4-пентандион и арилметилден етилацетоацетат). Структурата на някои от съединенията е доказана с помощта на рентгеноструктурен анализ. Фармакологичните резултати дават основание да се разширят и задълбочат изследванията на този клас съединения с оглед практическо приложение в близко бъдеще.

Библиография

1. Дрянновска-Нонинска, Л. Фармацевтична химия, С., МФ, 1977, 347.
2. Момеков, Г., И. Манолов, С. Константинов и М. Караиванова. Цитотоксична активност *in vitro* на производни на 4-хидроксикумарина върху човешката промиелоцитна левкемична клетъчна линия HL-60. – Фармация, **49**, 2002, 23-27.
3. Петров, Г. Органична химия. С., Университетско издателство „Св. Кл. Охридски“, 1996.
4. Станчев, Ст. Синтез, свойства, теоретично проучване и биологична активност на нови 4-хидроксикумаринови производни, Дисертация за присъждане на образователна и научна степен “доктор”, декември 2008 г., С.
5. Brandenburg, K. DIAMOND (Version 3.0). Crystal and Molecular Structure Visualization, Crystal Impact-K. Brandenburg & H. Putz GbR, Bonn (Germany), 2004.
6. Foti, M. et al. Flavonoids, Coumarins and Cinnamic Acids as Antioxidants in a Micellar System. Structure-Activity Relationship. – J. Agric. Food. Chem., **44**, 1996, 497-501.
7. Jacquot, Y. et al. 4-Hydroxy-3-[(4-hydroxy-2-oxo-2H-3-chromenyl)(3-thienyl)methyl]-2H-chromen-2-one. – Eur. J. Med. Chem., **36**, 2001, 127-136.
8. Kancheva, V., P. Boranova et I. Manolov. Antioxidant properties of new 4-hydroxycoumarin derivatives. – Oxidation Commun., **33**, 2010, № 3, 698-708.
9. Kancheva, V. D., P. V. Boranova, J. T. Nechev et I. Manolov. Structure-activity relationships of new biscoumarins as radical scavengers and chain-breaking antioxidants. – Biochimie, 2010, 1-9.
10. Kirkiacharian, S. et al. Structure-activity relationships of some 3-substituted-4-hydroxycoumarins as HIV-1 protease inhibitors. – Il Farm., **57**, 2002, 703-708.
11. Kochetov, A. N. et L.G. Kuz'mina Crystal structure of the molecular complex of 3-[1-(4-nitrophenyl)-3-oxobutyl]-4-hydroxychromen-2-one with ethanol. Crystallogr. – Reports, **52**, 2007, 668-671.
12. Manolov, I. et N. D. Danchev. Synthesis, Toxicological and Pharmacological Assessment of Some 4-Hydroxycoumarin Derivatives. – Eur. J. Med. Chem., **30**, 1995, 531-535.
13. Manolov, I. et N. D. Danchev. Synthesis, Toxicological and Pharmacological Assessment of Some Oximes and Aldehyde Condensation Products of 4-Hydroxycoumarin. – Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem., **332**, 1999, 243-248.
14. Manolov, I. et N. D. Danchev. Synthesis and Pharmacological Investigations of Some 4-Hydroxycoumarin Derivatives. – Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem., **336**, 2003, 83-94.
15. Manolov, I. Et al. Positional isomerism confers anti-HIV activity of some 4-hydroxycoumarin (4-hc) derivatives in cell culture. International AIDS Conference, 15th, Bangkok, Thailand, 2004 July 11-16.
16. Manolov, I. Et al. Synthesis and Anticoagulant Activities of Substituted 2,4-Diketochromans, Biscoumarins and Chromanocoumarins. – Arch. Pharm. Chem. Life Sci., **339**, 2006, 319-326.
17. Manolov, I., C. Maichle-Moessmer et N. Danchev. Synthesis, structure, toxicological and pharmacological investigations of 4-hydroxycoumarin derivatives. – Eur. J. Med. Chem., **41**, 2006, 882-890.
18. Manolov, I. and C. Maichle-Moessmer Crystal Structure of 4-Acetoxy-3-[1-(4-nitrophenyl)-3-oxobutyl]-2H-1-benzopyran-2-one. Anal. Sci. – X-Ray Structure Analysis Online, **23**, 2007, 171-172.
19. Manolov, I. et C. Maichle-Moessmer Crystal Structure of 4-Hydroxy-3-[1-phenyl-2-(4-methoxybenzoyl)ethyl]-2H-1-benzopyran-2-one, Anal. Sci. – X-Ray Structure Analysis Online, **23**, 2007, 79-80.
20. Mazumder, A. et al. Antiretroviral Agents as Inhibitors of both Human Immunodeficiency Virus Type 1 Integrase and Protease. – J. Med. Chem., **39**, 1996, 2472-2481.
21. Obaseki, A., H. Coker. The anticoagulant activity of some selected Warfarin analogues. – J. Pharm. Pharmacol., **39**, 1987, 142-144.
22. Penkova, A., P. Retailleau, et I. Manolov. Crystal Structure of (4-(4-Fluorophenyl)-2-hydroxy-2-methyl-3,4-dihydropyrano[3,2-c]chromen-5(2H)-one. – X-ray Structure Analysis Online, **25**, 2009, 89-90.
23. Penkova, A., P. Retailleau, and I. Manolov. Crystal Structure of a 1'-Ethanoyl-5'-methyl-3'-phenyl-1',3'-dihydro-4H-spiro[chromen-3,2'-pyrrole]-2,4-dione. Anal. Chem. – X-ray Structure Analysis Online, **25**, 2009, 125-126.
24. Rehman, S., Z. Chohan, F. Gulnaz, C. Supuran. In-vitro antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of some coumarins and their metal complexes. – J. Enz. Inh. Med. Chem., **20**, 2005, 333-340.
25. Savell, Jr. V. H., E. J. Valente et D. S. Eggleston. Structures of (±)-trans-4-(3-nitrophenyl)- (I) and (+)-trans-4-(4-fluorophenyl)-2-hydroxy-2-methyl-3,4-dihydro-2H,5H-pyrano[3,2-c][1]benzopyran-5-one (II). – Acta Cryst., **C45**, 1989, 1908.
26. Sosnovskikh, V. Y., B.I. Usachev, A.Y. Sizov, M.I. Kodes. Novel chemical modifications at the 4-position of chromones. Synthesis and reactivity of 4H-chromene-4-spiro-5'-isoxazolines and related compounds. – Tetrahedron Lett., **45**, 2004, 7351-7354.
27. Stanchev, S., G. Momekov, F. Jensen et I. Manolov. Synthesis, computational study and cytotoxic activity of new 4-hydroxycoumarin derivatives. – Eur. J. Med. Chem., **43**, 2008, 694-706.
28. Stanchev, S., F. Jensen et I. Manolov. Synthesis and DFT Study of the Spectral Behaviour of New 4-Hydroxycoumarins. – Int. J. Quant. Chem., **108**, 2008, 1340-1351.

29. Stanchev, S. et al. Investigation of the antioxidant properties of some new 4-hydroxycoumarin derivatives. – Eur. J. Med. Chem., **44**, 2009, 3077-3082.
30. Stanchev, S. et al. Growth-Regulating Activity of Three 4-Hydroxycoumarin Derivatives on Inoculated Soybean Plants. – J. Plant. Growth. Regul., **29**, 2010, 1-5.
31. Thairivongs, S. et al. Structure-Based Design of Novel HIV Protease Inhibitors: Sulfonamide-Containing 4-Hydroxycoumarins and 4-Hydroxy-2-pyrone as Potent Non-Peptidic Inhibitors. – J. Med. Chem., **39**, 1996, 2400-2410.
32. Thijssen, H. H. W., L. G. M. Baars et H. T. M. Vervoort-Peters. Microsomal Warfarin binding and vitamin K 2,3-epoxide reductase. – Br. J. Pharmacol., **95**, 1988, 675-682.
33. Valente, E. J., W. F. Trager et L. H. Jensen. The Crystal and Molecular Structure and Absolute Configuration of (-)- (S)-Warfarin. – Acta Cryst., **B31**, 1975, 954-960.
34. Windholz, M. (ed). The Merck Index 10th ed. Rahway, USA, 1983, 1441.
35. Yamada, Y., N. Nakatani et H. Fuwa. Spasmolytic Activity of Geranyloxycoumarin-related Compounds. – Agric. Biol. Chem., **51**, 1987, № 6, 1711-1713.

✉ Адрес за кореспонденция:

И.Манолов
Катедра по фармацевтична химия
Фармацевтичен факултет
Медицински университет
ул. „Дунав” № 2
1000 София

✉ Address for correspondence:

I. Manolov
Department of Pharmaceutical Chemistry
Faculty of Pharmacy
Medical University
2, Dunav St.
1000 Sofia
