

СПЕКТРАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТА ЕЛЕКТРОННА БУДОВА СИНТЕТИЧНИХ ПОХІДНИХ КУМАРИНУ

ПОВІДОМЛЕННЯ V

ВИВЧЕННЯ ЕЛЕКТРОННОЇ БУДОВИ ВАРФАРИНУ

Ключові слова: варфарин, електронна будова, електронна густина, хромофор, зарядженість атомів, реакційна здатність

Варфарин являє собою рацемічну суміш R- та S-енантіомерів 4-гідрокси-3-(3-оксо-1-фенілбутил)-2Н-хромен-2-онів. Цей лікарський препарат є антикоагулянтom непрямої дії з групи кумаринів і конкурентним антагоністом вітаміну К [2]. Як відомо, більшість факторів, які сприяють системі згортання крові, синтезуються у печінці. Від наявності вітаміну К залежить синтез всіх К-залежних факторів згортання. Вітамін К є ключовим кофактором у реакції карбоксилювання факторів згортання крові або антикоагуляції, в результаті якої вони перетворюються на активні білки.

Після прийому всередину варфарин швидко і повністю всмоктується в травному тракті. Препарат майже повністю зв'язується з білками плазми крові, і лише 1–3% вільного варфарину виявляє вплив на перетворення вітаміну К у печінці [4].

Згідно з проведеними нами дослідженнями [1], модельна речовина варфарину, а саме кумарин у етанольному розчині, дає 2 інтенсивних максимума при 274 та 310 нм. Нами доведено, що максимум першої смуги вбирання безумовно відповідає $\pi \rightarrow \pi^*$ -переходу бензольного циклу смуги типу ${}^1L_b$. Другий максимум у молекулі кумарину виникає в результаті р- π -супряження бензольного циклу із родоначалним еноном

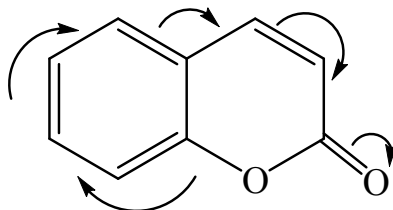
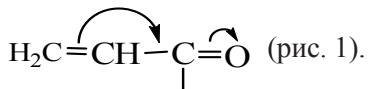


Рис 1. Електронна будова кумарину

Введення окси-групи в положення 4 молекули кумарину спричиняє розщеплення $\lambda_{\text{макс}}$ при 274 нм на два максимума при 269 та 280 нм та гіпсохромне зміщення другого максимуму на 6 нм.

У протилежність 4-оксикумарину, у спектрі варфарину не відбувається розколу $\lambda_{\text{макс}}$ незаміщеного кумарину при 274 нм на два максимума, внаслідок чого на спектральній кривій спостерігають тільки дві або три (у 0,1 М розчині кислоти хлоридної, 0,1 М розчині кислоти сульфатної та циклогексані) смуги вбирання (рис. 2). Виключенням є лужні розчини варфарину, оскільки у цьому разі відбувається утворення солей о-оксикоричної кислоти [5, 6, 7, 8, 9, 10].

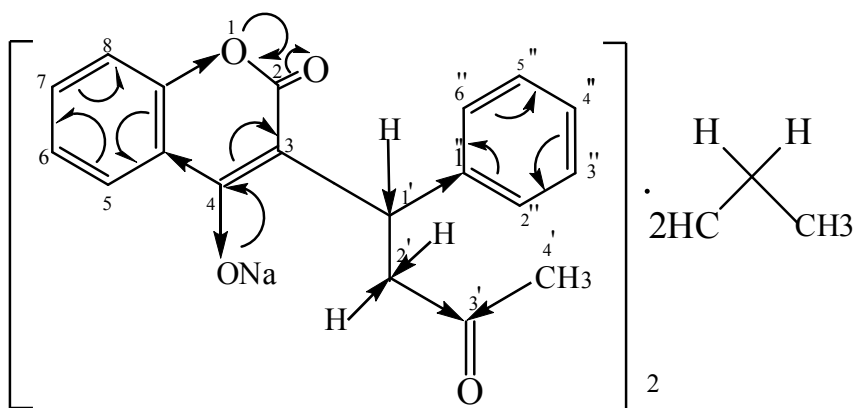


Рис 2. Електронна будова натрієвої солі варфарину

З метою виявлення фрагментів молекули варфарину, які зумовлюють смуги вбирання електронного спектра досліджуваної сполуки, було вивчено його спектри у воді очищеній, 95%-му етанолі, 0,1 М розчині хлоридної кислоти, 0,1 М розчині сульфатної кислоти, 0,1 М розчині натрію гідроксиду, хлороформі, ацетонітрилі та циклогексані.

Досліди допоможуть розробленню оптимальних умов хіміко-токсикологічного аналізу (ХТА) варфарину та виявленню частини молекули досліджуваної сполуки, яка зумовлює появу максимумів (хромофор) та частково його фармакологічну дію (фармакофор).

Матеріали та методи дослідження

Стандартний зразок варфарину було отримано нами від ДП «Державний експертний центр МОЗ України». Всі використані реагенти та розчинники мали кваліфікацію «х. ч.», які застосовують в аналітичній спектрофотометрії [3].

Вивчення УФ-спектрів варфарину здійснювали за допомогою спектрофотометра SPECORD 200 U 214 (Німеччина). Вимірювання УФ-спектрів виконували в межах від 200 до 400 нм, а графіки смуг вбирання було побудовано в координатах $A = f(\lambda)$. Як розчинники нами були використані: вода очищена, 95%-й етанол, розчин кислоти хлоридної (0,1 М), розчин кислоти сульфатної (0,1 М), розчин натрію гідроксиду (0,1 М), хлороформ, ацетонітрил та циклогексан. Вибір зазначених розчинників зумовлено такими факторами:

а) можливістю визначення наявності переходу електронів типу $\pi \rightarrow \pi^*$ або $n \rightarrow \pi^*$ за характером зміщення смуг у розчинниках різної полярності (циклогексан, ацетонітрил, хлороформ порівняно з водою очищеною та 95%-м етанолом);

б) частим використанням деяких розчинників (циклогексан, ацетонітрил, хлороформ, 95%-й етанол, вода очищена) для виділення субстанції з лікарських форм та біологічного матеріалу;

в) можливістю утворення солей у 0,1 М розчині HCl, 0,1 М розчині H₂SO₄, а також виявленням гідролітичних процесів у лужних та кислих середовищах;

г) виявленням ефектів взаємодії розчиненої речовини з розчинником для одержання найбільш повної інформації про природу досліджуваного переходу.

Результати дослідження та обговорення

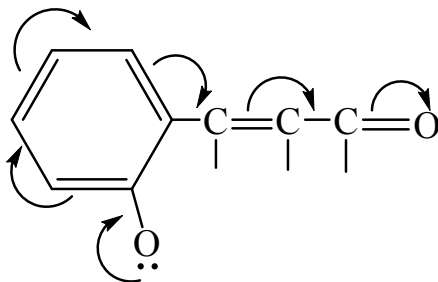
Одержані УФ-спектри варфарину у восьми розчинниках різної полярності вивчались нами з метою встановлення взаємозв'язку між хімічною будовою речовини та характером спостережуваних смуг вбирання для визначення типів електронних переходів (табл. 1).

Спектральна характеристика варфарину (C = 1 мг%)

№ з/п	Розчинник	λ , нм	ε	$\lg \varepsilon$	Типи переходів електронів
1	Вода очищена	204	35610	4,55	^1L_a -смуга
		207	31710	4,50	^1L_a -смуга
		306	34600	4,54	р- π -супряження
2	Етанол 95%-й	206	19420	4,29	^1L_a -смуга
		209	25080	4,40	^1L_a -смуга
		212	28210	4,45	^1L_a -смуга
		311	34400	4,54	р- π -супряження
3	0,1 М NaOH	211	23420	4,37	^1L_a -смуга
		215	25500	4,41	^1L_a -смуга
		219	33500	4,53	^1L_a -смуга
		306	39900	4,60	р- π -супряження
4	0,1 М HCl	201	39030	4,59	^1L_a -смуга
		206	28800	4,46	^1L_a -смуга
		208	29030	4,46	^1L_a -смуга
		211	28300	4,45	^1L_a -смуга
		214	24650	4,39	^1L_a -смуга
		283	34700	4,54	^1L_b -смуга
		305	29120	4,46	р- π -супряження
5	0,1 М H ₂ SO ₄	203	37300	4,57	^1L_a -смуга
		206	40110	4,60	^1L_a -смуга
		283	38920	4,59	^1L_b -смуга
		305	32700	4,52	р- π -супряження
6	Хлороформ	206	32400	4,51	^1L_a -смуга
		212	33800	4,53	^1L_a -смуга
		217	34200	4,53	^1L_a -смуга
		219	19280	4,29	^1L_a -смуга
		221	32760	4,52	^1L_a -смуга
		225	16000	4,20	^1L_a -смуга
		230	33800	4,53	^1L_a -смуга
		233	28800	4,46	^1L_a -смуга
		236	33080	4,52	^1L_a -смуга
		241	32040	4,51	^1L_a -смуга
		312	38020	4,58	р- π -супряження
7	Ацетонітрил	202	15240	4,18	^1L_a -смуга
		204	26400	4,42	^1L_a -смуга
		206	31030	4,49	^1L_a -смуга
		209	31140	4,49	^1L_a -смуга
		214	30420	4,48	^1L_a -смуга
		220	32000	4,51	^1L_a -смуга
		319	30310	4,48	р- π -супряження
8	Циклогексан	203	12650	4,10	^1L_a -смуга
		205	29220	4,47	^1L_a -смуга
		208	26700	4,43	^1L_a -смуга
		210	23600	4,37	^1L_a -смуга
		214	28600	4,46	^1L_a -смуга
		216	18960	4,28	^1L_a -смуга
		219	28750	4,46	^1L_a -смуга
		222	19030	4,28	^1L_a -смуга
		226	38700	4,59	^1L_a -смуга
		230	20070	4,30	^1L_a -смуга
		236	31500	4,50	^1L_a -смуга
		270	30750	4,49	^1L_b -смуга
		274	31170	4,49	^1L_b -смуга
		281	31530	4,50	^1L_b -смуга
		289	29200	4,47	^1L_b -смуга
		300	31900	4,50	р- π -супряження
		302	29550	4,47	р- π -супряження
		307	29200	4,47	р- π -супряження

Згідно з наведеними в табл. 1 даними слід зробити висновки, що УФ-спектри варфарину залежно від обраного розчинника виявляють від двох смуг вбирання (вода очищена, 95%-й етанол, 0,1 М розчин NaOH, хлороформ, ацетонітрил) до трьох смуг вбирання (0,1 М розчин HCl, 0,1 М розчин H₂SO₄, циклогексан).

Враховуючи електронну структуру варфарину та полярність використаних розчинників слід зробити висновок, що перша смуга вбирання електронних спектрів досліджуваної речовини зумовлена $\pi \rightarrow \pi^*$ -переходами електронів, характерними для фенольного радикала молекули, а коливальна структура підтверджує її відповідність ¹L_a-смузі. Друга смуга, як і у разі зі спектрами похідних 4-оксикумарину, відповідає дозволеному переходу $\pi \rightarrow \pi^*$ електронів у бензольному циклі і її слід віднести до ¹L_b-смуги. Максимуми третьої смуги виникли в результаті р- π -супряження бензольного циклу молекули варфарину із угрупованням $-\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$ родоначального хромофору єнону



тобто цей ланцюг супряження співпадає з фармакофором або є його частиною.

Для пояснення природи атомів у молекулі варфарину та виявлення суті спостережуваних смуг вбирання спочатку слід розглянути структурну формулу варфарину і позначити ймовірні переходи електронів в молекулі досліджуваної речовини та виконати квантово-хімічні розрахунки електронної густини за методом Хюккеля з використанням програми Chemoffice 11 (оптимізація ММ 2). Результати квантово-хімічних розрахунків електронної густини варфарину за методом Хюккеля наведено в табл. 2.

Перед тим як приступити до вивчення реакційної здатності варфарину [4-гідрокси-3-(3-оксо-1-(R,S)фенілбутил)-2H-бензопіран-2-ОН, натрієва сіль, 2-пропанол клатрат], нами здійснено квантово-хімічний розрахунок електронної густини кумарину. Розрахунок зарядів робили за Хюккелем (метод Extended Hückel, Cemoffice 11.01.1).

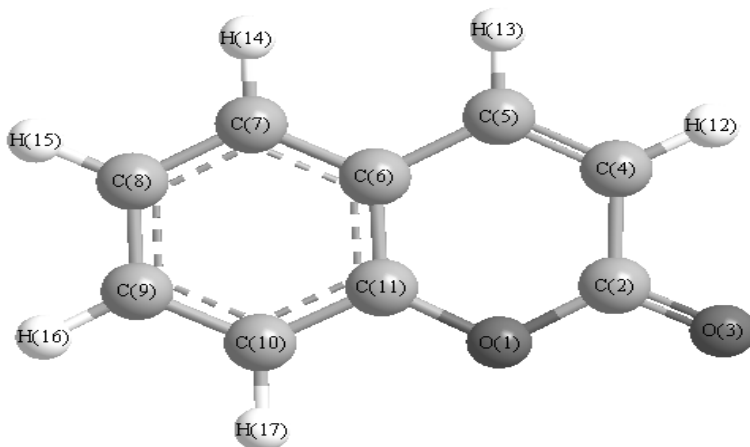


Рис. 3. Квантово-хімічна структура кумарину

**Квантово-хімічний розрахунок електронної густини
бензо [d] пірона-2 за методом Хюккеля**

Нумерація атомів	Характер атомів (ІЮПАК)	Електронна густина атомів
O(1)	O Carbonyl	0.0460202
C(2)	C Carbonyl	0.539273
O(3)	O Carbonyl	-0.707409
C(4)	C Alkene	-0.1224
C(5)	C Alkene	0.0519898
C(6)	C Alkene	-0.0110741
C(7)	C Alkene	-0.029393
C(8)	C Alkene	-0.0946001
C(9)	C Alkene	-0.0211762
C(10)	C Alkene	-0.0673342
C(11)	C Alkene	0.262728
H(12)	H	0.0316152
H(13)	H	0.021198
H(14)	H	0.0224525
H(15)	H	0.0249582
H(16)	H	0.0248639
H(17)	H	0.0282875

За даними розрахунків (табл. 2) можна встановити, що реакції S_E в першу чергу буде протікати за C_{10} , а вже потім за C_8 бензольного кільця (*A*). Нуклеофільній атаці піддається лактонне кільце (*B*), в результаті чого відбувається розкриття циклу. Лактонне кільце (*B*) може вступати до реакцій A_E , A_N (рис. 4).

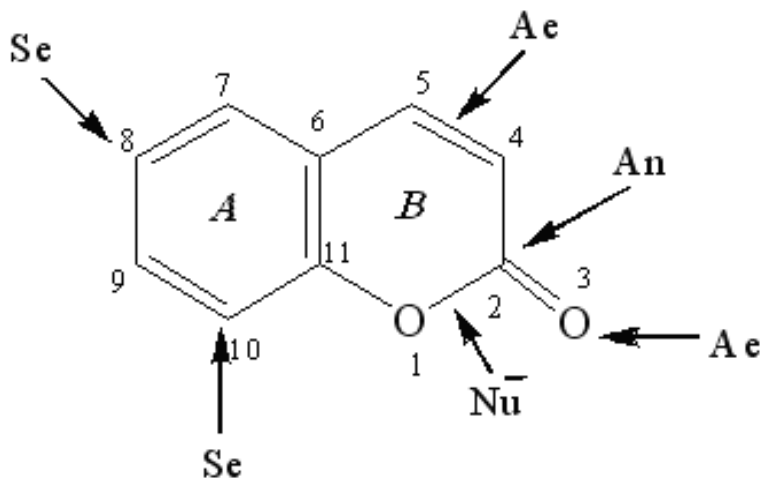


Рис. 4. Реакційна здатність кумарина (бензо [d] пірон-2)

Для визначення реакційної здатності натрію 2-оксо-3(3-оксо-1-феніл-бутил)-2Н-хромен-4-олату, що є похідним кумарину (рис. 5), було необхідно зробити розрахунок електронної густини за Хюккелем (метод Extended Hückel, Cemoffice 11.01.1), (табл. 3).

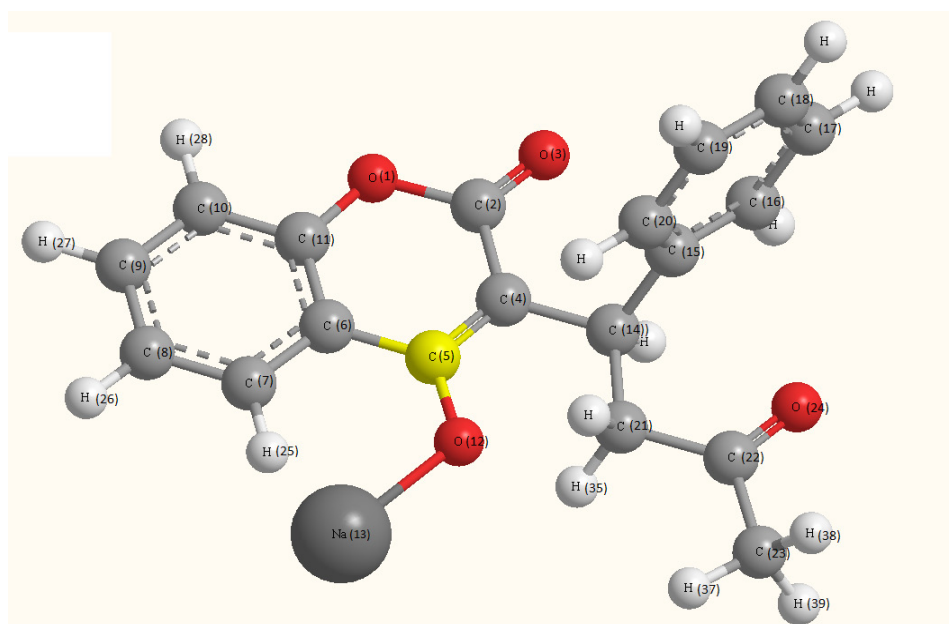


Рис. 5. Квантово-хімічна структура варфарину

Т а б л и ц я 3

Квантово-хімічний розрахунок електронної густини варфарину за методом Хюккеля

№ атома	Характеристика атома	Електронна густина	№ атома	Характеристика атома	Електронна густина
O(1)	O Carboxyl	-0.0571929	C(23)	C Alkane	-0.175139
C(2)	C Carbonyl	0.506509	O(24)	O Carbonyl	-0.531284
O(3)	O Carbonyl	-0.649321	H(25)	H	0.0243473
C(4)	C Alkene	-0.154402	H(26)	H	0.0206195
C(5)	C Alkene	0.232738	H(27)	H	0.0246231
C(6)	C Alkene	-0.0657253	H(28)	H	0.0285081
C(7)	C Alkene	-0.0293543	H(29)	H	0.0236734
C(8)	C Alkene	-0.0876774	H(30)	H	0.0230876
C(9)	C Alkene	-0.0333261	H(31)	H	0.0253645
C(10)	C Alkene	-0.100878	H(32)	H	0.0252731
C(11)	C Alkene	0.247738	H(33)	H	0.0252077
O(12)	O Enol	-0.756492	H(34)	H	0.0244029
Na(13)		0.885653	H(35)	H	0.0515265
C(14)	C Alkane	0.0041614	H(36)	H	0.0534479
C(15)	C Alkene	0.109127	H(37)	H	0.0434837
C(16)	C Alkene	-0.069372	H(38)	H	0.0653894
C(17)	C Alkene	-0.0295432	H(39)	H	0.0652323
C(18)	C Alkene	-0.0835394			
C(19)	C Alkene	-0.0280886			
C(20)	C Alkene	-0.0762487			
C(21)	C Alkane	-0.106608			
C(22)	C Carbonyl	0.504039			

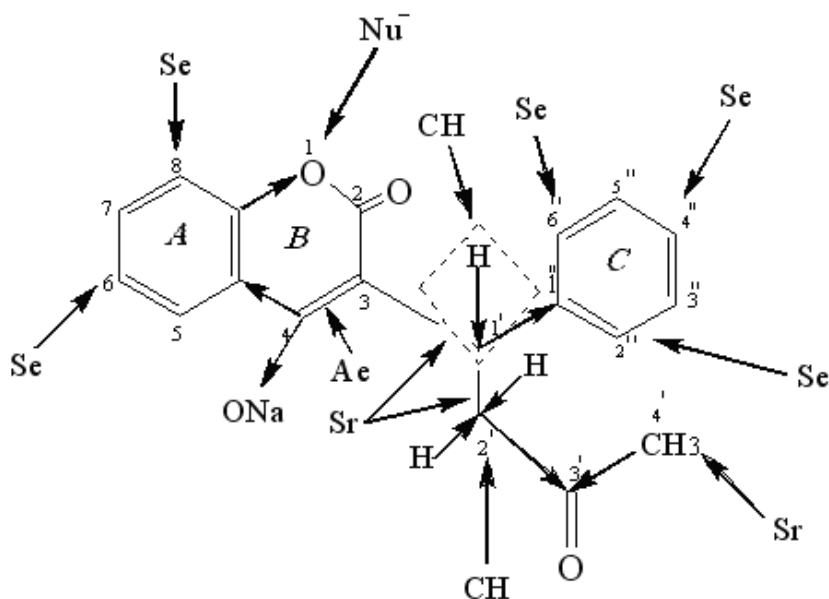


Рис. 6. Реакційна здатність натрію 2-оксо-3 (3-оксо-1-феніл-бутил)-2Н-хромен-4-олату

Квантово-хімічний розрахунок натрію 2-оксо-3(3-оксо-1-феніл-бутил)-2Н-хромен-4-олату дав змогу визначити реакційну здатність цієї сполуки до реакцій A_E , A_N , S_R , S_E , а також взаємодію вивчаємої сполуки з нуклеофільними реагентами (рис. 6).

Висновки

1. Експериментально одержано УФ-спектри варфарину у розчинниках різної полярності (вода очищена, 95%-й етанол, розчин кислоти хлоридної (0,1 М), розчин кислоти сульфатної (0,1 М), розчин натрію гідроксиду (0,1 М), хлороформ, ацетонітрил та циклогексан) і досліджено їхні характеристики з метою встановлення характеру спостерігаємих смуг вбирання та їх залежності від будови досліджуваної сполуки.

2. Встановлено, що електронні спектри вбирання варфарину характеризуються трьома смугами вбирання в межах 201–241 нм, 270–289 нм та 306–319 нм. Перша смуга типу ${}^1L_a$ виявляє коливальну структуру, друга є ${}^1L_b$ -смугою, яка зумовлена дозволеними переходами електронів бензольних циклів в молекулі варфарину. Третя смуга є результатом р–π-супряження бензольного та піранового циклів.

3. Дані щодо характеру спостерігаємих смуг вбирання варфарину у розчинниках різної полярності та електронна будова досліджуваної речовини дають змогу зробити висновок, що основним фармакофором її є родоначальний енон $H_2C=CH-C(=O)-$.

4. Розрахунки електронної густини молекули варфарину дали змогу встановити його квантово-хімічну структуру та визначити реакційну здатність кожного атома його молекули.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гречана О. В. Спектральна характеристика та електронна будова синтетичних похідних кумарину. Повідомлення І. Вивчення УФ-спектрів і електронної будови кумарину та 4-оксикумарину // Фармац. журн. – 2013. – № 2. – С. 76–84.
2. Машиковский М. Д. Лекарственные средства. 15-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: РИА «Новая волна», изд. Умеренков, 2008. – 1206 с.
3. Раїхвард К. Растворители и эффекты среды в органической химии. – М.: Мир, 1992. – 763 с.
4. Baselt Randall C. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man – Eighth Edition. – Foster city, California, USA: «Biomed. Publ.», 2009. – 1720 p.
5. Böme H., Severin T. Optische Untersuchungen an Cumarinen. I. Mit.: Die Ultravioletabsorption von Cumarin sowie Cumarsäure, Cumarinsäure und ihre Abkömmlingen // Arch. Pharm. – 1997. – V. 79. 290, H. 2. – P. 285–291.
6. Böme H., Severin T. Optische Untersuchungen an Cumarinen. 2. Mit.: Die Ultravioletabsorption von Mono-oxycumarinen und ihren Abkömmlingen // Ibid. – 1997. – V. 79. 290, H. 2. – P. 405–412.
7. Böme H., Severin T. Optische Untersuchungen an Cumarinen. 3. Mit.: Die Ultravioletabsorption von Mono-methoxy-cumarinen und ihren Abkömmlingen // Ibid. – 1997. – V. 79. 290, H. 2. – P. 448–452.
8. Böme H., Severin T. Optische Untersuchungen an Cumarinen. 4. Mit.: Die Ultravioletabsorption einiger Cumarine pflanzlicher Herkunft // Ibid. – 1997. – V. 79. 290, H. 2. – P. 486–494.
9. Cingolani E. Ricerche sui Benzopironi spettri U. V. di 3 – e-4-metilcumarine // Gazz. chim. ital. – 1994. – V. 84, N 9. – P. 825–842.
10. Cingolani E. Analisi spettrofotometrica delle cumarine // Ann. Chim. – Roma. – 1997. – V. 47, N 5. – P. 557–574.

Надійшла до редакції 23. 06. 2014.

Е. В. Гречаная

Запорожский государственный медицинский университет

СПЕКТРАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ЭЛЕКТРОННОЕ СТРОЕНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ КУМАРИНА

С О О Б Щ Е Н И Е

ИЗУЧЕНИЕ ЭЛЕКТРОННОГО СТРОЕНИЯ ВАРФАРИНА

Ключевые слова: варфарин, электронное строение, электронная плотность, хромофор, заряженность атомов, реакционная способность

А Н Н О Т А Ц И Я

Лекарственный препарат варфарин – антикоагулянт непрямого действия из группы кумаринов, является конкурентным антагонистом витамина К.

С целью разработки оптимальных условий химико-токсикологического анализа мы выявляли фрагменты молекулы варфарина, обуславливающие полосы поглощения электронного спектра исследуемого соединения (хромофор) и частично его фармакологическое действие (фармакофор).

Были изучены спектры в воде очищенной, 95%-м этаноле, 0,1 М растворе соляной кислоты, 0,1 М растворе серной кислоты, 0,1 М растворе натрия гидроксида, хлороформе, ацетонитриле и циклогексане.

В противоположность 4-оксикумарину, в спектре варфарина не происходит раскола $\lambda_{\text{макс}}$ незамещенного кумарина при 274 нм на два максимума, вследствие чего на спектральной кривой наблюдаются только две или три полосы поглощения. Исключением являются щелочные растворы варфарина, где происходит образование солей о-оксикоричных кислот.

Учитывая электронную структуру варфарина и полярность использованных растворителей сделан вывод, что первая полоса поглощения электронных спектров исследуемого вещества обусловлена $\pi \rightarrow \pi^*$ -переходами электронов, характерными для фенольного радикала молекулы, а колебательная структура подтверждает ее соответствие ${}^1L_a$ -полосе. Вторая полоса соответствует разрешенному переходу $\pi \rightarrow \pi^*$ электронов в бензольном цикле и ее следует отнести к ${}^1L_b$ -полосе. Максимумы третьей полосы возникли в результате р- π -сопряжения бензольного цикла молекулы варфарина с группировкой родоначального хромофора енона, т. е. эта цепь сопряжения совпадает с фармакофором или является его частью. По данным квантово-химических расчетов электронной плотности по методу Хюккеля с использованием программы Chemoffice 11 (оптимизация ММ 2) установили, что реакции S_E в первую очередь будут протекать по C_{10} , а уже потом по C_8 бензольного кольца. Нуклеофильной атаке подвергнется лактонное кольцо, в результате чего раскрывается цикл. Лактонное кольцо может вступать в реакции A_E, A_N .

SPECTRAL CHARACTERISTICS AND ELECTRONIC STRUCTURE OF SYNTHETIC DERIVATIVES
OF COUMARIN

PART V

A STUDY OF THE ELECTRONIC STRUCTURE OF WARFARIN

Key words: warfarin, electronic structure, electronic density, chromophore, charged atoms, reactivity

ABSTRACT

The drug warfarin – indirect anticoagulants of the coumarin group, is a competitive antagonist of vitamin K.

To develop the optimum conditions of chemical-toxicological analysis we discovered fragments of the molecule warfarin, causing the absorption band of the electronic spectrum of the test compound (chromophore) and partly its pharmacological action (pharmacophore). Spectra were studied in the purified water, 95% ethanol, 0.1 M hydrochloric acid solution, 0.1 M sulfuric acid solution, 0.1 M solution of sodium hydroxide, chloroform, acetonitrile, and cyclohexane.

Experience will help develop the optimal conditions of chemical-toxicological analysis of warfarin and identification of the molecule causes the appearance of maxima (chromophore) and partly its pharmacological action (pharmacophore). In contrast of 4-oxycoumarin, in the spectrum of warfarin does not occur splitting λ_{maks} of unsubstituted coumarin at 274 nm at two peaks, resulting in the spectral curve observed only two or three absorption bands. Exceptions are alkaline solutions of warfarin, where formed of salts - cinnamic acids.

Considering the electronic structure of warfarin and polarity of solvents used we must be concluded that the first absorption band of the electronic spectra of the test substance caused $\pi \rightarrow \pi^*$ -electron transitions. It characteristic of the phenolic radical of molecule. The vibrational structure confirms its compliance of the ${}^1L_a$ -band. The second band corresponds to an allowed transition $\pi \rightarrow \pi^*$ electrons in the benzene ring, and it should be attributed to ${}^1L_b$ -band. High third band emerged from the p- π -conjugation of the benzene ring of warfarin molecule with the group of the parent chromophore of enone (this coincides with the conjugation chain pharmacophore or a part of it). According to quantum-chemical calculations of the electron density on the Hückel method using the program Chemoffice 11 (MM optimization 2) found that reaction S_E will primarily flow through C_{10} and then later on C_8 benzene ring. At undergo nucleophilic attack lactone ring, whereby the disclosed cycle. The lactone ring may react A_E, A_N .

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