

УДК 547.814.5:615.21/26

СИНТЕЗ, АНТИАГРЕГАЦИОННАЯ И АНТИКОАГУЛЯЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ДИМЕДОНИЛХРОМЕНОНОВ**Кострицкий А.Ю., Егорова А.Ю., Федотова О.В.***ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский университет имени Н.Г. Чернышевского», Саратов, e-mail: alexandrkostritskiy@mail.ru*

В работе рассмотрен вариант получения несимметричных 1,5-диоксо соединений – структурных аналогов известных антикоагулянтных препаратов. Выявлено влияние ортозаместителя в ароматическом кольце альдегида на конечную структуру продукта, отсутствие заместителя во втором положении ароматического кольца или присутствие химически малоактивного метоксильного заместителя приводит к образованию открытой системы соединений 4-гидрокси-3-((2-гидрокси-4,4-диметил-6-оксоциклогекс-1-ен-1-ил)арилметил)-2Н-хромен-2-онового ряда, а использование ортогидроксибензальдегидов открывает путь для дальнейшей O-гетероциклизации между альдегидным и димедонильными фрагментами с образованием ксантеновой структуры. Впервые проведен скрининг рядов синтезированных соединений в условиях *in vitro* на крови здоровых доноров-мужчин в возрасте 18–24 лет, показано, что четыре образца проявляют антикоагулянтную активность, равную половине таковой, проявляемой гепарином натрия. При исследовании соединений на антиагрегационную активность изучались показатели активированного парциального тромбопластинового времени, протромбинового времени и концентрации фибриногена. В результате установлено, что два из девяти полученных соединений проявляют активность, превосходящую таковую для ацетисалициловой кислоты в 3,7 и 5,5 раза, что является превосходным показателем, остальные соединения обладали или меньшей активностью, или проявляли противоположную, проагрегантную активность, т.е. ускоряли образование тромбов.

Ключевые слова: хромен-2-он, димедон, варфарин, антикоагуляционная активность, антиагрегантная активность

SYNTHESIS, ANTIAGGREGATORY AND ANTICOAGULANT ACTIVITY OF DIMEDONYLCHROMENONES**Kostritskiy A.Yu., Egorova A.Yu., Fedotova O.V.***Saratov National Research University named after N.G. Chernyshevsky, Saratov, e-mail: alexandrkostritskiy@mail.ru*

The paper considers a variant of obtaining asymmetric 1,5-dioxo compounds – structural analogs of known anticoagulant drugs. The effect of the ortho substituent in the aromatic ring of the aldehyde on the final structure of the product, the absence of a substituent in the 2 position of the aromatic ring or the presence of a chemically inactive methoxy substituent leads to the formation of an open system of compounds 4-hydroxy-3-((2-hydroxy-4,4-dimethyl-6-oxocyclohex-1-en-1-yl) arylmethyl) -2H-chromene-2-one series, and the use of orthohydroxybenzaldehydes opens the way for further O-heterocyclization between aldehyde and dimedonyl fragments with the formation of a xanthenone structure. For the first time, a series of synthesized compounds were screened *in vitro* on the blood of healthy male donors aged 18–24 years. It was shown that four samples exhibit anticoagulant activity equal to half that exhibited by sodium heparin. In the study of compounds for antiaggregational activity, the parameters of the activated partial thromboplastin time, prothrombin time and fibrinogen concentration were studied. As a result, it was found that two of the nine obtained compounds exhibit an activity that is 3.7 and 5.5 times higher than that for acetylsalicylic acid, which is an excellent indicator; accelerated the formation of blood clots.

Keywords: chromene-2-one, dimedon, warfarin, anticoagulant activity, antiplatelet activity

В настоящее время активно ведутся исследования химии замещенных 2Н-хромен-2-онов и поиск путей построения новых соединений на их основе. Большой интерес к таким системам связан с широким распространением их в живой природе, например, хроменоновый гетерофрагмент встречается в структуре витамина Е. Также они отличаются высокой химической активностью. Соединения, содержащие хроменное ядро, проявляют множество различных, полезных для человека свойств, так для них выявлена возможность ингибирования ВИЧ-интегразы [1–3], многочисленные исследования показывают, что хромены проявляют противоопухолевую [4–6] и антиоксидантную активность [7]. Модификация

структуры хромена позволит получить ранее неизвестные соединения, которые потенциально могут проявлять широкий спектр активности.

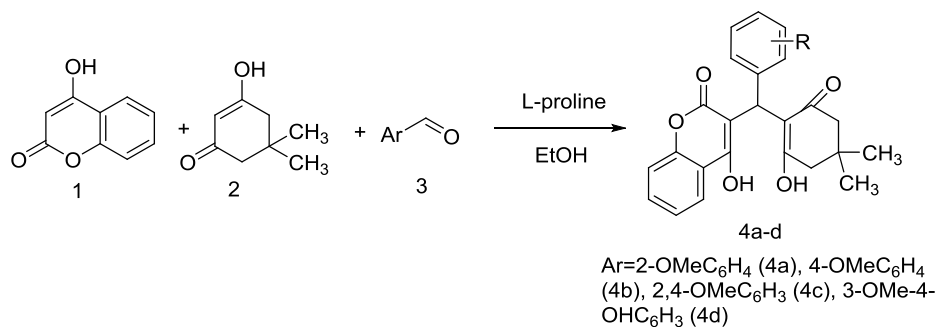
Хорошо известно, что 1,5-дикарбонильные соединения, включающие в свой состав хроменоновый фрагмент, являются запатентованными антикоагулянтными препаратами, такими как варфарин, неодикумарин и дикумарол [8], широко применяемыми в медицинской практике. Синтез новых систем, обладающих аналогичными свойствами, поможет расширить ряд антикоагулянтных препаратов, а также данные соединения потенциально могут обладать дополнительными полезными свойствами.

Материалы и методы исследования

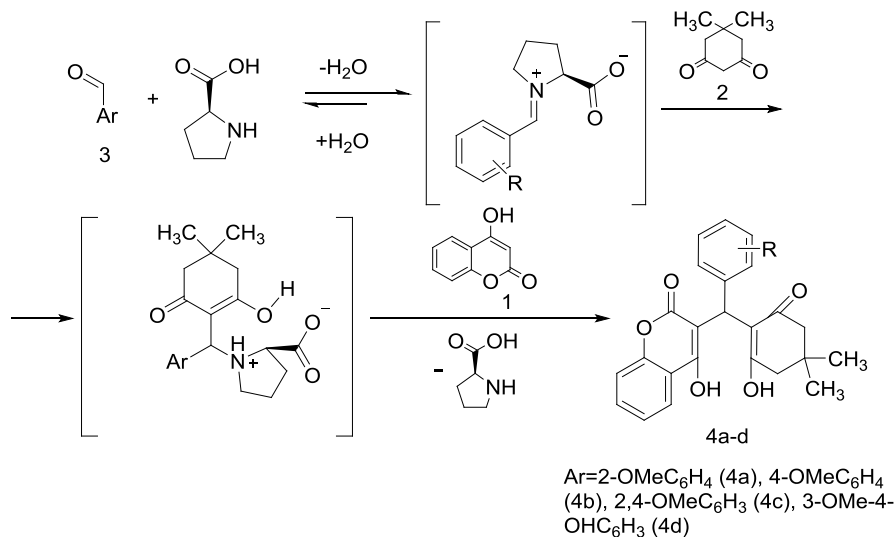
Эксперименты в условиях *in vitro* выполнены и обработаны по стандартной методике, представленной в работах [9, 10].

Результаты исследования
и их обсуждение

Нами были получены новые представители ряда несимметричных 1,5-дикетонов-димедонилхроменононов по ранее опубликованной методике [11], трехкомпонентной конденсацией 4-гидрокси-2Н-хромен-2-она **1**, димедона **2** и различных ароматических альдегидов **3** в присутствии L-пролина как катализатора.



Участие L-пролина представляется следующим образом: молекула катализатора взаимодействует с альдегидом **1**, образуя иминиевую соль, после чего происходит атака соли димедоном **2**, что приводит к сложнопостроенному интермедиату. На следующем этапе происходит нуклеофильная атака интермедиата 4-гидрокси-2Н-хромен-2-оном **3** и отщепление молекулы катализатора, что приводит к образованию конечной молекулы – 4-гидрокси-3-((2-гидрокси-4,4-диметил-6-оксоциклогекс-1-ен-1-ил)арилметил)-2Н-хромен-2-онов **4a-d** с выходом 59–78%.



Строение 4-гидрокси-3-((2-гидрокси-4,4-диметил-6-оксоциклогекс-1-ен-1-ил)(2-метоксифенил)метил)-2Н-хромен-2-она **4a** подтверждено методами ЯМР ¹H, ¹³C, HSQC, HMBC спектроскопии. Так, в сильном поле ЯМР ¹H спектра наблюдаются: сигнал, принадлежащий протонам эквивалентных метильных групп при 1,17 м.д., синглеты при 2,36 и 2,45 м.д., относятся к протонам двух метиленовых звеньев димедонильного фрагмента. Метоксильная группа в арильном заместителе проявляется при 3,63 м.д., сигнал протона при узловом третичном атоме углерода расположен при 5,82 м.д. Сигналы восьми протонов двух ароматических колец фиксируются в области 6,83–7,99 м.д. В слабopольной области спектра находятся два уширенных синглета, принадлежащие двум протонам енолизированных гидроксильных групп хроменонового и димедонильного фрагментов, их уширение, вероятно, вызвано образованием водородных связей (рис. 1).

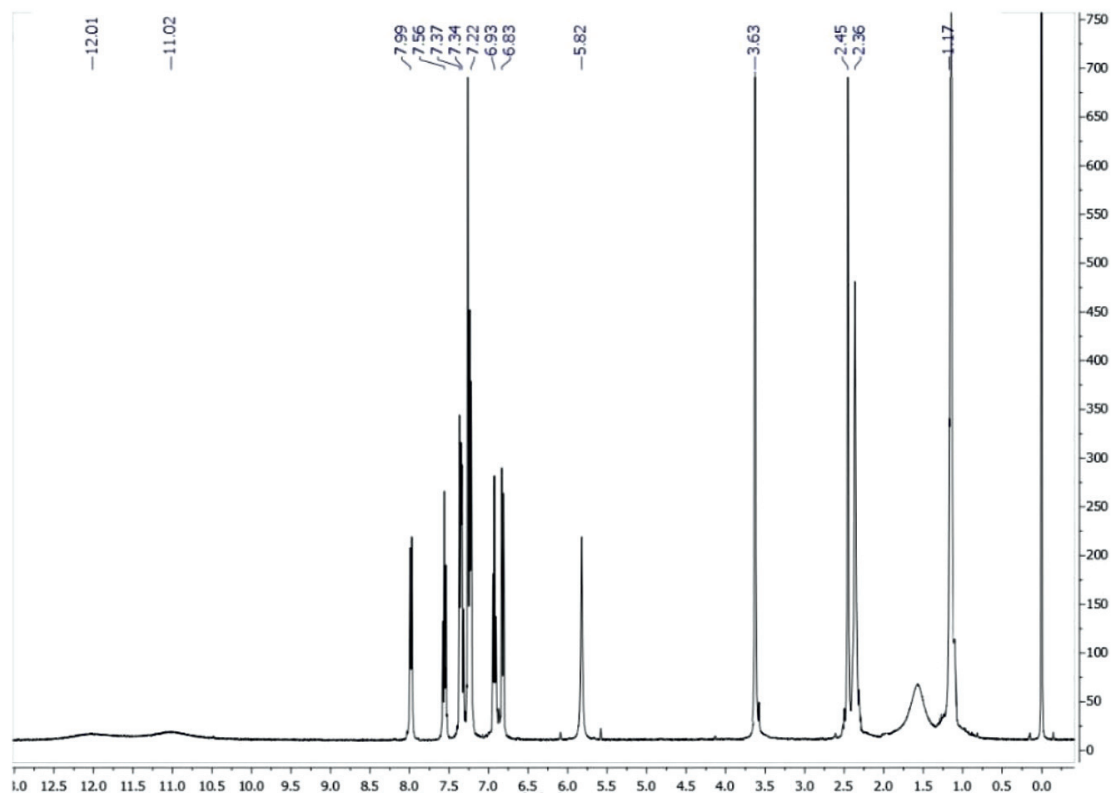


Рис. 1. ЯМР ^1H спектр 4-гидрокси-3-((2-гидрокси-4,4-диметил-6-оксоциклогекс-1-ен-1-ил) (2-метоксифенил)метил)-2H-хромен-2-она (4a), CDCl_3

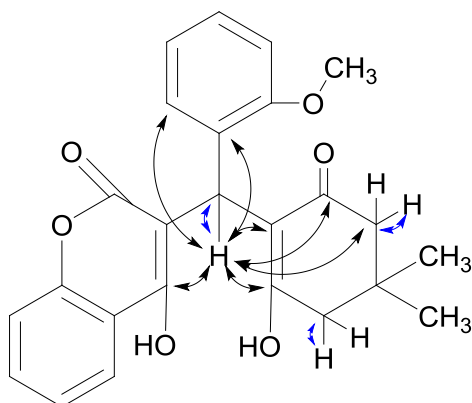
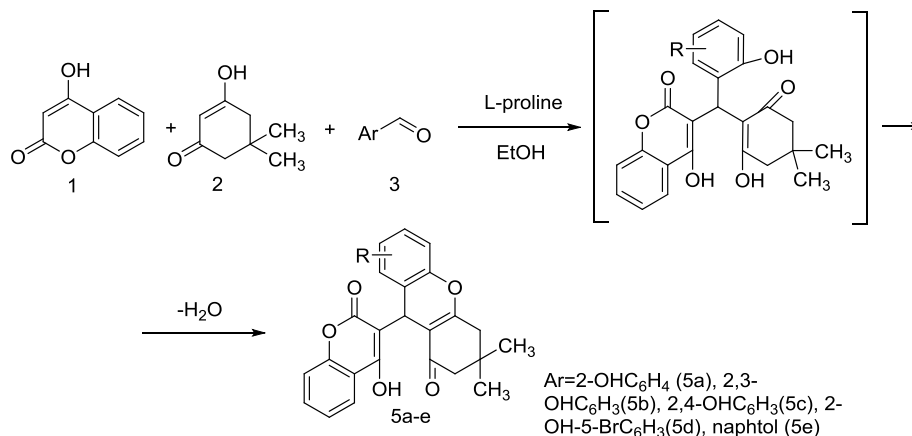


Рис. 2. Ключевые корреляционные взаимодействия в HSQC (синий) и HMBC (черный) спектрах соединения 4a

В двумерном корреляционном спектре HSQC (рис. 2) наблюдается ключевой сигнал 5,82/31,60 м.д., принадлежащий узловому CH фрагменту, отмечаются сигналы двух неэквивалентных друг другу CH_2 звеньев димедонильного фрагмента при 2,45/43,87 м.д. и 2,36/49,76 м.д. В HMBC спектре ключевыми являются взаимодействия протона при третичном узлом атоме углерода с углеродом

карбонильной группы димедонильного фрагмента при 5,82/189,6 м.д., с атомами углерода при гидроксильных группах хроменонового и димедонового фрагментов 5,82/163,4 и 5,82/157,1 м.д. соответственно, с различными атомами углерода в ароматическом заместителе, а также с одним из метиленовых звеньев при 5,82/49,9 м.д., всё это подтверждает предложенную структуру для продукта 4a (рис. 2).

При использовании орто-гидроксибензальдегидов **3** превращение протекает аналогично вышеописанному, однако происходит O-гетероциклизация, имеющая место ввиду наличия сближенных гидроксильной группы альдегидного фрагмента и карбонильной группы димедонильного фрагмента, что позволяет получить конденсированные системы 9-(4-гидрокси-2-оксо-2H-хромен-3-ил)-3,3-диметил-2,3,4,9-тетрагидро-1H-ксантен-1-онов **5a-e** выходом 63–81%.



В сильнополюлярной области ЯМР ^1H спектра (рис. 3) соединения **5a** наблюдаются два синглета при 1,06 и 1,16 м.д., характерные для диастереотопных метильных групп димедонильного фрагмента молекулы, два метиленовых звена молекулы проявляются в виде двух дублет дублетов при 2,36 и 2,61 м.д. ($J = 18,8$ Гц). Метинный протон даёт сигнал при 5,08 м.д. В интервале 7,03–8,02 м.д. находятся сигналы 8 протонов ароматических циклов молекулы. В слабом поле при 11,06 м.д. расположен уширенный сигнал протона енольной гидроксильной группы хроменонового фрагмента.

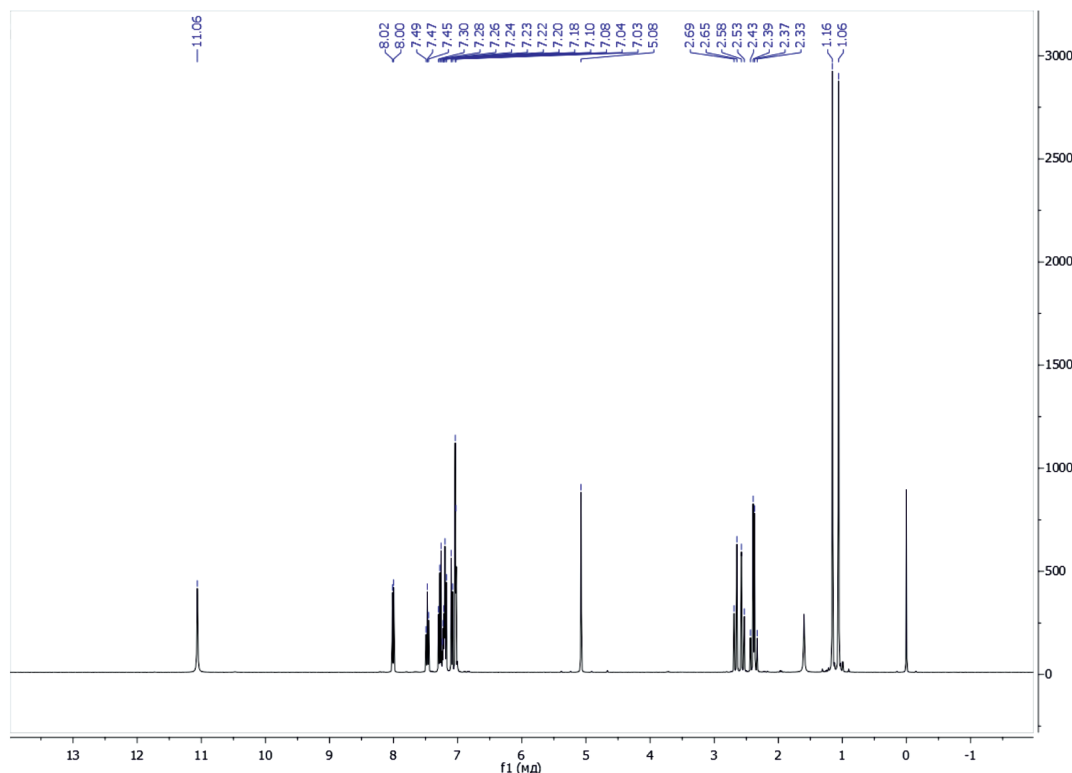


Рис. 3. ЯМР ^1H спектр 9-(4-гидрокси-2-оксо-2H-хромен-3-ил)-3,3-диметил-2,3,4,9-тетрагидро-1H-ксантен-1-она (**5a**), CDCl_3

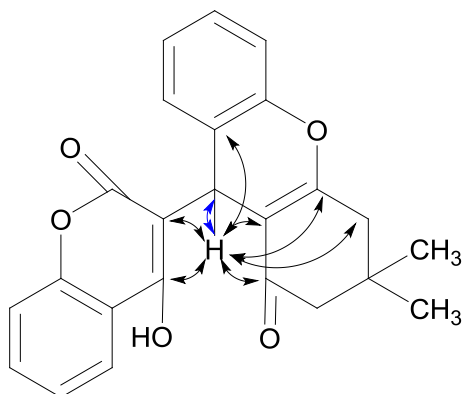


Рис. 4. Ключевые корреляционные взаимодействия в HMQC (синий) и HMBC (черный) спектрах соединения 5a

В HMQC спектре ключевым сигналом является кросспик 5,08/28,4 м.д., отвечающий за контакт непосредственно связанных метинового протона и узлового атома углерода (рис. 4) В HMBC отмечаются кросспики, говорящие о взаимодействии метинового протона с метиленовым звеном и карбонильной группой димедонильного фрагмента при 5,08/49,4 м.д. и 5,08/202,1 м.д. соответственно, а также множественные контакты метинового протона с атомами углерода ароматического заместителя и хромонового гетерофрагмента, что позволяет утвердить предложенную структуру.

Соединения под номерами 4d, 5d проявили антиагрегационную активность на уровне ацетилсалициловой кислоты (показатель МА

на уровне значений АСК при $p < 0,05$) (таблица). При этом соединение 5d, аналогично препарату сравнения, сокращало латентный период, а соединение 4d пролонгировало латентный период, удлиняя реакцию высвобождения тромбоцитов на 7,8% относительно контроля ($p < 0,05$). Следует отметить, что соединение 5d и эффективнее аспирина в 5,5 раза ($p < 0,05$) и в 3,7 раза ($p < 0,05$) соответственно уменьшает скорость агрегации тромбоцитов. Соединения 4c, 5a и 5b также сокращали скорость агрегации тромбоцитов в среднем в 2 раза ($p < 0,05$), однако по уровню антиагрегационной активности они уступают ацетилсалициловой кислоте и значения их антиагрегационной активности находится в диапазоне 1,2–8,9%. Среди изученных производных данного ряда соединения под лабораторным шифром 4b, 5c и 5e проявили проагрегантный эффект, усиливая агрегацию тромбоцитов. Наиболее выраженный проагрегантный эффект регистрировался у соединения 5c, который на 4,9% интенсивнее вызывал агрегацию тромбоцитов по сравнению с контролем и соответствовал значению препарата сравнения – этамзилату. Пролонгируя реакцию высвобождения тромбоцитов (6,7%, $p < 0,05$), увеличивая скорость агрегации тромбоцитов (23,2%, $p < 0,05$) соединение 5c сокращает время достижения максимума агрегации тромбоцитов (10,3%, $p < 0,05$). Соединения 4a-b,d, 5a-c, проявили антикоагуляционную активность, однако она составила меньше 10, и по данной активности уступали гепарину натрия.

Влияние соединений 4a-d, 5a-e и препарата сравнения на показатели агрегации тромбоцитов, тромбоцитов, коагуляционное звено гемостаза и плазменное звено гемостаза в условиях *in vitro*, Ме (0,25–0,75)

№	Латентный период, % к контролю	Максимальная амплитуда, % к контролю	Скорость агрегации, % к контролю	Время достижения МА, % к контролю	Удлинение АПТВ, % к контролю
4a	-5,1 (4,6–7,4)*#	-8,3 (6,9–9,1)*#	-17,4 (15,4–20,2)*	-5,7 (4,4–6,8)###	9,5 (9,2–11,2)*
4b	+1,3 (1,1–2,3)#††	+2,4 (1,6–3,5)###	-4,2 (3,6–6,1)††	-3,2 (2,3–5,3)###	7,5 (6,4–8,3)*
4c	-1,6 (1,2–3,4)	-1,2 (0,7–1,4)###	-29,8 (23,4–30,3)**#	-3,3 (2,7–4,7)###	3,1 (2,3–4,6)
4d	+7,8 (7,1–9,5)*#	-11,4 (10,3–12,1)*	-57,2 (54,3–61,1)**###	-17,3 (14,3–18,9)**###	9,2 (7,5–10,3)*
5a	-6,7 (6,2–7,9)*#	-7,4 (6,4–10,9)*#	-27,1 (24,4–30,2)**#	-16,3 (14,5–18,4)**###	10,4 (8,7–11,6)*
5b	-5,4 (5,2–7,4)*	-8,9 (7,4–9,5)*#	-20,3 (17,8–22,4)**#	-4,8 (4,1–6,2)###	7,3 (5,6–8,4)*
5c	+6,7 (6,1–8,7)*#††	+4,9 (3,5–6,8)*###	+23,2 (21,4–28,3)**###††	-10,3 (7,6–11,5)*###†	4,5 (4,5–6,3)*
5d	-8,7 (7,2–10,3)*#	-11,7 (8,4–12,7)*	-37,5 (34,5–38,7)**###	-11,7 (8,6–13,4)*###	1,4 (1,1–2,3)
5e	+6,4 (5,3–8,5)*###††	+1,1 (0,5–2,5)###	+2,1 (1,4–2,7)###†	-6,4 (4,7–7,6)###†	2,7 (1,9–3,6)
Ацетилсалициловая кислота	-2,1 (1,1–2,6)	-13,7 (10,8–16,4)*	-10,5 (7,5–12,4)*	+10,5 (8,7–13,4)*	–
Этамзилат	-6,3 (4,5–8,7)*#	+3,6 (2,4–4,6)*###	+8,5 (6,2–10,4)*###	-2,3 (1,6–4,5)###	–
Гепарин Na	–	–	–	–	20,3 (19,7–21,4)**

Примечание. Латентный период представлен для агрегации тромбоцитов, индуцированной коллагеном; * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$ – в сравнении с контролем; # $p < 0,05$, ### $p < 0,001$ – в сравнении с ацетилсалициловой кислотой; † $p \leq 0,05$, †† $p \leq 0,001$ – в сравнении с этамзилатом; n = 6.

Заключение

Таким образом, проведен синтез новых представителей ряда 1,5-дикетоннов – структурных аналогов антикоагулянтных препаратов, а также выявлено, что соединения **4a-b**, **d**, **5a-c** проявляют антикоагулянтную активность, соединения **5d**, **4c**, **5a** и **5b** существенно уменьшают скорость агрегации тромбоцитов. Также обнаружено, что соединения **4b**, **5c** и **5e** оказывают проагрегантный эффект – усиливают и ускоряют агрегацию тромбоцитов.

Список литературы

1. Bhavsar D., Trivedi J., Parekh S., Savant M., Thakrar S., Bavishi A., Radadiya A., Vala H., Lunagariya J., Parmar M., Paresh L., Loddio R., Shah A. Synthesis and in vitro anti-HIV activity of N-1,3-benzo[d]thiazol-2-yl-2-(2-oxo-2H-chromen-4-yl)acetamide derivatives using MTT method. *Bioorg. Med. Chem. Lett. Pergamon*, 2011. Т. 21. № 11. P. 3443–3446.
2. Абышев А.З., Абышев Р.А., Гадзиковский С.В., Нгуен В.Х., Морозова В.А. Противовирусная активность соединений кумаринового ряда (часть 1) // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2013. № 1. С. 34–41.
3. Абышев А.З., Абышев Р.А., Гадзиковский С.В., Нгуен В.Х., Морозова В.А. Противовирусная активность соединений кумаринового ряда (часть 2) // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2013. № 2. С. 25–34.
4. Kandaswamy N., Raveendiran N. Synthesis, characterization, *in vitro* antimicrobial and anticancer evaluation of random copolyesters bearing biscoumarin units in the main chains. *Res. Chem. Intermed.* 2015. Т. 41. № 10. P. 7189–7206.
5. Salem M.A.I., Marzouk M.I., El-Kazak A.M. Synthesis and characterization of some new coumarins with in vitro antitumor and antioxidant activity and high protective effects against DNA damage. *Molecules*. 2016. Т. 21. № 2.
6. Banday S.M., Amin A., Bashir S., Qadri R.A., Khan K.Z., Rizvi M.A. Anti-metastatic propensity of biscoumarin scaffold synthesized under catalyst free aqueous phase microwave irradiation. *Croat. Chem. Acta*. 2017. Т. 90. № 3. P. 471–480.
7. Osman H., Arshad A., Lam C.K., Bagley M.C. Microwave-assisted synthesis and antioxidant properties of hydrazinyl thiazolyl coumarin derivatives. *Chem. Cent. J.* 2012. Т. 6. № 1. P. 1–10.
8. Harvison P.J. Warfarin. *xPharm Compr. Pharmacol. Ref. Elsevier*, 2007. P. 1–7.
9. Бондарева Н.А., Пурыгин П.П., Исаева О.О. Синтез и биологическая активность ряда эфиров салициловой кислоты // Бутлеровские сообщения. 2019. Т. 60. № 11. С. 93–97.
10. Клен Е.Э., Небогатова В.А., Баширова Л.И., Ураков А.Л., Самородов А.В., Халиуллин Ф.А. Синтез, антиагрегационная и антикоагулянтная активность солей 2-[3-метил-8-морфолино-7-(тиетанил-3)ксантинил-1]уксусной кислоты // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2020. Т. 23. № 1. С. 23–29.
11. Li M., Zhang B., Gu Y. Facile construction of densely functionalized 4H-chromenes via three-component reactions catalyzed by l-proline. *Green Chem.* 2012. Т. 14. № 9. P. 2421–2428.