

УДК 547.752.18.17.543.422

СИНТЕЗ 4,3'-СПИРО-[(2-АМИНО-4,5-ДИГИДРОПИРАНО [3,2-с]ХРОМЕН-5-ОН)-2'-ОКСИНДОЛІВ] ТА ЇХ АНТИКОАГУЛЯНТНА АКТИВНІСТЬ

Р.Г.Редькін, Л.А.Шемчук, В.П.Черних, А.І.Березнякова, Н.А.Цубанова

Національний фармацевтичний університет,
61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. E-mail: ruslan_red@ukr.net*Ключові слова: оксіндоли, спіроциклічні системи; 4H-пірано[3,2-с]хромени; трикомпонентна конденсація; реакція Міхаеля; антикоагулянтна активність*

Запропоновано метод препаративного синтезу 4,3'-спіро[(2-аміно-4,5-дигідропірано[3,2-с]хромен-5-он)-2'-оксіндолів] на основі трикомпонентної конденсації ізатинів з метиленактивними нітрилами та 4-гідроксикумарином. Досліджено вплив отриманих речовин на систему гемостазу у щурів.

SYNTHESIS OF 4,3'-SPIRO[(2-AMINO-4,5-DIHYDROPYRANO-[3,2-C]CHROMEN-5-ON)-2'-OXINDOLES] AND THEIR ANTICOAGULANT ACTION

R.G.Redkin, L.A.Shemchuk, V.P.Chernykh, A.I.Bereznyakova, N.A.Tsubanova

The method of the preparative synthesis for 4,3'-spiro[(2-amino-4,5-dihydro-pyrano[3,2-c]chromen-5-on)-2'-oxindoles] based on the three-component condensation of isatines with methylene active nitriles and 4-hydroxycoumarine has been proposed. The influence of the compounds obtained on the haemostatic system in rats has been investigated.

СИНТЕЗ 4,3'-СПИРО[(2-АМИНО-4,5-ДИГИДРОПИРАНО[3,2-С]ХРОМЕН-5-ОН)-2'-ОКСИНДОЛОВ] И ИХ АНТИКОАГУЛЯНТНАЯ АКТИВНОСТЬ

Р.Г.Редькин, Л.А.Шемчук, В.П.Черных, А.И.Березнякова, Н.А.Цубанова

Предложен метод препаративного синтеза 4,3'-спиро[(2-амино-4,5-дигидропирано[3,2-с]хромен-5-он)-2'-оксіндолів] на основе трикомпонентной конденсации изатинив с метиленактивными нитрилами и 4-гидроксикумарином. Исследовано воздействие полученных веществ на систему гемостаза у крыс.

Конденсовані гетероциклічні сполуки з ядром 4H-пірано[3,2-с]хромену є перспективним класом для пошуку біологічно активних сполук [1]. Значний вплив на профіль фармакологічної активності зазначених сполук становить природа замісників та ядра, яким анельовано 4H-пірановий цикл [2]. Зокрема, серед представників даного класу знайдені речовини із широким спектром антибактеріальної дії [3], фунгіцидної [4, 5] та протипухлинної активності [6, 7]. Ядро 4H-пірано[3,2-с]хромену містить у своїй структурі 4-гідроксикумариновий фармакофор, а як відомо, похідні 4-гідроксикумарину (варфарин, синкумар, неодикумарин та ін.) виявляють непряму антикоагулянтну активність [8], пов'язану зі здатністю зменшувати синтез протромбіну в печінці внаслідок дії на обмін вітаміну К [9].

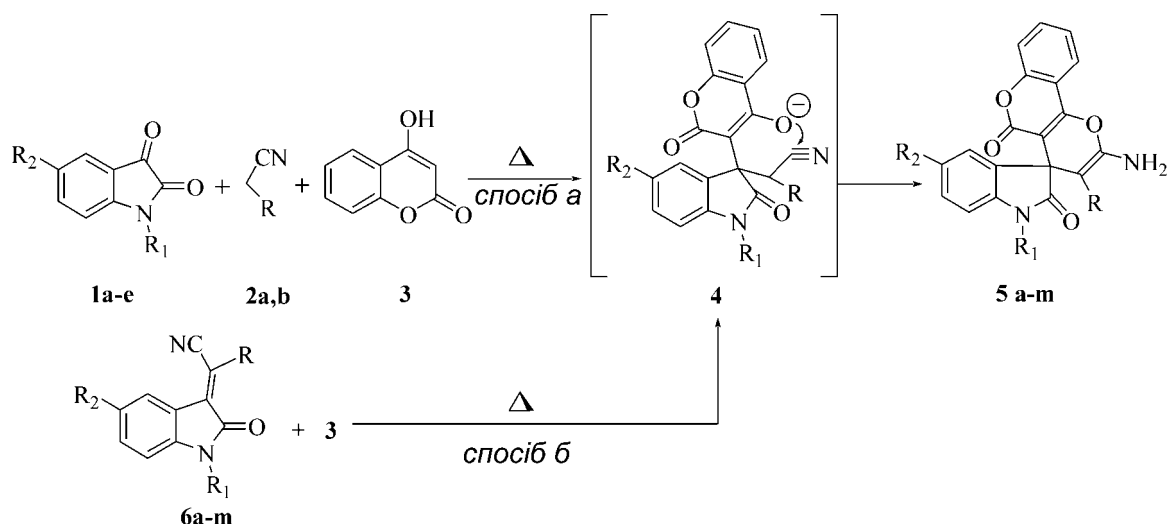
У той же час пошук непрямих антикоагулянтів залишається актуальною проблемою, адже існуючі препарати мають ряд значних недоліків — відносно високу токсичність, значний за часом латентний період, відсутність ін'єкційних форм та ін. [10, 11]. Одним з підходів у пошуку антикоагулянтів може бути модифікація структури 4-гідроксикумарину шляхом анелювання піранового яд-

ра іншими гетероциклічними системами, зокрема, 4H-пірановим циклом [12]. Крім того, в літературі не представлено відомостей щодо антикоагулянтної активності серед спіроциклічних похідних 2-оксіндолу з 4H-пірановим ядром.

Раніше була описана реакція ізатину з малонітрилом та 4-гідроксикумарином у спиртовому [13], а пізніше у водному середовищі за присутності каталізатора міжфазного переносу — ТЕВА [14]. Однак слід зауважити, що використання водного середовища недоцільне, оскільки вихідні ізатини мало розчинні в водних розчинах, а перебіг реакції в гетерогенному середовищі різко знижує вихід трикомпонентної конденсації.

Мета представлених досліджень — синтез нових 4,3'-спіро[(2-аміно-3-R-4,5-дигідропірано[3,2-с]хромен-5-он)-2'-оксіндолів] та дослідження їх впливу на систему гемостазу у щурів для з'ясування їх антикоагулянтного потенціалу.

Для синтезу цільових сполук ми використали трикомпонентну конденсацію ізатинів **1a-e** з метиленактивними нітрилами **2a,b** (a R=CN, b R=CO₂Et) та 4-гідроксикумарином **3** в умовах основного каталізу при кип'ятінні в етанолі впродовж 1 год у випадку нітрилу **2a** та 2 год — для ціаноцетового



Схема

естеру **2b** (схема, спосіб а). Подібний підхід вже використовувався нами раніше [15, 16]. У результаті були виділені цільові сполуки — 4,3'-спіро[(2-аміно-3-R-4,5-дигідропірано[3,2-с]хромен-5-он)-2'-оксіндоли] (**5a-m**) з виходами 43-76% (схема 1, табл. 1, 2).

Конденсацією **1a-e** з нітрилами **2a,b** за Кнью-венегелем здобуто β-ціанетиленові похідні — 2-(2-оксоіндолін-3-іліден)малононітрили (**6a, b, c, d, i, k, m**) та 2-(2-оксоіндолін-3-іліден)ціаноцтові естери (**6e, f, g, h, j, l**), використання яких у реакції Міхаєля з **3** при кип'ятінні впродовж 1 або 2 год в етанолі в присутності каталітичних кількостей триетаноламіну приводить до вищезгаданих конденсованих похідних 4*H*-пірано[3,2-с]бензопірану **5a-m** відповідно (схема 1, спосіб б). Однак у цьому випадку ми відмічали зниження виходів цільових

сполук до 33-63% в перерахунку на вихідні ізатини (табл. 1). Таким чином, як препаративний спосіб синтезу цільових сполук **5a-m** більш зручним є спосіб а.

Очевидно, що сполуки типу **6a-m** є ключовими інтермедіатами в трикомпонентній конденсації ізатинів **1a-e** з метиленактивними нітрилами і 4-гідроксикумарином **3**. Приєднання нітрилів **6a-m** до 4-гідроксикумарину **3** приводить до утворення проміжного аніона **4**, який циклізується в структури **5**.

Будова всіх сполук була доведена методом елементного аналізу та ЯМР ¹H спектроскопії (табл. 1, 2). Зокрема, в ЯМР ¹H спектрах сполук **5a-m** спостерігаються інтенсивний синглет протонів α-NH₂ групи при 7.15-8.15 м.ч., який зникає при додаванні [²H₂]О внаслідок дейтерообміну. Цей факт

Таблица 1

Фізико-хімічні характеристики синтезованих сполук 5a-m

Сполука	Радикали			Т.пл., °C	Вихід, %**	Знайдено, %			Брутто-формула	Вирахувано, %		
	R	R ₁	R ₂			C	H	N		C	H	N
5a	CN	H	H	292-294	74 (58)	67.59	3.23	11.92	C ₂₀ H ₁₁ N ₃ O ₄	67.23	3.10	11.76
5b	CN	H	Me	300*	52(55)	68.17	3.58	11.67	C ₂₁ H ₁₃ N ₃ O ₄	67.92	3.53	11.32
5c	CN	Me	H	300*	68(54)	68.20	3.68	11.75	C ₂₁ H ₁₃ N ₃ O ₄	67.92	3.53	11.32
5d	CN	Bn	H	277-279	73 (62)	72.53	3.97	9.49	C ₂₇ H ₁₇ N ₃ O ₄	72.48	3.83	9.39
5e	CO ₂ Et	H	H	253*	51 (44)	65.48	4.09	7.04	C ₂₂ H ₁₆ N ₂ O ₆	65.34	3.99	6.93
5f	CO ₂ Et	H	Me	238*	48 (39)	66.24	4.47	6.82	C ₂₃ H ₁₈ N ₂ O ₆	66.02	4.34	6.70
5g	CO ₂ Et	Me	H	261-263	45 (33)	66.35	4.52	6.96	C ₂₃ H ₁₈ N ₂ O ₆	66.02	4.34	6.70
5h	CO ₂ Et	Bn	H	270*	55 (35)	70.65	4.53	5.75	C ₂₉ H ₂₂ N ₂ O ₆	70.44	4.48	5.67
5i	CN	H	Br	288-290	65 (59)	54.83	2.65	9.90	C ₂₀ H ₁₀ BrN ₃ O ₄	55.07	2.31	9.63
5j	CO ₂ Et	H	Br	271*	49 (37)	54.85	3.45	6.04	C ₂₂ H ₁₅ BrN ₂ O ₆	54.68	3.13	5.80
5k	CN	H	NO ₂	293*	68 (52)	59.84	2.73	14.17	C ₂₀ H ₁₀ N ₄ O ₆	59.71	2.51	13.93
5l	CO ₂ Et	H	NO ₂	280*	43 (34)	58.99	3.44	9.59	C ₂₂ H ₁₅ N ₃ O ₈	58.80	3.36	9.35
5m	CN	Me	Br	285-287	76 (63)	56.21	2.75	9.48	C ₂₁ H ₁₂ BrN ₃ O ₄	56.02	2.69	9.33

Примітки: * - сполука плавиться з розкладанням;

** - за дужками вихід за способом а), а у дужках - за способом б).

Таблиця 2

ЯМР ^1H спектри сполук 5a-m

Сполука	δ_{H} (200 MHz, DMSO- d_6), м.ч.
5a	6.85 м (2H _{аром.}), 7.21 м (2H _{аром.}), 7.5 (2H _{аром.}), 7.70 м (1H _{аром.} + 2H, NH ₂ , D ₂ O мінлив.), 7.9 д (1H _{аром.}), 10.66 с (1H, NH, D ₂ O мінлив.)
5b	2.15 с (3H, 5-CH ₃), 6.70 д (1H _{аром.}), 7.0 м (2H _{аром.}), 7.40 м (2H _{аром.}), 7.53 с (2H, NH ₂ , D ₂ O мінлив.), 7.70 т (1H _{аром.}), 7.95 т (1H _{аром.}), 10.55 с (1H, NH, D ₂ O мінлив.)
5c	3.10с (3H, NCH ₃), 6.88 м (2H _{аром.}), 7.20 м (2H _{аром.}), 7.5 (2H _{аром.}), 7.65 с (2H, NH ₂ , D ₂ O мінлив.), 7.70 т (1H _{аром.}), 7.95 д (1H _{аром.})
5d	4.75 с (2H, CH ₂ , Bn), 6.68 д (1H _{аром.}), 7.0 т (1H _{аром.}), 7.25 м (5H _{аром.}), 7.5 м (4H _{аром.}), 7.75 м (1H _{аром.} + 2H, NH ₂ , D ₂ O мінлив.), 7.78 (1H _{аром.})
5e	0.75 т (3H, OCH ₂ CH ₃), 3.72 к (2H, OCH ₂ CH ₃), 6.75 м (2H _{аром.}), 7.0 м (2H _{аром.}), 7.45 м (2H _{аром.}), 7.70 (1H _{аром.}), 8.0 д (1H _{аром.}), 8.20 с (2H, NH ₂ , D ₂ O мінлив.), 10.40 с (1H, NH, D ₂ O мінлив.)
5f	0.70 т (3H, OCH ₂ CH ₃), 2.20 с (3H, 5-CH ₃), 3.50 к (2H, OCH ₂ CH ₃), 6.70 д (1H _{аром.}), 7.0 м (2H _{аром.}), 7.40 м (2H _{аром.}), 7.53 с (2H, NH ₂ , D ₂ O мінлив.), 7.70 т (1H _{аром.}), 7.95 т (1H _{аром.}), 10.55 с (1H, NH, D ₂ O мінлив.)
5g	0.68 т (3H, OCH ₂ CH ₃), 3.12с (3H, NCH ₃), 3.55 к (2H, OCH ₂ CH ₃), 6.85 м (2H _{аром.}), 7.15 м (2H _{аром.}), 7.5 (2H _{аром.}), 7.63 с (2H, NH ₂ , D ₂ O мінлив.), 7.70 т (1H _{аром.}), 7.90 д (1H _{аром.})
5h	0.65 т (3H, OCH ₂ CH ₃), 3.49 к (2H, OCH ₂ CH ₃), 4.89 с (2H, CH ₂ , Bn), 6.80 м (2H _{аром.}), 7.10 м (2H _{аром.}), 7.30 м (3H _{аром.}), 7.50 м (4H _{аром.}), 7.72 т (1H _{аром.}), 8.0 д (1H _{аром.}), 8.20 с (2H, NH ₂ , D ₂ O мінлив.)
5i	6.80 д (1H _{аром.}), 7.45 д (1H _{аром.}), 7.55 м (3H _{аром.}), 7.75 м (1H _{аром.} + 2H, NH ₂ , D ₂ O мінлив.), 7.82 д (1H _{аром.}), 10.80 с (1H, NH, D ₂ O мінлив.)
5j	0.75 т (3H, OCH ₂ CH ₃), 3.85к (2H, OCH ₂ CH ₃), 6.70 д (1H _{аром.}), 7.40 м (2H _{аром.}), 7.50 м (2H _{аром.}), 7.74 т (1H _{аром.}), 8.0 д (1H _{аром.}), 8.12 с (2H, NH ₂ , D ₂ O мінлив.), 10.55 с (1H, NH, D ₂ O мінлив.)
5k	7.0 д (1H _{аром.}), 7.5 м (2H _{аром.}), 7.79 м (1H _{аром.} + 2H, NH ₂ , D ₂ O мінлив.), 7.90 д (1H _{аром.}), 8.22 с (1H ⁴ _{аром.}), 11.40 с (1H, NH, D ₂ O мінлив.)
5l	0.80 т (3H, OCH ₂ CH ₃), 3.80 к (2H, OCH ₂ CH ₃), 6.90 д (1H _{аром.}), 7.5 м (3H _{аром.}), 7.72 д (1H _{аром.}), 8.0 м (2H _{аром.}), 8.15 с (2H, NH ₂ , D ₂ O мінлив.), 11.14 с (1H, NH, D ₂ O мінлив.)
5m	3.15с (3H, NCH ₃), 7.53 м (4H _{аром.}), 7.75 м (2H _{аром.} + 2H, NH ₂ , D ₂ O мінлив.), 7.95 д (1H _{аром.})

говорить про підвищену NH-кислотність α -аміногрупи піранового ядра внаслідок електроноакцепторного впливу атома кисню γ -піранового циклу та ρ , π -супряженням із його алкеновим зв'язком.

Співвіднести сигнали деяких атомів вуглецю за їх протонним оточенням, зокрема четвертинного спіроатома вуглецю в молекулах **5a-m**, а також атомів вуглецю CH₃, СН-груп ароматичного фрагменту дозволила процедура запису ЯМР ^{13}C спектрів в АРТ режимі (рис. 1). Зокрема сигнал четвертинного спіроатома вуглецю спостерігається близько 58 м.ч. Також слід відмітити присутність характерного для 2-CO групи кумаринового ядра сигналу атома вуглецю близько 158 м.ч., а також сигналів α -вуглецевих атомів γ -піранового циклу при 159 та 157 м.ч., які завжди знаходяться в більш слабкому полі, ніж β -вуглецеві, та проявляються при 153 і 144 м.ч., що обумовлено електроноакцепторним впливом атома кисню γ -піранового циклу.

Виходячи з присутності в молекулах синтезованих речовин **5a-m** 4-гідроксикумаринового фармакофора ми прогнозували можливу непряму антикоагулянтну активність синтезованих речовин (рис. 2).

Вплив речовин на систему гемостазу досліджували на 70 статевозрілих білих щурах-самцях масою 180-200 г, які були розподілені на 14 груп по п'ять тварин у кожній. Антикоагулянтний ефект

оцінювали двічі (через 6 та 24 год) згідно з загальними рекомендаціями щодо вивчення антикоагулянтів непрямої дії [17] за зміною часу зсідання крові, яку брали з хвостової вени щурів, та реєстрували час утворення фібринового згустку на знежиреному предметному склі від часу забору крові до появи "фібринової нитки". На основі абсолютних середніх показників зсідання в кожній групі розраховували відносний показник — індекс зсідання у відсотках як відношення середнього часу зсідання під впливом речовини до часу зсідання в контрольній інтактній групі, який приймали за 100%.

Як препарат порівняння було обрано антикоагулянт монокумаринового ряду — варфарин (рис. 2), який вводили одноразово внутрішньошлунково в двох дозах — 5,3 мг/кг (ЛД₅₀) та 2,65 мг/кг (половина від ЛД₅₀). Для відносної оцінки впливу досліджуваних речовин на систему зсідання до експерименту було включено і групу тварин, які отримували інгібітор фібринолізу — амінокапронову кислоту внутрішньошлунково в дозі 100 мг/кг. Досліджувані речовини вводили одноразово внутрішньошлунково в разовій дозі 100 мг/кг, після чого брали кров через 6 та 24 год.

Динаміка коагуляції крові щурів під впливом 10 досліджуваних сполук — 4,3'-спіро[(2-аміно-3-R-4,5-дигідропірано[3,2-с]хромен-5-он)-N'-R1-5-R2-2'-оксіндолів] (**5a-d**, **5g-l**) та варфарину через 6 та 24 год наведена в табл. 3.

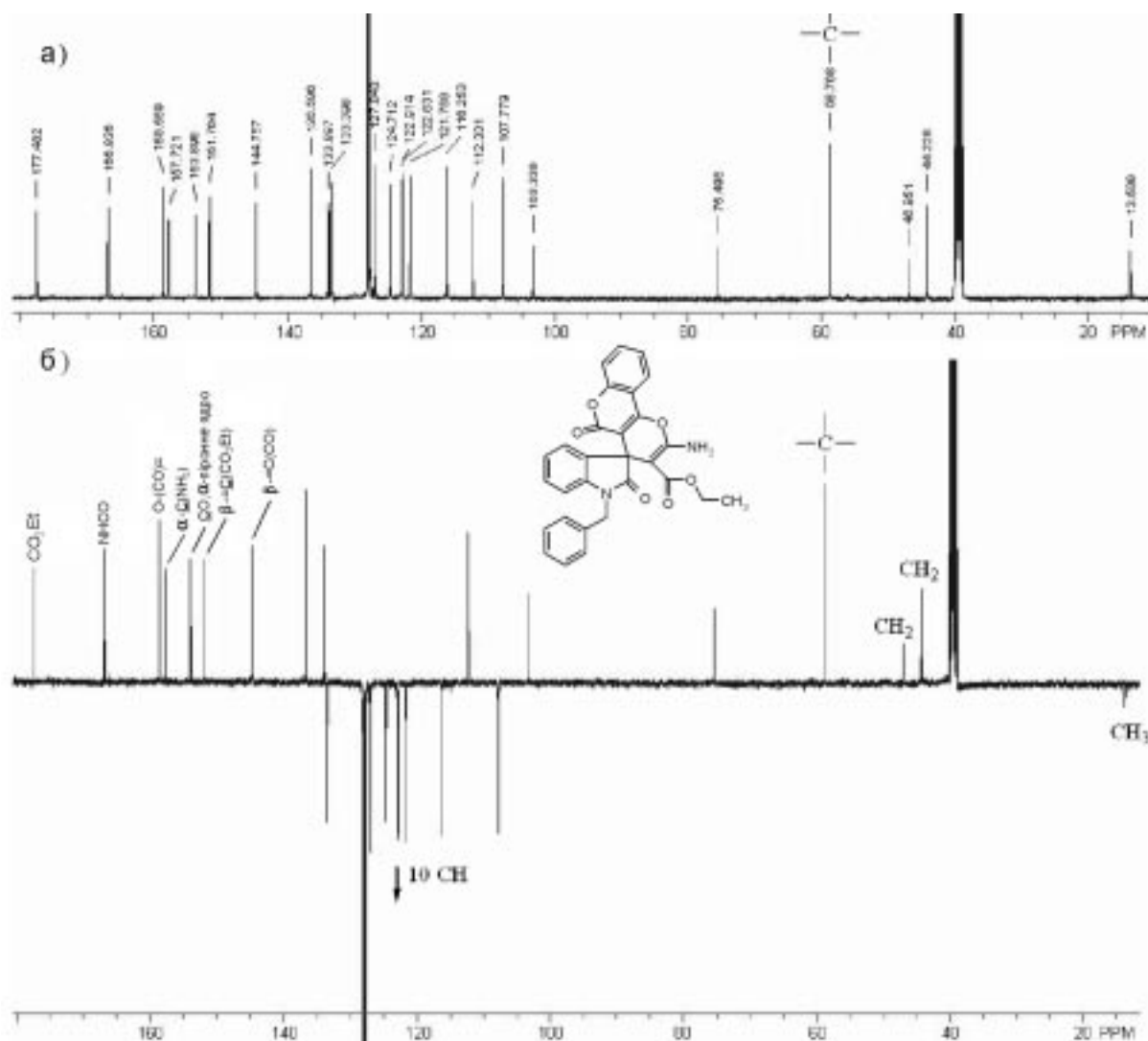


Рис. 1. ЯМР ^{13}C спектр (а) та процедура АРТ (б) 4,3'-спіро[(2-аміно-3-карбетокси-4,5-дигідропірано [3,2-с]хромен-5-он)-N'-бензил-2'-оксіндолу] (**5h**).

Як показує аналіз отриманих даних, через 6 год варфарин достовірно викликав збільшення часу коагуляції ($p \leq 0,05$) порівняно з інтактним контролем та з групою тварин, які отримували амінокапронову кислоту. Причому цей ефект був більш вираженим у випадку разової дози 5,6 мг/кг та очікувано збільшувався через 24 год практично вдвічі (184,8%) порівняно з дозою 2,65 мг/кг (171,0%). Тоді як у групі тварин, які отримували амінокап-

ронову кислоту, очікувано спостерігали достовірне зменшення часу коагуляції через 6 год порівняно з контролем та варфарином ($p \leq 0,05$), а через 24 год — час коагуляції був практично рівним контролю та достовірно меншим, ніж у групах тварин, які отримували варфарин та синтезовані речовини.

Вже через 6 год після введення практично всі досліджувані речовини **5 a-d, g, i, j, k, l** викликали статистично значиме збільшення часу коагуляції, окрім сполуки **5h**. Однак збільшення часу коагуляції через 6 год було значно меншим, ніж у групі тварин, які отримували варфарин у дозі ЛД₅₀ та половинній від ЛД₅₀.

Через 24 год після одноразового введення в групах тварин, які отримували досліджувані речовини, продовжували спостерігати збільшення часу коагуляції, причому речовини **5g, 5l, 5b, 5d, 5h** за часом коагуляції та індексом зсідання наближаються до ефекту варфарину у дозі, половинній від ЛД₅₀.

Найбільш активною речовиною виявилася сполука **5c** — 4,3'-спіро[(2-аміно-3-ціано-4,5-дигід-

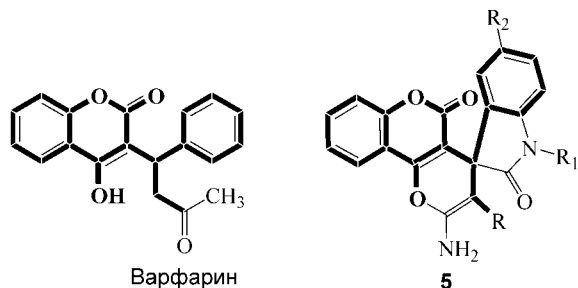


Рис. 2. Структура монокумаринового антикоагулянта варфарину та 4,3'-спіро[(2-аміно-3-R-4,5-дигідропірано [3,2-с]хромен-5-он)-N'-R₁-5-R₂-2'-оксіндолів] **5a-m** (виділено 4-гідроксикумариновий фармакофор).

Таблиця 3

Динаміка коагуляції крові щурів під впливом синтезованих сполук 5a-d, 5g-l, варфарину та амінокапронової кислоти ($x \pm S_x$)

Сполука	Доза, мг/кг	Через 6 год		Через 24 год	
		час коагуляції, с	індекс зсідання, %	час коагуляції, с	індекс зсідання, %
5a	100	108±6,3 */**/**	119,6	111±5,0 */**/**	120,7
5b	100	119±26,4 */**/**	131,4	156±2,0 */**/**	169,6
5c	100	115±5,6 */**/**	127,7	165±5,8 */**	179,7
5d	100	126±23,0 */**/**	139,1	152±3,8 */**/**	165,2
5g	100	108±36,0 */**/**	119,2	157±3,0 */**/**	171,0
5h	100	95±4,8 **/**	105,5	153±7,6 */**/**	166,3
5i	100	115±19,0 */**/**	127,3	126±11,0 */**/**	136,6
5j	100	119±19,0 */**/**	131,7	145±3,0 */**/**	157,6
5k	100	128±12,9 */**/**	142,0	146±11,6 */**/**	158,7
5l	100	136±5,8 */**/**	150,9	157±6,0 */**/**	171,0
Варфарин	5,3	151±6,5 */**	167,6	170±11,0 */**	184,8
Варфарин 1/2 ЛД ₅₀	2,65	129±23,3 */**	142,5	157±5,0 */**/**	171,0
Амінокапронова кислота	100	83±6,3 */**	92,2	93±2,6 ***	101,2
Контроль	100	90±4,3 **/**	100,0	92±2,7 **/**	100,0

Примітки: n = 5;

* - відхилення показника достовірне щодо групи інтактного контролю, $p \leq 0,05$;** - відхилення показника достовірне щодо препарату амінокапронової кислоти, $p \leq 0,05$;*** - відхилення показника достовірне щодо препарату "Варфарин" у дозі ЛД₅₀ (антикоагулянтний ефект), $p \leq 0,05$.

ропірано[3,2-с]хромен-5-он)-N'-метил-2'-оксіндол], яка через 24 год після введення показала індекс зсідання (179,7%), що перевищує ефект варфарину в дозі, половинній від ЛД₅₀, та наближається до його ефекту в дозі ЛД₅₀ (відсутність статистично достовірної різниці з варфарином у дозі 5,6 мг/кг через 24 год). Сполуки **5a**, **5i**, **5j**, **5k** виявилися слабоактивними.

Аналіз структури досліджуваних сполук дозволяє вказати на певні закономірності "структура-активність", а саме на позитивний вплив карбоксигрупи та N-алкільної групи, а також замісників у 5-положенні 2-оксіндольного ядра на виявлення антикоагулянтної активності в ряду 4,3'-спіро[(2-аміно-3-R-4,5-дигідропірано[3,2-с]хромен-5-он)-2'-оксіндолів] **5a-m**.

Отримані результати дозволяють зробити висновки про перспективність пошуку непрямих антикоагулянтів у ряду означених сполук.

Експериментальна частина

Спектри ЯМР ¹H реєстрували на приладі Varian M-200 з робочою частотою 200 МГц в ДМСО-d₆, внутрішній стандарт ТМС. Спектри ЯМР ¹³C реєстрували на приладі GEMINI-400 VARIAN, робоча частота на протонах — 100.61 МГц в ДМСО-d₆, внутрішній стандарт ТМС. АРТ (Attached Proton Test) ¹³C спектри знімали на цьому ж приборі. Елементний аналіз проводили на аналізаторі Carlo Erba CHNS-O EA 1108, де відхилення не переви-

щувало $\pm 0,4\%$. Температури плавлення визначали капілярним способом на приладі ПТП (М).

2-(2-Оксоіндолін-3-іліден)малононітрили (**6a**, **b**, **c**, **d**, **i**, **k**, **m**) та 2-(2-оксоіндолін-3-іліден)ціаноцтові естери (**6e**, **f**, **g**, **h**, **j**, **l**) були отримані за методиками [18, 19].

4,3'-Спіро[(2-аміно-3-R-4,5-дигідропірано[3,2-с]хромен-5-он)-N'-R₁-5-R₂-2'-оксіндоли] (5a-m). Загальна методика одержання.

Спосіб а. 1 ммоль відповідного ізатину **1a-e** розчиняли в 10 мл етанолу і додавали 0,066 г (1 ммоль) малонодинітрилу **2a** або 0,11 мл (1 ммоль) ціаноцтового естеру **2b**, 0,162 г (1 ммоль) 4-гідроксикумарину **3** та 0,13 мл (1 ммоль) триетаноламіну. У разі використання малонодинітрилу реакційну суміш перемішували, нагрівали до початку кипіння та кип'ятили суміш протягом 1 год, а потім залишали при кімнатній температурі до випадання осаду продукту, а у випадку використання ціаноцтового естеру — кип'ятили протягом 2 год, потім залишали кристалізуватися в холодильнику на добу. Кристалічний осад, що утворювався, фільтрували, послідовно промивали киплячим н-гексаном і етанолом, сушили на повітрі.

Спосіб б. Суміш 1 ммоль відповідного 2-(2-оксоіндолін-3-іліден)малононітрилу **6a**, **b**, **c**, **d**, **i**, **k**, **m** або 2-(2-оксоіндолін-3-іліден)ціаноцтового естеру **6e**, **f**, **g**, **h**, **j**, **l** та 0,162 г (1 ммоль) 4-гідроксикумарину **3** та 0,13 мл (1 ммоль) триетаноламіну кип'ятили в 15 мл етанолу. У разі використання **6a**, **b**, **c**, **d**, **i**, **k**, **m** кип'ятили зі зворотним холо-

дильником впродовж 1 год, а при використанні естерів **6e, f, g, h, j, l** кип'ятили протягом 2 год, далі поступали аналогічно способу *a*.

Висновки

1. Запропоновано методику препаративного синтезу нових 4,3'-спіро[(2-аміно-3-*R*-4,5-дигідропірано[3,2-*c*]хромен-5-он)-2'-оксіндолів] на основі трикомпонентної конденсації ізатинів з метилен-активними нітрилами та 4-гідроксикумарином. Будова синтезованих сполук досліджена методами

елементного аналізу, ЯМР ^1H та ЯМР ^{13}C спектроскопії.

2. Вперше досліджено вплив синтезованих сполук на систему гемостазу у щурів. Показано позитивний вплив карбетоксигрупи та *N*-метильної групи, а також замісників у 5-положенні 2-оксіндольного ядра на виявлення антикоагулянтної активності. Встановлено перспективність подальшого пошуку непрямих антикоагулянтів у ряду 4,3'-спіро-2-оксіндольних похідних дигідропірано[3,2-*c*]хромен-5-ону.

Література

1. Shaker R.M. // *Pharmazie*. — 1996. — Vol. 51, №1 — P. 148.
2. Barr S.A., Neville C.F., Grundon M.F. et al. // *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*. — 1995. — Vol. 2, №6. — P. 445-452.
3. Al-Haiza1 M.A., Mostafa M.S., El-Kady M.Y. // *Molecules*. — 2003. — №8. — P. 275-286.
4. El-Agrody A.M., Abd El-Latif M.S. // *Molecules*. — 2001. — №6. — P. 519-527.
5. Reddy Y.D., Somayajulu V.V. // *J. Ind. Chem. Soc.* — 1981. — Vol. 58, №4. — P. 599-601.
6. Nofal Z.M., El-Zahar M.I., Abd El-Karim S.S. // *Molecules*. — 2000. — №5. — P. 99-113.
7. Jacquot Y. // *Biol. Pharm. Bull.* — 2002. — Vol. 25, №3. — P. 335-341.
8. Manolov I., Danchev N.D. // *Eur. J. Med. Chem. Chim. Ther.* — 1995. — №30. — P. 531-536.
9. Hirsh J., Dalen J.E., Anderson D.R. et al. // *Chest*. — 1998. — Vol. 114, №5. — P. 445-469.
10. Heck A.M., Dewitt B.A., Lukes A.L. // *Amer. J. Health-Syst.* — 2000. — Vol. 57, №13. — P. 1221-1227.
11. Demirkan K., Stephens M., Newman K.P., Self T.H. // *South Med. J.* — 2000. — Vol. 93, №5. — P. 448-455.
12. Jayadevan J., Rathna R.S. // *Tetrahedron Letters*. — 2006. — Vol. 47, №13. — P. 2265-2270.
13. Joshi K. C., Dandia A., Baweja S., Joshi, A. // *J. Heterocycl. Chem.* — 1989. — №26. — P. 1097-1099.
14. Zhu S.-L., Ji S.-J., Zhang Y. // *Tetrahedron*. — 2007. — Vol. 63, №45. — P. 9365-9372.
15. Shishkina S.V., Shishkin O.V., Redkin R. G. et al. // *Acta Cryst.* — 2007. — E63. — P. 3193.
16. Редькін П.Г., Шемчук Л.А., Черних В.П. та ін. // *ЖОФХ*. — 2007. — Т. 5, вип. 4 (20). — С. 19-26.
17. Ефименко Н.А., Чернеховская Н.Е., Федорова Т.А., Шишло В.К. *Микроциркуляция и способы ее коррекции*. — М.: Росс. мед. академия последипломного образования, 2003. — 172 с.
18. Redkin R.G., Shemchuk L.A., Chernykh V.P. et al. // *Tetrahedron*. — 2007. — Vol. 63, №46. — P. 11444-11450.
19. Dworzak R., Sterk H., Kratky C., Junek H. // *Chem. Ber.* — 1989. — №122. — P. 1323-1325.

Надійшла до редакції 21.02.2008 р.