

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

ALESSANDRO BERTOLUZZA, CONCEZIO FAGNANO, MARIA ANTONIETTA MORELLI, RAFFAELLA TOSI

**Contributo allo studio sulle correlazioni fra struttura e proprietà di gruppi atomici funzionali di interesse biologico. Nota III. Caratterizzazione spettroscopica u.r. e Raman laser di legami di idrogeno forti presenti nella struttura dell'aspirina e derivati in relazione alla loro azione inibitrice della biosintesi delle prostaglandine**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 60 (1976), n.4, p. 462–475.*  
Accademia Nazionale dei Lincei

[<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1976\\_8\\_60\\_4\\_462\\_0>](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1976_8_60_4_462_0)

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

---

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma  
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)  
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

**Chimica.** — *Contributo allo studio sulle correlazioni fra struttura e proprietà di gruppi atomici funzionali di interesse biologico. Nota III. Caratterizzazione spettroscopica u.r. e Raman laser di legami di idrogeno forti presenti nella struttura dell'aspirina e derivati in relazione alla loro azione inibitrice della biosintesi delle prostaglandine.* Nota di ALESSANDRO BERTOLUZZA (\*), CONCEZIO FAGNANO (\*\*), MARIA ANTONIETTA MORELLI (\*\*\*) e RAFFAELLA TOSI (\*), presentata (\*\*\*) dal Socio G. B. BONINO.

SUMMARY. — Infrared and Raman spectra of aspirin and KH diaspirinate are reported and discussed in relation to the strong hydrogen bonds shown by these compounds, according to X-ray and neutronic diffraction data of the literature.

This discussion is at the basis of a hypothesis put forth here on the probable inhibition mechanism of prostaglandin biosynthesis by aspirin-like drugs.

The hypothesis considers the formation of strong hydrogen bonds between the acid function aspirin-like drugs and the basic enzyme site which presides over prostaglandin biosynthesis.

Sulla natura del legame di idrogeno forte O—H—O ci siamo interessati in precedenza riguardo al problema dell'acqua anomala [1-4], dell'acqua in  $HBr \cdot 4 H_2O$  [3] e nelle soluzioni acquose concentrate di acidi e basi inorganici [5]. Più recentemente, con finalità biologiche, nel caso dell'emidcloridrato di acetamide  $(CH_3CONH_2)_2 \cdot HCl$  [6] contenendo la molecola il gruppo funzionale  $\begin{array}{c} \text{—C—N—} \\ \parallel \quad | \\ \text{O} \quad \text{H} \end{array}$  tipico dei polipeptidi (1).

In questa Nota si intende estendere l'indagine all'aspirina (2)  $C_6H_4(OCOCH_3)CO_2H$  e al diaspirinato di H e K (bisacetilsalicilato di H e K) (2)  $[C_6H_4(OCOCH_3)CO_2]_2HK$ , con lo scopo di portare un nuovo contributo spettroscopico vibrazionale Raman laser e u.r. alla caratterizzazione del legame di idrogeno forte OHO presente nelle strutture dei composti e nel tempo stesso di considerare l'ipotesi se una interazione di questo tipo presieda all'azione inibitrice della biosintesi delle prostaglandine osservata recentemente per farmaci della struttura dell'aspirina.

#### PARTE SPERIMENTALE

L'aspirina usata era un prodotto Erba FU.

Cristalli di diaspirinato di H e K sono stati ottenuti scaldando, fino a completa solubilizzazione, aspirina e KOH in rapporto molare 2 : 1, nella minima quantità di alcool etilico (prodotto Erba RP) acquoso al 50 % [8].

(\*) Cattedra di Chimica della Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università di Bologna. Centro Studi di Chimica e Chimica Fisica Applicata alle Caratteristiche di Impiego dei Materiali.

(\*\*) Centro Studio per la Spettroscopia Raman dell'Università di Bologna.

(\*\*\*) Nella seduta del 10 aprile 1976.

(1) Su questo argomento abbiamo discusso, in una ricerca a parte [7], gli spettri Raman delle soluzioni acquose acide di acetamide, mettendo in risalto la formazione di uno ione ossonio.

(2) Il termine aspirina e diaspirinato sono comunemente usati in letteratura per indicare, rispettivamente, l'acido acetilsalicilico e il bisacetilsalicilato acido; ad essi si farà particolare riferimento nel corso di questa Nota.

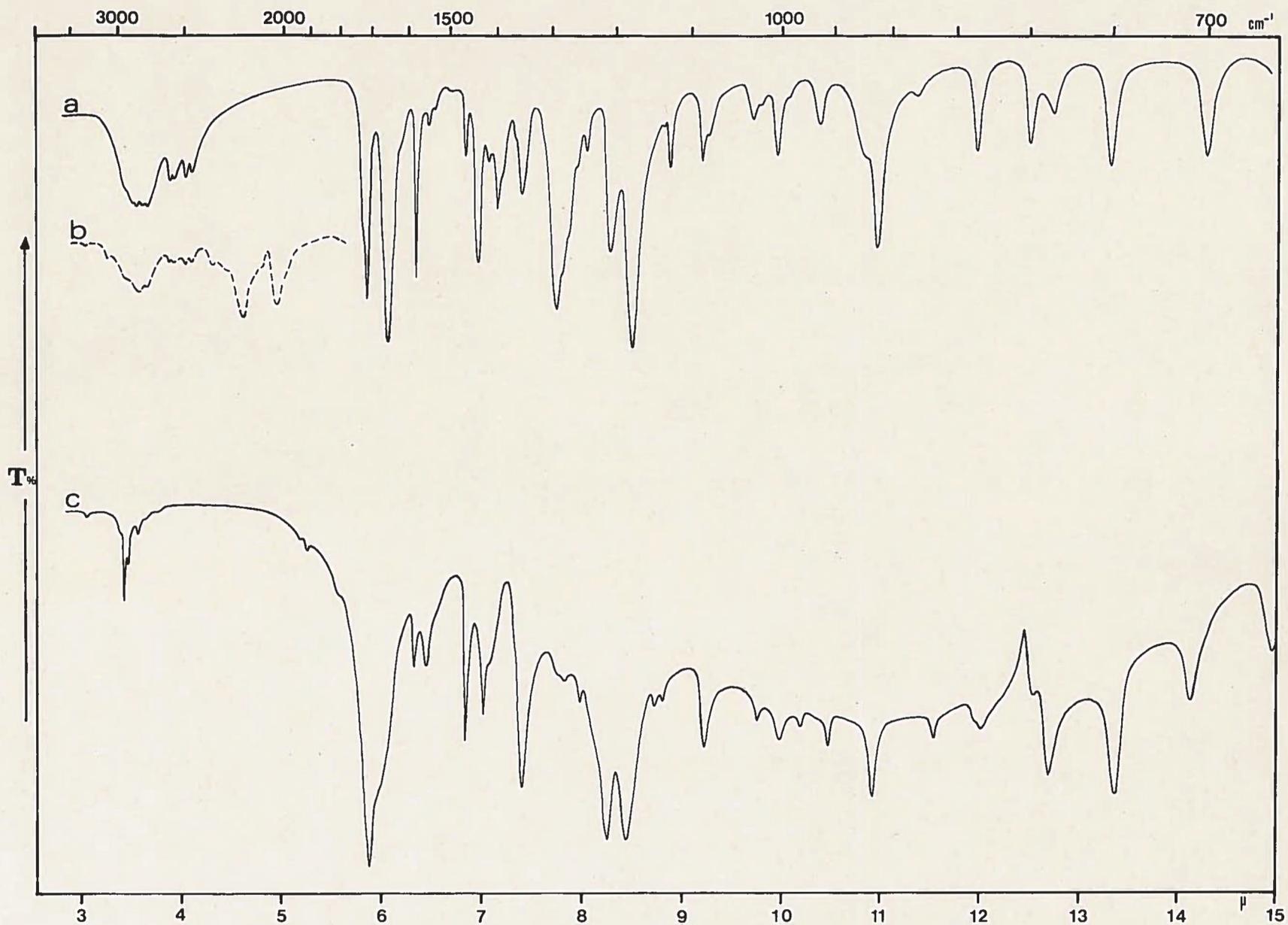


Fig. 1. - Spettri u.r. di: *a*) aspirina  $C_6H_4(OCOCH_3)CO_2H$ ; *b*) aspirina parzialmente deuterata  $C_6H_4(OCOCH_3)CO_2D$ ; *c*) diaspirinato di H e K,  $KH[C_6H_4(COOCH_3)_3CO_2]_2$ .

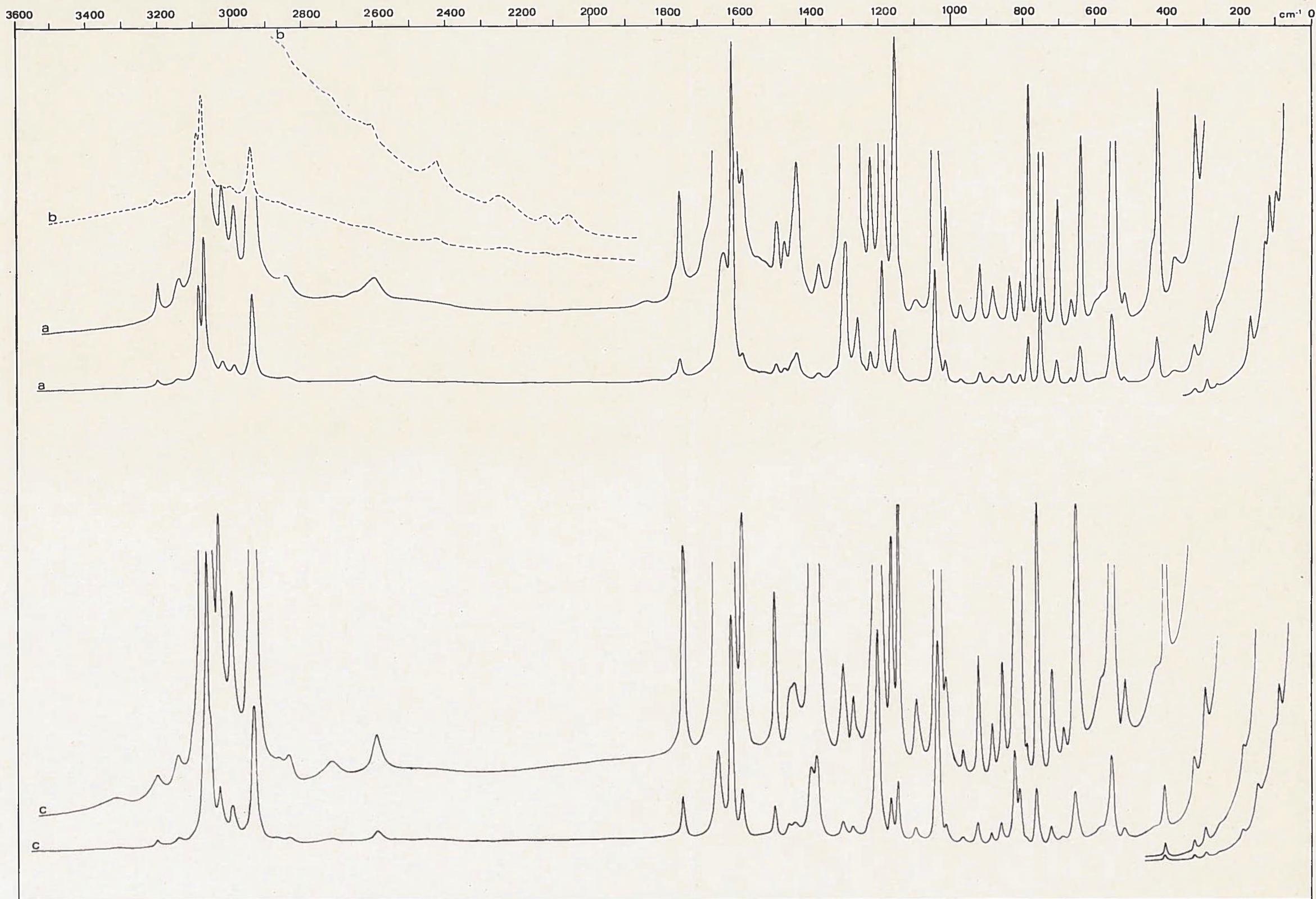


Fig. 2. - Spettri Raman di : *a*) aspirina  $C_6H_4(OCOCH_3)CO_2H$ ; *b*) aspirina parzialmente deuterata  $C_6H_4(OCOCH_3)CO_2D$ ; *c*) diaspirinato di H e K,  $KH[C_6H_4(OCOCH_3)CO_2]_2$ .

A caldo si formano dapprima più grossi cristalli del sale, raccolti ed asciugati, e successivamente cristalli più piccoli di aspirina.

Lo stesso sale è stato ottenuto utilizzando aspirina,  $K_2CO_3$  (prodotto Erba RP) e etanolo acquoso al 50 %, nelle dovute proporzioni.

Con quest'ultimo metodo si è cercato anche di ottenere il diaspirinato di D e K (utilizzando aspirina parzialmente deuterata  $C_6H_4(OCOCH_3)CO_2D$ ,  $K_2CO_3$ ,  $CH_3CH_2OD$  (prodotto Baker) e  $D_2O$  (prodotto Merck)), ma ripetuti tentativi non hanno permesso di isolare il composto deuterato puro, risultando esso sempre deuterato solo in parte rispetto al gruppo OHO e impuro di aspirina.

Per confronto sono stati anche preparati l'aspirina parzialmente deuterata  $C_6H_4(OCOCH_3)CO_2D$  e il suo sale potassico  $C_6H_4(OCOCH_3)CO_2K$ .

Il primo composto è stato ottenuto per cristallizzazioni successive da  $D_2O$  e conservato in essicatore sotto vuoto, su  $P_2O_5$ .

Il secondo composto è stato preparato [9] da quantità equimolecolari di aspirina e  $K_2CO_3$  in una quantità d'acqua pari a cinque volte in moli.

Si evapora la soluzione fino ad ottenere un precipitato di scaglie splendenti, la si diluisce con poco acetone ed etere dietilico raffreddati a  $0^\circ C$ , e la si lava infine, dopo filtrazione, con un piccolo quantitativo della stessa miscela.

Il composto, asciugato all'aria, veniva mantenuto in essicatore su  $P_2O_5$ .

Gli spettri u.r. sono stati ottenuti su emulsioni dei campioni in Nujol e Tripen, utilizzando sia uno spettrometro Leitz, sia uno spettrometro Perkin-Elmer mod. 225; parte di essi, e relativamente alla regione fra 2 e  $15 \mu$ , vengono riportati in fig. 1.

Gli spettri Raman sono stati ottenuti con uno spettrometro Raman Cary mod. 81 con sorgente eccitatrice laser ad  $Ar^+$  ( $4880 \text{ \AA}$ ): vengono riportati in fig. 2 e, tabulati assieme a quelli u.r., in Tabella I.

TABELLA I.  
*Spettri u.r. e Raman.*

Aspirina $C_6H_4(OCOCH_3)CO_2H$		Diaspirinato di H e K $KH [C_6H_4(OCOCH_3)CO_2]_2$	
Raman $cm^{-1}$	u.r. $cm^{-1}$	Raman $cm^{-1}$	u.r. $cm^{-1}$
53 <i>m</i>			
67 <i>f</i>		63 <i>m</i>	
99 <i>m</i>		90 <i>m</i>	
107 <i>f</i>		104 <i>f</i>	
130 <i>d, fl</i>			
170 <i>f</i>		150 <i>d</i>	

Segue: TABELLA I.

Aspirina $C_6H_4(OCOCH_3)CO_2H$		Diaspirinato di H e K $KH[C_6H_4(OCOCH_3)CO_2]_2$	
Raman $cm^{-1}$	u.r. $cm^{-1}$	Raman $cm^{-1}$	u.r. $cm^{-1}$
		191 <i>d</i> ,	
			230 <i>m</i>
263 <i>d, fl</i>	266 <i>m</i>	256 <i>dd, fl</i>	
			280 <i>m</i>
292 <i>m</i>	293 <i>d</i>	296 <i>m</i>	
			310 <i>m</i>
324 <i>d</i>	325 <i>d</i>	326 <i>m</i>	
	330 <i>fl</i>		
			360 <i>f</i>
381 <i>d, l</i>	380 <i>fl</i>		
	390 <i>m</i>		
		407 <i>m</i>	406 <i>f</i>
427 <i>m</i>	428 <i>d</i>		
444 <i>fl</i>	445 <i>d</i>	437 <i>dd</i>	
			502 <i>m</i>
517 <i>dd</i>	520 <i>d</i>	517 <i>d</i>	
552 <i>f</i>	546 <i>d</i>	552 <i>f</i>	540 <i>f</i>
	566 <i>d</i>		560 <i>f</i>
579 <i>dd, fl</i>		582 <i>fl</i>	
596 <i>dd, fl</i>	603 <i>m</i>		595 <i>m</i>
640 <i>m</i>			642 <i>f</i>
	650 <i>d</i>	654 <i>m</i>	
665 <i>dd</i>	670 <i>m</i>		
	675 <i>fl</i>		674 <i>f</i>
		686 <i>dd</i>	
705 <i>m</i>	708 <i>m</i>		
		719 <i>d</i>	713 <i>f</i>
749 <i>f</i>	758 <i>m</i>	759 <i>m</i>	752 <i>f</i>
782 <i>m</i>	795 <i>m</i>	787 <i>fl</i>	792 <i>f</i>

Segue: TABELLA I.

Aspirina $C_6H_4(OCOCH_3)CO_2H$		Diaspirinato di H e K $KH[C_6H_4(OCOCH_3)CO_2]C_2$	
Raman $cm^{-1}$	u.r. $cm^{-1}$	Raman $cm^{-1}$	u.r. $cm^{-1}$
806 <i>d</i>	807 <i>m</i>	805 <i>m</i>	~ 800
		818 <i>f</i>	
834 <i>d</i>	844 <i>m</i>		836 <i>m, l</i>
			842 <i>fl</i>
		855 <i>d</i>	
			872 <i>m</i>
881 <i>d</i>	885 <i>d</i>	884 <i>d</i>	
917 <i>d</i>	920 <i>f</i>	922 <i>d</i>	923 <i>m</i>
	930 <i>fl</i>		
		964 <i>dd</i>	962 <i>m</i>
971 <i>dd</i>	972 <i>m</i>		
1013 <i>d</i>	{ 1004 <i>fl</i>	1011 <i>d, fl</i>	{ 990 <i>d</i>
	1015 <i>m</i>		1010 <i>m</i>
1029 <i>fl</i>	1033 <i>fl</i>	1035 <i>ff</i>	1035 <i>d</i>
1044 <i>f</i>	1042 <i>d, l</i>		
{ 1094 <i>dd</i>	{ 1088 <i>fl</i>	{ 1093 <i>d</i>	{ 1095 <i>m</i>
	1098 <i>m</i>		
{ 1134 <i>fl</i>	{ 1138 <i>m</i>	{ 1143 <i>m</i>	{ 1147 <i>d</i>
{ 1152 <i>m</i>	{ 1146 <i>dd</i>		
1162 <i>fl</i>		1162 <i>m</i>	1158 <i>d</i>
1189 <i>f</i>	1190 <i>ff</i>	1199 <i>ff</i>	1195 <i>ff</i>
1221 <i>d</i>	1223 <i>f</i>	1222 <i>fl</i>	1225 <i>ff</i>
1237 <i>fl</i>			
1256 <i>m</i>	1258 <i>d</i>		1250 <i>fl</i>
1267 <i>fl</i>	1274 <i>fl</i>	1269 <i>d</i>	1270 <i>d</i>
1293 <i>f</i>	1290 <i>fl</i>	1294 <i>d</i>	1294 <i>d</i>
	1300 <i>fl</i>		
1303 <i>fl</i>	{ 1308 <i>ff</i>		1305 <i>fl</i>

Segue: TABELLA I.

Aspirina $C_6H_4(OCOCH_3)CO_2H$		Diaspirinato di H e K $KH[C_6H_4(OCOCH_3)CO_2]_2$	
Raman $cm^{-1}$	u.r. $cm^{-1}$	Raman $cm^{-1}$	u.r. $cm^{-1}$
1330 <i>fl</i>			
1367 <i>d</i>	1375 <i>m</i>	1370 <i>f</i>	1372 <i>f</i>
		1384 <i>f</i>	
	1410 <i>fl</i>		
1426 <i>d, l</i>	1423 <i>m</i>	1424 <i>d</i>	1425 <i>fl</i>
1438 <i>fl</i>	1438 <i>d</i>	1443 <i>fl</i>	1445 <i>f</i>
1458 <i>d</i>	1462 <i>f</i>		
1481 <i>d</i>	1487 <i>m</i>	1486 <i>m</i>	1485 <i>f</i>
1510 <i>dd, fl</i>			
	1520 <i>dd</i>		
1532 <i>dd, fl</i>			
	1564 <i>fl</i>		1550 <i>fl</i>
1576 <i>d</i>	1580 <i>d</i>	1576 <i>m</i>	1575 <i>m</i>
1606 <i>ff</i>	1610 <i>f</i>	1607 <i>ff</i>	1605 <i>m</i>
1628 <i>f, l</i>			
1640 <i>fl</i>	1642 <i>fl</i>	1645 <i>f</i>	
1686 <i>fl</i>	1693 <i>ff</i>		
			1705 <i>f, fl</i>
1749 <i>d</i>		1742 <i>m</i>	1740 <i>ff</i>
	1758 <i>f</i>		1750 <i>fl</i>
1772 <i>fl</i>	1770 <i>fl</i>		
1840 <i>dd</i>			1842 <i>fl</i>
			1950 <i>dd</i>
			1975 <i>dd</i>
	2535 <i>m</i>		
2603 <i>dd, l</i>	2590 <i>m</i>	2595 <i>d</i>	
	2670 <i>m</i>		
	2695 <i>m</i>		

*Segue*: TABELLA I.

Aspirina $C_6H_4(OCOCH_3)CO_2H$		Diaspirinato di H e K $KH[C_6H_4(OCOCH_3)CO_2]_2$	
Raman $cm^{-1}$	u.r. $cm^{-1}$	Raman $cm^{-1}$	u.r. $cm^{-1}$
		2720 <i>dd</i>	
2845 <i>dd, l</i>	2835 <i>m</i>	2842 <i>dd</i>	
	2875 <i>m</i>	2871 <i>dd</i>	
2945 <i>f</i>		2938 <i>f</i>	2940 <i>dd</i>
2995 <i>d</i>	2980 <i>m</i>	2996 <i>m</i>	3000 <i>dd, fl</i>
3025 <i>d</i>	3020 <i>m</i>	3031 <i>m</i>	3030 <i>fl</i>
3059 <i>fl</i>		3058 <i>fl</i>	3060 <i>d</i>
3078 <i>f</i>	3080 <i>fl</i>	3070 <i>ff</i>	3070 <i>m</i>
3094 <i>f</i>			3100 <i>dd, fl</i>
3152 <i>dd, l</i>		3146 <i>d</i>	
3210 <i>dd</i>		3208 <i>d</i>	
		3324 <i>dd</i>	
			3465 <i>dd</i>

*ff* = fortissima; *f* = forte; *m* = media; *d* = debole; *dd* = debolissima; *fl* = flessio; *l* = larga.

## DISCUSSIONE

In letteratura gli spettri u.r. dell'aspirina e derivati sono stati scarsamente studiati, mentre non risultano riportati gli spettri Raman.

Meglio caratterizzati sono i parametri strutturali di questa classe di composti, conoscendosi uno studio di raggi X sull'aspirina [10] e uno di raggi X [8] e di diffrazione neutronica [12] sul diaspirinato di H e K.

L'aspirina (fig. 3) è caratterizzata da interazioni di legami di idrogeno OHO fra i gruppi carbossilici di due molecole, con distanze interatomiche  $O \cdots O$  di 2,645 Å.

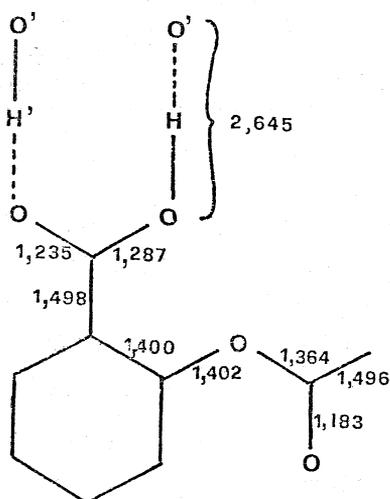


Fig. 3.

Nel diaspirinato di H e K (fig. 4) l'analogia distanza  $O \cdots O$  misura  $2,455 \text{ \AA}$  e il legame di idrogeno OHO della molecola ione è uno dei legami più corti fra quelli conosciuti. L'atomo di H, poi, risulta disposto a metà fra i due atomi di O, come è evidenziato da misure di diffrazione neutronica.

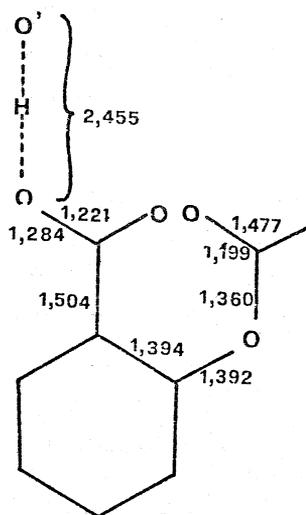


Fig. 4.

In accordo con il criterio esposto da W. C. Hamilton e J. A. Ibers [12] in base a misure di diffrazione neutronica, l'atomo di H in un legame OHO con distanza interatomica  $O \cdots O$  di  $2,65 \text{ \AA}$  (tipico dell'aspirina) è più fortemente legato ad un O rispetto all'altro, e quindi disposto in posizione asimmetrica. Inoltre, al diminuire della distanza interatomica  $O \cdots O$  dal valore di  $\sim 2,85 \text{ \AA}$  (tipico del legame di idrogeno OHO normale) al valore di  $\sim 2,45 \text{ \AA}$

(tipico del legame di idrogeno OHO forte e simmetrico), si osserva un graduale indebolimento del legame O—H ed un graduale rafforzamento di quello,  $H \cdots O$ , diventando i due legami uguali soltanto nel caso di un legame di idrogeno forte e simmetrico.

Sotto questo riguardo, entrambi i legami OHO nella struttura dell'aspirina e del diaspirinato di H e K sono più corti di un legame OHO normale, e sono da considerarsi del tipo « moderatamente forte » e asimmetrico il primo, e « forte » e simmetrico il secondo <sup>(3)</sup>.

Un altro criterio di distinzione fra legami di idrogeno OHO di forza diversa è l'andamento (qualitativo) delle funzioni di potenziale, che è strettamente correlato con il comportamento della vibrazione di allungamento antisimmetrico  $\nu_{OHO}$  [12].

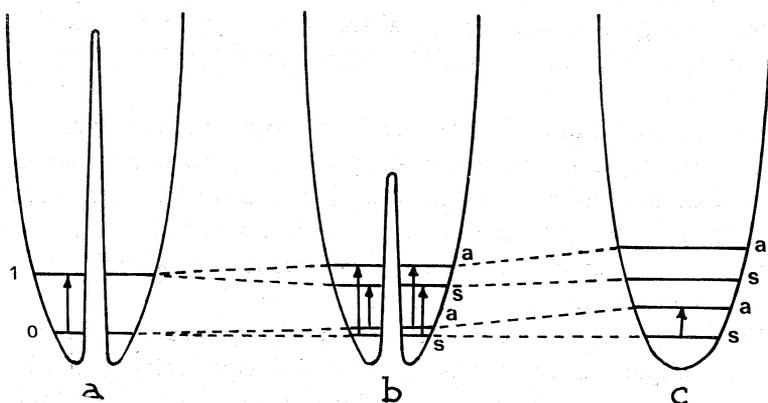


Fig. 5.

Come mostra la fig. 5 a, al legame di idrogeno OHO normale con atomi di ossigeno equivalenti corrisponde una funzione di potenziale a doppio minimo ed alta barriera: in questo caso il legame di idrogeno è rappresentabile, con ugual probabilità, dalle notazioni  $O-H \cdots O$  oppure  $O \cdots H-O$ .

Come la distanza interatomica  $O \cdots O$  diminuisce, e quindi aumenta la forza del legame di idrogeno, la barriera di potenziale diminuisce: in fig. 5 b viene rappresentata – qualitativamente – la situazione di un legame di idrogeno OHO moderatamente forte, con atomi di ossigeno equivalenti.

In questo caso si ha uno sdoppiamento dei livelli vibrazionali corrispondenti al caso precedente e una interconversione fra le due strutture sopra espresse per il legame di idrogeno, dipendente dall'altezza della barriera.

Infine, nel caso del legame di idrogeno forte e simmetrico (fig. 5 c) la barriera di potenziale è nulla o con valore inferiore al livello vibrazionale fondamentale. Lo sdoppiamento dei livelli vibrazionali è in questo caso massimo.

(3) Nel corso di questa Nota si userà la stessa grafia  $O-H-O$  sia per rappresentare legami di idrogeno forti simmetrici che asimmetrici.

Dalla fig. 5 si può allora osservare come ad un legame di idrogeno OHO normale corrisponda un'unica transizione  $0-1$ , attiva sia in u.r. che in Raman, dovuta alla vibrazione antisimmetrica di allungamento  $\nu$ OHO. Il valore medio della frequenza u.r. di questa vibrazione è di  $3200\text{ cm}^{-1}$  [13].

Ad un legame di idrogeno moderatamente forte corrispondono quattro transizioni, di cui due ( $0_s-1_a$ ,  $0_a-1_s$ ) sono attive in u.r. e due ( $0_s-1_s$ ,  $0_a-1_a$ ) in Raman. Spesso queste transizioni generano bande larghe e vicine, non distinguibili, con valore medio localizzabile fra  $2193$  e  $2510\text{ cm}^{-1}$  [13].

Inoltre, spesso compaiono nello spettro u.r. di legami di idrogeno OHO forti e asimmetrici, tre bande (note come bande A, B e C) rispettivamente a  $\sim 2900$ ,  $\sim 2500$  e a  $\sim 1900\text{ cm}^{-1}$ , la cui origine non è deducibile dalla semplice rappresentazione di fig. 5 b. Sull'origine di tali bande sono state avanzate in letteratura diverse ipotesi, la più attendibile delle quali è quella di considerare l'origine di tali bande da accoppiamenti di risonanza di Fermi fra la vibrazione antisimmetrica  $\nu$ OHO e vibrazioni armoniche  $2\delta\text{OH}$  e  $2\gamma\text{OH}$  [14-16].

Nel caso di un legame di idrogeno OHO forte e simmetrico è possibile un'unica transizione, corrispondente sempre alla vibrazione antisimmetrica  $\nu$ HOH, attiva in u.r. ma non in Raman. Il valore medio della frequenza di questa vibrazione è di  $1694\text{ cm}^{-1}$  [13]: la banda appare di solito molto larga nello spettro u.r., e con un massimo che si estende, in alcuni casi, a valori di frequenza al di sotto dei  $1000\text{ cm}^{-1}$ .

Alla luce di queste considerazioni è possibile ora caratterizzare la forza del legame di idrogeno OHO nell'aspirina e nel diaspirinato di H e K tramite il comportamento della vibrazione antisimmetrica  $\nu$ OHO negli spettri u.r. e Raman di questi composti.

Nello spettro u.r. dell'aspirina compaiono nell'intorno dei  $2900$  e  $2600\text{ cm}^{-1}$  due complessi assorbimenti (fig. 1 e Tabella I). Per parziale deuterazione del composto, tali assorbimenti modificano la loro struttura e compaiono due nuove bande a  $2240$  e a  $2075\text{ cm}^{-1}$ , con un rapporto H/D di  $\sim 1,3$  previsto nel caso di un legame di idrogeno moderatamente forte e asimmetrico [13].

Si può pertanto assegnare alle bande centrate a  $\sim 2900$  e a  $\sim 2600\text{ cm}^{-1}$  una componente principale dovuta ad oscillazioni interessanti il legame OHO.

Un analogo comportamento è osservabile anche nello spettro Raman, dove per il derivato parzialmente deuterato dell'aspirina compaiono due deboli bande a  $2242$  e a  $2058\text{ cm}^{-1}$ , corrispondenti a quelle u.r. a  $2240$  e a  $2075\text{ cm}^{-1}$ .

Tali bande sono assenti nello spettro Raman del composto non deuterato dove si osservano, invece, due analoghe deboli bande a  $2845$  e a  $2603\text{ cm}^{-1}$ , in rapporto alle precedenti di un fattore H/D di  $\sim 1,3$ .

Il comportamento spettroscopico ora descritto si accorda con l'ipotesi di un legame di idrogeno OHO moderatamente forte nel caso dell'aspirina. L'interpretazione delle bande osservabili negli spettri u.r. e Raman dei composti deuterati e parzialmente deuterati è, con ogni probabilità, più complessa di quella deducibile qualitativamente dalle transizioni permesse nella funzione di potenziale e, in parte, riferibile a fenomeni di accoppiamento di risonanza

di Fermi della vibrazione antisimmetrica  $\nu\text{OHO}$  con quelle armoniche  $2\delta\text{OH}$  e/o  $2\gamma\text{OH}$ .

Passando a considerare il caso del diaspirinato di H e K, è interessante osservare come nello spettro u.r. di questo sale acido (fig. 1) non si notino fra  $3000$  e  $2000\text{ cm}^{-1}$  gli assorbimenti sopra discussi per l'aspirina.

Compare invece, a più basse frequenze, un largo assorbimento, con massimo centrato a  $\sim 900\text{ cm}^{-1}$ . Tale larga banda non è presente nello spettro Raman dello stesso composto (fig. 2), né compare negli spettri u.r. e Raman del sale potassico dell'aspirina.

In accordo con quanto sopra detto, la larga banda con massimo a  $\sim 900\text{ cm}^{-1}$ , che è presente nello spettro u.r. ma non in quello Raman, è attribuibile alla transizione  $s - a$  di un legame di idrogeno forte e simmetrico, caratterizzato da una funzione di potenziale a singolo minimo (fig. 5 c).

Meno indicative, ai fini della caratterizzazione spettroscopica della forza del legame di idrogeno, sono le altre vibrazioni del gruppo OHO.

La vibrazione di deformazione nel piano ( $\delta\text{OH}$ ) è in genere fortemente accoppiata con le vibrazioni di allungamento del gruppo carbossilico, tale da rendere questa vibrazione meno specifica e indicata per una correlazione sulla forza del legame di idrogeno.

Osserviamo, in particolare, come la vibrazione antisimmetrica di allungamento  $\nu\text{CO}_2$ , che nello spettro u.r. e Raman dell'aspirina cade a  $\sim 1690\text{ cm}^{-1}$ , venga a localizzarsi nello spettro u.r. del diaspirinato di H e K a  $1705\text{ cm}^{-1}$  e a  $1645\text{ cm}^{-1}$  in quello Raman.

L'anomalo innalzamento della frequenza u.r. passando dal primo al secondo composto si può tuttavia spiegare, in analogia a nostre precedenti osservazioni [6, 7], considerando che nella simmetria di sito  $C_i$  della molecola di diaspirinato di H e K, la vibrazione  $\delta\text{OH}$  (prevista nell'intorno dei  $1500\text{ cm}^{-1}$  e non sempre osservabile nello spettro del campione a temperatura ambiente) risulta di simmetria  $A_u$ , attiva in u.r. ma non in Raman.

Essa si può pertanto accoppiare, innalzandone la frequenza, con la combinazione, della stessa simmetria, delle vibrazioni antisimmetriche di allungamento  $\nu\text{CO}_2$ , che interagiscono tramite il legame di idrogeno OHO forte e simmetrico.

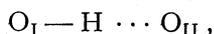
Meno accoppiata è la vibrazione di deformazione fuori del piano ( $\gamma\text{OH}$ ) del legame di idrogeno OHO. In analogia con composti caratterizzati da legami di idrogeno di forza analoga, tale vibrazione dovrebbe generare una banda tra  $1000$  e  $900\text{ cm}^{-1}$  nel caso dell'aspirina, e nell'intorno dei  $1200\text{ cm}^{-1}$  nel caso del diaspirinato di H e K. Data la simmetria della molecola ione, tale vibrazione risulta di rappresentazione irriducibile  $A_u$ , attiva nello spettro u.r. ma non in quello Raman del diaspirinato di H e K.

Infine, per quanto riguarda la vibrazione simmetrica di allungamento  $\nu\text{OHO}$ , essa dovrebbe produrre una banda nell'intorno dei  $200\text{ cm}^{-1}$  nel caso della aspirina e nell'intorno dei  $300\text{ cm}^{-1}$  nel caso del diaspirinato di H e K. Data la simmetria di quest'ultima molecola, la vibrazione è di rappresentazione irriducibile  $A_g$ , attiva solo nello spettro Raman.

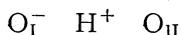
Data la complessità degli spettri e la mancanza in letteratura di un qualsiasi tentativo di assegnazione delle bande degli stessi, non è possibile operare una significativa attribuzione delle altre vibrazioni del legame di idrogeno forte OHO. Tuttavia, dal confronto fra lo spettro u.r. dell'aspirina e quello dell'aspirina parzialmente deuterata, è possibile assegnare alle bande che compaiono a 1308, 930, 807 e a 795  $\text{cm}^{-1}$  nello spettro della prima una componente riferibile al legame OHO.

Volendo ora avanzare l'ipotesi che l'azione inibitrice della biosintesi delle prostaglandine sia attribuibile alla formazione di legami di idrogeno forti da parte dei farmaci di struttura del tipo dell'aspirina con centri dell'enzima sintetasi (che presiede alla reazione di biosintesi), occorre dapprima considerare le condizioni per le quali tali legami si possono formare.

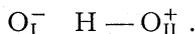
Il legame di idrogeno  $\text{O}_I\text{HO}_{II}$  è esprimibile, nella teoria del legame di valenza, da tre principali strutture: la struttura covalente



quella ionica



e quella di trasferimento di carica



La funzione d'onda del legame di idrogeno  $\text{O}_I\text{HO}_{II}$  risulta allora definibile, in base alle funzioni d'onda parziali delle strutture soprascritte, dalla espressione:

$$\psi_{\text{O}_I\text{HO}_{II}} = a\psi_{\text{cov}} + b\psi_{\text{ion}} + c\psi_{\text{trasf. carica}}$$

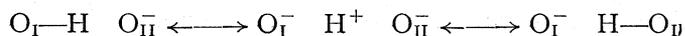
Un legame di idrogeno normale,  $\text{O}_I - \text{H} \cdots \text{O}_{II}$ , è definito da un maggior contributo delle prime due strutture rispetto alla terza, cioè dalla condizione

$$a^2, b^2 > c^2.$$

Un legame di idrogeno forte e simmetrico,  $\text{O}_I - \text{H} - \text{O}_{II}$ , deve invece risultare rappresentato da contributi uguali fra le strutture covalente e di trasferimento di carica, che devono essere isoenergetiche, e da una struttura ionica in cui i due legami  $\text{O}_I\text{H}$  e  $\text{HO}_{II}$  siano uguali.

Questa condizione risulta verificata quando l'atomo  $\text{O}_{II}$  possiede un'extracarica negativa e quando il contributo della struttura ionica - da cui deriva quella di trasferimento di carica - sia tale da permettere un contributo della struttura di trasferimento di carica uguale a quello della struttura covalente.

Verificate queste condizioni, le tre principali strutture del legame di idrogeno OHO forte e simmetrico diventano:



e la corrispondente funzione d'onda del legame è:

$$\psi_{\text{O}_1\text{HO}_{\text{II}}} = a\psi_{\text{cov}} + b\psi_{\text{ion}} + a\psi_{\text{tras. carica}}$$

Da un punto di vista più generale, e più strettamente chimico, si può stabilire che un'interazione di legame di idrogeno forte O—H—B avviene per interazione dell'idrogeno di un gruppo OH sufficientemente acido con un atomo B sufficientemente basico. Al riguardo possono essere utilizzati i valori di  $\text{pK}_a$  dell'acido e dell'acido corrispondente alla base quale misura relativa del potere proton donatore dell'acido e proton accettore della base. Allora, la differenza  $\Delta\text{pK}_a$  è strettamente collegata con la forza del legame di idrogeno OHB.

Una conferma di questa ipotesi è fornita da un recente lavoro di R. Lindemann e G. Zundel [17] i quali hanno esaminato gli spettri u.r. di soluzioni acquose di composti di addizione acido-base caratterizzati da legami di idrogeno O—H—B forti e asimmetrici, cioè caratterizzati da una funzione di potenziale asimmetrica a doppio minimo e bassa barriera.

Gli Autori sopra citati hanno studiato, in particolare, le soluzioni acquose di differenti acidi carbossilici (formico, acetico, cloro e dicloro acetico) con la stessa base costituita dall'imidazolo, e hanno osservato come per valori di  $\text{pK}_a$  (fra l'acido e l'acido coniugato della base)  $< 2$  l'idrogeno è disposto asimmetricamente lungo il legame OHB, risultando più fortemente legato all'ossigeno carbossilico. Per valori di  $\text{pK}_a > 2$ , la situazione è l'opposta, cioè l'idrogeno risulta più fortemente legato all'azoto della base.

Pertanto il valore  $\text{pK}_a \sim 2$  rappresenta il valore ottimale rispetto al quale l'atomo di idrogeno è per il 50 % trasferito dal gruppo acido su quello basico. Questa situazione comporta il massimo rafforzamento dell'interazione di legame di idrogeno.

Sulla base di queste considerazioni si può ora ipotizzare un meccanismo di azione inibitrice della biosintesi delle prostaglandine da parte dei farmaci di struttura del tipo dell'aspirina, meccanismo che si rifà alla interazione di legame di idrogeno forte discussa in questa Nota.

Nel 1971 alcuni Autori [18-20] hanno osservato che alcuni farmaci del tipo dell'aspirina inibiscono la sintesi delle prostaglandine, e hanno attribuito a questa proprietà l'azione anti infiammatoria del farmaco.

A queste prime ricerche sono seguiti, negli anni successivi, numerosissimi studi sull'argomento, che in buona parte sono riassunti in due recenti reviews [21-22].

È stato così verificato che l'aspirina, i derivati dell'acido benzoico, quelli dell'indometacina e dell'acido fenamico, ecc., hanno una forte azione inibitrice sulla biosintesi delle prostaglandine.

Il meccanismo di tale azione è a tutt'oggi sconosciuto.

Poichè i farmaci esaminati contengono tutti la funzione carbossilica, è stata avanzata l'ipotesi che l'azione inibitrice sia riferibile a tale funzione (4).

In una prima ipotesi [22] si è supposto una competizione fra il farmaco e il substrato nell'adsorbimento sul sito catalitico dell'enzima (sintetasi) che presiede alla sintesi delle prostaglandine a partire dall'acido arachidonico. In un successivo perfezionamento dell'ipotesi [22], si è supposto la presenza di due siti di adsorbimento sull'enzima (componente diossigenasi), uno dei quali presiede all'interazione col substrato (e quindi viene denominato sito del substrato), mentre l'altro presiede all'interazione con il farmaco inibitore (e quindi viene chiamato sito dell'inibitore). Secondo questa nuova ipotesi, il farmaco inibitore interagisce con un corrispondente sito dell'enzima che si trova in sufficiente prossimità del sito di legame col substrato, tanto da impedire l'azione catalitica di quest'ultimo in un modo dipendente dal tempo, probabilmente tramite un meccanismo allosterico.

Dopo quanto detto in questa Nota, si può ragionevolmente ritenere che la interazione farmaco-sito inibitore sia del tipo acido-base, caratterizzata da legami di idrogeno OHB del tipo forte. Il gruppo acido è portato dal farmaco, mentre il gruppo basico (non necessariamente unico) fa parte del sito inibitore dell'enzima.

Per un determinato valore di  $pK_a$  dell'acido corrispondente alla base presente nel sito basico dell'enzima, sussiste un valore ben definito di  $pK_a$  dell'acido (farmaco), come si è osservato in questa Nota, per il quale la differenza  $\Delta pK_a$  permette la formazione di un legame di idrogeno OHB particolarmente forte, cioè con trasferimento del protone dal centro acido a quello basico per il 50%. In tal senso i farmaci con funzione carbossilica caratterizzata da un valore di  $pK_a$  corrispondente al valore sopra definito dovrebbero presentare una più forte interazione di legame di idrogeno OHB e quindi dare la maggior azione inibitrice.

Resta così giustificato il fatto che l'azione inibitrice osservata per un determinato farmaco possa essere estesa a farmaci di struttura analoga, essendo molto ristretto l'intervallo di variazione dei valori di  $pK_a$ . In particolare, nel caso dei farmaci riportati in questa Nota, si può osservare come essi contengono la funzione carbossilica legata ad un atomo di carbonio saturo, o ad un atomo di carbonio di un anello aromatico: in ogni caso la variazione del  $pK_a$  è piuttosto limitata.

La perturbazione di legame di idrogeno OHB forte fra il gruppo acido del farmaco e il sito basico dell'enzima (sito dell'inibitore) si può trasmettere al vicino sito del substrato, o tramite un effetto cooperativo che agisce all'interno dell'enzima (e che viene ipotizzato per la prima volta in questa Nota) o per mezzo di un fenomeno di tipo allosterico, esterno all'enzima. Entrambi i casi possono portare ad una disattivazione catalitica del vicino sito del substrato.

(4) Altri composti a carattere non acido, come ad esempio, i derivati del pirazolone, presentano una analoga azione inibitrice, per la quale viene però prospettato un meccanismo diverso [22].

Abbiamo in corso, sull'argomento, altre misure sulle quali verrà riferito quanto prima.

Gli Autori ringraziano vivamente il prof. G. B. Bonino per i consigli e le discussioni riguardo alla presente ricerca, e il prof. G. Semerano, Direttore dell'Istituto Chimico « G. Ciamician », per aver messo a disposizione le apparecchiature necessarie.

#### BIBLIOGRAFIA

- [1] A. BERTOLUZZA e G. B. BONINO (1970) - « Rend. Accad. Naz. Lincei », 48, 427.
- [2] A. BERTOLUZZA, G. B. BONINO e M. A. MORELLI BERTOLUZZA (1970) - « Rend. Accad. Naz. Lincei », 49, 100.
- [3] A. BERTOLUZZA, G. B. BONINO e C. FAGNANO (1971) - « Rend. Accad. Naz. Lincei », 50, 140.
- [4] A. BERTOLUZZA e G. B. BONINO (1974) - « Rend. Accad. Naz. Lincei », 56, 931.
- [5] A. BERTOLUZZA, M. A. BERTOLUZZA MORELLI e C. FAGNANO, (1974) - « Rend. Accad. Naz. Lincei », 56, 1.
- [6] A. BERTOLUZZA, M. A. MORELLI, C. FAGNANO e R. TOSI (1975) - « Rend. Accad. Naz. Lincei », 58, 919.
- [7] A. BERTOLUZZA, C. FAGNANO, M. A. MORELLI e R. TOSI (1976) - « Rend. Accad. Naz. Lincei », 60, 135.
- [8] L. MANOJLOVIC e J. C. SPEACKMAN (1967) - « J. Chem. Soc. », (A) 67, 971.
- [9] O. CERNGROSS e H. KERSASP (1914) - « Annalen », 406, 240.
- [10] P. J. WHEATLEY (1964) - « J. Chem. Soc. », 6036.
- [11] A. SEQUEIRA, A. C. BERKEBILE e W. C. HAMILTON (1968) - « J. Mol. Struct. », 1, 283.
- [12] W. C. HAMILTON e J. A. IBERS (1968) - *Hydrogen Bonding in Solids*. New York: W. A. Benjamin Inc.
- [13] R. BLINC, D. HADŽI e A. NOVAK (1960) - « Z. Elektrochem. », 64, 567.
- [14] D. HADŽI e N. KOBILAROV (1966) - « J. Chem. Soc. » (A), 439.
- [15] D. HADŽI (1965) - « Pure Appl. Chem. », 11, 435.
- [16] M. F. CLAYDON e N. SHEPPARD (1969) - « Chem. Comm. », 43.
- [17] R. LINDEMAN e G. ZUNDEL (1972) - « J. Chem. Soc., Faraday Trans. II », 68, 979.
- [18] J. R. VANE (1971) - « Nature New Biol. », 231, 232.
- [19] J. B. SMITH e A. L. WILLIS (1971) - « Nature New Biol. », 231, 235.
- [20] S. H. FERREIRA, S. MONCADA e J. R. VANE (1971) - « Nature New Biol. », 231, 237.
- [21] S. H. FERREIRA e J. R. VANE (1974) - « Annu. Rev. Pharmacol. », 57.
- [22] RODERICK J. FLOWER (1974) - « Pharmacol. Rev. », 26, 33.