

МЕТОД СИНТЕЗУ ОПТИЧНО ЧИСТИХ ЕНАНТІОМЕРІВ 5-АРИЛ ЗАМІЩЕНИХ 3-МЕТИЛ-7-НІТРО-1,2- ДИГІДРО-3#-1,4-БЕНЗОДІАЗЕПІН-2-ОНІВ

Запропоновано простий та ефективний метод синтезу оптично чистих енантіомерів 5-арилзамішених 3-метил-7-нітро-1,2-дигідро-3#-1,4-бензодіазепін-2-онів. Ацилювання 5-нітро-2-амінобензофенонів гідрохлоридами хлорангідридів L- або D-α-аланіну, з подальшою циклізацією в м'яких умовах, призводить до цільових 3-метил-7-нітро-1,4-бензодіазепін-2-онів. Даний метод синтезу вільний від рацемізації та має потенційне практичне значення для дизайну оптично чистих енантіомерів різних 3-алкіл похідних 1,4-бензодіазепін-2-онів.

Ключові слова: 3-метил-1,2-дигідро-3#-1,4-бензодіазепін-2-они, енантіомери, α-карбоксиангідриди, хлоридат хлорангідриду α-аланіну.

Загальновідомо, що 1,4-бензодіазепіни та їх похідні мають широкий спектр біологічної активності. Так, серед похідних 5-феніл-1,4-бензодіазепінів знайдені інгібітори ВЕТ-сімейства протеїнів, що містять бромодомен та беруть участь у фізіологічних та патологічних процесах в організмі [1]; антагоністи κ-опіоїдних рецепторів людини, що демонструють афінитет в наномольному діапазоні [2]; помірно активний інгібітор протеази вірусу ВІЛ-1 [3]; сполуки, що проявляють цитотоксичність (протиракову активність) [4]; похідні з протитрипаносомною активністю [5].

Однак, більшою мірою, увага вчених фокусується на дослідженнях та синтезі нових представників 1,4-бензодіазепінів, як лігандів ГАМК_A-рецепторів, які проявляють анксиолітичну та протисудомну активність, з метою створення нових більш безпечних препаратів. На даний час відомими представниками 7-нітро-заміщених 1,2-дигідро-3#-1,4-бензодіазепінів, що застосовуються в медицині в якості транквілізаторів та анксиолітиків, є нітразепам та клоназепам (Рис. 1). Останній демонструє чітку протисудомну активність. Також відомим є синтез бензодіазепіну - ме-клоназепаму (Рис. 1) наприкінці 70-х років минулого століття, який спершу був синтезований як препарат проти шистосомозу [6], а у подальших дослідженнях виявив анксиолітичну та седативну активність [7].

Найпоширеніші підходи щодо синтезу оптично активних 3-алкіл заміщених 1,2-дигідро-3#-1,4-бензодіазепінів включають двоетапні процеси. Конденсація N-Вос або N-Cbz захищених амінокислот з орто-кетоанілінами та виділення амідних продуктів на першій стадії, потім зняття захисту та циклізація з утворенням цільових продуктів наприкінці процесу. Цей трудомісткий метод має суттєвий не-

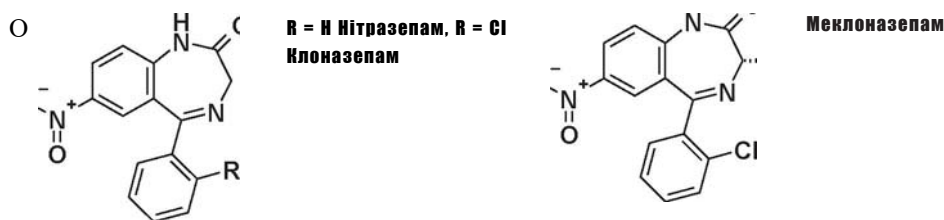


Рис. 1. Структури 7-нітро-заміщених 1,2-дигідро-3H-1,4-бенздіазепінів Fig.

1. Structures of 7-nitro-substituted 1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepines

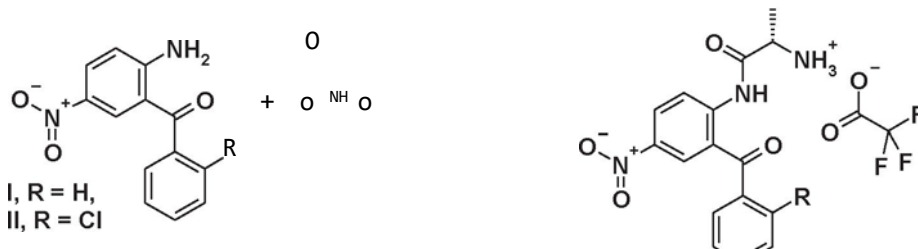
долік, який полягає у проблемі, що пов'язана з потенціалом рацемізації стереогенного центру амінокислотного «білдінг-блоку». Ступінь рацемізації сильно залежить від швидкості реакції утворення амідів, рацемізація особливо проблематична з низько нуклеофільними амінами, такими як деякі орто-кетоаніліни.

Відносно нещодавно був опублікований [8] ефективний метод одержання енантіостих 3-алкіл заміщених 1,2-дигідро-3H-1,4-бенздіазепін-2-онів з використанням β -карбоксіангідридів у якості амінокислотних «білдінг-блоків». Авторам вдалось синтезувати цільові 1,4-бенздіазепін-2-они з високими виходами та отримати сполуки без рацемізації.

Метою даної роботи є розробка простого та ефективного методу синтезу оптично чистих енантіомерів 5-арилзаміщених 3-метил-7-нітро-1,4-бензодіазепін-2-онів з використанням простих реагентів.

З початку ми досліджували реакційну здатність β -карбоксіангідриду L-а-аланіну щодо ацилювання 5-нітрозаміщених 2-амінобензофенонів (I, II). На відміну від найбільш реакційно здатних орто-кетоанілінів (5-хлор- або 5-бромзаміщених), 5-нітроамінобензофенони не вступають в реакцію з β -карбоксіангідридом L-аланіну навіть при тривалому кип'ятінні у ксилолі більше 24 годин (схема 1).

Схема 1



Scheme 1

На другому етапі нашого дослідження було проведено конденсацію гідрохлориду хлорангідриду L-а-аланіну з похідними 5-нітро-2-амінобензофенонів (I, II) (схема 2). В ході реакції можна було спостерігати повне розчинення вихідного

хлорангідриду та знебарвлення розчину, що свідчить про повну конверсію вихідних сполук з утворенням ацильованих напівпродуктів (III, IV). У разі потреби позбутися слідів вихідного 5-нітро-2-амінобензофенону можна шляхом екстракції напівпродуктів 15%-вим водним розчином лимонної кислоти. Проста послідовність: нейтралізація водного екстракту, екстракція ациклічного напівпродукту хлороформом та нагрівання отриманого екстракту з додаванням невеликої кількості оцтової кислоти призводила до утворення цільових 3-метил-1,2-дигідро-3#-1,4- бензодіазепінонів (V, VI). Так само було отримано відповідні D-енантіомери (VII, VIII) (схема 2).

Важливо зазначити, що хлоргідрати хлорангідридів амінокислот хімічно нестабільні сполуки, які надзвичайно чутливі до дії вологи. У нашому випадку ми проводили синтез хлорангідридів D- та L-аланіну в середовищі абсолютного хлороформу,

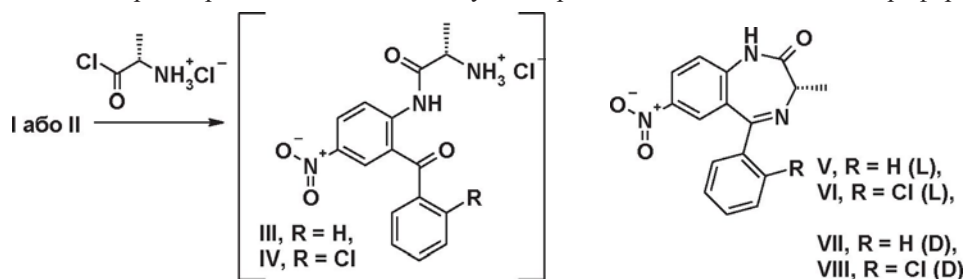


Схема 2

Scheme 2

використовуючи PCl_5 та виділяючи продукти шляхом фільтрування осадів, при цьому не застосовуючи до них додаткового очищення.

Для аналізу оптичної чистоти отриманих 1,4-бензодіазепінів (V—VIII) було застосовано ВЕРХ із використанням хіральної стаціонарної фази CiraDex®. Показано, що цільові 7-нітрозаміщені 3-метил-1,2-дигідро-3#-1,4-бенздіазепін-2-они було одержано у вигляді індивідуальних енантіомерів високого ступеню оптичної чистоти (більш 99%).

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Спектри ^1H та ^{13}C ЯМР зареєстровано на приборі Bruker Avance DRX у розчинах $\text{DMSO-}d_6$ (99.9%), внутрішній стандарт TMS, при температурі 25 °C. Мас- спектри FAB отримано на приборі VG 7070 (Великобританія), в якості матриці використовували мета-нітробензиловий спирт, іонізацію здійснювали пучком атомів Хе з енергією 8 кВ. ТШХ проводили на пластинах ALUGRAM® XtraSIL G/UV₂₅₄ (MACHEREY-NAGEL) у системі розчинників бензен - ацетон - оцтова кислота (100:50:1). Речовини виявляли на хроматограмах за допомогою УФ світла.

Оптичну чистоту сполук (V—VIII) визначали методом ВЕРХ, використовуючи хроматографічну систему SHIMADZU (контролер системи CBM-20A; вакуумний дегазатор DGU-20A5; насос високого тиску LC-20AD UFLC, оснащений 4-канальним градієнтним блоком на низькому тиску; термостат колонок CTO-20A; діодноматрічний детектор SPD-M20A, температура у термостаті: 25 °С. Діапазон сканування UV діапазону: 190-400 нм.

Синтез індивідуальних енантіомерів гідрохлоридів хлорангідридів α -аланінів проводили згідно процедури, що описана в роботі [9].

Загальна методика синтезу 7-нітрозамщених 3-метил-1,2-дигідро-3Н-1,4-бензодіазепін-2-онів

До розчину (1.4 ммоль) 2-амінобензофенону в 10 мл безводного хлороформу додавали 0.4 г (2.8 ммоль) гідрохлориду хлорангідриду α -аланіну і перемішували при кімнатній температурі протягом 1-2 год. Контроль реакції здійснювали по ТШХ. Після зникнення вихідного бензофенону, хлороформний розчин екстрагували 15%-ним водним розчином лимонної кислоти (20 мл). Розчин кислоти, що містить ацильований напівпродукт, нейтралізували кристалічним гідрокарбонатом натрію і екстрагували у свіжу порцію хлороформу (2-10 мл). Об'єднані органічні фази сушили безводним сульфатом натрію і надлишок розчинника упарювали, залишаючи 10 мл розчину. До отриманого розчину додавали 0.3 мл оцтової кислоти і кип'ятили із зворотним холодильником протягом 3-4 годин, контролюючи процес внутрішньомолекулярного замикання бензодіазепінового гетероциклу по ТШХ. Після закінчення реакції розчинник упарювали, а олієподібний залишок продукту очищали за допомогою флеш-хроматографії, рухома фаза 2% MeOH/CH₂Cl₂.

L-3-метил- 7-нітро-5-феніл-1,2-дигідро-3Н-1,4-бензодіазепін-2-он (V)

Вихід: 55%. Дрібнокристалічний осад бежевого кольору. Т. пл. 144-147 °С. R_f = 0.64. Мас-спектр (FAB) m/z : 296 [M+H]⁺. Оптична чистота 99.5%. Спектр ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d⁶, 5, м.д.: 1.5 (д, J=6.2 Гц, 3 Н), 3.7 (кв, J=6.2 Гц, 1 Н), 7.4 (м, 3 Н), 7.5 (м, 3 Н), 8.0 (д, J=2.5 Гц, 1 Н), 8.4 (дд, J=9.0, 2.6 Гц, 1 Н), 11.1 (с, 1 Н); Спектр ¹³C ЯМР (126 МГц, DMSO-d⁶, 5, м.д.: 17.1, 58.9, 122.2, 126.3, 126.3, 126.3, 128.3, 128.5, 129.4, 130.6, 138.1, 141.4, 144.7, 166.3, 171.0.

D-3-метил- 7-нітро-5-феніл-1,2-дигідро-3Н-1,4-бензодіазепін-2-он (VII)

Вихід: 44%. Дрібнокристалічний осад бежевого кольору. Т. пл. 144-154 °С. R_f = 0.61. Мас-спектр (FAB) m/z : 296 [M+H]⁺. Оптична чистота 99.3%. Спектри ¹H та ¹³C ЯМР аналогічні спектрам сполуки V.

L-3-метил-7-нітро-5-(2-хлорфеніл)-1,2-дигідро-3Н-1,4-бензодіазепін-2-он (VI)

Вихід: 61%. Білий дрібнокристалічний осад. Т. пл. 126-136 °С. R_f = 0.70. Мас-спектр (FAB) m/z : 330 [M+H]⁺, 332 [M+H]⁺. Оптична чистота 99.5%. Спектр ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d⁶, 5, м.д.: 1.5 (д, J=5.3 Гц, 3 Н), 3.8 (д, J=6.2 Гц, 1 Н), 7.4 (д, J=8.9 Гц, 1 Н), 7.5 (м, 3 Н), 7.6 (д, J=4.9 Гц, 1 Н), 7.7 (с, 1 Н), 8.4 (д, J=8.9 Гц, 1 Н), 11.3 (с, 1 Н). Спектр ¹³C ЯМР (126 МГц, DMSO-d⁶, 5, м.д.: 16.9, 59.0, 122.1, 124.6, 126.4, 127.1, 127.5, 129.8, 131.5, 131.6, 131.9, 137.8, 141.6, 144.0, 165.9, 170.4.

D-3-метил-7-нітро-5-(2-хлорфеніл)-1,2-дигідро-3Н-1,4-бензодіазепін-2-он (VIII)

Вихід: 49%. Білий дрібнокристалічний осад. Т пл. 129-140 °С. $R_f = 0.63$. Мас- спектр (FAB) m/z : 330 $[M+H]^+$, 332 $[M+H]^+$. Оптична чистота 99.2%. Спектри 1H та ^{13}C ЯМР аналогічні спектрам сполуки VI.

Статтю присвячено пам'яті видатного українського вченого в галузі медичної хімії, доктора хімічних наук, професора, академіка НАН України Сергія Андрійовича Андронаті

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Mirguet O., Gosmini R., Toum J., Clement C.A., Barnathan M., Brusq J-M., Mordaunt J.E., Grimes R.M., Crowe M., Pineau O., Ajakane M., Daugan A., Jeffrey P., Cutler L., Haynes A. C., Smithers N.N., Chung C-W., Bamborough P., Uings I.J., Lewis A., Witherington J., Parr N., Prinjha R.K., Nicodeme E. *Discovery of epigenetic regulator I-BET762: lead optimization to afford a clinical candidate inhibitor of the BET bromodomains* // *J. Med. Chem.*- 2013.- Vol. 56, N19.- P. 7501-7515. <http://dx.doi.org/10.1021/jm401088k>
2. Anzini M., Canullo L., Braile C., Cappelli A., Gallelli A., Vomero S., Menziani M. C., DeBenedetti P.G., Rizzo M., Collina S., Azzolina O., Sbacchi M., Ghelardini C., Galeotti N. *Synthesis, biological evaluation, and receptor docking simulation of 2-[(acylamino)ethyl]-1,4-benzodiazepines as k-opioid receptor agonists endowed with antinociceptive and anti-amnesic activity* // *J. Med. Chem.*- 2003.- Vol. 46, N18.- P 3853-3864. <http://dx.doi.org/10.1021/jm0307640>
3. Chauhan J., Chen S-E., Fenstermacher K.J., Naser-Tavakolian A., Reingewertz T., Salmo R., Lee C., Williams E., Raje M., Sundberg E., DeStefano J.J., Freire E., Fletcher S. *Synthetic, structural mimetics of the p-hairpin flap of HIV-1 protease inhibit enzyme function* // *Bioorg. Med. Chem.* - 2015.- Vol. 23, N21.- P 7095-7109. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2015.09.002>
4. Cortez-Maya S., Hernandez-Ortega S., Ramhez-Apan T., Lijanova I. V., Martmez-Garda M. *Synthesis of 5-aryl-1,4-benzodiazepine derivatives attached in resorcinaren-PAMAM dendrimers and their anti-cancer activity* // *Bioorg. Med. Chem.*- 2012.- Vol. 20, N1.- P 415-421. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2011.10.070>
5. Spencer J., Rathnam R. P., Harvey A.L., Clements C.J., Clark R.L., Barrett M.P., Wong P.E., Male L., Coles S. J., Mackay S.P. *Synthesis and biological evaluation of 1,4-benzodiazepin-2-ones with antitrypanosomal activity* // *Bioorg. Med. Chem.*- 2011.- Vol. 19, N5.- P 1802-1815. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2011.01.010>
6. Ghelani S.M., Naliapara Y. T. *Design, synthesis and characterization of 1,3-disubstituted-1,4-benzodiazepine derivatives* // *J. Heterocycl. Chem.*- 2016.- Vol. 53, N6.- P. 1795-1800. <http://dx.doi.org/10.1002/jhet.2486>
7. Ligon E.S., Nawyn J., Jones L. V., McKay Alfred B., Reinhardt Jr. D.V., France S. *Synthesis of flubromazepam positional isomers for forensic analysis* // *J. Org. Chem.*- 2019.- Vol. 84, N16.- P 10280-10291. <http://dx.doi.org/10.1021/acs.joc.9b01433>
8. Fier P.S., Whittaker A. M. *An atom-economical method to prepare enantiopure benzodiazepines with N-carboxyanhydrides* // *Org. Lett.*- 2017.- Vol. 19, N6.- P 1454-1457. <http://dx.doi.org/10.1021/acs.orglett.7b00417>
9. Levine S. *Synthesis of glycyl and alanyl chlorides* // *J. Am. Chem. Soc.*- 1954.- Vol. 76, N5.- P 1382. <http://dx.doi.org/10.1021/ja01634a068>