

УДК: 547.80:541.63:541.69

О. Ю. Корнилов¹, А. А. Крисько¹, О. Л. Крисько¹, С. Е. Самбурський²¹Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України

65080, Одеса, Люстдорфська дорога, 86

E-mail: reptides@physchem.od.ua

²Кафедра медичної хімії та біології факультету стоматології і фармації Міжнародного гуманітарного університету

65009 Одеса, Фонтанська дорога, 23А

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

Запропоновано простий та ефективний метод синтезу оптично чистих енантіомерів 5-арилзаміщених 3-метил-7-нітро-1,2-дигідро-3*H*-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*H*-1,4-бензодіазепін-2-они, енантіомери, *N*-карбоксіангідриди, хлоргідрат 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 наномолярному 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*H*-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*H*-1,4-бензодіазепінів включають двоетапні процеси. Конденсація *N*-Вос або *N*-Сbz захищених амінокислот з *орто*-кетоналінами та виділення амідних продуктів на першій стадії, потім зняття захисту та циклізація з утворенням цільових продуктів наприкінці процесу. Цей трудомісткий метод має суттєвий не-

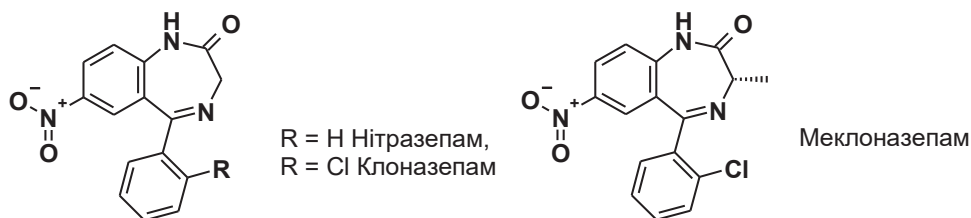


Рис. 1. Структури 7-нітро-заміщених 1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепінів

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 «блдинг-блоку». Ступінь рацемізації сильно залежить від швидкості реакції утворення аміду, рацемізація особливо проблематична з низько нуклеофільними амінами, такими як деякі *орто*-кетоаніліни.

Відносно нещодавно був опублікований [8] ефективний метод одержання енантіочистих 3-алкіл заміщених 1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-онів з використанням *N*-карбоксиангідридів у якості амінокислотних «блдинг-блоків». Авторам вдалось синтезувати цільові 1,4-бензодіазепін-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 *N*-карбоксиангідриду L-α-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 *N*-карбоксиангідридом L-аланіну навіть при тривалому кип'ятінні у ксилолі більше 24 годин (схема 1).

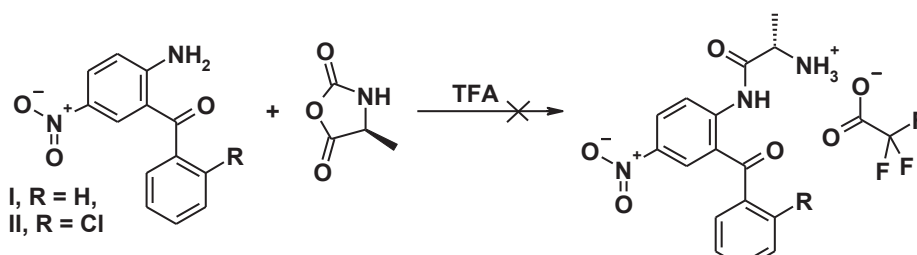


Схема 1

Scheme 1

На другому етапі нашого дослідження було проведено конденсацію гідрохлориду хлорангідриду L-α-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*H*-1,4-бензодіазепінонів (V, VI). Так само було отримано відповідні D-енантіомери (VII, VIII) (схема 2).

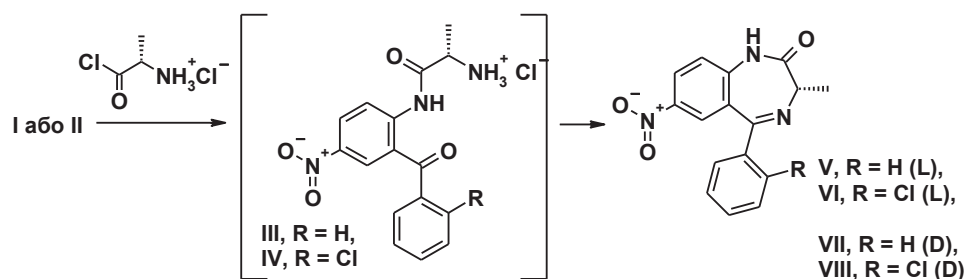


Схема 2

Scheme 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, 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*H*-1,4-бензодіазепін-2-они було одержано у вигляді індивідуальних енантіомерів високого ступеню оптичної чистоти (більш 99%).

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Сpektри ^1H та ^{13}C ЯМР зареєстровано на приборі Bruker Avance DRX у розчинах DMCO-d_6 (99.9%), внутрішній стандарт TMS, при температурі 25 °C. Мас-спектри FAB отримано на приборі VG 7070 (Великобританія), в якості матриці використовували *meta*-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; діодноматричний 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-нітрозаміщених 3-метил-1,2-дигідро-3H-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-3H-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, ДМСО-d₆), δ , м.д.: 1.5 (д, J=6.2 Гц, 3 H), 3.7 (кв, J=6.2 Гц, 1 H), 7.4 (м, 3 H), 7.5 (м, 3 H), 8.0 (д, J=2.5 Гц, 1 H), 8.4 (дд, J=9.0, 2.6 Гц, 1 H), 11.1 (с, 1 H); Спектр ¹³C ЯМР (126 МГц, ДМСО-d₆), δ , 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-3H-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-3H-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, ДМСО-d₆), δ , м.д.: 1.5 (д, J=5.3 Гц, 3 H), 3.8 (д, J=6.2 Гц, 1 H), 7.4 (д, J=8.9 Гц, 1 H), 7.5 (м, 3 H), 7.6 (д, J=4.9 Гц, 1 H), 7.7 (с, 1 H), 8.4 (д, J=8.9 Гц, 1 H), 11.3 (с, 1 H). Спектр ¹³C ЯМР (126 МГц, ДМСО-d₆), δ , 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-3H-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., Clément 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., Nicodème 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 κ -opioid receptor agonists endowed with antinociceptive and antiemetic 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 β -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., Hernández-Ortega S., Ramírez-Apan T., Lijanova I.V., Martínez-García 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 Allred 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>

Стаття надійшла до редакції 06.08.2022

A. Yu. Korniylov¹, A. A. Krysko¹, O. L. Krysko¹, S. E. Sambursky²

¹A. V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine, Lustdorfskaya doroga 86, Odesa, 65080, Ukraine;
e-mail: peptides@physchem.od.ua

²Department of Medical Chemistry and Biology, Faculty of Dentistry and Pharmacy, International Humanitarian University, Fontanskaya Road 23A, Odessa, 65009, Ukraine

SYNTHESIS METHOD OF OPTICALLY PURE ENANTIOMERS OF 5-ARYL SUBSTITUTED 3-METHYL-7-NITRO-1,2-DIHYDRO-3H-1,4-BENZODIAZEPIN-2-ONES

The aim of this work is to develop a simple, fast and efficient method for the synthesis of optically pure enantiomers of some 5-aryl-substituted 3-methyl-7-nitro-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones using simple reagents. In the course of the study, we found that the interaction of 2-amino-5-nitrobenzophenone or 2-amino-2'-chloro-5-nitrobenzophenone with optically active L- or D- α -alanine *N*-carboxyanhydrides in the presence of two equivalents of trifluoroacetic acid does not lead to the formation of the corresponding reaction intermediates (2-amino-*N*-(2-benzoylphenyl)propanamide), even when refluxed for 24 hours in xylene. Acylation of 5-nitro-2-aminobenzophenones with hydrochlorides of L- or D- α -alanine acid chlorides, followed by cyclization under mild conditions, leads to target 3-methyl-7-nitro-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones characterized by high optical purity. It is noteworthy that these reactions allow the coupling of acid chlorides derived from stereospecific α -alanines with weakly reactive 5-nitro derivatives of 2-aminobenzophenone without racemization. It is important to note that the acid chloride hydrochlorides of optically active α -alanines, which are chemically unstable and extremely sensitive to moisture, are used as building blocks in the work. In this case, acid chlorides of individual antipodes of L- or D- α -alanine were synthesized in absolute chloroform using phosphorus pentachloride and the products were isolated by simple filtration of precipitates, without applying additional purification to them. The structure of the title compound was confirmed by spectroscopy ¹H and ¹³C NMR, and FAB mass spectrometry methods, purity was controlled by HPLC. To analyze the optical purity of the 1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepines synthesized in this work, HPLC was applied using stationary chiral phase Ciradex®. This simple preparation method is of potential practical importance for the design and synthesis of optically pure enantiomers of various 3-alkyl derivatives of 1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones with a wide spectrum of biological activity.

Keywords: 3-methyl-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones, enantiomers, *N*-carboxyanhydrides, α -alanine chloride hydrochloride.

REFERENCES

1. Mirguet O., Gosmini R., Toum J., Clément 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., Nicodème 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, no 19, pp. 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-[(acetylamino)ethyl]-1,4-benzodiazepines as κ -opioid receptor agonists endowed with antinociceptive and anti-amnesic activity*. J. Med. Chem., 2003, vol. 46, no 18, pp. 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 β -hairpin flap of HIV-1 protease inhibit enzyme function*. *Bioorg. Med. Chem.*, 2015, vol. 23, no 21, pp. 7095–7109. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2015.09.002>
4. Cortez-Maya S., Hernández-Ortega S., Ramírez-Apan T., Lijanova I.V., Martínez-García 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, no 1, pp. 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, no 5, pp. 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, no 6, pp. 1795–1800. <http://dx.doi.org/10.1002/jhet.2486>
7. Ligon E.S., Nawyn J., Jones L. V., McKay Allred B., Reinhardt Jr. D.V., France S. *Synthesis of flubromazepam positional isomers for forensic analysis*. *J. Org. Chem.*, 2019, vol. 84, no 16, pp. 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, no 6, pp. 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, no 5, p.1382. <http://dx.doi.org/10.1021/ja01634a068>