

РАЗРАБОТКА МЕТОДА СИНТЕЗА 1-ГИДРОКСИМИДАЗОЛАМА

А.Э. Паромов, И.А. Щурова, С.В. Сысолятин, А.И. Рогова, С.Е. Грибкова

Изучен процесс получения 1-гидроксимидазолама на основе мидазолама в три этапа: окисление метахлорпербензойной кислотой, ацилирование и гидролиз. Предложен новый способ окисления 1-ацетоксиметил-8-хлор-3а,4-дигидро-6-(2-фторфенил)-3Н-[1,3]имидазо[1,5а][1,4]бензодиазепина перманганатом калия на оксиде алюминия с образованием 1-ацетоксимидазолама – предшественника 1-гидроксимидазолама.

Ключевые слова: мидазолам, 1-гидроксимидазолам, 4-гидроксимидазолам, бензодиазепины, метаболизм, метахлорпербензойная кислота.

Мидазолам (8-хлор-6-(2-фторфенил)-1-метил-4Н-имидазо[1,5-а][1,4]бензодиазепин) (1) относят к классу бензодиазепиновых седативных средств. В последние годы препараты на его основе становятся все популярнее, поскольку он безопаснее, по сравнению с другими бензодиазепинами и проявляет более высокую эффективность. На данный момент средство наиболее широко используется в анестезиологии, а также при купировании приступов эпилепсии. Кроме того, данное соединение применяется в США как компонент смертельной инъекции для лиц, приговоренных к смертной казни. Вещество чаще всего назначают для премедикации перед оперативными вмешательствами, так как оно обладает быстрым временем восстановления, высокой эффективностью и низкой токсичностью. Удобно, что лекарство часто вызывает антероградную амнезию, что блокирует неприятные воспоминания пациентов о подготовке к операции [1].

Основным метаболитом мидазолама является 1-гидроксимидазолам (преобразуется 75 % введенного в организм мидазолама) (2). Это соединение обладает фармакологической активностью, однако, биологическое действие проявляется лишь на животных, и оно значительно менее выражено, чем у исходного вещества. Клинического значения не имеет.

Два других метаболита: 4-гидрокси-мидазолам (3) и α,4-дигидроксимидазолам (4) выделяются с мочой в незначительном количестве (3 % и 1 % от дозы мидазолама, соответственно) в конъюгированной форме. Не измененный мидазолам в моче не определяется. Период полувыведения мидазолама составляет 1,5–3 часа, а 1-гидроксимидазолама 1 час [2]. В связи с необходимостью определения мидазолама в моче по его метаболитам важной задачей является разработка методов их синтеза.

На рисунке 1 представлена упрощенная схема метаболизма мидазолама.

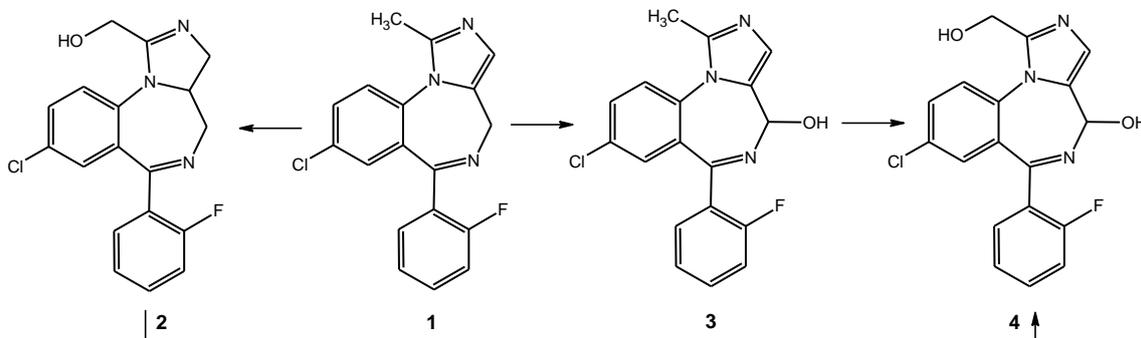


Рисунок 1 – Превращение мидазолама в организме

Данная работа посвящена исследованию возможных путей получения 1-гидрокси-мидазолама.

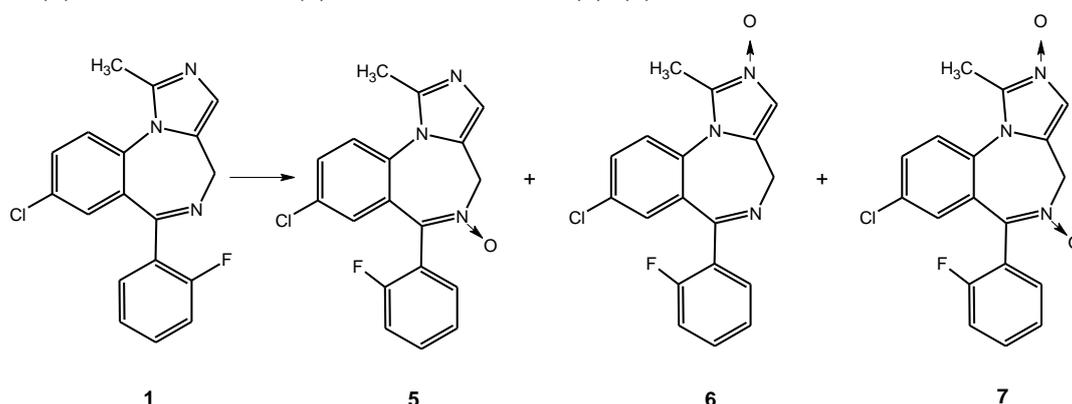
Согласно литературным данным, 1-гидрокси-мидазолам может быть синтезирован как побочный продукт при получении 4-гидрокси-мидазолама [3]. На первом этапе

мидазолам окисляют мета-хлорпербензойной кислотой в хлористом метиле при комнатной температуре. Авторами показано, что при использовании двойного избытка окислителя в течение 1,5 часа образуется 5-оксид (5), в то время, как тройной избыток окислителя и увеличение продолжительности процесса до

РАЗРАБОТКА МЕТОДА СИНТЕЗА 1-ГИДРОКСИМИДАЗОЛАМА

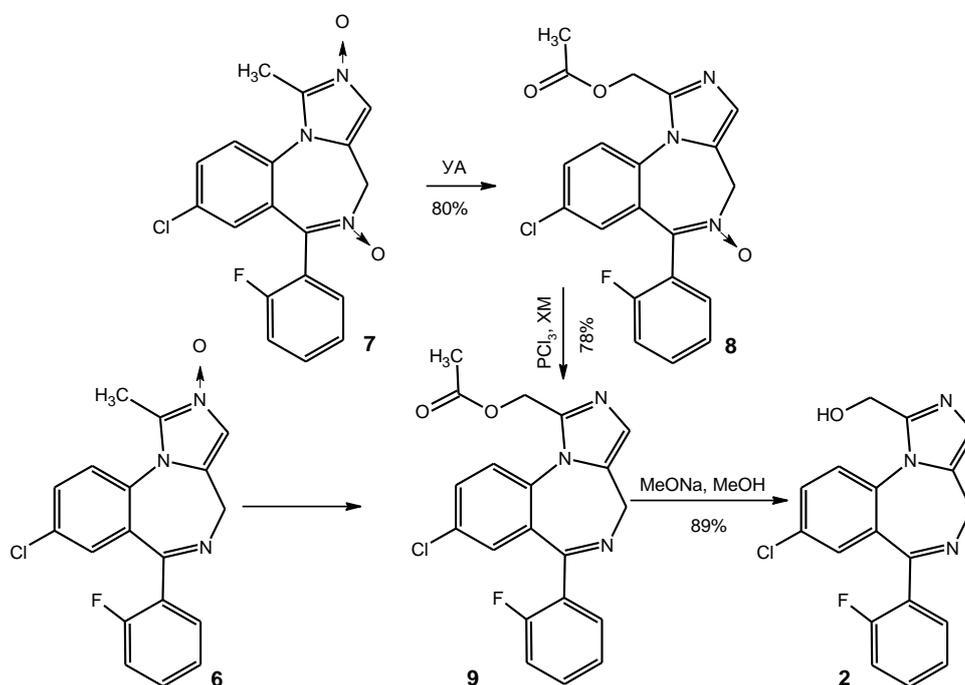
18 часов приводит к образованию также 2-оксида (6) и 2,5-диоксида (7). Выходы со-

ставляют 30 %, 2,5 % и 11 % для оксидов (5), (6), (7) соответственно.



Оксиды (6) и (7) могут быть выделены и проацелированы в среде уксусного ангидрида. В случае диоксида в результате ацилирования образуется 1-ацетоксиметил-5-оксид (8), который восстанавливают в 1-ацетоксимидазолам.

Обработка последнего метилатом натрия в метаноле приводит к получению 1-гидроксимидазолама [3].



При реализации данного способа нами изучалось влияние соотношения метахлорпербензойной кислоты : мидазолам на выход оксидов (5) и (6). Показано, что избыток окислителя, равный 7, приводит к образованию 5-оксида и 2-оксида в соотношении 3 : 2 с суммарным выходом около 30 %. Смесь оксидов без разделения ацилировали уксусным ангидридом при температуре 120 °С. Анализ методом высокоэффективной жидкостной

хроматографии показывает, что первым ацилируется 2-оксид (в течение первых 30 минут), полное ацилирование 5-оксида протекает за 5,5 часов. На рисунке 2 приведена хроматограмма реакционной массы.

Выход 1-ацетоксимидазолама составил порядка 70 %. Снятие ацильной защиты проводили метилатом натрия. Суммарный выход 1-гидроксимидазолама в пересчете на мидазолам составил около 7 %.

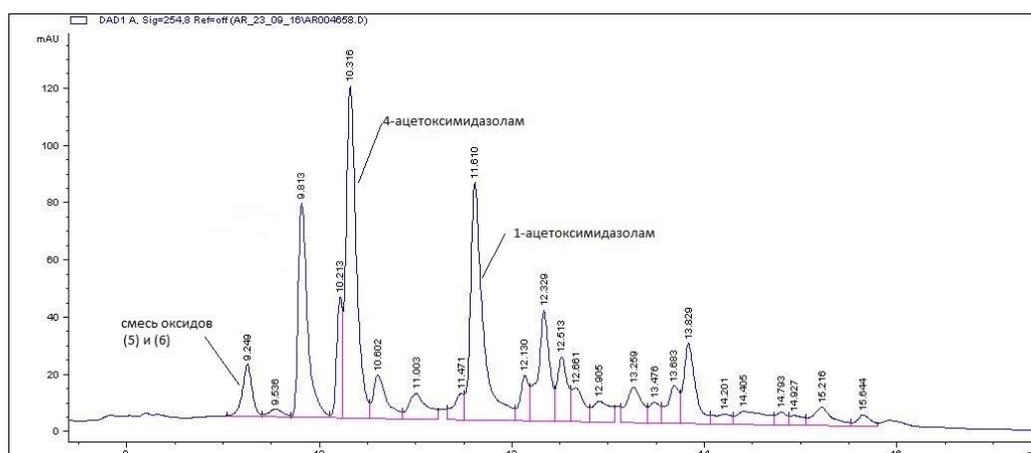
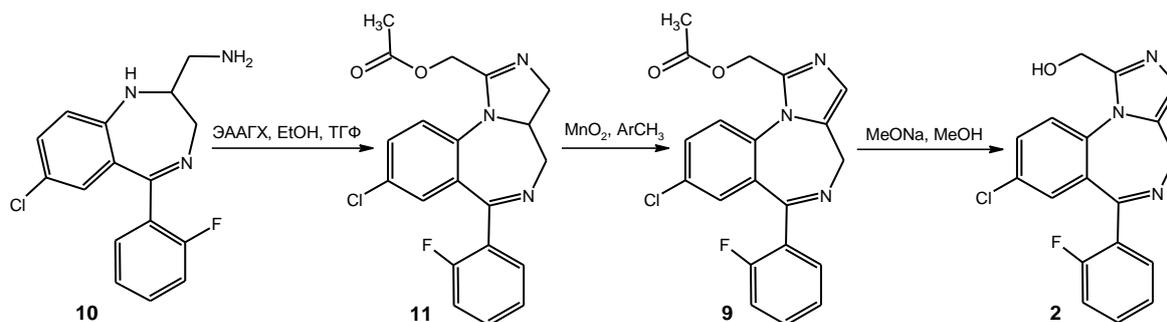


Рисунок 2 – Хроматограмма реакционной массы ацилирования оксидов (5) и (6)

В более поздней публикации [4] представлен способ получения 1-гидроксимидазолама, основанный на многостадийном преобразовании 2-аминометил-7-хлор-2,3-дигидро-5-(2-фторфенил)-1Н-1,4-бензодиазепина (10).

Процесс включает несколько стадий. Сначала проводят обработку амина (10) этил-2-ацетоксиацетамидат гидрохлоридом (2-(ацетокси)-1-этоксиэтанаминия гидрохлоридом) (ЭААГХ) в смеси этанола с тетрагидрофураном (ТГФ) при пониженной температуре.

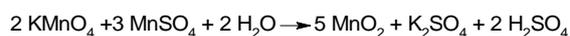
В результате получают 1-ацетоксиметил-8-хлор-3а,4-дигидро-6-(2-фторфенил)-3Н-[1,3]имидазо[1,5а][1,4]бензодиазепин (11) с выходом 78 %. Далее проводят окисление последнего активным оксидом марганца (IV) до 1-ацетоксимидазолама (9) (выход 50–60 %). Завершающей стадией синтеза 1-гидроксимидазолама является снятие ацильной группы (9) метилатом натрия в метаноле (выход 80–89 %) [4].



Несмотря на многостадийность процесса получения амина (10) и 1-гидроксимидазолама на его основе, большая часть стадий реализуется с высокими выходами. В то время, как наиболее проблематичной является реакция окисления (11) оксидом марганца (IV).

В процессе исследования нами показано, что принципиальное значение имеет нейтральность окислителя и степень его дезактивации. В зависимости от способа получения, оксид марганца может содержать примеси гидроксида калия или серной кислоты, которые способствуют снятию ацильной группы и образованию большого количества побочных продуктов окисления гидроксильной группы.

Нами использовался оксид марганца, полученный по схеме [5]:



Осадок оксида марганца тщательно промывали до отрицательной реакции на сульфат-ион и высушивали при температуре 115 °С в течение 17 часов.

Определено, что полученная окись марганца слишком активна и не может использоваться для окисления без предварительной дезактивации. Установлено, что на данном окислителе максимальный выход (9) достигается при применении оксида марганца, дезактивированного кипячением в толуоле в течение 6 часов с насадкой Дина-Старка. Меньшая продолжительность дезактивации приводит к образованию большого количества побочных продуктов окисления (рисунок 3).

РАЗРАБОТКА МЕТОДА СИНТЕЗА 1-ГИДРОКСИМИДАЗОЛАМА

В качестве реакционной среды для окисления (**11**) нами рассматривались бензол, толуол и ацетонитрил. В случае с бензолом наблюдалось слишком медленное протекание реакции (низкая, по сравнению с толуолом температура кипения) и разложение исходного продукта циклизации. Ацетонитрил также не дал желаемых результатов. Поэтому, в дальнейшем использовался толуол. Процесс окисления проводили при кипении растворителя.

Масштабирование процесса показало, что к падению выхода также приводит повышение содержания воды в реакционной массе на протяжении процесса. Удаление воды производили постоянным отгоном азеотропа толуол : вода. В этих условиях реакция заканчивалась за 3 часа. Ввиду низкой стабильности (**11**), выход (**9**) на практике колеблется в пределах 25–40 %. Необходимо также отметить, что обработанный толуолом оксид марганца в течение 2–3 суток теряет свою активность, поэтому желательнее использовать его сразу после получения.

В связи с трудоемкостью процедуры получения оксида марганца, а также необходимостью дезактивации и нестабильность свойств при хранении, нами были предприня-

ты попытки поиска альтернативных окислителей. Были опробованы персульфат калия, гидроксид оксида марганца $MnO(OH)_2$, а также смесь перманганата калия и оксида алюминия $KMnO_4/Al_2O_3$. Положительные результаты наблюдались в последнем случае. Подготовку окислителя проводили тщательным растиранием компонентов в ступке. Были опробованы следующие массовые соотношения $KMnO_4/Al_2O_3$: 1 : 1,3, 1 : 3, 1 : 6. В качестве растворителей применяли ацетонитрил, диоксан, бензол, смесь ацетонитрила с этанолом при температурах от минус 20 °С до +25 °С. Контроль за протеканием процесса осуществляли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Лучшие результаты получены при проведении реакции в ацетонитриле при комнатной температуре и медленной дозировке окислителя в соотношении $KMnO_4/Al_2O_3$, равном 1 : 6. При использовании меньшего соотношения оксида алюминия наблюдалось образование значительного количества продуктов деструкции (**11**). Выход (**9**) колеблется около 25 %. На рисунке 4 представлена хроматограмма реакционной массы при окислении перманганатом калия на оксиде алюминия.

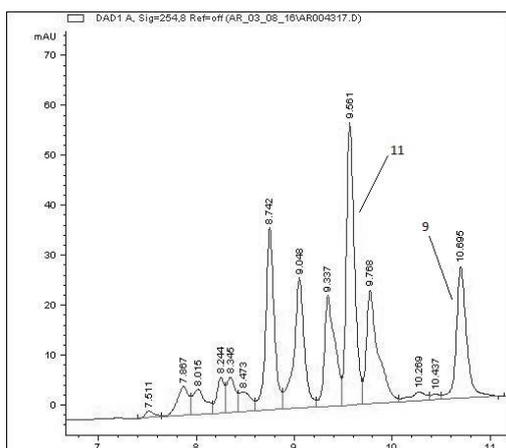


Рисунок 3 – Хроматограмма окисления (**11**) активной окисью марганца

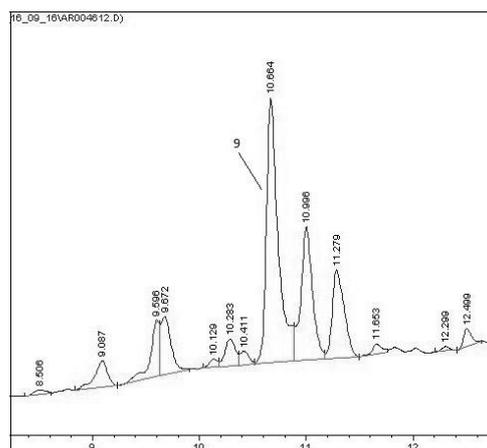


Рисунок 4 – Хроматограмма окисления (**11**) $KMnO_4/Al_2O_3$

Таким образом, сравнительный анализ проведенных исследований показывает, что лучшим подходом к синтезу 1-гидроксиимидазолама является трехстадийное преобразование 2-аминометил-7-хлор-2,3-дигидро-5-(2-фторфенил)-1Н-1,4-бензодиазепина, а именно, взаимодействие с 2-(ацетокси)-1-этоксиэтанимина гидрохлоридом, окисление образующегося продукта циклизации и снятие ацильной

защиты метилатом натрия. Показано, что применение перманганата калия в смеси с оксидом алюминия может существенно упростить процесс окисления 1-ацетоксиметил-8-хлор-3а,4-дигидро-6-(2-фторфенил)-3Н-[1,3]имидазо[1,5а][1,4]бензодиазепина и может рассматриваться как альтернатива трудоемкому методу с применением оксида марганца.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Мидазолам получали по методике [4]

Получение 8-хлор-6-(2-фторфенил)-1-метил-4Н-имидазо[1,5а][1,4]бензо-диазепин-5-оксида (6)

В круглодонную колбу вносят мидазолам (0,106 г, массовое содержание 94 %, 0,307 ммоль) и сухой свежеперегнанный хлористый метилен (35 мл). Смесь перемешивают до полного растворения мидазолама. Затем, не прекращая перемешивания, на протяжении 2–3 минут в массу дозируют метаклорпербензойную кислоту (0,7 г, массовое содержание порядка 60 %, примесь м-хлорбензойной кислоты, 2,433–2,636 ммоль). Смесь перемешивают 50 минут при комнатной температуре (24–25 °С), затем экстрагируют водной соляной кислотой (1 М, 2×30 мл). Экстракт отделяют, промывают хлористым метиленом (2×12 мл) и нейтрализуют водным аммиаком (25 %) до рН порядка 9–9,5. Процедуру экстракции, промывки и нейтрализации необходимо проводить быстро во избежание разложения продукта. По окончании нейтрализации в смесь добавляют 3–4 г хлорида натрия и взмучивают до полного растворения. Далее проводят экстракцию массы хлористым метиленом (5×15 мл). Органические экстракты объединяют и сушат над сульфатом натрия. Смесь фильтруют на складчатом фильтре. Маточник упаривают под вакуумом. Получают густую смолу светло-коричневого цвета (0,053 г), содержащую смесь (5) и (6), с выходом порядка 25–26 % (0,028 г; массовая доля в смоле 53,5 % по данным ВЭЖХ). Оксиды в полученной смоле не стабильны при хранении.

¹H NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO): 8.00–6.79 (м, 8H), 5.27 (д, 1H), 4.94 (д, 1H), 2.52 (с, 3H) ppm.

Получение 1-гидроксимидазолама (8-хлор-6-(2-фторфенил)-4Н-имидазо[1,5-а][1,4]бензодиазепин-1-метанола) (2)

В трёхгорлую колбу, снабжённую магнитной мешалкой, хлоркальциевой трубкой и термометром, загружают смолу, содержащую смесь (5) и (6) (0,97 г; массовая доля в смоле 26,8 % по данным ВЭЖХ), и уксусный ангидрид (70 мл). Смесь нагревают до 120 °С и перемешивают при этой температуре 5,5 часов. По истечении времени реакцию упаривают под вакуумом до полной отгонки остатков уксусного ангидрида. Получают густую смолу (1,1 г), содержащую 4-ацетокси-8-хлор-6-(2-фторфенил)-1-метил-4Н-имидазо[1,5а][1,4]бензодиазепин (10,9 % по данным ВЭЖХ) и 1-ацетоксиметил-8-хлор-6-(2-фторфенил)-

4Н-имидазо[1,5а][1,4]бензодиазепин (9) (7,27 % по данным ВЭЖХ). Выделение соединений проводят препаративной хроматографией (элюент тетрагидрофуран/хлороформ 5 : 1). В результате получают смолу, насыщенную 4-ацетокси-8-хлор-6-(2-фторфенил)-1-метил-4Н-имидазо[1,5а][1,4]бензодиазепином (0,14 г с содержанием 69,2 % по данным ВЭЖХ), и смолу, насыщенную 1-ацетоксиметил-8-хлор-6-(2-фторфенил)-4Н-имидазо[1,5а][1,4]бензодиазепином (9) (0,091 г с содержанием 65,9 % по данным ВЭЖХ).

Полученную смолу, насыщенную (9), (0,091 г с содержанием 65,9 %) и 12 мл метанола помещают в круглодонную колбу, снабжённую магнитной мешалкой. Затем в смесь при активном перемешивании прикапывают 5 %-ный раствор метилата натрия в метаноле до достижения рН 9–9,5. Массу перемешивают при комнатной температуре 30 минут и нейтрализуют ледяной уксусной кислотой до достижения рН 7. Затем смесь упаривают под вакуумом. Остаток подвергают препаративной хроматографии (элюент хлороформ/метанол/ледяная уксусная кислота 10 : 0,5 : 0,2 соответственно). Полученный раствор целевого продукта после хроматографии нейтрализуют насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия, органический слой отделяют, промывают дистиллированной водой, сушат сульфатом натрия и упаривают досуха. Остаток кристаллизуют из диэтилового эфира, фильтруют, промывают диэтиловым эфиром и сушат при 2 мм. рт. ст. и температуре 75 °С до постоянной массы (порядка 8 часов). Получают 1-гидроксимидазолам (2) (в виде кристаллического осадка светло-жёлтого цвета с выходом 70 % (0,042 г, T_{пл} = 258,3–260,1 °С). Содержание основного вещества 96,7 %

2-аминометил-7-хлор-2,3-дигидро-5-(2-фторфенил)-1Н-1,4-бензодиазепин (10) получали по методике [4].

Получение 1-ацетоксиметил-8-хлор-3а,4-дигидро-6-(2-фторфенил)-3Н-[1,3]имидазо[1,5а][1,4]бензодиазепина (11)

В трёхгорлую колбу, наполненную аргоном и снабжённую термометром, магнитной мешалкой, подводом аргона и хлоркальциевой трубкой, загружают (10) (12,3 г, 0,03 моль), и абсолютный свежеперегнанный этиловый спирт (500 мл). Через колбу пускают слабый ток аргона. Смесь перемешивают до полного растворения амина и охлаждают до минус 30 °С. Далее в реакцию массу всыпают маленькими порциями сухой свежеполученный 2-(ацетокси)-1-этоксиэтанаминия гидрохлорид (14 г) на протяжении 15 минут при минус 30 °С. Исключают контакт 2-(ацетокси)-1-

этоксиэтанаминия гидрохлорида с воздухом. Дозирование проводят из бюкса, наполненного аргоном. Далее смесь нагревают до $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ и перемешивают 1 час, после чего нагревают до $0\text{--}5\text{ }^{\circ}\text{C}$ и выдерживают при этой температуре 2 суток. Затем смесь нагревают до комнатной температуры, перемешивают 2,5 часа и упаривают под вакуумом досуха при температуре бани $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, после чего остаток взмучивают 40 минут с насыщенным раствором гидрокарбоната натрия (150 мл) и хлористым метиленом (200 мл). Органический слой отделяют, водный слой дополнительно экстрагируют хлористым метиленом (3×20 мл). Органические экстракты промывают дистиллированной водой (2×90 мл), насыщенным раствором хлорида натрия и сушат сульфатом натрия. Суспензию фильтруют через складчатый фильтр. Маточник упаривают под вакуумом при температуре бани $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ (соединение нестабильно при повышенной температуре). Получают густую смолу желтого цвета, содержащую (**11**) с выходом $26,6\%$ ($12,0$ г, содержание основного вещества 26%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): 7.65–7.02 (м, 7H), 5.30 (с, 1H), 4.78–4.73 (м, 1H), 4.39–4.36 (д, 1H), 4.22–4.18 (м, 1H), 3.60–3.55 (м, 2H), 3.50–3.46 (м, 1H), 2.16 (с, 3H) ppm.

Получение 1-ацетоксиметил-8-хлор-6-(2-фторфенил)-4Н-имидазо-[1,5а][1,4]-бензодиазепина (9)

В круглодонную колбу, снабженную магнитной мешалкой, насадкой Вюрца, капельной воронкой и холодильником Либиха, загружают абсолютный свежеперегнанный толуол (350 мл). Растворитель при перемешивании нагревают до $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, после чего в колбу вносят активный оксид марганца (IV)* (62 г, массовая доля бензола $40\text{--}45\%$). Смесь нагревают до кипения и после начала отгонки ($6\text{--}10$ капли за 1 мин) кипятят 20 минут. На протяжении отгонки прикапывают абсолютный свежеперегнанный толуол, поддерживая объем реакционной массы в колбе порядка $380\text{--}390$ мл. Затем в кипящую реакционную массу вносят (**11**) ($3,1$ г, массовое содержание в смоле 26% , $0,0021$ моль), растворенный в толуоле (16 мл), и продолжают кипячение с отгонкой и прикапыванием толуола на протяжении 3 часов, поддерживая объем реакционной массы в колбе порядка $380\text{--}390$ мл. По истечении времени горячую реакционную массу фильтруют через двойной бумажный фильтр и последовательно промывают горячим толуолом (6×15 мл, $60\text{--}70\text{ }^{\circ}\text{C}$), ацетонитрилом (5×15 мл) и хлороформом (4×10 мл). Маточник упаривают. Получают густую смолу коричневого цвета, содержащую (**9**) с выхо-

дом $30,6\%$ ($2,1$ г, содержание основного вещества $11,7\%$). Очистку проводят методом препаративной хроматографии, как описано выше.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): 7.81–7.79 (м, 8H), 5.64 (д, 1H), 5.22 (д, 1H), 5.02 (д, 1H), 4.10 (д, 1H), 2.08 (с, 3H) ppm.

*Оксид марганца (IV) получают по методике [5], дезактивируют кипячением в толуоле с обратным холодильником в течение 6 часов, фильтруют, промывают на фильтре бензолом. Используют далее во влажном виде.

Получение 1-ацетоксиметил-8-хлор-6-(2-фторфенил)-4Н-имидазо-[1,5а][1,4]-бензодиазепина (9)

В круглодонную колбу, снабженную магнитной мешалкой, вносят (**11**) ($0,06$ г, массовое содержание в смоле 26%) и ацетонитрил (20 мл). При комнатной температуре небольшими порциями в течение 2 часов дозируют тщательно растертую смесь $0,06$ г перманганата калия и $0,36$ г оксида алюминия. По окончании дозирования реакционную массу оставляют при перемешивании на ночь. Затем осадок отфильтровывают, маточник упаривают под вакуумом. Получают густую смолу коричневого цвета, содержащую (**9**) с выходом 25% ($0,041$ г, содержание основного вещества $9,8\%$). Очистку проводят методом препаративной хроматографии, как описано выше.

СПИСОКЛИТЕРАТУРЫ

1. <http://medside.ru/midazolam>.
2. Heizmann, P. Pharmacokinetics and bioavailability of midazolam in man / P. Heizmann, M. Eckert, W. H. Ziegler // Br. J. Clin. Pharmacol. – 1983. – Vol. 16. (Suppl 1). – P. 43S–49S.
3. Walser, A. Quinazolines and 1,4-Benzodiazepines. 84. Synthesis and Reactions of Imidazo[1,5-4][1,4]benzodiazepines / A. Walser, L. E. Benjamin, T. Flynn, C. Mason // J. Org. Chem. – 1978. – Vol. 43, № 5. – P. 936–944.
4. Zhang, Y. Convergent syntheses of carbon-13 labeled midazolam and 1-hydroxymidazolam / Y. Zhang, P. W. K. Woo, J. Hartman, N. Colby et al. // Tetrahedron Lett. – 2005. – Vol. 46. – P. 2087–2091.
5. Карякин, Ю. В. Чистые химические вещества / Ю. В. Карякин, И. И. Ангелов. – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: Химия, 1974. – 226 с.

Паровов Артём Эдуардович, младший научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук, Алтайский край, г. Бийск, ул. Социалистическая, д. 1, e-mail: parovovartem@mail.ru.

Щурова Ирина Анатольевна, кандидат

химических наук, старший научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук, Алтайский край, г. Бийск, ул. Социалистическая, д. 1, e-mail: shchurova_irina@mail.ru.

Сысолятин Сергей Викторович, директор, доктор химических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук, Алтайский край, г. Бийск, ул. Социалистическая, д. 1, e-mail: dir@ipcet.ru.

Рогова Алла Ивановна, старший лаборант, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук, Алтайский край, г. Бийск, ул. Социалистическая, д. 1, e-mail: alla_rogov@mail.ru.

Грибкова Светлана Евгеньевна, кандидат химических наук, старший научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук, Алтайский край, г. Бийск, ул. Социалистическая, д. 1.