

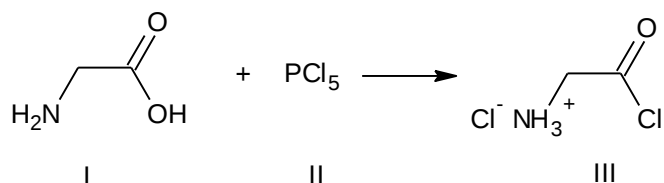
7.3 Синтез та просторова будова нового анальгетичного засобу пропоксазепаму з полімодальним механізмом дії

Бензодіазепіни (БДЗ) використовуються в клінічній практиці як анксиолітики, міорелаксанти та снодійні або протисудомні засоби. Усі вони мають однаковий спектр дії, але залежно від дози та особливостей фармакокінетики призначають препарат, що найбільше підходить для кожної конкретної ситуації [498]. З моменту появи БДЗ виник інтерес до терапевтичного їх застосування для лікування болю, оскільки важливим аспектом нейропластичних змін при запальних і нейропатичних станах є зниження гальмівного гліцинергічного та ГАМКергічного контролю нейронів дорсального рогу, що призводить до посилення болю та виникнення гіпералгезії [499]. Потенціювання БДЗ синаптичного гальмування рецепторів ГАМК призводить до зменшення патологічної больової чутливості у експериментальних тварин. Співробітниками Фізико-хімічного інституту НАН України синтезовано низку 3-заміщених похідних 1,4-бензодіазепіна та досліджено залежність структура–активність. Їх фармакологічний ефект був незвичайним, оскільки на відміну від більшості препаратів цього класу, на моделях ноцицептивного та нейропатичного болю ці речовини виявляли значну знеболювальну активність [500]. Один з них, Пропоксазепам, 7-бром-5-(2-хлорфеніл)-3-пропокси-1Н-бензо[е][498,501]діазепін-2(3Н)-он, вважається перспективним препаратом [501] і проходить курс клінічного випробування. Подібно до габапентину та прегабаліну, які є відомими препаратами, що використовуються в загальній медичній практиці для лікування нейропатичного болю [502], Пропоксазепам також має протисудомну дію [503], що пояснює знеболюючий компонент фармакологічного спектру. Тому механізм протисудомної та антиноцицептивної дії Пропоксазепаму обумовлений його взаємодією з ГАМК_A-рецептором [504]. У той же час знеболююча дія Пропоксазепаму також залежить і від інших біомішеней [505].

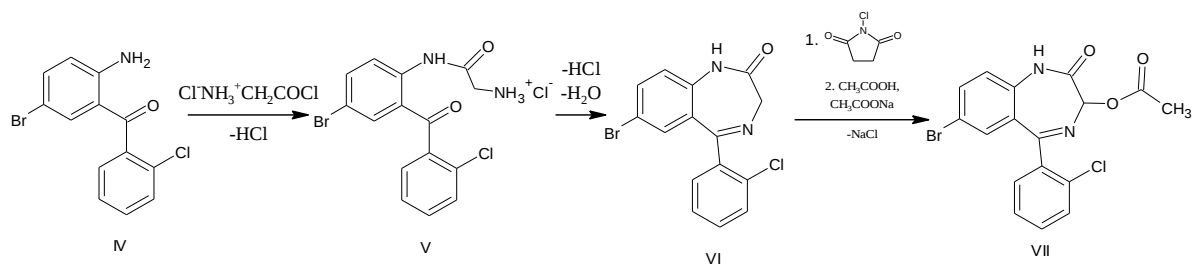
У цій роботі повідомляється про хімічну схему синтезу Пропоксазепаму та просторову будову його молекули.

Хімічна схема синтезу Пропоксазепаму.

На першому етапі 1-амінооцтову кислоту (**I**) за допомогою пентахлорид фосфору (**II**) перетворювали в гідрохлорид хлорангідрид 1-амінооцтової кислоти (**III**):



На наступному етапі до сполуки **III** при кімнатній температурі додавали безводний хлороформ та 2-аміно-5-бромфеніл-(2-хлорфеніл)-метанон (**IV**), при цьому спостерігається виділення хлороводню і перемішували 30 хв. Потім реакційну суміш кип'ятили 45 хв, охолоджвали до кімнатної температури. До реакційної суміші додавали водний розчин бікарбонату натрію до *pH* 7, відділяли органічний шар та промивали дистильованою водою. Органічний шар випарювали при зниженому тиску у ротаційному випарнику, до залишку додавали бензол і кип'ятили 2 год. з насадкою Діна-Старка. Бензол випарювали при зниженому тиску у ротаційному випарнику, залишок кристалізували з етилового спирту. Вихід-7-бром-5-(о-хлорфеніл)-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-ону (**VI**) становив 43 %.



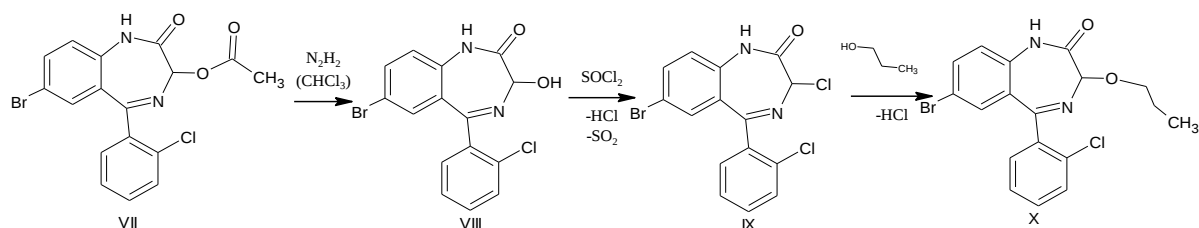
До отриманої сполуки **VI** додавали крижану оцтову кислоту, N-хлорсукцинімід та оцтовокислий натр. Реакційну суміш нагрівали до 80 °С при інтенсивному перемішуванні, через 10 хв осад розчинявся, а через 30 хв випадав осад, який відфільтровували і промивали оцтовою кислотою. Таким чином

отримували 7-бром-5-(2-хлорфеніл)-2-оксо-2,3-дигідро-1Н-бензо[498,501]-діазепін-3-іл ацетату (**VII**).

Задля отримання проміжної 7-бром-3-гідрокси-5-(2-хлор-феніл)-1,3-дигідробензо[498,501]-діазепін-2-он (**VIII**) сполуку **VII** розчиняли у хлороформі і додавали гідразин-гідрат. Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі 30 хв, потім промивали водою до *pH* 7. Осад який випав відфільтровували, і промивали хлороформом, сушили при 100 °С. Вихід становив 50 %.

До сполуки **VIII** додавали тіоніл хлористий при кімнатній температурі. Осад, який утворився залишали на ніч. Надлишок тіонілу хлористого випарювали при зниженому тиску у ротаційному випарнику, потім додавали хлороформ і знову випарювали при зниженому тиску. Отриманий жовтий осад 7-бром-3-хлор-5-(2-хлорфеніл)-1,3-дигідробензо[498,501]-діазепін-2-ону (**IX**) використовували для подальших перетворень без додаткової очистки.

До отриманої сполуки **IX** додавали безводний хлороформ та 1-пропіловий спирт при перемішуванні без нагрівання. Через 3 год. реакційну суміш промивали водою до *pH* 7. Хлороформ випарювали при зниженому тиску у ротаційному випарнику, а залишок кристалізували з етилового спирту. Вихід 7-бром-3-пропокси-5-(2-хлорфеніл)-1,3-дигідробензо[е][498,501]діазепін-2-ону (**X**, Пропоксазепаму) становив 31 %.



У мас-спектрі Пропоксазепаму присутній молекулярний іон із характерним бром-хлорним розщепленням (M/z 409.0138 та M_z 407.0159) (Рис. 1). Ймовірна схема фрагментації також включає едімінацію пропілокси фрагменту, завдяки чому виявляється пік M/z 348.956 (номінально 347). Також іншими шляхами фрагментації Пропоксазепаму під електронним ударом є

елімінації карбоксо-групи (CO) та галогенів, або звуження кільця за рахунок відщеплення частини гетерокільця (рис. 1).

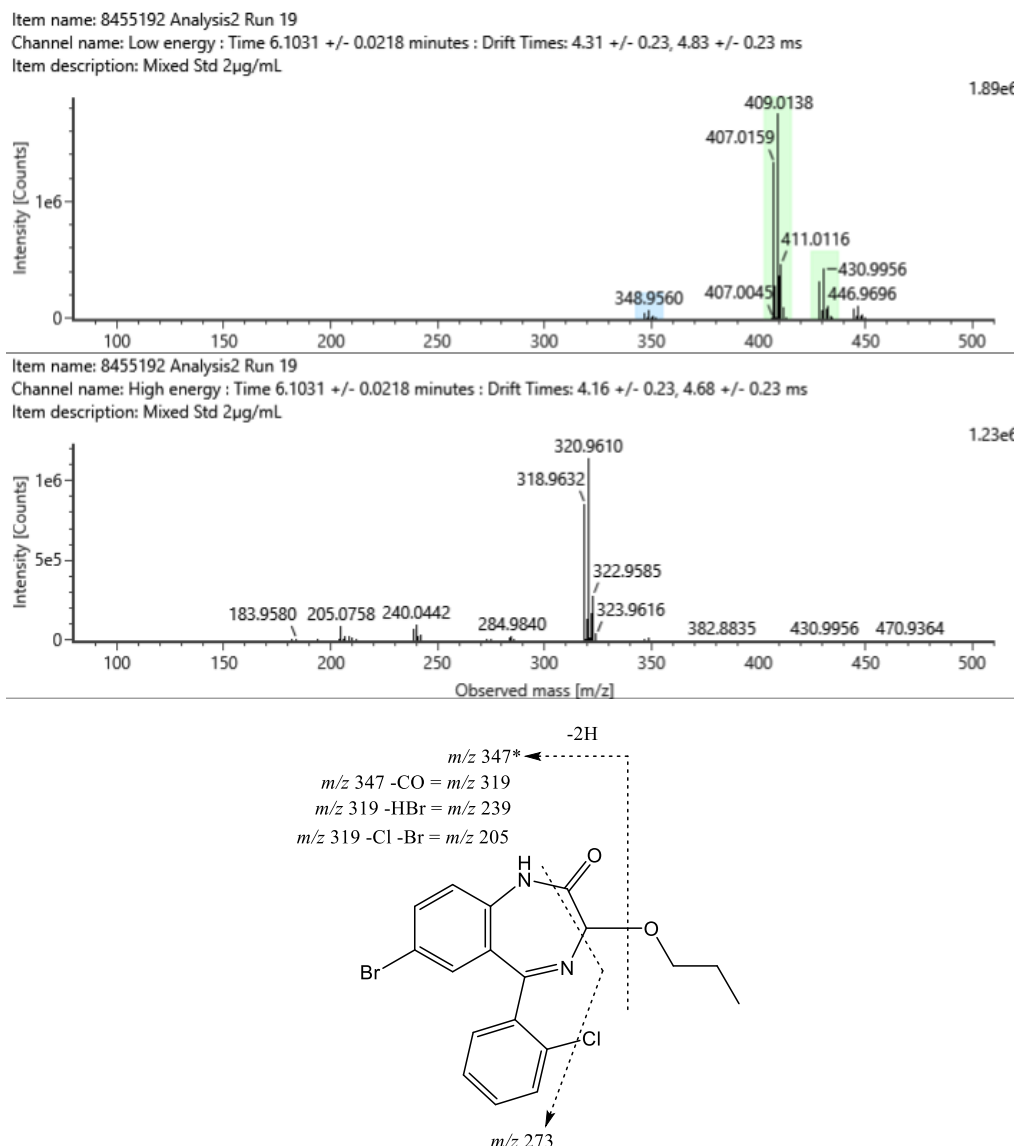


Рисунок. 1. Структура та запропонована схема фрагментації Пропоксазепаму: $[M+H]^+ = 407$

Просторова будова молекули Пропоксазепаму

Просторовій будові (геометрії) молекули лікарського засобу відводиться значна роль, оскільки цей показник впливає на процеси його зв'язування з біомішенями, звідси і визначає механізм дії. Щодо БДЗ, то визначення конформації гетероциклу та конфігурації стереоцентру методами ІЧ- та УФ-спектроскопії, а також за допомогою вимірювання величини дипольних моментів і рентгеноструктурного аналізу показало [506], що 7-членний діазепіновий цикл не є планарним, а знаходиться в конформації човна. Завдяки

швидкій інверсії непланарного семичленного циклу такі БДЗ представляють собою суміш двох енантімерних Р- і М-конформерів (атропоізомерів з простим зв'язком sp^2 -типу), навіть за відсутності хірального центру. Для 3-заміщених БДЗ пріоритетним є псевдоекваторіальне положення замісника, за рахунок чого рівновага зміщується в бік М-конформації в разі S-енантіомеру та в сторону Р-конформації в разі R-енантіомеру [507]. У випадку наявності замісника в третьому положенні БДЗ атом вуглецю стає хіральним. Рацемізація таких сполук відбувається занадто швидко навіть за кімнатної температури, що ускладнює виділення оптично чистих енантімерів або високо збагаченої одним з ізомерів фракції. Механізм рацемізації відповідає процесу таутомерної рівноваги між циклічною й ахіральною іміноальдегідною формами [508]. Енантіомери оксазепаму та темазепаму є більш стійкими до рацемізації в сильно кислому середовищі ($pH \leq 2$), ніж у слабкокислому, нейтральному або лужному середовищі. Освальдом були розраховані енергетичні бар'єри рацемізації (ΔG) 3-гідрокси-БДЗ залежно від умов хроматографічного розділення. Найвищий бар'єр виявлений в темазепаму, найменший – в оксазепаму [509].

Метод рентгеноструктурного аналізу кристалічного зразка субстанції препарату дозволяє визначати атомну структуру речовини, що включає просторову групу елементарної комірки, її розміри і форму, а також визначити групу симетрії кристалу. Нами доведено, що кристали Пропоксазепаму є моноклінними ($C_{18}H_{16}N_2O_2ClBr$, при $20^\circ C$, $a = 11.695(2)$, $b = 21.507(2)$, $c = 14.506(2)$ Å, $\beta = 92.82(1)^\circ$, $V = 3. \text{ Å}^3$, $Mr = 407.69$, $Z = 8$, просторова група $P2_1/c$, $d_{\text{вч}} = 1.486 \text{ г/см}^3$, $\mu(\text{MoK}\alpha) = 2.415 \text{ мм}^{-1}$, $F(000) = 1648$). Параметри елементарної комірки та інтенсивності 16302 відбитків (6356 незалежних, $R_{\text{int}}=0.151$) визначено на монокристалльному дифрактометрі "Xcalibur-3" (MoK α випромінювання, CCD-детектор, графітовий монохроматор, ω -сканування, $2\theta_{\text{макс}} = 50^\circ$). Структура зразка розшифрована прямим методом комплексу програм SHELXTL [510]. Поглинання враховано напівемпіричним методом за результатами мультисканування ($K_{\text{min}} = 0.644$, $T_{\text{max}} = 0.794$). Положення атомів водню виявлено з різницевого синтезу електронної щільності і уточнено за

моделлю “наїзника” з $U_{iso} = nU_{eqv}$ неводневого атому, пов'язаного з цим водневим ($n=1.5$ для метильних груп та $n=1.2$ для інших атомів водню). Структуру уточнено по F2 повноматричним МНК в анізотропному наближенні для неводневих атомів до $wR2 = 0.289$ по 6284 відбиття ($R1 = 0.106$ по 2142 відбиття з $F > 4\sigma(F)$, $S = 0.882$).

В результаті рентгеноструктурного аналізу кристалічного зразка отримано структуру Пропоксазепаму, яка є кристалографічним двійником. Дійсно, перевірка через відповідну програму Platon показала присутність більше двох компонентів (Рис. 2). Сполука має хіральний центр при атомі C8 (Рис. 2) і кристалізується в центро-симетричній просторовій групі. Зазначене свідчить про те, що молекули Пропоксазепаму є рацематами.

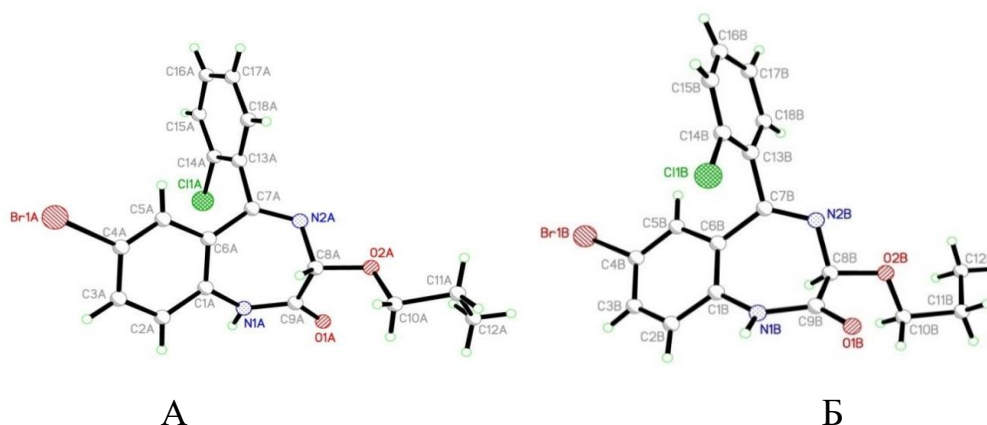


Рисунок 2. Структура молекул А та Б, виявлених в незалежній частині елементарного комірця.

У незалежній частині елементарного осередку виявлено (Рис 3) дві молекули (А і Б), з різною конформацією молекули і конфігурацією хірального центру (молекула А з R-конфігурацією і молекула Б з S-конфігурацією).

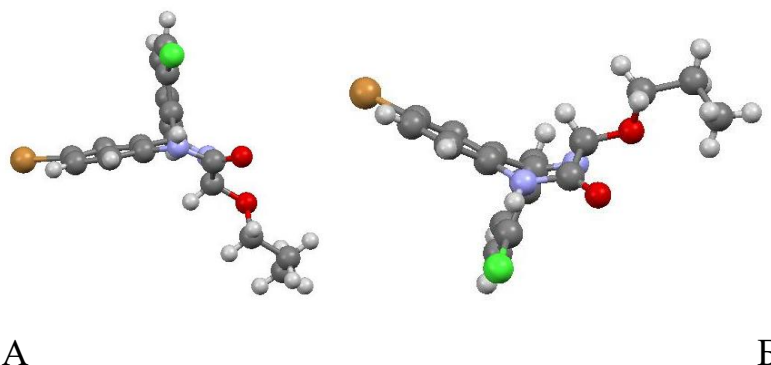


Рисунок 3. Конформація молекул А і Б.

Діазепіновий цикл знаходиться в конформації ванна, атоми N1, C9, C7, N2 лежать в одній площині, а атоми C1, C6 і C8 відхиляються в один бік від цієї площини на 0.70 Å, 0.65 Å і 0.75 Å, відповідно, в молекулі А і на -0.69 Å, -0.66 Å і -0.74 Å, відповідно, в молекулі Б. Як наслідок, хлорбензильний замісник відхиляється від плоского фрагмента біцикла в різні боки і розгорнуто по відношенню до ендоециклічного зв'язку C6-C7 на кут, однаковий за абсолютною величиною, але з різним знаком (торсіонні кути C1-C6-C7-C13 і C6-C7-C13-C14 становлять 144(1)° та -73(1)° у молекулі А та -144(1) та 73(1)° у молекулі Б). Основна відмінність у будові, що зумовлюють наявність двох молекул у незалежній частині елементарного осередку, полягає у конформації пропільної групи. Замісник при атомі C8 знаходиться в екваторіальному положенні (торсіонний кут N1-C9-C8-O2 172.1(8)° у молекулі А і -170.4(8) у молекулі Б), пропільна група в молекулі А розташована практично ортогонально циклу і має ар-с-с-конформацію. У молекулі Б пропільна група знаходиться в +с-с-положенні щодо ендоециклічного зв'язку C9-C8 і має ар-с-с-конформацію. Відповідні торсіонні кути мають наступні показники (табл. 1):

Таблиця 1.

Торсіонні кути атомів C9-C8 ендоециклічного зв'язку в молекули

Пропоксазепаму.

	Молекула А	Молекула Б
C9-C8-O2-C10	-88(1)	75(1)
C8-O2-C10-C11	-172(1)	175.5(8)
O2-C10-C11-C12	-82(1)	-63(1)

У кристалі молекули А і Б, спроможні до чергування та утворення нескінченних ланцюжків (Рис. 4) вздовж кристалографічного напрямку (1 0 0) за рахунок міжмолекулярних водневих зв'язків N1a-H...N2b' H...N 2.24 N-H...N 162°, N1b-H ...N2a' (x-1, y, z) H...N 2.22 N-H...N 173°.

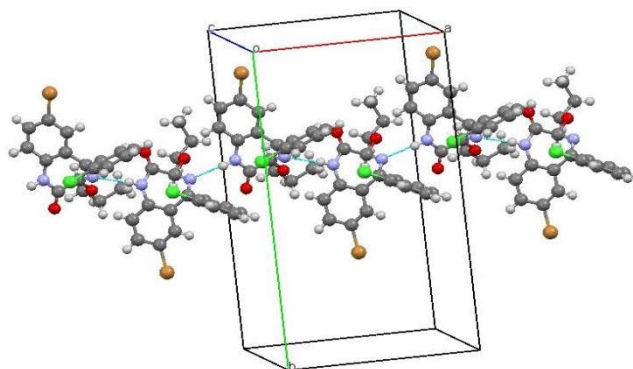


Рисунок 4. Упаковка молекул Пропоксазепаму в кристалі.

Отже, у зразку Пропоксазепаму, який було синтезовано та використано для рентгеноструктурного аналізу кристали виявилися «двійниками». Це свідчить про те, що елементарні комірки практично ідеально розгорнуті один щодо одного на 180° . Отримані показники було проаналізовано у двох просторових групах: 1. Триклінний, з параметрами елементарної комірки $a = 10.434(1)$, $b = 10.873(1)$, $c = 17.837(2)$ Å, $\alpha = 74.810(9)^\circ$, $\beta = 77.22(1)^\circ$, $\gamma = 66.06(1)^\circ$, $V = 1769.6$ Å³, просторова група $P\bar{1}$. 2. Моноклінної з параметрами елементарної комірки $a = 11.695(2)$, $b = 21.507(2)$, $c = 14.506(2)$ Å, $\beta = 92.82(1)^\circ$, $V = 3644.2$ Å³, просторова група $P2_{1/c}$. Мінімальний фактор розбіжності для триклінної структури становив 38%, для моноклінної - 25%.

Отримані дані щодо конформації та конфігурації молекули Пропоксазепаму дали можливість визначити роль цих показників в механізмах взаємодії сполуки з рецепторами ГАМК [511], її метаболіму [512] та молекулярному докінгу [16].