

СИНТЕЗ β_2 -АГОНИСТА ТУЛОБУТЕРОЛА И ЕГО МЕТАБОЛИТА 4-ГИДРОКСИТУЛОБУТЕРОЛА

© 2020 г. М. А. Глушкова*, С. В. Попков, М. Л. Бурдейный

ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева»,
125047, Россия, г. Москва, Миусская пл. 9
*e-mail: maria-n1002@mail.ru

Поступила в редакцию 13 сентября 2019 г.
После доработки 18 января 2020 г.
Принята к публикации 20 января 2020 г.

Разработаны альтернативные способы синтеза β_2 -агониста тулобутерола и его метаболита – 4-гидрокситулобутерола, проявляющего аналогичную активность, с использованием доступных реагентов. Данные соединения получены по схемам, ключевой стадией которых является образование промежуточного оксирана по реакции Кори–Чайковского. Раскрытие цикла оксирана проводили избытком *трет*-бутиламина. При синтезе 4-гидрокситулобутерола для защиты гидроксигруппы была использована бензильная защита, которая была снята на финальной стадии гидрогенолизом в присутствии палладия на угле.

Ключевые слова: β_2 -агонисты, тулобутерол, метаболит, реакция Кори–Чайковского, бензильная защита.

DOI: 10.31857/S0514749220030052

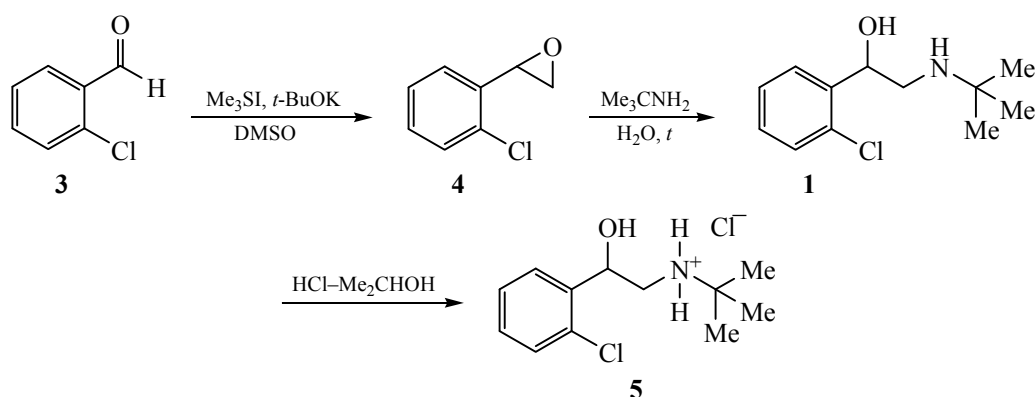
Тулобутерол (**1**) – селективный агонист β_2 -адренорецепторов длительного действия, применяемый при лечении хронических обструктивных заболеваний бронхов у людей и животных [1–3]. β_2 -Агонисты также способствуют повышению скорости роста и снижению жировых отложений, что позволяет использовать их в качестве добавок в корм крупного рогатого скота, свиней, овец, птиц для увеличения выработки постного мяса [4]. Остаточное количество данных соединений в сельскохозяйственной продукции представляет серьезный риск для здоровья потребителей. Применение β_2 -агонистов в качестве стимуляторов роста в Российской Федерации запрещено. В связи с этим возникает необходимость разработки аналитических методов для определения остаточных количеств данных соединений в мясной продукции, поступающей на российский рынок из-за рубежа. Также для установления факта запрещенного использования β_2 -агонистов и оценки их влияния на здоровье людей и животных большое значение имеет изучение путей биотрансформации, поскольку зачастую метаболиты обладают схожей биологической активностью и идентифицируются в биологических средах в течение более длительного времени, чем целевые соединения.

4-Гидрокситулобутерол (**2**) – один из главных метаболитов β_2 -агониста **1**, являющийся продуктом его моногидроксилирования [5, 6]. При изучении механизма действия соединения **1** показано [2], что данный метаболит оказывает более выраженный расслабляющий эффект на трахею морских свинок, чем целевое соединение, и обладает более высокой активностью. При этом при пероральном приеме препарата **1** в дозе 1 мг у людей данное соединение и его метаболит **2** идентифицируются в моче в течение продолжительного периода времени – более 32 ч [7]. Соединение **2** сравнительно недавно появилось на рынке лекарственных средств в группе β_2 -агонистов под названием мелуадрин тартрат в виде *R*-энантиомера [8].

Для определения β_2 -агонистов и их метаболитов в биологических средах требуются стандартные образцы. Целью данной работы является разработка альтернативных методов синтеза соединений **1**, **2** с использованием доступных реагентов.

В литературе представлены два способа получения соединения **1** [9]. По первому способу исходный 2-хлорацетофенон после окисления действием оксида селена до соответствующего альдегида конденсируют с *трет*-бутиламином, а

Схема 1.



далее полученное основание Шиффа восстанавливают с помощью борогидрида натрия до целевого соединения **1**. По второму способу исходный 2-хлорацетофенон бромруют с образованием α -бром-2-хлорацетофенона, который восстанавливают борогидридом натрия до бромгидрина, превращающегося в 2-(2-хлорфенил)оксиран после обработки щелочью. Раскрытие последнего *трет*-бутиламинол приводит к соединению **1**.

Для синтеза β_2 -агониста **1** был выбран второй способ, однако промежуточный оксиран **4** был получен по реакции Кори–Чайковского в результате метилирования бензальдегида **3** диметилсульфонийметилдом, генерируемым *in situ* из триметилсульфоний иодида и *трет*-бутилата калия, аналогично [10, 11] (схема 1). Выход продукта **4** после вакуумной перегонки составил 26%. Соединение **1** с выходом 59% было получено в результате конденсации оксирана **4** с избытком *трет*-бутиламина. Продукт **1** был переведен в форму гидрохлорида **5**, выход которого составил 91%.

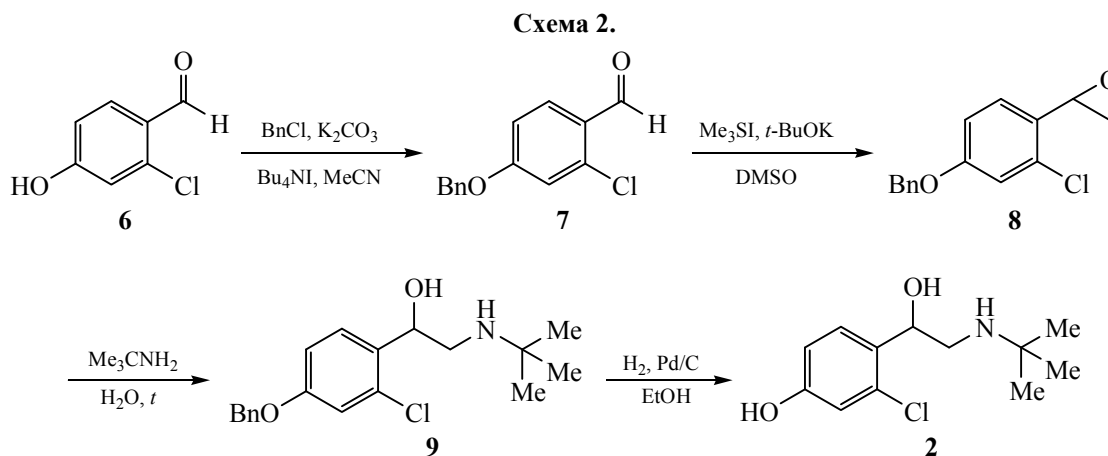
Также представлены три альтернативных способа синтеза соединения **2** [9]. Первый способ аналогичен первому способу получения соединения **1** с использованием в качестве исходного реагента 4-гидрокси-2-хлорацетофенона. По второму способу такие же превращения проводят, начиная с 4-бензилокси-2-хлорацетофенона; бензильную защиту снимают гидролизом бромистоводородной кислотой на заключительной стадии. По третьему способу исходным служит 4-нитро-2-хлорацетофенон. В результате превращений, использованных в первом и втором способах, получают 4-нитроаналог соединения **2**. В результате его восстановления *in situ* атомарным водородом, выделяющимся при растворении цинка в соляной кислоте, получают 4-аминопроизводное, которое в резуль-

тате диазотирования и разложения соли диазония превращают в целевое соединение **2**.

Для синтеза метаболита **2** была разработана альтернативная 4-стадийная схема (схема 2). На первой стадии в результате бензилирования 4-гидрокси-2-хлорбензальдегида (**6**) бензилхлоридом, аналогично методике [12], в присутствии карбоната калия была введена по гидроксигруппе бензильная защита; выход продукта **7** составил 53%. На следующей стадии по реакции Кори–Чайковского метилированием бензальдегида **7** диметилсульфонийметилдом, полученным *in situ* из триметилсульфоний иодида и *трет*-бутилата калия [10, 11], был синтезирован 2-(4-бензилокси-2-хлорфенил)оксиран (**8**) с выходом 93%. В результате раскрытия цикла оксирана **8** избытком *трет*-бутиламина в воде с выходом 48% был получен 1-(4-бензилокси-2-хлорфенил)-2-третбутиламино-1-этанол (**9**). Для финальной стадии снятия бензильной защиты были выбраны более мягкие условия по сравнению с предложенными в методике [9], а именно – гидрогенолиз в присутствии палладия на угле. Выход целевого продукта **2** составил 35%. Необходимый для данных превращений 4-гидрокси-2-хлорбензальдегид (**6**) был получен в результате конденсации 3-хлорфенола с хлороформом по реакции Раймера–Тимана по методике [13].

Гидрогенолиз, проведенный при давлении водорода 5.1 ати, протекает не так однозначно: наряду с ожидаемым соединением **2**, в смеси был обнаружен также продукт его гидрохлорирования – 2-*трет*-бутиламино-1-(4-гидроксифенил)этанол в количестве около 30 мол %.

Структура синтезированных соединений подтверждена методом ЯМР ¹H спектроскопии. Для целевых соединений **5** и **2** дополнительно были



получены спектры ЯМР ^{13}C , ВЭЖХ-МС низкого и высокого разрешения и ГХ-МС.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Коммерчески доступные реагенты и растворители использовали без дополнительной очистки. Контроль за ходом реакции осуществляли методом ТСХ.

Спектры ЯМР ^1H и ЯМР ^{13}C растворов исследуемых соединений в $\text{DMSO-}d_6$ и в CDCl_3 записаны на спектрометре Bruker AM-300 (300.13 МГц), внутренний стандарт – ТМС.

Спектры ВЭЖХ-МС низкого разрешения получены на приборе Surveyor MSQ. Метод ионизации – АРСІ (химическая ионизация при атмосферном давлении), регистрация положительных и отрицательных ионов. Параметры хроматографической колонки: сорбент – С18, длина – 250 мм, диаметр – 4.6 мм, размер частиц сорбента – 5 мкм, подвижная фаза – 0.1% раствор муравьиной кислоты в воде и 0.1% раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле, градиентное элюирование, температура колонки – 25°C, скорость потока – 1.5 мл/мин.

Спектры ВЭЖХ-МС высокого разрешения получены на хроматографе Ultimate 3000RS с масс-спектрометрическим детектором высокого разрешения QExactive. Метод ионизации – ESI (электрораспылительная ионизация при атмосферном давлении), регистрация положительных и отрицательных ионов. Параметры хроматографической колонки: сорбент – С18, длина – 150 мм, диаметр – 2.1 мм, размер частиц сорбента – 3 мкм, подвижная фаза – 0.1% раствор муравьиной кислоты в смеси ацетонитрил–вода (95:5) и 0.1% раствор мура-

вьиной кислоты в смеси ацетонитрил–вода (5:95), градиентное элюирование, температура колонки – 35°C, скорость потока – 0.5 мл/мин.

Спектры ГХ-МС получены на хроматографе Agilent 7890А с масс-спектрометрическим детектором Agilent 5975С. Метод ионизации – ЭУ. Параметры капиллярной колонки: НР-5ms [кварцевая колонка, стационарная фаза – 95%-метил-5%-фенилполисилоксан, длина – 30 м, диаметр – 0.25 мм, толщина фазы – 0.25 мкм, газ-носитель – гелий, температура колонки – от 40 до 270°C со скоростью 10°C/мин, скорость потока газа – 1 мл/мин. Для получения бис-О-триметилсилильного производного соединения **2** в качестве дериватирующего агента использовали МСТФА (*N*-метил-*N*-(триметилсилил)трифторацетамид).

2-(2-Хлорфенил)оксиран (4). К смеси 7.0 г (49.8 ммоль, 5.6 мл) 2-хлорбензальдегида (**3**) и 14.2 г (69.7 ммоль) иодида триметилсульфония в 30 мл ДМСО прибавляли по каплям при температуре не выше 5°C раствор 7.0 г (62.2 ммоль) *трет*-бутилата калия в 30 мл ДМСО, перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. К реакционной массе при температуре не выше 5°C прибавляли по каплям 150 мл воды, экстрагировали диэтиловым эфиром (3 раза по 30 мл), объединенные органические фазы промывали водой, сушили над сульфатом магния, упаривали растворитель в вакууме водоструйного насоса, остаток перегоняли в вакууме водоструйного насоса, собирая фракцию с т.кип. 98–102°C/20 мм рт.ст. Выход 2.0 г (26%), желтоватое масло. $\text{C}_8\text{H}_7\text{ClO}$. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м.д.: 2.67 д.д. (1H, CH_2 , J 5.5, 2.6 Гц), 3.20 д.д. (1H, CH_2 , J 5.5, 4.0 Гц), 4.22 м (1H, CH), 7.18–7.28 м (3H, $\text{CH}_{\text{аром}}$), 7.36 д.д. (1H, $\text{CH}_{\text{аром}}$, J 5.1, 2.9 Гц).

2-(*трет*-Бутиламино)-1-(2-хлорфенил)этанол (1). К 2.1 г (13.5 ммоль) соединения **4** в 5.5 мл воды добавляли 1.3 г (17.5 ммоль, 1.9 мл) *трет*-бутиламина и перемешивали реакционную массу при комнатной температуре в течение 48 ч, добавляли 5.5 мл воды и экстрагировали диэтиловым эфиром (2 раза по 20 мл), сушили над сульфатом магния и упаривали растворитель в вакууме водоструйного насоса. Остаток очищали методом колоночной хроматографии, элюент хлороформ. Выход 1.8 г (59%), белые кристаллы, т.пл. 89–91°C (89–90°C [9]). R_f 0.10 (хлороформ). $C_{12}H_{18}ClNO$. Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$), δ , м.д.: 1.10 с [9H, C(CH₃)₃], 2.47 д.д (1H, CH₂, J 12.5, 8.8 Гц), 3.13 уш.с (2H, NH, OH), 3.05 д.д (1H, CH₂, J 12.1, 3.3 Гц), 5.01 д.д (1H, CH, J 8.4, 3.3 Гц), 7.25 д.д (1H, CH_{аром}, J 7.3, 1.5 Гц), 7.28–7.40 м (2H_{аром}), 7.64 д (1H_{аром}, J 8.8 Гц).

Гидрохлорид 2-(*трет*-бутиламино)-1-(2-хлорфенил)этанола (5). К раствору 1.8 г (7.9 ммоль) соединения **1** в 30 мл диэтилового эфира добавляли 0.9 мл (7.9 ммоль) 8.5 М раствора хлороводорода в изопропанол, выпавший осадок отфильтровывали, промывали диэтиловым эфиром и сушили над фосфорным ангидридом. Выход 1.9 г (91%), белые кристаллы, т.пл. 165–167°C. $C_{12}H_{18}ClNO \cdot HCl$. Спектр ЯМР 1H ($DMCO-d_6$), δ , м.д.: 1.31 с [9H, C(CH₃)₃], 2.70 д (1H, CH₂, J 12.3 Гц), 3.07 д (1H, CH₂, J 12.4 Гц), 5.31 д (1H, CH, J 10.1 Гц), 6.37 с (1H, OH), 7.37 д.д (1H_{аром}, J 7.3, 1.5 Гц), 7.41–7.49 м (2H_{аром}), 7.69 д (1H_{аром}, J 8.8 Гц), 8.64 уш.с (1H, NH), 9.20 уш.с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C ($DMCO-d_6$), δ , м.д.: 25.4 [(C(CH₃)₃)C], 47.1 [C(CH₃)₃], 57.0 (CH₂), 66.3 (CHON), 128.0 (C^{4,5}), 128.5 (C³), 129.7 (C⁶), 131.4 (C²), 139.5 (C¹). Масс-спектр ВЭЖХ-МС низкого разрешения, m/z : 228.23 [$M + H$]⁺. Масс-спектр ВЭЖХ-МС высокого разрешения, m/z : 228.11490 [$M + H$]⁺. Масс-спектр ГХ-МС, m/z : 141 [$M - CH_2 = NH - C(CH_3)_3$]⁺, 86 [$CH_2 = NH - C(CH_3)_3$]⁺.

4-Бензилокси-2-хлорбензальдегид (7). К перемешиваемой смеси 2.0 г (12.8 ммоль) 4-гидрокси-2-хлорбензальдегида (**6**), 3.4 г (24.6 ммоль) карбоната калия, 2.0 г (5.4 ммоль) бензилтриэтил-аммоний хлорида в 80 мл сухого ацетонитрила прибавляли по каплям 1.2 г (18.8 ммоль, 1.1 мл) бензилхлорида и оставляли на ночь. Реакционную массу отфильтровывали, фильтрат упаривали в вакууме водоструйного насоса, экстрагировали этилацетатом и получали 1.8 г технического соединения **7**. Продукт был очищен методом колоночной хроматографии, элюент – хлороформ–метанол, 10:1. Выход 1.7 г (53%), белые кристаллы, т.пл. 71–72°C

(68–69°C [14]). R_f 0.70 (хлороформ–метанол, 10:1). $C_{14}H_{11}ClO_2$. Спектр ЯМР 1H ($DMCO-d_6$), δ , м.д.: 5.28 с (2H, CH₂O), 7.18 д.д (1H_{аром}, J 8.8, 2.2 Гц), 7.30 д (1H_{аром}, J 2.2 Гц), 7.33–7.57 м (5H_{аром}), 7.86 д (1H_{аром}, J 8.8 Гц), 10.21 с (1H, CHO).

2-[4-(Бензилокси)-2-хлорфенил]оксиран (8). К смеси 1.7 г (6.7 ммоль) соединения **7** и 1.9 г (9.4 ммоль) иодида триметилсульфония в 5 мл $DMCO$ прибавляли по каплям при температуре не выше 5°C раствор 1.0 г (8.4 ммоль) *трет*-бутилата калия в 5 мл $DMCO$, перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. К реакционной массе при температуре не выше 5°C прибавляли по каплям 20 мл воды, экстрагировали диэтиловым эфиром (3 раза по 5 мл), объединенные органические фазы промывали водой, рассолом, сушили над сульфатом магния, растворитель упаривали в вакууме водоструйного насоса. Выход 1.5 г (93%), т.пл. 39–40°C. $C_{15}H_{13}ClO_2$. Спектр ЯМР 1H ($DMCO-d_6$), δ , м.д.: 2.74 д.д (1H, CH₂O, J 5.1, 2.9 Гц), 3.11 т (1H, CH₂O, J 5.1 Гц), 4.05 т (1H, CHO, J 2.9 Гц), 5.11 с (2H, CH₂O), 6.97 д.д (1H_{аром}, J 8.8, 2.2 Гц), 7.10 д (1H_{аром}, J 8.8 Гц), 7.13 д (1H_{аром}, J 2.2 Гц), 7.27–7.45 м (5H_{аром}).

1-[4-(Бензилокси)-2-хлорфенил]-2-(*трет*-бутиламино)этанол (9). К смеси 2.5 г (33.6 ммоль, 3.5 мл) *трет*-бутиламина и 3 мл воды добавляли порциями в течение 30 мин 1.5 г (5.8 ммоль) соединения **8** и перемешивали реакционную массу при кипячении в течение 3 ч, охлаждали и оставляли на ночь. Выпавший осадок отфильтровывали, сушили в вакуумированном эксикаторе над оксидом фосфора (V). Получали 1.7 г технического соединения **9**, которое было очищено методом колоночной хроматографии, элюент – хлороформ–метанол, 10:1. Выход 0.9 г (48%), белые кристаллы, т.пл. 89–91°C. R_f 0.38 (хлороформ–метанол, 10:1). $C_{19}H_{24}ClNO_2$. Спектр ЯМР 1H ($DMCO-d_6$), δ , м.д.: 1.03 с [9H, C(CH₃)₃], 2.44 д (1H, CH₂N, J 10.2 Гц), 2.64 д (1H, CH₂N, J 11.0 Гц), 4.81 д (1H, CHO, J 6.7 Гц), 5.13 с (2H, CH₂O), 5.36 уш.с (1H, NH), 7.02 д.д (1H_{аром}, J 8.1, 2.2 Гц), 7.06 д (1H_{аром}, J 2.2 Гц), 7.32–7.54 м (6H_{аром}).

4-[2-(*трет*-Бутиламино)-1-гидроксиэтил]-3-хлорфенол (2). К раствору 0.6 г (1.7 ммоль) соединения **9** в 30 мл этанола добавляли 0.1 г 5%-ного палладия на активированном угле и гидрировали в стальном автоклаве при комнатной температуре и давлении 5 ати в течение 30 мин. Далее реакционную массу отфильтровывали через слой целлита, растворитель упаривали в вакууме водоструйного

насоса и получали 0.4 г технического соединения **2**, которое было очищено методом колоночной хроматографии, элюент – хлороформ–метанол–25%-ный водный аммиак, 70:10:1. Выход 0.15 г (35%), светло-желтые кристаллы, т.пл. 79–80°C. R_f 0.33 (хлороформ–метанол–25%-ный водный аммиак, 70:10:1). $C_{12}H_{18}ClNO_2$. Спектр ЯМР 1H (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 1.03 с [9H, C(CH $_3$) $_3$], 2.44 д.д (1H, CH $_2$ N, J 11.7, 8.8 Гц), 2.61 д.д (1H, CH $_2$ N, J 11.7, 2.9 Гц), 3.35 уш.с (2H, NH и OH), 4.78 д.д (1H, CHO, J 8.8, 2.9 Гц), 6.70–6.80 м (2H $_{аром}$), 7.37 д (1H $_{аром}$, J 9.5 Гц). Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 29.4 [(C(CH $_3$) $_3$)C], 49.7 [C(CH $_3$) $_3$], 50.1 (CH $_2$), 69.6 (CHON), 114.9 (C 5), 115.7 (C 6), 128.9 (C 3), 131.4 (C 2), 132.4 (C 1), 157.4 (C 4). Масс-спектр ВЭЖХ-МС низкого разрешения, m/z : 243.85 [$M + H$] $^+$. Масс-спектр ВЭЖХ-МС высокого разрешения, m/z : 244.10941 [$M + H$] $^+$, 242.09538 [$M - H$] $^+$. Масс-спектр ГХ-МС бис-О-триметилсилильного производного, m/z : 301 [$M - CH_2=NH-C(CH_3)_3$] $^+$, 86 [$CH_2=NH-C(CH_3)_3$] $^+$.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Patel K.R. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **1986**, *21*, 234–237. doi 10.1111/j.1365-2125.1986.tb05182.x
- Ruff F., Zander J.F., Edoute V., Santais M.C., Flavahan N.A., Verbeuren T.J., Vanhoutte P.M. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1988**, *244*, 173–180.
- Riba A., Dal-Re R., Morell F. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1988**, *35*, 77–79. doi 10.1007/BF00555511
- Botsoglou N.A., Fletouris D.J. *Drug Residues in Foods. Pharmacology, Food Safety and Analysis*. N.-Y.: Marcel Dekker, **2001**, 214–221.
- Matsumura K., Kubo O., Sakashita T., Kato H., Watanabe K., Hirobe M. *Drug Metab. Dispos.* **1982**, *10*, 537–541.
- Bres J., Clauzel A.M., Piste M.C., Rachmat H., Bressole F. *Bull. Eur. Physiopathol. Respir.* **1985**, *21*, 19–34.
- Matsumura K., Kubo O., Sakashita T., Adachi Y., Kato H. *J. Chromatogr.* **1981**, *222*, 53–60. doi 10.1016/s0378-4347(00)81032-4
- Ito Y., Kato H., Koshinaka E., Kurata S., Morikawa K. Европ. заявка EP 420120. *C.A.* **1991**, *115*, 49085p.
- Koshinaka E., Kurata S., Yamagishi K., Kubo S., Kato H. *Yakugaku Zasshi.* **1978**, *98*, 1198–1207. doi 10.1248/yakushi1947.98.9_1198
- Franzen V., Driesen H-E. *Chem. Ber.* **1963**, *96*, 1881–1890. doi 10.1002/cber.19630960722
- Попков С.В., Коваленко Л.В., Тащи В.П., Богельфер Л.Я. *Изв. АН. Сер. Хим.* **1994**, *8*, 1439–1444.
- Park C.-H., Min H.K., Lim M.-J., Lee J.-W., Chung J.-Y., Ryu C.-H., Yoon Y.-J., Ji M.-K., Park J.-Y. Европ. заявка EP 2401263B1. *C.A.* **2010**, *153*, 382933.
- Hodgson H.H., Jenkinson T.A. *J. Chem. Soc.* **1927**, *1*, 1740–1742. doi 10.1039/JR9270001740
- Kimachi T., Kawase M., Matsuki S., Tanaka K., Yoneda F. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1.* **1990**, 253–256. doi 10.1039/P19900000253

The Synthesis of β_2 -Agonist Tulobuterol and Its Metabolite 4-Hydroxytulobuterol

M. A. Glushkova*, S. V. Popkov, and M. L. Burdeinyi

D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, 125047, Russia, Moscow, Miusskaya pl. 9

*e-mail: maria-n1002@mail.ru

Received September 13, 2019; revised January 18, 2020; accepted January 20, 2020

Alternative methods of synthesis of β_2 -agonist of tulobuterol and its metabolite - 4-hydroxy-analog, exhibiting similar activity, using available reagents have been developed. These compounds were obtained according to the schemes, the key stage of which is the formation of an intermediate oxirane by the reaction of the Corey-Chaykovsky. The opening of the oxirane cycle was carried out with an excess of *tert*-butylamine. In the synthesis of 4-hydroxytulobuterol, benzyl protection was used to protect the hydroxyl group, which was removed at the final stage by hydrogenolysis in the presence of palladium on carbon.

Keywords: β_2 -agonists, tulobuterol, metabolite, reaction of the Corey–Chaykovsky, benzyl protection