

## Синтез

УДК 615.015.4.668.53:547.298

Мерзлікін С.І., Болотов В.В.  
Національний фармацевтичний університет

### Залежність чистоти діакамфу від умов синтезу

Методом високоефективної рідинної хроматографії досліджено чистоту зразків діакамфу – нового антидіабетичного фармакологічного засобу, одержаних за різних температурних умов. Встановлено, що напрямок нуклеофільної атаки циклу ангїдриду камфорної кислоти *o*-фенілендіаміном обумовлений екрануючим впливом  $\text{CH}_3$ -групи при  $\text{C}_1$  і температурою реакційного середовища.

Діакамф – новий антидіабетичний фармакологічний засіб, розроблений у Національному фармацевтичному університеті [1,2,5,9-12].

При відпрацюванні технології одержання діакамфу методом сплавлення вихідних інгредієнтів (Схема. I і II) нами встановлено [3,7], що утворення основної сполуки супроводжується утворенням двох технологічних домішок: лактаму (VII) та транс-діакамфу (VIII). Встановлено, що внаслідок високої температури реакційного середовища (~200 °C) молекула діакамфу зазнає два процеси структурних змін. У першому випадку це пов'язано із дегідратацією, а у другому – із ізомеризацією у транс-форму. Наявність даних процесів зареєстровано нами на дериватограмі зразка діакамфу методом термогравіметрії [8], а структуру технологічних домішок VII і VIII доведено методом ЯМР-спектроскопії [6]. Крім того, дані сполуки одержані нами за індивідуальними методиками [8].

Для збільшення виходу кінцевого продукту нами розроблено методику одержання діакамфу в органічних розчинниках [7]. Так, при проведенні реакції у киплячому ксилолі із реакційного середовища виділено тільки одну технологічну домішку – лактам (VII). Методом тонкошарової хроматографії [4] утворення будь-яких інших побічних продуктів не виявили.

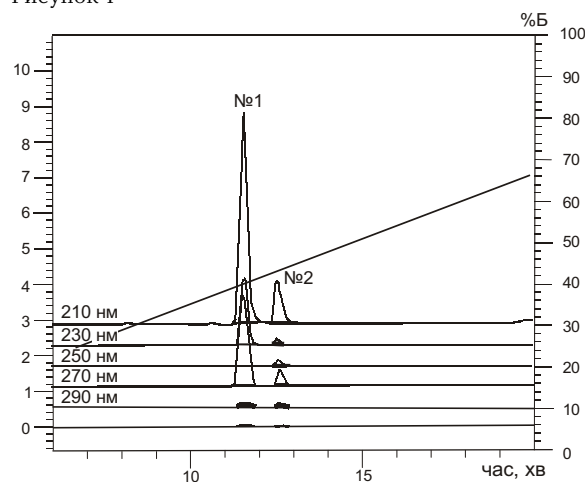
Для дослідження чистоти діакамфу використовували метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

#### Результати досліджень та їх обговорення

На хроматограмі зразка діакамфу, одержаного у ксилолі, зареєстровано два піки (Рис. 1): основної сполуки (пік 1) та домішки (пік 2), які мають величини абсолютного часу утримування ((11.78±0.01) хв та (12.77±0.07)

хв, відповідно) й абсолютного об'єму утримування (1178 мкл та 1277 мкл, відповідно) (Таблиця). За співвідносності площ зазначених піків кількісний вміст домішки (пік 2) дорівнює 14.5%. Для оцінки хроматографічних параметрів розділення піків 1 і 2 нами розраховано ступінь їх розділення ( $R_s$ ), селективність  $\alpha$  та коефіцієнт ємності ( $k'$ ) (Таблиця).

Рисунок 1



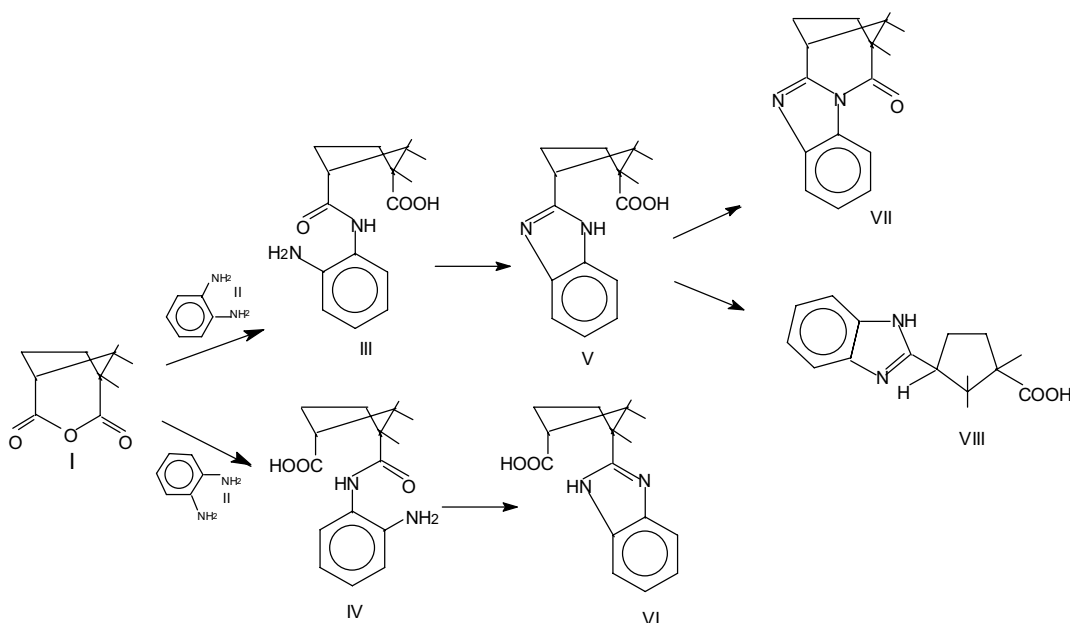
Хроматограма зразка діакамфу, одержаного у ксилолі

Встановлено, що ці дві сполуки мають аналогічні УФ-спектри (Рис. 2) із максимумами за довжин хвиль 270 нм та 280 нм і співвідносні спектральні відношення, які розраховували шляхом ділення значень оптичної густини за однієї із чотирьох довжин хвиль: 230 нм, 250 нм, 270 нм і 290 нм на значення оптичної густини за довжини хвилі 210 нм.

Розділити дані сполуки методом перекристалізації не вдалося.

Можна передбачити, що на відміну від переважного утворення  $\alpha$ -ариламідів ( $\pm$ )-камфорної кислоти [3] нуклеофільна атака ангїдриду (I) *o*-фенілендіаміном (II) у ксилолі одночасно відбувається за двома напрямками:

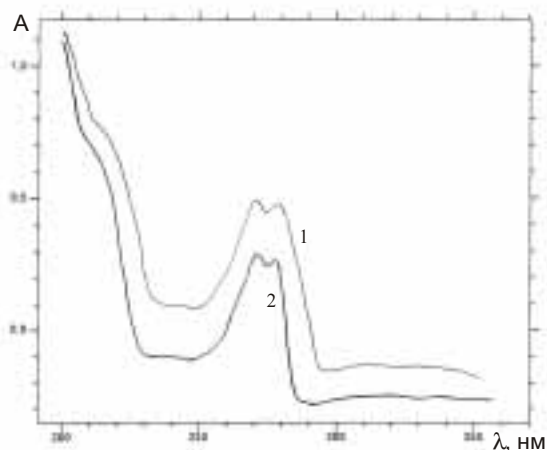
Схема



### Одержання діакаmfу; його $\beta$ -структурний ізомер і технологічні домішки

за неекранованим  $\text{CH}_3$ -групою карбонільним атомом вуглецю при  $\text{C}_3$  та за карбонілом при  $\text{C}_1$  із утворенням суміші проміжних  $\alpha$ - та  $\beta$ -амідів. У першому випадку утворюється  $\alpha$ -2'-амінофеніламід ( $\pm$ )-камфорної кислоти (III), а у другому -  $\beta$ -2'-амінофеніламід (IV). Внаслідок їх циклодегідратації далі утворюються відповідні ізомери: ( $\pm$ )-цис-3-(2'-бензімідазоліл)-1,2,2-триметилциклопентанкарбонова кислота (V,  $\alpha$ -діакаmf) і ( $\pm$ )-цис-1-(2'-бензімідазоліл)-1,2,2-триметилциклопентанкарбонова кислота (VI,  $\beta$ -діакаmf).

Рисунок 2

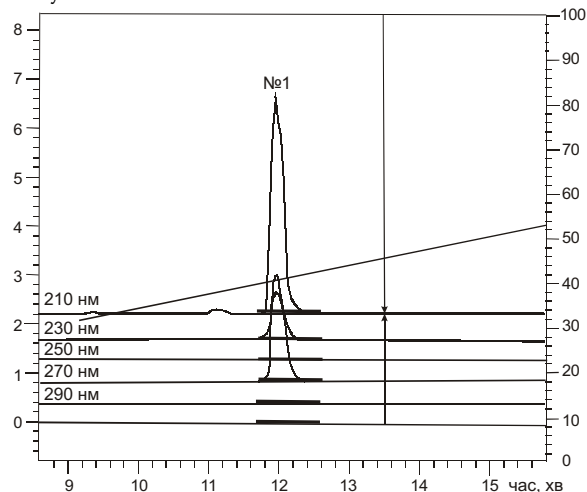


УФ-спектри  $\alpha$ - (1) і  $\beta$ - (2) структурних ізомерів діакаmfу

Для запобігання утворенню  $\beta$ -ізомеру діакаmfу (VI) нами запропоновано технологію одержання діакаmfу в толуолі.

На хроматограмі діакаmfу (Рис. 3), одержаного у зазначеному розчиннику, визначається тільки один пік основної сполуки із параметрами утримування, зазначеними у Таблиці.

Рисунок 3



Хроматограма зразка діакаmfу, одержаного в толуолі

Таким чином встановлено, що при ацилюванні *o*-фенілендіаміну камфорним ангідридом у толуолі нуклеофільна атака ангідридного циклу відбувається тільки за карбонільним атомом вуглецю при  $\text{C}_3$  із утворенням  $\alpha$ -діакаmfу (V), тобто напрямок нуклеофільної атаки ангідридного циклу (I) обумовлений не тільки екрануючим впливом  $\text{CH}_3$ -

групи при  $C_1$ , а і температурою реакційного середовища.

Одержані результати підтверджуються даними ЯМР-спектроскопічних досліджень діакамфу та його  $\beta$ -ізомеру. Результати цих дослідження будуть викладені в окремій публікації.

**Експериментальна частина**

Хроматографічний аналіз зразків діакамфу проводили на мікроколонковому рідинному хроматографі "Міліхром А-02" (Новосибірськ, АТ "Еконова").

В аналізі використовували колонку хроматографічну оберненофазову завдовжки 75 мм, діаметром 2 мм (сорбент Nucleosil  $C_{18}$  5 мкм) та детектор – двопроміневий мультиспектральний УФ-спектрофотометр (діапазон хвиль 190-360 нм, точність довжини хвилі 0.5 нм). Температура колонки 35 °С. Хроматографування проводили у градієнтному режимі із застосуванням буферного розчину рН 2.18 – елюент А (0.2 М розчин літію перхлорату та 0.01 М розчин кислоти фосфорної). Як елюент Б використовували ацетонітрил. Градієнтне подавання проводили від 2 % до 100 % елюенту Б за 25 хв та 5 хв 100 % елюенту Б. Концентрація зразка – 10 мкг/мл, об'єм проби – 3 мкл, швидкість рухомої фази 100 мкл/хв, час хроматографування – 20 хв.

Оптичну густину вимірювали за довжин хвиль: 210 нм, 230 нм, 250 нм, 270 нм, 290 нм.

**(±)-Цис-3-(2'-бензімідазоліл)-1,2,2-триметилциклопентанкарбонова кислота (V)**

У круглодонну колбу місткістю 20 мл поміщають 1.82 г (0.01 моля) ангідриду (±)-камфорної кислоти, 1.08 г (0.01 моля) о-фенілендіаміну та 15 мл ксилолу або толуолу. Колбу поміщають на повітряну баню та реакційну суміш кип'ятять протягом 3 год. Охолоджують, осад, що утворився, відфільтровують, висушують та кристалізують із етанолу. Вихід – 65 %.

**Висновки**

1. Методом ВЕРХ досліджено чистоту зразків діакамфу, одержаних за різних температурних умов. Виявлено, що одержання діакамфу у киплячому ксилолі призводить до утворення суміші  $\alpha$ - і  $\beta$ -структурних ізомерів діакамфу, а у толуолі – тільки до утворення  $\beta$ -діакамфу.

2. Встановлено, що напрямок нуклеофільної атаки циклу ангідриду камфорної кислоти о-фенілендіаміном обумовлений екрануючим впливом  $CH_3$ -групи при  $C_1$  і температурою реакційного середовища.

Таблиця

**Параметри утримування зразків діакамфу, одержаних у ксилолі та толуолі**

№ піка	Канал, нм	t, хв	Висота	Площа	Асим.	t <sub>абс</sub> , хв	V <sub>абс</sub> , мкл V <sub>абс</sub> = t <sub>абс</sub> · ω***
1*	210	11.797	5.564	1.03	0.6539	11.78±0.01	1178
	230	11.784	1.328	0.2447	0.6531		
	250	11.775	1.158	0.212	0.7006		
	270	11.783	2.947	0.5446	0.6474		
	290	11.798	0.02747	0.00505	0.6713		
2*	210	12.740	0.8599	0.1549	0.6288	12.77±0.07	1277
	230	12.733	0.1839	0.03297	0.6723		
	250	12.709	0.1613	0.0283	0.5659		
	270	12.732	0.4309	0.0775	0.6149		
	290	12.741	0.0414	0.0007333	0.6486		
1**	210	11.990	4.103	0.6521	0.6142	111.99±0.04	1199
	230	11.991	0.9649	0.1534	0.612		
	250	11.992	0.8433	0.1342	0.6157		
	270	11.993	2.138	0.3398	0.6204		
	290	11.994	0.02176	0.004067	0.6123		

Примітки:

\* - нумерація піків відповідно Рис. 1.

\*\* - нумерація піка відповідно Рис. 3.

\*\*\* - об'ємна швидкість рухомої фази 100 мкл/хв

## ЛІТЕРАТУРА

1. Боднар П.М., Кононенко Л.О., Мерзлікін С.І. Застосування препарату діакамф у лікуванні хворих на інсулінонезалежний цукровий діабет // Ендокринологія. — 1999. — Т. 4, № 1. — С. 110-111.
2. Боднар П.М., Мерзлікін С.І., Кононенко Л.О. Клінічне випробування цукрознижуючої та антиоксидантної дії діакамфу — нового фармакологічного засобу // Клінічна фармація. — 2001. - № 3(5). — С. 46-48.
3. Мерзликін С.И. Синтез, реакционная способность и биологическая активность функциональных производных ( $\pm$ )-камфорной кислоты: Автореф. дис. ... канд. хим. наук. — Харьков, 1991. — 23 с.
4. Мерзлікін С.І., Боднар В.С., Болотов В.В. Застосування хроматографії в тонких шарах сорбенту для ідентифікації діакамфу та її технологічних домішок // Вісник фармації. — 2002. - № 2 (29). — С. 14-16.
5. Мерзлікін С.І., Черних В.П. Пероральні цукрознижуючі засоби: досягнення та сучасні аспекти розробки // Фізіологічно активні речовини. — 2001. - № 2 (32). — С. 4-10.
6. Мерзликін С.И., Черных В.П., Яременко Ф.Г. Спектроскопия в идентификации побочных продуктов диакамфа // Фізіологічно активні речовини. — 2000. - № 2 (30). — С. 45-47.
7. Мерзлікін С.І., Черних В.П., Яременко Ф.Г. Розробка технології субстанції діакамфу — нового антидіабетичного фармакологічного засобу // Вісник фармації. — 2001. - № 1 (25). — С. 29-32.
8. Мерзликін С.И., Черных В.П., Яременко Ф.Г. Синтез диакамфа и установление структуры его примесей / Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки і практики. — 2001. — Вип. VII. — С. 66-71.
9. Полторак В.В., Гладких О.І., Мерзлікін С.І. та ін. Цукрознижуюча дія діакамфу у тварин з цукровим діабетом гетерогенного генезу // Вісник фармації. — 1997. - № 1 (15). — С. 81-84.
10. Poltorak V., Merzlikin S., Gladkikh A. et al. Antidiabetogenic effect of diacamph on the animals with heterogenous insulin insufficiency // Can. J. of Physiol. and Pharmacol. — 1994.- Vol. 72.- Suppl.1. — P. 229.
11. Poltorak V., Merzlikin S., Gladkikh A. et al. Novel non-sulfanylurea hypoglycemic agent Diacamph with protective effect on experimental diabetes development // Abstr. XV<sup>th</sup> International Diabetes Federation Congress. — Kobe, Japan, 1994. - P. 107.
12. Poltorak V., Merzlikin S., Gladkikh A. et al. Diacamph a new compound for the protection of the absolute insulin insufficiency development // Horm. and Metabolic. Res. Abstr. — Athens, Greece, 1995. - Suppl. 1. — P. 182.

## Резюме

Мерзликін С.И., Болотов В.В.

**Зависимость чистоты диакамфа от условий синтеза**

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии исследована чистота образцов диакамфа — нового антидиабетического средства, полученных в различных температурных условиях. Установлено, что направление нуклеофильной атаки цикла ангидрида камфорной кислоты *o*-фенилендиамином обусловлено экранирующим влиянием  $\text{CH}_3$ -группы при  $\text{C}_1$  и температурой реакционной среды.

## Summary

Merzlikin S., Bolotov V.

**Dependence of diacamph purity on the synthesis conditions**

By the HPLC-method an identification of samples of diacamph, a new antidiabetic pharmacological substance, obtained in different temperature conditions had been carried out. It has been established that the rate of nucleophilic attack of *o*-phenylendiamine on camphoric acid anhydride cycle with is caused by influence of  $\text{CH}_3$ -group at  $\text{C}_1$  and the by the reaction medium temperature.

**Мерзлікін Сергій Іванович** (н. 1958). Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1986). Доцент кафедри токсикологічної хімії НФаУ (2002). К.х.н. (1991).

**Болотов Валерій Васильович** (н. 1942) Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1964). Зав. кафедри аналітичної хімії НФаУ (1998). Д.х.н. (1987). Професор (1988).