

PŮVODNÍ PRÁCE

Syntéza a HPLC enantioseparácia nových derivátov 3-alkoxy-4-hydroxyfenylalkanónov typu potenciálnych α/β -blokátorov

Synthesis and HPLC enantioseparation of novel derivatives of 3-alkoxy-4-hydroxyphenylalkanones of a potential α/β -blocker type

Ružena Čižmáriková • Ladislav Habala • Jindra Valentová • Dana Šmátralová

Došlo 26. februára 2021 / Prijato 9. apríla 2021

Súhrn

V predkladanej práci bola reakciou 3-alkoxy-4-hydroxyfenylalkanónov s 2-chlórmetylloxiránom a v nasledujúcom stupni s heterocyklickými amínmi (pyrrolidínom, azepánom, 4-metylpiiperazínom a 2-metoxifenylpiiperazínom) syntetizovaná séria siedmich derivátov s heteroaminopropanolovým reťazcom. Uvedené zlúčeniny boli pripravené vo forme racemátov. Čistota pripravených látok bola potvrdená chromatografiou na tenkej vrstve a boli u nich zmerané UV, IČ a ^1H NMR spektrá. Enantioseparácia bola uskutočnená pomocou HPLC na chirálnej kolóne Chiralpak AD založenej na tris(3,5-dimetylphenyl)karbamáte. Účinnosť enantioseparácie bola sledovaná v závislosti od zloženia mobilnej fázy (hexán : etanol : metanol : etyletánamín) a od štruktúry pripravených látok. Enantioseparácia na základnú líniu sa dosiahla u všetkých látok v mobilných fázach A (78 : 11 : 11 : 0,1 v/v/v/v) a B (80 : 10 : 10 : 0,1 v/v/v/v), s faktorom selektivity v rozmedzí 1,07 – 1,42 a rozlíšením v rozmedzí 0,76 – 5,47. V mobilnej fáze so zvýšeným obsahom hexánu nedochádzalo k enantioseparácii piiperazínových derivátov.

Kľúčové slová: 3-alkoxy-4-hydroxyfenylalkanóny • beta-blokátory • enantioseparácia • HPLC • Chiralpak AD

Summary

The present paper reports the synthesis of a series of seven compounds with a hetero aminopropanol chain. The compounds were prepared by the conversion of 3-alkoxy-4-hydroxyphenyl alkanones

with 2-chloromethyl oxirane and subsequent reaction of the products with heterocyclic amines (pyrrolidine, azepane, 4-methylpiperazine and 2-methoxyphenyl piperazine). The target compounds were synthesized in the form of racemates. The purity of the products was confirmed by thin layer chromatography and their IR, UV-VIS and ^1H -NMR spectra were recorded. Enantioseparation of the racemic products was accomplished by HPLC on a Chiralpak AD chiral chromatographic column with tris(3,5-dimethylphenyl) carbamate as the chiral selector. The efficiency of enantioseparation was determined in relation to the composition of the mobile phase (hexane : ethanol : methanol : ethylethanamine) and to the structure of the prepared compounds. Baseline separation was achieved with all compounds using mobile phases A (78 : 11 : 11 : 0,1 v/v/v/v) and B (80 : 10 : 10 : 0,1 v/v/v/v), with selectivity factor ranging from 1.07 to 1.42 and resolution from 0.76 to 5.47. The mobile phase containing a higher amount of hexane did not allow for successful enantioseparation of the piperazine derivatives.

Key words: 3-alkoxy-4-hydroxyphenylalkanones • beta-blockers • enantioseparation • HPLC • Chiralpak AD

Úvod

Racemické deriváty s arylaminopropanolovým reťazcom je možné pripraviť niekoľkými metódami vo viacerých reakčných stupňoch. Najčastejší postup spočíva v reakcii prítomnej fenolickej skupiny s 2-chlórmetylloxiránom a v nasledujúcom stupni v otvorení oxiránového cyklu pomocou príslušného amínu¹). Z ďalších postupov je možné použiť otvorenie oxiránového cyklu pomocou kyseliny bromovodíkovej za vzniku 3-aryloxy-1-bróm-propán-2-olov s nasledujúcou reakciou s príslušnými amínmi²). U nových derivátov propanolu sa použili reakcie s benzoylchloridom, pyridínium

R. Čižmáriková • Ing. Ladislav Habala (✉) • J. Valentová • D. Šmátralová
Farmaceutická fakulta UK
Katedra chemickej teórie liečiv
Odbojárov 10, 832 32 Bratislava, SR
e-mail: habala@fpharm.uniba.sk

chlórchromátom a n-butylchloridom pomocou esterifikácie, oxidácie, redukcie a alkylácie³⁾.

Pripravené zlúčeniny typu aryloxyaminopropanolov majú v svojej štruktúre stereogénne centrum a existujú ako (*R*) a (*S*)-enantioméry, ktoré sa líšia svojimi farmakologickými a farmakokinetickými vlastnosťami⁴⁾.

Enantioméne čisté zlúčeniny aryloxyaminopropanolového typu sa syntetizujú pomocou stereoselektívnej reakcie prítomnej fenolickej skupiny príslušných zlúčenín s rôznymi chirálnymi prekurzormi, ako sú (*R*) a (*S*)-chlórmetoxyirány, (*S*)-glycidoltozylát, (*S*)- alebo (*R*)-2,3-*O*-isopropylidenglyceroltozylát, *E*-(2*S*,3*S*)-3-trimetylsilylglycidol a (*S*)-3-*tert*-butyl-5-fenyl-oxazolidín-5-ylmetanol. Mnohé z týchto chirálnych medziproduktov je možné pripraviť z prírodných látok, ako je *D*-manitol a kyselina *L*-askorbová^{5,6)}. Syntézu beta-blokátorov, ako sú betaxolol, metoprolol, sotalol a timolol, je možné uskutočniť použitím asymetrickej syntézy, vrátane bioenzymatických metód⁷⁾.

V skupine aryloxyaminopropanolov enantioselektívne rozdelenie jednotlivých racemátov je možné docieľiť pomocou rôznych analytických metód, ako sú HPLC, GC, CE, z ktorých najväčšie zastúpenie má HPLC s použitím priamej a nepriamej metódy. Pri priamej metóde sa používa chirálny selektor buď v stacionárnej, alebo v mobilnej fáze. Pri nepriamej metóde dochádza k derivatizácii látok pomocou chirálnych činidiel a následnej separácii na klasických nechirálnych kolónach.

Pri priamej separácii ide o rozdielnu interakciu látky s povrchom chirálnej stacionárnej fázy za vzniku prechodných diastereoizomérov. Delenie ovplyvňuje zloženie mobilnej fázy, veľkosť kolóny, teplota a iné fak-

tory. U beta-blokátorov aryloxyaminopropanolového typu bola použitá HPLC s využitím rôznych chirálnych kolón na báze β -cyklodextrínov⁸⁾, na kolónach Piklovehovo typu^{9,10)}, na báze proteínov (sérový albumín, α_1 -kyslý glykoproteín, ovomukoid)^{11,12)}, crown-éterov^{13,14)}, makrocyclických antibiotík (teikoplanin, vankomycín)^{15–17)} a polysacharidov (karbamáty celulózy a amylozy)^{18–20)}.

Experimentálna časť

Syntéza

(4-hydroxy-3-chlórmetylfenyl)alkanóny a (3-alkoxymetyl-4-hydroxyfenyl)alkanóny boli pripravené podľa metód^{21,22)}. [4-(3-heteroamino-2-hydroxypropoxy)fenyl]alkanóny boli pripravené metódou²³⁾ tak, ako je zobrazené v schéme 1.

(4-hydroxy-3-chlórmetyl-4-hydroxyfenyl)alkanón^{21,22)}

Do sulfonačnej banky opatrenej mechanickým miešadlom, kontaktným teplomerom a lievikom sa k zmesi 0,15 mol 4-hydroxyfenylalkanónu pridá 90 cm³ koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej. Teplota sa udržiava pri 45 – 50 °C a v priebehu 30 minút sa do reakčnej zmesi pridáva 0,15 mol paraformaldehydu a reakčná zmes sa pri danej teplote mieša 4,5 hodiny. Vypadnutý tuhý produkt sa odsaje, premyje vodou a kryštalizuje z benzénu alebo etylacetátu. T.t. 132 – 135 °C, výťažok 75 %.

1-[4-(hydroxy)-3-(chlórmetyl)fenyl]etanón

¹H NMR (CD₃OD): δ 2,53 (s, 3H, CH₃); 4,68 (s, 2H, CH₂); 6,86 – 6,89 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H, Ar-H⁵); 7,83 – 7,86 (dd, *J* = 2,4, *J* = 11,1 Hz, 1H, Ar-H⁶); 7,98 (s, 1H, Ar-H²).

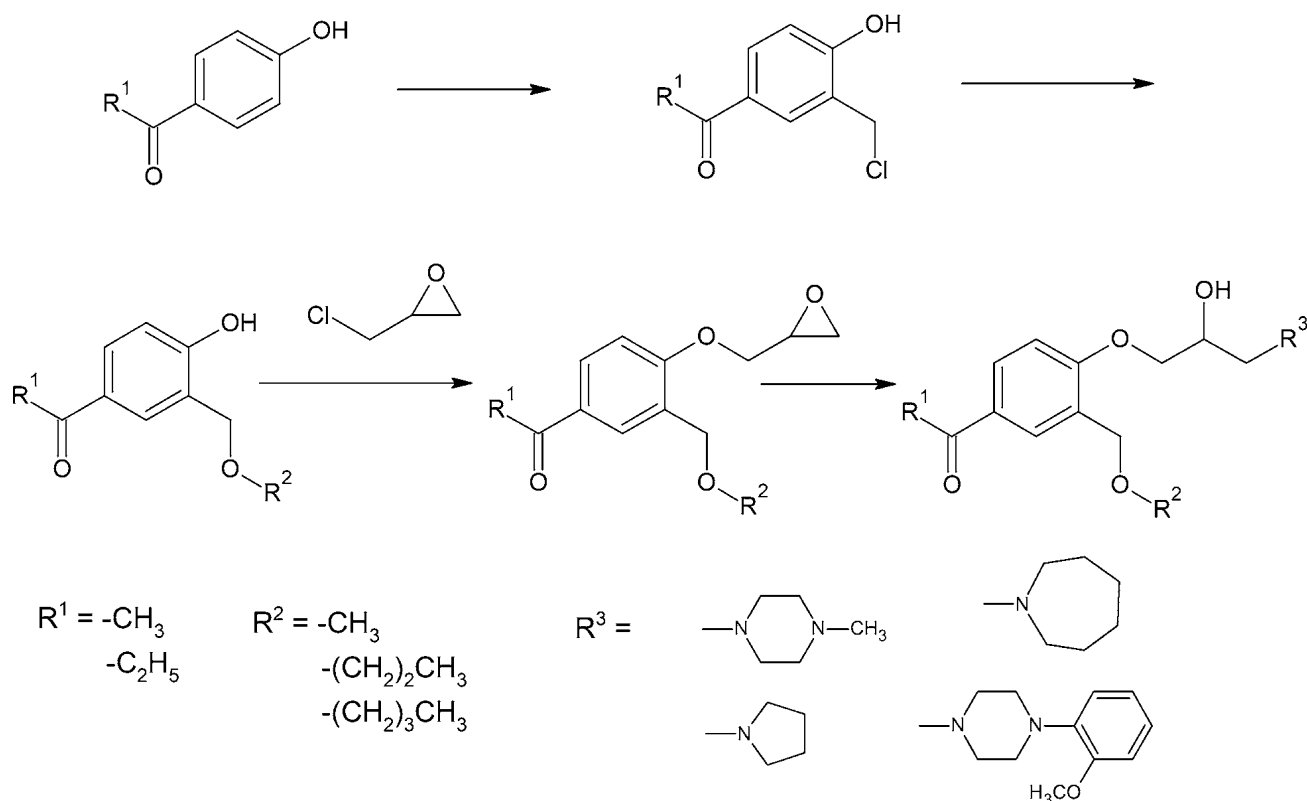


Schéma 1. Syntéza cieľových zlúčenín

1-[4-(hydroxy)-3-(chlórmetyl)fenyl]propán-1-ón

¹H NMR (CD₃OD): δ 1,10 – 1,15 (t, J = 7,1 Hz, 3H, CH₃); 2,53 – 2,57 (q, J = 7,2 Hz, 2H, CH₂CH₃); 4,68 (s, 2H, CH₂Cl); 6,85 – 6,89 (d, J = 9,4, 1H, Ar-H⁵); 7,82 – 7,85 (dd, J = 2,4, J = 11,2 Hz, 1H, Ar-H⁶); 7,99 (s, 1H, Ar-H⁷).

(3-alkoxymetyl-4-hydroxyfenyl)alkanóny^{20, 21)}

Do sulfonačnej banky opatrenej mechanickým miešadlom, kontaktným teplomerom sa k 0,12 mol (4-hydroxy-3-chlórmetyl-4-hydroxyfenyl)alkanónu pridá 100 cm³ suchého alkoholu (metanol, propán-1-ol, bután-1-ol). Pri teplote 40 – 50 °C sa k reakčnej zmesi v priebehu 1 hodiny pridáva 19,2 g (0,23 mol) hydrogénuhlčitanu sodného. Po oddestilovaní alkoholu sa olejovitý zvyšok kryštalizuje z hexánu alebo cyklohexánu.

Spektrálne charakteristiky sú uvedené v prácach^{21, 22)}.

1-[3-(alkoxymetyl)-4-(2,3-epoxypropoxy)fenyl]alkanóny

V trojhrdlovej banke opatrenej miešadlom, zábrusným teplomerom a chladičom sa nechá reagovať 4 hodiny pri teplote 50 – 55 °C zmes 0,15 mol 1-(3-alkoxymetyl-4-hydroxyfenyl)alkanónu, 0,17 mol epichlórhydrínu a suspenzie 0,16 mol 85 % KOH. Reakciou vzniknutý KCl sa odsaje a epichlórhydrín sa oddestiluje za zníženého tlaku. Zvyšok po destilácii sa vyextrahuje do dietyléteru alebo etylacetátu a pridá sa ako sušidlo MgSO₄. Po odfiltrovaní sušidla a oddestilovaní dietyléteru alebo etylacetátu sa olejový zvyšok použije v ďalšom reakčnom stupni.

1-[3-(alkoxymetyl)-4-(3-heteroamino-2-hydroxypropoxy)fenyl]alkanóny

Vo varnej banke opatrenej spätným chladičom sa v prostredí alkoholu zahrieva 0,08 mol [3-(alkoxymetyl)-4-(2,3-epoxypropoxy)fenyl]alkanónu a 0,16 mol heteroamínu (pyrolidín, azepán, 4-metylpiperazín a 2-metoxifynylpiperazín) 2 – 4 hodiny pri teplote 30 °C a potom ešte 4 – 5 hodín za varu. Pri syntéze bázy substituovanej metoxyfenylpiperazínom sa ako alkohol použil propán-1-ol, ktorý má vyššiu teplotu varu ako etanol. Po ukončení zahrievania sa etanol, resp. propán-1-ol, oddestiluje a ku zvyšku po destilácii sa pridá voda. Produkt sa extrahuje do etylacetátu a vysuší sa nad K₂CO₃. Finálna látka získaná vo forme bázy sa po oddestilovaní etylacetátu kryštalizuje z vhodného rozpúšťadla (hexánu, cyklohexánu). Príprava soli sa uskutoční tým, že do éterického roztoku bázy sa pridáva éterický roztok bezvodnej kyseliny fumarovej až do kvantitatívneho vyzrážania soli, ktoré je indikované ukončením tvorby zákalu. Vyzrážaná soľ v pomere báza : kyselina 2 : 1 sa prekryštalizuje z etylacetátu alebo propán-1-olu.

Teplota topenia syntetizovaných látok bola stanovená pomocou Koflerovho bloku (HMK, Franz Küstner, Nemecko) a je nekorigovaná. Čistota pripravených zlúčenín bola overená chromatografiou na tenkej vrstve (TLC) za použitia silikagélových platničiek Silufol® UV 254 (Merck) a dvoch mobilných fáz – etylacetát/ety-

letánamín 9/1 v/v a u látok III, V–VII propán-1-ol/etyl-letánamín 9,5/0,5 v/v.

Na detekciu pod UV svetlom bol použitý prístroj Spectroline CM-10 (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA).

Infračervené spektrá boli namerané *reflexnou* technikou s ATR nástavcom s ZnSe kryštálmi na spektrofotometri Nicolet 6700 (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA). Ultrafialové spektrá boli merané spektrofotometrom GENESYS 10S v oblasti vlnových dĺžok 200 – 400 nm. Koncentrácie meraných roztokov báz a solí pripravených aryloxyaminopropanolov v metanole boli približne 0,2 mol · m⁻³.

¹H-NMR spektrá boli namerané na prístroji Varian Gemini 2000 Spectrometer (Varian Inc., Palo Alto, USA) s pracovnou frekvenciou 300 MHz pre ¹H NMR. Ako vnútorný štandard bol použitý tetrametylsilán. Na rozpustenie vzoriek boli použité deuterované rozpúšťadlá: chloroform, metanol, DMSO, voda. Chemické posuny sú vyjadrené v ppm (Δ). Multiplicita signálov je vyjadrená ako: s – singlet, d – dublet, dd – dublet dubletu, t – triplet, q – kvartet, m – multiplet.

Elementárna analýza bola nameraná na prístroji FLASH 2000 Organic Elemental Analyzer (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA).

Separácia látok na kolóne s polysacharidovou stacionárnou fázou bola uskutočnená na HPLC systéme AGILENT 1200 (Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA) – autosampler, kvartérna pumpa, odplyňovač, DAD detektor, programová analýza dát softvérom Agilent ChemStation pre LC systém. Ako stacionárna fáza bola použitá chirálna amylozová fáza Chiralpak AD (0,46 × 25cm) 5 μm. Mobilná fáza bola zmesou hexánu, etanolu, metanolu a etyletánamínu v rôznom pomere. Látky boli zriedené metanolom na približnú koncentráciu 0,1 mg · ml⁻¹. HPLC rozpúšťadlá boli získané od firmy Merck (Darmstadt, Nemecko).

Podmienky chromatografickej analýzy

Chirálna stacionárna fáza: tris(3,5-dimetylfenylkarbamát)amyloza (Chiralpak AD)

Mobilné fázy: hexán : etanol : metanol : etyletánamín v pomere:

78 : 11 : 11 : 0,1 v/v/v/v

80 : 10 : 10 : 0,1 v/v/v/v

85 : 7,5 : 7,5 : 0,1 v/v/v/v

95 : 2,5 : 2,5 : 0,1 v/v/v/v

Prietok mobilnej fázy: 0,8 ml/min

Teplota kolóny: 25 °C

Dávkovaný objem: 20 μl

Detekcia: DAD detektor pri vlnovej dĺžke 265 nm ± 8 nm

Stanovené chromatografické parametre:

retenčný čas: t_1, t_2 kapacitné faktory: $k_1 = (t_1 - t_0) / t_0$

faktor selektivity: $\alpha = k_2 / k_1$ $k_2 = (t_2 - t_0) / t_0$

rozlišovací faktor: $R_s = 2(t_2 - t_1) / (w_1 + w_2)$

šírka píku: w_1, w_2

Tab. 1. Pripravené zlúčeniny

	Látka	R ¹	R ²	R ³
	I	CH ₃	(CH ₂) ₃ CH ₃	
	II	CH ₃	(CH ₂) ₃ CH ₃	
	III	CH ₃	(CH ₂) ₂ CH ₃	
	IV	CH ₂ CH ₃	CH ₃	
	V	CH ₂ CH ₃	CH ₃	
	VI	CH ₂ CH ₃	CH ₃	
	VII	CH ₂ CH ₃	(CH ₂) ₂ CH ₃	

I. (2RS)-bis-[1-[3-(4-acetyl-2-butoxymetylfenoxy)-2-hydroxypropyl]pyrolidínium]fumarát

Výťažok: 68 %; m.p. 124–125 °C (etylacetát); R_f: 0,62; IČ (cm⁻¹): 3414 (νOH), 1700 (νC=O), 1601 (νC=C), 1264 (νArOalk); UV (CH₃OH, ε v m² · mol⁻¹): λ₁ 222 log ε₁ 3,57, λ₂ 272 log ε₂ 3,59; ¹H-NMR (CDCl₃): δ 0,93 (t, J = 7,4 Hz 3H, CH₃^{alk}), 1,41–1,46 (m, 2H, CH₂^{alk}), 1,56–1,64 (m, 2H, CH₂^{alk}), 2,06–2,11 (m, 4H, 2×CH₂^{pyr,3,4}), 2,56 (s, 3H, COCH₃), 3,41 (m, 6H, CH₂N, 2×CH₂^{pyr,2,5}), 3,54 (t, J = 7,4 Hz, 2H, CH₂^{alk}), 4,54 (s, 2H, Ar-CH₂O), 6,66 (s, 2H, CH^{fum}), 6,84 (d, J = 8,9 Hz, 1H, Ar-H⁶), 7,80–7,86 (d, J = 9,3 Hz 1H, Ar-H⁵), 7,95–7,98 (dd, J = 9,4, 1,4 Hz, 1H, Ar-H⁵); fumarát C₄₄H₆₆O₁₂N₂, M_r 815,02; Anal. vypočítané %C 64,84 %H 8,16 %N 3,44 nájdené %C 64,53 %H 8,02 %N 3,22.

II. (2RS)-bis-[1-[3-(4-acetyl-2-butoxymetylfenoxy)-2-hydroxypropyl]azepánium]fumarát

Výťažok: 71 %; m.p. 84–87 °C (etylacetát); R_f: 0,69; IČ (cm⁻¹): 3427 (νOH), 1672 (νC=O), 1601 (νC=C), 1264 (νArOalk); UV (CH₃OH, ε v m² · mol⁻¹): λ₁ 220 log ε₁ 3,24, λ₂ 270 log ε₂ 3,21; ¹H-NMR (CDCl₃): δ 0,93 (t, J = 7,4 Hz 3H, CH₃^{alk}), 1,42–1,47 (m, 2H, CH₂^{alk}), 1,57–1,65 (m, 2H, CH₂^{alk}), 2,06–2,11 (m, 6H, 3×CH₂^{azepam,3,4,5}), 2,56 (s, 3H, COCH₃), 3,41 (m, 6H, CH₂N, 2×CH₂^{azepam,2,6}), 3,54 (t, J = 7,5 Hz 2H, CH₃^{alk}), 4,54 (s, 2H, Ar-CH₂O), 6,65 (s, 2H, CH^{fum}), 6,85 (d, J = 8,9 Hz 1H, Ar-H⁶), 7,84 (d, J = 9,3 Hz 1H, Ar-H⁵), 7,94 (dd, J = 9,5, 1,5 Hz 1H, Ar-H⁵); fumarát C₄₈H₇₄O₁₂N₂, M_r 871,14; Anal. vypočítané %C 66,18 %H 8,56 %N 3,22 nájdené %C 66,05 %H 8,32 %N 3,10.

III. (2RS)-bis-[1-[3-(4-acetyl-2-propoxymetylfenoxy)-2-hydroxypropyl]-4-metyl-piperazínium]fumarát

Výťažok: 76 %; m.p. 128–130 °C (etylacetát); R_f: 0,32; IČ (cm⁻¹): 3492 (νOH), 1662 (νC=O), 1602 (νC=C), 1260 (νArOalk); UV (CH₃OH, ε v m² · mol⁻¹): λ₁ 206 log ε₁ 3,67, λ₂ 274 log ε₂ 3,22; ¹H-NMR (CDCl₃): δ 0,95 (t, J = 7,3 Hz, 3H, CH₃^{alk}), 1,61–1,68 (m, 2H, CH₂^{alk}), 2,22 (s, 3H, CH₃-N^{pip}), 2,66 (s, 3H, CH₃-CO), 2,84 (m, 4H, CH₂^{piper,3,5}), 3,53 (t, J = 7,5 Hz, 3H, CH₃^{alk}), 4,15 (m, 4H, CH₂^{piper,2,6}), 4,16 (m, 2H, Ar-O-CH₂), 4,28 (m, 1H, CH-OH), 3,63

(m, 2H, CH₂-N^{pip}), 6,55 (s, 2H, CH^{fum}), 7,27 (d, J = 9,3 Hz, 1H, Ar-H⁴), 7,47 (s, 1H, Ar-H²), 7,49 (t, J = 7,5 Hz 1H, Ar-H⁶), 7,64 (d, J = 8,7 Hz, 1H, Ar-H⁵); fumarát C₄₄H₆₈N₂O₁₂, M_r 844,48; Anal. vypočítané %C 62,54 %H 8,11 %N 6,63 nájdené %C 62,33 %H 8,41 %N 6,51.

IV. (2RS)-bis-[1-[3-(2-metoxyme-4-propanoylfenoxy)-2-hydroxypropyl]pyrolidínium]fumarát

Výťažok: 66 %; m.p. 110–113 °C (etylacetát); R_f: 0,64; IČ (cm⁻¹): 3438 (νOH), 1678 (νC=O), 1602 (νC=C), 1256 (νArOalk); UV (CH₃OH, ε v m² · mol⁻¹): λ₁ 220 log ε₁ 3,19, λ₂ 270 log ε₂ 3,20; ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 1,17 (t, J = 7,5 Hz, 3H, COCH₂CH₃), 2,05–2,09 (m, 4H, CH₂^{pyr,3,4}), 3,01 (q, J = 7,1 Hz, 2H, COCH₂CH₃), 3,29–3,11 (m, 6H, NCH₂, CH₂^{pyr,2,5}), 3,57 (s, 3H, OCH₃), 4,12 (d, J = 7,3 Hz, 2H, OCH₂CH), 4,33–4,35 (m, 1H, OCH₂CH), 4,60 (s, 2H, ArCH₂), 6,66 (s, 2H, CH^{fum}), 7,07 (d, J = 9,2 Hz, 1H, Ar-H⁵), 7,95–8,01 (m, 2H, Ar-H^{2,6}); fumarát C₄₀H₅₈N₂O₁₂, M_r 758,89; Anal. vypočítané %C 63,31 %H 7,70 %N 3,63 nájdené %C 63,05 %H 7,42 %N 3,40.

V. (2RS)-bis-[1-[3-(2-metoxymetyl-4-propanoylfenoxy)-2-hydroxypropyl]-4-metyl-piperazínium]fumarát

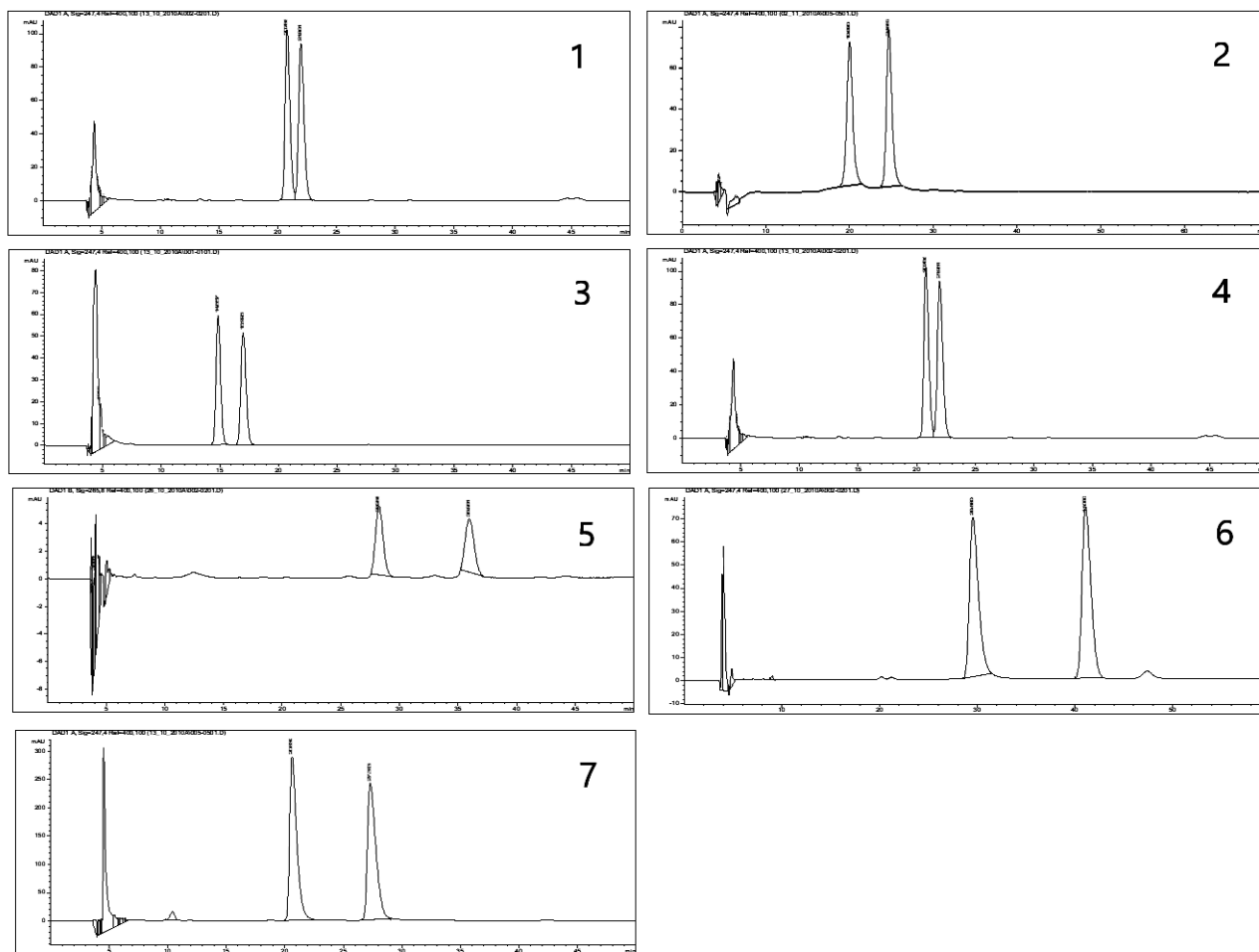
Výťažok: 68 %; m.p. 173–174 °C; R_f: 0,34; IČ (cm⁻¹): 3338 (νOH), 1678 (νC=O), 1603 (νC=C), 1267 (νArOalk); UV (CH₃OH, ε v m² · mol⁻¹): λ₁ 220 log ε₁ 3,67, λ₂ 270 log ε₂ 3,20; ¹H-NMR (CDCl₃): δ 1,17 (t, J = 7,5 Hz, 3H, COCH₂CH₃), 2,22 (s, 3H, CH₃-N^{pip}), 3,93 (q, J = 7,1 Hz, 2H, COCH₂CH₃), 2,84 (m, 4H, CH₂^{pip,3,5}), 3,56 (s, 3H, OCH₃), 3,63 (m, 2H, CH₂-N^{pip}), 4,15 (m, 4H, CH₂^{pip,2,6}), 4,16–4,28 (m, 3H, CH₂CHOH), 4,54 (s, 2H, ArCH₂), 6,55 (s, 2H, CH^{fum}), 7,27 (d, J = 9,0 Hz, 1H, Ar-H⁴), 7,47 (s, 1H, Ar-H²), 7,49 (t, J = 7,5 Hz, 1H, Ar-H⁶), 7,64 (d, J = 9,1 Hz 1H, Ar-H⁵); fumarát C₄₂H₆₄O₁₂N₄, M_r 816,46; Anal. vypočítané %C 61,75 %H 7,90 %N 6,86 nájdené %C 61,42 %H 7,71 %N 6,62.

VI. (2RS)-bis-[1-[3-(2-metoxymetyl-4-propanoylfenoxy)-2-hydroxypropyl]-4-(2-metoxifenyl)piperazínium]fumarát
Výťažok: 69 %; m.p. 163–165 °C (propán-2-ol); R_f: 0,50; IČ (cm⁻¹): 3491 (νOH), 1677 (νC=O), 1601 (νC=C), 1241 (νArOalk);

UV (CH_3OH , ϵ v $\text{m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$): λ_1 206 log ϵ_1 3,61, λ_2 268 log ϵ_2 3,30; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$): δ 1,18 (t, 7,4 Hz, 3H, COCH_2CH_3), 2,94 (q, J = 7,0 Hz, 2H, COCH_2CH_3), 2,60 – 2,95 (m, 10H, CH_2N , $\text{CH}_2^{\text{pip}2,3,5,6}$), 3,47 (s, 3H, CH_2OCH_3), 3,78 (s, 3H, ArOCH_3), 4,01 – 4,12 (m, 3H, CH_2CHOH), 4,52 (s, 2H, ArCH_2), 6,50 (s, 2H, CH^{fum}), 6,86 – 6,97 (m, 4H, pip-Ar), 6,88 – 6,93 (m, 5H, $\text{ArH}^{3'}$, $\text{ArH}^{4'}$, $\text{ArH}^{5'}$, $\text{ArH}^{6'}$, ArH^6), 7,12 (d, J = 9,3 Hz, 1H, ArH^5), 7,89 – 7,92 (m, 2H, $\text{ArH}^{2,6}$), 7,91 – 7,96 (m, 1H, ArH^2); fumarát $\text{C}_{54}\text{H}_{76}\text{O}_{14}\text{N}_4$, M_r 1005,22; Anal. vypočítané %C 66,52 %H 7,62 %N 5,57 nájdené %C 66,42 %H 7,51 %N 5,68.

VII. (2*R*S)-bis-[1-[3-(4-propanoyl-2-propoxymetyl)phenoxy]-2-hydroxypropyl]-4-(2-metoxyfenyl)piperazínium}fumarát

Výťažok: 72 %; m.p. 163 – 165 °C (propán-2-ol); R_f : 0,54; IČ (cm^{-1}): 3444 (vOH), 1681 (vC=O), 1601 (vC=C), 1236 (vArOalk); UV (CH_3OH , ϵ v $\text{m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$): λ_1 206 log ϵ_1 3,68, λ_2 270 log ϵ_2 3,30; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$): δ 0,95 (t, J = 7,3 Hz, 3H, CH_3^{alk}), 1,61 – 1,68 (m, 2H, CH_3^{alk}), 1,21 (t, 3H, J = 7,1 Hz, COCH_2CH_3), 2,90 – 2,97 (m, 2H, COCH_2CH_3), 2,66 – 2,91 (m, 10H, CH_2N , pip 2,3,5,6 H), 3,18 (s, 3H, CH_2OCH_3), 3,53 (t, J = 7,5 Hz, 2H, CH_3^{alk}), 3,70 (s, 3H, ArOCH_3), 4,02 – 4,08 (m, 3H, CH_2CHOH), 4,55 (s, 2H, ArCH_2), 6,88 – 6,93 (m, 5H, $\text{ArH}^{3'}$, $\text{ArH}^{4'}$, $\text{ArH}^{5'}$, $\text{ArH}^{6'}$, ArH^6), 7,12 (d, J = 9,0 Hz, 1H, ArH^5), 7,91 – 7,96 (m, 2H, $\text{ArH}^{2,6}$); fumarát $\text{C}_{58}\text{H}_{80}\text{O}_{14}\text{N}_2$, M_r 1057,30; Anal. vypočítané %C 65,89 %H 7,63 %N 5,30 nájdené %C 65,69 %H 7,33 %N 5,60.



Obr. 1. Chromatografický záznam: (1) látky **I** na CHIRALPAC AD v mobilnej fáze C, (2) látky **II** na CHIRALPAC AD v mobilnej fáze D, (3) látky **III** na CHIRALPAC AD v mobilnej fáze C, (4) látky **IV** na CHIRALPAC AD v mobilnej fáze C, (5) látky **V** na CHIRALPAC AD v mobilnej fáze C, (6) látky **VI** na CHIRALPAC AD v mobilnej fáze B, (7) látky **VII** na CHIRALPAC AD v mobilnej fáze C

Výsledky a diskusia

Látky **I–VII** (vid' schéma 1) boli pripravené overenou 5-stupňovou syntézou zo 4-hydroxyfenylalkanónov. Ich chlórmetyláciou s paraformaldehydom a kyselinou chlorovodíkovou pripravené (4-hydroxy-3-chlórmetylfenyl)alkanóny s príslušným alkoholom (metanolom, propán-1-olom a bután-1-olom) poskytujú (3-alkoxymetyl-4-hydroxyfenyl)alkanóny. Tieto sú hlavnými medziproduktami na naviazanie aminopropanolového reťazca reakciou s 2-chlórmetylloxiránom a v nasledujúcom stupni s príslušným amínom (pyri-

dínom, azepánom, 4-metylpiperazínom a 2-metoxyfenylpiperazínom).

Získané bázy vo forme viskózneho oleja s kyselinou fumarovou poskytovali fumaráty ako biele kryštalické látky v pomere báza : kyselina fumarová 2 : 1 a s výťažkom v rozmedzí 60 – 70 %. Ich čistota bola kontrolovaná chromatografiou na tenkej vrstve s mobilnou fázou etylacetát/etyletánamín, resp. propán-1-ol/etyletánamín. U pripravených fumarátov boli zmerané IČ, UV, a NMR spektrá. V IČ spektrách boli identifikované charakteristické pásy valenčných vibrácií pre funkčné skupiny: ν_{as} (OH) 3414 – 3492 cm^{-1} ;

Tab. 2. Chromatografické parametre pri podmienkach A, B, C, D

Podmienky	A			B			C			D		
	k_1	α	R_s	k_1	α	R_s	k_1	α	R_s	k_1	α	R_s
I	1,2	1,13	0,83	1,32	1,12	0,76	1,71	1,13	1,45	0,25	1,72	1,88
II	1,1	1,15	0,83	1,18	1,24	2,43	1,49	1,24	2,02	5,45	1,28	3,22
III	1,49	1,19	1,44	1,67	1,19	1,27	2,95	1,19	2,55		nd	
IV	3,1	1,07	0,83	3,34	1,07	1,05	6,6	1,31	4,4		nd	
V	3,98	1,33	4,13	4,76	1,31	2,96		nd			nd	
VI	5,57	1,45	5,01	6,64	1,45	4,08		nd			nd	
VII	2,92	1,41	3,21	3,3	1,42	5,47	4,52	1,4	5,14		nd	

nd – nedeliteľná

ν (C=O) 1662 – 1681 cm^{-1} ; ν (C=C)ar 1601 – 1603 cm^{-1} ; 1236 – 1267 cm^{-1} .

V UV spektrách pripravených zlúčenín sú prítomné dve absorpčné maximá, pri vlnových dĺžkach v rozmedzí 206 – 222 nm a 262 – 274 nm, s $\log \epsilon = 3,19 - 3,68$, zodpovedajúce $\pi - \pi^*$ -prechodom.

V $^1\text{H-NMR}$ spektrách pre vodíky metylénovej skupiny substituovaného alkoxy metylu (metoxy, propoxy a butoxy) singletové signály s posunom okolo 4,5 ppm. Vodíky propán-2-olového reťazca sú v spektrách prítomné ako multipletové signály s posunmi okolo 4,0 (ArOCH_2), 4,3 (CH) a 2,4 až 2,5 ppm (CH_2N). Metyloxy skupina naviazaná na aromatický kruh, 2-metyloxyfenylpiperazínový substituent je v spektrách prítomná ako singlet s posunom okolo 3,8 ppm. Piperazínové vodíky sú prítomné ako multipletové signály s posunmi 2,7 – 2,8 ppm. Interakčné konštanty tripletu a kvartetu propionylvej skupiny sú v zhode s konštantami v propiofenóne²⁴. V NMR spektrách dokazuje pomer báza : kyselina fumarová 2 : 1 dianión kyseliny fumarovej prítomný ako singlet s posunom 6,66 ppm, podobný singletu kyseliny fumarovej²⁵. Substitúciou jedného vodíka v kyseline fumarovej, akým je napr. monoetyl fumarát, sa *trans* vodíky prejavujú ako dublet²⁶.

Signály vodíkov na aromatickom jadre sú v oblasti 6,7 – 8,0 ppm. Interakčné konštanty aromatických vodíkov korešpondujú s konštantami trisubstituovaných benzénových derivátov²⁷ ako aj s konštantami iných betablokátorov²⁸.

Aryloxyaminopropanoly obsahujú vo svojej molekule chirálne centrum na strednom uhlíku propán-2-olového spojovacieho reťazca, čo spôsobuje existenciu dvoch enantiomérnych foriem *R* a *S*. V interakcii s chirálnym prostredím, ktorým je aj ľudský organizmus (prítomnosť D-sacharidov a L-aminokyselín), tieto enantioméry môžu vykazovať rozdielnu farmakologickú, farmakokinetickú aktivitu a môžu mať aj rozdielnu toxicitu. Na podobnom princípe je založená aj priama separácia látok na chirálnej kolóne. Ide o rozdielnu interakciu látky s povrchom chirálnej stationárnej fázy za vzniku prechodných diastereoizomérov. V práci použitá polysacharidová Chiralpak AD obsahuje tris(3,5-dimetylfenylkarbamát) amylozy, ktorý sa pripravuje

reakciou hydroxylových skupín amylozy s príslušnými izokyanátmi. Vonkajšia strana vzniknutej kavity je pokrytá hydrofóbnymi fenylmi a vnútorná strana je vyplnená karbamátovými zvyškami, s ktorými analyt tvorí vodíkové väzby. Separačná účinnosť je podporená aj tvorbou inklúzných komplexov a $\pi - \pi^*$ -interakcií aromatických skupín separovaného racemátu a fenylamidu. Tento typ chirálnej kolóny bol použitý v predchádzajúcich prácach aj na semipreparatívne rozdelenie zlúčenín s izopropylom a *tert*-butylom na bázičkom reťazci. U separovanej zlúčeniny pomocou CD bolo zistené, že izomér *R* sa eluuje pred *S*-enantiomérom²⁹.

Použitie mobilné fázy boli zložené zo 70 – 90 % hexánu, doplnené zmesou metanolu a etanolu v rôznych pomeroch s malým prídavkom etyletánamínu, ktorý zabezpečuje lepšiu separáciu bez chvostovania pík (mobilné fázy A – D). Prítomnosť alkoholov v mobilnej fáze napomáha lepšej enantioseparácii, ovplyvňuje tvorbu vodíkových väzieb a tým aj interakciu s kolónou.

Použitou chirálnou kolónou dochádza k rozdeleniu všetkých zlúčenín **I–VII** (tab. 1, obr. 1) v mobilných fázach A (78 : 11 : 11 : 0,1 v/v/v/v) a B (80 : 10 : 10 : 0,1 v/v/v/v) s faktorom selektivity v rozmedzí 1,07 – 1,42 a rozlišovacím faktorom v rozmedzí 0,76 – 5,47. V mobilnej fáze C dochádzalo k rozdeleniu látok s výnimkou **V** a **VI** s metoxymetylovou skupinou a piperazínom v bázičkej časti. Rozmedzie α bolo 1,13 – 1,40 a R_s 1,45 – 5,14. Zvýšením množstva hexánu v mobilnej fáze D sa rozdelili iba zlúčeniny **I** a **II** s pyrrolidínom a azepánom až na základnú líniu. Zlúčeniny s objemnejšími heterocyklami u látok **III–VII** neboli rozdelené, čo poukazuje v týchto mobilných fázach na sterické tienenie stereogénneho centra.

Štúdiom tejto separácie sa potvrdilo, že u takéhoto typu zlúčenín je vhodnejší tento typ chirálneho selektora pred chirálnymi kolónami založenými na báze makrocyclických antibiotík (vankomycínu, teikoplanínu a cyklohextrínu, v ktorých dochádzalo k rozdeleniu zlúčenín s rozvetveným alkylom na bázičkom dusíku³⁰).

Aryloxyaminopropanoly sú v klinickej praxi najviac používané kvôli ich β -adrenolytickému účinku. Obmenou štruktúry v hydrofilnej časti, kde je naviazaný heterocyclický amín, prevažuje účinok na α/β receptory^{31–34} a mnohé deriváty so zabudovaným piperazínom

vykazujú antimikróbnu³⁵⁾ aktivitu a sú potenciálnymi antihypertenzívami³⁶⁾.

Štret záujmov: žiaden.

Literatúra

1. Čižmáriková R., Borovanský A., Kozlovský J., Bédervá E., Dingová A. 4-(3-Alkylamino-2-hydroxypropoxy)-3-(alkoxymethyl)acetophenones. *Collect. Czech. Chem. Commun.* 1985; 50, 2289–2298.
2. Čižmáriková R., Račanská E., Hroboňová K., Lehotay J., Ághová Z., Halešová D. Synthesis, pharmacological activity and chromatographic separation of some novel potential β -blockers of the aryloxyaminopropanol type. *Pharmazie* 2003; 58, 237–241.
3. Tran V. A., Tran N. H. T., Bach L. G., Nguyen T. D., Nguyen T. T., Nguyen T. T., Nguyen T. A. N., Vo T. K., Vo T. T., Le V. T. Facile synthesis of propranolol and novel derivatives. *J. Chem.* 2020; 2020, art. no. 9597426.
4. Čižmáriková R., Habala L., Markuliak M., Valentová J. Survey of pharmacological activity and pharmacokinetics of selected β -adrenergic blockers in regard to their stereochemistry. *Appl. Sci.* 2019; 9, 625.
5. Čižmáriková R., Valentová J., Hutt A. J., Sedláková S. Blokátory β -adrenergických receptorov – skupina chirálnych liečiv. Stereoselektívna syntéza β -blokátorov. *Čes. slov. Farm.* 2005; 54, 201–206.
6. Agustian J., Kamaruddin A. H., Bhatia S. Single enantiomeric β -blockers – the existing technology. *Process Biochem.* 2010; 45, 1587–1604.
7. Saddique F. A., Zahoor A. F., Yousaf M., Irfan M., Ahmad M., Mansha A., Khan Z. A., Naqvi S. A. R. Synthetic approaches towards the synthesis of beta-blockers (betaxolol, metoprolol, sotalol, and timolol). *Turk. J. Chem.* 2016; 40, 193–224.
8. Muntean D. L., Hancu G., Hajnal K., Rusu A., Ciurba A. Cyclodextrine screening for the chiral separation of beta-blocker derivatives. *Rev. Chim.* 2015; 66, 1019–1023.
9. Yang Y., Wang Y., Bao Z., Yang Q., Zhang Z., Ren Q. Progress in the enantioseparation of β -blockers by chromatographic methods. *Molecules* 2021; 26, 468.
10. Pirkle W. H., Lee W. J. Separation of the enantiomers of β -blockers using brush type chiral stationary phase derived from conformationally rigid α -amino β -lactam. *Bull. Korean Chem. Soc.* 2010; 31, 620–623.
11. Barbato F., Carpentiero C., Grumetto L., La Rotonda M. I. Enantioselective retention of β -blocking agents on human serum albumin and α_1 -acid glycoprotein HPLC columns: Relationships with different scales of lipophilicity. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2009; 38, 472–478.
12. Imre S., Ormenişan A., Tero-Vescan A., Muntean D. L., Vari C. E. HPLC enantioseparation of β -blockers on ovomucoid stationary phase. *J. Chromatogr. Sci.* 2016; 54, 1578–1583.
13. Adhikari S., Lee W. Chiral separation using chiral crown ethers as chiral selectors in chirotechnology. *J. Pharm. Investig.* 2018; 48, 225–231.
14. Hyun M. H. Development of HPLC chiral stationary phases based on (+)-(18-crown-6)-2,3,11,12-tetracarboxylic acid and their applications. *Chirality* 2015; 27, 576–588.
15. George N., Herz M., Aboul-Enein H. Y., Shihata L., Hanafi R. Surface design of enantiomeric HPLC separation on vancomycin and teicoplanin-based stationary phases, a tool for chiral recognition of model β -blockers. *J. Chromatogr. Sci.* 2019; 57, 485–494.
16. Pocrnić M., Ansorge M., Dovhunová M., Habinovec I., Tesařová E., Galíć N. Chiral separation of beta-blockers by high-performance liquid chromatography and determination of bisoprolol enantiomers in surface waters. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 2020; 71, 56–62.
17. Xu B. J., Zhang D. T., Shen B. C., Xu X. Z. Enantioseparation of seven amino alcohols on teicoplanin chiral column. *Chinese J. Anal. Chem.* 2007; 35, 55–60.
18. Li M., Jiang Z., Di X., Song Y. Enantiomeric separation of six beta-adrenergic blockers on Chiralpak IB column and identification of chiral recognition mechanisms by molecular docking technique. *Biomed. Chromatogr.* 2020; 34, e4803.
19. Kalíková K., Martínková M., Schmid M. G., Tesařová E. Cellulose tris-(3,5-dimethylphenylcarbamate)-based chiral stationary phase for the enantioseparation of drugs in supercritical fluid chromatography: comparison with HPLC. *J. Sep. Sci.* 2018; 41, 1471–1478.
20. Mosiashvili L., Chankvetadze L., Farkas T., Chankvetadze B. On the effect of basic and acidic additives on the separation of the enantiomers of some basic drugs with polysaccharide-based chiral selectors and polar organic mobile phases. *J. Chromatogr. A* 2013; 1317, 167–174.
21. Čižmáriková R., Polakovičová M., Mišíková E. Synthesis, physicochemical properties, and conformational studies of (3-alkoxymethyl-4-hydroxyphenyl)ethanones. *Chem. Pap.* 2002; 56, 256–260.
22. Čižmáriková R., Markuliak M., Habala L., Valentová J., Bílková A. Synthesis, antimicrobial and antiradical activity of (3-alkoxymethyl-4-hydroxyphenyl)propan-1-ones intermediates of biological active compounds. *Eur. Pharm. J.* 2020; (v tlači).
23. Čižmáriková R., Némethy A., Valentová J., Hroboňová K., Bruchatá K. Synthesis and HPLC enantioseparation of derivatives of the 3-hydroxyphenylethanone. *Acta Fac. Pharm. Univ. Comen.* 2012; 59, 15–27.
24. ChemicalBook: Propiophenone (93-55-0) ¹H NMR. https://www.chemicalbook.com/spectrumen_93-55-0_1hnmr.htm
25. ChemicalBook: Fumaric acid (110-17-8) ¹H NMR. https://www.chemicalbook.com/SpectrumEN_110-17-8_1HNMR.htm
26. ChemicalBook: Monoethyl fumarate (2459-05-4) ¹H NMR. https://www.chemicalbook.com/SpectrumEN_2459-05-4_1HNMR.htm
27. Milata M., Sedlá P., Brezová V., Gatíal A., Kováčik V., Miglierini M., Stankovský Š., Šima J. Aplikovaná molekulová spektroskopia. Slovenská technická univerzita Bratislava 2008; 76.
28. Zielinsky-Pisklak M. A., Pisklak D. M., Wawer I. ¹H and ¹³C NMR characteristics of β -blockers. *Magn. Reson. Chem.* 2011; 49, 284–290.
29. Valentová J., Čižmáriková R., Bui T. T. T., Drake A. F., Hutt A. J. Enantiomeric resolution of novel aryloxyami-

- nopropanol derivatives with β -adrenoceptor antagonist activity on a derivatised amylose chiral stationary phase. *Chromatography* 2003; 58, 733–740.
30. **Hroboňová K., Lehotay J., Čižmáriková R., Armstrong D. W.** Study of mechanism of enantioseparation. Part I. Chiral analysis of alkylaminoderivatives of aryloxypropans by HPLC using macrocyclic antibiotics as chiral selectors. *J. Liq. Chromatogr.* 2001; 24, 2225–2238.
31. **Huang J. J., Huang Y. J., Zhu L., Yuan M., Huang L.** Design, synthesis and α_1 -adrenoceptor blocking activity of new arylpiperazines containing acetophenone substituents. *Pharmazie* 2014; 69, 578–584.
32. **Némethy A., Vavrinec P., Vavrinová-Yaghi D., Čepcová D., Mišúth S., Králová E., Čižmáriková R., Račanská E.** Synthesis and biological evaluation of new combined α/β -adrenergic blockers. *Arch. Pharm.* 2017; 350, e201600394.
33. **Huang J. J., Zhang Z. H., He F., Liu X. W., Xu X. J., Dai L. J., Liu Q. M., Yuan M.** Novel naftopidil derivatives containing methyl phenylacetate and their blocking effects on $\alpha_1D/1A$ -adrenoreceptor subtypes. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2018; 28, 547–551.
34. **Čižmáriková R., Némethy A., Habala L., Račanská E., Valentová J., Hroboňová K.** Synthesis, pharmacological activity and chromatographic enantioseparation of new heterocyclic compounds of the aryloxyaminopropanol type derived from 4-hydroxyphenylalkanones. *Monatsh. Chem.* 2018; 149, 969–976.
35. **Malík I., Csöllei J., Jampílek J., Stanzel L., Zdražilová I., Hošek J., Pospíšilová Š., Čížek A., Coffey A., O'Mahony J.** The structure–antimicrobial activity relationships of a promising class of the compounds containing the *N*-aryl piperazine scaffold. *Molecules* 2016; 21, 1274–1299.
36. **Cecchetti V., Schiaffella F., Tabarrini O., Fravolini A.** (1,4-benzothiazinyloxy)alkyl piperazine derivatives as potential antihypertensive agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2000; 10, 465–468.