

# Milrinon – svojstva i sinteza

Jelena M. Mirković, Dušan Ž. Mijin, Slobodan D. Petrović

Univerzitet u Beogradu, Tehnološko–metalurški fakultet, Beograd, Srbija

## Izvod

Milrinon (Primacor®, Corotrop®, Corotrope® ili Milrila®) pripada grupi bipiridinskih kardiotonika i vazodilatatora koji selektivno inhibiraju enzim fosfodiesterazu 3 (PDE-3). Primenuje se u terapiji kongestivne srčane insuficijencije dugi niz godina. Milrinon hemijski predstavlja 1,6-dihidro-2-metil-6-okso-(3,4'-bipiridin)-5-karbonitril-laktat. U literaturi postoje podaci o mogućem letalnom ishodu prilikom dugotrajne oralne primene ovog leka, zbog čega se daje intravenski, u kratkom vremenskom periodu. U radu je, na osnovu literaturnih podataka, dat pregled osnovnih svojstava, mehanizam delovanja i stabilnost milrinona, kao i načini za njegovo laboratorijsko i industrijsko dobijanje. Na kraju je dat način prečišćavanja kao i postupak izrade injekcija.

**Ključne reči:** milrinon, svojstva, mehanizam delovanja, sinteza.

Dostupno na Internetu sa adrese časopisa: <http://www.ache.org.rs/HI/>

STRUČNI RAD

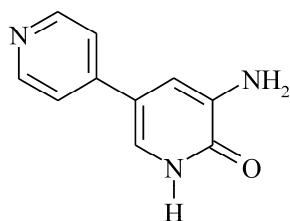
UDK 615.22:661.12

Hem. Ind. 67 (1) 17–25 (2013)

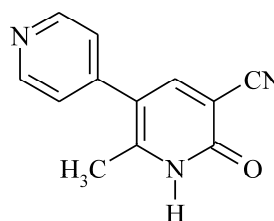
doi: 10.2298/HEMIND120410057M

Kardiotonični glikozidi (digoksin i digitoksin), otkriveni u 18. veku, godinama su predstavljali osnovni izbor u terapiji kongestivne srčane insuficijencije iako imaju nizak terapijski indeks (odnos količine leka koji izaziva terapeutsko dejstvo i toksične količine leka) i sklonost izazivanju aritmije [1–3]. Noviji simpatomimetički lekovi, koji oponašaju delovanje adrenalina i noradre-

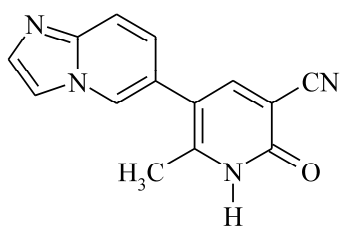
nalina, (dobutamin, dopamin) nisu aktivni nakon oralne primene i mogu da izazovu tahifilaksiju (gubitak odziva na produženu ili povećanu dozu leka) [4,5]. Zbog potrebe za sigurnijim i oralno efikasnijim lekom, počela je upotreba neglikozidnih, kardiotoničnih lekova kao što su amrinon (slika 1, jedinjenje 1) [6], milrinon (slika 1, jedinjenje 2) [7] i loprinon (slika 1, jedinjenje 3) [8].



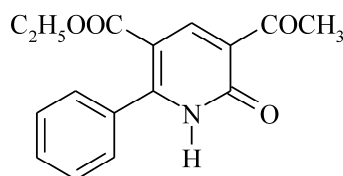
(1)



(2)



(3)



(4)

Slika 1. Struktura amrinona, milrinona, loprinona i analoga milrinona.  
Figure 1. Structure of amrinone, milrinone, loprinone and milrinone analogue.

Prepiska: J. Mirković, Tehnološko–metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Karnegijeva 4, p.pr. 3503, 11120 Beograd, Srbija.  
E-pošta: [jmirkovic@tmf.bg.ac.rs](mailto:jmirkovic@tmf.bg.ac.rs)  
Rad primljen: 10. april, 2012  
Rad prihvaćen: 16. maj, 2012

Takođe su se pojavili i analozi milrinona kao što je 6-fenil-5-etilkarboksi-4-acetil-2-piridon (slika 1, jedinjenje 4) [9]. Mnogi od ovih kardiotonika ispoljavaju pozitivan inotropni efekat (povećanje kontraktilnosti srčano-mišića) inhibicijom fosfodiesteraze 3 (PDE 3), pove-

ćanjem intracelularne koncentracije cikličnog adenozin-monofosfata (cAMP) [10,11] i miofibrilne koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  [12], aktiviranjem  $\beta$ -adrenergičkih receptora [9] ili kombinacijom više mehanizama [12,13].

Amrinon je bio prvi iz nove klase kardiotonika [6]. Milrinon je strukturni analog amrinona i aktivniji je od njega 20 do 50 puta i izaziva manje sporednih efekata [7,14–16]. Osnovna strukturna razlika između milrinona i amrinona jeste to što milrinon u položaju 2 piridonovog prstena ima metil-grupu, a umesto amino grupe u položaju 5 ima cijano grupu. Ispitivanja strukture i aktivnosti milrinona i amrinona pokazale su da je metil-grupa kod milrinona uzrok različite inotropne aktivnosti kao posledica elektronskog i hidrofobnog uticaja metil grupe u položaju 2 na bipiridinsku strukturu [14]. Pokazano je da uvođenje alkil-grupe u položaj 6 utiče na povećanje inotropne aktivnosti 10–100 puta nezavisno od supstituenta u položaju 3 [14,17]. Ispitivanja su, takođe, pokazala da su analozi milrinona sa fenil-grupom umesto metil-grupe neaktivni [18] i da 3-benzoil-2-fenil-6-(1*H*)-piridoni imaju negativan inotropni efekat [19].

Dorigo i saradnici su pokazali da 6-fenil-5-etilkarboksi-4-acetil-2-piridon (slika 1, jedinjenje **4**), koje je analog milrinona, ima veću inotropnu pozitivnu aktivnost i manje sporednih efekata od samog milrinona. Pokazano je da prisustvo drugog heterocikličnog prstena nije esencijalno za aktivnost i da zamena cijano grupe u položaju 3 lipofilnijom acetil-grupom smanjuje uticaj sternih smetnji fenil-grupe u položaju 6. Ovo otkriće je u skladu sa činjenicom da je povećanje lipofilnosti derivata piridina u korelaciji sa povećanjem inotropne aktivnosti [20]. Ovi rezultati su otvorili put obimnim istraživanjima strukture, aktivnosti i upotrebe jedinjenja analognih milrinonu.

Milrinon je u lekovitim preparatima prisutan u obliku soli, laktata, u koncentraciji 1 mg/ml u rastvorima za injekcije koji se pre primene razblažuju, odnosno, u koncentraciji od 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  u infuzionim rastvorima spremnim za upotrebu. Lekoviti preparati sa milrinonom su komercijalno dostupni pod nazivom Primacor® (Sanofi, SAD), Corotrop® (Sanofi Winthrop, Nemačka), Corotrope® (Sanofi Winthrop, Francuska) ili Milrila® (Yamanouchi, Japan).

## OPŠTA SVOJSTVA

Milrinon, 1,6-dihidro-2-metil-6-okso-(3,4'-bipiridin)-5-karbonitril, je bela do mrko žuta, higroskopna kristalna supstanca, molarne mase 211,22 g/mol i molekulske formule  $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}$ . Kristališe iz etanola ili dimetilformamida i vode. Temperatura topljenja je 315 °C, a ključanja je 449 °C. Čuva se pod hermetičkim uslovima i na sobnoj temperaturi. U vodi i hloroformu se praktično ne rastvara, u metanolu je slabo rastvoran, dok se u dimetil-sulfoksidu dobro rastvara [21–24]. Milrinon ima amfoterna svojstva i rastvaranje u vodi se može

postići uz dodatak natrijum-hidroksida ili hlorovodonične kiseline na sobnoj temperaturi uz mešanje u baznoj i kisloj sredini (pH 7–8 i 4–4,5). Nakon toga se doda aceton pet puta veće zapremine od zapremine rastvora i dobijeni rastvor se ohladi, nakon čega se formira beli talog. Zatim slede vakuum filtracija, ispiranje filtracione pogače acetonom, sušenje na vazduhu i vakuum sušenje na 105 °C u toku dva sata [25].

U čvrstom stanju milrinon-laktat je stabilan u obliku bezbojnih do bleđožuto obojenih kristala. U farmaceutskim oblicima je komercijalno dostupan kao sterilan vodeni rastvor za injekcije ili intravensku infuziju. Molarna masa milrinon-laktata je 301,3 g/mol, a molekulska formula  $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}\cdot\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ . Milrinon-laktat se dobija zagrevanjem čistog milrinona sa mlečnom kiselinom, nakon čega se dodaje aceton, vrši filtracija, ispiranje se vrši acetonom uz dodavanje dietil-etra i mešanje u ledenom kupatilu preko noći. Nakon toga ponovo se vrši filtracija i ispiranje dietil-etrom pri čemu se dobija milrinon-laktat čistoće preko 99% [26].

UV spektar milrinona pokazuje u vodenom kiselom rastvoru apsorpcione maksimume na 218, 266 i 327 nm, a u baznom na 282 i 331 nm. IR spektar milrinona (KBr disk) pokazuje pikove na 1666, 1574 i 590  $\text{cm}^{-1}$ , dok maseni spektar daje pikove na  $m/z$  vrednosti 211, 182, 184, 210, 212, 183, 155 i 156 [21].

Ispitivanje stepena čistoće milrinona, prema američkoj farmakopeji, se vrši tečnom hromatografijom. Kolona je L7, dimenzija 4,6 mm×25 cm. Detekcija se vrši na 220 nm, a protok je 1 ml/min. Mobilna faza je smeša fosfatnog pufera (pH 7,5) i acetonitrila u odnosu 80:20. Relativno retenciono vreme amida milrinona, koji predstavlja nečistoću milrinona, je 0,6, a milrinona 1,0. [24].

## MEHANIZAM DELOVANJA

Osobe koje pate od kongestivne srčane insuficijencije imaju značajno smanjenu sposobnost kontrakcije srčanih ćelija (kardiomiocita), koja može da bude posledica različitih patofizioloških mehanizama. Smanjena kontraktilnost najčešće je posledica opadanja količine jona kalcijuma u kardiomiocitima, koji omogućava interakciju između miozina i aktina koja prethodi kontrakciji. Kardiomiociti poseduju adrenergičke receptore čijom stimulacijom noradrenalinom i adrenalinom dolazi do povećanja intracelularne koncentracije cAMP koji dalje povećava aktivnost protein kinaza (PKA). Protein kinaze su funkcionalni proteini (enzimi) koji fosforiluju mnoga jedinjenja u kardiomiocitima i aktiviraju ili inhibiraju njihovu aktivnost. Fosfodiesteraze su enzimi odgovorni za razlaganje fosfodiesterne veze u molekulu cAMP. Prema tome kada fosfodiesteraza razgradi cAMP, količina PKA u ćelijama opada. Milrinon je selektivni inhibitor fosfodiesteraze 3 i sprečava degradaciju cAMP. Na taj način se aktivira PKA koja fosforiluje mnoge metabolite koji učestvuju u procesu

aktivacije kalcijumovih kanala. Fosforilovanje kalcijumovih kanala omogućava povećan ulazak kalcijuma u ćeliju i povećava kontraktilnost srčanih ćelija. PKA takođe fosforiluje kalijumove kanale i miozinske filamente koji posrednim mehanizmima utiču na povećanje kontraktilnosti [27,28].

Milrinon se brzo i skoro potpuno apsorbuje nakon oralne upotrebe, ali se u praksi najčešće daje intravenozno u obliku laktata i to u kratkom vremenskom periodu. Milrinon se koristi za lečenje teškog oblika srčane insuficijencije koja ne reaguje na druge oblike terapije i kod akutne srčane insuficijencije nakon operacije srca. Postoje literaturni podaci o mogućem letalnom ishodu prilikom dugotrajne oralne primene ovog leka. Bioraspoloživost je 92% kod zdravih dobrovoljaca, dok je kod srčanih bolesnika 76%. Poluvreme eliminacije je 2,3 h. Uglavnom se eliminiše iz organizma putem urina, i glavni proizvod metabolizma je O-glukuronid [21–23].

Doza milrinon-laktata se izražava kao doza baznog oblika. Milrinon-laktat mase 1,43 mg je ekvivalentan milrinonu mase 1 mg. Početna doza milrinona je 50 µg/kg težine pacijenta u prvih deset minuta, a nakon toga se održava na 0,375–0,75 ng/kg/min. Ukupna dnevna doza ne sme da bude veća od 1,13 mg/kg, a još manja bi trebalo da bude kod pacijenata sa bubrežnim oštećenjima. Nije preporučeno da se milrinon upotrebljava duže od 48 h. Tokom primanja terapije treba da se kontrolišu krvni pritisak, puls, EKG, ravnoteža elektrolita i tečnosti, kao i rad bubrega [23].

Milrinon kod pacijenata može da izazove aritmiju, hipotenziju, nepravilan rad srca (tahikardija), alergijske reakcije, bol u grudima, vrtoglavicu, bronhospazam i nizak nivo kalijuma. Uobičajne neželjene reakcije uključuju glavobolju, premore i trombocitopenija (modrice i krvarenja). Kod dece se aritmije ređe javljaju, ali se trombocitopenija javlja češće [23].

### STABILNOST MILRINONA

Ispitivanja su pokazala da je milrinon koncentracije 0,2 mg/ml stabilan 72 časa na sobnoj temperaturi u 0,45% i 0,9% natrijum-hloridnom rastvoru i 5% rastvoru dekstroze [29]. Takođe je ispitivana stabilnost milrinona u kombinaciji sa drugim lekovima (digoksin, furosemid, prokainamid-hidrohlid, kinidin-glukonat i verapamil-hidrohlid) u 5% rastvoru dekstroze. Milrinon je fizički i hemijski nekompatibilan sa furosemidom i mora se davati odvojeno od njega jer može doći do taloženja u infuzionom rastvoru. Smeša milrinona sa ostalim lekovima stabilna je do 4 časa [28,30]. Milrinon je stabilan u rastvorima kalcijum-hlorida i natrijum-hidrogenkarbonata 20 min na sobnoj temperaturi i mora se odmah koristiti nakon pripreme [31]. Milrinon koncentracije 400 µg/ml je stabilan u Ringerovom rastvoru (kombinovani infuzioni rastvor koji sadrži natrijum-hlorid, ka-

lijum-hlorid, kalcijum-hlorid i natrijum-hidrogenkarbonat čije su koncentracije usklađene sa fiziološkim potrebama organizma), 5% rastvoru dekstroze i 0,45 i 0,9% natrijum-hloridnom rastvoru 7 dana na temperaturi između 22–23 °C [32]. Milrinon se ne sme koristiti u kombinaciji sa drugim fosfodiesterazama, kao što je anagrelid i aminofilin i nekompatibilan je sa bumetanidom. Ne bi trebalo da se razblažuje natrijum-bikarbonatom, a fizički je nekompatibilan sa imipenem-natrijumom i cilastatin-natrijumom [23,33].

### SINTEZA MILRINONA

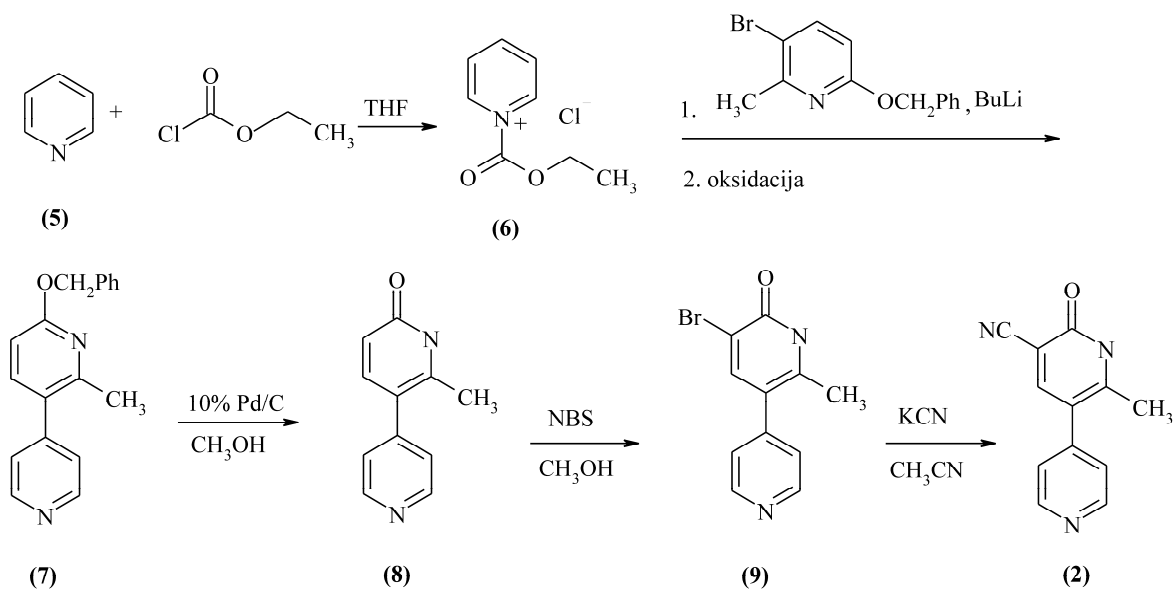
Sinteza milrinona je tema velikog broja patenata i radova. Prvi radovi su se pojavili početkom osamdesetih godina prošlog veka i još uvek se radi na usavršavanju aktuelnih postupaka sinteze. Milrinon se može dobiti laboratorijski i industrijski.

#### Laboratorijsko dobijanje

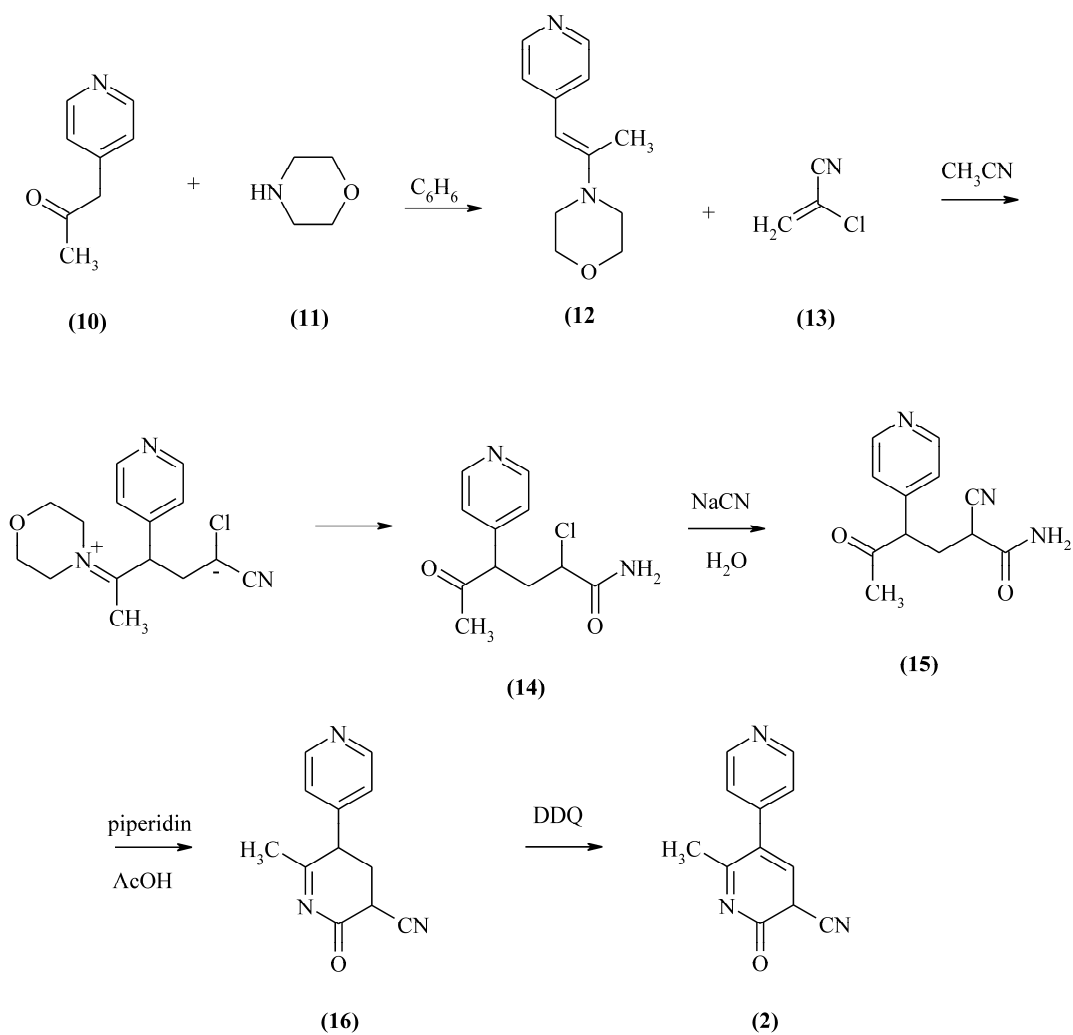
U literaturi postoji veliki broj reakcija koji se odnose na laboratorijsko dobijanje milrinona. Jedan od sintetičkih puteva polazi od piridina (**5**) (šema 1). Reakcija se zasniva na adiciji litijumove soli dobijene u reakciji butil-litijuma i 2-benziloksi-5-brompiridina na *N*-etoksikarbonilpiridinijum-hlorid (**6**) dobijen iz piridina (**5**) i etil-hlorformijata. Dobijeni nestabilni 1,4-dihidropiridin se oksiduje i daje 3,4'-bipiridin (**7**) derivat u prinosu od 54%. Hidrogenovanjem dobijenog proizvoda u metanolu u prisustvu 10% paladijuma na ugljeniku dobija se derivat piridona (**8**) u prinosu od 91%. Sledeći stupanj je bromovanje koristeći *N*-bromsukcinimid u metanolu i dobija se 3-brom derivat (**9**) (prinos 82%). Reakcijom ovog proizvoda sa kalijum-cijanidom u acetonitrilu dobija se milrinon (**2**) [34].

Milrinon se može sintetisati polazeći od 1-(4-piridinil)-2-propanona (**10**) i morfolina (**11**) u pet koraka (šema 2). U prvom koraku reakcijom ketona i morfolina u benzenu dobija se enamin, 2-(1-piridinil propenil)-morfolin (**12**) koji dalje reaguje sa 2-hloroacetonitrilom (**13**) u acetonitrilu i atmosferi azota. Hidrolizom iminijumove soli i cijano grupe do amidne dobija se 2-hloro-4-piridinil-5-keto-kaproamid (**14**). Treći korak je supstitucija hlora cijano grupom pomoću natrijum-cijanida u vodi i kao proizvod se dobija 2-cijano-4-piridinil-5-ketokaproamid (**15**) koji dehidracijom u prisustvu piperidina i sirćetne kiseline daje 2,3,4,5-tetrahidro-2-okso-4-cijano-5-(4'-piridinil)-6-metilpiridin (**16**). Poslednji korak je oksidacija nastalog proizvoda pomoću 2,3-dihloro-3,4-dicijano-1,4-benzohinona (DDQ) u dioksanu pri čemu se dobija 1,2-dihidro-6-metil-2-okso-5-(4'-piridinil)-nikotinonitril (milrinon) [35].

Milrinon se može dobiti i reakcijama diazotovanja. Jedan od načina jeste diazotovanje 4-aminopiridina praćeno kondenzacijom sa 1,2-dihidro-6-metil-2-okso-



Šema 1. Laboratorijsko dobijanje milrinona iz piridina.  
Scheme 1. Laboratory preparation of milrinone from pyridine.



Šema 2. Laboratorijska sinteza milrinona iz 1-(4-piridinil)-2-propanona i morfolina.  
Scheme 2. Laboratory preparation of milrinone from 1-(4-pyridinyl)-2-propanone and morpholine.

-nikotinonitrila [36]. Drugi način jeste diazotovanje 6-metil-5-(4-piridinil)-3-cijano-2-aminopiridina praćeno hidrolizom uz prinos od 84% [37]. Jedan od postupaka za dobijanje milrinona jeste cikloadicija (trimetilsiloksi)piridilbutenoata sa cijanoacetamidom u alkoholu u prisustvu alkalnih i zemnoalkalnih alkoksida [38].

Pregledom dostupne literature, uočen je određen broj radova kineskih autora. Zbog nedostupnosti ovih referenci ovde će samo ukratko biti navedeni postupci dobijanja. Milrinon je tako dobijen iz 4-metilpiridina, a sinteza se odvijala u tri koraka: acetilovanje, kondenzacija i ciklizacija. Autori su prijavili dobijanje milrinona visoke čistoće čak do 99,63% [39–41]. Takođe su opisani i novi postupci sinteze 1-(4-piridinil)-2-propanona, intermedijara u sintezi milrinona [42,43].

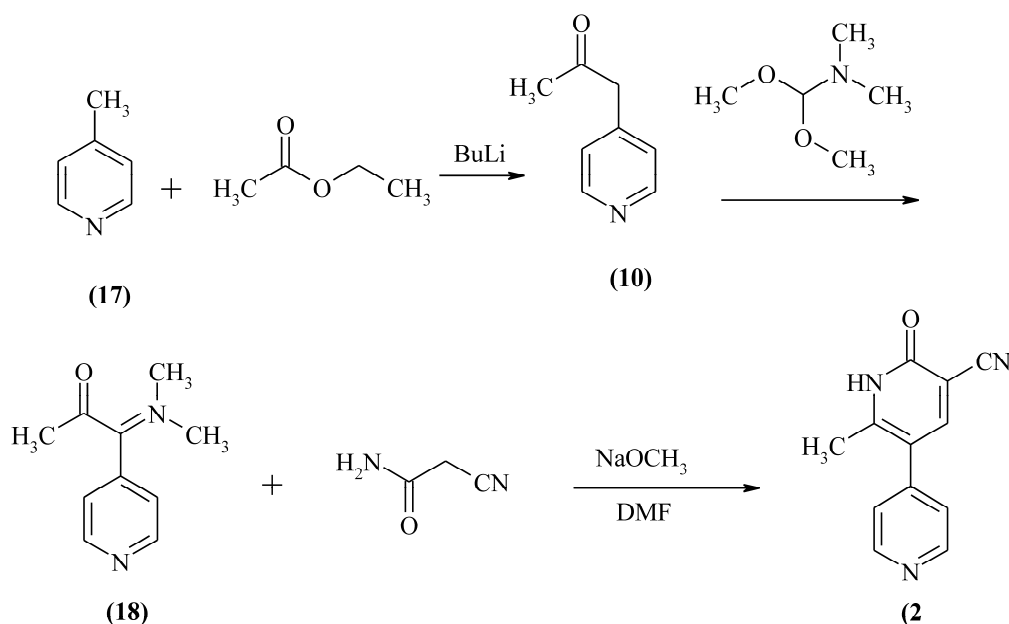
### Industrijsko dobijanje

Industrijski, milrinon se uobičajno može dobiti u reakciji kondenzacije cijanoacetamida sa 4-(dimetilamino)-3-(4-piridinil)-3-buten-2-onom [17, 44] i 4-etoksi-3-

(4-piridinil)-3-buten-2-onom u prisustvu baze [45] ili u reakciji 1-(4-piridinil)-2-propanona sa etoksimetil-malononitrilom i alkoksi-3-(4-piridinil)-3-buten-2-ona sa malononitrilom bez upotrebe baze [46].

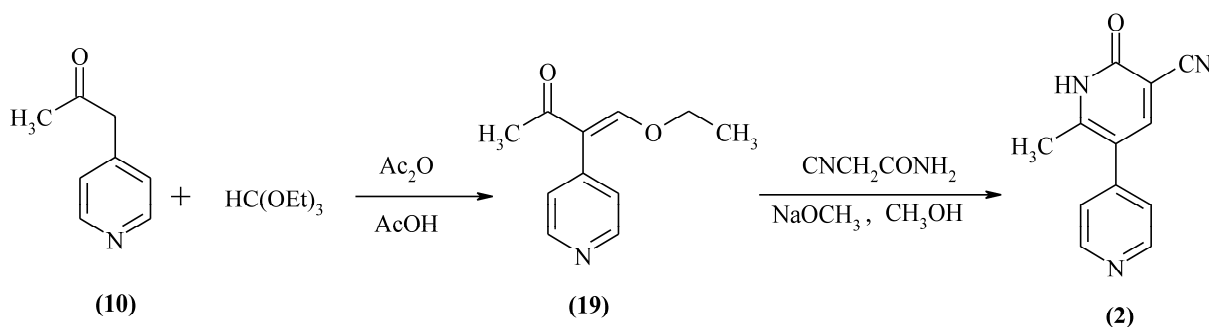
Sinteza milrinona se sastoji u tretiranju 4-pikolina (**17**) butil-litijumom (šema 3) i etil-acetatom, pri čemu se dobija 4-piridinilacetom (**10**) koji se dalje tretira dimetilformamid dimetilacetatom. Dobijeni keton, 4-(dimetilamino)-3-(4-piridinil)-3-buten-2-on (**18**), u reakciji sa cijanoacetamidom u prisustvu dimetilformamida i natrijum-metoksida daje milrinon (**2**) [17,44,47–49].

Reakcioni put u kome je intermedijar 4-etoksi-3-(4-piridinil)-3-buten-2-on (**19**) dat je na šemi 4. Keton se dobija u reakciji 1-(4-piridinil)-2-propanona (**10**) sa trietilortofomatom u prisustvu anhidrida sirćetne kiseline i sirćetne kiseline. Iz dobijenog ketona milrinon se može dobiti u reakciji sa cijanoacetamidom u prisustvu baze [34,50].



Šema 3. Sinteza milrinona iz 4-pikolina sa 4-(dimetilamino)-3-(4-piridinil)-3-buten-2-on kao intermedijarom.

Scheme 3. Synthesis of milrinone from 4-picoline via 4-(dimethylamino)-3-(4-pyridinyl)-3-buten-2-one intermediate.



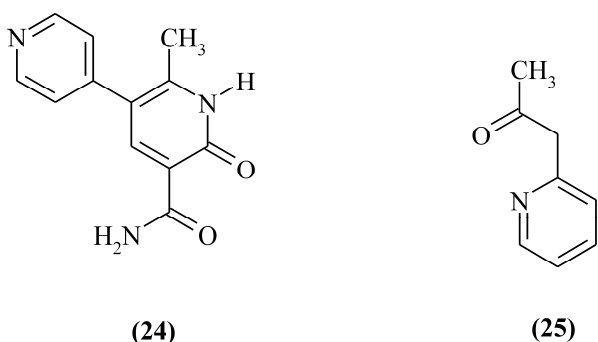
Šema 4. Sinteza milrinona sa 4-etoksi-3-(4-piridinil)-3-buten-2-onom kao intermedijarom.

Scheme 4. Synthesis of milrinone via 4-(ethoxy)-3-(4-pyridinyl)-3-buten-2-one intermediate.



## FARMACEUTSKI STEPEN ČISTOĆE MILRINONA

Propratne nečistoće milrinona, prema američkoj farmakopeji [24], su amid milrinona (**24**), 1,6-dihidro-2-metil-6-okso-[3,4'-bipiridin]-5-karboksamid, i 2-piridinil-aceton (**25**) (slika 2). Uklanjanje nečistoća se vrši na sledeći način: sirovi proizvod milrinona tretira se natrijum-formijatom u metanolu, pri čemu se milrinon prevodi u rastvor, a nečistoće ostaju nerastvorne i odvajaju se filtracijom, a čist milrinon se dobija neutralizacijom pomoću kiseline. Pod ovim uslovima se dobija veoma čist milrinon sa manje od 0,3% nečistoća [54].



Slika 2. Strukture amida milrinona (**24**) i 2-piridinilacetona (**25**).  
Figure 2. Structure of milrinone amide (**24**) and 2-pyridinyl-acetone (**25**).

## IZRADA INJEKCIJA MILRINONA

U literaturi se mogu naći patentni koji se odnose na sastav i izradu injekcija milrinona. Formulacija se sastoji od milrinona, sredstva za podešavanje pH vrednosti (mlečna kiselina, natrijum-hidroksid), sredstva za izotonizaciju (manitol, glukoza i laktoza) i vode [55–59]. Prema kineskom patentu CN 1679566 [55], 100 ml preparata sadrži 15–30 mg milrinona, 830–920 mg natrijum-hlorida i 26–32 mg mlečne kiseline. Način za pripremu injekcije se sastoji u rastvaranju natrijum-hlorida u vodi i dodavanju aktivnog uglja, a nakon zagrevanja rastvora do kjučanja vrši se filtracija kako bi se dobio čist rastvor natrijum-hlorida. Drugi korak je rastvaranje milrinona u smeši mlečne kiseline i vode. Sledi mešanje rastvora natrijum-hlorida i rastvora milrinona, dodavanje vode do željene zapremine i podešavanje pH na 3,2–4,0. Na kraju se vrši punjenje ampula i sterilizacija.

## ZAKLJUČAK

Milrinon predstavlja bipiridinski kardi tonični lek sa pozitivnim inotropnim efektom koji deluje kao selektivni inhibitor fosfodiesteraze 3. Strukturni je analog amrinona, ali od njega je 20–50 puta aktivniji i ima manje sporednih efekata. Laboratorijski milrinon se može sintetisati polazeći od piridina, 4-metilpiridina ili 1-(4-piridinil)-2-propanona. Milrinon se industrijski do-

bija reakcijom kondenzacije cijanoacetamida sa 4-(dimetilamino)-3-(4-piridinil)-3-buten-2-onom i 4-etoksi-3-(4-piridinil)-3-buten-2-onom u prisustvu baze ili u reakciji 1-(4-piridinil)-2-propanona sa etoksimetilenmalonitrilom i alkoksi-3-(4-piridinil)-3-buten-2-ona sa malonitrilom bez upotrebe baze. Polazno jedinjenje u ovim sintezama je 4-pikolin. Industrijski se može dobiti i iz jedinjenja kao što su 2-metil-3-(4-piridinildien)-1,1,5-tricijano-1,4-pentadien-5-karboksamid i 2-metil-6-okso-1,6-dihidro-3,4'-bipiridina-5-karboksamid.

## Zahvalnica

Autori se zahvaljuju Ministarstvu za prosvetu, nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije na finansijskoj pomoći u toku izrade ovoga rada (projekti 172013).

## LITERATURA

- [1] E. Braunwald, Heart failure: pathophysiology and treatment, *Am. Heart J.* **102** (1981) 486–490.
- [2] J.E. Muller, Z.G. Turi, P.H. Stone, R.E. Rude, D.S. Raabe, A.S. Jaffe, H.K. Gold, N. Gustafson, W.K. Poole, E. Passamani, T.W. Smith, E. Braunwald, Digoxin therapy and mortality after myocardial infarction, *New Engl. J. Med.* **314** (1986) 265–271.
- [3] S. Yusuf, D. Phil, J. Wittes, K. Bailey, C. Furberg, Digitalis-a new controversy regarding an old drug: the pitfalls of inappropriate methods, *Circulation* **73** (1986) 14–18.
- [4] C.M. Lathers, J. Roberts, Digitalis cardiotoxicity revisited, *Life Sci.* **27** (1980) 1713–1733.
- [5] Y.F. Su, T.K. Harden, J.P. Perkins, Catecholamine-specific desensitization of adenylate cyclase. Evidence for a multistep process, *J. Biol. Chem.* **255** (1980) 7410–7419.
- [6] A.E. Farah, A.A. Alousi, New cardiotonic agents: a search for digitalis substitute, *Life Sci.* **22** (1978) 1139–1147.
- [7] A.A. Alousi, J.M. Canter, M.J. Montenegro, R.A. Ferrari, Cardiotonic activity of milrinone, a new potent cardiac bipyridine, on the normal and failing heart of experimental animals, *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **5** (1983) 792–803.
- [8] R. Murakami, K. Sano, Y. Murakami, T. Shimda, S. Morioka, Effects of intracoronary infusion of an inotropic agent, E-1020 (loprinone hydrochloride), on cardiac function: evaluation of left ventricular contractile performance using the end-systolic pressure-volume relationship, *Int. J. Cardiol.* **51** (1995) 57–63.
- [9] P. Dorigo, D. Fraccarallo, G. Santostasi, R.M. Gaion, I. Maragno, M. Floreani, F. Carpenedo, M. Jester, P. Schenone, Pharmacological characterization of a new milrinone analogue, *Farmaco* **49** (1994) 19–23.
- [10] H.S. Ahn, D. Eardly, R. Watkins, N. Prioli, Effects of several newer cardiotonic drugs on cardiac cyclic AMP metabolism, *Biochem. Pharmacol.* **35** (1986) 1113–1121.
- [11] B. Singh, G.Y. Leshner, K.C. Pluncket, E.D. Pagani, D.C. Bode, R.G. Bentley, M.J. Connell, L.T. Hamel, P.J. Silver, Novel cAMP PDE III inhibitors: 1,6-naphthyridin-2(1H)-ones, *J. Med. Chem.* **35** (1992) 4858–4865.

- [12] K. Fujino, N. Sperelakis, R.J. Solaro, Differential effects of D- and L-pimobendan on cardiac myofilament calcium sensitivity, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **247** (1988) 519–523.
- [13] M.C. Forest, P. Lahouratate, M. Martin, G. Nadler, M.J. Quiniou, R.G. Zimmermann, A novel class of cardiotonic agents: synthesis and biological evaluation of 5-substituted 3,6-dihydrothiadiazin-2-ones with cyclic AMP phosphodiesterase inhibiting and myofibrillar calcium sensitizing properties, *J. Med. Chem.* **35** (1992) 163–172.
- [14] D.W. Robertson, E.E. Beedle, J.K. Swartzendruber, N.D. Jones, T.K. Elzey, R.F. Kauffman, H. Wilson, J.S. Hayes, Bipyridine cardiotonics: the three-dimensional structures of amrinone and milrinone, *J. Med. Chem.* **29** (1986) 635–640.
- [15] K.M. Borow, P.C. Come, A. Neumann, D.S. Baim, E. Brauwald, W. Grossman, Physiologic assessment of the inotropic, vasodilator and afterload reducing effects of milrinone in subjects without cardiac disease, *Am. J. Cardiol.* **55** (1985) 1204–1209.
- [16] G. Pastelin, R. Mendez, E. Kabela, A. Farah, The search for a digitalis substitute II milrinone (Win 47203) its action on the heart –lung preparation of the dog, *Life Sci.* **33** (1983) 1787–1796.
- [17] G. Y. Leshner, R.E. Phillion, 3-substituted-6-(lower-alkyl)-5-(pyridinyl)-2-(1H)-pyridones, their cardiotonic use and intermediates therefor, (Sterling Drug Inc), US 4313951 (1982).
- [18] A. Rosowsky, R.A. Forsch, J.H. Freisheim, R.G. Moran, The 2-desamino-2-methyl analogs of aminopterin do not inhibit dihydrofolate reductase but are potently toxic to tumor cells in culture, *J. Med. Chem.* **24** (1989) 517–520.
- [19] P. Dorigo, R.M. Gaion, P. Belluco, D. Fraccarollo, I. Maragno, G. Bombieri, F. Benetollo, L. Mosti, F. Orsini, A pharmacological, crystallographic, and quantum chemical study of new inotropic agents, *J. Med. Chem.* **36** (1993) 2475–2484.
- [20] P. Dorigo, R.M. Gaion, P. Belluco, P.A. Borea, L. Guerra, L. Mosti, M. Floreani, F. Carpenedo, Antagonism towards endogenous adenosine and inhibition of cGI-PDE in the cardiac effects of amrinone, milrinone and related analogues, *Gen. Pharmacol.* **23** (1992) 535–541.
- [21] Analysis of drugs and poisons, <http://mntviewfarm.net/drugs-poisons-1102.html> (pristupljeno 15.03.2012).
- [22] Drug bank, open data drug & drug target data base, <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00235> (pristupljeno 15.03.2012).
- [23] S.C. Sweetman, Martindale, 36<sup>th</sup> ed., Pharmaceutical Press, London, 2009, pp. 1341–1342.
- [24] United States Pharmacopeia 30 –National Formulary 25, 2007, p. 2665.
- [25] K. Xue, A. Liu, Method for preparing water-soluble milrinone salt from milrinone (Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu), CN 1951919 (2007) [CA 146:528220 (2007)].
- [26] L. Zhang, Method for preparing milrinone lactate (Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu), CN 101143844 (2008) [CA 148:449458 (2008)].
- [27] M. Yano, M. Kohno, T. Ohkusa, M. Mochizuki, J. Yamada, M. Kohno, T. Hisaoka, K. Ono, T. Tanigawa, S. Kobayashi, M. Matsuzaki, Effect of milrinone on left ventricular relaxation and Ca<sup>2+</sup> uptake function of cardiac sarcoplasmic reticulum, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **279** (2000) H1 898–H1 905.
- [28] AHFS Drug information, 2008, 24:04.08.
- [29] T.D. Wilson, M.D. Forde, A.V. Crain, L.J. Dombrowski, M.A. Joyce, Stability of milrinone in 0.45% sodium chloride, 0.9% sodium chloride, or 5% dextrose injections, *Am. J. Hosp. Pharm.* **43** (1986) 2218–2220 [CA 105:178336 (1986)].
- [30] C.M. Riley, Stability of milrinone and digoxin, furosemide, procainamide hydrochloride, propranolol hydrochloride, quinidine gluconate, or verapamil hydrochloride in 5% dextrose injection, *Am. J. Hosp. Pharm.* **45** (1988) 2079–2091 [CA 110:82362 (1989)].
- [31] T.D. Wilson, M.D. Forde, , Stability of milrinone and epinephrine, atropine sulfate, lidocain hydrochloride, or morphine sulfate injection, *Am. J. Hosp. Pharm.* **47** (1990) 2504–2507 [CA 114:68946 (1991)].
- [32] S.R. Akkerman, H. Zhang, R.E. Mullins, K. Yaughn, Stability of milrinone lactate in the presence of 29 critical care drugs and 4 i.v. solutions, *Am. J. Health Syst. Pharm.* **56** (1999) 63–68 [CA 130:329105 (1999)].
- [33] K. Baxter, Stockley's Drug Interaction, 8<sup>th</sup> ed., Pharmaceutical Press, London, 2008, pp.698, 1179.
- [34] M.J. Shiao, L.M. Shyu, Synthesis of milrinone, a cardiotonic agent, *Heterocycles* **31** (1990) 523–527.
- [35] M.J.V. Casanova, Process for the preparation of 1,2-dihydro-6-methyl-2-oxo-5-(4'-pyridinyl)nicotinonitrile, ES 548691 (1986).
- [36] 2-(1H)-pyridones, ES 549790 (1986) [CA 106:84403 (1987)].
- [37] V. Hagen, E. Klauschenz, H.J. Jaensch, H. Niedrich, H.J. Heidrich, G. Faust, D. Lohmann, Preparation of 5-aryl-1,2-dihydropyrid-2-ones as cardiotonics, (Akademie der Wissenschaften) DD 275047 (1990).
- [38] I.C. Linan, M.O. Mir, Process for the preparation of 1,6-dihydro-2-methyl-6-oxo-3,4'-bipyridine-5-carbonitrile, (Pol. Ind. Palafolis), ES 543212 (1986).
- [39] F. Xu, J. Ren, J. Chen, Q. Liao, Synthesis of milrinone, *Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao* **27** (1996) 377–378 [CA 125:328468 (1996)].
- [40] Q. Liu, Y. Su, B. Chen, H. Zhang, Synthesis and structural identification of phosphodiesterase inhibitor milrinone, *Huazhong Keji Daxue Xuebao* **34** (2005) 74–75 [CA 145:29803 (2005)].
- [41] S. Chen, J. Yang, Q. Jin, D. Liu, L. Zhao, Improved synthesis of milrinone, *Zhongguo Yaowu Huaxue Zazhi* **19** (2009) 261–262 [CA 154:262099 (2010)].
- [42] W. Zhang, L. Tian, S. Wang, R. Liu, Novel synthesis of 1-(4-pirydinyl)-2-propanone, *Shenyang Yaoke Daxue Xuebao* **16** (1999) 296–297 [CA 132:122486 (1999)].
- [43] H. Gao, N. Wu, J. Yang, Q. Jin, W. Huang, Improvement on synthesis process of 1-(4-pirydinyl)-2-propanone *Huaxue Gongye Yu Gongcheng Jishu* **30** (2009) 17–18 [CA 153:11445 (2009)].



- [44] G.Y. Leshner, R.E. Phillion, D.F. Page, C.J. Opalka, 5-(pyridinyl)-2(1H)pyridones useful as cardiotoxic agents, (Sterling Drug Inc.) FR 2470124 (1981).
- [45] K.O. Gelotte, Process for preparing 2-(lower-alkoxy)-1-(pyridinyl) ethenyl lower-alkyl ketones (Sterling Drug Inc.), US 4469871 (1984).
- [46] B. Singh, A novel synthesis of 1,6-dihydro-2-methyl-6-oxo[3,4'-bipyridine]-5-carbonitrile (milrinone), *Heterocycles* **23** (1985) 1479–1482.
- [47] G.Y. Leshner, C.J. Opalka, D.F. Page, 5-(pyridinyl)-6-(lower-alkyl)-2(1H)-pyridones, 1,2-dihydro-2-oxo-5-(pyridinyl)-6-(lower-alkyl)nicotinic acids and lower-alkyl esters thereof, and cardiotoxic use thereof, (Sterling Drug Inc), US 4312875 (1982).
- [48] G.Y. Leshner, R.E. Phillion, D.F. Page, C.J. Opalka, 5-(pyridinyl)-2(1H)-pyridones, useful as cardiotoxic agents and their preparation, (Sterling Drug Inc.), GB 2065642A (1981).
- [49] X. Zheng, Z. Feng, Y. Liu, Synthesis of milrinone, *Zhongguo Yiyao Gongye Zazhi* **21** (1990) 486–488 [CA 115:8524 (1991)].
- [50] Z. Zhao, Process for the preparation of milrinone (Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu), CN 1629141 (2005) [CA 144:128860 (2006)].
- [51] B. Singh, Preparation of 1,2-dihydro-6-(lower alkyl)-2-oxo-5-(pyridinyl)-nicotinonitriles, (Sterling Drug Inc), US 4413127 (1983).
- [52] H.J. Jaensch, H.J. Heidrich, J.Schaefer, G. Dietz, V. Hagen, E. Klauschenz, D. Lohmann, Preparation of milrinone, (Arzneimittelwerk Dresden) DD 274620 (1988).
- [53] D.E.M. Faba, Process for the preparation of 1,6-dihydro-2-methyl-6-oxo-3,4'-bipyridine-5-carbonitrile, (Pol. Ind. Can Pelegeri), ES 544504 (1986).
- [54] X. Dai, P. Guo, L. Li, Purification of 1,6-dihydro-2-methyl-6-oxo-[3,4'-bipyridine]-5-carbonitrile (milrinone) and synthesis of its USP impurity A (*i.e.*, 1,6-dihydro-2-methyl-6-oxo-[3,4'-bipyridine]-5-carboxamide), *Zhongguo Yaxue Zazhi* **42** (2007) 1436–1437 [CA 150:539531 (2008)].
- [55] Z. Zhao, Milrinone and sodium chloride injection and its preparation method, (Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu), CN 1679566 (2005) [CA 145:51029 (2006)].
- [56] Z. Zhao, Manufacture of freeze-dried powder injection containing milrinone, (Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu), CN 1709441 (2005) [CA 145:404310 (2006)].
- [57] B. Ren, J. Zhang, M. Zhang, X. Xu, Milrinone composition for injection, (Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu), CN 1739512 (2006) [CA 144:456434 (2006)].
- [58] P. Chen, Y. Tan, Z. Zhu, X. Wu, S. Lei, New freeze-dried injection powder formulation of milrinone, (Faming Zhuanli Shenqing), CN 1879622 (2006) [CA 146:128551 (2006)].
- [59] L. Zhang, Freeze-dried powder injection of milrinone lactate for treating heart failure and its preparation, (Faming Zhuanli Shenqing) CN 101143144 (2008) [CA 148:387240 (2008)].

## SUMMARY

### PROPERTIES AND SYNTHESIS OF MILRINONE

Jelena M. Mirković, Dušan Ž. Mijin, Slobodan D. Petrović

*University of Belgrade, Faculty of Technology and Metallurgy, Department of Organic Chemistry, Belgrade, Serbia*

(Professional paper)

Milrinone, 1,6-dihydro-2-methyl-6-oxo-(3,4'-bipyridine)-5-carbonitrile, is a positive inotropic cardiotoxic agent with vasodilator properties that acts as selective phosphodiesterase 3 inhibitor in cardiac and vascular smooth muscle. Trade names of milrinone are Primacor, Corotrop, Corotrope, and Milrila. Milrinone, an amrinone derivative, is 20 to 50 times more active than amrinone and possesses reduced propensity to side effects. The use of milrinone has created controversy in the medical as the result of increased mortality rate among patients that received high amounts of milrinone in oral form. Research shows that it can be beneficial for patients with severe congestive heart failure when used as short-time intravenous therapy. Milrinone properties, stability, as well as mechanism of action and synthesis under laboratory and industry conditions have been described in this paper. For industrial purposes milrinone is synthesized by condensation of cyanoacetamide with 4-(dimethylamino)-3-(4-pyridinyl)-3-buten-2-one and 4-ethoxy-3-(4-pyridinyl)-3-buten-2-one in presence of a base, or by the reaction of 1-(4-pyridinyl)-2-propanone with ethoxymethylenmalononitrile or 4-alkoxy-3-(4-pyridinyl)-3-buten-2-one with malononitrile without the use of external base. The starting compound for these syntheses is 4-picoline. Alternative synthesis of milrinone starts from 2-methyl-3-(4-pyridylidene)-1,1,5-tricyano-1,4-pentadiene-5-carboxamide and 2-methyl-6-oxo-1,6-dihydro-3,4'-bipyridine-5-carboxamide. Lastly, methods for milrinone synthesis in laboratory, injection preparation and purification have been summarized.

**Keywords:** Milrinone • Properties • Mechanism of action • Synthesis