

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN HIỆU XUẤT BÁN TỔNG HỢP CÁC FLUOROALKYL ETHER CỦA DIHYDROARTEMISININ

Đỗ Hữu Nghị — Trần Mạnh Bình — Nguyễn Văn Hàn
Trường Đại học Dược Hà Nội

SUMMARY

β -dihydroartemisinin trifluoroethyl ether (TF-DHA) and β -dihydroartemisinin pentafluoropropyl ether (PF-DHA), two fluoroalkylether derivatives of dihydroartemisinin was prepared by treatment of dihydroartemisinin with appropriate fluoroalcohol in the presence of boron trifluoride etherate. Influence of the amount of catalyst BF_3Et_2O and the solvents used on the yield of the etherification were studied. Results showed that using dicloromethan as a solvent is the most efficient option. The amount of BF_3Et_2O used depend on the reaction temperature.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Artemisinin, hoạt chất của cây Thanh hao hoa vàng, được dùng điều trị có hiệu quả đối với Plasmodium falciparum kháng đa thuốc. Do artemisinin ít tan cả trong nước và trong dầu, nên sinh khả dụng và hiệu quả điều trị còn hạn chế [1]. Trong quá trình nghiên cứu làm tăng độ tan và sinh khả dụng, một số dẫn chất của artemisinin đã được tổng hợp và sử dụng như artesunat, artemether, arteether. Mặc dù độ tan và hiệu quả điều trị của các dẫn xuất này đã được cải thiện rõ rệt, nhưng chúng vẫn còn nhược điểm chung là thời gian bán thải ngắn, hậu quả là tỉ lệ tái phát cao và tỉ lệ điều trị tiết căn thấp nếu đợt điều trị không đủ dài [2][5].

Để khắc phục nhược điểm trên, các nhà khoa học đã nghiên cứu tổng hợp ra các dẫn xuất fluoroalkyl ether của dihydroartemisinin (DHA). Việc gắn thêm nhóm fluoroalkyl vào vị trí chuyển hoá chính của phân tử thuốc đã cải thiện đáng kể hoạt tính chống sốt rét trên in-vivo [3][4]. Những kết quả thử nghiệm ban đầu cho thấy đây thực sự là một nhóm thuốc mới rất có triển vọng. Trong số đó, dẫn xuất β -dihydroartemisinin trifluoroethyl ether (TF-DHA) và β -dihydroartemisinin pentafluoropropyl ether có hoạt tính in-vivo tốt hơn hẳn so với artemisinin và artemether [3].

Trong nghiên cứu bán tổng hợp artemether và arteether yếu tố dung môi đóng một vai trò quan trọng đối với sự lựa chọn lập thể và tới hiệu xuất của phản ứng. Trong các nghiên cứu trước đây về bán tổng hợp một số etherflo của DHA chúng tôi thấy các tác giả chỉ sử dụng ether ethylic và n-hexan làm dung môi cho bán tổng hợp. Trong khuôn khổ nghiên cứu qui trình bán tổng hợp một số etherflo của DHA dựa vào các kết quả thu được khi tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của dung môi trong bán tổng artemether và arteether chúng tôi tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của dung môi đến hiệu xuất bán tổng hợp các etherflo của DHA. Ngoài ra chúng tôi còn nghiên cứu xác định tỷ lệ xúc tác, tỷ lệ các alcolfluor và nhiệt độ thích hợp để thu được hiệu xuất cao và tiết kiệm nguyên liệu.

II. NGUYÊN LIỆU, THIẾT BỊ VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nguyên liệu

Dihydroartemisinin (Trường Đại học Dược Hà Nội).
 2,2,2-trifluoro ethanol (Merck-Schuchardt).
 2,2,3,3,3 pentafluoro 1-propanol (Aldrich Chem).
 Các dung môi, hoá chất khác thuộc loại tinh khiết phân tích.
 Hạt silicagel 70 — 200 mesh dùng cho sắc ký cột.
 Bản mỏng silicagel trắng sẵn (Merck).

Thiết bị

Hệ thống cất quay Buchi, Máy đo độ chảy Mettler Toledo, Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Shimadzu.

Phổ hồng ngoại đo trên máy Perkin Elmer; Phổ khối đo trên máy HP-5989B-MS; Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT) đo trên máy AVANCE-500-BRUKER.

Phương pháp nghiên cứu

Bán tổng hợp hai dẫn xuất TF-DHA và PF-DHA từ dihydroartemisinin bằng phản ứng ether hoá với fluoroalkyl alcol tương ứng. Khảo sát các điều kiện phản ứng: dung môi, xúc tác, nhiệt độ tới hiệu suất sản phẩm.

Xác định cấu trúc sản phẩm thu được bằng các phương pháp hoá lý: phổ hồng ngoại, phổ cộng hưởng từ hạt nhân, khối phổ.

III. kết quả và Nhận xét

Tổng hợp TF-DHA và PF-DHA bằng cách cho DHA tác dụng với các fluoroalkyl alcol tương ứng trong dung môi và xúc tác thích hợp theo sơ đồ phản ứng như sau:



A- ĐIỀU CHẾ β -DIHYDROARTEMISININ TRIFLUOROETHYL ETHER (TF-DHA)

Lựa chọn dung môi cho phản ứng bán tổng hợp

Phản ứng bán tổng hợp có thể xảy ra trong một số dung môi phân cực cũng như ít phân cực. Các dung môi được thử nghiệm là diethyl ether, aceton, n-hexan, dicloromethan, xăng công nghiệp và toluen.

Cho vào bình cầu nút mài 10,0g (35,2mmol) dihydroartemisinin, 20,4ml (281,5mmol) trifluoroethanol và 100ml dung môi. Khuấy và thêm 0,4ml (3,2mmol) xúc tác boron trifluorid etherat. Riêng phản ứng trong dung môi diethyl ether và aceton, lượng xúc tác sử dụng là 5,0ml (39,5mmol). Khuấy liên tục bằng máy khuấy từ trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Theo dõi phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng sau mỗi 10 phút để xác định mức độ hình thành sản phẩm. Sau đó hỗn hợp phản ứng được trung hoà đến pH 6-7 bằng dung dịch natri bicarbonat bão hoà. Rửa hỗn hợp bằng nước cất (3 lần \times 100ml). Gạn lấy phần dung môi. Cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được sản phẩm thô.

Sản phẩm thô được kết tinh lại trong 50ml ethanol trong 24 giờ ở điều kiện lạnh (tủ lạnh). Lọc lấy tinh thể. Dịch lọc được cô cách thuỷ còn khoảng 10ml thì để kết tinh tiếp lần nữa. Sấy các tinh thể thu được ở 40°C đến khô. Kiểm tra độ tinh khiết của sản phẩm bằng sắc ký lớp mỏng. Kết quả thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của dung môi đến phản ứng bán tổng hợp TF-DHA

DUNG MÔI	DHA (g)	CF ₃ CH ₂ OH (ml)	BF ₃ ·Et ₂ O (ml)	HIỆU SUẤT	
				Khối lượng	Phần trăm
Ether ethylic	10,0	20,4	5,0	8,60g	66,7%
Aceton	10,0	20,4	5,0	7,44g	57,7%
Dicloromethan	10,0	20,4	0,4	11,41g	88,5%
Toluen	10,0	20,4	0,4	10,83g	84,0%
n-hexan	10,0	20,4	0,4	10,50g	81,4%
Xăng công nghiệp	10,0	20,4	0,4	9,91g	76,8%

Nhận xét:

Các phản ứng đều xảy ra ở mức độ khác nhau và đều tạo sản phẩm. Sắc ký lớp mỏng cho thấy các phản ứng trong dung môi phân cực kém triệt để hơn, mặc dù lượng xúc tác sử dụng nhiều hơn so với dung môi ít phân cực.

Sử dụng Dicloromethan làm dung môi phản ứng cho hiệu suất sản phẩm cao nhất (88,5%).

Sản phẩm TF-DHA tổng hợp được (trong phản ứng sử dụng dung môi dicloromethan) là tinh thể trắng hình kim, có độ chảy 115-116°C, năng suất quay cực $[\alpha_D] = +71^\circ$ (MeOH, C=1,75). Các giá trị về phổ như sau:

IR (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹):

ν_{as} CH₃: 2960

δ_{as} CH₃: 1458

ν CF₃: 1283

ν_{s} CH₃: 2929

δ_{s} CH₃: 1381

ν C-O- (ether): 1153

ν -O-O- (peroxyd): 866, 824

MS: 366 (C₁₇H₂₅O₅F₃); 334 [M-O₂]⁺; 276 [M-O₂-3F]⁺

¹H-NMR (CDCl₃), δ (ppm): 0,95 (d, 3H, CH₃-16); 0,96 (d, 3H, CH₃-15); 1,43 (s, 3H, CH₃-14); 3,87 (dq, 1H, CH_AH-CF₃); 4,12 (dq, 1H, CH_BH-CF₃); 4,87 (d, 1H, J= 3,6 Hz, H-10).

¹³C-NMR & DEPT (CDCl₃), δ (ppm): 12,5 (C-16); 20,2 (C-15); 24,2 (C-8); 24,5 (C-5); 25,9 (C-14); 30,5 (C-9); 34,5 (C-7); 36,2 (C-4); 37,4 (C-6); 44,1 (C-8a); 52,4 (C-5a); 64,8 (q, CH₂-CF₃); 80,8 (C-12a); 88,0 (C-12); 102,5 (C-10); 104,2 (C-3); 122,8 (q, CF₃).

Dữ liệu phổ cộng hưởng từ hạt nhân trùng khớp với tư liệu [3].

Ảnh hưởng của tỉ lệ xúc tác và nhiệt độ tới phản ứng ether hoá

Để khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ xúc tác và nhiệt độ, chúng tôi tiến hành phản ứng trong dung môi dicloromethan ở nhiệt độ phòng và nhiệt độ hồi lưu của hỗn hợp phản ứng. Đồng thời thay đổi tỉ lệ xúc tác khác nhau cho từng phản ứng. Kết quả thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và tỉ lệ xúc tác đến phản ứng ether hoá

TT	DHA (gam)	BF ₃ Et ₂ O		Nhiệt độ phản ứng (°C)	HIỆU SUẤT	
		Thể tích (ml)	Tỉ lệ mol (xúc tác/DHA)		Khối lượng	Phần trăm
	10,0	0	0	20-22	-	-
	10,0	0,10	2,2%	20-22	6,60g	51,2%
	10,0	0,20	4,5%	20-22	9,99g	77,5%
	10,0	0,30	6,7%	20-22	11,50g	89,2%
	10,0	0,40	9,0%	20-22	11,41g	88,5%
	10,0	0,50	11,2%	20-22	11,19g	86,8%
	10,0	0	0	39	-	-
	10,0	0,05	1,1%	39	8,40g	65,1%
	10,0	0,10	2,2%	39	10,20g	79,1%
	10,0	0,15	3,4%	39	11,58g	89,8%
	10,0	0,20	4,5%	39	11,12g	86,2%
	10,0	0,30	6,7%	39	10,91g	84,6%

Nhận xét:

Ở nhiệt độ thường cũng như ở nhiệt độ sôi, phản ứng không xảy ra nếu không có xúc tác (phản ứng 1 và 7).

Sắc ký lớp mỏng cho thấy, với lượng xúc tác ít, phản ứng tạo ra nhiều tạp chất. Khi thêm dần xúc tác vào hỗn hợp phản ứng thì vết tạp giảm dần. Tỉ lệ mol xúc tác so với DHA từ 6,7% trở lên thì không thấy xuất hiện vết tạp chất. Nếu thực hiện ở nhiệt độ sôi của hỗn hợp (39°C) thì tỉ lệ này là 3,4%.

Hiệu suất thu được cao nhất khi tỉ lệ mol xúc tác so với DHA là 6,7% (nhiệt độ thường) và 3,4% (thực hiện ở nhiệt độ sôi của hỗn hợp phản ứng).

Khảo sát tỉ lệ mol alcolfluor / DHA trong phản ứng bán tổng hợp

Về lý thuyết tỉ lệ alcol so với DHA bằng 1:1 là đủ. Trên thực tế để phản ứng xảy ra triệt để thì alcol phải dùng lượng dư. Việc khảo sát được tiến hành bằng cách thay đổi tỉ lệ alcol trong mỗi phản ứng. Kết quả như sau (bảng 3):

Bảng 3. Ảnh hưởng của tỉ lệ alcol / DHA trong phản ứng bán tổng hợp

STT	DHA (gam)	BF ₃ Et ₂ O (ml)	CF ₃ CH ₂ OH (ml)	TỈ LỆ CF ₃ CH ₂ OH / DHA (tính theo mol)	HIỆU SUẤT	
					Khối lượng	Phần trăm
	10,0	0,3	2,6	1 : 1	5,48g	42,5%
	10,0	0,3	5,1	2 : 1	7,22g	56,0%
	10,0	0,3	10,2	4 : 1	9,52g	73,8%
	10,0	0,3	15,3	6 : 1	10,60g	82,2%
	10,0	0,3	20,4	8 : 1	11,50g	89,2%
	10,0	0,3	25,5	10 : 1	11,42g	88,6%
	10,0	0,3	30,6	12 : 1	11,28g	87,5%

Nhận xét:

- Theo dõi các phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng thấy rằng khi tỉ lệ $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{OH} / \text{DHA}$ dưới 6:1 thì xuất hiện nhiều vết tạp chất. Tỉ lệ alcol tăng, các vết tạp chất nhỏ dần. Tỉ lệ trên 6:1 thì không xuất hiện tạp chất.
- Tỉ lệ $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{OH} / \text{DHA}$ bằng 8:1 là thích hợp. Vì nếu tăng tỉ lệ alcol, hiệu suất không tăng nữa.

B- ĐIỀU CHẾ β -DIHYDROARTEMISININ PENTAFLUOROPROPYL ETHER (PF-DHA)

Với dẫn xuất này chúng tôi không có điều kiện khảo sát tất cả các thông số như đối với dẫn xuất TF-DHA. Các điều kiện tốt nhất trong tổng hợp dẫn xuất TF-DHA về tỉ lệ alcol, xúc tác được áp dụng để tổng hợp dẫn xuất PF-DHA. Kết quả thể hiện ở bảng 4:

Bảng 4. Hiệu suất điều chế PF-DHA

DHA (gam)	$\text{BF}_3\text{Et}_2\text{O}$ (ml)	$\text{CF}_3\text{CF}_2\text{CH}_2\text{OH}$ (ml)	TỈ LỆ $\text{CF}_3\text{CF}_2\text{CH}_2\text{OH} / \text{DHA}$ (tính theo mol)	HIỆU SUẤT	
				Khối lượng	Phần trăm
10,0	0,3	28,0	8 : 1	12,56g	85,7%

Sản phẩm PF-DHA tổng hợp được là tinh thể trắng hình kim, có độ chảy 56-57°C, năng suất quay cực $[\alpha_D] = +90^\circ$ (MeOH, C=0,6). Các giá trị về phổ như sau:

IR (KBr) $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$:

$\delta_{\text{as}} \text{CH}_3$: 1456	ν C-H aliphatic ($\text{CH}_3, \text{CH}_2, \text{CH}$): 2953
$\delta_s \text{CH}_3$: 1383	ν -O-O- (peroxyd): 824, 872
$\nu \text{CF}_2, \text{CF}_3$: 1201	ν C-O- (ether): 1100

MS: 416 ($\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{O}_5\text{F}_5$); 384 $[\text{M}-\text{O}_2]^+$; 326 $[\text{M}-\text{O}_2-3\text{F}]^+$

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3), $\delta(\text{ppm})$: 0,94 (d, 3H, CH_3 -16); 0,96 (d, 3H, CH_3 -15); 1,43 (s, 3H, CH_3 -14); 3,91 (dq, 1H, $\text{CH}_A\text{H}-\text{CF}_3$); 4,23 (dq, 1H, $\text{CH}_B\text{H}-\text{CF}_3$); 4,85 (d, 1H, $J=3,6\text{Hz}$, H-10).

$^{13}\text{C-NMR}$ & DEPT (CDCl_3), $\delta(\text{ppm})$: 12,4 (C-16); 20,2 (C-15); 24,0 (C-8); 24,5 (C-5); 25,9 (C-14); 30,6 (C-9); 34,5 (C-7); 36,3 (C-4); 37,4 (C-6); 44,0 (C-8a); 52,4 (C-5a); 64,3 (t, $\text{CH}_2-\text{CF}_2-\text{CF}_3$); 80,8 (C-12a); 88,0 (C-12); 102,8 (C-10); 104,2 (C-3); 119,8 (q, CF_3).

Dữ liệu phổ cộng hưởng từ hạt nhân trùng khớp với tư liệu [3].

IV. KẾT LUẬN

Đã bán tổng hợp thành công và xác định cấu trúc hai dẫn xuất fluoroalkyl ether của dihydroartemisinin là TF-DHA và PF-DHA.

Đã lựa chọn được dung môi dicloromethan phù hợp cho phản ứng điều chế TF-DHA. Phản ứng trong dung môi này tiêu thụ lượng xúc tác ít và cho hiệu suất cao.

Đã khảo sát và tìm ra được tỉ lệ xúc tác, tỉ lệ alcol thích hợp cho phản ứng điều chế TF-DHA. Kết quả khảo sát cũng cho thấy nếu tiến hành phản ứng ở nhiệt độ sôi của hỗn hợp thì lượng xúc tác có thể giảm đi một nửa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

China Cooperative Research Group on Qinghaosu and its derivatives as antimalarials (1982), "the chemistry and synthesis of qinghaosu derivatives", *J. Trad. Chin. Med.*, 2, 9-16.

China Cooperative Research Group on Qinghaosu and its derivatives as antimalarials (1982), "Metabolism and pharmacokinetics of qinghaosu and its derivatives", *J. Trad. Chin. Med.*, 2, 25-30.

Trương Thị Thanh Nga, Celine Menage, Jean Pierre Begue, Daniele Bonnet Delpon and Jean Charle Gantier (1998), "Synthesis and Antimalarial Activities of Fluoroalkyl Derivatives of Dihydroartemisinin", *J. Med. Chem.*, 41, 4101-4108.

Yu Ming Pu, Daniel S.T. and Herman Ziffer (1995), "Synthesis and antimalarial activities of several fluorinated artemisinin derivatives", *J. Med. Chem.*, 38, 4120-4124.

Ziffer H., Hight R.J. and Klayman D.L. (1997), *Artemisinin: an endoperoxidic antimalarial from Artemisia annua L.*, SpringerWienNewYork, Austria.