

**ĐIỀU CHẾ THỬ NGHIỆM 10 α -TRIFLUOROMETHYLHYDROARTEMISININ
DÙNG LÀM THUỐC CHỮA SỐT RÉT CHỐNG TÁI PHÁT
PILOT PREPARATION OF 10 α -TRIFLUOROMETHYLHYDROARTEMISININ
USED AS AN ANTIRECRUDESCENT ANTIMALARIAL DRUG**

Vũ Đình Hoàng
Trường Đại học Bách khoa Hà Nội

Trần Đại Lâm
Viện Khoa học Vật liệu

Trần Việt Hùng
Viện Kiểm nghiệm

TÓM TẮT

10 α -Trifluoromethylhydroartemisinin là một hoạt chất chống sốt rét tiềm năng với các đặc tính dược học ưu việt như hoạt tính mạnh, tính tan tốt và tương đối bền trong cơ thể người. Tuy nhiên phương pháp điều chế 10 α -trifluoromethylhydroartemisinin đã biết khi áp dụng vào qui mô thử nghiệm (trên 10 gam) không thành công. Bài báo này chỉ ra rằng, nguyên nhân là do sự khác biệt điều kiện phản ứng trong hai giai đoạn của phản ứng, đồng thời đưa ra phương pháp giải quyết khó khăn trên. Theo đó phản ứng được thực hiện theo hai giai đoạn nhưng không tách hợp chất trung gian. Như vậy, giai đoạn đầu của phản ứng cần tiến hành trong dung môi THF khan tuyệt đối, còn giai đoạn sau khi tiến hành phản ứng thủy phân cần một lượng nước bổ sung trong sự có mặt của xúc tác chuyển pha tetrabutylammonium fluoride TBAF. Phương pháp này đã giúp việc điều chế hoạt chất trên có thể thực hiện ở qui mô thử nghiệm, sản phẩm được tách và tinh chế dễ dàng, qua đó cung cấp một lượng hoạt chất đủ cho các thử nghiệm sinh học tiếp theo.

ABSTRACT

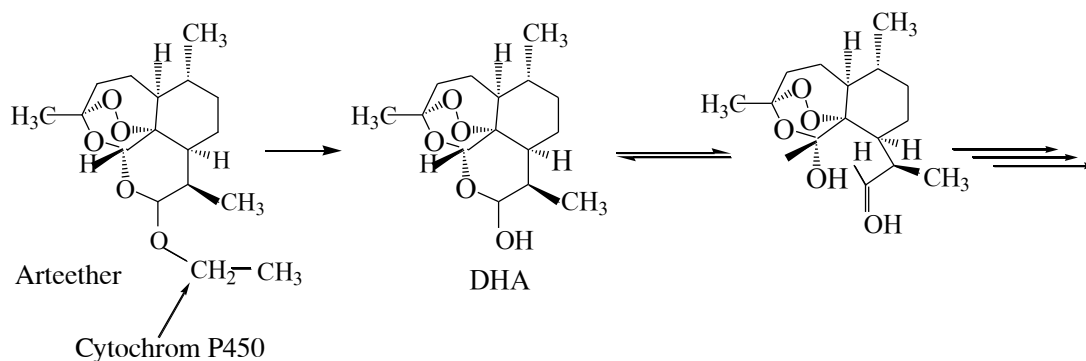
10 α -Trifluoromethylhydroartemisinin is a potential antimalarial agent with valuable pharmaceutical properties such as strong activity, good solubility and quite stable in organism. However, the known method for the synthesis of 10 α -trifluoromethylhydroartemisinin when applied to more than ten grams scale is not successful. This paper shows that the reason is the difference in conditions of the two stages of the reaction and suggests solution for the preparation. Thus, first stage of the reaction must be carried out in absolutely dry tetrahydrofuran, and the second stage requires some water for the hydrolysis of the intermediate compound in the presence of the catalysis tetrabutylammonium fluoride TBAF. This method can make the pilot preparation of 10 α -trifluoromethylhydroartemisinin possible, the isolation and purification of the product simple so that can provide enough amount necessary for further biological experiments.

I. MỞ ĐẦU

Sốt rét là một bệnh truyền nhiễm nguy hiểm, có tỉ lệ tử vong cao hoành hành ở nhiều nước châu Phi, châu Á, Mỹ La tinh, trong đó có Việt nam. Trải qua nhiều thập kỷ sử dụng trong điều trị sốt rét, các loại thuốc ký ninh truyền thống trở nên ít hiệu quả hơn vì bị hiện tượng kháng thuốc. Việc tìm ra hoạt chất artemisinin phân lập từ cây thanh hao hoa vàng (*Artemisia annua* L.) đã bắt đầu sự phát triển một thế hệ

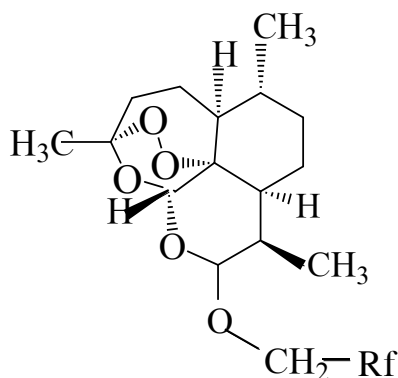
thuốc chữa sốt rét mới hiệu quả với các chủng kháng thuốc [1,2].

Tuy nhiên artemisinin và nhiều dẫn xuất của nó còn một số hạn chế về dược động học như tính tan kém, đặc biệt không bền trong cơ thể người. Nguyên nhân là do enzym cytochrom P-450 trong cơ thể phân hủy các dẫn xuất như arteether, artemether hay hydroartemisinin thành các sản phẩm mở vòng không còn hoạt tính chống sốt rét ban đầu (Hình 1).



Hình 1. Sự chuyển hóa của arteether trong cơ thể

Nhằm khắc phục nhược điểm tính bền kém của một số dẫn xuất của artemisinin trong cơ thể, có nhiều dẫn xuất mới được tổng hợp. Một số dẫn xuất tăng độ bền của hoạt chất bằng cách thay liên kết C-O ở C-10 bằng liên kết C-C [3,4]. Một phương pháp khác vẫn giữ nguyên cấu trúc bán xetal ở C-10 nhưng lại đưa vào phân tử các nhóm chứa flo có độ âm điện lớn [5,6,7]. Các nhóm chứa flo kéo điện tử và làm bền cấu trúc bán xetal (Hình 2).



Dẫn xuất ete chứa nhóm fluoroalkyl Rf

Dẫn xuất trifluoromethyl hóa

Hình 2. Các dẫn xuất chứa flo kéo điện tử

Trong các dẫn xuất đang được nghiên cứu, 10 α -trifluoromethylhydroartemisinin thu hút được sự quan tâm của nhiều nhà nghiên cứu do các tính chất dược học quý báu. Việc hoàn thiện phản ứng này ở qui mô thử nghiệm đóng vai trò quan trọng trong nghiên cứu và triển khai loại thuốc sốt rét mới đầy tiềm năng này.

II. THỰC NGHIỆM

2.1 Thiết bị và hoá chất

Phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ đo trên máy Bruker AVANCE 500 MHz và 125 MHz tương ứng. Dung môi đo phổ là CDCl_3 , chất nội chuẩn tetrametylsilan. Sắc ký lớp mỏng phân tích được sử dụng trên bản silicagel tráng sẵn Merck. Artemisinin cung cấp bởi Trung tâm Công nghệ Hóa dược và Hóa sinh Hữu cơ, Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt nam. Các dung môi và hóa chất chất lượng phân tích của hãng Merck.

2.2 Điều chế 10 α -trifluoromethylhydroartemisinin

Hòa tan bằng máy khuấy từ 10 g artemisinin và 1,13 g TBAF.H₂O (0,1 eq.) trong 60ml THF khan (THF được làm khan bằng cách đun hồi lưu trong natri kim loại trong môi trường khí argon). Hỗn hợp được khuấy và làm lạnh ngoài băng nước đá ở 0°C, đồng thời nhỏ giọt 16 ml TMSF₃ (2 eq.). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong vòng khoảng hai giờ. Sau khi phân tích bằng sắc ký lớp mỏng cho thấy artemisinin đã chuyển hóa hoàn toàn, bổ sung vào hỗn hợp phản ứng 5 ml nước cất (chú ý đảm bảo không xảy ra sự tách lớp) và tiếp tục khuấy 30 phút nữa để tiến hành thủy phân sản phẩm ete trimethylsilyl trung

gian. Sau khi phản ứng kết thúc, hỗn hợp được rửa hai lần bằng nước muối, làm khan bằng sodium sulphate và cô cạn dung môi. Sản phẩm được kết tinh trong hỗn hợp dung môi etyl axetat: ete dầu hỏa.

Thu được 9,6 g sản phẩm, hiệu suất ~ 77%.

2.3 Đặc trưng hóa lý của sản phẩm 10 α -trifluoromethylhydroartemisinin

Sản phẩm tinh thể không màu, nhiệt độ nóng chảy 117-118 $^{\circ}$ C

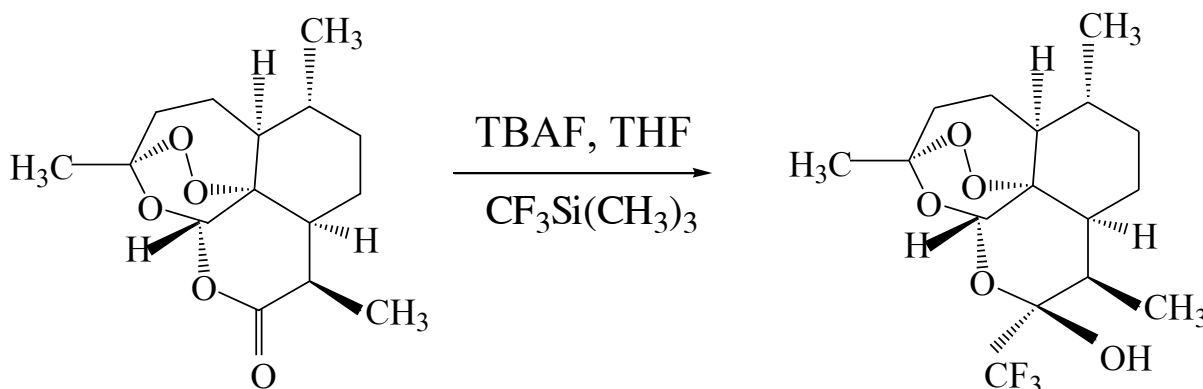
- ^1H NMR: δ 0,94 (m, 1H, H - 9 $_{\text{ax}}$), 0,97 (d, $J_{\text{H-14, H-10}} = 6,1$ Hz, 3H, Me-14), 1,07 (d, $J_{\text{H13, H11}} = 7,2$ Hz, 3H, Me - 13), 1,30 (m, 1H, H - 10), 1,32 (m, 1H, H - 1), 1,42 (s, 3H, Me - 15), 1,49 (dddd, $J_{\text{H-2ax, H-2eq}} = 13,7$ Hz, $J_{\text{H-2ax, H-3ax}} = 13,3$ Hz, $J_{\text{H-2ax, H-1ax}} = 11,3$ Hz, $J_{\text{H-2ax, H-3eq}} = 13,7$ Hz, 1H, H - 2ax), 1,55 (dt, $J_{\text{H-7, H-8ax}} = 12,6$ Hz, $J_{\text{H-7, H-11}} = 5,3$ Hz, 1H, H - 7), 1,7 (dq, $J_{\text{H-9eq, H-9ax}} = 13,3$ Hz, $J_{\text{H-9eq, H-8a}} = J_{\text{H-9eq, H-8eq}} = J_{\text{H-9eq, H-10}} = 3,4$ Hz, 1H, H - 9eq), 1,81 (dddd, $J_{\text{H-8ax, H-8eq}} = 14,1$ Hz, $J_{\text{H-8ax, H-9ax}} = 13,3$ Hz, $J_{\text{H-8ax, H-7C}} = 12,8$ Hz, $J_{\text{H-8a, H-9eq}} = 3,5$ Hz, 1H, H - 8ax), 1,85 (m, 1H, H - 8eq), 1,91 (dddd, $J_{\text{H-2eq, H-2ax}} = 13,7$ Hz,

$J_{\text{H-2eq, H-1ax}} = 6,6$ Hz, $J_{\text{H-2eq, H-3ax}} = 4,07$ Hz, $J_{\text{H-2eq, H-3eq}} = 2,9$ Hz, 1H, H-2eq), 2,05 (ddd, $J_{\text{H-3eq, H-3ax}} = 14,6$ Hz, $J_{\text{H-3eq, H-0C2eq}} = 5,0$ Hz, $J_{\text{H-3eq, H-2ax}} = 2,9$ Hz, 1H, H-3eq), 2,4 (ddd, $J_{\text{H-3ax, H-3eq}} = 14,6$ Hz, $J_{\text{H-3ax, H-2ax}} = 13,3$ Hz, $J_{\text{H-3ax, H-2eq}} = 4,07$ Hz, 1H, H - 3ax), 2,77 (d, $J_{\text{OH, H-11}} = 2,2$ Hz, 1H, OH), 2,84 (qdd, $J_{\text{H-11ax, H-13}} = 7,15$ Hz, $J_{\text{H-11ax, H-7}} = 5,3$ Hz, $J_{\text{H-11ax, OH}} = 2,2$ Hz, 1H, H - 11ax), 5,55 (s, 1H, H - 5).

- ^{13}C NMR: δ 12,4 (C - 13), 20,1 (C - 14), 23,1 (C - 8), 24,6 (C - 2), 25,5 (C - 15), 28,2 (C - 11), 34,4 (C - 9), 36,05 (C - 3), 37,4 (C - 10), 45,8 (C - 7), 51,74 (C - 1), 79,9 (C - 6), 88,8 (C - 5), 96,9 (q, $^2J_{\text{C-F}} = 31,0$ Hz, C-10), 104,37 (C - 4), 122,6 (q, $^1J_{\text{C-F}} = 282$ Hz, CF $_3$).

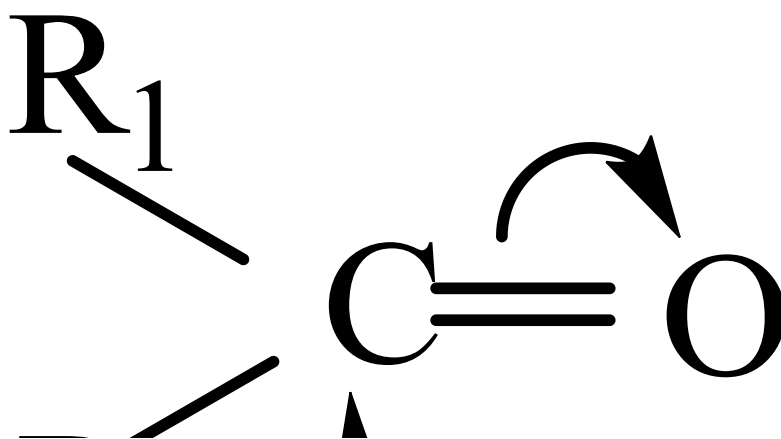
III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

10 α -Trifluoromethylhydroartemisinin được tổng hợp từ artemisinin với tác nhân trifluoromethyltrimethylsilyl chloride trong dung môi tetrahydrofuran khan tuyệt đối với sự có mặt của xúc tác tetrabutylammonium fluoride theo hình 3 [5]:



Hình 3. Phản ứng tổng hợp 10 α -Trifluoromethylhydroartemisinin theo [5]

Theo phương pháp đã mô tả, phản ứng xảy ra hoàn toàn sau 25h khi sử dụng xúc tác là tetra-n-butylammonium fluoride trihydrate (TBAF.3H $_2$ O). Thực chất phản ứng trifluoromethyl hóa nhóm carbonyl xảy ra theo cơ chế sau [7] (Hình 4):



Hình 4. Cơ chế phản ứng trifluormethyl hóa nhóm carbonyl

Đối với phản ứng điều chế 10 α -trifluoromethylhydroartemisinin, giai đoạn đầu của phản ứng tạo thành sản phẩm trung gian ete trimethylsilyl (A) với sự có mặt của xúc tác TBAF, như dung môi THF khan tuyệt đối và nhiệt độ phản ứng 0°C. Tuy nhiên giai đoạn tiếp theo thủy phân sản phẩm trung gian (A) thành sản phẩm cuối (B) lại cần sự có mặt của nước. Do đó phương pháp điều chế TFMDHA đã biết trên thực tế đã vô tình sử dụng hơi ẩm có trong không khí để thủy phân. Đó cũng là nguyên nhân khiến phản ứng không thành công khi lượng chất tổng hợp lớn, và giải thích nguyên nhân thời gian phản ứng kéo dài đến một ngày đêm.

Để khắc phục khó khăn trên khi điều chế lượng sản phẩm lớn đến hàng chục gam, nhóm nghiên cứu đã tiến hành phản ứng theo hai giai đoạn tách biệt, tuy nhiên cũng không tách và tinh chế sản phẩm ete trimethylsilyl trung gian. Theo đó để giai đoạn đầu có hiệu suất cao, dung môi phản ứng được làm khan tuyệt đối bằng natri kim loại trong môi trường argon. Sản phẩm trung gian ete được tách thô sau khi xử lý hỗn hợp phản ứng được hòa tan trở lại trong THF và bổ sung một lượng nước dư cho phản

ứng thủy phân trong sự có mặt của xúc tác TBAF. Các thử nghiệm quá trình thủy phân cho thấy sự có mặt của các axit như HCl, H₂SO₄, hoặc ion flo (KF) đều không thể thay thế TBAF trong quá trình thủy phân.

Một nhận xét nữa là khi lượng nước bổ sung vào THF quá lớn sẽ dẫn đến sự tách lớp. Khi đó phản ứng thủy phân cũng không thành công. Có thể giải thích hiện tượng trên là do toàn bộ lượng xúc tác TBAF hòa tan vào pha nước khiến cho pha hữu cơ chứa sản phẩm trung gian ete không có đủ xúc tác để thủy phân.

Sản phẩm thu được sau khi phân tích bằng phổ cộng hưởng từ hạt nhân cho thấy phù hợp với tư liệu [5].

Hiệu suất phản ứng của cả hai giai đoạn khá cao, đạt 77%. Điều này làm cho qui trình tách và tinh chế sản phẩm trở nên đơn giản và dễ thực hiện bằng phương pháp kết tinh thay cho sắc ký cột. Tuy nhiên do xúc tác TBAF và tác nhân TMSCF₃ có giá thành cao, nên việc tiếp tục hoàn thiện phản ứng này là vấn đề cần được tiếp tục quan tâm nghiên cứu.

IV. KẾT LUẬN

Trên cơ sở phân tích cơ chế phản ứng trifluoromethyl hóa đã tìm được phương pháp điều chế dẫn xuất 10 α -trifluoromethylhydroartemisinin qui mô thử nghiệm (trên 10g) một cách ổn định, hiệu suất tốt, với các điều kiện phản ứng êm dịu, tiêu tốn ít tác nhân và xúc tác. Đây là những yếu tố cần thiết để điều chế thử nghiệm hoạt chất này nhằm đáp ứng nhu cầu thử nghiệm sinh học tiếp

theo. Tuy có nhiều ưu điểm về dược động học so với một số dẫn xuất khác của artemisinin đang dùng trong điều trị sốt rét, đặc biệt là khả năng chống tái phát, giá thành sản phẩm 10 α -trifluoromethylhydroartemisinin còn tương đối cao. Vì thế việc tiếp tục hoàn thiện điều chế, đơn giản hóa điều kiện phản ứng, giảm chi phí cho tác nhân và xúc tác hơn nữa là cần thiết để hoạt chất này có thể được sử dụng dùng làm thuốc chữa sốt rét.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ziffer H., Highet R.J. and Klayman D.L.; Artemisinin: an endoperoxidic antimalarial from *Artemisia annua* L. Springer Wien NewYork, Austria, 1997.
2. China Cooperative Research Group on Qinghaosu and its derivatives as antimalarials; The chemistry and synthesis of quinghaosu derivatives. J. Trad. Chin. Med., 2, 9-16, 1982.
3. Tran Khac Vu, Nguyen Van Tuyen and Tran Van Sung; Synthesis of Novel 10-deoxoartemisinins'' Bioorg. Med. Chem. Lett., 10, 2629-2631, 2005.
4. Tran Khac Vu, Nguyen Van Tuyen and Nguyen Van Viet; A New Route to Novel 10-deoxoartemisinins; Tetrahedron Letter, 24, 4243-4245, 2005.
5. Abuoabdellah A, Begue J. P, Bonnet-Delpon D, Gantier J.C, Truong Thi Thanh Nga, Truong Dinh Thac; Synthesis and in vivo activity of 12 α -trifluoromethylhydroartemisinin Bioorg. Med. Lett. 6 (22), 2717-2720, 1996.
6. Vũ Đình Hoàng , J.P.Begue, D. Bonnet-Delpon, Phạm Gia Điền, Nguyễn Văn Hùng; Hoàn thiện qui trình tổng hợp một số dẫn xuất ete chứa flo của artemisinin. Tạp chí Dược học; 43(7) 17-19, 2003.
7. G.K. Surya Prakash, Ramesh Krishnamurti, George A. Olah; Fluoride-Induced trifluoromethylation of carbonyl compounds with trifluoromethylsilane (TMS-CF₃). A trifluoromethide equivalent. J. Am. Chem. Soc. , 111, 395-396, 1989.

Địa chỉ liên hệ: Vũ Đình Hoàng - Tel: 0914.661.299, E-mail: hoangvd-ocd@mail.hut.edu.vn
Khoa Công nghệ Hóa học - Trường Đại học Bách khoa Hà Nội
Số 1, Đại Cồ Việt, Hà Nội