

NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP GEFITINIB LÀM NGUYÊN LIỆU BÀO CHẾ THUỐC ĐIỀU TRỊ UNG THƯ PHỔI

Vương Văn Trường^{1*}, Hoàng Như Kha¹, Đỗ Thị Thuỳ Trang¹, Phạm Duy Nam¹,
Nguyễn Văn Ngọc¹, Trần Đức Quân², Dương Đức Hoàng¹

¹Trung tâm Nhiệt đới Việt Nga, Bộ Quốc phòng

²Viện Hoá học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Đến Toà soạn 01-10-2014; Chấp nhận đăng 26-8-2015

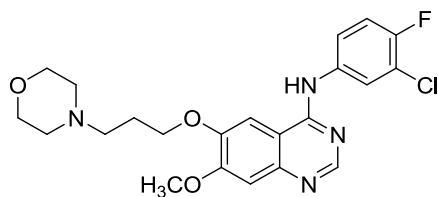
Abstract

Gefitinib is an anilinoquinazoline which is useful in the treatment of a certain type of lung cancer (non-small cell lung cancer - NSCLC) that has not responded to chemotherapy. In this paper, we report results of synthesis of gefitinib and intermediates. Structure of gefitinib and its intermediates was confirmed by spectroscopic methods such as IR, ¹H NMR, ¹³C NMR and MS.

Keywords. Gefitinib, isovanillin, lung cancer.

1. MỞ ĐẦU

Gefitinib (hình 1) tên khoa học là N-(3-cloro-4-fluorophenyl)-7-methoxy-6-(3-(morpholin-4-ylpropoxy) quinazolin-4-amine, công thức phân tử là C₂₂H₂₄ClFN₄O₃ (M= 446,9). Gefitinib ở dạng bột màu trắng, tan tốt trong axit axetic băng, dimethyl sulphoxide (DMF) ít tan trong metanol, etanol, etyl axetat (EtOAc), isopropanol và axetonitrile [1].



Hình 1: Công thức cấu tạo của gefitinib

Gefitinib có khả năng kìm hãm một cách chọn lọc các yếu tố di truyền tyrosine kinase (HER-1/EGFR). Sự tăng trưởng của tyrosine kinase là nguyên nhân chính dẫn tới sự phát triển không kiểm soát ở các mô biểu bì và do vậy dẫn tới sự tăng trưởng mạnh của tế bào ung thư phổi có nguồn gốc đột biến bởi các mô biểu bì [2]. Việc sử dụng gefitinib trong điều trị bệnh ung thư phổi dạng NSCLC nhằm ngăn chặn sự tăng trưởng của tyrosine kinase và do vậy có thể ngăn chặn hoặc làm giảm sự phát triển của tế bào ung thư.

Gần đây, người ta đã sử dụng Iressa (biệt dược của gefitinib) để thay thế có hiệu quả cho

carboplatin và paclitaxel để điều trị cho các bệnh nhân ung thư phổi dạng NSCLC đã bị thất bại với việc sử dụng kết hợp carboplatin với paclitaxel - là liệu pháp thông dụng để điều trị ung thư phổi hiện nay.

2. THỰC NGHIỆM

Điểm nóng chảy được đo trên máy Bamstead Electrothermal 9100 của Anh. Sắc ký bản mỏng sử dụng bản mỏng Silica gel 60 F₂₅₄ của hãng Merck. Phổ hồng ngoại đo trên máy Nicolet Impact 410 (Mỹ), phổ cộng hưởng từ hạt nhân ¹H-NMR và ¹³C-NMR được đo trên máy AVANCE Spectrometer (BRUKER, Đức), dung môi DMSO-*d*₆, chất chuẩn nội TMS. Phổ MS đo trên máy LC-MSD-Trap-SL.

2.1 Tổng hợp 4-methoxy-3-[3-(4-morpholinyl)propoxy]benzaldehyde (II)

Cân 109,2 g K₂CO₃, 60 g isovanillin và 500 ml DMF vào bình cầu 1 lít 3 cổ, đặt trên bếp điện và lắp máy khuấy cơ, khuấy đều hỗn hợp khoảng 15-20 phút. Thêm từ từ 90 g morpholinopropyl clorua vào hỗn hợp phản ứng trong thời gian khoảng 15-20 phút. Nâng nhiệt độ lên 80 °C và duy trì phản ứng ở nhiệt độ này, kiểm tra phản ứng bằng sắc ký bản mỏng, sau khoảng 2 giờ isovanillin đã phản ứng hết. Để nguội đến nhiệt độ phòng, lọc lấy dịch lọc, cô quay loại dung môi DMF ở áp suất 100 mBar, để nguội thu được thu được 105 g (hiệu suất 95,3 %)

sản phẩm rắn màu vàng nâu, điểm nóng chảy 51,5-53,0 °C.

IR (KBr, ν (cm^{-1})): 2961 (C-H_{ali}), 1677 (C=O), 1592 (C=C), 1061 (C-O); ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆), δ_H (ppm): 1,86-1,91 (m, 2H, -OCH₂CH₂CH₂-), 2,34 (s, 4H, 2 x -NCH₂-), 2,40 (t, $J = 7,0$, 2H, -NCH₂CH₂CH₂-), 3,56 (t, $J = 4,5$, 4H, -CH₂OCH₂-), 3,87 (s, 3H, -OCH₃), 4,05 (t, $J = 6,5$, 2H, -OCH₂CH₂CH₂-), 7,14 (d, $J = 8,0$, 1H, ar.H), 7,38 (s, 1H, ar.H), 7,51-7,52 (m, 1H, ar.H), 9,82 (s, 1H, -CHO); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO - *d*₆), δ (ppm): 25,75 (s, -CH₂CH₂CH₂-), 53,32 (s, 2 x -NCH₂-), 54,74 (s, -OCH₃), 55,84 (s, -NCH₂CH₂CH₂-), 66,16 (s, -CH₂OCH₂-), 66,60 (s, -OCH₂CH₂CH₂-), 110,63 (s, ar.C), 111,40 (s, ar.C), 125,90 (s, ar.C), 129,63 (s, ar.C), 148,48 (s, ar.C), 154,38 (s, ar.C), 191,25 (s, -CHO); ESI-MS (m/z): 280,07 ([M+H]⁺).

2.2 Tổng hợp 4-methoxy-6-nitro-3-[3-(4-morpholinyl)propoxy]benzaldehyde (III)

Cho 1 lít dung dịch HNO₃ 40 % vào bình cầu 2 lít 3 cổ, lắp sinh hàn hồi lưu, nhiệt kế, khuấy đều và duy trì nhiệt độ 40-45 °C trên bếp khuấy từ. Thêm từ từ 100 g (II) vào hỗn hợp phản ứng sao cho nhiệt độ phản ứng vẫn được duy trì trong khoảng trên, tiếp tục duy trì phản ứng ở nhiệt độ trên thêm 4 giờ nữa (sau 4 giờ kiểm tra bằng sắc ký bản mỏng thấy II đã phản ứng hết). Đồ hỗn hợp phản ứng vào cốc thủy tinh đựng 500 g nước đá, trung hoà bằng NaOH rắn đến pH = 9, quá trình trung hoà cần bổ sung nước đá để duy trì nhiệt độ < 20 °C. Chiết với EtOAc (800 ml x 3), gộp các dịch chiết lại, làm khô bằng 100 g Na₂SO₄, lọc, cô loại EtOAc bằng cất quay và để sản phẩm kết tinh sau 1 giờ. Lọc rửa bằng 50 ml dung dịch hỗn hợp EtOAc/*n*-hexan 1/1 sau đó là 50 ml dung dịch EtOAc/*n*-hexan 1/3. Sấy khô sản phẩm ở 75 °C thu được 80 g (hiệu suất 68,9 %) sản phẩm màu vàng có điểm chảy 108,1-109,6 °C.

IR (KBr, ν (cm^{-1})): 3109 (C-H_{ar}), 2939, 2853 (C-H_{ali}), 1680 (C=O), 1573 (C=C), 1026 (C-O); ¹H NMR (500 MHz, DMSO - *d*₆), δ_H (ppm): 1,91-1,94 (m, 2H, -OCH₂CH₂CH₂-), 2,36 (s, 4H, 2 x -NCH₂-), 2,41 (t, $J = 7,0$, 2H, -NCH₂CH₂CH₂-), 3,57 (t, $J = 4,5$, 4H, -CH₂OCH₂-), 3,96 (s, 3H, -OCH₃), 4,21 (t, $J = 6,5$, 2H, -OCH₂CH₂CH₂-), 7,35 (s, 1H, ar.H), 7,69 (s, 1H, ar.H), 10,19 (s, 1H, -CHO); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm): 25,49 (s, -CH₂CH₂CH₂-), 53,28 (s, 2 x -NCH₂-), 54,48 (s, -OCH₃), 56,64 (s, -NCH₂CH₂CH₂-), 66,13 (s, -CH₂OCH₂-), 67,48 (s, -OCH₂CH₂CH₂-), 107,61 (s, ar.C), 110,67 (s, ar.C), 124,67 (s, ar.C), 143,40 (s, ar.C), 151,95 (s, ar.C), 152,03 (s, ar.C), 188,49 (s, -CHO); ESI-MS (m/z): 325,04 ([M+H]⁺).

2.3 Tổng hợp 4-methoxy-6-nitro-3-[3-(4-morpholinyl)propoxy]benzaldehyde (IV)

Cân 70 g III, đóng 220 ml dung dịch metanol nước 95 % vào bình cầu 1 lít 3 cổ, trên bếp cách thủy, lắp máy khuấy cơ. Thêm từ từ dung dịch 21 g HONH₂Cl trong 60 ml nước cất vào bình phản ứng trong thời gian 15-20 phút. Sau đó nhỏ từ từ dung dịch 22 g NaOH trong 100 ml nước cất sao cho nhiệt độ được giữ trong khoảng 30-35 °C. Duy trì phản ứng ở nhiệt độ trên và theo dõi phản ứng bằng sắc ký bản mỏng, sau 4 giờ chất đầu III đã phản ứng hết. Đồ hỗn hợp phản ứng vào cốc 2 lít chứa 300 g nước đá. Trung hoà bằng dung dịch axit axetic 50 % đến pH = 7-8. Lọc rửa sản phẩm trên phễu lọc xốp, rửa bằng nước lạnh (50 ml x 3), sấy khô ở nhiệt độ 75 °C thu được 68 g IV (hiệu suất 92,8 %), sản phẩm có màu vàng sáng, điểm chảy 166,2-167,7 °C.

IR (KBr, ν (cm^{-1})): 3484 (O-H), 3173 (C-H_{ar}), 2961 (C-H_{ali}), 1576, 1527 (C=C), 1064 (C-O); ¹H NMR (500 MHz, DMSO - *d*₆), δ_H (ppm): 1,89-1,94 (m, 2H, -OCH₂CH₂CH₂-), 2,35 (s, 4H, 2 x -NCH₂-), 2,41 (t, $J = 7,0$, 2H, -NCH₂CH₂CH₂-), 3,56 (t, $J = 4,5$, 4H, -CH₂OCH₂-), 3,89 (s, 3H, -OCH₃), 4,15 (t, $J = 6,5$, 2H, -OCH₂CH₂CH₂-), 7,31 (s, 1H, ar.H), 7,62 (s, 1H, ar.H), 8,46 (s, 1H, -CH=N-), 11,58 (s, 1H, =NOH); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO - *d*₆), δ (ppm): 25,51 (s, -CH₂CH₂CH₂-), 53,28 (s, 2 x -NCH₂-), 54,51 (s, -OCH₃), 56,17 (s, -NCH₂CH₂CH₂-), 66,16 (s, -CH₂OCH₂-), 67,19 (s, -OCH₂CH₂CH₂-), 107,77 (s, ar.C), 109,56 (s, ar.C), 121,92 (s, ar.C), 140,21 (s, ar.C), 144,94 (s, -CH=N), 149,25 (s, ar.C), 152,09 (s, ar.C); ESI-MS (m/z): 340,06 ([M+H]⁺).

2.4 Tổng hợp 4-methoxy-6-nitro-3-[3-(4-morpholinyl)propoxy]benzonitrile (V)

Cân 60 g IV vào bình cầu 1 lít 3 cổ trên bếp điện, lắp máy khuấy cơ, thêm tiếp 300 ml anhydric axetic vào, khuấy đều và nâng nhiệt độ phản ứng lên 120-125 °C, duy trì phản ứng ở nhiệt độ này trong khoảng 4 giờ (kiểm tra sắc ký bản mỏng không còn chất đầu IV). Để nguội đến nhiệt độ dưới 80 °C, cất loại anhydric acetic dư ở nhiệt độ cất < 80 °C và áp suất 100 mBar. Để nguội đến nhiệt độ phòng, hoà tan chất rắn bằng 550 ml nước cất, trung hoà bằng dung dịch NH₃ đặc đến pH = 7-8. Lọc rửa sản phẩm bằng nước cất trên phễu lọc xốp, sấy khô sản phẩm ở 75 °C thu được 50 g (hiệu suất 88 %), sản phẩm có màu vàng nâu đậm, nhiệt độ nóng chảy 137,3-139,1 °C.

IR (KBr, ν (cm^{-1})): 3109 (C-H_{ar}), 2932 (C-H_{ali}), 2233 (C≡N), 1574, 1528 (C=C), 1058 (C-O); ¹H NMR (500 MHz, DMSO - *d*₆), δ_H (ppm): 1,89-1,95

(m, 2H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 2,38 (s, 4H, 2 x $-\text{NCH}_2-$), 2,42 (t, $J = 7,5$, 2H, $-\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 3,57 (t, $J = 4,0$, 4H, $-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$), 3,97 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$), 4,23 (t, $J = 6,5$, 2H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 7,68 (s, 1H, ar.H), 7,85 (s, 1H, ar.H); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO $-d_6$), δ (ppm): 25,45 (s, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 53,24 (s, 2 x $-\text{NCH}_2-$), 54,43 (s, $-\text{OCH}_3$), 56,70 (s, $-\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 66,10 (s, $-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$), 68,08 (s, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 99,57 (s, ar.C), 108,51 (s, ar.C), 115,69 (s, $-\text{CN}$), 117,01 (s, ar.C), 142,14 (s, ar.C), 151,90 (s, ar.C), 152,60 (s, ar.C); ESI-MS (m/z): 322,05 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

2.5. Tổng hợp 4-methoxy-6-nitro-3-[3-(4-morpholinyl)propoxy]benzamid (VI)

Cho 700 ml dung dịch H_2O_2 3 % và 45 ml dung dịch KOH 25 % vào bình bình cầu 2 lít 4 cổ, lắp máy khuấy cơ, nhiệt kế, sinh hàn hồi lưu. Bật máy khuấy nhẹ, thêm từ từ 40 g **V** vào bình phản ứng sao cho nhiệt độ được giữ $< 45^\circ\text{C}$. Sau khi cho hết **V**, duy trì phản ứng ở nhiệt độ $45 \pm 5^\circ\text{C}$ trong khoảng 2 – 3 giờ, kiểm tra sự kết thúc của phản ứng bằng SKBM. Để nguội đến nhiệt độ phòng, lọc trên phễu lọc xốp, rửa bằng 150 ml nước lạnh, sấy khô ở nhiệt độ 75°C thu được 32 g (hiệu suất 75,8 %), sản phẩm có màu trắng nhạt, điểm chảy $185,7-187,1^\circ\text{C}$.

IR (KBr, ν (cm^{-1})): 3410, 3305, 3214 (N-H), 3010 (C-H_{ar}), 2954, 2836 (C-H_{ali}), 1661 (C=O), 1619, 1523 (C=C), 1047 (C-O); ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6), δ_H (ppm): 1,89-1,92 (m, 2H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 2,35-2,41 (m, 6H, 3 x $-\text{NCH}_2-$), 3,56 (s, 4H, $-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$), 3,87 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$), 4,16 (t, $J = 5,5$, 2H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 7,08 (s, 1H, ar.H), 7,56 (s, 2H, $-\text{NH}_2$), 7,96 (s, 1H, ar.H); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO $-d_6$), δ (ppm): 25,64 (s, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 53,41 (s, 2 x $-\text{NCH}_2-$), 54,67 (s, $-\text{OCH}_3$), 56,35 (s, $-\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 66,25 (s, $-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$), 67,49 (s, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 107,52 (s, ar.C), 111,61 (s, ar.C), 127,07 (s, ar.C), 139,45 (s, ar.C), 148,92 (s, ar.C), 151,75 (s, ar.C), 167,38 (s, $-\text{CONH}_2$); ESI-MS (m/z): 340,06 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

2.6. Tổng hợp 2-amino-4methoxy-5-[3-(morpholinyl)propoxyl]benzamid (VII)

Cho 25 g **VI**, 250 ml nước cất và 25 g Fe vào bình cầu 1 lít 3 cổ đặt trên chậu nước làm mát. Lắp máy khuấy cơ, nhiệt kế và phễu nhỏ giọt cân bằng áp suất, khuấy nhẹ. Nhỏ từ từ dung dịch axit sulfuric (pha từ 30 ml axit sulfuric đặc với 120 ml nước cất), sao cho nhiệt độ phản ứng không vượt quá 30°C . Sau khi nhỏ hết axit sulfuric, duy trì phản ứng ở nhiệt độ phòng thêm khoảng 2 giờ nữa, lọc thu dung dịch trong, trung hoà bằng dung dịch NH_3 25 % đến pH = 8. Chiết bằng 1000 ml EtOAc (chia làm 4 lần

như sau 400, 300, 200 và 100 ml). Gộp các dịch chiết EtOAc và cô loại dung môi bằng cất quay, thu được 22 g (hiệu suất 96,5 %) chất rắn màu nâu đậm, điểm chảy $151,5-152,9^\circ\text{C}$.

IR (KBr, ν (cm^{-1})): 3437, 3316 (N-H), 2917 (C-H_{ali}), 1633 (C=O), 1584 (C=C), 1054 (C-O); ^1H NMR (500 MHz, DMSO $-d_6$), δ_H (ppm): 2,08-2,13 (m, 2H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 3,16-2,41 (m, 6H, 3 x $-\text{NCH}_2-$), 3,72 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$), 3,88 (s, 4H, $-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$), 3,92 (t, $J = 6,0$, 2H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 6,30 (s, 1H, ar.H), 7,23 (s, 1H, ar.H); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 23,37 (s, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 51,13 (s, 2 x $-\text{NCH}_2-$), 53,88 (s, $-\text{OCH}_3$), 55,18 (s, $-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$), 63,33 (s, $-\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 67,75 (s, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 99,73 (s, ar.C), 104,43 (s, ar.C), 116,30 (s, ar.C), 137,33 (s, ar.C), 147,47 (s, ar.C), 153,63 (s, ar.C), 170,77 (s, $-\text{CONH}_2$); ESI-MS (m/z): 310,08 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

2.7. Tổng hợp 7-methoxy-6-(3-morpholinopropoxy)-3,4-dihydroquinolin-4-one (VIII)

Cho 20 g **VII**, 120 ml axit formic 99 % vào bình cầu, đặt trên bếp khuấy từ, lắp sinh hàn hồi lưu, khuấy nhẹ để chất rắn tan hoàn toàn, nâng nhiệt độ phản ứng lên $90-95^\circ\text{C}$ và thực hiện phản ứng ở nhiệt độ này khoảng 4 giờ (theo dõi bằng sắc ký bản mỏng với hệ dung môi *n*-hexan/EtOAc 1/3 khi **VII** phản ứng hết), cất loại axit dư ở áp suất 100 mBar. Sau khi cất hết axit formic, để nguội đến nhiệt độ phòng, thêm 200 ml nước cất vào và khuấy đều, đổ hỗn hợp ra cốc 500 ml và trung hoà bằng dung dịch NH_3 25 % đến pH = 9, khuấy tiếp khoảng 30 để **VIII** kết tủa hoàn toàn, sau đó lọc rửa trên phễu lọc xốp bằng nước lạnh. Sấy khô sản phẩm ở 75°C được 13 g (hiệu suất 63,0 %) chất rắn màu trắng nhạt, điểm chảy $244,3-245,7^\circ\text{C}$.

IR (KBr, ν (cm^{-1})): 3440 (N-H), 3057 (C-H_{ar}), 2951, 2831 (C-H_{ali}), 1673 (C=O), 1610 (C=C), 1069 (C-O); ^1H NMR (500 MHz, DMSO $-d_6$), δ_H (ppm): 1,91-1,94 (m, 2H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 2,37 (s, 4H, 2 x $-\text{NCH}_2-$), 2,43 (t, $J = 7,0$, 2H, $-\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 3,57 (t, $J = 4,0$, 4H, $-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$), 3,90 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$), 4,10 (t, $J = 6,5$, 2H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 7,12 (s, 1H, ar.H), 7,44 (s, 1H, ar.H), 7,97 (s, 1H, $-\text{CH}=\text{N}-$), 12,04 (s, 1H, $-\text{NH}-$); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO $-d_6$), δ (ppm): 25,68 (s, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 53,34 (s, 2 x $-\text{NCH}_2-$), 54,74 (s, $-\text{OCH}_3$), 55,93 (s, $-\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 66,18 (s, $-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$), 66,77 (s, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 105,79 (s, ar.C), 108,09 (s, ar.C), 115,57 (s, ar.C), 143,79 (s, ar.C), 144,77 (s, 1C, $=\text{CHNH}$), 147,84 (s, 1C, ar.C), 154,58 (s, ar.C), 160,05 (s, $=\text{CO}$); ESI-MS (m/z): 320,10 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

2.8. Tổng hợp 4-chloro-6-(3-morpholinopropoxy)-7-methoxy-quinazolin (IX)

Cho 10 g VIII vào bình cầu dung tích 500 ml 3 cổ, thêm 150 ml SOCl₂ đặt trên bếp khuấy từ, khuấy nhẹ và thêm 3 ml DMF, đun hồi lưu khoảng 1 giờ, chạy sắc ký bản mỏng với hệ dung môi n-hexan/EtOAc 1/3 cho thấy chất đầu VIII đã phản ứng hết. Để nguội đến nhiệt độ phòng, lắp bơm chân không, cất SOCl₂ ở áp suất thấp. Thêm 100 ml benzen vào bình và cất loại hết benzen, thêm tiếp 100 ml benzen và cất loại hết benzen để loại triệt để lượng vết SOCl₂. Sau đó để nguội đến nhiệt độ phòng và thêm 50 ml isopropanol vào, khuấy đều 30 phút, lọc trên phễu lọc xốp, rửa bằng 50 ml (2x25ml) isopropanol lạnh, thu bánh lọc ướt là muối của 4-chloro-6-(3-morpholinopropoxy)-7-methoxy-quinazolin với HCl, muối này được dùng để chuyển hoá tiếp mà không cần tinh thể thêm. Một lượng nhỏ muối này được hoà tan trong nước cất, trung hoà với dung dịch NH₃, chiết với EtOAc, làm khô cất loại bớt EtOAc và để kết tinh thu được chất rắn màu nhạt, điểm chảy 115-117 °C.

IR (KBr, ν (cm⁻¹)): 2946, 2862 (C-H_{ali}), 1614, 1557(C=C), 1509 (C=N), 872 (C-Cl); ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ_H (ppm): 1,95-1,97 (m, 2H, -OCH₂CH₂CH₂-), 2,37 (s, 4H, 2 x -NCH₂-), 2,45 (t, $J = 7,0$, 2H, -NCH₂CH₂CH₂-), 3,57(s, 4H, -CH₂OCH₂-), 3,98 (s, 3H, -OCH₃), 4,15 (t, $J = 6,5$, 2H, -OCH₂CH₂CH₂-), 7,20 (s, 1H, ar.H), 7,31 (s, 1H, ar.H), 8,79 (s, 1H, -CH=N-); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 25,49 (s, -CH₂CH₂CH₂-), 53,32 (s, 2 x -NCH₂-), 54,69 (s, -OCH₃), 56,43 (s, -NCH₂CH₂CH₂-), 66,17 (s, -CH₂OCH₂-), 67,08 (s, -OCH₂CH₂CH₂-), 102,53 (s, ar.C), 106,71 (s, ar.C), 118,37 (s, ar.C), 148,30 (s, ar.C), 150,50 (s, ar.C), 151,96(s, -N=C=HN=), 154,58(s, -N=C=CCl), 157,65 (s, =CO); ESI-MS (m/z): 338,04 ([M+H]⁺).

2.9. Tổng hợp 4-(3'-chloro-4'-fluoroanilino)-7-methoxy-6-(3-morpholinopropoxy)-quinazolin (gefitinib-X)

Cho toàn bộ bánh lọc ướt giai đoạn phản ứng trên vào bình cầu dung tích 500 ml 3 cổ, thêm 100 ml isopropanol, khuấy đều 15 phút. Thêm vào bình 10 g 3-chloro-4-anillin, khuấy đều 15 phút và bật bếp từ đun hồi lưu, khuấy mạnh trong 1 giờ, chạy sắc ký bản mỏng hệ dung môi EtOAc/metanol 20/1 cho thấy phản ứng đã hết chất đầu, lọc trên phễu lọc xốp, rửa bằng isopropanol (3x20 ml), sấy khô ở nhiệt độ 75 °C được 12 g muối của gefitinib với HCl. Toàn bộ 12 g muối vào cốc thuỷ tinh dung tích 500 ml, thêm 150 ml nước cất, khuấy đều và nâng nhiệt độ dung dịch lên 60 °C, điều chỉnh pH = 9-10

bằng dung dịch NaOH 15 %, khuấy tiếp và để nguội đến nhiệt độ phòng, lọc trên phễu lọc xốp và rửa bằng nước cất (5x15 ml), sấy khô ở nhiệt độ 75 °C thu được 10 g sản phẩm gefitinib dạng bột màu trắng nhạt. 10 g gefitinib thô được cho vào bình cầu dung tích 500 ml 3 cổ thêm 300 ml metanol, đun hồi lưu đến thu được dung dịch trong, thêm 2 g than hoạt tính vào đun thêm khoảng 10 phút nữa. Lọc nóng, để sản phẩm kết tinh trong ngăn mát tủ lạnh khoảng 5 giờ, lọc rửa trên phễu lọc xốp bằng metanol lạnh (3x10 ml), sấy khô ở 75 °C trong 3 giờ thu được 8,5 g (hiệu suất hai giai đoạn tổng hợp X từ VIII là 61,0 %) chất tinh thể màu trắng nhạt, điểm chảy 194,5-195,3 °C, độ tinh khiết 99,82 % (HPLC).

IR(KBr, ν (cm⁻¹)): 3403 (N-H), 2955, 2821 (C-H_{ali}), 1499 (C=N), 852 (C-H_{ar}); ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ_H (ppm): 1,96-2,02 (m, 2H, -OCH₂CH₂CH₂-), 2,39 (s, 4H, 2 x -NCH₂-), 2,47 (t, $J = 7,0$, 2H, -NCH₂CH₂CH₂-), 3,58 (t, $J = 4,5$, 4H, -CH₂OCH₂-), 3,93 (s, 3H, -OCH₃), 4,17 (t, $J = 6,5$, 2H, -OCH₂CH₂CH₂-), 7,19 (s, 1H, H8), 7,43 (m, 1H, H5'), 7,77-7,81 (m, 2H, H5 + H6'), 8,10-8,12 (m, 1H, H2'), 8,49 (s, 1H, H2), 9,53 (s, 1H, NH); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 25,83 (s, -CH₂CH₂CH₂-), 53,40 (s, 2 x -NCH₂-), 54,92 (s, -NCH₂CH₂CH₂-), 55,82 (s, -OCH₃), 66,14 (s, -CH₂OCH₂-), 67,11 (s, -OCH₂CH₂CH₂-), 102,50 (s, C-5), 107,26 (s, C-8), 108,74 (s, C-9), 116,44 (d, $J = 21,5$, C-5'), 118,72 (d, $J = 18,5$, C-3'), 122,28(d, $J = 6,8$, C-6'), 123,44(s, C-2'), 136,79 (s, C-1'), 146,94 (s, C-10), 148,31 (s, C-6), 152,55 (s, C-2), 153,10 (d, $J = 241,1$, C-4'), 154,49 (s, C-7), 155,97 (s, C-4); ESI-MS (m/z): 447,05 ([M+H]⁺).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

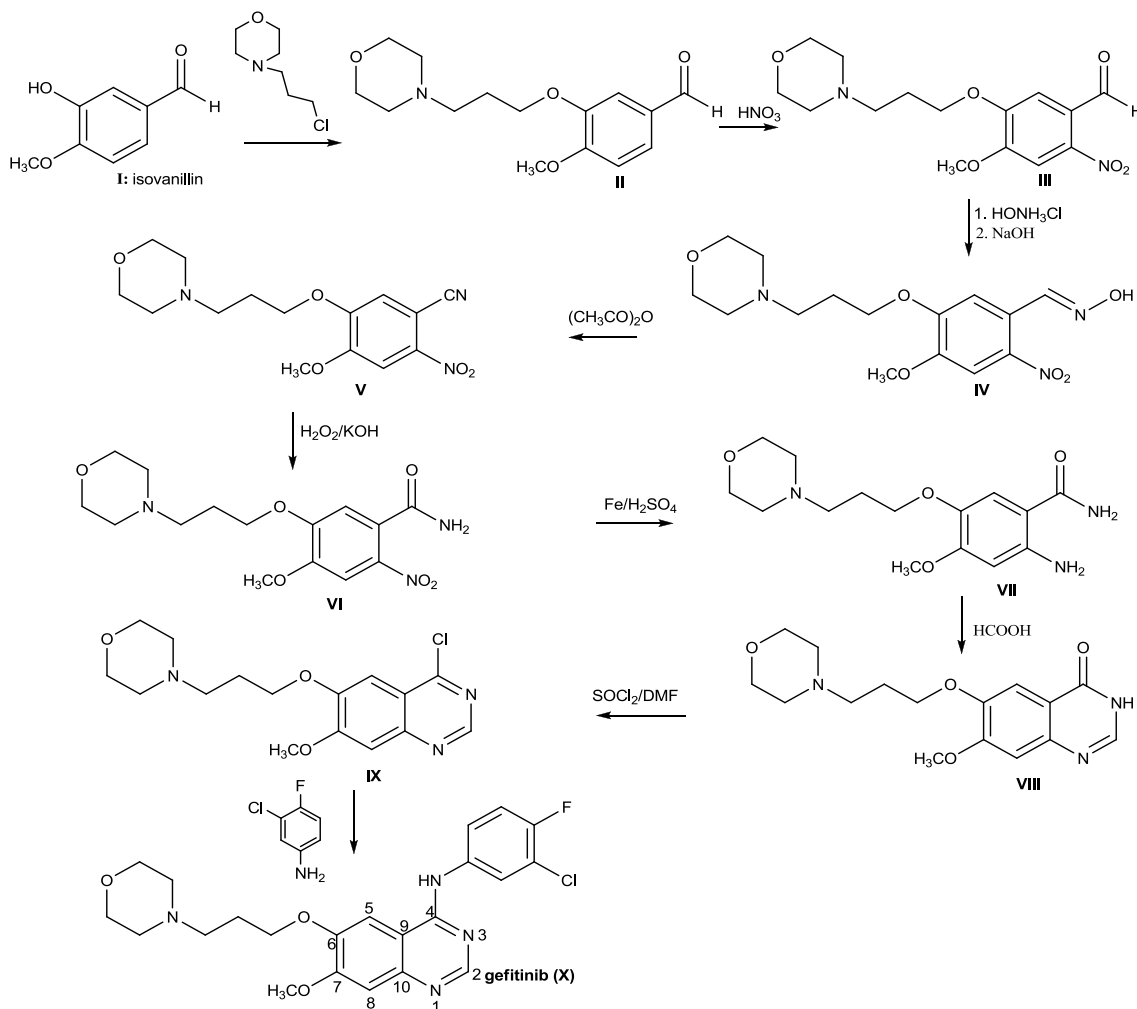
Gefitinib lần đầu tiên được tổng hợp thành công vào năm 1996 bởi nhóm nghiên cứu của Gibson, KH. [3]. Cho đến nay, đã có nhiều công trình nghiên cứu về tổng hợp gefitinib được công bố [4-11]. Tuy nhiên theo chúng tôi quy trình tổng hợp của nhóm tác giả nhóm tác giả Jyothi Prasad [7] là có nhiều ưu điểm như đi từ isovanillin và các hoá chất thông thường, thực hiện trong những điều kiện êm dịu và cho hiệu suất tốt. Chúng tôi cũng đi theo hướng này, sơ đồ tổng hợp gefitinib như ở hình 2 dưới đây.

3.1. Tổng hợp 4-methoxy-3-[3-(4-morpholinyl)propoxy]benzaldehyd

4-methoxy-3-[3-(4-morpholinyl)propoxy]benzaldehyd được tổng hợp từ isovanillin bằng phản ứng ankyli hoá với 3-morpholinopropyl clorua trong sự có mặt của bazơ, trong trường hợp này chúng tôi sử dụng K₂CO₃. Tác nhân phản ứng 3-morpho-

linopropyl clorua được sử dụng dư khoảng 1,4 lần, phản ứng xảy ra nhanh, để đảm bảo phản ứng chuyển hoá là hoàn toàn và giảm thời gian phản ứng, chúng tôi dùng sắc ký bản mỏng để theo dõi kết thúc phản ứng, khi thực hiện phản ứng ở 80 °C, thì

khoảng 2 giờ toàn bộ chất đầu isovanillin đã được chuyển hoá thành sản phẩm. Lọc nóng thu dịch lọc, cất loại dung môi DMF thu được sản phẩm dạng rắn màu vàng nâu có độ tinh khiết đảm bảo chuyển hoá tiếp mà không phải tinh chế thêm.



Hình 2: Sơ đồ tổng hợp gefitinib

3.2. Tổng hợp 4-methoxy-6-nitro-3-[3-(4-morpholinyl)propoxy]benzaldehyd

Theo tài liệu tham khảo [7], phản ứng nitro hoá (II) được thực hiện bằng dung dịch HNO_3 40 %, ở nhiệt độ 40-45 °C, chúng tôi cũng thực hiện phản ứng và theo dõi phản ứng bằng sắc ký bản mỏng thấy rằng, phản ứng khá chọn lọc, thời gian phản ứng khoảng 4-6 giờ. Để tách sản phẩm, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước đá và trung hoà bằng NaOH đến $\text{pH} = 8$ và chiết với EtOAc . Làm khô dịch chiết bằng Na_2SO_4 khan, lọc, cất loại EtOAc . Sản phẩm rắn được rửa bằng hỗn hợp dung môi *n*-hexan/ EtOAc tỉ lệ 1/1 và 3/1 đảm bảo sản phẩm có độ tinh khiết để phản ứng tiếp.

3.3. Tổng hợp 4-methoxy-6-nitro-3-[3-(4-morpholinyl)propoxy]benzaldoxim

Chuyển hoá nhóm andehit của **III** thành nhóm oxime, chúng tôi sử dụng hydroxylamin hydroclorua trong dung môi metanol/nước, với xúc tác NaOH . Phản ứng được thực hiện ở nhiệt độ phòng, theo dõi phản ứng bằng sắc ký bản mỏng. Tinh chế sản phẩm bằng cách trung hoà hỗn hợp bằng axit axetic đến $\text{pH} = 7$, sau đó lọc sản phẩm trên phễu thủy tinh xốp và rửa bằng nước lạnh. Hiệu suất phản ứng cao trên 90 %, kiểm tra bằng sắc ký bản mỏng với hệ dung môi $\text{EtOAc}/\text{metanol}$ 10/1 chỉ cho một vết màu tím có $R_f = 0,76$ khi hiện màu với UV, điểm chảy 166,2-167,7 °C (tài liệu [7] là 166-168 °C).

3.4. Tổng hợp 4-methoxy-6-nitro-3-[3-(4-morpholinyl)propoxy]benzonitril

Phản ứng dehydrat hoá oxime **IV** để thu được **V** có thể được thực hiện bằng nhiều tác nhân khác nhau như anhydric axetic, anhydric propionic, phospho pentoxit,... tuy nhiên sử dụng anhydric axetic là thuận lợi hơn cả trong quá trình tách thu sản phẩm. Sau khi phản ứng kết thúc (kiểm tra bằng sắc ký bản mỏng), cất loại tác nhân dư, trung hoà, lọc rửa bằng nước lạnh, sấy khô thu được **V**, hiệu suất trên 85 %.

3.5. Tổng hợp 4-metoxi-6-nitro-3-[3-(4-morpholinyl)propoxy]benzamide

Để thu được **VI** có thể thủy phân **V** bằng xúc tác axit như axit sunfuric 50-70 %, axit hydrocloric đặc hoặc hydro peoxit xúc tác dung dịch kiềm loãng. Chúng tôi đã sử dụng dung dịch nước H₂O₂/KOH (nồng độ 2,5-3 % H₂O₂ và 1,2-1,5 % KOH) để thực hiện phản ứng thủy phân hợp chất nitril **V**. Dùng sắc ký bản mỏng với hệ dung môi EtOAc/metanol 3/2 để theo dõi phản ứng, sau khoảng 1-2 giờ phản ứng kết thúc. Để nguội, lọc rửa bằng nước lạnh trên phễu lọc xốp, sấy khô thu được sản phẩm màu trắng nhạt có điểm chảy 185,7-187,1 (tài liệu [7] là 187-188) có thể dùng để chuyển hoá tiếp.

3.6. Tổng hợp 2-amino-4methoxy-5-[3-(morpholinyl)propoxyl]benzamid

Khử hoá hợp chất nitro **VI** thành amin **VII** có thể dùng các tác nhân khác nhau như thực hiện phản ứng hydro hoá ở áp suất cao với xúc tác kim loại 2-10% Pd/C, 5% Rd/Al₂O₃, Ni-raney hoặc sử dụng Zn/H₂NNH₂. Tuy nhiên, các phương pháp này hoặc là không kinh tế và khó thực hiện vì sử dụng khí hydro ở áp suất cao hoặc chuyển hoá không chọn lọc, hiệu suất thấp. Trong công trình này chúng tôi đã thử và thấy rằng có thể khử hoá nhóm nitro thành amin bằng hydro mới sinh (Fe/H₂SO₄ loãng / Fe/HCl loãng cho hiệu suất cao (phản ứng toàn lượng) và dễ tách sản phẩm. Sau khi phản ứng kết thúc, trung hoà, chiết với EtOAc, làm khô và cất loại dung môi thu được sản phẩm có độ tinh khiết đảm bảo chuyển hoá tiếp.

3.7. Tổng hợp 7-metoxi-6-(3-morpholinopropoxy)-3,4-dihydroquinolin-4-one

Phản ứng đóng vòng quinazolin-4-one được thực hiện dễ dàng bằng tác nhân axit formic ở nhiệt độ 90-100 °C. Theo dõi phản ứng bằng sắc ký bản mỏng với hệ dung môi EtOAc/metanol 1/1, sau thời

gian khoảng 4-6 giờ phản ứng kết thúc. Cất loại axit formic dư ở áp suất thấp, trung hoà bằng dung dịch amoniac, lọc, rửa kết tủa bằng nước lạnh trên phễu lọc xốp thu được sản phẩm dạng bột màu trắng nhạt, điểm nóng chảy 244,3-245,7 °C (tài liệu [7] là 244,5 °C).

3.8. Tổng hợp 4-chloro-6-(3-morpholinopropoxy)-7-methoxy-quinazoline

Sản phẩm **IX** có thể được chuyển hoá từ **VIII** bằng nhiều tác nhân clo hoá khác nhau như thionyl clorua (SOCl₂), phospho pentaclorua (PCl₅), phospho oxycloarit (POCl₃),... trong các dung môi không chứa nguyên tử hidro linh động như metylen clorua, cloroform, toluen, dioxan,... hoặc không sử dụng dung môi. Chúng tôi sử dụng thionyl clorua làm tác nhân clo hoá và không sử dụng dung môi để tổng hợp **IX**, kiểm tra bằng sắc ký bản mỏng, sau khoảng 1-2 giờ phản ứng kết thúc, cất hết thionyl clorua dư ở áp suất thấp. Lọc rửa sản phẩm rắn bằng isopropanol lạnh, bánh lọc là muối của 4-chloro-6-(3-morpholinopropoxy)-7-methoxy-quinazoline với axit HCl có thể sử dụng để chuyển hoá tiếp mà không phải tinh chế thêm.

3.9. Tổng hợp 4-(3'-chloro-4'-fluoroanilino)-7-methoxy-6-(3-morpholinopropoxy)-quinazolin

Gefitinib được tổng hợp bằng phản ứng ngưng tụ **IX** với 3-cloro-4-floroanilin trong dung môi isopropanol ở nhiệt độ sôi hồi lưu. Lượng 3-cloro-4-floroanilin được chúng tôi sử dụng dư khoảng 2 lần so với **IX** để đảm bảo phản ứng ngưng tụ triệt để và rút ngắn thời gian phản ứng. Với quy trình này thì sau khoảng 1-2 giờ phản ứng kết thúc, để nguội và lọc, rửa bằng nước cất lạnh thu được sản phẩm gefitinib ở dạng muối clorua. Toàn bộ muối này lại được hoà tan trong nước cất ấm 50-60 °C và kiềm hoá bằng dung dịch NaOH loãng 15% đến pH = 9-10, lọc, rửa bằng nước lạnh, sấy khô thu được sản phẩm gefitinib thô. Sản phẩm gefitinib thô được kết tinh lại trong dung môi metanol thu được gefitinib tinh khiết màu trắng điểm chảy 194,5-195,3 °C (IP 10 quy định 193-197 °C) và khẳng định cấu trúc bằng các phương pháp phổ IR, 1D- và 2D-NMR cũng như MS. Độ tinh khiết trên 99,8 % (phương pháp LC-MS).

4. KẾT LUẬN

Đã xây dựng được quy trình tổng hợp gefitinib đi từ nguyên liệu isovanillin với hiệu suất toàn bộ quy trình trên 15 %, trong đó có cải tiến quan trọng là sử dụng tác nhân Fe/H₂SO₄ loãng để khử nhóm

nitro trong **VI** thành nhóm amin trong **VII** cho hiệu suất toàn lượng thay vì phải hydro hoá ở áp suất cao và sử dụng các xúc tác kim loại đắt tiền. Cấu trúc của gefitinib và các sản phẩm trung gian đã được khẳng định bằng các phương pháp phổ IR, 1D- và 2D-NMR cũng như phổ MS.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Astra Zeneca Canada Inc. *Product monograph Iressa*, 06/3/2012.
2. NICE technology appraisal guidance 192. *Gefitinib for the first-line treatment of locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer*, 4/2013.
3. Gibson K. H. *Quinazoline derivatives*, WO 96/33980
4. Gibson K. H. *Quinazoline derivatives*, EP0823900B1 (1996).
5. Gilson K. H. *Quinazoline derivatives*, US. Pat., 5770599 (1998).
6. Gilday J. P. *Process for the preparation of 4-(3-chloro-4-fluoroanilino)-7-methoxy-6-(3-morpholinopropoxy)quinazoline*, WO 2004/024703A1.
7. Ramanadham J. P. *An improved process for the preparation of Gefitinib*, WO 2005/070909A1.
8. Ming Dong Li et al. *Synthesis of gefitinib from methyl 3-hydroxy-4-methoxybenzoate*, *Molecules*, **12**, 673-678 (2007).
9. Rao D. R., et al. *Process for the preparation of Gefitinib*, WO 2008/125867A2.
10. Venkateshappa Chandregowda, et al. *Improved Synthesis of Gefitinib and Erlotinib Hydrochloride - Anticancer Agents*, *Synthetic communications*, **37**, 3407-3415 (2007).
11. Aggarwal A. K. *A process for the preparation of Gefitinib*, WO 2010/076810 A2.

Liên hệ: Vương Văn Trường

Trung tâm Nhiệt đới Việt – Nga, Bộ Quốc phòng
Đường Nguyễn Văn Huyền, Nghĩa Đô, Cầu Giấy, Hà Nội
E-mail: vvtruong.ndvn@gmail.com; Điện thoại: 0989060004.