

TỔNG HỢP CÁC DẪN XUẤT TRIAZOLO-CYCLOBUTANE NUCLEOSIDE CÓ CHỨA VÒNG PIPERAZINE

Trần Thị Thu Thủy^{1*}, Ngô Ngọc Thắng¹, Đinh Thị Hà¹, Nguyễn Quyết Chiến², Stephanie Legoupy³

¹Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

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

³Laboratoire Moltech-Anjou, UMR CNRS 6200, 2, Bd Lavoisier, 49045 Angers Cedex 01, France

Đến Tòa soạn 20-5-2013

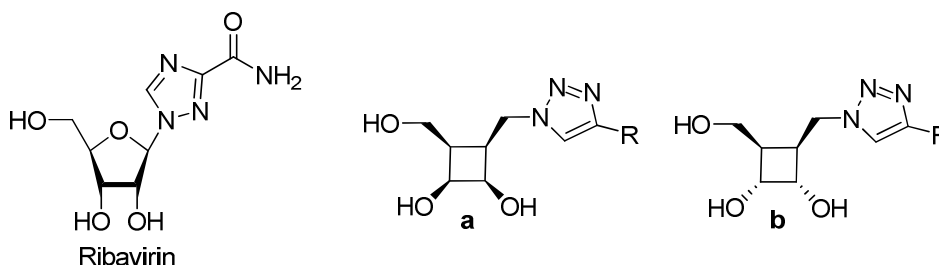
Abstract

1. GIỚI THIỆU

Các dẫn xuất nucleoside hiện đang được quan tâm đặc biệt bởi dải hoạt tính sinh học tương đối rộng của chúng nhất là các tính chất chống virut và chống khối u [1]. Bên cạnh những thay đổi ở vòng ribose bởi các vòng đường 5 cạnh khác [2], rất nhiều nghiên cứu đã hướng sang các vòng carbocyclic 4 hoặc 5, trong đó phải kể đến sự phát hiện ra abacavir [3], carbovir [4], entecavir [5],

cyclobut-A và cyclobut-G [6]. Mặt khác, từ khi ribavirin được công bố là một tác nhân kháng virus gây viêm gan B và C (HCV, HBV), virus cúm, virus gây sốt dengue, rất nhiều các dẫn xuất triazolo-nucleoside đã được tổng hợp ra [7].

Do đó, với mục tiêu tìm kiếm các hợp chất kháng virut mới, chúng tôi dự định sẽ tổng hợp các dẫn xuất cyclobutane nucleoside (**a**, **b**) của ribavirin bằng cách sử dụng phản ứng cộng hợp azide alkyne Huisgen như là một bước tổng hợp chìa khóa.



Hình 1: Cấu trúc hóa học của ribavirin và các triazolo-cyclobutane nucleoside **a**, **b**

Trong bài báo này chúng tôi sẽ công bố các kết quả liên quan đến việc tổng hợp các dẫn xuất triazolo-cyclobutane nucleoside có chứa vòng piperazine- một dị vòng quan trọng có mặt trong nhiều phân tử có hoạt tính sinh học.

2. THỰC NGHIỆM

Phổ NMR được đo trên máy Bruker Avance ở

500 và 125 MHz tương ứng với ¹H và ¹³C với TMS là chất chuẩn nội. Phổ EI-MS được đo trên máy LC/MSD Agilent Series 1100. Phổ HR-EIS-MS được đo trên máy micrOTOF-QII 10027 (Bruker). Độ quay cực được đo trên máy Perlin-Elmer polarimeter tự động.

Các hóa chất được mua của hãng Merck và Sigma-Aldrich và được tinh chế lại hoặc làm khan khi cần thiết theo các phương pháp quen thuộc. Hai dẫn xuất piperazinyl acetylene sử dụng cho phản ứng Click được điều chế từ propargyl chlorua và piperazine tương ứng.

Các phản ứng được thực hiện theo các quy trình chung sau:

2.1. Phản ứng Click

Azide (1 eq., 0,3 g), alkyne (1,2 eq) được hòa tan vào 2 mL t-BuOH và khuấy đều. 200 mol% Na ascorbat (hòa tan trong 1 mL H₂O) và 20 mol% CuSO₄.5H₂O (hòa tan trong 1 mL H₂O) được thêm lần lượt vào hỗn phản ứng trong điều kiện khí Ar. Khuấy hỗn hợp phản ứng qua đêm ở nhiệt độ phòng. Theo dõi phản ứng bằng TLC. Khi phản ứng kết thúc, 5 mL NH₄OH (5%) được thêm vào hỗn hợp phản ứng, sau đó hỗn hợp được chiết bằng ethyl acetate (4x2 mL). Các phần hữu cơ được gộp lại và làm khan bằng Na₂SO₄. Sau đó loại dung môi dưới áp suất thấp và tinh chế cặn thu được bằng cột silica gel.

2.2. Phản ứng dihydroxyl hóa

N-Methylmorpholine N-oxit (NMO, 1,5 eq) và OsO₄ (2 mol%) được thêm vào dung dịch của cyclobutene (1 eq) trong hỗn hợp THF:H₂O 10:1. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng (25 °C) trong 4 giờ. Theo dõi phản ứng bằng TLC. Khi phản ứng kết thúc, làm lạnh hỗn hợp phản ứng và thêm vào 5 mL dung dịch NaHSO₃ 20 %. Sau đó chiết bằng etyl axetat (4x5 mL), gom các phần hữu cơ và làm khô bằng Na₂SO₄. Phần cặn (gồm có 2 đồng phân) được chuyển qua phản ứng tiếp theo để tách nhóm bảo vệ TBDPS.

2.3. Phản ứng loại nhóm TBDPS

Dung dịch của chất cần loại nhóm bảo vệ trong THF được thêm TBAF (1,5 eq) ở 25 °C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng (25 °C) trong 30 phút. Theo dõi phản ứng bằng TLC. Sau khi phản ứng kết thúc, 5 mL dung dịch NH₄Cl được thêm vào hỗn hợp phản ứng. Hỗn hợp sau đó được chiết bằng ethyl acetate (4x5 mL). Gộp các phần hữu cơ và làm khô bằng Na₂SO₄ và loại dung môi dưới áp suất thấp. Phần cặn được tinh chế bằng cột silica gel, thu được sản phẩm dưới dạng hỗn hợp hai đồng phân.

2.4. Tách hai đồng phân A và B

Hỗn hợp hai đồng phân A và B được tinh chế sơ bộ trên cột Sephadex LH-20 và sau đó được tách riêng trên cột silica gel với hệ rửa giải etyl axetat/metanol.

1-((1-(((1S,4R)-4-((tert-butyl)diphenylsilyloxy)methyl)cyclobut-2-enyl)methyl)-5H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-4-(2,5-difluorobenzyl) piperazine (2)

Chất dầu màu vàng nhạt (hiệu suất: 82 %). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7,66-7,64 (m, 4H); 7,55 (s, 1H); 7,45-7,37 (m, 6H); 7,12-7,08 (m, 1H); 6,98-6,94 (m, 1H); 6,92-6,88 (m, 1H); 6,09 (d, 1H, *J* 2,5 Hz, 1H); 6,06 (d, *J* 2,5 Hz, 1H); 4,77 (dd, *J* 13,5, 5,5 Hz, 1H); 4,44 (dd, *J* 13,5, 10,5 Hz, 1H); 3,86 (dd, *J* 11,0, 4,5 Hz, 1H); 3,76 (dd, *J* 11,0, 8,5 Hz, 1H); 3,73 (s, 2H); 3,56 (s, 2H); 3,48-3,44 (ddd, *J* 5 Hz, 1H); 3,26-3,22 (ddd, *J* 5 Hz, 1H); 2,57 (broad m, 8H); 1,06 (s, 9H). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 158,8; 156,9; 138,3; 138,26; 135,6 (2C); 135,5 (2C); 133,4; 133,3; 129,8; 129,79; 128,8; 127,8 (4C); 123,1; 122,0; 117,3; 116,2; 115,1; 63,4; 54,7; 53,0; 52,7 (2C); 52,3; 51,0; 47,6; 45,5 (2C); 26,9 (3C); 19,2. HMRS: C₃₆H₄₃ON₅F₂Si, tính cho [M+H]⁺ 628,3283, đo được 628,3280.

1-((1-(((1S,4R)-4-((tert-butyl)diphenylsilyloxy)methyl)cyclobut-2-enyl)methyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-4-(4-(trifluoromethyl)phenyl)piperazine (3)

Chất dầu màu vàng nhạt (hiệu suất: 88 %). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7,67-7,65 (m, 5H); 7,49- (m, 6H); 7,12-7,45 (m, 4H); 7,43-7,38 (m, 4H); 6,91 (d, *J* 9 Hz, 2H); 6,10 (d, 1H, *J* 2,5 Hz, 1H); 6,07 (d, *J* 2,5 Hz, 1H); 4,81 (dd, *J* 13,5; 5,5 Hz, 1H); 4,48 (dd, *J* 13,5; 10,5 Hz, 1H); 3,87 (dd, *J* 11,0; 5,0 Hz, 1H); 3,84 (br, 2H); 3,77 (dd, *J* 11,0; 8,5 Hz, 1H); 3,49 (ddd, *J* 5 Hz, 1H); 3,36 (br, 4H); 3,26 (ddd, *J* 5 Hz, 1H); 2,79 (br, 4H); 1,07 (s, 9H). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 158,9; 156,9; 138,5; 138,2; 135,6 (2C); 135,5 (2C); 133,4; 133,3; 129,9; 129,8; 127,8 (4C); 126,5; 126,4; 114,8; 63,5; 57,6; 52,9; 52,3; 51,1; 47,6; 47,5; 45,5 (2C); 26,9 (3C); 19,2. HMRS: C₃₆H₄₂ON₅F₃Si, tính cho [M+H]⁺ 646,3189, đo được 646,3194.

(1S,2R,3S,4R)-3-(((4-((4-(2,5-difluorobenzyl)piperazin-1-yl)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-4-(hydroxymethyl) cyclobutane-1,2-diol (6a)

Chất rắn màu trắng (hiệu suất: 22 %). [α]_D²⁰ -8 (c 2,600, MeOH). ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7,97 (s, 1H); 7,22-7,17 (m, 1H); 7,13-7,08 (m, 1H); 7,07-7,03 (m, 1H); 4,68 (dd, *J* 14,0; 7,5 Hz, 1H); 4,58 (dd, *J* 14,0; 9,0 Hz, 1H); 4,15 (dd, *J* 5,5; 3,0 Hz, 1H); 4,12 (dd, *J* 6,0 Hz, 1H); 3,80-3,73 (m, 2H); 3,72 (s, 2H); 3,59 (s, 2H); 2,95-2,91 (m, 1H); 2,59 (br, 8H); 2,40-2,37 (m, 1H). HRMS C₂₀H₂₇F₂N₅O₃ tính cho [M+H]⁺: 424,2160, đo được: 424,2165

(1R,2S,3S,4R)-3-(((4-((4-(2,5-difluorobenzyl)piperazin-1-yl)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-4-(hydroxymethyl) cyclobutane-1,2-diol (6b)

Chất rắn màu trắng (hiệu suất: 33 %). $[\alpha]_D^{20} +29$ (c 1,450, MeOH). $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ 7,96 (s, 1H); 7,20-7,17 (m, 1H); 7,13-7,09 (m, 1H); 7,07-7,02 (m, 1H); 4,77 (dd, J 14,0; 9,5 Hz, 1H); 4,67 (dd, J 14,0; 6,0 Hz, 1H); 4,37 (m, 1H); 4,31 (m, 1H); 3,95-3,88 (m, 2H); 3,71 (s, 2H); 3,61 (s, 2H); 2,92-2,86 (m, 1H); 2,70-2,65 (m, 1H); 2,59 (br, 8H). HRMS $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{F}_2\text{N}_5\text{O}_3$ tính cho $[\text{M}+\text{H}]^+$: 424,2160, đo được: 424,2136.

(1*R*,2*S*,3*R*,4*S*)-3-(hydroxymethyl)-4-((4-((4-(4-(trifluoromethyl)phenyl)piperazin-1-yl)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)cyclobutane-1,2-diol (**7a**)

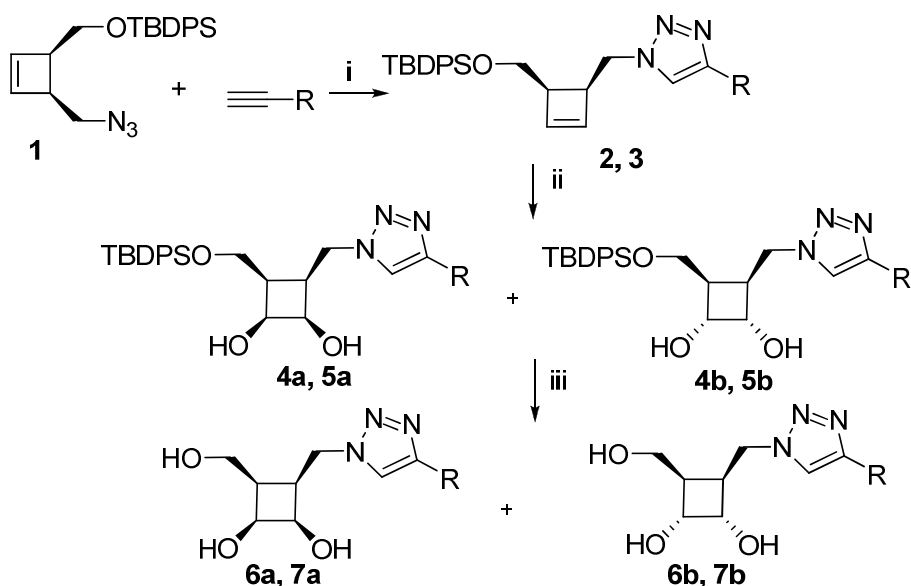
Chất rắn màu trắng (hiệu suất: 24,6 %). $[\alpha]_D^{20} -14$ (c 2,300, MeOH). $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) 8,02 (s, 1H); 7,48 (d, J 9 Hz, 2H); 7,04 (d, J 9 Hz, 2H); 4,80 (dd, J 14,0; 9,5 Hz, 1H); 4,69 (dd, J 14,0; 6,0 Hz, 1H); 4,40 (m, 1H); 4,35 (m, 1H); 3,96 (dd, J 11,0; 6,0 Hz, 1H); 3,89 (dd, J 11,0; 7,0 Hz, 1H); 3,75 (s, 2H); 3,33 (m, 4H); 2,68 (m, 4H). HRMS $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_3$ tính cho $[\text{M}+\text{H}]^+$: 442,2066, đo được: 442,2061.

(1*S*,2*R*,3*R*,4*S*)-3-(hydroxymethyl)-4-((4-((4-(4-(trifluoromethyl)phenyl)piperazin-1-yl)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)cyclobutane-1,2-diol (**7b**)

Chất rắn màu trắng (hiệu suất: 35,4 %). $[\alpha]_D^{20} +22$ (c 2,500, MeOH). $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) 8,04 (s, 1H); 7,47 (d, J 9 Hz, 2H); 7,04 (d, J 9 Hz, 2H); 4,70 (dd, J 14,0; 7,0 Hz, 1H); 4,60 (dd, J 14,0; 8,5 Hz, 1H); 4,40 (m, 1H); 4,19 (m, 2H); 3,77 (m, 4H); 3,31 (m, 4H); 2,96 (m, 1H); 2,68 (m, 4H); 2,42 (m, 1H). HRMS $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_3$ tính cho $[\text{M}+\text{H}]^+$: 442,2066, đo được: 442,2059.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Trong một công bố trước đây, chúng tôi đã công bố kết quả nghiên cứu tổng hợp hợp chất azide **1** đi từ anhydrite maleic qua 8 bước với hiệu suất tổng thể là 14,6 % [8]. Azide **1** được sử dụng như là hợp chất trung gian chìa khóa tác dụng với các dẫn xuất acetylene khác nhau theo phản ứng Click, sau đó được dihydroxyl hóa, cuối cùng là loại nhóm bảo vệ và tách riêng 2 đồng phân.



i) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Na ascorbate, $\text{BuOH}/\text{H}_2\text{O}$; ii) OsO_4 , NMO, $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$; iii) TBAF, THF

Hình 2: Sơ đồ tổng hợp các dẫn xuất triazolo-cyclobutane nucleoside

Bảng 1: Hiệu suất của phản ứng click (i), dihydroxyl hóa (ii) và desilyl hóa (iii)

TT	R	Hiệu suất* (i)	Hiệu suất* (ii)	Tỷ lệ a/b	Hiệu suất* (iii)	Tỷ lệ a/b
1		2 (82 %)	4 (71 %)	4 (40/60)	6 (55 %)	6 (40/60)
2		3 (88 %)	5 (80 %)	5 (45/55)	7 (60 %)	7 (41/59)

TCHH, T. 52(1), 2014

Trần Thị Thu Thủy và cộng sự

Phản ứng Click (i) giữa azide và ankin [9] được thực hiện ở nhiệt độ phòng trong một đêm với sự có

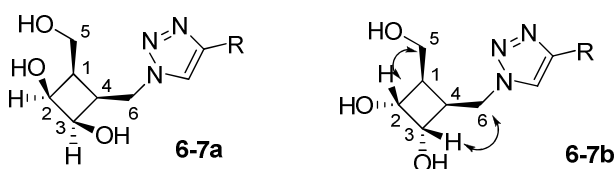
mặt của xúc tác $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ và muối Na ascorbate trong một số hệ dung môi khác nhau như EtOH,

EtOH:H₂O = 1:1; MeOH, MeOH:H₂O = 1:1; propanol; propanol:H₂O = 1:1; BuOH; BuOH:H₂O = 1:1. Kết quả tốt nhất đạt được là thực hiện phản ứng này trên azide 1 trong hỗn hợp dung môi BuOH:H₂O 1:1. Áp dụng qui trình này, chúng tôi đã tổng hợp thành công với hiệu suất cao (82-97 %) 2 dẫn xuất có chứa vòng piperazine **2** (82 %), **3** (88 %) (bảng 1) và 5 hợp chất 1,2,3-triazolocyclobutene khác [10].

Quá trình dihydroxyl (ii) hóa diễn ra trên hai hợp chất cyclobutene **2** và **3** dưới tác dụng của *N*-methylmorpholine *N*-oxit (NMO) với xúc tác osmium tetroxide và trong vòng 4 giờ ở nhiệt độ phòng, cho sản phẩm là hỗn hợp của 2 isomer *cis*-**a** và *trans*-**b** (hiệu suất 71-74 %). Đồng phân *trans*-**b** chiếm ưu thế hơn so với đồng phân *cis*-**a** có thể là do sự án ngữ không gian trong phân tử về phía mặt phẳng có chứa nhóm bảo vệ TBDPS và vòng triazole với nhóm thế R (bảng 1).

Phản ứng desilyl hóa để tách nhóm bảo vệ TBDPS- được thực hiện trực tiếp trên hỗn hợp hai đồng phân, cho sản phẩm là các dẫn xuất triazolocyclobutane nucleoside **6-7a** và **6-7b** (bảng 1). Các hợp chất này được tinh chế và tách riêng bằng phương pháp sắc ký nhiều lần trên cột silica gel và sephadex LH-20.

Cấu trúc hóa học của các đồng phân *cis*-**a** và *trans*-**b** được phân biệt bằng phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân, nhờ sự khác biệt về tương tác H-H trong thí nghiệm NOESY. Tương tác giữa H-3/H-6 và H-2/H-5 được quan sát thấy trên phổ NOESY của đồng phân *trans*-**b** nhưng không xuất hiện ở đồng phân *cis*-**a**.



Hình 3: Tương tác NOESY của các hợp chất **6,7a-b**

4. KẾT LUẬN

Bốn hợp chất triazolocyclobutane nucleoside mới có chứa vòng piperazine đã được tổng hợp theo con đường ngắn và hiệu quả, sử dụng phản ứng cộng tạo vòng 1,3-Huigen. Các hợp chất này đã được gửi đi nghiên cứu một số hoạt tính sinh học như kháng khuẩn, kháng nấm, gây độc tế bào. Kết quả cho thấy chúng không thể hiện hoạt tính kháng khuẩn đáng kể và không gây độc tế bào (KB). Các nghiên cứu về hoạt tính kháng virus đang được thực hiện.

Lời cảm ơn: Chúng tôi xin cảm ơn Hội đồng quỹ NAFOSTED đã tài trợ cho các nội dung nghiên cứu

này trong khuôn khổ đề tài NCCB, mã số 104.01.91.09 và GS. Giang Vo-Thanh (ĐHTH Paris Sud) đã thực hiện đo HRMS.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- D. M. Huryn, M. Okabe. *AIDS-driven nucleoside chemistry*, Chem. Rev., **92**, 1745-1768 (1992). Borthwick, A. D., Biggadike, K. *Synthesis of chiral carbocyclic nucleoside*, Tetrahedron, **48**, 571-623 (1992). Agrofolio, L. *Synthes of carbocyclic nucleoside*, Tetrahedron, **50**, 10611-10670 (1994). Ichikawa, E., *Syntheses of Oxetanocin A and related unusual nucleosides with bis(hydroxymethyl)-branched sugars*, Synthesis, 1-28 (2002). De Clercq E., *Therapeutic potential of nucleoside/nucleotide analogues against poxvirus infections*, J. Rev. Med. Virol. **14**, 289-300 (2004).
- V. E. Marquez, M. I. Lim. *Carbocyclic nucleosides*, Med. Res. Rev. **6**, 1 (1986)
- W. Hugues, J. A. McDowell, J. Shenep, P. Flynn, M. W. Kline, R. Yogev, W. Symonds, H. Lou, S. Hetherington. *Safety and single-dose pharmacokinetics of abacavir (1592U89) in human immunodeficiency virus type 1-infected children*, Antimicrob. Agents Chemother, **43**, 609 (1999).
- J. A. V. Coates, H. J. Inggall, B. A. Pearson, C. R. Penn, R. Storer, C. Williamson, J. M. Cameron. *Carbovir: the (-) enantiomer is a potent and selective antiviral agent against human immunodeficiency virus in vitro*, Antiviral Res. **15**, 161 (1991).
- S. F. Innaimo, M. Sieffer, G. S. Bisacchi, N. Standing, R. Zahler, R. Colonno. *Identification of BMS-200475 as a potent and selective inhibitor of hepatitis B virus*, J. Antimicrob. Agents Chemother. **41**, 1444 (1997).
- S. Hayashi, D. W. Norbeck, W. Rosenbrook, R. L. Fine, M. Matsukura, J. J. Plattner, S. B. Broder, H. Mitsuya. *Cyclobut-A and cyclobut-G, carbocyclic oxetanocin analogs that inhibit the replication of human immunodeficiency virus in T cells and monocytes and macrophages in vitro*, Antimicrob. Agents Chemother., **34**, 287-294 (1990).
- A. M. Contreras, Y. Hiasa, W. He, A. Terella, E. V. Schmidt, R. T. Chung. *Viral RNA mutations are region specific and increased by ribavirin in a full-length hepatitis C virus replication system*, J. Virol. **76**, 8505 (2002).
- Tran Thi Thu Thuy, Ngo Ngoc Thang, Nguyen Quyet TCHH, T. 52(1), 2014
- Nucleoside Analogues*, Tạp chí Hóa học (tiếng Anh), **50(5)**, 533-536 (2012).
- H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless. *Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions*, Angrew. Chem. Int. Ed., **40**, 2004

- (2001).
10. Thi Thu Thuy Tran, Ngoc Thang Ngo, Thi Ha Dinh, Quyet Chien Nguyen, Stephanie Legoupy. *Synthesis*

of novel triazolo-cyclobutane nucleoside analogues,
gửi đăng Let. Org. Chem. (2013).

Liên hệ: Trần Thị Thu Thủy

Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
Số 18 Đường Hoàng Quốc Việt, Quận Cầu Giấy, Hà Nội
Email: thuytran.inpc@gmail.com.