

PHẢN ỨNG QUANG HOÁ VÀ OZON HOÁ CỦA CÁC DẪN XUẤT 12-DEOXOARTEMISININ

Đến Tòa soạn 6-2-2009

TRẦN ĐỨC QUÂN, TRẦN VĂN SUNG

Viện Hoá học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

SUMMARY

The compounds 12 β -allyldeoxoartemisinin and anhydroartemisinin have been synthesized under mild conditions with high yield. Ozonolysis of 12 β -allyldeoxoartemisinin and anhydroartemisinin as well as the photolysis of 12 β -allyldeoxoartemisinin were carried out. All the reactions gave good yield. This is the first time the ozonolysis of anhydroartemisinin and the photolysis of 12 β -allyldeoxoartemisinin have been reported.

I - ĐẶT VẤN ĐỀ

Artemisinin (qinghaosu **1**) là chất có hoạt tính kháng ký sinh trùng sốt rét, lần đầu tiên đã được các nhà khoa học Trung Quốc chiết tách từ cây thanh hao hoa vàng (*Artemisia annua* L.) vào năm 1971 [1, 2]. Ngày nay artemisinin và các dẫn xuất của nó đã được sử dụng làm thuốc chữa sốt rét ở Việt Nam và trên thế giới. Cho tới nay đã có rất nhiều công trình nghiên cứu về tổng hợp hoá học và hoạt tính sinh học của các dẫn xuất mới của artemisinin. Tuy vậy, các công trình nghiên cứu về chuyển hóa quang hoá và ozon hóa của artemisinin và các dẫn xuất của nó thì vẫn còn rất ít. Trong các bài báo trước chúng tôi đã thông báo về phản ứng quang hoá của một số dẫn xuất carbonyl và carboxylic ester của dihydroartemisinin [3]. Bài báo này thông báo các kết quả tiếp theo của chúng tôi về phản ứng quang hoá và ozon hoá của một số dẫn xuất của 12-deoxoartemisinin.

II - THỰC NGHIỆM

Phần cộng hưởng từ hạt nhân được ghi trên máy NMR-500 MHz AVANCE của hãng Bruker tại Viện Hoá học, Viện Khoa học và Công nghệ

Việt Nam.

Các hoá chất có độ tinh khiết P.A. được mua của các hãng Sigma-Aldrich và Merck. Dung môi được chưng cất lại trước khi dùng.

1. Tổng hợp các chất ban đầu

Tổng hợp dihydroartemisinin (DHA, **2**) [3]

Khử hoá 5g artemisinin bằng NaBH₄ trong MeOH khan ở nhiệt độ -5°C. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng EtOAc, rửa bằng CH₃COOH 5%, NaCl 5%, làm khan bằng Na₂SO₄, cất loại dung môi dưới áp suất thấp, kết tinh lại trong *n*-hexan/EtOAc. Lọc, rửa bằng *n*-hexan/CH₂Cl₂ lạnh, sấy khô, thu được 4,88 g dihydro-artemisinin (**2**, hiệu suất 97%).

Tổng hợp anhydroartemisinin (**3**)

Hoà tan 2,84 g (10 mmol) dihydroartemisinin (**2**) trong hỗn hợp CH₂Cl₂:Et₂O (1:1 v/v) được làm lạnh tới 10 °C. Vừa khuấy vừa cho thêm 0,1 ml BF₃.Et₂O, tiếp tục khuấy cho tới khi DHA đã phản ứng hết, phản ứng dehydrat hoá DHA diễn ra hoàn toàn sau khoảng 2 giờ. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc, rửa bằng CH₃COOH 5%, NaCl 5%, làm khan bằng Na₂SO₄, cất loại dung môi dưới áp

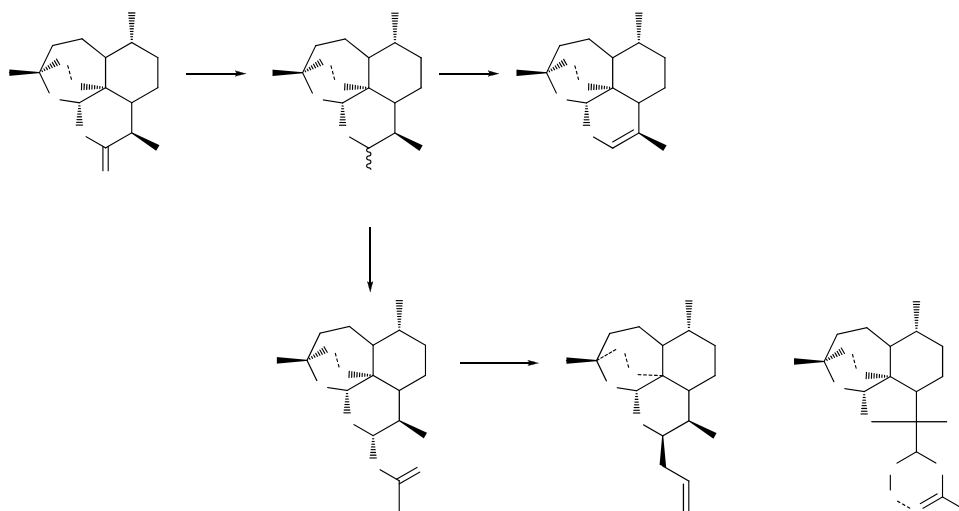
suất thấp, kết tinh lại trong n-hexan/EtOAc. Lọc, rửa bằng n-hexan/ CH₂Cl₂ lạnh, sấy khô, thu được 2,4 g (91%) anhydroartemisinin (3).

3: đnc: 162 - 164°C, (n-hexan/ EtOAc)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): (δppm) = 6,18

(s, 1H); 5,54 (s, 1H); 1,58 (s, 3H); 1,42 (s, 3H); 0,98 (d, J = 5,9 Hz, 3H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): (δppm) = 134,9; 108,1; 104,5; 89,6; 78,9; 51,4; 44,4; 37,5; 36,2; 34,1; 30,0; 30,0; 25,9; 24,4; 20,3; 16,2.



14

Sơ đồ 1: Tổng hợp các chất ban đầu

Tổng hợp 12 α -dihydroartemisinin acetat (4) [4] ¹ 21,07; ¹⁰ 20,19; 12,04. a

Hỗn hợp phản ứng gồm 2,84 g dihydroartemisinin (DHA, 2), 3 ml pyridin, 0,2 g 4-dimethylaminopyridin (DMAP) và 2 ml anhydrit acetic trong 70 ml CH₂Cl₂ được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 30 giờ. Kiểm tra phản ứng bằng SKBM (cho đến khi không còn vết của DHA). Rửa hỗn hợp phản ứng bằng HCl 5%; NaHCO₃ 5% và nước; làm khan bằng Na₂SO₄. Kết tinh trong hệ dung môi n-hexan/CH₂Cl₂, lọc rửa, sấy trong chân không ở 25°C. Thu được 3,12 g chất 4 (hiệu suất 95,7%).

4: ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): (δppm) = 5,80 (d, J = 8,6 Hz, 1H); 5,44 (s, 1H); 2,60 - 2,52 (m, 1H); 2,41 - 2,35 (m, 1H); 2,13 (s, 3H); 1,44 (s, 3H); 0,97 (d, J = 6,2 Hz, 3H); 0,85 (d, J = 7,2 Hz, 3H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): 169,74; 104,41; 91,82; 91,46; 80,08; 51,55; 45,22; 37,24; 36,20; 34,07; 31,73; 25,94; 24,55; 21,97;

248

Tổng hợp 12 β -allyldeoxoartemisinin (5) [5] ⁵ 21,07; ¹⁰ 20,19; 12,04. a

Nhỏ giọt từ từ 3,26 g (10 mmol) α -dihydroartemisinin acetat (4) trong 70 ml 1,2-dichloroethane (DCE) vào hỗn hợp gồm 7 ml allyltrimethylsilan, 1,5 g ZnCl₂ khan và 500 mg rây phân tử trong 100 l DCE. Hỗn hợp phản ứng được khuấy 1 giờ ở 0°C dưới khí quyển N₂. Sau đó nâng dần nhiệt độ của phản ứng tới nhiệt độ phòng và tiếp tục khuấy khoảng 15-30 phút. Pha loãng với EtOAc, rửa với axit citric 5%, trung hoà bằng NaHCO₃, rửa lại bằng NaCl 5%. Làm khan bằng Na₂SO₄. Cát loại dung môi, tách bằng sắc ký cột, chất hấp phụ là silica gel, hệ dung môi là n-hexan:CH₂Cl₂:MeOH (40:15:1). Thu được 2,48 g (85%) 12 β -allyldeoxoartemisinin (5) và 376 mg (11%) chất 6.

5: ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): (δppm) = 5,96 - 5,88 (m, 1H); 5,32 (s, 1H); 5,12 - 5,04

a/ NaBH₄, -5 °C

b/ BF₃.Et₂O, CH₂Cl₂/Et₂O, 10 °C

c/ (Ac)₂O, DMAP, pyridin, CH₂Cl₂, rt.

1/ TMAC, 7% Cl₂, DCE, 10 ml, 10 °C

4

(m, 1H); 1,41 (s, 3H); 0,96 (d, $J=6,1$ Hz, 3H); 0,88 (d, $J = 7,6$ Hz, 3H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): (δppm) = 136,44; 116,01; 103,07; 89,11; 81,04; 74,60; 52,34; 44,30; 37,46; 36,59; 34,48; 34,23; 30,19; 26,06; 24,88; 24,70; 20,15; 12,91.

6: FTIR (CHCl_3): $\nu_{(\text{max})}$ (cm^{-1}) = 3527; 3434 (OH); 2948; 2876; 1726 (CO-ester); 1263; 1101; 772; 728; 442.

ESI-MS (positive ion): m/z 343 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 342 $[\text{M}]^+$.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): (δppm) = 6,1 (s, 1H); 5,5 (s, H-5); 4,7 (s, OH); 2,4 (m, 1H); 2,1 (s, 3H); 1,4 (s, 3H), 1,1 (d, $J=1,0$ Hz, 3H); 1,0 (d, $J=5,9$ Hz, 3H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): (δppm) = 168,6; 104,6; 97,2; 88,4; 82,9; 70,4; 52,2; 48,8; 37,4; 36,2; 34,1; 25,7; 25,4; 24,4; 22,0; 21,1; 20,2.

2. Phản ứng ozon hoá và quang hoá của các dẫn xuất 12-deoxoartemisinin

Phản ứng ozon hoá anhydroartemisinin (3)

Hoà tan 1,33 g (5 mmol) anhydroartemisinin (3) trong 100 ml CH_2Cl_2 . Hỗn hợp được làm lạnh tới -10°C . Vừa khuấy vừa cho

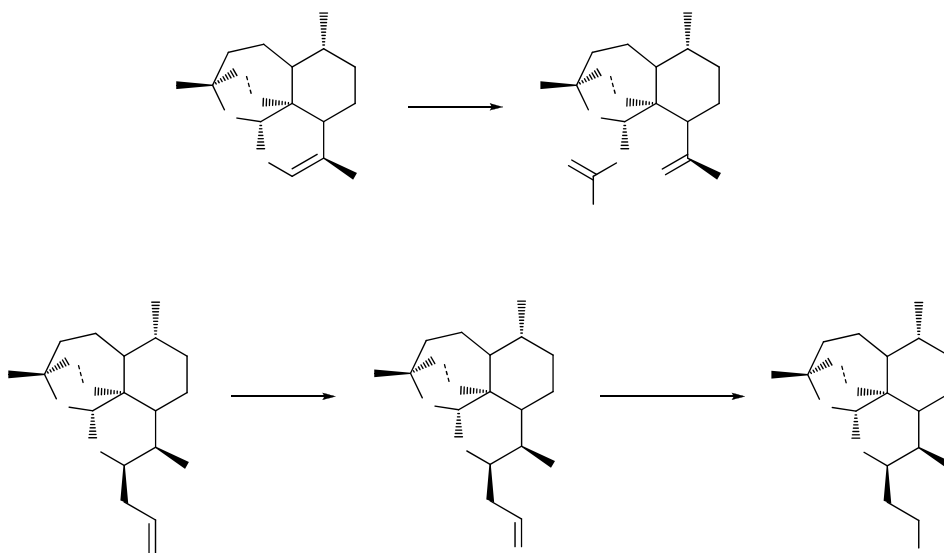
một luồng khí O_3 lội qua dung dịch phản ứng cho tới khi xuất hiện màu xanh nhạt của khí ozon dư. Kiểm tra phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng cho thấy chất đầu đã bị chuyển hoá hoàn toàn. Cho thêm từ từ vào hỗn hợp phản ứng 2 ml dimethylsulphit (DMS), tiếp tục khuấy thêm 30 phút. Rửa hỗn hợp phản ứng với nước, cất kiệt dung môi. Phần cặn được tách bằng sắc ký cột nhanh trên silica gel, hệ dung môi n-hexan/ CH_2Cl_2 / MeOH (50:30:5 v/v). Thu được chất 7 (1,04 g, hiệu suất 70%).

7: $^1\text{H-NMR}$: (500 MHz, CDCl_3): (δppm) = 0,98 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H), 1,42 (s, 3H); 2,3 (dd $J = 13,0$; 3,3 Hz, 1H); 2,5 (s, 3H); 6,5 (s, 1H); 7,8 (s, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): 208,2; 159,5; 105,5; 86,7; 85,0; 57,1; 52,7; 37,4; 35,8; 33,6; 32,4; 25,4; 24,8; 23,7; 20,0.

Phản ứng ozon hoá 5

Phản ứng ozon hoá 12β -allyldeoxoartemisinin (5) trong CH_2Cl_2 được tiến hành tương tự như phản ứng ozon hoá chất 3. Sản phẩm ozon hoá được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh trên silica gel, hệ dung môi là n-hexan/ CH_2Cl_2 /MeOH (50:30:5 v/v). Từ 1,54 g (5 mmol) chất 5 đã thu được 1,1 g chất 8 (hiệu suất 70%) [11].



Sơ đồ 2: Phản ứng ozon hoá của chất 3 và 5

8: $^1\text{H-NMR}$: (500 MHz, CDCl_3): (δ ppm) = 0,87 (d, $J = 7,2$ Hz, 3H); 0,97 (d, $J = 6,2$ Hz, 3H); 1,41 (s, 3H); 2,8 (m, 2H); 4,97 (m, 1H); 5,3 (s, 1H); 9,8 (s, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): 202,0; 103,5; 89,5; 81,2; 69,6; 52,3; 46,0; 44,5; 44,0; 37,5; 36,7; 34,5; 29,8; 26,1; 24,8; 20,2; 13,0.

Phản ứng khử hoá 8

Phản ứng khử hoá **8** bằng NaBH_4 trong MeOH ở nhiệt độ phòng trong khoảng 30 phút, thu được **9** với hiệu suất > 90% [12].

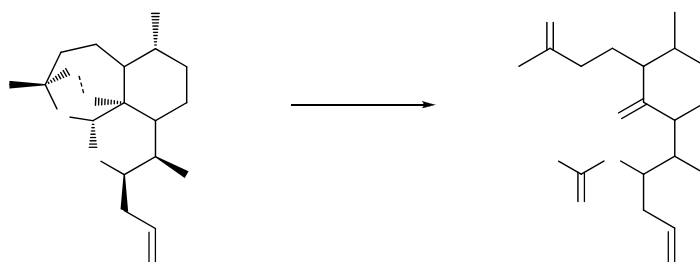
9: $^1\text{H-NMR}$: (500 MHz, CDCl_3): (δ ppm) = 0,87 (d, $J = 7,2$ Hz, 3H); 0,97 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H); 1,41 (s, 3H); 3,8 (m, 2H); 4,5 (m, 1H); 5,4 (s, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): 103,2; 89,3;

81,1; 74,96; 62,6; 52,3; 44,1; 37,5; 36,7; 36,5; 34,5; 31,6; 30,3; 26,1; 24,8; 20,2; 13,0.

Phản ứng quang hoá 5

Hoà tan 1,54 g chất **5** trong 100 ml CH_2Cl_2 khan trong bình phản ứng thạch anh (quartz) dung tích 250 ml. Vừa khuấy, vừa chiếu ánh sáng tử ngoại bước sóng 254 nm (đèn fluorescent 15W) ở nhiệt độ phòng, dưới khí quyển nitơ trong 60 phút. Kiểm tra phản ứng bằng sắc ký bản mỏng (SKBM), chất hấp phụ là silica gel, hệ dung môi là n-hexan : CH_2Cl_2 : MeOH (40:15:1). Cô kiệt dung môi dưới áp suất thấp. Phần cặn (1,5 g) được tách bằng sắc ký cột, chất hấp phụ là silica gel, với cùng hệ dung môi như ở SKBM thu được: chất đầu 12 β -allyldeoxoartemisinin (620 mg, hiệu suất 40%) và chất **10** (308 mg, hiệu suất 20%).



Sơ đồ 3: Phản ứng quang hoá của 12 β -allyldeoxoartemisinin

10: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): (δ ppm) = 8,05 (s, 1H); 5,76 - 5,66 (m, 1H); 5,16 (dt, $J = 1,9$; 6,9 Hz, 1H); 5,11 - 5,05 (m, 2H); 2,14 (s, 3H); 1,05 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H); 0,95 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): 213,17; 208,99; 160,72; 133,45; 118,09; 73,31; 57,42; 54,42; 41,37; 41,22; 37,15; 34,74; 34,29; 30,94; 29,86; 20,48; 20,32; 12,36.

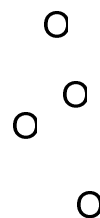
III - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Phản ứng khử hoá artemisinin (**1**) bằng NaBH_4 trong metanol ở nhiệt độ -5 đến -7°C cho sản phẩm là hỗn hợp (theo tỷ lệ $\approx 1:1$) của hai đồng phân 12 α - và 12 β -dihydroartemisinin (**2**) với hiệu suất 97%. Dihydroartemisinin bị

dehydrat hoá bởi tác nhân $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ trong hỗn hợp dung môi CH_2Cl_2 : Et_2O (1:1 v/v) ở 10 °C cho anhydroartemisinin (**3**) với hiệu suất trên 90%. Các phản ứng này được thực hiện trong điều kiện êm dịu với hiệu suất thu hồi cao.

Từ chất **2** đã thu được α -dihydroartemisinin acetat (**4**) với hiệu suất trên 95% thông qua phản ứng ester hoá hỗn hợp hai đồng phân 12 α - và 12 β -dihydro-artemisinin bằng anhydrit acetic trong CH_2Cl_2 với sự có mặt của pyridin và 4-dimethylaminopyridin (DMAP). Điều đặc biệt ở đây là chúng tôi chỉ thu được đồng phân 12 α - với hiệu suất cao. Rất có thể đồng phân 12 α được este hoá dễ dàng hơn và cân bằng giữa 12 α \leftrightarrow 12 β bị dịch chuyển liên tục về phía 12 α .

Cho **4** tác dụng với allyltrimethylsilan với sự có mặt của ZnCl_2 , rây phân tử, trong 1,2-



dichloroethan đã thu được 12 β -allyldeoxoartemisinin (**5**) và sản phẩm phụ **6** với hiệu suất 85% và 11% tương ứng. Chất **6** là một dẫn xuất diacetal, sản phẩm oxy hoá, mở và đóng lại vòng D của α -dihydroartemisinin axetat (**4**). Sự có mặt của nhóm 12-hydroxy được chứng minh bằng phổ hồng ngoại ghi trong CHCl₃ (ν_{\max} = 3527 cm⁻¹). Nhóm hydroxy của chất **6** không bị acetyl hoá bởi anhydrit acetic trong pyridin với sự có mặt của DMAP. Rất có thể nhóm hydroxyl tạo cầu hydro nội phân tử bền vững với nhóm carbonyl. Cấu trúc của **6** được chứng minh thêm bằng phổ NMR hai chiều như H-H-COSY, HSQC và HMBC.

Phản ứng ozon hoá chất **3** cho sản phẩm oxy hoá cắt mạch ở vòng D của khung artemisinin (**7**) với hiệu suất 70%. Hợp chất ozonid trung gian của phản ứng ozon hoá được phân huỷ bằng dimethylsulphid (DMS). Do sản phẩm thu được là một andehyt rất dễ bị chuyển hoá, nên quá trình tách và tinh chế sản phẩm được thực hiện bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, chất hấp phụ là silica gel hệ dung môi là *n*-hexan/CH₂Cl₂/MeOH. Đây là lần đầu tiên phản ứng ozon hoá anhydroartemisinin (**3**) được công bố.

Tương tự như với chất **3**, phản ứng ozon hoá cắt mạch ở nối đôi (C=C allyl) của **5** trong CH₂Cl₂ xảy ra ở -10°C và cho sản phẩm là andehyt **8**. Khi cho **8** tác dụng với NaBH₄ trong MeOH ở nhiệt độ phòng đã thu được dẫn xuất ancol tương ứng (**9**). Kết quả chúng tôi thu được khi ozon hoá 12 β -allyldeoxoartemisinin (**5**) và khử hoá sản phẩm bằng NaBH₄ hoàn toàn phù hợp với kết quả trong tài liệu [12].

Phản ứng quang hoá chất 12 β -allyldeoxoartemisinin (**5**) trong chloromethylen dưới khí quyển nitơ, ở nhiệt độ phòng được thực hiện tại bước sóng 254 nm (đèn fluorescent 15W) trong thời gian 60 phút. Hỗn hợp phản ứng được tách bằng sắc ký cột, chất hấp phụ là silica gel thì thu lại được 40% chất đầu (**5**) và sản phẩm quang hoá **10** với cấu trúc vòng B, C, D của khung

artemisinin bị phá vỡ (hiệu suất 20%). Đây là lần đầu tiên phản ứng quang hoá chất 12 β -allyldeoxoartemisinin (**5**) được công bố.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. D. L. Klayman. Science, 228, 1049 - 1055 (1985).
2. S. Bharel, A. Gulati, M. Z. Abdin, P. S. Srivastava and S. K. Jain. Fitoterapia, 67, 387 - 402 (1996).
3. Tran Đức Quan, A. Porzel, H. Ripperger, Tran Van Sung, and G. Adam. Natural Product Letters, 12(2), 151 - 159 (1998).
4. A. Brossi et al. J. Med. Chem., 31, 645 - 650 (1988).
5. Gary H. Posner, Ik-Hyeon Paik, Surojit Sur, Andrew J. McRiner, kristian Borstnik, Suji Xie, and Theresa A. Shapiro. J. Med. Chem., 46, 1060 - 1065 (2003).
6. Stephen Hindley, Stephen A. Ward, Richard C. Storr, Natalie L. Searle, Patrick G. Bray, B Kevin Park, Jill Davies, and Paul M. O'Neill. J. Med. Chem., 45, 1052 - 1063 (2002).
7. Ai Jeng Lin, D. L. Klayman, J. M. Hoch, J. V. Silverton and C. F. George. J. Org. Chem., 50, 4504 - 4508 (1985).
8. Zhen-xing Wei, Jiang-ping Pan and Ying Li. Planta Medica, 58, 300 (1992).
9. R. K. Haynes, and S. C. Vonwiller. Tetrahedron Letters, 37, 253 - 256 (1996).
10. R. K. Haynes, S. C. Vonwiller, and Hong-Jie Wang. Tetrahedron Letters, 36, 4641 - 4642 (1995).
11. Jingyuan Ma, Esther Katz, Dennis E. Kyle, and Herman Ziffer. J. Med. Chem., 43, 4228 - 4232 (2000).
12. Stephen Hindley et al. J. Med. Chem., 45, 1052 - 1063 (2002).