

TỔNG HỢP MỘT SỐ DẪN XUẤT AMIT CỦA 3 α -HYDROXY-LUP-20(29)-EN-23,28 VỚI AXIT AMIN

Đến Tòa soạn 3-11-2006

TRẦN VĂN LỘC, TRẦN VĂN SUNG

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

SUMMARY

Starting from 3 α -hydroxy-lup-20(29)-en-23,28-dioic acid, which is isolated with high yield from the plant *Schefflera octophylla* (Lour.) Harms (Araliaceae), a series of amide esters and amide acids with amino acids have been synthesized. All the synthesized compounds are new. Their structures were determined by IR, MS and NMR spectroscopic methods.

I - MỞ ĐẦU

Trong số các hợp chất thiên nhiên, các chất triterpen có khung lupan như nhóm betulinic axit có nhiều hoạt tính sinh học lý thú nên ngày càng được quan tâm nghiên cứu về mặt hóa học và dược lý. Bên cạnh hoạt tính chống viêm [1], gần đây người ta mới phát hiện hoạt tính chống khối u [2, 3], chống bệnh nấm ngoài da nhiệt đới (*Leishmania*) [4] và chống sốt rét [5].

Betulinic axit, dihydrobetulinic axit và platinic axit đã được phát hiện là có hoạt tính ức chế sự phiên bản của vi rút HIV-1 trong tế bào lympho H9 [6]. Một dẫn xuất chứa nitơ của betulinic axit ký hiệu là RPR-103611 đã được thông báo là một chất kháng HIV [7]. Một dãy các dẫn xuất undecanoic amit của chất lup-20(29)-en-28-oic axit đã được tổng hợp và đánh giá hoạt tính trong tế bào CEM-4 và MT-4 nuôi cấy đối với HIV-1. Ba chất trong số đó có hoạt tính ức chế HIV rõ nét. Nghiên cứu cơ chế tác dụng đã cho thấy những chất này có liên quan tới quá trình thâm nhập của HIV-1 vào tế bào ở giai đoạn liên kết muện [8]. Sự có mặt của nhóm chức amit trong mạch nhánh là quan trọng cho hoạt tính của các chất này. Các dẫn xuất của betulinic axit có thể liên quan tới sự liên kết muện của quá trình hoà nhập giữa vi rút

và tế bào [9].

Trong quá trình nghiên cứu sàng lọc các hợp chất thiên nhiên có hoạt tính sinh học từ thực vật Việt Nam chúng tôi đã phân lập chất 3 α -hydroxy-lup-20(29)-en-23,28-dioic axit (**1**) từ cây chân chim (*Schefflera octophylla*) với hiệu suất cao (5 - 7%) [10]. Hợp chất này thuộc khung lupan và có hoạt tính độc nhẹ với tế bào [10]. Những nghiên cứu về bán tổng hợp các dẫn xuất có hoạt tính sinh học của betulinic axit đăng trên các tạp chí khoa học gần đây đã khích lệ chúng tôi tiến hành tổng hợp các dẫn xuất diamit của chất **1**.

II - THỰC NGHIỆM

Tổng hợp 3 α -axetoxy-lup-20(29)-en-23, 28-diamit este

Lấy 528 mg chất **2** (1 mmol) hoà tan trong 20 ml C₆H₆ khan, cho vào 0,53 ml (6,0 mmol) oxalylchlorit. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng 18 giờ. Sau đó cất loại C₆H₆ và oxalylchlorit dư dưới áp suất giảm. Chất rắn còn lại được hoà tan trong 40 ml CH₂Cl₂, thêm vào 6 mmol trietyl amin và 3 mmol axit amin metyl hoặc etyleste hydrochlorit. Tiếp tục khuấy 20 giờ ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được rửa

với H₂O, HCl loãng và cuối cùng với H₂O. Làm khan bằng Na₂SO₄, cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được chất rắn, tách trên cột silicagen với hệ dung môi *n*-hexan/EtOAc. Kết tinh lại thu được các chất sạch:

Chất 3: C₄₀H₆₂N₂O₈

Đnc: 118°C (Me₂CO/*n*-hexan). $[\alpha]_D^{24} = -17,0^0$ (Me₂CO, c = 1,00), hiệu suất = 86%.

EI-MS: m/z (%) = 698 [M]⁺ (100), 670 (42), 639 (40), 567 (39), 508 (65), 405 (12), 378 (30), 320 (70), 239 (48), 202 (32), 187 (86), 119 (100).

¹³C-NMR (CDCl₃, δ/ppm): 176,5, 175,0 (C-23, C-28); 170,4 (OAc); 170,1 (2. COOEt); 150,9 (C-20); 109,4 (C-29); 75,0 (C-3); 61,3 (2. CH₂CH₃); 55,7 (C-17); 50,9 (C-9); 50,0 (C-18); 49,8 (C-4); 46,6 (C-19); 46,2 (C-5); 42,6 (C-14); 41,7; 41,3 (2. CH₂COO); 41,2 (C-8); 38,2 (C-22); 37,6 (C-13); 37,1 (C-10); 33,9 (C-7); 33,6 (C-16); 33,0 (C-1); 30,7 (C-21); 29,3 (C-15); 25,5 (C-12); 22,8 (C-2); 20,9 (C-6); 20,7 (C-11); 19,4 (C-30); 17,1 (C-24); 16,6 (C-25); 16,2 (C-26); 14,9 (C-27); 14,1 (2. CH₃ Gly).

Chất 4: C₄₀H₆₂N₂O₈

Đnc: 169 - 171°C (Me₂CO/*n*-hexan). $[\alpha]_D^{24} = -20,4^0$ (c = 1,00; Me₂CO), hiệu suất = 72%.

EI-MS: m/z (%) = 698 [M]⁺ (100), 638 [M⁺-CH₃COOH] (42), 567 (44), 508 (68), 378 (32), 320 (67), 239 (48), 203 (52), 189 (92), 119 (100).

¹³C-NMR (CDCl₃, δ/ppm): 175,8, 174,2 (C-23, C-28); 173,9, 173,6 (2 COOMe); 169,9 (OAc); 150,9 (C-20); 109,3 (C-29); 75,1 (C-3); 55,7 (C-17); 52,4, 52,3 (2. OMe); 51,0 (C-9); 50,1 (C-18); 49,6 (C-4); 48,2, 47,9 (2 CH-Ala); 46,6 (C-19); 46,2 (C-5); 42,6 (C-14); 41,4 (C-8); 38,0 (C-22); 37,6 (C-13); 37,1 (C-10); 33,9 (C-7); 33,6 (C-16); 33,0 (C-1); 30,8 (C-21); 29,3 (C-15); 25,5 (C-12); 22,7 (C-2); 20,9 (C-6); 20,7 (C-11); 19,5 (C-30); 18,4, 18,3 (2. CH₂Ala); 17,2 (C-24); 16,6 (C-25); 16,3 (C-26); 14,9 (C-27).

Tổng hợp các dẫn xuất 3α-hydroxy-lup-20(29)-en-23,28-diamit

Thủy phân các chất **3 - 10** bằng NaOH 4 N trong tetrahydrofuran/MeOH (1:1) ở nhiệt độ

phòng 24 giờ. Cất loại dung môi dưới áp suất giảm, cặn còn lại được hoà tan trong 15 ml nước cất và trung hoà bằng HCl 5% đến pH = 6, chiết bằng CH₂Cl₂ ba lần, dịch chiết được rửa với nước, làm khan bằng Na₂SO₄, lọc dịch chiết. Cất loại dung môi và kết tinh lại trong axeton ta thu được các chất **11 - 18**.

Chất 11: C₃₄H₅₂N₂O₇

Đnc: 188 - 189°C (Me₂CO) $[\alpha]_D^{24} = -16,4^0$ (c = 2,00; Me₂CO), hiệu suất = 90%.

EI-MS: m/z (%) = 600 [M]⁺ (10), 582 [M-H₂O]⁺, 481 (32), 466 (15), 379 (18), 316 (25), 292 (30), 203 (40), 189 (92), 175 (80), 161 (45), 133 (66), 119 (100), 95 (82), 81 (72).

¹³C-NMR (CD₃OD δ/ppm): 180,5, 179,8 (C-23, C-28); 174,0; 173,5 (2. COOH-Gly); 152,4 (C-20); 109,9 (C-29); 74,0 (C-3); 57,0 (C-17); 52,2 (C-9); 51,3 (C-18); 52,1 (C-4); 48,1 (C-19); 46,0 (C-5); 43,7 (C-14); 42,6; 42,3 (2. CH₂COO); 41,7 (C-8); 39,3 (C-22); 38,9 (C-13); 38,2 (C-10); 35,0 (C-7); 34,1 (C-16); 33,7 (C-1); 31,9 (C-21); 30,4 (C-15); 26,9 (C-12); 25,9 (C-2); 21,9 (C-6); 21,8 (C-11); 19,6 (C-30); 17,2 (C-24); 17,0 (C-25); 16,9 (C-26); 15,1 (C-27).

Chất 12: C₃₆H₅₆N₂O₇

Đnc: 190 - 191°C (Me₂CO) $[\alpha]_D^{24} = -12,2^0$ (c = 1,00; Me₂CO), hiệu suất = 92%.

EI-MS: m/z (%) = 628 [M]⁺ (10), 610 [M-H₂O]⁺ (8), 495 (22), 379 (18), 322 (20), 203 (32), 189 (82), 175 (70), 161 (40), 133 (50), 119 (79).

¹³C-NMR (CD₃OD, δ/ppm): 179,7, 179,0 (C-23, C-28); 176,8, 176,5 (2 COOH); 152,4 (C-20); 109,9 (C-29); 73,8 (C-3); 56,9 (C-17); 52,2 (C-9); 51,4 (C-18); 51,8 (C-4); 49,6, 49,2 (2 CH-Ala); 48,0 (C-19); 46,2 (C-5); 43,7 (C-14); 42,5 (C-8); 39,1 (C-22); 38,8 (C-13); 38,2 (C-10); 35,1 (C-7); 34,0 (C-16); 33,7 (C-1); 31,9 (C-21); 30,5 (C-15); 26,9 (C-12); 26,1 (C-2); 21,8 (C-6); 21,7 (C-11); 19,7 (C-30); 17,3, 17,2 (2. CH₂Ala); 17,4 (C-24); 17,3 (C-25); 16,9 (C-26); 15,1 (C-27).

III - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Lá cây chân chim [*Schefflera octophylla*

(Lour.) Harms] thu hái ở Nghệ An được sấy khô, nghiền nhỏ, chiết bằng MeOH/H₂O (8:2), ở 60°C (rút 4 lần), cất loại dung môi dưới áp suất giảm ở 40°C, phần cặn còn lại được thủy phân bằng dung dịch NaOH (10%) trong MeOH, đun hồi lưu trong 5 giờ, lọc dung dịch sau khi thủy phân và axit hóa dịch lọc bằng HCl (10%), pH = 3. Lọc và rửa kết tủa nhiều lần bằng H₂O và bằng CHCl₃. Sấy khô kết tủa và kết tinh lại 3 lần trong hệ CHCl₃/MeOH (1 : 1) thu được chất **1** độ tinh khiết là 98 - 99%.

Phổ hồng ngoại: ν_{KBr} 3343, 1712 cm⁻¹. Các số liệu phổ ¹H- và ¹³C-NMR phù hợp với tài liệu đã công bố [10].

Các phản ứng điều chế dẫn xuất diamit của chất **1** được thực hiện theo sơ đồ **1**

Chất **1** có hai nhóm axit cacboxylic và một nhóm hydroxyl, đều có khả năng phản ứng với các este của amino axit. Để thu được sản phẩm amit ở 2 nhóm cacboxylic axit ta phải axetyl hóa nhóm 3 α -hydroxy của **1** với anhydrit axetic trong pyridin, thu được sản phẩm **2**. Chất **2** được chuyển về dạng clorua axit nhờ qua phản ứng với oxalylechlorit trong benzen ở nhiệt độ phòng. Cất loại C₆H₆ và oxalylechlorit dư, sau đó cho thêm axit amin ankyleste hydroclorua trong CH₂Cl₂/N(C₂H₅)₃ tỉ lệ mol 1:3, khuấy 24 giờ ở nhiệt độ phòng ta thu được các sản phẩm **3 - 10**.

Việc xác định chính xác cấu trúc hóa học của các sản phẩm tạo thành dựa vào các phương pháp phổ như phổ khối EI-MS, ESI-MS, phổ hồng ngoại và cộng hưởng từ hạt nhân ¹H-, ¹³C-NMR một chiều và 2 chiều.

Chất **3**: Phổ hồng ngoại có đỉnh hấp thụ ở ν_{KBr} 3446,2 (NH), 1734,0 (tù, este cacbonyl) và 1661,7 cm⁻¹ (tù, amit cacbonyl). Phổ khối va chạm electron (EIMS) cho pic ion phân tử: $m/z = 698 [M]^+$ với cường độ mạnh. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ¹H-NMR có hai triplet ở $\delta = 6,1$ ppm ($J = 5,5$ Hz) và 6,3 ppm ($J = 4,9$ Hz) của hai nhóm -NH amit đứng cạnh -CH₂ ngoài các tín hiệu khác. Phổ ¹³C-NMR có đóng góp quan trọng cho việc xác định cấu trúc của chất **3**. Ta thấy trong phổ ¹³C-NMR và phổ APT của **3** có tín hiệu của 40 nguyên tử cacbon trong đó có 26 nguyên tử cacbon bậc 2 và cacbon bậc 4, 14 nguyên tử cacbon bậc 1 và bậc 3. Sự gán phổ

hoàn toàn phù hợp với cấu trúc diamit đã được đề nghị cho chất **3**.

Tương tự, dựa vào các phương pháp phân tích phổ khối EI-MS, ESI-MS, phổ hồng ngoại và cộng hưởng từ hạt nhân ¹H-, ¹³C-NMR chúng tôi xác định chính xác cấu trúc hóa học của các sản phẩm **4 - 10**.

Để thu các dẫn xuất 3 α -hydroxy-lup-20(29)-en-23,28-diamit chúng tôi thủy phân các chất **3 - 10** bằng NaOH 4 N trong tetrahydrofuran/MeOH ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ. Sau đó cất loại dung môi dưới áp suất giảm, cặn còn lại được hoà tan trong nước cất, trung hoà bằng HCl 5%, chiết bằng CH₂Cl₂, dịch chiết được rửa với nước, làm khan bằng Na₂SO₄. Cất loại dung môi và kết tinh lại trong axeton ta thu được các chất **11 - 18**.

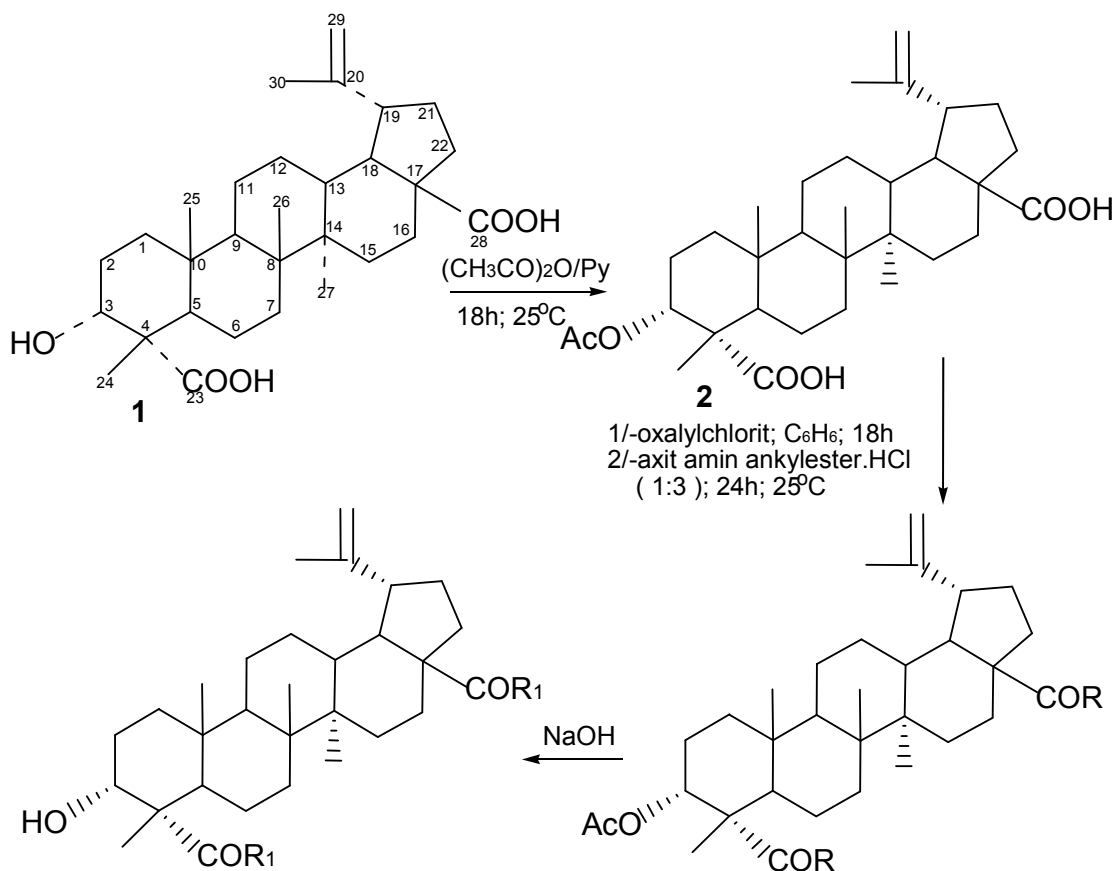
Chất **11**: Phổ hồng ngoại có đỉnh hấp thụ ở ν_{KBr} 3426,0 (NH), 1733,8 (tù, axit cacboxylic) và 1636,3 cm⁻¹ (tù, amit cacbonyl). Phổ khối EI-MS cho tín hiệu $m/z = 600 [M]^+$ phù hợp với công thức cộng C₃₄H₅₂N₂O₇ của chất **11**. Trong phổ ¹³C-NMR không thấy tín hiệu của nhóm axetyl tín hiệu của hai nhóm etyleste đều có sự thay đổi. Ta thấy trong phổ ¹³C-NMR và phổ APT của **11** chỉ còn tín hiệu của 34 nguyên tử carbon trong đó có 23 nguyên tử cacbon bậc 2 và cacbon bậc 4, 11 nguyên tử cacbon bậc 1 và bậc 3.

Kết hợp phổ EI-MS, ¹H-, ¹³C-NMR chúng tôi nhận thấy nhóm axetoxy và 2 nhóm etyleste đều đã bị thủy phân để tạo thành chất 3 α -hydroxy-lup-20(29)-ene-23,28-diamit **11**.

Dựa vào các phương pháp phân tích phổ khối EI-MS, ESI-MS, phổ hồng ngoại và cộng hưởng từ hạt nhân ¹H-, ¹³C-NMR chúng tôi xác định được chính xác cấu trúc hóa học của các sản phẩm **12 - 18**.

IV - KẾT LUẬN

1. Đã chiết tách hợp chất tritecpendiaxit 3 α -hydroxy-lup-20(29)-en-23,28-dioic axit **1** từ lá cây chân chim (*Schefflera octophylla* Lour.) được thu hái ở vùng núi Nghệ An với hàm lượng là 5% (tính theo trọng lượng lá khô) và độ tinh khiết là 98 - 99%. Điều chế dẫn xuất 3 α -



- | | | | |
|--------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------|
| 11. R ₁ = Gly-OH | 12. R ₁ = L-Ala-OH | 3. R = Gly-OEt | 4. R = L-Ala-OMe |
| 13. R ₁ = L-Leu-OH | 14. R ₁ = L-Phe-OH | 5. R = L-Leu-OMe | 6. R = L-Phe-OEt |
| 15. R ₁ = L-Glu-OH | 16. R ₁ = L-Tyr-OH | 7. R = L-Glu(OMe) ₂ | 8. R = L-Tyr-OMe |
| 17. R ₁ = L-Trp-OH | 18. R ₁ = L-Met-OH | 9. R = L-Trp-OMe | 10. R = L-Met-OMe |

Sơ đồ 1: Tổng một số dẫn xuất diamicin của 3 α -hydroxy-lup-20(29)-en-23,28 với axit amin

axetoxy **2** với hiệu suất phản ứng là 89%.

2. Đã nghiên cứu điều kiện thích hợp để tổng hợp các sản phẩm diamicin vào cả hai nhóm 23- và 28-COOH của chất **2**.

3. Các sản phẩm thu được đã được xác định cấu trúc hóa học bằng việc kết hợp các phương pháp phổ như: ¹H-, ¹³C-NMR, phổ khối và chạm electron (EIMS), phổ hồng ngoại (FTIR) cũng như đo điểm nóng chảy (Đnc) và độ quay cực [α]_D.

4. Kết quả đã tổng hợp được 16 dẫn xuất của chất 3 α -hydroxy-lup-20(29)-en-23,28-dioic axit. Đây đều là các hợp chất mới, đến nay chưa có trong tài liệu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- H. Safayhi, E. -R. Sailer. *Planta Med.*, Vol. 63, P. 487 (1997).
- E. Pisha, Heebyung Chai, et al.. *Nature Medicine*, Vol. 1, P. 1046 (1995).
- K. Yasukawa, M. Takido, T. Matsumoto, M. Takeuchi, S. Nakagawa. *Oncology*, Vol. 48, P. 72 (1991).
- M. Sauvain, N. Kunesch, J. Poisson, J. C. Gantier, P. Gayral, J. P. Dedet. *Phyther. Res.* Vol. 10, P. 1 (1996).
- G. Bringmann, W Saeb, L. A. Assi, G. Francois, A. S. Narayanan, K. Peter, E. -M.

- Peter. *Planta Med.* Vol. 63, P. 255 (1997).
6. Y. Kashiwada, F. Hashimoto, L. M. Cosentino, Chin-Ho Chen, P. E. Garrett, Kuo-Hsiung Lee. *J. med. Chem.*, Vol. 39, P. 1016 (1996).
 7. J. F. Mayaux, et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 91, P. 3564 (1994).
 8. M. Evers, et al. *J. Med. Chem.*, Vol. 39, P. 1056 (1996).
 9. F. Soler, et al. *J. Med. Chem.*, Vol. 39, P. 1069 (1996).
 10. G. Adam, M. Lischewski, H. V. Phiet, A. Preiss, J. Schmidt, Tran Van Sung. *Phytochemistry*, Vol. 21, P. 1388 (1982).