

BIẾN ĐỔI VÒNG ĐƯỜNG XYLOSE THÀNH CÁC CHẤT TRUNG GIAN CHO QUÁ TRÌNH TỔNG HỢP THUỐC TRỊ UNG THƯ, KHÁNG VI RÚT HIV

Trương Thị Minh Hải¹ và Lê Thanh Phước¹

ABSTRACT

Xylose is considered as one of starting materials for synthesizing drugs to treat cancer, AIDS and other serious diseases. Efficient synthesis of important derivatives for the drugs from D-xylose has been achieved. The key steps of synthesis involved conversion of D-xylose into 1,2-isopropylidene- α -D-xylofuranose, 5-O-tert-butylidimethylsilyl-1,2-O-isopropylidene- α -D-xylofuranose and 5-O-benzyl-1,2-O-isopropylidene- α -D-xylofuranose.

Keywords: *D-xylose, carbohydrate research, nucleoside*

Title: *Conversion of D-xylose into important derivatives for synthesizing drugs to treat cancer, AIDS*

TÓM TẮT

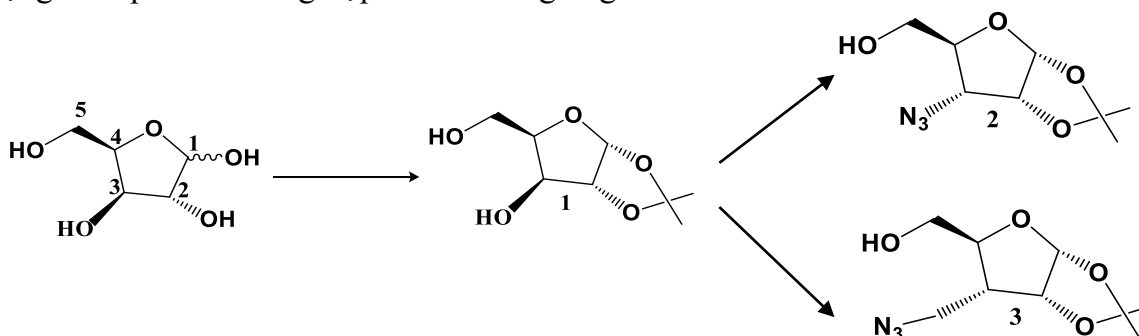
Xylose được biết đến như một trong những nguyên liệu đầu của việc tổng hợp thuốc trị bệnh ung thư, AIDS và một số bệnh khác. Việc tổng hợp những dẫn xuất trung gian quan trọng để điều chế những thuốc này đã đạt được. Những bước chính trong quá trình tổng hợp bao gồm việc chuyển đổi D-xylose thành 1,2-isopropylidene- α -D-xylofuranose, 5-O-tert-butylidimethylsilyl-1,2-O-isopropylidene- α -D-xylofuranose, 5-O-benzyl-1,2-O-isopropylidene- α -D-xylofuranose.

Từ khóa: *D-xylose, nghiên cứu carbohydrate, nucleoside*

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Xylose được xem là nguyên liệu đầu cho việc tổng hợp các nucleoside và các dẫn xuất của nó có ý nghĩa trong việc trị các chứng bệnh ung thư và kháng vi rút, một số chứng bệnh liên quan đến gan (Philippe, 2004). Việc tổng hợp ra thuốc kháng vi rút HIV như AZT hay D4T đã đạt được hay việc biến đổi D-xylose thành các chất tương tự như SAM.

Có rất nhiều phương pháp và con đường khác nhau để tổng hợp với cùng nguyên liệu đầu là D-xylose, như trong việc biến đổi thành những chất trung gian quan trọng cho quá trình tổng hợp thuốc kháng ung thư và vi rút HIV như sau:

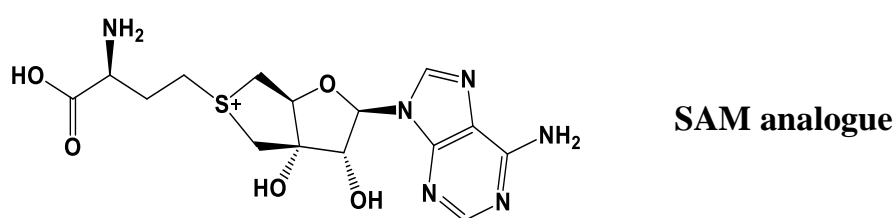


Sơ đồ 1: Quá trình tổng hợp chất trung gian cho thuốc kháng vi rút HIV

¹ Bộ môn Hóa học, Khoa Khoa học – Trường Đại học Cần thơ

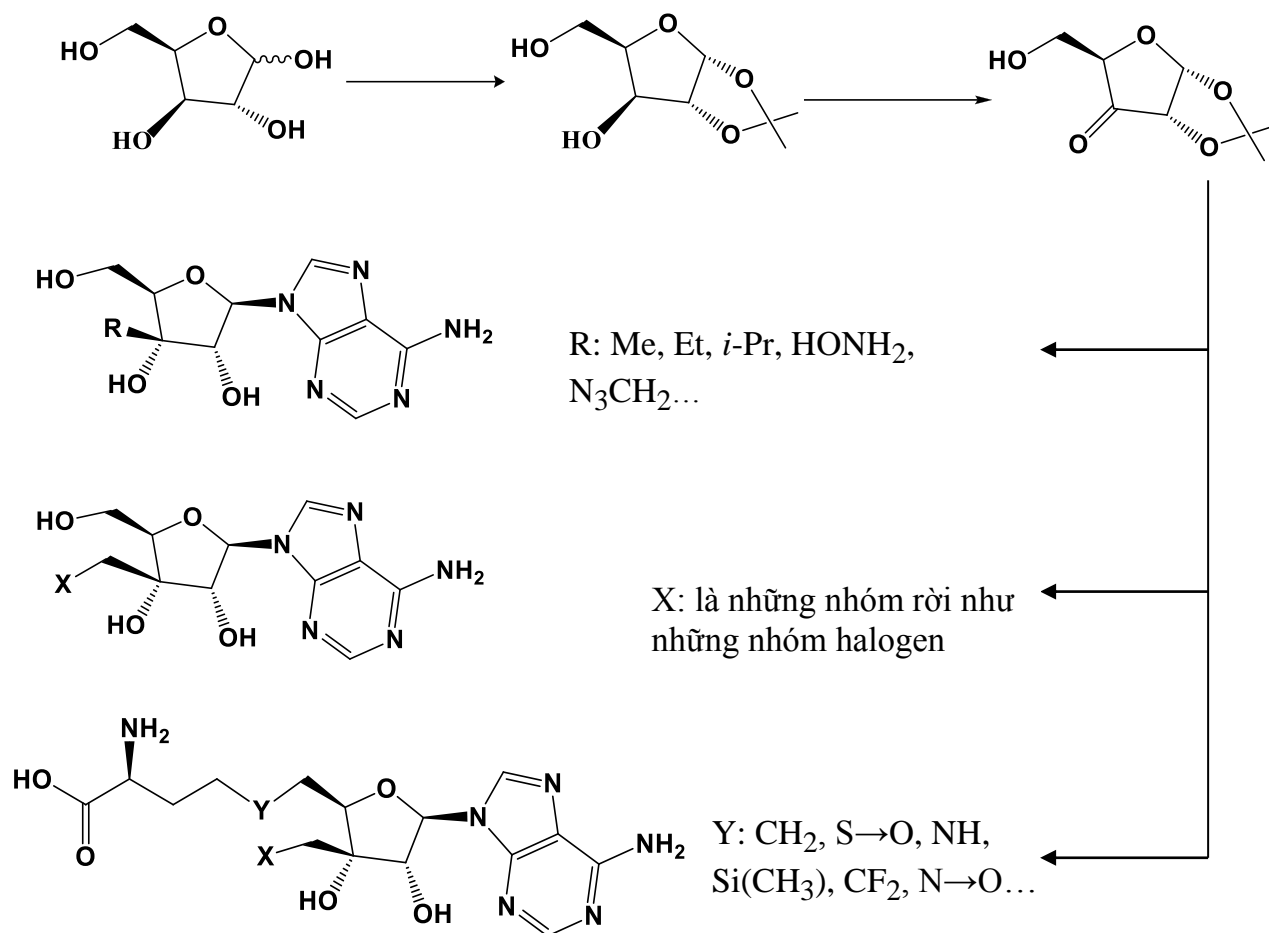
Hợp chất 3-azido-3-deoxy-1,2-O-isopropylidene- α -D-ribofuranose (**2**) và 3-C-azido-methyl-3-deoxy-1,2-O-isopropylidene- α -D-ribofuranose (**3**) là những hợp chất quan trọng cho các giai đoạn tổng hợp tiếp theo. Quá trình giữ lại chọn lọc nhóm hydroxyl ở carbon số 3 từ D-xylose, tiếp theo sau là sự chuyển đổi nhóm 3-hydroxyl này thành 3-azido, rồi tách nhóm bảo vệ hydroxyl ở carbon số 5 cho sản phẩm (**2**) mong muốn. Hợp chất (**3**) cũng được chuyển đổi tương tự từ D-xylose, nhưng nhóm hydroxyl ở carbon số 3 sẽ được oxi hóa, tiếp theo là quá trình cộng borane, cho 3-hydroxylmethyl, rồi theo sau là quá trình chuyển đổi thành 3-azidomethyl, cuối cùng là quá trình tách nhóm bảo vệ hydroxyl ở carbon số 5 cho sản phẩm (**3**) mong muốn.

Bên cạnh đó, D-xylose còn có một ý nghĩa trong việc tổng hợp S-adenosylmethionine (SAM) analogues (Ane *et al.*, 2001). SAM là một trong những tác chất sinh học quan trọng trong cơ thể con người, là một trong những cofactor đóng vai trò là chất cung cấp nhóm methyl trong các phản ứng transmethylation, tham gia vào nhiều phản ứng sinh hóa cần thiết của cơ thể con người cũng như các loại vi khuẩn và vi rút khác. Hiểu được cơ chế của quá trình này là một sự hứa hẹn cho việc tổng hợp những loại thuốc mới cũng như một phương pháp mới để ức chế các enzym xúc tác, góp phần chữa các bệnh liên quan đến sự methyl hóa không bình thường của ADN. Hơn nữa, các loại vi rút và vi khuẩn sử dụng SAM cho quá trình phát triển và tồn tại của cơ thể, nếu chúng ta có thể hiểu được cơ chế của quá trình và tìm cách ức chế sự methyl hóa của cơ thể chúng thì ta có thể phát triển kế hoạch tổng hợp những chất kháng vi rút mới tiềm năng và hiệu quả. S-adenosyl-L-homocysteine (AdoHcy) là một trong những chất có khả năng ức chế quá trình transmethylation, nhưng chất này có thể bị thủy phân bởi các enzyme (John *et al.*, 1996). Hiểu được cơ chế của quá trình thủy phân AdoHcy, chúng tôi mong muốn tổng hợp một chất khác có khả năng ức chế quá trình transmethylation, đồng thời không bị thủy phân dưới tác dụng của enzyme. Những chất tương tự như SAM là chất thích hợp cho mục tiêu đặt ra.



Hình 1: Cấu trúc hóa học của SAM analogue

Hợp chất trên tương tự như SAM, nhưng trên nguyên tử S đã mất đi nhóm CH_3 , nên nó không còn đóng vai trò là chất cung cấp nhóm methyl cho các phản ứng methyl hóa nữa mà ngược lại được xem như chất ức chế các quá trình methyl hóa tiếp theo một cách hiệu quả. Để thực hiện kế hoạch tổng hợp SAM analogue, nhóm hydroxyl ở carbon số 3 trong xylose được giữ lại bằng cách bảo vệ chọn lọc nhóm hydroxyl khác để tiếp theo sau là quá trình oxi hóa nó, rồi cho phản ứng với tác chất thân hạch tại đây với mục đích là tạo ra nhóm hydroxyl bậc ba. Sau đó là gắn adenine vào vị trí carbon số 5, rồi thực hiện các quá trình tiếp theo để tạo ra sản phẩm mong muốn.



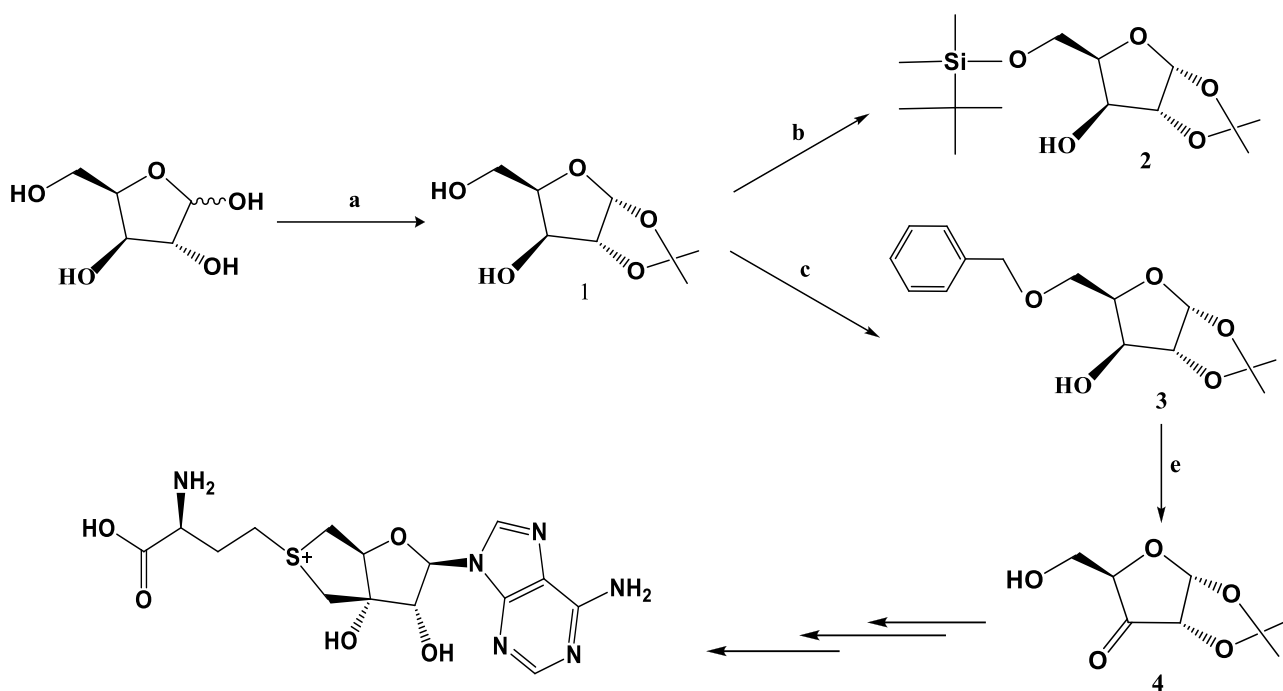
Sơ đồ 2: Tổng hợp các chất có khả năng biến đổi thành SAM analogue

Với mục tiêu trên, nhóm hydroxyl của carbon số 3 có một ý nghĩa lớn trong toàn bộ kế hoạch tổng hợp. Trong bài báo này chúng tôi xin trình bày kết quả tổng hợp một số chất ban đầu trong toàn bộ kế hoạch tổng hợp bằng cách giữ lại chọn lọc nhóm hydroxyl ở carbon số 3 để tiếp tục các quá trình tổng hợp quan trọng tiếp theo.

2 PHƯƠNG PHÁP THỰC HIỆN

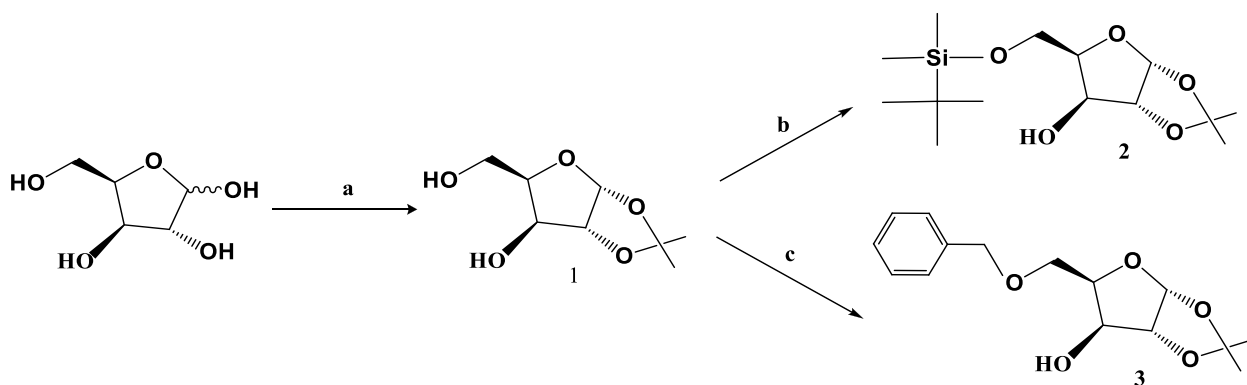
Việc tổng hợp những dẫn xuất trung gian cho quá trình tổng hợp các thuốc kháng ung thư, vi rút HIV và thuốc đặc trị một số bệnh khác được bắt đầu từ D-xylose. Mục đích chính là giữ lại chọn lọc nhóm hydroxyl ở carbon số 3 được thực hiện bằng cách biến đổi D-xylose thành 1,2-*O*-isopropylidene- α -D-xylofuranose **1**, quá trình này được thực hiện bằng cách cho D-xylose phản ứng với aceton trong H₂SO₄ và CuSO₄. Tiếp theo nhóm hydroxyl bậc một của hợp chất **1** được bảo vệ chọn lọc lần lượt bằng các nhóm lớn như: *tert*-butyldimethylsilyl ether, benzyl ether để tạo thành dẫn xuất 5-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-1,2-*O*-isopropylidene- α -D-xylofuranose **2** và 5-*O*-benzyl-1,2-*O*-isopropylidene- α -D-xylofuranose **3**.

Sơ đồ tổng hợp chung như sau:



SAM analogue

Sơ đồ 3: tổng hợp phân tử mục tiêu SAM analogue



Sơ đồ 4: tổng hợp các dẫn xuất trung gian cho phân tử mục tiêu SAM analogue

(a) (i) H_2SO_4 , CuSO_4 , acetone; (ii) H_2SO_4 1 M trong EtOH, 40°C ; (b) TBDMSCl, Et_3N , CH_2Cl_2 , 0°C ; (c) (i) toluen, $(\text{Bu}_3\text{Sn})_2\text{O}$, Dean-Stark trap, 12 giờ; (ii) BnBr, TBAI, 36 giờ

3 TIẾN TRÌNH THÍ NGHIỆM VÀ KẾT QUẢ ĐẠT ĐƯỢC

Cấu trúc của các chất tổng hợp được chứng minh bằng các loại phổ: $^1\text{H-NMR}$,

$^{13}\text{C-NMR}$, HMQC, HSQC (được ghi trên máy Bruker Avance 500MHz, độ dịch chuyển hóa học δ được tính bằng ppm, hằng số ghép cặp (J) tính bằng Hz), MS, IR.

3.1 Tổng hợp 1,2-*O*-isopropylidene- α -D-xylofuranose (1)

Trong một bình cầu 250 ml có ống chống ẩm chứa 125 ml acetone khan, thêm lần lượt vào bình cầu 1 ml H₂SO₄ đậm đặc, 10 g CuSO₄ khan, 6 g D-xylose. Hỗn hợp được khuấy trong 18 giờ ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp sau phản ứng được lọc bỏ CuSO₄, dung dịch sau phản ứng được trung hòa từ từ bằng Ca(OH)₂. Điểm trung hòa được kiểm tra bằng giấy pH, sau đó lọc qua Celite. Sắc ký bản mỏng (TLC), hệ dung môi ethyl acetate : petroleum ether (EtOAc : PE) = 3:1, R_f = 0.66 và R_f = 0.24. Hỗn hợp sản phẩm (mono và diisopropylidene- α -D-xylofuranose) được cô đặc trong chân không, ở dạng sệt như syrô, có khối lượng 5,05 g.

Sản phẩm thu được trong phản ứng trên được thêm vào dung dịch H₂SO₄ 1 M trong EtOH, khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, tiến trình phản ứng được theo dõi bằng TLC : EtOAc : PE = 3:1 cho đến khi còn lại một vết trên bản mỏng. Dung dịch sau phản ứng được trung hòa bằng Ca(OH)₂, kiểm tra bằng giấy pH, lọc qua Celite, sau đó cô đặc trong chân không, sắc ký cột silica gel, hệ dung môi EtOAc : PE = 1:1, sản phẩm thu được có màu vàng nhạt, sệt như syrô, R_f = 0.24, cân nặng 5,03 g (64%).

Phổ IR: Trong phổ IR, vân phổ do dao động hóa trị của nhóm OH thể hiện ở 3433 cm⁻¹

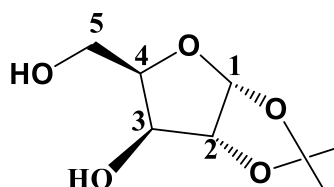
Khối phổ: Trong khối phổ mũi ion phân tử *m/z*. (M+Na)⁺ = 213 (M=C₈H₁₄O₅=190).

Phổ NMR

¹H-NMR (500 MHz, MeOD) δ 5.90 (d, 1H, J=4Hz, H-1), 4.49 (d, 1H, J=4Hz, H-2), 4.82 (s, 2H, 2H-OH), 4.18 (m, 1H, J=5Hz, J=6.5Hz, J=3Hz, H-4), 4.13 (d, 1H, J=3Hz, H-3), 3.83 và 3.76 (2dd, 2H, J=11.5Hz, J=5Hz, H-5), 1.47 và 1.31 (2s, 6H, C(CH₃)₂)

¹³C-NMR (500 MHz, MeOD) δ 112.6 (C(CH₃)₂), 106.2 (C1), 86.8 (C2), 82.4 (C4), 75.8 (C3), 61.0 (C5), 27.0 và 26.4 (C(CH₃)₂).

Qua kết quả phân tích các loại phổ chứng tỏ hợp chất (1) phù hợp với công thức như sau:



Hình 2: Cấu tạo hóa học của hợp chất 1,2-*O*-isopropylidene- α -D-xylofuranose

3.2 Tổng hợp 5-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-1,2-*O*-isopropylidene- α -D-xylofuranose (2)

Hợp chất 1,2-isopropylidene- α -D-xylofuranose có khối lượng 1,9 g (0,01 mol), được cho bay hơi cùng với 2×3 ml toluen, sau đó được hòa tan trong 100 ml CH₂Cl₂, 3 ml Et₃N, 3,01 g (0,02 mol) *tert*-butyldimethylsilyl chloride (TBDMSCl) được thêm vào từ từ. Hỗn hợp được khuấy ở 0°C trong 12 giờ với ống chống ẩm,

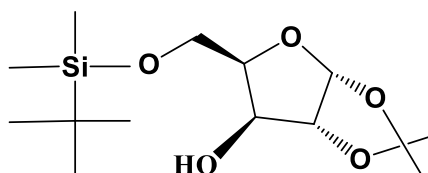
ngăn không cho hơi nước từ không khí vào, TLC : EtOAc : PE = 3:1, $R_f = 0,72$. Sau đó thêm vào 2 ml methanol, khuấy trong 30 phút để loại TBDMSCl. Hỗn hợp phản ứng được rửa với 3×50 ml nước, 2×50 ml NaCl bão hòa, làm khô bằng $MgSO_4$ khan, dung dịch sau khi làm khan được cô đặc, sắc ký cột với silica gel, hệ dung môi EtOAc : PE = 1:3, sản phẩm qua cột có dạng sệt như syrô, không màu, có khối lượng 2,1 g (69,1%).

Phổ NMR cho các mũi sau:

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 5.97 (d, 1H, $J=4Hz$, H-1); 4.52 (d, 1H, $J=4Hz$, H-2); 4.34 (m, 1H, H-4); 4.12 (m, 3H, H-3, H-5); 1.80 (s, 1H, H-OH); 1.50 và 1.32 (2s, 6H, $C(CH_3)_2$); 0.12 (s, 6H, $(CH_3)_2Si$); 0.90 (s, 9H, $C(CH_3)_3$)

^{13}C -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 111.8, 111.5 ($C(CH_3)_2$); 105.1, 105.0 (C1); 86.0, 86.1 (C2); 78.6 (C3, C5); 81.0 (C4); 26.9, 26.8, 26.4, 26.2 ($C(CH_3)_2$); 25.7, 25.6 ($C(CH_3)_3$); 18.2, 18.0 ($C(CH_3)_3$); -4.8, -5.2, -5.5, -5.6 ($(CH_3)_2Si$)

Qua kết quả phân tích các loại phổ chứng tỏ hợp chất (2) phù hợp với công thức như sau:



Hình 3: Cấu tạo hóa học của hợp chất 5-O-*tert*-butyldimethylsilyl-1,2-O-isopropylidene- α -D-xylofuranose

3.3 Tổng hợp 5-O-benzyl-1,2-O-isopropylidene- α -D-xylofuranose (3)

Hợp chất 1,2-isopropylidene- α -D-xylofuranose có khối lượng 1,9 g (0,01 mol) được hòa tan trong 50 ml toluen và 5 ml $(Bu_3Sn)_2O$ (0,01 mol). Hỗn hợp phản ứng được đun hoàn lưu với bể Dean-Stark (với molecular sieve 3Å) để tách loại nước dưới dạng hỗn hợp đẳng phí. Sau 12 giờ, thay bể Dean-Stark bằng ống đun hoàn lưu thông thường, thêm vào 1,43 ml benzyl bromide (0,012 mol), 0,369 g (0,01 mol) TBAI, đun trong 36 giờ. Tiến trình phản ứng được kiểm tra bằng TLC : EtOAc : PE = 1:1, $R_f = 0,47$. Hỗn hợp sau phản ứng được cô đặc, sắc ký cột silica gel với hệ dung môi EtOAc : PE = 1:2, sản phẩm có màu vàng nhạt, cân nặng 2,51 g (82,5%).

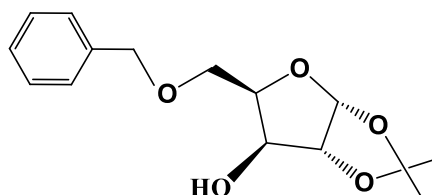
Phổ IR: Vân phổ do dao động của nhóm OH thể hiện 3441 cm^{-1} .

Phổ NMR

1H -NMR (500 MHz, MeOD) δ 7.34 (m, 5H, C_6H_5); 5.88 (d, 1H, $J=4Hz$, H-1); 4.55(m, 2H, H- $\underline{C}H_2C_6H_5$); 4.46 (d, 1H, 4Hz, H-2); 4.29 (m, 1H, H-4); 4.10 (d, 1H, H-3); 3.78, 3.67 (2dd, 2H, H-5); 4.73 (s, 1H, H-OH); 1.44, 1.28 (2s, 6H, $C(CH_3)_2$)

^{13}C -NMR (500 MHz, MeOD) δ 139.4, 129.3, 128.8, 128.6, 128.2, 127.9 (C_6H_5); 112.6 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$); 106.2 (C1); 85.5 (C2); 80.9 (C4); 75.7 (C3); 74.3 ($\text{CH}_2\text{-Ar}$); 65.1 (C5); 27.1, 26.5 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$).

Qua kết quả phân tích các loại phổ chứng tỏ hợp chất (3) phù hợp với công thức như sau:



Hình 4: Cấu tạo hóa học của hợp chất 5-O-benzyl-1,2-O-isopropylidene- α -D-xylofuranose

4 KẾT LUẬN

Bước đầu, chúng tôi đã tổng hợp thành công những chất trung gian cho quá trình tổng hợp thuốc kháng ung thư và vi rút HIV từ nguyên liệu đầu là D-xylose, với kết quả đạt được các chất trung gian quan trọng này sẽ góp phần vào các giai đoạn tiếp theo của toàn bộ quá trình tổng hợp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- A. Ane, G. Prestat, G. T.Manh, M. Thiam, S. Josse, M. Pipelier, J. Lebre-ton, J. P. Pradere, and D. Dubreuil, 2001. *Synthesis of nucleoside analogs and new Tat protein inhibitors. Pure Appl. Chem*, vol. 73, pp 1189–1196.
- Albert L. Raymond and P. A. Levene, June 22, 1933. *Derivatives of monoacetone xylose from the Laboratories of The Rockefeller Institute for Medical Research, New York.*
- Chong, Y.H.; Choo, H.A.; Choi, Y.S.; Schinazi, R.F; Chu, C.K, Chem. 2002 *Stereoselective synthesis and antiviral activity of D-2,3-didehydro-2,3-dideoxy-2-fluoro-4-thionucleosides*, vol 45, pp 4888–4898.
- John W. Erickson and Stanley K.Burt, 1996. *Rev. Pharmacol. Toxicol*, vol 36, pp 545-571.
- Le Thanh Phuoc, 2003. A Thesis Submitted for the Degree of Dotor of Philosophy-The Australian National University
- Moon Woo Chun, Myong Jung Kim, and Ji Hye Shin, 2005. *Research Institute of Pharmaceutical Sciences, College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul, Korea. Nucleosides, Nucleotides, and Nucleic Acids*, 24 (5 – 7), pp 975–977.
- Nguyễn Văn Đán, Ngô Ngọc Khuyến, 1999. *Hợp chất thiên nhiên dùng làm thuốc*. NXB Y học Hà Nội.
- Philippe Van Rompaey, 2004. *Synthesis and Biological Evaluation of Modified Adenosine and Thymidine Nucleoside Analogues.*
- Theodora W. Greene, Peter G.M. Wuts, 1999. *Protective Groups in Organic Synthesis, Third Edition.*
- Zhou, W.; Gumina, G.; Chong, Y.H.; Wang, J.; Schinazi, R.F.; Chu, C.K, Chem, 2004. *Synthesis, structure-activity relationships and drug resistance of β -D-3-fluoro-2,3-unsaturated nucleosides as anti-HIV agents*. Vol 47, pp 3399–3408.