



# Nghiên cứu tổng hợp các hợp chất lai hóa với định hướng chống sốt rét

Trần Hữu Giáp<sup>1</sup>, Văn Thị Mỹ Huệ<sup>2</sup>

Trần Thị Lan Hương<sup>2</sup>, Đỗ Thị Thanh<sup>3</sup>, Lê Nguyễn Thành<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Dược Hà Nội, <sup>3</sup>Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương

## SUMMARY

Nowadays, antimalarial drugs resistance has become a very urgent issue in many tropical countries. To overcome this problem, The World Health Organization has recommended the artemisinin combination therapy in which artemisinin derivatives are used with another compound. The effectiveness of drug combination therapy suggests that hybridization could be of promising and novel approach for the design of new antimalarial drugs. In this paper, we report the synthesis of novel hybrid molecules between aza-artemisinin and 4-amino-7-chloroquinoline via amide bonds. Five such hybrids in which aza-artemisinin was linked with 4-amino-7-chloroquinoline moiety through different amide linkers, were synthesized in moderate yields (33-55%) using conventional synthetic methods. The structures of the synthesized compounds were confirmed by spectral analysis, including IR, MS and NMR.

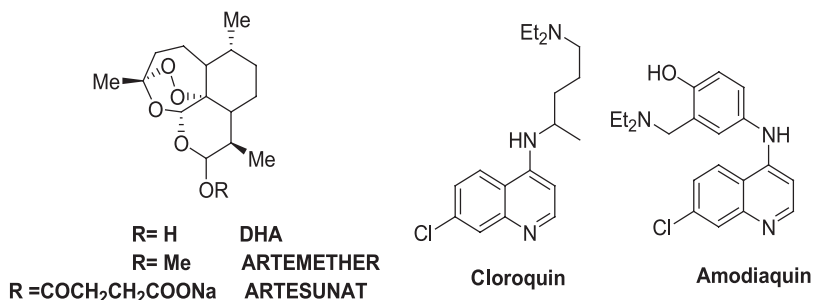
**Từ khóa:** 11-aza-artemisinin, 4-aminoquinolin, artemisinin, hợp chất lai hóa.

## Đặt vấn đề

Tại Việt Nam, hiện nay tình trạng sốt rét kháng thuốc đã và đang gia tăng với diễn biến rất phức tạp. Theo Cục Y tế Dự phòng (Bộ Y tế), trước đây tỷ lệ sốt rét kháng thuốc là 16%, hiện nay đã lên tới 20-22%. Ngoài kháng các thuốc điều trị sốt rét thông thường như cloroquin, đã xuất hiện tình trạng kháng thuốc artemisinin, vốn được coi là hiệu quả nhất trong điều trị sốt rét [1], [5], [10]. Một trong những nguyên nhân của hiện tượng kháng thuốc là do việc điều trị sốt rét với các thuốc đơn lẻ. Để khắc phục tình trạng này, Tổ chức Y tế thế giới đã đưa ra phác đồ sử dụng liệu pháp kết hợp một dẫn chất artemisinin với các thuốc nhóm 4-aminoquinolin (ví dụ cloroquin, piperakin hay amodiaquin) [6], [10]. Việc kết hợp các thuốc đơn lẻ đã làm nảy sinh xu hướng phát triển các thuốc có cấu trúc lai hóa.

Lai hóa là một trong những phương pháp tiếp cận mới trong lĩnh vực nghiên cứu hóa dược nhằm thiết kế các cấu trúc, và phát hiện các hợp chất dẫn đường và các thuốc mới. Các phân tử lai hóa được tổng hợp bằng cách liên kết cấu trúc của hai chất, là một cách đơn giản và hiệu quả để thay thế cho việc sử dụng kết hợp hai chất đó.

Trên thế giới đã có một số nghiên cứu các hợp chất lai hóa chống sốt rét từ các dẫn chất artemisinin, 4-aminoquinolin, các hợp chất này có tác dụng chống sốt rét rất có triển vọng [7], [9]. Gần đây một số dẫn chất của artemisinin là aza-artemisinin cũng đã được phát triển và cho thấy hoạt tính chống sốt rét rất tốt [4]. Cũng theo xu hướng phát triển các hợp chất lai hóa nói trên, trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành tổng hợp một số hợp chất lai hóa mới giữa dẫn chất aza-artemisinin mang nhóm chức acid với dẫn chất 4-aminoquinolin.



Hình 1. Các thuốc điều trị sốt rét nhóm artemisinin và 4-aminoquinolin.

## Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

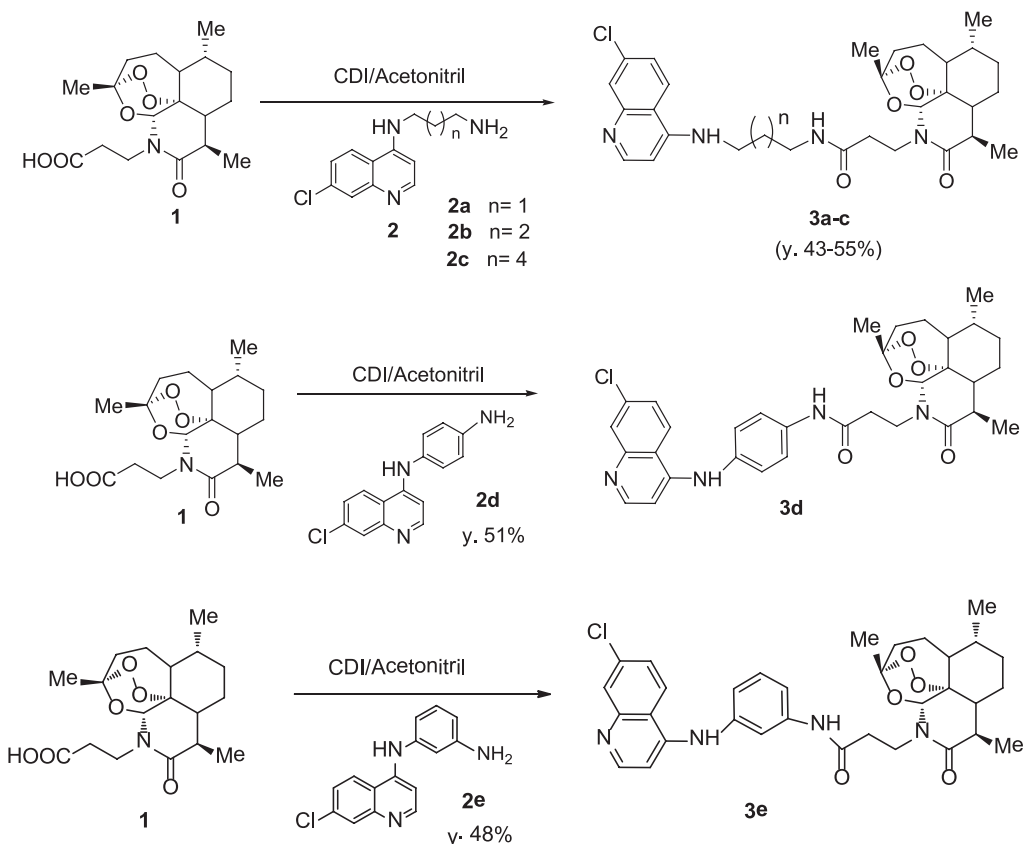
### Nguyên liệu

Sắc kí lớp mỏng (SKLM) thực hiện trên bản mỏng silica gel 60F<sub>254</sub> (Merck) và quan sát dưới đèn UV, bước sóng 254 nm hay hiện màu với thuốc thử Ce-Mo. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân được ghi trên máy Bruker Avance 500 MHz với TMS làm chất nội chuẩn, độ

dịch chuyển hóa học được báo cáo theo số liệu ppm. Phổ khối được đo trên máy LC/MS Agilent 1260 theo phương pháp ion hóa phun mù điện tử (ESI). Hóa chất và dung môi được mua từ những nhà cung cấp như Công ty hóa chất Aldrich, Merck hay Acros với độ tinh khiết trên 98% và sử dụng không qua tinh chế.

### Phương pháp nghiên cứu

Các chất được tổng hợp theo các sơ đồ sau:





Dẫn chất của aza-artemisin mang nhóm chức acid (chất **1**) đã được tổng hợp trong nghiên cứu trước [2] và được sử dụng làm nguyên liệu ban đầu để tổng hợp các hợp chất lai hóa.

#### *Quy trình chung tổng hợp các hợp chất lai hóa 3a-3e*

Hòa tan hỗn hợp phản ứng gồm aza-artemisinin acid **1** (70 mg, 0,2 mmol) và 1,1'-carbonyldiimidazol (CDI) (40 mg, 0,24 mmol) trong 5 ml acetonitril. Hỗn hợp phản ứng được đun nóng ở nhiệt độ 70°C trong 1 giờ, sau đó được làm nguội, cho thêm dẫn chất 4-aminoquinolin **2** (0,2 mmol) và 0,09 ml triethylamin và đun hồi lưu trong vòng 5 giờ. Phản ứng được theo dõi bằng SKLM. Khi phản ứng kết thúc, cho thêm nước và hỗn hợp phản ứng được chiết với ethyl acetat. Dịch chiết được rửa với dung dịch bão hòa NaCl, làm khan với natri sulfat và cất loại dung môi dưới áp suất giảm. Cặn chiết được tinh chế bằng sắc ký cột với hệ dung môi ethyl acetat/MeOH để thu được sản phẩm là các hợp chất lai hóa **3**.

### **Kết quả nghiên cứu**

#### **Hợp chất 3a**

Hợp chất **3a** được tổng hợp theo quy trình chung, từ aza-artemisinin acid **1** (70 mg, 0,2 mmol) và CDI (40 mg, 0,24 mmol), 4-aminoquinolin **2a** (48 mg, 0,2 mmol) và 0,09 ml triethylamin, thu được 49 mg sản phẩm **3a** là chất keo màu vàng, hiệu suất 43%. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 0,90-0,98 (2H, m), 0,94 (3H, d, *J* = 6,5Hz), 1,10 (3H, d, *J* = 7,5Hz), 1,36 (3H, s), 1,24-1,45 (3H, m), 1,62-1,70 (5H, m), 1,95-2,01 (2H, m), 2,40 (1H, m), 2,63 (1H, m), 2,70 (1H, m), 3,27 (1H, m), 3,34-3,37 (4H, m), 3,65 (1H, m), 3,91 (1H, m), 5,33 (1H, s), 6,36 (1H, d, *J* = 5,5Hz), 6,69 (1H, t, NH), 7,31 (1H, t, NH), 7,34 (1H, dd, *J* = 9,0 Hz, *J* = 2,5 Hz), 7,91 (1H, d, *J* = 2,0Hz), 7,96 (1H, d, *J* = 9,0Hz), 8,46 (1H, d, *J* = 5,5Hz). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 12,9; 19,6; 22,7; 24,9; 25,3; 28,0; 33,2; 33,5; 36,2; 36,2; 36,5, 37,4, 39,0, 39,6; 45,4; 51,3; 79,1; 80,1; 98,3; 105,0; 117,5; 122,1; 125,2; 127,9; 134,9; 148,8; 150,2; 151,4; 172,7; 172,8. ESI-MS *m/z*: [M+H]<sup>+</sup> 571 (100), 573 (32).

#### **Hợp chất 3b**

Hợp chất **3b** được tổng hợp theo quy trình chung, từ aza-artemisinin acid **1** (70 mg, 0,2 mmol)

và CDI (40 mg, 0,24 mmol), 4-aminoquinolin **2b** (50 mg, 0,2 mmol) và 0,09 ml triethylamin, thu được 59 mg sản phẩm **3b** là chất keo màu vàng nhạt, hiệu suất 50%. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 0,87-0,97 (2H, m), 0,90 (3H, d, *J* = 6,0 Hz), 1,05 (3H, d, *J* = 7,5Hz), 1,22-1,42 (3H, m), 1,33 (3H, s), 1,56-1,77 (7H, m), 1,87-1,95 (2H, m), 2,35 (1H, m), 2,50-2,66 (2H, m), 3,20-3,30 (5H, m), 3,67 (1H, m), 3,83 (1H, m), 5,26 (1H, s), 6,24 (1H, brs, NH), 6,29 (1H, d, *J* = 5,5Hz), 7,13 (1H, t, *J* = 5,5 Hz, NH), 7,28 (1H, dd, *J* = 2,0Hz, *J* = 9,0Hz), 7,87 (1H, d, *J* = 2,0 Hz), 7,94 (1H, d, *J* = 9,0Hz), 8,40 (1H, d, *J* = 5,5Hz). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 12,8; 19,5; 22,6; 24,9; 25,2; 25,3; 27,5; 33,1; 33,5; 35,5; 36,5; 37,3; 38,8; 39,3; 43,0; 45,4; 51,2; 78,8; 80,1; 98,5; 104,8; 117,1; 122,3; 125,0; 127,3; 134,9; 148,0; 150,6; 150,9; 171,7; 172,4. ESI-MS *m/z*: [M+H]<sup>+</sup> 585 (100), 587(32).

#### **Hợp chất 3c**

Hợp chất **3c** được tổng hợp theo quy trình chung, từ aza-artemisinin acid **1** (70 mg, 0,2 mmol) và CDI (40 mg, 0,24 mmol), 4-aminoquinolin **2c** (53 mg, 0,2 mmol) và 0,09 ml triethylamin, thu được 67 mg sản phẩm **3c** là chất keo màu vàng nhạt, hiệu suất 55%. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 0,81-0,90 (2H, m), 0,93 (3H, d, *J* = 6,5Hz), 1,07 (3H, d, *J* = 7,5Hz), 1,25-1,51 (9H, m), 1,31 (3H, s), 1,57-1,72 (5H, m), 1,90-1,97 (2H, m), 2,35 (1H, m), 2,47-2,64 (2H, m), 3,16-3,28 (5H, m), 3,64 (1H, m), 3,81 (1H, m), 5,26 (1H, s), 5,78 (1H, brs, NH), 6,32 (1H, d, *J* = 5,5 Hz), 6,73 (1H, brs, NH), 7,29 (1H, dd, *J* = 2,0Hz, *J* = 9,0 Hz), 7,84 (1H, d, *J* = 9,0Hz), 7,89 (1H, d, *J* = 2,0 Hz), 8,43 (1H, d, *J* = 5,5Hz). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 12,8; 19,6; 22,6; 24,8; 25,3; 26,1; 26,2; 28,2; 29,2; 33,1; 33,4; 35,6; 36,5; 37,3; 38,9; 39,4; 42,8; 45,3; 51,2, 78,8; 80,0; 98,6; 104,8; 117,1; 121,8; 125,0; 127,8; 134,8; 148,4; 150,3; 151,2; 171,4; 172,2. ESI-MS *m/z*: [M+H]<sup>+</sup> 613 (100), 615 (32).

#### **Hợp chất 3d**

Hợp chất **3d** được tổng hợp theo quy trình chung, từ aza-artemisinin acid **1** (70 mg, 0,2 mmol) và CDI (40 mg, 0,24 mmol), 4-aminoquinolin **2d** (54 mg, 0,2 mmol) và 0,09 ml triethylamin, thu được 62 mg sản phẩm **3d** là chất keo màu vàng, hiệu suất 51%. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 0,82-0,95 (2H, m), 0,98 (3H, d, *J* = 6,0Hz), 1,09 (3H, d, *J* = 7,5Hz), 1,26-1,45 (3H, m), 1,36 (3H, s), 1,62-1,70 (3H, m), 1,95-1,98 (2H,



m), 2,38 (1H, m), 2,67 (1H, m), 2,84 (1H, m), 3,28 (1H, m), 3,71 (1H, m), 3,94 (1H, m), 5,33 (1H, s), 6,61 (1H, d,  $J = 5,5$  Hz), 7,16 (2H, d,  $J = 8,0$  Hz), 7,30 (1H, d,  $J = 9,0$  Hz), 7,59 (2H, d,  $J = 8,0$  Hz), 7,88 (1H, s), 8,08 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz), 8,23 (1H, d,  $J = 5,5$  Hz), 9,45 (1H, NH).  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 12,9; 19,6; 22,6; 24,9; 25,3; 33,2; 33,5; 36,5; 37,0; 37,3; 39,5; 45,3; 51,2; 79,1; 80,1; 101,0; 105,0; 117,3; 121,0; 122,8; 124,2; 125,8; 126,0; 134,4; 136,1; 136,3; 146,5; 148,9; 150,2; 170,1; 172,8. ESI-MS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  605 (100), 607 (32).

### Hợp chất 3e

Hợp chất **3e** được tổng hợp theo quy trình chung, từ aza-artemisinin acid **1** (70 mg, 0,2 mmol) và CDI (40 mg, 0,24 mmol), 4-aminoquinolin **2e** (54 mg, 0,2 mmol) và 0,09 ml triethylamin, thu được 58 mg sản phẩm **3e** là chất keo màu vàng, hiệu suất 48%.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0,77-0,93 (2H, m), 0,85 (3H, d,  $J = 6,0$  Hz), 1,03 (3H, d,  $J = 7,5$  Hz), 1,17-1,31 (3H, m), 1,36 (3H, s), 1,40-1,59 (3H, m), 1,93-2,10 (2H, m), 2,38 (1H, m), 2,59 (1H, NH), 2,73-2,84 (2H, m), 3,25 (1H, m), 3,86 (1H, m), 4,05 (1H, m), 5,43 (1H, s), 6,93 (2H, m), 7,18 (1H, t,  $J = 8,0$  Hz), 7,26 (1H, s), 7,30 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz), 7,41 (1H, dd,  $J = 9,0$  Hz,  $J = 2,0$  Hz), 7,97 (1H, d,  $J = 2,5$  Hz), 8,01 (1H, d,  $J = 8,5$  Hz), 8,45 (1H, d,  $J = 5,5$  Hz), 9,53 (1H, NH).  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 12,8; 19,5; 22,6; 24,9; 25,3; 33,3; 33,4; 36,5; 36,5; 37,4; 39,2; 45,2; 51,3; 78,5; 80,2; 101,9; 105,0; 114,5; 116,3; 117,8; 118,1; 122,0; 125,9; 128,4; 129,4; 135,2; 139,3; 139,8; 147,6; 149,4; 151,6; 170,5; 172,8. ESI-MS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  605 (100), 607 (32).

### Bàn luận

Các nguyên liệu là aza-artemisinin có chứa nhóm chức acid **1** và các dẫn chất của 4-aminoquinolin **2** được sử dụng để tổng hợp các hợp chất lai hóa. Chất **1** có cấu trúc tương tự artemisinin, trong khi đó dẫn chất **2** có cấu trúc tương tự các thuốc điều trị sốt rét như cloroquin, amodiaquin. Cả hai hợp chất này đều được tổng hợp và báo cáo trong các nghiên cứu trước đây [2], [3].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tiến hành phản ứng kết hợp giữa dẫn chất aza-artemisinin acid và dẫn chất 4-aminoquinolin qua cầu nối amid để

tạo thành phân tử lai hóa. Vì nhóm acid của chất **1** cần được hoạt hóa trước khi phản ứng với dẫn chất 4-aminoquinolin **2** nên một số tác nhân thường dùng đã được khảo sát để lựa chọn tác nhân tốt nhất của phản ứng. Trước tiên việc hoạt hóa acid sang dạng acyl clorid được tiến hành với thionyl clorid hay oxalyl clorid nhưng phản ứng không thu được sản phẩm mong muốn. Trong phản ứng này có lẽ tác nhân acid như thionyl clorid hay oxalyl clorid đã ảnh hưởng đến nhóm acetal trong phân tử aza-artemisinin. Tiếp đó chúng tôi sử dụng các tác nhân hoạt hóa nhẹ nhàng hơn như  $\text{N,N}'$ -dicyclohexyldiimid (DCC) hay 1,1'-carbonyldiimidazol (CDI). Tuy nhiên, phản ứng không xảy ra khi sử dụng tác nhân DCC. Hợp chất CDI là tác nhân hoạt hóa tốt được sử dụng phổ biến cho các phản ứng tạo ester hay amid [8], chúng tôi đã khảo sát và phản ứng cho hiệu suất khả quan, do đó được lựa chọn cho phản ứng kết hợp này. Acid **1** được phản ứng với CDI trong 1 giờ để hoạt hóa nhóm chức acid, tiếp đó cho tác dụng với các dẫn chất 4-aminoquinolin để thu được các hợp chất lai hóa **3a-e**. Phản ứng tạo amid diễn ra theo cơ chế thế ái nhân acyl, do đó việc sử dụng acetonitril làm dung môi là hợp lý, vì đây là một dung môi phân cực, sẽ tạo thuận lợi cho phản ứng. Điều kiện của phản ứng khá dễ dàng, đạt hiệu suất trung bình (43-55%). Điều này có thể là do các phân tử chất tham gia phản ứng đều có cấu trúc vòng kềm, không thuận lợi cho phản ứng amid hóa, do đó khó đạt được hiệu suất cao. Cấu trúc của các hợp chất mới được xác định bằng phương pháp phổ cộng hưởng từ, phổ khối lượng. Trên phổ  $^1\text{H}$ -NMR của hợp chất **3a** thấy xuất hiện các tín hiệu của vòng quinolin ở các vị trí  $\delta$  6,36 (1H, d,  $J = 5,5$  Hz), 7,34 (1H, dd,  $J = 9,0$  Hz,  $J = 2,5$  Hz), 7,91 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz), 7,96 (1H, d,  $J = 9,0$  Hz), 8,46 (1H, d,  $J = 5,5$  Hz). Tín hiệu hai nhóm amid xuất hiện ở  $\delta$  6,69 (1H, t, NH), 7,31 (1H, t, NH). Tín hiệu 5,33 (1H, s) là tín hiệu của hydro của nhóm hemiamin ete trong vòng aza-artemisinin. Các tín hiệu còn lại là tín hiệu proton của nhân aza-artemisinin, mạch nhánh chứa nhóm carbonyl và mạch nhánh diamin. Trên phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR, có 30 tín hiệu trong đó chín tín hiệu của nhân quinolin xuất hiện trong vùng 98,3-151,4 ppm. Tín hiệu hai nhóm amid ở liên kết mới và trong vòng



aza-artemisinin xuất hiện ở  $\delta$  172,7 và 172,8. Nhóm acetal xuất hiện ở vị trí có độ dịch chuyển hóa học là 105,0 ppm. Phổ khối ESI-MS xuất hiện pic giả phân tử  $m/z$   $[M+H]^+$  là 571 và 573 với tỉ lệ 3/1 cho phép xác định có một nguyên tử Cl trong phân tử ứng với công thức phân tử của hợp chất **3a**. Như vậy, qua các dữ liệu phổ cộng hưởng từ, phổ khối cho phép xác định cấu trúc của hợp chất **3a** là đúng như dự kiến. Các hợp chất **3b-e** tương tự cũng được xác định cấu trúc bằng các phương pháp phổ trên và có dữ liệu phổ phù hợp.

## Kết luận

Chúng tôi đã tổng hợp được 5 hợp chất lai hóa mới (**3a-e**) giữa aza-artemisinin acid **1** với dẫn chất 4-aminoquinolin bằng phản ứng kết hợp

giữa dẫn chất aza-artemisinin acid và dẫn chất 4-aminoquinolin qua cầu nối amid với hiệu suất 43-55%. Cấu trúc của các chất tổng hợp đã được khẳng định bằng các phương pháp phổ  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , MS. Các dẫn chất này đều có cấu trúc lai hóa giữa khung của hai loại thuốc điều trị sốt rét phổ biến hiện nay là artemisinin và cloroquin (hay amodiaquin).

Hoạt tính chống sốt rét của các hợp chất lai hóa này sẽ được thử nghiệm trên chủng *Plasmodium falciparum* trong các nghiên cứu kế tiếp.

## Lời cảm ơn

Công trình này được thực hiện trong khuôn khổ đề tài TWAS (The World Academy of Science for the advancement of science in developing countries), mã số 12-094 RG/CHE/AS\_I.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế, (2014) Kế hoạch hoạt động ngăn chặn sốt rét kháng thuốc Artemisinin giai đoạn 2015-2017.
2. Lê Nguyễn Thành, Trần Hữu Giáp, Văn Thị Mỹ Huệ, Nguyễn Thị Minh Hằng, Nguyễn Văn Hùng, Châu Văn Minh, (2014) "Tổng hợp các dẫn chất acid và aldehyd của 11-azatemisinin", *Tạp chí Nghiên cứu dược và Thông tin thuốc*, 6/2014, tr. 227-230.
3. Lê Nguyễn Thành, Nguyễn Anh Dũng, Nguyễn Thị Minh Hằng, Văn Thị Mỹ Huệ, Nguyễn Trung Kiên, (2015) "Tổng hợp một số dẫn chất 4-aminoquinolin ứng dụng trong phát triển thuốc điều trị sốt rét", *Tạp chí Nghiên cứu dược và Thông tin thuốc*, tr.21-24.
4. Alen J., Truong B.N., Nguyen V.H., Dehaen W. (2011) Synthesis, reactions and biological activity of 11-azaartemisinin and derivatives, *ARKIVOC*, 346-369.
5. Bell A (2005). Antimalarial drug synergism and antagonism: Mechanistic and clinical significance. *FEMS Microbio Lett.* 253 (2):171-184.
6. Bosman A, Mendis K.N (2007). A major transition in malaria treatment: The adoption and deployment of artemisinin-based combination therapies. *Am J. Trop. Med. Hyg.* 77 (Suppl 6.): 193-197.
7. Kouznetsov VV, Gomez-Barrio A (2009). "Recent development in the design and synthesis of hybrid molecules based on aminoquinoline ring and their antiplasmodial evaluation". *Eur. J. Med. Chem.* 44: 3091-3113.
8. Paul R, Anderson GW (1960). N,N'-Carbonyldiimidazole, a New Peptide Forming Reagent. *J. Am. Chem. Soc.*82 (17): 4596-4600.
9. Walsh J. Bell A (2009). Hybrid drugs for malaria. *Curr. Pharm. Des.* 15: 2970-2985.
10. World Health Organization (2006). Guidelines for the Treatment of Malaria, Geneva.