

## **TỔNG HỢP 5-FORMYL-2,4-DIMETHYL-1H-PYRROLE-3- CARBOXYLIC ACID LÀM TÁC NHÂN ĐIỀU CHẾ THUỐC SUNITINIB CHỐNG UNG THƯ**

*Đến tòa soạn 30 - 12 - 2015*

**Lương Thị Mỹ Hạnh, Trần Thị Thanh Vân, Mạc Đình Hùng**

*Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội*

### **SUMMARY**

#### **SYNTHESIS OF 5-FORMYL-2,4-DIMETHYL-1H-PYRROLE-3-CARBOXYLIC ACID USED IN PREPARATION OF SUNITINIB**

*A short and convenient synthesis of 5-formyl-2,4-dimethyl-1H-pyrrole-3-carboxylic acid – an intermediate in preparation of anticancer drug Sunitinib have been reported. By using a cheap, ready available starting material, a key intermediate in synthesis of Sunitinib was prepared by simple sequence reaction with high overall yield without purification by column.*

*Keyword(s): anticancer, sunitinib, Paal-Knor reaction*

### **1. MỞ ĐẦU**

Nghiên cứu thực hiện ở 184 nước với 28 loại ung thư, cho thấy năm 2012 đã có hơn 14 triệu ca ung thư mới. Con số này trong nghiên cứu năm 2008 là 12,7 triệu ca. Nghiên cứu ước tính có khoảng 32,6 triệu người trên toàn thế giới ở độ tuổi ngoài 15, đang sống đã từng được chẩn đoán bị ung thư trong vòng 5 năm trước. Hơn một nửa số ca ung thư và số ca tử vong do ung thư đến từ các khu vực kém phát triển và các con số này sẽ tiếp tục tăng cho đến năm 2025.

Sunitinib được biết đến là một loại dược phẩm rất tốt trong quá trình điều trị ung thư thận do nó có tác dụng điều khiển, ức chế hoạt động của protein kinase và khả năng kết hợp cùng với các thuốc khác để điều trị căn bệnh này.[1,2,3]..

Sunitinib (SU-11248, Sutent) có khả năng ức chế ít nhất tám loại receptor tyrosine protein – kinase, bao gồm yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu 1-3 (VEGFR1-VEGFR3), yếu tố tăng trưởng tiểu cầu có nguồn gốc từ (PDGFR $\alpha$  và PDGFR $\beta$ ), receptor tế bào

gốc (Kit ), Fit-3, và yếu tố kích thích receptor Colony-1 (CSF-1R), VEGFR1 và VEGFR2 đóng vai trò quan trọng trong quá trình hình thành mạch. PDGFR $\beta$ , được tìm thấy trong pericytes bao quanh tế bào nội mô mao mạch, đóng một vai trò quan trọng trong việc ổn định nội mô mạch máu, Sunitinib ức chế sự hình thành mạch bằng cách làm giảm tín hiệu thông qua VEGFR1, VEGFR2, và PDGFR $\beta$ . [4,5,6,7,8]

Tại Việt Nam, chưa có nghiên cứu nào tổng hợp Sunitinib, thuốc dùng chữa trị ung thư dạ dày. Trong bài báo này, chúng tôi thực hiện việc tổng hợp axit 5-formyl-2,4-dimethyl-1H-pyrrole-3-carboxylic, chất trung gian quan trọng trong việc tổng hợp Sunitinib. Việc điều chế thành công chất trung gian này sẽ làm tiền đề để hướng tới việc tổng hợp toàn phần Sunitinib tại Việt Nam.

## 2. THIẾT BỊ VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Điều kiện thực nghiệm chung:

Tất cả các phản ứng được thực hiện trong phòng thí nghiệm Hóa dược – Khoa Hóa học, đại học Khoa học tự nhiên, đại học Quốc gia Hà Nội. Các hóa chất và dung môi đều được nhập từ các công ty hóa chất, khi làm phản ứng không cần tinh chế lại, ngoại trừ n-hexan và ethylacetate dùng cho TLC đã được cất lại trước khi sử dụng sắc ký cột. Phổ  $^1\text{H}$  NMR và phổ  $^{13}\text{C}$  NMR được đo bằng máy có tần số 300Hz hoặc 400Hz trong dung môi  $\text{CDCl}_3$  hoặc DMSO. Phản ứng được theo dõi bằng TLC (TLC: 3/1 (v/v) n-hexan/EtOAc), được quan sát bằng ánh

đèn có bước sóng 254nm hoặc 356nm và chất phản ứng được phát hiện bởi dung dịch  $\text{KMnO}_4$ .

**2.2.1. Tổng hợp 3,5-dimethyl-1H-pyrrole-2,4-dicarboxylic acid 2-terbutyl ester 4-ethyl ester (4).** Chuẩn bị dung dịch  $\text{NaNO}_2$  :  $\text{NaNO}_2$  (4,4g) được hòa tan trong 6,4ml nước. Cho 10g terbutyl acetoacetate (10,54ml; 0,063mol) rồi thêm 30ml acid acetic vào bình cầu ba cổ 500ml. Khuấy đều hỗn hợp ở nhiệt độ khoảng  $0^\circ\text{--}5^\circ\text{C}$ . Sau đó, thêm thật từ từ dung dịch  $\text{NaNO}_2$  vừa pha vào bình cầu sao cho nhiệt độ của phản ứng không được vượt quá  $5^\circ\text{C}$ . Để phản ứng ổn định ở  $0^\circ\text{--}5^\circ\text{C}$  trong khoảng 90 phút (sử dụng bong bóng khí Nitơ để giữ cho môi trường phản ứng luôn trơ). Sau đó, dần dần đưa hệ trở về nhiệt độ phòng và duy trì phản ứng trong 4 giờ. Tại nhiệt độ phòng, thêm từ từ 8,24g ethyl acetoacetate (8,1 ml; 0,063 mol) vào hỗn hợp phản ứng rồi thêm tiếp bột kẽm (9,5g; 0,146 mol) vào hệ sao cho nhiệt độ của hệ luôn đạt xấp xỉ  $70^\circ\text{C}$  (Ta có thể chia nhỏ 9,5g kẽm thành nhiều phần nhỏ rồi nhanh tay cho vào hệ phản ứng). Sau khi thêm kẽm, để hệ phản ứng trong vòng 1-2 giờ ở  $70^\circ\text{C}$  (kiểm tra bằng sắc ký bản mỏng để theo dõi thời gian kết thúc phản ứng). Làm nguội hệ đến nhiệt độ phòng. Sau khi hỗn hợp phản ứng đạt đến nhiệt độ phòng, thủy phân sản phẩm trong 250ml nước. Sau đó, chiết bằng 300ml ethyl acetate, rồi rửa sản phẩm bằng NaCl bão hòa và làm khô với  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  khan rồi cô quay, ta thu được tinh thể chất rắn màu vàng.

Sản phẩm thô được tinh chế bằng pp kết tinh lại trong 34ml MeOH để thu được chất rắn màu vàng (6.42g, 38%)

$^1\text{H}$  NMR  $\delta$  4,3(q,  $J=7,04$  Hz, 2H),  $\delta$  2,54(s,3H),  $\delta$  2,51(s, 3H),  $\delta$  1,58(s, 9H),  $\delta$  1,36(t,  $J=6,87$  Hz, 3H)

$^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  165,76; 161,28; 138,3; 130,14; 119,35; 113,68; 81,37; 59,62; 28,68; 14,63; 14,53; 12,13.

#### **2.2.2. Tổng hợp 2,4 – dimethyl - 1H – pyrrole – 3 - carboxylic acid ethyl ester (5)**

Cho vào bình cầu ba cổ 250ml chất (4) (6g; 0,0225mol) sau đó thêm 18ml ethanol và khuấy đều hỗn hợp ở nhiệt độ phòng. Thêm từ từ 8,5ml HCl đậm đặc và lúc này nhiệt độ của phản ứng sẽ đạt khoảng  $55^\circ\text{C}$  và thấy có bọt khí thoát ra. Khuấy hỗn hợp mạnh hơn và ngừng phản ứng khi hết khí thoát ra, lúc này nhiệt độ của hệ tăng lên khoảng  $65^\circ\text{C}$  (kiểm tra bằng sắc kí bản mỏng để tìm thời điểm dừng phản ứng). Sau khi phản ứng xong, làm lạnh phản ứng trong nước đá ( $0^\circ\text{C}$ - $5^\circ\text{C}$ ) và thêm vào hỗn hợp phản ứng 74ml nước, khuấy đều. Lọc sản phẩm, chấm sắc kí bản mỏng để kiểm tra độ tinh khiết. Sản phẩm ở dạng tinh thể màu tím hồng (3,073g, 82%).

$^1\text{H}$  NMR  $\delta$  6,36(s, 1H);  $\delta$  4,29(q,  $J=7,56$  Hz, 2H);  $\delta$  2,5(s, 3H);  $\delta$  2,25(s,3H);  $\delta$  1,36(t,  $J=7,56$  Hz, 3H)

$^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  166,27; 135,81; 121,63; 110,89; 59,03; 14,49; 14,05; 12,55.

#### **2.2.3. Tổng hợp 5-formyl-2,4-dimethyl-1H-pyrrole-3-carboxylic acid ethyl ester (6)**

Cho vào bình cầu ba cổ 250ml 3ml DMF, hạ nhiệt độ của bình xuống  $0^\circ\text{C}$ , sau đó thêm từ từ 1,26ml  $\text{POCl}_3$  sao cho nhiệt độ của phản ứng không vượt quá  $5^\circ\text{C}$ . Sau đó, từ từ nâng nhiệt độ của hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ phòng. Trong khi đó, hòa tan chất (5) (1,735g; 0,012 mol) bằng 3ml DMF. Sau đó thêm từ từ dung dịch này vào bình phản ứng và khuấy đều ở khoảng  $25^\circ\text{C}$ - $30^\circ\text{C}$ . Sau đó thì hỗn hợp sẽ từ từ tăng nhiệt độ lên đến khoảng  $50^\circ\text{C}$ , giữ như vậy trong vài giờ. Kiểm tra bằng sắc kí bản mỏng để tìm thời điểm ngừng phản ứng. Sau khi ngừng phản ứng, hạ nhiệt độ của hỗn hợp về khoảng  $10^\circ\text{C}$  và thủy phân sản phẩm với hỗn hợp 6ml nước đá+5ml HCl đậm đặc. Để yên trong 30 phút. Chỉnh pH của hỗn hợp đến khoảng 12 bằng KOH 10N. Lọc sản phẩm và rửa bằng khoảng 15ml nước sạch. Sản phẩm thu được là tinh thể mịn màu vàng nhạt (1,67g, 82%).

$^1\text{H}$  NMR  $\delta$  9,6(s,1H);  $\delta$  4,3(q,  $J=7,56$  Hz, 2H);  $\delta$  2,55(d,  $J=12,37$  Hz, 6H);  $\delta$  1,37(t,  $J=7,56$  Hz, 3H)

$^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  177,37; 164,99; 143,658; 136,22; 128,26; 114,16; 59,71; 14,39; 14,29; 10,06.

#### **2.2.4. Tổng hợp 5-formyl-2,4-dimethyl-1H-pyrrole-3-carboxylic acid (7)**

Cho vào bình cầu hai cổ chất (6) (0,5g;  $2,3 \cdot 10^{-3}$ mol) 4,5ml methanol, 2,583g KOH và 14ml nước, khuấy đều. Đun hồi lưu khoảng 2giờ (dùng sắc kí bản mỏng để kiểm tra thời điểm dừng phản ứng). Sau khi phản ứng hoàn toàn, làm

lạnh hỗn hợp xuống đến 8°C. Chiết sản phẩm bằng ethyl acetate thu lấy lớp nước. Chính pH của lớp nước đó xuống 4 (cần khoảng 0,6ml HCl đậm đặc). Sau đó, thêm nước vào hỗn hợp và khuấy đều. Lọc hút, rửa sản phẩm bằng nước, sấy khô thu được sản phẩm dạng tinh thể (0,241g, 64%).

$^1\text{H}$  NMR  $\delta$  12,178(s, 1H);  $\delta$  9,685(s, 1H);  $\delta$  3,433(s, 1H, NH)  $\delta$  2,449 và 2,411 (2s, 6H)

$^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  177,84; 165,965; 142,727; 134,085; 128,146; 113,277; 13,559; 10,368.

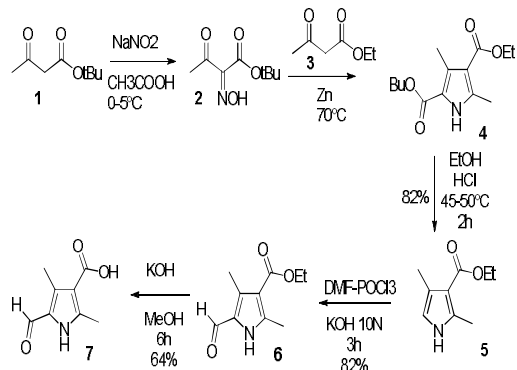
### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đi từ tertbutyl acetoacetate, với sự có mặt của  $\text{NaNO}_2/\text{CH}_3\text{COOH}$ , sau thời gian phản ứng, thu được oxim (**2**). Thêm Ethyl acetoacetate và kẽm bột, để thực hiện phản ứng đóng vòng Knorr pyrrole, thu được 3,5-dimethyl-1H-pyrrole-2,4-dicarboxylic acid 2-ter butyl ester 4-ethyl ester (**4**). Qua hai bước phản ứng, hiệu suất thu được là 38%, chất thu được bằng phương pháp kết tinh lại.

Sau khi thu được 3,5-dimethyl-1H-pyrrole-2,4-dicarboxylic acid 2-ter butyl ester 4-ethyl ester (**4**) thực hiện phản ứng decarboxyl hóa, sử dụng EtOH/HCl đậm đặc, thu được hợp chất 2,4 – dimethyl - 1H – pyrrole – 3 - carboxylic acid ethyl ester (**5**). Hiệu suất phản ứng đạt 82%, sản phẩm sạch ngay khi kết tinh lại. [9, 10]

Thực hiện phản ứng Vilsmeier Hack để gắn thêm nhóm aldehyde cho 2,4 – dimethyl - 1H – pyrrole – 3 - carboxylic

acid ethyl ester (**5**), trong DMF/ $\text{POCl}_3$  ta thu được 5-formyl-2,4-dimethyl-1H-pyrrole-3-carboxylic acid (**6**), cũng bằng phương pháp kết tinh lại. Phản ứng đạt hiệu suất cao, 82%.



Từ 5-formyl-2,4-dimethyl-1H-pyrrole-3-carboxylic acid (**6**), thực hiện phản ứng xà phòng hóa với KOH/MeOH, đun hồi lưu khoảng 2 giờ, ta thu được hợp chất 5-formyl-2,4-dimethyl-1H-pyrrole-3-carboxylic acid (**7**) với hiệu suất 64%. Sản phẩm này cũng được thu bằng phương pháp kết tinh lại. [11, 12, 13]

Quy trình được lựa chọn để tổng hợp Sunitinib là quy trình gồm những phản ứng thực hiện đơn giản, hóa chất đã có sẵn trong phòng thí nghiệm [14, 15, 16]. Hiệu suất của phản ứng không quá thấp, ở một số phản ứng như phản ứng decarboxyl hóa và phản ứng Vilsmeier Hack đạt hiệu suất rất cao (82%).

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Jerad M. Manley, Monica J. Kalman, Brian G. Conway, Cynthia C. Ball, Jeffrey L. Havens, Rajappa Vaidyanathan (2003), *J. Org. Chem.*, 68, 6447- 6450.

- 2.A. Östman (2010), *Nat. Rev. Cancer.*, 2004, 15, 275-286.
  - Marius Raica, Anca Maria Cimpean, *Pharmaceuticals.*, 3, 572-599. (2010)
  - 3.(a) Tang, P. C.; Miller, T.; Li, X.; Sun, L.; Wei, C. C.; Shirazian, S.; Liang, C.; Vojkovsky, T.; Nematalla, A. S. *WO 01/60814*. (b) Mendel, D. B.; Laird, A. D.; Xin, X.; Louie, S. G.; Christensen, J. G.; Li, G.; Schreck, R. E.; Abrams, T. J.; Ngai, T. J.; Lee, L. B.; Murray, L. J.; Carver, J.; Chan, E.; Moss, K. G.; Haznedar, J. O.; Sukbuntherng, J.; Blake, R. A.; Sun, L.; Tang, C.; Miller, T.; Shirazian, S.; McMahon, G.; Cherrington, J. M. *Clin. Cancer Res.*, 9, 327. (2003)
  - 4.R. Roskoski Jr, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 62, 179-213, (2007)
  - 5.K. Pietras, T. Sjoblom, K. Rubin, C.H. Heldin, A. Östman, *Adv. Cancer. Res.*, 3, 439–443, (2003)
  - 6.Li Sun, Ngoc Tran Congxin Liang, Flora Tang, Audie Rice, Randall Schreck, Kara Waltz, Laura K. Shawver, Gerald McMahon, Cho Tang, *J. Med. Chem.*, 42, 5120 – 5130 (1999)
  - 7.R. Roskoski Jr, *Biochem. Biophys. Res. Com.*, 356, 323–328.(2007)
  - 8.(a) Fischer, H. *Org. Syn*; Wiley: New York, 2, 202. (1943) (b) Treibs, A.; Hintermeier, K. *Chem. Ber.*, 86, 1167. (1954) (c) de Groot, J. A.; Roy, G. M. G-L.; van Koveringe, J. A.; Lugtenburg, *J. Org. Prep. Proced. Int.*, 13, 97,(1981) .Corwin; Quattlebaum, Jr., *J. Am. Chem. Soc.*, 58, 1083. (1936)
  - 9.Knorr, *Ann.* 236, 318.(1886)
  - 10.Beholz, L. G.; Benovsky, P.; Ward, D. L.; Barta, N. S.; Stille, J.R, *J. Org. Chem.*, 62, 1033, (1997)
  - 11.Moon, M. W.; Church, A. R.; Steinhards, A. Ger. Offen. *DE2235811*, (1973).
  - 12.(a) Itoh, K.; Sugihara, H.; Miyake, A.; Tada, N.; Oka, Y, *Chem.Pharm. Bull.*, 26, 504, (1978), (b) Doyle, T. W.; Belleau, B.; Luh, B.-Y.; Conway, T. T.; Menard, M.; Douglas, J. L.; Chu, D. T.-W.; Lim, G.; Morris, L. R.; Rivest, P.; Casey, M, *Can. J. Chem.*, 55, 484.(1977)
  - 13.(a) Winans, C. F.; Adkins, H, *J. Am. Chem. Soc.*, 55, 4167, (1933).(b) Ochiai, E.; Tsuda, K.; Ikuma, S. *Chem. Ber.*, 68, 1710. (1935)
  - 14.Battersby, A. R.; Dutton, J. C.; Fookes, C. J. R. *J. Chem Soc.*, Perkin Trans. 1, 1569. (1988)
  - 15.Hafner, K.; Bernhard, C. *Angew. Chem.*, 69, 533. (1957)
  - 16.J.Q. Wang, K.D. Miller, G.W. Sledge, Q.H. Zheng, *Bio. Med. Chem. Lett.*, 15, 4380–4384. (2005)
- Lời cảm ơn:** Đề tài thực hiện với sự tài trợ kinh phí của trường Đại học Khoa học Tự nhiên (TN.15.12)