

Nghiên cứu tổng hợp Gefitinib làm thuốc điều trị bệnh ung thư

Nguyễn Văn Tài*, Nguyễn Thị Thu Trang, Nguyễn Thị Hà, Vũ Đức Nam, Nguyễn Tiên Phong

Khoa Hóa thực vật, Viện Dược liệu

Ngày nhận bài 19.12.2015, ngày chuyển phản biện 20.12.2015, ngày nhận phản biện 18.1.2016, ngày chấp nhận đăng 22.1.2016

Bài báo trình bày phương pháp tổng hợp Gefitinib đi từ 3-hydroxy-4-methoxy benzaldehyde. Gefitinib được sử dụng để điều trị bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ (NSCLC), ung thư tuyến tụy và các bệnh ung thư khác. Quá trình tổng hợp trải qua các bước gồm alkyl hóa nguyên liệu đầu, chuyển hóa nhóm aldehyde thành nhóm nitril tương ứng, nitro hóa, khử hóa, đóng vòng và phản ứng với 3-chloro-4-fluoroanilin để được Gefitinib với 7 giai đoạn và hiệu suất toàn quy trình đạt 15,88%. Sản phẩm và các hợp chất trung gian được xác định cấu trúc bởi các phổ IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, MS.

Từ khóa: EGFR, Gefitinib, tổng hợp, ung thư, 3-hydroxy-4-methoxybenzaldehyde.

Chỉ số phân loại 3.4

Study on synthesis of Gefitinib for cancer drug

Summary

This paper reports a method for synthesis of Gefitinib starting from 3-hydroxy-4-methoxy benzaldehyde. Gefitinib is used for the treatment of non-small cell lung cancer (NSCLC), pancreatic cancer and other cancers. The process includes alkylation of starting material, conversion of aldehyde into the corresponding nitrile, nitration, reduction, cyclization and reaction with 3-chloro-4-fluoroaniline to afford Gefitinib with seven steps and overall productivity of 15.88%. The product and intermediates have been characterized by IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, MS.

Keywords: cancer, EGFR, Gefitinib, synthesis, 3-hydroxy-4-methoxybenzaldehyde.

Classification number 3.4

Đặt vấn đề

Các thụ thể tăng trưởng biểu bì (EGFR) thuộc họ protein ErbB của receptor tyrosine kinases (RTK) gồm 4 thành viên: ErbB-1/EGFR, ErbB-2/HER-2/neu, ErbB-3/HER-3 và ErbB-4/HER-4. Hoạt hóa enzyme EGFR (ligand-dependent hoặc ligand-independent) dẫn đến sự phosphoryl hóa tại đuôi các tế bào chất của các thụ thể làm tăng sự đáp ứng của các phân tử cơ chất dẫn đến sự hoạt hóa các tín hiệu kích thích tế bào phát triển. Các con đường tín hiệu liên quan đến EGFR bao gồm: RAS-RAF-MAPK (mitogen-activated protein kinase), PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase)-AKT, và JAK-STAT (signal transducers và activators of transcription) [1].

Trong các bệnh nhân ung thư phổi không phải tế bào nhỏ (NSCLC) (chiếm khoảng 75-80% số bệnh nhân ung thư phổi) và một số bệnh ung thư khác có sự đột biến của gen dẫn đến protein “EGFR” biểu hiện quá mức trên bề mặt của một số tế bào ung thư [2]. Các hợp chất như Gefitinib có khả năng ức chế chọn lọc EGFR và HER-2 bằng cách ngăn chặn sự gia tăng của protein “EGFR”, từ đó hạn chế sự phát triển của bệnh nên được sử dụng để điều trị NSCLC, ung thư vú và một số bệnh ung thư không đáp ứng với các phương pháp hóa trị liệu khác [3, 4]. Gefitinib được thương mại hóa và phân phối bởi Công ty Astra-Zeneca với tên thương mại là Iressa, đây là một trong những thuốc điều trị tại đích. Gefitinib được Cơ quan An toàn thực phẩm và dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) chấp nhận để điều trị NSCLC vào tháng 5.2003, cho đến nay Gefitinib đã được bán trên thị trường ở 64 quốc gia.

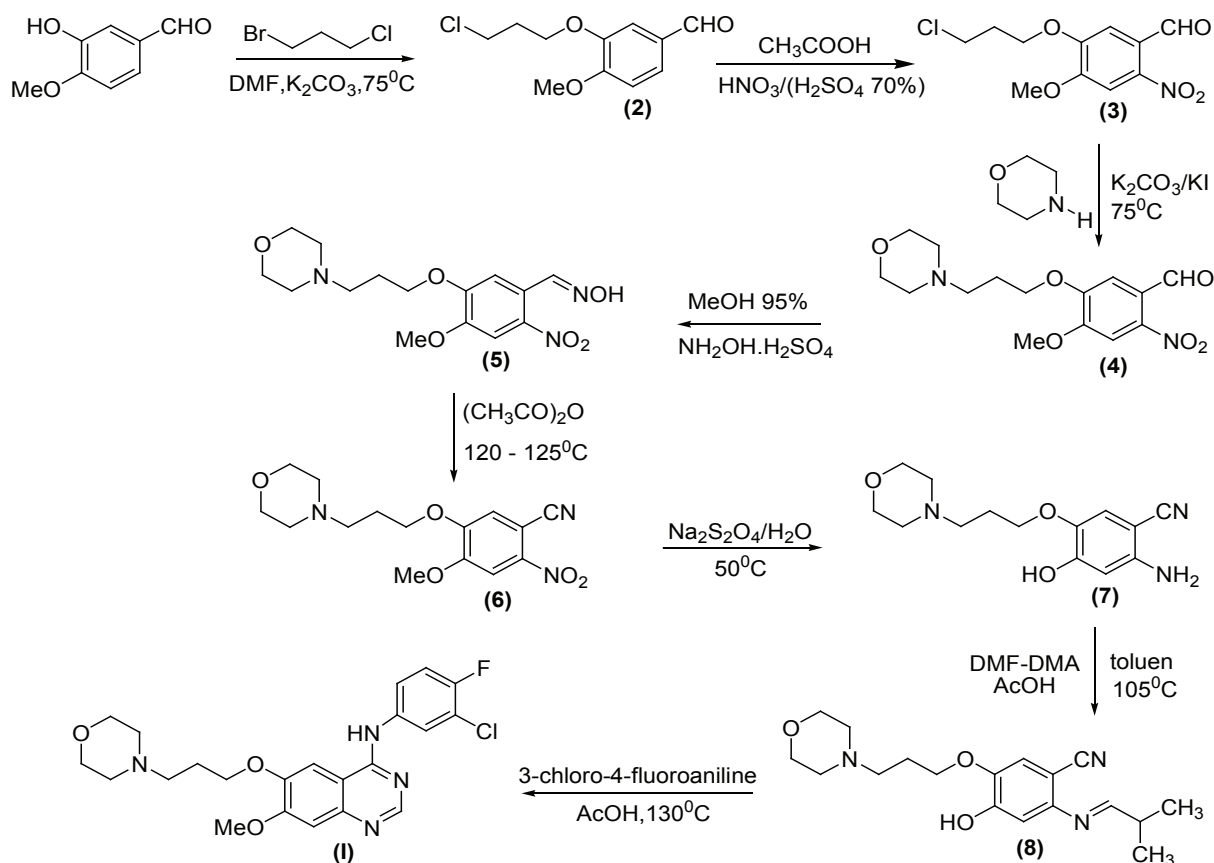
Trong bài báo này, chúng tôi trình bày phương pháp tổng hợp Gefitinib từ nguyên liệu đầu phổ biến rẻ tiền là 3-hydroxy-4-methoxy benzaldehyde qua 7 giai đoạn, với các phản ứng đơn giản, an toàn, dễ thực hiện.

*Tác giả liên hệ: Email: nguyenvantai1111@gmail.com

Nguyên vật liệu, phương pháp nghiên cứu

Nguyên vật liệu và thiết bị: hóa chất, dung môi được cung cấp bởi các hãng: Merck, Fisher, AK Scientific hoặc P.A Trung Quốc và được sử dụng trực tiếp không qua tinh chế. Sắc ký lớp mỏng được tiến hành trên bản mỏng silica gel 60 GF₂₅₄ của Merck. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân được đo trên máy Bruker AV500, phổ hồng ngoại được đo trên máy quang phổ hồng ngoại Impact 410 Nicolet, phổ khối lượng đo trên máy AutoSpec Premier - Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Phương pháp nghiên cứu: Gefitinib được điều chế từ 3-hydroxy-4-methoxy benzaldehyde theo sơ đồ sau:



Kết quả, bàn luận

Nhiều tài liệu đã công bố các phương pháp tổng hợp Gefitinib trong phòng thí nghiệm cũng như trong công nghiệp [5-12]. Ở đây, chúng tôi tổng hợp Gefitinib với mục tiêu quy trình tổng hợp đơn giản, an toàn, có triển vọng phát triển ra quy mô lớn.

Gefitinib được tổng hợp từ nguyên liệu đầu là isovanilin. Isovanilin tham gia phản ứng alkyl hóa với 1-bromo-3-chloropropan thu được chất (2) với hiệu

suất 82%. Phản ứng được thực hiện trong dung môi phân cực là DMF, xúc tác vô cơ K₂CO₃ thời gian thực hiện ngắn (3 h). Khi nghiên cứu thay thế DMF bằng các dung môi khác như CH₃CN, THF, toluen thì hiệu suất phản ứng giảm xuống (lần lượt là 78, 72 và 67%), nếu thời gian phản ứng tăng thì sản phẩm có nhiều tạp chất. Như vậy, DMF vẫn là dung môi phản ứng cho hiệu suất cao nhất. Nitro hóa chất (2) bằng acid nitric trong acid acetic bằng với xúc tác H₂SO₄ 70% cho chất (3) có màu vàng sáng. Phản ứng nitro hóa vòng benzen xảy ra khá dễ dàng, ban đầu thực hiện phản ứng ở 0-5°C sau đó kéo dài qua đêm ở nhiệt độ thường để phản ứng xảy ra hoàn toàn. Sản phẩm tách ra khỏi dung dịch dưới dạng kết tủa, trung hòa hỗn hợp

phản ứng đến pH 8, lọc rửa kết tủa nhiều lần với nước thu được sản phẩm (3) với hiệu suất 86%. Hợp chất (3) tham gia phản ứng thế nguyên tử clo bằng vòng morpholin. Phản ứng được thực hiện trong dung môi DMF với xúc tác base vô cơ K₂CO₃, có mặt của KI hoặc TBAI, ở nhiệt độ 75-80°C. Nếu không sử dụng thêm KI hoặc TBAI thì phản ứng chuyển hóa chậm và không hoàn toàn, sau 24 h chỉ khoảng 70% chất đầu chuyển hóa và thời gian phản ứng dài kéo theo nhiều tạp chất sinh ra. Khi có mặt của KI hoặc TBAI thì

phản ứng chuyển hóa hoàn toàn sau 3 h. Phản ứng xảy ra theo cơ chế thế nucleophin thay thế nguyên tử clo trong hợp chất (3) bằng vòng morphorlin, liên kết C-Cl có tính electrophin kém nên phải sử dụng thêm xúc tác KI hoặc TBAI để tạo thuận lợi cho quá trình phân cắt C-Cl, thúc đẩy phản ứng xảy ra nhanh và hoàn toàn. Để tham gia phản ứng đóng vòng tạo dẫn xuất quinazolin, nhóm andehit trong hợp chất (4) được chuyển thành nhóm cyanua thông qua dẫn xuất aldoxim (5). Nhóm andehit trong chất (4) tham gia phản ứng với hydroxy amin hydrochlorid trong dung môi MeOH 95%, KOH là xúc tác. Phản ứng xảy ra hoàn toàn sau 4 h, sản phẩm (5) tạo thành dưới dạng kết tủa tách ra khỏi dung dịch, trung hòa dung dịch phản ứng về pH 7-8 bằng acid acetic, lọc rửa sản phẩm với nước, thu được chất rắn màu vàng cam với hiệu suất thô đạt 81%. Nhóm chức oxim trong hợp chất (5) được chuyển thành nhóm nitril bằng tác nhân anhydrid acetic ở 120°C, theo dõi quá trình phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng cho thấy sau 5 h phản ứng xảy ra hoàn toàn. Anhydrid acetic giúp tách một phân tử nước để chuyển hóa aldoxim thành nitril, sau khi phản ứng kết thúc, hỗn hợp sản phẩm được đổ ra nước đá và trung hòa bằng dung dịch NH_3 đến pH 9, sản phẩm (6) kết tủa khỏi dung dịch được lọc rửa với nước. Hiệu suất thô của phản ứng đạt 87%. Hợp chất (6) được khử hóa nhóm nitro thành nhóm amin bằng tác nhân $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4/\text{HCl}$ cho chất (7). Các tác nhân thông thường để khử hóa nhóm nitro thành amin thường được sử dụng là Fe/HCl , $\text{H}_2/\text{Pd-C}$ 10%, Raney/Ni... Với tác nhân Fe/HCl thường khó kiểm soát được quá trình phản ứng sinh ra nhiều tạp, trong khi đó sử dụng xúc tác $\text{H}_2/\text{Pd-C}$ 10%, Raney/Ni tiến hành ở áp suất cao lại yêu cầu thiết bị chuyên dụng, nguy hiểm, xúc tác có giá thành cao, phản ứng trong thời gian dài và không hoàn toàn [12]. Trong khi sử dụng tác nhân khử hóa đơn giản $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4/\text{HCl}$ ở 50°C, phản ứng xảy ra với hiệu suất 90%, ít tạp chất, không yêu cầu thiết bị đặc thù. Hợp chất (7) tham gia phản ứng one-pot gồm 2 giai đoạn để chuyển thành Gefitinib. Có thể tổng hợp Gefitinib thông qua giai đoạn tạo thành quinazolin-4(3H)-on từ formamidin và các dẫn xuất chlorid như thionyl chlorid. Tuy nhiên, con đường này tồn tại nhiều hạn chế như hiệu suất thấp, cần phải dùng lượng dư formamidin, tác nhân SOCl_2 nguy hiểm và độc hại. Để hạn chế những nhược điểm này, chúng tôi đã tổng hợp Gefitinib từ hợp chất (7) thông qua hợp chất trung gian N' -[2-cyano-5-methoxy-5-{3-(4-morpholinyl)propoxy}phenyl]- N,N -dimethyl formamidin (8) [12]. Chất (7) phản ứng với DMF-DMA sinh ra hợp chất (8),

trong quá trình phản ứng, MeOH sinh ra được cất loại ngay bằng hệ thống Dean-Stark, kết thúc phản ứng, DMF-DMA dư được loại khỏi hỗn hợp phản ứng bằng phương pháp cất dưới áp suất thấp. Chất (8) được sinh ra không cần phải tinh chế mà được cho phản ứng luôn với 3-chloro-4-fluoroanilin với xúc tác là acid acetic ở 120-125°C. Hiệu suất cả hai giai đoạn đạt 50%. Trong quá trình thực hiện phản ứng sinh ra một số sản phẩm phụ, do đó sản phẩm được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel, hệ dung môi rửa giải $\text{CH}_3\text{Cl}:\text{MeOH}$ (100:0-7:3).

Thực nghiệm

Tổng hợp 3-(3-chloropropoxy)-4-methoxybenzaldehyde (2): cho vào bình cầu 2 cổ dung tích 50 ml (có lắp hệ thống sinh hàn, khuấy từ, nhiệt kế) 2 g isovanilin (0,013 mol, 1 equiv) và 15 ml DMF, khuấy cho hỗn hợp tan hoàn toàn, cho tiếp 5,5 g K_2CO_3 (0,04 mol, 3,08 equiv.) và khuấy trong vòng 15 phút. Sau đó nhỏ từ từ 1,9 ml 1-bromo-3-chloro propan (0,019 mol, 1,5 equiv.) vào bình phản ứng rồi tăng nhiệt độ trong bình lên 75°C và giữ ở nhiệt độ này trong suốt quá trình phản ứng. Theo dõi phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng đến khi isovanilin phản ứng hết hoàn toàn (sau khoảng 3 h) thì dừng phản ứng. Hỗn hợp phản ứng được để nguội về nhiệt độ phòng, đổ ra 100 ml nước đá khuấy trong 30 phút rồi chiết lấy sản phẩm bằng ethyl acetate (3x80 ml), pha hữu cơ được gộp lại và rửa bằng nước muối bão hòa, làm khan bằng Na_2SO_4 , cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được 2,46 g sản phẩm dạng tinh thể trắng. Hiệu suất thô của phản ứng đạt 82%. Sản phẩm có $R_f = 0,45$ trên sắc ký lớp mỏng với hệ dung môi n-hexan:ethyl acetat (8:2). Tinh chế sản phẩm để xác định cấu trúc bằng sắc ký cột silicagel, rửa giải với hệ dung môi gradient n-hexan:ethylacetate (100:0-9:1). Sản phẩm được chứng minh cấu trúc bằng phổ IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$:

IR (cm^{-1} , KBr): 2926,81; 2828,61 ($-\text{CH}_3$, CH_2); 1683,50 ($\text{C}=\text{O}$); 1587,89; 1516,86; 1474 ($\text{C}=\text{C}$ vòng benzen); 1273, 1120,77 (Ar-O-C). **ESI-MS (m/z):** $[\text{M-H}]^- = 226,98$. **$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOH); δ (ppm):** 9,82 (s, 1H, H-CHO); 7,58 (d, 1H, H- C_6); 7,48 (s, 1H, H- C_2); 7,16 (d, 1H, H- C_5); 4,21 (t, 2H, H- CH_2Cl); 3,96 (s, 3H, H- CH_3O); 3,80 (t, 2H, H- CH_2O), 2,24 (m, 2H- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$). **$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOH); δ (ppm):** 192,9; 156,7; 150,3; 131,5; 127,9; 112,6; 112,4; 66,8; 56,7; 42,2; 33,5.

Tổng hợp 5-(3-chloropropoxy)4-methoxy-2-

nitrobenzaldehyd (3): trong bình cầu 2 cổ dung tích 25 ml có lắp khuấy từ chứa 0,5 g 3-(3-chloropropoxy)-4-methoxybenzaldehyd (2,2 mmol) (2) và 3,4 ml acid acetic. Tiến hành làm lạnh phản ứng về 0-5°C bằng đá muối rồi nhỏ từ từ 0,76 ml acid nitric (0,018 mol), sau 15 phút nhỏ tiếp 2 ml acid sunfuric 70%; luôn giữ nhiệt độ hỗn hợp phản ứng trong suốt quá trình ở 0-5°C. Sau đó, phản ứng được tiếp tục khuấy ở nhiệt độ thường đến khi kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng thấy hết chất đầu thì dừng phản ứng (sau 12 h). Đổ hỗn hợp phản ứng vào 50 ml nước đá khuấy trong 30 phút, trung hòa về pH 7,5-8 bằng dung dịch NH_3 , lọc kết tủa, rửa nhiều lần bằng nước thu được 0,515 g sản phẩm là chất rắn màu vàng nhạt. Hiệu suất thô phản ứng đạt 86%. Sản phẩm có $R_f = 0,5$ trên sắc ký lớp mỏng với hệ dung môi n-hexan:aceton (8:2). Tinh chế sản phẩm để xác định cấu trúc bằng sắc ký cột silicagel, rửa giải với hệ dung môi gradient n-hexan:ethylacetate (100:0-8:2). Sản phẩm được chứng minh cấu trúc bằng phổ IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$:

IR (cm^{-1} , KBr): 2973,34; 2888,95 ($-\text{CH}_3$, CH_2); 1683,16 ($-\text{CH}=\text{O}$); 1574,6, 1514,89; 1445 ($\text{C}=\text{C}$ vòng benzen), 1286,91, 1224,48 (Ar-O-C). **MS $[\text{M}+\text{H}]^+$** = 274; **$[\text{M-H}]^-$** = 272. **$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3); δ (ppm):** 10,44 (s, 1H, H-CHO); 7,61 (s, 1H, H- C_5); 7,43 (s, 1H, H- C_2); 4,32 (t, 2H, H- CH_2Cl); 4,01 (s, 3H, H- CH_3O); 3,78 (t, 2H, H- CH_2O); 2,34 (s, 2H, 2H- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$). **$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3); δ (ppm):** 187,64; 152,69; 143,97; 125,45; 114,08; 110,84; 107,38; 66,06; 56,71; 40,97; 31,83.

Tổng hợp 4-methoxy-5-(3-morpholinopropoxy)-2-nitro benzaldehyd (4): trong bình cầu 2 cổ 25 ml có lắp máy khuấy từ và nhiệt kế chứa 0,28 g 5-(3-chloropropoxy)-4-methoxy-2-nitro benzaldehyd (1,83 mmol, 1equiv.) (3) hòa tan trong 7 ml DMF. Nhỏ từ từ 0,3 ml morpholine (3,47 mmol, 1,9 equiv.) vào hỗn hợp phản ứng, khuấy 15 phút, cho tiếp 0,6 g K_2CO_3 (4,34 mmol; 2,24 equiv.) và 0,3 g NaI (2 mmol; 1,1 equiv.) rồi tăng nhiệt độ phản ứng lên 75°C. Theo dõi phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng cho đến khi hết chất đầu (khoảng 3 h) thì dừng. Cô cạn dung môi DMF, cho vào hỗn hợp phản ứng 10 ml nước, chiết với ethyl acetat (3x10 ml), pha hữu cơ được rửa lại với nước muối bão hòa, làm khan bằng Na_2SO_4 rồi cất dưới áp suất thấp thu được 0,234 g sản phẩm màu vàng cam. Hiệu suất thô phản ứng đạt 71%. Trên sắc ký lớp mỏng, sản phẩm có giá trị $R_f = 0,4$ với hệ dung môi n-hexan:ethyl acetat (7:3). Sản phẩm được chứng

minh cấu trúc bằng các phổ IR và MS:

IR (cm^{-1} , KBr): 2966,31; 2910,05 ($-\text{CH}_3$, CH_2); 1683,37 ($-\text{CH}=\text{O}$); 1574,99; 1516,83; 1423 ($\text{C}=\text{C}$ vòng benzen); 1286,84; 1226,03 (Ar-O-C). **MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$** = 325,1.

Tổng hợp 4-methoxy-6-nitro-3-[3-(4-morpholinyl)propoxyl] benzaldoxim (5): trong bình cầu 25 ml có lắp máy khuấy từ, phễu nhỏ giọt và sinh hàn hồi lưu, chứa dung dịch của 0,36 g 4-methoxy-5-(3-morpholinopropoxy)-2-nitro benzaldehyde (1,1 mmol; 1 equiv.) (4) trong 2,6 ml methanol 95%. Nhỏ từ từ dung dịch chứa 0,15 g $\text{NH}_2\text{OH.HCl}$ (2,2 mmol, 2 equiv.) trong 0,4 ml nước vào hỗn hợp phản ứng. Tiếp tục cho vào hỗn hợp phản ứng dung dịch chứa 0,075 g KOH (1,34 mmol) trong 0,6 ml nước. Quá trình phản ứng xuất hiện kết tủa màu vàng cam là sản phẩm (5). Sau 4 h khuấy ở nhiệt độ thường, theo dõi bằng sắc ký lớp mỏng phản ứng xảy ra hoàn toàn, đổ vào 20 ml nước đá, trung hòa về pH = 7-8 bằng acid acetic. Lọc kết tủa, rửa với 5 ml nước thu được 0,292 g sản phẩm màu vàng cam, hiệu suất phản ứng đạt 81%. Tinh chế sản phẩm bằng sắc ký cột silicagel, rửa giải với hệ dung môi gradient n-hexan:aceton (100:0-7:3). Sản phẩm được chứng minh cấu trúc bằng phổ IR $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$:

IR (cm^{-1} , KBr): 3433,22 ($-\text{N-OH}$); 2944,36; 2866,43 ($-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2$); 1685,12 ($-\text{CH}=\text{N}$); 1574,62; 1519,37; 1425 ($\text{C}=\text{C}$ vòng benzen); 1289,64; 1225,66 (Ar-O-C).

MS: $[\text{M-H}]^-$ = 338, **$[\text{M}+\text{H}]^+$** = 340. **$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, MeOH); δ (ppm):** 8,59 (s, 1H, H-NOH); 7,68 (s, 1H, H- C_5); 7,45 (s, 1H, H- C_2); 4,22 (t, 2H, H- CH_2Cl); 3,95 (s, 3H, H- CH_3O); 3,73 (t, 4H, H- CH_2O); 2,60 (t, 2H, H- $\text{CH}_2\text{O-Ar}$); 2,53 (t, 4H, H- CH_2N); 2,07 (m, 2H, H- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$). **$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOH); δ (ppm):** 151,4; 146,86; 123,66; 114,678; 111,74; 111,34; 108,87; 68,61; 67,704; 56,87; 56,44; 54,77; 26,96.

Tổng hợp 4-methoxy-6-nitro-3-[3-(4-morpholinyl)propoxyl] benzonitril (6): trong bình cầu 2 cổ 25 ml có lắp sinh hàn hồi lưu, máy khuấy từ, nhiệt kế, chứa 0,3 g 4-methoxy-6-nitro-3-[3-(4-morpholinyl)propoxyl]benzaldehyd (0,88 mmol) (5) hòa tan trong 6 ml Anhydrid acetic, tăng nhiệt độ của hỗn hợp phản ứng lên 120-125°C, theo dõi phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng. Sau 5 h, phản ứng xảy ra hoàn toàn, đưa nhiệt độ về 30-35°C, thêm vào 200 ml nước, điều chỉnh pH về 9-10 bằng dung dịch amoniac, hỗn hợp xuất hiện kết tủa màu vàng nâu. Lọc thu chất rắn, rửa với 20 ml

nước, sấy khô được 0,25 g sản phẩm có màu vàng nâu. Hiệu suất phản ứng đạt 87%. Sản phẩm có $R_f = 0,4$ với hệ dung môi n-hexan:aceton (8:2). Tinh chế sản phẩm bằng sắc ký cột silicagel, rửa giải với hệ dung môi gradient n-hexan:aceton (100:0-8:2). Sản phẩm được chứng minh cấu trúc bằng phổ IR, MS, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$:

IR (cm^{-1} , KBr): 2965,62; 2838,09 (CH_3 , CH_2); 1573,01, 1524,13; 1459,80 ($\text{C}=\text{C}$ vòng benzen), 1326 (CN); 1271,96; 1215,35 (Ar-O-C). **MS: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 322$.** **$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3); δ (ppm):** 7,79 (s, 1H, H-C_5); 7,28 (s, 1H, H-C_2); 4,23 (t, 2H, $\text{H-CH}_2\text{Cl}$); 4,02 (s, 3 H, $\text{H-CH}_3\text{O}$); 3,74 (t, 4H, $\text{H-CH}_2\text{O}$); 2,55 (t, 2H, $\text{H-CH}_2\text{O-Ar}$); 2,50 (t, 4 H, $\text{H-CH}_2\text{N}$), 2,49 (m, 2H; $\text{H-CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$). **$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3); δ (ppm):** 153,02; 152,34; 142,54; 128,18; 116,37; 115,55; 108,00; 68,24; 66,80; 56,73; 54,81; 53,60; 25,77.

Tổng hợp 2-amino-4-methoxy-5-(3-morpholinopropoxy) benzonitril (7): trong bình cầu 2 cổ 50 ml (có lắp sinh hàn hồi lưu, máy khuấy từ gia nhiệt, nhiệt kế) chứa 0,44 g 4-methoxy-6-nitro-3-[3-(4-morpholinyl)propoxyl] benzonitril (1,37 mmol) (6) và 16 ml nước. Cho từ từ dung dịch chứa 1,2 g natri dithionit hòa tan trong 0,5 ml nước vào bình phản ứng và tăng nhiệt độ lên 50°C , khuấy trong 2,5 h. Sau đó tiếp tục gia nhiệt lên 70°C rồi cho từ từ 8 ml HCl 25% vào hỗn hợp phản ứng, tiếp tục khuấy ở nhiệt độ này trong khoảng 2 h cho đến khi phản ứng xảy ra hoàn toàn. Phản ứng kết thúc, làm lạnh về 20°C và điều chỉnh về pH 10 bằng dung dịch NH_3 . Sản phẩm được chiết với dichloromethan (3 lần x 30 ml), rửa pha hữu cơ với nước và nước muối bão hòa, cất loại dung môi được 0,34 g sản phẩm là chất rắn màu nâu. Hiệu suất phản ứng đạt 90%. Sản phẩm có $R_f = 0,6$ với hệ dung môi triển khai chloroform:methanol (20:1). Tinh chế sản phẩm bằng sắc ký cột silicagel, rửa giải với hệ dung môi gradient n-hexan:aceton (100:0-7:3). Sản phẩm được chứng minh cấu trúc bằng phổ IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$:

IR (cm^{-1} , KBr): 3461,55 ($-\text{NH}$); 2958,53 ($-\text{CH}_3$, CH_2); 2228,80 (NH); 1575,451; 1536,32; 1456,980 ($\text{C}=\text{C}$ vòng benzen); 1340 (dd hóa trị $-\text{CH}_3$, CH_2); 1340,7 (CN); 1231,15; 1147 (Ar-O-C). **$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOH); δ (ppm):** 6,9 (s, 1H, H-C_5); 6,45 (s, 1H, H-C_2); 3,96 (t, 2H, $\text{H-CH}_2\text{Cl}$); 3,84 (s, 3H, $\text{H-CH}_3\text{O}$); 3,73 (t, 4H, $\text{H-CH}_2\text{O}$); 2,60 (t, 2H, $\text{H-CH}_2\text{O-Ar}$); 2,55 (t, 4 H, $\text{H-CH}_2\text{N}$), 1,95 (m, 2H; $\text{H-CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$). **$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOH); δ (ppm):** 157,17; 149,86; 141,64; 119,34; 118,05; 100,26; 86,153; 69,67; 67,56; 56,72;

56,23; 54,75; 27,17.

Tổng hợp 4-(3'-chloro-4'-fluoroanilino)-7-methoxy-6-(3-morpholino propoxy) quinazolin (1): trong bình phản ứng 25 ml (được lắp với máy khuấy từ, nhiệt kế, thiết bị Dean-Stark) chứa hỗn hợp 0,5 g 2-amino-4-methoxy-5-(3-morpholinopropoxy) benzonitril (1,7 mmol) (7), 6 ml toluen, 0,01 ml acetic acid, 0,5 ml DMF-DMA (3,7 mmol). Tiến hành phản ứng ở 105°C , cất loại methanol sinh ra bằng thiết bị Dean-Stark. Theo dõi phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng, sau 3 h chất đầu (7) đã phản ứng hoàn toàn, DMF-DMA dư và toluen được cất loại dưới áp suất thấp thu được hợp chất *N*-[2-cyano-5-methoxy-4-{3-(4-morpholinyl)propoxy}phenyl]-*N,N*-dimethyl formamidin (8) dưới dạng dầu màu nâu. Cho vào bình phản ứng chứa (8) 4,5 ml acetic acid, 0,31 g 3-chloro-4-fluoro anilin (2,1 mmol) và khuấy hỗn hợp phản ứng trong khoảng 5 h ở $125-130^\circ\text{C}$ cho đến khi chất trung gian đã chuyển hóa hoàn toàn (kiểm tra bằng sắc ký bản mỏng), làm lạnh hỗn hợp phản ứng xuống 25°C , đổ vào 20 ml nước đá và điều chỉnh về pH 9 bằng dung dịch amoniac, thêm vào 30 ml ethyl acetate và khuấy trong 1 h. Chiết pha nước với ethyl acetat (3 lần x 30 ml), gộp toàn bộ pha hữu cơ rửa lại với nước muối bão hòa, làm khan bằng Na_2SO_4 và cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu 0,78 g sản phẩm dạng dầu màu nâu. Tinh chế sản phẩm bằng sắc ký cột silica gel với hệ dung môi rửa giải $\text{CH}_3\text{Cl}:\text{MeOH}$ (100:0-7:3), thu được 0,4 g sản phẩm Gefitinib. Sản phẩm có màu trắng, nhiệt độ nóng chảy $193-196^\circ\text{C}$, $R_f = 0,4$ với hệ dung môi ethylacetate, và 0,6 với hệ dung môi $\text{CH}_3\text{Cl}:\text{MeOH}$ (9:1). Hiệu suất phản ứng sau chạy cột đạt 50%. Sản phẩm được chứng minh cấu trúc bằng các phổ:

IR (cm^{-1} , KBr): 3393,74 (NH); 2956,67; 2822,72 ($-\text{CH}_3$, CH_2); 1628,97 ($\text{C}=\text{N}$); 1577,86; 1535; 1429,64 ($\text{C}=\text{C}$ vòng benzen), 1222,65; 1112,77 (Ar-O-C). **ESI-MS: $[\text{M}-\text{H}]^- = 445$; $[\text{M}+\text{H}]^+ = 447$.** **$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3); δ (ppm):** 8,64 (s, 1H, H-C_2); 7,89 (m, 1H, H-C_8); 7,58 (m, 1H, H-C_5); 7,27 (d, 1H, H-C_5), 7,21 (s, 1H, H-C_2); 7,12 (t, 1H, H-C_6); 4,12 (t, 2H, $\text{H-CH}_2\text{Cl}$); 3,94 (s, 3H, $\text{H-CH}_3\text{O}$); 3,74 (t, 4H, $\text{H-CH}_2\text{O}$); 2,57 (t, 2H, $\text{H-CH}_2\text{O-Ar}$); 2,50 (m, 4H, $\text{H-CH}_2\text{N}$); 2,07 (m, 2H, $\text{H-CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$). **$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3); δ (ppm):** 156,33; 155,67; 155,19; 153,71; 153,38; 148,96; 147,42; 124,13; 121,70; 120,99; 116,57; 109,02; 107,75; 101,21; 67,53; 66,61; 56,14; 55,30; 53,59; 25,82.

Kết luận

Gefitinib được tổng hợp từ isovanilin trải qua 7 giai đoạn với hiệu suất toàn quy trình đạt 15,88%. Gefitinib và các chất trung gian được chứng minh cấu trúc bằng các phương pháp phổ IR, MS, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$. Quy trình tổng hợp đơn giản, an toàn, dễ thực hiện, có khả năng triển khai ra quy mô lớn.

Tài liệu tham khảo

- [1] Xiaoqing Wu, Mingdong Li, Yang Qu, Wenhua Tang, Youguang Zheng, Jiqin Lian, Min Jia, Liang Xu (2010), "Design and synthesis of novel Gefitinib analogues with improved anti-tumor activity", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **18**, pp.3812-3822.
- [2] Bernard W Stewart, Paul Kleihues (2008), "World cancer report 2008", WHO.
- [3] Ciardiello F, Caputo R, Bianco R, Damiano V, Pomatito G, De Placido S, Bianco A.R, Tortora G (2000), "Antitumor effect and potentiation of cytotoxic drugs activity in human cancer cells by ZD-1839 (Iressa), an epidermal growth factor receptor-selective tyrosine kinase inhibitor", *Clin Cancer Res.*, **6**(5), pp.2053-2063.
- [4] Swaisland H, Laight A, Stafford L, Jones H, Morris C, Dane A, Yates R (2001), "Pharmacokinetics and tolerability of the orally active selective epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor ZD1839 in healthy volunteers", *Clin Pharmacokinet.*, **40**(4), pp.297-306.
- [5] Gibson, Keith, Hopkinson (1996), "Quinazolin derivatives", *WO96/33980*.
- [6] Gilday, John Peter, Moody, David (2004), "Process for the preparation of 4-(3'-chloro-4'-fluoroanilino)-7-methoxy-6-(3-morpholinopropoxy) quinazolin", *WO2004/024703*.
- [7] Jyothi Prasad, Ramanadham, Pulla Reddy, Muddasani, Nageshwara Rao, Bollepalli, Venkaiah Chowdary, Nannapaneni (2005), "An improved process for the preparation of Gefitinib", *WO2005/070909 A1*.
- [8] Rao, Dharmaraj, Ramachandra, Kankan, Rajendra, Narayanrao, Pathi, Srinivas, Laxminarayan (2008), "Process for the preparation of Gefitinib", *WO2008/125867A2*.
- [9] Aggarwal, Ashvin, Kumar, Jain, Anshul, Kumar, Chidambaram, Venkateswaran, Srinivasan, Wadhwa, Lalit (2010), "Process for the preparation of Gefitinib", *WO2010/076810 A2*.
- [10] Petr Knesl, Dirk Rösling, Ulrich Jordis (2006), "Improved Synthesis of Substituted 6,7-Dihydroxy-4-quinazolinamines: Tandutinib, Erlotinib and Gefitinib", *Molecules*, **11**, pp.286-297.
- [11] Ming Dong Li, You Guang Zheng, Min Ji (2007), "Synthesis of Gefitinib from Methyl 3-hydroxy-4-methoxy benzoate", *Molecules*, **12**, pp.673-678.
- [12] Venkateshappa Chandregowda, Gudapati Venkateswara Rao, Goukanapalli Chandrasekara Reddy (2007), "Convergent Approach for Commercial Synthesis of Gefitinib and Erlotinib", *Organic Process Research & Development*, **11**, pp.813-816.