

Bán tổng hợp Paclitaxel từ 10-Deacetyl Baccatin trích từ cây Thông đỏ Lâm Đồng

Trần Công Luận^{1*}, Nguyễn Lê Mỹ Tiên², Lê Đặng Quỳnh Như²,
Ngô Thị Mỹ Huệ², Tống Thành Danh², Vương Chí Hùng³

¹Trung tâm Sâm và Dược liệu TP Hồ Chí Minh

²Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh

³Công ty cổ phần Y dược phẩm VIMEDIMEX

Ngày nhận bài 8.4.2015, ngày chuyển phản biện 10.4.2015, ngày nhận phản biện 11.5.2015, ngày chấp nhận đăng 15.5.2015

Paclitaxel là một dược chất có tác dụng điều trị ung thư, có hàm lượng rất nhỏ trong các loài Thông đỏ thuộc họ Taxaceae. Với công dụng quan trọng của dược chất này, các nhà khoa học đã và đang nỗ lực nghiên cứu để tổng hợp được Paclitaxel. Do có cấu trúc hóa học phức tạp nên việc tổng hợp toàn phần dược chất Paclitaxel là rất tốn kém. Trong nghiên cứu này, các nhà khoa học đã nghiên cứu bán tổng hợp Paclitaxel từ 10-Deacetyl Baccatin (10-DAB), một hoạt chất sẵn có cho năng suất cao được phân lập từ cây Thông đỏ lá dài (*Taxus wallichiana* Zucc.) trồng ở Lâm Đồng, với hiệu quả kinh tế cao.

Từ khóa: bán tổng hợp, cây Thông đỏ, Lâm Đồng, Paclitaxel, 10-Deacetyl Baccatin.

Chỉ số phân loại 3.4

SEMI-SYNTHETIC PACLITAXEL FROM 10-DAB ISOLATED FROM TAXUS WALLICHIANA ZUCC

Summary

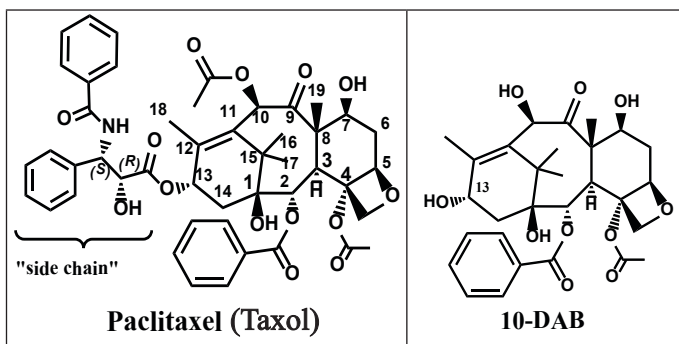
Paclitaxel is an important anticancer drug, which is isolated in an extremely low yield from the Himalayan yew (*Taxus wallichiana*). The clinical utility of Paclitaxel has prompted a tremendous effort to obtain this complex molecule's synthesis. Due to the chemical complexity of Paclitaxel, the fully synthetic Paclitaxel molecule is not likely to be economical. Semi-synthetic Paclitaxel from 10-DAB, a readily available compound isolated in higher yield from yew species, can bring a greater efficiency. In this study, the semi-synthesis of Paclitaxel from 10-DAB by coupling baccatin and N-benzyloxycarbonyl- β -phenylisoserine side chain, a compound derived from enzymatic hydrolysis of the β -lactam ring using Amano PS and AK Amano has been conducted.

Keywords: Lam Dong, Paclitaxel, Semi-synthetic, *Taxus wallichiana*, 10-Deacetyl Baccatin.

Classification number 3.4

Đặt vấn đề

Paclitaxel là một dược chất có tác dụng điều trị ung thư, có hàm lượng rất nhỏ trong các loài Thông đỏ thuộc họ taxanes [1, 2]. Paclitaxel thường được điều chế thông qua các con đường như tổng hợp toàn phần, bán tổng hợp, sinh tổng hợp, trong đó ưu việt nhất là sử dụng hợp chất trung gian β -lactam cùng với một số dẫn xuất của 10-DAB để tạo thành một chuỗi "taxol sidechain" ở vị trí C-13 (hình 1).



Hình 1: Paclitaxel và 10-DAB

Trong các phản ứng tổng hợp hữu cơ như vậy, hầu hết các sản phẩm tổng hợp được là một hỗn hợp các đồng phân đối quang (racemic) và do đó có ảnh hưởng không tốt đến hiệu suất hình thành nên lập thể của các taxane tương ứng. Phương pháp tổng hợp sử dụng các tác nhân bất đối xứng để hình thành nên các

*Tác giả chính: Email: congluan53@gmail.com

đồng phân lập thể của các hợp chất trung gian β -lactam cũng như các sản phẩm taxane cuối cùng đã trở thành một chủ đề nghiên cứu được quan tâm trong cả lĩnh vực sinh học lẫn hoá học. Vấn đề thường gặp khi sử dụng xúc tác hoá học trong chọn lọc đối phân là độc hại với môi trường, chi phí cao, độ chọn lọc không cao; trong khi đó các xúc tác sinh học như enzyme có thể hoạt động ở điều kiện bình thường, không đòi hỏi nhiệt độ hay áp suất lớn và tránh được những tác động có hại cho môi trường. Ưu điểm lớn của enzyme so với chất xúc tác hoá học là độ chọn lọc cao kể cả độ chọn lọc lập thể (stereoselectivity), chọn lọc hoá học (chemoselectivity, regioselectivity). Nhiều loại enzyme khác nhau đã được sử dụng cho phản ứng thủy phân β -lactam trong định hướng tổng hợp mạch nhánh "side chain" của Paclitaxel. Nghiên cứu này thực hiện khảo sát đối với enzyme PK Amano và PS Amano trong quy trình tổng hợp Paclitaxel từ 10-DAB trích từ cây Thông đỏ lá dài trồng ở Lâm Đồng.

Phương pháp nghiên cứu

Nguyên liệu

Hóa chất sử dụng trong các phản ứng được đặt mua từ Aldrich-Sigma hoặc Acros. Enzyme được sử dụng là AK Amano (Amano Lipase from *Pseudomonas fluorescens* beige-brown ≥ 20000 U/g), PS Amano (Amano Lipase PS from *Burkholderia cepacia* ≥ 30000 U/g) được đặt mua của Aldrich-Sigma. Dung dịch đệm photphat pH = 7 của Hãng Hanna - Italia. Dung môi chạy cột sử dụng *n*-hexan, ethyl acetat Việt Nam đã qua chưng cất lại. Sắc ký bản mỏng sử dụng bản mỏng tráng sẵn silica gel GF₂₅₄ (Merck). Sắc ký cột sử dụng silical gel 60A°, 200-400 mesh (Merck).

Phương pháp phân tích

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ¹H-NMR (Bruker, 500 MHz) và phổ khối lượng HR-MS (Bruker compass Data Analysis 4.0) được đo tại Trung tâm Phân tích thí nghiệm, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh.

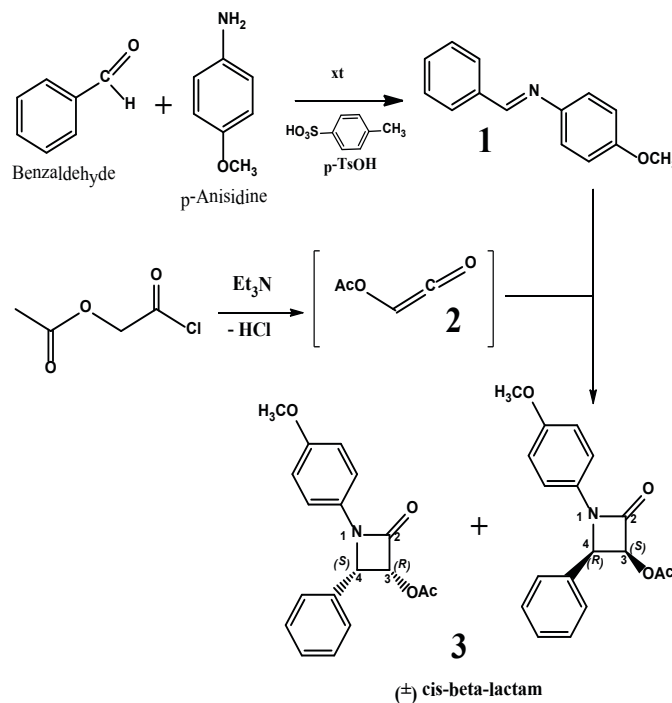
Độ tinh khiết của sản phẩm được đo sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC, G1322A - 1260 Degasser) tại Phòng thí nghiệm hữu cơ, Trường Đại học Bách khoa - Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh.

Kết quả và bàn luận

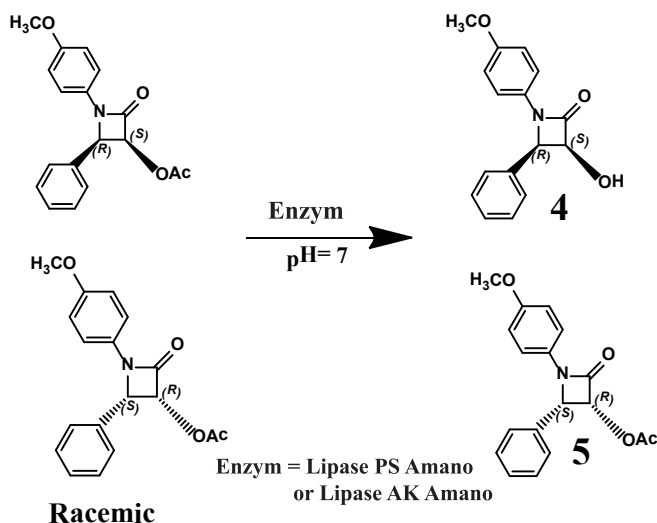
Phản ứng tổng hợp imin **1** được thực hiện trong dung môi dichloromethan với xúc tác là *p*-TsOH cho hiệu

suất 90% [3]. Hỗn hợp sau phản ứng cần trung hòa bởi một lượng dư triethylamin để đảm bảo môi trường bazơ, là môi trường cần thiết để imin bền khi phân lập trên cột sắc ký loại bỏ *p*-anisidin không phản ứng hết. Việc kết tinh imin trong nước và ethanol không giúp loại bỏ hoàn toàn *p*-anisidin và sự có mặt của *p*-anisidin sẽ làm hiệu suất phản ứng kế tiếp tạo β -lactam suy giảm đáng kể (sơ đồ 1).

Keten **2** được tạo ra *in situ* từ hỗn hợp α -acetoxycetyl chlorid với sự có mặt của triethylamin sẽ phản ứng với imin **1** tạo thành β -lactam [4]. Đây là phản ứng cộng [2+2] đóng vòng, có sự tỏa nhiệt mạnh. Do đó, phản ứng cần được thực hiện ở nhiệt độ khoảng 0-5°C trong môi trường khí trơ. Phản ứng khử được thực hiện ở nhiệt độ phòng cho thấy không tạo thành β -lactam mà chỉ có các sản phẩm bị phân hủy mạnh. Phản ứng [2+2] đóng vòng tạo β -lactam có hai tâm bất đối xứng, theo lý thuyết sẽ cho hỗn hợp bốn đồng phân quang học. Ở phản ứng nêu trên, do tác động của hai nhóm phenyl hiện diện trên imin và nhóm -OAc có trên keten nên quan sát thấy chỉ có *cis*- β -lactam **3** hình thành [5]. Trên phổ H-NMR của hợp chất β -lactam **3**, mỗi nhóm tín hiệu của H₃ và H₄ đều là mũi đôi (doublet) và có hằng số ghép $J_{H3-H4} = 5,0$ Hz, điều này chứng tỏ H₃-H₄ nằm ở vị trí *cis*. Nếu ở vị trí *trans*, hằng số ghép này thông thường rất nhỏ (nhỏ hơn 1,5 Hz) hoặc quan sát thấy mũi đơn của H₃ và H₄ [6].



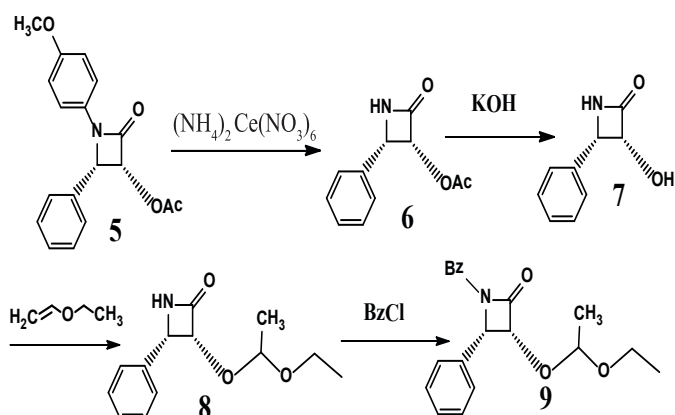
Là dẫn xuất trung gian để tạo nên mạch nhánh “side chain” tại C-13 của Paclitaxel, hợp chất *cis*- β -lactam cần có cấu hình (3*R*,4*S*). Một số nghiên cứu cho thấy, phản ứng thủy phân hỗn hợp **3** với enzym lipase có thể giúp phân lập được hai đồng phân đối quang (3*R*,4*S*) và (3*S*,4*R*). Đồng phân chịu phản ứng thủy phân nhanh hơn sẽ tạo thành hợp chất 3-hydroxy **4** và dễ dàng được phân lập khỏi đồng phân đối quang **5** còn lại nhờ sử dụng sắc ký cột thường (sơ đồ 2).



Sơ đồ 2: phản ứng thủy phân β -lactam sử dụng enzym

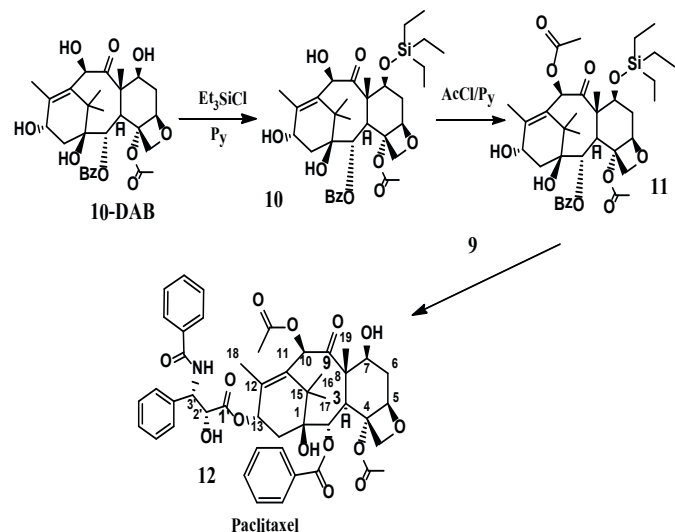
Kết quả khảo sát trên hai enzym PS và AK Amano cho thấy, phản ứng xảy ra khá nhanh đối với PS Amano. Sau 24 h, sắc ký bản mỏng của phản ứng sử dụng PS Amano cho thấy một lượng lớn sản phẩm đã tạo thành trong khi đối với AK Amano, bản mỏng chỉ cho thấy một vết sản phẩm mờ nhạt. Tỷ lệ khối lượng enzym: các chất được khảo sát là 1:1. Theo một số nghiên cứu [7], phản ứng tương tự với các enzym lipase khác đều sử dụng tỷ lệ enzym trên tác chất từ 5 đến 10 lần để tăng tốc độ của phản ứng. Việc sử dụng lượng lớn enzym là một hạn chế cần nhiều nghiên cứu để khắc phục do gây khó khăn cho việc tách chiết hỗn hợp sau phản ứng. Dung môi hữu cơ sử dụng cho phản ứng có thể là CCl_4 , cyclohexan, CS_2 , *n*-hexan, acetonitril [8], trong đó acetonitril cho kết quả tốt hơn cả.

Đồng phân β -lactam **5** sau phản ứng được cho tác dụng với ceric amoni nitrat trong acetonitril để loại nhóm *p*-methoxybenzen và thủy phân **6** trong môi trường KOH loại nhóm acetyl thu được **7**. Nhóm hydroxy tiếp tục được bảo vệ với vinyl ethyl eter thu được **8** tiếp tục được *N*-benzoyl hóa thu được **9** (sơ đồ 3).



Sơ đồ 3: tổng hợp mạch nhánh “side chain” C-13 của taxol

Phản ứng kết nối giữa **9** và **11** với tác nhân DMAP và thủy phân loại bỏ các nhóm bảo vệ triethylsilan, ethyl eter trong môi trường HCl thu được sản phẩm với phổ HNMR và HRMS phù hợp với dữ liệu của Paclitaxel (sơ đồ 4).



Sơ đồ 4: phản ứng tạo Paclitaxel

N-Benzyliden-*p*-methoxyanilin **1**: sử dụng bình cầu phản ứng 1000 ml 2 cổ nhám có gắn sinh hàn hồi lưu, hòa tan 12,45 g (0,1 mol) *p*-anisidin trong 100 ml dichlormethan (CH_2Cl_2), nhỏ từ từ 11,14 ml (0,1 mol) Benzaldehyd vào bình phản ứng, thêm vào 5 mg xúc tác *p*-toluen sulfonic acid monohydrat (*p*-TsOH). Sau 24 h, kiểm tra sắc ký bản mỏng thấy phản ứng xảy ra hoàn toàn. Cho thêm 0,1 ml triethylamin để trung hòa *p*-TsOH, khuấy thêm 15 phút, sau đó đem hỗn hợp sau phản ứng cô cạn và làm sắc ký cột với hệ dung môi là *n*-hexan - ethylacetat là 85:15 thu sản phẩm, hiệu suất 90%. ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): δ ppm 3,17 (s, 3H, OCH_3); 6,99-7,30 (m, 4H, C_6H_4); 7,50-7,90 (m,

5H, C₆H₅); 8,50 (s, H, CH=N). HRMS (ESI) C₁₄H₁₃NO [M+H]⁺: dự kiến 212,1069; tìm thấy 212,1082.

Cis-1-p-methoxyphenyl-3-acetoxy-4-phenylazetidin-2-one **3**: hòa tan 17,87 g (0,085 mol) N-Benzylidene-p-methoxyaniline trong 100 ml dichlormethane (CH₂Cl₂), cho thêm vào từ từ 20 ml (0,17 mol) triethylamin (dung dịch 1). Hoà tan 8,2 ml (0,077 mol) α-acetoxyacetylchlorid vào 50 ml dichlormethane (CH₂Cl₂) (dung dịch 2), làm lạnh hỗn hợp phản ứng ở 0-5°C, nhỏ từ từ từng giọt dung dịch 2 vào dung dịch 1 cho đến hết, sau đó tiếp tục khuấy hỗn hợp phản ứng trong 24 h. Hỗn hợp sau phản ứng được pha loãng với 50 ml dichlormethane, sau đó lớp dung môi hữu cơ này được rửa lại bằng nước cất 2 lần, mỗi lần 100 ml. Chiết lấy phần dung môi hữu cơ, làm khan bằng natri sulfat, lọc và cô quay đến khi cạn. Làm sắc ký cột với hệ dung môi *n*-hexan - ethylacetate là 7:3 để thu sản phẩm, hiệu suất 80%. ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ ppm 1,68 (s, 3H, OAc); 3,77 (s, 3H, OCH₃); 5,37 (d, 1H, J=5,0 Hz, CH-Ph); 5,97 (d, 1H, J=5,0 Hz, CH-OAc); 6,83-7,38 (m, 9H, H-aromatic). HRMS (ESI) C₁₈H₁₇NO₄ [M+Na]⁺: dự kiến 334,1055; tìm thấy 334,1085.

Cis-1-p-methoxyphenyl-3-hydroxy-4-phenylazetidin-2-on **4**: hòa tan 6,0 g (0,02 mol) *cis-1-p-methoxyphenyl-3-acetoxy-4-phenylazetidin-2-on* trong 20 ml acetronitril (CH₃CN) (dung dịch 1). Hoà tan 2,8 g enzym (AK Amano hoặc PS Amano) vào 75 ml dung dịch đệm pH=7 (dung dịch 2). Nhỏ từ từ dung dịch 2 vào dung dịch 1 cho đến hết, sau đó tiếp tục khuấy hỗn hợp phản ứng trong 10 ngày. Độ pH của dung dịch được điều chỉnh ở pH=7 bằng dung dịch NaOH 1N. Kiểm tra phản ứng bằng TLC. Hỗn hợp sau phản ứng được chiết bằng ethylacetat 3 lần, mỗi lần 100 ml. Phần dung môi hữu cơ làm khan bằng natri sulfat, lọc và cô quay đến cạn. Làm sắc ký cột với hệ dung môi hexan - ethylacetat (1:1) để thu sản phẩm. ¹H NMR (DMSO, 500MHz) δ ppm 3,65 (s, 3H, OCH₃); 5,14-5,16 (dd, 1H, J=5,0; 7,0 Hz, CH-OH); 5,27 (d, 1H, J=5Hz, CH-Ph); 6,07 (d, 1H, J=7 Hz, -OH); 6,86-7,36 (m, 9H, H-aromatic). HRMS (ESI) C₁₆H₁₅NO₃ [M+Na]⁺: dự kiến 229,0949; tìm thấy 229,0959.

Cis-3-acetoxy-4-phenylazetidin-2-on **6**: 20 g (64 mmol) *cis-1-p-methoxyphenyl-3-acetoxy-4-phenylazetidin-2-on* hòa tan trong 500 ml CH₃CN, làm lạnh bình 0-5°C. Cho từ từ dung dịch Ceri ammonium nitrate (140 g hòa tan trong 450 ml H₂O) vào trong vòng 1 h. Hệ phản ứng khuấy trong vòng 30 phút, sau đó chiết với 300 ml x 3 diethyleter. Pha hữu cơ gộp

lại, đem rửa với 100 ml H₂O, 2 x 100 ml dung dịch NaHSO₃ bão hòa, 2 x 100 ml NaHCO₃ bão hòa. Pha hữu cơ sau đó tách ra, làm khan với Na₂SO₄. Lọc, cô cạn, kết tinh trong acetone/hexan thu được 11 g sản phẩm *cis-3-acetoxy-4-phenylazetidin-2-on* (53 mmol, 82%). ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ ppm 1,68 (s, 3H, OAc); 3,76 (s, 3H, OCH₃); 5,04 (d, 1H, J=4.7 Hz, H-3); 5,87 (dd, 1H, J=2,7; 4,7 Hz, H-4); 6,50 (bs, 1H, NH); 7,30-7,38 (m, 5H, H-aromatic). HR-MS (ESI) C₁₁H₁₁NO₃Na [M+Na]⁺: dự kiến: 228,0631; tìm thấy 228,0668.

Cis-3-hydroxy-4-phenylazetidin-2-on **7**: cho từ từ dung dịch 10 g *cis-3-acetoxy-4-phenylazetidin-2-on* (48 mmol) hòa tan trong 500 ml THF vào bình phản ứng có chứa dung dịch KOH trong THF (400 ml THF và 560 ml dung dịch KOH 1M) ở 0-5°C. Hệ được khuấy 1 h. Sau đó thêm vào 200 ml dung dịch NaHCO₃ bão hòa và chiết với ethyl acetat (300 ml x 3). Pha hữu cơ tách ra, làm khan với Na₂SO₄, lọc, cô cạn thu được 7,2 g của **7** (44 mmol, 92%). ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ ppm 4,96 (d, 1H, J=5,0 Hz, H-3); 5,13 (dd, 1H, J=2,3, 5,0 Hz, H-4); 6,36 (bs, 1H, NH); 7,29-7,46 (m, 5H, H-aromatic). HR-MS (ESI) C₉H₉NO₂Na [M+Na]⁺: dự kiến 186,0525; tìm thấy 186,0529.

Cis-3-(1-ethoxyethoxy)-4-phenylazetidin-2-on **8**: hòa tan 3 g (18,4 mmol) *cis-3-hydroxy-4-phenylazetidin-2-one* trong 15 ml THF ở 0°C. Cho thêm vào 5,3 ml ethyl vinyl ether (55 mmol, 3eq) và 20 mg (1% mol, 0,2 mmol) methane-sulfonic acid. Hỗn hợp khuấy ở 0°C khoảng 20 phút, sau đó cho vào 20 ml NaHCO₃ bão hòa, chiết 3 x 40 ml ethyl acetat. Pha hữu cơ gộp lại, làm khan với Na₂SO₄, lọc, cô cạn thu được 4,87 g **8** (99%). ¹H-NMR (CDCl₃, Bruker 500 MHz): δ ppm 0,9-1,45 (m, 4H, CH₂-5' & CH₂-6') 1,16 (t, 3H, J=7,0 Hz, CH₃-7'); 1,4 (d, 3H, J=6,1 Hz, CH₃-3'); 3,72 (m, 2H, CH₂-4'); 5,08 (d, 1H, J=6,1 Hz, H-2'); 5,11 (d, 1H, J=5,0 Hz, H-3); 7,2-7,5 (m, 5H, H-aromatic). HR-MS (ESI) C₁₃H₁₇NO₃Na [M+Na]⁺: dự kiến 258,1106; tìm thấy 258,1119.

Cis-1-benzoyl-3-(1-ethoxyethoxy)-4-phenylazetidin-2-on **9**: hòa tan 3 g (*cis-3-(1-ethoxyethoxy)-4-phenylazetidin-2-on* **8** (12,7 mmol) trong 20 ml pyridin, cho vào 15 mmol BzCl và 0,2 mmol DMAP. Hỗn hợp khuấy cho đến khi hết các chất (24 h, TLC). Hỗn hợp đem chiết với ethyl acetate và nước. Pha hữu cơ đem làm khan với Na₂SO₄, lọc, cô cạn và phân lập trên cột sắc ký thu được **9** (hiệu suất 90%). ¹H-NMR (CDCl₃, Bruker 500MHz): δ ppm 0,9-1,45 (m, 4H, CH₂-5' & CH₂-6') 1,16 (t, 3H, J=7,0 Hz,

CH₃-7'); 1,44 (d, 3H, J=6,1 Hz, CH₃-3'), 3,72 (m, 2H, CH₂-4'); 5,08 (d, 1H, J=6,1 Hz, H-2'); 5,11 (d, 1H, J=5,0 Hz, H-4), 6,11 (d, 1H, J=5,0 Hz, H-4); 7,2-7,8 (m, 10 H, H-aromatic). HR-MS (ESI) C₂₀H₂₁NO₄Na [M+Na]⁺: dự kiến 362,1368; tìm thấy 362,1358.

7-TES-10-DAB 10: 5,4 g (1 mmol) 10-DAB (thu được từ cây Thông đỏ Lâm Đồng) hòa tan trong 50 ml pyridin, làm lạnh bình 0-5°C. Cho từ từ triethylsilan chlorid vào (10 mmol). Hệ phản ứng khuấy trong 48 h, sau đó chiết với nước và ethyl acetat (200 ml x 3). Pha hữu cơ gộp ethyl acetat lại, làm khan với Na₂SO₄. Lọc, cô cạn, phân lập bằng sắc ký cột thu được 5,3 g 7-TES-10-DAB (hiệu suất 80%). ¹H-NMR (DMSO-d₆, Bruker 500 MHz): δ ppm 0,50 (m, 6H, 3xCH₂-Si), 0,86 (m, 9H, 3xCH₃), 0,93 (s, 6H, CH₃-17, CH₃-16); 1,54 (s, 3H, CH₃-19); 1,65 (m, 1H, H-6a); 1,90 (s, 3H, CH₃-18); 2,16 (m, 2H, CH₂-14); 2,18 (s, 3H, OAc-29), 4,60 (m, 1H, CH-3), 2,40 (m, 1H, H-6b); 3,80 (d, 1H, J=7,0 Hz, CH-3); 4,03 (s, 2H, CH₂-20); 4,35 (m, 1H, CH-7); 4,36 (s, 1H, OH-1), 4,69 (d, 1H, J=3,0 Hz, OH-10); 4,91 (d, 1H, J=8,0 Hz, CH-5); 5,05 (d, 1H, J=3,0 Hz, CH-10); 5,30 (d, 1H, J=5,5 Hz, OH-13); 5,40 (1H, d, J=7,0 Hz, H-2); 7,40-8,10 (m, 5H, Ph). HR-MS (ESI) C₃₅H₅₀O₁₀SiNa [M+Na]⁺: dự kiến 681,3065; tìm thấy 681,3035.

7-TES-Baccain 11: 5,0 g (1 mmol) 10-DAB hòa tan trong 50 ml pyridin, làm lạnh bình 0-5°C. Cho từ từ acetyl clorid (5 mmol) và anhydric acetic (5 mmol). Hệ phản ứng khuấy trong 24 h, sau đó chiết với nước và ethyl acetat (200 ml x 3). Pha hữu cơ gộp lại, làm khan với Na₂SO₄. Lọc, cô cạn, phân lập bằng sắc ký cột thu được 6,3 g 7-TES-Baccain (hiệu suất 90%). ¹H-NMR (DMSO-d₆, Bruker 500 MHz): δ ppm 0,50 (m, 6H, 3 x CH₂); 0,85 (t, 9H, J=8Hz, 3 x CH₃); 0,93 (s, 3H, CH₃-16); 1,01 (s, 3H, CH₃-17); 1,52 (s, 3H, CH₃-19); 1,62 (m, 1H, H-6a); 2,01 (s, 3H, CH₃-18); 2,07 (s, 3H, OAc-4); 2,17 (m, 2H, CH₂-14); 2,19 (s, 3H, OAc-10); 2,45 (m, 1H, H-6b); 3,75 (d, 1H, J=7 Hz, CH-3); 4,02 (m, 2H, CH₂-20); 4,4 (dd, 1H, J=7, 10,5 Hz, CH-7); 4,50 (s, 1H, OH-1); 4,60 (m, 1H, CH-13); 4,90 (d, 1H, J=9,5 Hz, CH-5); 5,30 (d, 1H, J=5,5 Hz, OH-13); 5,42 (d, 1H, J=7 Hz, CH-2); 6,33 (s, 1H, CH-10); 7,5-8,0 (m, 5H, Ph). HR-MS (ESI) C₃₇H₅₂O₁₁SiNa [M+Na]⁺: dự kiến 723,3176; tìm thấy 723,3172.

Paclitaxel 12: hòa tan 1 g (3,2 mmol) 9, 0,5g (0,6 mmol) 11 và 80 mg (0,6 mmol) 4-DMAP trong 3 ml pyridin. Hỗn hợp khuấy ở nhiệt độ phòng 24 h. Hỗn hợp sau phản ứng chiết với ethyl acetat (3 x 20 ml) và dung dịch NaCl bão hòa. Pha hữu cơ tách ra, làm

khan với Na₂SO₄, lọc, cô cạn. Hỗn hợp thô hòa tan trong 20 ml ethanol. Cho vào 5 ml ethanol 0,5% HCl ở 0°C, khuấy cho đến khi phản ứng xảy ra hoàn toàn (TLC, 24h). Chiết hỗn hợp với dung dịch NaHCO₃ và ethyl acetat (3x30 ml). Pha hữu cơ tách ra, làm khan với Na₂SO₄, lọc, cô cạn. Phần thô thu được phân lập sử dụng sắc ký cột thu được Palitaxel 12 (hiệu suất 90%). ¹H-NMR (DMSO-d₆, Bruker 500 MHz): δ ppm 1,04 (s, 3H, CH₃-17); 1,04 (s, 3H, CH₃-16); 1,53 (s, 3H, CH₃-19); 1,65 (m, 1H, H-6a); 1,75 (dd, 1H, J=9,0, 15,0 Hz, CH-14a); 1,81 (s, 3H, CH₃-18); 1,92 (dd, 1H, J=9,3, 15,0 Hz, CH-14b); 2,13 (s, 3H, OAc-10); 2,25 (s, 3H, OAc-4); 2,35 (m, 1H, H-6b); 3,64 (d, 1H, J=7,2 Hz, CH-3); 4,02 (d, 1H, J=8,2 Hz, CH-20a); 4,05 (d, 1H, J=8,2 Hz, CH-20b); 4,14 (dt, 1H, J=7,0, 11,0 Hz, CH-7); 4,61 (t, 1H, J=7,6 Hz, CH-2'); 4,71 (s, 1H, OH-1); 4,90 (d, 1H, J=7,0 Hz, OH-7); 4,93 (dd, 1H, J=1,7, 10 Hz, CH-5); 5,42 (m, 1H, CH-3'); 5,46 (d, 1H, J=7,0 Hz, CH-2); 5,90 (m, 1H, CH-13); 6,16 (d, 1H, J=7,6 Hz, OH-2'); 6,31 (s, 1H, OH-1); 7,22-8,00 (m, 15H, 3xPh); 8,9 (d, 1H, J=8,6 Hz, NH). HR-MS (ESI) C₄₇H₅₁NO₁₄SiNa [M+Na]⁺: dự kiến 876,3207; tìm thấy 876,3202.

Kết luận

Paclitaxel đã được tổng hợp thông qua sử dụng 10-DAB phân lập từ cây Thông đỏ lá dài trồng ở Lâm Đồng. Phản ứng thủy phân β-lactam sử dụng enzym đã giúp làm giảm số lượng các đồng phân tham gia các phản ứng khi tổng hợp nên mạch nhánh “side chain” của Paclitaxel. Việc nghiên cứu tiếp tục các phương pháp sinh học hoặc bán tổng hợp Paclitaxel từ 10-DAB là cần thiết để nâng cao hiệu suất của quy trình này.

Tài liệu tham khảo

- [1] Wani M.C, Taylor H.L, Wall M.E (1971), *J Am Chem Soc.*, **93** (9), pp.2325-2327.
- [2] Robert A Holton (1984), *J. Am. Chem. Soc.* **106**, **19**, pp.5731-5732.
- [3] Danheiser L.R, Okamoto I, Lawlor D.M, Lee W.T (2003), *Org. Synth.*, **80**, pp.160-171.
- [4] Robert A Holton (1992), *US patent* 5175315.
- [5] Lei J, Yong Liang, and Jiaxi Xu (2006), *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, pp.6060-6069.
- [6] Bartłomiej Furman (1999), *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **2**, pp.217-224.
- [7] Ramesh N Patel (1999), *US patent* 5879929.
- [8] Sih Charles J (1993), *EP Patent* 0582469 A2.