Journal of Chemistry of Goods and Traditional Medicine

J Chem Good Trad Med, Volume 1, Issue 6, 2022 Traditional Medicine

XALQ TABOBATIDA QO‘LLANILADIGAN ARTEMIZININNING SUVDA ERUVCHAN HOSILALARI SINTEZI

СИНТЕЗ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АРТЕМИЗИНИНА, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В НАРОДНОЙ МЕДИЦИНЕ

SYNTHESIS OF WATER-SOLUBLE ARTEMISININ DERIVATIVES USED IN TRADITIONAL MEDICINE

Obidjon Shaxabidinovich Abdulloyev, *Andijon davlat universiteti*
Kimyo kafedrasi dotsenti, kimyo fanlari doktori (DSc), O‘zbekiston “Tabobat” Akademiyasi a’zosi
Sharifa Akramovna Matamirova*, Andijon davlat universiteti*
Kimyo kafedrasi erkin tadqiqotchisi

DOI: https://doi.org/10.55475/jcgtm/vol1.iss6.2022.127

Annotatsiya. *Xalq tabobatida qadimdan qo‘llanilib kelingan bir yillik shuvoq (Artemisia annua L.) o‘simligi tarkibidan ajratib olingan artemizinin seskviterpen peroksilakton bo‘lib, asosan bezgak virusiga qarshi yuqori faolligi sabab uning turli hosilalari sintez qilingan. Lekin artemefir, arteefir kabi hosilalari suvda yaxshi erimasligi tufayli qo’llashda bir qancha qiyinchiliklar tug‘iladi. Tarkibida karboksil guruh saqlovchi artesunat va uning tuzlari esa suvda yaxshi eruvchan bo‘lib, u asosida ko‘plab dori vositalari yaratilgan. Ushbu maqolada artemizinindan digidroartemizinin va artesunat sintezi bo‘yicha olib borilgan tadqiqotlar natijalari keltirilgan.*

Аннотация. *Артемизинин представляет собой сесквитерпеновый пероксилактон, выделенный из растения полыни однолетней (Artemisia annua L.), который с древних времен используется в народной медицине, а его различные производные синтезированы в основном благодаря его высокой активности в отношении вируса малярии. Однако в связи с тем, что такие производные, как артеметер и артеэтер, плохо растворимы в воде, при их использовании возникают некоторые трудности. На основе артесуната и его солей, содержащих карбоксильную группу и хорошо растворимых в воде, создано множество лекарственных средств. В данной статье представлены результаты исследований по синтезу дигидроартемизинина и артесуната из артемизинина.*

Annotation. *Artemisinin is a sesquiterpene peroxylactone isolated from the wormwood plant (Artemisia annua L.), which has been used in traditional medicine since ancient times, and its various derivatives have been synthesized mainly due to its high activity against the malaria virus. However, due to the fact that derivatives such as artemether and arteeter are poorly soluble in water, some difficulties arise in their use. On the basis of artesunate and its salts containing a carboxyl group and highly soluble in water, many drugs have been created. This article presents the results of studies on the synthesis of dihydroartemisinin and artesunate from artemisinin.*

Kalit so‘zlar. *Artemizinin, digidroartemizinin, artesunat kislota, xalq tabobati, bezgak.*

Ключевые слова. *Артемизинин, дигидроартемизинин, артесуновая кислота, народная медицина, малярия.*

Keywords. *Artemisinin, dihydroartemisinin, artesunic acid, traditional medicine, malaria.*

Kirish. Barqaror tabiiy peroksid - artemizinin kashfiyoti peroksidlarning farmasevtik kimyosini rivojlantirishga kuchli turtki berdi. Artemizinin va uning yarim sintetik analoglari hozirgi vaqtda bezgakni davolash uchun samarali dorilar hisoblanadi. 2015 yilda xitoylik olim Yuyu Tu “Bezgakga qarshi yangi terapiya” kashfiyoti uchun fiziologiya va tibbiyot bo‘yicha Nobel mukofotiga sazovor bo‘ldi [1].

Artemizinin va uning sintetik hosilalari (artemeter va natriy artesunat) 1970-yillarning boshlarida xitoylik olimlar tomonidan klinik sharoitda tekshirilgan [2]. Artemizinin va hosilalari bilan davolash hech qanday aniq nojo‘ya ta’sirlarsiz davom etdi. *P. vivax* va *P. falciparum* bilan kasallangan 3000 dan ortiq bemorlar artemizinin va uning hosilalari bilan klinik jihatdan davolangan [3, 4, 5]. Ushbu moddalar serebral bezgaklarida ham samarali ekanligi isbotlangan. Davolash jarayonida bemorlarning tana harorati 72 soatdan keyin normal holatga kelgan va 120 soatdan keyin to‘liq davolanish sodir bo‘lgan.

Artemizinin asosida digidroartemizinin M.Z. Abdin va boshqalar tomonidan sintez qilingan, artemizininga qaraganda yuqori antimalarial faollikni ko‘rsatgan, ammo uning tuzilishi beqarorroq. Artemizininning boshqa hosilalari ham sintez qilingan. Ular orasida Artemizininga qaraganda yuqori samaradorlik ko‘rsatadigan moddalar topilgan [6, 7, 8, 9].

Ko‘pgina tadqiqotlar shuni ko‘rsatdiki, Artemizinin va uning hosilalari hayvonlarda [10] va odamlarda [11, 12] turli xil izogen o‘smalarga qarshi samarali ta’sir namoyon etadi. Shuningdek, artesunat *in vivo* sharoitda kanserogen moddalar yordamida chaqirtirilgan yallig‘lanishni va oksidlovchi stressni ingibirlaydi [13]. Artemizinin, uning hosilalari va *Artemisia annua* samaradorligi hayvonlar va odamlarda saraton kasalligini davolashda bir nechta klinik sinovlarda (I va II bosqichlarda) yuqori baholangan [14, 15]. Kolorektal karsinoma bilan og‘rigan bemorlarda yaqinda o‘tkazilgan plasebo-nazoratli, randomizatsiyalangan va II bosqich sinovi standart jarrohlik terapiyasiga qo‘shimcha ravishda artesunat tabletkalarini qabul qilgan bemorlarning omon qolishida foydali ekanligini ko‘rsatdi [15, 16, 17].

Natijalar muhokamasi. Artemizinin suvda kam eruvchan, gidroksil yoki karboksil guruhlari mavjud bo‘lmagani uchun uning suvda eruvchan shaklini olish qiyin. Shuning uchun olimlar tomonidan artemizininni qaytarib digidroartemizinin (**2**) va uning qaxrabo kislotasi bilan eterifikatsiyasi asosida artesunat (**3**) sintez qilingan. Mazkur tadqiqotda ham ayni moddalar ma’lum metodlarda [18, 19] sintez qilindi [20, 21].

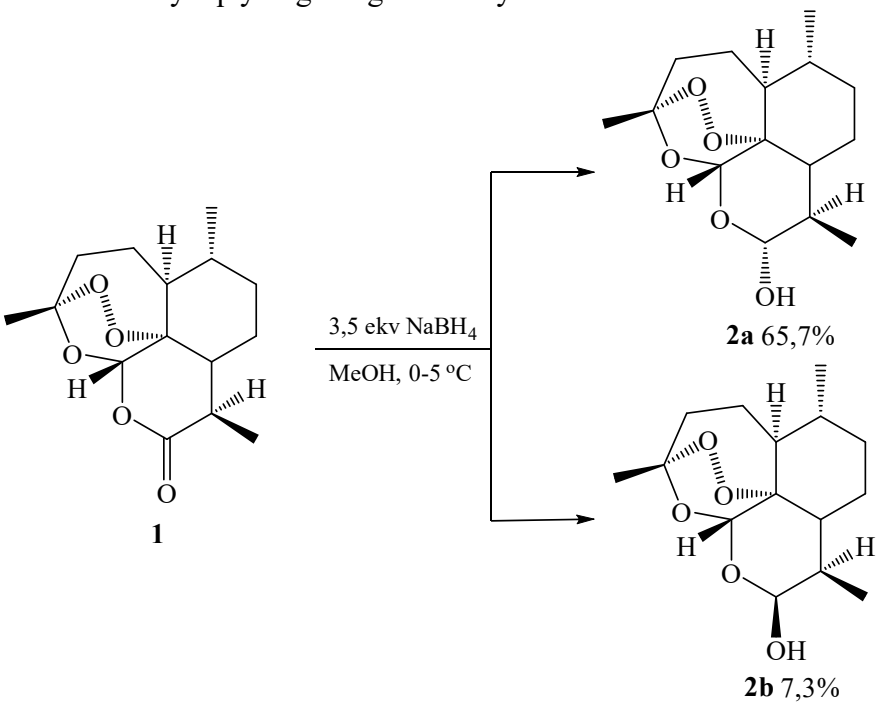
Digidroartemizininni sintez qilishda yumshoq qaytaruvchi $NaBH_4$ dan foydalanish maqsadga muvofiq. Chunki kuchli qaytaruvchilar ta’sirida peroksid bog‘ining uzilishi sodir bo‘ladi. Reaksiya 0-5 ºS da metanolda olib borilganda $NaBH_4$ ning ekvivalent miqdori digidroartemizininga nisbatan 3,5 barorbar ko‘p bo‘lganda va reaksiya vaqti 2 soatdan oshmaganda unum 73 % bo‘lishi aniqlandi. Vaqtni ko‘paytirish digidroartemizinin miqdorini kamayishiga olib keldi. Buni ortiqcha $NaBH_4$ ta’sirida digidroartemizinin peroksid ko‘prigining parchalanishi bilan izohlash mumkin.

1-jadval.

Artemizininni qaytarishda $NaBH_4$ miqdori va vaqtning reaksiya unumiga ta’siri

№	$NaBH_4$ ning artemizininga nisbatan miqdori, ekv	Vaqt, soat	Reaksiya unumi, %
1	1:2	1	38
2	1:2	2	42
3	1:2	2,5	51
4	1:3	2,5	58
5	1:3	3	62
6	1:3	3,5	65
7	1:3,5	1,5	62
8	1:3,5	2	73
9	1:3,5	2,5	60
10	1:4	1,5	60
11	1:4	2,5	62
12	1:4	3	53

Olingan oq kristall shaklidagi digidroartemizinin α- (**2a**) va β-digidroartemizinin (**2b**) larning rasemati bo‘lib, kolonkali xromatografiyada ajratish α-digidroartemizininning (**2a**) aralashmadagi ulushi 90 % ni tashkil etishini ko‘rsatdi. Keyingi tajribalarda xom-ashyo sifatida α-digidroartemizinin (**2a**) dan foydalanildi. Reaksiya quyidagi tenglama bo‘yicha sodir bo‘ladi:



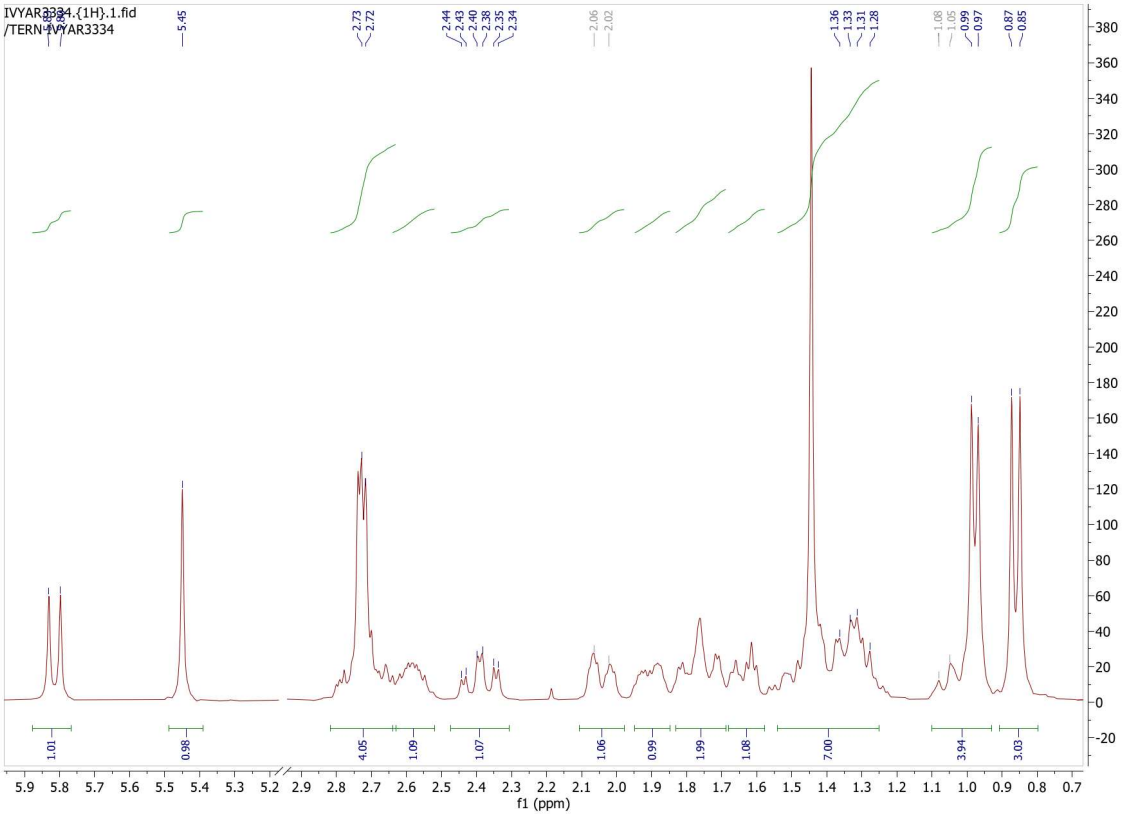
1-rasm. Artemizininning $NaBH_4$ ta’sirida qaytarilishi reaksiya sxemasi.

α-Digidroartemizinin (**2a**) dan α-artesunat (**3**) ning olinishi eterifikatsiya bilan sodir bo‘lishini hisobga olgan holda, yumshoq suv tortib oluvchilardan foydalanish maqbul deb topildi. Bunday suv tortib oluvchilardan Etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimid (EDCI) va N,N’-ditsiklokarbodiimid (DCC) lar tanlandi. Nukleofil katalizator sifatida esa 4-dimetilaminopiridin (DMAP) ishlatildi. Adabiyotlarda [22] qaxrabo kislotasining angidridiidan foydalanilgan. Diefir hosil bo‘lishiga olib kelishi mumkinligi sababli qaxrabo kislotasidan foydalanish maqbul emas deb qaralgan. Lekin hosil bo‘lgan artesunat karboksil guruhining DMAP ta’sirida deprotonlanishi natijasida keyingi eterifikatsiyaning unumi pasayib ketadi. Shuni inobatga olib, biz nisbatan arzon bo‘lgan qaxrabo kislotasidan foydalanishni ma’qul deb topdik. Reaksiya quyidagi tenglama bo‘yicha sodir bo‘ladi:

2-rasm. α-Digidroartemizinin (**2a**) dan α-artesunat (**3**) ning olinishi reaksiya tenglamasi.

3 ning ^1H YaMR spektri tahlil qilinganda (3.7-rasm) H-10 protoniga xos duplet shaklidagi ikkita signal 5,8 m.u. va 5,83 m.u. larda hamda H-12 ga xos singlet signal 5,45 m.u. da hosil bo‘lishi mahsulotning aynan 10-α-artesunat ekanligini ko‘rsatadi. 0,85-0,87 m.u. da va 0,93-1,0 m.u. sohalarda ikkita duplet signallar metil guruhlarining protonlariga, 2,63-2,81 m.u. sohasidagi multiplet

signal qaxrabo kislotasi qismidagi metilen guruhlari protonlariga tegishli. ^{13}C YaMR spektridagi 177.68, 171.14 m.u. lardagi signallar qaxrabo kislota fragmentining karboksil guruh uglerodlariga 92.44, 91.67 m.u. sohalardagi ikkita signal C-10 va C-12 larga, tegishli. 80,25, 104,62 m.u. lardagi signallarning mavjudligi peroksid guruhning parchalanmaganligini ko‘rsatadi.



3-rasm. α-artesunat (**3**) ning ^{1}H YaMR spektri.

Tajriba qismi.

Digidroartemizinin (2) sintezi.

100 ml hajmli tubi yumaloq kolbada 0,25 g (0,9 mmol) artemizininni (1) 40 ml MeOHda eritildi va muz hammomida 0-5 °C gacha sovutildi. Kolbaga 0,120 g (3,15 mmol) $NaBH_4$ 30 daqiqa davomida oz-ozdan qo‘shildi va eritma 0-5 °C da 2 soat davomida aralashtiriladi. So‘ngra reaksion aralashma 30% AcOH/MeOH bilan neytrallandi va vakuumda kristall qoldiq qolguncha bug‘latildi. Oq qoldiq uch marta 30 ml dan EtOAc bilan ekstraksiya qilindi. Ekstraktlar birlashtirilib, filtrlandi va vakuumda kristall qoldiq qolguncha bug‘latildi. EtOAc/geksanda qayta kristallangandan so‘ng 0,18 g (73%) oq ignasimon kristallar (2) olindi. T_c=153-155 ºC. (adabiyot [23] 153-154 °C). Olingan kristallar α- va β-digidroartemizininlar aralashmasi bo‘lib, kolonkali xromatografiya metodida EtOAc/geksan (1:40) elyuenti yordamida ajratilganda α-digidroartemizininning aralashmadagi miqdori 90 % ni tashkil etishi aniqlandi.

α-Artesunat (3) sintezi.

Sintez [19] da keltirilgan metodika bo‘yicha olib borildi. Argon atmosferasi ostida 0 ºC da 0,5 g (1,8 mmol) α-digidroartemizinin (2a) ning 20 ml suvsiz dixlormetandagi eritmasiga 0,22 g (1,8 mmol) 4-Dimetilaminopiridin (DMAP), 0,6 g (3.6 mmol) 1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimid (EDCI) va 0,4 g (3,6 mmol) qaxrabo kislotasi qo‘shildi. Reaksiya aralashmasi 4 soat davomida 0-5 ºC haroratda aralashtirildi. Aralashtirish tugagandan keyin 20 ml dixlormetan qo‘shilib, suv va NaCl eritmasi bilan yuvildi va Na_2SO_4 ustida quritildi. Erituvchi vakuumda bug‘latildi. Olingan kristall modda kolonkali xromatografiyada EtOAc/geksan (1:10)

elyuenti bilan tozalanib, 0,53 g (76 %) α-artesunat (3) olindi. T_c=97-99 ºC ([19] ga ko‘ra 97,6-98,2 ºC)

^{1}H YaMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ = 0,85-0,87 (d, 3H), 0,93-1,1 (m, 4H), 1,23-1,53 (m, 4H), 1,58-1,68 (m, 1H), 1,23-1,53 (m, 4H), 1,69-1,82 (dt, 2H), 1,85-1,94 (m, 1H), 1,97-2,1 (m, 1H), 2,29-2,47 (dt, 1H), 2,51-2,62 (m, 1H), 2,63-2,81 (m, 4H), 5.45 (s, 1H, H-12), 5,77-5,86 (d, 1H, H-10).

^{13}C YaMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 177.68, 171.14, 104.62, 92.44, 91.67, 80.25, 51.73, 45.41, 37.42, 36.38, 34.25, 31.96, 29.12, 28.81, 26.07, 24.73, 22.14, 20.33, 12.10.

Xulosa.

Artemisia annua L. o‘simligidan ajratib olingan artemizinindan digidroartemizinin va artesunat sintez qilindi. Sintezning bir necha usullari tahlil qilinib, yumshoq suv tortib oluvchi sifatida disiklokarbodiimid (DCC), kislota deprotonlovchisi sifatida esa N,N-dimetilaminopiridin (DMAP) dan foydalanib qahrabo kislotasi va digidroartemizinin sintezi unumi yuqori bo’lishi aniqlandi. Olingan moddalarning kimyoviy tuzilishi ^{1}H va ^{13}C YaMR spektroskopiyasi bilan tasdiqlandi.

Введение. Открытие стабильного природного пероксида артемизинина дало мощный толчок развитию фармацевтической химии пероксидов. Артемизинин и его полусинтетические аналоги в настоящее время являются эффективными препаратами для лечения малярии. В 2015 году китайский ученый Юй Ту был удостоен Нобелевской премии по физиологии и медицине за открытие «Новой противомалярийной терапии» [1].

Артемизинин и его синтетические производные (артеметер и артесунат натрия) были исследованы в клинических условиях китайскими учеными в начале 1970-х годов [2]. Лечение артемизинином и его производными продолжалось без каких-либо явных побочных эффектов. Более 3000 пациентов, инфицированных P. vivax и P. falciparum, прошли клиническое лечение артемизинином и его производными [3, 4, 5]. Было также показано, что эти вещества эффективны при церебральной малярии. В процессе лечения температура тела больных нормализовалась через 72 часа, а полное заживление произошло через 120 часов.

На основе артемизинина М. З. Абдином и др. синтезирован дигидроартемизинин, он показал более высокую противомалярийную активность, чем артемизинин, но его структура более нестабильна. Синтезированы и другие производные артемизинина. Среди них обнаружены вещества, проявляющие более высокую эффективность, чем артемизинин [6, 7, 8, 9].

Во многих исследованиях показано, что артемизинин и его производные эффективны против различных изогенных опухолей у животных [10] и человека [11, 12]. Также артесунат ингибирует воспаление и окислительный стресс, вызванные канцерогенами in vivo [13]. Эффективность артемизинина, его производных и полыни однолетней была высоко оценена в нескольких клинических испытаниях (фазы I и II) при лечении рака у животных и человека [14, 15]. Недавнее плацебо-контролируемое рандомизированное исследование фазы II у пациентов с колоректальной карциномой продемонстрировало улучшение выживаемости у пациентов, получавших таблетки артесуната в дополнение к стандартной хирургической терапии [15, 16, 17].

Обсуждение результатов. Поскольку артемизинин плохо растворим в воде, он не имеет гидроксильных или карбоксильных групп, поэтому получить его водорастворимую форму сложно. Поэтому ученые получили дигидроартемизинина восстановлением артемизинина (2) и синтезировали артесунат (3) на основе его этерификации янтарной кислотой. В данной работе одни и те же вещества были синтезированы определенными методами [18, 19, 20, 21].

При синтезе дигидроартемизинина желательно использовать мягкий восстановитель $NaBH_4$. Потому что перекисная связь разрывается под действием сильных восстановителей. При проведении реакции в метаноле при 0-5°C выход составляет 73% при эквивалентном количестве $NaBH_4$, превышающем эквивалентное количество дигидроартемизинина в 3,5 раза,

и времени реакции не более 2 часов. Увеличение времени приводило к уменьшению количества дигидроартемизинина. Это можно объяснить разрушением перекисного мостика дигидроартемизинина под действием избытка $NaBH_4$.

Таблица 1.

Влияние количества NaBH4 и времени на выход реакции при восстановлении артемизинина

№	Количество $NaBH_4$ по отношению к артемизинину, экв	Время, ч	Выход, %
1	1:2	1	38
2	1:2	2	42
3	1:2	2,5	51
4	1:3	2,5	58
5	1:3	3	62
6	1:3	3,5	65
7	1:3,5	1,5	62
8	1:3,5	2	73
9	1:3,5	2,5	60
10	1:4	1,5	60
11	1:4	2,5	62
12	1:4	3	53

Образовавшийся белый кристаллический дигидроартемизинин представляет собой рацемат α-(2a) и β-дигидроартемизинина (2b), разделение колоночной хроматографией показало, что доля α-дигидроартемизинина (2a) в смеси составляет 90%. В последующих экспериментах в качестве сырья использовали α-дигидроартемизинин (2a). Реакция протекает по следующему уравнению:

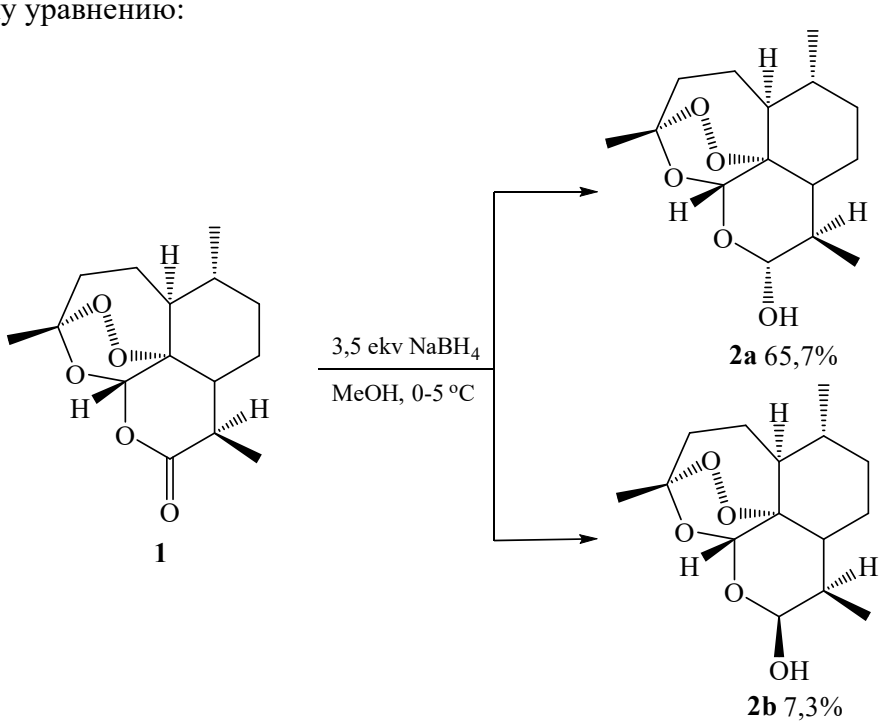


Рисунок 1. Схема реакции восстановления артемизинина $NaBH_4$

Учитывая, что получение α-артесунат (3) из α-дигидроартемизинина (2a) происходит путем этерификации, использование мягкую расщепляющую воды считалось допустимым. Этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид (EDCI) и N,N'-дициклокарбодиимид (DCC)

были выбраны из таких расщепляющей воды. В качестве нуклеофильного катализатора использовали 4-диметиламинопиридин (DMAP). В литературе использовали ангидрид янтарной кислоты [22]. Использование янтарной кислоты считалось недопустимым в связи с тем, что она может привести к образованию диэфира. Но в результате депротонирования образовавшейся карбоксильной группы артесуната под действием DMAP снижается выход дальнейшей этерификации. Учитывая это, мы сочли предпочтительным использовать относительно дешевую янтарную кислоту. Реакция протекает по следующему уравнению:

Рисунок 2. Уравнение реакции получения α-артесуната (3) из α-дигидроартемизинина (2a).

При анализе спектра ^{1}H ЯМР соединения 3 (рис. 3.7) образование двух дублетных сигналов, характерных для протона H-10, при 5,8 м.д. и 5,83 м.д. и синглетного сигнала, характерного для H-12, при 5,45 м.д. свидетельствует о том, что продукт 10 α-артесунат. Два дублетных сигнала при 0,85-0,87 м.д. и 0,93-1,0 м.д. принадлежат протонам метильных групп, а мультиплетный сигнал при 2,63-2,81 м.д. принадлежит протонам метиленовых групп в янтарно-кислотной части. Сигналы при 177,68, 171,14 м.д. в спектре ^{13}C ЯМР принадлежат атомам углерода карбоксильной группы янтарного кислотного фрагмента, а два сигнала при 92,44, 91,67 м.д. принадлежат C-10 и C-12. Наличие сигналов при 80,25, 104,62 м.д. показывает, что пероксидная группа не разлагался.

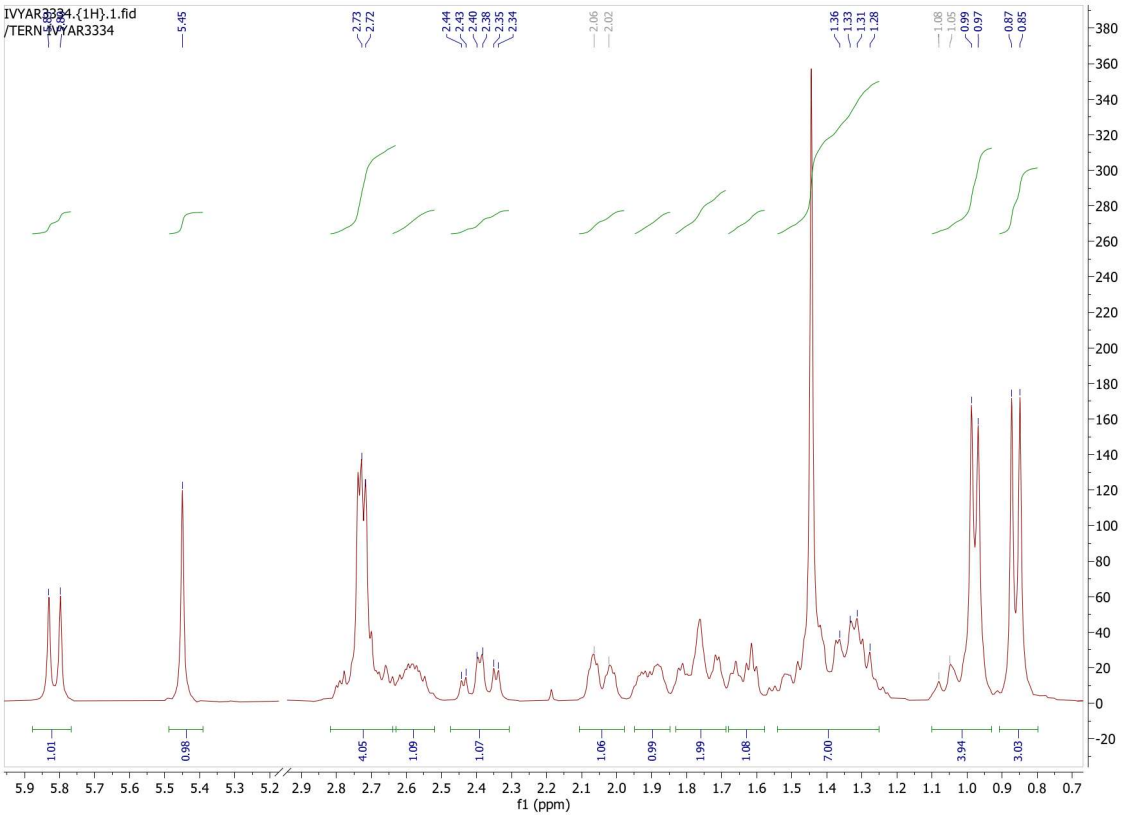


Рисунок 3. Спектр ^{1}H ЯМР α-артесуната (3).

Экспериментальная часть.

Синтез дигидроартемизинина (2).

В круглодонной колбе на 100 мл 0,25 г (0,9 ммоль) артемизинина (1) растворяли в 40 мл MeOH и охлаждали до 0–5 °C на бане со льдом. В колбу по каплям в течение 30 мин добавляли 0,120 г (3,15 ммоль) $NaBH_4$ и раствор перемешивали при 0-5°C в течение 2 ч. Затем реакционную смесь нейтрализовали смесью 30% AcOH/MeOH и упаривали в вакууме до кристаллического остатка. Белый остаток трижды экстрагировали 30 мл EtOAc. Экстракты объединяли, фильтровали и упаривали в вакууме до кристаллического остатка. После перекристаллизации из смеси EtOAc/гексан получали 0,18 г (73%) белых игольчатых кристаллов (2). Тс=153-155°C. (литература [23] 153-154 °C). Полученные кристаллы представляют собой смесь α- и β-дигидроартемизининов, и при разделении с помощью колоночной хроматографии с использованием элюента EtOAc/гексан (1:40) было установлено, что количество α-дигидроартемизинина в смеси составляет 90%.

Синтез α-Артесуната (3).

Синтез проводили по методике, представленной в [19]. Добавляли 0,22 г (1,8 ммоль) 4-диметиламинопиридина (DMAP), 0,6 г (3,6 ммоль) 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида (EDCI) и 0,4 г (3,6 ммоль) янтарной кислоты. Реакционную смесь перемешивали при 0-5°C в течение 4 часов. После перемешивания добавляли 20 мл дихлорметана, промывали водой и раствором NaCl и сушили над Na_2SO_4. Растворитель выпаривали в вакууме. Полученное кристаллическое вещество очищали колоночной хроматографией с элюентом EtOAc/гексан (1:10), получая 0,53 г (76%) α-артесуната (3). Тс=97-99 °C (по [19] 97,6-98,2 °C)

^{1}H ЯМР (300 MHz, $CDCl_3$) δ = 0,85-0,87 (d, 3H), 0,93-1,1 (m, 4H), 1,23-1,53 (m, 4H), 1,58-1,68 (m, 1H), 1,23-1,53 (m, 4H), 1,69-1,82 (dt, 2H), 1,85-1,94 (m, 1H), 1,97-2,1 (m, 1H), 2,29-2,47 (dt, 1H), 2,51-2,62 (m, 1H), 2,63-2,81 (m, 4H), 5.45 (s, 1H, H-12), 5,77-5,86 (d, 1H, H-10).

^{13}C ЯМР (75 MHz, $CDCl_3$) δ 177.68, 171.14, 104.62, 92.44, 91.67, 80.25, 51.73, 45.41, 37.42, 36.38, 34.25, 31.96, 29.12, 28.81, 26.07, 24.73, 22.14, 20.33, 12.10.

Заключение.

Дигидроартемизинин и артесунат синтезировали из артемизинина, выделенного из растения Artemisia annua L. Было проанализировано несколько методов синтеза, и было обнаружено, что синтез янтарной кислоты и дигидроартемизинина с использованием дициклокарбодиимида (DCC) в качестве мягкой расщепителя воды и N,N-диметиламинопиридина (DMAP) в качестве депротонирующий агент кислоты является более эффективным. Химическая структура полученных веществ подтверждена данными спектроскопии ^{1}H и ^{13}C ЯМР.

Introduction. The discovery of a stable natural artemisinin peroxide gave a powerful impetus to the development of the pharmaceutical chemistry of peroxides. Artemisinin and its semi-synthetic analogues are currently effective drugs for the treatment of malaria. In 2015, Chinese scientist Yu Tu was awarded the Nobel Prize in Physiology or Medicine for his discovery of the "New Antimalarial Therapy" [1].

Artemisinin and its synthetic derivatives (artemether and sodium artesunate) were clinically investigated by Chinese scientists in the early 1970s [2]. Treatment with artemisinin and its derivatives continued without any apparent side effects. More than 3000 patients infected with P. vivax and P. falciparum have been clinically treated with artemisinin and its derivatives [3, 4, 5]. These substances have also been shown to be effective in cerebral malaria. In the process of treatment, the body temperature of the patients returned to normal after 72 hours, and complete healing occurred after 120 hours.

On the basis of artemisinin, M.Z. Abdin et al. synthesized dihydroartemisinin; it showed a higher antimalarial activity than artemisinin, but its structure is more unstable. Other derivatives of artemisinin have also been synthesized. Among them, substances were found that are more effective than artemisinin [6, 7, 8, 9].

Many studies have shown that artemisinin and its derivatives are effective against various isogenic tumors in animals [10] and humans [11, 12]. Artesunate also inhibits inflammation and oxidative stress caused by carcinogens in vivo [13]. The efficacy of artemisinin, its derivatives, and Artemisia annua has been highly evaluated in several clinical trials (Phase I and II) in the treatment of cancer in animals and humans [14, 15]. A recent placebo-controlled randomized phase II trial in patients with colorectal carcinoma demonstrated an improvement in survival in patients treated with artesunate tablets in addition to standard surgical therapy [15, 16, 17].

The discussion of the results. Since artemisinin is poorly soluble in water, it does not have hydroxyl or carboxyl groups, so it is difficult to obtain its water-soluble form. Therefore, scientists obtained dihydroartemisinin by reduction of artemisinin (2) and synthesized artesunate (3) based on its esterification with succinic acid. In this work, the same substances were synthesized by certain methods [18, 19, 20, 21].

In the synthesis of dihydroartemisinin, it is desirable to use the mild reducing agent $NaBH_4$. Because the peroxide bond is broken under the action of strong reducing agents. When carrying out the reaction in methanol at 0-5°C, the yield is 73% with an equivalent amount of $NaBH_4$ exceeding the equivalent amount of dihydroartemisinin by 3.5 times, and the reaction time is not more than 2 hours. An increase in time led to a decrease in the amount of dihydroartemisinin. This can be explained by the destruction of the peroxide bridge of dihydroartemisinin under the action of an excess of $NaBH_4$.

Table 1.

Influence of the amount of $NaBH_4$ and time on the yield of the reaction during the reduction of artemisinin.

№	The amount of $NaBH_4$ in relation to artemisinin, equiv	Time, h	Yield, %
1	1:2	1	38
2	1:2	2	42
3	1:2	2,5	51
4	1:3	2,5	58
5	1:3	3	62
6	1:3	3,5	65
7	1:3,5	1,5	62
8	1:3,5	2	73
9	1:3,5	2,5	60
10	1:4	1,5	60
11	1:4	2,5	62
12	1:4	3	53

The resulting white crystalline dihydroartemisinin is a racemate of α-(2a) and β-dihydroartemisinin (2b), separation by column chromatography showed that the proportion of α-dihydroartemisinin (2a) in the mixture was 90%. In subsequent experiments, α-dihydroartemisinin (2a) was used as raw material. The reaction proceeds according to the following equation:

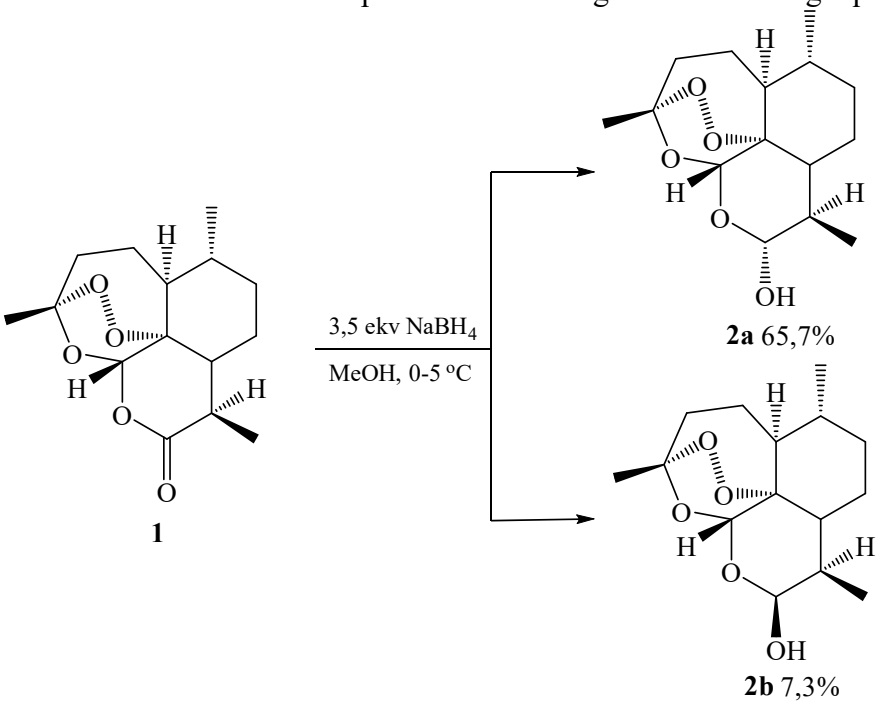
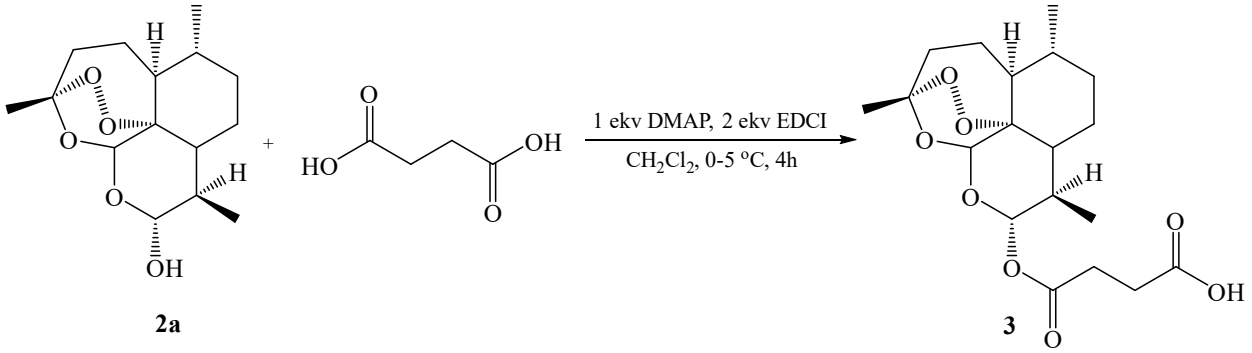


Figure 1. Scheme of the reduction of artemisinin with NaBH4

Considering that the preparation of α-artesunate (3) from α-dihydroartemisinin (2a) occurs by esterification, the use of soft splitting water was considered acceptable. Ethyl 3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (EDCI) and N,N'-dicyclocarbodiimide (DCC) were selected from these water splitters. 4-dimethylaminopyridine (DMAP) was used as a nucleophilic catalyst. Succinic anhydride was used in the literature [22]. The use of succinic acid was considered unacceptable due to the fact that it can lead to the formation of a diester. However, as a result of deprotonation of the resulting carboxyl group of artesunate under the action of DMAP, the yield of further esterification decreases. With this in mind, we found it preferable to use relatively cheap succinic acid. The reaction proceeds according to the following equation:



2a **3**

Figure 2. Reaction equation for obtaining α-artesunate (3) from α-dihydroartemisinin (2a).

When analyzing the ^{1}H NMR spectrum of compound 3 (Fig. 3.7), the formation of two doublet signals characteristic of the H-10 proton at 5.8 ppm and 5.83 ppm and a singlet signal characteristic of H-12 at 5 .45 ppm indicates that the product is α-artesunate. Two doublet signals at 0.85-0.87 ppm and 0.93-1.0 ppm belong to the protons of methyl groups, and the multiplet signal at 2.63-2.81 ppm belongs to the protons of methylene groups in amber-acid part. The signals at 177.68, 171.14 ppm in the ^{13}C NMR spectrum belong to the carbon atoms of the carboxyl group of the succinic acid fragment, and two signals at 92.44, 91.67 ppm belong to C-10 and C-12. The presence of signals at 80.25, 104.62 ppm indicates that the peroxide group did not decompose.

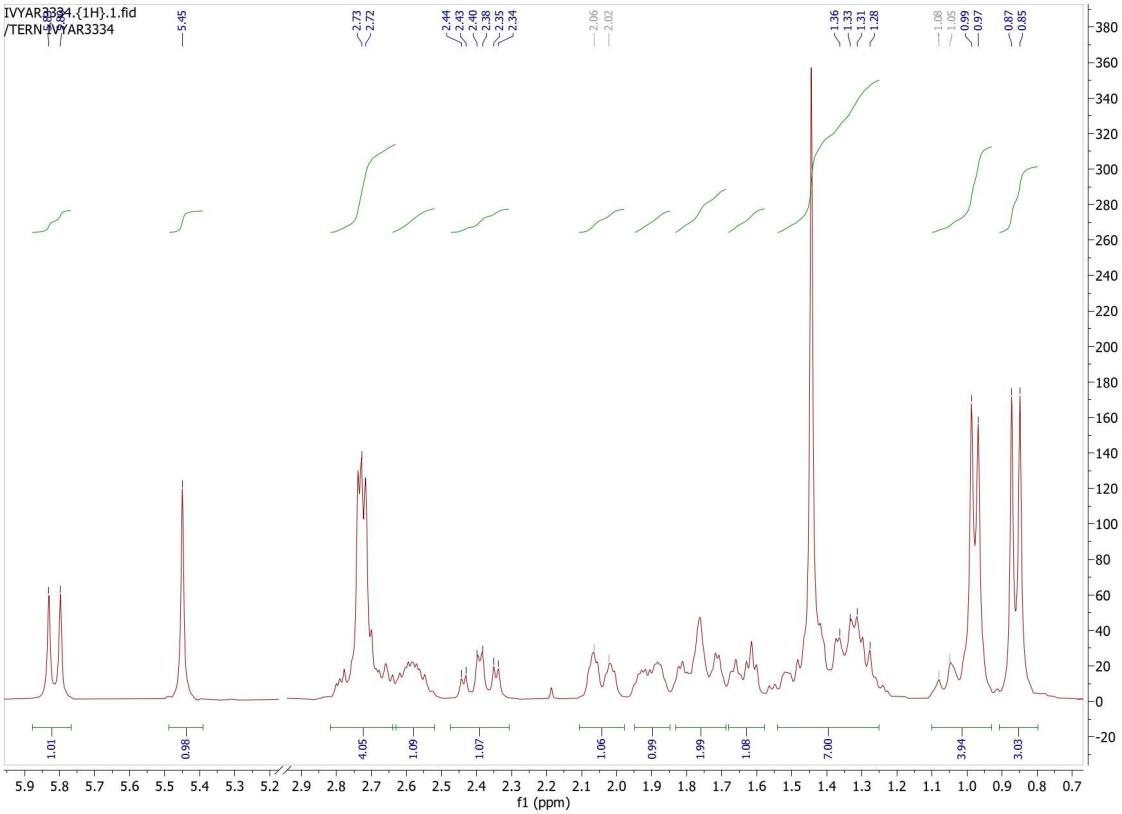


Figure 3. ^{1}H NMR spectrum of α-artesunate (3).

Experimental part.

Synthesis of dihydroartemisinin (2).

In a 100 ml round bottom flask, 0.25 g (0.9 mmol) of artemisinin (1) was dissolved in 40 ml of MeOH and cooled to 0–5°C in an ice bath. 0.120 g (3.15 mmol) of $NaBH_4$ was added dropwise to the flask over 30 min and the solution was stirred at 0-5°C for 2 h. The reaction mixture was then

neutralized with 30% AcOH/MeOH and evaporated in vacuo to a crystalline residue. The white residue was extracted three times with 30 ml EtOAc. The extracts were combined, filtered and evaporated in vacuo to a crystalline residue. Recrystallization from EtOAc/hexane gave 0.18 g (73%) of white needles (2). Tc=153-155°C. (literature [23] 153-154 °C). The resulting crystals are a mixture of α- and β-dihydroartemisinins, and by separation by column chromatography using EtOAc/hexane (1:40) as an eluent, the amount of α-dihydroartemisinin in the mixture was found to be 90%.

Synthesis of α-Artesunate (3).

Synthesis was carried out according to the procedure presented in [19]. 0.22 g (1.8 mmol) 4-dimethylaminopyridine (DMAP), 0.6 g (3.6 mmol) 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (EDCI) and 0.4 g (3 .6 mmol) of succinic acid. The reaction mixture was stirred at 0-5°C for 4 hours. After stirring, 20 ml dichloromethane was added, washed with water and NaCl solution and dried over Na2SO4. The solvent was evaporated in vacuo. The resulting crystalline material was purified by column chromatography using EtOAc/hexane (1:10) as eluent to give 0.53 g (76%) of α-artesunate (3). Tc=97-99 ºC (according to [19] 97.6-98.2 ºC)

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ = 0,85-0,87 (d, 3H), 0,93-1,1 (m, 4H), 1,23-1,53 (m, 4H), 1,58-1,68 (m, 1H), 1,23-1,53 (m, 4H), 1,69-1,82 (dt, 2H), 1,85-1,94 (m, 1H), 1,97-2,1 (m, 1H), 2,29-2,47 (dt, 1H), 2,51-2,62 (m, 1H), 2,63-2,81 (m, 4H), 5.45 (s, 1H, H-12), 5,77-5,86 (d, 1H, H-10).

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 177.68, 171.14, 104.62, 92.44, 91.67, 80.25, 51.73, 45.41, 37.42, 36.38, 34.25, 31.96, 29.12, 28.81, 26.07, 24.73, 22.14, 20.33, 12.10.

Conclusion.

Dihydroartemisinin and artesunate were synthesized from artemisinin isolated from the plant Artemisia annua L. Several synthetic methods were analyzed and it was found that the synthesis of succinic acid and dihydroartemisinin using dicyclocarbodiimide (DCC) as a mild water splitter and N,N-dimethylaminopyridine (DMAP) as an acid deprotonating agent is more effective. The chemical structure of the obtained substances was confirmed by 1H and 13C NMR spectroscopy data.

References

1. Nobelprize.org. Youyou Tu - Facts // Nobel Media AB 2014. – 2014.
2. Acton N., Klayman D.L. Artemisitene, a new sesquiterpene lactone endoperoxide from Artemisia annua. Planta Med. 1985. Vol. 5. P. 441–442.
3. Askarov I. R., Abdulloev O.Sh. An improved method for the isolation of Artemisinin from annual wormwood (Artemisia annua L.) growing in Uzbekistan FarDU ilmiy xabarlari. № 1, 2022, P. 86-89.
4. Асқаров И.Р., Абдуллоев О.Ш. Шифобахш бир йиллик шувоқ ўсимлигидан (Artemisia annua L.) COVID-19 хасталигини даволашда фойдаланиш. Xalq tabobati plus. - 2022, № 1 (10). – B. 2-3.
5. Asqarov I.R., Abdulloyev O.Sh., Fozilova G.E. Bir yillik shuvoqning kimyoviy tarkibi va shifobaxsh xususiyatlari //, Материалы международной научно-практической онлайн-конференции с участием международных партнерских вузов от 6-7 мая 2021 года Народная медицина: прошлое и будущее. Фергана 2021. - С. 17-18.
6. Abdin M. Z., Israr M., Rehman R. U., Jain S. K. Artemisinin, a novel antimalarial drug: biochemical and molecular approaches for enhanced production. // Planta medica. 2003. Vol. 69. Is. 04. P. 289–299..
7. Абдуллоев О.Ш., Аскаров И.Р. Табиий ва синтетик органик пероксидларни ҳамда уларнинг ҳосилаларини кимёвий таркиби асосида синфлаш. // Материалы международной научно-практической онлайн- конференции с участием международных партнерских вузов от 6-7 мая 2021 года Народная медицина: прошлое и будущее. Фергана 2021. - С. 27-28.

8. Abdulloyev O.Sh., Fozilova G.E., Asqarov I.R. Artemizinin va uning biologik faol hosilalari. // “Kimyo, neft-gazni qayta ishlash hamda oziq-ovqat sanoatlari innovatsion texnologiyalarining dolzarb muammolari” Xalqaro ilmiy-texnikaviy konferensiya tezislar to‘plami, Toshkent. 25-26 may 2021 yil. – B. 4.
9. Аскаров И.Р., Абдуллоев О.Ш., Абдуллев Ш.Х. Артемизинин выделенный из полынь однолетней (Artemisia annua L.) и ее биологическая активность // “Доривор ўсимликлар етиштириш ва қўллашнинг муаммолари ва истиқболлари” мавзусидаги Республика илмий-амалий анжумани материаллари] : тўплам - Хива: Хоразм Маъмун академияси, 2019, 67-70 б.
10. Michaelsena Fr.W., Saeed M.E.M., Schwarzkopf J., Efferth Th. Activity of Artemisia annua and artemisinin derivatives, in prostate carcinoma // Phytomedicine. 2015. Vol. 22. P. 1223–1231.
11. Du J.H., Zhang H.D., Ma Z.J., Ji K.M. Artesunate induces oncosis-like cell death in vitro and has antitumor activity against pancreatic cancer xenografts in vivo. Cancer Chemother. Pharmacol. 2010. Vol. 65. P. 895–902.
12. Ma H., Yao q., Zhang A.M., Lin S., Wang x.x., Wu L., Sun J.G., Chen Z.T. The effects of artesunate on the expression of EGFR and ABCG2 in A549 human lung cancer cells and axenograft model. Molecules. 2011. Vol. 16. P. 10556–10569.
13. Ng D.S., Liao W., Tan W.S., Chan T.K., Loh x.Y., Wong, W.S. Anti-malarial drug artesunate protects against cigarette smoke-induced lungi njury in mice // Phy-tomedicine. 2014. Vol. 21. P. 1638–1644.
14. Breuer E., Efferth T. Treatment of Iron-Loaded Veterinary Sarcoma by Artemisia annua // Nat. Prod. Bioprospect. 2014. Vol. 4. P.113–118.
15. Krishna S., Ganapathi S., Ster I.C., Saeed M.E., Cowan M., Finlayson C., Kovacsevics H., Jansen H., Kremsner P.G., Efferth T., Kumar D. A randomised, double blind, placebo-controlled pilot study of oral artesunate therapy for colorectal cancer // EBioMed. 2015. Vol. 2. P. 82–90.
16. Abdulloyev O.Sh., Asqarov I.R., Fozilova G.E. Bir yillik shuvoq – Artemisia annua l. dan ajratib olingan Artemizinin va uning biologik faolligi // “Кимё-технология фанларининг долзарб муаммолари” мавзусидаги халқаро олимлар иштирокидаги Республика илмий-амалий анжумани материаллари. – Тошкент. 2021 йил 10-11 март. – Б. 382.
17. Abdulloyev O.Sh., Asqarov I.R., Fozilova G.E. Bir yillik shuvoq – Artemisia annua l. ning kimyoviy tarkibi va shifobaxsh xususiyatlari // “Товарлар кимёси ва халқ табобати муаммолари ва истиқболлари” мавзусидаги VIII Республика илмий-амалий анжуман материаллари. Андижон 2021 йил 15-16 сентябрь. - Б. 173-175.
18. Galal, A. M., Gul, W., Slade, D., Ross, S. A., Feng, S., Hollingshead, M. G., ElSohly, M. A. (2009). Synthesis and evaluation of dihydroartemisinin and dihydroartemisitene acetal dimers showing anticancer and antiprotozoal activity. , *Bioorganic & Medicinal Chemistry, 17(2), 741–751. doi:10.1016/j.bmc.2008.11.050* .
19. Haynes, R. K., Chan, H.-W., Cheung, M.-K., Lam, W.-L., Soo, M.-K., Tsang, H.-W., Williams, I. D. (2002). C-10 Ester and Ether Derivatives of Dihydroartemisinin − 10-α Artesunate, Preparation of Authentic 10-β Artesunate, and of Other Ester and , *Ether Derivatives Bearing Potential Aromatic Intercalating Groups at C-10. European Journal of Organic Chemistry, 2002(1), 113–132. doi:10.1002/1099-0690(20021)2002:1<113::aid-ejoc113>3.0.co;2-n.*
20. Abdulloyev O.Sh., Fozilova G.E., Asqarov I.R. Artemizinin va uning biologik faol hosilalari. “Kimyo, neft-gazni qayta ishlash hamda oziq-ovqat sanoatlari innovatsion texnologiyalarining dolzarb muammolari”, *Xalqaro ilmiy-texnikaviy konferensiya tezislar to‘plami, Toshkent. 25-26 may 2021 yil. – B. 4.*

21. Абдуллоев О.Ш. Artemisia annua L. ўсимлиги ва ферроцен асосида халқ табобатида қўлланиладиган биологик фаол бирикмалар олиш ва уларни синфлаш. Дисс... к.ф.д. (DSc) Андижон. - 184 б. http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.2.18135.75682.
22. Wang, L.-L., Kong, L., Liu, H., Zhang, Y., Zhang, L., Liu, X., … Zuo, Z. (2019). Design and synthesis of novel artemisinin derivatives with potent activities against colorectal cancer in vitro and in vivo. European Journal of Medicinal Chemistry, , *111665. doi:10.1016/j.ejmech.2019.111665.*
23. Lin, A. J., Klayman, D. L., & Milhous, W. K. (1987). Antimalarial activity of new water-soluble dihydroartemisinin derivatives. Journal of Medicinal Chemistry, 30(11), 2147–2150. doi:10.1021/jm00394a037.

Author Biographies

Obidjon Sh. Abdulloev*, Andijan State University*

Acting Associate Professor of the Department of Chemistry, Philosophy Doctor in Chemical Sciences (PhD), member of the Tabobat Academy of Uzbekistan

Sharifa A. Matamirova*, Andijan State University*

Independent researcher of the Department of Chemistry