

Kết luận

Kết quả thu được trong nghiên cứu này cho thấy clopidogrel bisulfat tổng hợp được có liều gây chết 50% chuột nhất trải qua đường uống là $LD_{50} = 4,64$ g/kg. Khi cho thỏ uống clopidogrel bisulfat tổng hợp được với liều 6 mg và 60 mg/kg thể trọng/ngày, trong 30 ngày, không thấy có ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến thể trọng thỏ, chức năng tạo máu, chức năng gan, chức năng thận trên các chỉ số sinh hóa, huyết học cũng như mô bệnh học gan, thận trong suốt quá trình uống cũng như sau khi ngừng uống 15 ngày. Các kết quả này cho thấy có thể sử dụng clopidogrel bisulfat tổng hợp được để nghiên cứu trên người bệnh.

Lời cảm ơn: Công trình nghiên cứu được hoàn thành với sự tài trợ của Chương trình Hóa Dược. Mã số đề tài: CNHD.ĐT.024/11-13.

Tài liệu tham khảo

1. Đỗ Trung Đàm (1996), *Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc*, Nxb. Y học, Hà Nội.
2. Viện Dược liệu - Bộ Y tế (2006), *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo*, Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, 140- 149.
3. Behrens B. and Kaber G (1983), *Mathematics for Naturalists and Agriculturalists*, PWN, Warszawa, p.218
4. Murray C. J. L., Lopez L. D (1997), "Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study", *Lancet*, 349, 1498-1504
5. Truelsens T., Heuschmann P. U., Bonita R., Arjundas G., Dalal P., Damasceno A., Nagaraja D., Ogunniyi A., Oveisgharan S., Radhakrishnan K., Skvortsova V. I., Stakhovskaya V. (2007), "Standard method for developing stroke registers in low-income and middle-income countries: experiences from a feasibility study of a stepwise approach to stroke surveillance (STEPS Stroke)", *Lancet Neurol*, 6, 134-139.

(Ngày nhận bài: 24/12/2014 - Ngày duyệt đăng: 03/02/2015)

Nghiên cứu tổng hợp thuốc ức chế bơm proton omeprazol

Trần Hữu Giáp¹, Văn Thị Mỹ Huệ², Cao Thị Huệ¹, Nguyễn Thị Minh Hằng¹
Nguyễn Văn Hùng¹, Châu Văn Minh¹, Lê Nguyễn Thành¹

¹Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Trường Đại học Dược Hà Nội

* E-mail: lethanh@imbc.vast.vn

Summary

Omeprazole (known as the first inhibitor of H⁺/K⁺-ATPase or 'proton pump', responsible for the final step in the process of acid secretion in parietal cells, used for treatment of peptic ulcer, gastroesophageal reflux disease, Zollinger-Ellison syndrome) was synthesized starting from 2-mercapto-5-methoxybenzimidazole and 2-(chloromethyl)-4-methoxy-3,5-dimethylpyridine hydrochloride. Omeprazole was obtained by a 2-step synthetic pathway in good overall yield.

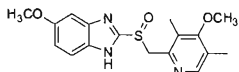
Keywords: Omeprazole, proton pump inhibitors, peptic ulcer.

Đặt vấn đề

Loét dạ dày tá tràng là căn bệnh phổ biến trong các bệnh tiêu hóa, ảnh hưởng đến hàng triệu người trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Các thuốc ức chế bơm proton là một trong các thuốc hiệu quả nhất trong điều trị loét dạ dày tá tràng, gây liền sẹo đến 95% trong vòng 8 tuần. Các

thuốc này ức chế bài tiết acid dịch vị do ức chế hệ thống enzym H⁺/K⁺-ATPase ("bơm proton") của tế bào thành dạ dày. Các thuốc ức chế bơm proton được sử dụng phổ biến với kháng sinh để diệt trừ vi khuẩn *Helicobacter pylori*, một trong các tác nhân gây bệnh⁽¹⁾.

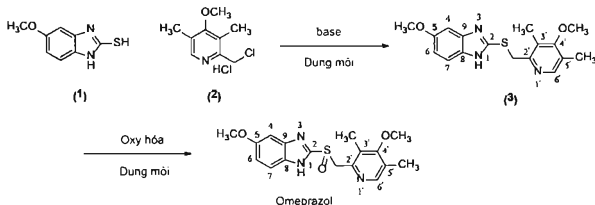
● Nghiên cứu - Kỹ thuật



Omeprazol

Hình 1: Cấu trúc hóa học của omeprazol

Omeprazol là thuốc ức chế bơm proton đầu tiên do Công ty AstraZeneca đưa ra thị trường năm 1988 và là thuốc bán được doanh số cao trong nhiều năm trước khi hết hạn bản quyền năm 2001. Mặc dầu có nhiều thuốc ức chế bơm proton mới trên thị trường, hiện nay omeprazol vẫn được sử dụng rộng rãi để điều trị loét dạ dày, tá tràng, trào ngược dạ dày-thực quản, hội chứng Zollinger-Ellison^[2]. Ở Việt Nam chưa thấy có nghiên cứu nào về tổng hợp omeprazol và các thuốc ức chế bơm proton. Trong khuôn khổ bài báo này, chúng tôi thông báo kết quả nghiên cứu tổng hợp omeprazol trong phòng thí nghiệm



Kết quả nghiên cứu

Tổng hợp hợp chất trung gian sulfid (3)

Cho hợp chất 2-(cloromethyl)-4-metoxi-3,5-dimetylpyridin hydroclorid (1 g, 4,5 mmol) và 5-metoxi-2-mercaptobenzimidazol (810 mg, 4,5 mmol) hòa tan trong 20 ml dung môi, cho thêm base (10 mmol) vào hỗn hợp. Phản ứng được đun ở 60-65°C, theo dõi phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng (TLC), phản ứng kết thúc sau khoảng 3 giờ. Loại bỏ dung môi, sau đó cho thêm nước cất, hỗn hợp phản ứng được đưa xuống 0-5°C để tạo kết tủa. Lọc, rửa tủa với nước, sấy khô ở chân không để thu được sản phẩm dạng rắn màu trắng có điểm nóng chảy 106-108°C. Hiệu suất phản ứng đạt 77-97%.

từ các hợp chất ban đầu là 2-mercapto-5-metoxibenzimidazol và 2-(clorometyl)-4-metoxi-3,5-dimetylpyridin hydroclorid. Omeprazol được điều chế trong phòng thí nghiệm qua 2 giai đoạn với hiệu suất khá cao.

Nguyên vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Nguyên liệu và thiết bị

Hóa chất và dung môi được mua từ Công ty hóa chất Merck hay Aldrich, sử dụng không qua tinh chế. Sắc kí lớp mỏng thực hiện trên bản mỏng silica gel 60F₂₅₄ (Merck) và quan sát dưới đèn UV, bước sóng 254 nm. Phổ khối lượng được ghi trên máy LC/MS Agilent 1200 Phổ cộng hưởng từ hạt nhân được ghi trên máy Bruker Avance 500 MHz với TMS làm chất chuẩn nội.

Phương pháp nghiên cứu

Tổng hợp hóa học được tiến hành theo sơ đồ sau:

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 2,27 (s, 3H, CH₃); 2,31 (s, 3H, CH₃); 3,78 (s, 3H, OCH₃); 3,84 (s, 3H, OCH₃); 4,34 (s, 2H, CH₂S); 6,81 (dd, J = 2,5 Hz và J = 8,5 Hz, 1H, H-6); 7,03 (brs, 1H, H-4); 7,40 (br s, 1H, H-7); 8,26 (s, 1H, H-6'). ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 11,3 (C-CH₃); 13,4 (C-CH₃); 35,0 (C-CH₂S); 55,8 (OCH₃); 60,0 (OCH₃); 97,2 (C-7); 111,0 (C-6); 115,3 (C-4); 125,4 (C-5'); 126,3 (C-3'); 134,2 (C-8); 140,0 (C-9); 148,3 (C-2); 149,4 (C-6'); 155,9 (C-2'); 156,0 (C-5); 165,1 (C-4'). ESI-MS: m/z 330 [M+H]⁺.

Tổng hợp omeprazol

Hòa tan hợp chất 3 (0,3 g, 0,91 mmol) trong 3 ml EtOH ở 25°C trong môi trường khí N₂ và hạ nhiệt độ phản ứng xuống 5°C. Hỗn hợp oxy hóa gồm: (0,6% về mol) xúc tác và 1,09 mmol (1,2 eq)

● Nghiên cứu - Kỹ thuật

tác nhân oxy hóa trong 0,1 ml EtOH được cho từ từ vào phản ứng ở 5°C. Tiếp theo phản ứng được khuấy ở 25°C trong 5 giờ. Kết thúc phản ứng thêm dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (30 mg/5 ml nước) vào phản ứng. Hạ nhiệt độ xuống 0°C trong 1 giờ, kết tủa hình thành, lọc rửa kết tủa bằng dung dịch EtOH/nước 1:1. Làm khô sản phẩm bằng chân không thu được sản phẩm dạng rắn màu trắng có điểm nóng chảy 155-157°C. Hiệu suất phản ứng đạt 56-80%

¹H-NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 2,16 (s, 3H, CH_3); 2,19 (s, 3H, CH_3); 3,67 (s, 3H, OCH_3); 3,80 (s, 3H, OCH_3); 4,67 (d, $J = 13,5$ Hz, 1H, CH_2S); 4,75 (d, $J = 13,5$ Hz, 1H, CH_2S); 6,92 (d, $J = 9$ Hz, 1H, H-6); 7,09 (br s, 1H, H-4); 7,53 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H, H-7); 8,17 (s, 1H, H-6').
¹³C-NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 11,1 (CH_3); 12,9 (CH_3); 55,5 (OCH_3); 59,8 (CH_2S); 60,0 (OCH_3); 100,4 (C-7); 111,5 (C-6); 116,0 (C-4); 125,6 (C-5'); 126,5 (C-3'); 131,0 (C-8); 139,8 (C-9); 149,1 (C-2); 149,6 (C-6'); 157,5 (C-2'); 158,0 (C-5); 163,6 (C-4') **ESI-MS**: m/z 346 [M+H]⁺.

Bàn luận

Omeprazol được tổng hợp từ nguyên liệu đầu là 5-metoxi-2-mercaptobenzimidazol (1) và 2-(clorometyl)-4-metoxi-3,5-dimetylpyridin hydroclorid (2) qua 2 giai đoạn, tạo hợp chất sulfid, sau đó oxy hóa nhóm sulfid^[3-7]. Trước tiên chúng tôi tiến hành nghiên cứu điều kiện phản ứng tổng hợp hợp chất sulfid 3. Hai hợp chất ban đầu được khuấy trộn, đun nóng trong dung môi với sự có mặt của một base. Chúng tôi khảo sát sử dụng EtOH, MeOH làm dung môi và thay đổi một số base khác nhau, sản phẩm thu được với hiệu suất khá cao từ 77-97%.

Bảng 1: Kết quả khảo sát phản ứng sử dụng các dung môi và base khác nhau

STT	Dung môi	Base	Nhiệt độ	Hiệu suất
1	MeOH	NaOH	65°C	77%
2	MeOH	Na_2CO_3	65°C	78%
3	MeOH	K_2CO_3	65°C	86%
4	EtOH	NaOH	65°C	80%
5	EtOH	Na_2CO_3	65°C	97%
6	EtOH	K_2CO_3	65°C	93%

Kết quả cho thấy sử dụng dung môi EtOH và base Na_2CO_3 cho hiệu suất rất cao, đến 97%.

Do sử dụng dung môi không độc hại, base natri cacbonat thông dụng nên quy trình có thể áp dụng để tổng hợp với quy mô lớn hơn. Cấu trúc của sản phẩm sulfid được xác định bằng phương pháp phổ cộng hưởng từ và phổ khối. Trên phổ cộng hưởng từ hạt nhân thấy có hai pic với 3H ở vị trí 2,27 ppm và 2,31 ppm là hai nhóm methyl ở vị trí 3' và 5'. Pic nhóm metoxy ở vòng pyridin và benzimidazol xuất hiện ở 3,78 ppm và 3,84 ppm. Tín hiệu singlet ở 4,34 ppm là 2H của nhóm $\text{CH}_2\text{-S}$. Bốn proton ở trường thơm xuất hiện ở vị trí 6,81 đến 8,26 ppm. Trên phổ cộng hưởng từ carbon, 2 nhóm methyl xuất hiện ở 11,3 và 13,4 ppm. Hai nhóm metoxy xuất hiện ở vị trí 55,8 và 60 ppm. Pic nhóm metylen CH_2S ở vị trí 35,0. Các pic của vòng benzimidazol và pyridin xuất hiện ở vị trí 97,2 đến 165,1. Phổ khối có pic ion [M+H]⁺ = 330 nên pic khối lượng phân tử là 329, tương ứng với công thức phân tử $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$. Từ dữ liệu phổ và so sánh với tài liệu tham khảo cho phép khẳng định cấu trúc của sản phẩm thu được hợp chất sulfid (3)^[9].

Phản ứng oxy hóa sulfid 3 tạo omeprazol là phản ứng quan trọng trong tổng hợp thuốc này. Một số nghiên cứu trước đây sử dụng *m*-CPBA là chất oxy hóa và dung môi chứa halogen độc hại, yêu cầu phản ứng diễn ra ở nhiệt độ âm để hạn chế tạo sản phẩm phụ^[3-5]. Các nghiên cứu gần đây sử dụng các tác nhân oxy hóa rẻ tiền như H_2O_2 , *t*-butyl hydroperoxid với xúc tác kim loại, sử dụng dung môi ít độc hại như EtOH, MeOH, phản ứng ở nhiệt độ thường nên để áp dụng ở điều kiện Việt Nam^[6,7]. Chúng tôi tiến hành khảo sát một số điều kiện phản ứng và kết quả thu được ở bảng 2.

Bảng 2: Kết quả khảo sát phản ứng sử dụng các tác nhân oxy hóa và xúc tác khác nhau

STT	Dung môi	Tác nhân oxy hóa	Xúc tác	Nhiệt độ	Hiệu suất
1	EtOH	H_2O_2	V_2O_5	25°C	63%
2	EtOH	H_2O_2	Na_2WO_4	25°C	72%
3	EtOH	H_2O_2	$\text{VO}(\text{acac})_2$	25°C	70%
4	EtOH	<i>t</i> -butyl hydroperoxid	V_2O_5	25°C	60%
5	EtOH	<i>t</i> -butyl hydroperoxid	Na_2WO_4	25°C	56%
6	EtOH	<i>t</i> -butyl hydroperoxid	$\text{VO}(\text{acac})_2$	25°C	80%

(Xem tiếp trang 56)

● Nghiên cứu - Kỹ thuật

đều được xác định cấu trúc, độ tinh khiết và các đặc tính lý hóa bằng sắc ký lớp mỏng, UV, IR, ¹HNMR, ¹³CNMR, MS.

Kết quả thử nghiệm tác dụng kháng nấm và kháng khuẩn cho thấy một số chất có tác dụng mạnh trên *S. aureus*, MRSA.

Tài liệu tham khảo

1 The Merck Index, CD ROM

2 Trương Phương, Võ Thị Mỹ Hương, Nguyễn Thị Bích Thảo, Lê Thị Thanh Thảo (2012), "Tổng hợp và thử hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của một số dẫn chất 2-(2'-clorophenylimino-5-arylidene-thiazolidin-4-on", *Tạp chí Dược học*, tháng 10/2012, tr. 46-53

3. Shelar V., Ravi Telkar R., Venkaramana C. H. S. (2010), "Synthesis and antimicrobial activity of some novel thiazolidinone derivatives", *Der Pharmacia Lettre*, 2010, 2(5), p 146-154

4. Vicini P. et al. (2008), "2-Heteroarylmino-5-benzylidene-4-thiazolidinones analogues of 2-thiazolylimino-5-benzylidene-4-thiazolidinones with antimicrobial activity: Synthesis and structure-activity relationship", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16, p. 3714-3724.

5. Trương Phương, Nguyễn Thanh Tuyền, Huỳnh Thị Ngọc Lan (2004), "Tổng hợp và hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của một số dẫn chất fluorosalicylanilid", *Tạp chí Dược học*, tháng 9, tr 17-20.

(Ngày nhận bài: 11/12/2013 - Ngày duyệt đăng: 03/02/2015)

Nghiên cứu tổng hợp... (Tiếp theo trang 44)

Kết quả thực nghiệm cho thấy sử dụng xúc tác vanadium acetoacetonat (VO(acac)₂) cho hiệu suất cao hơn (70-80%) sử dụng các xúc tác vanadium oxid hay natri tungstat. Sử dụng *t*-butyl hydroperoxid với xúc tác vanadium acetoacetonat cho hiệu suất cao nhất

Cấu trúc của omeprazol được khẳng định bằng phổ cộng hưởng từ hạt nhân, phổ khối và so sánh với tài liệu tham khảo²¹. Trên phổ cộng hưởng từ, các pic của vòng benzimidazol và pyridin xuất hiện khá tương tự như hợp chất 3, ngoại trừ nhóm metylen CH₂-SO hai proton xuất hiện với 2 doublet ở vị trí 4,67 và 4,75 ppm với hằng số tương tác $J = 13.5$ Hz, còn pic carbon dịch chuyển từ 35,0 đến 58,1. Phổ khối có pic ion [M+H]⁺ = 346 nên pic khối lượng phân tử là 345, tương ứng với công thức phân tử C₁₇H₁₉N₃O₂S. Dữ liệu phổ nói trên cho phép khẳng định cấu trúc của sản phẩm thu được là omeprazol.

Kết luận

Chúng tôi đã nghiên cứu thành công tổng hợp omeprazol trong phòng thí nghiệm qua 2 bước tạo chất trung gian sulfid 3 và oxy hóa sulfid tạo omeprazol. Phản ứng tạo hợp chất sulfid có hiệu suất cao 97% và sử dụng dung môi EtOH, có khả năng sử dụng ở quy mô lớn. Phản ứng oxy hóa được tiến hành ở nhiệt độ thường với tác nhân oxy hóa *t*-butyl hydroperoxid và xúc tác VO(acac)₂ cho hiệu suất 80%. Omeprazol được tổng hợp với

hiệu suất tổng cộng qua 2 bước là 77% Khảo sát thêm điều kiện phản ứng oxy hóa, nâng cao hiệu suất để tổng hợp omeprazol ở quy mô lớn, đạt tiêu chuẩn dược dụng và các nghiên cứu quy trình tổng hợp thuốc ức chế bơm proton khác sẽ được chúng tôi báo cáo trong các bài báo tiếp theo.

Lời cảm ơn: Công trình này được hoàn thành nhờ một phần kinh phí đề tài cấp Viện Hàn lâm khoa học và công nghệ Việt Nam (Mã số VAST 04.09/14-15) và đề tài cơ sở Viện Hóa sinh biển.

Tài liệu tham khảo

1. P. Richardson, C. J. Hawkey, W. A. Stack (1998) "Proton pump inhibitors, pharmacology and rationale for use in gastrointestinal disorders", *Drugs*, 56, 307-335.

2. J. J. Li, D.S. Johnson, D. R. Sliskovic, B. D. Roth (2004), *Comtemporary drug synthesis*, Wiley Interscience, 21-27

3. A. E. Brandstrom (1991), "Method for synthesis of omeprazole", *WO 9118895*

4. M. N. Hafner, D. Jerab (2000), "Improved process of synthesis of 5-methoxy-2-[(4-methoxy-3,5-dimethyl-2-pyridyl)methyl]sulfinyl-1H-benzimidazole", *WO 2000/002876*.

5. B. Kohl, B. Muller, D. Haag, W. A. Simon, K. Zech, M. David, O. Von Richter, F. Huth (2007), "Isotopically substituted proton pump inhibitors". *WO 2007/012650 A1*.

6. C. T. Fan (2009), "Method for preparing of 2-pyridinylmethylsulfinyl benzimidazole", *US 2009/0005570 A1*.

7. I. Avrutov, M. Mendelovici, N. Finkelstein (2004), "Processes for the production of 2-(2-pyridinylmethyl) sulfinyl-1H-benzimidazole", *US 2004/0138466 A1*.

(Ngày nhận bài: 08/12/2014 - Ngày duyệt đăng: 03/02/2015)