

**Hồ Bá Ngọc Minh<sup>1</sup>; Vũ Bình Dương<sup>1</sup>; Nguyễn Thị Hạnh<sup>2</sup>  
Nguyễn Quỳnh Hoa<sup>3</sup>; Phan Đình Châu<sup>4</sup>**

## TÓM TẮT

*Mục tiêu:* khảo sát các điều kiện để tổng hợp thalidomid theo phương pháp mới. *Phương pháp:* sử dụng các phản ứng hóa học cơ bản để tổng hợp hợp chất này từ nguyên liệu ban đầu là axit phthalic và mononatri L-glutamat monohydrat (Ajinomoto). *Kết quả:* đã khảo sát được các điều kiện về nhiệt độ, thời gian, tỷ lệ mol giữa những chất tham gia phản ứng, cách thức thực hiện phản ứng tổng hợp thalidomid. Từ đó, lựa chọn được điều kiện thích hợp để tổng hợp hợp chất này. *Kết luận:* đã xây dựng được quy trình tổng hợp thalidomid theo phương pháp mới, hiệu suất tổng đạt 49,78%.

\* Từ khóa: Thalidomid; Axit phthalic; Mononatri L-glutamat monohydrat; Tổng hợp.

## **Study on a New Method for Synthesis of Thalidomide**

### Summary

*Objectives:* To investigate the conditions for the synthesis of thalidomide. *Methods:* Using the basic reactions to synthesize this compound from initial materials as phthalic acid và mononatri L-glutamat monohydrat (Ajinomoto). *Results:* Investigating the conditions of the reaction including: temperature, duration and mode of reaction; ratio of reactive agents of preparation of thalidomide. From these results, we found out the conditions to synthesize this compound. *Conclusion:* The thalidomide synthesis process has been developed under the new method, the total yield was 49.78%.

\* *Keywords:* Thalidomid; Phthalic acid; Mononatri L-glutamat monohydrat; Synthesis.

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Thalidomid nguyên là thuốc an thần gây ngủ được sử dụng rất rộng rãi vào những năm 1957 đến 1961 ở nhiều nước trên thế giới. Năm 1956, thalidomid được Công ty Dược phẩm Chemie Grunenthal (Tây Đức) giới thiệu và bán trên thị trường dưới tên contergan [5]. Nhưng sau đó, các

hiệu ứng gây quái thai của thalidomid nhanh chóng được hai nhà dược lý người Đức William McBride và Widukind Lenz phát hiện và chứng minh [6]. Năm 1961, thalidomid đã bị rút khỏi thị trường các nhà khoa học ước tính, nó gây ảnh hưởng tới 10.000 trẻ em trên toàn thế giới [7].

1. Học viện Quân y

2. Trường Đại học Y Dược Hải Phòng

3. Trung Tâm Mua sắm tập trung Thuốc Quốc gia/Bộ Y tế

4. Trường Đại học Bách Khoa Hà Nội

**Người phản hồi (Corresponding): Hồ Bá Ngọc Minh (hobangocminh@gmail.com)**

**Ngày nhận bài: 20/12/2018; Ngày phản biện đánh giá bài báo: 17/01/2019**

**Ngày bài báo được đăng: 21/01/2019**

Năm 1965, ứng dụng của thalidomid được nhắc lại khi các nhà dược học khám

phá ra hoạt tính chữa bệnh của nó trong việc điều trị ban nốt đỏ do bệnh phong (ENL - Erythema Nodosum Leprosum) [8]. Từ đó, các công trình nghiên cứu về thalidomid tăng lên nhanh chóng (theo một thống kê năm 2006, từ năm 1957 đến 2006 có khoảng > 7.000 công trình khoa học công bố liên quan đến hợp chất thalidomid, riêng năm 2005 và 2006 mỗi năm công bố > 7.000 công trình) [9]. Sau nhiều năm nghiên cứu, các nhà khoa học đã phát hiện ra nhiều tác dụng chữa bệnh vô cùng quý giá của hợp chất này như: điều trị ung thư gan giai đoạn sớm, vừa và tiến triển; điều trị rối loạn miễn dịch do nhiễm HIV/AIDS; điều trị viêm đa khớp dạng thấp; bệnh ban nốt đỏ do phong; điều trị các khối u ác tính... [10].

Ở Việt Nam, nhu cầu sử dụng thalidomid để điều trị bệnh rất lớn, nhưng cho đến nay chưa có cơ sở nào sản xuất hoạt chất cũng như dạng bào chế của hoạt chất này. Năm 2014, Cục Quản lý Dược, Bộ Y tế đã cấp số đăng ký cho phép lưu hành một số biệt dược của thalidomid như domid, thado, thalix [1]... Tuy nhiên, giá thành vẫn còn khá cao so với thu nhập của người dân, mặt khác thời gian điều trị kéo dài nên vô cùng tốn kém. Do đó, việc sản xuất thalidomid là vấn đề rất đáng quan tâm ở Việt Nam.

Xuất phát từ những vấn đề trên, từ năm 2009, nhóm nghiên cứu của Phan Đình Châu đã bắt đầu nghiên cứu khảo sát tổng hợp thalidomid [2, 3, 4]. Trong phạm vi bài báo, chúng tôi công bố nghiên cứu xây dựng quy trình tổng hợp hoạt chất này đi từ anhydrid phthalic và mononatri L-glutamat monohydrat (Ajinomoto).

## **ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **1. Đối tượng nghiên cứu.**

Xây dựng quy trình sản xuất thalidomid đạt tiêu chuẩn Dược điển Mỹ 36 theo phương pháp mới đi từ mononatri L-glutamat monohydrat (Ajinomoto) và anhydrid phthalic.

### **2. Nguyên liệu, hóa chất.**

Mononatri L-glutamat monohydrat (Ajinomoto), anhydrid phthalic, oleum 65%, pyridin, benzen, dioxan, axit formic, 4-dimethylaminopyridin, diphenyl ether, thioure, ure, amoni clorid, amoni acetat, amoni thiocyanat đạt tiêu chuẩn tinh khiết và tinh khiết phân tích, chất chuẩn thalidomid 99,98% (Hãng Sigma).

### **3. Thiết bị nghiên cứu.**

- Tiến hành sắc ký lớp mỏng (SKLM) trên bản mỏng silicagel kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Hãng Merck), đèn soi sắc ký UV hai bước sóng 254 và 360 nm.

- Nhiệt độ nóng chảy đo trên máy đo nhiệt độ nóng chảy Stuart, SMP-10.

- Phổ hồng ngoại (IR) ghi trên máy GX-PerkinElmer (Mỹ).

- Phổ khối lượng (MS) ghi trên máy AutoSpec Primer tại Phòng Phân tích cấu trúc-Viện Hóa học (Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam).

- Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (<sup>1</sup>H-NMR và <sup>13</sup>C-NMR): ghi trên máy Bruker-AV500 tại Phòng Phân tích cấu trúc, Viện Hóa học (Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam).

### **4. Phương pháp nghiên cứu.**

- Sử dụng phản ứng hóa học thông

thường để tổng hợp sản phẩm dự kiến.

- Theo dõi tiến trình phản ứng tổng hợp bằng SKLM.

- Sơ bộ kiểm tra độ tinh khiết của sản phẩm bằng SKLM và đo nhiệt độ nóng chảy.

- Xác định cấu trúc của thalidomid tổng

hợp dựa trên kết quả phân tích phổ hồng ngoại (IR), phổ khối lượng (MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân ( $^1\text{H-NMR}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$ ).

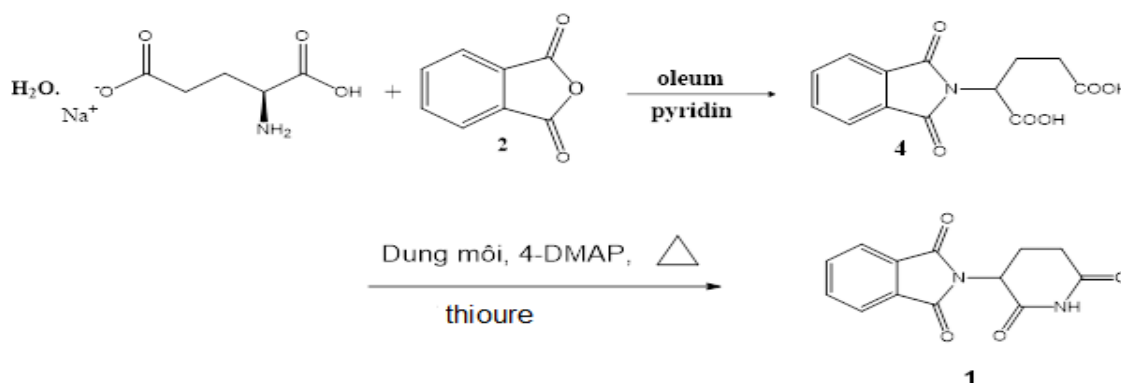
- Kiểm nghiệm thalidomid tổng hợp theo tiêu chuẩn Dược điển Mỹ (USP-36).

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

### 1. Cơ sở của phương pháp tổng hợp.

Có nhiều phương pháp tổng hợp thalidomid được công bố đi từ một số đôi nguyên liệu khác nhau: anhydrid phthalic và axit L-glutamic [11]; anhydrid phthalic và L-glutamin [12]...

Về kỹ thuật triển khai phản ứng, chúng tôi thực hiện quá trình phản ứng sử dụng phương pháp hóa học thông thường trong dung môi và nhiệt độ thích hợp, tổng hợp thalidomid (1) đi từ anhydrid phthalic (2) và mononatri L-glutamat (Ajinomoto) trong hai bước phản ứng đi qua N-phthaloyl-L-glutamic acid (4) với hiệu suất khá cao.



Sơ đồ phản ứng tổng hợp thalidomid.

### 2. Tổng hợp N-phthaloyl-L-glutamic axit (4).

Hòa tan 5,74 g (0,03 mol) mononatri L-glutamat monohydrat trong 10 ml pyridin, sau đó làm lạnh hỗn hợp xuống  $0^\circ\text{C}$ . Nhỏ giọt từ từ 2,0 ml oleum 65% vào hỗn hợp trên, khuấy trong 20 phút. Sau đó, thêm 4,45 g (0,03 mol) anhydrid phthalic (2) vào hỗn hợp phản ứng, khuấy ở  $0^\circ\text{C}$  trong 15 phút. Đun hồi lưu ( $115^\circ\text{C}$ ), duy trì

khoảng 1,5 giờ đến khi hết anhydrid phthalic (theo dõi điểm kết thúc phản ứng bằng SKLM với hệ dung môi: benzen:dioxan:axit formic = 15:4:1), tiếp đó, thêm vào phản ứng 25 ml nước, chỉnh pH về 1,1 - 1,2 bằng dung dịch HCl pha loãng 1:1; khuấy dung dịch này ở nhiệt độ  $14 - 16^\circ\text{C}$  trong vòng 2 giờ. Tủa tạo ra được lọc và rửa với nước ba lần (3 x 5 ml); sấy khô. Thu được 5,49 g hợp chất (4) (hiệu suất 66,01%). Sản phẩm nóng chảy

191 - 193°C.

IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  (cm<sup>-1</sup>): 3447,69 (O - H); 3044,71 (CH, nhân thơm); 2902,09 (CH, CH<sub>2</sub>); 1714,25 (C = O).

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO)  $\delta$  (ppm): 7,865 - 7,917 (m, 4H; C-5, C-6, C-7, C-8); 4,792 - 4,821 (m, 1H, C-10); 2,234 - 2,503 (m, 4H, C-11 và C-12).

<sup>13</sup>C-NMR (DMSO)  $\delta$  (ppm): 173,690 (C-13); 170,300 (C-14); 167,430 (C-1 và C-3); 134,760 (C-6 và C-7); 131,260 (C-4 và C-9); 123,360 (C-5 và C-8); 51,050 (C-10); 30,330 (C-12); 23,660 (C-11).

MS:  $m/z$  275,8 [M-H].

Chúng tôi đã khảo sát ảnh hưởng của một số dung môi khác nhau (acetonitril, dioxan, pyridin, DMF) cũng như nhiệt độ thực hiện phản ứng khác nhau (82°C, 102°C, 115°C, 153°C) đến hiệu suất phản ứng tổng hợp chất trung gian (4) thấy: để thực hiện được quy trình phản ứng, cần xử lý loại nước khỏi nguyên liệu bằng oleum 65% với lượng dùng 2 ml cho khối lượng 0,03 mol tương đương 5,74 g nguyên liệu; lượng nước thích hợp nhất sử dụng trong xử lý hỗn hợp sau phản ứng là 25 ml, khi giảm thể tích nước xuống 20 ml, hiệu suất phản ứng giảm do lượng nước quá ít nên tạo thành hỗn hợp đặc sau phản ứng, khó kết tinh.

### 3. Tổng hợp 3-DL-phthalimidopiperid-2,6-dion (thalidomid, 1).

Cho một hỗn hợp đã nghiền kỹ, trộn đều gồm 11,10 g (0,05 mol) axit N-phthaloyl-DL-glutamic (4); 9,12 g (0,12 mol) thioure và 95 mg 4-DMAP vào bình cầu dung tích 100 ml, lắp sinh hàn, nhiệt kế, máy khuấy từ, cho vào đó 10 ml diphenylether. Vừa khuấy vừa làm nóng

hỗn hợp phản ứng lên 175°C, duy trì trong 2,0 giờ. Theo dõi điểm kết thúc phản ứng bằng SKLM (hệ dung môi: benzen:dioxan:axít formic = 15:4:1). Sau khi phản ứng kết thúc, để nguội xuống khoảng 75°C, vừa khuấy vừa cho vào hỗn hợp phản ứng trên 30 ml benzen, khuấy cho tơi ra, để nguội, lọc loại dung môi, rửa lại rửa hai lần với benzen (2 x 5 ml). Thêm vào rửa lọc 30 ml methanol, khuấy tơi, đun nóng 15 phút, cất loại dung môi khoảng 1/2 thể tích, tiếp đó vừa khuấy vừa làm lạnh hỗn hợp xuống 10 - 15°C trong 2 giờ, lọc hoặc gạn loại dung môi. Lặp lại quá trình ngâm rửa với methanol này hai lần nữa, sau đó lọc hút kiệt dung môi, thu được thalidomid thô. Kết tinh lại thalidomid thô trong hỗn hợp dung môi dioxan-aceton, thu được 7,79 gam thalidomid (hiệu suất. 75,41%). Sản phẩm nóng chảy 273 - 275°C.

IR (KBr,  $\nu^{\text{cm}^{-1}}$ ): 3204,53 (N-H); 1776, 1697 (C=O).

MS:  $m/z$  259 (M+H)<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO)  $\delta$  11,122 (s, 1H, NH); 7,943 - 7,875 (m, 4H, Ar); 5,179 - 5,143 (dd, 1H, CH); 2,936 - 2,864 (m, 1H, CH<sub>2</sub>); 2,629 - 2,494 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-CO) 2,096 - 2,049 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (DMSO)  $\delta$  172,717; 169,809; 167,131; 134,855; 131,212; 123,389; 48,977; 30,915; 21,969 ppm.

Chúng tôi đã khảo sát ảnh hưởng của một số nguồn tác nhân cung cấp amoniac, tỷ lệ mol giữa hợp chất (4) dung môi, lượng dung môi sử dụng, nhiệt độ phản ứng khác nhau để thực hiện phản ứng đến hiệu suất phản ứng tổng hợp thalidomid (1) thấy: tỷ lệ mol giữa hợp

chất (4) với thioure là 1:3, phản ứng được thực hiện trong diphenyl ether ở nhiệt độ 175 - 180°C, xử lý loại tạp chất bằng các dung môi không tan thalidomid (benzen, methanol) cho kết quả tốt nhất.

#### 4. Đánh giá chất lượng sản phẩm thalidomid (1) sản xuất ra.

- Đo điểm chảy: nhiệt độ chảy của sản phẩm thalidomid các mẻ khác nhau dao động từ 272 - 276°C.

- Sắc ký bản mỏng: sơ bộ kiểm tra bằng SKLM so với chất chuẩn (với hệ dung môi triển khai là benzen:dioxan:acid formic = 75:20:5) cho một vết gọn lên ngang đúng vết thalidomid chuẩn, hiển thị rõ dưới ánh sáng đèn tử ngoại bước sóng 254 nm ( $R_f = 0,64$ ).

- Số liệu phân tích phổ: phổ IR, MS,  $^1\text{H-NMR}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất tổng hợp được và chất thalidomid chuẩn tương đối giống nhau (có các pic đặc trưng của từng chất trên các loại phổ) cũng như điểm chảy và sắc ký bản mỏng, qua đó kết luận thalidomid tổng hợp được là tinh khiết và có cấu trúc đúng như dự kiến.

- Chất lượng của thalidomid tổng hợp được: đã kiểm nghiệm sản phẩm theo Dược điển Mỹ 2012 (USP-36). Kết quả gửi mẫu kiểm nghiệm đạt yêu cầu chất lượng theo Dược điển Mỹ USP-36. Phiếu kiểm nghiệm số KN: 15N-75 ngày 20 tháng 01 năm 2015 của Viện Kiểm nghiệm, Nghiên cứu Dược và Trang thiết bị Y tế Quân đội.

#### KẾT LUẬN

Đã nghiên cứu xây dựng thành công quy trình tổng hợp thalidomid theo

phương pháp mới, với thao tác đơn giản, tiêu tốn hóa chất, dung môi ít hơn, dễ dàng triển khai quy mô lớn, hiệu suất tổng của cả quá trình đạt 49,78%. Thalidomid tổng hợp ra tiêu chuẩn Dược điển Mỹ 2012 (USP-36). Với phiếu kiểm nghiệm số KN: 15N-75 ngày 20 tháng 01 năm 2015 của Viện Kiểm nghiệm, Nghiên cứu Dược và Trang thiết bị Y tế Quân đội.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cục Quản lý Dược. Quyết định số 349/QĐ-QLD Về việc ban hành danh mục 17 thuốc nước ngoài (thuốc điều trị ung thư - đăng ký lần đầu) được cấp số đăng ký, lưu hành tại Việt Nam - đợt 86. 2014.

2. Lê Sỹ Tùng, Phan Đình Châu. Study on preparation of thalidomid as an anticancer agent. Tạp chí Hóa học. 2009. 47 (4A), tr.28-33.

3. Phan Đình Châu, Vũ Bình Dương, Hoàng Thị Thanh, Trần Thị Tâm, Hồ Bá Ngọc Minh, Nguyễn Quỳnh Anh, Trần Thị Hiện. Nghiên cứu về các dẫn xuất của axit N-phthaloyl-DL-glutamic - Phần II. Nghiên cứu tổng hợp thuốc điều trị ung thư thalidomid. Tạp chí Dược học. 2015, 55 (472), tr.38-42.

4. Phan Đình Châu, Trần Thị Tâm, Hoàng Thị Thanh, Hồ Bá Ngọc Minh, Vũ Bình Dương. Nghiên cứu về các dẫn xuất của axit N-phthaloyl-DL-glutamic - Phần III. Nghiên cứu tổng hợp thalidomid từ anhydrid phthalic và axit L-glutamic đi qua axit N-phthaloyl-DL-glutamic và anhydrid N-phthaloyl-DL-glutamic. Tạp chí Dược học. 2016, 56 (485), tr.45-49.

5. Tseng S et al. Rediscovering thalidomide: A review of its mechanism of action, side effects, and potential uses. Journal of the American Academy of Dermatology. 1996, 35 (6), pp.969-979.

6. Miller M.T, Strömland K. Teratogen update: Thalidomide: a review, with a focus on

ocular findings and new potential uses. *Teratology*. 1999, 60 (5), pp.306-321.

7. *Ances B.M.* New concerns about thalidomide. *Obstetrics Gynecology*. 2002, 99 (1), pp.125-128.

8. *Sheskin J.* Thalidomide in the treatment of lepra reactions. *Clinical Pharmacology Therapeutics*. 1965, 6 (3), pp.303-306.

9. *Shibata N, Yamamoto T, Toru T.* Synthesis of thalidomide. *Bioactive Heterocycles II*. Springer. 2007, pp.73-97.

10. *Calabrese L, Fleischer Jr A.B.* Thalidomide: Current and potential clinical

applications. *The American Journal of Medicine*. 2000, 108 (6), pp.487-495.

11. *Varala R, Adapa S.R.* A practical and efficient synthesis of thalidomide via Na/liquid NH<sub>3</sub> Methodology1. *Org Process Res Dev*. 2005, 9 (6), pp.853-856.

12. *Seijas J.A, Tato M.P.V, Bande C.G, Martínez M.M, López B.P.* Microwave promoted synthesis of a rehabilitated drug: Thalidomide. *Synthesis*. 2001, 07, pp.999-1000.