

Tổng hợp acefyllin được dụng từ theophyllin

Nguyễn Đào Thiện*, Huỳnh Linh Tý

Khoa Dược, Đại học Nguyễn Tất Thành

*ndthien@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Theophyllin đã được sử dụng trong nhiều thập niên để trị bệnh hen suyễn cấp và mạn tính. Tuy nhiên, thực tế sử dụng theophyllin không hề dễ dàng. Theophyllin ít tan trong nước, gây khó chịu dạ dày và nhịp tim nhanh. Dẫn chất của theophyllin là acefyllin (theophyllin-7-acetic acid) có ít tác dụng phụ hơn. Acefyllin được tổng hợp bởi Baisse vào năm 1949[1] và hiện nay được dùng thay thế theophyllin, nhưng phải nhập từ nước ngoài. Do đó đề tài tham gia nghiên cứu tổng hợp acefyllin nhằm chủ động tạo nguồn nguyên liệu trong nước thay thế ngoại nhập. Phản ứng tổng hợp acefyllin được tiến hành ở nhiệt độ 90°C, tỉ lệ mol theophyllin: acid cloroacetic: NaOH = 1 : 1,6 : 2,9 cho hiệu suất cao. Sản phẩm được xác định cấu trúc bằng FTIR, MS, ¹H NMR và ¹³C NMR, đạt độ tinh khiết cao 99,97% (HPLC) và có thể sử dụng làm nguyên liệu thuốc.

Nhận 16.04.2019
Được duyệt 26.07.2019
Công bố 20.09.2019

Từ khóa
theophyllin, acefyllin,
theophyllin-7-acetic acid

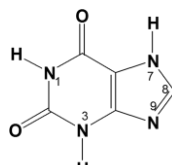
© 2019 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Theophyllin là một methylxanthin được chiết xuất từ lá trà và xác định cấu trúc vào năm 1888, đến năm 1902 được sử dụng trong lâm sàng như là thuốc lợi tiểu và 20 năm sau

được sử dụng trong điều trị hen suyễn. Nghiên cứu liên quan cấu trúc tác dụng, các nhóm thế trên các N tạo các dẫn chất có hoạt tính sinh học khác nhau[2]:

1,3
-Giãn phế quản
-Độc tính: tăng



Hình 1 Ảnh hưởng các nhóm thế

7. -Giảm tác động giãn phế quản
-Giảm độc tính
8. -Giãn phế quản: không ảnh hưởng
-Độc tính: tăng
9. Mất tác động giãn phế quản

Các dẫn chất thế trên N₇ là thích hợp nhất. Vào những năm thập niên 1940, xuất hiện một số công trình nghiên cứu tổng hợp dẫn chất thế N₇ của metylxanthin có tác dụng trị liệu. Ví dụ, etophylline clofibrate - giảm lipid máu, penethyllin - kích thích thần kinh trung ương, acefyllin - dẫn khí, phế quản[3],...

Nhu cầu sử dụng nguyên liệu acefyllin và các dẫn chất muối acefyllin ở nước ta ngày càng tăng nhưng hầu hết nguyên liệu nhập từ nước ngoài. Vì vậy acefyllin đã được nghiên cứu bởi các tác giả Lê Minh Trí và cộng sự[4]. Và đã được tối ưu hóa qui trình điều chế và xây dựng tiêu chuẩn kiểm nghiệm bởi các tác giả Trần Thành Đạo và cộng sự[5]. Các đề tài nghiên cứu điều chế acefyllin nhằm chủ động tạo nguồn nguyên liệu trong nước thay thế ngoại nhập.

2 Thực nghiệm

2.1 Nguyên liệu

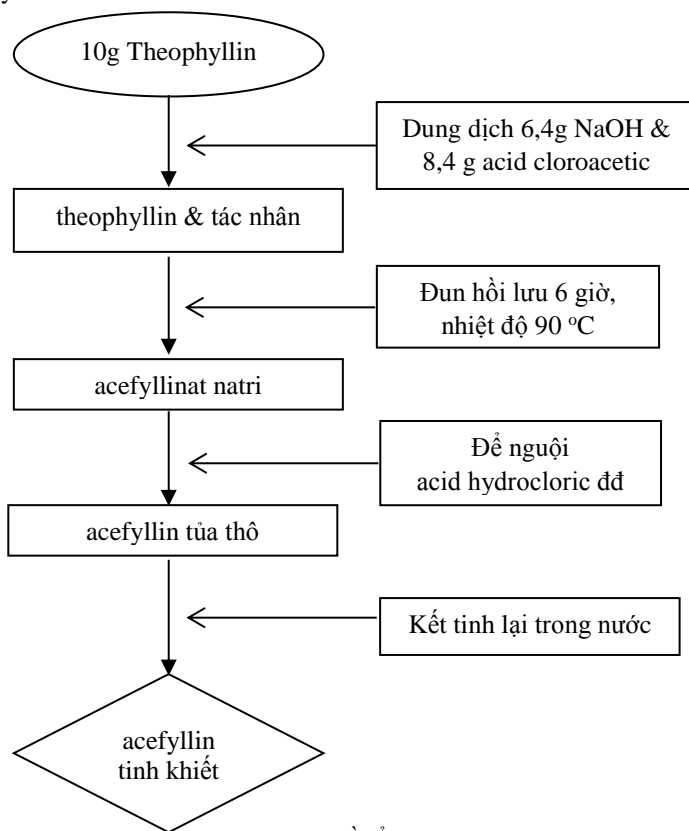
Theophyllin, các hóa chất và dung môi sử dụng cho phản ứng tổng hợp đạt tiêu chuẩn tổng hợp, xuất xứ Trung Quốc. Acid cloroacetic đạt tiêu chuẩn tổng hợp, xuất xứ Ấn Độ. Acetonitril và amonium acetat, cho pha động đạt tiêu chuẩn HPLC, xuất xứ Merck. Kali bromid đạt tiêu chuẩn đo IR, xuất xứ Đức.

2.2 Trang thiết bị

Bộ phản ứng 4 chỗ Eylea/Tokyo Rikakikai, máy đo điểm chảy Stuart, bếp khuấy từ gia nhiệt Stuart, bình hút ẩm, cân phân tích Sartorius 224S, máy đo quang phổ hồng ngoại Shimadzu FTIR 8201, máy Khối phổ Micromas quattro micro™API, máy sắc kí lỏng hiệu năng cao Agilent HPLC 1260, máy đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR Buker AC 500 MHz.

2.3 Tổng hợp

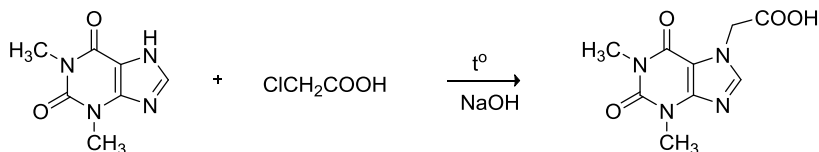
2.3.1 Sơ đồ tổng hợp acefyllin



Hình 2 Sơ đồ tổng hợp acefyllin

2.3.2 Tổng hợp acefyllin

Thông số tối ưu: nhiệt độ 90°C, tỉ lệ mol theophyllin : acid cloroacetic: NaOH là 1 : 1,6 : 2,9 [5]



Phân tử lượng	180,16	94,50	40,00
Tỉ lệ mol	1	1,6	2,9
Khối lượng (g)	10	8,4	6,4

Hòa tan 8,4g acid cloroacetic vào 60ml nước cất lạnh trong bình phản ứng dung tích 250ml, làm lạnh dung dịch phản ứng trong nước đá. Hòa tan 6,4g natri hydroxid với 60ml nước cất lạnh vào becher, làm lạnh trong nước đá. Đặt bình phản ứng trên bếp khuấy từ, giữ nhiệt độ < 10°C. Thêm từ từ dung dịch NaOH vào bình phản ứng, tráng becher với 20ml nước cất lạnh. Sau 10 phút, ngưng làm lạnh, gia nhiệt từ từ hỗn hợp phản ứng cho đến khi dung dịch đạt khoảng 30°C. Thêm từ từ 10g theophyllin vào bình phản ứng và gia nhiệt cho phản ứng. Hỗn hợp phản ứng được đun hồi lưu và khuấy 300 vòng/phút trong 6 giờ. Để nguội bình phản ứng, sau đó trung hòa dịch phản ứng với acid hydrochloric đậm đặc, tủa xuất hiện, làm lạnh. Lọc và rửa tủa bằng nước cất

lạnh. Acefyllin thô được tinh chế bằng cách kết tinh lại trong nước. Lọc thu tủa và rửa tủa bằng nước cất. Sấy khô ở nhiệt độ 80°C. Hiệu suất thu được sau khi tinh chế là 85%. Hàm lượng phân tích trên hệ thống HPLC đạt 99,97% acefyllin.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Kết quả của công trình đã có[4]

Acefyllin thu được có dạng tinh thể hình kim màu trắng, ít tan trong nước, ethanol, cloroform; tan nhiều hơn trong methanol, aceton. Điểm chảy 271-272°C. Phổ IR (KBr) 3136 (δ_{O-H}); 1708 ($\nu_{C=O}$); 1392 (ν_{N-C}). 1H -NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): 3,43 (s, 3H, CH_3); 3,64 (s, 3H, CH_3); 5,11 (s,

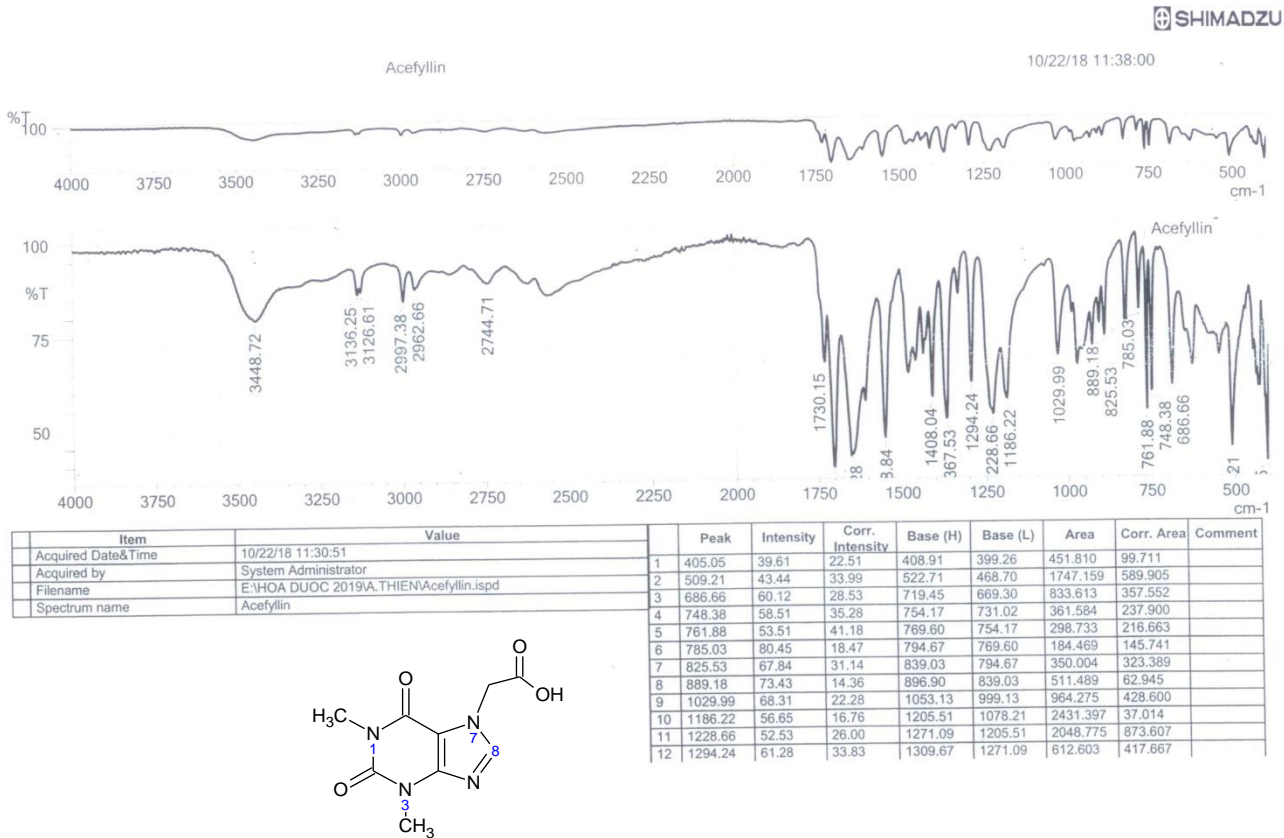
2H, -CH₂-); 7,49 (s, 1H, -CH=N-); 7,64 (s, 1H, -COOH). MS m/z 237,3 [(M-H)⁻] (phương pháp ES⁻) suy ra M = 238,3 (M tính theo lí thuyết 238,2). Sản phẩm thu được có hàm lượng 99,99% (phương pháp HPLC).

3.2 Kết quả mới của đề tài

Acefyllin thu được có dạng tinh thể hình kim màu trắng, ít tan trong nước, ethanol, cloroform; tan nhiều hơn trong methanol, aceton. Điểm chảy 271-272°C. Phổ IR (KBr): 3448 (δ_{OH} - OH acid); 2997 (ν_{C-H} - CH₂); 1678 (ν_{C=O} - C=O amid); 1612 (ν_{C=C} - C = C nhân thơm); 1386 (ν_{C-N} - N -

CH₃); 1271 (ν_{C=O} - C - O acid). ¹H-NMR (D₂O, 500 MHz): 3,17 (s, 3H, N¹CH₃); 3,40 (s, 3H, N³CH₃); 5,04 (s, 2H, N⁷CH₂); 8,00 (s, 1H, C⁸H). ¹³C-NMR (DMSO-d₆): 27,4 (N¹-CH₃); 29,4 (N³-CH₃); 47,2 (N⁷-CH₃); 106,4 (CH=); 143,2 (CH=); 147,9 (CH=); 151,0 (C⁶=O); 154,5 (C²=O); 169,0 (O=C¹¹-OH). MS m/z 237,51 [(M-H)⁻]; MS m/z 239,51 [M+H]⁺ (phương pháp ES⁻) suy ra M = 238,51 (M tính theo lí thuyết 238,2). Sản phẩm thu được có hàm lượng 99,97% (phương pháp HPLC).

3.2.1 Phổ hồng ngoại (IR)

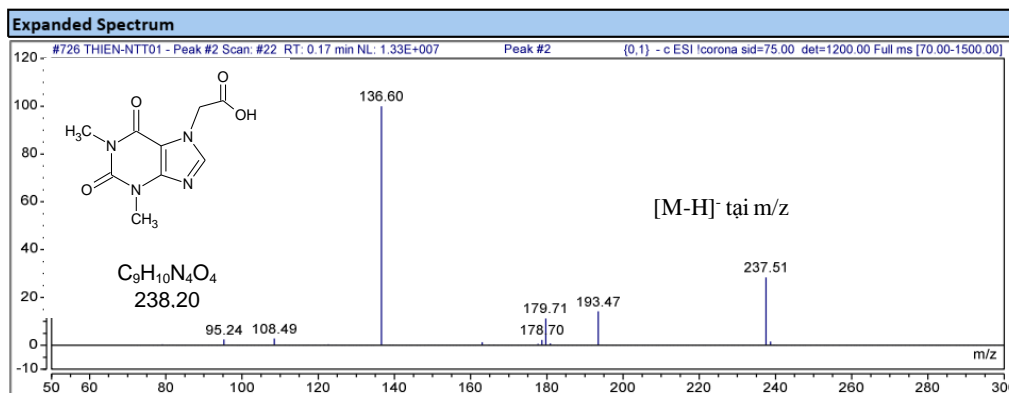
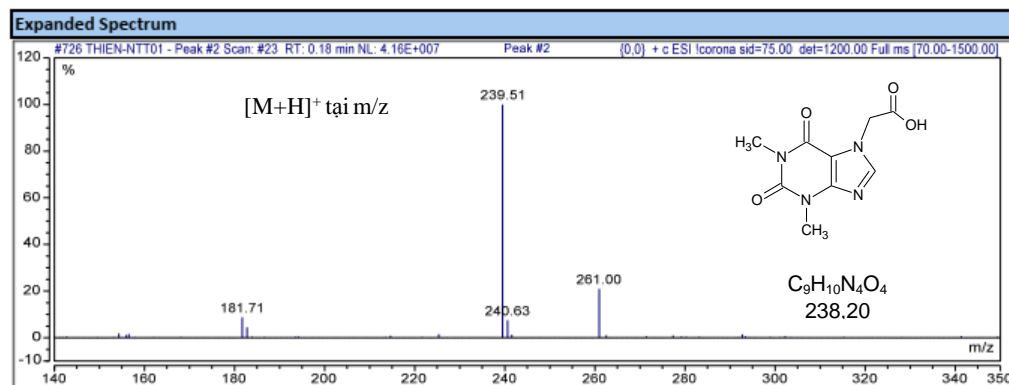


Hình 3 Phổ hồng ngoại của acefyllin

Bảng 1 Biện giải phổ hồng ngoại của acefyllin

Đỉnh hấp thụ (cm ⁻¹)	Cường độ	Kiểu dao động	Nhóm chức
3448	Yếu	δ _{OH}	OH acid
2997	Trung bình	ν _{C-H}	CH ₂
1701	Mạnh	ν _{C=O}	C = O acid
1678	Mạnh	ν _{C=O}	C = O amid
1612	Trung bình	ν _{C=C}	C = C nhân thơm
1386	Trung bình	ν _{C-N}	N - CH ₃
1271	Trung bình	ν _{C-O}	C - O acid

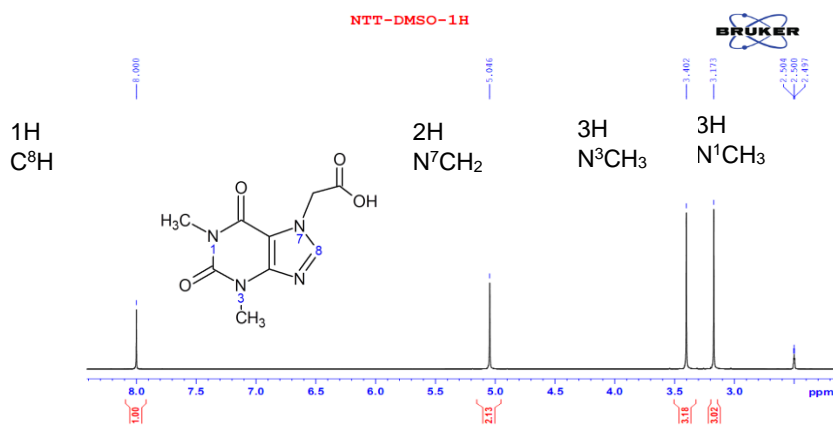
3.2.2 Khối phổ (MS)

Hình 4 Khối phổ (MS) $[M-H]^-$ của acefyllinHình 5 Khối phổ (MS) $[M+H]^+$ của acefylline

Bảng 2 Biện giải phổ MS của acefyllin

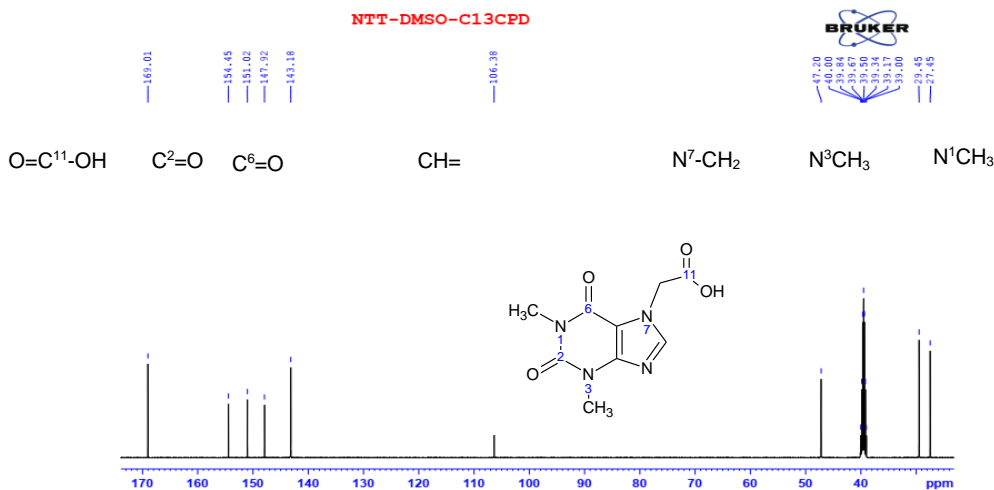
Mảnh cơ bản $[M-H]^-$ tại m/z = 237,51	Mảnh cơ bản $[M+H]^+$ tại m/z = 239,5
Suy ra khối lượng phân tử của sản phẩm thu được từ thực nghiệm phù hợp khối lượng phân tử lí thuyết của acefyllin là 238,20.	Suy ra khối lượng phân tử của sản phẩm thu được từ thực nghiệm phù hợp khối lượng phân tử lí thuyết của acefyllin là 238,20.

3.2.3 Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR)

Hình 6 Phổ 1H -NMR của acefyllin

Bảng 3 Biện giải phổ ¹H-NMR của acefyllin

Độ dịch chuyển hoá học δ (ppm)	Hình dạng đỉnh	Số proton ¹ H	Vị trí proton ¹ H
3,17	s	3	N ¹ CH ₃
3,40	s	3	N ³ CH ₃
5,04	s	2	N ⁷ CH ₂
8,00	s	1	C ⁸ H



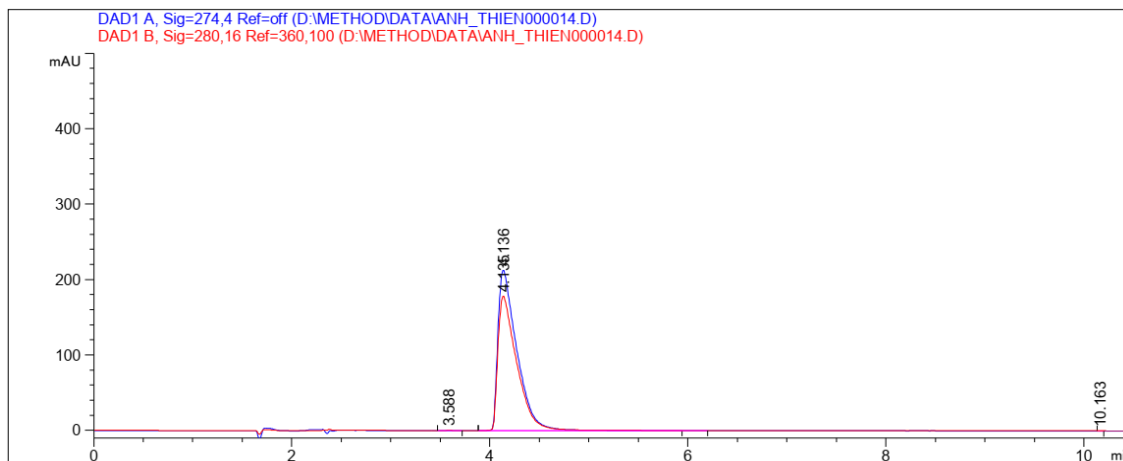
Hình 6 Phổ ¹³C-NMR của acefyllin

Bảng 4 Biện giải phổ ¹³C-NMR của acefyllin

Độ dịch chuyển hoá học δ (ppm)	Vị trí C
27,4	N ¹ -CH ₃
29,4	N ³ -CH ₃
47,2	N ⁷ -CH ₂
106,4	CH=
143,2	CH=
147,9	CH=
151,0	C ⁶ =O
154,5	C ² =O
169,0	O=C ¹¹ -OH

3.2.4 Sắc kí lỏng hiệu năng cao (HPLC)

Cột phân tích Agilent C18, kích thước cột 4,6 x 250mm, kích thước hạt 5µm. Nhiệt độ cột: nhiệt độ phòng. Detector PDA 2996 (Water). Bước sóng phát hiện: 274,4nm. Pha động: AcCN - CH₃COONH₄ 0,025 M (1 : 9) (pH ≈ 7,18). Thể tích tiêm mẫu: 10µl. Tốc độ dòng: 0,8ml/phút. Nồng độ mẫu đo: 100µg/ml (dung môi là pha động). Hàm lượng % của chất thử được tính bằng cách xác định diện tích pic dưới dạng % của tổng diện tích tất cả các pic trừ các pic của dung môi hay thuốc thử và các pic ở dưới mức có thể bỏ qua.



Hình 7 Phổ HPLC của acefyllin

Bảng 5 Biện giải phổ HPLC của acefyllin

Thời gian lưu	Diện tích pic	Chiều cao pic	% Hàm lượng
3.588	$6.84166e^{-1}$	$1.11614e^{-1}$	0.0289
4.136	2832.98706	212.85815	99.9678
10.163	$9.12238e^{-1}$	$2.11601e^{-1}$	0.0322

Kết quả đo phổ HPLC (Hình 7), sản phẩm đạt được độ tinh khiết cao 99,9678%. Pic của acefyllin trong sắc kí đồ thu được có thời gian lưu khoảng 4,136 phút, pic sắc nét, đường nền phẳng, ít nhiễu.

4 Kết luận và kiến nghị

4.1 Kết luận

Có thể tổng hợp acefyllin bằng phương pháp cô điển ở điều kiện phòng thí nghiệm cho hiệu suất và độ tinh khiết cao.

4.2 Kiến nghị

Xác định các tạp chất trong qui trình tổng hợp acefyllin.

Tìm ra qui trình tổng hợp các dạng muối của acefyllin với độ hấp thu, hoạt tính cao với nhiều tác dụng trị liệu khác nhau. Ví dụ, acefyllin heptaminol - trị thiếu máu, hạ huyết áp; diacefyllin diphenhydramin - chống nôn; ambroxol acefyllinat - giãn phế quản. Cũng như các dẫn chất ester của acefyllin với các glycol – tăng tính thân dầu và tăng độ ổn định thuốc.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ một phần bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Đại học Nguyễn Tất Thành trong đề tài mã số 2018.01.36

Tài liệu tham khảo

- Baisse J., (1949). Sur un dérivé de la theophyllin. *Bull. Soc. Chim. France*, 769.
- Buckle D. R. and Smith H., (1984). Future developments, *Development of Anti-asthma Drugs*, Butterworths, London, 219.
- Buckle D. R. and Smith H., (1984). Theophylline, *Development of Anti-asthma Drugs*, Butterworths, London, 207.
- Lê Minh Trí, Trần Thị Anh Thư, Trần Ngọc Châu, Trần Thành Đạo (2012). Nghiên cứu tối ưu hóa qui trình điều chế acefyllin và muối acefyllin piperazin. *Tạp chí Dược học*, 52(9), 47-51.
- Trần Thành Đạo, Ngô Văn Cần, (2013). *Tối ưu hóa qui trình điều chế và xây dựng tiêu chuẩn kiểm nghiệm acefyllin*, Khóa luận tốt nghiệp Dược sĩ đại học, Trường Đại học Y Dược Tp. HCM.

Synthesis of acefylline from theophylline

Nguyễn Đào Thiện*, Huỳnh Linh Tý

Faculty of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University

*ndthien@ntt.edu.vn

Abstract Theophylline has been used for decades to treat both acute and chronic asthma. However, in practice, theophylline is not a particularly easy drug to use because of its physical and pharmacological properties. It is poorly soluble in water; furthermore, it is frequently associated with gastric upset and palpitations. One of the theophylline derivatives that has been used in an attempt to circumvent side effects is acefylline (theophylline-7-acetic acid). Acefylline was synthesized by Baisse in 1949[1] and is currently marketed as an alternative to theophylline. However, The raw material for domestic pharmaceutical production is now mainly imported, so acefylline was synthesized. The Optimal yield obtained when the reaction is carried out at 90°C, mol ratio theophylline: chloroacetic acid:NaOH = 1:1,6:2,9. Its structure was confirmed by FTIR, MS, ^1H NMR and ^{13}C NMR spectral data. The product has very high purity rate (99.97% by HPLC) and can be used as a pharmaceutical ingredient.

Keywords theophylline, acefylline, theophylline-7-acetic acid.

