

NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP TIỀN CHẤT 2-METHYL-1H-IMIDAZOLE ĐỂ SẢN XUẤT THUỐC KHÁNG SINH METRONIDAZOLE

TS. Lê Văn Huỳnh*, ThS. Nguyễn Thị Loan, ThS. Phùng Thị Hương Giang,
DS. Nguyễn Thị Nguyệt, DS. Trần Đức Quang, CN. Phùng Thị Linh Giang

Trường Đại học Thành Đông

*Email: lehuyinh1058@gmail.com

TÓM TẮT

Tiền chất 2-methyl-1H-imidazole được sử dụng để tổng hợp thuốc kháng sinh Metronidazole, loại chất kháng sinh này có khả năng chống các vi khuẩn yếm khí rất hiệu quả. Metronidazole đã được đưa vào sử dụng làm thuốc để điều trị các bệnh nhiễm khuẩn do các vi khuẩn gây ra như: Trichomonas, vi khuẩn amip và vi khuẩn HP gây bệnh viêm loét dạ dày, tá tràng và cũng là nguy cơ dẫn tới ung thư dạ dày. Để tổng hợp tiền chất 2-methyl-1H-imidazole nhóm nghiên cứu đã tìm ra các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tổng hợp như: Nhiệt độ trong khoảng 210 – 220°C; Tỷ lệ ethylenediamin / acid acetic bằng 1/3, Kết tinh bằng dung môi etyl axetat, lúc này hiệu suất tổng hợp đạt 95%. Bài báo này là kết quả nghiên cứu tổng hợp tiền chất 2-methyl-1H-imidazole để sản xuất thuốc kháng sinh metronidazole. Kết quả nghiên cứu là cơ sở khoa học cho việc áp dụng vào thực tiễn các quá trình công nghệ sản xuất, với mong muốn góp phần tự chủ phát triển nguồn nguyên liệu dược tại Việt Nam.

Từ khoá: Tổng hợp 2-methyl-1H-imidazole; Metronidazole

ABSTRACT

2-Methyl-1H-imidazole precursor is used to synthesize the antibiotic Metronidazole, which is highly effective against anaerobic bacteria. Metronidazole has been employed as a drug to treat infections caused by bacteria such as Trichomonas, amoebic bacteria, and Helicobacter pylori (HP) bacteria that cause peptic ulcer disease and also pose a risk of leading to stomach cancer. To synthesize the 2-methyl-1H-imidazole precursor, the research group identified factors affecting the synthesis process such as: Temperature in the range of 210-220°C; Ethylenediamine/acetic acid ratio of 1/3, and crystallization using ethyl acetate solvent, achieving a synthesis efficiency of 95%. This paper is the result of research on the synthesis of the 2-methyl-1H-imidazole precursor for the production of the antibiotic Metronidazole. The research results provide a scientific basis for the practical application of production technology processes, with the aim of contributing to the self-sufficient development of pharmaceutical raw materials in Vietnam."

Keywords: Synthesis of 2-methyl-1H-imidazole; Metronidazole

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tiền chất 2-methyl-1H-imidazole được dùng để tổng hợp thuốc kháng sinh Metronidazole. Thuốc này có khả năng chống các vi khuẩn yếm khí. Từ rất lâu metronidazole đã được đưa vào sử dụng làm thuốc để điều trị các bệnh viêm nhiễm chân răng, lợi, các bệnh nhiễm khuẩn do các động vật đơn bào như Trichomonas, amip và vi khuẩn Helicobacter pylori (HP) gây bệnh viêm loét dạ dày tá tràng và cũng là nguy cơ dẫn tới 90% các trường hợp ung thư dạ dày.

Ngoài ra Metronidazole cũng được sử dụng trong điều trị bệnh viêm phúc mạc. Do những điều kiện đặc điểm về địa lí và kinh tế - xã hội ở Việt Nam, nên bệnh tật chủ yếu vẫn là các bệnh nhiễm khuẩn do nhiễm trùng, ký sinh trùng chiếm khoảng 25% số ca bệnh.

Bệnh do amíp phổ biến ở các vùng khí hậu nhiệt đới, nơi mà các tiêu chuẩn vệ sinh không được đảm bảo. Điều kiện vệ sinh kém có thể gây ra các đại dịch nguy hiểm. Các nước đang phát triển, trong đó có Việt Nam, đang phải đối mặt với căn bệnh này.

Ở Việt Nam, tỷ lệ người lành mang mầm bệnh lỵ amíp có nơi lên đến 25%. Lứa tuổi mắc bệnh nhiều nhất từ 20 – 30 tuổi, trẻ em dưới 5 tuổi ít mắc bệnh. Tỷ lệ nhiễm Trichomonas ở Việt Nam còn cao hơn, tần suất bệnh có thể đến 74% ở phụ nữ. Cùng với các dòng kháng sinh β -lactam, quinolon, các imidazole là một dòng kháng sinh thiết yếu và rất quan trọng được sử dụng rộng rãi trong điều trị các bệnh nhiễm khuẩn, ký sinh trùng và

virus. Nhu cầu về nhóm thuốc imidazole trị các ký sinh trùng là rất lớn.

Tuy nhiên tất cả các thuốc nhóm này hiện có ở Việt Nam đều là thuốc ngoại nhập. Nhu cầu về nhóm thuốc imidazole trị các ký sinh trùng là rất lớn. Tuy nhiên tất cả các thuốc nhóm này hiện có ở Việt Nam đều là thuốc ngoại nhập. Trong nước gần như không sản xuất các chế phẩm này. Một trong những nguyên nhân chính là giá nguyên liệu cao và khó nhập khẩu vì đây là những thuốc nằm trong tay một số công ty độc quyền. Điều này dẫn đến sự phụ thuộc vào nguyên liệu nhập ngoại và làm mất ổn định giá thuốc.

Nghiên cứu tổng hợp tiền chất 2-methyl-1H-imidazole để tổng hợp thuốc kháng sinh Metronidazole là cần thiết vì sẽ góp phần chủ động trong nước một loại hoạt chất quan trọng trong điều trị các bệnh về nhiễm khuẩn.

Một nước muốn có nền công nghiệp sản xuất thuốc ổn định và phát triển thì không thể chỉ dựa vào nguồn nguyên liệu nhập ngoại. Chính vì vậy, việc nghiên cứu nguồn nguyên liệu sản xuất thuốc trong nước là một việc hết sức cấp thiết.

Ở Việt Nam công nghiệp hóa chất và hóa dầu chưa đáp ứng được các yêu cầu về hóa chất hữu cơ cơ bản. Từ đó nguồn cung cấp nguyên liệu hóa được gặp rất nhiều khó khăn. Do đó, cần có những nghiên cứu cải tiến qui trình của nước ngoài nhằm sử dụng các nguyên liệu một cách hợp lý.

Đưa ra một qui trình tổng hợp tối ưu thì cần phải nghiên cứu sâu sắc một cách tỉ mỉ các yếu tố ảnh hưởng tới quá trình tổng hợp như: Nồng độ các chất tham gia

phản ứng? Tỷ lệ các chất tham gia phản ứng? Nhiệt độ phải tối ưu như thế nào? Sử dụng dung môi hợp lý ra sao? Tất cả những yếu tố đó đều ảnh hưởng tới hiệu suất của phản ứng. Xuất phát từ nhu cầu thực tiễn phát triển nguồn nguyên liệu thiết yếu trong nước.

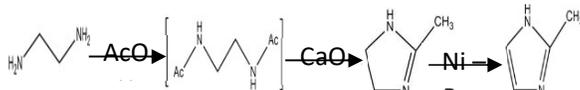
Bài báo này là kết quả nghiên cứu tổng hợp tiền chất 2-methyl-1H-imidazole để sản xuất thuốc kháng sinh Metronidazole, đã đưa ra một hướng mới trong việc tổng hợp tiền chất 2-methyl-1H-imidazole dùng để sản xuất thuốc kháng sinh Metronidazole, áp dụng trong việc điều trị các bệnh nhiễm khuẩn.

Kết quả nghiên cứu là cơ sở khoa học cho việc áp dụng vào thực tiễn các quá trình công nghệ sản xuất, với mong muốn góp phần tự phát triển nguồn nguyên liệu dược tại Việt Nam.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Hóa chất và thiết bị

Hoá chất được sử dụng của hãng Merck của Đức gồm: Ethylenediamin $C_2H_8N_2$, Acid acetic CH_3COOH (AcOH), Canxiocide CaO , Etyl acetat khan $CH_3COOC_2H_5$, Ni-Raney, Etanol, Than hoạt tính, 2- methylimidazole, H_2SO_4 đặc, HNO_3 , Na_2SO_4 , chlorohydrin ethylene, dung dịch NaOH, chloroform, ethyl acetate đều có độ tinh khiết 99,9%, bình cầu 3 cổ 500ml, 1lit, bản mỏng silica gel F254 Merck. Hệ thiết bị sắc ký lỏng LC-MSD-Trap-SL Agilen 1100 của Đức. Hệ thống thiết bị cộng hưởng từ hạt nhân NMR Bruker AVANCE 500 MHz, của Thụy sỹ.

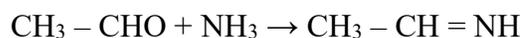


Máy đo điểm nóng chảy Buechi-Melting Point B540 của Đức.

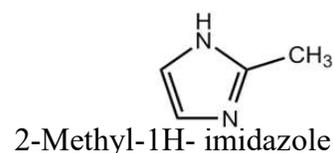
Máy đo phổ tử ngoại với cuvet thạch anh 1cm của hãng Hitachi Nhật Bản; Máy đo phổ UV – VIS của Heidelberg Đức.

2.2. Tổng hợp 2-Methyl-1H-imidazole

Tổng hợp 2-methyl-1H-imidazole, phản ứng được thực hiện với acetaldehyde và glyoxal trong amoniac theo quy trình Debus – Radziszewski:



Glyoxal



Hiệu suất của phương pháp này thấp, nhưng có ưu điểm là chỉ cần thiết bị đơn giản, điều kiện tiến hành phản ứng tương đối êm dịu, phù hợp với quy mô Pilot vừa và nhỏ, do đó phương pháp Debus - Radziszewski vẫn được sử dụng rộng rãi để tổng hợp các tiền chất và chất trung gian alkylimidazole, không thường xuyên, sản xuất không liên tục theo đơn đặt hàng.

Để sản xuất qui mô công nghiệp thì người ta bắt đầu từ ethylenediamin theo qui trình sau:

Quy trình tổng hợp 2-methyl-1H-imidazole như sau:

Lấy 1,05 mol AcOH cho vào nước lạnh và khuấy trộn với 0,5 mol ethylenediamin. Hỗn hợp được đun nóng và tách nước, tiếp tục tăng nhiệt độ đến

240°C, trong khoảng thời gian 30 – 40 phút cho đến khi nước thôi tách ra.

Sản phẩm kết tinh thu được là hợp chất N,N' – diacetylenediamin được sử dụng trực tiếp cho giai đoạn tiếp theo, có điểm nóng chảy ở nhiệt độ 176 – 177°C. N,N' – diacetylenediamin sau đó được trộn kỹ với 0,375 mol CaO (tức là tương ứng với 21 gam CaO) vào hỗn hợp và gia nhiệt tới nhiệt độ 220°C, khi đó hợp chất 2-methyl-4,5-dihydroimidazole được hình thành trong khi hỗn hợp tiếp tục sôi. Hợp chất 2-methyl-4,5-dihydroimidazole có điểm sôi là 197 – 200°C. Hỗn hợp được đun sôi hồi lưu trong 2h, rồi hạ nhiệt độ xuống 185 – 190°C.

Tiến hành kết tinh hợp chất 2-methyl-4,5-dihydroimidazole trong dung môi etyl acetat khan. Thu được 39,43 gam sản phẩm, hiệu suất của 2-methyl-4,5 dihydroimidazole đạt tới 95%, điểm chảy là 170 – 172°C và có thể dùng cho phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế.

Cho 2-methyl-4,5-dihydroimidazole tinh khiết và bột Ni-Raney ẩm vào bình phản ứng, hỗn hợp được gia nhiệt nhanh đến nhiệt độ 170 – 175°C dưới sinh hàn hồi lưu không khí lạnh, khi đó khí H₂ bắt đầu bay hơi nhanh chóng.

Tiếp tục gia nhiệt hỗn hợp đạt 220°C. Ở nhiệt độ này không còn khí H₂ bay hơi nữa. thời gian tiến hành phản ứng trong khoảng 60 – 90 phút.

Hỗn hợp sau đó được làm lạnh đến nhiệt độ 40 – 50°C, thêm 50 – 100 ml etanol và 0,5 gam than hoạt tính vào hỗn

hợp, đun sôi khoảng 5 – 10 phút rồi tiến hành lọc.

Dung môi được làm bay hơi bằng chung cất chân không, rồi được kết tinh làm khô ở nhiệt độ 40 – 50°C.

Hiệu suất đạt 93 – 96% tính theo lượng hợp chất 2-methyl-1H-imidazole có điểm nóng chảy ở nhiệt độ 139 – 142°C.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tổng hợp 2-methyl-1H-imidazole từ ethylenediamin

Cho CH₃COOH phản ứng với etylen diamin. Mục đích là để hạn chế tối đa việc bay hơi mất acid axetic, rồi tiến hành tăng nhiệt độ lên đến 220 – 240°C.

Sử dụng chất xúc tác là CaO để tiến hành thực hiện phản ứng vòng hóa, việc trộn 2-methyl-4,5 dihydroimidazole và CaO đã làm giảm đáng kể nhiệt độ nóng chảy của 2-methyl-4,5 dihydroimidazole và làm giảm nhiệt độ của phản ứng, tạo điều kiện cho phản ứng diễn ra thuận lợi dễ dàng hơn.

Tiến hành phân tích hàm lượng và cấu trúc của sản phẩm sau phản ứng, sử dụng đồng thời các phương pháp phân tích như: phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR, phân tích khối phổ MS, phổ hấp thụ hồng ngoại IR và phổ hấp thụ phân tử UV-Vis cho thấy:

Cấu trúc phân tử của sản phẩm phản ứng đã được làm rõ bằng phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR cho thấy đầy đủ tín hiệu proton cũng như các nguyên tử cacbon trong phân tử được thể hiện trên hình 1 và 2.

Hình ảnh trên phổ đồ cho thấy các tín hiệu đặc trưng của các nhóm chức trong phân tử. Trong phân tử của 2-methyl-1H-imidazole có một nhóm CH₃, nhóm này cho tín hiệu ở (C-13,74; 3H-2,303ppm), đây là tín hiệu đặc trưng cho dao động hóa trị của nhóm chức này.

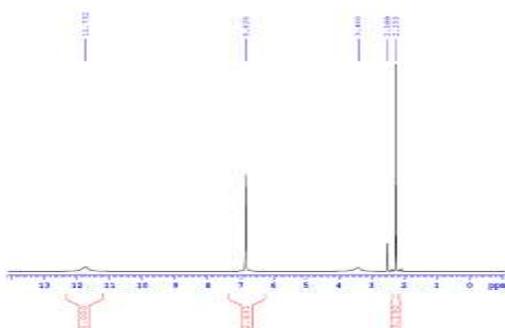
Nhóm NH cho tín hiệu ở (1H-12,93ppm). Ngoài ra trên phổ đồ còn xuất hiện đầy đủ các tín hiệu đặc trưng cho dao động hóa trị cũng như dao động biến dạng của các liên kết khác trong phân tử của chất như C – N, C = N, C – C.

Kết quả phân tích phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR:

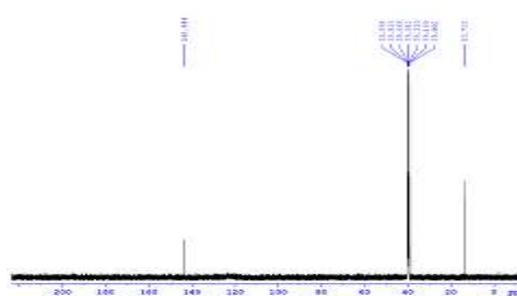
¹H-NMR (500MHz; DMSO-d₆); δ(ppm): 11,73 s (1H, H-1); 6,83 t (2H, H-4); 6,83 t (2H, H-5); 2,25 d (3H, CH₃-C-2).

¹³C-NMR (500MHz; DMSO-d₆); δ(ppm): 143,44 s (C-2); 39,99 t (C-4); 39,83 t (C-5); 13,73 d (CH₃).

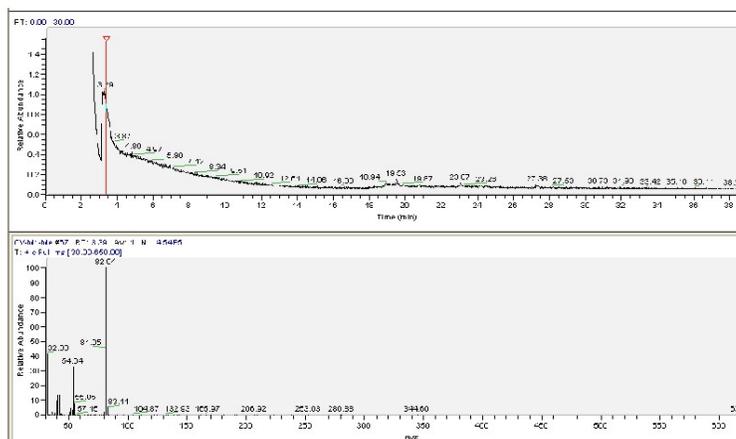
Từ kết quả phân tích cho thấy 2-methyl-1H-imidazol tổng hợp hoàn toàn phù hợp với cấu trúc dự đoán.



Hình 1. Phổ ¹H NMR của 2-methyl-1H-imidazole



Hình 2. Phổ ¹³C NMR của 2-methyl-1H-imidazole

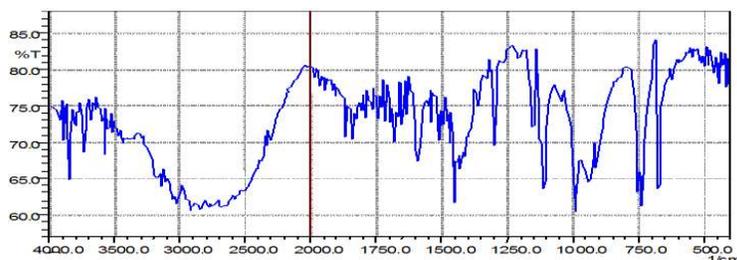


Hình 3. Phổ MS của 2-methyl- 1H-imidazole

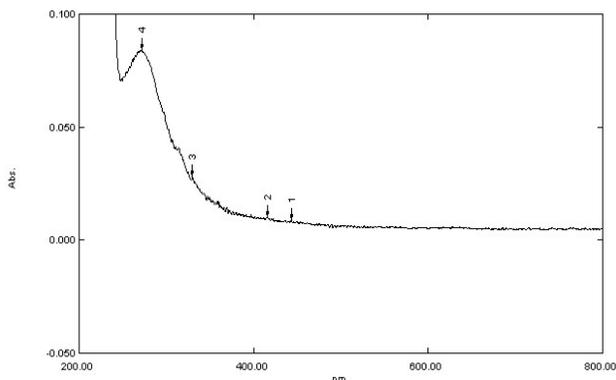
Tiến hành đo khối phổ MS trên máy Quatro micro TM API. Dựa vào phổ MS thu được, ta thấy khối lượng phân tử của 2-methyl-1H-imidazol là 82,04 phù hợp với cấu trúc dự đoán là C₄H₆N₂ được thể

hiện trên hình 3. Quét phổ hấp thụ hồng ngoại và phổ UV-Vis của 2-methyl-1H-imidazol mẫu chuẩn và mẫu tổng hợp trong vùng bước sóng 200 – 800nm cho thấy:

Bước sóng hấp thụ cực đại của 2-methyl-1H-imidazol là $\lambda_{\max} = 268,5\text{nm}$ được thể hiện trên hình 4 và 5.



Hình 4. Phổ hấp thụ hồng ngoại IR của hợp chất



Hình 5. Phổ UV – VIS của hợp chất 2-methyl-1H-imidazole

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ tới hiệu suất phản ứng

Tiến hành phản ứng ở khoảng nhiệt độ 200 – 260°C.

Kết quả nghiên cứu được thể hiện trên bảng 1 cho thấy:

Khi nhiệt độ thấp hơn 210°C và lớn hơn 220°C thì hiệu suất phản ứng đạt được đều thấp.

Khi thực hiện phản ứng ở khoảng nhiệt độ từ 210 – 220°C thì hiệu suất phản ứng là cao nhất, đạt tới gần 96%.

Khi nhiệt độ phản ứng cao hơn 250°C sẽ xảy ra quá trình oxi hóa ethylendiamin làm mất nitơ, nên hiệu suất của phản ứng giảm.

Bảng 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất của phản ứng tổng hợp 2-methyl-1H-imidazole

Nhiệt độ phản ứng (°C)	Hiệu suất phản ứng (%)
200 – 210	61,23
210 – 220	95,89
220 – 230	86,78
230 – 240	75,17
240 – 250	68,14

Vậy nhiệt độ tối ưu cho quá trình tổng hợp 2-methyl-1H-imidazole là 210 – 220°C và luôn duy trì ở nhiệt độ này trong các nghiên cứu tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ nồng độ các chất tham gia phản ứng tới hiệu suất phản ứng

Tiến hành nghiên cứu tỷ lệ nồng độ các chất tham gia phản ứng ethylenediamin / acid acetic ảnh hưởng đến hiệu suất phản ứng. Kết quả nghiên cứu được thể hiện trên bảng 2 cho thấy:

Bảng 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ nồng độ ethylenediamin / acid acetic đến hiệu suất quá trình tổng hợp 2-methyl-1H-imidazole

Tỷ lệ ethylenediamin / acid acetic	Hiệu suất phản ứng (%)
1 – 1,0	78,32
1 – 1,5	80,58
1 – 2,0	88,65
1 – 2,5	90,38
1 – 3,0	94,86
1 – 3,5	86,29
1 – 4,0	74,83

Tiến hành thay đổi tỷ lệ ethylenediamin / acid acetic nhận thấy rằng:

Khi tỷ lệ acid acetic tăng lên thì hiệu suất của phản ứng cũng tăng lên, nhưng khi tăng tỷ lệ acid acetic cao hơn nữa thì hiệu suất của phản ứng tổng hợp 2-methyl-1H-imidazole giảm đi.

Nguyên nhân là khi nồng độ acid acetic càng tăng lên, làm cản trở sự va chạm có hiệu quả giữa các phân tử ethylenediamin với các phân tử acid acetic để tạo thành sản phẩm là hợp chất 2-methyl-1H-imidazole, dẫn tới hiệu suất của phản ứng giảm dần.

Hiệu suất phản ứng tổng hợp 2-methyl-1H-imidazole đạt hiệu quả cao nhất khi tỷ lệ giữa ethylenediamin / acid

acetic bằng 1/3, lúc này hiệu suất tổng hợp đạt tới gần 95%.

Vậy tỷ lệ tối ưu giữa ethylenediamin / acid acetic cho quá trình tổng hợp 2-methyl-1H-imidazole là 1/3 và luôn duy trì tỷ lệ này trong các nghiên cứu tiếp theo.

3.3. Ảnh hưởng của dung môi kết tinh tới hiệu suất phản ứng

Tiến hành kết tinh 2-methyl-1H-imidazole với các dung môi khác nhau. Kết quả nghiên cứu được thể hiện trên bảng 3 cho thấy:

Hiệu suất kết tinh cao nhất với dung môi ethyl acetat đạt tới 95%, sản phẩm không cần phải tinh chế cho bước tiếp theo.

Bảng 3. Ảnh hưởng của dung môi kết tinh đến hiệu suất của phản ứng tổng hợp 2-methyl-1H-imidazole

Dung môi kết tinh	Hiệu suất phản ứng (%)
Etanol	78,27
Etyl axetat	94,75
Dicloetan	66,23

Ở dung môi dichloetan thì thời gian kết tinh kéo dài và hiệu suất sản phẩm thu được thấp. Còn với dung môi là etanol, sản phẩm kết tinh có nhiều tạp và cần phải tinh chế cho phản ứng tiếp theo nên hiệu suất thực tế thấp và còn gây lãng phí dung môi tinh chế.

Vậy dung môi kết tinh tối ưu cho quá trình tổng hợp 2-methyl-1H-imidazole là Etyl acetat.

4. KẾT LUẬN

Đã tổng hợp được tiền chất 2-methyl-1H-imidazole từ ethylenediamin ở nhiệt độ phản ứng 210 – 220°C.

Tỷ lệ tối ưu giữa ethyldiamin / acid acetic cho quá trình tổng hợp 2-methyl-1H-imidazole là 1/3.

Dung môi kết tinh tối ưu cho quá trình tổng hợp 2-methyl-1H-imidazole là Etyl acetat, cho sản phẩm không cần phải tinh chế cho bước tiếp theo.

Đã phân tích sản phẩm bằng các phương pháp vật lý hiện đại như: sắc ký hiệu năng cao HPLC, phương pháp phân tích khối phổ MS, phương pháp cộng

hưởng từ hạt nhân NMR; phương pháp phổ hấp thụ hồng ngoại IR và phương pháp phổ hấp thụ phân tử UV-Vis. Kết quả phân tích cho thấy sản phẩm có cấu trúc phù hợp với công thức cấu tạo hoá học.

Kết quả nghiên cứu là cơ sở khoa học để tổng hợp thuốc kháng sinh metronidazole tại Việt Nam chủ động được nguồn nguyên liệu dược để sản xuất thuốc kháng sinh chữa bệnh bảo vệ sức khoẻ cộng đồng.

TÀI LIỆU TRÍCH DẪN

- [1] Lê Văn Huỳnh (2019), *Giáo trình Hoá học Hữu cơ*, NXB KHTN&CN, Viện Hàn Lâm KH&CN Việt Nam.
- [2] Lexi-Comp (2009), *Metronidazole Drug Information Provided by Lexi-Comp*, Merck Manuals Medical Library.
- [3] Pradeep AR, Kumari M, Priyanka N, Naik SB. (2012), *Efficacy of chlorhexidine, metronidazole and combination gel in the treatment of gingivitis--a randomized clinical trial*. J Int Acad Periodontol, 4(4), 91-6. PubMed.
- [4] Trindade LC, Biondo-Simões Mde L, Sampaio CP, Farias RE, Pierin RJ, Netto MC. (2010), "Evaluation of topical metronidazole in the healing wounds process: an experimental study", Rev Col Bras Cir, 37(5):358 – 363, PubMed.
- [5] Edwards, DI. (2014), "Nitroimidazole drugs--action and resistance mechanisms", Journal Antimicrobial.
- [6] Pattanayak P, Kaliyaperumal S. Design (2022), "synthesis, characterization and in vitro antimicrobial and anthelmintic evaluation of metronidazole derivatives modified at position 1", Pharmaceutical Chemistry Journal 56:191–196.
- [7] Muller M., Lindmark D. G., McLaughlin J. (1979), "Mode of action of metronidazole on anaerobic microorganisms, Metronidazole. Proceedings of the 2nd international symposium on anaerobic infection". Geneva, April, pp. 221-8.