

NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP THUỐC KHÁNG SINH METRONIDAZOLE

Lê Văn Huỳnh¹, Phùng Thị Linh Giang¹, Đỗ Thị Hậu¹¹Trường Đại học Thành Đông

*Tác giả liên hệ: lehuyhnh1058@gmail.com

TÓM TẮT

Metronidazole là chất kháng sinh có khả năng chống nhiễm khuẩn đường ruột rất hiệu quả. Từ rất lâu metronidazole đã được đưa vào sử dụng làm thuốc để điều trị các bệnh nhiễm khuẩn amip, vi khuẩn HP gây bệnh viêm loét dạ dày, tá tràng và là nguy cơ dẫn tới ung thư dạ dày. Để tổng hợp thuốc kháng sinh metronidazole bắt đầu từ hai tiền chất 2-methyl-1H-imidazole và 2-methyl-5-nitro-imidazole. Bài báo này nghiên cứu tổng hợp thuốc kháng sinh Metronidazole để điều trị các bệnh nhiễm khuẩn đường tiêu hoá. Đã xác định các điều kiện tối ưu cho quá trình tổng hợp Metronidazole: Tỷ lệ số mol giữa 2-methyl-5-nitroimidazole và ethylen chlorhydrin là 1/10. Nhiệt độ 128 – 130oC. pH = 9 – 9,5. Thời gian 18h. Hiệu suất đạt 42,7%. Kết quả nghiên cứu sẽ là cơ sở khoa học cho việc áp dụng vào các quá trình công nghệ sản xuất, chủ động phát triển nguồn dược liệu tại Việt Nam.

Từ khoá: Metronidazole, thuốc kháng sinh.

RESEARCH ON SYNTHESIS OF METRONIDAZOLE ANTIBIOTICS

ABSTRACT

Metronidazole is an antibiotic that is very effective against intestinal infections. For a long time, metronidazole has been used as a medicine to treat amoeba infections, HP bacteria that cause stomach and duodenal ulcers and are a risk of stomach cancer. To synthesize the antibiotic metronidazole, starting from two precursors 2-methyl-1H-imidazole and 2-methyl-5-nitro-imidazole. This article studies the synthesis of the antibiotic Metronidazole to treat gastrointestinal infections. The optimal conditions for the synthesis of Metronidazole have been determined: The molar ratio between 2-methyl-5-nitroimidazole and ethylene chlorhydrin is 1/10. Temperature 128 – 130oC. pH = 9 – 9.5. Time 18 h. Efficiency reached 42.7%. The research results will be the scientific basis for applying to production technology processes and proactively developing medicinal resources in Vietnam.

Keywords: Antibiotics, metronidazole.

Ngày nhận bài: 25/10/2024 Ngày nhận bài sửa: 25/11/2024 Ngày duyệt bài đăng: 06/12/2024

1. PHẦN MỞ ĐẦU

Metronidazole là hoạt chất có khả năng chống các vi khuẩn yếm khí. Từ lâu metronidazole đã được đưa vào sử dụng làm thuốc để điều trị các bệnh nhiễm khuẩn do virus, amip, vi khuẩn HP gây bệnh viêm loét dạ dày tá tràng và là nguy cơ dẫn tới ung thư dạ dày (Lê Văn Huỳnh, 2019; Lexi-Comp, 2009).

Ở Việt Nam, các bệnh nhiễm khuẩn do nhiễm trùng, ký sinh trùng chiếm khoảng 25% số ca bệnh. Bệnh do amip phổ biến ở các vùng khí hậu nhiệt đới, nơi có điều kiện vệ sinh kém

có thể gây ra các đại dịch nguy hiểm. 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 ký sinh trùng rất lớn, nhưng nhóm thuốc hiện có ở Việt Nam đều là thuốc ngoại nhập (Muller, 2006; Pradeep & cộng sự, 2012).

Nghiên cứu tổng hợp metronidazole mang tính cấp thiết, góp phần chủ động sản xuất thuốc trong nước để điều trị các bệnh nhiễm

khủng. 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. Việc nghiên cứu sản xuất thuốc trong nước là hết sức cấp thiết (Trindade & cộng sự, 2010).

Nghiên cứu quy trình tổng hợp metronidazole và các kháng sinh dòng imidazole là phù hợp với điều kiện trang thiết bị trong nước và có khả năng triển khai ở qui mô pilot. Cần có những nghiên cứu cải tiến qui trình của nước ngoài, nhằm sử dụng các nguyên liệu một cách hợp lý.

Metronidazole là thuốc kháng sinh diệt vi khuẩn rất hiệu quả, với chi phí điều trị thấp đáp ứng được yêu cầu của rất nhiều người bệnh, nếu không có Metronidazole thì tốc độ tử vong sẽ cao.

Bài báo nghiên cứu tổng hợp thuốc kháng sinh Metronidazole và đưa ra một hướng mới trong việc tự chủ sản xuất thuốc kháng sinh trong nước. Kết quả nghiên cứu sẽ là cơ sở khoa học cho việc áp dụng vào các quá trình công nghệ sản xuất.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Hóa chất và thiết bị

Hoá chất gồm: Dung dịch NaOH có tỷ khối 1,33, hợp chất 2-methyl-5-nitroimidazole, than hoạt tính, ethyl acetate, chloroform, chlorohydrin ethylene đều của Merck, Đức.

Hệ thống thiết bị sắc ký lỏng HPLC MSD-Trap-SL Agilen 1100 của Đức.

Hệ thống thiết bị cộng hưởng từ hạt nhân NMR Bruker AVANCE 500 MHz, của Thụy sỹ.

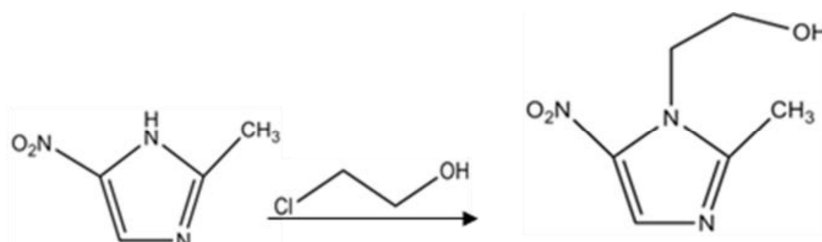
Máy đo điểm nóng chảy Buechi-Melting Point B540 của Đức.

Máy đo phổ UV – VIS của Heidelberg Đức.

2.2. Qui trình tổng hợp Metronidazole

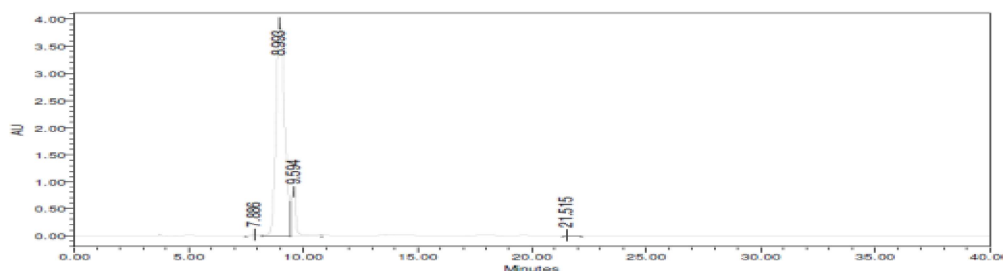
Thực nghiệm được tiến hành tại Phòng thí nghiệm trọng điểm Quốc Gia, Viện hoá học công nghiệp Việt Nam, số 2 Phạm Ngũ Lão, Hà Nội thể hiện trên Hình 1.

Nhóm nghiên cứu lựa chọn qui trình tổng hợp Metronidazole từ 2-methyl-5-nitroimidazole tác dụng với chlorohydrin ethylene theo phương trình phản ứng sau:



Hình 1. Thiết bị dùng để tổng hợp thuốc kháng sinh Metronidazole

Nguồn: Nhóm tác giả sưu tầm



Hình 2. Sắc kí đồ HPLC của metronidazole

Nguồn: Phòng thí nghiệm, viện hoá học công nghiệp Việt Nam

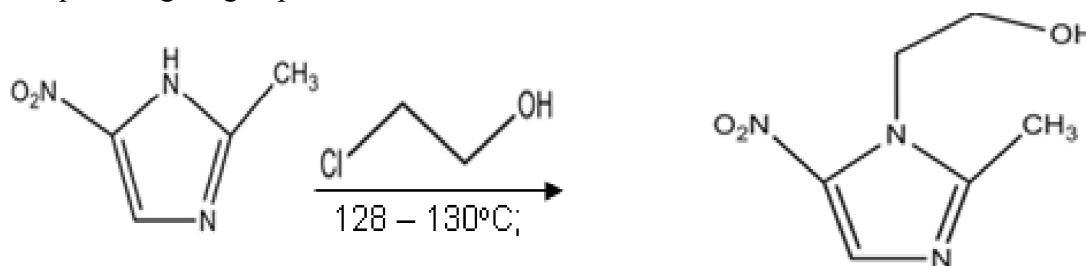
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Phản ứng tổng hợp:

3.1. Tổng hợp Metronidazole



Sơ đồ phản ứng tổng hợp:



Quy trình tổng hợp như sau:

Lấy 127gam 2-Methyl-5-nitroimidazole được đun nóng với 795gam chlohydrin ethylen trong 18 giờ ở nhiệt độ 128 – 130°C và 660gam chlorohydrin dư sau đó được chưng cất tách loại ở áp suất thấp 30mmHg. Phần còn lại được chiết với nước cất 3 lần (300ml).

Lọc thu riêng phần dịch nước và phần cặn. Kiểm hóa dịch lọc bằng 100ml dung dịch NaOH có $d = 1,33$ đến $pH = 10$. Chiết dịch kiểm với chloroform 3 lần, mỗi lần 300ml.

Gộp dịch chiết chloroform và cô loại chloroform ở áp suất thấp, thu được 77gam khối bột nhão.

Hòa tan hoàn toàn 77gam bột nhão trong 450ml thể tích tối thiểu ethyl acetat với sự có mặt của than hoạt tính.

Để lắng ở nhiệt độ phòng trong 48h trong bóng tối. Tiến hành lọc rửa tinh thể bằng ethyl

Nhóm OH trong phân tử cho tín hiệu ở (1H-7,95ppm). 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

acetat thu được 24 gam tinh thể metronidazole màu kem, nóng chảy ở nhiệt độ 158°C – 160°C.

Để phân tích hàm lượng và cấu trúc của sản phẩm sau phản ứng, tiến hành sử dụng đồng thời các phương pháp phân tích sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC.

Kết quả phân tích bằng HPLC được thể hiện trên Hình 2 cho thấy: có 1 pic chính, thời gian lưu 8,993 phút chính là sản phẩm metronidazole, chiếm tới hơn 98,5%.

Sản phẩm metronidazole có độ sạch 98,5% hấp phụ cực đại ở bước sóng 283nm.

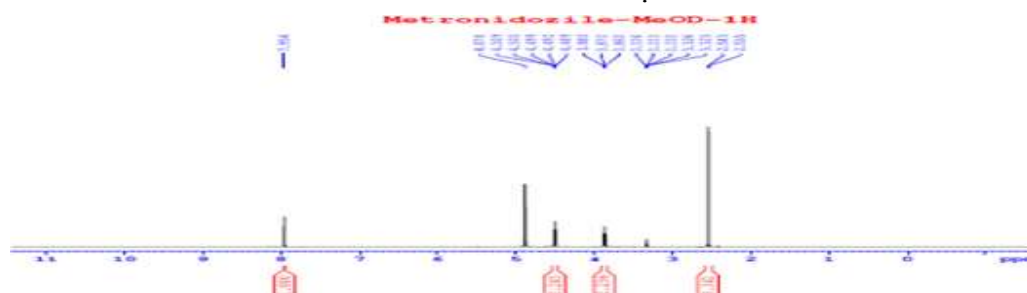
Nghiên cứu bằng phương pháp cộng hưởng ứng từ hạt nhân NMR. Trên phổ đồ cho thấy các tín hiệu đặc trưng của các nhóm chức trong phân tử như sau:

Trong phân tử của Metronidazole có một nhóm CH₃, nhóm này cho tín hiệu ở (C-14,28; 3H-2,54) ppm, đây là tín hiệu đặc trưng cho dao động hóa trị của nhóm chức này.

liên kết khác trong phân tử của chất (NO₂; C – N; C = N; C = C).

Phân tích bằng phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR cho thấy:

Phổ $^1\text{H-NMR}$ (500MHz; DMSO- d_6); δ (ppm): 7,95 s (1H, H-4); 4,48 t (2H, H-6); 3,87 t (2H, H-7); 2,54 s (3H, CH₃ - C-2) được thể hiện trên Hình 3.



Hình 3. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của Metronidazole

Nguồn: Phòng thí nghiệm, viện hoá học công nghiệp Việt Nam

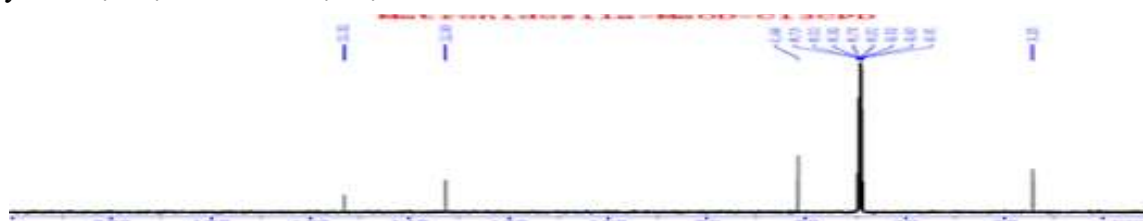
Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (500MHz; DMSO- d_6); δ (ppm): 153,08 s (C-2); 132,55 s (C-5); 49,71 t (C-6); 61,62 t (C-7); 14,28 q (CH₃) được thể hiện trên hình 4.

Sử dụng máy đo điểm chảy Buechi-Melting Point B540 để đo điểm chảy của sản phẩm metronidazole đã tổng hợp.

Lấy mẫu hạt tinh thể metronidazole, hàn kín một đầu capilar rồi đặt vào máy đo điểm chảy đã được đặt trước ở nhiệt độ 100°C.

Tiến hành gia nhiệt theo chế độ rồi quan sát cho thấy: Trong khoảng nhiệt độ 100 – 150°C không quan sát thấy tinh thể metronidazole có biến đổi.

Khi nhiệt độ tăng lên từ 150°C thì tinh thể ngả dần sang màu vàng nhạt và ở nhiệt độ 158 – 160°C, tinh thể hóa lỏng màu vàng sẫm. Như vậy, chứng tỏ hợp chất metronidazole có điểm chảy ở nhiệt độ 158 – 160°C.



Hình 4. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của Metronidazole

Nguồn: Phòng thí nghiệm, viện hoá học công nghiệp Việt Nam

3.2. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng

3.2.1. Tỷ lệ giữa 2-methyl-5-nitro-imidazole và ethylen chlorohydrin

Cố định nhiệt độ trong khoảng 128 – 130°C và pH của môi trường trong khoảng 9 – 9,5, nhưng khảo sát tỷ lệ 2-methyl-5-nitro-imidazole /ethylen chlorohydrin ảnh hưởng đến hiệu suất phản ứng tổng hợp metronidazole. Kết quả nghiên cứu được thể

hiện trên bảng 3.1 cho thấy: Hiệu suất phản ứng cao nhất khi tỷ lệ là 1/10 và lượng 2-methyl-5-nitro-imidazole dư là ít nhất.

Khi tỷ lệ thấp hiệu suất phản ứng không cao, lượng chất tham gia phản ứng dư nhiều và hiệu quả thu hồi thấp gây lãng phí. Khi tăng tỷ lệ này lên cao hơn thì hiệu suất của phản ứng có tăng nhưng không đáng kể, gây lãng phí dung môi.

Bảng 1. Tỷ lệ 2-methyl-5-nitro-imidazole/ethylen chlorohydrin đến hiệu suất phản ứng

2-methyl-5-nitro-imidazole/ ethylen chlorohydrin	Hiệu suất (%)
1 : 3	16,3

2-methyl-5-nitro-imidazole/ ethylen chlorohydrin	Hiệu suất (%)
1 : 5	31,5
1 : 10	42,9
1 : 15	43,1

Nguồn: Nhóm tác giả tính toán

Như vậy, tỷ lệ giữa 2-methyl-5-nitro-imidazole và ethylen chlorohydrin tối ưu là 1 : 10. Hiệu suất của phản ứng đạt được 42,9%

3.2.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Cố định pH của môi trường trong khoảng 9 – 9,5 và tỷ lệ 2-methyl-5-nitro-imidazole / ethylen chlorohydrin là 1/10, nhưng khảo sát nhiệt độ của phản ứng trong khoảng 40 – 150°C ảnh hưởng đến hiệu suất phản ứng tổng hợp metronidazole.

Kết quả nghiên cứu ở những khoảng nhiệt độ khác nhau được thể hiện trên Bảng 3.2 cho thấy:

Khi nhiệt độ tăng thì hiệu suất phản ứng cũng tăng. Khi nhiệt độ còn thấp thì hiệu suất phản ứng tăng chậm, chỉ đạt 31,4%. Ở nhiệt độ sôi của nước hiệu suất của phản ứng chỉ đạt 40,3%.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất phản ứng

Nhiệt độ phản ứng (°C)	Hiệu suất phản ứng (%)
60 – 70	31,4
90 – 100	40,3
128 – 130	42,7
135 – 140	41,9

Nguồn: Nhóm tác giả tính toán

Khi nhiệt càng tăng thì hiệu suất của phản ứng cũng tăng theo. Khi nhiệt độ đạt trong khoảng 128 – 130, hiệu suất phản ứng đạt cao nhất 42,7%.

Khi nhiệt độ của phản ứng lớn hơn 130°C thì hiệu suất lại giảm, có thể ở khoảng nhiệt độ này bắt đầu có sự phân huỷ hợp chất hữu cơ.

Như vậy, hiệu suất phản ứng đạt cao nhất 42,7% khi nhiệt độ của phản ứng trong khoảng nhiệt độ 128 – 130. Tức là ở nhiệt độ hồi lưu của ethylen chlorohydrin.

3.2.3. Ảnh hưởng của môi trường pH

Cố định nhiệt độ của phản ứng trong khoảng 128 – 130°C và tỷ lệ của 2-methyl-5-nitro-imidazole / ethylen chlorohydrin là 1/10. Khảo sát pH của môi trường phản ứng sẽ ảnh

hưởng như thế nào đến hiệu suất phản ứng tổng hợp metronidazole. Kết quả nghiên cứu được thể hiện trên bảng 3.3 cho thấy:

Khi pH môi trường phản ứng còn thấp thì hiệu suất phản ứng đạt được còn thấp.

Khi pH > 10 thì hiệu suất của phản ứng giảm nhanh. Nguyên nhân là do xảy ra phản ứng thủy phân.

Khi pH = 9 – 9,5 thì hiệu suất của phản ứng đạt giá trị cao nhất 41,3%.

Khi pH còn thấp thì phản ứng thủy phân xảy ra chưa hoàn toàn, nên lượng chất dư còn nhiều và hiệu suất thu hồi thấp,

Khi tăng pH của môi trường phản ứng quá cao thì xảy ra hiện tượng thủy phân ngược, làm giảm hiệu suất của quá trình phản ứng.

Bảng 3. Khảo sát môi trường pH của phản ứng tạo sản phẩm

pH	Hiệu suất phản ứng (%)
8	22,7
9 – 9,5	41,3

pH	Hiệu suất phản ứng (%)
10	41,1
> 10	22,6

Nguồn: Nhóm tác giả tính toán

Vậy pH của môi trường phản ứng tối ưu để phản ứng tạo Metronidazole trong khoảng 9 – 9,5 đạt hiệu suất 41,3%.

Kết quả khảo sát các thông số đã tìm ra các thông số tối ưu cho phản ứng tổng hợp metronidazole như sau:

+ Tỷ lệ mol giữa 2-methyl-5-nitroimidazole và ethylen chlorhydrin là 1/10.

+ Nhiệt độ tối ưu là 128 – 130°C. pH môi trường tối ưu trong khoảng 9 – 9,5.

+ Thời gian phản ứng là 18h.

Quy trình tổng hợp metronidazole với các thông số tối ưu đạt hiệu suất 42,7%. Tinh thể màu kem.

3.3. Tinh chế metronidazole

Hòa tan hoàn toàn metronidazole thô ở dạng bột nhão trong thể tích tối thiểu etyl axetat với sự có mặt của than hoạt tính. Để lắng ở nhiệt độ phòng trong khoảng thời gian 48h để trong bóng tối.

Tiến hành lọc rửa tinh thể bằng ethyl acetat, thu được tinh thể metronidazole màu kem, có điểm nóng chảy ở 158°C – 160°C.

4. KẾT LUẬN

Đã tổng hợp được thuốc kháng sinh Metronidazole từ tiền chất 2-Methyl-5-nitroimidazole với chlohydrin ethylen ở nhiệt độ 128 – 130°C đạt hiệu suất 42,7%.

Đã xác định được các thông số tối ưu cho quá trình tổng hợp Metronidazole:

Tỷ mol giữa 2-methyl-5-nitroimidazole và ethylen chlorhydrin là 1/10.

Nhiệt độ tối ưu là 128 – 130°C.

pH môi trường trong khoảng 9 – 9,5.

Thời gian phản ứng là 18h.

Quy trình tổng hợp metronidazole với các thông số tối ưu đạt hiệu suất 42,7%. Tinh thể màu kem.

Đã phân tích các sản phẩm bằng các phương pháp hiện đại như sắc ký hiệu năng cao HPLC, phân tích khối phổ MS, cộng hưởng từ hạt nhân NMR và 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 C₆H₉N₃O₃.

Kết quả nghiên cứu là cơ sở khoa học để tổng hợp thuốc kháng sinh metronidazole tại Việt Nam chủ động được nguồn thuốc bảo vệ sức khoẻ của cộng đồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Lexi-Comp (2009). *Metronidazole Drug Information Provided by Lexi-Comp*. Merck Manuals Medical Library.
- Lê Văn Huỳnh (2019). *Giáo trình Hoá học Hữu cơ*. Hà Nội: NXB Khoa học Tự nhiên và Công nghệ.
- Muller, M. (2006). Reductive activation of nitroimidazoles in anaerobic microorganisms. *Biochemical Pharmacology*, 35(1), 37-41.
- Pradeep, A. R., Kumari, M., Priyanka, N., & Naik, S. B. (2012). Efficacy of chlorhexidine, metronidazole and combination gel in the treatment of gingivitis--a randomized clinical trial. *International Academy of Periodontology*, 4(4), 91-96.
- Trindade, L. C., Biondo-Simoes, M. L., Sampaio, C. P., Farias, R. E., Pierin, R. J., & Netto, M. C. (2010). Evaluation of topical metronidazole in the healing wounds process: an experimental study. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, 37(5), 358-363.