

Nghiên cứu tổng hợp (S)-clopidogrel bisulfat từ DL-2-clorophenyl glycin

Phan Thị Trang*, Nguyễn Thị Thu Trang, Nguyễn Văn Tài

Viện Dược liệu

Ngày nhận bài 15/12/2015, ngày chuyển phản biện 17/12/2015, ngày nhận phản biện 18/1/2016, ngày chấp nhận đăng 21/1/2016

(S)-clopidogrel bisulfat là thuốc kháng tiểu cầu thuộc nhóm thienopyridin, được sử dụng để ngăn ngừa hiện tượng máu đông ở bệnh động mạch vành, bệnh mạch máu ngoại biên, bệnh tai biến mạch máu não và nhồi máu cơ tim. Nhóm tác giả đã tổng hợp thành công (S)-clopidogrel bisulfat theo 5 bước đi từ nguyên liệu thương mại DL-2-clorophenyl glycin.

Từ khóa: DL-2-clorophenyl glycin, (S)-clopidogrel bisulfat, thienopyridin.

Chỉ số phân loại 3.4

Study on synthesis of (S)-clopidogrel bisulfate from DL-2-chlorophenyl glycin

Summary

(S)-clopidogrel bisulfate, a thienopyridine-class antiplatelet agent, is used to inhibit blood clots in coronary artery disease, peripheral vascular disease, cerebrovascular disease, and to prevent myocardial infarction. The authors have successfully synthesised (S)-clopidogrel bisulfate in five steps from commercial DL-2-chlorophenyl glycin.

Keywords: DL-2-chlorophenyl glycin, (S)-clopidogrel bisulfate, thienopyridine.

Classification number 3.4

Đặt vấn đề

Theo Tổ chức Y tế thế giới, cứ 2 giây có một người chết vì bệnh tim mạch, cứ 5 giây có một trường hợp bị nhồi máu cơ tim và 6 giây lại có một trường hợp đột quỵ. Tại châu Âu, bệnh tim mạch là nguyên nhân gây tử vong cho hơn 17,5 triệu ca, chiếm 30% tổng số ca tử vong mỗi năm và là căn bệnh gây tử vong lớn nhất với 90.000 người tại Hoa Kỳ [1]. Đến năm 2015, trên thế giới có khoảng 20 triệu người chết do bệnh tim mạch và ước tính đến năm 2030 có khoảng 23 triệu người chết vì bị cơn đột quỵ đầu tiên. Tại Việt Nam, số bệnh nhân bị bệnh tim mạch có xu hướng ngày càng tăng nhanh. Hiện trên thị trường có nhiều loại thuốc có tác dụng điều trị bệnh tim mạch, một trong số hoạt chất phổ biến hiện nay là clopidogrel bisulfat, được phân phối bởi Công ty Dược phẩm Sanofi-Synthelabo với tên thương mại Plavix, có giá khá cao.

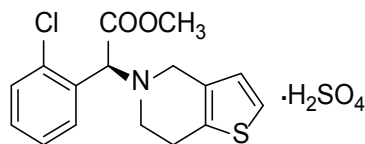
Trên thế giới đã có nhiều quy trình nghiên cứu tổng hợp clopidogrel [2-8]. Tuy nhiên, hầu hết các quy trình này chưa phù hợp với điều kiện trong nước (nguyên liệu hóa dược vẫn phải nhập khẩu với giá cao). Ở nước ta, cho đến nay chưa có một công trình nghiên cứu tổng hợp hoạt chất này. Trong khuôn khổ một đề tài khoa học cấp nhà nước giai đoạn 2011-2015, đây là lần đầu tiên công bố kết quả nghiên cứu tổng hợp (S)-clopidogrel bisulfat đi từ nguyên liệu thương mại DL-2-clorophenyl glycin làm thuốc điều trị bệnh tim với một số cải tiến phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm ở Việt Nam.

Đối tượng, hóa chất và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu

Clopidogrel bisulfat có tên khoa học (S)-(+)-methyl 2-(4,5,6,7-tetrahydrothieno [3,2-c]pyridin-5-yl)-2-(2-chlorophenyl) acetat hydrogensulfat, có công thức phân tử là $C_{16}H_{16}ClNO_2S.H_2SO_4$, ở điều kiện thường là tinh thể màu trắng, nhiệt độ nóng chảy $184 \pm 3^\circ C$, và công thức cấu tạo là:

*Tác giả liên hệ: Tel: 04.38252644



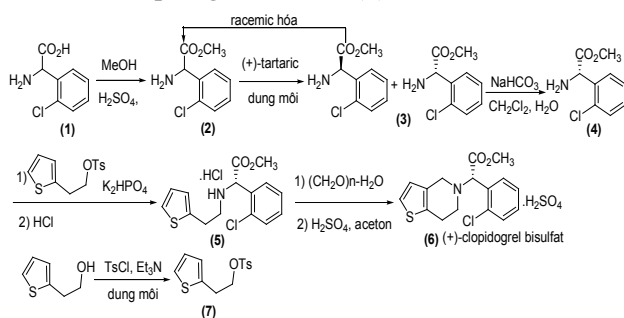
Công thức cấu tạo của (S)-clopidogrel bisulfat

Hóa chất và thiết bị nghiên cứu

Dung môi và hóa chất được cung cấp bởi các hãng: Merck, Fisher, AK Scientific hoặc Trung Quốc, được sử dụng trực tiếp mà không cần tinh chế thêm. Sắc ký lớp mỏng được tiến hành trên bản mỏng silica gel GF₂₅₄ (Merck, 40-63 μ m). Điểm chảy được đo trên máy Stuart SMP3. Phổ cộng hưởng từ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR được đo trên máy Bruker AV500. Phổ hồng ngoại IR được đo trên máy quang phổ hồng ngoại Impact 410 Nicolet. Phổ khối lượng ESI-MS được đo trên máy AutoSpec Premier.

Phương pháp nghiên cứu

Theo Sunil Sadanand Nadkarni và cộng sự [7], để tổng hợp (S)-clopidogrel bisulfat, các tác giả đã thực hiện theo theo *Sơ đồ tổng hợp (S)-clopidogrel bisulfat*. Bằng việc đi từ DL-2-clorophenyl glycin (**1**) là nguyên liệu thương mại có giá thấp, bước 1 là thực hiện phản ứng este hóa với MeOH trong môi trường H_2SO_4 thu được sản phẩm este racemic (**2**). Bước 2 là thực hiện phản ứng tách đồng phân (S)-(+)-2-clorophenyl glycin methyl este bằng việc sử dụng (L)-tartaric thu được sản phẩm (S)-(+)-2-clorophenyl glycin methyl este (L)-tartrat (**3**). Bước 3 thực hiện phản ứng chuyển về dạng base tự do bằng cách sử dụng NaHCO_3 5% trong dung môi DCM thu được sản phẩm (**4**). Bước 4 là thực hiện phản ứng thế $\text{S}_{\text{N}}2$ với thiophen-2-ethanol tosylat đồng thời tạo muối với HCl để tạo thành (S)-methyl 2-(2-(thiophen-2-yl)ethylamino)-2-(2-clorophenyl) acetat hydroclorid (**5**). Bước 5 là thực hiện phản ứng đóng vòng để tạo thành sản phẩm trung gian clopidogrel ở dạng base và tạo muối clopidogrel base với H_2SO_4 để tạo thành clopidogrel bisulfat (**6**).



Sơ đồ tổng hợp (S)-clopidogrel bisulfat

Thực nghiệm

Tổng hợp DL-2-clorophenyl glycin methyl este (2)

Thêm vào bình cầu đáy tròn hai cổ 1 l, chứa DL-2-clorophenyl glycin (**1**; 10,00 g; 53,8 mmol), thêm tiếp 400 ml MeOH và Na_2SO_4 (4,6 g; 32,3 mmol), nhỏ từ từ H_2SO_4 đặc (11,2 ml) vào bình phản ứng. Hỗn hợp được đun hồi lưu trong thời gian 24 h, kết thúc phản ứng. Thêm vào đó dung môi DCM, trung hòa hỗn hợp bằng dung dịch NH_4OH 25% đến pH=8. Chiết sản phẩm với dung môi DCM, pha hữu cơ được làm khan bằng Na_2SO_4 , cô cạn dung môi dưới áp suất giảm, thu được 9,53 g sản phẩm (**2**) ở dạng dầu [7] với hiệu suất thu được là 89,1%.

IR (KBr, ν cm^{-1}): 3383 (NH_2); 2951 (CH_3); 1738 (C=O este); 1593; 1478; 1440 (C=C); 758 ($=\text{CH}$)

ESI-MS: $[\text{M}+23]^+ = 223,99$

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 3,702 (3H, s, CH_3); 5,1 (1H, s, H-7); 7,35 (3H, m, H-4,5,6); 7,37 (1H, m, H-3)

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 52,4 (C-CH_3); 55,9 (C-7); 127,2 (C-5); 128,4 (C-6); 129,1 (C-4); 129,8 (C-3); 133,2 (C-1); 138,0 (C-2); 173,7 (C=O).

Tổng hợp (S)-(+)-2-clorophenyl glycin methyl este (3)

Trong bình cầu đáy tròn hai cổ 2 l, DL-2-clorophenyl glycin methyl este (**2**; 150 g; 746 mmol) được hòa tan bằng 1,5 l MeOH, thêm vào hỗn hợp phản ứng (L)-tartaric (112,78 g; 751 mmol), tiếp tục khuấy hỗn hợp trong thời gian 20 phút để hòa tan hoàn toàn (L)-tartaric. Làm lạnh hỗn hợp về 3-4°C trong 2,5 h, thu được kết tủa màu trắng, lọc hút chân không thu được sản phẩm thô. Kết tinh lại sản phẩm thô trong MeOH thu được 84,05 g muối (S)-(+)-2-clorophenyl glycin methyl este (L)-tartaric (**3**) ở dạng tinh thể màu trắng [6]. Hiệu suất 32%, độ tinh khiết quang học 99,2% (tính theo diện tích HPLC).

T_{nc} : 170-173°C [6]

IR(KBr, ν cm^{-1}): 3484 (OH), 3088 ($=\text{CH}$), 2934 (CH_3), 1756 (C=O este); 1668 (C=O acid), 1524, 1441 (C=C), 1070 (C-O-C)

ESI-MS: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 202,27$

^1H -NMR (500 MHz, D_2O , δ ppm): 3,77 (3H, s, CH_3); 4,44 (2H, s, H-8,9); 5,6 (1H, s, H-7); 7,4 (2H, m, H-4,5); 7,45 (1H, dt, $J = 6,75; 8$ Hz); 7,5 (1H, d, J

= 8 Hz)

^{13}C -NMR (125 MHz, D_2O , δ ppm): 54,1 (CH_3); 54,2 (C-7); 72,9 (C-1', 2'); 128,4 (C-4); 129,0 (C-1); 130,4 (C-5); 130,7 (C-6); 132,3 (C-3); 133,7 (C-2); 169,2 (COCH_3); 176,4 (2x C=O).

Tổng hợp (S)-(+)-2-clorophenyl glycine methyl ester từ (S)-(+)-2-clorophenyl glycine

Trong bình cầu đáy tròn 1 l, có que khuấy từ, (S)-(+)-2-clorophenyl glycine methyl ester (L)-tartrate (**3**, 50 g; 143 mmol) được hòa tan hoàn toàn trong 250 ml H_2O ở nhiệt độ phòng khuấy cho hỗn hợp phản ứng đồng thể, tiếp tục thêm vào đó 250 ml DCM. Hỗn hợp được làm lạnh về nhiệt độ $3-5^\circ\text{C}$, dung dịch NaHCO_3 5% được thêm vào đến khi hỗn hợp phản ứng đạt pH = 7,5-8. Kết thúc phản ứng chiết sản phẩm với dung môi DCM, làm khan pha hữu cơ bằng Na_2SO_4 , cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được 26,5 g sản phẩm (S)-(+)-2-clorophenyl glycine methyl ester (**4**) ở dạng dầu màu trắng, hiệu suất 92,7%.

IR (KBr, ν cm^{-1}): 3382 (NH_2), 3062 ($=\text{CH}$), 2963 (CH_3), 1736 (C=O), 1584, 1474, 1438 (C=C), 1042 (C-O-C)

ESI-MS: $[\text{M}+23]^+ = 223,99$

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 2,05 (2H, s, NH_2); 3,65 (3H, s, CH_3); 4,97 (1H, s, H-7); 7,2 (2H, m, H-4,5,6); 7,34 (1H, d, $J = 7,5$, H-3)

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 51,9 (C- CH_3), 55,5 (C-7); 126,9 (C-4); 128,1 (C-5); 128,7 (C-6); 129,8 (C-3); 132,8 (C-1); 137,8 (C-2); 173,4 (C=O).

Tổng hợp thiophen-2-ethanol tosylate (7)

Trong bình cầu đáy tròn 2 cổ dung tích 1 l, có lắp sinh hàn và que khuấy từ, thêm vào đó TsCl (150 g; 787 mmol) và 350 ml DCM, hỗn hợp phản ứng được làm lạnh về 5°C , thiophen-2-ethanol (71,5 ml; 637 mmol) được thêm vào và khuấy cho hỗn hợp đồng thể, thêm vào hỗn hợp phản ứng Et_3N (150 ml; 1076 mmol). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 30°C trong thời gian 16 h. Kết thúc phản ứng, lọc bỏ phần chất rắn không tan. Phần dịch lọc được rửa với H_2O đến pH 7-8, làm khan dung môi hữu cơ bằng Na_2SO_4 , cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được 170,4 g sản phẩm thiophen-2-ethanol tosylate (**7**) ở dạng dầu [6] màu trắng, hiệu suất 93,8%.

IR (KBr, ν cm^{-1}): 3107 ($=\text{CH}$), 2958 (CH_3), 1373 (SO_2), 1601, 1459 (C=C), 1181 (C-S), 826 ($=\text{CH}$)

ESI-MS: $[\text{M}]^+ = 282$

^1H (500MHz, CDCl_3 , δ ppm): 2,439 (3H, s, CH_3); 3,17 (2H, td, $J = 0,5$; 7 Hz, H-2'); 4,22 (2H, t, $J = 6,5$ Hz, H-1'); 6,79 (1H, m, H-4); 6,90 (1H, q, $J = 3,5$; 5 Hz, H-3); 7,13 (1H, dd, $J = 1$; 5 Hz, H-5); 7,31 (2H, d, $J = 8$ Hz, H-3'', 5''); 7,73 (2H, dd, $J = 1,5$; 6,5 Hz, H-2'', 6'')

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 21,6 (C- CH_3); 29,6 (C-1'); 70,1 (C-2'); 124,4 (C-3); 126,1 (C-4); 126,9 (C-5); 127,9 (C-2'', 6''); 129,8 (C-3'', 5''); 133,0 (C-2); 138,1 (C-4''); 144,8 (C-1'').

Tổng hợp (S)-methyl-2-(2-(thiophen-2-yl)ethylamino)-2-(2-clorophenyl)acetate hydrochloride từ (S)-(+)-2-clorophenylglycine methyl ester (5)

Trong bình cầu đáy tròn 500 ml, có lắp sinh hàn, que khuấy từ, (S)-(+)-2-clorophenylglycine methyl ester (**4**; 26,5 g; 132 mmol) và thiophen-2-ethanol tosylate (48,7 g; 159 mmol) được hòa tan trong 50 ml toluen và K_2HPO_4 (69,4 g; 396 mmol) được thêm vào. Khuấy cho hỗn hợp đồng thể, tiếp tục nâng dần nhiệt độ của phản ứng lên nhiệt độ hồi lưu của hỗn hợp trong thời gian 30 h. Kết thúc phản ứng, thêm vào đó 160 ml H_2O , chiết sản phẩm với toluen thu được pha hữu cơ. Làm lạnh pha hữu cơ xuống 10°C , nhỏ từ từ dung dịch acid HCl 37% (22,5 ml) vào hỗn hợp thấy xuất hiện kết tủa, duy trì nhiệt độ này trong thời gian 1 h. Kết thúc phản ứng lọc hút chân không thu được sản phẩm thô, hòa tan sản phẩm thô trong 198 ml acetone và 12 ml HCl 37%. Nâng dần nhiệt độ của hỗn hợp lên 55°C và giữ ở nhiệt độ này trong thời gian 15 phút, làm lạnh hỗn hợp phản ứng về 15°C , thu được 29,83 g (S)-methyl-2-(2-(thiophen-2-yl)ethylamino)-2-(2-clorophenyl)acetate hydrochloride (**5**) tinh thể màu trắng, hiệu suất 67,4%.

T_{nc} : $175-178^\circ\text{C}$ [6]

$[\alpha]_{\text{D}/20} = 109,5^\circ$ (C = 1, MeOH) [6]

IR (KBr, ν cm^{-1}): 3434 (NH); 2897 (CH_3); 1749 (C=O); 1594; 1492 (C=C); 759 ($=\text{CH}$)

ESI-MS: $[\text{M}+2\text{H}]^+ = 311,01$

^1H -NMR (500MHz, CDCl_3 , δ ppm): 3,04 (1H, m, H-1'); 3,15 (1H, m, H-1'); 3,30 (2H, m, H-2'); 3,74 (3H, s, H- CH_3); 5,61 (1H, s, H-3'); 6,91 (1H, dd, $J = 3$ Hz, H-4); 6,96 (1H, q, $J = 3,5$ Hz, H-3); 7,37 (1H, dd, $J = 1$; 5 Hz, H-H-5); 7,51 (2H, m, H-4'', 6''); 7,63 (1H, dd, $J = 1,5$; 7,5 Hz, H-3''); 7,77 (1H, dd, $J = 2$; 7,5 Hz, H-5'')

^{13}C -NMR (125 MHz; CDCl_3 , δ ppm): 25,8 (C- CH_3); 47,6 (C-1'); 54,4 (C-2'); 60,2 (C-3'); 125,5 (C-4); 126,7 (C-3); 127,1 (C-2); 127,7 (C-5); 128,6 (C-4''); 130,4 (C-1''); 130,9 (C-3''); 132,8 (C-5''); 134,4 (C-6''); 138,0 (C-2''); 168,4 (C=O).

Tổng hợp (+)-(S)-clopidogrel bisulfat từ (+)-methyl-2-(2-(thiophen-2-yl)ethylamino)-2-(2-clorophenyl)acetat clohidric (5)

Trong bình cầu đáy tròn hai cổ 2 l, (+)-methyl-2-(2-(thiophen-2-yl)ethylamino)-2-(2-clorophenyl)acetat clohidric (**5**; 82,2 g; 237 mmol) và HCHO (1,23 l; 1336 mmol) được thêm vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 30°C trong thời gian 22 h. Thêm vào hỗn hợp phản ứng dung môi DCM, lọc bỏ phần tạp không tan, tiếp tục làm lạnh dịch lọc xuống $5-10^\circ\text{C}$ và trung hòa bằng dung dịch NaHCO_3 5% đến pH = 7-8. Chiết sản phẩm với dung môi DCM, làm khan pha hữu cơ bằng Na_2SO_4 , cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được 72,5 g sản phẩm (+)-(S)-clopidogrel dầu màu vàng. Hòa tan dầu trong 1,44 l acetone, làm lạnh hỗn hợp xuống $0-5^\circ\text{C}$, thêm từ từ H_2SO_4 đặc (11,23 ml) vào hỗn hợp phản ứng, khuấy ở nhiệt độ $25-30^\circ\text{C}$ trong thời gian 30 h thấy xuất hiện tủa màu trắng, lọc và rửa kết tủa bằng acetone lạnh, thu được 73,6 g (+)-(S)-clopidogrel bisulfat (**6**) ở dạng bột màu trắng, hiệu suất 73,3%, có độ tinh khiết 99,53% tính theo diện tích pic HPLC.

T_{nc} : $184-186^\circ\text{C}$ [6]

$[\alpha]_{\text{D}/20} = 55,5^\circ$ (C=1, MeOH) [6]

IR(KBr, ν cm^{-1}): 3064 (=CH); 2965 (CHO); 1740 (C=O este); 1570 (C=C); 755 (=CH)

ESI-MS: $[\text{M} + \text{H}]^+ = 322,1$

^1H (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 3,20 (2H, m, H-3',4'); 3,60 (1H, d, $J = 14$ Hz, H-2'); 3,71 (3H, s, H- CH_3); 3,74 (1H, d, $J = 14$ Hz, H-2'); 4,93 (1H, s, H-5'); 6,67 (1H, d, $J = 5$ Hz, H-4); 7,05 (1H, d, $J = 5,5$ Hz, H-5); 7,27 (2H, m, H-4'',5''); 7,4 (1H, dd, $J = 1,5$; 7,5 Hz, H-6''); 7,71 (1H, dd, $J = 1,5$; 7,5 Hz, H-3)

^{13}C -NMR (125 MHz; CDCl_3 , δ ppm): 21,6 (C-3'); 48,2 (C-4'); 50,6 (C-2'); 52,0 (C- CH_3); 67,8 (C-5'); 122,6 (C-4); 125,1 (C-5); 127,1 (C-4''); 129,3 (C-5''); 129,7 (C-6''); 129,9 (C-3''); 131,2 (C-3); 132,3 (C-2); 133,8 (C-2''); 134,6 (C-1'').

Kết quả và bàn luận

Theo Sunil Sadanand Nadkarni và cộng sự [7],

(S)-clopidogrel bisulfat có thể được tổng hợp từ DL-2-clorophenyl glycin thông qua 5 bước. Bước 1 là thực hiện phản ứng este hóa giữa DL-2-clorophenyl glycin với MeOH vừa là tác nhân tham gia phản ứng, đồng thời cũng là dung môi để hòa tan chất đầu, trong môi trường acid H_2SO_4 đặc nhằm thúc đẩy cho phản ứng este hóa xảy ra dễ dàng hơn. Quá trình phản ứng có một phần H_2O được sinh ra, do đó để hạn chế điều này chúng tôi đã sử dụng tác nhân hút nước khá mạnh là Na_2SO_4 khan làm chuyển dịch cân bằng sang bên tạo thành sản phẩm nhằm làm tăng hiệu suất của phản ứng. Phản ứng được thực hiện ở nhiệt độ hồi lưu của dung môi trong thời gian 24 h, thu được sản phẩm (**2**) với hiệu suất phản ứng đạt khá cao (89,1%).

Bước 2 là thực hiện phản ứng tách đồng phân sản phẩm DL-2-clorophenyl glycin methyl este (**2**) để thu được sản phẩm (S)-(+)-2-clorophenyl glycin methyl este (**3**). Ở đây do sản phẩm (**2**) là hỗn hợp este racemic của acid amin, do đó việc tách đồng phân có thể thực hiện bằng cách sử dụng một acid yếu có thể tạo muối với acid amin thường được sử dụng là acid tartaric, hơn nữa ở đây có thể dựa vào độ tan khác nhau của hai đồng phân khi tạo muối với acid tartaric trong dung môi MeOH, cụ thể là với đồng phân (S)-(+)-2-clorophenyl glycin methyl este tạo muối L-tartrat ở dạng kết tủa trong dung môi MeOH ở nhiệt độ $0-5^\circ\text{C}$, đồng phân còn lại (S)-(-)-2-clorophenyl glycin methyl este tạo muối với L-tartaric ở cùng nhiệt độ này. Đây cũng là một phương pháp tách đồng phân quang học phổ biến hiện nay, hiệu suất phản ứng thu được khá thấp (đạt 32%), để hạn chế việc mất mát một phần sản phẩm (**3**) còn lại trong nước cái, chúng tôi đã tiến hành thu hồi phần nước cái sau khi lọc và đã thu được sản phẩm (S)-(+)-2-clorophenyl glycin methyl este (**3**). Mặc dù ở đây hiệu suất của phản ứng tách đồng phân còn thấp, nhưng điều đặc biệt là phản ứng tổng hợp theo giai đoạn này có độ tinh khiết quang học là 99,2% (tính theo diện tích pic, HPLC).

Bước 3 là thực hiện phản ứng kiềm hóa muối acid (**3**) vừa thu được ở trên bằng cách sử dụng một số base yếu để có thể chuyển (S)-(+)-2-clorophenyl glycin methyl este về dạng base tự do. Do liên kết giữa L-tartrat và (S)-(+)-2-clorophenyl glycin methyl este (**3**) là liên kết của một acid yếu với một base yếu, do đó để thu được sản phẩm (S)-(+)-2-clorophenyl glycin methyl este ở dạng base, chỉ cần thực hiện phản ứng trong môi trường kiềm yếu. Việc sử dụng một số dung dịch base đã được chúng tôi sử dụng như là NaHCO_3 ,

5%, Na_2CO_3 5%, NH_4OH 25% [3]. Quá trình tiến hành phản ứng được đưa về pH = 7,5-8, sản phẩm được chiết với dung môi hữu cơ là DCM, thu được (S)-(+)-2-chlorophenyl glycine methyl ester (4) ở dạng dầu. Kết quả khảo sát với các base trên cho thấy, với base là NaHCO_3 5% đã thu được sản phẩm với hiệu suất cao nhất là 92,7%, độ tinh khiết quang học đạt 99% (tính theo diện tích pic HPLC). Hai dung dịch kiềm còn lại cho hiệu suất phản ứng cao hơn chút ít, lần lượt là 94,5 và 94,2%, tuy nhiên độ tinh khiết quang học chỉ đạt dưới 90% (tính theo diện tích pic HPLC), điều này có thể là do hai dung dịch này có tính base mạnh hơn NaHCO_3 , quá trình kiềm hóa sản phẩm (3) sẽ bị racemic hóa và ảnh hưởng đến hiệu suất của phản ứng và độ tinh khiết quang học của sản phẩm.

Sản phẩm trung gian thiophen-2-ethanol tosylat (7) được nhóm tác giả tổng hợp thông qua phản ứng thế nucleophilin giữa thiophen-2-ethanol với 4-Toluenesulfonyl clorid (TsCl), trong dung môi DCM, xúc tác là base hữu cơ triethylamin (Et_3N), ở nhiệt độ phòng trong thời gian là 16 h, thu được sản phẩm với hiệu suất 93,8%. Ở đây, Et_3N có vai trò trung hòa phần acid HCl được sinh ra trong phản ứng tạo thành muối của $\text{Et}_3\text{N.HCl}$, làm chuyển dịch cân bằng sang bên tạo thành sản phẩm, do đó sẽ làm tăng hiệu suất của phản ứng.

Bước 4 là thực hiện phản ứng giữa thiophen-2-ethanoltosylat (7) với (S)-(+)-2-chlorophenyl glycine methyl ester (4) tạo sản phẩm (S)-methyl 2-(2-(thiophen-2-yl)ethylamino)-2-(2-chlorophenyl)acetat (5), phản ứng được thực hiện trong dung môi toluen, với xúc tác base KH_2PO_4 ở nhiệt độ hồi lưu trong thời gian là 30 h, thu được sản phẩm (S)-methyl-2-(2-(thiophen-2-yl)ethylamino)-2-(2-chlorophenyl)acetat (5) ở dạng base. Sản phẩm được acid hóa với HCl đặc thu được sản phẩm ở dạng muối, quá trình chuyển hóa sang muối sẽ tạo điều kiện dễ dàng hơn nhiều cho việc tinh chế sản phẩm vì có thể trong phản ứng vẫn còn lẫn một phần chất đầu thiophen-2-ethanoltosylat (7).

Bước 5 là thực hiện phản ứng ngưng tụ sản phẩm (5) vừa thu được với HCHO 40% đồng thời đóng vòng thu được sản phẩm clopidogrel ở dạng base, quá trình acid hóa sản phẩm clopidogrel ở dạng base bằng acid H_2SO_4 đặc trong dung môi aceton được thực hiện ngay sau đó thu được sản phẩm clopidogrel bisulfat (6). Ở giai đoạn này, việc tạo thành muối được thực hiện bằng cách sử dụng acid đặc H_2SO_4 . Vì thế, cần phải thực hiện ở nhiệt độ 0-5°C (vì nếu thực hiện phản ứng ở

nhiệt độ quá cao có thể làm sản phẩm bị racemic hóa và có thể sản phẩm sẽ bị than hóa trong quá trình nhỏ giọt H_2SO_4 đặc. Điều này sẽ ảnh hưởng tới chất lượng của sản phẩm cuối cùng thu được, cụ thể là gây khó khăn cho việc tinh chế sau này). Kết thúc quá trình nhỏ giọt phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong thời gian 30 h, thu được sản phẩm clopidogrel bisulfat với hiệu suất phản ứng đạt 73,3%, có độ tinh khiết quang học 99,53% tính theo diện tích pic HPLC.

Kết luận

Từ DL-2-chlorophenyl glycine (1), nhóm tác giả đã tổng hợp thành công (S)-clopidogrel bisulfat (6), thông qua 5 bước, hiệu suất toàn bộ quy trình là 12,2%. Quá trình tổng hợp được thực hiện đơn giản, có thể áp dụng ở quy mô lớn.

Tài liệu tham khảo

- [1] Tổng quan về bệnh thiếu máu cơ tim, http://songkhoe.vn/bac-si-tu-van_tong-quan-ve-benh-thieu-mau-co-tim_480-521-50726.html (3.2.2015).
- [2] A. Burgos, I. Simpson, J.M. Herbert (2000), "Preparation of [benzene-U-C-13]-rac-clopidogrel", *J Label Compd Radiopharm*, **43**(9), p.891.
- [3] Jagadeeshwar Rao, Harikrishna Nandam, Anjireddy Redamalla, Buchi Reddy Reguri (2011), "An improved process for the preparation of clopidogrel bisulfate", *WO 2011012961A1*.
- [4] S. Kashimura, F. Kuwata, O. Ishige, H. Uyama, T. Shono, Y. Yamaguchi (1987), "Formation of a novel acyl anion equivalent by the electroreduction of oxazolinium salts", *Chem Lett*, p.1511.
- [5] V.B. Lohray, B.B. Lohray, B. Pandey (Zydus-Cadila Group) (2002), "Process for preparing clopidogrel", *WO 2002059128 A3*.
- [6] Raghunithra Alla, Venkat Reddy Alla, Ranadheer Reddy Billa, Srinivas Reddy Bodapati, Saikrishna Reddy Gudibandi, Aruna Kumari Sirigiri, Kameswara Rao Vyakaranam (2007), "Process for preparation of clopidogrel bisulfate form 1", *WO 2007094006 A1*.
- [7] Sunil Sadanand Nadkarni, Hasmukh Mathurbhai Patel (2004), "Process for preparation of clopidogrel, its salts and pharmaceutical compositions", *WO2004074215A1*.
- [8] Venkat Reddy ALLA, Kameswara Rao VYAKARANAM, Aruna Kumari SIRIGIRI, Srinivas Reddy BODAPATI, Ranadheer Reddy BILLA, Saikrishna Reddy GUDIBANDI, Raghunithra ALLA (2007), "Process for preparation of clopidogrel bisulphate form-1", *US 20070191609 A1*.