

# Tổng hợp và thiết lập chất đối chiếu *N*-formyl desloratadin và dechloro desloratadin

Nguyễn Thị Thanh Thu<sup>1</sup>, Lê Thị Thu Cúc<sup>2</sup>, Nguyễn Đức Tuấn<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Khoa Dược, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

<sup>2</sup>Khoa Dược, Đại học Nguyễn Tất Thành

## Summary

In this study, *N*-formyl desloratadine (8-chloro-6,11-dihydro-11-(*N*-formyl-4-piperidinylidene)-5*H*-benzo [5,6] cyclohepta [1,2-*b*] pyridine, desloratadine impurity F), and dechloro desloratadine impurity (6,11-dihydro-11-(piperidin-4-ylidene)-5*H*-benzo [5,6] cyclohepta [1,2-*b*] pyridine) were successfully synthesized by *N*-formylation of desloratadine, using formamide with 30% sodium methoxide in methanol as catalyst (yield approximately 74%), and by removing chloride from benzene ring of desloratadine, using sodium hypophosphite and Pd/C as catalyst (yield approximately 70%), respectively. By using HPLC-PDA, their chromatographic purity was determined over 98% on the basis, conforming fully to establish reference substance for desloratadine impurities testing.

**Keywords:** Desloratadine impurity F, *N*-formyl desloratadine, 8-chloro-6,11-dihydro-11-(*N*-formyl-4-piperidinylidene)-5*H*-benzo [5,6] cyclohepta [1,2-*b*] pyridine, dechloro desloratadine impurity, 6,11-dihydro-11-(piperidin-4-ylidene)-5*H*-benzo [5,6] cyclohepta [1,2-*b*] pyridine.

## Đặt vấn đề

Desloratadin là thuốc kháng histamin H1 thế hệ 2 có tác dụng kháng dị ứng, làm giảm các triệu chứng viêm mũi dị ứng theo mùa, viêm mũi dị ứng lâu năm, ngứa và nổi mề đay. Thuốc có ưu điểm là không qua hàng rào máu não nên không gây buồn ngủ<sup>[1]</sup>. Theo thống kê của Cục Quản lý Dược Việt Nam, hiện nay, đang có 57 biệt dược có chứa desloratadin với các dạng bào chế khác nhau được cấp phép đăng ký lưu hành tại Việt Nam<sup>[2]</sup>. Các Dược điển Anh 2020, Dược điển Mỹ 43 đã có chuyên luận kiểm nghiệm nguyên liệu và thành phẩm desloratadin, trong đó, *N*-formyl desloratadin (tạp F của desloratadin) và tạp dechloro desloratadin là các tạp cần kiểm soát trong thành phẩm và nguyên liệu. Tạp F là tạp phân hủy của desloratadin trong quá trình bảo quản<sup>[3]</sup> và tạp dechloro desloratadin là tạp xuất hiện trong quá trình

sản xuất desloratadin<sup>[4-5]</sup>. Trên thế giới, hiện nay chỉ có một nghiên cứu công bố quy trình tổng hợp tạp F<sup>[6]</sup> và một nghiên cứu về tổng hợp hóa học thực hiện phản ứng *N*-formyl hóa trên nhiều chất, trong đó có sử dụng desloratadin tạo tạp F<sup>[7]</sup>; chưa thấy có báo cáo về tổng hợp tạp dechloro desloratadin. Tại Việt Nam, hiện chưa có công trình nghiên cứu tổng hợp tạp F và tạp dechloro desloratadin được công bố. Xuất phát từ những lý do trên, nghiên cứu này công bố quy trình tổng hợp và thiết lập chất đối chiếu tạp F và tạp dechloro desloratadin.

## Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

### Nguyên vật liệu

**Nguyên liệu:** Desloratadin do Công ty Domesco cung cấp, số lô 84160606, số phiếu CoA 774NLN16, hàm lượng 98,5%.

**Hóa chất và dung môi:** Methanol (MeOH) và acetonitril (ACN) đạt tiêu chuẩn dùng cho sắc ký lỏng, acid trifluoroacetic (TFA), natri hypophosphit, natri methoxyd, natri carbonat palladium/ than hoạt (Pd/C), formamid, tetrahydrofuran (THF) và cloroform đạt tiêu chuẩn phân tích.

Chịu trách nhiệm: Nguyễn Đức Tuấn

Email: ductuan@ump.edu.vn

Ngày nhận: 30/12/2020

Ngày phản biện: 25/01/2021

Ngày duyệt bài: 19/02/2021

### Thiết bị

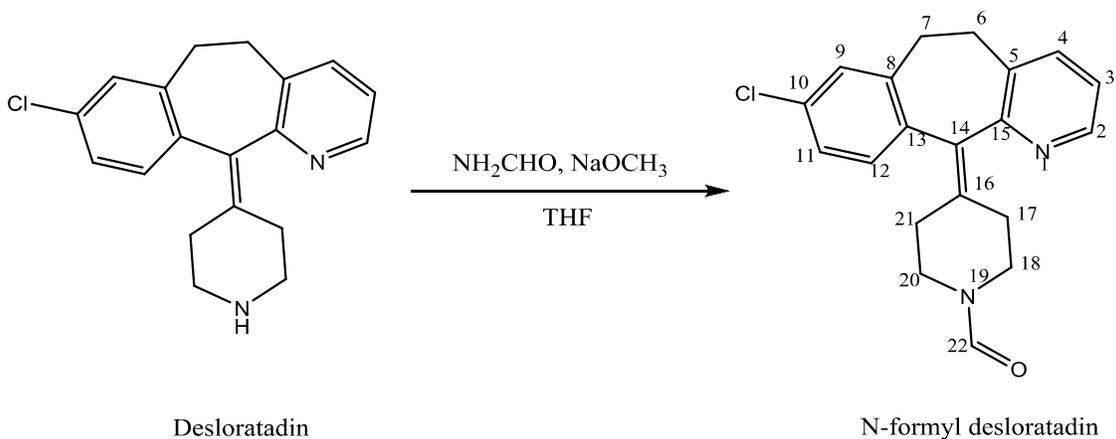
Các thiết bị phân tích đã được hiệu chuẩn đạt quy định theo GLP và ISO/IEC 17025, bao gồm: Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao Shimadzu SPD-M20A, máy khối phổ IT-TOF Shimadzu, máy cộng hưởng từ hạt nhân Bruker Advance III, máy quang phổ hồng ngoại Thermo IS50FT-IR, máy phân tích TGA-DSC Setaram LABSYS evo, cân phân tích Precisa 92SM-202A,...

### Phương pháp nghiên cứu

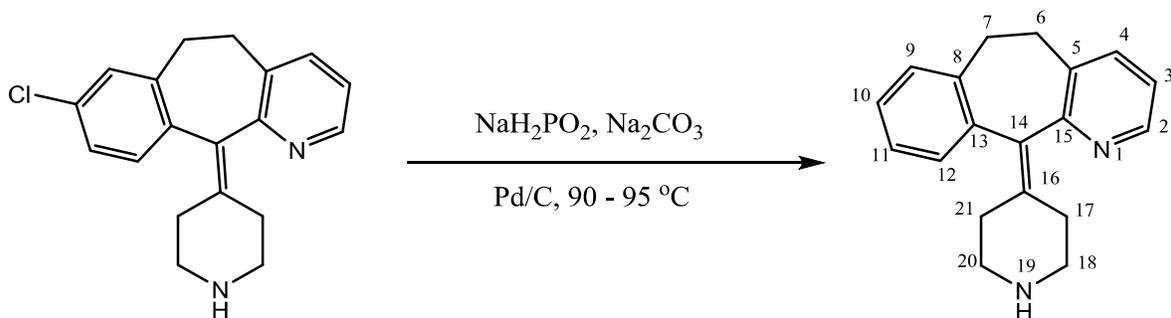
#### Tổng hợp tạp F và tạp decloro desloratadin (tạp DD)

Dựa theo tài liệu tham khảo [8], tạp F được tổng hợp bằng cách *N*-formyl hóa desloratadin

bằng formamid, sử dụng natri methoxyd làm chất xúc tác (sơ đồ 1) và dựa theo tài liệu tham khảo [9], tạp DD được tổng hợp bằng cách thay thế clor trong vòng benzen bằng hydrogen, sử dụng natri hypophosphit làm nguồn cung cấp hydro, Pd/C làm chất xúc tác (sơ đồ 2). Sản phẩm tổng hợp được tinh chế bằng sắc ký cột, sử dụng silica gel cỡ hạt 60  $\mu\text{m}$  và hỗn hợp dung môi rửa giải cloroform - methanol (9:1). Sản phẩm tinh chế được thử tinh khiết bằng sắc ký lớp mỏng (**SKLM**) và sắc ký lỏng hiệu năng cao (**HPLC**) và được xác định cấu trúc bằng các phương pháp phổ nghiệm **UV**, **IR**, **MS** và **NMR**.



Sơ đồ 1. Tổng hợp tạp F (*N*-formyl desloratadin)



Sơ đồ 2. Tổng hợp tạp decloro desloratadin

#### Xác định độ tinh khiết tạp F và tạp DD

Độ tinh khiết của tạp F và tạp DD được xác định bằng phương pháp **HPLC** quy về 100%

diện tích pic. Điều kiện sắc ký được trình bày trong bảng 1.

**Bảng 1. Điều kiện sắc ký xác định độ tinh khiết tạp F và tạp DD**

	<b>Tạp F</b>	<b>Tạp DD</b>
Cột sắc ký	C18 (250 × 4,6 mm; 5 µm)	
Nhiệt độ cột	35 °C	
Tốc độ dòng	1 ml/phút	
Bước sóng phát hiện	243 nm	282 nm
Thể tích tiêm mẫu	20 µl	
Pha động	Dung dịch A: MeOH Dung dịch B: H <sub>2</sub> O	Dung dịch A: TFA 0,025% trong ACN Dung dịch B: TFA 0,025% trong nước
Chương trình gradient: Thời gian (%A/%B)	0'(65/35), 13'(75/25), 14'(85/10), 19'(85/10), 20'(65/35), 25'(65/35)	0'(15/85), 6'(15/85), 25'(60/40), 26'(15/85), 31'(15/85)
Thời gian sắc ký	25 phút	31 phút
Dung môi hòa tan	MeOH - H <sub>2</sub> O (9:1)	Dung dịch B
Mẫu thử	250 µg/ml	
Mẫu trắng	Dung môi hòa tan	

**Đánh giá tạp F và tạp DD**

Tạp F và tạp DD được đánh giá theo các chỉ tiêu cảm quan, độ tan, điểm chảy, hàm ẩm, định tính, độ tinh khiết sắc ký và tạp chất liên quan.

**Thiết lập chất đối chiếu tạp F và tạp DD**

**Đánh giá độ đồng nhất của quá trình đóng lọ:** Các mẫu được lấy ngẫu nhiên theo công thức  $\sqrt{N} + 1$  trong đó N là tổng số lọ. Việc xác định độ tinh khiết của tạp F và tạp DD trong từng lọ được tiến hành theo phương pháp **HPLC**, mỗi lọ được xác định 2 lần. Việc đánh giá độ đồng nhất của quá trình đóng lọ được dựa trên hướng dẫn của ISO Guide 35<sup>[10]</sup>.

**Đánh giá độ đồng nhất lọ liên phòng thí nghiệm:** Tạp F và tạp DD sau khi được đóng gói và đánh giá đồng nhất lọ đạt yêu cầu sẽ được lấy mẫu ngẫu nhiên và tiến hành xác định độ tinh khiết tại ba phòng thí nghiệm độc lập. Các phòng thí nghiệm được lựa chọn để gửi mẫu phải đạt GLP hoặc ISO/IEC 17025. Mỗi phòng thí nghiệm sẽ nhận được sáu lọ mẫu ngẫu nhiên kèm theo quy trình phân tích và các tài liệu liên quan. Trước khi phân tích, mỗi phòng thí nghiệm sẽ kiểm tra tính phù hợp của hệ thống với yêu cầu hệ số bất đối của pic tạp F và tạp DD nằm trong khoảng 0,8 - 1,5 và RSD giữa 6 lần đo lặp lại không được quá 2%. Nếu đạt yêu cầu, sẽ tiến hành xác định độ tinh khiết tạp F và tạp DD trên 6 mẫu đã nhận, mỗi mẫu được xác định 2 lần. Việc đánh giá độ đồng nhất lọ

liên phòng thí nghiệm được tiến hành theo hướng dẫn của ISO 13528<sup>[11]</sup>, sử dụng phép phân tích phương sai một yếu tố ANOVA.

**Xác định giá trị ấn định và độ không đảm bảo đo:** Việc xác định giá trị ấn định trên phiếu kiểm nghiệm tạp F, tạp DD và độ không đảm bảo đo được thực hiện theo hướng dẫn của ISO 13528<sup>[11]</sup>, dựa theo 18 kết quả xác định độ tinh khiết của tạp F và tạp DD tại 3 phòng thí nghiệm.

**Kết quả****Tổng hợp tạp F**

Sau khi khảo sát các điều kiện phản ứng gồm tỷ lệ mol giữa desloratadin và formamid (cùng natri methoxid) và thời gian phản ứng, tạp F được tổng hợp như sau: cân 1,62 g (30 mmol) natri methoxid vào bình nón, thêm 6 ml methanol, lắc cho tan, thêm 15 ml tetrahydrofuran, thêm 1,25 g (4 mmol) desloratadin, thêm 1,35 g (30 mmol) formamid, lắc bình nón với tốc độ 1500 vòng/ phút trong 12 giờ. Bay hơi dung môi đến cạn. Rửa cân với nước 3 lần, mỗi lần 10 ml. Sấy chân không cạn ở 60 °C trong 4 giờ thu được sản phẩm tổng hợp F.

**Tổng hợp tạp DD**

Sau khi khảo sát các điều kiện phản ứng gồm tỷ lệ mol giữa desloratadin và natri hypophosphit (cùng Pd/C và các chất còn lại), thời gian và nhiệt độ phản ứng, tạp DD được tổng hợp như sau: Trong bình nón chứa

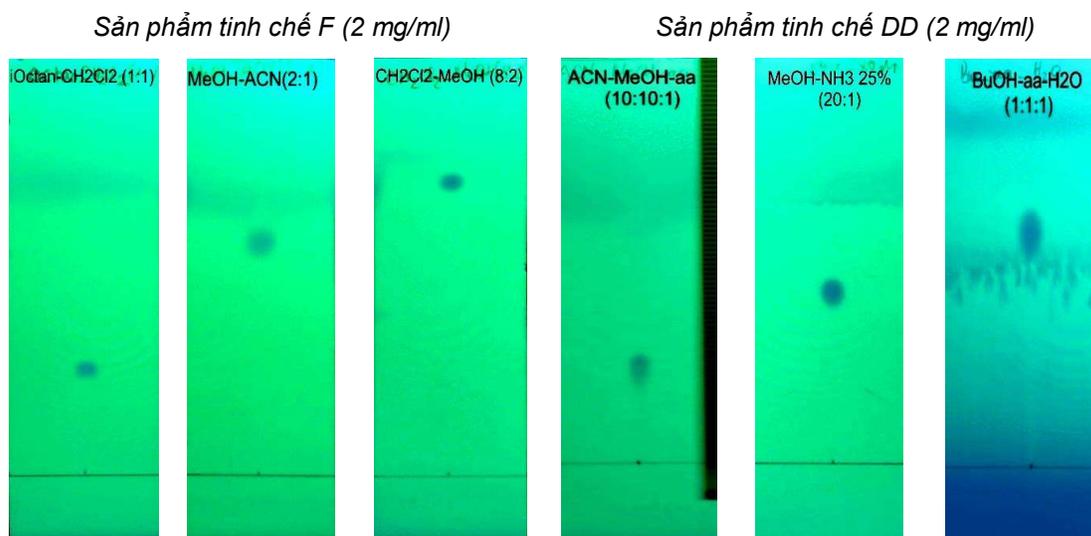
15 ml nước, cho 1,25 g (4 mmol) desloratadin, 0,85 g (8 mmol) natri carbonat, và 198 mg Pd/C 10%. Đặt lên bếp khuấy từ, lắp sinh hàn, khuấy và gia nhiệt 90 - 95 °C. Thêm từng giọt dung dịch natri hypophosphit (3,52 g hòa tan trong 10 ml nước) trong 30 phút. Đun trong 13 giờ. Dung dịch sau phản ứng được làm nguội trong nước đá. Lọc rồi chiết bằng cloroform. Rửa dung dịch cloroform bằng nước 3 lần, mỗi lần 10 ml nước. Cô dung môi thu được sản phẩm tổng hợp DD.

#### Tinh chế sản phẩm tổng hợp

Sản phẩm tổng hợp F và DD được tinh chế bằng sắc ký cột và kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng, gộp các phân đoạn giống nhau, bay hơi dung môi, sấy chân không ở 60 °C trong 4 giờ thu được sản phẩm tinh chế F và DD.

#### Thử tinh khiết sản phẩm tinh chế

Sản phẩm tinh chế được hòa tan trong hỗn hợp dung môi methanol - nước (9:1), sau đó được triển khai sắc ký lớp mỏng với 3 hệ dung môi khác nhau. Kết quả cho thấy sản phẩm tinh chế chỉ cho một vết duy nhất và tinh khiết trên **SKLM** (hình 1). Kết quả thử tinh khiết bằng phương pháp **HPLC**, áp dụng phương pháp quy về 100% diện tích pic để xác định độ tinh khiết sản phẩm tinh chế cho thấy sắc ký đồ 2 chiều tại bước sóng 243 nm (sản phẩm tinh chế F) và 282 nm (sản phẩm tinh chế DD) xuất hiện một pic chính duy nhất và một vài pic tạp có diện tích pic rất nhỏ, pic chính đạt độ tinh khiết theo phổ **UV-Vis**. Hình 1, 2 lần lượt minh họa sắc ký đồ **SKLM** và **HPLC** kiểm tra độ tinh khiết của sản phẩm tinh chế.



Hình 1. Sắc ký đồ **SKLM** kiểm tra độ tinh khiết của sản phẩm tinh chế F và DD.

Điều kiện sắc ký: Bản mỏng silica gel GF<sub>254</sub> (10 × 3 cm), phát hiện bằng **UV** 254 nm.

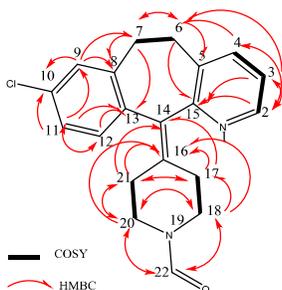
Sản phẩm tinh chế F: Được triển khai trong ba hệ dung môi iso octan – dicloromethan (1:1), MeOH - ACN (2:1), dicloromethan - MeOH (8:2) cho các giá trị  $R_f$  lần lượt là 0,27; 0,59 và 0,75.

Sản phẩm tinh chế DD: Được triển khai trong ba hệ dung môi ACN - MeOH - acid acetic (10:10:1), MeOH - NH<sub>4</sub>OH 25% (20:1), n-butanol - acid acetic - H<sub>2</sub>O (1:1:1) cho các giá trị  $R_f$  lần lượt là 0,26; 0,48; 0,68.

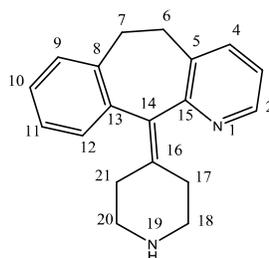


**Bảng 3. Dữ liệu phổ NMR của sản phẩm tinh chế DD**

<sup>1</sup> H-NMR (500 MHz, DMSO), δ <sub>H</sub> (ppm)	<sup>13</sup> C-NMR (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ), δ <sub>C</sub> (ppm)	
8,32 (dd, 1H, J = 4,5 Hz, 1,5 Hz, H2)	157,34 (C15)	129,06 (C10, C11)
7,54 (dd, 1H, J = 8 Hz, 1,5 Hz, H3)	146,49 (C2)	127,43 (C9)
7,16 (m, 4H, H9, H10, H11, H12)	139,19 (C8)	126,01 (C12)
7,05 (dd, 1H, J = 7,3 Hz, 1,5 Hz, H4)	137,77 (C3)	122,13 (C4)
3,32 (m, 2H, H18, H20 eq)	137,53 (C16)	47,02 (C18, C20)
2,91 (m, 2H, J = 4 Hz, H6, H7 eq)	135,93 (C14)	31,78 (C6, C7)
2,79 (m, 2H, H18, H20 ax)	135,15 (C5)	30,80 (C17)
2,65 (m, 2H, J = 19,5 Hz, 8,5 Hz, H6, H7 ax)	133,75 (C13)	30,57 (C21)
2,32 (m, 2H, H17, H21 eq)		
2,18 (m, 2H, H17, H21 ax)		



**Hình 3. Công thức cấu tạo của tạp F (N-formyl desloratadin)**



**Hình 4. Công thức cấu tạo của tạp DD (decloro desloratadin)**

**Hiệu suất tổng hợp và tinh chế tạp F và tạp decloro desloratadin**

Hiệu suất tổng hợp và tinh chế tạp F và tạp decloro desloratadin được trình bày trong bảng 4.

**Bảng 4. Hiệu suất tổng hợp và tinh chế tạp F và tạp decloro desloratadin**

	Tạp F	Tạp decloro desloratadin
Khối lượng desloratadin (g)	1,25	1,25
Khối lượng sản phẩm lý thuyết (g)	1,36	1,11
Khối lượng sản phẩm sau phản ứng (g)	1,22	0,99
Khối lượng sản phẩm sau tinh chế (g)	1,01	0,78
Hiệu suất tổng hợp	90%	89%
Hiệu suất tinh chế	83%	79%
Hiệu suất toàn quy trình	74%	70%

**Xác định độ tinh khiết tạp F và tạp decloro desloratadin bằng HPLC-PDA**

Quy trình xác định độ tinh khiết tạp F và tạp decloro desloratadin bằng **HPLC-PDA** được

thẩm định theo hướng dẫn của ICH<sup>[12]</sup>, bao gồm khảo sát tính phù hợp của hệ thống, tính đặc hiệu, khoảng tuyến tính, độ chính xác. Kết quả thẩm định được thể hiện ở bảng 5 và bảng 6.

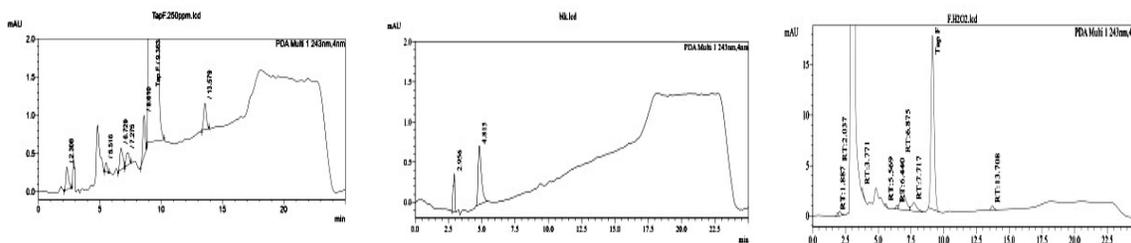
**Bảng 5. Kết quả khảo sát tính phù hợp của hệ thống của phương pháp (n = 6)**

	Giá trị thống kê	Thời gian lưu (phút)	Diện tích pic (μV × giây)	Hệ số bất đối
Tạp F	Trung bình	9,364	14.639.911	1,08
	RSD	0,08%	0,04%	
Tạp decloro desloratadin	Trung bình	5,030	7.803.736	1,38
	RSD	0,89%	0,15%	

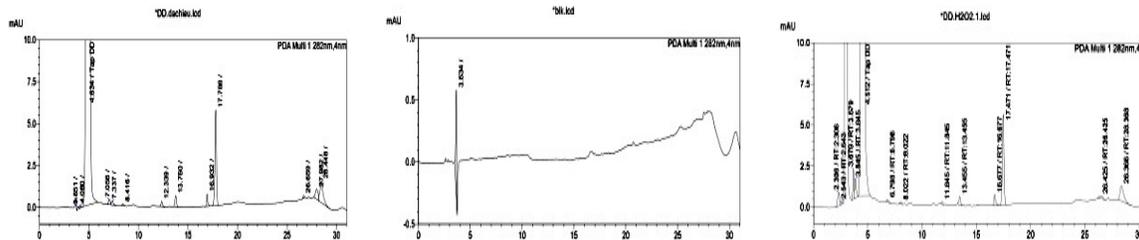
RSD của các thông số sắc ký đều không quá 2% và hệ số bất đổi của pic tạp F và pic tạp decloro desloratadin nằm trong khoảng 0,8 - 1,5. Như vậy quy trình xác định độ tinh khiết tạp F và pic tạp decloro desloratadin đạt tính phù hợp của hệ thống.

Kết quả khảo sát tính đặc hiệu cho thấy trong cùng điều kiện phân tích: Sắc ký đồ mẫu trắng không xuất hiện pic có thời gian lưu trùng với thời gian lưu tương ứng của pic tạp F và pic tạp

decloro desloratadin trong mẫu thử; trên sắc ký đồ mẫu thử và mẫu tạp chất được pha trong dung dịch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% (mẫu khảo sát), pic tạp F và pic tạp decloro desloratadin tách hoàn toàn với pic tạp khác và các pic từ mẫu trắng. Pic tạp F và pic tạp decloro desloratadin đạt độ tinh khiết theo phổ **UV-Vis**. Như vậy, quy trình đạt tính đặc hiệu. Hình 5 và 6 minh họa sắc ký đồ khảo sát tính đặc hiệu.



Hình 5. Sắc ký đồ mẫu thử tạp F, mẫu trắng và mẫu khảo sát



Hình 6. Sắc ký đồ mẫu thử tạp decloro desloratadin, mẫu trắng và mẫu khảo sát

Bảng 6. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính và độ chính xác

	Tạp F	Tạp decloro desloratadin
Phương trình hồi quy	$\hat{y} = 55.668x$	$\hat{y} = 31.544x$
Khoảng tuyến tính ( $\mu\text{g/ml}$ )	25 - 500	25 - 500
Hệ số tương quan (R)	0,9996	0,9998
Độ chính xác (RSD, n = 12)	0,01%	0,03%
Độ tinh khiết sắc ký	99,93%	98,58%

\*Được xác định từ kết quả khảo sát độ chính xác.

Kết quả thẩm định cho thấy quy trình xác định độ tinh khiết tạp F và tạp decloro desloratadin có khoảng tuyến tính rộng, hệ số tương quan cao, đạt yêu cầu về độ chính xác. Kết quả xác định độ tinh khiết sắc ký tạp F và tạp decloro desloratadin theo phương pháp quy về 100% diện tích pic là trên 98% tính trên

chế phẩm nguyên trạng.

#### Đánh giá tạp F và tạp decloro desloratadin

Bảng 7 và bảng 8 trình bày kết quả đánh giá tạp F và tạp decloro desloratadin. Với độ tinh khiết trên 98% nên hai chất này đủ điều kiện để thiết lập chất đối chiếu.

**Bảng 7. Kết quả đánh giá tạp F**

Chỉ tiêu	Phương pháp	Mức chất lượng	Kết quả
Tính chất	Cảm quan	Chất rắn màu trắng ngà, không mùi	Đạt
	Độ tan	Đễ tan trong methanol, ethanol 96°, cloroform; hơi tan trong DMSO; thực tế không tan trong n-hexan, nước	
Định tính	Phổ UV	$\lambda_{\max}$ (MeOH-H <sub>2</sub> O) 243 nm	Đúng
	Phổ IR	$\nu_{\max}$ (cm <sup>-1</sup> ) 2905, 1435 (C-H), 1667 (C=O), 1588 (N-H)	
	Phổ MS	ESI-MS (+) m/z = 339,12 [M+H] <sup>+</sup>	
	Phổ NMR	Phổ <sup>1</sup> H-NMR và <sup>13</sup> C-NMR: Xem bảng 2	
Điểm chảy	DSC	163 ± 1°C	Đạt (163,3 °C)
Hàm ẩm	TGA	≤ 1%	Đạt (0,3%)
Tạp chất liên quan	HPLC	≤ 2%	Đạt (0,1%)
Độ tinh khiết sắc ký	HPLC	≥ 98%	Đạt (99,9%)

**Bảng 8. Kết quả đánh giá tạp decloro desloratadin**

Chỉ tiêu	Phương pháp	Mức chất lượng	Kết quả
Tính chất	Cảm quan	Chất rắn màu trắng ngà, không mùi	Đạt
	Độ tan	Tan trong methanol, cloroform; khó tan trong ethanol 96°, DMSO, nước; thực tế không tan trong n-hexan	
Định tính	Phổ UV	$\lambda_{\max}$ (TFA 0,025%) 282 nm	Đúng
	Phổ IR	$\nu_{\max}$ (cm <sup>-1</sup> ) là 2925, 1434, 1417 (C-H)	
	Phổ MS	ESI-MS(+) m/z = 277,17 [M+H] <sup>+</sup>	
	Phổ NMR	Phổ <sup>1</sup> H-NMR và <sup>13</sup> C-NMR: Xem bảng 3	
Điểm chảy	DSC	230 ± 1°C	Đạt (230,1 °C)
Hàm ẩm	TGA	≤ 4%	Đạt (3,2%)
Tạp chất liên quan	HPLC	≤ 2%	Đạt (1,4%)
Độ tinh khiết sắc ký	HPLC	≥ 98%	Đạt (98,6%)

#### Thiết lập chất đối chiếu tạp F và tạp decloro desloratadin

900 mg tạp F được đóng 30 lọ, mỗi lọ 30 mg và 750 mg tạp decloro desloratadin được đóng 30 lọ, mỗi lọ 25 mg. Mỗi tạp được lấy ngẫu nhiên 6 lọ theo phần mềm Excel. Kết quả xác định tính phù hợp của hệ thống tại ba phòng thí nghiệm đều đạt yêu cầu về hệ số bất đối của pic tạp F, tạp decloro desloratadin và RSD của diện tích pic tạp F, tạp decloro desloratadin nên có thể tiếp tục tiến hành xác định độ tinh khiết tạp F,

tạp decloro desloratadin. Bảng 9 và bảng 10 minh họa kết quả đánh giá độ đồng nhất của quá trình đóng lọ và độ đồng nhất lọ liên phòng thí nghiệm. Dựa vào kết quả phân tích ANOVA cho thấy các lọ đóng gói có hàm lượng đồng nhất, điều kiện đóng gói ổn định và phù hợp, kết quả định lượng giữa 3 phòng thí nghiệm khác biệt không có ý nghĩa thống kê, quy trình phân tích có độ lặp lại cao, độ tinh khiết chất phân tích không phụ thuộc vào phòng thí nghiệm tham gia đánh giá.

**Bảng 9. Kết quả đánh giá độ đồng nhất của quá trình đóng lọ (n = 2)**

Số thứ tự lọ	Độ tinh khiết tạp F (%)	Số thứ tự lọ	Độ tinh khiết tạp decloro desloratadin (%)
8	99,92	6	98,55
28	99,93	25	98,54
19	99,92	17	98,56
7	99,94	9	98,54
23	99,91	21	98,56
15	99,93	12	98,57

**Bảng 10. Kết quả đánh giá độ đồng nhất lọ liên phòng thí nghiệm**

Mẫu	Độ tinh khiết tạp F (%)			Độ tinh khiết tạp decloro desloratadin (%)		
	PTN1	PTN2	PTN3	PTN1	PTN2	PTN3
1	99,93	99,95	99,95	98,51	98,53	98,57
2	99,91	99,94	99,91	98,56	98,54	98,55
3	99,94	99,90	99,96	98,57	98,56	98,51
4	99,94	99,90	99,94	98,55	98,50	98,58
5	99,92	99,93	99,95	98,52	98,57	98,54
6	99,97	99,92	99,89	98,58	98,52	98,61

**Bảng 11. Kết quả xác định giá trị ấn định của tạp F và tạp decloro desloratadin (n = 18)**

Số lần thay đổi	Tạp F			Tạp decloro desloratadin		
	$x^* 0$	$x^* 1$	$x^* 2$	$x^* 0$	$x^* 1$	$x^* 2$
$\delta = 1,5s^*$	0,03	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05
$x^* - \delta$	99,90	99,90	99,90	98,51	98,50	98,50
$x^* + \delta$	99,97	99,97	99,97	98,59	98,59	98,59
$x^*$ mới	99,94	99,93	99,93	98,55	98,55	98,55
$s^*$ mới	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03

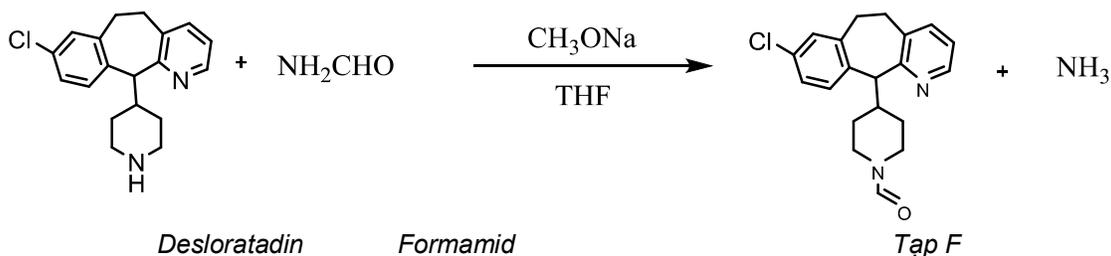
Với tạp F, sau hai lần thay đổi,  $s^* = 0,02$  không thay đổi, khi đó  $x^*$  được chọn là 99,93%. Vậy giá trị ấn định của tạp F là 99,93% và độ không đảm bảo đo:  $U_x = 1,25s^*/\sqrt{n} = 1,25 \times 0,02 / \sqrt{18} = 0,0059$ . Với tạp decloro desloratadin, sau hai lần thay đổi,  $s^* = 0,03$  không thay đổi, khi đó  $x^*$  được chọn là 98,55%. Vậy giá trị ấn định của tạp decloro desloratadin là 98,55% và độ không đảm bảo đo:  $U_x = 1,25s^*/\sqrt{n} = 1,25 \times 0,03 / \sqrt{18} = 0,009$ .

Như vậy tạp F và tạp decloro desloratadin đủ điều kiện để đăng ký chuẩn quốc gia với hàm lượng được xác định lần lượt là 99,93% và 98,55% tính trên nguyên trạng. Tiến hành lập hồ sơ chất chuẩn, dán nhãn lọ chuẩn và kèm theo phiếu kiểm nghiệm. Bảo quản các lọ chuẩn ở nhiệt độ 2-8 °C, tránh ánh sáng.

### Bàn luận

#### Tạp F

Phương trình phản ứng tổng hợp tạp F:

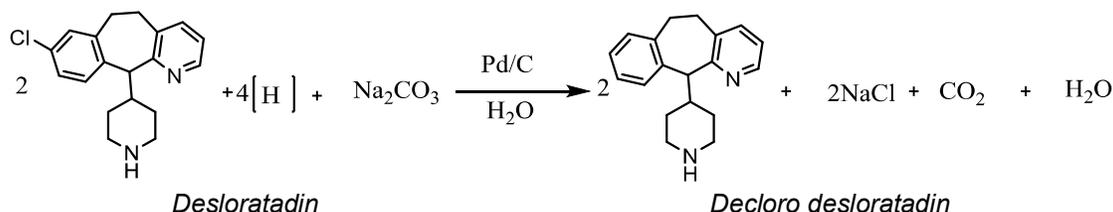


Có nhiều con đường khác nhau để *N*-formyl hóa nitrogen trong vòng piperidin để có thể tạo tạp F desloratadin, trong đó, *N*-formyl hóa desloratadin bằng formamid với sự có mặt natri methoxid/methanol trong môi trường tetrahydrofuran là phản ứng đơn giản nhất, được thực hiện ở nhiệt độ phòng với hóa chất

và dụng cụ dễ kiểm, hiệu suất phản ứng cao, không tạo ra các chất độc hại. Tuy nhiên, trong quá trình thực hiện phản ứng, thời gian phản ứng và tỷ lệ mol các chất tham gia phản ứng có ảnh hưởng đến hiệu suất phản ứng. Khi thực hiện phản ứng ở tỷ lệ mol desloratadin - formamid (1:2,5) và thời gian phản ứng 6 giờ

như tài liệu tham khảo [13], tạp F có xuất hiện nhưng rất ít. Vì vậy, cần tiếp tục khảo sát thời gian phản ứng và tỷ lệ mol. Kết quả cho thấy lượng tạp F tăng lên. Với tỷ lệ mol (1:7,5) và thời gian phản ứng 12 giờ, phản ứng đạt hiệu suất cao nhất (90%) và chỉ có sản phẩm tạp F khi được kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng. Sản phẩm tổng hợp có màu hồng nhạt. Nếu chiết sản phẩm với dicloromethan và rửa bằng dung dịch HCl như tài liệu tham khảo [13] sẽ cho màu hồng đậm. Vì vậy, sản phẩm đã được rửa bằng nước và được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel với hệ dung môi CHCl<sub>3</sub> - MeOH (9:1) để loại các thành phần không mong muốn, thu được tạp F có màu trắng ngà, độ tinh khiết sắc ký trên 99% tính trên nguyên trạng với hiệu suất tinh chế là 83%.

Sản phẩm tinh chế F có phổ **MS** có *m/z* phù hợp với tạp F. Phổ **IR** có các đỉnh đặc trưng của tạp F và có đỉnh ở số sóng 1667 cm<sup>-1</sup> là



Clorobenzen là chất độc với môi trường. Vì vậy, có nhiều nghiên cứu tìm cách xử lý bằng cách tách clor ra khỏi benzen trước khi thải loại bằng nhiều loại phản ứng với chất tham gia phản ứng và điều kiện, xúc tác khác nhau. Đa số được thực hiện ở điều kiện áp suất cao, phản ứng thực hiện trong ống áp lực, với nhiều loại xúc tác khác nhau. Trong đó, phản ứng thay thế clor bởi hydrogen trong vòng benzen, sử dụng nguồn cung cấp hydrogen là natri hypophosphit xúc tác Pd/C trong môi trường nước là phản ứng khả thi hơn với điều kiện hiện có của phòng thí nghiệm và hiệu suất phản ứng cao. Thực tế khi thực hiện phản ứng theo tỷ lệ mol desloratadin - natri hypophosphit (1:5), nhiệt độ 50 °C và thời gian phản ứng 90 phút (có hay không có dung dịch tween 20 1%) theo tài liệu tham khảo [14], tạp decloro desloratadin không được tạo thành.

Tiến hành khảo sát ảnh hưởng của 3 điều

tin hiệu của nhóm C=O trong amid được hình thành sau phản ứng. Sản phẩm tinh chế F được khẳng định cấu trúc bằng các phổ **<sup>1</sup>H-NMR**, **<sup>13</sup>C-NMR** và các phổ cộng hưởng từ hai chiều. Phổ **<sup>1</sup>H-NMR** có 7 proton ở vùng trường từ 7 – 8,5 ppm, 12 proton ở vùng trường từ 2 - 4 ppm. Phổ **<sup>13</sup>C-NMR** có 13 C ở vùng trường 120 – 160 ppm và 6 C ở vùng trường 30 - 50 ppm. Phổ **<sup>13</sup>C-NMR** thiếu một carbon nhưng có một tín hiệu thấp ở 134,5 ppm có tương tác với H17 và H21 (HMBC) phù hợp carbon bậc 4 ở vị trí C14 trong công thức cấu tạo. Phổ **HSQC** có 7 nhóm =CH ở vùng 120 - 160 ppm và 6 nhóm >CH<sub>2</sub> ở vùng 30 - 50 ppm. Kết quả tương tác của phổ COSY và HMBC khẳng định thêm công thức sản phẩm tinh chế F chính là tạp F desloratadin.

#### Tạp decloro desloratadin

Phương trình phản ứng tổng hợp tạp decloro desloratadin:

kiện trên bằng cách tăng dần từng điều kiện so với tài liệu tham khảo, kết quả cho thấy tạp decloro desloratadin xuất hiện. Phản ứng hoàn toàn khi tỷ lệ mol desloratadin - natri hypophosphit là 1:10, nhiệt độ 90 - 95 °C trong thời gian 13 giờ. Sau phản ứng chỉ có 1 sản phẩm chính được tạo thành khi được kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng với hiệu suất phản ứng 89%. Sản phẩm sau phản ứng có màu trắng ngà. Tiến hành tinh chế bằng cách thay đổi dung môi không/ kém tan, thu được sản phẩm xốp, mịn nhưng hiệu suất tinh chế thấp (cao nhất là *n*-hexan với hiệu suất 42%, tiếp theo là acetonitril và dicloromethan có hiệu suất lần lượt là 38% và 32%). Vì vậy, sản phẩm tổng hợp đã được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel với hệ dung môi rửa giải cloroform - methanol (9:1) thu được sản phẩm có độ tinh khiết sắc ký trên 98% với hiệu suất tinh chế 79%.

Sản phẩm tinh chế decloro desloratadin

được khẳng định cấu trúc bằng các phổ  $^1\text{H-NMR}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  có cấu trúc phù hợp với cấu trúc của tạp decloro desloratadin. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  có số lượng proton và độ dịch chuyển hóa học giống tài liệu tham khảo <sup>[15]</sup>, có 7 proton vùng trường thấp (7 - 8,5 ppm) so với 6 proton của desloratadin <sup>[16]</sup> chứng tỏ có một proton đã được gắn thêm vào; và không thấy tín hiệu của proton gắn với nitrogen trong vòng piperidin. Phổ  $\text{MS}$  có  $m/z$  phù hợp và không thấy tín hiệu của đồng vị clor. Phổ  $\text{IR}$  có các đỉnh đặc trưng của decloro desloratadin và giống hình dạng phổ trong tài liệu tham khảo <sup>[15]</sup>, không còn xuất hiện đỉnh có số sóng  $779\text{ cm}^{-1}$  (C-Cl) như desloratadin <sup>[16]</sup>. Như vậy, bằng kết quả phổ  $^1\text{H-NMR}$ ,  $\text{IR}$ ,  $\text{MS}$  trên đã hoàn toàn chứng minh không còn sự hiện diện của clor trong phân tử tạp decloro desloratadin.

#### **Xác định độ tinh khiết tạp F và tạp decloro desloratadin**

Tạp F và tạp decloro desloratadin trong cấu trúc có hệ thống nối đôi liên hợp nên hấp thụ ánh sáng trong vùng tử ngoại. Vì vậy, có thể xác định độ tinh khiết hai tạp bằng kỹ thuật **HPLC** với đầu dò PDA. Tạp F có nitrogen trong vòng pyridin nên có tính base yếu. Vì vậy, chọn hệ pha động methanol - nước là phù hợp. Trong khi đó, tạp decloro desloratadin thể hiện tính base mạnh hơn nên chọn hệ pha động acetonitril - acid trifluoroacetic 0,025% có tính acid (pH = 2,6) để chuyển chất phân tích sang dạng ion, rút ngắn thời gian phân tích mà vẫn đạt các thông số sắc ký. Với các hệ pha động được lựa chọn, chương trình rửa giải gradient từ 1% đến 99% trong 60 phút được triển khai để rửa giải hoàn toàn các chất có độ phân cực khác nhau (nếu có) trong mẫu, giúp xác định chính xác độ tinh khiết sắc ký của hai tạp khi áp dụng phương pháp quy về 100% diện tích pic.

#### **Thiết lập chất đối chiếu**

Hiện nay, hệ thống kiểm nghiệm thuốc quốc gia chưa cung cấp tạp chuẩn F để kiểm nghiệm viên nén desloratadin theo tiêu chuẩn USP (BP và ĐXVN V chưa có chuyên luận thành phẩm). Kết quả đánh giá và thiết lập chất đối chiếu tạp F cho thấy chất này đủ điều kiện để đăng ký chuẩn quốc gia với độ tinh khiết sắc ký được xác định trên 99%. Với quy trình tổng hợp và tinh chế đơn giản, hiệu suất tổng hợp cao cho

sản phẩm có độ tinh khiết cao, có thể thực hiện ở bất cứ phòng thí nghiệm nào với dụng cụ đơn giản và hóa chất dễ tìm, góp phần cung cấp nguồn tạp chuẩn cho công tác kiểm nghiệm và kiểm soát chất lượng thuốc lưu hành trên thị trường. Tạp decloro desloratadin được USP đưa ra giới hạn cho phép trong nguyên liệu cũng như báo cáo thông tin xuất hiện trong thành phẩm viên nén desloratadin. Hiện nay, USP chưa yêu cầu sử dụng tạp chuẩn decloro desloratadin trong kiểm tra nguyên liệu, chỉ yêu cầu định tính dựa vào thời gian lưu tương đối. Tuy vậy, với kết quả đánh giá và thiết lập chất đối chiếu, tạp decloro desloratadin đủ điều kiện để đăng ký chuẩn quốc gia với độ tinh khiết sắc ký trên 98% khi có yêu cầu.

#### **Kết luận**

Tạp F và tạp decloro desloratadin đã được tổng hợp và được đánh giá để làm chất đối chiếu sử dụng trong kiểm nghiệm tạp chất liên quan của desloratadin. Quy trình tổng hợp và tinh chế tạp F và tạp decloro desloratadin có hiệu suất trung bình toàn quy trình lần lượt là 74% và 70%, khối lượng sản phẩm lần lượt là 1 g và 0,8 g với độ tinh khiết sắc ký trên 98% tính trên nguyên trạng, đủ điều kiện để đăng ký chuẩn quốc gia.

#### **Tài liệu tham khảo**

1. U.S National Library of Medicine, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Desloratadine>, ngày truy cập: 24/12/2020.
2. Ngân hàng dữ liệu ngành Dược, <https://drugbank.vn/tim-kiem?search=desloratadin&entity=hoatChat&page=1&size=12>, ngày truy cập: 24/12/2020.
3. Dantu Durga Rao, Satyanarayana N. V., Malleswara Reddy A., Shakil Sait, Dinesh Chakole, Mukkanti Khagga (2009), "A validated stability indicating UPLC method for Desloratadine and its impurities in pharmaceutical dosage forms", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 3 (51), pp. 736-742.
4. Madduri Mayur, Srinivasa Reddy, Devjibhai Khunt (2007), "Process for the preparation of desloratadine polymorph mixtures", *US patent US20080287481A1*.
5. United States Pharmacopoeia 43 online

edition (2020), *Monograph of Desloratadine*.

6. Li Feng, Li Jiaming, Tong Yuan Feng, Tao Li (2003), "Synthesis of desloratadine and its *N*-formyl derivative", *Chinese New Drug Journal*, 7, pp. 237-242.

7. Hangyu Liu, Qingqing Mei, Qingling Xu, Jinliang Song, Huizhen Liu, Buxing Han (2016), "Synthesis of formamides containing unsaturated groups by *N*-formylation of amines using CO<sub>2</sub> with H<sub>2</sub>", *Royal Society of Chemistry*, 2, pp. 196-201.

8. Sony Joseph (2013), "A convenient procedure for *N*-formylation of amines", *Tetrahedron Letters*, 8 (54), pp. 929-931.

9. Kaori Kojima, Makoto Oba, Minehito Endo, Haruki Sano, Kozaburo, Nishiyama (2013), "Palladium catalyzed transfer hydrogenation of organic substrates by hypophosphite in water containing nonionic surfactant", *Green Chemistry Letters and Reviews*, 6 (3), pp. 233-236.

10. ISO Guide 35:2006 (2006), *Reference materials – General and statistical principles for*

*certification*, pp. 48.

11. ISO 13528:2005 (2005), *Statistical methods for use in proficiency testing by inter-laboratory comparisons*, pp. 64.

12. ICH Harmonized tripartite guideline (2005), *Validation of analytical procedures: text and methodology*, pp. 1-13.

13. Sunil Kumar I. V., Anjaneyulu G. S. R., Hima Bindu V. (2011), "Identification and synthesis of impurities formed during sertindole preparation", *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 7, pp. 29-33.

14. Klovov S. V., Lokteva E. S., Golubina E. V., Maslakov K. I., Levanov A., V., Chernyak S. A. *et al* (2016), "Effective Pd/C catalyst for chlorobenzene and hexachlorobenzene hydrodechlorination by direct pyrolysis of sawdust impregnated with palladium nitrate", *Catalysis Communications*, 77, pp. 37-41.

15. LGC standard (2019), *CoA of Dechlorodesloratadine HCl*.

16. LGC standard (2019), *CoA of Desloratadine HCl*.