

TỔNG HỢP VÀ THIẾT LẬP CHẤT ĐỐI CHIẾU TẠP A CỦA ALOPURINOL

Lữ Thiện Phúc¹, Võ Thị Cẩm Nhung¹, Nguyễn Mạnh Quân¹,
Trương Ngọc Tuyên², Trần Việt Hùng³, Nguyễn Đức Tuấn^{2*}

¹Trường Đại học Y Dược TP. Cần Thơ

²Trường Dược, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

³Viện Kiểm nghiệm Thuốc TP. Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, hợp chất 5-amino-1H-pyrazol-4-carboxamid hemisulfat (tạp chất A của alopurinol) đã được tổng hợp thành công từ alopurinol với hiệu suất toàn quy trình khoảng 48%. Bằng phương pháp HPLC kết hợp với đầu dò PDA, độ tinh khiết sắc ký của tạp chất liên quan A của alopurinol được xác định đạt trên 99% tính theo nguyên trạng, đáp ứng đầy đủ yêu cầu thiết lập chất chuẩn đối chiếu trong kiểm nghiệm tạp chất alopurinol.

Từ khóa: Tạp A alopurinol, 5-amino-1H-pyrazol-4-carboxamid hemisulfat, alopurinol.

SYNTHESIS AND REFERENCE STANDARD ESTABLISHMENT OF ALLOPURINOL IMPURITY A

SUMMARY

In this study, 5-amino-1H-pyrazole-4-carboxamide hemisulfate (allopurinol impurity A) was successfully synthesized from allopurinol with the overall yield approximately 48%. By using HPLC-PDA, the chromatographic purity of allopurinol related compound A was determined over 99% on the basis, conforming fully to establish reference standard for allopurinol impurities testing.

Keywords: Allopurinol impurity A, 5-amino-1H-pyrazole-4-carboxamide hemisulfate, allopurinol.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, alopurinol là một trong những thuốc được dùng phổ biến trong điều trị bệnh gút và tăng acid uric huyết. Từ năm 2018, alopurinol đã được đưa vào danh mục thuốc thiết yếu của Bộ Y tế [1-2]. Là thuốc được chỉ định thường quy trong điều trị bệnh gút nhưng nhiều nghiên cứu cho thấy quá trình tổng hợp, sản xuất và bảo quản alopurinol vẫn còn tồn tại và phát sinh nhiều tạp chất có khả năng gây ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị và tính an toàn của thuốc.

Trong chuyên luận nguyên liệu và thành phẩm của Dược điển Việt Nam V và Dược điển Anh (BP) 2025, việc kiểm tra giới hạn các tạp chất liên quan của alopurinol, trong đó có tạp A là bắt buộc và cần sử dụng tạp chuẩn [3-4]. Tuy nhiên, việc kiểm nghiệm này còn gặp nhiều khó khăn do tạp chuẩn chưa sẵn có trong nước, phải nhập khẩu từ nước ngoài với thời gian đặt hàng kéo dài và giá thành rất đắt, cụ thể 1 lọ tạp A đạt chuẩn Dược điển Mỹ (USP NF 2025) có giá hơn 800 USD cho 25 mg [5]. Tạp A vừa là sản phẩm trung gian trong quá trình tổng hợp alopurinol vừa là sản phẩm phân hủy của alopurinol [6]. Các nghiên cứu tổng hợp tạp A được công bố trên thế giới đều sử dụng cơ

Chịu trách nhiệm: Nguyễn Đức Tuấn

Email: ductuan@ump.edu.vn

Ngày nhận: 19/5/2025

Ngày phản biện: 10/6/2025

Ngày duyệt bài: 30/6/2025

chất ban đầu và qua nhiều giai đoạn phức tạp [7,8]. Tại Việt Nam, hiện chưa có công trình nghiên cứu tổng hợp tạp A 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 A của alopurinol.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu

Nguyên liệu: Alopurinol - Nhà sản xuất Yixing City Xingyu Pharmaceutical Co., Ltd (Trung Quốc), số lô 20220818, hàm lượng 99% tính theo nguyên trạng. Tạp chuẩn A EP CRS của alopurinol, No 3, Code:

A0350010 độ tinh khiết 100% tính theo nguyên trạng.

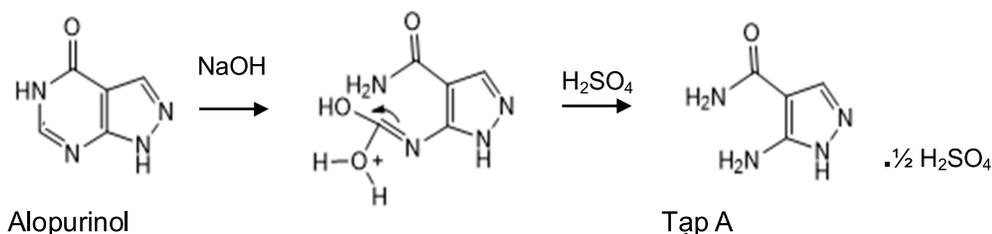
Hóa chất và dung môi: Natri hydroxyd, acid sulfuric đậm đặc, acid phosphoric đậm đặc và ethanol tuyệt đối đạt tiêu chuẩn phân tích. Acetonitril (ACN) đạt tiêu chuẩn dùng cho sắc ký lỏng. Bản mỏng silica gel GF₂₅₄.

2.2. Thiết bị

Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) Hitachi 2000 đầu dò PDA. Máy quang phổ IR Bruker alpha-T. Máy LC-MS Agilent 1200 nguồn ESI. Máy cộng hưởng từ hạt nhân 500 MHz Bruker Advance II.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Tổng hợp tạp A từ alopurinol



Sơ đồ 1. Tổng hợp tạp A từ alopurinol

Dựa theo tài liệu tham khảo [8], tạp A được tổng hợp bằng phản ứng phân hủy alopurinol dưới tác nhân kiềm hóa NaOH tạo thành 3-amino-4-pyrazol carboxamid, sản phẩm phản ứng được acid hóa ở pH thích hợp bằng H₂SO₄ tạo muối hemisulfat (sơ đồ 1). Trong quá trình tổng hợp, tiến hành khảo sát các điều kiện phản ứng gồm tỷ lệ mol giữa alopurinol và natri hydroxyd, nhiệt độ phản ứng, thời gian phản ứng, pH kết tủa và kết tinh tạp A. Sản phẩm tổng hợp được thử tinh khiết bằng sắc ký lớp mỏng (SKLM) với 3 hệ dung môi có độ phân cực khác nhau: cloroform-ethanol-acid formic (70:30:1); cloroform-ethyl acetat-methanol-acid formic (50:40:40:1) và cloroform-aceton-methanol (9:1:1), sắc ký lỏng hiệu

năng cao (HPLC) và được xác định cấu trúc bằng các phương pháp phổ nghiệm UV, IR, MS và NMR.

Xác định độ tinh khiết tạp A: Độ tinh khiết của tạp A được xác định bằng phương pháp HPLC-PDA quy về 100% diện tích pic.

Điều kiện sắc ký: cột Phenomenex Gemini NX C18 (150 x 4,6 mm; 5 μm), pha động ACN – dung dịch H₃PO₄ 0,01 M (2:98), tốc độ dòng 0,5 ml/phút, đầu dò PDA, bước sóng phát hiện 220 nm, thể tích tiêm mẫu 10 μl, nhiệt độ cột 25°C.

Đánh giá tạp A: Tạp A được đánh giá theo các chỉ tiêu cảm quan, độ tan, điểm chảy, định tính, độ tinh khiết sắc ký và tạp chất liên quan theo Dược điển Mỹ (USP NF 2022) [9].

Thiết lập chất đối chiếu tạp A

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 A 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^[10].

Đánh giá độ đồng nhất lọ liên phòng thí nghiệm: Tạp A 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 đối xứng của pic tạp A 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 A trên 6 mẫu đã nhận, mỗi mẫu được xác định 2 lần. Các phòng thí nghiệm được lựa chọn để gửi mẫu là Khoa Thiết lập chất chuẩn – chất đối chiếu (PTN1), Khoa Nghiên cứu – Phát triển (PTN2) và Khoa Vật lý (PTN3) thuộc Viện Kiểm nghiệm Thuốc Thành phố Hồ Chí Minh. Việc đánh giá độ đồng nhất lọ liên phòng thí nghiệm được tiến hành theo hướng dẫn của ISO 13528^[8], sử dụng phép phân tích phương sai một yếu tố ANOVA, phép kiểm Fisher.

Xác định giá trị ấn định và độ không đảm bảo đo: Việc xác định giá trị ấn định trên phiếu kiểm nghiệm tạp A, độ không đảm bảo đo $U_x = 1,25s^*/\sqrt{p}$ được thực hiện theo hướng dẫn của ISO 13528^[11], dựa theo 18

kết quả xác định độ tinh khiết của tạp A tại 3 phòng thí nghiệm.

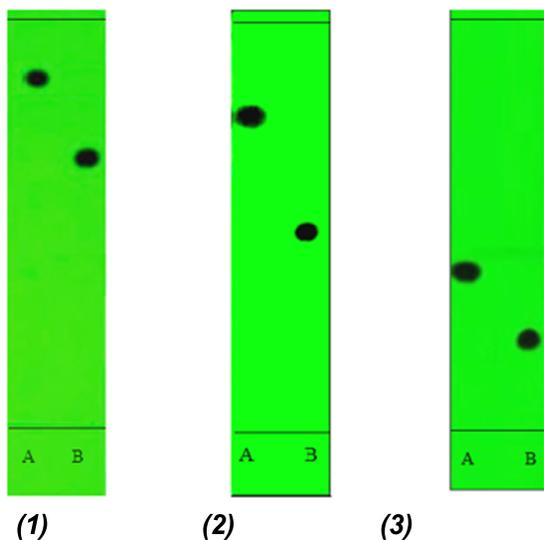
3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Tổng hợp tạp A

Sau khi khảo sát các điều kiện phản ứng gồm tỷ lệ mol giữa alopurinol và natri hydroxyd, nhiệt độ phản ứng, thời gian phản ứng, pH kết tủa và kết tinh tạp A, tạp A được tổng hợp ở quy mô phòng thí nghiệm như sau: hòa tan 2 g alopurinol (14,7 mmol) vào 50 ml dung dịch NaOH 1 M (50 mmol). Đun hồi lưu dung dịch thu được ở nhiệt độ 180°C trong 5 giờ. Để nguội, sau đó điều chỉnh pH của dung dịch đến giá trị pH = 5 bằng dung dịch H₂SO₄ 10%, lọc lấy dịch. Tiếp tục điều chỉnh pH dịch lọc thu được đến giá trị pH = 1,5 bằng dung dịch H₂SO₄ 10%. Để dung dịch qua đêm ở nhiệt độ phòng, lọc cẩn thận để thu lấy tủa. Rửa tủa bằng nước cất lạnh (3 ml/lần x 3 lần). Sấy ở 60°C trong 4 giờ để thu lấy sản phẩm. Cho sản phẩm tổng hợp vào cốc có mỏ 100 ml, thêm khoảng 80 ml hỗn hợp cồn tuyệt đối – nước (4:1) đã làm lạnh, khuấy đều hỗn hợp khoảng 3 phút, sau đó lọc qua giấy lọc thu lấy sản phẩm. Sấy sản phẩm ở 60°C trong 12 giờ.

3.2. Thử tinh khiết sản phẩm tổng hợp

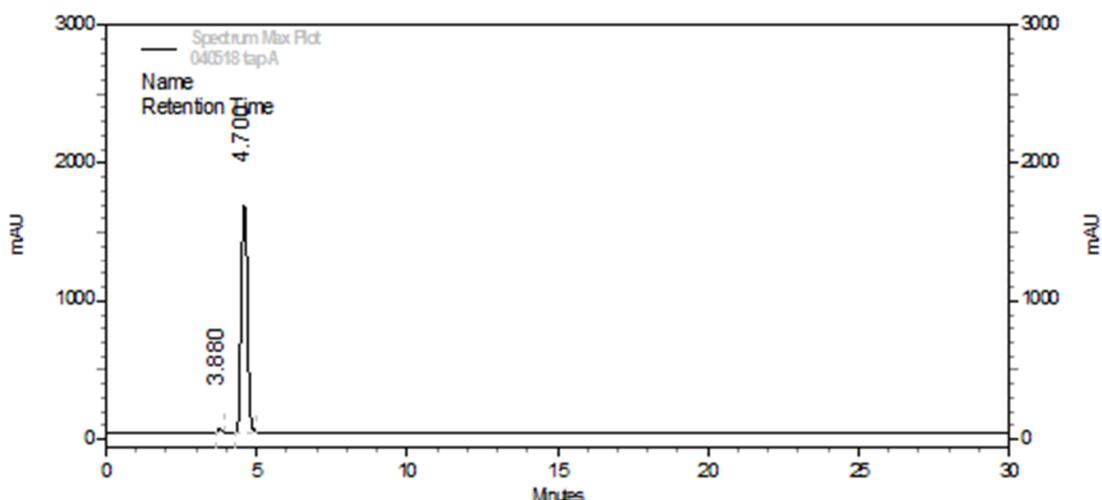
Sản phẩm tổng hợp được hòa tan trong methanol, sau đó được triển khai sắc ký lớp mỏng với 3 hệ dung môi khác nhau. Kết quả cho thấy sản phẩm tổng hợp chỉ cho một vết duy nhất và tinh khiết trên SKLM (hình 1). Kết quả thử tinh khiết bằng phương pháp HPLC, áp dụng phương pháp so sánh với chuẩn để xác định độ tinh khiết sản phẩm tổng hợp cho thấy sắc ký đồ tại bước sóng 220 nm xuất hiện một pic chính duy nhất cùng một vài pic tạp có diện tích pic rất nhỏ, pic chính đạt độ tinh khiết theo phổ UV-Vis. Hình 2 minh họa sắc ký đồ HPLC kiểm tra độ tinh khiết của sản phẩm.



Hình 1. Sắc ký đồ kiểm tra độ tinh khiết của sản phẩm tổng hợp bằng SKLM

A. Alopurinol; B. Sản phẩm tổng hợp

1. Cloroform–ethanol–acidformic (70:30:1);
2. Cloroform–ethyl acetat– methanol–acid formic (50:40:40:1);
3. Cloroform–acetone– methanol (9:1:1)



Hình 2. Sắc ký đồ kiểm tra độ tinh khiết của sản phẩm tổng hợp bằng HPLC

Điều kiện sắc ký: Cột Phenomenex Gemini NX C18 (150 x 4,6 mm; 5 μ m), pha động ACN – dung dịch H_3PO_4 0,01 M (2:98), tốc độ dòng 0,5 ml/phút, đầu dò PDA với bước sóng phát hiện 220 nm, thể tích tiêm mẫu 10 μ l, nhiệt độ cột 25°C. Mẫu thử được pha trong pha động có nồng độ khoảng 300 μ g/ml.

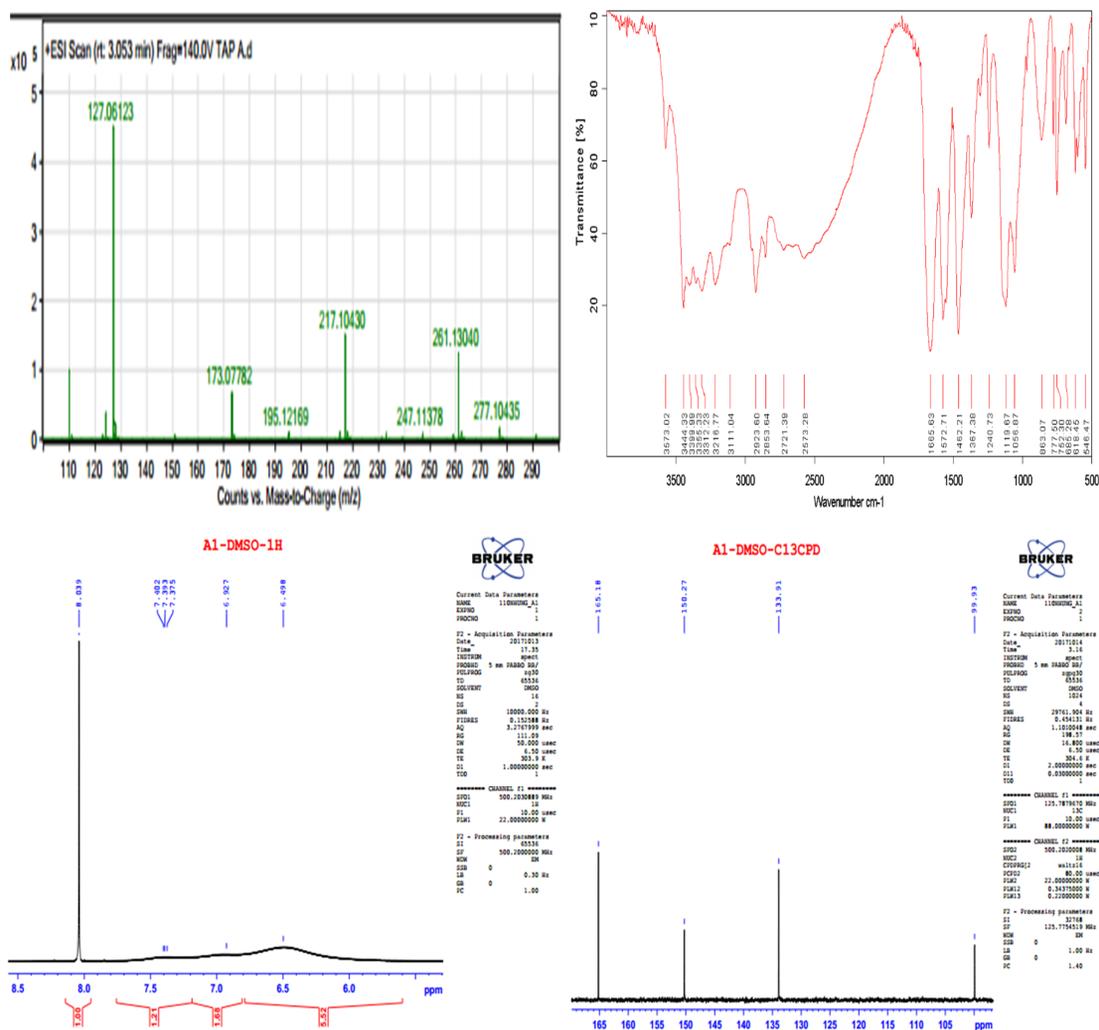
3.3. Xác định cấu trúc sản phẩm tổng hợp

Kết quả phổ UV-Vis cho thấy sản phẩm tổng hợp (được hòa tan trong methanol) có bước sóng hấp thụ cực đại tại 222,5 nm và 250 nm. Kết quả phổ IR (KBr: ν_{max} (cm^{-1}))

cho thấy sản phẩm tổng hợp có một số đỉnh đặc trưng tại 3444,33 và 3399,99 cm^{-1} (ν_{N-H} , amin); 1665,63 cm^{-1} ($\nu_{C=O}$, amid), 1462,71 cm^{-1} ($\nu_{C=N}$) và 1119,67 cm^{-1} (ν_{N-N} , pyrazol). Phản ứng định tính gốc sulfat bằng $BaCl_2$ dương tính. Phổ khối

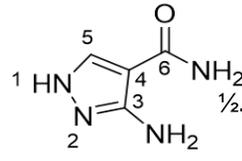
ESI-MS(+) của sản phẩm tổng hợp cho tín hiệu $[M+H]^+$ có $m/z = 127,06123$; M phù hợp với khối lượng phân tử lý thuyết của tạp A ($C_4H_6N_4O$, $M = 126,1170$). Kết hợp phân tích dữ liệu phổ ^{13}C – NMR và 1H -NMR (bảng 1) số lượng và vị trí carbon và proton của sản phẩm tổng hợp phù hợp với công thức cấu tạo của 5-amino-1H-pyrazol-4-carboxamid hemisulfat (tạp A của alopurinol). Phổ 1H – NMR cho tín hiệu H trong $-C(H)$ ($\delta_H = 8,039$ ppm)

rõ nhưng do gốc muối sulfat nên làm tín hiệu của nước dịch chuyển đến khoảng $\delta_H = 7,5$ ppm, lẫn với các tín hiệu của NH và NH_2 trong cấu trúc tạp A. Kết quả phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR được so sánh và phù hợp với phổ NMR của tạp A chuẩn. Các dữ liệu phổ UV, IR cũng tương đồng và phù hợp với tạp A. Cấu trúc tạp A được trình bày ở hình 3. Hiệu suất tổng hợp và tinh chế tạp A được trình bày trong bảng 2.



Hình 3. Phổ hồng ngoại, phổ khối và phổ 1H -NMR; ^{13}C -NMR của sản phẩm tổng hợp

Bảng 1. Dữ liệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và $^1\text{H-NMR}$ và công thức cấu tạo của sản phẩm tổng hợp

Vị trí	Sản phẩm tổng hợp		Tạp A chuẩn		Công thức cấu tạo của sản phẩm tổng hợp	
	Phổ IR	$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO)	$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO)	$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, (CD_3) $_2\text{SO}$)		$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, (CD_3) $_2\text{SO}$)
		δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)		δ_{H} (ppm)
2	=C(H)-	133,9	8,04 (s, 1H)	133,9	8,02 (s, 1H)	 <p>Tạp A của alopurinol (5-amino-1H-pyrazol-4-carboxamid hemisulfat)</p>
3	=C-N<	150,3		150,2		
5	=C<	99,9		100,1		
6	>C=O	165,2		165,2		

Bảng 2. Hiệu suất tổng hợp và tinh chế tạp A

Khối lượng alopurinol (g)	2,005
Khối lượng tạp A lý thuyết (g)	2,580
Khối lượng tạp A thực tế tổng hợp được sau tinh chế (g)	1,258
Hiệu suất tổng hợp và tinh chế	48,77%

3.4. Xác định độ tinh khiết tạp A bằng HPLC-PDA

Quy trình xác định độ tinh khiết tạp A bằng HPLC-PDA được thẩm định theo hướng dẫn của ICH [12], 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 3 và bảng 4.

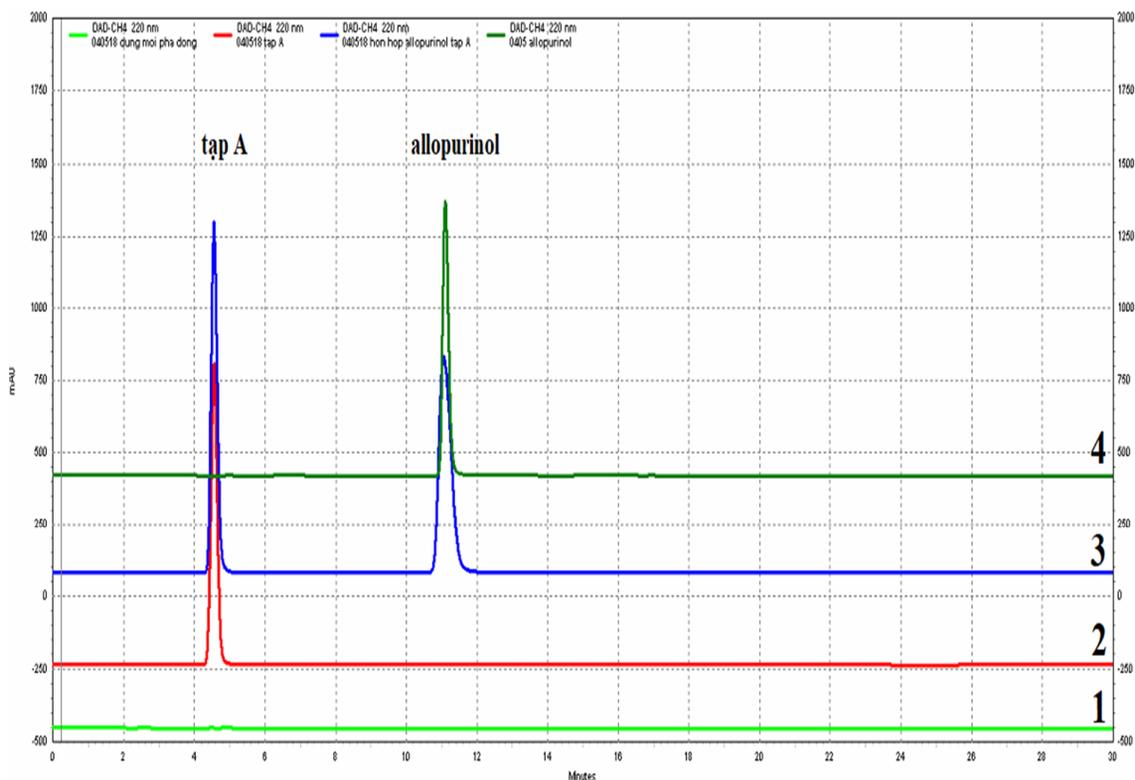
Bảng 3. Kết quả khảo sát tính phù hợp hệ thống của phương pháp (n = 6)

	Giá trị thống kê	Thời gian lưu (phút)	Diện tích pic ($\mu\text{V} \times \text{giây}$)	Hệ số đối xứng
Tạp A	Trung bình	4,77	97.708.557	1,19
	RSD	0,4%	1,1%	

RSD của các thông số sắc ký đều $\leq 2,0\%$ và hệ số đối xứng của pic tạp A nằm trong khoảng 0,8 – 1,5. Như vậy, quy trình xác định độ tinh khiết tạp A 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 (1) không xuất hiện pic có thời

gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic tạp A trong sắc ký đồ mẫu thử (2); sắc ký đồ của mẫu thử có thời gian lưu trùng thời gian lưu tạp A alopurinol chuẩn (3) và tách hoàn toàn pic alopurinol (4). Pic tạp A đạt độ tinh khiết theo phổ UV-Vis. Như vậy, quy trình đạt tính đặc hiệu. Hình 4 minh họa sắc ký đồ khảo sát tính đặc hiệu.



Hình 4. Sắc ký đồ khảo sát tính đặc hiệu

Bảng 4. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính và độ chính xác

	Tạp A
Phương trình hồi quy	$y = 173033x$
Khoảng tuyến tính ($\mu\text{g/ml}$)	120 - 420 $\mu\text{g/ml}$
Hệ số tương quan (R)	0,9986
Độ chính xác (RSD, n = 12)	0,1%
Độ tinh khiết sắc ký*	99,55%

*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 A 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 A theo phương pháp quy về 100% diện tích pic là trên 99% tính theo nguyên trạng.

3.5. Đánh giá tạp A

Bảng 5 trình bày kết quả đánh giá tạp A. Với độ tinh khiết trên 99% nên hợp chất này đủ điều kiện để thiết lập chất đối chiếu.

Bảng 5. Kết quả đánh giá tạp A

Chỉ tiêu	Phương pháp	Mức chất lượng	Kết quả
Tính chất	Cảm quan	Bột màu trắng	Đạt
	Độ tan	Tan trong nước, tan tốt trong methanol, DMSO.	
Định tính	Phổ UV	λ_{max} (MeOH) 222 nm, 250 nm	Đúng
	Phổ IR	3444,33 và 3399,99 cm^{-1} (-NH- amin), 1665,53 cm^{-1} (-C=O amid), 1462,71 cm^{-1} (C=N), 1119,67 cm^{-1} (N-N pyrazol)	
	Phổ MS	ESI-MS(+) $m/z = 127,06123 [M+H]^+$	
	Phổ NMR	Phổ ^{13}C -NMR: xem bảng 1	
Điểm chảy	DSC	230 – 240°C	Đạt (237,4 °C)
Hàm ẩm	Mất khối lượng do làm khô	$\leq 0,5\%$	Đạt (0,1%)
Tạp chất liên quan	HPLC	$\leq 2\%$	Đạt (0,2%)
Độ tinh khiết sắc ký	HPLC	$\geq 98\%$	Đạt (99,8%)

3.6. Thiết lập chất đối chiếu tạp A

1,25 g tạp A được đóng 120 lọ, mỗi lọ 10 mg và 18 lọ được lấy ngẫu nhiên 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 đối xứng của pic tạp A và RSD của diện tích pic tạp A nên có thể tiếp tục tiến hành xác định độ tinh khiết tạp A. Bảng 6 và bảng 7 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 6. Kết quả đánh giá độ đồng nhất của quá trình đóng lọ

Số thứ tự lọ	Độ tinh khiết tạp A (%)	Số thứ tự lọ	Độ tinh khiết tạp A (%)
03	99,64	69	99,45
17	99,54	74	99,84
22	99,71	89	99,76
28	99,65	98	99,72
45	99,89	102	99,78
62	99,85	113	99,66

Bảng 7. Kết quả đánh giá độ đồng nhất lọ liên phòng thí nghiệm

Mẫu	Độ tinh khiết tạp A (%)		
	PTN1	PTN2	PTN3
1	99,64	99,55	99,65
2	99,54	99,85	99,84
3	99,71	99,76	99,76
4	99,65	99,52	99,72
5	99,89	99,77	99,78
6	99,84	99,86	99,66

Bảng 8. Kết quả xác định giá trị ấn định của tạp A (n = 18)

Số lần thay đổi	Tạp A		
	$x^* 0$	$x^* 1$	$x^* 2$
$\delta = 1,5s^*$	0,19	0,19	0,19
$x^* - \delta$	99,53	99,53	99,53
$x^* + \delta$	99,92	99,92	99,92
x^* mới	99,72	99,72	99,72
s^* mới	0,13	0,13	0,13

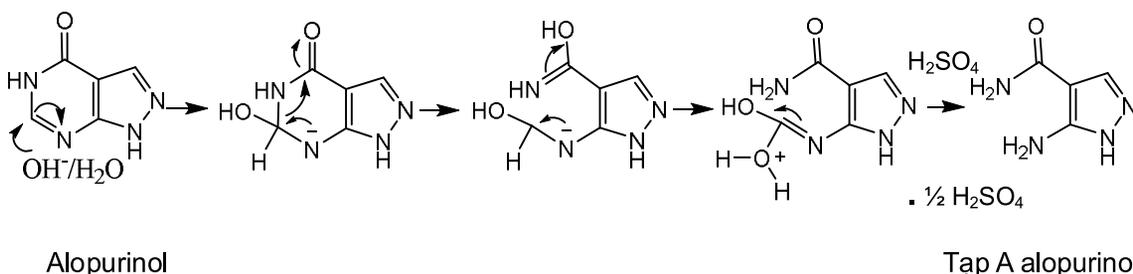
Sau hai lần thay đổi, $s^* = 0,13$ không thay đổi, khi đó x^* được chọn là 99,72%. Vậy giá trị ấn định của tạp A là 99,72% và độ không đảm bảo đo: $U_x = 0,04\%$.

Như vậy, tạp A đủ điều kiện để đăng ký chuẩn quốc gia với hàm lượng được xác định là 99,72% tính theo 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.

4. BÀN LUẬN

Hình 5 minh họa cơ chế phản ứng tổng hợp tạp A từ alopurinol bằng tác nhân kiềm là natri hydroxyd. Nhóm OH^- tấn công vào

vị trí = CH- trên vòng pyrimidin của alopurinol để mở vòng, sau đó thủy phân để tạo 3-aminopyrazol-4-carboxamid, sản phẩm tạo thành tiếp tục tác dụng với H_2SO_4 ở pH acid thích hợp để kết tủa tạp A, đồng thời ngăn phản ứng xảy ra tiếp tục sẽ phân hủy tạp A thành 5-amino-1H-pyrazol-4-carboxylic acid và 3-aminopyrazol. Quy trình tổng hợp tạp A đã giảm thiểu được số bước thực hiện phản ứng, sử dụng các hóa chất thường quy trong phòng thí nghiệm, trang thiết bị đơn giản hơn so với các nghiên cứu đã công bố [13] chỉ dừng lại ở bước trung gian tạo thành sản phẩm 3-aminopyrazol-4-carboxamid.



Hình 5. Cơ chế phản ứng tổng hợp tạp A alopurinol

5. KẾT LUẬN

Tạp A của alopurinol đã được tổng hợp và được đánh giá để làm chất đối chiếu sử dụng trong kiểm nghiệm tạp chất liên quan của alopurinol. Quy trình tổng hợp tạp A có hiệu suất khoảng 48% với độ tinh khiết sắc ký trên 99% tính theo nguyên trạng, đủ điều kiện để thiết lập chất đối chiếu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2018), Thông tư 19/2018/TT-BYT ngày 30/08/2018 ban hành danh mục thuốc thiết yếu.
2. Bộ Y tế (2015), *Dược thư quốc gia Việt Nam*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, tr. 162-165.
3. Bộ Y tế (2017), *Dược điển Việt Nam V*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 55-58.
4. British Pharmacopoeia online (2025).
5. USP Reference Standards. <https://store.usp.org/product/1013024>. Ngày truy cập 19/05/2025.
6. Steven A. Benezra, T. Reney Bennett (1978), *Analytical Profiles of Drug Substances*, pp. 1-17.
7. Ronald M. Cresswell, John W. Mentha, Russell Seaman (1972), *3-morpholino-2-cyanoacrylamid*, United States Patent, US3864341A.
8. Roland K. Robins (1955), "Potential Purine Antagonists. I. Synthesis of Some 4,6-Substituted Pyrazolo [3,4-d] pyrimidines", *J. Am. Chem. Soc.*, 78, pp. 784-790.
9. United States Pharmacopoeiae – National Formulary online (2025).
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. Haruo Tanaka, Tadatoshi Hayashi, Kiyoshi Nakayama (1973), "Riboside and Ribotide of 5(or 3)-Aminopyrazole-4-carboxamide. The Chemical Preparation from the Corresponding 4-Hydroxypyrazolo[3,4-d] pyrimidine Derivatives by Ring-opening Reaction", *Agr. Biol. Chem.* 37(7), pp.1731-1736.