

TỔNG HỢP VÀ XÁC ĐỊNH ĐỘ TINH KHIẾT CỦA TẠP CHẤT LIÊN QUAN BACLOFEN LACTAM CỦA BACLOFEN

Nguyễn Quỳnh Giao, Phạm Lê Ngọc Yến, Nguyễn Đức Tuấn*
Trường Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, hợp chất 4-(4-chlorophenyl)-pyrrolidin-2-one (baclofen lactam) đã được tổng hợp thành công từ baclofen, thionyl clorid và triethylamin với hiệu suất 42,49%. Bằng phương pháp HPLC-PDA, độ tinh khiết sắc ký của sản phẩm tổng hợp được xác định trên 99,0% tính theo nguyên trạng, hoàn toàn đáp ứng yêu cầu thiết lập chất chuẩn chất đối chiếu trong kiểm nghiệm tạp chất của baclofen.

Từ khóa: Baclofen lactam, 4-(4-chlorophenyl)-pyrrolidin-2-one.

SYNTHESIS AND DETERMINATION OF BACLOFEN LACTAM PURITY AS RELATED COMPOUND OF BACLOFEN

SUMMARY

In this study, 4-(4-chlorophenyl)-pyrrolidin-2-one (baclofen lactam) was successfully synthesized from baclofen, thionyl chloride, and triethylamine with the yield of 42.49%. By using HPLC-PDA, its chromatographic purity was determined to be over 99.0% on the basis, conforming fully to establish reference substance for baclofen impurities testing.

Keywords: Baclofen lactam; 4-(4-chlorophenyl)-pyrrolidin-2-one.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Baclofen, tác nhân đồng vận thụ thể GABA_B, là một trong những thuốc đầu tay điều trị tình trạng co cứng cơ ở các bệnh nhân đột quy, liệt não, đa xơ cứng, tổn thương tủy sống^[1,2]. Baclofen lactam (tạp A của baclofen) vừa là tạp nguyên liệu, tạp quá trình và vừa là tạp phân hủy^[3,4], có các độc tính đáng quan ngại như nghi ngờ gây độc tính gen và gây độc tính trên thai nhi^[5,6].

Do đó, BP 2023, EP 11.0 và USP 45 yêu cầu phải kiểm tra baclofen lactam trong nguyên liệu và thành phẩm baclofen^[7,8,9].

Cho đến nay, đã có một vài nghiên cứu ngoài nước công bố quy trình tổng hợp baclofen lactam^[6,10,11]. Hiện tại ở Việt Nam vẫn chưa có sẵn tạp chuẩn baclofen lactam trong danh mục chất chuẩn của Viện Kiểm nghiệm Thuốc Trung ương và Viện Kiểm nghiệm thuốc Thành phố Hồ Chí Minh, dẫn đến các cơ sở sản xuất chế phẩm baclofen trong nước phải mua tạp chuẩn này với giá thành cao (903 USD/50 mg)^[12] và còn gặp nhiều khó khăn trong thủ tục nhập khẩu. Cho đến nay, chưa có công trình nghiên cứu tổng hợp baclofen lactam được công bố trong nước. Xuất phát từ nhu cầu thực tiễn trên, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu tổng hợp baclofen lactam ở quy mô phòng thí nghiệm và xây dựng quy trình xác định độ tinh khiết sắc ký của sản phẩm tổng hợp bằng phương pháp HPLC-PDA, làm cơ sở cho việc thiết lập tạp chuẩn, phục vụ công

Chịu trách nhiệm: Nguyễn Đức Tuấn

Email: ductuan@ump.edu.vn

Ngày nhận bài: 16/6/2025

Ngày phản biện: 25/6/2025

Ngày duyệt bài: 30/6/2025

tác kiểm tra tạp chất trong nguyên và thành phẩm baclofen.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu

Baclofen được sử dụng để tổng hợp baclofen lactam do Công ty SNA Healthcare Private Limited - Ấn Độ sản xuất, số lô BF-17-002, độ ẩm 0,95% và hàm lượng 99,62% tính trên chế phẩm khan.

2.2. Hóa chất và dung môi

Aceton, acid hydrochloric, cloroform, dicloromethan, ethyl acetat, hexan, hydrogen peroxyd, methanol, acid acetic băng, acid formic, thionyl clorid, triethylamin và natri hydroxyd đạt tiêu chuẩn phân tích. Acetonitril và methanol đạt tiêu chuẩn sắc ký lỏng.

2.3. Dụng cụ và thiết bị

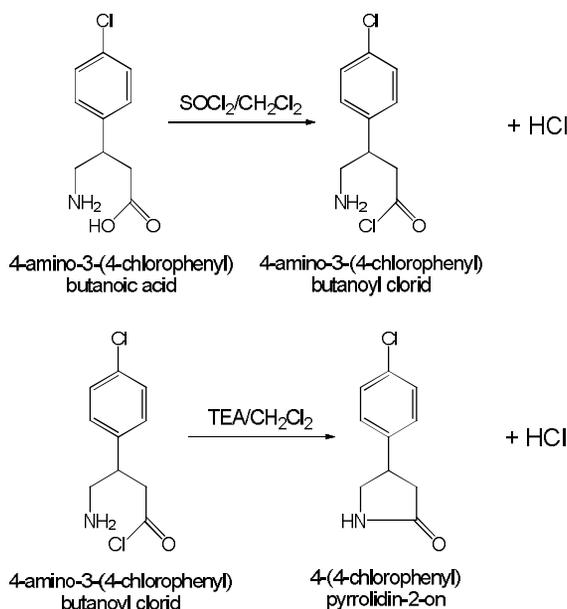
Buồng soi UV Vilber Lourmat CN-6. Cân phân tích 4 số Sartorius Practum 224 – 1S. Cột sắc ký C18 (250 x 4,6 mm; 5 μm). Hệ thống HPLC – PDA Waters Alliance 2695XE và Waters LC-2050C 3D. Màng lọc 0,45 μm Sartorius. Máy cô quay chân không Buchi R210S. Máy cộng hưởng từ hạt nhân 600 MHz Bruker Advance II. Máy khối phổ nguồn ESI Varian Ultramass 700. Máy cất nước Pall. Máy quang phổ hồng ngoại Shimadzu

IRAffinity – 1S. Máy quang phổ UV-Vis Shimadzu UV-1990I. Máy siêu âm Elma T840 DH. Tủ sấy chân không Jeiotech M099129.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

Tổng hợp và tinh chế baclofen lactam

Dựa theo tài liệu đã công bố^[11], baclofen lactam được tổng hợp bằng phản ứng clor hóa baclofen tạo dẫn xuất acyl clorid, sử dụng tác nhân thionyl clorid. Dẫn xuất tạo thành được phản ứng với triethylamin (TEA) để tạo thành baclofen lactam (hình 1). Trong quá trình thực hiện phản ứng tổng hợp baclofen lactam, các yếu tố gồm thể tích dung môi dicloromethan, thể tích thionyl clorid và triethylamin, nhiệt độ phản ứng và thời gian phản ứng đã được khảo sát, theo dõi phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng (SKLM) với hệ dung môi ethyl acetat – methanol (1:1) có hoặc không có thêm 1 giọt acid formic, phát hiện các vết trên bản mỏng bằng đèn UV 254 nm. Lựa chọn điều kiện phản ứng sao cho không còn vết baclofen trên bản mỏng, hạn chế tối đa sản phẩm phụ và thời gian phản ứng phù hợp. Sản phẩm tổng hợp được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột.



Hình 1. Phản ứng tổng hợp baclofen lactam từ baclofen.

Thử tinh khiết sản phẩm tinh chế

Sản phẩm sau khi tinh chế được thử tinh khiết bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng, sử dụng bản mỏng silica gel GF₂₅₄ với 3 hệ dung môi có độ phân cực khác nhau, hệ dung môi 1 (HDM 1): hexan – acetone (1:1),

HDM 2: ethyl acetat – methanol – acid formic băng (12:1:0,1), HDM 3: cloroform – methanol (1:1); và phương pháp HPLC-PDA, tiến hành phân tích với 2 hệ pha động khác nhau (bảng 1).

Bảng 1. Hai hệ pha động thử tinh khiết sản phẩm tinh chế

Thời gian (phút)	Pha động 1		Pha động 2	
	Methanol (%)	Dung dịch acid acetic 0,1% trong nước (pH 3,0) (%)	Acetonitril (%)	Dung dịch acid acetic 0,1% trong nước (pH 3,0) (%)
0	10	90	10	90
60	90	10	90	10

Xác định cấu trúc

Sản phẩm sau khi thử tinh khiết sẽ được đo phổ UV để xác định cực đại hấp thụ, đo phổ IR để xác định sự có mặt các đỉnh đặc trưng của các nhóm chức trong phân tử, đo phổ MS để xác định số khối của phân tử và các mảnh phân tử tương ứng với công thức hóa học dự kiến và đo phổ NMR để xác định cấu trúc.

Xác định độ tinh khiết sắc ký của baclofen lactam bằng HPLC-PDA

Độ tinh khiết sắc ký của baclofen lactam được xác định bằng phương pháp HPLC-

PDA quy về 100% diện tích pic với điều kiện sắc ký như sau: cột C18 (250 x 4,6 mm; 5 µm), pha động 2, tốc độ dòng 1,0 ml/phút, đầu dò PDA với bước sóng phát hiện 225 nm, thể tích tiêm mẫu 10 µl, nhiệt độ cột 30°C, mẫu thử có nồng độ khoảng 200 µg/ml pha trong hỗn hợp methanol - nước (1:1).

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Tổng hợp baclofen lactam

Bảng 2 trình bày 10 điều kiện khảo sát phản ứng tổng hợp baclofen lactam và bảng 3 tóm tắt kết quả theo dõi phản ứng bằng SKLM.

Bảng 2. Các điều kiện khảo sát phản ứng tổng hợp baclofen lactam

Điều kiện	1*	2*	3*	4	5
Khối lượng baclofen (g)	0,8	0,2	0,2	0,2	0,2
Thể tích dicloromethan (ml)	20	5	10	20	20
Thể tích thionyl clorid (ml)	0,38	0,10	0,12	0,5	0,15
Nhiệt độ phản ứng (°C)	35 – 40	15 – 20	15 – 20	0 – 5	0 – 5 khi cho thionyl clorid; 65 – 70 khi phản ứng
Thời gian phản ứng (giờ)	1/6	0,5	7	12	12
Thể tích triethylamin (ml)	1,0	0,25	0,25	-	0,42
Nhiệt độ phản ứng (°C)	35 – 40	10 – 25	10 – 25	-	0 – 5 khi cho triethylamin; 80 – 85 khi phản ứng
Thời gian phản ứng (giờ)	0,5	1	1	-	12
Điều kiện	6	7	8	9	10
Khối lượng baclofen (g)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Thể tích dicloromethan (ml)	20	20	20	20	20
Thể tích triethylamin (ml)	0,3	0,3	0,42	0,42	0,42

Nhiệt độ phản ứng (°C)	0 – 5	40 – 50	40 – 50	0 – 5 khi cho triethylamin; 40 – 50 khi phản ứng	
Thời gian phản ứng (giờ)	0,5	0,5	1	1	1
Thể tích thionyl clorid (ml)	0,15	0,15	0, 15	0,15	0,15
Nhiệt độ phản ứng (°C)	15 – 20	40 – 50	40 – 50	40 – 50	0 – 5 khi cho thionyl clorid; 40 – 50 khi phản ứng
Thời gian phản ứng (giờ)	48	0,5	1,5	19	40

*Điều kiện 1, 2, 3 là điều kiện được tham khảo theo tài liệu [11].

Bảng 3. Tóm tắt kết quả khảo sát phản ứng tổng hợp baclofen lactam

Điều kiện	Kết quả khảo sát
1	Dung dịch chuyển màu đen khi cho TEA. Phản ứng không xảy ra.
2	Phản ứng không xảy ra.
3	Phản ứng không xảy ra.
4	Phản ứng không xảy ra.
5	Không còn vết baclofen, xuất hiện vết mới.
6	Còn vết baclofen.
7	Còn vết baclofen và xuất hiện nhiều vết mới.
8	Còn vết baclofen và xuất hiện nhiều vết mới.
9	Còn vết baclofen, xuất hiện vết mới.
10	Không còn vết baclofen, xuất hiện vết mới.

Kết quả khảo sát cho thấy điều kiện 5 được lựa chọn vì không còn vết nguyên liệu baclofen, chỉ xuất hiện một vết mới lớn. Ngoài ra, thời gian và khoảng nhiệt độ phản ứng cũng phù hợp với một phản ứng hóa học trong phòng thí nghiệm. Từ các kết quả thực nghiệm, quy trình tổng hợp baclofen lactam được đề xuất như sau: Thêm từ từ 0,2 g baclofen (trong khoảng 60 phút) vào bình nón có chứa sẵn 20 ml dicloromethan và 0,15 ml thionyl clorid đã được làm lạnh ở nhiệt độ 0 – 5°C và được khuấy đều. Tiếp tục khuấy trong 30 phút và sau đó tiếp tục khuấy ở 65 – 70°C trong 12 giờ. Cô quay hỗn hợp phản ứng thu được chất rắn màu vàng. Hòa tan chất rắn trong 10 ml dicloromethan và thêm từ từ (trong khoảng 60 phút) vào một bình nón có chứa 0,42 ml triethylamin và 10 ml dicloromethan đã được làm lạnh ở nhiệt độ 0 – 5°C. Khuấy đều ở 80 – 85°C trong 12 giờ. Cô quay thu được sản phẩm thô màu vàng nâu. Kết quả khảo sát

thành phần hỗn hợp sau phản ứng bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng với hệ dung môi 1 cho thấy có 1 vết chính và 1 vết phụ trên sắc ký đồ.

3.2. Tinh chế sản phẩm tổng hợp

Sản phẩm tổng hợp được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột như sau: hòa tan sản phẩm thu được bằng cloroform, lọc qua giấy lọc, thu dịch lọc. Cho một lượng ethyl acetat vừa đủ vào cốc có mỏ chứa 12 gam silica gel đã được cân sẵn, dùng đũa thủy tinh khuấy đều hỗn dịch đến đồng nhất. Sau khi quan sát thấy không còn bọt khí, vừa khuấy vừa cho hỗn dịch vào cột. Đợi đến khi cột ổn định, tiến hành nạp mẫu bằng phương pháp nạp mẫu ướt. Triển khai sắc ký với hệ dung môi 2, hứng các phân đoạn bằng lọ thủy tinh màu có đánh số thứ tự, mỗi phân đoạn 5 ml. Kiểm tra các phân đoạn bằng sắc ký lớp mỏng với hệ dung môi 2, phát hiện bằng đèn UV 254 nm. Dựa trên kết quả sắc ký lớp mỏng, các phân đoạn có

thành phần giống nhau sẽ được gộp chung. Cô quay dưới áp suất giảm các phân đoạn, sau đó sấy khô sản phẩm trong tủ sấy chân không trong 12 giờ ở nhiệt độ 50°C, thu được sản phẩm tinh chế.

3.3. Thử tinh khiết sản phẩm tinh chế

Kết quả thử tinh khiết bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng với 3 hệ dung môi cho thấy sản phẩm tinh chế có một vết chính duy

nhất. Kết quả thử tinh khiết bằng phương pháp HPLC-PDA, áp dụng phương pháp quy về 100% diện tích pic để xác định độ tinh khiết sản phẩm tinh chế, cho thấy ở cả 2 hệ pha động, sắc ký đồ 3 chiều và sắc ký đồ 2 chiều tại bước sóng 225 nm xuất hiện một pic chính duy nhất và đạt độ tinh khiết theo phổ UV-Vis. Độ tinh khiết của sản phẩm tinh chế được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Kết quả xác định độ tinh khiết của sản phẩm tinh chế

Pha động	Thời gian lưu (phút)	Diện tích pic ($\mu\text{V} \times \text{giây}$)	Diện tích pic (%)	Độ tinh khiết pic (theo phổ UV-Vis)
1	24,801	7.514.965	> 99,0	Đạt
2	37,003	7.330.048	> 99,0	Đạt

3.4. Xác định cấu trúc sản phẩm tinh chế

Phổ UV của sản phẩm tinh chế có cực đại hấp thụ tại 201,5 nm và 221,0 nm. Đỉnh hấp thụ cực đại tại bước sóng 201,5 nm thuộc dải hấp thụ E, phù hợp với cấu trúc có nhân benzen. Đỉnh hấp thụ cực đại tại bước sóng 221,0 nm thuộc dải hấp thụ B, phù hợp với dịch chuyển $\pi \rightarrow \pi^*$ trong cấu trúc nhân thơm hoặc dịch chuyển $n \rightarrow \pi^*$ của nhóm carbonyl. Phổ IR của sản phẩm tinh chế có các đỉnh đặc trưng của N-H (3194,12 và 1489,05 cm^{-1}), C-H (2877,79 cm^{-1}), C=O lactam và C=C vòng thơm (1666,50 cm^{-1}), C-N (1257,59 cm^{-1}), C-Cl (810,10 cm^{-1}). Phổ MS-ESI (+) của sản phẩm tinh chế cho tín

hiệu $[\text{M}+\text{H}]^+$ có $m/z = 196,0536$ phù hợp với khối lượng phân tử lý thuyết theo IUPAC của baclofen lactam ($\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{ClNO}$, $M = 195,64 \text{ g/mol}$). Phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ của sản phẩm tinh chế được đo trong dung môi CDCl_3 . Phân tích dữ liệu phổ NMR (bảng 5 và bảng 6) cho thấy số lượng và vị trí của proton, carbon và nitrogen của sản phẩm tinh chế phù hợp với công thức cấu tạo 4-(4-chlorophenyl)-pyrrolidin-2-one (baclofen lactam). Các dữ liệu phổ UV, IR và MS cũng tương đồng và phù hợp với baclofen lactam. Hình 2 minh họa cấu trúc của baclofen lactam. Bảng 7 tóm tắt hiệu suất của quy trình tổng hợp và tinh chế baclofen lactam.

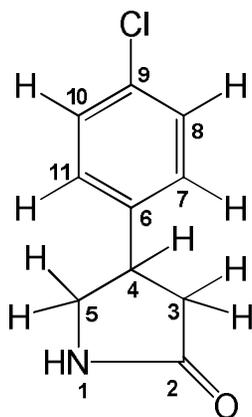
Bảng 5. Dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ của sản phẩm tinh chế

Sản phẩm tinh chế (600 MHz, CDCl_3)		Vị trí proton	Baclofen lactam (400 MHz, CDCl_3) ^[13]	
δ_{H} (ppm)	Số tích phân		Số tích phân	δ_{H} (ppm)
6,128 (s)	1	1	-	-
2,434 – 2,476 (dd, $J = 16,8; 8,4 \text{ Hz}$)	1	3	1	2,39 – 2,51 (dd; $J = 16,9; 8,41 \text{ Hz}$)
2,716 – 2,759 (dd, $J = 16,8; 9,0 \text{ Hz}$)	1		1	2,68 – 2,81 (dd, $J = 16,9; 8,72 \text{ Hz}$)

3,648 – 3,703 (m)	1	4	1	3,62 (m)
3,369 – 3,397 (m)	1	5	1	3,35 – 3,43 (m)
3,770 – 3,800 (t, J = 9,0 Hz)	1		1	3,84 (t)
7,181 – 7,195 (d, J = 8,4 Hz)	2	7, 11	2	7,18 (d, J = 9,1 Hz)
7,308 – 7,322 (d, J = 8,4 Hz)	2	8, 10	2	7,31 (d, J = 9,1 Hz)

Bảng 6. Dữ liệu phổ ^{13}C -NMR của sản phẩm tinh chế

Bậc carbon	Vị trí	δ_c (ppm) của sản phẩm tinh chế (150 MHz, CDCl_3)	δ_c (ppm) của baclofen lactam (100 MHz, CDCl_3) ^[13]
C_{II}	3	39,70	39,51
	5	49,35	49,43
C_{III}	4	37,79	38,22
	7, 11	128,11	128,02
	8, 10	129,03	128,83
C_{IV}	2	177,34	178,01
	6	132,95	132,72
	9	140,61	140,59



Hình 2. Công thức cấu tạo của baclofen lactam

Bảng 7. Tóm tắt khối lượng và hiệu suất của quy trình tổng hợp và tinh chế baclofen lactam

<i>n</i>	1	2	3
Khối lượng nguyên liệu cân (g)	0,2013	0,2024	0,2009
Khối lượng nguyên liệu thực tế (g)	0,2005	0,2016	0,2001
Khối lượng tạp A lý thuyết (g)	0,1836	0,1846	0,1832
Khối lượng tạp A thực tế (g)	0,0707	0,0791	0,0805
Hiệu suất (%)	40,69	42,85	43,94
Hiệu suất trung bình (%)		42,49	

3.5. Xác định độ tinh khiết sắc ký của baclofen lactam bằng phương pháp HPLC-PDA

Quy trình xác định độ tinh khiết sắc ký của baclofen lactam bằng phương pháp HPLC-PDA được thẩm định theo hướng dẫn của ICH [14], bao gồm khảo sát tính phù hợp của hệ thống, tính đặc hiệu, khoảng tuyến tính, độ chính xác. Nhằm mục đích chứng minh quy trình có tính đặc hiệu trong trường hợp có sự hiện diện của sản phẩm phân hủy, baclofen lactam đã được để trong một số điều kiện khắc nghiệt sau đây (mẫu phân hủy): thủy phân bằng dung dịch natri hydroxyd 0,5 N trong 24 giờ, thủy phân bằng

dung dịch acid hydrochloric 0,5 N trong 24 giờ, oxy hóa bằng dung dịch hydrogen peroxyd 3% trong 6 giờ, đặt mẫu trong tủ sấy ở 60°C trong 24 giờ, làm ẩm mẫu với lượng nước vừa đủ (khoảng 1 ml) trong 24 giờ, đặt mẫu dưới ánh sáng mặt trời trong 24 giờ. Ngoài ra, để theo dõi độ ổn định của baclofen lactam trong dung dịch acid acetic 0,5%, chuẩn bị mẫu thử baclofen lactam trong dung dịch acid acetic 0,5% và bảo quản ở điều kiện phòng thí nghiệm trong 24 giờ. Kết quả khảo sát tính phù hợp của hệ thống được tóm tắt ở bảng 8. Hình 3 minh họa sắc ký đồ khảo sát tính đặc hiệu. Kết quả thẩm định được thể hiện ở bảng 9.

Bảng 8. Kết quả khảo sát tính phù hợp của hệ thống (n = 6)

Giá trị thống kê	t_R (phút)	S ($\mu V \times giây$)	Hệ số kéo đuôi	Số đĩa lý thuyết biểu kiến
Trung bình	22,407	5.739.754	1,29	75.742
RSD (%)	0,10	0,41	0,45	0,43

Giá trị RSD của các thông số sắc ký đều nhỏ hơn 2,0%, hệ số kéo đuôi của pic baclofen lactam nằm trong khoảng 0,8 – 1,5. Như vậy, quy trình xác định độ tinh khiết sắc ký của baclofen lactam đạt tính phù hợp của hệ thống.

Các kết quả khảo sát tính đặc hiệu cho thấy, sắc ký đồ mẫu trắng không xuất hiện pic có thời gian lưu tương đương với thời gian lưu của pic baclofen lactam trong sắc ký đồ mẫu thử. Sắc ký đồ các mẫu phân hủy, cụ thể là mẫu thủy phân trong natri hydroxyd và acid hydrochloric có xuất hiện các pic phân hủy và các pic này đều tách hoàn toàn với pic baclofen lactam. Pic baclofen lactam trong sắc ký đồ của các mẫu phân hủy và mẫu thử đều đạt độ tinh khiết theo phổ UV-Vis. Như vậy, quy trình

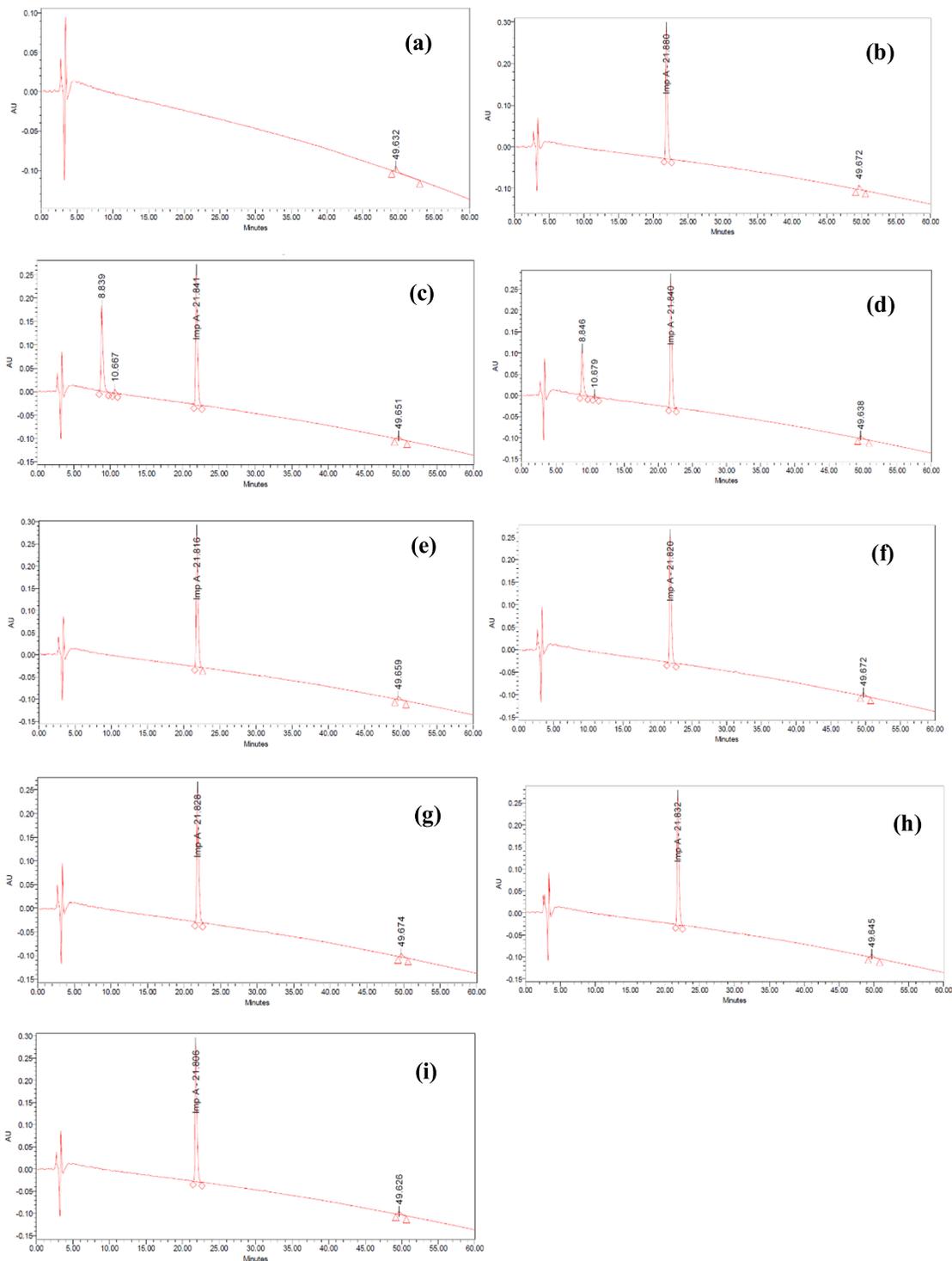
xác định độ tinh khiết sắc ký của baclofen lactam đạt tính đặc hiệu.

Bảng 9. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính và độ chính xác

Phương trình hồi quy	$\hat{y} = 23289,1 x$
Khoảng tuyến tính ($\mu g/ml$)	50 – 400
Hệ số tương quan (R)	1,000
Độ chính xác (RSD, n=12)	0,01%
Độ tinh khiết sắc ký*	> 99,0%

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

Kết quả thẩm định cho thấy quy trình xác định độ tinh khiết sắc ký của baclofen lactam có khoảng tuyến tính rộng với giá trị của hệ số tương quan cao, đạt yêu cầu về độ chính xác. Kết quả xác định độ tinh khiết sắc ký của baclofen lactam theo phương pháp quy về 100% diện tích pic là trên 99,0% tính theo nguyên trạng.



Hình 3. Sắc ký đồ (a): mẫu trắng; (b): mẫu thử baclofen lactam 200 µg/ml; (c): mẫu phân hủy bởi HCl 0,5 N/ 24 giờ; (d): mẫu phân hủy bởi NaOH 0,5 N/ 24 giờ; (e): mẫu làm ấm trong 24 giờ; (f): mẫu đặt dưới ánh sáng mặt trời trong 24 giờ; (g): mẫu để ở 60°C/ 24 giờ, (h): mẫu bị oxy hóa trong 24 giờ, (i): mẫu độ ổn định trong 24 giờ. Imp A: Baclofen lactam.

4. BÀN LUẬN

Phản ứng tổng hợp baclofen lactam là phản ứng sử dụng tác nhân thionyl clorid để clor hóa baclofen tạo dẫn xuất acyl clorid, dẫn xuất này tiếp tục được phản ứng với triethylamin để tạo thành baclofen lactam. Việc hoạt hóa acid carboxylic để tạo acid clorid – dạng ái điện tử hơn, và từ đó tác dụng với một amin (tác nhân ái nhân) tương ứng là một cách tiếp cận khả thi hơn khi cho tác dụng trực tiếp giữa acid carboxylic và amin. Acid clorid là tác nhân ái điện tử mạnh hơn acid carboxylic bởi sự hiện diện của điện tích dương tại phân tử carbon của nhóm carbonyl do kề cạnh có -Cl với độ âm điện cao nên có khả năng hút các điện tử của carbon trong -COCl. Kết quả, acid clorid có khả năng bắt cặp với amin cao hơn so với acid carboxylic để tạo nên lactam.

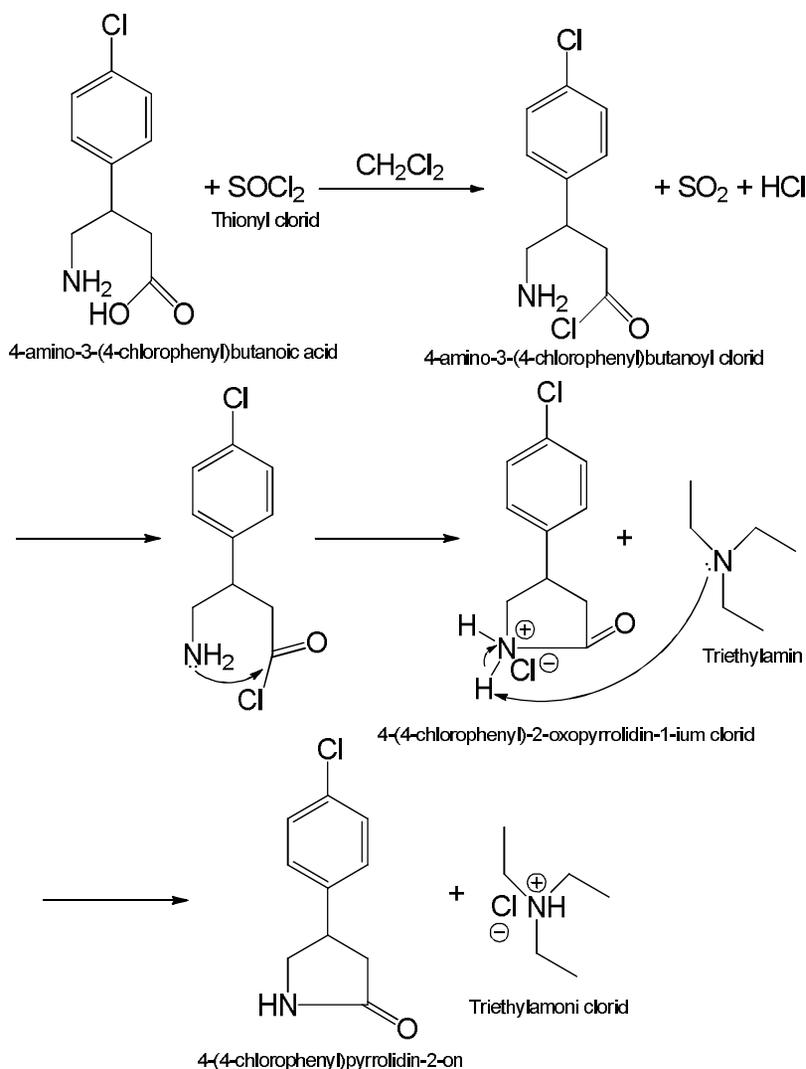
Khi cho baclofen từ từ vào dung dịch thionyl clorid trong dicloromethan, cần làm lạnh bình phản ứng do acid clorid là một chất rất dễ bị hoạt hóa và phản ứng clor hóa dễ tạo nhiều phản ứng phụ khác nhau. Thế tích thionyl clorid cho vào cũng ảnh hưởng đến việc hình thành sản phẩm. Nếu cho quá ít sẽ không đủ để chuyển baclofen thành dạng acid halid tương ứng. Nếu cho vừa đủ nhưng môi trường phản ứng còn nước, tác nhân sẽ bị hao hụt, không chuyển hết baclofen thành acid clorid. Nếu cho quá dư, phản ứng dễ tạo ra các sản phẩm phụ không kiểm soát được. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ tác nhân thionyl clorid và baclofen là khoảng 1:2 nhằm mục đích chuyển hết baclofen về dạng acid clorid, tránh sự hao hụt tác nhân và hạn chế tối đa sản phẩm phụ sinh ra. Việc cho baclofen vào bình phản ứng chứa sẵn dung môi và tác nhân nhằm mục đích

tăng khả năng baclofen tiếp xúc với tác nhân thay vì ngược lại là cho tác nhân vào bình chứa sẵn baclofen trong dung môi. Đồng thời, việc cho thionyl clorid mang nhiều rủi ro vì khi tốc độ thêm tác nhân vào bình phản ứng quá nhanh sẽ làm thay đổi đột ngột nồng độ tác nhân, dẫn đến phản ứng sẽ xảy ra mãnh liệt và sinh ra nhiều sản phẩm phụ. Sau khi thêm hết baclofen, nếu không thực hiện gia nhiệt, phản ứng sẽ hầu như không xảy ra. Trong quá trình phản ứng, nhóm hydroxyl của gốc acid carboxylic được thay bằng gốc $-O=S(Cl)=O$ tạo thành sản phẩm trung gian có nhóm clorosulfit. Sản phẩm này sẽ phản ứng với anion Cl^- (tác nhân ái nhân) tạo acid clorid có màu vàng. Việc cô quay để loại hoàn toàn thionyl clorid là cần thiết vì nếu sản phẩm baclofen lactam sinh ra tiếp xúc thionyl clorid trong thời gian dài và có gia nhiệt, khả năng sẽ chuyển thành dạng imidoyl clorid, tạo ra sản phẩm phụ và làm giảm hiệu suất tổng hợp.

Cầu nối amid nội phân tử được hình thành giữa gốc -COCl và $-NH_2$ của dẫn xuất acid clorid thông qua cơ chế N-acyl hóa. Đây là một hình thức thế ái nhân giữa nhóm ái nhân là $-NH_2$ và nhóm tác nhân acyl hóa là acid halid. Dung môi dicloromethan được sử dụng do có tính trơ và không tác dụng với dẫn xuất acid halid. Triethylamin được sử dụng thay cho N,N-diisopropylethylamin trong phản ứng tổng hợp baclofen lactam theo tài liệu đã công bố^[11] vì tính sẵn có của hóa chất trong phòng thí nghiệm nhưng vẫn giữ được tính chất của một base không ái nhân. Vai trò của triethylamin để tạo môi trường kiềm cho phản ứng Schotten-Baumann và trung hòa HCl sinh ra để phản ứng luôn xảy ra theo chiều thuận. Nếu lượng

triethylamin không đủ để trung hòa, HCl dư có thể phản ứng với gốc amin tự do của dẫn xuất acid clorid. Ngoài ra, baclofen lactam sinh ra lúc này sẽ bị phân hủy trong môi trường acid, như đã được thể hiện trong phần thẩm định tính đặc hiệu. Việc thêm dung dịch chứa dẫn xuất acid clorid của baclofen vào bình phản ứng chứa sẵn dung dịch triethylamin và dicloromethan trong điều kiện lạnh là để kiểm soát sự quá hoạt hóa

của acid clorid, hạn chế tạo ra các sản phẩm phụ trong quá trình phản ứng. Tương tự, sau khi thêm tác nhân cần có có sự gia nhiệt, nếu không phản ứng sẽ xảy ra không hoàn toàn. Việc thực hiện và đảm bảo môi trường phản ứng khan nước là điều kiện tiên quyết vì acid clorid kết hợp với nước sẽ chuyển lại dạng acid carboxylic. Hình 4 minh họa cơ chế đề nghị của phản ứng tổng hợp baclofen lactam từ baclofen.



Hình 4. Cơ chế đề nghị của phản ứng tổng hợp baclofen lactam từ baclofen.

Sản phẩm sau khi tinh chế và thử tinh khiết được xác định cấu trúc bằng các kỹ thuật phổ nghiệm. Phổ ^{13}C -NMR cho thấy có 8 tín hiệu, trong đó có 2 tín hiệu có cường độ cao là do có sự tồn tại của 2 cặp carbon đối xứng, sơ bộ nhận định khung cấu trúc gồm 10 carbon, phù hợp công thức phân tử của baclofen lactam, có tín hiệu đặc trưng của keton và amid mạch thẳng, ngoài ra 2 cặp carbon đối xứng cho thấy phù hợp với cấu trúc của phenyl. Phân tích phổ ^1H -NMR bao gồm độ dời hóa học, số tích phân, hình dạng đỉnh cũng như hằng số ghép cho thấy đều phù hợp với cấu trúc của baclofen lactam: tín hiệu ở 6,128 (1H, s) đặc trưng cho H nối với nguyên tử có độ âm điện cao, trong trường hợp baclofen lactam là H của -NH-; tín hiệu ở 7,181 – 7,195 (2H, d, J = 8,4 Hz) và 7,308 – 7,322 (2H, d, J = 8,4 Hz) xác nhận bốn H thuộc 4 nhóm -CH= của cấu trúc vòng phenyl; tín hiệu 3,648 – 3,703 (1H, m) tương ứng với 1 nhóm -CH-; các tín hiệu còn lại đều tương ứng với các H của 2 nhóm -CH₂- còn lại.

5. KẾT LUẬN

Baclofen lactam đã được tổng hợp từ baclofen với hiệu suất trung bình toàn quy trình là 42,49% và có độ tinh khiết sắc ký trên 99,0% tính theo nguyên trạng, đủ điều kiện để thiết lập chất đối chiếu, sử dụng trong kiểm tra tạp chất liên quan của baclofen.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Evenseth LSM, Gabrielsen M, Sylte I. The GABA(B) Receptor-Structure, Ligand Binding and Drug Development. *Molecules*. 2020; 25(13):3093.

2. Brashear A, Elovic E. Why Is Spasticity Treatment Important? Brashear A, Elovic E. Spasticity: *Diagnosis and Management*. 2nd ed. Demos Medical; 2010:10.

3. Ahuja S. Baclofen. *Analytical Profiles of Drug Substances*. Academic Press; 1985:527-548.

4. Heinrich Keberle B, Johann Werner Faigle, Riehen, Max Wilhelm. *Gamma-amino-beta-(para-halophenyl)-butyric acids and their esters*. US patent 3,471,548. Oct 7, 1969.

5. PubChem Compound Database, Compound summary for CID 185490: 4-(4-Chlorophenyl)-2-pyrrolidinone. Accessed on June 17, 2023.

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-4-Chlorophenyl-2-pyrrolidinone>.

6. Nandi U, Trikha S, Wadhwa A, et al. Synthesis and characterization of RS -4-amino-3-(4-chlorophenyl)-butyric acid: Baclofen impurity-A as per Indian Pharmacopoeia. *Indian Journal of Chemistry*. 2017; 56B(02):165 - 170.

7. British Pharmacopoeia Commission. *Baclofen, Baclofen Tablets*. British Pharmacopoeia 2023 online; 2023.

8. European Pharmacopoeia Commission. *Baclofen, Baclofen Tablets*. European Pharmacopoeia 11.0 online; 2022.

9. United States Pharmacopoeial Convention. *Baclofen, Baclofen Tablets*. United States Pharmacopoeia 45 and the National Formulary 40 online; 2022.

10. Naik R, Valentine, H, Dannals RF, Wong DF, Horti AG. Synthesis and Evaluation of a New ¹⁸F-Labeled Radiotracer for Studying the GABAB Receptor in the Mouse Brain. *ACS Chemical Neuroscience*. 2018; 9(6):1453 - 1461.
11. Elagawany M, Farid NF, Elgendy B, Abdelmomen EH, Abdelwahab NS. Baclofen impurities: Facile synthesis and novel environmentally benign chromatographic method for their simultaneous determination in baclofen. *Biomedical Chromatography*. 2019; 33(9):e4579.
12. *Baclofen Related Compound A (50 mg) (4-(4-Chlorophenyl)-2-pyrrolidinone)*. USP Store. Accessed on Jun 17, 2023. <https://store.usp.org/product/1048222>.
13. Thakur VV, Paraskar A, Sudalai A. Asymmetric synthesis of (R)-(-)-baclofen via asymmetric dihydroxylation. *Indian J Chem – Section B Organic and Medicinal Chemistry*. 2007;46B:326 - 330.
14. ICH. *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1)*. International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH); 2005:8 - 15.