Nghiên cứu tổng hợp flutamid

Đinh Thị Thanh Hải, Vũ Trần Anh, Đoàn Minh Sang, Giang Thị Minh Anh
Trường Đại học Dược Hà Nội
**Tác giả liên hệ: haidtt@hup.edu.vn*
(Ngày gửi đăng: 10/1/2022 - Ngày duyệt đăng: 25/02/2022)

SUMMARY

The procedure of synthesis flutamide has been improved with active ester as a key intermidiate and 3-(trifuoromethyl)aniline as starting material. Important reaction conditions for 50-gram-scale and 500-gram-scale have been investigated. By-product 2,4,6-trihydroxy-1,3,5-triazine was recycled to starting material cyanuric chloride. This synthesizing process is timely, environmentally friendly, high yield and potential for industrial-scale.

Từ khóa: *antiandrogen, cyanuric clorid, flutamide, ung thư tuyến tiền liệt.*

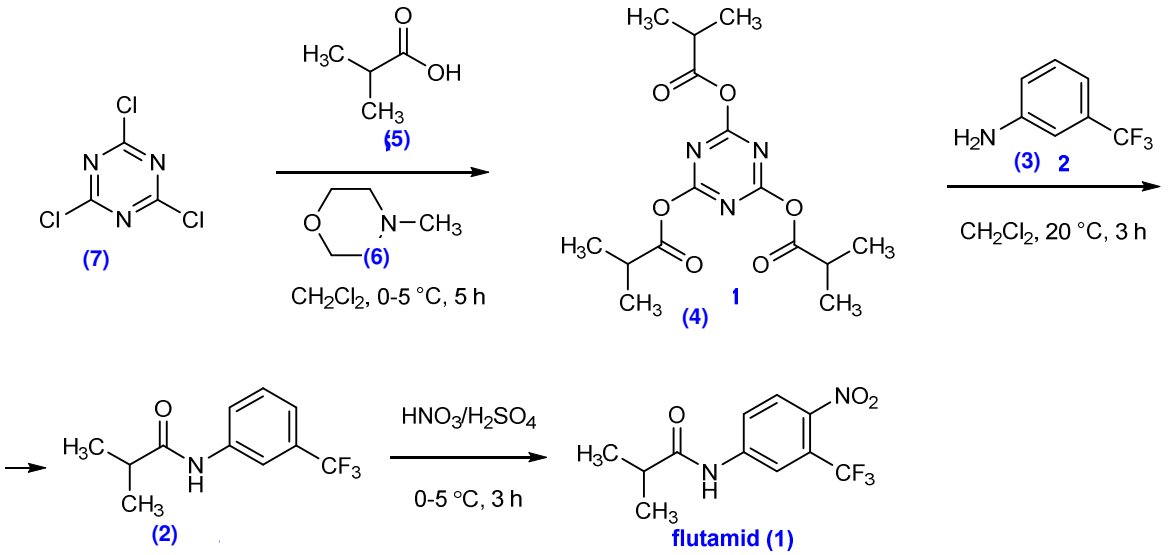
Đặt vấn đề

Flutamid là đại diện đầu tiên của nhóm thuốc kháng androgen phi steroid (NSAA), được coi là một antiandrogen tinh khiết và chọn lọc. Flutamid được FDA phê duyệt để điều trị ung thư tiền liệt tuyến di căn [3], [6]. Hiện nay, flutamid đang được nghiên cứu để điều trị chứng rậm lông, rụng tóc, mụn… Theo các báo cáo từ các bệnh viện, nhu cầu sử dụng flutamid là rất lớn, tuy nhiên, các thuốc flutamid đều được nhập khẩu từ nước ngoài với giá thành cao, gây khó khăn cho người bệnh trong việc tiếp cận điều trị. Do đó, việc nghiên cứu tổng hợp flutamid trong nước nhằm giảm giá thành sản phẩm đang rất cần thiết. Hiện nay, có nhiều tài liệu trong và ngoài nước đã công bố về các phương pháp tổng hợp flutamid khác nhau, được chia ra thành 4 hướng tiếp cận chính dựa trên cấu trúc phân tử: i) xây dựng liên kết amid ArNH-COR [1], ii) xây dựng liên kết nitroaren Ar-NO_2, iii) xây dựng liên kết Ar-NHCOR, iv) xây dựng liên kết Ar-CF_3. Trong các phương pháp đã công bố, phương pháp của Bandgar J. W. sử dụng tác nhân acyl hóa là este thay thế cho acyl clorid [2] cho thấy nhiều ưu điểm: ít giai đoạn phản ứng, nguyên liệu sẵn có, tái chế được nguyên liệu phản ứng ban đầu, có thể nâng cấp được quy trình tổng hợp lên quy lớn hơn. Bên cạnh đó, việc tổng hợp hóa học theo con đường "xanh" đang là xu hướng trong những năm gần đây. Từ yêu cầu thực tế cũng như tiếp cận xu thế chung, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu: hoàn thiện quy trình tổng hợp flutamid đạt tiêu chuẩn USP 42 và nâng cấp quy mô tổng hợp lên 50 g/mẻ và 500 g/mẻ.

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

Dung môi, hóa chất và thiết bị

Hóa chất, dung môi được nhập từ công ty Merck (Đức) hoặc Sigma-Aldrich (Mỹ). SKLM được thực hiện trên bản mỏng *silica gel* Kieselgel 60 F_{254} (Merck). Nhiệt độ nóng chảy được đo trên máy Electrothermal Digital. Phổ hồng ngoại ghi trên máy Shimadzu FTIR Affinity-1S. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ghi trên máy Bruker AV-500 NMR Spectrometer 500 MHz, sử dụng DMSO-d_6 làm dung môi.



Sơ đồ 1. Quy trình tổng hợp flutamid

Phổ khối lượng ghi trên máy khối phổ Agilent 6530 Accurate Mass QTOF LC/MS bắn phá ion bằng phương pháp phun mù điện tử (ESI).

Phương pháp nghiên cứu

Tổng hợp flutamid

Quy trình tổng hợp Flutamid đã được nghiên cứu cải tiến dựa trên quy trình của tác giả Bandgar B. P. và các cộng sự theo tài liệu tham khảo số [2] (sơ đồ 1). Nghiên cứu được thực hiện tại bộ môn Hóa Hữu cơ - Trường Đại học Dược Hà Nội. Mỗi thông số phản ứng tổng hợp sẽ được khảo sát ở các điều kiện khác nhau để lựa chọn thông số phù hợp nhất. Với mỗi điều kiện phản ứng tiến hành thực nghiệm 03 lần và lấy giá trị trung bình.

Tái thu hồi cyanuric clorid

Cyanuric clorid được tái thu hồi sau phản ứng theo sơ đồ 2.

Xác định cấu trúc

Sử dụng các phương pháp phổ bao gồm: Phổ hồng ngoại (IR); phổ khối (ESI-MS); phổ cộng hưởng từ hạt nhân (^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR).

Kết quả nghiên cứu

Tổng hợp flutamid

Flutamid được tổng hợp theo sơ đồ 1.

Giai đoạn 1: Tổng hợp 2,4,6-triacycloxy-1,3,5-triazin

Thêm từ từ 6,06 g N-methylmorpholin (**6**, 0,06 mol) vào dung dịch chứa 3,68 g cyanuric clorid (7, 0,02 mol) trong 150 ml dung môi. Khuấy đều. Tiếp theo, thêm 5,28 g acid isobutyric (0,06 mol) vào hỗn hợp trên, khuấy đều trong 5 giờ. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được lọc, sấy khô thu được chất rắn màu trắng sữa (2,4,6-triacycloxy-1,3,5-triazin).

Để xác định các điều kiện phản ứng phù hợp, nhóm nghiên cứu đã tiến hành khảo sát các yếu tố: i) Tỷ lệ cyanuric clorid/N-methylmorpholin; ii) Nhiệt độ phản ứng; iii) Dung môi cho phản ứng; iv) Tỷ lệ cyanuric clorid/acid isobutyric. Kết quả khảo sát được ghi lại trong bảng 1, 2, 3 và 4.

Bảng 1. Kết quả khảo sát tỷ lệ cyanuric clorid / N-methylmorpholin

TT	Tỷ lệ cyanuric clorid / *N*-methylmorpholin	$n_{cyanuric\ clorid}$ (mol)	$m_{cyanuric\ clorid}$ (g)	Khối lượng sản phẩm (g)	Hiệu suất (%)
1	1 : 2	0,03	5,52 g	5,92	87
2	1 : 3	0,02	3,68 g	6,24	92
3	1 : 4	0,015	2,76 g	4,22	83

*Bảng 2. Kết quả khảo sát nhiệt độ**

TT	Nhiệt độ (°C)	Khối lượng sản phẩm (g)	Hiệu suất (%)
1	0-5	6,24	92
2	10	5,90	87
3	20	4,81	71
4	Nhiệt độ phòng	4,41	65

*(*Tỷ lệ mol cyanuric clorid /N-methylmorpholin là 1:3)*

Bảng 3. Kết quả khảo sát dung môi phản ứng

TT	Dung môi	Khối lượng sản phẩm (g)	Hiệu suất (%)
1	dicloromethan	6.24	92
2	Toluen	5.36	79
3	*n*-hexan	4.95	73

Bảng 4. Kết quả khảo sát tỷ lệ cyanuric clorid/ acid isobutyric

TT	Tỷ lệ cyanuric clorid/ acid isobutyric	$n_{acid\ isobutyric}$ (mol)	$m_{acid\ isobutyric}$ (g)	Khối lượng sản phẩm (g)	Hiệu suất (%)
1	1 : 0,8	0,048	4,22 g	4,66	86
2	1 : 1	0,06	5,28 g	6,24	92
3	1 : 1,2	0,072	6,34 g	6,21	91

Từ kết quả khảo sát cho thấy các điều kiện phù hợp cho phản ứng giai đoạn 1 lần lượt như sau: i) Tỷ lệ cyanuric clorid/N-methylmorpholin là 1:3; ii) Nhiệt độ phản ứng phù hợp là 0 – 5 ^{0}C; iii) Dung môi cho phản ứng là dicloromethan; iv) Tỷ lệ cyanuric clorid/acid isobutyric là 1:1.

Giai đoạn 2: Tổng hợp 2-methyl-N-[3-trifluoromethyl phenyl]propionamid (2)

Cho 6,24 g 2,4,6-triacycloxy-1,3,5-triazin (**4**, ~0,018 mol, tương ứng với 0,06 mol tác nhân cyanuric clorid ban đầu) vào 8,69 g 3-(trifuoromethyl)anilin (0,054 mol), khuấy đều liên tục ở nhiệt độ phòng. Sau đó, đưa hỗn hợp phản ứng vào bình chiết và rửa với 10 ml $NaHCO_3$ bão hòa 2 lần, rửa với 10 ml nước cất 2 lần. Chiết lấy lớp chất hữu cơ và làm khô bằng Na_2SO_4 khan rồi kết tinh lại bằng *n*-hexan thu được 2-methyl-N-[3-(trifluoromethyl) phenyl]propionamid **(2)**.

Nhóm nghiên cứu tiến hành khảo sát lần lượt 3 yếu tố: i) Tỷ lệ cyanuric clorid/3-(trifuoromethyl)anilin; ii) Thời gian tiến hành phản ứng; iii) Dung môi kết tinh lại. Các thông số được thay đổi lần lượt, tiến hành thí nghiệm 3 lần và lấy kết quả trung bình. Kết quả khảo sát được ghi lại trong bảng 5, 6 và 7.

Bảng 5. Kết quả khảo sát tỷ lệ cyanuric clorid/3-(trifluoromethyl)anilin

TT	Tỷ lệ cyanuric clorid / 3-(trifluoromethyl) anilin	$n_{3\text{-(trifuoro methyl)anilin}}$ (mol)	$m_{3\text{-(trifuoro methyl)anilin}}$ (g)	Khối lượng sản phẩm (g)	Hiệu suất (%)
1	1 : 0,9	0,054	8,69 g	10,35 g	83
2	1 : 1	0,060	9,66 g	10,22 g	82
3	1 : 1.1	0,066	10,63 g	10,17 g	82

Bảng 6. Khảo sát thời gian tiến hành phản ứng

TT	Thời gian (giờ)	Khối lượng sản phẩm (g)	Hiệu suất (%)
1	1,5	6,57	53
2	2	9,23	74
3	2,5	10,35	83
4	3	10,35	83
5	3,5	10,36	83

Bảng 7. Khảo sát dung môi kết tinh lại sản phẩm

TT	Dung môi	Khối lượng sản phẩm (g)	Hiệu suất (%)
1	*n*-hexan	10,35	83
2	Toluen	9,88	79
3	Aceton	6,57	53

Từ kết quả khảo sát, nhóm nghiên cứu đã lựa chọn những thông số thích hợp cho phản

ứng giai đoạn 2 như sau: i) Tỷ lệ cyanuric clorid/3-(trifuoromethyl) anilin là 1 : 0,9; ii) Thời gian tiến hành phản ứng là 2,5h; iii) Dung môi kết tinh lại là *n*-hexan.

Giai đoạn 3: Tổng hợp Flutamid

Một lượng tác nhân nitro hóa thích hợp bao gồm (190 ml, 0,045 mol) HNO_3 đặc và (2,39 ml, 0,045 mol) H_2SO_4 đặc được thêm từ từ vào bình phản ứng bình cầu 3 cổ dung tích 500 ml chứa hỗn hợp (10,40 g, 0,045 mol) 2-methyl-N-[3-(trifluoromethyl) phenyl]propionamid (2) và 50 ml H_2SO_4 đặc được làm lạnh ở 0-5°C, vừa thêm vừa tiếp tục khuấy đều và duy trì hỗn hợp ở nhiệt độ 0-5°C. Cho từ từ 10 ml H_2O để kết thúc phản ứng. Sau đó, lọc và rửa với 10ml $NaHCO_3$ bão hòa để thu được sản phẩm thô. Kết tinh lại với toluen để thu được flutamid tinh khiết.

Trong giai đoạn này, nhóm nghiên cứu tiến hành khảo sát các yếu tố: i) Tác nhân nitrit hóa; ii) Thời gian tiến hành phản ứng; iii) Dung môi kết tinh lại.

Bảng 8. Khảo sát tác nhân nitro hóa

TT	Tác nhân nitro hóa	Khối lượng sản phẩm (g)	Hiệu suất (%)
1	$NaNO_3$ / H_2SO_4	11,05	89
2	HNO_3 đặc / H_2SO_4 đặc	11,67	94

Bảng 9. Khảo sát thời gian phản ứng

TT	Thời gian (giờ)	Khối lượng sản phẩm (g)	Hiệu suất (%)
1	2	10,08	81
2	2,5	10,91	88
3	3	11,67	94
4	3,5	11,67	94

Bảng 10. Khảo sát dung môi kết tinh lại

TT	Dung môi	Khối lượng sản phẩm (g)	Hiệu suất (%)
1	Toluen	11,67	94
2	*n*-hexan	10,31	83
3	Aceton	9,61	77

Từ các kết quả thu được, các điều kiện phản ứng phù hợp đã được lựa chọn: i) Tác nhân nitrit hóa là HNO_3 đặc/H_2SO_4 đặc; ii) Thời gian tiến hành phản ứng là 3 giờ; iii) Dung môi kết tinh lại là toluen.

Kết quả kiểm tra độ tinh khiết và khẳng định cấu trúc flutamid tổng hợp được

$t°_{nc}$ 111,5 – 112,5 °C ($t°_{nc}$ của flutamid mẫu là 111,7 – 112,5 °C), R_f = 0,75 (Cloroform : Ethyl acetat = 3 : 1).

IR (KBr), ν_{max}(cm^{-1}): 3360 (N-H); 1716 ($C=O_{amid}$); 1612 ($C=C_{aren}$); 1543 và 1348 ($-NO_2$); 1319 và 1140 ($-CF_3$); 1244 ($C-N_{amid}$); 900 và 860 (Nhân benzen thế 3 vị trí 1,2,4); 754 ($C-NO_2$). **ESI – MS** (MeOH), *m/z:* 276,2 ($[M+H]^+$). **^{1}H-NMR** (500 MHz, DMSO-d_6), δ (ppm): 1,120 (6H, *d, J* = 7Hz); 2,625 (1H, *m, J* = 6,9 Hz); 8,046 (1H, *d, J* = 9Hz, 2,5Hz); 8,164 (1H, *d, J* = 8,5Hz); 8,286 (1H,*d, J* =3,8Hz); 10,629 (1H, *s*). **^{13}C-NMR** (125 MHz, DMSO-d_6), δ (ppm): 19,60 (C-4, C-4); 35,76 (C-2); 117,61 (C-2'); 122,53 (C-6'); 123,47 (C-6); 125,79 (C-3'); 128,14 (C-5'); 141,56 (C-1'); 144,55 (C-4'); 176,97 (C-1).

Nâng cấp quy mô tổng hợp flutamid lên 50g/mẻ

Giai đoạn 1: Tổng hợp 2,4,6-triacyloxy-1,3,5-triazin ***(4)***

Bình phản ứng chứa dung dịch clorid cyanuric (7; 17,5 g; 0,095 mol) đã hòa tan trong 750 ml dicloromethan được làm lạnh tới 0 – 5 °C. Sau đó, vừa khuấy hỗn hợp trong bình phản ứng vừa thêm từ từ từng giọt cho tới khi hết 31,5 ml N-methylmorpholin (28,8 g; 0,29 mol) vào bình phản ứng. Kiểm soát nhiệt độ hỗn hợp phản ứng, duy trì hỗn hợp phản ứng ở khoảng 5 °C. Khuấy đều. Kết tủa trắng dạng huyền phù hình thành trong hỗn hợp phản ứng.

Nhỏ từ từ 26,0 ml acid isobutyric (25,1 g; 0,29 mol) vào hỗn hợp phản ứng nói trên, khuấy đều và duy trì nhiệt độ của hỗn hợp phản ứng ở khoảng 0 – 5°C trong vòng 5 giờ.

Dừng khuấy, tháo bình phản ứng, đổ hỗn hợp trong bình phản ứng ra một cốc thủy tinh có mỏ dung tích 1 L. Để khối phản ứng về nhiệt độ phòng (khoảng 28 °C), sau đó tiến hành lọc hút chân không qua phễu lọc Buchner để lấy dịch lọc, loại đi tủa trắng. Chuyển dịch lọc (chứa trieste **4**) thu được sang bình cầu dung tích 2 L.

Giai đoạn 2: Tổng hợp 2-methyl-N-[3-trifluoromethyl phenyl] propionamid ***(2)***

Bổ sung 35,0 ml 3-aminobenzotrifluorid (**3**, 46,1 g; 0,29 mol) vào bình nhỏ giọt. Nhỏ giọt từ từ cho tới khi hết, vừa nhỏ vừa khuấy, khoảng 50 phút. Tiếp tục khuấy hỗn hợp phản ứng trong 3 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng, thấy vết sản phẩm rõ, gọn không còn các vết của sản phẩm phụ của phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng. Dừng phản ứng, tháo bộ dụng cụ phản ứng.

Giai đoạn 3: Tổng hợp Flutamid

Trong bình cầu 3 cổ dung tích 2L thêm 50,0 g 2-methyl-N-[3-(trifluoro - methyl)phenyl] propionamid **(2)**, đong 250 ml H_2SO_4 cho vào bình, khuấy đều cho tan hết rồi cẩn thận lắp bình phản ứng vào giá sắt, kẹp cổ sinh hàn. Sau đó thêm con khuấy từ vào bình phản ứng, rồi lần lượt lắp sinh hàn, nhiệt kế và bình nhỏ giọt. Bình phản ứng được làm lạnh trong chậu đá muối đã chuẩn bị.

Cho vào bình nhỏ giọt H_2SO_4 đặc (13,0 ml; 0,25 mol) và HNO_3 đặc (10,0 ml; 0,48 mol). Nhỏ từng giọt hỗn hợp acid vào bình phản ứng chứa 2-methyl-N-[3-(trifluoromethyl) phenyl]propionamid **(2)** trong H_2SO_4 ở trên, kiểm soát ở 0-5 °C bằng đá muối. Sau khi nhỏ hết hỗn hợp acid vào hỗn hợp phản ứng, tiếp tục khuấy hỗn hợp phản ứng trong 3 giờ ở nhiệt độ 0-5 °C. Theo dõi phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng với hệ dung môi *n*-hexan/ethyl acetat = 5/1 (v/v). Kết quả cho thấy, vết chấm của hỗn hợp phản ứng cho vết sản phẩm đích thu được rõ, gọn, có R_f bằng R_f của vết mẫu. Không thấy có các vết phụ. Kết thúc phản ứng. Chuyển hỗn hợp trong bình phản ứng một cách cẩn thận sang bình nhỏ giọt, kẹp cổ bình nhỏ giọt trên giá sắt, đặt trong tủ hốt.

Nhỏ từ từ hỗn hợp phản ứng vào bình cầu thủy tinh dung tích tích 6 L, chứa 2,5 L nước cất được đã làm lạnh tới 0-5 °C. Khi thêm hỗn hợp phản ứng vào nước lạnh có hiện tượng tỏa nhiệt mạnh, kèm theo sự tạo thành kết tủa màu vàng ngà, dung dịch có màu vàng nâu nhạt. Sau khi kết thúc quá trình kết tủa sản phẩm trong nước đá, để yên 2 giờ, lọc hút chân không và rửa sản phẩm thô được bằng dung dịch $NaHCO_3$ bão hòa, cho tới khi hết phản ứng acid. Rửa lại 3 lần bằng nước cất. Sấy khô sơ bộ bằng tủ sấy thường. Cân được 48,8 g sản phẩm thô màu vàng ngà. Hiệu suất 81,1 %.

Tinh chế flutamid

Cho 48,8 g sản phẩm thô vào trong bình cầu dung tích 1 lít. Bổ sung 250 ml toluen, đun hồi lưu đến tan hoàn toàn. Kết thúc phản ứng, đổ hỗn hợp trong bình cầu ra cốc thủy tinh dung tích 1 lít. Để nguội tự nhiên ở nhiệt độ phòng, tạo tinh thể có màu trắng ngà. Làm lạnh với nước đá trong vòng 30 phút để sản phẩm kết tinh hoàn toàn. Lọc hút chân không để thu được sản phẩm sau tinh chế. Sấy trong tủ hút chân không ở 20 mmHg và 50 °C, thu được 47,7 g sản phẩm kết tinh màu trắng ngà. Hiệu suất kết tinh 97,7 %.

Hiệu suất toàn quy trình (tổng hợp và tinh chế flutamid) đạt 79,2 %.

$t°_{nc}$ 111,5 – 112,5 °C ($t°_{nc}$ của flutamid mẫu là 111,7 – 112,5 °C), R_f = 0,75 (Cloroform : Ethyl acetat = 3 : 1).

IR (KBr), ν_{max}(cm^{-1}): 3360 (N-H); 1717 ($C{=}O_{amid}$); 1612 ($C{=}C_{aren}$); 1543 và 1348 ($-NO_2$); 1319 và 1140 ($-CF_3$); 1244 ($C-N_{amid}$); 900 và 860 (Nhân benzen thế 3 vị trí 1,2,4); 754 ($C-NO_2$). **ESI – MS**

(MeOH), *m/z:* 276,2 ([M+H]$^+$). ^{1}**H-NMR** (500 MHz, DMSO-d_6), δ (ppm): 1,142 (6H, *d, J* = 7Hz); 2,647 (1H, *m, J* =7 Hz); 8,068 (1H, *d, J* = 9Hz); 8,19 (1H, *t, J* = 7,75Hz); 8,310 (1H, *s*); 10,656 (1H, *s*). ^{13}**C-NMR** (125 MHz, DMSO-d_6), δ (ppm): 19,62 (C-4, C-4); 35,76 (C-2); 117,61 (C-2'); 122,57 (C-6'); 123,46 (C-6); 125,79 (C-3'); 128,18 (C-5'); 141,56 (C-1'); 144,55 (C-4'); 176,99 (C-1).

Nâng cấp quy mô tổng hợp flutamid lên 500g/mẻ

Quy trình phản ứng tương tự quy mô 50 g/mẻ với lượng chất phản ứng, dung môi và dung cụ phản ứng có thể tích gấp 10 lần so với quy mô 50 g/mẻ. Thu được kết quả như sau:

Giai đoạn 1: Tổng hợp 2,4,6-triacyloxy-1,3,5-triazin ***(4)***

Thu được dịch lọc (chứa trieste **4**) vào bình cầu dung tích 20 L.

Giai đoạn 2: Tổng hợp 2-methyl-N-[3-trifluoromethylphenyl]propionamid ***(2)***

Sau khi kết tinh lại bằng n-hexan thu được 501,0 g sản phẩm tinh khiết với hiệu suất là 76,8%.

Giai đoạn 3: Tổng hợp Flutamid ***(1)***

Sau phản ứng, thu được 510,0 g sản phẩm thô màu vàng ngà. Hiệu suất 84,8 %.

Tinh chế flutamid

Cho 510,0 g sản phẩm thô đã sấy khô vào trong bình cầu dung tích 6 L. Bổ sung 2,6 L toluen, đun hồi lưu đến tan hoàn toàn. Dừng đun, để nguội tự nhiên ở nhiệt độ phòng, tạo tinh thể có màu trắng ngà. Làm lạnh với nước đá trong vòng 30 phút để sản phẩm kết tinh hoàn toàn. Lọc hút chân không để thu được sản phẩm sau tinh chế. Sấy trong tủ hút chân không ở 20 mmHg và 50 °C, thu được 497,0 g sản phẩm kết tinh màu trắng ngà. Hiệu suất kết tinh đạt 97,5 %.

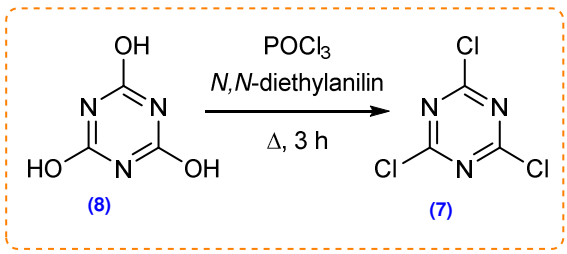
Hiệu suất toàn quy trình (tổng hợp và tinh chế flutamid) đạt 82,3 %.

$t°_{nc}$ 111,5 – 112,5 °C ($t°_{nc}$ của flutamid mẫu là 111,7-112,5 °C), R_f = 0,75 (Cloroform : Ethyl acetat = 3 : 1).

IR (KBr), ν_{max} (cm^{-1}): 3360 (N-H); 1716 (C=O$_{amid}$); 1612 (C=C$_{aren}$); 1543 và 1348 (-NO$_2$); 1319 và 1140 (-CF$_3$); 1244 (C-N$_{amid}$); 900 và 860 (Nhân benzen thế 3 vị trí 1,2,4); 754 (C-NO$_2$). **ESI – MS** (MeOH), *m/z:* 276,2 ([M+H]$^+$). ^{1}**H-NMR** (500 MHz, DMSO-d_6), δ (ppm): 1,130 (6H, d); 2,630 (1H, *m, J* = 6.75 Hz); 8,047 (1H, *dd, J* = 9Hz, 2Hz); 8,148 (1H, *t, J* = 8.5Hz); 8,286 (1H, *d, J* =3,8Hz); 10,633 (1H, *s*). ^{13}**C-NMR** (125 MHz, DMSO-d_6), δ (ppm): 19,55 (C-4, C-4); 35,76 (C-2); 117,57 (C-2'); 122,53 (C-6'); 123,81 (C-6); 125,79 (C-3'); 128,07 (C-5'); 141,52 (C-1'); 144,55 (C-4'); 176,93 (C-1).

Sản phẩm Flutamid tổng hợp được đã được đánh giá các tiêu chuẩn chất lượng theo quy định của dược điển Mỹ 42 (USP 42).

Tái thu hồi cyanuric clorid



Sơ đồ 2. Quy trình tái thu hồi cyanuric clorid

Sau giai đoạn tổng hợp 2-methyl-N-[3-trifluoromethylphenyl]propionamid (giai đoạn 2) thu được sản phẩm phụ là 2,4,6-trihydroxy-1,3,5-triazin.

Cân khoảng 2,58 g 2,4,6-trihydroxy-1,3,5-triazin (0,02 mol) và 4,47 g N,N-diethylanilin (0,03 mol) hoà tan trong 50ml phosphoryl clorid. Đun hồi lưu trong 3 giờ. Cất quay loại bỏ dung môi dư dưới áp suất giảm. Cắn thu được được hòa tan vào nước đá, khuấy trộn trong 1 giờ.

Hỗn hợp thu được được chiết với $CHCl_3$. Dịch chiết được rửa lần lượt với dung dịch HCl loãng, dung dịch $NaHCO_3$ rồi làm khan bằng Na_2SO_4 khan.

Cất quay loại bỏ dung môi thu được cắn khô, tinh chế bằng kết tinh lại bằng Cloroform thu được cyanuric clorid tinh khiết với hiệu suất 78,3 %.

Kết quả kiểm tra độ tinh khiết và khẳng định cấu trúc flutamid tổng hợp được

IR (KBr), ν_{max}(cm^{-1}): 1618 và 1638 (C=N); 739 và 777 (C-Cl). **^{13}C-NMR** (125 MHz, DMSO-d_6), δ (ppm): 150,39 (C-Cl).

Bàn luận

Bàn luận về phương pháp tổng hợp flutamid

Quy trình tổng hợp flutamid trải qua 3 bước được mô tả theo sơ đồ 1. Phản ứng đầu tiên là phản ứng este hóa, tạo ra 2,4,6-triacycloxy-1,3,5-triazin – tác nhân acyl hóa cho giai đoạn 2. N-methylmorpholin được thêm vào nhằm hoạt hóa các tác nhân phản ứng, đồng thời, trung hòa HCl sinh ra trong quá trình phản ứng.

Giai đoạn 2, 3-(trifluoromethyl)anilin **(3)** đóng vai trò là nuclophile và nhóm acyl ($(CH_3)_2CHCO$-) đóng vai nhò là electrophile. Nguyên từ H trong nhóm -NH_2 được thay thế bằng nhóm acyl.

Giai đoạn 3 là phản ứng thế nitro vào vị trí carbon số 4' trên vòng thơm. Quá trình thế ái điện tử này diễn ra với hỗn hợp nitro hóa HNO_3 đặc trong H_2SO_4 đặc. Ion nitroni (NO_2^+) được hình thành, tấn công electrophile vào vòng thơm đã có gắn 2 nhóm thế. Hai nhóm chức trifluoromethyl và nhóm chức amid định hướng nhóm thế vào các vị trí *-ortho* và *-para* trên nhân thơm. Kết hợp với hiệu ứng không gian, nhóm -NO_2 được định hướng gắn vào vị trí -para là C-4'.

Trên thực nghiệm, kiểm tra sản phẩm thu được của phản ứng tổng hợp flutamid bằng sắc ký lớp mỏng cho thấy luôn thu được vết sản phẩm rõ gọn, không có vết phụ kể cả nhìn bằng mắt thường hay soi dưới đèn tử ngoại. Kết quả phân tích phổ của sản phẩm tổng hợp được phù hợp với tài liệu số [4], [5].

Bàn luận về nâng cấp quy mô tổng hợp flutamide lên 50 g/mẻ và 500 g/mẻ

Về hiệu suất của quá trình ở các quy mô khác nhau:

Hiệu suất ở quy mô 10 g/mẻ, 50 g/mẻ và 500 g/mẻ lần lượt là 79 %, 79,2 % và 82,3 % cho thấy hiệu suất của quy trình tổng hợp flutamid khi nâng quy mô vẫn giữ được sự ổn định. Các điều kiện của các phản ứng không có sự thay đổi nhiều.

Về sản phẩm thu được:

Từ kết quả phổ của chất tổng hợp được ở cả 3 quy mô, ta có thể thấy kết quả phổ MS, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR và IR không có sự khác biệt đáng kể.

Từ đó, ta có thể khẳng định, việc nâng cấp quy mô tổng hợp flutamid không làm thay đổi hiệu quả của quá trình, vẫn giữ được sự ổn định về hiệu suất tổng hợp và chất lượng của sản phẩm thu được.

Bàn luận về tính xanh của quy trình tổng hợp

Nhóm nghiên cứu đã cải thiện quy trình tổng hợp flutamid đơn giản hơn với 3 bước, tiết kiệm hóa chất, dung môi, năng lượng. Đồng thời, có thể phát triển ở quy mô sản xuất lớn hơn. Trong phương pháp này, este hoạt hóa thay thế cho acyl clorid cho hiệu suất phản ứng acyl hóa không thấp hơn các phương pháp khác. Tác nhân phản ứng ban đầu là cyanuric clorid được tái thu hồi từ sản phẩm phụ 2,4,6-trihydroxy-1,3,5-triazin.

Kết luận

Như vậy, chúng tôi đã cải tiến được quy trình tổng hợp flutamid từ 3-aminobenzotrifluorid (3) với hiệu suất toàn quá trình đạt 79 %. Flutamid tổng hợp được đạt tiêu chuẩn chất lượng theo dược điển Mỹ 42 (USP 42). Quy trình tổng hợp đảm bảo tính thân thiện với môi trường. Nâng cấp được quy trình tổng hợp lên 50 g/mẻ và 500 g/mẻ với

hiệu suất ổn định 79,2 % và 82,3 %. Bên cạnh đó, nhóm nghiên cứu đã thu hồi được cyanuric clorid sau phản ứng với hiệu suất đạt 78,3 %. Quy trình này là tiền đề để chúng tôi tiến tới quy mô sản xuất tại Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Baker J. W., Bachman G. L., Schumacher I., Roman D. P., Tharp A. L. (1967), "Synthesis and bacteriostatic activity of some nitrotrifluoromethylanilides", *Journal of medicinal chemistry,* 10(1), 93–95.
2. Bandgar, B. P.; Sawant (2006). "Novel and Gram-Scale Green Synthesis of Flutamid", *Synthetic Communications,* 36 (7), 859–864.
3. Chen Y., Clegg N. J., Scher H. I. (2009). "Anti-androgens and androgen-depleting therapies in prostate cancer: new agents for an established target", *The Lancet. Oncology,* 10(10), 981–991.
4. Stabile R. G., Dicks A. P. (2003), "Microscale Synthesis and Spectroscopic Analysis of Flutamid, an Antiandrogen Prostate Cancer Drug", *Journal of Chemical Education*, 80 (12), 1439.
5. Sternal R, Nugara N. (2001), "Flutamid", *Analytical profiles of drug substances and excipents,* vol. 27. San Diego: Academic Press, pp. 118–57.
6. United States Pharmacopeial Convention (2020), "The United States Pharmacopeia: The National Formulary", United States Pharmacopeial Convention: Rockville.