

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC**

ĐOÀN THU TRANG

**PHÂN TÍCH CẤU TRÚC, HÀM LƯỢNG THUỐC
CHỐNG HIV- STAVUDIN BẰNG CÁC PHƯƠNG PHÁP
HÓA LÝ HIỆN ĐẠI**

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC

THÁI NGUYÊN - 2016

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC**

ĐOÀN THU TRANG

**PHÂN TÍCH CẤU TRÚC, HÀM LƯỢNG THUỐC
CHỐNG HIV- STAVUDIN BẰNG CÁC PHƯƠNG PHÁP
HÓA LÝ HIỆN ĐẠI**

Chuyên ngành: Hoá Phân tích

Mã số: 60440118

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC: TS. ĐẶNG THỊ TUYẾT ANH

THÁI NGUYÊN - 2016

LỜI CẢM ƠN

Với lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc, em xin chân thành cảm ơn GS.TS. Nguyễn Văn Tuyên và T.S Đặng Thị Tuyết Anh đã giao đề tài và tận tình hướng dẫn em trong suốt thời gian thực hiện đề tài.

Em xin chân thành cảm ơn các cán bộ phòng Hóa Dược và các em sinh viên phòng Hóa Dược đã giúp đỡ em rất nhiều trong quá trình thực nghiệm và hoàn thành luận văn.

Tôi xin cảm ơn các thầy cô khoa Hóa Học - Trường Đại Học Khoa Học Thái Nguyên đã trang bị cho em kiến thức để tiếp cận với các vấn đề nghiên cứu khoa học, và các anh chị, các bạn học viên lớp K8D- lớp Cao học Hóa đã trao đổi và giúp đỡ tôi trong suốt thời gian thực hiện đề tài.

Cuối cùng, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới gia đình tôi, bạn bè và đồng nghiệp của tôi - những người đã luôn bên cạnh động viên và giúp đỡ tôi trong suốt thời gian học tập và thực hiện luận văn này.

Hà Nội, ngày 15 tháng 10 năm 2016

Học viên

Đoàn Thu Trang

a

MỤC LỤC

LỜI CẢM ƠN	a
MỤC LỤC	b
DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT	d
DANH MỤC CÁC HÌNH VÀ SƠ ĐỒ	e
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN	2
1.1. Khái quát về d4t	2
1.2. Tổng quan về phương pháp phân tích hóa lý	4
1.2.1. Phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$	4
1.2.2. Phương pháp phổ khối lượng (MS)	6
1.2.3. Phương pháp phổ hồng ngoại (IR).....	7
1.2.4. Phương pháp xác định độ ẩm theo Karl Fischer	9
CHƯƠNG 2. THỰC NGHIỆM	10
2.1. Hóa chất và thiết bị	10
2.1.1. Hóa chất và dung môi	10
2.1.2. Thiết bị xác định cấu trúc	10
2.1.3. Xác định cấu trúc, định tính phản ứng và kiểm tra độ tinh khiết của các sản phẩm tổng hợp được	11
2.2. Tổng hợp stavudin.....	11
2.2.1. Tổng hợp dimesylthymidin	11
2.2.2. Tổng hợp oxetanthymidin	12
2.2.3. Tổng hợp stavudin.....	13
2.3. Phân tích cấu trúc và hàm lượng của stavudin và các sản phẩm trung gian bằng phương pháp hóa lý hiện đại	15

2.3.1. Phân tích cấu trúc stavudin và các sản phẩm trung gian bằng phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, khối phổ MS, phổ hồng ngoại IR	15
2.3.2. Phân tích hàm lượng của stavudin	16
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	18
3.1 . Phân tích và xác định cấu trúc của stavudin và các sản phẩm trung gian đã tổng hợp được.....	18
3.1.1. Phân tích và xác định cấu trúc của sản phẩm trung gian dimesylthymidin tổng hợp được	19
3.1.2. Phân tích và xác định cấu trúc của sản phẩm trung gian oxetanthymidin tổng hợp được	20
3.1.3. Tổng hợp stavudin.....	22
3.2 . Phân tích cấu trúc và hàm lượng của stavudin bằng các phương pháp hóa lí hiện đại	22
3.2.1. Phân tích cấu trúc của stavudin bằng phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân $^1\text{H-NMR}$	22
3.2.2. Phân tích cấu trúc của stavudin bằng phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân cacbon $^{13}\text{C-NMR}$	23
3.2.3. Phân tích cấu trúc của stavudin bằng phương pháp khối phổ	24
3.2.4. Phân tích cấu trúc của stavudin bằng phương pháp phổ HPLC	25
3.2.5. Phân tích cấu trúc của stavudin bằng phương pháp hồng ngoại -IR	25
3.2.6. Phân tích stavudin bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng TLC	26
3.2.7. Phân tích một số chỉ tiêu hóa lý khác của stavudin	27
KẾT LUẬN	29
TÀI LIỆU THAM KHẢO	30

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT

^{13}C - NMR	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon-13 (^{13}C Nuclear Magnetic Resonance)
DMSO	Dimethyl sulfoxide
^1H - NMR	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton (^1H Nuclear Magnetic Resonance)
HPLC	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
IR	Phổ hồng ngoại (Infrared Spectroscopy)
MS	Phổ khối lượng va chạm điện tử (Electron Impact-Mass Spectrometry)
δ_{H} , δ_{C}	Độ chuyển dịch hóa học của proton và cacbon
ppm	Phần triệu (parts per million)
s	singlet
dd	Double doulet
CHCl_3	Clorofoc
EtOH	Etanol
MW	Microwave
MeOH	Metanol
OMe	Methoxy
SOCl_2	Sulfonylchlorua
DMF	Dimethylformamide
TLC	Thin-layer chromatography

DANH MỤC CÁC HÌNH VÀ SƠ ĐỒ

Hình:

Hình 1.1. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân của benzyl axetat	5
Hình 1.2. Phổ khối lượng của benzamit ($C_6H_5CONH_2$)	7
Hình 1.3. Phổ hồng ngoại của benzyl ancol.....	8
Hình 3.1: Phổ 1H -NMR của dimesylthymidin	20
Hình 3.2: Phổ 1H -NMR của oxetanlthymidin.....	21
Hình 3.3: Phổ 1H -NMR của d4T.....	23
Hình 3.4: Phổ ^{13}C -NMR của d4T.....	24
Hình 3.5: Phổ MS của stavudin	24
Hình 3.6: Phổ HPLC của stavudin	25

Sơ đồ:

Sơ đồ 1.1.....	3
Sơ đồ 1.2.....	3
Sơ đồ 1.3.....	4
Sơ đồ 3.1: Quy trình tổng hợp stavudin	18
Sơ đồ 3.2: Tổng hợp <i>dimesylthymidin</i>	19
Sơ đồ 3.3: Tổng hợp stavudin	22

MỞ ĐẦU

Tính đến cuối năm 2015, theo báo cáo của WHO đã có 35 triệu người nhiễm HIV, 1,5 triệu người chết do AIDS và 119 quốc gia đã báo cáo kết quả có khoảng 95 triệu người đã xét nghiệm HIV.

Ở Việt Nam, trong năm 2015, đã phát hiện 10.195 trường hợp nhiễm mới HIV số bệnh nhân chuyển sang AIDS là 6130, tử vong do AIDS 2130 trường hợp. Tính đến cuối năm 2015 cả nước hiện có 227.154 trường hợp nhiễm HIV còn sống và ước tính hiện có 254.000 người nhiễm HIV trong cộng đồng. Mỗi năm, Việt Nam mỗi năm có khoảng 12.000 – 14.000 trường hợp nhiễm mới HIV. Trong số những người được báo cáo xét nghiệm mới phát hiện nhiễm HIV trong năm 2015, nữ chiếm 34,1%, nam chiếm 65,9%; lây truyền qua đường tình dục chiếm phần lớn với 50,8%, lây qua đường máu chiếm 36,1%, mẹ truyền sang con chiếm 2,8% và không rõ nguyên nhân chiếm 10,4%... dịch vẫn diễn biến rất khó lường và chứa đựng nhiều nguy cơ bùng nổ dịch. Những số liệu dịch tễ gần đây cho thấy HIV đang chuyển sang cấp độ phổ biến hơn, nhất là các khu vực Quảng Ninh, Thành phố Hồ Chí Minh và Hà Nội. Chiến lược phòng chống HIV/AIDS của Bộ Y Tế, phấn đấu đến năm 2020 có khoảng trên 80% bệnh nhân được tiếp cận đầy đủ thuốc điều trị HIV/AIDS, nghĩa là có khoảng 196.000 người cần thuốc để điều trị. Với ước tính hiện nay khoảng 96.000 người Việt Nam cần được chữa trị (49% số người bị nhiễm), thì tổng chi phí sẽ vào khoảng 10 tỷ đồng hàng năm. Khi đã bắt đầu điều trị, thì phải điều trị liên tục, bởi bất cứ sự gián đoạn nào đều dẫn đến nhờn thuốc. Nếu nhân với số năm cuộc đời của người nhiễm sẽ thấy gánh nặng chi phí đối với cá nhân, gia đình của họ và chính phủ. Vì thế, nghiên cứu sản xuất thuốc chống HIV/AIDS ở Việt Nam để người bệnh được tiếp cận thuốc giá rẻ là điều không thể bỏ qua và đã rất cấp bách.

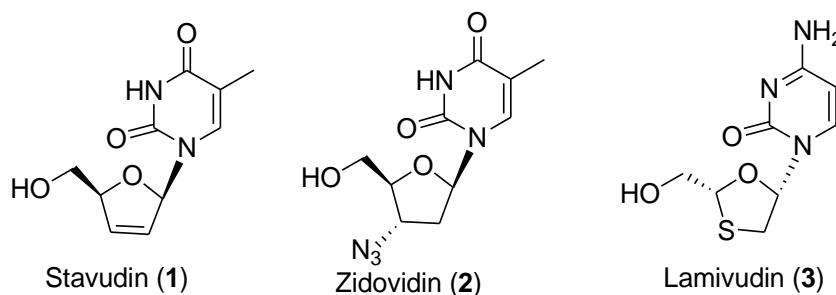
Vì vậy, chúng tôi đã tiến hành lựa chọn đề tài: “***Phân tích cấu trúc, hàm lượng thuốc chống HIV - Stavudin bằng các phương pháp hóa lý hiện đại***”. Đây là đề tài có ý nghĩa khoa học và thực tiễn.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. Khái quát về d4t

2',3'-Didehydro-3'-deoxythymidin (stavudin) (1), Zidovudin (2) và lamivudin (3) (hình 1) là thuốc được dùng rộng rãi ở dạng đơn chất và tổ hợp để điều trị HIV [1-4]. Nhóm thuốc này hoạt động như tác nhân ức chế enzym phiên mã ngược của virus HIV (HIV-RT) [5]. Tổng doanh thu của thuốc d4T năm 1998 trên 1,1 tỷ USD. AZT và d4T là hai biệt dược chữa HIV/AIDS nằm trong danh mục thuốc dự trữ liệu thông của Bộ Y tế, và đang được sử dụng chủ yếu trong điều trị bệnh HIV/AIDS. Vì thế, nghiên cứu tổng hợp stavudin, thuốc chống HIV/AIDS ở Việt Nam để người bệnh được tiếp cận thuốc giá rẻ, chủ động nguồn thuốc chữa bệnh HIV-AIDS ở Việt Nam là cần thiết và cấp bách.

Trong luận văn này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu quy trình tổng hợp stavudin, từ đó phân tích cấu trúc và độ sạch của stavudin bằng các phương pháp hóa lý hiện đại.



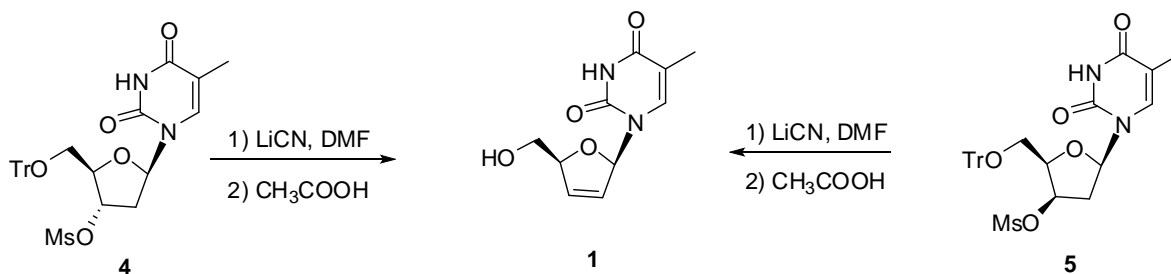
Stavudin là thuốc chống HIV/AIDS đã được sử dụng rất rộng nên trên thế giới [6-33] có nhiều nghiên cứu nhằm tìm ra phương pháp hiệu quả để tổng hợp chất này. Nhìn chung d4T được tổng hợp theo hướng sau đây:

Một số phương pháp tổng hợp d4T

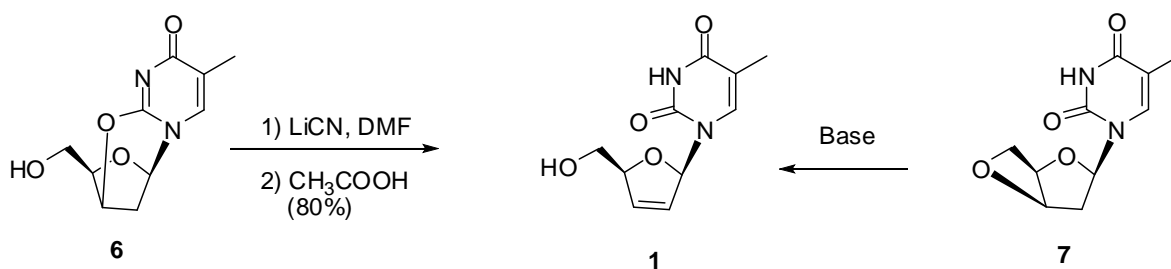
**Tổng hợp d4T từ thymidin.*

Tổng hợp stavudin từ thymidin được tiến hành theo nhiều con đường khác nhau và có thể tóm tắt trong sơ đồ 1.1 và 1.2. Từ dẫn xuất mesyl hóa (4)

và (**5**), anhydrit (**6**) [30] và oxetan (**7**) [31] có thể chuyển hoá thành stavudin (**1**) dưới tác dụng của các tác nhân khác nhau.



Sơ đồ 1.1



Sơ đồ 1.2

* Tổng hợp d4T từ 5-methyl uridin

Stavudin đã được Ewing và các cộng sự [32] tổng hợp từ 5-methyl uridin (**8**) qua 4 bước phản ứng như mô tả trong sơ đồ 1.3: