

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

NGUYỄN MẠNH HÙNG

**NGHIÊN CỨU PHÂN TÍCH CẤU TRÚC
VÀ HÌNH THÁI TINH THỂ CELECOXIB TRONG
CÁC ĐIỀU KIỆN KẾT TINH KHÁC NHAU**

Chuyên ngành: Hóa phân tích

Mã số: 60440118

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC: PGS.TS. Ngô Quốc Anh

THÁI NGUYÊN - 2016

LỜI CẢM ƠN

Để luận văn này đạt kết quả tốt đẹp, tôi đã nhận được sự hỗ trợ, giúp đỡ của nhiều cơ quan, tổ chức, cá nhân. Với tình cảm sâu sắc, chân thành, cho phép tôi được bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến tất cả các cá nhân và cơ quan đã tạo điều kiện giúp đỡ trong quá trình học tập và nghiên cứu đề tài.

Trước hết tôi xin gửi tới các thầy cô khoa anh chị tại Viện Hóa Học lời chào trân trọng, lời chúc sức khỏe và lời cảm ơn sâu sắc. Với sự quan tâm, dạy dỗ, chỉ bảo tận tình chu đáo của thầy cô anh chị, đến nay tôi đã có thể hoàn thành luận văn, đề tài: “Nghiên cứu phân tích cấu trúc và hình thái tinh thể celecoxib trong các điều kiện kết tinh khác nhau.”

Đặc biệt tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành nhất tới thầy giáo – PGS.TS. Ngô Quốc Anh đã quan tâm giúp đỡ, hướng dẫn tôi hoàn thành tốt luận văn này trong thời gian qua.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn đến Thạc sĩ Nguyễn Lê Anh, thạc sĩ Nguyễn Thúy Hằng, các Khoa Phòng ban chức năng của Viện Hóa Học đã trực tiếp và gián tiếp giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu đề tài.

Với điều kiện thời gian cũng như kinh nghiệm còn hạn chế của một học viên, luận văn này không thể tránh được những thiếu sót. Tôi rất mong nhận được sự chỉ bảo, đóng góp ý kiến của các thầy cô để tôi có điều kiện bổ sung, nâng cao ý thức của mình, phục vụ tốt hơn công tác sau này.

Xin chân thành cảm ơn!

Tác giả luận văn

Nguyễn Mạnh Hùng

a

MỤC LỤC

LỜI CẢM ƠN	a
MỤC LỤC.....	b
DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CHỮ VIẾT TẮT.....	d
DANH MỤC BẢNG.....	e
DANH MỤC HÌNH	f
DANH MỤC PHỤ LỤC	g
MỞ ĐẦU	1
Chương 1: TỔNG QUAN	2
1.1. Tổng quan về celecoxib	2
1.1.1. Công thức cấu tạo và tính chất	2
1.1.2. Tác dụng dược lý và cơ chế tác dụng.	3
1.1.3. Tác dụng phụ	6
1.1.4. Chống chỉ định	7
1.1.5. Chỉ định, liều dùng và cách dùng	8
1.1.6. Dạng thuốc và biệt dược	8
1.2. Phương pháp tinh chế.....	9
1.2.1. Kết tinh	9
1.2.2. Một số phương pháp kết tinh celecoxib.....	9
1.3. Phương pháp xác định cấu trúc	11
1.3.1. Phương pháp cộng hưởng từ hạt nhân (NMR)	11
1.3.2. Phương pháp phân tích nhiệt (TGA)	16
1.3.3. Phân tích nhiệt trọng lượng (TGA).....	17
1.3.4. Phương pháp phổ hồng ngoại (IR)	19
1.3.5. Phương pháp khối phổ (MS)	23
1.3.6. Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).....	31
1.3.7 Phương pháp nhiễu xạ tia X (X – ray).....	37

Chương 2: THỰC NGHIỆM	38
2.1. Nguyên liệu	38
2.2. Thiết bị thí nghiệm	39
2.3. Phương pháp nghiên cứu.....	40
2.3.1. Tinh chế	40
2.3.2. Kiểm tra độ tinh khiết và khẳng định cấu trúc	40
2.3.3. Kết quả.....	41
2.4. Phương pháp thực hiện.....	41
2.4.1. Kết tinh làm sạch celecoxib thô.....	41
2.4.2. Chuẩn bị các dạng tinh thể.....	41
2.4.3. Xác định đặc tính của các dạng tinh thể	41
Chương 3: KẾT QUẢ THẢO LUẬN	42
3.1. Khẳng định cấu trúc	42
3.1.1. Về phổ hồng ngoại (IR)	42
3.1.2. Về phổ khối lượng.	42
3.1.3. Về phổ ¹ H-NMR và phổ ¹³ C- NMR của các sản phẩm tổng hợp.....	43
3.1.4. Xác định dạng tinh thể bởi phân tích nhiệt vi sai.	46
3.1.5. Xác định dạng tinh thể qua phân tích X-Ray.....	47
3.1.6. Xác định dạng tinh thể qua kính hiển vi điện tử.....	49
KẾT LUẬN	50
TÀI LIỆU THAM KHẢO	51
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CHỮ VIẾT TẮT

COA	:	Certificate Of Analysis
COX	:	Cyclooxygenase
CTPT	:	Công thức phân tử
Et ₃ N	:	Triethylamin
HPLC	:	Sắc ký lỏng hiệu lãg cao (High – Performance Liquid Chromatography)
IC ₅₀	:	Nồng độ ức chế 50%
IR	:	Phổ hồng ngoại (Infrared spectroscopy)
KLPT	:	Khối lượng phân tử
MS	:	Phổ khối (Mass spectrometry)
MTBE	:	Metyl tert-butyl ether
NMR	:	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân Nuclear Magnetic
NSAIDs	:	Các thuốc giảm đau hạ sốt chống viêm không steroid (Non Steroidal Anti-inflammatory Drugs)
PG	:	Prostaglandin
4-SAPH.HCl	:	4-sulfonamidophenylhydrazine hydrochlorid
SKLM	:	Sắc ký lớp mỏng
TB	:	Trung bình
THF	:	Tetrahydrofuran
TFA	:	Trifluoroacetic
UV	:	Phổ tử ngoại (Ultraviolet spectroscopy)

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1: Phân loại thuốc chống viêm không steroid	5
Bảng 1.2: Tác dụng ức chế cyclooxygenase của celecoxib, IC ₅₀ (μ M)	6
Bảng 1.3: Một số các thông số dược động học của celecoxib	6
Bảng 1.4: Ảnh hưởng của Celecoxib và các NSAID trên tim mạch	7
Bảng 1.5: Tính chất của một số pha động trong sắc ký lỏng	33
Bảng 2.1: Danh sách các nguyên liệu, hóa chất, dung môi sử dụng.....	38
Bảng 3.1: Số liệu phân tích phổ khối lượng của các chất tổng hợp được.....	43
Bảng 3.2: Số liệu phân tích phổ ¹ H-NMR của các chất tổng hợp được và Celecoxib chuẩn.....	44
Bảng 3.3: Số liệu độ dịch chuyển hóa học (ppm) phân tích phổ ¹³ C-NMR của các chất tổng hợp được và Celecoxib chuẩn.	45

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1: Công thức cấu tạo của celecoxib.....	2
Hình 1.2: Cơ chế tác dụng của cyclooxygenase	4
Hình 1.3: Một số thuốc chống viêm không steroid.....	5
Hình 1.4: Sơ đồ cấu tạo của một thiết bị TGA (a). Một hệ TGA của hãng Orton (b).....	18
Hình 1.5: Mẫu phân tích TGA của $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$:.....	18
Hình 1.6:.....	19
Hình 1.7.....	21
Hình 1.8.....	22
Hình 1.9.....	24
Hình 1.10.....	25
Hình 1.11: Schematic of a MALDI-TOF Mass Spectrometer	26
Hình 1.12.....	27
Hình 1.13.....	30
Hình 1.14.....	30
Hình 1.15: Độ nhớt của hỗn hợp nước và dung môi hữu cơ ở 25°C	34
Hình 1.16. Thời gian lưu của cấu tử phân tích.....	35
Hình 1.17.....	37
Hình 3.1.....	44
Hình 3.2. Phổ DSC của celecoxib dạng III	46
Hình 3.3 Phổ DSC của mẫu 1,2,3	46
Hình 3.4. Phổ X-ray của celecoxib dạng III	47
Hình 3.5. Phổ X-ray của celecoxib mẫu 1	48
Hình 3.6. Phổ X-ray của celecoxib mẫu 2	48
Hình 3.7. Phổ X-ray của celecoxib mẫu 3	48
Hình 3.8. Hình ảnh tinh thể quan sát qua kính hiển vi điện tử	49

DANH MỤC PHỤ LỤC

- Phụ lục 1: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^{13}C -NMR của diceton
- Phụ lục 2: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^1H - NMR của diceton
- Phụ lục 3: Phổ hồng ngoại của diceton
- Phụ lục 4: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^{13}C - NMR của celecoxib chuẩn
- Phụ lục 5: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^{13}C - NMR của celecoxib (mẫu 1)
- Phụ lục 6: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^1H - NMR của celecoxib(mẫu 2)
- Phụ lục 7: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^1H - NMR của celecoxib (mẫu 3)
- Phụ lục 8: Phổ HPLC của celecoxib chuẩn
- Phụ lục 9: Phổ HPLC của celecoxib mẫu 1
- Phụ lục 10: Phổ HPLC của celecoxib mẫu 2
- Phụ lục 11: Phổ HPLC của celecoxib mẫu cuối
- Phụ lục 12: Phổ hồng ngoại của celecoxib chuẩn
- Phụ lục 13: Phổ hồng ngoại của celecoxib
- Phụ lục 14: Phổ khối lượng của celecoxib chuẩn
- Phụ lục 15: Phổ khối lượng của celecoxib

MỞ ĐẦU

Các thuốc chống viêm không steroid (NSAIDs) là một trong những nhóm thuốc được dùng phổ biến nhất với ước tính khoảng 33 triệu người dùng trong một ngày trên toàn thế giới. Tuy vậy, hạn chế lớn nhất của nhóm thuốc này là tác dụng phụ trên hệ tiêu hóa. Có tới khoảng một phần ba số bệnh nhân sử dụng nhóm thuốc này có triệu chứng viêm loét dạ dày, tá tràng [15].

Nhiều giải pháp để hạn chế tác dụng phụ này như dùng kèm thuốc bảo vệ niêm mạc (ví dụ như thuốc kháng thụ thể H2, ức chế bơm proton...), tạo dạng bào chế giảm kích ứng niêm mạc... đã được sử dụng nhưng các giải pháp này đều có những hạn chế nhất định.

Việc tìm ra hai đồng dạng (isoform) COX-1 và COX-2 của men COX (cyclooxygenase) tham gia tổng hợp các prostaglandin (PG) từ acid arachidonic đã mở ra hướng mới để khắc phục tác dụng phụ trên đường tiêu hóa của các NSAID [14],[32],[1]. Các thuốc ức chế chọn lọc COX-2 là dẫn chất của diaryl như celecoxib, valdecoxib, parecoxib, etoricoxib, rofecoxib, lumiracoxib làm giảm PG gây viêm song vẫn duy trì quá trình tổng hợp các PG bảo vệ đường tiêu hóa [6],[1]. Tuy nhiên, do sự gia tăng nguy cơ huyết khối và nhồi máu cơ tim của nhóm thuốc này nên hiện nay chỉ còn celecoxib, parecoxib và etoricoxib được lưu hành trên thị trường, trong đó celecoxib là thuốc được sử dụng rộng rãi nhất [8], tính riêng năm 2008, doanh số toàn cầu của thuốc này đã đạt 5,5 tỷ đô la.

Việt Nam là một nước nhiệt đới, có khí hậu nóng ẩm và mưa nhiều, các bệnh thấp khớp, viêm xương khớp... chiếm tỉ lệ khá cao nên nhu cầu về các NSAID nói chung và celecoxib nói riêng khá lớn. Celecoxib sử dụng tại Việt Nam, kể cả sản xuất trong nước vẫn phải nhập nguyên liệu từ nước ngoài nên giá thành cao hơn các thuốc chống viêm khác, làm hạn chế khả năng tuân thủ điều trị của bệnh nhân khi dùng lâu dài. Vì vậy, việc nghiên cứu sản xuất nguyên liệu celecoxib tại Việt Nam để người bệnh có cơ hội được sử dụng celecoxib generic từ nguyên liệu trong nước với giá thành hợp lý hơn là rất cần thiết. Do đó, đề tài Nghiên cứu phân tích cấu trúc và hình thái tinh thể celecoxib trong các điều kiện kết tinh khác nhau là thiết thực.

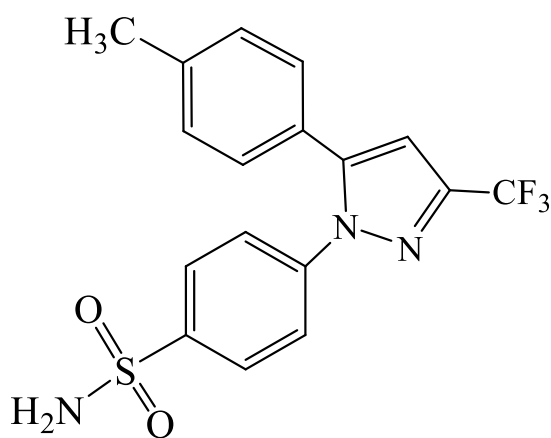
Chương 1

TỔNG QUAN

1.1. Tổng quan về celecoxib

1.1.1. Công thức cấu tạo và tính chất [9], [25], [31], [33]

- CTPT: $C_{17}H_{14}F_3N_3O_2S$.
- Trọng lượng phân tử: 381,08 g/mol.
- Công thức cấu tạo:



(5)

Hình 1.1: Công thức cấu tạo của celecoxib.

- Tên khoa học: 4-[5-(4-methylphenyl)-3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-1-yl]benzensulfonamid.
- Cảm quan: Dạng bột kết tinh trắng hoặc vàng nhạt.
- Nhiệt độ nóng chảy trong khoảng 157-159°C [31], 159-162°C [20], 160,5-162,3°C [24].
- Độ tan: Celecoxib rất ít tan trong nước, độ tan trong nước là 3-7µg/ml ở pH = 7,0 và nhiệt độ 40°C, tan tốt trong methanol, chloroform và aceton. Celecoxib ở dạng vô định hình thì dễ tan hơn dạng kết tinh.
- pKa: Celecoxib thể hiện tính acid yếu với pKa = 11,1 do đó độ tan của celecoxib sẽ thay đổi theo pH của môi trường hòa tan.
- Tính bất đối: Celecoxib không chứa trung tâm bất đối.