

## NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP LIOTHYRONIN TỪ L-TYROSIN LÀM NGUYÊN LIỆU SẢN XUẤT THUỐC

Nguyễn Văn Giang\*, Nguyễn Thị Ngọc Hà, Nguyễn Văn Hân, Đào Nguyệt Sương Huyền, Nguyễn Đình Luyện

Trường Đại học Dược Hà Nội

Đến Tòa soạn 25-8-2013

### Abstract

Liothyronine (T3), which is used to treat hypothyroidism, myxedema coma is one of two major hormones produced by the thyroid glands of human and animal. Liothyronine monosodium had been synthesized from L-tyrosine, the product from keratin hydrolysis. T3 was obtained in 26.31 % overall yield without loss of optical activity. This process includes: Nitration of L-tyrosine to 3,5-dinitro-L-tyrosine; protection of the amino-group and the carboxyl-group; synthesis of 3,5-dinitro-4-p-methoxyphenoxy-N-acetyl-L-phenylalanin ethyl ester; reduction of the nitro-group; Diazotisation of amine-group and iodination obtains 3,5-diiodo-4-p-methoxyphenoxy-N-acetyl-L-phenylalanin ethyl ester; hydrolysis and demethylation creates 3,5-diiodo-L-thyronine; Finally, iodination of 3,5-diiodo-L-thyronine gives liothyronine. The structure of all the compounds is determined by IR, MS and NMR spectroscopy. The quality of liothyronine monosodium was confirmed to the requirement of USP 34.

**Keywords:** Liothyronine, L-tyrosine, thyroid hormone.

### 1. GIỚI THIỆU

Levothyroxin (T4) và liothyronin (T3) là hai hormon quan trọng được tuyến giáp sản xuất. Trên thị trường có rất nhiều chế phẩm thuốc của hai hormon này dùng điều trị thiếu năng tuyến giáp. Để điều trị thiếu năng tuyến giáp việc cung cấp hormon tuyến là cần thiết. Levothyroxin là hormon thường lựa chọn sử dụng, nhưng liothyronin lại đặc biệt quan trọng trong những trường hợp cần tác dụng nhanh như hôn mê do suy giáp hay điều trị ung thư tuyến giáp. Ngày nay, liothyronin trên thị trường chủ yếu có nguồn gốc tổng hợp. So với bột giáp đông khô từ động vật, liothyronin có hoạt tính mạnh, phân liều chính xác, hiệu quả điều trị cao, ít gây dị ứng, ổn định [5]. Ngoài ra, liothyronin còn được sử dụng với liều điều trị rất thấp. Chính vì vậy việc tổng hợp liothyronin cung cấp cho thị trường trong nước là rất khả thi, đi từ nguồn nguyên liệu sẵn có trong nước là L-tyrosin thu được từ dịch thủy phân sừng, lông, móng gia súc. Bài báo này giới thiệu quy trình tổng hợp liothyronin từ L-tyrosin qua trung gian 3,5-dinitro-L-tyrosin [1, 2] với nhiều ưu điểm có thể triển khai sản xuất ở trong nước.

### 2. THỰC NGHIỆM

L-tyrosin thu được từ dịch thủy phân các nguồn

keratin khác nhau (sừng, móng, tóc...) và các hóa chất cần thiết khác được nhập từ công ty Merck hoặc Sigma-Aldrich. Sắc ký lớp mỏng tiến hành trên bản mỏng Kieselgel 60 F<sub>254</sub>. Phổ hồng ngoại (IR) được ghi trên máy Perkin-Elmer. Phổ khối lượng (MS) được ghi trên máy Autospec Premier và Agilent 6310. Phổ phổ cộng hưởng từ hạt nhân <sup>1</sup>H-NMR và <sup>13</sup>C-NMR được đo trên máy Bruker AV500.

#### Tổng hợp 3,5-dinitro-N-acetyl-L-tyrosin etyl este (1a) qua 3 giai đoạn:

- **Tổng hợp 3,5-dinitro-L-tyrosin:** Cho vào bình cầu dung tích 1 lít 450 ml dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 95-98%. Làm lạnh xuống khoảng 10-15°C, sau đó thêm từng phần cho đến hết 105,0 g (0,58 mol) L-tyrosin, khối phản ứng được khuấy đồng nhất và làm lạnh xuống 0 °C. Sau đó vừa khuấy vừa nhỏ từ từ 84,0 ml HNO<sub>3</sub> (65-68 %, d = 1,42), quá trình nhỏ mất khoảng 90 phút. Sau đó hỗn hợp được khuấy thêm 30 phút ở 5°C và rót vào bình phản ứng chứa 2,0 kg nước đá. Khối phản ứng được trung hòa đến pH 1 bằng dung dịch NaOH (400 g NaOH trong 1 lít nước). Trong quá trình nhỏ nhiệt độ không được quá 30 °C. Sau đó hỗn hợp được để lạnh qua đêm, ly tâm, sấy 60 °C thu được sản phẩm 3,5-dinitro-L-tyrosin kết tinh màu vàng. Khối lượng 140,0 g (hiệu suất 89,08 %), t<sub>nc</sub> 230-232 °C, R<sub>f</sub> = 0,48 (n-butanol: acid axetic:nước = 9:2:2,5). IR (KBr), ν<sub>max</sub> (cm<sup>-1</sup>):

3079 ( $-\text{NH}_3^+$ ); 3001 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ); 1730 ( $\text{C}=\text{O}_{\text{axit}}$ ); 1552 ( $\nu_{\text{asNO}_2}$ ), 1320 ( $\nu_{\text{sNO}_2}$ ). ESI-MS ( $m/z$ ): 269,9 ( $[\text{M}-\text{H}]^-$ ).  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, MeOD),  $\delta$  (ppm):  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, MeOD),  $\delta$  (ppm): 3,25 (1H, dd,  $J = 7,3$  Hz,  $\text{CH}_a$ ); 3,36 (1H, dd,  $J = 6,8$  Hz,  $\text{CH}_b$ ); 4,25 (1H, t,  $J = 6,5$  Hz,  $-\text{CH}_2-$ ); 8,24 (2H, s,  $\text{H}_2, \text{H}_6$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz, MeOD),  $\delta$  (ppm): 35,67 ( $\text{CH}_2$ ); 54,74 (CH); 111,96 ( $\text{C}_2, \text{C}_6$ ); 126,91 ( $\text{C}_1$ ); 132,57 ( $\text{C}_3, \text{C}_5$ ); 140,28 ( $\text{C}_4$ ); 170,95 ( $\text{C}=\text{O}_{\text{acid}}$ ).

**- Tổng hợp 3,5-dinitro-N-acetyl-L-tyrosin:**

Trong bình cầu 1 lít, hòa tan 80,0 g NaOH (2,0 mol) vào 4 lít nước. Sau đó vừa khuấy vừa thêm vào 125,0 g (0,4 mol) 3,5-dinitro-L-tyrosin, khuấy cho tan hoàn toàn và hỗn hợp phản ứng được làm lạnh bên ngoài bằng nước đá xuống 10 °C. Sau đó nhỏ từ từ 64,0 ml  $\text{Ac}_2\text{O}$  ( $d = 1,08$ ) (0,68 mol) vào khối phản ứng, quá trình nhỏ mất khoảng 60 phút. Khi quá trình nhỏ hoàn tất, khối phản ứng được khuấy thêm 60 phút và đun nóng đến 40 °C trong 30 phút để thủy phân hết anhydrid axetic dư. Tiếp đó, hỗn hợp phản ứng được làm lạnh xuống 10 °C và được trung hòa đến pH 2 bằng dung dịch HCl 5 N, khuấy thêm 30 phút. Tủa được lọc, sấy 60 °C thu được 3,5-dinitro-N-acetyl-L-tyrosin tinh thể màu vàng. Khối lượng: 112,5 g (hiệu suất 77,91 %),  $t_{\text{nc}}$  188-190 °C,  $R_f = 0,65$  ( $n$ -butanol:AcOH:nước = 9:2:2,5). IR (KBr),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3384,62 ( $-\text{NH}_{\text{amit}}$ ); 3093,15; 2937,28 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ); 1718,76 ( $\text{C}=\text{O}_{\text{axit}}$ ); 1615,73 ( $\text{C}=\text{O}_{\text{amit}}$ ); 1540,23 ( $\nu_{\text{asNO}_2}$ ), 1295,51 ( $\nu_{\text{sNO}_2}$ ). ESI-MS ( $m/z$ ): 312,01 ( $[\text{M}-\text{H}]^-$ ).  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, MeOD),  $\delta$  (ppm): 1,95 (3H, s,  $\text{CH}_3-\text{CO}$ ); 3,04 (1H, dd,  $J = 9,0$ ; 5,0 Hz,  $\text{CH}_a$ ); 3,29 (1H, dd,  $J = 9,0$ ; 5,0 Hz,  $\text{CH}_b$ ); 4,73 (1H, dd,  $J = 5,0$ ; 4,0 Hz,  $-\text{CH}_2-$ ); 8,19 (2H, s,  $\text{H}_2, \text{H}_6$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz, MeOD),  $\delta$  (ppm): 22,31 ( $\text{CH}_3-\text{CO}$ ); 36,91 ( $\text{CH}_2$ ); 54,26 (CH); 130,21 ( $\text{C}_2, \text{C}_6$ ); 132,22 ( $\text{C}_1$ ); 139,73 ( $\text{C}_3, \text{C}_5$ ); 147,93 ( $\text{C}_4$ ); 173,20 ( $\text{C}=\text{O}_{\text{amit}}$ ); 173,69 ( $\text{C}=\text{O}_{\text{axit}}$ ).

**- Tổng hợp 3,5-dinitro-N-acetyl-L-tyrosin etyl este (1a):** Thêm vào bình cầu dung tích 1 lít 162,5 ml EtOH (2,32 mol), sục khí  $\text{N}_2$  và làm lạnh bên ngoài xuống 0 °C. Sau đó thêm cẩn thận từ từ 80,0 ml  $\text{SOCl}_2$  ( $d = 1,64$ ) (1,1 mol) vào, đun hồi lưu hỗn hợp ở 70 °C trong 1 giờ. Sau đó hỗn hợp được đun ở 80 °C trong 30 phút để loại hết HCl khí. Khi quá trình trên hoàn tất, thêm vào khối phản ứng 280 g (0,89 mol) 3,5-dinitro-N-acetyl-L-tyrosin, 225 g EtOH. Hỗn hợp phản ứng được đun hồi lưu trong 2 giờ thì phản ứng kết thúc. Làm lạnh, lọc, rửa bằng nước, kết tinh lại trong EtOH 96 % thu được 3,5-dinitro-N-acetyl-L-tyrosin etyl este. Khối lượng: 272,2 g (hiệu suất 89,6 %).  $t_{\text{nc}}$  118-120 °C.  $R_f = 0,14$  ( $\text{CHCl}_3$ :MeOH = 9:1). IR (KBr),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3362,37 (OH); 3291,52 ( $-\text{NH}_{\text{amit}}$ ); 3078,98; 2937,28 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ); 1727,75 ( $\text{C}=\text{O}_{\text{este}}$ ); 1645,84 ( $\text{C}=\text{O}_{\text{amit}}$ ); 1543,44 ( $\nu_{\text{asNO}_2}$ ), 1303,54 ( $\nu_{\text{sNO}_2}$ ). ESI-MS ( $m/z$ ): 338,8

( $[\text{M}-2\text{H}]^-$ ).  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, MeOD),  $\delta$  (ppm): 1,28 (3H, t,  $\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ); 1,95 (3H, s,  $\text{CH}_3-\text{CO}$ ); 3,04 (1H, dd,  $J = 9,0$ ; 5,5 Hz,  $\text{CH}_a$ ); 3,27 (1H, dd,  $J = 8,5$ ; 5,5 Hz,  $\text{CH}_b$ ); 4,22 (2H, m,  $\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ); 4,73 (1H, dd,  $J = 5,5$ ; 3,0 Hz,  $-\text{CH}_2-$ ); 8,19 (2H, s,  $\text{H}_2, \text{H}_6$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz, MeOD),  $\delta$  (ppm): 14,41 ( $\text{CH}_3-\text{CH}_2$ ); 22,26 ( $\text{CH}_3-\text{CO}$ ); 36,78 ( $\text{CH}_2-\text{Ar}$ ); 54,47 (CH); 62,73 ( $\text{CH}_3-\text{CH}_2$ ); 130,05 ( $\text{C}_2, \text{C}_6$ ); 132,20 ( $\text{C}_1$ ); 139,71 ( $\text{C}_3, \text{C}_5$ ); 147,82 ( $\text{C}_4$ ); 172,18 ( $\text{C}=\text{O}_{\text{amit}}$ ); 173,20 ( $\text{C}=\text{O}_{\text{este}}$ ).

**Tổng hợp 3,5-dinitro-4-*p*-methoxy phenoxy-**

**N-acetyl-L-phenyl alanin etyl este (2a):** Cho vào bình cầu dung tích 1 lít 150 ml pyridin, 120,0 g (35,16 mmol) 3,5-dinitro-N-acetyl-L-tyrosin etyl este. Sau đó hỗn hợp được khuấy ở 40 °C cho tan hoàn toàn và thêm dần vào 76,25 g (40,0 mmol) *p*-toluen sulfonyl clorid (TsCl). Hỗn hợp được đun ở 100 °C trong 1 giờ. Sau đó, dung dịch của 93,75 g (75,52 mmol) 4-methoxyphenol trong 50 ml pyridin được thêm từ từ vào hỗn hợp trên (nhiệt độ duy trì 100°C). Sau khi quá trình nhỏ hoàn tất, hỗn hợp được hồi lưu thêm 2 giờ. Cất loại pyridin ở áp suất giảm, thu siro nâu đỏ được hòa tan vào 300 ml EtOH 96% và nhỏ từ từ vào 1,5 lít nước, trung hòa bằng dung dịch  $\text{NaHCO}_3$  bão hòa đến pH 7, tủa được lọc, kết tinh lại trong EtOH 96% thu được 3,5-dinitro-4-*p*-methoxy phenoxy-N-acetyl-L-phenylalanin etyl este tinh thể màu vàng nhạt. Khối lượng: 127,5 g (hiệu suất 81,12 %),  $t_{\text{nc}}$  108-110°C,  $R_f = 0,82$  ( $\text{CHCl}_3$ :MeOH = 9:1). IR (KBr),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3328,62 ( $-\text{NH}_{\text{amit}}$ ); 2982,13, 2848,05 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ); 1730,40 ( $\text{C}=\text{O}_{\text{este}}$ ); 1652,43 ( $\text{C}=\text{O}_{\text{amit}}$ ); 1543,83 ( $\nu_{\text{asNO}_2}$ ), 1348,12 ( $\nu_{\text{sNO}_2}$ ). ESI-MS ( $m/z$ ): 447,92 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ).  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  (ppm):  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO),  $\delta$  (ppm): 1,16 (3H, t,  $\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ); 1,81 (3H, s,  $\text{CH}_3-\text{CO}$ ); 3,07 (1H, dd,  $J = 9,0$ ; 4,5 Hz,  $\text{CH}_a$ ); 3,25 (1H, dd,  $J = 8,0$ ; 5,5 Hz,  $\text{CH}_b$ ); 3,71 (3H, s,  $-\text{O}-\text{CH}_3$ ); 4,15 (2H, m,  $\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ); 4,60 (1H, m,  $-\text{CH}_2-$ ); 6,82 (2H, m,  $\text{H}_3, \text{H}_5$ ); 6,88 (2H, m,  $\text{H}_2, \text{H}_6$ ); 8,36 (2H, s,  $\text{H}_2, \text{H}_6$ ), 8,39 (1H, d,  $J = 8$  Hz, NH).  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz, MeOD),  $\delta$  (ppm): 14,43 ( $\text{CH}_3-\text{CH}_2$ ); 22,30 ( $\text{CH}_3-\text{CO}$ ); 37,34 ( $\text{CH}_2-\text{Ar}$ ); 54,35 (CH); 56,10 ( $\text{O}-\text{CH}_3$ ); 62,81 ( $\text{CH}_3-\text{CH}_2$ ); 115,78 ( $\text{C}_3, \text{C}_5$ ); 117,67 ( $\text{C}_2, \text{C}_6$ ); 131,27 ( $\text{C}_2, \text{C}_6$ ); 137,65 ( $\text{C}_1$ ); 141,81 ( $\text{C}_4$ ); 145,82 ( $\text{C}_3, \text{C}_5$ ); 152,58 ( $\text{C}_1$ ); 157,42 ( $\text{C}_4$ ); 172,02 ( $\text{C}=\text{O}_{\text{amit}}$ ); 173,18 ( $\text{C}=\text{O}_{\text{este}}$ ).

**Tổng hợp 3,5-diamino-4-*p*-methoxy phenoxy-**

**N-acetyl-L-phenyl alanin etyl este (3a):** Dung dịch của 50,0 g (11,18 mmol) 3,5-dinitro-4-*p*-methoxyphenoxy-N-acetyl-L-phenyl alanin etyl este (2a) trong 500 ml EtOH 96 % được hydro hóa ở nhiệt độ phòng với sự có mặt của 2,5 g Pd/C 5 % (5% so với nguyên liệu ban đầu). Sau khi kết thúc phản ứng (theo dõi bằng SKLM, hệ dung môi  $\text{CHCl}_3$ :MeOH = 9:1), lọc loại xúc tác, rửa bằng EtOH nóng, dịch sau đó được cô áp suất giảm loại

hết dung môi (chú ý nhiệt độ cất đặt bên ngoài không quá 40 °C), phần siro còn lại được kết tinh lại trong EtOH thu được sản phẩm 3,5-điamino-4-*p*-metoxy phenoxy-N-acetyl-L-phenylalanin etyl este, tinh thể màu trắng. Khối lượng 38,78 g (hiệu suất 89,5 %),  $t_{nc}$  134-136 °C,  $R_f$  = 0,66 (CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 9:1), IR (KBr),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3468,64, 3376,54 (-NH<sub>2</sub>); 2986,87, 2916,02 (CH<sub>Ar</sub>); 1726,73 (C=O<sub>este</sub>); 1674,70 (C=O<sub>amit</sub>). EI-MS (m/z): 387,3 ([M]<sup>+</sup>); 110,14 ([M-C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>]<sup>+</sup>). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, MeOD),  $\delta$  (ppm): 1,25 (3H, t, CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,97 (3H, s, CH<sub>3</sub>-CO); 2,80 (1H, dd,  $J$  = 8,0; 5,5 Hz, CH<sub>a</sub>); 2,93 (1H, dd,  $J$  = 7,0 Hz, CH<sub>b</sub>); 3,75 (3H, s, -O-CH<sub>3</sub>); 4,18 (2H, q, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,59 (1H, dd,  $J$  = 6,5; 1,5 Hz, -CH-); 6,12 (2H, s, H<sub>2</sub>, H<sub>6</sub>); 6,82-6,87 (4H, m, H<sub>3</sub>, H<sub>5</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>6</sub>). <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, MeOD),  $\delta$  (ppm): 14,4 (CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>); 22,3 (CH<sub>3</sub>-CO); 38,5 (CH<sub>2</sub>-Ar); 55,5 (CH); 56,12 (O-CH<sub>3</sub>); 62,29 (CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>); 108,22 (C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>); 115,79 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>); 116,48 (C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>); 129,83 (C<sub>4</sub>); 135,63 (C<sub>1</sub>); 141,92 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>); 152,29 (C<sub>1</sub>); 156,21 (C<sub>4</sub>); 173,19 (C=O<sub>amit</sub>); 173,41 (C=O<sub>este</sub>).

**Tổng hợp 3,5-điiodo-4-*p*-methoxy phenoxy-N-acetyl-L-phenyl alanin etyl este (4a):** Chuẩn bị dung dịch A: hòa tan 38,25 g KI (230,42 mmol) trong 150 g nước, thêm dần 33,3 g I<sub>2</sub> (131,1 mmol) hòa tan hết. Sau đó bổ sung thêm 325 g axeton và 75 g nước. Hòa tan 27,0 g (69,71 mmol) 3,5-điamino-4-*p*-metoxy phenoxy-N-acetyl-L-phenylalanin etyl este (3a) trong 135 g axit axetic băng ở khoảng 20 °C. Sau đó dung dịch này được thêm dần vào 216 g dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> đặc (95-98 %) đã được làm lạnh xuống -10 °C (chú ý kiểm soát nhiệt độ). Sau khi quá trình thêm hoàn thành, dung dịch của 10,8 g (146,1 mmol) NaNO<sub>2</sub> trong 40,5 g nước được nhỏ từ từ vào dung dịch diamini ở trên nhiệt độ trong suốt quá trình nhỏ không quá -5 °C. Sau khi hoàn thành quá trình nhỏ, khối phản ứng được khuấy thêm 30 phút nữa thu được dung dịch màu đỏ da cam. Thêm dần vào dung dịch này dung dịch của 0,70 g ure trong 1,5 g nước, thu được dung dịch B. Thêm dần dung dịch A vào dung dịch B trong khoảng 30 phút, nhiệt độ hỗn hợp khoảng 15 °C. Sau khi quá trình thêm hoàn thành, thêm vào hỗn hợp này 27,0 g NaHSO<sub>3</sub> đã hòa tan trong 81,0 g nước. Khối phản ứng được khuấy thêm 30 phút sau đó thêm dần vào 1,4 kg nước xuất hiện tủa màu nâu, lọc, kết tinh lại trong EtOH thu được 3,5-điiodo-4-*p*-metoxy phenoxy-N-acetyl-L-phenyl alanin etyl este (4a). Khối lượng: 37,65 g (hiệu suất 88,74 %),  $t_{nc}$  128-130 °C,  $R_f$  = 0,77 (CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 9:1). IR (KBr),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3314,48 (-NH<sub>amid</sub>); 2975,26 (CH<sub>Ar</sub>); 1738,91 (C=O<sub>ester</sub>); 1650,37 (C=O<sub>amid</sub>). ESI-MS (m/z): 610,0 ([M+H]<sup>+</sup>). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, MeOD),  $\delta$  (ppm): 1,14 (3H, t, CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,81 (3H, s, CH<sub>3</sub>-CO); 2,85 (1H, dd,  $J$  = 8,5; 5,5 Hz, CH<sub>a</sub>); 2,98 (1H, dd,  $J$  = 6,5

Hz, CH<sub>b</sub>); 3,70 (3H, s, -O-CH<sub>3</sub>); 4,07 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,43 (1H, m, -CH-); 6,62 (2H, m, H<sub>3</sub>, H<sub>5</sub>); 6,88 (2H, m, H<sub>2</sub>, H<sub>6</sub>); 7,79 (2H, s, H<sub>2</sub>, H<sub>6</sub>); 8,37 (1H, d,  $J$  = 8,0 Hz, NH<sub>amid</sub>). <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, MeOD),  $\delta$  (ppm): 14,54 (CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>); 22,30 (CH<sub>3</sub>-CO); 36,82 (CH<sub>2</sub>-Ar); 55,03 (CH); 56,12 (O-CH<sub>3</sub>); 62,56 (CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>); 115,42 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>); 115,72 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>); 117,23 (C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>); 139,26 (C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>); 142,29 (C<sub>1</sub>); 151,79 (C<sub>1</sub>); 154,75 (C<sub>4</sub>); 156,36 (C<sub>4</sub>); 172,50 (C=O<sub>amit</sub>); 173,11 (C=O<sub>este</sub>).

**Tổng hợp 3,5-điiodo-L-thyronin:** Hồi lưu hỗn hợp gồm 10,0 g (16,42 mmol) 3,5-điiodo-4-*p*-metoxy phenoxy-N-acetyl-L-phenyl alanin etyl este, 20,0 ml dung dịch HI 57 %, 20,0 ml axit axetic trong 4 giờ. Sau khi quá trình trên hoàn thành, làm lạnh hỗn hợp, thêm dung dịch natri metabisulfit bão hòa để loại hết I<sub>2</sub> và 60,0 ml nước. Tủa được hòa tan trong EtOH và thêm vài giọt acid HCl đặc, tẩy màu bằng than hoạt tính, sau đó trung hòa bằng dung dịch natri axetat bão hòa thu được 3,5-điiodo-L-thyronin (hiệu suất 92,4 %). Khối lượng: 7,94 g chất rắn màu trắng,  $t_{nc}$  255-256 °C,  $[\alpha]_D^{25}$  26,4<sup>0</sup> (C = 1,06, HCl 1M:EtOH = 1:2),  $R_f$  = 0,67 (*n*-butanol:AcOH:nước = 9:2:2,5). IR (KBr),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3446,01 (NH<sub>3</sub><sup>+</sup>); 2963,05 (CH<sub>Ar</sub>); 1621,73, 1587,89 (C=O). ESI-MS (m/z) 524,0 ([M+H]<sup>+</sup>). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>),  $\delta$  (ppm): 3,00 (1H, dd,  $J$  = 8,5; 6,5 Hz, CH<sub>a</sub>); 3,12 (1H, dd,  $J$  = 8,5; 5,5 Hz, CH<sub>b</sub>); 4,18 (1H, t, -CH-); 6,54 (2H, m, H<sub>3</sub>, H<sub>5</sub>); 6,68 (2H, m, H<sub>2</sub>, H<sub>6</sub>); 7,81 (2H, s, H<sub>2</sub>, H<sub>6</sub>); 9,99 (1H, s, OH<sub>phenol</sub>). <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>),  $\delta$  (ppm): 33,94 (CH<sub>2</sub>); 53,09 (CH); 92,63 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>); 116,17 (C<sub>5</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>3</sub>); 136,32 (C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>); 141,18 (C<sub>1</sub>); 149,18 (C<sub>1</sub>); 152,35 (C<sub>4</sub>); 153,26 (C<sub>4</sub>); 170,16 (C=O).

#### Tổng hợp liothyronin mononatri

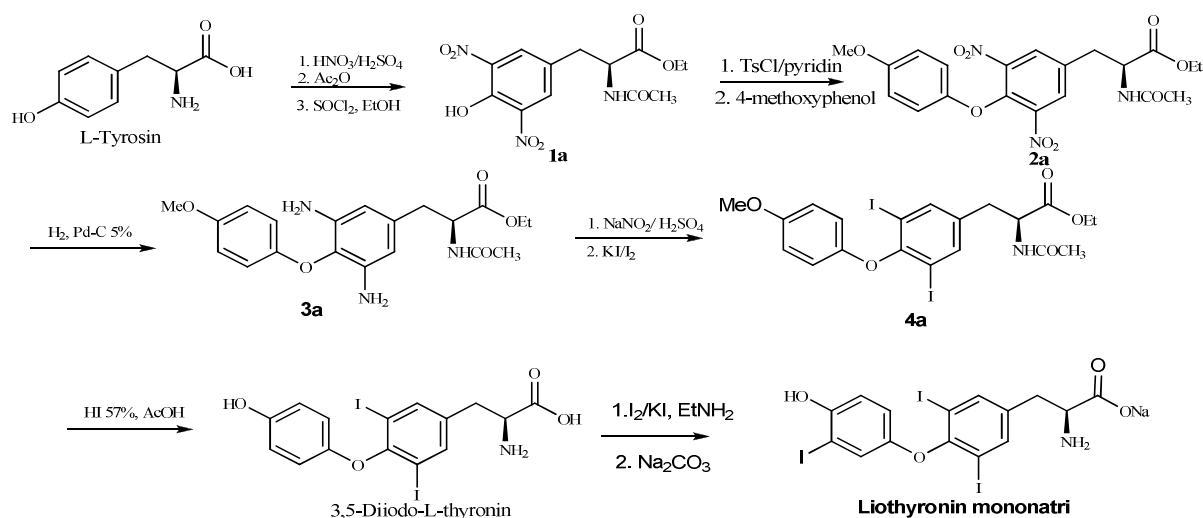
- **Tổng hợp liothyronin đinatri:** Hòa tan 10,0 g (19,12 mmol) 3,5-điiodo-L-thyronin trong hỗn hợp gồm 70 ml nước, 62,0 ml dung dịch EtNH<sub>2</sub> 70 %, hỗn hợp được làm lạnh xuống khoảng 20 °C. Nhỏ rất từ từ vào dung dịch trên hỗn hợp gồm 4,55 g (17,91 mmol) I<sub>2</sub>, 6,9 g (41,56 mmol) KI, 35g nước. Sau khi hoàn thành quá trình nhỏ, hỗn hợp được khuấy thêm 30 phút nữa và thêm vào dung dịch này 0,5 g NaHSO<sub>3</sub>. Đun nóng hỗn hợp lên khoảng 40 °C, trung hòa bằng acid axetic đến pH 5-5,5 xuất hiện tủa trắng, được lọc, rửa bằng nước, sấy 60 °C ở áp suất giảm thu được tủa thô liothyronin base. Tủa này được tạo hỗn dịch với 60,0 ml EtOH, đun nóng đến khoảng 50 °C. Thêm vào hỗn dịch này 6,2 ml NaOH 50 %, khuấy 1 giờ, làm lạnh nhiệt độ phòng, lọc, sấy 60 °C ở áp suất giảm thu được 11,8 g tủa thô 3,5,3'-triiodo-L-thyronin đinatri (hiệu suất 89,16 % tính theo 3,5-điiodo-L-thyronin).

- **Tạo liothyronin mononatri:** Tạo hỗn dịch 15,0 g (21,65 mmol) 3,5,3'-triiodo-L-thyronin

đinatri thô ở trên trong 150 ml nước, điều chỉnh pH của hỗn dịch này bằng dung dịch NaOH 30 % đến pH 12. Sau đó đun nóng khoảng 50 °C, thêm 0,5 g natrimetabisulfit, tẩy màu bằng 1 g than hoạt. Dịch lọc sau đó được điều chỉnh về pH 3 bằng dung dịch HCl 1 M. Tủa được lọc và rửa bằng nước thu được tủa liothyronin base. Tủa này sau đó được thêm dần vào 350 ml dung dịch Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> bão hòa ở 70-80 °C. Sau khi quá trình thêm hoàn thành, dung dịch được lọc nóng, làm lạnh dần xuống 20 °C xuất hiện tủa, tủa sau đó được lọc, sấy 40 °C ở áp suất giảm thu được 11,6 liothyronin mononatri (hiệu suất 79,81 % tính theo muối liothyronin đinatri),  $t_{nc}^0$ : 205-206 °C,  $R_f = 0,31$  (CHCl<sub>3</sub>:MeOH:HCOOH = 70:15:15),  $[\alpha]_D = 18,5^\circ$ . IR (KBr),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3457,54 (NH<sub>2</sub>); 3057,83 (CH<sub>Ar</sub>); 1606,02 (C=O); ESI-MS (m/z): 650,3 ([M]<sup>+</sup>). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>),  $\delta$  (ppm): 2,83 (1H, dd,  $J = 8,0; 6,0$  Hz, CH<sub>a</sub>); 3,11 (1H, dd, 10,5; 8,5 Hz, CH<sub>b</sub>); 3,47 (1H, t, -CH-); 6,62 (1H, dd,  $J = 8,0; 6,0$  Hz, H<sub>5</sub>); 6,86 (1H, d,  $J = 9,0$  Hz, H<sub>6</sub>); 7,01 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz, H<sub>2</sub>); 7,81 (2H, s, H<sub>2</sub>, H<sub>6</sub>). <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>),  $\delta$  (ppm): 35,35 (CH<sub>2</sub>); 55,17 (CH); 84,56 (C<sub>3'</sub>); 92,01 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>); 115,16 (C<sub>5'</sub>); 116,19 (C<sub>6'</sub>); 124,49 (C<sub>2'</sub>); 139,19 (C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>); 140,83 (C<sub>1</sub>); 148,99 (C<sub>4'</sub>); 151,87 (C<sub>1'</sub>); 152,16 (C<sub>4</sub>); 170,00 (C=O).

#### Kiểm nghiệm nguyên liệu liothyronin mononatri theo các tiêu chuẩn của USP 34 [7]

Kết quả nguyên liệu liothyronin tổng hợp được đạt tiêu chuẩn USP 34: hàm lượng liothyronin mononatri đạt 100,1 % tính theo chế phẩm khan



Sơ đồ 1: Sơ đồ quy trình tổng hợp liothyronin mononatri từ L-tyrosin

#### 4. KẾT LUẬN

Như vậy, chúng tôi đã xây dựng được quy trình tổng hợp liothyronin từ L-tyrosin làm nguyên liệu

(phương pháp HPLC).

#### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Từ nguyên liệu L-tyrosin thu được từ các nguồn keratin trong nước, chúng tôi đã xây dựng được quy trình tổng hợp liothyronin đạt tiêu chuẩn USP 34 (theo sơ đồ 1). Các phản ứng trong quy trình trên đã được nghiên cứu đơn giản hóa để có thể áp dụng quy trình này ở quy mô lớn hơn. Hiệu suất toàn bộ quá trình tổng hợp liothyronin (tính theo L-tyrosin) đạt khoảng 26,31 %, trong toàn bộ quá trình phản ứng sản phẩm không xảy ra quá trình racemic hóa. Quy trình tổng hợp trên có nhiều ưu điểm hơn các quy trình tổng hợp khác [3, 4, 6].

*Thứ nhất*, Nguyên liệu ban đầu L-tyrosin, đây là nguyên liệu có thể sản xuất với giá thành rẻ ở trong nước từ các phế, phụ phẩm: sừng, lông, móng gia súc.

*Thứ hai*, Quá trình tổng hợp từ nguyên liệu L-tyrosin không phải qua giai đoạn tách hỗn hợp đồng phân racemic. Sản phẩm thu được tinh khiết về mặt quang học và có tác dụng sinh học tốt hơn.

Cấu trúc của liothyronin và các chất trung gian đều được khẳng định cấu trúc bằng các phương pháp phổ IR, MS, <sup>1</sup>H-NMR và <sup>13</sup>C-NMR. Trên phổ IR đều xuất hiện dao động hóa trị đặc trưng cho các nhóm chức tương ứng với từng chất. Phổ khối lượng của tất cả các chất cho pic đúng với số khối của phân tử. <sup>1</sup>H-NMR và <sup>13</sup>C-NMR cho các tín hiệu proton và cacbon phù hợp với công thức cấu tạo.

sản xuất thuốc đạt theo các yêu cầu của USP 34. Quy trình trên bước đầu cho thấy những ưu điểm có thể triển khai sản xuất ở trong nước để phục vụ cho phát triển công nghiệp dược.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bracco. P et al. *Processo per la produzione di ormoni tiroidei, Italian Patent, IT 1302201 B1* (1998).
2. J. K. Chalmer, G. T. Dickson, J. Elks and B. A. Hems. *The synthesis of thyroxine and related substances. Part V. A synthesis of L-thyroxine from L-tyrosine*, J. Chem. Soc., 3424-3433 (1949).
3. Gunther Hillman. *Process for making iodo derivatives of thyronine*, United States Patent Office, US 2886592 (1957).
4. Harington C. R and George Barge. *Chemistry of thyroxine: III-Constitution and synthesis of thyroxine*, The Biochemical Journal, 21(1), 169-183 (1927).
5. J. Roche and R. Michel. *Natural and Artificial Iodoproteins*, Adv. Protein Chem., 6, 253 (1951).
6. W. Siedel, H. Nahm, H. Pini. *Verfahren zur Herstellung von Jodthyroninderivaten*, Ger. Pat. DE 1067826 (1955).
7. *The United States Pharmacopoeia 34* (USP 34).

*Liên hệ:* **Nguyễn Văn Giang**

Trường Đại học Dược Hà Nội

13,15 - Lê Thánh Tông, Quận Hoàn Kiếm, Hà Nội

Email: giangnguyendkh@gmail.com.