

TỔNG HỢP TẠP CHẤT A VÀ B CỦA RIFAMPICIN

Nguyễn Tiến Dũng¹, Phan Minh Hoàng¹, Huỳnh Tấn Phát¹

Thái Hiền Lương¹, Phan Văn Hồ Nam^{1}*

Tóm tắt

Mục tiêu: Tổng hợp được tạp chất A (rifampicin quinone) và tạp chất B (rifampicin *N*-oxid) của rifampicin đạt độ tinh khiết cao, có thể dùng làm nguyên liệu để thiết lập chất đối chiếu. **Phương pháp nghiên cứu:** Tạp chất A và B được tổng hợp bằng phản ứng oxy hóa rifampicin với các tác nhân oxy hóa khác nhau và tinh chế bằng phương pháp chiết pha rắn (tạp chất A) hoặc sắc ký cột nhanh (tạp chất B). Sản phẩm tinh chế được xác định cấu trúc qua phương pháp phổ: IR, MS, NMR. **Kết quả:** Tổng hợp được 1.600mg tạp chất A và 466,5mg tạp chất B với độ tinh khiết cao, hiệu suất lần lượt là 56,46% và 16,10%. **Kết luận:** Tạp chất A và B của rifampicin được tổng hợp thành công, hỗ trợ cho việc thiết lập chuẩn tạp chất đối chiếu của rifampicin, góp phần phát triển danh mục tạp chất chuẩn quốc gia, sử dụng trong kiểm nghiệm tạp chất liên quan của thuốc.

Từ khóa: Rifampicin; Rifampicin quinone; Rifampicin *N*-oxide.

SYNTHESIS OF RIFAMPICIN IMPURITIES A AND B

Abstract

Objectives: To synthesize impurity A (rifampicin quinone) and impurity B (rifampicin *N*-oxide) of rifampicin with high purity, suitable for use as reference materials. **Methods:** Impurity A and B were synthesized using oxidizing rifampicin with different oxidizing agents and purified using solid-phase extraction (impurity A) or flash column chromatography (impurity B). The purified products were structurally confirmed using spectroscopic techniques, including IR, MS, and NMR. **Results:** A total of 1,600mg of impurity A and 466.5mg of impurity B were synthesized with high purity, with yields of 56.46% and 16.10%, respectively.

¹Trường Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

*Tác giả liên hệ: Phan Văn Hồ Nam (phanvanhonam@ump.edu.vn)

Ngày nhận bài: 12/10/2025

Ngày được chấp nhận đăng: 25/12/2025

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v51i2.1738>

Conclusion: Impurity A and B of rifampicin were successfully synthesized, providing materials for establishing rifampicin impurity reference standards and contributing to the development of a national impurity reference database for quality control of related substances in drug products.

Keywords: Rifampicin; Rifampicin quinone; Rifampicin *N*-oxide.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Rifampicin là kháng sinh bán tổng hợp có phổ kháng khuẩn rộng và có hiệu quả với vi khuẩn *Mycobacterium sp.* [1]. Các dược điển tham chiếu như Dược điển Việt Nam, Dược điển Anh, Dược điển Mỹ đều yêu cầu kiểm tra tạp chất của rifampicin, bao gồm rifampicin quinone (tạp chất A), rifampicin *N*-oxide (tạp chất B), có sử dụng chất chuẩn đối chiếu. Các tạp chất này đều là sản phẩm oxy hóa của rifampicin dưới tác dụng của oxy không khí hoặc ánh sáng tử ngoại và hầu như không có hoạt tính kháng khuẩn. Tuy nhiên, hiện chưa có chất chuẩn tương ứng trong ngân hàng quốc gia, giá nhập khẩu cao và thời gian đặt hàng lâu. Đồng thời, chưa có tài liệu trong nước công bố đầy đủ quy trình tổng hợp và tinh chế tạp chất A và B. Từ nhu cầu cấp thiết đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm: *Tổng hợp hai tạp chất A và B với độ tinh khiết cao, phục vụ làm chất đối chiếu trong kiểm nghiệm rifampicin, góp phần chủ động kiểm soát chất lượng thuốc và phát triển ngân hàng chất chuẩn trong nước.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Tạp chất A của rifampicin (rifampicin quinone) và tạp chất B của rifampicin (rifampicin *N*-oxide).

* *Hóa chất - dung môi:* Rifampicin (số lô 81201612006; 95,9%; Fengchen group - Trung Quốc), rifampicin quinone (USP, 100%), rifampicin *N*-oxide (BP; 90,2%), kali fericyanid (Fisher; 99,7%), ethyl acetat (Guangdong Guanghua; 99,5%), chloroform (Chemsol; 99,0%), amoniac (Xilong; 23%), acid acetic băng (Xilong), hydroxyperoxid (Xilong; 30%), *n*-hexan (Xilong) đạt tiêu chuẩn phân tích, bản mỏng silica gel (Merck), acetonitril (VWR Chemical; 99,9%), methanol (VWR Chemical; 99,9%), kali dihydrophosphat (Fisher; 99,7%), dinatri hydrophosphat (Fisher; 99,7%), nước cất siêu lọc (Trung tâm Kiểm nghiệm Thuốc, Mỹ phẩm, Thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh) đạt tiêu chuẩn sắc ký lỏng.

* *Trang thiết bị:* Cân phân tích độ nhạy 0,1mg Sartorius Practum 224-1S, hệ thống HPLC-PDA Waters Alliance e2695, máy UV Vilber Lourmat VL-4.LC, máy

quang phổ hồng ngoại Shimadzu IRAffinity-1S, máy cộng hưởng từ hạt nhân 400MHz và 500MHz Bruker advance II, máy khối phổ Waters Acquity-Xevo G2-S QToF.

* Thời gian và địa điểm nghiên cứu: Từ năm 2021 - 2025 tại Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh và Khoa Hóa - Lý, Viện Kiểm nghiệm Thuốc Thành phố Hồ Chí Minh.

2. Phương pháp nghiên cứu

Tổng hợp tạp chất A (Rif-Q): Dựa trên điều kiện phản ứng đã được công bố bởi Y Jin và CS [2], điều kiện phản ứng được lựa chọn (có một số điều chỉnh): Hòa tan 100mg nguyên liệu rifampicin trong 25mL methanol, thêm tác nhân oxy hóa, khuấy từ ở nhiệt độ 30°C. Thực hiện phản ứng đến khi hết nguyên liệu rifampicin, theo dõi bằng sắc ký lớp mỏng (SKLM). Toàn bộ dung dịch sản phẩm của phản ứng tổng hợp được trộn với 1 gram silica gel, sục khí N₂ để đuổi oxy, cô quay thu mẫu rắn. Nạp mẫu khô vào cột SPE (Waters Sep-Pak C18 3cc Vac Cartridge, 500mg, 55 - 105µm). Ở giai đoạn 1, rửa giải bằng nước cất 100% đến khi dịch rửa không còn màu. Ở giai đoạn 2, rửa giải bằng methanol 100% đến khi dịch rửa giải không còn Rif-Q, đánh giá bằng SKLM. Dịch rửa giải được sục khí N₂ và cô quay dưới áp suất giảm để thu sản phẩm.

Tổng hợp tạp chất B (Rif-NO): Hiện nay, trên thế giới vẫn chưa có tài liệu công bố về quy trình tổng hợp Rif-NO, chỉ có các tài liệu liên quan về các phản

ứng oxy hóa tạo nhóm chức N-oxide [3, 5] hoặc các tài liệu đề cập đến sự chuyển hóa rifampicin thành Rif-NO qua vi sinh vật [6]. Dựa trên tiêu chí quy trình đơn giản và các hóa chất dễ tìm kiếm, chúng tôi nghiên cứu điều kiện phản ứng như sau: Hòa tan 100mg nguyên liệu rifampicin trong 25mL dung môi hữu cơ, thêm tác nhân oxy hóa là dung dịch H₂O₂ 3%, khuấy từ và chiếu tia UV 254nm. Sản phẩm thô được cô đặc tới cạn. Thực hiện sắc ký cột nhanh, pha tĩnh là 10 gram silica gel pha thuận (40 - 63µm, Merck), phương pháp nhồi cột ướt. Cột thủy tinh có kích thước 25 × 1cm. Ở giai đoạn 1, rửa giải bằng CHCl₃ đến khi không còn vết được phát hiện bằng SKLM với UV 254nm, giai đoạn 2 rửa giải bằng CHCl₃-MeOH (70:30) đến khi không còn vết tương ứng với tạp chất B trên SKLM. Phân đoạn chứa sản phẩm được cô quay, làm khô trong bình hút ẩm và sục khí N₂ để bảo quản.

Sản phẩm sau khi tinh chế được thử tinh khiết bằng các phương pháp như SKLM, HPLC và xác định cấu trúc bằng các phương pháp phổ nghiệm như IR, MS, NMR.

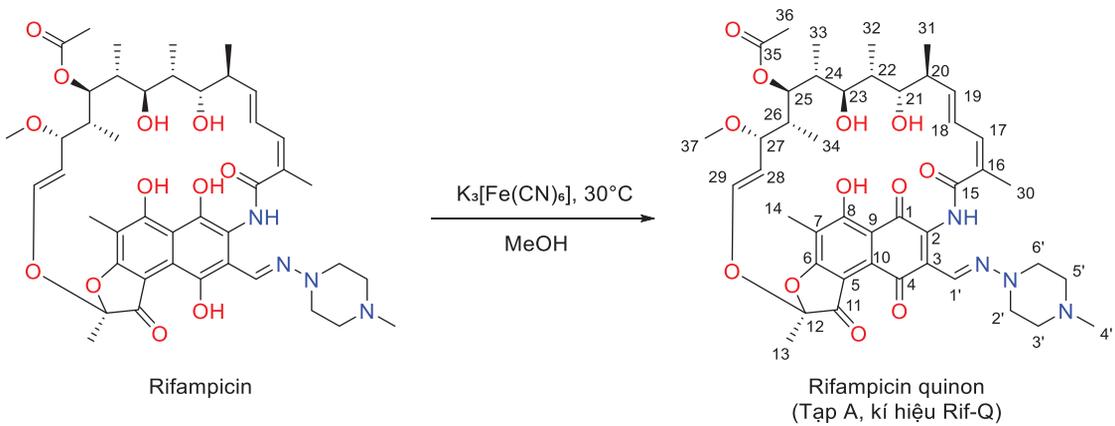
3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện theo Quyết định số 1854/QĐ-ĐHYD ngày 05/10/2021 của Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh. Số liệu nghiên cứu được Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh cho phép sử dụng và công bố. Nhóm tác giả cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Tổng hợp tạp chất A (rifampicin quinone - Rif-Q)

Chúng tôi đã thực hiện khảo sát các tác nhân oxy hóa khác nhau theo tỷ lệ mol 1:1, bao gồm $K_2S_2O_8$, $K_2Cr_2O_7$, $KMnO_4$ và $K_3[Fe(CN)_6]$. Sản phẩm thu được đều tạo vết tương ứng với Rif-Q chuẩn. Trong số các tác nhân oxy hóa, $K_3[Fe(CN)_6]$ cho sắc ký đồ sạch và ít tạp chất nhất (Hình 2a). Sơ đồ phản ứng oxy hóa rifampicin thành rifampicin quinone được trình bày ở hình 1.



Hình 1. Phản ứng tổng hợp rifampicin quinone.

Khảo sát thời gian phản ứng và tỷ lệ nguyên liệu - tác nhân oxy hóa (Bảng 1) cho thấy: Khi tỷ lệ mol rifampicin - $K_3[Fe(CN)_6]$ là 1:2 thì phản ứng diễn ra nhanh hơn, nhưng sản phẩm phụ (do khả năng rifampicin quinone bị oxy hóa tiếp) nhiều hơn so với tỷ lệ 1:1. Từ đó, điều kiện phản ứng được chọn là tỷ lệ mol rifampicin - $K_3[Fe(CN)_6]$ là 1:1, thực hiện ở 30°C trong 4 giờ. Hiệu suất thu được là 65,17%. SKLM cho thấy sản phẩm tinh chế cho vết gọn và duy nhất trên cả 3 hệ dung môi (Hình 2b), hàm lượng định lượng trên HPLC đạt 99,33% (Hình 2c).

Bảng 1. Khảo sát thời gian và tỷ lệ các chất tham gia tổng hợp rifampicin quinone.

Tỷ lệ mol Rif- $K_3[Fe(CN)_6]$	Thời gian PƯ' (giờ)	Cảm quan hỗn hợp sau PƯ'	Kết quả kiểm tra	
			Vết TỰ Rif	SKLM (cường độ màu) Vết TỰ Rif-Q
1:1	2	Nâu tím	+	++
1:2	2	Tím đen	- (Có tạp)	++
1:1	4	Tím đen	-	+++
1:2	4	Tím đen	- (Có tạp)	+++

(Rif: Rifampicin; Rif-Q: Rifampicin quinone; +: Thể hiện mức độ so với các vết khác; PƯ': Phản ứng; TỰ: Tương ứng)

Xác định cấu trúc:

Phổ IR: $\nu_{C=O} = 1625\text{cm}^{-1}$.

Phổ MS: $[M+H]^+$ tìm thấy là 821,3968 phù hợp với $[M+H]^+$ dự kiến là 821,3973.

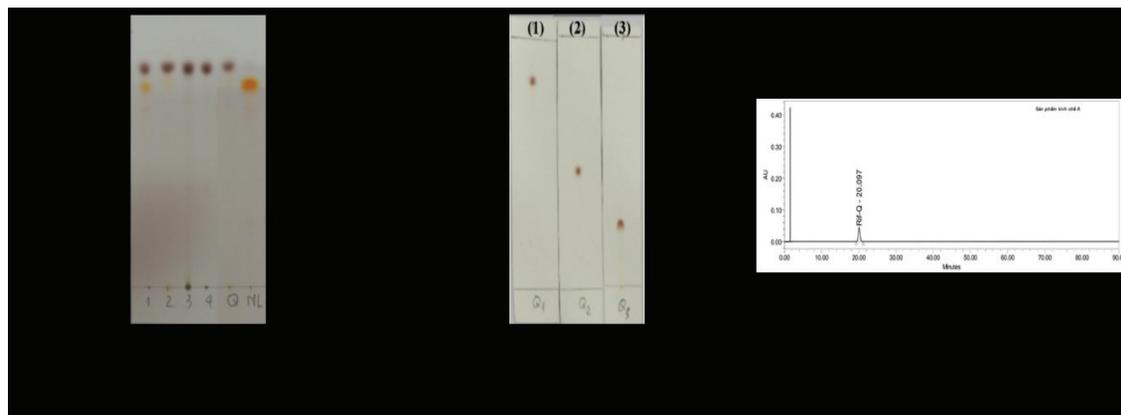
$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, chloroform-*d*) δ 10,52 (s, 1H); 7,76 (s, 1H); 6,78 (dd, $J = 15,8; 10,9\text{Hz}$; 1H); 6,35 (d, $J = 10,8\text{Hz}$; 1H); 6,06 (dd, $J = 12,4; 1,4\text{Hz}$; 1H); 5,91 (dd, $J = 15,8; 5,3\text{Hz}$; 1H); 5,12 (dd, $J = 9,9; 1,3\text{Hz}$; 1H); 5,04 (dd, $J = 12,4; 5,2\text{Hz}$; 1H); 3,98 (d, $J = 5,0\text{Hz}$; 1H); 3,85 (d, $J = 8,9\text{Hz}$; 1H); 3,60 (s, 1H); 3,43 - 3,40 (m, 1H); 3,26 (t, $J = 5,4\text{Hz}$; 4H); 3,07 (s, 3H); 2,99 (ddd, $J = 10,4; 5,0; 2,2\text{Hz}$; 1H); 2,58 - 2,51 (m, 4H); 2,47 - 2,37 (m, 1H); 2,33 (s, 3H); 2,27 (s, 3H); 2,07 (s, 3H); 2,05 (s, 3H); 1,75 (s, 3H); 1,74 - 1,69 (m, 3H); 1,46 - 1,35 (m, 1H); 1,02 (d, $J = 7,0\text{Hz}$; 3H); 0,84 (d, $J = 7,1\text{Hz}$; 3H); 0,53 (d, $J = 6,8\text{Hz}$; 3H); 0,11 (d, $J = 7,1\text{Hz}$; 3H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126MHz, chloroform-*d*) δ 192,98; 183,96; 181,54; 172,73; 172,52;

167,90; 166,73; 142,97; 141,53; 137,44; 137,31; 130,40; 129,22; 128,35; 124,92; 124,34; 118,31; 115,56; 112,35; 110,25; 107,36; 77,75; 77,36; 74,39; 71,45; 57,59; 53,95; 50,47; 46,03; 39,25; 38,67; 37,31; 33,24; 21,22; 20,93; 20,90; 17,35; 11,78; 9,01; 8,92; 7,78.

Phổ NMR có những tín hiệu đặc trưng cho sản phẩm Rif-Q so với rifampicin như sau: Tín hiệu của 56 proton ở Rif-Q so với 58 proton ở rifampicin, tín hiệu 10,52ppm cho -NH- của amid ở Rif-Q so với 8,82ppm của rifampicin [7], carbon của 5 nhóm C=O thể hiện qua độ dịch chuyển hóa học của các peak ở 192,98; 183,96; 181,54; 172,73 và 172,52ppm. Phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ tương tự với kết quả NMR của Rif-Q đã được công bố bởi Paulo Durão và CS [7].

Từ kết quả phân tích trên, có thể kết luận chất tổng hợp và tinh chế được là rifampicin quinone.



Hình 2. Sắc ký đồ của hỗn hợp phản ứng (a) và sản phẩm sau tinh chế (b và c) trong tổng hợp tạp chất A.

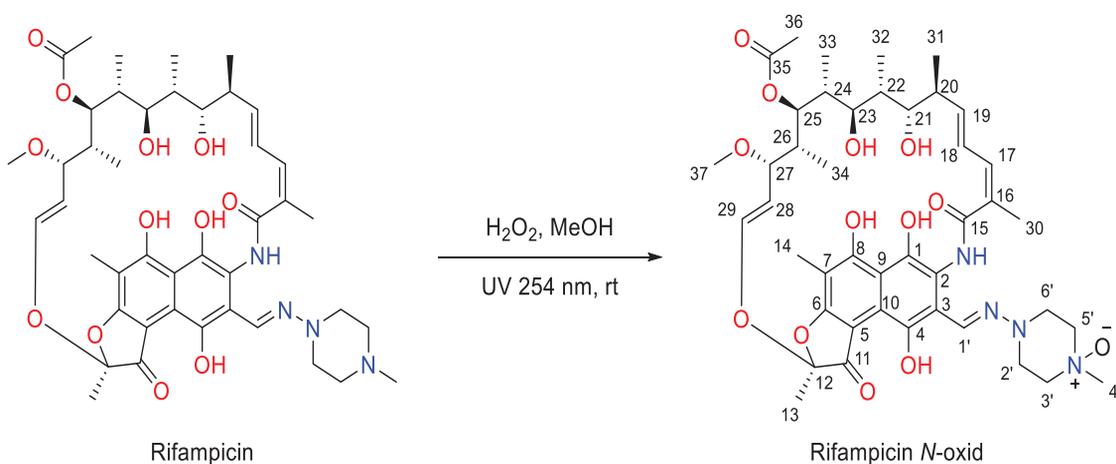
Nâng cỡ lô 1g:

Bảng 2. Hiệu suất nâng cỡ lô 1g rifampicin trong tổng hợp rifampicin quinone.

Khối lượng rifampicin (mg)	Hiệu suất (%)	Trung bình (%)
1002,9	54,34	
1015,2	58,39	56,46
1001,5	56,65	

Khi nâng cỡ lô 1g (1g rifampicin hòa trong 250mL methanol trong erlen 500mL, tỷ lệ mol rifampicin - $K_3[Fe(CN)_6]$ là 1:1, khuấy ở 30°C trong 4 giờ), hiệu suất tổng hợp có sự giảm từ 65,0% xuống 56,5%. Tuy nhiên, hiệu suất không quá thấp. Quy trình có thể áp dụng để tổng hợp tạp chất A của rifampicin ở quy mô lớn.

2. Tổng hợp tạp chất B (rifampicin *N*-oxide - Rif-NO)



Hình 3. Phản ứng tổng hợp rifampicin *N*-oxide.

Khi thực hiện khảo sát lựa chọn dung môi (Bảng 3), phản ứng thực hiện trong methanol trong 4 giờ cho kết quả tỷ lệ vết sản phẩm Rif-NO so với tạp chất trên bảng mỏng sắc ký tốt hơn so với cloroform, tetrahydrofuran, ethyl acetat và aceton. Vì vậy, methanol được lựa chọn làm dung môi phản ứng. Sơ đồ phản ứng oxy hóa rifampicin thành rifampicin *N*-oxide được trình bày ở hình 3.

Bảng 3. Kết quả khảo sát dung môi, nhiệt độ và tỷ lệ các chất tham gia phản ứng tổng hợp rifampicin *N*-oxide.

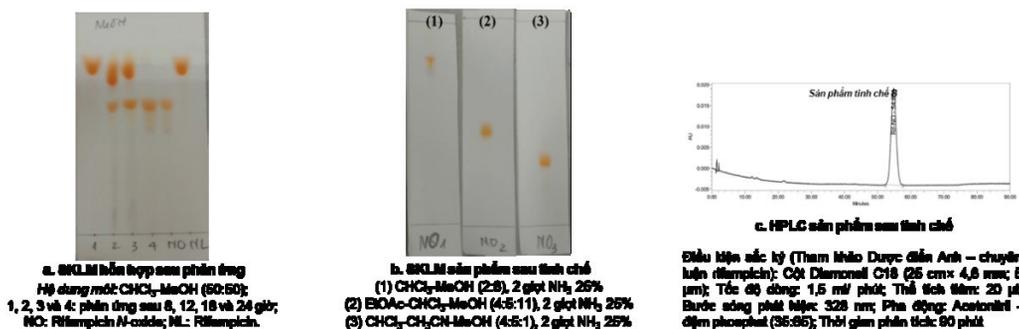
Dung môi	Tỷ lệ mol Rif-H ₂ O ₂	Nhiệt độ (°C)	Thời gian PU' (giờ)	Đánh giá bằng SKLM (tỷ lệ các vết)		
				Vết TU' Rif	Vết TU' Rif-NO	Các vết tạp khác
MeOH	1:1	RT	4	+++	++	++
CHCl ₃	1:1	RT	4	+++	+	+++
THF	1:1	RT	4	+++	+	+++
Aceton	1:1	RT	4	+++	+	+++
EtOAc	1:1	RT	4	+++	+	+++
MeOH	1:2	RT	4	-	++	++++
MeOH	1:1	60	4	+	-	+++++
MeOH	1:1	RT	24	-	+++	+++

(Rif: Rifampicin; Rif-NO: Rifampicin *N*-oxide; RT: Nhiệt độ phòng; +: Thể hiện mức độ so với các vết khác; PU': Phản ứng; TU': Tương ứng)

Khi thúc đẩy điều kiện phản ứng, bao gồm thay đổi tỷ lệ chất phản ứng rifampicin-H₂O₂ từ 1:1 sang 1:2 hay tăng nhiệt độ phản ứng từ 30 - 60°C (Bảng 3), sau 4 giờ, vết nguyên liệu rifampicin hầu như không còn. Tuy nhiên, vết tạp chất kéo đuôi theo sau Rif-NO xuất hiện, tỷ lệ tạp chất nhiều hay không thu được vết sản phẩm trên SKLM. Điều này cho thấy quá trình oxy hóa mạnh hơn tạo thành sản phẩm khác đã diễn ra hoặc Rif-NO tiếp tục bị oxy hóa sau khi tạo thành. Như vậy, việc thay đổi tỷ lệ cơ chất hoặc nhiệt độ không mang lại hiệu quả.

Khi khảo sát thời gian phản ứng lên đến 24 giờ (Bảng 3), nguyên liệu rifampicin đã phản ứng hoàn toàn, sản phẩm Rif-NO có R_f và màu trùng khớp với mẫu chuẩn (Hình 4a).

Từ đó, chúng tôi lựa chọn điều kiện để tổng hợp Rif-NO: Dung môi methanol, tỷ lệ mol rifampicin-H₂O₂ 1:1, khuấy từ và chiếu tia UV 254nm trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi tinh chế, thu được 15,3mg sản phẩm (hiệu suất toàn bộ quá trình là 15%). Kết quả SKLM cho thấy sản phẩm cho vết gọn và duy nhất trên cả 3 hệ dung môi (Hình 4b), hàm lượng định lượng HPLC đạt 98,44% (Hình 4c).



Hình 4. Sắc ký đồ của hỗn hợp phản ứng (a) và sản phẩm sau tinh chế (b và c) trong tổng hợp tạp chất B.

Xác định cấu trúc:

Phổ IR: $\nu_{\text{C=O}} = 1772; 1670\text{cm}^{-1}$

Phổ MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$ tìm thấy là 839,4071 phù hợp với $[\text{M}+\text{H}]^+$ dự kiến là 839,4079.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz; $\text{DMSO-}d_6$) δ 15,60 (s; 1H); 12,49 (s; 1H); 9,00 (s; 1H); 8,08 (s; 1H); 7,09 (dd, $J = 16,0; 10,9\text{Hz}$; 1H); 6,23 (d, $J = 8,2\text{Hz}$; 1H); 6,20 (d, $J = 9,7\text{Hz}$; 1H); 5,89 (dd, $J = 16,0; 6,9\text{Hz}$; 1H); 5,35 (s; 1H); 5,07 (d, $J = 10,8\text{Hz}$; 1H); 4,92 (dd, $J = 12,8; 8,2\text{Hz}$; 1H); 4,26 (s; 1H); 3,76 (d, $J = 8,2\text{Hz}$; 1H); 3,60 - 3,33 (m; 8H); 3,22 - 3,17 (m; 5H); 2,93 - 2,85 (m; 3H); 2,82 (d, $J = 9,3\text{Hz}$; 1H); 2,17 (td, $J = 14,3; 13,6; 6,3\text{Hz}$; 1H); 1,97 (s; 3H); 1,91 (s; 2H); 1,90 (s; 3H); 1,63 (s; 3H); 1,61 - 1,53 (m; 1H); 1,39 - 1,27 (m; 1H); 1,10 - 0,97 (m; 1H); 0,88 (d, $J = 6,9\text{Hz}$; 3H); 0,83 (d, $J = 6,9\text{Hz}$; 3H); 0,45 (d, $J = 6,7\text{Hz}$; 3H); -0,25 (d, $J = 6,7\text{Hz}$; 3H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 184,38; 184,23; 171,72; 169,50; 166,20; 148,59; 145,24; 142,85; 137,99; 136,89; 132,23; 132,04; 127,74; 117,55; 117,23; 117,12; 115,70; 114,14; 108,56; 100,90;

98,49; 76,48; 76,17; 73,63; 72,01; 62,68; 62,18; 59,76; 55,62; 45,50; 44,64; 40,20; 38,47; 38,05; 32,91; 22,07; 20,68; 20,59; 17,71; 11,41; 8,99; 8,67; 7,46.

Phổ NMR có những tín hiệu đặc trưng cho sản phẩm Rif-NO so với rifampicin như sau: Proton của C4' dịch chuyển từ 2,78ppm (tín hiệu trong phổ rifampicin nay không còn xuất hiện trên phổ của Rif-NO) đến vùng trường thấp trong khoảng 3,22 - 3,17ppm, điều này cho thấy nitơ đã được gắn thêm oxy hút điện tử làm giảm chắn trên proton của C4'. Tương tự, khả năng hút điện tử của oxy trên nitơ làm giảm chắn trên C4', C3' và C5', từ đó làm C4' dịch chuyển từ 42,3ppm tới 59,7ppm và C3' và C5' dịch chuyển từ 51,4ppm tới 62,2 và 62,7ppm. Phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ tương tự kết quả NMR của Rif-NO đã được công bố bởi Hoshino và CS và đều không ghi nhận được tín hiệu 8-OH⁶.

Từ kết quả phân tích trên, có thể kết luận chất tổng hợp và tinh chế được là rifampicin *N*-oxide.

Nâng cỡ lô 1g:

Bảng 4. Hiệu suất nâng cỡ lô 1g rifampicin trong tổng hợp rifampicin *N*-oxide.

Khối lượng nguyên liệu (mg)	Hiệu suất (%)	Trung bình (%)
1007,1	15,11	
1010,9	17,47	16,10
1003,4	15,71	

Khi nâng cỡ lô 1g (1g rifampicin được hòa trong 250mL methanol trong erlen 500mL, tỷ lệ mol rifampicin-H₂O₂ là 1:1, khuấy từ và chiếu tia UV 254nm trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng), hiệu suất thu được khoảng 16,1%, không thay đổi nhiều so với quy mô 100mg.

BÀN LUẬN

1. Tổng hợp tạp chất A

Quy trình của Y Jin và CS sử dụng kali ferricyanid, ethyl acetat và đệm phosphat pH 7,4; đạt hiệu suất 65% [2]. So với kết quả nghiên cứu của Y Jin và CS, hiệu suất tổng hợp trong nghiên cứu của chúng tôi không cao hơn. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu cho thấy việc sử dụng hệ đệm phosphat trong phản ứng của nhóm Y Jin và CS là không cần thiết. So với công bố của nhóm Y Jin và CS, các điều kiện phản ứng cũng như quy trình tinh chế đã được mô tả cụ thể.

Khi nâng cỡ lô 1g, hiệu suất tổng hợp giảm từ 65% xuống 56,5%. Tuy nhiên, hiệu suất không quá thấp. Quy trình có thể áp dụng để tổng hợp tạp chất A của rifampicin ở quy mô lớn. Nghiên cứu đã cung cấp quy trình tổng hợp và tinh chế chi tiết hơn so với các nghiên cứu khác trên thế giới.

2. Tổng hợp tạp chất B

Khi sử dụng các tác nhân oxy hóa khác (trong tổng hợp tạp chất A), Rif-NO không thu được. Điều này cho thấy tạp chất B có thể bị tiếp tục oxy hóa bởi các tác nhân oxy hóa mạnh. Thực nghiệm cho thấy Rif-NO chỉ hình thành dưới điều kiện oxy hóa nhẹ và có chiếu UV 254nm. Chiếu UV được nhận định là giúp chuyển H₂O₂ thành gốc tự do, khởi đầu quá trình oxy hóa, giúp quá trình oxy hóa diễn thuận lợi hơn so với không chiếu UV. Khi có sự hiện diện của tác nhân oxy hóa nồng độ cao hoặc có gia nhiệt, Rif-NO nhanh chóng chuyển thành các sản phẩm khác. Hiệu suất phản ứng thấp do khó kiểm soát chuỗi oxy hóa tiếp theo.

Khi nâng cỡ lô 1g, hiệu suất tổng hợp không thay đổi nhiều so với quy mô 100mg. Kết quả ở các điều kiện oxy hóa khác nhau đã cung cấp nhiều thông tin cho tổng hợp tạp chất B. Quy trình có thể

áp dụng để tổng hợp tạp chất B của rifampicin để làm chất đối chiếu. Nghiên cứu đã cung cấp quy trình tổng hợp và tinh chế tạp chất B mà chưa được đề cập ở bất cứ tài liệu nào trên thế giới. Điều này góp phần tăng tính chủ động trong tổng hợp tạp chất tại Việt Nam.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã tổng hợp được 1.600mg tạp chất A và 466,5mg tạp chất B qua 3 lần lặp lại ở quy mô 1g với độ tinh khiết cao, hiệu suất lần lượt là 56,46% và 16,10%. Kết quả này tạo tiền đề cho sản xuất quy mô lớn và thiết lập chuẩn tạp chất đối chiếu của rifampicin, góp phần xây dựng danh mục tạp chất chuẩn quốc gia, phục vụ kiểm nghiệm tạp chất liên quan của thuốc.

Lời cảm ơn: Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Trường Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh và Khoa Hóa - Lý, Viện Kiểm nghiệm Thuốc Thành phố Hồ Chí Minh đã tạo điều kiện, hỗ trợ trang thiết bị cho chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gumbo T. Chemotherapy of *Tuberculosis*, *Mycobacterium avium* complex disease, and leprosy. *Goodman & Gilman's The pharmacological Basis of Therapeutics*. 2011; 13.

2. Jin Y, Gill SK, Kirchhoff PD, et al. Synthesis and structure-activity relationships of novel substituted 8-amino, 8-thio, and 1,8-pyrazole congeners of antitubercular rifamycin S and rifampin. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2011; 21(20):6094-6099. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.08.054>.

3. Veerakumar P, Balakumar S, Velayudham M, et al. Ru/Al₂O₃ catalyzed N-oxidation of tertiary amines by using H₂O₂. 10.1039/C2CY20047C. *Catalysis Science & Technology*. 2012; 2(6):1140-1145. DOI: 10.1039/C2CY20047C.

4. O'Neil I. *Science of Synthesis*. *Thieme Chemistry*. 2009; 40:855.

5. Bergstad K, Bäckvall JE. Mild and efficient flavin-catalyzed H₂O₂ oxidation of tertiary amines to amine N-oxides. *The Journal of Organic Chemistry*. 1998; 63(19):6650-6655.

6. Hoshino Y, Fujii S, Shinonaga H, et al. Monooxygenation of rifampicin catalyzed by the rox gene product of *Nocardia farcinica*: Structure elucidation, gene identification and role in drug resistance. *The Journal of Antibiotics*. 2010; 63(1):23-28.

7. Durão P, Kis P, Chelo IM, et al. Environmentally friendly degradation and detoxification of rifampicin by a bacterial laccase and hydrogen peroxide. *ChemBioChem*. 2024; 25(2):e202300627.