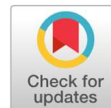




ISSN : 1859-1779

Nghiên cứu Dược học

Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh - Dược học;28(5):18-25
<https://doi.org/10.32895/hcjm.p.2025.05.03>



Tổng hợp tạp A và tạp B của quinapril hydrochlorid

Trần Quốc Huy¹, Lê Nguyễn Gia Huy², Trương Văn Đạt³, Ngô Thị Thanh Diệp^{3,*}

¹Đại học Tartu, thành phố Tartu, nước Estonia

²Công ty Cổ phần Dược Phẩm Viễn Đông, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Khoa Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Quinapril hydrochlorid là hoạt chất thuộc nhóm chất ức chế men chuyển angiotensin, được sử dụng phổ biến trong điều trị các bệnh lý tim mạch và thận. Dược điển Mỹ 2024 và Dược điển Anh 2024 quy định việc kiểm soát hàm lượng quinapril diketopiperazin (tạp A USP) và quinaprilat (tạp B USP) trong cả nguyên liệu và thành phẩm quinapril hydrochlorid. Hiện nay, ngân hàng tạp chuẩn trong nước chưa có sẵn các tạp chuẩn này, do đó phải nhập khẩu từ nước ngoài với giá thành cao. Nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu tổng hợp tạp A và tạp B của quinapril hydrochlorid với hiệu suất và độ tinh khiết cao, từ đó thiết lập các chất đối chiếu phục vụ nhu cầu kiểm nghiệm trong nước.

Mục tiêu: Tổng hợp tạp A và tạp B có độ tinh khiết cao đủ điều kiện thiết lập chất đối chiếu.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Tạp A và tạp B được tổng hợp bằng phản ứng đóng vòng nội phân tử và thủy phân liên kết ester. Sản phẩm sau tinh chế được xác định cấu trúc bằng các phương pháp phổ nghiệm. Độ tinh khiết được xác định bằng phương pháp HPLC-PDA quy về 100% diện tích pic.

Kết quả: Tạp A và tạp B được tổng hợp với hiệu suất toàn quá trình đạt 79% và 76%, với độ tinh khiết sắc ký của 2 tạp đều trên 99% đủ điều kiện thiết lập làm chất đối chiếu.

Kết luận: Tổng hợp thành công tạp A và tạp B có độ tinh khiết cao đủ điều kiện thiết lập chất đối chiếu.

Từ khóa: tạp A của quinapril; tạp B của quinapril; quinapril diketopiperazin; quinaprilat

Abstract

SYNTHESIS OF RELATED COMPOUNDS A AND B OF QUINAPRIL HYDROCHLORIDE

Tran Quoc Huy, Le Nguyen Gia Huy, Truong Van Dat, Ngo Thi Thanh Diep

Introduction: Quinapril hydrochloride is an active pharmaceutical ingredient belonging to the angiotensin-converting enzyme inhibitor class, widely used in the treatment of cardiovascular and renal diseases. The United States Pharmacopeia 2024 and the British Pharmacopoeia 2024 mandate the control of quinapril diketopiperazine

Ngày nhận bài: 17-03-2025 / Ngày chấp nhận đăng bài: 29-04-2025 / Ngày đăng bài: 28-05-2025

*Tác giả liên hệ: Ngô Thị Thanh Diệp. Bộ môn Phân tích - Kiểm nghiệm - Khoa Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam. E-mail: ngothithanhdiep@ump.edu.vn

© 2025 Bản quyền thuộc về Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh.

(USP Related Compound A) and quinaprilat (USP Related Compound B) levels in both raw materials and finished products. Currently, Vietnam lacks a domestic impurity reference standard bank for these compounds, necessitating costly imports. Therefore, this study aimed to synthesize quinapril-related compounds A and B with high yield and purity to establish in-house reference standards for domestic quality control.

Objective: To synthesize quinapril-related compounds A and B with high purity, meeting the requirements for reference standard establishment.

Materials and methods: Quinapril-related compounds A and B were synthesized through intramolecular cyclization and ester hydrolysis reactions. The purified products were structurally characterized using spectroscopic methods. Purity was determined via HPLC-PDA, with results normalized to 100% peak area.

Results: Compounds A and B were synthesized with overall yields of 79% and 76%, respectively. Chromatographic purity for both compounds exceeded 99%, meeting the criteria for reference standard establishment.

Conclusion: The successful synthesis of quinapril-related compounds A and B with high purity provides the basis for their use as reference standards in domestic quality control.

Keywords: quinapril-related compound A; quinapril-related compound B; quinapril diketopiperazine; quinaprilate

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các chất ức chế men chuyển angiotensin (ACEIs) là nhóm thuốc phổ biến trong điều trị các bệnh lý tim mạch và thận, bao gồm tăng huyết áp, hội chứng mạch vành và suy tim. Tuy nhiên, việc điều trị dài hạn với ACEIs có thể gây ra ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe bệnh nhân nếu các tạp chất, dù ở hàm lượng nhỏ, không được kiểm soát. Theo Dược điển Mỹ 2024 (USP 2024) và Dược điển Anh 2024 (BP 2024), quinapril diketopiperazin (quinapril DKP, tạp A USP) và quinaprilat (tạp B USP) là hai tạp chất liên quan của quinapril hydrochlorid cần phải kiểm soát hàm lượng trong cả nguyên liệu và thành phẩm viên nén [1,2]. Hiện nay, ngân hàng tạp chuẩn trong nước chưa có sẵn các chuẩn tạp A và B, dẫn đến việc phải nhập khẩu từ nước ngoài với chi phí cao và quy trình vận chuyển phức tạp. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu tổng hợp tạp A và B của quinapril hydrochlorid với hiệu suất và độ tinh khiết cao, hướng đến việc thiết lập các chất đối chiếu phục vụ nhu cầu kiểm nghiệm trong nước.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Tạp A của quinapril hydrochlorid: Ethyl [3S-[(2R*), 3a, 11ab]]-1,3,4,6,11,11a-hexahydro-3-methyl-1,4-dioxo-a-(2-phenylethyl)-2H-pyrazino[1,2-b]isoquinoline-2-acetat.

Tạp B của quinapril hydrochlorid: Acid 3-isoquinolinecarboxylic, 2-[2-[(1-carboxy-3-phenylpropyl)amino]-1-oxopropyl]-1,2,3,4-tetrahydro-[3S-[2[R*(R*)],3R*]].

2.1.1. Nguyên liệu, dung môi, hóa chất, trang thiết bị

Nguyên liệu

Quinapril hydrochlorid đạt tiêu chuẩn Dược điển Mỹ (USP 41). Nhà sản xuất: Zhejiang Huahai Pharmaceutical - Trung Quốc. Số lô: 5454-21-006. Hàm lượng 99,3% tính trên chế phẩm khan.

Dung môi, hóa chất

Acetonitril (ACN), methanol (MeOH), nước cất, acid orthophosphoric (H₃PO₄), triethanolamin (TEA) đạt tiêu chuẩn dùng cho HPLC. Acid acetic (AcOH), acid formic (HCOOH), acid hydrochlorid (HCl), acetone (Ace), ammonia (NH₃), n-butanol (n-BuOH), cloroform (Cf), ethanol (EtOH), ethyl acetat (EtOAc), n-hexan (Hx), hydroperoxid (H₂O₂), natri hydroxid (NaOH) đạt tiêu chuẩn phân tích.

Trang thiết bị

Cân phân tích Sartorius ENTRIS124I-1S, máy đo nhiệt độ nóng chảy Stuart SMP-10, máy đo phổ hồng ngoại (IR) Shimadzu IRAffinity-1S, hệ thống sắc ký lỏng Shimadzu và tứ cực trang bị thiết bị ion hoá phun điện tử, máy đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) Bruker Advance II, hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) Alliance 2695 XE (Water, USA) trang bị đầu dò dây diod quang (PDA). Silica gel 60

F₂₅₄ 20x20 cm (Merck). Các dụng cụ thủy tinh đạt yêu cầu về độ chính xác sử dụng trong phân tích.

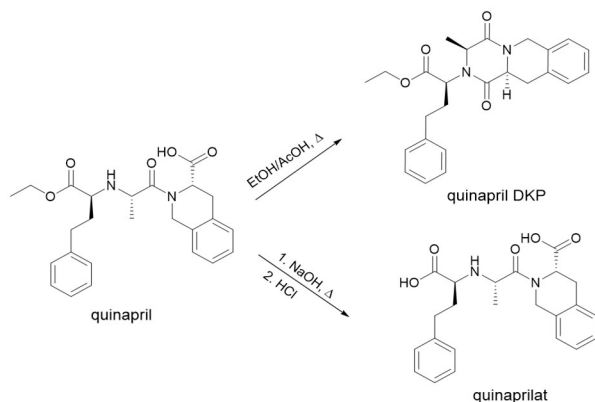
2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tổng hợp và tinh chế tạp A

Quinapril hydrochlorid (1,0045 g, 2,1 mmol) được hòa tan trong 50 mL hỗn hợp EtOH - AcOH (99:1). Hỗn hợp được đun hồi lưu trong 10 giờ với nhiệt độ bấp cách thủy được kiểm soát ở 90°C, sau đó cô giảm thể tích còn khoảng 10 mL. Trung hòa hỗn hợp bằng dung dịch NH₃ 10%, lọc lấy tủa trắng và rửa với nước cất lạnh. Tủa được sấy khô ở 70°C đến khi khối lượng không đổi.

2.2.2. Tổng hợp và tinh chế tạp B

Quinapril hydrochlorid (0,9496 g, 2,0 mmol) được hòa tan trong 10 mL hỗn hợp MeOH - H₂O (1:1). Thêm 6,4 mL dung dịch NaOH 4N vào hỗn hợp, sau đó đun hồi lưu ở 60°C trong 4 giờ. Để nguội và làm lạnh tới 0 - 5°C, sau đó acid hóa hỗn hợp đến pH 3,5 - 4 bằng dung dịch HCl, thu được tủa trắng. Tiến hành rửa tủa lần lượt với nước cất lạnh và EtOAc, sau đó sấy khô ở 70°C đến khi khối lượng không đổi, thu được sản phẩm thô. Sản phẩm thô được kết tinh lại trong hỗn hợp MeOH - H₂O (4:1) (Hình 1).



Hình 1. Phản ứng tổng hợp tạp A và tạp B từ quinapril hydrochlorid

2.2.3. Thử tinh khiết sơ bộ sản phẩm sau tinh chế

Độ tinh khiết của sản phẩm sau khi tinh chế được kiểm tra sơ bộ bằng nhiệt độ nóng chảy và sắc ký lớp mỏng (SKLM) với ba hệ dung môi có năng lực rửa giải khác nhau ở bước sóng 254 nm. Với tạp A, ba hệ dung môi gồm *n*-BuOH - NH₃ (99:1), Ace - Hx (3:5), và Cf - Hx (7:3). Với tạp B, ba hệ dung môi gồm *n*-BuOH - MeOH - NH₃ (8:3:1), *n*-BuOH - MeOH - H₂O - NH₃ (40:15:10:2,5), và MeOH - Ace - HCOOH (12:17:1).

2.2.4. Xác định cấu trúc sản phẩm sau tinh chế

Cấu trúc của sản phẩm sau tinh chế được xác định bằng các phương pháp phổ nghiệm, bao gồm IR, MS, và NMR.

2.2.5. Xây dựng và thẩm định quy trình xác định độ tinh khiết bằng HPLC-PDA

Độ tinh khiết của sản phẩm sau tinh chế được xác định theo phương pháp chuẩn hóa điện tích pic bằng HPLC-PDA, được thẩm định theo hướng dẫn của ICH [3].

Điều kiện sắc ký: cột Phenomenex C18 (250 x 4,6 mm; 5 μm), tốc độ dòng 1,0 mL/phút, thể tích tiêm mẫu 10 μL, nhiệt độ cột 30 °C, bước sóng phát hiện 210 nm. Với tạp A, hệ pha động bao gồm ACN (dung môi 1) và dung dịch TEA 0,01% điều chỉnh đến pH 3,5 bằng H₃PO₄ (dung môi 2). Với tạp B, hệ pha động bao gồm ACN (dung môi 1) và dung dịch H₃PO₄ 0,1% (dung môi 2) (chương trình gradient trình bày ở Bảng 1).

Bảng 1. Chương trình rửa giải gradient xác định độ tinh khiết tạp A và tạp B

| Tạp A | | | Tạp B | | |
|------------------|----------------|-----------------|------------------|----------------|-----------------|
| Thời gian (phút) | Dung môi I (%) | Dung môi II (%) | Thời gian (phút) | Dung môi I (%) | Dung môi II (%) |
| 0 | 30 | 70 | 0 | 10 | 90 |
| 5 | 65 | 35 | 10 | 35 | 65 |
| 15 | 65 | 35 | 15 | 35 | 65 |
| 20 | 30 | 70 | 25 | 70 | 30 |

3. KẾT QUẢ

3.1. Tổng hợp và tinh chế tạp A

Từ quinapril hydrochlorid (1,0045 g, 2,1 mmol), sau phản ứng và rửa với nước cất lạnh thu được 0,6982 g (1,66 mmol) chất rắn màu trắng. Hiệu suất toàn quá trình đạt 79%.

3.2. Tổng hợp và tinh chế tạp B

Từ quinapril hydrochlorid (0,9496 g, 2,0 mmol), sau phản ứng thu được 0,7612 g sản phẩm thô. Kết tinh lại sản phẩm thô trong hỗn hợp MeOH - H₂O (4:1) thu được 0,6239 g (1,52 mmol) tinh thể màu trắng. Hiệu suất toàn quá trình đạt 76%.

3.3. Thử tinh khiết sơ bộ sản phẩm sau tinh chế

Sản phẩm sau tinh chế A và B có khoảng nhiệt độ nóng chảy lần lượt là 122 - 123 °C và 168 - 169 °C, phù hợp với khoảng nóng chảy của quinapril DKP và quinaprilat theo tài liệu tham khảo [4-7]. Ngoài ra, sắc ký đồ SKLM của sản phẩm tinh chế cho một vết duy nhất trên 3 hệ dung môi có độ phân cực và năng lực rửa giải khác nhau.

3.4. Xác định cấu trúc sản phẩm sau tinh chế

3.4.1. Tạp A

Phổ ATR-FTIR (ν_{\max} , cm^{-1}): 2954 (-NH-, lactam), 1728 (C=O, ester), 1659 (C=O, lactam).

Phổ HRMS-ESI(+) (m/z) ghi nhận $[M+H]^+ = 421,2110$ (sai số khối $\Delta m = 2,38$ ppm so với $[M+H]^+$ lý thuyết = 420,2032).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 600 MHz): 1,19 (3H, t, $J = 7,2$ Hz, CH_3 23), 1,43 (3H, d, $J = 7,2$ Hz, CH_3 24), 2,26 (2H, m, CH_2 14), 2,62 (1H, m, H15), 2,76 (1H, m, H15), 2,86 (1H, m, H11), 3,12 (1H, dd, $J = 4,2$ Hz và 16,2 Hz, H11), 4,00 - 4,14 (5H, m, H3, H6, H13, và H_2 22), 4,16 (1H, dd, $J = 4,2$ Hz và 12,6 Hz, H11a), 5,22 (1H, d, $J = 16,8$ Hz, H6), 7,18 - 7,28 (9H, m, H-Ar) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 150 MHz): 14,0 (C23), 20,2 (C24), 29,6 (C14), 31,7 (C15), 32,6 (C11), 43,0 (C6), 55,0 (C11a), 57,9 (C3), 59,2 (C13), 60,5 (C22), 125,8, 126,3, 126,5, 126,6, 128,0, 128,3, 129,1 (9C nhân thơm), 132,1 và 132,2 (C6a và C10a), 141,3 (C12), 164,2 (C1), 164,7 (C4), 169,5 (C16) ppm.

3.4.2. Tạp B

Phổ ATR-FTIR (ν_{\max} , cm^{-1}): 3622 (-OH, của COOH), 3452 (-NH-), 1705 (C=O, của COOH).

Phổ HRMS-ESI(+) (m/z) ghi nhận $[M+H]^+ = 411,1911$ (sai số khối $\Delta m = 0,49$ ppm so với $[M+H]^+$ lý thuyết = 410,1833).

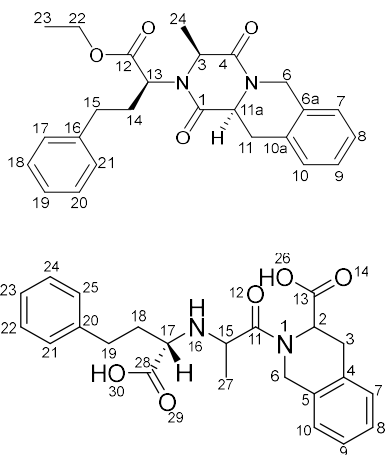
Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 600 MHz) cho thấy ở vùng 1,61 - 5,30 ppm, một số tín hiệu proton tồn tại theo cặp tín hiệu đôi với tỉ lệ số tích phân 3:1 tương ứng hai cấu dạng *s-trans* và *s-cis* của quinaprilat trong dung môi pha mẫu. Hiện tượng này cũng được ghi nhận trong phổ ^1H của nguyên liệu quinapril hydrochlorid [8].

Tương tự phổ $^1\text{H-NMR}$, phổ ^{13}C ghi nhận 42 tín hiệu, nhiều hơn so với 23 carbon theo lý thuyết. Vì vậy, nhóm nghiên cứu tiến hành đo phổ $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$, HSQC và HMBC để biện giải tất cả tín hiệu liên quan đến cấu trúc quinaprilat. Kết quả được ghi nhận ở Bảng 2.

Bảng 2. Độ dời hoá học của từng carbon và hydro trong sản phẩm sau tinh chế B

| Vị trí H/C | δ_{H} (ppm) | δ_{C} (ppm) |
|-------------------|--|--------------------------------|
| 2 | 5,30 (dd, $J = 6,6; 4,2$ Hz), 4,92 (dd, $J = 6,0; 3,0$ Hz) 3:1 | 56,1; 54,0 |
| 3 | 3,45 (dd, $J = 16,2; 3,0$ Hz), 3,30 (dd, $J = 15,6; 4,2$ Hz) 1:3; 3,19 - 3,26 (td, $J = 16,2; 6,0$ Hz) | 31,8; 31,5 |
| 6 | 4,60 (d, $J = 17,4$ Hz), 4,70 (d, $J = 15$ Hz), 4,78 - 4,82 (m) | 45,2; 46,3 |
| 15 | 4,66 (q, $J = 6,6$ Hz), 4,48 (q, $J = 6,6$ Hz) 3:1 | 56,2; 55,4 |
| 27 | 1,67 (d, $J = 6,6$ Hz), 1,61 (d, $J = 6,6$ Hz) 3:1 | 16,8; 15,9 |
| 17 | 3,62 (t, $J = 6$ Hz), 3,49 (t, $J = 6$ Hz) 1:3 | 63,1; 63,0 |
| 18 | 2,15 - 2,24 (m) | 34,1; 34,2 |
| 19 | 2,76 - 2,85 (m) | 32,3; 32,4 |
| 7 - 10 21 - 25 | 7,17 - 7,25 (m); 7,26 - 7,30 (m) | 127,2 - 129,5 129,5 - 129,6 |
| 4 | - | 133,8; 133,3 |
| 5 | - | 133,0; 132,8 |
| 20 | - | 142,2; 142,1 |
| 11 | - | 171,3; 170,1 |
| 13 | - | 173,6; 173,0 |
| 28 | - | 173,1; 172,3 |

Từ các dữ liệu phổ nghiệm thu được, hai sản phẩm sau tinh chế được xác định là quinapril DKP (tạp A) và quinaprilat (tạp B), tương ứng với công thức phân tử $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$ và $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5$. Công thức cấu tạo được thể hiện trong Hình 2.



Hình 2. Công thức cấu tạo của quinapril DKP (trên) và quinaprilat (dưới)

3.5. Xây dựng và thẩm định quy trình xác định độ tinh khiết bằng HPLC-PDA

3.5.1. Tính phù hợp hệ thống

Tính phù hợp hệ thống được khảo sát bằng cách tiến hành sắc ký 6 lần dung dịch mẫu thử có nồng độ 200 µg/mL (tạp A) và 250 µg/mL (tạp B). Kết quả khảo sát được ghi nhận ở Bảng 3.

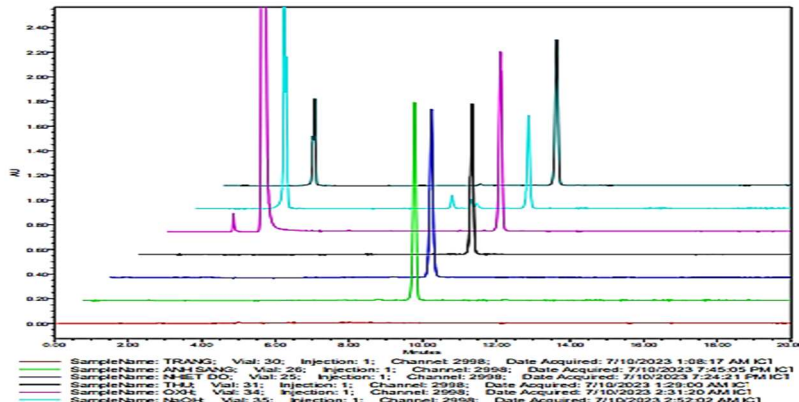
Bảng 3. Kết quả khảo sát tính phù hợp hệ thống (n=6)

| | Thông số | t _R (phút) | S (µV.s) | A _s | N |
|---------------|------------|-----------------------|----------|----------------|-------|
| Quinapril DKP | Trung bình | 9,04 | 5715967 | 0,94 | 62873 |
| | RSD (%) | 0,18 | 0,27 | 0,87 | 1,11 |
| Quinaprilat | Trung bình | 13,232 | 9044532 | 1,08 | 10197 |
| | RSD (%) | 0,17 | 0,21 | 0,75 | 1,08 |

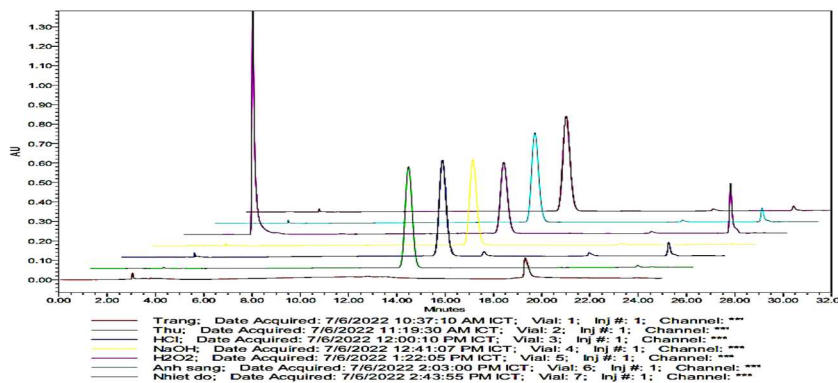
Giá trị RSD của thời gian lưu (t_R), diện tích pic (S), hệ số kéo đuôi (A_s) và số đĩa lý thuyết biểu kiến (N) đều nhỏ hơn 2%, hệ số kéo đuôi của pic tạp nằm trong khoảng 0,8 - 1,5. Như vậy, quy trình xác định độ tinh khiết của tạp A và B đều đạt tính phù hợp hệ thống.

3.5.2. Tính đặc hiệu

Kết quả khảo sát tính đặc hiệu (Hình 3) cho thấy sắc ký đồ mẫu trắng không xuất hiện pic có thời gian lưu tương đương với thời gian lưu của pic tạp trong sắc ký đồ mẫu thử. Sắc ký đồ các mẫu phân hủy có xuất hiện các pic phân hủy, các pic này tách hoàn toàn với pic tạp. Pic tạp trong sắc ký đồ của các mẫu phân hủy đều tinh khiết theo phổ UV-Vis. Như vậy, quy trình xác định độ tinh khiết đạt yêu cầu về độ đặc hiệu.



Tạp A



Tạp B

Hình 3. Sắc ký đồ khảo sát độ đặc hiệu của tạp A và tạp B

3.5.3. Tính tuyến tính và miền giá trị

Tính tuyến tính của tạp A và tạp B được khảo sát lần lượt trong khoảng nồng độ 50-200 và 150-600 µg/mL. Phương trình hồi quy tuyến tính của nồng độ theo diện tích pic của từng tạp lần lượt là $y = 33373x + 121173$ (tạp A, $R^2 = 0,9996$) và $y = 40345x$ (tạp B, $R^2 = 0,9996$).

3.5.4. Độ lặp lại và chính xác trung gian

Chuẩn bị 6 dung dịch mẫu thử tạp A (200 µg/mL) và tạp B (250 µg/mL). Tiến hành sắc ký lần lượt từng mẫu thử để xác định độ lặp lại. Với độ chính xác trung gian, thực hiện trong 2 ngày khác nhau trên 2 hệ thống HPLC khác nhau bởi 2 kiểm nghiệm viên khác nhau. Quy trình đạt độ lặp lại và chính xác trung gian với kết quả được ghi nhận ở Bảng 4.

Bảng 4. Kết quả khảo sát độ lặp lại và chính xác trung gian

| | Độ tinh khiết sắc ký | Độ lặp lại (n = 6) | Độ chính xác trung gian (n = 12) |
|-------|----------------------|--------------------|----------------------------------|
| Tạp A | Trung bình | 100 | 100 |
| | RSD (%) | 0 | 0 |
| Tạp B | Trung bình | 99,13 | 99,04 |
| | RSD (%) | 0,22 | 0,26 |

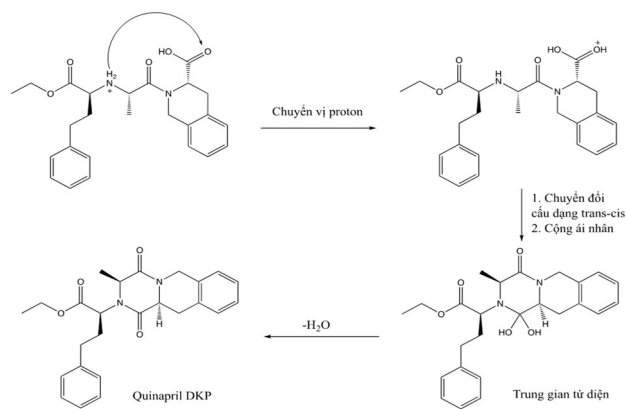
4. BÀN LUẬN

4.1. Tổng hợp và xác định cấu trúc tạp A

Szardenings và cộng sự đã tổng hợp thành công các dẫn xuất DKP từ các amino acid sử dụng hỗn hợp EtOH - toluen trong môi trường acid (CH₃COOH 1%) [9]. Đồng thời, tạp A được ghi nhận là sản phẩm phân hủy của quinapril trong HCl ở 80 °C [10]. Vì vậy, nhóm nghiên cứu đã tổng hợp tạp A từ quinapril trong hỗn hợp EtOH - AcOH (99:1) ở nhiệt độ

cao. Bản chất phản ứng là quá trình đóng vòng nội phân tử, bao gồm 3 giai đoạn: (1) chuyển proton và thay đổi cấu dạng *trans-cis*; (2) hình thành trung gian tứ điện; (3) khử nước hình thành DKP (Hình 4) [11,12].

Do chưa có dữ liệu phổ NMR chuẩn của tạp A, nhóm nghiên cứu đã đo phổ 1D và 2D-NMR để biện giải cấu trúc sản phẩm sau tinh chế. Phổ ¹³C-NMR ghi nhận 23 tín hiệu carbon, tương ứng với 21 carbon bất đối xứng và 2 cặp carbon đối xứng (C17 và C21, C18 và C20). Đồng thời, phổ HSQC ghi nhận hiện tượng một tín hiệu carbon tương tác với hai tín hiệu proton, bao gồm C15 (δ_C 31,7, CH₂), C11 (δ_C 32,6, CH₂), C6 (δ_C 43,0, CH₂).



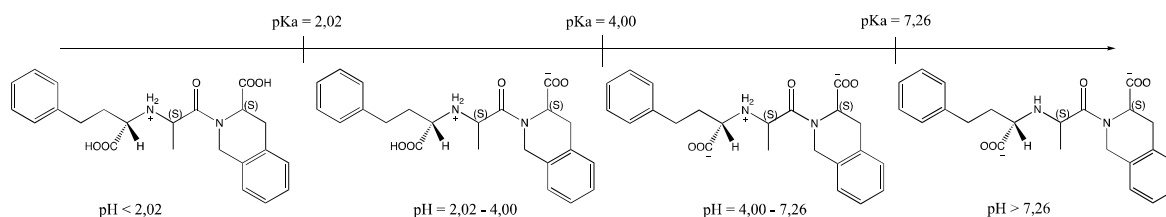
Hình 4. Các giai đoạn của phản ứng đóng vòng nội phân tử quinapril khi pH ≤ 4

Hình 5. Sự chuyển dạng ion-phân tử của quinaprilat theo pH

Kết quả phổ ¹H-NMR ghi nhận hiện tượng một số tín hiệu proton tồn tại ở dạng cặp tín hiệu đôi theo tỉ lệ số tích phân 3:1, như H27 với hai tín hiệu doublet ở 1,61

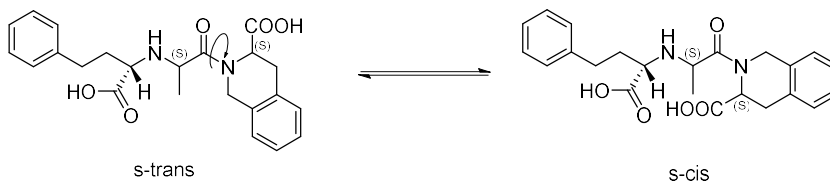
4.2. Tổng hợp và xác định cấu trúc tạp B

Tạp B được tổng hợp từ quinapril hydrochlorid bằng phản ứng thủy phân liên kết ester trong môi trường kiềm. Theo thực nghiệm, khoảng pH 3,5 - 4 được xác định là pH tối ưu để kết tủa sản phẩm tổng hợp. Kết quả này được giải thích do quinaprilat có cấu trúc tương tự với một dipeptid, tồn tại ở dạng ion lưỡng cực ở pH đẳng điện và kết tủa (Hình 5) [13].



và 1,67 ppm. Sự phân tín hiệu này cũng được ghi nhận trong phổ chuẩn của quinapril hydrochlorid [8,14] và nhiều ACEI khác, bao gồm captopril [8], enalapril

maleat [8], lisinopril [8,15], perindopril [16]. Hiện tượng xuất hiện do cân bằng động giữa hai cấu dạng *s-cis* và *s-trans* của quinapril (Hình 6). Quá trình này xảy ra chậm so với thang đo thời gian của NMR ở nhiệt độ phòng do rào cản năng lượng được tạo ra bởi liên



Hình 6. Sự chuyển dạng *s-trans* và *s-cis* của quinaprilat trong dung dịch [14]

5. KẾT LUẬN

Tạp A và B (theo USP 2024) của quinapril hydroclorid đã được tổng hợp và tinh chế thành công với hiệu suất toàn quá trình trên 75% và độ tinh khiết trên 99%, có thể thiết lập làm chất đối chiếu trong kiểm nghiệm chỉ tiêu tạp chất liên quan của quinapril hydroclorid.

Nguồn tài trợ

Nghiên cứu này không nhận nguồn tài trợ nào

Xung đột lợi ích

Không có xung đột lợi ích nào liên quan đến nghiên cứu này.

ORCID

Huy Quoc Tran

<https://orcid.org/0009-0001-7542-3249>

Huy Nguyen Gia Le

<https://orcid.org/0009-0005-2853-7824>

Dat Van Truong

<https://orcid.org/0009-0003-9244-2227>

Diep Thi Thanh Ngo

<https://orcid.org/0000-0002-0348-3912>

Đóng góp của các tác giả

Ý tưởng nghiên cứu: Ngô Thị Thanh Diệp.

Đề cương và phương pháp nghiên cứu: Ngô Thị Thanh Diệp, Trần Quốc Huy, Lê Nguyễn Gia Huy.

Thu thập dữ liệu: Trần Quốc Huy, Lê Nguyễn Gia Huy.

kết amid -NR-CO-[14,17,18]. Đồng thời, khi đối chiếu với phổ ¹H-NMR của quinapril hydroclorid, phổ của sản phẩm tổng hợp không ghi nhận sự tồn tại của tín hiệu H30 và H31 của nhóm ethyl, xác nhận phản ứng thủy phân ester xảy ra hoàn toàn.

Giám sát nghiên cứu: Ngô Thị Thanh Diệp.

Nhập dữ liệu: Trần Quốc Huy, Lê Nguyễn Gia Huy, Trương Văn Đạt.

Quản lý dữ liệu: Ngô Thị Thanh Diệp, Trần Quốc Huy, Lê Nguyễn Gia Huy, Trương Văn Đạt.

Phân tích dữ liệu: Ngô Thị Thanh Diệp, Trần Quốc Huy

Viết bản thảo đầu tiên: Trần Quốc Huy, Ngô Thị Thanh Diệp.

Góp ý bản thảo và đồng ý cho đăng bài: Ngô Thị Thanh Diệp, Trần Quốc Huy, Lê Nguyễn Gia Huy, Trương Văn Đạt.

Cung cấp dữ liệu và thông tin nghiên cứu

Tác giả liên hệ sẽ cung cấp dữ liệu nếu có yêu cầu từ Ban biên tập.

Chấp thuận của Hội đồng Đạo đức

Nghiên cứu này miễn trừ Hội đồng Đạo đức.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Convention USP United States Pharmacopeia. Monographs: quinapril hydrochloride, quinapril tablets. 2024 [cited 2025 Feb 4] https://doi.usp.org/USPNF/USPNF_M72480_05_01.html; https://doi.usp.org/USPNF/USPNF_M72488_02_01.html.
2. British Pharmacopoeia Commission. British pharmacopoeia monograph: quinapril hydrochloride, quinapril tablets. 2024 [cited 2025 Feb 4]. <https://www.pharmacopoeia.com>.

3. ICH. Harmonized tripartite guideline. Validation of analytical procedures: test and methodology. 2005 [cited 2025 Feb 4]. <https://database.ich.org/sites/default/files/Q2%28R1%29%20Guideline.pdf>.
4. LGC Standards. Certificate of analysis: ethyl (2S)-2-[(3S,11aS)-3-methyl-1,4-dioxo-1,3,4,6,11,11a-hexahydro-2H-pyrazino[1,2-b]isoquinolin-2-yl]-4-phenylbutanoate. [cited 2025 Feb 4]. https://assets.lgcstandards.com/sys-master%2Fpdfs%2Fh62%2Fh6e%2F10422966976542%2FCOA_MM0628.05-0025_ST-WB-CERT-3774639-1-1-1.PDF?_ga=2.40153378.1298312916.1639750362-1399867224.1632240261.
5. Klutchko S, Blankley CJ, Fleming RW, Hinkley JM, Werner AE, Nordin I, et al. Synthesis of novel angiotensin converting enzyme inhibitor quinapril and related compounds. A divergence of structure-activity relationships for non-sulfhydryl and sulfhydryl types. *J Med Chem*. 1986;29(10):1953-61.
6. SciFinder. Chemical abstracts service, n.d. Quinaprilat. [cited 2025 Apr 19]. CAS RN: 82768-85-2.
7. SciFinder. Chemical Abstracts Service, n.d. 2H-Pyrazino[1,2-b]isoquinoline-2-acetic acid, 1,3,4,6,11,11a-hexahydro-3-methyl-1,4-dioxo- α -(2-phenylethyl)-, ethyl ester, (α S,3S,11aS)- (9CI, ACI). [cited 2025 19 Apr]. CAS RN: 103733-49-9.
8. Shen S, Yang X, Shi Y. Application of quantitative NMR for purity determination of standard ACE inhibitors. *Journal of pharmaceutical biomedical analysis*. 2015;114:190-9.
9. Szardenings AK, Burkoth TS, Lu HH, Tien DW, Campbell DA. A simple procedure for the solid phase synthesis of diketopiperazine and diketomorpholine derivatives. *Tetrahedron*. 1997;53(19):6573-93.
10. Dendeni M, Cimetièrè N, Huguet S, Amrane A, Hamida NBJCPA. Forced degradation study of quinapril by UPLC-DAD and UPLC/ MS/MS: identification of by-products and development of degradation kinetics. *Current Pharmaceutical Analysis*. 2013;9(3):278-90.
11. Hailu SA, Bogner RH. Effect of the pH grade of silicates on chemical stability of cocrystal amorphous quinapril hydrochloride and its stabilization using pH-modifiers. *J Pharm Sci*. 2009;98(9):3358-72.
12. Gu L, Strickley RG. Diketopiperazine formation, hydrolysis, and epimerization of the new dipeptide angiotensin-converting enzyme inhibitor RS-10085. *Pharm Res*. 1987;4(5):392-7.
13. Remko M. Acidity, lipophilicity, solubility, absorption, and polar surface area of some ACE inhibitors. *Chem Zvesti*. 2007;61:133-41.
14. Dendeni M, Cimetièrè N, Soutrel I, Guegan JP, Hamida NB, Amrane A. Investigation of the rotational isomerism of quinapril and quinaprilat by UPLC-DAD and Elucidation of the conformational equilibrium by NMR. *Australian Journal of Chemistry*. 2014;68(5):783-92.
15. Bouabdallah S, Ben Dhia MT, Driss MR. Study of a conformational equilibrium of lisinopril by HPLC, NMR, and DFT. *Int J Anal Chem*. 2014;2014:494719.
16. Bouabdallah S, Trabelsi H, Dhia MTB, Hamida NB. Kinetic study on the isomerization of perindopril by HPLC. *Chromatographia*. 2012;75(21):1247-55.
17. Bouabdallah S, Trabelsi H, Ben Dhia T, Sabbah S, Bouzouita K, Khaddar R. RP-HPLC and NMR study of cis-trans isomerization of enalaprilat. *J Pharm Biomed*. 2003;31(4):731-41.
18. Owens PK, Svensson LA, Vessman J. Direct separation of captopril diastereoisomers including their rotational isomers by RP-LC using a teicoplanin column. *J Pharm Biomed*. 2001;25(3):453-64.