

去甲基阿奇霉素羟基选择性保护的研究

赵伯龙,张萍*

(宁夏泰瑞制药股份有限公司, 银川 750101)

[收稿日期] 2015-08-22 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2015) 10-0046-06 [中图分类号] S859.79

[摘 要] 为解决去甲基阿奇霉素活性羟基的反应选择性问题,采用丙酮与邻苯二甲酸酐对去甲基阿奇霉素进行两次邻位保护的方法,得到4"-羟基具有反应活性的保护去甲基阿奇霉素,反应摩尔收率87.9%。本研究产物可直接用于泰拉霉素的合成,实现了对去甲基阿奇霉素的选择性保护。

[关键词] 去甲基阿奇霉素;丙酮;邻苯二甲酸酐;泰拉霉素 A

Research of Selective Protection for Hydroxyl of Azithromycin Demethylate

ZHAO Bo – Long, ZHANG Ping^{*}

(Ningxia Tairui Pharmactlal Co. , Ltd, Yinchuan 750101, China)

Abstract: In order to resolve the problem that the reaction selectivity of azithromycin demethylate's hydroxyl, acetone and phthalic anhydride were used to double protection the adjacent hydroxyl of azithromycin demethylate, and leave only the 4" – OH had reactivity. The reaction yield was 87.9% and the product could be directly used for the synthesis of tulathromycin. This research achieved azithromycin demethylate's selective protection of hydroxyl.

Key words: azithromycin demethylate; acetone; o – phthalic anhydride; tulathromycin

泰拉菌素^[1] (结构见图 1) 是第四代红霉素类抗生素, 主要用于治疗放线杆菌、支原体、巴氏杆菌、副嗜血杆菌引起的猪、牛的呼吸系统疾病^[2]。去甲基阿奇霉素 (结构见图 2) 是泰拉菌素的关键合成前体, 通过对去甲基阿奇霉素的 4" - OH 进行氧化并经过一系列修饰, 合成泰拉菌素。

4"-OH 是去甲基阿奇霉素支链糖上具备反应活性的三个仲羟基之一,有文献报道采用 Chz 卞酯保护^[1] 或者乙酰基^[3] 对另外两个活性仲羟基 12-OH、2'-OH 进行保护,但上述方法中卞酯基与乙酰基均为无选择性的单羟基保护,制得的产物需进行层析分离,收率较低。

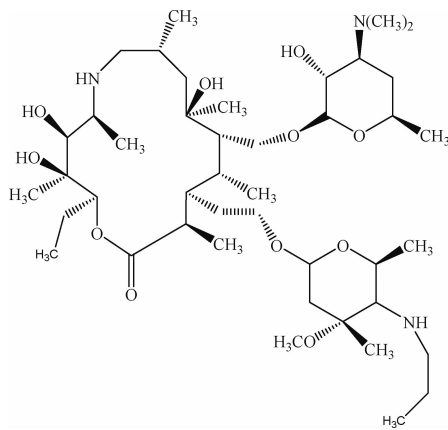


图 1 泰拉菌素化学结构图

作者简介: 赵伯龙, 硕士, 化学工程师, 从事抗生素提取与合成研究。

通讯作者: 张 萍。E-mail: shiyanpeng@ tairuiworld. com

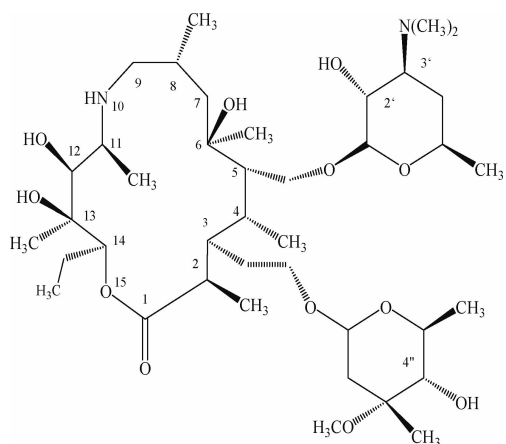


图2 去甲基阿奇霉素A化学结构图

本研究设计了一套利用活性羟基邻位基团对12-OH、2'-OH进行选择性的保护的方法,得到的双保护去甲基阿奇霉素经过 corey-kim 氧化^[4]后脱保护,可以制得较纯净的4"-羰基去甲基阿奇霉素。

1 材料与设备

1.1 主要试剂 91% 去甲基阿奇霉素A, 20150201, 宁夏泰瑞; 丙酮, 20141202, 天津凯通, 分析纯; 对甲苯磺酸, 20150109, 上海国药, 分析纯; 正辛烷, 20141108, 天津凯通, 分析纯; 邻苯二甲酸酐, 20150115, 上海国药, 分析纯; 46% 氢溴酸, 20140801, 上海国药, 分析纯; 乙醇/乙醇钠溶液, 20150104, 上海紫一; 氢氧化锂, 20140903, 上海国药, 分析纯; 水合肼, 20150102, 湖南株洲化工, 96%; 二氯乙烷, 20150114, 天津凯通, 分析纯; N-氯代琥珀酰亚胺, 20141205, 上海国药, 分析纯; 二氯亚砷, 20150107, 上海国药, 分析纯。

1.2 主要试验设备仪器 集热式恒温磁力搅拌器, DF101-S, 天津华鑫仪器有限公司; 多功能桨式

搅拌器, HJ-5, 江苏新坛金城国盛试验仪器厂; 电子称, TE-621-L, 赛多利斯科学仪器; 旋转蒸发器, Hei-VAP/g6, 德国海道夫; 暗箱式自动紫外分析仪, ZF-2C, 上海安亭仪器厂; 旋片式真空泵, T215, 美国圣特斯; 精密增力电动搅拌器JJ1.100W, 浦东光学物理仪器有限公司; 紫外可见分光光度计, I8, 济南海能仪器; LC 高效液相色谱仪 LC-20A, 日本岛津株式会社; 高分辨飞行时间质谱, micrOTOF III, Bruker; 核磁共振波谱仪, AVANCE III HD, Bruker。

2 方法与结果

2.1 实验方法 本研究采用两步保护法, 先利用12-OH与13-OH相邻的特性, 使用丙叉法^[5]进行选择性的保护, 再利用2'-OH与3'位的叔氨基相邻, 使用邻苯二甲酸酐进行组合保护^[6], 形成大环酰胺内酯, 达到对12-OH与2'-OH两个活性羟基的保护。在4"-OH成功氧化后, 通过温和的方法脱去保护基。

2.1.1 12-OH的保护 取7.63 g (0.01 mol) 去甲基阿奇霉素, 溶于50 mL 丙酮(以溶剂形式过量存在)中, 在氮气保护下升温至40℃, 加入6.18 g (0.036 mol) 对甲苯磺酸, 回流搅拌4 h, 去除氮气保护, 升温至45℃开始减压蒸馏, 蒸馏至溶液粘稠时补加30 mL 水, 继续减压蒸馏。待无馏分蒸出时, 降温至常温, 使用4%的氢氧化钾溶液将反应体系pH调整至7.5~8.5, 加入30 mL 二氯乙烷萃取30 min, 分去水相, 将有机相蒸干, 得到12,13-丙叉保护去甲基阿奇霉素, 反应过程如图3所示。平均摩尔收率为96.4%。

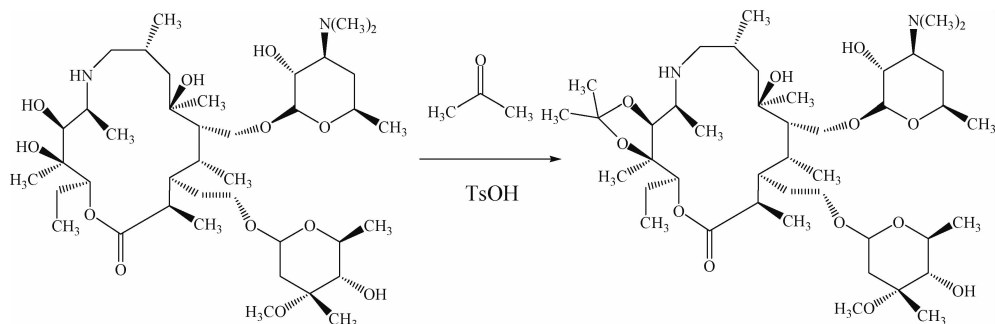


图3 12,13-丙叉保护去甲基阿奇霉素的合成

2.1.2 2'-OH 的保护 将蒸干的 12,13-丙叉保护去甲基阿奇霉素溶于 40 mL 正辛烷中,常温搅拌,确保体系绝对无水,通入干燥氮气保护。然后加入 1.77 (0.012 mol) 对苯二甲酸酐,反应 180 min。此时 4"-OH 也被邻苯二甲酸酐保护,但形成的保护单酯在碱性环境下并不稳定。

将体系升温至 60 ℃,10 min 之内缓慢滴加

1 mL 乙醇/乙醇钠,破坏 4"-OH 形成的单酯^[7],滴加完成后反应 3 h。

降温至室温并撤去氮气保护,加入 30 mL 水,萃取 10 min 后分去水相,将有机相蒸干,得到双保护去甲基阿奇霉素,反应过程如图 4 所示。平均摩尔收率为 91.2%,两步保护总摩尔收率 87.9%。

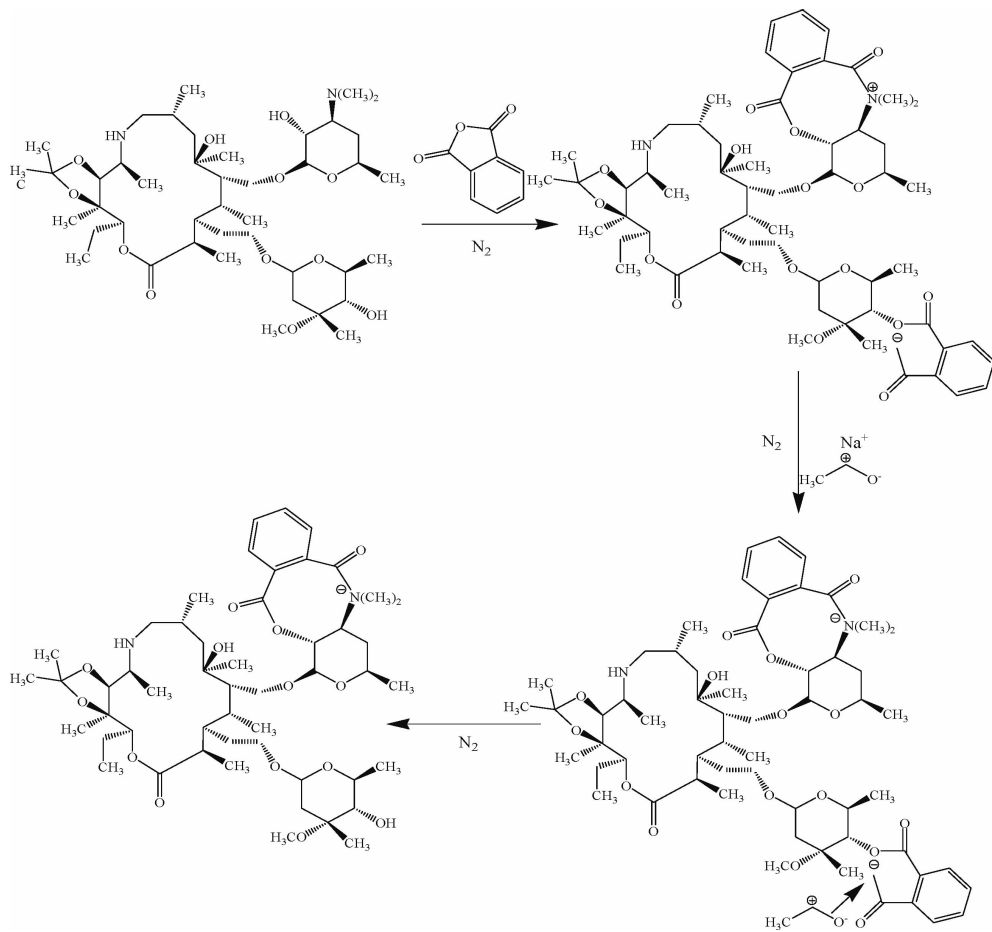


图 4 双保护去甲基阿奇霉素的合成

2.1.3 Corey-kim 氧化^[4] 将蒸干的双保护去甲基阿奇霉素溶于 30 mL 二氯乙烷,降温至 -30 ℃,加入 2.27 g 氯代琥珀酰亚胺(0.017 mol),保温反应 1 h,缓慢滴加 2.40 g 氯化亚砷,滴加完毕后升温至 -25 ℃,保温反应 6 h,加入 30 mL 水,升温至常温,加入 20% 氢溴酸调整 pH 至 3.0~4.0,萃取,分去有机相。

将水相使用 20% 氢氧化钾调整 pH 至 8.0~

9.0,加入 30 mL 二氯甲烷,分去水相,将有机相蒸干,得到 4"-羰基双保护去甲基阿奇霉素,反应过程如图 5 所示。氧化反应平均摩尔收率 86.2%。

2.1.4 脱保护 将合成得到的 4"-羰基双保护去甲基阿奇霉素溶于 30 mL 二氯甲烷,升温至 40 ℃,缓慢滴加 1.60 g (0.01 mol) 20% 水合肼^[8],保温反应 8 h,得到 4"-羰基去甲基阿奇霉素,反应过程如图 6 所示。脱保护反应平均摩尔收率 97.0%。

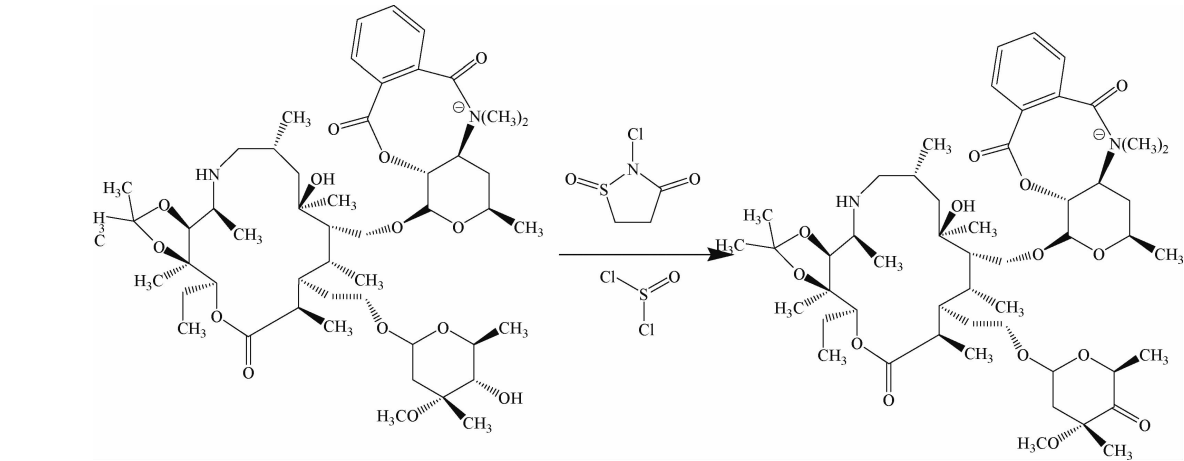


图 5 4''-羰基双保护去甲基阿奇霉素的合成

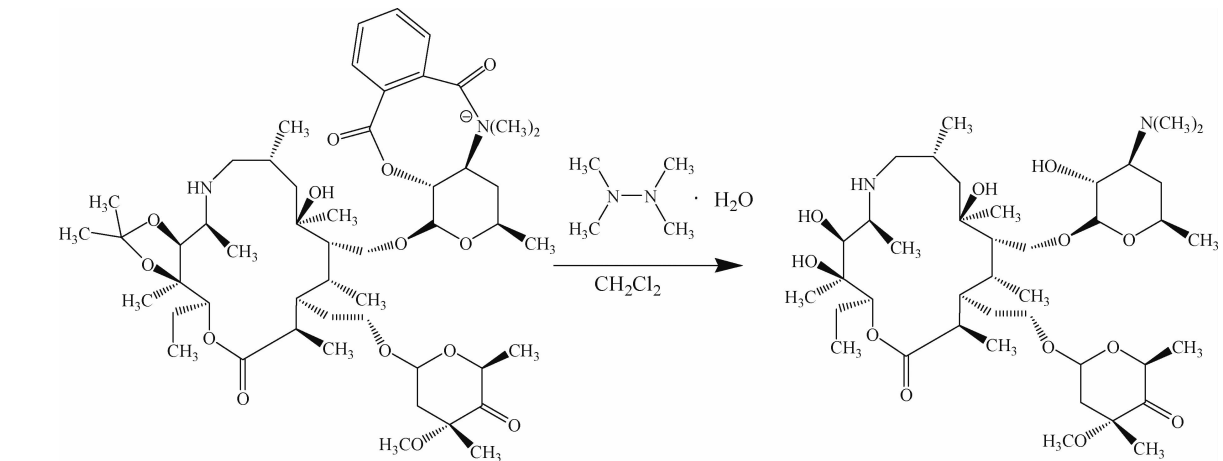


图 6 4''-羰基去甲基阿奇霉素的合成

2.2 结果

2.2.1 鉴别 为确认实验结果,关键产物物双保护去甲基阿奇霉素(图 4)需要进行结构确认。本研究使用 Bruker 的液相色谱-质谱联用检测设备,确认产物分子量符合目标物符合目标物质 C₅₁H₈₃N₂O₁₄ 的原子量占比与摩尔质量(表 1)。

表 1 液质联用分子量分布数据

项目	数值	分布/%	原子占比/%
标准质量	947.58	-	
mol. Wt	948.21	-	C,64.40
m/e 1	947.58	100.0	H,8.82
m/e 2	948.59	51.6	N,2.95
m/e 3	949.59	18.6	O,23.62
m/e 4	950.58	3.1	

之后将产物进行核磁 C¹³-NMR 检测,确认碳链结构与目标物相符。根据上述结果,实验所得产物确为双保护去甲基阿奇霉素,以下为 C¹³-NMR 结果:

¹³C NMR (100 MHz, CH₂Cl₂) δ 177.11 (s), 170.54 (s), 136.19 (s), 133.78 (s), 129.46 (d, J = 9.4 Hz), 128.49 (s), 127.59 (s), 111.47 (s), 97.28 (d, J = 52.1 Hz), 85.64 (s), 81.44 (s), 79.15 (s), 76.76 (s), 75.55 (t, J = 11.3 Hz), 70.45 (d, J = 8.2 Hz), 67.99 (s), 67.00 (s), 56.07 (s), 54.12 (s), 52.61 (s), 49.46 (s), 47.39 (d, J = 56.3 Hz), 43.80 (s), 37.96 (d, J = 43.7 Hz), 36.57 (s), 32.16 (s), 28.40 (s), 27.15 (s), 26.27 (s), 24.19 (s), 22.39 (s), 19.27 (s), 18.74 - 17.47 (m), 17.05 (s), 14.70 (s), 13.79 (s), 10.74 (s), 6.31 (s).

2.2.2 色谱结果与收率 为确认产物收率,我们将两种保护产物即 12,13-丙叉保护去甲基阿奇霉素与双保护去甲基阿奇霉素进行 HPLC 法进行含

量确认(图 7、图 8),检测采用 210 nm 波长,乙腈:甲醇:30% 磷酸氢二钾 = 33:35:32 的比例配置流动相,结果经归一法处理^[9],得到以下结果。

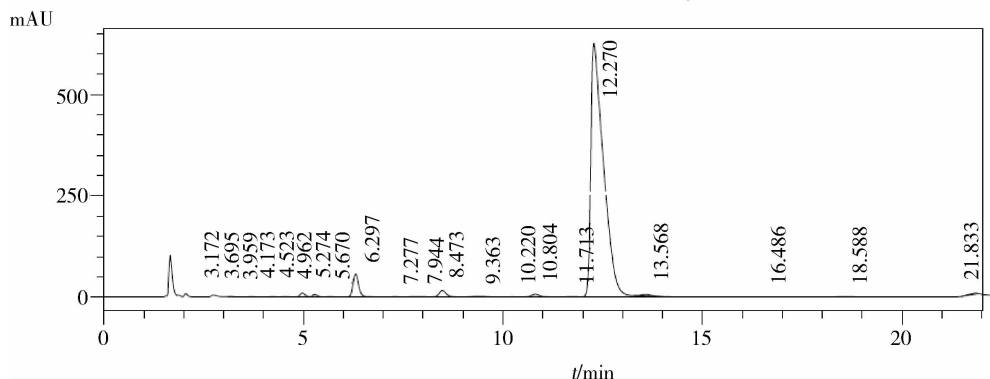


图 7 12,13-丙叉保护去甲基阿奇霉素液相色谱图

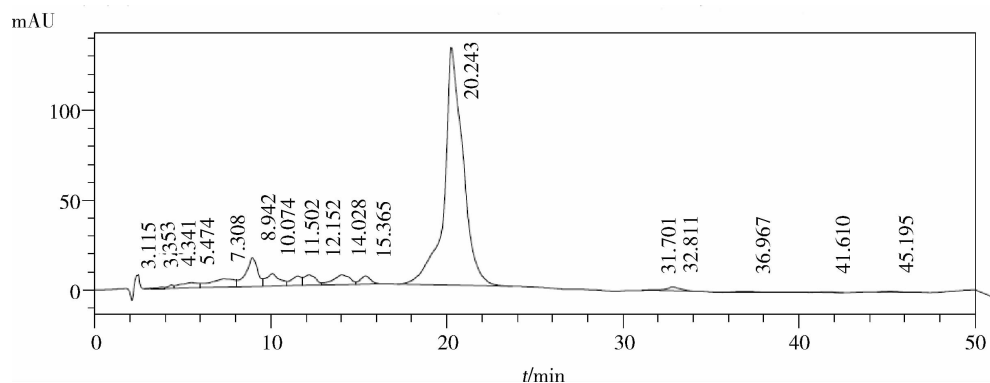


图 8 双保护去甲基阿奇霉素液相色谱图

从图 7、图 8 可以看出,采用同样波长与检测方法,12,13-丙叉保护去甲基阿奇霉素与双保护去甲基阿奇霉素的出峰时间相差近 8 min,是由于游离羟基大幅度减少造成的产物极性下降,也侧面验证的保护是成功的。而在图 8 中,12.152 min 处 12,13-丙叉保护去甲基阿奇霉素几乎已经完全反应。

将液相色谱得到的含量(峰面积)与产物质量进行计算,从去甲基阿奇霉素开始到合成双保护去甲基阿奇霉素,产物平均含量为 91.1%,平均摩尔收率为 87.9%。

2.2.3 后续合成结果 将 Corey-kim 氧化后得到的 4"-羰基去甲基阿奇霉素继续向下合成^[1,3],经过环氧化、氨化两步反应后,得到产物泰拉霉素,经与对照品进行比对检验,产品含量达到 92.4%,总摩尔收率 71.5%。

3 讨论与小结

去甲基阿奇霉素共有 5 个羟基,其中 6-OH、13-OH 为叔羟基,反应活性较差,而 12-OH、2'-OH、4"-OH 均为仲羟基,反应活性接近。尤其是 2'-OH、4"-OH 均为侧链糖上的羟基,活性较强。

在其他文献报道的泰拉霉素合成方法中^[1-3],研究重点通常是红霉素 A 肟的贝克曼重排反应,而对去甲基阿奇霉素及其保护描述较为简略,仅描述了使用乙酰基、Cbz 卞酯基对活性羟基进行保护的实验过程,而未详细讨论羟基的选择性保护问题。在实际研究中,笔者发现采用上述保护方法对去甲基阿奇霉素进行保护,会得到多种副产物,即使调整反应条件也无法使反应针对性的保护 12-OH 与 2'-OH,仍需经过层析分离才能得到目标产

物。因此,本研究重点关注了去甲基阿奇霉素羟基的选择性保护问题,在进行羟基保护过程中,避免了因竞争反应造成的副反应程度高、目标产物得率低的问题。

本研究利用了羟基邻位的活性集团对目标羟基进行了选择性保护,对 12-OH 采用邻羟基丙叉保护,对 2'-OH 利用了邻叔氨基进行了邻苯二甲酸酐成大环酰胺内酯的保护。其中 12-OH 的间位 10-N 其实也存在一个仲氨基,其结构、位置均与 2'-OH 与邻位二甲胺基的位置相似。在采用丙叉保护前,也考虑过采用邻苯二甲酸酐一次性合成两个大环酰胺内酯,进行一次性保护。但由于 10-N 是仲氨基,与邻苯二甲酸酐反应时,易与仲氨基接形成含有亚胺结构的内酯杂环^[10],难以与间位羟基进行反应,而且改变了大环内脂的相关结构。

基于上述原因,本研究利用 12,13 位邻羟基,进行丙叉保护,形成的叉酮具有较强的位阻效应,同时阻止了第二步保护时邻苯二甲酸酐对 10-N 的酰胺化,达到了同时保护羟基与氨基的目的。

丙叉保护在有水存在的条件下,碱性回流可以脱除,而大环酰胺内酯则需要肼的特殊作用可以进行水解。因此,采用 20% 的水合肼进行回流反应,可以一步脱除两种保护集团,得到完整的 4"-羰基去甲基阿奇霉素。因此,本研究采用的双丙叉基、大环酰胺内酯双保护能够有效对去甲基阿奇霉

素的活性羟基进行选择性保护,同时脱保护反应温和,不会对分子结构与反应造成影响。

致谢:对苏州大学陆新华博士为本研究提供重要合成理论支持表示感谢。

参考文献:

- [1] 夏 定. 泰拉菌素合成工艺的改进与不对称贝克曼重排反应的研究[D]. 武汉理工大学, 2012.
- [2] 夏 定, 杨乐武, 杨 风, 等. 泰拉菌素的合成工艺改进[J]. 精细化工, 2012, 29(8): 796-799.
- [3] 郭 强. 泰拉霉素合成工艺研究[D]. 山东大学, 2013.
- [4] 刘良先, 蔡 崑. Corey 氧化剂及其在选择性氧化中的应用[J]. 化学通报, 1992, 55(4): 16-25.
- [5] 胡丹丹. 单糖丙酮叉保护中间体的合成与应用[D]. 南京理工大学, 2011.
- [6] 封瑞江, 赵崇峰. 邻苯二甲酸酐和二乙醇胺合成超支化聚合物的研究[J]. 合成材料老化与应用, 2008(3): 3-7.
- [7] Taibi B Hadda, Teffaha Fergoug, Smail Warad. POM theoretical calculations and experimental verification of the antibacterial potential of 5-hydroxy-4-(substituted-amino)-2(5H)-furanones[J]. Res Chem Intermed, 2013, 80(11): 44-49.
- [8] 徐宝峰, 彭安顺. 水合肼还原法合成 4-氨基-1-甲基-3-正丙基吡唑-5-甲酰胺[J]. 化学工程师, 2002, 90(6): 1-2.
- [9] 刘晨晨, 查高峰, 申永存. 高效液相色谱法测定泰拉菌素含量的方法研究[J]. 现代化工, 2014, 34(5): 34-37.
- [10] 韦 伟, 朱冰春, 邢家华, 等. 邻苯二甲酰胺类化合物的合成及杀虫活性[J]. 农药, 2011, 50(4): 249-252.

(编辑:李文平)