

唑啉头孢菌素中间体精制方法的研究

顾觉奋 崔惠卿 沈爱光 周慧殊 段廷汉

Studies on Purification of Intermediates of Cefazolin

Gu Juefen CuiHuiqing Shen Aiguang Zhou Huizhu Duan Tinghan

提 要

本文采用二环己胺成盐,大网格树脂(Amberlite XAD-8,JKS-30)吸附以及用二乙氨基乙基葡聚糖凝胶A-25交换吸附等方法,对唑啉头孢菌素中间体——保护物,一缩物及裂解物——进行精制研究。

为了在唑啉头孢菌素的生产中控制每一步中间体的产量和质量,我们将其三个中间体——保护物、一缩物及裂解物——分别进行精制,并将所得纯品提供分析应用。其中,中间体一缩物,我们采用了新的合成路线^[1],国内外文献未曾见报导;其他两个中间体,虽有紫外吸收光谱的报导^[2-3],但未见其精制方法。因此,我们探索了三个中间体的精制方法。将三个中间体分别参照有关文献,以二环己胺成盐^[4-5]、大网格树脂(Amberlite XAD-8^[6]及JKS-30)及二乙氨基乙基葡聚糖凝胶A-25(DEAE-Dextran Gel A-25)^[7]三种方法进行精制。所得纯品经熔点、元素分析及紫外吸收光谱的分析,都得到满意的结果。

一、实 验 材 料

1. Amberlite XAD-8, 德国Fluka AC化学工厂。
2. JKS-30(似Amberlite XAD-2), 华北制药厂。
3. 二乙氨基乙基葡聚糖凝胶A-25, 粒度100~200目, 交换当量 3.5 ± 0.5 毫克当量/克, 上海长征药厂。
4. 各种缓冲洗脱液的配制:
 - (1) 缓冲液A: 0.1M醋酸钠, 0.1M冰醋酸, 0.2M氯化钠加蒸馏水至1000ml。
 - (2) 0.2M 醋酸钠缓冲液: 无水醋酸钠16.4克, 冰醋酸 11.4ml, 加蒸馏水至 1000ml 调pH4.5。
 - (3) 0.6M 醋酸钠缓冲液: 无水醋酸钠 49.2 克, 冰醋酸 39.3ml, 加蒸馏水至 1000ml 调pH4.5。
5. 所用各种中间体的粗品系由中型放大试制中得到。

二、实验部分

(一) N-对硝基苯甲酰头孢菌素 C (简称保护物) 的精制^[2-4]。

取保护物游离酸粗品 1 克, 溶于丙酮 8ml 中, 在振摇下滴加二环己胺 0.65 克, 立即析出橙黄色沉淀, 过滤, 先后以丙酮、乙醇和乙醚混合液及乙醚洗涤, 真空干燥, 得淡黄色粉末, 以乙醇重结晶, 得无色保护物游离酸双二环己胺盐结晶性粉末 0.8 克, 混悬于蒸馏水中, 加入醋酸乙酯, 在振摇下以 6 N 盐酸酸化至 pH2, 分取醋酸乙酯层, 将其以蒸馏水充分洗涤, 活性炭脱色, 无水硫酸镁干燥, 减压浓缩至小体积, 滴加无水乙醚至微显浑浊, 在冰箱放置过夜, 滤取结晶, 再重复一次重结晶, 真空干燥 (P_2O_5), 得白色结晶性粉末, 熔点 110°C 软化, $137\sim 138^{\circ}\text{C}$ 分解。

分析: $C_{23}H_{24}N_4O_{11}S \cdot H_2O$

计算值, % C 47.40, H 4.47

实验值, % C 47.65, H 4.42

C 48.14, H 4.69

紫外吸收光谱: $\lambda_{\max}=264\text{nm}$ ($E_{1\%}^{1\text{cm}}=306.5$) 在 pH4.5 的醋酸钠缓冲液中, 与文献相符^[2]。

(二) 7-[5-(对硝基苯甲酰基)己二酸酰氨基]-3-[(5-甲基-1,3,4-噻二唑)-硫甲基]-3-头孢-4-羧酸 (简称一缩物) 的精制。

一缩物的粗品精制成一缩物半纯品:

取棕黄色一缩物游离酸粗品 15 克, 混悬于蒸馏水 150ml, 加入碳酸氢钠 4.6 克, 调 pH6.4 左右, 滤液用醋酸乙酯去除杂质后, 加入醋酸乙酯-丙酮 (10:1) 混合液 40ml, 用 6N 盐酸酸化至 pH1.5, 分取有机层, 再以相同混合液提取, 直至水层无色为止, 合并棕红色有机层, 以无水硫酸镁干燥, 活性炭脱色, 滤液减压浓缩至干, 真空干燥, 得深黄色粉末 14 克。

参照 Kurita 等的报导^[5], 将深黄色粉末 14 克溶解于丙酮 750ml, 加活性炭过滤, 清液滴加二环己胺 16ml 与丙酮 11ml 稀释液, 立即析出大量沉淀, 过滤, 丙酮洗涤, 真空干燥 (P_2O_5) 得一缩物游离酸双二环己胺盐 13.2 克, m. p. $173\sim 176^{\circ}\text{C}$ (分解)。

分析: $C_{24}H_{24}N_6O_9S_2 \cdot C_{24}H_{46}N_2$

计算值, % C 57.68, H 7.01

实验值, % C 58.05, H 7.31

C 58.02, H 7.47

将双二环己胺盐 13.2 克细粉加入蒸馏水 650ml, 以碳酸氢钠调 pH6.2 左右, 滤液加入醋酸乙酯-丙酮 (10:1) 混合液 200ml, 在搅拌下以 6N 盐酸酸化至 pH1.5, 再以相同混合液提取, 合并提取液, 以蒸馏水充分洗涤, 直至洗液不显氯离子反应, 有机层加活性炭脱色, 滤液减压浓缩至干, 真空干燥, 得淡黄色一缩物半纯品。

精制方法 A:

按日本专利^[6]称取一缩物半纯品 1.2 克, 溶解于缓冲液 A 10ml 及碳酸氢钠 0.4 克中, 加入用缓冲液 A 处理的 5ml Amberlite XAD-8, 以饱和碳酸氢钠溶液调 pH6.5, 再用 10% 盐酸调 pH4.8, 搅拌 15 分钟后装柱, 流出液滴入 2 克中性氧化铝中, 控制 pH4.4—4.8, 搅

拌15分钟,接着装入另一含2.25克中性氧化铝柱中,先后以缓冲液A20ml、2%醋酸钠溶液洗脱,流速0.6ml/分,分部收集洗脱液,合并以10%盐酸酸化显浑浊的洗脱液,用稀盐酸酸化至pH1.5,立即析出大量微黄色沉淀,放置冰箱过夜,过滤,用蒸馏水洗至不显氯离子反应,得乳白色结晶性粉末,真空干燥(P_2O_5),熔点148~152℃(分解)。

分析: $C_{24}H_{24}N_6O_9S_3$

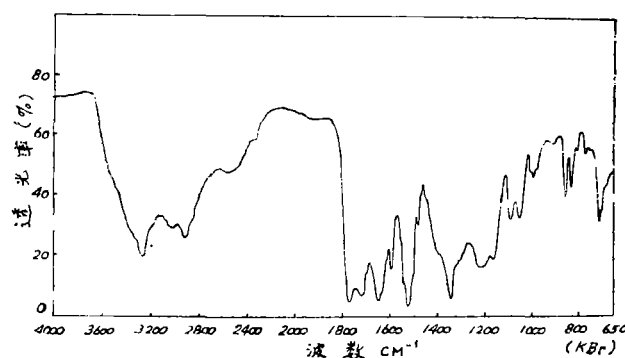
计算值, % C 45.23, H 3.77

实验值, % C 44.64, H 4.03

C 44.59, H 4.06

紫外吸收光谱: $\lambda_{\max}=271\pm 1\text{nm}$ ($E_{1\text{cm}}^{1\%}=362.2$) 在pH4.5醋酸钠缓冲液中。

红外吸收光谱:



精制方法B:

仿 Tortolami 等报导^[7]的柱层析,柱高19厘米,直径2.5厘米,凝胶体积100ml。

将二乙胺基乙基葡聚糖凝胶A-25用蒸馏水经一昼夜溶胀后,倾去上层清液,用0.2M醋酸钠缓冲液静态平衡,倾去上层清液,至半流状态,一次装入柱中,再用0.2M醋酸钠缓冲液平衡(3-4倍量柱体积)。

称取一缩物半纯品200mg,用丙酮:水(8:2)混合液6ml溶解上柱,先后用0.2M、0.6M醋酸钠缓冲液梯度洗脱,流速0.5—0.7ml/分,收集 $\lambda_{\max}270\text{nm}$ 的流份,以醋酸乙酯与丙酮混合液(pH1.5)转提,合并提取液,用蒸馏水充分洗涤,减压浓缩至小体积,即析出大量固体,以无水乙醚洗涤,过滤,得白色结晶,真空干燥(P_2O_5),熔点152~154℃(分解)。

分析: $C_{24}H_{24}N_6O_9S_3$

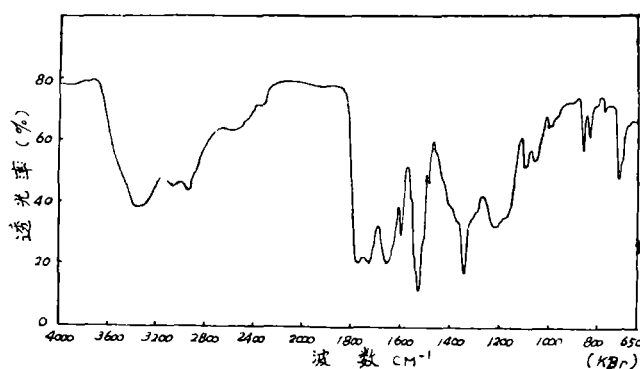
计算值, % C 45.23, H 3.77

实验值, % C 45.06, H 4.00

C 44.72, H 4.08

紫外吸收光谱, $\lambda_{\max}=271\pm 1\text{nm}$ ($E_{1\text{cm}}^{1\%}=361.1$) 在 pH4.5醋酸钠缓冲液中。

红外吸收光谱:



(三) 7-氨基-3-[2-(5-甲基-1,3,4-噻二唑)-硫甲基]-3-头孢-4-羧酸 (简称裂解物) 的精制。

将裂解物粗品 4 克混悬于 0.25M 醋酸钠溶液 40ml 中, 加当量三乙胺 1.6ml 得深棕色溶液, 滤除不溶物杂质, 滤液滴加 3N 盐酸调至 pH8.5, 通过装有先用 0.25M 醋酸钠溶液处理的 40ml JKS-30 树脂柱中, 流速 0.8-1ml/分, 当溶液全部流出后, 将柱中树脂倾出, 再以三乙胺调至 pH8.5, 重装柱, 继续用 0.25M 醋酸钠溶液 50ml 洗脱, 两次洗脱液依次通过 30 克中性氧化铝柱, 收集洗脱液, 用 3N 盐酸酸化至 pH3.5, 立即析出沉淀, 过滤, 以蒸馏水充分洗涤, 真空干燥, 得裂解物半纯品 1.187 克, 再重复精制一次, 得白色裂解物纯品, 真空干燥 (P_2O_5)。熔点 222~224°C (分解)。

分析: $C_{11}H_{12}N_4O_3S_3$

计算值, % C 38.88, H 3.51

实验值, % C 38.21, H 3.64

C 38.33, H 3.77

紫外吸收光谱:

文献值, λ_{\max} 274nm ($E_{1\%}^{1\text{cm}}=325$) 在 pH6.4 磷酸盐缓冲液中^[3]。

实验值, λ_{\max} 274nm ($E_{1\%}^{1\text{cm}}=374$) 在 pH6.4 磷酸盐缓冲液中。

三、讨论与结果

1. 从保护物游离酸和一缩物游离酸的结构上看, 都有两个羧基, 可与两分子二环己胺形成双二环己胺盐。通过元素分析结果, 亦说明两个中间体都是形成双二环己胺盐。

2. 大网格树脂系高分子非离子性树脂, 通过选择性吸附能除去不纯物。当调节适当 pH, 树脂对不纯物质比头孢菌素类化合物的钠盐或三乙胺盐有更大的吸附力, 因而可使吸附力较弱的头孢菌素类化合物以盐的形式在最初被洗脱下来。例如我们拟定了用 Amberlite XAD-8 树脂精制一缩物的方法, 发现 pH 值对其吸附能力有很大的影响, 将树脂加入到一缩物溶液中, 先调至 pH6.5 搅拌后, 再慢慢降至 pH4.5, 这样能提高中间体的质量。

3. 原专利中使用 Amberlite XAD-8 树脂与中性三氧化铝混合柱进行精制。我们考虑到

为了便于回收树脂，改用两柱分别进行吸附洗脱。通过实验说明，没有降低分离和精制的效果。

4. 裂解物的精制中的柱层析，都是用0.25M醋酸钠溶液湿法装柱。

5. 通过精制的三个中间体纯品，经熔点、元素分析、紫外吸收光谱的分析，都得到满意的结果。此外，测定了中间体一缩物的红外吸收光谱。

元素分析、紫外、红外吸收光谱由本院董善士、余品华、于燕玲三同志协助，消光系数由药物分析教研组盛龙生讲师协助。特此致谢。

参 考 文 献

- [1] 南京药学院抗菌素研究室，无锡第三制药厂：唑啉头孢菌素的研制，
南京药学院学报 第一期 第1页， 1979
- [2] Oppici E et al: Ger Offen 2,458,554, 1975 (C A 83:20,4808, 1975)
- [3] 日本公开特许公报：特开昭 49-24997, 1974。
- [4] Nakao H et al: J Antibiotics 29(5):554, 1976
- [5] Kurita M et al: ibid 19(6):243, 1966
- [6] Blackburn Dale W: Ger Offen 2,502,047, 1975
日本公开特许公报：特开昭 50-106996, 1975
- [7] Tortolani G et al: J Chromatog 120,149, 1976