

EDTA、DTPA 与 6-氨基青霉烷酸衍生物的合成^①

马肖依 郝志峰^② 刘文锋 余坚

(广东工业大学轻工化工学院 广州市番禺区广州大学城外环西路 100 号 510006)

摘要 乙二胺四乙酸二酐(EDTAD)和二乙三胺五乙酸二酐(DTPAD)分别与 6-氨基青霉烷酸(6-APA)反应,合成了两个新的化合物 EDTA-6-APA 和 DTPA-6-APA。通过 UV、IR、¹H NMR、元素分析对化合物的组成和结构进行了初步表征。探讨了反应物的配比、反应温度、反应时间等反应条件对产物收率的影响。结果表明,最佳合成条件为: $n(\text{酸酐}) : n(6\text{-APA}) = 1 : 2$,反应温度 25℃,反应时间 7h,此时产物收率均达到 70% 以上。

关键词 乙二胺四乙酸;二乙三胺五乙酸;6-氨基青霉烷酸;酰化反应

中图分类号: O657.32; O657.2

文献标识码: A

文章编号: 1004-8138(2011)04-1612-05

1 引言

青霉素类抗生素对敏感细菌所致感染具有杀菌活性高、毒性低的优点,因此该类药物在临床上占有重要地位^[1,2]。青霉素类抗生素分子中均具有 β -内酰胺环,即 6-氨基青霉烷酸(6-Aminopenicillanic acid, 6-APA)的衍生物。 β -内酰胺类抗生素可与细菌细胞膜上的青霉素结合蛋白(PBPs)结合,从而抑制粘肽转肽酶,使其催化的转肽反应不能进行,从而阻碍细胞壁的形成,导致细菌死亡^[3]。细菌细胞有细胞壁,而哺乳动物的细胞无细胞壁,所以 β -内酰胺对人体细胞的毒性很低^[4]。由于青霉素结合蛋白有较强的结合作用,而青霉素结合蛋白集中于感染部位,所以用青霉素类化合物修饰 EDTA、DTPA 有可能增强所得化合物向炎症部位的富集。本文以半合成青霉素的中间体 6-氨基青霉烷酸修饰 EDTA、DTPA,合成了两个新的化合物 EDTA-6-APA 和 DTPA-6-APA。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

WRS-1B 数字熔点仪(上海精科-物理光学仪器厂); Nicolet 380 型傅里叶变换红外光谱仪(美国 Nicolet 公司); 岛津 T-245 紫外可见分光光度计(日本岛津公司); Varian Mercury plus 400 型核磁共振仪(氘代 DMSO 为溶剂, TMS 为内标, 美国 Varian 公司); PE 2400 II 型元素分析仪(美国 PE 公司)。

6-氨基青霉烷酸为市售化学纯; 乙酸酐、吡啶、无水乙醚、*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)、无水乙醇等均为分析纯,使用前经过干燥或蒸馏。

① 广东省自然科学基金资助项目(06021469)

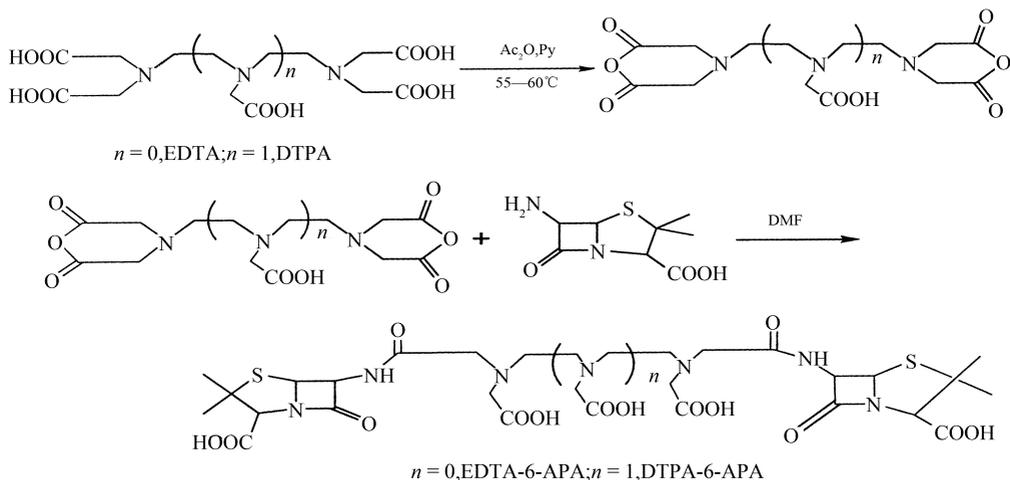
② 联系人,手机:(0)13535461822; E-mail:haozhifeng3377@163.com

作者简介:马肖依(1985-),女,湖北省天门市人,在读硕士,主要研究方向为药物合成。

收稿日期:2010-11-08;接受日期:2010-12-08

2.2 合成路线

化合物 EDTA-6-APA、DTPA-6-APA 的合成按照合成路线所示的路径分两步进行, 第一步是 EDTA 和 DTPA 分子内脱水生成酸酐, 第二步是酸酐与 6-APA 通过酰化反应分别得到 EDTA-6-APA、DTPA-6-APA。合成路线如下图所示。



2.3 化合物 EDTA-6-APA、DTPA-6-APA 的合成

2.3.1 酸酐的合成

参照文献[5]并加以改进, 将 12.0g EDTA 置于 150mL 圆底烧瓶中, 加入 36.0mL 乙酸酐和 20.0mL 吡啶, 在 55℃ 下搅拌回流 24h。冷却至室温后抽滤, 分别用乙酸酐、冷 DMF 和无水乙醚洗涤, 并用 DMF-无水乙醚重结晶, 真空干燥得到白色粉末乙二胺四乙酸二酐(EDTAD), 收率 85%。m. p.: 189—190℃ (文献值: 190℃); 元素分析, $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_6$, 实测值(理论值), %: C 46.63(46.87), H 4.83(4.69), N 10.93(10.94)。

用类似的方法合成二乙三胺五乙酸二酐(DTPAD)。收率 88%, m. p.: 179—181℃ (文献值: 180℃); 元素分析, $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_8$, 实测值(理论值), %: C 46.79(47.06), H 5.07(5.32), N 11.54(11.76)。

2.3.2 化合物 EDTA-6-APA 的合成

将 2.30g EDTAD(9mmol) 溶于 16mL DMF 后, 加入 3.96g 6-APA(18mmol), 再加入 3mL 三乙胺, 通氮气, 在 25℃ 下搅拌反应 7h。用 50mL 丙酮沉淀, 得到黄色固体粉末, 用 30mL, $1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液溶解上述黄色固体粉末, 过滤, 再用稀盐酸将滤液酸化到 pH 为 2.00 左右, 析出黄色沉淀, 减压过滤, 干燥, 得到黄色固体产物, 收率 70.5%。m. p.: 140—141℃; UV(DMSO) λ_{max} : 321nm; 元素分析, $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_{12}\text{S}_2$, 实测值(理论值), %: C 45.43(45.88), H 5.64(5.29), N 12.45(12.35), S 8.96(9.41)。

2.3.3 化合物 DTPA-6-APA 的合成

将 2.20g(10mmol) 6-APA 溶于 20mL DMF, 加入 1.79g(5mmol) DTPAD, 再加入 3mL 三乙胺, 通氮气, 在 25℃ 下搅拌反应 7h。用 50mL 丙酮沉淀, 得到淡黄色固体粉末, 用 30mL, $1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液溶解上述淡黄色固体粉末, 过滤, 再用稀盐酸将滤液酸化到 pH 为 2.00 左右, 析出黄色沉淀, 减压过滤, 干燥, 得到淡黄色固体, 收率 70.0%。m. p.: 133—134℃; UV(DMSO) λ_{max} : 321nm;

元素分析, $C_{30}H_{43}N_7O_{14}S_2$, 实测值(理论值), %: C 45.32(45.63), H 5.77(5.45), N 12.12(12.42), S 7.89(8.11)。

3 结果与讨论

3.1 关于酰化反应

化合物 EDTA-6-APA 和 DTPA-6-APA 是通过胺与环酸酐的酰化反应制备得到, 所用仪器和溶剂都应经过干燥, 以避免酸酐水解而影响产率^[6]。6-APA 中含有的氨基在空气中容易发生氧化而变成红棕色, 所以反应需在惰性气体 N_2 保护下进行。此外, 由于产物易溶于碱性溶剂, 反应结束后, 需调节反应混合液为酸性, 有利于固体产物的纯化与析出。反应中加入适量的三乙胺, 其作用主要有两点^[7]: (1) 由于 6-APA 难溶于 DMF, 加入三乙胺有助于反应物 6-APA 溶于溶剂 DMF, 使反应为均相反应, 提高反应速率; (2) 保持反应体系为碱性, 使 6-APA 中的氨基以游离形式存在, 有利于酰化反应的进行。

3.2 反应工艺条件优化

3.2.1 反应物配比对反应收率的影响

选择反应温度为 25°C , 反应时间为 12h, 考察了反应物配比对酰化反应收率的影响, 得到的结果见表 1。

表 1 反应物配比对酰化反应收率的影响

收率(%)	$n(\text{酸酐}) : n(6\text{-APA})$				
	1 : 1	1 : 1.5	1 : 2	1 : 2.5	1 : 3
EDTA-6-APA	55.6	64.1	68.0	66.2	65.4
DTPA-6-APA	54.7	63.2	66.1	63.7	62.3

依据合成路线中的酰化反应可知, 由于反应物均是二酸酐, 因而它们与 6-APA 反应的理论配比为 1 : 2。结果表明, 当酸酐与 6-APA 的物质的量之比为理论配比 1 : 2 时, 两种产物的收率最高。当某种反应物过量时, 收率均有一定程度的下降。

3.2.2 反应温度对反应收率的影响

选择反应物 $n(\text{酸酐}) : n(6\text{-APA})$ 的比例为 1 : 2, 反应时间为 12h, 考察了反应温度对反应收率的影响, 得到的结果见表 2。

表 2 反应温度对反应收率的影响

收率(%)	温度($^\circ\text{C}$)				
	5	15	25	40	80
EDTA-6-APA	55.5	62.1	68.0	64.5	61.9
DTPA-6-APA	50.4	60.7	66.1	62.2	59.3

结果表明, 反应温度对酰化反应收率有重要的影响。若反应温度低于 20°C , 反应速率慢, 不利于酰化反应, 反应时间延长; 若温度高于 40°C , 酰化反应速率加快, 但是反应过程中发现原料更易氧化变色, 因而导致产物的收率降低。实验结果表明, 合适的反应温度为 25°C 。

3.2.3 反应时间对反应收率的影响

选择反应物 $n(\text{酸酐}) : n(6\text{-APA})$ 的比例为 1 : 2, 反应温度为 25°C , 考察了反应时间对反应收率的影响, 得到的结果见表 3。

表 3 反应时间对反应收率的影响

收率(%)	时间 t (h)				
	3	7	12	18	24
EDTA-6-APA	45.6	70.5	68.0	66.3	65.2
DTPA-6-APA	48.6	70.0	66.1	63.2	60.4

表 3 的数据表明,若反应时间小于 7h,可能由于反应不够彻底,导致收率较低;但是当反应时间超过 12h,收率反而稍微有所下降,合适的反应时间为 7—12h。

3.3 红外光谱分析

表 4 列出化合物 EDTA-6-APA 和 DTPA-6-APA 红外光谱中的主要特征峰。从表中数据可知,3320—3340 cm^{-1} 之间的宽峰可能是分子中缔合羧酸的 OH 伸缩振动,而且可能掩盖了 NH 键伸缩振动;在 2970 cm^{-1} 附近的峰归属为 CH 键的反对称伸缩峰;位于 1730 cm^{-1} 附近的峰为羧酸 C=O 的伸缩振动峰,而 1650—1660 cm^{-1} 、1630—1640 cm^{-1} 为直链酰胺和环内酰胺 C=O 的伸缩振动峰;在 1216.0 cm^{-1} 和 1223.0 cm^{-1} 的吸收峰,可分别归属为两个化合物中 C—N 的特征吸收^[8]。

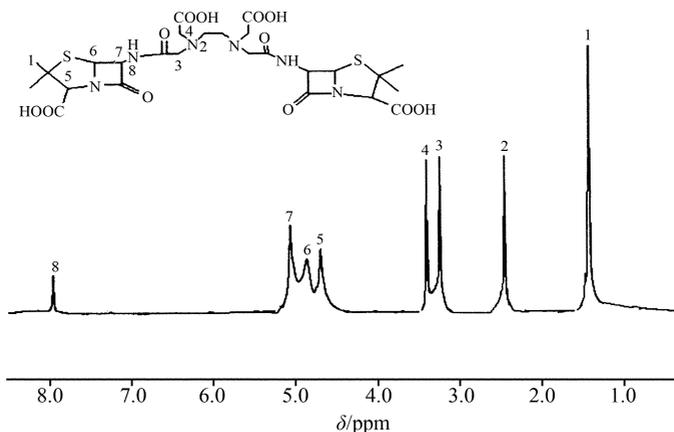
表 4 EDTA-6-APA 和 DTPA-6-APA 的 IR 数据 (cm^{-1})

化合物	ν_{OH} 或 ν_{NH}	ν_{CH}	羧酸 $\nu_{\text{C=O}}$	酰胺 $\nu_{\text{C=O}}$	$\nu_{\text{C-N}}$
EDTA-6-APA	3324.7	2970.4	1735.0	1651.6, 1639.5	1216.0
DTPA-6-APA	3335.1	2971.3	1726.0	1658.3, 1633.0	1223.0

3.4 化合物 EDTA-6-APA 和 DTPA-6-APA 核磁共振分析

3.4.1 化合物 EDTA-6-APA 的核磁共振分析

图 1 是化合物 EDTA-6-APA 的¹H NMR 谱图(氘代 DMSO),谱图上可以看到明显的 8 组峰: δ : 1. 37 (s, 12H, CH₃), 2. 45 (m, 4H, CH₂CH₂), 3. 23 (s, 4H, N—CH₂—CO), 3. 39 (d, 4H, CH₂—COOH), 4. 75 (s, 2H, CH—N), 4. 85 (d, 2H, S—CH), 5. 17 (m, 2H, CH—NH), 7. 94 (s, 2H, NH—CO), 4 个羧酸的 OH 未被观察到^[8]。

图 1 化合物 EDTA-6-APA 的¹H NMR 谱图(氘代 DMSO)

3.4.2 化合物 DTPA-6-APA 的核磁共振分析

图 2 是化合物 DTPA-6-APA 的¹H NMR 谱图(氘代 DMSO),谱图上可以看到明显的 8 组峰: δ : 2. 10 (s, 12H, CH₃), 2. 45 (m, 8H, CH₂CH₂), 3. 24 (s, 4H, N—CH₂—CO), 3. 36 (d, 6H, CH₂—COOH), 4. 77 (s, 2H, CH—N), 4. 84 (d, 2H, S—CH), 5. 10 (m, 2H, CH—NH), 8. 00 (s, 2H,

NH—CO), 5 个羧酸的 OH 未被观察到^[8]。

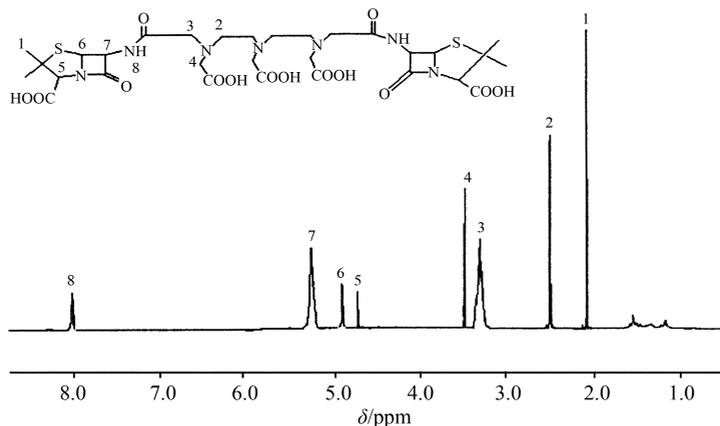


图 2 化合物 DTPA-6-APA 的¹H NMR 谱图(氘代 DMSO)

4 结论

本文以 DMF 为溶剂, 在 N₂ 保护下, 反应物二酞酮和 6-APA 以 1 : 2 的配比, 在 25℃ 反应 7h, 收率可达到 70% 以上。新合成的两种化合物的组成与结构通过 UV、IR、¹H NMR 及元素分析得到了表征和确认。

参考文献

- [1] Xue P, Song X D, Cao X R. An Efficient Synthesis of Ampicillin on Magnetically Separable Immobilized Penicillin G acylase[J]. *Chinese Chemical Letters*, 2010, **21**(7): 765—766.
- [2] Nucci E R, Cruz A J G, Giordano R C. Monitoring Bioreactors Using Principal Component Analysis: Production of Penicillin G Acylase as a Case Study[J]. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2010, **33**(5): 557—559.
- [3] 郑虎, 翁玲玲, 尤启冬. 药物化学[M]. 第 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003.
- [4] 陈新谦, 金有豫. 新编药物学[M]. 第 16 版. 北京: 人民卫生出版社, 2007.
- [5] 王新民, 孔薇, 徐虹等. EDTA 酞和 ETPA 酞的制备[J]. *河南化工*, 1999, (4): 14—15.
- [6] 陈林渺, 郝志峰, 王雪镗. 含芳香基的乙二胺四乙酸酞胺衍生物的合成[J]. *合成化学*, 2010, **18**(1): 71—73.
- [7] 郑书展. 新型二乙三胺五乙酸衍生物类造影剂的研究[D]. 西安: 西北大学, 2004.
- [8] 李润卿, 范国梁, 渠荣遵. 有机结构波谱分析[M]. 天津: 天津大学出版社, 2002.

Synthesis of 6-Aminopenicilanic Acid Derivates with EDTA and DTPA

MA Xiao-Yi HAO Zhi-Feng LIU Wen-Feng YU Jian

(College of Chemical Engineering and Light Industry, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, P. R. China)

Abstract The new two complexes, EDTA-6-APA and DTPA-6-APA, were respectively synthesized by reaction of EDTA dianhydride and DTPA dianhydride with 6-aminopenicilanic acid (6-APA). The compositions and structures of the complexes were characterized by UV, IR, ¹H NMR and elemental analysis. The effects of reactant proportion, reaction temperature and reaction time on the yield were investigated. The optimized parameters for the synthesis were as follows: the molar ratio of dianhydride to 6-APA was 1 : 2, and reaction temperature was 25℃ with reaction time of 7h. The yields of the products were all above 70% under the conditions.

Key words EDTA; DTPA; 6-APA; Acylation Reaction