

TỔNG HỢP KHÁNG SINH CEFUROXIM TỪ 7-ACA

Nguyễn Khánh Tân*, Đoàn Ngọc Nhuận

*Bộ môn Hóa Hữu cơ, Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên
Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh*

Đến Tòa soạn 10-3-2015; Chấp nhận đăng 10-6-2016

Abstract

Cefuroxime -a second generation cephalosporin antibiotic- is synthesized from starting materials 7-ACA (7-aminocephalosporinic acid) and SMIA (2-furanyl-(Z)-2-methoxyiminoacetic acid ammonium salt). The study showed that the product could be prepared via 4 steps scheme to obtain cefuroxime in good total yield (42 % yield). The novel of the process, that we use oxalyl chloride replaces phosphoryl chloride in step 2: help reaction of step 2 gain yield better.

Keywords. 7-ACA, SMIA, decarbamoyl cefuroxime acid, cefuroxime.

1. MỞ ĐẦU

Năm 2003 Chính phủ đã chỉ thị giao nhiệm vụ cho Bộ Công nghiệp xây dựng chiến lược phát triển ngành công nghiệp sản xuất hóa dược. Trong quy hoạch phát triển giai đoạn 2000-2020 bước đầu Bộ Công nghiệp đề ra mục tiêu là xây dựng một chương trình nghiên cứu, sản xuất và đầu tư xây dựng một số nhà máy sản xuất hóa dược, trong đó có việc sản xuất kháng sinh tại Việt Nam [1]. Cefuroxim được tổng hợp và đưa vào sử dụng từ thập niên 80. Ở nước ta, hiện nay nhu cầu về cefuroxim là khá lớn và hoàn toàn phải nhập ngoại. Vì vậy, chúng tôi đặt vấn đề nghiên cứu xây dựng quy trình tổng hợp hoạt chất này để tiến tới có thể tự sản xuất phục vụ cho nhu cầu trong nước.

Cefuroxim là kháng sinh nhóm cephalosporin thế hệ 2, có tác dụng diệt khuẩn bằng cách ức chế tổng hợp vỏ tế bào vi khuẩn. Có nhiều bằng sáng chế công bố về quy trình tổng hợp kháng sinh cefuroxim [2-7]... Trong nghiên cứu này, chúng tôi thực hiện quy trình tổng hợp cefuroxim từ 7-ACA và 2-furanyl-(Z)-2-methoxyiminoacetat ammoni (SMIA). Đề tài nhằm mục đích tìm ra quy trình thích hợp điều chế cefuroxim ở quy mô phòng thí nghiệm Việt Nam.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Nguyên liệu, thiết bị, dụng cụ

Nguyên liệu ban đầu 7-ACA và 2-furanyl-(Z)-2-methoxyiminoacetat ammonium (SMIA) xuất xứ

Trung Quốc với độ tinh khiết trên 99 %. Dimetylacetamid (DMAC), trietylamin (TEA) xuất xứ từ Trung Quốc và Aldrich-Sigma. Các dung môi xuất xứ Chemsol Vina (Việt Nam).

Thiết bị và dụng cụ: bếp khuấy từ, máy đo pH. Xác định độ tinh khiết của sản phẩm trên máy HPLC Agilent Model G1329A, xác định khối lượng phân tử bằng HPLC/MS Agilent. Phổ NMR được ghi trên máy NMR Model DRX500 (500 MHz) BRUKER AVANCE....

2.2. Tổng hợp

Chúng tôi tiến hành điều chế cefuroxim theo quy trình 4 bước từ 7-ACA và SMIA. Thực hiện quá trình tổng hợp cefuroxim dựa trên tài liệu tham khảo U.S. Patent 0092735 A1 của Pandurang Balwan (năm 2004) [2] và tài liệu tham khảo Synthetic Communications, 33(14) của Santosh Kumar Singh (năm 2003) [3] nhưng có điều chỉnh một số yếu tố thông qua các bước trong sơ đồ 1.

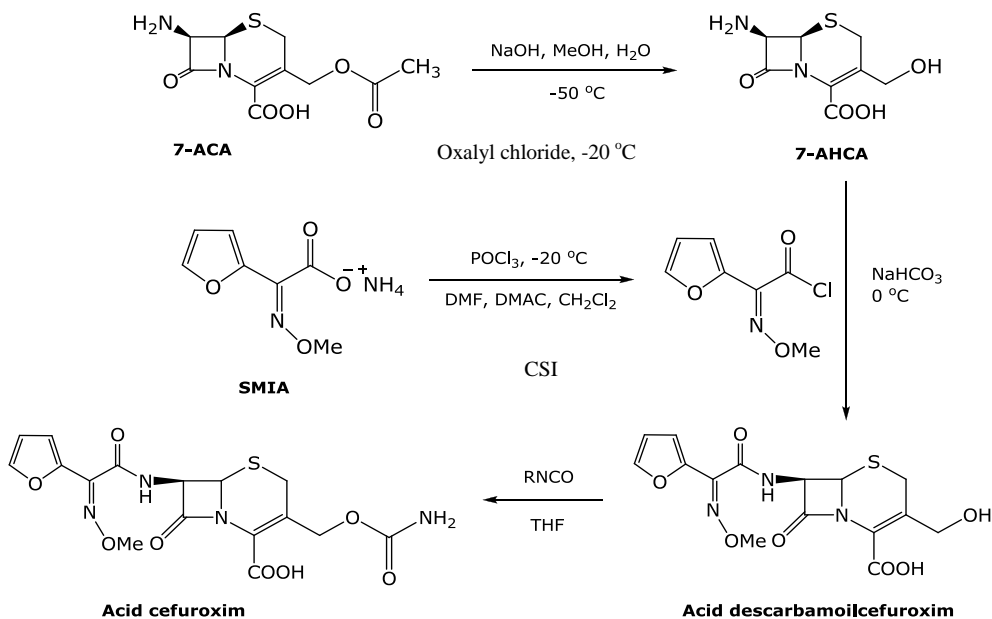
Giai đoạn 1: 20 ml MeOH + 20 ml H₂O được cho vào một bình cầu, 2,5 g 7-ACA (0,0092 mol) được cho vào bình cầu và bình được làm lạnh xuống -40 °C và khuấy từ. Sau đó cho từ từ dung dịch NaOH bão hòa (0,011 mol NaOH trong 10 ml H₂O) vào bình và thực hiện phản ứng trong 1 giờ ở -40 °C. Điều chỉnh pH dung dịch phản ứng về pH 4,0 thu sản phẩm 7-AHCA. (rửa sản phẩm bằng metanol-H₂O). Hiệu suất phản ứng đạt 80,4 %.

Giai đoạn 2: Hỗn hợp gồm 14 ml DMAC, 2 ml diclorometan và 3 ml dimetylformamid được cho vào bình cầu. Cân 2 gam (0,0107 mol) SMIA cho

vào hỗn hợp trên và làm lạnh hỗn hợp xuống nhiệt độ $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tại nhiệt độ này, 3,4 gam (0,0222 mol) oxalyl chloride cho vào từ từ trong 30 phút, khuấy ở nhiệt

độ $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong 90 phút. Sau khi phản ứng kết thúc, hỗn hợp được giữ lạnh ở $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ để thực hiện phản ứng kế tiếp.

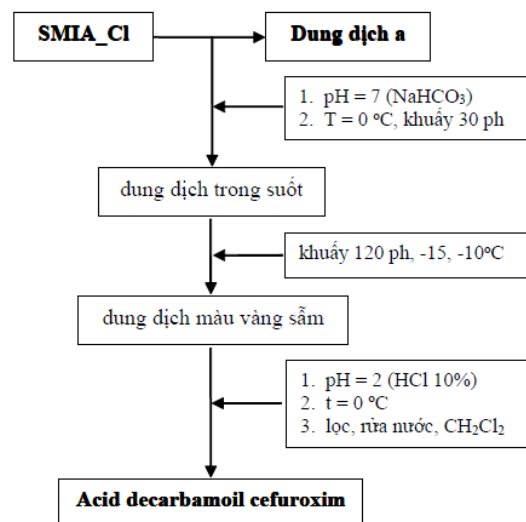


Sơ đồ 1: Quy trình tổng hợp Cefuroxim theo phương pháp nghiên cứu

Giai đoạn 3: Thực hiện quy trình hòa tan 7-AHCA. Cân 2 gam (0,0087 mol) 7-AHCA cho vào bình cầu chứa sẵn 30 ml MeOH, 30 ml nước). Cho từ từ dung dịch NaOH 10 % vào bình cầu, khuấy trong 10 phút ở $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ đến khi dung dịch trong suốt (dung dịch a). Thực hiện phản ứng ngưng tụ dung dịch 7-AHCA và dd SMIA-Cl (từ giai đoạn 2) thu được axit decarbamoil cefuroxim như trong sơ đồ 2. Axit decarbamoil cefuroxim thu được là chất bột màu trắng được để khô tự nhiên, có độ chuyển hóa cao, hiệu suất phản ứng đạt 71,3 % và độ tinh khiết 90,9 %.

Giai đoạn 4: Cân 2,5 gam (0,0065 mol) axit decarbamoil cefuroxim cho vào bình cầu chứa 12,5 ml CH_3CN khan. Sau đó cho từ từ 2 ml (0,0229 mol) CSI (chlorosulfonyl isocyanat), khuấy trong 15 phút tại $0-5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Sau đó khuấy thêm 1 giờ nữa cũng tại nhiệt độ trên. Dung dịch trong suốt sau phản ứng được rót vào 25 ml nước và khuấy 60 phút tại $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Đưa pH dung dịch về 7,5 bằng amoniac 25 % tại $5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Chiết tách lấy pha nước bằng 50 ml etyl axetat.

Axit hóa pha nước đưa về pH 2 bằng HCl 10%, nhiệt độ $0-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ thu sản phẩm axit cefuroxim. Rửa sản phẩm bằng $\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}$ thu được 3,2 gam hoạt chất. Hiệu suất 72 %.



Sơ đồ 2: Quy trình điều chế axit decarbamoil cefuroxim

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Điều chế 7-AHCA từ chất nền 7-ACA

Quá trình chuyển hóa 7-ACA sang 7-AHCA là quá trình khởi đầu cho quy trình tổng hợp cefuroxim. Ở

bước đầu tiên này, chúng tôi thủy phân 7-ACA bằng dd NaOH bão hòa, trong hệ dung môi metanol:nước ở -40 °C trong 1 giờ, nhằm chuyển hóa nhóm chức -

CH₂OCOCH₃ thành -CH₂OH. Dưới đây là kết quả của bước 1. 7-AHCA thu được có độ tinh khiết cao và hiệu suất phản ứng đạt 80,4 %.

Bảng 1: Khảo sát tỷ lệ mol 7-ACA:NaOH trong phản ứng điều chế 7-AHCA

Tỉ lệ mol 7-ACA/NaOH	Khối lượng chất nền (gr)	Khối lượng sản phẩm cô lập (gr)	Hiệu suất (%)
1:1,2	2,5	1,53	73,2
1:1,3	2,5	1,62	76,8
1:1,4	2,5	1,76	80,4
1:1,5	2,5	1,6	74,0

Dữ liệu phổ định danh 7-AHCA

IR (KBr) ν_{\max} cm⁻¹ 3397 ($\nu_{\text{O-H}}$); 3174 ($\nu_{\text{N-H}}$); 3003 ($\nu_{\text{C-H}}$); 1797 ($\nu_{\text{C=O}}$, β -lactam); 1619 ($\nu_{\text{C=O}}$, -COOH).

MS (m/z): [M-H]⁻ = 229,13.

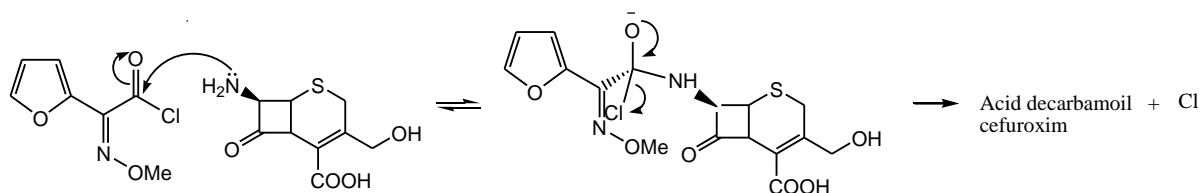
¹H-NMR (DMSO-d₆), δ (ppm): 4,91 (d, 1H, -CH-CH-S-, J = 5 Hz); 4,71 (d, 1H, -CH-CH-S-, J = 5 Hz); 4,19-4,23 (dd, 2H, -C-CH₂-OH, J_1 = 13,5 Hz, J_2 = 18 Hz); 3,54-3,57 (d, 1H, -S-CHH-, J = 15 Hz); 3,46-3,49 (d, 1H, -S-CHH-, J = 15 Hz).

3.2. Hoạt hóa SMIA bằng tác nhân oxalyl clorid và thực hiện phản ứng kết hợp dd 7-AHCA và SMIA_Cl tạo axit decacbamoiil cefuroxim

Để phản ứng kết hợp được xảy ra dễ dàng theo cơ chế của phản ứng thân hạch acyl giữa 7-AHCA và SMIA, chúng tôi thực hiện việc hoạt hóa nhóm chức của SMIA thành clorur axit. Tác nhân hoạt hóa trong bước này là oxalyl chloride (OXC) với tỷ lệ mol SMIA:OXC là 1:1, tỷ lệ DMAC:DMF:MC =

7:1:1). Dung dịch thu được trong suốt, màu vàng nhạt. Việc sử dụng tác chất oxalyl chlorid trong phản ứng hoạt hóa SMIA là hướng mới trong quy trình tổng hợp so với các tác giả trước đây (Pandurang Balwan, 2004; Santo Kumah Sing, 2003). 7-AHCA được hòa tan trong hệ dung môi MeOH-nước, pH được điều chỉnh về 7-7,5 bằng dung dịch NaOH 10 %.

Cơ chế của phản ứng kết hợp là phản ứng thế thân hạch acyl giữa 7-AHCA và clorur axit SMIA_Cl. 7-AHCA đóng vai trò như một tác nhân nucleophil với đôi điện tử trên N của nhóm -NH₂, trong khi SMIA_Cl là một dẫn xuất clorua axit có nhóm -C=O phân cực mạnh. Phản ứng xuất nhóm -Cl nên tạo môi trường acid nên pH tốt nhất cho phản ứng này khoảng 7-7,5 là tốt nhất (giúp tránh việc hạ pH khi cho clorur acid vào và trong quá trình phản ứng có sinh ra HCl, và một lý do nữa là nếu pH xuống thấp hơn 7, 7-AHCA chưa phản ứng dưới điều kiện pH thấp sẽ tạo thành dạng bột rắn).



Sơ đồ 3: Cơ chế phản ứng hình thành axit decarbamoil

Axit decarbamoil cefuroxim thu được là chất bột màu trắng được để khô tự nhiên. Phản ứng có độ chuyển hóa cao, hiệu suất phản ứng đạt 71,3 % và độ tinh khiết 90,9 %. Sản phẩm này được định danh bằng phổ ¹H-NMR, HPLC-MS và xác định độ tinh khiết bằng HPLC-UV.

Dữ liệu phổ định danh axit decarbamoil cefuroxim

IR (KBr) ν_{\max} cm⁻¹ 3571,9 ($\nu_{\text{O-H}}$); 3392,6; 3234,4; 1764,7 (β -lactam, $\nu_{\text{C=O}}$); 1728,1; 1681,8; 1643,2; 1569,9 cm⁻¹. MS (m/z): [M-H]⁻ = 380,06. ¹H-NMR(DMSO-d₆), δ (ppm): 3,76-3,86 (dd, 2H, -S-CHH-, J_1 = 9 Hz, J_2 = 27,5 Hz); 3,90 (s, 3H, -OCH₃); 5,05 (s, 2H, -CH₂OH); 5,19-5,20 (d, 1H,

-CH-S-, J = 5 Hz); 5,96-5,97 (d, 1H, -CH-CH-S-, J = 5 Hz); 6,63-6,64 (dd, 1H, -HC=CH-CH=, J_1 = 2 Hz, J_2 = 3,5 Hz); 6,69-6,70 (d, 1H, -HC=CH-CH=, J = 5 Hz); 7,84-7,842 (d, 1H, -CH=CH-CH=, J = 2 Hz); 9,80 (s, 1H, -NH-).

3.3. Điều chế cefuroxim từ axit decacbamoiil cefuroxim

Ở giai đoạn này chúng tôi chuyển hóa axit decarbamoil cefuroxim thành acid cefuroxim bằng CSI (clorosulfonyl isocyanat) ở 0-5 °C, trong CH₃CN (lúc này nhóm -CH₂OH chuyển hóa thành

nhóm $-\text{CH}_2\text{OCONH}_2$). Tỷ lệ mol acid decarbamoil cefuroxim:CSI = 1:2, sau đó chiết tách lấy pha nước bằng etyl acetat và thủy phân bằng NH_3 25 % đưa về pH 7-7,5 rồi axit hóa bằng HCl đưa về pH 2, kết tinh

thu được axit cefuroxim. Dưới đây là bảng khảo sát tỷ lệ mol giữa acid decarbamoil cefuroxim và CSI trong phản ứng điều chế cefuroxim.

Bảng 2: Khảo sát tỷ lệ mol axit decarbamoil cefuroxim:CSI trong phản ứng điều chế cefuroxim

Tỷ lệ mol Acid decarbamoil cefuroxim/CSI	Khối lượng sản phẩm (gr)	Độ tinh khiết (%)	Hiệu suất (%)
1 : 1,5	2,2	71	56
1 : 2,0	2,21	90	72
1 : 2,5	2,1	84	62
1 : 3,0	2,4	64	54

Hiệu suất phản ứng thu được là tương đối khá. Khi tăng tỷ lệ mol axit decarbamoil cefuroxim:CSI thì hàm lượng cefuroxim trong sản phẩm tăng lên.

Qua bảng kết quả này, nhận thấy ứng với tỷ lệ mol acid decarbamoil cefuroxim:CSI = 1:2, sản phẩm thu được có độ tinh khiết cao nhất là 90 % và hiệu suất điều chế đạt 72 % (so với tác giả của U.S Patent 0092735A1 là 85 %). Khi tăng lên tỷ lệ mol 1:2,5 và 1:3 hiệu suất phản ứng giảm, nguyên nhân khi dư CSI làm giảm khả năng kết tinh sản phẩm.

Dữ liệu phổ định danh sản phẩm cefuroxim điều chế được

IR (KBr) ν_{max} cm^{-1} 3482,5; 3392,6; 3234,4; 3219,4; 1764,7 (β -lactam, $\nu_{\text{C=O}}$); 1728,1; 1681,8; 1584,2, 1569,9 cm^{-1} . MS (m/z): $[\text{M}-\text{H}]^- = 423,5$. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6), δ (ppm): 3,68-3,86 (dd, 2H, $-\text{S}-\text{CHH}-$, $J_1 = 9$ Hz, $J_2 = 25$ Hz); 3,94 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$); 4,95 (s, 2H, $-\text{CH}_2\text{O}-$); 5,21-5,23 (d, 1H, $-\text{CH}-\text{S}-$, $J=5$ Hz); 6,01-6,02 (d, 1H, $-\text{CH}-\text{CH}-\text{S}$, $J = 5$ Hz); 6,62-6,63 (d,d 1H, $-\text{HC}=\text{CH}-\text{CH}=\text{}$, $J_1 = 2$ Hz, $J_2 = 3,5$ Hz); 6,67-6,68 (d, 1H, $-\text{HC}=\text{CH}-\text{CH}=\text{}$, $J = 5$ Hz); 7,84-7,842 (d, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{}$, $J = 2$ Hz); 9,82 (s, 1H, $-\text{NH}-$).

4. KẾT LUẬN

Cefuroxim được điều chế từ 7-ACA và SMIA qua quy trình 4 bước. Trên cơ sở phương pháp lựa chọn đã điều chế được cefuroxim với hiệu suất, độ tinh khiết tương đối khá. Hiệu suất toàn phần quy trình đạt 42 %. Quy trình tổng hợp này là cơ sở cho những bước phát triển tiếp theo trong nghiên cứu sản xuất nguyên liệu kháng sinh cephalosporin tại Việt Nam.

Liên hệ: **Nguyễn Khánh Tân**

Bộ môn Hóa học Hữu cơ-Khoa Hóa học

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên Tp. HCM

227 Nguyễn Văn Cừ, Quận 5, thành phố Hồ Chí Minh

E-mail: nguyengkhanhtan8787@gmail.com; Điện thoại: 0984300689.

Lời cảm ơn. Công trình này được hỗ trợ từ Chương trình nghiên cứu khoa học cơ bản của Trường Đại học khoa học Tự nhiên Thành phố Hồ Chí Minh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Quyết định số 418/QĐ-TTg của Thủ tướng Chính phủ về chiến lược phát triển ngành công nghiệp Hóa dược giai đoạn 2000-2020.
2. P. B. Deshpant, P. N. Deshpande, B.P. Khadangale, *Process for the preparation of cefuroxime sodium*, U. S. Pat., 0092735 A1 (2004).
3. S. K. Singh, R. P. Tiwari, P. Jain. *A novel and efficient synthesis of (6R,7R)-7-Amino-3-hydroxymethyl Cephalosporin Acid: A Versatile Precursor of Cefuroxime Acid*, Synthetic Communications, **33(14)**, 2475-2482 (2003).
4. L. Xue, C. Liu, S. Li, C. Wang. *A method for preparation of Cefuroxime acid with high purity*, Patent Information, CN 102134252 A (2011).
5. H. Wang. *Method for preparation of Cefuroxime acid*, Patent Information, CN 102093390 A (2011).
6. A. Liao. *Cefuroxime axetil microsphere solid preparation with improved dissolution rate and stability, and its preparation method*, Patent Information, CN 102091044A (2011).
7. W. Cabri, E. Siviero, P.L. Daverio, *Process for the synthesis of beta lactam derivatives*, U. S. Pat., 6,642,378 B1 (2003).
8. M. Tuyên, *Hóa học các hợp chất có hoạt tính kháng khuẩn và khử trùng*, Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội (2007).
9. Tiêu chuẩn Dược Điển Việt Nam IV, Nxb. Y Học, Hà Nội (2010).

