سنتز پیش داروی آنتی بیو تیک سفوروکسیم:

(6R,7R)- ۷-[۲-فورانیل -(z)-۲-متوکسی ایمینو]استامیدو- ۳- هیدروکسی متیل-۳- سفم -٤- کربوکسیلیک اسید

یعقوب صرافی*، سید کمال علی محمدی، خدیجه عالی پور

دانشگاه مازندران، دانشکده شیمی، بابلسر

تاریخ دریافت : ۸۷/۱/۱۹ ***تاریخ پذیرش : ۸۷/٦/۱۷***

چکیده:

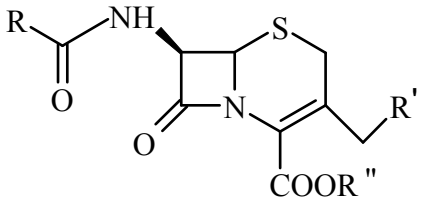
استفاده از ۷- آمینو سفالوسپورانیک اسید و نمک آمونیوم۲- فورانیل-(Z)-۲- متوکسی ایمینو استیک اسید برای تهیه آنتی بیوتیک ۳- هیدروکسی سفوروکسیم. تهیه این ترکیب که شامل سه مرحله، برداشتن گروه استیل و یا در واقع هیدرولیز گروه استری ۷- آمینو سفالوسپورانیک اسید جهت تهیه ۷- آمینو۳-هیدروکسی متیل سفالوسپورانیک اسید، سپس کلره کردن نمک آمونیوم ۲- فورانیل-(Z)-۲- متوکسی ایمینو استیک اسید توسط فسفر پنتا کلرید و در پایان نیز کوپل کردن ۷-آمینو-۳-هیدروکسی متیل-۳- سفم-۴- کربوکسیلیک اسید و ۲- فورانیل-(Z)-۲- متوکسی ایمینو استیل کلرید برای تهیه محصول نهایی می باشد با راندمان خوبی انجام گرفت.

واژگان کلیدی: آنتی بیوتیک، سنتز، سفالوسپورینک اسید، سفورکسیم

مقدمه:

آنتی بیوتیک ها دسته‌ای از داروهای ضد عفونت هستند که سبب مرگ یا توقف رشد باکتری ها می‌شوند و از منابع طبیعی، سنتزی و یا نیمه سنتزی به‌دست می‌آیند. آنتی‌بیوتیک‌ها خود به چند دسته تقسیم می‌شوند که پنی سیلین-ها، سفالوسپورین‌ها، تتراسایکلین‌ها، آمینوگلیکوزیدها، فلوروکینولون‌ها، ماکرولیدها سولفونامیدها از مهمترین آن‌ها هستند.

سفالوسپورین‌ها **۱** و پنی سیلین‌ها از لحاظ درمانی‌و تجاری مهمترین گروه آنتی‌بیوتیک‌ها را تشکیل می‌دهند این دو گروه در یک حلقه بتا لاکتام مشترکند به همین علت به آنتی‌بیوتیک‌های ß-لاکتام معروفند. با تغییرگروههای R، R´ و R ً در ساختار کلی آنها می‌توان آنتی‌بیوتیک‌های مختلفی تولید کرد که دارای خواص ضد باکتری متفاوتی می‌باشند.



1

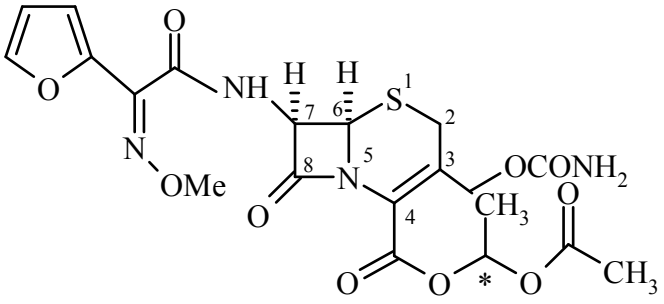
در مقدمه ای بر آنتی بیوتیک های ß-لاکتام می توان گفت که ß-لاکتام‌ها (۲-آزتیدینون‌ها) آمیدهای حلقوی چهار-عضوی هستند که از اسیدهای ۳- آمینوپروپانوییک اسید مشتق می‌شوند. اگر چه اولین عضو این خانواده در سال ۱۹۰۷ توسط اشتادینگر معرفی شد [۱] ولی اهمیت ß-لاکتام به عنوان آنتی بیوتیک تا زمان کشف پنی سیلین توسط فلمینگ در سال ۱۹۲۹، ناشناخته بود. پنی‌سیلین و مشتقات آن هنوز به طور وسیعی به عنوان آنتی‌بیوتیک به کار می‌روند. بعد از کشف فعالیت ضد باکتری پنی‌سیلین، هزاران ترکیب شامل حلقه ß-لاکتام از منابع طبیعی استخراج و یا به روشهای شیمیایی سنتز شده‌اند.

سفالوسپورین‌ها دسته دیگری از آنتی بیوتیک‌های ß-لاکتام می‌باشند که به طور وسیعی در درمان بیماریهایی که به وسیله باکتری ها در انسان و حیوان ایجاد می‌شوند، مورد استفاده قرار می‌گیرد. سفوروکسیم یک آنتی بیوتیک نیمه سنتزی با ارزش از نسل دوم می‌باشد که طیف عملکرد ضد باکتری آن ها نسبت به پنی سیلین ها گسترده‌تر می‌باشد. اثرات آنتی‌بیوتیکی پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها و سایر آنتی‌بیوتیک‌های ß-لاکتام به آسیلاسیون گزینشی حلقه ß-لاکتام و در نتیجه غیر فعال‌سازی ترانس پپتیداز مورد نیازجهت سنتز دیواره سلولی باکتری بستگی دارد. توانایی آسیله شدن در نتیجهٔ واکنش پذیری حلقه ß-لاکتام می‌باشد. باکتری‌هایی که در مقابل آنتی‌بیوتیک های ß-لاکتام مقاوم می‌باشند اغلب آنزیم‌هایی به نام ß-لاکتاماز را تولید می‌کنند که قادرند با سرعت بخشیدن به باز شدن هیدرولیتیکی حلقه ß-لاکتام، آنتی بیوتیک‌ها را غیرفعال کنند.

سفوروکسیم یک آنتی‌بیوتیک سفالوسپورینی است که در برابر ß-لاکتاماز مقاوم می باشد[۲]. این آنتی‌بیوتیک در درمان تعداد زیادی از بیماری‌ها، مثل عفونت‌های تنفسی، عفونت گوش میانی، عفونت پوست و بافت نرم، سینوزیت، و عفونت‌های ادراری مؤثر است [۳،۵]. سفوروکسیم همچنین برای جلوگیری از عفونت در بیمارانی که تحت عمل جراحی قرار گرفته‌اند و در افرادی که به هر علت مستعد عفونت هستند استفاده می‌شود.

بخش تجربی:

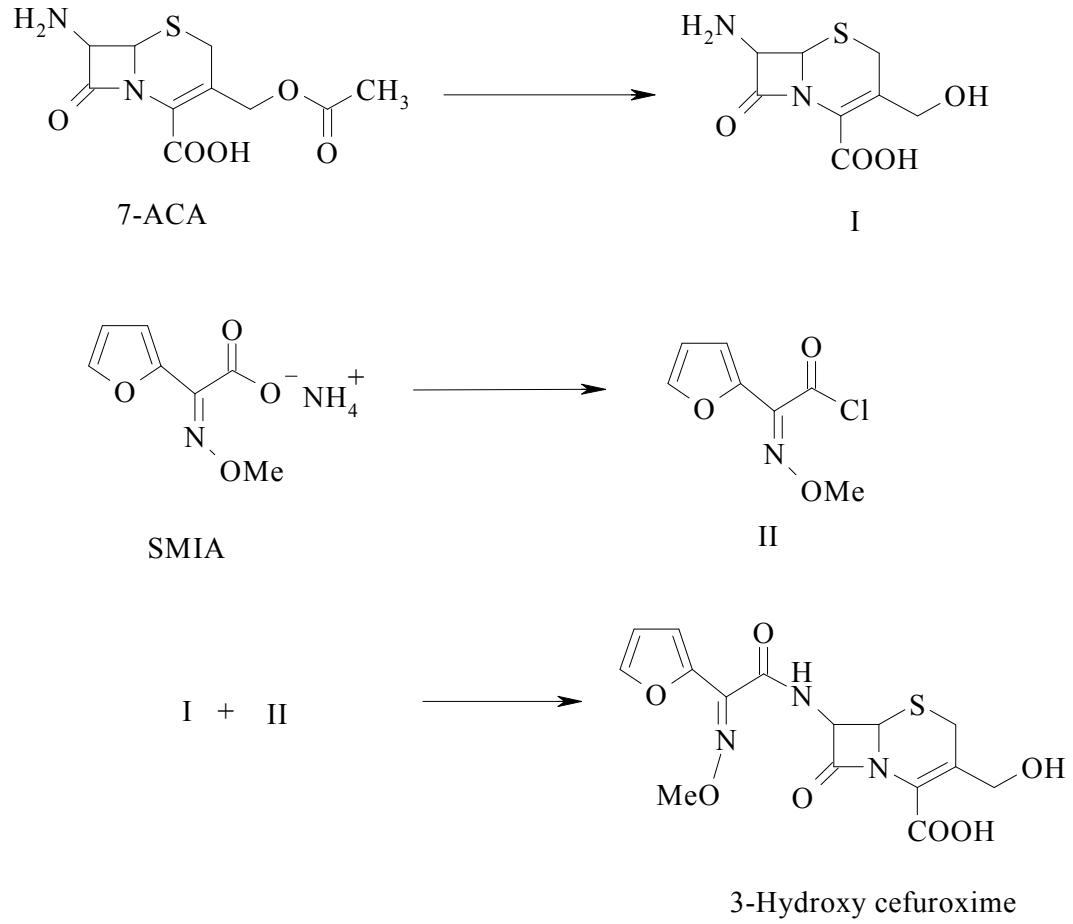
سفالوسپورین‌ها، دومین گروه از آنتی‌بیوتیک‌های شناخته شده می‌باشند[۶]. و طیف عملکرد وسیعی علیه باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت دارند. امروزه اکثر آنتی بیوتیک‌های تزریقی و خوراکی از خانواده سفالوسپورین‌ها می‌باشند. یکی از این محصولات سفوروکسیم اکستیل **۲** (CFA) سفالوسپورین نسل دوم می‌باشد.



2

CFA در موقعیت کربن ۳، یک گروه کربامویل دارد که به آن پایداری متابولیکی قابل ملاحظه را می‌دهد. در موقعیت ۷ یک گروه متوکسی ایمین وجود دارد که سبب پایداری زیاد آن در مقابل حمله به حلقه بتالاکتام می‌شود. حلقه فوریل خواص ضد میکروبی وسیعی بر علیه باکتری گرم منفی به مولکول می‌دهد. گروه ۱- استوکسی اتیل در کربن ۴ سفوروکسیم اکستیل به مولکول قابلیت حل شدن در چربی را داده و به این ترتیب جذب سفوروکسیم از طریق روده افزایش می‌یابد.

در این پروژه سه مرحله از سنتز آنتی بیوتیک ۳- هیدروکسی سفوروکسیم انتخاب (شمای ۱) و کار تحقیقاتی روی آن انجام شده است. برای این منظور از ۷- آمینوسفالوسپورانیک اسید (۷-ACA) و نمک آمونیوم ۲- فورانیل- (Z)-۲- متوکسی ایمینو استیک اسید (SMIA) استفاده شد. برای توجه بیشتر به اهمیت این سه مرحله قابل ذکراست که برای هر یک از مراحل سنتز چندین پتنت و مقاله گزارش شده است[۷،۹].



شمای ۱: مراحل کلی سنتز ۳- هیدروکسی سفوروکسیم

در مرحله اول هیدرولیز ۷- آمینوسفالوسپورانیک اسید (۷-ACA) به ۷- آمینو-۳- هیدروکسی متیل-۳- سفم-۴- کربوکسیلیک اسید در حضور سود با راندمان بالا انجام شد. پیشرفت واکنش با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) دنبال شد. در پایان واکنش، محصول مورد نظر به صورت نمک سدیم کریوکسیلات می‌باشد که در آب محلول بوده و با افزایش هیدروکلریک اسید۴٪ در دمای $0\ ^{o}C$ تا ph=۴ در ظرف واکنش رسوب می‌دهد. برای جلوگیری از هیدرولیز حلقه β-لاکتام در طی انجام واکنش، از دمای پایین استفاده می‌شود. در طیف IR ترکیب ۷-ACA جذب مربوط به گروه کربونیل استری به وضوح در ناحیه $۱۷۴۱\ cm^{-1}$ قابل مشاهده می‌باشد. حذف این پیک در طیف IR محصول و همچنین حذف پیک یکتایی مربوط به پروتون های متیل استری که در ناحیه δ=۲/۰۲ ppm ظاهر می‌شود، دلیل دیگری بر هیدرولیز گروه استری می‌باشد.

در مرحله دوم برای تهیه اسید کلرید، به سوسپانسیون حاصل از فسفر پنتا کلرید در دی کلرو متان و N,N- دی متیل فرمامید، نمک آمونیوم ۲- فورانیل- (Z)-۲- متوکسی ایمینو استیک اسید (SMIA) به طور آهسته در دما صفر درجه اضافه شده، پیشرفت واکنش به روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) تعقیب شد. بعد از پایان واکنش، اسید

کلرید تولید شده برای استفاده در مرحله بعد در شرایط خشک و دور از رطوبت نگهداری گردید. محصول تولید شده به آسانی از روی طیف IR شناسایی میگردد. در طیف IR نمک آمونیوم ۲- فورانیل-(Z)-۲- متوکسی ایمینو استیک اسید یک پیک در cm^{-1} ۱۶۰۲ مشاهده می‌شود که مربوط به گروه کربونیل نمک آمونیوم۲- فورانیل-(Z)-۲- متوکسی ایمینو استیک اسید می‌باشد. پس از کلره کردن نمک مورد نظر، پیک ناحیه cm^{-1} ۱۶۰۲ ناپدید شده و پیکی در cm^{-1} ۱۷۳۴ ظاهر می‌شود که متعلق به گروه کربونیل اسید کلرید می‌باشد.

مرحله مهم در تهیه سفالوسپورین های نیمه سنتزی تشکیل پیوند آمیدی از طریق واکنش گروه آمین ترکیب ß-لاکتام با یک عامل آسیله کننده از قبیل اسید، اسید کلرید، انیدرید می‌باشد. در این پروژه پیوند آمیدی در ساختار سفوروکسیم نیز از واکنش آمین آزاد 7-AHCA با اسید کلرید به دست آمده از SMIA ایجاد شد. برای این منظور به سوسپانسیون ۷- آمینو-۳-هیدروکسی متیل سفالوسپورانیک اسید حاصل از مرحله اول در دی کلرومتان خشک، باز آلی DBU اضافه کرده تا۷-AHCA حل شود.(۹-۸ =ph) پس از حل شدن تری اتیل آمین افزوده وسپس ۲-فورانیل- (Z)-۲- متوکسی ایمینو استیل کلرید حاصل از مرحله دوم کم کم به این محلول اضافه می‌شود طی هم خوردن مخلوط واکنش در دمای 0^oC ، پیشرفت واکنش به روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) با نسبت مناسب از حلالهای متانول : اتیل استات (۱۶:۴) تعقیب می‌شود. بعد از گذشت مدت زمان ۸-۷ ساعت و اطمینان از پایان واکنش، با افزایش ۳ میلی لیتر آب و هم خوردن مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه، دو فاز آلی وآبی توسط دکانتور جدا شده و فاز آبی دوبار با دی کلرو متان شسته می‌شود. سپس به فاز آبی قطره قطره HCl ۴٪ اضافه کرده تا زمانی که ph آن به حدود ۳-۲ برسد در این ph محصول مورد نظر به صورت رسوب سفید رنگی ظاهر می‌شود که رسوب حاصل پس از صاف کردن در دمای محیط خشک می‌شود. ترکیب ۳- هیدروکسی سفوروکسیم با راندمان ۶۵٪ به دست می‌آید که در دمای ^oC ۲۱۷-۲۱۵ تجزیه می‌شود.

مشخصات طیف‌های IR ، ^{13}C NMR و ^1H محصول در زیر آورده شده‌است.

اطلاعات عمومی:

۷-آمینو سفالوسپورانیک اسید (7-ACA) و نمک آمونیوم سین ۲- فورانیل- (Z)-۲- متوکسی ایمینو استیک اسید(SMIA) به ترتیب از شرکت‌های Hangzhou viwa و Hebi Raw و بقیه مواد اولیه مورد نیاز از شرکت های فلوکا یا مرک خریداری شده است .

برای تعیین خلوص واکنشگرها و پیشرفت واکنش از کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) با ضخامت لایه ۰/۲ میلیمتر، اندازه دانه ها ۳۰-۲۰ میکرومتر و شناساگر فلورسانس ۲۵۴ نانومتر و برای اندازه گیری دمای ذوب از دستگاه Electro Thermal 9100 استفاده شده است.

طیف های NMR ^{13}C و ^{1}H با دستگاه NMR مدل Bruker Drx-500 Avance و طیف‌های IR به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر شرکت FT-IR Bruker Vector 22 spectrometer گرفته شده است.

۷- آمینو-۳-هیدروکسی متیل-۳-سفم-۴- کربوکسیلیک اسید

IR (KBr) (υmax, cm-1): 3374, 3164, 1797, 1621, 1538; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO): δ 3.48(2H, ab quarted, J= 18.2 Hz), 4.19(2H, s), 4.53-5.7(4H bs), 4.71(1H, d, J=4.9 Hz), 4.91(1H, d, J=4.9 Hz) ^{13}C NMR(75 MHz, DMSO): δ 25.06, 58.9, 60.06, 63.4, 123.9, 129.26, 163.7, 169.9.

۳- هیدروکسی سفوروکسیم

IR (KBr) ($\upsilon_{max,}$ cm^{-1}):3374, 3328, 1765, 1729, 1679, ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO): δ 3.81 (2H, s), 3.89(4H, bs), 5.05(2H, s), 5.19(1H, d, *J*=5.01 Hz), 5.96(1H, dd, $^{1,2}J$= 5.10 Hz, $^{2,3}J$= 7.58 Hz), 6.64-6.69(m, 2H), 7.85(bs, 1H), 9.88(1H, d *J*=7.42 Hz); ^{13}C NMR(75 MHz, DMSO): δ 23.45, 54.24, 58.133, 60.192, 63.21, 112.8, 113.69, 123.59, 143.47, 145.72, 146.20, 146.28, 162.47,163.67, 167.34.

مراجع:

1- H. Staudinger, *Liebigs Ann. Chem.*, 1907, 51, 365.

2- P. Garzone, J. Lyon, V. L. Yu, *Drug Intell. Clin. Phar.* 1983, 17, 507.

3- J. Shuailee, S.-W. Koo, I-H. Lui, H.-P. Wang, *Journal of food and drug analysis* 1997, 5, 185.

4- R. N. Gruneberg, *J. Antimicrob. Chemonth.* 1996, 38, 155.

5- S. L. Berk, J. H. Kalbfleisch, *J. Antimicrob. Chemonth*. 1996, 38, 85

6- M. D. Bachi and O. Goldberg, *J. Chem. Soc.*, 1972, 319.

7- C. M. Christopher, *US. Pat*. 1976, 3 966 717.

8- Y. Gordon, *US. Pat*. 1976, 3 974 153.

9- S. SantoshKumar, R. P. Tiwari, J. Praveen, *Synthetic Commun.*, 2003, *33*, 2475.