

反相高效液相色谱法测定空气氧化青霉素衍生物反应的转化率

户秋义, 赵继全, 朱领地, 李梦青, 李国华, 王 阳, 葛凤燕

(河北工业大学化工学院制药工程系, 天津 300130)

摘要 在空气氧化青霉素衍生物合成亚砷的反应中,用溶胶-凝胶法包容催化剂乙酰丙酮钴(III),使反应在非均相条件下进行。采用反相高效液相色谱法测定了该反应的转化率。采用的色谱柱为 C18 反相柱(4.6 mm i.d. × 150 mm, 10 μm),流动相为甲醇-水(体积比为 85:15)溶液。在 270 nm 检测波长下,青霉素 G-对甲氧基苄基酯亚砷(PGPMBO)检测量在 0.05 g·L⁻¹~0.40 g·L⁻¹时,与其峰面积具有良好的线性关系,线性相关系数为 0.999 2。在不同反应条件下反应的最高转化率为 98.8%。该方法可直接对反应体系进行测定,可以快速准确地测定出反应的转化率,准确地反映出反应的真实情况。

关键词 高效液相色谱法;空气氧化;反应转化率;青霉素衍生物;亚砷

中图分类号 O658 文献标识码 A 文章编号 1000-871X(2002)05-0459-03

Determination of the Conversion of Air Oxidation of Penicillin Derivatives by High Performance Liquid Chromatography

HU Qiu-yi, ZHAO Ji-quan, ZHU Ling-di, LI Meng-qing,
LI Guo-hua, WANG Yang, GE Feng-yan

(Department of Pharmaceutical Engineering, School of Chemical Engineering,
Hebei University of Technology, Tianjin 300130, China)

Abstract: In air oxidation of penicillin G *p*-methoxybenzyl ester (PGPMB) to its sulfoxides (PGPMBO), sol-gel technique was employed to encapsulate the catalyst Co(acac)₃, by which the reaction was run under heterogeneous conditions. A reversed-phase high performance liquid chromatographic method was established for the determination of the conversion of this reaction. The analysis of PGPMBO was carried out on a C18 column (4.6 mm i.d. × 150 mm, 10 μm) with the mobile phase of methanol-water (85:15, V/V), at a flow rate of 1 mL·min⁻¹ and with detection wavelength of 270 nm. The linearity of the calibration curve of PGPMBO was obtained over the range of 0.05 g·L⁻¹ - 0.40 g·L⁻¹ with a relative coefficient of 0.999 2. The highest conversion was 98.8%. The method can be applied to determine this conversion promptly in the reaction system.

Key words: high performance liquid chromatography; air oxidation; conversion; penicillin derivative; sulfoxide

青霉素衍生物亚砷是一种重要的医药中间体,可用双氧水及其他过氧化物氧化其相应的硫化物制得^[1-6]。这些反应的转化率较高,但是很容易导致过度氧化,而且过氧化物本身可能会导致爆炸^[7]。从环保、安全和经济的角度考虑,用空气或氧气作氧化剂是非常有吸引力的。我们在 Tanaka 等人^[8]研究的基础上用空气氧化青霉素衍生物合成亚砷,用溶胶-凝胶技术包容催化剂乙酰丙酮钴(III)^[9],使反应在非均相条件下进行,并用高效液相色谱法(HPLC)直接对反应体系进行转化率测定。在仅有

的几篇关于 β-内酰胺类抗生素药物的 HPLC 测定的文献^[10-12]中,流动相多采用缓冲溶液,这势必给色谱柱和管路带来一定程度的损害。而本文只用甲醇-水作流动相,避免了无机盐对色谱系统的腐蚀。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

岛津 LC-10AT VP 高效液相色谱仪;青霉素 G-对甲氧基苄基酯(PGPMB)自制^[13];甲醇(色谱纯);乙酰丙酮钴(III)Co(acac)₃自制^[14];1,2-二

氯乙烷、异丁醛均为分析纯 ;实验用水为双蒸水。

1.2 高效液相色谱条件

色谱柱为 C18 反相柱 (4.6 mm i.d. × 150 mm, 10 μm, 日本岛津公司) ;流动相为甲醇-水 (体积比为 85:15) 溶液 ;检测波长为 270 nm ;柱温为室温 ;进样量为 10 μL。

1.3 空气氧化青霉素 G-对甲氧基苄基酯

准确称取 1 g 粗品 PGPMB (高效液相色谱法测定其质量分数为 92.3%) 溶于 20 mL 二氯乙烷中, 再向其中加入溶胶-凝胶包容的 $\text{Co}(\text{acac})_3$ (含 $\text{Co}(\text{acac})_3$ 6.25 mg) 和 0.7 mL 异丁醛, 向反应瓶中鼓入空气, 同时在室温常压下搅拌 2.5 h。

1.4 工作曲线的制作

1.4.1 青霉素 G-对甲氧基苄基酯亚砷 (PGPMBO) 标准品的制备

将反应得到的粗品 PGPMBO 通过硅胶柱, 流动相为乙酸乙酯-环己烷 (体积比为 1:1), 提纯 3 次 ;然后做薄层色谱分析 (硅胶板, 展开剂为乙酸乙酯-环己烷 (体积比为 1:1)), 对薄层板分别用紫外灯照射、碘熏及硫酸喷 3 种方法进行检测, 均无其他杂质 ;最后做 HPLC 分析, 测得其纯度为 99.2% (质量分数)。分别对其进行熔点、红外光谱 (IR)、核磁共振谱 ^1H NMR, ^{13}C NMR 分析, 结果如下 :

IR (KBr) : 3 360 cm^{-1} , 2 961 cm^{-1} , 1 796 cm^{-1} , 1 745 cm^{-1} , 1 688 cm^{-1} , 1 515 cm^{-1} , 1 252 cm^{-1} , 1 206 cm^{-1} , 1 035 cm^{-1} 。

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) : δ = 0.99 (s, 3H), 1.58 (s, 3H), 3.54 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 4.58 (s, 1H), 4.93 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 5.18 (ABq, J = 11.7 Hz, 2H), 6.00 (dd, J = 4.6 Hz, 10.3 Hz, 1H), 6.84 (m, 2H), 7.03 (d, J = 10.3 Hz, 1H), 7.20 ~ 7.40 (m, 7H)。

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) : δ = 18.2, 19.2,

43.2, 55.1, 56.2, 66.0, 67.6, 75.2, 76.5, 114.0, 126.7, 127.2, 128.7, 129.1, 130.6, 133.8, 159.9, 167.6, 170.5, 173.4。

熔点 : 149 °C (文献值为 149 °C^[15])。

以上各项测定结果表明 PGPMBO 纯度很好, 可以作为标准品。

1.4.2 工作曲线

准确称取 100 mg PGPMBO 标准品置于 100 mL 容量瓶中, 先用少量二氯乙烷溶解, 再用 HPLC 流动相稀释到刻度, 摇匀。准确吸取上述溶液 1.25 mL, 2.5 mL, 5.0 mL, 7.5 mL, 10.0 mL, 12.0 mL, 14.0 mL, 16.0 mL 和 18.0 mL, 分别置于 25 mL 容量瓶中, 用 HPLC 流动相稀释至刻度, 摇匀即得 PGPMBO 系列标准液。分别取 10 μL 注入高效液相色谱仪, 用峰面积 Y 对质量浓度 X (g/L) 作图即得工作曲线。

1.5 PGPMB 转化率的测定

反应结束后, 滤出催化剂, 用移液管移取 1.2 mL 滤液于 50 mL 容量瓶中, 用 HPLC 流动相稀释至刻度, 摇匀。取一定量该溶液经微孔滤膜过滤后作为待测液。取 10 μL 注入高效液相色谱仪, 根据工作曲线, 由峰面积求得 PGPMB 的转化率。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的选择

将 PGPMBO 标准液在 200 nm ~ 300 nm 内扫描, 其最大吸收波长为 270 nm。在此波长下甲醇及二氯乙烷无吸收, PGPMB 和 $\text{Co}(\text{acac})_3$ 有很强的吸收, 且二者与 PGPMBO 分离良好 (见图 1)。图 1-b 中 2.408 min 处的峰为 PGPMB 中的杂质峰, 由图 1-a 中 2.408 min 处的峰可知该杂质不参与反应, 对 PGPMBO 的测定无影响。故该色谱条件可用于测定 PGPMBO 的含量, 从而计算反应的转化率。

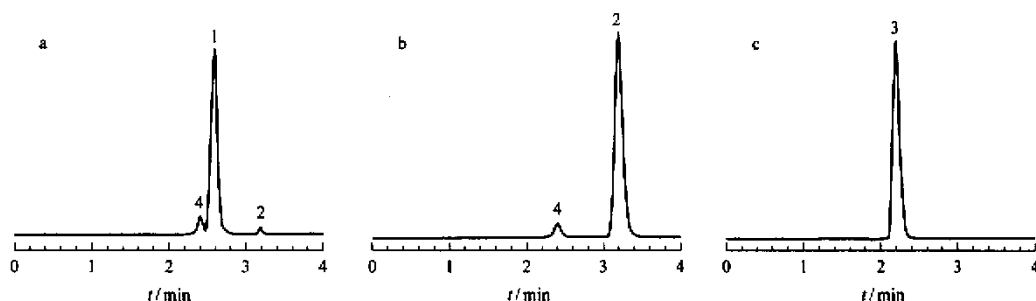


图 1 反应混合物 (a) 青霉素 G-对甲氧基苄基酯原料 (b) 和催化剂 $\text{Co}(\text{acac})_3$ (c) 的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of the reaction mixture (a), the raw of penicillin G *p*-methoxybenzyl ester (b) and catalyst $\text{Co}(\text{acac})_3$ (c)

1. sulfoxide of penicillin G *p*-methoxybenzyl ester ; 2. penicillin G *p*-methoxybenzyl ester ; 3. $\text{Co}(\text{acac})_3$; 4. impurity in penicillin G *p*-methoxybenzyl ester.

2.2 线性关系

按上述实验条件,PGPMBO 在 $0.05 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \sim 0.40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,以其峰面积 Y 对其标准液的质量浓度 $X(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$ 作线性回归,得到的线性方程为: $Y = 1392500X + 58540$, 线性相关系数 $r = 0.9992$ 。

2.3 PGPMB 转化率的测定

在用空气氧化 PGPMB 的反应中,由于空气中的氧气含量较低,且氧气属于比较弱的氧化剂,所以 PGPMB 不会被过度氧化成砷,而且在液相色谱图中也没有检测到其他产物,故可认为该反应为定向反应。转化率计算式为 $\eta = [x \cdot (50 \cdot V_1) / (V_2 \cdot W)] \times 100\%$, 其中 x 为反应后混合液中 PGPMBO 的质量浓度($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$),由回归方程求得; V_1 为反应后混合液的体积(mL); V_2 为配制的 50 mL 待测液中含反应后混合液的体积(mL); W 为 PGPMBO 的理论产量(mg)。利用该色谱条件,测定不同条件下包容的 $\text{C}(\alpha\text{-acac})_3$ 作催化剂时反应的转化率,结果列于表 1。

表 1 不同条件下溶胶-凝胶包容的 $\text{C}(\alpha\text{-acac})_3$ 催化空气氧化青霉素 G-对甲氧基苄基酯反应的转化率

Table 1 The conversion of penicillin G *p*-methoxybenzyl ester oxidized by air catalyzed by sol-gel entrapped $\text{C}(\alpha\text{-acac})_3$ under different conditions %

Initial pH value during sol-gel process	Matrix		
	SiO_2	TiO_2	Al_2O_3
5	98.8	91.2	96.7
6	89.5	97.0	90.1
8	94.5	95.3	95.6

Reaction conditions: 1 g crude PGPMB, sol-gel entrapped $\text{C}(\alpha\text{-acac})_3$ (containing $\text{C}(\alpha\text{-acac})_3$ 6.25 mg) and 0.7 mL isobutyraldehyde, stirring for 2.5 h.

参考文献:

- [1] Tanaka M, Konoike T, Yoshioka M. Synthesis, 1989, (3):197
- [2] Brown S W, Lee A M, Oakes S C. EP710647, 1996
- [3] Juan C C, Alberto P C. Afinidad, 1986, 43(406):505
- [4] Kamiya T, Nakamura H, Nakaguchi O. JP7391087, 1973
- [5] Alberto P C. Span ES509855, 1983
- [6] Yoshika Y, Tanaka M. JP6150986, 1986
- [7] Carruthers W. Some Modern Methods of Organic Synthesis. Cambridge: Cambridge University Press, 1986. 403
- [8] Tanaka H, Kikuchi R, Torii S. Tetrahedron, 1996, 52(7):2343
- [9] Livage J, Henry M, Sanchez C. Prog Solic State Chem, 1988, 18(4):259
- [10] Rogic D, Herak J J. Acta Pharm Jugosl, 1987, 37(2):135
- [11] Lipczynski A M. Analyst, 1987, 112(4):411
- [12] FENG Sheng-xi, LIU Xiao-hong, HUANG Min-kang, YANG Hui, WU Gui-long. Chinese Journal of Antibiotics, 1999, 24(3):178
冯胜昔, 刘晓红, 黄敏康, 杨辉, 吴桂龙. 中国抗生素杂志, 1999, 24(3):178
- [13] Imamiya K. JP 04108793, 1992
- [14] Shalhoub G M. J Chem Educ, 1980, 57(7):525
- [15] Bywood R, Gallagher G, Sharma G K, Walker D. J Chem Soc Perkin I, 1975, 20:2019