

10-羟基喜树碱的合成

李 斌 马金娥 傅 莉 徐春艳*

(北京化工大学理学院, 北京 100029)

摘 要: 文中采用半合成法对 10-羟基喜树碱的制备进行了研究, 以喜树碱为原料, 通过氧化和光化两步反应得到 HPT 初产品。通过对氧化反应的时间、温度、投料比以及光化反应的溶剂、催化剂的研究, 得到了较佳反应条件, HPT 初产品总收率为 47.06%, 纯度 92.07%。

关键词: 喜树碱(CPT); 10-羟基喜树碱(HPT); 喜树碱氮氧化物(OPT)

中图分类号: O621.3

10-羟基喜树碱(10-hydroxy camptothecin, 简称 HPT)是从我国特有植物喜树(*Camptotheca acuminata*)的果实中提取出来的一种新型有效的抗肿瘤药物^[1-2], 在医疗卫生领域有广泛用途, 也是用于制备诸如伊诺替康(Irinotecan)和拓扑替康(Topotecan)等重要喜树碱衍生物的中间体。20 世纪 90 年代初, 经美国 FDA 指定的权威医学研究机构组织的临床实验表明, 抗癌新药“伊诺替康”和“拓扑替康”的抗癌作用总体上与紫杉醇相当或优于后者, 喜树碱及其衍生物必将成为一大类重要临床用抗肿瘤制剂。因此对 HPT 合成方法的研究, 在合成抗癌药物方面意义尤为重要, 同时可以节约国家外汇, 增加出口创汇, 对我国医疗卫生事业乃至国民经济的发展都有着重要的意义。

目前, 10-羟基喜树碱的合成主要有以下三种合成方法: 全合成法^[3-4]、生物转化法^[5]以及半合成法^[6-7]。

其中全合成法虽然可以制得 10-羟基喜树碱, 但其步骤太多导致总收率很低(12%左右), 并且所得产品需要拆分异构体 D 型与 L 型, 导致成本进一步升高, 从而其实际生产意义不大。而生物转化法存在以下缺点: (1) 菌株的培养需要耗费较长的时间和较多的财力; (2) 发酵液的提取过程比较麻烦, 耗费了大量的溶剂, 并且造成了环境污染。

本文采用半合成方法来制备 10-羟基喜树碱,

即: 先用过氧化氢将喜树碱氧化成氮氧化物(OPT), 再利用光化学重排反应制备目标产物。该法步骤少, 收率高, 操作简单, 对环境污染小。

1 实验部分

1.1 反应历程

反应历程见图 1。

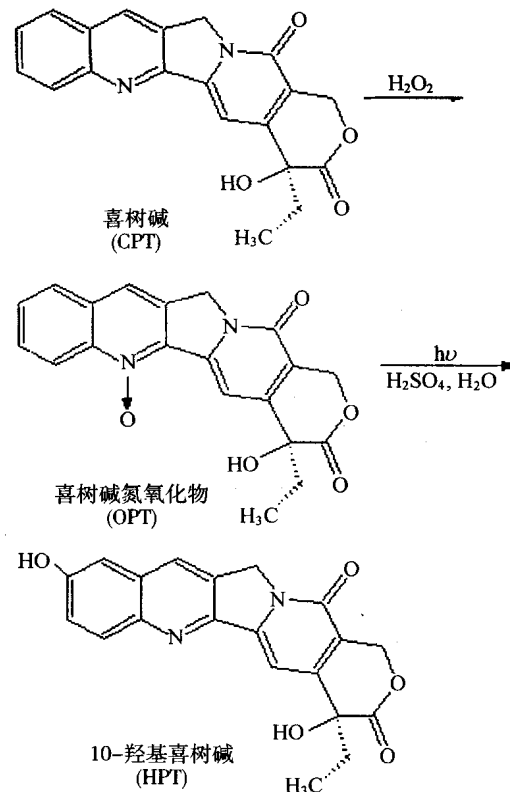


图 1 半合成法制备 10-羟基喜树碱

Fig. 1 Partial synthesis of HPT

收稿日期: 2003-06-16

第一作者: 男, 1975 年生, 硕士生

*通讯联系人

E-mail: lbhsm1998@sina.com

1.2 实验仪器

高效液相色谱仪 (LA-10AT vp)、紫外检测器 (SPD-10A vp)、色谱工作站 (CLASS-VP)、ODS 柱 (150 mm \times 4.6 mm ID), 以上皆为日本岛津制作所产品; 磁力搅拌器, 98-1 型, 上海司乐仪器厂; 高压汞灯, 500 W 单端, 北京电光源研究所; 高速离心机, YXI- 型, 江苏金坛新一佳仪器厂; 超声波清洗器, KQ218 型, 昆山市超声仪器有限公司。

1.3 实验试剂

喜树碱 (Camptothecin), 四川省什邡华福药业有限公司; 冰乙酸、N, N-二甲基乙酰胺, 分析纯, 天津市化学试剂六厂; 质量分数 30 % 过氧化氢、1, 4-二氧六环, 浓硫酸, 分析纯, 北化精细化学品有限责任公司; 乙腈, 分析纯, 天津市康科德科技有限公司; 高锰酸钾, 分析纯, 北京益利精细化学品有限公司。

1.4 实验方法

1.4.1 氧化反应 将 3.5 g 喜树碱、350 mL 冰乙酸以及 48 mL 的 30 % 过氧化氢溶液依次投入 500 mL 的三口烧瓶中, 室温下搅拌 30 min, 升温至 75 $^{\circ}$ C 后, 恒温反应 4 h。停止加热, 自然冷却至室温后减压浓缩至原溶液体积的 1/4 左右。将釜液倒入约为其 10 倍体积的冰水中静置过夜, 有黄色结晶析出。次日抽滤、干燥, 即得到喜树碱氮氧化物初产品。

1.4.2 光化反应 图 2 为光化反应装置图。将 1 g

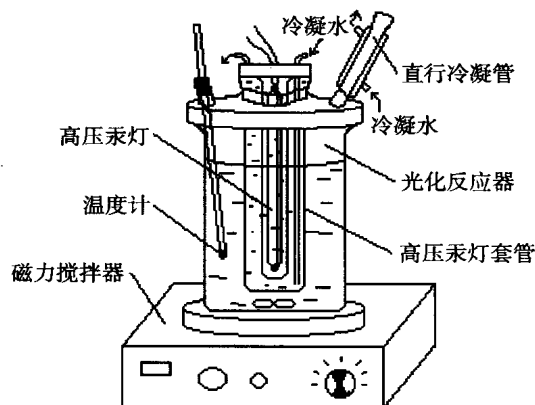


图 2 氮氧化物光化反应装置图

Fig. 2 Device scheme of OPT photoactivation

喜树碱氮氧化物, 500 mL 1, 4-二氧六环, 400 mL 乙腈, 100 mL 水以及 10 mL 浓硫酸依次加入光化学反应器中, 充分搅拌均匀后, 500 W 高压汞灯照射 30 min。停止反应, 将反应液减压浓缩至原溶液体积的 1/10 左右, 釜液倒入 1 L 冰水中, 静置过夜, 有黄色结晶析出。次日抽滤, 滤渣用少量水洗涤、干燥,

即得到 10-羟基喜树碱初产品。

1.4.3 产品结晶纯度的测定 目前 10-羟基喜树碱结晶的纯度用两种方法进行分析, 即高效液相色谱法 (HPLC 法) 与三维同步荧光法。

本实验采用 HPLC 法来检测 10-羟基喜树碱初产品结晶的纯度。色谱条件: 色谱柱为 Shim-pack Vp-ODS; 流动相体积比 $V_{\text{甲醇}}: V_{\text{二次蒸馏水}} = 60:40$; 流速 0.8 mL/min; 进样量 5 μ L; 检测波长 254 nm。

2 结果与讨论

2.1 氧化反应

本文分别从反应时间、反应温度、冰乙酸投料量以及过氧化氢投料量四个方面对氧化反应的影响进行了探讨。

2.1.1 反应时间对氧化反应的影响 在喜树碱投料量为 0.01 mol (3.5 g) 的情况下, 对氧化反应体系每 30 min 取样一次, 进行 HPLC 分析, 由各物质的峰面积增加或减少, 可知各物质在氧化过程中的增长或消耗状况。

图 3 给出了氧化反应过程中喜树碱、氮氧化物和副产物的峰面积与反应时间的关系。

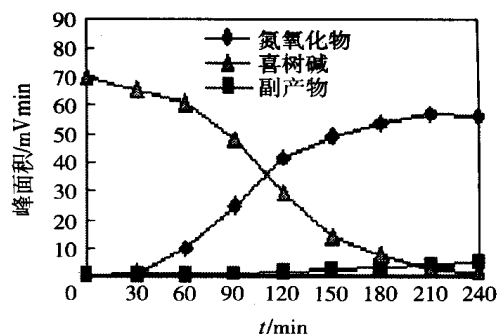


图 3 氧化反应各物质峰面积与时间的关系

Fig. 3 Relations of peak area and time of all things in CPT oxidation

由图 3 可知, 在氧化过程中, 喜树碱原料随着反应时间的增长而比较平稳的消耗, 而喜树碱氮氧化物以及副产物的含量都随反应时间的增长而增加, 喜树碱氮氧化物增加的速率远远超过副产物增加的速率, 反应的选择性逐渐升高, 反应达 120 min 时, 原料喜树碱还剩下约 33 %, 喜树碱氮氧化物与副产物的峰面积比此时达到最高, 为 30.1, 说明此时反应的选择性最好。

随着反应时间的继续延长, 喜树碱原料进一步消耗, 其消耗的速率慢慢地降低; 同时喜树碱氮氧化

物含量的增加开始平缓,在反应进行到 210 min 时达到最高值,此后其含量随时间的延长有缓慢降低的趋势。而副产物含量的增加速率加快,并一直随时间的延长而升高。因而喜树碱氮氧化物与副产物的峰面积之比也呈现迅速下降的趋势。

在停止反应时,喜树碱基本反应完全,转化率达到约 97.8 % (由喜树碱反应前后 HPLC 峰面积之比得来),主产物与副产物的峰面积之比为 11.3。假定主产物与副产物对 254 nm 处的紫外波长吸收响应值一样,则此反应的选择性约为 91.9 %。

从实验中发现,此氧化过程中产生一副产物,且在反应的后半段时间里副产物含量增长较快;同时,此副产物在反相 HPLC 中的保留时间较短。由此推断:此副产物可能为喜树碱氮氧化物分子中的内酯环水解而生成。

综合考虑此氧化反应的原料成本、转化率以及选择性,在喜树碱投料量为 0.01 mol 的情况下,选择反应时间 3.5 ~ 4 h 为宜。

2.1.2 反应温度对氧化反应的影响 在喜树碱投料量为 0.01 mol,其它反应条件相同的情况下,考察了反应温度对氧化反应的影响,如表 1 所示。

表 1 反应温度对氧化反应的影响
Table 1 Influence of reaction temperature on CPT oxidation

序号	反应温度 /	氧化结晶 纯度/ %	氧化产品 收率/ %	反应时间 / h
6	85	85.5	30.2	2.5 ~ 3.0
15	80	86.2	68.1	~ 3.0
17	75	87.5	79.5	~ 4.0
16	70	88.3	79.7	~ 5.0
9	65	89.0	80.6	~ 7.0

从表 1 中可以看出,随着反应温度的升高,所得氧化反应产物结晶的纯度——喜树碱氮氧化物的纯度(HPLC 测定值)基本恒定,收率则依次降低。这是因为随着反应温度的升高,有利于喜树碱氮氧化物分子中内酯环的水解,因而副产物的含量升高;而在反应的后处理过程中,因引入了大量的水,羧酸盐副产物易溶解于水而被除去,因此反应所得氧化产物结晶纯度基本一致。

但是,随着反应温度的降低,完成反应所需的时间迅速延长。为了提高反应效率以及得到较好的收率,实验选取 75 作为氧化反应的温度,此时氧化

反应可达到 79.5 % 的收率,反应时间约为 4 h (符合前面最佳反应时间的要求)。

2.1.3 乙酸投料量对氧化反应的影响 在喜树碱投料量为 0.01 mol,温度为 75 ,其它反应条件相同的情况下,考察了乙酸投料量对氧化反应的影响,如表 2 所示。

表 2 乙酸投料量对氧化反应的影响
Table 2 Influence of HOAc on CPT oxidation

序号	乙酸体积 / mL	氧化结晶 纯度/ %	产品收率 / %	反应时间 / h
3	500	88.0	69.1	3.5
15	350	86.2	68.1	3.5 ~ 4.0
13	250	84.4	63.7	~ 4.0
11	150	75.0	41.8	~ 6.0

显然,随着乙酸投料量的增加,喜树碱氮氧化物的收率急剧上升,在投料量增加为 350 mL 后,收率上升趋于平缓;同时氧化物结晶纯度随乙酸加入量的增加而增加;完成反应所需时间随乙酸投料量的增加而缩短,最后恒定于 3.5 h。

从节省原料、降低反应成本的角度出发,选取乙酸投料量在 350 mL 左右时最佳。

2.1.4 过氧化氢投料量对氧化反应的影响 在喜树碱投料量为 0.01 mol,温度为 75 ,乙酸投料量为 350 mL 的情况下,考察了氧化剂-过氧化氢的投料量对氧化反应的影响,如表 3 所示。

表 3 H₂O₂ 投料量对氧化反应的影响
Table 3 Influence of H₂O₂ on CPT oxidation

序号	H ₂ O ₂ 投料 量/ mL	氧化结晶 纯度/ %	产品收率 / %	反应时间 / h
4	80	89.0	61.8	3.0
7	64	88.4	72.3	~ 3.0
8	48	88.2	84.8	~ 4.0
9	32	89.3	86.2	~ 7.0

由表 3 可知,随着过氧化氢加入量由 32 mL 增加到 80 mL,喜树碱氮氧化物结晶的纯度基本恒定在 88 % ~ 89 %;喜树碱氮氧化物结晶收率却从 86.2 % 降为 61.8 %;同时完成反应所需的时间减少。

从提高反应效率、兼顾反应收率的方面考虑,选取过氧化氢投料量为 48 mL 时,能得到较好的效果。

2.2 光化反应

喜树碱氮氧化物在紫外光照射条件下进行重排,这是一个芳香环上的亲核取代反应。喜树碱氮氧化物中带部分正电荷的氮原子在质子酸的进攻下,形成季氮离子;然后在紫外光的照射下吸收光子,形成共轭体系;该共轭体系可以直接脱除一个氢氧根离子,生成喜树碱副产物,也可以在水分子中氧原子的孤对电子的进攻下,生成不稳定体系,此体系脱除一个氢氧根离子,即得到 10-羟基喜树碱。

本实验主要对此光化反应的溶剂以及质子酸催化剂进行了研究。

2.2.1 光化溶剂对反应的影响 本实验在投料 1 g 喜树碱氮氧化物,以浓硫酸为质子酸催化剂时,分别采用以下各种溶剂进行光化学反应,相应实验数据见表 4。

表 4 不同溶剂对光化反应的影响

Table 4 Influence of solvent on OPT photoactivation

序号	光化溶剂	光化结晶纯度/ %	收率/ %
2	$V_{(1,4\text{-二氧六环})} V_{(\text{乙腈})}$ $V_{(\text{水})} = 5:4:1$	92.07	55.5
7	$V_{(\text{N,N'-二甲基乙酰胺})} V_{(\text{水})}$ $= 9:1$	无 HPT 生成, 大量副产物	-
8	$V_{(1,4\text{-二氧六环})} V_{(\text{水})} =$ $6:1$	70.11	20.5
9	冰乙酸	无 HPT 生成, 大量副产物	-
10	$V_{(\text{冰乙酸})} V_{(\text{乙腈})} = 5:4$	无 HPT 生成, 大量副产物	-
11	$V_{(\text{冰乙酸})}$ $V_{(\text{N,N'-二甲基乙酰胺})} = 5:4$	无 HPT 生成, 大量副产物	-

从表 4 可知,此光化实验应采用 1,4-二氧六环、乙腈和水的混合液作为溶剂,此时得到的实验结果最佳, HPT 收率为 55.5%,光化结晶纯度为 92.07%,主要的副产物为喜树碱。

2.2.2 质子酸对反应的影响 本实验分别采用浓硫酸、醋酸以及浓磷酸为提供质子的催化剂,所得数据见表 5。很明显,当采用强质子酸-浓硫酸时,所

表 5 不同质子酸对光化反应的影响

Table 5 Influence of bronsted acid on OPT photoactivation

序号	质子酸催化剂	光化结晶纯度/ %	收率/ %
27	冰乙酸	76.3	22.3
29	浓硫酸	92.7	52.3
31	浓磷酸	25.3	9.0

得光化结晶的纯度以及收率都远远高于采用冰乙酸和浓磷酸为质子酸催化剂时的情况。因此最后采用浓硫酸为质子酸催化剂。

2.3 10-羟基喜树碱初产品的 HPLC 表征

图 4 为光化反应所得的 10-羟基喜树碱初产品结晶的 HPLC 谱图,表 6 为图 4 所对应的数据。由表 6 可知,10-羟基喜树碱初产品纯度为 92.07%。

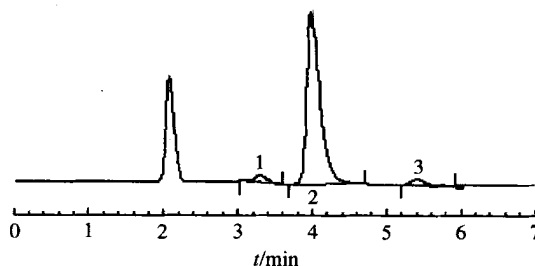


图 4 HPT 初产品的 HPLC 谱图

Fig. 4 HPLC spectrum of the raw product of HPT

表 6 HPT 初产品的 HPLC 谱图相应数据

Table 6 HPLC data of the raw product of HPT

出峰 编号	物质 名称	t / min	峰面积 / mVmin	峰面积 比/ %	理论塔 板数
1	OPT	3.271	2 710	3.835	3 592.28
2	HPT	3.998	65 063	92.07	4 575.69
3	CPT	5.402	2 894	4.095	4 658.70
总数			70 667	100.000	

注:谱图中未标峰为配样溶剂甲醇的峰。

3 结 论

1) 以喜树碱为原料,通过对氧化反应的时间、温度、投料比和对光化反应溶剂、催化剂的实验研究,得到了较佳的反应条件,氧化反应收率可达 84.8%,光化反应收率可达 55.5%。

2) 此半合成法制备 10-羟基喜树碱的总收率为 47.06%,所得 10-羟基喜树碱初产品纯度可达 92.07%。

参 考 文 献

- [1] 崔 岚,戈升荣,王平全.抗肿瘤药物喜树碱及其衍生物的研究现状及前景[J].上海医院药学,1999,10(3): 8-12
- [2] 李玉艳,尤启冬,李志裕,等.抗肿瘤新药伊立替康的合成研究[J].中国药物化学杂志,2001,11(4):238-240
- [3] 蔡俊超,殷孟光,闵爱珠,等. dl-10-羟基喜树碱及 dl-10-甲氧基喜树碱的全合成[J].化学学报,1981,39

- (2):4
- [4] 周云隆, 尤启冬, 李玉艳, 等. 喜树碱及其衍生物的合成 [J]. 中国医药工业杂志, 2001, 32(8): 375 - 380
- [5] 朱关平, 林隆泽, 潘文君, 等. 生物转化法制备 10-羟基喜树碱 [J]. 科学通报, 1978, 3: 761 - 762
- [6] Boehm, Johnson, Hecht, *et al.* Water soluble camptothecin analogs [P]. EP 0321122A2. 1989-06-21
- [7] Seigo Sawada, Shun-ichi Matsuoka, Ken-ichi Nokata, *et al.* Synthesis and antitumor activity of 20(s)-camptothecin derivatives: α -ring modified and 7, 10-disubstituted camptothecins [J]. Chem Pharm Bull, 1991, 39(12): 3183 - 3188

Synthesis of 10-hydroxy camptothecin

Li Bin Ma Jin-e Fu Li Xu Chun-yan

(College of Science, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Abstract: Preparation of 10-hydroxy camptothecin (HPT) by camptothecin (CPT) through oxidation and photoactivation was studied. The oxidation conditions, such as temperature, time, molar ratio and so on, were examined and the solvent and activator of the photochemical reaction were also researched. The optical conditions were experimentally selected and the total yield of HPT is 47.06 % with 92.07 % purity.

Key words: camptothecin(CPT); 10-hydroxy camptothecin(HPT); camptothecin 1-nitride (OPT)

(责任编辑 曾宪玉)

下期预告

Synthesis of zeolite MCM-22 by vapor-phase transport method from different silica sources

四氯化碳催化加氢制氯仿的实验研究

蜂窝体催化燃烧反应器中流动特性的数值模拟

N,O-羧甲基壳聚糖羧化度计算式的修正

水杨酸在含夹带剂的超临界 CO₂ 中的溶解度研究

2,3-二甲氧基-5-甲基-1,4-苯醌的合成

超临界流体萃取在陶瓷脱脂技术中的应用

表达人胰岛素前体的毕赤酵母菌株的构建

提取大蒜有效成分——有机硫化物

纳米二氧化硅填充线性低密度聚乙烯的等温结晶动力学

活性单体对聚氨酯丙烯酸酯混杂体系感度的影响

抽油杆用 CF/VE 拉挤复合材料在盐溶液中的老化机理

烷基多胺聚合物的合成及其对喷墨记录材料性能的影响

新型烯丙基苯并噁唑的合成及其固化过程

端羟基聚 d,L-乳酸及 d,L-乳酸- ϵ -己内酯共聚物预聚体的合成

K₂CuIn₃Se₆ 的固相合成、晶体结构和性能研究

长链烷基硅油的制备

聚醚型表面活性剂结构的波谱表征

电网分析仪与 PC 机间串行通讯的设计与实现

基于 RS-485 的仿真仪仪表盘的构造

光纤流量计的研制

Petri 网图形建模仿真系统的研究与开发

Mu Zhi-jun *et al*

张 霓等

焦国凤等

刘长霞等

姚晓敏等

韩占武等

纪维维等

李 军等

陈 彬等

江盛玲等

孙 芳等

王莉莉等

胡红芳等

张炳伟等

宋 泳等

王桂花等

林 茵等

董慧茹等

刘凤新等

于红岩等

王 波等

张建朝等