

NGHIÊN CỨU ĐIỀU CHẾ *D*- α -PHENYLGLYCIN LÀM NGUYÊN LIỆU CHO VIỆC BÁN TỔNG HỢP MỘT SỐ THUỐC KHÁNG SINH NHÓM β -LACTAM

Đến Tòa soạn 13-6-2007

PHAN ĐÌNH CHÂU¹, NGUYỄN THỊ NGÂN HÀ¹, ĐẶNG THỊ HUYỀN TRANG¹,
PHAN THỊ PHƯƠNG DUNG²

¹Bộ môn Công nghệ Hoá dược - HCBVTV, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội

²Bộ môn Hoá dược, Trường Đại học Dược Hà Nội

SUMMARY

The DL- α -phenylglycine and D- α -phenylglycine were prepared from benzaldehyd by using Strecker reaction.

I - ĐẶT VẤN ĐỀ

Axit α -aminophenyl axetic hay còn gọi là α -phenylglycin (**1**) là một amino axit, được sử dụng trong y học và trong một số lĩnh vực khác, nhưng đồng phân quang hoạt của nó là *D*- α -phenylglycin (**1a**) hay (R)-(-)-2-phenylglycin được sử dụng với một khối lượng đáng kể trên thế giới để làm mạch nhánh trong các kháng sinh bán tổng hợp nhóm β -lactam (*ampicilline*, *cephalexine*, *cephaloglycine*, *cefaclor*).

Trong những năm vừa qua, tại công ty dược phẩm Mekong Pharm. đã triển khai sản xuất *ampicilline*, cũng như sắp tới trong “Chương trình trọng điểm quốc gia về phát triển hoá dược” có đề ra nội dung đưa nhà máy sản xuất kháng sinh *cephalexin*, *cefaclor* và một số kháng sinh nhóm β -lactam khác đi vào hoạt động thì nhu cầu về nguyên liệu trung gian *D*- α -phenylglycin sẽ là rất lớn.

Trong bài này, chúng tôi giới thiệu kết quả nghiên cứu về việc điều chế *DL*- α -phenylglycin (**1**) và *D*- α -phenylglycin (**1a**).

II - THỰC NGHIỆM

- Nhiệt độ nóng chảy của các chất được đo trên máy Boetius MK của Đức, nhiệt kế không chuẩn độ lại.

- Phổ IR đo trên máy IMPACT 410, Nicolet của hãng Carl Zeiss Jena, Đức tại Viện Hoá học - Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR được đo trên máy Bruker AC-500 (500Hz) tại Viện Hoá học - Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Phổ MS đo trên máy Autospec Premier của hãng Water- Mỹ, tại khoa Hoá học - Trường Đại học Khoa học Tự nhiên.

- Độ quay cực được đo trên máy phân cực kế P1000 của Đức, tại công ty cổ phần Dược liệu Trung ương I Mediplantex

1. Tổng hợp *DL*- α -phenylglycin (**1**)

a) Điều chế *DL*- α -phenylglycin (**1**) [1]

Cho 5 g (0,1 mol) NaCN và 5,9 g (0,11 mol) NH₄Cl vào 1 bình cầu. Thêm 20 ml nước, khuấy ở nhiệt độ phòng cho tan. Vừa khuấy vừa nhỏ từ từ một dung dịch gồm 10 ml (0,1 mol; 10,6 g)

benzeandehit hoà tan trong 20 ml metanol. Phản ứng toả nhiệt làm tăng nhiệt độ lên khoảng 40 - 45°C, tiếp tục khuấy trong 2 - 3 giờ.

Sau khi phản ứng kết thúc, pha loãng hỗn hợp phản ứng với 50 ml nước, chiết hỗn hợp phản ứng với 50 ml benzen, pha benzen được rửa với nước 2 lần (mỗi lần với 5 ml nước).

Chiết pha benzen 3 lần với HCl 6 N (30, 20, 10 ml) thu được pha dung dịch HCl. Dung dịch này được đun hồi lưu 2 giờ, sau đó tẩy màu với 0,5 g than hoạt. Lọc nóng loại than hoạt, dịch lọc được làm lạnh xuống nhiệt độ phòng rồi dùng dung dịch NH₄OH 25% đưa về pH = 7. Tủa tạo ra được làm lạnh, lọc, rửa với nước cho đến lúc hết NH₄Cl. Sau đó rửa 3 lần với 8,0 ml ete; 2,5 ml cồn 95° nóng và 25 ml nước, thu được sản phẩm thô.

Tinh chế sản phẩm thô trên bằng cách hoà tan vào hỗn hợp dung dịch 40 ml NaOH 1N và 25ml ethanol 96°. Khuấy cho hỗn hợp tan hết (nếu không tan hết thì lọc loại chất không tan). Làm nóng đến sôi rồi dùng dung dịch HCl 5 N đưa từ từ về pH = 7 (hết 7,6 ml). Tủa tạo ra được làm lạnh, lọc, rửa với nước 3 lần (mỗi lần 5ml). Sấy khô thu được 4,8 g; 4,9 g; 5,0g *DL*- α -phenylglycin (**1**). (Kết quả của 3 mẻ thí nghiệm hiệu suất lần lượt là 31,79%; 32,45%; 33,11%). Sản phẩm có độ chảy 248-252°C; $\alpha^20_D = 0$ (C=1, HCl 1N)

IR (KBr) cm⁻¹: 3440,21 (v_{N-H,OH}); 2981 - 3100 (v_{C-H}); 2651 (δ_{N-H}); 1657,38 (v_{C=O}); 1581,72 (C=C)

MS (m/z,%): 152 (M); 129 (6,16); 106 (100); 104 (24,80); 79 (41,42); 77(30,54); 60 (16,00); 51 (10,15)

b) *Điều chế DL- α -phenylglycin bằng cách cải tiến tài liệu [1]*

Trong điều chế này chúng tôi thay 20 ml nước để hoà tan NaCN và NH₄Cl ban đầu bằng 25 ml NH₄OH 25%, thay 20 ml metanol bằng 28 ml toluen, bỏ giai đoạn chiết với benzen. Cụ thể như sau:

Cho 5,0 g (0,1 mol) NaCN; 5,9 g NH₄Cl, hoà tan vào 25 ml dung dịch NH₄OH 25%. Cho vào hỗn hợp trên dung dịch gồm 10 ml (0,1 mol) benzandehit đã hoà trong 28 ml toluen.

Khuấy và duy trì ở nhiệt độ phòng hỗn hợp phản ứng từ 2 - 5 giờ. Sau khi phản ứng kết thúc, để yên tạo ra 2 pha. Gạn lấy pha toluen (hữu cơ); chiết pha nước với 10 ml toluen 1 lần nữa. Gộp pha toluen lại, rửa pha này với 3 lần nước (3×15 ml). Chiết pha hữu cơ với dung dịch HCl 6N 3 lần (40, 10, 10 ml) để được *DL*- α -phenyl-axetonitril hydroclorat.

Pha dịch chiết HCl 6N ở trên được cho vào bình đun hồi lưu 2 giờ, sau đó tẩy màu bằng than hoạt. Dịch lọc đưa xuống nhiệt độ phòng và dùng dung dịch NH₄OH 25% đưa pH về 7. Tủa tạo ra được xử lý, tinh chế tiếp tục như đã mô tả trong mục a. Hiệu suất đạt từ 46,65 - 66,23% (kết quả của 6 mẻ thí nghiệm ở các thời gian 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0 giờ). Trong trường hợp thời gian phản ứng là 3 giờ thì cho hiệu suất cao nhất 66,23%.

2. Tổng hợp *D*- α -phenylglycin (**1a**)

a) *Điều chế muối D- α -aminophenyl-axetonitril. L-tactarat (4)*

Cho 5,0 g (0,1 mol) NaCN, 5,5 g (0,1 mol) NH₄Cl hoà tan trong 25 ml NH₄OH 25%. Cho vào hỗn hợp trên một hỗn hợp 5ml benzandehit hoà tan trong 28 ml toluen. Khuấy hỗn hợp phản ứng này ở nhiệt độ phòng trong thời gian 3 giờ. Sau khi phản ứng kết thúc, để yên sẽ tách thành 2 pha. Gạn lấy pha hữu cơ (toluen). Chiết lại pha nước 1 lần nữa với 10 ml toluen. Gộp pha toluen lại và rửa pha này 1 lần với 15ml nước, sau đó 1 lần với 5 ml dung dịch NaHSO₃ bão hoà. Cuối cùng rửa lại 2 lần với nước lạnh (2×15 ml). Vừa khuấy vừa nhỏ giọt từ từ pha toluen thu được ở trên vào một dung dịch gồm 7 g axit *L*-tactaric đã hoà tan trong 17,5 ml hỗn hợp metanol - axeton - nước đã làm nóng lên 45°C. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ này trong 10 giờ. Tủa màu vàng cam dần dần tạo ra làm hỗn hợp phản ứng đặc lại. Làm lạnh bằng nước đá. Lọc và rửa lại tinh thể màu vàng cam với hỗn hợp metanol - toluen. Sấy khô thu được 8,1 g muối *D*- α -aminophenyl-axetonitril *L*-tactarat (**4**). Hiệu suất 57,45%. Sản phẩm màu vàng cam, có nhiệt độ nóng chảy 220 - 222°C.

$\alpha^20_D = + 50,17$ (C=0,598, H₂O)

MS (m/z, %): 132 (M,89,98); 131 (79,46);

116 (54,46); 104 (100); 89 (24,43); 89 (24,43); 77 (87,60); 63 (17,83); 51 (70,36)

b) Điều chế D- α -phenylglycin (1a)

Hoà tan 8,1 g *D*- α -aminophenyl-axetonitril. *L*-tactarat (**4**) ở trên vào 55 ml HCl 24%, làm nóng hỗn hợp lên 92 - 94°C, duy trì ở nhiệt độ này trong vòng 3 giờ. Sau khi kết thúc, làm lạnh xuống 0-5°C, tinh thể tạo ra được lọc, thu được 2,6g muối *D*- α -phenylglycin. HCl. Hoà tan lượng muối này vào lượng nước tối thiểu ở 40°C. Sau đó dùng dung dịch NH₄OH 25% đưa về pH 6-7. Tủa tạo ra được làm lạnh, lọc. Rửa lại tinh thể bằng 2 lần nước cất. Hút kiệt, sấy khô thu được 2,05 g tinh thể trắng của hợp chất **1**. Hiệu suất 47,34%.

Độ nóng chảy 296 - 298°C.

$\alpha^20_D = -148,08^\circ$ (C = 0,405; 1NHCl), (tài

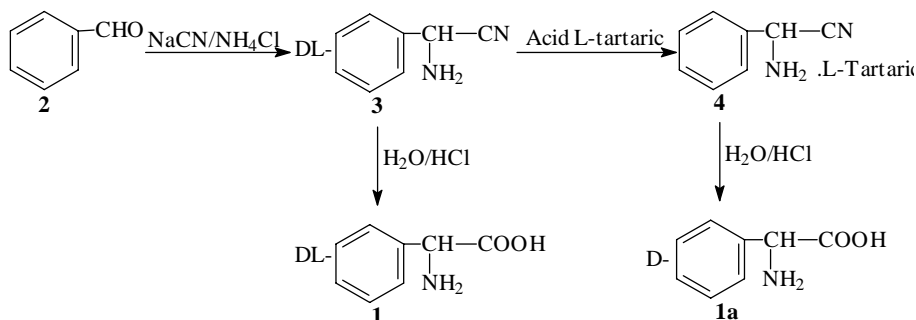
liệu [11] là -155° (C=1; HCl 1N)

IR (KBr) cm⁻¹: 3440,51 ($\nu_{N-H,OH}$); 2658,66 (δ_{N-H}); 1640,58 ($\nu_{C=O}$).

MS(m/z,%): 152 (M); 129 (0,12); 106 (100); 104 (34,13); 79 (51,17); 77 (40,59); 60 (0,59); 51 (24,59).

III - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Có nhiều phương pháp để điều chế *DL*- α -phenylglycin cũng như *D*- α -phenylglycin được công bố [1 - 4],... đi từ các nguồn nguyên liệu khác nhau. Chúng tôi chọn phương pháp điều chế *DL*- α -phenylglycin và *D*- α -phenylglycin đi từ benzandehit trên cơ sở phản ứng của Strecker [1] theo sơ đồ sau:



Theo tài liệu [1], việc điều chế hỗn hợp racemic *DL*- α -phenylglycin được tiến hành bằng phản ứng Strecker giữa benzandehit, natri cyanua, amoni clorua trong môi trường nước - metanol để thu được dẫn xuất racemic nitril **3**. Sau đó dẫn xuất này được thủy phân trong dung dịch HCl 6N ở nhiệt độ đun hồi lưu, thu được muối clohydrat của *DL*- α -phenylglycin và cuối cùng dùng dung dịch NH₄OH đưa pH về 7 để kết tủa lấy *DL*- α -phenylglycin. Hiệu suất thu được 33-37%. Chúng tôi tiến hành 3 mẻ phản ứng, khảo sát sự tái lập lại của quá trình điều chế này, kết quả hiệu suất thu được lần lượt là 31,79%; 33,11%; 33,45%. Kết quả này cho thấy tính tái lập khá tốt nhưng hiệu suất phản ứng đạt được trong khoảng 31,79 - 33,11% là quá thấp. Qua quá trình tìm hiểu, chúng tôi nhận thấy hợp chất nitril **3** là hợp chất không bền, dễ bị phân

huỷ dưới tác dụng của nhiệt, trong môi trường dung môi phân cực. Vì thế chúng tôi tìm cách chuyển dẫn xuất nitril mới tạo thành trong phản ứng đi vào pha dung môi không phân cực (là toluen) nhằm làm giảm sự phá huỷ của dẫn xuất nitril này. Mặt khác để làm tăng nồng độ amoniac trong phản ứng, chúng tôi thay dung môi nước bằng dung dịch NH₄OH 25%. Việc cải tiến này đã nâng hiệu suất điều chế *DL*- α -phenylglycin tăng từ 31,74 - 33,11% lên 52,65 - 55,63%. Sau đó với việc khảo sát tìm thời gian phản ứng phù hợp, chúng tôi đã nâng hiệu suất của quá trình này lên tới 66,23% (ở thời gian là 3 giờ).

DL- α -phenylglycin điều chế ra có $\alpha^20_D = 0$ (C=1, HCl 1N), có độ chảy 254 - 256°C, có pic phân tử trong MS là 152 (đúng bằng phân tử lượng của nó). Trong phổ IR có các dao động

đặc trưng của một amino axit, đó là các đỉnh 3440,21 cm^{-1} (dao động của $\nu_{\text{N-H, OH}}$) 2651,40 cm^{-1} ($\delta_{\text{N-H}}$), 1657,38 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$ axit).

Chúng tôi cũng đã điều chế ra đồng phân quang hoạt *D*- α -phenylglycin, hợp chất cần cho mạch nhánh các kháng sinh β -lactam.

Có nhiều phương pháp điều chế hợp chất quang hoạt *D*- α -phenylglycin, chúng tôi chia các phương pháp này thành 3 nhóm:

Tách lấy *D*- α -phenylglycin từ hỗn hợp biến thể racemic của nó bằng phương pháp tách hoá học [3, 5, 6].

- Tổng hợp đặc hiệu lập thể tạo ra *D*- α -phenylglycin [7, 8].

- Tổng hợp *D*- α -phenylglycin bằng phương pháp enzym [9, 10].

Chúng tôi chọn nhóm thứ nhất làm cơ sở cho việc tách phân lập lấy đồng phân quang hoạt *D*-, nhưng việc tách đồng phân ở giai đoạn cuối cùng của *DL*- α -phenylglycin tương đối khó khăn vì *DL*- α -phenylglycin là một amino axit có cả nhóm chức bazơ và nhóm chức axit. Vì vậy muốn tách đồng phân quang hoạt bằng tác nhân tách axit hoặc bazơ như các tác giả khác [5, 6] đã thực hiện thì phải khoá một trong 2 nhóm chức trên trước khi tách, sau đó phải thủy phân trở lại để loại nhóm bảo vệ. Làm như vậy, hiệu suất sau một lần tách sẽ không cao.

Ở đây chúng tôi thử tiến hành tách đồng phân quang hoạt *D* ngay ở giai đoạn α -aminophenylacetoneitril (**3**) sử dụng tác nhân tách loại axit là axit *L*-tactaric. Làm như vậy thì không cần đến giai đoạn bảo vệ nhóm carbocyclic. Quá trình điều chế *D*- α -phenylglycin của chúng tôi gồm 3 giai đoạn sau:

- Thực hiện phản ứng Strecker giữa benzandehit với NaCN, NH_4Cl trong toluen và hidroxit amoni để được *DL*- α -amino-phenyl-acetoneitril (**3**)

- Tách lấy đồng phân *D*- α -aminophenyl-acetoneitril từ *DL*- α -aminophenyl-acetoneitril bằng cách tạo muối với acid *L*-tactaric dưới dạng *D*- α -aminophenyl-acetoneitril. *L*-tactarat (**4**).

- Thủy phân muối **4** trong dung dịch HCl 6N để thu được *D*- α -phenylglycin (**1a**).

Với cách này ở cuối giai đoạn 2 chúng tôi thu được hợp chất **4** có $\alpha_{\text{D}}^{20} = +50,17^\circ$; ($C = 0,598$, H_2O); sản phẩm có độ chảy 220 - 222°C. Trong phổ khối MS xuất hiện các pic đặc trưng của phân tử *D*- α -aminophenyl-acetoneitril ở 132 (đỉnh phân tử M), 116 (M- NH_3); 105 (M-HCN); 77 (C_6H_5). Sản phẩm cuối của giai đoạn 3 là *D*- α -phenylglycin có $\alpha_{\text{D}}^{20} = -148,08^\circ$; ($C = 0,405$; 1NHCl) (tài liệu [11]) là -155° ($C=1$; HCl 1 N).

IV - KẾT LUẬN

Đã tổng hợp được *DL*- α -phenylglycin trên cơ sở phản ứng của Strecker đi từ benzandehit, NaCN, NH_4Cl theo phương pháp của Streiger, qua đó đã khảo sát để cải tiến một số giai đoạn trong quá trình, nhờ thế mà đã nâng hiệu suất điều chế hợp chất này từ 33 - 37% lên 66,23% (tăng gấp đôi).

Đã tổng hợp thành công đồng phân quang hoạt *D*- α -phenylglycin trên cơ sở phản ứng Strecker và đã tìm được phương pháp thích hợp thuận lợi hơn để tách đồng phân *D* bằng axit *L*-tactaric ngay ở giai đoạn tạo α -aminophenyl-acetoneitril và sau khi thủy phân trong môi trường HCl thu được sản phẩm mong muốn.

Công trình được hoàn thành với sự tài trợ kinh phí của Chương trình Nghiên cứu Cơ bản giai đoạn 2006 - 2008, chúng tôi chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. E. C. Horning. Organic Syntheses, **3**, 84 (1964).
2. M. Barrelle, D. Gaude and M. C. Salon. J. Chem. Educ., **60**, 676 (1983).
3. G. Kessels, et al. U. S. pat. 4,215,233 (1980).
4. E. Rynichi, Y. Tomohide. Jp. Pat. 3,280,895 (1991).
5. G. H. Phillip, et al. U. S. Pat. 3,887,602 (1975).

6. Beecham group: G. B. pat. 1,314,739 (1973).
7. M. Caron, P. R. Carlier, K. B. Sharpless. J. Org. Chem. 53, 5185 (1988).
8. K. Weinges, G. Brune. Ann. Chem., 212 (1980).
9. T. Rojanarata, et al. Biocatalysis and Bitransformation 22, 195 (2004).
10. D. V. Gokhal, et al: Enzyme and Microbial Technology. 18, 353 (1996).
11. Aldrich: Catalog of Handbook of Fine Chemicals 1990 - 1991, 1040.