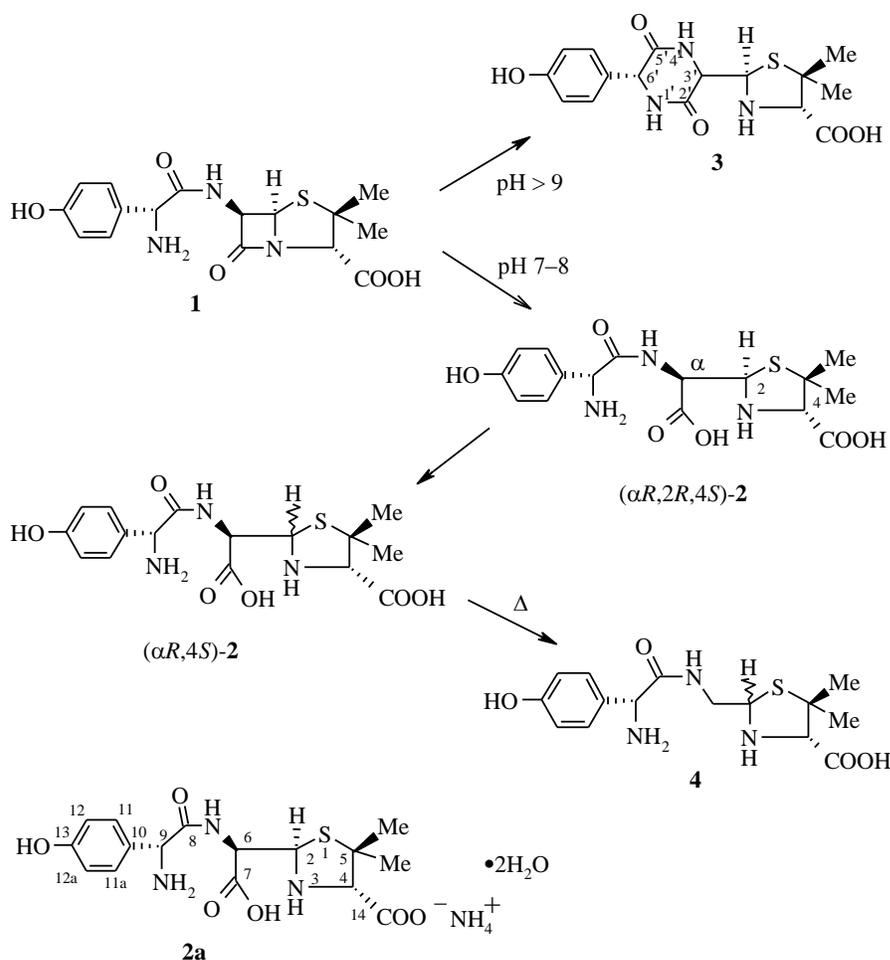


ЭНЗИМАТИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ АМОКСИЦИЛЛОИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Ключевые слова: ($\alpha R, 2R, 4S$)-2-[2(*R*)-амино-2-(4-гидроксифенил)ацетиламино]-4-карбокси-5,5-диметил-2-тиазолидинилуксусная кислота, пенициллиназа *Bacillus cereus*.

($\alpha R, 2R, 4S$)-2-[2(*R*)-Амино-2-(4-гидроксифенил)ацетиламино]-4-карбокси-5,5-диметил-2-тиазолидинилуксусная (амоксициллоиновая) кислота (**2**) является первичным продуктом гидролитического расщепления полусинтетического пенициллина амоксициллина **1**, используемого для лечения бактериальных инфекций. Это объясняет большое количество аналитических исследований по идентификации этих соединений в биологических растворах и промышленных образцах.



Анализ литературных данных показал, что образцы амоксициллоиновой кислоты ($\alpha R, 2R, 4S$)-**2** и ($\alpha R, 4S$)-**2** для аналитических и химических исследований были получены щелочным гидролизом амоксициллина **1**, подкислением или нейтрализацией реакционной среды и ее последующим обезвоживанием [1, 2].

Препаративное гидролитическое расщепление β -лактамного цикла в природных и полусинтетических пенициллинах, приводящее к получению целевых пенициллоиновых кислот,

является рутинной задачей, однако в случае амоксициллина ее решение, осложняется:

а) амфотерными свойствами амоксициллоиновой кислоты **2**, обусловленными наличием амино- и карбоксильной групп, исключающими экстракцию исходного или конечного продуктов реакции органическим растворителем из водного раствора;

б) конфигурационной неустойчивостью в кислой и основной среде 2С хирального центра в ($\alpha R, 2R, 4S$)-**2**, приводящей к образованию соответствующего рацемата ($\alpha R, 4S$)-**2** [3,4];

в) образованием в качестве побочных веществ 2',5'-диоксопиперазинового изомера амоксициллина **3** и амоксилоиновой кислоты **4**, а также других продуктов, затрудняющих выделение и очистку целевого продукта ($\alpha R, 2R, 4S$)-**2**.

*В этой связи мы разработали эффективную методику получения аналитически чистой амоксициллоиновой кислоты ($\alpha R, 2R, 4S$)-**2** гидролитическим расщеплением β -лактамного цикла амоксициллина **1** в присутствии иммобилизованной пенициллиназы *Bacillus cereus* при pH 8. Постоянное значение pH раствора, понижающееся в результате образования дополнительной карбоксильной группы, поддерживали добавлением 10–15% раствора аммиака. Хроматографический контроль окончания реакции с помощью ТСХ свидетельствовал о совпадении окончания процесса понижения pH среды с исчезновением пятна амоксициллина. После удаления иммобилизованной пенициллиназы фильтрованием, фильтрат подкисляли до pH 5.5 разбавленной соляной кислотой, частично упаривали и выдерживали при 5 °С в течение нескольких часов. Выпавший мелкокристаллический осадок отфильтровывали и сушили на воздухе. Согласно данным элементного и дериватографического анализа, полученное вещество является аммонийной солью амоксициллоиновой кислоты **2a**, содержащей две молекулы кристаллизационной воды, и, по данным ВЭЖХ, характеризуется >99.5% чистотой и в пределах чувствительности метода отсутствием исходного амоксициллина.*

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C зарегистрированы на приборе Varian 600 (600 и 150 МГц соответственно) в D_2O , внутренний стандарт ТМС. Элементный анализ выполнен на анализаторе Carlo Erba 1108. Масс-спектры ESI-MS (масс-спектрометр с индуктивно связанной плазмой) получены на приборе Micromass Quattro MicroTM API (MeCN). Контроль за ходом реакции осуществлялся методом ТСХ на пластинках Merck Kieselgel в системе *n*-бутанол–вода–уксусная кислота, 4:1:1, с проявлением нингидрином. Данные ВЭЖХ получены на приборе DuPont Model 8800, снабженном УФ детектором ($\lambda = 210$ нм) и колонкой (4.6 × 150 мм), заполненной фазой Prevail-C18 в системе ацетонитрил + 0.02М K_2HPO_4 (pH 7), скорость потока 1.0 мкл/мин.

Дигидрат аммонийной соли амоксициллоиновой кислоты (2a). К раствору 20 г (47 ммоль) тригидрата амоксициллина в 250 мл дистиллированной воды в трехгорлой колбе, оборудованной водяной баней, мешалкой, pH-метром и авто-титратором, добавляют 1.0 г пенициллиназы *Bacillus cereus* (Sigma), иммобилизованной на полиакриловом носителе. Смесь в течение 1 ч перемешивают при 30 °С, поддерживая pH среды в интервале 7.8–8.2 10% раствором гидроксида аммония, завершение реакции контролируют по ТСХ. Полученный раствор фильтруют, фильтрат подкисляют до pH 5.5 разбавленной соляной кислотой, частично упаривают и выдерживают в холодильнике. Выпавший белый осадок отфильтровывают, промывают ледяной водой, ацетоном и сушат на воздухе. Выход 11.2 г (55%), т. пл. 187–188 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (*J*, Гц): 0.96 (3H, с, 5- CH_3); 1.01 (3H, с, 5- CH_3); 2.93 (1H, д, $^3J = 0.6$, H-4); 4.10 (1H, д, $^3J = 1.3$, $^3J = 4.7$, H-6); 4.90 (1H, д, $^3J = 1.3$, $^3J = 4.7$, H-2); 4.97 (1H, с, H-9); 6.80 и 7.26 (4H, два д, $^3J = 7.2$, C_6H_4). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 23.54 (5- CH_3); 23.96 (5- CH_3); 54.2 (C-9); 56.4 (C-5); 57.5 (C-6); 63.5 (C-2); 73.2 (C-4); 114.4 (C-12); 122.0 (C-10); 127.9 (C-11); 155.0 (C-13); 166.8 (C-8); 173.13 (C-14); 173.54 (C-7). Масс-спектр, *m/z*: 384.1296 [MH^+]. Найдено, %: C 44.65; H 6.30; N 12.92. $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}$. Вычислено, %: C 44.03; H 6.47; N 12.84.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. M. Masada, Y. Kuroda, T. Nakagawa, T. Uno, *Chem. Pharm. Bull.*, **28**, 3527 (1980).
2. Z. Yongxin, E. Roets, R. Busson, G. Janssen, J. Hoogmartens, *Bull. Soc. Chim. Belg.*, **106**, 67 (1997).
3. L. Valvo, E. Ciranni, R. Alimenti, S. Alimonti, R. Draisci, L. Giannetti, L. Lucentini, *J. Chromatogr. A*, **797**, 311 (1998).

4. G. W. K. Fong, R. N. Johnson, B. T. Kho, *J. Chromatogr.*, **255**, 199 (1983).

**М. Ворона, Г. Вейнберг*, Э. Лиепиньш, Х. Кажока,
Г. Андреева, Э. Лукевиц**

Латвийский институт органического синтеза,

Рига LV-1006, Латвия

e-mail: gveinberg@osi.lv

Поступило 12.02.2009

ХГС. – 2009. – № – С. 936