文章编号：1674－2869(2024)01－0007－04

β-内酰胺酶抑制剂关键中间体的微通道技术合成

赵晨熙，王 池，董江湖，张丹华，邓鑫浩，陈 尧，严琼姣*
武汉工程大学药物研究院，湖北 武汉 430205

摘 要：为了优化二氮杂双环辛烷(DBO)类新型β-内酰胺酶抑制剂的关键中间体(2*S*，5*R*)-6-苄氧基-7-氧代-1，6-二氮杂双环[3.2.1]辛烷-2-羧酸(Ⅰ)的合成工艺，采用微通道技术，通过对反应溶剂、温度、停留时间和碱的优化，以加快反应速率，提高反应产率。结果表明：采用连续流微通道技术，以(2*S*，5*R*)-6-苄氧基-7-氧代-1，6-二氮杂双环[3.2.1]辛烷-2-羧酸苄酯(Ⅱ)为原料，在氢氧化锂的丙酮水溶液中，温度45 ℃，反应时间20 min，水解制备得到DBO类新型β-内酰胺酶抑制剂的关键中间体(Ⅰ)，经氢谱、碳谱、高分辨质谱鉴定，产物与目标化合物一致，目标产物的收率可达95%。该微通道合成方法显著加快反应速率的同时提高了反应收率，对DBO类新型β-内酰胺酶抑制剂的工业化生产具有应用前景。

关键词：DBO类化合物；β-内酰胺酶抑制剂；连续流微通道技术；水解
中图分类号：R914.5 **文献标识码**：A **DOI**：10.19843/j.cnki.CN42-1779/TQ202310001

Synthesis of key intermediates of β-lactamase inhibitors by microchannel technology

ZHAO Chenxi, *WANG Chi*, *DONG Jianghu*, *ZHANG Danhua*, *DENG Xinhao*, *CHEN Yao*, *YAN Qiongjiao**
Pharmaceutical Research Institute, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430205, China

Abstract: Microchannel technology was used to improve the synthesis efficiency of (2*S*, 5*R*)-6-benzyloxy-7-oxo-1, 6-diazabicyclo [3.2.1] octane-2-carboxylic acid (Ⅰ), a key intermediate of novel β-lactamase inhibitors based on diazabicyclooctane (DBO). Through the investigation of solvent, temperature, residence time and base, the process conditions were optimized. The results show that the hydrolysis of (2*S*, 5*R*)-6-benzyloxy-7-oxo-1, 6-diazabicyclo [3.2.1] octane-2-carboxylic acid benzyl ester (II) in microchannel reactor is best conducted with acetone as a solvent and lithium hydroxide as a base at 45 ℃ for 20 min. The product was identified by ^{1}H nuclear magnetic resonance spectroscopy, ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy and high resolution mass spectroscopy. The key intermediate (Ⅰ) is obtained in 95% yield. Thus this technology significantly increases the rate and yield of this reaction and makes it feasible to industrial production.

Keywords: DBO compound; β-lactamase inhibitors; continuous-flow microchannel technology; hydrolysis

从青霉素G开始，β-内酰胺类药物一直是世界上最重要的治疗细菌感染的药物[1]。但β-内酰胺酶可以分解β-内酰胺核，致使抗生素失活。而β-内酰胺酶抑制剂可抑制β-内酰胺酶的产生或降低其活性，有效解决细菌耐药性问题[2-3]。自2012年以来，出现了新型的二氮杂双环辛烷(diazabicycloo-

收稿日期：2023-10-07
基金项目：湖北省重点研发计划项目(2023BCB055)
作者简介：赵晨熙，硕士研究生。Email：997886801@qq.com
***通信作者**：严琼姣，博士，副教授。Email：875531154@qq.com
引文格式：赵晨熙，王池，董江湖，等. β-内酰胺酶抑制剂关键中间体的微通道技术合成[J]. 武汉工程大学学报，2024，46(1)：7-11，17.

tane，DBO）类β-内酰胺酶抑制剂[4]。阿维巴坦（Ⅲ，图1）是FDA于2015年批准的第一个与头孢他啶联合的DBO类小分子药物[5]；随后，雷利巴坦（Ⅳ，图1）于2019年被FDA批准与亚胺培南和西司他丁联合使用。其他侧链同系物，如那库巴坦（Ⅴ，图1）和齐德巴坦（Ⅵ，图1），现在正在进行临床试验[6]。

DBO类β-内酰胺酶抑制剂关键中间体（2*S*，5*R*）-6-苄氧基-7-氧代-1，6-二氮杂双环[3.2.1]辛烷-2-羧酸（Ⅰ）可由（2*S*，5*R*）-6-苄氧基-7-氧代-1，6-二氮杂双环[3.2.1]辛烷-2-羧酸苄酯（Ⅱ）水解得到，但是收率只有68%，而且需要在低温下（−20~−15 ℃）反应4.5 h，反应条件比较苛刻，反应时间则更长[7]。

近年来，连续流微通道反应器在化学药物合成领域受到越来越多的关注，其设备尺寸小，物料扩散距离短，质量和热量可实现快速传递和精准控制，反应体积微型化，持液量小使过程本质安全[8]。与常规釜式反应相比，微通道反应器具有传热传质性能好、效率高、连续化操作方便、安全性高等特点[9-15]。

基于此，本文以（2*S*，5*R*）-6-苄氧基-7-氧代-1，6-二氮杂双环[3.2.1]辛烷-2-羧酸苄酯（Ⅱ）为原料，在微通道反应器内与氢氧化锂的丙酮水溶液反应，水解制备DBO类新型β-内酰胺酶抑制剂关键中间体（2*S*，5*R*）-6-苄氧基-7-氧代-1，6-二氮杂双环[3.2.1]辛烷-2-羧酸（Ⅰ），考察了反应溶剂、温度、停留时间和碱对反应的影响，优化了工艺条件，提高了反应速率和收率，可实现工业化生产。其合成路线如图2所示。

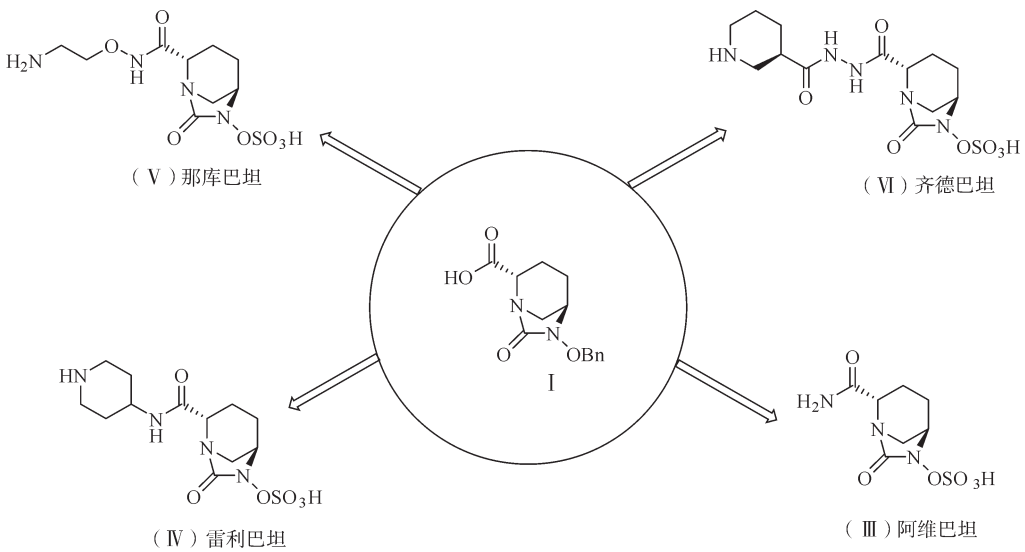

图1 基于关键中间体（Ⅰ）合成的DBO类β-内酰胺酶抑制剂

Fig. 1 Synthesis of β-lactamase inhibitors of DBO derived from key intermediate（Ⅰ）

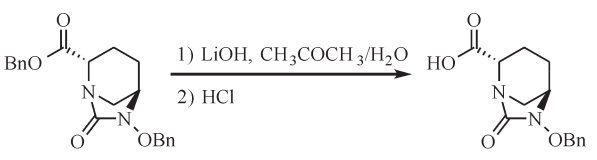

图2 关键中间体（Ⅰ）的合成

Fig. 2 Synthesis of key intermediate（Ⅰ）

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

试剂：（2*S*，5*R*）-6-苄氧基-7-氧代-1，6-二氮杂双环[3.2.1]辛烷-2-羧酸苄酯，实验室自制；氢氧化锂（萨恩化学技术上海有限公司）；丙酮（西陇科学股份有限公司）；盐酸（国药集团化学试剂有限公司）；二氯甲烷（武汉格奥化学技术有限公司）。

仪器：PR224ZH型电子天平；RCH-1000带加热板磁力搅拌器；N-12108旋转蒸发仪；Chemtrix® Labrtix启动流动反应器；带Luer连接的5 000 μL玻璃气密注射器（由一个玻璃筒和一个带PTFE柱塞密封的金属柱塞组成）；氟化乙烯-丙烯盘管（内径0.8 mm）。

1.2 实验方法

1.2.1 *微通道技术合成* 自建流动反应装置由1台Fusion 1 000型注射泵输送试剂/溶剂、2个带Luer连接的5 000 μL玻璃气密注射器，及1台10.0 mL氟化乙烯丙烯盘管反应器（其内径为0.8 mm）组成（图3）。注器泵A用于引入化合物（Ⅱ）（1.0 mol/L 1.831 g，5.0 mmol）的丙酮溶液，流

速250 μL/min，注射器泵B用于引入LiOH（1.1 mol/L，0.132 g，5.5 mmol）的水溶液，流速250 μL/min。两种溶液在室温下通过T型混合器混合，然后进入线圈反应器（10.0 mL，内体积）45 ℃反应。盘管末端出口接收目标产物混合液，完毕后减压蒸馏除去溶液中的丙酮，以甲苯洗涤3次，收集水相，水相以1 mol/L盐酸溶液调节体系pH值至3，然后以二氯甲烷萃取3次，收集有机相，有机相以无水硫酸钠进行干燥。减压蒸馏除去二氯甲烷，得到淡黄色油状物质，纯化得1.312 g物质（Ⅰ），收率95%。

1.2.2　常规反应合成　称取化合物（Ⅱ）（1.831 g，5.0 mmol）置于50 mL圆底烧瓶中，加入5 mL丙酮搅拌至澄清，将LiOH（0.132 g，5.5 mmol）溶于5 mL水中，室温条件下缓慢滴加到反应体系中，滴加完毕，升温至45 ℃反应20 min，完毕后减压蒸馏除去溶液中的丙酮，以甲苯洗涤3次，收集水相，水相以1 mol/L盐酸溶液调节体系pH值至3，然后以二氯甲烷萃取3次，收集有机相，有机相以无水硫酸钠进行干燥。减压蒸馏除去二氯甲烷，得到淡黄色油状物质，纯化得0.583 g物质（Ⅰ），收率39%。

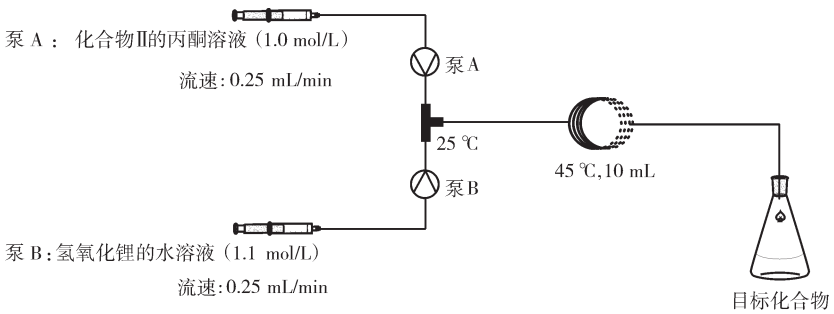

图3　连续流微通道反应装置示意图

Fig. 3　Schematic diagram of continuous-flow microchannel reactor

2　结果与讨论

2.1　影响目标产物（Ⅰ）的因素

2.1.1　溶剂对反应的影响　固定碱为氢氧化锂，流速为250 μL/min，温度为25 ℃，考察溶剂对目标化合物收率的影响，结果如表1所示。当反应溶剂选择甲醇、乙腈、四氢呋喃时，无法得到较高的产率；反应溶剂为丙酮时，收率明显提高。这是由于碱催化的酯水解以酰氧键断裂的方式进行，该反应机理是与双分子亲核取代（S_N2）机理相似，OH^-进攻羰基碳原子，在形成新的C—O的同时，酰氧键断裂，苄氧基以负离子的形式离去，极性小、非质子溶剂有利于S_N2反应进行，乙腈、甲醇、丙酮、四氢呋喃极性依次减小，丙酮、四氢呋喃虽都属于非质子性溶剂，但化合物（Ⅱ）在四氢呋喃的溶解度不高，因此选择丙酮为溶剂。

2.1.2　温度对反应的影响　固定碱为氢氧化锂，流速为250 μL/min，溶剂为丙酮，考察温度对目标化合物收率的影响，结果如表2所示。随着反应温度的升高，目标化合物的收率先升高后降低，当反应温度为45 ℃时，目标化合物收率最高，达到95%，与传统的釜式反应低温条件有很明显差异。这是由于该反应是放热反应，传统釜式反应物料大，而连续流微反应器是微米级管道，持液量小，体系放热往往对反应影响不大，反而稍微加热可提高反应速率，因此，确定反应温度为45 ℃。

2.1.3　停留时间对反应的影响　固定碱为氢氧化锂，溶剂为丙酮，温度为45 ℃，考察流速（即停留时间）对目标化合物收率的影响，结果如表3所示。反应流速增大，停留时间减少，目标化合物收率先升高后降低，这是因为，流速慢停留时间长，反应时间增加，脲环被破坏，副产物增多；流速快停留时间短，化合物（Ⅱ）与氢氧化锂的接触时间较短，反应不充分。当流速为250 μL/min（停留时间为20 min）时，在较大流速以及较短的停留时间内反应收率达到最高，所以最佳流速为250 μL/min，停

表1　溶剂对反应的影响

Tab. 1　Effects of solvents on reaction

序号	溶剂	碱	流速 /（μL/min）	停留时间 / min	温度 / ℃	收率 / %
1	甲醇	氢氧化锂	250	20	25	40
2	乙腈	氢氧化锂	250	20	25	47
3	四氢呋喃	氢氧化锂	250	20	25	59
4	丙酮	氢氧化锂	250	20	25	69

表2 温度对反应的影响

Tab. 2 Effects of temperature on reaction

序号	溶剂	碱	流速 /（μL/min）	停留时间 / min	温度 / ℃	收率 / %
1	丙酮	氢氧化锂	250	20	25	69
2	丙酮	氢氧化锂	250	20	35	74
3	丙酮	氢氧化锂	250	20	45	95
4	丙酮	氢氧化锂	250	20	55	92
5	丙酮	氢氧化锂	250	20	65	81

表3 停留时间对反应的影响

Tab. 3 Effects of residence time on reaction

序号	溶剂	碱	流速 /（μL/min）	停留时间 / min	温度 / ℃	收率 / %
1	丙酮	氢氧化锂	50	100	45	69
2	丙酮	氢氧化锂	100	50	45	75
3	丙酮	氢氧化锂	150	33	45	86
4	丙酮	氢氧化锂	250	20	45	95
5	丙酮	氢氧化锂	300	16	45	79

留时间为20 min。

2.1.4 *碱对反应的影响* 固定流速为250 μL/min，溶剂为丙酮，温度为45 ℃，考察碱对目标化合物收率的影响，结果如表4所示。以氢氧化钠、氢氧化钾、碳酸钠作碱时，目标化合物收率都只有中等收率，以氢氧化锂作碱时，目标化合物收率明显增高。这是由于碱性的强弱对脲环的结构有显著的影响，碱性太强环脲结构易开环，太弱酯水解反应不完全，因此选择氢氧化锂作碱。

表4 碱对反应的影响

Tab. 4 Effects of base on reaction

序号	溶剂	碱	流速 /（μL/min）	停留时间 / min	温度 / ℃	收率 / %
1	丙酮	氢氧化钾	250	20	45	54
2	丙酮	氢氧化钠	250	20	45	69
3	丙酮	氢氧化锂	250	20	45	95
4	丙酮	碳酸钠	250	20	45	64

2.2 化合物（Ⅰ）的结构表征

目标化合物（Ⅰ）的核磁共振氢谱、碳谱、高分辨质谱数据如下：^{1}H NMR（400 MHz，DMSO-d_6）δ 7.48~7.39（m，2H），7.42~7.28（m，3H），4.93（d，J = 11.4 Hz，1H），4.88（d，J = 11.4 Hz，1H），3.53（s，1H），3.40（d，J = 7.2 Hz，1H），3.19（d，J = 11.5 Hz，1H），2.77（dt，J = 11.7，3.3 Hz，1H），2.10（dd，J = 13.8，6.3 Hz，1H），1.85~ 1.64（m，2H），1.58（td，J = 11.9，6.3 Hz，1H）；^{13}C NMR（100 MHz，DMSO-d_6）δ 173.12，170.17，136.74，129.30，128.78，128.75，77.22，62.98，58.32，47.54，40.64，40.43，40.23，40.02，39.81，39.60，39.39，22.20，21.64；HRMS（ESI），m/z：299.100 6［M+Na］$^+$。综上，确定该化合物为目标化合物。

3 结 论

应用连续流微反应技术，对DBO类新型β-内酰胺酶抑制剂的关键中间体（2*S*，5*R*）-6-苄氧基-7-氧代-1，6-二氮杂双环［3.2.1］辛烷-2-羧酸（Ⅰ）的合成进行了优化。在微通道反应器中，以（2*S*，5*R*）-6-苄氧基-7-氧代-1，6-二氮杂双环［3.2.1］辛烷-2-羧酸苄酯（Ⅱ）为原料，与氢氧化锂的丙酮水溶液反应，经停留时间20 min，温度为45 ℃，水解制备DBO类新型β-内酰胺酶抑制剂关键中间体（2*S*，5*R*）-6-苄氧基-7-氧代-1，6-二氮杂双环［3.2.1］辛烷-2-羧酸（Ⅰ），收率达95%。与传统釜式反应相比，该工艺在提高收率的同时大幅度缩短了反应时间，具有良好的工业化应用前景。

（下转第17页）