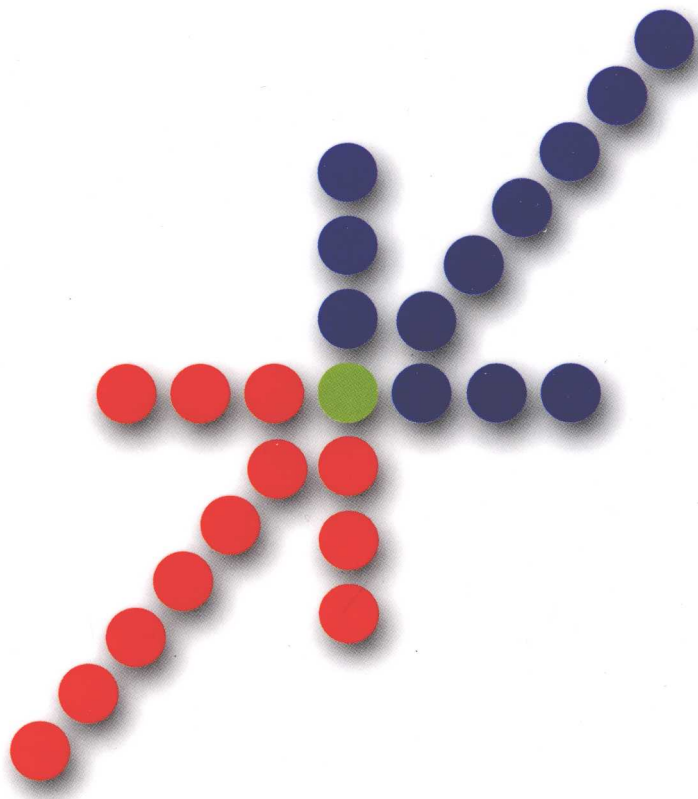




β -内酰胺类抗生素的合成

—— 化学、生物催化与处理一体化

Synthesis of β -lactam antibiotics

Chemistry, Biocatalysis & Process Integration

Alle Bruggink 主编

王荣耕 方长明 译

尚广东 审



海洋出版社

β - 内酰胺类抗生素的合成

——化学、生物催化与处理一体化

Synthesis of β - lactam antibiotics

Chemistry, Biocatalysis & Process Integration

Alle Bruggink 主编

王荣耕 方长明 译
尚广东 审

海洋出版社

2010 年 · 北京

图书在版编目(CIP)数据

β -内酰胺类抗生素的合成:化学、生物催化与处理一体化/(荷)布鲁金克
(Bruggink, A.) 主编;王荣耕,方长明译. —北京:海洋出版社,2009. 12

书名原文: Synthesis of β -lactam antibiotics

ISBN 978-7-5027-7625-1

I. ① β … II. ①布… ②王 ③方… III. ① β -内酰胺抗生素-有机合成
IV. ①TQ465

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 222722 号

图字:01-2008-1706

Translation from the English language edition:

"Synthesis of Beta - Lactam Antibiotics"

By

Alle Bruggink

Copyright © 2001 Kluwer Academic Publishers, The Netherlands

as a part of Springer Science + Business Media

All Rights Reserved

责任编辑:魏京华

责任印制:刘志恒

海洋出版社 出版发行

<http://www.oceanpress.com.cn>

北京市海淀区大慧寺路 8 号 邮编:100081

北京盛兰兄弟印刷装订有限公司印刷 新华书店发行所经销

2010 年 1 月第 1 版 2010 年 1 月北京第 1 次印刷

开本:787mm × 1092mm 1/16 印张:17.75

字数:358 千字 定价:80.00 元

发行部:62147016 邮购部:68038093 总编室:62114335

海洋版图书印、装错误可随时退换

合作者名单

W. B. L. Alkema⁸

H. H. Beeftink⁷

A. Bruggink^{1,3}

L. Cao⁵

B. W. Dijkstra⁹

F. J. Dommerholt³

R. de Gelder⁴

W. M. van Gulik⁶

J. J. Heijnen⁶

C. M. H. Hensgens⁹

A. E. M. Janssen⁷

D. B. Janssen⁸

M. H. A. Janssen⁵

R. Keltjens³

G. J. Kemperman³

A. J. H. Klunder³

L. M. van Langen⁵

L. P. Ooijkaas⁷

M. Ottens⁶

J. J. Polderman⁸

F. van Rantwijk⁵

J. L. van Roon⁷

P. D. Roy²

C. G. P. H. Schroen⁷

R. A. Sheldon⁵

A. J. J. Straathof⁶

M. Strubel⁷

G. T. M. Titulaer³

J. Tramper⁷

E. J. de Vries⁸

M. A. Wegman⁵

L. A. M. van der Wielen⁶

W. A. van Winden⁶

J. Zhu³

B. Zwanenburg³

¹ DSM Research, Life Sciences R&D, P. O. Box 18, 6160 MD Geleen, The Netherlands.

² DSM Fine Chemicals, P. O. Box 81, 5900 AB Venlo, The Netherlands.

³ University of Nijmegen, NSR Institute for Molecular Structure, Design and Synthesis, Department of Organic Chemistry, Toernooiveld 1, 6525 ED Nijmegen, The Netherlands.

⁴ University of Nijmegen, NSR Institute for Molecular Structure, Design and Synthesis, Department of Inorganic Chemistry, Toernooiveld 1, 6525 ED Nijmegen, The Netherlands.

⁵ Delft University of Technology, Biocatalysis and Organic Chemistry, Julianalaan 136, 2628 BL Delft, The Netherlands.

⁶ Delft University of Technology, Kluyver Laboratory for Biotechnology, Julianalaan 67, 2628 BC Delft, The Netherlands.

⁷ Wageningen University, Food and Bioprocess Engineering Group, P. O. Box 8129, 6700 EV Wageningen, The Netherlands.

⁸ Department of Biochemistry, BIOSON Research Institute, Groningen Biomolecular Sciences and Biotechnology Institute, University of Groningen, Nijenborgh 4, 9747 AG Groningen, The Netherlands.

⁹ Laboratory of Biophysical Chemistry, BIOSON Research Institute, Groningen Biomolecular Sciences and Biotechnology Institute, University of Groningen, Nijenborgh 4, 9747 AG Groningen, The Netherlands.

致 谢

我们十分高兴地对所有为该书做出贡献的朋友表示衷心感谢。并不是所有的学生、博士、研究生和技术工作人员的名字都能被提到,但是没有他们对该研究卓越的贡献,就没有该书的出版。同样,DSM 研究院的众多工作人员、DSM 抗生素部和 DSM 精细化学部对于该书所取得的成果和转化为工业化应用,是必不可少的。我们总是回忆我们阶段性会议带给我们的快乐,特别是在 Vaalsbroek 会议上。我们已经学习到如何将工业界与大学组成一只多学科训练有素的队伍,以进行富有成效的合作。这些将永远记忆在我们的职业生涯中。

我们衷心感谢 DSM 管理层对发展和提高这个具有挑战性项目的效率方面所表现出的巨大信任。而且,我们对荷兰经济部等的巨大努力和经济援助表示衷心感谢。

本书的所有权,包括知识产权和/或工业财产权直接或间接归荷兰 DSM NV. 公司所有。未经许可,本书的任何部分不得以任何形式进行使用。

王荣耕 译

序

抗生素,特别是 β -内酰胺类抗生素,如青霉素系列和头孢类抗生素,已经在治疗感染方面取得了革命性进展,并且已经伴随我们 50 多年了。尽管我们今天使用的抗生素都有 25 年以上的历史,但是它们的生产过程仍然需要明显的改进。

新技术的发展为生产过程的改进提供了空间,这种改进往往是兼有技术上的可持续性和经济上的利益。

本书中介绍了一个来自“群项目”的成果。该项目起始于三家公司,分别是 DSM、Gist-brocades 和他们的合作企业 Chemferm,还有来自四所荷兰大学的六个学术组织。在这个项目进行过程中,由于 DSM 与 Gist-brocades 的合并,涉及的公司减少为一个。该项目得到荷兰政府经济部的资助。

从我们的观点看,该项目提供了一个学术界与企业界合作的富有成果的初级实例。在本书中,许多实例既具有科学挑战又具有工业现实意义。由于科研的性质,这些成果在经济上的回报尚不完全清楚,还需要在工业实践中进一步完善。

本书描述了一个真实的综合多种学科的成就,它涵盖了包括处理技术(大规模的工程化)和蛋白质工程化(摩尔级的工程化)等的技术问题。

我们站在 DSM 项目管理的立场上,向所有参加该项目的参与者(约 100 位科学家参与,兼职或全职)表示对他们所取得成绩的祝贺,感谢他们对提高 DSM 公司在世界抗生素行业中的竞争力所做出的贡献。

我们也对荷兰政府经济部的经济援助表示感谢。

我们为这个项目的工业和科学前景而感到兴奋。现在,我们邀请您,作为读者,来分享我们的兴奋。

Emmo Meijer

Joop Roels

王荣耕 译

前 言

这本书是 DSM 公司与荷兰的六个学术机构精诚合作的结果。在政府的资助下,由企业与学术界参与,一只多学科、训练有素的专家队伍开展了关于生物催化用于工业化(特别是青霉素类和头孢类抗生素)的应用范围与限制的研究。这些研究为如何在传统的(计量有机)合成和传统的发酵过程中引入现代的生物催化和生物合成,提供了一个很好的范例,而后者是在对新陈代谢路径和酶行为的充分了解的基础上进行的。多综合学科研究法的要求包括处理技术的一体化和反应器设计也做了清晰地演示。

这只队伍的研究成果,被总结于本书并且发表在 100 多篇学术文章及一些专利和专利申请书中,它代表着 DSM 抗生素商业发展的内容和技术发展的方针。该项合作对参与研究的学术团体现在和将来的研究课题都产生了很大影响。我们期待着将来更有成果的合作。

Alle Bruggink

2001 年 5 月

王荣耕 译

目 次

第1章 半合成抗生素的工业化合成	(1)
§1 半合成抗生素的早期概况 (1950—1970)	(1)
1.1 半合成抗生素的发展	(1)
1.2 6-APA、7-ACA 和 7-ADCA 的发现	(2)
1.3 前工业化工艺	(4)
§2 第一代工业化工艺	(5)
2.1 产量最大的产品	(5)
2.2 氯苄青霉素工艺的生命周期	(8)
2.3 苯甘氨酸产品链的发展	(12)
2.4 阿莫西林的工业化工艺	(16)
2.5 对羟基苯甘氨酸的发展	(17)
2.6 头孢菌素工艺	(19)
2.7 市场与工艺的发展	(24)
§3 第二代工业化工艺	(29)
3.1 生物催化作用介绍	(29)
3.2 与 6-APA 和 7-ADCA 的酶催化链接	(30)
3.3 针对 (工艺) 整合的最初工作	(32)
§4 第三代工艺	(34)
4.1 市场前景	(34)
4.2 工艺前瞻	(36)
§5 参考文献	(37)
5.1 书籍类	(37)
5.2 综述类	(37)
第2章 头孢菌素类抗生素化学的分子精度	(39)
§1 引言	(39)
§2 头孢菌素类抗生素络合物的包合型络合作用	(42)
2.1 与 β -萘酚的络合	(42)
2.2 包合结构中的诱导适配现象	(47)
2.3 通过分子模型预测包合物的构成	(55)
2.4 萘类衍生物络合剂的效率	(57)

2.5 酶法合成头孢拉定中用于包合作用的绿色络合剂	(61)
2.6 利用包合作用诱导不对称转化的头孢菌素合成	(63)
§3 氨基酸侧链的合成	(65)
3.1 相关文献	(65)
3.2 对羟基苯甘氨酸 (HPG) Mannich 缩合的区域化学	(67)
3.3 从对-苯醌合成对-羟基甘氨酸	(68)
§4 头孢菌素 β -内酰胺核的修饰	(71)
4.1 从7-氨基头孢烷酸 (7-ACA) 合成3-羟基头孢	(71)
4.2 从3-羧基头孢合成3-氯头孢	(73)
4.3 3-甲酰头孢菌素的 Wittig 反应	(74)
4.4 结束语	(75)
§5 参考文献	(75)
第3章 β -内酰胺类抗生素合成中的生物催化剂和生物催化	(78)
§1 引言	(78)
§2 侧链供体处理技术的发展	(79)
2.1 现有路线	(79)
2.2 通过脂肪酶催化氨解苯甘氨酸酯的动态动力学水解	(80)
2.3 酶水解消旋的苯氨基乙腈	(82)
2.4 侧链供体的替代物: 热力学链接	(85)
§3 侧链的活性降解、链接和循环使用	(86)
3.1 α -氨基酸的无盐酯化	(86)
3.2 PGA 和 PGM 混合链接到6-APA	(88)
3.3 利用D-苯氨基乙腈两步一锅法合成头孢羟氨苄	(91)
§4 开发优质催化剂用于 β -内酰胺类抗生素的合成	(92)
4.1 引言	(92)
4.2 在有机溶剂中合成 β -内酰胺类抗生素	(93)
4.3 在水溶液中, 利用青霉素水解酶的交联聚合物作为有效的链接 催化剂	(94)
4.4 利用交联的多枝聚合物青霉素酰化酶有效地合成 β -内酰胺类 抗生素	(96)
4.5 固定在交联的对苯二甲胺上的固定化青霉素酰化酶: 如游离酶 活性一样的异相催化	(97)
4.6 利用助剂增加 S/H 比值	(100)
4.7 青霉素酰化酶活性位点的减弱	(101)
4.8 失活的青霉素酰化酶的 LC-MS	(105)

§ 5 青霉素酰化酶催化的合成与氨基分解	(107)
5.1 青霉素酰化酶合成二肽: 一种化学酶法获得光学纯二酮哌嗪类化合物的路线	(107)
5.2 在水相-有机相中, 青霉素酰化酶催化氨解反应	(108)
§ 6 结论与展望	(112)
§ 7 致谢	(114)
§ 8 参考文献	(114)
第 4 章 青霉素制备过程中的处理技术与一体化处理技术	(118)
§ 1 引言	(118)
1.1 半合成青霉素的合成	(118)
1.2 酶催化生产阿莫西林	(119)
1.3 由青霉素 G 生产阿莫西林的捷径	(121)
1.4 本章梗概	(123)
§ 2 抗生素相行为综述	(123)
2.1 校正模型	(124)
2.2 混合溶剂的溶解性	(125)
2.3 混合溶剂的分离	(126)
2.4 相关的不同萃取系统	(128)
2.5 一般的极性扫描	(129)
2.6 注释	(131)
§ 3 热力学控制的阿莫西林合成过程	(131)
3.1 背景	(131)
3.2 热力学控制的悬浮-悬浮过程的可行性	(132)
3.3 共溶剂的添加	(133)
§ 4 动力学控制的 APA 与 HPGM 酶链接	(134)
4.1 动力学控制的悬浮-悬浮反应	(134)
4.2 模拟	(135)
§ 5 由青霉素 G 合成阿莫西林的捷径	(137)
5.1 萃取酶催化青霉素 G 的水解	(137)
5.2 萃取催化的模型	(138)
5.3 实验转化率和模型预测	(139)
5.4 将青霉素 G 的萃取水解与动力学控制合成阿莫西林相结合的工艺	(141)
5.5 在无水有机溶剂中进行一锅法捷径	(143)
5.6 注释	(144)

§ 6 多功能生物反应器	(145)
6.1 分离反应器的模型	(145)
6.2 与萃取水解反应相似的结果	(147)
6.3 案例研究: 青霉素 G 的水解	(149)
6.4 分步萃取合成反应器	(150)
§ 7 简单的和多组分的 SSA 的结晶	(151)
7.1 模型	(151)
7.2 批量放大实验	(152)
7.3 结晶: 形态学与动力学	(154)
7.4 批处理结晶过程的模拟	(155)
7.5 注释	(156)
§ 8 结论	(157)
§ 9 致谢	(158)
§ 10 参考文献	(158)
第 5 章 生物催化生产半合成头孢类抗生素: 处理技术与一体化	(164)
§ 1 背景	(164)
§ 2 决定性思路	(164)
§ 3 生物催化反应	(166)
3.1 利用固定化酶对己二酰基-7-ADCA 进行水解	(168)
3.2 利用固定化酶合成头孢氨苄	(171)
§ 4 生物催化剂自身: 形式	(173)
4.1 细胞还是酶	(173)
4.2 游离的还是固定化的	(174)
4.3 游离的或固定化的生物催化剂: 己二酰-7-ADCA 的水解	(175)
4.4 游离的或固定化的: 头孢氨苄的合成	(177)
4.5 扩散限制	(180)
§ 5 生物催化和它的环境: 反应介质	(180)
5.1 液体/液体	(181)
5.2 固相/固相	(181)
5.3 热力学模型	(183)
§ 6 生物催化反应器	(183)
6.1 标准的还是新式的	(183)
6.2 非等温生物反应器	(184)
6.3 批量生产还是连续生产	(184)
6.4 批量或连续: 己二酰-7-ADCA 的水解	(185)

§7 处理过程的一体化	(188)
7.1 头孢氨苄的合成与副产品的原位除去	(189)
7.2 己二酰-7-ADCA 的水解与头孢氨苄的合成的结合	(192)
7.3 反应和产品移去的结合	(193)
7.4 己二酰-7-ADCA 的水解和下游处理	(194)
7.5 过程概念	(196)
§8 未来展望	(197)
§9 致谢	(198)
§10 参考文献	(198)
第6章 用于半合成抗生素酶的工程化	(202)
§1 引言	(202)
§2 青霉素酰化酶	(202)
§3 大肠杆菌青霉素酰化酶	(204)
3.1 青霉素酰化酶的底物特异性、专一性	(205)
3.2 3-D 结构	(207)
§4 大肠杆菌酰化酶在半合成 β -内酰胺类抗生素合成中的应用	(208)
4.1 青霉素酰化酶中酶与底物的相互作用	(209)
4.2 动力学问题	(209)
4.3 蛋白质工程	(214)
§5 展望	(218)
5.1 现有生物催化剂的优化	(218)
5.2 新的青霉素酰化酶	(218)
5.3 α -氨基酸酯的水解酶	(219)
5.4 乙酰转移酶	(220)
5.5 发酵生产半合成青霉素和头孢类抗生素	(221)
§6 致谢	(222)
§7 参考文献	(222)
第7章 青霉素 G 发酵过程中新陈代谢的模型化	(227)
§1 引言	(227)
1.1 “细胞工厂”的概念	(227)
1.2 现有精细化学品生产与“细胞工厂”对比	(227)
1.3 产黄青霉菌细胞工厂	(229)
1.4 细胞工厂, 机会的问题和一个“有目的直接应用”	(230)
1.5 新陈代谢过程的关键问题	(232)
§2 青霉素 G 生物合成新陈代谢瓶颈的可能位置	(233)

§3 产黄青霉菌成长和青霉素 G 生产的化学计量模型的发展	(236)
§3.1 互补反应路径	(236)
§3.2 细胞溶质 NADPH 的再生	(237)
§3.3 半胱氨酸的生物合成	(237)
§3.4 细胞内部的分室	(237)
§3.5 溶剂通过细胞膜的传递	(238)
§3.6 细胞内部的转运	(239)
§4 在产黄青霉菌的高产菌株生长和青霉素生产的能量学	(239)
4.1 最大产率的估计	(239)
4.2 新陈代谢系统中 ATP 化学计量模型	(241)
4.3 ATP 化学计量参数的估计	(242)
4.4 底物的最大产率与维持系数	(246)
4.5 青霉素的最大理论产率	(247)
4.6 有氧气时的最大产率和维持系数	(247)
4.7 对生产青霉素过程中额外需求能量估计值的验证	(248)
4.8 作为 ATP 计量化学参数函数的最大产率与维持系数的表达	(249)
§5 生物合成青霉素 G 中, 利用代谢分析来确定代谢瓶颈	(250)
5.1 确定青霉素生产的主要节点	(250)
5.2 葡萄糖、乙醇和乙酯的限制性恒化培养	(251)
5.3 稳定态的平衡数据	(253)
5.4 青霉素的产率是生长速度的函数	(254)
5.5 在主要点周围流动系数的改变	(256)
5.6 细胞溶质 NADPH 的供应	(257)
§6 应用 ¹³ C-NMR 对细胞内部流动进行统计	(258)
6.1 稳定状态下代谢流分析中的问题	(258)
6.2 克服不可观察流动的解决方法	(259)
6.3 在代谢流动分析中使用 ¹³ C-NMR	(261)
6.4 ¹³ C 标记研究的结果	(262)
§7 对产黄青霉菌中青霉素-G 生产调节的最初模型化工作	(263)
7.1 控制系统和产品形成	(263)
7.2 青霉素生产的简单动力学模型	(263)
§8 结论和展望	(265)
§9 参考文献	(266)

第 1 章 半合成抗生素的工业化合成

ALL BRUGGINK (DSM RESEARCH, NIJMEGEN UNIVERSITY)
AND PETER D. ROY (DSM FINE CHEMICALS)

§ 1 半合成抗生素的早期概况 (1950—1970)

1.1 半合成抗生素的发展

即使是在早期,在研究青霉素直接发酵合成的过程中,不同组合的侧链对抗生素生物活性影响的重要性也是显而易见的。加入各种各样的单取代乙酸作为青霉素发酵的中间体,可以得到相应的具有不同活性的新的青霉素类产品。特别值得一提的是,这种研究发现了具有对酸稳定的和具有口服活性的苯氧甲基青霉素 (phenoxymethyl penicillin, 青霉素 V)。直到 20 世纪 50 年代晚期,在众多青霉素品种中只有两种是通过发酵生产的,它们是青霉素 G 和青霉素 V,临床证实其非常有效,是真正经受住时间检验的产品。由于受青霉菌选择性生化结合侧链的限制 (主要受限于脂肪酸或芳香基脂肪酸),因此通过发酵获得新的青霉素的进一步发展也受到了制约。

在 20 世纪 50 年代中期,这些发酵青霉素看起来仍是极好的抗生素,尽管在广泛的临床实践中暴露出由于细菌的青霉素酶而引起失活和缺乏广谱活性,特别是对革兰氏阴性菌 (G-)。因此有许多组织致力于“青霉素问题 (penicillin problem)”的工作。其实从本质上来说,他们所要做的就是对其 N-酰基侧链进行更有意义的结构修饰。

Beecham 研究途径之一就是修饰苯乙酸侧链的芳香环。当 6-APA 得到利用之后,通过该研究途径得到了第一个半合成青霉素——甲氧苄青霉素 (Methicillin; 2,6-二甲氧基苯甲酰基侧链),在临床中对葡萄球菌 β -内酰胺酶有效。与此同时,Abraham 在牛津大学通过对头孢菌素的研究,得出了著名的 α -氨基脂肪酸基团存在于青霉素 N (D- α -氨基己二酰基侧链)的侧链中,使得其对革兰氏阴性菌的活性稍有增强的结论。这就表明了 α -氨基基团应是半合成青霉素侧链的一个组成部分。构效关系研究表明,D(-)苯甘氨酸与 6-APA 结合得到的氨苄青霉素 (Ampicillin),是一种非常有效的口服广谱抗生素。该产品由 Beecham 用具有爱国意义的名称“Penbritin”命名,并于 1961 年上市。事实上,

具有突出活性的 D(-) 苯甘氨酸衍生物光学异构体的发现十分重要, 并由此最终导致对高效拆分外消旋氨基酸并实现量产的挑战。

1.2 6-APA、7-ACA 和 7-ADCA 的发现

6-APA

6-APA 源于历史上人们在观察比较采用微生物法和化学法化验青霉素发酵液含量之间的差异时的一次偶然发现。化学含量分析基于 β -内酰胺与羟胺的反应(比色检验), 其分析结果总是比生化检验结果高 10% ~ 15%。当时这件事情人们没有深究, 仅简单认为是由于成分复杂的发酵液与羟胺反应的未知因素造成这种结果。Beecham 在此期间碰巧正从事被证实很难分离的与青霉素 G 类似的对胺苯基青霉素的研究工作。他们试图对该对氨基基团进行酰化反应以便于分离, 但是他们惊奇地发现酰化反应(与 6-APA!)后, 微生物法含量检测上升了 10% ~ 15%。

1959 年 Beecham 在英格兰通过对采用产黄青霉菌耗尽侧链的发酵进行进一步的研究, 从而导致了 6-APA 的分离 (Batchelor et. al., 1959)。这和与合成的 6-APA (Sheehan, 1959) 进行的再酰化反应一起, 标志着一个开创硕果累累、疗效极佳的半合成青霉素时代黎明的到来, 氨苄青霉素 (Beecham, 1962) 和阿莫西林 (Beecham, 1972) 的合成是极好的例证。

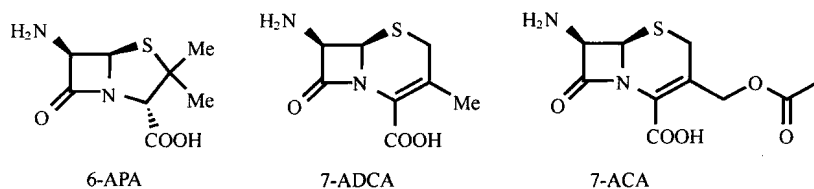


图 1-1 半合成抗生素的主要母核结构

作为历史上最精彩的具有迷人魅力的青霉素故事, 包括英美在第二次世界大战及随后的努力, 也包括围绕 6-APA 发现的争论。读者可以直接阅读由 J. H. Sheehan 所著, 书名为《魔环》(“The enchanted Ring”指 β -内酰胺环)一书。

6-APA 可以很容易通过化学去侧链 [也称作“德尔福特裂解”(Delft cleavage)] 得到工业化批量生产, 特别是利于固定化青霉素酰化酶作为催化剂对青霉素进行酶法水解制备 6-APA, 更是一条有价值的工业化生产路线。目前, 6-APA 的生产在工艺和技术上已经变得简单, 而且具有极好的收率和良好的质量。

7-ADCA

和 6-APA 的情况一样, 7-ADCA 也是通过一次偶然事件发现的。事件的动力是需要制备头孢菌素 C 的母核 7-ACA。头孢菌素 C 早些时候已经从产黄顶孢

霉菌中分离出来，并于1961年阐明其结构。由于头孢菌素C没有充分的临床活性，于是人们打算完全仿照半合成青霉素（SSP）的成功实例，用其他酰基基团来取代头孢菌素C上的 α -氨基己二酰基侧链。然而，早期采用酶法水解获得7-ACA的尝试是不成功的，因此高效制备7-ACA就成为一个主要的挑战。解决这个问题的途径之一是利用人们已知的切除青霉素侧链的方法将青霉素化学法转化成头孢菌素。Morin和他的同事确信青霉素的氧化过程必定隐含一种氧化作用机理，并对青霉素亚砷的化学机理进行了研究。他们在扩环反应方面成功的工作和随后的硅烷化保护羰基（DSM, Gist-brocades 工艺）的发展一起奠定了现在的从青霉素转化得到7-ADCA的工业化路线的基础。

目前通常的并应用于生产的7-ADCA生产工艺的第一步是将青霉素G氧化（例如过氧乙酸在冷的水性介质中）成相应的S-氧化物。氧化物以酸的形式和极好的收率被分离，干燥后用于随后的硅烷化反应。采用硅脲（N, N'-bis（trimethylsilyl）urea, BSU）作为硅烷化剂，在氢溴酸吡啶催化剂存在下将青霉素环扩大成头孢菌素环（反应机理包括形成次磺酸和正硫离子（硫），见图1-2）。

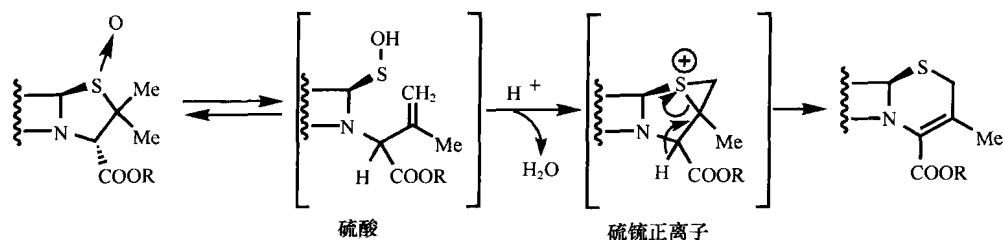


图1-2 从青霉素骨架到头孢菌素的扩环过程

水解除去硅烷基团得到被称作头孢菌素G的倒数第二步中间体。最后使用固定化青霉素酰化酶水解去侧链（与6-APA工艺类似）得到7-ADCA。水解下来的侧链作为副产品进行回收并套用于青霉素的发酵工艺。酶法去侧链工艺代替了早先的化学法去侧链工艺（硅烷化、与 PCl_5 反应形成亚氨基氯，然后在深冷的条件下与乙醇作用、水解转化成亚氨基醚），很显然化学法中使用 PCl_5 和有机溶剂的深冷是其缺点。

目前7-ADCA的生产由荷兰的DSM抗感染集团所主宰，并且这种技术优势地位将由于引入新的发酵工艺代替化学扩环路线而得到进一步的巩固。

7-ACA

上面提到的早期著名的对头孢菌素C进行酶法去乙酰化尝试并没有得到7-ACA。然而1968年由Ciba集团报道了一种有效的化学法切除头孢菌素C的 α -氨基己二酰基侧链的方法。头孢菌素C硅基酯经过 PCl_5 处理转化成联有亚氨基氯的缩氨酸，再在甲醇中处理得到亚氨基醚，经水解很容易得到7-ACA。

今天我们已经拥有发展完善的 7-ACA 生产工艺流程,即采用“两步酶一锅法”工艺使头孢菌素 C 脱酰基化。首先使用 D-氨基酸氧化酶作为催化剂,将头孢菌素 C 已二酰基侧链基团进行氧化脱氨基反应,得到 α -酮基己二酰基衍生物;该衍生物在氧气存在下脱去二氧化碳得到戊二酰基衍生物,最后被戊二酰基酰化酶水解而得到 7-ACA。

建立在可行的企业化生产基础上的这三个早期进入实用的母核,极大地拓展了随后的 β -内酰胺类半合成抗生素的商业发展空间。以下是几个有关的最重要的实例。

1.3 前工业化工艺

通常来说,应用于化学合成缩氨酸(肽)的许多方法同样也适用于半合成青霉素和半合成头孢菌素的合成,其选择性取决于酰化基团的性能和 β -内酰胺母核的敏感性。

带有各种各样取代基的羧酸通过制成酰氯或混酐的方法与 6-APA 进行酰化反应,可以得到较高收率的新青霉素,通常是通过与 2-乙基己酸钾(异辛酸钾)反应以钾盐的形式得到分离。酰氯与 6-APA 在含有碳酸氢钠的丙酮水中反应;混酐是在与 6-APA 反应之前先在丙酮中与氯甲酸乙酯和三乙胺反应制得。这些工艺曾用于青霉素 V 和 2,6-二甲氧基苯青霉素(新青霉素)的制备。

然而氨苄青霉素的合成却远不是这么简单的酰化反应。早期 Beecham 采用 D(-)苯甘氨酸与氯甲酸苄基酯反应保护氨基得到相应的 Z-衍生物;之后在丙酮中与氯甲酸乙酯和三乙胺反应制得混酐,不分离直接与溶于冷的碳酸氢钠溶液中的 6-APA 反应。酰化完全后,将反应混合物酸化,用有机溶剂提取 Z-氨苄青霉素,最后 Z-基团通过 Pd 催化加氢除去,得到氨苄青霉素。该工艺由于反应体系中硫元素的存在,需要使用大量的 Pd 催化剂的缺点而难以被人接受。

Dane 和 Dockner 在用 β -二羰基基团保护官能团氨基并合成 α -氨基被取代的青霉素的工艺方面,取得了显著的改进。在后来,以 Elisabeth Dane 教授(慕尼黑大学)名字命名为“邓氏盐路线”(Dane salt route)中,D(-)苯甘氨酸和乙酰乙酸乙酯在甲醇/氢氧化钾中保温反应,得到一种由于氢键作用而结构稳定的烯胺式加合物(enamine adduct)。其与氯甲酸乙酯或特戊酰氯在三乙胺存在下形成混酐,然后与溶解在二氯甲烷中的 6-APA 三乙胺盐进行链接反应,得到收率为 74%的氨苄青霉素。

即使在 Dane 所从事该项工作的早期(1962 年),Beecham 就很快看到了经由邓氏盐路线合成氨苄青霉素的潜力。Beecham 路线采用乙酰乙酸甲酯(最初的邓氏路线只揭示出 β -二酮基结构)和氯甲酸乙酯作为构成混酐的反应剂。在早期的合成中,氨苄青霉素的收率可以达到 70%,且可以扩大生产。

经过初期的这些发展之后,在 β -内酰胺类抗生素工业化合成中,由以下三