

· 实验研究 ·

部分取代 β 环糊精甲醚的合成及其纯化

Synthesis and purification of partially substituted β-cyclodextrin methylether

孙青葵, 柴逸峰, 吴秋业, 潘亚菊, 俞世冲

(第二军医大学药学院有机化学教研室, 上海 200433)

[摘要] 目的: 研究部分取代 β 环糊精甲醚的合成及其纯化方法。方法: 依据相关文献, 选择适合工业化生产的硫酸二甲酯作为 β 环糊精的甲醚化试剂, 在氢氧化钠溶液碱性体系中使 β 环糊精与配料比适宜的甲醚化试剂硫酸二甲酯进行反应制备得部分取代 β 环糊精甲醚, 并利用低压反相渗透法纯化终产物部分取代 β 环糊精甲醚。结果: 在氢氧化钠溶液中 β 环糊精与配料比适宜的甲醚化试剂硫酸二甲酯反应制备部分取代 β 环糊精甲醚, 并利用低压反相渗透法纯化终产物部分取代 β 环糊精甲醚的合成路线反应条件易于控制, 终产物收率 92%, 熔点 154~156, 终产物收率及纯度较文献均有较大改善。结论: 所选合成路线其反应条件及纯化方法适用于工业化生产。

[关键词] 部分取代 β 环糊精甲醚; 合成; 纯化; 低压反相渗透法

[中图分类号] R 979.9

[文献标识码] B

[文章编号] 0258-879X(2004)10-1130-02

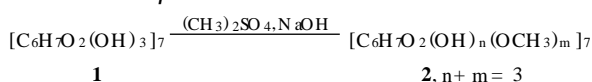
* β 环糊精(βcyclodextrin, βCD)是一种重要的药用敷料, 在药学领域应用很广泛^[1], 我国于 2000 年将 βCD 收入国家药典。但 βCD 在水中的溶解度较低(约 17 g/kg), 且其分子结构中的多个羟基呈现类似酶的催化作用, 从而影响药物的稳定性, 限制了其应用。为克服 βCD 的这些缺点, 近年来国内外大量开展了水溶性环糊精衍生物的合成研究^[2-4]。部分取代 βCD 甲醚的研究已有部分文献报道^[5-7], 其合成多选用易于放大生产的硫酸二甲酯作为甲醚化试剂, 但后处理过程多采用有毒溶剂氯仿提取法以及冰冻干燥来纯化处理终产物, 影响其推广应用。我们参考相关文献, 选用硫酸二甲酯在氢氧化钠溶液碱性条件下与 βCD 反应, 合成了部分取代 β 环糊精甲醚并对后处理条件进行优化探索, 革除了冰冻干燥并利用低压反相渗透法除去反应终产物溶液中的水溶性硫酸根离子、钠离子和铵根离子, 完全在水溶液状态下达到纯化终产物部分取代 β 环糊精甲醚的目的, 避免了有毒有机溶剂氯仿或二氯甲烷的大量使用。

1 材料

βCD (广东省郁南县环状糊精厂, 纯度大于 98%); 硫酸二甲酯、氢氧化钠、无水乙醇、氨水(分析纯, 上海化学试剂公司); 实验用膜分离装置及卷式膜组件(上海亚东核级树脂有限公司); MP-21 型熔点测定仪(温度计未经校正), 日本 Yamato 公司; Hitachi 270-50 型红外光谱仪, 日本日立公司, KBr 压片法测定; Bruker Spectrospin AC-P300 型磁共振仪, 瑞士布鲁克公司; 以 DM₂SO-d₆ 为溶剂, TMS 为内标。

2 方法和结果

部分取代 β 环糊精甲醚的合成如下:



取 11.35 g (0.01 mol) β 环糊精 1 溶于 40% (w/w) NaOH (1.6 mol) 溶液 160 ml 中。搅拌下于 -5~0 滴加 150 ml (1.58 mol) 硫酸二甲酯, 3 h 滴加完毕。然后于 0~25 搅

拌反应 12 h。反应结束后向反应混合液中加入 208 ml 浓氨水并搅拌 4 h 以除去未反应的硫酸二甲酯。取该反应混合液用去离子水稀释至 8 倍体积, 控制膜分离实验压力不超过 0.6 MPa, 操作温度不超过 45, 通过低压反相渗透法除去反应混合液中的铵离子、钠离子和硫酸根离子, 然后浓缩所得透析液至糖浆状, 趁热缓缓滴入 350 ml 无水乙醇中, 同时快速搅拌, 得粉末状固体沉淀。过滤, 固体置真空干燥箱中 50 干燥, 得产品 2 约 12 g, 产率 92%, m.p. 154~156, 文献^[5]值 m.p. 142~158, 产率 82%。IR (cm⁻¹): 3 425, 2 985, 2 930, 2 830, 1 466, 1 360, 1 320, 1 160, 1 070。¹H NMR (DCI₃): δ(ppm) 3.32(3H, O₆-CH₃), 3.54(3H, O₂-CH₃), 4.87(1H, O₃-H)。文献^[7]值¹H NMR (DCI₃): δ(ppm) 3.30(3H, O₆-CH₃), 3.58(3H, O₂-CH₃), 4.88(1H, O₃-H)。

2 讨论

由于空间位阻的影响, β 环糊精的 2, 6-位易于取代, 而 3-位较难取代。在一般情况下, 与 β 环糊精的反应先发生在 2, 6-位, 在较强条件下 3-位才发生反应。部分取代 β 环糊精甲醚的合成, 后处理操作目前的文献中多采用化学溶剂提取方法进行提纯, 但该法的缺点是由于 β 环糊精衍生物水溶性增加, 因此提取用有机溶剂氯仿、二氯甲烷等用量很大, 后处理过程中对试验者毒害作用大。根据相关文献^[4], 我们对甲醚化反应的后处理方法进行了新的探索, 选用反相渗透法用于产物的后处理, 完全在水溶液中进行操作, 简化了后处理过程, 溶液中离子的去除效率较高, 且避免了大量使用氯仿等毒害溶剂。需要注意的是, 膜分离操作过程中要注意控制实验压力最大不超过 0.8 MPa, 本实验中压力控制在 0.6 MPa 以内, 反相渗透的时间与反应混合液被稀释的体积有关, 一般来讲, 稀释倍数较大的溶液膜分离过程中压力较小,

* [基金项目] 上海市教育委员会科研基金(01JG050354)。

[作者简介] 孙青葵(1974-), 男(汉族), 硕士, 讲师

E-mail: sqy2000@sohu.com

但耗时也长。另外,膜分离装置暂不使用时,要防止膜组件干燥和生菌。

[参考文献]

- [1] Albers E, Muller BW. Cyclodextrin derivatives in pharmaceuticals [J]. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 1995, 12(4): 311-337.
- [2] Kraus T, Budesinsky M, Zavada J. General approach to the synthesis of persubstituted hydrophilic and amphiphilic beta-cyclodextrin derivatives [J]. *J Org Chem*, 2001, 66(13): 4595-4600.
- [3] Buchanan CM, Alderson SR, Cleven CD, et al. Synthesis and characterization of water-soluble hydroxybutenyl cyclomal-

tooigosaccharides (cyclodextrins) [J]. *Carbohydr Res*, 2002, 337(6): 493-507.

- [4] Helmut R. Process for the purification of water-soluble cyclodextrin derivatives [P]. U SA Patent: 5831081. 1998-11-03.
 - [5] Tomoyuki I, Yoshiaki Y, Michikatsu S, et al. Partially methylated cyclodextrins and process for producing the same [P]. U SA Patent: 4746734. 1988-05-24.
 - [6] 高萍萍, 陆光裕. 部分甲基化 β -环糊精的合成 [J]. *中国医药工业杂志*, 1995, 26(3): 105-106.
 - [7] 崔艳丽, 毛建卫. 2,6-二甲基- β -环糊精合成的研究 [J]. *浙江医科大学学报*, 1997, 26(2): 57-58.
- [收稿日期] 2004-01-07 [修回日期] 2004-07-16
[本文编辑] 李丹阳

· 实验研究 ·

外源性神经生长因子促神经端侧吻合后侧支发芽的作用

Exogenous nerve growth factor promoting collateral sprouting after peripheral nerve end-to-side anastomosis

李旭东¹, 季正伦², 何清濂³, 王成海⁴

(1 解放军第 411 医院整形外科, 上海 200081; 2 第二军医大学长海医院整形外科, 上海 200433; 3 长征医院整形外科, 上海 200003; 4 基础医学部神经生物学教研室, 上海 200433)

[摘要] 目的: 通过研究周围神经端侧吻合后外源性神经生长因子(NGF)的作用, 探讨改善端侧吻合侧支发芽的方法。方法: 雄性 SD 大鼠 20 只, 体质量 220~240 g, 建立胫腓神经端侧吻合模型, 随机分为 NGF 组和生理盐水(SAL)组($n=10$), NGF 组术后 1 周每日经前肌注射 NGF 5 μ g, SAL 组注射生理盐水 5 μ l, 术后 8 周行 HRP 逆行追踪和乙酰胆碱转移酶(ChAT)活性测定。结果: 再生神经存活百分率(%), NGF 组运动神经元为 47.5 ± 13.1 , 感觉神经元为 45.6 ± 6.4 , SAL 组运动神经元为 36.7 ± 12.2 , 感觉神经元为 32.8 ± 8.5 , 两组比较均有显著差异($P < 0.05$)。NGF 组 ChAT 活性为 $(1.94 \pm 0.23) \times 10^{12}$ Bq, 达正常对照 $(2.39 \pm 0.38) \times 10^{12}$ Bq 的 81%, 高于 SAL 组 $(1.72 \pm 0.33) \times 10^{12}$ Bq, 占正常对照的 72%。结论: 端侧吻合术后给予 NGF 可以促进神经侧支发芽, 提高神经元存活率。

[关键词] 神经再生; 端侧吻合; 侧支发芽; HRP 逆行追踪; 乙酰胆碱转移酶; 神经生长因子

[中图分类号] R 651.3 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2004)10-1131-02

* 外周神经损伤后端侧吻合方法的可行性已得到证实, 但目前的研究表明^[1], 端侧吻合的效果尚不如端端吻合。神经生长因子(NGF)的生物学作用主要有神经营养作用、化学诱导作用及对未成熟细胞的促分裂作用 3 个方面, 我们在术后早期应用 NGF, 观察其能否促进神经侧支发芽并提高神经元存活, 提高神经端侧吻合的修复效果。

1 材料和方法

1.1 动物分组及手术方法 雄性 SD 大鼠 20 只, 购自中国科学院上海计划生育研究所, 体质量 220~240 g, 随机分为 NGF 组和生理盐水组(SAL 组, $n=10$)。各组大鼠右侧自腓神经分支以远 0.5 cm 处切断, 胫神经分支以远 1 cm 处作外膜开窗(0.7 mm \times 0.7 mm), 腓神经远端用 11-0 无损伤缝线行外膜端侧吻合于胫神经开窗处, 腓神经近端游离后牵向近端外转 90 缝合于邻近肌肉, 左侧为正常对照。术后 1 周 NGF

组动物胫前肌每日注射 NGF (第二军医大学基础医学部神经生物学教研室提供) 5 μ g, SAL 组注射 5 μ l 生理盐水。

1.2 HRP 逆行追踪 术后 8 周, 于各组动物右侧腓神经远端, 多点注射 10% HRP (Sigma 公司, RZ > 3.0) 约 5 μ l, 动物存活 48 h 后, 按 Mesulam 法经心灌注固定, 取 L₃~L₅ 段脊髓和 L₄、L₅ 脊神经节, 连续冰冻切片, 四甲基联苯胺(TMB)染色, 分别计数脊髓运动神经元 HRP 标记细胞和脊神经节感觉神经元 HRP 标记细胞, 标记细胞为具有胞核或胞体轮廓完整、突起明显者。计算 NGF 组、SAL 组 HRP 标记细胞占正常胞体数的百分率, 用 t 检验进行组间比较。

1.3 乙酰胆碱转移酶(ChAT)活性检测 取 1 cm 大鼠腓神经组织(正常对照组取自腓神经分叉处以远 0.5 cm, 手术组

* [作者简介] 李旭东(1969-), 男(汉族), 博士, 主治医师
E-mail: drlee@sh411.net