(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 117683078 A
(43)申请公布日 2024.03.12

(21)申请号 202311426302.0

(22)申请日 2023.10.31

(71)申请人 武汉桀升生物科技有限公司
地址 430000 湖北省武汉市东湖新技术开发区高新二路388号武汉光谷国际生物药企业加速器1.1期5栋3层01室

(72)发明人 罗云 阮海燕 吴伟伟 江曦 杨庆锤 商雷 冯议 石攀文 唐启明 张一娟 赵海梦 黄开果 汪黎明 姜海英 左元雪

(74)专利代理机构 武汉惠创知识产权代理事务所(普通合伙) 42243
专利代理师 童思明

(51)Int.Cl.
C07K 5/062(2006.01)
C07K 1/02(2006.01)
C07K 1/12(2006.01)
C07K 1/14(2006.01)
C07K 1/30(2006.01)

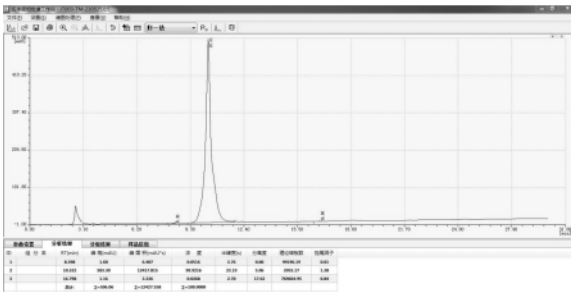
权利要求书2页 说明书4页 附图1页

(54)发明名称

一种甘氨酰-L-谷氨酰胺的制备方法

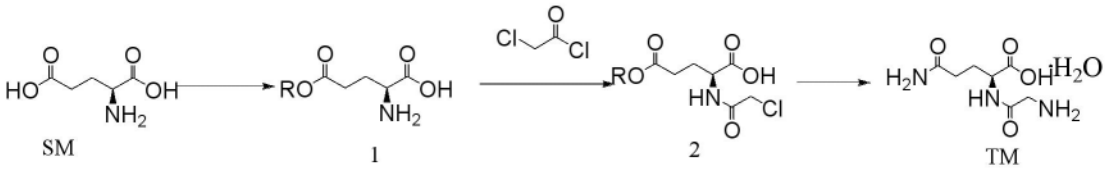
(57)摘要

本发明公开了一种甘氨酰-L-谷氨酰胺的制备方法,属于有机合成技术领域。该方法包括以L-谷氨酸为起始原料,经过活性基团(羧基)保护、酰胺化、氨解脱保护、纯化,最终得到高纯度的甘氨酰-L-谷氨酰胺。本专利采用连续投料,中间产物不需要析晶和纯化,操作简便,收率高,适合工业化生产。同时,本专利纯化方法简单,得到的产品的纯度在99.5%以上(基本可达到99.9%),最大单杂小于0.1%,杂质种类少,优于中国药典的规定。另外,各反应均不需要加入另外的有机溶剂,原料为L-谷氨酸,更易得到,成本较低,更易工业化实现。



CN 117683078 A

1.一种甘氨酰-L-谷氨酰胺的制备方法,其特征在于,反应方程式如下:



其中,R基为甲基、乙基、异丙基或叔丁基。

2.根据权利要求1所述的甘氨酰-L-谷氨酰胺的制备方法,其特征在于,R基为甲基或乙基。

3.根据权利要求1所述的甘氨酰-L-谷氨酰胺的制备方法,其特征在于,

合成化合物1时:L-谷氨酸和试剂R'在催化剂作用下,于25-40℃反应,得到化合物1;L-谷氨酸、催化剂和化合物R'的摩尔比为1:1.1-1.5:2-5,所述R'选自甲醇、乙醇、异丙醇或叔丁醇;所述催化剂选自4-二甲氨基吡啶、对甲苯磺酸或浓硫酸;

合成甘氨酰-L-谷氨酰胺时:化合物2在氨解试剂和浓氨水的混合溶液中,于25-60℃下氨解得到甘氨酰-L-谷氨酰胺。

4.根据权利要求1所述的甘氨酰-L-谷氨酰胺的制备方法,其特征在于,所述方法包括:

(1)酯化:将L-谷氨酸加入试剂R'中,在催化剂作用下于25-40℃反应,得到化合物1;所述L-谷氨酸、催化剂和化合物R'的摩尔比为1:1.1-1.5:2-5,所述R'选自甲醇、乙醇、异丙醇或叔丁醇;所述催化剂选自4-二甲氨基吡啶、对甲苯磺酸或浓硫酸;

(2)酰化:将化合物1溶于氢氧化钠水溶液中,于-5—15℃滴加氯乙酰氯,并维持pH9-12,滴加完成后,于-5—15℃反应得到化合物2,所述化合物1、氢氧化钠和氯乙酰氯的摩尔比为1:1.5-2.0:1.05-1.5;

(3)氨解:将氨解试剂溶于浓氨水中,加入化合物2,于25-60℃下反应,反应完成后,减压浓缩,脱色,滤液滴加入析晶溶剂,析晶得到甘氨酰-L-谷氨酰胺;所述氨解试剂选自碳酸氢铵、碳酸铵、氯化铵、液氨或醋酸铵;所述化合物2和氨解试剂的摩尔比为1:1.5-20,所述化合物2和浓氨水的体积比为1:5-20。

5.根据权利要求4所述的甘氨酰-L-谷氨酰胺的制备方法,其特征在于,在步骤(1)中,所述催化剂为浓硫酸,所述化合物R'选自甲醇或乙醇。

6.根据权利要求4所述的甘氨酰-L-谷氨酰胺的制备方法,其特征在于,在步骤(3)中,所述析晶溶剂选自甲醇、乙醇或丙酮。

7.根据权利要求4所述的甘氨酰-L-谷氨酰胺的制备方法,其特征在于,在步骤(3)中,浓氨水的浓度为25-28wt%;浓缩过程为:于45-65℃减压浓缩至体积的1/4-1/2;脱色过程为:加入活性炭并于35-60℃脱色0.2-1.0h。

8.根据权利要求4所述的甘氨酰-L-谷氨酰胺的制备方法,其特征在于,在步骤(3)还包括:甘氨酰-L-谷氨酰胺通过重结晶进行纯化,所述重结晶溶剂为水与析晶溶剂的混合溶剂,所述水与析晶溶剂的体积比为1:0.5-5.0。

9.根据权利要求8所述的甘氨酰-L-谷氨酰胺的制备方法,其特征在于,所述析晶溶剂为甲醇。

10.根据权利要求4所述的甘氨酰-L-谷氨酰胺的制备方法,其特征在于,所述方法包括:

(1)酯化:将L-谷氨酸加入试剂R'中,滴加浓硫酸,于25-40℃反应1-2h,减压浓缩得到化合物1;所述L-谷氨酸、浓硫酸和化合物R'的摩尔比为1:1.1-1.5:2-5,所述R'选自甲醇或乙醇;

(2)酰化:将化合物1溶于氢氧化钠水溶液中,于-5—15℃滴加氯乙酰氯,并维持pH9-12,滴加完成后,于0—10℃反应1-4h,反应完成后,采用浓盐酸调整至中性,减压浓缩得到化合物2,所述化合物1、氢氧化钠和氯乙酰氯的摩尔比为1:1.5-2.0:1.05-1.5;

(3)氨解:将碳酸氢铵溶于25-28wt%的浓氨水中,加入化合物2,于40-60℃下反应2-4h,反应完成后于45-65℃减压浓缩至体积的1/4-1/2,再加入活性炭,于35-60℃脱色0.2-1.0h,固液分离,然后在滤液滴加入甲醇,降温至0-5℃,析晶1-3h,固液分离得到甘氨酰-L-谷氨酰胺粗品;最后通过甲醇与水的混合溶剂重结晶得到甘氨酰-L-谷氨酰胺精品;所述化合物2和碳酸氢铵的摩尔比为1:1.5-20,所述化合物2和浓氨水的体积比为1:5-20,所述水与甲醇的体积比为1:0.5-5.0。

一种甘氨酰-L-谷氨酰胺的制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于有机合成技术领域,具体公开了一种甘氨酰-L-谷氨酰胺的制备方法。

背景技术

[0002] 甘氨酰-L-谷氨酰胺是一种人工合成的多肽类氨基酸,它是15种复方氨基酸爽肽注射液的主要成分之一,甘氨酸-L-谷氨酰胺主要用于提供谷氨酰胺,以促进蛋白质合成。谷氨酰胺在肠外营养中起着非常重要的作用,其可以减轻肠道黏膜萎缩,能够增强小肠及结肠细胞的活性,从而增强肠黏膜功能,减少肠道内的细菌和内毒素异位,因此甘氨酰-L-谷氨酰胺在医疗领域拥有广阔的发展空间。

[0003] 目前已公开的甘氨酰-L-谷氨酰胺的合成方法主要有以下几种:

路线一:中国专利CN112480208B报道了一种甘氨酰-L-谷氨酰胺的工业化制备方法,将氯乙酰氯和L-谷氨酰胺在低温和碱性条件进行酰化反应,分相后得到N-氯乙酰-L-谷氨酰胺水溶液,然后采用电渗析对该水溶液进行处理,向处理得到的水溶液中通入氨气进行带压氨解,经浓缩、结晶、过滤干燥得甘氨酰-L-谷氨酰胺粗品;最后将甘氨酰-L-谷氨酰胺粗品溶于水后采用WA-30树脂纯化,结晶制得高纯度的甘氨酰-L-谷氨酰胺。该方案中,需要使用多种有机溶剂,需要使用电渗析,且氨解过程带压操作,给工业化生产带来风险。

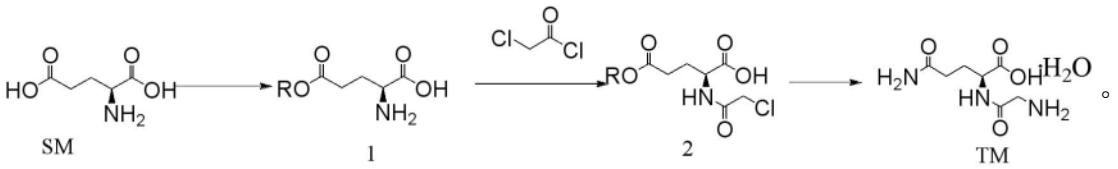
[0004] 路线二:中国专利CN102993271B报道了一种制备甘氨酰-L-谷氨酰胺的方法,采用Boc酸酐对甘氨酸的N端进行保护得N-叔丁氧羰酰-甘氨酸;通过混酐法用氯甲酸酯将N-叔丁氧羰酰-甘氨酸与L-谷氨酰胺缩合成N-叔丁氧羰酰-甘氨酰-L-谷氨酰胺;再通过三氟乙酸对其进行脱保护,得甘氨酰-L-谷氨酰胺粗品;最后经重结晶得高纯度的甘氨酰-L-谷氨酰胺。该方案采用Boc酸酐进行氨基保护,并使用三氟乙酸进行脱保护,制备过程中产生大量的废液,不适合工业化生产。

[0005] 路线三:中国专利CN100343275C报道了一种制备甘氨酰-L-谷氨酰胺的方法,先将苄氧羰基甘氨酸和N-羟基丁二酰亚胺溶解在乙酸乙酯中,再加入二环己基碳二亚胺的溶液,制得活化酯N-苄氧羰基甘氨酸-N-羟基丁二酰亚胺酯的溶液,再将该活化酯溶液在Na2CO3条件下同谷氨酰胺完成反应后,静置反应液,分去乙酸乙酯层,水层在＜5℃温度条件下滴加浓盐酸,调pH为2.5-3.0,析出N-苄氧羰基甘氨酰谷氨酰胺油状物,待其自然冷却固化后研细抽滤、水洗去盐、烘干得N-苄氧羰基甘氨酰谷氨酰胺,再以水和醇的混合液作溶剂,在钯催化剂催化下,将所得的苄氧羰基甘氨酰谷氨酰胺经氢解、重结晶即得甘氨酰谷氨酰胺产品。该方法过程复杂,且使用钯催化,成本较高,不利于工业化生产。

[0006] 因此,开发一种成本廉价、操作简便、三废少、杂质可控的合成甘氨酰-L-谷氨酰胺的工业化方法是目前迫切需要解决的问题。

发明内容

[0007] 本发明提供了一种甘氨酰-L-谷氨酰胺的制备方法,反应方程式如下:



[0008] 其中,R基为甲基、乙基、异丙基或叔丁基等;优选地,R基为甲基或乙基。SM为L-谷氨酸,TM为甘氨酰-L-谷氨酰胺。

[0009] 其中,合成化合物1时:L-谷氨酸和试剂R'在催化剂作用下,于25-40℃反应,得到化合物1;L-谷氨酸、催化剂和化合物R'的摩尔比为1:1.1-1.5:2-5。其中,R'选自甲醇、乙醇、异丙醇或叔丁醇等;催化剂选自4-二甲氨基吡啶、对甲苯磺酸或浓硫酸等。在本专利中,由于特殊的结构,在本专利的条件下仅有一个羧基进行反应,另一个羧基不进行反应。

[0010] 合成甘氨酰-L-谷氨酰胺时:化合物2在氨解试剂和浓氨水的混合溶液中,于25-60℃下氨解得到甘氨酰-L-谷氨酰胺。在本专利的条件下,氨解过程同时实现酯基与氯基的氨解,另一个羧基不会与氨进行反应,直接得到产物。

[0011] 具体地,本发明的甘氨酰-L-谷氨酰胺的制备方法包括:

(1)酯化:将L-谷氨酸加入试剂R'中,在催化剂作用下于25-40℃反应,得到化合物1。其中,L-谷氨酸、催化剂和化合物R'的摩尔比为1:1.1-1.5:2-5,R'选自甲醇、乙醇、异丙醇或叔丁醇等;催化剂选自4-二甲氨基吡啶、对甲苯磺酸或浓硫酸等。

[0012] (2)酰化:将化合物1溶于氢氧化钠水溶液中,于-5—15℃滴加氯乙酰氯,并维持pH9-12,滴加完成后,于-5—15℃反应得到化合物2。其中,化合物1、氢氧化钠和氯乙酰氯的摩尔比为1:1.5-2.0:1.05-1.5。

[0013] (3)氨解:将氨解试剂溶于浓氨水中,加入化合物2,于25-60℃下反应,反应完成后,减压浓缩,脱色,滤液滴加入析晶溶剂,析晶得到甘氨酰-L-谷氨酰胺。其中,氨解试剂选自碳酸氢铵、碳酸铵、氯化铵、液氨或醋酸铵等;化合物2和氨解试剂的摩尔比为1:1.5-20,化合物2和浓氨水的体积比为1:5-20。

[0014] 优选地,在步骤(1)中,催化剂为浓硫酸,化合物R'选自甲醇或乙醇。

[0015] 优选地,在步骤(3)中,氨解试剂选自碳酸氢铵、碳酸铵或液氨;更优选地,氨解试剂为碳酸氢铵。

[0016] 其中,在步骤(3)中,析晶溶剂选自甲醇、乙醇或丙酮等。

[0017] 具体地,在步骤(3)中,浓氨水的浓度为25-28wt%。浓缩过程为:于45-65℃减压浓缩至体积的1/4-1/2(具体为1/3)。脱色过程为:加入活性炭并于35-60℃(具体为50℃)脱色0.2-1.0h(具体为0.5h)。

[0018] 进一步地,在步骤(3)还包括:甘氨酰-L-谷氨酰胺通过重结晶进行纯化。其中,重结晶溶剂为水与析晶溶剂的混合溶剂,水与析晶溶剂的体积比为1:0.5-5.0。

[0019] 优选地,析晶溶剂为甲醇。

[0020] 优选地,本发明实施例提供的甘氨酰-L-谷氨酰胺的制备方法包括:

(1)酯化:将L-谷氨酸加入试剂R'中,滴加浓硫酸,于25-40℃反应1-2h,减压浓缩得到化合物1。其中,L-谷氨酸、浓硫酸和化合物R'的摩尔比为1:1.1-1.5:2-5, R'选自甲醇或乙醇。

[0021] (2)酰化:将化合物1溶于氢氧化钠水溶液中,于-5—15℃滴加氯乙酰氯,并维持

pH9-12,滴加完成后,于0—10℃反应1-4h,反应完成后,采用浓盐酸调整至中性,减压浓缩得到化合物2。其中,化合物1、氢氧化钠和氯乙酰氯的摩尔比为1:1.5-2.0:1.05-1.5。

[0022] (3)氨解:将碳酸氢铵溶于25-28wt%的浓氨水中,加入化合物2,于40-60℃下反应2-4h,反应完成后于45-65℃减压浓缩至体积的1/4-1/2,再加入活性炭,于35-60℃脱色0.2-1.0h,固液分离,然后在滤液滴加入甲醇,降温至0-5℃,析晶1-3h,固液分离得到甘氨酰-L-谷氨酰胺粗品;最后通过甲醇与水的混合溶剂重结晶得到甘氨酰-L-谷氨酰胺精品。其中,化合物2和碳酸氢铵的摩尔比为1:1.5-20,化合物2和浓氨水的体积比为1:5-20,水与甲醇的体积比为1:0.5-5.0。

[0023] 具体地,本专利采用连续投料,中间产物不需要析晶和纯化,操作简便,收率高,适合工业化生产。同时,本专利纯化方法简单,得到的产品的纯度在99.5%以上(基本可达到99.9%),最大单杂小于0.1%,杂质种类少,优于中国药典的规定。另外,各反应均不需要加入另外的有机溶剂,原料为L-谷氨酸,更易得到,成本较低,更易工业化实现。

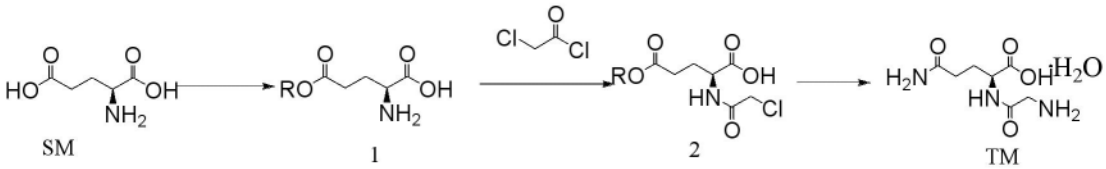
附图说明

[0024] 图1是本发明制备的甘氨酰-L-谷氨酰胺的液相检测结果。

具体实施方式

[0025] 为使本发明的目的、技术方案和优点更加清楚,下面对本发明实施方式作进一步地详细描述。

[0026] 本发明所述的甘氨酰-L-谷氨酰胺的合成路线如下:



上述合成路线,R基为甲基、乙基、异丙基或叔丁基,以生成R基的试剂R'为甲醇和乙醇举例说明。生成R基的试剂R'可以为前述所定义的任意其他试剂。本领域技术人员可以对某一步或几步进行调整,这些均未脱离本发明的实质内容所做出的改变均在本申请的保护范围内。

[0027] (一)化合物1的合成

1.1 于1L反应瓶中加入甲醇(48.0g,1.5mol)和L-谷氨酸(73.5g,0.5mol),搅拌均匀,滴加入浓硫酸(53.9g,0.55mol),搅拌均匀。控温30℃反应2h。反应结束,将反应液减压浓缩至油状物得化合物1(甲酯化物)。

[0028] 1.2 于1L反应瓶中加入乙醇(69.0g,1.5mol)和L-谷氨酸(73.5g,0.5mol),搅拌均匀,滴加入浓硫酸(53.9g,0.55mol),搅拌均匀。控温30℃反应2h。反应结束,将反应液减压浓缩至油状物得化合物1(乙酯化物)。

[0029] (二)化合物2的合成

2.1将化合物1(甲酯化物)油状物(161.1g,1mol)溶于500ml0.5N氢氧化钠水溶液中,反应液降温至-5-15℃,控温-5-15℃滴加氯乙酰氯(124.2g,1.1mol),维持pH9-12,滴完后控温0-10℃反应1-4h。反应完毕,浓盐酸调pH至中性,水溶液减压浓缩至油状物得化合物

2(甲酯化物)。

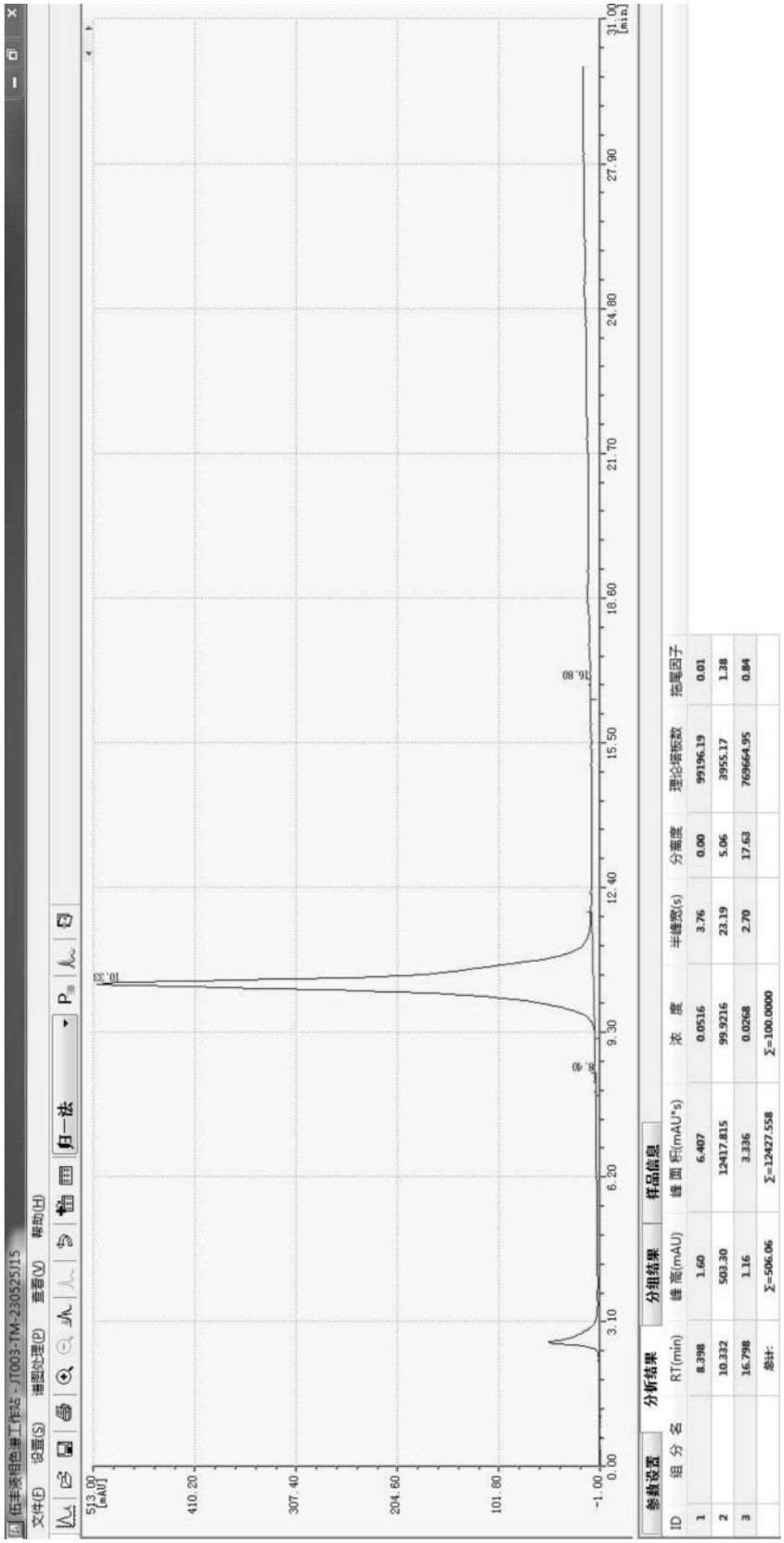
[0030] 2.2将化合物1(乙酯化物)油状物(175.1g,1mol)溶于500ml0.5N氢氧化钠水溶液中,反应液降温至-5-15℃,控温-5-15℃滴加氯乙酰氯(124.2g,1.1mol),维持pH9-12,滴完后控温0-10℃反应1-4h。反应完毕,浓盐酸调pH至中性,水溶液减压浓缩至油状物得化合物2(乙酯化物)。

[0031] (三)TM的合成

3.1 于3L反应瓶中加入氨水(1631.0g,24.0mol)、碳酸氢铵(355.8g,4.5mol),搅拌溶清,加入化合物2(甲酯化物)油状物(237.0g,1mol),控温40-60℃反应2-4h。反应完毕,反应液45-65℃减压浓缩至总体积为1/3。加入6.0g活性炭在50℃脱色0.5h,滤液滴加甲醇析晶,并降温至0-5℃,保温析晶2h,过滤得滤饼。滤饼用1400ml甲醇和水重结晶,过滤得湿品,湿品烘干得TM205.5g,摩尔收率86.7%,纯度为99.9%,最大单杂小于0.1%。

[0032] 3.2 于3L反应瓶中加入氨水(1631.0g,24.0mol)、碳酸氢铵(355.8g,4.5mol),搅拌溶清,加入化合物2(乙酯化物)(250.0g,1mol),控温40-60℃反应2-4h。反应完毕,反应液45-65℃减压浓缩至总体积为1/3。加入6.0g活性炭在50℃脱色0.5h,滤液滴加甲醇析晶,并降温至0-5℃,保温析晶2h,过滤得滤饼。滤饼用1400ml甲醇和水重结晶,过滤得湿品,湿品烘干得TM200.5g,摩尔收率84.5%,纯度为99.9%,最大单杂小于0.1%。

[0033] 以上所述仅为本发明的较佳实施例,并不用以限制本发明,凡在本发明的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。



ID	组分名	RT(min)	峰高(mAU)	峰面积(mAU*s)	浓度	半峰宽(s)	分离度	理论塔板数	拖尾因子
1		8.398	1.60	6.407	0.0516	3.76	0.00	99196.19	0.01
2		10.332	503.30	12417.815	99.9216	23.19	5.06	3955.17	1.38
3		16.798	1.16	3.336	0.0268	2.70	17.63	769664.95	0.84
		总计:	Σ=506.06	Σ=12427.558	Σ=100.0000				

图1