

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 03803401.8

[51] Int. Cl.

C07C 403/24 (2006.01)

C07D 213/80 (2006.01)

C07D 307/68 (2006.01)

C07D 333/24 (2006.01)

A23K 1/16 (2006.01)

A23K 1/18 (2006.01)

[45] 授权公告日 2008 年 3 月 19 日

[11] 授权公告号 CN 100375740C

[51] Int. Cl. (续)

A23L 1/275 (2006.01)

[22] 申请日 2003.1.29 [21] 申请号 03803401.8

[30] 优先权

[32] 2002. 2. 6 [33] EP [31] 02002728.0

[86] 国际申请 PCT/EP2003/000873 2003.1.29

[87] 国际公布 WO2003/066583 英 2003.8.14

[85] 进入国家阶段日期 2004.8.6

[73] 专利权人 DSM IP 资产公司

地址 荷兰海尔伦

[72] 发明人 阿诺德·格洛尔 沃纳·西蒙

[56] 参考文献

WO0062625A 2000.10.26

CN1052001C 2000.5.3

审查员 张 靖

[74] 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

代理人 黄益芬 巫肖南

权利要求书 3 页 说明书 13 页

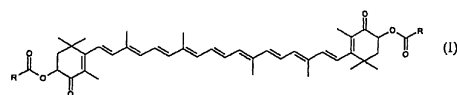
[54] 发明名称

虾青素酯

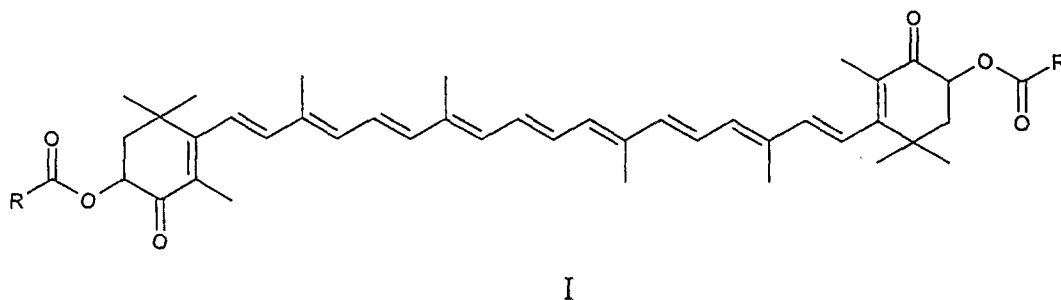
[57] 摘要

通式(I)的虾青素衍生物, 式中 R 每种情况是基团 $-NH-CH(R^1)-COOR^2$ (a)、 OR^3 (b) 或 $-(Y)_n-Z$ (c), 而 R^1 、 R^2 、 R^3 、Y、Z 及 n 如说明书中表示的详细含义, 是一类新颖的化合物, 它们在饲料制造所要求的高温挤出中以及在制造出的饲料的贮存期间具有高的稳定性, 因此它们适用作为水生动物饲料的着色类胡萝卜素。这些衍生物的制备方法: 虾青素与合适的酸 $RCOOH$ 本身或其酰氯 ($RCOCl$) 或其酸酐 $(RCO)_2O$ 起反应, 或者在 R 表示(a)基团的情况下, 虾青素与通式为 $OCNCH(R^1)COOR^2$ 的合适 N-羰基-氨基酸酯起反应。本发明还涉及含有这种虾青素衍生物作为着色用类胡萝卜素的水生动物饲料的配料, 和涉及生产这种配料的方法, 此生产方法是: 将虾青素衍生物溶于植物的或蔬菜的油或脂中, 或溶于有机溶剂中, 或溶于植

物的或蔬菜的油或脂与有机溶剂的混合物中; 将此溶液用保护胶体的水溶液进行乳化; 至少部分除去溶剂和水, 得到浓乳化液; 以及将此浓乳化液喷雾干燥以便最终生成适合于加至水生动物饲料的配料中。本发明还涉及含有这种着色用类胡萝卜素的水生动物饲料。

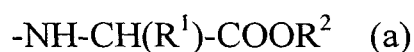


1. 通式 I 的虾青素衍生物:



式中,

R 在每种情况下是基团(a)、(b)或(c)



R^1 表示氢或选自 C_6H_5 和 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$ 的形成蛋白质的氨基酸残基,

R^2 表示 C_{1-6} 烷基或 C_{3-8} 环烷基,

R^3 表示 C_{1-12} 烷基或 C_{3-8} 环烷基,

n 表示 0 或 1,

Y 表示 C_{1-7} 亚烷基或 C_{2-7} 亚链烯基,

以及 Z, 当 n 为 0 时, 它表示 C_{3-8} 环烷基、 $-\text{CH}(\text{C}_6\text{H}_5)\text{OR}^4$ 基、 $-\text{COR}^5$ 基或 $-\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Hal}^-$ 基

或者 Z, 当 n 为 1 时, 它表示氨基、 $-\text{O}-\text{COR}^6$ 基、 $-\text{OR}^7$ 基或 $-\text{SR}^8$ 基,

或者 Z, 无论 n 是 0 或 1, 它可替换地表示芳基、杂芳基、 $-\text{COOR}^5$ 基或 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{OR}^4$ 基,

R^4 表示氢或乙酰基,

R^5 表示氢或 C_{1-6} 烷基,

R^6 表示 C_{1-6} 烷基、芳基或杂芳基,

R^7 表示氢、 C_{1-6} 烷基或乙酰基,

R^8 表示 C_{1-6} 烷基, 以及

Hal^- 表示卤素离子,

其中所述芳基为未取代的苯基、未取代的萘基, 或者选自对-甲苯基、3-甲氧基苯基、4-甲氧基苯基、2,5-二甲氧基苯基、3,4-二甲氧基苯基和 4-苄氧

基苯基中的取代的苯基；所述杂芳基选自 2-呋喃基、3-呋喃基、2-噻吩基或 3-噻吩基。

2. 根据权利要求 1 的虾青素衍生物，它是下列这种通式 I 衍生物中的一种：

虾青素-二碳酸二乙酯，其中 R 是乙氧基；

虾青素-二草酸二乙酯，其中 R 是乙氧基羰基；

虾青素-二(N-乙酰基甘氨酸酯)，其中 R 是乙酰氨基甲基；

虾青素-二马来酸酯，其中 R 是 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$ ；

虾青素-二琥珀酸酯，其中 R 是 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$ ；

虾青素-二琥珀酸二甲酯，其中 R 是 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOCH}_3$ ；

虾青素-二琥珀酸二乙酯，其中 R 是 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOC}_2\text{H}_5$ ；

虾青素-二甘氨酸二乙酯二氨基甲酸酯，其中 R 是 $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{COOC}_2\text{H}_5$ ；

虾青素-二乙酰基二甘醇酸酯，其中 R 是乙酰基氧甲基；

虾青素-二(2-糠酸酯)，其中 R 是 2-呋喃基；

虾青素-二(3-甲硫丙酸酯)，其中 R 是 3-甲硫乙基；

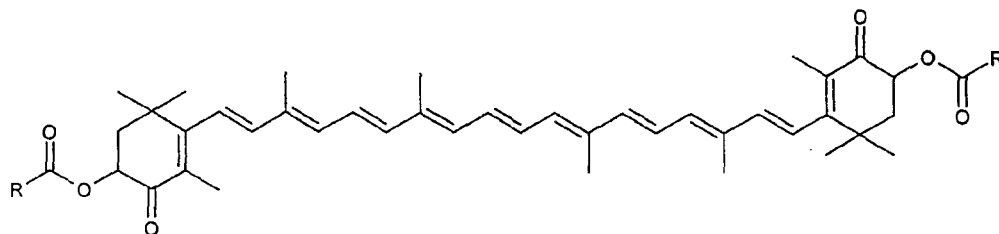
虾青素-二-[(2-噻吩基)乙酸酯]，其中 R 是(2-噻吩基)甲基；

虾青素-二乳酸酯，其中 R 是 1-羟乙基；以及

虾青素-二((R)-O-乙酰基扁桃酸酯)，其中 R 是 α -乙酰基氧苄基，以及其中每一种均处于(全-E)-3,3'-外消旋异构形式。

3. 根据权利要求 2 的虾青素衍生物，它是虾青素-二碳酸二乙酯、-二琥珀酸二甲酯、-二琥珀酸二乙酯、及-二-[(2-噻吩基)乙酸酯]中的一种，以及其中每一种均处于(全-E)-3,3'-外消旋异构形式。

4. 一种虾青素衍生物，其为虾青素-二烟酸酯，具有下式



其中 R 是 3-吡啶基。

5. 权利要求 1 至 3 中的任一项所定义或指定的虾青素衍生物的制备方法，其特征在于虾青素与适当的酸 RCOOH 本身或其酰氯 RCOCl 或酸酐 $(\text{RCO})_2\text{O}$ 进行反应，或者在 R 表示(a)基团的情况下与合适的通式为

OCNCH(R¹)COOR²的 N-羰基-氨基酸酯进行反应，其中 R、R¹和 R²如权利要求 1 中所定义。

6. 用于水生动物饲料的含有着色类胡萝卜素的配料，其特征在于含有如权利要求 1 至 4 中的任一项所定义或指定的作为类胡萝卜素的虾青素衍生物。

7. 生产如权利要求 6 所要求的配料的方法，其特征在于，将虾青素衍生物溶于植物的或蔬菜的油或脂中，或溶于有机溶剂中，或溶于植物的或蔬菜的油或脂与有机溶剂的混合物中；将此溶液用保护胶体的水溶液进行乳化；至少部分除去溶剂和水，得到浓乳化液；以及将此浓乳化液喷雾干燥以便最终生成适合于加至水生动物用饲料中的配料。

8. 根据权利要求 7 的方法，其特征在于将虾青素衍生物溶于作为溶剂的二氯甲烷之中。

9. 含有着色类胡萝卜素的水生动物饲料，其特征在于含有如权利要求 1 至 4 中的任一项所定义或指定的作为类胡萝卜素的虾青素衍生物。

10. 根据权利要求 9 的水生动物饲料，其特征在于虾青素衍生物的含量范围为 30 至 100 ppm。

11. 如权利要求 9 或权利要求 10 所要求的水生动物饲料的制备方法，其特征在于在饲料中加入虾青素衍生物作为配料，它是通过在该饲料制备的适当阶段将该配料与最终饲料的至少一些组份混合，以及将此含有虾青素衍生物的混合物进行水热处理，从而生成有虾青素衍生物补充的饲料。

12. 如权利要求 11 所要求的水生动物饲料的制备方法，其中所述配料为水可分散的配料。

13. 如权利要求 1 至 4 中的任一项所定义或指定的虾青素衍生物作为水生动物饲料中的着色类胡萝卜素的应用。

虾青素酯

类胡萝卜素是一组天然产生的有机颜料，它们是使水生动物的皮肤、肉、壳和外骨骼产生红色、橙色和黄色的原因。

在水生体系中主要的胡萝卜素是虾青素，而水生养植物(水生动物)中的虾青素的功能有两个方面。首先，它在成熟期和受某些鱼类物种例如鲑鳟亚目鱼(鲑鱼和真鳟)应激时能被移动和利用，在它们的肉中已逐渐形成了虾青素的沉积和贮存体系；因为是天然生物抗氧化剂，所以在这方面虾青素比维生素 E 或 β -胡萝卜素更为有效。第二，在水生生物中虾青素是天然的肉色素和皮肤色素。例如由于虾青素的鲑鱼和很多甲壳纲动物有特殊的粉红色，在食物制成品的美观诱人方面起着重要作用：此颜色是例如鲑鳟亚目鱼、小虾以及红海鲤科淡水鱼的烹饪口感的一部分。虾青素是产生这种颜色的原因，而因为鱼和甲壳纲动物自身不能合成虾青素，它们要着色就得依赖于饮食摄入。在精细培养条件下，通常将虾青素加到鲑鳟亚目鱼的复合饲料中以强化其肉所需的颜色。如果饲养的鱼产品要模仿它的野生产品和要对购买者具有最大的吸引力，则这些购买者的选择通常主要受这类产品的目视外观的影响。

在水生动物的整个生长周期，肉的着色受众多外部的和内源的因素影响。这些因素集中起来导致每一种鱼或甲壳纲动物肉着色的高度变异。

已知在鲑鳟亚目鱼的肉中虾青素的沉积是受到若干内源因素的影响。这些因素包括虾青素的可消化性、它被肠的吸收、它通过脂蛋白往血液中送入、它的代谢及它与肌肉纤维的连接。每一因素均能明显影响肉中的虾青素浓度及目测颜色，而且这些方法每一种的限制均会导致肉不能充分着色。

虾青素的利用形式，即作为虾青素源的此化合物本身或其衍生物，以及虾青素在其中存在的原料基体(饲料)，均影响虾青素的可消化性及它随后在肉着色方面的功效。虾青素或其衍生物的可消化性反过来又影响饮食的合适吸收速度和用于肉着色的摄生法。实际已表明，形状及饮食组成能影响消化。已经确定用非配制虾青素作为饲料几乎没有着色效果。

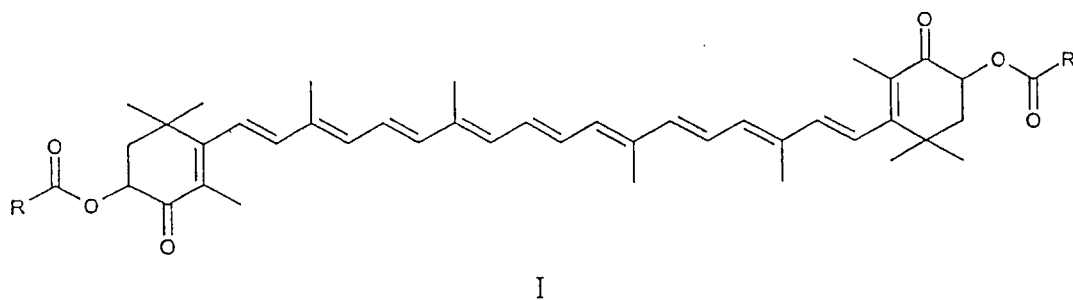
此外，现已表明，喂给红鳟鱼、大西洋鲑鱼及海鲑鱼的与天然物等同的虾青素、虾青素二棕榈酸酯及鸡油菌黄质的表观可消化性系数，在消化方面

有很大的变化,这种变化在饲料挤出和/或饲料贮存期间与类胡萝卜素的降解有关,或者在喂养之后与肠子中的类胡萝卜素的降解有关或者与来自肠内物的类胡萝卜素的不完全萃取有关。

关于饲料挤出期间虾青素的破坏(降解),现已确定,在高温下加工时发生明显的破坏,而贮存期间的降解主要受暴露于空气中的氧气的影响。

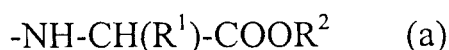
在这些情况下,需要生产新的虾青素衍生物其在制造饲料所需的高温下挤出时以及在制得的饲料贮存时,具有高的稳定性,因而能在挤出和贮存期间避免活性物质的过度损失。此外,在水产养殖中使用更稳定的虾青素作为颜料,正如过去常在鲑鱼肉和鳟鱼肉中观察到的那样能够大大地减少甚至消除由使用性能较不稳定的虾青素或其衍生物而导致的颜色质量变化。此外,与先前使用虾青素本身或其衍生物所可能得到的结果相比,较稳定的颜料使鱼或甲壳纲动物饲料制造者在饲料制造期间能在较大范围内改变加工条件,也使在饲料贮存期间能在较大范围改变环境条件。采用新虾青素衍生物可以获得的上述优点在很大程度上是基于先前的使用虾青素时那些令人不满意的经历。因此,过去已观察到在高温下的挤出期间 10-20 % 的颜料因为降解而损失;在已制出的饲料在贮存期间,因为在环境条件下的降解,每周约损失 2 % 所含的颜料。

因此,本发明提供了通式 I 的新型虾青素衍生物:



式中,

R 在每种情况下是基团(a)、(b)或(c)



R^1 表示氢或形成蛋白质的氨基酸残基,

R^2 表示 C_{1-6} 烷基或 C_{3-8} 环烷基,

R^3 表示 C_{1-12} 烷基或 C_{3-8} 环烷基,

n 表示 0 或 1,

Y 表示 C_{1-7} 亚烷基或 C_{2-7} 亚链烯基,

以及 Z , 当 n 为 0 时, 它表示 C_{3-8} 环烷基, $-\text{CH}(\text{C}_6\text{H}_5)\text{OR}^4$ 基, $-\text{COR}^5$ 基, 或 $-\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Hal}^-$ 基

或者 Z , 当 n 为 1 时它表示氨基, $-\text{O}-\text{COR}^6$ 基, $-\text{OR}^7$ 基或 $-\text{SR}^8$ 基,

或者 Z , 无论 n 是 0 或 1, 它可替换地表示芳基、杂芳基、 $-\text{COOR}^5$ 基或 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{OR}^4$ 基,

R^4 表示氢或乙酰基,

R^5 表示氢或 C_{1-6} 烷基,

R^6 表示 C_{1-6} 烷基、芳基或杂芳基,

R^7 表示氢、 C_{1-6} 烷基或乙酰基,

R^8 表示 C_{1-6} 烷基, 以及

Hal 表示卤素离子。

在通式 I 虾青素衍生物的上述定义中, 含 3 个或更多个碳原子的任何烷基或链烯基可以是直链的或支化的, 这也可应用于以 Y 表示的 C_{1-7} 亚烷基或 C_{2-7} 亚链烯(双价)基; 因此, 亚烷基可以是例如亚甲基或二、三、四、五、六或七亚甲基, 或者分别是亚乙烯、亚丙基(乙基亚甲基)、1-或 2-甲基取代的亚乙基, 还可以是含总数高达七个碳原子的单个-或多个-支化的亚烷基, 除了直链或支化的 C_{2-7} 亚链烯基之外, 当然还包括带一个或(从 C_4 开始)多个双链的亚链烯基; 这类亚链烯基的例子是通式 $-\text{CH}=\text{CH}-$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_3-$ 及 $-(\text{CH}=\text{CH})_2-$ 的那些。

任何芳基(Z 或当 n 是 1 时以 Z 表示的 $-\text{O}-\text{COR}^6$ 中的 R^6)可以是未取代的苯基、萘基或还有多环芳香烃基, 或者以一个或多个取代基为特征的基团, 特别是选自 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、卤素和苄氧基的那些取代基。卤素指氟、氯、溴或碘。取代苯基的例子是对-甲苯基、3-甲氧基苯基、4-甲氧基苯基、2,5-二甲氧基苯基、3,4-二甲氧基苯基及 4-苄氧基苯基。

“杂芳基”这一表示, 以及 Z 或在 $-\text{O}-\text{COR}^6$ 基中 R^6 的表示, 意味着一种芳香杂环基团, 其特征是作为环成员的一个杂原子或多个杂原子, 这些杂原子选自氧、硫和氮。这类杂芳基的例子是 2-或 3-呋喃基、2-或 3-噻吩基和 4-吡啶基。与芳基的情况一样, 这些杂芳基可以是未取代的或被一个或多个上面

对于取代芳基所述的那些基团所取代的。

至于“形成蛋白质的氨基酸的残基”(当 R^1 不是表示氢时 R^1 所表示的), 这是指其中 R^1 有如此表示的合适基团(a), 得自任何氨基酸 $H_2N-CH(R^1)-COOH$, 式中 R^1 表示氨基酸分子的可变部分, 氨基酸的很多例子同其他参考文献一起, 得自 *Organische Chemie*, “Von den Grundlagen zur Forschung”, Vol.1, Ed. Salle+Sauerlander, pages 302-304(Frankfurt 1998), 其内容在这里被相应引入。在氨基酸是最简单的甘氨酸的情况, 基团(a)表示 $-NH-CH_2-COOR^2$, R^1 是氢(而 R^2 是任何 C_{1-6} 烷基或 C_{3-8} 环烷基)。在苯基丙氨酸和蛋氨酸的情况, 基团(a)和 R^1 分别表示 $-NH-CH(C_6H_5)-COOR^2$ 和苯基(C_6H_5), 以及分别为 $-NH-CH(CH_2CH_2SCH_3)-COOR^2$ 和 2-甲硫基乙基($CH_3CH_2SCH_3$)。基团(a)和“形成蛋白质的氨基酸残基”(R^1 的含义)的其它例子将不需特别解释。

最后, 卤素离子 Hal 可以是氟、氯、溴和碘离子, 优选氯离子 Cl^- 。

通式 I 的虾青素可以是任何可能的异构形式, 或是异构体混合物例如外消旋物混合物的形式。

因此, 根据本发明通式 I(具有合适的 R 含义)的具体虾青素衍生物例子是:

- 虾青素-二碳酸二乙酯(R 是乙氧基),
- 虾青素-二草酸二乙酯(R 是乙氧基羰基),
- 虾青素-二(N-乙酰基甘氨酸酯)(R 是乙酰氨基甲基),
- 虾青素-二马来酸酯(R 是 $-CH=CH-COOH$),
- 虾青素-二琥珀酸酯(R 是 $-CH_2-CH_2-COOH$),
- 虾青素-二琥珀酸二甲酯(R 是 $-CH_2-CH_2-COOCH_3$),
- 虾青素-二琥珀酸二乙酯(R 是 $-CH_2-CH_2-COOC_2H_5$),
- 虾青素-二甘氨酸二乙酯二氨基甲酸酯(R 是 $-NH-CH_2-COOC_2H_5$),
- 虾青素-二烟酸酯(R 是 3-吡啶基),
- 虾青素-二蛋氨酸二氨基甲酸酯(R 是 $-NHCH(CH_2CH_2SCH_3)COOC_2H_5$),
- 虾青素-二乙酰基二甘醇酸酯(R 是乙酰基氧甲基),
- 虾青素-二苯基丙氨酸二氨基甲酸酯(R 是 $-NHCH(CH_2C_6H_5)COOC_2H_5$),
- 虾青素-二富马酸二乙酯(R 是 $-CH=CH-COOC_2H_5$),
- 虾青素-二(2-糠酸酯)(R 是 2-呋喃基),

虾青素-二丙二酸二甲酯(R 是 $-\text{CH}_2-\text{COOCH}_3$),

虾青素-二(3-甲硫丙酸酯)(R 是 3-甲硫乙基),

虾青素-二甲氧基乙酸酯(R 是甲氧基甲基),

虾青素-二-[(2-噻吩基)乙酸酯] [R 是(2-噻吩基)甲基],

虾青素-二乳酸酯(R 是 1-羟乙基),

虾青素-二(乙酰基扁桃酸酯)(R 是 α -乙酰基氧苄基), 以及

虾青素-二甜菜酸酯[R 是 $-\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Cl}^-$].

上述命名的每一种虾青素衍生物优选的是处于(全 E)-3,3'-外消旋异构形式。

从稳定性及着色性考虑, 特别优选的是六种虾青素衍生物: 虾青素-二碳酸二乙酯、-二琥珀酸二甲酯、-二琥珀酸二乙酯、-二烟酸酯、-二甲氧基乙酸酯及-二-[(2-噻吩基)-乙酸酯]。

本发明的虾青素原则上可以根据 R 基的性质按照酯化反应或酰胺化反应本身公知的合成方法进行制备, 其中由虾青素与适当的酸 ROOH 本身或其酰氯(RCOCl)或其酸酐($\text{RCO})_2\text{O}$ 起反应, 或者在 R 表示(a)基团的情况下, 虾青素与通式 $\text{OCNCH(R}^1\text{)COOR}^2$ 的合适 N-羰基-氨基酸酯起反应。这些生产通式 I 虾青素衍生物的方法代表本发明的又一方面。

在与酰氯或酸酐发生酯化的情况下, 反应通常在惰性溶剂中和在有机碱存在下进行。作为溶剂(在悬浮液而不是溶液的情况下, 溶剂可代替分散介质的作用), 可方便地使用低级卤化烃, 例如二氯甲烷或氯仿; 低级脂族醚或环醚, 分别例如乙醚、四氢呋喃或二噁烷; 芳烃例如甲苯; 或低级脂肪酮例如甲酮。适用的碱是低级三烷基胺例如三乙胺; 吡啶; 或二(低级烷基)氨基吡啶例如二甲氨基吡啶。虾青素: 酰氯或酸酐: 碱的摩尔比通常在 1:2 ~ 6:2 ~ 10 的范围内。此外, 酯化反应通常在约 -10°C ~ 约 $+100^\circ\text{C}$ 、优选在约 25°C ~ 约 60°C , 最优选在约 25°C ~ 40°C 的温度范围下进行。在这些条件下, 酯化反应一般在约 1 ~ 24 小时内, 常常在约 2-6 小时内完成(从反应开始计算)。业已发现, 在惰性气氛下发生酯化反应是有好处的, 优选使用氮气或氩气作为惰性气体。此外, 在使用碱三乙胺(通常是优选的)的情况下, 业已发现, 在特别慢的反应时, 用高达其摩尔数的约 20% 的 4-二甲氨基吡啶来增强所述的碱, 是有好处的。

在用酸本身使虾青素酯化的情况下, 相对于溶剂/分散介质和反应温度,

其反应条件相似于用酰氯或酸酐进行酯化反应时所采用的那些反应条件。但是,在本情况下,通常用脱水剂代替碱。特别适用的脱水剂是双环己基碳化二亚胺。虾青素:羧酸:脱水剂的摩尔比通常在 1:2-6:2-7 的范围内。采用合适羧酸进行的酯化反应通常在几分钟至约 18 小时内完成。

最后,采用上述 N-羧基-氨基酸酯作为一种原料来生产通式 I 中的 R 表示(a)组的虾青素衍生物可同样使用上面另外两种情况给出的那种溶剂/分散介质来进行,反应温度通常也是相似的,即通常在约 -10°C ~约 $+120^{\circ}\text{C}$,优选约 25°C ~约 60°C ,最优选约 25°C ~约 40°C 的范围内,但是,在本情况下,可以用路易斯酸例如三氟化硼乙醚化物或者锡盐或锌盐(例如相关的氯化物),作为用酰氯或酸酐进行的酯化反应所用的这类碱的替代物,虾青素:N-羧基-氨基酸酯的摩尔比通常是 1:2-4,优选 1:2.2-2.4。在使用碱、特别是三乙胺或 4-二甲氨基吡啶的情况下,相对于虾青素原料的数量,这种碱性催化剂的数量,以当量表示(以 1 当量虾青素计算),通常为约 0.5~约 10.0(三乙胺)或约 0.1~约 10.0(4-二甲氨基吡啶)的范围内。在使用路易斯酸特别是氯化锌而不是碱性催化剂的情况下,相对于虾青素的数量(1 当量),该路易斯酸的数量通常在约 0.05~约 0.5,优选在约 0.1~约 0.2 当量的范围内。在这些反应条件下,此反应在这一情况下,一般在很长时间内,通常在高达 72 小时内完成。但是,例如在用氯化锌作为路易斯酸时,此反应一般在约 1 小时~约 3 小时这么短的时间内完成。

在所有这些情况下,此产物即通式 I 的虾青素衍生物能用本来公知的方法进行分离和提纯,例如通过加溶剂如甲醇以便在反应之后使粗产物从反应混合物中分离出来,并将收集到的粗产品结晶。

在上述生产通式 I 虾青素的方法中,用作原料的恰当羧酸 RCOOH 、酰氯 RCOCl 、酸酐 $(\text{RCO})_2\text{O}$ 及通式为 $\text{OCNCH(R}^1\text{)COOR}^2$ 的 N-羧基-氨基酸酯,或者是已知化合物,或者可容易地使用与生产已知的相关原料相似的方法来制得。

如上面指出的,本发明的虾青素衍生物在水生养殖用颜料、特别在水生动物饲料中是有用的,因此它们在这种饲料中适用作为着色剂。

在本发明中的水生动物是鱼类(特别是海鱼、淡水鱼、溯河鳟鱼(anadromous)或入海产卵鳟鱼(catadromous))及甲壳纲动物类。很适用于上述水生动物饲料的优选的鱼是红海鲤科淡水鱼、黄尾鱼、鲱鱼、鲑鱼、罗非鱼、

鲑鱼和金鱼、大西洋和太平洋鲑鱼，而鳟鱼是特别优选的。优选的甲壳纲动物是对虾、河虾及小龙虾。

为了实现它们作为水生动物饲料的着色剂的用途，可以用饲料配制及加工的技术领域公知的方法将虾青素衍生物加入饲料中，原则上是在其制造的合适阶段与至少一部分最终饲料组份混合。虾青素酯通常作为配料，特别是水分散配料而加入。这种配料原则上能通过首先将虾青素衍生物溶解于植物的或蔬菜的油或脂例如玉米油中、或溶解在有机溶剂例如醇、脂族醚、卤化脂族烃如二氯甲烷、或脂族酯中，或者溶解在植物的或蔬菜的油或脂与有机溶剂的混合物中而制得。溶解可以在宽的温度范围内例如从室温至约 150℃ 的范围内进行。在使用二氯甲烷作为溶解用有机溶剂的情况下，这可以在室温或高达 30℃ 的温度下进行，或者，在应用高压时则在更高温度下进行。在使用二氯甲烷或替代溶剂时，采用相对低的温度对于防止虾青素遭受不必要的高温溶解温度是特别有好处的，因而这代表了一种经济的和温和的处理方法。此外，特别是因为二氯甲烷溶解虾青素衍生物如此容易，因而通过使用相当小体积的这一溶剂还能获得经济上的收益；作为其一个结果，是较少的溶剂需要蒸发除去以及随后的处理或循环，而作为另一结果，是能够对较小体积的溶液能更快地进行处理。在溶解完成之后，通常用保护胶体，例如植物或动物蛋白如明胶特别是鱼明胶、碳水化合物、多糖或木素磺酸盐的水溶液，进行乳化。然后至少将一部分溶剂及水除去，从而得到以浓乳化液形式的配料。在确实加到饲料中之前，可以把此浓乳化液或者用通常的喷雾干燥技术进行喷雾干燥，或者将它喷雾干燥到液化淀粉或代替的载体例如硅酸钙之上，然后再用通常的技术进行处理。这种喷雾干燥的产品由小珠组成，这些小珠除含有虾青素衍生物本身之外，还含有来自先前处理时的组份例如油、保护胶体、淀粉等，而且它们还可含有高达 25 % 重量的该衍生物；存在的任何油的数量通常在约 0.5 % ~ 约 50 % 重量的范围内，基质(主要是保护胶体)的数量通常在约 50 % ~ 约 80 % 重量的范围内，而来自喷雾干燥的任何载体物质(淀粉、硅酸钙等)的含量通常在约 10 % ~ 约 25 % 重量的范围内。除了上述的物质之外，小珠还可含有相当小量的稳定剂、乳化剂及别的常用配制助剂。然后将此制剂与饲料的别的组份如鱼油和鱼肉混合，并利用高剪切力将此混合物进行水热加工，如成粒或挤出，生成补充了虾青素衍生物的粒状水生动物用饲料。在这种加工(造料、挤出)的过程中，温度可能达到约 70℃ ~

约 150℃,特别是约 90℃~约 130℃的范围内,压力可能达到约 10 巴~约 100 巴,特别是约 20 巴~约 40 巴的范围内。因此,重要的是,加入的颜料(在此情况下是通式 I 的虾青素衍生物)能忍受这种高温和高压而没有过度的降解。在如此制得的鱼饲料中的颜料含量通常在约 30~约 100ppm 的范围内。

关于鱼饲料配料及加工的其他信息提供在例如 American Feed Industry Ass., Feed Manufacturing Technology IV, 1994, pp. 509-515 之中。

作为促使所加的虾青素衍生物遭受上述水热法涉及的苛刻温度和压力的一种替代办法,加入的配料可以用水稀释,并且将它加至已进行水热处理之后的水生动物饲料之中,并混合之。

本发明的又一方面是含有加到水生动物饲料用的本发明虾青素衍生物,而这种饲料含有有效量的作为颜料的虾青素衍生物,特别是那种含有约 30ppm 至约 100ppm 这种虾青素衍生物的水生动物饲料。

本发明将用下面制备通式 I 虾青素衍生物的实施例予以说明。

实施例 1

(全-E)-3,3'-外消旋-虾青素-二(L-乳酸酯)

将 212g 乳酸及 0.84g 对-甲苯磺酸在 4℃下稀释到 2.3 二氯甲苯之中,然后在 28 分钟内加入 260.3g 二氢吡喃。在将此混合物再搅拌 10 分钟后,把温度升至 20℃并再继续搅拌 1.5 小时。然后将此溶液用三份每份 900ml 的 0.2M 氢氧化钾水溶液进行洗涤。除去碱水相,用两份每份 350ml 水进行洗涤。水相用二氯甲烷进行洗涤。然后将有机相合并并用无水硫酸钠进行干燥。蒸发掉溶剂直到留下含有四氢吡喃基乳酸为止。

将 73.26g 四氢吡喃-乳胶、47.22g 二环己基碳化二亚胺及 0.84g 4-二甲氨基吡啶,于惰性及干燥条件下,在 25℃加至搅拌下的 9.2g 虾青素在 1782.4g 四氢呋喃之中。搅拌约 16 小时后,用过滤法把沉出的二环己基脲除去。在减压下把所余溶液中的溶剂除掉。然后把残留物溶于 615.8g 二氯甲烷之中,把此溶液加到已热至 27℃的 750ml 2 摩尔硫酸溶液中,搅拌 1.5 小时后,把两相混合物的有机相分开,水相用二份每份 75ml 二氯甲烷萃取,把合并的有机相用 95.8g 无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发至干。

在 22℃下把残留物用 385.9g 吡啶稀释,并在 7 分钟内中入 210g 水。把温度升至 32℃。在再加入 298.9g 水后,沉淀出紫色结晶。搅拌 2 小时后,滤

出结晶，并在减压下干燥约 16 小时。

用 291g 二氯甲烷将结晶稀释，把此溶液加至已加热至 27℃ 的 7.9 摩尔硫酸水溶液中。搅拌 1.5 小时后，加入 350ml 水，分出有机相。有机相用两份每份 200ml 水洗涤。水相用 200ml 二氯甲烷洗涤，并把有机相合并。然后将合并后的有机相用 104.8g 无水硫酸钠干燥，过滤并蒸发至干。

在室温下把所得结晶稀释到 228g 甲苯之中。在加入 35.2g 己烷及搅拌 10 分钟后，沉淀出红色结晶。随后加入第二份 14g 己烷，把悬浮液搅拌、过滤、用 22g 己烷洗涤，并在高度减压下干燥约 16 小时。

此结晶用 246g 二氯甲烷稀释。把 276g 己烷分 6 份加入，直到红色结晶沉淀出。在过滤及干燥后，得到 6g(全-E)-3,3'-外消旋-虾青素-二(L-乳酸酯)(HPLC 面积%：95%)。

实施例 2

(全-E)-3,3'-外消旋-虾青素-二草酸二乙酯

将 56ml 三乙胺及 4.99g 4-二甲氨基吡啶在 25℃ 下于惰性和干燥条件下加到搅动下的 47.75g 虾青素在 1.6 升二氯甲烷的淤浆中。在 25℃ 下滴加完 45.9ml 草酸乙酯酰氯之后 30 分钟，反应完成。然后通过加入甲醇而将过量酰氯破坏掉。用 12ml 乙酸中和后，把反应混合物蒸发至干。把残留物溶在 1 升二氯甲烷中，用三份每份 500ml 水进行萃取，有机相用无水硫酸钠干燥。加入 1 升甲醇使产物从已干燥溶液中沉出。过滤后，用甲醇洗涤，干燥，得到 53.2g 深红色(全-E)-3,3'-外消旋-虾青素-二草酸二乙酯结晶(HPLC 面积%：98.1%)。

实施例 3

(全-E)-3,3'-外消旋-虾青素-二碳酸二乙酯

将 105ml 三乙胺及 9.35g 4-二甲氨基吡啶在回流温度下于干燥和惰性条件下加至搅动下的 29.84g 虾青素在 1 升二氯甲烷的溶液中。在 15 分钟的时限内将 24.31ml 氯甲酸乙酯分六等份加入。经过整整 2.5 小时后，将反应混合物冷至 25℃，通过加入甲醇而将过量酰氯破坏。蒸发至干后，残留物溶于 500ml 二氯甲烷之中，用水萃取三次，有机相用无水硫酸钠干燥，通过加入 100ml 甲醇而将产物从 250ml 的小体积中沉淀出。过滤后，用甲醇洗涤，干燥，得 33.69g(产率 90.9%)暗红色结晶(全-E)-3,3'-外消旋-虾青素-二碳酸二乙

加入 100ml 甲醇而将产物从 250ml 的小体积中沉淀出。过滤后，用甲醇洗涤，干燥，得 33.69g(产率 90.9%)暗红色结晶(全-E)-3,3'-外消旋-虾青素-二碳酸二乙酯(HPLC 面积%：89.8%)。

实施例 4

(全-E)-3,3'-外消旋-虾青素-二(N-乙酰基甘氨酸酯)

在干燥和惰性条件下将 4.73g N-乙酰基甘氨酸、5.97g 虾青素、249g 4-二甲氨基吡啶及 40ml 二氯甲烷混合。然后于 25℃在搅拌下加入 N,N-二环己基碳化二亚胺在 40ml 二氯甲烷中的溶液。17 小时后，用氯仿将二氯甲烷置换(将 105ml 溶剂混合物蒸去)。然后所得的热的(内温为 60℃)结晶悬浮液过滤，并用总量为 100ml 氯仿将结晶(二环己基脲)洗涤。把滤液浓缩到 75g 的体积，通过加入 150ml 甲醇而将产物结晶出来，洗涤和干燥后得到 6.34g(79.7% 的产率) (全-E)-3,3'-外消旋-虾青素-二(N-乙酰基甘氨酸酯)(HPLC 面积%：95.5%)。

实施例 5

(全-E)-3,3'-外消旋-虾青素-二琥珀酸二甲酯

在干燥和惰性条件下，于回流温度下将 17.5ml 三乙胺和 1.56g 4-二甲氨基吡啶加到 14.92g 虾青素在 500ml 四氢呋喃的搅拌下的溶液之中。在 70 分钟内连续加入 11.0ml 甲基琥珀酰氯。再过 1 小时后，把反应混合物冷至 25℃，加入 125ml 甲醇以便将过量酰氯破坏。在用二氯甲烷/水(1:1)进行萃取并在二氧化硅凝胶上用比例为 2:2:1 的甲苯/正己烷/乙酸乙酯这种洗脱剂进行色谱后，用结晶法自甲醇把产物分离。干燥后，得 10.29g(产率 49.9%)暗红色结晶(全-E)-3,3'-外消旋-虾青素-二琥珀酸二甲酯(HPLC 面积%：79.3%)。从二氯甲烷/甲醇重结晶后，用 HPLC 法得到纯度为 98% 的产品。

实施例 6

(全-E)-3,3'-外消旋-虾青素-二甘氨酸二乙酯二氨基甲酸酯

在惰性及干燥的条件下，于 25℃用搅拌方法将 1.19g 虾青素、0.55ml 异氰酸乙酸乙酯及 65mg 氯化锌在 10ml 二氯甲烷中的溶液混合，成为淤浆。一小时后反应完成。加入 25ml 使产物结晶出来。过滤分离出所得的紫色结

实施例 7

(全-E)-3,3'-外消旋-虾青素-二乙酰基二甘醇酸酯

在惰性及干燥的条件下, 于 25℃用搅拌方法将 30.44g 虾青素、24.33g 乙酰基甘醇及 1.27g 4-二甲氨基吡啶在 200ml 二氯甲烷中混合, 成为淤浆。在 10 分钟内加入 46.77g N,N-二环己基碳化二亚胺在 200ml 二氯甲烷中的溶液, 引起放热反应。一小时后, 反应完成。滤出二环己基脲, 将滤液浓缩, 通过加入甲醇将产物结晶出来。过滤和干燥后, 以暗红结晶分离出 38.96g(产率 95.8 %)(全-E)-3,3'-外消旋-虾青素-二乙酰基二甘醇酸酯(HPLC 面积 %: 95.8 %)。

实施例 8

虾青素-二琥珀酸二乙酯

在干燥和惰性的条件下, 在 25℃用搅拌方法将 2.98g 虾青素和 1.0ml 吡啶加至 25ml 二氯甲烷之中。然后在 25℃下在 15 分钟内将 1.8ml 乙基琥珀酰氯加至此搅拌下的悬浮液中。3 小时酯化反应完成。以共沸蒸馏法用甲醇将溶剂二氯甲烷置换。将 50ml 水加至在约 50ml 甲醇中的余下的结晶悬浮液中。在回流温度下将此悬浮液加热 1 小时(以促进 Z,E-异构化反应), 冷至 25℃后, 滤出结晶体, 用 20ml 甲醇洗涤, 干燥。得到 3.66g(产率 85.9 %)暗紫色结晶的粗虾青素-二琥珀酸二乙酯(HPLC 面积 %: 91.8 % 全-E, 50 % Z-异构体)。

实施例 9

虾青素-二马来酸酯

在干燥和惰性条件下, 于 25℃下将 17g 三乙胺在 200ml 二氯甲烷中的溶液, 加到搅拌下的 10g 马来酸酐和 20g 虾青素在 300ml 二氯甲烷中的悬浮液之中。90 分钟后反应完成, 连续用 250ml 3N 盐酸及盐水萃取所得的溶液。通过加入足够的正己烷将最终产物沉淀出。过滤后, 用正己烷洗涤, 干燥, 以暗红色结晶得到 27g(几乎 100 %的产率)纯虾青素二马来酸酯(HPLC 面积 %: 约 97.7 % 全-E)。

实施例 10

虾青素-二琥珀酸酯

在干燥和惰性条件下，在 25℃下将 59.69g 虾青素、25.27g 琥珀酸酐、70.04ml 三乙胺及 3.12g 4-二甲氨基吡啶(DMAP)悬浮在 500ml 二氯甲烷之中。搅拌约 16 小时后，虾青素转变为其二酯的反应结束。用 500ml 1N 盐酸将所得溶液酸化，并用 420ml 二氯甲烷进行萃取。通过用 750ml 水洗涤而将有机层中和，用无水硫酸钠干燥，然后通过蒸发而浓缩，往粘稠残留物中加入足够的正己烷而将产物结晶。过滤后，用正己烷洗涤，以暗红色结晶得到 79.06g(99.2%的产率)纯虾青素-二琥珀酸酯(HPLC 面积%：97.4%全-E)。

实施例 11

虾青素-二烟酸酯

在干燥和惰性条件下，在稍高于 25℃的温度下，将 28.05g 烟酰氯盐酸盐逐份加至 35.81g 虾青素、65.9ml 三乙胺及 5.83g 4-二甲氨基吡啶在 300ml 二氯甲烷中的淤浆之中。在 25-30℃下搅拌整整 5 小时后，通过加入 26.8ml 乙酸而将三乙胺中和，然后用三份每份 400ml 的水进行萃取，而有机层用两份每份 200ml 二氯甲烷进行反洗涤。将收集的有机层浓缩至 240g 重后，通过加入 480ml 甲醇而促进产物的结晶化。在 25℃将此悬浮液搅拌约 16 小时使结晶的沉出结束。过滤之后，用两份每份 30ml 甲醇洗涤，干燥，得 53.02g 暗灰色结晶粗品。通过从二氯甲烷/甲醇重结晶而将结晶粗品提纯，得 48.83g(约为 100%的产率)纯虾青素-二烟酸酯(HPLC 面积%：98.9%全-E；9%二氯甲烷)。

实施例 12

虾青素-二[(R)-O-乙酰基扁桃酸酯]

在干燥和惰性条件下，在 25℃下将 24.8g N,N-二环己基碳化二亚胺在 120ml 二氯甲烷中的溶液，在 30 分钟内加至搅拌下的 25.36g 虾青素、20g(R)-O-乙酰基扁桃酸及 1.5g 4-二甲氨基吡啶在 250ml 二氯甲烷中的淤浆之中。在 25℃下再搅拌 30 分钟后，反应完成，将所得的结晶体淤浆过滤(干燥后得：23.31g N,N-二环己基脲)。把滤液浓缩至 250g 重。通过在 0℃下加入 750ml 甲醇而将粗产物结晶。在 0℃再搅拌 30 分钟后，将悬浮液过滤，在 0℃下用两份每份 70ml 的甲醇/二氯甲烷(8:2)将结晶洗涤，通过从甲醇/二氯甲烷重结晶而将已干燥的结晶粗品提纯。以红色结晶得到 32.09g(产率 79.6%)纯

的虾青素-二[(R)-O-乙酰基扁桃酸酯](HPLC 面积%: 99.6%全-E)。

实施例 13

虾青素-二-[(2-噻吩基)乙酸酯]

在干燥和惰性条件下, 于 25℃将 45.52g N,N-二环己基碳化二亚胺在 240ml 二氯甲烷中的溶液, 在 30 分钟内加至搅拌下的 35.81g 虾青素、26.1g(2-噻吩基)乙酸及 1.5g 4-二甲氨基吡啶在 360ml 二氯甲烷中的淤浆之中。在 25℃下再搅拌 3 小时后反应结束, 而 N,N-二环己基脲可通过过滤分离。在将溶剂二氯甲烷转换为甲醇之后, 把所得悬浮液过滤, 用甲醇洗涤结晶, 干燥, 分离出 50.73g 结晶粗品。通过将结晶溶于 200ml 二氯甲烷及随后把溶剂转换为甲醇而将结晶提纯。过滤用甲醇洗涤及干燥后分离出 46.94g(产率 92.6%)纯的虾青素-二[(2-噻吩基)乙酸酯](HPLC 面积%: 99.5%全-E)。

实施例 14

虾青素-二(3-甲硫丙酸酯)

在干燥和惰性条件下, 在 25℃下将 45.52g N,N-二环己基碳化二亚胺在 240ml 二氯甲烷中的溶液, 在 30 分钟内加至搅拌下的 35.81g 虾青素、21.8g 3-甲硫丙酸及 1.5g 4-二甲氨基吡啶在 360ml 二氯甲烷中的淤浆之中。在 25℃下搅拌 1 小时后反应结束, 而 N,N-二环己基脲可通过过滤分离。在将溶剂由二氯甲烷转换为甲醇之后, 把所得悬浮液过滤, 用甲醇洗涤结晶, 干燥, 分离出 47.75g 粗产品, 从二氯甲烷/甲醇提纯后, 以暗红色结晶体得到 44.98g(产率 93.6%)纯的虾青素-二(3-甲硫丙酸酯)(HPLC 面积%: 约 100%全-E)。

实施例 15

虾青素-二(2-糠酸酯)

在干燥和惰性条件下, 将 21.09ml 2-糠酰氯于 25℃在 30 分钟内加至 41.78g 虾青素、29.42ml 三乙胺及 2.62g 4-二甲氨基吡啶在 1.4 升二氯甲烷中的搅拌下的悬浮液之中。在 25℃下搅拌 2 小时之后反应完成。然后小心地加入 500ml 甲醇, 蒸去二氯甲烷并用甲烷进行置换。将所得的结晶体悬浮在 25℃搅拌约 16 小时, 然后过滤。用 100ml 甲醇洗涤及干燥后, 得 52.76g(产率 96.0%)纯的虾青素-二(2-糠酸酯)(HPLC 面积%: 约 100%)。