

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
C07H 19/20 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200310106155.5

[45] 授权公告日 2006年2月22日

[11] 授权公告号 CN 1243009C

[22] 申请日 2003.10.29

[21] 申请号 200310106155.5

[71] 专利权人 徐昌洪

地址 210003 江苏省南京市福建路31号华富大厦1206室

[72] 发明人 金抒 徐昌洪

审查员 王颖

[74] 专利代理机构 南京经纬专利商标代理有限公司

代理人 沈廉

权利要求书1页 说明书4页

[54] 发明名称

5'-核苷酸二钠的制备工艺

[57] 摘要

5'-核苷酸二钠制备工艺是一种强力助鲜剂的制备工艺，具体涉及的是一种简便易行的5'-核苷酸二钠的制备工艺的后处理工艺。其制备工艺如下：以核苷为原料，磷酸三烷基酯为溶剂进行磷酰化反应；将磷酰化反应液在冰盐水中进行水解，得到含有磷酸三烷基酯、水、磷酸、盐酸、5'-核苷酸以及盐和少量副产物的水解液；水解液经静置可自然分层，分为磷酸三烷基酯层和含有磷酸，盐酸，5'-核苷酸以及少量副产物的水溶液层；将以上水溶液层用氢氧化钠中和至所有的酸完全成盐，冷却过滤除去绝大多数磷酸盐，得到含有氯化钠，5'-核苷酸二钠和少量副产物、少量磷酸盐的水溶液；将以上水溶液用盐酸调至 pH = 8，浓缩结晶即得5'-核苷酸二钠。

1、一种 5'-核苷酸二钠的制备工艺，其特征在于具体的制备工艺如下：

- a、以核苷为原料，磷酸三烷基酯为溶剂进行磷酰化反应；核苷：磷酸三烷基酯=1:8—20 w/w，核苷：三氯氧磷=1:1.5—4.0 mol/mol；
- b、将磷酰化反应液在冰盐水中进行水解，得到含有磷酸三烷基酯、水、磷酸、盐酸、5'-核苷酸以及盐和少量付产物的水解液；
- c、水解液经静置自然分层，分离为磷酸三烷基酯层和含有磷酸，盐酸，5'-核苷酸以及少量付产物的水溶液层；
- d、将以上水溶液层用氢氧化钠中和至所有的酸完全成盐，冷却过滤除去绝大多数磷酸盐，得到含有氯化钠，5'-核苷酸二钠和少量付产物和少量磷酸盐的水溶液；
- e、将以上水溶液用盐酸调至 PH=8，浓缩结晶即得 5'-核苷酸二钠。

2、根据权利要求 1 所述的 5'-核苷酸二钠的制备工艺，其特征在于核苷与磷酸三烷基酯进行磷酰化反应时，反应温度为 $-10^{\circ}\text{C}\sim+20^{\circ}\text{C}$ 。

3、根据权利要求 1 所述的 5'-核苷酸二钠的制备工艺，其特征在于将磷酰化反应液在冰盐水中进行水解时，水解温度为 $-5^{\circ}\text{C}\sim+10^{\circ}\text{C}$ ；盐水的浓度为 5~15% w/w，所用的盐为氯化钠、或磷酸二氢钠、或磷酸氢二钠、或硫酸钠中的一种。

4、根据权利要求 1 所述的 5'-核苷酸二钠的制备工艺，其特征在于水解液中的磷酸三烷基酯经静置自然与水相分层。

5'-核苷酸二钠的制备工艺

技术领域

本发明是一种强力助鲜剂的制备工艺，具体涉及的是一种简便易行的 5'-核苷酸二钠的制备工艺的后处理工艺。

背景技术

核苷酸及其衍生物在医药，食品，农业等领域已得到广泛的应用。5'-肌苷酸二钠和 5'-鸟苷酸二钠均是强力助鲜剂，将二者用于混合味精，其鲜味比一般味精高出 40-100 倍，而且风味更好，该产品投入市场后得到消费者的欢迎。胞苷酸二钠和尿苷酸二钠可用于补充牛乳中的核酸，以生产出接近人乳的母乳化牛奶，能增强婴儿的免疫力。

如上所述 5'-核苷酸二钠在食品和医药等领域都是非常重要的，其制备工艺多年来也有了不断的发展，现回顾如下：

1. 将相应的核苷与三氯氧磷在吡啶，三乙胺等碱性介质的存在下，在一定极性有机溶剂如二甲基甲酰胺，二甲基亚砷，乙腈中进行反应。反应结束后倒入水中，然后①将此水解液调至适当的 PH 值，直接用活性碳柱吸附，碱液洗脱；或②用其他水不溶有机溶剂抽提水解液中的有机溶剂，水相调至适当的 PH 值，用阴离子交换树脂柱或活性碳柱进行分离精制。（Gulland et al., J. Chem. Soc.,1940; Tsurushima Masaaki et al., JP59167599,1984）。

2. 将核苷的 2'-和 3'-位羟基保护起来，用磷酸三烷基酯作溶剂，与三氯氧磷反应，磷酰化后再脱保护，成盐，加乙醇使结晶析出，再重结晶得到 5'-核苷酸二钠（Masaharu Yoshikawa et al., US 3347846, 1967）。

3. 将相应的核苷与三氯氧磷在磷酸三烷基酯中直接磷酰化，反应结束后倒入冰水中，水解液中和后经阴离子交换柱吸附，洗脱，浓缩结晶得到 5'-核苷酸二钠（Masaharu Yoshikawa et al., US 3413282, 1968）。

4. 用肌苷和鸟苷的碱金属盐，或至少含其中之一的盐，混合进行磷酰化，以磷酸三烷基酯为溶剂。反应结束后倒入冰水中水解，用有机溶剂萃取磷酸三烷

基酯，水溶液经活性碳柱吸附，洗脱，浓缩结晶得到 5'-肌苷酸二钠和 5'-鸟苷酸二钠混合物 (Shigemitsu Abe et al., EP 453597, 1991)。

5. 将相应的核苷与磷酸三烷基酯先反应形成一种复合物，然后加三氯氧磷进行磷酰化。反应结束后水解，用活性碳柱或离子交换树脂柱分离提纯，最后结晶出产品 (Tomomi Ikemoto et al., Chem. Pharm. Bull., 1995; Akira Haze et al., CA 2100027, 1994)。

以上工艺中 1 是比较经典的酰化反应工艺，对 5'-位的选择性不好，收率受到影响。用吡啶，三乙胺等作催化剂，这类化合物水溶性极好，因此会产生严重的水污染。2 是先将核苷的 2'-和 3'-位羟基保护起来，再进行 5'-位的磷酰化，最后还要脱保护，步骤烦琐。后来发现即使不将 2'-和 3'-位羟基保护起来，在磷酸三烷基酯溶剂体系中 5'-位的磷酰化也有很高的选择性 (3 和 5)，因此目前 5'-核苷酸二钠的生产工艺中磷酰化反应均采用在磷酸三烷基酯溶剂体系中进行。

尽管磷酰化反应的工艺有了很大的改善，反应后处理工艺却一直没有太大的改变：将反应液倒入冰水中水解，然后要么水解后直接用活性碳柱吸附，碱液洗脱，流出液中有大量有机溶剂需进一步处理；要么将溶剂用水不溶性有机溶剂萃取出来后，再用活性碳柱或离子交换树脂柱分离提纯。此外还有硼酸硅胶柱分离法 (Analytical Biochem., 1982)，离子对反相置换层析法 (Chem. Eng. Sci., 1992)。但以上方法均操作烦琐，费时多，分离柱再生将产生大量废水。

发明内容

技术问题： 本发明的目的在于提供一种简便的 5'-核苷酸二钠的制备工艺，将以往复杂的操作简化，设备简化，并降低消耗，减少污染。

技术方案： 本发明的 5'-核苷酸二钠的制备工艺具体如下：

- a、以核苷为原料，磷酸三烷基酯为溶剂进行磷酰化反应；核苷：磷酸三烷基酯=1:8—20(w/w)，核苷：三氯氧磷=1:1.5—4.0(mol/mol)；
- b、将磷酰化反应液在冰盐水中进行水解，得到含有磷酸三烷基酯、水、磷酸、盐酸、5'-核苷酸以及盐和少量付产物的水解液；
- c、水解液经静置自然分层，分离为磷酸三烷基酯层和含有磷酸，盐酸，5'-核苷酸以及少量付产物的水溶液层；
- d、将以上水溶液层用氢氧化钠中和至所有的酸完全成盐，冷却过滤除去绝

大多数磷酸盐，得到含有氯化钠，5'-核苷酸二钠和少量付产物和少量磷酸盐的水溶液；

e、将以上水溶液用盐酸调至 PH=8，浓缩结晶即得 5'-核苷酸二钠。

核苷与磷酸三烷基酯进行磷酰化反应时，反应温度为 $-10^{\circ}\text{C}\sim+20^{\circ}\text{C}$ 。

将磷酰化反应液在冰盐水中进行水解时，水解温度为 $-5^{\circ}\text{C}\sim+10^{\circ}\text{C}$ ；盐水的浓度为 5~15%(w/w)，所用的盐为氯化钠、或磷酸二氢钠、或磷酸氢二钠、或硫酸钠中的一种。水解液中的磷酸三烷基酯可经静置自然与水相分层，而不需使用有机溶剂进行萃取。

利用溶解度的差别，将绝大多数磷酸盐过滤分离，而不需用层析柱或离子交换柱进行分离。当水溶液被调节至 $\text{PH}\geq 13$ 时，由于溶解度的差别，绝大多数磷酸盐将从水溶液中析出，并过滤分离。

关于以磷酸三烷基酯为溶剂进行核苷的磷酰化反应的报道和专利国外已有许多。如“背景技术”3, 4, 5 中提到的文献和专利，这里就不再累述。

有益效果：本发明是提供一种简单的 5'-核苷酸二钠的制备工艺，特别是简单的后处理工艺，从而降低消耗，减少污染。

磷酰化反应结束后，本发明者经过反复研究和实验，改良了以往在冰水中水解的方法，采用冰盐水进行水解，结果水解液静置后分层，可直接将水层和有机溶剂分离，从而免去了用另外水不溶有机溶剂进行萃取的过程，况且这样的过程必然增加成本而且会导致另一种溶剂残留的问题。本发明采用的盐水为 5—20% 的氯化钠，磷酸氢二钠，磷酸二氢钠或其他无机盐溶液。

分离除去磷酸三烷基酯的水解液以往大都是用活性碳柱吸附 5'-核苷酸，用水洗去无机盐，然后再用碱液脱附，或用离子交换树脂进行分离，最后浓缩结晶出 5'-核苷酸二钠。本发明者经过大量的实验和分析发现：在一定的酸碱度下，可以利用溶解度的差别很容易地将水解液中的无机盐与 5'-核苷酸二钠分离。具体的方法是：先在强碱性条件下将磷酸钠与水解液中的其他成分分离，然后在弱碱性条件下将 5'-核苷酸二钠与水解液中的其他成分分离，从而得到产品。

具体实施方式

以下结合实施例对本发明进行进一步的详述。

实施例 1：

将 50 克肌苷，500 克磷酸三乙酯，3.4 克水分别加入反应釜中，搅拌降温，于约 5℃滴加 87.5 克三氯氧磷，滴完继续反应 1.5 小时；

900 克 10%的氯化钠溶液降温至 0℃以下，搅拌下将上述反应液倒入其中进行水解，1 小时后静置分层 20—60 分钟；

水解液自然分为磷酸三乙酯和水溶液层，将水溶液层冷却下用 50%氢氧化钠溶液调节至 $\text{PH} \geq 13$ ，于 0℃结晶 2-3 小时，过滤；

滤得的固体主要为磷酸钠，滤液用浓盐酸中和至 $\text{PH}=8 \sim 9$ ，减压浓缩至剩余约 600 克，冷却至 0~5℃，过滤；

滤得的固体为肌苷酸二钠粗品，用水重结晶，得到肌苷酸二钠。

实施例 2：

26.8 克肌苷，32.5 克鸟苷，650 克磷酸三乙酯，3.6 克水分别加入反应釜中，降温，于约 5℃滴加 92 克三氯氧磷，滴完继续反应 3 小时；

1000 克 10%的氯化钠溶液降温至 0℃以下，搅拌下将上述反应液倒入其中进行水解，1 小时后静置分层；

水解液自然分为磷酸三乙酯层和水溶液层，将水溶液层冷却下用 50%氢氧化钠溶液调节至 $\text{PH} \geq 13$ ，于 0℃结晶 2-3 小时，过滤；

滤得的固体主要为磷酸钠，滤液用浓盐酸中和至 $\text{PH}=8 \sim 9$ ，减压浓缩至剩余约 650 克，冷却至 0~5℃，过滤；

滤得的固体为肌苷酸二钠和鸟苷酸二钠粗品，用水重结晶，得到肌苷酸二钠和鸟苷酸二钠。