

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 99801639.X

[43] 公开日 2001 年 3 月 7 日

[11] 公开号 CN 1286695A

[22] 申请日 1999.9.22 [21] 申请号 99801639.X

[30] 优先权

[32] 1998.9.22 [33] JP [31] 268676/1998

[86] 国际申请 PCT/JP99/05189 1999.9.22

[87] 国际公布 WO00/17229 日 2000.3.30

[85] 进入国家阶段日期 2000.5.19

[71] 申请人 钟渊化学工业株式会社

地址 日本大阪府大阪市

[72] 发明人 诸岛忠 柳田义文

布施佳秀 上田恭义

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所

代理人 周承泽

权利要求书 2 页 说明书 11 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 制备 N² - (1(S) - 羟基 - 3 - 苯基丙基) - L - 赖氨酸 - L - 脯氨酸的方法

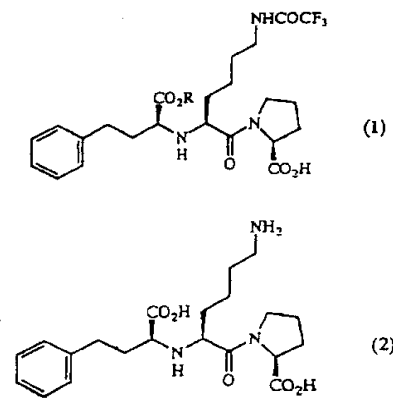
[57] 摘要

以简单有效,具备工业优势的方式制备 N² - (1(S) - 羧基 - 3 - 苯基丙基) - L - 赖氨酸 - L - 脯氨酸(2)的方法,所述方法包括下列步骤:

第一步骤:在由水和亲水性有机溶剂组成的混合溶液中,用无机碱水解 N² - (1(S) - 烷氧基羰基 - 3 - 苯基丙基) - N⁶ - 三氟乙酰基 - L - 赖氨酸 - L - 脯氨酸(1),每摩尔上述化合物(1)用 n 摩尔当量(n ≥ 3)无机碱;

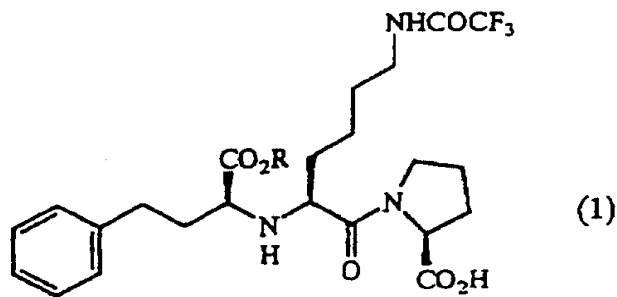
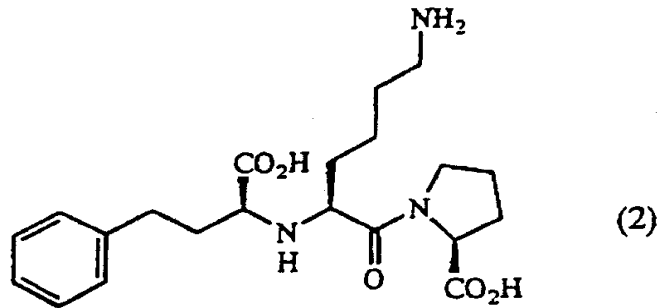
第二步骤:用无机酸中和水解产物,无机酸为(n - 1)至 n 摩尔当量(n ≥ 3),使无机盐从适于降低其溶解度的溶剂系统中沉淀,分离和除去;

第三步骤:除去无机盐后,使存在于混合物中的化合物(2)在其等电点结晶,从而以晶体形式回收,同时保留主要包括溶解在母液中的源自三氟乙酸的有机盐的盐类。



权 利 要 求 书

1. 一种从通式(1)的 N^2 -(1(S)-烷氧基羰基-3-苯基丙基)- N^6 -三氟乙酰基-L-赖氨酰-L-脯氨酸制备式(2)的 N^2 -(1(S)-羧基-3-苯基丙基)-L-赖氨酰-L-脯氨酸的方法:



其中 R 代表烷基, 所述方法包括下列步骤:

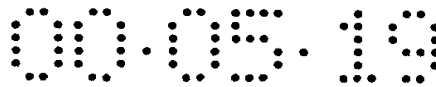
10 第一步: 使 N^2 -(1(S)-烷氧基羰基-3-苯基丙基)- N^6 -三氟乙酰基-L-赖氨酰-L-脯氨酸(1)在溶剂系统中, 使用无机碱进行碱水解, 所述溶剂系统选自由水和亲水性有机溶剂组成的混合溶液、或水, 每摩尔上述化合物(1)使用 n 摩尔当量($n \geq 3$)的无机碱,

15 第二步: 用无机酸中和水解产物, 无机酸量为 $(n-1)$ 至 n 摩尔当量($n \geq 3$), 通过使无机盐从适于降低该无机盐溶解度的溶剂系统中沉淀, 分离和除去由反应混合物中的上述无机碱和无机酸形成的无机盐,

所述溶剂系统选自亲水性有机溶剂、由水和亲水性有机溶剂组成的混合溶剂、或水,

20 第三步: 除去无机盐后, 使存在于混合物中的 N^2 -(1(S)-羧基-3-苯基丙基)-L-赖氨酰-L-脯氨酸(2)在其等电点从溶剂系统结晶,

所述溶剂系统选自亲水性有机溶剂、由水和有机溶剂组成的混合溶剂、或水, 从而以晶体形式回收 N^2 -(1(S)-羧基-3-苯基丙基)-L-赖氨酰-L-脯氨酸(2),



同时保留主要包括溶解在母液中的源自三氟乙酸的有机盐的盐类。

2. 如权利要求 1 所述的制备方法, 其特征在于在第一步骤中使用的无机碱是碱金属氢氧化物、碱金属碳酸盐或碱土金属氢氧化物。

3. 如权利要求 2 所述的制备方法, 其特征在于在第一步骤使用的无机碱是钠的碱性化合物或钾的碱性化合物。

4. 如权利要求 1-3 中任一权利要求所述的制备方法, 其特征在于, 在第二步骤中, 无机酸的用量在大于 $(n-1)$ 至 n 摩尔当量 ($n \geq 3$) 的范围,

在第三步骤中, 除去无机盐后, 用碱调节该混合物至等电点, 这种碱的用量为 $[(\text{使用的无机酸的摩尔当量数}) - (n-1)]$ 摩尔当量。

5. 如权利要求 4 所述的制备方法, 其特征在于, 在第二步骤中, 无机酸的用量为 n 摩尔当量 ($n \geq 3$),

在第三步骤中, 除去无机盐后, 用 1 摩尔当量分碱调节该混合物至等电点。

6. 如权利要求 4 或 5 所述的制备方法, 其特征在于, 在第三步骤中, 用于调节至等电点的碱是一种无机碱, 选自碱金属氢氧化物、碱金属碳酸盐、碱金属碳酸氢盐、碱土金属氢氧化物或碱土金属碳酸盐。

7. 如权利要求 6 所述的制备方法, 其特征在于, 在第三步骤中, 用于调节至等电点的碱是钠的碱性化合物或钾的碱性化合物。

8. 如权利要求 1-7 中任一权利要求所述的制备方法, 其特征在于第二步骤中使用的无机酸是盐酸或硫酸。

9. 如权利要求 1-8 中任一权利要求所述的制备方法, 其特征在于从由水和亲水性有机溶剂组成的混合溶剂中进行第二步骤的无机盐沉淀以及第三步骤的 $N^2-(1(S)-\text{羧基}-3\text{-苯基丙基})-L\text{-赖氨酸}-L\text{-脯氨酸}(2)$ 结晶。

10. 如权利要求 9 所述的制备方法, 其特征在于所述混合溶剂中水和亲水性有机溶剂的重量比为 4:1 至 1:99。

11. 如权利要求 1-10 中任一权利要求所述的制备方法, 其特征在于所述亲水性有机溶剂是有 1-4 个碳原子的一元醇。

12. 如权利要求 11 所述的制备方法, 其特征在于所述亲水性有机溶剂是乙醇。

13. 如权利要求 1-12 中任一权利要求所述的方法, 其特征在于, 式(1)中, R 是有 1-4 个碳原子的烷基。

14. 如权利要求 13 所述的制备方法, 其特征在于, 式(1)中 R 是乙基。

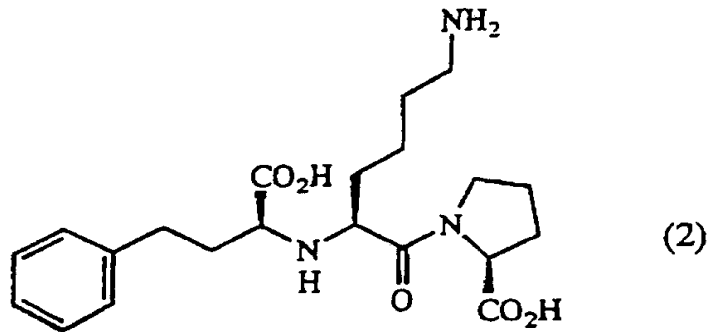
15. 如权利要求 1 所述的制备方法, 其特征在于, 在第二步骤中, 形成的无机盐是硫酸钾或硫酸钙, 它们可通过从水中沉淀除去。

说 明 书

制备 N^2 -(1(S)-羧基-3-苯基丙基)-L-赖氨酰-L-脯氨酸的方法

5 技术领域

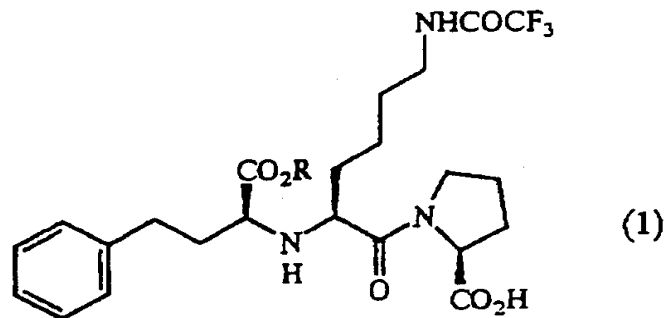
本发明涉及以经济方式工业规模生产高质量的通式(2) (以后也称作赖诺普利(2))的 N^2 -(1(S)-羧基-3-苯基丙基)-L-赖氨酰-L-脯氨酸的方法。 N^2 -(1(S)-羧基-3-苯基丙基)-L-赖氨酰-L-脯氨酸(2) (赖诺普利)是一种可用作抗高血压药物的非常有用的化合物。



10

背景技术

赖诺普利(2)可通过水解式(1)的 N^2 -(1(S)-烷氧基羰基-3-苯基丙基)- N^6 -三氟乙酰基-L-赖氨酰-L-脯氨酸方便地制得:



15

其中 R 代表烷基, 在水存在下使用一种碱, 然后用一种酸中和水解混合物中所有的碱性成份。然而, 这时必须从大量共存的盐(水解产生的三氟乙酸盐和由使用的碱和酸形成的盐)中分离出赖诺普利(2)。

关于这点, 例如 EP 168769 或 J. Org. Chem., 53, 836-844 (1988) 中公开的方法包括用氢氧化钠水解 N^2 -(1(S)-乙氧基羰基-3-苯基丙基)- N^6 -三氟乙酰基-L-

20

赖氨酰-L-脯氨酸，用盐酸酸化水解混合物，经离子交换柱处理，除去所有产生的共存物质如氯化钠、三氟乙酸和/或其钠盐，浓缩含有机碱的洗脱液(洗脱液为氨水或吡啶-水)，用盐酸调节该浓缩液至等电点，并使赖诺普利(2)从最终的水-乙醇混合溶液中结晶来回收，所述混合溶液中含有在上面调节至等电点时形成的胺盐。

然而，上述方法中，不仅操作复杂，而且产率低，因为必须通过离子交换处理除去大量盐，并且洗脱液稀释，因此需要大规模的设备，由于浓缩洗脱液而浪费较长时间和大量热能。而且，需处理的废水(包括离子交换柱再生处理产生的那部分废水)量巨大。另外，离子交换柱存在潜在的严重问题，即，各种微生物极易在其中生长。从这些和其它的缺点考虑，很难说上面的方法在工业生产方面具备优势。

另一个实施例中，如在日本专利公报平-08-153497中所揭示的，例如用氢氧化四丁基铵(有机碱)水解 N^2 -(1(S)-乙氧基羰基-3-苯基丙基)- N^6 -三氟乙酰基-L-赖氨酰-L-脯氨酸，然后用三氟乙酸(有机酸)中和水解混合物，因此仅形成一种有机盐，即三氟乙酸四丁基铵作为盐组分，而赖诺普利(2)可通过在等电点，在所有有机盐存在下使其从混合溶剂系统中结晶来回收，上述混合溶剂系统包括水和乙醇。

然而，从经济、安全和工业生产方面考虑，很难说上面方法具备优势，因为需使用专门的试剂如氢氧化四丁基铵和三氟乙酸。

因此，已知现有技术领域中没有能以简单有效和具备工业优势的方式从上述盐中分离 N^2 -(1(S)-羧基-3-苯基丙基)-L-赖氨酰-L-脯氨酸(2)。

为此目的，本发明提供了一种简单有效和具备工业优势的方法，用于分离通过碱水解 N^2 -(1(S)-烷氧基羰基-3-苯基丙基)- N^6 -三氟乙酰基-L-赖氨酰-L-脯氨酸以及的随后中和反应混合物形成的盐和 Lisinpril(2)。

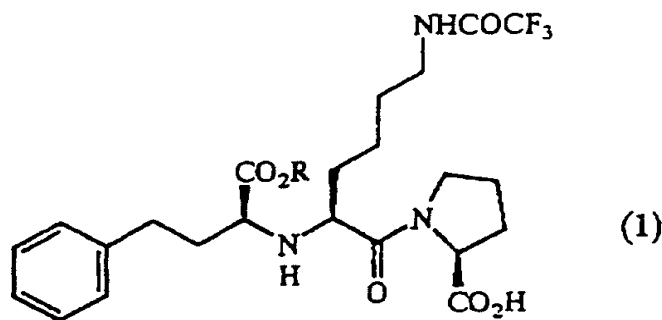
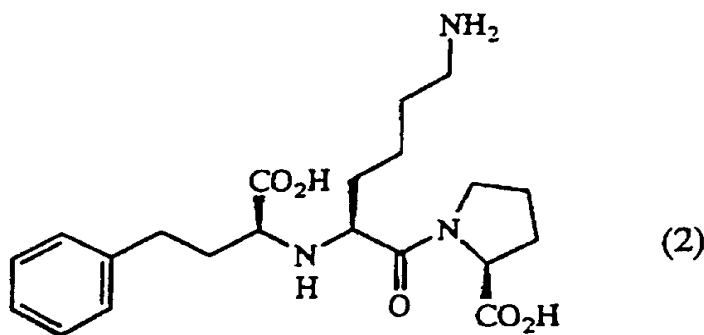
发明概述

首先本发明人研究了这种方法的可行性，所述方法包括用无机碱氢氧化钠水解 N^2 -(1(S)-烷氧基羰基-3-苯基丙基)- N^6 -三氟乙酰基-L-赖氨酰-L-脯氨酸、用无机酸(盐酸)或有机酸(三氟乙酸)中和该反应混合物、形成氯化钠的无机盐或三氟乙酸钠的有机盐、使 N^2 -(1(S)-羧基-3-苯基丙基)-L-赖氨酰-L-脯氨酸从溶剂系统(如水或乙醇)中结晶来回收，同时使所述大量盐仍溶解在该溶剂系统中。结果，发现赖诺普利(2)晶体的回收率以及盐的除去量都不能令人满意。还发现这类盐的

大量存在阻碍赖诺普利(2)的成核作用以及晶体生长, 并由于晶体性能变差而降低了可过滤性。因此发现这种方法具有其局限性。

然而, 当降低盐浓度使赖诺普利(2)结晶时, 显示对上述方面的改进趋势。预先降低盐浓度是必须的, 并且有助于通过结晶回收赖诺普利(2)。对这一观点进一步广泛深入的研究后, 本发明人相信, 从消除两种不同类型的盐考虑, 即消除通过由水解产生的三氟乙酸和用于水解的无机碱形成的有机酸盐以及在中和时由使用的无机碱和无机酸形成的无机盐, 可根据诸如在溶剂中的溶解度以及与赖诺普利(2)的相互作用等性能, 对每种盐选择各自最佳的分离方法。

因此, 本发明提供了从通式(1)的 N^2 -(1(S)-烷氧基羰基-3-苯基丙基)- N^6 -三氟乙酰基-L-赖氨酰-L-脯氨酸制备通式(2)的 N^2 -(1(S)-羧基-3-苯基丙基)-L-赖氨酰-L-脯氨酸的方法,



其中 R 代表烷基,

15 所述方法包括下列步骤:

第一步: N^2 -(1(S)-烷氧基羰基-3-苯基丙基)- N^6 -三氟乙酰基-L-赖氨酰-L-脯氨酸(1)用无机碱在溶剂系统中碱水解, 所述溶剂系统选自由水和亲水性有机溶剂组成的混合溶液或水, 每摩尔上述化合物(1)使用 n 摩尔当量($n \geq 3$)的无机碱,

20 第二步: 用无机酸中和水解产物, 无机酸量为 $(n-1)$ 至 n 摩尔当量($n \geq 3$), 通过使无机盐从适于降低该无机盐溶解度的溶剂系统中沉淀, 除去由反应混

合物中上述无机碱和无机酸形成的无机盐，

上述溶剂系统选自亲水性有机溶剂、由水和亲水性有机溶剂组成的混合溶剂、或水，

5 第三步：除去无机盐后，使存在于该混合物中的赖诺普利(2)在其等电点从溶剂系统中结晶出来，

所述溶剂系统选自亲水性有机溶剂、由水和亲水性有机溶剂组成的混合溶剂、或水。

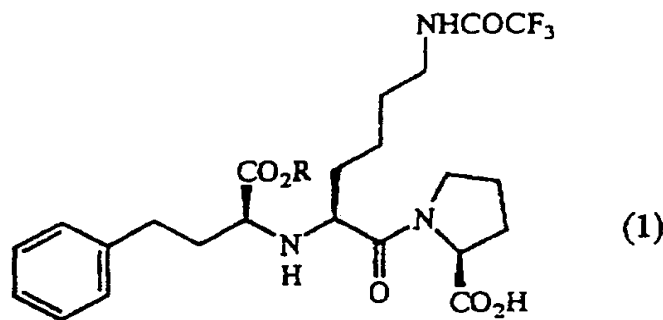
从而以晶体形式回收赖诺普利(2)，同时保留主要包括源自三氟乙酸的有机盐的盐类仍溶解在母液中。

10 本发明方法可以简单有效的方式从含赖诺普利(2)和盐的混合物中分离和回收降低了盐含量的赖诺普利(2)。

本发明的详细描述

15 第一步骤中，在选自由水和亲水性有机溶剂组成的混合溶剂或水的溶剂系统中，每摩尔 N^2 -(1(S)-烷氧基羰基-3-苯基丙基)- N^6 -三氟乙酰基-L-赖氨酰-L-脯氨酸(1)使用 n 摩尔当量 ($n \geq 3$) 的无机碱进行水解。

通式(1)中：



20 (R 是烷基)，它代表 N^2 -(1(S)-烷氧基羰基-3-苯基丙基)- N^6 -三氟乙酰基-L-赖氨酰-L-脯氨酸，R 是在碱性条件下可水解的基团，较好是烷基，更好是含 1-4 个碳原子的烷基，最好是乙基。

供使用的 N^2 -(1(S)-烷氧基羰基-3-苯基丙基)- N^6 -三氟乙酰基-L-赖氨酰-L-脯氨酸(1)可通过例如日本专利公报平-01-254651、日本专利公报平-05-201882、EP 168769 或 J. Org. Chem., 53, 836-844(1988)中所述的方法制得。

25 用于水解 N^2 -(1(S)-烷氧基羰基-3-苯基丙基)- N^6 -三氟乙酰基-L-赖氨酰-L-脯氨酸的无机碱未具体限制，但可包括碱金属或碱土金属的氢氧化物和碳酸盐。这类碱的具体例子有，碱金属氢氧化物如氢氧化钠和氢氧化钾；碱金属碳酸盐如碳

酸钠和碳酸钾；碱土金属氢氧化物如氢氧化镁和氢氧化钙。也可以使用其它的无机碱。优选其中的碱性钠化合物和碱性钾化合物。从可操作性考虑，这些碱宜以水溶液形式使用，其浓度为 5—50% (重量)，20—48% (重量) 为宜。这些碱可以单独使用，或两种或多种组合使用。例如，第一步可使用 1 摩尔当量的碳酸氢钠和 (n-1) 摩尔当量 (n≥3) 的氢氧化钠。

要求使用 n 摩尔当量的无机碱进行 N²-(1(S)-烷氧基羰基-3-苯基丙基)-N⁶-三氟乙酰基-L-赖氨酰-L-脯氨酸(1)的水解。通常，碱的用量不小于相当于 3 摩尔当量 (n≥3) N²-(1(S)-烷氧基羰基-3-苯基丙基)-N⁶-三氟乙酰基-L-赖氨酰-L-脯氨酸(1)。可以一开始立刻加入所有的无机碱，或逐步或分批加入，使反应混合物最终 pH 保持在预定值，或在水解期间逐步变化。反应混合物最终的 pH 宜为 12 或更高。

虽然一般可在含水系统中进行水解，也可以在由水和亲水性有机溶剂组成的混合溶剂中进行水解，该混合溶剂中可含有其它有机溶剂，其含量不产生不良作用。对所含亲水性有机溶剂没有具体限制。一般为含 1—4 个碳原子的一元醇如甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇和叔丁醇，这种情况下，在表示 N²-(1(S)-烷氧基羰基-3-苯基丙基)-N⁶-三氟乙酰基-L-赖氨酰-L-脯氨酸的通式(1)中的 R 宜为和所述醇中相同的烷基。使用乙醇更好，这种情况下，通式(1)中的 R 宜为乙基。当使用水和亲水性有机溶剂组成的混合溶剂，尤其是水和上述醇类组成的混合溶剂时，其重量混合比例一般为 1:1 至 1:99，1:1 至 1:9 为宜，1:1 至 1:7 更好。

关于水解步骤中的操作温度，不需要特别高的温度。实际进行反应的温度一般在不比该溶剂系统冻结温度高 70℃，较好不超过 60℃ 的温度下，即较好为 0—50℃，约为 30℃ 更好。

第二步中，用无机酸中和第一步的反应混合物，无机酸量为 (n-1) 至 n 摩尔当量 (n≥3)，由上面的无机碱和无机酸制得的混合物中形成的无机盐可通过使其从溶剂系统沉淀来除去，该溶剂系统适合于降低该无机盐的溶解度，可选自亲水性有机溶剂、水和亲水性有机溶剂组成的混合溶剂、或水。

用于中和的无机酸量相当于在第一步水解 N²-(1(S)-烷氧基羰基-3-苯基丙基)-N⁶-三氟乙酰基-L-赖氨酰-L-脯氨酸中使用的无机碱量 (n 摩尔当量) 的 (n-1) 摩尔当量。这是因为在水解三氟乙酰基时消耗了 1 摩尔无机碱，产生的三氟乙酸和无机碱形成了有机酸盐。因此，当使用该量的无机酸时，除了由三氟乙酸和无机碱形成的 1 摩尔当量的有机酸盐外还形成 (n-1) 摩尔的无机盐，因此使用的无机碱组分全部被中和形成盐。这种情况下，混合物的 pH 在赖诺普利(2)等电点的附近，pH 一般约为 5.2±0.4。

对使用的无机酸没有具体限制，从可行性考虑优选强酸。因此优选盐酸和硫酸，尤其是盐酸。这些无机酸可以单独使用，或两种或多种组合使用。虽然可以使用这些无机酸本身，但可以使用由含水介质稀释制得的溶液。

5 当使用酸性强于三氟乙酸的无机酸，尤其是盐酸时，有利于酸化进行到超过等电点程度，根据使用的无机碱量(n 摩尔当量)，无机酸量用量在大于 $(n-1)$ 至最多 n 摩尔当量范围，从而形成和使用的无机酸组分相同摩尔当量的无机盐。这种情况下，不涉及与无机碱组分形成盐的三氟乙酸量增加，因此混合物的 pH 小于赖诺普利(2)的等电点。

10 反之，当无机酸用量超出不少于 $(n-1)$ 摩尔当量至 n 摩尔当量范围时，或使用酸性小于三氟乙酸的无机酸，其量大于 $(n-1)$ 摩尔当量但不大于 n 摩尔当量时，在该步骤不能除去全部的无机碱组分或无机酸组分，而有部分保留，在下一步通过结晶回收赖诺普利(2)的步骤中，会需要进一步的中和并会出现问题，例如这种情况下形成的盐会污染所需的晶体，或使所需产品的结晶性变差。

15 上面的过程中，对加入全部无机酸所耗时间没有特别的限制，但是一般不小于 15 分钟，通常不小于 20 分钟，较好的不小于 30 分钟，从生产效率等考虑，一般不超过 20 小时，通常不超过 10 小时，较好的不超过 5 小时。

20 对适合于降低无机盐溶解度，并能使其在中和产生的混合物中形成沉淀的溶剂系统，使用亲水性有机溶剂作为不良溶剂是有效的，由亲水性有机溶剂和水组成的混合溶剂系统，或由亲水性有机溶剂代替这类介质也是可行的。对这样考虑选择的有机溶剂没有特别的限制，但是具体包括含 1—4 个碳原子的一元醇如甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇和叔丁醇；丙酮、四氢呋喃、乙腈等。也可以使用其它亲水性有机溶剂。对痕量溶剂带入最终产品的情况，为使对人体可能的不良作用最小，优选含 1—4 个碳原子的一元醇，尤其是乙醇。这些溶剂可以单独使用，或

25 不能具体规定在上面过程中使用的亲水性有机溶剂的量，因为该量取决于使用的亲水性有机溶剂的种类以及要去除的无机盐种类。当使用有机溶剂作为对无机盐的不良溶剂时，例如，当增加有机溶剂的百分数时无机盐的去除百分数提高。从这点考虑，水和亲水性有机溶剂的重量比值一般为 4:1 至 1:99，1:1 至 1:99 为宜，3:7 至 1:99 更好。有些无机盐也可以从水中沉淀。这样的无机盐的具体例子
30 有硫酸钾和硫酸钙。可根据在水和有机溶剂中的溶解度(可参考本领域有关的专著等，或根据简单的试验)选择无机盐种类。通过选择无机碱和无机酸的组合形成选择的无机盐种类。

当无机盐迅速形成沉淀时，赖诺普利(2)需要较长的时刻用于成核与结晶生长，因此可以使无机盐先行沉淀，以分离和除去。而且，最好选择更合适的条件；例如，宜保持较低的温度，如0—30℃。

5 上面过程中，更好和更有效的是使用酸性强于三氟乙酸的无机酸用于中和，其量为相当于无机碱(n)摩尔当量的大于(n-1)至最多 n 摩尔当量，从而将酸化进行至超过等电点的程度。特别是在此范围，增加使用的无机酸量可增强这种作用，最好使用和无机碱相同摩尔当量(n 摩尔当量)的无机酸。这样，可以使无机酸先行沉淀，随后通过过滤分离，没有或几乎没有赖诺普利(2)的沉淀，因此降低赖诺普利(2)的成核与晶体生长的速率，改善其溶解度。

10 该步骤产生的混合物形成的无机盐沉淀物可通过常规的固—液分离方法如离心分离或加压过滤，以简单方便的方式分离/除去。

15 第三步骤中，排除无机盐后，存在于制得的混合物中的赖诺普利(2)在其等电点从亲水性有机溶剂、由水和亲水性有机溶剂组成的混合溶剂、或水中结晶，回收赖诺普利(2)晶体，同时使大多数为来自三氟乙酸的有机盐保持溶解在母液中。

20 在第二步除去无机盐后制得的混合物中存在的赖诺普利(2)在等电点条件下结晶时，如果该混合物由于使用了(n-1)摩尔当量的无机酸而在前一步骤的中和阶段已处于等电点，一般不需要特别的处理。当该混合物由于使用大于(n-1)摩尔当量至 n 摩尔当量的无机酸而处于超过等电点的酸化条件时，明智的方法是使用碱来达到等电点，以提高赖诺普利(2)结晶百分数。在这一过程中，这种碱的用量一般为[(使用的无机酸摩尔当量数) - (n-1)]摩尔当量。这种情况下，如上所述中和形成的盐主要包括来自三氟乙酸的有机盐，因此可以使赖诺普利(2)有效地结晶，随后有效地分离和回收，而上面的盐以溶解于用于结晶赖诺普利(2)的结晶溶剂的状态保留。

25 用于调节混合物至等电点的碱没有具体的限制，但可以选自在第一步水解步骤中使用的无机碱。另外，碱金属的碳酸氢盐如碳酸氢钠和碳酸氢钾以及碱土金属碳酸盐如碳酸镁和碳酸钙也是适用的。而且，还可以使用氨水和有机碱，例如胺类如三乙胺和吡啶。然而，优选钠的碱性化合物和钾的碱性化合物。这些物质可以单独使用，或两种或多种组合使用。

30 该步骤使用的用于赖诺普利(2)的结晶溶剂例如是水、亲水性有机溶剂、或它们的混合物。具体而言，从提高三氟乙酸和碱形成的有机酸盐的去除率以及赖诺普利(2)的结晶性考虑，优选使用水和亲水性有机溶剂组成的混合溶剂。使用的

亲水性有机溶剂可以被一种选自第二步骤中使用的亲水性有机溶剂所取代。然而，优选使用和第二步骤相同的溶剂系统，因为这样使用简单而经济。用水代替亲水性有机溶剂也是可行和优选的。

5 不能具体规定进行结晶的赖诺普利(2)浓度，因为该浓度取决于操作温度、使用的碱的种类及其量、结晶溶剂的组成以及共存盐的浓度，为进一步提高该结晶阶段的结晶产率，较好的应使该溶液有尽可能高的浓度。然而，从防止晶体被盐污染的角度考虑，浓度不能太高也很重要。实际上浓度下限较好的设定在不小于5%，更好的不小于10%，而其上限较好的设定在不大于40%，更好的不大于30%。通常在约10—25%的浓度下进行结晶。

10 从促进良好的晶体生长考虑，在赖诺普利(2)结晶时共存于混合物中的盐主要包含来自三氟乙酸的有机盐的浓度也很重要。尽管该浓度取决于操作浓度、温度和方法，以及共存的中性盐种类，因此一般不能确定该浓度，但是该盐浓度一般不超过15%(重量)，较好的不超过10%(重量)，更好的不超过8%(重量)。

15 不能具体列出赖诺普利(2)结晶时的温度，因为该温度取决于结晶溶剂的组成、方法和其它因素。然而实际上第三步骤在不超过结晶溶剂沸点但在溶剂不会冻结的温度下进行。虽然不需要很高的温度，升高结晶时温度有利于提高成核速度以及赖诺普利(2)的晶体生长。从这点考虑，该操作宜在40—70℃，更好的在约50℃进行。通过最终冷却到不超过20℃，较好的不超过10℃可以提高晶体收率。

20 通过常规的固—液分离方法如离心法或加压过滤法可方便地回收制得的赖诺普利(2)晶体而不需要特别的步骤。因此能以高收率有效地制得高质量晶体。

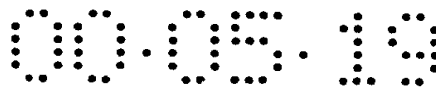
在实施本发明时， N^2 -(1(S)-乙氧基羰基-3-苯基丙基)- N^6 -三氟乙酰基-L-赖氨酰-L-脯氨酸作为反应作用物，钠的碱性化合物作为无机碱，盐酸作为无机酸，作为举例一种实施方案的模式如下：

25 第一步骤中，在水或水和乙醇的混合物中使用 n 摩尔当量 ($n \geq 3$) 钠的碱性化合物作为无机碱进行水解；

第二步骤中，用 n 摩尔当量的盐酸作为无机酸来中和反应混合物，使产生的氯化钠有效地从乙醇或乙醇和水的混合物中沉淀，通过过滤除去；和

30 第三步骤中，除去氯化钠后在该混合物中加入 1 摩尔当量的钠的碱性化合物，在制得的三氟乙酸钠保持溶解在产生的水和乙醇的混合物中的同时，使赖诺普利(2)有效地结晶，随后收集该晶体。

在另一个较好的实施方案中，例如使用钾的碱性化合物作为无机碱，硫酸作



为无机酸，该方法如下：

第一步骤中，在水或水和乙醇的混合物中使用 n 摩尔当量 ($n \geq 3$) 钾的碱性化合物作为无机碱进行水解；

第二步骤中，用 $(n-1)$ 摩尔当量的硫酸作为无机酸来中和反应混合物，从而调节该混合物至赖诺普利(2)的等电点，使产生的硫酸钾从水或水和乙醇的混合物中有效沉淀，通过过滤除去；和

第三步骤中，在三氟乙酸钠保持溶解在水或水和乙醇的混合物中的同时，使赖诺普利(2)有效地结晶，随后收集该晶体。

10 实施本发明的最佳模式

下面的实施例进一步详细说明了本发明。然而，它们不构成对本发明范围的限制。

对纯度试验，进行 HPLC，并且通过绝对工作曲线法计算纯度。采用 Karl Fisher 法测定水含量。使用离子色谱测定氯化钠含量。HPLC 的条件如下：

15 [HPLC]

柱：Capsule Pack UG-120 (商标；4.6 毫米 \times 25 厘米；Shiseido Co. 的产品)

溶剂：60mM KH_2PO_4 (pH 2.8)/ CH_3CN (90:10(体积))

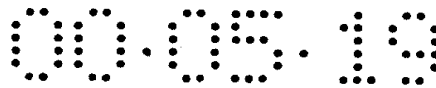
流速：1.0 毫升/分钟

20 温度：50°C

检测：UV 210nm

实施例 1

N^2 -(1(S)-乙氧基羰基-3-苯基丙基)- N^6 -三氟乙酰基-L-赖氨酰-L-脯氨酸
25 (1) (32.0 克)和 25.9 克 30%(重量)的 NaOH 水溶液混合，搅拌下进行 4 小时的水解反应。在该反应混合物中加入 20.1 克浓盐酸使 pH 为 2.8 ± 0.5 。制得的溶液用乙醇稀释到两倍，稀释的溶液再浓缩到原来的体积。重复该稀释/浓缩过程，使水浓度降低到 $4 \pm 2\%$ (重量)。在该溶液中加入乙醇使赖诺普利(2)浓度为 $22 \pm 2\%$ (重量)。制得的混合物搅拌 1 小时。滤出沉淀物并用 30 毫升乙醇洗涤。在制得的滤液中加入 16.1 克 15% 的 NaOH 水溶液 (pH 变为 5.8)。该溶液加热至 45°C，加入晶种，搅拌该混合物 3 小时，然后在 2 小时内冷却至 5°C，再搅拌 12 小时。通过过滤收集沉淀的晶体，并用三份冷却至 5°C 的 30 毫升 70% (重量)乙醇洗涤。获得的



晶体进行真空干燥(20-50℃, 30-1mmHg), 制得 22.7-23.5 克(收率: 85-88%)的赖诺普利(2)的二水合物。其纯度不小于 99%, 水含量为 8.2%, 氯化钠含量不大于 0.1%(重量)。

5 实施例 2

N^2 -(1(S)-乙氧基羰基-3-苯基丙基)- N^6 -三氟乙酰基-L-赖氨酰-L-脯氨酸(1)(32.0 克)和 25.9 克 30%(重量)的 NaOH 水溶液混合, 搅拌下进行约 4 小时的水解反应。在该反应混合物中加入 13.9 克浓盐酸, 使 pH 为 5.2 ± 0.2 。制得的溶液用乙醇稀释到两倍, 稀释的溶液再浓缩到原来的体积。重复该稀释/浓缩过程, 10 使水浓度降低到 $4 \pm 2\%$ (重量)。在该溶液中加入乙醇使赖诺普利(2)浓度为 $22 \pm 2\%$ (重量)。制得的混合物搅拌 1 小时。滤出沉淀物并用 30 毫升乙醇洗涤。在制得的滤液中加入 15.0 克水。该溶液加热至 45℃, 加入晶种, 搅拌该混合物 3 小时, 然后在 2 小时内冷却至 5℃, 再搅拌 12 小时。通过过滤收集沉淀的晶体, 并用三份冷却至 5℃的 30 毫升 70%(重量)乙醇洗涤。获得的晶体进行真空干燥(20-50℃, 15 30-1mmHg), 制得 22.7-23.5 克(收率: 85-88%)的赖诺普利(2)的二水合物。其纯度不小于 99%, 水含量为 8.2%, 氯化钠含量不大于 0.1%(重量)。

实施例 3

N^2 -(1(S)-乙氧基羰基-3-苯基丙基)- N^6 -三氟乙酰基-L-赖氨酰-L-脯氨酸(1)(32.0 克)和 25.9 克 30%(重量)的 NaOH 水溶液混合, 搅拌下进行约 4 小时的水解反应。在该反应混合物中加入 20.1 克浓盐酸使 pH 为 2.8 ± 0.5 。制得的溶液用乙醇稀释到两倍, 稀释的溶液再浓缩到原来的体积。重复该稀释/浓缩过程, 使水浓度降低到 $3 \pm 2\%$ (重量)。在该溶液中加入 5.0 克 48%(重量)NaOH 水溶液(pH 变为 5.7), 随后加入乙醇使赖诺普利(2)浓度为 $22 \pm 2\%$ (重量)。制得的混合物搅 25 拌 1 小时。滤出沉淀物并用 30 毫升乙醇洗涤。在制得的滤液中加入 12.0 克水。该溶液加热至 45℃, 加入晶种, 搅拌该混合物 3 小时, 然后在 2 小时内冷却至 5℃, 再搅拌 12 小时。通过过滤收集沉淀的晶体, 并用三份冷却至 5℃的 30 毫升的 70%(重量)乙醇洗涤。获得的晶体进行真空干燥(20-50℃, 30-1mmHg), 制得 22.7-23.5 克(收率: 85-88%)的赖诺普利(2)的二水合物。其纯度不小于 99%, 30 水含量为 8.2%, 氯化钠含量不大于 0.1%(重量)。

实施例 4

在由 50.4 克 48% (重量) 的 NaOH 水溶液和 39.3 克乙醇组成的混合溶液中加入 N²-(1(S)-乙氧基羰基-3-苯基丙基)-N⁶-三氟乙酰基-L-赖氨酰-L-脯氨酸 (1) (100.0 克), 搅拌下进行约 4 小时的水解反应。在该反应混合物中加入 62.9 克浓盐酸。在制得的溶液中加入乙醇使赖诺普利(2)浓度为 8±2% (重量), 再继续
5 搅拌 1 小时。滤出沉淀物并用两份 40 毫升的乙醇洗涤。在制得的滤液中加入 75.5 克 10% (重量) 的 NaOH 水溶液 (pH 变为 6.0)。该溶液加热至 45°C, 加入晶种, 搅拌该混合物 3 小时, 然后在 2 小时内冷却至 5°C, 再搅拌 12 小时。通过过滤收集沉淀的晶体, 并用三份冷却至 5°C 的 30 毫升 70% (重量) 乙醇洗涤。获得的晶体进行真空干燥 (20-50°C, 30-1mmHg), 制得 65.9-70.0 克 (收率: 79-84%) 的赖诺普
10 利(2)的二水合物。其纯度不小于 99%, 水含量为 8.2%, 氯化钠含量不大于 0.1% (重量)。

实施例 5

N²-(1(S)-乙氧基羰基-3-苯基丙基)-N⁶-三氟乙酰基-L-赖氨酰-L-脯氨酸
15 (1) (30.0 克) 和 17.0 克 38% (重量) 的 KOH 水溶液混合, 搅拌下进行约 4 小时的水解反应。在该反应混合物中加入 6.9 克浓盐酸使 pH 为 5.2±0.5, 再继续搅拌 1 小时。滤出沉淀物并用 15 毫升水洗涤。制得的滤液加热至 45°C, 加入晶种, 搅拌该混合物 3 小时, 然后在 2 小时内冷却至 5°C, 再搅拌 12 小时。通过过滤收集沉淀的晶体, 并用三份冷却至 5°C 的 15 毫升水洗涤。获得的晶体进行真空干燥 (20-
20 50°C, 30-1mmHg), 制得 20.0-21.3 克 (收率: 80-85%) 的赖诺普利(2)的二水合物。其纯度不小于 99%, 水含量为 8.2%, 氯化钠含量不大于 0.1% (重量)。

工业实用性

本发明的方法使得能够以简单有效并具备工业优势的方式生产 N²-(1(S)-羧
25 基-3-苯基丙基)-L-赖氨酰-L-脯氨酸。