



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102952082 A

(43) 申请公布日 2013. 03. 06

(21) 申请号 201210318098. 6

(22) 申请日 2012. 09. 01

(71) 申请人 济南环肽医药科技有限公司

地址 250101 山东省济南市高新区舜华路
750 号大学科技园 5 层 B 区 A502 室

(72) 发明人 厉保秋 袁强 陈明鲁

(51) Int. Cl.

C07D 239/06 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 6 页

(54) 发明名称

一种四氢嘧啶盐酸盐的人工合成方法

(57) 摘要

本发明公开了一种 1, 4, 5, 6- 四氢 -2- 甲基 -4- 嘧啶羧酸的人工合成方法, 以小分子醇类物质为溶剂, 以 L-2, 4- 二氨基丁酸二盐酸盐和原乙酸三甲酯为原料, 合成 1, 4, 5, 6- 四氢 -2- 甲基 -4- 嘧啶羧酸盐酸盐。本发明的合成工艺步骤简单, 反应时间短, 易于控制, 环境污染小, 收率高, 适于工业化生产。

1. 一种 1, 4, 5, 6- 四氢 -2- 甲基 -4- 嘧啶羧酸盐酸盐的制备方法, 其特征在于, 该制备方法包括以下步骤: 将原料 L-2, 4- 二氨基丁酸二盐酸盐和原乙酸三甲酯加入醇类溶剂中, 加热使溶液温度升至 50 ~ 120°C, 回流 1 ~ 6 小时, 回流结束后将反应液降温至 0 ~ 40°C, 蒸干溶剂, 得粗产物; 将粗产物以甲醇和乙酸乙酯重结晶纯化得 1, 4, 5, 6- 四氢 -2- 甲基 -4- 嘧啶羧酸盐酸盐精品。

2. 根据权利要求 1 所述的制备方法, 其特征在于, 所述原料 L-2, 4- 二氨基丁酸二盐酸盐和原乙酸三甲酯的摩尔比为 1:1 ~ 10。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的制备方法, 其特征在于, 所述溶剂为甲醇、乙醇、异丙醇、正丁醇、叔丁醇中的任一种, 用量为每 1 摩尔原料 L-2, 4- 二氨基丁酸二盐酸盐用 5 ~ 40 ml。

4. 根据权利要求 1 至 3 中任一项所述的制备方法, 其特征在于, 所述重结晶过程中甲醇和乙酸乙酯的体积比为 1:4 ~ 10, 所述重结晶过程中甲醇的用量为每 1 摩尔原料 L-2, 4- 二氨基丁酸二盐酸盐用 10 ~ 80 ml。

一种四氢嘧啶盐酸盐的人工合成方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种具有生理活性的环状氨基酸的合成方法,具体地说是 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐的人工合成方法。

背景技术

[0002] 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸(L-ectoine, CAS号:96702-03-3)是在极端嗜盐外硫红螺菌属的光合紫细菌 Halochloris 中发现的一种新的氨基酸,结构为环状,具有一个手性碳原子。

[0003] 该氨基酸是耐盐微生物为维持渗透压平衡而在细胞内产生的一种相容性溶质。体内外研究表明 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸能通过体内合成和体外转运两种途径在细胞内累积,调节细胞内外渗透压平衡。在苜蓿中华根瘤菌等菌株中还可以诱导菌株与渗透压有关基因的产生表达,使其合成自身的相容性溶质,如海藻糖、谷氨酸盐等。

[0004] 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸对酶、DNA、细胞膜等生物大分子具有保护作用,对一些不稳定的酶,如乳酸脱氢酶等保护作用显著,与常见的相容性溶质脯氨酸、甜菜碱相比具有显著的优越性。1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸可以发挥与分子伴侣相似的作用,能够识别错误折叠的蛋白质,并且抑制蛋白质聚合体的形成。

[0005] 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸的渗透压调节作用及稳定蛋白质水合层,保护酶、DNA等生物大分子和细胞膜结构的作用,可以帮助细胞及动植物抵抗冷冻、干旱、高温、高盐、辐射等各种不利环境。在农业、食品、医药、化妆品等领域具有广泛的应用前景。专利文献 W00219978 公开了 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸在口腔护理中的应用,专利文献 DE102004016129 公开了其在皮肤护理及疾病预防中的应用。专利文献 W02006097263 公开了其在治疗及预防胃肠道疾病中的应用。最新研究表明,1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸对慢性阻塞性肺病、肾炎、糖尿病肾病等均具有一定的治疗作用。

[0006] 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸广泛的用途及潜在的商业价值受到了广泛关注,其合成方法也得到了不断的改进。其最初的批量生产技术被称为“细菌挤奶”技术,在盐浓度高的环境下诱导细菌合成并蓄积 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸,再在低渗透压环境下使其释放 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸,通过循环性的升高和降低盐浓度,获得目标产物,产率为 3.3g/L/h。该方法工艺复杂,生产不具备连续性,较高的盐浓度会对反应容器具有腐蚀性,并且合成的产物受到 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸浓度阈值的限制,浓度达到一定值,合成会受到显著抑制,因此该合成方法工艺复杂,产率较低。

[0007] 日本专利文献 JP-A-03031265 公开了一种以甲醇钠做为碱人工化学合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸的方法,该方法很容易引起 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸手性中心的消旋,其分离纯化需要采用制备液相的方式,成本较高,不易工业化生产。美国专利文献 US20110178292 公开了一种以 2,4-二氨基丁酸,原甲酸三甲酯为原料合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸的方法,其工艺最后几步过程需要经过制备液相分离制备,涉及成本高,工业化困难的缺点。目前采用的 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧

啉羧酸人工合成方法多数存在分离纯化的难题,在分离纯化过程中造成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啉羧酸的损失。

[0008] 因此,急需一种工艺简单、易于控制质量且适于大工业生产的 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啉羧酸的人工化学合成工艺。

发明内容

[0009] 针对上述现有技术,本发明提供了一种 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啉羧酸盐的人工合成方法。

[0010] 本发明是通过以下技术方案实现的:

一种 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啉羧酸盐的制备方法,包括以下步骤:将原料 L-2,4-二氨基丁酸二盐酸盐和原乙酸三甲酯加入醇类溶剂中,加热使溶液温度升至 50~120℃,回流 1~6 小时,回流结束后将反应液降温至 0~40℃,蒸干溶剂,得粗产物;将粗产物以甲醇和乙酸乙酯重结晶纯化得 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啉羧酸盐精品。

[0011] 所述原料 L-2,4-二氨基丁酸二盐酸盐和原乙酸三甲酯的摩尔比为 1:1~10。

[0012] 所述溶剂为甲醇、乙醇、异丙醇、正丁醇、叔丁醇中的任一种,用量为每 1 摩尔原料 L-2,4-二氨基丁酸二盐酸盐用 5~40 ml。

[0013] 所述重结晶过程中甲醇和乙酸乙酯的体积比为 1:4~10,所述重结晶过程中甲醇的用量为每 1 摩尔原料 L-2,4-二氨基丁酸二盐酸盐用 10~80 ml。

[0014] 本发明的合成工艺,方法简单,产率高,制备时间短,适于大规模生产;本制备方法所采用的 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啉羧酸盐纯化方法可显著减少纯化过程中 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啉羧酸盐的损失。

具体实施方式

[0015] 下面结合实施例对本发明作进一步的说明:

实施例 1 人工合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啉羧酸盐的制备方法

步骤如下:将原料 L-2,4-二氨基丁酸二盐酸盐 1mmol 和原乙酸三甲酯 3mmol 加入 10ml 甲醇中,加热使溶液温度升至 70℃,回流 5.5 小时,回流结束后将反应液降温至 30℃,蒸干溶剂,得粗产物;将粗产物以 15ml 甲醇和 90ml 乙酸乙酯重结晶纯化得 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啉羧酸盐精品。

[0016] 用标准品作为对照,采用高效液相色谱对 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啉羧酸盐合成量进行测定,结果表明,按照 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啉羧酸的含量计算,方法合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啉羧酸盐的产率为 90.6%。

[0017] 采用核磁共振和质谱对产物进行定性鉴别,确定为 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啉羧酸,数据如下:

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 600MHz): δ 4.21(1H, t); 3.17~3.19(1H, m); 3.37~3.39(1H, m); 2.04~2.06(2H, m)

ESI-MS (M/Z):142.8[M+H⁺].

[0018] 实施例 2 人工合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啉羧酸盐的制备方法

步骤如下:将原料 L-2,4-二氨基丁酸二盐酸盐 1mmol 和原乙酸三甲酯 6mmol 加入 7ml

乙醇中,加热使溶液温度升至 80℃,回流 4 小时,回流结束后将反应液降温至 15℃,蒸干溶剂,得粗产物;将粗产物以 32ml 甲醇和 288ml 乙酸乙酯重结晶纯化得 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐精品。

[0019] 用标准品作为对照,采用高效液相色谱对 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐合成量进行测定,结果表明,按照 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸的含量计算,本方法合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐的产率为 95.2%。

[0020] 采用核磁共振和质谱对产物进行定性鉴别,确定为 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸,数据如下:

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 600MHz): δ 4.21(1H, t); 3.17~3.19(1H, m); 3.37~3.39(1H, m); 2.04~2.06(2H, m)

ESI-MS (M/Z):142.8[M+H⁺]

[0021] 实施例 3 人工合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐的制备方法

步骤如下:将原料 L-2,4-二氨基丁酸二盐酸盐 1mmol 和原乙酸三甲酯 8mmol 加入 35ml 正丁醇中,加热使溶液温度升至 115℃,回流 3 小时,回流结束后将反应液降温至 34℃,蒸干溶剂,得粗产物;将粗产物以 50ml 甲醇和 350ml 乙酸乙酯重结晶纯化得 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐精品。

[0022] 用标准品作为对照,采用高效液相色谱对 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐合成量进行测定,结果表明,按照 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸的含量计算,本方法合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐的产率为 91.7%。

[0023] 采用核磁共振和质谱对产物进行定性鉴别,确定为 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸,数据如下:

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 600MHz): δ 4.21(1H, t); 3.17~3.19(1H, m); 3.37~3.39(1H, m); 2.04~2.06(2H, m)

ESI-MS (M/Z):142.8[M+H⁺]

[0024] 实施例 4 人工合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐的制备方法

步骤如下:将原料 L-2,4-二氨基丁酸二盐酸盐 1mmol 和原乙酸三甲酯 2mmol 加入 18ml 叔丁醇中,加热使溶液温度升至 85℃,回流 1.5 小时,回流结束后将反应液降温至 10℃,蒸干溶剂,得粗产物;将粗产物以 76ml 甲醇和 380ml 乙酸乙酯重结晶纯化得 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐精品。

[0025] 用标准品作为对照,采用高效液相色谱对 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐合成量进行测定,结果表明,按照 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸的含量计算,本方法合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐的产率为 89.3%。

[0026] 采用核磁共振和质谱对产物进行定性鉴别,确定为 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸,数据如下:

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 600MHz): δ 4.21(1H, t); 3.17~3.19(1H, m); 3.37~3.39(1H, m); 2.04~2.06(2H, m)

ESI-MS (M/Z):142.8[M+H⁺]

[0027] 实施例 5 人工合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐的制备方法

步骤如下:将原料 L-2,4-二氨基丁酸二盐酸盐 1mmol 和原乙酸三甲酯 9mmol 加入

15ml 异丙醇中,加热使溶液温度升至 82℃,回流 2 小时,回流结束后将反应液降温至 4℃,蒸干溶剂,得粗产物;将粗产物以 20ml 甲醇和 160ml 乙酸乙酯重结晶纯化得 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐精品。

[0028] 用标准品作为对照,采用高效液相色谱对 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐合成量进行测定,结果表明,按照 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸的含量计算,本方法合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐的产率为 89.7%。

[0029] 采用核磁共振和质谱对产物进行定性鉴别,确定为 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸,数据如下:

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 600MHz): δ 4.21(1H, t); 3.17~3.19(1H, m); 3.37~3.39(1H, m); 2.04~2.06(2H, m)

ESI-MS (M/Z):142.8[M+H⁺]

实施例 6 人工合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐的制备方法

步骤如下:将原料 L-2,4-二氨基丁酸二盐酸盐 1mmol 和原乙酸三甲酯 5mmol 加入 20ml 甲醇中,加热使溶液温度升至 65℃,回流 4.5 小时,回流结束后将反应液降温至 20℃,蒸干溶剂,得粗产物;将粗产物以 40ml 甲醇和 320ml 乙酸乙酯重结晶纯化得 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐精品。

[0030] 用标准品作为对照,采用高效液相色谱对 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐合成量进行测定,结果表明,按照 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸的含量计算,本方法合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐的产率为 83.4%。

[0031] 采用核磁共振和质谱对产物进行定性鉴别,确定为 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸,数据如下:

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 600MHz): δ 4.21(1H, t); 3.17~3.19(1H, m); 3.37~3.39(1H, m); 2.04~2.06(2H, m)

ESI-MS (M/Z):142.8[M+H⁺]

[0032] 实施例 7 人工合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐的制备方法

步骤如下:将原料 L-2,4-二氨基丁酸二盐酸盐 10mmol 和原乙酸三甲酯 29mmol 加入 360ml 叔丁醇中,加热使溶液温度升至 85℃,回流 5 小时,回流结束后将反应液降温至 25℃,蒸干溶剂,得粗产物;将粗产物以 120ml 甲醇和 600ml 乙酸乙酯重结晶纯化得 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐精品。

[0033] 用标准品作为对照,采用高效液相色谱对 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐合成量进行测定,结果表明,按照 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸的含量计算,本方法合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐的产率为 90.2%。

[0034] 采用核磁共振和质谱对产物进行定性鉴别,确定为 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸,数据如下:

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 600MHz): δ 4.21(1H, t); 3.17~3.19(1H, m); 3.37~3.39(1H, m); 2.04~2.06(2H, m)

ESI-MS (M/Z):142.8[M+H⁺]

[0035] 实施例 8 人工合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐的制备方法

步骤如下:将原料 L-2,4-二氨基丁酸二盐酸盐 4mmol 和原乙酸三甲酯 6mmol 加入

128ml 乙醇中,加热使溶液温度升至 75℃,回流 2 小时,回流结束后将反应液降温至 20℃,蒸干溶剂,得粗产物;将粗产物以 320ml 甲醇和 640ml 乙酸乙酯重结晶纯化得 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐精品。

[0036] 用标准品作为对照,采用高效液相色谱对 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐合成量进行测定,结果表明,按照 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸的含量计算,本方法合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐的产率为 77.9%。

[0037] 采用核磁共振和质谱对产物进行定性鉴别,确定为 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸,数据如下:

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 600MHz): δ 4.21(1H, t); 3.17~3.19(1H, m); 3.37~3.39(1H, m); 2.04~2.06(2H, m)

ESI-MS (M/Z):142.8[M+H⁺]

[0038] 实施例 9 人工合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐的制备方法

步骤如下:将原料 L-2,4-二氨基丁酸二盐酸盐 10mmol 和原乙酸三甲酯 50mmol 加入 60ml 丙三醇中,加热使溶液温度升至 290℃,回流 5 小时,回流结束后将反应液降温至 5℃,蒸干溶剂,得粗产物;将粗产物以 120ml 甲醇和 500ml 乙酸乙酯重结晶纯化得 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐精品。

[0039] 用标准品作为对照,采用高效液相色谱对 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐合成量进行测定,结果表明,按照 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸的含量计算,本方法合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐的产率为 82.5%。

[0040] 采用核磁共振和质谱对产物进行定性鉴别,确定为 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸,数据如下:

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 600MHz): δ 4.21(1H, t); 3.17~3.19(1H, m); 3.37~3.39(1H, m); 2.04~2.06(2H, m)

ESI-MS (M/Z):142.8[M+H⁺]

[0041] 实施例 10 人工合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐的制备方法

步骤如下:将原料 L-2,4-二氨基丁酸二盐酸盐 4mmol 和原乙酸三甲酯 1mmol 加入 100ml 甲醇中,加热使溶液温度升至 65℃,回流 2 小时,回流结束后将反应液降温至 5℃,蒸干溶剂,得粗产物;将粗产物以 60ml 甲醇和 300ml 乙酸乙酯重结晶纯化得 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐精品。

[0042] 用标准品作为对照,采用高效液相色谱对 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐合成量进行测定,结果表明,按照 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸的含量计算,本方法合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐的产率为 63.8%。

[0043] 采用核磁共振和质谱对产物进行定性鉴别,确定为 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸,数据如下:

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 600MHz): δ 4.21(1H, t); 3.17~3.19(1H, m); 3.37~3.39(1H, m); 2.04~2.06(2H, m)

ESI-MS (M/Z):142.8[M+H⁺]

[0044] 实施例 11 人工合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐的制备方法

步骤如下:将原料 L-2,4-二氨基丁酸二盐酸盐 1mmol 和原乙酸三甲酯 8mmol 加入 20ml

乙二醇中,加热使溶液温度升至 260℃,回流 2 小时,回流结束后将反应液降温至 20℃,蒸干溶剂,得粗产物;将粗产物以 50ml 甲醇和 200ml 乙酸乙酯重结晶纯化得 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐精品。

[0045] 用标准品作为对照,采用高效液相色谱对 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐合成量进行测定,结果表明,按照 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸的含量计算,本方法合成 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸盐的产率为 41.6%。

[0046] 采用核磁共振和质谱对产物进行定性鉴别,确定为 1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸,数据如下:

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 600MHz): δ 4.21(1H, t); 3.17~3.19(1H, m); 3.37~3.39(1H, m); 2.04~2.06(2H, m)

ESI-MS (M/Z):142.8[M+H⁺].