

[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl⁶

C07D475 / 06

C07C237 / 36



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 94100527.5

[45]授权公告日 1998年10月14日

[11] 授权公告号 CN 1040209C

[22]申请日 94.1.20 [24]颁证日 98.7.17

[21]申请号 94100527.5

[30]优先权

[32]93.1.26 [33]CH[31]214 / 93

[73]专利权人 弗·哈夫曼-拉罗切有限公司

地址 瑞士巴塞尔

[72]发明人 C·维尔利

[74]专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标
事务所

代理人 陈季壮

[56]参考文献

JOURNAL OF THE AMERJCHN CHEMI-
CAL SOCIETY BD 70 NR,1,1948 1948. 1.
1 R.B.ANGIER ETAL SYNTHESIS OF PT
EROYLGLUTAMIC AC:D

审查员 43 20

权利要求书 2 页 说明书 11 页 附图页数 0 页

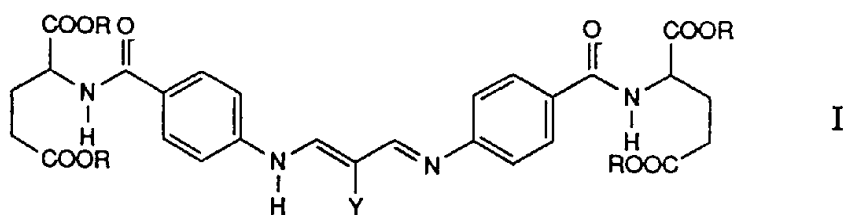
[54]发明名称 制备叶酸的方法

[57]摘要

本发明涉及一种制备叶酸的方法。由 2-取代丙二醛与对-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸反应得到的相应的二亚胺，然后再在亚硫酸盐存在下，于 pH 值为 3—8 与三氨基嘧啶酮反应转化为叶酸。

权 利 要 求 书

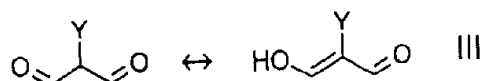
1.一种制备叶酸的方法，该方法包括由式 I 二亚胺与三氨基嘧啶酮在亚硫酸盐或在水中能形成亚硫酸盐的无机化合物存在下，于 pH 值为 3 - 8，温度为 0 - 100 °C 的条件下反应：



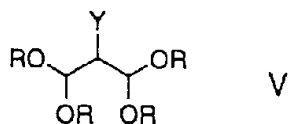
式中 R 为氢或低碳烷基，Y 为 OH，卤素，磷酸酯，二磷酸酯，三磷酸酯或 OCOR'，其中 R' 代表低碳烷基或苯基。

2.根据权利要求 1 的方法，其中反应在 0.3 - 3ml 当量的亚硫酸钠存在下，于 pH 值为 5 - 7，温度为 5 - 40 °C 的条件下进行。

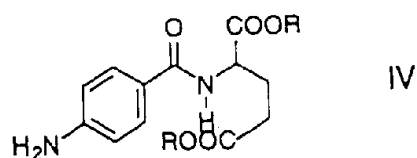
3.根据权利要求 1 或 2 的方法，其中生产式 I 的二亚胺本身是使式 III 的 2 - 取代的丙二醛



或式 V 的三烷基缩醛或其半缩醛



与式 IV 的对氨基苯甲酰-L-戊二酸或其酯在酸性条件下进行反应，且生产之后使原地生产的式 I 二亚胺与三氨基嘧啶酮在亚硫酸盐或能在水中形成亚硫酸盐的无机化合物存在下进行反应，整个过程采用一釜法进行，



式中 R 为氢或低碳烷基，Y 为 OH，卤素，磷酸酯，二磷酸酯，三磷酸酯或 -OCOR'，其中 R' 代表低碳烷基或苯基。

说明书

制备叶酸的方法

本发明涉及一种制备叶酸的新方法。

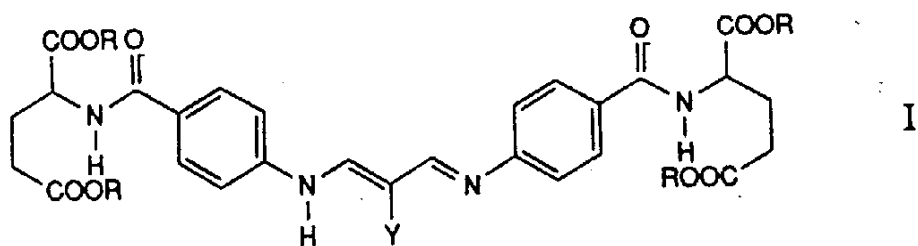
Robert B. Angier et al. (JACS, 70(1948), 25) 叙述了使用不含卤素化合物制备叶酸的方法, 即通过使对-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸二乙酯与 2-羟基丙二醛反应, 分离出对-(2,3-二羟基-2-烯-亚丙基氨基)-苯甲酸二乙酯, 并使该中间体再与三氨基嘧啶酮反应而制得。在制备过程中, 亚胺作为中间体分离出来, 叶酸的收率仅为 12.6%。

在 O. Isler, G. Brubacher, S. Ghisla, B. Krauttler, Vitamine 11; G. Thieme Verlag Stuttgart(1988) 中叙述了其它制法。

在这些方法中, 叶酸的收率普遍较低。

本发明的目的是提供一种收率明显高于已知方法的叶酸制法。

令人惊奇地发现, 以通式 I 结构的二亚胺为原料, 可以得到相当高的叶酸收率, 同时可以大大避免付产物的出现:



式中 R 表示氢或低碳烷, Y 表示 OH , 卤素, 磷酸酯 (phosphate), 二磷酸酯 (diphosphate), 三磷酸酯 (triphosphate) 或 $-O-COR'$, 其中 R' 代表低碳烷基或苯基。

在本发明领域内“低碳烷基”表示 1—6 个碳原子的直链或支链烷基, 例如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、戊基、己基等等。优选为直链烷基例如甲基和乙基。

在发明领域内“卤素”一词主要表示氯, 溴或碘。优选溴。

式 I 二亚胺中 R 优选为氢, Y 优选为 OH 。

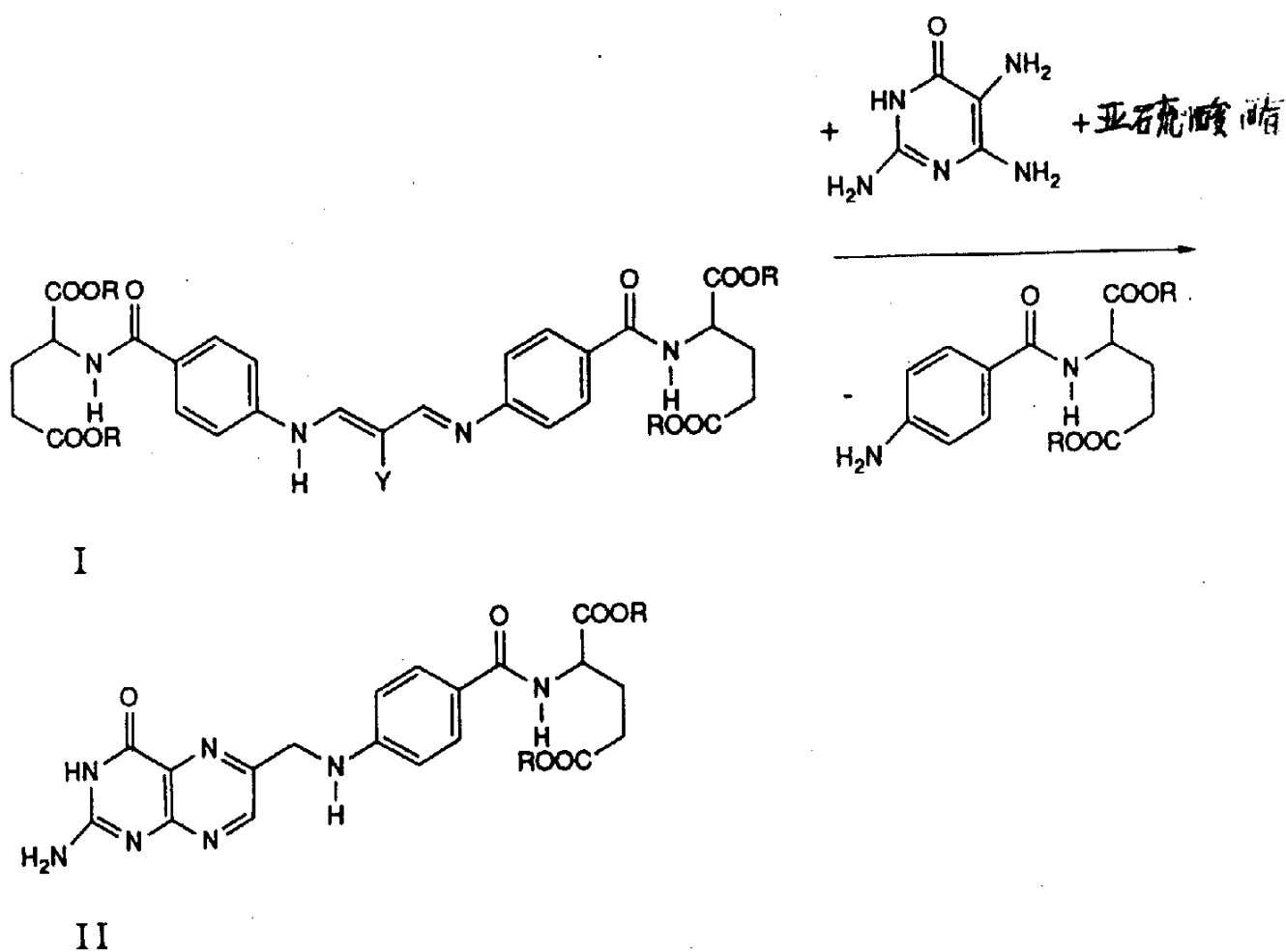
从 *B. Etstert et al. (Chem. Ber. 88(1955), 939)* 中得知, 二亚胺是由 2-羟基丙二醛与芳香胺例如苯胺, 对-氨基苯甲酸或对-氨基苯甲酸酯反应而制得。

上述式 I 二亚胺是一类新化合物, 并且也是本发明的目的产物。

按照本发明方法包括在亚硫酸盐, 或在水中能形成亚硫酸盐的无机化合物存在下, 在 pH 值为 3—8, 温度约为 0—100°C 的条件下, 上述式 I 二亚胺与三氨基嘧啶酮反应。

例如化合物 Na_2SO_3 , K_2SO_3 , $NaHSO_3$, $Na_2S_2O_5$ 或 SO_2 等, 可用作亚硫酸盐或在水中能形成亚磷酸盐的无机化合物。也可使用三氨基嘧啶酮亚硫酸酯。

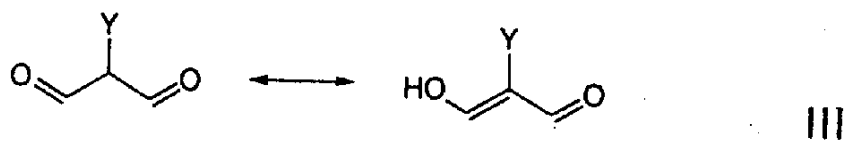
式 I 的二亚胺向式 II 的叶酸或叶酸烷基酯的转化是按下列反应路线进行的：



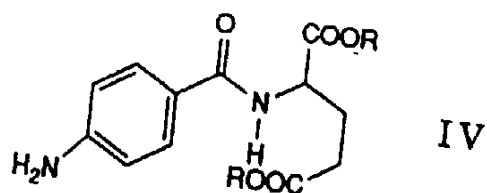
式 I 二亚胺向式 II 叶酸的转化过程中,上述亚硫酸盐是必不可少的。如果没有它们的存在,将有利于副产物的生成。

优选使至少约 1 当量的三氨基嘧啶酮在 0.3—3 当量的亚硫酸钠存在下,于 pH 值为 5—7,温度为 5—40℃ 的条件下,与式 I 的二亚胺反应。更为优选的是约 1 当量的亚硫酸钠存在下,三氨基嘧啶酮与式 I 的二亚胺的反应于约 10℃ 进行。该反应可在水溶液或可与水混溶的惰性有机溶剂例如乙腈、二甲基甲酰胺、二噁烷、甲醇、四氢呋喃等溶剂中进行。优选水为溶剂。当使用其它溶剂时,它们应与水混合,并且水含量应大于 30%。另外,反应应在反应物浓度为约 0.05—1 mol/l 时进行。优选为 0.1—0.5 mol/l。

在本发明中作为原料的式 I 二亚胺可用已知的方法制备,例如可用式 III 2-取代丙二醛对-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸或式 IV 对-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸酯在酸性条件下反应制得:



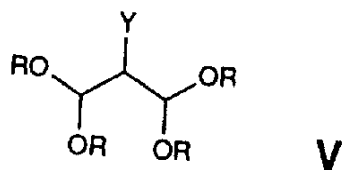
式中 Y 如式 I 所定义;



式中 R 如式 I 所定义。每当量的式 III 2-取代丙二醛可使用至少约 2 当量的对-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸或式 IV 对-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸酯。反应在水性介质中进行, 并任意添加惰性水混溶性的有机溶剂例如乙腈, 二甲基甲酰胺, 二恶烷, 甲醇, 四氢呋喃等。

特别优选 2-羟基丙二醛与对-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸反应, 并且反应在 pH 值低于 4, 温度范围在约 $0-60^{\circ}C$ 条件下进行。

替代上述式 III 2-取代丙二醛, 也可使用 2-取代丙二醛四烷基缩醛或式 V 2-取代丙二醛半缩醛:



式中 R 如上所定义。

在酸性水解条件下，会由式 V 化合物就地生成式 III 2-取代的丙二醛，然后由式 III 2-取代丙二醛生成式 I 二亚胺。

采用一种新方法特别有利，其中式 V 化合物在离子交换剂存在下发生酸性水解。在本发明范围内优选的离子交换剂有例如 $DOWEX 50W$ 。

在本发明方法中用作原料的式 I 二亚胺在制成后可以分离出来，并且用于本发明方法中。然而，它们也可以就地制成，因此反应可采用一釜法进行。

当 R 为低碳烷基的式 I 二亚胺用作原料时，在叶酸分离出来之前，所得叶酸烷基酯能以已知的方法水解。

经过分离或由滤液得到叶酸后，对一氨基苯甲酰基-L-谷氨酸可用合适的溶剂例如丁醇，乙酸甲酯等或相应的溶剂混合物萃取并回收。

使用本发明方法，叶酸的收率可高达理论量的约 84%。

以下实施例是本发明方法特别优选的实施方案，但并非用来限制本发明。

实施例 1

作为式 I 二亚胺的 (S)-2-[4-[3-[4-[(S)-1,3-二羧基-丙基-氨基甲酰基]苯基亚氨基]-2-羟基-丙烯基氨基]-苯甲酰-氨基]-戊烷-1,5-二酸的制备，以及二亚胺向叶酸的转化

将 3.6g(20mmol)1,1,3,3-四甲氧基-2-丙醇和 40ml 1N HCl 在氮气保护下,放入装有温度计和搅拌的五口瓶中,并且该混合物在 50℃ 搅拌 5 分钟。然后,加入 10.65(40mmol)对-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸,并在 50℃ 搅拌该混合物 1 小时。加入约 200ml 水后,让该二亚胺置于室温结晶 24 小时,过滤并用水洗涤沉淀。在水注真空中于 60℃ 干燥后得到含水量 4% 的(S)-2-[4-[3-[4-[(S)-1,3-二羧基丙基氨基甲酰基]-苯基亚氨基]-2-羟基-丙烯基氨基]苯甲酰基氨基]-戊烷-1,5-二酸。收率为理论量的 83%;熔点为 172-178℃。

20ml 水和 2.52g 亚硫酸钠在氮气保护下加入 6.1g 含水量为 4% 的(S)-2-[4-[3-[4-[(S)-1,3-二羧基丙基氨基甲酰基]-苯基亚氨基]-2-羟基-丙烯基氨基]苯甲酰基氨基]-戊烷-1,5-二酸中。在搅拌下用 2M 碳酸钠溶液调整混合物 pH 值到 6.0。搅拌下于室温慢慢将 2.39g(10mmol)三氨基嘧啶酮硫酸酯加入悬浮液中。定量加入 2M 碳酸钠溶液使 pH 值保持在 6.0。4 小时后反应结束。测定红-棕色混合物中叶酸含量。为了这一目的,用 220ml 水将反应混合物准确稀释至 250ml,并且从其中等分移出以使用 HPLC(高压液相色谱)测定叶酸含量。以所用二亚胺为基准,叶酸的收率为理论量的 69%。

实施例 2

在水性介质中通过对-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸,2-羟基丙

二醛和三氨基嘧啶酮的反应制备叶酸(一釜法)

在氮气保护下,将 5.32g (20mmol) 对-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸和 20ml (20mmol) 0.1N HCl 加入装有温度计和搅拌的 100ml 五口瓶中。加入 0.88g (10mmol) 2-羟基丙二醛,并用 3ml 水洗涤。该悬浮液于室温下搅拌 1 小时。然后加入 4.25ml 2M 碳酸钠溶液并搅拌约 20 分钟。加入 2.52g (20mmol) 亚硫酸钠并将混合物加热至 38℃。在搅拌下,于 pH 值为 6.0, 1 小时内向悬浮液中滴加 2.39g (10mmol) 三氨基嘧啶酮。定量加入 7.6ml 2M 碳酸钠溶液,使 pH 值保持在 6.0。4 小时后反应完成。如实施例 1 所述方法,测定红-棕混合物中叶酸含量。以所用 2-羟基丙二醛为基准,叶酸收率为理论量的 68%。

为将叶酸从该溶液中分离出来,用乙酸将 pH 值调到 3.0。叶酸沉淀,并滤出。得到 3.08g 叶酸粗品,其中纯 L-叶酸含量为 91%。收率为理论量的 63.5%。

通过用乙酸乙酯在 pH 为 3.0 时彻底萃取的方法,从滤液中回收未反应的对-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸。得到 3.23g 纯对-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸含量为 90% 的对氨基苯甲酰基-L-谷氨酸粗品。纯对-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸的含量用 HPLC 测定。

实施例 3

在加有有机溶剂的水性介质中通过对-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸,2-羟基丙二醛和三氨基嘧啶酮反应制备叶酸

在氮气保护下,将 5.32g(10mmol)对-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸,12.5ml 0.2N HCl,12.5ml 乙腈和 0.88g(10mmol)2-羟基丙二醛在装有搅拌和温度计的五口瓶中充分混合,并将混合物于室温放置 24 小时。然后将 2.52g(20mmol)亚硫酸钠溶液加入混合物中,并且将混合物加热至 38℃。在搅拌下,于 pH 值为 6.0,将 2.3g(10mmol)三氨基嘧啶酮硫酸酯慢慢地加入该混合物中。定量加入 2M 碳酸钠使 pH 值保持在 6.0。6 小时后反应结束。按实施例 1 的方法测定红-棕混合物中叶酸的含量。由 HPLC 分析值得知叶酸的收率为理论量的 73%。

实施例 4

在添加有机溶剂的水性介质中通过对-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸,2-羟基丙二醛和三氨基嘧啶酮反应制备叶酸。

在氮气保护下,在装有温度计和搅拌的五口瓶中,加入 5.32g(20mmol)对-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸,12.5ml 0.2N HCl,12.5ml 乙腈和 0.88g(10mmol)2-羟基丙二醛,并充分混合,将混合物在室温下放置 24 小时。然后,加入 1.26g(10mmol)亚硫酸钠和 9ml 2M 碳酸钠溶液,将该混合物于 10℃搅拌 1 小时。在搅拌下于 10℃,pH 值为 6.0 慢慢向混合物中加入 2.3g(10mmol)三氨基嘧啶酮硫酸酯。定量加入 2M 碳酸钠溶液使 pH 值保持在 6.0。6 小时后反应结束。按实施例 1 的方法测定红-棕混合物中叶酸含量。由 HPLC 的分析值得知叶酸的收率为理论量的 84%。

实施例 5

在水中通过三氨基嘧啶酮和(S)-2-[4-[3-[4-[(S)-1,3-二羧基-丙基氨基甲酰基]-苯基亚氨基]-2-羟基-丙烯基氨基]-苯甲酰基氨基]-戊烷-1,5-二酸反应制备叶酸

在氮气保护下,将 2.23g(10mmol)三氨基嘧啶酮亚硫酸酯,1.26g(10mmol)亚硫酸钠和 30ml 水加入装有温度计的五口瓶中。然后,在搅拌下于 38℃,pH 值为 6.0 慢慢加入 6.1g(S)-2-[4-[3-[4-[(S)-1,3-二羧基-丙基氨基甲酰基]-戊基亚氨基]-2-羟基-丙烯基氨基]-戊烷-1,5-二酸(由实施例 1 得到的二亚胺)。定量加入 10ml 2M 碳酸钠溶液使 pH 值保持在 6.0。6 小时后反应结束。按实施例 1 的方法测定红-棕混合物中叶酸含量。由 HPLC 分析值得知叶酸收率为理论量的 64%。

实施例 6

在离子交换剂存在下通过 2-羟基丙二醛四烷基-缩醛酸性水解制备 2-羟基丙二醛

将 34.2g(190mmol)2-羟基丙二醛-四烷基-缩醛于 600ml 水中形成的溶液,于室温下通入一玻璃管(260×25mm)中。在玻璃管中装有 130g DOWEX50W。溶液的流速为 2.5ml/分钟。

在氮气保护下于 0℃收集洗脱液,并且于约 20mbr,在转式汽化器中将其浓缩至 50g。将该悬浮液于约 0℃放置 18 小时。将粗产品过滤并用 10ml 水洗涤。在水注真空中于 40℃干燥 4 小时后,得到 12.

0.4g 2-羟基丙二醛。熔点 $157/8^{\circ}\text{C}$ (分解)。含量 98% (碘量滴定)。

从滤液中又得 1.36g 2-羟基丙二醛。含量为 97% (碘量滴定)。

总收率: 13.4g 2-羟基丙二醛为理论量的 78%。