



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110240551 A

(43)申请公布日 2019.09.17

(21)申请号 201910554677.2

(22)申请日 2019.06.25

(71)申请人 成都郑源生化科技有限公司

地址 611630 四川省成都市蒲江县寿安镇
青蒲路170号1栋

(72)发明人 杨再宽 郑征 付若彬

(74)专利代理机构 成都希盛知识产权代理有限公司 51226

代理人 郑旭 柯海军

(51)Int.Cl.

C07C 269/06(2006.01)

C07C 271/22(2006.01)

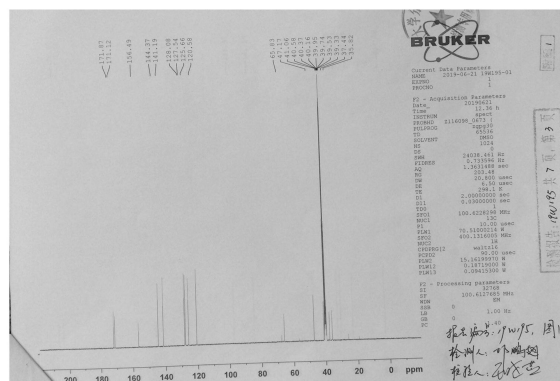
权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54)发明名称

Fmoc- β -Ala-Gly-OH的制备方法

(57)摘要

本发明涉及Fmoc- β -Ala-Gly-OH的制备方法,属于多肽合成领域。Fmoc- β -Ala-Gly-OH的制备方法,按以下步骤进行:a、将Fmoc- β -Ala-OR、Gly-Na、硼化镱和溶剂混合反应,生成Fmoc- β -Ala-Gly-ONa;其中,所述Fmoc- β -Ala-OR为能够与氨基反应生成酰胺键的酯类;b、将Fmoc- β -Ala-Gly-ONa酸化得到Fmoc- β -Ala-Gly-OH。本发明的方法能让反应速度更快,减少副反应的发生,也有利于后续顺利纯化,适应工业生产。



1. Fmoc- β -Ala-Gly-OH的制备方法,其特征在于,按以下步骤进行:
 - a、将Fmoc- β -Ala-OR、Gly-Na、硼化镱和溶剂混合反应,生成Fmoc- β -Ala-Gly-ONa;其中,所述Fmoc- β -Ala-OR为能够与氨基反应生成酰胺键的酯类;
 - b、将Fmoc- β -Ala-Gly-ONa酸化得到Fmoc- β -Ala-Gly-OH。
2. 根据权利要求1所述的Fmoc- β -Ala-Gly-OH的制备方法,其特征在于,所述Fmoc- β -Ala-OR中,R为-Su、-NB或-Bt;优选的,R为-Bt。
3. 根据权利要求1所述的Fmoc- β -Ala-Gly-OH的制备方法,其特征在于,步骤a中,溶剂为醇类、醚类、酰胺类或酯类溶剂;优选的,所述溶剂为四氢呋喃或二氧六环。
4. 根据权利要求1~3任一项所述的Fmoc- β -Ala-Gly-OH的制备方法,其特征在于,Fmoc- β -Ala-OR、Gly-Na和硼化镱的摩尔比为100:80~300:1~300。
5. 根据权利要求4所述的Fmoc- β -Ala-Gly-OH的制备方法,其特征在于,Fmoc- β -Ala-OR、Gly-Na、硼化镱的摩尔比为100:100~200:10~20。
6. 根据权利要求5所述的Fmoc- β -Ala-Gly-OH的制备方法,其特征在于,Fmoc- β -Ala-OR、Gly-Na、硼化镱的摩尔比为100:150~200:10~20;优选的,Fmoc- β -Ala-OR、Gly-Na、硼化镱的摩尔比为100:200:10。
7. 根据权利要求1~6任一项所述的Fmoc- β -Ala-Gly-OH的制备方法,其特征在于,步骤a中,反应方法为:在0~50℃搅拌反应;优选的,在室温下搅拌反应;更优选的,反应至体系无Fmoc- β -Ala-OR时,停止反应;进一步优选的,采用薄层色谱检测体系有无Fmoc- β -Ala-OR。
8. 根据权利要求1~7任一项所述的Fmoc- β -Ala-Gly-OH的制备方法,其特征在于,步骤b中,酸化的方法为:将Fmoc- β -Ala-Gly-ONa放入酸性溶液中进行酸化,所述酸性溶液的pH ≤ 2 ;优选的,所述酸性溶液为盐酸溶液、硫酸溶液、硝酸溶液、磷酸溶液、磷酸二氢钠溶液、磷酸二氢钾溶液、硫酸氢钾溶液、甲酸溶液和三氟乙酸溶液中的至少一种;更优选的,所述酸性溶液为盐酸溶液。
9. 根据权利要求1所述的Fmoc- β -Ala-Gly-OH的制备方法,其特征在于,步骤b中:酸化后,过滤得到的Fmoc- β -Ala-Gly-OH固体;或者用有机溶剂进行萃取,收集有机相,浓缩、结晶、过滤得到Fmoc- β -Ala-Gly-OH固体;优选的,所述有机溶剂为乙酸乙酯。
10. 根据权利要求9所述的Fmoc- β -Ala-Gly-OH的制备方法,其特征在于,步骤b中:对得到的Fmoc- β -Ala-Gly-OH固体进行进一步纯化,纯化方法为:将Fmoc- β -Ala-Gly-OH进行重结晶或打浆;优选的,打浆采用乙酸乙酯进行;更优选的,Fmoc- β -Ala-Gly-OH固体用乙酸乙酯室温搅拌4~12小时,过滤,再用乙酸乙酯淋洗,最后烘干得到纯化后的Fmoc- β -Ala-Gly-OH。

Fmoc-β-Ala-Gly-OH的制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及Fmoc-β-Ala-Gly-OH的制备方法,属于多肽合成领域。

背景技术

[0002] Fmoc-β-Ala-Gly-OH即芴甲氧羰基-β-丙氨酰-甘氨酸,是一种化工中间体,常用于多肽合成或用作多肽合成原料质量控制标准品。

[0003] 现有技术中,制备Fmoc-β-Ala-Gly-OH的常用方法有两类。

[0004] 一类是液相合成法。为了得到纯度相对较高的产品,一般采用全保护路线的液相合成法。其方法是:先反应生成Fmoc-β-Ala-OR活化酯后,与Gly-OR'反应,再接肽生成Fmoc-β-Ala-Gly-OR',经过纯化,然后皂化生成β-Ala-Gly,再上Fmoc保护基团生成Fmoc-β-Ala-Gly-OH。但是该方法步骤较长,制备过程需要先将全保护肽的羧基保护基与Fmoc一起脱除,再上Fmoc基团,增加了Fmoc试剂的用量,增加了成本;而且反应步骤的增加大大降低收率。

[0005] 另外一类方法为固相法合成,但固相法所使用的树脂价格高昂,经济上不划算。

[0006] 已有液相法全保护合成策略,想要得到纯度较高的产品,通常收率不高,在50%以下,最严重的缺点是极限纯度通常在90%以下,很难达到95%以上。固相法纯度可以达到95%,但以Fmoc-β-Ala-OR活化酯计量,收率在30%以下。

[0007] 现有方法存在的问题是:步骤长、产率低、生产效率低,而且产品纯度通常都不高;或者成本特别昂贵。

发明内容

[0008] 本发明要解决的技术问题是提供一种合成步骤短的Fmoc-β-Ala-Gly-OH的制备方法。

[0009] Fmoc-β-Ala-Gly-OH的制备方法,按以下步骤进行:

[0010] a、将Fmoc-β-Ala-OR、Gly-Na、硼化镱和溶剂混合反应,生成Fmoc-β-Ala-Gly-ONa;其中,所述Fmoc-β-Ala-OR为能够与氨基反应生成酰胺键的酯类;

[0011] b、将Fmoc-β-Ala-Gly-ONa酸化得到Fmoc-β-Ala-Gly-OH。

[0012] 优选的,活化酯Fmoc-β-Ala-OR中,所述R为-Su、-NB或-Bt;更优选的,R为-Bt。

[0013] 优选的,步骤a中,溶剂为醇类、醚类、酰胺类或酯类溶剂;更优选的,所述溶剂为四氢呋喃或二氧六环。

[0014] 优选的,Fmoc-β-Ala-OR、Gly-Na、硼化镱的摩尔比为100:80~300:1~300。

[0015] 更优选的,Fmoc-β-Ala-OR、Gly-Na、硼化镱的摩尔比为100:100~200:10~20。

[0016] 进一步优选的,Fmoc-β-Ala-OR、Gly-Na、硼化镱的摩尔比为100:150~200:10~20;最优选的,Fmoc-β-Ala-OR、Gly-Na、硼化镱的摩尔比为100:200:10。

[0017] 优选的,步骤a中,反应方法为:在0~50℃搅拌反应;更优选的,在室温下搅拌反应;进一步优选的,反应至体系无Fmoc-β-Ala-OR时,停止反应;进一步优选的,采用薄层色谱检测体系有无Fmoc-β-Ala-OR。

[0018] 优选的,步骤b中,酸化的方法为:将酸性溶液加入Fmoc- β -Ala-Gly-ONa溶液中进行酸化,所述酸性溶液的 $\text{pH} \leq 2$;更优选的,所述酸性溶液为盐酸溶液、硫酸溶液、硝酸溶液、磷酸溶液、磷酸二氢钠溶液、磷酸二氢钾溶液、硫酸氢钾溶液、甲酸溶液和三氟乙酸溶液中的至少一种;进一步优选的,所述酸性溶液为盐酸溶液。

[0019] 优选的,步骤b中:酸化后,过滤得到的Fmoc- β -Ala-Gly-OH固体;或者用有机溶剂进行萃取,收集有机相,浓缩、结晶、过滤得到Fmoc- β -Ala-Gly-OH固体;优选的,所述有机溶剂为乙酸乙酯。

[0020] 优选的,步骤b中:对得到的Fmoc- β -Ala-Gly-OH固体进行进一步纯化,纯化方法为:将Fmoc- β -Ala-Gly-OH进行重结晶或打浆;更优选的,Fmoc- β -Ala-Gly-OH固体用乙酸乙酯室温搅拌4~12小时,过滤,再用乙酸乙酯淋洗,最后烘干得到纯化后的Fmoc- β -Ala-Gly-OH。

[0021] 本发明的有益效果:

[0022] 1、本发明的方法能生产步骤更短,提高生产效率,适应工业生产。

[0023] 2、本发明可以避免一些副反应,减少杂质的生成,从而提高产品质量及产率;同时成本相对较低。

[0024] 3、相比较传统的合成方法,本发明不需要先脱掉Fmoc基团,再二次加上Fmoc基团,节约了Fmoc试剂,从而减少了步骤,且降低了成本。

附图说明

[0025] 图1为实施例1制得产品的 ^{13}C -NMR图谱总图;

[0026] 图2为实施例1制得产品的 ^{13}C -NMR图谱中,位移为115~175ppm的图谱。

具体实施方式

[0027] 本发明要解决的第一个技术问题是提供一种合成步骤短的Fmoc- β -Ala-Gly-OH的制备方法。

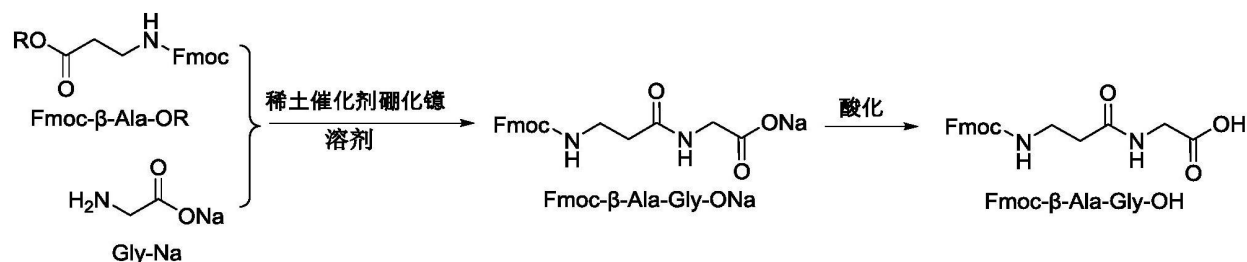
[0028] Fmoc- β -Ala-Gly-OH的制备方法,按以下步骤进行:

[0029] a、将Fmoc- β -Ala-OR、Gly-Na、硼化镱和溶剂混合反应,生成Fmoc- β -Ala-Gly-ONa;其中,所述Fmoc- β -Ala-OR为能够与氨基反应生成酰胺键的酯类;

[0030] b、将Fmoc- β -Ala-Gly-ONa酸化得到Fmoc- β -Ala-Gly-OH。

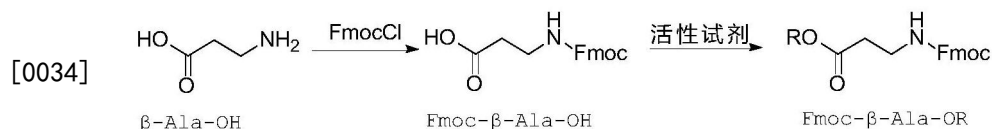
[0031] 本发明具体的反应流程如下:

[0032]



[0033] 其中,Fmoc- β -Ala-OR为能够与氨基反应生成酰胺键的酯类;Fmoc- β -Ala-OR可以采用常规的方法进行制备,比如制备方法可以为:将Fmoc- β -Ala-OH中的羧基活化,得到活

化酯Fmoc-β-Ala-OR;方法如下所述:



[0035] 优选的,活化酯Fmoc-β-Ala-OR中,所述R为-Su、-NB或-Bt;更优选的,R为-Bt。

[0036] 其中,Fmoc-β-Ala-OSu中文名称为:苄氧羰基-β-丙氨酸-N-羟基琥珀亚胺酯;

[0037] Fmoc-β-Ala-OBt中文名称为:苄氧羰基-β-丙氨酸-1-羟基苯并三唑酯;

[0038] Fmoc-β-Ala-ONB中文名称为:苄氧羰基-β-丙氨酸-N-羟基-5-降冰片烯-2,3-二甲酰亚胺酯;

[0039] Gly-Na中文名称为:甘氨酸钠盐。

[0040] 本发明步骤a中,加入溶剂的目的是为了使反应物及催化剂能够溶解或部分溶解。优选的,步骤a中,溶剂为醇类、醚类、酰胺类或酯类溶剂。溶剂的加入量没有特别的限定,使反应物能够溶解或部分溶解即可。其中,所述醇类溶剂包括常见的醇类溶剂,比如乙醇、甲醇、丙三醇等;所述醚类溶剂包括常见的醚类溶剂,比如四氢呋喃、1,4-二氧六环等;所述酰胺类溶剂包括常见的酰胺类溶剂,比如N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、N,N-二甲基丙酰胺(DMP)、N,N-二乙基丙酰胺(DEP)和N,N-二乙基乙酰胺(DEA)等;所述酯类溶剂包括常见的酯类溶剂,比如乙酸乙酯、乙酸甲酯等。

[0041] 更优选的,所述溶剂为四氢呋喃或二氧六环。

[0042] 本发明需要在反应的过程中加入催化剂硼化镓。如果不加硼化镓,主反应速度不足够快,副反应产物相对较多,给后续纯化带来困难。

[0043] 为了提高收率 and 产品纯度,优选的,Fmoc-β-Ala-OR、Gly-Na、硼化镓的摩尔比为100:80~300:1~300。

[0044] 更优选的,Fmoc-β-Ala-OR、Gly-Na、硼化镓的摩尔比为100:100~200:10~20。

[0045] 进一步优选的,Fmoc-β-Ala-OR、Gly-Na、硼化镓的摩尔比为100:150~200:10~20;

[0046] 最优的,Fmoc-β-Ala-OR、Gly-Na、硼化镓的摩尔比为100:200:10。

[0047] 优选的,步骤a中,反应方法为:在0~50℃搅拌反应;更优选的,在室温下搅拌反应;更优选的,反应至体系无Fmoc-β-Ala-OR时,停止反应;进一步优选的,采用薄层色谱检测体系有无Fmoc-β-Ala-OR。

[0048] 在酸化前,可以先将反应液进行初次浓缩,其中,浓缩的目的是除去溶剂,有利于产品后续充分析出。如果先酸化,后面一次性浓缩,会导致产品(在酸性条件升温浓缩)分解。

[0049] 优选的,步骤b中,酸化的方法为:将酸性溶液加入Fmoc-β-Ala-Gly-ONa溶液中进行酸化,所述酸性溶液的pH≤2;更优选的,所述酸性溶液为盐酸溶液、硫酸溶液、硝酸溶液、磷酸溶液、磷酸二氢钠溶液、磷酸二氢钾溶液、硫酸氢钾溶液、甲酸溶液和三氟乙酸溶液中的至少一种;进一步优选的,所述酸性溶液为盐酸溶液。

[0050] 优选的,步骤b中:酸化后,过滤得到的Fmoc-β-Ala-Gly-OH固体;或者用有机溶剂进行萃取,收集有机相,浓缩、结晶、过滤得到Fmoc-β-Ala-Gly-OH固体;优选的,所述有机溶剂为乙酸乙酯。更优选的,为了进一步除去杂质,收集的有机相用盐水洗酯层3遍。

[0051] 优选的,步骤b中:对得到的Fmoc- β -Ala-Gly-OH固体进行进一步纯化,纯化方法为:将Fmoc- β -Ala-Gly-OH进行重结晶或打浆;更优选的,打浆采用乙酸乙酯进行;进一步优选的,Fmoc- β -Ala-Gly-OH固体用乙酸乙酯室温搅拌4~12小时,过滤,再用乙酸乙酯淋洗,最后烘干得到纯化后的Fmoc- β -Ala-Gly-OH。

[0052] 下面结合实施例对本发明的具体实施方式做进一步的描述,并不因此将本发明限制在所述的实施例范围之中。

[0053] 实施例1

[0054] 在反应瓶中加入40.8g Fmoc- β -Ala-OSu、100mL四氢呋喃、200mL水、0.2mol Gly-Na、3g硼化镱,搅拌反应。TLC(薄层色谱)检测至反应体系无Fmoc- β -Ala-OSu时,反应完毕,将上述反应完毕的反应液真空浓缩至体积 $\leq$ 50mL,加入200mL乙酸乙酯、50mL水,盐酸酸化到pH $\leq$ 2,分液;盐水50mL洗酯层3遍。浓缩酯层至80mL,结晶,过滤,烘干,得到白色固体35克,收率95.1%。固体用乙酸乙酯100mL室温搅拌4小时,过滤,100mL乙酸乙酯淋洗,烘干,得到白色固体30.6克,收率82.9%。经MS、NMR确认,白色固体为Fmoc- β -Ala-Gly-OH,产品HPLC纯度99.10%。该产品的碳谱图见图1。

[0055] 实施例2

[0056] 在反应瓶中加入85.6g Fmoc- β -Ala-OBt、200mL二氧六环、400mL水、0.4mol Gly-Na、5g硼化镱,搅拌反应。TLC(薄层色谱)检测至反应体系无Fmoc- β -Ala-OBt时,反应完毕,将上述反应完毕的反应液真空浓缩至体积 $\leq$ 100mL,加入400mL乙酸乙酯、100mL水,盐酸酸化到pH $\leq$ 2,分液;盐水100mL洗酯层3遍。浓缩酯层至150mL,结晶,过滤,烘干,得到白色固体71克,收率96.4%。固体用乙酸乙酯200mL室温搅拌过夜,过滤,200mL乙酸乙酯淋洗,烘干,得到白色固体62.6克,收率85.0%。经与实施例1所得样品对照确认,白色固体为Fmoc- β -Ala-Gly-OH,产品HPLC纯度99.09%。

[0057] 实施例3

[0058] 在反应瓶中加入47.2g Fmoc- β -Ala-ONB、100mL四氢呋喃、200mL水、0.15mol Gly-Na、4g硼化镱,搅拌反应。TLC(薄层色谱)检测至反应体系无Fmoc- β -Ala-ONB时,反应完毕,将上述反应完毕的反应液真空浓缩至体积 $\leq$ 100mL,加200mL水,盐酸酸化到pH $\leq$ 2,过滤;盐水100mL淋洗3遍,收集固体。得到白色固体35.3克,收率95.9%。固体用乙酸乙酯100mL室温搅拌8小时,过滤,50mL乙酸乙酯淋洗,烘干,得到白色固体30.2克,收率82.0%。经与实施例1所得样品对照确认,白色固体为Fmoc- β -Ala-Gly-OH,产品HPLC纯度99.11%。

[0059] 对比例

[0060] 在反应瓶中加入85.6g Fmoc- β -Ala-OBt、200mL二氧六环、400mL水、0.4mol Gly-Na,搅拌反应。TLC(薄层色谱)检测至反应体系无Fmoc- β -Ala-OBt时,反应完毕,将上述反应完毕的反应液真空浓缩至体积 $\leq$ 100mL,加入400mL乙酸乙酯、100mL水,盐酸酸化到pH $\leq$ 2,分液;盐水100mL洗酯层3遍。浓缩酯层至150mL,结晶,过滤,烘干,得到白色固体68克,收率92.4%。固体用乙酸乙酯200mL室温搅拌过夜,过滤,200mL乙酸乙酯淋洗,白色固体烘干计重56克,收率76.1%。产品HPLC纯度96.3%。

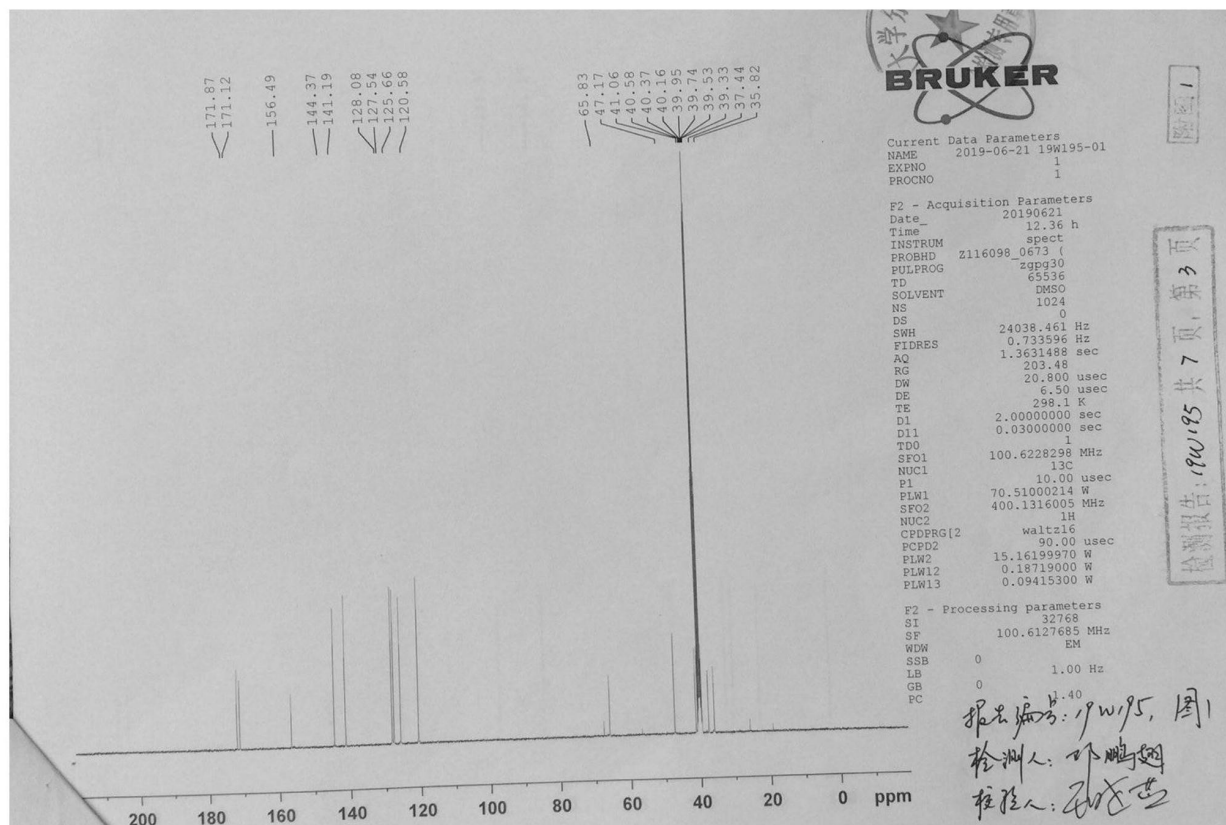


图1

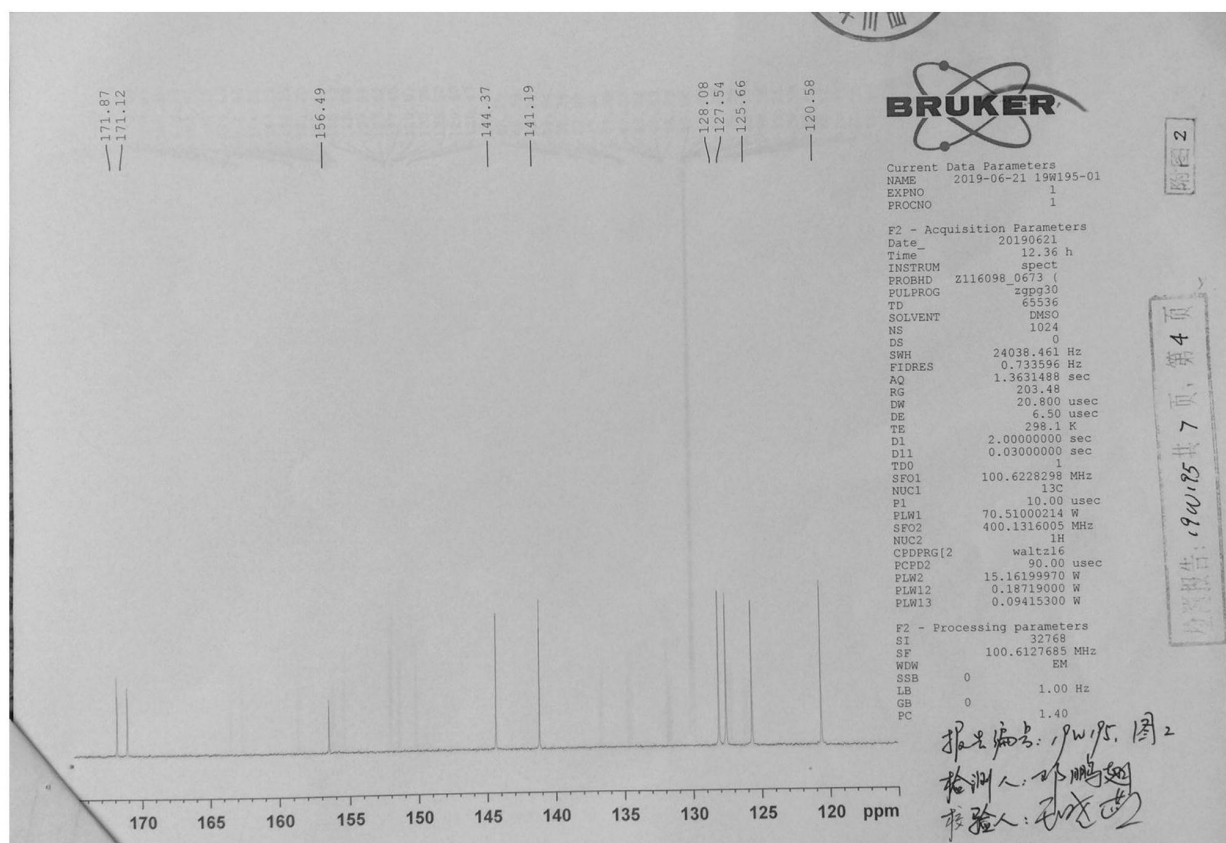


图2