



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114380695 B

(45) 授权公告日 2024.02.13

(21) 申请号 202011133265.0

(22) 申请日 2020.10.21

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 114380695 A

(43) 申请公布日 2022.04.22

(73) 专利权人 吉林大学
地址 130021 吉林省长春市前进大街2699号

(72) 发明人 郑良玉 张锁秦 崔秀梅 杜晓彤

(74) 专利代理机构 北京康思博达知识产权代理
事务所(普通合伙) 11426
专利代理师 刘冬梅 范国锋

(51) Int. Cl.

C07C 201/12 (2006.01)

C07C 205/19 (2006.01)

C07C 205/45 (2006.01)

C07C 303/40 (2006.01)

C07C 311/16 (2006.01)

B01J 31/02 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 105195220 A, 2015.12.30

CN 105566160 A, 2016.05.11

Eduardo Busto. "Protein-Mediated Nitroaldol Addition in Aqueous Media.

Catalytic Promiscuity or Unspecific Catalysis?".《Organic Process Research & Development》.2011,第236-240页.

Eduardo Busto. "Protein-Mediated Nitroaldol Addition in Aqueous Media. Catalytic Promiscuity or Unspecific Catalysis?".《Organic Process Research & Development》.2011,第236-240页.

Yuliya V. Rassukana. "Asymmetric synthesis of phosphonotrifluoroalanine derivatives via proline-catalyzed direct enantioselective CAC bond formation reactions of NAH trifluoroacetimidoyl phosphonate".《Tetrahedron》.2014,1234-1238.

Yuliya V. Rassukana. "Asymmetric synthesis of phosphonotrifluoroalanine derivatives via proline-catalyzed direct enantioselective CAC bond formation reactions of NAH trifluoroacetimidoyl phosphonate".《Tetrahedron》.2014,1234-1238.

(续)

审查员 陈丽霞

权利要求书1页 说明书10页 附图2页

(54) 发明名称

一种简单快速实现C-C键形成反应的新方法

(57) 摘要

本发明提供了一种简单快速实现C-C键形成反应的新方法,首次发现单个氨基酸可以作为Henry反应,Aza-Henry反应,的催化剂,基于强化氢键相互作用而设计的小肽分子可以作为MBH反应的催化剂,并具有较好的催化效果。为探究氨基酸及小肽的催化能力,本发明选择不同类型单个氨基酸作为催化剂,分别用于催化一系列苯甲醛类化合物及硝基甲烷为底物的Henry反应;以N-苯亚甲基-4-甲基苯磺酰胺与硝基甲烷为底物

的Aza-Henry反应;设计并合成的小肽分子作为催化剂,用于催化以4-硝基苯甲醛与环己烯酮为底物的MBH反应;并针对各催化反应的反应条件进行优化,获得最优的反应转化。本发明为C-C键形成反应提供了一种简单快速的生物催化策略,具有反应条件温和,不使用有毒试剂,反应转化率高,立体选择性好,反应时间短,反应过程及后处理简单,反应条件易于调控,成本低等技术优势。

CN 114380695 B

[接上页]

(56) 对比文件

PENG, Yi-Yuan. "Arginine Catalyzed Direct Aldol Reactions in Pure Water: An Environmentally Friendly Reaction System". 《Chinese Journal of Chemistry》. 2008, 1454—1460.

PENG, Yi-Yuan. "Arginine Catalyzed Direct Aldol Reactions in Pure Water: An Environmentally Friendly Reaction System". 《Chinese Journal of Chemistry》. 2008, 1454—1460.

Dong-Sheng Deng. "Stereoselective Aldol Reactions Catalyzed by Acyclic Amino Acids in Aqueous Micelles". 《Helvetica Chimica Acta》. 2007, 第115—116页.

Dong-Sheng Deng. "Stereoselective Aldol Reactions Catalyzed by Acyclic Amino Acids in Aqueous Micelles". 《Helvetica Chimica Acta》. 2007, 第115—116页.

Jefferson D. "Investigating Sequence Space: How Important is the Spatial Arrangement of Functional Groups in the Asymmetric Aldol Reaction Catalyst H-Pro-Pro-Asp-NH₂?" 《Adv. Synth. Catal.》. 2008, 1046 - 1052.

Jefferson D. "Investigating Sequence Space: How Important is the Spatial Arrangement of Functional Groups in the Asymmetric Aldol Reaction Catalyst H-Pro-

Pro-Asp-NH₂?" 《Adv. Synth. Catal.》. 2008, 1046 - 1052.

Lindsey B. Saunders. "Pyridylalanine (Pal)-Peptide Catalyzed Enantioselective Allenolate Additions to N-Acyl Imines Proceed via an Atypical "aza-Morita-Baylis-Hillman" Mechanism". 《Org. Lett.》. 2010, 4800—4803.

Lindsey B. Saunders. "Pyridylalanine (Pal)-Peptide Catalyzed Enantioselective Allenolate Additions to N-Acyl Imines Proceed via an Atypical "aza-Morita-Baylis-Hillman" Mechanism". 《Org. Lett.》. 2010, 4800—4803.

Carrie E. Aroyan. "Dual Catalyst Control in the Enantioselective Intramolecular Morita-Baylis-Hillman Reaction". 《Org. Lett.》. 2005, 3849—3851.

Carrie E. Aroyan. "Dual Catalyst Control in the Enantioselective Intramolecular Morita-Baylis-Hillman Reaction". 《Org. Lett.》. 2005, 3849—3851.

M. M. Vasbinder et al.. "Amino acid-peptide-catalyzed enantioselective Morita-Baylis-Hillman reactions". 《Tetrahedron》. 2006, 11450—11459.

M. M. Vasbinder et al.. "Amino acid-peptide-catalyzed enantioselective Morita-Baylis-Hillman reactions". 《Tetrahedron》. 2006, 11450—11459.

1. 一种生物催化实现C-C键形成反应的方法,其特征在于,采用小肽作为生物催化剂,所述方法包括如下步骤:

步骤1,将亲电物质和不饱和化合物加到反应容器中,并加入小肽催化剂,

所述亲电物质为苯甲醛或其衍生物,所述不饱和化合物为 α,β -不饱和环酮,所述小肽选自:His-Pro、Pro-Lys、Pro-Lys-Arg、Pro-His-Arg、Pro-Lys-Pro,

加入缓冲溶液;

步骤2,进行反应;

步骤3,反应结束后,进行萃取、干燥、蒸馏和分离,得到烯丙基醇类化合物。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述小肽单一使用或混合使用。

3. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述小肽单一使用。

4. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述C-C键形成反应为MBH反应,

步骤1,所述亲电物质为苯甲醛、邻硝基苯甲醛、间硝基苯甲醛、4-硝基苯甲醛、2,4-二硝基苯甲醛、对氟苯甲醛、对氯苯甲醛、对溴苯甲醛、对甲氧基苯甲醛、对甲基苯甲醛,所述不饱和化合物为环己烯酮,所述小肽为:Pro-His-Arg,其用量为0.5-10.0mg/mL;

步骤2,所述反应振荡进行,振荡速度为150rpm-350rpm,反应温度为15°C-60°C,反应时间为0.5h-20h。

5. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,步骤1中,加入缓冲溶液为磷酸钠缓冲溶液,其浓度为80-150mM,pH为6.0-10.0。

一种简单快速实现C-C键形成反应的新方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种采用生物催化策略简单快速实现C-C键形成反应的新方法,属于生物化学,有机化学及分析化学等技术领域。

背景技术

[0002] C-C键形成反应是有机合成化学中最重要的化学反应之一,其产物可进一步合成药品、精细化学品以及天然产物等;C-C键形成反应类型较多,如:Aldol反应、Michael反应、Mannich反应、Henry反应、MBH反应等。

[0003] β -硝基醇类化合物能够合成多种有生物活性的药物中间体,如:杀虫剂、杀菌剂以及抗生素等。 β -硝基醇一般可通过Henry反应来制备,其中硝基烷烃与羰基化合物发生偶联反应,形成C-C键。Henry反应最常见的催化剂为有机碱类催化剂,如碳酸盐、碱金属氧化物、醇盐和有机含氮碱等。此外,稀土金属醇盐、联萘酚-稀土金属复合物等也常用于催化Henry反应。但是,使用有机催化剂最大的缺点就是副产物的形成以及对环境的污染。生物催化剂-酶也可以用于催化Henry反应,如:脂肪酶、氨酰酶以及酰基转移酶等多种水解酶被报道可以用于催化Henry反应,其中来源于大肠杆菌中的D-氨酰酶的催化效果最佳,Henry反应产率为90%;胰脂肪酶HPL和MJL在DMSO溶液中,能催化4-硝基苯甲醛和硝基乙烷反应,反应产率为65%和75%;羟腈裂解酶(HNLs)也被报道可用于催化不对称Henry反应中,并可以获得不同构型的 β -硝基醇。目前报道的多数生物催化剂催化Henry反应是在有机溶剂中进行的,而且反应需要较高的温度和较长的时间。

[0004] β -硝基胺类化合物也是一种重要的有机合成中间体,它可以通过Nef反应和硝基的还原进一步转换成 α -氨基酸和邻二胺。 β -硝基胺一般可通过Aza-Henry反应来制备,其中硝基烷烃与亚胺之间发生亲核加成反应,形成C-C键。常用的Aza-Henry反应的催化剂为金属复合物催化剂以及有机催化剂,目前为止,还没有生物催化剂在Aza-Henry反应中应用的相关报道。

[0005] 烯丙基醇类化合物是重要的化学合成中间体,可以进一步合成一些医药化合物以及某些复杂的天然产物。烯丙基醇通常可通过MBH反应进行制备,其中 α,β -不饱和羰基化合物与醛、酮等亲电物质发生反应,形成C-C键。MBH反应的传统催化剂为化学催化剂,常见的有DABCO、DMAP、咪唑等有机碱类催化剂。然而,化学催化剂一般都存在以下缺点:(1)反应条件苛刻;(2)反应成本昂贵;(3)污染环境;(4)对映体选择性较差;(5)易生成副产物。关于生物催化MBH反应的报道比较少,牛血清白蛋白是第一个报道的能催化MBH反应的蛋白质,转化率为35%,对映体过量值为19%。溶菌酶C和肌红蛋白也可用于MBH反应中,反应转化率分别为72%和65%,但未发现对映选择性;地衣芽孢杆菌蛋白酶对MBH反应也具有催化活性,转化率为27%。来源于大肠杆菌BioH酯酶用于催化MBH反应,转化率在21%-46%之间。洋葱假单胞菌脂肪酶催化MBH反应,MBH转化率也仅为16%,对映体过量值为36%。

[0006] 尽管酶在C-C键形成反应中得到了广泛的应用,但C-C键形成反应并不是酶催化的天然反应类型,所以酶往往不能表现出令人满意的催化性能。虽然Henry反应及MBH反应自

报道以来已经有了很大的进展,但是依然存在许多问题,如:反应时间较长,反应溶剂为有机溶剂,转化率及对映选择性较低等,继续探索简单且高效的Henry反应及MBH反应催化反应体系是急需解决的关键问题。

发明内容

[0007] 为了解决现有技术存在的上述问题,本发明人进行了锐意研究,选择不同类型氨基酸或小肽作为催化剂,通过Henry反应、Aza-Henry反应及MBH反应分别制备 β -硝基醇、 β -硝基胺和烯丙基醇类化合物,针对各催化反应的反应条件进行优化。

[0008] 本发明为C-C键形成反应提供了一种简单快速的生物催化策略,具有反应条件温和,不使用有毒试剂,反应转化率高,立体选择性好,反应时间短,反应过程及后处理简单,反应条件易于调控,成本低等技术优势,从而完成了本发明。

[0009] 本发明的目的之一在于提供一种生物催化实现C-C键形成反应的方法,其特征在于,采用氨基酸或小肽作为生物催化剂。

[0010] 根据本发明,所述反应是偶联反应或亲核加成反应,优选生成醇类或胺类化合物,优选地,生成醇类化合物的反应包括Henry反应和MBH反应,优选硝基烷烃与羰基化合物(优选醛或酮)偶联生成 β -硝基醇,或者 α,β -不饱和环酮与醛或酮反应生成烯丙基醇;生成胺类化合物的反应包括Aza-Henry反应,优选硝基烷烃与亚胺发生亲核加成反应,生成 β -硝基胺。

[0011] 本发明中,所述氨基酸选自非极性R基氨基酸,如L-Pro、L-Phe、L-Ala、L-Trp,不带电荷的极性R基氨基酸,如L-Gly、L-Thr、L-Asn、L-Gln、L-Ser,带正电荷的R基氨基酸,如L-His、L-Lys、L-Arg,以及带负电荷R基氨基酸,如L-Asp、L-Glu;所述小肽为基于强化氢键相互作用而设计并合成,如:Ala-Lys、Ala-Arg、His-Lys、His-Pro、His-Cys、Pro-Lys、Cys-Lys-His、Cys-Lys-Tyr、His-Lys-Arg、His-Ser-Lys、Pro-Lys-Arg、Pro-His-Arg、Pro-Lys-Pro、Cys-His-Arg-Pro、Ala-His-Pro-His等。所述氨基酸或小肽单一使用或混合使用,优选单一使用。

[0012] 根据本发明,当C-C键形成反应为Henry反应时,优选采用单个氨基酸来催化硝基烷烃与醛或酮等羰基化合物偶联生成 β -硝基醇的反应,所述方法包括如下步骤:

[0013] 步骤1,将羰基化合物和硝基烷烃加到反应容器中,并加入氨基酸催化剂,优选地,所述羰基化合物为苯甲醛或其衍生物,例如选自苯甲醛、邻硝基苯甲醛、间硝基苯甲醛、4-硝基苯甲醛、2,4-二硝基苯甲醛、对氟苯甲醛、对氯苯甲醛、对溴苯甲醛、对甲氧基苯甲醛、对甲基苯甲醛,所述硝基烷烃为硝基 C_1-C_6 烷烃,如硝基甲烷或硝基乙烷,优选为硝基甲烷,所述氨基酸选自:非极性R基氨基酸,如L-Pro、L-Phe,不带电荷的极性R基氨基酸,如L-Gly、L-Thr、L-Asn、L-Gln,带正电荷的R基氨基酸,如L-His、L-Lys、L-Arg,优选L-Arg,其用量为1.0-16.0mg/mL;

[0014] 步骤2,进行反应;优选地,所述反应振荡进行,振荡速度为150rpm-350rpm,反应温度为20°C-50°C,反应时间为0.5h-5h;

[0015] 步骤3,反应结束后,进行后处理,优选包括萃取、干燥、蒸馏和/或分离,得到 β -硝基醇类化合物。

[0016] 所述步骤1中,加入DES溶剂,其包含氯化胆碱与氢键供体,氢键供体选自甘油、乙

二醇或尿素,所述DES溶剂可以混有水,水含量占总溶剂量的1-50%。

[0017] 根据本发明,当C-C键形成反应为MBH反应时,优选采用小肽来催化 α,β -不饱和环酮等化合物与醛、酮等亲电物质反应,生成烯丙基醇,所述方法包括如下步骤:

[0018] 步骤1,将亲电物质和不饱和化合物加到反应容器中,并加入小肽催化剂,优选地,所述亲电物质为苯甲醛或其衍生物,优选选自苯甲醛、邻硝基苯甲醛、间硝基苯甲醛、4-硝基苯甲醛、2,4-二硝基苯甲醛、对氟苯甲醛、对氯苯甲醛、对溴苯甲醛、对甲氧基苯甲醛、对甲基苯甲醛,所述不饱和化合物优选为 α,β -不饱和环酮,更优选为环己烯酮,所述小肽选自:Ala-Lys、Ala-Arg、His-Lys、His-Pro、His-Cys、Pro-Lys、Cys-Lys-His、Cys-Lys-Tyr、His-Lys-Arg、His-Ser-Lys、Pro-Lys-Arg、Pro-His-Arg、Pro-Lys-Pro、Cys-His-Arg-Pro、Ala-His-Pro-His等,优选为Pro-His-Arg,其用量为0.5-10.0mg/mL;

[0019] 步骤2,进行反应;优选地,所述反应振荡进行,振荡速度为150rpm-350rpm,反应温度为15°C-60°C,反应时间为0.5h-20h;

[0020] 步骤3,反应结束后,进行萃取、干燥、蒸馏和分离,得到烯丙基醇类化合物。

[0021] 所述步骤1中,加入缓冲溶液,优选磷酸钠缓冲溶液,其浓度为80-150mM,pH为6.0-10.0。

[0022] 根据本发明,当所述C-C键形成反应为Aza-Henry反应,优选采用单个氨基酸来催化硝基烷烃与亚胺生成 β -硝基胺的反应,所述方法包括如下步骤:

[0023] 步骤1,将亚胺和硝基烷烃加到反应容器中,并加入氨基酸催化剂,优选地,所述亚胺或其衍生物为伯胺与醛、酮类化合物缩合制得,优选N-苯亚甲基-4-甲基苯磺酰胺,所述硝基烷烃为硝基取代的低级烷烃,如硝基甲烷或硝基乙烷,其摩尔比为1:5-1:20,所述氨基酸选自:非极性R基氨基酸,如L-Pro,不带电荷的极性R基氨基酸,如L-Gly、L-Thr,带正电荷的R基氨基酸,如L-His、L-Lys、L-Arg,带负电荷R基氨基酸,如L-Asp、L-Glu,优选L-Arg和L-Lys,其用量为5.0-16.0mg/mL;

[0024] 步骤2,进行反应,反应温度为15°C-60°C,反应时间为15min-10h;步骤3,反应结束后,进行后处理,向反应混合物中分别加入去离子水及酯类溶剂,优选乙酸乙酯,萃取3-4次,得到 β -硝基醇类化合物。

[0025] 本发明另一目的在于提供氨基酸或小肽作为生物催化剂的用途,用于生物催化C-C键形成反应,所述反应包括Henry反应、Aza-Henry反应和MBH反应。

附图说明

[0026] 图1为实施例1的产物的核磁谱图;

[0027] 图2为实施例3的产物的核磁谱图;

[0028] 图3为实施例5的产物的核磁谱图。

具体实施方式

[0029] 下面通过对本发明进行详细说明,本发明的特点和优点将随着这些说明而变得更为清楚、明确。

[0030] 根据本发明,提供一种简单快速实现C-C键形成反应的方法,采用生物催化策略实现所述反应。

[0031] 本发明中,所述C-C键形成反应是指反应过程中至少包括形成新的C-C键,所述反应可以是偶联反应,也可以是亲核加成反应,或其他类型反应,从而生成醇类或胺类产物。

[0032] 根据本发明,生成醇类化合物的反应包括Henry反应和MBH反应,例如作为亲核试剂的硝基烷烃与作为亲电试剂的羰基化合物(优选醛或酮等)偶联生成 β -硝基醇,或者 α,β -不饱和环酮等化合物与醛、酮等亲电物质反应生成烯丙基醇;生成胺类化合物的反应包括Aza-Henry反应,例如硝基烷烃与亚胺之间发生亲核加成反应,生成 β -硝基胺。

[0033] 根据本发明,采用生物催化实现所述反应,生物催化剂作为有机合成中高效、绿色的生物转化工具,具有反应条件温和、分离简单、对映选择性好、收率高等优点。尽管酶在C-C键形成反应中得到了广泛的应用,但对于本发明的C-C键形成反应而言,并不是酶催化的天然反应类型,所以酶往往不能表现出令人满意的催化性能。

[0034] 本发明人惊讶地发现,采用氨基酸或小肽作为生物催化剂,可以有效催化C-C键形成反应,特别是Henry反应、MBH反应以及Aza-Henry反应。

[0035] 根据本发明,所述氨基酸可以是非极性R基氨基酸,如L-Pro、L-Phe、L-Ala、L-Trp等,不带电荷的极性R基氨基酸,如L-Gly、L-Thr、L-Asn、L-Gln、L-Ser等,也可以是带正电荷的R基氨基酸,如L-His、L-Lys、L-Arg等,以及带负电荷R基氨基酸,如L-Asp、L-Glu等。

[0036] 通常而言,两个以上氨基酸之间以肽键相连,形成的氨基酸链或氨基酸串就叫做肽,根据组成肽的氨基酸的数量多少可以将其称为多肽、寡肽或小分子肽,也称为小肽。

[0037] 本发明中,所述小肽优选为由两个或更多个,例如三个或四个氨基酸形成,如:Ala-Lys、Ala-Arg、His-Lys、His-Pro、His-Cys、Pro-Lys、Cys-Lys-His、Cys-Lys-Tyr、His-Lys-Arg、His-Ser-Lys、Pro-Lys-Arg、Pro-His-Arg、Pro-Lys-Pro、Cys-His-Arg-Pro、Ala-His-Pro-His等。

[0038] 这些小肽可以由常规方法获得,例如可基于强化氢键相互作用而设计合成,在文献中有所报道,可自行合成,也可购自市售商品直接使用,本发明使用购自强耀生物科技有限公司的小肽产品。

[0039] 本发明中,所述氨基酸或小肽可以单一使用也可以混合使用,优选单一使用,即,采用单个氨基酸或小肽作为本发明的C-C键形成反应的催化剂。

[0040] 根据一种优选的实施方式,本发明的C-C键形成反应为Henry反应,优选采用单个氨基酸来催化硝基烷烃与醛或酮等羰基化合物偶联生成 β -硝基醇的反应,包括如下步骤:

[0041] 步骤1,将羰基化合物和硝基烷烃加到反应容器中,并加入氨基酸催化剂。

[0042] 本发明中,所述羰基化合物为含羰基的醛或酮类化合物,优选醛类化合物,可以是脂肪醛也可以是芳香醛,优选苯甲醛类化合物,如苯甲醛或其衍生物,例如烷基和/或卤素单取代或多取代的苯甲醛,优选选自苯甲醛、邻硝基苯甲醛、间硝基苯甲醛、4-硝基苯甲醛、2,4-二硝基苯甲醛、对氟苯甲醛、对氯苯甲醛、对溴苯甲醛、对甲氧基苯甲醛、对甲基苯甲醛。

[0043] 本发明中,所述硝基烷烃为硝基取代的直链烷烃或支链烷烃,优选直链烷烃,例如硝基取代的低级烷烃,如硝基 C_1-C_6 烷烃,如硝基甲烷或硝基乙烷,优选为硝基甲烷。

[0044] 根据本发明,所述羰基化合物与硝基烷烃的摩尔比为1:1-1:30,优选为1:5-1:20,更优选为1:10-1:18,例如1:15。

[0045] 本发明中,所述氨基酸可以是非极性R基氨基酸,如L-Pro、L-Phe,不带电荷的极性

R基氨基酸,如L-Gly、L-Thr、L-Asn、L-Gln,也可以是带正电荷的R基氨基酸,如L-His、L-Lys、L-Arg,优选为带正电荷的R基氨基酸,特别优选L-Arg,其相对于原料的用量为1.0-16.0mg/mL,优选为15.0mg/mL。

[0046] 本发明步骤1中,优选向上述混合物中加入DES溶剂,其包含氯化胆碱(ChCl)与氢键供体,所述氢键供体可以是甘油、乙二醇或尿素,其摩尔比可以为1:1-1:20,优选为1:1.5-1:10,更优选为1:2-1:5。所述DES溶剂可以混有水,所得DES/水溶剂中水含量占总溶剂量的0.1-100%,优选1-50%,更优选10-30%。优选地,DES溶剂为氯化胆碱与甘油以1:2的比例形成的混合物,DES/水溶剂中水含量占总溶剂量的比例为20%或30%。

[0047] 根据本发明优选的实施方式,所述DES溶剂配制如下:氯化胆碱分别与甘油、乙二醇或尿素按照所需的比例混合后,,加热搅拌,例如在80℃下搅拌,直到整个体系呈均一透明的溶液,于室温冷却,然后不需要进一步处理即可直接用于随后的反应。

[0048] 步骤2,进行反应。

[0049] 根据优选的实施方式,所述反应振荡进行,优选将整个反应体系置于摇床中进行振荡,振荡速度为150rpm-350rpm。所述反应可以室温下进行也可以进行加热,优选控制反应温度为15℃-60℃,优选为20℃-50℃,反应时间为15min-10h,优选0.5h-5h,更优选3h。

[0050] 步骤3,反应结束后,进行后处理,得到 β -硝基醇类化合物。

[0051] 优选地,所述后处理包括萃取、干燥、蒸馏和/或分离。所述萃取优选是向反应混合物中分别加入去离子水及二氯甲烷,对反应产物进行萃取,优选进行3-4次,然后将所得的反应产物进行蒸馏,优选减压蒸去溶剂,然后残留物经柱层析进行分离,得到目标产物,即 β -硝基醇类化合物。

[0052] 本发明制得的 β -硝基醇类化合物有多种用途,可以用于合成多种具有生物活性的药物或药物中间体,如杀虫剂、杀菌剂以及抗生素等。

[0053] 如前所述,使用有机催化剂进行Henry反应的缺点在于副产物的形成以及对环境的污染;虽然生物催化剂-酶也可以用于催化Henry反应,但是多数生物催化剂催化Henry反应是在有机溶剂中进行的,而且反应需要较高的温度和较长的时间。

[0054] 本发明采用氨基酸催化Henry反应则避免了现有技术的上述缺陷,取得了良好的技术效果。具体而言,与其它催化方法相比较,本发明具有如下优势:

[0055] 氨基酸催化反应条件温和,后处理比较简单;

[0056] 极大避免了副反应的发生,较短时间即可获得极高的反应转化。

[0057] DES/水溶剂无毒环保、无刺激性气味,是比较环保的绿色溶剂。

[0058] 根据另一优选的实施方式,本发明所述的C-C键形成反应为MBH反应,优选采用小肽来催化 α 、 β -不饱和环酮等化合物与醛、酮等亲电物质反应,生成烯丙基醇,包括如下步骤:

[0059] 步骤1,将亲电物质和不饱和化合物加到反应容器中,并加入小肽催化剂。

[0060] 本发明中,所述亲电物质可以是醛或酮类化合物,优选为脂肪醛或芳香醛,更优选为苯甲醛及其衍生物,包括烷基和/或卤素单取代或多取代的苯甲醛,优选选自苯甲醛、邻硝基苯甲醛、间硝基苯甲醛、4-硝基苯甲醛、2,4-二硝基苯甲醛、对氟苯甲醛、对氯苯甲醛、对溴苯甲醛、对甲氧基苯甲醛、对甲基苯甲醛。

[0061] 本发明中,所述不饱和化合物优选为 α 、 β -不饱和环酮,更优选为环己烯酮。

[0062] 根据本发明,所述亲电物质与不饱和化合物如环己烯酮的摩尔比为20:1-1:50,优选为10:1-1:30,更优选为1:20。

[0063] 本发明中,所述小肽包括:Ala-Lys、Ala-Arg、His-Lys、His-Pro、His-Cys、Pro-Lys、Cys-Lys-His、Cys-Lys-Tyr、His-Lys-Arg、His-Ser-Lys、Pro-Lys-Arg、Pro-His-Arg、Pro-Lys-Pro、Cys-His-Arg-Pro、Ala-His-Pro-His等。优选为Pro-Lys-Pro、Pro-His-Arg,更优选为Pro-His-Arg,其相对于原料的用量为0.5-10.0mg/mL,优选为2.0-10.0mg/mL,最优选为8.0mg/mL。

[0064] 本发明步骤1中,优选向所述混合物中加入缓冲溶液,优选为磷酸钠缓冲溶液,其浓度为10-500mM,优选80-150mM,例如100mM,pH为5.0-12.0,优选6.0-10.0。

[0065] 步骤2,进行反应。

[0066] 根据优选的实施方式,所述反应振荡进行,优选将整个反应体系置于摇床中进行振荡,振荡速度为150rpm-350rpm。所述反应可以室温下进行也可以进行加热,优选控制反应温度为15°C-60°C,优选为20°C-50°C,反应时间为0.5h-20h,优选1h-10h,更优选4h。

[0067] 步骤3,反应结束后,进行后处理,得到烯丙基醇类化合物。

[0068] 优选地,所述后处理包括萃取、干燥、蒸馏和分离。所述萃取是向反应混合物中加入酯类溶剂,优选为乙酸乙酯,对反应产物进行萃取,优选进行3-4次,然后将所得的反应产物进行蒸馏,优选减压蒸去溶剂,然后残留物经柱层析进行分离,得到目标产物,即烯丙基醇类化合物,其可进一步合成医药及某些天然产物。

[0069] 如前所述,MBH反应传统的化学催化剂,如DABCO、DMAP、咪唑等有机碱类催化剂一般反应条件苛刻、反应成本昂贵、污染环境、对映体选择性较差,并且易生成副产物;而生物催化MBH反应的转化率低,对映体过量值也较低,或者未发现对映选择性。

[0070] 与其它催化方法相比较,本发明采用小肽催化MBH反应具有如下优势:

[0071] 小肽催化反应条件温和,后处理比较简单;

[0072] 较短时间即可获得具有较高立体选择性比率的MBH产物;

[0073] 反应体系仅为缓冲溶液,比较环保。

[0074] 在优选的实施方式中,本发明的C-C键形成反应为Aza-Henry反应,优选采用单个氨基酸来催化硝基烷烃与亚胺生成 β -硝基胺的反应,包括如下步骤:

[0075] 步骤1,将亚胺和硝基烷烃加到反应容器中,并加入氨基酸催化剂。

[0076] 本发明中,所述亚胺或其衍生物通常为伯胺与醛、酮类化合物缩合制得,本发明中优选采用N-苯亚甲基-4-甲基苯磺酰胺。所述硝基烷烃为硝基取代的烷烃化合物,优选为直链烷烃,例如硝基取代的低级烷烃,如硝基C₁-C₆烷烃,如硝基甲烷或硝基乙烷,优选硝基甲烷。

[0077] 根据本发明,所述N-苯亚甲基-4-甲基苯磺酰胺:硝基烷烃的摩尔比为1:1-1:30,优选为1:5-1:20,更优选为1:10-1:18,例如1:15。

[0078] 本发明中,所述氨基酸可以是非极性R基氨基酸,如L-Pro,不带电荷的极性R基氨基酸,如L-Gly、L-Thr,也可以是带正电荷的R基氨基酸,如L-His、L-Lys、L-Arg,带负电荷R基氨基酸,如L-Asp、L-Glu,优选为带正电荷的R基氨基酸,更优选L-Arg和L-Lys,其相对于原料的用量为0.1-20.0mg/mL,优选为5.0-16.0mg/mL,最优选为15.0mg/mL。

[0079] 本发明步骤1中,优选向所述混合物中加入DES溶剂,其包含氯化胆碱与氢键供体,

所述氢键供体可以是甘油、乙二醇或尿素,其摩尔比可以为1:1-1:20,优选为1:1.5-1:10,更优选为1:2-1:5。所述DES溶剂可以混有水,所得DES/水溶剂中水含量占总溶剂量的0.05-100%,优选2-40%,更优选15-30%。优选地,DES溶剂为氯化胆碱与甘油以1:2的比例形成的混合物,DES/水溶剂中水含量占总溶剂量的比例为20%或30%。所述DES溶剂的配制方式如前所述。

[0080] 步骤2,进行反应。

[0081] 根据优选的实施方式,所述反应振荡进行,优选将整个反应体系置于摇床中进行振荡,振荡速度为150rpm-350rpm。所述反应可以室温下进行也可以进行加热,优选控制反应温度为15°C-60°C,优选为20°C-50°C,反应时间为15min-10h,优选0.5h-5h,更优选3h,反应过程中进行TLC监测,直至亚胺完全转化。

[0082] 步骤3,反应结束后,进行后处理,得到 β -硝基胺类化合物。

[0083] 优选地,所述后处理包括萃取、干燥、蒸馏和分离。所述萃取是向反应混合物中分别加入去离子水及有机溶剂,优选酯类溶剂,更优选乙酸乙酯,对反应产物进行萃取,优选进行3-4次,然后将所得的反应产物进行蒸馏,优选减压蒸去溶剂,然后残留物经柱层析进行分离,得到目标产物,即 β -硝基胺类化合物,其是重要的有机合成中间体,可以通过Nef反应和硝基还原进一步转换成 α -氨基酸和邻二胺。

[0084] 现有技术中,Aza-Henry反应的催化剂为金属复合物催化剂以及有机催化剂,尚未发现生物催化剂在Aza-Henry反应中应用的相关报道。与有机催化方法相比较,本发明氨基酸催化反应条件温和,后处理比较简单;DES/水溶剂无毒环保、无刺激性气味,是比较环保的绿色溶剂;并且极大避免副反应的发生,较短时间即可获得极高的反应转化。

[0085] 以下结合实施例对本发明作进一步说明,但本发明的保护范围并不仅限于此。

[0086] 实施例

[0087] 氯化胆碱与甘油按照1:2的摩尔比混合,80°C条件下加热搅拌,直到整个体系呈均一透明的溶液,室温冷却后,不需要进一步处理即直接使用。

[0088] 实施例1:

[0089] 在5mL反应瓶中,加入4-硝基苯甲醛和硝基甲烷(摩尔比为1:15),L-Arg (12.0mg/mL),1.0mL氯化胆碱:甘油(1:2)/含水量(20%);

[0090] 反应体系置于摇床中振荡反应,TLC监测,直至底物醛完全转化,反应进行3h;

[0091] 然后向反应瓶中分别加入去离子水,及二氯甲烷,对反应产物进行萃取3-4次;萃取物用无水 Na_2SO_4 干燥,旋转蒸发除去有机溶剂,剩余部分用少量乙酸乙酯溶解,硅胶柱纯化产物,柱层析展开剂均为乙酸乙酯:石油醚(1:6,v/v),收集产物,称重,计算反应产率为58.5%。所得产物的 ^1H NMR核磁谱图如图1所示。

[0092] 实施例2

[0093] 在5mL反应瓶中,加入4-硝基苯甲醛和硝基甲烷(摩尔比为1:15),L-Arg (12.0mg/mL),1.0mL氯化胆碱:甘油(1:2)/水,水含量不同,如下表1所示),

[0094] 在25°C、260rpm的恒温培养振荡器内反应,并进行TLC监测,直至底物醛完全转化,然后对反应产物进行后处理,操作同实施例1,反应产率如下表1所示。

[0095] 表1:不同含水量对L-Arg催化的Henry反应的影响

	ChCl: GL(1:2)/水量	反应时间(h)	产率(%)
	10%	4	77.9
	30%	4	97.7
[0096]	50%	4	60.3
	70%	4	40.7
	100%	4	10.2

[0097] 由表1可知,氯化胆碱:甘油/水溶液经过水含量优化,确定去离子水占溶剂总量30%的溶剂催化效果最好,反应速度较快,反应1小时即有产物生成,4小时后底物几乎完全转化,反应产率为97.7%。

[0098] 实施例3

[0099] 在5mL反应瓶中,加入N-苯亚甲基-4-甲基苯磺酰胺与硝基甲烷(摩尔比为1:15),氨基酸(如下表2所示)(12.0mg/mL),1.0mL氯化胆碱:甘油(1:2)/含水量(30%);

[0100] 反应体系置于摇床中振荡反应,TLC监测,直至底物醛完全转化后;

[0101] 向反应瓶中分别加入去离子水,及乙酸乙酯,对反应产物进行萃取3-4次;萃取所得有机相无水Na₂SO₄干燥,然后旋转蒸发除去有机溶剂。剩余部分溶于色谱纯乙腈2.0mL,取20μL进样,高效液相色谱(HPLC)鉴定产率。HPLC使用XDB-C18柱,流动相为乙腈:水=50:50,流速1.0mL/min,检测波长254nm,保留时间7.7min,通过外标法确定,反应产率如下表2所示。

[0102] 表2:氨基酸催化Aza-Henry反应结果

	氨基酸	反应时间(h)	温度(°C)	产率(%)
	L-Lys	24	37	51.1
[0103]	L-Arg	3	25	75.6
	L-Pro	24	37	22.2

[0104] 由表2可知,在氯化胆碱:甘油(1:2)/含水量(30%)溶剂中反应效果显著。碱性氨基酸可以催化实现Aza-Henry反应,特别是L-Arg催化的反应,仅需3h就可以获得75.6%的反应产率,所得产物的¹H NMR核磁谱图如图2所示。

[0105] 实施例4

[0106] 小肽催化MBH反应的混合物组成如下:

[0107] 4-硝基苯甲醛和环己烯酮(摩尔比为1:20),小肽(如下表3所示,购自强耀生物科

技有限公司) (10.0mg/mL), 磷酸钠缓冲溶液 (100mM, pH7.0, 0.5mL), 转速为280rpm, 温度为40℃。

[0108] 反应结束后, 用乙酸乙酯萃取反应混合物3次, 取上清液。在用无水Na₂SO₄干燥以及减压蒸馏等到产物。

[0109] 反应的产率是用HPLC (带有C18柱) 测定, 检测条件为: 检测波长254nm, 流动相为乙腈:水=30:70, 流速为1.0mL/min。MBH产物保留时间为17.0min。

[0110] 反应产物的手性检测使用HPLC (带有手性柱OJ-H) 进行分析, 检测条件为: 检测波长230nm, 流动相为正己烷:异丙醇=90:10, 流速为1.0mL/min。(R)-和(S)-MBH产物保留时间分别为33.4min和39.9min。反应结果如下表3所示。

[0111] 表3: 小肽催化MBH反应结果

	小肽	产率(%)	<i>e.e._p</i> (%)	构型
	Ala-Lys	23.5	1.9	<i>R</i>
	Ala-Arg	26.1	2.1	<i>R</i>
	His-Lys	39.6	12.3	<i>R</i>
	His-Pro	45.8	38.0	<i>S</i>
	His-Cys	33.9	13.5	<i>R</i>
	Pro-Lys	48.1	33.3	<i>S</i>
[0112]	Cys-Lys-Tyr	29.8	8.6	<i>R</i>
	Cys-Lys-His	21.8	3.1	<i>R</i>
	His-Lys-Arg	36.9	11.7	<i>R</i>
	His-Ser-Lys	34.8	10.5	<i>R</i>
	Pro-Lys-Arg	39.2	32.1	<i>S</i>
	Pro-His-Arg	56.3	52.8	<i>S</i>
	Pro-Lys-Pro	48.9	55.3	<i>S</i>
	Cys-His-Arg-Pro	42.5	29.6	<i>R</i>
[0113]	Ala-His-Pro-His	45.7	27.9	<i>R</i>

[0114] 由表3可知, 包括Pro-His-Arg在内的小肽分子都可以催化MBH反应, 其中Pro-His-

Arg催化MBH反应产物的产率较高,为56.3%,其催化生成的(S)-构型MBH产物的e.e._p值也较高,为52.8%。His-Pro、Pro-Lys、Pro-Lys-Arg、Pro-His-Arg和Pro-Lys-Pro催化的MBH反应可以获得(S)-构型的MBH产物,其e.e._p值分别为38.0%、33.3%、32.1%、52.8%、和55.3%。

[0115] 实施例5

[0116] Pro-His-Arg催化MBH反应的混合物组成如下:4-硝基苯甲醛和环己烯酮(摩尔比为1:20),Pro-His-Arg(8.0mg/mL),磷酸钠缓冲溶液(100mM,pH7.0,0.5mL),转速为280rpm,温度为40℃。反应过程及后处理操作同实施例4。

[0117] 经各反应条件优化,反应4h后,Pro-His-Arg催化生成(S)-MBH产物的e.e._p值可以提升到73.1%,产率可以提升到68.9%。所得产物的¹H NMR核磁谱图如图3所示。

[0118] 以上结合具体实施方式和范例性实例对本发明进行了详细说明,不过这些说明并不能理解为对本发明的限制。本领域技术人员理解,在不偏离本发明精神和范围的情况下,可以对本发明技术方案及其实施方式进行多种等价替换、修饰或改进,这些均落入本发明的范围内。本发明的保护范围以所附权利要求为准。

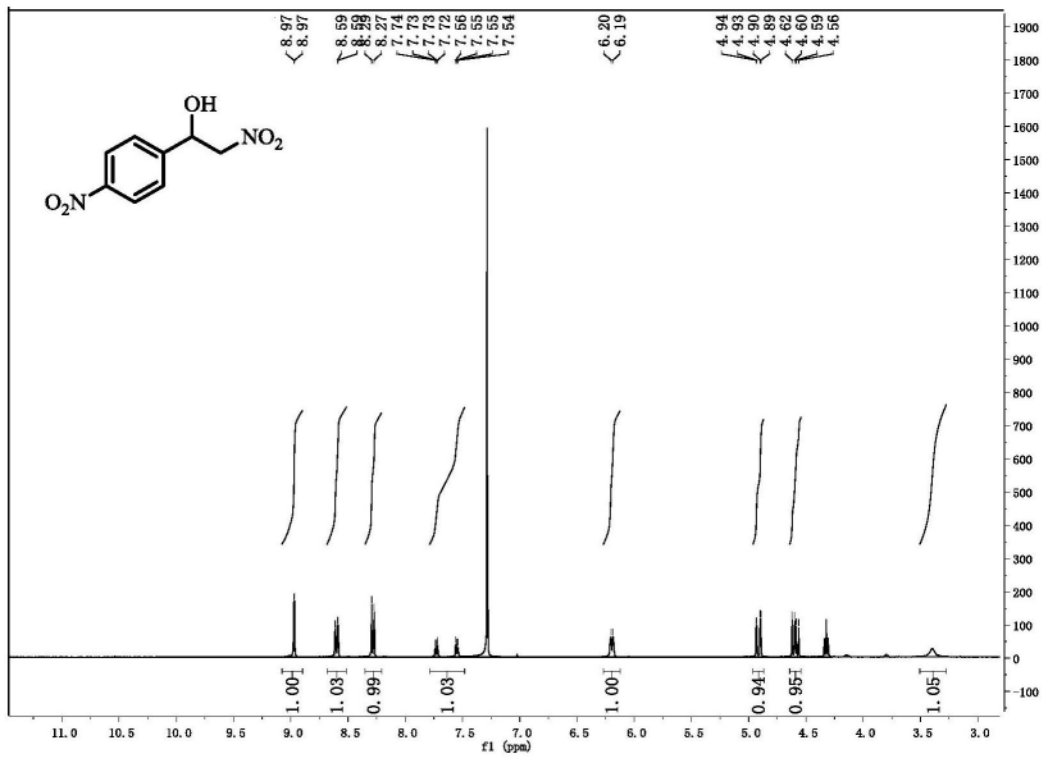


图1

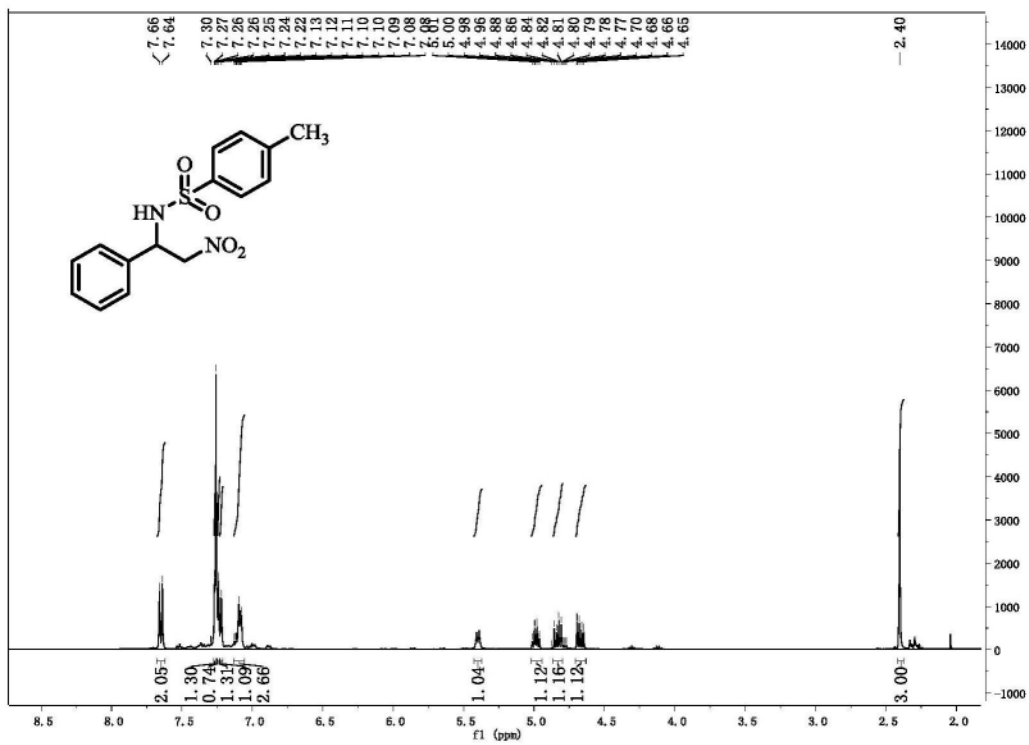


图2

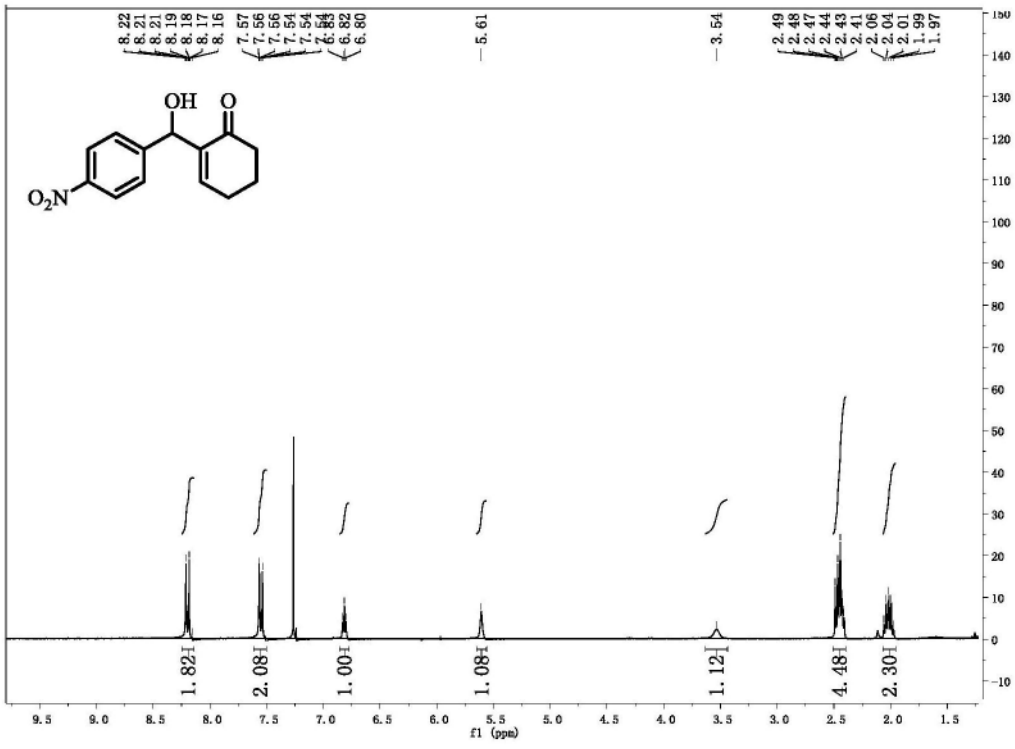


图3