

光呼吸抑制剂 2,3- 环氧丙酸钾 的合成

α - 羟基 -2- 吡啶甲磺酸

阎钟坤 马建琪 安宝珠 白锦鳞 龚报森 王清莲 朱炜

(西北农学院基础部)

一、 前 言

六十年代一系列实验表明:植物的绿色器官在光照下进行光合作用的同时,也进行着光呼吸作用——吸收氧气,氧化由光合中间产物转变成的乙醇酸,放出二氧化碳。光呼吸的生理功能还在争论中。不少人认为:它消耗光合同化的二氧化碳、降低表光合、是影响光合效率的重要因素^[1,2,3,4]。据报导,玉米、高粱、甘蔗等低光呼吸作物较烟草、小麦、水稻等高光呼吸作物的光合效率高2—3倍^[5]。若能采取措施,降低高光呼吸作物的光呼吸,便有可能大幅度提高它们的光合效率,从而提高产量^[1]。但也有些人认为,光呼吸还可能有一定的生理功能,应该从深入了解其机理等问题上,弄清这一问题^[6,7,8]。

1976年前,前一种观点(认为光呼吸纯系消耗过程)比较盛行。小麦、棉花、水稻等是我国主要的农作物,我们设想,若能通过抑制剂抑制它们的光呼吸,则有可能提高它们的产量。所以,1976年我们与植物生理教研组部分同志协作研究这一课题,我们承担抑制剂的合成工作。

二、 光呼吸抑制剂简况

六十年代以来,国外使用的光呼吸抑制剂主要有两大类:

1. 环氧丙酸钾类:这类抑制剂具有专一性、抑制乙醇酸合成酶的生理作用,其中效果最好的是2,3-环氧丙酸钾本身。Zelitch 1974年报导^[9],在28℃、2000呎烛光下,用它的20mM溶液处理烟草叶园片,抑制乙醇酸合成40—50%,光呼吸速率减少40%,表光合增加40—50%。而且经过处理的叶园片,当抑制剂移去后,至少两小时内抑制乙醇酸合成的百分数不变。

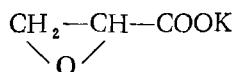
2. α -羟基磺酸类:这类抑制剂具有抑制乙醇酸氧化酶的生理作用,其中效果最好的是 α -羟基-2-吡啶甲磺酸。Zelitch 1966年报导^[10],在35℃、2000呎烛光下,用它的10mM溶液处理烟草叶园片,当乙醇酸氧化酶被抑制时,¹⁴C的吸收约增加三倍;在25℃、2000呎烛光下,只有微弱结果。

但是这两种抑制剂(2,3-环氧丙酸钾、 α -羟基-2-吡啶甲磺酸)国内外均无商品出售。因此,我们进行了这两种抑制剂的合成工作。

本工作进行中,荆家海同志给介绍过光呼吸抑制的研究情况,汪景珍同志协助搜集过资料,徐树基、王韶唐两位老师详细审阅了报告,谨此表示感谢。

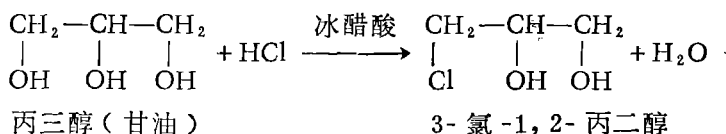
三、2,3-环氧丙酸钾的合成

2,3-环氧丙酸钾 (Potassium 2,3-Epoxypropionate) 简称环氧丙酸钾 (Potassium Epoxypionate)、又称缩水甘油酸钾 (Potassium Glycidate), 结构式如下:



它是白色结晶固体; 易溶于水和热酒精, 难溶于冷酒精; 极易潮解; 热至 80℃ 以上分解。它的合成方法主要有以下几种: 由 1,2-环氧丙烷异构化、氧化制得^[11,12]; 由丙烯醛氧化制得^[13,14]; 丙烯醛由甘油脱水制得^[15]; 由 β-氯乳酸环化制得^[16]; β-氯乳酸由甘油经氯代、氧化制取^[17,18]。根据我组设备情况, 我们基本上采用第三种方法。合成工作按以下三个步骤进行。

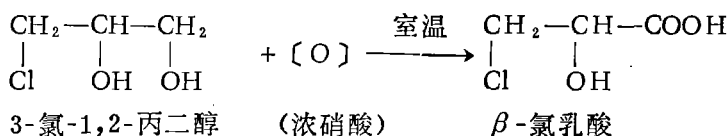
1. 3-氯-1,2-丙二醇 (Glycerol α-Monochlorohydrin) 的合成



将 300 克 (3.26 克分子) 甘油放入已称重的 500 毫升三口瓶中, 在 160℃ 下搅拌 2 小时以除去水分^[注1]。然后, 降温至 90—110℃, 加入 15—30 克冰醋酸, 通入干燥氯化氢气^[19] 进行反应。反应过程中不时取下三口瓶称重, 增重 110 克时表示反应完成。

将反应液减压蒸馏, 收集 110—130℃ (14mm) 馏出物^[注2]。重复减压蒸馏此馏分, 收集 119—120℃ (14mm) 馏出物 (产物)。产物为无色透明液体, 沸点 212℃ (760mm) (文献值 213℃), 产率为理论产量的 60%。

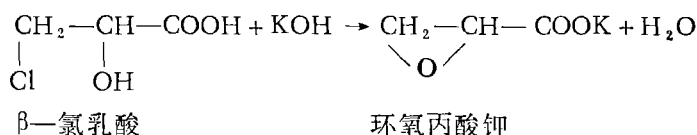
2. β-氯乳酸 (β-Chlorolactic Acid) 的合成



将 250 克 (2.27 克分子) 3-氯-1,2-丙二醇和 250 克水放入 1000 毫升烧杯中混合, 350 克浓硝酸 (比重 1.42) 通过滴液漏斗, 以每小时 10 毫升的滴速滴入烧杯底部。12 小时后, 两液面间出现蓝色层, 并有氧化氮放出。数天后, 蓝色层逐渐展至全部反应液, 又逐渐消失。蓝色层消失后, 再放置 3—5 天。在 20—30mm 下减压蒸馏, 除去 100℃ 以下的馏分 (水和硝酸)^[注3], 残余物即粗制的 β-氯乳酸, 为粘性液体, 约重 250 克。静置真空干燥器中, 令其结晶。

将粗制 β-氯乳酸结晶溶于其二倍量的乙醚中, 滴加苯至开始混浊, 静置冰箱中, 次日有结晶形成。滤出结晶, 滤液浓缩后继续静置, 又有结晶出现 (讨论 1)。将几次结晶合并, 放置真空干燥器中干燥, 熔点 77℃。

3. 环氧丙酸钾的合成



将35克氢氧化钾溶于75毫升用无水碳酸钠处理过的无水甲醇中(讨论2)。取其73毫升放入500毫升干燥三口瓶中,瓶口装上搅拌器、温度计和滴液漏斗,三口瓶放在水浴或冰浴中。在强力搅拌下,将31.0克(0.25克分子) β -氯乳酸(熔点77℃)溶于55毫升无水甲醇(经上述处理过的)中的溶液,通过滴液漏斗滴入三口瓶中,滴加速度以使反应温度不超过20℃为度。约2小时滴完后,调整反应液的酸碱度使 $\text{pH} = 9 \pm 1$ 。在室温下再搅拌1小时。取下三口瓶、塞紧瓶口,放冰箱中过夜。吸滤,用无水甲醇(经上述处理过的)洗沉淀。合并滤液和洗液,在10—20mm和8℃下浓缩至原体积的三分之一。加入140毫升用镁法处理的无水酒精^[20],使溶(讨论3)。再在10—20mm和8℃下浓缩,至出现大量白色沉淀为止^[注4]。放在40—50℃水浴上加热使结晶再溶解,倾入烧杯内放真空干燥器中令其在10℃以下结晶。两天后取出过滤,将结晶在20℃以下以干燥空气吹干(讨论4)。收率80%,经环氧基测定^[21],含量85%^[注5]。滤液中加入少量无水酒精,静置数天后,可再得少量结晶。

注: (1) 为了保证产率,需将原料干燥,所以我们增加了加热除去甘油中水分的步骤。

(2) 110℃(14mm)以前的馏分主要为水、醋酸和盐酸,130℃(14mm)以后的馏分主要是甘油。

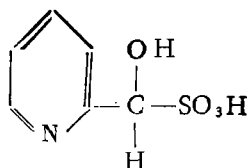
(3) 减压蒸馏步骤中,必须除尽硝酸,否则粗产品静置时会继续产生草酸。

(4) 加入过量无水酒精再浓缩是为了继续除去反应液中的水分。

(5) 因吹干程度不够。

四、 α -羟基-2-吡啶甲磺酸的合成

α -羟基-2-吡啶甲磺酸(α -Hydroxy-2-Pyridinemethane-sulfonic Acid)简称 α -HPMS,结构式如下:

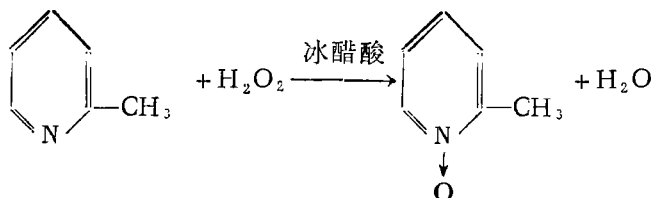


它是白色结晶固体,熔点210℃;难溶于水易溶于碱溶液中;与强无机酸作用可分解成相应的醛。

它可由2-吡啶甲醛与亚硫酸加成制得。而2-吡啶甲醛的合成,在1951年前尚无较好方法,至吡啶-N-氧化物被应用后,才有了较方便的合成法。目前2-吡啶甲醛的合成法主要有以下几种:由2-甲基吡啶-N-氧化物进行Ortolera-King反应制得, α -甲基吡啶-N-氧化物由2-甲基吡啶经N-氧化制取^[22•23];由2-吡啶甲醇经氧化制得^[24],2-吡啶甲醇由2-甲基吡啶经N-氧化、分子重排和水解制取^[25];由2-甲基吡啶经两次

N-氧化、两次分子重排和水解制得^[25]；由2-吡啶甲腈经催化氢化和水解制得^[26]；由2-甲基吡啶经催化、气相空气氧化制得^[27]。根据我组设备情况，我们采用第三种方法进行合成。合成工作分成以下三个步骤进行。

1. 2-甲基吡啶-N-氧化物(2-Picoline-N-oxide)的制备

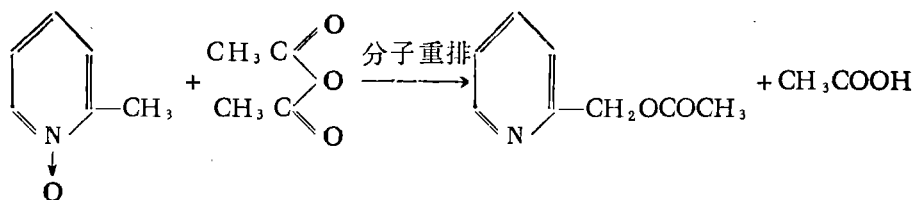


2-甲基吡啶

2-甲基吡啶-N-氧化物

于500毫升烧瓶中加入46.5克(0.5克分子)2-甲基吡啶,300毫升冰醋酸和50毫升30%双氧水溶液^[注1],在70—80℃下加热迴流3小时。然后,再加入35毫升30%双氧水溶液,再在70—80℃下加热迴流9小时(讨论5)。将反应液在减压下浓缩至100毫升,加入等体积的水,再在减压下浓缩至100毫升(目的是除去微量的醋酸和双氧水)。将残留物溶于250毫升氯仿中,加入碳酸钠浆糊并充分摇动,至无CO₂放出为度。分离,将氯仿层加入无水碳酸钠干燥过夜。过滤、滤液在减压下蒸馏,蒸出氯仿后,得约45克无色吸湿性油状物(产物)^[注2],沸点123—124℃(15mm)。其苦味酸盐在乙醇中重结晶为黄色结晶,熔点125℃(文献值125—126.5℃)^[19]。

2. 2-吡啶甲醇醋酸酯(2-Pyridinemethanol Acetate)的合成

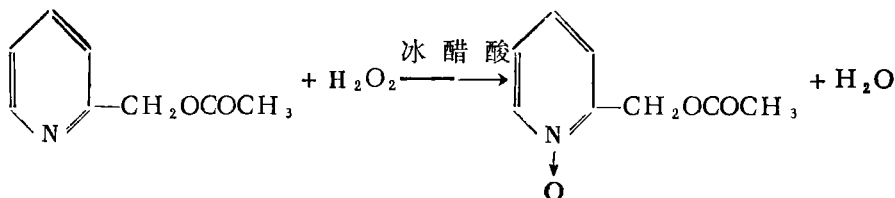


2-甲基吡啶-N-氧化物

2-吡啶甲醇醋酸酯

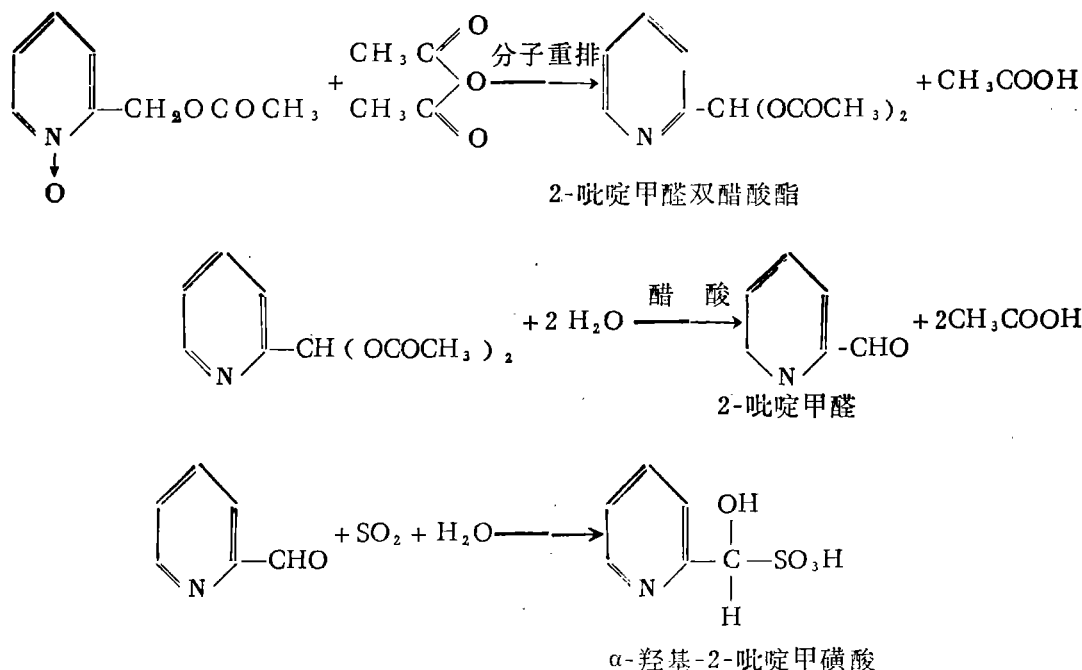
将20克(0.18克分子)2-甲基吡啶-N-氧化物滴入微沸的37克醋酸酐中。滴完后加热迴流15分钟。然后,立即减压蒸馏^[注3],弃去90℃(22mm)以前的馏分(主要为醋酸),收集90—120℃(22mm)馏分(产物),约重20克,为淡黄色油状物,沸点115—118℃(与文献值相符)。其苦味酸盐在乙醇中重结晶,为黄色结晶,熔点168℃(分解)[文献值168—168.5℃(分解)]^[19]。

3. 2-吡啶甲醛双醋酸酯(2-Pyridinealdehyde Diacetate)的合成和α-羟基-2-吡啶甲磺酸的制备



2-吡啶甲醇醋酸酯

2-吡啶甲醇醋酸酯-N-氧化物



用制备 2- 甲基吡啶 - N - 氧化物的程序，将 75 克（0.5 克分子）2- 吡啶甲醇 醋酸酯溶于 300 毫升冰醋酸中，以 50 毫升 30% 双氧水溶液处理，可得到 2- 吡啶甲醇 醋酸酯 - N - 氧化物约 70 克。

将上步制得的 70 克（0.42 克分子）粗 -2 吡啶甲醇 醋酸酯 - N - 氧化物滴入微沸的 70 毫升醋酸酐中，滴完后回流 15 分钟（完成分子重排）。然后，加入 25 毫升水，继续回流 30 分钟（水解 2- 吡啶甲醛双醋酸酯）。进行减压蒸馏（20—30mm），收集由 80℃ 开始至无馏出物为止的馏分，此馏分为 2- 吡啶甲醛的水溶液。

将 SO_2 气体通入上步制得的 2- 吡啶甲醛水溶液中，达到饱和后，塞紧瓶口，静置过夜。过滤，用水洗沉淀，得到 α - 羟基 -2- 吡啶甲磺酸的白色结晶，重 24 克。用水重结晶两次后，熔点 202—203℃（文献值 210℃）。其酐在水中重结晶后，为白色小针状结晶，熔点 112—113℃（文献值 113—116℃）。

注：

- （1）双氧水在存放中含量变化大，用前一定要进行分析（用硫酸—高锰酸钾法），低于 25% 时，要进行浓缩。
- （2）除去反应液中氯仿后，得到的粗 -N- 氧化物，可以不经精制直接转入下一步反应中。
- （3）也可以不经过减压蒸馏直接将反应液转入下一步反应中，通过加入浓度较稀的双氧水和补加冰醋酸的方法控制配料比。

四、讨 论

1. 文献上以乙醚为溶剂使 β - 氯乳酸重结晶，我们改用乙醚—苯为溶剂重结晶，效果较好。

2. 本法全过程都要在无水条件下进行。文献上以硅胶脱去氢氧化钾-甲醇溶液中的水分以保证无水条件。我们以无水碳酸钠处理过的无水甲醇用于全过程的各环节代替上述方法以保证无水条件, 看来效果较好。

3. 文献上以乙醚为溶剂使环氧丙酸钾结晶, 我们根据产物能溶于热酒精、不溶于冷酒精的性质, 改用无水酒精作溶剂使其结晶, 效果较好。

4. 反应全过程和产物处理都需要在 20℃ 以下的温度条件下进行。

5. 反应时间和反应温度偏上限利于提高产率。

参 考 资 料

- [1] 李明启, 光合作用研究进展, 科学出版社, 1976年, 第71—72页
- [2] J.L.Marx, 植物生理生化译丛第一集, 科学出版社, 1974年, 第64—65页
- [3] J.S.Kahn, 光合作用, 科学出版社, 1979年, 第15页
- [4] 须之部淑男, 光合作用, 科学出版社, 1979年, 第35页
- [5] Zelitch I., 植物生理生化译丛第二集, 科学出版社, 1976年, 第74—78页
- [6] 殷宏章, 光合作用研究进展, 农业出版社, 1979年, 第14—15页
- [7] J.T.Bohrs et al, 光合作用, 科学出版社, 1979年, 第29页
- [8] 沈允钢, 王天铎, 光合作用(从机理到农业), 上海科学技术出版社, 1979年, 第48—49页
- [9] Zelitch I., Archives of Biochemistry and Biophysics, 163, No.1, 367—77 (1974)
- [10] Zelitch I., Plant Physiology, 41, 1626 (1966)
- [11] C. A. 77, 126334V (1972)
- [12] Fr. 1, 339, 045 [C.A., 60, 2888g (1964)]
- [13] George B. Payne, J. Am. Chem. Soc. 18, 4901—3 (1959)
- [14] George B. Payne and Paul R. Van Ess, J. Org. Chem., 26, 2984—5 (1961)
- [15] [17] [19] [20] 有机合成(中译本)第一集, 科学出版社(1965), 第12、236—7、235、199页
- [16] N. F. Blau et al., J. Am. Chem. Soc., 76, 5106 (1954)
- [18] C. Frederich Koelsch, J. Am. Chem. Soc., 52 (2), 1105 (1930)
- [21] [美] S.席吉雅, 官能团有机定量分析, 中国工业出版社(1963) 第52—54页
- [22] Tigi Ochiai, J. Org. Chem. 18 (1), 548 (1953)
- [23] 刘懋勤, 朱泽砺, 化学学报, 31 (5), 439—40 (1965)
- [24] E.P.Papadopoulos et al., J. Org. Chem., 31 (2), 615—6 (1966)
- [25] V. Bockelheide et al., J. Am. Chem. Soc. 76, 1286—9 (1954)
- [26] O. G. Backeberg et al., J. Chem. Soc., 3961—3 (1962)
- [27] U. S. 2, 620 '342, Dec. 2, 1952 [C. A. 47, 10, 558g (1953)]