



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117510564 A

(43) 申请公布日 2024. 02. 06

(21) 申请号 202410024079.5

(22) 申请日 2024.01.08

(71) 申请人 苏州诺维康生物科技有限公司

地址 215128 江苏省苏州市苏州工业园区
朝前路21号生物医药产业园五期C区
12号楼101单元

(72) 发明人 陶鹏 朱海生 陆阳 苗茹
陆林海

(74) 专利代理机构 苏州威世册知识产权代理事
务所(普通合伙) 32235

专利代理师 韩臻臻

(51) Int. Cl.

C07H 19/167 (2006.01)

C07H 1/00 (2006.01)

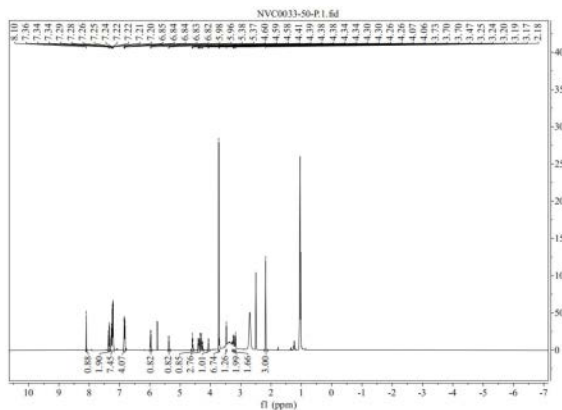
权利要求书2页 说明书11页 附图2页

(54) 发明名称

一种医药中间体N2-Ac-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷的合成方法

(57) 摘要

本发明涉及一种医药中间体N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷的合成方法,本申请中选用了医药中间体2'-O-丙炔基-鸟苷作为原材料,并设计了特定的工艺路线,高效合成了目标产物N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷,纯度高,产率高,且有利于产业化推广。



1. 一种医药中间体N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷的合成方法,其特征在于,包括如下步骤:

S1、将第一有机溶剂置于第一反应容器中,向所述第一反应容器内持续通入惰性气体,在惰性气体气氛下,向所述第一反应容器内加入2'-O-丙炔基-鸟苷,将所述第一反应容器置于-5℃~5℃,向所述第一反应容器内加入醋酸酐,再加入吡啶,并使第一反应容器控制在-5℃~5℃温度区间,搅拌反应第一预设时间段,再将第一反应容器控制在125℃~135℃温度区间,搅拌反应第二预设时间段,反应完全后,依次进行第一减压浓缩、第一柱层析纯化、第二减压浓缩,得到N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷;

S2、将N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷置于第二反应容器中,向所述第二反应容器内持续通入惰性气体,在惰性气体气氛下,加入第二有机溶剂,搅拌溶清,向第二反应容器内加入乙醇钠溶液,并使第二反应容器控制在20℃~30℃温度区间,搅拌反应第三预设时间段,反应完全后,再向第二反应容器内加入乙酸,并使第二反应容器控制在20℃~30℃温度区间,搅拌反应第四预设时间段,反应完全后,依次进行第三减压浓缩、第二柱层析纯化、第四减压浓缩,得到N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷;

S3、将第三反应容器控制在-5℃~5℃温度区间,向所述第三反应容器内加入吡啶,向所述第三反应容器内持续通入惰性气体,在惰性气体气氛下,向所述第三反应容器内加入N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷,再向第三反应容器内加入4,4'-二甲氧基三苯甲基氯和二氯甲烷的混合溶液,并使第三反应容器控制在-5℃~5℃温度区间,搅拌反应第五预设时间段,反应完全后,将第三反应容器控制在20℃~30℃温度区间,加入二氯甲烷,充分混合后,水洗有机相,减压浓缩有机相,柱层析纯化,得到N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷。

2. 根据权利要求1所述的医药中间体N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷的合成方法,其特征在于,步骤S1中,所述2'-O-丙炔基-鸟苷与所述醋酸酐的体积摩尔比为0.1mol/mL~0.5 mol/mL。

3. 根据权利要求1所述的医药中间体N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷的合成方法,其特征在于,步骤S1中,所述2'-O-丙炔基-鸟苷与所述吡啶的体积摩尔比为0.1mol/L~0.6 mol/L。

4. 根据权利要求1所述的医药中间体N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷的合成方法,其特征在于,步骤S2中,所述N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷和所述乙醇的体积摩尔比为0.02mol/L~0.1mol/L。

5. 根据权利要求1所述的医药中间体N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷的合成方法,其特征在于,步骤S2中,所述乙醇钠溶液的浓度为0.5mol/L~1.5 mol/L。

6. 根据权利要求5所述的医药中间体N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷的合成方法,其特征在于,所述N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷和所述乙醇钠摩尔比为1:3.9~1:4.1。

7. 根据权利要求1所述的医药中间体N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷的合成方法,其特征在于,步骤S2中,所述N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷与所述乙酸的体积摩尔比为0.05mol/ml~0.3 mol/mL。

8. 根据权利要求1所述的医药中间体N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷的合成方法,其特征在于,步骤S3中,所述4,4'-二甲氧基三苯甲基氯和所述N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟

苷的摩尔比为1:1~3:1。

9. 根据权利要求1所述的医药中间体N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷的合成方法,其特征在于,步骤S3中,所述4,4'-双甲氧基三苯甲基氯和所述二氯甲烷的体积摩尔比为0.05mol/L~2 mol/L。

10. 根据权利要求1所述的医药中间体N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷的合成方法,其特征在于,步骤S3中,所述N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷和所述吡啶的体积摩尔比为0.15mol/L~0.5 mol/L。

一种医药中间体N2-Ac-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷的合成方法

技术领域

[0001] 本发明属于核苷酸合成技术领域,尤其涉及一种医药中间体N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷的合成方法。

背景技术

[0002] 寡核苷酸在癌症治疗和遗传学中具有广泛的应用前景,如:寡核苷酸是一种短的单链DNA或RNA,通常由几个到几十个核苷酸组成。它们可以与互补的DNA或RNA序列结合,形成稳定的双链结构,具体的,寡核苷酸可以与细胞内的DNA或RNA的内部或末端位置进行交联,这种交联可以阻止细胞的复制。因此,寡核苷酸可以被用作一种特殊的药物,与癌细胞的DNA或RNA结合,阻止癌细胞的复制,从而杀死癌细胞。这种治疗方法被称为基因靶向治疗,因为它针对的是特定的基因突变,而不是所有的健康或患病的细胞。

[0003] 在遗传学中,寡核苷酸被用作探针,用于研究DNA和RNA的结构和功能。它们也可以被用于基因治疗,即通过修改DNA或RNA序列来治疗遗传性疾病。在这个过程中,寡核苷酸可以被设计成与异常基因序列结合,从而阻止有害基因的表达。

[0004] RNAi是一种生物体内常见的基因表达调控机制,它可以通过降解目标RNA来抑制特定基因的表达。在RNAi过程中,双链RNA(dsRNA)是关键效应分子,它可以被细胞内的RNaseIII酶切割成多个小片段,这些小片段被称为siRNA(小干扰RNA)。siRNA可以与目标RNA结合,导致目标RNA被降解,从而抑制特定基因的表达。

[0005] 在siRNA的合成过程中,2'的位置是一个很重要的修饰位点。在这个位置上,可以通过添加化学基团(如甲基、乙基等)来改变siRNA的理化性质和功能。这些修饰可以增加siRNA的稳定性和特异性,使其更加有效地结合目标RNA,从而更有效地抑制特定基因的表达。其中:糖修饰的寡核苷酸就是改变siRNA的理化性质和功能的非常重要的物质,如:糖修饰的寡核苷酸可以激活RNaseH的2'-脱氧-赤型-呋喃戊糖基核苷的亚序列,从而促进对目标核酸的降解。

[0006] 因此,合成糖修饰的寡核苷酸是非常重要的,2'-O-丙炔基是一种有机化学基团,通常与核苷酸中的糖部分结合,这种基团的存在可以改变核苷酸的化学性质和生物学活性。N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷作为一种含有2'-O-丙炔基的医药中间体,也是合成糖修饰的寡核苷酸的中间体,其合成受到广泛关注。

发明内容

[0007] 为解决上述问题,本申请提供了一种新的思路合成医药中间体N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷。

[0008] 为实现上述目的,本申请是通过如下方案来实现的:

本申请提供了一种医药中间体N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷的合成方法,包括如下步骤:

S1、将第一有机溶剂置于第一反应容器中,向所述第一反应容器内持续通入惰性气体,在惰性气体气氛下,向所述第一反应容器内加入2'-O-丙炔基-鸟苷,将所述第一反应容器置于-5℃~5℃,向所述第一反应容器内加入醋酸酐,再加入吡啶,并使第一反应容器控制在-5℃~5℃温度区间,搅拌反应第一预设时间段,再将第一反应容器控制在125℃~135℃温度区间,搅拌反应第二预设时间段,反应完全后,依次进行第一减压浓缩、第一柱层析纯化、第二减压浓缩,得到N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷;

S2、将N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷置于第二反应容器中,向所述第二反应容器内持续通入惰性气体,在惰性气体气氛下,加入第二有机溶剂,搅拌澄清,向第二反应容器内加入乙醇钠溶液,并使第二反应容器控制在20℃~30℃温度区间,搅拌反应第三预设时间段,反应完全后,再向第二反应容器内加入乙酸,并使第二反应容器控制在20℃~30℃温度区间,搅拌反应第四预设时间段,反应完全后,依次进行第三减压浓缩、第二柱层析纯化、第四减压浓缩,得到N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷;

S3、将第三反应容器控制在-5℃~5℃温度区间,向所述第三反应容器内加入吡啶,向所述第三反应容器内持续通入惰性气体,在惰性气体气氛下,向所述第三反应容器内加入N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷,再向第三反应容器内加入4,4'-二甲氧基三苯甲基氯和二氯甲烷的混合溶液,并使第三反应容器控制在-5℃~5℃温度区间,搅拌反应第五预设时间段,反应完全后,将第三反应容器控制在20℃~30℃温度区间,加入二氯甲烷,充分混合后,水洗有机相,减压浓缩有机相,柱层析纯化,得到N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷。

[0009] 作为本申请进一步的改进,步骤S1中,所述2'-O-丙炔基-鸟苷与所述醋酸酐的体积摩尔比为0.1mol/mL~0.5 mol/mL,优选为0.29mol/L~0.31mol/L。

[0010] 作为本申请进一步的改进,步骤S1中,所述2'-O-丙炔基-鸟苷与所述吡啶的体积摩尔比为0.1mol/L~0.6 mol/L,优选为0.29mol/L~0.31mol/L。

[0011] 作为本申请进一步的改进,步骤S2中,所述N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷和所述乙醇的体积摩尔比为0.02mol/L~0.1mol/L,优选为0.037mol/L~0.038mol/L。

[0012] 作为本申请进一步的改进,步骤S2中,所述乙醇钠溶液的浓度为0.5mol/L~1.5 mol/L,优选为0.99mol/L~1.01mol/L。

[0013] 作为本申请进一步的改进,所述N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷和所述乙醇钠的摩尔比为1:3.9~1:4.1。

[0014] 作为本申请进一步的改进,步骤S2中,所述N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷与所述乙酸的体积摩尔比为0.05mol/ml~2mol/mL,优选为1.74mol/L~1.75mol/L。

[0015] 作为本申请进一步的改进,步骤S3中,所述4,4'-二甲氧基三苯甲基氯和所述N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷的摩尔比为1:1~3:1,优选为1:1.19~1:1.21。

[0016] 作为本申请进一步的改进,步骤S3中,所述4,4'-二甲氧基三苯甲基氯和所述二氯甲烷的体积摩尔比为0.05mol/L~2mol/L,优选为1.00mol/L~1.09mol/L。

[0017] 作为本申请进一步的改进,步骤S3中,所述N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷和所述吡啶的体积摩尔比为0.15mol/L~0.5 mol/L,优选为0.25mol/L~0.28mol/L。

[0018] 作为本申请进一步的改进,步骤S1和步骤S2和步骤S3中,所述惰性气体可以为但

不仅仅限于氮气、氦气、氖气、氩气等中的任意一种。

[0019] 作为本申请进一步的改进,步骤S1中,所述第一有机溶剂为N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二甲基乙酰胺、二甲基亚砷中的任意一种。

[0020] 作为本申请进一步的改进,所述第一有机溶剂为N,N-二甲基甲酰胺时,所述2'-O-丙炔基-鸟苷与所述N,N-二甲基甲酰胺的体积摩尔比为0.1mol/L~0.5 mol/L,优选为0.31mol/L~0.32mol/L。

[0021] 本申请的有益效果在于,本申请设计了一种新的特定的工艺路线合成N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷,相对于现有的合成N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷,简化了工艺路线,提升了收率,有利于产业化推广。

附图说明

[0022] 图1为实施例1制备的N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷的核磁共振谱图;
图2为实施例1制备的N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷的HPLC谱图。

具体实施方式

[0023] 为使本申请的目的、技术方案和优点更加清楚,下面将结合本申请具体实施例及附图对本申请技术方案进行清楚、完整地描述。显然,所描述的实施例仅是本申请一部分实施例,而不是全部的实施例,不用来限制本发明的范围。基于本申请中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本申请保护的范围。

[0024] 为解决上述技术问题,本申请提供了一种新的思路合成医药中间体N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷,包括如下步骤:

一种医药中间体N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷的合成方法,包括如下步骤:

S1、将第一有机溶剂置于第一反应容器中,向所述第一反应容器内持续通入惰性气体,在惰性气体气氛下,向所述第一反应容器内加入2'-O-丙炔基-鸟苷(化合物14),将所述第一反应容器置于-5℃~5℃,向所述第一反应容器内加入醋酸酐,再加入吡啶,并使第一反应容器控制在-5℃~5℃温度区间,搅拌反应第一预设时间段,再将第一反应容器控制在125℃~135℃温度区间,搅拌反应第二预设时间段,反应完全后,依次进行第一减压浓缩、第一柱层析纯化、第二减压浓缩,得到N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物15);

S2、将N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物15)置于第二反应容器中,向所述第二反应容器内持续通入惰性气体,在惰性气体气氛下,加入第二有机溶剂,搅拌溶清,向第二反应容器内加入乙醇钠溶液,并使第二反应容器控制在20℃~30℃温度区间,搅拌反应第三预设时间段,反应完全后,再向第二反应容器内加入乙酸,并使第二反应容器控制在20℃~30℃温度区间,搅拌反应第四预设时间段,反应完全后,依次进行第三减压浓缩、第二柱层析纯化、第四减压浓缩,得到N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物16);

S3、将第三反应容器控制在-5℃~5℃温度区间,向所述第三反应容器内加入吡啶,向所述第三反应容器内持续通入惰性气体,在惰性气体气氛下,向所述第三反应容器内

加入N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物16),再向第三反应容器内加入4,4'-双甲氧基三苯甲基氯和二氯甲烷的混合溶液,并使第三反应容器控制在-5℃~5℃温度区间,搅拌反应第五预设时间段,反应完全后,将第三反应容器控制在20℃~30℃温度区间,加入二氯甲烷,充分混合后,水洗有机相,减压浓缩有机相,柱层析纯化,得到N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷。

[0025] 需要说明的是,第一预设时间段是根据参加反应的2'-O-丙炔基-鸟苷、醋酸酐、吡啶的量而设定,且以2'-O-丙炔基-鸟苷、醋酸酐、吡啶和N,N-二甲基甲酰胺充分混合为截止点,可以为但不仅仅限于30min~2h等,优选的,可以为但不仅仅限于30min、40min、50min、60min、80min、2h、3h等等;第二预设时间段也是根据参加反应的2'-O-丙炔基-鸟苷、醋酸酐、吡啶的量而设定,且以2'-O-丙炔基-鸟苷和醋酸酐充分反应为截止点,可以为但不仅仅限于2h~8h、9h~12h等,优选的,可以为但不仅仅限于2h、3h、4h、5h、6h、7h、8h、9h、10h、12h等等。第三预设时间段是根据参加反应的N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物15)和乙醇钠溶液的量而设定的,且以N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物15)和乙醇钠充分反应完全为截止点,可以为但不仅仅限于5min~2h等,优选的,可以为但不仅仅限于5min、10min、20min、30min、40min、50min、60min、80min、2h等等;第四预设时间段是根据参加反应的N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物15)、乙醇钠溶液、乙酸的量而设定的,且以乙酸与N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物15)和乙醇钠反应后的溶液充分反应完全为截止点,可以为但不仅仅限于5min~2h等,优选的,可以为但不仅仅限于5min、10min、20min、30min、40min、50min、60min、80min、2h等等。第五预设时间段也是根据参加反应的N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物16)和4,4'-双甲氧基三苯甲基(化合物17)的量而设定,且以N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物16)和4,4'-双甲氧基三苯甲基氯4,4'-双甲氧基三苯甲基(化合物17)充分反应为截止点,可以为但不仅仅限于10h~20h等,优选的,可以为但不仅仅限于10h、12h、13h、14h、15h、16h、17h、18h、19h、20h等等。

[0026] 在可选的实施方案中,步骤S1中,所述乙酸钠是1mol/L乙酸钠的乙醇溶液。

[0027] 在可选的实施方案中,步骤S1中,所述2'-O-丙炔基-鸟苷与所述醋酸酐的体积摩尔比为0.1mol/mL~0.5 mol/mL,优选为0.29mol/L~0.31mol/L。

[0028] 在可选的实施方案中,步骤S1中,所述2'-O-丙炔基-鸟苷与所述吡啶的体积摩尔比为0.1mol/L~0.6mol/L,优选为0.29mol/L~0.31mol/L。

[0029] 在可选的实施方案中,步骤S2中,所述N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物15)和所述乙醇的体积摩尔比为0.02mol/L~0.1mol/L,优选为0.037mol/L~0.038mol/L。

[0030] 在可选的实施方案中,步骤S2中,所述乙醇钠溶液的浓度为0.5mol/L~1.5mol/L,优选为0.99mol/L~1.01mol/L。

[0031] 在可选的实施方案中,所述N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物15)和所述乙醇钠的摩尔比为1:3.9~1:4.1。

[0032] 在可选的实施方案中,步骤S2中,所述N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物15)与所述乙酸的体积摩尔比为0.05mol/ml~0.3mol/mL,优选为1.74mol/L~1.75mol/L。

[0033] 在可选的实施方案中,步骤S3中,所述4,4'-双甲氧基三苯甲基氯和所述N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物16)的摩尔比为1:1~3:1,优选为1:1.19~1:1.21。

[0034] 在可选的实施方案中,步骤S3中,所述4,4'-双甲氧基三苯甲基氯和所述二氯甲烷的体积摩尔比为0.05mol/L~2 mol/L,优选为1.00mol/L~1.09mol/L。

[0035] 在可选的实施方案中,步骤S3中,所述N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物16)和所述吡啶的体积摩尔比为0.15mol/L~0.5mol/L,优选为0.25mol/L~0.28mol/L。

[0036] 在可选的实施方案中,步骤S1和步骤S2和步骤S3中,所述惰性气体可以为但不仅限于氮气、氦气、氖气、氩气等中的任意一种。

[0037] 在可选的实施方案中,步骤S1中,所述第一有机溶剂为N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二甲基乙酰胺、二甲基亚砜中的任意一种。

[0038] 在可选的实施方案中,所述第一有机溶剂为N,N-二甲基甲酰胺时,所述2'-O-丙炔基-鸟苷与所述N,N-二甲基甲酰胺的体积摩尔比为0.1mol/L~0.5mol/L,优选为0.31mol/L~0.32mol/L。

[0039] 根据上述设计思路,在一个具体的实施方案中,合成医药中间体N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷的具体步骤如下:

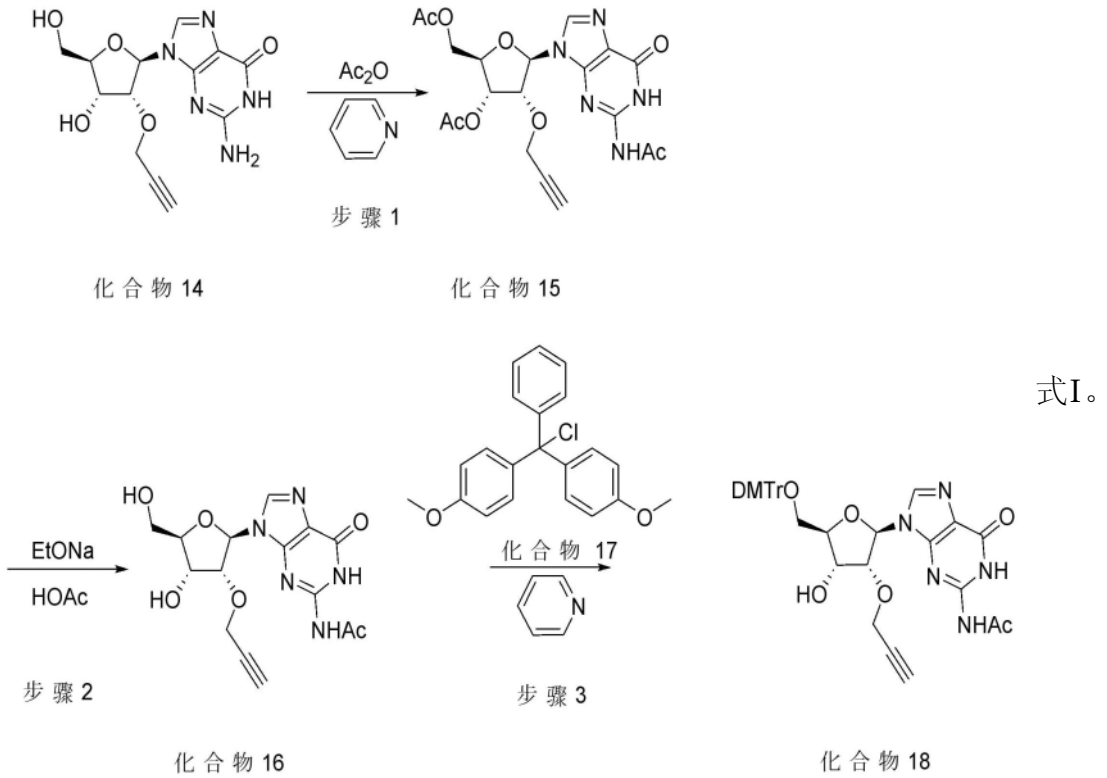
步骤一:将1L N,N-二甲基甲酰胺置于第一反应容器内,向第一反应容器内持续通入氮气,在持续氮气气氛保护下,将311.2mmol (100g) 2'-O-丙炔基-鸟苷(化合物14)加入第一反应容器内,再在-5~5℃下,将1.84mol (188g) 醋酸酐加入第一反应容器内,然后再缓慢滴加1L吡啶,滴加完成后使第一反应容器先在-5~5℃搅拌30~60分钟,再在125~135℃搅拌4~6小时,采用HPLC控制反应的进程,反应完全后,在50~60℃减压浓缩,柱层析纯化,在20~30℃减压浓缩,得到0.246mol (110g) N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物15),纯度:95.3%,收率79%。其中:洗脱剂为二氯甲烷和甲醇的混合溶液,二氯甲烷和甲醇的体积比为10:1~30:1。

[0040] 步骤二:将0.224mol (100g) N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物15)置于第二反应容器内,向第二反应容器内持续通入氮气,在持续氮气气氛保护下,向第二反应容器内加5L乙醇,搅拌溶清,再将890~900mL 1 mol/L的乙醇钠加入第二反应容器内,将第二反应容器的温度控制在20℃~30℃搅拌5~10分钟,通过TLC控制反应的进程,反应完全后,将134~135g乙酸加入第二反应容器内,再将第二反应容器的温度控制在20℃~30℃搅拌5~10分钟,在50~60℃减压浓缩,柱层析纯化,在20~30℃减压浓缩,得到0.168mol (60.9g) N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物16),纯度:96.3%,收率为75%。其中:洗脱剂为二氯甲烷和甲醇的混合溶液,二氯甲烷和甲醇的体积比为10:1~30:1。

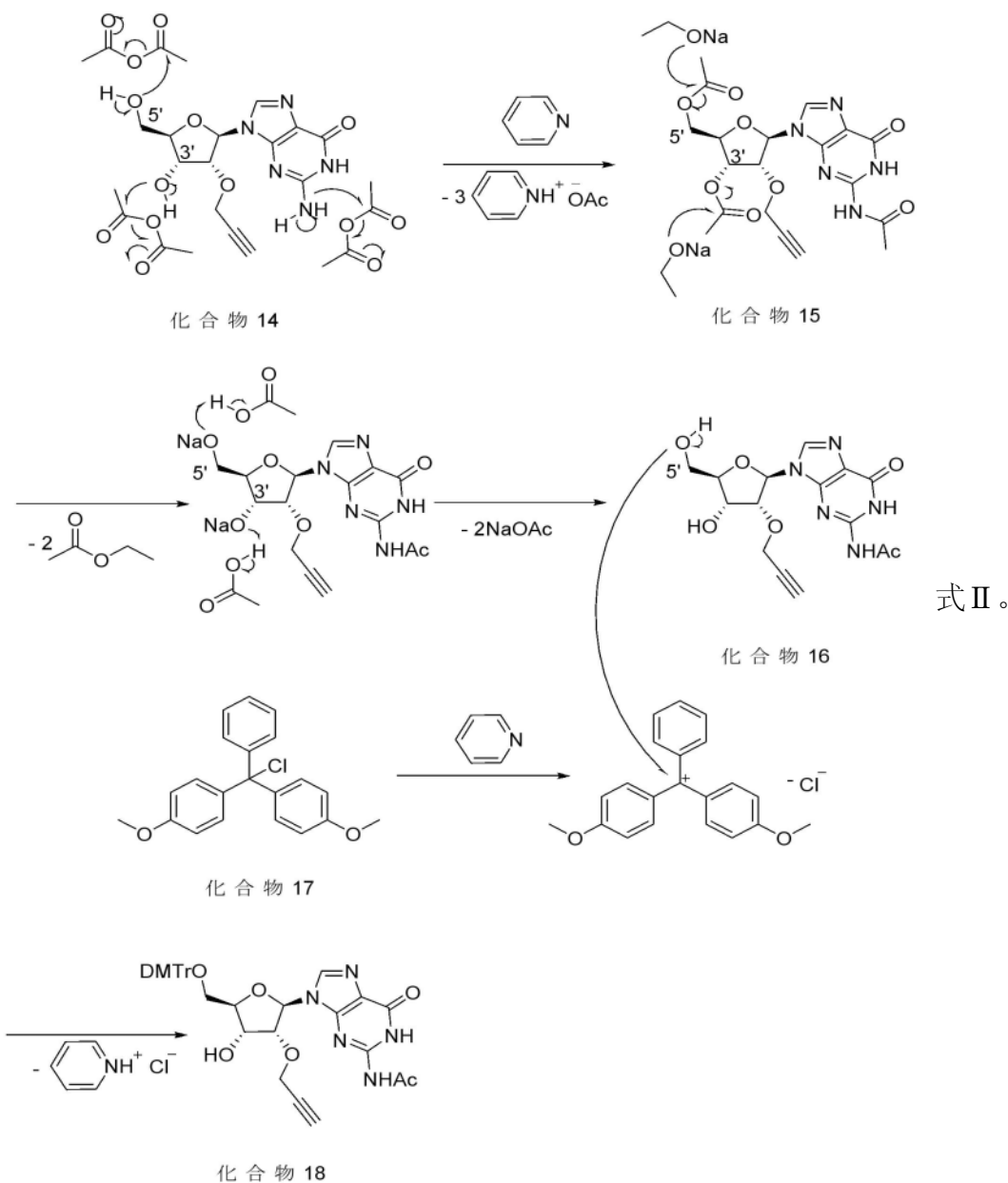
[0041] 步骤三:在-5℃~5℃下,将1L吡啶置入第三反应容器内,向第三反应容器内持续通入氮气,在持续氮气气氛保护下,将0.275mol (100g) N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物16)加入第三反应容器内,向第三反应容器内滴加0.328mol (111~112g) 4,4'-双甲氧基三苯甲基氯(4,4'-双甲氧基三苯甲基(化合物17))和300mL二氯甲烷的混合溶液,将第三反应容器的温度控制在-5~5℃搅拌12~16小时,采用HPLC控制反应的进度,反应完全后,将第三反应容器的温度调整到20℃~30℃,加入500mL二氯甲烷,再用1L水洗有机相三遍。减压浓缩有机相,柱层析纯化,得0.259mol (172.5g) N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷,纯度:95.87%,收率94.1%。

[0042] 其中:柱层析纯化过程中的洗脱剂为二氯甲烷、甲醇、三乙胺的混合溶液,混合溶液中三乙胺的体积百分含量为5%,二氯甲烷和甲醇的体积比为10:1~30:1。

[0043] 本申请的合成N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷的技术路线如下式I:



[0044] 本申请中:化合物14到化合物18的主要反应机理如下反应机理式II:



[0045] 化合物14在吡啶碱性作用下,氨基的一个氢和3',5'位置的两个羟基的氢分别将氮氢键和氢氧键上的电子转移至氮和氧,同时分别进攻三个分子醋酸酐上的羰基碳,随后得到N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物15);并且从氨基和3',5'位置的两个羟基离去的三个质子与从三个醋酸酐上离去三个醋酸根负离子结合并被三个吡啶中和得到副产物吡啶醋酸盐;

N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物15)的3'和5'位置的两个乙酯基比氨基上的乙酰胺基更容易发生水解反应,因而3'和5'位置的两个乙酯的羰基碳首当其冲分别受到乙醇钠的进攻后,脱保护离去两个乙酸乙酯;之后,加醋酸淬灭后得到N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物16)和副产物两个乙酸钠;

4,4'-双甲氧基三苯甲基(化合物17)在吡啶作用下分解出4,4'-双甲氧基三苯甲基叔碳正离子和氯负离子;

N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物16)的5'位置的羟基氧由于空间位阻效应去进攻4,4'-双甲氧基三苯甲基叔碳正离子,发生SN1取代反应得到化合物18;同时5'位置的

羟基氧氢键断裂,离去的质子与从4,4'-双甲氧基三苯甲基氯离去的氯负离子结合并被吡啶中和,获得副产物吡啶盐酸盐。

[0046] 本申请的技术方案中:

经过筛选特定的原料、溶剂、催化剂等组分并设计了特定的工艺路线,通过具有高效率的三步反应过程来合成医药中间体—N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷:

首先,将2'-O-炔丙基-鸟苷(化合物14)和醋酸酐置于N,N-二甲基甲酰胺溶剂中,在-5~5℃的低温环境中启动反应,再滴加吡啶催化,反应混合物在125~135℃下继续反应。通过这一步骤,成功地在原料分子上添加了一个乙酰基团,生成了N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物15)。N,N-二甲基甲酰胺用于溶解2'-O-炔丙基-鸟苷,便于2'-O-炔丙基-鸟苷在催化剂的作用下与醋酸酐反应;醋酸酐作为乙酰化试剂,与2'-O-炔丙基-鸟苷反应,生成乙酰化的产物;吡啶作为催化剂,促进醋酸酐与2'-O-炔丙基-鸟苷的反应。

[0047] 其次,将上一步得到的N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物15)放入乙醇溶剂中,再加入乙醇钠,控制温度在20℃~30℃进行反应。乙醇钠的加入是为了对N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物15)进行进一步的化学修饰。之后我们加入乙酸,对反应液进行中和处理,得到N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物16)。乙醇用于溶解N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物15),便于使N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物15)与乙醇钠和乙酸反应;乙醇钠作为碱,促进后续反应的进行;乙酸用于中和乙醇钠,并促进某些官能团的转化。

[0048] 最后,在氮气保护下,将N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物16)和4,4'-双甲氧基三苯甲基氯(4,4'-双甲氧基三苯甲基(化合物17))在-5℃~5℃的低温条件下进行反应,成功地引入了特定的官能团。然后我们提高温度至20℃~30℃,进行后处理操作,通过柱层析纯化等步骤,最终得到了我们的目标产物—N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷。吡啶作为溶剂,用于溶解N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物16),便于N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物16)与4,4'-双甲氧基三苯甲基氯反应;二氯甲烷作为溶剂,与其他物质混合并帮助发生反应;4,4'-双甲氧基三苯甲基氯与N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物16)发生反应,引入特定的官能团。-5℃~5℃的温度设定能确保4,4'-双甲氧基三苯甲基氯与N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物16)的反应平稳进行。在20℃~30℃的温度范围内进行后处理操作,确保产物的稳定性和纯度。

[0049] 实施例1

本实施例合成N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷的具体步骤如下:

步骤一:将1L N,N-二甲基甲酰胺置于第一反应容器内,向第一反应容器内持续通入氮气,在持续氮气气氛保护下,将311.2mmol (100g) 2'-O-炔丙基-鸟苷(化合物14)加入第一反应容器内,再在0℃下,将1.84mol (188g) 醋酸酐加入第一反应容器内,然后再缓慢滴加1L吡啶,滴加完成后使第一反应容器先在0℃搅拌30~60分钟,再在130℃搅拌5小时,采用HPLC控制反应的进程,反应完全后,在55℃减压浓缩,柱层析纯化,在25℃减压浓缩,得到0.246mol (110g) N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物15),收率79%。其中:洗脱剂为二氯甲烷和甲醇的混合溶液,二氯甲烷和甲醇的体积比为20:1。

[0050] 步骤二:将0.224mol (100g) N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷

(化合物15)置于第二反应容器内,向第二反应容器内持续通入氮气,在持续氮气气氛保护下,向第二反应容器内加5L 乙醇,搅拌溶清,再将895mL 1 mol/L的乙醇钠加入第二反应容器内,将第二反应容器的温度控制在25℃搅拌8分钟,通过TLC控制反应的进程,反应完全后,将135g乙酸加入第二反应容器内,再将第二反应容器的温度控制在25℃搅拌8分钟,在55℃减压浓缩,柱层析纯化,在25℃减压浓缩,得到0.168mol (60.9g) N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物16),纯度:96.3%,收率为75%。其中:洗脱剂为二氯甲烷和甲醇的混合溶液,二氯甲烷和甲醇的体积比为20:1。

[0051] 步骤三:在0℃下,将1L吡啶置入第三反应容器内,向第三反应容器内持续通入氮气,在持续氮气气氛保护下,将0.275mol (100g) N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物16)加入第三反应容器内,向第三反应容器内滴加0.328mol (112g) 4,4'-双甲氧基三苯甲基氯(4,4'-双甲氧基三苯甲基(化合物17))和300mL二氯甲烷的混合溶液,将第三反应容器的温度控制在0℃搅拌14小时,采用HPLC控制反应的进度,反应完全后,将第三反应容器的温度调整到25℃,加入500mL二氯甲烷,再用1L水洗有机相三遍。减压浓缩有机相,柱层析纯化,得0.259mol (172.5g) N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷,纯度:95.87%,收率94.1%。其中:柱层析纯化过程中的洗脱剂为二氯甲烷、甲醇、三乙胺的混合溶液,混合溶液中三乙胺的体积百分含量为5%,二氯甲烷和甲醇的体积比为20:1。

[0052] 针对本实施例制备出的N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷进行的¹H NMR分析谱图如图1所示,具体如下:

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 8.10 (s, 1H), 7.34-7.36 (d, 2H), 7.20-7.29 (m, 7H), 6.82-6.85 (m, 4H), 5.96-5.98 (d, 1H), 5.37-5.38 (d, 1H), 4.58-4.60 (t, 1H), 4.26-4.41 (m, 3H), 4.06-4.07 (m, 1H), 3.73 (s, 6H), 3.70-3.73 (m, 1H), 3.46-3.47 (t, 1H), 3.24-3.25 (m, 2H), 3.17-3.20 (m, 1H), 2.18 (s, 3H)。

[0053] 针对本实施例制备出的N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷进行的HPLC纯度分析如图2所示,HPLC纯度大于95%。

[0054] 本实施例所用原料的来源具体如下:N,N-二甲基甲酰胺为上海泰坦科技股份有限公司生产的批号为P02637042的产品,2'-O-炔丙基-鸟苷为苏州诺维康生物科技有限公司生产的批号为NVC0033-51的产品,醋酸酐为上海凌峰化学试剂有限公司生产的批号为20230619的产品,吡啶为国药集团化学试剂有限公司生产的批号为20230623的产品,二氯甲烷为无锡晶科化工有限公司生产的批号为20230721的产品,甲醇是江苏强盛功能化学股份有限公司白茆分公司生产的批号为20230711的产品,N2-乙酰基-3',5'-O-(双乙酰基)-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物15)为苏州诺维康生物科技有限公司生产的批号为NVC0033-53的产品,乙醇为国药集团化学试剂有限公司生产的批号为20230715的产品,乙醇钠为上海泰坦科技股份有限公司生产的批号为P2641102的产品,乙酸为江苏强盛功能化学股份有限公司白茆分公司生产的批号为20230716的产品,N2-乙酰基-2'-O-炔丙基鸟苷(化合物16)为苏州诺维康生物科技有限公司生产的批号为NVC0033-54的产品,4,4'-双甲氧基三苯甲基氯为合肥仕通生物科技有限公司生产的批号为230615ST01的产品,三乙胺为江苏强盛功能化学股份有限公司白茆分公司生产的批号为20230611的产品。

[0055] 对比例1

为了佐证本申请的技术方案具有优异的技术效果,提供了本对比例1,现有技术中

采用鸟苷作为制备N²-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷,具体步骤如下:

步骤一:

将3.53 mmol (1g) 鸟苷(化合物1)溶于25 mL吡啶,再加入3.35 mL (26.47 mmol) 三甲基氯硅烷(化合物2),室温下搅拌2小时,充分反应。

[0056] 步骤二:

将步骤一中反应液的温度降到0°C,再向反应液中滴加4.35 mmol (0.34g) 乙酰氯(化合物4),室温搅拌3小时,在0°C下,再加10mL水搅拌5分钟,充分反应。

[0057] 步骤三:

向步骤二的反应液中加入10mL 氨水(化合物6),搅拌15分钟,再加入50 mL水和20 mL二氯甲烷,保留有机相并浓缩,用热水结晶,过滤真空干燥得到化合物7,收率:82%。

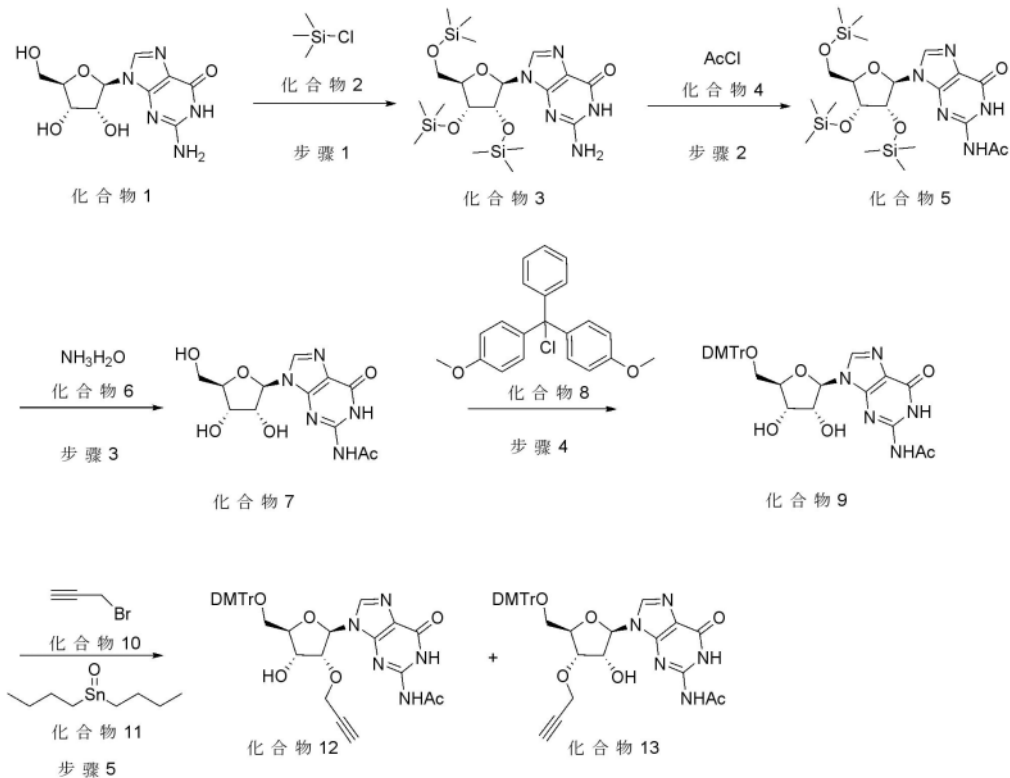
[0058] 步骤四:

将27.74 mmol (10.0 g) 化合物7溶解在 100 ml 干燥吡啶中,在室温下向反应液中加入41.60 mmol (4.22 g) 三乙胺,再滴加入30.51 mmol (10.55g) 4,4'-双甲氧基三苯甲基氯与75 ml 二氯甲烷的混合溶液,搅拌反应18小时,反应完全后,加入5 ml 正丙醇,再搅拌30分钟,减压浓缩,加入100mL乙酸乙酯,有机相用100mL H₂O洗一遍,100mL 10%柠檬酸洗两遍,100mL饱和NaHCO₃和100mLNaCl各洗一遍,有机相用10g无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩。粗品用100 ml 乙酸乙酯溶解,再滴加入 600 ml 正庚烷,固体过滤并用 10mL 乙醚/正庚烷(1:1)淋洗滤饼,在45°C下真空干燥,得到17.14 g白色固体化合物9 (收率94.3%)。

[0059] 步骤五:

将0.2L甲苯/乙腈(1:1)加入反应容器内,加入0.1mol化合物9和0.11mol二丁基氧化锡,再加入0.05mol四丁基碘化铵和0.2mol氯丙炔,微波加热100°C,充分反应6小时,柱层析纯化得到化合物12(目标产物,收率:55%),化合物13(收率:22%)。

[0060] 本对比例的合成N²-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷的技术路线如下式III:



通过技术路线可知,对比例中采用鸟苷为原材料,通过5步反应才得到目标产物N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷,且最后一步反应中还会生成异构体,常温条件下的收率只有12.9%,微波条件下的收率为55%,但是微波条件不利于放大反应。

[0061] 综上,相对于现有技术,本申请选用了医药中间体2'-O-丙炔基-鸟苷作为原材料,并设计了特定的工艺路线,高效合成了目标产物N2-AC-5'-O-DMT-2'-O-炔丙基鸟苷,纯度高,产率高,且有利于产业化推广。

[0062] 虽然本说明书按照实施方式加以描述,但并非每个实施方式仅包含一个独立的技术方案,说明书的这种叙述方式仅仅是为清楚起见,本领域技术人员应当将说明书作为一个整体,各实施方式中的技术方案也可以经适当组合,形成本领域技术人员可以理解的其他实施方式。

[0063] 上文所列出一系列的详细说明仅仅是针对本发明的可行性实施方式的具体说明,它们并非用以限制本发明的保护范围,凡未脱离本发明技艺精神所作的等效实施方式或变更均应包含在本发明的保护范围之内。

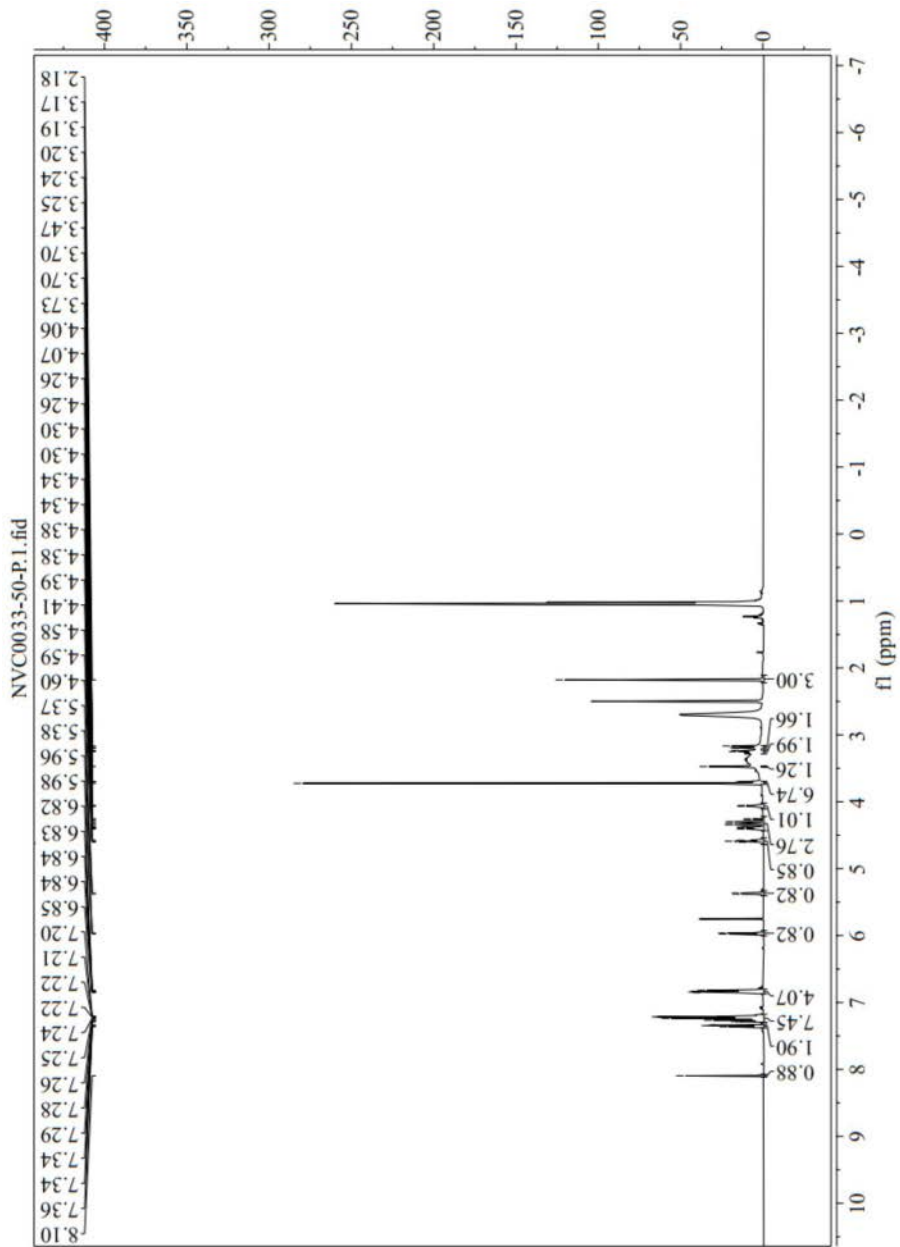


图1

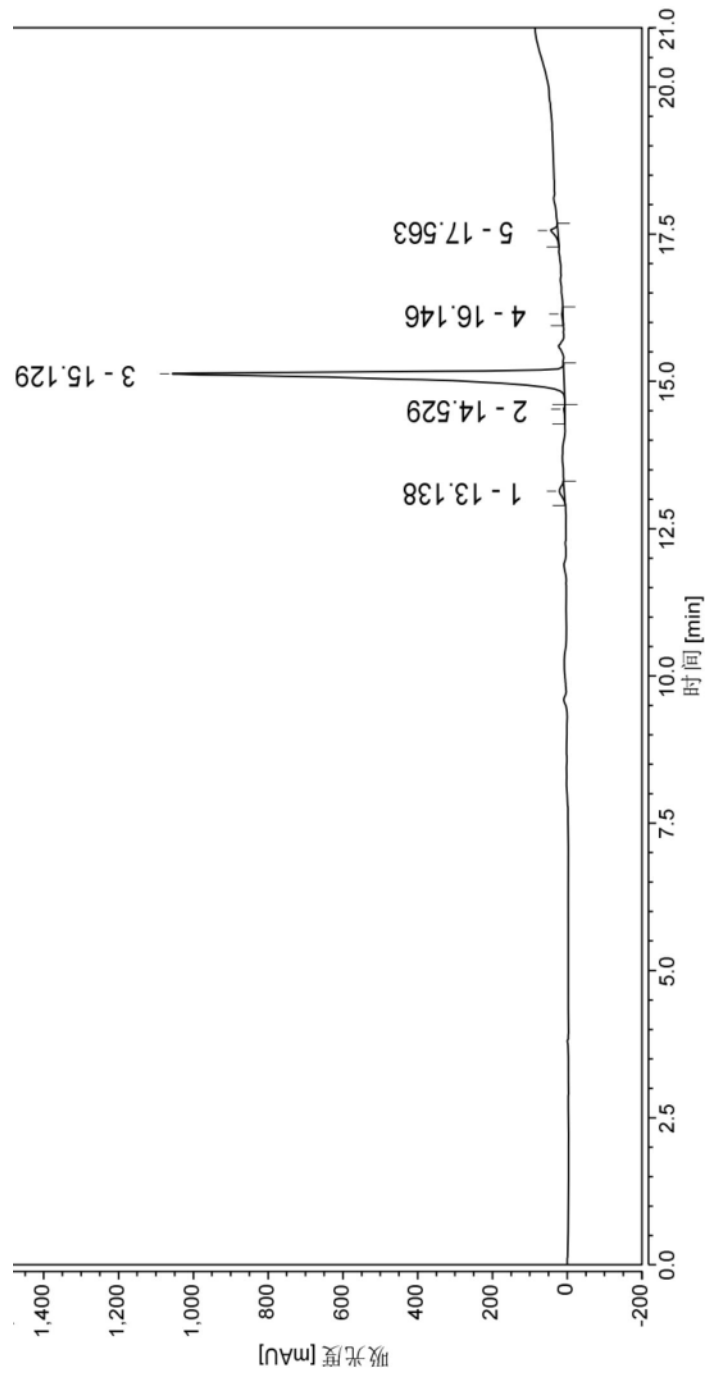


图2