



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103641897 B

(45)授权公告日 2017.01.04

(21)申请号 201310617060.3

C07K 1/06(2006.01)

(22)申请日 2013.11.27

C07K 1/02(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

审查员 刘树柏

申请公布号 CN 103641897 A

(43)申请公布日 2014.03.19

(73)专利权人 深圳翰宇药业股份有限公司

地址 518057 广东省深圳市南山区高新技术工业园中区翰宇生物医药园办公大楼四层

(72)发明人 李国弢 向闽南 马亚平 袁建成

(74)专利代理机构 北京万慧达知识产权代理有限公司 11111

代理人 杨颖 张金芝

(51)Int.Cl.

C07K 14/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页

(54)发明名称

一种合成醋酸格拉替雷的方法

(57)摘要

本发明属于药物合成技术领域,公开了一种合成醋酸格拉替雷的方法。该方法通过加入一种不参与聚合反应的缚酸剂,消耗掉氨基酸NCA吸附的氯化氢气体,然后再加入二乙胺引发剂,这样得到的全保护格拉替雷的平均分子量可以非常方便的控制在一定范围内,从而更稳定地控制了醋酸格拉替雷的品质,提高了产品的合格率。

1. 一种合成醋酸格拉替雷的方法,包括如下步骤:

1) 在极性非质子溶剂中,在缚酸剂和引发剂存在下,聚合L-丙氨酸、L-酪氨酸、L-谷氨酸- γ -苄酯、L- ϵ -三氟乙酰基-赖氨酸的N-甲酸酐,以形成全保护的格拉替雷;

2) 将酸溶液加入到步骤1)形成的全保护的格拉替雷中,以形成三氟乙酰基格拉替雷;

3) 将1M哌啶水溶液加入到步骤2)形成的三氟乙酰基格拉替雷中,以形成格拉替雷粗品;以及

4) 经透析纯化获得醋酸格拉替雷;

步骤1)中所述的缚酸剂选自氢氧化钾、碳酸钾、磷酸钾、三乙胺、吡啶以及它们一种或几种的混合物;

步骤1)中所述的引发剂为二乙胺;

步骤1)中所述的非质子溶剂为1,4-二氧六环;

步骤2)中所述的酸溶液选自溴化氢乙酸溶液;酸溶液的重量百分浓度为29~35%。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中步骤2)中所述的酸溶液的重量百分浓度为31%。

3. 根据权利要求1至2中任一项所述的方法,其中步骤1)中所述的全保护格拉替雷的平均分子量的测量方法为凝胶渗透色谱法。

一种合成醋酸格拉替雷的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及药物合成技术领域,具体涉及一种醋酸格拉替雷的合成方法。

背景技术

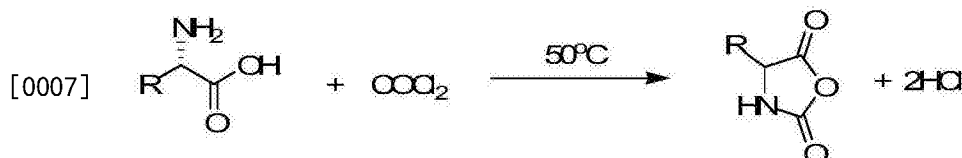
[0002] 醋酸格拉替雷,英文名称为Glatiramer acetate,是一种用于治疗多发性硬化症的人工合成多肽混合物(M.M.Mouradain, Pharmacology&Therapeutics, 98, 245-255, 2003)。醋酸格拉替雷(又称共聚物-1)是一个由丙氨酸、谷氨酸、赖氨酸和酪氨酸组成的随机聚合物。它的氨基酸摩尔比大约为0.392~0.462:0.129~0.153:0.300~0.374:0.086~0.100,平均分子量大约为4700~11000道尔顿。醋酸格拉替雷的结构如下式所示:

[0003] $(\text{Glu, Ala, Lys, Tyr})_x \cdot x\text{CH}_3\text{COOH}$ 。

[0004] 醋酸格拉替雷或共聚物-1的合成方法已经在美国专利3849550, 5800808, 5981589, 6048898, 6054430, 6342476, 6362161等专利中进行了描述。该合成方法是通过L-丙氨酸、L-酪氨酸、L-谷氨酸- γ -苄酯、L- ϵ -三氟乙酰基-赖氨酸的N-甲酸酐(NCA)在无水1,4-二氧六环中,使用二乙胺引发进行随机聚合,以产生受保护的多肽。 γ -苄基基团的脱保护是通过室温下在溴化氢/乙酸中搅拌受保护的多肽来实现的。同时,该条件也可以切割共聚物。下一步通过哌啶处理可以脱除 ϵ -三氟乙酰基。最后通过透析纯化共聚物,得到醋酸格拉替雷。

[0005] 合成醋酸格拉替雷的第一步聚合反应是以二乙胺为引发剂进行的随机聚合反应,因此引发剂的多少直接影响到形成多肽的摩尔量,也就影响到多肽的平均分子量的大小。

[0006] 由于该聚合所使用的L-丙氨酸、L-酪氨酸、L-谷氨酸- γ -苄酯、L- ϵ -三氟乙酰基-赖氨酸的NCA往往是由相应的氨基酸和光气(或双光气、三光气)反应得到的,因此这四种氨基酸的NCA往往都吸附有相当量的氯化氢气体(反应的副产物,见反应式1)。而聚合反应的引发剂可以和氯化氢气体反应生成二乙胺盐酸盐,从而失去引发聚合反应的能力。因此引发剂二乙胺的实际发生作用的量是投料量减去被氯化氢气体消耗掉的量。又由于每批次氨基酸NCA所吸附的氯化氢气体量不同,因此最后起引发作用的二乙胺的量就非常难以控制,最终造成聚合反应的产物(全保护格拉替雷)的平均分子量不能稳定在一定范围内,最终造成产品的合格率无法得到保证。



[0008] 反应式1:氨基酸与光气反应生成氨基酸NCA和氯化氢的反应通式

发明内容

[0009] 本发明针对现有技术中存在的上述缺陷,提供了一种能够将全保护格拉替雷的平均分子量非常方便地控制在一定范围内的合成醋酸格拉替雷的方法。

[0010] 为此,本发明提供了一种合成醋酸格拉替雷的方法,包括如下步骤:

[0011] 1、在极性非质子溶剂中,在缚酸剂和引发剂存在下,聚合L-丙氨酸、L-酪氨酸、L-谷氨酸- γ -苄酯、L- ϵ -三氟乙酰基-赖氨酸的N-甲酸酐(NCA),以形成全保护的格拉替雷;

[0012] 2、将酸溶液加入到步骤1形成的全保护的格拉替雷中,以形成三氟乙酰基格拉替雷;

[0013] 3、将1M哌啶水溶液加入到步骤2形成的三氟乙酰基格拉替雷中,以形成格拉替雷粗品;以及

[0014] 4、经透析纯化获得醋酸格拉替雷。

[0015] 在本发明合成醋酸格拉替雷的方法中,步骤2中采用的酸溶液选自乙酸、盐酸、溴化氢、氢氟酸、甲磺酸、三氟甲磺酸、磷酸、三氟乙酸、硫酸以及它们一种或几种的混合物。

[0016] 在本发明一个优选的实施方案中,所述的酸溶液为溴化氢乙酸溶液。

[0017] 在本发明合成醋酸格拉替雷的方法中,所述酸溶液的重量百分浓度为29~35%。在一个优选的实施方案中,所述酸溶液的重量百分浓度优选为31%。

[0018] 在本发明合成醋酸格拉替雷的方法中,步骤1中采用的缚酸剂选自氢氧化钾、氢氧化钠、碳酸钠、碳酸钾、碳酸铯、碳酸氢钠、磷酸钠、磷酸钾、磷酸氢二钠、磷酸氢二钾、三乙胺、二异丙基乙基胺、1,8-二氮杂双环[5.4.0]-7-十一烯(DBU)、吡啶、1-甲基哌啶以及它们一种或几种的混合物。

[0019] 在本发明优选的实施方案中,所述的缚酸剂为氢氧化钾、碳酸钾、磷酸钾、三乙胺或吡啶。

[0020] 在本发明优选的实施方案中,步骤1中采用的引发剂为二乙胺,极性非质子溶剂为1,4-二氧六环。

[0021] 在本发明优选的实施方案中,步骤1中采用的全保护格拉替雷的平均分子量的测量方法为凝胶渗透色谱法(Gel Permeation Chromatography,简称GPC)。

[0022] 本发明通过加入一种不参与聚合反应的缚酸剂,消耗掉氨基酸NCA吸附的氯化氢气体,然后再加入二乙胺引发剂,这样得到的全保护格拉替雷的平均分子量可以非常方便的控制在一定范围内,从而更稳定地控制了醋酸格拉替雷的品质,提高了产品的合格率。

具体实施方式

[0023] 下面通过实施例对本发明作进一步的详细说明,旨在用于说明本发明而非限定本发明。应当指出,对于本领域技术人员而言,在不脱离本发明原理的前提下,还可以对本发明进行若干改进和修饰,这些改进和修饰也同样落入本发明的保护范围之内。

[0024] 本发明所使用的缩写的含义列于下表中。

[0025]

英文缩写	中文含义
NCA	N-甲酸酐
kDa	千道尔顿
GPC	凝胶渗透色谱
DMF	N,N-二甲基甲酰胺

[0026] 实施例1:合成全保护的格拉替雷

[0027] 三口瓶中加入经金属钠处理过的1,4-二氧六环200mL,室温下加入L-丙氨酸NCA2.590克,L-酪氨酸NCA1.036克,L-谷氨酸- γ -苄酯NCA1.974克,L- ϵ -三氟乙酰基-赖氨酸NCA4.693克,氢氧化钾0.4克。搅拌30分钟,至体系澄清,加入二乙胺10毫克。20~25摄氏度下机械搅拌24小时。将反应液缓慢倒入400mL水中,产生大量白色固体,抽滤后,真空干燥得7.424克,收率92.8%。

[0028] 实施例2:第一次脱保护/解聚

[0029] 三口瓶中加入全保护的格拉替雷7.0克,重量百分浓度为31%的溴化氢/乙酸混合液(向乙酸溶液中通入溴化氢气体。溴化氢的重量占混合液总重量的31%)140mL,在22~24摄氏度下搅拌22小时。将红棕色反应液倒入400mL水中,产生大量白色固体,抽滤,真空干燥得三氟乙酰基格拉替雷4.76克。

[0030] 实施例3:脱三氟乙酰基/透析

[0031] 三口瓶中加入实施例2中所得三氟乙酰基格拉替雷0.76克,1M哌啶水溶液38mL,室温下搅拌24小时。用1KDa的滤膜进行透析,得到的溶液加冰乙酸至pH为5.5~5.8,搅拌1小时。冻干得白色粉末,平均分子量为6664。

[0032] 实施例4:合成全保护的格拉替雷

[0033] 三口瓶中加入经金属钠处理过的1,4-二氧六环200mL,室温下加入L-丙氨酸NCA2.590克,L-酪氨酸NCA1.036克,L-谷氨酸- γ -苄酯NCA1.974克,L- ϵ -三氟乙酰基-赖氨酸NCA4.693克,碳酸钾0.4克。搅拌30分钟,至体系澄清,加入二乙胺10毫克。20~25摄氏度下机械搅拌24小时。将反应液缓慢倒入400mL水中,产生大量白色固体,抽滤后,真空干燥得7.218克,收率90.2%。

[0034] 实施例5:合成全保护的格拉替雷

[0035] 三口瓶中加入经金属钠处理过的1,4-二氧六环200mL,室温下加入L-丙氨酸NCA2.590克,L-酪氨酸NCA1.036克,L-谷氨酸- γ -苄酯NCA1.974克,L- ϵ -三氟乙酰基-赖氨酸NCA4.693克,磷酸钾0.4克。搅拌30分钟,至体系澄清,加入二乙胺10毫克。20~25摄氏度下机械搅拌24小时。将反应液缓慢倒入400mL水中,产生大量白色固体,抽滤后,真空干燥得7.500克,收率93.8%。

[0036] 实施例6:合成全保护的格拉替雷

[0037] 三口瓶中加入经金属钠处理过的1,4-二氧六环200mL,室温下加入L-丙氨酸NCA2.590克,L-酪氨酸NCA1.036克,L-谷氨酸- γ -苄酯NCA1.974克,L- ϵ -三氟乙酰基-赖氨酸NCA4.693克,三乙胺0.4克。搅拌30分钟,至体系澄清,加入二乙胺10毫克。20~25摄氏度下机械搅拌24小时。将反应液缓慢倒入400mL水中,产生大量白色固体,抽滤后,真空干燥得6.854克,收率85.7%。

[0038] 实施例7:合成全保护的格拉替雷

[0039] 三口瓶中加入经金属钠处理过的1,4-二氧六环200mL,室温下加入L-丙氨酸NCA2.590克,L-酪氨酸NCA1.036克,L-谷氨酸- γ -苄酯NCA1.974克,L- ϵ -三氟乙酰基-赖氨酸NCA4.693克,吡啶0.4克。搅拌30分钟,至体系澄清,加入二乙胺10毫克。20~25摄氏度下机械搅拌24小时。将反应液缓慢倒入400mL水中,产生大量白色固体,抽滤后,真空干燥得7.451克,收率93.1%。

[0040] 实施例8:全保护格拉替雷平均分子量的测量

[0041] 采用可以采购到的Agilent公司的GPC/SEC Calibration Kits作为内标,其中分子量分别为:180,667,6100,9600,21100,47100,107000,200000,344000,708000。使用TSKgel HHR(7.8×3000mm,5μm)色谱柱,DMF为流动相进行内标校正。得到的线性公式为:

[0042] $\log M = A + B \times RT$

[0043] 其中,M为内标分子量,A和B为线性拟合后的常数,RT为保留时间。

[0044] 测量结果为:

[0045] 实施例1平均分子量84261,实施例4平均分子量79684,实施例5平均分子量78122,实施例6平均分子量73238,实施例7平均分子量75727,实施例8平均分子量84802。