



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 113831529 A

(43)申请公布日 2021.12.24

(21)申请号 202010583687.1

(22)申请日 2020.06.24

(71)申请人 江苏众红生物工程创药研究院有限公司

地址 213125 江苏省常州市新北区云河路
518号

(72)发明人 马永 许振 王俊

(51)Int.Cl.

C08G 65/332(2006.01)

C08G 65/322(2006.01)

C08G 65/324(2006.01)

C08G 65/333(2006.01)

权利要求书1页 说明书8页 附图9页

(54)发明名称

单甲氧基聚乙二醇羧酸及其功能性衍生物的制备方法

(57)摘要

本发明涉及单甲氧基聚乙二醇羧酸及其功能性衍生物的制备方法,包括如下步骤:(a)除去单甲氧基聚乙二醇水分;(b)氮气保护下,单甲氧基聚乙二醇去质子化,后与卤代羧酸酯进行Williamson取代反应得到单甲氧基聚乙二醇羧酸酯;(c)甲氧基聚乙二醇羧酸酯碱性水解,经酸化后得到甲氧基聚乙二醇羧酸;(d)氮气保护,甲氧基聚乙二醇羧酸在DCC脱水作用下与NHS进行酯化反应,得到单甲氧基聚乙二醇羧酸琥珀酰亚胺酯。本发明的制备方法简便,反应条件温和,产物易于分离纯化,综合收率高,利于工业放大和商业应用,制备的甲氧基聚乙二醇羧酸琥珀酰亚胺酯产品纯度高,具有较高的商业应用价值。

1. 单甲氧基聚乙二醇羧酸的制备方法,包括如下步骤:

(a) 除去单甲氧基聚乙二醇水分;

(b) 氮气保护下,以步骤(a)所得单甲氧基聚乙二醇为原料,经去质子化后与卤代羧酸酯进行Williamson取代反应得到单甲氧基聚乙二醇羧酸酯;

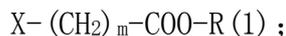
(c) 对步骤(b)所得甲氧基聚乙二醇羧酸酯进行碱性水解,经酸化后得到甲氧基聚乙二醇羧酸。

2. 权利要求1所述的制备方法,其特征在于步骤(b)中去质子化用的碱为氢氧化钠或叔丁醇钾;碱选用氢氧化钠时,碱用量为单甲氧基聚乙二醇摩尔当量的20至150倍;碱选用叔丁醇钾时,碱用量为单甲氧基聚乙二醇摩尔当量的5至10倍。

3. 权利要求2所述的制备方法,其特征在于步骤(b)中单甲氧基聚乙二醇反应浓度是50mg/ml~150mg/ml。

4. 权利要求1所述的制备方法,其特征在于步骤(b)中去质子化反应溶剂选自甲苯、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺。

5. 权利要求1所述的制备方法,其特征在于步骤(b)中Williamson反应所用卤代羧酸酯的通式如式(1)所示:



其中,X为Cl、Br或I;m是介于2~5之间的整数;R为具有1至6个碳原子的烃基;卤代羧酸酯用量是单甲氧基聚乙二醇摩尔当量的5至15倍。

6. 甲氧基聚乙二醇羧酸琥珀酰亚胺酯的制备方法,包括如下步骤:氮气保护,甲氧基聚乙二醇羧酸在二环己基碳二亚胺(DCC)脱水作用下与N-羟基丁二酰亚胺(NHS)进行酯化反应,得到单甲氧基聚乙二醇羧酸琥珀酰亚胺酯。

7. 权利要求6所述的制备方法,其特征在于单甲氧基聚乙二醇羧酸反应浓度是50mg/ml~150mg/ml。

8. 权利要求6所述的制备方法,其特征在于反应溶剂是四氢呋喃或二氯甲烷。

9. 权利要求6所述的制备方法,其特征在于DCC用量是甲氧基聚乙二醇羧酸摩尔当量的1至3倍。

10. 权利要求6所述的制备方法,其特征在于NHS用量是甲氧基聚乙二醇羧酸摩尔当量的1至3倍。

单甲氧基聚乙二醇羧酸及其功能性衍生物的制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及单甲氧基聚乙二醇羧酸及其功能性衍生物的制备方法。

背景技术

[0002] 聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 化技术是一项利用聚乙二醇衍生物对蛋白质、多肽等进行化学修饰的技术。目前已有十余种聚乙二醇修饰的蛋白药物上市, 修饰策略大多采用聚乙二醇随机修饰蛋白质中氨基, 单甲氧基聚乙二醇活性酯是常见的修饰剂之一。其中, 单甲氧基聚乙二醇羧酸中间体的合成反应研究是单甲氧基聚乙二醇活性酯修饰剂的开发重点。

[0003] Abuchowski A. 等人 (Cancer Biochem. Biophys., 1984, 175-186) 报道了单甲氧基聚乙二醇与丁二酸酐在碱性条件下经酯化反应引入羧基的方法。但该方法得到的修饰剂与蛋白质或多肽类药物连接后, 在体内水解, 导致保留在蛋白质或多肽上的丁二酸充当半抗原, 加剧了蛋白质或多肽的免疫原性。

[0004] 专利文献EP0206448公开了使用氧化剂对单甲氧基聚乙二醇的羟基进行氧化反应引入羧基的方法。但该反应条件苛刻, 易引起聚乙二醇链的断裂, 反应副产物较多, 转化率偏低, 且主要用于单甲氧基聚乙二醇乙酸的制备。

[0005] 专利文献US5672662公开了通过亲核加成反应向单甲氧基聚乙二醇羟基端引入氰基, 经酸性水解为单甲氧基聚乙二醇酰胺后进一步碱性水解合成单甲氧基聚乙二醇丙酸和单甲氧基聚乙二醇丁酸的方法。但反应路径长, 综合收率低, 不宜工业放大, 且反应干扰因素多, 实验结果重现性差。

[0006] 为克服现有技术中的缺陷, 本申请提供一种单甲氧基聚乙二醇羧酸及其活性衍生物的制备方法。

发明内容

[0007] 本发明的发明目的, 是为了克服现有技术的不足, 提供一种反应条件温和且不涉及剧毒化学品、转化率高、副产物少的单甲氧基聚乙二醇羧酸的合成路线。并进一步将其转化为高活性的修饰剂——单甲氧基聚乙二醇羧酸琥珀酰亚胺酯。

[0008] 本发明涉及的单甲氧基聚乙二醇羧酸和甲氧基聚乙二醇羧酸琥珀酰亚胺酯的制备方法, 包括如下步骤:

[0009] (a) 除去单甲氧基聚乙二醇水分;

[0010] (b) 氮气保护下, 以步骤 (a) 所得单甲氧基聚乙二醇为原料, 去质子化反应, 经去质子化后与卤代羧酸酯进行Williamson取代反应得到单甲氧基聚乙二醇羧酸酯;

[0011] (c) 对步骤 (b) 所得甲氧基聚乙二醇羧酸酯进行碱性水解, 经酸化后得到甲氧基聚乙二醇羧酸;

[0012] (d) 氮气保护, 对步骤 (c) 所得甲氧基聚乙二醇羧酸在二环己基碳二亚胺 (DCC) 脱水作用下与N-羟基丁二酰亚胺 (NHS) 进行酯化反应, 得到单甲氧基聚乙二醇羧酸琥珀酰亚

胺酯。

[0013] 作为优选,在步骤(a)中,所述单甲氧基聚乙二醇分子量优选5000~20000Da,更优选单甲氧基聚乙二醇5000、单甲氧基聚乙二醇10000、单甲氧基聚乙二醇20000。

[0014] 步骤(a)中具体包括:

[0015] 1、将单甲氧基聚乙二醇与无水甲苯置于反应瓶中,充分混合后接分水器和冷凝管,甲氧基聚乙二醇与无水甲苯的固液比优选1g/10ml~3g/10ml,将混合液在氮气保护下升温至回流,保持回流状态120~180min,降至室温,弃去分水器中的甲苯。将剩余甲苯经旋转蒸发仪蒸除。

[0016] 2、旋干后单甲氧基聚乙二醇经碾磨后真空干燥12h,温度设置为30~45℃,真空度设置为10~20mbar。

[0017] 步骤(a)目的是除去单甲氧基聚乙二醇中水分,任何已知的能除去甲氧基聚乙二醇中水分的方法均可用于此,而限于本申请具体描述的方法。

[0018] 优选地,步骤(b)中具体包括:

[0019] 1、单甲氧基聚乙二醇的去质子化阶段:

[0020] 用于单甲氧基聚乙二醇去质子化的碱优选氢氧化钠和叔丁醇钾。碱用量随碱的不同而不同,碱选用氢氧化钠时,碱用量为单甲氧基聚乙二醇摩尔当量的20至150倍,优选100~150倍。碱选用叔丁醇钾时,碱用量为单甲氧基聚乙二醇摩尔当量的5至10倍,优选10倍。碱用量过少,去质子化不完全,不利于底物转化,碱用量过多,导致反应液粘度增大,不利于反应正常进行。

[0021] 去质子化温度20~30℃。去质子化时间5~24h。具体实施例仅例举了特定温度和时间,但质子化反应在上述温度和时间范围内对反应结果影响不大。

[0022] 反应溶剂采用干燥型非质子性溶剂,优选甲苯、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺等,更优选甲苯和四氢呋喃。具体溶剂类型,需考虑去质子化后的单甲氧基聚乙二醇盐在溶剂中的溶解性,当选用氢氧化钠作碱时,最优选四氢呋喃作溶剂,当选用叔丁醇钾作碱时,最优选甲苯作溶剂。单甲氧基聚乙二醇反应浓度优选50mg/ml~150mg/ml,更优选75mg/ml~150mg/ml。

[0023] 2、单甲氧基聚乙二醇的去质子化后的Williamson反应阶段:

[0024] Williamson反应所用卤代羧酸酯的通式如式(1)所示:

[0025] $X-(CH_2)_m-COO-R$ (1)

[0026] 其中,X为Cl、Br、I,优选Br、I;m是介于2~5之间的整数;R为具有1至6个碳原子的烃基,优选甲基、乙基、丙基、丁基、叔丁基、戊基、己基。

[0027] 卤代羧酸酯用量优选单甲氧基聚乙二醇摩尔当量的5至15倍,更优选10~15倍。

[0028] Williamson反应时间48~72h,反应时间过短,反应不彻底,原料残留多,增加纯化难度。反应温度20~120℃,优选25~70℃。具体实施例仅例举了特定温度和时间,但在上述温度和时间范围内对反应结果影响不大。

[0029] 优选地,步骤(c)中具体包括:

[0030] 1、碱性水解反应,碱为无机碱,优选氢氧化钠和氢氧化钾,碱溶液浓度为0.01mol/l至1mol/l,水解反应温度为25~60℃,反应时间6h~24h。具体实施例仅例举了特定的水解反应条件,但在上述范围内对反应结果影响不大。

[0031] 2、碱性水解反应液的酸化处理阶段,酸没有特别限制。酸化后的反应液pH值优选2~4,当pH值大于4,酸性太弱,羧酸盐酸化不彻底,当pH值小于2,酸性太强,易发生聚乙二醇链的断裂。酸化反应温度0~10℃。具体实施例仅例举了特定的酸化反应条件,但在上述范围内对反应结果影响不大。

[0032] 以上所得产物通过萃取、盐洗、重结晶、沉淀、反沉淀、层析等常规方法加以纯化即得到甲氧基聚乙二醇羧酸。

[0033] 优选地,步骤(d)中具体包括:

[0034] 酯化反应过程中,反应温度25~30℃。反应时间12~24h。具体实施例仅例举了特定的酯化反应温度和时间,但在上述范围内对反应结果影响不大。

[0035] DCC用量优选甲氧基聚乙二醇羧酸摩尔当量的1至3倍,更优选1.5倍。NHS用量优选甲氧基聚乙二醇羧酸摩尔当量的1至3倍,更优选1.5倍。

[0036] 反应溶剂优选干燥级溶剂,优选四氢呋喃、二氯甲烷,最优选二氯甲烷。单甲氧基聚乙二醇羧酸反应浓度优选50mg/ml~150mg/ml,更优选75mg/ml~125mg/ml。

[0037] 以上所得产物通过沉淀、重结晶、反沉淀等常规方法加以纯化。

[0038] 本发明提供的甲氧基聚乙二醇羧酸及其活性衍生物的制备方法,制备方法简便,反应产物易于分离纯化,且分离成本低廉,综合收率高,利于工业放大和商业应用,制备的甲氧基聚乙二醇羧酸琥珀酰亚胺酯产品纯度高,具有较高的商业应用价值,特别是在制备PEG修饰蛋白或多肽药物中的应用。

附图说明

[0039] 图1为实施例1中单甲氧基聚乙二醇(5000Da)丙酸的¹H NMR图;

[0040] 图2为实施例10中单甲氧基聚乙二醇(10000Da)丙酸的¹H NMR图;

[0041] 图3为实施例15中单甲氧基聚乙二醇(20000Da)丙酸的¹H NMR图;

[0042] 图4为实施例1中单甲氧基聚乙二醇(5000Da)丙酸琥珀酰亚胺酯的¹H NMR图;

[0043] 图5为实施例10中单甲氧基聚乙二醇(10000Da)丙酸琥珀酰亚胺酯的¹H NMR图;

[0044] 图6为实施例15中单甲氧基聚乙二醇(20000Da)丙酸琥珀酰亚胺酯的¹H NMR图;

[0045] 图7为实施例1中柱分后单甲氧基聚乙二醇(5000Da)丙酸的GFC色谱图;

[0046] 图8为实施例10中柱分后单甲氧基聚乙二醇(10000Da)丙酸的GFC色谱图;

[0047] 图9为实施例15中柱分后单甲氧基聚乙二醇(20000Da)丙酸的GFC色谱图;

[0048] 图10为实施例1中单甲氧基聚乙二醇(5000Da)丙酸琥珀酰亚胺酯的HPLC色谱图;

[0049] 图11为实施例10中单甲氧基聚乙二醇(10000Da)丙酸琥珀酰亚胺酯的HPLC色谱图;

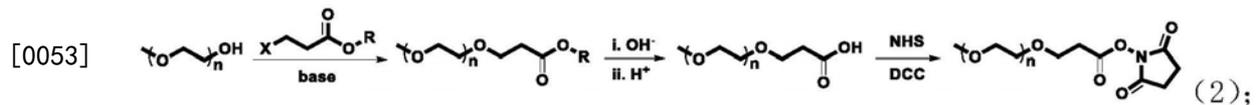
[0050] 图12为实施例15中单甲氧基聚乙二醇(20000Da)丙酸琥珀酰亚胺酯的HPLC色谱图;

具体实施方式

[0051] 除非另有定义,本发明中所使用的所有技术和科学术语具有与本发明涉及领域的技术人员通常理解的相同的含义,如,本发明中所述的“PEG”全称为Polyethylene glycol,是聚乙二醇的英文缩写,也被称为“POE”,是一种两端带羟基的线性聚合物,聚乙二醇是经

环氧乙烷聚合而成,普通的聚乙二醇两端各有一个羟基,若一端以甲基封闭则得到单甲氧基聚乙二醇(Methoxypolyethylene glycol,mPEG-OH)。本发明所述的“mPEG-PA”,全称为Methoxypoly(ethylene glycol)propionic acid,是单甲氧基聚乙二醇丙酸英文缩写。本发明所述的“mPEG-SPA”,全称为Methoxypoly(ethylene glycol)succinimidyl propionate,是单甲氧基聚乙二醇丙酸琥珀酰亚胺酯的英文缩写,这些衍生物是蛋白质聚乙二醇化技术中常用到的。

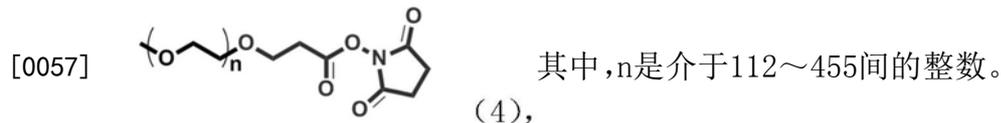
[0052] 本发明的实施例以甲氧基聚乙二醇丙酸和甲氧基聚乙二醇丙酸琥珀酰亚胺酯的制备为例,主要发生的反应如下:



[0054] 所述甲氧基聚乙二醇丙酸通式如式(3)所示:

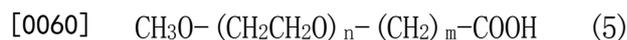


[0056] 所述甲氧基聚乙二醇丙酸琥珀酰亚胺酯的通式如式(4)所示:

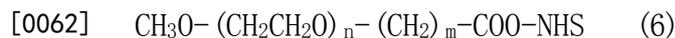


[0058] 实施例中体现的合成反应方程式均与式(2)基本一致,不同实施例单甲氧基聚乙二醇分子量有调整。

[0059] 本发明的实施例仅是本发明的一部分实施例,而不是全部实施例,基于本发明的实施例,本领域技术人员还可以将制备方法应用到其他甲氧基聚乙二醇羧酸(结构通式如5所示)中,如甲氧基聚乙二醇丁酸、戊酸等。并可进一步制备各种聚乙二醇修饰剂,如甲氧基聚乙二醇羧酸琥珀酰亚胺酯(结构通式如6所示)中



[0061] 其中,n是介于112~455间的整数,m是介于2~5之间的整数;



[0063] 其中,n是介于112~455间的整数,m是介于2~5之间的整数。

[0064] 实施例1:合成单甲氧基聚乙二醇(5000Da)丙酸及其活性衍生物

[0065] 向干燥洁净的25mL单口瓶中加入2.20g单甲氧基聚乙二醇(5000Da)和20mL无水甲苯,接分水器和冷凝管,氮气保护下搅拌溶解并逐渐升至回流,继续搅拌2h,冷却至室温,旋蒸除去剩余甲苯,真空干燥12h。

[0066] 向干燥洁净的50mL三口烧瓶中加入1.60g氢氧化钠(60%重量在煤油中,40.0mmol),氮气保护下,加入10mL无水四氢呋喃,搅拌均匀,逐滴滴加上步骤所得的2.00g单甲氧基聚乙二醇(5000Da,0.4mmol)的10mL四氢呋喃溶液,滴毕,继续搅拌4h,逐滴滴加0.51mL 3-溴丙酸乙酯(4.0mmol),室温下搅拌。TLC监测反应终止后,体系中过量氢氧化钠先后经无水乙醇和饱和氯化铵水溶液猝灭,浓缩反应液,加入二氯甲烷萃取残渣(30mL*3),合并有机相,干燥,浓缩,重结晶,收集固体,干燥至恒重得单甲氧基聚乙二醇(5000Da)丙酸乙酯。

[0067] 向干燥洁净的50mL三口瓶中加上步骤所得单甲氧基聚乙二醇丙酸乙酯后,加入

20mL 1mol/L氢氧化钠水溶液,搅拌至完全溶解,在50℃下反应12h,冷却至室温,加入氯化钠使得反应液近饱和状态,冰盐浴下用2mol/L盐酸酸化至pH=3,经二氯甲烷萃取(30mL*3),合并有机相,干燥,浓缩,重结晶,收集固体,干燥至恒重后得单甲氧基聚乙二醇(5000Da)丙酸粗品。

[0068] 将上步所得粗产品经阴离子交换柱纯化,将目标组分收集液浓缩至20mL,加入氯化钠使得反应液近饱和状态,经2mol/L盐酸酸化至pH=3,二氯甲烷萃取(10mL*3),合并有机相,干燥,浓缩,重结晶,收集固体,干燥至恒重得单甲氧基聚乙二醇(5000Da)丙酸1.63g,综合收率81.5%,样品纯度为97.48%。

[0069] 向干燥洁净的50mL单口瓶中加入上步骤所得单甲氧基聚乙二醇(5000Da, 0.33mmol)丙酸和56.97mg N-羟基丁二酰亚胺(NHS,0.50mmol),氮气保护下,加入30mL无水二氯甲烷,搅拌至溶解,再加入103.17mg二环己基碳二亚胺(DCC,0.50mmol)的3mL二氯甲烷溶液,室温下反应24h后,过滤除去不溶物,浓缩,重结晶,得白色粉末单甲氧基聚乙二醇(5000Da)丙酸琥珀酰亚胺酯1.44g,收率88.3%,样品纯度为98.69%。

[0070] 实施例1~16具体参数与实验结果如表1~表4所示,表1~表4未列出的步骤、参数均已实施例1相同(碱、β-卤代酸酯使用当量以mPEG-OH计;NHS、DCC使用当量以mPEG-PA中间体计)

[0071] 表1实施例1-9单甲氧基聚乙二醇丙酸的制备

| | 实施 例 1 | 实施 例 2 | 实施 例 3 | 实施 例 4 | 实施 例 5 | 实施 例 6 | 实施 例 7 | 实施 例 8 | 实施 例 9 |
|--------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| mPEG-OH 分子 量 (Da) | 5000 | 5000 | 5000 | 5000 | 5000 | 5000 | 5000 | 5000 | 5000 |
| 反应溶剂 | 四氢 呋喃 | 四氢 呋喃 | 四氢 呋喃 | 四氢 呋喃 | 四氢 呋喃 | DMF | 甲苯 | 甲苯 | 甲苯 |
| mPEG-OH 反应 浓度 (mg/ml) | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 碱类型 | 氢化 钠 | 氢化 钠 | 氢化 钠 | 氢化 钠 | 氢化 钠 | 叔丁 醇钾 | 叔丁 醇钾 | 叔丁 醇钾 | 甲醇 钠 |
| 碱用量 (eq) | 100 | 150 | 10 | 20 | 100 | 10 | 10 | 5 | 10 |
| β-卤代酸酯 用量 (eq) | 10 | 15 | 10 | 10 | 5 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| mPEG-PA 综合 收率 | 81.5% | 79.3% | 45.2% | 64.1% | 67.6% | 64.1% | 78.4% | 55.8% | 32.8% |

[0073] 表2实施例1-9单甲氧基聚乙二醇丙酸琥珀酰亚胺酯的制备

| | 实施 例 1 | 实施 例 2 | 实施 例 3 | 实施 例 4 | 实施 例 5 | 实施 例 6 | 实施 例 7 | 实施 例 8 | 实施 例 9 |
|---------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 反应溶剂 | 二氯 甲烷 | 四氢 呋喃 | 四氢 呋喃 |
| [0074] mPEG-PA 反应 浓度 (mg/ml) | 50 | 100 | 150 | 75 | 125 | 100 | 100 | 100 | 75 |
| NHS 用量 (eq) | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.0 | 3.0 | 1.5 | 1.5 |
| DCC 用量 (eq) | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.0 | 3.0 | 1.5 | 1.5 |
| [0075] mPEG-SPA 收 率 | 88.3% | 93.2% | 93.0% | 90.5% | 90.8% | 81.3% | 90.6% | 83.7% | 80.7% |

[0076] 表3实施例10-16单甲氧基聚乙二醇丙酸的制备

| | 实施 例 10 | 实施 例 11 | 实施 例 12 | 实施 例 13 | 实施 例 14 | 实施 例 15 | 实施 例 16 |
|---------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| mPEG-OH 分子 量 (Da) | 10000 | 10000 | 10000 | 10000 | 10000 | 20000 | 20000 |
| 反应溶剂 | 四氢呋 喃 | 四氢呋 喃 | 四氢呋 喃 | 四氢呋 喃 | 四氢呋 喃 | 四氢呋 喃 | 乙腈 |
| [0077] mPEG-OH 反应 浓度 (mg/ml) | 50 | 75 | 100 | 125 | 150 | 100 | 100 |
| 碱类型 | 氢化钠 |
| 碱用量 (eq) | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| β -卤代酸酯 用量 (eq) | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| mPEG-PA 综合 收率 | 73.1% | 77.8% | 78.6% | 78.2% | 78.9% | 77.6% | 48.4% |

[0078] 表4实施例10-16单甲氧基聚乙二醇丙酸琥珀酰亚胺酯的制备

| | 实施 例 10 | 实施 例 11 | 实施 例 12 | 实施 例 13 | 实施 例 14 | 实施 例 15 | 实施 例 16 |
|---------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 反应溶剂 | 二氯甲 烷 |
| [0079] mPEG-PA 反应 浓度 (mg/ml) | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| NHS 用量 (eq) | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.3 | 1.3 |
| DCC 用量 (eq) | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.3 | 1.3 |
| mPEG-SPA 收 率 | 89.7% | 90.1% | 92.6% | 90.5% | 91.2% | 92.5% | 90.7% |

[0080] 实施例1-16中列举本发明合成路线的部分关键参数筛选实验过程。实验证明,在实施例1-4中,在一定范围内提高氢化钠用量,mPEG-PA综合收率呈一定的升高趋势,但当用量增加至150eq时,由于反应液粘度增大,导致mPEG-PA综合收率稍降低。对比实施例7和9可

知叔丁醇钾的反应效果优于甲醇钠。

[0081] 对比实施例6和7,可知叔丁醇钾作碱时,选择甲苯作溶剂可提高mPEG-OH转化率。同时,对比实施例15和16,可知氢化钠作碱时,选择四氢呋喃作溶剂,可提高mPEG-OH转化率。

[0082] 对比实施例1、2、5,以及实施例7和8,适当提高 β -卤代酯用量在一定程度上可提高单甲氧基聚乙二醇丙酸的收率,有利于反应开展,但 β -卤代酸酯超过10eq后,继续增大用量,转化率未有提高,因此, β -卤代酸酯用量优选10eq左右。对比实施例10~13,单甲氧基聚乙二醇丙酸的转化率在一定范围随mPEG-OH反应浓度的增加而提高,本发明反应浓度优选75mg/ml~150mg/ml。

[0083] 本发明实施例1~16适当降低NHS、DCC的用量,优选1.1~1.5eq,选择二氯甲烷作反应溶剂,反应浓度优选100mg/ml左右,单甲氧基聚乙二醇丙酸反应完全,产品纯度较高。图7-12中目标产物的纯度分别为97.48%、97.12%、98.95%、98.69%、99.27%、99.91%。

[0084] 实施例17:放大工艺制备单甲氧基聚乙二醇(5000Da)丙酸及其活性衍生物

[0085] 向干燥洁净的1L双层玻璃反应釜中加入63.00g单甲氧基聚乙二醇(5000Da)和600mL无水甲苯,接分水器和冷凝管,氮气保护下搅拌溶解并逐渐升至回流,继续搅拌2h,冷却至室温,旋蒸除去剩余甲苯,真空干燥12h。

[0086] 向干燥洁净的1L双层玻璃反应釜中加入48.00g氢化钠(60%重量在煤油中,1.2mol),氮气保护下,加入300mL无水四氢呋喃,搅拌均匀,逐滴滴加上步骤所得的60.00g单甲氧基聚乙二醇(5000Da,12mmol)的300mL四氢呋喃溶液,滴毕,继续搅拌8h,逐滴滴加15.4mL 3-溴丙酸乙酯(0.12mol),室温下搅拌。TLC监测反应终止后,体系中过量氢化钠先后经无水乙醇和饱和氯化铵水溶液猝灭,浓缩反应液,加入二氯甲烷萃取残渣(300mL*3),合并有机相,干燥,浓缩,重结晶,收集固体,干燥至恒重得单甲氧基聚乙二醇(5000Da)丙酸乙酯。

[0087] 向干燥洁净的1L三口瓶中加入上步骤所得单甲氧基聚乙二醇丙酸乙酯后,加入500mL 1mol/L氢氧化钠水溶液,搅拌至完全溶解,在50℃下反应12h,冷却至室温,加入氯化钠使得反应液近饱和状态,冰盐浴下用2mol/L盐酸酸化至pH=3,经二氯甲烷萃取(300mL*3),合并有机相,干燥,浓缩,重结晶,收集固体,干燥至恒重后得单甲氧基聚乙二醇(5000Da)丙酸粗品。

[0088] 将上步所得粗产品经阴离子交换柱纯化,将目标组分收集液浓缩400mL,加入氯化钠使得反应液近饱和状态,经2mol/L盐酸酸化至pH=3,二氯甲烷萃取(200mL*3),合并有机相,干燥,浓缩,重结晶,收集固体,干燥至恒重得单甲氧基聚乙二醇(5000Da)丙酸48.18g,综合收率80.3%,样品纯度为98.11%。

[0089] 向干燥洁净的1L单口瓶中加入上步骤所得单甲氧基聚乙二醇(5000Da,9.64mmol)丙酸和1.66g N-羟基丁二酰亚胺(NHS,14.45mmol),氮气保护下,加入400mL无水二氯甲烷,搅拌至溶解,再加入2.98g二环己基碳二亚胺(DCC,14.45mmol)的50mL二氯甲烷溶液,室温下反应24h后,过滤除去不溶物,浓缩,重结晶,得白色粉末单甲氧基聚乙二醇(5000Da)丙酸琥珀酰亚胺酯41.77g,收率86.7%,样品纯度为98.04%。

[0090] 本发明实施例17采用放大工艺合成单甲氧基聚乙二醇(5000Da)丙酸及其活性衍生物,工艺安全可控,产品收率及纯度较高,可用于修饰剂单甲氧基聚乙二醇(5000Da)丙酸

琥珀酰亚胺酯的批量制备。

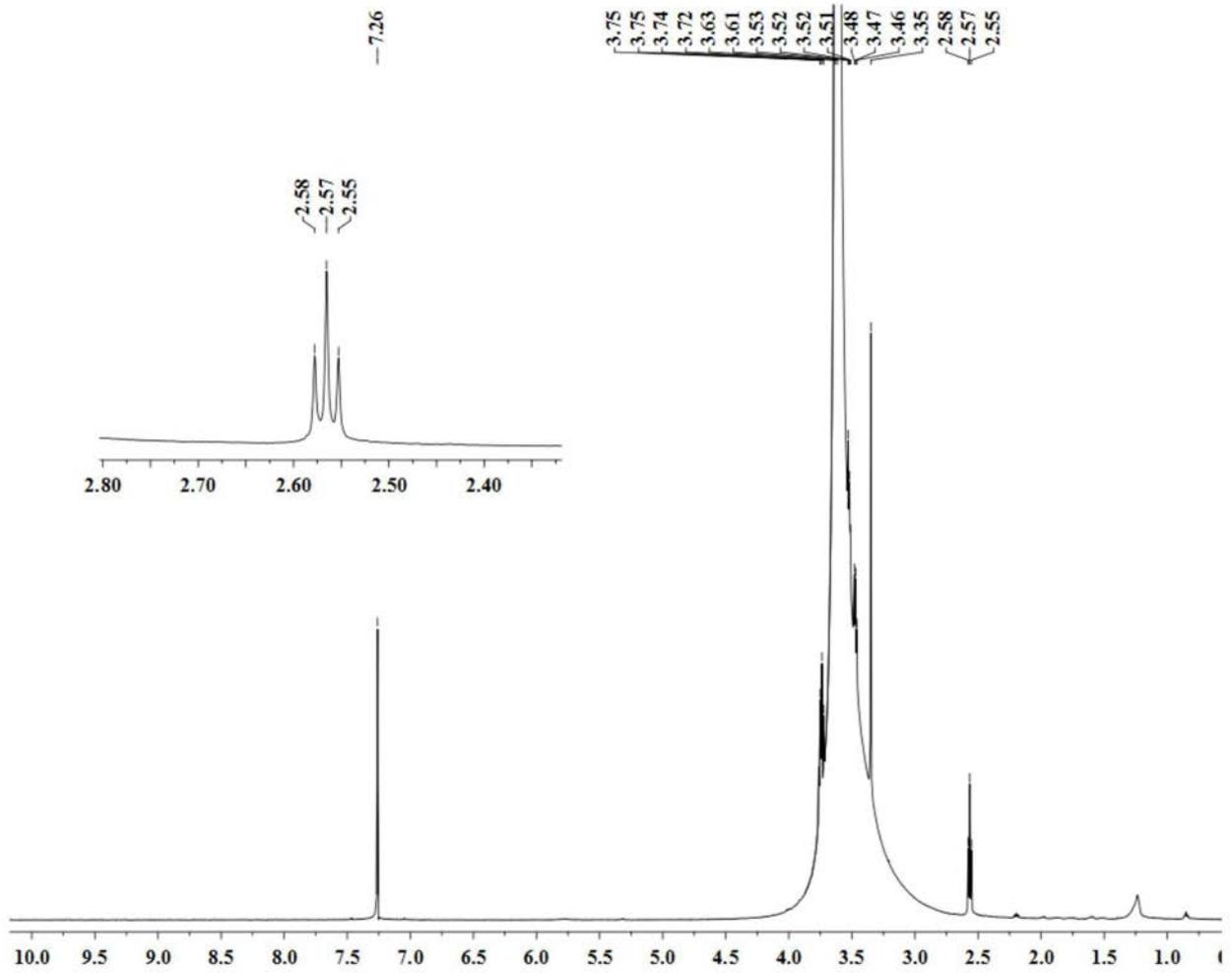


图1

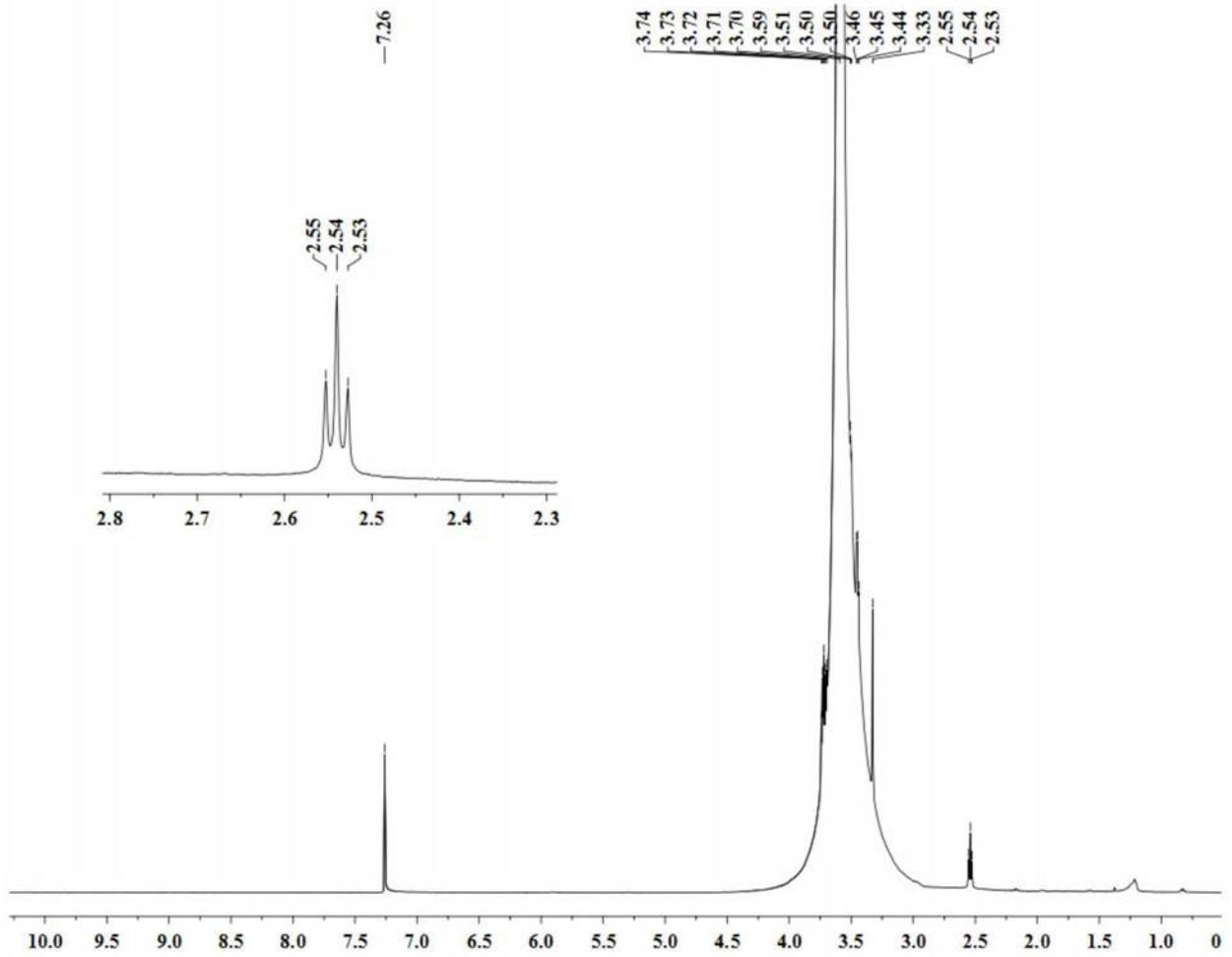


图2

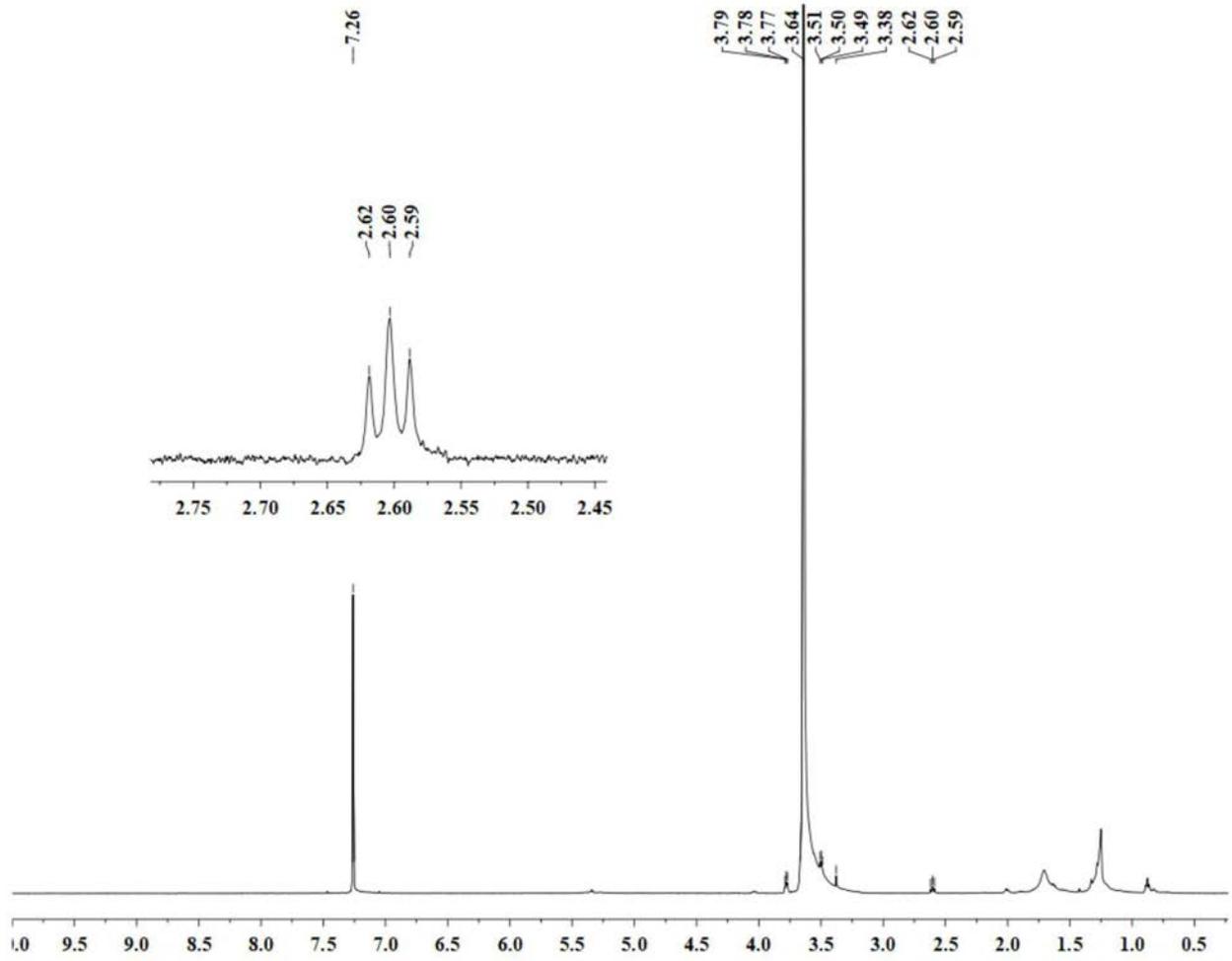


图3

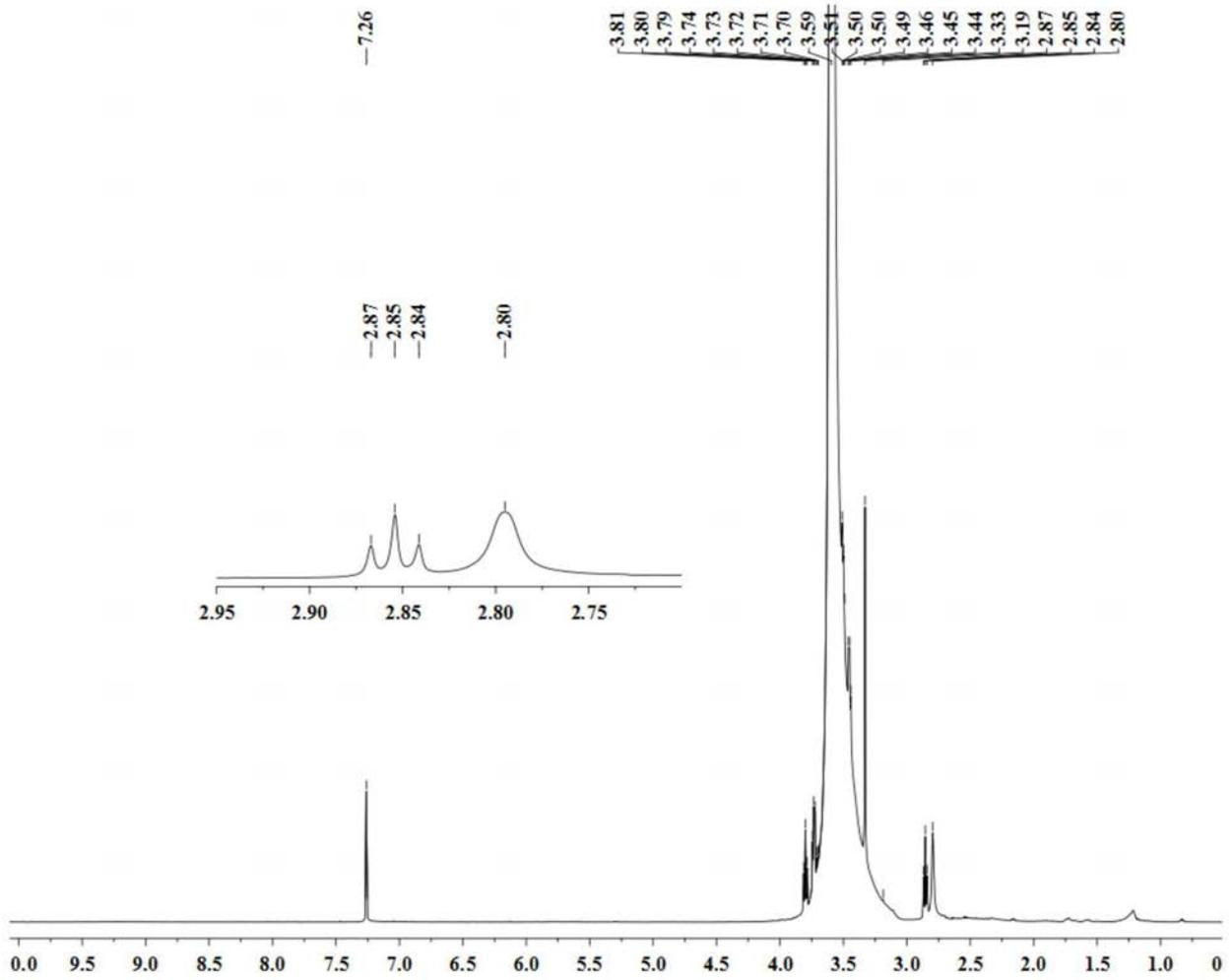


图4

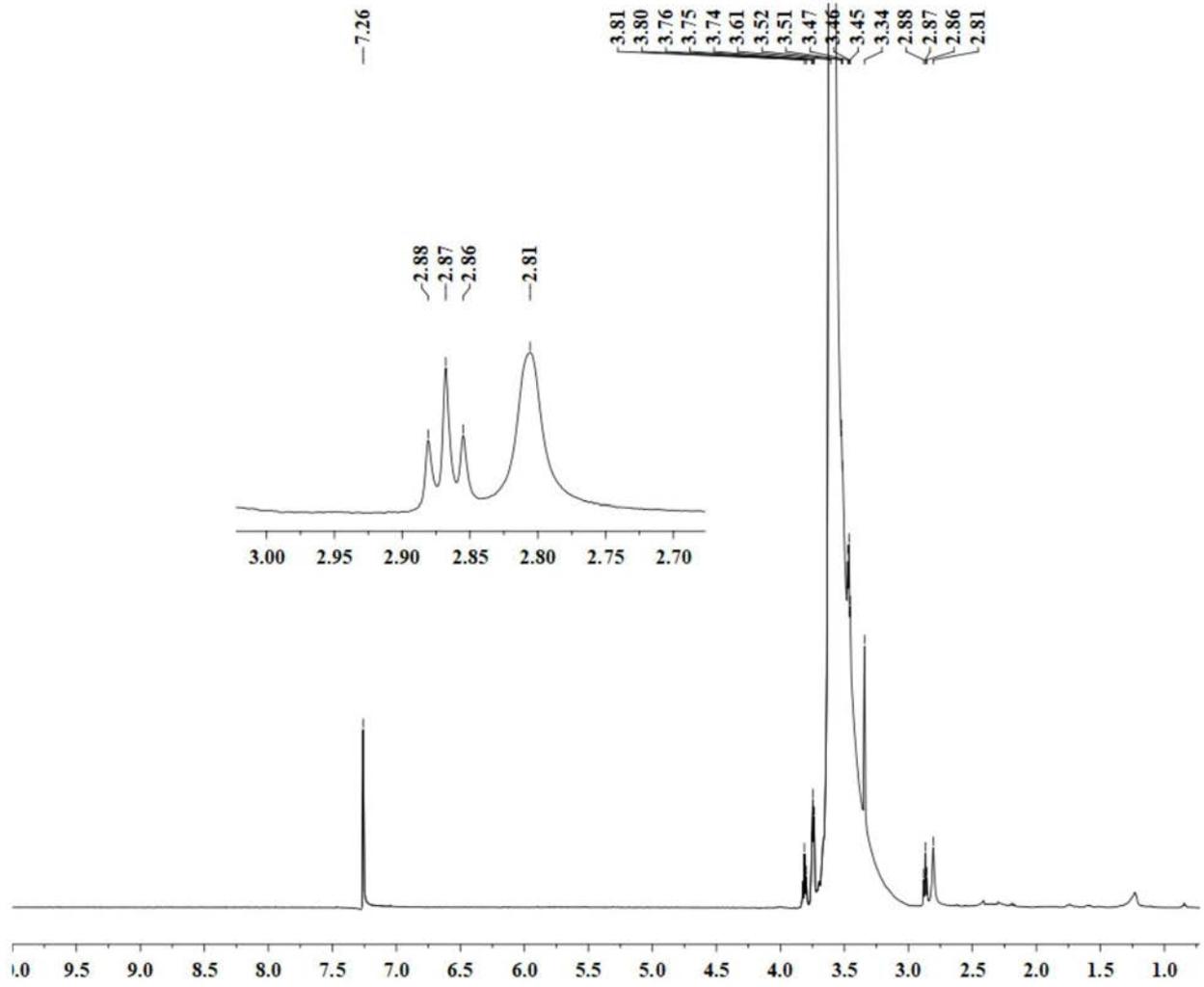


图5

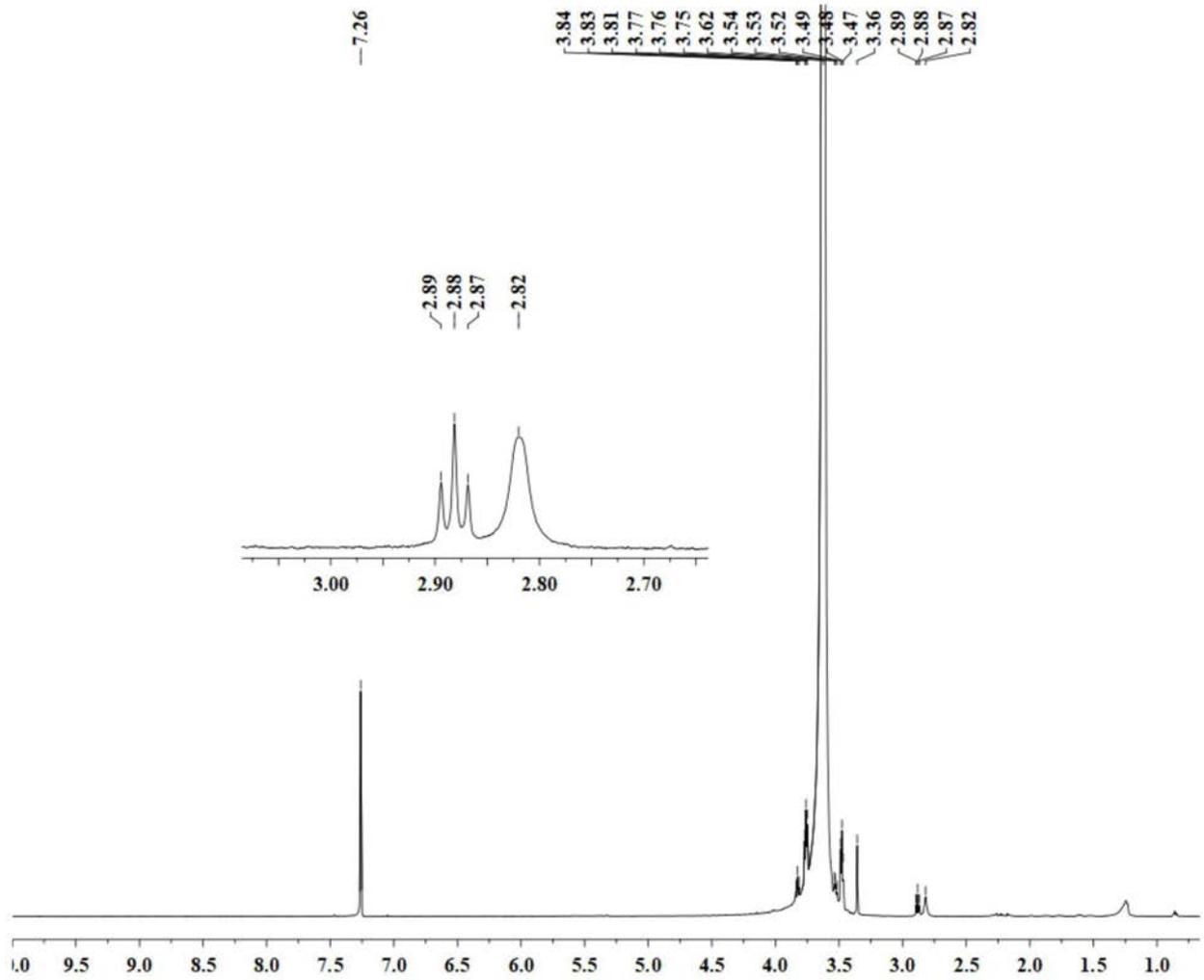


图6

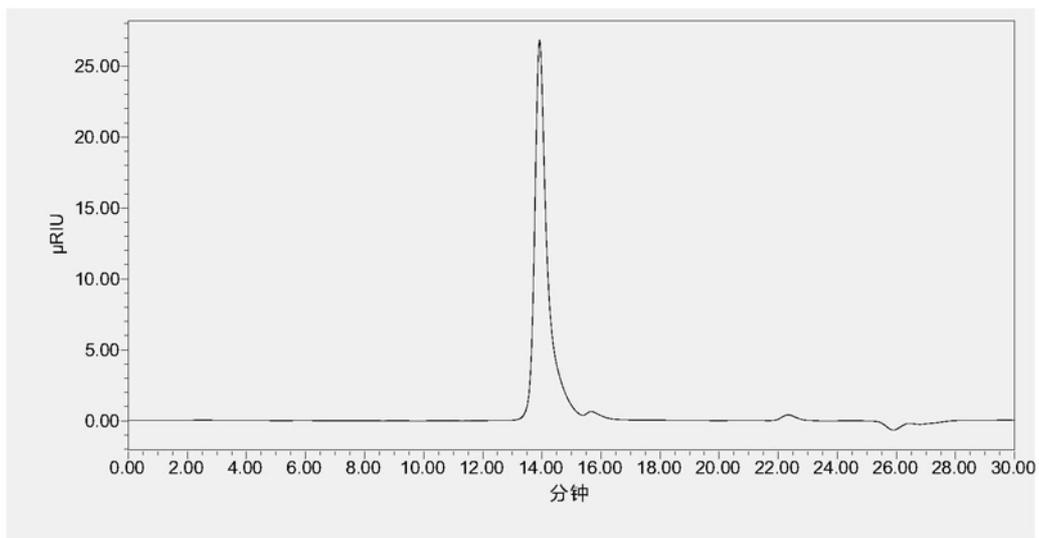


图7

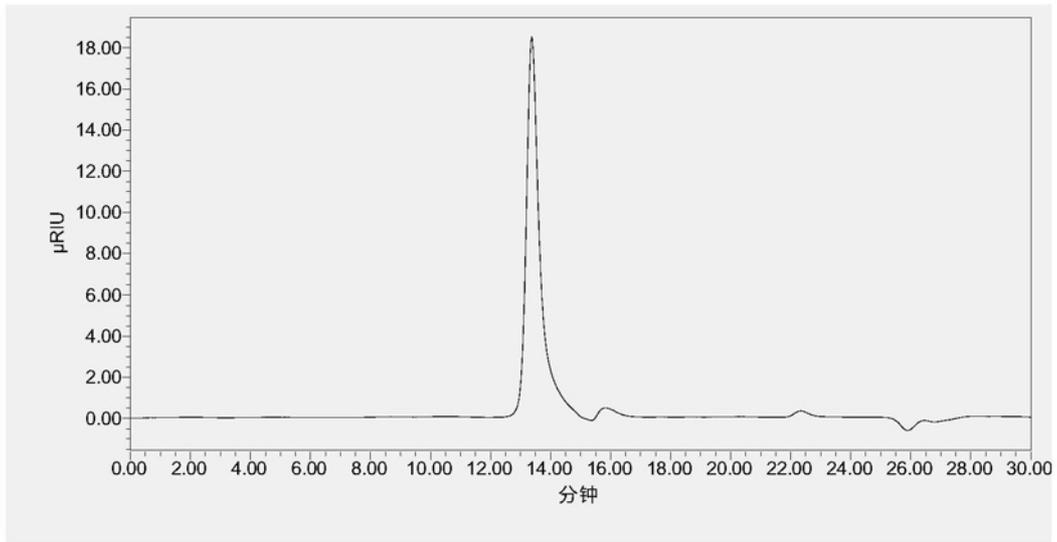


图8

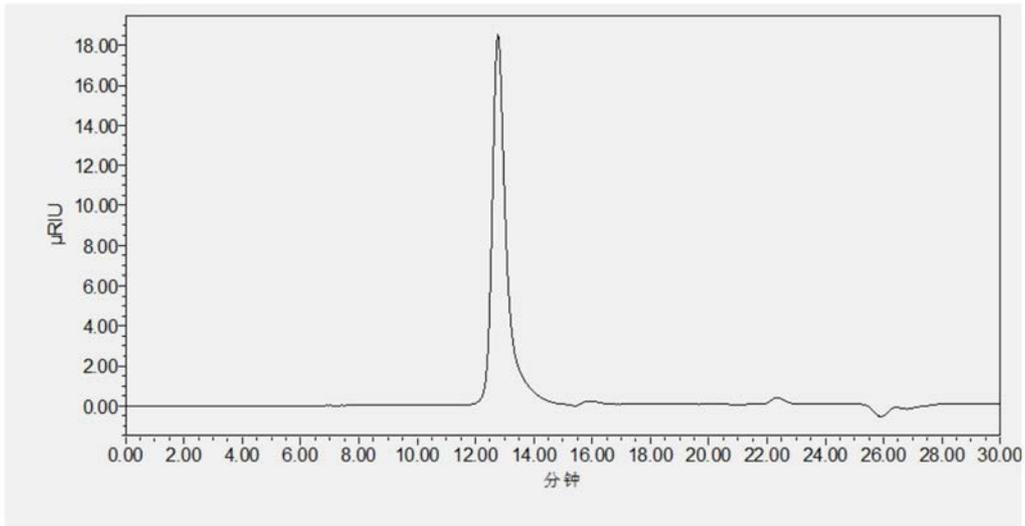


图9

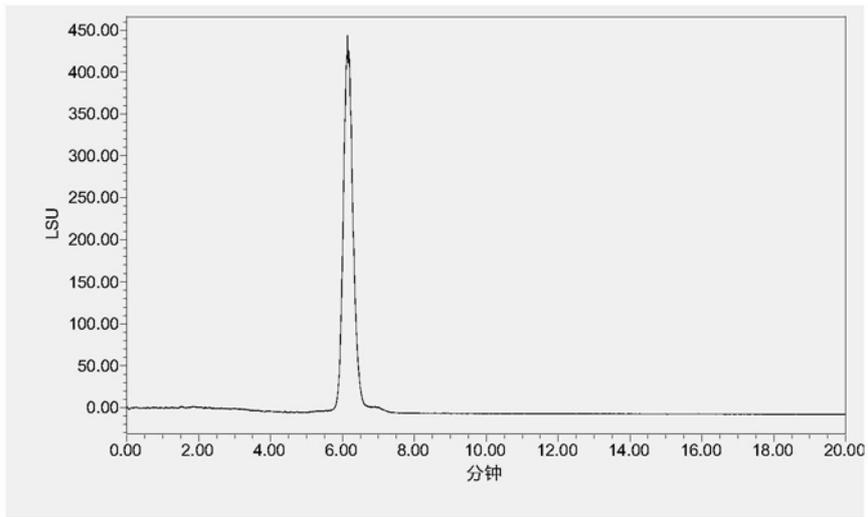


图10

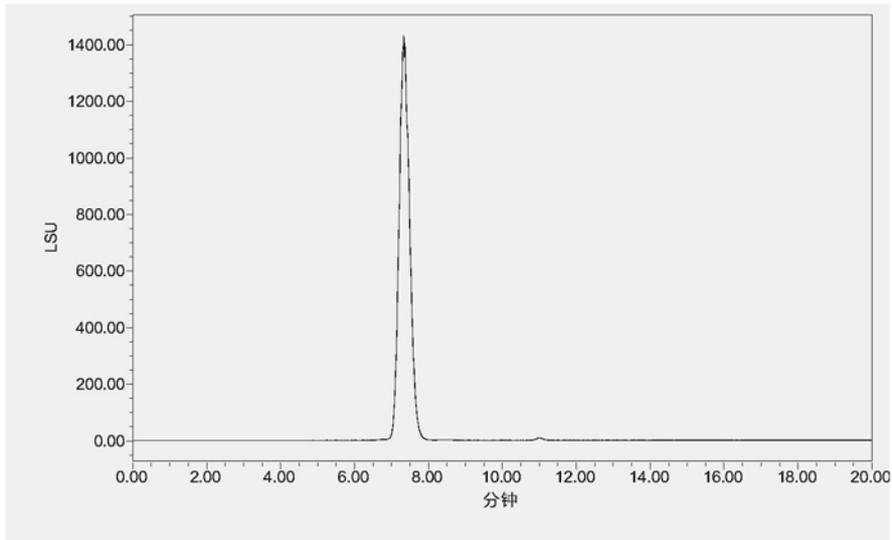


图11

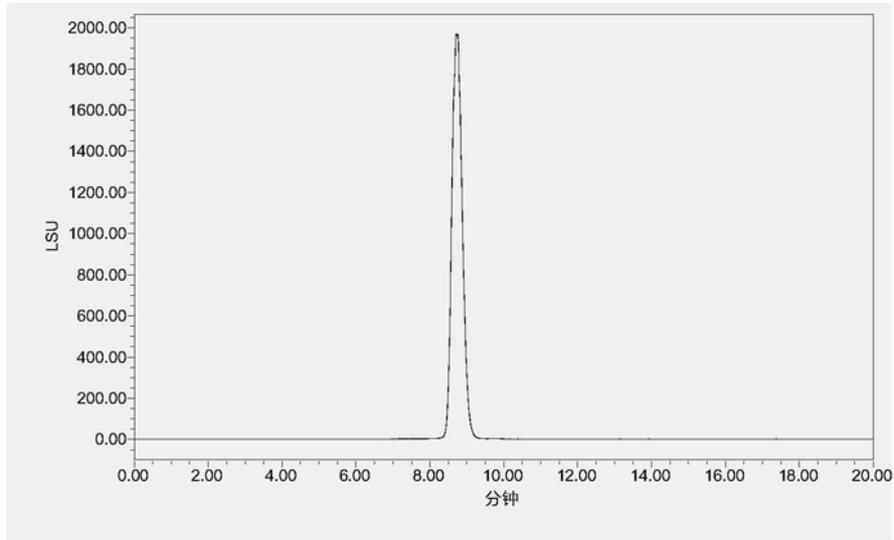


图12