



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101903439 A

(43) 申请公布日 2010.12.01

(21) 申请号 200880121726.3

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2008.11.12

C08G 65/334 (2006.01)

(30) 优先权数据

61/002,853 2007.11.12 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010.06.18

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2008/012782 2008.11.12

(87) PCT申请的公布数据

W02009/064459 EN 2009.05.22

(71) 申请人 因特拉迪格姆公司

地址 美国加利福尼亚

(72) 发明人 D·E·莱维 S·扎里普斯基

S·M·夏莫

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 张钦

权利要求书 3 页 说明书 22 页

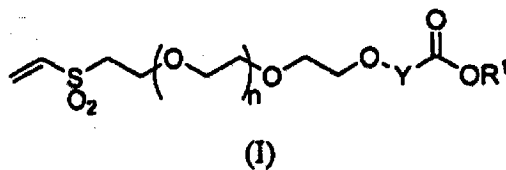
(54) 发明名称

杂双官能的聚乙二醇试剂

(57) 摘要

本发明涉及杂双官能的聚乙二醇试剂,生产它们的方法及其使用方法。

1. 一种含式 (I) 的化合物的试剂：



其中

Y 选自 C₁-C₆ 亚烷基、C₂-C₆ 亚烯基和 C₂-C₆ 亚炔基，其中 Y 被一个或多个取代基 R² 任选取代；

R² 独立地选自支链或直链 C₁-C₆ 烷基，支链或直链 C₂-C₆ 烯基，支链或直链 C₂-C₆ 炔基，羟基，C₁-C₆ 烷氧基，CO₂H，CO₂(C₁-C₆ 烷基)，CONH₂，CONH(C₁-C₆ 烷基)，CON(C₁-C₆ 烷基)₂，硝基，氰基和卤素，其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代；

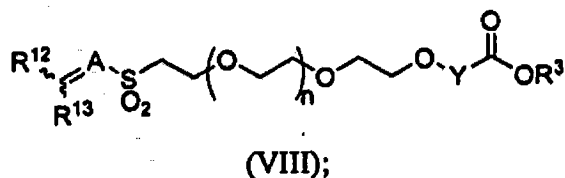
R¹ 是 C₆-C₁₄ 芳基，或含选自 N、N(R⁷)、O、S 和 S(O)_m 中的一个或多个杂原子的 C₅-C₁₄ 杂芳基，其中 m 为 1 或 2，和其中 R¹ 被一个或多个取代基 R⁸ 任选取代；

R⁷ 选自 H，支链或直链 C₁-C₆ 烷基，支链或直链 C₂-C₆ 烯基，支链或直链 C₂-C₆ 炔基，其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代；

R⁸ 独立地选自支链或直链 C₁-C₆ 烷基，支链或直链 C₂-C₆ 烯基，支链或直链 C₂-C₆ 炔基，羟基，NH₂，NH(C₁-C₆ 烷基)，N(C₁-C₆ 烷基)₂，C₁-C₆ 烷氧基，CO₂H，CO₂(C₁-C₆ 烷基)，CONH₂，CONH(C₁-C₆ 烷基)，CON(C₁-C₆ 烷基)₂，硝基，氰基和卤素，其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代；和

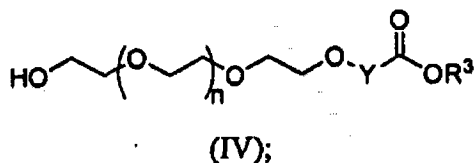
n 是整数 1-1500。

2. 权利要求 1 的试剂，其中 n 是整数 5-1000。
3. 权利要求 2 的试剂，其中 n 是整数 20-500。
4. 权利要求 3 的试剂，其中 n 是整数 50-250。
5. 权利要求 1 的试剂，其中 Y 是亚甲基。
6. 权利要求 1 的试剂，其中 R¹ 选自苯基、吡啶基、嘧啶基和萘基。
7. 权利要求 1 的试剂，其中 R¹ 是苯基。
8. 权利要求 1 的试剂，其中 R¹ 是苯基和 R⁸ 是硝基。
9. 生产式 (VIII) 的化合物的方法，

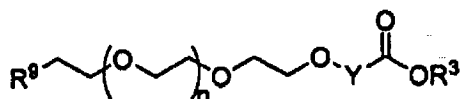


该方法包括下述步骤：

(a) 使式 (IV) 的化合物

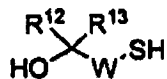


与活化基反应，形成式 (IVa) 的化合物：



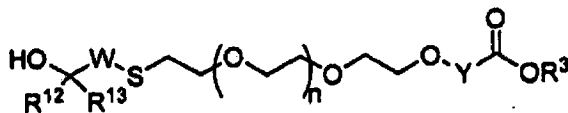
(IVa);

(b) 使式 (IVa) 的化合物与式 (V) 的化合物反应:



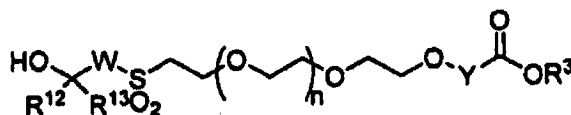
(V);

形成式 (VI) 的化合物:



(VI);

(c) 氧化式 (VI) 的化合物, 形成式 (VII) 的化合物:



(VII);

和 (d) 使式 (VII) 的化合物脱水, 形成式 (VIII) 的化合物:

其中 W 是 C₁-C₆ 亚烷基, 其被一个或多个取代基 R¹¹ 任选取代;

A 是 C₁-C₆ 偏亚烷基, 其被一个或多个取代基 R¹¹ 任选取代;

R¹¹ 独立地选自 H、支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基、支链或直链 C₂-C₆ 炔基、羟基、C₁-C₆ 烷氧基、CO₂H、CO₂(C₁-C₆ 烷基)、CONH₂、CONH(C₁-C₆ 烷基)、CON(C₁-C₆ 烷基)₂、硝基、氰基和卤素, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

Y 选自 C₁-C₆ 亚烷基、C₂-C₆ 亚烯基和 C₂-C₆ 亚炔基, 其中 Y 被一个或多个取代基 R² 任选取代;

R² 独立地选自支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基、支链或直链 C₂-C₆ 炔基、羟基、C₁-C₆ 烷氧基、CO₂H、CO₂(C₁-C₆ 烷基)、CONH₂、CONH(C₁-C₆ 烷基)、CON(C₁-C₆ 烷基)₂、硝基、氰基和卤素, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

R³ 是 H、支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基、支链或直链 C₂-C₆ 炔基、C₆-C₁₄ 芳基, 或含选自 N、N(R⁷)、O、S 和 S(O)_m 中的一个或多个杂原子的 C₅-C₁₄ 杂芳基, 其中 m 为 1 或 2, 和其中 R³ 被一个或多个取代基 R⁸ 任选取代;

R⁷ 选自 H、支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基、支链或直链 C₂-C₆ 炔基, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

R⁸ 独立地选自支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基、支链或直链 C₂-C₆ 炔基、羟基、NH₂、NH(C₁-C₆ 烷基)、N(C₁-C₆ 烷基)₂、C₁-C₆ 烷氧基、CO₂H、CO₂(C₁-C₆ 烷基)、CONH₂、CONH(C₁-C₆ 烷基)、CON(C₁-C₆ 烷基)₂、硝基、氰基和卤素, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

R⁹ 选自 CH₃S(O)₂-O-、CF₃S(O)₂-O-、CH₃(C₆H₄)S(O)₂-O-、Cl、Br 和 I;

R¹² 选自 H、支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基、支链或直链 C₂-C₆ 炔基、羟基,

C₁-C₆ 烷氧基, CO₂H, CO₂(C₁-C₆ 烷基), CONH₂, CONH(C₁-C₆ 烷基), CON(C₁-C₆ 烷基)₂, 硝基, 氰基和卤素, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

R¹³ 选自 H, 支链或直链 C₁-C₆ 烷基, 支链或直链 C₂-C₆ 烯基, 支链或直链 C₂-C₆ 炔基, 羟基, C₁-C₆ 烷氧基, CO₂H, CO₂(C₁-C₆ 烷基), CONH₂, CONH(C₁-C₆ 烷基), CON(C₁-C₆ 烷基)₂, 硝基, 氰基和卤素, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

和 n 是整数 1-1500。

10. 权利要求 9 的方法, 其中 W 是亚甲基。
11. 权利要求 9 的方法, 其中 A 是偏亚甲基。
12. 权利要求 9 的方法, 其中活化步骤 (a) 包括使式 (IV) 的化合物与甲磺酰氯和碱反应。
13. 权利要求 9 的方法, 其中氧化剂包括过氧化氢。
14. 权利要求 9 的方法, 其中脱水步骤 (d) 包括使式 (VII) 的化合物与亚硫酸氯和碱反应。
15. 权利要求 9 的方法, 其中脱水步骤 (d) 包括使式 (VII) 的化合物与甲磺酰氯和碱反应。
16. 权利要求 9 的方法, 其中 n 是整数 5-1000。
17. 权利要求 16 的方法, 其中 n 是整数 20-500。
18. 权利要求 17 的方法, 其中 n 是整数 50-250。
19. 权利要求 9 的方法, 其中 R³ 是 H。
20. 权利要求 9 的方法, 其中 R³ 是甲基。
21. 权利要求 9 的方法, 其中 R³ 选自苯基、吡啶基、嘧啶基和萘基。
22. 权利要求 21 的方法, 其中 R³ 是苯基。
23. 权利要求 22 的方法, 其中 R³ 是苯基和 R⁸ 是硝基。

杂双官能的聚乙二醇试剂

[0001] 相关申请的交叉参考

[0002] 本申请要求 2007 年 11 月 12 日提交的美国申请 No. 61/002853 的权益,在此通过参考引入。

发明领域

[0003] 本发明涉及杂双官能的聚乙二醇试剂,其生产方法及其使用方法。

[0004] 发明背景

[0005] 聚乙二醇 (PEG) 是一种惰性、无毒的水溶性聚合物。这些和其他所需性能的结果是,发现 PEG 的衍生物在各种药物、生物医疗和生物技术应用中作为试剂。

[0006] 然而,未改性的 PEG 本身不可用作试剂,因为它对端羟基的反应性有限。因此,为了制备有用的 PEG 试剂,必须改性端羟基之一,使之成为更具有反应性的基团。根据现有技术的方法,通过首先以烷基醚或其他非反应性官能团形式封端其他端羟基,然后将未封端的端羟基转化成亲电中心,例如活化的羧酸酯,从而将新的官能团施加到端羟基之一上。或者,施加官能团到一个端羟基上,并分离单官能化 PEG 与未改性 PEG、单官能化 PEG 和双官能化 PEG 的混合物 (Morpurgo 等人, *Bioconjugate Chem.*, 7, 363-368, (1996); Zalipsky 等人, *J. Bioactive and Compatible Polymers*, 5, 227-231, (1990); Snow 等人, 美国专利 No. 5, 414, 135; Shadle 等人, 美国专利 No. 4, 847, 325)。

[0007] 双官能 PEG 试剂在 PEG 分子的两个末端上含有反应性基团。这些双官能试剂在 PEG 的两个末端上可含有相同的反应性基团 (即均双官能 PEG 试剂) 或不同基团 (即杂双官能 PEG 试剂)。相对于均双官能 PEG 试剂,杂双官能 PEG 试剂提供的优点在于,杂双官能 PEG 试剂的每一官能团可与每一端基上的不同分子形成共价连接。在这一反应中,两个单独的分子通过 PEG 聚合物连接。然而,尤其当在 PEG 分子的每一末端上希望不同官能团 (即杂双官能试剂) 时,合成双官能试剂变得复杂。

[0008] 因此,仍急需开发新的杂双官能 PEG 试剂和生产这种试剂的方法。

[0009] 发明概述

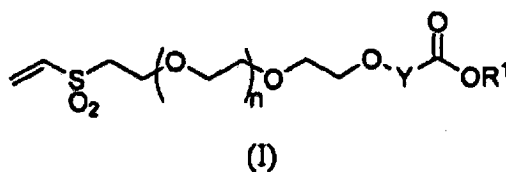
[0010] 本发明提供一组新型的杂双官能 PEG 试剂。本发明的杂双官能 PEG 试剂相对于现有技术具有以上提及的和其他优点。本发明的这些试剂包括新的和有用的官能团的结合且可与一种或多种合适的目标分子反应。当发生这种反应时,PEG 共价连接到一个或多个目标分子上。

[0011] 本发明的杂双官能 PEG 试剂提供可具有不同相对反应性的两个官能团。在一些实施方案中,一个官能团可比另一官能团更具有反应性。在其他实施方案中,一个官能团可对特定的目标分子是优选的或者甚至具有选择性。在其他实施方案中,一个官能团可与目标在一定反应条件下选择形成共价键。

[0012] 官能团之间反应性的差别有助于连接到两个不同的分子上,因为甚至在第二官能团存在下,第一官能团可与第一目标分子反应并形成共价键。随后,具有不同相对反应性的第二官能团然后可与第二目标分子反应并形成共价键。

[0013] 在一个方面中,本发明提供含下式 (I) 的化合物的试剂:

[0014]



[0015] 其中 Y 选自 C₁-C₆ 亚烷基、C₂-C₆ 亚烯基和 C₂-C₆ 亚炔基,其中 Y 被一个或多个取代基 R² 任选取代;R² 独立地选自支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基,支链或直链 C₂-C₆ 炔基,羟基, C₁-C₆ 烷氧基, CO₂H, CO₂(C₁-C₆ 烷基), CONH₂, CONH(C₁-C₆ 烷基), CON(C₁-C₆ 烷基)₂, 硝基, 氰基和卤素,其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0016] R¹ 是 C₆-C₁₄ 芳基,或含选自 N、N(R⁷)、O、S 和 S(O)_m 中的一个或多个杂原子的 C₅-C₁₄ 杂芳基,其中 m 为 1 或 2,和其中 R¹ 被一个或多个取代基 R⁸ 任选取代;

[0017] R⁷ 选自 H、支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基,支链或直链 C₂-C₆ 炔基,其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

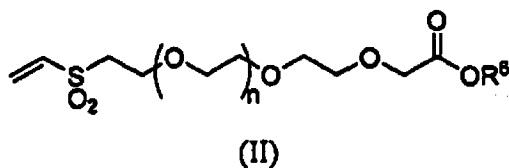
[0018] R⁸ 独立地选自支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基,支链或直链 C₂-C₆ 炔基,羟基, NH₂, NH(C₁-C₆ 烷基), N(C₁-C₆ 烷基)₂, C₁-C₆ 烷氧基, CO₂H, CO₂(C₁-C₆ 烷基), CONH₂, CONH(C₁-C₆ 烷基), CON(C₁-C₆ 烷基)₂, 硝基, 氰基和卤素,其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;和

[0019] n 是整数 1-1500。

[0020] 在化合物 (I) 的一些实施方案中, n 优选是整数 50-250。在化合物 (I) 的一些实施方案中, R¹ 优选是苯基、吡啶基、噻啶基或萘基,其中该环被一个或多个取代基 R⁸ 任选取代。在化合物 (I) 的一些实施方案中, R¹ 优选是苯基和 R⁸ 是硝基。

[0021] 在另一方面中,本发明提供含下式 (II) 的化合物的试剂:

[0022]



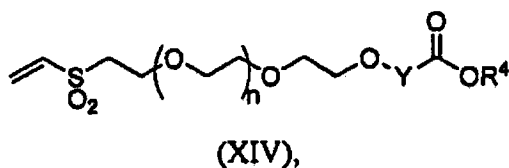
[0023] 其中 R⁶ 是 H,支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基,支链或直链 C₂-C₆ 炔基,和

[0024] n 是整数 1-1500。

[0025] 在化合物 (II) 的一些实施方案中, n 优选是整数 50-250。在一些实施方案中, R⁶ 优选是 H 或甲基。

[0026] 在另一方面中,本发明提供生产式 (XIV) 的杂双官能 PEG 化合物的方法:

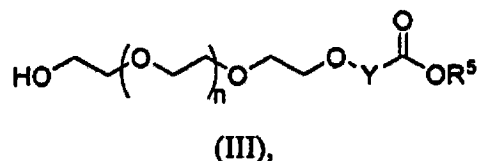
[0027]



[0028] 该方法包括下述步骤：

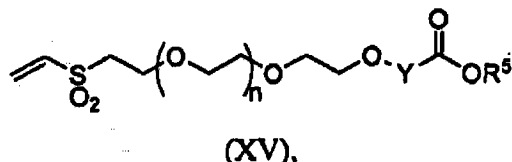
[0029] (a) 使式 (III) 的化合物与二乙烯基砜反应，

[0030]



[0031] 形成式 (XV) 的化合物：

[0032]



[0033] 和 (b) 在酯偶联剂存在下，使式 (XV) 的化合物与 HO-R⁴ 反应，形成式 (XIV) 的化合物，

[0034] 其中：

[0035] Y 选自 C₁-C₆ 亚烷基、C₂-C₆ 亚烯基和 C₂-C₆ 亚炔基，其中 Y 被一个或多个取代基 R² 任选取代；R² 独立地选自支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基，支链或直链 C₂-C₆ 炔基，羟基，C₁-C₆ 烷氧基，CO₂H，CO₂(C₁-C₆ 烷基)，CONH₂，CONH(C₁-C₆ 烷基)，CON(C₁-C₆ 烷基)₂，硝基，氰基和卤素，其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代；

[0036] R⁵ 是 H；

[0037] R⁴ 是 C₆-C₁₄ 芳基，或含选自 N、N(R⁷)、O、S 和 S(O)_m 中的一个或多个杂原子的 C₅-C₁₄ 杂芳基，其中 m 为 1 或 2，和其中 R⁴ 被一个或多个取代基 R⁸ 任选取代；

[0038] R⁷ 选自 H、支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基，支链或直链 C₂-C₆ 炔基，其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代；

[0039] R⁸ 选自支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基，支链或直链 C₂-C₆ 炔基，羟基，NH₂，NH(C₁-C₆ 烷基)，N(C₁-C₆ 烷基)₂，C₁-C₆ 烷氧基，CO₂H，CO₂(C₁-C₆ 烷基)，CONH₂，CONH(C₁-C₆ 烷基)，CON(C₁-C₆ 烷基)₂，硝基，氰基和卤素，其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代；和

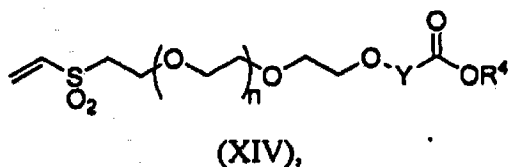
[0040] n 是整数 1-1500。

[0041] 在一些实施方案中，HO-R⁴ 是对硝基苯酚，和 n 是整数 50-250。

[0042] 上述方法有利地提供甚至在游离酸存在下，使二乙烯基砜与化合物 (III) 反应的有效方法。

[0043] 在另一方面中，本发明提供生产式 (XIV) 的杂双官能 PEG 化合物的方法：

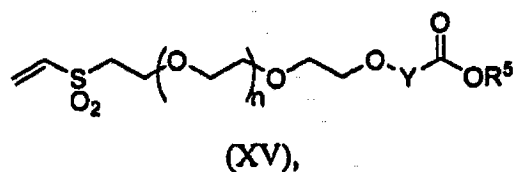
[0044]



[0045] 该方法包括下述步骤：

[0046] (a) 在酯偶联剂存在下,使式 (XV) 的化合物

[0047]



[0048] 与 R^{14} - R^4 反应,形成式 (XIV) 的化合物,

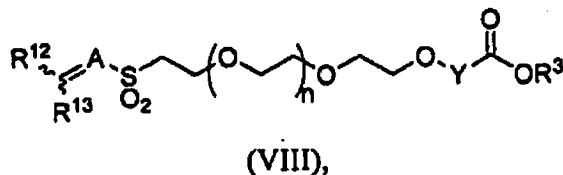
[0049] 其中 Y、 R^2 、 R^5 、 R^4 和 n 如上所定义,和

[0050] R^{14} 选自 HO-、 $CF_3C(O)-O-$ 、 $CH_3S(O)_2-O-$ 、 $CF_3S(O)_2-O-$ 、 $CH_3(C_6H_4)S(O)_2-O-$ 、Cl、Br 和 I。

[0051] 在一些实施方案中, R^{14} 是 $CF_3C(O)-O-$, R^4 是苯基和 R^8 是硝基。

[0052] 在另一方面中,本发明提供生产式 (VIII) 的化合物的方法:

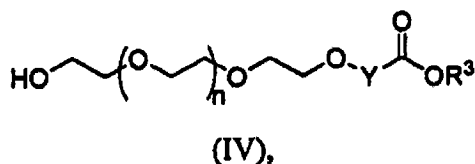
[0053]



[0054] 该方法包括下述步骤:

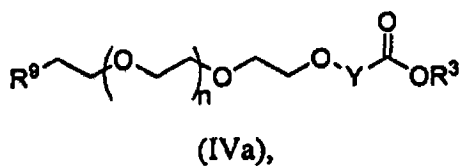
[0055] (a) 使式 (IV) 的化合物

[0056]



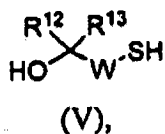
[0057] 与活化基反应,形成式 (IVa) 的化合物:

[0058]



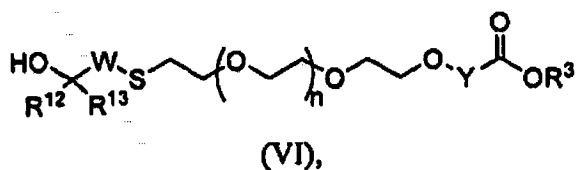
[0059] (b) 使式 (IVa) 的化合物与式 (V) 的化合物反应:

[0060]



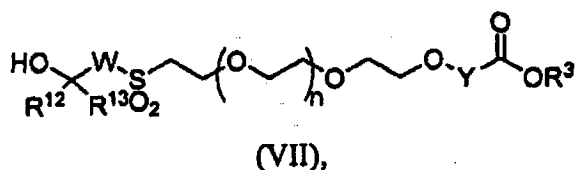
[0061] 形成式 (VI) 的化合物:

[0062]



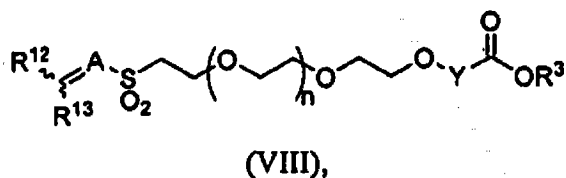
[0063] (c) 氧化式 (VI) 的化合物, 形成式 (VII) 的化合物:

[0064]



[0065] 和 (d) 使式 (VII) 的化合物脱水, 形成式 (VIII) 的化合物:

[0066]



[0067] 其中 W 是 C₁-C₆ 亚烷基, 其中 W 被一个或多个取代基 R¹¹ 任选取代;

[0068] A 是 C₁-C₆ 偏亚烷基 (alkanyl-ylidene), 其中 A 被一个或多个取代基 R¹¹ 任选取代;

[0069] R¹¹ 独立地选自 H、支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基, 支链或直链 C₂-C₆ 炔基, 羟基, C₁-C₆ 烷氧基, CO₂H, CO₂(C₁-C₆ 烷基), CONH₂, CONH(C₁-C₆ 烷基), CON(C₁-C₆ 烷基)₂, 硝基, 氰基和卤素, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0070] Y 选自 C₁-C₆ 亚烷基、C₂-C₆ 亚烯基和 C₂-C₆ 亚炔基, 其中 Y 被一个或多个取代基 R² 任选取代;

[0071] R² 独立地选自支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基, 支链或直链 C₂-C₆ 炔基, 羟基, C₁-C₆ 烷氧基, CO₂H, CO₂(C₁-C₆ 烷基), CONH₂, CONH(C₁-C₆ 烷基), CON(C₁-C₆ 烷基)₂, 硝基, 氰基和卤素, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0072] R³ 是 H、支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基, 支链或直链 C₂-C₆ 炔基, C₆-C₁₄ 芳基, 或含选自 N、N(R⁷)、O、S 和 S(O)_m 中的一个或多个杂原子的 C₅-C₁₄ 杂芳基, 其中 m 为 1 或 2, 条件是若 R³ 不是 H, 则 R³ 被一个或多个取代基 R⁸ 任选取代;

[0073] R⁷ 选自 H、支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基, 支链或直链 C₂-C₆ 炔基, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0074] R⁸ 选自支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基, 支链或直链 C₂-C₆ 炔基, 羟基, NH₂, NH(C₁-C₆ 烷基), N(C₁-C₆ 烷基)₂, C₁-C₆ 烷氧基, CO₂H, CO₂(C₁-C₆ 烷基), CONH₂, CONH(C₁-C₆ 烷基), CON(C₁-C₆ 烷基)₂, 硝基, 氰基和卤素, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0075] R⁹ 选自 CH₃S(O)₂-O-、CF₃S(O)₂-O-、CH₃(C₆H₄)S(O)₂-O-、Cl、Br 和 I;

[0076] R¹² 选自 H、支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基, 支链或直链 C₂-C₆ 炔基, 羟基, C₁-C₆ 烷氧基, CO₂H, CO₂(C₁-C₆ 烷基), CONH₂, CONH(C₁-C₆ 烷基), CON(C₁-C₆ 烷基)₂, 硝基, 氰基和卤素, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

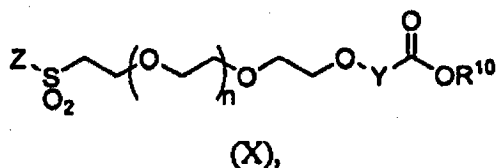
[0077] R¹³ 选自 H、支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基, 支链或直链 C₂-C₆ 炔基, 羟基, C₁-C₆ 烷氧基, CO₂H, CO₂(C₁-C₆ 烷基), CONH₂, CONH(C₁-C₆ 烷基), CON(C₁-C₆ 烷基)₂, 硝基, 氰基和卤素, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0078] 和 n 是整数 1-1500。

[0079] 上述方法有利地提供通过就地形成乙烯基砜,形成式 (IV) 的化合物的乙烯基砜加合物的有效方法。

[0080] 在进一步的方面中,本发明提供生产式 (X) 的化合物的方法:

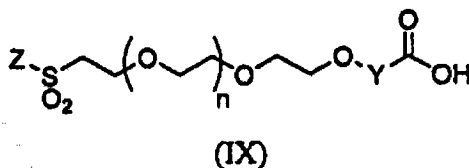
[0081]



[0082] 该方法包括下述步骤:

[0083] (a) 使式 (IX) 的化合物

[0084]



[0085] 与活化试剂反应,形成式 (X) 的化合物,

[0086] 其中:

[0087] 活化试剂包括 $\text{R}^{10}\text{-R}^{14}$,

[0088] R^{10} 是支链或直链 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、支链或直链 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 烯基,支链或直链 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 炔基, $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ 芳基,或含选自 N、 $\text{N}(\text{R}^7)$ 、O、S 和 $\text{S}(\text{O})_m$ 中的一个或多个杂原子的 $\text{C}_5\text{-C}_{14}$ 杂芳基,其中 m 为 1 或 2,其中 R^{10} 被一个或多个取代基 R^8 任选取代;

[0089] R^7 选自 H、支链或直链 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、支链或直链 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 烯基,支链或直链 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 炔基,其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0090] R^8 独立地选自支链或直链 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、支链或直链 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 烯基,支链或直链 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 炔基,羟基, NH_2 , $\text{NH}(\text{C}_1\text{-C}_6\text{ 烷基})$, $\text{N}(\text{C}_1\text{-C}_6\text{ 烷基})_2$, $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷氧基, CO_2H , $\text{CO}_2(\text{C}_1\text{-C}_6\text{ 烷基})$, CONH_2 , $\text{CONH}(\text{C}_1\text{-C}_6\text{ 烷基})$, $\text{CON}(\text{C}_1\text{-C}_6\text{ 烷基})_2$,硝基,氰基和卤素,其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0091] R^{14} 选自 HO- 、 $\text{CF}_3\text{C}(\text{O})\text{-O-}$ 、 $\text{CH}_3\text{S}(\text{O})_2\text{-O-}$ 、 $\text{CF}_3\text{S}(\text{O})_2\text{-O-}$ 、 $\text{CH}_3(\text{C}_6\text{H}_4)\text{S}(\text{O})_2\text{-O-}$ 、Cl、Br 和 I;

[0092] Z 选自 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{I}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OS}(\text{O})_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OS}(\text{O})_2\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OS}(\text{O})_2(\text{C}_6\text{H}_4)\text{CH}_3$ 和 $-\text{CH}=\text{CH}_2$;

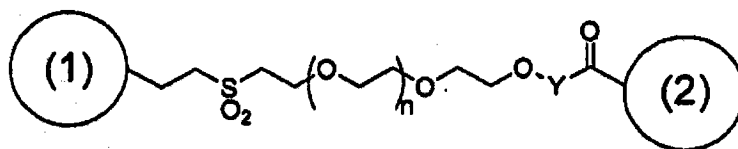
[0093] Y 选自 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 亚烷基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 亚烯基和 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 亚炔基,其中 Y 被一个或多个取代基 R^2 任选取代;

[0094] R^2 独立地选自支链或直链 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、支链或直链 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 烯基,支链或直链 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 炔基,羟基, $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷氧基, CO_2H , $\text{CO}_2(\text{C}_1\text{-C}_6\text{ 烷基})$, CONH_2 , $\text{CONH}(\text{C}_1\text{-C}_6\text{ 烷基})$, $\text{CON}(\text{C}_1\text{-C}_6\text{ 烷基})_2$,硝基,氰基和卤素,其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0095] 和 n 是整数 1-1500。

[0096] 在另一方面中,本发明提供使用杂双官能 PEG 形成式 (XVI) 的媒介物 (vector) 的方法:

[0097]



(XVI),

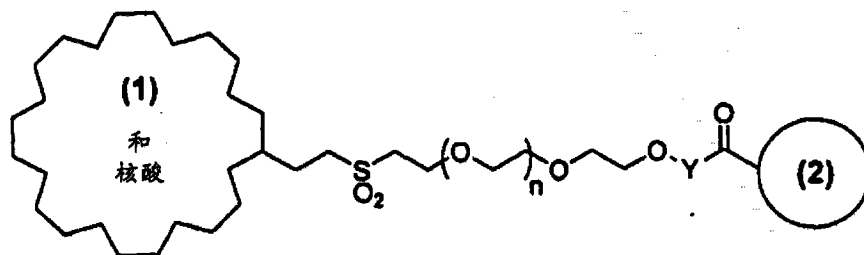
[0098] 该方法包括下述步骤:混合本发明的杂双官能 PEG 与 (1) 和 (2), 其中 (1) 和 (2) 可以是小分子、蛋白质、多肽、肽、抗体、聚核苷酸、低聚核苷酸、其他聚合物物质、多肽侧链或生物相关的靶向部分, 或其片段、二聚体、三聚体或低聚物。

[0099] 在一些实施方案中, 同时混合 (1) 和 (2) 与杂双官能的 PEG。在其他实施方案中, 按序混合 (1) 和 (2) 与杂双官能的 PEG。

[0100] 在一些实施方案中, (1) 是阳离子聚合物。在一些实施方案中, (2) 是靶向部分。在优选的实施方案中, (1) 是阳离子聚合物和 (2) 是靶向部分。

[0101] 在另一方面中, 本发明提供使用杂双官能 PEG 形成式 (XVII) 的靶向递送核酸的载体的方法:

[0102]



(XVII),

[0103] 该方法包括下述步骤:(a) 混合本发明的杂双官能的 PEG 与 (1) 和 (2), 和 (b) 与核酸混合, 其中 (1) 是阳离子聚合物和 (2) 是靶向部分。

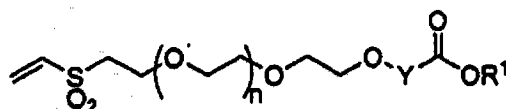
[0104] 在一些实施方案中, 同时混合 (1) 和 (2) 与杂双官能的 PEG。在其他实施方案中, 按序混合 (1) 和 (2) 与杂双官能的 PEG。

[0105] 发明详述

[0106] 为了可充分地理解此处描述的发明, 列出下述详细说明。本发明提供杂双官能的 PEG 试剂, 它含有末端乙烯基砜和酯官能团。这些杂双官能 PEG 可用于以上所述的各种用途。有利地, 乙烯基砜和酯官能团提供不同的反应性, 以便例如可在乙烯基砜端基处选择发生与阳离子聚合物的反应。

[0107] 在一个方面中, 本发明提供含式 (I) 的化合物的试剂:

[0108]



(I)

[0109] 其中 Y 选自 C₁-C₆ 亚烷基、C₂-C₆ 亚烯基和 C₂-C₆ 亚炔基, 其中 Y 被一个或多个取代基 R² 任选取代; R² 独立地选自支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基, 支链或直链 C₂-C₆ 炔基, 羟基, C₁-C₆ 烷氧基, CO₂H, CO₂(C₁-C₆ 烷基), CONH₂, CONH(C₁-C₆ 烷基), CON(C₁-C₆

烷基)₂, 硝基, 氰基和卤素, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0110] R¹ 是 C₆-C₁₄ 芳基, 或含选自 N、N(R⁷)、O、S 和 S(O)_m 中的一个或多个杂原子的 C₅-C₁₄ 杂芳基, 其中 m 为 1 或 2, 和其中 R¹ 被一个或多个取代基 R⁸ 任选取代;

[0111] R⁷ 选自 H、支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基, 支链或直链 C₂-C₆ 炔基, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0112] R⁸ 独立地选自支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基, 支链或直链 C₂-C₆ 炔基, 羟基, NH₂, NH(C₁-C₆ 烷基), N(C₁-C₆ 烷基)₂, C₁-C₆ 烷氧基, CO₂H, CO₂(C₁-C₆ 烷基), CONH₂, CONH(C₁-C₆ 烷基), CON(C₁-C₆ 烷基)₂, 硝基, 氰基和卤素, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代; 和

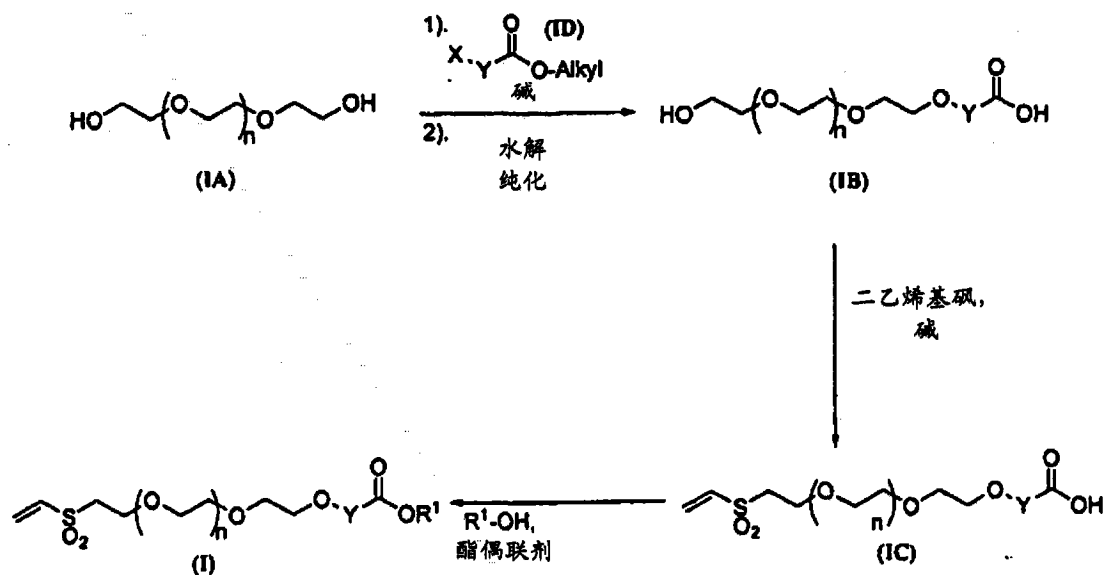
[0113] n 是整数 1-1500。

[0114] 在化合物 (I) 的一些实施方案中, n 优选是整数 5-1000。在一些实施方案中, n 优选是 20-500。在一些其他实施方案中, n 优选是 50-250。

[0115] 在化合物 (I) 的其他实施方案中, Y 优选是亚甲基。在一些实施方案中, R¹ 优选选自苯基、嘧啶基、吡啶基和萘基; 和 R¹ 被一个或多个取代基 R⁸ 任选取代。在一些实施方案中, R¹ 优选是被一个或多个取代基 R⁸ 任选取代的苯基。在一些实施方案中, R¹ 是苯基和 R⁸ 是硝基。

[0116] 可如下述流程图 I 所示, 由合适大小的未官能化或部分官能化的聚乙二醇 (PEG), 合成化合物 (I) 的 PEG 试剂及其前体。可根据文献中公知的方法, 进行特定的反应。

[0117]



[0118] 在流程图 I 中, 化合物 (IA) 与碱和化合物 (ID) 反应, 提供相应的 PEG 烷基酯。该烷基酯随后水解, 提供化合物 (IB)。尽管水解可产生未官能化、双官能化和单官能化的 PEG 的混合物, 但可通过纯化, 分离单官能化的 PEG (参见, 例如 Zalipsky 等人, *J. Bioactive and Compatible Polymers*, Vol. 5, 227-231, (1990))。

[0119] 然后, 在碱存在下, 使化合物 (IB) 与二乙烯基砜反应, 提供化合物 (IC)。接下来, 使化合物 (IC) 与 R¹-OH 和偶联剂反应, 提供化合物 (I)。

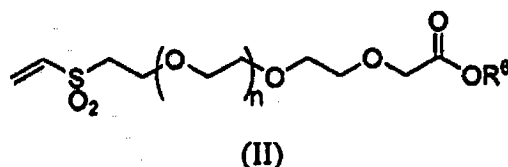
[0120] 或者, 两步制备化合物 (I)。首先, R¹-OH 与活化试剂反应, 然后与化合物 (IC) 反

应,形成化合物(I)。合适的活化试剂包括但不限于甲磺酰氯、甲苯磺酰氯、三氟乙酸酐和三氟乙酰氯。在一些实施方案中,活化试剂是甲磺酰氯。在一些实施方案中,活化试剂是甲苯磺酰氯。在一些实施方案中,活化试剂是三氟乙酸酐。在一些实施方案中,活化试剂是三氟乙酰氯。

[0121] 或者,化合物(II)与活化基反应,然后与巯基烷基醇反应。合适的活化基包括但不限于甲磺酰氯和甲苯磺酰氯。氧化所得硫醚并脱水,提供化合物(IC)。

[0122] 在另一方面中,本发明提供含式(II)的化合物的试剂:

[0123]



[0124] 其中 R^6 是 H、支链或直链 C_1-C_6 烷基、支链或直链 C_2-C_6 烯基,支链或直链 C_2-C_6 炔基,和

[0125] n 是整数 1-1500。

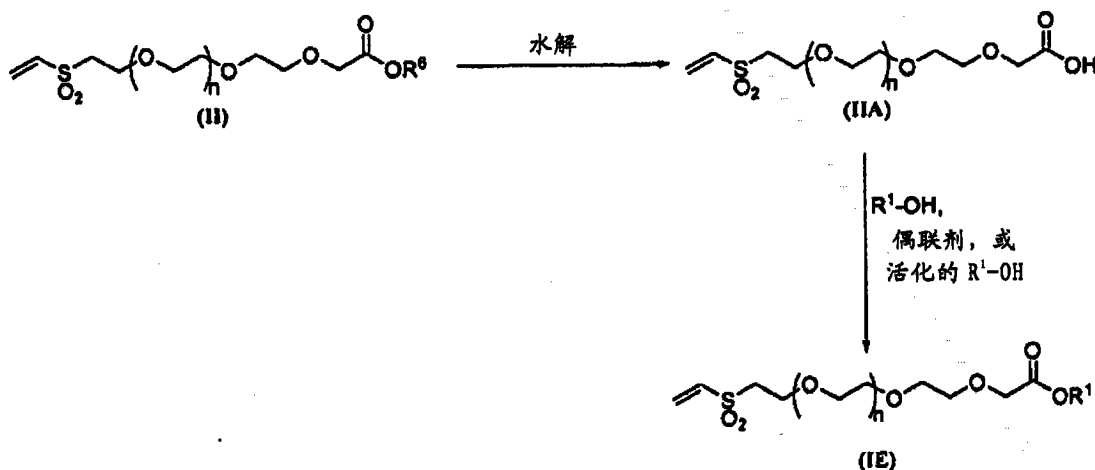
[0126] 在一些实施方案中, R^6 是 H。在其他实施方案中, R^6 是烷基。在一些实施方案中, R^6 是甲基。

[0127] 在一些实施方案中, n 优选是整数 5-1000。在一些实施方案中, n 优选是 20-500。在一些其他实施方案中, n 优选是 50-250。

[0128] 可如以上的流程图 I 所示,按照与化合物(I)类似的方式,合成化合物(II)的 PEG 试剂及其前体。

[0129] 在一些实施方案中,如以下的流程图 II 所示,化合物(II)是化合物(IE)的前体。

[0130]



[0131] 在流程图 II 中,水解化合物(II),生产化合物(IIA)。化合物(IIA)随后与 R^1-OH 和偶联剂反应,提供化合物(IE)。

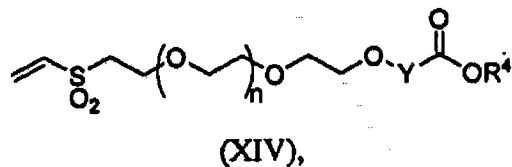
[0132] 或者,两步制备化合物(IE)。首先,使 R^1-OH 与活化试剂反应,然后与化合物(IIA)反应,形成化合物(IE)。合适的活化试剂包括但不限于甲磺酰氯、甲苯磺酰氯、三氟乙酸酐和三氟乙酰氯。在一些实施方案中,活化试剂是甲磺酰氯。在一些实施方案中,活化试剂是甲苯磺酰氯。在一些实施方案中,活化试剂是三氟乙酸酐。在一些实施方案中,活化试剂是

三氟乙酰氯。

[0133] 在另一方面中,本发明提供生产杂双官能 PEG 试剂的方法。这一方法尤其是有用的,因为它有效地提供含末端乙烯基砜和酯官能团的杂双官能 PEG 试剂。

[0134] 根据这一方面,本发明提供生产式 (XIV) 的杂双官能 PEG 化合物的方法:

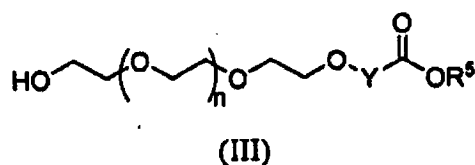
[0135]



[0136] 该方法包括下述步骤:

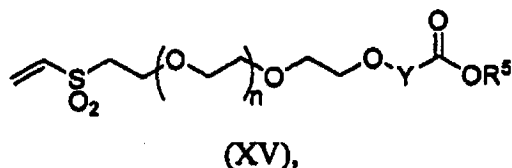
[0137] (a) 使式 (III) 的化合物与三乙烯基砜反应,

[0138]



[0139] 形成式 (XV) 的化合物:

[0140]



[0141] 和 (b) 在酯偶联剂存在下,使式 (XV) 的化合物与 HO-R⁴ 反应,形成式 (XIV) 的化合物,

[0142] 其中:

[0143] Y 选自 C₁-C₆ 亚烷基、C₂-C₆ 亚烯基和 C₂-C₆ 亚炔基,其中 Y 被一个或多个取代基 R² 任选取代;R² 独立地选自支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基,支链或直链 C₂-C₆ 炔基,羟基,C₁-C₆ 烷氧基,CO₂H,CO₂(C₁-C₆ 烷基),CONH₂,CONH(C₁-C₆ 烷基),CON(C₁-C₆ 烷基)₂,硝基,氰基和卤素,其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0144] n 是整数 1-1500

[0145] R⁵ 是 H;

[0146] R⁴ 是 C₆-C₁₄ 芳基,或含选自 N,N(R⁷),O,S 和 S(O)_m 中的一个或多个杂原子的 C₅-C₁₄ 杂芳基,其中 m 为 1 或 2,和其中 R⁴ 被一个或多个取代基 R⁸ 任选取代;

[0147] R⁷ 选自 H、支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基,支链或直链 C₂-C₆ 炔基,其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0148] R⁸ 独立地选自支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基,支链或直链 C₂-C₆ 炔基,羟基,NH₂,NH(C₁-C₆ 烷基),N(C₁-C₆ 烷基)₂,C₁-C₆ 烷氧基,CO₂H,CO₂(C₁-C₆ 烷基),CONH₂,CONH(C₁-C₆ 烷基),CON(C₁-C₆ 烷基)₂,硝基,氰基和卤素,其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代。

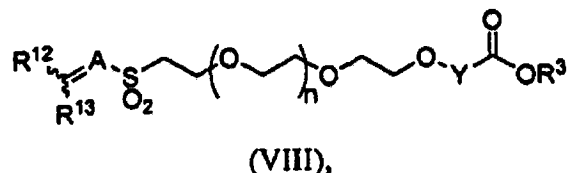
[0149] 在一些实施方案中,n 优选是整数 5-1000。在一些实施方案中,n 优选是整数

20-500。在一些实施方案中，n 优选是整数 50-250。

[0150] 在一些实施方案中，R⁴ 优选是苯基、吡啶基、嘧啶基或萘基；和 R⁴ 任选被一个或多个取代基 R⁸ 取代。在一些实施方案中，R⁴ 优选是被一个或多个取代基 R⁸ 任选取代的苯基，在该方法的一些实施方案中，R⁴ 是苯基，和 R⁸ 是硝基。

[0151] 在另一方面中，本发明提供生产式 (VIII) 的化合物的方法：

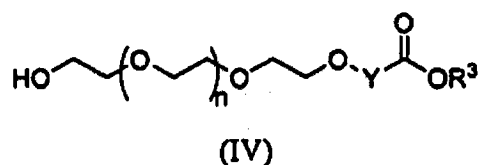
[0152]



[0153] 该方法包括下述步骤：

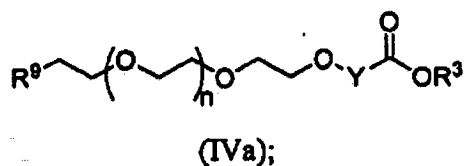
[0154] (a) 使式 (IV) 的化合物

[0155]



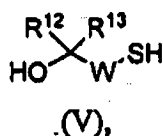
[0156] 与活化基反应，形成式 (IVa) 的化合物：

[0157]



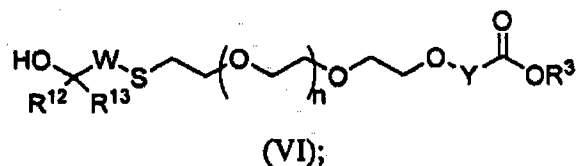
[0158] (b) 使式 (IVa) 的化合物与式 (V) 的化合物反应：

[0159]



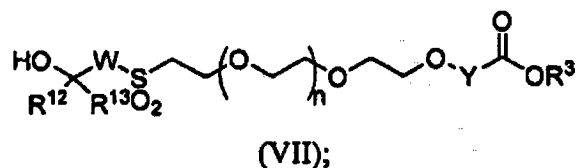
[0160] 形成式 (VI) 的化合物：

[0161]



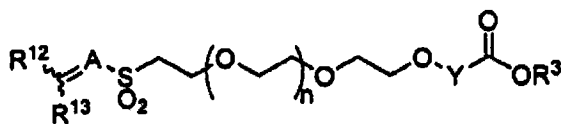
[0162] (c) 氧化式 (VI) 的化合物，形成式 (VII) 的化合物：

[0163]



[0164] 和 (d) 使式 (VII) 的化合物脱水，形成式 (VIII) 的化合物：

[0165]



(VIII),

[0166] 其中 W 是 C₁-C₆ 亚烷基, 其中 W 被一个或多个取代基 R¹¹ 任选取代;

[0167] A 是 C₁-C₆ 偏亚烷基, 其中 A 被一个或多个取代基 R¹¹ 任选取代;

[0168] R¹¹ 独立地选自 H、支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基, 支链或直链 C₂-C₆ 炔基, 羟基, C₁-C₆ 烷氧基, CO₂H, CO₂(C₁-C₆ 烷基), CONH₂, CONH(C₁-C₆ 烷基), CON(C₁-C₆ 烷基)₂, 硝基, 氰基和卤素, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0169] Y 选自 C₁-C₆ 亚烷基、C₂-C₆ 亚烯基和 C₂-C₆ 亚炔基, 其中 Y 被一个或多个取代基 R² 任选取代;

[0170] R² 独立地选自支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基, 支链或直链 C₂-C₆ 炔基, 羟基, C₁-C₆ 烷氧基, CO₂H, CO₂(C₁-C₆ 烷基), CONH₂, CONH(C₁-C₆ 烷基), CON(C₁-C₆ 烷基)₂, 硝基, 氰基和卤素, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0171] R³ 是 H、R¹⁷、支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基, 支链或直链 C₂-C₆ 炔基, C₆-C₁₄ 芳基, 或含选自 N、N(R⁷)、O、S 和 S(O)_m 中的一个或多个杂原子的 C₅-C₁₄ 杂芳基, 其中 m 为 1 或 2, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代; 条件是若 R³ 不是 H 或 R¹⁷, 则 R³ 被一个或多个取代基 R⁸ 任选取代;

[0172] R⁷ 选自 H、支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基, 支链或直链 C₂-C₆ 炔基, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0173] R⁸ 选自支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基, 支链或直链 C₂-C₆ 炔基, 羟基, NH₂, NH(C₁-C₆ 烷基), N(C₁-C₆ 烷基)₂, C₁-C₆ 烷氧基, CO₂H, CO₂(C₁-C₆ 烷基), CONH₂, CONH(C₁-C₆ 烷基), CON(C₁-C₆ 烷基)₂, 硝基, 氰基和卤素, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0174] R¹⁷ 是保护基;

[0175] R⁹ 选自 CH₃S(O)₂-O-、CF₃S(O)₂-O-、CH₃(C₆H₄)S(O)₂-O-、Cl、Br 和 I;

[0176] R¹² 选自 H、支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基, 支链或直链 C₂-C₆ 炔基, 羟基, C₁-C₆ 烷氧基, CO₂H, CO₂(C₁-C₆ 烷基), CONH₂, CONH(C₁-C₆ 烷基), CON(C₁-C₆ 烷基)₂, 硝基, 氰基和卤素, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0177] R¹³ 选自 H、支链或直链 C₁-C₆ 烷基、支链或直链 C₂-C₆ 烯基, 支链或直链 C₂-C₆ 炔基, 羟基, C₁-C₆ 烷氧基, CO₂H, CO₂(C₁-C₆ 烷基), CONH₂, CONH(C₁-C₆ 烷基), CON(C₁-C₆ 烷基)₂, 硝基, 氰基和卤素, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0178] 和 n 是整数 1-1500。

[0179] 在一些实施方案中, 在式 (IV) 的化合物中, R³ 是 H。在其他实施方案中, 在式 (IV) 的化合物中, R³ 是烷基。在一些实施方案中, R³ 是甲基。

[0180] 在一些实施方案中, 在式 (IV) 的化合物中, n 优选是整数 5-1000。在一些实施方案中, n 优选是整数 20-500。在一些实施方案中, n 更优选是整数 50-250。

[0181] 在一些实施方案中, 在式 (IV) 的化合物中, R³ 选自苯基、吡啶基、嘧啶基和萘基;

和 R^3 被一个或多个取代基 R^8 任选取代。在一些实施方案中, R^3 是被一个或多个取代基 R^8 任选取代的苯基。在一些更优选的实施方案中, R^3 是苯基和 R^8 是硝基。

[0182] 在一些实施方案中, 在式 (V) 的化合物中, W 优选是亚甲基和 A 是偏亚甲基 (methylidene)。

[0183] 在步骤 (a) 中可使用任何合适的活化基, 形成式 (IVa) 的化合物。合适的活化试剂包括但不限于三氟乙酸酐、4-甲基苯甲酰氯、对甲苯磺酰氯和甲磺酰氯。在一些实施方案中, 活化试剂是三氟乙酸酐。在一些实施方案中, 活化试剂是甲磺酰氯。

[0184] 在步骤 (c) 中可使用任何合适的氧化剂, 形成式 (VII) 的化合物。合适的氧化剂包括但不限于过氧化氢、间氯过苯甲酸、过氧单硫酸钾、二氧化锰和高锰酸钾。氧化剂可包括其他组分和 / 或催化剂, 例如钨酸。在一些实施方案中, 氧化剂是在钨酸催化剂存在下的过氧化氢。

[0185] 在步骤 (d) 中可使用任何合适的脱水反应, 形成式 (VIII) 的化合物。合适的脱水反应包括但不限于与亚硫酸酐和碱反应; 与甲磺酰氯和碱反应; 以及与 Burgess 试剂反应。在一些实施方案中, 反应是用亚硫酸酐和碱反应处理。在一些实施方案中, 反应是用甲磺酰氯和碱处理。

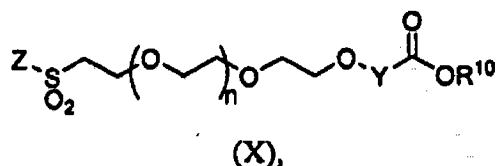
[0186] 生产式 (VIII) 的化合物的方法可进一步包括下述步骤: 添加保护基到式 IV、IVa、VI、VII 或 VIII 的一种或多种化合物上的羧酸基上。可使用本领域已知的任何合适的保护基。参见, 例如 Greene 等人, *Protecting Groups in Organic Synthesis* (3rd ed.), John Wiley and Sons, New York (1999)。

[0187] 生产式 (VIII) 的化合物的方法可进一步包括下述步骤: 从式 IV、IVa、VI、VII 或 VIII 的一种或多种化合物中使保护基去保护。去保护步骤导致式 IV、IVa、VI、VII 或 VIII 的相应化合物。该方法可包括大于一个这样的去保护步骤。可使用本领域已知的任何合适的去保护方法, 例如水解。

[0188] 在一些实施方案中, 可同时进行一个或多个保护步骤与任何步骤 (a)-(d)。例如, 可通过添加 R^9 同时活化其中 R^3 是 H 的式 IV 的化合物, 以及通过添加保护基, 在其游离酸处保护, 产生式 IVa 的化合物, 其中 R^3 是 R^{17} 。类似地, 可同时进行任何一个或多个去保护步骤与任何步骤 (a)-(d)。例如, 可通过添加 R^9 同时活化其中 R^3 不是 H 的式 IV 的化合物, 以及采用合适的去保护剂去保护, 产生其中 R^3 是 H 的式 IVa 化合物中的游离酸。

[0189] 在另一方面中, 本发明提供生产式 (X) 的试剂的方法:

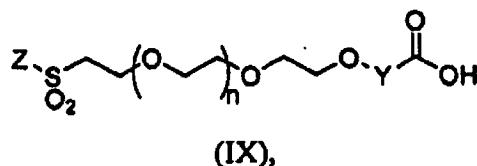
[0190]



[0191] 该方法包括下述步骤:

[0192] (a) 使式 (IX) 的化合物

[0193]



[0194] 与活化试剂 $R^{10}-R^{14}$ 反应, 形成式 (X) 的化合物,

[0195] 其中:

[0196] R^{10} 是支链或直链 C_1-C_6 烷基、支链或直链 C_2-C_6 烯基, 支链或直链 C_2-C_6 炔基, C_6-C_{14} 芳基, 或含选自 N、N(R^7)、O、S 和 S(O)_m 中的一个或多个杂原子的 C_5-C_{14} 杂芳基, 其中 m 为 1 或 2, 其中 R^{10} 被一个或多个取代基 R^8 任选取代;

[0197] R^7 选自 H、支链或直链 C_1-C_6 烷基、支链或直链 C_2-C_6 烯基, 支链或直链 C_2-C_6 炔基, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0198] R^8 独立地选自支链或直链 C_1-C_6 烷基、支链或直链 C_2-C_6 烯基, 支链或直链 C_2-C_6 炔基, 羟基, NH_2 , $NH(C_1-C_6 \text{ 烷基})$, $N(C_1-C_6 \text{ 烷基})_2$, C_1-C_6 烷氧基, CO_2H , $CO_2(C_1-C_6 \text{ 烷基})$, $CONH_2$, $CONH(C_1-C_6 \text{ 烷基})$, $CON(C_1-C_6 \text{ 烷基})_2$, 硝基, 氰基和卤素, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0199] R^{14} 选自 $HO-$ 、 $CF_3C(O)-O-$ 、 $CH_3S(O)_2-O-$ 、 $CF_3S(O)_2-O-$ 、 $CH_3(C_6H_4)S(O)_2-O-$ 、Cl、Br 和 I;

[0200] Z 选自 $-CH_2CH_2Cl$ 、 $-CH_2CH_2Br$ 、 $-CH_2CH_2I$ 、 $-CH_2CH_2OS(O)_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2OS(O)_2CF_3$ 、 $-CH_2CH_2OS(O)_2(C_6H_4)CH_3$ 和 $-CH=CH_2$;

[0201] Y 选自 C_1-C_6 亚烷基、 C_2-C_6 亚烯基和 C_2-C_6 亚炔基, 其中 Y 被一个或多个取代基 R^2 任选取代;

[0202] R^2 独立地选自支链或直链 C_1-C_6 烷基、支链或直链 C_2-C_6 烯基, 支链或直链 C_2-C_6 炔基, 羟基, C_1-C_6 烷氧基, CO_2H , $CO_2(C_1-C_6 \text{ 烷基})$, $CONH_2$, $CONH(C_1-C_6 \text{ 烷基})$, $CON(C_1-C_6 \text{ 烷基})_2$, 硝基, 氰基和卤素, 其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0203] 和 n 是整数 1-1500。

[0204] 在一些实施方案中, Z 是 $-CH=CH_2$ 。

[0205] 在一些实施方案中, R^{10} 优选是苯基, R^8 是硝基和 R^{14} 是 CF_3CO-O- 。

[0206] 在一些优选的实施方案中, R^{10} 是苯基, R^8 是硝基和 R^{14} 是 $HO-$, 和活化试剂进一步包括酯偶联剂。

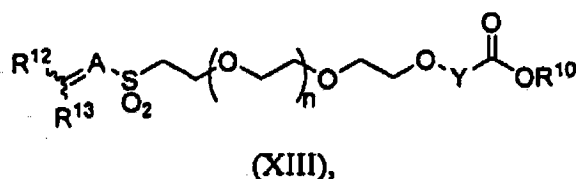
[0207] 在一些实施方案中, n 优选是整数 5-1000。在一些实施方案中, n 优选是整数 20-500。在一些实施方案中, n 优选是整数 50-250。

[0208] 在一些其他实施方案中, R^{10} 选自苯基、吡啶基、噻啶基和萘基; 和 R^{10} 被一个或多个取代基 R^8 任选取代。在一些优选的实施方案中, R^{10} 是被一个或多个取代基 R^8 任选取代的苯基。在一些更优选的实施方案中, R^{10} 是苯基和 R^8 是硝基。

[0209] 当 R^{14} 是 $HO-$ 时, 可在步骤 (a) 中使用任何合适的偶联剂。合适的偶联剂包括但不限于 DCC(1,3-二环己基碳二酰亚胺)、EDC(1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二酰亚胺盐酸盐)、HATU(0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基uronium六氟磷酸盐)和 HBTU(0-苯并三唑-1-基-四甲基uronium六氟磷酸盐)。在一些实施方案中, 酯偶联剂是 DCC。

[0210] 在另一方面中,本发明进一步提供生产式 (XIII) 的化合物的方法:

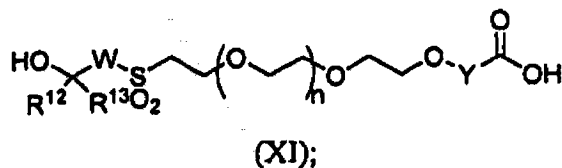
[0211]



[0212] 该方法包括下述步骤:

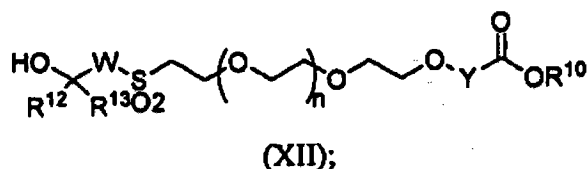
[0213] (a) 使式 (XI) 的化合物

[0214]



[0215] 与活化试剂反应,形成式 (XII) 的化合物,其中活化试剂包括 $R^{10}-R^{14}$;

[0216]



[0217] 和 (b) 使式 (XII) 的化合物脱水,形成式 (XIII) 的化合物,

[0218] 其中:

[0219] W 是 C_1-C_6 亚烷基,其中 W 被一个或多个取代基 R^{11} 任选取代;

[0220] A 是 C_1-C_6 1- 偏亚烷基,其中 A 被一个或多个取代基 R^{11} 任选取代;

[0221] R^{11} 独立地选自 H、支链或直链 C_1-C_6 烷基、支链或直链 C_2-C_6 烯基,支链或直链 C_2-C_6 炔基,羟基, C_1-C_6 烷氧基, CO_2H , $CO_2(C_1-C_6$ 烷基), $CONH_2$, $CONH(C_1-C_6$ 烷基), $CON(C_1-C_6$ 烷基) $_2$,硝基,氰基和卤素,其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0222] Y 选自 C_1-C_6 亚烷基、 C_2-C_6 亚烯基和 C_2-C_6 亚炔基,其中 Y 被一个或多个取代基 R^2 任选取代;

[0223] R^2 独立地选自支链或直链 C_1-C_6 烷基、支链或直链 C_2-C_6 烯基,支链或直链 C_2-C_6 炔基,羟基, C_1-C_6 烷氧基, CO_2H , $CO_2(C_1-C_6$ 烷基), $CONH_2$, $CONH(C_1-C_6$ 烷基), $CON(C_1-C_6$ 烷基) $_2$,硝基,氰基和卤素,其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0224] R^{10} 是支链或直链 C_1-C_6 烷基、支链或直链 C_2-C_6 烯基,支链或直链 C_2-C_6 炔基, C_6-C_{14} 芳基,或含选自 N、 $N(R^7)$ 、O、S 和 $S(O)_m$ 中的一个或多个杂原子的 C_5-C_{14} 杂芳基,其中 m 为 1 或 2,其中 R^{10} 被一个或多个取代基 R^8 任选取代;

[0225] R^7 选自 H、支链或直链 C_1-C_6 烷基、支链或直链 C_2-C_6 烯基,支链或直链 C_2-C_6 炔基,其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0226] R^8 独立地选自支链或直链 C_1-C_6 烷基、支链或直链 C_2-C_6 烯基,支链或直链 C_2-C_6 炔基,羟基, NH_2 , $NH(C_1-C_6$ 烷基), $N(C_1-C_6$ 烷基) $_2$, C_1-C_6 烷氧基, CO_2H , $CO_2(C_1-C_6$ 烷基), $CONH_2$, $CONH(C_1-C_6$ 烷基), $CON(C_1-C_6$ 烷基) $_2$,硝基,氰基和卤素,其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代;

[0227] R^{14} 选自 HO- 、 $\text{CF}_3\text{C(O)-O-}$ 、 $\text{CH}_3\text{S(O)}_2\text{-O-}$ 、 $\text{CF}_3\text{S(O)}_2\text{-O-}$ 、 $\text{CH}_3(\text{C}_6\text{H}_4)\text{S(O)}_2\text{-O-}$ 、 Cl 、 Br 和 I ；

[0228] R^{12} 选自 H 、支链或直链 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、支链或直链 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 烯基，支链或直链 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 炔基，羟基， $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷氧基， CO_2H ， $\text{CO}_2(\text{C}_1\text{-C}_6\text{ 烷基})$ ， CONH_2 ， $\text{CONH}(\text{C}_1\text{-C}_6\text{ 烷基})$ ， $\text{CON}(\text{C}_1\text{-C}_6\text{ 烷基})_2$ ，硝基，氰基和卤素，其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代；

[0229] R^{13} 选自 H 、支链或直链 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、支链或直链 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 烯基，支链或直链 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 炔基，羟基， $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷氧基， CO_2H ， $\text{CO}_2(\text{C}_1\text{-C}_6\text{ 烷基})$ ， CONH_2 ， $\text{CONH}(\text{C}_1\text{-C}_6\text{ 烷基})$ ， $\text{CON}(\text{C}_1\text{-C}_6\text{ 烷基})_2$ ，硝基，氰基和卤素，其中在烷基、烯基或炔基链内的一个或多个氢可被一个或多个氟取代；

[0230] 和 n 是整数 1-1500。

[0231] 在一些实施方案中， R^{10} 是苯基， R^8 是硝基，和 R^{14} 是 $\text{CF}_3\text{-CO-O-}$ 。

[0232] 在一些实施方案中， R^{10} 是苯基， R^8 是硝基， R^{14} 是 HO- ，和活化试剂进一步包括酯偶联剂。

[0233] 在一些其他实施方案中， R^{10} 选自苯基、吡啶基、嘧啶基和萘基；和 R^{10} 被一个或多个取代基 R^8 任选取代。在一些优选的实施方案中， R^{10} 是被一个或多个取代基 R^8 任选取代的苯基。在一些更优选的实施方案中， R^{10} 是苯基和 R^8 是硝基。

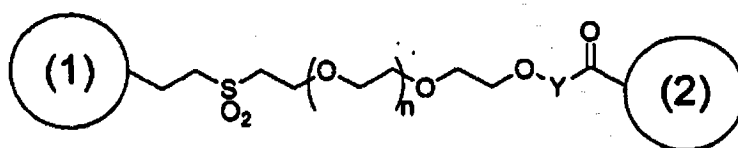
[0234] 在一些实施方案中， W 是亚甲基。在一些实施方案中， A 是偏亚甲基。

[0235] 当 R^{14} 是 HO- 时，在步骤 (a) 中可使用任何合适的酯偶联剂。合适的酯偶联剂包括但不限于 DCC (1,3-二环己基碳二酰亚胺)、 EDC (1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二酰亚胺盐酸盐)、 HATU (0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)- N,N,N',N' -四甲基uronium六氟磷酸盐) 和 HBTU (0-苯并三唑-1-基-四甲基uronium六氟磷酸盐)。在一些更优选的实施方案中，酯偶联剂是 DCC 。

[0236] 在步骤 (b) 中可使用任何合适的脱水反应。合适的脱水反应包括但不限于与亚硫酸酐和碱反应；与甲磺酐和碱反应；以及与 Burgess 试剂反应。在一些实施方案中，反应是用亚硫酸酐和碱反应处理。在一些实施方案中，反应是用甲磺酐和碱处理。

[0237] 在另一方面中，本发明提供使用杂双官能 PEG 形成式 (XVI) 的媒介物的方法：

[0238]



(XVI),

[0239] 该方法包括下述步骤：混合本发明的杂双官能 PEG 与 (1) 和 (2)，其中 (1) 和 (2) 可以是小分子、蛋白质、多肽、肽、抗体、聚核苷酸、低聚核苷酸、其他聚合物物质、多肽侧链或生物相关的靶向部分，或其部分、二聚体、三聚体或低聚物。

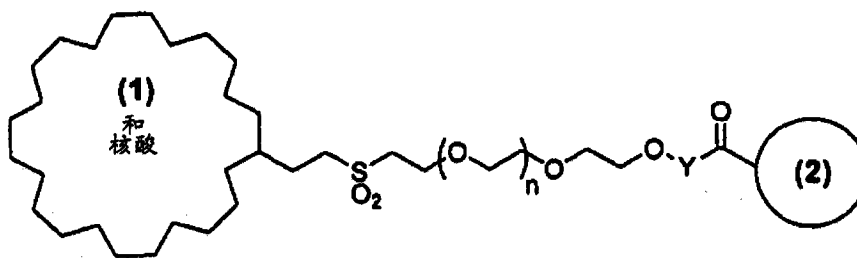
[0240] 在一些实施方案中，同时混合 (1) 和 (2) 与杂双官能的 PEG。在其他实施方案中，按序混合 (1) 和 (2) 与杂双官能的 PEG。

[0241] 在一些实施方案中，(1) 是阳离子聚合物。在一些实施方案中，(2) 是靶向部分。在优选的实施方案中，(1) 是阳离子聚合物和 (2) 是靶向部分。

[0242] 在另一方面中，本发明提供使用杂双官能 PEG 形成式 (XVII) 的靶向核苷酸递送用

载体：

[0243]



(XVII).

[0244] 该方法包括下述步骤：(a) 混合本发明的杂双官能的 PEG 与 (1) 和 (2)，和 (b) 与核酸混合，其中 (1) 是阳离子聚合物和 (2) 是靶向部分。

[0245] 在一些实施方案中，同时混合 (1) 和 (2) 与杂双官能的 PEG。在其他实施方案中，按序混合 (1) 和 (2) 与杂双官能的 PEG。

[0246] 在一些实施方案中，杂双官能 PEG 试剂是式 (I) 的化合物。在其他实施方案中，杂双官能 PEG 试剂是式 (XIV) 的化合物。在其他实施方案中，杂双官能 PEG 试剂是式 (VIII) 的化合物。

[0247] 合适的核酸包括但不限于重组质粒；复制缺陷型质粒；缺少小质粒的细菌序列；重组病毒基因组；编码治疗肽或蛋白质的线性核酸片段；杂交的 DNA/RNA 双链；双链 DNA；反义 DNA 或其化学类似物；含 5-200 个碱基对的平端、双平端和突出端 (overhanging) 的双链 DNA 或 RNA 片段；反义 RNA 或其化合物类似物；转录为反义 RNA 或核酶的线性多核苷酸；核酶；和病毒基因组。

[0248] 在一些实施方案中，平端、双平端和突出端的双链 DNA 或 RNA 包括 15-30 个碱基对。在一些实施方案中，平端、双平端和突出端的双链 DNA 或 RNA 包括 15 个碱基对。在一些实施方案中，平端、双平端和突出端的双链 DNA 或 RNA 包括 16 个碱基对。在一些实施方案中，平端、双平端和突出端的双链 DNA 或 RNA 包括 17 个碱基对。在一些实施方案中，平端、双平端和突出端的双链 DNA 或 RNA 包括 18 个碱基对。在一些实施方案中，平端、双平端和突出端的双链 DNA 或 RNA 包括 19 个碱基对。在一些实施方案中，平端、双平端和突出端的双链 DNA 或 RNA 包括 20 个碱基对。在一些实施方案中，平端、双平端和突出端的双链 DNA 或 RNA 包括 21 个碱基对。在一些实施方案中，平端、双平端和突出端的双链 DNA 或 RNA 包括 22 个碱基对。在一些实施方案中，平端、双平端和突出端的双链 DNA 或 RNA 包括 23 个碱基对。在一些实施方案中，平端、双平端和突出端的双链 DNA 或 RNA 包括 24 个碱基对。在一些实施方案中，平端、双平端和突出端的双链 DNA 或 RNA 包括 25 个碱基对。在一些实施方案中，平端、双平端和突出端的双链 DNA 或 RNA 包括 26 个碱基对。在一些实施方案中，平端、双平端和突出端的双链 DNA 或 RNA 包括 27 个碱基对。在一些实施方案中，平端、双平端和突出端的双链 DNA 或 RNA 包括 28 个碱基对。在一些实施方案中，平端、双平端和突出端的双链 DNA 或 RNA 包括 29 个碱基对。在一些实施方案中，平端、双平端和突出端的双链 DNA 或 RNA 包括 30 个碱基对。

[0249] 形成媒介物有用的合适的阳离子聚合物包括但不限于直链或支链 HK 共聚物（组氨酸和赖氨酸的共聚物），直链或支链聚乙烯亚胺 (PEI)，聚赖氨酸，直链或非直链的聚酰

胺基胺,鱼精蛋白硫酸盐, polybrine, 甲壳素, 聚甲基丙烯酸酯, 聚胺类, 精胺类似物和其他合适的聚合物。

[0250] 优选的阳离子聚合物是 HK 共聚物。在一些实施方案中,由聚组氨酸、聚赖氨酸、组氨酸和 / 或赖氨酸的任何合适的结合物,合成 HK 共聚物。在一些实施方案中, HK 共聚物是直链的。在一些优选的实施方案中, HK 共聚物是支链的。

[0251] 在一些优选的实施方案中,支链 HK 共聚物包括多肽主链。优选地,多肽主链包括 1-10 个氨基酸残基,和更优选 2-5 个氨基酸残基。

[0252] 在一些优选的实施方案中,多肽主链由赖氨酸的氨基酸残基组成。

[0253] 在一些优选的实施方案中,在支链 HK 共聚物上的主链数量比主链氨基酸残基的数量大 1。在一些优选的实施方案中,支链 HK 共聚物含有 1-11 个支链。在一些更优选的实施方案中,支链 HK 共聚物含有 2-5 个支链。在一些甚至更优选的实施方案中,支链 HK 共聚物含有 4 个支链。

[0254] 在一些实施方案中,支链 HK 共聚物中的支链包括 10-100 个氨基酸残基。在一些优选的实施方案中,支链包括 10-50 个氨基酸残基。在一些更优选的实施方案中,支链包括 15-25 个氨基酸残基。在一些实施方案中,支链 HK 共聚物中的支链在每 5 个氨基酸残基的子片段中包括至少 3 个组氨酸的氨基酸残基。在一些其他实施方案中,支链在每 4 个氨基酸残基的子片段中包括至少 3 个组氨酸的氨基酸残基。在一些其他实施方案中,支链在每 3 个氨基酸残基的子片段中包括至少 2 个组氨酸的氨基酸残基。在一些其他实施方案中,支链在每 2 个氨基酸残基的子片段中包括至少 1 个组氨酸的氨基酸残基。

[0255] 在一些实施方案中,至少 50% 的 HK 共聚物中的支链包括 KHHH 序列单元。在一些优选的实施方案中,至少 75% 的支链包括 KHHH 序列单元。

[0256] 在一些实施方案中, HK 共聚物支链包括除了组氨酸或赖氨酸以外的氨基酸残基。在一些优选的实施方案中,支链包括半胱氨酸的氨基酸残基,其中半胱氨酸是 N- 末端的氨基酸残基。

[0257] 在一些实施方案中,合适的 HK 共聚物包括但不限于在美国专利 Nos. 6692911、7070807 和 7163695 中出现的那些,所有这些在此通过参考引入。

[0258] 可在本发明的媒介物中使用任何生物相关的靶向部分。在一些实施方案中,靶向部分是小分子、多肽、肽、蛋白质、抗体或片段,其二聚体、三聚体或低聚物。合适的生物相关的小分子靶向部分包括但不限于靶向血管内皮细胞的血管内皮细胞生长因子;靶向血管损伤和肿瘤的 FGF2;靶向肿瘤的转铁蛋白;肿瘤靶向的促黑素细胞激素 (α MSH) 肽;LDL 受体靶向用 ApoE 和肽;靶向柯萨奇腺病毒受体 (CAR) 表达细胞用冯威勒布兰特因子和肽;靶向神经菌毛素 (Neuropilin 1) 的 PD1 和肽;靶向 EGF 受体表达细胞用 EGF 和肽;靶向叶酸酯受体用的叶酸和配体;靶向整合素表达细胞用 RGD 肽和任何其他合适的靶向部分。另外,可使用具有相同或类似靶向性能的上述部分中的任何片段或肽作为它们各自的目标。

[0259] 除非另外定义,此处所使用的所有科技术语具有与本发明所属领域技术人员通常理解的那些相同的含义。尽管可在本发明的实践或测试中使用与此处所述的那些类似或相当的方法和材料,但此处描述了合适的方法和材料。这些材料、方法和实施例仅仅是阐述性的,且不意图限制。此处提及的所有出版物、专利和其他文献在此通过参考全文引入。

[0260] 在本说明书当中,措辞“包括”或变体,例如“包含”或“含”要理解为暗含包括所述

的整数或整数组,但不排除任何其他整数或整数组。

[0261] 为了进一步定义本发明,提供下述术语和定义。正如以上所使用的,和在整个说明书中,除非另有说明,下述术语应当理解为具有下述含义:

[0262] “烷基”是指下述脂族烃基,它可以是直链或支链且在链内包括约 1-6 个碳原子。支链是指一个或多个烷基,例如甲基、乙基或丙基连接到直链烷基链上。

[0263] “烯基”是指下述脂族烃基,所述脂族烃基可以是直链或支链且含有至少一个碳-碳双键。支链是指一个或多个低级烷基,例如甲基、乙基或丙基连接到直链的烯基链上。

[0264] “炔基”是指下述脂族烃基,所述脂族烃基可以是直链或支链且含有至少一个碳-碳三键。支链是指一个或多个低级烷基,例如甲基、乙基或丙基连接到直链炔基链上。

[0265] “亚烷基”是指通过从以上定义的烷基中除去氢原子获得的二价烷基。

[0266] “芳基”是指含有共轭双键的芳族单环或多环的环体系,其中与双键缔合的 π -电子结合任何参与的孤对电子、正电荷或负电荷满足 $2n+2$ 式,其中 n 是整数。芳基的实例包括但不限于苯基和萘。

[0267] “杂芳基”是指芳族单环或多环的环体系,其中一个或多个环原子是除了碳以外的单独或结合的元素,例如氮、氧或硫。在杂芳基词根前面的前缀氮杂、氧杂或硫杂是指至少氮、氧或硫原子分别以环原子形式存在。合适的杂芳基包括但不限于吡啶、吡咯、呋喃和噻吩。

[0268] “亚烯基”是指在烃链内含有至少一个不饱和双键的直链或支链的 2-10 个碳的二价烃基。支链是指一个或多个低级烷基,例如甲基、乙基或丙基连接到直链亚烯基链上。

[0269] “亚炔基”是指在烃链内含有至少一个不饱和三键的直链或支链的 2-10 个碳的二价烃基。支链是指一个或多个低级烷基,例如甲基、乙基或丙基连接到直链亚炔基链上。

[0270] “卤素”是指氟、氯、溴或碘取代基。

[0271] “保护基”是指在有机合成中临时掩盖选择官能团的特征化学所使用的基团。此处所述的方法和化合物用的合适的保护基包括但不限于在标准教科书,例如 Greene, T.W 等人, *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley, N. Y. (1999) 中描述的那些。

[0272] “活化基”是指连接到羟基上的部分,所述部分允许在相邻碳原子上更面式 (facial) 亲核取代。合适的实例包括但不限于甲磺酰基和三氟乙酰基。

[0273] 尽管我们前面列出了本发明的许多实施方案,但显而易见的是,可改变我们的基本结构,提供利用本发明方法的其他实施方案。因此,要理解,通过所附的权利要求书,而不是此处作为实例列出的具体实施方案来定义本发明的范围。

实施例

[0274] 实施例 1:制备 PEG-3400- 甲酯

[0275] 将乙酰氯 (2.50ml, 35.16mmol) 加入到 250ml 甲醇中。搅拌这一混合物 5 分钟,然后加入到 Zalipsky 等人 ((*J Bioactive and Compatible Polymers*, Vol. 5, 227-231, (1990)) 制备的 PEG-3400- 单羧酸 (20.01g, 5.81mmol) 中。在室温下搅拌 24 小时之后,浓缩所得溶液至干。将残渣溶解在二氯甲烷 (15ml) 中,并在剧烈搅拌下,将所得溶液加入到醚 (300ml) 中。过滤所得固体,用醚洗涤,并真空干燥,以白色粉末形式得到所需的

PEG-3400- 甲酯 (18.93g, 94%产率)。

[0276] 实施例 2 :制备 PEG-3400- 甲磺酸甲酯

[0277] 将实施例 1 的 PEG-3400- 甲酯产物 (18.93g, 5.45mmol) 溶解在二氯甲烷 (100ml) 内。添加二异丙基乙基胺 (3.80ml, 21.81mmol), 接着添加甲磺酰氯 (1.27ml, 16.36mmol)。在室温下搅拌反应 18 小时, 之后用盐水 (90ml)、水 (90ml) 和 6M HCl (20ml) 的混合物分配它。分离各层, 并用二氯甲烷 (3×60ml) 洗涤水层。在无水硫酸镁上干燥结合的有机层, 过滤并浓缩到约 20ml。在快速搅拌下将所得材料倾倒在醚 (300ml) 中。过滤所得固体, 用醚洗涤, 并真空干燥, 以灰白色到浅棕色粉末形式得到所需产物 (18.99g, 98%)。

[0278] 实施例 3 :制备 PEG-3400- 单羧酸羟基乙基硫化物

[0279] 将来自实施例 2 的 PEG-3400- 甲磺酸甲酯 (18.99g, 5.19mmol) 产物加入到水 (150ml) 和巯基乙醇 (2.92ml, 41.55mmol) 的混合物中。随后添加 2M 氢氧化钠 (20.80ml, 41.60mmol) 到该混合物中。加热混合物至回流, 并搅拌 3 小时, 之后冷却到室温。添加氯化钠 (50g), 并使用 6M HCl 酸化该混合物。然后用二氯甲烷 (3×60ml) 洗涤混合物。在无水硫酸镁上干燥结合的有机提取物, 过滤并浓缩到约 20ml。在快速搅拌下, 将残渣倾倒在醚 (300ml) 内。过滤所得固体, 用醚洗涤和真空干燥, 从而以白色粉末形式提供所需产物 (17.76g, 97%产率)。

[0280] 实施例 4 :制备 PEG-3400- 单羧酸羟基乙基砒

[0281] 将来自实施例 3 的 PEG-3400- 单羧酸巯基乙醇产物 (17.76g, 5.04mmol) 产物溶解在水 (40ml) 中。添加钨酸 (1.19g, 4.76mmol), 接着添加水 (30ml)。添加 30% 过氧化氢在水 (2.06ml) 内的溶液, 并在室温下搅拌反应 20 小时。从反应中过滤固体, 并将氯化钠 (20g) 溶解在滤液内。用二氯甲烷 (3×60ml) 洗涤所得溶液。在无水硫酸镁上干燥结合的有机物, 过滤并浓缩到约 20ml。在快速搅拌下, 添加残渣到醚 (300ml) 中。过滤所得固体, 用醚洗涤, 并真空干燥, 得到所需产物 (17.65g, 98%产率)。

[0282] 实施例 5 :制备 PEG-3400- 甲酯羟乙基砒

[0283] 将乙酰氯 (2.50ml, 35.16mmol) 加入到甲醇 (250ml) 中, 并在室温下搅拌 5 分钟。然后将来自实施例 4 的 PEG-3400- 单羧酸羟基乙基砒产物 (17.65g, 4.97mmol) 加入到该混合物中。在室温下搅拌 3 天之后, 浓缩所得溶液至干。将残渣溶解在二氯甲烷 (20ml) 中, 并在快速搅拌下, 将所得溶液加入到醚 (300ml) 中。过滤所得固体, 用醚洗涤, 并真空干燥, 以白色粉末形式得到所需的甲酯 (17.08g, 96%产率)。

[0284] 实施例 6 :制备 PEG-3400- 甲酯乙烯基砒

[0285] 将来自实施例 5 的 PEG-3400- 甲酯羟乙基砒产物 (17.08g, 4.79mmol) 溶解在二氯甲烷 (115ml) 中, 添加 2,6- 二叔丁基 -4- 甲基苯酚 (10.6mg, 0.048mmol) 和二异丙基乙基胺 (5.00ml, 28.75mmol), 接着添加甲磺酰氯 (1.12ml, 14.38mmol)。在室温下搅拌反应 17 小时, 之后用盐水 (135ml)、水 (135ml) 和 6M HCl (30ml) 的混合物分配它。分离各层, 并用二氯甲烷 (3×60ml) 洗涤水层。在无水硫酸镁上干燥结合的有机提取物, 过滤并浓缩到约 20ml。在快速搅拌下, 将残渣倾倒在醚 (300ml) 内。过滤该固体, 用醚洗涤, 并真空干燥, 以灰白色到浅棕色粉末形式得到所需产物 (16.64g, 98%产率)。

[0286] 实施例 7 :制备 PEG-3400- 单羧酸乙烯基砒

[0287] 将 NaOH (1M 在水中, 7.04ml) 加入到水 (340ml) 中, 并将稀释的 NaOH 溶液加入到

来自实施例 6 的甲酯乙烯基砒产物 (16.64g, 4.69mmol) 中。在室温下搅拌反应 15 分钟, 之后用 6M HCl 酸化它。将氯化钠 (96g) 溶解在混合物内, 并用二氯甲烷 (5×60ml) 提取该产物。在无水硫酸镁上干燥结合的有机提取物, 过滤并浓缩到约 20ml。在快速搅拌下, 将残渣倾倒在醚 (300ml) 内。过滤该固体, 用醚洗涤, 并真空干燥, 以灰白色到浅棕色粉末形式得到所需产物 (16.00g, 97% 产率)。

[0288] 实施例 8: 制备 PEG-3400 对硝基苯酯乙烯基砒 (DCC 方法)

[0289] 将二环己基碳二酰亚胺 (1.40mg, 6.80mmol) 溶解在二氯甲烷 (55ml) 中, 并添加 4-硝基苯酚 (2.85g, 20.39mmol)。在室温下搅拌该混合物 30 分钟, 之后, 添加来自实施例 7 的 PEG-3400-单羧酸乙烯基砒产物 (16.00g, 4.53mmol) 和 2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚 (10.0mg, 0.045mmol)。在室温下搅拌反应 22 小时, 之后, 用乙酸乙酯 (97ml) 稀释它。过滤所得沉淀并用乙酸乙酯 (50ml) 洗涤滤液。浓缩所得溶液到约 50ml。过滤所得沉淀, 并用乙酸乙酯 (20ml) 洗涤。在快速搅拌下, 将所得溶液倾倒在醚 (300ml) 内。通过过滤, 收集所得固体, 并用醚洗涤, 和真空干燥。从含 2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚 (12.4mg) 的异丙醇 (100ml) 中重结晶固体, 以灰白色到浅棕色固体形式得到所需产物 (15.87g, 96% 产率)。

[0290] 实施例 9: 制备 PEG-3400 对硝基苯酯乙烯基砒 (三氟乙酰基硝基苯酚方法)

[0291] 在含五氧化二磷作为干燥剂的真空干燥器内, 真空干燥实施例 7 制备的 PEG-3400 单羧酸乙烯基砒产物 (528.2mg, 0.15mmol) 24 小时。将干燥的 PEG-3400 单羧酸乙烯基砒 (5.35g, 1.51mmol) 和 2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚 (3.34mg, 0.015mmol) 溶解在无水吡啶 (5.35ml) 中。添加三氟乙酰基硝基苯酚 (1.60g, 6.81mmol), 并在室温下搅拌反应 30 分钟。然后, 在快速搅拌下, 将该混合物倾倒在醚 (300ml) 内。过滤所得固体, 用醚洗涤, 并真空干燥, 以灰白色到浅棕色固体形式得到所需产物 (5.42g, 98% 产率)。

[0292] 实施例 10: 制备 PEG-8000 对硝基苯酯乙烯基砒

[0293] 基本上如 Zalipsky 等人 (J. Bioactive and Compatible Polymers, 5: 227-231 (1990)) 所述, 制备 PEG-8000 单羧酸。根据前面所述的实施例 1-7 和 9, 制备 PEG-8000 对硝基苯酯乙烯基砒。

[0294] 实施例 11: 制备单羧酸乙烯基砒

[0295] 在甲苯 (300ml) 中共沸干燥根据 Zalipsky 等人 (J. Bioactive and Compatible Polymers, Vol. 5, 227-231, (1990)) 制备的 PEG-3400-单羧酸 (20.0g, 5.80mmol)。在干燥工艺过程中, 通过蒸馏, 除去甲苯 (240ml), 并冷却所得溶液到室温。添加无水二氯甲烷 (600ml), 接着添加氢化钠 (60%, 1.88g, 47mmol)。在氦气下, 在室温下搅拌反应 3 小时, 之后添加二乙烯基砒 (29.5ml, 294mmol)。在氦气下, 在室温下搅拌反应 24-72 小时, 之后添加冰醋酸 (5ml)。然后通过过滤除去不溶物, 并浓缩滤液到小的体积。将残渣倾倒在冷的醚内。过滤所得固体, 真空干燥, 并溶解在含氯化钠 (5g) 的水 (1000ml) 中。用二氯甲烷 (3×300ml) 洗涤所得溶液。在无水硫酸钠上干燥结合的有机提取物, 过滤并浓缩。将残渣倾倒在冷醚内, 并过滤所得固体, 和用冷醚洗涤。将所得固体溶解在温热的异丙醇 (50-60°C) 内, 和允许所得溶液冷却到室温过夜。通过过滤收集所得固体, 用冷异丙醇洗涤并真空干燥, 提供粗产物 (10-14g, 50-70% 产率)。

[0296] 用四硼酸钾 (在水中 10% 的溶液), 接着用水处理 DEAE-Sephadex 柱 (直径 1 英寸) (5g), 直到洗脱液达到中性 pH。将粗产物 (4g) 溶解在水 (35ml) 中, 并在低的氦气压力

辅助下,施加到柱子上。用水洗脱该柱子,直到洗脱液不含 PEG 有关的物质,这通过使用聚丙烯酸 (PAA) 试验来测定。然后用氯化钠溶液 (8mM 在水中) 洗脱柱子,并收集馏分,直到使用 PAA 试验检测不到 PEG 有关的物质。用冰醋酸酸化含所得产物的馏分到 pH4-5,并将产物提取到二氯甲烷内。在无水硫酸钠上干燥二氯甲烷,过滤并浓缩。将残渣倾倒在冷醚内,并过滤所得固体,和真空干燥,得到所需产物 (2.2g, 来自柱子的产率为 55%)。