



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 113683651 A

(43)申请公布日 2021.11.23

(21)申请号 202010422509.0

(22)申请日 2020.05.19

(71)申请人 上海京新生物医药有限公司
地址 201203 上海市浦东新区张江高科技
园区李冰路306号

申请人 浙江京新药业股份有限公司

(72)发明人 徐苗焕 祝小平 郭四根

(51)Int.Cl.

C07H 15/04(2006.01)

C07H 1/00(2006.01)

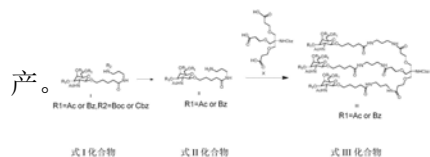
权利要求书1页 说明书6页

(54)发明名称

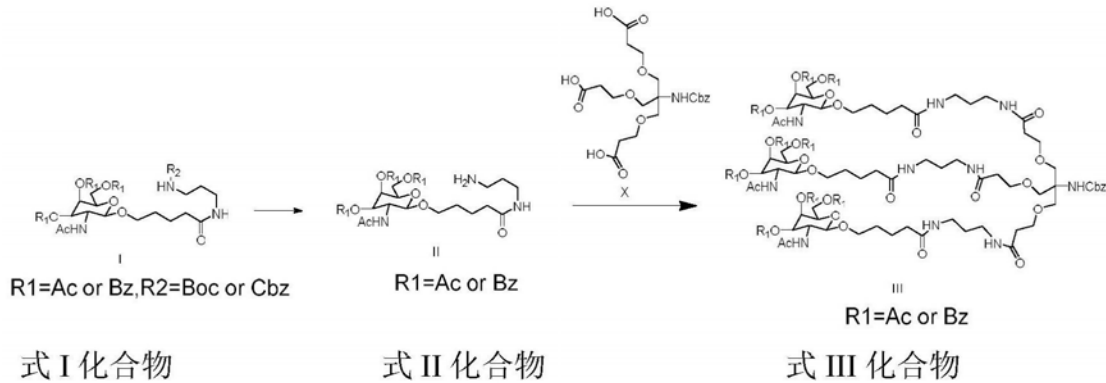
一种GalNAc中间体的制备方法

(57)摘要

本发明涉及一种GalNAc中间体(式III化合物)的制备方法,包括以下步骤:1)式I化合物经脱保护反应得到式II化合物;2)式II化合物与式X化合物经缩合反应或式II化合物与活化后式X化合物在有机碱下反应生成式III化合物。该合成方法工艺路线简单、成本低廉、适合工业化生产。



1. 一种Ga1NAc中间体(式III化合物)的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:



式I化合物脱保护得式II化合物;

式II化合物与式X化合物在缩合剂下反应或式II化合物与式X化合物的酰氯形式在有机碱条件下反应得式III化合物;

其中R1为Ac或Bz, R2为Boc或Cbz。

2. 如权利要求1所述的制备方法,其特征在于,步骤1中反应溶剂为甲醇、乙醇、异丙醇的一种或者多种,步骤2)中反应溶剂为四氢呋喃、2-甲基四氢呋喃、二氯甲烷、DMF、DMSO、乙腈中的一种或多种。

3. 如权利要求1所述的制备方法,其特征在于,步骤1中R2=Boc时脱保护反应在酸性条件下进行,所用酸为盐酸、甲酸、三氟醋酸,或氯化氢的有机溶剂溶液,反应温度为40-60度。

4. 如权利要求3所述的制备方法,其特征在于,步骤1中氯化氢的有机溶剂溶液为氯化氢乙酯溶液,氯化氢甲醇溶液,氯化氢乙醇溶液的一种或多种。

5. 如权利要求1所述的制备方法,其特征在于,步骤1中R2=Cbz时,脱保护反应在钯碳催化剂条件下进行,钯碳用量为式I化合物重量的5-15%。

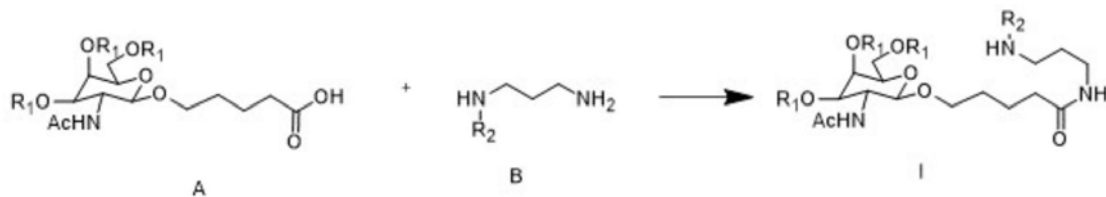
6. 如权利要求1所述的制备方法,其特征在于,步骤2中所述缩合反应中缩合剂为CDI、DSC、HBTU、HATU、HOBt/EDCI.HCl,缩合剂与式X化合物的摩尔比为1.0-4.0:1,反应温度为0-40度。

7. 如权利要求1所述的制备方法,其特征在于,步骤2中式X化合物酰氯形式在活化剂中制备,式X化合物酰氯形式在有机碱作用下与式II化合物反应生成式III化合物。

8. 如权利要求7所述的制备方法,其特征在于,步骤2中所用活化剂为草酰氯、氯化亚砷一种或多种,所用有机碱为DIPEA、三乙胺、DMAP的一种或多种。

9. 如权利要求1所述的制备方法,其特征在于,式I化合物可以通过以下方法制备:

式A化合物和式B化合物在缩合剂,有机碱,有机溶剂条件下反应制备得式I化合物,反应式如下:



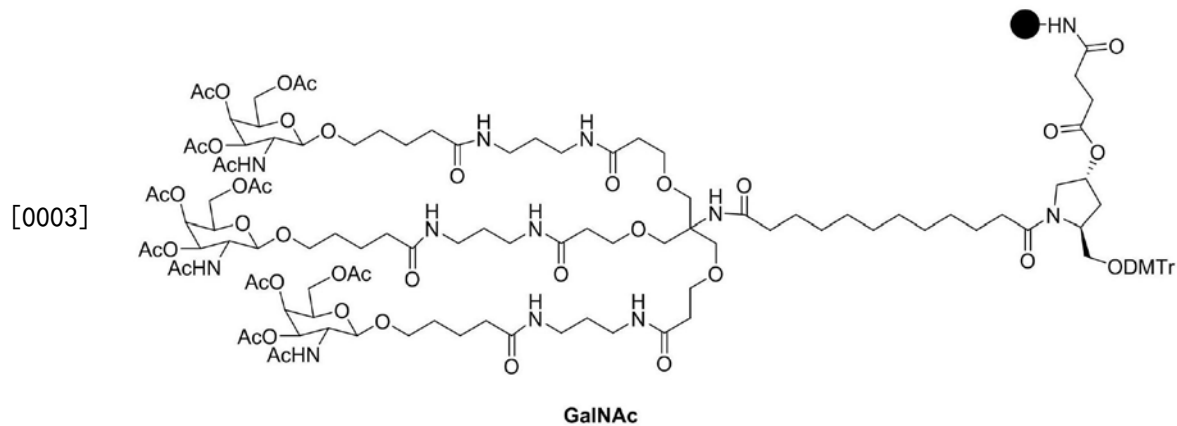
一种GalNAc中间体的制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于制备GalNAc中间体的改进工艺。

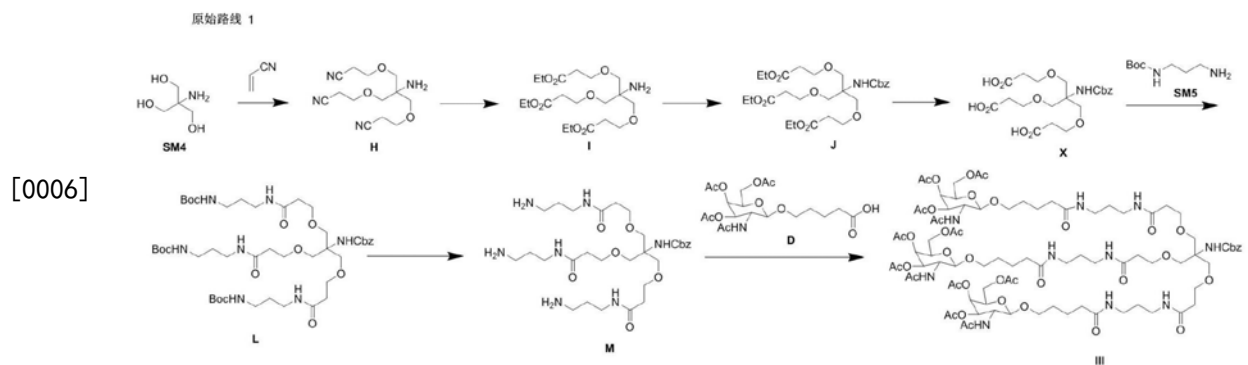
背景技术

[0002] GalNAc-siRNA是糖类化合物与siRNA形成的单缀合物,将N-乙酰化的半乳糖胺(GalNAc)以三价态的方式共价缀合到不同序列的siRNA的正义链3'末端,形成多糖-siRNA单缀合物。GalNAc是唾液酸受体(ASGPR)的靶向性配体,其与肝脏表面细胞具有较高的亲和力及迅速内化能力,从而实现该类siRNA缀合物特异性结合膜蛋白进入胞内,该类siRNA缀合物在涉及基因过表达的肝脏相关疾病治疗中具有很好的应用潜力,研究中发现,当GalNAc-siRNA单缀合物单次给药剂量为1ug/g时,皮下注射就可以实现对肝脏特定靶基因的有效沉默,沉默效率远超脂质纳米颗粒包载的siRNA。相对于时下很热的基因编辑疗法,RNAi无疑是更安全的靶向基因治疗工具。经过化学修饰优化的GalNAc-siRNA的具有更好的稳定性及干扰效率,该类siRNA缀合物在涉及基因异常高表达的肝脏相关疾病治疗中具有很好的应用潜力,GalNAc结构式如下:



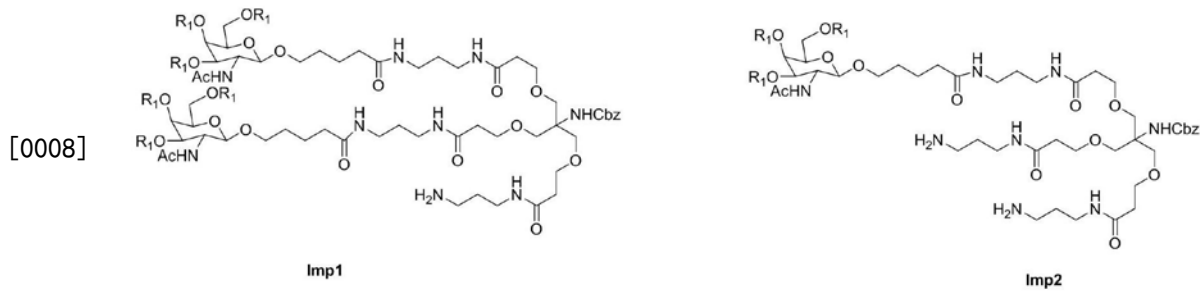
[0004] 其中式III化合物为GalNAc化合物关键中间体。目前主要有以下两条合成路线:

[0005] 路线1: 专利CN104717982B报道的合成路线

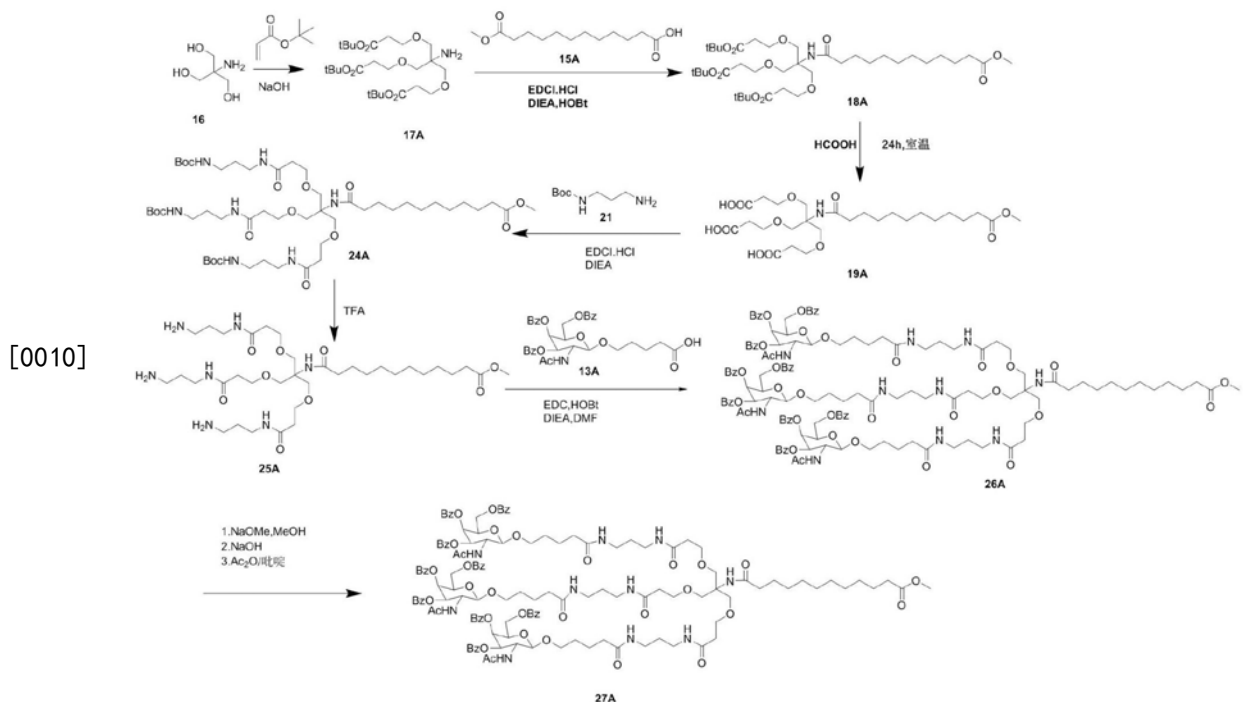


[0007] 当R1为Ac时,路线1由式D化合物与式M化合物缩合得到式N化合物,具体操作方法是:式D化合物原位制备活性酯,向其加入式M化合物(方向相反导致取代不完全)。操作过程中发现式M化合物为膏状物,其本身溶解度极差,转移极度困难,且式M化合物中带有残留的

三氟乙酸导致收率超出了理论量,给式M化合物的计量带来困难,严重影响后续反应,式M化合物过少导致昂贵的式D化合物过量,式M化合物过多则导致反应不完全,转化率低,反应可控性差,并产生大量杂质Imp1和Imp2,杂质结构式如下:



[0009] 路线2: 专利CN102006890A报道的合成路线



[0011] 用丙烯酸叔丁酯制备式17A化合物,与式15A化合物发生缩合反应获得式18A化合物,在甲酸条件下选择性脱叔丁酯,得到式19A化合物,再经缩合脱保护后得到式 25A化合物,与式13A化合物缩合,经多步反应后获得式27A化合物。该路线的优点在于羰基部分缩合后引入了Bz保护,利于反应监控,保护基稳定性得以提高。但此路线中,式17A化合物为关键中间体,国内无市售,上述原研路线及已报道的文献中均用丙烯酸叔丁酯制备式17A化合物,收率低,反应时间长,操作很复杂。

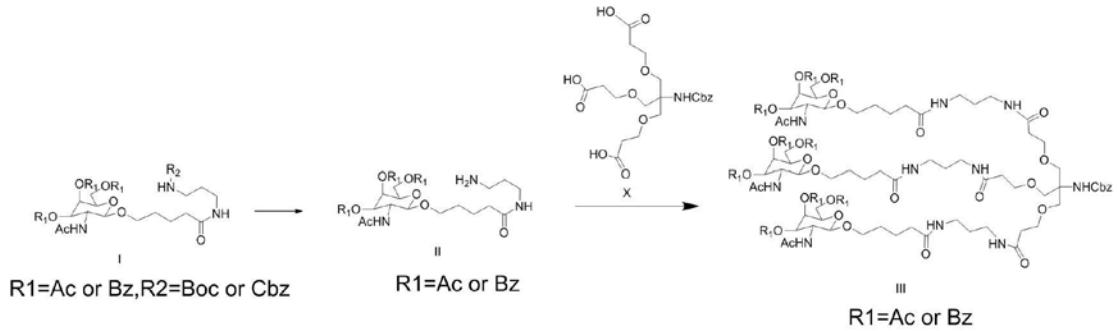
[0012] 因此本领域迫切需要一种收率高,操作简单,且产物纯度高,易于分离的式III化合物的制备方法。

发明内容

[0013] 本发明提供了一种GalNac中间体合成的方法,以克服现有技术存在的不足。该方法反应条件温和、步骤简单、收率高、产品纯度高、易于工业化生产。

[0014] 一种GalNac中间体(化合物III)的制备方法,包括以下步骤:

[0015]



[0016] 1) 式I化合物经脱保护反应得到式II化合物；

[0017] 2) 式X化合物与式II化合物直接进行缩合反应或式X化合物经活化后与式II化合物反应。

[0018] 在一些实施例中，步骤1反应溶剂为甲醇、乙醇、异丙醇中的一种或多种，优选乙醇；

[0019] 上述反应中当R2=Boc时在酸性条件下反应，所用酸为盐酸、甲酸、三氟醋酸或有机溶剂的氯化氢溶液，优选氯化氢乙酸乙酯溶液；

[0020] 上述反应中当R2=Boc时，反应温度为40-60度；

[0021] 上述反应中当R2=Cbz时，在钨碳催化剂下进行氢化脱保护反应；

[0022] 上述反应中当R2=Cbz时，所述的钨碳催化剂用量为式I化合物用量的5-15%，优选10%；

[0023] 在一些实施例中，步骤2反应溶剂为四氢呋喃、2-甲基四氢呋喃、二氯甲烷、DMF、DMSO、乙腈中的一种或多种，优选二氯甲烷或2-甲基四氢呋喃；

[0024] 上述反应中，步骤2在缩合剂条件下进行缩合反应，缩合剂为CDI、DSC、HBTU、HOBt/EDCI.HCl、HATU中的一种或多种；

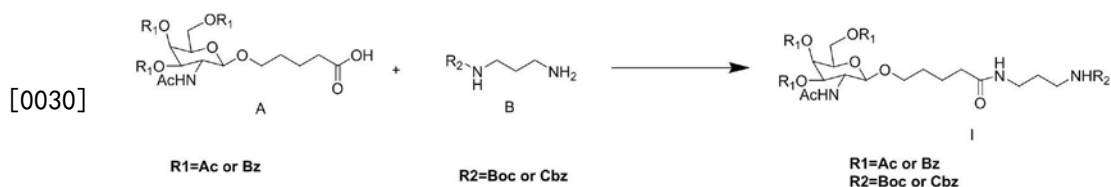
[0025] 上述反应中，步骤2缩合剂与式X化合物的摩尔比为1.0-4.0:1，反应温度为0-40度，优选为30-35度；

[0026] 在一些实施例中，步骤2式X化合物在活化剂的条件活化，所用活化剂为草酰氯，氯化亚砷；

[0027] 上述反应中，步骤2所用有机碱为DIPEA、三乙胺、DMAP的一种或多种，有机碱与式X化合物的摩尔比为3.0-10:1；

[0028] 在一些实施例中，所述的式I化合物的制备方法进一步包括下述步骤，式A化合物和式B化合物在缩合剂，有机碱，有机溶剂条件下反应得式I化合物；

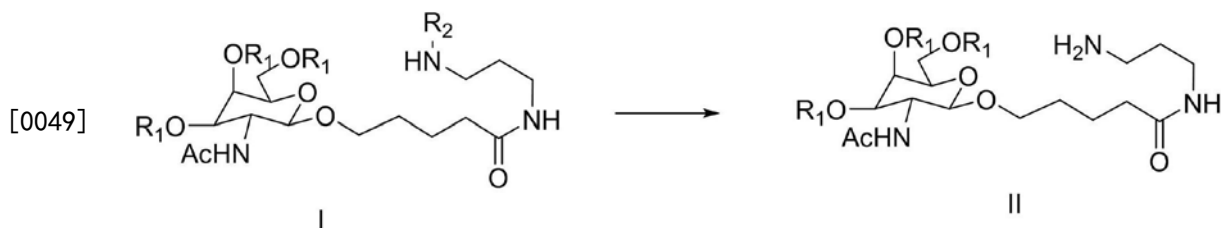
[0029] 反应式如下：



[0031] 本发明改变了活性物质滴加顺序，可以在式X化合物的活化溶液中，加入式II化合物完成反应，很好的解决了物料转移的问题，便于放大生产。更惊喜的是，由于式II化合物对氯化氢耐受，可以直接在式I化合物的乙醇溶液中滴加氯化氢/乙醇的方法得到盐酸盐形式的固态式II化合物的盐酸盐 (R2=Boc) 或者在脱保护后直接加盐酸乙醇析出式II化合物

[0047] 将A (6.33g, 0.01mol) 溶于2-甲基四氢呋喃80mL中, 搅拌下加入HBTU 5.69g, DIPEA 1.93g, 室温下搅拌三小时。随后加入B 2.09g, 升温到40反应过夜。反应毕, 加水50mL, 萃取分液, 向有机相中加入2N稀盐酸30mL, 萃取分层, 有机相用清水50mL 洗一遍, 最后再用饱和食盐水50mL清洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 得淡黄色固体I (5.63g, 收率: 71.3%)。

[0048] 实施例4: II的合成 ($R_1 = \text{Bz}$, $R_2 = \text{Cbz}$):



[0050] 将I (53.8g, 68.1mmol) 溶于乙醇 (200mL) 中, 常温下滴加质量浓度为20%氯化氢乙醇溶液 (100mL), 滴加完毕后, 将反应体系升温到45°C, 保温反应6小时。反应毕, 将反应液减压旋干, 之后用正己烷带蒸3遍, 得II (41.0g, 收率: 87.0%), 为白色固体。

[0051] 实施例5: II的合成 ($R_1 = \text{Ac}$, $R_2 = \text{Boc}$)

[0052] 将I (20g, 33.0mmol) 溶于乙醇 (70mL) 中, 常温下滴加质量浓度为20%氯化氢乙酸乙酯溶液 (35mL), 滴加完毕后, 将反应体系升温到45°C, 保温反应24小时。反应毕, 将反应液减压旋干, 之后用正己烷带蒸3遍, 得II (15.0g, 收率: 90%), 为白色固体。

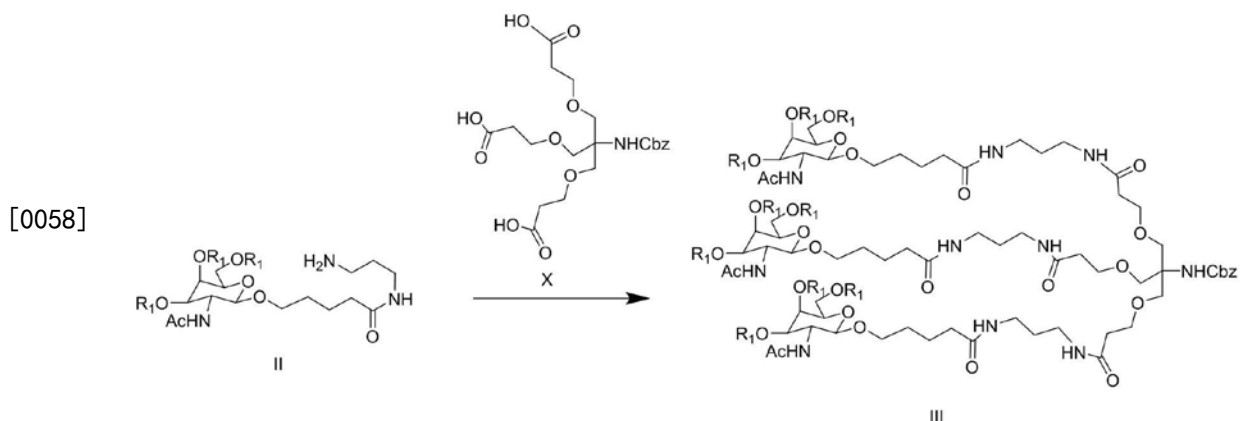
[0053] 实施例6: II的合成 ($R_1 = \text{Bz}$, $R_2 = \text{Cbz}$)

[0054] 将I (6.3g, 7.6mmol) 溶于乙醇 (30mL) 中, 加入10%钯碳0.5克, 通入氢气0.1bar, 常温搅拌过夜, 过滤, 滤液中常温下滴加质量浓度为20%氯化氢乙醇溶液 (10mL), 滴加完毕后析出固体, 过滤得II (4.3g, 收率: 82.3%), 为白色固体。

[0055] 实施例7: II的合成 ($R_1 = \text{Ac}$, $R_2 = \text{Cbz}$)

[0056] 将I (32.0g, 50.2mmol) 溶于异丙醇 (150mL) 中, 加入含水50%的5%钯碳3.2克, 通入氢气0.1bar, 常温搅拌过夜, 过滤, 滤液中常温下滴加质量浓度为20%氯化氢乙醇溶液 (10mL), 滴加完毕后析出固体, 过滤得II (4.3g, 收率: 82.3%), 为白色固体。

[0057] 实施例8: III的合成 ($R_1 = \text{Bz}$)



[0059] 将X (11.8g, 25mmol) 溶于二氯甲烷 (DCM, 250mL) 中, 加入2滴N,N-二甲基甲酰胺 (DMF), 常温下滴加草酰氯 (10.2g, 3.2eq), 滴加完后继续反应5小时。反应毕, 将反应液直接减压旋干得三酰氯 (18.7g, 收率: 94.0%), 加入DCM 100mL, 溶解后待用。

[0060] 将II (72.7g, 4.0eq) 加入二氯甲烷 (DCM, 600mL) 中, 加入N,N-二异丙基乙胺 (16.1g, 5.0eq) 溶解, 搅拌下将上述三酰氯的二氯甲烷溶液滴加到此溶液中。滴加完毕继续室温反应6小时。反应毕, 加水500mL, 2N盐酸调节酸性至2-3, 萃取分层, 收集有机相。有机相再用500mL清水清洗一遍, 有机相中加入400mL饱和碳酸氢钠溶液, 萃取分离出有机相, 有机相再用500mL清水清洗一遍, 分离有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得橘黄色固体III (60.2g, 产率: 97.0%)。

[0061] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 7.993 (d, $J=9.3\text{Hz}$, 3H), 7.961-7.880 (m, 12H), 7.838 (t, $J=5.6\text{Hz}$, 3H), 7.797-7.642 (m, 12H), 7.684-7.598 (m, 3H), 7.626-7.529 (m, 9H), 7.493 (t, $J=7.8\text{Hz}$, 6H), 7.429-7.236 (m, 11H), 6.540 (s, 1H), 5.754 (d, $J=3.4\text{Hz}$, 3H), 5.367 (dd, $J=11.1, 3.4\text{Hz}$, 3H), 4.965 (s, 2H), 4.736 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 3H), 4.510-4.409 (m, 6H), 4.401-4.217 (m, 6H), 3.798 (q, $J=4.7, 4.0\text{Hz}$, 3H), 3.578-3.453 (m, 15H), 3.032 (qd, $J=6.5, 3.4\text{Hz}$, 12H), 2.271 (t, $J=6.4\text{Hz}$, 6H), 2.056 (t, $J=8.2\text{Hz}$, 6H), 1.703 (s, 9H), 1.559-1.445 (m, 5H), 1.503 (s, 13H)。

[0062] 实施例9: III的合成 ($R_1=\text{Ac}$)

[0063] 将X (11.8g, 25mmol) 溶于2-甲基四氢呋喃180mL中, 加入CDI 13.4克, 加完后继续反应1小时以上。反应毕, 加三乙胺20.2克, 加入II (41.9g, 3.1eq), 加完后保温 35度反应过夜。反应毕, 加水200mL, 2N盐酸调节酸性至2-3, 萃取分层, 收集有机相, 有机相再用500mL清水有机相中加入200mL饱和碳酸氢钠溶液, 萃取分离出有机相, 有机相再用200mL清水清洗一遍, 分离有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得橘黄色固体III (46.5g, 产率: 96.3%)。

[0064] 实施例10: III的合成 ($R_1=\text{Ac}$)

[0065] 将X (11.8g, 25.0mmol) 溶于DMF 120mL中, 加入HATU 34.4克, DIPEA 18.1克, 加完后继续反应1小时以上。反应毕, 加入II (56.79g, 4.2eq), 加完后升温到35度反应过夜。反应毕, 加水200mL, 2N盐酸调节酸性至2-3, 加乙酸异丙酯100mL*2萃取 2次, 合并有机相。用水200mL*2清洗2遍, 分离有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得橘黄色固体III (40.7g, 产率: 84.3%)。