

医药与日化原料

单分散聚乙二醇的高效合成

杨慧宇, 王雯丽, 李长庚*

(重庆理工大学 药学与生物工程学院, 重庆 400054)

摘要: 以廉价的二聚、三聚、四聚乙二醇为原料, 开发了一种基于环硫酸酯的单端延伸法合成单分散聚乙二醇的方法。以苄基作为保护基, 重复利用环硫酸酯的亲核开环、水解反应对单苄基化聚乙二醇的羟基端进行延伸, 以55%~86%的产率得到单苄基化的6~16聚的单分散聚乙二醇衍生物, 最后通过催化氢化脱去苄基, 以95%~99%的产率得到6~16聚的单分散聚乙二醇。中间体及终产物的结构均经NMR和MS确证。该方法的优点是: 反应进程易于监控, 反应效率高, 无与目标产物的聚合度接近的聚乙二醇杂质, 中间体及终产物易于分离纯化。

关键词: 聚乙二醇; 单分散聚乙二醇; 环硫酸酯; 合成方法; 单端延伸法; 医药原料

中图分类号: O622.3; TQ423.2+1 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214 (2023) 09-2013-07

Highly efficient synthesis of monodisperse polyethylene glycols

YANG Huiyu, WANG Wenli, LI Changgeng*

(School of Pharmacy and Bioengineering, Chongqing University of Technology, Chongqing 400054, China)

Abstract: A novel method for the synthesis of monodisperse polyethylene glycols by single chain extension strategy based on macrocyclic sulfates was developed using cheap dipolyethylene glycol, tripolyethylene glycol and tetraethylene glycol as raw materials. Using benzyl as protecting group, the hydroxyl end of monobenzylated polyethylene glycols was repeatedly extended by nucleophilic ring opening and hydrolysis reaction of macrocyclic sulfate and subsequent hydrolysis reaction, and the monobenzylated monodisperse polyethylene glycol derivatives with polymerization degree of 6 to 16 were obtained with yields of 55%~86%. Finally, monodisperse polyethylene glycols with polymerization degree of 6 to 16 were obtained with yields of 95%~99% through debenzilation by catalytic hydrogenation. The structure of the intermediates and final products obtained were confirmed by NMR and MS. This method showed advantages of easy reaction process monitoring, high reaction efficiency, no polyethylene glycol impurities with degree of polymerization close to that of the target products, as well as easy separation and purification of the intermediates and the final products.

Key words: polyethylene glycols; monodisperse polyethylene glycols; macrocyclic sulfates; synthetic method; single chain extension strategy; drug materials

聚乙二醇(PEGs)具有多种优异的理化性质, 如含有稳定、柔韧和中性的主链结构, 在水和其他溶剂中具有较好的溶解度。在生物学特性方面, 聚乙二醇还具有较好的生物相容性、非免疫原性和非抗原性^[1]。因此, 聚乙二醇被广泛地运用于制药领域^[2-4]、生物医学^[5-7]和生物偶联^[8]研究中, 以提高药

物的溶解度和稳定性、降低免疫原性和给药频率、延长血液循环^[9-12]。此外, 聚乙二醇及其衍生物也经常应用于表面科学^[13]、纳米技术^[14]和碳纳米管功能化^[15]等领域。

传统的聚乙二醇通常是通过环氧乙烷的开环聚合反应制备^[16], 聚合度不易精确控制, 产物通常是

收稿日期: 2023-01-19; 定用日期: 2023-03-23; DOI: 10.13550/j.jxhg.20230038

基金项目: 重庆市科委自然科学基金面上项目(cstc2020jcyj-msxmX0153); 重庆市教委科学技术研究项目(KJQN202001113); 重庆理工大学研究生创新项目(gzlcx20223343)

作者简介: 杨慧宇(1998—), 男, 硕士生, E-mail: leonsb776@outlook.com。联系人: 李长庚(1986—), 男, 博士, 讲师, E-mail: lichanggeng@cqut.edu.cn。

相对分子质量不均一的混合物(图 1a)。然而,使用这种多分散聚乙二醇修饰药物时,在纯化、表征、质量控制、临床应用及监管批准等方面会带来一系列的问题^[17]。解决此难题的有效途径是使用单分散聚乙二醇(M-PEGs)来代替传统的多分散聚乙二醇。

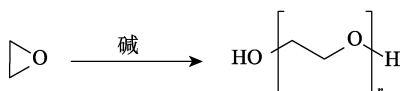
单分散聚乙二醇具有精确的化学结构,其突出的优点是相对分子质量确定、理化性质可预测、易于纯化表征、质量可控、安全性高等^[18]。然而,由于合成耗时长、产率低、纯化繁琐,大大降低了合成效率,使高效合成单分散聚乙二醇仍具有较大的挑战性,严重地限制了它们的应用。

许多研究报道了基于亲核取代反应,逐步合成

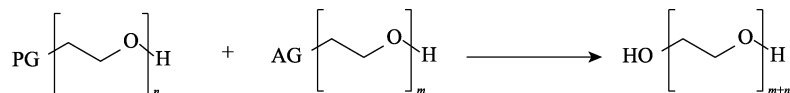
单分散聚乙二醇及其衍生物的方法(图 1b)^[19-21]。然而,在这些亲核取代反应中,往往因反应不完全而产生与目标产物的聚合度接近的聚乙二醇杂质,它们和目标产物具有非常相近的理化性质,给后续的分离纯化带来了极大的困难。这一问题严重阻碍了逐步合成法在大规模制备单分散聚乙二醇中的实际应用。

2015年,ZHANG等^[22]报道了一种新型的制备单分散聚乙二醇的合成砌块——环硫酸酯。他们利用环硫酸酯的亲核开环、水解“一锅法”反应,对聚乙二醇的两端进行延伸,合成了最长为36聚的单分散聚乙二醇(图 1c)^[22-27]。

a. 基于环氧乙烷的开环聚合反应制备多分散聚乙二醇

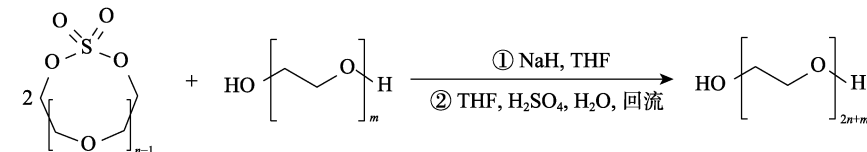


b. 基于亲核取代反应的逐步法合成单分散聚乙二醇



PG: 保护基团; AG: 活化基团

c. 基于环硫酸酯的双端延伸法合成单分散聚乙二醇



d. 本项工作: 基于环硫酸酯的单端延伸法合成单分散聚乙二醇

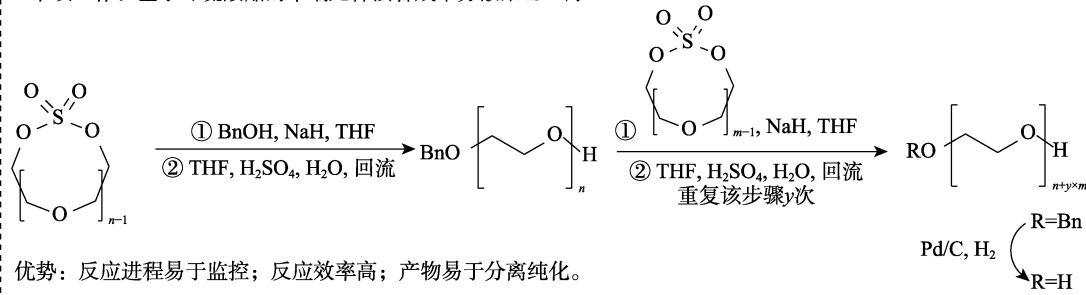


图 1 聚乙二醇的合成方法

Fig. 1 Synthetic methods of polyethylene glycols

本课题组在使用上述基于环硫酸酯的双端延伸法合成单分散聚乙二醇的研究中发现,利用环硫酸酯的亲核开环反应对聚乙二醇两端延伸的反应条件较苛刻,容易因反应不完全而产生仅一端延长的杂质,此杂质的聚合度与目标产物接近,给后续的分离纯化带来了极大的困难;此外,反应底物及产物在紫外光下均无荧光,导致对反应进程的监控变得繁琐。为解决此问题,本课题组提出了一种基于环硫酸酯的单端延伸法合成单分散聚乙二醇的路线(图 1d)。该法以苄基作为保护基,重复利用环硫酸酯的亲核开环、水解反应,对单苄基化聚乙二

醇的羟基端进行延伸,最后通过催化氢化脱除苄基,得到一系列具有不同聚合度的单分散聚乙二醇。本研究为高效制备单分散聚乙二醇提供了一种有实际应用价值的方法。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

二聚乙二醇、三聚乙二醇、四聚乙二醇、二氯亚砷(SOCl₂)、4-二甲氨基吡啶(DMAP)、苄醇(BnOH)、氢化钠(NaH,质量分数60%)、四氢呋

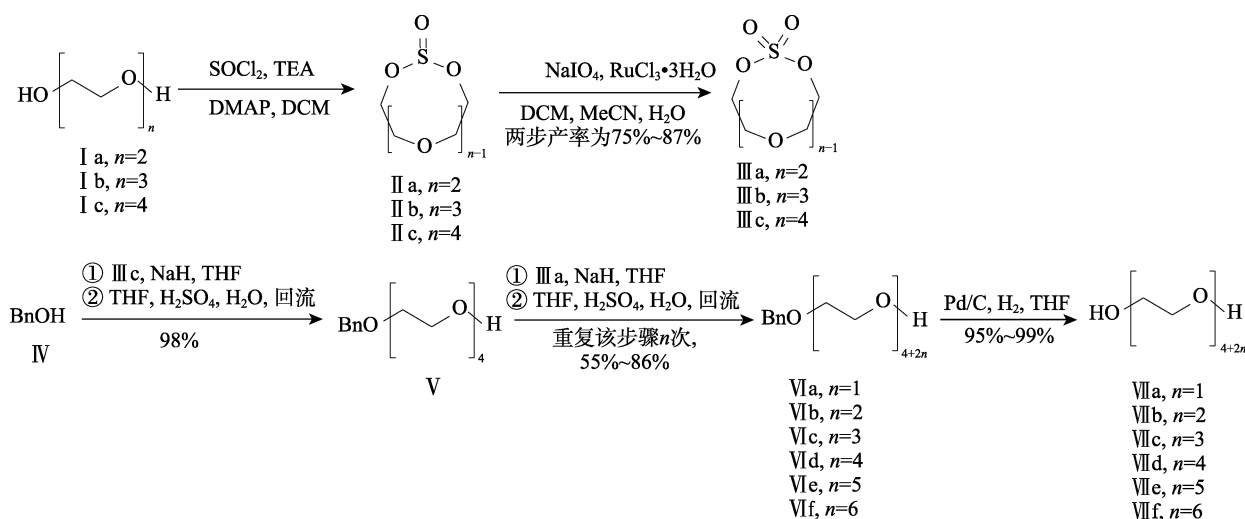
喃 (THF)、三乙胺 (TEA)、甲酸、钯碳 (Pd/C, Pd 质量分数为 10%), 分析纯, 乙腈 (MeCN), 色谱纯, 上海阿达玛斯试剂有限公司; NaIO₄, 分析纯, 上海麦克林生化科技股份有限公司; 石油醚 (PE, 馏程 60~90 °C)、乙酸乙酯 (EA)、二氯甲烷 (DCM)、甲醇 (MeOH)、NaHCO₃、NaCl, 柱层析硅胶 (200~300 目), 均为分析纯, 上海泰坦科技股份有限公司; H₂、超纯水, 自制; RuCl₃•3H₂O, 分析纯, 江苏艾康生物医药研发有限公司; 硫酸 (H₂SO₄), 分析纯, 成都市科隆化学品有限公司; HSGF254 型薄层析硅胶板, 烟台江友硅胶开发有限公司; 尼龙微孔滤膜, 0.2 μm, 英国 Whatman 公司。所有试剂未经进一步纯化, 直接使用。

Bruker AVANCE NEO 400 MHz 核磁共振波谱仪, 德国 Bruker 公司; EYELA N1300 旋转蒸发仪, 日本东京理化器械株式会社; FA2204C 电子天平, 上海天美天平仪器有限公司; Agilent 6410 LC/MS 液

质联用仪、质谱分析色谱柱 (C18, 250 mm×2.1 mm, 2.6 μm), 美国 Agilent 科技公司; Merk Millipore Elix 5 UV 水纯化系统, 德国 Merk 公司; SPH-500 型氢气发生器, 北京中惠普分析技术研究所。

1.2 方法

基于环硫酸酯的单端延伸法合成单分散聚乙二醇的路线如下所示。以廉价的 2~4 聚的聚乙二醇为原料, 经闭环、氧化反应得到相应的环硫酸酯合成砌块 (III a、III b 及 III c)。苄醇在碱性条件下形成的醇钠作为亲核试剂, 对环硫酸酯 III c 开环得磺酸盐中间体, 经酸水解得单苄基化四聚乙二醇 (V)。中间体 V 在碱性条件下形成醇钠, 并作为亲核试剂, 对环硫酸酯 III a 开环, 再经酸水解得单苄基化六聚乙二醇 (VI a)。单苄基化聚乙二醇与环硫酸酯 III a 重复此开环、水解“一锅法”反应, 依次可得其他聚合度的单苄基化聚乙二醇 (VI b~f)。最后通过催化氢化脱去苄基, 得 6~16 聚的单分散聚乙二醇 (VII a~f)。



1.2.1 环硫酸酯 III a 的合成

将二聚乙二醇 (I a) 5 g (47 mmol) 加入到 TEA 34 mL (226 mmol)、DMAP 0.287 g (2.3 mmol)、DCM (1 L) 的混合溶液中, 冰浴下搅拌 0.5 h 后, 缓慢滴加 SOCl₂ 11.21 g (94.2 mmol), 滴加完成后于冰浴下继续反应 1 h, 然后加入饱和氯化钠水溶液 (400 mL) 淬灭反应。分液, 收集有机相, 水相用 DCM (100 mL×3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸干溶剂, 得红棕色油状液体环亚硫酸酯 II a 粗产物。

将环亚硫酸酯 II a 粗产物溶解在 DCM (80 mL)、MeCN (80 mL)、H₂O (120 mL) 的混合溶剂中, 冰浴下依次加入 NaIO₄ 12.09 g (56 mmol)、RuCl₃•3H₂O 61.6 mg (0.3 mmol), 于冰浴下搅拌 2 h 后停止反应, 分液, 水相用 DCM (100 mL×3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸干溶剂,

经柱层析纯化 [V (PE) : V (EA) = 1 : 1], 减压蒸干溶剂, 得无色油状液体 III a 6.90 g, 两步产率 87%。¹HNMR (400 MHz, CDCl₃), δ: 3.96 (m, 4H), 4.50 (m, 4H); ¹³CNMR (100 MHz, CDCl₃), δ: 70.98, 74.49。

1.2.2 环硫酸酯 III b 的合成

将三聚乙二醇 (I b) 5 g (33 mmol) 加入到 TEA 22.21 mL (159.8 mmol)、DMAP 0.203 g (1.6 mmol)、DCM (1 L) 的混合溶液中, 冰浴下搅拌 0.5 h 后, 缓慢滴加 SOCl₂ 7.92 g (66 mmol), 滴加完成后于冰浴下继续反应 1 h, 然后加入饱和氯化钠水溶液 (400 mL) 淬灭反应。分液, 收集有机相, 水相用 DCM (100 mL×3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸干溶剂, 得红棕色固体环亚硫酸酯 II b 粗产物。

将环亚硫酸酯 II b 粗产物溶解在 DCM (80 mL)、

MeCN (80 mL)、H₂O (120 mL) 的混合溶剂中, 冰浴下依次加入 NaIO₄ 8.55 g (40 mmol)、RuCl₃•3H₂O 43.5 mg (0.17 mmol), 于冰浴下搅拌 2 h 后停止反应, 分液, 水相用 DCM (100 mL×3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸干溶剂, 加入适量乙酸乙酯溶解粗产物, 再加入适量石油醚进行重结晶, 过滤得白色晶体 III b 5.32 g, 两步产率 75%。¹HNMR (400 MHz, CDCl₃), δ: 3.68 (s, 4H), 3.88 (m, 4H), 4.46 (m, 4H); ¹³CNMR (100 MHz, CDCl₃), δ: 68.47, 70.80, 72.31。

1.2.3 环硫酸酯 III c 的合成

将四聚乙二醇 (I c) 5 g (26 mmol) 加入到 TEA 17 mL (123 mmol)、DMAP 0.157 g (1.3 mmol)、DCM (1 L) 的混合溶液中, 冰浴下搅拌 0.5 h 后, 缓慢滴加 SOCl₂ 11.28 g (95 mmol), 滴加完成后于冰浴下继续反应 1 h, 然后加入饱和氯化钠水溶液 (400 mL) 淬灭反应。分液, 收集有机相, 水相用 DCM (100 mL×3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸干溶剂, 得红棕色油状液体环亚硫酸酯 II c 粗产物。

将环亚硫酸酯 II c 粗产物溶解在 DCM (80 mL)、MeCN (80 mL)、H₂O (120 mL) 的混合溶剂中, 冰浴下依次加入 NaIO₄ 6.61 g (31 mmol)、RuCl₃•3H₂O 33.65 mg (0.13 mmol), 于冰浴下搅拌 2 h 后停止反应, 分液, 水相用 DCM (100 mL×3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸干溶剂, 经柱层析纯化 [V(PE) : V(EA) = 1 : 1], 减压蒸干溶剂, 得白色固体 III c 5.34 g, 两步产率 81%。¹HNMR (400 MHz, CDCl₃), δ: 3.68 (m, 8H), 3.85 (m, 4H), 4.48 (m, 4H); ¹³CNMR (100 MHz, CDCl₃), δ: 68.45, 70.67, 70.72, 72.18。

1.2.4 单苄基化四聚乙二醇 (V) 的合成

将 BnOH 2 g (18.5 mmol) 溶解在 THF (60 mL) 中, 冰浴下加入 NaH 887 mg (质量分数 60%, 22.2 mmol) 搅拌 10 min 后, 移除冰浴, 于室温下继续搅拌 20 min, 然后加入环硫酸酯 III c 7.11 g (27.7 mmol), 于 50 °C 下保温搅拌反应 12 h, TLC [V(PE) : V(EA) = 1 : 1] 监测原料转化完全后, 加入水 (20 mL) 淬灭反应, 再加入硫酸 2 mL (37 mmol) 回流搅拌 3 h。加入饱和碳酸钠溶液中和反应液, 用 DCM (60 mL×3) 萃取, 收集有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸干溶剂, 经柱层析纯化 [V(PE) : V(EA) = 1 : 1], 减压蒸干溶剂, 得无色油状液体 V 5.18 g, 产率 98%。¹HNMR (400 MHz, CDCl₃), δ: 3.57~3.71 (m, 16H), 4.58 (s, 2H), 7.24~7.34 (m, 5H); ¹³CNMR (100 MHz, CDCl₃), δ: 61.72, 69.39, 70.31, 70.57, 70.60, 70.63, 72.59, 73.25, 127.64, 127.80, 128.38, 138.17。LC-ESI-MS [C₁₅H₂₄O₅+H]⁺,

m/z, 实测值 (计算值): 285.4 (285.2)。

1.2.5 单苄基化六聚乙二醇 (VI a) 的合成

将 V 4 g (14 mmol) 溶解在 THF (30 mL) 中, 冰浴下加入 NaH 675 mg (质量分数 60%, 17 mmol) 搅拌 10 min 后, 移除冰浴, 于室温下继续搅拌 20 min, 然后加入环硫酸酯 III a 3.55 g (21 mmol), 于 50 °C 下保温搅拌反应 12 h, TLC [V(PE) : V(EA) = 1 : 1] 监测原料转化完全后, 加入水 (10 mL) 淬灭反应, 再加入硫酸 1.5 mL (28 mmol) 回流搅拌 3 h。加入饱和碳酸钠溶液中和反应液, 用 DCM (20 mL×3) 萃取, 收集有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸干溶剂, 经柱层析纯化 [先用 V(PE) : V(EA) = 1 : 1, 后用 V(DCM) : V(MeOH) = 20 : 1], 减压蒸干溶剂, 得无色油状液体 VI a 4.51 g, 产率 86%。¹HNMR (400 MHz, CDCl₃), δ: 3.57~3.71 (m, 24H), 4.58 (s, 2H), 7.24~7.34 (m, 5H); ¹³CNMR (100 MHz, CDCl₃), δ: 61.72, 69.41, 70.31, 70.53, 70.56, 70.59, 70.61, 70.65, 72.58, 73.23, 127.60, 127.77, 128.35, 138.36。LC-ESI-MS [C₁₉H₃₂O₇+H]⁺, *m/z*, 实测值 (计算值): 373.4 (373.2)。

1.2.6 单苄基化八聚乙二醇 (VI b) 的合成

将 VI a 2 g (5.4 mmol) 溶解在 THF (15 mL) 中, 冰浴下加入 NaH 258 mg (质量分数 60%, 6.44 mmol) 搅拌 10 min 后, 移除冰浴, 于室温下继续搅拌 20 min, 然后加入环硫酸酯 III a 1.35 g (8.05 mmol), 于 50 °C 下保温搅拌反应 12 h, TLC [V(PE) : V(EA) = 1 : 1] 监测原料转化完全后, 加入水 (5 mL) 淬灭反应, 再加入硫酸 0.6 mL (10.7 mmol) 回流搅拌 3 h。加入饱和碳酸钠溶液中和反应液, 用 DCM (10 mL×3) 萃取, 收集有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸干溶剂, 经柱层析纯化 [先用 V(PE) : V(EA) = 1 : 1, 后用 V(DCM) : V(MeOH) = 20 : 1], 减压蒸干溶剂, 得无色油状液体 VI b 1.83 g, 产率 74%。¹HNMR (400 MHz, CDCl₃), δ: 3.57~3.71 (m, 32H), 4.58 (s, 2H), 7.24~7.34 (m, 5H); ¹³CNMR (100 MHz, CDCl₃), δ: 61.69, 69.41, 70.28, 70.51, 70.53, 70.56, 70.58, 70.60, 70.63, 72.61, 73.23, 127.60, 127.77, 128.35, 138.3。LC-ESI-MS [C₂₃H₄₀O₉+H]⁺, *m/z*, 实测值 (计算值): 461.6 (461.3)。

1.2.7 单苄基化十聚乙二醇 (VI c) 的合成

将 VI b 2 g (4.3 mmol) 溶解在 THF (15 mL) 中, 冰浴下加入 NaH 208 mg (质量分数 60%, 5.2 mmol) 搅拌 10 min 后, 移除冰浴, 于室温下继续搅拌 20 min, 然后加入环硫酸酯 III a 1.10 g (6.5 mmol), 于 50 °C 下保温搅拌反应 12 h, TLC [V(DCM) : V(MeOH) = 20 : 1] 监测原料转化完全后, 加入水 (5 mL) 淬灭反应, 再加入硫酸 0.5 mL (8.69 mmol) 回流搅拌 3 h。加入饱和碳酸钠溶液中和反应液, 用

DCM (10 mL×3) 萃取, 收集有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸干溶剂, 经柱层析纯化[先用 $V(\text{PE}) : V(\text{EA}) = 1 : 1$, 后用 $V(\text{DCM}) : V(\text{MeOH}) = 20 : 1$], 减压蒸干溶剂, 得无色油状液体 VIc 1.74 g, 产率 73%。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 3.57~3.71 (m, 40H), 4.58 (s, 2H), 7.24~7.34 (m, 5H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3), δ : 61.70, 69.41, 70.27, 70.51, 70.53, 70.56, 70.59, 70.64, 72.64, 73.24, 127.60, 127.77, 128.35, 138.36。LC-ESI-MS [$\text{C}_{27}\text{H}_{48}\text{O}_{11} + \text{H}$] $^+$, m/Z , 实测值 (计算值): 549.7 (549.3)。

1.2.8 单苄基化十二聚乙二醇 (VI d) 的合成

将 VIc 2 g (3.6 mmol) 溶解在 THF (15 mL) 中, 冰浴下加入 NaH 175 mg (质量分数 60%, 4.4 mmol) 搅拌 10 min 后, 移除冰浴, 于室温下继续搅拌 20 min, 然后加入环硫酸酯 III a 919 mg (5.47 mmol), 于 50 °C 下保温搅拌反应 12 h, TLC [$V(\text{DCM}) : V(\text{MeOH}) = 20 : 1$] 监测原料转化完全后, 加入水 (5 mL) 淬灭反应, 再加入硫酸 0.4 mL (7.29 mmol) 回流搅拌 3 h。加入饱和碳酸钠溶液中和反应液, 用 DCM (10 mL×3) 萃取, 收集有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸干溶剂, 经柱层析纯化[先用 $V(\text{PE}) : V(\text{EA}) = 1 : 1$, 后用 $V(\text{DCM}) : V(\text{MeOH}) = 20 : 1$], 减压蒸干溶剂, 得无色油状液体 VI d 1.77 g, 产率 76%。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 3.58~3.70 (m, 48H), 4.55 (s, 2H), 7.25~7.33 (m, 5H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3), δ : 61.70, 69.41, 70.27, 70.51, 70.53, 70.56, 70.59, 70.64, 72.64, 73.24, 127.60, 127.77, 128.35, 138.36。LC-ESI-MS [$\text{C}_{31}\text{H}_{56}\text{O}_{13} + \text{H}$] $^+$, m/Z , 实测值 (计算值): 637.7 (637.4)。

1.2.9 单苄基化十四聚乙二醇 (VI e) 的合成

将 VI d 2 g (3.1 mmol) 溶解在 THF (15 mL) 中, 冰浴下加入 NaH 151 mg (质量分数 60%, 3.8 mmol) 搅拌 10 min 后, 移除冰浴, 于室温下继续搅拌 20 min, 然后加入环硫酸酯 III a 792 mg (4.7 mmol), 于 50 °C 下保温搅拌反应 12 h, TLC [$V(\text{DCM}) : V(\text{MeOH}) = 20 : 1$] 监测原料转化完全后, 加水 (5 mL) 淬灭反应, 再加入硫酸 0.343 mL (6.28 mmol) 回流搅拌 3 h。加入饱和碳酸钠溶液中和反应液, 用 DCM (10 mL×3) 萃取, 收集有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸干溶剂, 经柱层析纯化[先用 $V(\text{PE}) : V(\text{EA}) = 1 : 1$, 后用 $V(\text{DCM}) : V(\text{MeOH}) = 20 : 1$], 减压蒸干溶剂, 得无色油状液体 VI e 1.26 g, 产率 55%。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 3.58~3.70 (m, 56H), 4.55 (s, 2H), 7.25~7.33 (m, 5H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3), δ : 61.70, 69.41, 70.27, 70.51, 70.53, 70.56, 70.59, 70.64, 72.64, 73.24, 127.60, 127.77, 128.35, 138.36。LC-ESI-MS [$\text{C}_{35}\text{H}_{64}\text{O}_{15} + \text{H}$] $^+$, m/Z , 实测值 (计算值): 725.8 (725.4)。

1.2.10 单苄基化十六聚乙二醇 (VI f) 的合成

将 VI e 2 g (2.76 mmol) 溶解在 THF (15 mL) 中, 冰浴下加入 NaH 132 mg (质量分数 60%, 3.3 mmol) 搅拌 10 min 后, 移除冰浴, 于室温下继续搅拌 20 min, 然后加入环硫酸酯 III a 696 mg (695.9 mmol), 于 50 °C 下保温搅拌反应 12 h, TLC [$V(\text{DCM}) : V(\text{MeOH}) = 20 : 1$] 监测原料转化完全后, 加入水 (5 mL) 淬灭反应, 再加入硫酸 0.3 mL (5.5 mmol) 回流搅拌 3 h。加入饱和碳酸钠溶液中和反应液, 用 DCM (10 mL×3) 萃取, 收集有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸干溶剂, 经柱层析纯化[先用 $V(\text{PE}) : V(\text{EA}) = 1 : 1$, 后用 $V(\text{DCM}) : V(\text{MeOH}) = 20 : 1$], 减压蒸干溶剂, 得无色油状液体 VI f 1.38 g, 产率 61.5%。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 3.58~3.70 (m, 64H), 4.55 (s, 2H), 7.25~7.33 (m, 5H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3), δ : 61.88, 69.64, 70.53, 70.76, 70.80, 72.76, 73.43, 127.77, 127.92, 128.54, 138.47。LC-ESI-MS [$\text{C}_{39}\text{H}_{72}\text{O}_{17} + \text{H}$] $^+$, m/Z , 实测值 (计算值): 813.8 (813.5)。

1.2.11 单分散聚乙二醇 (VII a~f) 的合成

于室温下将 Pd/C (质量分数 10%, 50 mg) 加入到单苄基化聚乙二醇 (VI a~f, 1 g) 的 THF (10 mL) 溶液中, 置换空气为 H_2 , 室温下搅拌反应 3 h, 过滤, 减压蒸干溶剂, 经柱层析纯化 [$V(\text{DCM}) : V(\text{MeOH}) = 20 : 1 \sim 10 : 1$], 减压蒸干溶剂, 得单分散聚乙二醇 VII a~f。

六聚乙二醇 (VII a): 产率 99%, 无色油状液体。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 3.21 (s, 2H), 3.60~3.74 (m, 24H)。LC-ESI-MS [$\text{C}_{12}\text{H}_{26}\text{O}_7 + \text{H}$] $^+$, m/Z , 实测值 (计算值): 283.5 (283.2)。

八聚乙二醇 (VII b): 产率 98%, 无色油状液体。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 3.24 (s, 2H), 3.60~3.73 (m, 32H)。LC-ESI-MS [$\text{C}_{16}\text{H}_{34}\text{O}_9 + \text{H}$] $^+$, m/Z , 实测值 (计算值): 371.5 (371.2)。

十聚乙二醇 (VII c): 产率 98%, 无色油状液体。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 2.81 (s, 2H), 3.59~3.72 (m, 40H)。LC-ESI-MS [$\text{C}_{20}\text{H}_{42}\text{O}_{11} + \text{H}$] $^+$, m/Z , 实测值 (计算值): 459.5 (459.3)。

十二聚乙二醇 (VII d): 产率 99%, 无色油状液体。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 2.91 (s, 2H), 3.57~3.71 (m, 48H)。LC-ESI-MS [$\text{C}_{24}\text{H}_{50}\text{O}_{13} + \text{H}$] $^+$, m/Z , 实测值 (计算值): 547.3 (547.3)。

十四聚乙二醇 (VII e): 产率 98%, 无色油状液体。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 2.79 (s, 2H), 3.58~3.72 (m, 56H)。LC-ESI-MS [$\text{C}_{28}\text{H}_{58}\text{O}_{15} + \text{H}$] $^+$, m/Z , 实测值 (计算值): 635.6 (635.4)。

十六聚乙二醇 VII f: 产率 95%, 无色油状液体。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 2.69 (s, 2H), 3.59~3.72

(m, 64H)。LC-ESI-MS [$C_{32}H_{66}O_{17}+H$]⁺, m/z , 实测值 (计算值): 723.6 (723.4)。

1.2.12 LC-MS 测试

LC-MS 测试条件: 使用液质联用仪 [包含配备二极管阵列检测器 (DAD) 的 Agilent 1260 HPLC、自动进样器及配备电喷雾离子源 (ESI) 的安捷伦三重四极杆 6410B 等模块] 进行测试, 在正离子模式下工作。质谱分析色谱柱为安捷伦 C18 (250 mm×2.1 mm×2.6 μm), 进样体积为 2 μL, 流速为 0.3 mL/min, 洗脱溶剂为乙腈 (A) 和水 (B), 线性梯度洗脱: V (乙腈) : V (水) = 10 : 90~95 : 5, 洗脱时间为 20 min。乙腈和水分别加入体积分数 0.1% 的甲酸, 并在使用前通过 0.2 μm 尼龙微孔滤膜过滤。色谱柱温度为 30 °C, 电离源干燥气体温度为 350 °C, 气体流量为 10 L/min, 雾化器压力为 50 psi, 毛细管电压为 4000 V。采用电喷雾电离, 于 MS2-Scan 模式下进行检测。

2 结果与讨论

以廉价的 2~4 聚的聚乙二醇为原料, 经闭环、氧化两步反应, 以 75%~87% 的总产率合成得到相应的环硫酸酯合成砌块 (III a、III b 及 III c), 其中, 闭环反应的产物环亚硫酸酯中间体仅通过简单的萃取, 不需进一步纯化即可用于后续的氧化反应, 环硫酸酯 III b 可通过重结晶进行纯化。

苄醇经 NaH 处理形成醇钠, 后者亲核进攻环硫酸酯 III c, 开环得磺酸盐中间体, 经酸水解后, 以 98% 的产率合成得到单苄基化四聚乙二醇 (V), 此开环、水解可通过“一锅法”反应实现。

中间体 V 经 NaH 处理形成醇钠, 后者亲核进攻环硫酸酯 III a, 开环得磺酸盐中间体, 经酸水解后, 以 86% 的产率合成得到单苄基化六聚乙二醇 (VI a)。单苄基化聚乙二醇与环硫酸酯 III a 重复此开环、水解“一锅法”反应, 依次得到其他聚合度的单苄基化聚乙二醇 VI b~f, 单步产率 55%~86%, 随着聚乙二醇链的延长, 产率呈下降趋势。在开环、水解一锅法反应中, 由于苄基化修饰的聚乙二醇中间体在紫外光下显荧光, 易通过 TLC 监控反应进程; 更重要的是, 反应效率高, 没有观察到与目标产物的聚合度接近的苄基化聚乙二醇杂质的产生。因此, 产物易通过简单的柱层析进行分离纯化。

最后通过催化氢化脱去苄基, 经过简单的柱层析纯化, 以极高的产率 (95%~99%) 得到 6~16 聚的单分散聚乙二醇 VII a~f, 没有观察到与目标产物的聚合度接近的聚乙二醇杂质的产生。

为了优化单苄基化聚乙二醇的脱苄基的反应条件, 考察了单苄基化四聚乙二醇 (V) 在不同溶剂

下的脱苄基情况, 结果见表 1。如表 1 所示, 当溶剂为甲醇、乙醇时, 反应不易彻底进行; 当溶剂为 THF 时, 反应速率最快, 于常温下搅拌反应 3 h 便可完全脱去苄基。因此, 最佳的催化氢化脱苄基反应条件为: 以 Pd/C (Pd 质量分数为 10%) 为催化剂, H₂ 为氢源, THF 作溶剂, 常温下反应。

表 1 脱苄基反应溶剂的筛选
Table 1 Solvent optimization for debenylation reaction

序号	溶剂	产率/%
1	MeOH	62
2	EtOH	53
3	THF	99

注: 底物为单苄基化四聚乙二醇 (V) 100 mg, Pd/C (Pd 质量分数为 10%, 5 mg), H₂, 溶剂 1 mL, 常温搅拌反应 3 h。

此外, 若以环硫酸酯 III b 作为延长单苄基化聚乙二醇的合成砌块, 则可得到聚合度为奇数的单苄基化聚乙二醇衍生物, 经催化氢化脱苄基后可得聚合度为奇数的单分散聚乙二醇。

3 结论

(1) 开发了一条基于环硫酸酯的单端延伸法制备单分散聚乙二醇的路线, 该法以苄基作为保护基, 重复利用环硫酸酯的亲核开环、水解反应对单苄基化聚乙二醇的羟基端进行延伸, 单步产率 55%~86%, 最后通过催化氢化脱除苄基, 以 95%~99% 的产率合成得到 6~16 聚的单分散聚乙二醇, 这些单分散聚乙二醇将被用于后续的药物修饰研究中。

(2) 反应进程易于监控, 反应效率高, 不会产生与目标产物的聚合度接近的聚乙二醇杂质, 各中间体及终产物易于分离纯化。

(3) 存在的问题是, 在亲核开环、水解反应中, 随着聚乙二醇链的延长, 产率呈下降趋势。目前, 本课题组正在优化反应条件, 寻找更简便的纯化方案, 以期合成更高聚合度的单分散聚乙二醇。

参考文献:

- [1] WU T J, CHEN K X, HE S Y, *et al.* Drug development through modification of small molecular drugs with monodisperse poly (ethylene glycol)s[J]. *Organic Process Research & Development*, 2020, 24(8): 1364-1372.
- [2] REN Z T, CUI J, SUN Q, *et al.* Polyethylene glycol-modified nanoscale conjugated polymer for the photothermal therapy of lung cancer[J]. *Nanotechnology*, 2022, 33(45): 455101.
- [3] SHAH N, HUSSAIN M, REHAN T, *et al.* Overview of polyethylene glycol-based materials with a special focus on core-shell particles for drug delivery application[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2022, 28(5): 352-367.
- [4] MARUYAMA M, TOJO H, TOI K, *et al.* Effect of doxorubicin release rate from polyethylene glycol-modified liposome on anti-tumor activity in B16-BL6 tumor-bearing mice[J]. *Journal of*

- Pharmaceutical Sciences, 2022, 111(2): 293-297.
- [5] PINTO M, SILVA V, BARREIRO S, *et al.* Brain drug delivery and neurodegenerative diseases: Polymeric PLGA-based nanoparticles as a forefront platform[J]. *Ageing Research Reviews*, 2022, 79: 101658.
- [6] KO J H, MAYNARD H D. A guide to maximizing the therapeutic potential of protein-polymer conjugates by rational design[J]. *Chemical Society Reviews*, 2018, 47(24): 8998-9014.
- [7] XIAO Q, DRAPER S R E, SMITH M S, *et al.* Influence of PEGylation on the strength of protein surface salt bridges[J]. *ACS Chemical Biology*, 2019, 14(7): 1652-1659.
- [8] ROTHER M, NUSSBAUMER M G, RENGGLI K, *et al.* Protein cages and synthetic polymers: A fruitful symbiosis for drug delivery applications, bionanotechnology and materials science[J]. *Chemical Society Reviews*, 2016, 45(22): 6213-6249.
- [9] WANG Y F, HU W, DING B M, *et al.* cRGD mediated redox and pH dual responsive poly(amidoamine) dendrimer-poly(ethylene glycol) conjugates for efficiently intracellular antitumor drug delivery[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2020, 194: 111195.
- [10] THI T T H, PILKINGTON E H, NGUYEN D H, *et al.* The importance of poly(ethylene glycol) alternatives for overcoming PEG immunogenicity in drug delivery and bioconjugation[J]. *Polymers*, 2020, 12(2): 298.
- [11] LI Y, GAO J F, WANG S P, *et al.* Self-assembled NIR- II fluorophores with ultralong blood circulation for cancer imaging and image-guided surgery[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2022, 65(3): 2078-2090.
- [12] KOLATE A, BARADIA D, PATIL S, *et al.* PEG-A versatile conjugating ligand for drugs and drug delivery systems[J]. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 2014, 192: 67-81.
- [13] PIPE S W, MONTGOMERY R R, PRATT K P, *et al.* Life in the shadow of a dominant partner: The FVIII-VWF association and its clinical implications for hemophilia A[J]. *Blood*, 2016, 128(16): 2007-2016.
- [14] DING M L, LIU W B, GREFF R. Nanoscale MOFs: From synthesis to drug delivery and theranostics applications[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2022, 190: 114496.
- [15] YAN D M (鄢冬茂), CAI W R (蔡文蓉), YIN G Q (殷国强), *et al.* Preparation and properties of PEG/APS-SiO₂/O-CNTs phase change materials with enhanced thermal conductivity[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2021, 38(4): 729-735.
- [16] HERZBERGER J, NIEDERER K N, POHLIT H, *et al.* Polymerization of ethylene oxide, propylene oxide, and other alkylene oxides: Synthesis, novel polymer architectures, and bioconjugation[J]. *Chemical Reviews*, 2016, 116(6): 2170-2243.
- [17] DENG T, MAO X L, XIAO Y, *et al.* Monodisperse oligoethylene glycols modified camptothecin, 10-hydroxycamptothecin and SN38 prodrugs[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2019, 29(4): 581-584.
- [18] YU Z Q, BO S W, WANG H Y, *et al.* Application of monodisperse PEGs in pharmaceuticals: Monodisperse polydodecanols[J]. *Molecular Pharmaceutics*, 2017, 14(10): 3473-3479.
- [19] WAWRO A M, MURAOKA T, KATO M, *et al.* Multigram chromatography-free synthesis of octa(ethylene glycol) *p*-toluenesulfonate [J]. *Organic Chemistry Frontiers*, 2016, 3(11): 1524-1534.
- [20] KHANAL A, FANG S Y. Solid phase stepwise synthesis of polyethylene glycols[J]. *Chemistry*, 2017, 23(60): 15133-15142.
- [21] MIKESSELL L, ERIYAGAMA D N A M, YIN Y, *et al.* Stepwise PEG synthesis featuring deprotection and coupling in one pot[J]. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 2021, 17: 2976-2982.
- [22] ZHANG H, LI X F, SHI Q Y, *et al.* Highly efficient synthesis of monodisperse poly(ethylene glycols) and derivatives through macrocyclization of oligo(ethylene glycols)[J]. *Angewandte Chemie-International Edition*, 2015, 54(12): 3763-3767.
- [23] LI Y, QIU X L, JIANG Z X. Macrocyclic sulfates as versatile building blocks in the synthesis of monodisperse poly(ethylene glycol)s and monofunctionalized derivatives[J]. *Organic Process Research & Development*, 2015, 19(7): 800-805.
- [24] XIA G Q, LI Y, YANG Z G, *et al.* Development of a scalable process for α -amino- ω -methoxyl-dodecaethylene glycol[J]. *Organic Process Research & Development*, 2015, 19(11): 1769-1773.
- [25] WAN Z H, LI Y, BO S W, *et al.* Amide bond-containing monodisperse polyethylene glycols beyond 10000 Da[J]. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2016, 14(33): 7912-7919.
- [26] LYU X Y, ZHENG X, YANG Z G, *et al.* One-pot synthesis of monodisperse dual-functionalized polyethylene glycols through macrocyclic sulfates[J]. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2018, 16(44): 8537-8545.
- [27] LI Y, WANG X M, CHEN Y P, *et al.* Monodisperse polyethylene glycol "brushes" with enhanced lipophilicity, and thermo and plasma stability[J]. *Chemical Communications*, 2019, 55(13): 1895-1898.

(上接第 2012 页)

- [9] SU J J, WANG D, WANG Y D, *et al.* Direct conversion of syngas into light olefin over zirconium-doped indium(III) oxide and SAPO-34 bifunctional catalysts: Design of oxide component and construction of reaction network[J]. *ChemCatChem*, 2018, 10(7): 1536-1541.
- [10] HUANG W D (黄伟东), ZHENG H P (郑和平), GUO Y J (郭玉静), *et al.* Bifunctional catalyst for conversion of syngas to light olefins with low CO₂ selectivity[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2022, 39(10): 2092-2098.
- [11] NI Y M, LIU Y, CHEN Z Y, *et al.* Realizing and recognizing syngas-to-olefins reaction via a dual-bed catalyst[J]. *ACS Catalysis*, 2019, 9(2): 1026-1032.
- [12] JIAO W Q, SU J J, ZHOU H B, *et al.* Dual template synthesis of SAPO-18/34 zeolite intergrowths and their performances in direct conversion of syngas to olefins[J]. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2020, 306: 1-9.
- [13] LIU X L, WANG M H, YIN H R, *et al.* Tandem catalysis for hydrogenation of CO and CO₂ to lower olefins with bifunctional catalysts composed of spinel oxide and SAPO-34[J]. *ACS Catalysis*, 2020, 10(15): 8303-8314.
- [14] LIU S S, DING Q D, GUO T, *et al.* Research progress on molding process of catalysts for fixed bed reactor[J]. *The Chinese Journal of Process Engineering (过程工程学报)*, 2023, 23(4): 501-511.
- [15] TIAN S (田帅). Synthesis and morphology characterization of indium oxide (In₂O₃) crystals[D]. Baoding: Hebei University (河北大学), 2009.
- [16] LIU N, JIAO F, PAN X L, *et al.* Size effects of ZnO nanoparticles in bifunctional catalysts for selective syngas conversion[J]. *American Chemical Society Catalysis*, 2019, 9(2): 960-966.
- [17] TAN L, YANG G H, YONEYAMA Y, *et al.* Iso-butanol direct synthesis from syngas over the alkali metals modified Cr/ZnO catalysts[J]. *Applied Catalysis A: General*, 2015, 505: 141-149.
- [18] WANG Q J (王前进), SHANG Y S (尚蕴山), XU D P (许德平), *et al.* Research progress in OX-ZEO catalysts for single-step synthesis of light olefins from syngas[J]. *Natural Gas Chemical Industry (天然气化工-C1 化学与化工)*, 2020, 45(5): 121-127, 134.