

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C08G 69/08

C08G 69/04



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200510024596. X

[43] 公开日 2005 年 9 月 14 日

[11] 公开号 CN 1667019A

[22] 申请日 2005. 3. 24

[21] 申请号 200510024596. X

[71] 申请人 上海大学

地址 200072 上海市闸北区延长路 149 号

共同申请人 中国科学院长春应用化学研究所

[72] 发明人 尹静波 陈红丹 罗 坤 曹 田
叶 翠

[74] 专利代理机构 上海上大专利事务所
代理人 何文欣

权利要求书 2 页 说明书 6 页

[54] 发明名称 高分子量聚 L-谷氨酸的合成方法

[57] 摘要

本发明涉及一种可生物降解性高分子量聚 L-谷氨酸的合成方法。本发明方法包括 γ -苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐的合成、聚-L-谷氨酸- γ -苄酯的合成、聚-L-谷氨酸的合成三个部分，首先以 L-谷氨酸和苯甲醇为原料，制备 L-谷氨酸- γ -苄基酯；再用 L-谷氨酸- γ -苄基酯与三光气反应得到白色针状晶体 γ -苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐；然后用 γ -苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐为单体，三乙胺为引发剂的制备聚-L-谷氨酸- γ -苄酯；最后将聚-L-谷氨酸- γ -苄酯用 HBr 醋酸溶液脱除苄基得产品聚-L-谷氨酸。本发明方法在常压下用 HBr 溶液脱去苄基获得了较好的效果，可以获得高分子量的聚-L-谷氨酸，且反应过程安全、毒性小、可操作性强。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种高分子量聚 L-谷氨酸的合成方法, 包括 γ -苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐的合成、聚-L-谷氨酸- γ -苄酯的合成、聚-L-谷氨酸的合成四个部分, 其特征在于, 该方法的具体步骤如下:

a. γ -苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐的合成:

- (1) 采用常规的酯的合成方法, 以 L-谷氨酸和苯甲醇为原料, 以浓硫酸作催化剂, 在 60—80°C 的水浴中制备 L-谷氨酸- γ -苄基酯;
- (2) 在干燥的反应瓶内加入 L-谷氨酸- γ -苄基酯, 以四氢呋喃为溶剂, 形成悬浮液, 将反应瓶置于 45—55°C 水浴中, 搅拌、通氮气, 待温度恒定后, 加入的三光气, 控制 L-谷氨酸- γ -苄基酯与三光气的质量比为 2:1—1.1; 反应至反应液变澄清, 停止搅拌并拆除水浴, 继续通氮气 20—40 分钟, 在强烈搅拌下, 将反应液倒入的石油醚中沉淀, 过滤得白色晶体即为初产品; 将该初产品溶于乙酸乙酯后, 转移到分液漏斗中, 先用饱和碳酸氢钠冰水溶液清洗, 再用冰水溶液清洗, 收集上层澄清液体, 并加入无水硫酸镁, 然后置入冰箱内过夜; 取出过滤后, 将滤液转移到干燥的密闭反应瓶内, 并抽真空充氮气, 再用石油醚进行重结晶, 经过滤后, 滤饼用乙酸乙酯溶解, 再用石油醚重结晶, 如此反复三次; 最后经过滤后, 将滤饼在室温下真空干燥, 得到白色针状晶体即为 γ -苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐;

b. 合成聚-L-谷氨酸- γ -苄酯: 在干燥的反应瓶内加入 γ -苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐, 抽真空充氮气, 反复三次, 再注入溶剂二氧六环; 待充分溶解后注入引发剂三乙胺, 单体 γ -苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐与引发剂三乙胺的摩尔比, 即 A/I 为 1-200:1, 搅拌均匀后室温静置至反应液变为粘稠液, 强烈搅拌下将反应液缓慢倒入无水乙醇中沉淀, 此时有白色纤维状聚合物析出, 经过滤, 真空干燥, 得白色纤维状聚合物, 即为聚-L-谷氨酸- γ -苄酯;

c. 聚-L-谷氨酸的合成: 在 45—55°C 恒温水浴中, 将聚-L-谷氨酸- γ -苄酯溶于二氯乙酸中, 再按 1 克聚-L-谷氨酸- γ -苄酯加入 4—6 毫升的 HBr 醋酸溶液的比例加入浓度为 25—33% 的 HBr 醋酸溶液, 在搅拌、45—55°C 温度下反应 1.5

—2.5 小时，静置 5—15 小时，反应液用乙醚沉淀，经过滤、干燥，即可得产品聚-L-谷氨酸。

2. 根据权利要求 1 所述的高分子量聚 L—谷氨酸的合成方法，其特征在于，在步骤 b 中所用的单体 γ -苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐与引发剂三乙胺的摩尔比，即 A/I 为 10-100:1
3. 根据权利要求 1 所述的高分子量聚 L—谷氨酸的合成方法，其特征在于，在步骤 b 中所用的单体 γ -苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐与引发剂三乙胺的摩尔比，即 A/I 为 20-50:1
4. 根据权利要求 1、2 或 3 所述的高分子量聚 L—谷氨酸的合成方法，其特征在于，控制单体 γ -苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐与引发剂三乙胺的摩尔比，所合成的聚-L-谷氨酸的分子量在 7-35 万。

高分子量聚 L-谷氨酸的合成方法

技术领域:

本发明涉及一种聚氨基酸的合成方法。特别是一种可生物降解性高分子量聚 L-谷氨酸的合成方法。

背景技术:

聚谷氨酸是一种良好的生物可降解医药用高分子材料。由于其分子链上存在大量的游离羧基，易于修饰，易与药物结合。因其具有一些特殊的性质，如手性、多肽链独特的二级结构，能和细胞、组织以及其它生物成分显示出良好的生物相容性，且自行降解、代谢，被机体吸收和排泄，不易在体内积蓄和产生毒副作用，不必再经手术除去，因而具有缓释、安全方便、副作用少、节省药物等优点。已被广泛用于缓释、控释以及靶向药物的载体和组织工程方面。

目前聚谷氨酸的制备主要有化学合成法、提取法、生物聚合法，提取法的提取工艺十分复杂，生产成本很高；生物聚合法中培养基的配制同样也受到多种因素的影响，因而生产工艺也较繁琐，且所得聚合物的分子量不易量化控制；而化学合成法是肽类合成的重要方法，聚合物的分子量可以调节。

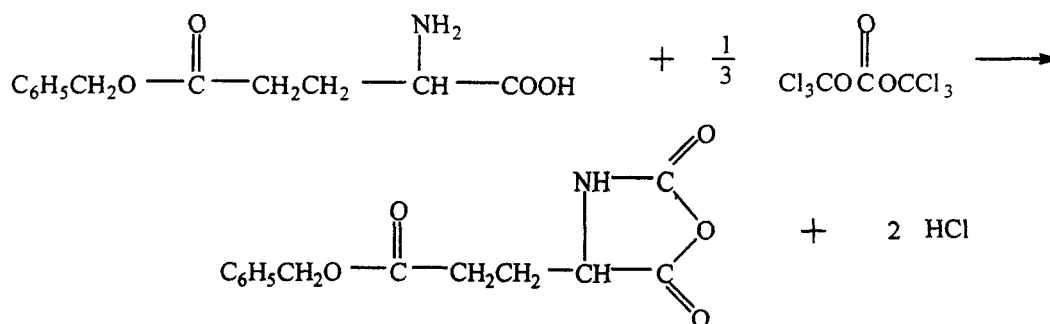
对于聚 L-谷氨酸（PLGA）的化学合成，以往工作主要集中在聚 L-谷氨酸苄酯（PBLG）的合成上，且高分子量 PBLG 苄基的脱除还没有得到很好的解决。

发明内容:

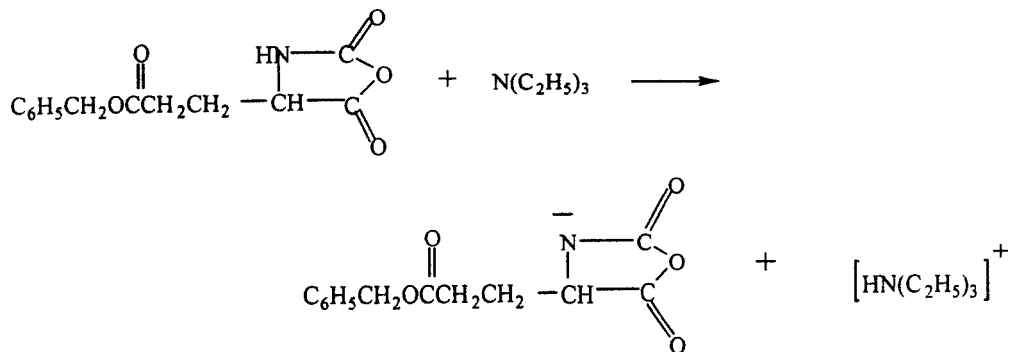
本发明的目的在于提供一种高分子量聚 L-谷氨酸的合成方法，能在常压条件下从聚 L-谷氨酸苄酯上顺利脱去苄基，制备高分子量聚 L-谷氨酸。

为达到上述目的，本发明所依据的反应机理如下：

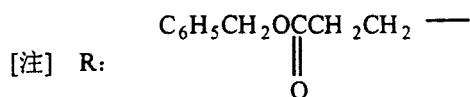
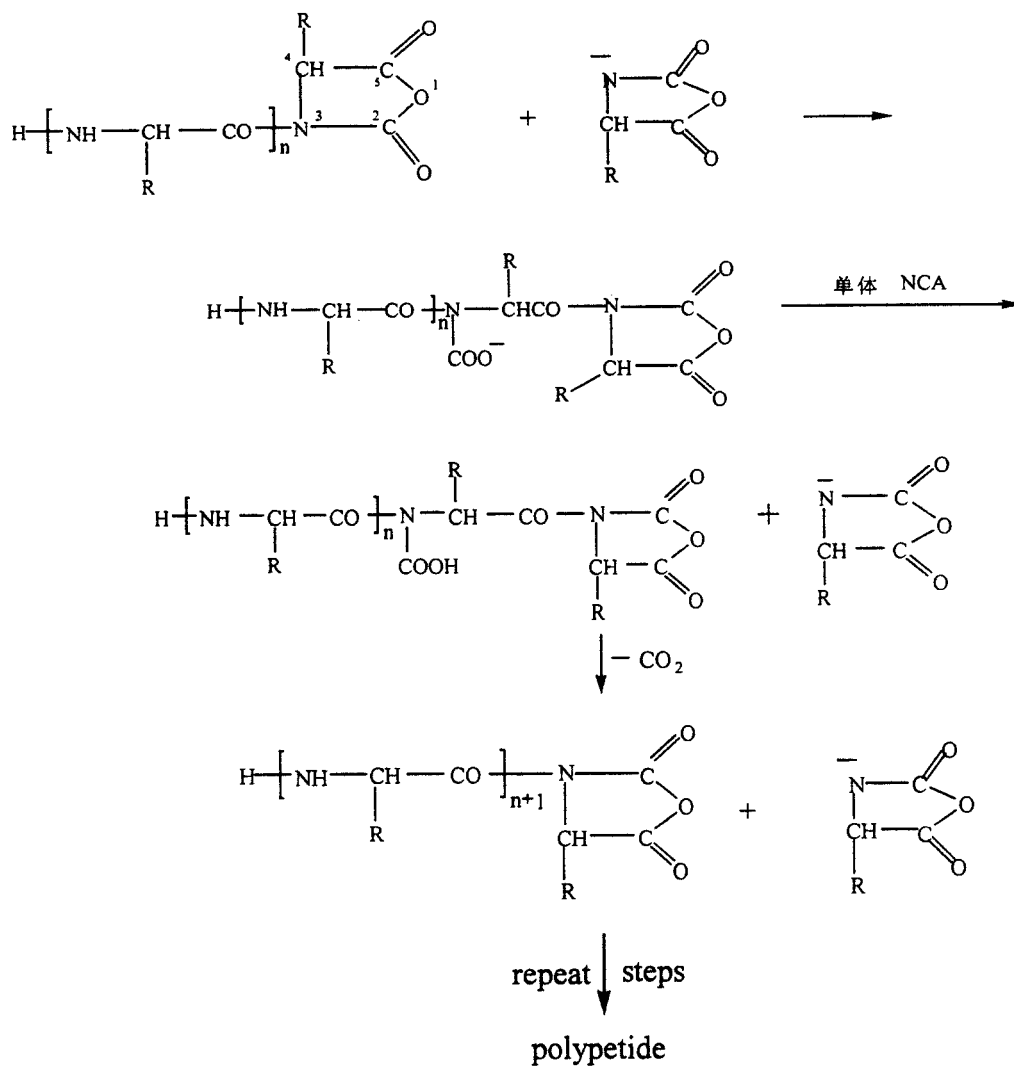
①:



②:



③:



根据上述反应机理，本发明采用如下技术方案：

一种高分子量聚 L-谷氨酸的合成方法，包括 γ-苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐的合

成、聚-L-谷氨酸- γ -苄酯的合成、聚-L-谷氨酸的合成三个部分，其特征在于，该方法的具体步骤如下：

a. γ -苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐的合成：

- (1) 采用常规的酯的合成方法，以 L-谷氨酸和苯甲醇为原料，以浓硫酸作催化剂，在 60—80℃的水浴中制备 L-谷氨酸- γ -苄基酯；
- (2) 在干燥的反应瓶内加入 L-谷氨酸- γ -苄基酯，以四氢呋喃为溶剂，形成悬浮液，将反应瓶置于 45—55℃水浴中，搅拌、通氮气，待温度恒定后，加入的三光气，控制 L-谷氨酸- γ -苄基酯与三光气的质量比为 2:1—1.1；反应至反应液变澄清，停止搅拌并拆除水浴，继续通氮气 20—40 分钟，在强烈搅拌下，将反应液倒入的石油醚中沉淀，过滤得白色晶体即为初产品；将该初产品溶于乙酸乙酯后，转移到分液漏斗中，先用饱和碳酸氢钠冰水溶液清洗，再用冰水溶液清洗，收集上层澄清液体，并加入无水硫酸镁，然后置入冰箱内过夜；取出过滤后，将滤液转移到干燥的密闭反应瓶内，并抽真空充氮气，再用石油醚进行重结晶，经过滤后，滤饼用乙酸乙酯溶解，再用石油醚重结晶，如此反复三次；最后经过滤后，将滤饼在室温下真空干燥，得到白色针状晶体即为 γ -苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐；

b. 聚-L-谷氨酸- γ -苄酯的合成：在干燥的反应瓶内加入 γ -苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐，抽真空充氮气，反复三次，再注入溶剂二氧六环；待充分溶解后注入引发剂三乙胺，单体 γ -苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐与引发剂三乙胺的摩尔比，即 A/I 为 1-200:1，搅拌均匀后室温静置至反应液变为粘稠液，强烈搅拌下将反应液缓慢倒入无水乙醇中沉淀，此时有白色纤维状聚合物析出，经过滤，真空干燥，得白色纤维状聚合物，即为聚-L-谷氨酸- γ -苄酯；

c. 聚-L-谷氨酸的合成：在 45—55℃恒温水浴中，将聚-L-谷氨酸- γ -苄酯溶于二氯乙酸中，再按 1 克聚-L-谷氨酸- γ -苄酯加入 4—6 毫升的 HBr 醋酸溶液的比例加入浓度为 25—33%的 HBr 醋酸溶液，在搅拌、45—55℃温度下反应 1.5—2.5 小时，静置 5—15 小时，反应液用乙醚沉淀，经过滤、真空干燥，即可得产品聚-L-谷氨酸。

上述的步骤 b 中所用的单体 γ -苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐与引发剂三乙胺的摩尔比, 即 A/I 为 1-50:1

上述的步骤 b 中所用的单体 γ -苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐与引发剂三乙胺的摩尔比, 即 A/I 为 50-200:1

上述方法中, 控制单体 γ -苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐与引发剂三乙胺的摩尔比, 所合成的聚-L-谷氨酸的分子量在 7-35 万。

同现有技术相比, 本发明具有如下显而易见的突出优先和显著特点: 本发明方法的 γ -苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐的合成过程中, 使用三光气代替常规的光气具有安全、毒性小、可操作性强的特点; 使用三乙胺作引发剂, 二氧六环为溶剂可制备高分子量的 PBLG, 且可以通过调节 A/I 比值控制分子量在 7-35 万之间, 并当 A/I 比值大于 50 时, 所得聚合物分子量与 A/I 比值无关。本发明方法以 L-谷氨酸为原料, 合成了 γ -苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐 (BLG-NCA), 并以其为单体, 同时对溶剂和引发剂进行了优化选择, 合成了高分子量 PBLG。最后在常压下用 HBr 溶液脱去苄基获得了较好的效果, 获得了高分子量的 PLGA。

所得聚合物用 GPC、IR、¹H-NMR、粘度法等手段进行了表征, 产品的相关结构和分子量都得到了证实。

具体实施方式:

实施例一:

1. γ -苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐的合成:

a. L-谷氨酸- γ -苄酯 (BLG) 的合成: 在三口烧瓶中加入 120g L-谷氨酸和 100ml 苯甲醇, 将三口烧瓶置入 70°C 水浴中强烈搅拌, 当温度恒定时, 缓慢滴加 60% 浓硫酸 96ml, 待反应液澄清后, 停止搅拌和加热, 自然冷却至室温, 将反应液缓慢倒入 800ml 溶有 130g NaHCO₃ 的过饱和冰水溶液中, 充分搅拌均匀后放入冰箱内冷冻过夜。过滤后滤饼用 2000ml 80°C 的蒸馏水溶解, 然后缓慢冷却至室温, 再冷冻 3 小时左右, 过滤, 滤饼用乙醇、乙醚分别清洗三次, 室温真空干燥 24 小时, 得到白色鳞片状物质即为 BLG。

b. 干燥的三口烧瓶内加入 10g 新制备的 BLG 和 100ml 新蒸四氢呋喃 (THF), 搅拌形成悬浮液, 将反应瓶置入 50°C 的恒温水浴中, 同时向反应液内通氮气, 当温度恒定时, 加入 5g 三光气 (用氯仿重结晶三次), 至反应液变澄清, 停止搅拌并撤去水浴, 继续通氮气半小时; 在强烈搅拌下, 将反应液倒入 500ml 的石油醚

中沉淀，过滤，得白色晶体为 BLG-NCA 初产品；将此初产品溶于 100ml 乙酸乙酯中，然后转移到分液漏斗中，用 50ml 饱和碳酸氢钠冰水溶液清洗后再用 50ml 冰水溶液清洗；收集上层澄清液体，加入适量无水硫酸镁后置入冰箱内过夜；取出过滤，转移到干燥的密闭反应瓶内，抽真空充氮气（重复三次），将滤液浓缩至 40ml 左右，注入 40ml 左右新蒸石油醚（沸程为 60-90℃），进行重结晶；过滤，滤饼用 20ml 乙酸乙酯溶解后加入 20ml 左右石油醚（沸程为 60-90℃）进行重结晶；如此反复重结晶三次后，经过滤，将滤饼在室温下真空干燥 12 小时，得到白色针状晶体即为纯度达到聚合级的 γ -苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐单体，产率约 65%。

2. 聚-L-谷氨酸- γ -苄酯的合成：

在烘干的反应瓶内放入 1 克的 γ -苄基-L-谷氨酸-N-羧酸酐单体，抽真空充氮气（确保无水无氧条件），注入 20ml 新蒸二氧六环，单体溶解后注入计量（与单体的摩尔比为 1：1）的新蒸三乙胺，混合均匀后室温静置 3 天，反应液变得极为粘稠，在强烈搅拌下，将此反应液倒入的过量无水乙醇中，此时有大量白色纤维状物质析出；经过滤后真空干燥 24 小时，所得聚合物即为聚-L-谷氨酸- γ -苄酯。

3. 聚-L-谷氨酸的合成：

取新制备的聚-L-谷氨酸- γ -苄酯 0.66 克，50℃溶于 6.6ml 二氯乙酸，再加入 3ml 浓度为 33%的 HBr 醋酸溶液，保持 50℃2 小时，室温静置过夜。将反应液缓慢倒入强烈搅拌的 200ml 乙醚中沉淀，过滤后真空干燥 24 小时。即可得分子量为 7.0×10^4 左右的聚-L-谷氨酸，转化率约为 70%。

实施例二：本实施例与实施例一基本相同，所不同的是单体与三乙胺的摩尔比为 5：1，在步骤 3 中，所用的 HBr 醋酸溶液的浓度为 25%，加入量为 4 毫升。最终可得分子量为 14.0×10^4 左右的聚-L-谷氨酸，转化率约为 70%。

实施例三：本实施例与实施例一基本相同，所不同的是单体与三乙胺的摩尔比为 10：1。最终可得分子量为 15.0×10^4 左右的聚-L-谷氨酸，转化率约为 70%。

实施例四：本实施例与实施例一基本相同，所不同的是单体与三乙胺的摩尔比为 15：1。最终可得分子量为 16.0×10^4 左右的聚-L-谷氨酸，转化率约为 70%。

实施例五：本实施例与实施例一基本相同，所不同的是单体与三乙胺的摩尔比为 20：1。最终可得分子量为 28.0×10^4 左右的聚-L-谷氨酸，转化率约为 70%。

实施例六：本实施例与实施例二基本相同，所不同的是单体与三乙胺的摩尔比为 30 : 1。最终可得分子量为 30.0×10^4 左右的聚-L-谷氨酸，转化率约为 70%。

实施例七：本实施例与实施例二基本相同，所不同的是单体与三乙胺的摩尔比为 50 : 1。最终可得分子量为 35.0×10^4 左右的聚-L-谷氨酸，转化率约为 70%。

实施例八：本实施例与实施例二基本相同，所不同的是单体与三乙胺的摩尔比为 100 : 1。最终可得分子量为 35.2×10^4 左右的聚-L-谷氨酸，转化率约为 70%。

实施例九：本实施例与实施例二基本相同，所不同的是单体与三乙胺的摩尔比为 150 : 1。最终可得分子量为 35.0×10^4 左右的聚-L-谷氨酸，转化率约为 70%。

实施例十：本实施例与实施例二基本相同，所不同的是单体与三乙胺的摩尔比为 200 : 1。最终可得分子量为 35.3×10^4 左右的聚-L-谷氨酸，转化率约为 70%。