

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.06.002

瑞德西韦的合成方法

张芬^{1,2}, 余孟君¹, 卢来春^{1△}

(1. 重庆大学生物工程学院, 重庆 400044; 2. 山东省济南市中西医结合医院, 山东 济南 271100)

摘要:目的 建立适合大规模产业化制备瑞德西韦的合成方法。方法 对化合物4的制备工艺进行优化,以叔丁基二苯基氯硅烷(TBDPSiCl)进行保护,增加产品反应转化率,提高产品光学纯度。结果 所制得的化合物经液相色谱-质谱联用(LC-MS)、氢谱核磁共振(¹H-NMR)和碳谱核磁共振(¹³C-NMR)进行结构确证,与目标化合物的结构相符。该合成方法包含六步反应,总收率为21.3%。结论 该方法可作为瑞德西韦大规模产业化的合成方法。

关键词:瑞德西韦;抗新型冠状病毒;广谱抗病毒;合成方法;产业化

中图分类号:R978.7;TQ460.6

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2020)06-0007-04

Synthesis of Remdesivir

ZHANG Fen^{1,2}, YU Mengjun¹, LU Laichun¹

(1. College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing, China 400044; 2. Jinan Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital, Jinan, Shandong, China 271100)

Abstract: Objective To establish a synthetic method suitable for the large-scale industrial preparation of remdesivir. **Methods** T-butyl-diphenylchlorosilane (TBDPSiCl) as specific in-situ protection was used to optimize the synthesis procedure of compound 4 to enhance the conversion rate and the optical purity of the product. **Results** The structure of the compound obtained by this method was confirmed by LC-MS, ¹H-NMR and ¹³C-NMR, and the result was consistent with that of the target compound. The synthesis method consisted of six steps with a total yield of 21.3%. **Conclusion** This method can be used as the large-scale industrialization synthesis method of remdesivir.

Key words: remdesivir; anti-severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2; broad-spectrum antiviral; synthetic method; industrialization

瑞德西韦(remdesivir, 化合物1)由美国 Gilead Science 公司研发,分别于2015年9月在美国和2016年1月在欧洲获得治疗埃博拉病毒感染的孤儿药资格。鉴于2019年12月以来新型冠状病毒(SARS-CoV-2)在国内的蔓延态势,国家药品监督管理局开启紧急审批通道,瑞德西韦已于2020年2月3日在中日友好医院启动Ⅲ期临床研究。瑞德西韦的合成主要有一代工艺和二代工艺,本研究中参考文献^[1-5],对化合物4的制备工艺进行优化,以叔丁基二苯基氯硅烷(TBDPSiCl)进行保护,增加产品反应转化率,同时提高产品的光学纯度。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

DFY-5L/30型低温恒温反应浴(重庆东悦仪器有限公司);DHG-9140A型电热恒温鼓风干燥机(上海精宏实验设备有限公司);Agilent 1260型高效液相色谱仪,Agilent 1200-6120型液质联用色谱仪(检测精度的RSD ≤ 2.0%),均购自美国安捷伦科技有限公司;Bruker Avance III 400 NMR型核磁共振仪(布鲁克科技有限公司)。

1.2 试剂

7-溴代吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-4-胺

(上海仁实医药科技有限公司,批号为190601,纯度为98.0%);2,3,5-三苯氧基-D-核糖核酸-1,4-内酯(成都同创源医药科技有限公司,批号为19050101,纯度为98.0%);1,2-双(氯二甲基硅基)-乙烷(南京药石科技股份有限公司,批号为19050101,纯度为97.0%);三氟甲磺酸(上海麦克林生化科技有限公司,批号为19030201,纯度为99.0%);三氟甲磺酸三甲基硅脂(上海迈瑞尔化学技术有限公司,批号为19040101,纯度为99.0%);三甲基硅氧(上海泰坦科技股份有限公司,批号为19030101,纯度为99.0%);正丁基锂(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号为G1917082,纯度为99.0%);三氯化硼(盘锦研峰科技有限公司,批号为SP08DI27AQ,浓度为1 mol/L);其余试剂均为市售试剂纯。

2 方法与结果

2.1 改进工艺合成路线

将一、二代工艺(见图1和图2)中中间体化合物4的制备方法进行改进(见图3),合成制得瑞德西韦,收率大幅度提高。

2.2 化合物12的制备

将化合物14(26.0 g, 124 mmol)和苯基二氯磷酸酯

第一作者:张芬,女,大学本科,助理研究员,研究方向为药物合成,(电子信箱)452953711@qq.com。

△通信作者:卢来春,男,博士研究生,教授,博士研究生导师,研究方向为药物新剂型与缓控释给药系统,(电子信箱)lulaicq@163.com。

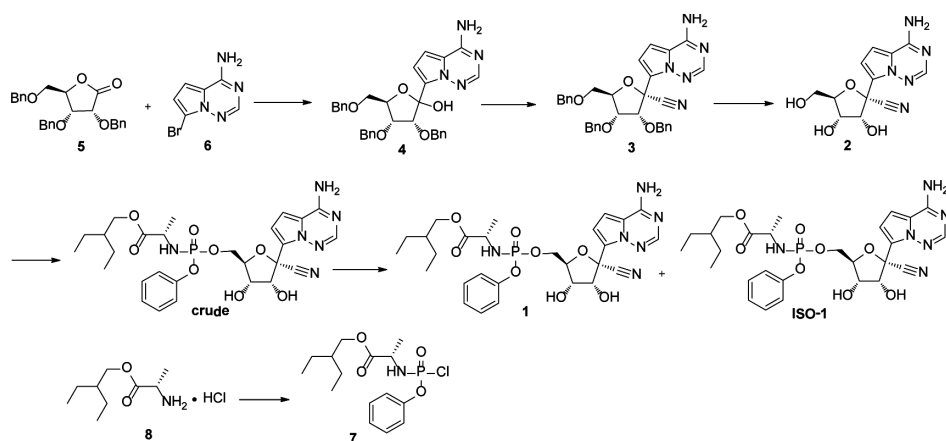


图1 一代工艺合成方法

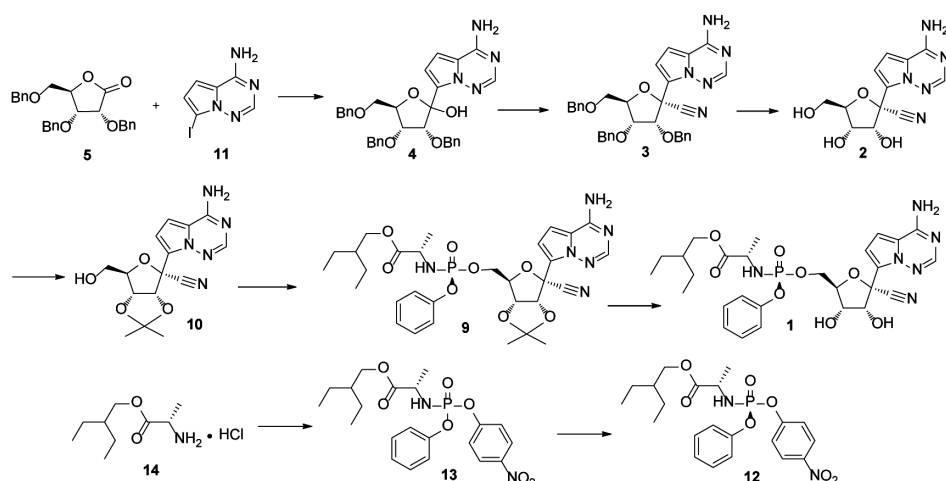


图2 二代工艺合成方法

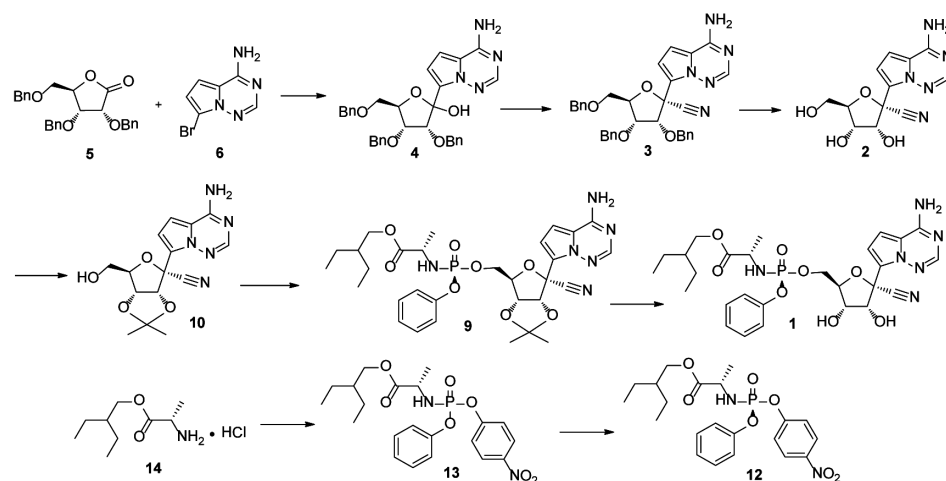


图3 改进工艺合成路线

(18.5 mL, 124 mmol)加入二氯甲烷(200 mL)中,冷却至 -78°C ,缓慢加入三乙胺(17.2 mL, 124 mmol);升温至室温,搅拌3 h。将反应液冷却至 0°C ,加入4-硝基苯酚(15.5 g, 112 mmol),随后缓慢加入三乙胺(17.2 mL, 124 mmol);升温至室温,搅拌3 h;将反应液减压浓缩,粗残余物经硅胶色谱纯化,得到半固态化合物13(33 g, 66%);向化合物13中加入二异丙醚(132 mL),搅拌

22 h,抽滤,干燥,得化合物12(12.88 g, 39%),为单一非对映异构体。

2.3 化合物4的制备

在氮气下,将化合物6(7.58 g, 23.9 mmol)溶于THF(150 mL)中,搅拌冷却至 0°C 。加入叔丁基二苯基氯硅烷(13.14 g, 47.8 mmol),搅拌1 h后,将反应混合物冷却至 -78°C ,缓慢加入 $n\text{-BuLi}$ 溶液(44.8 mL,

1.6 mol/L)的己烷溶液(71.7 mmol);反应1.5 h,向反应液中缓慢加入化合物5(10.0 g, 23.9 mmol)的四氢呋喃溶液(30 mL),同时保持内部反应温度约 -78°C 。1 h后,使反应液升温至 0°C ,依次加入甲醇(20 mL)、乙酸(20 mL)和水(20 mL);将所得混合物升温至室温,然后在减压下浓缩;向得到的浓缩物中加入乙酸乙酯(250 mL)和稀盐酸(1 mol/L, 250 mL),分离有机层,然后用10%碳酸氢钠水溶液(250 mL)和盐水(250 mL)洗涤,用无水硫酸钠干燥,并在减压下浓缩,得灰白色固体,即为化合物4(19.1 g, 60.1%)。LC-MS: m/z 553.3[M+H], 551.1[M-H]。

2.4 化合物3的制备

将预冷(-78°C)化合物4(57.9 g, 105 mmol)的二氯甲烷(100 mL)溶液中加入三氟甲磺酸(18.3 mL, 206 mmol);在 -78°C 下搅拌反应10 min后,缓慢加入TMSOTf(38.9 mL, 216 mmol),继续搅拌反应30 min;缓慢加入TMSCN(56.5 mL, 451 mmol),搅拌2 h;加入三乙胺(50 mL),将反应液升温至室温,加入固体碳酸氢钠(80 g),再缓慢加入水(300 mL),搅拌10 min;分离各层,水层用二氯甲烷萃取,合并的有机萃取物用盐水洗涤,用无水硫酸钠干燥,并在减压下浓缩,得灰白色固体,即为化合物3(58.9 g, 85%)。

2.5 化合物2的制备

将三苄基氰基核苷3(5.11 g, 9.10 mmol)溶于无水二氯甲烷(50 mL),冷却至 -78°C ;滴加 BCl_3 溶液(1 mol/L, 35.0 mL, 35.0 mmol),保持内部温度低于约 -15°C ;将反应液降至 -40°C 下搅拌2 h,冷却至 -78°C ,滴加MeOH(10 mL),将三乙胺(13 mL)和MeOH(20 mL)混合液滴加到反应液中,升温至室温,将反应混合物减压浓缩;用己烷(50 mL)制成浆液,倒出上清液;将剩余固体残余物悬浮在甲醇(50 mL)中,并加热至 45°C ;加入水(50 mL),将得到的混合物在 45°C 下减压浓缩至约35 mL;冷却至室温,抽滤, 70°C 干燥过夜,得化合物2(2.27 g, 86%)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO): 8.71(s, 1H), 7.88-7.91(s, 2H), 6.87-6.91(m, 2H), 6.07(d, 1H), 5.17(s, 1H), 4.91(s, 1H), 4.63(t, 1H), 4.05-4.08(m, 1H), 3.98(s, 1H), 3.62-3.64(m, 1H), 3.49-3.654(m, 1H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, DMSO): 156.1, 148.3, 124.3, 117.8, 117.0, 111.2, 101.3, 85.9, 79.0, 74.7, 70.5, 61.4。

2.6 化合物10的制备

在室温下,向化合物2(5.8 g, 0.02 mol)、2,2-二甲氧基丙烷(11.59 mL, 0.09 mol)和丙酮(145 mL)混合物中加入硫酸(18 mol/L, 1.44 mL, 0.026 mol);将混合物升温至 45°C ,搅拌30 min,将混合物冷却室温,

加入碳酸氢钠(5.8 g)和水(5.8 mL),15 min后将混合物减压浓缩;将残余物溶于乙酸乙酯(150 mL)和水(50 mL)中;水层用乙酸乙酯(2×50 mL)萃取,合并的有机相用硫酸钠干燥并减压浓缩,得粗产物,即为化合物10(6.54 g, 90%)。

2.7 化合物9的制备

在室温下,将乙腈(16 mL)与化合物12(1.79 g, 3.98 mmol)、化合物10(1.10 g, 3.32 mmol)、氯化镁(316 mg, 3.32 mmol)混合, 50°C 下搅拌10 min,加入N,N-二异丙基乙胺(1.45 mL, 8.30 mmol),搅拌20 min,冷却至室温;反应液经乙酸乙酯(25 mL)稀释后,有机相依次用5%柠檬酸水溶液(40 mL)、饱和氯化铵溶液(40 mL)、5%碳酸钾水溶液(2×40 mL)、饱和盐水溶液(40 mL)洗涤;有机相经硫酸钠干燥后减压浓缩,得粗产物,即为化合物9(中间体, 1.5 g, 70%)。

2.8 成品1的制备

将中间体9(12.9 g, 20.0 mmol)溶于四氢呋喃(100 mL)中,冷却至 0°C ,缓慢加入37% HCl(20 mL);升温至室温,搅拌5 h;依次加入水(100 mL)和饱和碳酸氢钠水溶液(200 mL)淬灭反应;用乙酸乙酯(100 mL)萃取,有机相经饱和盐水溶液(50 mL)洗涤,用硫酸钠干燥并减压浓缩,得成品1(8.3 g, 69%)。

3 讨论

瑞德西韦的合成方法主要有2种。一代工艺,首先是化合物6在丁基锂的作用下与丁内酯5进行糖苷化反应;化合物4接着进行氰基化反应,紧接着进行脱苄基保护得到化合物2;化合物2再与化合物7反应,得到消旋的化合物1,最终进行SFC拆分,得到手性化合物1;总收率为1.12%^[13-41]。第一代合成工艺需要进行SFC拆分,很难大规模工业化生产。二代工艺,第一步的糖苷化反应使用碘代物(化合物11)取代一代工艺中的溴代物,并使用格氏试剂进行卤素交换,产率为40%,高于一代工艺;氰基化反应和醚的脱苄基反应条件经过优化后,产率和纯度都有较大幅度提高,顺利得到化合物2;化合物2的邻位顺式双羟基通过保护,高产率顺利得到化合物10;化合物10与单一构型的12进行反应,再进行脱保护反应,顺利得到手性化合物1。总收率为12.71%^[14-51]。第二代合成工艺是手性合成,很好地避免了SFC拆分这一情况。但目前这2种工艺方法都存在化合物2制备收率低而影响产品质量和总收率的问题

本研究中参考文献^[1-5],采用图3所示合成路线,对化合物4的制备工艺进行优化,以叔丁基二苯基氯硅烷(TBDPSiCl)进行保护,提高了产品的反应转化率和产品的光学纯度,使得化合物4的制备收率显著提高

20% ,总收率达 21.3% ,使瑞德西韦制造成本显著下降。该方法适合大规模工业化生产。

参考文献:

- [1] 吉利德科学公司. 用于治疗副黏病毒科病毒的方法和化合物: 中国, 103052631B[P]. 2015-11-25.
- [2] DUSTIN S, RICHARD L MACKMAN. Discovery and Synthesis of a Phosphoramidate Prodrug of a Pyrrolo[2, 1-f] [triazin-4-amino] Adenine C-Nucleoside (GS-5734) for the Treatment of Ebola and Emerging Viruses[J]. Med Chem, 2017, 60: 1648-1661.
- [3] 吉利德科学公司. 治疗丝状病毒科病毒感染的方法: 中国, 107073005A[P]. 2017-08-17.
- [4] TRAVIS K WARREN, SINA B. Therapeutic efficacy of the small molecule GS-5734 against Ebola virus in rhesus monkeys[J]. Nature, 2016, 531: 381-385.
- [5] ALIOS BIOPHARMA, INC. Substituted Nucleosides, Nucleotides and Ananogs Thereof: WO, 2019/053696 A1[P]. 2019-03-21.

(收稿日期: 2020-02-26; 修回日期: 2020-03-13)