磷酸奥司他韦关键起始原料的非对映异构体合成

陈德宝，盛　荣*
（浙江大学药学院，浙江杭州 310058）

摘要：（1*R*,5*S*,6*S*）-5-（戊烷-3-基氧基）-7-氧杂双环［4.1.0］庚-3-烯-3-羧酸乙酯（**2**）是合成磷酸奥司他韦（**1**）的关键起始原料。该研究以莽草酸为原料，经酯化、3-戊酮叉保护、苯甲酰基保护、缩酮还原开环、甲磺酰基保护、碱处理等6步反应合成了**2**的（1*R*,5*R*,6*R*）-型非对映异构体**3**，为评估关键起始原料**2**和原料药**1**的手性纯度提供对照。目标物经^{1}H NMR、^{13}C NMR和ESI-MS等确证结构。

关键词：磷酸奥司他韦；关键起始原料；非对映异构体；有关物质；合成
中图分类号：R914.5　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2022)09-1274-05
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2022.09.006

Synthesis of the Diastereomer of Oseltamivir Phosphate Key Starting Material

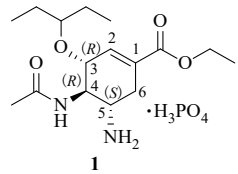
CHEN Debao, SHENG Rong*
(*College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058*)

ABSTRACT: Ethyl (1*R*,5*S*,6*S*)-5-(pentan-3-yloxy)-7-oxabicyclo[4.1.0]hept-3-ene-3-carboxylate (**2**) was the key starting material of oseltamivir phosphate (**1**). Compound **3,** the (1*R*,5*R*,6*R*)-diastereomer of **2**, was synthesized as the standard control to evaluate the chiral purity of **2** as well as **1**. With shikimic acid as starting material, compound **3** was obtained through esterification, 3-pentanone protection, 5-hydroxybenzylation, reductive ring opening of the ketals, 4-hydroxymethylsulfonylation, and alkalic hydrolysis. The structure was conformed by ^{1}H NMR, ^{13}C NMR and ESI-MS.

Key Words: oseltamivir phosphate; key starting material; diastereomer; related substance; synthesis

磷酸奥司他韦（oseltamivir phosphate，**1**，图1），化学名为（3*R*,4*R*,5*S*）-4-乙酰胺基-5-氨基-3-（1-乙基丙氧基）-1-环己烯-1-羧酸乙酯磷酸盐，由美国吉利德科学公司研制[1]，后转让给瑞士罗氏公司。**1**的口服胶囊、口服混悬液分别在1999年、2000年获美国FDA批准上市，用于治疗禽流感、甲型H1N1流感病毒和乙型流感病毒[2—3]。

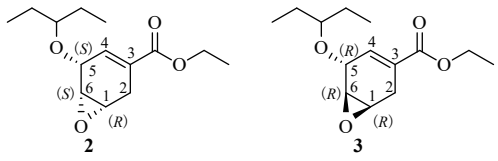
目前，文献已报道多条合成**1**的路线[4—6]，商业化生产路线由原研公司开发[7]，以（1*R*,5*S*,6*S*）-5-（戊烷-3-基氧基）-7-氧杂双环［4.1.0］庚-3-烯-3-羧酸乙酯（**2**，图2）为关键起始原料，经区域选择性开环、关环，发生构型翻转得到目标产物**1**。在**1**的合成过程中，3-位的手性中心由**2**的5位带入且始终保持构型，而4-和5-位的手性均在反应过程中发生翻转。因此，确定**2**的光学纯度，尤其是4-和5-位非对映异构体（1*R*,5*R*,6*R*）-5-（戊烷-3-基氧基）-7-氧杂双环［4.1.0］庚-3-烯-3-羧酸乙酯（**3**，图2）的含量，对于控制**1**的光学纯度有重要意义。



1

图1　1的结构式
Fig.1　Chemical Structure of **1**

收稿日期：2022-03-02
作者简介：陈德宝（1990—），男，硕士研究生，专业方向：药物合成。
通信作者：盛　荣（1973—），男，博士，副教授，从事新药设计与发现、含氟药物化学以及绿色药物合成工艺研究。
E-mail：shengr@zju.edu.cn



2 **3**

图 2 关键起始原料 2 及其非对映异构体 3 的结构式

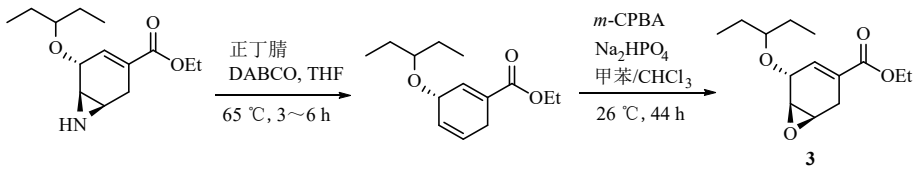
Fig.2 Chemical Structures of the Key Starting Material **2** and Its Diastereomer **3**

鉴于上述原因，采用定向制备的方式制备化合物 **3** 作为用于关键起始原料 **2** 杂质定性和定量分析的对照品，尤其是标定 **3** 的含量能对 **2** 的手性纯度进行有效监控，并及时采取手段以降低 **3** 含量，以此提升 **2** 和 **1** 的质量水平[8]，为安全用药提供保障。

目前少有文献提到化合物 **3** 的制备。文献报道以（1*R*,5*R*,6*R*）-5-（1- 乙基丙氧基）-7- 氮杂双环［4.1.0］庚 -3- 烯 -3- 羧酸乙酯为原料[9]，用亚硝酸丁酯在三乙烯二胺（DABCO）作用下重氮化后脱氨基得到消除产物，再经间氯过氧苯甲酸（*m*-CPBA）氧化得 **3**，具体路线见图 3。其中氧化反应通常得到的是一对消旋体，选择性差，需要手性拆分步骤，收率不高且较难分离，并且对 **3** 的结构鉴定缺乏直接有力的证据。

3 与商业易得的天然产物莽草酸（**4**）主体结构相似，同样在 C-3、C-4 和 C-5 位含有手性中心，只是 **3** 与 **4** 在 C-4 位的构型是相反的。本研究设计将 C-4 位原有的基团离去形成碳正离子，然后具有亲核性的 C-5 位基团进行分子内直接环化，环氧基团本身是平面结构，这样可以保证目标化合物 C-4 位和 C-5 位构型一致。同时 **4** 本身含有多个羟基，C-3 位和 C-4 位构型是一致的。本研究设计将 C-3 位和 C-4 位羟基缩酮保护后，再对 C-5 位羟基进行保护。通过官能团保护基离去能力的比较，筛选出不同保护基分别保护 C-4 位和 C-5 位，最终发生分子内环氧化反应得 **3**，具体路线见图 4。

该路线未见公开报道，共 6 步反应。①文献先对 **4** 酯化再缩酮保护，分 2 步得到（3a*R*,7*R*,7a*S*）-2,2- 二甲基 -7- 羟基 -3a,6,7,7a- 四氢苯并［*d*］［1,3］二唑 -5- 羧酸乙酯（**6**）[10]；本研究为提高转化效率，直接将 3- 戊酮在原甲酸三乙酯中活化得到 3,3- 二甲氧基戊烷，在温和条件下即可与莽草酸乙酯（**5**）缩合。通常，**5** 由 **4** 在酸催化（H_2SO_4、TsOH、$SOCl_2$ 等）条件下酯化形成，但常伴随消除反应，收率不高。本研究采用原甲酸三乙酯在 TsOH 催化下酯化，后面无需分离直接进行缩酮化反应，2 步合并成 1 步，反应选择性提高，收率合计达 86%。②将 **6** 转化为（3a*R*,7*R*,7a*S*）-7-（苯甲酰基氧基）-2,2- 二甲基 -3a,6,7,7a- 四氢苯并［*d*］［1,3］二噁唑 -5- 羧酸乙酯（**7**）时，需在碱性条件下进行；反应物加料顺序和碱的选择对产物收率和纯度有较大影响，通过条件筛选，以吡啶作缚酸剂，后处理用盐酸除去多余吡啶，收率可达 96%。③由 **7** 合成（1*R*,5*R*,6*S*）-3-（乙氧甲酰基）-6- 羟基 -5-（戊烷 -3- 基氧基）环己 -3- 烯 -1- 基苯甲酸酯（**8**）时，可在四氯化钛催化下通过三乙基硅烷还原获得，但会伴随副产物（1*R*,5*R*,6*R*）-3-（乙氧甲酰基）-5- 羟基 -6-（戊烷 -3- 基氧基）环己 -3- 烯 -1- 基苯甲酸酯（**9**）生成。受空间位阻和超共轭效应对碳正离子的稳定作用，还原反应具有一定的选择性。而反应温度对反应选择性影响较大，推测是由于温度过高会降低碳正离子稳定性，同时抵消了部分空间位阻的屏蔽作用，从而降低反应选择性；研究发现在 －40 ～ －35 ℃选择性最佳，同时为了避免出现局部高温，将四氯化



3

图 3 3 的文献合成路线[9]

Fig.3 Synthetic Route of **3** in Literature[9]

钛的二氯甲烷溶液浓度控制在15%，并延长滴加时间至1 h以上，最终可以控制副产物**9**含量低于1%，**8**收率可达95%。④合成（1*R*,5*R*,6*S*）-3-（乙氧甲酰基）-6-[（甲磺酰基）氧基]-5-（戊烷-3-基氧基）-环己-3-烯-1-基苯甲酸酯（**10**）时，在碱性条件下采用甲磺酰氯对**8**的4-位羟基活化，形成有离去性的甲磺酸酯，过高的温度和过强的碱性常常会引入消除副产物；本研究用三乙胺作碱、室温反应即可高收率获得**10**。⑤化合物**10**包含3种不同的酯：羧酸酯、甲磺酸酯、苯甲酸酯，其中甲磺酸酯的反应活性最高，羧酸酯活性最差。在空间上，C-4位和C-5位均为四面体杂化，磺酸酯和苯甲酸酯均处于六元环椅式结构的直立键（a键），由于苯甲酸酯是较大的共轭体系，与邻位的碳正离子成五元环体系，并稳定碳正离子，进而氧的孤对电子进攻碳正离子形成（*RR*）-构型的目标分子**3**，选择性好，并最终通过条件筛选，采用碳酸钾在回流状态下制得**3**，收率高达91%，纯度99.0%。

实验部分

Bruker AV Ⅲ-500 MHz型核磁共振仪；Waters e2695-2489-QDa型液质联用仪；Agilent 1100型高效液相色谱仪（色谱柱：Daicel Chiralpak AD-H手性色谱柱）；TLC用254 nm紫外灯照射显色。

莽草酸乙酯（5）

将**4**（陕西嘉禾生物科技股份有限公司，纯度99.5%，50.0 g，287 mmol）溶于乙醇（150 ml）中，加入一水合对甲苯磺酸（*p*-TSA，5.5 g，28.7 mmol）和原甲酸三乙酯（46.7 g，316 mmol），升温至回流反应6 h，TLC[展开剂：正庚烷：乙酸乙酯（1∶1）]跟踪反应，反应液直接用于下步反应。

（3a*R*,7*R*,7a*S*）-2,2-二甲基-7-羟基-3a,6,7,7a-四氢苯并[*d*][1,3]二唑-5-羧酸乙酯（6）

向如上所得**5**中依次加入原甲酸三乙酯（51.0 g，344 mmol）和3-戊酮（27.2 g，316 mmol），于20～25 ℃反应4 h，TLC（条件同上）跟踪反应。反应毕加入三乙胺（7.0 g，69.3 mmol），室温搅拌1 h。反应液减压浓缩，剩余淡黄色油状物中加入正庚烷（180 ml）和乙酸乙酯（60 ml），升温至60 ℃搅拌至完全溶清，缓慢冷却至10～15 ℃，搅拌析晶2 h，抽滤，50 ℃干燥得白色固体**6**（67.1 g，收率86%），纯度98.3%[HPLC归一化法：色谱柱Agilent Eclipse XDB-C_{18}柱（4.6 mm×150 mm，5 μm）；流动相A为0.1% TFA水溶液，B为100%乙腈，梯度洗脱（0—15 min：B 5%—95%；15—20 min：B 95%；20—25 min：B 95%—5%）；流速1.0 ml/min；柱温25 ℃；检测波长 210 nm；保留时间**6** 10.29 min]。ESI-MS（*m/z*）：271.29[M+H]$^+$；^{1}H NMR（500 MHz，DMSO-d_6）δ：6.69～6.70（m，1H），5.11（d，*J*=4.0 Hz，1H），4.70～4.72（m，1H），4.15（q，*J*=7.0 Hz，2H），4.08（t，*J*=6.0 Hz,1H），3.85～3.88（m，1H），2.35～2.40（m，1H），2.19～2.23（m，1H），1.53（q，*J*=7.5 Hz，2H），1.51（q，*J*=7.5 Hz，2H），1.22（t，*J*=7.0 Hz，3H），

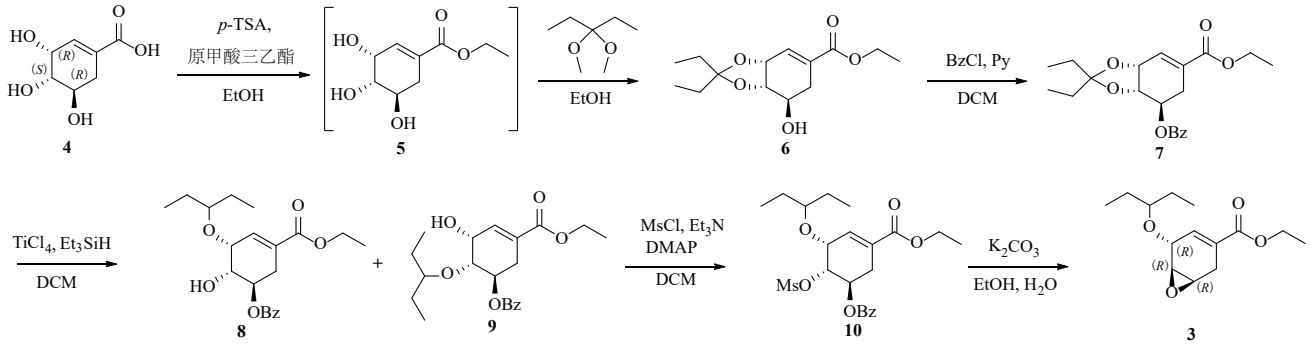


图4　非对映异构体3的合成路线

Fig.4　Synthetic Route of Diastereomer **3**

0.83(t, *J*=7.5 Hz, 3H), 0.75(t, *J*=7.5 Hz, 3H)。

(3a*R*,7*R*,7a*S*)-7-(苯甲酰基氧基)-2,2-二甲基-3a,6,7,7a-四氢苯并[*d*][1,3]二噁唑-5-羧酸乙酯(7)

将**6**(60.0 g，222 mmol)溶于二氯甲烷(150 ml)中，加入吡啶(35.1 g，444 mmol)，冰浴降温至0 ℃，缓慢滴加苯甲酰氯(37.5 g，267 mmol)，滴毕升至室温搅拌1 h，TLC[展开剂：正庚烷：乙酸乙酯(5 ∶ 1)]跟踪反应。反应完毕减压回收溶剂，剩余油状物中加入二氯甲烷(300 ml)和2 mol/L盐酸(150 ml)，室温搅拌15 min，静置分出有机层，经无水硫酸钠干燥后过滤，滤液减压回收溶剂，得淡黄色油状物**7**(80.2 g，96%)，纯度97.8%(HPLC归一化法：色谱条件同化合物**6**；保留时间**7** 13.72 min)。ESI-MS(*m/z*): 375.54[M+H]$^+$；^{1}H NMR(500 MHz, DMSO-d_6) δ: 7.96 ～ 7.98(m, 2H)， 7.65 ～ 7.70(m, 1H), 7.53 ～ 7.56(m, 2H), 6.87 ～ 6.88(m, 1H), 5.20 ～ 5.24(m, 1H), 4.94 ～ 4.96(m, 1H), 4.45(t, *J*=7.0 Hz, 1H), 4.17(q, *J*=7.0 Hz, 2H), 2.69 ～ 2.73(m, 1H), 2.44 ～ 2.50(m, 1H), 1.55 ～ 1.65(m, 4H), 1.23(t, *J*=7.0 Hz, 3H), 0.85(t, *J*=7.5 Hz, 3H), 0.77 ～ 0.80(t, *J*=7.5 Hz, 3H)。

(1*R*,5*R*,6*S*)-3-(乙氧甲酰基)-6-羟基-5-(戊烷-3-基氧基)环己-3-烯-1-基苯甲酸酯(8)

将**7**(50.0 g，133 mmol)溶于二氯甲烷(400 ml)中，加入三乙基硅烷(20.1 g，173 mmol)，氮气保护下冷却至 －40 ～ －35 ℃，缓慢滴加四氯化钛(27.9 g，147 mmol)的二氯甲烷溶液(186 ml)，滴加时间控制在1 h以上，滴完继续保温搅拌1 h，TLC[展开剂：正庚烷：乙酸乙酯(3 ∶ 1)]跟踪反应。反应完毕后加入水(200 ml)淬灭，搅拌15 min后静置分层，收集有机相，用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩，剩余油状物**8**粗品(55.4g)经硅胶柱色谱[洗脱剂：正庚烷：乙酸乙酯(15 ∶ 1)]分离，得白色油状物**8**(47.7 g，95%)，纯度99.3%(HPLC归一化法：色谱条件同化合物**6**；保留时间**8** 12.43 min)。ESI-MS(*m/z*): 377.49[M+H]$^+$；^{1}H NMR(500 MHz, DMSO-d_6) δ: 7.95 ～ 7.98(m, 2H), 7.65 ～ 7.68(m, 1H), 7.51 ～ 7.55(m, 2H), 6.78 ～ 6.79(m, 1H), 5.25 ～ 5.29(m, 1H), 5.05 ～ 5.10(m, 1H), 4.20 ～ 4.23(m, 1H), 4.15(q, *J*=7.0 Hz, 2H), 3.96 ～ 4.00(m, 1H), 3.46 ～ 3.85(m, 1H), 2.76 ～ 2.81(m, 1H), 2.30 ～ 2.35(m, 1H), 1.43 ～ 1.52(m, 4H), 1.21 ～ 1.25(t, 3H), 0.83 ～ 0.92(m, 6H)。

(1*R*,5*R*,6*S*)-3-(乙氧甲酰基)-6-[(甲磺酰基)-氧基]-5-(戊烷-3-基氧基)环己-3-烯-1-基苯甲酸酯(10)

将**8**(40.0 g，106 mmol)溶于二氯甲烷(200 ml)中，依次加入4-二甲胺基吡啶(DMAP，2.6 g，21.2 mmol)和三乙胺(21.4 g，212 mmol)，随后冰浴降温至0 ℃，缓慢滴加甲磺酰氯(18.2 g，159 mmol)，期间控温5 ℃以下。滴毕升至室温搅拌1 h，TLC[展开剂：正庚烷：乙酸乙酯(5 ∶ 1)]跟踪反应。反应完毕后加入水(100 ml)淬灭，搅拌15 min后静置分层，收集有机相，用1 mol/L盐酸(100 ml)洗涤，经无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩，剩余的油状物**10**粗品(53.0 g)经柱色谱[洗脱剂：正庚烷：乙酸乙酯(30 ∶ 1)]，得淡黄色油状物**10**(43.5 g，90%)，纯度98.8%(HPLC归一化法：色谱条件同化合物**6**；保留时间**10** 14.53 min)。ESI-MS(*m/z*): 455.63[M+H]$^+$；^{1}H NMR(500 MHz, DMSO-d_6) δ: 8.01 ～ 8.03(m, 2H), 7.69(d, *J*=7.5 Hz, 1H), 7.54 ～ 7.57(m, 2H), 6.83 ～ 6.84(m, 1H), 5.50(d, *J*=7.0 Hz, 1H), 5.08 ～ 5.09(m, 1H), 4.48 ～ 4.49(m, 1H), 4.17(q, *J*=7.0 Hz, 2H), 3.53(d, *J*=5.5 Hz, 1H), 3.21(s, 3H), 2.93 ～ 2.98(m, 1H), 2.53 ～ 2.55(m, 1H), 1.46 ～ 1.54(m, 4H), 1.24(t, *J*=7.0 Hz, 3H), 0.83 ～ 0.90(m, 6H)。

(1*R*,5*R*,6*R*)-5-(戊烷-3-基氧基)-7-氧杂双环[4.1.0]庚-3-烯-3-羧酸乙酯(3)

将**10**(35.0 g，77.0 mmol)溶于乙醇(150 ml)中，依次加入水(75 ml)和碳酸钾(31.9 g，231 mmol)，升温至回流反应4 h，TLC[展开剂：正庚烷：乙酸乙酯(3 ∶ 1)]跟踪反应。反应完毕减压蒸除乙醇，剩余物中加入乙酸乙酯(200 ml)搅拌15 min，静置分层，收集有机相，用无水硫酸钠干燥后过滤，

滤液减压浓缩，剩余淡黄色油状物（19.0 g）经柱色谱［洗脱剂：正庚烷∶乙酸乙酯（20 ∶ 1）］分离，得无色油状物 **3**（17.8 g，91%）。$[\alpha]_D^{20}$ －44.3 °（*c* 1.0, MeOH），纯度 99.0%［HPLC 归一化法：色谱柱 Daicel Chiralpak AD-H 柱（4.6 mm×250 mm, 5 μm）；流动相 正己烷∶异丙醇∶冰乙酸（88 ∶ 8 ∶ 4）；流速 1.5 ml/min；柱温 30 ℃；检测波长 210 nm；进样量 10 μl。保留时间 **3** 9.22 min，**2** 11.24 min］。ESI-MS（*m/z*）：277.29［M+Na］$^+$；^{1}H NMR（500 MHz, DMSO-d_6）δ：6.66 ～ 6.67（m, 1H），4.32 ～ 4.36（m, 1H），4.14（q, *J*=9.0 Hz, 2H），3.44 ～ 3.47（m, 1H），3.39 ～ 3.43（m, 1H），3.18 ～ 3.21（m, 1H），2.55 ～ 2.78（m, 2H），1.43 ～ 1.52（m, 4H），1.22（t, *J*=9.0 Hz, 3H），0.81 ～ 0.90（m, 6H）；^{13}C NMR（125 MHz, DMSO-d_6）δ：166.49, 132.74, 126.82, 82.95, 68.93, 60.84, 51.76, 50.95, 26.64, 26.57, 24.34, 14.22, 9.89, 9.55。

参考文献：

［1］ KIM C U, LEW W, WILLIAMS M A, *et al*. Influenza neuraminidase inhibitors possessing a novel hydrophobic interaction in the enzyme active site: design, synthesis, and structural analysis of carbocyclic sialic acid analogues with potent anti-influenza activity［J］. *J Am Chem Soc*, 1997, **119**(4): 681-690.

［2］ LAVER G, GARMAN E. Virology: the origin and control of pandemic influenza［J］. *Science*, 2001, **293**(5536): 1776-1777.

［3］ 王新敏, 薛继军, 陈富新. 磷酸奥司他韦的临床应用进展［J］. 中国处方药, 2014, **12**(3): 125-127.

［4］ ROHLOFF J C, KENT K M, MICHAEL J, *et al*. Practical total synthesis of the anti-influenza drug GS-4104［J］. *J Org Chem*, 1998, **63**(13): 4545-4550.

［5］ KARPF M, TRUSSARDI R. New, azide-free transformation of epoxides into 1,2-diamino compounds: synthesis of the anti-influenza neuraminidase inhibitor oseltamivir phosphate (Tamiflu)［J］. *J Org Chem*, 2001, **66**(6): 2044-2051.

［6］ 聂良登. 以莽草酸为起始原料合成磷酸奥司他韦（达菲）及其类似物［D］. 上海：华东理工大学博士学位论文, 2014.

［7］ HARRINGTON P J, BROWN J D, FODERARO T, *et al*. Research and development of a second-generation process for oseltamivir phosphate, prodrug for a neuraminidase inhibitor［J］. *Org Proc Res Dev*, 2004, **8**(1): 86-91.

［8］ 王宏亮, 陈 震. 化学合成原料药起始物料的最新要求［J］. 中国新药杂志, 2019, **28**(16): 1987-1990.

［9］ FEDERSPIEL M, FISCHER R, HENNIG M, *et al*. Industrial synthesis of the key precursor in the synthesis of the anti-influenza drug oseltamivir phosphate (Ro 64-0796/002, GS-4104-02): ethyl (3*R*,4*S*,5*S*)-4,5-epoxy-3-(1-ethyl-propoxy)-cyclohex-1-ene-1-carboxylate［J］. *Org Proc Res Dev*, 1999, **3**(4): 266-274.

［10］ 苏 虎, 郭效文, 杨乾坤, 等. 一种奥司他韦合成工艺杂质的制备方法: 中国, 113024489A［P］. 2019-12-25.