瑞德西韦制备工艺中手性杂质的合成

方治坤，朱　阳*，姚长亮
（上海医药集团股份有限公司中央研究院，上海 201203）

摘要：为了增强对瑞德西韦的质量控制，设计合成了其工艺路线中易产生的重要手性杂质，包括（*S*）-2-[[（*S*）-[[（2*R*,3*S*,4*R*,5*S*）-5-（4- 氨基吡咯并［2,1-*f*］［1,2,4］三嗪 -7- 基）-5- 氰基 -3,4- 二羟基四氢呋喃 -2- 基］甲氧基］（苯氧基）磷酰基］氨基］丙酸 -2- 乙基丁基酯，以及其（*S*）-2-［（*R*）-（2*R*,3*S*,4*R*,5*R*）］- 型和（*S*）-2-［（*R*）-（2*R*,3*S*,4*R*,5*S*）］- 型光学异构体，这些化合物的结构通过 MS 和 NMR 确证。本工艺条件温和、收率高、无需手性分离，适合实验室规模制备。

关键词：瑞德西韦；新型冠状病毒肺炎；手性杂质
中图分类号：R914.5　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255（2022）08-1141-07
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2022.08.007

Synthesis of Chiral Impurities in Production Process of Remdesivir

FANG Zhikun, ZHU Yang*, YAO Changliang
（*Central Institute of Shanghai Pharmaceuticals Holding Co., Ltd., Shanghai 201203*）

ABSTRACT: To improve quality control of remdesivir, the key chiral impurities easily generated in the production process of remdesivir were designed and synthesized. The structures of these compounds included（*S*）-2-ethylbutyl 2-[[（*S*）-[[（2*R*,3*S*,4*R*,5*S*）-5-（4-aminopyrrolo［2,1-*f*］［1,2,4］triazin-7-yl）-5-cyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl］-methoxy］（phenoxy）phosphoryl］amino］propanoate,（*S*）-2-［（*R*）-（2*R*,3*S*,4*R*,5*R*）］-type and（*S*）-2-［（*R*）-（2*R*,3*S*,4*R*,5*S*）］-type optical isomers were confirmed by MS and NMR. This method was suitable for laboratory synthesis due to its mild reaction conditions, high yield and no need for chiral separation.

Key Words: remdesivir; corona virus disease 2019（COVID-19）; chiral impurity

瑞德西韦（remdesivir），化学名为［（*S*）-［［（2*R*,3*S*,4*R*,5*R*）-5-（4- 氨基吡咯并［2,1-*f*］［1,2,4］-三嗪 -7- 基）-5- 氰基 -3,4- 二羟基四氢呋喃 -2- 基］-甲氧基］（苯氧基）磷酰基］-L- 丙氨酸 -2- 乙基丁酯，是美国吉利德公司开发的一种核苷类似物，最初主要用于抗埃博拉病毒和马尔堡病毒[1]。该药于 2020 年 5 月经美国 FDA 批准上市，临床用于治疗新型冠状病毒肺炎（corona virus disease 2019，COVID-19）。BEIGEL 等报道了一项瑞德西韦治疗 COVID-19 的国际性多中心、随机、双盲、安慰剂对照的Ⅲ期临床试验（瑞德西韦组 538 例，安慰剂组 521 例），结果显示瑞德西韦能显著缩短治愈时间（11 d vs. 15 d）、降低死亡率（7.1% vs. 11.9%）；瑞德西韦组的不良反应发生率低于安慰剂组（21.1% vs. 27.0%）[2]。

瑞德西韦的第一代合成路线如图 1 中实线箭头所示[3]，需要超临界流体色谱拆分；第二代合成方法如图 1 中虚线所示，采用手性合成，实验室可放大至百克级[4]。这些合成路线在引入氰基和磷酸酯时都会产生光学活性异构体有关物质（图 2）：（*S*）-2-[[（*S*）-[[（2*R*,3*S*,4*R*,5*S*）-5-（4- 氨基吡咯并［2,1-*f*］-［1,2,4］三嗪 -7- 基）-5- 氰基 -3,4- 二羟基四氢呋喃 -2- 基］甲氧基］（苯氧基）磷酰基］氨基］丙酸 -2- 乙基丁基酯（**10**），以及其（*S*）-2-［（*R*）-（2*R*,3*S*,4*R*,5*R*）］-型的 **14** 和（*S*）-2-［（*R*）-（2*R*,3*S*,4*R*,5*S*）］- 型的 **16**。合

收稿日期：2022-01-18
作者简介：方治坤（1980—），男，硕士，工程师，从事药物合成及开发工作。
通信作者：朱　阳（1963—），男，高级研究员，高级工程师，从事药物合成研究。
E-mail：zhuyang@sphchina.com

成这些手性物质对瑞德西韦的质量控制具有非常重要的价值。

有专利报道可用磷酰氯与（2*R*,3*R*,4*S*,5*R*）-2-（4-氨基吡咯并［2,1-*f*］［1,2,4］三嗪-7-基）-3,4-二羟基-5-（羟基甲基）四氢呋喃-2-甲腈（**5**）缩合，再用手性HPLC分离制得**14**[7]，但未见手性异构体**10**和**16**的合成报道。

本研究基于瑞德西韦的制备方法[5—6]，以图2所示路线制得如上有关物质。以（3*R*,4*R*,5*R*）-3,4-二（苄氧基）-5-［（苄氧基）甲基］二氢呋喃-2（3*H*）-酮（**1**）为原料，与7-碘吡咯并［2,1-*f*］［1,2,4］三嗪-4-胺（**2**）在三甲基氯硅烷（TMCl）、苯基氯化镁（PhMgCl）、异丙基氯化镁-氯化锂（*i*-PrMgCl·LiCl）存在下于 －20 ℃反应制得（3*R*,4*R*,5*R*）-2-（4-氨基吡咯并［2,1-*f*］［1,2,4］三嗪-7-基）-3,4-二（苄氧基）-5-［（苄氧基）甲基］四氢呋喃-2-醇（**3**）。**3**在三甲基硅氰（TMSCN）、三氟甲磺酸三甲基硅酯（TMSOTf）存在下反应制得（3*R*,4*R*,5*R*）-2-（4-氨基吡咯并［2,1-*f*］［1,2,4］三嗪-7-基）-3,4-二（苄氧基）-5-［（苄氧基）甲基］四氢呋喃-2-甲腈（**4**）时，发现于0 ℃反应得到消旋体（构型2*R* ∶ 2*S*约1 ∶ 1），若温度大于25 ℃则会产生少量其他杂质，故控温于0～20 ℃反应。制备**5**的氰基*S*-型异构体**6**时，用**4**先在三氯化硼存在下于 －60～－40 ℃脱苄，再经HPLC分离，并优选洗脱剂为水（含0.1%三氟乙酸）∶甲醇，分别制得**5**和**6**。用**5**或**6**在丙酮、2,2-二甲氧基丙烷和浓硫酸存在下于45 ℃反应相应制得（3a*R*,4*R*,6*R*,6a*R*）-4-（4-氨基吡咯并［2,1-*f*］三嗪-7-基）-6-（羟甲基）-2,2-二甲基四氢呋喃［3,4-*d*］-［1,3］间二氧杂环戊烷-4-甲腈（**11**）或其4*S*-型异构体**7**。第五步化合物**7**与磷酸酯在$MgCl_2$和二异丙基乙胺（DIPEA）存在下于50 ℃反应制得化合物**15**时，需要干燥的乙腈和无水硫酸镁，如果反应过程中混入少量水或溶剂不干燥会导致不反应。最后一步脱丙叉在THF中滴加浓盐酸，需要控制好反应温度。本研究对温度和反应时间进行了优化，在20～25 ℃反应5 h最佳，温度太高和反应时间过长都会导致产物降解、收率下降。本制备方法对生产设备要求较低，原料价格低且易得，反应简单，收率较高，工艺稳定，无需手性色谱分离，可以直接得到光学纯度高的瑞德西韦手性异构体**10**、**14**、**16**。

实验部分

（3*R*,4*R*,5*R*）-2-（4-氨基吡咯并［2,1-*f*］［1,2,4］三嗪-7-基）-3,4-二（苄氧基）-5-［（苄氧基）甲基］-四氢呋喃-2-醇（3）

将**2**（上海腾渤医药科技有限公司，纯度98%，

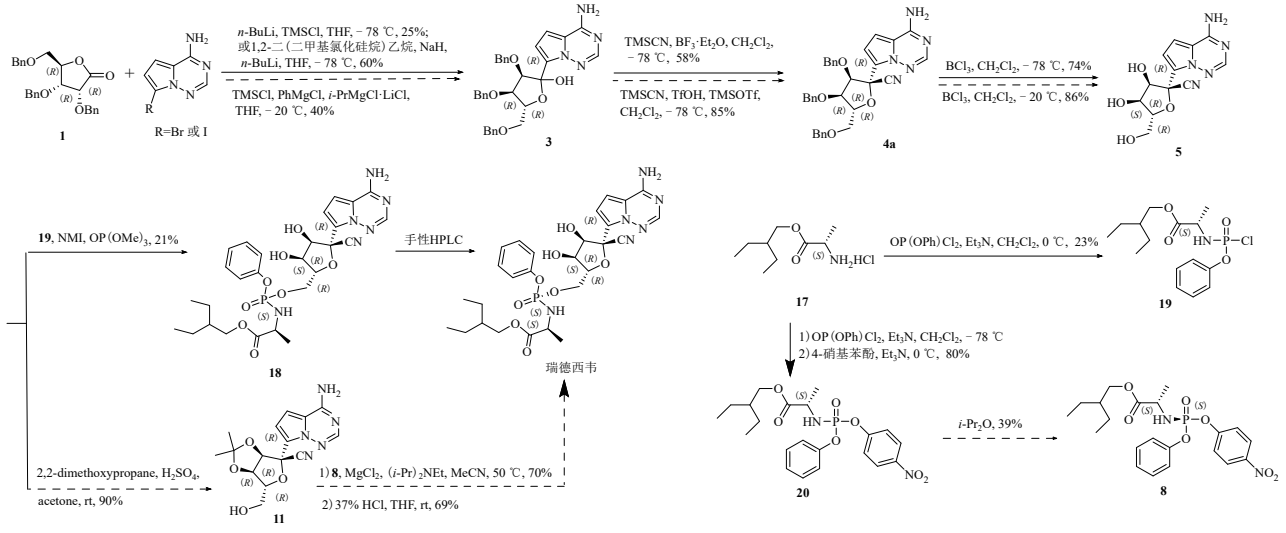


图1　瑞德西韦的合成路线（实线为第一代路线，虚线为第二代路线）

Fig.1　Synthetic Routes of Remdesivir

（The solid line represents the first generation route, and the dotted line represents the second generation route.）

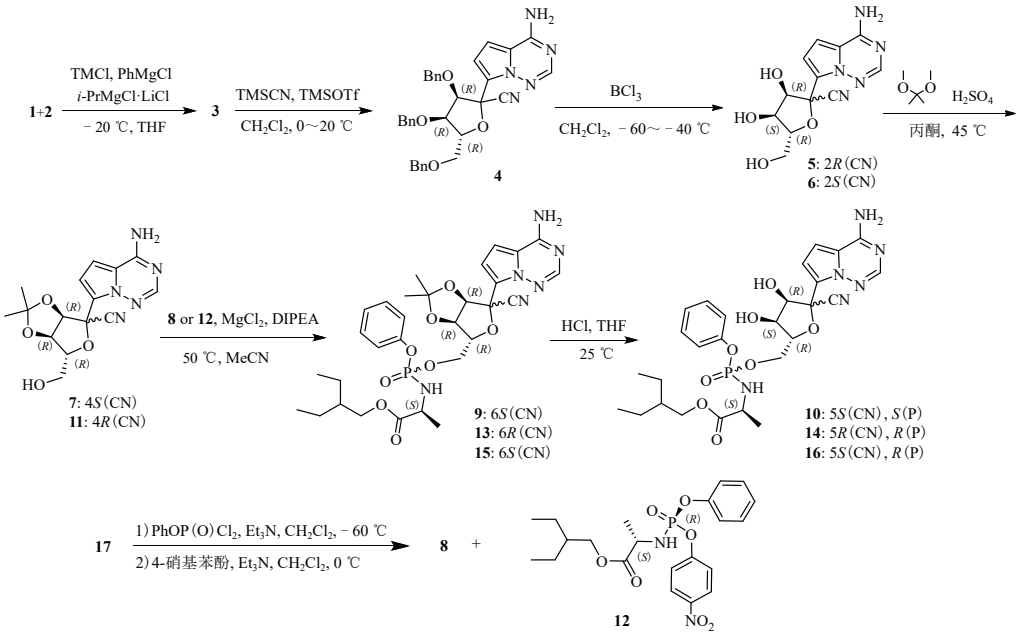


图 2 瑞德西韦有关物质的合成路线

Fig.2 Synthetic Route of the Related Substances of Remdesivir

50 g，192.3 mmol）溶于四氢呋喃（1.25 L）中，氩气置换 3 次，滴加 TMSCl（48.8 ml，384.6 mmol），滴毕室温反应 40 min，冷却至 0 ℃，滴加 2 mol/L PhMgCl 的 THF 溶液（192.5 ml，384.6 mmol），加完继续反应 1 h。在 0～5 ℃缓慢滴加 *i*-PrMgCl·LiCl（200 ml，192.3 mmol），加毕反应 30 min，降温至－20 ℃，滴加 **1**（江苏艾康生物医药研发有限公司，纯度 98%，88 g，211.53 mmol）的 THF 溶液（250 ml），继续反应 1 h，TLC 跟踪反应（展开剂：乙酸异丙酯）。反应毕在 0 ℃缓慢加入甲醇（200 ml）、乙酸（200 ml）和水（200 ml）淬灭反应，减压浓缩，剩余物中加入乙酸乙酯（2 L）和 1 mol/L 盐酸（2 L），有机相依次用饱和碳酸氢钠溶液（1 L×2）和饱和氯化钠溶液（1 L×2）洗涤，经无水硫酸钠（15 g）干燥后抽滤，滤液减压浓缩，剩余淡油状液体过硅胶柱（洗脱剂：正庚烷：乙酸乙酯 =4 ∶ 1），得白色固体 **3**（50.6 g，47.7%）。^{1}H NMR（400 MHz, DMSO-d_6）δ: 8.05（br s, 2H）, 7.98（s, 1H）, 7.23～7.36（m, 11H）, 7.12～7.19（m, 3H）, 7.00（dd, *J*=7.4、2.0 Hz, 2H）, 6.94（d, *J*=4.8 Hz, 1H）, 5.38（d, *J*=6.0 Hz, 1H）, 5.03（d, *J*=5.2 Hz, 1H）, 4.53～4.63（m, 2H）, 4.45～4.49（m, 4H）, 3.99～4.06（m, 1H）, 3.93（dd, *J*=5.9、4.4 Hz, 1H）, 3.69（dd, *J*=10.0、3.4 Hz, 1H）, 3.47（dd, *J*=10.0、6.5 Hz, 1H）；^{13}C NMR（100 MHz, DMSO-d_6）δ: 187.90, 155.79, 148.90, 138.61, 138.42, 138.37, 138.11, 128.57, 128.20, 128.17, 128.10, 128.09, 127.93, 127.77, 127.71, 127.67, 127.56, 127.50, 127.43, 127.40, 127.22, 127.15, 127.05, 126.97, 118.50, 117.43, 102.16, 81.87, 80.79, 72.42, 72.24, 72.20, 71.64, 71.34, 69.34；MS-ESI（*m*/*z*）：553［M+H］$^+$。

（3*R*,4*R*,5*R*）-2-（4- 氨基吡咯并［2,1-*f*］［1,2,4］三嗪 -7- 基）-3,4- 二（苄氧基）-5-［（苄氧基）甲基］- 四氢呋喃 -2- 甲腈（4）

将 **3**（40 g，0.072 mmol）溶于二氯甲烷（1.2 L）中，氩气置换 3 次，降温至 0 ℃，加入 TMSCN（28.74 g，0.290 mol）后反应 30 min，滴加 TMSOTf（33.8 g，0.152 mol），同温反应 2 h，再滴加 TMSOTf（33.8 g，0.152 mol），滴毕反应 1 h，再升温至 15 ℃反应 2 h，降温至 0 ℃，加入二氯甲烷（2.4 L）稀

释，将反应液倒入饱和碳酸氢钠溶液（3.6 L）淬灭反应，水相再用二氯甲烷（2 L）萃取。合并有机相，用饱和盐水洗涤，浓缩，剩余物用异丙醇∶正庚烷（1 ∶ 2，300 ml）结晶，得白色固体 **4**（35.1 g，86.3%）。^{1}H NMR（400 MHz, DMSO-d_6）δ: 7.83 ～ 8.02（m, 3H）, 7.24 ～ 7.40（m, 15H）, 7.05 ～ 7.17（m, 1H）, 6.89（ddd, *J*=20.1、13.8、5.0 Hz, 1H）, 6.75（dd, *J*=4.5、5.9 Hz, 1H）, 6.65（d, *J*=6.9 Hz, 1H）, 4.70 ～ 5.18（m, 2H）, 4.48 ～ 4.65（m, 4H）, 4.36 ～ 4.46（m, 1H）, 4.01 ～ 4.16（m, 1H）, 3.57 ～ 3.80（m, 2H）；^{13}C NMR（100 MHz, DMSO-d_6）δ: 155.53, 155.46, 148.03, 147.83, 138.17, 138.08, 137.94, 137.69, 137.37, 137.31, 128.25, 128.16, 128.13, 128.10, 127.91, 127.85, 127.81, 127.73, 127.70, 127.51, 127.39, 126.97, 122.63, 121.96, 117.38, 116.76, 116.72, 115.61, 110.48, 110.18, 101.13, 100.78, 81.89, 80.41, 80.37, 79.24, 78.29, 77.61, 76.94, 76.26, 73.11, 72.33, 72.29, 72.27, 71.89, 71.45, 68.78, 68.70；MS-ESI（*m*/*z*）: 562［M+H］$^+$。

（2*R*,3*R*,4*S*,5*R*）-2-（4- 氨基吡咯并［2,1-*f*］［1,2,4］-三嗪 -7- 基）-3,4- 二羟基 -5-（羟基甲基）四氢呋喃 -2- 甲腈（5）及其（2*S*,3*R*,4*R*,5*R*）- 型异构体（6）

将 **4**（10 g，0.018 mol）溶于二氯甲烷（320 ml）中，氩气保护下降温至 －65 ℃，－50 ℃以下滴加 1 mol/L 三氯化硼的正己烷溶液（89 ml，0.089 mol），约 25 min 加完。－40 ℃反应 2 h，反应结束后加入甲醇（100 ml），加入碳酸氢钠（12 g）和水（20 ml），升温到 0 ℃搅拌 20 min，抽滤，滤液浓缩，剩余物经制备型 HPLC［色谱柱 Kromasil 100-10-C_{18} 柱（30 mm×150 mm, 10 μm）；流动相 A 为 0.1% 三氟乙酸溶液，B 为甲醇，梯度洗脱（0—50 min，B 10%—60%）］分离，分别得白色固体 **5**（2.3 g，44.4%，保留时间 29 min，39% 甲醇）和白色固体 **6**（2.4 g，46.3%，保留时间 25 min，35% 甲醇）。**5**：^{1}H NMR（400 MHz, D_2O）δ: 8.13（s, 1H）, 7.42（d, *J*=4.9 Hz, 1H）, 7.16（d, *J*=4.9 Hz, 1H）, 4.94（d, *J*=5.4 Hz, 1H）, 4.43（td, *J*=4.8、3.2 Hz, 1H）, 4.31 ～ 4.38（m, 1H）, 3.88（dd, *J*=12.8、3.2 Hz, 1H）, 3.80（dd, *J*=12.8、4.8 Hz, 1H）；^{13}C NMR（100 MHz, DMSO-d_6）δ: 155.64, 147.87, 123.89, 117.35, 116.54, 110.79, 100.82, 85.44, 78.58, 74.25, 70.09, 60.96；MS-ESI（*m*/*z*）: 292［M+H］$^+$。**6**：^{1}H NMR（400 MHz, D_2O）δ: 8.11（s, 1H）, 7.43（d, *J*=4.8 Hz, 1H）, 7.10（d, *J*=4.8 Hz, 1H）, 5.14（d, *J*=4.4 Hz, 1H）, 4.75（dd, *J*=9.0、4.5 Hz, 1H）, 4.26 ～ 4.33（m, 1H）, 4.07（dd, *J*=12.9、2.1 Hz, 1H）, 3.88（dd, *J*=12.9、4.5 Hz, 1H）；^{13}C NMR（100 MHz, D_2O）δ: 148.83, 136.03, 128.11, 116.94, 113.59, 112.98, 109.95, 83.31, 77.59, 76.38, 70.61, 60.26；MS-ESI（*m*/*z*）: 292［M+H］$^+$。

（3a*R*,4*S*,6*R*,6a*R*）-4-（4- 氨基吡咯并［2,1-*f*］-［1,2,4］三嗪 -7- 基）-6-（羟甲基）-2,2- 二甲基四氢呋喃并［3,4-*d*］［1,3］间二氧杂环戊烷 -4- 甲腈（7）

将 **6**（6.8 g，233.6 mmol）、丙酮（200 ml）、2,2-二甲氧基丙烷（12.16 g，116.8 mmol）和浓硫酸（2 ml）于室温反应 0.5 h，升温至 45 ℃反应 1 h，降温至室温，加入碳酸氢钠（7 g）和水（7 ml）。混合物搅拌 15 min 后减压浓缩，剩余物中加入水（50 ml）和乙酸乙酯（150 ml），水相用乙酸乙酯（50 ml×2）萃取。合并有机相，经无水硫酸钠干燥后过滤，滤液减压浓缩，剩余物干燥得白色固体 **7**（7.52 g，97.2%）。^{1}H NMR（400 MHz, DMSO-d_6）δ: 7.92（s, 1H）, 7.81（s, 2H）, 6.89（d, *J*=4.5 Hz, 1H）, 6.68（d, *J*=4.5 Hz, 1H）, 5.50（d, *J*=5.8 Hz, 1H）, 5.21（t, *J*=5.0 Hz, 1H）, 5.04（dd, *J*=5.8、0.7 Hz, 1H）, 4.43（t, *J*=6.1 Hz, 1H）, 3.71（t, *J*=5.3 Hz, 2H）, 1.17（s, 3H）, 0.89（s, 3H）；^{13}C NMR（100 MHz, DMSO-d_6）δ: 155.37, 147.69, 122.73, 118.57, 115.44, 112.51, 108.99, 100.73, 86.65, 85.77, 82.69, 79.52, 60.46, 25.46, 24.97；MS-ESI（*m*/*z*）: 332［M+H］$^+$。

（*S*）-2-［［（*S*）-［［（3a*R*,4*R*,6*S*,6a*R*）-6-（4- 氨基吡咯并［2,1-*f*］［1,2,4］三嗪 -7- 基）-6- 氰基 -2,2- 二甲基四氢呋喃并［3,4-*d*］［1,3］间二氧杂环戊烷 -4- 基］-甲氧基］（苯氧基）磷酰基］氨基］丙酸 -2- 乙基丁酯（9）

将 **7**（1.1 g，3.32 mmol）和 **8**（南京新酶合医药科技有限公司，纯度 99.0%，1.8 g，4.00 mmol）溶

于无水乙腈（16 ml）中，室温加入无水氯化镁，搅拌升温至50 ℃反应20 min，滴加DIPEA（1.07 g，9.30 mmol），保温反应1 h，冷却至室温，加入乙酸乙酯（50 ml），依次用5%枸橼酸（20 ml×2）、饱和氯化铵溶液（20 ml）、5%碳酸钾溶液（20 ml×2）、饱和氯化钠溶液（20 ml）洗涤，用无水硫酸镁干燥后过滤，滤液减压浓缩，剩余油状物经柱色谱分离，得白色固体**9**（1.6 g，75.1%）。^{1}H NMR（400 MHz, CD_3OD）δ: 7.83（s, 1H）, 7.38（t, *J*=7.8 Hz, 2H）, 7.30（dd, *J*=8.8、1.1 Hz, 2H）, 7.21（t, *J*=7.3 Hz, 1H）, 6.88（d, *J*=4.5 Hz, 1H）, 6.77（d, *J*=4.5 Hz, 1H）, 5.59（d, *J*=5.8 Hz, 1H）, 5.08（dd, *J*=5.8、1.2 Hz, 1H）, 4.70（t, *J*=5.2 Hz, 1H）, 4.40（ddd, *J*=19.5、11.1、5.7 Hz, 2H）, 4.03 ～ 4.26（m, 3H）, 1.24 ～ 1.43（m, 11H）, 1.22（s, 3H）, 0.96（s, 3H）, 0.90（t, *J*=7.5 Hz, 6H）；^{13}C NMR（100 MHz, CD_3OD）δ: 175.08, 175.03, 157.00, 152.22, 152.15, 147.88, 130.83, 126.23, 124.90, 121.53, 121.49, 119.36, 116.87, 115.02, 110.91, 102.40, 87.86, 86.38, 86.29, 84.04, 81.73, 68.29, 67.14, 67.09, 51.64, 41.77, 33.03, 30.14, 26.04, 25.34, 24.34, 24.30, 23.73, 20.69, 20.63, 14.41, 11.36；^{31}P NMR（162 MHz, CD_3OD）δ: 3.480（s）；MS-ESI（*m*/*z*）: 643［M+H］$^{+}$。

（*S*）-2-［［（*S*）-［［（2*R*,3*S*,4*R*,5*S*）-5-（4- 氨基吡咯并［2,1-*f*］［1,2,4］三嗪 -7- 基）-5- 氰基 -3,4- 二羟基四氢呋喃 -2- 基］甲氧基］（苯氧基）磷酰基］氨基］-丙酸 -2- 乙基丁基酯（10）

将**9**（1.8 g, 2.8 mmol）溶于四氢呋喃（20 ml）中，降温至0 ～ 5 ℃，滴加浓盐酸（4 ml），滴完升温至20 ～ 25 ℃反应5 h。加入水（20 ml），用饱和碳酸氢钠溶液调至pH 8。用乙酸乙酯（50 ml）萃取，有机相用饱和氯化钠溶液（20 ml×2）洗涤，经无水硫酸钠干燥后过滤，滤液减压浓缩至干，剩余物过硅胶柱（洗脱剂：正庚烷：乙酸乙酯，4 ∶ 1 → 1 ∶ 99），得白色固体**10**（1.26 g，75%）。［α］$_{D}^{20}$ －13.963 °（*c* 0.15, CH_3OH），mp 63 ～ 66 ℃。^{1}H NMR（400 MHz, CD_3OD）δ: 7.84（s, 1H）, 7.32 ～ 7.42（m, 2H）, 7.27 ～ 7.32（m, 2H）, 7.18（td, *J*=7.3、0.8 Hz, 1H）, 6.90（d, *J*=4.5 Hz, 1H）, 6.80（d, *J*=4.5 Hz, 1H）, 5.00（d, *J*=4.3 Hz, 1H）, 4.60（dd, *J*=8.6、4.3 Hz, 2H）, 4.48（dd, *J*=9.2、6.0 Hz, 1H）, 4.28 ～ 4.38（m, 2H）, 4.06（tdd, *J*=16.5、10.3、5.9 Hz, 3H）, 1.43 ～ 1.54（m, 1H）, 1.26 ～ 1.43（m, 8H）, 0.86（td, *J*=7.5、2.4 Hz, 6H）；^{13}C NMR（100 MHz, CD_3OD）δ: 175.13, 175.06, 156.95, 152.23, 152.16, 148.07, 130.73, 126.08, 124.62, 121.54, 121.49, 118.77, 116.87, 111.91, 102.65, 82.56, 82.48, 79.70, 77.21, 72.66, 68.25, 67.41, 67.35, 51.56, 41.64, 24.23, 24.18, 20.78, 20.72, 11.35, 11.29；^{31}P NMR（162 MHz, CD_3OD）δ: 3.641（s）；MS-ESI（*m*/*z*）: 603［M+H］$^{+}$。

2-［［（*S*）-（4- 硝基苯氧基）（苯氧基）磷酰基］-氨基］丙酸 -2- 乙基丁酯（12）

将2- 乙基丁基 -L- 丙氨酸酯盐酸盐（**17**，上海韶远试剂有限公司，13 g，0.062 mol）溶于二氯甲烷（100 ml）中，冷却到 －60 ℃，加入二氯磷酸苯酯（13.08 g，0.062 mol），缓缓滴加三乙胺（6.27 g，0.062 mol），－60 ℃反应1 h，再升温到20 ℃反应3 h。冷却至0 ℃，加入4- 硝基苯酚（7.75 g，0.056 mol），缓慢滴加三乙胺（6.27 g，0.062 mol），滴毕升温到20 ℃反应3 h，反应毕减压浓缩，剩余物过硅胶柱，所得浅黄色油状物用异丙醚溶解搅拌加入少量**8**晶种，过滤，滤液浓缩，所得**12**（19.5 g, 70%）直接用于下步反应［*R* 型约70%；*S* 型约30%，色谱柱 Chirapak IC 柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相 正己烷：异丙醇 =80 ∶ 20；检测波长 242 nm；流速 1 ml/min］。^{1}H NMR（400 MHz, $CDCl_3$）δ: 8.20（d, *J*=9.2 Hz, 2H）, 7.18 ～ 7.40（m, 7H）, 3.96 ～ 4.34（m, 4H）, 1.25 ～ 1.50（m, 8H）, 0.86（t, *J*=7.5 Hz, 6H）；^{13}C NMR（100 MHz, $CDCl_3$）δ: 173.27, 173.24, 173.18, 173.16, 155.55, 155.50, 155.49, 155.44, 150.31, 150.24, 150.18, 144.86, 140.75, 130.04, 129.82, 129.55, 129.35, 126.08, 125.74, 125.72, 120.97, 120.95, 120.91, 120.90, 120.22, 120.19, 120.18, 120.14, 67.97, 67.77, 50.63, 50.62, 40.33, 40.03, 23.26, 23.23, 21.12, 21.09, 21.04, 11.02, 11.00, 10.92, 10.84；^{31}P NMR（162 MHz, $CDCl_3$）δ: －3.14（s）, －3.20（s）；MS-ESI（*m*/*z*）: 451［M+H］$^{+}$。

2-[[(*S*)-[[(3a*R*,4*R*,6*R*,6a*R*)-6-(4-氨基吡咯并[2,1-*f*][1,2,4]三嗪-7-基)-6-氰基-2,2-二甲基四氢呋喃并[3,4-*d*][1,3]间二氧杂环戊烷-4-基]甲氧基](苯氧基)磷酰基]氨基]丙酸-2-乙基丁酯(13)

将**11**(制备方法同**7**，1.0 g，3.00 mmol)和**12**(1.6 g，3.6 mmol，*R*型70%，*S*型30%)溶于无水乙腈(16 ml)中，室温加入无水氯化镁，搅拌下升温至50 ℃反应20 min，滴加DIPEA(1.0 g，7.5 mmol)反应1 h，冷却至室温，加入乙酸乙酯(50 ml)，依次用5%枸橼酸溶液(20 ml×2)、饱和氯化铵溶液(20 ml)、5%碳酸钾溶液(20 ml×2)和饱和氯化钠溶液(20 ml)洗涤，经无水硫酸镁干燥后过滤，滤液减压浓缩，剩余油状物过硅胶柱，得白色固体**13**(1.5 g，77.3%)。^{1}H NMR(400 MHz, CD_3OD)δ: 7.86(s, 1H), 7.26(dd, *J*=15.6、7.8 Hz, 2H), 7.02～7.18(m, 3H), 6.89(dt, *J*=4.6、3.9 Hz, 2H), 5.26(dd, *J*=63.7、6.6 Hz, 1H), 4.97(ddd, *J*=15.6、6.6、3.3 Hz, 1H), 4.50～4.67(m, 1H), 4.25～4.40(m, 2H), 3.78～4.19(m, 3H), 1.70(d, *J*=2.2 Hz, 3H), 1.20～1.54(m, 12H), 0.87(t, *J*=7.5 Hz, 6H)；^{13}C NMR(100 MHz, CD_3OD)δ: 175.14, 175.09, 174.96, 174.90, 157.26, 152.15, 152.08, 148.52, 148.49, 130.68, 126.20, 126.10, 124.72, 124.61, 121.40, 121.37, 121.36, 121.32, 118.34, 118.31, 117.80, 117.62, 117.06, 117.02, 112.35, 112.28, 102.46, 85.70, 84.97, 84.94, 84.89, 84.85, 83.09, 83.03, 82.73, 82.60, 68.12, 68.07, 67.03, 66.97, 66.95, 66.90, 51.61, 51.48, 41.75, 41.73, 26.52, 26.43, 25.54, 25.45, 24.24, 24.22, 20.38, 20.31, 11.33, 11.30；^{31}P NMR(162 MHz, CD_3OD)δ: 3.533(s), 3.219(s)；MS-ESI(*m*/*z*): 665[M+Na]$^+$。

(*S*)-2-[[(*R*)-[[(2*R*,3*S*,4*R*,5*R*)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-*f*][1,2,4]三嗪-7-基)-5-氰基-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基]甲氧基](苯氧基)磷酰基]氨基]-丙酸-2-乙基丁基酯(14)

将**13**(1 g，1.56 mmol)溶于四氢呋喃(16 ml)中，冷却至0～5 ℃，滴加浓盐酸(4 ml)，滴毕升温至20～25 ℃反应5 h。加入水(20 ml)，加饱和碳酸氢钠溶液调至pH 8。加入乙酸乙酯(50 ml)，有机相用饱和氯化钠溶液(20 ml×2)洗涤，经无水硫酸钠干燥后过滤，减压浓缩至干，剩余物经制备型HPLC[色谱柱 XBridge C_{18}柱(30 mm×150 mm, 5 μm)；流动相A为0.1%三氟乙酸溶液，B为乙腈，梯度洗脱(0—15 min，B 15%—55%)]分离，得白色固体**14**(492 mg，52.6%)。$[\alpha]_D^{20}$ -44.44°(*c* 0.25, CH_3OH)，mp 66.2～78.0 ℃。^{1}H NMR(400 MHz, CD_3OD)δ: 7.85(s, 1H), 7.28(dd, *J*=10.0、5.7 Hz, 2H), 7.07～7.19(m, 3H), 6.91(dd, *J*=10.7、4.6 Hz, 2H), 4.79(d, *J*=5.5 Hz, 1H), 4.37～4.50(m, 2H), 4.28～4.35(m, 1H), 4.21(t, *J*=5.4 Hz, 1H), 4.00(qd, *J*=10.9、5.7 Hz, 2H), 3.86(dq, *J*=14.3、7.1 Hz, 1H), 1.47(dt, *J*=12.5、6.1 Hz, 1H), 1.27～1.38(m, 4H), 1.25(dd, *J*=7.1、1.0 Hz, 3H), 0.86(t, *J*=7.5 Hz, 6H)；^{13}C NMR(100 MHz, CD_3OD)δ: 175.15, 175.11, 157.26, 152.17, 152.10, 148.34, 130.68, 126.11, 125.54, 121.43, 121.39, 118.00, 117.64, 112.37, 102.63, 84.61, 84.53, 81.09, 75.68, 71.55, 68.09, 66.83, 66.77, 51.61, 41.73, 24.23, 24.21, 20.45, 20.38, 11.33, 11.30；^{31}P NMR(162 MHz, CD_3OD)δ: 3.545(s)；MS-ESI(*m*/*z*): 603[M+H]$^+$。

2-[[(*S*)-[[(3a*R*,4*R*,6*S*,6a*R*)-6-(4-氨基吡咯并[2,1-*f*][1,2,4]三嗪-7-基)-6-氰基-2,2-二甲基四氢呋喃并[3,4-*d*][1,3]间二氧杂环戊烷-4-基]甲氧基](苯氧基)磷酰基]氨基]丙酸-2-乙基丁基酯(15)

将**7**(1.1 g，3.32 mmol)和**12**(*R*型约70%，*S*型约30%)(1.8 g，4.00 mmol)溶于无水乙腈(16 ml)中，加入无水氯化镁，搅拌升温至50 ℃反应20 min，滴加DIPEA(1.1 g，9.30 mmol)，滴毕同温反应1 h，冷却至室温，加入乙酸乙酯(50 ml)稀释，依次用5%枸橼酸溶液(20 ml×2)、饱和氯化铵溶液(20 ml)、5%碳酸钾溶液(20 ml×2)和饱和氯化钠溶液(20 ml)洗涤，经无水硫酸镁干燥后过滤，滤液浓缩，剩余油状物过硅胶柱，得白色固体**15**(1.5 g，70%)。^{1}H NMR(400 MHz, CD_3OD)δ: 7.85(s, 1H), 7.35～

7.45(m, 2H), 7.27 ～ 7.35(m, 2H), 7.23(t, *J*=7.8 Hz, 1H), 6.88(t, *J*=4.4 Hz, 1H), 6.76(t, *J*=4.8 Hz, 1H), 5.28(d, *J*=5.7 Hz, 1H), 4.96(dd, *J*=5.7、1.0 Hz, 1H), 4.66 ～ 4.78(m, 1H), 4.42(t, *J*=5.1 Hz, 2H), 4.00 ～ 4.17(m, 3H), 1.52(dd, *J*=12.3、6.2 Hz, 1H), 1.15 ～ 1.45(m, 11H), 0.96(s, 1H), 0.90(td, *J*=7.2、2.5 Hz, 7H)；^{13}C NMR(100 MHz, CD_3OD) δ: 175.33, 175.28, 156.99, 152.31, 152.24, 147.87, 147.82, 130.90, 130.83, 126.37, 126.24, 125.19, 124.91, 121.64, 121.59, 121.53, 121.49, 119.44, 119.36, 116.86, 115.02, 114.84, 110.92, 110.82, 102.35, 87.87, 86.38, 86.29, 86.19, 86.09, 84.07, 81.96, 81.73, 68.29, 68.18, 67.38, 67.32, 67.14, 61.53, 51.69, 51.65, 41.82, 41.78, 26.04, 25.88, 25.34, 25.18, 24.32, 20.63, 20.57, 14.46, 11.36；^{31}P NMR(162 MHz, CD_3OD) δ: 3.71(s), 3.48(s)；MS-ESI(*m/z*): 665[M+Na]$^+$。

(*S*)-2-[[(*R*)-[[(2*R*,3*S*,4*R*,5*S*)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-*f*][1,2,4]三嗪-7-基)-5-氰基-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基]甲氧基](苯氧基)磷酰基]氨基]-丙酸-2-乙基丁基酯(16)

将**15**(1 g, 1.56 mmol)溶于四氢呋喃(16 ml)中，冷却至0 ～ 5 ℃，滴加浓盐酸(4 ml)，滴毕升温至20 ～ 25 ℃反应5 h。加入水(20 ml)，加饱和碳酸氢钠溶液调至pH 7 ～ 8。加入乙酸乙酯(50 ml)，搅拌，有机相用饱和氯化钠溶液(20 ml×2)洗涤，经无水硫酸钠干燥后过滤，滤液减压浓缩至干，剩余物经制备型HPLC[色谱柱 XBridge C_{18}柱(30 mm×150 mm, 5 μm)；流动相A为0.1%三氟乙酸溶液，B为乙腈，梯度洗脱(0—15 min，B 15%—55%)]分离，得白色固体**16**(528 mg，56.3%)。$[\alpha]_D^{20}$ －58.70 °(*c* 0.19, 甲醇)，mp 141 ～ 145 ℃。^{1}H NMR(400 MHz, CD_3OD) δ: 7.86(s, 1H), 7.33 ～ 7.40(m, 2H), 7.25 ～ 7.32(m, 2H), 7.20(td, *J*=7.5、0.9 Hz, 1H), 6.90(d, *J*=4.5 Hz, 1H), 6.80(d, *J*=4.5 Hz, 1H), 4.97(d, *J*=4.2 Hz, 1H), 4.60(dd, *J*=8.7、4.3 Hz, 1H), 4.50 ～ 4.57(m, 1H), 4.24 ～ 4.35(m, 2H), 4.11(tt, *J*=14.2、7.1 Hz, 1H), 4.01(d, *J*=5.7 Hz, 2H), 1.46(dq, *J*=12.1、6.0 Hz, 1H), 1.25 ～ 1.42(m, 8H), 0.85(td, *J*=7.4、1.8 Hz, 6H)；^{13}C NMR(100 MHz, CD_3OD) δ: 175.34, 175.29, 157.01, 152.23, 152.16, 148.06, 130.72, 126.16, 124.76, 121.72, 121.67, 118.75, 116.92, 111.85, 102.67, 82.50, 82.41, 79.81, 77.32, 72.15, 68.07, 66.13, 66.08, 51.57, 41.73, 24.22, 24.21, 20.71, 20.64, 11.32, 11.30；^{31}P NMR(162 MHz, CD_3OD) δ: 3.654(s)；MS-ESI(*m/z*): 603[M+H]$^+$。

参考文献：

[1] SHEAHAN T P, SIMAS A C, GRAHAM R L, *et al*. Broad-spectrum antiviral GS-5734 inhibits both epidemic and zoonotic coronaviruses[J]. *Sci Transl Med*, 2017, **9**(396): 36-53.

[2] BEIGEL J H, TOMASHEK K M, DODD L E, *et al*. Remdesivir for the treatment of COVID-19-preliminaryreport[J]. *N Engl J Med*, 2020, **383**(19): 1813-1826.

[3] MACKMAN R L, PARRISH J, RAY A S, *et al*. Methods and compounds for treating paramyxoviridae virus infections: WO, 2012012776A[P]. 2012-01-26.

[4] WARREN T K, JORDAN R, LO M K, *et al*. Therapeutic efficacy of the small molecule GS-5734 against Ebola virus in rhesus monkeys[J]. *Nature*, 2016, **531**(7594): 381-385.

[5] 麦克曼R L, 帕里什J P, 雷A S, 等. 用于治疗副黏病毒科病毒感染的方法和化合物: 中国, 103052631A[P]. 2013-04-17.

[6] 布拉克 K, 卡拉E A, 休曼L V, 等. (*S*)-2-(((*S*)-(((2*R*,3*S*,4*R*,5*R*)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-*f*][1,2,4]三嗪-7-基)-5-氰基-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)氨基)丙酸-2-乙基丁基酯的结晶形式: 中国, 110636884A[P]. 2019-12-31.

[7] BYOUNG K C, PLEASANTON C A, MICHAEL O, *et al*. Preparation of nucleosides and methods for treating Filoviridae virus infections: US, 20160122374A[P]. 2016-05-05.