

## 替诺福韦的合成工艺改进

刘 嘉,李 科,孙海玲,冯继禄(第二军医大学药学院药物化学教研室,上海 200433)

**摘要** 目的:改进替诺福韦的合成工艺。方法:以亚磷酸二乙酯和多聚甲醛经缩合、酯化得到对甲苯磺酸羟甲基磷酸二乙酯(4)。另以缩水甘油合成碳酸丙烯酯,与腺嘌呤反应得到 9-(2-羟丙基)腺嘌呤(7),在叔丁醇钠作用下与(4)经缩合、水解等反应制得抗病毒药物替诺福韦。结果:优化后的制备工艺成本低,操作简便,对环境污染减少。结论:新工艺的产率达到 30%,适合工业生产。

**关键词** 替诺福韦;合成;工艺改进

中图分类号:R914 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2009)01-0031-03

### Improvement of synthetic process of tenofovir

LU Jia, LI Ke, SUN Hai-ling, FENG Ji-lu (Department of Medicinal Chemistry, School of pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**ABSTRACT Objective:** To improve the synthetic process of tenofovir **Methods:** P-toluenesulfonic acid diethoxyphosphorylmethyl ester(4) was prepared from diethyl phosphate and paraformaldehyde by condensation and esterification. 9-(2-hydroxy-propyl) adenine (7) was synthesized by reaction of adenine and propylene carbonate. In presence of  $(\text{CH}_3)_3\text{CONa}$ , compound (7) was connected with compound (4), and then hydrolyzed to tenofovir. **Results:** The technique was successfully improved due to its low cost, easier operation and less pollution to the environment. **Conclusion:** The overall yield of the improved synthetic process was 30%, which is more suitable for industrial production.

**KEY WORDS** tenofovir; synthesis; technical improvement

替诺福韦酯(tenofovir disoproxil fumarate, 替诺福韦双异丙酰氧基甲酯富马酸盐),化学名为(R)-[ [2-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-1-甲基乙氧基]甲基]磷酸双(异丙酰氧基甲基)酯富马酸盐,是一可口服的开环核苷酸单磷酸酯的前药,结构式如图 1(1)所示,口服吸收后迅速转变成替诺福韦(PMPA, 2)<sup>[1]</sup>。PMPA 被证实对人类免疫缺陷病毒 HIV 及其他逆转录酶病毒具有广谱的抗病毒活性,已于 2001 年经美国 FDA 批准用于临床治疗艾滋病的药物<sup>[2]</sup>。另外替诺福韦酯正在进行针对慢性乙型肝炎病毒 HBV 感染的临床试验<sup>[3]</sup>,希望作为抗乙型肝炎的一线治疗药物或与其他抗乙型肝炎药物联合应用。

文献报道 PMPA (2)的合成路线主要有两条<sup>[4~6]</sup>:以(R)乳酸异丁酯为原料,经羟基保护,酯还原,磺酰化后与腺嘌呤缩合,经水解得带手性中心开环核苷,以 DMF 为溶剂缩合生成(8),再与三

甲基溴硅烷反应后水解得到粗品(2),经柱层析分离后得到(2)的纯品,此路线操作繁琐、不易控制,总收率低。以腺嘌呤与碳酸丙烯酯缩合,在强碱氢氧化钠的作用下发生缩合反应,经柱层析后水解获得目标化合物。本实验改用较为温和的叔丁醇钠,避免了氢气的生成,适合工业生产,且采用水洗处理,避免过柱损失,设计了如图 1 所示路线,使得操作简化,成本降低,提高了收率。

### 1 实验部分

**1.1 对甲苯磺酸羟甲基磷酸二乙酯(4)** 将亚磷酸二乙酯 3 (3.00 g, 21 mmol),多聚甲醛(0.83 g, 27 mmol), TEA (0.4 mL)和甲苯(11 mL)的混合物回流反应 3 h 后,冷却至  $-10^\circ\text{C}$ ,缓慢加入  $\text{TsCl}$  (3.8 g, 20 mmol)和 TEA (4.2 mL),滴毕,升至室温。反应 6 h 后,停止反应过滤,滤液用水和饱和 NaCl 洗涤,无水  $\text{MgSO}_4$  干燥,过滤,浓缩。得微黄色油状物(4) (4.67 g, 收率 72.5%),直接用于下一步反应。

**1.2 R-9-羟丙基腺嘌呤(7)** 将 5% Pd/C (1 g), EtOH (100 mL)和 20% NaOH 水溶液 (0.5 g)的混合

作者简介:刘嘉(1980-),男,硕士研究生。E-mail: nudt\_liujia@hotmail.com.

通讯作者:李科。E-mail: proflike@sina.com.

物冷却至  $-10^{\circ}\text{C}$ , 缓慢加入 S 缩水甘油 (5) (10 g, 0.14 mol), 持续通入氢气 (约 2 个大气压) 4 h, 至不

再消耗氢气为止, 过滤, 浓缩, 得无色油状物 (9.6 g, 收率 93%)。

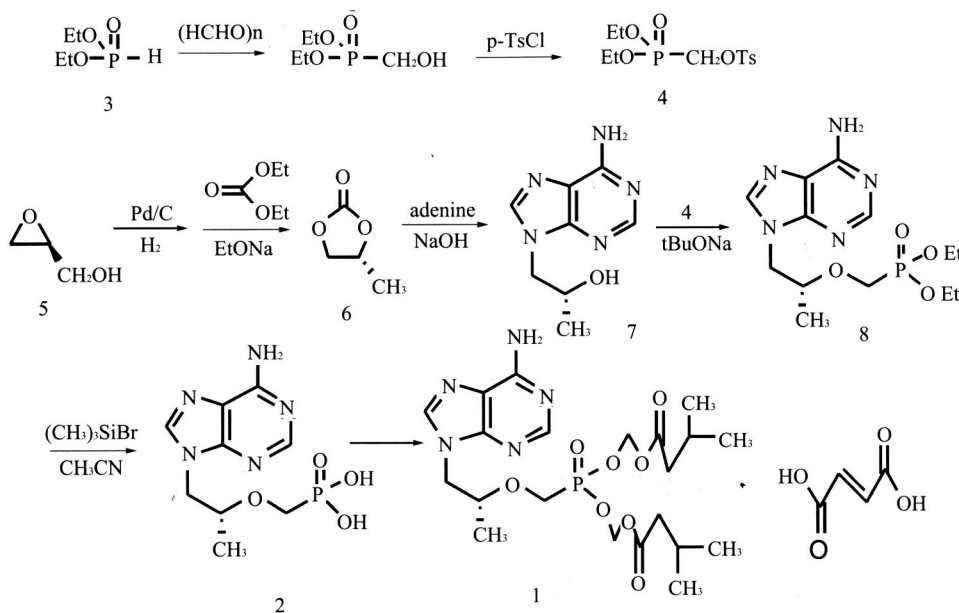


图 1 替诺福韦酯的合成路线

将所得无色油状物、碳酸二乙酯 (20 mL, 0.16 mol) 和 21% 乙醇钠的乙醇溶液 (3 mL) 混合加热, 蒸馏乙醇, 浓缩。在 20 mmHg 下精馏, 收集 120 的馏分, 得到无色油状化合物 6 (8.9 g, 收率 69%)。

将腺嘌呤 (10 g, 74 mmol), DMF (30 mL) 和 NaOH (0.05 g) 混合加热, 于  $120^{\circ}\text{C}$ , 滴加 (6) (8.2 g, 80 mmol), 回流 12 h, 甲苯结晶, 得白色固体 7 (12 g, 收率 90.4%)。mp:  $192^{\circ}\text{C} \sim 195^{\circ}\text{C}$ 。[ $\alpha_{\text{D}}^{20}$ ] =  $+40.5^{\circ}$  (0.5, 0.1 M HCl)。

**1.3 R-9[2-(二乙基磷酰甲氧基)丙基]腺嘌呤 (8)**  
氮气保护下, 将 (7) (1 g, 5 mmol) 加入到无水 DMF (10 mL) 中, 加热至溶解, 降温至  $20^{\circ}\text{C}$ , 固体微小颗粒析出。多次分批加入叔丁醇钠 (1.2 g, 12.5 mmol) 至溶液黏稠澄清, 继续降温至  $-10^{\circ}\text{C}$ , 缓慢滴加由 (4) (2.5 g, 8 mmol) 和 DMF (5 mL) 组成的混合液。6 h 后, 停止反应, 浓缩, 蒸除大部分 DMF 后, 加入  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 mL) 搅拌 1 h, 过滤, 继续蒸除残余 DMF。再加入  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 mL) 稀释, 分别用水、饱和  $\text{NaHCO}_3$  溶液和饱和 NaCl 溶液洗涤, 无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 过滤、浓缩。柱层析分离 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :  $\text{CH}_3\text{OH}$  = 30:1), 得白色固体 (8) (0.54 g, 收率 30%)。 $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 8.334 (s, 1H); 7.972 (s, 1H); 6.105 (s, 2H); 4.33 ~ 4.38 (m, 1H); 3.991 ~ 4.162 (m, 5H); 3.903 ~ 3.949 (m, 1H); 3.801 ~ 3.877 (m, 1H); 3.540 ~ 3.617 (m, 1H); 1.227 ~ 1.318 (m, 9H)。

**1.4 替诺福韦 FMPA (2)**  
氮气保护下, 将 (8) (5 g, 15 mmol) 加入到无水  $\text{CH}_3\text{CN}$  (40 mL),  $50^{\circ}\text{C}$  以下控温, 缓慢滴加  $(\text{CH}_3)_3\text{SiBr}$  (7.5 mL, 56 mmol), 回流 2 h, 浓缩。加 50% NaOH 调节 pH = 3, 冰水结晶。可利用酸碱中和进行纯化, 得白色固体 2 (3.7 g, 收率 88%), mp:  $281^{\circ}\text{C} \sim 283^{\circ}\text{C}$ 。[ $\alpha_{\text{D}}^{20}$ ] =  $-21.3^{\circ}$  (0.5, 0.1 M HCl)。FABMS  $m/z$  288 ( $\text{M} + \text{H}^+$ )。 $^1\text{HNMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 8.141 ~ 8.159 (s, 2H); 7.285 (s, 2H); 4.128 ~ 4.309 (m, 2H); 3.872 ~ 3.925 (m, 1H); 3.552 ~ 3.617 (m, 2H); 1.008 ~ 1.029 (d, 3H)。

## 2 结果与讨论

侧链对甲苯磺酸羟甲基磷酸二乙基酯 (4) 由两步反应合成, 第一步是利用多聚甲醛将亚磷酸二乙酯进行羟甲基化, 摸索了反应配比、时间以及温度, 以亚磷酸二乙酯与多聚甲醛的摩尔比为 1:1.2, 反应温度在  $110^{\circ}\text{C}$ 、反应时间在 3 h, 产物收率最高, 能达到 72.5%, 无需分离即可进行第二步反应, 使得操作简化, 损失减少和收率提高。

在合成 R-9[2-(二乙基磷酰甲氧基)丙基]腺嘌呤 (8) 时, 文献使用氢化钠, 反应活性太高不易控制, 且有氢气放出不适合大规模生产。我们用叔丁醇钠替代, 反应条件温和, 收率稳定, 并可中试放大。

(下转第 45 页)

表 2 鱼藤酮 辣椒碱悬浮剂回收率结果

序号	样品量 (mg)	加入对照品量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 R (%)	RSD (%)
1	2.60	2.01	4.6646	102.72		
2	2.60	2.01	4.6053	99.77		
3	2.60	2.51	5.1010	99.64	100.67	1.65
4	2.60	2.51	5.1638	102.14		
5	2.60	3.02	5.5720	98.41		
6	2.60	3.02	5.6613	101.37		

2.9 鱼藤酮 辣椒碱中辣椒碱含量测定 精密吸取鱼藤酮 辣椒碱悬浮剂样品适量,按定氮法测定辣椒碱含量,三个批号辣椒碱含量为 100.99%、102.98%、102.42%。

### 3 讨论

定氮法测定鱼藤酮 辣椒碱悬浮剂中辣椒碱含量的主要干扰物质是植物源蛋白质。从鱼藤酮 辣椒碱悬浮剂中蛋白质含量测定结果来看,蛋白质

含氮量约占辣椒碱含氮量的 1% ~ 1.6%。辣椒碱的分子量是 305.4,氮的分子量是 14,含氮量约为 4.6%,而植物蛋白质的含氮量约 15% ~ 16%<sup>[5]</sup>,因此同样含氮量辣椒碱的质量是蛋白质的 3 ~ 4 倍,实际蛋白质的质量相比于辣椒碱质量小于 0.5%。本检测方法比较简便,作为半微量分析是可行的,在实践中可以作为辣椒碱含量的测定方法。

### 参考文献:

- [1] 赵善欢,黄彰欣. 安全高效的鱼藤杀虫剂 [J]. 植物保护, 1988, 14 (1): 44.
- [2] 莫美华,黄彰欣. 鱼藤酮及其混剂对蔬菜害虫的毒效研究 [J]. 华南农业大学学报, 1994, (154): 58
- [3] GB/T5009.5-2003 食品中蛋白质的测定 [S]. 国家标准.
- [4] GB608-88 氮测定通用方法 [S]. 国家标准.
- [5] 植物生理实验技术 [M]. 哈尔滨出版社, 2002: 154.

收稿日期: 2008-05-19

(上接第 32 页)

利用柱层析方法分离纯化 (R)-9-[2-二乙基膦酰甲氧基丙基]腺嘌呤 (8) 时, 收率偏低, 这可能是由于该化合物含有氨基, 极性较大被硅胶吸附所致。可尝试在洗脱剂中加入 TEA 以降低硅胶吸附程度, 提高分离收率。后采用少量水多次洗涤的方式。文献<sup>[6]</sup>为防止产物的损失, 不经后处理直接投料下一步, 但实验发现, 反应很不稳定, 可能是由于杂质过多的原因。摸索后发现, 可以采用多次少量蒸馏水洗涤的方式, 以除去残余的 DMF, 以 3 次为宜, 可使 (R)-9-[2-二乙基膦酰甲氧基丙基]腺嘌呤以较高的纯度直接投料反应生成 PMPA, 且水相可循环套用, 避免了过柱损失, 使得 PMPA 提高了 10% 的收率。

为了考察酸性对 PMPA 结晶的影响, 我们测定了不同 pH 值的收率, 发现当 pH = 3 时, 产率达到最大值。pH 值对产率的影响结果见表 1。

表 1 pH 值对 PMPA 结晶的收率影响

pH 值	收率 %
2.5	70.8
3	88.0
3.5	72.5

### 3 结论

用 S 缩水甘油合成 R 碳酸丙烯酯, 与腺嘌呤反应得到 (R)-9-(2-羟丙基)腺嘌呤, 在叔丁醇钠作用下与以亚磷酸二乙酯和多聚甲醛为原料经缩合、酯化反应合成的活泼中间体对甲苯磺酸羟甲基磷酸二乙基酯反应, 经缩合, 水解等合成抗病毒药物替诺福韦。本文对原工艺进行了优化, 从而降低了成本, 简化操作, 目标化合物的收率比文献提高 10%, 且经过放大实验, 更适合工业生产。

### 参考文献:

- [1] 崔 岚, 安富荣, 王晓珉. 核苷酸逆转录酶抑制剂替诺福韦 DF [J]. 中国新药杂志, 2004, 13 (11): 1054.
- [2] Lacombe K, Gozlan J, Boelle PY, et al Long-term hepatitis B virus dynamics in HIV-hepatitis B virus-coinfected patients treated with tenofovir disoproxil fumarate [J]. AIDS, 2005, 19 (9): 907.
- [3] Van BF, Wunsche T, Mauss S, et al Comparison of adefovir and tenofovir in the treatment of lamivudine-resistant hepatitis B virus infection [J]. Hepatology, 2004, 40 (6): 1421.
- [4] Sorbera LA, Castaner J. (R)-MPMA and Bis(POC)MPMA [J]. Drugs Fut, 1998, 23 (12): 1279.
- [5] Holy A, Dvorakova H, DeClercq E, et al Antiretroviral enantiomeric nucleotide analogs [P]. WO 9403467.
- [6] Schultze LM, Chapman HH, Dubree NJP, et al Practical synthesis of the anti-HIV drug, PMPA [J]. Tetrahedron Lett, 1998, 39 (14): 1853.

收稿日期: 2008-09-25