

抗新冠病毒药莫诺匹拉韦合成新方法研究

刘 铮^a 杨 景^b 刘丰五^{*,b,c}^(a) 吉林大学化学学院 长春 130012^(b) 郑州大学药物研究院 郑州 450001^(c) 郑州大学药学院 郑州 450001

摘要 莫诺匹拉韦是已被英美等国批准使用的抗 SARS-CoV-2 感染的口服药物。目前报道的莫诺匹拉韦合成方法存在诸多不足,如反应步骤多、反应收率低、成本高等。报道了以价格低廉的胞嘧啶核苷为起始物,直接酰化高效率合成莫诺匹拉韦的路线。研究发现,在不同比例的水/四氢呋喃溶液中依次通过胞苷的羟基选择性异丁酰化和选择性 2',3'位脱异丁酰基反应,可以顺利得到 5'-O-异丁酰基胞嘧啶核苷,再通过 N⁴-羟基化反应即可得到目标产物。该方法操作简单、反应选择性高,最终以总收率 82% 制备了抗新冠病毒原料药莫诺匹拉韦。

关键词 莫诺匹拉韦; 抗病毒药; 新冠病毒; 选择性异丁酰化; 胞嘧啶核苷

New Routes to Antiviral Molnupiravir against SARS-CoV-2 Infection

Liu, Zheng^a Yang, Jing^b Liu, Fengwu^{*,b,c}^(a) College of Chemistry, Jilin University, Changchun 130012^(b) Institute for Drug Research, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001^(c) School of Pharmaceutical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001

Abstract Molnupiravir is an oral drug against SARS-CoV-2 infection approved by Britain and America in 2021. Currently, the reported synthetic methods of molnupiravir have disadvantages, such as long steps, limited yield and high cost. Efficient methods for the synthesis of molnupiravir through direct acylation of low-price cytidine are developed. In different proportions of aqueous tetrahydrofuran solution, selective isobutyrylation of hydroxyl of cytidine and further 2',3'-deprotection of 2',3',5'-tri-O-isobutyrylcytidine could be realized, which successfully gave 5'-O-isobutyrylcytidine. Finally, N⁴-hydroxylation of 5'-O-isobutyrylcytidine yielded molnupiravir. Using this straightforward and high-yielding three-step approach, molnupiravir was obtained from cytidine in 82% overall yield.

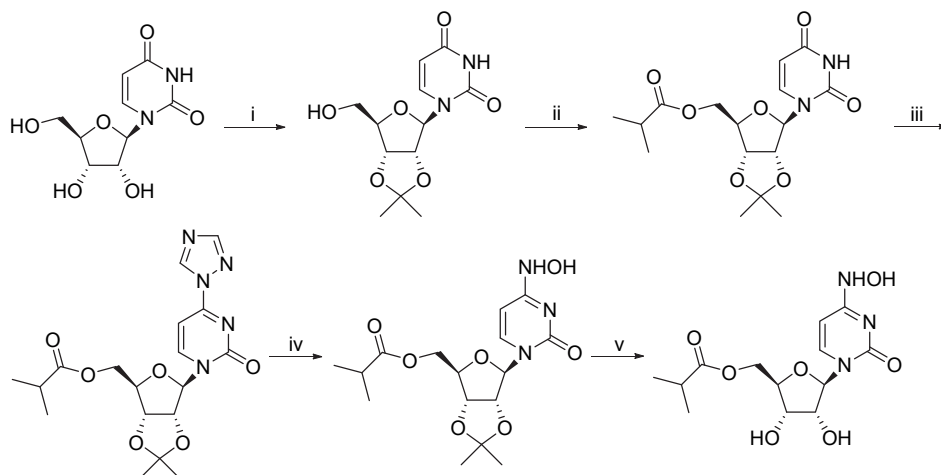
Keywords molnupiravir; antiviral; SARS-CoV-2; selective isobutyrylation; cytidine

COVID-19 大流行严重威胁着人们的健康,影响着人们的正常生活。为了有效遏制病毒的传播并提高新冠肺炎患者的治愈率,开发治疗新冠肺炎的药物具有重要意义。莫诺匹拉韦(MK-4482/EIDD-2801)具有广谱抗 RNA 病毒活性,研究证明其对 SARS-CoV-2 病毒的增殖也具有显著抑制作用^[1]。美国默沙东公司生产的莫诺匹拉韦口服药物已分别于 2021 年 11 月和 12 月被英国和美国紧急授权用于临床治疗新冠肺炎。最初莫诺匹拉韦的合成以尿嘧啶核苷为原料^[2],经过五步反应得到(Scheme 1)。该方法反应步骤多,尿嘧啶转化为胞嘧啶时收率低,使总收率低于 17%。并且使用的尿嘧啶核苷价格昂贵,导致合成成本高,难以推广应用。

鉴于以尿苷为原料成本过高,开发以廉价的胞苷为原料合成莫诺匹拉韦的方法十分必要。文献报道了一种化学合成莫诺匹拉韦的方法^[3-4]。该方法首先将胞苷的 2',3'位羟基通过异丙叉基保护,然后使用异丁酸酐将 5'羟基酰化,硫酸羟胺将胞嘧啶环外氨基羟胺化,最后脱去 2',3'位的保护基得到产物(步骤 A-i、A-ii、A-iii 和 A-iv,总收率 42%)。通过改变羟胺化反应的溶剂体系,可减少步骤直接得到莫诺匹拉韦产物(步骤 A-i、A-ii 和 A-v,总收率 39%)(Scheme 2, Route A)。该方法相较于以尿苷为原料的合成方法具有更高的收率和更简洁的反应步骤。但由于反应的 A-ii、A-iv 和 A-v 等步骤只有中等收率,且需要繁琐的分离提纯操作,其最高总收率仅有 42%。

* Corresponding author. E-mail: fwliu@zzu.edu.cn

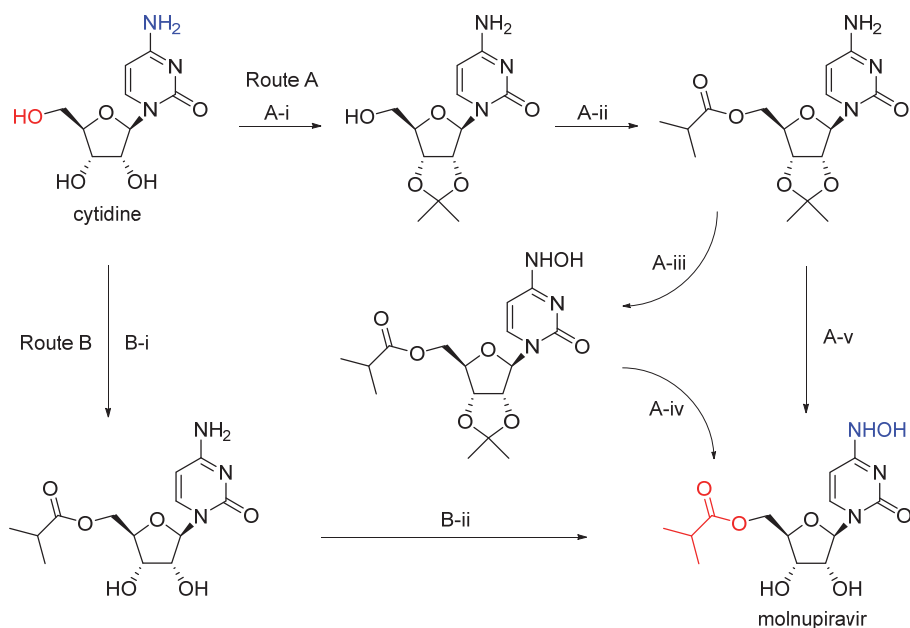
Received March 22, 2022; revised May 18, 2022; published online June 8, 2022.



Reagents and conditions: (i) (a) acetone, H_2SO_4 ; (b) NEt_3 ; (ii) isobutyric anhydride, NEt_3 , DMAP, 99%; (iii) 1,2,4-triazole, POCl_3 , NEt_3 , acetonitrile, 29%; (iv) NH_2OH , tPrOH , 60%; (v) HCO_2H , EtOH, MTBE

图式 1 以尿苷为原料合成莫诺匹拉韦的方法

Scheme 1 Route to molnupiravir from uridine



Reagents and conditions: (A-i) $\text{Me}_2\text{C}(\text{OMe})_2$, Acetone, H_2SO_4 , r.t., 3 h, 94%; (A-ii) Isobutyric anhydride, DMAP, DBU, CH_3CN , r.t., 2 h, 78%; (A-iii) $(\text{NH}_2\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$, 70% tPrOH in H_2O , 78 $^\circ\text{C}$, 17 h, 96%; (A-iv) HCO_2H , r.t., 5 h, 60%; (A-v) $(\text{NH}_2\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$, 40% tPrOH in H_2O , 78 $^\circ\text{C}$, 17 h, 53%; (B-i) Isobutyric acetoxime ester, Novozyme 435 (200% in weight), 78%; (B-ii) $(\text{NH}_2\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$, tPrOH , 78 $^\circ\text{C}$, 20 h, 96%

图式 2 以胞苷为原料合成莫诺匹拉韦的两条路线

Scheme 2 Two routes to molnupiravir from cytidine

除化学合成方法外, 酶催化专一性酰化也被用于制备莫诺匹拉韦. 文献报道了一种通过酶催化对胞苷 5'羟基进行选择性的酰化, 进而对 5'-O-异丁酰基胞嘧啶核苷羟胺化得到莫诺匹拉韦的方法^[5]. 该方法仅需两步即可得到产物, 且没有副产物生成, 两步反应的总收率达到 75% (Scheme 2, Route B). 尽管该方法具有步骤少、收率高等优点, 但其需使用二倍于底物重量的、价格昂贵的固载

化酶, 且需要合成专用酰化试剂异丁酸丙酮肟酯, 使得采用该方法生产莫诺匹拉韦无实际应用价值.

本文以廉价易得的胞嘧啶核苷为原料, 分别研究了异丁酰肟对胞苷的全酰化和选择性羟基酰化反应、全酰化胞苷和羟基酰化胞苷的选择性脱 2',3'位异丁酰基反应, 以及硫酸羟胺对 5'-O-异丁酰基胞嘧啶核苷和 5'-O, N^4 -二异丁酰基胞嘧啶核苷的羟胺化反应. 经过反

应条件筛选优化, 开发了一条合成莫诺匹拉韦的新路线, 总收率高达 82%.

1. 结果与讨论

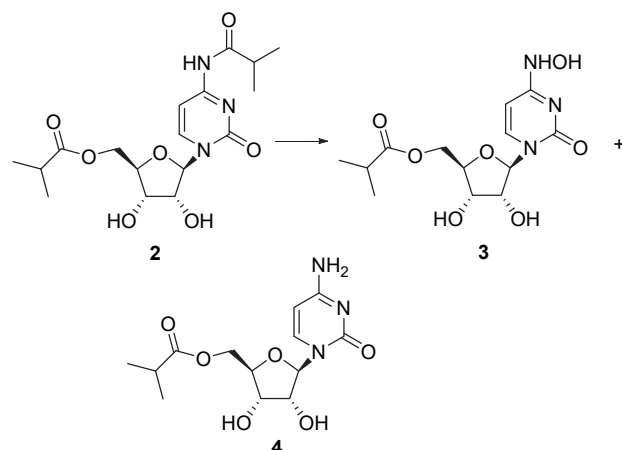
1.1 通过胞苷全酰化合成莫诺匹拉韦

根据文献报道, 在四氢呋喃中用甲醇钠处理全苯甲酰化胞嘧啶核苷, 可以选择性脱除 2',3'位苯甲酰基^[6]. 本研究尝试借鉴此方法, 设计了通过 5'-*O*, *N*⁴-二异丁酰基胞嘧啶核苷中间体制备莫诺匹拉韦的方法(方法 1). 室温下在吡啶中使用异丁酰氯处理胞苷, 反应 6.5 h, 经萃取、干燥和浓缩, 以 95% 的收率得到了 *N*⁴-异丁酰基-2',3',5'-三-*O*-异丁酰基胞嘧啶核苷(**1**). 将化合物 **1** 溶于四氢呋喃中低温下用甲醇钠处理 1 h, 薄层色谱(TLC)监测原料完全转化后终止反应. 经硅胶柱层析纯化, 以 94% 收率得到 5'-*O*, *N*⁴-二异丁酰基胞嘧啶核苷(**2**).

根据文献[5]报道, 在异丙醇和水混合溶剂中, 硫酸羟胺可以将胞苷环外氨基直接羟胺化, 且不会发生氨基的二羟基化. 我们尝试使用硫酸羟胺将化合物 **2** 的异丁酰氨基直接转化为羟氨基. 在异丙醇和水(*V*:*V*=7:3)混合溶剂中, 加入化合物 **2** 和硫酸羟胺(3.2 equiv.), 78 °C 下反应 1 h, TLC 监测显示原料完全转化, 生成两个极性增大的产物点, 两产物物质的量比约为 3:2. 继续延长反应时间至 6 h, 二个产物点大小无明显变化. 经柱层析分离、NMR 分析结构确证, 极性稍小的产物为 *N*⁴-羟基-5'-*O*-异丁酰基胞嘧啶核苷(**3**), 极性稍大的产物为 5'-*O*-异丁酰基胞嘧啶核苷(**4**). 尝试通过改变溶剂体系、降低反应温度、调整物料比例等手段抑制副产物的生成, 都未能得到单一的产物 **3**(表 1, Entries 1~5). 但从降低硫酸羟胺用量和降低反应温度, 都能使化合物 **4** 的比例增大这一现象(Entries 2, 5), 推断化合物 **2** 先转化为中间体 **4**, 进一步羟胺化得到目标产物 **3**. 因此推测增加反应体系中硫酸羟胺的量可以提高目标产物 **3** 的产率. 向体系中增加硫酸羟胺至 6.0 equiv., 78 °C 下反应 24 h, 目标产物 **3** 在体系中的比例显著提高, **3** 和 **4** 的物质的量比增大到 9:1 (Entry 6). 继续延长反应时间和增大硫酸羟胺的用量, 均不再改变体系中产物比例(Entries 7, 8), 且体系有碳化趋势. 化合物 **4** 在该反应体系中不能完全转化为目标产物 **3** 的原因有待进一步研究. 按 Entry 6 的最佳反应条件, 反应结束后通过柱层析分离得到目标产物 **3**, 收率 80% (Scheme 3, Method 1).

该方法经过三步反应, 最终以总收率 71.4% 成功合成了莫诺匹拉韦. 但由于在该羟胺化条件下中间体 5'-*O*, *N*⁴-二异丁酰基胞嘧啶核苷(**2**)不能完全转化为目标产物, 影响了反应的总收率, 因此该方法还有待进一步研究优化.

表 1 羟胺化反应条件优化^a
Table 1 Optimization of hydroxamination conditions



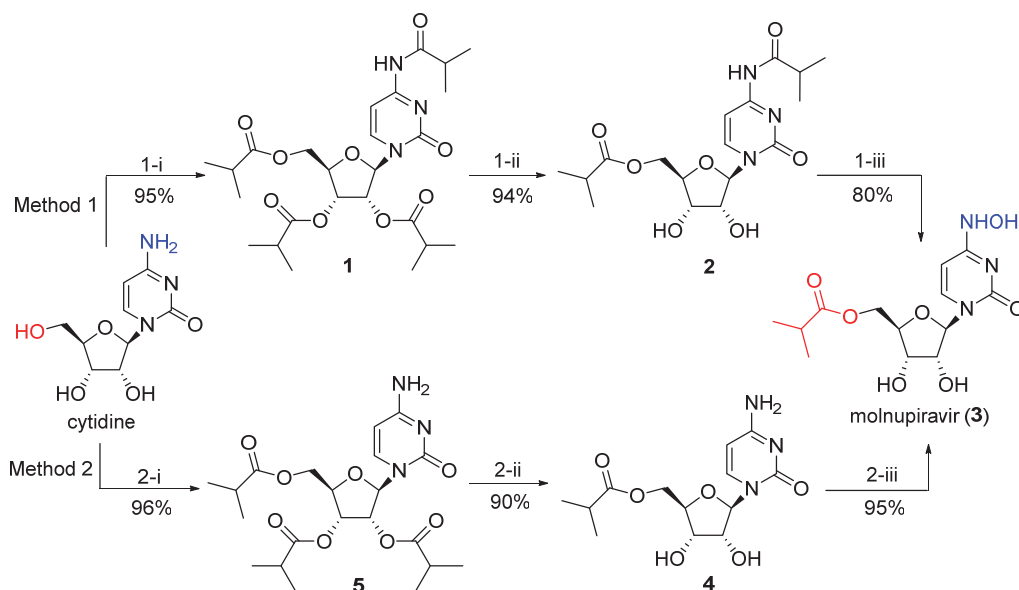
Entry	<i>V</i> (<i>i</i> PrOH) : <i>V</i> (H ₂ O)	(NH ₂ OH) ₂ ·H ₂ SO ₄ / equiv.	<i>T</i> /°C	Time/h	3 : 4
1	7 : 3	3.2	78	1.0	3 : 2 ^b
2	7 : 3	1.0	78	1.0	3 : 7
3	1 : 1	3.2	78	1.0	1 : 1
4	1 : 0	3.2	78	1.0	1 : 4
5	7 : 3	3.2	40	1.0	1 : 4
6	7 : 3	6.0	78	24	9 : 1
7	7 : 3	6.0	78	48	9 : 1
8	7 : 3	10.0	78	24	9 : 1

^a Compound **2** (100 mg), *i*PrOH/H₂O (2 mL), 78 °C. ^b Molar ratios indicated by TLC analysis.

1.2 通过胞苷的选择性羟基酰化合成莫诺匹拉韦

文献[7]报道, 在缚酸剂三乙胺和催化剂 4-二甲氨基吡啶存在下, 异丁酰氯和 4-叠氮胞嘧啶核苷室温下可以在四氢呋喃和水混合溶剂中反应, 专一性羟基酰化得到 2',3',5'-三-*O*-异丁酰基-4-叠氮胞嘧啶核苷. 结合方法 1 的反应情况, 设计了通过对 5'-*O*-异丁酰基胞嘧啶核苷(**4**)羟胺化合成莫诺匹拉韦的方法(方法 2). 根据文献[7], 在四氢呋喃和水[*V*:*V*=5:2]的混合溶剂中, 以胞嘧啶核苷代替 4-叠氮胞嘧啶核苷, 在相同条件下反应 2.5 h, TLC 监测原料完全转化, 生成单一的产物. 该产物经柱层析分离、NMR 分析, 确证为 2',3',5'-三-*O*-异丁酰基胞嘧啶核苷(**5**). 在该反应中用异丁酸酐代替异丁酰氯, 发现不同的酰化试剂只会影响反应时间, 对反应的收率没有显著影响. 反应结束后, 通过简单的萃取、水洗、干燥, 减压浓缩以 96% 的收率得到化合物 **5**.

在方法 1 中, 使用甲醇钠-四氢呋喃体系能选择性脱除全异丁酰化胞苷 2',3'位的异丁酰基, 以高收率得到 5'-*O*, *N*⁴-二异丁酰基胞嘧啶核苷(**2**). 将同样的条件应用于化合物 **5** 脱 2',3'位异丁酰基的反应中. 实验表明, 甲醇钠的用量和反应温度对产物构成影响较大. 低温有利于中间体 **4** 的生成, 温度升高则会造成反应选择性降低,



Reagent and conditions: (1-i) isobutyryl chloride (4.6 equiv.), pyridine, r.t., 6.5 h; (1-ii) CH_3ONa (3.0 equiv.), THF, 8 °C, 1 h; (1-iii) $(\text{NH}_2\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ (6.0 equiv.), $^t\text{PrOH}/\text{H}_2\text{O}$ ($V:V=7:3$), 78 °C, 24 h; (2-i) isobutyric anhydride, NEt_3 , THF/ H_2O ($V:V=5:2$), r.t., 2.5 h; (2-ii) TBAF (1 mol/L) in THF/ H_2O ($V:V=9:1$), r.t., 24 h; (2-iii) $(\text{NH}_2\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ (3.2 equiv.), $^t\text{PrOH}/\text{H}_2\text{O}$ ($V:V=7:3$), 78 °C, 24 h

图式 3 以胞苷为原料合成莫诺匹拉韦的两条新路线
Scheme 3 Two new routes to molnupiravir from cytidine

生成异丁酰基全脱除的产物(表 2, Entry 1~4). 即便是在最理想的条件(8 °C)下反应, 收率也只能达到 70%. 继续降低反应温度只会延长反应时间, 不能提高目标产物的收率. 另据文献报道, 四丁基氟化铵能够选择性脱除全乙酰化核苷的 2',3'位乙酰基^[8], 我们尝试将此方法用于化合物 5 的选择性脱异丁酰基反应. 将化合物 5 溶于 1 mol/L 四丁基氟化铵的四氢呋喃(体积分数为 10%的水)溶液中, 室温下反应 24 h (Entry 5), 顺利得到中间体 4, 收率达到 90%.

表 2 2',3',5'-三-*O*-异丁酰基胞嘧啶核苷制备 5'-*O*-异丁酰基胞嘧啶核苷条件优化

Table 2 Optimization of reaction conditions for preparation of 5'-*O*-isobutyrylcytidine from 2',3',5'-tri-*O*-isobutyrylcytidine

Entry	Solvent	Reagent	Amount/ equiv.	$T/^\circ\text{C}$	Time/h	Yield ^a /%
1	THF	CH_3ONa	3.0	8	2.5	70
2	THF	CH_3ONa	5.0	8	1.5	52
3	THF	CH_3ONa	3.0	30	1.0	24
4	THF	CH_3ONa	5.0	30	1.0	15
5	THF/ H_2O ($V:V=9:1$)	TBAF	7.0 ^b	20	24	90

^a Isolated yield; ^b 1 mol/L solution.

中间体 4 的羟胺化依然采用方法 1 中使用的最佳溶剂体系. 将中间体 4 溶于异丙醇和水($V:V=7:3$)的混合溶液中, 加入硫酸羟胺(3.2 equiv.), 78 °C 下反应 24 h, 以 95% 的收率得到了目标产物莫诺匹拉韦. 该方法的三步反应总收率达到 82% (Scheme 3, Method 2).

2 结论

以廉价易得的胞嘧啶核苷为原料, 通过研究胞苷的直接异丁酰化反应、选择性脱保护和羟胺化反应, 发现了一种步骤少、操作简便、收率高的莫诺匹拉韦的化学合成新方法. 该方法通过高选择性的胞苷羟基异丁酰化反应、专一性的 2',3'位脱保护反应和高收率的羟胺化反应, 以 82% 的总收率制备了目标产物莫诺匹拉韦.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

所有反应都在空气氛围中进行; 柱层析使用 200~300 目的硅胶; TLC 使用 GF254 硅胶板; 比旋光度使用上海精密科学仪器有限公司 WZZ-3 自动旋光仪测定; 熔点使用巩义市科瑞仪器有限公司 X-5 型显微熔点测定仪测定, 温度未校正; ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱使用瑞典 Bruker 公司 AVANCE III-400 型超导核磁共振仪测定, TMS 为内标. 所有的试剂、溶剂均为市售的分析纯试剂, 直接使用, 没有进一步纯化处理.

3.2 实验方法

3.2.1 通过胞苷全酰化合成莫诺匹拉韦(方法 1)

N^4 -异丁酰基-2',3',5'-三-*O*-异丁酰基胞嘧啶核苷(1)的合成: 将胞嘧啶核苷(1.00 g, 4.11 mmol)溶于 20 mL 吡啶中, 加入异丁酰氯(2.0 mL, 19.2 mmol), 室温下搅拌 6.5 h, TLC 监测反应. 反应完全后, 缓慢加入饱和碳酸

氢钠溶液(10 mL), 搅拌 5 min, 转入分液漏斗, 用乙酸乙酯(20 mL×2)萃取. 合并乙酸乙酯层, 水洗(20 mL×3), 无水硫酸镁干燥 4 h, 减压浓缩得白色蜡状 *N*⁴-异丁酰基-2',3',5'-三-*O*-异丁酰基胞嘧啶核苷(**1**) (2.04 g, 95%). m.p. 115.6~116.5 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.68 (s, 1H), 7.93 (d, *J*=7.6 Hz, 1H), 7.48 (d, *J*=7.6 Hz, 1H), 6.19 (d, *J*=4.5 Hz, 1H), 5.40 (dd, *J*=5.4, 4.7 Hz, 1H), 5.34 (t, *J*=5.4 Hz, 1H), 4.45~4.35 (m, 3H), 2.68~2.54 (m, 4H), 1.22 (d, *J*=7.0 Hz, 12H), 1.18 (d, *J*=7.0 Hz, 6H), 1.17 (d, *J*=7.0 Hz, 6H); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ: 177.2, 176.4, 175.6, 175.5, 162.8, 154.9, 143.7, 97.0, 88.7, 80.3, 73.8, 69.7, 62.8, 36.7, 34.0, 33.8, 33.7, 19.07, 19.03, 18.98, 18.83, 18.79, 18.69; HRMS calcd for C₂₅H₃₈N₃O₉ [M+H]⁺ 524.2603, found 524.2610.

5'-*O*,*N*⁴-二异丁酰基胞嘧啶核苷(**2**)的合成: 将 *N*⁴-异丁酰基-2',3',5'-三-*O*-异丁酰基胞嘧啶核苷(**1**) (500 mg, 0.96 mmol)溶于 8 mL 无水四氢呋喃中, 加入甲醇钠(155 mg, 2.87 mmol), 室温下搅拌 1 h, TLC 监测反应. 反应完全后, 缓慢滴加乙酸(0.5 mL)搅拌 5 min 至溶液中性, 加入乙酸乙酯(10 mL), 过滤, 滤液减压浓缩得白色固体 5'-*O*,*N*⁴-二异丁酰基胞嘧啶核苷(**2**) (346 mg, 94%). m.p. 79.8~80.3 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.89 (s, 1H), 8.07 (d, *J*=7.5 Hz, 1H), 7.26 (d, *J*=7.5 Hz, 1H), 5.77 (d, *J*=2.4 Hz, 1H), 5.59 (s, 1H), 5.28 (s, 1H), 4.30 (dd, *J*=12.4, 2.4 Hz, 1H), 4.25 (dd, *J*=12.4, 5.1 Hz, 1H), 4.10~4.03 (m, 2H), 3.92 (t, *J*=5.7 Hz, 1H), 2.73 (hept, *J*=7.0 Hz, 1H), 2.59 (hept, *J*=7.0 Hz, 1H), 1.12 (d, *J*=6.9 Hz, 3H), 1.11 (d, *J*=6.9 Hz, 3H), 1.07 (d, *J*=6.8 Hz, 6H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 177.8, 175.9, 162.6, 154.5, 145.0, 95.5, 91.0, 80.8, 73.9, 69.3, 63.4, 34.9, 33.2, 18.98, 18.87, 18.73, 18.70; HRMS calcd for C₁₇H₂₆N₃O₇ [M+H]⁺ 384.1765, found 384.1770.

*N*⁴-羟基-5'-*O*-异丁酰基胞嘧啶核苷(**3**)的合成: 将 5'-*O*,*N*⁴-二异丁酰基胞嘧啶核苷(**2**) (100 mg, 0.26 mmol)溶于 2 mL 异丙醇和水(*V*:*V*=7:3)的混合溶液中, 加入硫酸羟胺(293 mg, 1.56 mmol), 78 °C 下搅拌 24 h, TLC 监测反应, 反应完全后, 浓缩蒸干, 硅胶柱层析分离 [*V*(二氯甲烷):*V*(甲醇)=5:1]得到白色固体 *N*⁴-羟基-5'-*O*-异丁酰基胞嘧啶核苷(**3**) (68 mg, 80%). m.p. 158.0~158.3 °C; [α]_D²⁰ -8.30 (*c* 0.10, CH₃OH); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.00 (s, 1H), 9.51 (s, 1H), 6.83 (d, *J*=8.2 Hz, 1H), 5.72 (d, *J*=5.4 Hz, 1H), 5.59 (d, *J*=8.2 Hz, 1H), 5.36 (d, *J*=5.7 Hz, 1H), 5.21 (d, *J*=4.9 Hz, 1H), 4.22 (dd, *J*=8.8, 3.0 Hz, 1H), 4.14 (dd, *J*=7.0, 4.8 Hz, 1H), 4.02 (t, *J*=5.2 Hz, 1H), 3.99~3.91 (m, 2H), 2.58

(hept, *J*=7.0 Hz, 1H), 1.11 (d, *J*=7.0 Hz, 6H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 175.9, 149.4, 143.3, 129.8, 98.7, 87.7, 80.7, 71.9, 69.9, 63.8, 33.1, 18.7; HRMS calcd for C₁₃H₂₀N₃O₇ [M+H]⁺ 330.1296, found 330.1298. ¹H NMR 和 ¹³C NMR 与文献报道的数据相符^[5].

3.2.2 通过胞苷的选择性羟基酰化合成莫诺匹拉韦(方法 2)

2',3',5'-三-*O*-异丁酰基胞嘧啶核苷(**5**)的合成: 将胞嘧啶核苷(1.00 g, 4.11 mmol)溶于 8 mL 四氢呋喃/水(*V*:*V*=5:2)的混合溶液中, 加入三乙胺(3.0 mL, 20.5 mmol), 异丁酰氯(2.8 mL, 26.3 mmol)和催化量 4-二甲氨基吡啶, 室温下搅拌 2.5 h, TLC 监测反应. 反应完全后, 缓慢加入饱和碳酸氢钠溶液(10 mL), 搅拌 5 min, 转入分液漏斗, 用乙酸乙酯(20 mL×2)萃取. 合并乙酸乙酯层, 水洗(20 mL×3), 无水硫酸镁干燥 4 h, 减压浓缩得白色固体 2',3',5'-三-*O*-异丁酰基胞嘧啶核苷(**5**) (1.78 g, 96%). m.p. 82.7~83.6 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.50 (d, *J*=7.5 Hz, 1H), 6.12 (d, *J*=4.6 Hz, 1H), 5.81 (d, *J*=7.5 Hz, 1H), 5.39~5.34 (m, 2H), 4.36~4.32 (m, 3H), 2.66~2.54 (m, 3H), 1.22 (d, *J*=7.0 Hz, 3H), 1.21 (d, *J*=7.0 Hz, 3H), 1.18 (d, *J*=7.0 Hz, 6H), 1.17 (d, *J*=7.0 Hz, 3H), 1.16 (d, *J*=7.0 Hz, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ: 176.5, 175.8, 175.7, 165.6, 155.4, 140.9, 95.1, 88.4, 79.8, 73.4, 70.0, 63.2, 34.0, 33.8, 33.7, 19.02, 18.96, 18.81, 18.71; HRMS calcd for C₂₁H₃₂N₃O₈ [M+H]⁺ 454.2184, found 454.2189.

5'-*O*-异丁酰基胞嘧啶核苷(**4**)的合成: 将 2',3',5'-三-*O*-异丁酰基胞嘧啶核苷(**5**) (900 mg, 1.98 mmol)溶于 10 mL 四氢呋喃中, 加入三水合四丁基氟化铵(4.5 g, 14 mmol), 室温下搅拌 24 h, TLC 监测反应. 反应完全后, 减压浓缩, 硅胶柱层析 [*V*(二氯甲烷):*V*(甲醇)=3:1]纯化, 得到白色固体 5'-*O*-异丁酰基胞嘧啶核苷(**4**) (310 mg, 90%). m.p. 87.4~88.4 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.58 (d, *J*=7.5 Hz, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.17 (s, 1H), 5.76 (d, *J*=4.2 Hz, 1H), 5.74 (d, *J*=8.2 Hz, 1H), 4.27 (dd, *J*=6.8, 2.8 Hz, 1H), 4.17 (dd, *J*=6.8, 2.8 Hz, 1H), 3.98~3.95 (m, 2H), 3.91 (t, *J*=5.8 Hz, 1H), 2.58 (hept, *J*=7.0 Hz, 1H), 1.09 (d, *J*=7.0 Hz, 6H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 175.9, 165.5, 155.1, 141.1, 94.1, 90.0, 80.4, 73.4, 69.6, 63.6, 33.2, 18.73, 18.71; HRMS calcd for C₁₃H₂₀N₃O₆ [M+H]⁺ 314.1347, found 314.1355. ¹H NMR 和 ¹³C NMR 与文献报道的数据相符^[5].

*N*⁴-羟基-5'-*O*-异丁酰基胞嘧啶核苷(**3**)的合成: 将 5'-*O*-异丁酰基胞嘧啶核苷(**4**) (100 mg, 0.32 mmol)溶于 2

mL 异丙醇和水($V:V=7:3$)的混合溶液中, 加入硫酸羟胺(168 mg, 1.0 mmol), 78 °C 下搅拌 24 h, TLC 监测反应, 反应完全后, 浓缩蒸干, 硅胶柱层析分离[V (二氯甲烷): V (甲醇)=5:1], 得到白色固体 N^4 -羟基-5'- O -异丁酰基胞嘧啶核苷(**3**) (101 mg, 96%).

辅助材料(Supporting Information) 化合物 **1~5** 的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱图. 这些材料可以免费从本刊网站 (<http://sioc-journal.cn/>) 上下载.

References

- [1] Rosenke, K.; Hansen, F.; Schwarz, B.; Feldmann, F.; Haddock, E.; Rosenke, R.; Barbian, K.; White, K. M.; Okumura, A.; Leventhal, S.; Hawman, D. W.; Ricotta, E.; Bosio, C. M.; Martens, C.; Saturday, G.; Feldmann, H.; Jarvi, M. A. *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 2295.
- [2] (a) Painter, G. R.; Bluemling, G. R.; Natchus, M. G.; Guthrie, D. *WO 2019113462*, **2018**.
(b) Painter, G. R.; Perryman, D.; Bluemling, G. R. *WO 2019173602*, **2019**.
- [3] Gopalsamuthiram, V. R.; Kadam, A. L.; Noble, J. K.; Snead, D. R.; Williams, C. T.; Jamison, T. F.; Senanayake, C.; Yadaw, A.; Roy, S.; Sirasani, G.; Gupton, F. B.; Burns, J. M.; Cook, D. W.; Stringham, R. W.; Ahmad, S.; Krack, R. *Org. Process Res. Dev.* **2021**, *25*, 2679.
- [4] Gopalsamuthiram, V. R.; Williams, C.; Noble, J.; Jamison, T. F.; Gupton, B. F.; Snead, D. R. *Synlett* **2021**, *32*, 326.
- [5] Vasudevan, N.; Ahlqvist, G. P.; McGeough, C. P.; Paymode, D. J.; Cardoso, F. S.; Lucas, T.; Dietz, J.-P.; Opatz, T.; Jamison, T. F.; Gupton, F. B.; Snead, D. R. *Chem. Commun.* **2020**, *56*, 13363.
- [6] Nishino, S.; Rahman, A.; Takamura, H.; Ishido, Y. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 5503.
- [7] Harrington, P. J.; Hildbrand, S.; Sarma, K. *WO 2008071571*, **2008**.
- [8] Kumar, A. B.; Manetsch, R. *J. Org. Chem.* **2014**, *17*, 3551.

(Cheng, F.)