

抗乙肝候选新药替芬泰代谢产物 M8 和 M9 的合成工艺研究*

杨方红^{1,2,3}, 曾晓萍^{2,3}, 徐 峰^{2,3}, 梁光义^{2,3**}, 徐必学^{2,3**}

(1. 贵州大学 药学院, 贵州 贵阳 550002; 2. 贵州医科大学 省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵州 贵阳 550014; 3. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州 贵阳 550014)

[摘 要] 目的: 对马蹄金素衍生物(研发代号 Y101)代谢产物 M8、M9 的合成工艺进行优化并制备合格样品。方法: 以 L-酪氨酸甲酯盐酸盐为原料,设计不同的合成工艺,经过酰化、水解、苄基化、烷基化、催化氢化、N-氧化等反应合成替芬泰的主要代谢产物 M8、M9,所得化合物经¹H NMR, ¹³C NMR, ESI-MS 进行结构确证,并用高效液相色谱对其进行分析检测。结果: 完成了 M8、M9 合成工艺路线的选择与优化,制备了合格的 M8 和 M9 样品。结论: 优选的合成工艺制备所得的 M8、M9 样品纯度达到了 95% 以上。
[关键词] 马蹄金素衍生物; L-酪氨酸甲酯盐酸盐; 代谢产物; 合成工艺; 替芬泰
[中图分类号] R914 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2018)10-1198-05
DOI:10. 19367/j. cnki. 1000-2707. 2018. 10. 015

Synthesis and Process of Metabolites of the New Drug Tyrophentide (Y101)-an Anti-hepatitis B Candidate

YANG Fanghong^{1,2,3}, ZENG Xiaoping^{2,3}, XU Feng^{2,3}, LIANG Guangyi^{2,3}, XU Bixue^{2,3}

(1. College of Pharmacy, Guizhou University, Guiyang 550002, Guizhou, China; 2. State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medcial University, Guiyang 550014, Guizhou, China; 3. The Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550014, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To design and optimize a synthetic route for the synthesis of M8 and M9 and the metabolites of the new drug Tyrophentide (Y101)-an anti-hepatitis B candidate , so as to prepare qualified M8 and M9 for further study. **Methods:** Two different synthetic routes were designed for the synthesis of M8 and M9 using L-tyrosine methyl ester hydrochloride as the starting material by acylation, hydrolysis, benzylolation, alkylation, catalytic hydrogenation and N-oxidation reaction. The structures of the synthesized compounds were confirmed by ¹H NMR, ¹³C NMR and ESI-MS, and the purity of M8 and M9 were analyzed through high performance liquid chromatography (HPLC). **Results:** A synthetic route for the large scale synthesis of M8 and M9 was developed and used for the preparation of qualified samples of M8 and M9. **Conclusion:** The purity of M8 and M9 prepared for the optimized synthetic route was more than 95%. The obtained samples can be used for the biological activities and toxicity detection of M8 and M9.
[Key words] Matijin-Su derivative; L- tyrosine methyl ester hydrochloride; metabolites; synthesis technology; tyrophentide

*[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81760623); 贵州省高层次创新人才项目[黔科合平台人才(2016)5678]
** 通信作者 E-mail: guangyi_liang@126. com; bixue_xu@126. com
网络出版时间:2018-10-10 网络出版地址: http://kns. cnki. net/kcms/detail/52. 1164. R. 20181010. 2224. 019. html

本课题组前期以民族药马蹄金 (*Dichondra repens* Forst) 中马蹄金素为先导化合物设计合成了一系列抗乙型肝炎病毒 (HBV) 活性较好的马蹄金素衍生物^[1-4], 对其中 1 个优选的马蹄金素衍生物 (研发代号 **Y101**, 图 1) 进行了系统的临床前研究^[5-12], 并获得了国家食品药品监督管理局 (CFDA) 颁发的临床试验批件 (药品名替芬泰, 英文名 Tyrophentide)。替芬泰在大鼠胆汁、尿、粪和血浆中的主要代谢产物为酰胺键水解产物 **M8** 和 **M9** (图 1), 1 期临床试验观察到替芬泰在人体内的主要代谢产物也是酰胺键水解产物 **M8** 和 **M9**。新药的药代动力学在评价治疗效果和毒性方面起着重要的作用, 由于药物代谢在很大程度上决定了药物的药代动力学特征及生物利用度, 同时与毒性反应和药理效应也有密切联系^[13-15]。因此, 开展 **Y101** 代谢产物研究直接关系到其在体内的药效和毒性, 故本研究对 **Y101** 的主要代谢产物 **M8** 和 **M9** 进行了合成工艺研究。

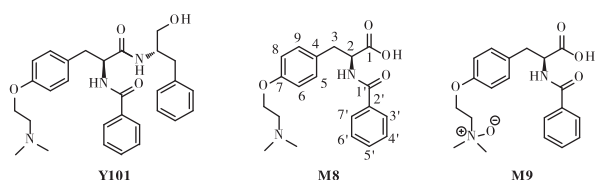


图 1 **Y101**、**M8** 和 **M9** 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of **Y101**, **M8** and **M9**

1 仪器与试剂

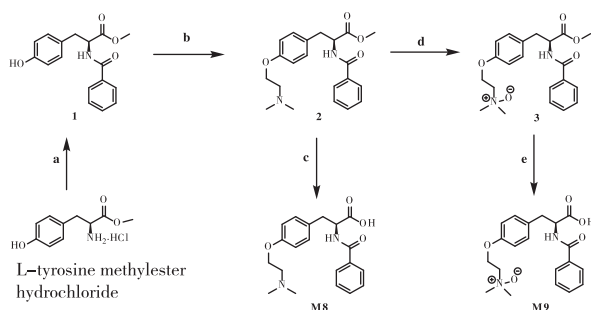
Inova 400 MHz 型超导核磁共振仪 (美国 Varian 公司) 以 CDCl_3 或 CD_3OD 为溶剂、TMS 为内标, AUTOPOL1 自动旋光仪 (美国鲁道夫公司) HP-5793 型质谱仪或 HP1100 LC-MS 型液相色谱-质谱联用仪 (美国 Hewlett-Packard 公司), 柱色谱硅胶 (300~400 目) 及高效薄层板均为青岛海洋化工厂产品, 其余所用试剂均为市售分析纯或化学纯产品, 除特别说明外, 未经处理直接使用。

2 方法与结果

2.1 合成路线的优选

最初设计了反应步骤较少的合成路线 1 (图 2); 以 *L*-酪氨酸甲酯盐酸盐为原料, 首先与苯甲酸反应得中间体 **1**, 再经烷基化反应得中间体 **2**, 将 **2** 水解即得目标化合物 **M8**; 另取中间体 **2**, 依次经

N-氧化和水解反应即得目标化合物 **M9**。由于在该合成路线中第一步反应所得产物 (**1**) 和第二步烷基化产物 (**2**) 均需柱层析纯化才能获得高纯度样品, 并且目标产物 **M8** 是两性化合物, 通过碱性水解所获得的粗产物纯度只能达到 90% 左右, 而当对 **M8** 进行柱层析纯化时发现其在硅胶柱层析过程中又容易产生新的杂质; 为克服以上问题, 重新设计试验了多条合成路线, 并最终得出通过引入苄基保护羧基, 设计优选了 **M8**、**M9** 新的合成工艺路线 (图 3)。



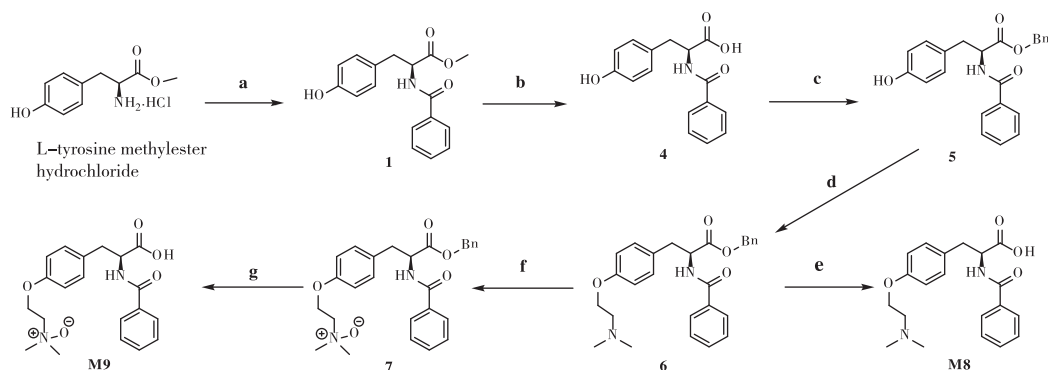
注: 反应试剂和条件, (a) IBCF, NMM, Benzoic Acid, DMF, CH_2Cl_2 , 0 °C, 12 h, 67%; (b) 2-dimethylaminoethyl chloride hydrochloride, K_2CO_3 , DMF, r. t, 22 h, 62%; (c) 2.0 mol/L NaOH, CH_3OH , r. t, 3 h, 68%; (d) *m*CPBA, CH_2Cl_2 , r. t, 4 h, 62%; (e) 2.0 mol/L NaOH, CH_3OH , r. t, 2 h, 67%

图 2 目标化合物的合成路线 1

Fig. 2 Synthetic route 1 of target compounds

2.2 化学合成

2.2.1 *N*-苯甲酰-*L*-酪氨酸苄酯 (5**) 的合成** 取乙醚 23 mL、水 23 mL 混合于 100 mL 的反应瓶中, 加入 3.45 g (24.9 mmol) K_2CO_3 , 冰浴搅拌 20 min 后, 加入 2.31 g (9.97 mmol) *L*-酪氨酸甲酯盐酸盐, 用 2 mL 注射器快速加入 1.38 mL (12.0 mmol) 苯甲酰氯, 0 °C 搅拌反应 1.5 h 后, 再于室温反应 2 h 至反应完全 (TLC 检测), 向反应液中加入乙酸乙酯 50 mL, 萃取, 有机层依次以水、1 mol/L 稀盐酸、饱和 NaHCO_3 水溶液洗涤, 再经无水硫酸镁干燥, 减压回收溶剂至干, 得 2.97 g 白色粉末状固体中间产物 1 (*N*-苯甲酰-*L*-酪氨酸甲酯) 粗品。ESI-MS m/z : 322.0 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -4$ ($C = 1.0$, MeOH); ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 9.27 (s, 1H, OH), 8.79 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, CONH), 7.79 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H, H-3', 7'), 7.53 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H, H-5'), 7.46 (t, J



注:反应试剂和条件,(a) benzoyl chloride, K_2CO_3 , Et_2O/H_2O , $0\text{ }^{\circ}C$ to r. t, 4 h; (b) $NaOH/H_2O$, CH_2Cl_2 , r. t, 2 h; (c) $NaHCO_3/DMF$, r. t, 54 h, 61.3% over 3 steps; (d) 2-dimethylaminoethyl chloride hydrochloride, K_2CO_3 , 1, 4-dioxane, $80\text{ }^{\circ}C$, 12 h, 81.2%; (e) H_2 , Pd/C , CH_3OH , r. t, 2 h, 92.5%; (f) $mCPBA$, CH_2Cl_2 , r. t, 4 h, 75.0%; (g) $NaOH$, CH_3OH , r. t, 2 h, 82.8%

图3 目标化合物的合成路线2

Fig. 3 Synthetic route 2 of target compounds

= 7.7 Hz, 2H, H-4',6'), 7.08 (d, J = 8.4 Hz, 2H, H-5,9), 6.65 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H-6,8), 4.56 (ddd, J = 10.0, 7.8, 5.3 Hz, 1H, H-2), 3.62 (s, 3H, OCH_3), 3.04 (dd, J = 13.8, 5.3 Hz, 1H, H-3a), 2.97 (dd, J = 13.8, 10.0 Hz, 1H, H-3b). ^{13}C NMR (126 MHz, $DMSO-d_6$) δ (ppm): 172.82, 166.96, 156.33, 134.09, 131.97, 130.46 (2C), 128.76 (2C), 128.13, 127.83 (2C), 115.48 (2C), 55.14, 52.36, 35.93。将 2.97 g 中间体 1 粗品溶解于 50 mL CH_2Cl_2 中,加入 1 mol/L $NaOH$ 水溶液 29 mL,室温搅拌 2 h 至反应完全,将反应液静置分层,水层用 20 mL CH_2Cl_2 洗涤,所得水层用 3 mL 浓 HCl 调 pH 至 6~7 后,加入 150 mL 乙酸乙酯,萃取,乙酸乙酯层经无水硫酸镁干燥,减压回收溶剂至干得 2.85 g 亮黄色糖浆状中间体 4 (*N*-苯甲酰-*L*-酪氨酸)粗品。ESI-MS m/z : 308.0 $[M + Na]^+$; $[\alpha]_D^{20}$ = -40 (C = 1.0, MeOH); 1H NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ (ppm): 9.25 (s, 1H, OH), 8.64 (d, J = 8.1 Hz, 1H, CONH), 7.79 (d, J = 7.0 Hz, 2H, H-3',7'), 7.52 (t, J = 7.3 Hz, 1H, H-5'), 7.45 (t, J = 7.5 Hz, 2H, H-4',6'), 7.10 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H-5,9), 6.64 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H-6,8), 4.52 (ddd, J = 10.6, 8.2, 4.5 Hz, 1H, H-2), 3.06 (dd, J = 13.9, 4.4 Hz, 1H, H-3a), 2.94 (dd, J = 13.8, 10.6 Hz, 1H, H-3b). ^{13}C NMR (126 MHz, $DMSO-d_6$) δ (ppm): 173.50,

166.57, 155.91, 134.04, 131.53, 130.13 (2C), 128.41 (2C), 128.32, 127.47 (2C), 115.11 (2C), 54.74, 35.61。将 2.85 g 中间体 4 粗品溶解于 20 mL DMF 中,加入 2.10 g (25.0 mmol) $NaHCO_3$ 固体,室温搅拌 5 min 后,加入 1.58 mL (13.3 mmol) 溴化苄,室温搅拌至反应完全。将反应液分散于乙酸乙酯中,水洗涤 3 次,乙酸乙酯层经无水硫酸镁干燥,减压回收溶剂至干,所得残留物用乙酸乙酯重结晶得 2.3 g 白色固体中间体 5, 3 步总收率为 61.3%。ESI-MS m/z : 398.0 $[M + Na]^+$; $[\alpha]_D^{20}$ = -16 (C = 1.0, MeOH); 1H NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ (ppm): 8.84 (d, J = 7.7 Hz, 1H, CONH), 7.80 (d, J = 7.6 Hz, 2H, H-3',7'), 7.53 (t, J = 7.3 Hz, 1H, H-5'), 7.46 (t, J = 7.5 Hz, 2H, H-4',6'), 7.36-7.27 (m, 5H, Ph-H), 7.08 (d, J = 8.4 Hz, 2H, H-5,9), 6.65 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H-6,8), 5.13 (d, J = 13.3 Hz, 1H, Ph-CH), 5.10 (d, J = 13.4 Hz, 1H, Ph-CH), 4.65-4.58 (m, 1H, H-2), 3.07 (dd, J = 13.8, 5.7 Hz, 1H, H-3a), 3.01 (dd, J = 13.8, 9.8 Hz, 1H, H-3b). ^{13}C NMR (126 MHz, $DMSO-d_6$) δ (ppm): 171.85, 166.78, 156.05, 135.98, 133.80, 131.62, 130.15 (2C), 128.48 (2C), 128.41 (2C), 128.10, 127.81 (2C), 127.65, 127.49 (2C), 115.17 (2C), 66.04, 54.99, 35.56。
2.2.2 *N*-苯甲酰-*O*-(2-二甲氨基乙基)-*L*-酪氨酸

苄酯(6)的合成 取 5 g (13.3 mmol) 中间体 **5** 用 45 mL 1,4 环氧六烷溶解于 100 mL 反应瓶中,加入 H₂O 1.5 mL 混匀,再依次加入 12.88 g (93.2 mmol) K₂CO₃ 和 2.30 g (16.0 mmol/L) 二甲氨基氯乙烷盐酸盐,将反应瓶置于 80 °C 油浴中在氩气保护下搅拌回流 12 h 至反应完全。将反应液分散于乙酸乙酯中,加水萃取洗涤 3 次,乙酸乙酯层经无水硫酸镁干燥,减压回收溶剂至干,残留物经硅胶柱层析纯化[*V*(二氯甲烷):*V*(甲醇)=10:1]得 4.83 g 白色蜡状固体中间体 **6**,收率 81.2%。ESI-MS *m/z*: 469.1 [M + Na]⁺; [α]_D²⁰ = -30 (C = 0.4, MeOH); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.74 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H, H-3',7'), 7.52 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, H-5'), 7.44 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, H-4',6'), 7.41-7.34 (m, 5H, Ph-H), 6.92 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H-5,9), 6.78 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H-6,8), 6.60 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, CONH), 5.25 (d, *J* = 12.1 Hz, 1H, Ph-CH), 5.17 (d, *J* = 12.1 Hz, 1H, Ph-CH), 5.11 (dd, *J* = 12.9, 5.5 Hz, 1H, H-2), 4.03 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H, OCH₂CH₂N), 3.23 (dd, *J* = 14.0, 5.9 Hz, 1H, H-3a), 3.18 (dd, *J* = 14.0, 5.1 Hz, 1H, H-3b), 2.73 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H, OCH₂CH₂N), 2.35 (s, 6H, N(CH₃)₂)。 ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 171.54, 166.80, 157.97, 135.06, 133.92, 131.77, 130.38 (2C), 128.71 (2C), 128.66 (2C), 128.62 (3C), 127.62, 127.00 (2C), 114.61 (2C), 67.36, 65.85, 58.31, 53.60, 45.91 (2C), 36.93。

2.2.3 *N*-苯甲酰-*O*-(2-二甲氨基乙基)-*L*-酪氨酸 (M8**)的合成** 取 2 g (4.48 mmol) 中间体 **6** 溶解于 30 mL CH₃OH 中,加入 48 mg (45.1 μmol) 钯碳,在 H₂ 条件下,室温搅拌 2 h 至反应完全,过滤,滤液减压回收溶剂至干得 1.55 g 无色糖浆状目标化合物 **M8**。用[*V*(异丙醇):*V*(环己烷) = 10 mL: 5 mL]固化得 **M8** 白色粉末状固体 1.45 g,收率 92.5%。ESI-MS *m/z*: 357.1 [M + H]⁺; [α]_D²⁰ = 16 (C = 1.0, MeOH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 7.65 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H, H-3',7'), 7.43 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, H-5'), 7.33 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, H-4',6'), 7.10 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-5,9), 6.76 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-6,8), 4.60 (dd, *J* = 6.8, 5.2 Hz, 1H, H-2), 4.18-4.13 (m, 2H, OCH₂CH₂N), 3.42-3.37 (m, 2H,

OCH₂CH₂N), 3.21 (dd, *J* = 13.7, 5.1 Hz, 1H, H-3a), 3.02 (dd, *J* = 13.7, 6.8 Hz, 1H, H-3b), 2.82 [s, 6H, N(CH₃)₂]。 ¹³C NMR (126 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 177.75, 169.02, 157.85, 135.77, 132.72, 132.63, 131.80 (2C), 129.57 (2C), 128.10 (2C), 115.40 (2C), 63.46, 57.72, 57.67, 43.91 (2C), 38.15。

2.2.4 *N*-苯甲酰-*O*-(2-*N,N*-二甲基-*N*-氧化氨基乙基)-*L*-酪氨酸苄酯(7**)的合成** 取 1.00 g (2.24 mmol) 中间体 **6** 溶解于 6 mL 无水 CH₂Cl₂ 中,加入 579.68 mg (3.36 mmol) 间氯过氧苯甲酸(*m*CPBA),氩气保护下室温搅拌反应 4 h 至反应完全,反应液用乙酸乙酯分散,依次以饱和 Na₂S₂O₃、饱和 Na₂CO₃ 水溶液和水洗涤,有机层减压回收溶剂至干,浓缩物经硅胶柱层析纯化[*V*(二氯甲烷):*V*(甲醇) = 20:1]纯化得 780 mg 淡黄色糖浆状中间体 **7**,收率 75.0%。ESI-MS *m/z*: 463.4 [M + H]⁺; [α]_D²⁰ = -4 (C = 1.0, MeOH); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.71 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H, H-3',7'), 7.48 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, H-5'), 7.40 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, H-4',6'), 7.37-7.32 (m, 5H, Ph-H), 6.91 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-5,9), 6.72 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-6,8), 5.22 (d, *J* = 12.1 Hz, 1H, Ph-CH), 5.13 (d, *J* = 12.1 Hz, 1H, Ph-CH), 5.06 (dd, *J* = 13.0, 5.5 Hz, 1H, H-2), 4.55-4.42 (m, 2H, OCH₂CH₂N), 3.66-3.60 (m, 2H, OCH₂CH₂N), 3.26 (s, 6H, N(CH₃)₂), 3.22 (dd, *J* = 14.0, 5.8 Hz, 1H, H-3a), 3.14 (dd, *J* = 13.9, 5.3 Hz, 1H, H-3b)。 ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 171.41, 166.79, 156.67, 134.95, 133.78, 131.72, 130.53 (2C), 128.63 (2C), 128.59 (3C), 128.55 (3C), 126.94 (2C), 114.46 (2C), 69.98, 67.31, 61.91, 59.92, 59.84, 53.57, 36.80。

2.2.5 *N*-苯甲酰-*O*-(2-*N,N*-二甲基-*N*-氧化氨基乙基)-*L*-酪氨酸(M9**)的合成** 取 150 mg (324 μmol) 中间体 **7** 溶解于 1 mL (2.0 mol/L) NaOH 甲醇溶液中,室温搅拌 2 h 至反应完全,减压回收溶剂至干,浓缩物经硅胶柱层析纯化[*V*(二氯甲烷):*V*(甲醇) = 10:1]纯化,即得 100 mg 无色糖浆状目标化合物 **M9**,收率 82.8%。ESI-MS *m/z*: 373.3 [M + H]⁺; [α]_D²⁰ = 10 (C = 0.4, MeOH); ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 7.69-7.66 (m, 2H, H-

3',7'), 7.47–7.42 (m, 1H, H-5'), 7.39–7.34 (m, 2H, H-4',6'), 7.13 (d, $J=8.7$ Hz, 2H, H-5,9), 6.79 (d, $J=8.7$ Hz, 2H, H-6,8), 4.61 (dd, $J=7.1, 4.9$ Hz, 1H, H-2), 4.40–4.37 (m, 2H, OCH₂CH₂N), 3.66–3.62 (m, 2H, OCH₂CH₂N), 3.25–3.18 (m, 7H, H-3a, N(CH₃)₂), 3.01 (dd, $J=13.7, 7.2$ Hz, 1H, H-3b). ¹³C NMR (101 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 176.52, 167.64, 156.47, 134.44, 131.15, 131.07, 130.37 (2C), 128.11 (2C), 126.70 (2C), 113.90 (2C), 69.10, 61.65, 58.20 (2C), 56.37, 36.85。

3 讨论

实验之初设计了反应步骤较少的合成路线 1 (图 2),但由于在该合成路线中每步反应均需要进行柱层析纯化才能获得高纯度样品,此外,由于目标产物 **M8** 是两性化合物,通过碱性水解所获得的粗产物纯度只能达到 90% 左右,而当对 **M8** 进行柱层析纯化时发现其在硅胶柱层析过程中又容易产生新的杂质。为克服以上问题,通过试验了多种方案并最终发现通过引入苄基保护羧基,并在最后一步通过催化氢化反应脱去苄基即得纯度合格的 **M8** 样品。对于中间体 **4** 的合成,曾试验将 *L*-酪氨酸直接溶解于氢氧化钠水溶液、碳酸钾水溶液、碳酸钠水溶液或碳酸氢钠水溶液中,在不同的反应温度下滴加苯甲酰氯进行氨基的选择性酰化反应,所得产物中都不同程度的混合有羟基和氨基均发生苯甲酰化的产物,结果均不理想。对于中间体 **3** 的合成反应条件,曾试验将 *L*-酪氨酸甲酯盐酸盐溶解于无水的二氯甲烷或 DMF 等有机溶剂中,选择三乙胺、二异丙基乙胺 (DIPEA) 等有机碱、以及碳酸钠或碳酸氢钠等无机碱作为缚酸剂,以苯甲酰氯为酰化试剂,结果均告失败。本文选用将 *L*-酪氨酸甲酯盐酸盐和碳酸钾分散于乙醚和水两相溶剂中,0℃ 冷却搅拌下滴加苯甲酰氯,成功实现了氨基与酚羟基的选择性反应,所得产物仅需进行萃取纯化即可达到较高纯度。通过改进合成路线使中间体 **2** 的甲氧基团替换为苄氧基团的路线设计,使得中间体的极性降低,分离容易,不需硅胶柱纯化而通过重结晶的办法可得到纯度很高的中间体 **6**,通过用钨碳催化氢化代替碱性水解的方法脱苄基,在不需要硅胶过柱纯化的情况下就可得到高纯

度的目标化合物 **M8**,解决两性化合物 **M8** 分离纯化比较困难的问题。中间体 **6** 通过 *N*-氧化反应和水解反应即得目标化合物 **M9**。

通过 ¹H NMR, ¹³C NMR, ESI-MS 对马蹄金素衍生物 **Y101** 主要代谢产物 **M8**、**M9** 及合成中间体进行结构表征,为进行 **Y101** 代谢产物的药效作用及毒性反应研究奠定基础。

4 参考文献

- [1] XU B X, HUANG Z M, LIU C X, et al. Synthesis and anti-hepatitis B virus activities of Matijing-Su derivatives [J]. Bioorg Med Chem, 2009, 17 (8): 3118–3125.
- [2] QIU J Y, XU B X, HUANG Z M, et al. Synthesis and biological evaluation of Matijing-Su derivatives as potent anti-HBV agents [J]. Bioorg Med Chem, 2011, 19 (18): 5352–5360.
- [3] 刘玉明, 梁光义, 徐必学, 等. 马蹄金化学成分的研究[J]. 中国药学杂志, 2002, 37 (8): 577–579.
- [4] 刘玉明, 梁光义, 徐必学. 苗族药马蹄金化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2003, 15 (1): 15–17.
- [5] HU Z X, AN Q, LI K F, et al. Identification, synthesis, and strategy for minimization of potential impurities in the preclinical Anti-HBV drug Y101 [J]. Org Process Res Dev, 2013, 17 (9): 1156–1167.
- [6] HU Z X, ZHANG Y G, AN Q, et al. Development of a practical and scalable synthesis of anti-HBV drug Y101 [J]. Tetrahedron, 2014, 70(51), 9592–9600.
- [7] HU Z X, LIAO H J, AN Q, et al. Process development of clinical anti-HBV drug Y101: identification and synthesis of novel impurities [J]. Res Chem Intermed, 2016, 42(3): 2577–2595.
- [8] FAN H R, LI R X, GU Y, et al. Quantitation of bentysrepinine (Y101) in rat plasma by liquid chromatography tandem mass spectrometry: application to pharmacokinetic study [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2012, 889–890: 103–109.
- [9] FAN H R, HU Z X, LI R X, et al. Metabolite identification of bentysrepinine (Y101), a novel anti-HBV agent in rats using a five-step strategy based on a combined workflow with two different platforms of liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2017, 1040: 118–128.

(下转第 1208 页)