

# 吡咯[2,3-d]嘧啶核苷单磷酸酯的合成和抗 HBV 活性

郭晓河, 李玉江, 陶乐, 王强, 董黎红

(河南省科学院 高新技术研究中心, 郑州 450002)

**摘要:**以 4-取代-9-(2'-脱氧-2'-β-氟-β-D-呋喃糖基)吡咯[2,3-d]嘧啶类化合物为原料,与三氯氧磷一锅法合成出具有新型结构的吡咯[2,3-d]嘧啶核苷单磷酸酯类化合物,其化学结构经核磁共振磷谱(<sup>31</sup>P NMR)、核磁共振氢谱(<sup>1</sup>H NMR)、高分辨质谱(HRMS)分析确证;对合成的目标化合物进行了初步的体外抗乙型肝炎病毒药理学活性实验,结果显示设计合成的 7 个化合物对乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)和乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)都有一定的抑制作用,其中化合物 3a,3d,3f 对 HBsAg 和 HBeAg 的抑制率较高,3a 的毒性较低。

**关键词:**吡咯[2,3-d]嘧啶;磷酸单酯;合成;抗乙型肝炎病毒活性

**中图分类号:**O626

**文献标志码:**A

由于核苷类化合物本身具有较好的抗艾滋病病毒(HIV)、乙肝病毒(HBV)、丙肝病毒(HCV)等抗病毒活性,设计合成新的核苷类化合物作为前药一直是药物学家和化学家研究的方向<sup>[1-9]</sup>。用磷酸化的核苷作为前药可以提高母体核苷的抗病毒活性。单磷酸酯由于具有较好的膜穿透性,可以较好地到达细胞或者组织里。单磷酸酯越来越多的用于抗 HIV、抗 HBV、抗 HCV 等病毒的治疗<sup>[10-14]</sup>。虽然生物催化可用于非天然核苷类化合物的制备,但必须花费大量的时间和精力通过筛选找到可以作用于非天然核苷底物的各种酶。相对而言,化学合成方法更适合于小量制备无法通过酶促反应合成的非天然核苷磷酸酯类化合物。基于前期合成的 4-取代-9-(2'-脱氧-2'-β-氟-β-D-呋喃糖基)吡咯[2,3-d]嘧啶类化合物<sup>[15]</sup>具有较好的抗乙肝活性,本文在 5'-位进行结构改造,合成了 4-取代-9-(5'-单磷酸酯-2'-脱氧-2'-β-氟-β-D-呋喃糖基)吡咯[2,3-d]嘧啶类化合物,以丰富核苷类化合物库,为找到具有较好抗病毒活性的核苷类化合物奠定化合物基础,合成路线见图 1。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

<sup>31</sup>P NMR、<sup>1</sup>H NMR(四甲基硅烷, TMS 为内标)均使用 Agilent-NMR-vnmrs400 型核磁共振波谱仪测定,溶剂为氘代二甲基亚砷(DMSO-*d*<sub>6</sub>),高分辨质谱(HRMS)用 Bruker microTOF-QII 高分辨质谱仪测定;高效液相色谱仪是 Agilent 1100 HPLC,试剂均为色谱级纯度;胎牛血清,1640 培养基,G418 和胰蛋白酶,具有绿色激发波长的染料(SYBR Green I),二甲基亚砷(DMSO),四甲基偶氮唑盐(MTT),乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)和乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)抗原诊断试剂盒,168-1000XC 酶标仪,IL-161HT CO<sub>2</sub> 培养箱,XD-30 倒置显微镜,HepG2.2.15 细胞株,拉米夫定(3TC),其他试剂均为国产市售。

### 1.2 合成与表征

**1.2.1** 4-氯-9-(2'-脱氧-2'-β-氟-3',5'-二-O-苯甲酰基-β-D-呋喃糖基)吡咯[2,3-d]嘧啶(1)的合成:按文献<sup>[16]</sup>的方法制备。

**1.2.2** 4-取代-9-(2'-脱氧-2'-β-氟-β-D-呋喃糖基)吡咯[2,3-d]嘧啶类化合物 2a,2b,2c,2d,2e,2f,2g 的合成:

收稿日期:2017-05-11;修回日期:2017-10-12。

基金项目:河南省基础与前沿技术研究项目(162300410006);河南省科技攻关计划资助项目(172102310340)。

作者简介:郭晓河(1970-),女,河南滑县人,河南省科学院高新技术研究中心副研究员,博士,研究方向:有机药物化学,

E-mail: drzhangguo@sina.com.

通信作者:陶乐, E-mail:1418489219@qq.com.

参照按文献[17]的方法制备.

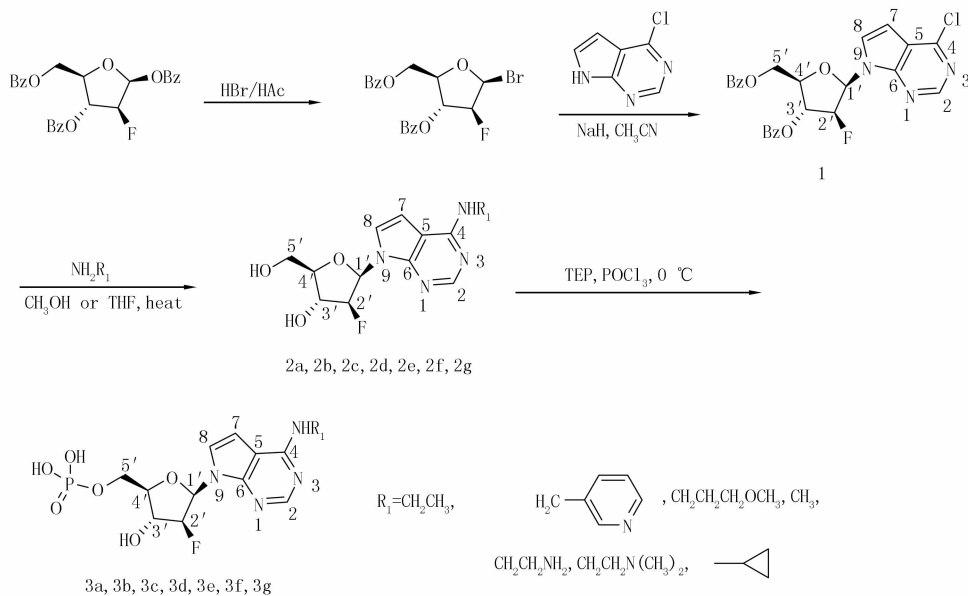


图1 吡咯[2,3-d]嘧啶核苷单磷酸酯的合成

**1.2.3** 4-取代-9-(5'-单磷酸酯-2'-脱氧-2'-β-氟-β-D-呋喃糖基)吡咯[2,3-d]嘧啶磷酸酯类化合物 3a,3b,3c,3d,3e,3f,3g 的通用方法:分别取化合物 2a,2b,2c,2d,2e,2f,2g (48 μmol)放置到反应瓶里,在 60 °C 真空干燥过夜后溶解到三乙基磷酸酯(TEP)(140 μL)中,加热至溶液澄清后用冰盐浴冷却,随之滴加三氯氧磷(POCl<sub>3</sub>)(14 μL,150 μmol),滴完后再滴加痕量水。在冰盐浴条件下反应 2 h 后,加入冰水(2 mL)终止反应,多余三乙基磷酸酯(TEP)用冷乙酸乙酯萃取除去,合并水层,水层用 NaOH(5 mol/L)将反应液 pH 值调至 6.5。水层进一步用反相柱纯化,梯度洗脱[流动相:体积分数为 0%~30%乙腈(MeCN):0.05 mol/L 四丁基溴化铵(TEAB)].收集合适的流出液经过蒸馏浓缩,剩余的白色固体与甲醇共同蒸馏,得到相应的目标化合物 3a,3b,3c,3d,3e,3f,3g。

下面是化合物 3a,3b,3c,3d,3e,3f,3g 详细数据。

4-乙氨基-9-(5'-单磷酸酯-2'-脱氧-2'-β-氟-β-D-呋喃糖基)吡咯[2,3-d]嘧啶(3a):

白色泡沫状化合物(16.0 mg, 42.6 μmol, 收率:88.7%),HPLC:6.2 min,吸收波长 254 nm;<sup>1</sup>H NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>,400 MHz),δ: 12.08(br,2H,P-OH),8.21(s,1H,2-H),7.58~7.56(m,1H,N-H),7.26~7.25(m,1H,8-H),6.65~6.64(m,1H,7-H),6.58~6.54(m,1H,1'-H),5.14~5.04(m,1H,3'-H),5.06~5.02(m,1H,O-H),4.38~4.33(m,1H,2'-H),3.82~3.81(m,1H,4'-H),3.73~3.70(m,2H,5'-H),3.49~3.37(m,2H,CH<sub>2</sub>),1.24-1.18(m,3H,CH<sub>3</sub>),<sup>31</sup>P NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>,162 MHz),δ:4.51(s); HRMS:*m/z* 375.086 4[M-H]<sup>-</sup> C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>6</sub>P<sup>-</sup>。

4-(3-氨基吡啶)-9-(5'-单磷酸酯-2'-脱氧-2'-β-氟-β-D-呋喃糖基)吡咯[2,3-d]嘧啶(3b):

白色泡沫状化合物(14.0 mg, 33.1 μmol, 收率:68.9%),HPLC:6.3 min,吸收波长 254 nm;<sup>1</sup>H NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>,400 MHz),δ: 12.08(br,2H,P-OH),8.62(s,1H,2-H),8.50~8.49(m,1H,N-H),8.21~8.20(m,1H,8-H),8.19~8.18(m,1H,Py-H),7.84~7.83(m,1H,Py-H),7.41~7.40(m,2H,Py-H),6.72~6.71(m,1H,7-H),6.58~6.57(m,1H,1'-H),5.18~5.17(m,1H,O-H),5.12~5.11(m,1H,3'-H),4.84~4.81(m,2H,CH<sub>2</sub>),4.49~4.43(m,1H,H-4'),3.86~3.85(m,1H,H-2'),3.78~3.73(m,2H,H-5'),<sup>31</sup>P NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>,162 MHz),δ:4.52(s); HRMS:*m/z* 423.086 4[M-H]<sup>-</sup> C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>6</sub>P<sup>-</sup>。

4-(3-甲氧基丙胺基)-9-(5'-单磷酸酯-2'-脱氧-2'-β-氟-β-D-呋喃糖基)吡咯[2,3-d]嘧啶(3c):

白色泡沫状化合物(17.5 mg, 41.6  $\mu\text{mol}$ , 收率:86.6%), HPLC: 6.2 min, 吸收波长 254 nm;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz),  $\delta$ : 12.08(br, 2H, P-OH), 8.18(s, 1H, 2-H), 7.62(br s, 1H, N-H), 7.29~7.28(m, 1H, 8-H), 6.69~6.68(m, 1H, 7-H), 6.62~6.61(m, 1H, 1'-H), 5.19~5.06(m, 1H, 3'-H), 5.08~5.06(m, 1H, O-H), 4.42~4.36(m, 1H, 4'-H), 3.83~3.82(m, 1H, 2'-H), 3.76~3.73(m, 2H, 5'-H), 3.61~3.58(m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.55~3.43(m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.38~3.37(m, 3H, CH<sub>2</sub>), 1.95~1.89(m, 2H, CH<sub>2</sub>),  $^{31}\text{P NMR}$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 162 MHz),  $\delta$ : 4.51(s); HRMS:  $m/z$  419.112 6[M-H]<sup>-</sup> C<sub>15</sub>H<sub>21</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>7</sub>P<sup>-</sup>.

4-甲胺基-9-(5'-单磷酸酯-2'-脱氧-2'-β-氟-β-D-呋喃糖基)吡咯[2,3-d]嘧啶(3d):

白色泡沫状化合物(14.7 mg, 40.5  $\mu\text{mol}$ , 收率:84.5%), HPLC: 6.2 min, 吸收波长 254 nm;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz),  $\delta$ : 12.08(br, 2H, P-OH), 8.20(s, 1H, 2-H), 7.57~7.56(m, 1H, N-H), 7.26~7.25(m, 1H, 8-H), 6.64~6.63(m, 1H, 7-H), 6.58~6.54(m, 1H, 1'-H), 5.13~5.04(m, 1H, 3'-H), 5.07~5.01(m, 1H, O-H), 4.39~4.33(m, 1H, 2'-H), 3.82~3.81(m, 1H, 4'-H), 3.74~3.71(m, 2H, 5'-H), 3.32~3.24(m, 3H, CH<sub>3</sub>),  $^{31}\text{P NMR}$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 162 MHz),  $\delta$ : 4.50(s); HRMS:  $m/z$  361.070 8[M-H]<sup>-</sup> C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>6</sub>P<sup>-</sup>.

4-乙二胺基-9-(5'-单磷酸酯-2'-脱氧-2'-β-氟-β-D-呋喃糖基)吡咯[2,3-d]嘧啶(3e):

白色泡沫状化合物(15.7 mg, 40.2  $\mu\text{mol}$ , 收率:83.8%), HPLC: 6.4 min, 吸收波长 254 nm;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz),  $\delta$ : 12.08(br, 2H, P-OH), 8.14(s, 1H, 2-H), 7.58(br s, 1H, N-H), 7.27~7.26(m, 1H, 8-H), 6.65~6.64(m, 1H, 7-H), 6.58~6.54(m, 1H, 1'-H), 5.14~5.12(m, 1H, O-H), 5.01~4.99(m, 1H, 3'-H), 4.39~4.32(m, 1H, 4'-H), 3.81~3.79(m, 1H, 2'-H), 3.65~3.60(m, 2H, 5'-H), 3.58~3.52(m, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.36~3.24(m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.79~2.76(m, 2H, NH<sub>2</sub>),  $^{31}\text{P NMR}$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 162 MHz),  $\delta$ : 4.53(s). HRMS:  $m/z$  390.097 3[M-H]<sup>-</sup> C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>P<sup>-</sup>.

4-(N,N-二甲基乙二胺基)-9-(5'-单磷酸酯-2'-脱氧-2'-β-氟-β-D-呋喃糖基)吡咯[2,3-d]嘧啶(3f):

白色泡沫状化合物(17.1 mg, 40.9  $\mu\text{mol}$ , 收率:85.3%), HPLC: 6.3 min, 吸收波长 254 nm;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz),  $\delta$ : 12.08(br, 2H, P-OH), 8.20(s, 1H, 2-H), 8.02(br s, 1H, N-H), 7.32(br s, 1H, 8-H), 6.69~6.68(m, 1H, 7-H), 6.59~6.55(m, 1H, 1'-H), 5.14~5.02(m, 1H, 3'-H), 5.08(m, 1H, O-H), 4.38~4.32(m, 1H, 4'-H), 3.85~3.84(m, 1H, 2'-H), 3.80~3.79(m, 2H, 5'-H), 3.65~3.61(m, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.27~3.24(m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.78(s, 6H, CH<sub>3</sub>),  $^{31}\text{P NMR}$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 162 MHz),  $\delta$ : 4.50(s); HRMS:  $m/z$  418.128 6[M-H]<sup>-</sup> C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>P<sup>-</sup>.

4-环丙胺基-9-(5'-单磷酸酯-2'-脱氧-2'-β-氟-β-D-呋喃糖基)吡咯[2,3-d]嘧啶(3g):

白色泡沫状化合物(15.3 mg, 39.4  $\mu\text{mol}$ , 收率:82.1%), HPLC: 6.2 min, 吸收波长 254 nm;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz),  $\delta$ : 12.10(br, 2H, P-OH), 8.17(s, 1H, 2-H), 7.71(br s, 1H, N-H), 7.25(br s, 1H, 8-H), 6.69(br s, 1H, 7-H), 6.58~6.52(m, 1H, 1'-H), 5.14~5.10(m, 1H, 3'-H), 5.06~5.04(m, 1H, O-H), 4.39~4.34(m, 1H, 4'-H), 3.80~3.79(m, 1H, 2'-H), 3.68~3.65(m, 2H, 5'-H), 2.95~2.93(m, 1H, CH), 0.82~0.81(m, 2H, CH<sub>2</sub>), 0.58~0.57(m, 2H, CH<sub>2</sub>),  $^{31}\text{P NMR}$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 162 MHz),  $\delta$ : 4.52(s); HRMS:  $m/z$  387.086 4[M-H]<sup>-</sup> C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>6</sub>P<sup>-</sup>.

#### 1.2.4 化合物的抗乙型肝炎活性测试

以肝癌细胞(HepG2.2.15)为 HBV 感染的细胞模型来研究化合物的抗乙型肝炎病毒活性。吡咯[2,3-d]嘧啶核苷单磷酸酯化合物作用于以 HepG2.2.15 细胞系, 四甲基偶氮唑盐(MTT)比色法检测样品对 HepG2.2.15 细胞的毒性, 酶联免疫吸附测定技术(ELISA)检测细胞上清中 HBsAg 和 HBeAg 的变化。实验方法和步骤参照文献[7,15]。毒性和活性数据结果见表 1 和表 2。

## 2 结果与讨论

### 2.1 化合物的合成及分离条件

核苷酸是细胞内最重要的一类单磷酸酯, 从化学合成的角度讲, 核苷类药物开发多涉及到核苷 5-位羟

基的磷酸化. 单磷酸酯制备是生物有机化学研究中经常遇到的问题,也是一个化学合成难题. 反应采用一步法合成磷酸酯,优点是不需要对核苷进行保护,缺点是对磷酸化的区域选择性有不确定因素,易产生 3'-磷酸化的异构体,本文采用高沸点的大极性非质子化溶剂三乙基磷酸酯(TEP)做溶剂,在一锅法合成磷酸酯中加入痕量水,合成出 4-取代-9-(5'-单磷酸酯-2'-脱氧-2'-β-氟-β-D-呋喃糖基)吡咯[2,3-d]嘧啶类化合物单一产物,进一步的机理仍在探讨中.

表 1 MTT 法检测化合物(3a-3g) 细胞 9 d 毒性 ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )

样品	3a	3b	3c	3d	3e	3f	3g
CC50	976.1	951.3	822.3	432.4	26.5	652.5	468.3

表 2 化合物 3a-3g 体外抑制 HBsAg 和 HBeAg 分泌结果

样品	$M/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	HBsAg(OD 值)	抑制率/%	HBeAg(OD 值)	抑制率/%
正常组	-	0.51±0.00	/	2.81±0.05	/
3a	8	0.35±0.07 * *	30.50	1.98±0.16 * *	29.29
	1.6	0.45±0.05	10.47	2.59±0.02 * *	7.74
	0.32	0.47±0.03	7.05	2.65±0.06 *	5.56
3b	8	0.38±0.04 * *	24.97	2.09±0.08 * *	25.34
	1.6	0.45±0.05	11.33	2.56±0.04 * *	8.75
	0.32	0.48±0.02	4.68	2.64±0.03 *	6.06
3c	8	0.38±0.04 * *	25.36	2.02±0.08 * *	28.09
	1.6	0.42±0.03 *	17.06	2.52±0.09 * *	10.03
	0.32	0.46±0.05	9.82	2.58±0.09 * *	8.08
3d	8	0.46±0.09 * *	29.92	1.80±0.16 * *	28.50
	1.6	0.53±0.01 * *	18.93	2.12±0.11 * *	15.60
	0.32	0.58±0.05	11.70	2.19±0.03 * *	12.50
3e	8	0.47±0.06 * *	27.89	1.80±0.06 * *	28.33
	1.6	0.56±0.05 *	14.76	2.11±0.01 * *	15.89
	0.32	0.59±0.04	10.59	2.41±0.09	4.08
3f	8	0.43±0.04 * *	33.84	1.77±0.10 * *	29.40
	1.6	0.53±0.05 * *	18.58	2.02±0.11 * *	19.39
	0.32	0.59±0.03	10.13	2.25±0.05 * *	10.42
3g	8	0.51±0.07 * *	22.54	2.05±0.12 * *	18.40
	1.6	0.58±0.03	11.55	2.33±0.05 *	7.04
	3.2	0.61±0.05	6.97	2.50±0.03	0.64
3TC	100	0.14±0.02 * *	73.25	1.50±0.05 * *	46.65

注:和对照组相比,\* $P<0.05$ ; \*\* $P<0.01$

## 2.2 化合物的抗乙型肝炎活性测试结果

表 1 和表 2 的结果显示吡咯[2,3-d]嘧啶核苷单磷酸酯化合物在 9 d 时,浓度为 8  $\mu\text{mol/L}$ ,对 HBsAg 和 HBeAg 都有一定的抑制作用,其中 3a,3d,3f 对 HBsAg 和 HBeAg 的抑制率较高,且 3a 的毒性较低(CC50:976.1  $\mu\text{mol/L}$ ),值得进一步研究.

## 3 结 论

以 4-取代-9-(2'-脱氧-2'-β-氟-β-D-呋喃糖基)吡咯[2,3-d]嘧啶类化合物为原料,通过一锅法,合成了一系列具有新型结构的 4-取代-9-(5'-单磷酸酯-2'-脱氧-2'-β-氟-β-D-呋喃糖基)吡咯[2,3-d]嘧啶类化合物,其

化学结构经核磁共振、高分辨率质谱分析确证;体外细胞培养表明,合成的吡咯[2,3-d]嘧啶核苷单磷酸酯类化合物在体外对乙型肝炎病毒有一定的抑制作用,其中 3a,3d,3f 对 HBsAg 和 HBeAg 的抑制率较高,且 3a 的毒性较低,值得进一步研究.

### 参 考 文 献

- [1] Pradere U, Garnier-Amblard E C, Coats S J, et al. Synthesis of Nucleoside Phosphate and Phosphonate Prodrugs[J]. Chem Rev, 2014, 114(18): 9154-9218.
- [2] Naesens L, Bischofberger N, Augustijns P, et al. Antiretroviral efficacy and pharmacokinetics of oral bis(isopropylloxycarbonyloxymethyl)-9-(2-phosphonylmethoxypropyl) adenine in mice[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1998, 42(7): 1568-1573.
- [3] Robbins B L, Srinivas R V, Kim C, et al. Anti-Human Immunodeficiency Virus Activity and Cellular Metabolism of a Potential Prodrug of the Acyclic Nucleoside Phosphonate 9-R-(2-Phosphonomethoxypropyl) adenine (PMPA), Bis(isopropyl oxymethyl carbonyl) PMPA[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1998, 42(3): 612-617.
- [4] Sofia M J, Bao D, Chang W, et al. Discovery of a  $\beta$ -d-2'-Deoxy-2'- $\alpha$ -Fluoro-2'- $\beta$ -C- methyluridine Nucleotide Prodrug (PSI-7977) for the Treatment of Hepatitis C Virus[J]. J Med Chem, 2010, 53(19): 7202-7218.
- [5] Madela K, Mcguigan C. Progress in the development of anti-hepatitis C virus nucleoside and nucleotide prodrugs[J]. Future Med Chem, 2012, 4(5): 625-650.
- [6] Bobeck D R, Schinazi R F, Coats S J. Advances in nucleoside monophosphate prodrugs as anti-HCV agents[J]. Antiviral Ther, 2010, 15(15): 935-950.
- [7] Sofia M. Nucleotide prodrugs for the treatment of HCV infection[J]. J Adv Pharmacol, 2013, 67(67): 39-73.
- [8] Yu W Q, Li E, Lv Z G, et al. Synthesis and Anti-HCV Activity of a Novel 2', 3'-Dideoxy-2'- $\alpha$ -Fluoro-2'- $\beta$ -C-methyl Guanosine Phosphoramidate Prodrug[J]. ACS Med Chem Lett, 2017, 8: 682-684.
- [9] Zhou L H, Zhang H W, Tao S J, et al. Synthesis and Evaluation of 2,6-Modified Purine 2'-CMethyl Ribonucleosides as Inhibitors of HCV Replication[J]. ACS Med Chem Lett, 2016, 7(1): 17-22.
- [10] Lin C C, Yeh L T, Vitarella D, et al. Pradefovir Mesylate: A Prodrug of PMEA with Improved Liver-Targeting and Safety in Rats and Monkeys[J]. Antiviral Chem Chemother, 2004, 15(6): 307-317.
- [11] Erion M D, Van Poelje P D, Mackenna D A, et al. Liver-targeted drug delivery using HepDirect prodrugs[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2005, 312(2): 554-560.
- [12] Erion M D, Bullough D A, Lin C C, et al. HepDirect prodrugs for targeting nucleotide-based antiviral drugs to the liver[J]. Curr Opin Invest Drugs, 2006, 7(2): 109-117.
- [13] Reddy K R, Matelich M C, Ugarkar B G, et al. A Prodrug That Targets Adefovir to the Liver for the Treatment of Hepatitis B[J]. J Med Chem, 2008, 51(51): 666-676.
- [14] Eisenberg E J, He G X, Lee W A. Metabolism of GS-7340, a novel phenyl monophosphoramidate intracellular prodrug of PMPA, in blood[J]. Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids, 2001, 20(4/5/6/7): 1091-1098.
- [15] 郭晓河, 李玉江, 陶乐, 等. 新型类嘌呤脱氧核糖核苷类化合物的抗乙型肝炎病毒体外活性实验研究[J]. 河南科学, 2015, 3(6): 911-914.
- [16] Guo X H, Li Y J, Tao L, et al. Synthesis and anti-HIV-1 activity of 4-substituted-7-(2'-deoxy-2'-fluoro-4'-azido- $\beta$ -D-ribofuranosyl)pyrrolo[2,3-d]pyrimidine analogues, Bioorg[J]. Med Chem Lett, 2011, 21(22): 6770-6772.
- [17] 郭晓河, 李玉江, 陶乐, 等. 董黎红. 新型类嘌呤脱氧核糖核苷类化合物的合成[J]. 化学研究, 2015, 26(3): 263-266.

## Synthesis and Antiviral Activities of Novel Pyrrolo [2,3-d] pyrimidine Monophosphate Compounds

Guo Xiaohe, Li Yujiang, Tao le, Wang Qiang, Dong Lihong

(High & New Technology Research Center of Henan Academy of Sciences, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** Pyrrolo [2,3-d] pyrimidine monophosphate compounds were synthesized via one-pot reaction by 4-substituted-9-(2-deoxy-2- $\beta$ -fluoro- $\beta$ -D-furan glycosyl) pyrrolo [2,3-d] pyrimidine with phosphorus oxychloride in sequence. The products were characterized by Nuclear magnetic resonance phosphorus spectrum ( $^{31}\text{P}$  NMR), Nuclear magnetic resonance H spectra ( $^1\text{H}$  NMR) and High resolution mass spectrometer (HRMS). Preliminary pharmacological test was made on hepatitis B virus (HBV). The test results showed the inhibitory rate of targeted compounds on hepatitis b virus surface antigen (HBsAg) and hepatitis Be antigen (HBeAg) was normal, but the inhibition rate of 3a, 3d, 3f were higher than others and 3a had lower toxicity than others compounds.

**Keywords:** pyrrolo [2,3-d] pyrimidine; phosphates; synthesis; anti-HBV activity

[责任编辑 赵晓华]