

**EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS**

**Új heterotriciklust tartalmazó nukleozid analógok  
szintézise**

**Kicsák Máté**

**Témavezető: Prof. Dr. Herczegh Pál**



**DEBRECENI EGYETEM**

**GYÓGYSZERÉSZETI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA**

**Debrecen, 2018**

## Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke.....	4
1. Bevezetés.....	8
2. Irodalmi áttekintés.....	9
2.1. Nukleinsavak .....	9
2.2. Nukleozid, illetve nukleotid típusú gyógyszermolekulák.....	10
2.2.1. Citotoxikus hatóanyagok .....	11
2.2.1.1. Purin antagonisták .....	11
2.2.1.2. Pirimidin antagonisták.....	12
2.2.2. Antivirális vegyületek .....	13
2.2.2.1. Purin analógok.....	13
2.2.2.2. Pirimidin analógok .....	15
2.3. Konformációsán stabilizált nukleozid származékok.....	16
2.3.1. „Lakatolt” nukleinsavak (LNS, Locked Nucleic Acid, LNA).....	17
2.3.1.1. Szintetikus átalakítások .....	17
2.3.1.2. Biológiai tulajdonságok.....	20
2.3.2. Egyéb bi- és triciklusos nukleozid származékok.....	22
2.4. Morfolinó nukleozid származékok .....	31
2.4.1. Szintézis.....	31
2.4.2. Biológiai tulajdonságok.....	33
2.5. Módosított oligonukleotid származékok a terápiában .....	35
2.6. Trisz-(hidroximetil)-amino-metán reakciója különböző aldehid és keton származékokkal <sup>99</sup> .....	39
2.7. Célkitűzés.....	41
3. Metodikák.....	42
3.1. Általános módszerek és anyagok .....	42
3.2. Tömegspektrometria .....	42
3.3. NMR-spektroszkópia .....	42
3.4. Röntgenkristallográfia.....	43
3.5. Számítási paraméterek .....	43
3.6. Kísérletek részletes leírása.....	43
4. Eredmények.....	79
4.1. Védőcsoport stratégia .....	79

4.1.1.	Primer hidroxil-védőcsoportok alkalmazása .....	80
4.1.2.	Amino-csoport védelme .....	81
4.2.	Új módszer kidolgozása trifenilmetil-típusú védőcsoportok eltávolítására.....	84
4.3.	Triciklánók szintézise .....	88
4.3.1.	Uracil-triciklánó.....	89
4.3.2.	Hipoxantin-triciklánó .....	89
4.3.3.	Timin-triciklánó.....	90
4.3.4.	Adenin-triciklánó.....	91
4.3.5.	Citozin-triciklánó.....	91
4.3.6.	Guanin-triciklánó.....	92
4.4.	Szerkezetmeghatározás .....	92
4.4.1.	Röntgenkrisztallográfia .....	93
4.4.2.	Konformációs és NMR számítások .....	94
4.4.3.	Mechanizmus.....	96
5.	Megbeszélés .....	97
6.	Összefoglalás / Summary .....	99
7.	Irodalomjegyzék.....	101
7.1.	Az értekezéshez felhasznált irodalom.....	101
7.2.	Az értekezés alapjául szolgáló közlemények.....	115
7.3.	További közlemények.....	116
8.	Tárgyszavak / Keywords.....	117
9.	Köszönetnyilvánítás .....	118
10.	Függelék .....	119

## Rövidítések jegyzéke

$^{13}\text{C}$  NMR: szén NMR

$^1\text{H}$  NMR: proton NMR

$^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC: proton-szén heteronukleáris többkötéses korrelációs spektroszkópia (heteronuclear multiple-bond correlation spectroscopy)

$^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC: proton-szén heteronukleáris egyszeres-kvantum korrelációs spektroszkópia (heteronuclear single-quantum correlation spectroscopy)

$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY: proton-proton korrelációs spektroszkópia (correlation spectroscopy)

2D NMR: two-dimensional nuclear magnetic resonance, kétdimenziós mágneses magrezonancia

$^3J_{\text{HH}}$ : háromkötéses proton-proton csatolási állandó

3TC: L-2',3'-didezoxi-3'-tiacitidin, lamivudin

5'-DFUR: 5'-dezoxi-5-fluoruridin, doxifluridin

5-azaC: 5-azacitidin, azacitidin

5-FU: 5-fluoruracil

6-MP: 6-merkaptopurin

6-TG: 6-tioguanin

A: adenin

ABC: abacavir, abakavir

absz.: abszolút, vízmentes

ACV, -MP, -DP, -TP: aciklovir, -monofoszfát, -difoszfát, -trifoszfát

AIBN: 2,2'-azo-bisz-(*i*-butironitril)

AIDS: acquired immune deficiency syndrome, szerzett immunhiányos tünetegyüttes

ALL: akut limfoid leukémia, akut limfoblasztos leukémia (acute lymphoblastic leukemia)

AM1: Austin modell 1, egy szemempirikus módszer

AMD: age-related macular degeneration, időskori makuladegeneráció

AML: akut mieloid leukémia (acute myeloid leukemia), akut mielogén leukémia

ara-C: citozin-arabinozid, citarabin

AZA: azatioprin

AZT, -MP, -DP, -TP: zidovudin (ZDV), 3'-azido-3'-dezoxi-timidin, -monofoszfát, -difoszfát, -trifoszfát

BSA: *N,O*-bisz(trimetilszilil)-acetamid

C: citozin

cc.: koncentrált, tömény

CDV: cidofovir

CLL: krónikus limfoid leukémia (chronic lymphocytic leukemia), B-sejtes krónikus limfocitás leukémia (B-CLL)

CML: krónikus mieloid leukémia (chronic myelogenous leukemia), krónikus mielogén leukémia

CMV: citomegalovírus (HHV-5)

d4T: 2',3'-didehidro-2',3'-didezoxi-timidin, stavudin

DBU: 1,8-diazabiciklo[5.4.0]undec-7-én

DDI: didanozin, 2',3'-didezoxi-inozin

dFdC: 2',2'-difluor-2'-dezoxicitidin, gemcitabin

DFT: density functional theory, sűrűségfunkcionál elmélet

DIPEA: *N,N*-diizopropiletilamin

DMAP: 4-dimetilamino-piridin

DMF: *N,N*-dimetil-formamid

DMSO: dimetil-szulfoxid

DMSO-d<sub>6</sub>: hexadeutero-dimetil-szulfoxid

DMTr: 4,4'-dimetoxitritil

DNS: dezoxiribonukleinsav

dsDNS: duplaszálú (double stranded) DNS

dsRNS: duplaszálú (double stranded) RNS

ekv.: ekvivalens

ESI: electrospray ionization, elektropray ionizáció

ETV: entekavir

FDA: Food and Drug Administration, Amerikai Élelmiszer- és Gyógyszerengedélyeztetési Hivatal

Fmoc: fluorenylmethyloxycarbonyl, fluorenil-metiloxi-karbonil

FT: tegafur

FTC: 2'-dezoxi-5-fluor-3'-tiacitidin, emtricitabin

FUDR: 5-fluor-dezoxiuridin, floxuridin

G: guanin

GCV: ganciklovir

GMP: guanosine monophosphate, guanozin-monofoszfát

HBV: hepatitisz B vírus

HCV: hepatitisz C vírus  
HFIP: 1,1,1,3,3,3-hexafluor-izopropanol  
HHV: humán herpeszvírus  
HIV: humán immundeficiencia vírus, humán immunelégtlenség vírus  
HMDS: hexametil-diszilazán  
hnRNS: heteronukleáris-RNS  
HPV: humán papillomavírus  
HSV-1 TK: herpesz simplex vírus 1 (HHV-1) timidin-kináz  
HTLV: humán T-limfotróp vírus, humán T-nyiroksejt vírus  
HX: hipoxantin  
IBU: izobutiril  
IBX: 2-jódoxibenzoészav  
kat.: katalitikus mennyiségű  
LDA: lítium-diizopropil-amid  
LDL: low-density lipoprotein, alacsony sűrűségű lipoprotein  
LNS: „lakatolt” nukleinsav, locked nucleic acid (LNA)  
*m/z*: tömeg/töltés  
MALDI: matrix-assisted laser desorption ionization, mátrix segített lézer deszorpciós ionizáció  
mC: 5-metilcitozin  
*m*CPBA: *m*-chloroperbenzoic acid, *m*-klórperbenzoészav  
MMTr: 4-monometoxitritil  
mRNS: messenger-RNS, hírvivő-RNS  
MS: mass spectrometry, tömegspektrometria  
MSz.: molekulaszita  
NDP: nucleoside diphosphate, nukleozid-difoszfát  
NMR: nuclear magnetic resonance, mágneses magrezonancia  
NOE: nuclear Overhauser effect, mag Overhauser hatás  
NRTI/NtRTI: nukleozid analóg reverz-transzkriptáz inhibitor/nukleotid analóg reverz-transzkriptáz inhibitor  
OPLS: optimized potentials for liquid simulations  
PA: phenylacetyl, fenilacetil  
PCV: penciklovir  
PEG: poli(etilén-glikol)

PMO: phosphorodiamidate morpholino oligomer, foszforodiamidát morfolinó oligomer  
PPMO: peptide-conjugated phosphorodiamidate morpholino oligomers, peptidhez-konjugált foszforodiamidát morfolinó oligomer  
QqTOF: quadrupole time of flight, kvadrupól repülési analizátor  
 $R_f$ : retenciós faktor  
RNS: ribonukleinsav  
rRNS: riboszómális-RNS  
RSV: respiratory syncytial virus, légúti óriássejtes vírus  
RT: reverz-transzkriptáz  
rt: room temperature, szobahőmérséklet  
snRNS: small nuclear-RNS, kisméretű nukleáris-RNS  
SPOS: solid-phase oligonucleotide synthesis, szilárdfázisú oligonukleotid szintézis  
T: timin  
TBAF: tetra-*n*-butilammónium-fluorid  
TBD: 1,5,7-triazabiciklo[4.4.0]dec-5-én  
TBDMS: *terc*-butil-dimetilszilil  
TBDPS: *terc*-butil-difenilszilil  
TES: trietil-szilil  
THF: tetrahidrofurán  
TMP: thymidine monophosphate, timidin-monofoszfát  
TMS: trimetil-szilil  
TNF- $\alpha$ : tumor nekrozis faktor  $\alpha$   
TOF: time of flight, repülési idő (analizátor)  
Trisz: trisz-(hidroximetil)-amino-metán  
tRNS: transzfer-RNS, szállító-RNS  
U: uracil  
VEGF: vascular endothelial growth factor, vaszkuláris endoteliális növekedési faktor  
VLDL: very low-density lipoprotein, nagyon alacsony sűrűségű lipoprotein  
VMD: visual molecular dynamics, egy molekulamodellező és megjelenítő számítógépes program  
VRK: vékonyréteg-kromatográfia

## 1. Bevezetés

Az originális gyógyszerfejlesztésben nagy hangsúlyt fektetnek újabb és hatékonyabb gyógyszermolekulák fejlesztésére, mely folyamat során igen nagy jelentősége van a kémiai szintézisnek és a szerkezetmeghatározásnak is. Manapság az aktív hatóanyagok jelentős része szerves vegyület, melynek nagy hányada pedig szintetikus vagy félszintetikus származék. Ezek ismeretében már gyógyszerészhallgató koromban a szerves kémia és a manapság már hozzá elengedhetetlenül szükséges analitikai eljárások felkeltették az érdeklődésemet. Nem elhanyagolható azonban a betegségek ismerete, azok kialakulásának oka, megnyilvánulása, hatásmechanizmusa és így gyógyszeres kezelése, a gyógyszerek applikációja, melynek ismerete a gyógyszerhatástan és gyógyszertechnológia témakörébe tartozik. Úgy gondolom, mindezeknek a tantárgyaknak, illetve tudományágaknak egy jó összekötő kapocsa lehet a gyógyszerészi kémia, hiszen a vegyületek megtervezése a farmakológiai ismeretek alapján történik, nagyrészt szintetikus eljárással készülnek, elengedhetetlen a szerkezetazonosításuk, és nagyon fontos a megfelelő formulálásuk.

Ezen okokból határoztam el magam, hogy bekapcsolódom a Debreceni Egyetem Gyógyszerészi Kémiai Tanszékén történő kutatásokba. A tanszéken, valamint elődjében, az MTA Antibiotikumkémiai Kutatócsoportban nagy múltra tekint vissza különböző antibakteriális és daganatellenes antibiotikumok (glikopeptidek, makrolidok,  $\beta$ -laktámok, antraciklin-glikozidok) és azok származékainak szintézise, félszintetikus módosítása, valamint szerkezetigazolása. Az elmúlt években új kutatási témák indultak a nukleozidkémia területén, melyeknek célja biológiailag aktív vegyületek előállítása, mivel sok betegség kialakulásában a nukleinsav-szintézis, replikáció, transzkripció, illetve transzláció szintjén érhető el terápiás eredmény, mely a betegségek megelőzésében, kordában tartásában, tüneteinek kezelésében vagy akár teljes gyógyításában nyilvánul meg.

Hazánkban a daganatos megbetegedések másodikként szerepelnek a betegségi halálokok között.<sup>1</sup> A HIV-fertőzöttek és az AIDS-betegek száma megközelítőleg a duplájára növekedett az elmúlt tíz év alatt. Szerencsére az AIDS-ben elhunytak száma a húsz évvel ezelőttihez képest 40%-ára csökkent.<sup>2</sup> Napjainkban számos nukleozid, illetve nukleotid analóg gyógyszermolekulát alkalmaznak a tumorellenes vagy az antivirális terápiában, sőt néhány módosított oligonukleotid származék genetikai eredetű betegségek kezelésében is ígéretesnek bizonyult. Csakúgy, mint az antibakteriális hatású vegyületeknél, a daganatellenes és antivirális kemoterapeutikumoknál is előfordulhat rezisztencia kialakulása, aminek következtében szükséges új hatóanyagok szintézise.



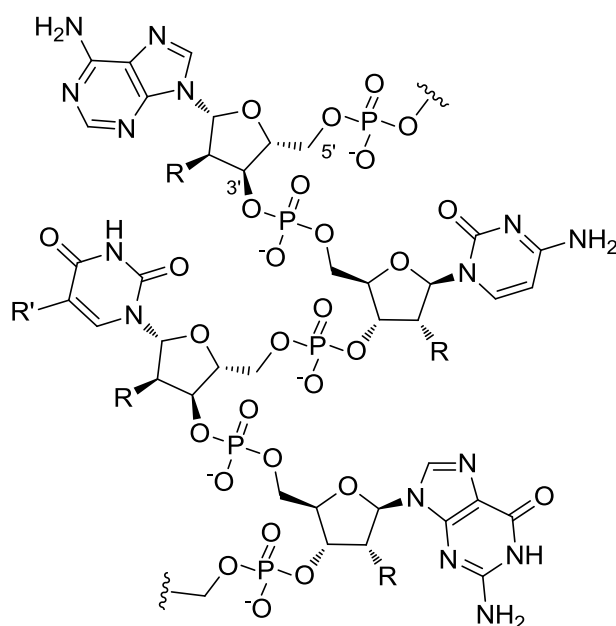
## 2. Irodalmi áttekintés

### 2.1. Nukleinsavak

A biológiai információt (genom) prokariótákban és eukariótákban a DNS hordozza, míg vírusokban az örökítőanyag lehet DNS és RNS is. Az információáramlás DNS-ről RNS-re történő transzkripcióval, majd az RNS-ről fehérjére történő translációval zajlik.<sup>3</sup> Ez a centrális dogma elve, ami a retrovírusok felfedezésével részben megdőlt, ott ugyanis RNS-ről DNS-re történő átírás is folyik.<sup>4</sup>

A nukleinsavak makromolekuláris biopolimerek, melyek építőegységei a nukleotidok. Egy nukleotid monomer nukleozidból és foszfátészterből áll, a nukleozidot pedig tovább bonthatjuk egy szénhidrát komponensre és egy heterociklusos bázisra.

A DNS-ben a monoszacharid rész a 2'-deoxi-D-ribofuranóz, a bázisok pedig a timin, adenin, citozin és guanin. RNS-ben D-ribofuranóz található és a bázisok a timin (melyet uracil helyettesít) kivételével azonosak, mint a DNS-ben.<sup>3</sup>

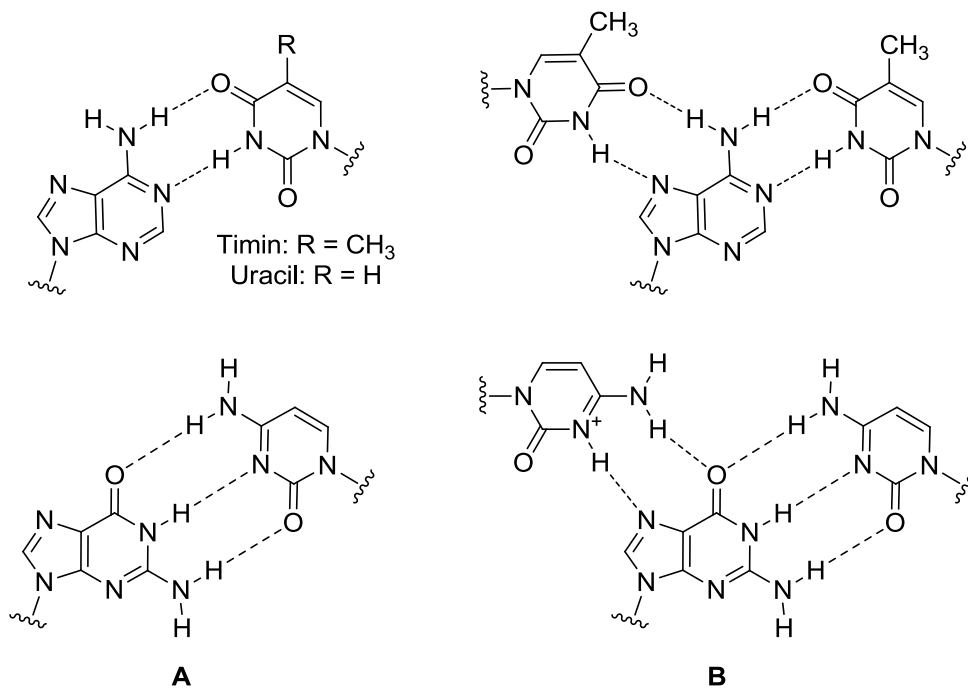


DNS: R = H, R' = CH<sub>3</sub>  
RNS: R = OH, R' = H

1. ábra DNS- és RNS-részlet szerkezeti képlete

A nukleozidok 5'-3' irányban foszfodiészter kötással összekapcsolódva alkotják a nukleinsavakat (elsődleges szerkezet). (1. ábra) Az így kialakult DNS szál egy másik komplementer szállal antiparallel lefutásban kettős hélixet képezve alakítja ki a DNS másodlagos szerkezetét. A kettős hélixet, amire a B-forma jellemző fiziológiásan, a bázisok közötti hidrogénkötések (kettő, illetve három) stabilizálják, a Watson-Crick

bázispárosodás<sup>5</sup> (2. ábra A) timin (uracil) és adenin, valamint citozin és guanin között alakul ki.<sup>3</sup> Ez a hibridizáció jelensége, mely nemcsak DNS-DNS, hanem DNS-RNS és RNS-RNS láncok között is létrejöhet.<sup>6</sup> Egy szokatlan jelenség a Hoogsteen bázispárosodás (2. ábra B),<sup>7</sup> amely a triplaszálú DNS-ben timin-adenin-timin között, illetve protonált citozin-guanin-citozin között alakul ki.<sup>8</sup>



2. ábra Watson-Crick, illetve Hoogsteen bázispárosodás

A hélix az átírás során letekeredik topoizomázok által katalizált reakciókban, és a szennsz szállal komplementer lánc szintézise történik a DNS-függő DNS-polimeráz és egyéb enzimek (ligáz, endonukleáz) segítségével.<sup>9</sup> Számos nukleozid analóg gyógyszermolekula polimeráz enzim gátlásával fejt ki hatását (lásd később).

Az RNS-nek több fajtája ismeretes: a mRNS, a tRNS, a rRNS, a hnRNS és a snRNS. A DNS szennsz szálláról történő transzkripció során a DNS függő RNS-polimeráz közreműködésével szintetizálódik a mRNS, melyről a rRNS-ről lefűződve, a tRNS által szállított aminosavakból a transláció alatt megy végbe a fehérjeszintézis.<sup>10</sup> Jelen dolgozat témája azonban nem teszi szükségessé a különböző RNS-ek funkciójának részletesebb ismertetését.

## 2.2. Nukleozid, illetve nukleotid típusú gyógyszermolekulák

Hatásmechanizmusukat tekintve változatosak ezek a molekulák. A sejtek szaporodását különböző pontokon gátolhatják, mint például replikáció, transzkripció, transláció, illetve egyéb biológiai funkciók. Mindegyik vegyületben közös az, hogy a heterociklusos bázist

és/vagy a szénhidrát egységet szokták módosítani. A módosított származékok vagy monomerként, vagy oligomerként kerülnek felhasználásra. A vegyületek előállítását kémiai szintézissel történik, így igen jelentős feladat hárul a gyógyszerkémikusokra egy új hatóanyag kifejlesztése során.

### **2.2.1. Citotoxikus hatóanyagok**

Ezeket a vegyületeket más néven antimetabolitoknak is nevezzük, mert a nukleinsavak bioszintézisét gátolják.<sup>11</sup> Hatásukat úgy fejtik ki, hogy a szervezetben aktiválódva (foszforiláz, kináz által) valamilyen célponttal alakítanak ki kölcsönhatást, leggyakrabban enzimekkel (DNS-polimeráz, ribonukleotid-reduktáz), illetve beépülnek a DNS-be és/vagy RNS-be lánctörést, -törést, -károsodást okozva.<sup>12</sup> Gátolják a sejtproliferációt, ezáltal a sejt elpusztul.

Nagy nehézséget okoz azonban a daganatos megbetegedések terápiájában, hogy egy tumorsejt nagyon hasonló felépítésű a normálisan funkcionáló sejtekkel, így azokat is elpusztíthatja. Ez okozza a nukleinsav anyagcserére ható gyógyszervegyületek jelentős toxikus mellékhatásait. Mindezek ellenére jelenleg igen széleskörűen alkalmazzák az antimetabolitokat a tumorterápiában és immunszuppresszív szerként.

Kémiai szerkezetüket tekintve három típusba szokták besorolni őket:

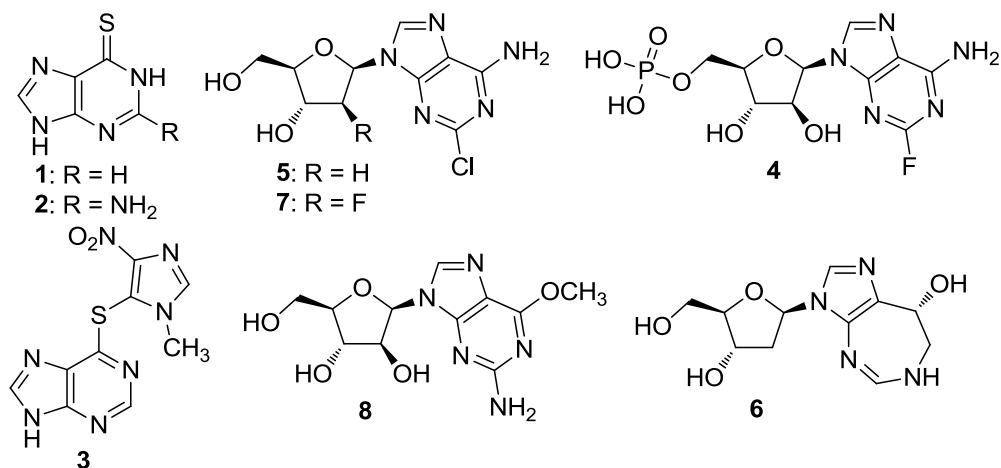
- antifolatok (pl. metotrexát),
- purin antagonisták (pl. 6-merkaptopurin),
- pirimidin antagonisták (pl. citarabin).

A következőkben a nukleozid, illetve nukleotid analóg vegyületeket ismertetem.

#### **2.2.1.1. Purin antagonisták**

A 6-merkaptopurint (6-MP) **(1)** ALL fenntartó kezelésében, míg a 6-tioguanint (6-TG) **(2)** AML indukciós terápiájában alkalmazzák. A purin-bioszintézist gátolják és beépülve a DNS-be lánctörést okoznak.<sup>13</sup> Előbbi prodrugja az azatioprin (AZA) **(3)**, melyet immunszuppresszív kezelésben: autoimmun gyulladási bélbetegségek (Crohn-betegség, kolitisz ulceróza), reumatoid arthritis, vesetranszplantáció esetén alkalmaznak inkább.<sup>14</sup>

A fludarabin-foszfátot **(4)**, a kladribint **(5)** és a pentosztatint **(6)** elsősorban hajás-sejtes leukémia, CLL és Hodgkin-limfóma kezelésére használják.<sup>15</sup> Míg a klofarabint **(7)** leginkább B-sejtes ALL,<sup>16</sup> a nelarabint **(8)** pedig T-sejtes ALL<sup>17</sup> terápiájában alkalmazzák.

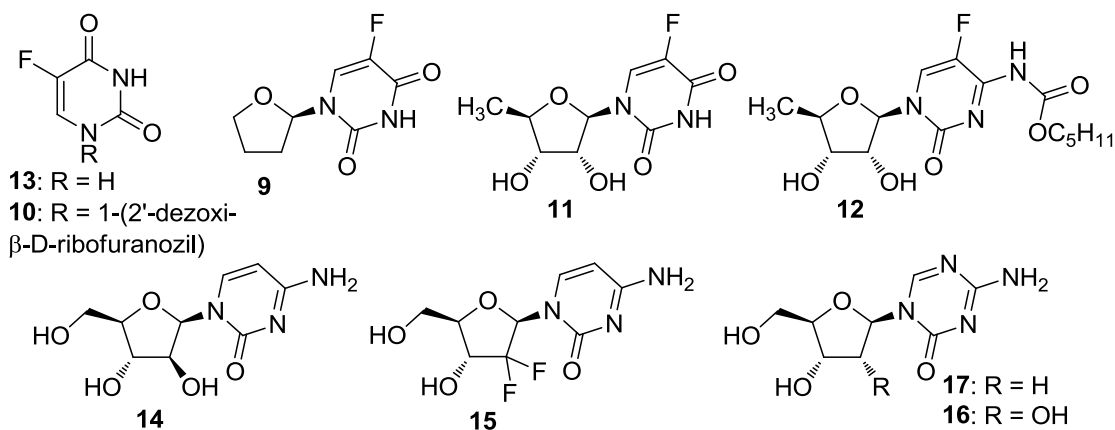


3. ábra Purin analóg antimetabolitok

### 2.2.1.2. Pirimidin antagonisták

Az uracil származék tegafur (FT) (**9**), floxuridin (FUDR) (**10**), doxifluridin (5'-DFUR) (**11**) és kapecitabin (**12**) a metabolizmus során mindegyik az 5-fluoruracillá (5-FU) (**13**) alakul a szervezetben. Ezeknek a prodrugoknak a kifejlesztése a könnyebb adagolást, jobb biohasznosíthatóságot és a kórházi költségek csökkenését eredményezte. Az 5-FU a timidilát-szintáz gátolja, továbbá beépül a DNS-be és az RNS-be is. Főként metasztatikus colorectalis daganatok kezelésében alkalmazzák.<sup>18</sup>

A citozin származékok közül a citarabint (ara-C) (**14**) ALL-ás, AML-ás, CML-ás és non-Hodgkin-limfómás betegek kezelésre használják.<sup>19</sup> A DNS-polimeráz gátlásával fejt ki daganatellenes hatását.<sup>20</sup> A gemcitabin (dFdC) (**15**) emlő-, petefészek-, hasnyálmirigy- és nem-kissejtes tüdődaganatok esetében jelentős remissziós értékeket eredményezett.<sup>21</sup> Ribonukleotid-reduktáz inhibitoroként funkcionál csakúgy, mint a **4**, **5**, **7** és **8**.<sup>22</sup> Az azacitidint (5-azaC) (**16**) és a decitabint (**17**) AML-ban, ALL-ban és myelodysplasiás szindrómában alkalmazzák a klinikumban. Hatásukat a DNS-metiltransferáz gátlásával fejtik ki.<sup>23</sup>



4. ábra Pirimidin analóg antimetabolitok

### 2.2.2. Antivirális vegyületek

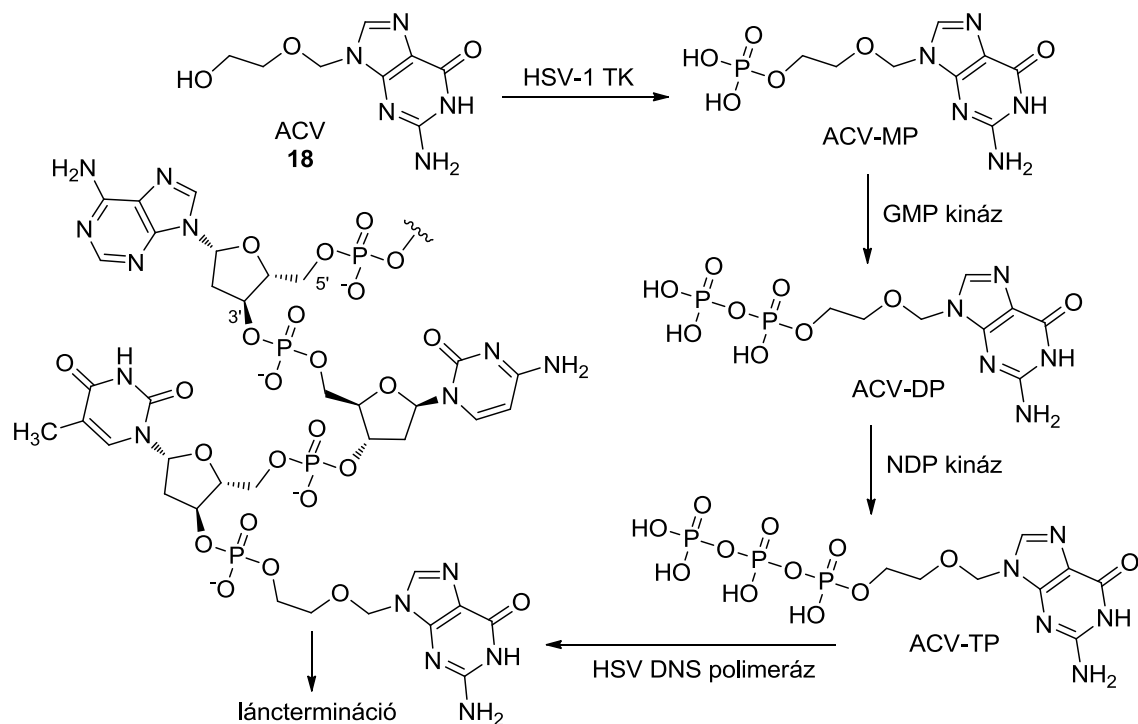
A vírusok a legkisebb biológiai organizmusok, melyek genommal rendelkeznek. „Fertőző genetikai információként” is nevezhetjük őket. Önállóan nem képesek szaporodni, csak egy gazdasejt sejtkészletét felhasználva.<sup>24</sup> Ezen okok miatt az antivirális terápia, hasonlóan a daganatelleneshez, sok mellékhatással jár, illetve járhat. A kezelés során azonban előnyt jelent, hogy a vírusok rendelkeznek saját genommal (DNS vagy RNS) és enzim készlettel (polimerázok, kinázok, proteázok, integrázok), melyek a gyógyszeres terápia során célpontként szolgálhatnak.

Örökítőanyag szempontjából két osztályba sorolhatóak a vírusok: DNS-, illetve RNS-vírusok.<sup>25</sup> DNS-vírus például a variola vírus, vaccinia vírus, herpeszvírusok, papillomavírusok, hepatitisz B vírus, stb. RNS-vírus pedig a rotavírus, a rubeolavírus, flavivírus, hepatitisz C vírus, coronavírus, kanyaró vírus, mumpsz vírus, influenzavírus, lyssavírus, Ebola- és Marburg-vírus, poliovírus, retrovírusok (HIV, HTLV), rhinovírus, stb.<sup>26</sup>

Általában a vírusfajok alapján szokták rendszerezni az aktív hatóanyagokat, azon belül pedig támadáspont és kémiai szerkezet szerint. A dolgozat témáját tekintve inkább kémiai szerkezet alapján, egy kémiai csoportot részletezek a továbbiakban. Kémiai szempontból a nukleozid/nukleotid analóg gyógyszermolekulák is két szerkezeti csoportra oszthatóak, mint az antineoplasztikumoknál.

#### 2.2.2.1. Purin analógok

Talán mindközül a legismertebb a HHV-1 és -2 ellenes aciklovir (ACV) (**18**), melynek egy orálisan adagolva jól felszívódó prodrugja a valaciklovir (**19**). Elsőként választandó szer  $\alpha$ -herpeszvírusok ellen.<sup>27</sup> Guanozin analóg, annak kompetitív antagonistája. Az első aktivációs lépése a fertőzött sejtekben következik be, a virális timidin-kináz által, ezután pedig trifoszfáttá alakulva a virális DNS-polimeráz beépíti a vírus DNS-ébe, ahol a 3'-vég hiánya révén láncterminációt okoz.<sup>28</sup> **18** az első származék, melynek kevés mellékhatása jelentkezik, a korábbi vegyületekkel szemben, ami azzal magyarázható, hogy a herpeszvírus timidin-kinázának és DNS-polimerázának sokkal nagyobb affinitású szubsztrátja, mint a humán sejtek hasonló enzimeinek.<sup>28</sup> Ezek miatt alkalmazása biztonságosabb.



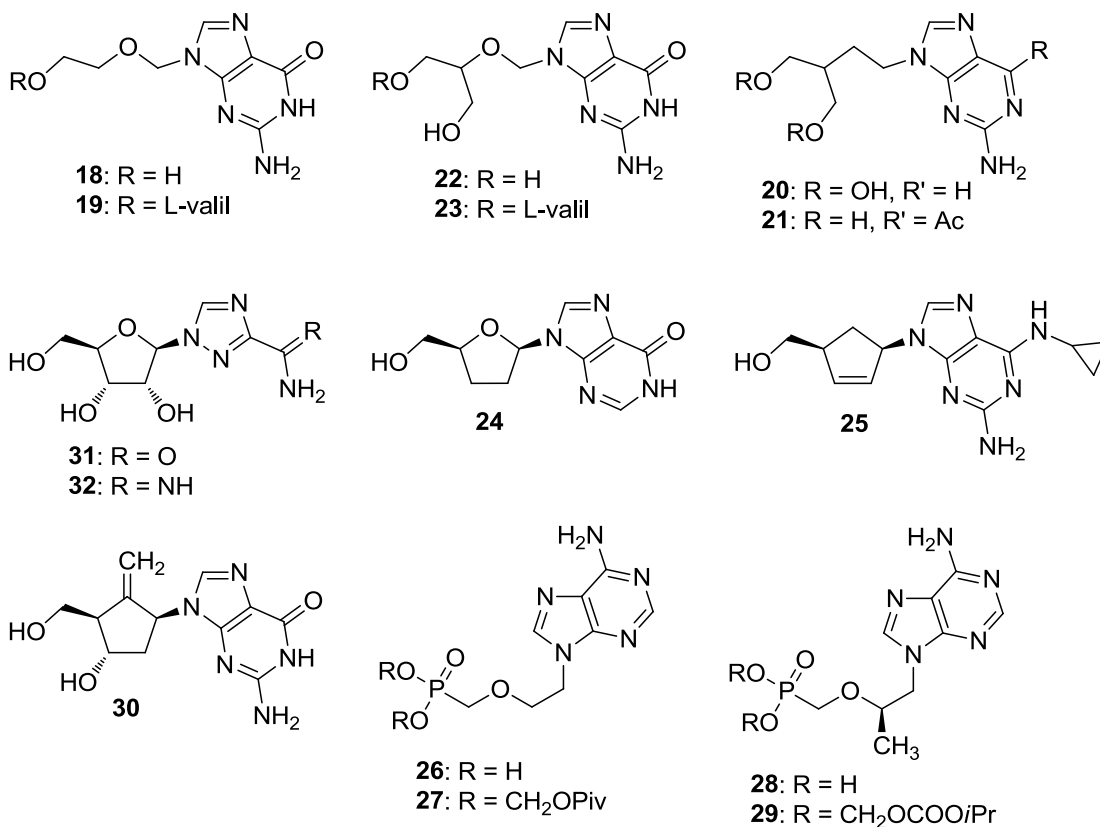
5. ábra Az aciklovir hatásmechanizmusa<sup>29</sup>

Szintén  $\alpha$ -herpeszvírusok okozta fertőzések indikációja a penciklovir (PCV) (20) alkalmazása, melynek prodrugja a famciklovir (21). Hatása hasonló az acikloviréhez, de nem okoz láncterminációt, illetve aciklovirrezisztencia esetén hatásos lehet.<sup>27</sup>

A penciklovirhez hasonló szerkezetű és hatásmechanizmusú a ganciklovir (GCV) (22), aktív észtere a valganciklovir (23), melynek jelentős csontvelő-toxicitása miatt fő indikációja csak az aktív CMV-fertőzés kezelése.<sup>30</sup>

Nukleozid/nukleotid analóg reverz transzkriptáz inhibitorok (NRTI/NtRTI) a didanozin (DDI) (24), abakavir (ABC) (25), adefovir (26) (adefovir-dipivoxil, 27), tenofovir (28) (tenofovir-dizoproxil, 29), entekavir (ETV) (30), melyek mind a HIV-1 és a -2 ellen is aktívak. Ezenkívül 26, 28 és 30 HBV okozta fertőzésekben is hatásos. Jelentős mellékhatásaik vannak, és gyakori a virális rezisztencia velük szemben, ezért kombinációkban alkalmazzák.<sup>31</sup>

További guanozin analóg a ribavirin (31) és a viramidin (32), melyek DNS- (HBV, HHV) és RNS-vírusok (influenza, RSV, HCV) ellen is hatásosak egyaránt.<sup>32,33</sup> Összetett hatásmechanizmusuk van: az inozinmonofoszfát-dehidrogenáz inhibíciója révén közvetve gátolja a virális nukleinsavsintézist, RNS-polimeráz inhibitor, immunmoduláns hatású, stb. 31-et  $\alpha$ -interferonnal kombinálva is alkalmazzák,<sup>32</sup> 32 jelenleg klinikai III. fázisban van.<sup>34</sup>



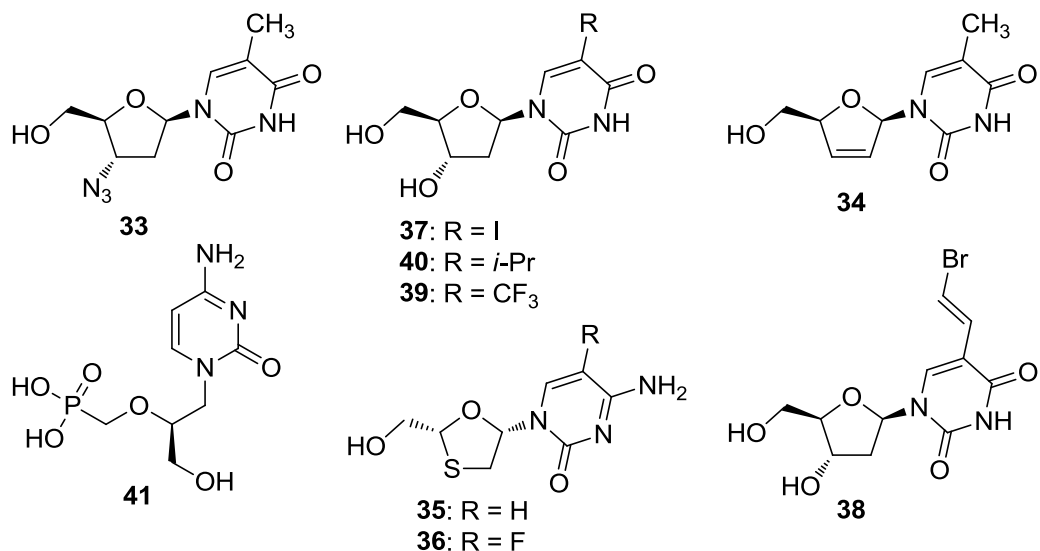
6. ábra Purinvázás antivirális vegyületek

### 2.2.2.2. Pirimidin analógok

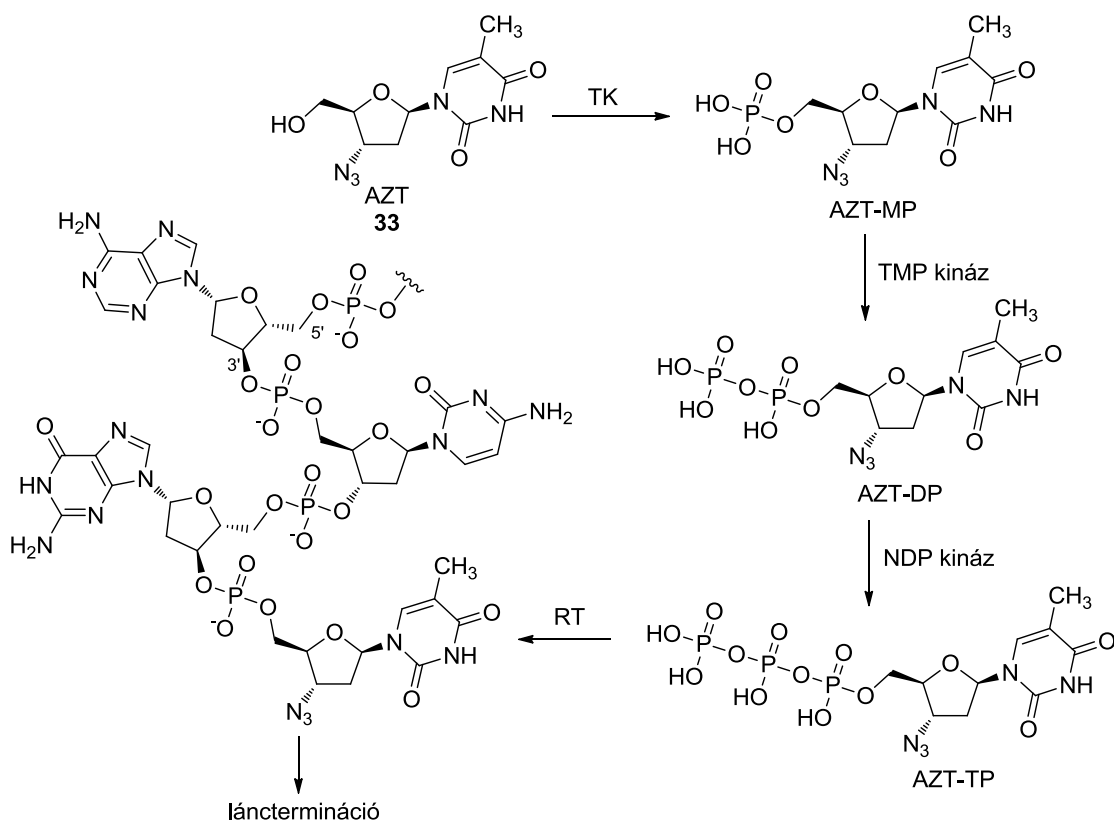
A zidovudin (AZT) (**33**), stavudin (d4T) (**34**), lamivudin (3TC) (**35**) és emtricitabin (FTC) (**36**) láncterminátor nukleozid analóg reverz transzkriptáz inhibitorok és a HIV terápiájában használatosak. Utóbbi kettő HBV ellen is aktív.<sup>33</sup>

Leginkább HHV-1-3 ellenes hatású vegyületek az idoxuridin (**37**), a brivudin (**38**), a trifluridin (**39**) és az epervudin (**40**). A timidin kompetitív antagonistái ezek a bázison módosított származékok. Szelektív toxicitásuk alacsony, ezért helyi kezelésre alkalmazzák őket.<sup>33</sup> **40** magyar fejlesztésű hatóanyag. Ötvös és munkatársai szintetizálták 1975-ben, és 1988-ban került forgalomban Hevizos<sup>®</sup> néven.<sup>35</sup>

A citozin származék cidofovir (CDV) (**41**) széles spektrumú nukleotid analóg antivirális gyógyszervegyület. Foszfónát csoportja révén kinázoktól függetlenül aktiválódik, gátolja a vírus DNS-polimerázát, és láncterminátorként is funkcionál. Hatásos HPV, humán poxvírus, adenovírus, polyomavírus és minden HHV ellen is.<sup>36</sup>



7. ábra Pirimidinvázis antivirális vegyületek



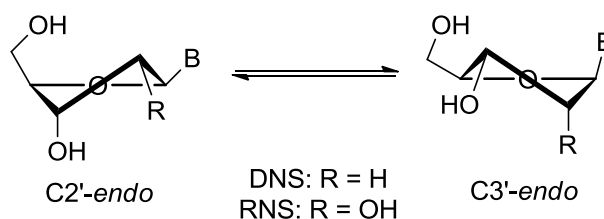
8. ábra A zidovudin hatásmechanizmusa<sup>29</sup>

### 2.3. Konformációsán stabilizált nukleozid származékok

A természetes nukleozidokban a furanóz gyűrű sosem síkalkatú, hanem boríték vagy félszék konformációjú. Ezt a folyamatot puckering-nek (gyűrődés, redőződés, hajródás) nevezzük, melynek több formája jelentkezik a pszeudorotációs ciklus során.<sup>37</sup> Leginkább kétfajta fő konformációs állapot van egyensúlyban: C2'-*endo* (S-típus, déli típus) és a C3'-



*endo* (N-típus, északi típus). (9. ábra) Az N-típus a ribonukleozidoknál fordul elő, ami az A-RNS, az S-típus a 2'-deoxiribonukleozidoknál, ami a B-DNS dupla hélixét alkotja.<sup>38</sup>



9. ábra Nukleozidok konformációs egyensúlya<sup>38</sup>

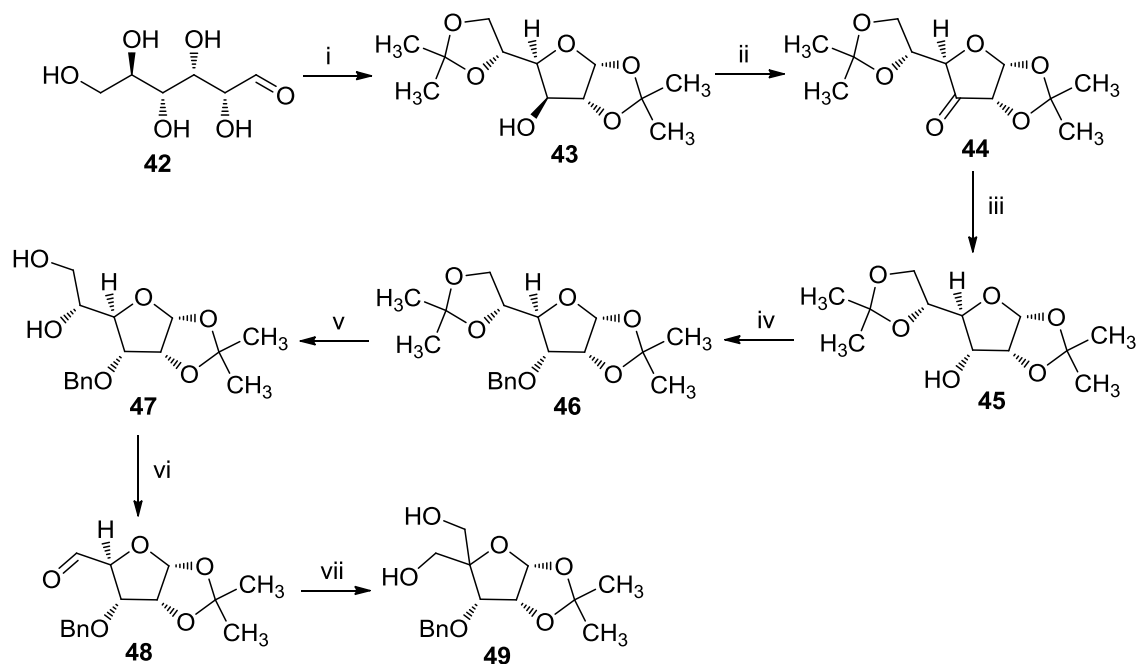
A különböző konformációs állapotok nagy szerepet játszanak a nukleozidok biológiai funkciói során. Az elmúlt két évtizedben ennek a jelenségnek a hasznosítása vezetett oda, hogy különböző konformációsan rögzített nukleozid, illetve nukleotid származékokat állítottak elő, melyek biológiai vizsgálata során számos megfigyelést és eredményt közöltek: az enzimekhez való kötődést,<sup>39</sup> az enzimátikus stabilitást,<sup>40</sup> a hibridizációt,<sup>41</sup> a duplex stabilitást<sup>42,43</sup> befolyásolja a furanózból levezethető szubsztituált tetrahidrofuran gyűrű korlátozott konformációja.

### 2.3.1. „Lakatolt” nukleinsavak (LNS, Locked Nucleic Acid, LNA)

#### 2.3.1.1. Szintetikus átalakítások

Az LNS olyan nukleozid származék, melyben egy 2'-O,4'-C-CH<sub>2</sub>-áthidalással N-típusú rögzített konformációt alakítottak ki. Az első LNS-t 1997-ben *Imanishi* és csoportja állította elő,<sup>44</sup> és nem sokkal később tőlük függetlenül *Wengel* és csoportja is megszintetizálta 1998-ban.<sup>45</sup>

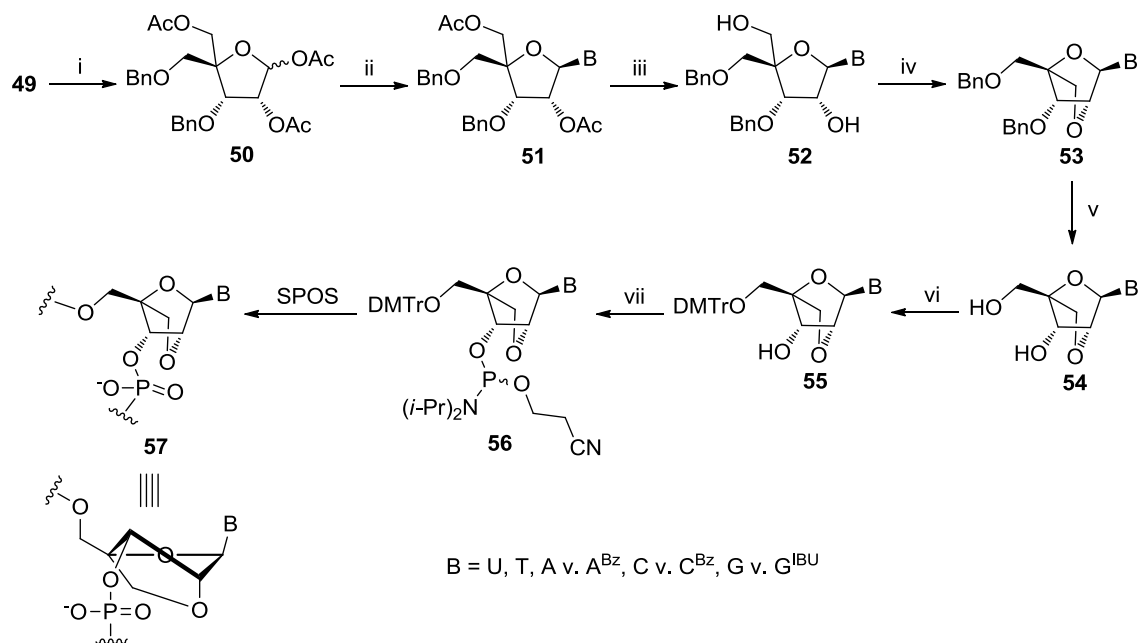
Módosított nukleozid származékok előállításánál előszeretettel indulnak ki olcsó szénhidrát származékokból. Az LNS szintézishez szükséges 3-O-benzil-4-C-hidroximetil-1,2-O-izopropilidén- $\alpha$ -D-ribofuranóz (49) előállítását 1,2:5,6-di-O-izopropilidén- $\alpha$ -D-glükofuranózból (43) kiindulva valósítják meg. A C-3 szénatom konfigurációjának inverziójával a megfelelő allofuranóz (45) származékot állítják elő, amelynek utána a szabad hidroxil-csoportját benzilezik, aztán parciálisan hasítják az 5,6-izopropilidén-ketált 80%-os ecetsavval. Következő lépésben a vicinális diolt metaperjodátos oxidációval aldehiddé (48) oxidálják C-C kötés felhasadása közben. Az így keletkezett vegyület formil-csoportjára először aldol-addíció történik, majd a formil-csoport a formaldehid feleslegtől lúgos közegben Cannizzaro-reakcióban primer hidroxillá redukálódik.



10. ábra 3-*O*-benzil-4-*C*-hidroximetil-1,2-*O*-izopropilidén- $\alpha$ -D-ribofuranóz előállítása

Reakciókörülmények: i) aceton,  $H^+$ ; ii) DMSO,  $P_2O_5$ ; iii)  $NaBH_4$ , 80% EtOH; iv) BnBr, NaH, absz. THF; v) 80% AcOH; vi)  $NaIO_4$ ,  $H_2O$ ; vii) 37%-os HCHO-oldat, 1 N NaOH-oldat, 1,4-dioxán<sup>46,47</sup>

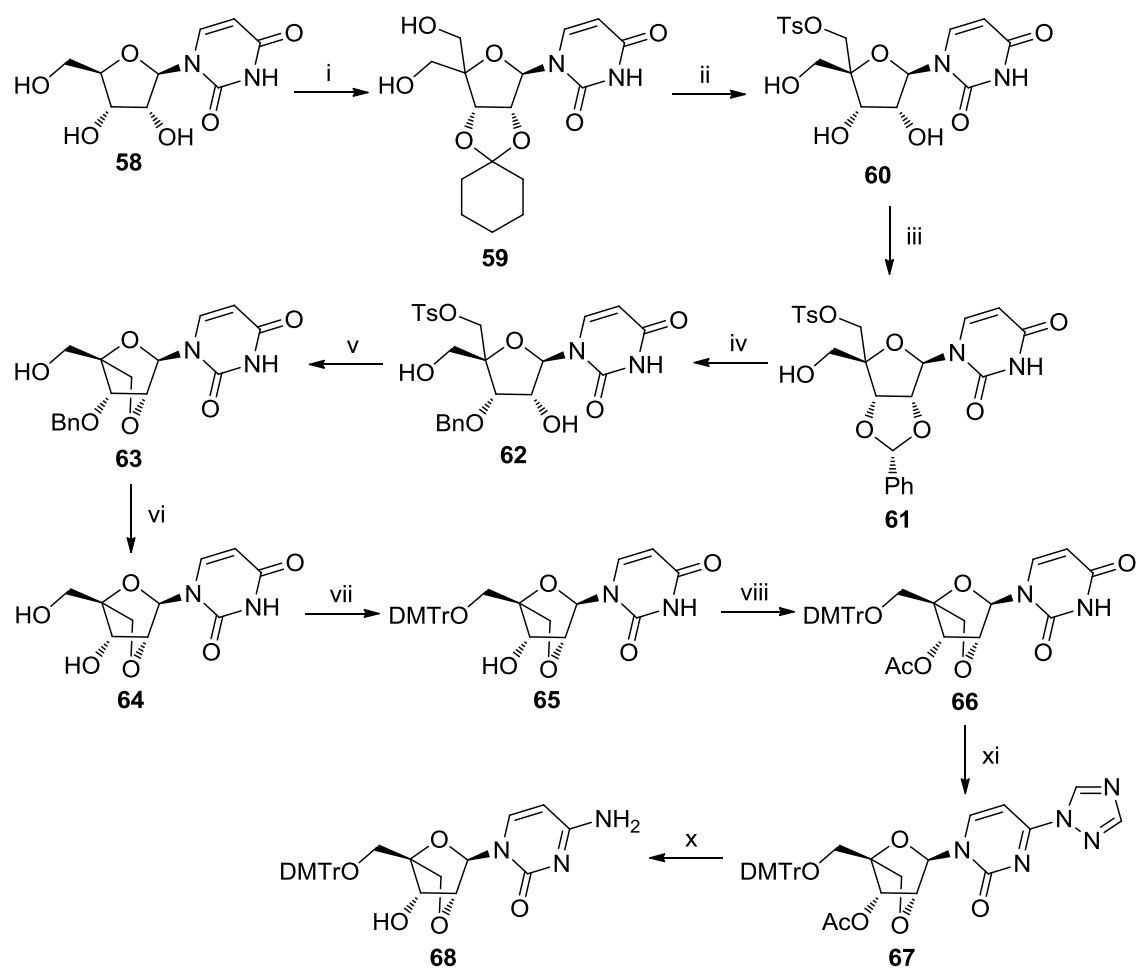
Wengel és munkatársai **49** egyik primer helyzetű hidroxil-csoportját NaH jelenlétében szelektíven benzilezték, majd a másik primer OH-csoportot acetilezték. A következő lépésben 80%-os ecetsavval hidrolizálták a ketál-védőcsoportot, és ismét ecetsavanhidriddel acetátésztert képeztek az anomer és a 2-es helyzetű hidroxil-csoportokból (**50**). Ezután a bázisokat, illetve megfelelően védett bázisokat BSA-dal aktiválva, módosított Vorbrüggen-reakcióban,<sup>48</sup> TMSOTf Lewis-sav katalizátor jelenlétében *N*-glikozilezési reakciót hajtottak végre. A kapott nukleozid származékokról (**51**) nátrium-metoxiddal eltávolították az acetyl-védőcsoportokat (**52**), és *p*-toluolszulfonátot képezve nukleofil szubsztitúciós reakcióban kialakították intramolekulárisan a ciklikus étert (**53**). A benzil-védőcsoportot többféleképpen is eltávolították (**54**): katalitikus hidrogénezéssel, katalitikus transzferhidrogénezéssel, illetve bór-trikloriddal. Majd végül a szabad primer OH-csoportból DMTr-étert (**55**) képeztek, a szekunder hidroxil-csoportból pedig cianoetil-diizopropil-foszforamiditet (**56**), így előállítva a szilárdfázisú oligonukleotid szintézishez a monomereket.



### 11. ábra „Lakatolt” nukleozid monomerek szintézise I.

Reakciókörülmények: i) a) NaH, BnBr, absz. DMF, b) Ac<sub>2</sub>O, absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N, c) 80% AcOH, d) Ac<sub>2</sub>O, absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N; ii) nukleobázis, BSA, TMSOTf, absz. MeCN vagy absz. Cl(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>Cl; iii) NaOMe, MeOH; iv) a) TsCl, absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N, b) NaH, absz. DMF; v) Pd(OH)<sub>2</sub>/C, EtOH, H<sub>2</sub> vagy 1,4-ciklohexadién, 10% Pd(OH)<sub>2</sub>/C, MeOH vagy BCl<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, hexán; vi) DMTrCl, absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N; vii) DIPEA, NC(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OP(Cl)N(*i*-Pr)<sub>2</sub>, absz. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub><sup>45</sup>

*Imanishi* és kutatócsoportja két „lakatolt” nukleozidot állított elő ribonukleozidból kiindulva, *Wengel*éktől eltérően. (12. ábra) Uridinből (58) kiindulva *Moffaték*<sup>49</sup> szerint előállították a 2',3'-*O*-ciklohexilidén-4'-*C*-hidroximetil-uridint (59), melyből utána *p*-toluol-szulfonátot képeztek, és trifluoecetsavval eltávolították a ciklohexilidén-ketált (60). Ezután benzaldehiddel cink-klorid jelenlétében reagáltatva benzilidén-acetált (61) képeztek, melyből redukív gyűrűnyitással 3'-*O*-benzil származékot (62) állítottak elő. A továbbiakban nukleofil szubsztitúcióval kialakították az áthidalt éterkötést (63), redukcióval eltávolították a Bn-védőcsoportot (64), majd dimetoxitritil-étert (65) képeztek a primer hidroxil-csoportból. Ezt a vegyületet további három lépésben átalakítva (acetilezés, triazol származék képzése és ammonolízis) megkapták a DMTr-védett citozin „lakatolt” nukleozid származékot (68).

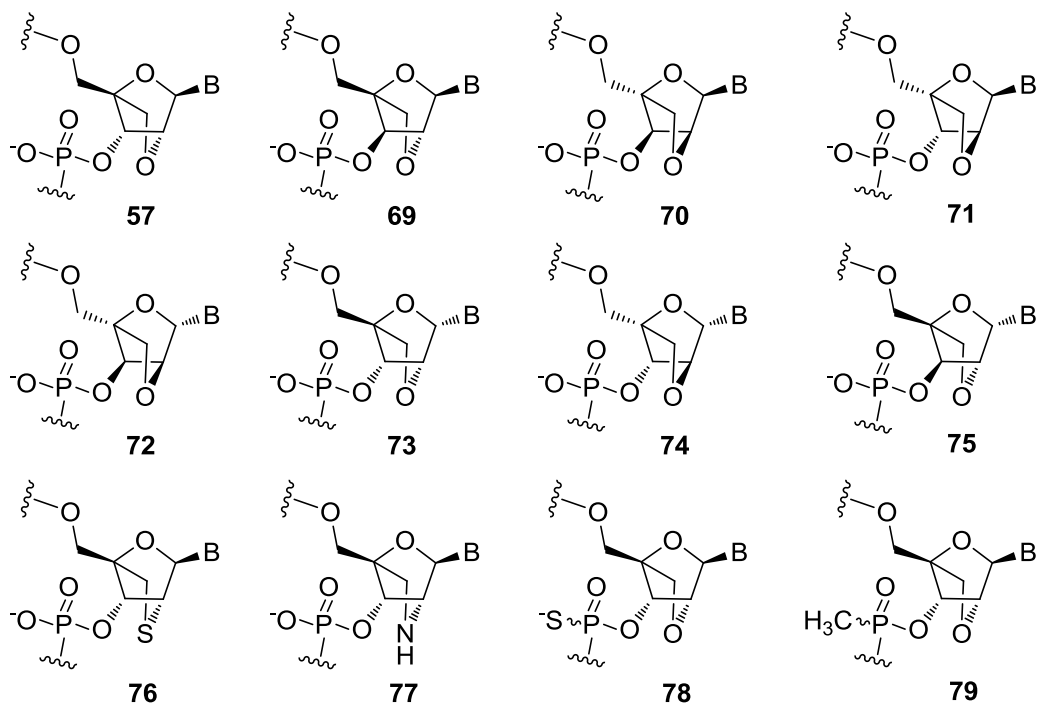


12. ábra „Lakatolt” nukleozid monomerek szintézise II.

Reakciókörülmények: i) a) TsOH, ciklohexanon, rt, 1 éjszaka, b) IBX, absz. MeCN 80 °C, 2,5 óra; c) 37%-os HCHO-oldat, 2 N NaOH-oldat, 1,4-dioxán; ii) a) TsCl, absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N, 110 °C, b) 98% F<sub>3</sub>CCOOH, rt; iii) PhCHO, ZnCl<sub>2</sub>, rt; iv) NaCNBH<sub>3</sub>, TiCl<sub>4</sub>, absz. MeCN, rt; v) NaHMDS, absz. THF, rt; vi) H<sub>2</sub>, 10%Pd-C, MeOH, rt; vii) DMTrCl, DMAP, absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N, rt; viii) Ac<sub>2</sub>O, absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N; xi) *p*-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O(O)PCl<sub>2</sub>, 1,2,4-triazol, absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N, rt; x) cc. NH<sub>3</sub>-oldat, 1,4-dioxán, rt<sup>44,50</sup>

### 2.3.1.2. Biológiai tulajdonságok

A β-D-LNS (57) tekinthető a „szülőnek” a 2'-heteroatom,4'-C-áthidalt nukleozidok között. Azóta többféle változatát [β-D-*xilo*-LNS (69), α-L-LNS (70), α-L-*xilo*-LNS (71), β-L-LNS (72), α-D-LNS (73), β-L-*xilo*-LNS (74), α-L-*xilo*-LNS (75), 2'-tio-β-D-LNS (76), 2'-amino-β-D-LNS (77), foszforotioát-β-D-LNS (78), metilfoszfonát-β-D-LNS (79)] állították már elő.<sup>47</sup> (13. ábra)



13. ábra Különböző típusú „lakatolt” nukleinsavak szerkezeti képlete

Fluiter és munkatársai megvizsgálták a  $\beta$ -D-LNS, az amino- $\beta$ -D-LNS, a tio- $\beta$ -D-LNS és az  $\alpha$ -L-LNS tulajdonságait antiszensz oligonukleotidokba beépítve számos *in vitro* és *in vivo* biológiai kísérletben.<sup>51</sup> A  $\beta$ -D-LNS az N-típusú konformációja miatt A-forma duplexet alakít ki a komplementer DNS-sel és majdnem szabályos A-formát (dsRNS természetes formája) a komplementer RNS-sel. Az  $\alpha$ -L-LNS és a DNS között kialakuló kettős hélix B-formájú,<sup>52</sup> csakúgy, mint a természetes dsDNS, míg RNS-sel alkotott duplexe egy A- és B-forma<sup>53</sup> közötti szerkezetet alakít ki, mely nagyon hasonló az RNáz H természetes szubsztrátjához.<sup>54</sup>

A vizsgálatok adatai megerősítették, hogy a farmakokinetikai paraméterek érdekesen változtathatóak a megfelelő LNS kémia megválasztásával. Különböző biodisztribúciós mintázatot eredményezett az amino- és a tio- $\beta$ -D-LNS *in vivo* használata. Összefoglalva: az LNS-tartalmú oligonukleotidok nagy hatékonysággal használhatóak antiszensz oligonukleotidokként. Az  $\alpha$ -L-LNS bizonyult a legígéretesebbnek, jó hatékonysággal és specificitással párosodott a komplementer szállal.<sup>51</sup>

Az LNS potenciálja, hogy terápiás eszköz legyen, abban rejlik, hogy nagy affinitással képes hibridizálni a komplementer RNS-hez, illetve ssDNS-hez anélkül, hogy a szekvencia-specificitását elvesztené. Az LNS-tartalmú oligonukleotidok hibridizációs tulajdonságait kiértékeltek különböző szekvencia-összetételű oligomereket vizsgálva, pl.

teljes LNS, LNS-DNS keverékek, LNS-RNS keverékek és LNS-foszfotioát DNS keverékek.<sup>47</sup>

Végül az  $\alpha$ -L-LNS stabil triplexképző lehetőségét is megvizsgálták eltérően tervezett triplexképző oligonukleotidokat használva. Fiziológias pH-n stabil triplexet alakított ki, és eltérően a teljesen módosított LNS triplextől, a teljesen módosított  $\alpha$ -L-LNS stabil triplexet tudott kialakítani pH = 6,8-n, habár kisebb stabilitással, mint a részlegesen módosított triplexképző oligonukleotidok.<sup>47</sup>

Az LNS-tartalmú oligonukleotidok hatásos antiszensz vegyületek lehetnek, mivel kitűnően kötődnek a megfelelő komplementer szálhoz, és képesek blokkolni az RNS processzáló enzimeket. Jelentős RNáz H aktivációt eredményeznek, de csak ha úgynevezett „gapmer”-ként használják őket. Egy LNS gapmer egy központi DNS vagy foszfotioát DNS magból áll, amelyet mindkét végéről LNS határol.<sup>47</sup>

Miközben az RNáz H a dsDNS-hez és DNS-RNS hibridhez is kötődik, felismeri az utóbbit és megkezdi az RNS hidrolízisét. Az RNáz H aktiválódás tanulmányozása LNS gapmerek és LNS keverékek (LNS monomereket DNS monomerekkel összekeverve) segítségével ellentmondó eredményeket hozott: egyes esetekben kiváltott RNáz H aktivációt, későbbi vizsgálatok ellentétes eredményeket mutattak.<sup>47</sup>

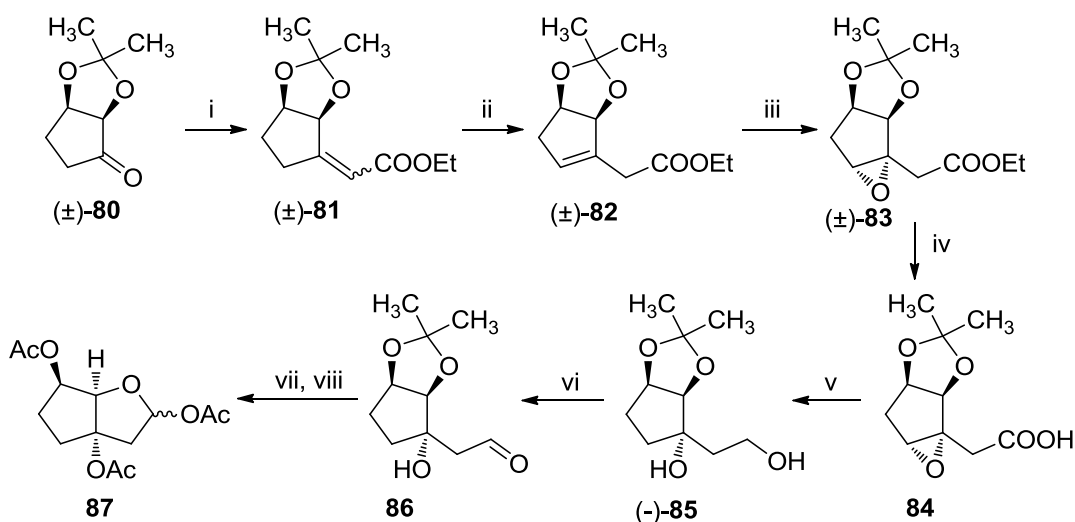
Az LNS oligomerek RNáz H aktivitást kiváltó hatásának hiánya annak tulajdonítható, hogy az LNS konformációs változást okoz a hélix geometriájában. Hajlamosak A-típusú hélix geometriát felvenni, miközben az RNáz H-nak olyan felismerési elemre van szüksége, melynek a barázda szélessége az A-típusú RNS és a B-típusú DNS között van.<sup>55</sup>

Egy oligonukleotid hatékonysága, hogy kiváltsa az RNáz H általi hasítást, összefüggésbe hozható azzal, hogy milyen az affinitása a cél RNS-hez.<sup>56</sup> Az, hogy az  $\alpha$ -L-LNS RNáz H aktivációt tud kiváltani, bebizonyította, hogy a „lakatolt” furanóz konformáció nem összeférhetetlen az RNáz H aktivitással. A dezoxiribonukleotidot utánozza, és így egy  $\alpha$ -L-LNS-RNS hibrid hasonlít egy DNS-RNS duplexre. Ennek következtében egy ilyen hibrid ki tudja váltani az RNáz H hasítást, habár kisebb sebeséggel, mint egy természetes DNS-RNS kettős spirál esetében.<sup>57</sup> További kinetikai vizsgálatokból kiderült, hogy az LNA gapmerek váltják ki legnagyobb hatékonysággal az RNS hasítást.<sup>47</sup>

### **2.3.2. Egyéb bi- és triciklusos nukleozid származékok**

Tarköy és munkatársai a '90-es évek elején kidolgozták egy biciklusos 2'-dezoxiribonukleozid analóg szintézisét abból a célból, hogy a DNS-ben található szénhidrátkomponens konformációját rögzítsék, és így növeljék a biológiai stabilitást.<sup>58</sup>

A szintézis során inkább egy átlagos biciklusos vegyületből indultak ki, nem a természetes 2'-dezoxiribonukleozidokból. Racém **80**-at<sup>59</sup> Wittig-Horner-reakcióban trietilfoszfonoacetáttal reagáltatva **81**  $\alpha,\beta$ -telítetlen észter származék *E/Z*-keverékét állították elő, melyből katalitikus mennyiségű erős bázissal (pl. TBD: 1,5,7-triazabicyclo[4.4.0]dec-5-én vagy DBU: 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-én) kezelve a termodinamikusan stabilabb **82**  $\beta,\gamma$ -izomert nyerték. Ezután *m*-klórperbenzoesavval (*m*CPBA) sztereoselektív reakcióban *exo*-epoxidot (**83**) állították elő. Kis mennyiségben az *endo*-epoxid is keletkezett, de könnyen izolálni tudták oszlopkromatográfiai tisztítás után a két izomert. A (+) és (-) izomereket enzimatis hidrolízis után elválasztották egymástól úgy, hogy sertésmáj hidrolázzal kezelve a (-)-etilészter hidrolízisét érték el, és izolálták a szabad savat (**84**). Az epoxid gyűrűt sztereoselektíven felnyitották, és a karboxil-csoportot primer alkohollá redukálták lítium-alumínium-hidriddel. **85** primer hidroxil-csoportját Dess-Martin-reagenssel formil-csoporttá oxidálták, majd ezután **86**-ot H<sup>+</sup>-ioncserélő gyantával kezelve eltávolították az izopropilidén-védőcsoportot, és pszeudomonoszacharidot képeztek, amiből ecetsavanhidrid segítségével **87** diasztereomerkeverékét állították elő. (14. ábra)

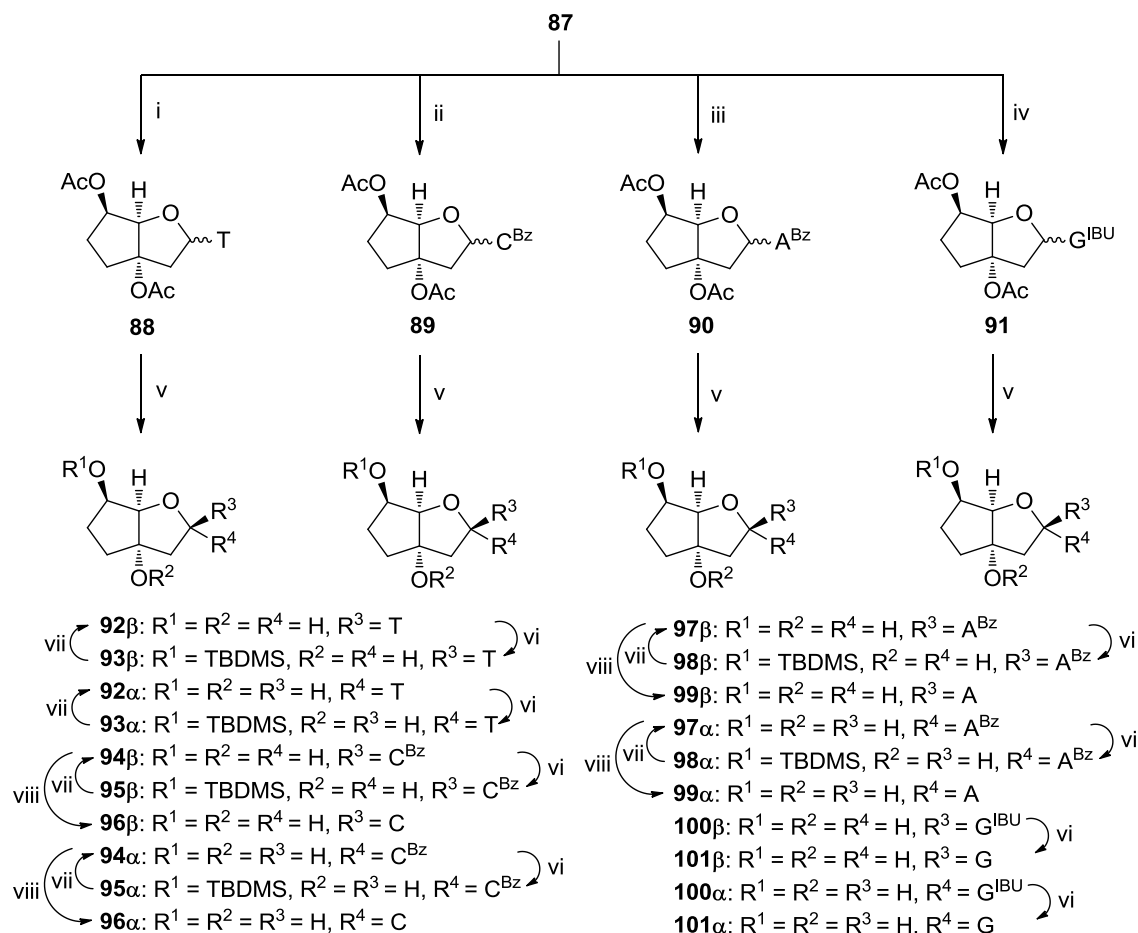


14. ábra Biciklusos pszeudomonoszacharid előállítása

Reakciókörülmények: i) (EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>COOEt, NaH, absz. THF, 0 °C-rt, 1 óra; ii) TBD, absz. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, rt, 24 óra; iii) *m*CPBA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0 °C → rt, 64 óra; iv) sertésmáj észteráz, 0,1 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH = 7,75, rt, 1,5 óra; v) LiAlH<sub>4</sub>, absz. Et<sub>2</sub>O, -30 °C → reflux, 6 óra; vi) Dess-Martin-reagens, absz. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, rt, 1 óra; vii) H<sub>2</sub>O, IR-120(H<sup>+</sup>), 0 °C, 1,5 óra; viii) Ac<sub>2</sub>O, absz. C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>N, DMAP, 0 °C → rt, 3 óra

Módosított Vorbrüggen-reakcióban, szililező reagenseket (HMDS, TMSCl, BSA) és Lewis-savakat (SnCl<sub>4</sub> pirimidin bázisok és TMSOTf purin bázisok esetén) használva, előállították a biciklusos nukleozid származékokat. A szintézis során anomerkeverékek (**88-91**) keletkeztek. NaOH-os kezelés után a guanin származék esetén sikerült

oszlopkromatográfiásan elválasztani az  $\alpha$ - és  $\beta$ -anomereket (**100 $\alpha$** , **100 $\beta$** ). A többi származéknál TBDMS-védőcsoport bevitele után volt erre lehetőségük. Végül a szilil és az amino-védőcsoportok fluoriddal, illetve ammóniával történő eltávolítása után izolálták a biciklusos nukleozid analógok  $\alpha$ - és  $\beta$ -anomerjeit (**92 $\alpha$** , **96 $\alpha$** , **99 $\alpha$** , **92 $\beta$** , **96 $\beta$** , **99 $\beta$** ). (15. ábra)

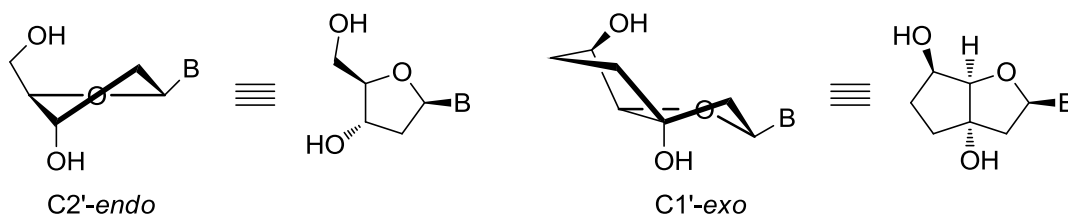


15. ábra Biciklusos nukleozid származékok előállítása

Reakciókörülmények: i) T, HMDS/TMSCl, SnCl<sub>4</sub>, absz. MeCN, 0 °C → 55 °C, 70 perc; ii) C<sup>Bz</sup>, BSA, SnCl<sub>4</sub>, absz. MeCN, rt, 0,8 óra; iii) A<sup>Bz</sup>, BSA, TMSOTf, absz. MeCN, 80 °C, 2 óra → rt, 3 óra; iv) G<sup>IBU</sup>, BSA, TMSOTf, absz. MeCN, rt, 16 óra → 40 °C, 6 óra; v) 0,2 M NaOH, THF:MeOH:H<sub>2</sub>O = 5:4:1, 0-2 °C, 30-75 perc; vi) TBDMSOTf, absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N, 0 °C, 30-45 perc; vii) TBAF·3 H<sub>2</sub>O, 55 °C, 17 óra-17 nap; viii) cc. NH<sub>3</sub>-oldat, 55-60 °C, 2-5 óra

A 2'-dezoxiribonukleozidokban B-DNS esetén a ribofuranózgyűrű C2'-endo konformációjú, azonban ezekben a természetes nukleozidokhoz képest sokkal kevésbé flexibilis biciklusos molekulákban a C1'-exo konformáció a kedvező (16. ábra), amit röntgenkristallográfiával és NMR-mérésekkel derítették fel.

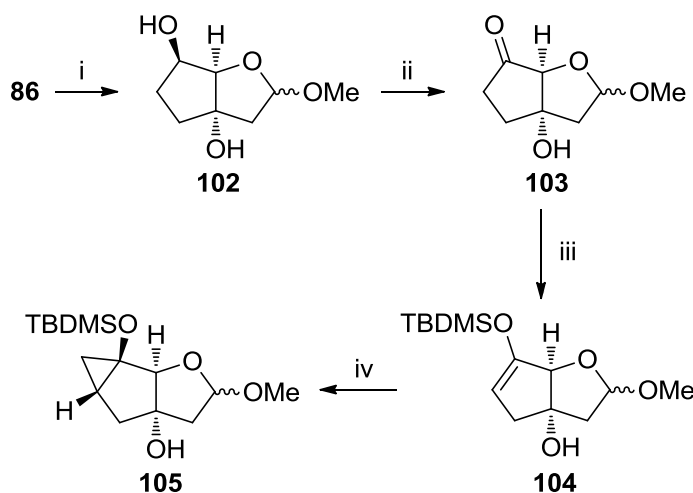




16. ábra 2'-dezoxiribonukleozid és biciklusos analógjának konformációja

*Steffens* és *Leumann* szerint, ha mindkét foszfátészter tercier alkoholból képződne, akkor az sokkal ellenállóbb lenne a nukleázoknak. Továbbá az alkil molekularészlettel kiegészítve a nukleotid származékot, a sejtpemeabilitása is növekedhetne.<sup>60</sup>

*Tarköykék*hez hasonlóan előállították **86**-ot, melyből sav katalizátorral és metanollal **102** metil-pseudoglikozidot képezték. Ezután a szekunder hidroxil-csoportot oxidálták, és **103** ketocsoportját erős bázis segítségével történő enolizáció után szilil-védőcsoporttal látták el. Végül **104** kettős-kötésének ciklopropanálását Simmons-Smith módszerrel<sup>61</sup> hajtották végre. (17. ábra)

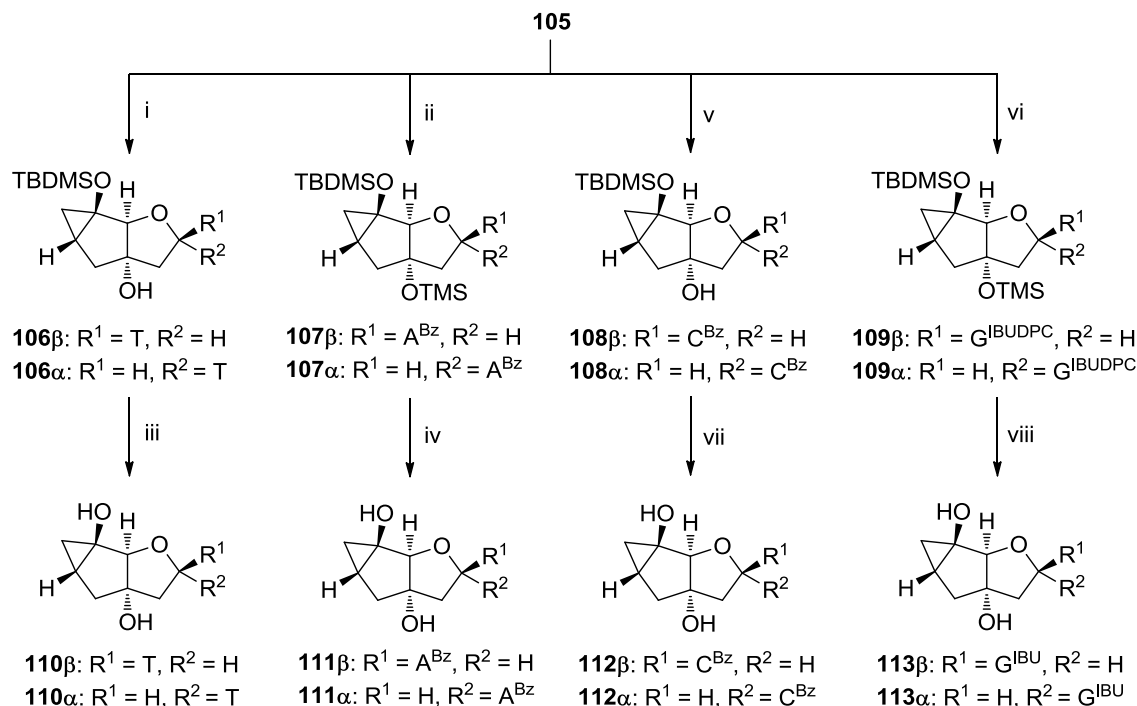


17. ábra Triciklusos pseudomonoszacharid előállítása

Reakciókörülmények: i) Amberlyst 15, MeOH, rt, 18 óra; ii) Dess-Martin-reagens, absz. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, rt, 2 óra; iii) a) LDA, absz. THF, -74 °C, 15 perc, b) TBDMSCl, absz. THF, -74 °C, 2 óra; iv) CH<sub>2</sub>I<sub>2</sub>, Ag-Zn, absz. Et<sub>2</sub>O, 34 °C, 3 óra

A glikozilezési reakciókat Vorbrüggen szerint hajtották végre, TMSOTf-ot használva Lewis-savként, amivel sokkal jobb hozamot és szelektivitást értek el, mint SnCl<sub>4</sub>-ot alkalmazva. Az anomer keverékeket a timin (**106 $\alpha$** , **106 $\beta$** ) és a citozin (**108 $\alpha$** , **108 $\beta$** ) származékok esetében a tercier hidroxil-csoport parciális deszililezése után, az adenin (**107 $\alpha$** , **107 $\beta$** ) és a guanin (**109 $\alpha$** , **109 $\beta$** ) származékok esetében már a glikozilezés után oszlopkromatográfiásan elválasztották. Az  $\alpha$ -anomerekből (**106-109 $\alpha$** ) Vorbrüggen-reakcióval újra anomerkeverék állítható elő, amiből ismét tisztán nyerhető a  $\beta$ -anomer

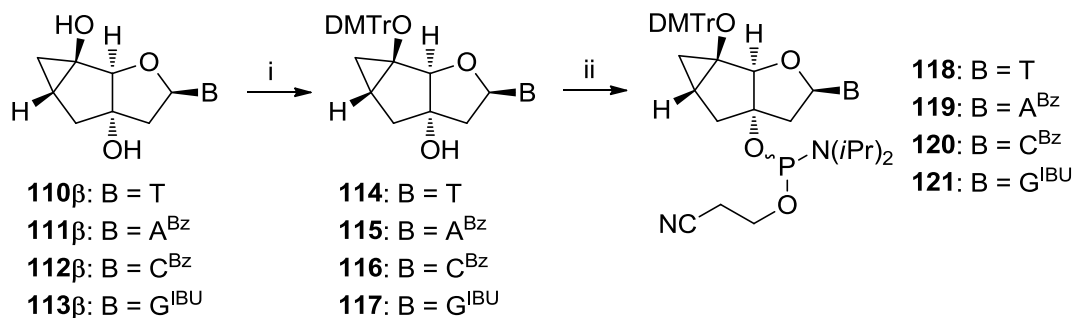
(106-109 $\beta$ ). A guanin származéknál még egy pluszlépést jelentett az *N,N*-difenil-karbamoil-védőcsoport előzetes eltávolítása NaNO<sub>2</sub>-tel. Végül fluoridos kezelés után a TBDMS-védőcsoportot is hasították. (18. ábra) Az izolált termékek anomer-konfigurációját a NOE keresztcsúcsokat kielemezve határozták meg.



18. ábra Triciklusos nukleozid származékok előállítása

Reakciókörülmények: i) a) T, BSA, TMSOTf, absz. MeCN, rt, 17 óra → 81 °C, 6 óra, b) TBAF, THF, rt, 1 perc; ii) A<sup>Bz</sup>, BSA, TMSOTf, absz. Cl(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>Cl, 83 °C, 7 óra; iii) TBAF, THF, rt, 5 óra; iv) TBAF, THF, rt, 4 óra → 50 °C, 1 óra; v) a) C<sup>Bz</sup>, BSA, TMSOTf, absz. MeCN, 0 °C, 1 éjszaka, b) TBAF, THF, rt, 3 perc; vi) G<sup>IBUDPC</sup>, BSA, TMSOTf, absz. MeCN, 50 °C, 3 óra; vii) HF·Et<sub>3</sub>N, THF, 9 h; viii) (a) telített NaNO<sub>2</sub>-oldat, DMSO, 60 °C, 10 h, (b) HF·Et<sub>3</sub>N, THF, 8 h<sup>43,60</sup>

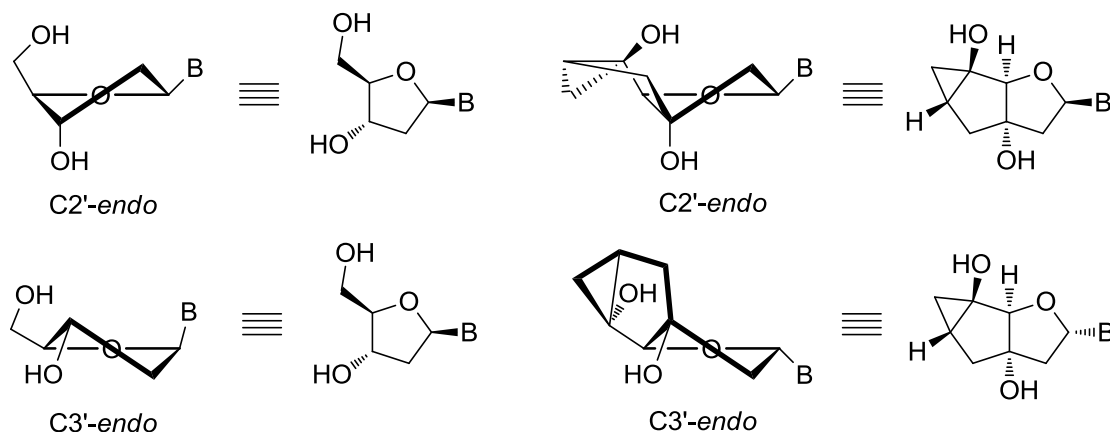
Szilárdfázisú oligonukleotid szintézishez DMTr-védőcsoport bevitelére volt szükség, utána pedig foszforamidit származékokat (118-121) képeztek. (19. ábra) Szelektív dimetoxitritilezést hajtottak végre a szterikusan kevésbé zsúfolt tercier OH-csoporton, amit a NOE-keresztcsúcsok alapján igazoltak. Továbbá a mérésekből azt is megállapították, hogy a ciklopropil molekularészlet *exo* konfigurációjú.



**19. ábra** Triciklusos pszeudomonoszacharid SPOS-hez szükséges építőelemeinek előállítása

Reakciókörülmények: i) DMTrOTf, absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N, rt, 4-12 óra; ii) DIPEA, NC(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OP(Cl)N(*i*-Pr)<sub>2</sub>, absz. MeCN, rt, 1-10 óra<sup>43,60</sup>

Végül röntgenkristallográfiával és molekulamodellezésből nyert adatok alapján határozták meg a triciklusos nukleozid analógok konformációját. A furanóz gyűrűnek megfelelő gyűrű C2'-*endo* konformációt vesz fel a **111β**-nál, és C3'-*endo* konformációt vesz fel a **108α** esetén, ellentétben a hasonló úton előállított biciklusos származékkal, amiből arra következtettek, hogy a ciklopropán gyűrű nagymértékben hatással van a konformációra. (**20. ábra**)



**20. ábra** 2'-dezoxiribonukleozid és triciklusos analógjának konformációja

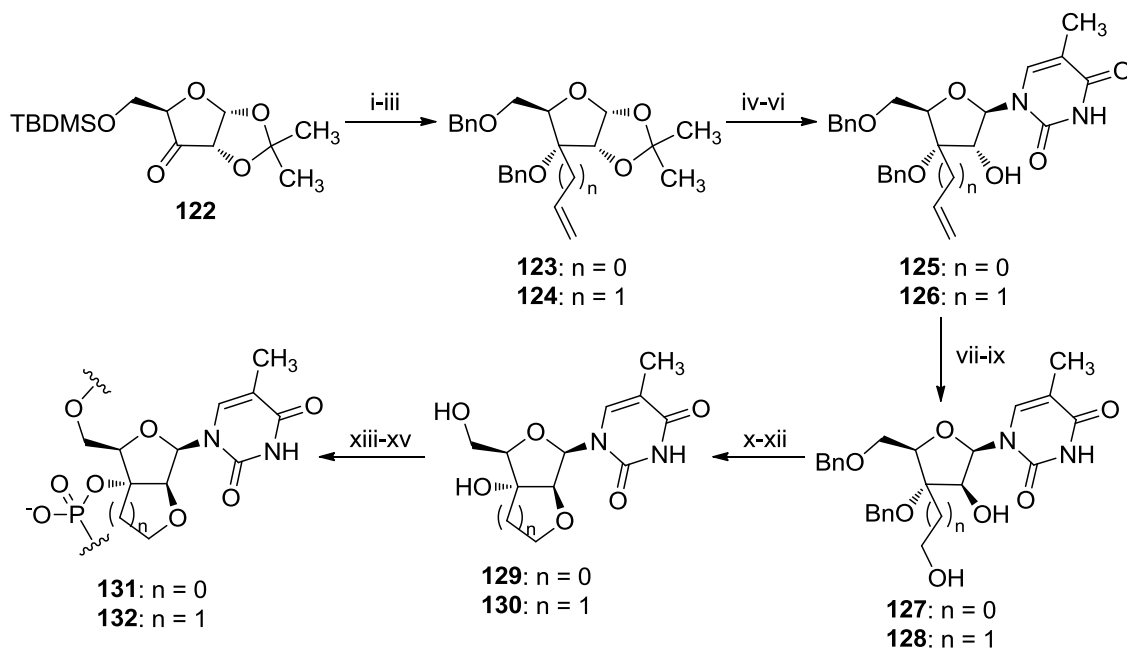
Foszforamidit-kémiát alkalmazva, mind a biciklusos, mind a triciklusos származékok oligomerizálhatóak, így tanulmányozták különböző bi- és triciklusos nukleotidokat tartalmazó oligomerek biológiai tulajdonságait.

A triciklusos DNS analóg duplexek termodinamikailag sokkal stabilabbak voltak, mint a hasonló biciklusos származéké, amit a ciklopropil gyűrű bevitelével magyaráztak. Ezenkívül a biciklusos DNS szál a degradáló exo- és endonukleázoknak szubsztrátja, viszont a triciklusos DNS csaknem teljesen ellenállt a kigyóméreg 3'-exonukleáznak.<sup>62</sup>

Nielsen és munkatársai az ezredfordulón különféle áthidalt nukleozid származékokat szintetizáltak. 2'-O,3'-C-CH<sub>2</sub>-áthidálást és 2'-O,3'-C-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-áthidálást tartalmazó timin

származékokat állítottak elő.<sup>63,64</sup> (**21. ábra**) Védett ulózból (**122**) szelektív Grignard-reakcióval *ribo*-konfigurációjú termékeket állítottak elő, majd eltávolították F<sup>-</sup>-nal a szililvédőcsoportot, és benzil-étereket (**123**, **124**) képeztek a szabad hidroxil-csoportokból. Ezután ecetsavval elhidrolizálták az izopropilidén-védőcsoportot, és acetilezés után módosított Vorbrüggen-reakcióban,<sup>48</sup> timin származékokat szintetizáltak, illetve eltávolították az acetyl-csoportot (**125**, **126**).

Metánszulfonilezéssel és lúgos hidrolízissel inverziót hajtottak végre a 2'-pozícióban, ami *arabino*-konfigurációt eredményezett. A továbbiakban a 3'-hidroximetilén származékot (**127**) a vinil-csoport, 3'-hidroxietilén származékot (**128**) az allil-csoport Lemieux-Johnson oxidációjával,<sup>65</sup> majd redukciójával állították elő. Újabb mezilezés után, NaH jelenlétében nukleofil szubsztitúciós reakcióban alakították ki az intramolekuláris éterkötést. **129** és **130** származékokat a benzil-védőcsoportok katalitikus hidrogénezésével állították elő.



**21. ábra 2'-O,3'-C-CH<sub>2</sub>-, illetve 2'-O,3'-C-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-áthidalást tartalmazó timin származék szintézise**

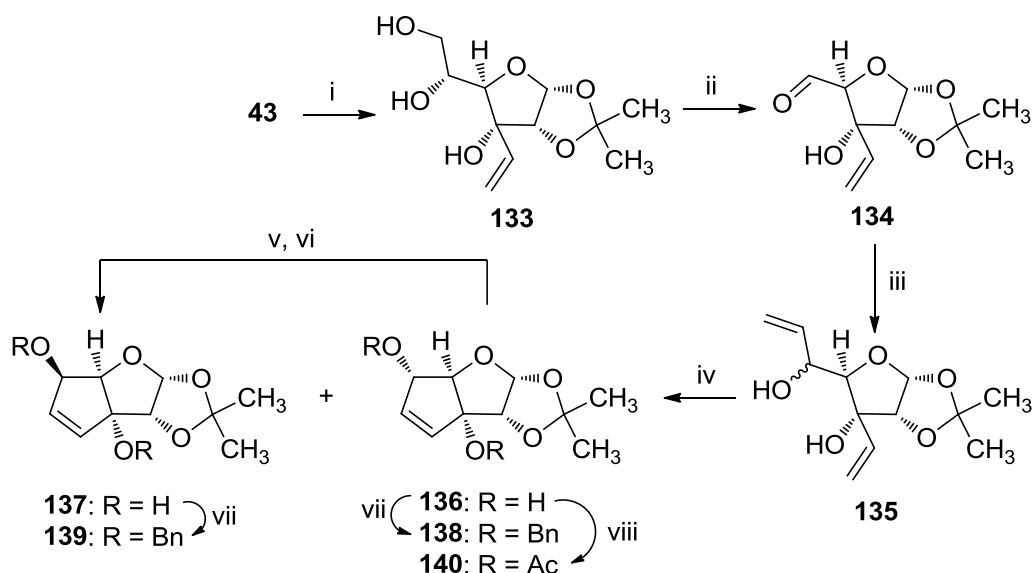
Reakciókörülmények: i) H<sub>2</sub>C=CHMgBr vagy H<sub>2</sub>C=CHCH<sub>2</sub>MgBr, absz. Et<sub>2</sub>O, absz. THF; ii) *n*-Bu<sub>4</sub>NF, THF; iii) BnBr, NaH, absz. DMF; iv) 80% AcOH, majd Ac<sub>2</sub>O, absz. C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>N; v) T, BSA, absz. MeCN, TMSOTf; vi) NaOMe, MeOH; vii) MsCl, absz. C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>N; viii) NaOH, EtOH:H<sub>2</sub>O; ix) NaIO<sub>4</sub>, kat. OsO<sub>4</sub>, THF:H<sub>2</sub>O, majd NaBH<sub>4</sub>, THF:H<sub>2</sub>O; x) MsCl, absz. C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>N; xi) NaH, absz. DMF; xii) H<sub>2</sub>, Pd(OH)<sub>2</sub>/C, EtOH; xiii) DMTrCl, absz. C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>N; xiv) NC(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OP(Cl)N(*i*-Pr)<sub>2</sub>, DIPEA, absz. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; xv) SPOS

Dimetoxitritilezés és foszforamidit származék képzése után szilárdfázisú oligonukleotid szintézissel különböző arányban beépítették timidin tetradekamerekbe, és vizsgálták a tulajdonságaikat a komplementer egyszálú DNS-sel és RNS-sel szemben. A teljesen módosított nukleozidokból álló oligomernél (**132**) jelentős olvadáspont növekedést mértek,

ami azt jelenti, hogy a módosított oligomer és RNS duplex sokkal stabilabb, mint a DNS-RNS duplex. Ezenkívül kígyóméreg foszfodiészterázzal (3'-exonukleáz) szemben is ellenállóbb volt a módosított származék.<sup>63</sup> **131**-nél azonban olvadáspont csökkenést mértek, és egyáltalán nem kötődött a komplementer DNS-szálhoz.<sup>64</sup>

Mindkét típusú biciklusos nukleozidnál az O4'-*endo* (E-típus, keleti típus) konformációt röntgendiffrakcióval,<sup>66</sup> NMR-mérésekkel<sup>67</sup> és molekuladinamikai számításokkal<sup>64</sup> alátámasztották.

3'-C,5'-C-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>- és 3'-C,5'-C-HC=CH-áthidalást tartalmazó timin származék szintézisével is foglalkoztak.<sup>38</sup> (22. ábra) **43**-ból kiindulva az ulózból (**44**) ismét egy szelektív Grignard-reakcióval *allo*-konfigurációjú vegyületet nyertek, majd szelektíven eltávolították az izopropilidén-védőcsoportot (**133**). Metaperjodátos oxidáció után ismét Grignard-reakció következett, ami után a két vinil-csoport gyűrűzárásos metatézis reakciójával, I. generációs Grubbs-katalizátorral kialakították a triciklusos származékot. A reakcióban azonban diasztereomer keveréket (**136**, **137**) kaptak, melyet benzilezés után elválasztottak egymástól és a katalizátor szennyeződéstől is. **137**, **138** és **139** szerkezetét NOE-mérésekkel igazolták, és acetilezés (**140**) után **136**-ét is. **136**-ot Luche körülmények<sup>68</sup> között átalakították **137** származékká, így a későbbiekben csak ezzel a származékkal végezték a további transzformációkat.



22. ábra 3'-C,5'-C-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>- és 3'-C,5'-C-HC=CH-áthidalást tartalmazó timin származék szintézise I.

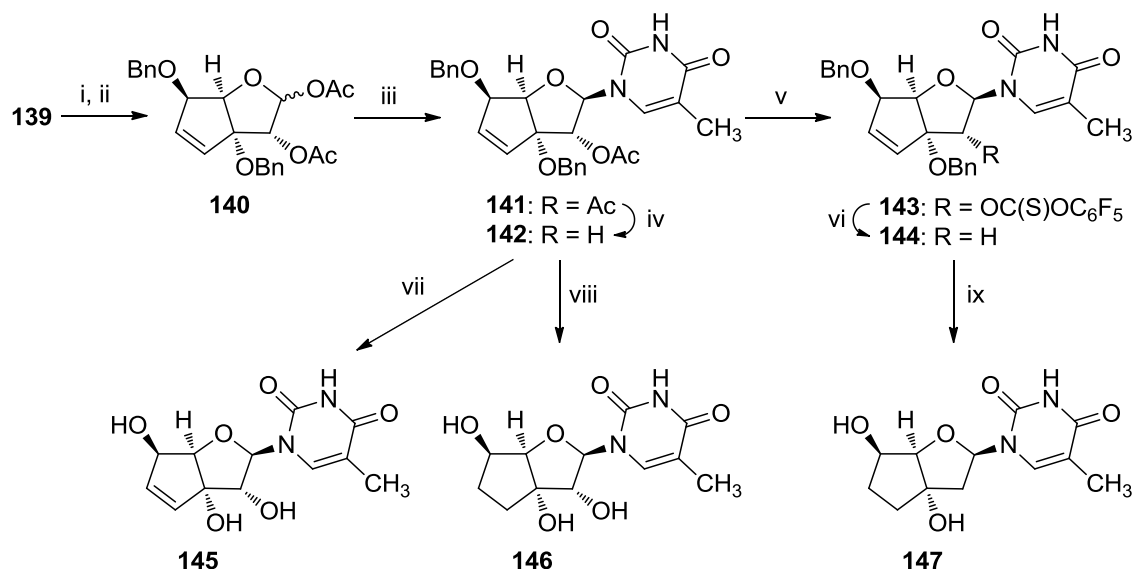
Reakciókörülmények: i) a) CrO<sub>3</sub>, Ac<sub>2</sub>O, absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N, absz. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, b) H<sub>2</sub>C=CHMgBr, absz. Et<sub>2</sub>O, absz.

THF, c) 80% AcOH; ii) NaIO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O:MeOH; iii) H<sub>2</sub>C=CHMgBr, absz. THF; iv) I. generációs Grubbs

katalizátor, absz. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; v) PCC, absz. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; vi) NaBH<sub>4</sub>, CeCl<sub>3</sub>·7 H<sub>2</sub>O, MeOH; vii) BnBr, NaH, absz.

DMF; viii) Ac<sub>2</sub>O, absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N<sup>38</sup>

**139** izopropilidén-csoportjának eltávolítása és acetilezés után, **140**-nel módosított Vorbrüggen-reakcióban<sup>48</sup> timint glikozileztek, majd **141**-ből dezacetilezés után **142**-t szelektíven debenzilezve **145**, illetve katalitikusan hidrogénezve **146** ribotimidin származékokat szintetizáltak. **142**-ből **143**-on keresztül gyökös dezoxigénezéssel **144**, majd katalitikus hidrogénezéssel **147** timidin analógokat állították elő. (23. ábra)

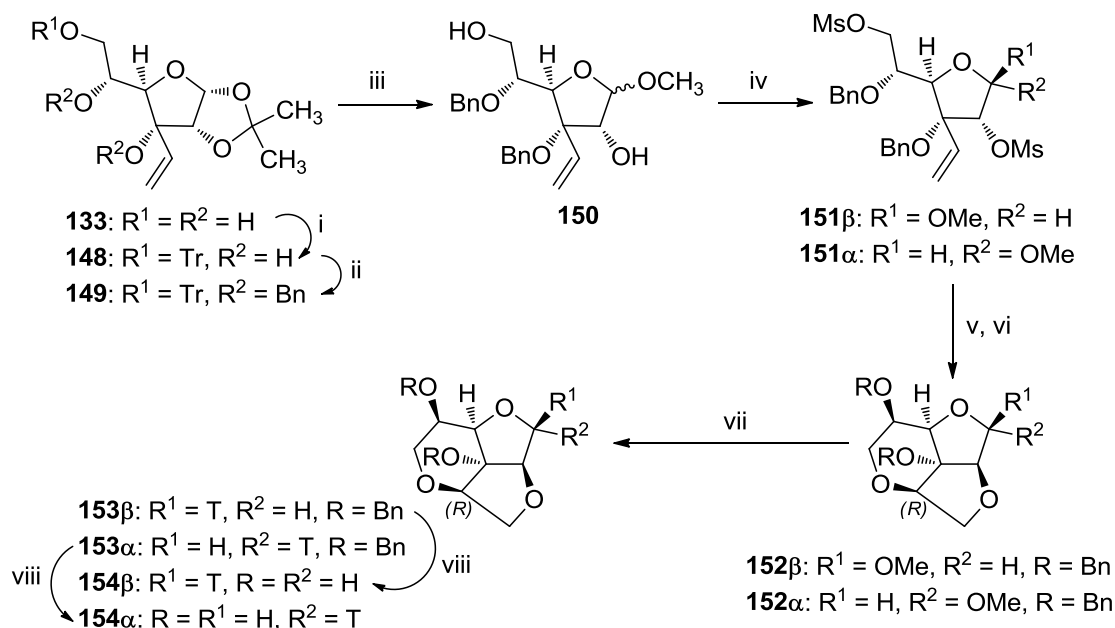


**23. ábra** 3'-C,5'-C-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>- és 3'-C,5'-C-HC=CH-áthidalást tartalmazó timin származék szintézise II.

Reakciókörülmények: i) 80% AcOH; ii) Ac<sub>2</sub>O, absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N; iii) T, BSA, TMSOTf, absz. MeCN; iv) NaOMe, MeOH; v) F<sub>5</sub>C<sub>6</sub>OC(S)Cl, DMAP, absz. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; vi) AIBN, Bu<sub>3</sub>SnH, absz. PhH; vii) BCl<sub>3</sub>, hexán, absz. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; viii) H<sub>2</sub>, Pd(OH)<sub>2</sub>/C, MeOH; ix) H<sub>2</sub>, Pd(OH)<sub>2</sub>/C, ciklohexa-1,4-dién, MeOH<sup>38</sup>

Nielsen és munkatársai a továbbiakban egy igen érdekes triciklusos analógot is előállítottak.<sup>69</sup> (24. ábra) **43**-ből kiindulva **133**-at szintetizálták, melynek primer OH-csoportját először tritilezték (**148**), majd a két szabad hidroxil-csoportból benzil-étert (**149**) képeztek. Ezután ecetsavval eltávolították a tritil-, illetve az izopropilidén-védőcsoportokat, és közben metil-glikozidot (**150**) képeztek. A következő lépésben dimetánszulfonátot állítottak elő, és kromatográfia során sikerült a két anomert (**151a**, **151b**) elválasztaniuk egymástól. A vinil-csoport dihidroxilálása OsO<sub>4</sub> és *N*-metilmorfolin-*N*-oxid segítségével egy nagyon bonyolult keveréket eredményezett, amiből aztán feltehetően szterikus okok miatt, **152a** és **152b** triciklusos származékokat állították elő külön-külön, nukleofil szubsztitúciós reakcióban NaH jelenlétében. A két tiszta anomerból módosított Vorbrüggen-reakcióban timint glikozilezve azonban ismét keverékek (**153a**, **153b**) képződtek. A benzil-csoport eltávolítása után sikerült kromatográfiásan elválasztaniuk a két anomert (**154a**, **154b**), és megállapították, hogy a **154b** a főtermék. Molekulamodellezéssel és NMR-mérésekkel (NOE alapján) sikeresen megállapították a

vegyület abszolút konfigurációját. A ribofuranóz-gyűrű  $O4'$ -endo konformációjú, amit ebben az esetben azzal magyaráztak, hogy a 2',3'-helyzetben tetrahidrofuránnal kondenzált gyűrű boríték konformációt vesz fel.



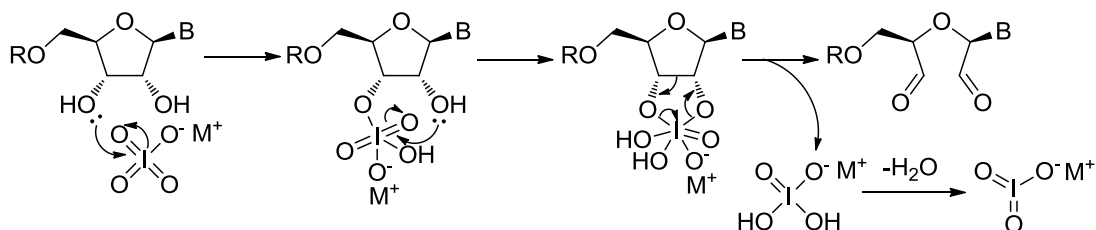
**24. ábra** Triciklusos timin származék szintézise

Reakciókörülmények: i)  $TrCl$ , absz.  $C_5H_5N$ ; ii)  $BnBr$ ,  $NaH$ , absz.  $DMF$ ; iii) 20%  $HCl$ -oldat,  $MeOH$ ; iv)  $MsCl$ , absz.  $C_5H_5N$ ; v)  $OsO_4$ ,  $N$ -metilmorfolin- $N$ -oxid,  $C_5H_5N:H_2O:t-BuOH$ ; vi)  $NaH$ , absz.  $DMF$ ; vii)  $T$ ,  $BSA$ ,  $TMSOTf$ , absz.  $MeCN$ ; viii)  $H_2$ ,  $Pd(OH)_2/C$ ,  $EtOH$

## 2.4. Morfolinó nukleozid származékok

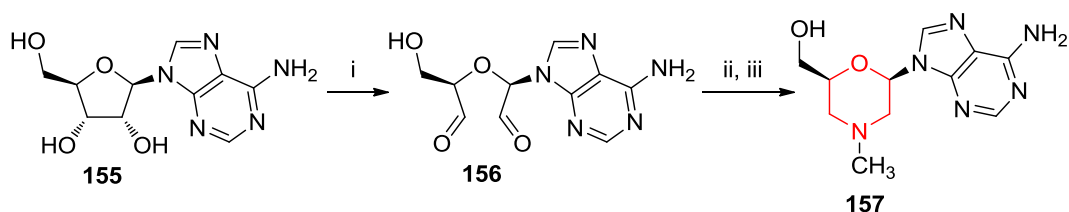
### 2.4.1. Szintézis

A ribonukleozidok kémiai átalakításánál gyakran használják a 2' és 3' hidroxil-csoport metaperjodátos oxidációját. A metaperjodát anion vicinális diolokat szén-szén kötés felhasadása mellett szekodialhidekké képes oxidálni. (25. ábra)



**25. ábra** Ribonukleozidok metaperjodátos oxidációjának mechanizmusa

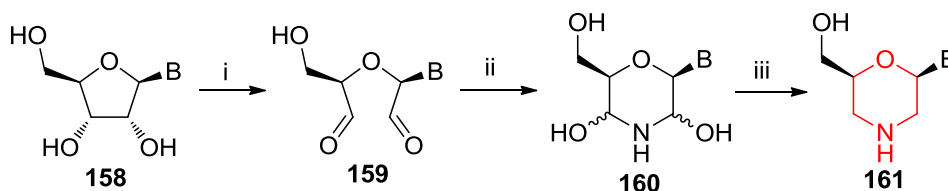
*Khym*,<sup>70</sup> illetve később *Read* és *Brown*<sup>71</sup> egy kétlépéses eljárást dolgozott ki adenzinből (155) morfolinó származék előállítására. Metaperjodátos oxidáció után a keletkező szekodialdehydet (156) metil-aminnal reagáltatva és redukzív körülményeket alkalmazva előállítottak egy  $N$ -4'-metil-morfolinó származékot (157). (26. ábra)



26. ábra Első morfolinó előállítása

Reakciókörülmények: i) NaIO<sub>4</sub>; ii) H<sub>3</sub>CNH<sub>2</sub>; iii) Ra-Ni, H<sub>2</sub>

A 20. század végén *Stirchak*, *Summerton* és *Weller* olyan oligonukleotid származék szintéziséről írtak, melyben a furanóz egységet és a foszfátészter gerincet is módosították.<sup>72</sup> A ribofuranóz tetrahydrofuran gyűrűjét morfolin gyűrűvel helyettesítették, és olyan származékot állítottak elő, melyet a primer OH-csoportjánál és a morfolin NH-csoportjánál különböző kötésekkel keresztül oligomerizálni lehet. A megfelelő ribonukleozid (158) metaperjodátos oxidációja után ammónium-tetraborátot alkalmazva, szekodialdehid (159) és biszhemiaminál (160) intermediereken keresztül, redukív aminálással alakították ki a morfolin gyűrűs származékot (161). (27. ábra)

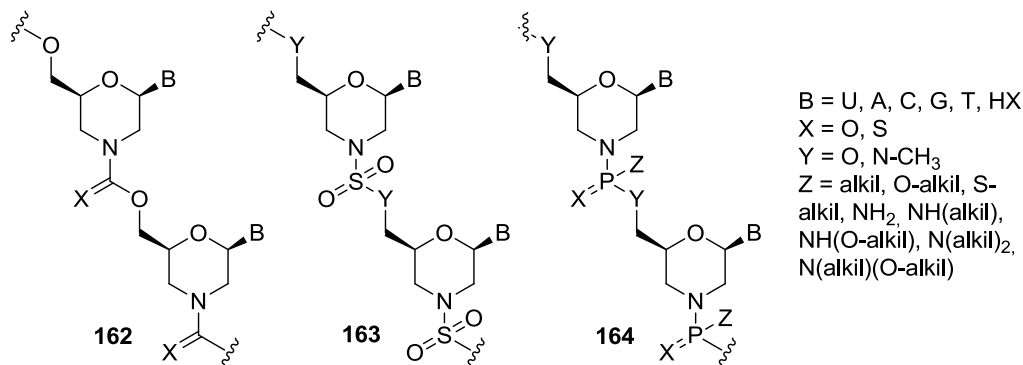


158-161: B = U, C<sup>Bz</sup>, A<sup>Bz</sup>, G<sup>PA</sup>

27. ábra Morfolinó szintézise

Reakciókörülmények: i) NaIO<sub>4</sub>; ii) (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>; iii) NaCNBH<sub>3</sub>

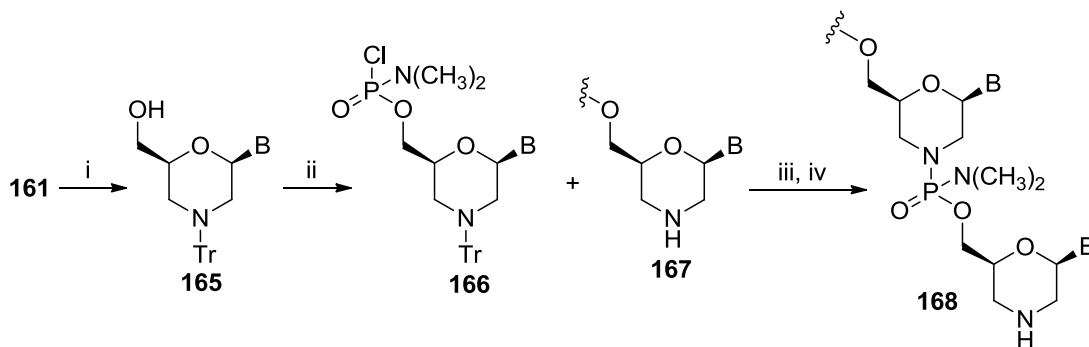
Többféle összekötőláncot [karbonil (162), szulfonil (163), foszforil (164)] (28. ábra) is kipróbáltak, de végül figyelembe véve a célszekvenciához való kötődést, a szintézis költségét, illetve egyszerűségét, a kémiai stabilitást, a vízdékonyságot és az RNS-hez való affinitását, a foszforodiamidát-kötést választották alapul a morfolinók oligomerizációjához.<sup>73</sup>



28. ábra Morfolinók összekötőláncai



A morfolinók oligomerizációjához először szükség van a szekunder amin védelmére, ezt tritil-csoporttal valósították meg (**165**). Következő lépésben aktiválták a monomert *N,N*-dimetilfoszforamid-diklórriddal (**166**), és utána kapcsolták egy másik monomerrel, melyet előtte szilárd hordozóhoz rögzítettek (**167**). Megfelelő számú ciklus után savas kezeléssel eltávolították az utolsó monomer tritil-védőcsoportját (**168**), majd lehasították a hordozóról. (**29. ábra**) Az így előállított oligomereket foszforodiamidát morfolinó oligomerek (PMO: phosphorodiamidate morpholino oligomer) nevezzük.



**29. ábra Morfolinó oligomerizációs reakciója**

Reakciókörülmények: i) TrCl, Et<sub>3</sub>N, absz. DMF; ii) Cl<sub>2</sub>(O)PN(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, *N*-etilmorfolin, *N*-metilimidazol, absz. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; iii) Et<sub>3</sub>N, absz. DMF; iv) 2% AcOH, F<sub>3</sub>CCH<sub>2</sub>OH<sup>75</sup>

#### 2.4.2. Biológiai tulajdonságok

Ahhoz, hogy biológiai hatást válthasson ki a morfolinó oligomer a sejtben, elengedhetetlenül szükséges, hogy vízdékony legyen. A vízdékonyságot a foszfodiészterrel összekötött nukleinsavak esetében az anionos gerinc biztosítja. A morfolinó oligomerek azonban nemionos gerinccel rendelkeznek. A jó vízdékonyságot a foszforodiamidát-kötés alkalmazásával tudták elérni.<sup>73</sup>

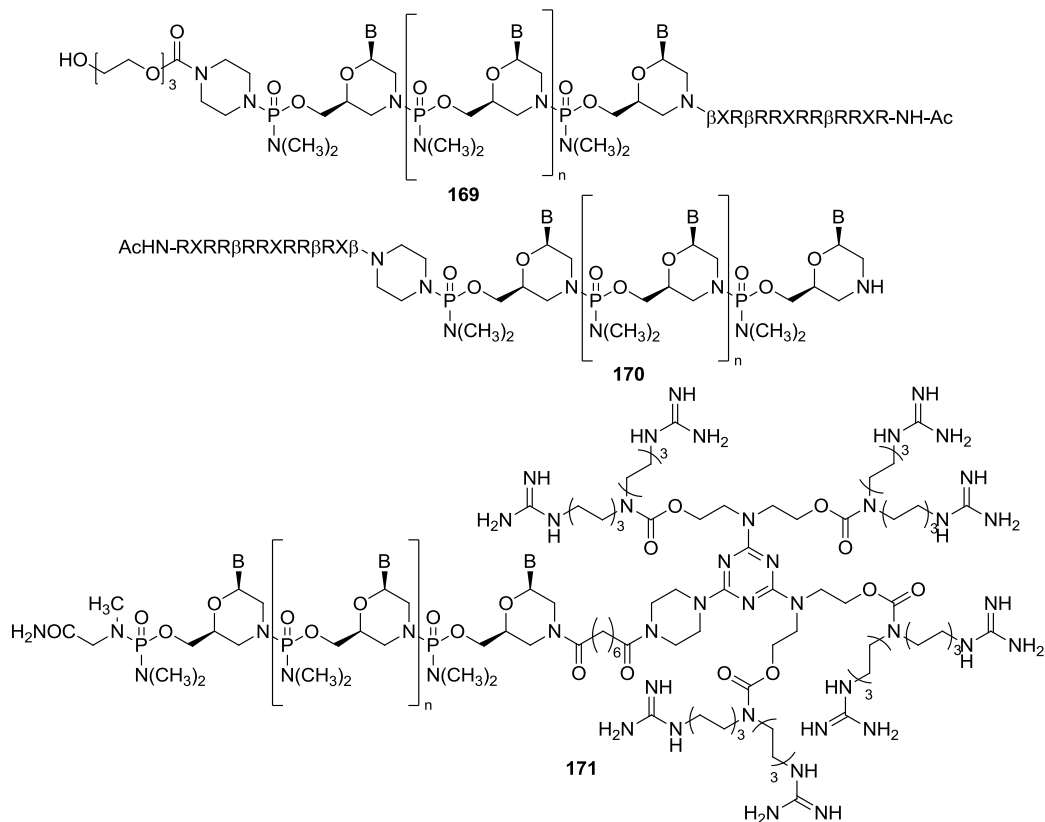
Nagyon fontos szempont, hogy a biológiai környezetben stabil legyen. A PMO-k kölcsönhatásait megvizsgálták számos bontó enzimmel: ellenállónak bizonyultak DNáz I (egyszálú és kétszálú DNS-t hasító endonukleáz), DNáz II (az 5' oxigén és a foszfor között hasítja a DNS-t), RNáz A (a pirimidinek 3' oldalán hasít), RNáz T1 (a guanin 3' oldalán hasít), nukleáz P1 (az egyszálú RNS-t és DNS-t hasítja), foszfodiészteráz (RNS és DNS 3' exonukleáz), mungóbab nukleáz (az egyszálú RNS-t és DNS-t hasítja) és benzonáz (az egyszálú és kétszálú, lineáris, cirkuláris és szuperhélix RNS-t, illetve DNS-t hasítja) enzimekkel szemben. Továbbá immunisak voltak pronáz E-re, proteináz K-ra és sertésmáj észterázra, illetve a szérum és máj homogenizátum degradáló enzimjeire.<sup>73</sup>

*In vitro* vizsgálva morfolinó antiszensz oligomert, rágszáló TNF- $\alpha$  mRNS-ét célozva, annak ellenére, hogy kevésbé jutott be a sejtbe, nagy aktivitást mutatott,<sup>75</sup> nagy

hatékonysággal és specificitással kötődött. A biztató eredmények után *in vivo* kísérletben megvizsgálták a toxicitását egy 20 tagú oligomernek. Az alkalmazott dózis nem okozott jelentős toxicitást, azonban egy hosszabb, kéthetes időszak után testsúlygyarapodást és nyugtalanságot váltott ki.<sup>73</sup>

3'-végen szensz, illetve antiszensz siRNS-be morfolinót beépítve hatásos és szérum exonukleázokkal szemben rendkívül stabil oligomert állítottak elő. Az eredmények alapján a morfolinó tartalmú siRNS további felhasználást képezhet a génterápiában.<sup>76</sup>

A PMO-k szintén endocitózissal jutnak be a sejtbe, de nagyon alacsony az aktivitásuk, mert habár az endoszómákban nem bomlanak le,<sup>77</sup> csapdába esnek, és nem jutnak ki onnan, vagy csak nagyon kismértékben. A probléma megoldására a *Gene Tools* és a *Sarepta Therapeutics* (korábban: *AVI BioPharma*) olyan morfolinó-peptid konjugátumokat állítottak elő, amelyek képesek a sejtpenetrációra.<sup>78</sup> Utóbbi egy 3'-, (**169**) illetve 5'-helyzetben (**170**) arginin tartalmú oligopeptidet tartalmazó morfolinót állított elő, melyet elneveztek PPMO-nak. Két előnye van az alap morfolinóval szemben: az oligopeptid molekularészlet serkenti az endoszómába való felvételét és a kiszabadulását.<sup>79</sup> A *Gene Tools* úgynevezett Vivo-Morpholino-ja (**171**) egy a 3'-helyzetben oktaguanidin-dendrimert tartalmazó morfolinó származék.<sup>80</sup> (**30. ábra**)



**30. ábra PPMO-k és Vivo-Morpholino**

R = arginin, X = 6-aminohexánsav, β = β-alanin, B = nukleobázis

Genetikai betegségek kezelésében is ígéretesnek tűnik a morfolinók használata. A Duchenne-féle izomsorvadás veleszületett, örökletes betegség, melyet az emberi disztrófin kódoló gén mutációja vagy hiánya okozza. Nagyon súlyos betegség, ami fizikai és mentális leépüléssel is jár.<sup>81</sup> Egy lehetséges kezelési mód lenne sztérikusan gátló oligomerek használata, amely megváltoztatná a splicing menetét, mellőzné az exonokat, hogy eltávolítsák a korai stop kodonokat, vagy javítaná a framshift mutációk miatt eltolódott olvasást. Számos Duchenne-féle izomdisztrófiában szenvedő egér modellt kifejlesztettek, amik közül az első és a legnépszerűbb az *mdx* egér, amely egy korai stop kodont tartalmaz a 23-as exonban. Módosítatlan antiszensz morfolinó alkalmazása ennek a betegségnek a kezelésére jelenleg klinikai kipróbálás alatt van, azonban ez a típusú oligomer nem jut be a szívbe hatásos koncentrációban, és nincs hatással a disztrófin splicingra.<sup>78</sup> Néhány splicingot módosító PMO a disztrófin módosított formáinak expresszióját indukálta egerekben, kutyákban és emberekben.<sup>82</sup>

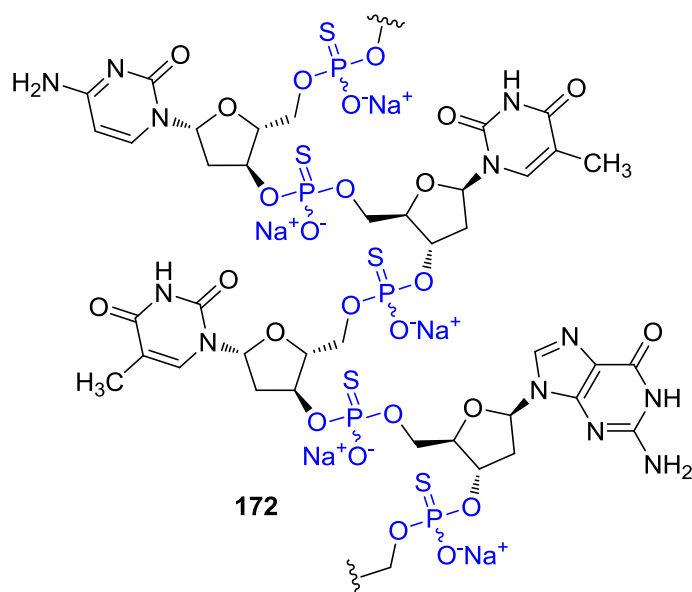
Ezenkívül bizonyos morfolinó oligomer a *c-myc* génre hatva a vaszkuláris endoteliális sejtek proliferációját is gátolja, amely különben resztenóziát okozhat.<sup>78</sup>

Mindezek mellett egyes fertőző betegségek kezelésében is jelentős eredményeket értek el morfolinó oligomerek alkalmazásával. Állatkísérletes vizsgálatokban dengue-vírus, Zaire Ebola-vírus és influenzavírus ellen igen jó aktivitást mutattak, gátolták a vírusok replikációját.<sup>78</sup>

## **2.5. Módosított oligonukleotid származékok a terápiában**

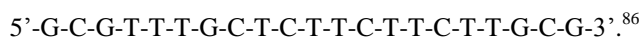
Az első módosított oligonukleotid gyógyszerhatóanyag a fomivirsin (Vitravene<sup>®</sup>) (**172**) (**31. ábra**) volt, melyet a *National Institutes of Health* fedezett fel és eleinte az *ISIS Pharmaceuticals* engedélyeztetett és fejlesztett ki, később pedig a *Novartis* forgalmazta.<sup>83</sup>

**172**-t az AIDS-betegek CMV felülfertőzés okozta retinitiszére alkalmazták intravitreális injekció formájában.<sup>84</sup> Olyan antiszensz oligodezoxinukleotid származék, melyben a foszfátdiészter gerincet foszforotioát helyettesíti, aminek következtében ellenállóbb az enzimatis bontásnak. A virális mRNS transzlációját gátolja úgy, hogy a transzkripció során keletkező mRNS-hez komplementerként kötődik.<sup>84</sup> 1998-ban hagyta jóvá az FDA,<sup>84</sup> de a *Novartis* felfüggesztette a forgalmazását 2002-ben az Európai Unióban.<sup>85</sup>

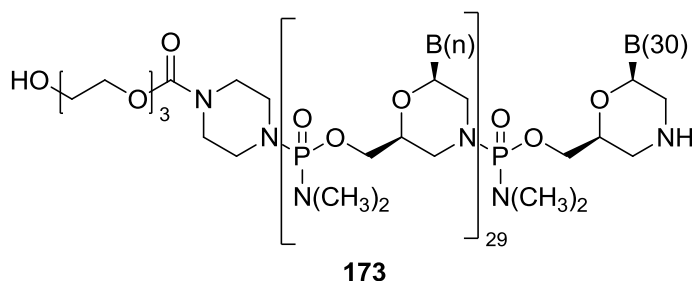


31. ábra Fomivirsen szerkezetének részlete

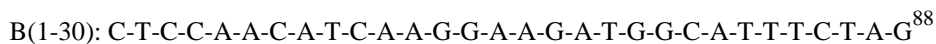
Késsel jelölve a nátrium-foszfotioát molekularészlet. A teljes szerkezetét csak a bázissorrenddel jelölöm:



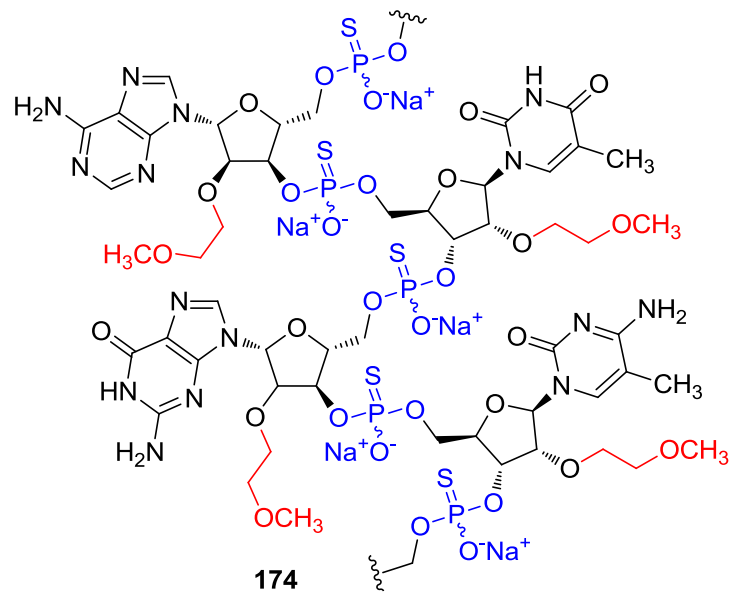
A korábban említett Duchenne-féle izomsorvadás terápiájára 2016 szeptemberében az FDA gyorsított eljárásban elfogadta az eteplirsen (Exondys 51<sup>®</sup>) (173) (32. ábra) nevű, a Sarepta Therapeutics (korábban: AVI BioPharma) által előállított antiszensz PMO származékot.<sup>87</sup>



32. ábra Az Eteplirsen szerkezete



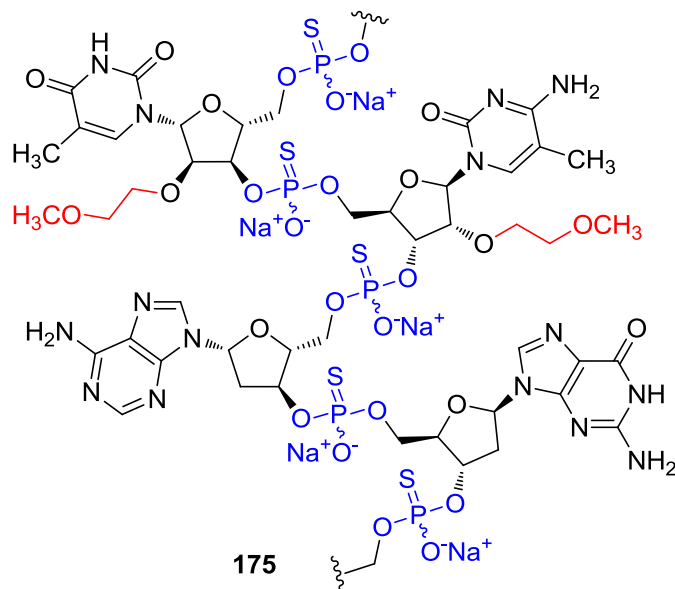
Szintén egy öröklött betegség a spinális izomatrófia, amely a gerincvelőben található mozgató idegsejtek elsorvadását eredményezi.<sup>89</sup> 2004-ben megindult a kezelésére egy antiszensz terápia kifejlesztése, és a következő években egy antiszensz oligonukleotidot fejlesztett ki az Ionis Pharmaceuticals licencszerződésben a Biogen-nel. A vegyület nusinersennek (Spinraza<sup>®</sup>) (174) (33. ábra) nevezték el, melyet 2016 decemberében az FDA jóváhagyott e betegség kezelésére.<sup>89</sup> Szintén foszfotioát származék, viszont nem DNS, hanem RNS analóg, melyben a 2'-hidroxil-csoportból 2-metoxietil-étert képeztek. Ráadásul egy nem természetes nukleinsavalkotó bázist (5-metilcitozint) is tartalmaz.



**33. ábra A nusinersen szerkezetének részlete**

Kékkel a nátrium-foszforotioát és pirossal a metoxietil molekularészletek vannak megjelölve. A teljes szerkezetét csak a bázissorrenddel jelölöm: 5'-T-mC-A-mC-T-T-T-mC-A-T-A-A-T-G-mC-T-G-G-3'.<sup>90</sup>

2013 januárjában az FDA engedélyezte a mipomersen (**175**) (**34. ábra**) nevű antiszensz oligonukleotid származékot. Kynamro<sup>®</sup> néven került forgalomba, homozigóta familiáris hiperkoleszterinémia kezelésére alkalmaznak.<sup>91</sup>



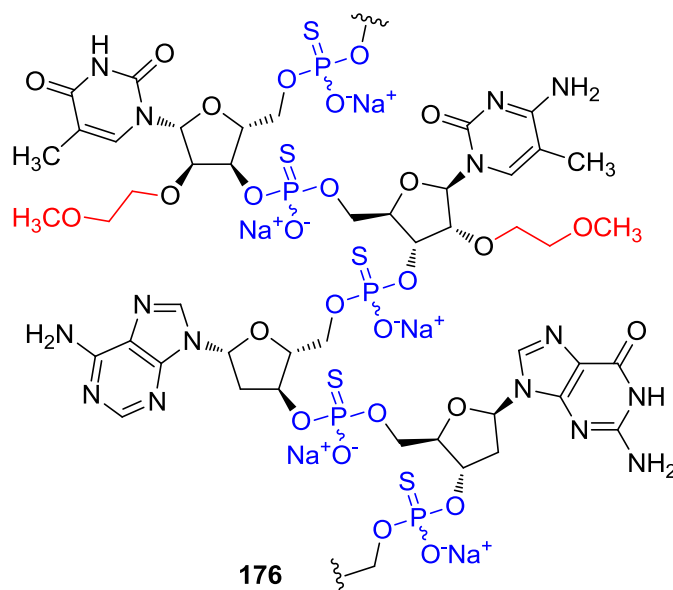
**34. ábra A mipomersen szerkezetének részlete**

Kékkel a nátrium-foszforotioát és pirossal a metoxietil molekularészletek vannak megjelölve. A teljes szerkezetét csak a bázissorrenddel jelölöm: 5'-G\*-mC\*-mC\*-T\*-mC\*-dA-dG-dT-dmC-dT-dG-dmC-dT-dT-dmC-G\*-mC\*-A\*-mC\*-mC\*-3'; \* = 2'-O-(2-metoxietil), m = 5-metil, d = 2'-dezoxi.<sup>93</sup>

Az apolipoprotein B-100-at kódoló mRNS-hez kötődik, aminek következtében ribonukleáz H aktivációt vált ki, így elmarad a transzláció és a fehérjeszintézis. Mivel ez a fehérje a

főkomponense az LDL-nek és a VLDL-nek, így azok szintje csökkeni fog.<sup>92</sup> Szerkezete hasonló a nusinersenhez, de 2'-dezoxiribofuranóz szénhidrátégséget is tartalmaz.

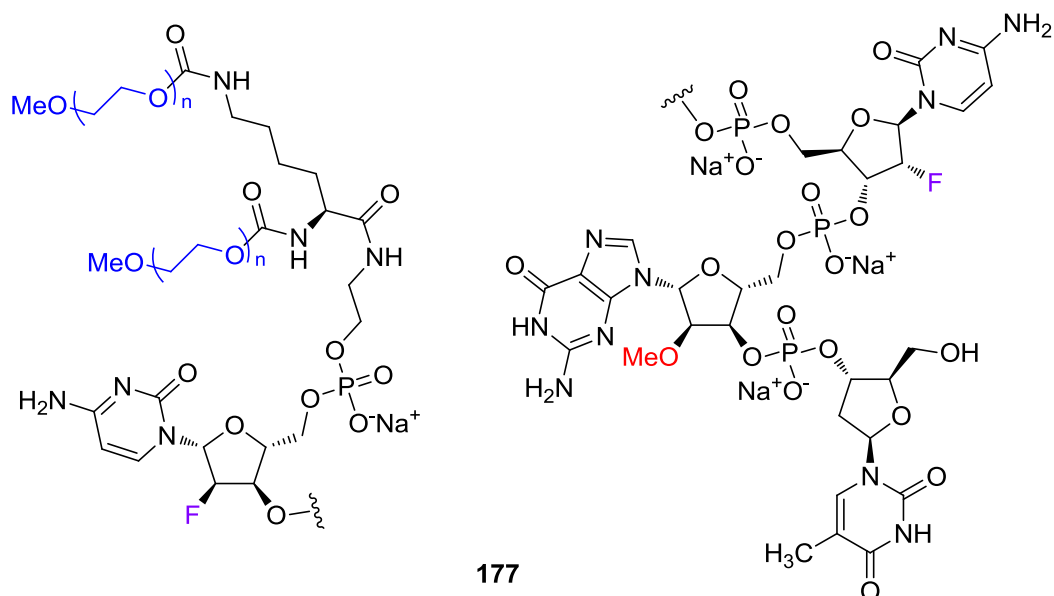
Habár még nincs forgalomban, de ígéretes szernek nyilvánult klinikai III. fázisban (2016. december) hipertrigliceridémia, familiáris kilomikronémia szindróma és familiáris részleges lipodisztrófia kezelésére a volanesorsen (176) (35. ábra). Az *Ionis Pharmaceuticals* (korábban *ISIS Pharmaceuticals*) fejlesztette ki a kémiaailag a mipomersenhez hasonló szerkezetű oligomert. A koleszterinszintet csökkenti, méghozzá úgy, hogy az apolipoprotein C3 (apo-CIII) mRNS-ének antiszensz szálaként gátolja a transzlációt.<sup>94</sup>



35. ábra A volanesorsen szerkezetének részlete

Késsel a nátrium-foszforotioát és pirossal a metoxietil molekularészletek vannak megjelölve. A teljes szerkezetét csak a bázissorrenddel jelölöm: 5'-T\*-A\*-T\*-T\*-T\*-dmC-dG-dA-dmC-dmC-dT-dG-dT-dT-dmC-T\*-T\*-mC\*-G\*-A\*-3'; \* = 2'-O-(2-metoxietil), m = 5-metil, d = 2'-dezoxi.<sup>95</sup>

Nem antiszenszként fejt ki hatását, de szintén oligonukleotid származék a pegaptanib (Macugen<sup>®</sup>) (177) (36. ábra). Hatását a VEGF antagonizálásával fejt ki, aptamerként kötődik hozzá.<sup>96</sup> 2004 decemberében hagyta jóvá az FDA időskori makuladegeneráció (AMD) terápiájára,<sup>97</sup> és a *Pfizer* a forgalmazója. RNS analóg molekula, amely 2'-helyzetben hidroxil-, metoxi- vagy fluor-szubsztituenst tartalmazó nukleozidokból áll, és 5'-helyzetben összekötőláncon keresztül egy metoxipegilált lizint tartalmaz, illetve a 3'-végen egy 3'-3'-foszfodiészter kötésű timidint.

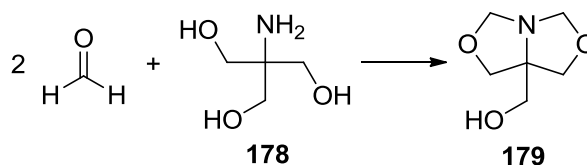


36. ábra A pegaptanib szerkezetének részlete

Kékkel a metoxi-PEG, lilával a fluor és pirossal a metoxi molekularészletek vannak megjelölve,  $n \approx 900$ . A teljes szerkezetét csak a bázissorrenddel jelölöm: 5'-dFC-G\*-G\*-A-A-dFU-dFC-A\*-G\*-dFU-G\*-A\*-A\*-dFU-G\*-dFC-dFU-dFU-A\*-dFU-A\*-dFC-A\*-dFU-dFC-dFC-G\*-3'-3'dT; \* = 2'-*O*-metil, d = 2'-dezoxi, F = 2'-fluor.<sup>98</sup>

## 2.6. Trisz-(hidroximetil)-amino-metán reakciója különböző aldehid és keton származékokkal<sup>99</sup>

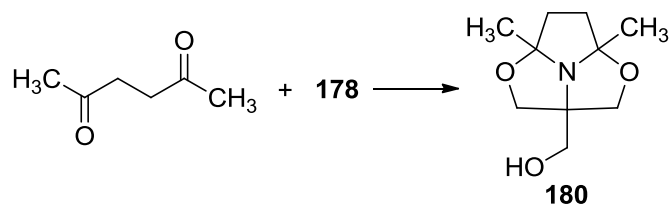
Senkus már 1945-ben előállított a trisz (178) és formaldehid 1:2 arányú kondenzációs reakciójával egy biciklusos származékot, az 5-hidroximetil-3,7-dioxa-1-azabiciklo-[3.3.0]oktánt (179). A vízelvonást és így az egyensúlyi reakció eltolását Dean-Stark készülékkel biztosították.<sup>100</sup> (37. ábra)



37. ábra Formaldehid és trisz kondenzációs reakciója

Reakciókörülmények: PhH, reflux

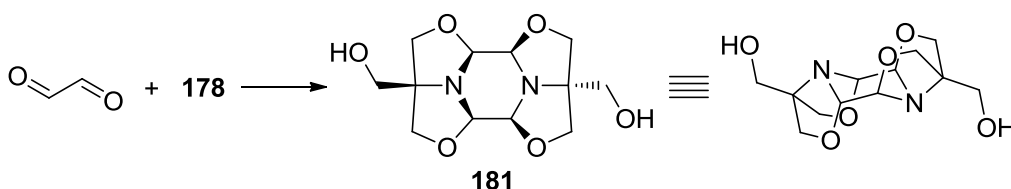
Harminc évvel később *Broadbent* és munkatársai<sup>101</sup> már triciklusos származékok előállításával foglalkoztak. (38. ábra) Szintén Dean-Stark készüléket alkalmazva trisz és hexán-2,5-dion (1:1 arány) toluolban, ecetsav katalizálta reakcióban 63%-os hozammal előállították az 1,7-dimetil-4-hidroximetil-2,6-dioxa-10-azatriciklo-[5.2.1.0<sup>4,10</sup>]dekánt (180).



**38. ábra Hexán-2,5-dion és trisz kondenzációs reakciója**

Reakciókörülmények: AcOH, PhMe, reflux, 8 óra

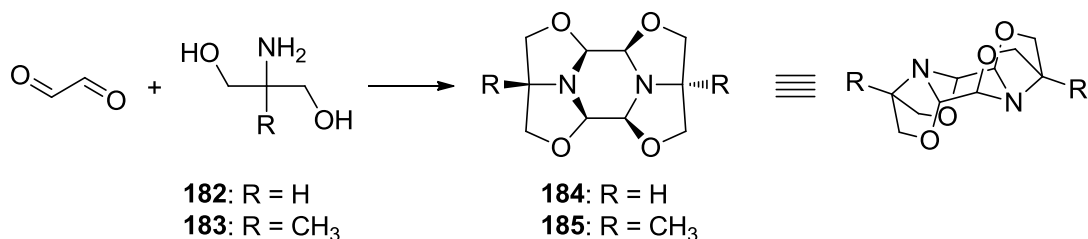
*Giovenzana* és kutatócsoportja<sup>102</sup> sztöchiometrikus arányú glioxál és trisz 2:2 ciklokondenzációjával előállítottak egy pentaciklusos származékot, melyet elneveztek „glytham”-nak (**181**). (**39. ábra**) A reakció jó hozammal (91%) és teljes sztereoselektivitással ment végbe. A vegyület relatív konfigurációját röntgenkristallográfiával sikerült meghatározniuk.



**39. ábra „Glytham” előállítása**

Reakciókörülmények: H<sub>2</sub>O, 1 óra, rt

A ciklokondenzációs reakciót megkísérelték végrehajtani glioxállal és szerinollal (**182**), illetve glioxállal és 2-amino-2-metil-propán-1,3-diollal (**183**) is. (**40. ábra**) Utóbbival lejátszódott a ciklokondenzáció, de sokkal hosszabb volt a reakcióidő, és közepes hozammal (51%) izolálták a terméket (**185**). A szerinollal viszont komplex reakcióelegyet kaptak, polimerizációs termékekkel, melyeket a trisz és a 2-amino-2-metil-propán-1,3-diol enolizációra hajlamos  $\alpha$ -diketonokkal való reakciójában szintén tapasztaltak. **184**-et nem tudták izolálni.



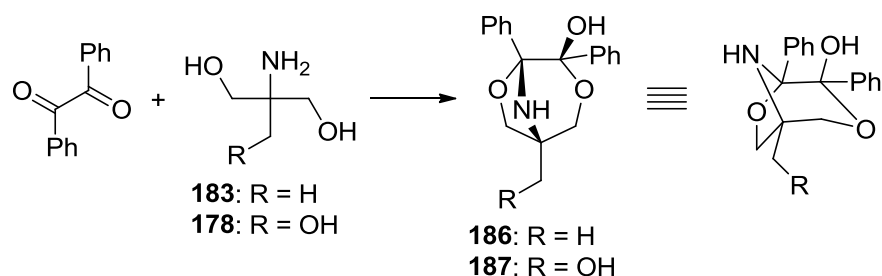
**40. ábra Szerin és 2-amino-2-metil-propán-1,3-diol reakciója glioxállal**

Reakciókörülmények: H<sub>2</sub>O, 10 nap, rt

**178**-at és **183**-at 1,2-difeniletán-1,2-dionnal (benzil) ekvimolárisan reagáltatva nem 2:2, hanem 1:1 ciklokondenzációt tapasztaltak. (**41. ábra**) Csak egykristály röntgen-



diffrakcióval tudták megállapítani **187** szerkezetét, ami alapján kiderült, hogy a tercier hidroxil-csoport *exo* térállású. Szerinollal ismét komplex reakcióelegyet kaptak, és nem tudták izolálni **186**-ot.



**41. ábra Szerin és 2-amino-2-metil-propán-1,3-diol reakciója glioxállal**

Reakciókörülmények: H<sub>2</sub>O:MeOH, 2 óra, 40 °C

## 2.7. Célkitűzés

Doktori munkám során olyan nukleozid származékok előállítását tűztük ki célul, melyekben ribonukleozidokból kiindulva 2',3'-helyzetben a szekunder hidroxil-csoportokat gyűrűfelynyílás közben aldehiddé oxidáljuk metaperjodátot alkalmazva. Az így kapott szekodialdehyd származékokat ezután trisz-(hidroximetil)-amino-metánnal (**178**) reagáltatva kondenzációs reakcióban egy teljesen új triciklusos származékot állítunk elő. A reakció során három új kiralitáscentrum generálódik, aminek következtében 2<sup>3</sup> diasztereomer keletkezhet.

A szintézishez kidolgozzuk a megfelelő védőcsoportok bevitelét, és a triciklizáció után annak eltávolítását. Vizsgáljuk a reakció sztereoselektivitását, a reaktánsok és reagensek védőcsoport kompatibilitását, illetve hogy az alkalmazott védőcsoportok befolyásolják-e a sztereoselektivitást. A köztitermékek és végtermékek szerkezetigazolásához tömegspektrometriás és NMR-spektroszkópiás méréseket, illetve konformációs és NMR számításokat végzünk. Továbbá szükséges legalább egy származékról egykristály röntgendiffrakciós mérés, melyeknek eredményeit összehasonlítva a vegyületek pontos szerkezete reményeink szerint meghatározható. A védőcsoportot nem tartalmazó, szabad származékok hidroxil-csoportjuk révén beépülhetnek nukleinsavakba, lánc-törést okozhatnak, polimeráz vagy egyéb enzimgátlóként funkcionálhatnak, ezért kooperációban biológiai vizsgálatoknak kívánjuk alávetni, tanulmányozni citotoxikus és antivirális hatásukat.

### 3. Metodikák

#### 3.1. Általános módszerek és anyagok

Az alapanyagok és oldószer a Sigma-Aldrich-től, a MOLAR-tól, TCI-től, Alfa Aesar-től és a VWR International Kft-től származtak.

Az előállított vegyületeket flash kromatográfiás technikával tisztítottam, amihez állófázisnak 0,040-0,063 mm szemcseméretű Kieselgel 60 típusú szilikagél (Merck Kft.) használtam. A reakciókat vékonyréteg-kromatográfiásan, Kieselgel 60 F<sub>254</sub> lemezekon (Merck Kft.) követtem. A foltokat UV-lámpa alatt 254 nm-en detektáltam, és ammónium-molibdenát – kénsav tartalmú, illetve 5%-os kénsavas etanolos előhívószerrel, hópuska segítségével hívtam elő.

A vegyületek optikai forgatóképességét Perkin-Elmer 241 automata polariméterrel határoztuk meg szobahőmérsékleten.

#### 3.2. Tömegspektrometria

A MALDI-TOF-MS mérések pozitív reflektrom módban történtek BIFLEX III tömegspektrométerrel (Bruker, Németország). 2,5-dihidroxibenzoésavat (DHB) használtak mátrixként és F<sub>3</sub>CCOONa-ot kationizáló segédanyagként DMF-ban. Az ESI-TOF-MS spektrumokat microTOF-Q típusú QqTOFMS tömegspektrométerrel (Bruker) végezték pozitív ion módban MeOH-os oldatban, szintén F<sub>3</sub>CCOONa-ot használva kationizáló segédanyagként.

#### 3.3. NMR-spektroszkópia

A <sup>1</sup>H NMR (360, 400 és 500 MHz) és <sup>13</sup>C NMR (90, 100 és 125 MHz) spektrumok felvételét Bruker DRX-360, DRX-400, illetve Bruker Avance II 500 típusú spektrométerekkel, 25 °C-on végeztük. A kémiai eltolódások Me<sub>4</sub>Si-hoz (0.00 ppm <sup>1</sup>H-nál) vagy az oldószer csúcsokhoz (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N: 7.22, D<sub>2</sub>O: 4.79, DMSO-d<sub>6</sub>: 2.50 ppm <sup>1</sup>H-nál, CDCl<sub>3</sub>: 77.16, DMSO-d<sub>6</sub>: 39.52, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N: 135.91 ppm, CD<sub>3</sub>OD: 49.00 <sup>13</sup>C-nál) lettek kalibrálva. A <sup>1</sup>H NMR jeleinek multiplicitását az általánosan elfogadott rövidítésekkel jelöltem: s, szingulett; d, dublett; dd, dupla dublett; ddd, dupla dupla dublett; dt, dupla triplett; t, triplett; td, tripla dublett; q, kvartett; qd, kvadrupla dublett; m, multiplétt. A teljes jelhozzárendelést <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY, <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HSQC és <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HMBC 2D NMR-mérések segítségével végeztem el. Az NMR-spektrumok felvétele során TopSpin<sup>®</sup> szoftvert használtunk, kiértékelésük MestreNova<sup>®</sup> programmal történt.

### 3.4. Röntgenkristallográfia

A röntgenkristallográfiához megfelelő **242** kristályát forró *i*-PrOH-ból átkristályosítással nyertem. Az adatgyűjtés mikrofókuszált zárt sugárforrással és Pilatus 200K detektorral felszerelt Synergy, Dualflex diffraktométerrel (Rigaku Oxford Diffraction) történt, 20 °C-on, Cu-K $\alpha$  besugárzást ( $\lambda=1.5418$  Å) alkalmazva. A szerkezet megfejtése direkt módszerekkel és teljes mátrixú legkisebb négyzetes finomítással F<sup>2</sup>-re történt SHELXL-2016/4-gyel<sup>103</sup> WinGX<sup>104</sup> alatt. A kristallográfiai számítások PLATON<sup>105</sup> és Mercury<sup>106</sup> programmal, a CIF-fájl szerkesztése pedig publCIF-et<sup>107</sup> használva és manuálisan történtek.

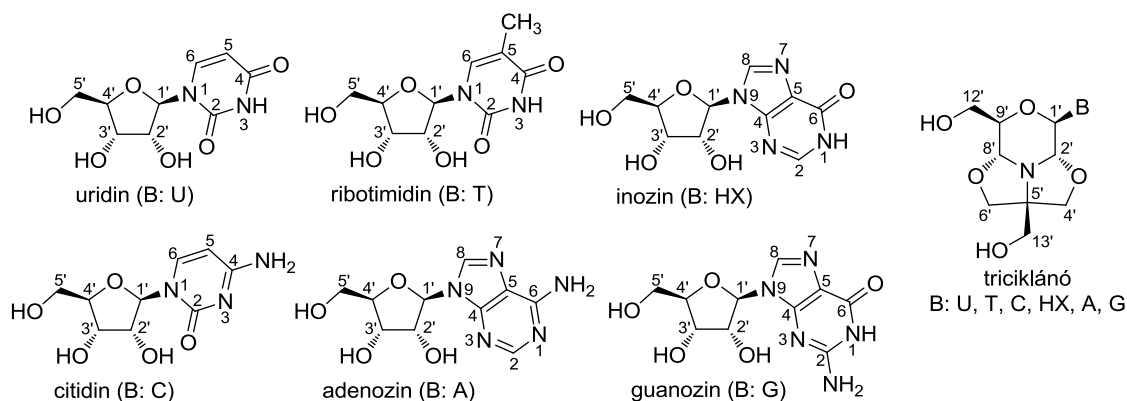
### 3.5. Számítási paraméterek

A vegyes torziós szög alacsony frekvenciájú konformációs kereséseket MacroModel 10.8.011 szoftverrel végeztük OPLS (optimized potentials for liquid simulations)<sup>108</sup> erőteret használva CHCl<sub>3</sub>-os implicit oldószer modellel.<sup>109</sup> A geometriai újraoptimalizálásokat B3LYP/6-31+G(d,p) szinten hajtottuk végre vákuumban, az NMR számításokat mPW1PW91/6-311+G(2d,p) szinten<sup>110</sup> végeztük el Gaussian 09 programmal.<sup>111</sup> **250**-nél a DFT optimalizálás előtt egy kiegészítő AM1 szintű optimalizálásra és a tritil fenil-csoportjainak a leklaszterezésére volt szükség, hogy csökkentsük az OPLS konformerek eredeti számát (846). A Boltzmann-populációkat B3LYP/6-31+G(d,p) energiák alapján becsültük meg. A számított <sup>13</sup>C-NMR adatok I = 185.4855-tel és S = -1.0306-tal, a <sup>1</sup>H-NMR adatok I = 31.8996-tal és S = -1.0734-gyel lettek korrigálva.<sup>112</sup> Az eredmények megjelenítése VMD szoftvercsomaggal történt.<sup>113</sup>

### 3.6. Kísérletek részletes leírása

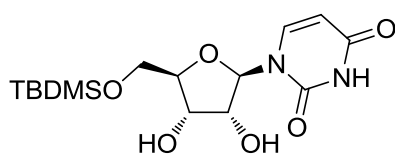
#### Metaperjodátos anioncserélő gyanta előállítása<sup>114</sup>

40 g NaOH-ot oldottam 3 l desztillált vízben, majd hozzáadtam 200 g Amberlite IRA-400 20-50 mesh Cl formájú anioncserélő gyantát, és 2 órán át szobahőmérsékleten kevertettem. Ezután vízzel semlegesre mostam, és hozzáadtam 233 g NaIO<sub>4</sub> 5 l-es vizes oldatához. Egyéjszakás kevertetés után a gyantát kiszűrtem zsugorított üvegszűrőn vákuumban, mostam vízzel, és vákuum szárítószekrényben P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> és KOH fölött egy éjszakán át szárítottam szobahőmérsékleten. Szárítás után a gyantát sötét helyen tároltam a továbbiakban.



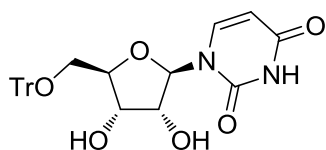
42. ábra Nukleozidok és triciklánók NMR-asszignáció szempontjából releváns atomjainak számozása

### 5'-*O*-*tert*-butildimetilszilil-uridin (188)<sup>115</sup>



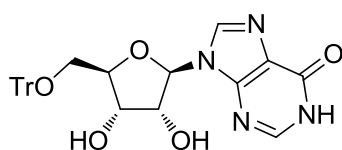
6,0 g (24,57 mmol) uridint (**58**) oldottam 60 ml absz. DMF-ban, majd 3,35 g (49,14 mmol, 2,0 ekv.) imidazolt és 3,88 g (25,74 mmol, 1,05 ekv.) *tert*-butildimetilszilil-kloridot adtam hozzá. Egyéjszakás kevertetés után a reakcióelegyet jeges vízre öntöttem, a szilárd anyagot kiszűrtem, és egy éjszakán át vákuum szárítószekrényben P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> és KOH fölött szárítottam. A szilárd nyersterméket flash kromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98:2 → 95:5 → 9:1) tisztítottam. 5,40 g, (61%) fehér szilárd habszerű anyagot kaptam termékként (**188**). R<sub>f</sub> = 0.45 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1); <sup>1</sup>H NMR 360 MHz (CD<sub>3</sub>OD) δ = 8.01 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, uracil CH-6), 5.91 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, H-1'), 5.63 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, uracil CH-5), 4.16-4.10 (m, 2H, H-2', H-3'), 4.04 (dd, *J* = 4.6, 2.3 Hz, 1H, H-4'), 3.99 (dd, *J* = 11.7 Hz, 2.3 Hz, 1H, H-5'a), 3.85 (dd, *J* = 11.7 Hz, 2.3 Hz, 1H, H-5'b), 0.96 (s, 9H, TBDMS *t*-Bu 3 x CH<sub>3</sub>), 0.15 (2 x s, 6H, TBDMS 2 x Si-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR 90 MHz (CD<sub>3</sub>OD) δ = 175.2, 166.1 (2C, uracil CO-2, CO-4), 142.2 (1C, uracil CH-6), 102.2 (1C, uracil CH-5), 90.5, 86.0, 76.3, 71.0 (4C, C-1', C-2', C-3', C-4'), 63.7 (1C, C-5'), 26.4 (3C, TBDMS *t*-Bu 3 x CH<sub>3</sub>), 19.3 (1C, TBDMS *t*-Bu C<sub>q</sub>), -5.4. (2C, TBDMS 2 x Si-CH<sub>3</sub>); ESI-TOF-MS: *m/z* számított C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>6</sub>Si [M+Na]<sup>+</sup> 381,146; mért 381,145.

### 5'-*O*-tritol-uridin (191)<sup>116</sup>



2,50 g (10,24 mmol) uridint (**58**) oldottam 30 ml absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N-ben, majd hozzáadtam 4,28 g (15,36 mmol, 1,5 ekv.) trifenilmetil-kloridot, és egy éjszakán át kevertetem a reakcióelegyet. Ezután az oldószert vákuumban lepároltam, a nyersterméket oldottam EtOAc-ban, és desztillált vízzel extraháltam. A szerves fázist vízmentes szilárd Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-on megszáritottam, a szárítószert kiszűrtem, majd az oldatot bepároltam. A nyersterméket flash kromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98:2 → 95:5 → 9:1) tisztítottam. Termékként (**191**) 4,13 g (83%) fehér szilárd habszerű anyagot kaptam. R<sub>f</sub> = 0.46 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1); <sup>1</sup>H NMR 360 MHz (CDCl<sub>3</sub>) δ = 10.48 (s, 1H, NH), 7.98 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, uracil CH-6), 7.40 (d, *J* = 7.2 Hz, 6H, 6 x Tr Ar-H), 7.29 (t, *J* = 7.4 Hz, 6H, 6 x Tr Ar-H), 7.23 (dt, *J* = 7.4, 4.2 Hz, 3H, 3 x Tr Ar-H), 5.89 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, H-1'), 5.56 (s, 1H, OH), 5.31 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, uracil CH-5), 4.45-4.42 (m, 1H), 4.35 (s, 1H, OH), 4.16-4.14 (m, 1H), 3.61 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 3.50 (d, *J* = 1.5 Hz, 2H, H-5'a,b); <sup>13</sup>C NMR 90 MHz (CDCl<sub>3</sub>) δ = 164.1, 151.4 (2C, uracil CO-2, CO-4), 143.4 (3C, 3 x Tr Ar-C), 140.5 (1C, uracil CH-6), 128.8, 128.2, 127.5 (15C, 15 x Tr Ar-CH), 102.4 (1C, uracil CH-5), 90.5, 83.6, 75.5, 69.7 (4C, C-1', C-2', C-3', C-4'), 87.7 (1C, Tr C<sub>q</sub>), 62.2 (1C, C-5'); ESI-TOF-MS: *m/z* számított C<sub>28</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>6</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 509,169; mért 509,167.

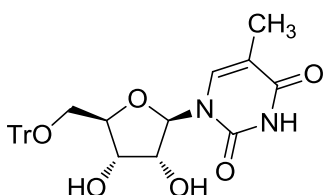
### 5'-*O*-tritol-inozin (192)<sup>117</sup>



2,15 g (8,00 mmol) inozint (**189**) szuszpendáltam 25 ml absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N és 25 ml absz. DMF elegyében, majd hozzáadtam 2,68 g (9,60 mmol, 1,2 ekv.) tritol-kloridot. Másnap 15 ml absz. DMSO-t és 0,67 g (2,40 mmol, 0,3 ekv.) tritol-kloridot adtam még hozzá. Ezután 2,24 g (8,00 mmol, 1,0 ekv.) tritol-kloridot adtam hozzá két részletben, miközben 60 °C-ra melegítettem. A reakcióelegyet bepároltam, a maradékot CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-nal hígítottam, majd desztillált vízzel és telített sós vízzel extraháltam. A szerves fázist vízmentes Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-on megszáritottam, a szárítószert kiszűrtem vákuumban, és az oldatot bepároltam. A nyersterméket flash kromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 15:1 → 11:1 → 9:1) tisztítottam. 1,58 g, (39%) sárgásfehér habszerű szilárd anyagot kaptam termékként (**192**). R<sub>f</sub> = 0.32

(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1); <sup>1</sup>H NMR 360 MHz (DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 12.40 (s, 1H, NH), 8.23 (s, 1H, hipoxantin CH), 8.02 (s, 1H, hipoxantin CH), 7.47-7.19 (m, 15H, 15 x Tr Ar-H), 5.95 (d, J = 4.5 Hz, 1H, H-1'), 5.61 (s, 1H, OH), 5.26 (s, 1H, OH), 4.62 (s, 1H), 4.28 (s, 1H), 4.11 (dd, J = 8.9, 4.7 Hz, 1H), 3.31-3.20 (m, 2H, H-5'a,b); <sup>13</sup>C NMR 90 MHz (DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 156.6, 148.2, 124.6 (3C, hipoxantin C-4, C-5, CO-6), 145.8 (1C, hipoxantin CH), 143.6 (3C, 3 x Tr Ar-C), 128.3, 127.9, 127.0 (15C, 15 x Tr Ar-CH), 88.0, 83.1, 73.4, 70.2 (4C, C-1', C-2', C-3', C-4'), 86.1 (1C, Tr C<sub>q</sub>) 64.0 (1C, C-5'); MALDI-TOF-MS: m/z számított C<sub>29</sub>H<sub>26</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>5</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 533,180; mért 533,4

### 5'-O-tritil-ribotimidin (**194**)<sup>118</sup>



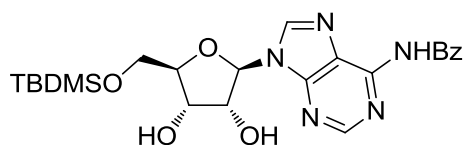
2,50 g (9,68 mmol) ribotimidint (**193**) oldottam 20 ml absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N-ben, majd hozzáadtam 3,24 g (11,62 mmol, 1,2 ekv.) trifenilmetil-kloridot, és egy éjszakán át kevertetem a reakcióelegyet. Ezután az oldószert vákuumban lepároltam, a maradékot oldottam 400 ml EtOAc-ban, és 2 x 50 ml desztillált vízzel, majd 50 ml telített sós vízzel extraháltam. A szerves fázist vízmentes szilárd Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-on megszáritottam, a szárítószert kiszűrtem, majd az oldatot bepároltam. A nyersterméket flash kromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 96:4 → 9:1) tisztítottam. Termékként (**194**) 3,64 g (75%) fehér szilárd anyagot kaptam. R<sub>f</sub> = 0.27 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 11.38 (s, 1H, NH), 7.51 (s, 1H, timin CH-6), 7.41 (d, J = 7.5 Hz, 6H, 6 x Tr Ar-H), 7.35 (t, J = 7.5 Hz, 6H, 6 x Tr Ar-H), 7.28 (t, J = 7.1 Hz, 3H, 3 x Tr Ar-H), 5.83 (d, J = 5.1 Hz, 1H, H-1'), 5.48 (s, 1H, OH), 5.18 (s, 1H, OH), 4.21 (s, 1H), 4.14 (s, 1H), 3.99 (dd, J = 7.0, 4.2 Hz, 1H, H-4'), 3.28 (dd, J = 10.6, 4.3 Hz, 1H, H-5'a), 3.20 (dd, J = 10.5, 2.4 Hz, 1H, H-5'b), 1.45 (s, 3H, timin CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 163.7, 150.7 (2C, timin CO-2, CO-4), 143.5 (3C, 3 x Tr Ar-C), 135.9 (1C, timin CH-6), 128.3, 128.0, 127.2 (15C, 15 x Tr Ar-CH), 109.6 (1C, timin C-5), 88.1, 82.8, 73.2, 70.1 (4C, C-1', C-2', C-3', C-4'), 86.5 (1C, Tr C<sub>q</sub>), 63.8 (1C, C-5'), 11.7 (timin CH<sub>3</sub>); MALDI-TOF-MS: m/z számított C<sub>29</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>6</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 523,185; mért 523,23.

### 6-*N*-benzoi-adenozin (195)<sup>119</sup>



10,00 g (37,42 mmol) adenozinról (**155**) lepároltam 30 ml absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N-t, majd szuszpendáltam 200 ml absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N-ben, és argon atmoszféra alatt kevertetem. 47,5 ml (374,2 mmol, 10 ekv.) klórtrimetilszilánt csepegtettem hozzá, 1 óra múlva pedig hozzáadtam 16,93 g, (74,84 mmol, 2,0 ekv.) benzooesav-anhidridet. Egyéjszakás kevertetés után az elegyet behűtöttem 0 °C-ra, 100 ml vizet, majd 80 ml cc. NH<sub>3</sub>-oldatot adtam hozzá, és 1 órán keresztül kevertetem, illetve hagytam felmelegedni szobahőmérsékletre. Az oldószert vákuumban lepároltam, a kapott szilárd anyagot hideg vízzel eldörzsöltem, vákuumban kiszűrtem hideg vízzel, és Et<sub>2</sub>O-rel mostam. A szilárd terméket vákuum szárítószekrényben szárítottam P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> és KOH felett egy éjszakán át. 13,39 g (96%) fehér szilárd anyagot kaptam termékként (**195**). R<sub>f</sub> = 0.28 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1); <sup>1</sup>H NMR 400 MHz (DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 11.22 (s, 1H, NH), 8.77 (s, 1H, adenin CH), 8.74 (s, 1H, adenin CH), 8.06 (d, J = 7.6 Hz, 2H, 2 x Bz Ar-H), 7.65 (t, J = 7.3 Hz, 1H, Bz Ar-H), 7.56 (t, J = 7.6 Hz, 2H, 2 x Bz Ar-H), 6.06 (d, J = 5.8 Hz, 1H, H-1'), 5.58 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 5.26 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 5.15 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 4.67 (dd, J = 11.1 Hz, 5.6 Hz, 1H), 4.21 (dd, J = 8.5 Hz, 4.6 Hz, 1H), 4.01 (q, J = 3.6 Hz, 1H), 3.71 (dt, J = 11.7, 4.6 Hz, 1H, H-5'a), 3.60 (ddd, J = 10.6, 5.6, 4.3 Hz, 1H, H-5'b); <sup>13</sup>C NMR 100 MHz (DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 165.7 (1C, Bz CO), 152.3, 150.4, 133.4, 125.9 (4C, adenin C-4, C-5, C-6, Bz Ar-C), 151.7 (1C, adenin CH), 132.5, 128.5 (5C, 5 x Bz Ar-CH), 87.6, 85.7, 73.7, 70.4 (4C, C-1', C-2', C-3', C-4'), 61.4 (1C, C-5'); ESI-TOF-MS: m/z számított C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>5</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 394,113; mért 394,109.

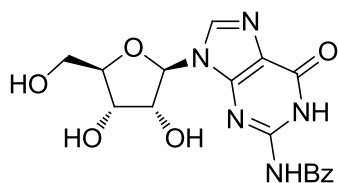
### 6-*N*-benzoi-5'-*O*-*tert*-butildimetil-szilil-adenozin (196)<sup>120</sup>



5,00 g (13,46 mmol) **195**-öt oldottam 50 ml vízmentes C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N-ben, és 5 g 4 Å-ös molekulaszitát, és katalitikus mennyiségű 4-(dimetilamino)piridint adtam hozzá. Egy óra kevertetés után 3,65 g (24,22 mmol, 1,8 ekv.) *tert*-butildimetilklórszilánt adtam hozzá, és egy éjszakán át kevertetem. Másnap a molekulaszitát Celite<sup>®</sup>-en kiszűrtem, és mostam CHCl<sub>3</sub>-mal. Az oldószert lepároltam, és a maradékot oldottam CHCl<sub>3</sub>-ban. A szerves fázist először 10%-os NaHSO<sub>4</sub>-oldattal, majd telített NaHCO<sub>3</sub>-oldattal extraháltam, vízmentes

Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-on megszáritottam, utána a szilárd anyagot kiszűrtem. A szűrletet bepároltam, és a nyersterméket flash kromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc 6:4 → 1:1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1) tisztítottam. 5,45 g (83%) fehér szilárd habos anyagot kaptam termékként (**196**). R<sub>f</sub> 0.52 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1); <sup>1</sup>H NMR 400 MHz (CDCl<sub>3</sub>) δ = 9.56 (s, 1H, NH), 8.55 (s, 1H, adenin CH), 8.40 (s, 1H, adenin CH), 7.97 (d, J = 7.5 Hz, 2H, 2 x Bz Ar-H), 7.53 (t, J = 7.4 Hz, 1H, Bz Ar-H), 7.45 (d, J = 7.5 Hz, 2H, 2 x Bz Ar-H), 6.19 (d, J = 5.1 Hz, 2H, H-1', OH), 4.78 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 4.70 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 4.48 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 4.25 (dd, J = 5.7, 2.7 Hz, 1H), 3.92 (dd, J = 11.2, 2.3 Hz, 1H, 5'a), 3.82 (dd, J = 11.3, 2.1 Hz, 1H, H-5'b), 0.85 (s, 9H, TBDMS *t*-Bu 3 x CH<sub>3</sub>), 0.05, 0.04 (2 x s, 6H, TBDMS 2 x Si-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR 100 MHz (CDCl<sub>3</sub>) δ = 165.1 (1C, Bz CO), 151.2, 149.1, 133.4, 122.5 (4C, adenin C-4, C-5, C-6, Bz Ar-C), 132.9, 128.7, 128.0 (5C, 5 x Bz Ar-CH), 89.0, 86.0, 75.9, 71.2 (4C, C-1', C-2', C-3', C-4'), 63.1 (1C, C-5'), 26.0 (3C, TBDMS *t*-Bu 3 x CH<sub>3</sub>), 18.4 (1C, TBDMS *t*-Bu C<sub>q</sub>), -5.3, -5.4 (2C, TBDMS 2 x Si-CH<sub>3</sub>); ESI-TOF-MS: *m/z* számított C<sub>23</sub>H<sub>31</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>5</sub>Si [M+Na]<sup>+</sup> 508,199; mért 508,191.

### 2-*N*-benzoil-guanozin (**198**)<sup>119</sup>

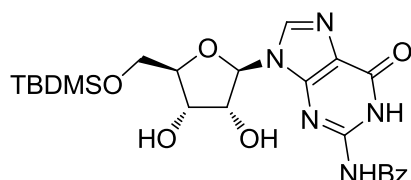


10,00 g (35,30 mmol) guanozinról (**197**) lepároltam 30 ml absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N-t, majd szuszpendáltam 200 ml absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N-ben, és argon atmoszféra alatt kevertetem. 44,8 ml (353,0 mmol, 10 ekv.) klórimetilszilánt csepegtettem hozzá, 1 óra múlva pedig hozzáadtam 15,97 g, (70,60 mmol, 2,0 ekv.) benzooesav-anhidridet. Fél nap kevertetés után az elegyet lehűtöttem 0 °C-ra, 100 ml vizet, majd 80 ml cc. NH<sub>3</sub>-oldatot adtam hozzá, és 1 órán keresztül kevertetem, illetve hagytam felmelegedni szobahőmérsékletre. Az oldószert vákuumban lepároltam, a kapott szilárd anyagot hideg vízzel eldörzsöltem, vákuumban kiszűrtem, majd hideg vízzel és Et<sub>2</sub>O-rel mostam. A szilárd terméket vákuum szárítószekrényben szárítottam P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> és KOH felett egy éjszakán át. 10,92 g (80%) sárgás fehér szilárd anyagot kaptam termékként (**198**). R<sub>f</sub> 0.70 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 8:2); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 12.35 (s, 1H, NH), 11.97 (s, 1H, NH), 8.33 (s, 1H, guanin CH-8), 8.06 (d, J = 7.5 Hz, 2H, 2 x Bz Ar-H), 7.68 (t, J = 7.1 Hz, 1H, Bz Ar-H), 7.57 (t, J = 7.5 Hz, 2H, 2 x Bz Ar-H), 5.92 (d, J = 5.8 Hz, 1H, H-1'), 5.51 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 5.20 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.06 (t, J = 4.9 Hz, 1H), 4.55-4.45 (m, 1H), 4.16 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 3.93 (d,



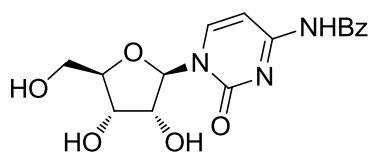
$J = 3.1$  Hz, 1H), 3.61 (td,  $J = 11.7, 7.0$  Hz, 2H, H-5'a,b);  $^{13}\text{C}$  NMR 100 MHz (DMSO- $d_6$ )  $\delta = 169.1$  (1C, Bz CO), 155.1, 149.0, 148.3, 132.2, 120.6 (5C, guanin C-2, C-4, C-5, CO-6, Bz Ar-C), 133.2, 128.6 (5C, 5 x Bz Ar-CH), 86.4, 85.5, 74.0, 70.4 (4C, C-1', C-2', C-3', C-4'), 61.3 (1C, C-5'); ESI-TOF-MS:  $m/z$  számított  $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{NaO}_6$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  410,108; mért 410,107.

### 2-*N*-benzoil-5'-*O*-*tert*-butildimetil-szilil-guanozin (199)



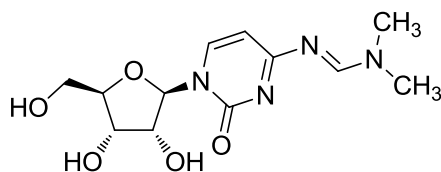
4,93 g (12,73 mmol) **198**-at oldottam 30 ml vízmentes  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ -ben, és 5 g 4 Å-ös molekulaszitát és katalitikus mennyiségű 4-dimetilamino-piridint adtam hozzá. Egy óra kevertetés után 2,30 g (15,27 mmol, 1,2 ekv.) *tert*-butildimetilklórszilánt adtam hozzá, és egy éjszakán át kevertettem. Másnap 960 mg (6,37 mmol, 0,5 ekv.) *tert*-butildimetilklórszilánt adtam hozzá, és még egy éjszakán át kevertettem. Harmadik nap 576 mg (3,82 mmol, 0,3 ekv.) *tert*-butildimetilklórszilánt adtam hozzá, és további egy éjszakán át kevertettem. Következő nap a molekulaszitát Celite<sup>®</sup>-en kiszűrtem, és mostam  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -nal. Az oldószert lepároltam, és a maradékot oldottam  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -ban. A szerves fázist 10%-os  $\text{NaHSO}_4$ -oldattal, telített  $\text{NaHCO}_3$ -oldattal extraháltam, vízmentes  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -on megszáritottam, majd a szilárd anyagot kiszűrtem. A szűrletet bepároltam, és a nyersterméket flash kromatográfiával ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /aceton 8:2  $\rightarrow$  7:3  $\rightarrow$  6:4,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /MeOH 95:5) tisztítottam. 5,12 g (80%) törtfehér szilárd habos anyagot kaptam termékként (**199**).  $R_f = 0.48$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /MeOH 9:1);  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 12.31$  (s, 1H, NH), 10.61 (s, 1H, NH), 7.89 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H, 2 x Bz Ar-H), 7.85 (s, 1H, guanin CH-8), 7.46 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H, Bz Ar-H), 7.34 (t,  $J = 7.7$  Hz, 2H, 2 x Bz Ar-H), 5.99 (s, 1H, OH), 5.95 (d,  $J = 5.2$  Hz, 1H, H-1'), 4.82 (s, 1H OH), 4.55 (s, 1H), 4.32 (s, 1H), 4.13 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 3.67 (dd,  $J = 32.0, 9.2$  Hz, 2H, H-5'a,b), 0.74 (s, 9H, TBDMS *t*-Bu 3 x  $\text{CH}_3$ ), -0.07, -0.09 (2 x s, 6H, TBDMS 2 x Si- $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR 100 MHz ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 168.8$  (1C, Bz CO), 156.0, 148.6, 148.3, 131.7, 120.5 (5C, guanin C-2, C-4, C-5, CO-6, Bz Ar-C), 133.7, 128.9, 128.3 (5C, 5 x Bz Ar-CH), 88.6, 86.0, 76.2, 71.7 (4C, C-1', C-2', C-3', C-4'), 63.4 (1C, C-5'), 26.0 (3C, TBDMS *t*-Bu 3 x  $\text{CH}_3$ ), 18.5 (1C, TBDMS *t*-Bu  $\text{C}_q$ ), -5.3, -5.4 (2C, TBDMS 2 x Si- $\text{CH}_3$ ); ESI-TOF-MS:  $m/z$  számított  $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{NaO}_6\text{Si}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  524,194; mért 524,191.

#### 4-*N*-benzoil-citidin (**201**)<sup>119</sup>



10,00 g (41,12 mmol) citidinről (**200**) lepároltam 30 ml absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N-t, majd szuszpendáltam 200 ml absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N-ben, és argon atmoszféra alatt kevertetem. 52,2 ml (411,2 mmol, 10 ekv.) klórrimetilszilánt csepegtettem hozzá, 1 óra múlva pedig hozzáadtam 18,61 g, (82,24 mmol, 2,0 ekv.) benzooesav-anhidridet. Fél nap kevertetés után az elegyet behűtöttem 0 °C-ra, és 100 ml vizet, majd 80 ml cc. NH<sub>3</sub>-oldatot adtam hozzá, és 1 órán keresztül kevertetem, illetve hagytam felmelegedni szobahőmérsékletre. Az oldószert vákuumban lepároltam, a kapott szilárd anyagot hideg vízzel eldörzsöltem, vákuumban kiszűrtem, hideg vízzel és Et<sub>2</sub>O-rel mostam. A szilárd terméket vákuum szárítószekrényben szárítottam P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> és KOH felett egy éjszakán át. 10,44 g (73%) fehér szilárd anyagot kaptam termékként (**201**). R<sub>f</sub> = 0.34 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ = 11.26 (s, 1H, NH), 8.52 (d, J = 7.1 Hz, 1H, citozin CH-6), 8.02 (d, J = 7.4 Hz, 2H, 2 x Bz Ar-H), 7.64 (t, J = 7.3 Hz, 1H, Bz Ar-H), 7.53 (t, J = 7.6 Hz, 2H, 2 x Bz Ar-H), 7.35 (s, 1H), 5.84 (d, J = 2.3 Hz, 1H, H-1'), 5.54 (d, J = 4.2 Hz, 1H), 5.21 (s, 1H), 5.08 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 4.10-3.98 (m, 2H), 3.96 (s, 1H), 3.71 (dd, J = 59.3, 11.4 Hz, 2H, H-5'a,b); <sup>13</sup>C NMR 100 MHz (DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 167.6, 163.0, 154.6, 132.8, (4C, citozin CO-2, C-4, Bz Ar-C, Bz CO), 145.3, 133.3, 128.5 (6C, citozin CH-6, Bz Ar-CH), 96.1, 90.3, 84.3, 74.7, 68.7 (5C, citozin CH-5, C-1', C-2', C-3', C-4'), 60.0 (1C, C-5'); ESI-TOF-MS: m/z számított C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>6</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 370,102; mért 370,102.

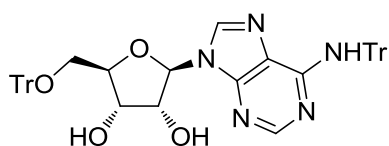
#### 4-*N,N'*-dimetilaminometilén)-citidin (**202**)<sup>121</sup>



5,00 g (20,56 mmol) citidint (**200**) szuszpendáltam 50 ml absz. DMF-ban és argon atmoszférát alkalmazva kevertetem 15 percig az elegyet, majd hozzáadtam 5,46 ml (41,12 mmol, 2,0 ekv.) *N,N*-dimetilformamid-dimetilacetált. Egyéjszakás kevertetés után az oldószert vákuumban lepároltam. A nyersterméket flash kromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1 → 8:2) tisztítottam. Az izolált anyagot forró EtOH-ból átkristályosítottam. Termékként (**202**) 1,93 g (32%) fehér szilárd anyagot kaptam. R<sub>f</sub> = 0.29 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 8:2); <sup>1</sup>H NMR (360 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 8.63 (s, 1H, *N,N*-dimetilformamidin CH), 8.10 (d, J = 7.2 Hz, 1H,

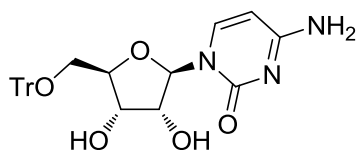
citozin CH-6), 5.96 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H, citozin CH-5), 5.81 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H, H-1'), 5.41 (d,  $J = 4.5$  Hz, 1H), 5.13 (t,  $J = 4.9$  Hz, 1H), 5.02 (d,  $J = 4.8$  Hz, 1H), 4.02- 3.92 (m, 2H), 3.88 (s, 1H), 3.76-3.53 (m, 2H, H-5'a,b), 3.17 (s, 3H, *N,N*-dimetilformamidin CH<sub>3</sub>), 3.04 (s, 3H, *N,N*-dimetilformamidin CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (90 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta = 171.2, 155.4$  (2C, citozin CO-2, C-4), 157.9 (1C, formamidin CH), 142.7 (1C, citozin CH-6), 101.5, 89.7, 84.1, 74.4, 69.2, (5C, citozin CH-5, C-1', C-2', C-3', C-4'), 60.3 (1C, C-5'), 40.9, 34.8 (2C, *N,N*-dimetilformamidin 2 x CH<sub>3</sub>); MALDI-TOF-MS:  $m/z$  számított C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>5</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 321,117; mért 321,24.

### 6-*N*,5'-*O*-bisztritol-adenozin (206)<sup>122</sup>



1,34 g (5,00 mmol) adenzint (155) és 4,18 g (15,00 mmol, 3 ekv.) tritol-kloridot szuszpendáltam 30 ml absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N-ben, és a reakcióelegyet 60 °C-on kevertetem egy éjszakán át. Másnap lepároltam az oldószert, és toluolt pároltam le a nyersterméről, majd 300 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-ban oldottam. A szerves fázist 10%-os NaHSO<sub>4</sub>-oldattal, telített NaHCO<sub>3</sub>-oldattal extraháltam, és vízmentes Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-on megszáritottam. A szárítószert kiszűrtem, és az oldatot bepároltam. A nyerstermékét flash kromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/aceton 9:1 → 85:15) tisztítottam. 2,38 g (63%) fehér szilárd anyagot kaptam termékként (206).  $R_f = 0.39$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/aceton 85:15); <sup>1</sup>H NMR 500 MHz (DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta = 8.37$  (s, 1H, adenin CH), 7.85 (s, 1H, adenin CH), 7.47 (s, 1H, NH), 7.36-7.20 (m, 30H, 30 x Tr Ar-H) 5.95 (d,  $J = 4.6$  Hz, 1H, H-1'), 5.51 (s, 1H, OH), 5.24 (s, 1H, OH), 4.77 (t,  $J = 4.8$  Hz, 1H), 4.33 (d,  $J = 4.9$  Hz, 1H), 4.09 (q,  $J = 4.2$  Hz, 1H), 3.24 (d,  $J = 4.3$  Hz, 2H, H-5'a,b); <sup>13</sup>C NMR 125 MHz (DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta = 153.6, 148.4, 121.0$  (3C, adenin C-4, C-5, C-6), 144.9, 143.6 (6C, 6 x Tr Ar-C), 151.2, 140.6 (2C, adenin CH-2, CH-8), 128.6, 128.2, 127.8, 127.7, 127.0, 126.6 (30C, 30 x Tr Ar-CH), 88.3, 83.1, 72.7, 70.3 (4C, C-1', C-2', C-3', C-4'), 86.0 (1C, OTr C<sub>q</sub>) 70.4 (1C, NTr C<sub>q</sub>), 63.9 (1C, C-5'); ESI-TOF-MS:  $m/z$  számított C<sub>48</sub>H<sub>41</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>4</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 774,306; mért 774,302.

### 5'-*O*-tritol-citidin (**207**)<sup>123</sup>

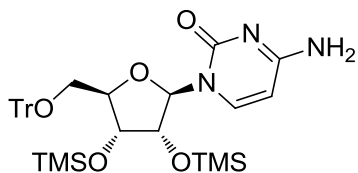


Első módszer: 243 mg (1,00 mmol) citidint (**200**) szuszpendáltam 5 ml absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N-ben, majd hozzáadtam 697 mg (2,50 mmol, 2,5 ekv.) trifenilmetil-kloridot, és egy éjszakán át 60 °C-on kevertetem. Másnap bepároltam a reakcióelegyet, és a nyersterméket flash kromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5 → 9:1) tisztítottam. Termékként (**207**) 261 mg (54%) fehér szilárd habszerű anyagot kaptam.

Második módszer: 2,50 g (10,28 mmol) citidint (**200**) szuszpendáltam 30 ml absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N-ben, majd hozzáadtam 3,15 g (11,31 mmol, 1,1 ekv.) trifenilmetil-kloridot. Másnap 15 ml absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N-t és 10 ml absz. DMF-ot, illetve 1,15 g (4,11 mmol, 0,4 ekv.) tritol-kloridot adtam az elegyhez. Négy nap után az oldószert vákuumban lepároltam, a bepárolt anyagot Et<sub>2</sub>O-rel eldörzsöltem. A szilárd anyagot vákuumban kiszűrtem, majd desztillált vízzel és Et<sub>2</sub>O-rel mostam. A nyersterméket flash kromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5 → 9:1 → 8:2) tisztítottam. Termékként (**207**) 3,96 g (79%) fehér szilárd habszerű anyagot kaptam.

R<sub>f</sub> = 0.19 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 7.75 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, citozin CH-6), 7.40 (d, *J* = 7.2 Hz, 6H, 6 x Tr Ar-H), 7.36 (t, *J* = 7.5 Hz, 6H, 6 x Tr Ar-H), 7.29 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, 3 x Tr Ar-H), 7.17 (d, *J* = 20.0 Hz, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.79 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H, H-1'), 5.53 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, citozin CH-5), 5.45 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H), 5.07 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 4.10 (dd, *J* = 12.0, 6.5 Hz, 1H), 4.00-3.93 (m, 2H), 3.30-3.22 (m, 2H); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 165.6, 155.1 (2C, citozin CO-2, C-4), 143.5 (3C, 3 x Tr Ar-C), 140.9 (1C, citozin CH-6), 128.3, 128.0, 127.2, (15C, 15 x Tr Ar-CH) 93.8, 89.9, 81.6, 74.1, 69.3 (5C, citozin CH-5, C-1', C-2', C-3', C-4'), 86.3 (1C, OTr C<sub>q</sub>), 63.0 (1C, C-5'); ESI-TOF-MS: *m/z* számított C<sub>28</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>5</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 508,185; mért 508,184.

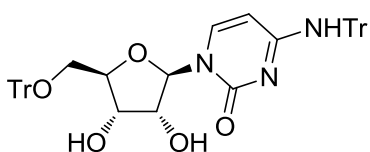
### 2',3'-*di-O*-trimetilszilil-5'-*O*-tritol-citidin (**208**)



570 mg (1,17 mmol) **207**-ről lepároltam 10 ml absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N-t, majd ugyanannyiban feloldottam, és argon atmoszféra alatt kevertetem negyed óráig a reakcióelegyet. Fél óra alatt hozzácepegtettem 1,49 ml (11,74 mmol, 10,0 ekv.) trimetilszilil-kloridot, majd egy óra múlva hozzáadtam 491 mg (1,76 mmol, 1,5 ekv.) tritol-kloridot. Egyéjszakás kevertetés

után telített NaHCO<sub>3</sub>-oldatot adtam a reakcióelegyhez, és egy óra kevertetés után bepároltam. A maradékot CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-nal hígítottam, és 10%-os NaHSO<sub>4</sub>-oldattal, majd telített NaHCO<sub>3</sub>-oldattal extraháltam. A szerves fázist vízmentes szilárd Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-on megszáritottam, a szárítószeret kiszűrtem, az oldatot vákuumban bepároltam. A nyersterméket flash kromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 100:3) tisztítottam. 320 mg (43%) narancsbarna szilárd habszerű terméket (**208**) izoláltam. R<sub>f</sub> = 0.70 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 8.32 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, citozin CH-6), 7.57 (d, *J* = 7.0 Hz, 6H, 6 x Tr Ar-H), 7.52-7.39 (m, 9H, 9 x Tr Ar-H), 6.02 (s, 1H, H-1'), 5.48 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, citozin CH-5), 4.33 (m, 3H), 3.84 (dd, *J* = 10.9, 1.8 Hz, 1H, H-5'a), 3.47 (dd, *J* = 10.9, 2.6 Hz, 1H, H-5'b), 0.33, 0.15 (2 x s, 18H, TMS 6 x Si-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 166.0, 155.9 (2C, citozin CO-2, C-4), 143.3, (3C, 3 x Tr Ar-C), 141.4, (1C, citozin CH-6) 129.0, 128.0, 127.5, (15C, 15 x Tr Ar-CH), 94.2, 91.2, 81.6, 76.5, 69.9 (5C, citozin CH-5, C-1', C-2', C-3', C-4'), 87.5, (1C, OTr C<sub>q</sub>), 61.7 (1C, C-5'), 0.5, 0.2 (6C, 2 x TMS CH<sub>3</sub>); MALDI-TOF-MS: *m/z* számított C<sub>34</sub>H<sub>43</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>5</sub>Si<sub>2</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 652,264; mért 652,4.

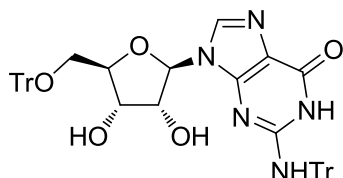
#### 4-*N*,5'-*O*-bisztritol-citidin (**209**)



2,00 g (8,22 mmol) citidint (**200**) szuszpendáltam 20 ml absz. DMF-ban, majd hozzáadtam 4,65 g (16,68 mmol, 2,03 ekv.) tritol-kloridot, 0,02 g 4-dimetilamino-piridint, 2,8 ml (19,98 mmol, 2,43 ekv.) Et<sub>3</sub>N-t, és 50 °C-on kevertettem a reakcióelegyet. 1,88 ml (13,47 mmol, 1,64 ekv.) Et<sub>3</sub>N-t és 1,81 g (6,50 mmol, 0,79 ekv.) tritol-kloridot adtam hozzá 2 nap múlva, majd megismételtem 4 és 7 nap múlva is. 10 nap múlva bepároltam az elegyet, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-nal meghígítottam. A szerves fázist 10%-os NaHSO<sub>4</sub>-oldattal, telített NaHCO<sub>3</sub>-oldattal extraháltam, vízmentes Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-on megszáritottam, majd a szilárd anyagot kiszűrtem. A szűrletet bepároltam, és a nyersterméket flash kromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98:2 → 97:3 → 95:5) tisztítottam. Termékként (**209**) 1,81g (30%) sárgásbarna szilárd anyagot kaptam. R<sub>f</sub> = 0.36 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 8.51 (s, 1H, NH), 7.62 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, citozin CH-6), 7.48-7.09 (m, 30H, 30 x Tr Ar-H), 6.16 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, citozin CH-5), 5.70 (d, *J* = 3.1 Hz, 1H, H-1'), 5.36 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 5.04 (s, 1H), 4.03 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 3.95-3.86 (m, 2H), 3.24 (s, 2H); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 163.3, 154.0 (2C, citozin CO-2, C-4), 144.6, 143.5 (6C, 6 x Tr Ar-C),

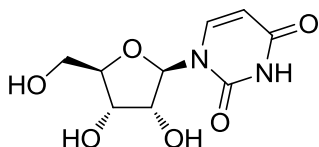
128.8, 128.3, 128.0, 127.5, 127.1, 126.3 (30C, 30 x Tr Ar-CH), 96.2, 89.5, 81.8, 73.8, 70.2, (5C, citozin CH-5, C-1', C-2', C-3', C-4'), 86.3 (1C, OTr C<sub>q</sub>), 70.4 (1C, NTr C<sub>q</sub>), 63.3 (1C, C-5'); MALDI-TOF-MS: *m/z* számított C<sub>47</sub>H<sub>41</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>5</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 750,294; mért 790,208.

### 2-*N*,5'-*O*-bisztritol-guanozin (**210**)<sup>124</sup>



5,00 g (17,65 mmol) guanozint (**197**) szuszpendáltam 50 ml absz. DMF-ban, majd hozzáadtam 10,00 g (35,87 mmol, 2,0 ekv.) tritol-kloridot, 0,05 g 4-dimetilamino-piridint, 6,00 ml (43,05 mmol, 2,4 ekv.) Et<sub>3</sub>N-t, és 50 °C-on kevertettem a reakcióelegyet. 4,00 ml (29,00 mmol, 1,6 ekv.) Et<sub>3</sub>N-t adtam hozzá 2 nap múlva, majd 10,00 g (35,87 mmol, 2,0 ekv.) tritol-kloridot és 6,00 ml (43,05 mmol, 2,4 ekv.) Et<sub>3</sub>N-t 4 nap múlva is. 1 hét után 10 ml Et<sub>3</sub>N-t és 10 ml MeOH-t adtam hozzá, majd 30-30 percig kevertettem az elegyet. Vákuumban bepároltam, és absz. PhMe-t pároltam le róla. A nyersterméket flash kromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98:2 → 95:5) tisztítottam. Termékként (**210**) 6,70 g (49%) halvány barna habszerű szilárd anyagot kaptam. R<sub>f</sub> = 0.24 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 11.13 (s, 1H, NH), 7.70 (s, 1H, guanin CH-8), 7.43-7.04 (m, 30H, 30 x Tr Ar-H), 5.32 (d, 1H, H-1'), 4.20-4.09 (m, 1H), 4.00 (s, 2H), 3.58 (s, 1H), 3.25 (ddd, *J* = 15.3, 10.4, 4.4 Hz, 2H, H-5'a,b), 3.03 (s, 1H), 2.01 (s, 1H); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 158.4, 151.6, 149.5, 117.9 (4C, guanin C-2, C-4, C-5, CO-6), 144.2, 143.7 (6C, 6 x Tr Ar-C), 128.9, 128.7, 128.0, 127.3, 127.1 (30C, 30 x Tr Ar-CH), 89.6, 84.0, 74.4, 71.4 (4C, C-1', C-2', C-3', C-4'), 87.1 (1C, OTr C<sub>q</sub>), 71.2 (1C, NTr C<sub>q</sub>), 64.1 (1C, C-5'); ESI-TOF-MS: *m/z* számított C<sub>48</sub>H<sub>41</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>5</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 790,301; mért 790,290.

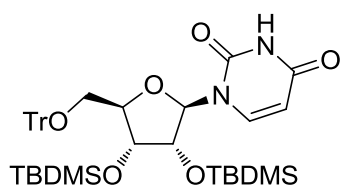
### Uridin (**58**)



122 mg (0,25 mmol) 5'-*O*-tritol-uridint (**191**) hozzáadtam 2,5 ml hexafluor-izopropanol, 9,0 ml (0,05 mmol, 0,20 ekv., Cu(OTf)<sub>2</sub>) 100 mg Cu(OTf)<sub>2</sub>/50 ml MeNO<sub>2</sub> koncentrációjú törzsoldat és 150 μl (0,95 mmol, 3,8 ekv.) Et<sub>3</sub>SiH elegyéhez. Vékonyréteg-kromatográfiával követtem a reakciót. 5 perc után elfogyott a kiindulási anyag. Telített NaHCO<sub>3</sub>-oldatot adtam a reakcióelegyhez és bepároltam. A nyersterméket flash

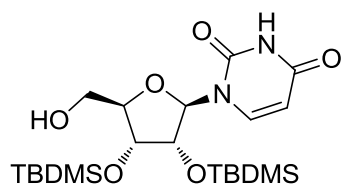
oszlopkromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 85:15 → 8:2) tisztítottam. Termékként (**58**) 56 mg (92%) fehér szilárd anyagot izoláltam.  $R_f = 0.14$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta = 7.89$  (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H, uracil CH-6), 5.79 (d,  $J = 5.4$  Hz, 1H, H-1'), 5.67 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H, uracil CH-5), 4.04 (t,  $J = 5.3$  Hz, 1H), 3.98 (t,  $J = 4.4$  Hz, 1H), 3.87 (q,  $J = 3.3$  Hz, 1H), 3.63 (dd,  $J = 12.2$  Hz, 3.0 Hz, 1H, H-5'a), 3.60-3.54 (m, 1H, H-5'b); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta = 163.5$ , 151.0 (2C, uracil CO-2, CO-4), 141.1 (1C, uracil CH-6), 102.0 (1C, uracil CH-5), 87.9, 85.5, 73.7, 70.1 (4C, C-1', C-2', C-3', C-4'), 61.0 (1C, C-5'); ESI-TOF-MS:  $m/z$  számított C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>6</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 267,059; mért 267,055.

### 2',3'-di-*O*-*tert*-butildimetilszilil-5'-*O*-tritol-uridin (**211**)<sup>125</sup>



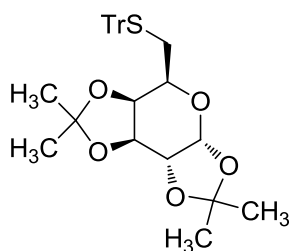
5,0 g (10,28 mmol) **191**-et feloldottam 30 ml absz. DMF-ban, hozzáadtam 5,18 g (76,05 mmol, 7,4 ekv.) imidazolt, és 0 °C-ra behűtöttem az oldatot. Ezután 4,95 g (32,84 mmol, 3,2 ekv.) *tert*-butildimetilszilil-kloridot adtam a reakcióelegyhez, és egy éjszakán át kevertettem az oldatot. Másnap az oldószert lepároltam, a maradékot EtOAc-ban feloldottam, és 10%-os NaHSO<sub>4</sub>-oldattal, telített NaHCO<sub>3</sub>-oldattal, majd telített sós vízzel extraháltam. A szerves fázist vízmentes Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-tal megszáritottam, a szárítószert kiszűrtem, az oldatot bepároltam. A nyersteget flash kromatográfiával (*i*-hexán/aceton 85:15 → 8:2) tisztítottam. Termékként (**211**) 6,39 g (87%) fehér szilárd habszerű anyagot kaptam.  $R_f = 0.42$  (*i*-hexán/aceton 7:3); <sup>1</sup>H NMR (360 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 9.25$  (s, 1H, NH), 8.14 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H, uracil CH-6), 7.38-7.25 (m, 15H, 15 x Tr Ar-H), 5.84 (d,  $J = 1.3$  Hz, 1H, H-1'), 5.26 (dd,  $J = 8.1$  Hz, 1.7 Hz, 1H, uracil CH-5), 4.19 (m, 3H), 3.71 (d,  $J = 10.8$  Hz, 1H, H-5'a), 3.37 (d,  $J = 10.8$  Hz, 1H, H-5'b), 0.90, 0.77 (2 x s, 18H, TBDMS *t*-Bu 6 x CH<sub>3</sub>), 0.17, 0.10, 0.02, -0.07 (4 x s, 12H, TBDMS 4 x Si-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (90 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 163.5$ , 150.4 (2C, uracil CO-2, CO-4), 143.1 (3C, 3 x Tr Ar-C), 140.5 (1C, uracil CH-6), 129.1, 128.1, 127.7 (15C, 15 x Tr Ar-CH), 102.1 (1C, uracil CH-5), 89.9, 83.0, 76.3, 70.9 (4C, C-1', C-2', C-3', C-4'), 87.9 (1C, Tr C<sub>q</sub>), 62.0 (1C, C-5'), 25.9 (6C, TBDMS *t*-Bu 6 x CH<sub>3</sub>), 18.1 (2C, TBDMS 2 x *t*-Bu C<sub>q</sub>), -4.0, -4.3, -4.8 (4C, TBDMS 4 x Si-CH<sub>3</sub>); ESI-TOF-MS:  $m/z$  számított C<sub>40</sub>H<sub>54</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>6</sub>Si<sub>2</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 737,342; mért 737,340.

## 2',3'-di-*O*-*tert*-butildimetilszilil-uridin (**212**)<sup>126</sup>



179 mg (0,25 mmol) **211**-et hozzáadtam 2,5 ml hexafluor-izopropanol, 2  $\mu$ l (0,016 mmol, 0,065 ekv.)  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  és 150  $\mu$ l (0,94 mmol, 3,8 ekv.)  $\text{Et}_3\text{SiH}$  elegyéhez. Vékonyréteg-kromatográfiával követtem a reakciót. 5 perc után elfogyott a kiindulási anyag. Telített  $\text{NaHCO}_3$ -oldatot adtam a reakcióelegyhez és bepároltam. A nyersterméket flash oszlopkromatográfiával (*i*-hexán/aceton 8:2) tisztítottam. Termékként (**212**) 104 mg (88%) fehér szilárd anyagot kaptam.  $R_f = 0.27$  (*i*-hexán/aceton 7:3);  $^1\text{H}$  NMR (360 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 8.74$  (s, 1H, NH), 7.73 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H, uracil CH-6), 5.84 (d,  $J = 8.0$ , 1H, uracil CH-5), 5.58 (d,  $J = 5.3$  Hz, 1H, H-1'), 4.67 (t,  $J = 4.9$  Hz, 1H), 4.29 (t,  $J = 3.9$  Hz, 1H), 4.21 (s, 1H), 4.05 (d,  $J = 12.2$  Hz, 1H, H-5'a), 3.86-3.81 (m, 1H, H-5'b), 3.12 (d,  $J = 4.7$  Hz, 1H), 1.03, 0.99 (2 x s, 18H, TBDMS *t*-Bu 6 x  $\text{CH}_3$ ), 0.21, 0.20, 0.18, 0.15 (4 x s, 12H, TBDMS 4 x Si- $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (90 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 163.9$ , 150.6 (2C, uracil CO-2, CO-4), 143.1 (1C, uracil CH-6), 102.1 (1C, uracil CH-5), 93.6, 86.0, 74.0, 71.6 (C-1', C-2', C-3', C-4'), 61.5 (1C, C-5'), 26.0, 25.9 (6C, TBDMS *t*-Bu 6 x  $\text{CH}_3$ ), 18.2, 18.1 (2C, TBDMS 2 x *t*-Bu  $\text{C}_q$ ); MALDI-TOF-MS:  $m/z$  számított  $\text{C}_{21}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{NaO}_6\text{Si}_2$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  495,232; mért 495,233.

## 1,2;3,4-di-*O*-izopropilidén-6-dezoxi-6-tritiltio-galaktopiranoz (**225**)

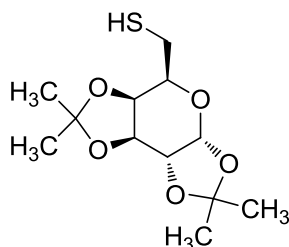


205 mg (0,74 mmol) **226**-ot feloldottam 3 ml absz.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  és 0,5 ml absz.  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$  elegyében, és hozzáadtam 310 mg (1,11 mmol, 1,5 ekv.) trifenilmetil-kloridot, majd argon atmoszféra alatt egy éjszakán át kevertettem a reakcióelegyet. Másnap  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -nal hígítottam az elegyet, és először 10%  $\text{NaHSO}_4$ -oldattal, majd telített  $\text{NaHCO}_3$ -oldattal extraháltam. A szerves fázist vízmentes  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -on megszáritottam, a szárítószert kiszűrtem, majd az oldatot bepároltam. A nyersterméket flash kromatográfiával (*i*-hexán/ $\text{Et}_2\text{O}$  98:2  $\rightarrow$  95:5  $\rightarrow$  9:1) tisztítottam. 324 mg (84%) fehér habszerű szilárd anyagot kaptam termékként (**225**).  $R_f = 0.53$  (*i*-hexán/aceton 8:2);  $[\alpha]_D: -70.3$  ( $c$  0,11;  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$



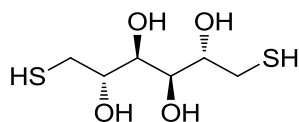
NMR (360 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.42-7.14 (m, 15H, 15 x Tr Ar-H), 5.44 (d,  $J$  = 5.0 Hz, 1H, H-1), 4.52 (dd,  $J$  = 7.9 Hz, 2.3 Hz, 1H, H-3), 4.23 (dd,  $J$  = 5.0 Hz, 2.4 Hz, 1H, H-2), 4.10 (dd,  $J$  = 7.9 Hz, 1.8 Hz, 1H, H-4), 3.63 (td,  $J$  = 7.0 Hz, 1.5 Hz, 1H, H-5), 2.50 (ddd,  $J$  = 27.4 Hz, 12.2 Hz, 7.1 Hz, 2H, H-6a,b), 1.48, 1.39, 1.32, 1.29 (4 x s, 12H, 4 x izopropilidén CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (90 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 145.0 (3C, 3 x Tr Ar-C), 129.9, 128.0, 126.8 (15C, 15 x Tr Ar-CH), 109.3, 108.7 (2C, 2 x izopropilidén C<sub>q</sub>), 96.5 (1C, C-1), 72.0, 71.0, 70.6, 67.5 (4C, C-2, C-3, C-4, C-5), 67.1 (1C, Tr C<sub>q</sub>), 32.2 (1C, C-6), 26.3, 26.1, 25.0, 24.7 (4C, 4 x izopropilidén CH<sub>3</sub>); ESI-TOF-MS:  $m/z$  számított C<sub>31</sub>H<sub>34</sub>NaO<sub>5</sub>S [M+Na]<sup>+</sup> 541,202; mért 541,203.

### 1,2;3,4-di-*O*-izopropilidén-6-dezoxi-6-tio-galaktopiranoz (226)



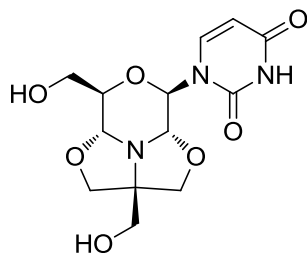
130 mg (0,25 mmol) **225**-öt hozzáadtam 2,5 ml hexafluor-izopropanol, 2  $\mu$ l (0,016 mmol, 0,065 ekv.) BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O és 150  $\mu$ l (0,94 mmol, 3,8 ekv.) Et<sub>3</sub>SiH elegyéhez. Vékonyréteg-kromatográfiával követtem a reakciót. 5 perc után elfogyott a kiindulási anyag. Telített NaHCO<sub>3</sub>-oldatot adtam a reakcióelegyhez és bepároltam. A nyersterméket flash oszlopkromatográfiával (*i*-hexán/Et<sub>2</sub>O 95:5) tisztítottam. Termékként (**226**) 50 mg (72%) szintelen szirupszerű anyagot kaptam.  $R_f$  = 0.41 (*i*-hexán/aceton 95:5);  $[\alpha]_D$ : -74.1 ( $c$  0,16; CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (360 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 5.53 (d,  $J$  = 5.0 Hz, 1H, H-1), 4.63 (dd,  $J$  = 7.9 Hz, 2.4 Hz, 1H, H-3), 4.35 (dd,  $J$  = 7.9 Hz, 1.8 Hz, 1H, H-4), 4.32 (dd,  $J$  = 5.0 Hz, 2.4 Hz, 1H, H-2), 3.79 (td,  $J$  = 7.0 Hz, 1.6 Hz, 1H, H-5), 2.81-2.63 (m, 2H, H-6a,b), 1.62 (dd,  $J$  = 9.7 Hz, 7.5 Hz, 1H, SH), 1.55, 1.44, 1.35, 1.34 (4 x s, 12H, 4 x izopropilidén CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (90 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 109.5, 108.8 (2C, 2 x izopropilidén C<sub>q</sub>), 96.7 (1C, C-1), 71.4, 71.1, 70.7, 70.0 (4C, C-2, C-3, C-4, C-5), 26.2, 26.1, 25.0, 24.6 (4C, 4 x izopropilidén CH<sub>3</sub>), 24.5 (1C, C-6); ESI-TOF-MS:  $m/z$  számított C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>NaO<sub>5</sub>S [M+Na]<sup>+</sup> 299,093; mért 299,089.

### 1,6-didezoxi-1,6-ditio-mannit (**228**)<sup>127</sup>



350 mg (0,50 mmol) 1,6-didezoxi-1,6-bisztrilitio-mannitot (**227**) hozzáadtam 0,5 ml hexafluor-izopropanol, 12,5  $\mu$ l (0,10 mmol, 0,2 ekv.)  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  és 300  $\mu$ l (1,88 mmol, 3,8 ekv.)  $\text{Et}_3\text{SiH}$  elegyéhez. Miután VRK-val követve a reakciót a kiindulási anyag elfogyott (kb. 5 perc), az oldószert lepároltam, és a nyersterméket  $\text{Et}_2\text{O}$ -rel eldörzsöltem. A szilárd anyagot kiszűrtem,  $\text{Et}_2\text{O}$ -rel mostam. Termékként (**228**) 96 mg (89%) fehér szilárd anyagot kaptam.  $R_f = 0.08$  (*i*-hexán/aceton 1:1);  $[\alpha]_D^{25} +7.9$  (*c* 0,30; MeOH);  $^1\text{H NMR}$  (360 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta = 4.74$  (s, 2H), 4.24 (d,  $J = 5.6$  Hz, 2H), 3.53 (d,  $J = 4.4$  Hz, 4H), 2.85-2.79 (m, 2H), 2.53 (dd,  $J = 12.7$  Hz, 5.7 Hz, 2H), 1.99 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H, 2 x SH);  $^{13}\text{C NMR}$  (90 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta = 71.2, 70.7$  (4C, C-2, C-3, C-4, C-5), 29.1 (2C, C-1, C-6); ESI-TOF-MS:  $m/z$  számított  $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{NaO}_4\text{S}_2$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  237,023; mért 237,022.

### Uracil-triciklánó (**235**)



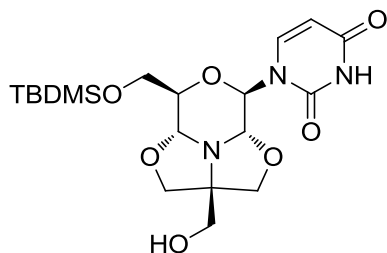
Védőcsoport nélkül: 244 mg (1,00 mmol) uridint (**58**) oldottam 20 ml MeOH-ban, hozzáadtam 1,0 g  $\text{IO}_4^-$ -formájú anioncserélő gyantát, és egy éjszakán át sötétben kevertettem. Másnap a gyantát Celite<sup>®</sup> rétegen kiszűrtem, és MeOH-lal mostam, majd az oldatot bepároltam. A nyersterméket 100 ml absz. MeOH-ban oldottam, és 250 mg 3 Å molekulaszitát adtam hozzá. Fél óra kevertetés után 182 mg (1,50 mmol, 1,5 ekv.) triszt adtam a reakcióelegyhez. Egyéjszakás kevertetés után a molekulaszitát Celite<sup>®</sup> rétegen kiszűrtem, és MeOH-lal mostam, majd az oldószert lepároltam. A nyersterméket flash oszlopkromatográfiával (EtOAc/MeOH 95:5) tisztítottam. 190 mg (58%, 2 lépésre) fehér szilárd habot izoláltam termékként (**235**).

Deszililezés: 167 mg (0,38 mmol) **236**-ot oldottam 3 ml absz. THF-ban, és 570  $\mu$ l TBAF-oldatot (1,5 ekv., 1,0 M THF-os oldat) adtam hozzá. 2 óra kevertetés után az oldatot bepároltam, és a nyersterméket flash kromatográfiával (EtOAc/MeOH 95:5) tisztítottam. 59 mg (48%) fehér szilárd habot kaptam termékként (**235**).

Detritilezés: 342 mg (0,60 mmol) **237**-et hozzáadtam 342 mg (2,51 mmol, 4,2 ekv.) ZnCl<sub>2</sub>, 6 ml hexafluor-izopropanol, 3 ml MeNO<sub>2</sub> és 600 µl (3,76 mmol, 6,3 ekv.) Et<sub>3</sub>SiH elegyéhez. 2 óra után telített NaHCO<sub>3</sub>-oldatot adtam a reakcióelegyhez, majd bepároltam. A nyersterméket flash oszlopkromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1 → 8:1 → 85:15 → 8:2) tisztítottam. 129 mg (66%) fehér szilárd habot kaptam termékként (**235**).

R<sub>f</sub> = 0.45 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 85:15); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O + CD<sub>3</sub>OD) δ = 7.78 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, uracil CH-6), 6.04 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H, H-1'), 5.88 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, uracil CH-5), 4.77 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H, H-2'), 4.70 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H, H-8'), 4.15 (dd, *J* = 3.9, 1.3 Hz, 1H, H-9'), 4.00 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, H-6'a), 3.93-3.86 (m, 2H, H-4'a,b), 3.85-3.71 (m, 3H, H-6'b, H-12'a,b), 3.69 (s, 2H, H-13'a,b); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, D<sub>2</sub>O + CD<sub>3</sub>OD) δ = 166.6 (1C, uracil CO-4), 152.3 (1C, uracil CO-2), 142.6 (1C, uracil CH-6), 103.8 (1C, uracil CH-5), 90.8 (1C, C-2'), 89.1 (1C, C-8'), 79.1 (1C, C-1'), 75.9 (1C, C-9'), 75.6 (1C, C-5'), 73.0 (1C, C-4'), 72.2 (1C, C-6'), 63.6 (1C, C-13'), 62.7 (1C, C-12'); ESI-TOF-MS: *m/z* számított C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>7</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 350,096; mért 350,093.

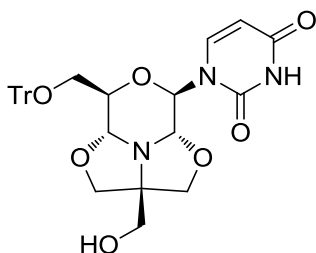
### 12'-*O*-*tert*-butildimetilszilil-uracil-triciklánó (**236**)



3,00 g (8,37 mmol) **188**-at oldottam 100 ml MeOH-ban, hozzáadtam 12,0 g IO<sub>4</sub><sup>-</sup>-formájú anioncserélő gyantát, és egy éjszakán át sötétben kevertetem. Másnap a gyantát Celite<sup>®</sup> rétegen kiszűrtem, és MeOH-lal, illetve CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-nal mostam, majd az oldatot bepároltam. A nyersterméket 200 ml absz. MeOH-ban oldottam, és 3,0 g 3 Å molekulaszitát adtam hozzá. Fél óra kevertetés után 1,52 g (12,56 mmol, 1,5 ekv.) triszt adtam a reakcióelegyhez. Egyéjszakás kevertetés után a molekulaszitát Celite<sup>®</sup> rétegen kiszűrtem, és MeOH-lal, illetve CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-nal mostam, majd az oldószeret lepároltam. A nyersterméket flash kromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5) tisztítottam. Termékként (**236**) 2,64 g, (72%, 2 lépésre) fehér szilárd habot izoláltam. R<sub>f</sub> = 0.31 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5); <sup>1</sup>H NMR 400 MHz (CDCl<sub>3</sub>) δ = 9.72 (s, 1H, NH), 7.56 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, uracil CH-6), 6.15 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H, H-1'), 5.74 (dd, *J* = 8.2, 0.8 Hz, 1H, uracil CH-5), 4.79 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H, H-8'), 4.68 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H, H-2'), 4.05 (dd, *J* = 5.1, 1.6 Hz, 1H, H-9'), 3.93 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, H-4'a vagy H-6'a), 3.90-3.78 (m, 5H, H-4'a vagy H-6'a, H-4'b, H-6'b, H-12'a,b),

3.67 (s, 2H, H-13'a,b), 0.90 (s, 9H, TBDMS *t*-Bu 3 x CH<sub>3</sub>), 0.08, 0.07 (2 x s, 6H, TBDMS 2 x Si-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR 100 MHz (CDCl<sub>3</sub>) δ = 163.5, 150.5 (2C, uracil CO-2, CO-4), 140.0 (1C, uracil CH-6), 102.9 (1C, uracil CH-5), 90.5 (1C, C-2'), 87.6 (1C, C-8'), 77.8 (1C, C-1'), 75.3 (1C, C-5'), 74.7 (1C, C-9'), 72.0, 71.4 (2C, C-4', C-6'), 63.7 (1C, C-13'), 62.9 (1C, C-12'), 25.9 (3C, TBDMS *t*-Bu 3 x CH<sub>3</sub>), 18.4 (1C, TBDMS *t*-Bu C<sub>q</sub>), -5.3 (2C, TBDMS 2 x Si-CH<sub>3</sub>); MALDI-TOF-MS: *m/z* számított C<sub>19</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>7</sub>Si [M+Na]<sup>+</sup> 464,18; mért 464,27.

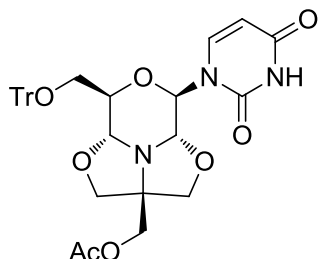
### 12'-*O*-tritol-uracil-triciklánó (237)



2,00 g (4,13 mmol) **191**-et oldottam 100 ml MeOH-ban, hozzáadtam 8,0 g IO<sub>4</sub><sup>-</sup>-formájú anioncserélő gyantát, és egy éjszakán át sötétben kevertetem. Másnap a gyantát Celite<sup>®</sup> rétegen kiszűrtem, és MeOH-lal, illetve CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-nal mostam, majd az oldatot bepároltam. A nyersterméket 100 ml absz. MeOH-ban oldottam, és 2,0 g 3 Å molekulaszitát adtam hozzá. Fél óra kevertetés után 747 mg (6,17 mmol, 1,5 ekv.) triszt adtam a reakcióelegyhez. Következő nap 249 mg (2,06 mmol, 0,5 ekv.) triszt adtam még a reakció elegyhez. Még egy éjszakás kevertetés után a molekulaszitát Celite<sup>®</sup> rétegen kiszűrtem, és MeOH-lal, illetve CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-nal mostam, majd az oldószert lepároltam. A nyersterméket flash kromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98:2 → 98:3 → 97:3) tisztítottam, és termékként (**237**) 1,78 g (76%, 2 lépésre) fehér szilárd habos anyagot izoláltam. *R<sub>f</sub>* = 0.42 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 9.77 (s, 1H, NH), 7.48 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, uracil CH-6), 7.43 (d, *J* = 7.3 Hz, 6H, 6 x Tr Ar-H), 7.29 (t, *J* = 7.4 Hz, 6H, 6 x Tr Ar-H), 7.23 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, 3 x Tr Ar-H), 6.14 (d, *J* = 4.7 Hz, 1H, H-1'), 5.67 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, uracil CH-5), 4.80 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H, H-8'), 4.68 (d, *J* = 4.7 Hz, 1H, H-2'), 4.21 (q, *J* = 4.4 Hz, 1H, H-9'), 3.87 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, H-6'a, H-4'a), 3.78 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, H-6'b), 3.77 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, H-4'b), 3.64 (d, *J* = 5.5 Hz, 2H, H-13'a,b), 3.38 (d, *J* = 4.3 Hz, 2H, H-12'a,b), 2.90 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H, OH); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 163.4 (1C, uracil CO-4), 150.5 (1C, uracil CO-2), 143.5 (3C, 3 x Tr Ar-C), 139.9 (1C, uracil CH-6), 128.7, 128.0, 127.3 (15C, 15 x Tr Ar-CH), 103.0 (1C, uracil CH-5), 90.3 (1C, C-2'), 88.4 (1C, C-8'), 87.1 (1C, Tr C<sub>q</sub>), 77.7 (1C, C-1'), 75.3 (1C, C-5'), 73.9 (1C,

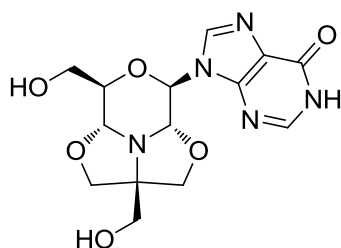
C-9'), 72.0 (1C, C-4'), 71.3 (1C, C-6'), 63.7 (1C, C-13'), 63.6 (1C, C-12'); ESI-TOF-MS:  $m/z$  számított  $C_{32}H_{31}N_3NaO_7$   $[M+Na]^+$  592,206; mért 592,205.

### 13'-*O*-acetil-12'-*O*-tritol-uracil-triciklánó (238)



400 mg (0,70 mmol) **237**-et oldottam 2,5 ml absz.  $C_5H_5N$ -ben, majd hozzáadtam 133  $\mu$ l (1,40 mmol, 2,0 ekv.) ecetsavanhidridet. Egyéjszakás kevertetés után telített  $NaHCO_3$ -oldatot adtam az elegyhez, és egy órán át kevertettem. Ezután bepároltam a reakcióelegyet. 2 x  $H_2O$ -zel, 2 x 10%-os  $NaHSO_4$ -oldattal és 2 x telített  $NaHCO_3$ -oldattal extraháltam. A szerves fázist vízmentes  $Na_2SO_4$ -on megszáritottam, a szárítószeret kiszűrtem, majd az oldatot bepároltam. A nyersterméket flash kromatográfiával ( $CH_2Cl_2$ /aceton 9:1  $\rightarrow$  85:15  $\rightarrow$  8:2) tisztítottam. 418 mg (97%) fehér szilárd habszerű anyagot kaptam termékként (**238**).  $R_f = 0.44$  ( $CH_2Cl_2$ /aceton 8:2);  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 9.39$  (s, 1H, NH), 7.44 (d,  $J = 7.3$  Hz, 6H, 6 x Tr Ar-H), 7.36 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H, uracil CH-6), 7.30 (t,  $J = 7.3$  Hz, 6H, 6 x Tr Ar-H), 7.24 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H, 3 x Tr Ar-H), 6.16 (d,  $J = 5.2$  Hz, 1H, H-1'), 5.72 (dd,  $J = 8.1, 1.7$  Hz, 1H, uracil CH-5), 4.77 (d,  $J = 4.1$  Hz, 1H, H-8'), 4.63 (d,  $J = 5.2$  Hz, 1H, H-2'), 4.22 (dt,  $J = 8.5, 4.1$  Hz, 2H, H-13'a, H-9'), 4.15 (d,  $J = 11.4$  Hz, 1H, H-13'b), 3.94 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H, H-6'a), 3.85 (dd,  $J = 20.0, 9.1$  Hz, 2H, H-4'a,b), 3.73 (d,  $J = 9.1$  Hz, 1H, H-6'b), 3.41-3.34 (m, 2H, H-12'a,b), 2.05 (s, 3H,  $COCH_3$ );  $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 170.7$  (1C,  $COCH_3$ ), 163.0 (1C, uracil CO-4), 150.5 (1C, uracil CO-2), 143.5 (3C, Tr Ar-C), 139.6 (1C, uracil CH-6), 128.8, 128.0, 127.4 (15C, 15 x Tr Ar-CH), 103.2 (1C, uracil CH-5), 90.6 (1C, C-2'), 88.8 (1C, C-8'), 87.1 (1C, Tr  $C_q$ ), 77.3 (1C, C-1'), 73.8 (1C, C-9'), 72.8 (1C, C-5'), 72.7 (1C, C-4'), 71.9 (1C, C-6'), 66.0 (1C, C-13'), 63.7 (1C, C-12'), 20.8 (1C,  $COCH_3$ ); ESI-TOF-MS:  $m/z$  számított  $C_{34}H_{33}N_3NaO_8$   $[M+Na]^+$  634,217; mért 634,216.

### Hipoxantin-triciklánó (239)



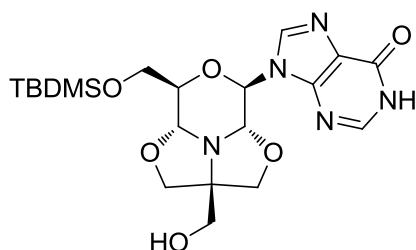
Védőcsoport nélkül: 268 mg (1,00 mmol) inozint (**189**) oldottam 50 ml MeOH-ban, hozzáadtam 1,0 g  $\text{IO}_4^-$ -formájú anioncserélő gyantát, és egy éjszakán át sötétben kevertetem. Másnap a gyantát Celite<sup>®</sup> rétegen kiszűrtem, és MeOH-lal mostam, majd az oldatot bepároltam. A nyersterméket 20 ml absz. MeOH-ban oldottam, és 270 mg 3 Å molekulaszitát adtam hozzá. Fél óra kevertetés után 182 mg (1,50 mmol, 1,5 ekv.) triszt adtam a reakcióelegyhez. Egyéjszakás kevertetés után a molekulaszitát Celite<sup>®</sup> rétegen kiszűrtem, és MeOH-lal mostam, majd az oldószert lepároltam. A nyersterméket flash oszlopkromatográfiával ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/n\text{-PrOH}$  8:2  $\rightarrow$  7:3) tisztítottam. 132 mg (38%, 2 lépésre) fehér szilárd anyagot izoláltam termékként (**239**).

Deszililezés: 153 mg (0,33 mmol) **240**-et oldottam 4 ml absz. THF-ban, 657  $\mu\text{l}$  TBAF-oldatot (2,0 ekv., 1,0 M THF-os oldat) adtam. Egyéjszakás kevertetés után az oldatot bepároltam, és a nyersterméket flash kromatográfiával (EtOAc/MeOH 85:15) tisztítottam. 65 mg (56%) fehér szilárd port kaptam termékként (**239**).

Detritilezés: 297 mg (0,50 mmol) **241**-et hozzáadtam 297 mg (2,18 mmol, 4,4 ekv.)  $\text{ZnCl}_2$ , 10 ml hexafluor-izopropanol, 5 ml  $\text{MeNO}_2$  és 503  $\mu\text{l}$  (3,15 mmol, 6,3 ekv.)  $\text{Et}_3\text{SiH}$  elegyéhez. 2 óra után telített  $\text{NaHCO}_3$ -oldatot adtam a reakcióelegyhez, majd bepároltam. A nyersterméket flash oszlopkromatográfiával ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  85:15  $\rightarrow$  8:2) tisztítottam. 101 mg (58%) fehér szilárd anyagot kaptam termékként (**239**).

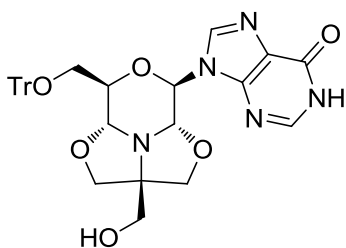
$R_f = 0.47$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  8:2);  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O} + \text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta = 8.37$  (s, 1H, hipoxantin CH-8), 8.20 (s, 1H, hipoxantin CH-2), 6.10 (d,  $J = 6.3$  Hz, 1H, H-1'), 5.17 (d,  $J = 6.3$  Hz, 1H, H-2'), 4.83 (d,  $J = 2.8$  Hz, 1H, H-8'), 4.37 (dd,  $J = 7.4, 4.4$  Hz, 1H, H-9'), 4.03 (dd,  $J = 15.7, 9.2$  Hz, 3H, H-6'a, H-4'a,b), 3.93-3.80 (m, 3H, H-12'a,b, H-6'b), 3.81-3.72 (m, 2H, H-13'a,b);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{D}_2\text{O} + \text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta = 159.2$  (1C, hipoxantin CO-6), 149.3 (1C, hipoxantin C-4), 147.3 (1C, hipoxantin CH-2), 124.7 (1C, hipoxantin C-5), 90.5 (1C, C-2'), 89.6 (1C, C-8'), 79.6 (1C, C-1'), 76.0 (1C, C-9'), 75.6 (1C, C-5'), 73.1 (1C, C-4'), 72.1 (1C, C-5'), 63.7 (1C, C-13'), 62.9 (1C, C-12'); MALDI-TOF-MS:  $m/z$  számított  $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{NaO}_6$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  374,108; mért 374,12.

### 12'-*O*-*tert*-butildimetilszilil-hipoxantin-triciklánó (240)



1,90 g (4,97 mmol) **190**-et oldottam 150 ml MeOH-ban, hozzáadtam 7,6 g  $\text{IO}_4^-$ -formájú anioncserélő gyantát, és egy éjszakán át sötétben kevertettem. Másnap a gyantát Celite<sup>®</sup> rétegen kiszűrtem, és MeOH-lal mostam, majd az oldatot bepároltam. A nyersterméket 80 ml absz. MeOH-ban oldottam, és 2,0 g 3 Å molekulaszitát adtam hozzá. Fél óra kevertetés után 903 mg (7,46 mmol, 1,5 ekv.) triszot adtam a reakcióelegyhez. Egyéjszakás kevertetés után a molekulaszitát Celite<sup>®</sup> rétegen kiszűrtem, és MeOH-lal mostam, majd az oldószert lepároltam. A nyersterméket flash kromatográfiával ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  95:5) tisztítottam. Termékként (**240**) 1,20 g (52%, 2 lépésre) fehér szilárd anyagot izoláltam.  $R_f = 0.31$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  9:1);  $^1\text{H}$  NMR 500 MHz ( $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta = 8.32$  (s, 1H, hipoxantin CH-8), 8.08 (s, 1H, hipoxantin CH-2), 5.99 (d,  $J = 6.3$  Hz, 1H, H-1'), 5.19 (d,  $J = 6.3$  Hz, 1H, H-2'), 5.09 (s, 1H, OH), 4.71 (d,  $J = 3.1$  Hz, 1H, H-8'), 4.09 (td,  $J = 5.6, 3.2$  Hz, 1H, H-9'), 3.86 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H, H-6'a), 3.84 (s, 2H, H-4'a,b), 3.76-3.72 (m, 3H, H-6'b, H-12'a,b), 3.57-3.48 (m, 2H, H-13'a,b), 0.83 (s, 9H, TBDMS *t*-Bu 3 x  $\text{CH}_3$ ), 0.02, 0.01 (2 x s, 6H, TBDMS 2 x Si- $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR 125 MHz ( $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta = 156.5$  (1C, hipoxantin CO-6), 148.2 (1C, hipoxantin C-4), 146.3 (1C, hipoxantin CH-2), 124.0 (1C, hipoxantin C-5), 88.8 (1C, C-2'), 88.0 (1C, C-8'), 77.1 (1C, C-1'), 74.5 (1C, C-5'), 74.4 (1C, C-9'), 72.3 (1C, C-4'), 71.6 (1C, C-6'), 63.9 (1C, C-13'), 63.1 (1C, C-12'), 25.7 (3C, TBDMS *t*-Bu 3 x  $\text{CH}_3$ ), 18.0 (1C, TBDMS *t*-Bu  $\text{C}_q$ ), -5.4 (2C, TBDMS 2 x Si- $\text{CH}_3$ ); ESI-TOF-MS:  $m/z$  számított  $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{NaO}_6\text{Si}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  488,194; mért 488,192.

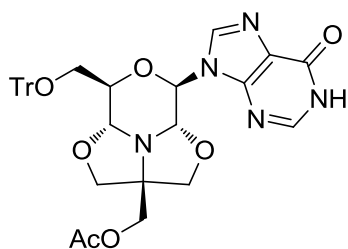
### 12'-*O*-tritol-hipoxantin-triciklánó (241)



1,00 g (4,97 mmol) **192**-t oldottam 50 ml MeOH-ban, hozzáadtam 4,0 g  $\text{IO}_4^-$ -formájú anioncserélő gyantát, és egy éjszakán át sötétben kevertettem. Másnap a gyantát Celite<sup>®</sup>

rétegen kiszűrtem, és MeOH-lal mostam, majd az oldatot bepároltam. A nyersterméket 80 ml absz. MeOH-ban oldottam, és 1,0 g 3 Å molekulaszitát adtam a reakcióelegyhez. Fél óra kevertetés után 357 mg (2,95 mmol, 1,5 ekv.) triszt adtam a reakcióelegyhez. Egyéjszakás kevertetés után a molekulaszitát Celite<sup>®</sup> rétegen kiszűrtem, és MeOH-lal, illetve CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-nal mostam, majd az oldószert lepároltam. A nyersterméket flash kromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5) tisztítottam. Termékként (**241**) 492 mg (42%, 2 lépésre) fehér szilárd anyagot izoláltam.  $R_f = 0.33$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/*i*-PrOH 8:2); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)  $\delta = 8.67$  (s, 1H, hipoxantin CH-8), 8.42 (s, 1H, hipoxantin CH-2), 7.67 (d,  $J = 7.5$  Hz, 6H, 6 x Tr Ar-H), 7.34 (t,  $J = 7.7$  Hz, 6H, 6 x Tr Ar-H), 7.25 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H, 3 x Tr Ar-H), 6.93 (s, 1H), 6.71 (d,  $J = 5.2$  Hz, 1H, H-1'), 5.56 (d,  $J = 5.2$  Hz, 1H, H-2'), 5.24 (d,  $J = 4.2$  Hz, 1H, H-8'), 4.98 (s, 1H), 4.67 (q,  $J = 4.6$  Hz, 1H, H-9'), 4.27 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H, H-4'a), 4.17-4.08 (m, 3H, H-4'b, H-6'a,b), 4.03 (q,  $J = 11.0$  Hz, 2H, H-13'a,b), 3.68-3.61 (m, 2H, H-12'a,b); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)  $\delta = 158.4$  (1C, hipoxantin CO-6), 149.8 (1C, hipoxantin C-4), 147.0 (1C, hipoxantin CH-2), 144.9 (3C, 3 x Tr Ar-C), 129.7, 128.8, 128.0 (15C, 15 x Tr Ar-CH), 126.4 (1C, hipoxantin C-5), 91.5 (1C, C-2'), 89.9 (1C, C-8'), 87.7 (1C, Tr C<sub>q</sub>), 79.0 (1C, C-1'), 76.3 (1C, C-5'), 75.1 (1C, C-9'), 73.6 (1C, C-4'), 73.2 (1C, C-6'), 65.4 (1C, C-13'), 65.3 (1C, C-12'); MALDI-TOF-MS:  $m/z$  számított C<sub>33</sub>H<sub>31</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>6</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 616,217; mért 616,38.

### 13'-*O*-acetyl-12'-*O*-trityl-hipoxantin-triciklánó (**242**)

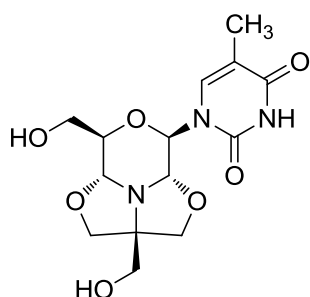


100 mg (0,17 mmol) **241**-et oldottam 2 ml absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N-ben, majd hozzáadtam 31,8  $\mu$ l (0,34 mmol, 2,0 ekv.) ecetsavanhidridet. Egyéjszakás kevertetés után telített NaHCO<sub>3</sub>-oldatot adtam az elegyhez, és egy órán át kevertettem. Ezután bepároltam a reakcióelegyet. A nyersterméket flash kromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 100:0  $\rightarrow$  98:2  $\rightarrow$  95:5) tisztítottam. 91 mg (86%) fehér szilárd anyagot kaptam termékként (**242**).  $R_f = 0.36$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 8.21$  (s, 1H, hipoxantin CH-2), 8.01 (s, 1H, hipoxantin CH-8), 7.46 (d,  $J = 7.3$  Hz, 6H, 6 x Tr Ar-H), 7.30 (t,  $J = 7.4$  Hz, 6H, 6 x Tr Ar-H), 7.24 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3H, 3 x Tr Ar-H), 6.16 (d,  $J = 6.2$  Hz, 1H, H-1'), 5.01 (d,  $J = 6.1$  Hz, 1H, H-2'), 4.83 (d,  $J = 2.9$  Hz, 1H, H-8'), 4.37 (dd,  $J = 7.8, 4.8$  Hz,



<sup>1</sup>H, H-9'), 4.21 (dd,  $J = 24.2, 11.4$  Hz, 2H, H-13'a,b), 3.95 (d,  $J = 9.1$  Hz, 1H, H-6'a) 3.93 (q,  $J = 9.1$ , 2H, H-4'a,b), 3.76 (d,  $J = 9.1$  Hz, 1H, H-6'b), 3.44-3.34 (m, 2H, H-12'a,b), 2.05 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 170.7$  (1C, COCH<sub>3</sub>), 159.3 (1C, hipoxantin CO-6), 149.1 (1C, hipoxantin C-4), 143.6, (3C, 3 x Tr Ar-C) 128.7, 128.0, 127.3 (15C, 15 x Tr Ar-CH), 124.5 (1C, hipoxantin C-5), 90.8 (1C, C-2'), 89.5, (1C, C-8') 87.1 (1C, Tr C<sub>q</sub>), 78.0 (1C, C-1'), 74.1 (1C, C-9'), 72.9 (1C, C-5'), 72.7 (1C, C-4'), 71.9 (1C, C-6'), 66.0 (1C, C-13'), 63.9 (1C, C-12'), 20.8 (1C, COCH<sub>3</sub>); MALDI-TOF-MS:  $m/z$  számított C<sub>35</sub>H<sub>33</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>7</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 658,228; mért 658,164.

### Timin-triciklánó (243)



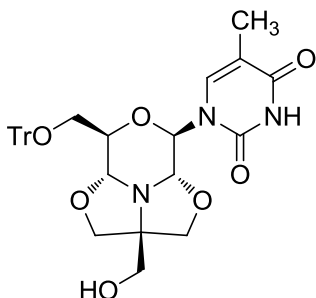
Védőcsoport nélkül: 517 mg (2,00 mmol) ribotimidint (**193**) oldottam 50 ml MeOH-ban, hozzáadtam 2,0 g IO<sub>4</sub><sup>-</sup>-formájú anioncserélő gyantát, és egy éjszakán át sötétben kevertetem. Másnap a gyantát Celite<sup>®</sup> rétegen kiszűrtem, és MeOH-lal mostam, majd az oldatot bepároltam. A nyersterméket 50 ml absz. MeOH-ban oldottam, és 600 mg 3 Å molekulaszitát adtam hozzá. Fél óra kevertetés után 363 mg (3,00 mmol, 1,5 ekv.) triszt adtam a reakcióelegyhez. Egyéjszakás kevertetés után a molekulaszitát Celite<sup>®</sup> rétegen kiszűrtem, és MeOH-lal mostam, majd az oldószert lepároltam. A nyersterméket flash oszlopkromatográfiával (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 95:5) tisztítottam. 362 mg (53%, 2 lépésre) fehér szilárd habot izoláltam termékként (**243**).

Detritilezés: 350 mg (0,60 mmol) **244**-et hozzáadtam 350 mg (2,57 mmol, 4,3 ekv.) ZnCl<sub>2</sub>, 6 ml hexafluor-izopropanol, 3 ml MeNO<sub>2</sub> és 600  $\mu$ l (3,76 mmol, 6,3 ekv.) Et<sub>3</sub>SiH elegyéhez. 1 óra után telített NaHCO<sub>3</sub>-oldatot adtam a reakcióelegyhez, majd bepároltam. A nyersterméket flash oszlopkromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5  $\rightarrow$  9:1  $\rightarrow$  85:15) tisztítottam. 112 mg (55%) fehér szilárd habot kaptam termékként (**243**).

$R_f = 0.50$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 85:15); <sup>1</sup>H NMR 400 MHz (D<sub>2</sub>O + CD<sub>3</sub>OD)  $\delta = 7.59$  (d,  $J = 1.0$  Hz, 1H, timin CH-6), 6.02 (d,  $J = 5.4$  Hz, 1H, H-1'), 4.78 (d,  $J = 4.5$  Hz, 1H, H-2'), 4.71 (d,  $J = 4.3$  Hz, 1H, H-8'), 4.17 (dt,  $J = 5.2, 3.9$  Hz, 1H, H-9'), 4.00 (d,  $J = 9.1$  Hz, 1H, H-6'a), 3.90 (s, 2H, H-4'a,b), 3.81 (d,  $J = 9.2$  Hz, 1H, H-6'b), 3.86-3.73 (m, 2H, H-12'a,b),

3.71 (s, 2H, H-13'a,b), 1.88 (d,  $J = 0.7$  Hz, 3H, timin  $CH_3$ );  $^{13}C$  NMR 100 MHz ( $D_2O + CD_3OD$ )  $\delta = 167.0$  (1C, timin CO-4), 152.5 (1C, timin CO-2), 138.0 (1C, timin CH-6), 113.0 (1C, timin C-5), 90.7 (1C, C-2'), 89.1 (1C, C-8'), 79.0 (1C, C-1'), 75.8 (1C, C-9'), 75.5 (1C, C-5'), 73.0 (1C, C-4'), 72.2 (1C, C-6'), 63.5 (1C, C-13'), 62.7 (1C, C-12'), 12.4 (1C, timin  $CH_3$ ); MALDI-TOF-MS:  $m/z$  számított  $C_{14}H_{19}N_3NaO_7$   $[M+Na]^+$  364,112; mért 364,21.

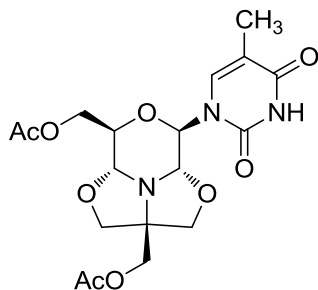
### 12'-*O*-tritol-timin-triciklánó (244)



1,30 g (2,60 mmol) **194**-et oldottam 100 ml MeOH-ban, majd hozzáadtam 5,2 g  $IO_4^-$  formájú ioncserélőgyantát, és egy éjszakán át sötétben kevertetem. Másnap a szilárd anyagot Celite<sup>®</sup>-n kiszűrtem, a szűrletet MeOH-lal mostam. A szerves oldószert vákuumban lepároltam. A kapott szilárd anyagot 70 ml absz. MeOH-ban feloldottam, és 1,3 g 3 Å-ös golyós molekulaszitát adtam hozzá. Fél óra kevertetés után 474 mg (3,91 mmol, 1,5 ekv.) porított trisz-(hidroximetil)-aminometánt adtam hozzá. Következő nap a szilárd anyagot Celite<sup>®</sup>-n kiszűrtem, MeOH-lal és  $CH_2Cl_2$ -nal mostam, majd a szerves oldószert vákuumban lepároltam. A nyersterméket flash kromatográfiával ( $CH_2Cl_2/MeOH$  98:2  $\rightarrow$  97:3) tisztítottam. Termékként (**244**) 976 mg (64%, 2 lépésre) fehér szilárd anyagot kaptam.  $R_f = 0.35$  ( $CH_2Cl_2/MeOH$  95:5);  $^1H$  NMR 400 MHz ( $CDCl_3$ )  $\delta = 9.64$  (s, 1H, NH), 7.45 (d,  $J = 7.4$  Hz, 6H, 6 x Tr Ar-H), 7.29 (t,  $J = 7.4$  Hz, 7H, 6 x Tr Ar-H, 1 x timin CH-6), 7.23 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H, 3 x Tr Ar-H), 6.14 (d,  $J = 5.2$  Hz, 1H, H-1'), 4.76 (d,  $J = 4.0$  Hz, 1H, H-8'), 4.71 (d,  $J = 5.2$  Hz, 1H, H-2'), 4.24 (q,  $J = 4.4$  Hz, 1H, H-9'), 3.88 (d,  $J = 8.9$  Hz, 2H, H-4'a, H-6'a), 3.80 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H H-4'b), 3.76 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H, H-6'b), 3.64 (d,  $J = 5.7$  Hz, 2H, H-13'a,b), 3.36 (d,  $J = 4.6$  Hz, 2H, H-12'a,b), 2.86 (t,  $J = 5.9$  Hz, 1H, OH), 1.87 (s, 3H, timin  $CH_3$ );  $^{13}C$  NMR 100 MHz ( $CDCl_3$ )  $\delta = 163.8$  (1C, timin CO-4), 150.7 (1C, timin CO-2), 143.6 (3C, 3 x Tr Ar-C) 135.4 (1C, timin CH-6), 128.7, 128.0, 127.3 (15C, 15 x Tr Ar-CH), 111.5 (1C, timin C-5), 90.3 (1C, C-2'), 88.7 (1C, C-8'), 87.0 (1C, Tr  $C_q$ ), 77.7 (1C, C-1'), 75.3 (1C, C-5'), 74.0 (1C, C-9'), 72.0 (1C,

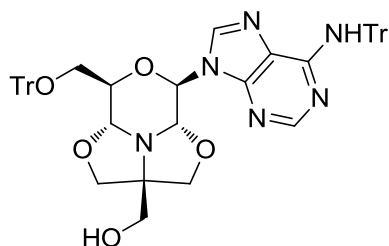
C-4'), 71.3 (1C, C-6'), 63.8 (1C, C-12'), 63.6 (1C, C-13'), 12.6 (1C, timin CH<sub>3</sub>); MALDI-TOF-MS:  $m/z$  számított C<sub>33</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>7</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 606,222; mért 606,41.

### 12',13'-di-*O*-acetyl-timin-triciklánó (245)



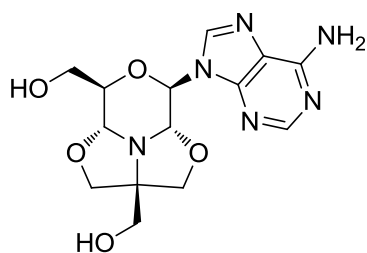
110 mg (0,32 mmol) **244**-et oldottam 1 ml absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N-ben, majd hozzáadtam 122,0 μl (1,28 mmol, 4,0 ekv.) ecetsavanhidridet. Egyéjszakás kevertetés után 100 μl telített NaHCO<sub>3</sub>-oldattal fél órán át kevertettem az oldatot. 30 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-nal hígítottam az elegyet, és 2 x 5 ml 10%-os NaHSO<sub>4</sub>-oldattal, aztán 2 x 5 ml telített NaHCO<sub>3</sub>-oldattal extraháltam. A szerves fázist vízmentes Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-on megszáritottam, a szárítószert vákuumban szűrtem, majd az oldatot bepároltam. A nyersterméket flash kromatográfiával (*i*-hexán/aceton 7:3 → 6:4) tisztítottam. 100 mg (73%) fehér szilárd habszerű anyagot kaptam termékként (**245**). R<sub>f</sub> = 0.51 (*i*-hexán/aceton 1:1); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 9.70 (s, 1H, NH), 7.17 (d, *J* = 1.0 Hz, 1H, timin CH-6), 6.19 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H, H-1'), 4.63-4.57 (m, 2H, H-2', H-8'), 4.32-4.17 (m, 4H, H-12'a,b, H-13'a, H-9'), 4.10 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H-13'b), 3.98 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-6'a), 3.80-3.75 (m, 3H, H-4'a,b, H-6'b), 2.08, 2.06 (2 x s, 6H, 2 x COCH<sub>3</sub>), 1.91 (s, 3H, timin CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 170.6 (1C, 12'-OCOCH<sub>3</sub>), 170.5 (1C, 13'-OCOCH<sub>3</sub>), 163.7 (1C, timin CO-4), 150.5 (1C, timin CO-2), 135.2 (1C, timin CH-6), 112.0 (1C, timin C-5), 90.7 (1C, C-2'), 87.7 (1C, C-8'), 77.4 (1C, C-1'), 72.8 (1C, C-5'), 72.3 (1C, C-9'), 72.3 (1C, C-4'), 72.1 (1C, C-6'), 65.1 (1C, C-13'), 63.5 (1C, C-12'), 20.8, 20.7 (2C, 2 x COCH<sub>3</sub>), 12.5 (1C, timin CH<sub>3</sub>); MALDI-TOF-MS:  $m/z$  számított C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>9</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 448,133; mért 448,307.

### 6-*N*,12'-*O*-bisztritol-adenin-triciklánó (246)<sup>99</sup>



1,29 g (1,71 mmol) **206**-ot oldottam 30 ml MeOH és 20 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> elegyében, majd hozzáadtam 5,2 g IO<sub>4</sub><sup>-</sup>-formájú ioncserélőgyantát, és egy éjszakán át sötétben kevertettem. Másnap a szilárd anyagot Celite<sup>®</sup>-n kiszűrtem, a szűrőt MeOH-lal és CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-nal mostam. A szerves oldószert vákuumban lepároltam. A kapott szilárd anyagot 50 ml absz. MeOH-ban feloldottam, és 1,3 g 3 Å-ös golyós molekulaszitát adtam hozzá. Fél óra kevertetés után 311 mg (2,57 mmol, 1,5 ekv.) porított trisz-(hidroximetil)-aminometánt adtam hozzá, és egy éjszakán át kevertettem. Az ezt követő napon a szilárd anyagot Celite<sup>®</sup>-n kiszűrtem, MeOH-lal és CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-nal mostam, majd a szerves oldószert vákuumban lepároltam. A nyersterméket flash kromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/aceton 95:5) tisztítottam. 786 mg (55%) fehér habszerű szilárd anyagot kaptam termékként (**246**).  $R_f = 0.34$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98:2); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 8.06$  (s, 1H, adenin CH-2), 7.97 (s, 1H, adenin CH-8), 7.44 (d,  $J = 7.3$  Hz, 6H, 6 x OTr Ar-H), 7.33 (d,  $J = 7.8$  Hz, 6H, 6 x NTr Ar-H), 7.30-7.17 (m, 18H, 18 x Tr Ar-H), 7.10 (s, 1H, NH), 6.12 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H, H-1'), 5.11 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H, H-2'), 4.75 (d,  $J = 3.1$  Hz, 1H, H-8'), 4.33 (q,  $J = 4.7$  Hz, 1H, H-9'), 3.87 (q,  $J = 8.9$  Hz, 2H, H-4'a,b), 3.84 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H, H-6'a), 3.69 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H, H-6'b), 3.57 (qd,  $J = 11.5, 5.9$  Hz, 2H, H-13'a,b), 3.41-3.31 (m, 2H, H-12'a,b), 2.81 (t,  $J = 5.9$  Hz, 1H, OH); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 154.2$  (1C, adenin C-6), 152.8 (1C, adenin CH-2), 148.9 (1C, adenin C-4), 145.0 (3C, 3 x NTr Ar-C), 143.7 (3C, 3 x OTr Ar-C), 129.1, 128.7, 128.0, 128.0, 127.3, 127.0 (30C, 30 x Tr Ar-CH), 120.8 (1C, adenin C-5), 90.4 (1C, C-2'), 89.2 (1C, C-8'), 87.0 (1C, OTr C<sub>q</sub>), 78.2 (1C, C-1'), 75.1 (1C, C-5'), 74.2 (1C, C-9'), 72.1 (1C, C-4'), 71.5 (2C, C-6', NTr C<sub>q</sub>), 64.1 (1C, C-12'), 63.4 (1C, C-13'); MALDI-TOF-MS:  $m/z$  számított C<sub>52</sub>H<sub>46</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>5</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 857,343; mért 857,33.

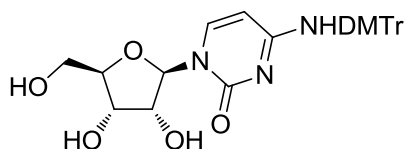
#### Adenin-triciklánó (**247**)<sup>99</sup>



83 mg (0,10 mmol) **246**-ot feloldottam 1,5 ml MeNO<sub>2</sub>, hexafluor-izopropanol (0.5 ml) és 120  $\mu$ l (0,76 mmol, 7,6 ekv.) Et<sub>3</sub>SiH elegyében, majd hozzáadtam 109 mg (0,80 mmol, 8,0 ekv.) ZnCl<sub>2</sub>-ot. Egyéjszakás kevertetés után telített NaHCO<sub>3</sub>-oldatot adtam az elegyhez és bepároltam. A nyersterméket flash kromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5 → 9:1 → 85:15) tisztítottam. 22 mg (63%) fehér szilárd anyagot izoláltam termékként (**247**).  $R_f = 0.34$

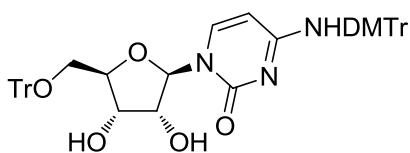
(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 85:15); <sup>1</sup>H NMR 500 MHz (DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 8.40 (s, 1H, adenin CH-8), 8.15 (s, 1H, adenin CH-2), 7.35 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.97 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H, H-1'), 5.24 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H, H-2'), 4.69 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, H-8'), 4.09 (td, *J* = 5.8, 2.3 Hz, 1H, H-9'), 3.88-3.83 (m, 3H, H-6'a, H-4'a,b), 3.70 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, H-6'b), 3.56 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H, H-12'a,b), 3.54 (d, *J* = 3.6 Hz, 2H, H-13'a,b); <sup>13</sup>C NMR 125 MHz (DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 156.1 (1C, adenin C-6), 152.9, (1C, adenin CH-2), 149.3 (1C, adenin C-4), 139.0 (1C, adenin CH-8), 118.6 (1C, adenin C-5), 88.8 (2C, C-2', C-8'), 77.2 (1C, C-1'), 75.0 (1C, C-9'), 74.5 (1C, C-5'), 72.4 (1C, C-4'), 71.4 (1C, C-6'), 63.9 (1C, C-13'), 61.7 (1C, C-12'); ESI-TOF-MS: *m/z* számított C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>5</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 373,124; mért 373,121.

#### 4-*N*-(4,4'-dimetoxitritil)-citidin (248)<sup>128</sup>



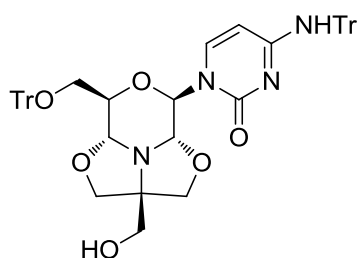
243 mg (1,00 mmol) citidint (**200**) szuszpendáltam 5 ml absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N-ben, és argon gáz bevezetése mellett 952 μl (7,50 mmol, 7,5 ekv.) trimetilklórszilánt adtam az elegyhez. Egy óras kevertetés után 406 mg (1,20 mmol, 1,2 ekv.) dimetoxitritil-kloridot adtam hozzá, és egy éjszakán át kevertettem. Következő nap 2 ml vízmentes DMF-ot és még 102 mg (0,30 mmol, 0,3 ekv.) dimetoxitritil-kloridot adtam a reakcióelegyhez. Négy nap kevertetés után a reakcióelegyhez telített NaHCO<sub>3</sub>-oldatot adtam és bepárooltam. A nyersterméket flash oszlopkromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5 → 93:7 → 9:1 → 8:2) tisztítottam. Termékként (**248**) 447 mg (82%) tört fehér szilárd habszerű anyagot izoláltam. R<sub>f</sub> = 0.18 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5); <sup>1</sup>H NMR (360 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 8.39 (s, 1H, NH), 7.74 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, citozin CH-6), 7.24 (t, *J* = 8.3 Hz, 5H, 5 x DMTr Ar-H), 7.14 (d, *J* = 8.7 Hz, 4H, 4 x DMTr Ar-H), 6.83 (d, *J* = 8.5 Hz, 4H, 4 x DMTr Ar-H), 6.25 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, citozin CH-5), 5.67 (s, 1H), 5.25 (s, 1H), 5.08 (s, 2H), 3.91 (s, 2H), 3.77 (s, 1H), 3.72 (s, 6H, 2 x DMTr OCH<sub>3</sub>), 3.54 (d, *J* = 20.1 Hz, 2H, H-5'a,b); <sup>13</sup>C NMR (90 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 163.3, 157.4, 154.3, 145.1, 137.0 (7C, citozin CO-2, C-4, 5 x DMTr Ar-C), 140.1 (1C, citozin CH-6), 129.9, 128.5, 127.4, 126.0, 112.7 (13C, 13 x DMTr Ar-CH), 96.3, 88.8, 84.3, 73.6, 69.7, (5C, citozin CH-5, C-1', C-2', C-3', C-4'), 69.4 (1C, NDMTr C<sub>q</sub>), 60.8 (1C, C-5'), 55.0 (2C, 2 x DMTr OCH<sub>3</sub>); MALDI-TOF-MS: *m/z* számított C<sub>30</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>7</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 568,206; mért 568,492.

#### 4-*N*-(4,4'-dimetoxitritil)-5'-*O*-tritol-citidin (249)



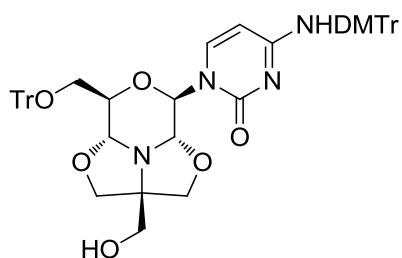
370 mg (0,68 mmol) **248**-at oldottunk 4 ml absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N-ben, és 246 mg (0,88 mmol, 1,3 ekv.) tritol-kloridot adtam hozzá. Egyéjszakás kevertetés után 132 mg (0,48 mmol, 0,7 ekv.) tritol-kloridot és 1 ml vízmentes C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N-t adtam még hozzá. Következő nap 189 mg (0,68 mmol, 1,0 ekv.) tritol-kloridot és 1 ml absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N-t adtam hozzá, és további két napig kevertettem. Ezután még 189 mg (0,68 mmol, 1,0 ekv.) trifenilmetil-kloridot és 2 ml absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N-t adtam hozzá. A következő nap 189 mg (0,68 mmol, 1,0 ekv.) tritol-kloridot adtam hozzá, és még egy éjszakán át kevertettem az oldatot. Következő nap a reakcióelegyhez telített NaHCO<sub>3</sub>-oldatot adtam és bepároltam. A párlatot EtOAc-ban oldottam, majd desztillált vízzel, 10%-os NaHSO<sub>4</sub>-oldattal, telített NaHCO<sub>3</sub>-oldattal, telített sós vízzel extraháltam. A szerves fázist vízmentes Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-tal megszáritottam, a száritószeret kiszűrtem, az oldatot bepároltam. A nyersterméket flash oszlopkromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 97:3 → 96:4 → 95:5) tisztítottam. 365 mg (68%) fehér szilárd habot kaptam termékként (**249**).  $R_f = 0.24$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5); <sup>1</sup>H NMR (360 MHz, CDCl<sub>3</sub> + CD<sub>3</sub>OD)  $\delta = 7.83$  (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H, citozin CH-6), 7.26 (d,  $J = 7.1$  Hz, 6H, 6 x Tr Ar-H), 7.19-7.10 (m, 14H, 5 x DMTr, 9 x Tr Ar-H), 7.04 (d,  $J = 8.9$  Hz, 4H, 4 x DMTr Ar-H), 6.77 (d,  $J = 8.9$  Hz, 4H, 4 x DMTr Ar-H), 5.73 (d,  $J = 1.6$  Hz, 1H, H-1'), 4.75 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H citozin CH-5), 4.34 (dd,  $J = 7.0, 5.2$  Hz, 1H, H-3'), 4.17 (dd,  $J = 5.0, 1.4$  Hz, 1H, H-2'), 4.09 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H, H-4'), 3.73 (s, 6H, 2 x DMTr OCH<sub>3</sub>), 3.45 (ddd,  $J = 33.0, 11.1, 2.3$  Hz, 2H, H-5'a,b); <sup>13</sup>C NMR (90 MHz, CDCl<sub>3</sub> + CD<sub>3</sub>OD)  $\delta = 165.6, 158.7, 156.3, 144.2, 143.2, 136.2, 135.7$  (5C, citozin CO-2, C-4, 5 x DMTr Ar-C), 140.9 (1C, citozin CH-6), 130.0, 129.9, 128.6, 128.5, 128.3, 127.9, 127.4, 127.2, 113.6, 113.5 (28C, 13 x DMTr Ar-CH, 15 x Tr Ar-CH), 95.2, 91.7, 83.5, 75.5, 69.3, (5C, citozin CH-5, C-1', C-2', C-3', C-4') 87.4 (1C, OTr C<sub>q</sub>), 70.1 (1C, NDMTr C<sub>q</sub>), 61.6 (1C, C-5'), 55.2 (2C, 2 x DMTr OCH<sub>3</sub>); MALDI-TOF-MS:  $m/z$  számított C<sub>49</sub>H<sub>45</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>7</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 810,316; mért 810,15.

#### 4-*N*,12'-*O*-bisztritol-citozin-triciklánó (250)



1,00 g (1,37 mmol) **209**-et oldottam 75 ml MeOH és 25 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> elegyében, majd hozzáadtam 4,0 g IO<sub>4</sub><sup>-</sup>-formájú ioncserélőgyantát, és egy éjszakán át sötétben kevertetem. Másnap a szilárd anyagot Celite<sup>®</sup>-n kiszűrtem, a szűrőt MeOH-lal és CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-nal mostam. A szerves oldószert vákuumban lepároltam. A kapott szilárd anyagot 50 ml absz. MeOH-ban feloldottam, és 1 g 3 Å-ös golyós molekulaszitát adtam az oldathoz. Fél óra kevertetés után 249 mg (2,06 mmol, 1,5 ekv.) porított trisz-(hidroximetil)-aminometánt adtam hozzá. Következő nap még 166 mg (1,37 mmol, 1,0 ekv.) porított trisz-(hidroximetil)-aminometánt adtam hozzá, és még egy éjszakán át kevertetem. Az ezt követő napon a szilárd anyagot Celite<sup>®</sup>-n kiszűrtem, MeOH-lal és CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-nal mostam, majd a szerves oldószert vákuumban lepároltam. A nyersterméket flash kromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98:2 → 97:3) tisztítottam. Termékként (**250**) 726 mg (65%, 2 lépésre) sárgásfehér habszerű szilárd anyagot izoláltam. R<sub>f</sub> = 0.46 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7.35 (dd, *J* = 7.8, 1.4 Hz, 7H, citozin CH-6, 6 x Tr Ar-H), 7.33-7.13 (m, 24H, 24 x Tr Ar-H), 6.93 (s, 1H), 6.18 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, H-1'), 5.00 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, citozin CH-5), 4.77 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H, H-8'), 4.64 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, H-2'), 4.11 (dt, *J* = 5.8, 3.8 Hz, 1H, H-9'), 3.90-3.81 (m, 3H, H-6'a,b, H-4'a), 3.77 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, H-4'b), 3.66-3.57 (m, 2H, H-13'a,b), 3.37-3.27 (m, 2H, H-12'a,b), 2.17-1.95 (m, 1H); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 165.6 (1C, citozin C-4), 155.3 (1C, citozin CO-2), 143.9, 143.6 (6C, 6 x Tr Ar-C), 140.7 (1C, citozin CH-6), 128.8, 128.7, 128.5, 127.9, 127.7, 127.2 (30C, 30 x Tr Ar-CH), 95.2 (1C, citozin CH-5), 90.5 (1C, C-2'), 87.8 (1C, C-8'), 87.0 (1C, OTr C<sub>q</sub>), 78.6 (1C, C-1'), 75.3 (1C, C-5'), 73.7 (1C, C-9'), 72.1 (1C, C-4'), 71.7 (1C, C-6'), 71.1 (1C, NTr C<sub>q</sub>), 64.0 (1C, C-13'), 63.5 (1C, C-12'); MALDI-TOF-MS: *m/z* számított C<sub>51</sub>H<sub>46</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>6</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 833,332; mért 833,4.

#### 4-*N*-(4,4'-dimetoxitritil)-12'-*O*-tritol-citozin-triciklánó (251)

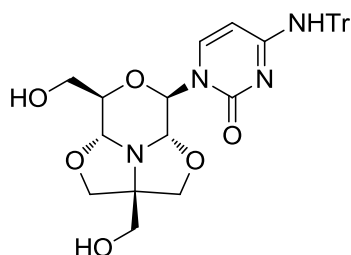


330 mg (0,42 mmol) **249**-et oldottam 15 ml MeOH és 15 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> elegyében, majd hozzáadtam 1,3 g IO<sub>4</sub><sup>-</sup>-formájú ioncserélőgyantát, és egy éjszakán át sötétben kevertettem. Másnap hozzáadtam még 1,3 g IO<sub>4</sub><sup>-</sup>-formájú ioncserélőgyantát, és egy éjszakán át sötétben tovább kevertettem. Harmadik nap 1,3 g IO<sub>4</sub><sup>-</sup>-formájú ioncserélőgyantát adtam még az elegyhez, és egy éjszakán át sötétben kevertettem. Négy nap után a szilárd anyagot Celite<sup>®</sup>-n kiszűrtem, a szűrőt MeOH-lal és CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-nal mostam. A szerves oldószert vákuumban lepároltam. A kapott szilárd anyagot 25 ml absz. MeOH-ban feloldottam, és 330 mg 3 Å-ös golyós molekulaszitát adtam hozzá. Fél óra kevertetés után 102 mg (0,84 mmol, 2,0 ekv.) porított trisz-(hidroximetil)-aminometánt adtam hozzá, és egy éjszakán át kevertettem. Másnap a szilárd anyagot Celite<sup>®</sup>-n kiszűrtem, MeOH-lal és CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-nal mostam, majd a szerves oldószert vákuumban lepároltam. A nyersterméket flash oszlopkromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98:2 → 97:3 → 96:4) tisztítottam. Termékként (**251**) 258 mg (71%, 2 lépésre) fehér szilárd habot izoláltam.  $R_f = 0.44$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 7.36$  (dd,  $J = 7.6, 2.1$  Hz, 7H, citozin CH-6, 6 x Tr Ar-H), 7.32-7.16 (m, 14H, 9 x Tr Ar-H, 5 x DMTr Ph Ar-H), 7.12 (dd,  $J = 8.9, 2.1$  Hz, 4H, DMTr H<sub>3</sub>COC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>- Ar-H), 6.80 (dd,  $J = 8.8, 0.8$  Hz, 4H, DMTr H<sub>3</sub>COC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>- Ar-H), 6.20 (d,  $J = 3.8$  Hz, 1H, H-1'), 5.04 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H, citozin CH-5), 4.77 (d,  $J = 5.8$  Hz, 1H, H-8'), 4.65 (d,  $J = 3.8$  Hz, 1H, H-2'), 4.12 (dt,  $J = 5.6, 3.9$  Hz, 1H, H-9'), 3.89-3.82 (m, 3H, H-6'a,b, H-4'a), 3.77 (dd,  $J = 8.4, 3.9$  Hz, 1H, H-4'b), 3.73 (s, 6H, 2 x DMTr OCH<sub>3</sub>), 3.66-3.58 (m, 2H, H-13'a,b), 3.34-3.29 (m, 2H, H-12'a,b); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 165.5$  (1C, citozin C-4), 158.8 (2C, 2 x DMTr H<sub>3</sub>COC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>- Ar-C), 155.4 (1C, citozin CO-2), 144.6 (1C, DMTr Ph Ar-C), 143.6 (3C, 3 x Tr Ar-C), 140.6 (1C, citozin CH-6), 136.3, 136.1 (2C, 2 x DMTr H<sub>3</sub>COC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>- Ar-C), 130.0, 129.9 (4C, 4 x DMTr H<sub>3</sub>COC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>- Ar-CH), 128.7, 127.9, 127.2 (15C, 15 x Tr Ar-CH), 128.6, 128.4, 127.5 (5C, 5 x DMTr Ph Ar-CH), 113.7 (4C, 4 x DMTr H<sub>3</sub>COC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>- Ar-CH), 95.3 (1C, citozin CH-5), 90.5 (1C, C-2'), 87.8 (1C, C-8'), 86.9 (1C, OTr C<sub>q</sub>), 78.6 (1C, C-1'), 75.3 (1C, C-5'), 73.7 (1C, C-9'), 72.1 (1C, C-4'), 71.7 (1C, C-6'), 70.3 (1C, NDMTr C<sub>q</sub>), 63.9 (1C, C-13'), 63.5 (1C, C-12'),



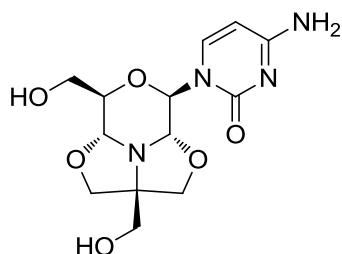
55.3 (2C, 2 x DMTr OCH<sub>3</sub>); ESI-TOF-MS: *m/z* számított C<sub>53</sub>H<sub>50</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>8</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 893,353; mért 893,347.

#### 4-*N*-tritol-citozin-triciklánó (252)



247 mg (0,30 mmol) **250**-et feloldottam 3 ml hexafluor-izopropanol, 1,5 ml MeNO<sub>2</sub> és 364 μl (2,28 mmol, 7,6 ekv.) Et<sub>3</sub>SiH elegyében. Majd 333 mg (2,44 mmol, 8,0 ekv.) ZnCl<sub>2</sub>-ot adtam az elegyhez. 5 óra után telített NaHCO<sub>3</sub>-oldatot adtam a reakcióelegyhez, majd bepároltam. A nyersterméket flash oszlopkromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5 → 93:7) tisztítottam. 97 mg (56%) törtfehér szilárd habszerű anyagot kaptam termékként (**252**). R<sub>f</sub> = 0.40 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub> + CD<sub>3</sub>OD) δ = 7.29 (dt, *J* = 23.5, 6.9 Hz, 16H, citozin CH-6, 15 x Tr Ar-H), 6.09 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H, H-1'), 5.16 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, citozin CH-5), 4.62 (dd, *J* = 5.3, 2.4 Hz, 1H, H-2'), 4.57 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H, H-8'), 4.04 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, H-9'), 3.88 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, H-6'a), 3.78 (ddd, *J* = 15.6, 13.5, 6.0 Hz, 4H, H-4'a,b, H-6'b, H-12'a), 3.65 (dd, *J* = 12.3, 4.5 Hz, 1H, H-12'b), 3.59 (s, 2H, H-13'a,b); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub> + CD<sub>3</sub>OD) δ = 165.5 (1C, citozin C-4), 155.7 (1C, citozin CO-2), 143.5 (3C, 3 x Tr Ar-C), 141.3 (1C, citozin CH-6), 128.6, 128.3, 127.5 (15C, 15 x Tr Ar-CH) 95.9 (1C, citozin CH-5), 90.5 (1C, C-2'), 88.1 (1C, C-8'), 79.3 (1C, C-1'), 74.8 (1C, C-9'), 74.7 (1C, C-5'), 71.9 (1C, C-4'), 71.3 (1C, C-6'), 70.9, 63.4 (1C, C-13'), 62.1 (1C, C-12'); ESI-TOF-MS: *m/z* számított C<sub>32</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>6</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 591,222; mért 591,224.

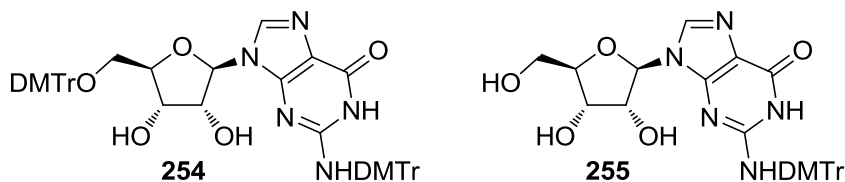
#### Citozin-triciklánó (253)



244 mg (0,28 mmol) **251**-et feloldottam 2,8 ml hexafluor-izopropanol, 1,4 ml MeNO<sub>2</sub> és 340 μl (2,13 mmol, 7,6 ekv.) Et<sub>3</sub>SiH elegyében. Majd 305 mg (2,24 mmol, 8,0 ekv.) ZnCl<sub>2</sub>-ot adtam az elegyhez. 7 óra kevertetés után Et<sub>2</sub>O-t adtam a reakcióelegyhez, és a

szilárd anyagot kiszűrtem, majd flash oszlopkromatográfiával (MeCN/MeOH/H<sub>2</sub>O 90:5:5 → 85:7.5:7.5 → 8:1:1 + 0,1% cc. NH<sub>3</sub>-oldat) tisztítottam. 24 mg (26%) törtfehér szilárd anyagot izoláltam termékként (**253**).  $R_f = 0.25$  (MeCN/MeOH/H<sub>2</sub>O 8:1:1 + 0,1% cc. NH<sub>3</sub>-oldat); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta = 7.50$  (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H, citozin CH-6), 7.42-7.18 (m, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.93 (d,  $J = 1.7$  Hz, 1H, H-1'), 5.75 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H, citozin CH-5), 5.01 (s, 1H, H-13'-OH), 4.92 (s, 1H, H-12'-OH), 4.27 (d,  $J = 1.7$  Hz, 1H, H-2'), 4.15 (d,  $J = 1.5$  Hz, 1H, H-8'), 4.08 (td,  $J = 5.9, 1.6$  Hz, 1H, H-9'), 3.99 (dd,  $J = 12.5, 8.7$  Hz, 2H, H-4'a,b vagy H-6'a,b), 3.62 (d,  $J = 5.8$  Hz, 2H, H-12'a,b), 3.57 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H, H-4'a,b vagy H-6'a,b), 3.54 (s, 2H, H-13'a,b); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta = 165.5$  (1C, citozin C-4), 154.3 (1C, citozin CO-2), 142.6 (1C, citozin CH-6), 93.5 (1C, citozin CH-5), 85.7 (2C, C-2', C-8'), 79.0 (1C, C-1'), 77.0 (1C, C-9'), 74.3 (2C, C-4', C-6'), 73.6 (1C, C-5'), 63.8 (1C, C-13'), 60.6 (1C, C-12'); ESI-TOF-MS:  $m/z$  számított C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>6</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 349,112; mért 349,112.

**2-*N*,5'-*O*-bisz(4,4'-dimetoxitritil)-guanozin (254)<sup>129</sup> és 2-*N*-(4,4'-dimetoxitritil)-guanozin (255)**



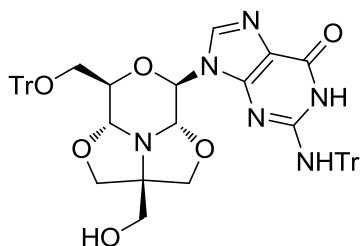
2,12 g (7,50 mmol) guanozint (**197**) szuszpendáltam 40 ml absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N-ben, argon gázzal átöblítettem a lombikot, és 7,14 ml (56,25 mmol, 7,5 ekv.) TMSCl-ot adtam hozzá. 1 óra kevertetés után 3,65 g (9,00 mmol, 1,2 ekv.) dimetoxitritil-kloridot adtam hozzá, és egy éjszakán át kevertettem. Másnap 10 ml absz. DMF-ot, 7,14 ml (56,25 mmol, 7,5 ekv.) TMSCl-ot adtam még hozzá, és 1 órán át kevertettem. Ezután hozzáadtam 762 mg (2,25 mmol, 0,3 ekv.) DMTrCl-ot, és két napig kevertettem. Végül 1,27 g (3,75 mmol, 0,5 ekv.) DMTrCl-ot és 40 ml absz. DMF-ot adtam még hozzá, amitől beoldódott a szilárd anyag. Másnap telített NaHCO<sub>3</sub>-oldattal 2 órán keresztül kevertettem, majd bepároltam. EtOAc-ban feloldottam a maradékot, és desztillált H<sub>2</sub>O-zel, 10 %-os NaHSO<sub>4</sub>-oldattal, telített NaHCO<sub>3</sub>-oldattal, majd telített sós vízzel extraháltam. A szerves fázist vízmentes Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-on szárítottam, a szárítószert kiszűrtem, az oldatot vákuumban bepároltam. Ezután a nyersterméket (kb. 8,0 g) 30 ml absz. THF-ban feloldottam, és 30 ml 1 M TBAF-oldatot adtam hozzá. 1 óra múlva bepároltam, majd EtOAc-ban feloldottam, és H<sub>2</sub>O-zel, majd sós vízzel extraháltam. A szerves fázist vízmentes Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-on megszártítottam, a szárítószert

kiszűrtem, az szűrletet bepároltam. A maradékot flash kromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98:2 → 97:3 → 95:5 → 93:7 → 9:1 → 8:2 → 7:3) tisztítottam. Termékként 3,11 g (**254**: 47%) sárgásfehér habszerű szilárd anyagot és 1,32 g (**255**: 30%) törtfehér szilárd habszerű anyagot kaptam.

**254**: R<sub>f</sub> = 0.35 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub> + CD<sub>3</sub>OD) δ = 7.60 (s, 1H, guanin CH-8), 7.36 (d, J = 7.4 Hz, 2H, 2 x DMTr Ar-H), 7.26 (d, J = 8.8 Hz, 6H, 6 x DMTr Ar-H), 7.23-7.13 (m, 10H, 10 x DMTr Ar-H), 6.77 (t, J = 8.6 Hz, 8H, 8 x DMTr Ar-H), 5.36 (d, J = 4.4 Hz, 1H, H-1'), 4.11 (dd, J = 8.0, 4.2 Hz, 1H, H-4'), 4.09-4.04 (m, 1H, H-2'), 4.00 (t, J = 4.4 Hz, 1H, H-3'), 3.74 (s, 6H, 2 x DMTr OCH<sub>3</sub>), 3.71 (2 x s, 6H, 2 x DMTr OCH<sub>3</sub>) 3.31 (dd, J = 10.5, 3.3 Hz, 1H, H-5'a), 3.25-3.18 (m, 1H, H-5'b), 3.12 (s, 2H); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub> + CD<sub>3</sub>OD) δ = 158.5, 158.4, 157.7, 151.2, 149.9, 144.6, 144.4, 136.6, 136.3, 135.8, 117.7, (14C, guanin C-2, C-4, C-5, CO-6, 10 x DMTr Ar-C), 130.0, 129.9, 129.9, 128.5, 128.1, 128.0, 127.9, 127.1, 126.9, 113.3, 113.3, 113.2 (26C, 26 x DMTr Ar-CH), 89.1 (1C, C-1'), 86.5 (1C, ODMTr C<sub>q</sub>), 84.0 (1C, C-4'), 74.4 (1C, C-2'), 71.2 (1C, C-3'), 70.3 (1C, NDMTr C<sub>q</sub>), 63.7 (1C, C-5'), 55.2 (4C, 4 x DMTr OCH<sub>3</sub>); MALDI-TOF-MS: m/z számított C<sub>52</sub>H<sub>49</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>9</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 910,343; mért 910,653.

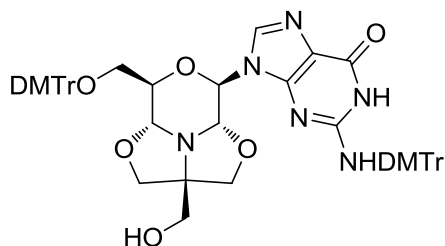
**255**: R<sub>f</sub> = 0.36 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 10:1); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ = 7.88 (s, 1H, guanin CH-8), 7.35-7.18 (m, 9H, 9 x DMTr Ar-H), 6.84 (d, J = 8.9 Hz, 4H, 4 x DMTr Ar-H), 5.34 (d, J = 4.7 Hz, 1H, H-1'), 4.00 (t, J = 4.9 Hz, 1H, H-2'), 3.90 (t, J = 5.2 Hz, 1H, H-3'), 3.86 (dd, J = 8.6, 4.8 Hz, 1H, H-4'), 3.75 (s, 6H, 2 x DMTr OCH<sub>3</sub>), 3.59 (dd, J = 12.1, 3.4 Hz, 1H, H-5'a), 3.52 (dd, J = 12.1, 4.7 Hz, 1H, H-5'b); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ = 159.9, 159.3, 152.5, 151.6, 146.5, 138.2, 118.3, (9C, guanin C-2, C-4, C-5, CO-6, 5 x DMTr Ar-C), 138.8 (1C, guanin CH-8), 131.2, 131.2, 129.8, 128.8, 127.9, 114.1 (13C, 13 x DMTr Ar-CH), 89.8 (1C, C-1'), 86.0 (1C, C-4'), 74.5 (1C, C-2'), 71.3 (1C, C-3'), 62.9 (1C, C-5'), 55.7 (2C, 2 x DMTr OCH<sub>3</sub>); MALDI-TOF-MS: m/z számított C<sub>31</sub>H<sub>31</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>7</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 608,212; mért 608,35.

### 2-N,12'-O-bisztritol-guanin-triciklánó (256)



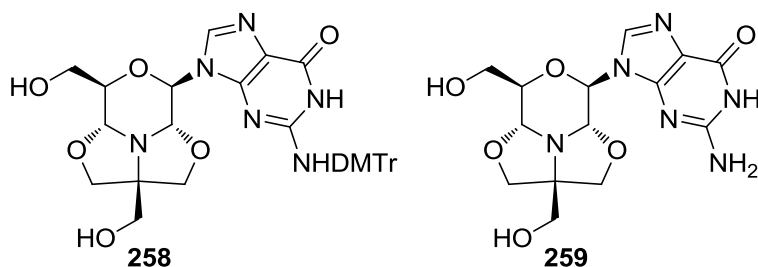
1,00 g (1,30 mmol) **210**-et és 298 mg (1,39 mmol, 1,07 ekv.) szilárd NaIO<sub>4</sub>-ot oldottam 75 ml MeOH és 25 ml H<sub>2</sub>O elegyében, majd egy éjszakán át sötétben kevertetem. Másnap a MeOH-t lepároltam, és a maradékhoz 250 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-t adtam. A szerves fázist 2 x 100 ml desztillált vízzel, majd 100 ml telített sós vízzel extraháltam. A szerves fázist vízmentes Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-on megszáritottam, a szilárd anyagot kiszűrtem, az oldatot bepároltam. A kapott szilárd anyagot 20 ml absz. MeOH-ban oldottam, és 1 g 3 Å-ös golyós molekulaszitával kevertetem. Fél óra kevertetés után 236 mg (1,95 mmol, 1,5 ekv.) porított trisz-(hidroximetil)-aminometánt adtam az elegyhez, és egy éjszakán át kevertetem. Következő nap még 79 mg (0,65 mmol, 0,5 ekv.) porított trisz-(hidroximetil)-aminometánt adtam hozzá, és még egy éjszakán át kevertetem. Az ezt követő napon a szilárd anyagot Celite<sup>®</sup>-n kiszűrtem, MeOH-lal és CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-nal mostam, majd a szerves oldószert vákuumban lepároltam. A nyersterméket flash kromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 97:3 → 96:4 → 95:5) tisztítottam. Termékként (**256**) 806 mg (73%, 2 lépésre) törtfehér habszerű szilárd anyagot izoláltam. R<sub>f</sub> = 0.46 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 11.73 (s, 1H, NH), 8.06 (s, 1H, NH), 7.44 (d, J = 7.4 Hz, 6H, 6 x OTr Ar-H), 7.36 (d, J = 7.6 Hz, 6H, 6 x NTr Ar-H), 7.28 (t, J = 7.5 Hz, 6H, 6 x OTr Ar-H), 7.21 (t, J = 7.2 Hz, 3H, 3 x OTr Ar-H), 7.08 (t, J = 7.6 Hz, 6H, 6 x NTr Ar-H), 6.99 (t, J = 7.2 Hz, 4H, 3 x NTr Ar-H, 1 x guanin CH-8), 5.36 (d, J = 6.9 Hz, 1H, H-1'), 4.61 (d, J = 2.0 Hz, 1H, H-8'), 4.54 (d, J = 6.9 Hz, 1H, H-2'), 4.19 (dd, J = 6.8, 4.6 Hz, 1H, H-9'), 3.63-3.42 (m, 5H, H-6'a,b, H-4'a, H-13'a,b), 3.33-3.14 (m, 3H, H-12'a,b, H-4'b), 2.44 (s, 1H, OH); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 159.3 (1C, guanin CO-6), 151.3 (1C, guanin C-2), 150.5 (1C, guanin C-4), 144.8 (3C, 3 x NTr Ar-C), 143.7 (3C, 3 x OTr Ar-C), 129.3, 128.7, 128.1, 127.7, 127.4, 126.5 (30C, 30 x Tr Ar-CH), 117.0 (1C, guanin C-5), 90.1 (1C, C-2'), 89.8 (1C, C-8'), 86.9 (1C, OTr C<sub>q</sub>), 76.3 (1C, C-1'), 75.0 (1C, C-5'), 73.8 (1C, C-9'), 71.9 (1C, C-4'), 71.0 (1C, NTr C<sub>q</sub>), 70.7 (1C, C-6'), 64.0 (1C, C-12'), 63.7 (1C, C-13'); MALDI-TOF-MS: m/z számított C<sub>52</sub>H<sub>46</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>6</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 873,338; mért 873,3.

### 2-N,12'-O-bisz(4,4'-dimetoxitritil)-guanin-triciklánó (**257**)



1,80 g (2,03 mmol) **254**-et oldottam 30 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> és 20 ml MeOH elegyében, majd hozzáadtam 7,2 g IO<sub>4</sub><sup>-</sup>-os ioncserélőgyantát, és egy éjszakán át sötétben kevertettem. Másnap a gyantát Celite<sup>®</sup> rétegen kiszűrtem, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-nal és MeOH-lal mostam, majd az oldatot bepároltam. A nyersterméket 75 ml absz. MeOH-ban oldottam, és 1,8 g 3 Å molekulaszitát adtam hozzá. Fél óra kevertetés után 491 mg (4,05 mmol, 2,0 ekv.) triszt adtam a reakcióelegyhez. Egyéjszakás kevertetés után a molekulaszitát Celite<sup>®</sup> rétegen kiszűrtem, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-nal és MeOH-lal mostam, majd az oldószeret lepároltam. A nyersterméket flash oszlopkromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98:2 → 97:3 → 95:5 → 9:1) tisztítottam. 1,59 g (80%, 2 lépésre) fehér szilárd habot izoláltam termékként (**257**). R<sub>f</sub> = 0.21 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7.45 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H, 2 x DMTr Ar-H), 7.35-7.15 (m, 19H, 18 x DMTr Ar-H, 1 x guanin CH-8), 7.07 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, 2 x DMTr Ar-H), 6.81 (d, *J* = 8.9 Hz, 4H, 4 x DMTr Ar-H), 5.48 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H, H-1'), 4.64 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, H-8'), 4.60 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H, H-2'), 4.22 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H, H-9'), 3.73 (s, 6H, 2 x DMTr OCH<sub>3</sub>), 3.66-3.38 (m, 11H, 2 x DMTr OCH<sub>3</sub>, H-13'a,b, H-6'a,b, H-4'a), 3.35-3.19 (m, 3H, H-12'a,b, H-4'b); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 158.7, 144.7, 135.8, 135.8 (10C, 10 x DMTr Ar-C), 158.0 (1C, guanin CO-6), 151.4 (1C, guanin C-2), 150.5 (1C, guanin C-4), 130.5, 130.1, 128.7, 128.2, 128.0, 127.8, 127.1, 113.3, 113.0 (26C, 26 x DMTr Ar-CH), 117.0 (1C, guanin C-5), 90.3 (1C, C-2'), 89.6 (1C, C-8'), 86.4 (1C, ODMTr C<sub>q</sub>), 76.5 (1C, C-1'), 75.0 (1C, C-5'), 73.9 (1C, C-9'), 71.8 (1C, C-4'), 70.9 (1C, C-6'), 70.2 (1C, NDMTr C<sub>q</sub>), 63.9 (1C, C-12'), 63.8 (1C, C-13'), 55.3, 55.1, 55.0 (4C, 4 x DMTr OCH<sub>3</sub>); MALDI-TOF-MS: *m/z* számított C<sub>56</sub>H<sub>54</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>10</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 993,380; mért 993,38.

## 2-*N*-(4,4'-dimetoxitritil)-guanin-triciklánó (**258**) és guanin-triciklánó (**259**)



486 mg (0,50 mmol) **257**-et feloldottam 5 ml hexafluor-izopropanol, 2,5 ml MeNO<sub>2</sub> és 607 µl (3,8 mmol, 7,6 ekv.) Et<sub>3</sub>SiH elegyében, majd hozzáadtam 545 mg (4,0 mmol, 8,0 ekv.) ZnCl<sub>2</sub>-ot. 5 óra kevertetés után Et<sub>2</sub>O-t adtam az elegyhez, és a szilárd anyagot kiszűrtem. A nyersterméket flash oszlopkromatográfiával (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1 → 8:2 → 7:3, majd

MeCN/H<sub>2</sub>O 9:1 → 85:15 → 8:2) tisztítottam. 88 mg (**258**: 26%) narancssárga és 37 mg (**259**: 20%) tört fehér szilárd anyagot izoláltam termékként.

**258**:  $R_f = 0.24$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD + CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 8.04$  (s, 1H, guanin CH-8), 7.35 (d,  $J = 7.7$  Hz, 2H, 2 x DMTr Ar-H), 7.31-7.24 (m, 7H, 7 x DMTr Ar-H), 6.83 (d,  $J = 8.9$  Hz, 4H, 4 x DMTr Ar-H), 5.46 (d,  $J = 7.0$  Hz, 1H, H-1'), 4.70-4.66 (m, 2H, H-2', H-8'), 4.12 (td,  $J = 4.4, 2.5$  Hz, 1H, H-9'), 3.80-3.65 (m, 12H, 2 x DMTr OCH<sub>3</sub>, H-4'a,b, H-6'a,b, H-12'a,b vagy H-13'a,b), 3.60-3.53 (m, 2H, H-12'a,b vagy H-13'a,b); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD + CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 159.1, 151.3, 145.5, 137.7, 137.3, 115.6, (9C, \text{guanin C-2, C-4, C-5, CO-6, 5 x DMTr Ar-C}), 130.9, 130.8, 129.3, 128.5, 127.3, 113.8, 113.7 (13C, 13 x DMTr Ar-CH), 90.9, 90.2, 77.5, 75.8 (4C, C-1', C-2', C-8', C-9'), 75.6, 73.2, 71.6, 71.0, 64.6, 63.1 (6C, NDMTr C_q, C-4', C-5', C-6', C-12', C-13')$  55.6 (2C, 2 x DMTr OCH<sub>3</sub>); MALDI-TOF-MS:  $m/z$  számított C<sub>35</sub>H<sub>36</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>8</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 691,249; mért 691,28.

**259**:  $R_f = 0.38$  (MeCN/H<sub>2</sub>O 8:2); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta = 10.77$  (s, 1H, guanin CONH), 7.95 (s, 1H, guanin CH-8), 6.64 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.75 (d,  $J = 6.7$  Hz, 1H, H-1'), 5.11 (d,  $J = 6.7$  Hz, 1H, H-2'), 5.04 (s, 2H, 2 x OH), 4.64 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H, H-8'), 4.01 (td,  $J = 5.6, 2.3$  Hz, 1H, H-9'), 3.88 (s, 2H, H-4'a,b), 3.79 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H, H-6'a), 3.68 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H, H-6'b), 3.53 (s, 4H, H-13'a,b, H-12'a,b); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta = 156.8 (1C, \text{guanin CO-6}), 154.1, (1C, \text{guanin C-2}), 151.2 (1C, \text{guanin C-4}), 116.3 (1C, \text{guanin C-5}), 88.8 (1C, C-2'), 88.7 (1C, C-8'), 76.6 (1C, C-1'), 75.1 (1C, C-9'), 74.4 (1C, C-5'), 72.4 (1C, C-4'), 71.5 (1C, C-6'), 63.7 (1C, C-13'), 61.7 (1C, C-12')$ ; MALDI-TOF-MS:  $m/z$  számított C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>6</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 389,119; mért 389,19.

## 4. Eredmények

Az alábbiakban leírt eredmények nem mindegyike saját munkám, de az áttekinthetőség és egység kedvéért úgy gondoltam, itt kell említést tennem róluk. A vegyületek közül, amelyeknek a kísérleti leírása szerepel az előző fejezetben, mindegyiket saját magam állítottam elő. A **227**-es származék Dr. Bakai Bereczki Iлона egyetemi adjunktus PhD munkájából származik.<sup>127</sup> A **229**,<sup>130</sup> **230**,<sup>131</sup> **231**<sup>132</sup> dr. Bege Miklós PhD hallgató, a **190**,<sup>133</sup> **219**,<sup>134</sup> **216**,<sup>134</sup> **218**,<sup>135</sup> **220**,<sup>136</sup> **222**,<sup>137</sup> **224**,<sup>138</sup> **232**,<sup>139</sup> **233**<sup>140</sup> vegyületek előállítására pedig Róth Józsefné vegyésztechnikus nevéhez fűződnek. A **225**-ös számú származék előállításához a kiindulási **226**-os vegyület Dr. Eszenyi Dániel egyetemi tanársegédnek köszönhető. **213**,<sup>141</sup> **215**,<sup>134</sup> **217**,<sup>142</sup> **219**,<sup>143</sup> **221**<sup>144</sup> származékokért köszönettel tartozunk Dr. Kovács Lajosnak és Dr. Kupihár Zoltánnak a SZTE ÁOK Orvosi Vegytani Intézetéből. A röntgenkristallográfiás meghatározást és az adatok kiértékelését Dr. Bényei Attila egyetemi docens és Dr. Dyanne Cruickshank végezték. A konformációs és NMR számítások elvégzése Dr. Mándi Attila tudományos munkatárs nagy jelentőségű munkája volt.

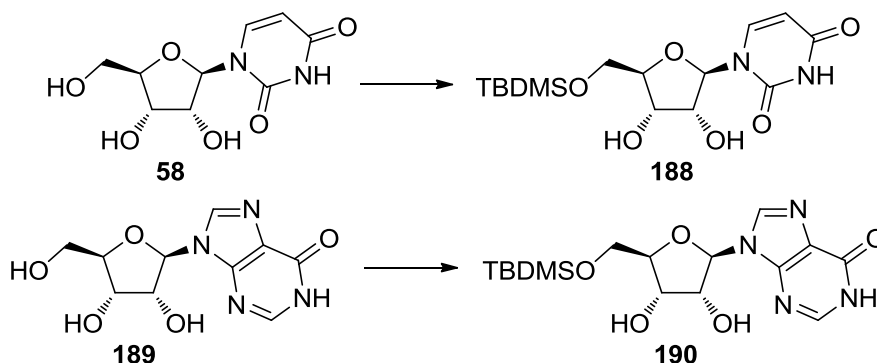
### 4.1. Védőcsoport stratégia

A szilárdfázisú oligonukleotid szintézisben manapság a primer hidroxil-csoport védelmére a DMTr és az amino-csoportot tartalmazó bázisok esetén valamilyen *N*-acil védőcsoportot (adenozinnál és citidinnél Bz, guanozinnál izobutiril), vagy az utóbbi időkben a guanozinnál az NH<sub>2</sub>-csoport védelmére egyre gyakrabban alkalmazzák az *N,N*-dimetilaminometilént.<sup>145</sup> Ezeken kívül különböző monomerek szintézisének az adott feladat során a reakciókörülményeket figyelembe véve dolgozzák ki a védőcsoport stratégiát. Primer OH-csoport védelmére leginkább trifenilmetil (MMTr, Tr) és szilil (TBDMS, TBDPS) védőcsoportokat alkalmaznak.

Kezdetben az uridinból, inozinból és ribotimidinből védőcsoport nélkül sikerült előállítanom a triciklánó származékot, de ezeket majd a megfelelő fejezetekben részletesen tárgyalom. Mindenképpen előnyös a védőcsoportok alkalmazása a szintézisek során, hogy apolárisabbá tegyük a molekulákat, és ezáltal könnyebb legyen a tisztításuk, valamint hogy a konkuráló funkciós csoportokat kizárjuk, és elkerüljük a mellékreakciók lehetőségét. Munkám során nagy kihívást jelentett a szintézissel kompatibilis védőcsoport megtalálása.

#### 4.1.1. Primer hidroxil-védőcsoportok alkalmazása

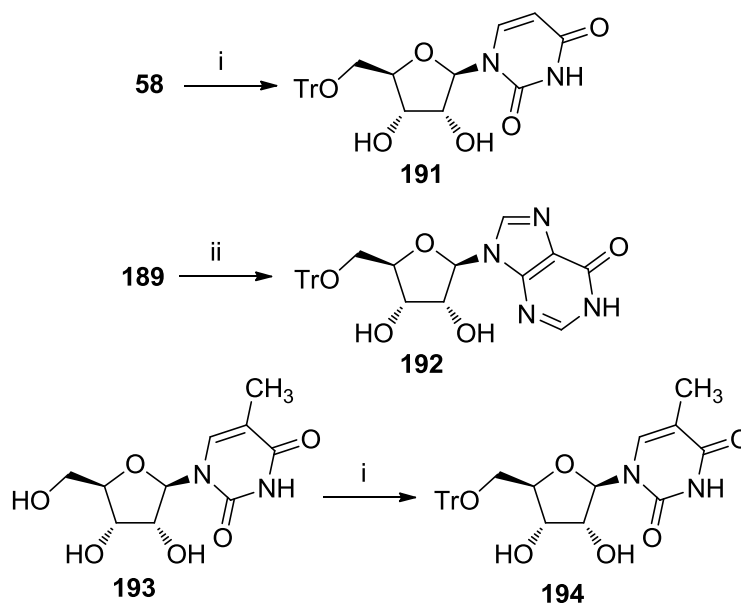
Kezdetben TBDMS-védőcsoportot alkalmaztunk a primer-hidroxil csoportok védelmére az uridin (**58**) és az inozin (**189**) esetében (**43. ábra**), amely fluoridionnal szelektíven hasítható.<sup>146</sup> A szilil-éterek képzése 64%-os (**188**)<sup>115</sup> és 54%-os (**190**)<sup>133</sup> hozamokkal sikerült.



**43. ábra** Uridin és inozin primer hidroxil-csoportjainak szililezése

Reakciókörülmények: TBDMSCl, imidazol, absz. DMF, 1 éjszaka, **188**: 64%, **190**: 54%

Mindkét vegyületnek előállítottam az 5'-*O*-tritol védett származékát is. Uridin esetében ez jó hozammal (83%) sikerült (**191**),<sup>116</sup> inozin esetében azonban hosszabb reakcióidő, melegítés és nagy feleslegű reagens alkalmazása ellenére is csak rossz konverzióval, illetve alacsony hozammal (39%) izoláltam a terméket (**192**),<sup>117</sup> amit az extrakciós feldolgozás csak tovább rontott. A ribotimidin (**193**) esetében szintén jó hozammal (75%) állítottam elő a terméket (**194**).<sup>118</sup> (**44. ábra**)



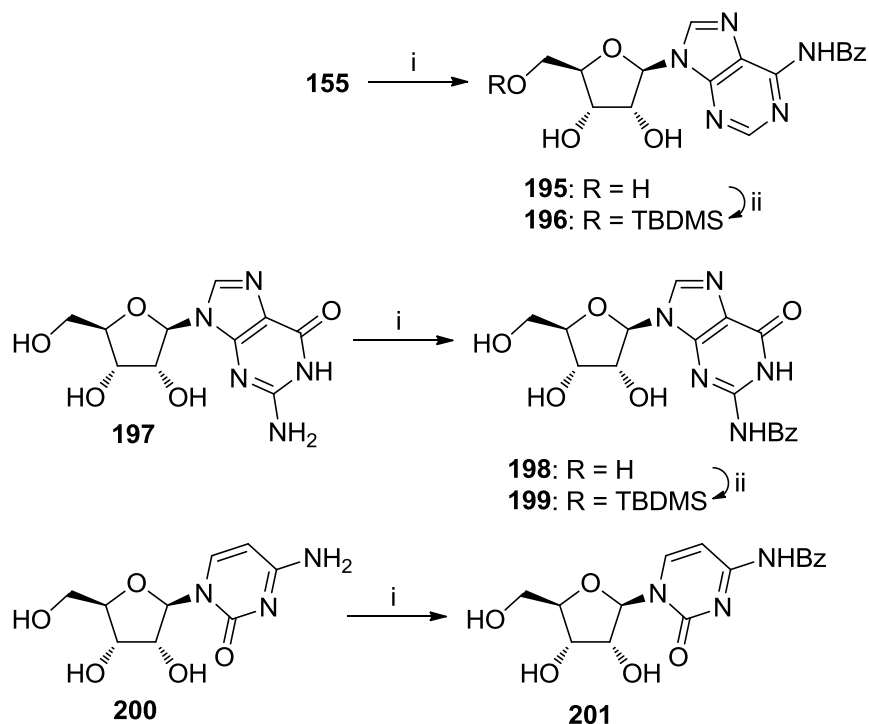
**44. ábra** Uridin, inozin és ribotimidin 5'-*O*-tritol származékainak előállítása

Reakciókörülmények: i) TrCl, absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N, rt, 1 éjszaka, **191**: 83%, **194**: 75%; ii) TrCl, absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N, absz. DMF, absz. DMSO, 60 °C, 4 nap, **192**: 39%



#### 4.1.2. Amino-csoport védelme

A három amino-csoportot tartalmazó ribonukleozid (adenozin, guanozin és citidin) NH<sub>2</sub>-védelmére a leginkább használatos benzoil-csoportot alkalmaztam először. Az irodalomban használatos hasonló reakciókörülmények között előállítottam mindhárom *N*-Bz nukleozid származékot (**195**,<sup>119</sup> **198**,<sup>119</sup> **201**<sup>119</sup>) átlagosan jó hozamokkal. Ezek után a TBDMS-t választottam primer hidroxil-védőcsoportnak, és jó hozamokkal (83% és 80%) előállítottam **195** és **198** 5'-szilil-éter származékait (**196**<sup>120</sup> és **199**). (45. ábra)

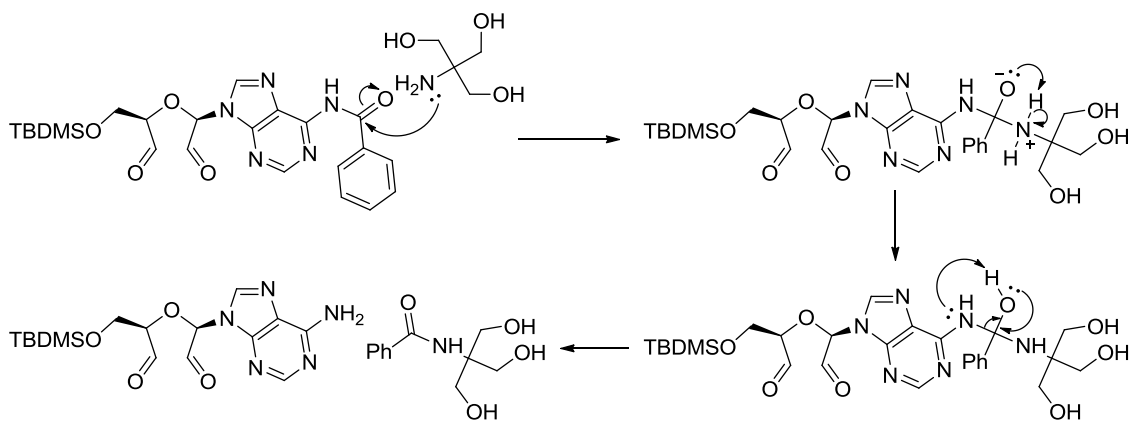


45. ábra Az adenosin, citidin és guanozin *N*-benzoilezése

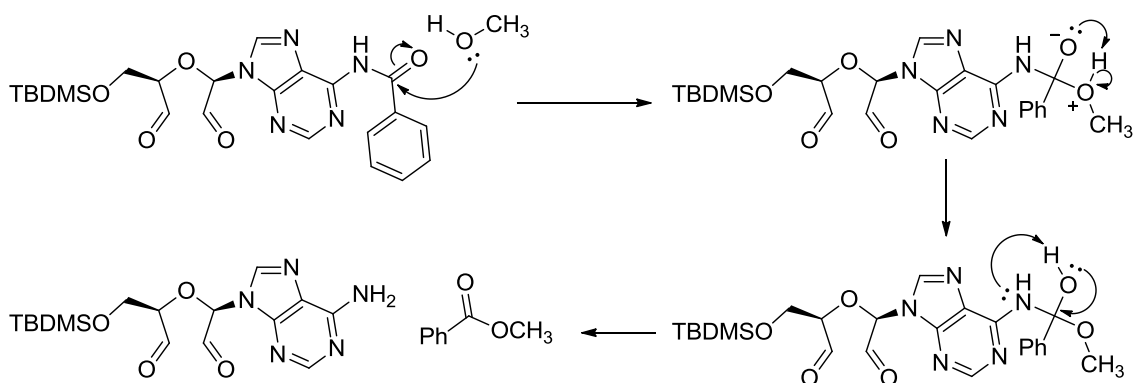
Reakciókörülmények: i) 1. TMSCl, 2. Bz<sub>2</sub>O, absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N, rt, A, C: 1 éjszaka, G: 8 óra, **195**: 96%, **198**: 80%, **201**: 73%; ii) TBDMSCl, absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N, 4 Å MSz., rt, 2-3 nap, **196**: 83%, **199**: 80%

A citidin származék (**201**) szililezését már nem hajtottam végre, mert időközben **196** származékból Varga Szabolcs vegyészmérnök BSc hallgató megkísérelte a triciklizációt oxidáció után, és arra lettünk figyelmesek, hogy a Bz-védőcsoport nagymértékben lehasadt, így csak nagyon alacsony hozammal tudta izolálni a várt terméket.<sup>99</sup>

A védőcsoport lehasadása egyrészt azzal magyarázható, hogy metanolos közegben a trisz NH<sub>2</sub>-csoportja nukleofilként megtámadja a Bz karbonil szénatomját, és transzamidáció történik. (46. ábra) Másrészt metanolos közegben a trisz jelenlétében bázis katalizálta metanolízis is lejátszódhat. (47. ábra)

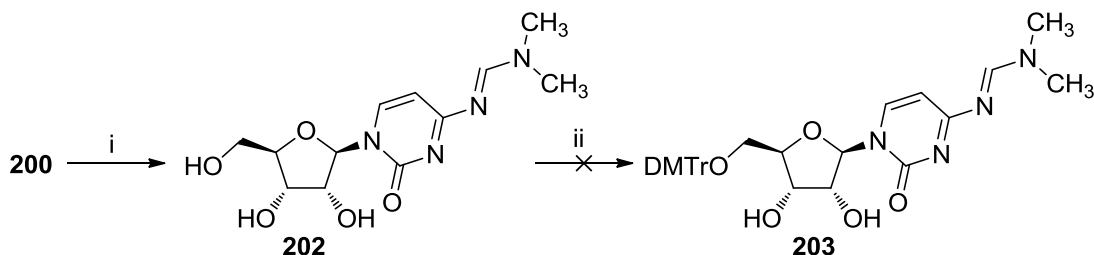


46. ábra A benzoil-csoport feltételezett transzamidációja.



47. ábra A benzoil-védőcsoport feltételezett metanolízise

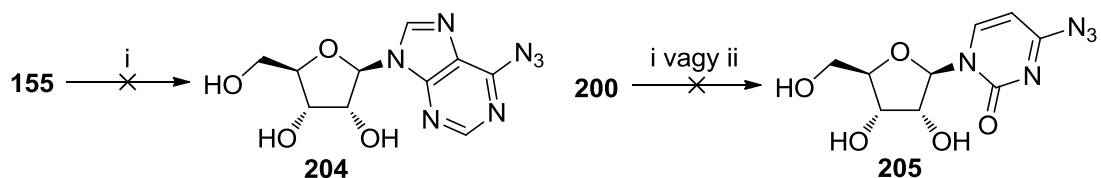
Ezek után a citidin amino-csoportját dimetil-formamidin formában védtem. A terméket **(202)**<sup>121</sup> forró etanolos átkristályosítás után csak rossz hozammal (32%) sikerült izolálni. Következő lépésben a primer OH-csoportot DMTr-lel védtem, azonban **203**-at nem tudtam izolálni oszlopkromatográfiás tisztítás után. **(48. ábra)** Az NMR spektrum alapján lehasadt a dimetil-amino-metilén-védőcsoport.



48. ábra *N,N*-dimetil-formamidin- és DMTr-védőcsoport bevitelre

Reakciókörülmények: i)  $(\text{H}_3\text{C})_2\text{NCH}(\text{OCH}_3)_2$ , absz. DMF, rt, 1 éjszaka, 32%; ii) DMTrCl, absz.  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ , rt, 1 éjszaka

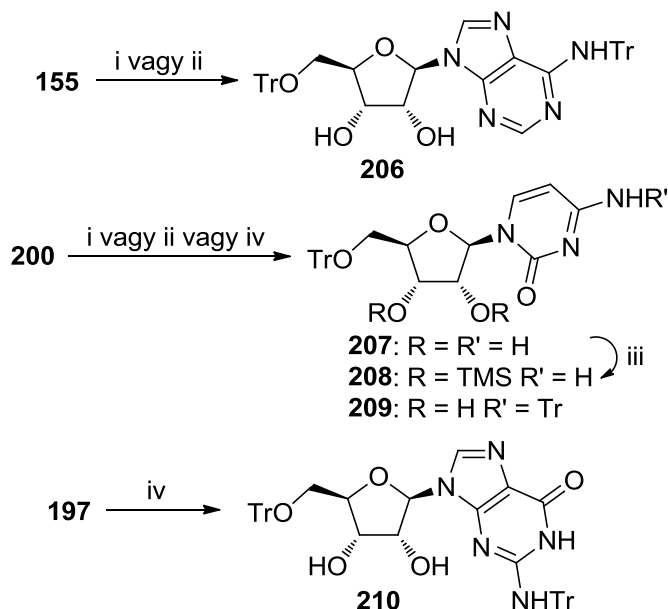
Felvetődött az amino-csoport aziddá való konvertálása is. Közvetlenül próbálkoztam az adenzin **(155)** és a citidin **(200)**  $\text{NH}_2$ -csoportjának diazotranszfer reakciójával **(204, 205)**, eredménytelenül. **(49. ábra)**



49. ábra Adenozin és citidin diazotranszfer reakciója

Reakciókörülmények: i) Imidazol-1-szulfonil-azid-hidroklorid,  $K_2CO_3$ ,  $CuSO_4$ , absz. DMF, rt, 1 éjszaka; ii)  $TfN_3$ ,  $CuSO_4$ , absz. DMF, rt, 1 éjszaka

Végül arra következtettem, hogy az amino-csoportokat is tritil-védőcsoporttal legcélszerűbb védeni. Az adenozin (155) ditritilezését relatíve jó hozammal (63%) sikerült kiviteleznem. Ugyanezeket a körülményeket alkalmazva citidinből csak *O*-tritil származékot (207)<sup>123</sup> sikerült előállítani közepes (54%) hozammal. Más reakciókörülményeket alkalmazva szintén csak monoszubsztitúciót sikerült elérnem jó hozammal (79%). További reakcióban először trimetilszilil-étert képezve reagáltattam ezt a származékot trifenilmetil-kloriddal, de nem a *bis*-tritil származékot, hanem a *diszilil*-éter 208-at tudtam izolálni. Az *O,N*-*bis*-tritil-guanozint (210) is közepes kitermeléssel (49%) állítottam elő, hasonlóan az irodalmi példához.<sup>124</sup> Ezek után a citidin megfelelő származékát (209) azonban már csak rossz hozammal (30%) tudtam izolálni hasonló reakciókörülmények között. (50. ábra)

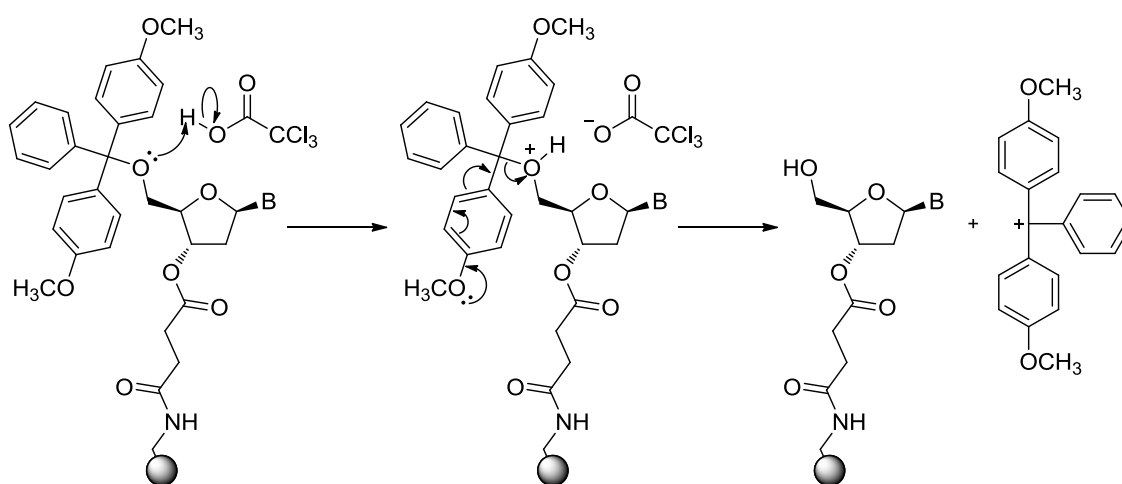


50. ábra Az adenozin, citidin és guanozin tritilezési reakciói

Reakciókörülmények: i)  $TrCl$ , absz.  $C_5H_5N$ , 60 °C, 1 éjszaka, 206: 63%, 207: 54%; ii)  $TrCl$ , absz. DMF, absz.  $C_5H_5N$ , 207: 79%; iii) 1.  $TMSCl$ , 2.  $TrCl$ , absz.  $C_5H_5N$ , 43%; iv)  $TrCl$ , absz. DMF, absz.  $Et_3N$ , DMAP, 50 °C, 7-10 nap, 209: 30%, 210: 49%

#### 4.2. Új módszer kidolgozása trifenilmetil-típusú védőcsoportok eltávolítására

A Tr-, MMTr- és DMTr-védőcsoportok eltávolítására általában valamilyen erős protikus savat: HCl,<sup>147</sup> HCOOH,<sup>148</sup> AcOH,<sup>116</sup> TsOH,<sup>149</sup> F<sub>3</sub>CCOOH,<sup>150</sup> Cl<sub>3</sub>CCOOH,<sup>151</sup> Cl<sub>2</sub>CHCOOH<sup>152</sup> és redukáló segédanyagot: Et<sub>3</sub>SiH<sup>153</sup> használnak. A szilárdfázisú oligonukleotid szintézisben a sokkal savérzékenyebb dimetoxitritil-védőcsoportot alkalmazzák, melyet 2-3% Cl<sub>3</sub>CCOOH vagy Cl<sub>2</sub>CHCOOH diklórmetános vagy toluolos oldatával távolítják el.<sup>154</sup> (51. ábra) A nagyon erőlyes savas körülmény viszont depurinációt okozhat a procedúra során, különösen a 2'-dezoxiadenozin esetében.<sup>155</sup>



51. ábra Dimetoxitritil védőcsoport eltávolítása triklórecetsavval<sup>146</sup>

A fent említett reakciókörülmények azonban nagyon erőlyesek a triciklusos vegyületeink számára, így egy új reagens kombináció kidolgozását kaptam feladatul. A protikus savak mellett Lewis-savak, mint például a FeCl<sub>3</sub>·6 H<sub>2</sub>O,<sup>156</sup> Yb(OTf)<sub>3</sub>,<sup>157</sup> Ce(OTf)<sub>4</sub>,<sup>158</sup> In(OTf)<sub>3</sub>,<sup>159</sup> BCl<sub>3</sub>,<sup>160</sup> ZnBr<sub>2</sub>,<sup>161</sup> BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O,<sup>161</sup> MgBr<sub>2</sub><sup>161</sup> vagy TMSOTf/TESOTf<sup>162</sup> is alkalmasak trifenilmetil-típusú védőcsoportok eltávolítására. Ugyanakkor az enyhe protikus sav 1,1,1,3,3,3-hexafluor-izopropanol (pK<sub>a</sub> = 9,3) is hatékony a DMTr-védőcsoport hasításánál.<sup>163</sup> Továbbá nem csak protikus, hanem Lewis-sav mellett is használható redukáló segédanyagként a Et<sub>3</sub>SiH.<sup>162</sup>

Ezek közül a reagensek közül jó néhány enyhe körülményű, azonban számos esetben a reakcióidő meglehetősen hosszú kimenetelű, ami mellékreakciók lejátszódására ad lehetőséget.

Az új ismereteknek a birtokában kísérleteket végeztem tritil-védőcsoport hasítására Lewis-savakat: MgBr<sub>2</sub>·Et<sub>2</sub>O, Yb(OTf)<sub>3</sub>, FeCl<sub>3</sub>·6 H<sub>2</sub>O, Cu(OTf)<sub>2</sub>, BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O, ZnCl<sub>2</sub>, hexafluor-izopropanollal és Et<sub>3</sub>SiH-nal kombinációban alkalmazva. Legígéretesebbnek a Cu(OTf)<sub>2</sub> és

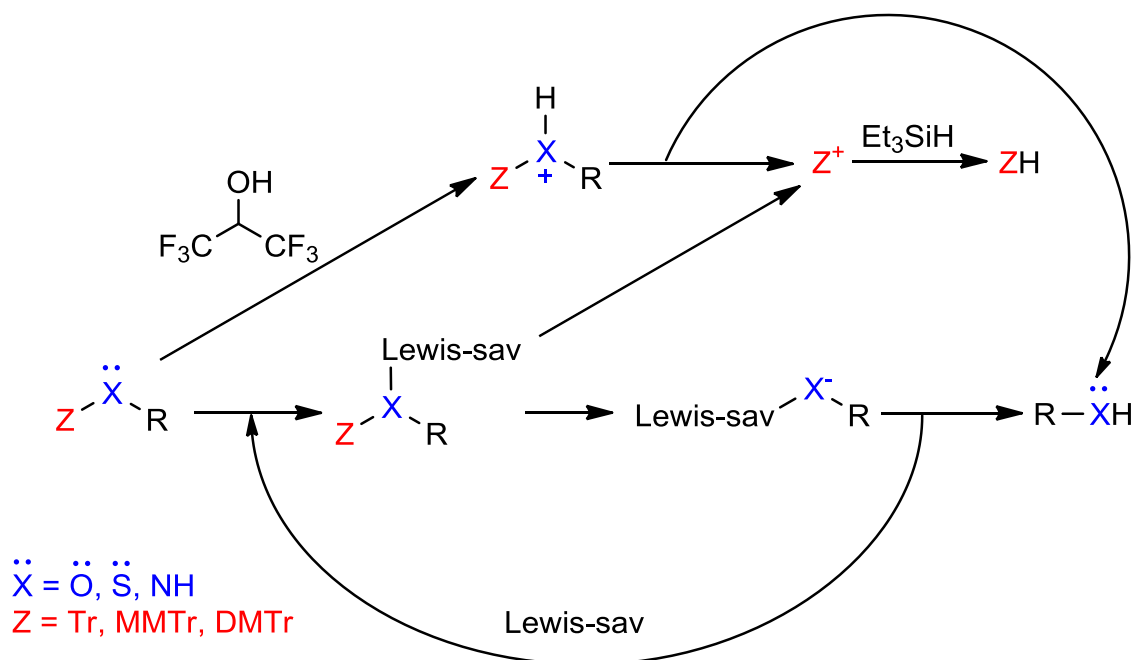
$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  nyilvánult, melyekkel optimalizáltam a reakciókörülményeket a **191** modellvegyületen. (**1. táblázat**)

Kísérletek	Reagensek			Detritilezési idő (min)	Konverzió
	HFIP (1 ml/0,1 mmol)	Lewis-sav (0,2 ekv.)	$\text{Et}_3\text{SiH}$ (3,8 ekv.)		
1	+	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	+	3	~100%
2	-	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	+	10	~100%
3	+	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	-	30	~50%
4	+ <sup>a</sup>	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	+	10	~100%
5	+	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}^b$	+	5-10	~100%
6	-	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	-	30	~70%
7	+	$\text{Cu}(\text{OTf})_2$	+	5	~100%
8	-	$\text{Cu}(\text{OTf})_2$	+	10	~100%
9	+	$\text{Cu}(\text{OTf})_2$	-	30	~100%
10	-	$\text{Cu}(\text{OTf})_2$	-	30	~75-80%
11	+	-	+	30	~5-10%

<sup>a</sup> 0,5 ml / 0,1 mmol; <sup>b</sup> 0,05 ekv.

**1. táblázat Detritilezési körülmények optimalizálása**

A háromkomponensű reagens kombinációnk mechanizmusa feltételezhetően az alkotó komponensek szinergizmusa révén magyarázható. A gyenge protikus sav hexafluor-izopropanol az általában használatos savakhoz hasonlóan protonálja a heteroatomot, melynek következtében trifenilmetil-típusú kation és szabad funkciós csoport ( $\text{OH}$ ,  $\text{NH}_2$ ,  $\text{SH}$ ) képződik. Egy másik útvonalon a Lewis-sav koordinálódva a heteroatomhoz szintén hasítja a védőcsoportot, és az így generálódó trifenilmetil-típusú kationt a trietil-szilán redukálja trifenilmetán származékká eltolva az egyensúlyt. (**52. ábra**)

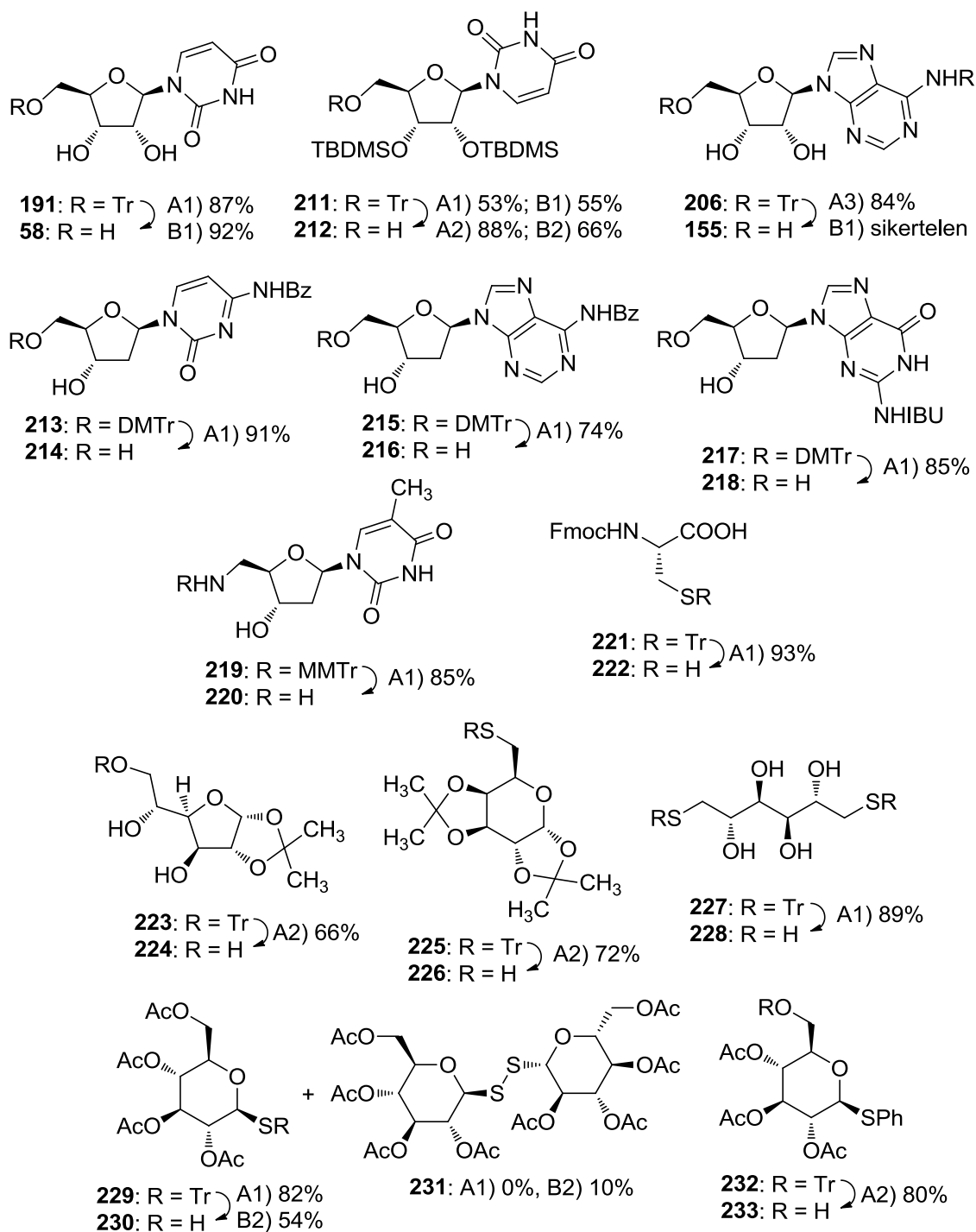


52. ábra A háromkomponensű detritilező elegy feltételezett mechanizmusa

Az optimalizálást követően új reagens kombinációk védőcsoport-kompatibilitását is megvizsgáltuk, amihez azonban még további néhány vegyületet (**211**,<sup>125</sup> **225**, **229**, **232**<sup>139</sup>) elő kellett állítani.

Ezután a trifenilmetil-védőcsoportok széles palettáját kezeltük új reagens kombinációkkal. Különböző szénhidrát és nukleozid származékok, illetve egy cisztein származék *O*-Tr, *O*-DMTr, *N*-MMTr, *N*-Tr és *S*-Tr védőcsoportjait távolítottuk el sikeresen enyhe körülmények között, rövid idő alatt, preparatív léptékben. (**53. ábra**)

Összességében jó hozammal mentek végbe a védőcsoport-hasítások. Módszerünk többfajta védőcsoporttal (*O*Ac, izopropilidén ketál, TBDMS-éter, *N*-Bz, illetve *N*-*i*-PrCO, valamint *N*-Fmoc) kompatibilis, és változatos szubsztrátumokon alkalmazható. Emellett egy esetben sem tapasztaltunk depurinációt, ami szilárdfázisú oligonukleotid szintézisekben a standard DMTr-eltávolításnál gondot szokott okozni. És végül, de nem utolsósorban a Lewis-sav széleskörűen változtatható, ami által módszerünk hangolható az adott szubsztrátum „igényeihez” igazodva.



53. ábra Nukleozidok *O*- és *N*-detrítilezése, illetve szénhidrát és aminosav származékok *O*- és *S*-detrítilezése

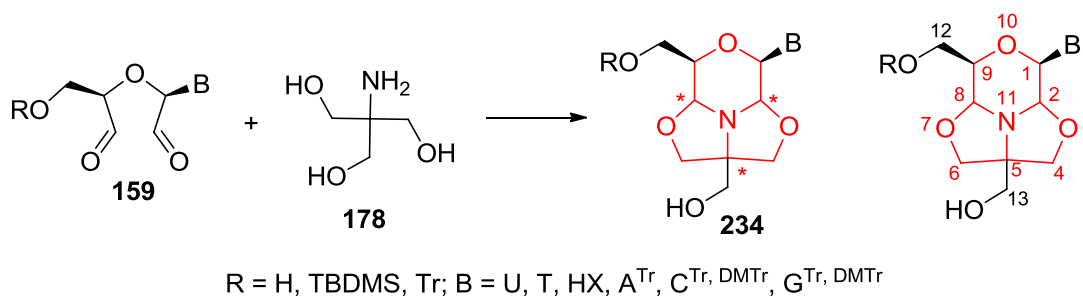
Reakciókörülmények: A1)  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (0,2 ekv.), HFIP,  $\text{Et}_3\text{SiH}$ ; B1)  $\text{Cu}(\text{OTf})_2$  (0,2 ekv.), HFIP,  $\text{Et}_3\text{SiH}$ ; A2)  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (0,065 ekv.), HFIP,  $\text{Et}_3\text{SiH}$ ; B2)  $\text{Cu}(\text{OTf})_2$  (0,065 ekv.), HFIP,  $\text{Et}_3\text{SiH}$ ; A3)  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (1,0 ekv.), HFIP,  $\text{Et}_3\text{SiH}$

### 4.3. Triciklánók szintézise

Az irodalmi áttekintésben részletesen láthattuk, hogy milyen változatosan módosítható a ribonukleozidok szénhidrát egysége.

Metaperjodátos oxidációt követően keletkezett szekodialdehideket (**159**) trisz-(hidroximetil)-amino-metánnal (**178**) reagáltatva egy új típusú triciklusos nukleozid analógot (**234**) állítottam elő. Az anellált 3,7,10-trioxa-11-azatriciklo[5.3.1.0<sup>5,11</sup>]-undekán tartalmaz egy morfolin és két oxazolidin gyűrűt, melyek magukban foglalnak egy kettős *O,N*-acetált. Az új vegyületcsaládunkat a morfolinók után elneveztük triciklánóknak (**234**). A 2.6-os fejezetben olvasható, hogy igen változatos szerkezetű bi-, tri- és pentaciklusos áthidalt és anellált heterociklusokat állítottak már elő aldehidek, illetve ketonok és trisz (**178**) reakciójával, de a triciklánó magját alkotó heterociklusos vegyületet még nem írták le eddig.

A szintézis során három új kiralitáscentrum generálódik, aminek következtében 2<sup>3</sup> diasztereomer keletkezésére van lehetőség. (54. ábra)



54. ábra Triciklánók általános szintézise és számozása

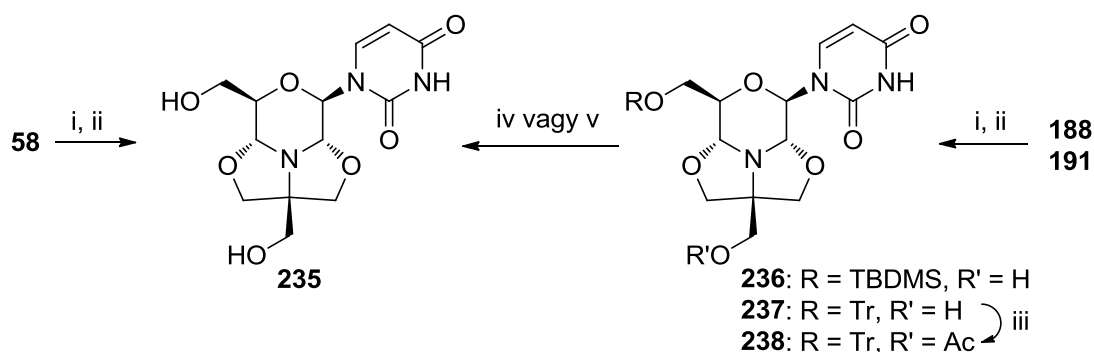
A reakciónál azonban vékonyréteg-kromatográfiásan minden esetben egy fő termék képződését tapasztaltam elhanyagolható mennyiségű és nem izolálható melléktermékek mellett. A <sup>1</sup>H-NMR spektrumokban, általában a H-1' vagy néhány bázis CH, illetve NH protonjának kémiai eltolódásához hasonló értéknél, körülbelül 3-7%-ban megfigyelhető volt valamilyen melléktermék, ami feltételezhetően egy másik diasztereomer volt. Néhány esetben gyenge, illetve közepes hozammal sikerült izolálni a triciklánó származékokat, de ez valószínűleg a rossz oldékonyság következménye lehet. Ezek alapján elmondható, hogy a reakció nagyfokú diasztereoselektivitással megy végbe. A pontos szerkezetmeghatározás igen nagy munkával járt, melyet a továbbiakban részletesen ismertetek.

Mindez azért fontos, mert a legújabb irányelvek alapján a királis gyógyszermolekulákat enantiomertiszta, illetve diasztereomer egységes formában lehet csak törzskönyvezni és forgalomba hozni.



### 4.3.1. Uracil-triciklánó

Először szabad uridinból (**58**) állítottam elő az első triciklusos nukleozid analógot (**235**) közepes, 58%-os hozammal (két lépésre), de nagy diasztereoselektivitással. Majd ezek után vizsgáltam, hogy különböző védőcsoportok hogyan befolyásolják a sztereoselektivitást és a kitermelést. Sikeresen előállítottam a TBDMS- és Tr-védett uracil-triciklánó származékokat (**236**, **237**) jelentős hozamnöveléssel (72% és 76%, két lépésre mindkét esetben). Végül a TBDMS-védőcsoportot TBAF-dal (ezt a reakciót és a kiindulási **236**-os vegyület előállítását Hőgye Fanni Kémia BSc hallgató is elvégezte<sup>164</sup>), a Tr-csoportot pedig tovább hangolva az általunk kidolgozott reagens elegyet, a Lewis-savat ZnCl<sub>2</sub>-ra cserélve, annak segítségével távolítottam el. Ezenkívül a Tr-védett uracil-triciklánó származékból acetátésztert (**238**) képeztem, hátha az így szintetizált vegyület kristályosítható lesz, azonban nem sikerült megfelelő mintát nyerni röntgendiffrakciós méréshez. (55. ábra)



55. ábra Uracil-triciklánó előállítása védőcsoport nélkül és 5'-TBDMS és Tr védőcsoportok alkalmazásával

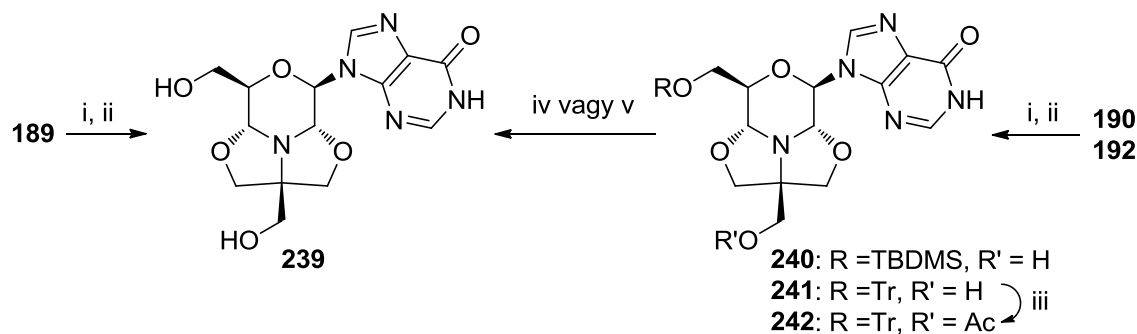
Reakciókörülmények: (i) IO<sub>4</sub><sup>-</sup>-os gyanta, MeOH, rt, sötét, 1 éjszaka; (ii) **178**, 3 Å MSz., absz. MeOH, rt, 1 éjszaka, **235**: 58% (2 lépésre **58**-ből), **236**: 72% (2 lépésre **188**-ből), **237**: 76% (2 lépésre **191**-ből); (iii) Ac<sub>2</sub>O, absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N, rt, 1 éjszaka, 97%; (iv) TBAF, absz. THF, rt, 1 éjszaka, **235**: 48% (**236**-ből); (v) ZnCl<sub>2</sub>, (F<sub>3</sub>C)<sub>2</sub>CHOH, H<sub>3</sub>CNO<sub>2</sub>, Et<sub>3</sub>SiH, rt, 2 h, **235**: 66% (**237**-ből)

### 4.3.2. Hipoxantin-triciklánó

Az inozinból előállított triciklánó származék (**239**) ígéretes farmakonjelölt lehetne, mivel a didanozin gyógyszermolekulában megtalálható a hipoxantin bázis, illetve az Isoprinosine<sup>®</sup>-ban (inozin-pranobex) kombinációban is alkalmazzák.

Először megpróbáltam a szabad származékot (**239**) közvetlenül inozinból (**189**) előállítani. Feltehetően a rossz oldékonyságból adódóan csak alacsony hozammal (38%) sikerült izolálni a várt terméket (**239**). Ezután az uridinnél is bevált TBDMS- és Tr-védőcsoportokat alkalmazva is végrehajtottam a triciklizációt közepes hozamokkal (52%

és 42%). Mindkét védőcsoport eltávolítása az uracil származékkal analóg módon történt, és hasonló hozamokkal (56% és 58%) sikerült izolálni a terméket (**239**). A Tr-védett hipoxantin-triciklánó származékból (**241**) szintén acetátésztert képeztem. (**56. ábra**) Az így kapott terméket (**242**) forró *i*-PrOH-ból átkristályosítva sikerült olyan mintát nyernem, melyből röntgenkristallográfiával meghatározható lett a vegyület abszolút konfigurációja.

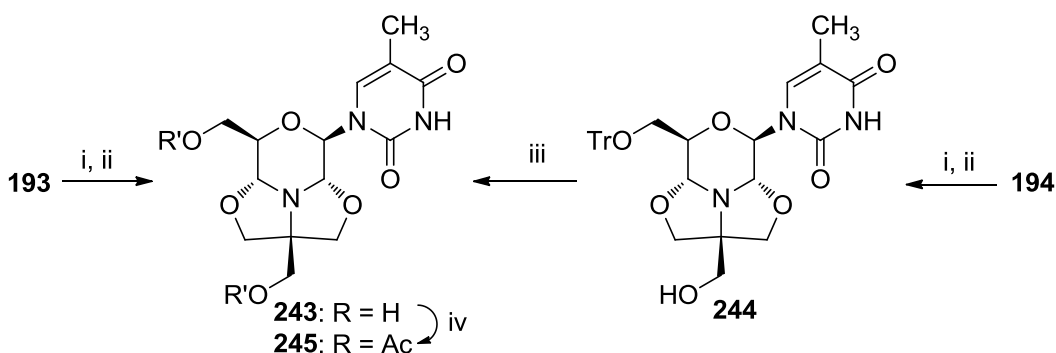


**56. ábra** Hipoxantin-triciklánó szintézise védőcsoport nélküli, TBDMS- és Tr-védett inozinból

Reakciókörülmények: (i)  $\text{IO}_4^-$ -os gyanta, MeOH, rt, sötét, 1 éjszaka; (ii) **178**, 3 Å MSz., absz. MeOH, rt, 1 éjszaka, **239**: 38% (2 lépésre **189**-ből), **240**: 52% (2 lépésre **190**-ből), **241**: 42% (2 lépésre **192**-ből); (iii)  $\text{Ac}_2\text{O}$ , absz.  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ , rt, 1 éjszaka, 86%; (iv) TBAF, absz. THF, rt, 1 éjszaka, **239**: 56% (**240**-ből); (v)  $\text{ZnCl}_2$ ,  $(\text{F}_3\text{C})_2\text{CHOH}$ ,  $\text{H}_3\text{CNO}_2$ ,  $\text{Et}_3\text{SiH}$ , rt, 2 h, **239**: 58% (**241**-ből)

#### 4.3.3. Timin-triciklánó

A továbbiakban ribotimidinből (**193**) is elvégeztem a triciklusképzést. Védőcsoport nélkül és Tr-védőcsoport alkalmazásával is előállítottam a timin tartalmú triciklusos származékokat (**243** és **244**), illetve a tritil-csoport eltávolítását is sikerült véghez vinnem. A szabad származékból (**243**) diacetátésztert képezve olyan származékhoz (**245**) jutottam, melyet szintén felhasználtunk konformációs, illetve NMR számításokhoz, és így a szerkezetmeghatározáshoz. (**57. ábra**)

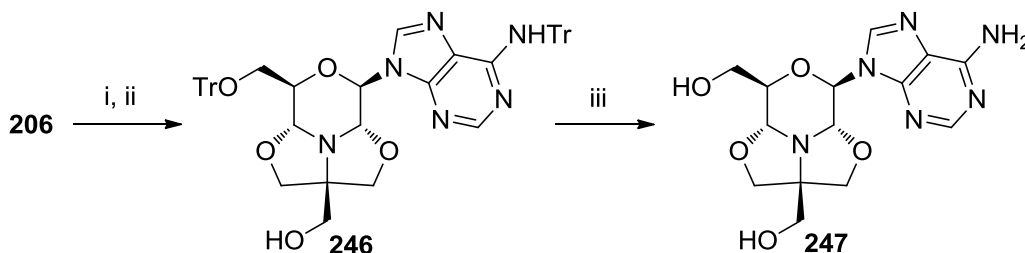


**57. ábra** Timin-triciklánó szintézise védőcsoport nélkül és 5'-Tr-védőcsoporttal

Reakciókörülmények: (i)  $\text{IO}_4^-$ -os gyanta, MeOH, rt, sötét, 1 éjszaka, (ii) **178**, 3 Å MSz., absz. MeOH, rt, 1 éjszaka, **243**: 53% (2 lépésre **193**-ből), **244**: 64% (2 lépésre **194**-ből); (iii)  $\text{ZnCl}_2$ ,  $(\text{F}_3\text{C})_2\text{CHOH}$ ,  $\text{H}_3\text{CNO}_2$ ,  $\text{Et}_3\text{SiH}$ , rt, 1 h, 55%; (iv)  $\text{Ac}_2\text{O}$ , absz.  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ , rt, 1 éjszaka, 73%

#### 4.3.4. Adenin-triciklánó

Az amino-csoporttal rendelkező nukleozidok nagyon rossz oldékonyságát figyelembe véve mindenképp szükség volt valamilyen védőcsoport bevitelére. A védőcsoport stratégia kidolgozása során a trifenilmetil-típusú védőcsoportok tűntek a legjobb választásnak, így az adenzin esetében a *bisz*tritol származékkal (**206**)<sup>122</sup> hajtottam végre az oxidációt, majd a triciklusképzést. A kapott védett származék (**246**)<sup>99</sup> védőcsoportjainak eltávolítása után izoláltam a szabad adenin-triciklánó származékot (**247**).<sup>99</sup> (58. ábra)

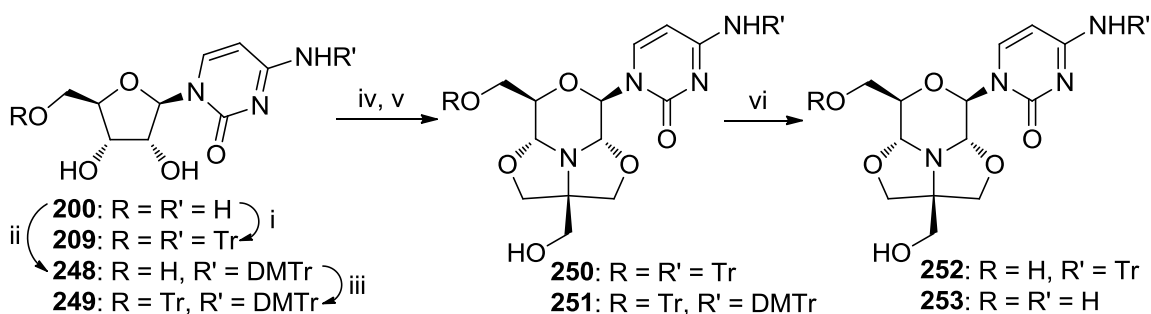


58. ábra Adenin-triciklánó szintézise 6-*N*,5'-*O*-*bisz*tritol-adenozinon keresztül

Reakciókörülmények: (i) IO<sub>4</sub><sup>-</sup>-os gyanta, MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3:2), rt, sötét, 1 éjszaka; (ii) **178**, 3 Å MSz., absz. MeOH, rt, 1 éjszaka, **246**: 55% (2 lépésre **206**-ből); (iii) ZnCl<sub>2</sub>, (F<sub>3</sub>C)<sub>2</sub>CHOH, H<sub>3</sub>CNO<sub>2</sub>, Et<sub>3</sub>SiH, rt, 24 h, 63%

#### 4.3.5. Citozin-triciklánó

A citozin származéknál szintén a *bisz*tritol-védelmet alkalmazva állítottam elő a triciklusos származékot (**250**) jó hozammal (65%, két lépésre). A tritol-védőcsoportok hasítása azonban csak az 5'-*O*-helyzetből sikerült, így a savlabilisabb DMTr-csoport használata mellett döntöttem. A vegyes *N*-DMTr és *O*-Tr védett citidinből (**249**) kiindulva 72%-os hozammal izoláltam a triciklusos származékot (**251**), amiből a jól bevált reagens kombinációt alkalmazva előállítottam a szabad citozin-triciklánót (**253**). (59. ábra) Az alacsony hozam (26%), a közel 90%-os konverzió ellenére, a nagyon rossz oldékonyságnak tudható be.



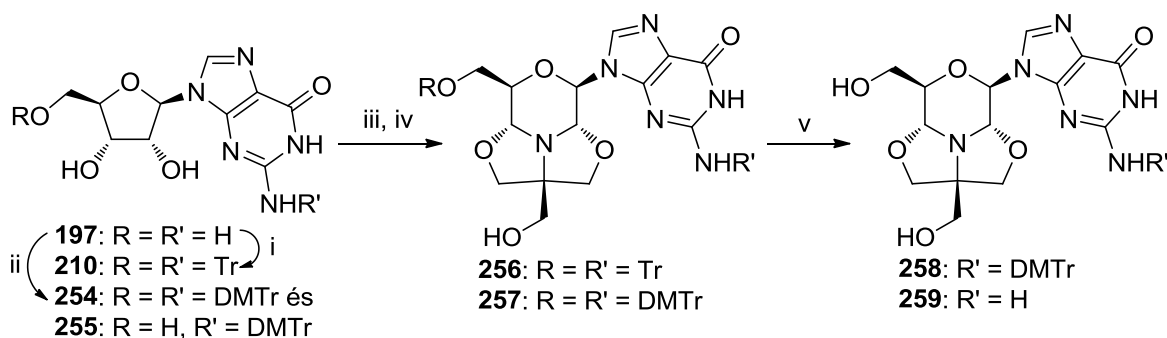
59. ábra Citozin-triciklánó szintézise *O*- és *N*-*bisz*tritol (Tr és DMTr) védőcsoportok használatával

Reakciókörülmények: (i) TrCl, DMAP, Et<sub>3</sub>N, absz. DMF, 50 °C, 10 nap, **209**: 30%; (ii) TMSCl, DMTrCl, absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N, rt, 4 nap, **248**: 82%; (iii) TrCl, absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N, rt, 7 nap, **249**: 68%; (iv) IO<sub>4</sub><sup>-</sup>-os gyanta, MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (**209**: 3:1, **249**: 1:1), rt, sötét, **209**: 1 éjszaka, **249**: 3 nap; (v) **178**, 3 Å MSz., absz. MeOH, rt, 1 éjszaka, **250**: 65% (2 lépésre **209**-ből), **251**: 72% (2 lépésre **249**-ből); (vi) ZnCl<sub>2</sub>, (F<sub>3</sub>C)<sub>2</sub>CHOH, H<sub>3</sub>CNO<sub>2</sub>, Et<sub>3</sub>SiH, rt, 5 h, **252**: 56% (**250**-ből), 7h, **253**: 26% (**251**-ből)

#### 4.3.6. Guanin-triciklánó

Guanozinnál először szintén tritil-védőcsoportot alkalmaztam. A triciklusos származékot (**256**) jó hozammal (73%) állítottam elő, azonban a detritilezést követően nem sikerült a várt terméket izolálni. Három napos reakcióidő után valószínűsíthető, hogy a kettős *O,N*-acetál hidrolizált. Próbálkoztam a Tr-védőcsoportok H<sub>2</sub>-nel történő redukciójával Pd/C katalizátorral, illetve nátrium-naftalenidet alkalmazva, de nem sikerült eltávolítani a védőcsoportokat.

Bízva a citozin származék szintézisének tapasztalataiban *bisz*(dimetoxitritil) származékból (**254**)<sup>129</sup> is előállítottam a védett guanin-triciklánót (**257**), amiből a reagens kombinációt alkalmazva, közepes konverzió (kb. 50%) mellett, sajnos csak nagyon rossz hozammal (20%) lehetett izolálni a szabad guanin-triciklánót (**259**). A reakcióban képződött még a részlegesen dedimetoxitritilezett **258** származék is. (**60. ábra**)



#### 60. ábra Guanin-triciklánó előállítás *O*- és *N*-*bisz*tritil, illetve *bisz*(dimetoxitritil) védőcsoportokkal

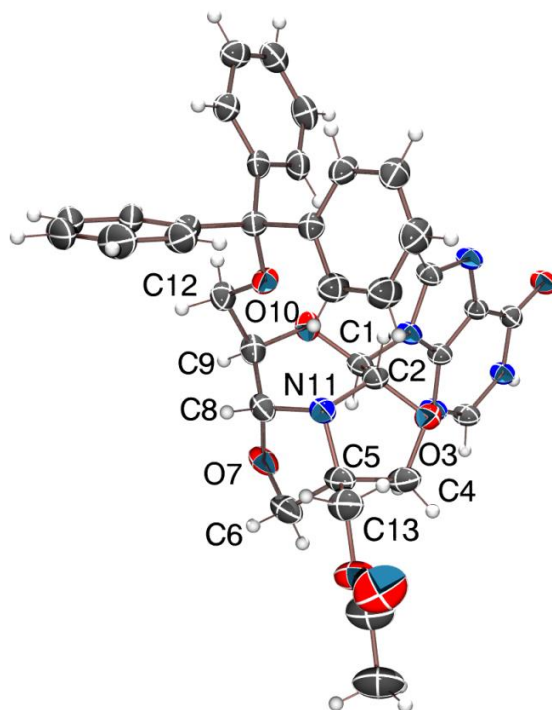
Reakciókörülmények: (i) TrCl, DMAP, Et<sub>3</sub>N, absz. DMF, 50 °C, 7 nap, **210**: 49%; (ii) TMSCl, DMTrCl, absz. DMF, absz. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N, 4 nap, **254**: 47%, **255**: 30%; (iii) **210**: NaIO<sub>4</sub>, MeOH:H<sub>2</sub>O (3:1) vagy **255**: IO<sub>4</sub><sup>-</sup>-os gyanta, MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2:3), rt, sötét, 1 éjszaka; (iv) **178**, 3 Å MSz., absz. MeOH, rt, 1 éjszaka, **256**: 73% (2 lépésre **210**-ből), **257**: 80% (2 lépésre **254**-ből); (v) ZnCl<sub>2</sub>, (F<sub>3</sub>C)<sub>2</sub>CHOH, H<sub>3</sub>CNO<sub>2</sub>, Et<sub>3</sub>SiH, rt, 5 h, **258**: 26%, **259**: 20% (**257**-ből)

#### 4.4. Szerkezetmeghatározás

A szokásos NMR technikák, mint például a <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> csatolási állandó mérése, nem volt elegendő, hogy az újonnan keletkező három sztereogéncentrum konfigurációját meghatározzuk. Végül a röntgenkristallográfia, illetve 2D NMR mérések (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY, <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HSQC, <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HMBC és <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H ROESY) eredményeit és a számított konformációs izomerektől származó súlyozott kémiai eltolódás értékeket összevetve sikerült meghatározni a vegyületek abszolút konfigurációját.

#### 4.4.1. Röntgenkristallográfia

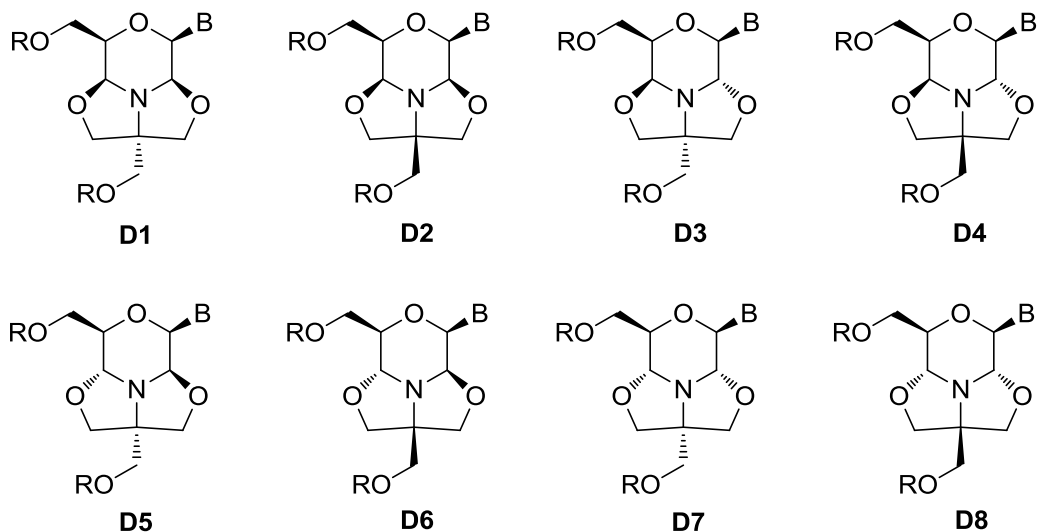
**242**-t forró *i*-PrOH-ból átkristályosítva sikerült röntgenkristallográfiás méréshez megfelelő mintát nyernem. A tércsoport nem centroszimmetrikus, ami egyértelműen alátámasztja, hogy a minta diasztereomer egységes. Az aszimmetrikus egységben megtalálható mindkét **242** molekula abszolút konfigurációja (*1R,2S,5S,8R,9R*). A szerkezetet gyenge C-H··O és C-H··N hidrogénkötések stabilizálják. Hidrogén-kötések vannak az *i*-PrOH molekulák és azok egyik OH-csoportja és a hipoxantin oxocsoportja (O96) között. Összeségében a kötéshossz és kötéstávolság adatok összhangban vannak a várt értékekkel.<sup>165</sup> N11 távolsága a C2-C5-C8 síktól a két molekulában egyenként 0,497 Å és 0,515 Å. A szerkezet gyűrű-hajródásának (puckering) analízise<sup>166</sup> alapján a két oxazolidin gyűrű (N11-C2-O3-C4-C5 és N11-C8-O7-C6-C5) boríték konformációjú O3 és O7 felé. A hattagú morfolin gyűrű (N11-C2-C1-O10-C9-C8) nagyon feszült, C1-C2-N11-C8 atomok egy síkban vannak, míg a C9 és O10 atomok a sík ugyanazon oldalán helyezkednek el, félszék konformációra hasonlítva. C1-C2 atomok távolsága 1,516(7) Å, ami  $sp^3$  szénatomokra utal. A C1-O10 és C1-C2-N11-C8 síkok közötti szög 58 °-os (52 ° az aszimmetrikus egységben lévő másik molekulánál). A Cambridge-i szerkezeti adatbankban (5.38 verzió, frissítve 2017. május)<sup>167</sup> kb. 2600 találat van morfolin gyűrűt tartalmazó vegyületekre. Az előbb említett sík szögeinek hisztogramja demonstrálja azt, hogy az előállított vegyület 52-58 °-os szögeivel meglehetősen egyedi.



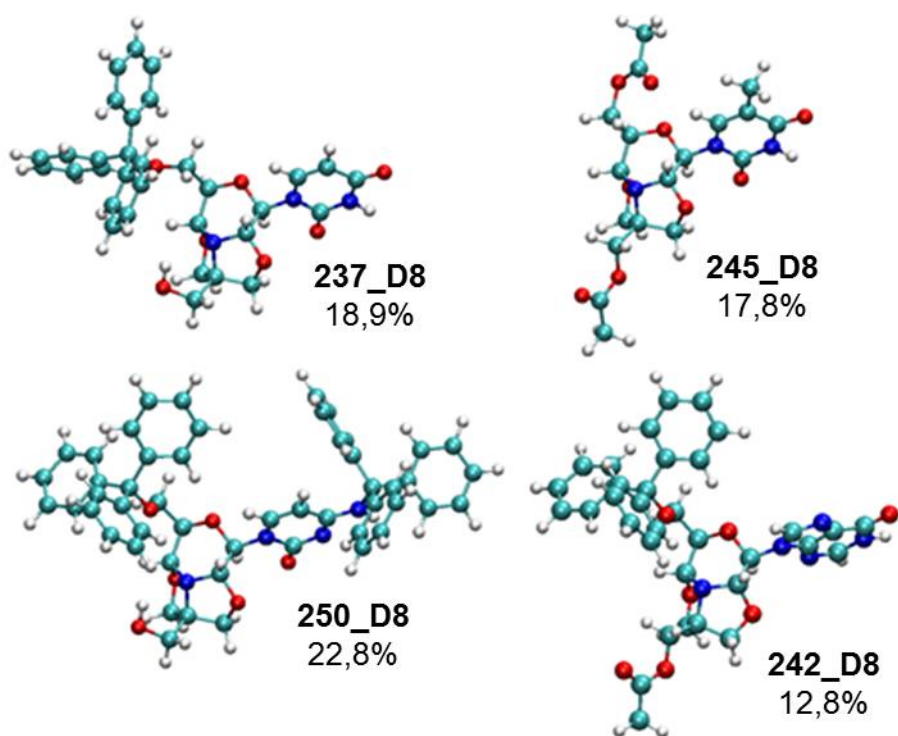
61. ábra A röntgenkristallográfiával meghatározott vegyület szerkezetének ORTEP-ábrája (Az aszimmetrikus egységben található egyik molekula az oldószer molekulák elhagyásával.)

#### 4.4.2. Konformációs és NMR számítások

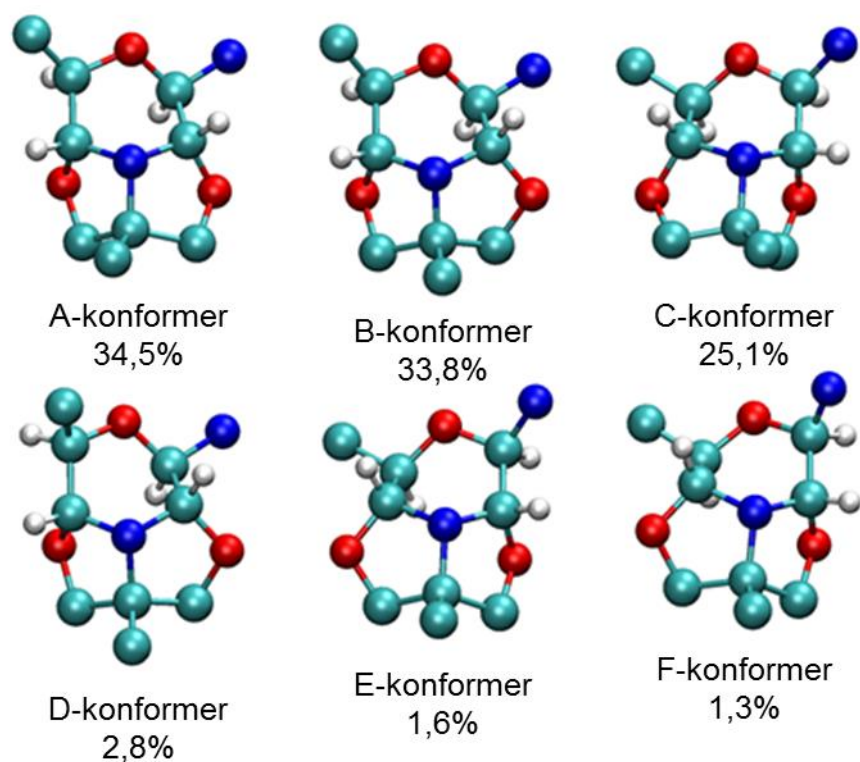
A számítások alapján a vártnál flexibilisebb a triciklusos rendszerünk, ezért nem lehetett megállapítani a szerkezetet hagyományos NMR-mérésekkel. A **237** és **245** esetében a lehetséges nyolc, **242** esetében a röntgenkristallográfiával meghatározott és **250**-nél a röntgen alapján feltételezett sztereoisomer DFT NMR számításokkal kapott korrigált  $^1\text{H}$ - és  $^{13}\text{C}$ -NMR adatait<sup>112</sup> összevetettük az NMR-mérések során kapott kísérletes kémiai eltolódás értékekkel. **237** és **245** esetében a 8-8 izomerből a számolt és a mért  $^1\text{H}$ , illetve  $^{13}\text{C}$  kémiai eltolódások eltérése a **D8** szerkezetet eredményezte, melynek konfigurációja a röntgendiffrakcióval meghatározott szerkezettel azonos konfigurációjú volt. Míg a **245**-ös vegyület esetén eléggé meggyőzőek voltak már a  $^{13}\text{C}$ -NMR adatok is, addig **237**-nél a  $^1\text{H}$ - és a  $^{13}\text{C}$ -NMR adatok együttes metszetéből sikerült meghatározni a szerkezetet, ami a röntgenméréssel meghatározott vegyület szerkezetével megegyezett. **250** esetén csak a **D8** szerkezetre lettek kiszámolva a kémiai eltolódás értékek, és az is jó egyezést mutatott. Következésképpen elmondhatjuk, hogy a triciklánók konformációs és NMR számításai után a kapott szerkezetek megegyeztek a röntgenkristallográfiával meghatározott **242** vegyület szerkezetével.



62. ábra A nyolc lehetséges sztereoisomer szerkezete és jelölése



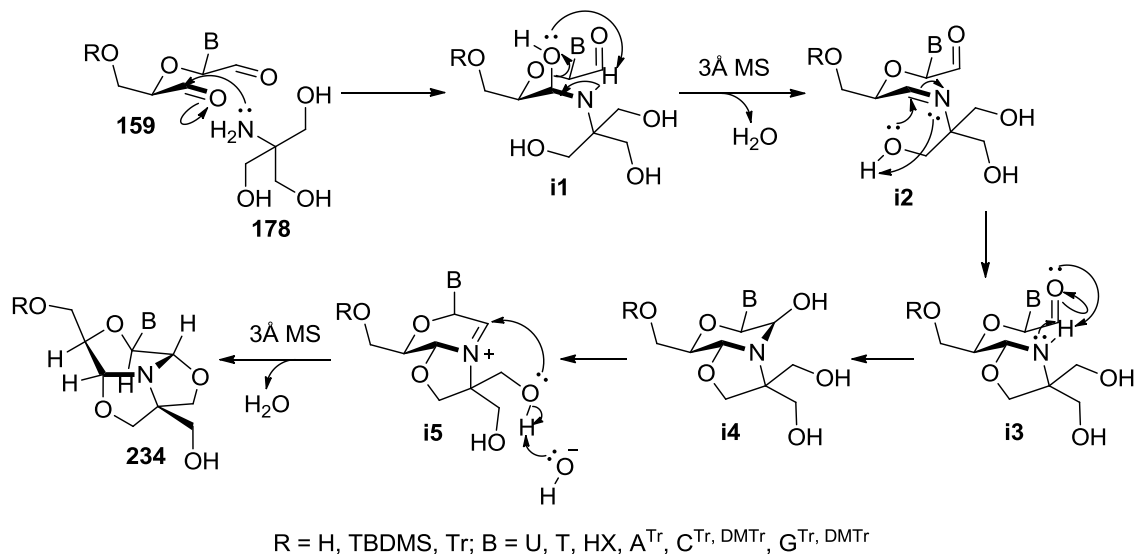
63. ábra 237\_D8, 245\_D8, 250\_D8 és 242\_D8 legalacsonyabb energiájú konformerei és azok Boltzmann-populációi



64. ábra 242\_D8 triciklusának az újraoptimalizált 686 OPLS konformer Boltzmann súlyozás és klaszterezés által kapott leggyakoribb konformerei (A jobb összehasonlíthatóság kedvéért csak a C-1', C-2', C-8' és C-9' szénatomokhoz kapcsolódó hidrogének vannak feltüntetve.)

### 4.4.3. Mechanizmus

A triciklus képződése egy diasztereoselektív kaszkád reakcióként értelmezhető. A nagyfokú diasztereoselektivitás a következő mechanizmussal magyarázható. (65. ábra) Először a trisz (178) amino-csoportja addíciónál a szekodialdehid egyik karbonilszenére egy hemiaminált képezve (i1), majd ezután vízkilépést (molekulaszita alkalmazása biztosítja, mellyel eltolódik az egyensúlyi reakció) követően egy Schiff-bázis (i2) keletkezik, melyre  $\alpha$ -oldalról támad az egyik hidroxil-csoport, és így kialakul az első oxazolidin gyűrű (i3). A következő lépésben az oxazolidin gyűrű nitrogénje addíciónál a másik formil-csoport karboniljára és ismét egy hemiaminál (i4) képződik. Majd ezt követően vízkilépés közben egy másik hidroxil-csoport oxigénje támad az iminium (i5) szénatomjára, és kialakul a második oxazolidin gyűrű, így triciklánó származék képződik (234). Az  $\alpha$ -oldali támadás az adott két sztereocentrum és azok szubsztituenseinek szterikus gátlása miatt valószínűsíthető. C2' és C8' kiralitáscentrumának kialakulása összhangba hozható a poláris Felkin-Anh modellel,<sup>168</sup> ami általánosan alkalmazható elektronegatív csoportot tartalmazó aldehidekre vagy ketonokra. A C2' és a C5' (vagy a C8' és a C5') kiralitáscentruma feltételezhetően egyszerre alakul ki a végső lépésben.



65. ábra A triciklus kialakulásának feltételezett mechanizmusa



## 5. Megbeszélés

A szerves kémiai szintézisek során a vegyületek funkciós csoportjainak variabilitása nem minden esetben biztosítja a reaktivitásbeli különbségeket, ezért ortogonális reakciók végrehajtásakor elengedhetetlen a védőcsoportok használata. A védőcsoport stratégia, a szénhidrátkémiához hasonlóan, a nukleozidkémiaiban is igen nehéz és sokrétű.

Munkám során kidolgoztunk egy új módszert trifenilmetil-típusú védőcsoportok eltávolítására. A korábban alkalmazott reakciókörülmények nem egyszer igen erélyesek (80%-os ecetsav, trifluorecetsav, stb.), illetve hosszú reakcióidejűek, ami mellékreakciók lejátszódására ad lehetőséget. Módszerünk újdonsága abban rejlik, hogy enyhe körülmények között és gyorsan hasítja a tritil-, monometoxitritil- és dimetoxitritil-védőcsoportokat, mind hidroxil-, merkaptó-, valamint amino-csoportok védelme esetén. Ráadásul a Lewis-sav komponens tetszőlegesen variálható a szubsztrát kémiai minőségét figyelembe véve. Ezenkívül számos védőcsoporttal vagy funkciós csoporttal (acetátészter, izopropilidén ketál, TBDMS-éter, fluorenilmetil-karbamát, benzamid, izobutiramid, illetve feniltio-glikozid) kompatibilis, ami megnöveli az alkalmazhatósági körét e reagens kombinációnak. Nagy előnye, hogy a szilárdfázisú oligonukleotid szintézisben használatos di- vagy triklórecetsavval ellentétben nem okoz depurinációt. Ezek alapján úgy gondolom, hogy némi módszerfejlesztéssel és optimalizálással e téren is alkalmazható lenne.

A nukleozidszintézisben jól bevált védőcsoportokat alkalmaztam én is szintetikus munkám során. A primer hidroxil-csoportokból tritil-, illetve szilil-étereket képeztem, majd előállítottam a triciklánó származékokat. Bonyolultabb volt az amino-csoportok védelmének kivitelezése, ugyanis az egyszerűen bevihető benzoil-védőcsoport inkompatibilis volt a triciklizációs reakcióval. Kézenfekvő megoldásnak bizonyult az amino-csoportok védelme trifenilmetil-típusú védőcsoportokkal. Azonban az *N*-benzoil származékok kialakításával ellentétben a tritil-csoportok bevitelénél és eltávolításánál is megmutatkoztak a reaktivitásbeli különbségek az adenzin, a citidin és a guanozin esetében. Jövőbeni tervként szerepelhet szilil-védőcsoportok alkalmazása az amino-csoportok védelmére.

A továbbiakban tritil-, illetve dimetoxitritil-védőcsoportokat alkalmazva előállítottam az uridin, inozin, ribotimidin, adenzin, citidin és guanozin triciklánó analógokat. Az uridin és az inozin esetében TBDMS-védőcsoport használatával is. A szilil-védőcsoport eltávolítása tetra-*n*-butilammónium-fluoriddal nem okozott gondot. A tritil-éterek hasítására a reagens kombinációnk „finomított” verzióját (bór-trifluorid-éterát helyett cink-

kloridot) alkalmaztam. Habár a tritil-védőcsoportok hasítása nem minden esetben ment zökkenőmentesen (rossz konverzió és alacsony hozam), végül sikeresen előállítottam a szabad triciklánó származékokat, melyek nukleozid analógok lévén daganatellenes és antivirális hatással rendelkezhetnek. Emellett a purinszármazékok purinerg-receptorokra kifejtett hatását is érdemes lehet tanulmányozni.

A triciklizáció során három új kiralitáscentrum kialakulására volt lehetőség, ami nyolc diasztereomer képződését eredményezné. Viszont az összes reakció során egy főtermék képződését észleltük, aminek következtében kijelenthetjük, hogy igen nagymértékű diasztereoselektivitással megy végbe a triciklusképzés. A vegyületek abszolút konfigurációjának meghatározására nem volt elég csak NMR-módszerek használata. Egy származékból nyert egykristály röntgenkrisztallográfiás mérés, DFT NMR és konformációs számítások, illetve kísérletes NMR-adatok ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC és  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC) együttes alkalmazásával végül kooperációban meghatároztuk a vegyületek pontos szerkezetét.

Tapasztalatainkat a későbbiekben alkalmazva szeretnénk kibővíteni ezeknek a triciklusos származékoknak a körét. Szekodialdehideket nem csak nukleozid-, hanem szénhidrát származékokból is előállítunk, ráadásul a trisz helyettesíthető egyéb vegyületekkel (1,2,3-triaminopropán, 1,2,3-triamino-2-metil-propán, szerinol, 2-metil-propán-1,2-diol és -ditiol, stb.). Ezenkívül a hattagú morfolint tartalmazó triciklus héttagú oxazepin analógja is előállítható. Az így szintetizált vegyületek széleskörűen tanulmányozhatóak biológiai vizsgálatokban, különböző enzimek (glikozidáz, polimeráz), illetve membránfehérjék (transzporterek) inhibitoraként, receptorok (purinerg) agonistájaként vagy antagonistájaként. Sőt mi több, ha a szilárdfázisú oligonukleotid szintézis reakciókörülményeit optimalizálnánk, triciklánóink beépíthetőek lennének oligonukleotidokba is, melyeknek alkalmazása széleskörűen vizsgálható például géncsendesítő folyamatokban is.

## 6. Összefoglalás / Summary

Doktori munkám során új típusú heterotriciklust tartalmazó nukleozid analógok előállításával foglalkoztam. Biológiai aktív vegyületek előállítása volt a cél, mivel számos nukleozid-, illetve nukleotid analóg gyógyszermolekulát alkalmaznak a daganatellenes és antivirális terápiában. Továbbá jelentős fejlődésnek indult az oligonukleotid származékok alkalmazása ritka, genetikai, illetve anyagcserebetegségek (Duchenne izomdisztrófia, spinális izomatrófia, familiáris hiperkoleszterinémia, hipertrigliceridémia, időskori makuladegeneráció, stb.) kezelésében, valamint gyógyításában.

Alapötletként szolgált, hogy különböző konformációsan korlátozott bi- és triciklusos nukleozid származékokat állítottak már elő, melyek közül néhánynak biológiai tulajdonságait is tanulmányozták. Ezek a vegyületek a szénhidrátégség konformációjának rögzítése következtében ellenállóbbak lettek a degradáló enzimekkel szemben, nagyobb hatékonysággal és specificitással hibridizálódtak természetes nukleinsav szálakhoz, RNáz H aktivációt indukáltak.

Védőcsoport nélküli, illetve megfelelően védett ribonukleozidokból kiindulva, metaperjodátos oxidációval szekodialhideket állítottam elő, melyeket utána Trisszel reagáltattam. A kondenzációs reakcióban egy új anellált heterotriciklusos vázat alakítottam ki a D-ribofuranózt helyettesítve. A keletkező triciklusban három új aszimmetriacentrum képződött, aminek következtében nyolc diasztereomer kialakulására volt lehetőség. A reakciók azonban nagyfokú diasztereoselektivitással mentek végbe. A morfolinó nukleozidok mintájára új vegyületeinket elneveztük triciklánóknak.

A szerkezetmeghatározáshoz az egyik származéknak sikeresen meghatároztuk az abszolút konfigurációját egykristály röntgendiffrakcióval. Három másik vegyületnek DFT NMR és konformációs analíziséből nyert adatait összevetettük a kísérletes NMR kémiai eltolódásokkal. Eredményként mind a négy származék esetében azonos konfigurációt kaptunk.

A szintézis során olyan védőcsoportok alkalmazása volt szükséges, amelyek kompatibilisek a metaperjodátos oxidációval, a triciklizációval, és eltávolításuk is lehetséges. Figyelembe véve ezeket a kritériumokat egy új módszert dolgoztunk ki trifenilmetil-típusú védőcsoportok eltávolítására. Háromkomponensű reagens kombinációnk egy Lewis-savat,  $\text{Et}_3\text{SiH}$ -t és hexafluor-izopropanolt tartalmaz, mely gyors és enyhe körülményű védőcsoport-eltávolítást eredményez, és számos védőcsoporttal kompatibilis és nagymértékben hangolható. Alkalmazva az új módszerünket, előállítottam a szabad triciklánó származékokat uridinból, inozinból, ribotimidinból, adenozinból, citidinból és guanozinból.

My PhD research focused on synthesizing a novel type of heterotricycle containing nucleoside analogues. The aim was to produce some biologically active compounds, given the fact that nucleoside or nucleotide analogue pharmaceuticals are widely used in tumour and antiviral therapy. Additionally, there has been a remarkable development in applying oligonucleotide derivatives in the treatment and cure of rare, genetic, or metabolic diseases such as Duchenne muscular dystrophy, spinal muscular atrophy, familial hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia, or age-related macular degeneration, etc.

The basic concept was inspired by the successful synthesis of different types of conformationally restricted bi- and tricyclic nucleoside derivatives, with some of them well researched in the various disciplines of biology. As a consequence of the conformational restraint of the carbohydrate moiety, these compounds became more resistant against degrading enzymes, hybridized with higher efficacy and specificity to natural nucleic acid chains, and induced the activation of RNase H.

Unprotected or suitably protected ribonucleosides were oxidized by metaperiodate to obtain secodialdehydes, which were reacted with Tris. In the condensation reaction, a new annellated heterotricyclic skeleton was formed. With the three new stereogenic centers of the tricycle, potentially eight diastereomers could evolve. However, the reactions were accomplished with high diastereoselectivity. Following the morpholinos, our new compounds were named tricyclanos.

To assign the structure of the tricyclanos, the absolute configuration of one of the tricyclano derivatives was successfully determined by X-ray diffraction. Next DFT NMR and conformational calculations of three other compounds were compared with experimental NMR chemical shifts. Finally, as a result all four derivatives were homochiral.

During the synthesis, it was necessary to use suitable protecting groups, which are compatible with metaperiodate oxidation, tricyclization, and are easily removable. Considering these criteria, a new method was developed for the removal of triphenylmethyl-type protecting groups. Our new three-component reagent system contains a Lewis-acid,  $\text{Et}_3\text{SiH}$ , as a reducing quenching agent and hexafluoroisopropanol as mild protic acid. This reagent combination results in rapid and mild deprotection. Moreover, it is compatible with several protecting groups and is widely tunable. With the application of our novel method the tricyclano derivatives of uridine, inosine, ribothymidine, adenosine, cytidine, and even guanosine were successfully synthesized.

## 7. Irodalomjegyzék

### 7.1. Az értekezéshez felhasznált irodalom

1. [http://www.hazipatika.com/napi\\_egeszseg/daganatok/cikkek/daganatos\\_betegsegek\\_a\\_nagyvilagban/20060703125350](http://www.hazipatika.com/napi_egeszseg/daganatok/cikkek/daganatos_betegsegek_a_nagyvilagban/20060703125350) (megtekintve: 2017.11.01.)
2. [https://www.ksh.hu/docs/hun/xstadat/xstadat\\_eves/i\\_fek002.html](https://www.ksh.hu/docs/hun/xstadat/xstadat_eves/i_fek002.html) (megtekintve: 2017.11.02.)
3. Ádám V. Orvosi biokémia. Budapest: Medicina; **2001**. p. 331-333.
4. Ádám V. Orvosi biokémia. Budapest: Medicina; **2001**. p. 381.
5. J. D. Watson and F. H. C. Crick, Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid, *Nature*, **1953**, 171, 737-738.
6. Ádám V. Orvosi biokémia. Budapest: Medicina; **2001**. p. 335.
7. K. Hoogsteen, The crystal and molecular structure of a hydrogen-bonded complex between 1-methylthymine and 9-methyladenine, *Acta Crystallogr.*, **1963**, 16, 907-916.
8. M. D. Frank-Kamenetskii and S. M. Mirkin, Triplex DNA structures, *Annu. Rev. Biochem.*, **1995**, 64, 65-95.
9. Ádám V. Orvosi biokémia. Budapest: Medicina; **2001**. p. 344.
10. Ádám V. Orvosi biokémia. Budapest: Medicina; **2001**. p. 355.
11. Jeney A., Kralovánszky J. Onkofarmakológia. Budapest: Medicina; **2009**. p. 302.
12. Jeney A., Kralovánszky J. Onkofarmakológia. Budapest: Medicina; **2009**. p. 323.
13. Jeney A., Kralovánszky J. Onkofarmakológia. Budapest: Medicina; **2009**. p. 322.
14. <https://www.drugs.com/monograph/Azathioprine.html> (megtekintve: 2017.09.16.)
15. Jeney A., Kralovánszky J. Onkofarmakológia. Budapest: Medicina; **2009**. p. 324-325.
16. <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/drugs/fda-clofarabine> (megtekintve: 2017.09.16.)
17. <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/drugs/nelarabine> (megtekintve: 2017.09.16.)
18. Jeney A., Kralovánszky J. Onkofarmakológia. Budapest: Medicina; **2009**. p. 308-316.
19. <https://www.drugs.com/monograph/cytarabine.html> (megtekintve: 2017.09.16.)
20. Gunda T. A gyógyszerészi kémia alapjai III. Debrecen: Debreceni Egyetemi Kiadó; **2015**. p. 239.

21. Jeney A., Kralovánszky J. Onkofarmakológia. Budapest: Medicina; **2009**. p. 320.
22. A.-M. Tsimberidou, Y. Alvarado and F. J. Giles, Evolving role of ribonucleoside reductase inhibitors in hematologic malignancies, *Expert Rev. Anticancer Ther.*, **2002**, 2, 437-448.
23. Jeney A., Kralovánszky J. Onkofarmakológia. Budapest: Medicina; **2009**. p. 319.
24. Pál T. Az orvosi mikrobiológia tankönyve. Budapest: Medicina; **2012**. p. 28.
25. Pál T. Az orvosi mikrobiológia tankönyve. Budapest: Medicina; **2012**. p. 30.
26. Pál T. Az orvosi mikrobiológia tankönyve. Budapest: Medicina; **2012**. p. 171-256.
27. Pál T. Az orvosi mikrobiológia tankönyve. Budapest: Medicina; **2012**. p. 134.
28. Szarka K., Kardos G. Gyógyszerészeti mikrobiológia I. Debrecen: Debreceni Egyetemi Kiadó; **2012**. p. 205.
29. E. De Clercq, Strategies in the design of antiviral drugs, *Nat. Rev. Drug Discovery*, **2002**, 1, 13-25.
30. Szarka K., Kardos G. Gyógyszerészeti mikrobiológia I. Debrecen: Debreceni Egyetemi Kiadó; **2012**. p. 207.
31. Szarka K., Kardos G. Gyógyszerészeti mikrobiológia I. Debrecen: Debreceni Egyetemi Kiadó; **2012**. p. 210-212., 215-216.
32. Szarka K., Kardos G. Gyógyszerészeti mikrobiológia I. Debrecen: Debreceni Egyetemi Kiadó; **2012**. p. 203-204.
33. Pál T. Az orvosi mikrobiológia tankönyve. Budapest: Medicina; **2012**. p. 131-133.
34. Y. Benhamou, N. H. Afdhal, D. R. Nelson, M. L. Shiffman, D. G. Halliman, J. Heise, E. Chun and P. J. Pockros, A phase III study of the safety and efficacy of viremagine versus ribavirin in treatment-naïve patients with chronic hepatitis C: ViSER1 results, *Hepatology*, **2009**, 50, 717-726.
35. Gunda T. A gyógyszerészeti kémia alapjai III. Debrecen: Debreceni Egyetemi Kiadó; **2015**. p. 178.
36. Szarka K., Kardos G. Gyógyszerészeti mikrobiológia I. Debrecen: Debreceni Egyetemi Kiadó; **2012**. p. 208.
37. W. Saenger. Defining terms for the nucleic acids In: C. R. Cantor, editor. Principles of nucleic acid structure. 1<sup>st</sup> Ed. New York (USA): Springer-Verlag New York; **1984**. p. 17-18.
38. J. Ravn and P. Nielsen, Synthesis of bicyclic nucleosides by ring-closing metathesis, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2001**, 985-993.

39. H. Ford Jr., F. Dai, L. Mu, M. A. Siddiqui, M. C. Nicklaus, L. Anderson, V. E. Marquez and J. J. Barchi Jr., Adenosine deaminase prefers a distinct sugar ring conformation for binding and catalysis: kinetic and structural studies, *Biochemistry*, **2000**, 39, 2581-2592.
40. A. Grünweller and R. K. Hartmann, Locked nucleic acid oligonucleotides, *BioDrugs*, **2007**, 21, 235-243.
41. K. Kubota, A. Ohashi, H. Imachi and H. Harada, Improved in situ hybridization efficiency with locked-nucleic-acid-incorporated DNA probes, *Appl. Environ. Microbiol.*, **2006**, 72, 5311-5317.
42. M. Tarköy, M. Bolli and C. Leumann, Nucleic-acid analogues with restricted conformational flexibility in the sugar-phosphate backbone ('bicyclo-DNA'). Part 3. Synthesis, pairing properties, and calorimetric determination of duplex and triplex stability of decanucleotides from [(3'S,5'R)-2'-deoxy-3',5'- ethano- $\beta$  -D-ribofuranosyl]adenine and -thymine, *Helv. Chim. Acta*, **1994**, 77, 716-744.
43. D. Renneberg and C. J. Leumann, Watson-Crick base-pairing properties of tricyclo-DNA, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 5993-6002.
44. S. Obika, D. Nanbu, Y. Hari, K. Morio, Y. In, T. Ishida and T. Imanishi, Synthesis of 2'-O,4'-C-methylneuridine and -cytidine. Novel bicyclic nucleosides having a fixed C<sub>3'</sub>-endo sugar puckering, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38, 8735-8738.
45. A. A. Koshkin, S. K. Singh, P. Nielsen, V. K. Rajwanshi, R. Kumar, M. Meldgaard, C. E. Olsen and J. Wengel, LNA (locked nucleic acids): synthesis of the adenine, cytosine, guanine, 5-methylcytosine, thymine and uracil bicyclonucleoside monomers, oligomerisation, and unprecedented nucleic acid recognition, *Tetrahedron*, **1998**, 54, 3607-3630.
46. R. D. Youssefyeh, J. P. H. Verheyden and J. G. Moffatt, 4'-Substituted nucleosides. 4. Synthesis of some 4'-hydroxymethyl nucleosides, *J. Org. Chem.*, **1979**, 44, 1301-1309.
47. H. Kaur, B. R. Babu and S. Maiti, Perspectives on chemistry and therapeutic applications of locked nucleic acid (LNA), *Chem. Rev.*, **2007**, 107, 4672-4697.
48. E. Wittenburg, Eine neue Synthese von Nucleosiden, *Z. Chem.*, **1964**, 4, 303-304.
49. G. H. Jones, M. Taniguchi, D. Tegg and J. G. Moffatt, 4'-Substituted nucleosides. 5. Hydroxymethylation of nucleoside 5'-aldehydes, *J. Org. Chem.*, **1979**, 44, 1309-1317.

50. S. Obika, T. Uneda, T. Sugimoto, D. Nanbu, T. Minami, T. Doi and T. Imanishi, 2'-O,4'-C-methylene bridged nucleic acid (2',4'-BNA): synthesis and triplex-forming properties, *Bioorg. Med. Chem.*, **2001**, 9, 1001-1011.
51. K. Fluiter, M. Frieden, J. Vreijling, C. Rosenbohm, M. B. De Wissel, S. M. Christensen, T. Koch, H. Ørum and F. Baas, On the *in vitro* and *in vivo* properties of four locked nucleic acid nucleotides incorporated into an anti-H-Ras antisense oligonucleotide, *ChemBioChem*, **2005**, 6, 1104-1109.
52. K. E. Nielsen, M. Petersen, A. E. Håkansson, J. Wengel and J. P. Jacobsen,  $\alpha$ -L-LNA ( $\alpha$ -L-ribo configured locked nucleic acid) recognition of DNA: An NMR spectroscopic study, *Chem. - Eur. J.*, **2002**, 8, 3001-3009.
53. J. Wengel, M. Petersen, K. E. Nielsen, G. A. Jensen, A. E. Håkansson, R. Kumar, M. D. Sørensen, V. K. Rajwanshi, T. Bryld and J. P. Jacobsen, LNA (locked nucleic acid) and the diastereoisomeric  $\alpha$ -L-LNA: conformational tuning and high-affinity recognition of DNA/RNA targets, *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **2001**, 20, 389-396.
54. a) M. Frieden, S. M. Christensen, N. D. Mikkelsen, C. Rosenbohm, C. A. Thru, M. Westergaard, H. F. Hansen, H. Ørum and T. Koch, Expanding the design horizon of antisense oligonucleotides with alpha-L-LNA, *Nucleic Acids Res.*, **2003**, 31, 6365-6372. b) M. D. Sørensen, L. Kværnø, T. Bryld, A. E. Håkansson, B. Verbeure, G. Gaubert, P. Herdewijn and J. Wengel,  $\alpha$ -L-ribo-configured locked nucleic acid ( $\alpha$ -L-LNA): synthesis and properties, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 2164-2176.
55. O. Y. Fedoroff, M. Salazar and B. R. Reid, Structure of a DNA:RNA hybrid duplex: why RNase H does not cleave pure RNA, *J. Mol. Biol.*, **1993**, 233, 509-523.
56. J. Kurreck, E. Wyszko, C. Gillen and V. A. Erdmann, Design of antisense oligonucleotides stabilized by locked nucleic acids, *Nucleic Acids Res.*, **2002**, 30, 1911-1918.
57. J. T. Nielsen, P. C. Stein and M. Petersen, NMR structure of an  $\alpha$ -L-LNA:RNA hybrid: structural implications for RNase H recognition, *Nucleic Acids Res.*, **2003**, 31, 5858-5867.
58. M. Tarköy, M. Bolli, B. Schweizer and C. Leumann, Nucleic-acid analogues with constraint conformational flexibility in the sugar phosphate backbone ('bicyclo-DNA'). Part 1. Preparation of (3'S,5'R)-2'-Deoxy-3',5'-ethano- $\alpha\beta$ -D-ribonucleosides ('bicyclonucleosides'), *Helv. Chim. Acta*, **1993**, 76, 481-510.



59. F. G. Cocu and Th. Posternak, Recherches dans la série des cyclitols XLIV. Synthèses de cyclohexanes dérivés du cyclopentane, *Helv. Chim. Acta*, **1972**, 55, 2838-2844.
60. R. Steffens and C. Leumann, Nucleic acid analogs with constraint conformational flexibility in the sugar-phosphate backbone 'tricyclo-DNA'. Part 1. Preparation of [(5'R,6'R)-2'-deoxy-3',5'-ethano-5',6'-methano- $\beta$ -D-ribofuranosyl]thymine and -adenine, and the corresponding phosphoramidites for oligonucleotide synthesis, *Helv. Chim. Acta*, **1997**, 80, 2426-2439.
61. J. M. Conia, The cyclopropanation of silyl enol ethers. A powerful synthetic tool, *Pure Appl. Chem.*, **1975**, 43, 317-326.
62. R. Steffens and C. J. Leumann, Synthesis and thermodynamic and biophysical properties of tricyclo-DNA, *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, 3249-3255.
63. P. Nielsen, H. M. Pfundhellera and J. Wengel, A novel class of conformationally restricted oligonucleotide analogues: synthesis of 2',3'-bridged monomers and RNA-selective hybridisation, *Chem. Commun.*, **1997**, 825-826.
64. N. K. Christensen, M. Petersen, P. Nielsen, J. P. Jacobsen, C. E. Olsen and J. Wengel, A novel class of oligonucleotide analogues containing 2'-O,3'-C-linked [3.2.0]bicycloarabinonucleoside monomers: synthesis, thermal affinity studies, and molecular modeling, *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, 120, 5458-5463.
65. R. Pappo, D. S. Jr. Allen, R. U. Lemieux and W. S. Johnson, Osmium tetroxide-catalyzed periodate oxidation of olefinic bonds, *J. Org. Chem.*, **1956**, 21, 478-479.
66. G. Minasov, M. Teplova, P. Nielsen, J. Wengel and M. Egli, Structural basis of cleavage by RNase H of hybrids of arabinonucleic acids and RNA, *Biochemistry*, **2000**, 39, 3525-3532.
67. L. B. Jørgensen, P. Nielsen, J. Wengel and J. P. Jacobsen, The solution structure of a DNA duplex containing a single 1-(2-O,3-C-ethylene- $\beta$ -D-arabinofuranosyl)-thymidine nucleoside, *J. Biomol. Struct. Dyn.*, **2000**, 18, 45-57.
68. A. L. Gemal and J.-L. Luche, Lanthanoids in organic synthesis. 6. Reduction of  $\alpha$ -enones by sodium borohydride in the presence of lanthanoid chlorides: synthetic and mechanistic aspects, *J. Am. Chem. Soc.*, **1981**, 103, 5454-5459.
69. P. Nielsen, M. Petersen and J. P. Jacobsen, Tricyclic nucleosides derived from D-glucose. Synthesis and conformational behaviour, *Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2000**, 3706-3713.

70. J. X. Khym, The reaction of methylamine with periodate-oxidized adenosine 5'-phosphate, *Biochemistry*, **1963**, 2, 344-350.
71. D. M. Brown and A. P. Read, Nucleotides. Part XLIX. The reduction of the adduct of periodate-oxidised adenosine-5' phosphate and methylamine, *J. Chem. Soc.*, **1965**, 5072-5074.
72. E. P. Stirchak, J. E. Summerton and D. D. Weller, Uncharged stereoregular nucleic acid analogs: 2. Morpholino nucleoside oligomers with carbamate internucleoside linkages, *Nucleic Acids Res.*, **1989**, 17, 6129-6141.
73. J. Summerton and D. Weller, Morpholino antisense oligomers: design, preparation, and properties, *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.*, **1997**, 7, 187-195.
74. J. Summerton and D. Weller, Uncharged morpholino-based polymers having phosphorus containing chiral intersubunit linkages. US Corvallis, Oregon; 5,185,444, **1993**.
75. M. F. Taylor, J. D. Paulauskis, D. D. Weller and L. Kobzik, *In vitro* efficacy of morpholino-modified antisense oligomers directed against tumor necrosis factor- $\alpha$  mRNA, *J. Biol. Chem.*, **1996**, 22, 17445-17452.
76. N. Zhang, C. Tan, P. Cai, P. Zhang, Y. Zhao and Y. Jiang, RNA interference in mammalian cells by siRNAs modified with morpholino nucleoside analogues, *Bioorg. Med. Chem.*, **2009**, 17, 2441-2446.
77. D. S. Youngblood, S. A. Hatlevig, J. N. Hassinger, P. L. Iversen and H. M. Moulton, Stability of cell-penetrating peptide-morpholino oligomer conjugates in human serum and in cells, *Bioconjugate Chem.*, **2007**, 18, 50-60.
78. J. D. Moulton and S. Jiang, Gene knockdowns in adult animals: PPMOs and Vivo-morpholinos, *Molecules*, **2009**, 14, 1304-1323.
79. R. Abes, H. M. Moulton, P. Clair, S.-T. Yang, S. Abes, K. Melikov, P. Prevot, D. S. Youngblood, P. L. Iversen, L. V. Chernomordik and B. Lebleu, Delivery of steric block morpholino oligomers by (R-X-R)<sub>4</sub> peptides: structure-activity studies, *Nucleic Acids Res.*, **2008**, 36, 6343-6354.
80. Y. F. Li and P. A. Morcos, Design and synthesis of dendritic molecular transporter that achieves efficient *in vivo* delivery of morpholino antisense oligo, *Bioconjugate Chem.*, **2008**, 19, 1464-1470.
81. [http://www.webbeteg.hu/cikkek/genetikai\\_betegseg/1974/duchenne-fele-izomdystorpha-gyermekkori-izomelhalas](http://www.webbeteg.hu/cikkek/genetikai_betegseg/1974/duchenne-fele-izomdystorpha-gyermekkori-izomelhalas) (megtekintve: 2017.10.11.)

82. H. M. Moulton and J. D. Moulton, Morpholinos and their peptide conjugates: therapeutic promise and challenge for Duchenne muscular dystrophy, *Biochim. Biophys. Acta*, **2010**, 1798, 2296-2303.
83. <http://www.ajmc.com/journals/evidence-based-diabetes-management/2014/july-august-2014/value-engineered-translation-developing-biotherapeutics-that-align-with-health-system-needs?p=2> (megtekintve: 2017. 10. 11.)
84. M. D. de Smet, C. Meenken and G. J. van den Horn, Fomivirsen – a phosphorothioate oligonucleotide for the treatment of CMV retinitis, *Ocul. Immunol. Inflammation*, **1999**, 7, 189-198.
85. <https://www.thepharmaletter.com/article/novartis-withdraws-vitravene-ma-in-eu> (megtekintve: 2017.11.14.)
86. G. B. Mulamba, A. Hu, R. F. Azad, K. P. Anderson and D. M. Coen, Human cytomegalovirus mutant with sequence-dependent resistance to the phosphorothioate oligonucleotide fomivirsen (ISIS 2922), *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1998**, 42, 971-973.
87. Anonymous, Railroading at the FDA, *Nat. Biotechnol.*, **2016**, 34, 1078.
88. [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2016/206488lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2016/206488lbl.pdf) (megtekintve: 2017.11. 14.)
89. S. M. Hoy, Nusinersen: first global approval, *Drugs*, **2017**, 77, 473-479.
90. [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2016/209531lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2016/209531lbl.pdf) (megtekintve: 2017.11. 14.)
91. <https://www.drugs.com/history/kynamro.html> (megtekintve: 2017. 11. 14.)
92. <https://www.drugs.com/ppa/mipomersen.html> (megtekintve: 2017.10.16.)
93. R. S. Geary, B. F. Baker and S. T. Crooke, Clinical and preclinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of mipomersen (Kynamro<sup>®</sup>): a second-generation antisense oligonucleotide inhibitor of apolipoprotein B, *Clin. Pharmacokinet.*, **2015**, 54, 133-146.
94. M. J. Graham, R. G. Lee, T. A. Bell, W. Fu, A. E. Mullick, V. J. Alexander, W. Singleton, N. Viney, R. Geary, J. Su, B. F. Baker, J. Burkey, S. T. Crooke and R. M. Crooke, Antisense oligonucleotide inhibition of apolipoprotein C-III reduces plasma triglycerides in rodents, nonhuman primates, and humans, *Circ. Res.*, **2013**, 112, 1479-1490.
95. Anonymous, International nonproprietary names for pharmaceutical substances (INN), *WHO Drug Information*, **2016**, 30, 93-170.

96. P. Sundaram, H. Kurniawan, M. E. Byrne and J. Wower, Therapeutic RNA aptamers in clinical trials, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **2013**, 48, 259-271.
97. [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/nda/2004/21-756\\_Macugen.cfm](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2004/21-756_Macugen.cfm) (megtekintve: 2017. 11. 14.)
98. <https://www.rxlist.com/macugen-drug.htm> (megtekintve: 2017.10.16.)
99. Varga Sz. (2015): Új típusú nukleozid-analóg – triciklánó szintézise adenzin átalakításával. Szakdolgozat. DE GYTK Gyógyszerészi Kémiai Tanszék, Debrecen.
100. M. Senkus, Some new derivatives of amino hydroxy compounds, *J. Am. Chem. Soc.*, **1945**, 67, 1515-1519.
101. H. S. Broadbent, W. S. Burnham, R. M. Sheeley and R. K. Olsen, Novel heterocyclic systems: 2,6-dioxa- and 2-oxa-6-thia-10-azatricyclo-[5.2.1.0<sup>4,10</sup>]-decanes; 2,6-dioxa-11-azatricyclo[5.3.1.0<sup>4,11</sup>]undecane; and 9,13-dioxa-14-azatetracyclo[6.5.1.0<sup>2,7</sup>.0<sup>11,14</sup>]tetradeca-2,4,6-triene, *J. Heterocycl. Chem.*, **1976**, 13, 337-348.
102. G. B. Giovenzana, G. Palmisano, E. Del Grosso, L. Giovannelli, A. Penoni and T. Pilati, Polycyclic compounds from aminopolyols and  $\alpha$ -dicarbonyls: structure and application in the synthesis of exoditopic ligands, *Org. Biomol. Chem.*, **2005**, 3, 1489-1494.
103. G. M. Sheldrick, A short history of SHELX, *Acta Crystallogr.*, **2008**, A64, 112-122.
104. L. J. Farrugia, *WinGX* and *ORTEP for Windows*: an update, *J. Appl. Crystallogr.*, **2012**, 45, 849-854.
105. A. L. Spek, Single-crystal structure validation with the program *PLATON*, *J. Appl. Crystallogr.*, **2003**, 36, 7-13.
106. C. F. Macrae, P. R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, G. P. Shields, R. Taylor, M. Towler and J. van de Streek, *Mercury*: visualization and analysis of crystal structures, *J. Appl. Crystallogr.*, **2006**, 39, 453-457.
107. S. P. Westrip, *publCIF*: software for editing, validating and formatting crystallographic information files, *J. Appl. Crystallogr.*, **2010**, 43, 920-925.
108. (a) W. L. Jorgensen and J. Tirado-Rives, The OPLS potential functions for proteins. Energy minimizations for crystals of cyclic peptides and crambin, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110, 1657-1666; (b) W. L. Jorgensen, D. S. Maxwell and J. Tirado-Rives, Development and testing of the OPLS all-atom force field on conformational energetics and properties of organic liquids, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 11225-11236.

109. MacroModel; Schrödinger, LLC, 2015, <http://www.schrodinger.com/MacroModel>
110. (a) C. Adamo and V. Barone, Exchange functionals with improved long-range behavior and adiabatic connection methods without adjustable parameters: the *mPW* and *mPW1PW* models, *J. Chem. Phys.*, **1998**, 108, 664-675; (b) Y. M. Ren, C. Q. Ke, A. Mándi, T. Kurtán, C. Tang, S. Yao and Y. Ye, Two new lignan-iridoid glucoside diesters from the leaves of *Vaccinium bracteatum* and their relative and absolute configuration determination by DFT NMR and TDDFT-ECD calculation, *Tetrahedron*, **2017**, 73, 3213-3219; (c) M. S. Elnaggar, W. Ebrahim, A. Mándi, T. Kurtán, W. E. G. Müller, R. Kalscheuer, A. Singab, W. Lin, Z. Liu and P. Proksch, Hydroquinone derivatives from the marine-derived fungus *Gliomastix* sp., *RSC Adv.*, **2017**, 7, 30640-30649.
111. M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery Jr, J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, Ö. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, D. J. Fox, Gaussian 09, Revision B.01, Gaussian, Inc., Wallingford, CT, 2010.
112. (a) CHESHIRE CCAT, the chemical shift repository for computed NMR scaling factors, <http://cheshirenmr.info/index.htm>; (b) M. W. Lodewyk, M. R. Siebert and D. J. Tantillo, Computational prediction of  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  chemical shifts: a useful tool for natural product, mechanistic, and synthetic organic chemistry, *Chem. Rev.*, **2012**, 112, 1839-1862.
113. W. Humphrey, A. Dalke and K. Schulten, VMD: visual molecular dynamics, *J. Mol. Graphics*, **1996**, 14, 33-38.
114. J. R. Sufrin, A. J. Spiess, C. J. Marasco Jr., S. L. Croft, D. Snowdon, V. Yardley and C. J. Bacchi, Purine 2',3'-acyclonucleosides: improved synthesis and antiparasitic activity, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, 5, 1961-1965.

115. S. Debarge, J. Balzarini and A. R. Maguire, Design and synthesis of  $\alpha$ -carboxy phosphonucleosides, *J. Org. Chem.*, **2011**, 76, 105-126.
116. A. M. Michelson and A. Todd, Nucleotides. Part XXXVIII. An improved synthesis of uridine-diphosphate-glucose (UDPG)., *J. Chem. Soc.*, **1956**, 3459-3463.
117. G. Chatelain, Y. Debing, T. De Burghgraeve, J. Zmurko, M. Saudi, J. Rozenski, J. Neyts and A. Van Aerschot, In search of flavivirus inhibitors: evaluation of different tritylated nucleoside analogues, *Eur. J. Med. Chem.*, **2013**, 65, 249-255.
118. A. Matsuda, H. Okajima, A. Masuda, A. Kakefuda, Y. Yoshimura and T. Ueda, Radical and palladium-catalyzed deoxygenation of the allylic alcohol systems in the sugar moiety of pyrimidine nucleosides, *Nucleosides Nucleotides*, **1992**, 11, 197-226.
119. X. F. Zhu, H. J. Williams Jr. and A. I. Scott, An improved transient method for synthesis of *N*-benzoylated nucleosides, *Synth. Commun.*, **2003**, 33, 1233-1243.
120. M. J. Lambrecht, M. Brichacek, E. Barkauskaite, A. Ariza, I. Ahel and P. J. Hergenrother, Synthesis of dimeric ADP-ribose and its structure with human poly(ADP-ribose) glycohydrolase, *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, 137, 3558-3564.
121. S. Vincent, C. Mioskowski and L. Lebeau, Hydrolysis and hydrogenolysis of formamidines: *N,N*-dimethyl and *N,N*-dibenzyl formamidines as protective groups for primary amines, *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 991-997.
122. A. Charafeddine, W. Dayoub, H. Chapuis and P. Strazewski, First synthesis of 2'-deoxyfluoropuromycin analogues: experimental insight into the mechanism of the Staudinger reaction, *Chem. - Eur. J.*, **2007**, 13, 5566-5584.
123. G. H. Hakimelahi and F. Mohanazadeh, A general method for selective tritylation of primary hydroxyl groups in carbohydrates and related compounds, *J. Sci., Islamic Repub. Iran*, **1989**, 1, 34-36.
124. E. J. Prisbe, Synthesis and antiviral evaluation of 1,4-dioxane nucleoside analogues related nucleoside dialdehydes, *J. Med. Chem.*, **1986**, 29, 2445-2450.
125. J. M. J. Tronchet, R. Benhamza, N. Dolatshahi, M. Geoffroy and H. Türlér, 3'-deoxy-3'-hydroxyamino- $\beta$ -D-xylofuranosyluracil and derivatives thereof, *Nucleosides Nucleotides*, **1988**, 7, 249-269.
126. B. Gadakh, G. Vondenhoff, E. Lescrinier, J. Rozenski, M. Froeyen and A. Van Aerschot, Base substituted 5'-*O*-(*N*-isoleucyl)sulfamoyl nucleoside analogues as potential antibacterial agents, *Bioorg. Med. Chem.*, **2014**, 22, 2875-2886.
127. a) I. Bereczki, S. Kéki, P. Herczegh and M. Zsuga, Template effect of vancomycin aglycon in the oxidative oligomerization of 1,6-dithio-D-mannitol: a MALDI-TOF

- MS and solvent effect study, *Carbohydr. Polym.*, **2008**, 73, 1-7. b) Bereczki I. (2009): Új típusú szénhidrát bázisú polimerek szintézise. PhD értekezés. DE TTK Alkalmazott Kémiai Tanszék, Debrecen.
128. K. Seio, T. Miyashita, K. Sato and M. Sekine, Synthesis and properties of new nucleotide analogues possessing squaramide moieties as new phosphate isosters, *Eur. J. Org. Chem.*, **2005**, 5163-5170.
129. M. Kawana and H. Kuzuhara, General method for the synthesis of 2'-azido-2',3'-dideoxynucleosides by the use of [1,2]-hydride shift and  $\beta$ -elimination reactions, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1992**, 469-478.
130. F. M. Ibatullin, S. I. Selivanov and A. G. Shavva, A general procedure for conversion of *S*-glycosyl isothioureia derivatives into thioglycosides, thiooligosaccharides and glycosyl thioesters, *Synthesis*, **2001**, 3, 419-422.
131. a) M. Jana and A. K. Misra, Stereoselective synthesis of  $\beta$ -glycosyl thiols and their synthetic applications, *J. Org. Chem.*, **2013**, 78, 2680-2686. b) T. Fujihira, G. Arakawa, H. Kamijo, T. Takido and M. Seno, Synthesis of tetra-*O*-acetyl-1-thio- $\alpha$ -D-glucopyranose by reaction of tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl bromide with *N,N*-dimethylthioformamide, *J. Org. Chem.*, **2003**, 22, 73-78.
132. P. R. Sridhar, K. R. Prabhu and S. Chandrasekaran, Synthesis of thioglycosides by tetrathiomolybdate-mediated Michael additions of masked thiolates, *Eur. J. Org. Chem.*, **2004**, 4809-4815.
133. C. K. Chu, V. S. Bhadti, B. Doboszewski, Z. P. Gu, Y. Kosugi, K. C. Pullaiah and P. Van Roey, General synthesis of 2',3'-dideoxynucleosides and 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxynucleosides, *J. Org. Chem.*, **1989**, 54, 2217-2225.
134. G. S. Ti, B. L. Gaffney and R. A. Jones, Transient protection: efficient one-flask syntheses of protected deoxynucleosides, *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, 104, 1316-1319.
135. T. Kline, S. R. Jackson, W. Deng, C. L. M. J. Verlinde and S. I. Miller, Design and synthesis of *bis*-carbamate analogs of cyclic *bis*-(3'-5')-diguanylic acid (c-di-GMP) and the acyclic dimer PGPG, *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **2008**, 27, 1282-1300.
136. X. Hu, M. T. Tierney and M. W. Grinstaff, Synthesis and characterization of phenothiazine labeled oligodeoxynucleotides: novel 2'-deoxyadenosine and thymidine probes for labeling DNA, *Bioconjugate Chem.*, **2002**, 13, 83-89.

137. T. M. Postma, M. Giraud and F. Albericio, Trimethoxyphenylthio as a highly labile replacement for *tert*-butylthio cysteine protection in Fmoc solid phase synthesis, *Org. Lett.*, **2012**, 14, 5468-5471.
138. A. Ates, A. Gautier, B. Leroy, J.-M. Plancher, Y. Quesnel, J.-C. Vanherck and I. E. Markó, Mild and chemoselective catalytic deprotection of ketals and acetals using cerium(IV) ammonium nitrate, *Tetrahedron*, **2003**, 59, 8989-8999.
139. S. K. Giri and K. P. R. Kartha, Acyl transfer reactions of carbohydrates, alcohols, phenols, thiols and thiophenols under green reaction conditions, *RSC Adv.*, **2015**, 5, 11687-11696.
140. S. Nambiar, J. F. Daeuble, R. J. Doyle and K. G. Taylor, Facile synthesis of silylated thioglycosides, *Tetrahedron Lett.*, **1989**, 30, 2179-2182.
141. H. Salo, P. Virta, H. Hakala, T. P. Prakash, A. M. Kawasaki, M. Manoharan and H. Lönnberg, Aminooxy functionalized oligonucleotides: preparation, on-support derivatization, and postsynthetic attachment to polymer support, *Bioconjugate Chem.*, **1999**, 10, 815-823.
142. R. Kierzek, The synthesis of 5'-*O*-dimethoxytrityl-*N*-acyl-2'-deoxynucleosides. improved „transient protection” approach, *Nucleosides Nucleotides.*, **1985**, 4, 641-649.
143. W. Bannwarth, Solid-phase synthesis of oligodeoxynucleotides containing phosphoramidate internucleotide linkages and their specific chemical cleavage, *Helv. Chim. Acta* , **1988**, 71, 1517-1527.
144. B. L. M. Rao, S. Nowshuddin, A. Jha, M. K. Divi and M. N. A. Rao, Fmoc-OASUD: a new reagent for the preparation of Fmoc-amino acids free from impurities resulting from Lossen rearrangement, *Tetrahedron Lett.*, **2016**, 57, 4220-4223.
145. <http://www.atdbio.com/content/17/Solid-phase-oligonucleotide-synthesis> (megtekintve: 2017.10.24.)
146. P. G. M. Wuts and T. W. Greene. Protection for the hydroxyl group, including 1,2- and 1,3-diols In: P. G. M. Wuts, editor. Greene's protective groups in organic synthesis. 4<sup>th</sup> Ed. Hoboken, New Jersey (USA): Wiley; **2006**. p. 165-222.
147. R. Saladino, C. Crestini, R. Bernini, E. Mincione and R. Ciafrino, A new and efficient synthesis of 8-hydroxypurine derivatives by dimethyldioxirane oxidation, *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 2665-2668.



148. S. Ajmera, A. R. Bapat, E. Stephanian and P. V. Danenberg, Synthesis and interaction with uridine phosphorylase of 5'-deoxy-4',5-difluorouridine, a new prodrug of 5-fluorouracil, *J. Med. Chem.*, **1988**, 31, 1094-1098.
149. H. Cramer and W. Pfeleiderer, Nucleosides. Part LXI. A simple procedure for the monomethylation of protected and unprotected ribonucleosides into the 2'-*O*- and 3'-*O*-position using diazomethane and the catalyst stannous chloride, *Helv. Chim. Acta*, **1996**, 79, 2114-2136.
150. T. Maruyama, S. Kimura, Y. Sato, M. Honjo, Halogenium-induced cyclization of 5-substituted 6,2'-*O*-cyclouridine, *Chem. Pharm. Bull.*, **1986**, 34, 3623-3630.
151. M. Lewdorowicz, J. Stepinski, R. Kierzek, J. Jemielity, J. Zuberek, Y. Yoffe, M. Shapira, R. Stolarski and E. Darzynkiewicz, Synthesis of *Leishmania* cap-4 intermediates, cap-2 and cap-3, *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **2007**, 26, 1339-1348.
152. C. Xi, Z. Jun-Dong and Z. Li-He, Synthesis of 9- $\beta$ -D-(xylofuranosyl)adenine from adenosine, *Synthesis*, **1989**, 5, 383-384.
153. T. P. Prakash, W. F. Lima, H. M. Murray, W. Li, G. A. Kinberger, A. E. Chapell, H. Gaus, P. P. Seth, B. Bhat, S. T. Crooke and E. E. Swayze, Identification of metabolically stable 5'-phosphate analogs that support single-stranded siRNA activity, *Nucleic Acids Res.*, **2015**, 43, 2993-3011.
154. [www.thermofishersci.in/lit/Oligonucleotide%20Synthesis%20Application%20Note.pdf](http://www.thermofishersci.in/lit/Oligonucleotide%20Synthesis%20Application%20Note.pdf) (megtekintve: 2017.11.15.)
155. S. L. Beaucage and R. P. Iyer, Advances in the synthesis of oligonucleotides by the phosphoroamidite approach, *Tetrahedron*, **1992**, 48, 2223-2311.
156. X. Ding, W. Wang and F. Kong, Detritylation of mono- and di-saccharide derivatives using ferric chloride hydrate, *Carbohydr. Res.*, **1997**, 303, 445.
157. R. J. Lu, D. Liu and R. W. Giese, Detritylation with ytterbium triflate, *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41, 2817-2819.
158. A. Khalafi-Nezhad and R. F. Alamdari, Efficient and catalytic deprotection of triphenylmethyl ethers with Ce(OTf)<sub>4</sub>, *Tetrahedron*, **2001**, 57, 6805-6807.
159. V. Kumar, N. Yadav and K. P. R. Kartha, In(III) triflate-catalyzed detritylation and glycosylation by solvent-free ball milling, *Carbohydr. Res.*, **2014**, 397, 18-26.
160. G. B. Jones, G. Hynd, J. M. Wright and A. Sharma, On the selective deprotection of trityl ethers, *J. Org. Chem.*, **2000**, 65, 263-265.

161. S.-M. Yang, B. Lagu and L. J. Wilson, Mild and efficient Lewis acid-promoted detritylation in the synthesis of *N*-hydroxy amides: a concise synthesis of (-)-cobactin T, *J. Org. Chem.*, **2007**, 72, 8123-8126.
162. H. Imagawa, T. Tsuchihashi, R. K. Singh, H. Yamamoto, T. Sugihara and M. Nishizawa, Triethyl- (or trimethyl-)silyl triflate-catalyzed reductive cleavage of triphenylmethyl (trityl) ethers with triethylsilane, *Org. Lett.*, **2003**, 5, 153-155.
163. N. J. Leonard and Neelima, 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol for the removal of the 4,4'-dimethoxytrityl protecting group from 5'-hydroxyl of acid-sensitive nucleosides and nucleotides, *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 7833-7836.
164. Hógye F. (2016): Új típusú nukleozid-analógok szintézise. Szakdolgozat. DE GYTK Gyógyszerészi Kémiai Tanszék, Debrecen.
165. F. H. Allen, D. G. Watson, L. Brammer, A. G. Orpen and R. Taylor. Typical interatomic distances: organic compounds In: E. Prince, editor. International tables for crystallography, volume C, mathematical, physical and chemical tables. 3<sup>rd</sup> Ed. Dordrecht (Netherlands): Kluwer Academic Publishers; **2004**. p. 790-794.
166. D. Cremer and J. A. Pople, A general definition of ring puckering coordinates, *J. Am. Chem. Soc.*, **1975**, 97, 1354-1358.
167. C. R. Groom, I. J. Bruno, M. P. Lightfoot and S. C. Ward, The Cambridge Structural Database, *Acta Crystallogr.*, **2016**, B72, 171-179.
168. (a) M. Chérest, H. Felkin and N. Prudent, Torsional strain involving partial bonds. The stereochemistry of the lithium aluminium hydride reduction of some simple open-chain ketones, *Tetrahedron Lett.*, **1968**, 9, 2199-2204; (b) N. T. Anh and O. Eisenstein, Theoretical interpretation of 1-2 asymmetric induction. The importance of antiperiplanarity, *Nouv. J. Chim.*, **1977**, 1, 61-70.

## 7.2. Az értekezés alapjául szolgáló közlemények



**DEBRECENI  
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM  
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400  
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/59/2018.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Kicsák Máté  
Neptun kód: I00F0W  
Doktori Iskola: Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola  
MTMT azonosító: 10048006

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Kicsák, M.**, Mándi, A., Varga, S., Herczeg, M., Batta, G., Béneyi, A., Borbás, A., Herczegh, P.:  
Tricyclanos: conformationally constrained nucleoside analogues with a new heterotricycle  
obtained from a D-ribofuranose unit.  
Org. Biomol. Chem. 16 (3), 393-401, 2018.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/C7OB02296D>  
IF: 3.564 (2016)
2. **Kicsák, M.**, Bege, M., Bereczki, I., Csávás, M., Herczeg, M., Kupihar, Z., Kovács, L., Borbás, A.,  
Herczegh, P.: A three-component reagent system for rapid and mild removal of O-, N- and S-  
trityl protecting groups.  
Org. Biomol. Chem. 14 (12), 3190-3192, 2016.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/C6OB00067C>  
IF: 3.564



### 7.3. További közlemények



**DEBRECENI  
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM  
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**  
H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400  
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

#### További közlemények

3. Bege, M., Bereczki, I., Herczeg, M., **Kicsák, M.**, Eszenyi, D., Herczegh, P., Borbás, A.: A low-temperature, photoinduced thiol-ene click reaction: a mild and efficient method for the synthesis of sugar-modified nucleosides.  
Org. Biomol. Chem. 15 (43), 9226-9233, 2017.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/C7OB02184D>  
IF: 3.564 (2016)
4. Bereczki, I., **Kicsák, M.**, Dobray, L., Borbás, A., Batta, G., Kéki, S., Nemes Nikodém, É., Ostorházi, E., Rozgonyi, F., Vanderlinden, E., Naesens, L., Herczegh, P.: Semisynthetic teicoplanin derivatives as new influenza virus binding inhibitors: synthesis and antiviral studies.  
Bioorg. Med. Chem. Lett. 24 (15), 3251-3254, 2014.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.06.018>  
IF: 2.42

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 13,112**

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre): 7,128**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2018.03.07.



## 8. Tárgyszavak / Keywords

Nukleozid analóg, triciklánó, trisz, szekodialdehyd, detritilezés, ciklokondenzáció, triciklus, *O,N*-acetál, Lewis-sav, enyhe körülmények, 2D NMR, röntgendiffrakció, DFT NMR számítás

Nucleoside analogue, tricyclano, tris, secodialdehyde, detritylation, cyclocondensation, tricycle, *O,N*-acetal, Lewis-acid, mild conditions, 2D NMR, X-ray diffraction, DFT NMR calculation

## 9. Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet fejezem ki témavezetőmnek, *Prof. Dr. Herczegh Pál* egyetemi tanárnak és *Prof. Dr. Borbás Anikó* tanszékvezető egyetemi tanárnak, hogy lehetővé tették számomra a doktori munkám elvégzését a DE GYTK Gyógyszerészi Kémiai Tanszékén, és szakmai tanácsokkal segítették kísérletes munkámat és dolgozatom elkészítését.

Köszönöm *Dr. Bakai-Bereczki Ilona* és *Dr. Csávás Magdolna* egyetemi adjunktusoknak Tanszékünkéről, továbbá *Dr. Nagy Lajos* és *Dr. Nagy Tibor* egyetemi adjunktusoknak, illetve *Antal Borbálának* a DE TTK Alkalmazott Kémiai Tanszékéről, hogy elvégezték a tömegspektrometriás méréseket, rendelkezésünkre bocsátották a szükséges műszert.

Köszönetet szeretnék mondani *Prof. Dr. Batta Gyula* egyetemi tanárnak a DE TTK Szerves Kémiai Tanszékéről, és a DE GYTK Gyógyszerészi Kémiai Tanszékéről *Dr. Mező Erika* és *Dr. Eszenyi Dániel* egyetemi tanársegédeknek, hogy elvégezték az NMR spektrumok felvételét, amíg meg nem szereztem az NMR operátori képzést.

*Dr. Mándi Attila* tudományos munkatársnak a DE TTK Szerves Kémiai Tanszékéről szeretném megköszönni a konformációs és NMR számítások elvégzését, az adatok kiértékelését és interpretálását.

Köszönöm *Dr. Bényei Attila* egyetemi docensnek a DE TTK Fizikai Kémiai Tanszékéről és *Dr. Dyanne Cruickshank*nek (Rigaku Oxford Diffraction) a röntgendiffrakciós meghatározásban nyújtott segítségüket.

Szeretném megköszönni *Varga Mariann* vegyésztechnikusnak a vegyületek optikai forgatóképességének a meghatározását. Köszönet illeti *Róth Józsefné* vegyésztechnikust és a Tanszék további munkatársait segítségükért.

Köszönettel tartozom *dr. Bege Miklós* és *dr. Szűcs Zsolt* PhD hallgatóknak, illetve *Varga Mariann* vegyésztechnikusnak hasznos szakmai tanácsaikért és segítségükért a mindennapos preparatív laboratóriumi feladatokban, illetve hogy kellemesebbé és barátságossá tették a légkört munkánk során.

És végül, de nem utolsósorban, köszönöm *családomnak: szüleimnek, nagyszüleimnek, testvéremnek* és *családjának, nagynénémnek* a szakmai, szellemi és anyagi támogatásukat.

A kutatás a GINOP-2.3.2-15-2016-00008 számú projekt keretében, az Európai Unió támogatásával, az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával valósult meg. Továbbá köszönet illeti az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00009, a TÁMOP-4.2.2.B-15/1/KONV-2015-0001 és a TÁMOP-4.2.1.C-14/1/KONV-2015-0004 azonosító számú projektek támogatását.

## **10. Függelék**