

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ & ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΚΟΛΛΑΤΟΣ**

**ΧΗΜΙΚΟΣ**

**ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟΙ ΣΤΗ ΒΑΣΗ, ΑΚΥΚΛΟΙ, 3'-**  
**ΤΡΙΦΘΟΡΟΜΕΘΥΛΟ ΚΑΙ ΜΕΘΥΛΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ:**  
**ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ, ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ**  
**ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΤΟΥΣ ΔΡΑΣΗΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΛΑΡΙΣΑ 2019**

**ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟΙ ΣΤΗ ΒΑΣΗ, ΑΚΥΚΛΟΙ, 3'-ΤΡΙΦΘΟΡΟΜΕΘΥΛΟ ΚΑΙ  
ΜΕΘΥΛΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ: ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ, ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ  
ΤΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΤΟΥΣ ΔΡΑΣΗΣ**

### **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**Δ. Κομιώτης (Επιβλέπων):** Καθηγητής Οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**Α. Τσοτίνης:** Καθηγητής του Τομέα Φαρμακευτικής Χημείας του Τμήματος Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Αθηνών

**Κ. Λίτινας:** Καθηγητής Οργανικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

### **ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:**

**Δ. Κομιώτης (Επιβλέπων):** Καθηγητής Οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**Α. Τσοτίνης:** Καθηγητής του Τομέα Φαρμακευτικής Χημείας του Τμήματος Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Αθηνών

**Κ. Λίτινας:** Καθηγητής Οργανικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

**Ι. Γάλλος:** Καθηγητής Οργανικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

**Μ. Παπαδόπουλος:** Ερευνητής Α΄ στο Εθνικό Κέντρο Έρευνας Φυσικών Επιστημών “Δημόκριτος”

**Π. Μαρκουλάτος:** Καθηγητής Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

**Ι. Παπαναστασίου:** Επίκουρος Καθηγητής του Τομέα Φαρμακευτικής Χημείας του Τμήματος Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Αθηνών

**ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΚΟΛΛΑΤΟΣ**

**ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟΙ ΣΤΗ ΒΑΣΗ, ΑΚΥΚΛΟΙ 3'-  
ΤΡΙΦΘΟΡΟΜΕΘΥΛΟ ΚΑΙ ΜΕΘΥΛΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ:  
ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ, ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ  
ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΤΟΥΣ ΔΡΑΣΗΣ**

*Στη σύζυγό μου Πηνελόπη και  
στις κόρες μου Θεοδώρα και  
Βασιλική*



**ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΚΟΛΛΑΤΟΣ**

**ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟΙ ΣΤΗ ΒΑΣΗ, ΑΚΥΚΛΟΙ 3'-  
ΤΡΙΦΘΟΡΟΜΕΘΥΛΟ ΚΑΙ ΜΕΘΥΛΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ:  
ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ, ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ  
ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΤΟΥΣ ΔΡΑΣΗΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ, ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**

Αριθμός προκαταρκτικών σελίδων: 15

Συνολικός αριθμός σελίδων: 235

Συνολικός αριθμός πινάκων: 5

Αριθμός των Εικόνων: 2

Αριθμός των Παραρτημάτων: 1

Συνολικός αριθμός των Βιβλιογραφικών παραπομπών: 149

**ΛΑΡΙΣΑ 2019**

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο σημαντικός ρόλος των νουκλεοζιτών, όσον αφορά στη χημική τους συμπεριφορά και την βιολογική τους δράση, οδήγησε πολλούς ερευνητές στην σύνθεση τροποποιημένων νουκλεοζιτών τόσο στο τμήμα της βάσης όσο και στο τμήμα του υδατανθρακικού δακτυλίου, με εξαιρετική αντική, αντικαρκινική και αντιμικροβιακή δράση. Η παρούσα διατριβή εστιάστηκε στη σύνθεση νέων νουκλεοζιτικών αναλόγων με τροποποιήσεις τόσο στο τμήμα του σακχάρου, όσο και στο τμήμα της ετεροκυκλικής βάσης της ουρακίλης, καθώς και άκυκλων νουκλεοζιτών με τροποποίηση στη βάση της ουρακίλης.

Ο σχεδιασμός των μορίων, τα οποία συντέθηκαν στα πλαίσια της συγκεκριμένης διατριβής, βασίστηκε στο ότι: α) Η προσθήκη της ηλεκτραρνητικής τριφθορομεθυλο-ομάδας σε ένα μόριο μπορεί να του προσδώσει ενδιαφέρουσες αντικές ή/και αντικαρκινικές ιδιότητες, β) Οι νουκλεοζίτες, οι οποίοι φέρουν την μέθυλο ομάδα ως διακλαδισμένη αλυσίδα στο τμήμα της φουρανόζης εμφανίζουν έντονο φαρμακολογικό ενδιαφέρον, γ) Τα τροποποιημένα νουκλεοζιτικά ανάλογα με πενταμελή και εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο έχουν επιδείξει σημαντική αντικαρκινική, αντιϊκή, αντιβιοτική και αντιοξειδωτική δράση, ενώ μια ιδιαίτερος ενδιαφέρουσα υποκατηγορία τους αποτελούν οι δεοξυ-πυρανονουκλεοζίτες, δ) Οι νουκλεοζίτες με άκυκλο τμήμα συνδεδεμένο σε μία ετεροκυκλική βάση εμφανίζουν ιδιαίτερες βιολογικές ιδιότητες, και ε) Οι C5-υποκατεστημένοι νουκλεοζίτες πυριμιδίνης έχουν ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες (αντιϊκές και αντικαρκινικές).

Οι τελικοί νουκλεοζίτες αποτιμήθηκαν για τις αντικές και κυτταροστατικές τους ιδιότητες χρησιμοποιώντας διάφορα ιικά στελέχη και καρκινικές κυτταρικές σειρές.

## Ευχαριστίες

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Βιο-Οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας-Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Οργανικής Χημείας, κ. Δημήτριου Κομιώτη στον οποίο και θα ήθελα να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου για την υπόδειξη του θέματος όσο και για την αδιάκοπη καθοδήγηση και επιστημονική συμπαράστασή του σε όλη τη διάρκεια της εκπόνησης αυτής της διατριβής.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Φαρμακευτικής Χημείας του Τμήματος Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, κ. Ανδρέα Τσοτίνη καθώς και τον Καθηγητή Οργανικής Χημείας του Τμήματος Χημείας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, κ. Κωνσταντίνο Λίτινα, οι οποίοι με τίμησαν δεχόμενοι να συμμετάσχουν στην τριμελή συμβουλευτική επιτροπή καθώς επίσης για τις εύστοχες υποδείξεις τους κατά τη διάρκεια συγγραφής αυτής της διατριβής.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τα υπόλοιπα μέλη της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής, τον Καθηγητή κ. Ιωάννη Γάλλο, τον Ερευνητή Α΄ κ. Μηνά Παπαδόπουλο, τον Καθηγητή κ. Παναγιώτη Μαρκουλάτο και τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Ιωάννη Παπαναστασίου για την τιμή που μου έκαναν να συμμετάσχουν στην επταμελή εξεταστική επιτροπή.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα μέλη του εργαστηρίου Οργανικής Χημείας για την άριστη συνεργασία μας και το αρμονικό κλίμα που επικρατούσε για την ολοκλήρωση αυτής της διατριβής και πιο συγκεκριμένα τους Στυλιανή Μαντά, Αθηνά Δημοπούλου, Βανέσα Παρμενοπούλου και την Αγγελική Παναγιωτοπούλου του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. <<Δημόκριτος>>, για τη βοήθεια στη λήψη  $^1\text{H}$  NMR και  $^{13}\text{C}$  NMR φασμάτων και για την ευχάριστη συνεργασία μας.

Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου στον ΕΔΙΠ κ. Χρήστο Μήτσο και την μεταδιδακτορική ερευνητρια κα. Νίκη Τζουμάκη για τις πολύ σωστές παρατηρήσεις τους, που συνέβαλαν στην αρτιότερη εμφάνιση της διατριβής.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την σύζυγο μου Πηνελόπη Σκυλογιάννη και τους γονείς μου Αθανάσιο και Θεοδώρα για την ηθική συμπαράσταση, που μου προσέφεραν, χωρίς την οποία θα ήταν αδύνατο να πραγματοποιηθεί και να ολοκληρωθεί η παρούσα διδακτορική διατριβή.



## ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

Οι δημοσιεύσεις που προέκυψαν από την παρούσα διδακτορική διατριβή είναι

οι ακόλουθες:

- Branched-chain sugar nucleosides: Stereocontrolled synthesis and bioevaluation of novel 3'-C-trifluoromethyl and 3'-C- pyranonucleosides. Nikolaos Kollatos, Stella Manta, Athina Dimopoulou, Vanessa Parmenopoulou, Virginia V. Triantakonstanti, Tahsin Kellici, Thomas Mavromoustakos, Dominique Scholse and Dimitri Komiotis *Carbohydrate Research* **2015,407**, 170-178. doi.org/10.1016/j.carres.2015.01.021.
- Facile Microwave-assisted Synthesis of Various C5-modified Pyrimidine Pyranonucleosides as Potential Cytotoxic Antitumor Agents. Athina Dimopoulou, Nikolaos Kollatos, Stella Manta, Aggeliki Panagiotopoulou, Athanasios Karastergiou, Filitsa Kontopoulou, Dominique Schols and Dimitri Komiotis. *Current Microwave Chemistry* 2017, 4, 324–338. doi:10.2174/2213335604666170720151941
- Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Novel C5-Modified Pyrimidine Ribofuranonucleosides as Potential Antitumor or/and Antiviral Agents. Nikolaos Kollatos, Christos Mitsos, Stella Manta, Niki Tzioumaki, Christos Giannakas, Tania Alexouli, Aggeliki Panagiotopoulou, Dominique Schols, Graciela Andrei and Dimitri Komiotis. *Medicinal Chemistry*, (E-pub Ahead of Print.) doi: 10.2174/1573406415666190225112950
- Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Novel C5-Modified Pyrimidine Acyclic Nucleosides. Nikolaos Kollatos, Christos Mitsos, Roula Karetsou, Styliani Danai Antonaki, Aggeliki Panagiotopoulou, Niki Tzioumaki, Stella Manta, Dominique Schols and Dimitri Komiotis. *Journal of Pharmaceutics and Drug Research*, (Accepted)

## **ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ**

<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b>	vii
<b>ΠΡΟΛΟΓΟΣ-ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ</b>	viii
<b>ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ</b>	x
<b>Ι.ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b>	
<b>I.1</b> Νουκλεοζίτες	1
<b>I.2</b> Νουκλεοζιτικά ανάλογα	2
<b>I.3</b> Τρόπος δράσης των νουκλεοζιτών	3
<b>I.4</b> Αντιϊικά νουκλεοζιτικά ανάλογα	6
<b>I.5</b> Αντικαρκινικά νουκλεοζιτικά ανάλογα	8
<b>I.6</b> Τροποποιημένοι Νουκλεοζίτες	10
<b>I.7</b> Φουρανονουκλεοζίτες	11
<b>I.7.1</b> Τριφθορομεθυλο-φουρανονουκλεοζίτες	11
<b>I.7.2</b> Μεθυλο-νουκλεοζίτες	13
<b>I.8</b> Άκυκλοι νουκλεοζίτες	14
<b>I.9</b> Τροποποιημένοι στη βάση νουκλεοζίτες	16
<b>I.10</b> Πυρανονουκλεοζίτες	18
<b>I.11</b> Στόχοι της παρούσας διατριβής	21
<b>II. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ-ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ</b>	25
<b>II.1</b> Σύνθεση των 3'-C-τριφθορομεθυλο- και 3'-C-μεθυλο- πυρανονουκλεοζιτών της 5 φθοροουρακίλης και των αντίστοιχων 3'-δεοξυ αναλόγων τους.	25
<b>II.1.1</b> Σύνθεση της 1,2:5,6-δι-Ο-ισοπροπυλιδενιο-3-C-τριφθορομεθυλο-α-D-αλλοφουρανόζης (2α)	28

<b>Π.1.2</b> Σύνθεση της 1,2:5,6-δι- <i>O</i> -ισοπροπυλιδενιο-3- <i>C</i> -μεθυλο- $\alpha$ - <i>D</i> -αλλοφουρανόζης (2β)	28
<b>Π.1.3</b> Σύνθεση της 3- <i>C</i> -τριφθορομεθυλο- (3α), 3- <i>C</i> -μεθυλο-1,2,4,6-τετρακίς- <i>O</i> -ακετυλο- $\beta$ - <i>D</i> -αλλοπυρανόζης (3β)	29
<b>Π.1.4</b> Σχηματισμός γλυκοζιτικού δεσμού	31
<b>Π.1.5</b> Σύνθεση των 3'- <i>C</i> -τριφθορομεθυλο- (5α), 3'- <i>C</i> -μεθυλ- $\beta$ - <i>D</i> -αλλοπυρανοζυλο-νουκλεοζιτών της 5-φθοροουρακίλης (5β)	34
<b>Π.1.6</b> Σύνθεση των 3'-δεοξυ-3'- <i>C</i> -τριφθορομεθυλο- (7α) και μεθυλο- (7β) πυρανονουκλεοζιτών της 5-φθοροουρακίλης (7β)	37
<b>Π.1.7</b> Μοριακή δυναμική των 3-δεοξυ-3- <i>C</i> -τριφθορομεθυλο- (8α) μεθυλο- (8β) αλλοφουρανόζη	44
<b>Π.1.8</b> Αντική και αντικαρκινική δράση των 3'- <i>C</i> -τριφθορομεθυλο-, 3'- <i>C</i> -μεθυλο- και 3'-δεοξυ-3'- <i>C</i> -τριφθορομεθυλο-, 3'-δεοξυ-3'- <i>C</i> -μεθυλο-πυρανονουκλεοζιτών της 5-φθοροουρακίλης	48
<b>Π.2</b> Σύνθεση νέων <i>C5</i> τροποποιημένων 3'- <i>C</i> -τριφθορομεθυλο-πυρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης (17α-ε)	50
<b>Π.2.1</b> Σύνθεση του 3'- <i>C</i> -τριφθορομεθυλο- $\beta$ - <i>D</i> -αλλοπυρανοζυλο-νουκλεοζιτών της 5-φθοροουρακίλης (15)	53
<b>Π.2.2</b> Γενική μέθοδος σύνθεσης τελικών αλκυνίων (Sonogashira reaction)	53
<b>Π.2.3</b> Αντίδραση Sonogashira	57
<b>Π.2.4</b> Χρήση μικροκυμάτων	58
<b>Π.2.5</b> Αντική και αντικαρκινική δράση των <i>C5</i> τροποποιημένων 3'- <i>C</i> -τριφθορομεθυλο-πυρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης	59
<b>Π.3</b> Σύνθεση <i>C5</i> τροποποιημένων 3'-δεοξυ-, 3'-μεθυλο-3'-δεοξυ-, 2'-δεοξυ-, ριβοφούρανο νουκλεοζίτες της ουρακίλης	62
<b>Π.3.1</b> Σύνθεση <i>C5</i> τροποποιημένων ριβοφουρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης (22, 23)	66

<b>Π.3.2</b> Σύνθεση C5 τροποποιημένων 3'-δεοξυ-ριβοφουρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης (31, 32)	70
<b>Π.3.3</b> Σύνθεση C5 τροποποιημένων 3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλο-ριβοφουρανο-νουκλεοζιτών της ουρακίλης (40, 41)	76
<b>Π.3.4</b> Σύνθεση C5 τροποποιημένων 2'-δεοξυ-ριβοφουρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης (44, 46)	81
<b>Π.3.5</b> Αντική και αντικαρκινική δράση των C5 τροποποιημένων 3'-δεοξυ-, 3'-μεθυλο-3'-δεοξυ-, 2'-δεοξυ-ριβοφουρανο-νουκλεοζιτών της ουρακίλης	84
<b>Π.4</b> C5 τροποποιημένοι άκυκλοι νουκλεοζίτες της ουρακίλης	93
<b>Π.4.1</b> Σύνθεση της 1-(5'-O-τριτυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-ιωδοουρακίλης (48)	96
<b>Π.4.2</b> Σύνθεση του 1-(1-((1,3-διυδροξυπροπαν-2-υλ)οξυ)-2-υδροξυαιθυλ)-5-ιωδοουρακίλη (50)	97
<b>Π.4.3</b> Σύνθεση των C5 αλκύνυλο 1-(1-((1,3-διυδροξυπροπαν-2-υλ)οξυ)-2-υδροξυαιθυλ)-ουρακίλη (54, 55)	98
<b>Π.4.4</b> Σύνθεση του (E)-αιθυλ 4-(((E)-4-αιθοξυ-1-(5-ιωδοουρακίλη)-4-οξοβουτ-2-εν-1-υλ)όξυ)-5-υδροξυπεντ-2-ενοϊκού εστέρα (58)	102
<b>Π.4.5</b> Σύνθεση των C5 αλκύνυλο (E)-αιθυλ 4-(((E)-4-αιθοξυ-1-(5-ιωδο-ουρακίλη)-4-οξοβουτ-2-εν-1-υλ)όξυ)-5-υδροξυπεντ-2-ενοϊκού εστέρα (59, 60)	106
<b>Π.4.6</b> Αντιική και αντικαρκινική δράση των C5 τροποποιημένων άκυκλων νουκλεοζιτών της ουρακίλης	109
<b>ΙΙΙ. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	113
Γενικές παρατηρήσεις	113
<b>ΙΙΙ.2</b> Σύνθεση των 3'-C-τριφθορομεθυλο- και 3'-C-μεθυλο-πυρανονουκλεοζιτών της 5 φθοροουρακίλης και των αντίστοιχων 3'-δεοξυ αναλόγων τους.	116
<b>ΙΙΙ.2.1</b> Σύνθεση της 1,2:5,6-δισ-O-ισοπροπυλιδενο-3-C-τριφθορομεθυλο-α-D-αλλοφουρανόζης (2α)	116

<b>III.2.2</b>	Σύνθεση της 1-(3'-C-τριφθορομεθυλο-β-D-αλλοπυρανοζυλο)5-φθοροουρακίλης (5α)	119
<b>III.2.3</b>	Σύνθεση της 1-(3'-δεοξυ-3'-C-τριφθορομεθυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)5-φθοροουρακίλης (11α)	121
<b>III.2.4</b>	Σύνθεση της 1-(3'-δεοξυ-3'-C-τριφθορομεθυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλης (14α)	126
<b>III.2.5</b>	Σύνθεση της 1-(3'-C-μεθυλο-β-D-αλλοπυρανοζυλο)5-φθοροουρακίλης(5β)	129
<b>III.2.6</b>	Σύνθεση της 1-(3'-Δεοξυ-3'-C-μεθυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλης (11β)	132
<b>III.2.7</b>	Σύνθεση της 1-(3'-Δεοξυ-3'-C-μεθυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλης (14β)	136
<b>III.3</b>	Σύνθεση C5-αλκυνυλο-3'-C-τριφθορομεθύλο-πυρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης	139
<b>III.3.1</b>	Σύνθεση της 1-(2',4',6'-Τρις-Ο-ακετυλο-3'-C-τριφθορομεθυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)5-ιώδοουρακίλης (15)	139
<b>III.3.2</b>	Γενική μέθοδος σύνθεσης τελικών αλκυνίων της ουρακίλης (17α-ε) (Sonogashira reaction)	140
<b>III.4</b>	Σύνθεση C5 τροποποιημένων 3'-δεοξυ-, 3'-μεθυλο-3'-δεοξυ-, 2'-δεοξυ-, ριβοφούρανο νουκλεοζίτες της ουρακίλης	149
<b>III.4.1</b>	Σύνθεση C5 αλκύνυλο ριβοφουρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης (22, 24)	149
<b>III.4.2</b>	Γενική μέθοδος σύνθεσης τελικών αλκυνίων της ουρακίλης 22, 24 (Sonogashira reaction)	150
<b>III.4.3</b>	Σύνθεση C5 αλκυνυλο 3'- δεοξυ-ριβοφουρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης (30, 32)	158
<b>III.4.4</b>	Σύνθεση C5 αλκυνυλο 3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλο ριβοφουρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης (40, 41)	169

<b>III.4.5</b> Σύνθεση C5 αλκυνολο 2'-δεοξυ-ριβοφουρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης (44, 46)	179
<b>III.5</b> Σύνθεση C5 αλκυνολο άκυκλων νουκλεοζιτών της ουρακίλης	188
<b>III.5.1</b> Σύνθεση C5 αλκυνολο 1-(1-((1,3-διυδροξυπροπαν-2-υλ)οξυ)-2-υδροξυαιθυλ)-5-ιώδοουρακίλη (54, 55)	189
<b>III.5.2</b> Σύνθεση των C5 αλκυνολο (E)-αιθυλο 4-(((E)-4-αιθοξυ-1-(5-ιώδο-ουρακίλη)-4-οξοβουτ-2-εν-1-υλ)οξυ)-5-υδροξυπεντ-2-ενοϊκός εστέρας (59, 60)	198
<b>IV. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b>	205
<b>V. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	210
<b>ABSTRACT</b>	219
<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ-ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ</b>	

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

<b>Πίνακας 1:</b>	Ανασταλτική δράση των ενώσεων <b>5α,β, 10α,β, 11α,β</b> και <b>14α,β</b> έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων L1210, CEM και HeLa.	48
<b>Πίνακας 2:</b>	Ανασταλτική δράση των ενώσεων <b>16α-ε</b> και <b>17α-ε</b> έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων L1210, CEM και HeLa.	59
<b>Πίνακας 3:</b>	Ανασταλτική δράση των ενώσεων <b>20α-δ, 21, 22α-δ, 23, 29α-δ, 30α-δ, 31, 32, 38α-δ, 39, 40α-δ, 41, 43α-δ, 44α-δ, 45</b> και <b>46</b> έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων L1210, CEM και HeLa.	83
<b>Πίνακας 4:</b>	Αντιϊκή δράση των νουκλεοζιτών <b>29β, 31</b> και <b>38α,γ,δ</b> .	88
<b>Πίνακας 5:</b>	Κυτταροτοξική δράση των νουκλεοζιτών <b>50, 51, 52α-γ, 53, 54α-γ, 55, 58, 59α-γ, 60</b> .	104

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

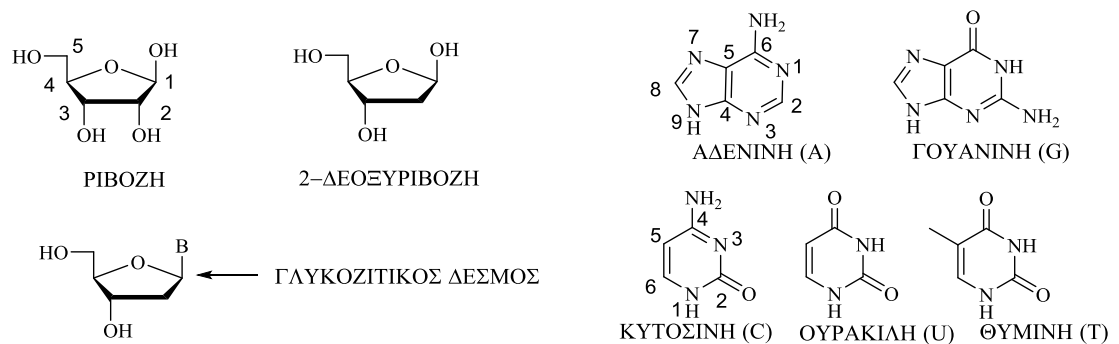
<b>Εικόνα 1 :</b>	Οι διαμορφώσεις με την χαμηλότερη ενέργεια που παράγονται με τη χρήση υπολογισμών MD και οι μέσες αποστάσεις μεταξύ οξυγόνου 1 και 2 με τον άνθρακα της ενδιάμεσης αλδεΐδης σε πάνω από 2000 διαμορφώσεις που δημιουργούνται στην τροχιά προσομοίωσης.	45
<b>Εικόνα 2.</b>	Προτεινόμενος μηχανισμός Sonogashira reaction	58

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### I.1 Νουκλεοζίδες

Ο όρος νουκλεοζίδης εισήχθη από τους Leven και Jacobs (Leven και Jacobs 1909) και αναφέρεται σε ενώσεις που αποτελούν δομικά συστατικά των βιολογικών συστημάτων, καθώς είναι πρόδρομες μορφές των νουκλεοτιδίων, όπως επίσης και το υπόστρωμα των πολυμερασών για τη σύνθεση DNA και RNA.

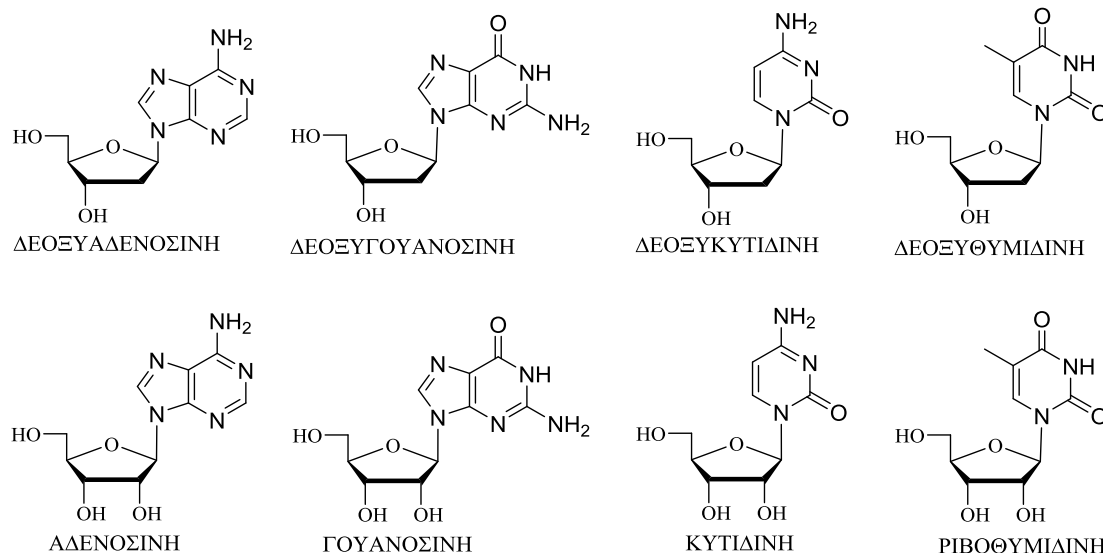
Οι νουκλεοζίδες είναι ενώσεις οι οποίες αποτελούνται από μία βάση πουρίνης (αδενίνη, γουανίνη) ή πυριμιδίνης (κυτοσίνη, θυμίνη, ουρακίλη) και ένα σάκχαρο την ριβόζη (ριβονουκλεοζίδες) ή την δεοξυριβόζη (δεοξυριβονουκλεοζίδες). Η σύζευξη των δύο τμημάτων γίνεται όταν ο άνθρακας C-1 της ριβόζης ή της δεοξυριβόζης ενώνεται με το άζωτο N-1 μιας πυριμιδίνης ή το άζωτο N-9 μιας πουρίνης δημιουργώντας έναν β-γλυκοζιτικό δεσμό (Σχήμα 1).



**Σχήμα 1. Γλυκοζιτικός δεσμός - Νουκλεοζίδης**

Οι τέσσερις νουκλεοζίδες που εμφανίζονται στο DNA ονομάζονται δεοξαδενοσίνη, δεοξυγουανοσίνη, δεοξυθυμιδίνη και δεοξυκυτοσίνη, ενώ τα αντίστοιχα στο RNA ονομάζονται: αδενοσίνη, γουανοσίνη, κυτιδίνη και 5-μεθυλοουριδίνη (Σχήμα 2).





**Σχήμα 2: Νουκλεοζίτες και Δεοξυνουκλεοζίτες**

## 1.2 Νουκλεοζιτικά ανάλογα

Η ανακάλυψη του σημαντικού ρόλου των νουκλεοζιτών ως βασικών δομικών συστατικών του DNA και RNA, ώθησε τους ερευνητές στη διεξαγωγή συστηματικών μελετών όσον αφορά στη χημική συμπεριφορά και βιολογική δράση των εν λόγω ενώσεων. Οι φυσικοί νουκλεοζίτες μπορούν να τροποποιηθούν τόσο στο τμήμα του σακχάρου όσο και στο τμήμα της βάσης, παράγοντας πληθώρα αναλόγων, τα οποία επέδειξαν σημαντική αντικαρκινική, αντιική, αντιβακτηριδιακή και αντιοξειδωτική δράση (Zhou *et al.*, 2004, Perigaud *et al.*, 1992, Robins *et al.*, 1990, MacCoss *et al.*, 1990).

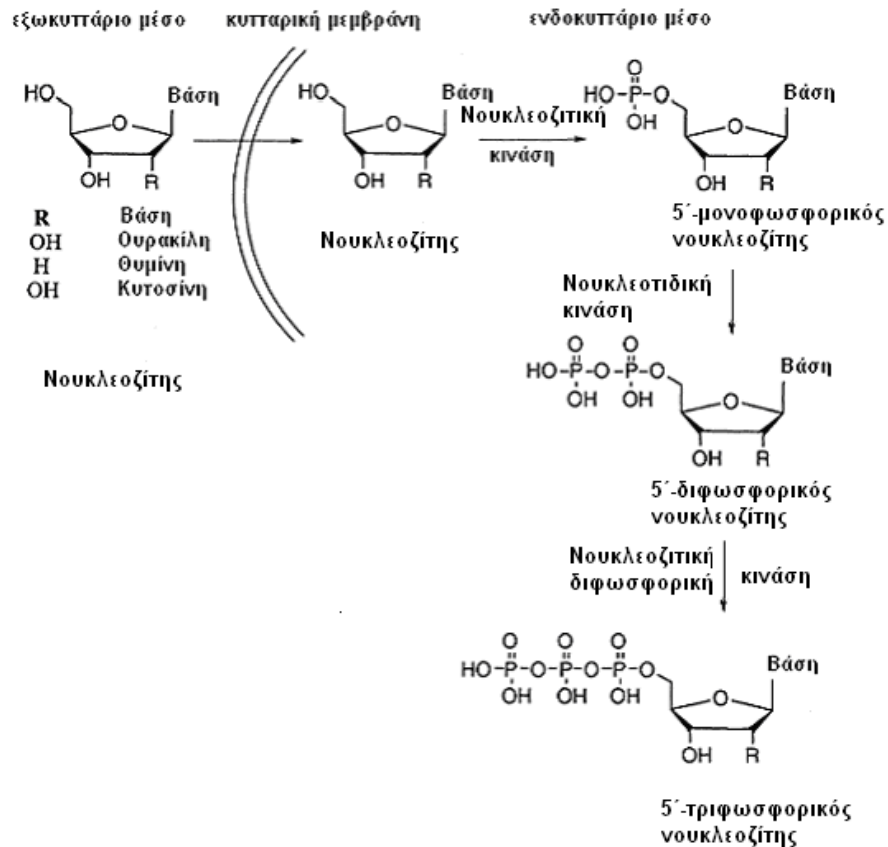
Οι τροποποιημένοι νουκλεοζίτες δρουν ως αντιμεταβολίτες, δηλαδή ανταγωνίζονται τους φυσικούς και αλληλεπιδρούν με ενδοκυττάριους στόχους, προκαλώντας την αντιική ή αντικαρκινική τους δράση. Ένας μεγάλος αριθμός χημικά τροποποιημένων νουκλεοζιτών, έχει χρησιμοποιηθεί, τα τελευταία χρόνια, στην θεραπευτική αντιμετώπιση τόσο καρκινικών όγκων, όσο και ιικών μολύνσεων. Είναι χαρακτηριστικό ότι τα τελευταία χρόνια έχουν εγκριθεί από τη Διεύθυνση Ελέγχου Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (Food and Drug Administration, FDA) αρκετά φάρμακα που περιέχουν ως δραστική ουσία κάποιο νουκλεοζιτικό ανάλογο (Jordheim *et al.*, 2013), αποδεικνύοντας την ισχυρή δυναμική της συγκεκριμένης κατηγορίας ενώσεων, όσον αφορά στην κλινική χρήση τους. Σύγχρονες έρευνες έχουν ρίξει φως στους πιθανούς μηχανισμούς της βιολογικής τους δράσης

προσφέροντας σημαντικές πληροφορίες όσον αφορά στους μεταβολικούς μετασχηματισμούς, στους οποίους υπόκεινται καθώς και στους μηχανισμούς μεταβολικής απενεργοποίηση τους.

### **I.3 Τρόπος δράσης των νουκλεοζιτών**

Οι φυσικοί νουκλεοζίτες συντίθενται ενδοκυτταρικά μέσω διαδοχικών αντιδράσεων, από τις βάσεις που ελευθερώνονται από την υδρόλυση των νουκλεϊκών οξέων. Τα τροποποιημένα νουκλεοζιτικά ανάλογα εισέρχονται στο κύτταρο μέσω παθητικής διάχυσης ή με την βοήθεια πρωτεϊνών μεταφορέων νουκλεοζιτών (NTs nucleoside transporters) (Baldwin *et al.*, 2004, King *et al.*, 2006, Zhang *et al.*, 2007), όπου, στη συνέχεια μεταβολίζονται, με αποτέλεσμα να παρεμβαίνουν στην σύνθεση των νουκλεϊκών οξέων ασκώντας την βιολογική τους δράση (Wataya *et al.*, 2001, Takatori *et al.*, 1999, Naito *et al.*, 2002).

Έχει αποδειχθεί ότι η πλειοψηφία των τροποποιημένων νουκλεοζιτών, που έχουν επιδείξει βιολογική δράση (αντιική, αντικαρκινική), δρουν ως πρόδρομα φάρμακα δηλαδή, δεν είναι ενεργά από μόνα τους, αλλά εμφανίζουν δραστηριότητα αφού μεταβολιστούν ενδοκυτταρικά προς τις τριφωσφορικές ενεργές μορφές τους (Σχήμα 3), από ιικά ή κυτταρικά ένζυμα (Johansson και Eriksson 1996).

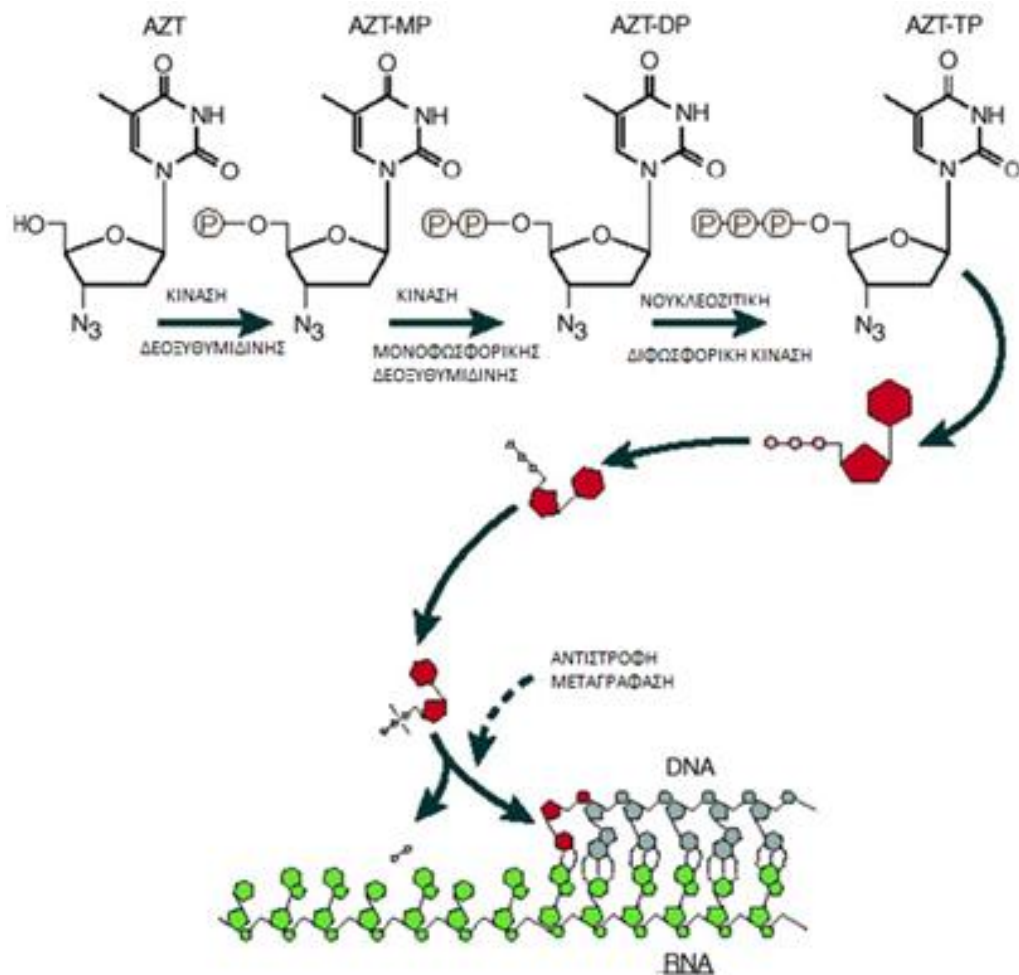


**Σχήμα 3. Τροποποίηση των νουκλεοζιτικών αναλόγων προς την ενεργή τους μορφή μέσω ενδοκυτταρικής φωσφορυλίωσης.**

Η πρώτη φωσφορυλίωση οδηγεί στο σχηματισμό του 5'-μονοφωσφορικού (MP) νουκλεοζίτη, η οποία καταλύεται από μια νουκλεοζιτική κινάση. Οι διφωσφορικές και τριφωσφορικές δομές των αναλόγων προκύπτουν από την καταλυτική μετατροπή του MP-νουκλεοζίτη από τη νουκλεοτιδική και νουκλεοζιτική διφωσφορική κινάση, αντίστοιχα (Wagner et al. 2000 V. Rompay *et al*, 2000). Στη συνέχεια, οι ενεργές τριφωσφορικές δομές των αναλόγων, μιμούμενα τους φυσικούς νουκλεοζίτες, είτε ενσωματώνονται και τροποποιούν τα μακρομόρια του DNA και του RNA, είτε παρεμβάλλονται σε διάφορα ένζυμα που σχετίζονται με τη σύνθεση των νουκλεϊκών οξέων, όπως οι DNA πολυμεράσες, επάγοντας μ' αυτόν τον τρόπο την κυτταροτοξική ή την αντιακτική τους δράση (Galmarini et al. 2002, Berdis 2008).

Ένας κοινός μηχανισμός αντιακτικής και αντικαρκινικής δράσης των αναλόγων των νουκλεοζιτών είναι η αλληλεπίδρασή τους με ιικές ή/και κυτταρικές πολυμεράσες και η ενσωμάτωσή τους στην επιμηκνόμενη αλυσίδα του DNA, προκαλώντας έτσι διακοπή στην επιμήκυσή της. Δεδομένου ότι ο μηχανισμός αντιγραφής του γονιδιώματος είναι συντηρητικός, τα νουκλεοζιτικά ανάλογα

μπορούν να παρουσιάσουν δράση έναντι μεγάλου φάσματος ιών. Η συγκεκριμένη δράση παρουσιάζεται στο σχήμα 4, ο αζιδο-νουκλεοζίτης (AZT) προσλαμβάνεται αρχικά από το κύτταρο, ενεργοποιείται στην τριφωσφορική του δομή και στη συνέχεια δρα ως αναστολέας της αντίστροφης μεταγραφάσης τερματίζοντας την αλυσίδα του ιικού DNA μετά τη σύνδεση του σε αυτή, καθώς απουσιάζει η 3'-υδροξύλο ομάδα και δεν μπορεί να ενωθεί με την 5'-φωσφορική ομάδα του επόμενου νουκλεοτιδίου (De Clercq, 2004) (Σχήμα 4). Το σάκχαρο είναι το τμήμα του νουκλεοζίτη, που χρησιμεύει ως υπόστρωμα για τις κινάσες και τις πολυμεράσες που απαιτούνται για τη βιοσύνθεση των νουκλεοτιδίων και την επιμήκυνση των αλυσίδων. Αν σε ένα νουκλεοζιτικό ανάλογο λείπει η 3'-υδροξύλο-ομάδα, δεν μπορεί να ενωθεί με τη 5'-φωσφορική ομάδα του επόμενου νουκλεοτιδίου και αυτό παρεμποδίζει αποτελεσματικά την επιμήκυνση της αλυσίδας.



Σχήμα 4. Μηχανισμός δράσης του AZT

Πέραν του παραπάνω μηχανισμού, τα διφωσφορικά και τριφωσφορικά νουκλεοζιτικά ανάλογα είναι δυνατόν να αλληλεπιδράσουν και με άλλα ένζυμα, όπως την ριβονουκλεοτιδική αναγωγή, η οποία αποτελεί ένζυμο που εμπλέκεται στον μεταβολισμό των νουκλεοτιδίων, με αποτέλεσμα την μείωση του αριθμού δραστικών μεταβολιτών, όπως η δεαμινάση και η 5'-νουκλεοτιδάση (Jordheim *et al.*, 2013).

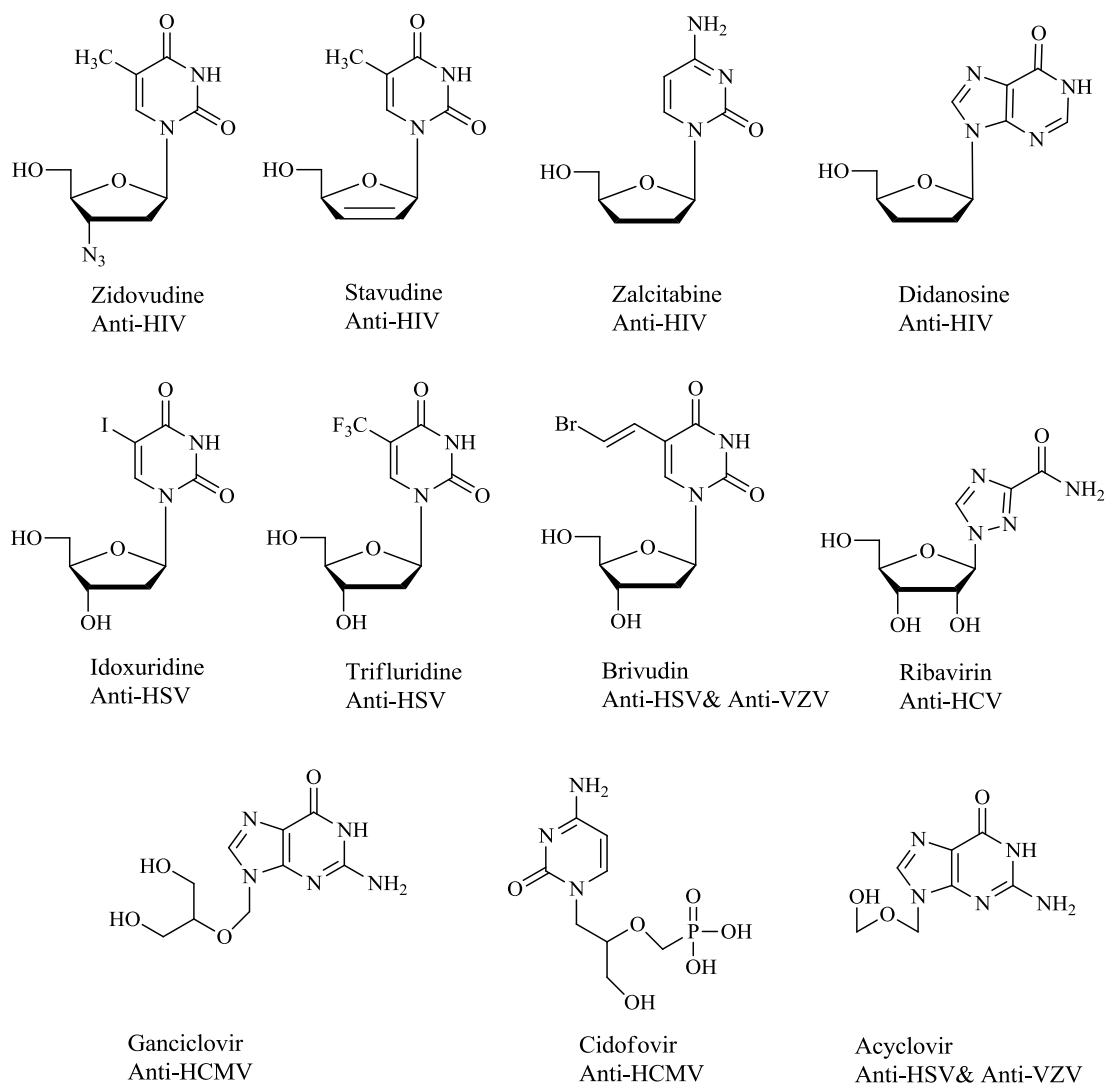
Επίσης, τα νουκλεοζιτικά ανάλογα, ενεργοποιούν την αποπτωτική διαδικασία στα καρκινικά κύτταρα είτε άμεσα είτε έμμεσα μέσω της καταστολής αντιαποπτωτικών γονιδίων (Lui *et al.*, 2010, Bhat *et al.*, 2010). Η αντιβιοτική δράση τους οφείλεται, είτε στην καταστροφή του κυτταρικού τοιχώματος των βακτηρίων, είτε στο ότι επιδρούν στην πρωτεϊνσύνθεση (Siev M. *et al.*, 1969) και στη μεταφορά ιόντων μέσω της κυταρροπλασματικής μεμβράνης (Ahn Y. J. *et al.*, 2000).

#### **I.4 Αντικα νουκλεοζιτικά ανάλογα**

Οι ικές μολύνσεις αποτελούσαν για μεγάλο χρονικό διάστημα ένα παγκόσμιο ιατρικό πρόβλημα λόγω της έλλειψης αποτελεσματικής θεραπείας καθώς και της απουσίας κατάλληλης στρατηγικής πρόληψης ή εμβολιασμού. Εντούτοις, οι συστηματικές μελέτες αρκετών δεκαετιών στον τομέα των νουκλεοζιτών επέφεραν σημαντικές αλλαγές στη θεραπεία των περισσότερων ικών μολύνσεων, με τα νουκλεοζιτικά ανάλογα να αποτελούν μερικές από τις πλέον επιτυχημένες αντιικές ενώσεις που κυκλοφορούν μέχρι σήμερα, δημιουργώντας έτσι ένα ισχυρό οπλοστάσιο για την αποτελεσματική θεραπεία των ικών λοιμώξεων (Perigaund *et al.*, 1992).

Ειδικότερα νουκλεοζιτικά ανάλογα όπως: η ζιδοβουδίνη (zidovudine, AZT), η διδανοσίνη (didanosin, ddl), η ζαλσιταβίνη (zalcitabine, ddC), και η σταβουδίνη (stavudine, d4T), δρουν ως νουκλεοζιτικοί αναστολείς της αντίστροφης μεταγραφάσης και χρησιμοποιούνται για την θεραπεία του ιού ανθρώπινης ανοσοποιητικής ανεπάρκειας (HIV) (Verheggen *et al.*, 1993). Για την αντιμετώπιση του απλού έρπητα (HSV) καθώς και του έρπητα ζωστήρα (varicella-zoster virus, VZV) χρησιμοποιούνται, οι τροποποιημένοι νουκλεοζίτες: ακυκλοβίρη (acyclovir), η βαλακυκλοβίρη (valaciclovir), η φαμκυκλοβίρη (famciclovir), η μπριβουδίνη (brivudin), η πενσικλοβίρη (penciclovir), η ιδοξουριδίνη (idoxuridine) και η τριφλουριδίνη (trifluridine), τα οποία δρουν ως αναστολείς της DNA πολυμεράσης (Zhou *et al.*, 2004; De Clercq *et al.*, 2002). Για την θεραπεία της ηπατίτιδας Β (HBV) έχει ήδη εγκριθεί και χρησιμοποιείται το ριμπαβιρίνη (ribavirin, 3TC) σε συνδυασμό

με την Interferone- $\alpha$ , για την αντιμετώπιση του κυτταρομεγαλοϊού (HCMV) χρησιμοποιούνται οι νουκλεοζίτες: γκανσικλοβίρη (ganciclovir), η βαλγκανσικλοβίρη (valganciclovir), και η σιδοφοβίρη (cidofovir) (Gumina *et al.*, 2001). Στο παρακάτω σχήμα (Σχήμα 5) φαίνονται οι δομές από τα σημαντικότερα αντικά νουκλεοζιτικά ανάλογα.



### Σχήμα 5. Αντιικά νουκλεοζιτικά ανάλογα

Η εμφάνιση νέων ανθεκτικών ικών στελεχών καθώς και η αντιμετώπιση προβλημάτων των νουκλεοζιτών όπως: α) η μεταβολική τους αστάθεια και β) η αυξημένη τους τοξικότητα, καθιστά αναγκαία την ανάπτυξη νέων νουκλεοζιτικών αναλόγων, τα οποία θα εμφανίζουν μεγαλύτερη εξειδίκευση και μειωμένη τοξικότητα.

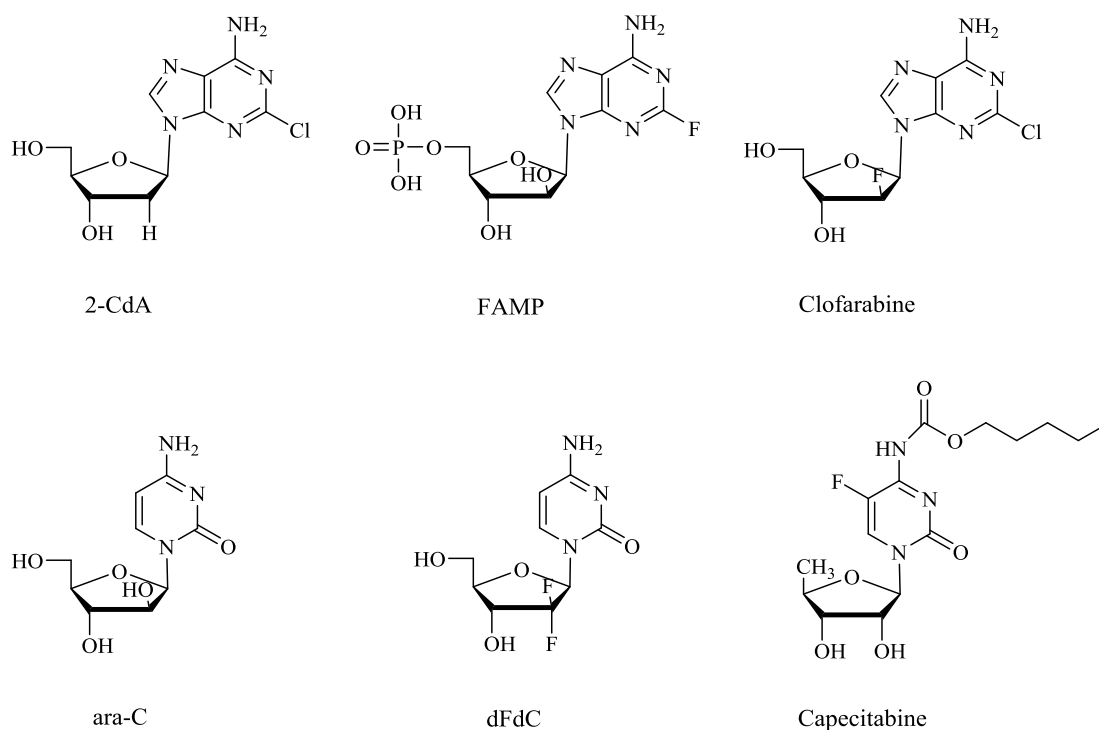
## 1.5 Αντικαρκινικά νουκλεοζιτικά ανάλογα

Ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός, στους πολυκύτταρους οργανισμούς, γίνεται κάτω από αυστηρούς ελέγχους και ρυθμίσεις, ούτως ώστε τα διαφοροποιημένα κύτταρα να λειτουργήσουν φυσιολογικά. Οι ρυθμίσεις αυτές, αν και μεγάλος αριθμός των μηχανισμών που τις διέπουν δεν είναι ακόμα γνωστοί, αποτελούνται από χημικές αλληλεπιδράσεις (χημικά μηνύματα) μεταξύ διαφόρων ορμονών και υποδοχέων των κυτταρικών μεμβρανών. Όταν η ισορροπία διαταράσσεται και η μιτωτική διαίρεση των κυττάρων συνεχίζεται ανεξέλεγκτα, τότε, τα κύτταρα, χάνουν την διαφοροποιημένη τους μορφή, με αποτέλεσμα την εμφάνιση καρκινικών όγκων. Εάν ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων είναι περιορισμένος τότε ο όγκος είναι καλοήθης, ενώ εάν είναι έντονος τότε ο όγκος είναι κακοήθης. Η θεραπευτική αντιμετώπιση των κακοηθειών γίνεται με χειρουργική επέμβαση, ακτινοθεραπεία και χημειοθεραπεία οι οποίες χρησιμοποιούνται είτε μεμονωμένα είτε συνδυαστικά. Η χημειοθεραπεία χρησιμοποιείται είτε για την θεραπεία του καρκινώματος, είτε για την αποφυγή μεταστάσεων ή για την επιβράδυνση της αναπτυξής του.

Λόγω της υψηλής θνησιμότητας που προκαλείται από τους διάφορους τύπους καρκίνου, πλήθος ερευνητών έχουν εστιάσει την προσοχή τους στην σύνθεση και μελέτη νέων χημειοθεραπευτικών σκευασμάτων, τα οποία θα χαρακτηρίζονται από αυξημένη δραστικότητα, μειωμένη τοξικότητα, βελτιωμένο θεραπευτικό δείκτη και ευρύ φάσμα δράσης. Μία σημαντική τάξη κυτταροτοξικών παραγόντων είναι οι νουκλεοζίτες και τα ανάλογα τους, που αποτελούν μια αξιοσημείωτη κατηγορία αντιμεταβολιτών καθώς είναι από τις πρώτες ενώσεις που έχουν χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία του καρκίνου (Galmarini *et al.*, 2002). Οι συγκεκριμένες ενώσεις μιμούνται τους φυσικούς νουκλεοζίτες τους οποίους αντικαθιστούν στην σύνθεση του DNA, οδηγώντας σε αναστολή το DNA, ή στον τερματισμό της αλυσίδας, αλλά αλληλεπιδρούν και με μόρια στόχους, όπως ένζυμα, ενεργοποιώντας τους αποπτωτικούς μηχανισμούς του κυττάρου (Ewald *et al.*, 2008), ενώ έχει αποδειχθεί ότι προκαλούν ευαισθησία των καρκινικών κυττάρων στην ακτινοθεραπεία τροποποιώντας τον κυτταρικό μεταβολισμό (Pastor-Anglada *et al.*, 1998).

Τα αντικαρκινικά νουκλεοζιτικά παράγωγα περιλαμβάνουν ανάλογα πουρινικών και πυριμιδινικών νουκλεοτιδίων. Πουρινικά ανάλογα είναι η 2-

χλωροδεοξυαδενοσίνη (2-CdA, cladribine), η 5-μονοφωσφορική-αραβινο-2-φθοροαδενίνη (FAMP, fludarabine), τα οποία χρησιμοποιούνται για την θεραπεία αιματολογικών κακοηθειών (Szafraniec *et al.*, 2004), η κλοφαραβίνη (clofarabine) για τη θεραπεία της οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας (Barba *et al.*, 2012) (Σχήμα 6). Αντικαρκινικά πυριμιδινικά ανάλογα είναι η αραβινοσίδη (ara-C, cytarabine) η οποία χρησιμοποιείται έναντι της οξείας λευχαιμίας, η 2-διφθοροδεοξυκυτοσίνη (dFdC, gemcitabine) η οποία επιδύκνυει δραστικότητα έναντι ποικίλων κακοηθειών (Szafraniec *et al.*, 2004), ενώ η καπεσιταμίνη (Capecitabine) δρα ως προφάρμακο της 5-φθοροουρακίλης η οποία επιτίθεται μόνο σε καρκινικούς όγκους και όχι σε υγιείς ιστούς (Galmarini *et al.*, 2002) (Σχήμα 6).



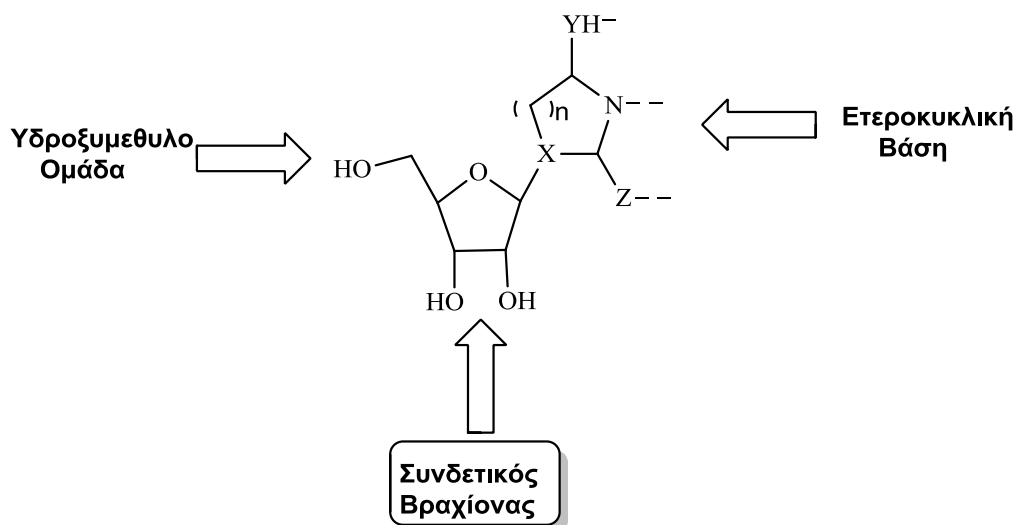
### Σχήμα 6. Αντικαρκινικά νουκλεοζιτικά ανάλογα

Η έλλειψη εκλεκτικότητας των αντικαρκινικών ενώσεων οδηγεί σε σοβαρές παρενέργειες, όπως μυελοτοξικότητα, καρδιοτοξικότητα και νεφροτοξικότητα (Ojima *et al.*, 2002), επηρεάζοντας την ποιότητα ζωής των ασθενών. Έτσι δημιουργείται μεγάλη ανάγκη για την ανάπτυξη νέων νουκλεοζιτικών αναλόγων, τα οποία θα έχουν μεγάλη εκλεκτικότητα ούτως ώστε να προσβάλλουν αποκλειστικά τα καρκινικά κύτταρα αφήνοντας ανεπηρέαστα τα υγιή κύτταρα προσφέροντας αποτελεσματικότερη θεραπεία.



## 1.6 Τροποποιημένοι Νουκλεοζίτες

Οι τροποποιημένοι νουκλεοζίτες έχουν αναγνωρισθεί ως σημαντικό εργαλείο για την θεραπεία διάφορων ασθενειών. Ως εκ τούτου είναι διαρκής η προσπάθεια ανάπτυξης νέων αναλόγων, με τροποποίηση τόσο στο τμήμα του σακχάρου όσο και στο άγλυκο τμήμα, για την βελτίωση των αντιικών και αντικαρκινικών ιδιοτήτων τους. Η ετεροκυκλική βάση αναγνωρίζεται από τα ένζυμα και προστίθεται στο συμπληρωματικό κλώνο κατά τη σύνθεση του DNA. Το τμήμα του σακχάρου λειτουργεί σαν συνδετικός βραχίονας μεταξύ της νουκλεοβάσης και μιας υδροξυμέθυλο ομάδας η οποία αναγνωρίζεται από τις κυτταρικές κινάσες που ενεργοποιούν τον νουκλεοζίτη (φωσφορυλίωση) (Hernández-Reyes *et al.*, 2012). Η βιολογική δράση των νουκλεοζιτών, όπως προκύπτει από τα παραπάνω, καθορίζεται τόσο από την φύση του συνδετικού βραχίονα (σάκχαρο), όσο και από την φύση της ετεροκυκλικής βάσης (Σχήμα 7).



Σχήμα 7. Βασική Δομή Νουκλεοζιτών.

Οι τροποποιήσεις, στο τμήμα του σακχάρου περιλαμβάνουν, αντιστροφή στη διαμόρφωση των υδροξυλομάδων, υποκαταστάσεις (υδροξυλομάδας) με διάφορες φαρμακοφόρες ομάδες, αποσπάσεις οδηγώντας σε δεοξυ ή διδεοξυ ανάλογα και σε άνοιγμα του δακτυλίου δίνοντας άκυκλους νουκλεοζίτες, με στόχο την αναγνώριση τους από την DNA πολυμεράση και την ενσωμάτωσή τους στην πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα (Vastmans *et al.*, 2000). Επίσης έχει αποδειχθεί ότι και οι C5-

υποκατεστημένες πυριμιδίνες αποτελούν εξαιρετικό υπόστρωμα για την DNA πολυμεράση (Jäger *et al.*, 2005) με αποτέλεσμα, το ερευνητικό ενδιαφέρον να στραφεί και προς την σύνθεση νουκλεοζιτών με τροποποίηση στην βάση.

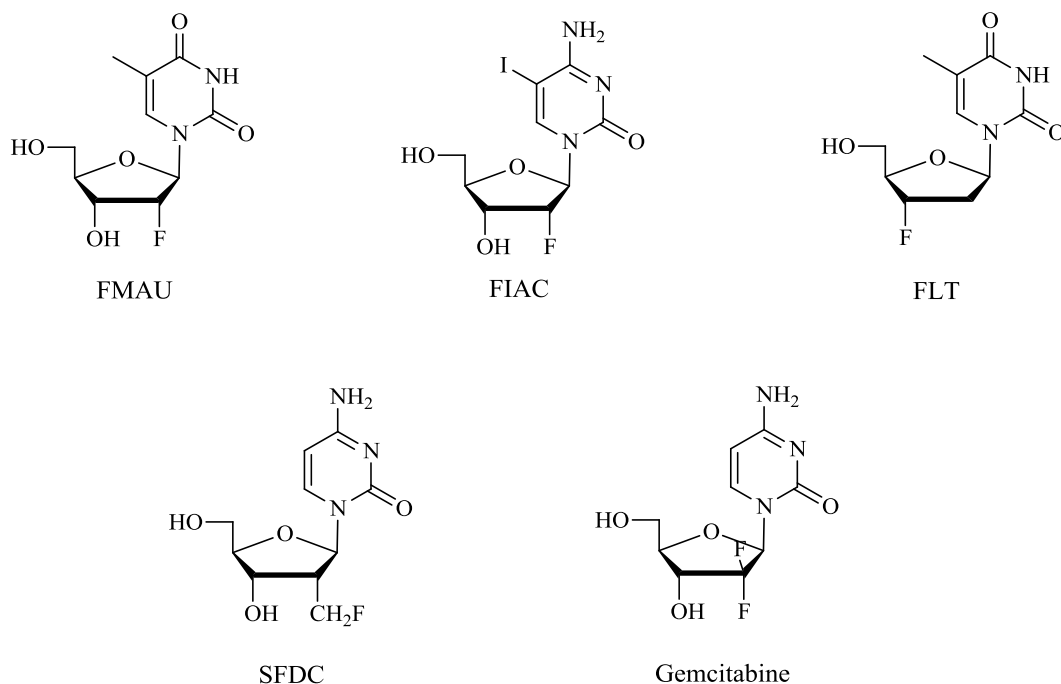
## 1.7 Φουρανονουκλεοζίτες

Από τη στιγμή που ταυτοποιήθηκαν τα δομικά συστατικά των νουκλεϊνικών οξέων, αλλά και η βιολογική σπουδαιότητα τόσο του σακχαρικού (ριβόζη ή δεοξυριβόζη), όσο και του άγλυκου τμήματος (πυριμιδίνες ή πουρίνες), πλήθος ερευνητικών προγραμμάτων κατευθύνθηκαν προς τον σχεδιασμό και σύνθεση νουκλεοζιτών που φέρουν τροποποίηση στο τμήμα του φουρανικού δακτυλίου και στο τμήμα των νουκλεοβάσεων. Το αποτέλεσμα είναι να συντεθούν νουκλεοζίτες με αυξημένες αντικές και βιολογικές ιδιότητες. Από τις σημαντικότερες τροποποιήσεις που έχουν γίνει στο τμήμα της πεντόζης, είναι η εισαγωγή της τριφθορομεθυλο- και μεθυλο-ομάδας.

### 1.7.1 Τριφθορομεθυλο-φουρανονουκλεοζίτες

Πολύ λίγα πεδία στη χημεία έχουν ερευνηθεί και μελετηθεί τόσο εκτενώς όσο η χημεία του φθορίου, γεγονός που αποδεικνύεται από τον μεγάλο όγκο των δημοσιεύσεων και τον αριθμό των φθοριομένων μορίων, τα οποία έχουν συντεθεί τις τελευταίες δεκαετίες. Το φθόριο είναι το πλέον ηλεκτραρνητικό στοιχείο του περιοδικού πίνακα. Όταν αντικαθιστά ένα υδρογόνο μεταβάλλει τις στερεοχημικές και ηλεκτρονιακές ιδιότητες των μορίων, επιδρά στην βασικότητα ή οξύτητα των γειτονικών ομάδων και δημιουργεί διπολικά συστήματα. Επηρεάζει, με λίγα λόγια, την συνολική συμπεριφορά των μορίων όσον αφορά στην δραστικότητα και την σταθερότητα τους (Ojima *et al.*, 1996, Soloshonok 2005). Οι παραπάνω ιδιότητες του φθορίου συνέβαλλαν στο να συντεθούν νουκλεοζίτες οι οποίοι φέρουν άτομα φθορίου ή ομάδες που περιέχουν φθόριο, τόσο στο τμήμα του σακχάρου όσο και στο τμήμα της βάσης, δημιουργώντας μόρια με αυξημένες βιολογικές ιδιότητες καθώς και αυξημένη σταθερότητα. Χαρακτηριστικά τέτοια μόρια είναι τα 2'-φθορο-5-μεθυλο-β-D-αραβινοφουρανοουρακίλη (L-FMAU) (Chu *et al.*, 1995), 1-(2'-δεοξυ-2'-φθορο-β-D-αραβινοφουρανοζυλο)-5-ιωδοουρακίλη (FIAC) (Watanabe *et al.*, 1979), 3'-δέοξυ-3'-φθόρο-θυμιδίνη (FLT) (Etzold, *et al.*, 1971) 1-(2'-δέοξυ-2'-C-φθορομεθυλο-β-D-αραβινοφουρανοζυλο)κυτοσίνη (SFDC) (Yoshimura *et al* 1994), 1-(2-δεοξυ-2,2-

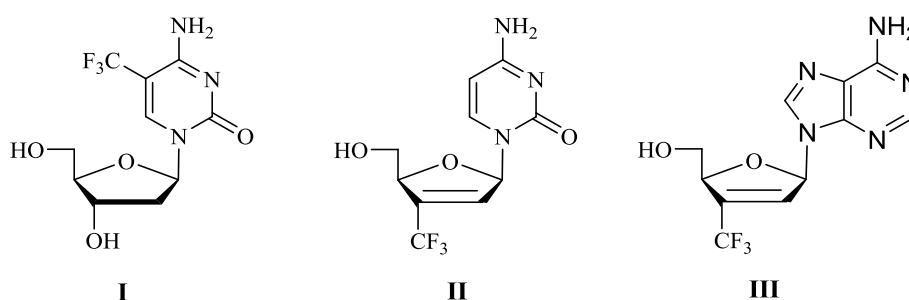
διφθορο-D-ριβοφουρανόζυλο)κυτοσίνη (gemcitabine) (Hertel *et al.*, 1988), τα οποία επέδειξαν εξαιρετικές αντιικές ή αντικαρκινικές ιδιότητες (Σχήμα 8).



**Σχήμα 8. Φθοριομένοι νουκλεοζίτες**

Η τριφθορομεθυλο-ομάδα εμφανίζεται σε πολλές βιολογικά δραστικές φαρμακευτικές και αγροχημικές ενώσεις. Το μέγεθος τις τριφθορομεθυλο-ομάδας είναι συγκρίσιμο με αυτό των ισο-προπυλο και *τερτ*-βουτυλο-ομάδων προσδίδοντας αυξημένη λιποφιλικότητα στο μόριο, η οποία είναι σημαντικό στοιχείο στο σχεδιασμό βιολογικών ενώσεων επειδή, ελέγχει την απορρόφηση, την μεταφορά ή την αλληλεπίδραση με τους υποδοχείς, διευκολύνοντας την είσοδο του μορίου δια μέσου της κυτταρικής μεμβράνης στο εσωτερικό του κυττάρου (Miethchen 2004, Seebach 1990). Η περίπου ίδια ηλεκτραρνητικότητα, της τριφθορομεθυλο-ομάδας, με εκείνη του οξυγόνου, την καθιστά ιδανική ομάδα για δημιουργία δεσμών υδρογόνου αυξάνοντας την μεταβολική σταθερότητα του μορίου (Huheey, J. E. 1965). Η αυξημένη λιποφιλικότητα και η μεγαλύτερη μεταβολική σταθερότητα, της τριφθορομεθυλο-ομάδας, σε σύγκριση με αυτή της τριμεθυλο-ομάδας, συχνά οδηγεί σε βελτίωση της βιολογικής δράσης των μορίων. Από τα σημαντικότερα νουκλεοζιτικά ανάλογα τα οποία φέρουν την τριφθορομεθυλο ομάδα στον σκελετό τους είναι η 5-τριφθορομεθυλο-2-δεοξυκυτιδίνη (I) (Σχήμα 9), η οποία έχει αντιικές ιδιότητες ιδιαίτερα έναντι του ιού του απλού έρπητα (HSV) ( Barletta *et al.*, 1992, De

Clercq *et al.*, 2004). Επίσης, η 5-τριφθορομεθυλο-2-δεοξυκυστιδίνη, αποδείχθηκε ότι, σε συνδυασμό με την τετραυδροουριδίνη, έχει σημαντική αντικαρκινική δράση έναντι του αδενοκαρκινώματος 755 και του όγκου των πνευμόνων τύπου Lewis, σε ιδιαίτερα χαμηλές συγκεντρώσεις (Mekras *et al.*, 1985). Μερικά ακόμη παραδείγματα νουκλεοζιτών που φέρουν την τριφθορομεθυλο ομάδα, είτε στο τμήμα του σακχάρου, είτε στο τμήμα της βάσης και εμφάνισαν σημαντική βιολογική δράση είναι τα: 3'-τριφθορομεθυλο-2',3'-διδεϋδρο-2',3'-διδεοξυκυστιδίνη (II) και 3'-τριφθορομεθυλο-2',3'-διδεϋδρο-2',3'-διδεοξαδενίνη (III) (Σχήμα 9) έναντι του ιού της ηπατίτιδας Β (HBV) (Jeannot *et al.*, 2002).



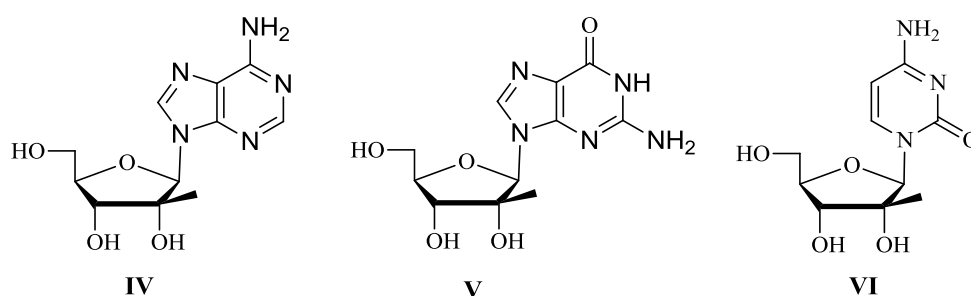
Σχήμα 9. Τριφθορομέθυλο νουκλεοζίτες με αντι-HBV δράση

### 1.7.2 Μεθυλο-νουκλεοζίτες

Τα τελευταία χρόνια, οι ερευνητές έχουν εστιάσει το ενδιαφέρον τους σε νουκλεοζίτες που φέρουν διακλαδισμένη αλυσίδα στο τμήμα του σακχάρου και φαίνεται να έχουν ιδιαίτερες βιολογικές ιδιότητες (Manuprasad *et al.*, 2011). Μερικά από αυτά τα ανάλογα έχει αποδειχθεί ότι παρουσιάζουν ένα πολύ ενδιαφέρον φάσμα αντιικών και αντικαρκινικών ιδιοτήτων (Vanheusden *et al.*, 2003, Lin *et al.*, 1993). Από τις διάφορες τροποποιήσεις που έχουν κατά καιρούς ερευνηθεί, η εισαγωγή της μεθυλο-ομάδας στο μόριο ενός νουκλεοζίτη παρουσιάζει έντονο ενδιαφέρον λόγω του μικρού μεγέθους, της μεγάλης λιποφιλικότητας και της μεταβολικής σταθερότητας που προσδίδει στο μόριο.

Οι πρώτοι 2'-C-μέθυλο νουκλεοζίτες συντέθηκαν στα ερευνητικά εργαστήρια της Merck, και επρόκειτο για τους 2'-C-μεθυλαδενοσίνη (IV) και 2'-C-μεθυλογουανοσίνη (V) (Σχήμα 10). Οι δύο αυτοί νουκλεοζίτες επέδειξαν ισχυρή δράση έναντι της οικογένειας των φλαβοϊών και ιδιαίτερα έναντι του ιού της ηπατίτιδας C (HCV) (Eldrup *et al.*, 2004), όπως επίσης και έναντι των ιών της

οικογένειας Picornaviridae και της οικογένειας Caliciviridae (Lefebvre *et al.*, 2014, Rocha-Pereira *et al.*, 2012, Rocha-Pereira *et al.*, 2013), υποδηλώνοντας μια ευρέως φάσματος ανασταλτική ικανότητα των συγκεκριμένων μορίων. Η εισαγωγή της μεθυλο-ομάδας σε  $\beta$  θέση στον άνθρακα 2 (2'-C) του σακχάρου φαίνεται να αποτελεί σημαντικό δομικό στοιχείο που οδηγεί σε ιδιαίτερα υψηλή αναστολή των ιών που προέρχονται από ψύλλους (Eyer *et al.*, 2015). Επίσης ο νουκλεοζίτης της 2'-C-μεθυλοκυστιδίνης (VI) έχει αποδειχθεί ότι αναστέλλει την αντιγραφή του RNA του ιού της ηπατίτιδας C (HCV), μέσω της αλληλεπίδρασης με την πολυμεράση του ιού (Carroll *et al.*, 2011) (Σχήμα 10).

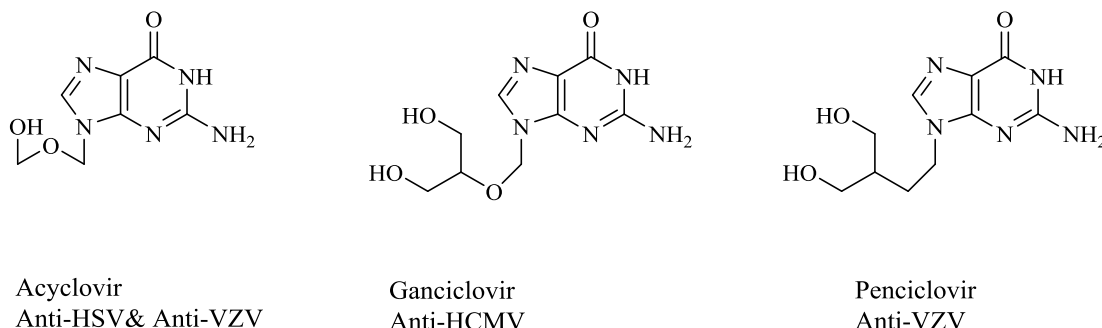


Σχήμα 10. 2'-C-μεθυλονουκλεοζίτες

### I.8 Άκυκλοι νουκλεοζίτες

Η σύνθεση της ακυκλοβίρης (acyclovir, ACV) 9-(2-υδροξυθοξυμεθυλο)γουανίνη (Σχήμα 11) και η ανακάλυψη των σημαντικών αντιικών ιδιοτήτων της προανήγγειλε μια νέα εποχή στον τομέα της αντιϊκής θεραπείας (Elion *et al.*, 1975), αυτή της σύνθεσης μιας νέας τάξης νουκλεοζιτών, τους άκυκλους νουκλεοζίτες με ιδιαίτερες βιολογικές ιδιότητες έναντι μιας πληθώρας ιών. Άκυκλοι νουκλεοζίτες είναι μία τάξη νουκλεοζιτών στους οποίους ο φουρανικός δακτύλιος έχει διανοιχτεί ή αντικατασταθεί από διάφορα άκυκλα τμήματα. Η ακυκλοβίρη είναι ιδιαίτερα δραστική έναντι του ιού του απλού έρπητα (HSV), εμποδίζοντας την αντιγραφή του ιού, αλληλεπιδρώντας με την DNA πολυμεράση, αφού πρώτα μεταβολιστεί προς την ενεργή τριφωσφορική του δομή, διακόπτοντας τη σύνθεση του DNA του ιού. Η περιορισμένη αντιϊκή δράση της ακυκλοβίρης έναντι του κυτταρομεγαλοϊού (HCMV) και του έρπητα ζωστήρα (VZV), οδήγησε τους ερευνητές στην τροποποίηση του άκυκλου τμήματός της. Η πρώτη τροποποίηση περιελάμβανε την αύξηση της αλυσίδας με την προσθήκη μίας υδροξυμεθυλο-ομάδας συντέθηκε η γκανσικλοβίρη (Σχήμα 11), η οποία αποδείχτηκε ιδιαίτερα δραστική έναντι του

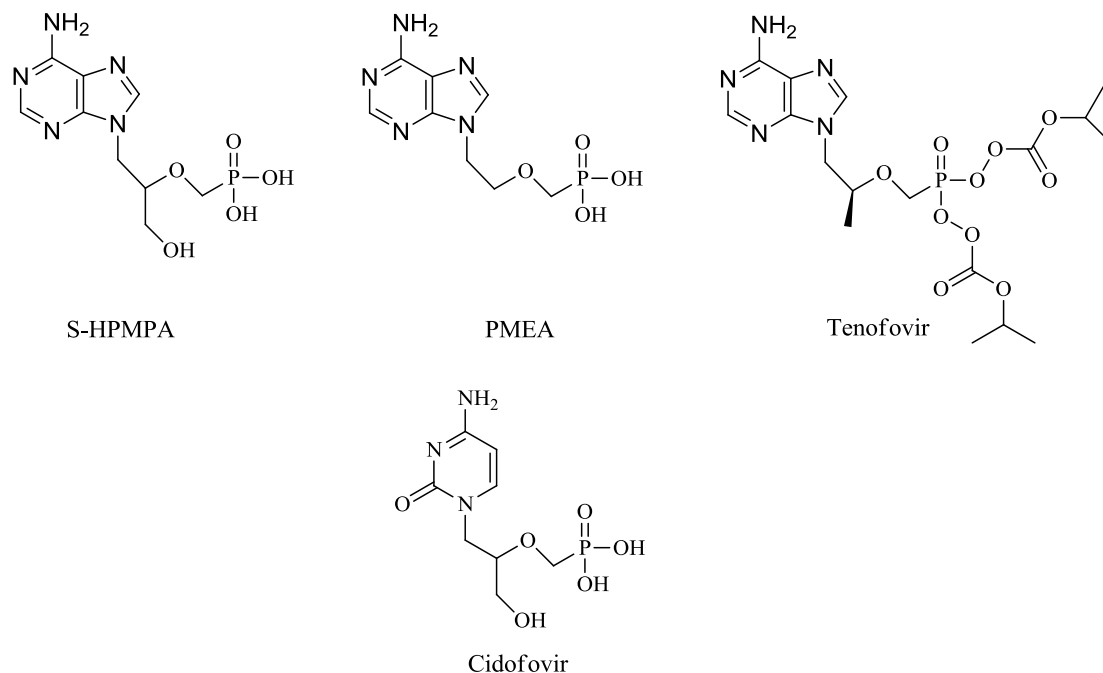
HCMV (Field *et al.*, 1983, Smee *et al.*, 1983), ενώ αντικαθιστώντας το αιθερικό οξυγόνο με μία μέθυλενο-ομάδα, στο άκυκλο τμήμα της γκανσυκλοβίρης, συντέθηκε η πενσυκλοβίρη (Σχήμα 11) η οποία δρα έναντι του ιού VZV (Boyd *et al.*, 1987).



### Σχήμα 11: Ακυκλοβίρη, γκανσυκλοβίρη, πενσυκλοβίρη

Μία ακόμη σημαντική ομάδα άκυκλων νουκλεοζιτών είναι οι νουκλεοζίτες στους οποίους μια φωσφονική ομάδα συνδέεται σε μία πουρίνη ή πυριμιδίνη μέσω μιας αλειφατικής αλυσίδας και την μεσολάβηση ενός αιθερικού δεσμού (ANPs). Αυτή η ομάδα των νουκλεοζιτών μπορεί να χωριστεί σε τρεις μεγάλες κατηγορίες, σε ANPs που δρουν έναντι DNA ιών, σε εκείνους που δρουν εναντίον DNA και RNA ιών και σε αυτούς που δρουν μόνο εναντίον RNA ιών. Στην πρώτη κατηγορία, μερικά από τα σημαντικότερα ανάλογα, είναι η (S)-9-[3-υδροξυ-2-(φωσφονομεθοξυ)προπυλ]αδενίνη [(S)-HPMPA] (Σχήμα 12), η οποία εμφανίζει δράση έναντι μιας σειράς DNA ιών συμπεριλαμβανόμενων των, απλού ιού του έρπητα τύπου 1 και 2 (HSV-1, HSV-2) (Andrei *et al.*, 1991, Andrei *et al.*, 1992) του ιού Epstein-Barr (Lin *et al.*, 1987), του ανθρώπινου αδενοϊού (Reymen *et al.*, 1995), ενώ το αντίστοιχο ανάλογο της κυτοσίνης (cidofovir) (Σχήμα 12) δρα εκλεκτικά έναντι του κυτταρομεγαλοϊού (CMV) (Pauwels *et al.*, 1988). Στη δεύτερη κατηγορία ανήκει το γνωστό φάρμακο αδεφοβίρη (PMEA) (Σχήμα 12) που δρα τόσο έναντι των ιών του έρπητα (HSV-1, HSV-2 και VV) και του ιού της ηπατίτιδας B (HBV) (Heijntink *et al.*, 1993), όσο και έναντι μιας πληθώρας ρετροϊών, όπως του ιού της ανθρώπινης ανοσοποιητικής ανεπάρκειας HIV τύπου 1 και 2 (HIV-1, HIV-2) (Aduma *et al.*, 1995, Balzarini *et al.*, 1989). Η τρίτη κατηγορία ANP χαρακτηρίζεται από μικρή ή καθόλου δραστηριότητα έναντι των ιών DNA, αλλά δείχνει έντονη και επιλεκτική δραστηριότητα κατά ρετροϊών και του HBV. Εκπροσωπείται από το

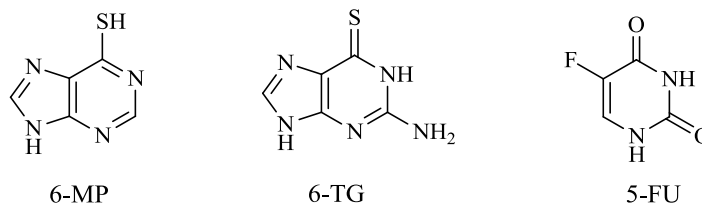
εγκεκριμένο φάρμακο τενοφοβίρη (Σχήμα 12), το οποίο δρα έναντι του ιού HIV (Balzarini *et al.*, 1996).



Σχήμα 12 : ANP άκυκλοι νουκλεοζίτες

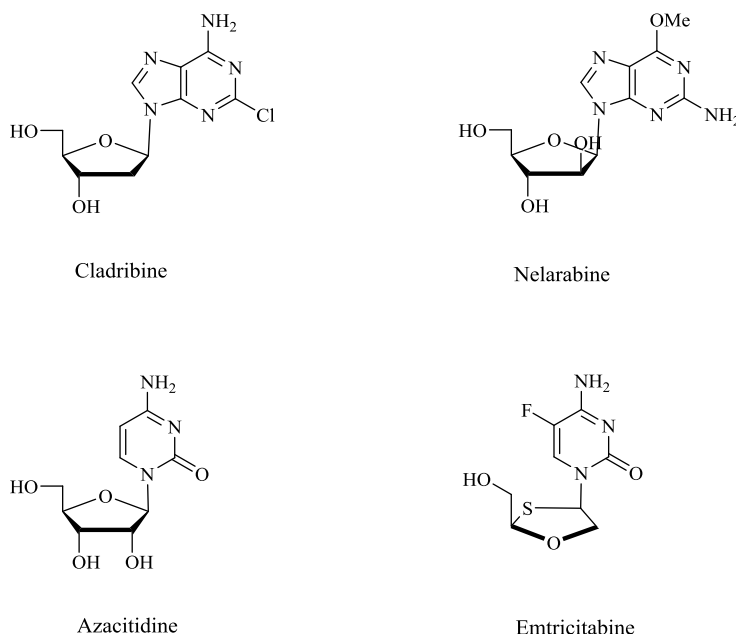
### 1.9 Τροποποιημένοι στη βάση νουκλεοζίτες

Μία ακόμη σημαντική κατηγορία με σημαντικές βιολογικές ιδιότητες είναι οι τροποποιημένες νουκλεοβάσεις και τα νουκλεοζιτικά ανάλογα που φέρουν τροποποίηση στην ετεροκυκλική βάση. Παραδείγματα τροποποιημένων νουκλεοβάσεων αποτελούν η 6-θειογουανίνη (6-TG) και η 6-μερκαπτοπουρίνη (6-MP) (Walko 2009) (Σχήμα 13), οι οποίες δρουν ως αντιμεταβολίτες αναστέλλοντας την σύνθεση του DNA και RNA. Χρησιμοποιούνται στη θεραπεία της λευχαιμίας και αυτοάνοσων διαταραχών, ενάντια της κολίτιδας, της ψωρίασης και της ρευματοειδούς αρθρίτιδας και παραμένουν πολύτιμοι παράγοντες για την επαγωγή και διατήρηση της ύφεσης σε ασθενείς με μυελοκυτταρική και οξεία λεμφοκυτταρική λευχαιμία (McLeod *et al.*, 1999, Relling *et al.*, 1999, Karran 2006). Επίσης η 5-φθοροουρακίλη (5-FU) (Σχήμα 13), η οποία συντέθηκε το 1960 (Barton *et al.* 1960) και από τότε έως σήμερα αποτελεί το σημαντικότερο αντικαρκινικό φάρμακο για την θεραπεία του καρκίνου του παχέος εντέρου, αναστέλλοντας τη συνθετάση της θυμιδικής συνθάσης (TS) (Parker και Cheng 1990).



**Σχήμα 13: Τροποποιημένες νουκλεοβάσεις**

Κάποια από τα σημαντικότερα νουκλεοζιτικά ανάλογα που φέρουν τροποποιήσεις στην ετεροκυκλική βάση είναι η: 2-χλωροδεοξυαδενοσίνη (2-CdA, Cladribine) (Σχήμα 14), δραστική σε επιλεγμένους κυτταρικούς τύπους και παρέχει στοχευμένη και παρατεταμένη μείωση των κυκλοφορούντων λεμφοκυττάρων T και B που εμπλέκονται στην παθογένεση της σκλήρυνσης κατά πλάκας (MS) (Leist *et al.*, 2007), η 4-αμινο-1-β-D-ριβοφουρανόζυλο-1,3,5-τριαζιν-2-όνη (5-Azacytidine) (Σχήμα 14), που χρησιμοποιείται συνήθως έναντι του μυελοδυσπλαστικού συνδρόμου (Čihac, 1974) και σε μερικές περιπτώσεις έναντι της οξείας μυελώδους λευχαιμίας (Estey, 2013), η 2',3'-διδεοξυ-5-φθορο-3'-θειοκυσιδίνη (Emtricitabine) (Σχήμα 14), που δρα ως αναστολέας της αντίστροφης μεταγραφάσης και χρησιμοποιείται στη θεραπεία του HIV (Liotta and Painter, 2016), η 2-(2-αμινο-6-μεθοξυπουρινη-9-υλο)-5-(υδροξυμεθυλο)οξολαν-3,4-διόλη (Nelarabine) (Σχήμα 14), που χρησιμοποιείται για την θεραπεία της οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας και έναντι του λεμφοβλαστικού λεμφώματος T-κυττάρων (Cohen *et al.*, 2008).

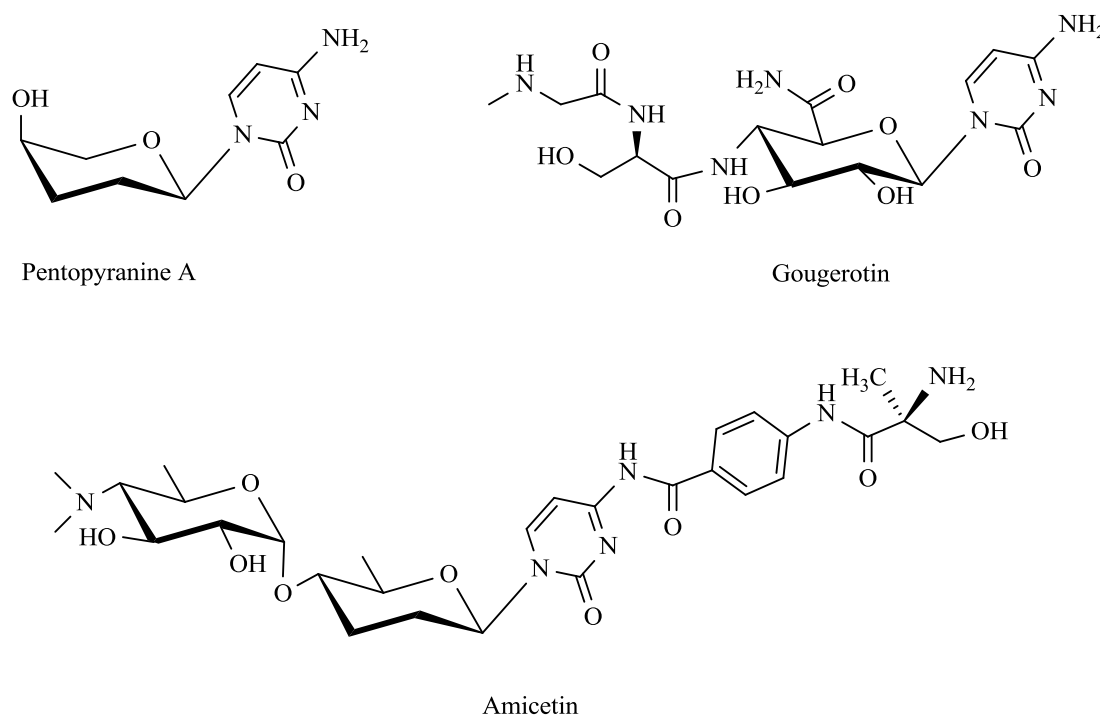


**Σχήμα 14: Τροποποιημένοι στη βάση νουκλεοζίτες**



## I.10 Πυρανονουκλεοζίτες

Ο πρώτος νουκλεοζίτης που συντέθηκε για πρώτη φορά μέσα σε εργαστήριο ήταν ένα πυρανονουκλεοζιτικό ανάλογο η  $N^9$ -( $\beta$ -D-γλυκοπυρανοζυλ)αδενίνη (Fischer και Helferich, 1914). Πολλά φυσικά αντιβιοτικά αποτελούνται από νουκλεοζίτες που το τμήμα του σακχάρου τους είναι ένας πυρανοζικός δακτύλιος (Watanabe *et al.*, 1974, Antonakis *et al.*, 1989), όπως 1-(2',3'-διδεοξυ- $\alpha$ -L-γλυκεροπεντοπυρανοζυλο)κυτοσίνη ή (pentopyranine A), η αμισετίνη (amicetin) και η γουγεροτίνη (gougerotin) (Σχήμα 15).

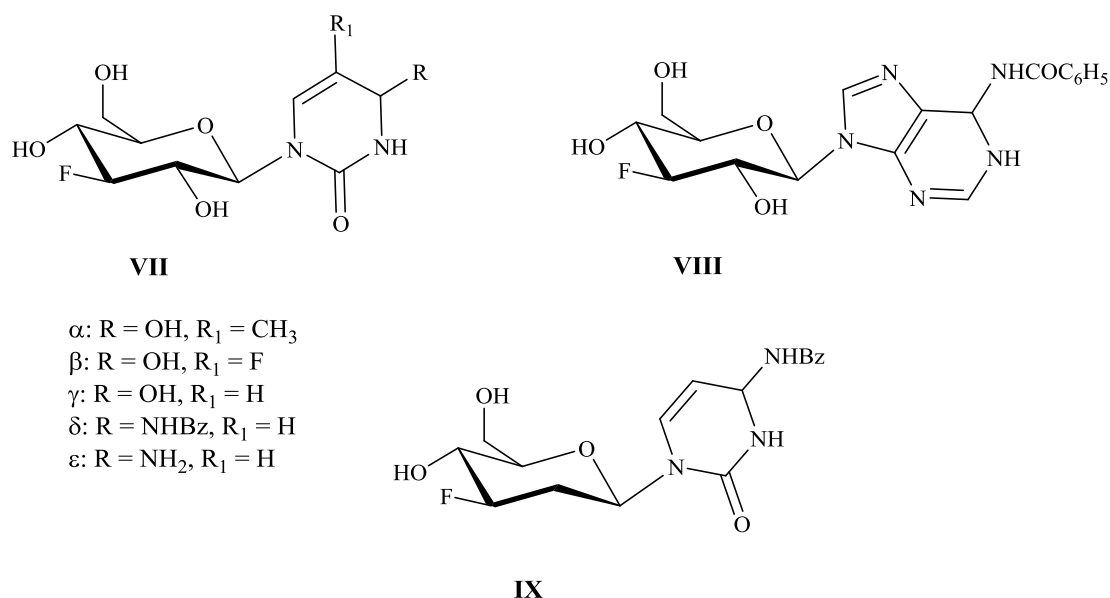


**Σχήμα 15: Πυρανονουκλεοζίτες με αντιβιοτική δράση**

Μετά την ανακάλυψη της αντιβιοτικής δράσης των φυσικών πυρανονουκλεοζιτών και την διαπίστωση της ανθεκτικότητας στην υδρόλυση των νουκλεοζιτών με εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο, πλήθος πυρανονουκλεοζιτών συντέθηκαν με στόχο νέες ενώσεις με αυξημένες αντιβιοτικές (Verheggen *et al.*, 1995, Maurinsh *et al.*, 1997, Ostrowski *et al.*, 1998), αντικαρκινικές (Dimoroulou *et al.*, 2013, Mane *et al.*, 2011, Manta *et al.*, 2012), αντιβιοτικές (Haouz *et al.*, 2003, Stauffer *et al.*, 2009) και αντιοξειδωτικές ιδιότητες (Spanou *et al.*, 2007, Spanou *et al.*, 2011). Από τις σημαντικότερες τροποποιήσεις που έχουν γίνει στον εξαμελή υδατανθρακικό

δακτύλιο περιλαμβάνουν την εισαγωγή κετο-, εξωμεθυλο-, φθορο-ομάδων καθώς και την αντικατάσταση ενός υδροξυλίου από υδρογόνο.

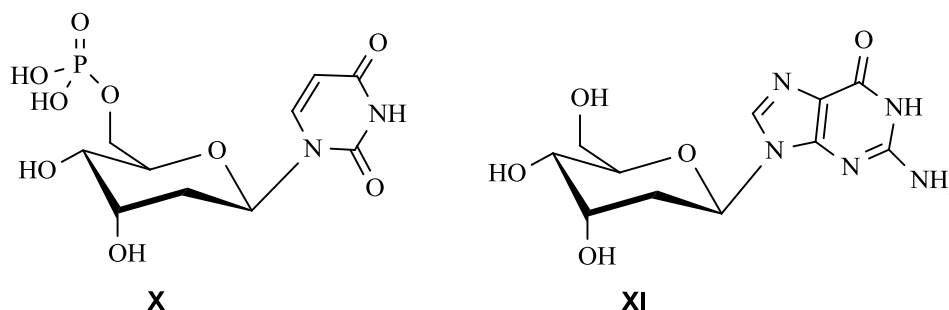
Συγκεκριμένα οι κετο- και εξωμεθυλο-πυρανονουκλεοζίτες της 5-φθοροουρακίλης δρουν ως προφάρμακα της 5-φθοροουρακίλης έχοντας σαν κύριο στόχο την συνθετάση του θυμιδυλικού επάγοντας έτσι την κυτταροστατική τους δράση (Tzioumaki *et al.*, 2009, Tzioumaki *et al.*, 2011). Η εισαγωγή του ηλεκτραρνητικού ατόμου φθορίου στον πυρανοζικό δακτύλιο και ιδιαίτερα στην 3'-θέση του σακχάρου, οδήγησε σε μια νέα σειρά πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων **VIIα-δ** και **VIII** (Σχήμα 15), οι οποίοι επέδειξαν σημαντική δράση ως αναστολείς του ενζύμου της πολυ(Α)-εξειδικευμένης ριβονουκλεάσης (PARN), η οποία αποτελεί ένζυμο-κλειδί στην αποικοδόμηση του mRNA μέσω της βράχυνσης της πολυ(Α) ουράς του (Balatsos *et al.*, 2009), με τον νουκλεοζίτη της ουρακίλης **VIIγ** να αποτελεί τον πλέον αποτελεσματικό αναστολέα (Σχήμα 16) (Balatsos *et al.*, 2012). Επίσης οι πυρανονουκλεοζίτες **VIIβ-ε**, **IX**, (Σχήμα 16) επέδειξαν σημαντική δράση ως ανταγωνιστικοί αναστολείς της φωσφορυλάσης του μυϊκού γλυκογόνου (GP) (Tsirkone *et al.*, 2010), η οποία αποτελεί ένζυμο κλειδί για την βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου στον διαβήτη τύπου 2.



**Σχήμα 16:** 3'-Φθόριωμένοι-γλυκο- πυρανονουκλεοζίτες

Τέλος, η αντικατάσταση ενός υδροξυλίου από ένα άτομο υδρογόνου σε μία ή και περισσότερες θέσεις του σακχάρου, οδήγησε σε δεοξυπυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα που εμφάνισαν σημαντική βιολογική δράση. Μελέτες που

πραγματοποιήθηκαν σε πουρινικούς και πυριμιδινικούς 2'-δεοξυπυρανονουκλεοζίτες απέδειξαν ότι το μονοφωσφορυλιωμένο ανάλογο της ουρακίλης **X** και το ανάλογο της γουανίνης **XI** διαθέτουν ενδιαφέρουσες αντιικικές και αντικαρκινικές ιδιότητες, αντίστοιχα (Nord *et al.* 1987) (Σχήμα 17).



**Σχήμα 17:** 2'-δεοξυ πυρανονουκλεοζίτες

### I.11 Στόχοι της παρούσας διατριβής

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, πλήθος νουκλεοζιτών με τροποποιήσεις τόσο στο τμήμα του σακχάρου όσο και στο τμήμα της ετεροκυκλικής βάσης, χρησιμοποιούνται ως φάρμακα για την αντιμετώπιση διάφορων μορφών καρκίνου όπως επίσης και έναντι ιικών μολύνσεων. Παρόλα τα σημαντικά αυτά επιτεύγματα, η ανάγκη για την εύρεση νέων φαρμακευτικών ουσιών με αυξημένη βιολογική δράση, ελαττωμένη τοξικότητα και λιγότερες ανοσοκατασταλτικές παρενέργειες, οδήγησε στην σύνθεση και μελέτη νέων νουκλεοζιτικών αναλόγων με καλύτερες βιολογικές ιδιότητες.

Ο σχεδιασμός των μορίων, τα οποία συντέθηκαν στα πλαίσια της συγκεκριμένης διατριβής, βασίστηκε στα παρακάτω δεδομένα:

- A) Οι νουκλεοζίτες, οι οποίοι φέρουν την τριφθορομεθυλο-ομάδα ως διακλαδισμένη αλυσίδα εμφανίζουν αυξημένη μεταβολική σταθερότητα βελτιωνοντας την βιολογική τους δράση.
- B) Οι νουκλεοζίτες, οι οποίοι φέρουν την μέθυλο-ομάδα ως διακλαδισμένη αλυσίδα στο τμήμα της φουρανόζης εμφανίζουν έντονο φαρμακολογικό ενδιαφέρον.
- Γ) Τα τροποποιημένα νουκλεοζιτικά ανάλογα με πενταμελή και εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο έχουν επιδείξει σημαντική αντικαρκινική, αντιϊκή,

αντιβιοτική και αντιοξειδωτική δράση, ενώ μια ιδιαίτερος ενδιαφέρουσα υποκατηγορία τους αποτελούν οι δεοξυ νουκλεοζίτες.

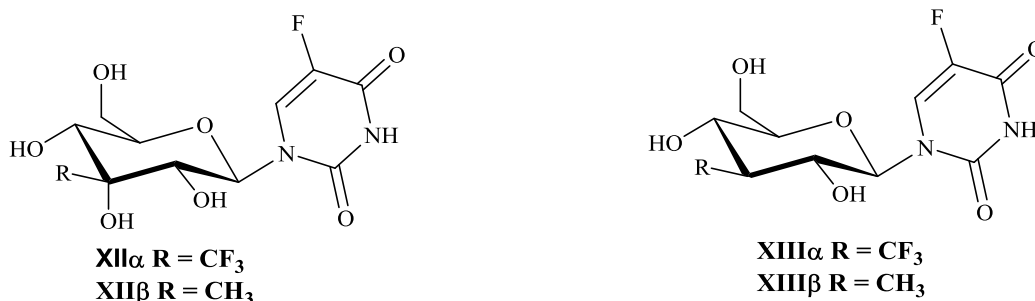
Δ) Νουκλεοζίτες με άκυκλο τμήμα συνδεδεμένο σε μία ετεροκυκλική βάση εμφανίζουν ιδιαίτερες βιολογικές ιδιότητες.

Ε) Οι C5-υποκατεστημένοι νουκλεοζίτες πυριμιδίνης έχουν ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες (αντιϊκές και αντικαρκινικές).

Με βάση τα ανωτέρω, η παρούσα διατριβή εστιάστηκε στο σχεδιασμό, τη σύνθεση και τη βιολογική αποτίμηση νέων νουκλεοζιτικών αναλόγων με τροποποιήσεις τόσο στο τμήμα του σακχάρου όσο και στο τμήμα της ετεροκυκλικής βάσης της ουρακίλης, καθώς και άκυκλοι νουκλεοζίτες με τροποποίηση στη βάση της ουρακίλης.

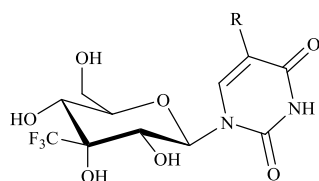
Πιο συγκεκριμένα οι ενώσεις που συντέθηκαν απεικονίζονται παρακάτω:

Α) 3'-C-Τριφθορομεθυλο- (XIIα), 3'-C-μεθυλο- (XIIβ) και 3'-C-τριφθορομεθυλο- (XIIIα), 3'-C-μεθυλο- (XIIIβ) -3'-δεοξυπυρανονουκλεοζίτες της 5-φθοροουρακίλης (Σχήμα 18).



Σχήμα 18

Β) C5 τροποποιημένοι 3'-C-τριφθορομεθυλο-πυρανονουκλεοζίτες της ουρακίλης 17 (Σχήμα 19).

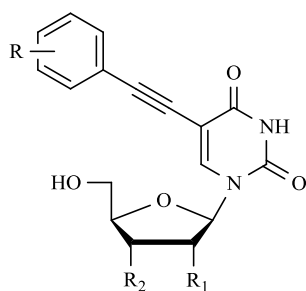


XXα-ε

- α: R = 1-ethynyl-2-fluorobenzene  
 β: R = 1-ethynyl-2-chlorobenzene  
 γ: R = 1-ethynyl-2,5-dimethylbenzene  
 δ: R = 1-ethynyl-2,4,5-trimethylbenzene  
 ε: R = 1-ethynyl-3,4,5-trimethoxybenzene

### Σχήμα 19

Γ) C5 τροποποιημένοι 3'-δεοξυ- (**XXVε-η**, **XXVIβ**), 3'-μεθυλο-3'-δεοξυ- (**XXVθ-ιβ**, **XXVIγ**), 2'-δεοξυ- (**XXVIγ-ιβστ**, **XXVIδ**), ριβοφουρανο νουκλεοζίτες (**XXVa-δ**, **XXVIβ**) της συρακίλης **α-ιστ** (Σχήμα 20).



XXVα-ιστ

α: R = 2-F, R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = OH

β: R = 2-Cl, R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = OH

γ: R = 2,5-CH<sub>3</sub>, R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = OH

δ: R = 2,4,5-CH<sub>3</sub>, R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = OH

ε: R = 2-F, R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = H

στ: R = 2-Cl, R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = H

ζ: R = 2,5-CH<sub>3</sub>, R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = H

η: R = 2,4,5-CH<sub>3</sub>, R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = H

θ: R = 2-F, R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>

ι: R = 2-Cl, R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>

ια: R = 2,5-CH<sub>3</sub>, R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>

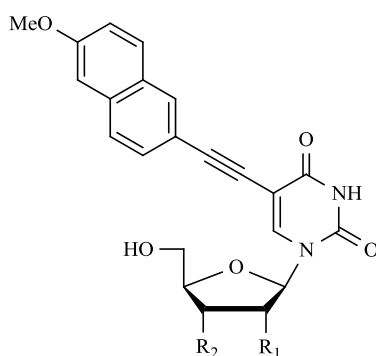
ιβ: R = 2,4,5-CH<sub>3</sub>, R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>

ιγ: R = 2-F, R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = OH

ιδ: R = 2-Cl, R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = OH

ιε: R = 2,5-CH<sub>3</sub>, R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = OH

ιστ: R = 2,4,5-CH<sub>3</sub>, R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = OH



XXVIα-δ

α: R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = OH

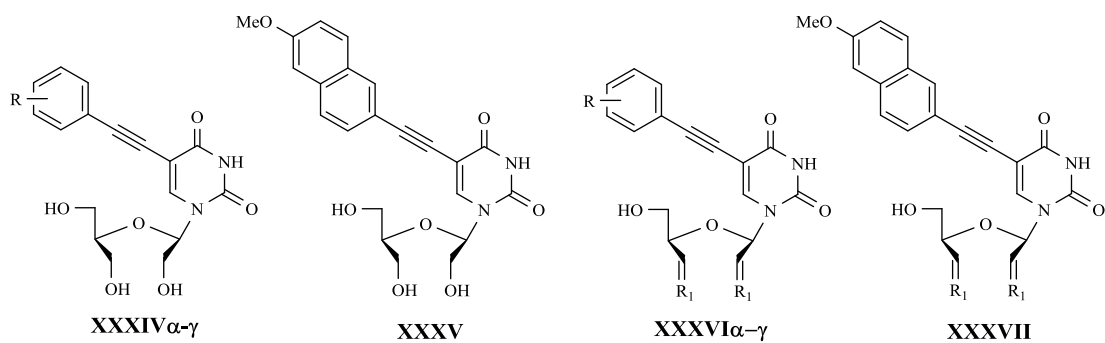
β: R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = H

γ: R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>

δ: R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = OH

### Σχήμα 20

Δ) C5τροποποιημένοι άκυκλοι νουκλεοζίτες της ουρακίλης XXXIV, XXXV, XXXVI, XXXVII (Σχήμα 21).



**R = ( $\alpha$ ) 2 - F, ( $\beta$ ) 2 - Cl, ( $\gamma$ ) 2,5 - CH<sub>3</sub>**

**R<sub>1</sub> = αιθοξυκαρβονυλμεθυλενιο**

**Σχήμα 21**

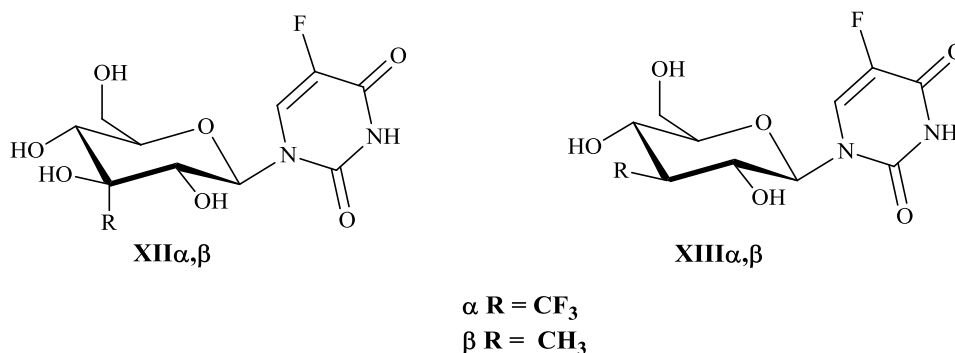
## II. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### II.1 Σύνθεση των 3'-C-τριφθορομεθυλο- και 3'-C-μεθυλο- πυρανονουκλεοζιτών της 5 φθοροουρακίλης και των αντίστοιχων 3'-δεοξυ αναλόγων τους.

Είναι γνωστό ότι μεταβολές στο τμήμα του σακχάρου των νουκλεοζιτών μπορεί να οδηγήσουν σε σημαντικές αλλαγές στο φάσμα της βιολογικής τους δραστηριότητας και στο βαθμό της επιλεκτικής τοξικότητας τους, καθώς και σε αλλαγές των φυσικοχημικών τους ιδιοτήτων (Ichikawa *et. al.*, 2001). Η εισαγωγή της τριφθορομέθυλο-ομάδας στο τμήμα του υδατανθρακικού δακτυλίου ενός νουκλεοζίτη αποτελεί εξαιρετική επιλογή για την ανακάλυψη νέων φαρμάκων. Ενώσεις οι οποίες φέρουν την τριφθορομέθυλο-ομάδα – όπως έχει αναφερθεί – αποκτούν καλύτερες φαρμακοκινητικές ιδιότητες όπως, αυξημένη ικανότητα εισόδου στο κύτταρο, αυξημένες υδροφοβικές ιδιότητες καθώς επίσης εμφανίζουν μειωμένη τοξικότητα τόσο στο περιβάλλον όσο και στους οργανισμούς. Επίσης η εισαγωγή της μέθυλο-ομάδας στο τμήμα του σακχάρου έχει οδηγήσει στη σύνθεση νουκλεοζιτών με αυξημένες βιολογικές ιδιότητες. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί ο νουκλεοζίτης 1-(3'-C-μεθυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)ουρακίλη-5'-φωσφορικό, ένα αποτελεσματικό μόριο το οποίο τερματίζει τη σύνθεση του RNA στην RNA πολυμεράση του βακτηρίου *E. coli* (Aivazashalli *et al.*, 1986).

Επιπρόσθετα, έχει αποδειχτεί ότι νέες τάξεις 3'-φθορο πυρανονουκλεοζιτών μπορούν να θεωρηθούν ελπιδοφόρες για την ανάπτυξη αντι-εντεροϊκών φαρμάκων, ενώ παρουσίασαν αξιοσημείωτη κυτταροτοξική δράση έναντι διαφόρων καρκινικών κυτταρικών σειρών (Manta *et al.*, 2007, Manta *et al.*, 2008, Tsoukala *et al.*, 2010). Με βάση τα παραπάνω, κρίθηκε ενδιαφέρουσα η σύνθεση νέων μορίων στα οποία το άτομο του φθορίου θα αντικατασταθεί από την επίσης ηλεκτραρνητική τριφθορομέθυλο-ομάδα και την φαρμακοφόρο μέθυλο-ομάδα. Ως εκ τούτου αποφασίστηκε, ο σχεδιασμός, η σύνθεση και η βιολογική αποτίμηση νέων 3'-C-τριφθορομεθυλο-, 3'-C-μεθυλο-, 3'-δεοξυ-3'-C-τριφθορομεθυλο- και 3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλο-πυρανονουκλεοζιτών, οι οποίοι θα φέρουν ως ετεροκυκλική βάση τη 5-φθοροουρακίλη (Ενώσεις **XII**, **XIII** σχήμα 22).

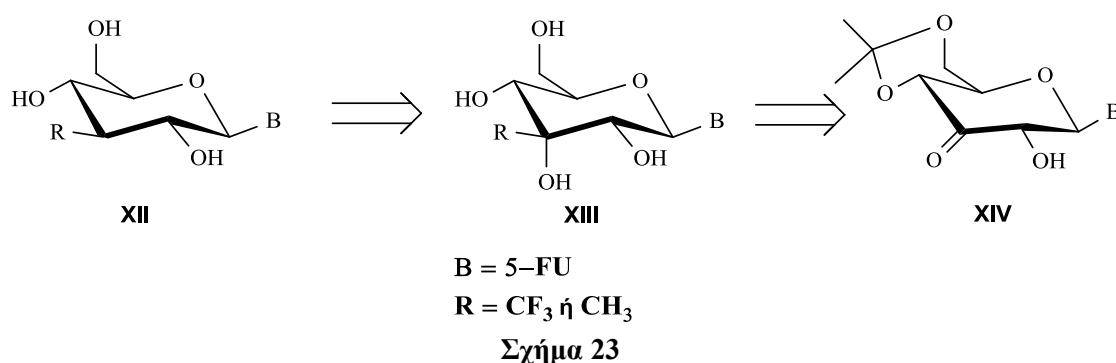




Σχήμα 22

Οι δύο κύριες συνθετικές στρατηγικές για τη σύνθεση τροποποιημένων νουκλεοζιτών στο τμήμα του σακχάρου περιλαμβάνουν, είτε την τροποποίηση του υδατανθρακικού δακτυλίου ενός νουκλεοζίτη που έχει ήδη συντεθεί, ή τη σύζευξη ενός κατάλληλα τροποποιημένου σακχάρου με την επιθυμητή νουκλεοβάση.

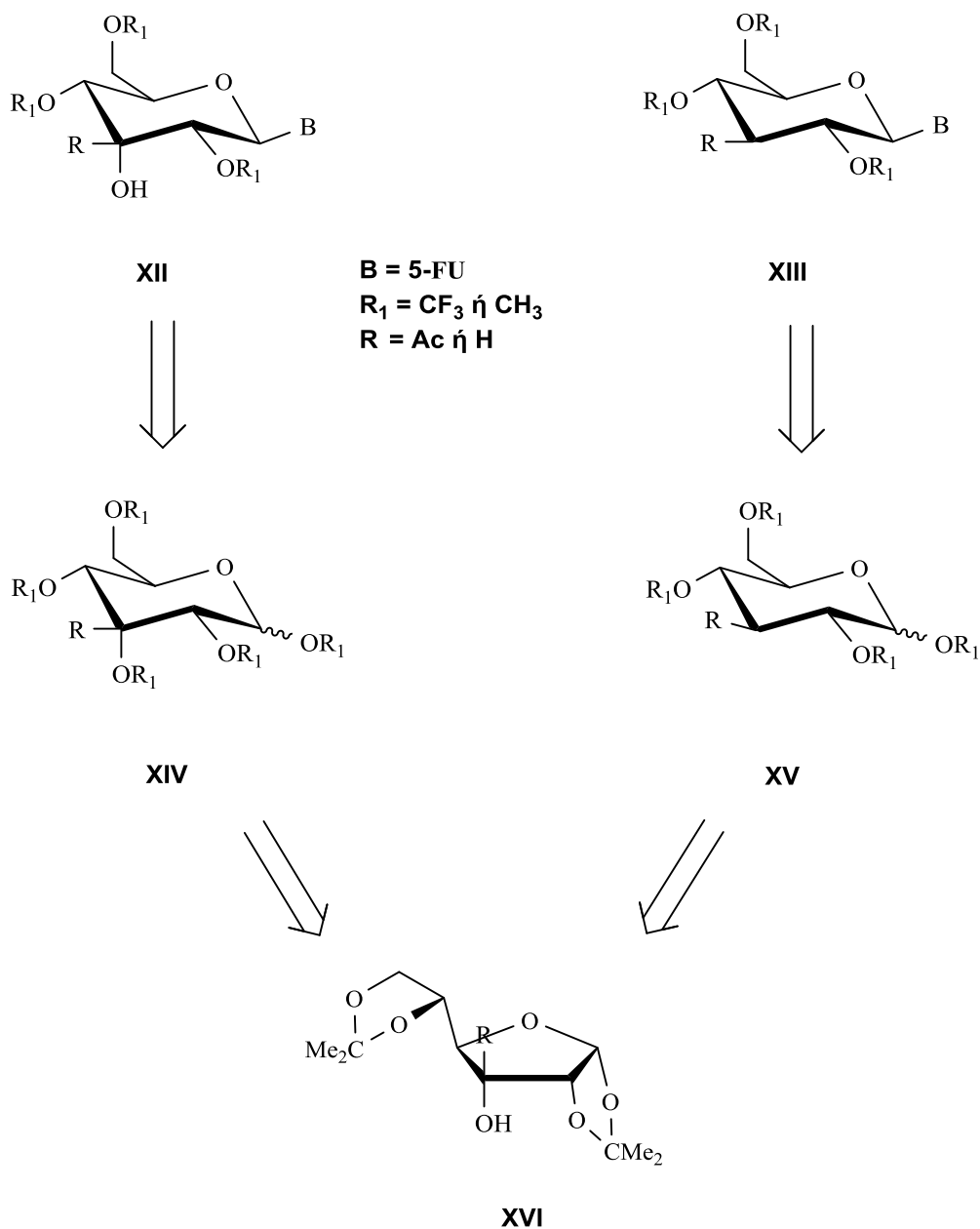
Με βάση την πρώτη προσέγγιση, η ρετροσυνθετική ανάλυση για την παρασκευή των επιθυμητών 3'-C-τριφθορομεθυλο-, 3'-C-μεθυλο-, 3'-δεοξυ-3'-C-τριφθορομεθυλο- και 3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλο-πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων **XII** και **XIII**, έχει ως πρόδρομη ένωση το αντίστοιχο 3'-κετοπυρανονουκλεοζίτη **XIV** (Σχήμα 23). Όμως, αφενός λόγω της αδυναμίας εκλεκτικής προστασίας της 2'-υδροξυλομάδας και αφετέρου λόγω του ότι οι 3'-κετονουκλεοζίτες είναι ασταθείς ενώσεις, που οδηγούν σε προϊόντα αποικοδόμησης (Chirakul και Sigurdsson 2003, Liu *et al.*, 2007), αυτή η προσέγγιση δεν είναι εφικτή.



Σχήμα 23

Για τους παραπάνω λόγους, επιλέχτηκε η δεύτερη προσέγγιση δηλαδή, η σύνθεση του 3-C-τριφθορομεθυλο-, 3-C-μεθυλο- και των αντίστοιχων 3-δεοξυ-σακχάρων και η εν συνεχεία συμπύκνωσή τους με την 5-φθοροουρακίλη, ώστε να σχηματιστούν οι επιθυμητοί 3'-C- και 3'-δεοξυ-3'-C-τριφθορομεθυλο- και μεθυλο-πυρανονουκλεοζίτες **XII** και **XIII**, αντίστοιχα. Επιπλέον, τα τριφθορομέθυλο και

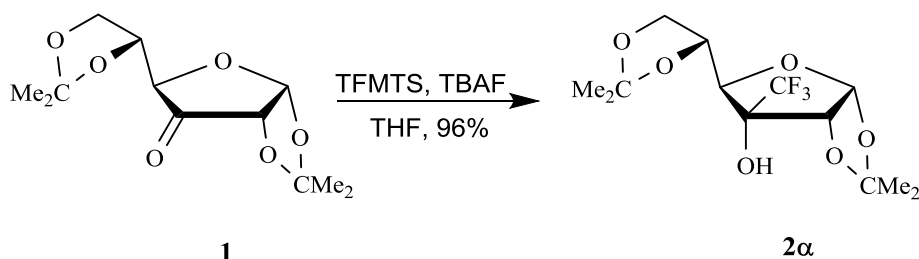
μέθυλο σάκχαρο **XIV** και **XV** μπορούν να προέλθουν από το αντίστοιχο σάκχαρο **XVI**, μέσω μιας απλής συνθετικής διαδικασίας (Σχήμα 24). Αξίζει να τονιστεί, ότι το σάκχαρο **XVI** με βάση τον παραπάνω σχεδιασμό διαθέτει την τριφθορομεθυλο- και την μεθυλο-ομάδα στην πάνω β-όψη του υδατανθρακικού δακτυλίου, ώστε να επιτευχθεί η επιθυμητή β-στεreoχημεία στα μόρια-στόχους **XII** και **XIII**.



Σχήμα 24

### Π.1.1 Σύνθεση της 1,2:5,6-δισ-*O*-ισοπροπυλιδενο-3-*C*-τριφθορομεθυλο- $\alpha$ -*D*-αλλοφουρανόζης (2 $\alpha$ )

Η πρώτη αντίδραση της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την πυρηνόφιλη προσθήκη της τριφθορομέθυλο ομάδας στην γνωστή ουλόζη (**1**) (Elhalabi *et al.*, 2004), χρησιμοποιώντας τριφθορομεθυλοτριμεθυλοσιλάνιο (TFMTS) παρουσία τετραβουτυλαμμωνιοφθορίου (TBAF) σε τετραϋδροφουράνιο (THF). Η αντίδραση καταλύεται από φθόριο και για τον λόγο αυτό απαιτείται περισσότερο από ένα ισοδύναμο TBAF για την σύνθεση της **2 $\alpha$** , αποφεύγοντας έτσι και την σύνθεση του προστατευμένου με τριμεθυλοσιλάνιο 3-OH της φουρανόζης (Johnson και Bhumralkar, 1995) (Σχήμα 25). Η αντίδραση προχωρά με εξαιρετική απόδοση (96%) και με πλήρη στερεοεκλεκτικότητα. Η δομή της αρχικής κετόνης εξασφαλίζει τον απόλυτο στερεοχημικό έλεγχο της αντίδρασης, καθώς η πυρηνόφιλη προσβολή της τριφθορομεθυλο ομάδας στην κετονομάδα γίνεται από την πάνω ( $\beta$ ) όψη του μορίου, λόγω της στερεοχημικής παρεμπόδισης του ογκώδους 1,2-*O*-ισοπροπυλιδενο-υποκαταστάτη (Lavaire *et al.*, 1996).

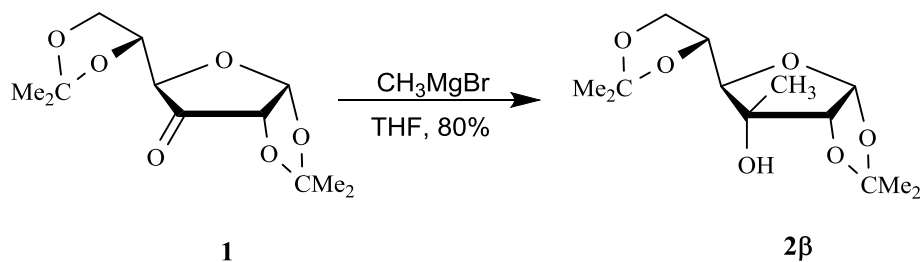


Σχήμα 25

### Π.1.2 Σύνθεση της 1,2:5,6-δισ-*O*-ισοπροπυλιδενο-3-*C*-μέθυλο- $\alpha$ -*D*-αλλοφουρανόζης (2 $\beta$ )

Η συνθετική πορεία, που ακολουθήθηκε για την παρασκευή του αντίστοιχου 3'-*C*-μεθυλο-νουκλεοζίτη της 5-φθοροουρακίλης, περιλαμβάνει αντίδραση της γνωστής φουρανόζης **1** (Elhalabi *et al.*, 2004) με το αντιδραστήριο Grignard  $\text{CH}_3\text{MgBr}$  σε διαλύτη τετραϋδροφουράνιο (THF), οπότε και λαμβάνεται αποκλειστικά η 1,2:5,6-δισ-*O*-ισοπροπυλιδενο-3-*C*-μεθυλο- $\alpha$ -*D*-αλλοφουρανόζη (**2 $\beta$** ), με πολύ καλή απόδοση (80%) (Couturier *et al.*, 2007) (Σχήμα 26). Και στη συγκεκριμένη περίπτωση η δομή της αρχικής κετόνης εξασφαλίζει τον απόλυτο στερεοχημικό έλεγχο της αντίδρασης, καθώς η πυρηνόφιλη προσβολή της μεθυλ-

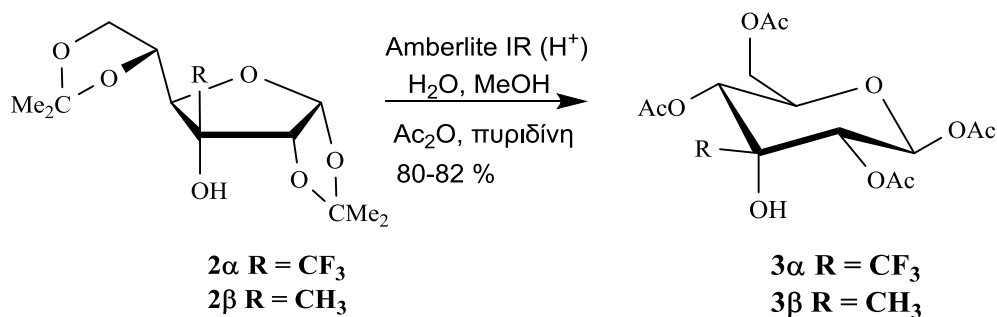
ομάδας στην κετονομάδα γίνεται από την πάνω ( $\beta$ ) όψη του μορίου, λόγω της στεreoχημικής παρεμπόδισης του ογκώδους 1,2-*O*-ισοπροπυλιδενο-υποκαταστάτη.



Σχήμα 26

### Π.1.3 Σύνθεση της 3-*C*-τριφθορομεθυλο- (**3α**), 3-*C*-μεθυλο-1,2,4,6-τετρακίς-*O*-ακετυλο- $\beta$ -*D*-αλλοπυρανόζης (**3β**)

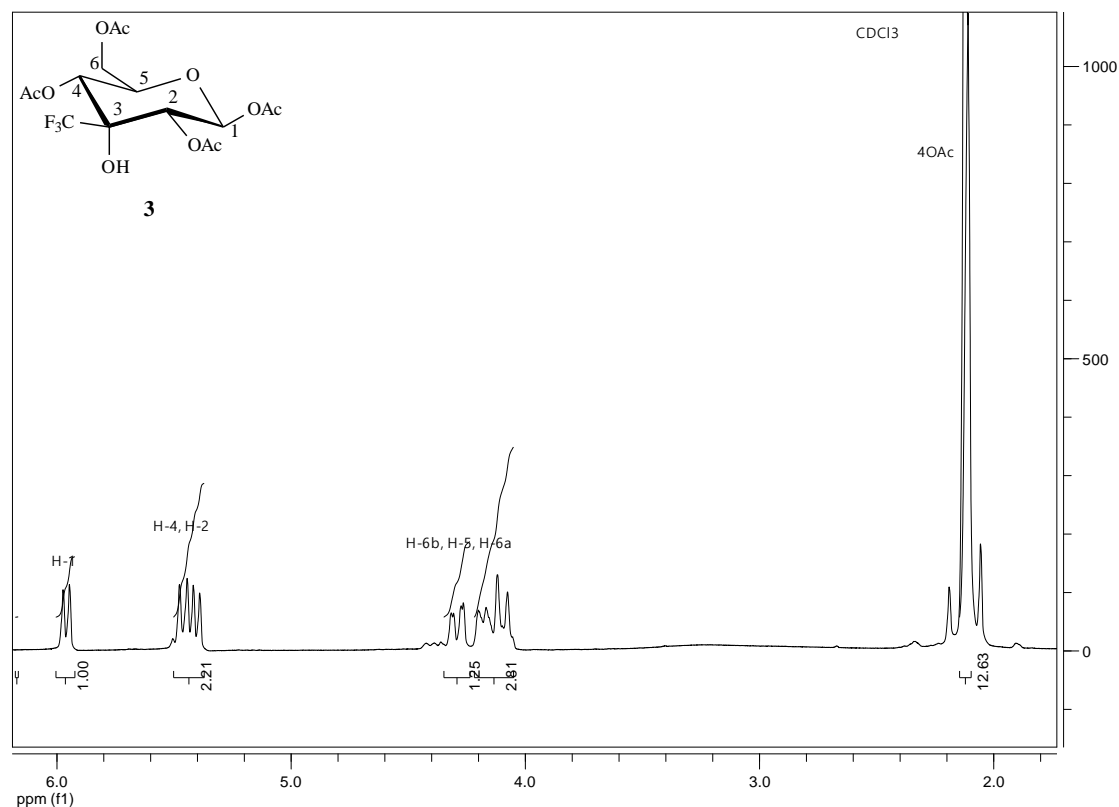
Η επόμενη αντίδραση περιλαμβάνει την υδρόλυση των δύο ακετονιδίων των σακχάρων **2α,β**, χρησιμοποιώντας υδατικό διάλυμα όξινης ρητίνης IR-120  $\text{H}^+$ , οπότε και λαμβάνεται η θερμοδυναμικά σταθερή πυρανόζη. Απευθείας ακετυλίωση της σχηματιζόμενης πυρανόζης υπό την επίδραση οξικού ανυδρίτη ( $\text{Ac}_2\text{O}$ ) σε πυριδίνη για μία ώρα, οδηγεί στα επιθυμητά σάκχαρα 3-*C*-τριφθορομεθυλο- (**3α**) και 3-*C*-μεθυλο-1,2,4,6-τετρακίς-*O*-ακετυλο- $\beta$ -*D*-αλλοπυρανόζη (**3β**) (Σχήμα 27).



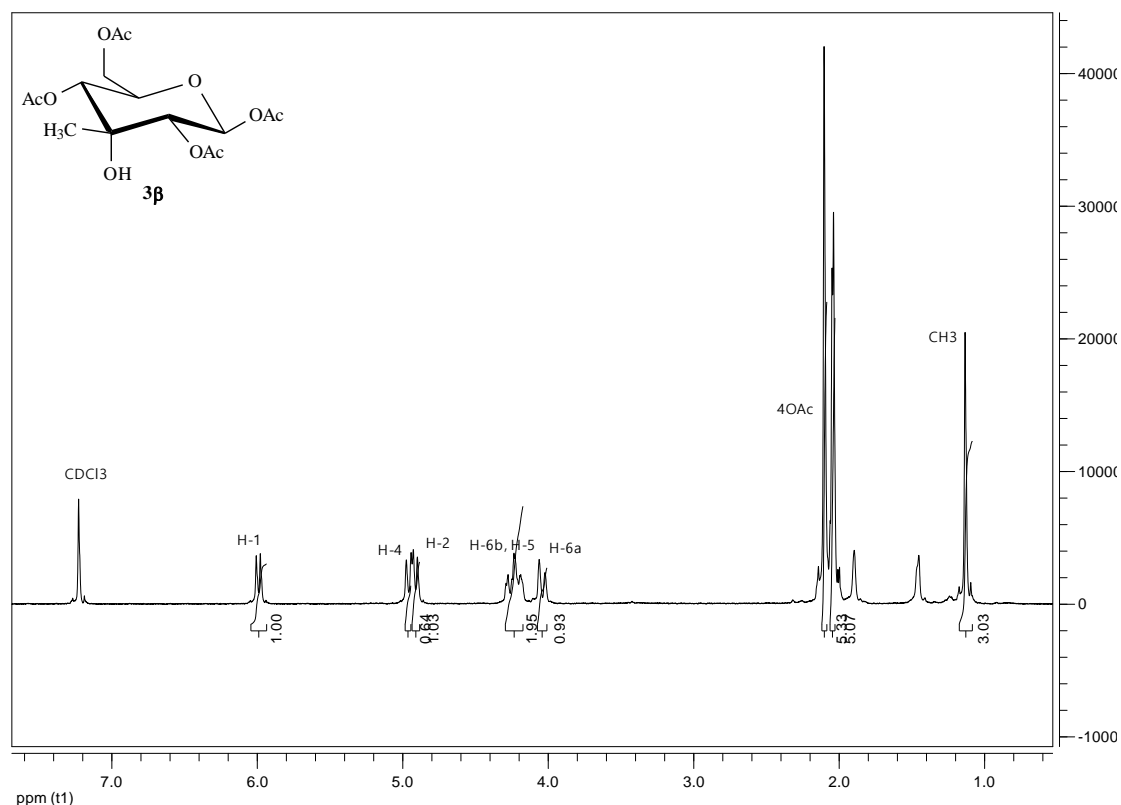
Σχήμα 27

Στα σχήματα 28 και 29 παρουσιάζονται τα φάσματα πρωτονίου ( $^1\text{H}$  NMR) του 3-*C*-τριφθορομεθυλο- **3α** και 3-*C*-μεθυλο- σακχάρου **3β**. Στα φάσματα αυτά, παρατηρείται μία διπλή κορυφή στα 5.94 και 6.0 ppm με σταθερά σύζευξης  $J_{1,2} = 8.2$  και 8.3 Hz, αντίστοιχα, η οποία αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-1 των σακχάρων και υποδηλώνει ότι λαμβάνουμε μόνο το  $\beta$ -ανωμέρες καθώς η συγκεκριμένη μεγάλη σταθερά σύζευξης είναι χαρακτηριστική μιας αξονικής σχέσης ανάμεσα στα

γειτονικά πρωτόνια H-1 και H-2. Η επόμενη διπλή κορυφή στα 5.44 και 5.00 ppm με σταθερά σύζευξης 9.8 και 9.7 Hz αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-4 και στη συνέχεια εμφανίζεται η κορυφή του πρωτονίου H-2 ως μια επίσης διπλή κορυφή στα 5.38 και 4.95 ppm. Αμέσως μετά, εμφανίζεται το σήμα του πρωτονίου H-6b ως μια κορυφή διπλή διπλών με σταθερές σύζευξης  $J_{6a,6b} = 12.7$  Hz και  $J_{5,6a} = 3.0$  Hz, ενώ από 4.18 ppm έως 4.06 ppm διακρίνεται μία πολλαπλή κορυφή η οποία αντιστοιχεί στα σήματα των πρωτονίων H-5 και H-6a. Από τη μελέτη του συγκεκριμένου φάσματος παρατηρείται η παρουσία τεσσάρων ακετυλο ομάδων –αντί των πέντε που υπήρχε δυνατότητα να σχηματιστούν– υποδεικνύοντας ότι το τριτοταγές υδροξύλιο στη θέση 3 του σακχάρου δεν έχει ακετυλιωθεί. Τέλος, στο φάσμα του σχήματος 29 παρατηρείται μία απλή κορυφή στα 1.17 ppm, της οποίας η ολοκλήρωση δίνει 3H και είναι χαρακτηριστική της μέθυλο (CH<sub>3</sub>) ομάδας.



Σχήμα 28: <sup>1</sup>HNMR του προϊόντος 3a



**Σχήμα 29:  $^1\text{H}$ NMR του προϊόντος  $3\beta$**

Το επόμενο βήμα της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την σύζευξη του τριφθορομεθυλου-  $3\alpha$  και μεθυλο-  $3\beta$  σακχάρου με την βάση της 5-φθοροουρακίλης.

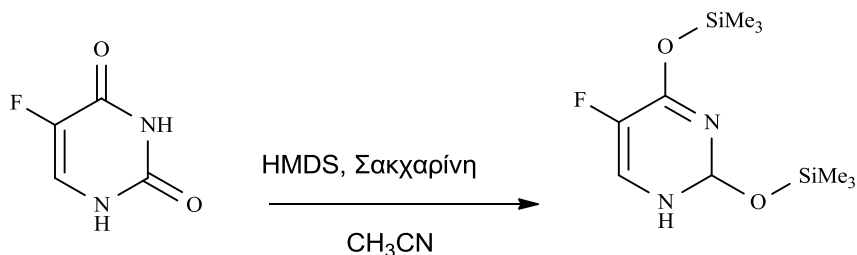
#### Π.1.4 Σχηματισμός γλυκοζιτικού δεσμού

Κατά τον σχηματισμό του γλυκοζιτικού δεσμού μεταξύ του σακχάρου και της νουκλεοβάσης, στη θέση του ανωμερικού άνθρακα του σακχάρου πρέπει να αντιμετωπιστούν ζητήματα όπως η regio-εκλεκτικότητα υποκατάστασης της νουκλεοβάσης και η αναλογία του σχηματισμού των  $\alpha$ : $\beta$  νουκλεοζιτικών ανωμερών.

Για την αντιμετώπιση των παραπάνω ζητημάτων και την δημιουργία του γλυκοζιτικού δεσμού ανάμεσα στα ακετυλωμένα σάκχαρα και τις νουκλεοβάσεις χρησιμοποιήθηκε η σιλυλο-τροποποιημένη αντίδραση των Hilbert-Johnson, γνωστή και ως μέθοδος Vorbrüggen (Vorbrüggen και Höfle, 1981) παρουσία Friedel-Crafts καταλυτών όπως τετραχλωριούχου κασσιτέρου ( $\text{SnCl}_4$ ) ή τριφθορομεθανοσουλφονικού τριμεθυλοσιλυλεστέρα ( $\text{Me}_3\text{SiSO}_3\text{CF}_3$ ).

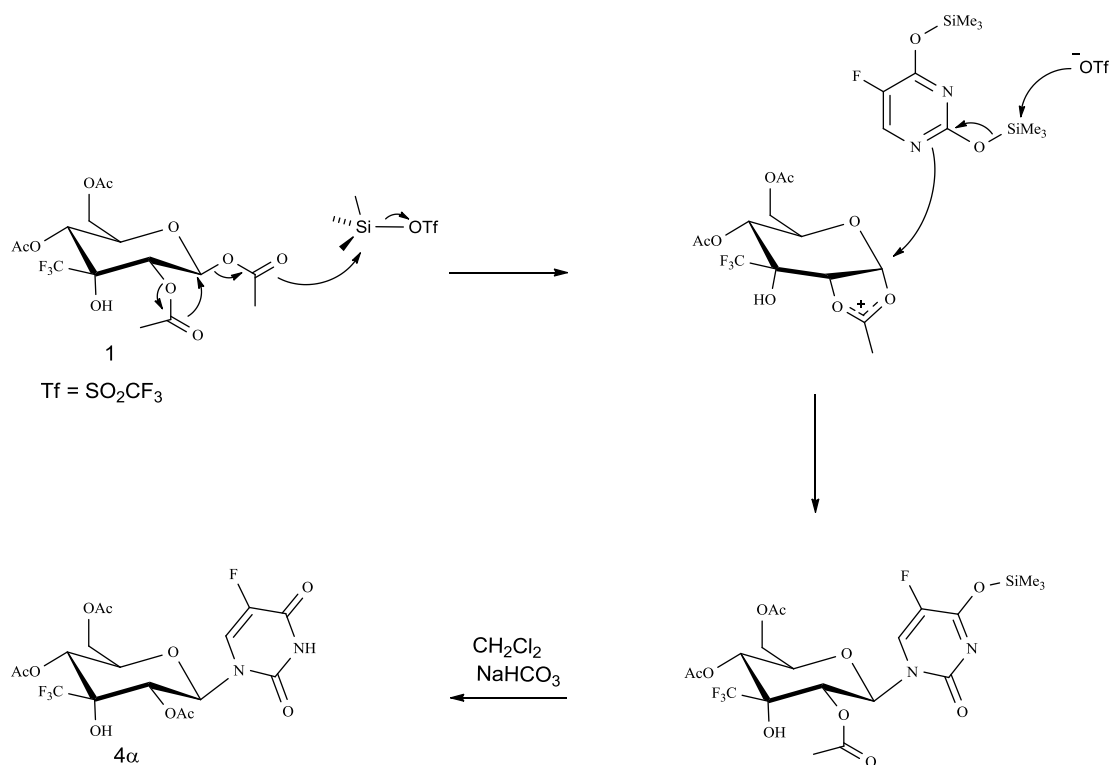
Η διαδικασία περιλαμβάνει αρχικά τη σιλυλίωση των νουκλεοβάσεων, η οποία αυξάνει τον πυρηνόφιλο χαρακτήρα τους και τις καθιστά πιο διαλυτές σε

οργανικούς διαλύτες. Η σιλυλίωση επιτυγχάνεται με την αντίδραση της επιθυμητής νουκλεοβάσης με εξαμεθυλοδισιλαζάνιο (HMDS) σε διαλύτη ακετονιτρίλιο παρουσία καταλυτικής ποσότητας σακχαρίνης, όπως φαίνεται στο χαρακτηριστικό παράδειγμα της 5- φθοροουρακίλης (Σχήμα 30). Η σιλυλιωμένη νουκλεοβάση στη συνέχεια θα αντιδράσει με το πλέον πυρηνόφιλο *N*-άτομο της, στη συγκεκριμένη περίπτωση με το *N*-1 για τις πυριμιδίνες (και με το *N*-9 για τις πουρίνες).



Σχήμα 30

Στη συνέχεια με την επίδραση του  $\text{Me}_3\text{Si-OSO}_2\text{CF}_3$ , ένα οξύ κατά Lewis, ενεργοποιείται το ακετυλιωμένο σάκχαρο **1**, προκαλώντας τον εκτοπισμό της ακετυλομάδας από τον ανωμερικό άνθρακα (Σχήμα 30), δημιουργώντας ένα δικυκλικό κατιονικό ενδιάμεσο με τη συμμετοχή του καρβονυλικού οξυγόνου της ακετυλομάδας στη 2 θέση του σακχάρου. Το σχηματιζόμενο ηλεκτρονιόφιλο κατιόν του σακχάρου υφίσταται στη συνέχεια πυρηνόφιλη προσβολή από την σιλυλιωμένη βάση, όπου το ανιόν  $\text{CF}_3\text{SO}_3^-$  βοηθάει στην αποσιλυλίωση της. Ο νουκλεοζίτης στη συνέχεια κατεργάζεται με  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  και κορεσμένο διάλυμα  $\text{NaHCO}_3$  και λαμβάνεται έπειτα από χρωματογραφία στήλης το τελικό προϊόν, όπως φαίνεται και στο χαρακτηριστικό παράδειγμα του νουκλεοζίτη **4a** (Σχήμα 31).



Σχήμα 31

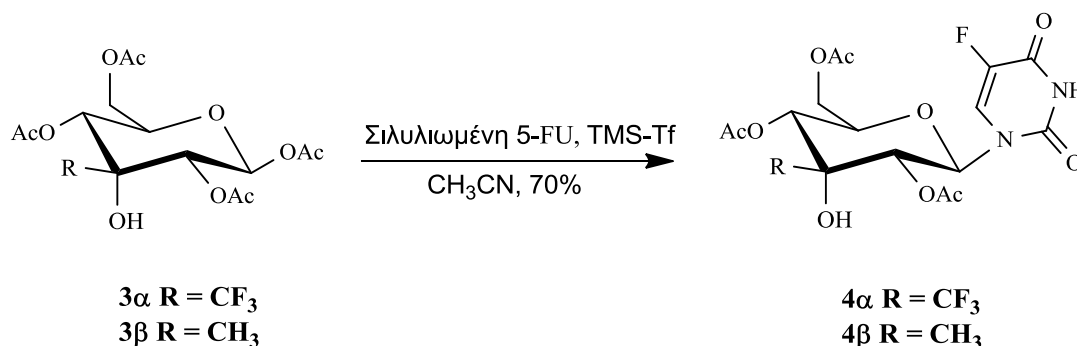
Στο σημείο αυτό θα πρέπει να αναφερθεί ότι κατά τη διάρκεια της αντίδρασης λαμβάνει χώρα μια ανταγωνιστική διαδικασία, η οποία είναι ο σχηματισμός σ-συμπλόκων μεταξύ της σιλυλιωμένης βάσης και του Friedel-Crafts καταλύτη οδηγώντας τη νουκλεοβάση σε αδρανοποίηση. Με τη χρησιμοποίηση ωστόσο του Me<sub>3</sub>SiSO<sub>3</sub>CF<sub>3</sub> που είναι ασθενέστερο οξύ κατά Lewis από το SnCl<sub>4</sub> (ως εκ τούτου σχηματίζει λιγότερα σ-σύμπλοκα), αλλά και ενός πολικού απρωτικού διαλύτη όπως το ακετονιτρίλιο που προάγει την αντίδραση του κατιόντος του σακχάρου με την πυρηνόφιλη βάση, οδηγούμαστε σε περιορισμό της ανεπιθύμητης αυτής αντίδρασης με σημαντικά πλεονεκτήματα όσον αφορά την απόδοση και το χρόνο σχηματισμού των νουκλεοζιτών (Vorbrüggen *et al.*, 1981).

Η στερεοχημεία στο ανωμερικό κέντρο του νουκλεοζίτη, εξαρτάται σημαντικά από τη φύση και τη στερεοχημική διαμόρφωση της C-2' ομάδας. Είναι γνωστό ότι η ακετυλο ομάδα στον C-2' του σακχάρου οδηγεί στην προσβολή της νουκλεοβάσης στο σχηματιζόμενο δικυκλικό ενδιάμεσο από την αντίθετη πλευρά του δακτυλίου. Δημιουργείται δηλαδή μια *trans*-σχέση μεταξύ των δυο ομάδων στους άνθρακες C-1' και C-2' του νουκλεοζίτη, γνωστή και ως 1,2 *trans*-κανόνας του Baker (Blackburn και Gait, 1990).



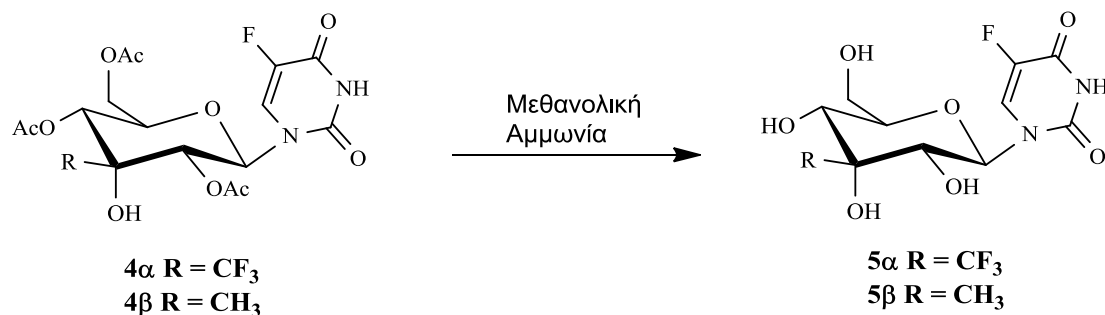
### Π.1.5 Σύνθεση των 3'-C-τριφθορομεθυλο- (5α), 3'-C-μεθυλο-β-D-αλλοπυρανοζύλο νουκλεοζιτών της 5-φθοροουρακίλη (5β)

Η αντίδραση γλυκοζυλίωσης μεταξύ των προστατευμένων σακχάρων **3** και της σιλυλιωμένης 5-φθοροουρακίλης σε διαλύτη CH<sub>3</sub>CN, παρουσία του Me<sub>3</sub>SiOSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, έγινε με θέρμανση στους 90°C για μία ώρα. Μετά το πέρας της αντίδρασης, το μίγμα αφέθηκε να έρθει σε θερμοκρασία δωματίου, εξουδετερώθηκε με κορεσμένο διάλυμα όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO<sub>3</sub>) και εκχυλίστηκε με διχλωρομεθάνιο (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Η οργανική φάση ξηράθηκε με άνυδρο θειικό νάτριο (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) και ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό κενό. Η απομόνωση των προϊόντων έγινε με στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, οπότε παραλαμβάνονται οι επιθυμητοί νουκλεοζίτες **4**, με ικανοποιητική απόδοση 70 και 74%, αντίστοιχα (Σχήμα 32). Στο φάσμα πρωτονίου (<sup>1</sup>H NMR) των ενώσεων **4** εμφανίζεται -όπως ήταν αναμενόμενο- μεγάλη σταθερά σύζευξης μεταξύ των πρωτονίων H-1' και H-2', υποδεικνύοντας έναν αξονικό προσανατολισμό για τα δύο αυτά πρωτόνια, με την ογκώδη ετεροκυκλική βάση να καταλαμβάνει την ισημερινή θέση του σακχάρου.



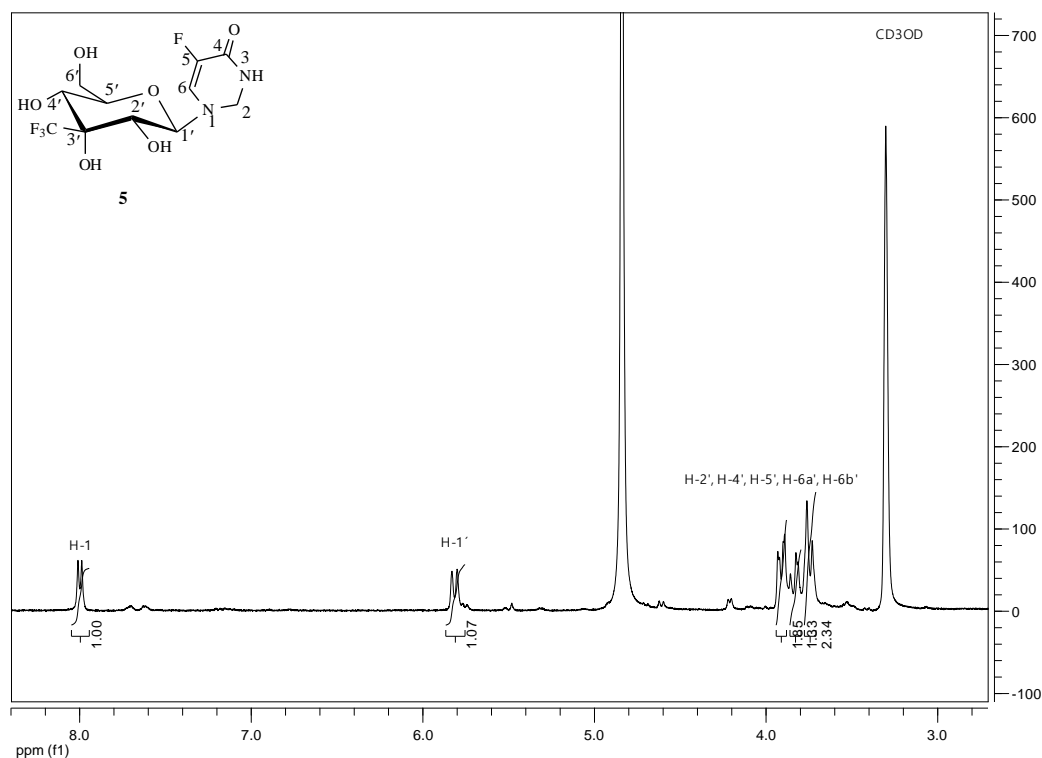
Σχήμα 32

Το τελικό στάδιο της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την αποπροστασία των ενώσεων **4** με κατεργασία τους με μεθανολική αμμωνία (Neilson και Werstuik, 1971), οπότε και λαμβάνονται οι επιθυμητοί 3'-C-τριφθορομεθυλο- (**5α**) και 3'-C-μεθυλο-β-D- (**5β**) νουκλεοζίτες της 5-φθοροουρακίλης, με αποδόσεις 88 και 84%, αντίστοιχα (Σχήμα 33).

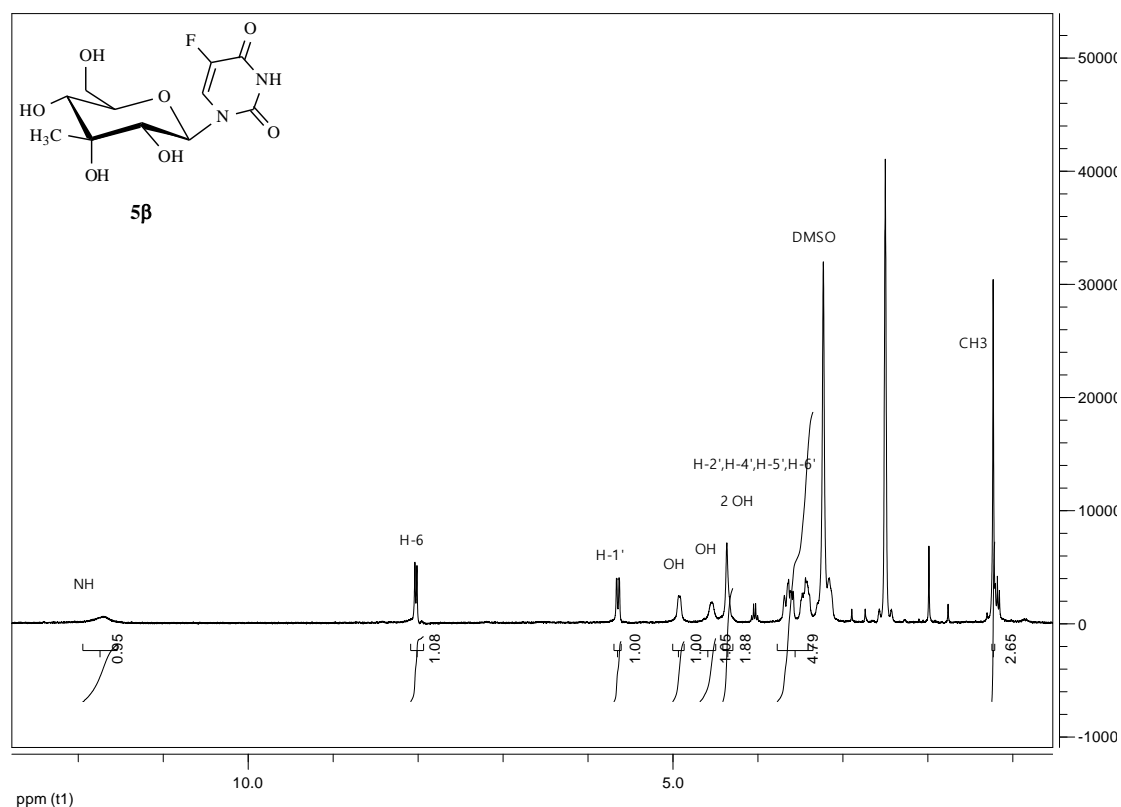


Σχήμα 33

Στο σχήμα 34, παρατίθεται το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του νουκλεοζίτη **5α** σε  $\text{CD}_3\text{OD}$ . Στο συγκεκριμένο φάσμα εμφανίζεται μία διπλή κορυφή με μεγάλη σταθερά σύζευξης  $J_{1',2'} = 9.4$  Hz στα 5.82 ppm, η οποία αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-1' του σακχάρου. Επίσης στα 8.00 ppm εμφανίζεται μία ακόμη διπλή κορυφή με σταθερά σύζευξης  $J_{6,F5} = 6.7$  Hz η οποία αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-6 της 5-φθοροουρακίλης. Ακολουθούν τα σήματα πρωτονίων των H-2', H-4', H-5', H-6a' και H-6b' του σακχάρου σαν μια πολλαπλή κορυφή στην περιοχή 3.93-3.73 ppm. Σημειώνεται ότι τόσο τα πρωτόνια των ελεύθερων υδροξυλίων του σακχάρου όσο και το αμινικό πρωτόνιο της ετεροκυκλικής βάσης δεν εμφανίζονται στο φάσμα λόγω της ταχείας ανταλλαγής που λαμβάνει χώρα μεταξύ αυτών και του διαλύτη (μεθανόλη- $d_4$ ).

Σχήμα 34:  $^1\text{H}$ NMR του προϊόντος **5α**

Στο σχήμα 35 φαίνεται το  $^1\text{H}$ NMR φάσμα του νουκλεοζίτη **5β** σε  $\text{DMSO-d}_6$ . Στο φάσμα εμφανίζεται μία ευρεία κορυφή στα 11.71 ppm η οποία αντιστοιχεί στο NH πρωτόνιο της βάσης. Ακολουθεί διπλή κορυφή στα 8.02 με  $J_{6,F5} = 7.2 \text{ Hz}$ , που είναι το H-6 της φθοροουρακίλης. Το σήμα στα 5.65 ppm είναι μία διπλή διπλών κορυφή με  $J_{1',2'} = 9.2\text{Hz}$  και  $J_{1',F5} = 1.5 \text{ Hz}$  και είναι το πρωτόνιο H-1' του σακχάρου. Στα, 4.93, 4.55, 4.37 ppm εμφανίζονται τα πρωτόνια των υδροξυλίων του σακχάρου. Ακολουθούν τα σήματα πρωτονίων των H-2', H-4', H-5', H-6a' και H-6b' του σακχάρου σαν μια πολλαπλή κορυφή στην περιοχή 3.69-3.39 ppm. Τέλος, στο φάσμα παρατηρείται μία απλή κορυφή στα 1.23 ppm, της οποίας η ολοκλήρωση δίνει 3H και είναι χαρακτηριστική της μέθυλο ( $\text{CH}_3$ ) ομάδας.

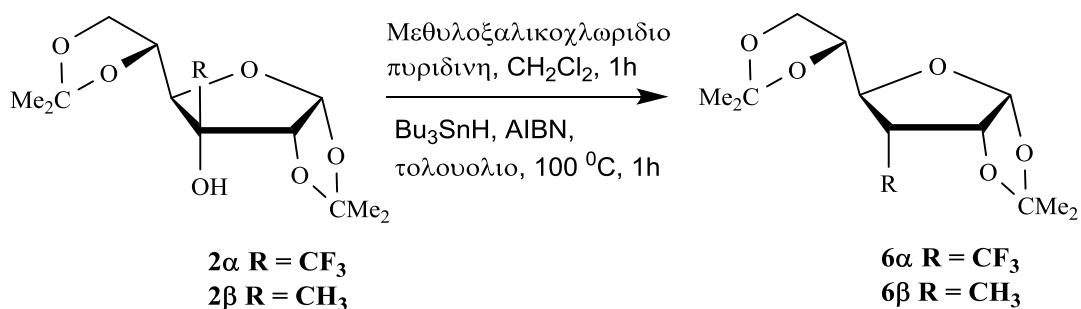


Σχήμα 35:  $^1\text{H}$ NMR του προϊόντος **5β**

### Π.1.6 Σύνθεση των 3'-δεοξυ-3'-C-τριφθορομεθυλο- (7α) και 3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλο-(7β)-πυρανονουκλεοζιτών της 5-φθοροουρακίλης

Με στόχο να διερευνηθεί η σχέση δομής-δράσης στις ενώσεις αυτού του τύπου, επιχειρήθηκε η σύνθεση μιας νέας τάξης νουκλεοζιτών, των 3'-δεοξυ-3'-C-τριφθορομεθυλο- και μεθυλο-πυρανονουκλεοζιτών. Έτσι, εκμεταλλεύόμενοι την διαθεσιμότητα των τριφθορομέθυλο (**2α**) και μέθυλο (**2β**) σακχάρων παρασκευάστηκαν τα αντίστοιχα 3-δέοξυ **6α,β** σάκχαρα μέσω μιας αντίδρασης αποξυγόνωσης τύπου Barton-McCombie (Barton and McCombie, 1975), κατά την οποία το υδροξύλιο στη 3 θέση του σακχάρου αντικαθίσταται από ένα υδρογόνο.

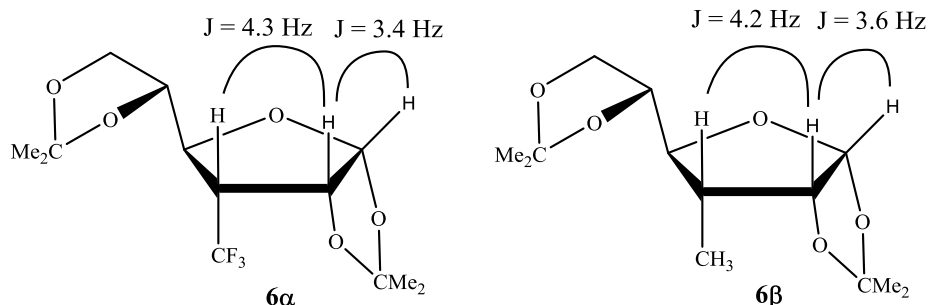
Αρχικά οι τριτοταγείς αλκοόλες **2α,β** μετατρέπονται στους αντίστοιχους μεθυλοξαλικούς εστέρες με την επίδραση μεθυλοξαλικου χλωριδίου (ClCOCOCH<sub>3</sub>) παρουσία πυριδίνης σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Οι σχηματιζόμενοι εστέρες, αποδείχτηκαν ασταθείς, ανάχθησαν απευθείας παρουσία του υδριδίου του τριβουτυλοκασιτέρου (Bu<sub>3</sub>SnH), καθώς και αζωδης-ισοβουτυρονιτριλίου (AIBN) σε διαλύτη τολουόλιο στους 100 °C, οπότε και ελήφθησαν τα 3-δέοξυ παράγωγα **6α,β** με την επιθυμητή 3*R* διαμόρφωση (Lavaire *et al.*, 1996, Couturier *et al.*, 2007) (Σχήμα 36).



Σχήμα 36

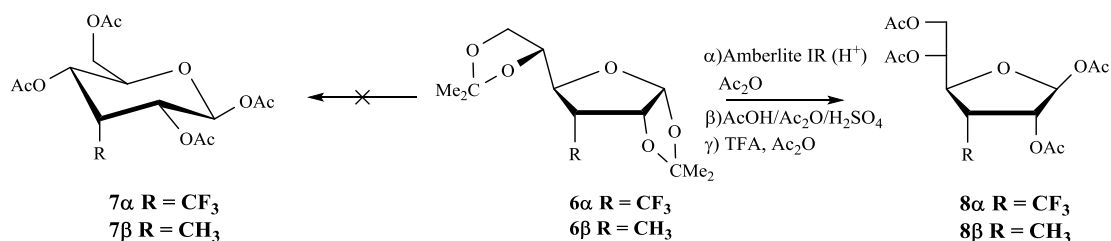
Η δομή των 3-δεοξυ-3-C-τριφθορομεθυλο- (**6α**) και 3-C-μεθυλο- (**6β**) σακχάρων και ο προσανατολισμός των ομάδων είναι εμφανής από τις σταθερές σύζευξης που παρατηρούνται στα αντίστοιχα φάσματα <sup>1</sup>NMR. Συγκεκριμένα οι σταθερές σύζευξης είναι  $J_{1,2} = 3.4$  και  $3.6$  Hz και  $J_{2,3} = 4.3$  και  $4.2$  Hz για τις ενώσεις **6α** και **6β** αντίστοιχα, που αποδεικνύουν ότι και τα τρία αυτά πρωτόνια βρίσκονται στην ίδια β όψη του φουρανοζικού δακτυλίου (Σχήμα 37). Ο στερεοχημικός έλεγχος στις αντιδράσεις του συγκεκριμένου υποστρώματος προέρχεται από την παρουσία

της ογκώδους 1,2-*O*-ισοπροπυλιδενο-ομάδας, η οποία οδηγεί το άτομο του υδρογόνου του τριβουτυλοκασιτέρου να εισέρχεται από την λιγότερο παρεμποδισμένη πάνω όψη του επίπεδου ριζικού ενδιαμέσου.



Σχήμα 37

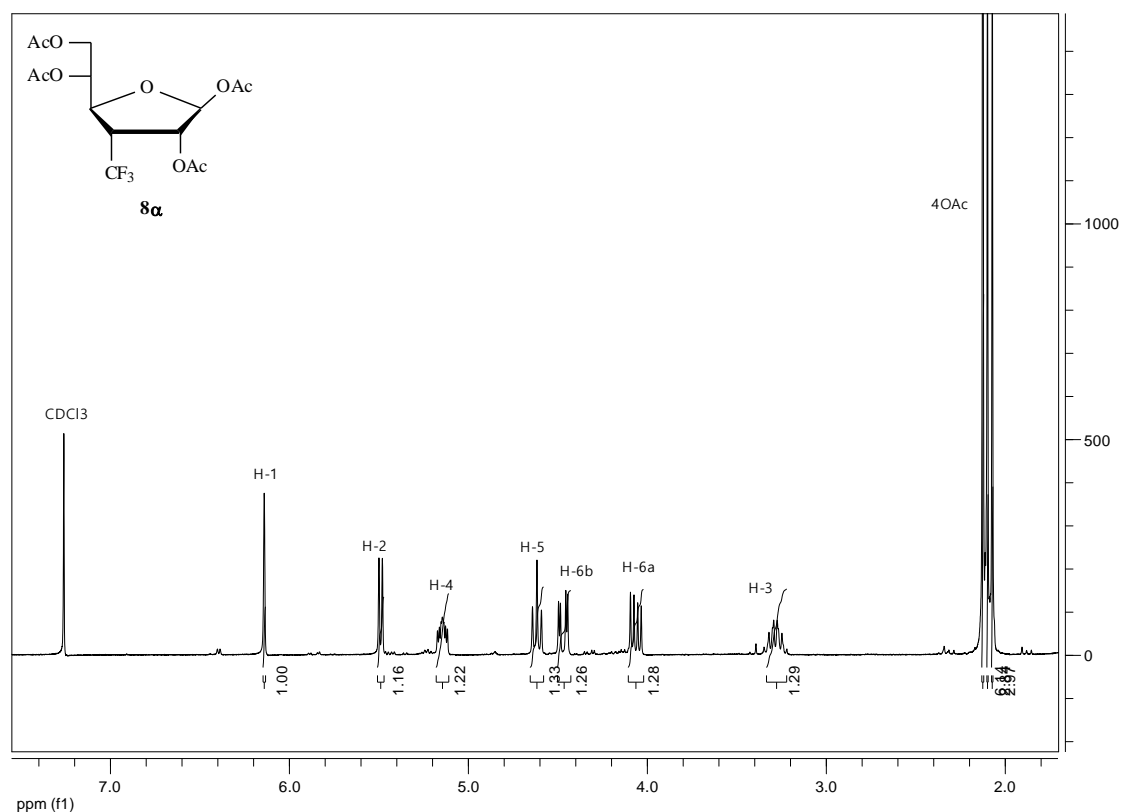
Η στρατηγική που ακολουθήσαμε, για να συνθέσουμε επιτυχώς τα 3-δεοξυ-πυρανοσάκχαρα **7α,β**, περιελάμβανε την υδρόλυση των δύο ακετονιδίων των σακχάρων **6α,β**, χρησιμοποιώντας υδατικό διάλυμα όξινης ρητίνης IR-120  $H^+$  και στη συνέχεια απευθείας ακετυλίωση με επίδραση οξικού ανυδρίτη ( $Ac_2O$ ) σε πυριδίνη (Manta *et al.*, 2007, Kiritsis *et al.*, 2012). Όμως αντίδραση των **6α,β** είτε με υδατικό διάλυμα όξινης ρητίνης και ακετυλίωση, είτε με οξικό οξύ ( $AcOH$ ) και  $Ac_2O$  παρουσία θειικού οξέος ( $H_2SO_4$ ) ( $AcOH/Ac_2O/H_2SO_4$ ) ή με τριφθοροοξικό οξύ και  $Ac_2O$ , οδήγησε αποκλειστικά στα μη επιθυμητά ακετυλιωμένα φούρανοσακχαρα **8α,β** και δεν κατέστη δυνατή η λήψη του εξαμελούς υδατανθρακικού δακτυλίου **7** (Σχήμα 38).



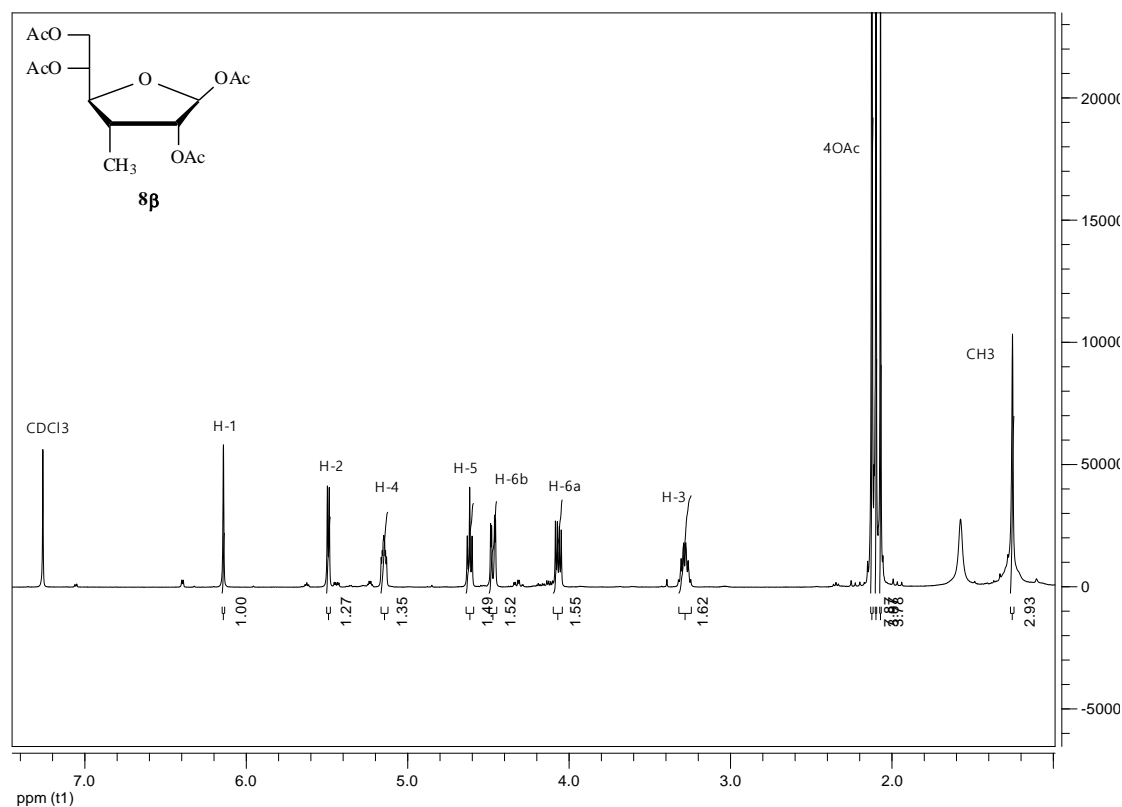
Σχήμα 38

Στα Σχήματα 39, 40 φαίνονται τα φάσματα  $^1H$ NMR των αναλόγων **8α** και **8β** αντίστοιχα. Αυτό που παρατηρούμε και στα δύο φάσματα είναι ότι, η σταθερά σύζευξης μεταξύ των πρωτονίων H-1 και H-2 των σακχάρων είναι περίπου μηδέν, πράγμα το οποίο είναι χαρακτηριστικό της  $\beta$ -στεreoχημείας των φούρανο διαμορφώσεων των σακχάρων (Sharma και Nair, 2000), έναντι των πύρανο

σακχάρων στις οποίες, οι αντίστοιχες σταθερές αναμένονται άνω των 8 Hz. Χαρακτηριστική είναι επίσης η πολλαπλή κορυφή που εμφανίζεται από τα 3.52 έως τα 3.22 ppm για την ένωση **8a** και η πολλαπλή από τα 4.20 έως τα 3.96 ppm για το **8b**, η οποία αντιστοιχεί στο H-3 του σακχάρου. Επίσης στο φάσμα του 3-δεοξυ-3-C-μεθυλο-φουρανο σακχάρου **8b** εμφανίζεται μία διπλή κορυφή στα 1.12 ppm με  $J = 6.9$  Hz, της οποίας η ολοκλήρωση δίνει 3H και αντιστοιχεί στην CH<sub>3</sub> ομάδα.

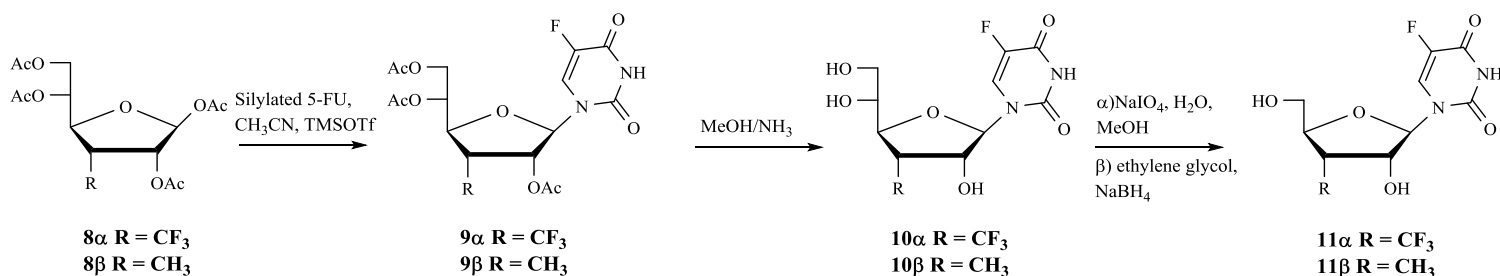


Σχήμα 39



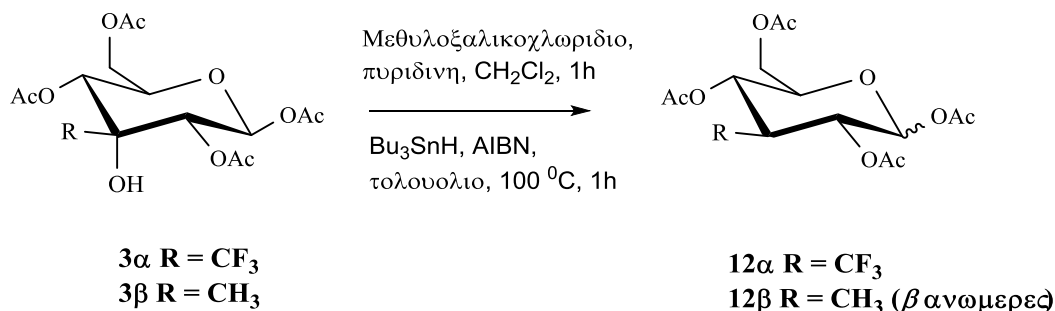
Σχήμα 40

Η επόμενη αντίδραση είναι η σύζευξη των 1,2,4,6-τετρακίς-*O*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-*C*-τριφθορομεθυλο- (**8α**) και -μεθυλο-(**8β**) -*D*-αλλοφουρανόζης με την σιλυλιωμένη 5-φθοροουρακίλη σε διαλύτη CH<sub>3</sub>CN, παρουσία του Me<sub>3</sub>SiOSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, που οδηγεί στους προστατευμένους τριφθορομέθυλο και μέθυλο νουκλεοζίτες **9α,β**, αντίστοιχα (Σχήμα 41). Στη συνέχεια ακολούθησε, αποπροστασία χρησιμοποιώντας κορεσμένο διάλυμα αμμωνίας λαμβάνοντας τους νουκλεοζίτες **10α,β**, οι οποίοι με αντίδραση με υπερϊωδικό νάτριο (NaIO<sub>4</sub>) και στη συνέχεια αναγωγή της προκύπτουσας αλδεΐδης με βοριοϋδρίδιο του νατρίου (NaBH<sub>4</sub>) οδήγησε στους αντίστοιχους β-*D*-ριβοφουρανοζυλικούς νουκλεοζίτες **11α,β** (Σχήμα 40). Η αποικοδόμηση των άλλο-νουκλεοζιτών **10α,β** προς τους ριβονουκλεοζίτες **11α,β** μέσω αντιδράσεων, οι οποίες είναι γνωστό ότι δεν αλλάζουν την στερεοχημεία των σακχάρων, καθώς και τα δεδομένα από τα φάσματα <sup>1</sup>HNMR ( $J_{1,2} \sim 0$  Hz για τα **11α,β**) αποδεικνύουν την ύπαρξη του β- ανωμερικού φουρανικού δακτυλίου.



Σχήμα 41

Στην προσπάθεια μας να ξεπεράσουμε τις δυσκολίες που συναντήσαμε κατά την προηγούμενη πειραματική διαδικασία και να συνθέσουμε επιτυχώς τα δέοξυ πύρανονουκλεοζιτικά ανάλογα αποφασίσαμε να ακολουθήσουμε διαφορετική πορεία. Οι ακετυλιωμένες αλλοπυρανόζες **3α,β**, μετατράπηκαν στους μεθυλοξαλικούς εστέρες με επίδραση μεθυλοξαλικού χλωριδίου ( $ClCOCOOCH_3$ ) παρουσία πυριδίνης σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο ( $CH_2Cl_2$ ) και στη συνέχεια ανάχθηκαν απευθείας, παρουσία του υδριδίου του τριβουτυλοκασιτέρου ( $Bu_3SnH$ ), καθώς και αζωδισοβουτυρονιτριλίου (AIBN) σε διαλύτη τολουόλιο στους  $100\text{ }^\circ C$ , οπότε και ελήφθησαν οι 3-δεοξυ-3-*C*-τριφθορομεθυλο- και 3-*C*-μεθυλο-γλυκοπυρανόζες **12α,β** (Σχήμα 42).

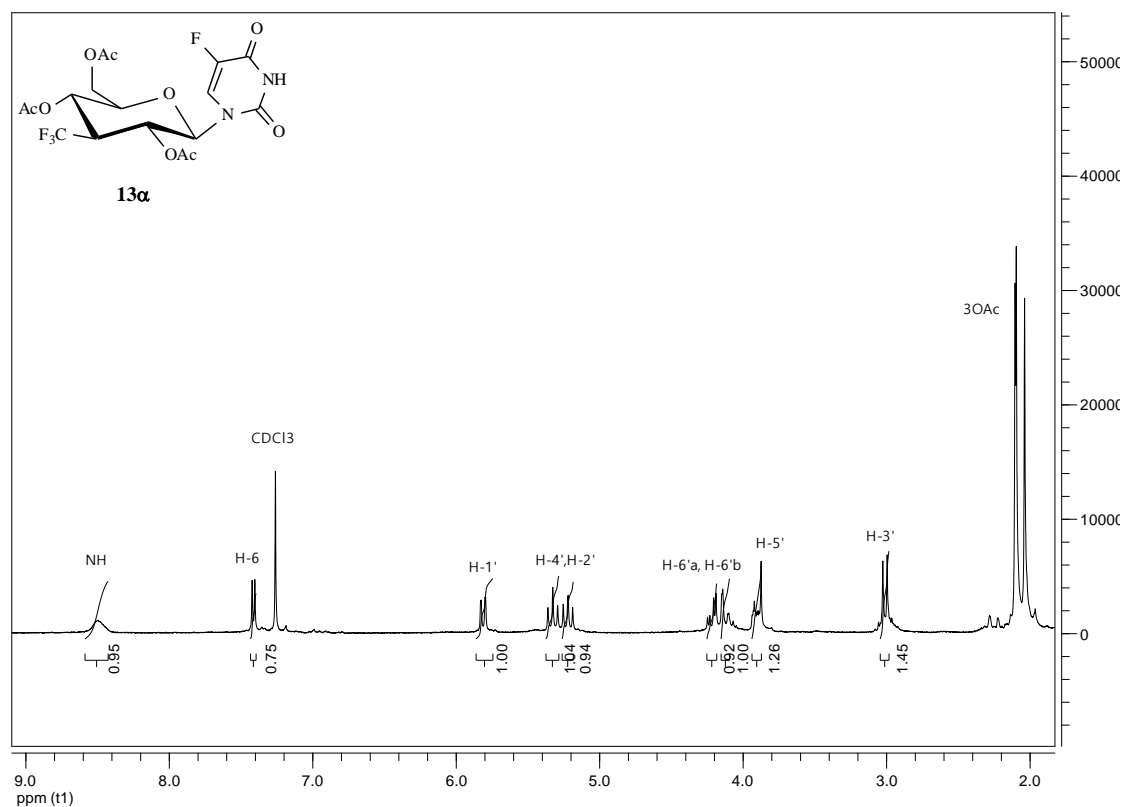


Σχήμα 42

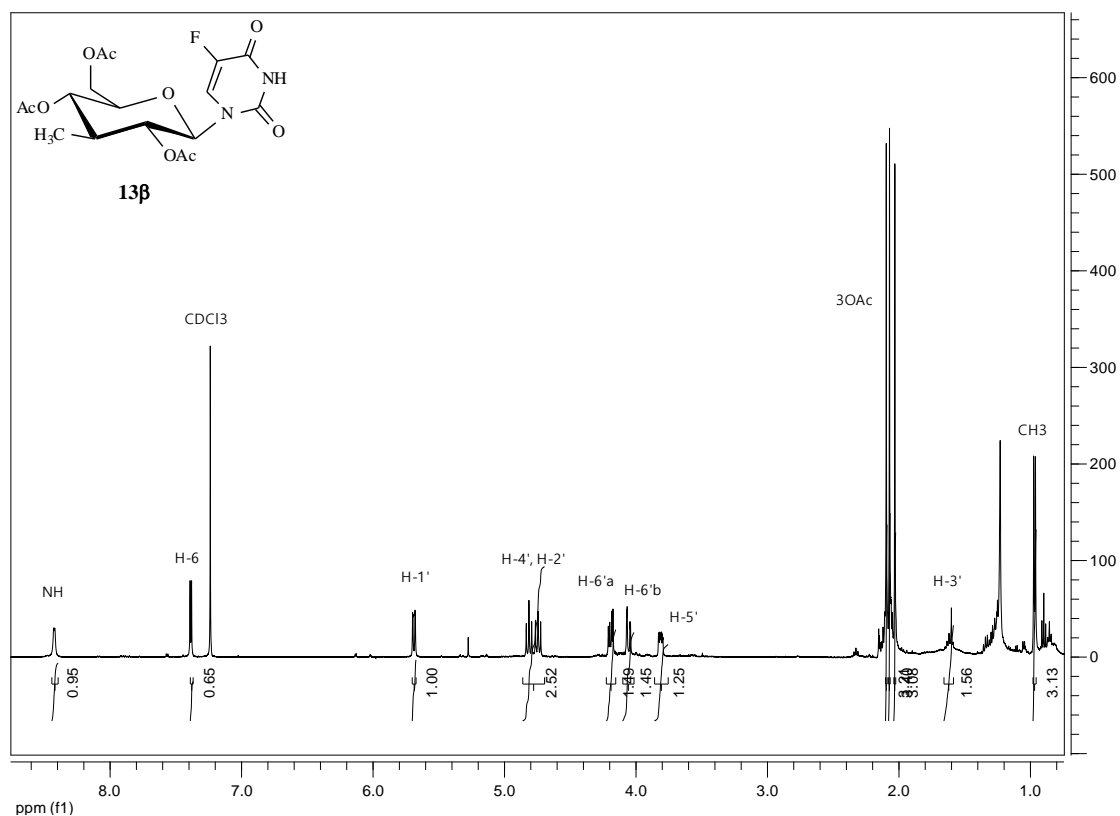
Στη συνέχεια ακολούθησε σύζευξη των ακετυλιωμένων 3-δεοξυ-3-*C*-τριφθορομεθυλο- και 3-*C*-μεθυλο-γλυκοπυρανοζών **12α,β** με την σιλυλιωμένη 5-φθοροουρακίλη σε διαλύτη  $CH_3CN$ , παρουσία του  $Me_3SiOSO_2CF_3$ , που οδηγεί στο σχηματισμό των προστατευμένων 3'-δεοξυ-γλυκοπυρανονουκλεοζιτών **13α,β**. Η ανάλυση των φασμάτων πρωτονίου των νουκλεοζιτών **13α** (Σχήμα 43) και **13β** (Σχήμα 44) έδειξε μεγάλες σταθερές σύζευξης μεταξύ των γειτονικών πρωτονίων  $H-1'$ ,  $H-2'$ ,  $H-3'$ ,  $H-4'$  ( $J_{1',2'}$ ,  $J_{2',3'}$ ,  $J_{3',4'} \geq 9.2$  Hz), οι οποίες αποδεικνύουν την  $\beta$



διαμόρφωση όπως και ότι τόσο η βάση όσο και οι τριφθορομέθυλο και μέθυλο ομάδες λαμβάνουν την ισημερινή θέση. Επίσης παρατηρούμε πολλαπλή κορυφή που εμφανίζεται από τα 3.00 έως τα 2.90 ppm για την ένωση **13a** και η πολλαπλή από τα 1.67 έως τα 1.61 ppm για το **13b**, η οποία αντιστοιχεί στο H-3' του σακχάρου. Επίσης στο φάσμα του Σχήματος 44 εμφανίζεται μία διπλή κορυφή στα 0.99 ppm με  $J = 6.6$  Hz, της οποίας η ολοκλήρωση δίνει 3H και αντιστοιχεί στην CH<sub>3</sub> ομάδα.

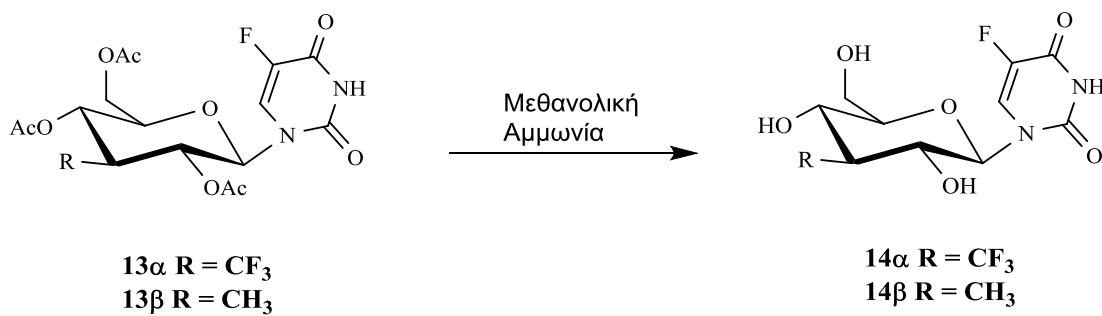


Σχήμα 43



Σχήμα 44

Η συνθετική πορεία ολοκληρώνεται με την αποπροστασία των ενώσεων **13α,β** με κατεργασία τους με μεθανολική αμμωνία, οπότε και λαμβάνονται οι επιθυμητοί νουκλεοζίτες **14α,β** με καλές αποδόσεις 85 και 83%, αντίστοιχα (Σχήμα 45).



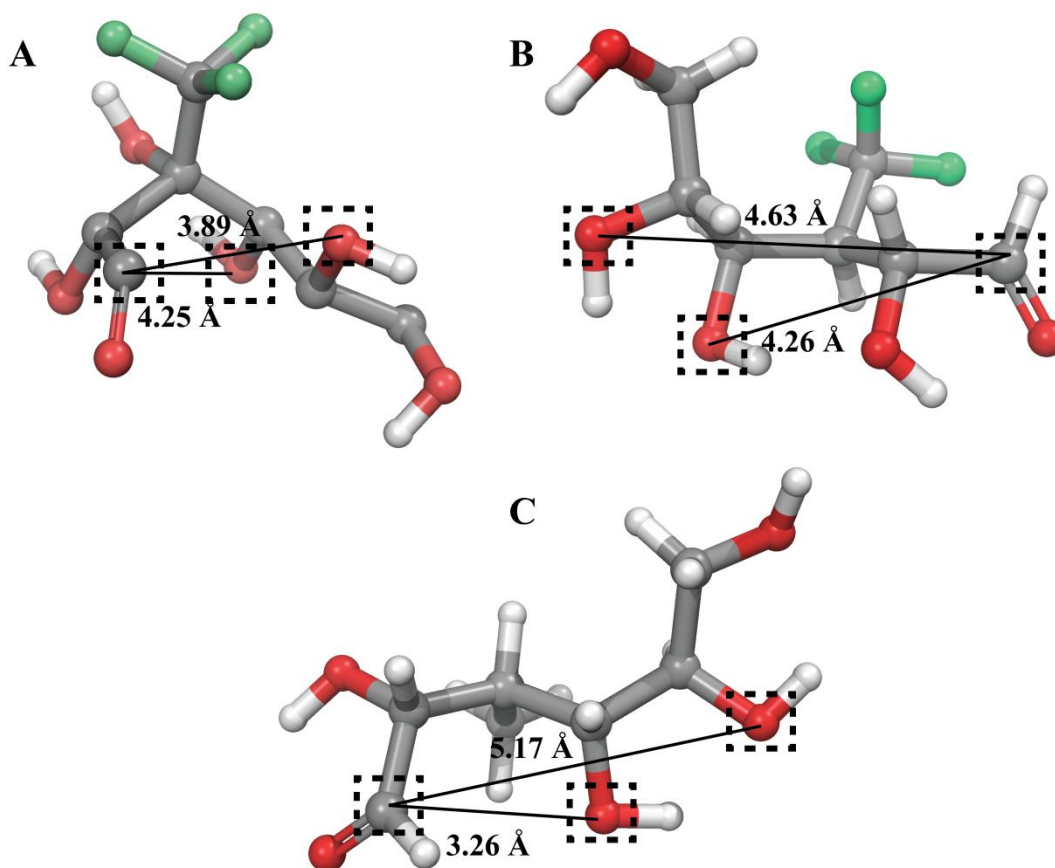
Σχήμα 45

### Π.1.7 Μοριακή δυναμική των 3-δεοξυ-3-C-τριφθορομεθυλο- (8α) και 3-C-μεθυλο (8β) αλλοφουρανοζών

Σε μια προσπάθεια να κατανοήσουμε γιατί κατά την αντίδραση υδρόλυσης των δύο ακετονιδίων των σακχάρων **6α,β** (Σχήμα 37), αντί, της θεωρητικά, θερμοδυναμικά σταθερότερης πύρανο στερεοχημεία, λαμβάνουμε τα φούρανο σάκχαρα **8α,β**, καταφύγαμε στην χρήση της Μοριακής Δυναμικής (Molecular Dynamics MD), με την χρήση ηλεκτρονικού υπολογιστή, η οποία διενεργήθηκε στο τμήμα Χημείας του Εθνικού Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, υπό την καθοδήγηση του καθηγητή Θωμά Μαυρομούστακου.

Με τη μοριακή δυναμική μπορεί κανείς να παρακολουθήσει τη φυσική χρονική εξέλιξη ενός συστήματος όπως ακριβώς γίνεται και σε μια πειραματική διαδικασία. Σε ένα πείραμα πραγματοποιούνται μετρήσεις ενός φυσικού μεγέθους σε τακτά χρονικά διαστήματα. Τα σφάλματα των μετρήσεων και στις δύο περιπτώσεις περιορίζονται από την ακρίβεια των μετρήσεων και το μεγάλο αριθμό τους. Η μέθοδος της μοριακής δυναμικής (molecular dynamics, MD) είναι μια τεχνική προσομοίωσης η οποία στηρίζεται στην επίλυση των κλασσικών εξισώσεων κίνησης για ένα σύστημα  $N$  σωματιδίων, τα οποία αλληλεπιδρούν μεταξύ τους μέσω ενός δυναμικού  $V$ . Οι μοριακές προσομοιώσεις είναι μια σχετικά πρόσφατη μεθοδολογία της επιστήμης και στις μέρες μας γίνεται όλο και πιο αποδεκτή, σαν μια μεθοδολογία έρευνας στην επιστήμη των υλικών, στο ρόλο συνδετικού κρίκου μεταξύ θεωρητικής και πειραματικής προσέγγισης. Έχει σαν αντικείμενο τη μελέτη της δομής και των ιδιοτήτων των υλικών μέσω προσομοιώσεων με χρήση ηλεκτρονικών υπολογιστών με σκοπό την καλύτερη κατανόηση τους αλλά και το σχεδιασμό και πρόβλεψη νέων υλικών που δεν υπάρχουν στη φύση. Η πολυπλοκότητα της μελέτης πολλών φαινομένων με αναλυτικό τρόπο καθιστά εξάλλου συχνά τη χρήση υπολογιστικών μεθόδων ως τη μόνη οδό για την ανάδειξη των ποιοτικών και ποσοτικών χαρακτηριστικών τους.

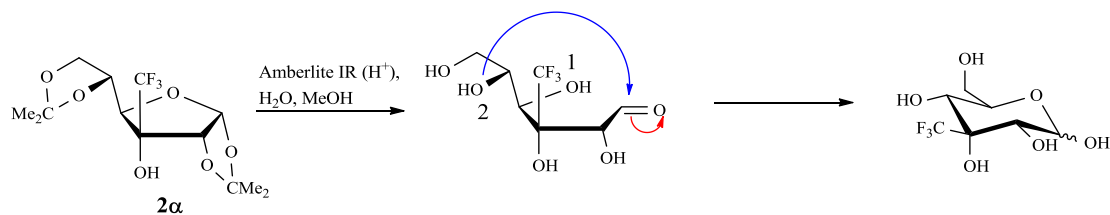
Η προτίμηση της πύρανο ή της φούρανο στερεοχημείας κατά την υδρόλυση των δύο ακετονιδίων των σακχάρων **2, 6** είναι δυνατόν να εξηγηθεί μέσω των ενδιάμεσων μορφών οι οποίες φαίνονται στην **Εικόνα 1**.



**Εικόνα 1 (A-C):** Οι διαμορφώσεις με την χαμηλότερη ενέργεια που παράγονται με τη χρήση υπολογισμών MD και οι μέσες αποστάσεις μεταξύ οξυγόνου 1 και 2 με τον άνθρακα της ενδιάμεσης αλδεΐδης σε πάνω από 2000 διαμορφώσεις που δημιουργούνται στην τροχιά προσομοίωσης.

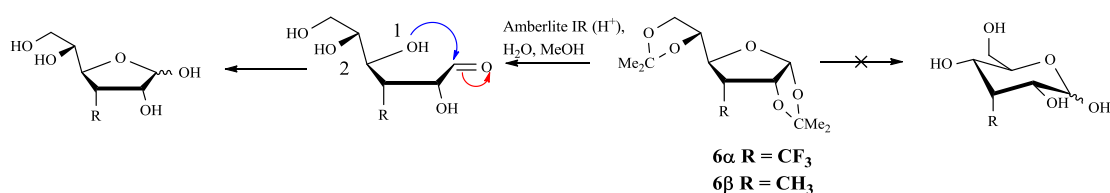
Για την αντίδραση η οποία φαίνεται στο Σχήμα 46, η οποία οδηγεί στην πύρανο στερεοχημεία, το άνω αριστερό ενδιάμεσο (Εικόνα 1A) σχεδιάστηκε και υποβλήθηκε σε ελαχιστοποίηση της ενέργειας του. Υπολογισμοί MD χρησιμοποιήθηκαν για την παρακολούθηση της απόστασης των οξυγόνων 1 και 2 από την καρβονυλική ομάδα (διακεκομμένες γραμμές Εικόνα 1) σε 2000 ενδιάμεσα τα οποία δημιουργήθηκαν σε μία προσομοίωση διάρκειας 100ns. Ένωση του οξυγόνου 1 με τον άνθρακα της καρβονυλομάδας θα οδηγούσε σε φούρανο δομή, ενώ ένωση του οξυγόνου 2 θα οδηγούσε στην πυρανο δομή του σακχάρου. Υπολογίζοντας την μέση τιμή της απόστασης του οξυγόνου 1 από τον άνθρακα του καρβονυλίου, σε 2000, χαμηλής ενέργειας, ενδιάμεσα βρέθηκε ότι είναι 4.2533 Å. Η μέση τιμή της απόστασης του οξυγόνου 2 από τον ίδιο άνθρακα, βρέθηκε ότι είναι 3.89 Å, δικαιολογώντας τον σχηματισμό εξαμελούς δακτυλίου έναντι του πενταμελούς. Μία πιθανή εξήγηση είναι ότι, το οξυγόνο 1 της υδροξυλομάδας έχει προσανατολισμό

προς τις γειτονικές  $-OH$  και  $-CF_3$  ομάδες με υψηλή ροπή δημιουργίας δεσμού υδρογόνου.



Σχήμα 46

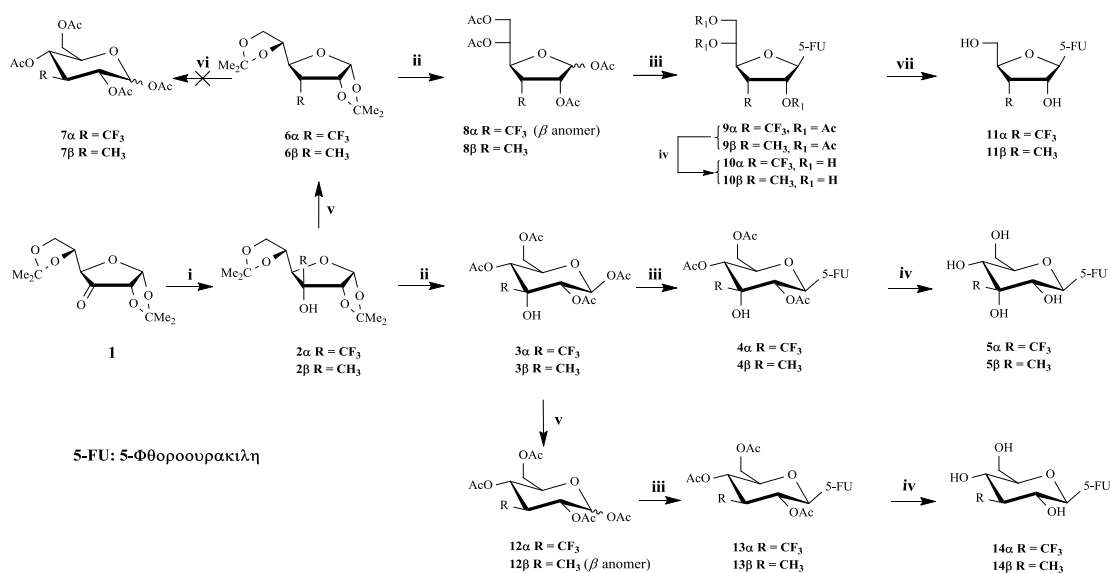
Για την αντίδραση που φαίνεται στο **Σχήμα 47** ( $R = CF_3$ ) η οποία οδηγεί σε φούρανο διαμόρφωση, η ενδιάμεση δομή της φαίνεται στην **Εικόνα 1B**. Υπολογισμοί MD χρησιμοποιήθηκαν για την μέτρηση των αποστάσεων των οξυγόνων 1 και 2 σε 2000 χαμηλής ενέργειας ενδιάμεσα. Αλληλεπίδραση του οξυγόνου 1 με την καρβονυλομάδα θα οδηγούσε σε φούρανο δομή, ενώ αλληλεπίδραση του οξυγόνου 2 θα οδηγούσε σε πύρανο δομή. Η μέση τιμή της απόστασης του οξυγόνου 1 από τον άνθρακα του καρβονυλίου, σε 2000, χαμηλής ενέργειας, ενδιάμεσα βρέθηκε ότι είναι 4.26 Å. Η μέση τιμή της απόστασης του οξυγόνου 2 από τον ίδιο άνθρακα, βρέθηκε ότι είναι 4.63 Å δικαιολογώντας τον σχηματισμό πενταμελούς δακτυλίου έναντι του εξαμελούς. Αξίζει να σημειωθεί ότι η μέση απόσταση του οξυγόνου 1 από τον άνθρακα του καρβονυλίου παραμένει σταθερή στα δύο ενδιάμεσα (Σχήματα 46, 47). Στην προκειμένη περίπτωση (Εικόνα 1B) είναι η απόσταση του οξυγόνου 2 από τον άνθρακα της καρβονυλομάδας η οποία δεν ευνοεί την αλληλεπίδραση μεταξύ τους. Πιθανή εξήγηση είναι ότι η απουσία της υδροξυλομάδας, που είναι γειτονική με την τριφθορομεθυλο-ομάδα ευνοεί τον διαφορετικό προσανατολισμό των δύο υδροξυλομάδων που φέρουν τα οξυγόνα 1 και 2. Πράγματι αυτές οι δύο υδροξυλομάδες εμφανίζονται στην ίδια πλευρα, σε αντιδιαστολή με το προηγούμενο ενδιάμεσο, όπου έχουν αντίθετες κατευθύνσεις λόγω της ύπαρξης μίας επιπλέον υδροξυλομάδας.



Σχήμα 47

Για την ίδια αντίδραση **Σχήμα 47** ( $R = CH_3$ ) (Εικόνα 1C), τα αποτελέσματα είναι ακόμη πιο επιβεβαιωτικά. Η μέση τιμή της απόστασης του οξυγόνου 1 από τον άνθρακα του καρβονυλίου, σε 2000, χαμηλής ενέργειας, ενδιάμεσα βρέθηκε ότι είναι 3.26 Å. Η μέση τιμή της απόστασης του οξυγόνου 2 από τον ίδιο άνθρακα, βρέθηκε ότι είναι 5.1715 Å δικαιολογώντας τον σχηματισμό πενταμελούς δακτυλίου έναντι του εξαμελούς. Ο ίδιος λόγος, με τα προηγούμενα, μπορεί να εξηγήσει την σύνθεση του φούρανο παραγώγου.

Στο παρακάτω σχήμα παρουσιάζεται η πορεία που ακολουθήθηκε για την σύνθεση των 3'-C-τριφθορομεθυλο- (**5α**), 3'-C-μεθυλο- (**5β**) νουκλεοζιτών, καθώς και των 3'-C-τριφθορομεθυλο- (**14α**) και 3'-C-μεθυλο (**14β**) -3'-δεοξυπυρανονουκλεοζιτών, της 5-φθοροουρακίλης.



**Σχήμα 48:** (i) THF, TFMTS, TBAF 1M, 1h, ή Et<sub>2</sub>O, CH<sub>3</sub>MgBr 1M, -20<sup>0</sup>C, 3h; (ii) a) H<sub>2</sub>O, MeOH, Amberlite IR 120 (H<sup>+</sup>), θέρμανση, 12h; b) Ac<sub>2</sub>O, πυριδίνη, 1h; (iii) 5-FU, CH<sub>3</sub>CN, TMSOTf, θέρμανση, 1h; (iv) Μεθανολική αμμωνία, 12h; (v) a) Μέθυλο οξαλικό χλωρίδιο, πυριδίνη, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 1h; b) Bu<sub>3</sub>SnH, AIBN, τολουόλιο, 100 <sup>0</sup>C, 1h; (vi) a) H<sub>2</sub>O, MeOH, Amberlite IR 120 (H<sup>+</sup>), θέρμανση, 12h; b) Ac<sub>2</sub>O, πυριδίνη, 1h, ή (AcOH)/Ac<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, ή τριφθοροξικό οξύ, Ac<sub>2</sub>O; (vii) NaIO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O, MeOH, NaBH<sub>4</sub>, 2h; (viii) a) Μέθυλο οξαλικό χλωρίδιο, πυριδίνη, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 1h; b) Bu<sub>3</sub>SnH, AIBN, τολουόλιο, 100 <sup>0</sup>C, 1h, or Et<sub>3</sub>SiH, τριφθοροξικό οξύ, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 1h.

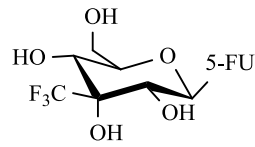
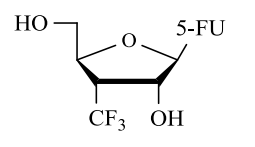
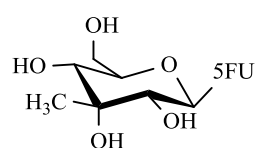
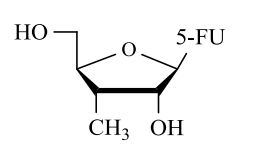
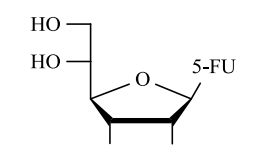
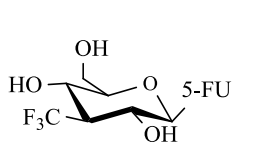
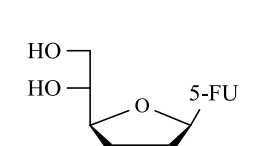
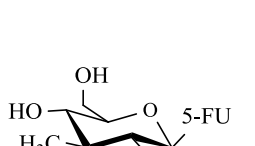
### Π.1.8 Αντιική και αντικαρκινική δράση των 3'-C-τριφθορομεθυλο-, 3'-C-μεθυλο- και 3'-δεοξυ-3'-C-τριφθορομεθυλο-, 3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλο-πυρανονουκλεοζιτών της 5- φθοροουρακίλης

Οι νεοσυντιθέντες νουκλεοζίτες **5α,β**, **10α,β**, **11α,β** και **14α,β** εξετάστηκαν ως προς την αντιική και αντικαρκινική τους δράση. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Ιολογίας και Χημειοθεραπείας του Ινστιτούτου Ιατρικής Έρευνας Rega, στο Βέλγιο.

Συγκεκριμένα, οι τελικές ενώσεις αξιολογήθηκαν για την κυτταροστατική τους δράση έναντι του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων λευχαιμίας (L1210), των ανθρώπινων T-λεμφοκυττάρων (CEM), καθώς επίσης και των ανθρώπινων τραχηλικών καρκινικών κυττάρων (HeLa) (Πίνακας 1). Ο νουκλεοζίτης 1-(3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλη **11β** (~7 μM) παρουσίασε αξιόλογη κυτταροτοξική δράση έναντι και των τριών κυτταρικών σειρών, παρόμοια με αυτή της ελεύθερης βάσης 5-φθοροουρακίλη (0.49 - 18 μM). Ενώ το παράγωγο **5α** εμφάνισε μέτρια κυτταροτοξική δράση έναντι των L1210 και HeLa καρκινικών κυτταρικών σειρών με τιμές 38 και 44 μM, αντίστοιχα. Χρήζει περαιτέρω διερεύνησης αν η συγκεκριμένη ανασταλτική δράση του μέθυλο αναλόγου **11β** οφείλεται σε ολόκληρο το μόριο ή ενδεχομένως η ένωση λειτουργεί ως προφάρμακο της 5-φθοροουρακίλης, η οποία αποσπάται είτε ως ελεύθερη βάση με τη βοήθεια φωσφορολυτικών ενζύμων ή/και απελευθερώνεται αυθόρμητα. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τους παραπάνω ελέγχους παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα και συγκρίνονται με αυτά της 5-FU.

Τα τελικά προϊόντα αποτιμήθηκαν επίσης για την αντιική τους δράση έναντι μιας πληθώρας τόσο DNA όσο και RNA ιών, χωρίς ωστόσο να παρουσιάσουν ικανοποιητικά αποτελέσματα ακόμη και σε υψηλές συγκέντρωσεις (100 μM).

**Πίνακας 1.** Ανασταλτική δράση των ενώσεων **5α,β, 10α,β, 11α,β** και **14α,β** έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων L1210, CEM και HeLa.

<u>Προϊόν</u>	<u>IC<sub>50</sub> (μM)</u>			<u>Προϊόν</u>	<u>IC<sub>50</sub> (μM)</u>		
	<u>L1210</u>	<u>CEM</u>	<u>HeLa</u>		<u>L1210</u>	<u>CEM</u>	<u>HeLa</u>
 <p><b>5α</b></p>	38 ± 6	>250	44 ± 5	 <p><b>11α</b></p>	218±46	>250	217±46
 <p><b>5β</b></p>	>250	>250	>250	 <p><b>11β</b></p>	8.3±1.6	9.0±2.0	6.5±5.9
 <p><b>10α</b></p>	223±38	>250	>250	 <p><b>14α</b></p>	>250	>250	≥250
 <p><b>10β</b></p>	167 ± 0	>250	154±4	 <p><b>14β</b></p>	>250	>250	>250
<b>5-Fluorouracil</b>	0.33±0.17	18±5	0.54±0.12				



## Π.2 Σύνθεση νέων C5 τροποποιημένων 3'-C-τριφθορομεθυλο-πυρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης (17α-ε)

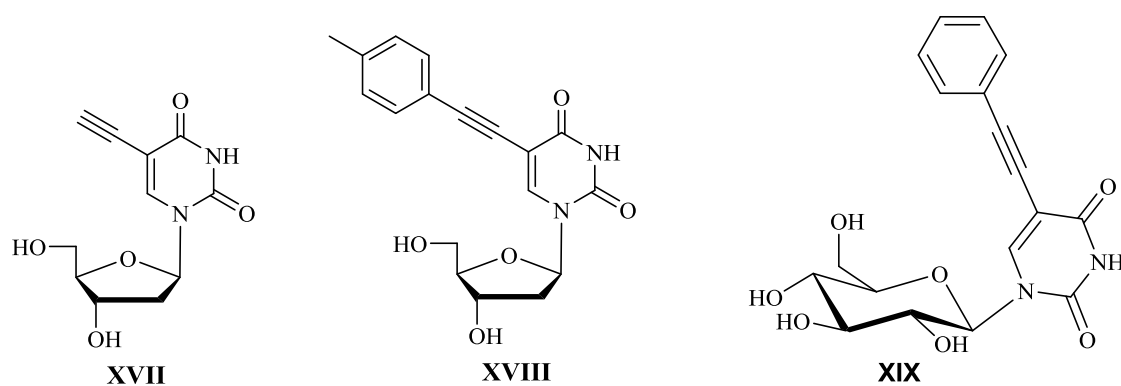
Μία ακόμη σημαντική κατηγορία νουκλεοζιτών οι οποίοι εμφανίζουν ιδιαίτερες βιολογικές ιδιότητες, είναι νουκλεοζιτικά ανάλογα που φέρουν τροποποιήσεις στο τμήμα της βάσης (Herdewijn, 2008). Οι τροποποιημένες πυριμιδίνες έχει αποδειχθεί ότι αποτελούν ιδιαίτερες φαρμακοφόρες ομάδες οι οποίες, αλληλεπιδρούν στη σύνθεση και λειτουργία των νουκλεϊνικών οξέων, παρεμβαίνοντας στις βιοσυνθετικές οδούς ανταγωνιζόμενες τις φυσικές πυριμιδίνες, για τις ίδιες θέσεις δεσμευσης (Lagoja, *et al.*, 2005). Η καταλληλότερη θέση για τροποποίηση μιας πυριμιδίνης είναι η C-5 (Sági *et al.*, 1993, Froehler *et al.*, 1992) καθώς αρκετές C-5 τροποποιημένες πυριμιδίνες έχουν επιδείξει σημαντικές βιολογικές ιδιότητες (Dryer *et al.*, 1981, Goodwin *et al.*, 1993).

Βασιζόμενοι στα ανωτέρω θεωρήσαμε ενδιαφέρουσα τη σύνθεση νέων πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων που φέρουν την βιολογικά δραστική τριφθορομεθυλο-ομάδα καθώς και τροποποιημένη πυριμιδινική βάση με στόχο την περαιτέρω αύξηση της βιολογικής δράσης.

Η πιο χρήσιμη μέθοδος για τον σχηματισμό δεσμού C-C, για την τροποποίηση των νουκλεοβάσεων των νουκλεοζιτικών αναλόγων, είναι η αντίδραση διασταυρούμενης σύζευξης τελικών αλκυνίων καταλυόμενη από Pd (Agrofolio *et al.*, 2003). Ο μηχανισμός αυτής της αντίδρασης έχει διερευνηθεί από τον Sonogashira το 1975 (Sonogashira *et al.*, 1975). Η αντίδραση Sonogashira αποτελεί ένα σημαντικό εργαλείο στη σύνθεση οργανικών ενώσεων, η οποία έχει εφαρμογές στην παρασκευή φαρμακευτικών και φυσικών προϊόντων. Μέσω αυτής της αντίδρασης υφίστανται τροποποίηση οι νουκλεοζίτες των αλογονομένων C-5 πυριμιδινικών και C-2, C-6 ή C-8 των πουρινικών αναλόγων, προσδίδοντας στις νέες δομές διάφορες βιολογικές ιδιότητες.

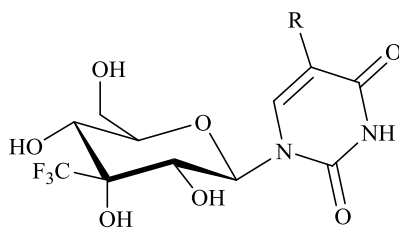
Ανάμεσα στους νουκλεοζίτες με τροποποίηση στον πυριμιδινικό δακτύλιο που έχουν συντεθεί, οι 5-υποκατεστημένες 2'-δεοξουριδίνες παρουσίασαν σημαντικές αντικρκικές (De Clercq *et al.*, 1983, Efanega *et al.*, 1985) και αντικαρκινικές ιδιότητες (Vincent *et al.*, 1985). Συγκεκριμένα, η 5-αιθυνυλο-2'-δεοξουριδίνη (**XVII**), έχει ισχυρή ανασταλτική δράση έναντι των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του μαστού MCF-7 με  $IC_{50}$   $0,4 \pm 0,3$   $\mu$ M και MDA-MB-231 με  $IC_{50}$   $4,4 \pm 0,4$   $\mu$ M, η 4-

(μεθυλοφαινυλο)αιθυνο-2'-δεοξουριδίνη (**XVIII**) έδειξε υψηλή ανασταλτική δράση έναντι των MCF-7 με  $IC_{50}$   $0,9 \pm 0,2$   $\mu$ M συγκρίσιμη με αυτήν της σισπλατίνης (Cisplatin) (Meneni *et al.*, 2007), καθώς επίσης και ο C5-φαινυλοαιθυνο γλυκοπυρανονουκλεοζίτης της ουρακίλης (**XIX**) (Σχήμα 49), ο οποίος επέδειξε σημαντική κυτταροτοξική δράση ( $IC_{50}$  5.2-6.2  $\mu$ M), συγκρίσιμη με αυτή της 5-φθοροουρακίλης (Dimoroulou *et al.*, 2013).



Σχήμα 49

Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω πειραματικά δεδομένα και σε συνδυασμό με την αξιολόγηση κυτταροτοξική δράση του 3'-C-τριφθορομεθυλο-αλλοπυρανονουκλεοζίτη της 5-φθοροουρακίλης (**5a**), θεωρήσαμε ενδιαφέρον να σχεδιάσουμε και να συνθέσουμε μία νέα τάξη C-5 φαινυλο υποκατεστημένων 3'-C-τριφθορομεθυλο-αλλοπυρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης που θα φέρουν υποκατεστημένους φαινυλοακετυλενικούς δακτυλίους. Έτσι, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση και η βιολογική αποτίμηση μιας νέας τάξης C-5-φαινυλο-αλκυνο 3'-C-τριφθορομεθυλο αλλοπυρανονουκλεοζιτών αναλόγων της ουρακίλης, που φέρουν υποκατεστημένο αρωματικό δακτύλιο με αλογόνα (F, Cl), μεθυλο-ομάδες (CH<sub>3</sub>) και μεθοξυ-ομάδες (OCH<sub>3</sub>) στη θέση (*ortho*, *meta*, *para*) του αρωματικού δακτυλίου (Σχήμα 50).



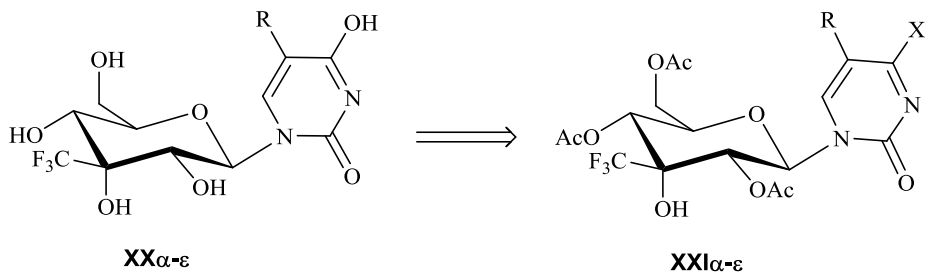
XXα-ε

- α:** R = 1-ethynyl-2-fluorobenzene  
**β:** R = 1-ethynyl-2-chlorobenzene  
**γ:** R = 1-ethynyl-2,5-dimethylbenzene  
**δ:** R = 1-ethynyl-2,4,5-trimethylbenzene  
**ε:** R = 1-ethynyl-3,4,5-trimethoxybenzene

Σχήμα 50

Εφαρμόζοντας μια ανάλογη ρετροσυνθετική προσέγγιση με αυτή των 3'-C-τριφθορομεθύλο πυρανονουκλεοζιτών, οι C-5-φαινυλοαιθυνυλο-3'-C-τριφθορομεθύλο-αλλοπυρανόζυλο νουκλεοζίτες **XX**, έχουν ως πρόδρομη ένωση τον αντίστοιχο πυρανονουκλεοζίτη της 5-ιωδοουρακίλης **XXII** που προκύπτει από τη συμπύκνωση της 3-C-τριφθορομεθύλο πυρανόζης **3α** με την 5-ιωδοουρακίλη (Σχήμα 51).

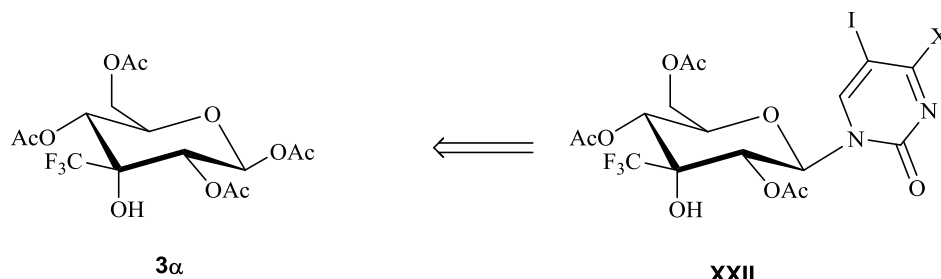
Σχήμα 51



XXα-ε

XXIα-ε

- α:** R = 1-ethynyl-2-fluorobenzene  
**β:** R = 1-ethynyl-2-chlorobenzene  
**γ:** R = 1-ethynyl-2,5-dimethylbenzene  
**δ:** R = 1-ethynyl-2,4,5-trimethylbenzene  
**ε:** R = 1-ethynyl-3,4,5-trimethoxybenzene



3α

XXII

### Π.2.1 Σύνθεση του 3'-C-τριφθορομεθυλ-β-D-αλλοπυρανοζυλο νουκλεοζιτών της 5-ιωδοουρακίλης (15)

Ο προστατευμένος 1-(2,4,6-τρι-*O*-ακετυλο-3'-C-τριφθορομεθυλο-β-D-αλλοπυρανοζυλο) νουκλεοζίτης της 5-ιωδοουρακίλης (15) προέκυψε από την σύζευξη της 1,2,4,6-τετρα-*O*-ακετυλο-3-*C*-τριφθορομεθυλο-β-D-αλλοπυρανόζης (3α) με την σιλυλιωμένη 5-ιωδοουρακίλη παρουσία του  $\text{Me}_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$ , έγινε με θέρμανση στους  $90^\circ\text{C}$  για μία ώρα. Μετά το πέρας της αντίδρασης, το μίγμα εξουδετερώθηκε με κορεσμένο διάλυμα όξινου ανθρακικού νατρίου  $\text{NaHCO}_3$  και εκχυλίστηκε με  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Η οργανική φάση ξηράθηκε με άνυδρο θεικό νάτριο  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  και ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό κενό. Η απομόνωση των προϊόντων έγινε με στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, οπότε παραλαμβάνονται ο επιθυμητός νουκλεοζίτης 15, με ικανοποιητική απόδοση 70% (Σχήμα 52). Στο φάσμα πρωτονίου ( $^1\text{H}$  NMR) της ένωσης 15 εμφανίζεται -όπως ήταν αναμενόμενο- μεγάλη σταθερά σύζευξης μεταξύ των πρωτονίων H-1' και H-2' ( $J_{1',2'} = 9.2$  Hz), υποδεικνύοντας έναν αξονικό προσανατολισμό για τα δύο αυτά πρωτόνια, με την ετεροκυκλική βάση να καταλαμβάνει την ισημερινή θέση του σακχάρου.

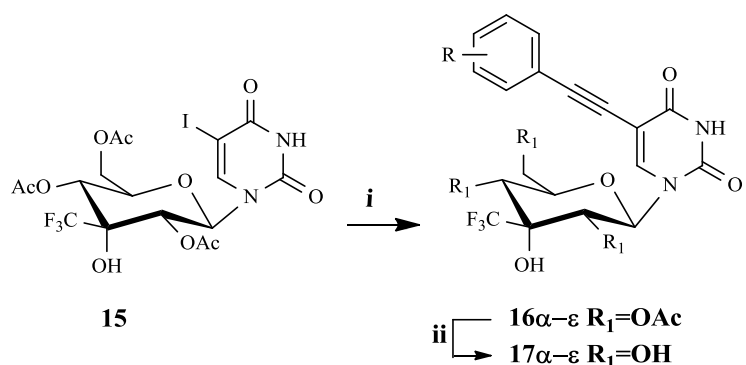


Σχήμα 52

### Π.2.2 Γενική μέθοδος σύνθεσης τελικών αλκυνίων (Sonogashira reaction)

Το επόμενο στάδιο της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την διασταυρούμενη σύζευξη καταλυόμενη από Pd των τελικών αλκυνίων με τον 3'-C-τριφθορομεθυλοπυρανονουκλεοζίτη της 5-ιωδοουρακίλης (15) (Σχήμα 52). Συγκεκριμένα, ο πυρανονουκλεοζίτης της 5-ιωδοουρακίλης (15) διαλύεται σε άνυδρο *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF), προσθέτοντας το κατάλληλο αλκύνιο, το τετράκις-τριφαινυλοφωσφίνο παλλάδιο ( $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ ) ως καταλύτη, τον ιωδιούχο χαλκό  $\text{CuI}$  ως συγκαταλύτη, και την τριαιθυλαμίνη ( $\text{Et}_3\text{N}$ ) ως βάση υπό ατμόσφαιρα αζώτου και

στη συνέχεια ακτινοβολούνται με μικροκύματα σε 200 Watt, για 5 λεπτά στους 50° C (Meneni *et al.*, 2007). Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), απομακρύνεται ο διαλύτης υπό κενό και ακολουθεί καθαρισμός των υπολειμμάτων σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, οπότε παραλαμβάνονται τα επιθυμητά προϊόντα **16α-ε** (79-83%). Το τελικό στάδιο της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την αποπροστασία των ενώσεων **16α-ε** με κατεργασία τους με μεθανολική αμμωνία (Neilson και Werstuijk, 1971), οπότε και λαμβάνονται οι επιθυμητοί τελικοί νουκλεοζίτες **17α-ε** (Σχήμα 53).



$\text{R} = (\alpha) \text{ 2-F, } (\beta) \text{ 2-Cl, } (\gamma) \text{ 2,5-CH}_3, (\delta) \text{ 2,4,5-CH}_3, (\epsilon) \text{ 3,4,5-CH}_3\text{O}$

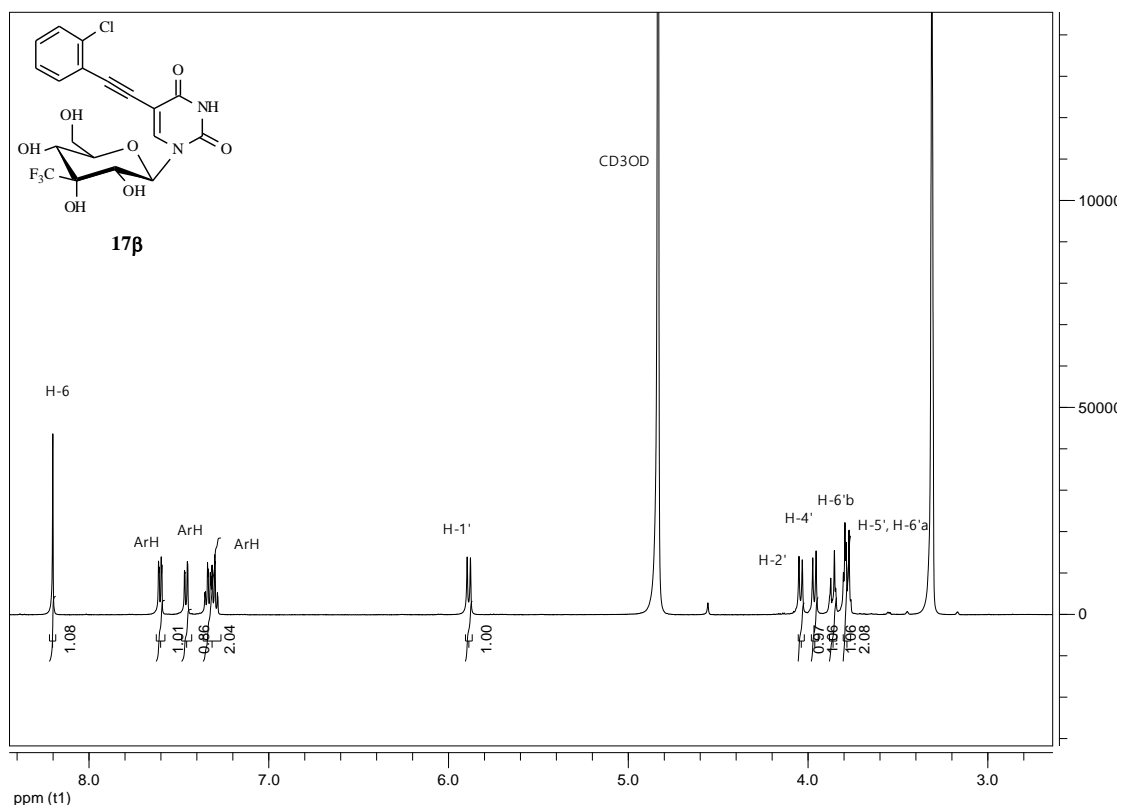
**i) DMF, Et<sub>3</sub>N, CuI, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>**

**ii) NH<sub>3</sub>/MeOH**

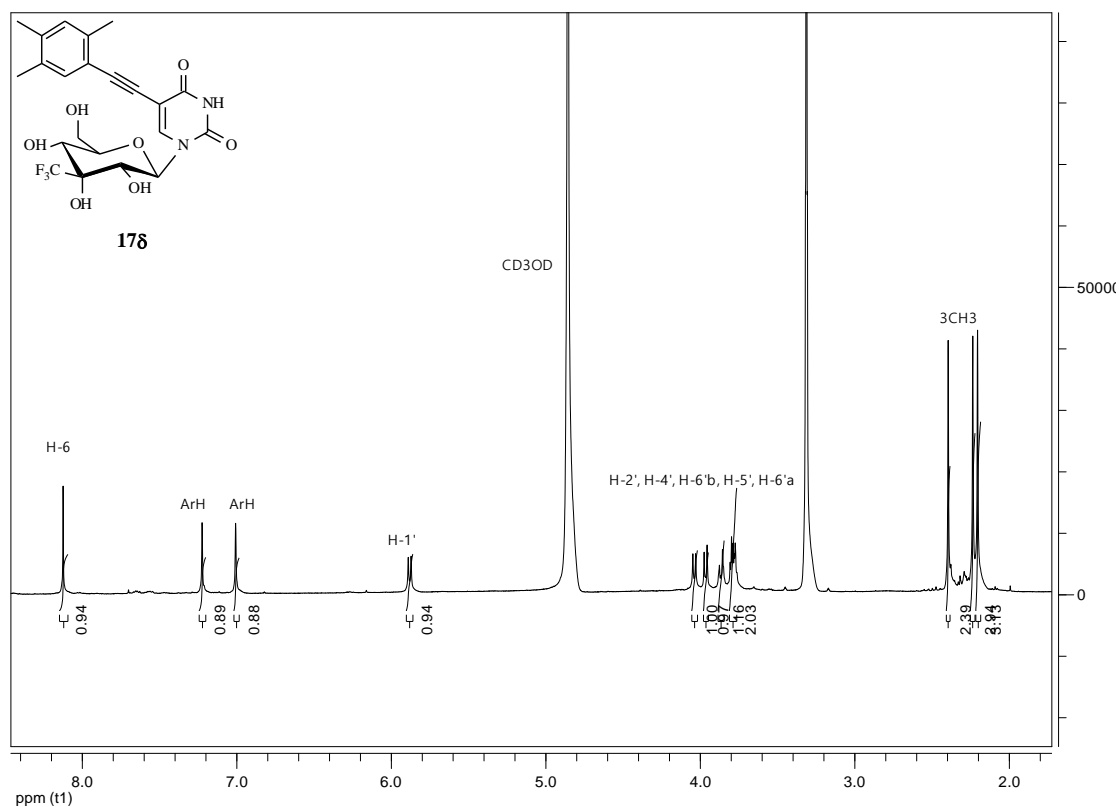
### Σχήμα 53

Στο σχήμα 54 παρουσιάζεται το φάσμα <sup>1</sup>HNMR της 1-(3'-C-τριφθορομεθυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(2-χλωροφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλης (**17β**). Στο φάσμα εμφανίζεται μία απλή κορυφή στα 8.12 ppm η οποία αντιστοιχεί στο H-6 πρωτόνιο της ουρακίλης και ακολουθούν δύο διπλές διπλών κορυφές στα 7.61 και 7.47 ppm και μία πολλαπλή στα 7.36-7.29 που αντιστοιχούν στα τέσσερα H του φαινυλίου. Το σήμα στα 5.89 ppm είναι μία διπλή κορυφή με  $J_{1',2'} = 9.1\text{Hz}$  και είναι το πρωτόνιο H-1' του σακχάρου. Η μεγάλη σταθερά σύζευξης μεταξύ των γειτονικών πρωτονίων H-1' και H-2' αποδεικνύει την β στερεοχημεία δηλαδή η ουρακίλη λαμβάνει την ισημερινή θέση. Στη συνέχεια παρατηρούμε τρεις διπλές κορυφές στα 4.04, 4.00 και 3.86 ppm που αντιστοιχούν στα H-2', H-4' και H-6'β πρωτόνια, αντίστοιχα, ακολουθούμενη από μία πολλαπλή για τα πρωτόνια H-5' και H-6'α. Στο φάσμα του σχήματος 55 παρουσιάζεται το <sup>1</sup>HNMR της 1-(3'-C-τριφθορομεθυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(2,4,5-τριμεθυλοφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (**17δ**). Σε αυτό το

φάσμα παρατηρούνται δύο σημαντικές διαφορές σε σχέση με το προηγούμενο. Αναλυτικά, εμφανίζονται δύο απλές κορυφές στα 7.22, 7.01 ppm που αντιστοιχούν στα δύο, πλέον, πρωτόνια του φαινυλίου και τρεις απλές κορυφές στα 2.40, 2.24 και 2.21 ppm, οι οποίες αντιστοιχούν στα εννιά πρωτόνια των τριών μεθυλομάδων.

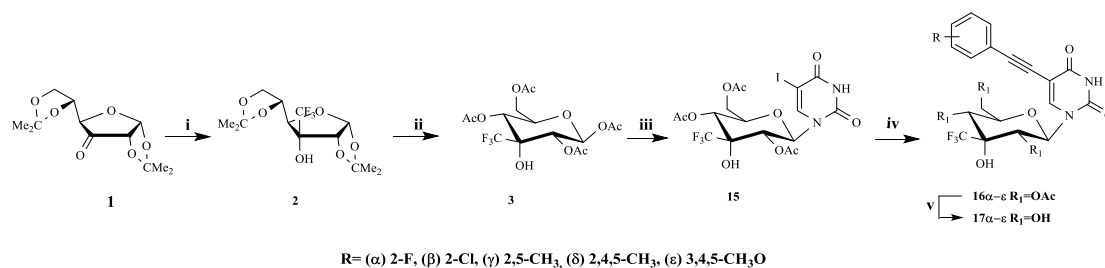


Σχήμα 54: <sup>1</sup>H NMR του προϊόντος 17β



Σχήμα 55:  $^1\text{H}$ NMR του προϊόντος 17δ

Στο παρακάτω σχήμα παρουσιάζεται η πορεία που ακολουθήθηκε για την σύνθεση των C-5 τροποποιημένων 3'-C-τριφθορομέθυλο πυρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης.

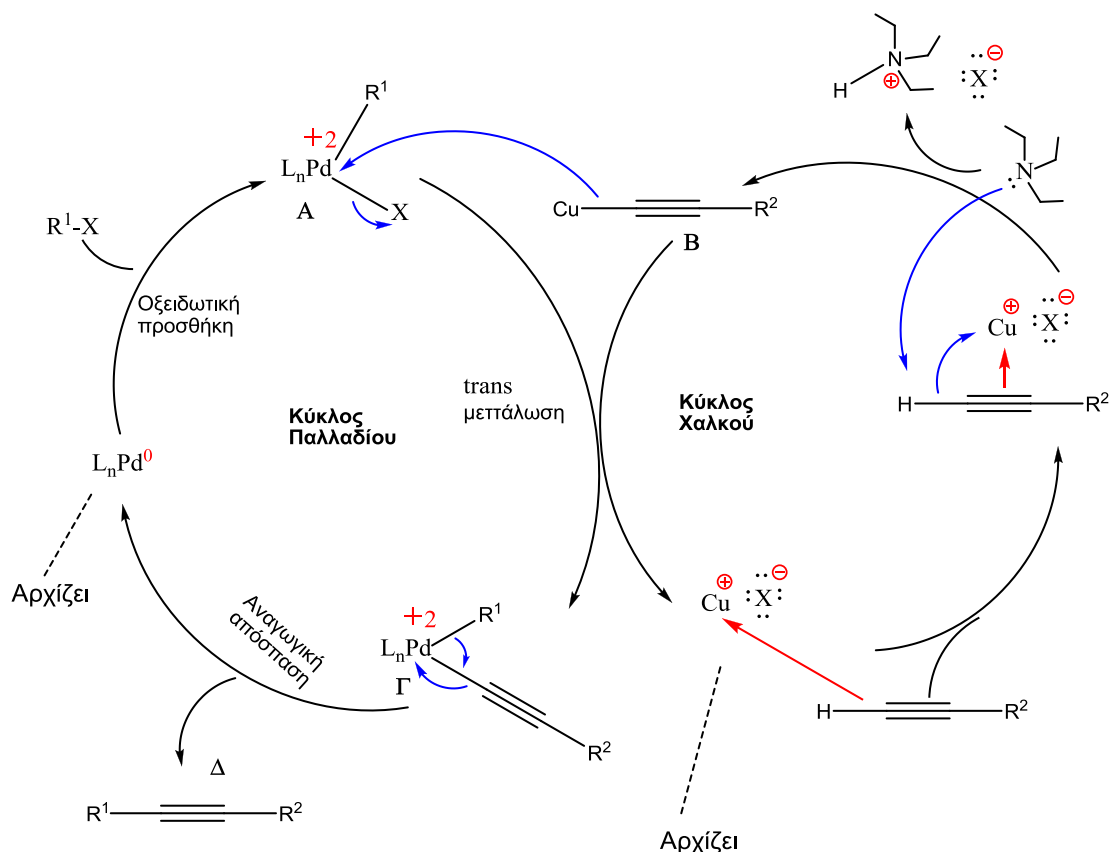


**Σχήμα 56:** Αντιδραστήρια και συνθήκες: (i) τετραυδροφουράνιο (THF), τριφθορομέθυλο τριμέθυλ σιλάνιο (TFMST), τέτραβουτυλο φθορο αμμώνιο (TBAF) 1M, 1h, (ii) a)  $\text{H}_2\text{O}$ , MeOH, Amberlite IR 120 ( $\text{H}^+$ ), θέρμανση, 12h, β) οξικός ανδρίτης, πυριδίνη, 1h (iii) σιλωλωμένη βάση, 5-IU,  $\text{CH}_3\text{CN}$ , TMSOTf, θέρμανση, 1h, (iv) DMF, CuI,  $\text{Et}_3\text{N}$ , Pd( $\text{PPh}_3$ ) $_4$ , και το κατάλληλο αλκίνιο, (v) μεθανολική αμμωνία.

### II.2.3 Αντίδραση Sonogashira

Η αντίδραση διασταυρούμενης σύζευξης καταλυόμενη από Pd (Sonogashira, 1975) είναι η αντίδραση ενός αλογονιδίου με ένα τελικό αλκύνιο προς το σχηματισμό συζευγμένου προϊόντος με καταλυτική επίδραση παλλαδίου, παρουσία συγκαταλύτη ιωδιούχου χαλκού και μιας βάσης όπως η τριαιθυλαμίνη. Ο μηχανισμός αρχίζει στον κύκλο του παλλαδίου με την οξειδωτική προσθήκη του αλογονιδίου στο Pd<sup>0</sup> για να σχηματίσει το σύμπλοκο **A** (Pd<sup>II</sup>) (αυξάνεται ο αριθμός οξείδωσης του καταλύτη). Ταυτόχρονα στον κύκλο του χαλκού αντιδρά το τελικό αλκύνιο με τον ιωδιούχο χαλκό παρουσία της τριαιθυλαμίνης, η οποία έχει ένα ασύζευκτο ζεύγος ηλεκτρονίων και αποσπάει το H του τελικού αλκινίου (γίνεται πιο όξινο), όπου δημιουργείται το σύμπλοκο **B**. Το **B** αντιδρά με το **A** όπου ο χαλκός δεσμεύει το αλογόνο και το αλκύνυλο ανιόν αντικαθιστά το αλογόνο στο σύμπλοκο **A** προς το σχηματισμό του συμπλόκου **Γ**, συγχρόνως αναγεννάται ο καταλύτης του ιωδιούχου χαλκού. Τέλος, ακολουθεί η αποπαλλαδίωση και η αναγωγική απόσπαση του συμπλόκου **Γ** όπου μειώνεται ο αριθμός οξείδωσης του παλλαδίου και σχηματίζεται το τελικό συζευγμένο προϊόν **Δ** με την ταυτόχρονη αναγέννηση του καταλύτη του παλλαδίου (Pd) και κατόπιν ο κύκλος της αντίδρασης μπορεί να αρχίσει εκ νέου. Στην Εικόνα 2 παρουσιάζεται σχηματικά ο μηχανισμός της αντίδρασης.





Εικόνα 2. Προτεινόμενος μηχανισμός Sonogashira reaction

## Π.2.4 Χρήση μικροκυμάτων

Η θέρμανση με μικροκύματα χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά στην οργανική σύνθεση το 1986, από τις ομάδες των Gedye και Giguere-Majetich (Gedye *et al*, 1986, Giguere *et al*, 1986). Σήμερα χρησιμοποιείται ευρύτατα και με μεγάλη επιτυχία γιατί δίνει υψηλές αποδόσεις υπό ηπιότερες και φιλικότερες προς το περιβάλλον συνθήκες, συχνά χωρίς την χρήση διαλυτών, άλλοτε με ανακύκλωση τους, αλλά και με μικρότερη κατανάλωση ενέργειας. Η δυνατότητα εκτέλεσης αντιδράσεων με απ' ευθείας αλληλεπίδραση μικροκυματικής ενέργειας επί του μίγματος της αντίδρασης, σε πολύ μικρούς χρόνους, σε αντιδιαστολή προς την έμμεση μεταφορά ενέργειας με την χρήση ελαιόλουτρου ή παρόμοιας συσκευής, επιτρέπει να θεωρηθεί, η πρώτη, ως «πράσινη» διεργασία, όχι μόνον λόγω της μειωμένης κατανάλωσης ενέργειας αλλά και λόγω της οικονομίας χρόνου, δηλαδή της αυξημένης αποτελεσματικότητας της.

Μια από τις πιο σημαντικές και περισσότερο μελετημένες ομάδες των αντιδράσεων που υποβοηθούνται με μικροκύματα, είναι η αντίδραση

διασταυρούμενης σύζευξης καταλυόμενης από Pd (Sonogashira, 1975). Αποτελεί την πιο κοινή μέθοδο για την σύνθεση τροποποιημένων στη βάση νουκλεοζιτικών αναλόγων με αιθύνυλο υποκαταστάτες. Πραγματοποιείται με την καταλυτική επίδραση Pd συγκαταλύτη CuI και τριαιθυλαμίνης και του κατάλληλου αλκινίου.

Γενικά θα μπορούσαμε να πούμε ότι η οργανική σύνθεση με χρήση μικροκυμάτων αποτελεί “πράσινη” τεχνική και υπερέχει σε σχέση με τη συμβατική θέρμανση λόγω του ότι προσφέρει ομοιόμορφη θέρμανση σε όλο το μίγμα της αντίδρασης, αυξάνοντας σημαντικά την ταχύτητα της με αποτέλεσμα να, ελαττώνει τις παράπλευρες απώλειες οδηγώντας σε αυξημένες αποδόσεις.

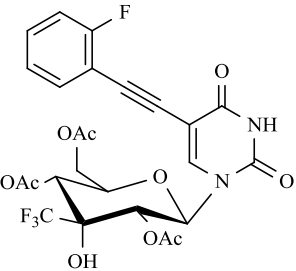
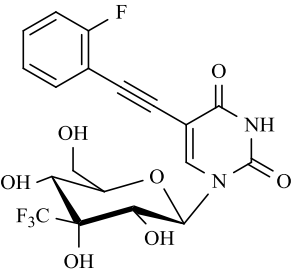
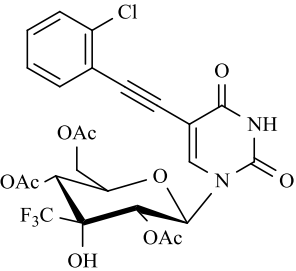
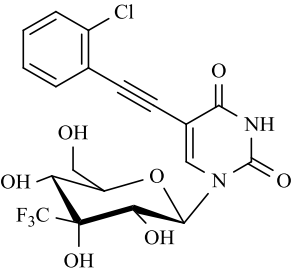
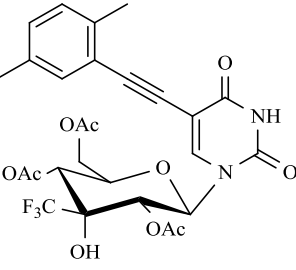
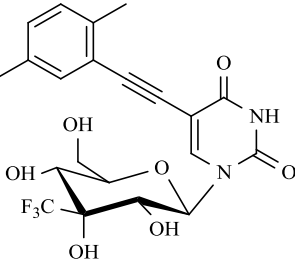
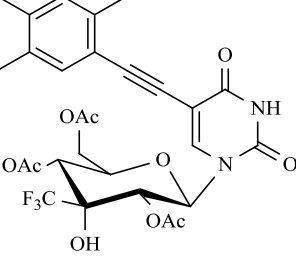
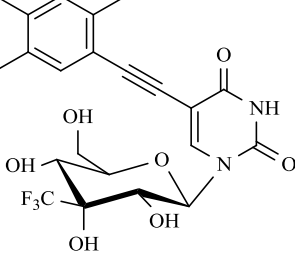
### **Π.2.5 Αντιική και αντικαρκινική δράση των C5 τροποποιημένων 3'-C-τριφθορομεθυλο πυρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης**

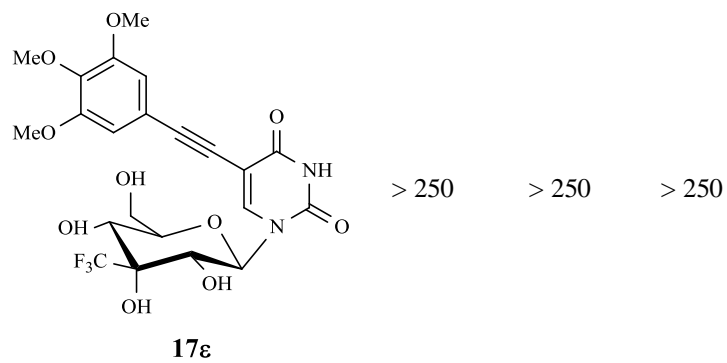
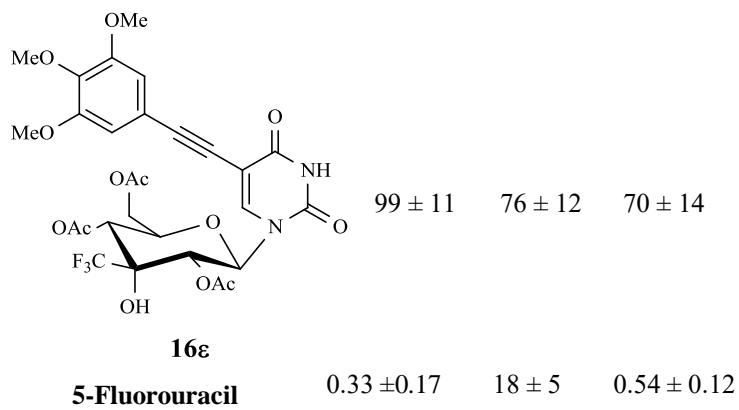
Οι νεοσυντιθέντες νουκλεοζίτες **16α-ε** και **17α-ε** αξιολογήθηκαν ως προς την αντιική και αντικαρκινική τους δράση. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Ιολογίας και Χημειοθεραπείας του Ινστιτούτου Ιατρικής Έρευνας Rega, στο Βέλγιο.

Συγκεκριμένα, οι τελικές ενώσεις αξιολογήθηκαν για την κυτταροστατική τους δράση έναντι του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων λευχαιμίας (L1210), των ανθρώπινων T-λεμφοκυττάρων (CEM), καθώς επίσης και των ανθρώπινων τραχηλικών καρκινικών κυττάρων (HeLa) (Πίνακας 2). Παρατηρούμε ότι οι ακετυλιωμένοι νουκλεοζίτες **16γ** και **16δ** οι οποίοι φέρουν μέθυλο υποκατάσταση στον βενζολικό δακτύλιο επέδειξαν μέτρια κυτταροστατική δράση έναντι των καρκινικών κυτταρικών σειρών L1210 και HeLa με IC<sub>50</sub> 23 και 20 μM, αντίστοιχα. Ενώ εμφάνισαν εφάμιλλη δράση με αυτή της 5-FU (IC<sub>50</sub> 18 ± 5 μM) για την καρκινική σειρά CEM με τιμές IC<sub>50</sub> 20 και 19 μM, αντίστοιχα. Πρέπει να τονιστεί ότι οι αντίστοιχοι υδροξυλιωμένοι νουκλεοζίτες **17γ** και **17δ** δεν έδειξαν καμία δράση σε καμία κυτταρική σειρά, πράγμα που μας οδηγεί να συμπεράνουμε ότι, οι συγκεκριμένοι νουκλεοζίτες δεν υπέστησαν ενδοκυτταρική τροποποίηση (π.χ. φωσφορυλίωση). Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τους παραπάνω ελέγχους παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα και συγκρίνονται με αυτά της 5-FU.

Τα τελικά προϊόντα αποτιμήθηκαν επίσης για την αντιική τους δράση έναντι μιας πληθώρας τόσο DNA όσο και RNA ιών, χωρίς ωστόσο να παρουσιάσουν ικανοποιητικά αποτελέσματα ακόμη και σε υψηλές συγκεντρώσεις (100  $\mu\text{M}$ ).

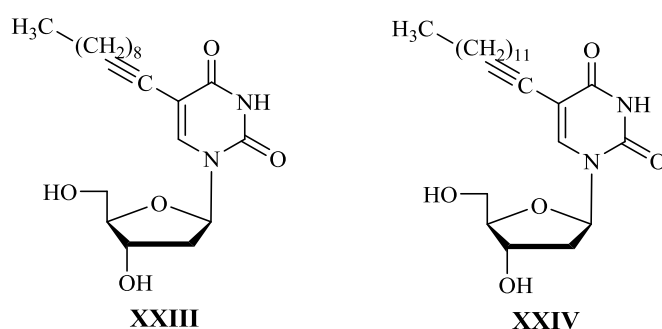
**Πίνακας 2.** Ανασταλτική δράση των ενώσεων **16a-ε** και **17a-ε** έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων L1210, CEM και HeLa.

<u>Προϊόν</u>	$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )			<u>Προϊόν</u>	$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )		
	L1210	CEM	HeLa		L1210	CEM	HeLa
 <p><b>16a</b></p>	118 $\pm$ 6	64 $\pm$ 3	76 $\pm$ 3	 <p><b>17a</b></p>	> 250	>250	> 250
 <p><b>16b</b></p>	91 $\pm$ 13	100 $\pm$ 8	$\geq$ 250	 <p><b>17b</b></p>	> 250	> 250	> 250
 <p><b>16c</b></p>	23 $\pm$ 4	20 $\pm$ 1	23 $\pm$ 1	 <p><b>17c</b></p>	> 250	> 250	> 250
 <p><b>16d</b></p>	23 $\pm$ 1	19 $\pm$ 3	20 $\pm$ 2	 <p><b>17d</b></p>	170 $\pm$ 61	178 $\pm$ 28	> 250



### Π.3 Σύνθεση C5 τροποποιημένων 3'-δεοξυ-, 3'-μεθυλο-3'-δεοξυ-, 2'-δεοξυ-, ριβοφούρανο νουκλεοζιτών της ουρακίλης

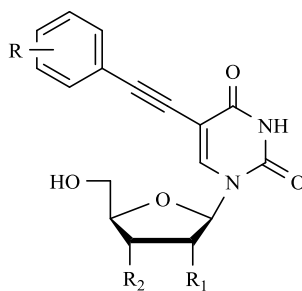
Όπως έχουμε αναφέρει, τροποποιήσεις στο τμήμα του σακχάρου και στο τμήμα της βάσης, ενός νουκλεοζίτη, μπορούν να επιφέρουν αξιόλογες μεταβολές τόσο στη βιολογική τους δραστηριότητα (αντιική, αντικαρκινική κ.α.) όσο και αλλαγές των φυσικοχημικών τους ιδιοτήτων (λιποφιλικότητα κ.α.). Από αυτή την άποψη, μετακίνηση των υδροξυλομάδων από την 2'- ή 3'- θέση του σακχάρου οδήγησε στην ανακάλυψη βιολογικά ενεργών διδεοξυνουκλεοζιτών (Zhou *et al.*, 2004). Επίσης, οι τροποποιημένες νουκλεοβάσεις παρεμβαίνουν στη βιοσύνθεση των νουκλεϊνικών οξέων, είτε αντικαθιστώντας τις φυσικές πουρίνες ή πυριμιδίνες, είτε τις ανταγωνίζονται για τα ίδια σημεία πρόσδεσης (Lagoja *et al.*, 2005). Μεταξύ των μεταβολών στις νουκλεοβάσεις που πραγματοποιήθηκαν στο παρελθόν, η εισαγωγή μιας ομάδας αλκυλίου υπήρξε μια ιδιαίτερα ελπιδοφόρα υποκατάσταση προς την ανάπτυξη παραγώγων φαρμακευτικού ενδιαφέροντος. Συγκεκριμένα, τροποποιημένες ουριδίνες με αλκυνύλο ομάδες έδειξαν ιδιαίτερες αντιικές (De Clercq *et al.*, 1983, Efanega *et al.*, 1985), αντικαρκινικές (Vincent *et al.*, 1985), ενώ ο 5-δωδεκυλ-2'-δεοξουριδίνη (XXIII) και η 5-τετραδεκυλ-2'-δεοξουριδίνη (XXIV) επέδειξαν ισχυρή αντιμικροβιακή ικανότητα έναντι των *M. bovis* και *M. avium* (Rai *et al.*, 2005) (Σχήμα 57) και ο C-5-φαινυλαιθυνυλο γλυκοπυρανονουκλεοζίτης της ουρακίλης (XIX) (Σχήμα 49), ο οποίος επέδειξε σημαντική κυτταροτοξική δράση (IC<sub>50</sub> 5.2-6.2 μM) συγκρίσιμη με αυτή της 5- φθοροουρακίλης (Dimoroulou *et al.*, 2013).



Σχήμα 57

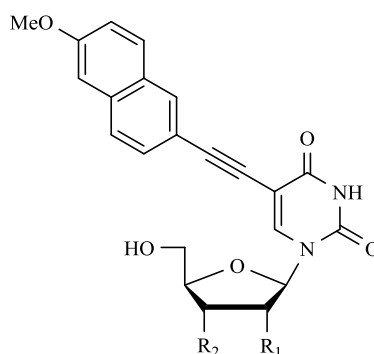
Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω πειραματικά δεδομένα και σε συνδυασμό με την αξιόλογη κυτταροτοξική δράση του 3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλοφουρανονουκλεοζίτη της 5-φθοροουρακίλης (11β) (IC<sub>50</sub>: 6.5-9.0 μM), θεωρήσαμε ενδιαφέρον να σχεδιάσουμε και να συνθέσουμε μία νέα τάξη C5 φαίνυλο

υποκατεστημένων ριβοφουρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης που θα φέρουν υποκατεστημένους φαινολικούς δακτυλίους, καθώς και πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες. Έτσι, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση και η βιολογική αποτίμηση μιας νέας τάξης C-5-φαινυλο-αλκυνολο 3'-δεοξυ-, 3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλο-, 2'-δεοξυ ριβοφουρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης, που φέρουν υποκατεστημένο αρωματικό δακτύλιο με αλογόνα (F, Cl) και μέθυλο ομάδες (CH<sub>3</sub>) στη θέση (*ortho*, *meta*, *para*) του αρωματικού δακτυλίου, καθώς επίσης και το 6-μεθοξυ-ναφθαλίνιο. (Σχήμα 58).



XXVα-ιστ

- |  |   |
|--|---|
| α: R = 2-F, R <sub>1</sub> = R <sub>2</sub> = OH                       | θ: R = 2-F, R <sub>1</sub> = OH, R <sub>2</sub> = CH <sub>3</sub>                     |
| β: R = 2-Cl, R <sub>1</sub> = R <sub>2</sub> = OH                      | ι: R = 2-Cl, R <sub>1</sub> = OH, R <sub>2</sub> = CH <sub>3</sub>                    |
| γ: R = 2,5-CH <sub>3</sub> , R <sub>1</sub> = R <sub>2</sub> = OH      | ια: R = 2,5-CH <sub>3</sub> , R <sub>1</sub> = OH, R <sub>2</sub> = CH <sub>3</sub>   |
| δ: R = 2,4,5-CH <sub>3</sub> , R <sub>1</sub> = R <sub>2</sub> = OH    | ιβ: R = 2,4,5-CH <sub>3</sub> , R <sub>1</sub> = OH, R <sub>2</sub> = CH <sub>3</sub> |
| ε: R = 2-F, R <sub>1</sub> = OH, R <sub>2</sub> = H                    | ιγ: R = 2-F, R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = OH                                  |
| στ: R = 2-Cl, R <sub>1</sub> = OH, R <sub>2</sub> = H                  | ιδ: R = 2-Cl, R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = OH                                 |
| ζ: R = 2,5-CH <sub>3</sub> , R <sub>1</sub> = OH, R <sub>2</sub> = H   | ιε: R = 2,5-CH <sub>3</sub> , R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = OH                 |
| η: R = 2,4,5-CH <sub>3</sub> , R <sub>1</sub> = OH, R <sub>2</sub> = H | ιστ: R = 2,4,5-CH <sub>3</sub> , R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = OH              |

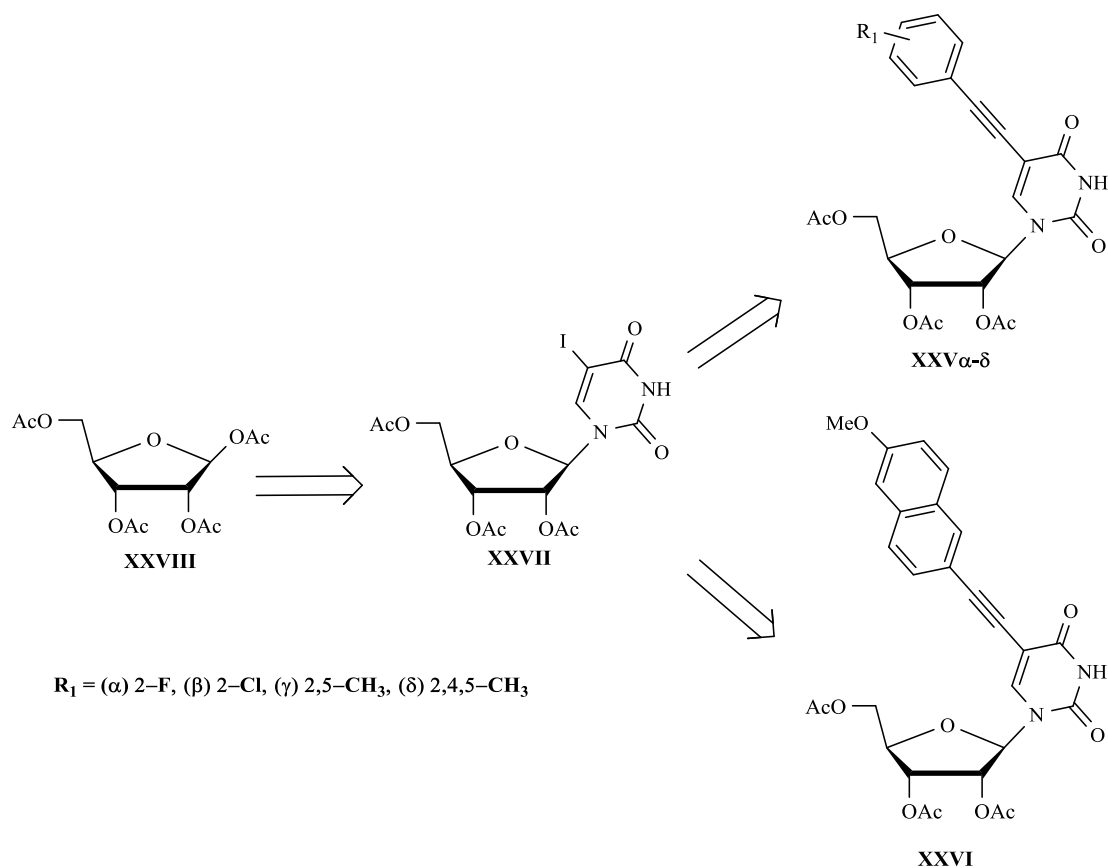


XXVIα-δ

- α: R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = OH  
 β: R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = H  
 γ: R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>  
 δ: R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = OH

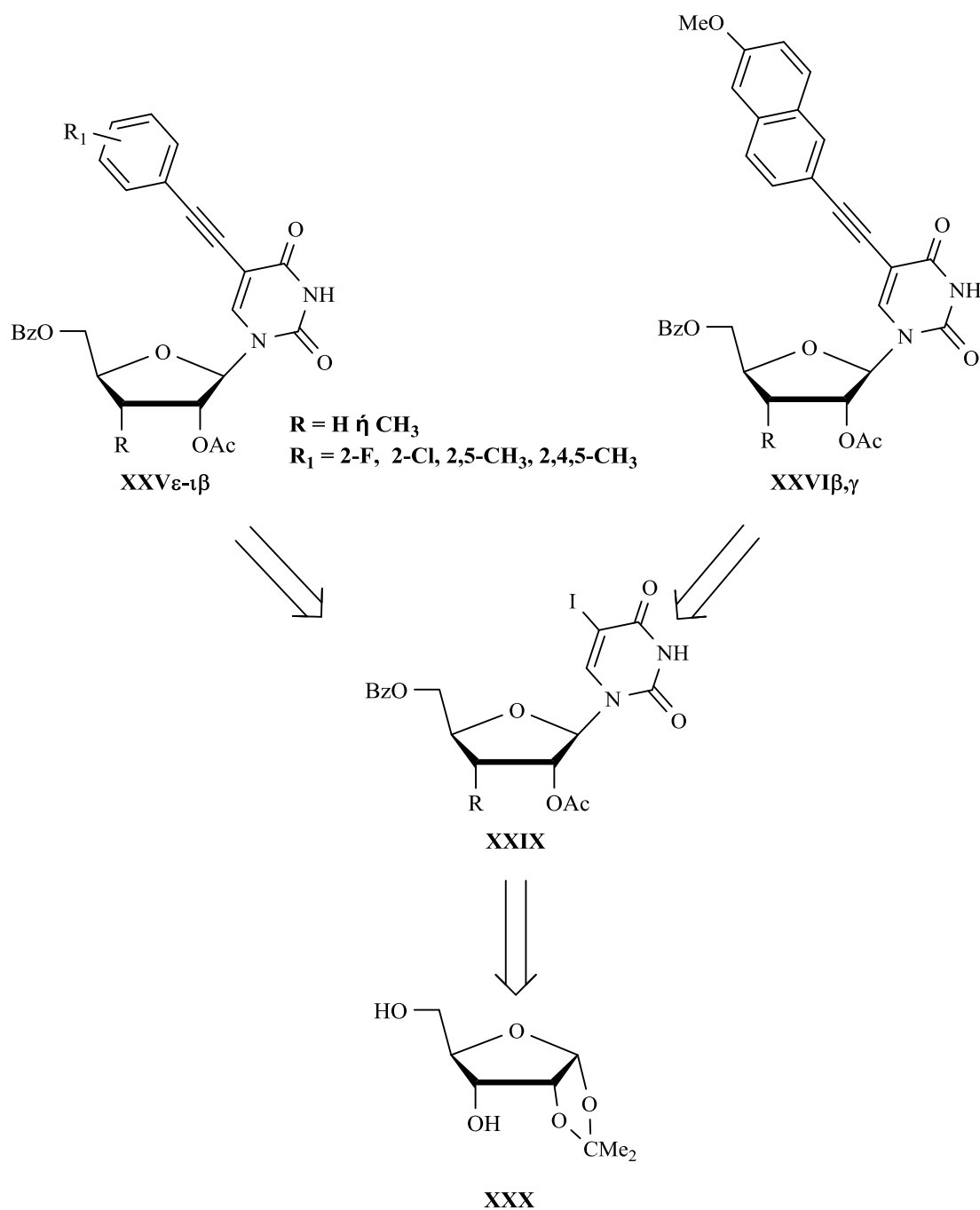
Σχήμα 58

Εφαρμόζοντας μια ανάλογη ρετροσυνθετική προσέγγιση με αυτή των C5 αλκύνυλο 3'-C-τριφθορομεθυλο πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης, οι νέοι φαίνυλο υποκατεστημένοι φούρανονουκλεοζίτες της ουρακίλης **XXV** και **XXVI** μπορούν να προκύψουν από τον ίδιο προστατευμένο φουρανονουκλεοζίτη της 5-ιωδοουρακίλης **XXVII** με την γνωστή αντίδραση Sonogashira. Η ρετροσυνθετική πορεία που σχεδιάστηκε απεικονίζεται στο σχήμα 59.



Σχήμα 59

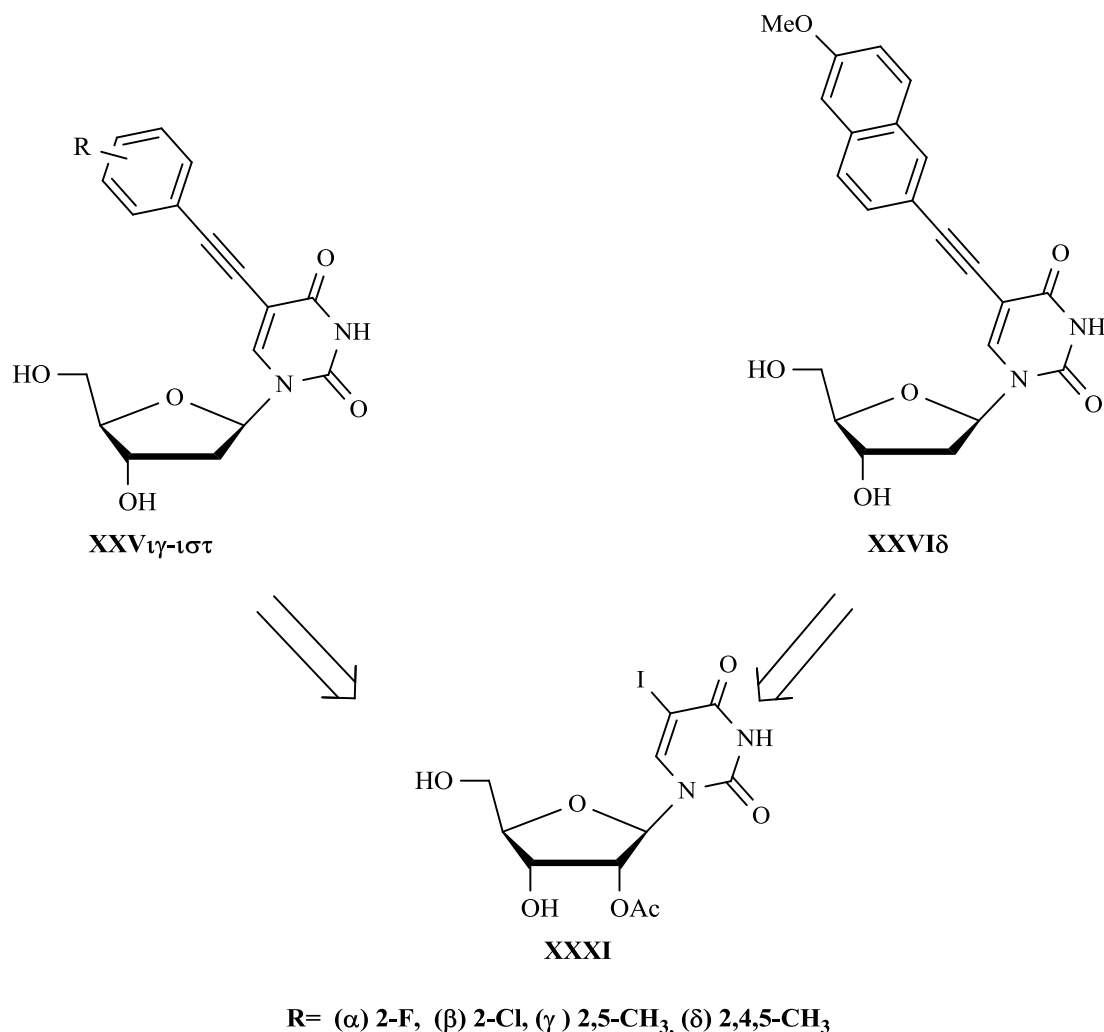
Ανάλογη είναι και η ρετροσυνθετική πορεία που σχεδιάστηκε για την σύνθεση των C5 αλκύνυλο 3'-δεοξυ- και 3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλο- **XXVε-ιβ** και **XXVIβ,γ** φουρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης. Τα συγκεκριμένα παράγωγα μπορούν να προκύψουν από τους αντίστοιχους νουκλεοζίτες **XXIX**, οι οποίοι είναι εύκολο να συντεθούν από την εμπορικά διαθέσιμη ένωση **XXX**. Η ρετροσυνθετική πορεία παρουσιάζεται στο σχήμα 60.



**Σχήμα 60**

Η ρετροσυνθετική προσέγγιση για την σύνθεση των C5 αλκυνολο 2'-δεοξυ φουρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης **XXVI $\gamma$ -ιστ** και **XXVI $\delta$**  παρουσιάζεται στο παρακάτω σχήμα (Σχήμα 61). Τα 2'-δέοξυ ανάλογα μπορούν να προκύψουν από την εμπορικά διαθέσιμη 2'-δεοξυ ουριδίνη **XXXI** με την αντίδραση Sonogashira.



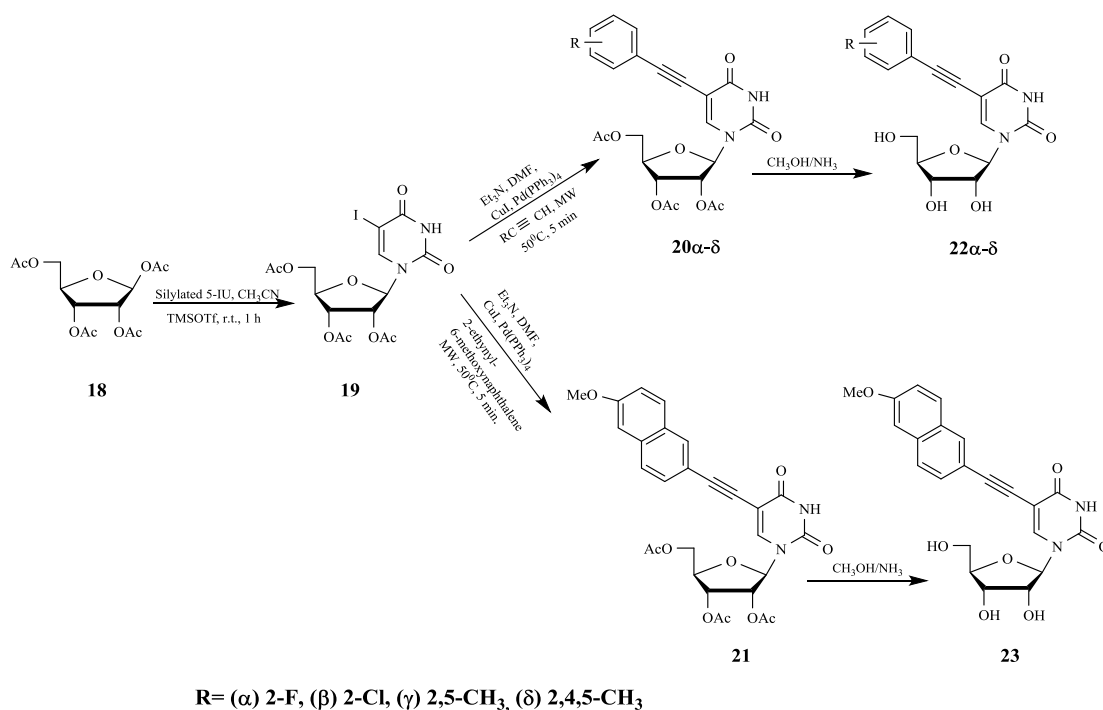


Σχήμα 61

### Π.3.1 Σύνθεση C5 τροποποιημένων ριβοφουρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης (22, 23)

Η πρώτη συνθετική προσπάθεια αφορά την σύνθεση των παραγώγων **22**, **23**. Συμπύκνωση της εμπορικά διαθέσιμης 1,2,3,5-τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-D-ριβοφουρανόζης (**18**) και της σιλυλιωμένης 5-ιωδοουρακίλης παρουσία  $\text{Me}_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$  στους  $0^\circ\text{C}$  για 1h οδήγησε στον προστατευμένο νουκλεοζίτη της 5-ιωδοουρακίλης (**19**) σε καλή απόδοση (69%) (Σχήμα 62). Το επόμενο στάδιο της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την διασταυρούμενη σύζευξη καταλυόμενη από Pd των διαφόρων αλκυνίων με τον νουκλεοζίτη **19**, με θέρμανση σε μικροκύματα, οπότε και παραλάβαμε τα προϊόντα **20**, **21**, με αποδόσεις 65-83% (Σχήμα 62). Προκειμένου να εξάγουμε πληροφορίες για τη σχέση μεταξύ δομής και βιολογικής δραστηριότητας, διαφορετικά αλκύνια χρησιμοποιήθηκαν, τα οποία περιλαμβάνουν

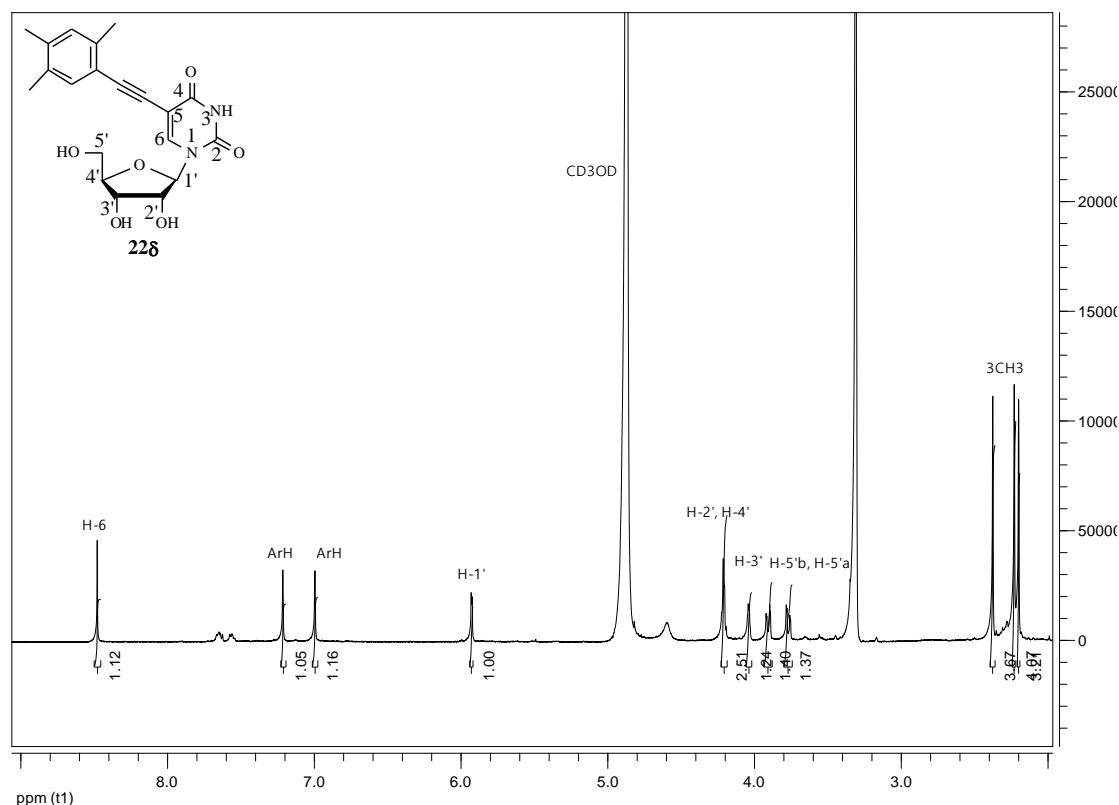
φαινολικό δακτύλιο με υποκαταστάτες αλογόνα (**20α** R = 2-φθόρο, **20β** R = 2-χλώρο), μέθυλο ομάδες (**20γ** R = 2,5- διμέθυλο, **20δ** R = 2,4,5-τριμέθυλο) και έναν πολυκυκλικό υδρογονάνθρακα με υποκαταστάτη μία μέθοξυ ομάδα (**21** R = 6-μεθοξυναφθαλένιο). Ένα τυπικό πείραμα περιλαμβάνει την διάλυση του νουκλεοζίτη της 5-ιώδοουρακίλης (**19**) σε άνυδρο DMF ακολουθούμενη από προσθήκη του κατάλληλου αλκυνίου, του Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> ως καταλύτη, του CuI ως συγκαταλύτη και της Et<sub>3</sub>N ως βάση υπό ατμόσφαιρα αζώτου και στη συνέχεια ακτινοβόληση με μικροκύματα σε 200 Watt, για 5 λεπτά στους 50° C. Το τελικό στάδιο της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την αποπροστασία των ενώσεων **20** και **21** με κατεργασία τους με μεθανολική αμμωνία (Neilson και Werstuijk, 1971), οπότε και λαμβάνονται οι επιθυμητοί τελικοί νουκλεοζίτες **22** και **23** (Σχήμα 62).



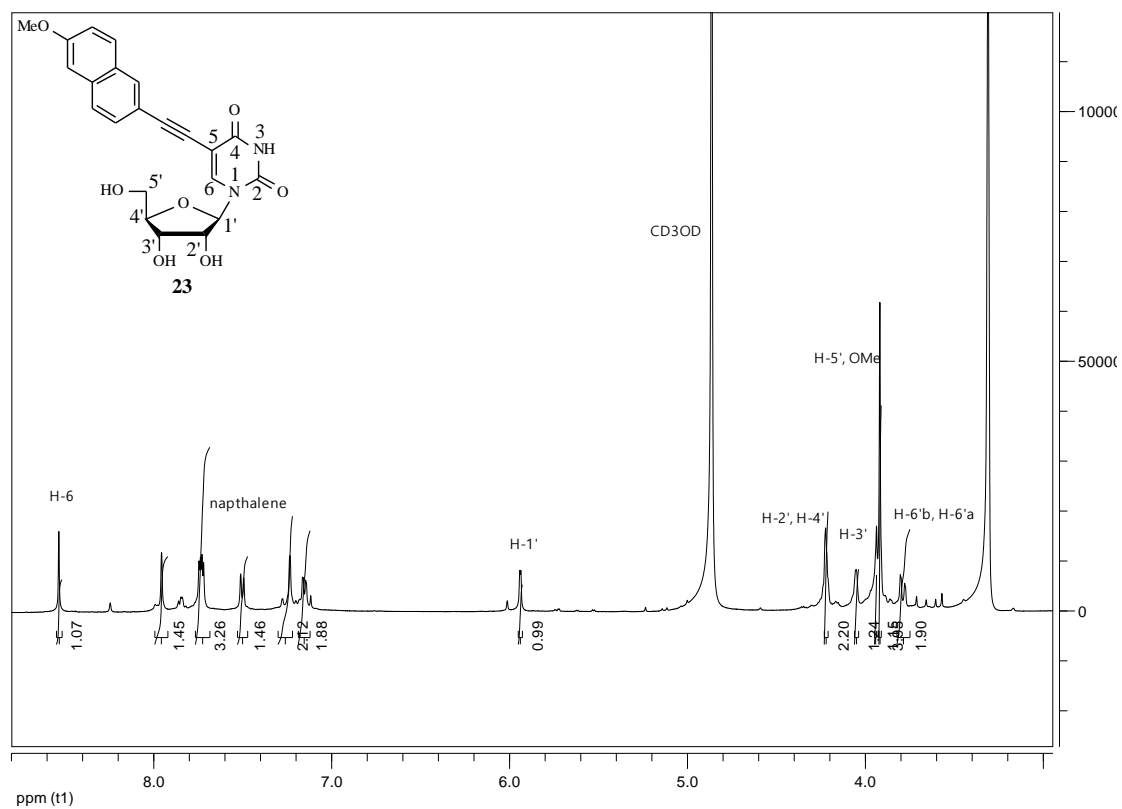
Σχήμα 62

Στα σχήματα 63 και 64 παρατίθενται τα φάσματα <sup>1</sup>HNMR των 1-(β-D-ριβοφορανοζυλο)-5-[(2,4,5-τριμεθυλφαινυλ)αιθυνυλ]ουρακίλη (**22δ**) και 1-(β-D-ριβοφορανοζυλο)-5-[(6-μεθοξυναφθαλενιο)αιθυνυλ]ουρακίλη (**23**). Στο φάσμα του **22δ** (Σχήμα 63) παρατηρούμε στα 8.45 ppm μία απλή κορυφή που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο του C6 της ουρακίλης και ακολουθούν δύο απλές κορυφές στα 7.19 και 6.97 ppm για τα πρωτόνια του φαινολικού δακτυλίου. Στα 5.90 ppm υπάρχει μία απλή κορυφή για το H-1' του σακχάρου η οποία αποδεικνύει την β διαμόρφωση του

νουκλεοζίτη (Földesi, *et al.*, 1992). Στη συνέχεια εμφανίζονται δύο πολλαπλές κορυφές 4.20-4.17 και 4.10-4.01 ppm που αντιστοιχούν στα H-2', H-4' και H-3', αντίστοιχα. Τα πρωτόνια H-5'α και H-5'β αντιστοιχούν στις δύο διπλές διπλών κορυφές που εμφανίζονται στα 3.90 και 3.75 ppm, αντίστοιχα. Τέλος οι τρεις απλές κορυφές που υπάρχουν στα 2.35, 2.20 και 2.17 αντιστοιχούν στις τρεις μεθυλομάδες (CH<sub>3</sub>) του φαινολικού δακτυλίου. Στο φάσμα πρωτονίου της ένωσης **23** (Σχήμα 64) παρατηρούμε τις εξής διαφορές, σε σχέση με το προηγούμενο φάσμα: α) στα 7.96 και 7.23 ppm δύο απλές, 7.51 ppm μία διπλή και 7.37, 7.16 ppm δύο διπλές διπλών κορυφές, οι οποίες αντιστοιχούν στα πρωτόνια του ναφθαλινίου, β) στα 3.92 ppm μία απλή κορυφή, της οποίας η ολοκλήρωση δίνει 3 πρωτόνια και αντιστοιχεί στη μεθόξυ-(CH<sub>3</sub>O-) του ναφθαλενίου. Οι υπόλοιπες κορυφές αντιστοιχούν στα H-6, H-1', H-2', H-3', H-4' και H-5'α,β του μορίου. Σημειώνεται ότι τόσο τα πρωτόνια των ελεύθερων υδροξυλίων του σακχάρου όσο και το αμινικό πρωτόνιο της ετεροκυκλικής βάσης δεν εμφανίζονται στο φάσμα λόγω της ταχείας ανταλλαγής που λαμβάνει χώρα μεταξύ αυτών και του διαλύτη (μεθανόλη-d<sub>4</sub>).



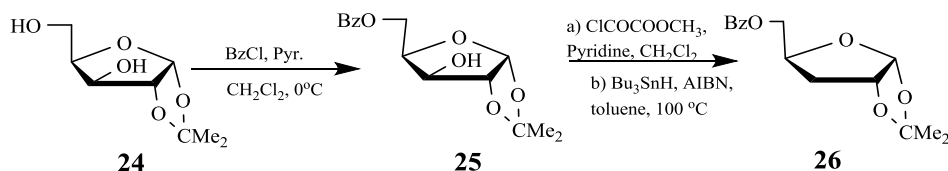
Σχήμα 63



Σχήμα 64

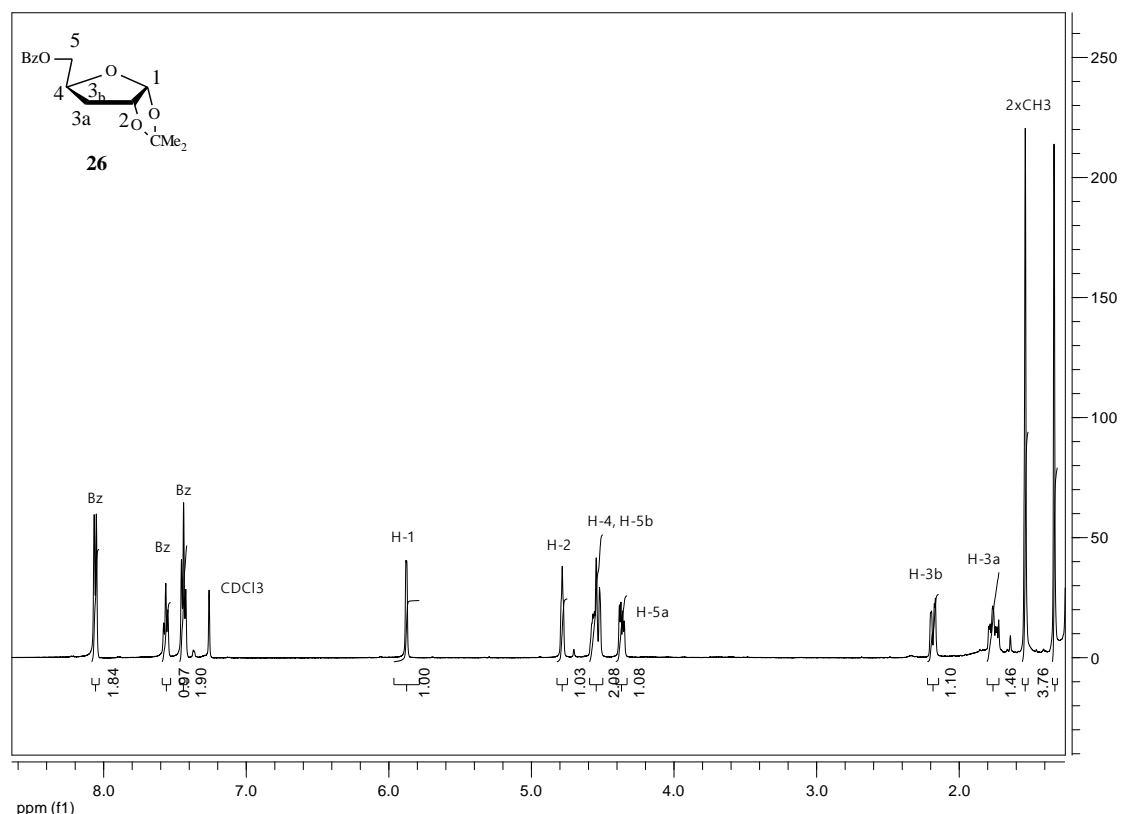
### Π.3.2 Σύνθεση C5 τροποποιημένων 3'-δεοξυ- ριβοφουρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης (31, 32)

Για να διερευνήσουμε κατά πόσο μεταβάλλονται οι βιολογικές ιδιότητες των τροποποιημένων στην ουρακίλη νουκλεοζιτών με την τροποποίηση του ρίβοφουρανοσακχάρου αποφασίσαμε να συνθέσουμε τους αντίστοιχους 3'-δέοξυ ριβοφουρανονουκλεοζίτες. Η συνθετική μας πορεία στηρίχτηκε στη δημιουργία του 3'-δεοξυ-β-D-ριβοφουρανο νουκλεοζίτη της 5-ιωδοουρακίλης (**28**), ο οποίος αποτελεί το βασικό ενδιαμέσο. Για το λόγο αυτό, έγινε η προστασία του πρωτοταγούς υδροξυλίου της εμπορικά διαθέσιμης 1,2-O-ισοπροπυλιδενο-α-D-ξυλοφουρανόζης (**24**) χρησιμοποιώντας, βενζοϋλοχλωρίδιο (BzCl) σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο παρουσία πυριδίνης στους 0°C (Couturier *et al.*, 1993) καταλήγοντας στο παράγωγο **25** με απόδοση 74% (Σχήμα 65). Στη συνέχεια η αλκοόλη **25** μετατράπηκε στον αντίστοιχο μεθυλοξαλικό εστέρα με την επίδραση ClCOCOCH<sub>3</sub> σε άνυδρο CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> παρουσία πυριδίνης, που αποδείχθηκε ασταθής, ανάχθηκε απευθείας με Bu<sub>3</sub>SnH παρουσία AIBN σε διαλύτη τολουόλιο στους 100 °C, οπότε και λάβαμε την 5-O-βενζουλο-3-δεοξυ-1,2-O-ισοπροπυλιδενο-α-D-ριβοφουρανόζη (**26**) (Σχήμα 65).



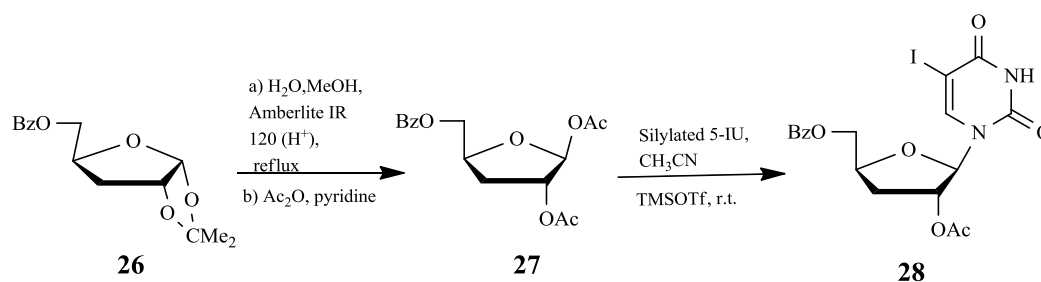
Σχήμα 65

Στο παρακάτω σχήμα (Σχήμα 66) παρουσιάζεται το <sup>1</sup>HNMR του παραγώγου **26**. Στα 8.55, 7.54, 7.21 ppm εμφανίζονται μία διπλή και δύο τριπλές κορυφές, αντίστοιχα, που προσδιορίζουν τα πέντε πρωτόνια του βενζολικού δακτυλίου. Στα 5.84 ppm υπάρχει μία διπλή κορυφή με  $J_{1-2} = 2.5$  Hz και είναι το H-1. Ακολουθούν μία τριπλή κορυφή στα 4.75 ppm για το H-2, μία πολλαπλή για τα H-4 και H-5β, μία διπλή διπλών για το H-5α. Στα 2.25 ppm εμφανίζεται μία διπλή διπλών, κορυφή, η οποία αντιστοιχεί στο H-3β και στη συνέχεια εμφανίζεται μία πολλαπλή κορυφή για το πρωτόνιο H-3α. Τέλος οι δύο απλές κορυφές στα 1.50 και 1.30 ppm αντιστοιχούν στα μεθύλια του ακετονιδίου.



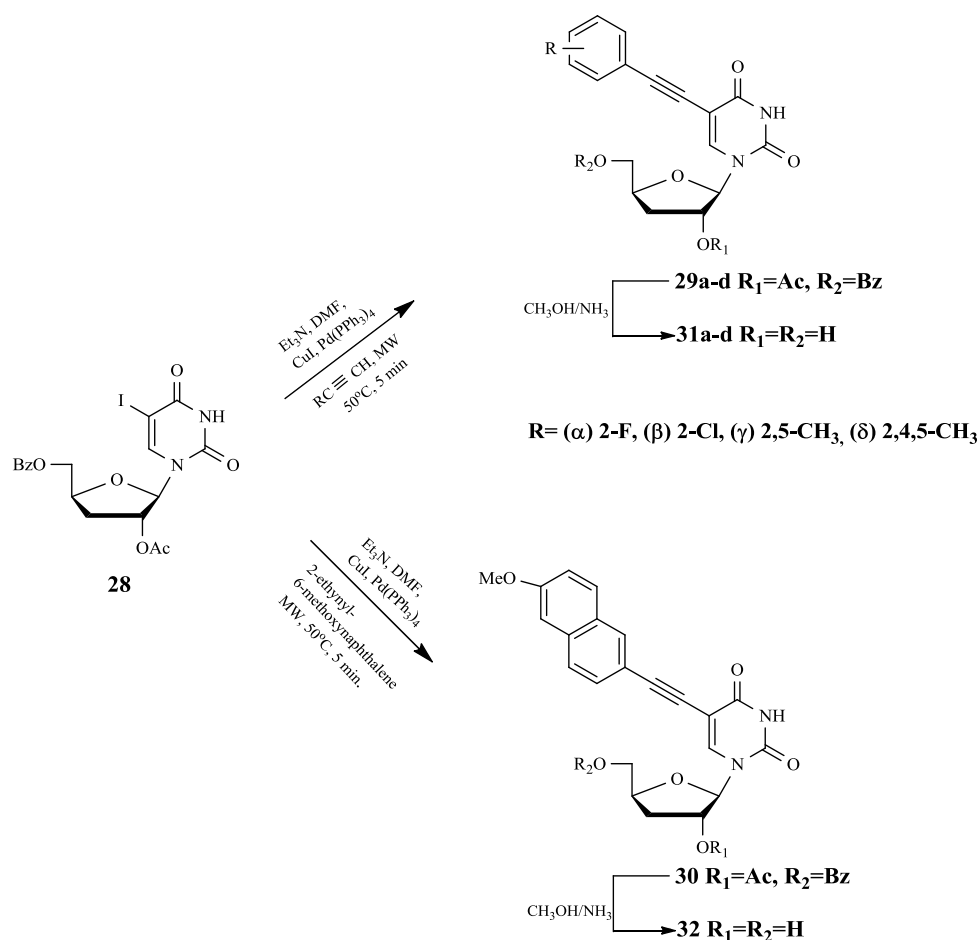
Σχήμα 66

Η επόμενη αντίδραση περιλαμβάνει την υδρόλυση του ακετονιδίου του σακχάρου **26**, χρησιμοποιώντας υδατικό διάλυμα όξινης ρητίνης IR-120  $H^+$  και στη συνέχεια απευθείας ακετυλίωση με επίδραση οξικού ανυδρίτη ( $Ac_2O$ ) σε πυριδίνη (Manta *et al.*, 2007, Kiritsis *et al.*, 2012), οδήγησε στη 1,2-δι-*O*-ακετυλο-5-*O*-βενζουλο-3-δεοξυ- $\beta$ -*D*-ριβοφουρανόζη (**27**) (Σχήμα 67). Η αντίδραση γλυκοζυλίωσης μεταξύ του σακχάρου **27** και της σιλυλιωμένης 5-ιωδοουρακίλης σε διαλύτη  $CH_3CN$ , παρουσία του  $Me_3SiOSO_2CF_3$ , στους  $0^\circ C$  για μία ώρα, οδήγησε στον επιθυμητό προστατευμένο 3'-δέοξυ ριβοφουρανονουκλεοζίτη της 5-ιωδοουρακίλης **28** (Σχήμα 67).



Σχήμα 67

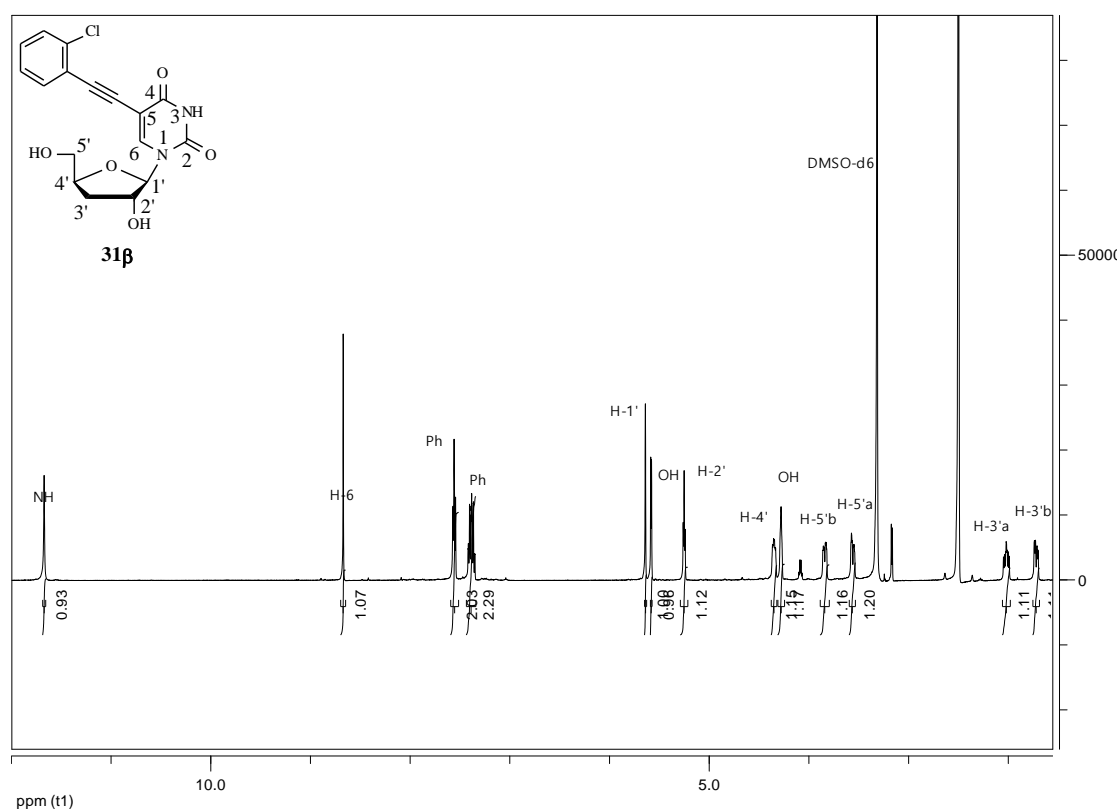
Το επόμενο στάδιο της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την διασταυρούμενη σύζευξη καταλυόμενη από Pd των αλκυνίων με θέρμανση σε μικροκύματα, με τον νουκλεοζίτη **28** οπότε και παραλάβαμε τα προϊόντα **29**, **30** (Σχήμα 68). Το τελικό στάδιο της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την αποπροστασία των ενώσεων **29** και **30** με κατεργασία τους με μεθανολική αμμωνία (Neilson και Werstuijk, 1971), οπότε και λαμβάνονται οι επιθυμητοί τελικοί νουκλεοζίτες **31** και **32** (Σχήμα 68).



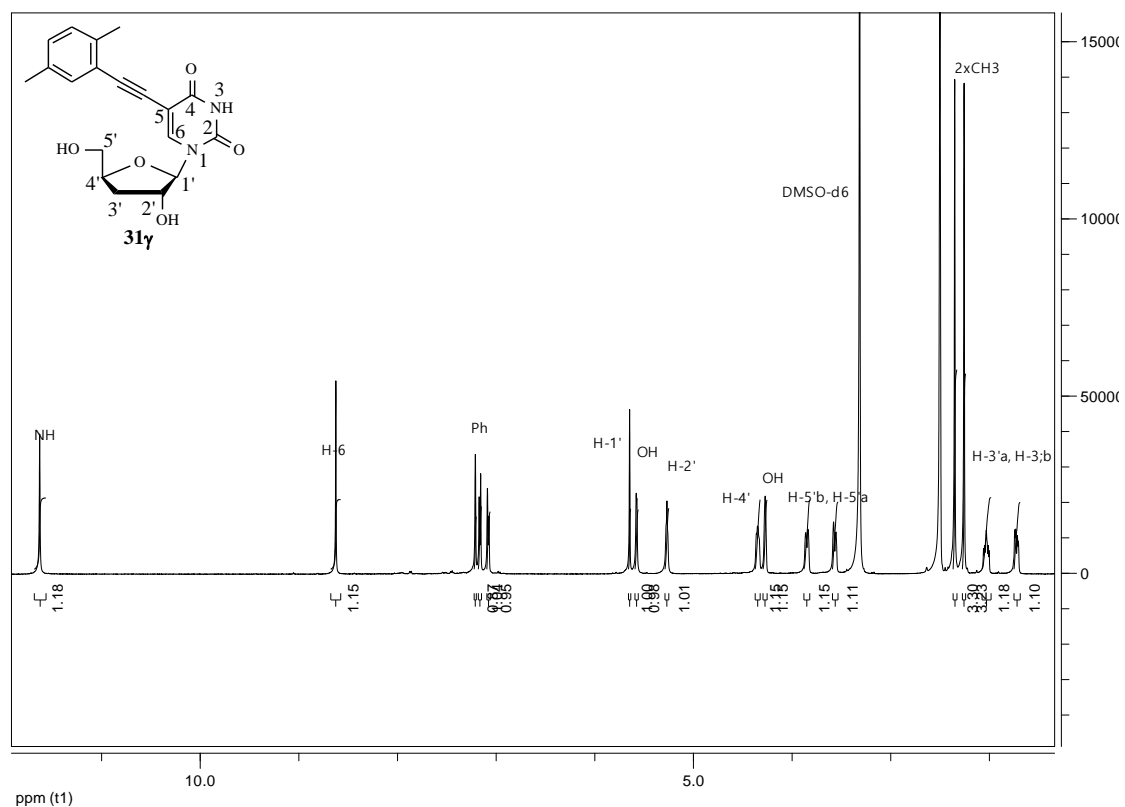
Σχήμα 68

Στο σχήμα που ακολουθεί (Σχήμα 69) παρατίθενται τα  $^1H$ NMR των 1-(3'-δεοξυ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2-χλωροφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (**31β**) και 1-(3'-δεοξυ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2,5-διμεθυλο)αιθυνο]ουρακίλη (**31γ**). Στα 11.67 ppm φαίνεται η απλή κορυφή του πρωτονίου της αμινομάδας NH, ακολουθεί μία απλή στα 8.67 ppm η οποία είναι το πρωτόνιο του άνθρακα έξι (C6) της ουρακίλης. Στη συνέχεια έχουμε δύο πολλαπλές κορυφές στα 7.57-7.54 και 7.42-7.35 ppm που αντιστοιχούν στα τέσσερα πρωτόνια του φαινολικού δακτυλίου. Στα 5.64 ppm εμφανίζεται η απλή κορυφή του H-1' του ριβοφουρανο-σακχάρου με την οποία

αποδεικνύεται η  $\beta$  δομή του νουκλεοζίτη (Földesi *et al.*, 1992). Στα 5.58 ppm έχουμε μία διπλή κορυφή που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο του υδροξυλίου, ενώ στα 5.25 ppm εμφανίζεται η τριπλή κορυφή του H-2'. Ακολουθούν μια πολλαπλή κορυφή 4.36-4.33 του H-4' και μία ευρεία απλή κορυφή του πρωτονίου του δεύτερου υδροξυλίου. Στη συνέχεια παρατηρούμε δύο διπλές διπλών κορυφές στα 3.85 και 3.57 ppm για τα H-5'α και H-5'β, αντίστοιχα. Το φάσμα ολοκληρώνεται με τις πολλαπλές κορυφές στα 2.05-2.00 και 1.74-1.70 ppm που αντιστοιχούν στα πρωτόνια του C-3' του σακχάρου. Στο φάσμα του προϊόντος **31γ** (Σχήμα 69) διακρίνονται, επιπλέον, οι δύο απλές κορυφές των πρωτονίων των μέθυλο ομάδων στα 2.35 και 2.26 ppm αντίστοιχα.

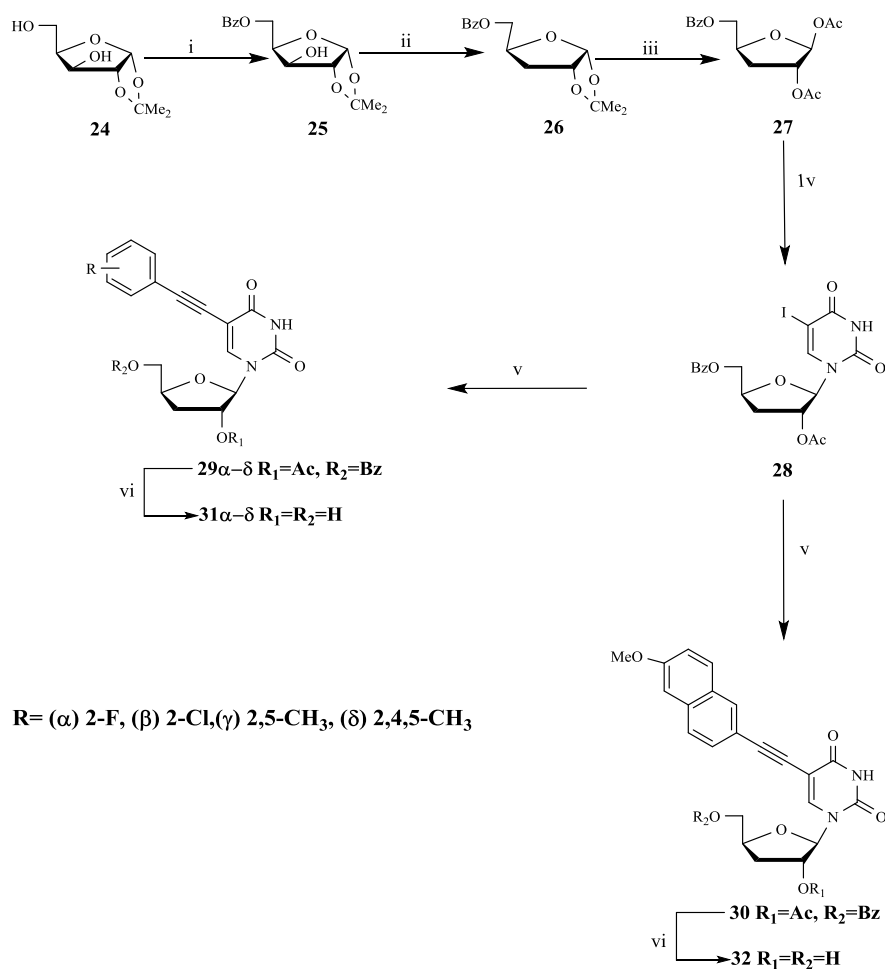






Σχήμα 69

Στο σχήμα 70 που ακολουθεί φαίνεται όλη η πειραματική πορεία που ακολουθήσαμε για την σύνθεση C5 τροποποιημένων 3'-δεοξυ ριβοφούρανο νουκλεοζιτών της ουρακίλης.

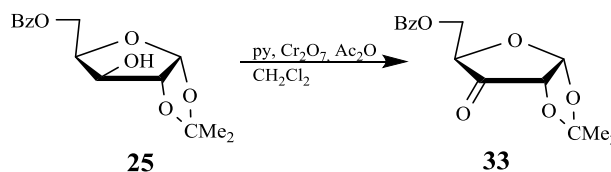


**Σχήμα 70:** i) BzCl, Et<sub>3</sub>N, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0°C ii) a) ClCOCOOCH<sub>3</sub>, Et<sub>3</sub>N, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, r.t, b) Bu<sub>3</sub>SnH, AIBN, τολουόλιο, 100°C, iii) a) H<sub>2</sub>O, MeOH, Amberlite IR 120 (H<sup>+</sup>), θέρμανση, 12h; b) Ac<sub>2</sub>O, πυριδίνη, 1h, iv) σιλυλωμένη 5-IU, CH<sub>3</sub>CN, TMSOTf, 0°C, 1h, v) DMF, CuI, Et<sub>3</sub>N, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, και το κατάλληλο αλκύνιο, vi) μεθανολική αμμωνία.

### Π.3.3 Σύνθεση C5 τροποποιημένων 3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλο-ριβοφουρανο νουκλεοζιτών της ουρακίλης (40, 41)

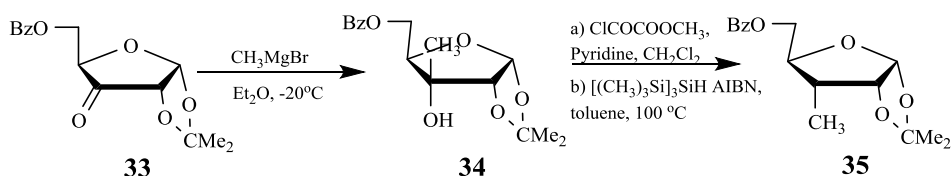
Για την περαιτέρω διερεύνηση της σχέσης δομής βιολογικής δραστηριότητας και σε συνδυασμό με την αξιολογή κυτταροτοξική δράση του 3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλο φουρανονουκλεοζίτη της 5-φθοροουρακίλης (**11β**) (IC<sub>50</sub>: 6.5-9.0μM), αποφασίσαμε να συνθέσουμε C5 φαίνυλο υποκατεστημένους 3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλο-ριβοφούρανο νουκλεοζίτες της ουρακίλης.

Η πειραματική μας πορεία ξεκινά με την βενζυλίωση της εμπορικά διαθέσιμης 1,2-O-ισοπροπυλιδενο-α-D-ξυλοφουρανόζης χρησιμοποιώντας, βενζοϋλοχλωρίδιο (BzCl) σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο παρουσία πυριδίνης στους 0°C (Tong *et al.*, 1967) καταλήγοντας στη 5-O-βενζουλο-1,2-O-ισοπροπυλιδενο-α-D-ξυλοφουρανόζη (**25**). Στη συνέχεια η δευτεροταγής αλκοόλη **25** οξειδώθηκε προς την αντίστοιχη κετόνη **33** με την βοήθεια διχρωμικής πυριδίνης παρουσία οξικού ανυδρίτη (Ac<sub>2</sub>O) σε CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> στους 0°C για μία ώρα (Σχήμα 71).



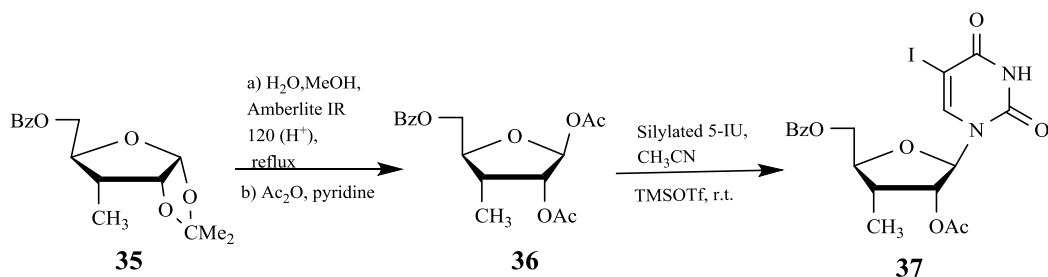
Σχήμα 71

Το επόμενο βήμα της σύνθεσης είναι αντιδραση Grignard, της κετόνης **33** με μεθυλομαγνησιο βρωμίδιο (CH<sub>3</sub>MgBr) σε διαλύτη διαιθυλαιθέρα (Et<sub>2</sub>O) στους -20°C, με την οποία λήφθηκε στερεοεκλεκτικά το 3-μέθυλο σάκχαρο **34** (Walton *et al.*, 1966, Nutt *et al.*, 1968) (Σχήμα 72). Στη συνέχεια, το σάκχαρο **34** αντέδρασε με ClCOCOCH<sub>3</sub> σε άνυδρο CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> και παράχθηκε ο αντίστοιχος εστέρας ο οποίος ανάχθηκε με υδρίδιο του τρις(τριμέθυλ)σιλανίου [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Si]<sub>3</sub>SiH παρουσία AIBN σε διαλύτη τολουόλιο στους 100 °C, λαμβάνοντας το αντίστοιχο 3-δέοξυ ανάλογο **35** με την κατάλληλη στερεοχημεία (Couturier *et al.*, 2007, Dewar *et al.*, 1984, Paddon-Row *et al.*, 1985) (Σχήμα 72).



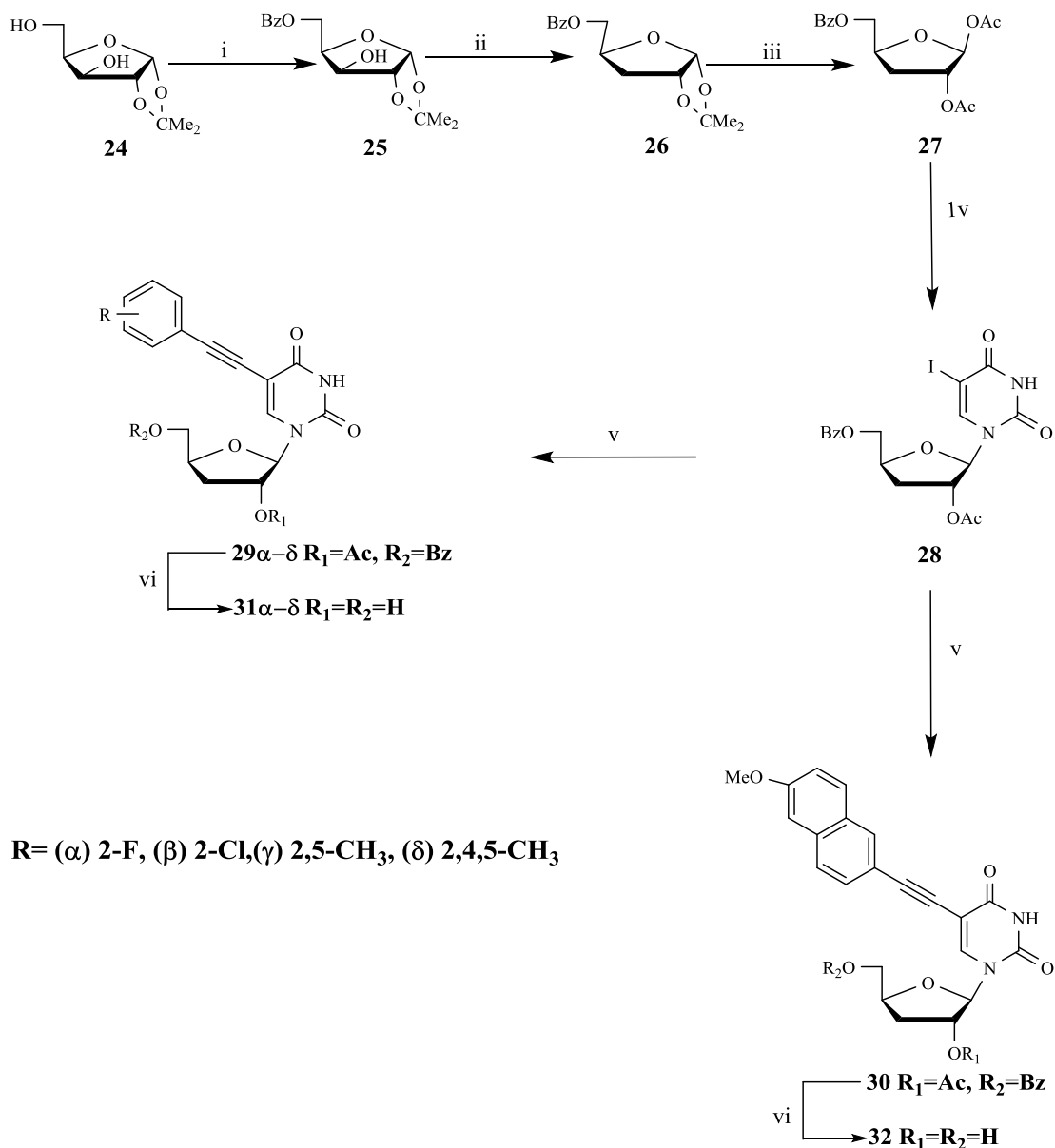
Σχήμα 72

Η επόμενη αντίδραση περιλαμβάνει υδρόλυση του ακετονιδίου του παραγώγου **35** με υδατικό διάλυμα όξινης ρητίνης IR-120  $H^+$  και στη συνέχεια απευθείας ακετυλίωση με επίδραση οξικού ανυδρίτη ( $Ac_2O$ ) σε πυριδίνη (Manta *et al.*, 2007, Kiritsis *et al.*, 2012) που, οδήγησε στη 1,2-δισ-*O*-ακετυλο-5-*O*-βενζουλο-3-δεοξυ-3-*C*-μεθυλο- $\beta$ -*D*-ριβοφουρανόζη (**36**) (Σχήμα 73). Ακολουθεί αντίδραση γλυκοζυλίωσης μεταξύ του σακχάρου **36** και της σιλυλιωμένης 5-ιωδοουρακίλης σε διαλύτη  $CH_3CN$ , παρουσία του  $Me_3SiOSO_2CF_3$ , στους  $0^\circ C$  για μία ώρα, με την οποία ελήφθηκε ο επιθυμητός προστατευμένος 3'-δεοξυ-3'-*C*-μεθυλο ριβοφουρανο νουκλεοζίτης της 5-ιωδοουρακίλης **37** (Σχήμα 73). Από το φάσμα πρωτονίου του νουκλεοζίτη **37** αποδεικνύεται η  $\beta$ -στεreoχημεία της βάσης καθώς η σταθερά σύζευξης μεταξύ του πρωτονίου του άνθρακα 1 ( $H-1'$ ) και του πρωτονίου του άνθρακα 2 ( $H-2'$ ) του σακχάρου είναι ίση με το μηδέν ( $J_{1',2'} = 0$  Hz) (Földesi *et al.*, 1992).



Σχήμα 73

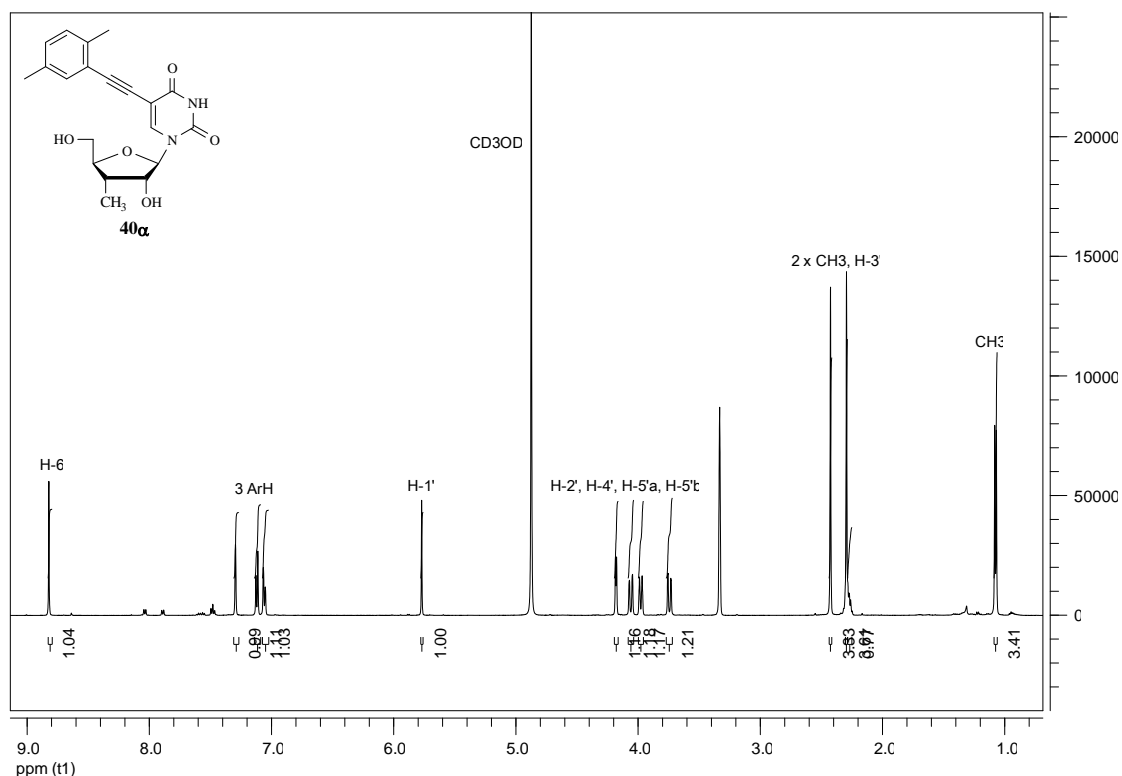
Το επόμενο στάδιο της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την διασταυρούμενη σύζευξη καταλυόμενη από Pd των αλκυνίων με θέρμανση σε μικροκύματα, με τον νουκλεοζίτη **37** οπότε και παραλάβαμε τα προϊόντα **38**, **39** (Σχήμα 74). Το τελικό στάδιο της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την αποπροστασία των ενώσεων **38** και **39** με κατεργασία τους με μεθανολική αμμωνία (Neilson και Werstuijk, 1971), οπότε και λαμβάνονται οι επιθυμητοί τελικοί νουκλεοζίτες **40** και **41** (Σχήμα 74).



Σχήμα 74

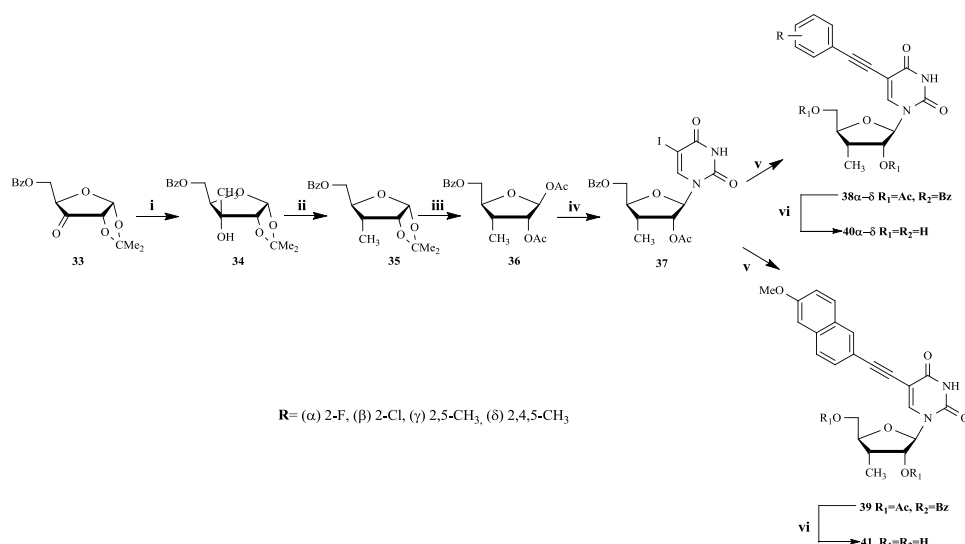
Στο σχήμα που ακολουθεί (Σχήμα 75) παρατίθεται, ενδεικτικά, το φάσμα <sup>1</sup>HNMR του 1-(3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2,5-διμεθυλοφαινυλο)αιθυνυλ]ουρακίλη (**40γ**). Η πρώτη κορυφή που παρατηρούμε είναι στα 8.80 ppm η οποία είναι απλή και αντιστοιχεί στο πρωτόνιο του άνθρακα 6 (C6) της ουρακίλης. Στη συνέχεια έχουμε μία απλή και δύο διπλές κορυφές στα 7.27, 7.10 και 7.04 ppm που αντιστοιχούν στα τρία πρωτόνια του φαινολικού δακτυλίου. Στα 5.75 ppm εμφανίζεται η ευρεία κορυφή του H-1' του ριβοφούρανο σακχάρου με την οποία αποδεικνύεται η β διαμόρφωση του νουκλεοζίτη ( $J_{1',2'} = 0$  Hz) (Földesi *et al.*, 1992). Στα 4.16 ppm έχουμε μία διπλή κορυφή που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο του H-

2'. Ακολουθούν μια τριπλή κορυφή 4.04 ppm και δύο διπλές διπλών στα 3.96 και 3.72 ppm που είναι τα H-4', H-5'α και H-5'β, αντίστοιχα. Στη συνέχεια εμφανίζονται οι δύο απλές κορυφές των CH<sub>3</sub>- ομάδων του φαινυλίου. Ακολουθεί μία πολλαπλή κορυφή 2.25-2.23 ppm του H-3'. Το φάσμα ολοκληρώνεται με την διπλή κορυφή στα 1.05 ppm που αντιστοιχεί στη CH<sub>3</sub>- του σακχάρου.



Σχήμα 75

Στο σχήμα 76 που ακολουθεί φαίνεται συνολικά η πειραματική πορεία που ακολουθήσαμε για την σύνθεση C5 τροποποιημένων 3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλο ριβοφουρανο νουκλεοζιτών της ουρακίλης.



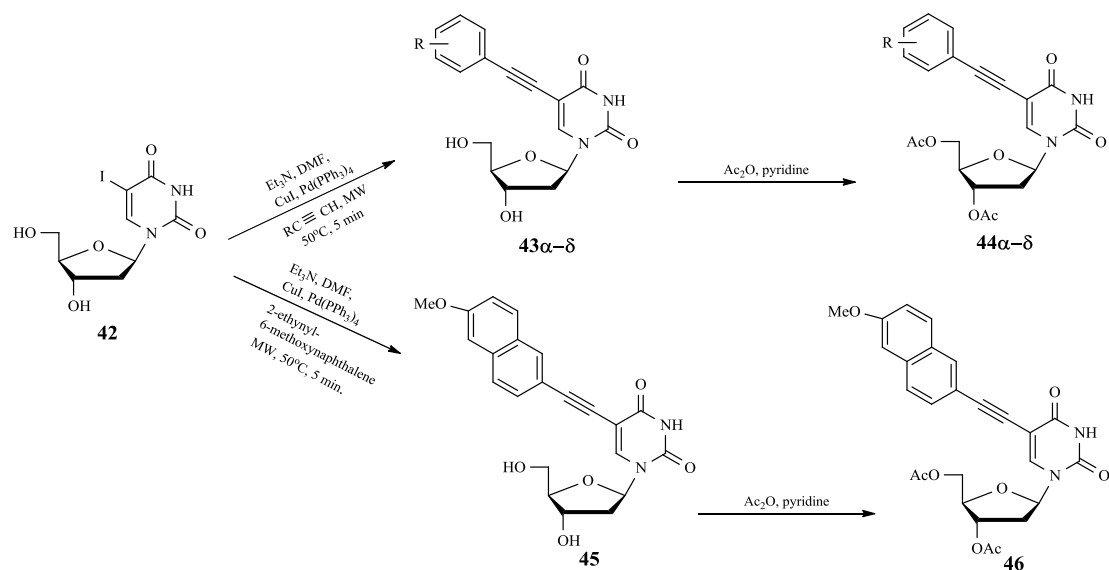
**Σχήμα 76:** (i) Et<sub>2</sub>O, CH<sub>3</sub>MgBr 1M, -20°C, 3h; (ii) ) a) ClC(=O)OCH<sub>3</sub>, πυριδίνη, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 1h; b) [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Si]<sub>3</sub>SiH, AIBN, τολουόλιο, 100 °C, 1h (iii) a) H<sub>2</sub>O, MeOH, Amberlite IR 120 (H<sup>+</sup>), θέρμανση, 12h; b) Ac<sub>2</sub>O, πυριδίνη, 1h; (iv) σιλυλωμένη 5-IU, CH<sub>3</sub>CN, TMSOTf, 0°C, 1h, (v) DMF, CuI, Et<sub>3</sub>N, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, και το κατάλληλο αλκίνιο, (vi) μεθανολική αμμωνία.

### Π.3.4 Σύνθεση C5 τροποποιημένων 2'-δεοξυ ριβοφουρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης (44, 46)

Οι C5-υποκατεστημένες 2'-δεοξουριδίνες έχουν παρουσιάσει σημαντικές αντιικικές (De Clercq *et al.*, 1983, Efangea *et al.*, 1985), αντικαρκινικές (Vincent *et al.*, 1985) και αντιμικροβιακές (Rai *et al.*, 2005) ιδιότητες. Συγκεκριμένα, η 5-αιθυνυλο-2'-δεοξουριδίνη, έχει ισχυρή ανασταλτική δράση έναντι των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του μαστού MCF-7 με  $IC_{50}$   $0.4 \pm 0.3$   $\mu$ M και MDA-MB-231 με  $IC_{50}$   $4.4 \pm 0.4$   $\mu$ M. Η 4-(μεθυλοφαινυλο)αιθυνυλο-2'-δεοξουριδίνη έδειξε υψηλή ανασταλτική δράση έναντι των MCF-7 με  $IC_{50}$   $0.9 \pm 0.2$   $\mu$ M συγκρίσιμη με αυτήν της Σισπλατίνης (Cisplatin) (Meneni *et al.*, 2007), ενώ η 5-δωδεκυνυλο-2'-δεοξουριδίνη και η 5-τετραδεκυνυλο-2'-δεοξουριδίνη επέδειξαν ισχυρή αντιμικροβιακή ικανότητα έναντι των *M. bovis* και *M. avium* (Rai *et al.*, 2005).

Με βάση τα παραπάνω, αποφασίσαμε να σύνθεσουμε νέους C5 τροποποιημένους 2'-δεοξυ ριβοφουρανο νουκλεοζίτες της ουρακίλης, που φέρουν υποκατεστημένο αρωματικό δακτύλιο με αλογόνα (F, Cl) και μέθυλο ομάδες (CH<sub>3</sub>) στη θέση (*ortho*, *meta*, *para*) του αρωματικού δακτυλίου, καθώς επίσης και το 6-μεθοξυ-ναφθαλίνιο. Η συνθετική μας πορεία ξεκινά με την διασταυρούμενη σύζευξη καταλυόμενη από Pd των διαφόρων αλκυνίων, με θέρμανση σε μικροκύματα, με την εμπορικά διαθέσιμη 5-ιώδο-2'-ουριδίνη (42) καταλλήγοντας στα παράγωγα 43 και 45 (Σχήμα 77). Το επόμενο βήμα της συνθετικής πορείας είναι η ακετυλίωση των 43 και 45 με την χρήση οξικού ανυδρίτη (Ac<sub>2</sub>O) σε πυριδίνη λαμβάνοντας τους τελικούς προστατευμένους C5 τροποποιημένους 2'-δέοξυ νουκλεοζίτες της ουρακίλης 44 και 46 (Σχήμα 77).

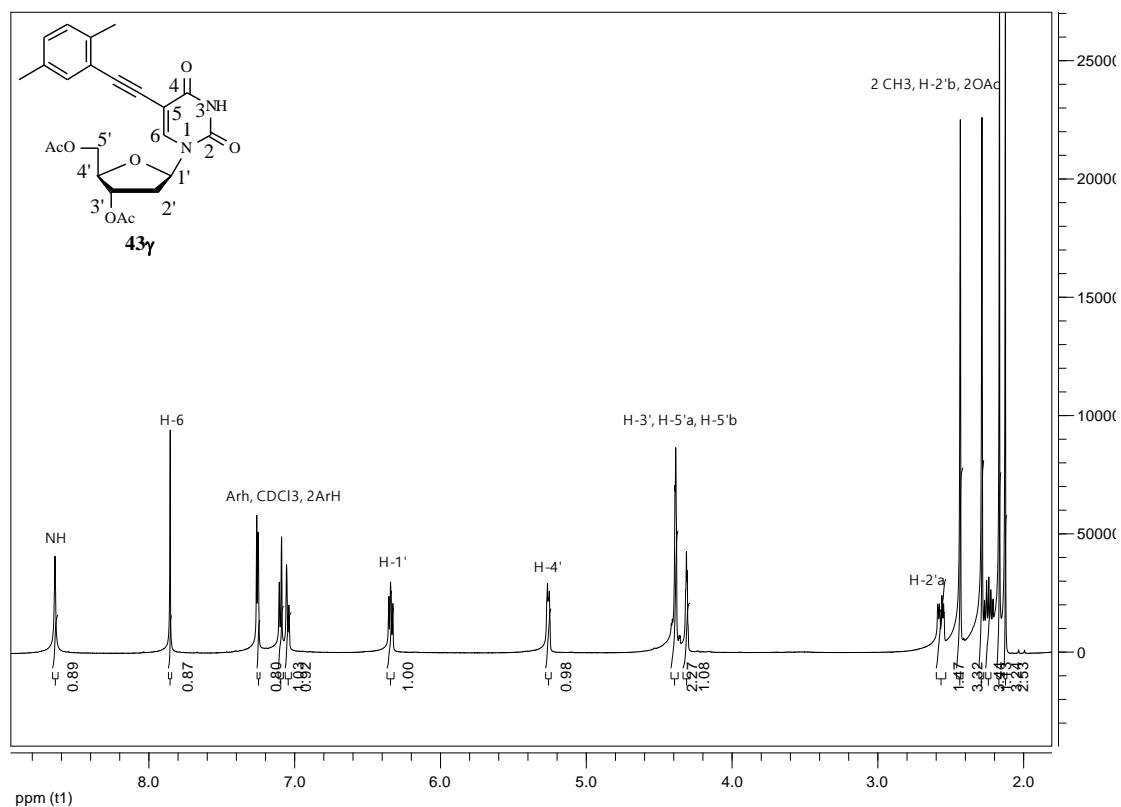
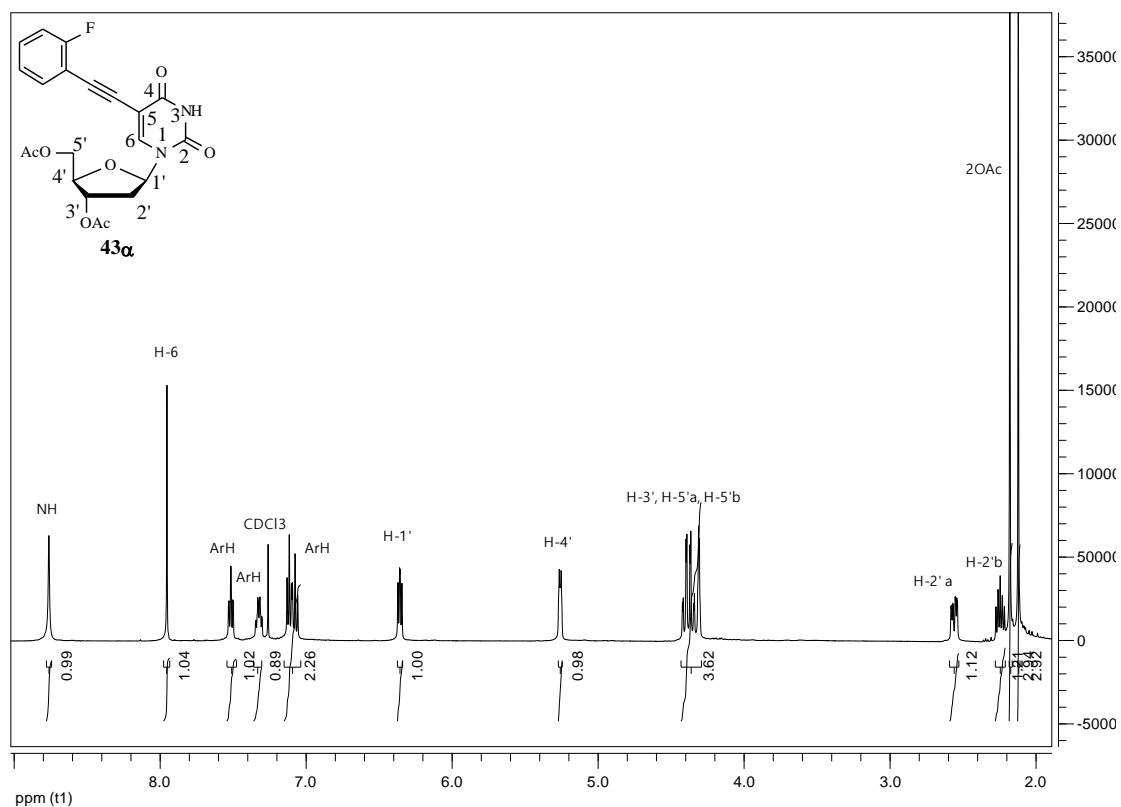




R= 2-F (α); 2-Cl (β); 2,5-CH<sub>3</sub> (γ); 2,4,5-CH<sub>3</sub> (δ)

### Σχήμα 77

Στο σχήμα 78 παρατίθενται τα φάσματα των 1-(3,5-δισ-*O*-ακετυλο-2'-δεοξυ-β-*D*-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2-φθοροφαινυλο)αιθινυλο]ουρακίλη (**43α**) και 1-(3,5-δισ-*O*-ακετυλο-2'-δεοξυ-β-*D*-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2,5-διμεθυλοφαινυλο)αιθινυλο]ουρακίλης (**43γ**). Για το φάσμα του νουκλεοζίτη **43α**: Στα 8.76 ppm φαίνεται η απλή κορυφή του πρωτονίου της αμινομάδας NH, ακολουθεί μία απλή στα 7.95 ppm η οποία αντιστοιχεί το πρωτόνιο του άνθρακα έξι (C6) της ουρακίλης. Στη συνέχεια έχουμε τρεις πολλαπλές κορυφές στα 7.53-7.50, 7.35-7.30 και 7.13-7.06 ppm που αντιστοιχούν στα τέσσερα πρωτόνια του φαινολικού δακτυλίου. Στα 6.36 ppm εμφανίζεται η τριπλή κορυφή του H-1' του ριβοφούρανο σακχάρου. Στα 5.27- 5.25 ppm έχουμε μία πολλαπλή κορυφή που αντιστοιχεί στο H-4', ακολουθούμενη από ακόμη μία πολλαπλή κορυφή 4.42-4.31 των πρωτονίων H-3', H-5'α και H-5'β. Στη συνέχεια, εμφανίζονται δύο πολλαπλές κορυφές στα 2.58-2.54 και 2.27-2.22 ppm που αντιστοιχούν στα δύο υδρογόνα του άνθρακα 2 H-2'. Το φάσμα ολοκληρώνεται με τις δύο απλές κορυφές στα 2.18 και 2.12 ppm που αντιστοιχούν στα πρωτόνια των δύο ακετυλων ομάδων του σακχάρου. Στο φάσμα του προϊόντος **43γ** (Σχήμα 78) διακρίνονται, επιπλέον, οι δύο απλές κορυφές των πρωτονίων των μέθυλο ομάδων στα 2.43 και 2.29 ppm, αντίστοιχα.



Σχήμα 78

### Π.3.5 Αντιική και αντικαρκινική δράση των C5 τροποποιημένων 3'-δεοξυ-, 3'-μεθυλο-3'-δεοξυ-, 2'-δεοξυ-, ριβοφούρανο νουκλεοζιτών της ουρακίλης

Οι νεοσυντιθέμενοι C5 τροποποιημένοι ριβοφουρανόζυλο **20α-δ**, **21**, **22α-δ**, **23**, 3'-δεοξυ- **29α-δ**, **30α-δ**, **31**, **32**, 3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλο- **38α-δ**, **39**, **40α-δ**, **41**, 2'-δεοξυ- **43α-δ**, **44α-δ**, **45**, **46** ριβοφουρανόζυλο νουκλεοζίτες της ουρακίλης, εξετάστηκαν για τη πιθανή αντιική και αντικαρκινική τους δράση σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Ιολογίας και Χημειοθεραπείας του Ινστιτούτου Ιατρικής Έρευνας Rega στο Βέλγιο.

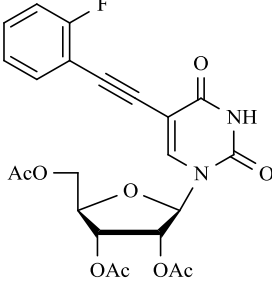
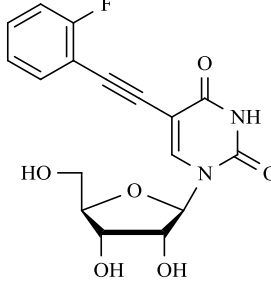
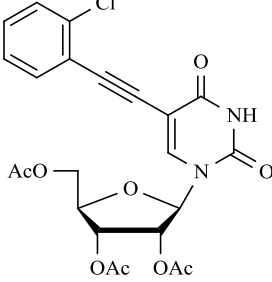
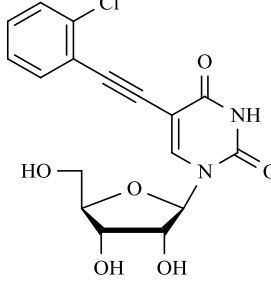
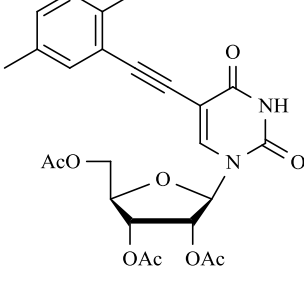
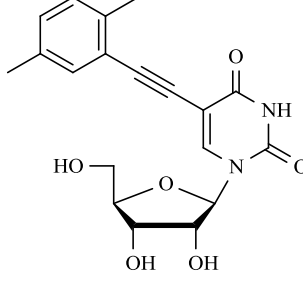
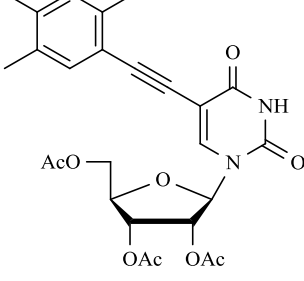
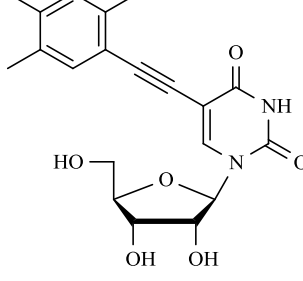
Οι ενώσεις αξιολογήθηκαν για την κυτταροστατική τους δράση έναντι του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων λευχαιμίας (L1210), των ανθρώπινων T-λεμφοκυττάρων (CEM), καθώς επίσης και των ανθρώπινων τραχηλικών καρκινικών κυττάρων (HeLa). Οι ριβοφούρανο (**20α-δ**, **21**, **22α-δ**, **23**) και οι 2'-δέοξυ (**43α-δ**, **44α-δ**, **45**, **46**) φούρανο νουκλεοζίτες της ουρακίλης δεν εμπόδισαν παρά ελάχιστα τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, έχοντας κατά κανόνα IC<sub>50</sub> μεγαλύτερα ή γύρω στα 200 μM (Πίνακας 3). Οι C5 τροποποιημένοι προστατευμένοι νουκλεοζίτες 3'-δέοξυ-2-γλωροφαίνυλο ακετυλένιο (**29β**), -2,4-διμεθυλοφαίνυλο ακετυλένιο (**29γ**), -2,4,5-τριμεθυλοφαίνυλο ακετυλένιο (**29δ**) και 3'-δεοξυ-3'-μεθυλο-2-φθοροφαίνυλο ακετυλένιο (**38α**), -2-γλωροφαίνυλο ακετυλένιο (**38β**), -2,4-διμεθυλοφαίνυλο ακετυλένιο (**38γ**), έδειξαν ότι παρεμποδίζουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων CEM, με τιμές IC<sub>50</sub> (~20 μM) συγκρίσιμες με αυτή της 5-FU (18 μM).

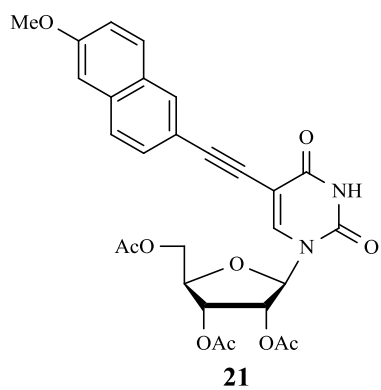
Τα τελικά προϊόντα αποτιμήθηκαν επίσης για την αντιική τους δράση έναντι πληθώρας τόσο DNA όσο και RNA ιών. Τα νουκλεοζιτικά ανάλογα **29β**, **30**, **38α-γ**, εμφάνισαν αναστολή της αντιγραφής του ιού Coxsackie B4, του ιού της αναπνευστικής ανεπάρκειας, του ιού του κίτρινου πυρετού και του ανθρώπινου κορωνοϊού (229E), με τιμές EC<sub>50</sub> από 1.4 έως 34 μM. Συγκεκριμένα, ο 1-(2'-O-ακέτυλο-5'-O-βενζόυλ-3'-δέοξυ-β-D-ριβοφουρανόζυλο)-5-[(2-γλωροφαίνυλο) αιθυνο] ουρακίλη (**29β**) ήταν ενεργός ενάντια στον ιό Coxsackie B4 σε HeLa και Vero κύτταρα (EC<sub>50</sub> 10.5 και 13 μM, αντίστοιχα), στον ιό της αναπνευστικής ανεπάρκειας σε HeLa κύτταρα (EC<sub>50</sub> 20 μM) και στον ιό του κίτρινου πυρετού σε Vero κύτταρα (EC<sub>50</sub> 10.5 μM) όπου η ελάχιστη συγκέντρωση που παρατηρούνταν αλλαγή στην μορφολογία των φυσιολογικών (MCC) να είναι της τάξης των 100 μM τόσο για την κυτταρική σειρά Vero όσο και για την HeLa. Οι νουκλεοζίτες 1-(2'-O-ακέτυλο-5'-O-βενζόυλο-3'-δέοξυ-β-D-ριβοφουρανόζυλο)-5-[(6-

μεθοξυαφθαλεν)αιθυνυλ]ουρακίλης (**30**) και 1-(2'-*O*-ακετυλο-5'-*O*-βενζουλο-3'-δεοξυ-3'-*C*-μεθυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2-φθοροφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (**38a**) επέδειξαν δράση έναντι του ιού του κίτρινου πυρετού σε Vero κύτταρα (EC<sub>50</sub> 10.5 και 11 μM, αντίστοιχα). Ο νουκλεοζίτης 1-(2'-*O*-ακετυλο-5'-*O*-βενζουλο-3'-δεοξυ-3'-*C*-μεθυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2,5-διμεθυλφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (**38γ**) εμφάνισε δράση έναντι του ιού Coxsackie B4 σε Vero κύτταρα (EC<sub>50</sub> 1.4 μM), ενώ ο 1-(2'-*O*-ακετυλο-5'-*O*-βενζουλο-3'-δεοξυ-3'-*C*-μεθυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2,4,5-τριμεθυλφαινυλ)αιθυνυλ]ουρακίλη (**38δ**) εμφάνισε δράση έναντι του ανθρώπινου κορωνοϊού σε HEL κύτταρα (EC<sub>50</sub> 34 μM). Το παράγωγο **38γ** (MCC 20 μM για τα Vero κύτταρα) αποδείχθηκε περισσότερο τοξικό από ότι τα παράγωγα **31**, **38a** (MCC 100 μM για τα Vero κύτταρα) and **38δ** (MCC >100 μM για τα HEL κύτταρα). Πρέπει επίσης να επισυμανθεί ότι ο δείκτης εκλεκτικότητας (SI) για τους νουκλεοζίτες **29β**, **31**, **38a** και **38γ** έναντι των ιών Coxsackie B4 και κίτρινου πυρετού κυμάνθηκε σε υψηλά επίπεδα από 8 έως 14 (Πίνακας 4).

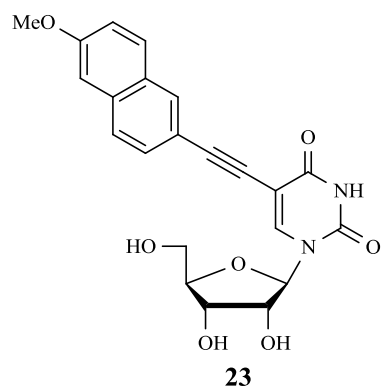
Από τα παραπάνω αποτελέσματα προκύπτει ότι: α) οι προστατευμένοι νουκλεοζίτες επέδειξαν πολύ καλύτερη αντιική δράση από τους αντίστοιχους υδροξυλιωμένους. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην αυξημένη λιποφιλικότητα των παραγώγων, με αποτέλεσμα να είναι πιο εύκολη η διαπερατότητά τους στο εσωτερικό του κυττάρου διαμέσου της φωσφολιπιδικής διπλοστοιβάδας, και β) η ελεύθερη OH στην 5' θέση του σακχάρου δεν φαίνεται να επηρεάζει, προς το καλύτερο, την δράση των μορίων, αντιθέτως η απουσία της υδροξυλομάδας από την 3' θέση του σακχάρου φαίνεται να έχει σημαντικό ρόλο για την δράση των παραγώγων.

**Πίνακας 3:** Ανασταλτική δράση των ενώσεων **20α-δ**, **21**, **22α-δ**, **23**, **29α-δ**, **31α-δ**, **31**, **32**, **38α-δ**, **39**, **40α-δ**, **41**, **43α-δ**, **44α-δ**, **45** και **46** έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων L1210, CEM και HeLa.

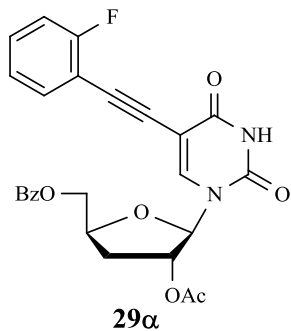
<u>Προϊόν</u>	<u>IC<sub>50</sub> (μM)</u>			<u>Προϊόν</u>	<u>IC<sub>50</sub> (μM)</u>		
	L1210	CEM	HeLa		L1210	CEM	HeLa
 <b>20α</b>	> 250	132 ± 3	> 250	 <b>22α</b>	≥ 250	≥ 250	≥ 250
 <b>20β</b>	162±12	100 ± 8	≥ 250	 <b>22β</b>	> 250	≥ 250	≥ 250
 <b>20γ</b>	140±23	79±5	149 ± 52	 <b>22γ</b>	247 ± 4	148±12	> 250
 <b>20δ</b>	114 ± 3	41 ± 26	92 ± 8	 <b>22δ</b>	15 ± 4	48± 19	65 ± 13



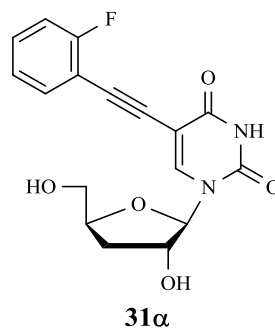
108    63 ± 9    94 ± 4



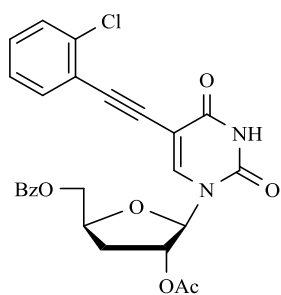
174 ± 28    106±2    144 ± 28



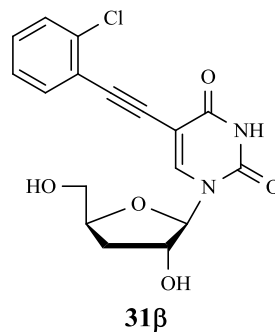
69 ± 24    46 ± 24    88 ± 2



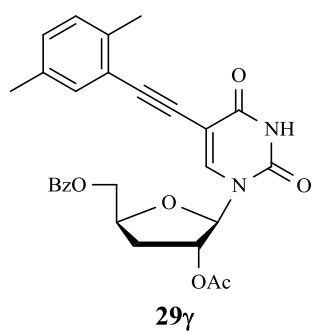
> 250    > 250    > 250



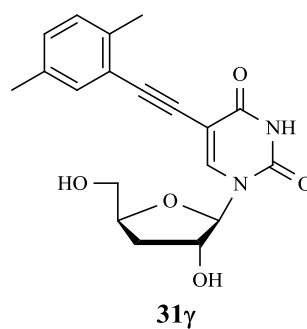
25 ± 2    22 ± 2    39 ± 4



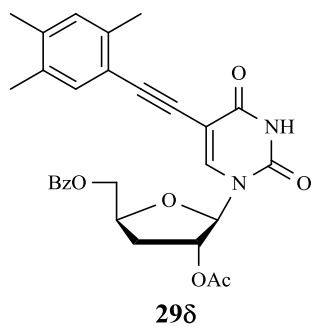
≥ 250    ≥ 250    > 250



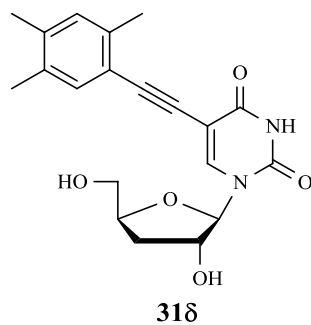
21 ± 3    16 ± 3    24 ± 2



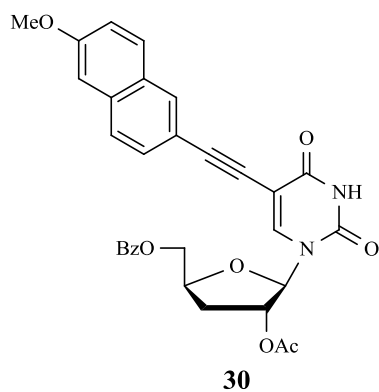
158 ± 31    96±36    > 250



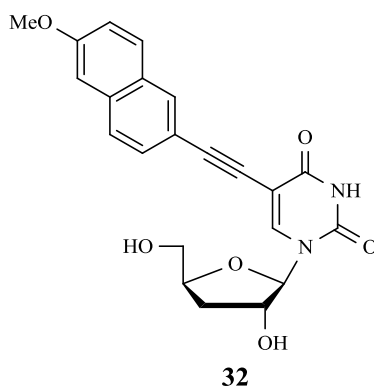
$22 \pm 1$   $17 \pm 1$   $22 \pm 0$



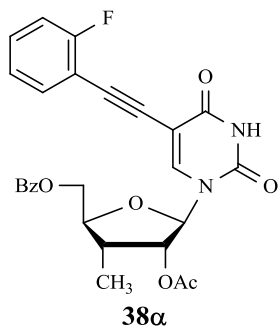
$> 250$   $\geq 250$   $> 250$



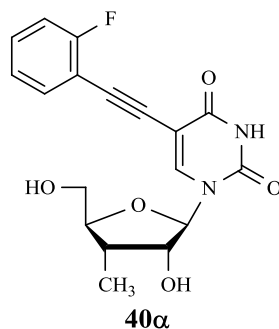
$129 \pm 7$   $90 \pm 6$   $94 \pm 8$



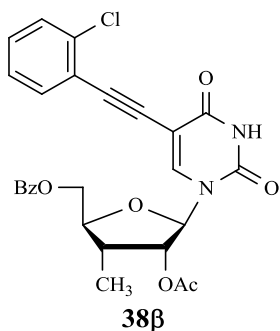
$192 \pm 2$   $130 \pm 2$   $182 \pm 13$



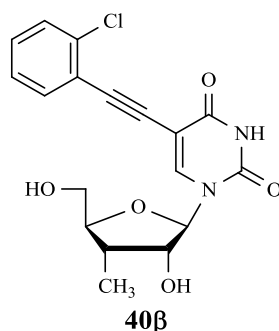
$21 \pm 4$   $24 \pm 4$   $15 \pm 1$



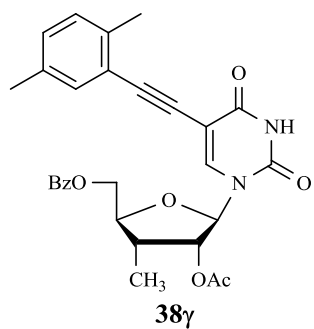
$80 \pm 42$   $102 \pm 8$   $67 \pm 3$



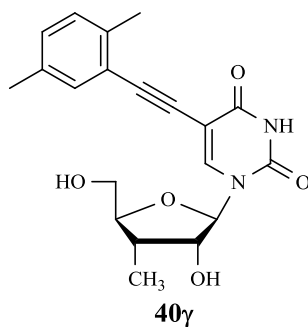
$24 \pm 3$   $23 \pm 2$   $17 \pm 2$



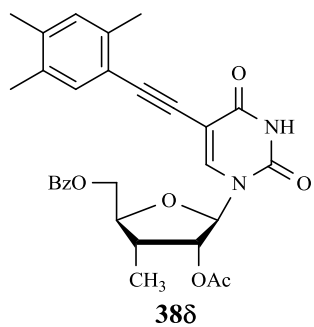
$169 \pm 14$   $\geq 250$   $193 \pm 49$



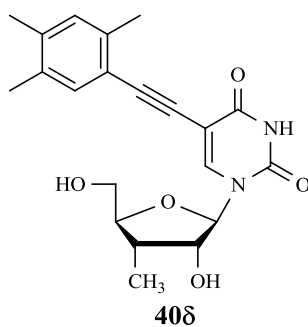
$17 \pm 4$   $18 \pm 1$   $17 \pm 2$



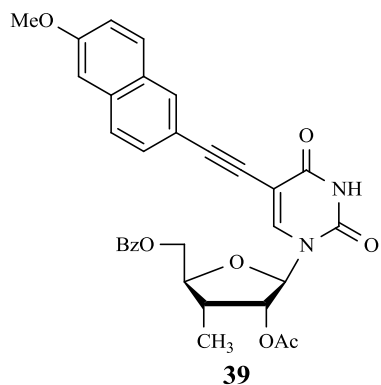
$184 \pm 93$   $130 \pm 3$   $> 250$



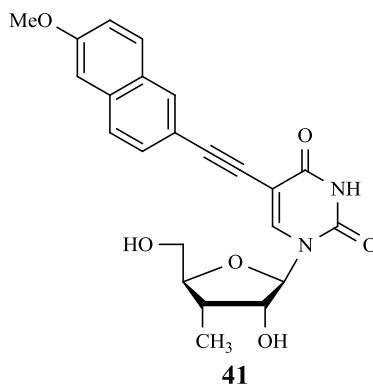
$49 \pm 12$   $53 \pm 22$   $102 \pm 1$



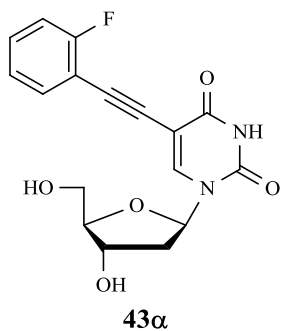
$173 \pm 90$   $109 \pm 2$   $143 \pm 4$



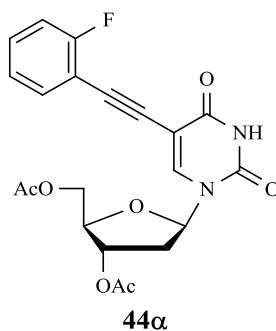
$103 \pm 1$   $54 \pm 34$   $122 \pm 0$



$75 \pm 34$   $30 \pm 12$   $64 \pm 14$

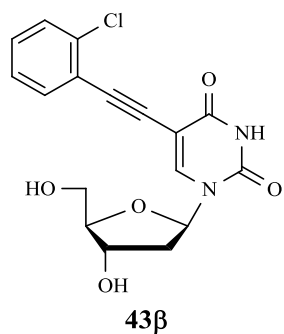


$\geq 250$   $\geq 250$   $> 250$

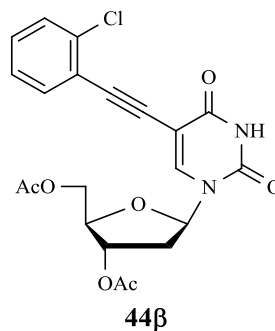


$110 \pm 38$   $96 \pm 34$   $123 \pm 0$

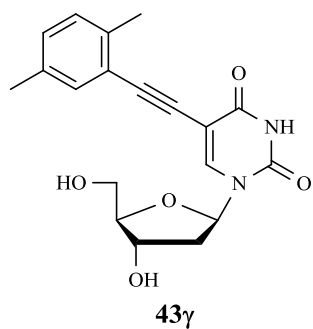




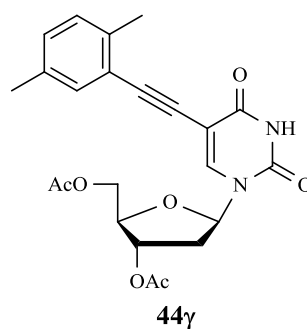
≥ 250 194 ± 7 > 250



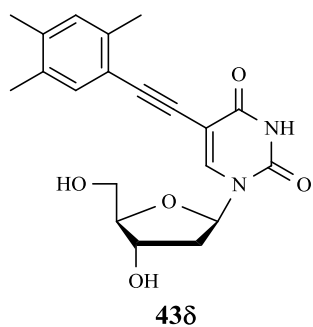
99 ± 35 80 ± 23 102 ± 5



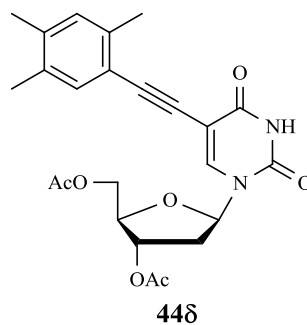
119 ± 8 59 ± 0 104 ± 9



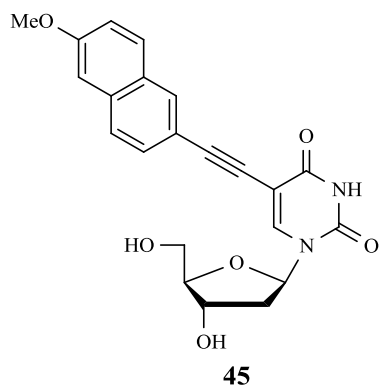
72 ± 24 48 ± 23 114 ± 16



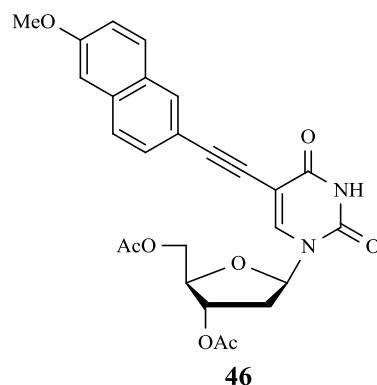
≥ 250 125 ± 3 ≥ 250



79 ± 25 25 ± 4 37 ± 10



218 ± 4 187 ± 6 > 250



146 ± 18 83 ± 19 136 ± 23

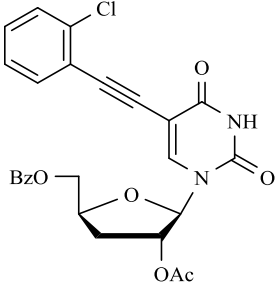
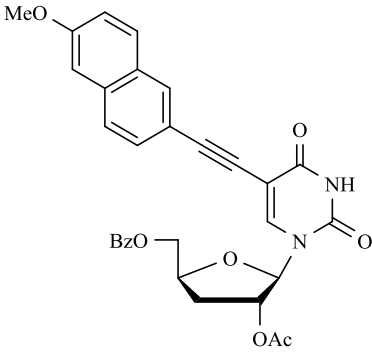
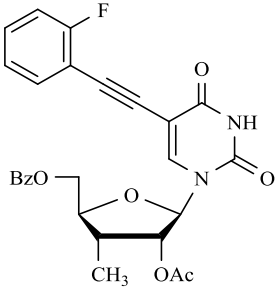
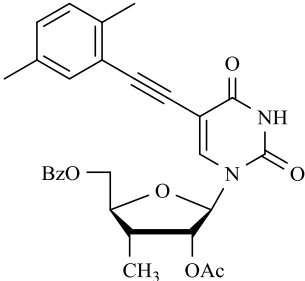
**5-Fluorouracil**

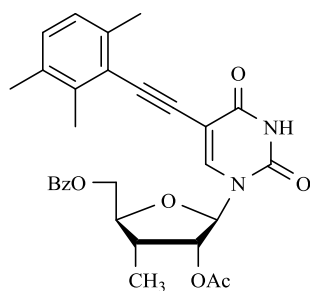
0.33 ± 0.17

18 ± 5

0.54 ± 0.12

**Πίνακας 4:** Αντίκη δράση των νουκλεοζιτών **29β**, **30** και **38α,γ,δ**.

	Προϊόν	MCC(μM)	EC <sub>50</sub> (μM)	SI	Ιοί	Κύτταρα
	<b>29β</b>	100	10.5 ± 2.2	10	Coxsackie virus B4	HeLa
		100	20.0 ± 0	5	Respiratory syncytial virus	HeLa
		100	13.0 ± 1.4	8	Coxsackie virus B4	Vero
		100	10.5 ± 2.2	10	Yellow Fever virus	Vero
	<b>30</b>	100	10.5 ± 2.2	10	Yellow Fever virus	Vero
	<b>38α</b>	100	11 ± 1.4	9	Yellow Fever virus	Vero
	<b>38γ</b>	20	1.4 ± 0.6	14	Coxsackie virus B4	Vero



**38δ**

>100

$34 \pm 8.5$

>3

Human  
Coronavirus  
(229E)

HEL

**Dextran sulfate 10.000<sup>d</sup>**

>100

10

>10

Coxsackie  
virus B4

Vero

$1.3 \pm 0.7$

>77

Yellow fever  
virus

>100

0.8

>125

Respiratory  
syncytial  
virus

HeLa

**Mycophenolic acid**

>100

$2.7 \pm 1.8$

>37

Yellow fever  
virus

Vero

**Ribavirin**

>250

4.5

>56

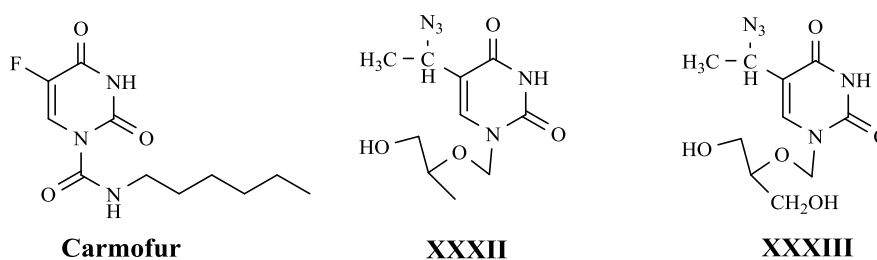
Respiratory  
syncytial  
virus

HeLa

## Π.4 C5 τροποποιημένοι άκυκλοι νουκλεοζίτες της ουρακίλης

Μία ακόμη σημαντική κατηγορία νουκλεοζιτών με αξιοσημείωτες βιολογικές ιδιότητες είναι οι άκυκλοι νουκλεοζίτες, δηλαδή νουκλεοζίτες στους οποίους η βάση (πυριμιδίνη ή πουρίνη) ενώνεται με ένα τμήμα ανοιχτής αλυσίδας αντί με κάποιο σάκχαρο. Ο πρώτος άκυκλος νουκλεοζίτης που συντέθηκε και επέδειξε ιδιαίτερες βιολογικές ιδιότητες ήταν το acyclovir (ACV) (Elion *et al.*, 1975), ενώ τα χρόνια που ακολούθησαν αρκετοί άκυκλοι νουκλεοζίτες έχουν συντεθεί και χρησιμοποιηθεί έναντι, κυρίως, λοιμώξεων που προκαλούνται από ιούς.

Ανάμεσα στους πολυάριθμους τροποποιημένους άκυκλους νουκλεοζίτες με ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες (Ferrero *et al.*, 2000, Galmarini *et al.*, 2002, Raić-Malić *et al.*, 2015), οι C5 τροποποιημένοι άκυκλοι νουκλεοζίτες της ουρακίλης έχουν ερευνηθεί ως αντικαρκινικοί και αντιϊικοί παράγοντες (Pałasz *et al.*, 2014, Sari *et al.*, 2012, Montagu *et al.*, 2011, Lee *et al.*, 2009). Συγκεκριμένα το καρμοφούρ (Carmofur) (Σχήμα 79) χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση του καρκίνου του παχέως εντέρου (Realini *et al.*, 2013) αλλά αναστέλει επίσης την όξινη κεραμιδάση (ASAHI) (Pizzirani *et al.*, 2015) η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση μεταστατικού καρκίνου του μαστού (Lucki *et al.*, 2011, Flowers, *et al.*, 2012). Επίσης οι C5 τροποποιημένοι νουκλεοζίτες 5-(1-αζιδοαιθυλο) παραγώγων της ουρακίλης (XXXII, XXXIII) (Σχήμα 79) έδειξαν ιδιαίτερη δράση έναντι του ιού της ηπατίτιδας B (HBV) (Kumar *et al.*, 2001).



Σχήμα 79

Αναλογιζόμενοι την αξιοσημείωτη βιολογική δράση των άκυκλων νουκλεοζιτών καθώς και την σημαντική αντιϊκή δράση που επέδειξαν οι C5 τροποποιημένοι 3'-δεοξυ- (29β, 30) και 3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλο- (38α,γ,δ) παράγωγα της ουρακίλης, αποφασίσαμε να συνθέσουμε νέους άκυκλους νουκλεοζίτες οι οποίοι θα φέρουν τα ίδια τμήματα στον C5 της ουρακίλης με αυτά των προαναφερθέντων

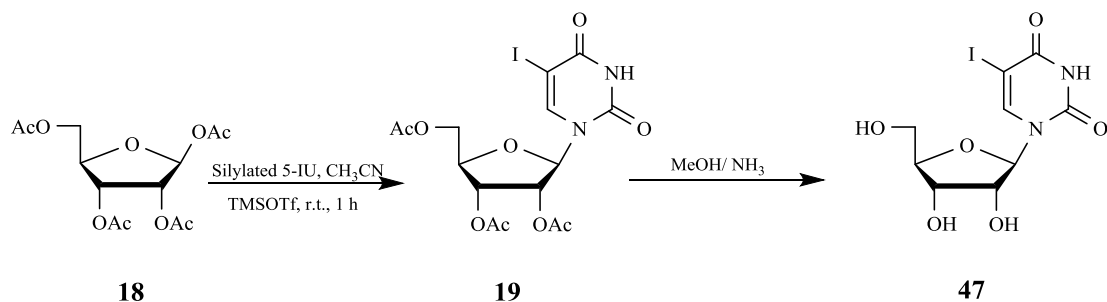
μορίων δηλαδή, υποκατεστημένο αρωματικό δακτύλιο με τα αλογόνα φθορίου (F) και χλωρίου (Cl), μεθυλο-ομάδες σε διάφορες θέσεις του βενζολικού δακτυλίου και το 6-μεθοξυ-ναφθαλένιο (Σχήμα 79). Στο άκυκλο τμήμα των νέων νουκλεοζιτών αποφασίσαμε να εισαγάγουμε  $\alpha,\beta$ -ακόρεστες καρβονυλικές δομές. Οι δομές αυτές αποτελούνται από ένα διπλό δεσμό μεταξύ ατόμων άνθρακα και έναν διπλό δεσμό μεταξύ των ατόμων άνθρακα και οξυγόνου που χωρίζονται από έναν απλό δεσμό. Έχει αποδειχθεί ότι οι δομές αυτές προσδίδουν την ιδιαίτερη βιολογική δραστηριότητα που εμφανίζουν τόσο τα φυτικά προϊόντα όπως η κουρκουμίνη, όσο και τα συνθετικά μόρια. (Rüngeler *et al.*, 1999, Bazzaro *et al.*, 2011, Arshad *et al.*, 2017). Επίσης, η παρουσία διπλού δεσμού στο άκυκλο τμήμα του νουκλεοζίτη φαίνεται να προσδίδει μεγαλύτερη βιολογική δράση στο μόριο (Wu, *et al.* 2005, Haines *et al.*, 1987, Brakta *et al.*, 2002).

Η ρετροσυνθετική προσέγγιση για την σύνθεση των C5 αλκύνυλο άκυκλων νουκλεοζιτών της ουρακίλης **XXXVI** και, **XXXVII** παρουσιάζεται στο παρακάτω σχήμα (Σχήμα 80). Τα άκυκλα ανάλογα μπορούν να προκύψουν από τον τριτυλιωμένο νουκλεοζίτη της 5-ιωδοουρακίλης **XXXVIII**.



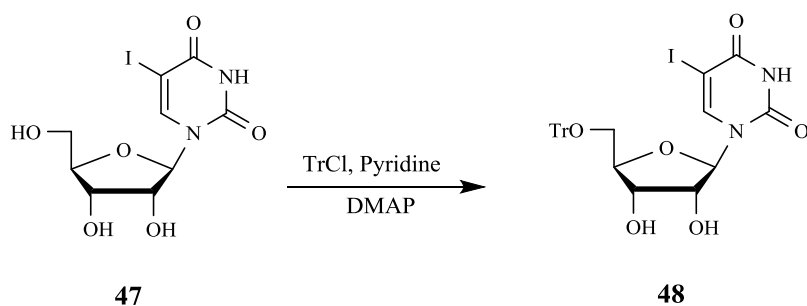
### Π.4.1 Σύνθεση της 1-(5'-*O*-τριτυλο- $\beta$ -D-ριβοφουρανοζυλο)-5-ιωδοουρακίλης (48)

Ο ριβοφουρανονουκλεοζίτης της 5-ιωδοουρακίλης **47** (Σχήμα 81), συντέθηκε με συμπύκνωση της ακετυλιωμένης ριβόζης **18** με την νουκλεοβάση της 5-ιωδοουρακίλης και εν συνεχεία απακετυλίωση του προστατευμένου νουκλεοζίτη με μεθανολική αμμωνία.



Σχήμα 81

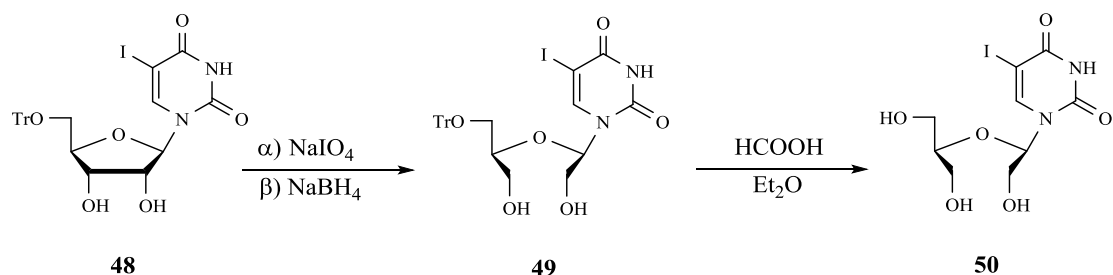
Το επόμενο βήμα της σύνθεσης περιλαμβάνει την εκλεκτική τριτυλίωση του πρωτοταγούς υδροξυλίου του νουκλεοζίτη **47** (Σχήμα 82), η οποία λαμβάνει χώρα μέσω κατεργασίας με τριφαινυλομεθυλοχλωρίδιο ( $\text{TrCl}$ ) σε πυριδίνη, παρουσία καταλυτικής ποσότητας 4-διμεθυλαμινοπυριδίνης ( $\text{DMAP}$ ) (Matsuda *et al.*, 1992), οπότε το μερικώς προστατευμένο νουκλεοζιτικό ανάλογο **48** λαμβάνεται σε πολύ καλή απόδοση (82%).



Σχήμα 82

### Π.4.2 Σύνθεση του 1-(1-((1,3-διυδροξυπροπαν-2-υλ)οξυ)-2-υδροξυαιθυλ)-5-ιωδοουρακίλη (50)

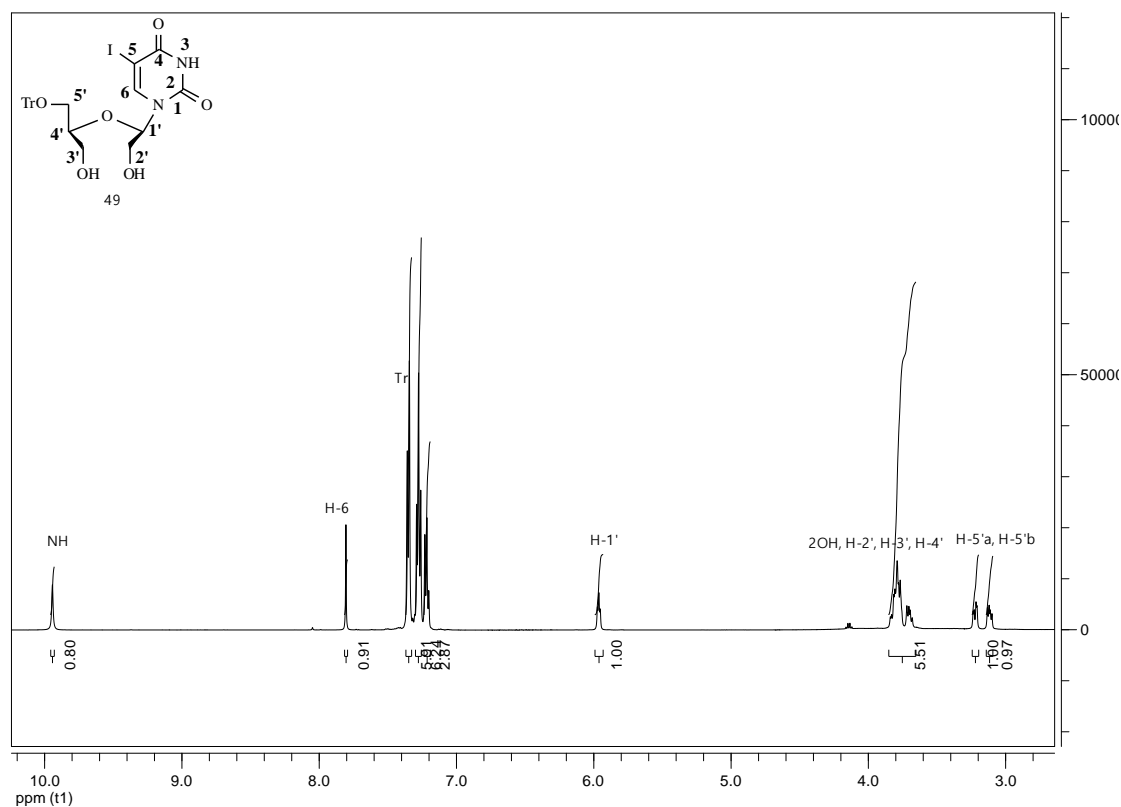
Η επόμενη αντίδραση είναι μία οξειδωτική διάσπαση της *cis* – διόλης στην 2',3'- θέση του νουκλεοζίτη **48** χρησιμοποιώντας υπεριοδικό νάτριο ( $\text{NaIO}_4$ ) σε μίγμα νερού και αιθανόλης και στη συνέχεια ακολούθησε αναγωγή με βοριοϋδρίδιο του νατρίου ( $\text{NaBH}_4$ ) της διαλδεΰδης που προέκυψε, οδηγώντας στον άκυκλο νουκλεοζίτη **49** (Σχήμα 83). Η αποτριτυλίωση του νουκλεοζίτη **49** πραγματοποιήθηκε μέσω κατεργασίας του με μίγμα μυρμηγκικού οξέος ( $\text{HCOOH}$ ) και διαιθυλαιθέρα ( $\text{Et}_2\text{O}$ ) (Komiotis *et al.*, 2006), με αποτέλεσμα τη λήψη του άκυκλου νουκλεοζίτη της 5-ιωδοουρακίλης **50** (Σχήμα 83).



Σχήμα 83

Στο σχήμα που ακολουθεί παρουσιάζεται το φάσμα  $^1\text{H}$ NMR του παραγώγου **49** (Σχήμα 84). Στα 9.94 ppm φαίνεται η απλή κορυφή του πρωτονίου της αμινομάδας NH, ακολουθεί μία απλή στα 7.81 ppm η οποία είναι το πρωτόνιο του άνθρακα έξι (H-6) της ουρακίλης. Στη συνέχεια, ακολουθεί μία πολλαπλή κορυφή στα 7.36-7.20, που αντιστοιχεί στα δεκαπέντε πρωτόνια του τριτυλίου. Στα 5.97 ppm εμφανίζεται η τριπλή κορυφή του H-1' του άκυκλου τμήματος του νουκλεοζίτη. Στα 3.84- 3.68 ppm διαφαίνεται μία πολλαπλή κορυφή που αντιστοιχεί σε επτά πρωτόνια H-2'α, H-2'β, 2OH, H-3'α, H-3'β H-4', και τέλος στα 3.23 και 3.13 ppm εμφανίζονται δύο διπλές κορυφές για τα δύο υδρογόνα H-5'α, H-5'β, αντίστοιχα.

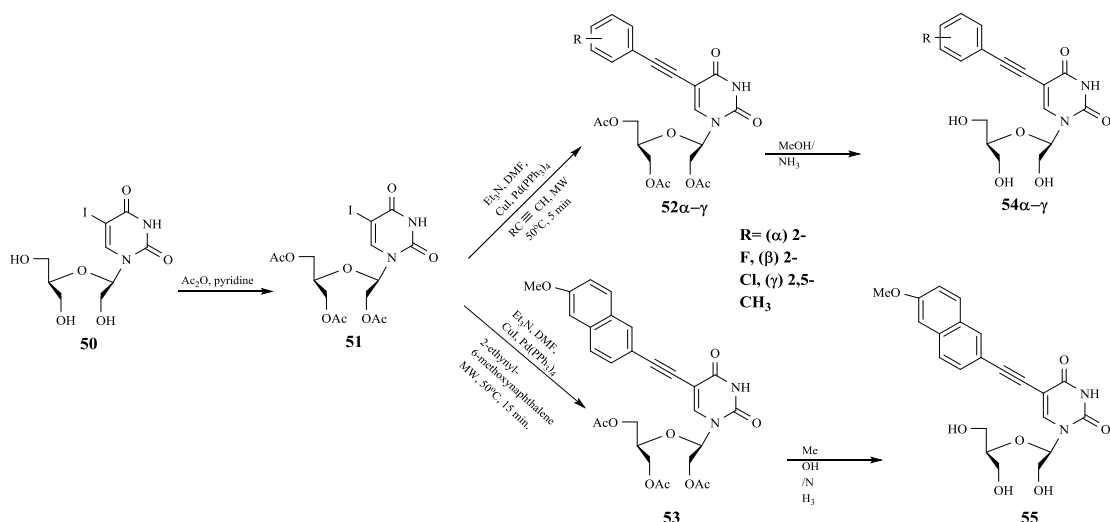




Σχήμα 84

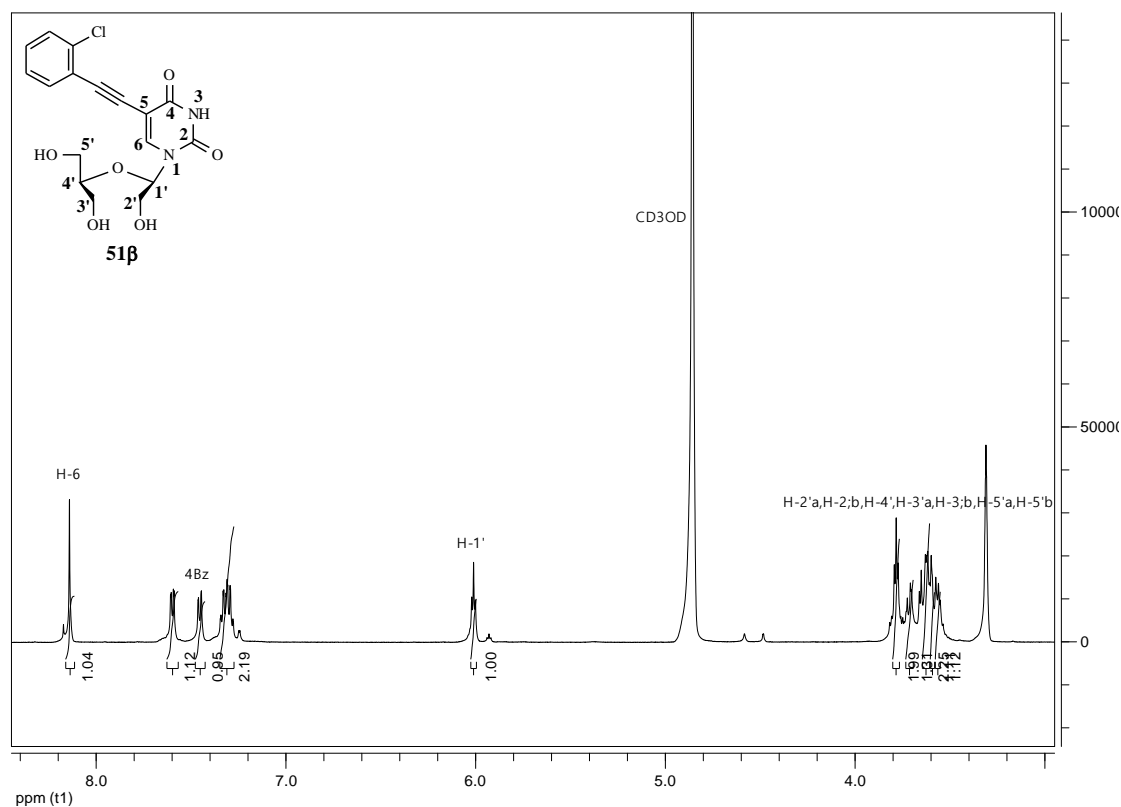
#### Π.4.3 Σύνθεση των C5 αλκύνυλο 1-(1-((1,3-διυδροξυπροπαν-2-υλ)οξυ)-2-υδροξυαιθυλο)-ουρακίλη (54, 55)

Το επόμενο στάδιο, της σύνθεσης, περιλαμβάνει την ακετυλίωση των υδροξυλομάδων του νουκλεοζίτη **50** με την χρήση οξικού ανυδρίτη παρουσία πυριδίνης καταλήγοντας στον ακετυλωμένο παράγωγο **51**. Η εισαγωγή των αλκινίων στον C5 της ιωδοουρακίλης πραγματοποιήθηκε με την αντίδραση Sonogashira, όπου ο άκυκλος νουκλεοζίτης της ιωδοουρακίλης **51** διαλύθηκε σε DMF και προστέθηκε  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  ως καταλύτης  $\text{CuI}$  ως συγκαταλύτης, το κατάλληλο αλκύνιο και το μίγμα θερμάνθηκε στους  $50^\circ\text{C}$  για δεκαπέντε λεπτά (Σχήμα 84). Μετά το πέρας της αντίδρασης έγινε εκχύλιση του μίγματος με κορεσμένο διάλυμα χλωριούχου νατρίου ( $\text{NaCl}$ ) και οξικού αιθυλεστέρα, ενώ το επιθυμητό προϊόν λήφθηκε καθαρό έπειτα από στήλη χρωματογραφίας. Τέλος τα μόρια απακετυλιώθηκαν χρησιμοποιώντας κορεσμένο διάλυμα μεθανόλης με αμμωνία ( $\text{MeOH}/\text{NH}_3$ ) με αποτέλεσμα να συντεθούν τα παράγωγα **54, 55** (Σχήμα 85).

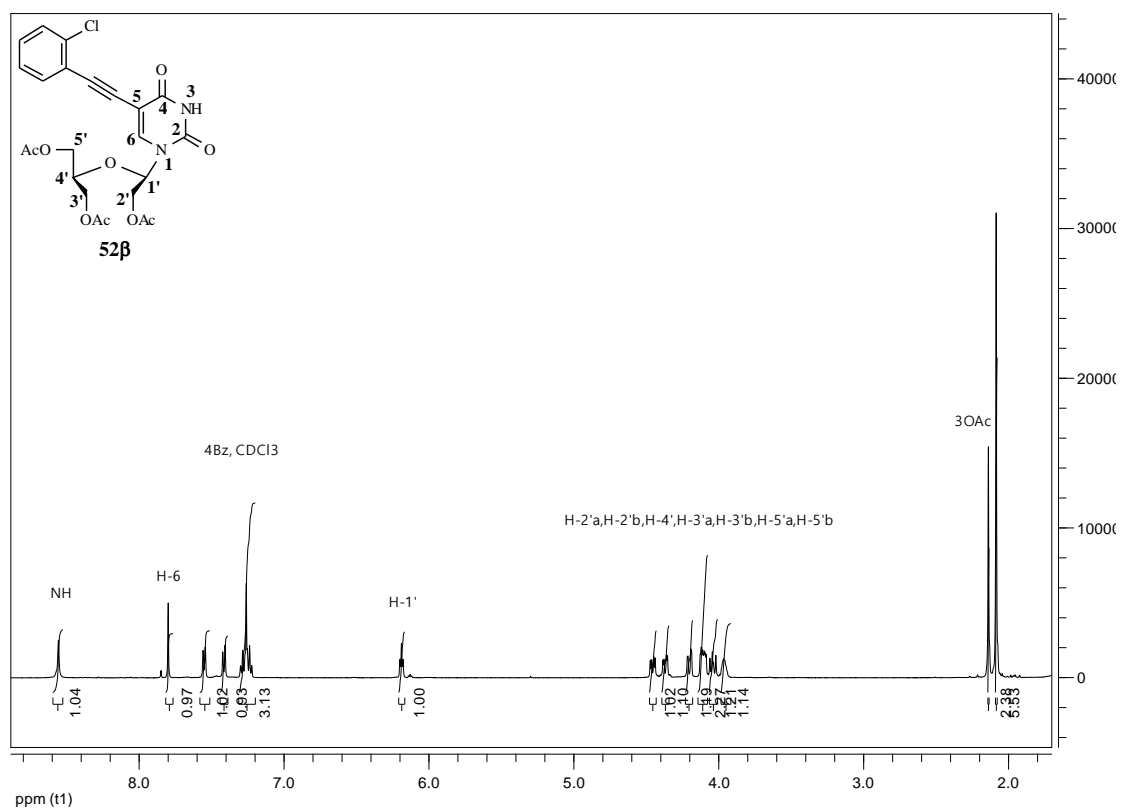


Σχήμα 85

Στα σχήματα **86** και **87** παρουσιάζονται τα φάσματα  $^1\text{H}$ NMR των παραγώγων **54β** και **52β**, αντίστοιχα. Στα 8.14 ppm φαίνεται μία απλή κορυφή που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο του άνθρακα έξι (H-6) της ουρακίλης. Στη συνέχεια διαφαίνονται δύο διπλές διπλών και μία πολλαπλή κορυφή στα 7.61-7.46 και 7.34-7.28 ppm, αντίστοιχα τα οποία είναι τα τέσσερα πρωτόνια του βενζολικού δακτυλίου. Στα 6.02 ppm εμφανίζεται η τριπλή κορυφή του H-1' του άκυκλου τμήματος του νουκλεοζίτη, ενώ στα 3.79 ppm έχουμε μία τριπλή κορυφή για τα H-2'α και H-2'β ακολουθούμενη από η πολλαπλή κορυφή του πρωτονίου H-4'. Μία τριπλή κορυφή εμφανίζεται επίσης στα 3.63 ppm για τα H-3'α και H-3'β και το φάσμα ολοκληρώνεται με δύο διπλές διπλών κορυφές στα 3.60 και 3.57 ppm των δύο υδρογόνων H-5'α, H-5'β, αντίστοιχα (Σχήμα 86). Στο φάσμα  $^1\text{H}$ NMR του αντίστοιχου προστατευμένου άκυκλου νουκλεοζίτη εμφανίζονται επίσης μία ευρεία κορυφή στα 8.56 ppm για το πρωτόνιο NH της ουρακίλης και στα 2.14 και 2.09 ppm δύο απλές κορυφές οι οποίες αντιστοιχούν στα πρωτόνια των τριών ακετυλίων (Σχήμα 87).

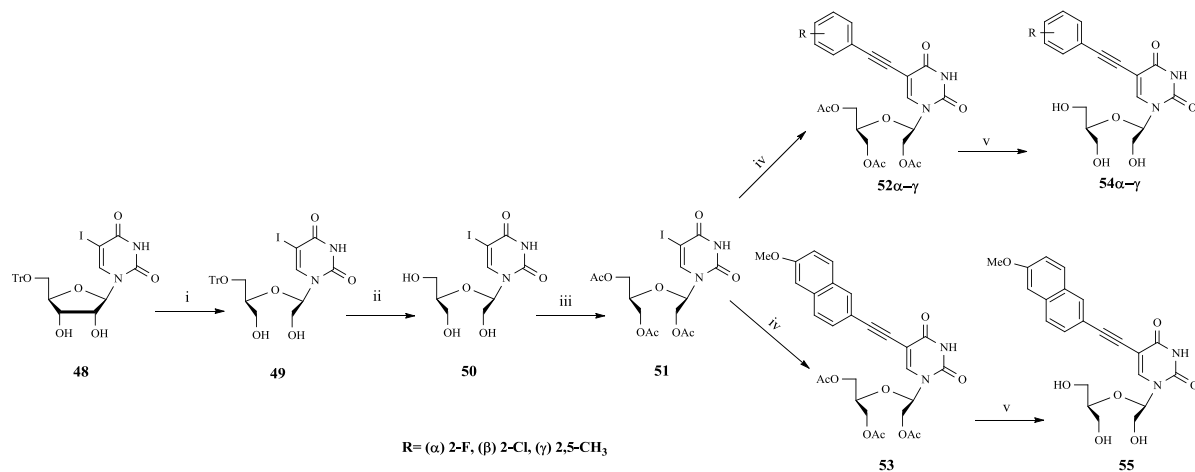


Σχήμα 86



Σχήμα 87

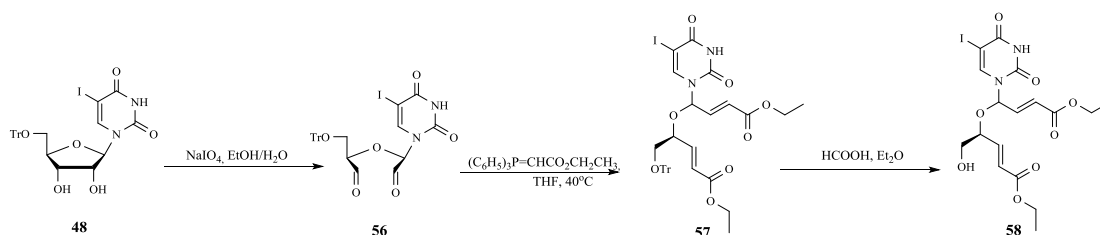
Στο σχήμα 88 που ακολουθεί φαίνεται συνολικά η πειραματική πορεία που ακολουθήσαμε για την σύνθεση των C5 αλκύνυλο-παραγώγων της 1-(1-((1,3-δωδροξυπροπαν-2-υλ)οξυ)-2-υδροξυαιθυλο)-ουρακίλη.



**Σχήμα 88:** (i) α) NaIO<sub>4</sub>, MeOH, H<sub>2</sub>O, 1h, β) NaBH<sub>4</sub>, 1h, (ii) ) HCOOH, Et<sub>2</sub>O, (iii) Ac<sub>2</sub>O, πυριδίνη, 1h. (iv) DMF, CuI, Et<sub>3</sub>N, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, και το κατάλληλο αλκύνιο, (v) MeOH/NH<sub>3</sub>.

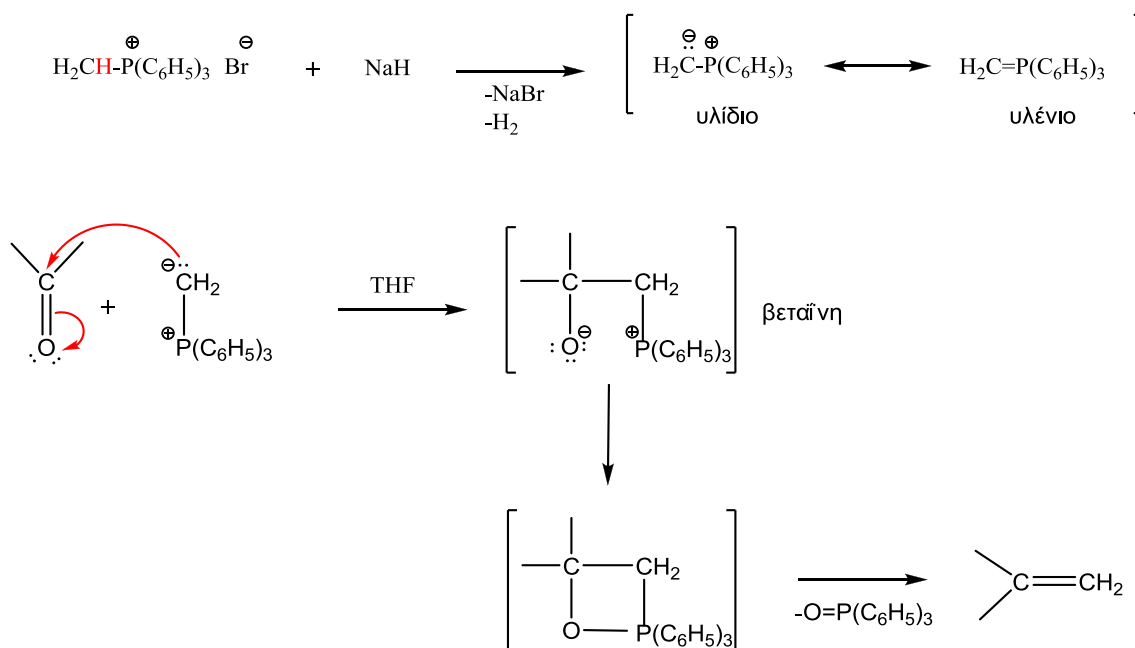
#### Π.4.4 Σύνθεση του (*E*)-αιθυλο, 4-(((*E*)-4-αιθοξυ-1-(5-ιωδο-ουρακίλη)-4-οξοβουτ-2-εν-1-υλ)οξυ)-5-υδροξυπεντ-2-ενοϊκού εστέρα (58)

Ο επόμενος συνθετικός στόχος, της παρούσας εργασίας, ήταν η δημιουργία C5 τροποποιημένων άκυκλων νουκλεοζιτών της ουρακίλης, στο άκυκλο τμήμα της οποίας θα εισαχθούν  $\alpha,\beta$ -ακόρεστες καρβονυλικές δομές, οι οποίες έχει αποδειχθεί ότι προσδίδουν ιδιαίτερη βιολογική δραστηριότητα στα μόρια που τις φέρουν. Σύμφωνα με την ρετροσυνθετική πορεία που προτείνουμε (Σχήμα 79), το βασικό ενδιάμεσο είναι το **XXXVI**. Η συνθετική πορεία ξεκινά από τον τριτυλιωμένο νουκλεοζίτη **48** και την οξειδωτική διάσπαση της *cis* – διόλης στην 2',3'- θέση χρησιμοποιώντας υπεριοδικό νάτριο ( $\text{NaIO}_4$ ) σε μίγμα νερού και αιθανόλης για μία ώρα, το τέλος της αντίδρασης ταυτοποιήθηκε με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC). Η διαλδεΰδη **56** που δημιουργήθηκε αποδείχθηκε ότι ήταν ασταθής και γι' αυτό το λόγο αφού πρώτα απομονώθηκε, στην συνέχεια υποβλήθηκε σε αντίδραση Wittig χρησιμοποιώντας το υλίδιο (αιθοξυκαρβονυλομεθυλενο)τριφαινυλφωσφοράνιο σε άνυδρο τετραϋδροφουράνιο THF στους  $40^\circ\text{C}$  για μία ώρα λαμβάνοντας τον τριτυλιωμένο άκυκλο νουκλεοζίτη της 5-ιωδοουρακίλης **57** σε απόδοση 58% (Σχήμα 89). Η αποτριτυλίωση του νουκλεοζίτη **57** πραγματοποιήθηκε μέσω κατεργασίας του με μίγμα  $\text{HCOOH}$  και  $\text{Et}_2\text{O}$  (Komiotis *et al.*, 2006), με αποτέλεσμα τη λήψη του άκυκλου νουκλεοζίτη της 5-ιωδοουρακίλης **58** (Σχήμα 89).



Σχήμα 89

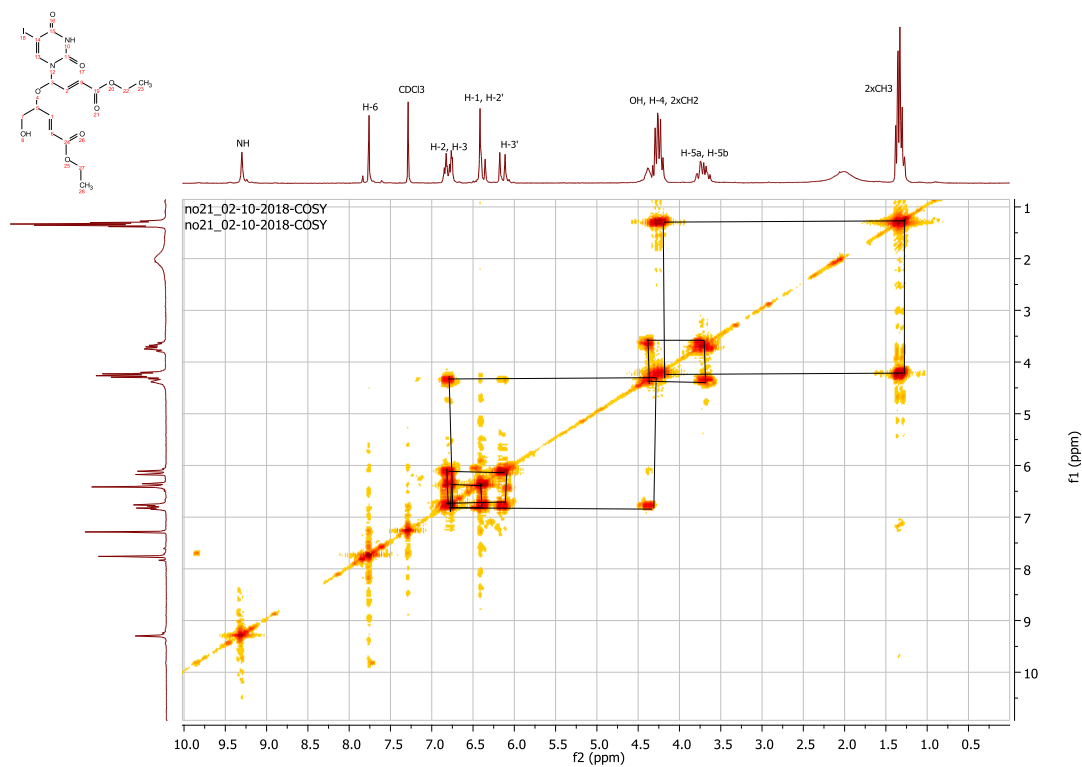
Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι το καθοριστικό βήμα της συνθετικής πορείας αποτελεί η εισαγωγή των  $\alpha,\beta$ -ακόρεστων καρβονυλικών δομών στην διαλδεΰδη **56** που δημιουργείται, η οποία πραγματοποιείται με αντίδραση Wittig. Ο μηχανισμός της συγκεκριμένης αντίδρασης απεικονίζεται στο σχήμα 90 που ακολουθεί.

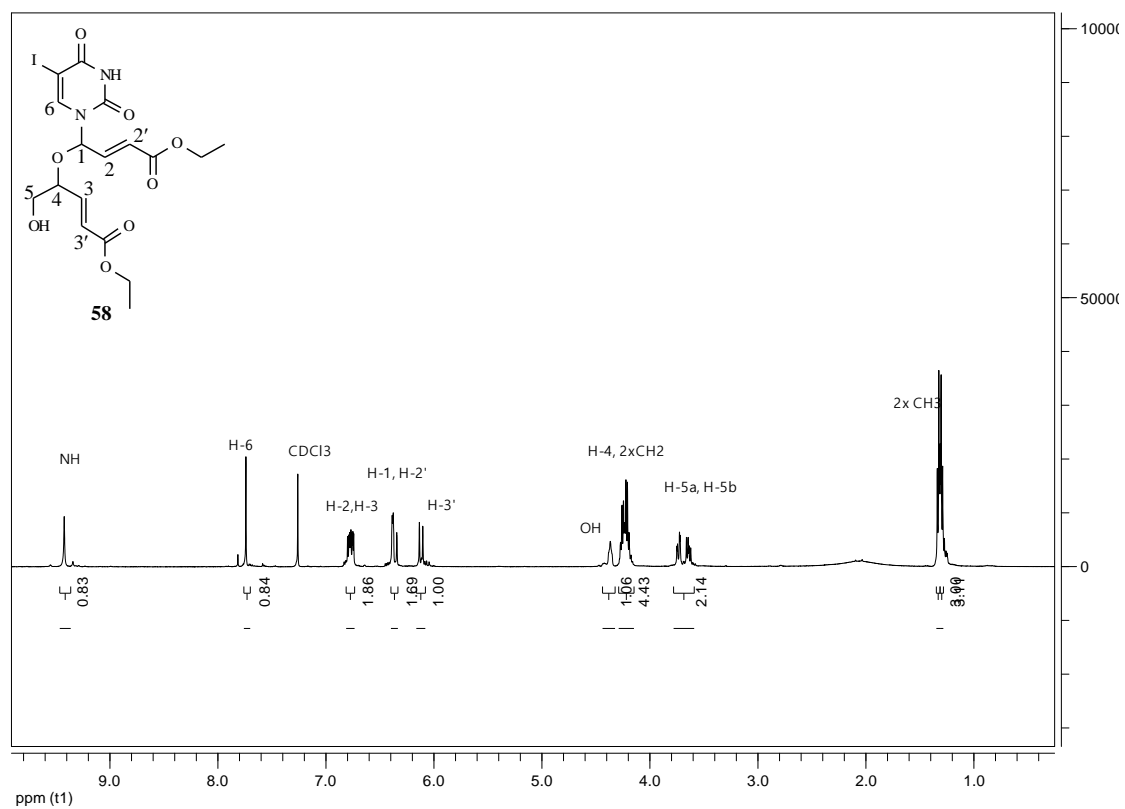


Σχήμα 90

Για την διερεύνηση της δομής του παραγώγου **58** διενεργήσαμε πειράματα  $^1\text{H}$ NMR και COSY. Η ανάλυση των φασμάτων κατέδειξε ότι: α) δεν παράγονται διαστερεοϊσομερή παραπροϊόντα, β) οι C1, C4 διατηρούν την στερεοχημεία τους. Τέλος τα πρωτόνια των δύο διπλών δεσμών του άκυκλου μέρους του νουκλεοζίτη βρίσκονται σε trans θέση μεταξύ τους καθώς, παρατηρούμε μεγάλες σταθερές σύζευξης (15.8 Hz) που υποδηλώνουν αυτήν την μεταξύ τους σχέση (Bothner-By *et al.*, 1965, Robins, M.J. and Barr, 1983). Στο σχήμα 90 παρουσιάζονται τα φάσματα  $^1\text{H}$ NMR και COSY του παραγώγου **58**. Στο δύο διαστάσεων φάσμα (COSY) του σχήματος 91 παρατηρούμε τις εξής αλληλεπιδράσεις: α) το πρωτόνιο H-4 (4.35 ppm) αλληλεπιδρά με το H-3 (6.78 ppm) και με τα H-5α, H-5β (3.69 ppm), β) αλληλεπίδραση του υδρογόνου του OH (4.37 ppm) με τα πρωτόνια H-5α, H-5β (3.69 ppm), γ) αλληλεπίδραση του H-1 (6.44 ppm) με πρωτόνιο H-2 (6.73 ppm), δ) αλληλεπίδραση μεταξύ πρωτονίου στα 6.12 ppm και 6.82 ppm που αντιστοιχεί στα πρωτόνια του διπλού δεσμού H-3, H-3', ε) αλληλεπίδραση μεταξύ πρωτονίου στα 6.12 ppm και 6.82 ppm που αντιστοιχεί στα πρωτόνια του διπλού δεσμού H-2, H-2'. Στο φάσμα πρωτονίου ( $^1\text{H}$ NMR) του παραγώγου **58** (σχήμα 91) παρατηρούμε ότι στα 9.40 ppm φαίνεται μία ευρεία κορυφή που αντιστοιχεί στο NH της ουρακίλης και ακολουθεί μία απλή κορυφή για το υδρογόνο του C6 της βάσης. Στα 6.78 και 6.75 ppm παρατηρούμε δύο διπλές διπλών με  $J = 15.8$  τα οποία είναι τα πρωτόνια του

διπλού δεσμού (H-2, H-3). Στα 6.39 ppm βρίσκεται το πρωτόνιο του C που είναι ενωμένο με το N1 (H-1) της ιωδοουρακίλης. Στη συνέχεια παρατηρούμε δύο κορυφές διπλές διπλών στα 6.37 και 6.12 ppm με  $J = 15.8$  Hz που αντιστοιχούν στα πρωτόνια του διπλού δεσμού (H-2', H-3') που βρίσκονται δίπλα στις καρβονυλικές ομάδες. Στα 4.37 ppm παρατηρούμε μία ευρεία κορυφή για το πρωτόνιο της υδροξυλομάδας και ακολουθεί μία πολλαπλή κορυφή για τα τέσσερα πρωτόνια των δύο μεθυλέν ομάδων (-CH<sub>2</sub>-) καθώς και για το πρωτόνιο του C4. Στα 3.74 και 3.66 ppm έχουμε δύο διπλές διπλών κορυφές που αντιστοιχούν στα δύο υδρογόνα της μεθόξυ ομάδας (H-5α, H-5β). Τέλος, εμφανίζεται μία πολλαπλή κορυφή για τα έξι πρωτόνια των δύο μεθυλομάδων.



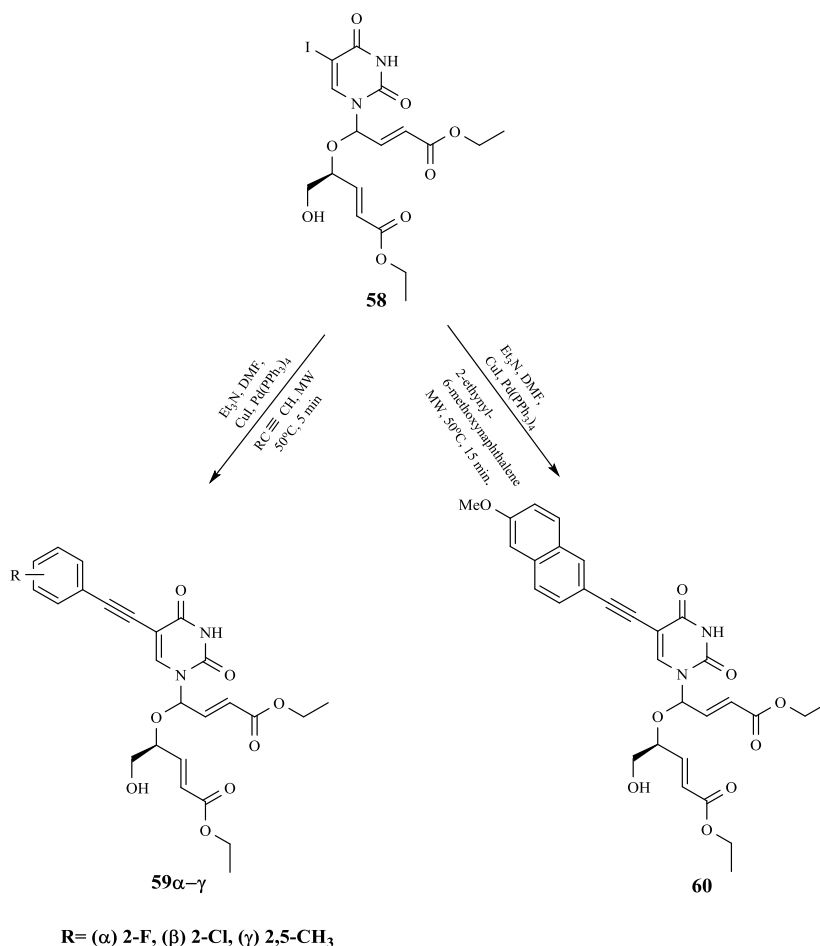


Σχήμα 91



### Π.4.5 Σύνθεση των C5 αλκυνυλο παραγώγων του -(E)-αιθυλο, 4-(((E)-4-αιθοξυ-1-(5-ιωδο-ουρακίλο)-4-οξοβουτ-2-εν-1-υλ)οξυ)-5-υδροξυπεντ-2-ενοϊκού εστέρα (59, 60)

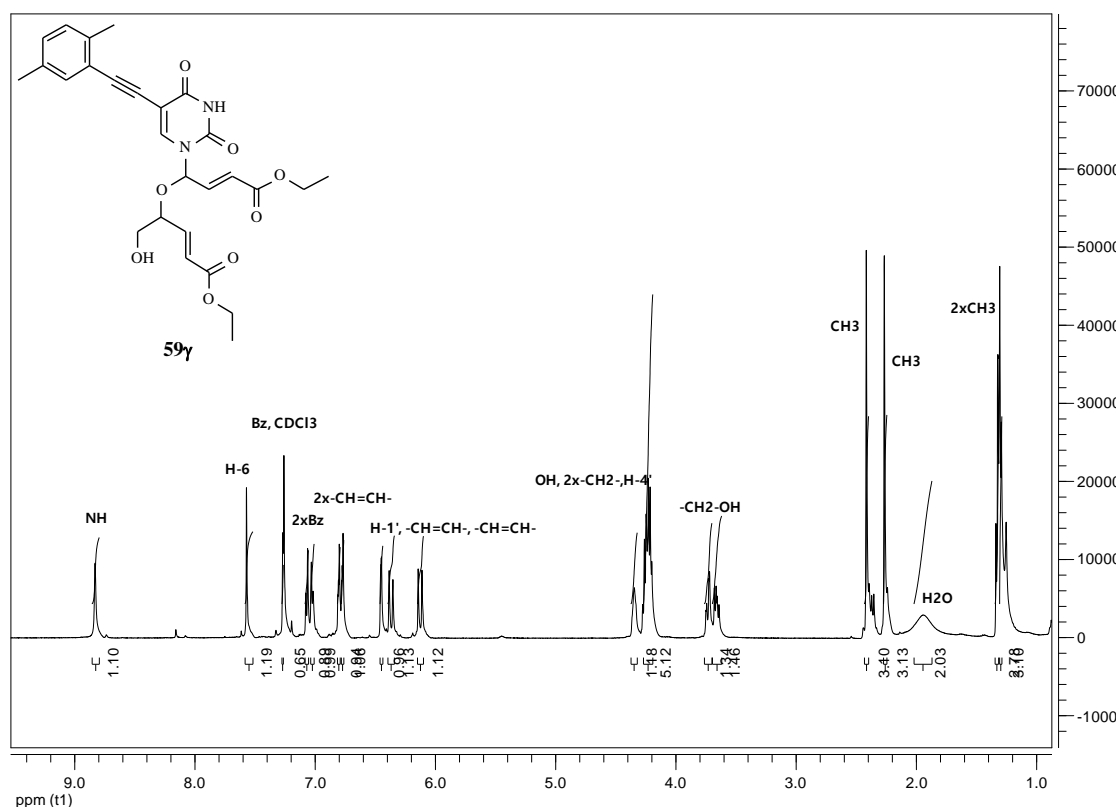
Η εισαγωγή των αλκυνίων στον C5 της ιωδοουρακίλης πραγματοποιήθηκε με την αντίδραση Sonogashira, ο άκυκλος νουκλεοζίτης της ιωδοουρακίλης **58** διαλύθηκε σε διμέθυλοφορμαμίδιο και προστέθηκε Et<sub>3</sub>N, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> ως καταλύτης CuI ως συγκαταλύτης, το κατάλληλο αλκύνιο και το μίγμα θερμάνθηκε στους 50°C για δεκαπέντε λεπτά (Σχήμα 92). Μετά το πέρας της αντίδρασης έγινε εκχύλιση του μίγματος με κορεσμένο διάλυμα χλωριούχου νατρίου (NaCl) και οξικού αιθυλεστέρα, ενώ το επιθυμητό προϊόν ελήφθη καθαρό μετά από στήλη χρωματογραφίας.



Σχήμα 92

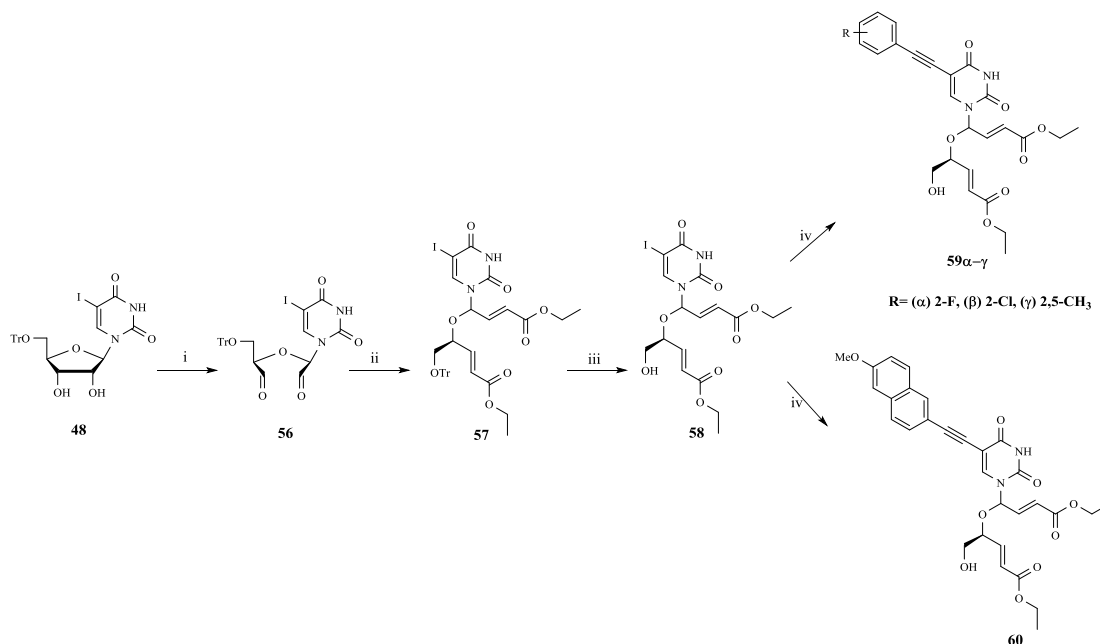
Στο σχήμα που ακολουθεί (Σχήμα 93) παρουσιάζεται ενδεικτικά το φάσμα πρωτονίου του παραγώγου **59γ**. Στα 8.86 ppm φαίνεται μία ευρεία κορυφή που αντιστοιχεί στο NH της ουρακίλης και ακολουθεί μία απλή κορυφή για το υδρογόνο

του C6 της βάσης στα 7.60 ppm. Στα 7.30 ppm φαίνεται μία απλή κορυφή που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο της φαίνυλομαδας, ενώ στα 7.10 και 7.05 ppm ακολουθούν δύο διπλές κορυφές με  $J = 15.8$  Hz οι οποίες αντιστοιχούν στα υπόλοιπα δύο πρωτόνια της φαίνυλομαδας. Στα 6.83 και 6.81 ppm παρατηρούμε δύο κορυφές διπλές διπλών με  $J = 15.8$  Hz που αντιστοιχούν τα πρωτόνια του διπλού δεσμού που είναι κοντά στην καρβονυλόμαδα. Στα 6.48 ppm εμφανίζεται το πρωτόνιο του γλυκοζιτικού δεσμού. Στη συνέχεια παρατηρούμε δύο διπλές διπλών στα 6.40 και 6.16 ppm με  $J = 15.8$  Hz που αντιστοιχούν στα άλλα πρωτόνια του διπλού δεσμού. Στα 4.38 ppm παρατηρούμε μία ευρεία κορυφή του πρωτονίου της υδροξυλομάδας και ακολουθεί μία πολλαπλή κορυφή 4.31 – 4.23 ppm των τεσσάρων πρωτονίων των δύο μεθυλενο-ομάδων (-CH<sub>2</sub>-) καθώς και του πρωτονίου του C4'. Στα 3.78 και 3.70 ppm έχουμε δύο διπλές διπλών κορυφές που αντιστοιχούν στα δύο υδρογόνα της υδροξυμεθύλενο ομάδας. Στα 2.45 και 2.30 ppm παρατηρούμε δύο απλές κορυφές που αντιστοιχούν στις δύο μεθυλομάδες του βενζολικού δακτυλίου. Τέλος εμφανίζεται μία πολλαπλή κορυφή 1.37 έως 1.28 ppm για τα έξι πρωτόνια των δύο μεθυλομάδων.



Σχήμα 93

Στο σχήμα 94 που ακολουθεί φαίνεται συνολικά η πειραματική πορεία που ακολουθήσαμε για την σύνθεση των C5 αλκυνολο παραγώγων του -(E)-αιθυλο, 4-(((E)-4-αιθοξυ-1-(5-ιωδο-ουρακίλο)-4-οξοβουτ-2-εν-1-υλοξυ)-5-υδροξυπεντ-2-ενοϊκού εστέρα.



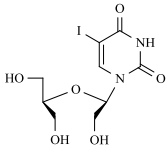
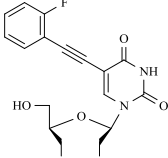
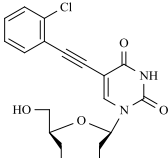
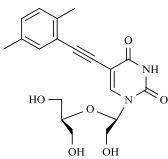
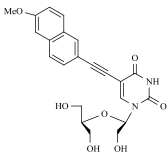
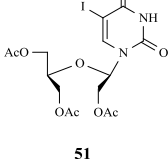
**Σχήμα 94:** (i)  $\text{NaIO}_4$ ,  $\text{MeOH}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , 1h (ii)  $(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{P}=\text{CHCO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $\text{THF}$ ,  $40^\circ\text{C}$ , 1h, (iii)  $\text{HCOOH}$ ,  $\text{Et}_2\text{O}$ , (iv)  $\text{DMF}$ ,  $\text{CuI}$ ,  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ , και το κατάλληλο αλκύνιο.

#### Π.4.6 Αντιική και αντικαρκινική δράση των C5 τροποποιημένων άκυκλων νουκλεοζιτών της ουρακίλης

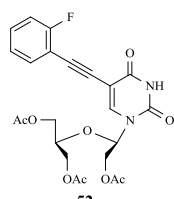
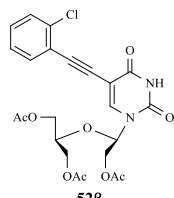
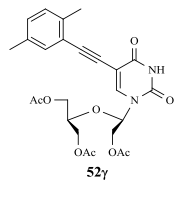
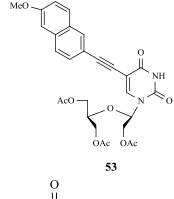
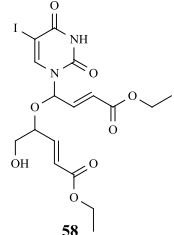
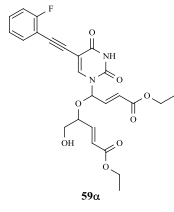
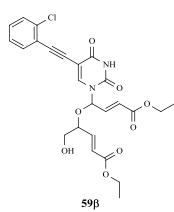
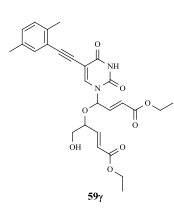
Οι νεοσυντιθέμενοι C5 τροποποιημένοι άκυκλοι νουκλεοζίτες της ουρακίλης **50, 51, 52α-γ, 53, 54α-γ, 55, 59α-γ, 60**, εξετάστηκαν για τη πιθανή αντιική και αντικαρκινική τους δράση σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Ιολογίας και Χημειοθεραπείας του Ινστιτούτου Ιατρικής Έρευνας Rega στο Βέλγιο.

Οι ενώσεις αξιολογήθηκαν για την κυτταροστατική τους δράση έναντι του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων παγκρεατικού αδενοκαρκινώματος (Capan-1), χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας (Har-1), καρκινώματος του ορθού (HCT-116), καρκίνου του πνεύμονα (NCI-H460), οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας (DND-41), οξεία μυελογενούς λευχαιμίας (HL-60), χρόνια μυελογενούς λευχαιμίας (K-562) και μη-Hodgkin λέμφωμα (Z-138). Για την εκτίμηση της κυτταροτοξικής δράσης χρησιμοποιήθηκε η παράμετρος IC<sub>50</sub>, η οποία αντιπροσωπεύει τη συγκέντρωση του φάρμακου που απαιτείται για την αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης κατά 50%. Κανένα από τα μόρια δεν εμφάνισε αξιόλογη κυτταροστατική δράση. Τα αποτελέσματα της κυτταροτοξικής δράσης παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 5). Οι νέες ενώσεις μελετήθηκαν ως προς τις αντιικές τους ιδιότητες έναντι διαφόρων DNA και RNA ιών, χωρίς όμως να παρουσιάσουν κάποια ενδιαφέρουσα δράση.

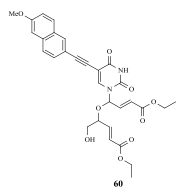
**Πίνακας 5:** Κυτταροτοξική δράση των νουκλεοζιτών **50**, **51**, **52α-γ**, **53**, **54α-γ**, **55**, **58**, **59α-γ**, **60**.

<u>Προϊόν</u>	IC <sub>50</sub> (μM)	Πανκρεατικό αδενοκαρκίνωμα Capan-1	Χρόνια μυελογενής λευχαιμία Har-1	Καρκίνος όρθου HCT-116	Καρκίνος πνεύμονα NCI-H460	οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία DND-41	Οξεία μυελογενής λευχαιμία HL-60	Χρόνια μυελογενής λευχαιμία K-562	non- Hodgkin λέμφωμα Z-138
Μέσος Όρος									
	μM	>100	>100	>100	44,6	>100	>100	>100	>100
<b>50</b>									
	μM	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>54α</b>									
	μM	>100	>100	>100	47,0	>100	>100	>100	>100
<b>54β</b>									
	μM	>100	>100	56,2	46,1	>100	>100	>100	>100
<b>54γ</b>									
	μM	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>55</b>									
	μM	58,0	>100	79,0	>100	96,6	>100	>100	40,0
<b>51</b>									

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ-ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

	μM	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>52α</b>									
	μM	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>52β</b>									
	μM	64,7	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>52γ</b>									
	μM	>100	88,9	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>53</b>									
	μM	37,2	23,8	55,7	57,9	22,5	45,8	62,4	21,1
<b>58</b>									
	μM	47,4	49,1	44,5	68,5	34,1	48,6	51,6	23,4
<b>59α</b>									
	μM	>100	>100	93,3	>100	>100	>100	80,7	>100
<b>59β</b>									
	μM	44,1	45,7	35,0	>100	37,9	52,4	42,2	36,6
<b>59γ</b>									

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ-ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ



	μM	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
Docetaxel	nM	21,9	3,0	19,3	4,9	1,7	5,4	2,1	1,1
Staurosporine	nM	49,5	46,1	66,5	60,0	28,1	52,9	39,1	9,9

### **III. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

#### **ΓΕΝΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ**

##### **Γενικές παρατηρήσεις**

Όλα τα εμπορικά διαθέσιμα αντιδραστήρια υψηλής καθαρότητας χρησιμοποιήθηκαν ως είχαν, χωρίς περαιτέρω καθαρισμό. Οι αντιδράσεις έλαβαν χώρα υπό αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου. Σε αντιδράσεις που απαιτούσαν άνυδρες συνθήκες, η ξήρανση των γυαλικών έγινε σε κλίβανο σε θερμοκρασία 200°C για 8 ώρες.

##### **Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC: Thin Layer Chromatography)**

Ο έλεγχος της καθαρότητας των ενώσεων και η παρακολούθηση της πορείας των αντιδράσεων έγινε με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC) σε πλάκες αλουμινίου επιστρωμένες με silica gel F<sub>254</sub> (0.2 mm) της εταιρείας E. Merck. Οι κηλίδες των χρωματογραφημάτων (TLC) είναι ορατές υπό λυχνία υπεριώδους (UV) και με ψεκασμό με διάλυμα θειικού οξέος 30% και θέρμανση στους 120 °C.

##### **Χρωματογραφία στήλης**

Η χρωματογραφία στήλης υπό πίεση (flash column chromatography), επιτεύχθηκε με την εισαγωγή αέρα υπό πίεση εντός στήλης πακτωμένης με silica gel 60 (230-400 mesh) της εταιρείας E. Merck. Οι διαλύτες έκλουσης αποστάχθηκαν αμέσως πριν τη χρήση τους.

##### **Μέτρηση της οπτικής ενεργότητας**

Οι μετρήσεις της ειδικής στροφικής ικανότητας των ενώσεων πραγματοποιήθηκαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος με τη βοήθεια πολωσιμέτρου, τύπου Autopol I.

##### **Φάσματα υπεριώδους ακτινοβολίας**

Τα φάσματα υπεριώδους ακτινοβολίας ελήφθησαν σε φασματοφωτόμετρο, τύπου PG Instruments Ltd. Ο μοριακός συντελεστής απόσβεσης  $\epsilon$ , προσδιορίστηκε από την εξίσωση

$$\epsilon = \log(I_0 / I) / (C \times d)$$

όπου  $\log(I_0 / I)$  = οπτική πυκνότητα μετρημένη στο μέγιστο της απορρόφησης ( $\lambda_{\max}$ )

$$C = \text{συγκέντρωση της ουσίας (mol/L)}$$



$d$  = μήκος κυψελίδας (cm)

### **Φάσματα NMR**

Τα φάσματα NMR καταγράφηκαν σε φασματοφωτόμετρο τύπου Bruker AM300 με συχνότητα συντονισμού τα 300.1 MHz για τους πυρήνες  $^1\text{H}$  και 75.5 MHz για τους πυρήνες  $^{13}\text{C}$ . Οι δευτεριωμένοι διαλύτες ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{MeOD-}d_4$ ,  $\text{DMSO-}d_6$ ) ήταν υψηλής καθαρότητας και σε όλες τις περιπτώσεις χρησιμοποιήθηκε εσωτερικό πρότυπο αναφοράς το τετραμεθυλοσιλάνιο TMS. Οι τιμές χημικής απορρόφησης δίνονται σε ppm ( $\delta$ ), ενώ οι τιμές των σταθερών σύζευξης σε Hz. Για την πολλαπλότητα των κορυφών χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω σύμβολα: (br s) ευρεία, (s) απλή, (d) διπλή, (t) τριπλή, (m) πολλαπλή, (dd) διπλή διπλών, (q-AB) για σύστημα τύπου AB.

### **Φάσματα μάζας (Electron Spray Ionisation Mass Spectra, ESIMS)**

Οι μετρήσεις μάζας έγιναν σε φασματόμετρο τύπου Thermo Quest Finnigan AQA με μέθοδο ιονισμού τον ψεκασμό (electron spray ionization ESI). Η ακίδα διατηρήθηκε σε τάση 4.5 V, η ταχύτητα ροής του αζώτου στα 50 psi, η ταχύτητα ροής της αντλίας 3  $\mu\text{L}/\text{min}$  και η θερμοκρασία του τριχοειδούς ήταν  $200^\circ\text{C}$ . Ο χρησιμοποιούμενος διαλύτης ήταν νερό και το εύρος των μαζών ήταν μεταξύ 0-1600.

### **Προσδιορισμός των σημείων τήξεως**

Τα σημεία τήξης των μη υγροσκοπικών στερεών καταγράφηκαν σε όργανο Mel-Temp Apparatus και δεν είναι διορθωμένα.

### **Μικροκύματα**

Όλα τα πειράματα που διεξήχθησαν υπο μικροκύματα πραγματοποιήθηκαν σε συσκευή μικροκυμάτων, CEM-Explorer και CEM Discover που λειτουργεί σε συχνότητα 2,45 GHz με συνεχή δύναμη ακτινοβολίας από 0 έως 300 Watt με μέγιστη εκπεμπόμενη ισχύ των 300 Watt και μέγιστη εκπεμπόμενη πίεση των 250 PSI.

### **Ξήρανση διαλυτών**

Όλες οι αντιδράσεις που περιελάμβαναν άνυδρους διαλύτες ή ουσίες ευαίσθητες στην ατμόσφαιρα έλαβαν χώρα υπό αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου.

Το διχλωρομεθάνιο αποστάχθηκε παρουσία πεντοξειδίου του φωσφόρου και το απόσταγμα συλλέχθηκε σε φιάλη που περιείχε μοριακά κόσκινα  $4\text{\AA}$ , όπου και

αποθηκεύτηκε. Το ακετονιτρίλιο, το τολουόλιο και το *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο αποστάχθηκαν υπεράνω υδριδίου του ασβεστίου και το απόσταγμα συλλέχθηκε σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 3Å, όπου και αποθηκεύτηκε. Η πυριδίνη αποστάχθηκε παρουσία υδροξειδίου του καλίου και το απόσταγμα συλλέχθηκε σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 4Å, όπου και αποθηκεύτηκε. Το THF και ο Et<sub>2</sub>O αποστάχθηκαν από νάτριο/βενζοφαινόνη, αμέσως πριν από τη χρήση του.

### Στοιχειακή ανάλυση

Οι στοιχειακές αναλύσεις των ουσιών έγιναν με τη χρήση αυτοματοποιημένων αναλυτών της εταιρείας Perkin-Elmer 2400 (% προσδιορισμός C, H και N) και οι τιμές κυμαίνονται σε εύρος  $\pm 0.4\%$  των θεωρητικών.

## III.2 Σύνθεση των 3'-C-τριφθορομεθυλο- και 3'-C-μεθυλο-πυρανονουκλεοζιτών της 5 φθοροουρακίλης και των αντίστοιχων 3'-δεοξυ αναλόγων τους.

### III.2.1 Σύνθεση της 1,2:5,6-δισ-*O*-ισοπροπυλιδενο-3-*C*-τριφθορομεθυλο- $\alpha$ -*D*-αλλοφουρανόζης (2a)

#### 1,2:5,6-Δισ-*O*-ισοπροπυλιδενο- $\alpha$ -*D*-ριβοεξοφουρανοζο-3-ουλόζη (1)

Η εμπορικά διαθέσιμη ένωση 1,2:5,6-δισ-*O*-ισοπροπυλιδενο- $\alpha$ -*D*-γλυκοφουρανόζη (DAG) (5.0 g, 19.20 mmol) διαλύεται σε διχλωρομεθάνιο (57 mL) και στη συνέχεια προστίθεται Ac<sub>2</sub>O (5.43 mL, 57.60 mmol). Στο προκύπτον εναιώρημα προστίθεται διχρωμική πυριδίνη (PDC) (8.67 g, 23.05 mmol) και ακολουθεί θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα για 4h υπό άζωτο. Μετά το πέρας της αντίδρασης το προκύπτον παχύρρευστο διάλυμα μεταφέρεται σε στήλη χρωματογραφίας υπό πίεση, όπου πραγματοποιείται έκλυση με EtOAc και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το υπόλειμμα, που περιέχει Ac<sub>2</sub>O αραιώνεται με τολουόλιο και στη συνέχεια εξατμίζεται μέχρις ξηρού με απόσταξη. Το επιθυμητό προϊόν **1** (4.0 g, 81%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή παχύρρευστου ελαίου και χρησιμοποιείται στο επόμενο στάδιο χωρίς περαιτέρω καθαρισμό. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα της ένωσης **1** είναι σε συμφωνία με αυτά που αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία (Elhalabi and Rice 2004).

#### 3-*C*-τριφθορομεθυλο-1,2:5,6-δισ-*O*-ισοπροπυλιδενο- $\alpha$ -*D*-αλλοφουρανόζη (2a)

Σε διάλυμα της 1,2:5,6-δισ-*O*-ισοπροπυλιδενο- $\alpha$ -*D*-ριβοεξοφουρανοζο-3-ουλόζης (**1**) (1 g, 3.88 mmol) και (τριφθορομεθυλο)τριμεθυλοσιλάνιο (0,64 ml, 4.36 mmol) σε άνυδρο THF (8 mL) προστίθενται στάγδην διάλυμα φθοριδίου του τετραβουτυλοαμμωνίου (TBAF) σε THF (1M, 4.35 ml, 4.36 mmol), υπό ατμόσφαιρα αζώτου στους 0°C, και HC≡CMgBr σε THF (0.5 M, 93 mmol, 186 mL) υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Το μείγμα της αντίδρασης αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου, για δύο ώρες. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), το μείγμα συμπυκνώθηκε υπό κενό και στη συνέχεια έγινε εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο και νερό. Η οργανική φάση ξυράνθηκε υπεράνω άνυδρου θειϊκού μαγνησίου (MgSO<sub>4</sub>) και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel), χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλυσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (2:8), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **2a** (0.87 g, 92%) υπό τη μορφή λευκού στερεού. Σημείο Τήξεως 132-135 °C. Rf= 0.51 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8).

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +3^{\circ} \quad (\text{c } 0.5 \text{ χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS ( $m/z$ ): 329.11 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{13}H_{19}F_3O_6$ ) C, H

Υπολ. (%)            C : 47.56        H : 5.83

Ευρ. (%)            C : 47.52        H : 5.87

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$  5.84 (d, 1H,  $J_{1,2} = 3.9$  Hz, H-1), 4.62 (d, 1H, H-2), 4.44 (m, 1H, H-5), 4.15 (dd, 1H,  $J_{6a,6b} = 8.8$  Hz, H-6a), 4.04 (dd, 1H, H-6b), 3.86 (d, 1H, H-4), 3.13 (br s, 1H, OH), 1.60 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.47 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.37 (s, 6H, 2 x  $\text{CH}_3$ ).

### **1,2,4,6-Τετρακίς-*O*-ακετυλο-3-*C*-τριφθορομεθυλο- $\beta$ -*D*-αλλοπυρανόζη (3a)**

Ένα διάλυμα της ένωσης **2a** (2.0 g, 6.09 mmol) σε MeOH (9.50 mL) και νερό (54 mL) αναδεύεται στους 65-70  $^{\circ}\text{C}$  με ρητίνη Amberlite IR-120 (H+) (7.06 g). Μετά από 12 ώρες το προκύπτον εναιώρημα διηθείται και από το διήθημα απομακρύνονται οι διαλύτες υπό κενό. Το υπόλειμμα διαλύεται σε πυριδίνη (21 mL) και προστίθεται  $\text{Ac}_2\text{O}$  (11 mL). Το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), το διάλυμα ψύχεται στους 0  $^{\circ}\text{C}$  και προστίθεται μεθανόλη (11.9 mL) για την καταστροφή της περίσσειας του  $\text{Ac}_2\text{O}$ . Οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό, το υπόλειμμα διαλύεται σε οξικό αιθυλεστέρα και πλένεται αρχικά με κορεσμένο διάλυμα όξινου θειϊκού νατρίου ( $\text{NaHSO}_4$ ), στη συνέχεια με κορεσμένο διάλυμα  $\text{NaHCO}_3$  και τέλος με νερό. Η οργανική φάση ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου θειϊκού νατρίου  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το επιθυμητό προϊόν **3a** (2.03 g, 80%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή άγχρωμου ελαίου. Rf = 0.27 (οξικό αιθυλεστέρα / n-εξάνιο 2:8).

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +23 \quad (\text{c } 0.48, \text{ χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS ( $m/z$ ): 416.99 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{15}H_{19}F_3O_{10}$ ) C, H

Υπολ. (%)            C : 43.28        H : 4.60

Ευρ. (%)            C : 43.58        H : 5.87

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$  5.94 (d, 1H,  $J_{1,2} = 8.2$  Hz, H-1), 5.44 (d, 1H,  $J_{4,5} = 9.8$  Hz, H-4), 5.38 (d, 1H, H-2),  
4.27 (dd, 1H,  $J_{5,6b} = 3.0$  Hz,  $J_{6a,6b} = 12.7$  Hz, H-6b), 4.18-4.06 (m, 2H, H-5, H-6a),  
2.10 (br s, 12H, 4OAc)

### III.2.2 Σύνθεση της 1-(3'-C-τριφθορομεθυλο-β-D-αλλοπυρανοζυλο)5-φθοροουρακίλης (5a)

#### 1-(2',4',6'-Τρι-Ο-ακετυλο-3'-C-τροφθορομεθυλο-β-D-αλλοπυρανοζυλο)5-φθοροουρακίλη (4a)

Σε διάλυμα 5-φθοροουρακίλης (646 mg, 4.68 mmol) σε άνυδρο CH<sub>3</sub>CN (33.0 mL) προστίθεται HMDS (1.20 mL, 5.78 mmol) και σακχαρίνη (40 mg, 0.22 mmol), και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται (1,2,4,6-τετρακίς-Ο-ακετυλο-3-С-τριφθορομεθυλο-β-D-αλλοπυρανόζη) (3a) (1.62 g, 3.89 mmol) και Me<sub>3</sub>SiOSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub> (1.0 mL, 5.45 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για μια ώρα επιπλέον με κάθετο ψυκτήρα στους 90 °C, υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Στη συνέχεια το μείγμα της αντίδρασης ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου, εξουδετερώνεται με κορεσμένο διάλυμα NaHCO<sub>3</sub>, αραιώνεται με διχλωρομεθάνιο (400 mL) και εκχυλίζεται μία φορά με νερό (1 x 10 mL). Η οργανική φάση ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου θειϊκού νατρίου Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα: οξικός αιθυλεστέρας / n-εξάνιο (2:8), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν 4a (1.33 g, 70%), υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων. Σημείο Τήξεως 122–124 °C. Rf = 0.29 (οξικό αιθυλεστέρα / n-εξάνιο 2:8).

$$[\alpha]_D^{22} = -15 \quad (\text{c } 0.41, \text{ χλωροφόρμιο})$$

$\lambda_{\text{max}}$  262 nm ( $\epsilon$  8434)

ESI-MS ( $m/z$ ): 487.01 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 41.98            H : 3.73            N: 5.76

Ευρ. (%)            C : 42.28            H : 4.01            N: 5.36

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  8.17 (br s, 1H, NH), 7.42 (d, 1H,  $J_{6,F5} = 5.6$  Hz, H-6), 6.08 (dd, 1H,  $J_{1',2'} = 9.2$  Hz,  $J_{1',F5} = 1.3$  Hz, H-1'), 5.45 (d, 1H,  $J_{4',5'} = 9.8$  Hz, H-4'), 5.30 (d, 1H, H-2'), 4.31-4.22 (m, 2H, H-5', H-6'a), 4.10 (dd, 1H,  $J_{5',6'b} = 1.3$  Hz,  $J_{6'a,6'b} = 10.7$  Hz, H-6'b), 2.14, 2.11, 2.09 (3s, 9H, 3OAc).

**1-(3'-C-Τριφθορομεθυλο-β-D-αλλοπυρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλη (5a)**

Διάλυμα της ένωσης **4a** (700 mg, 1.44 mmol) σε μεθανολική αμμωνία (κορεσμένη στους 0 °C, 61.0 mL) αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 12 ώρες. Ο διαλύτης στη συνέχεια απομακρύνεται υπό κενό και το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη (9.8:0.2) οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **5a** (456 mg, 88%), υπό τη μορφή άγχρωμου ελαίου.  $R_f = 0.24$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9.8:0.2).

$$[\alpha]_D^{22} = +10 \quad (c 0.39, \text{μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 263 \text{ nm } (\epsilon 8696)$$

ESI-MS ( $m/z$ ): 360.98 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 36.68            H : 3.36            N: 7.78

Ευρ. (%)            C : 36.98            H : 3.36            N: 7.68

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  8.00 (d, 1H,  $J_{6,F5} = 6.7$  Hz, H-6), 5.82 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 3.93-3.73 (m, 5H, H-2', H-4', H-5', H-6'a, H-6'b).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  159.3, 151.1, 143.7, 129.3, 126.8, 83.2, 67.2, 64.5, 61.9, 51.6, 51.3.

### III.2.3 Σύνθεση της 1-(3'-δεοξυ-3'-C-τριφθορομεθυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλης (11α)

#### 3-Δεοξυ-1,2,5,6-δισ-O-ισοπροπυλιδενο-C-τριφθορομεθυλο--α-D-αλλοφουρανόζη (6α)

Σε διάλυμα του τριφθορομεθυλο-σακχάρου **2α** (1,0 g, 3.1mmol) σε άνυδρο CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15.5ml), προστίθενται διαδοχικά πυριδίνη (0.8 ml, 8 mmol) και στάγδην το MeOCOCOCI (0.58ml, 6.2mmol) σε παγόλουτρο, υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Το προκύπτον διάλυμα συνεχίζει ν' αναδεύεται στους 0 °C για περίπου μία ώρα μέχρι το πέρας της αντίδρασης (έλεγχος με TLC). Εν συνεχεία η αντίδραση αραιώνεται με οξικό αιθυλεστέρα (500 mL) και πλένεται τρεις φορές με νερό (1 x 150 mL). Κατόπιν η οργανική φάση ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το υπόλειμμα διαλύεται σε άνυδρο τολουόλιο και συμπυκνώνεται δυο φορές, έπειτα προστίθεται άνυδρο τολουόλιο (22 ml) και ακολουθεί απαέρωση του μείγματος με άζωτο για 30 λεπτά. Στο διάλυμα προστίθενται [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Si]<sub>3</sub>SiH) (1.33 ml, 4,34 mmol) αζωδι-ισοβουτυρονιτριλίου (AIBN) (2.17 mmol, 357 mg) και το προκύπτον μείγμα θερμαίνεται στους 100 °C για 45 λεπτά υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Στη συνέχεια το διάλυμα ψύχεται, ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (0.5:9.5), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **6α** (716 mg, 74%), υπό τη μορφή ελαίου. R<sub>f</sub> = 0.7 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 0.5:9.5).

$$[\alpha]_D^{22} = +16^\circ \quad (\text{c } 0.4 \text{ χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS (*m/z*): 313.12 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>F<sub>3</sub>O<sub>5</sub>) C, H

Υπολ. (%)            C : 50.00        H : 6.13

Ευρ. (%)            C : 50.30        H : 6.03



<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 5.81 (d, 1H,  $J_{1,2} = 3.7$  Hz, H-1), 4.76 (dd, 1H,  $J_{2,3} = 4.8$  Hz, H-2), 4.21- 3.94 (m, 4H, H-4, H-5, H-6a, H-6b), 2.88 (dd, 1H, H-3), 1.51 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.42 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.33 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>).

**1,2,4,6-Τετρακίς-*O*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-*C*-τριφθορομεθυλο-β-*D*-αλλοφουρανόζη (8a)**

Το τριφθορομεθυλο-σάκχαρο **8a** συντίθεται από την ένωση **6a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **3a**. Το επιθυμητό προϊόν **8a** (1.42 g, 71%)- παραλαμβάνεται μετά από απομόνωση σε στήλη χρωματογραφίας χρησιμοποιώντας διαλύτη έκλουσης οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 3:7. Σημείο Τήξεως 82-84 °C. Rf = 0.22 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 3:7).

$[\alpha]_D^{22} = +4^\circ$  (c 0.52 χλωροφόρμιο)

ESI-MS ( $m/z$ ): 401.08 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>F<sub>3</sub>O<sub>9</sub>) C, H,

Υπολ. (%) C : 45.01 H : 4.78

Ευρ. (%) C : 45.21 H : 5.08

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 6.14 (s, 1H, H-1), 5.49 (d, 1H,  $J_{2,3} = 5.7$  Hz, H-2), 5.17-5.12 (m, 1H, H-5), 4.62 (t, 1H,  $J = 7.5$  Hz, H-4), 4.48 (dd, 1H,  $J_{5,6b} = 3.1$  Hz,  $J_{6a,6b} = 12.2$  Hz, H-6b), 4.07 (dd, 1H,  $J_{5,6a} = 5.9$  Hz, H-6a), 3.35-3.22 (m, 1H, H-3), 2.13, 2.10, 2.07 (3s, 12H, 4OAc).

**1-(2',4',6'-Τρις-*O*-ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-*C*-τριφθορομεθυλο-β-*D*-αλλοφουρανοζύλο)-5-φθοροουρακίλη (9a)**

Ο προστατευμένος νουκλεοζίτης **9a** συντίθεται από την ένωση **8a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **4a**. Το επιθυμητό προϊόν **9a** (1.16 g, 82%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη

έκλυσης οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 3:7. Σημείο Τήξεως 119-121°C.  $R_f = 0.28$   
(οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 3:7).

$$[\alpha]_D^{22} = +10^\circ \quad (c\ 0.36\ \text{χλωροφόρμιο})$$

$\lambda_{\max}$  266 nm ( $\epsilon$  7424)

ESI-MS ( $m/z$ ): 471.08 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{17}H_{18}F_4N_2O_9$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 43.41            H : 3.86            N: 5.96

Ευρ. (%)            C : 43.55            H : 4.03            N: 5.56

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ )

$\delta$  7.28 (d, 1H,  $J_{6,F5} = 5.6$  Hz, H-6), 5.74 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 5.7$  Hz, H-1'), 5.53 (t, 1H,  $J = 5.8$  Hz, H-2'), 5.37-5.31 (m, 1H, H-5'), 4.55 (t, 1H,  $J = 5.6$  Hz, H-4'), 4.47 (dd, 1H,  $J_{5',6'b} = 3.9$  Hz,  $J_{6'a,6'b} = 12.2$  Hz, H-6'b), 4.17 (dd, 1H,  $J_{5',6'a} = 5.3$  Hz, H-6'a), 3.65-3.48 (m, 1H, H-3'), 2.10, 2.04 (2s, 9H, 3OAc).

### **1-(3'-Δεοξυ-3'-C-τριφθορομεθυλο-β-D-αλλοφουρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλη (10a)**

Ο νουκλεοζίτης **10a** συντίθεται από την ένωση **9a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **5a**. Το επιθυμητό προϊόν **10a** (1.06 g, 89%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή παχύρευστου ελαίου μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλυσης διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9.5:0.5.  $R_f = 0.29$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9.5:0.5).

$$[\alpha]_D^{22} = +15^\circ \quad (c\ 0.45\ \text{μεθανόλη})$$

$\lambda_{\max}$  265 nm ( $\epsilon$  7589)

ESI-MS ( $m/z$ ): 344.98 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{11}H_{12}F_4N_2O_6$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 38.38            H : 3.51            N: 8.14

Ευρ. (%)            C : 38.58            H : 3.90            N: 8.34

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)

δ 8.14 (d, 1H,  $J_{6,F5} = 7.1$  Hz, H-6), 6.04 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 5.3$  Hz, H-1'), 5.80 (d, 1H,  $J = 6.5$  Hz, OH), 5.60 (d, 1H,  $J = 4.7$  Hz, OH), 4.77 (t, 1H,  $J = 5.2$  Hz, H-2'), 4.44 (t, 1H,  $J = 6.8$  Hz, H-4'), 4.34 (t, 1H,  $J = 3.0$  Hz, OH), 3.77-3.75 (m, 1H, H-5'), 3.44-3.37 (m, 2H, H-6'a, H-6'b), 3.19-3.12 (m, 1H, H-3').

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):

δ 157.08, 149.50, 141.81, 128.19, 124.55, 87.65, 78.37, 72.18, 61.96, 44.06, 43.73.

**1-(3'-Δεοξυ-3'-C-τριφθορομεθυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλη (11a)**

Το παράγωγο **10a** (5.0 g, 14.5 mmol) προστέθηκε σε ένα αναδευόμενο διάλυμα NaIO<sub>4</sub> (5,1 g, 23,8 mmol) σε H<sub>2</sub>O (79 mL) και MeOH (79 mL) οδηγώντας στην άμεση καταβύθιση του NaIO<sub>3</sub>. Μετά από 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου, η περίσσεια υπεριοδικού νατρίου καταστράφηκε με την προσθήκη μερικών σταγόνων αιθυλενογλυκόλης. Το μείγμα της αντίδρασης αναδεύτηκε για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου με NaBH<sub>4</sub> (2.0 g, 52.9 mmol), εξουδετερώθηκε με υδατικό NaHCO<sub>3</sub> και κατόπιν εκχυλίστηκε με οξικό αιθυλεστέρα (EtOAc) (4 x 300 mL). Η οργανική στιβάδα πλύθηκε με NaHSO<sub>4</sub>, ξηράνθηκε υπεράνω ανύδρου Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, εξατμίστηκε μέχρι ξηρού και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης με EtOAc / Εξάνιο (8: 2) για να δώσει την ένωση **11a** (4,0 g, 88%) υπό τη μορφή άχρωμου ελαίου. R<sub>f</sub> = 0.3 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9.5:0.5).

$[\alpha]_D^{22} = +12^\circ$  (c 0.36 μεθανόλη)

$\lambda_{max}$  266 nm (ε 8231)

ESI-MS (*m/z*): 314.98 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 38.23            H : 3.21            N: 8.92

Ευρ. (%)            C : 38.03            H : 3.26            N: 9.01

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )

$\delta$  11.76 (br s, 1H, NH), 8.33 (d, 1H,  $J_{6,F5} = 7.3$  Hz, H-6), 6.17 (d, 1H,  $J = 5.7$  Hz, OH), 5.68 (s, 1H, H-1'), 5.46 (s, 1H, OH), 4.54-4.50 (m, 1H, H-4'), 4.39-4.37 (m, 1H, H-2'), 3.88 (dd, 1H,  $J_{4',5'b} = 4.8$  Hz,  $J_{5'a,5'b} = 12.5$  Hz, H-5'b), 3.58 (dd, 1H,  $J_{4',5'a} = 6.8$  Hz, H-5'a), 3.21-3.15 (m, 1H, H-3').

 $^{13}\text{C NMR}$  (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ )

$\delta$  156.4, 148.3, 140.7, 126.6, 124.07, 89.7, 78.4, 72.6, 59.6, 43.5.

### III.2.4 Σύνθεση της 1-(3'-δεοξυ-3'-C-τριφθορομεθυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-φθορουρακίλης (14a)

#### 1,2,4,6-Τετρακίς-O-ακετυλο-3-δεοξυ-3-C-τριφθορομεθυλο-D-γλυκοπυρανοζή (12a)

Το ακετυλιωμένο σάκχαρο **12a** συντίθεται από την ένωση **3a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **6a**. Το επιθυμητό προϊόν **12a** (1.18 g, 61%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή παχύρευστου ελαίου μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8. Rf = 0.26 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8).

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +4^{\circ} \quad (\text{c } 0.28 \text{ χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS (*m/z*): 401.05 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>F<sub>3</sub>O<sub>9</sub>) C, H

Υπολ. (%)            C : 45.01        H : 4.78

Ευρ. (%)            C : 45.13        H : 4.75

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 6.05 and 5.71 (α: d, 0.3H, J<sub>1,2</sub> = 3.3 Hz, β: d, 0.7H, J<sub>1,2</sub> = 7.8 Hz, H-1), 4.30-4.20 (m, 2H), 4.11-4.08 (m, 2H), 3.86-3.83 (m, 1H), 2.86-2.81 (m, 1H), 2.14-2.06 (m, 12H, 4OAc).

#### 1-(2',4',6'-Τρις-O-ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-C-τριφθορομεθυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-φθορουρακίλη (13a)

Ο νουκλεοζίτης **13a** συντίθεται από την ένωση **12a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **4a**. Ο προστατευμένος νουκλεοζίτης **13a** (376 mg, 69%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή κίτρινου ελαίου μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5. Rf = 0.23 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +2^{\circ} \quad (\text{c } 0.11 \text{ χλωροφόρμιο})$$

$\lambda_{\text{max}}$  264 nm (ε 8329)

ESI-MS ( $m/z$ ): 471.08 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 43.41            H : 3.86            N: 5.96

Ευρ. (%)            C : 43.18            H : 3.95            N: 5.75

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.54 (br s, 1H, NH), 7.45 (d, 1H,  $J_{6,F5} = 5.6$  Hz, H-6), 5.85 (dd, 1H,  $J_{1',2'} = 9.2$  Hz,  $J_{1',F5} = 1.1$  Hz, H-1'), 5.38 (t, 1H,  $J = 10.2$  Hz, H-4'), 5.24 (t, 1H,  $J = 10.3$  Hz, H-2'), 4.27 (dd, 2H,  $J_{5',6'a} = 4.8$  Hz,  $J_{6'a,6'b} = 12.7$  Hz, H-6'a, H-6'b), 3.93-3.90 (m, 1H, H-5'), 3.00-2.90 (m, 1H, H-3'), 2.10, 2.04 (2s, 9H, 3OAc).

**1-(3'-Δεοξυ-3'-C-τριφθορομεθυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλη  
(14a)**

Ο νουκλεοζίτης **14a** συντίθεται από την ένωση **13a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **5a**. Ο προστατευμένος νουκλεοζίτης **14a** (320 mg, 87%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή παχύρευστου ελαίου μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1. Rf = 0.23 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

$[\alpha]_D^{22} = -6^\circ$             (c 0.10 μεθανόλη)

$\lambda_{max}$  264 nm (ε 8334)

ESI-MS ( $m/z$ ): 345.04 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 38.38            H : 3.51            N: 8.14

Ευρ. (%)            C : 38.28            H : 3.38            N: 8.20

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

$\delta$  8.15 (d, 1H,  $J_{6,\text{F5}} = 6.6$  Hz, H-6), 5.91 (dd, 1H,  $J_{1',2'} = 8.7$  Hz,  $J_{1',\text{F5}} = 1.2$  Hz, H-1'), 5.40 (t, 1H,  $J = 9.7$  Hz, H-4'), 4.10-3.87 (m, 3H, H-2', H-6'a, H-6'b), 3.77-3.71 (m, 1H, H-5'), 3.10-3.00 (m, 1H, H-3').

 $^{13}\text{C NMR}$  ( 75.5 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

$\delta$  158.9, 150.8, 143.4, 129.1, 126.5, 82.9, 66.9, 64.2, 61.6, 51.3, 50.9.

**III.2.5 Σύνθεση της 1-(3'-C-μεθυλο-β-D-αλλοπυρανοζυλο)-5-φθορουρακίλης (5β)****1,2:5,6-Δις-O-ισοπροπυλιδενο-3-C-μεθυλο-α-D-αλλοφουρανόζη (2β)**

Σε διάλυμα της 1,2:5,6-δις-O-ισοπροπυλιδενο-α-D-ριβοεξοφουρανοζο-3-ουλόζης (1) (4 g, 15.50 mmol) σε άνυδρο THF (155 mL) προστίθεται, διαλύματος  $\text{CH}_3\text{MgBr}$  σε THF (0.5 M, 186 mL) υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Το μείγμα της αντίδρασης αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου, για μία περίπου ώρα. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), στο μείγμα προστίθεται διάλυμα  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (1M, 100 mL). Το μίγμα στη συνέχεια αραιώνεται με οξικό αιθυλεστέρα (800 mL) και πλένεται με κορεσμένο διάλυμα  $\text{NaCl}$  (400 mL). Κατόπιν, η οργανική φάση ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel), χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο (2:8), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **2β** (3.74 g, 85%), υπό τη μορφή λευκού στερεού. Σημείο Τήξεως 72-73 °C.  $R_f = 0.29$  (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8).

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +3^\circ \quad (\text{c } 0.5 \text{ χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS ( $m/z$ ): 275.14 ( $\text{M}+\text{H}^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}_6$ ) C, H

Υπολ. (%)            C : 56.92        H : 8.08

Ευρ. (%)            C : 56.52        H : 8.28

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$  5.82 (d, 1H,  $J_{1,2} = 3.4$  Hz, H-1), 4.62 (d, 1H, H-2), 4.44 (m, 1H, H-5), 4.15 (dd, 1H,  $J_{6a,6b} = 8.8$  Hz, H-6a), 4.04 (dd, 1H, H-6b), 3.86 (d, 1H, H-4), 3.13 (br s, 1H, OH), 2.14 (s, 6H, 2x $\text{CH}_3$ ), 2.07 (s, 6H, 2 x  $\text{CH}_3$ ), 1.17 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

**1,2,4,6-Τετρακίς-O-ακετυλο-3-C-μεθυλο-β-D-αλλοπυρανόζη (3β)**

Το σάκχαρο **3β** συντίθεται από την ένωση **2β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **3α**. Το προστατευμένο σάκχαρο **3β** (1.50 g, 82%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή άχρωμου



ελαίου, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 3:7.  $R_f = 0.26$  (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 3:7).

$$[\alpha]_D^{22} = -6^\circ \quad (c\ 0.52\ \text{χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS ( $m/z$ ): 363.08 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{15}H_{22}O_{10}$ ) C, H

Υπολ. (%)            C : 49.72        H : 6.12

Ευρ. (%)            C : 49.32        H : 6.22

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ )

$\delta$  6.02 (d, 1H,  $J_{1,2} = 8.3$  Hz, H-1), 5.00 (d, 1H,  $J_{4,5} = 9.7$  Hz, H-4), 4.95 (d, 1H, H-2), 4.32-4.22 (m, 2H, H-5, H-6a), 4.07 (dd, 1H,  $J_{5,6b} = 1.9$  Hz,  $J_{6a,6b} = 12.1$  Hz, H-6b), 2.13, 2.08, 2.07 (3s, 12H, 4OAc), 1.17 (s, 3H,  $CH_3$ ).

### **1-(2',4',6'-Τρις-Ο-ακετυλο-3'-C-μεθυλο-β-D-αλλοπυρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλη (4β)**

Ο νουκλεοζίτης **4β** συντίθεται από την ένωση **3β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **4α**. Ο προστατευμένος νουκλεοζίτης **4β** (1.08 g, 72%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5. Σημείο Τήξεως 131-133 °C.  $R_f = 0.22$  (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$$[\alpha]_D^{22} = +8^\circ \quad (c\ 0.43\ \text{χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS ( $m/z$ ): 433.12 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{17}H_{21}FN_2O_{10}$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 47.23        H : 4.90        N : 6.48

Ευρ. (%)            C : 47.43        H : 4.70        N : 6.40

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.37 (br s, 1H, NH), 7.41 (d, 1H,  $J_{6,F5} = 5.8$  Hz, H-6), 6.06 (dd, 1H,  $J_{1',2'} = 9.4$  Hz,  $J_{1',F5} = 1.0$  Hz, H-1'), 4.90 (d, 1H,  $J_{4',5'} = 9.7$  Hz, H-4'), 4.80 (d, 1H, H-2'), 4.30-4.20 (m, 2H, H-5', H-6'b), 4.03 (dd, 1H,  $J_{5',6'a} = 5.3$  Hz,  $J_{6'a,6'b} = 10.7$  Hz, H-6'a), 2.13, 2.10, 2.09 (3s, 9H, 3OAc), 1.23 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**1-(3'-C-Μεθυλο-β-D-αλλοπυρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλη (5β)**

Ο νουκλεοζίτης **5β** συντίθεται από την ένωση **4β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **5α**. Ο νουκλεοζίτης **4β** (898 mg, 84%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή άχρωμου ελαίου, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1. Rf = 0.32 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

$[\alpha]_D^{22} = +10^\circ$  (c 0.41 μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  264 nm (ε 7729)

ESI-MS ( $m/z$ ): 307.08 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 43.14            H : 4.94            N 9.15

Ευρ. (%)            C : 43.43            H : 4.64            N : 6.95

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)

δ 11.71 (br s, 1H, NH), 8.02 (d, 1H,  $J_{6,F5} = 7.2$  Hz, H-6), 5.65 (dd, 1H,  $J_{1',2'} = 9.2$  Hz,  $J_{1',F5} = 1.5$  Hz, H-1'), 4.93, 4.55, 4.37 (3 br s, 4H, 4OH), 3.69-3.39 (m, 5H, H-2', H-4', H-5', H-6'a, H-6'b), 1.23 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)

δ 156.9, 149.5, 141.3, 126.0, 80.6, 77.3, 72.8, 71.1, 69.8, 61.2, 21.7.

### III.2.6 Σύνθεση της 1-(3'-Δεοξυ-3'-C-μεθυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλης (11β)

#### 3-Δεοξυ-1,2,5,6-δισ-O-ισοπροπυλιδενό-3-C-μεθυλο-α-D-αλλοφουρανόζη (6β)

Το μεθυλιωμένο σάκχαρο **6β** συντίθεται από την ένωση **2β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **6α**. Το επιθυμητό προϊόν **6β** (1.18 g, 61%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή παχύρευστου ελαίου, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8. Rf = 0.45 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8).

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +3^{\circ} \quad (\text{c } 0.38 \text{ χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS (*m/z*): 259.15 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>13</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub>) C, H

Υπολ. (%)            C : 60.45        H : 8.58

Ευρ. (%)            C : 60.85        H : 8.18

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 5.75 (d, 1H, *J*<sub>1,2</sub> = 3.6 Hz), 4.54 (t, 1H, *J*<sub>2,3</sub> = 3.6 Hz, H-2), 4.11-4.00 (m, 2H, H-4, H-5), 3.94 (dd, 1H, *J*<sub>5,6a</sub> = 1.2 Hz, *J*<sub>6a,6b</sub> = 11.6 Hz, H-6a), 3.75 (dd, 1H, *J*<sub>5,6b</sub> = 6.2 Hz, H-6b), 1.98 – 1.90 (m, 1H, H-3), 1.51, 1.42, 1.35, 1.33 (4s, 12H, 4 x CH<sub>3</sub>) 1.19 (d, 3H, *J*<sub>3,CH3</sub> = 6.8 Hz, CH<sub>3</sub>).

#### 1,2,4,6-Τετρακίς-O-ακετυλο-3-δεοξυ-3-C-μεθυλο-D-αλλοφουρανόζη (8β)

Το ακετυλιωμένο σάκχαρο **8β** συντίθεται από την ένωση **6β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **8α**. Το επιθυμητό προϊόν **8β** (1.20 g, 62%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή κίτρινου αφρωδούς στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8. Rf = 0.26 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8).

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -4^{\circ} \quad (\text{c } 0.58 \text{ χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS (*m/z*): 347.11 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>9</sub>) C, H

Υπολ. (%) C : 52.02 H : 6.40

Ευρ. (%) C : 52.22 H : 6.20

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 6.12 and 6.04 (α: d, 0.2H,  $J_{1,2} = 4.2$  Hz, β: s, 0.8H, H-1), 5.17-5.04 (m, 2H), 4.54-4.45 (m, 1H), 4.20-3.96 (m, 3H), 2.11-2.06 (m, 12H, 4OAc), 1.19, 1.12 (2d, 3H,  $J_{\text{CH}_3-3} = 6.9$  Hz, CH<sub>3</sub>).

**1-(2',4',6'-Τρις-Ο-ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλο-β-D-αλλοφουρανοζυλο)-5-φοθορουρακίλη (9β)**

Ο προστατευμένος νουκλεοζίτης **9β** συντίθεται από την ένωση **7β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **9α**. Το επιθυμητό προϊόν **9β** (770 mg, 64%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5. R<sub>f</sub> = 0.27 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +13^\circ$  (c 0.56 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\text{max}}$  263 nm (ε 7721)

ESI-MS (*m/z*): 417.09 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>9</sub>) C, H, N

Υπολ. (%) C : 49.04 H : 5.08 N : 6.73

Ευρ. (%) C : 49.14 H : 4.98 N : 6.76

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 11.78 (br s, 1H, NH), 7.96 (d, 1H,  $J_{6,\text{F}5} = 6.8$  Hz, H-6), 5.67 (d, 1H,  $J_{1',\text{F}5} = 2.1$  Hz, H-1'), 5.36 (t, 1H,  $J = 4.3$  Hz, H-2'), 4.24-4.22 (m, 1H, H-5'), 4.41 (dd, 1H,  $J_{5',6'b} = 2.7$  Hz,  $J_{6'a,6'b} = 12.3$  Hz, H-6'b), 4.11 (dd, 1H,  $J_{5',6'a} = 6.9$  Hz, H-6'a), 3.91-3.87 (m, 1H, H-4'), 3.25-3.20 (m, 1H, H-3'), 2.09, 2.06, 2.00 (3s, 9H, 3OAc), 0.97 (d, 3H,  $J_{\text{CH}_3-3'} = 6.8$  Hz, CH<sub>3</sub>).

**1-(3'-Δεοξυ-3'-C-μεθέθυλο-β-D-αλλοφουρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλη (10β)**

Ο νουκλεοζίτης **10β** συντίθεται από την ένωση **9β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **10α**. Το επιθυμητό προϊόν **10β** (624 mg, 82%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή παχύρευστου ελαίου, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλυσης, διγλωρομεθάνιο/ μεθανόλη 9:1. Rf = 0.25 (διγλωρομεθάνιο/ μεθανόλη 9:1).

$$[\alpha]_D^{22} = +6^\circ \quad (\text{c } 0.50 \text{ μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 263 \text{ nm } (\epsilon 7825)$$

ESI-MS (*m/z*): 291.08 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 45.52            H : 5.21            N : 9.65

Ευρ. (%)            C : 45.62            H : 5.41            N : 9.60

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)

8.33 (d, 1H, *J*<sub>6,F5</sub> = 7.9 Hz, H-6), 5.61 (s, 1H, H-1'), 5.39, 5.15, 4.58 (br s, 3H, 3 OH), 4.07 (s, 1H, H-2'), 3.90-3.84 (m, 2H, H-5', H-6'a), 3.43-3.40 (m, 2H, H-4', H-6'b), 2.27 (m, 1H, H-3'), 0.99 (d, 3H, *J*<sub>CH3-3'</sub> = 6.6 Hz, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,)

δ 156.9, 148.8, 137.9, 124.9, 101.7, 89.8, 85.4, 72.1, 62.6, 34.3, 10.9.

**1-(3'-Δεοξυ-3'-C-μεθυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλη (11β)**

Ο νουκλεοζίτης **11β** συντίθεται από την ένωση **10β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **11α**. Το επιθυμητό προϊόν **11β** (650 mg, 86%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή κίτρινου ελαίου, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλυσης, διγλωρομεθάνιο/ μεθανόλη 9:1. Rf = 0.3 (διγλωρομεθάνιο/ μεθανόλη 9:1).

$$[\alpha]_D^{22} = +6^\circ \quad (\text{c } 0.35 \text{ μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 263 \text{ nm } (\epsilon 7824)$$

ESI-MS (*m/z*): 261.08 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 46.16            H : 5.04            N : 10.77

Ευρ. (%)            C : 46.36            H : 5.24            N : 10.57

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)

δ 8.50 (d, 1H, *J*<sub>6,F5</sub> = 7.8 Hz, H-6), 5.60 (s, 1H, H-1'), 5.53 (s, 1H, OH), 5.24 (t, 1H, *J* = 3.4 Hz, OH), 3.85-3.77 (m, 2H, H-5'a, H-5'b), 3.78 (t, 1H, *J* = 9.3 Hz, H-4'), 2.54 (t, 1H, *J* = 3.3 Hz, H-2'), 2.16-2.10 (m, 1H, H-3'), 0.93 (d, 3H, *J*<sub>CH3-3'</sub> = 6.4 Hz, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,)

δ 157.0, 148.6, 140.8, 124.9, 90.8, 85.9, 76.8, 58.9, 34.0, 8.7.

### III.2.7 Σύνθεση της 1-(3'-Δεοξυ-3'-C-μεθυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλη (14β)

#### 1,2,4,6-Τετρακίς-Ο-ακετυλο-3-δεοξυ-3-C-μεθυλο-β-D-γλυκοπυρανόζη (12β)

Το μεθυλιωμένο σάκχαρο **12β** συντίθεται από την ένωση **3β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **12α**. Το επιθυμητό προϊόν **12β** (650 g, 69%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή κίτρινου ελαίου, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8. Rf = 0.29 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8).

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +4^{\circ} \quad (\text{c } 0.19 \text{ χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS (*m/z*): 347.12 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>9</sub>) C, H

Υπολ. (%)            C : 55.02        H : 6.40

Ευρ. (%)            C : 52.22        H : 6.18

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 5.64 (d, 1H, *J*<sub>1,2</sub> = 8.2 Hz, H-1), 4.85 (t, 1H, *J* = 8.2 Hz, H-2), 4.81 (t, 1H, *J* = 9.7 Hz, H-4), 4.23 (dd, 1H, *J*<sub>5,6a</sub> = 4.8 Hz, *J*<sub>6a,6b</sub> = 12.4 Hz, H-6a), 4.06 (dd, 1H, *J*<sub>5,6b</sub> = 2.2 Hz, H-6b), 3.78-3.74 (m, 1H, H-5), 2.10, 2.09, 2.08, 2.07 (4s, 12H, 4OAc), 2.00-1.91 (m, 1H, H-3), 0.95 (d, 3H, *J*<sub>CH<sub>3</sub>-3'</sub> = 6.5 Hz, CH<sub>3</sub>).

#### 1-(2',4',6'-Τρις-Ο-ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλη (13β)

Ο προστατευμένος νουκλεοζίτης **13β** συντίθεται από την ένωση **12β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **13α**. Το επιθυμητό προϊόν **13β** (1.16 g, 82%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή κίτρινου ελαίου, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 4:6. Rf = 0.28 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 4:6).

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +2^{\circ} \quad (\text{c } 0.10 \text{ χλωροφόρμιο})$$

$\lambda_{\text{max}}$  268 nm ( $\epsilon$  8720)

ESI-MS ( $m/z$ ): 417.12 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>9</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 49.04        H : 5.08            N : 6.73

Ευρ. (%)            C : 49.12        H : 5.24            N : 6.79

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.47 (br s, 1H, NH), 7.43 (d, 1H,  $J_{6,F5} = 5.8$  Hz, H-6), 5.72 (dd, 1H,  $J_{1',2'} = 9.2$  Hz,  $J_{1',F5} = 1.4$  Hz, H-1'), 4.85 (t, 1H,  $J = 10.2$  Hz, H-4'), 4.80 (t, 1H,  $J = 10.7$  Hz, H-2'), 4.23 (dd, 1H,  $J_{5',6'a} = 5.2$  Hz,  $J_{6'a,6'b} = 12.6$  Hz, H-6'a), 4.08 (dd, 1H,  $J_{5',6'b} = 2.0$  Hz, H-6'b), 3.85-3.82 (m, 1H, H-5'), 2.10, 2.07, 2.03 (3s, 9H, 3OAc), 1.67-1.61 (m, 1H, H-3'), 1.00 (d, 3H,  $J_{CH3-3'} = 6.4$  Hz, CH<sub>3</sub>).

#### 1-(3'-Δεοξυ-3'-C-μεθυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλη (14β)

Ο νουκλεοζίτης **14β** συντίθεται από την ένωση **13β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **14α**. Το επιθυμητό προϊόν **14β** (1.06 g, 59%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή άγχρωμου ελαίου, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλυσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1. Rf = 0.22 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

$[\alpha]_D^{22} = +4^\circ$             (c 0.11 μεθανόλη)

$\lambda_{max}$  267 nm (ε 8832)

ESI-MS ( $m/z$ ): 291.08 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 45.52        H : 5.21            N : 9.65

Ευρ. (%)            C : 45.29        H : 5.24            N : 9.69

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 8.00 (d, 1H,  $J_{6,F5} = 6.7$  Hz, H-6), 5.66 (dd, 1H,  $J_{1',2'} = 9.1$  Hz,  $J_{1',F5} = 1.4$  Hz, H-1'), 4.77 (t, 1H,  $J = 9.2$  Hz, H-2'), 3.87 (dd, 1H,  $J_{5',6'b} = 2.1$  Hz,  $J_{6'a,6'b} = 12.0$  Hz, H-6'b), 3.75 (dd, 1H,  $J_{5',6'a} = 5.3$  Hz,  $J_{6'a,6'b} = 12.0$  Hz, H-6'a), 3.52-3.49 (m, 1H, H-5'), 3.35



(t, 1H,  $J = 9.7$  Hz, H-4'), 1.91-1.86 (m, 1H, H-3'), 1.11 (d, 3H,  $J_{\text{CH}_3\text{-}3'} = 6.4$  Hz, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  159.7, 149.6, 141.4, 125.6, 82.2, 72.4, 68.7, 60.9, 41.9, 18.9, 12.6.

### III.3 Σύνθεση C5-αλκυνολο-3'-C-τριφθορομεθυλο-πυρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης

#### III.3.1 Σύνθεση της 1-(2',4',6'-Τρις-Ο-ακετυλο-3'-C-τριφθορομεθυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-ιωδοουρακίλης (15)

Σε διάλυμα 5-ιωδοουρακίλης (646 mg, 4.68 mmol) σε άνυδρο CH<sub>3</sub>CN (33.0 mL) προστίθεται HMDS (1.20 mL, 5.78 mmol) και σακχαρίνη (40 mg, 0.22 mmol), και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min, σε ατμόσφαιρα αζώτου. Αφότου το μείγμα γίνει διαυγές, προστίθεται το σάκχαρο (**3a**) (1.62 g, 3.89 mmol) και Me<sub>3</sub>SiOSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub> (1.0 mL, 5.45 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για μια επιπλέον ώρα με κάθετο ψυκτήρα στους 90 °C υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Στη συνέχεια το μείγμα της αντίδρασης ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου, εξουδετερώνεται με κορεσμένο διάλυμα NaHCO<sub>3</sub>, αραιώνεται με διχλωρομεθάνιο (400 mL) και πλένεται μία φορά με νερό (1 x 10 mL). Η οργανική φάση ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα: οξικό αιθυλεστέρα / n-εξάνιο (2:8), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **4a** (1.33 g, 70%), υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων. Σημείο Τήξεως 122–124 °C. R<sub>f</sub> = 0.29 (οξικό αιθυλεστέρα / n-εξάνιο 2:8).

$$[\alpha]_D^{22} = -15 \quad (c\ 0.35, \text{χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 262 \text{ nm } (\epsilon\ 8434)$$

ESI-MS (m/z): 595.00 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>IN<sub>2</sub>O<sub>10</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 34.36            H : 3.05            N : 4.71

Ευρ. (%)            C : 34.56            H : 3.25            N : 4.51

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.17 (br s, 1H, NH), 7.42 (s, 1H, H-6), 6.08 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.2$  Hz, H-1'), 5.45 (d, 1H,  $J_{4',5'} = 9.8$  Hz, H-4'), 5.30 (d, 1H, H-2'), 4.31-4.22 (m, 2H, H-5', H-6a'), 4.10 (dd, 1H,  $J_{5',6b'} = 1.3$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 10.7$  Hz, H-6b'), 2.14, 2.11, 2.09 (3s, 9H, 3OAc).

### III.3.2 Γενική μέθοδος σύνθεσης τελικών αλκυνίων της ουρακίλης 17α-ε (Sonogashira reaction)

#### 1-(2',4',6'-Τρις-*O*-ακετυλο-3'-*C*-τριφθορομεθυλο-β-*D*-γλυκοκυρανοζυλο)-5-[(2-φθοροφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (16α)

Η σύνθεση του **16α** επιτεύχθηκε με τη μέθοδο των μικροκυμάτων ως εξής: σε γυάλινο φιαλίδιο των 10 ml διαλύονται (100 mg, 0.17 mmol) 1-(2',4',6'-τρι-*O*-ακέτυλο-3'-*C*-τριφθορομεθυλο-β-*D*-γλυκοκυρανοζυλο)-5-ιώδοουρακίλη (**15**) σε 1 ml άνυδρο *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF), προσθέτοντας 4.8 mmol 2-φθορο-φαινυλο ακετυλένιο, (20 mg, 0.017 mmol) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, CuI (3.2 mg, 0.017 mmol), και (47 μl, 0.34 mmol) Et<sub>3</sub>N και στη συνέχεια το μείγμα ακτινοβολείται με μικροκύματα σε 200 Watt, για 5 λεπτά στους 50°C. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), απομακρύνεται ο διαλύτης υπό κενό και ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα: οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **16α** (80 mg, 81%) ως άγχρωμο αφρώδες στερεό. R<sub>f</sub> = 0.19 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$$[\alpha]_D^{22} = -4^\circ \quad (c\ 0.22, \text{χλωροφόρμιο})$$

λ<sub>max</sub> 306 nm (ε 8250)

ESI-MS (m/z): 587.12 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>25</sub>H<sub>22</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 51.20      H : 3.78      N : 4.78

Ευρ. (%)      C : 51.50      H : 4.08      N : 4.58

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.19 (br s, 1H, NH), 7.71 (s, 1H, H-6), 7.62 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz, ArH), 7.45 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz, ArH), 7.34-7.24 (m, 2H, ArH), 6.51 (d, 1H, *J*<sub>1'-2'</sub> = 8.6 Hz, H-1'), 5.59 (d, 1H, *J*<sub>4'-5'</sub> = 9.6 Hz, H-4'), 5.44 (d, 1H, H-2'), 4.60-4.56 (m, 1H, H-5'), 4.23-4.17 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 2.34, 2.15, 2.09 (3s, 9H, 3OAc).

<sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 170.60, 169.50, 169.34, 161.6, 159.93, 149.17, 141.38, 133.53, 128.84, 126.62, 123.95, 115.63, 109.03, 101.73, 93.15, 89.67, 86.15, 80.03, 72.80, 63.67, 61.55, 46.53, 20.70, 20.50, 20.31

**1-(2',4',6'-Τρις-Ο-ακετυλο-3'-C-τριφθορομεθυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(2-χλώροφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (16β)**

Το παράγωγο **16β** συντίθεται από την ένωση **15** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **16α**. Το επιθυμητό προϊόν **16β** (81 mg, 79 %) παραλαμβάνεται ως άχρωμο αφρώδες στερεό. R<sub>f</sub> = 0.24 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -2° (c 0.18 χλωροφόρμιο)

λ<sub>max</sub> 318 nm (ε 9524)

ESI-MS (*m/z*): 603.09 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>25</sub>H<sub>22</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 49.80            H : 3.68            N : 4.65

Ευρ. (%)            C : 50.20            H 3.90            N : 4.25

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.19 (br s, 1H, NH), 7.71 (s, 1H, H-6), 7.62 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz, ArH), 7.45 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz, ArH), 7.34-7.24 (m, 2H, ArH), 6.51 (d, 1H, *J*<sub>1'-2'</sub> = 8.6 Hz, H-1'), 5.59 (d, 1H, *J*<sub>4'-5'</sub> = 9.6 Hz, H-4'), 5.44 (d, 1H, H-2'), 4.60-4.56 (m, 1H, H-5'), 4.23-4.17 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 2.34, 2.15, 2.09 (3s, 9H, 3OAc) .

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 170.65, 169.68, 169.24, 169.02, 159.93, 149.17, 141.38, 135.49, 134.71, 132.52, 129.33, 128.12, 118.73, 101.12, 93.73, 89.90, 86.67, 79.16, 72.54, 69.81, 67.41, 61.55, 20.70, 20.50, 20.48.

**1-(2',4',6'-Τρις-*O*-ακετυλο-3'-*C*-τριφθορομεθύλο-β-*D*-γλυκοκυρανοζυλο)-5-[(2,5-διμεθυλοφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (16γ)**

Το παράγωγο **16γ** συντίθεται από την ένωση **15** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **16α**. Το επιθυμητό προϊόν **16γ** (80 mg, 83%) παραλαμβάνεται ως άχρωμο αφρώδες στερεό.  $R_f = 0.26$  (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$$[\alpha]_D^{22} = -20^\circ \quad (\text{c } 0.38 \text{ χλωροφόρμιο})$$

$\lambda_{\max}$  317 nm ( $\epsilon$  13356)

ESI-MS ( $m/z$ ): 597.17 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{27}H_{27}F_3N_2O_{10}$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 54.36            H : 4.56            N : 4.70

Ευρ. (%)            C : 54.76            H : 4.96            N : 4.60

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$  8.16 (br s, 1H, NH), 7.60 (d, 1H,  $J = 1.3$  Hz, ArH), 7.33 (s, 1H, H-6), 7.10 (dd, 2H,  $J = 7.1$  Hz,  $J = 17.0$  Hz, ArH), 6.47 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 8.7$  Hz, H-1'), 5.55 (d, 1H,  $J_{4'-5'} = 9.9$  Hz, H-4'), 5.42 (d, 1H, H-2'), 4.56-4.52 (m, 1H, H-5'), 4.20-4.10 (m, 2H, H-6a', H6b'), 2.47, 2.31 (2s, 6H, 2 x  $\text{CH}_3$ ), 2.30, 2.12, 2.06 (3s, 9H, 3OAc).

$^{13}\text{C NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$  170.47, 169.81, 169.22, 169.13, 160.56, 149.21, 142.24, 139.44, 134.99, 133.42, 128.71, 128.24, 123.79, 100.49, 93.14, 89.63, 86.56, 79.09, 72.58, 63.63, 61.67, 46.52, 20.70, 20.50, 20.47, 20.31, 20.20.

**1-(2',4',6'-Τρις-*O*-ακετυλο-3'-*C*-τριφθορομεθύλο-β-*D*-γλυκοκυρανοζυλο)-5-[(2,4,5-τριμεθυλοφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (16δ)**

Το παράγωγο **16δ** συντίθεται από την ένωση **15** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **16α**. Το επιθυμητό προϊόν **16δ** (85 mg, 82%) παραλαμβάνεται ως άχρωμο αφρώδες στερεό.  $R_f = 0.19$  (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$$[\alpha]_D^{22} = -29^\circ \quad (\text{c } 0.40 \text{ χλωροφόρμιο})$$

$\lambda_{\max}$  320 nm ( $\epsilon$  13789)

ESI-MS ( $m/z$ ): 611.18 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{28}H_{29}F_3N_2O_{10}$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 55.08            H : 4.79            N : 4.59

Ευρ. (%)            C : 55.48            H : 5.19            N : 4.70

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ )

$\delta$  8.12 (br s, 1H, NH), 7.59 (s, 1H, H-6), 7.28 (s, 1H, ArH), 7.00 (s, 1H, ArH), 5.47 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 8.8$  Hz, H-1'), 5.55 (d, 1H,  $J_{4'-5'} = 9.9$  Hz, H-4'), 5.42 (d, 1H, H-2'), 4.59-4.51 (m, 1H, H-5'), 4.20-4.14 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 2.45, 2.31, 2.24 (3s, 9H, 3x  $CH_3$ ), 2.20, 2.12, 2.05 (3s, 9H, 3OAc).

$^{13}C$  NMR (75.5 MHz,  $CDCl_3$ )

$\delta$  170.48, 169.73, 169.46, 160.25, 149.19, 142.98, 139.83, 136.79, 133.70, 130.88, 128.21, 119.21, 100.62, 93.22, 89.04, 80.56, 69.63, 67.68, 46.50, 20.70, 20.50, 20.47, 20.31, 20.07, 19.71, 18.99.

**1-(2',4',6'-Τρις-Ο-ακετυλο-3'-C-τριφθορομεθυλο- $\beta$ -D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(2,4,5-τριμεθοξυφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (16ε)**

Το παράγωγο **16ε** συντίθεται από την ένωση **15** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **16α**. Το επιθυμητό προϊόν **16ε** (88 mg, 79%) παραλαμβάνεται ως άχρωμο αφρώδες στερεό.  $R_f = 0.22$  (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$[\alpha]_D^{22} = -13^\circ$             (c 0.19 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  319 nm ( $\epsilon$  15973)

ESI-MS ( $m/z$ ): 659.16 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{28}H_{29}F_3N_2O_{13}$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 51.07            H : 4.44            N : 4.25

Ευρ. (%)            C : 51.27            H : 4.84            N : 4.12

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.36 (br s, 1H, NH), 7.64 (s, 1H, H-6), 6.79 (s, 2H, ArH), 6.49 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 8.9$  Hz, H-1'), 5.53 (d, 1H,  $J_{4'-5'} = 10.0$  Hz, H-4'), 5.40 (d, 1H, H-2'), 4.56-4.52 (m, 1H, H-5'), 4.18 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'} = 5.1$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 4.09 (dd, 1H,  $J_{5'-6b'} = 2.4$  Hz, H-6b'), 3.87 (s, 9H, 3 x OCH<sub>3</sub>), 2.31, 2.12, 2.06 (3s, 9H, 3OAc).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 170.43, 169.68, 169.55, 169.39, 160.26, 153.06, 149.05, 140.91, 128.13, 117.18, 109.06, 102.00, 94.64, 80.57, 78.41, 75.14, 72.55, 69.71, 67.70, 61.65, 60.95, 56.20, 20.70, 20.48, 20.45, 20.30.

**1-(3'-C-Τριφθορομεθυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(2-φθοροφαινυλο)αιθυνυλο] ουρακίλη (17a)**

Ο νουκλεοζίτης **17a** συντίθεται από την ένωση **16a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **14a**. Το επιθυμητό προϊόν **17a** (73 mg, 88%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή άχρωμου ελαίου μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1. Rf = 0.27 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

$$[\alpha]_D^{22} = -4^\circ \quad (\text{c } 0.19 \text{ μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\text{max}} \text{ 308 nm } (\epsilon \text{ 8852})$$

ESI-MS (*m/z*): 461.09; (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>): C, H, N

Υπολ. (%)            C : 49.57            H : 3.50            N : 6.09

Ευρ. (%)            C : 49.87            H : 3.89            N : 6.29

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 8.23 (s, 1H, H-6), 7.57 (t, 1H,  $J = 7.2$  Hz, ArH), 7.40 (dd, 1H,  $J = 6.5$  Hz,  $J = 13.2$  Hz, ArH), 7.20-7.14 (m, 2H, ArH), 5.88 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 9.1$  Hz, H-1'), 4.03 (d, 1H, H-2'), 3.96 (d, 1H,  $J_{4'-5'} = 9.5$  Hz, H-4'), 3.86 (d, 1H,  $J_{6a'-6b'} = 10.4$  Hz, H-6b'), 3.80-3.77 (m, 2H, H-5', H-6a').

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 166.10, 154.45, 152.14, 145.64, 134.71, 131.79, 131.72, 125.44, 116.81, 116.62, 116.45, 87.41, 82.50, 78.52, 69.19, 66.37, 62.28.

**1-(3'-C-Τριφθορομεθυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(2-χλωροφαινυλο)αιθουλο]ουρακίλη (17β)**

Ο νουκλεοζίτης **17β** συντίθεται από την ένωση **16β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **14α**. Το επιθυμητό προϊόν **17β** (74 mg, 86%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή άχρωμου ελαίου, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλυσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1. R<sub>f</sub> = 0.22 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -4° (c 0.13 μεθανόλη)

λ<sub>max</sub> 305 nm (ε 11256)

ESI-MS (m/z): 477.06 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N

Υπολ. (%) C : 47.86 H : 3.38 N : 5.88

Ευρ. (%) C : 48.06 H : 3.68 N : 6.98

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 8.20 (s, 1H, H-6), 7.61 (dd, 1H, J = 1.7 Hz, J = 7.5 Hz, ArH), 7.47 (dd, 1H, J = 1.1 Hz, J = 8.0 Hz, ArH), 7.36-7.29 (m, 2H, ArH), 5.89 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 9.1 Hz, H-1'), 4.04 (d, 1H, H-2'), 4.0 (d, 1H, J<sub>4'-5'</sub> = 9.3 Hz, H-4'), 3.86 3.86 (d, 1H, J<sub>6a'-6b'</sub> = 10.0 Hz, H 6b'), 3.80-3.76 (m, 2H, H-5', H-6a').

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 165.10, 154.40, 151.14, 145.60, 134.52, 130.79, 130.48, 125.44, 116.85, 116.64, 116.45, 87.31, 82.58, 78.52, 68.19, 66.40, 62.28.

**1-(3'-C-Τριφθορομεθυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(2,5-διμέθυλοφαινυλο)αιθουλο]ουρακίλη (17γ)**

Ο νουκλεοζίτης **17γ** συντίθεται από την ένωση **16γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **14α**. Το



επιθυμητό προϊόν **17γ** (74 mg, 87%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή άχρωμου ελαίου, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1.  $R_f = 0.26$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

$$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ \quad (c\ 0.13\ \text{μεθανόλη})$$

$\lambda_{\max}$  308 nm ( $\epsilon$  14895)

ESI-MS ( $m/z$ ): 471.13 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{21}H_{21}F_3N_2O_7$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 53.62            H : 4.50            N : 5.96

Ευρ. (%)            C : 54.02            H : 4.86            N : 6.06

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $CD_3OD$ )

$\delta$  8.15 (s, 1H, H-6), 7.28 (s, 1H, ArH), 7.12 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz, ArH), 7.06 (d, 1H,  $J = 7.7$  Hz, ArH), 5.88 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 9.2$  Hz, H-1'), 4.04 (d, 1H, H-2'), 3.96 (d, 1H,  $J_{4'-5'} = 9.5$  Hz, H-4'), 3.86 (d, 1H,  $J_{6a'-6b'} = 10.1$  Hz, H-6b'), 3.81-3.77 (m, 2H, H-5', H-6a'), 2.43, 2.28 (2s, 6H, 2 x  $CH_3$ ).

$^{13}C$  NMR (75.5 MHz,  $CD_3OD$ )

$\delta$  161.46, 151.52, 142.68, 139.25, 135.12, 132.21, 128.58, 127.52, 123.52, 101.02, 94.25, 93.12, 89.02, 86.45, 79.32, 62.35, 57.24, 47.58, 21.02, 20.59.

**1-(3'-C-Τριφθορομεθυλο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-5-[(2,4,5-τριμεθυλοφαινυλο)αιθινυλο]ουρακίλη (17δ)**

Ο νουκλεοζίτης **17δ** συντίθεται από την ένωση **16δ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **14α**. Το επιθυμητό προϊόν **17δ** (75 mg, 86%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή άχρωμου ελαίου, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1.  $R_f = 0.22$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

$$[\alpha]_D^{22} = -30^\circ \quad (c\ 0.40\ \text{μεθανόλη})$$

$\lambda_{\max}$  319 nm ( $\epsilon$  13932)

ESI-MS ( $m/z$ ): 485.15 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>22</sub>H<sub>23</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N

Υπολ. (%) C : 54.55 H : 4.79 N : 5.78

Ευρ. (%) C : 54.85 H : 5.19 N : 6.08

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 8.12 (s, 1H, H-6), 7.22 (s, 1H, ArH), 7.01 (s, 1H, ArH), 5.88 (d, 1H, *J*<sub>1'-2'</sub> = 9.2 Hz, H-1'), 4.04 (d, 1H, H-2'), 3.97 (d, 1H, *J*<sub>4'-5'</sub> = 9.5 Hz, H-4'), 3.87 (d, 1H, *J*<sub>6a'-6b'</sub> = 10.0 Hz, H-6b'), 3.81-3.77 (m, 2H, H-5', H-6a'), 2.40, 2.24, 2.21 (3s, 9H, 3 x CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 164.10, 151.79, 144.79, 138.73, 138.68, 134.97, 133.72, 131.87, 121.12, 102.06, 93.71, 84.25, 82.46, 78.52, 69.10, 66.40, 62.29, 30.55, 19.94, 19.39, 18.80.

**1-(3'-C-Τριφθορομεθυλο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-5-[(2,4,5-τριμεθοξυφαινυλο)αιθουλο]ουρακίλη (17ε)**

Ο νουκλεοζίτης **17ε** συντίθεται από την ένωση **16ε** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **14α**. Το επιθυμητό προϊόν **17ε** (82 mg, 86%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή άχρωμου ελαίου, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1. R<sub>f</sub> = 0.19 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -27° (c 0.40 μεθανόλη)

λ<sub>max</sub> 316 nm (ε 14531)

ESI-MS (*m/z*): 533.13 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>22</sub>H<sub>23</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>) C, H, N

Υπολ. (%) C : 49.63 H : 4.35 N : 5.26

Ευρ. (%) C : 49.93 H : 4.65 N : 5.46

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 8.17 (s, 1H, H-6), 6.86 (s, 2H, ArH), 5.88 (d, 1H, *J*<sub>1'-2'</sub> = 9.2 Hz, H-1'), 4.00 (d, 1H, H-2'), 3.96 (d, 1H, *J*<sub>4'-5'</sub> = 9.1 Hz, H-4'), 3.87 (d, 1H, *J*<sub>6a'-6b'</sub> = 10.0 Hz, H-6b'), 3.85 (s, 6H, 2 x OCH<sub>3</sub>) 3.81-3.77 (m, 2H, H-5', H-6a'), 3.79 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

$\delta$  164.22, 151.02, 150.41, 142.83, 138.73, 127.69, 117.12, 103.25, 101.12, 93.35, 90.86, 87.35, 86.23, 80.04, 62.89, 61.02, 57.45, 48.53.

### III.4 Σύνθεση C5 τροποποιημένων 3'-δεοξυ-, 3'-μεθυλο-3'-δεοξυ-, 2'-δεοξυ-, ριβοφούρανο νουκλεοζιτών της ουρακίλης

#### III.4.1 Σύνθεση C5 αλκυνολο ριβοφουρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης (22, 23)

##### 1-(2',3',5'-Τρις-*O*-ακετυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-ιωδοουρακίλη (19)

Σε διάλυμα 5-ιωδοουρακίλης (646 mg, 4.68 mmol) σε άνυδρο CH<sub>3</sub>CN (33.0 mL) προστίθεται HMDS (1.20 mL, 5.78 mmol) και σακχαρίνη (40 mg, 0.22 mmol), και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min, σε ατμόσφαιρα αζώτου. Αφότου το μείγμα γίνει διαυγές, προστίθεται το σάκχαρο (18) (1.62 g, 3.89 mmol) και Me<sub>3</sub>SiOSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub> (1.0 mL, 5.45 mmol) στους 0°C και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για μια ώρα επιπλέον, σε θερμοκρασία δωματίου υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Στη συνέχεια το μείγμα της αντίδρασης εξουδετερώνεται με κορεσμένο διάλυμα NaHCO<sub>3</sub>, αραιώνεται με διχλωρομεθάνιο (400 mL) και πλένεται μία φορά με νερό (1 x 10 mL). Η οργανική φάση ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα: οξικό αιθυλεστέρα / n-εξάνιο (5:5), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **19** (1.33 g, 69%), υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων. Σημείο Τήξεως 289–292 °C. Rf = 0.29 (οξικό αιθυλεστέρα / n-εξάνιο 5:5).

$$[\alpha]_D^{22} = -8 \quad (c 0.41, \text{χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 289 \text{ nm } (\epsilon 8434)$$

ESI-MS (m/z): 497.00 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>IN<sub>2</sub>O<sub>9</sub>): C, H, N

Υπολ. (%)            C : 36.31            H : 3.45            N : 5.65

Ευρ. (%)            C : 36.51            H : 3.25            N : 4.75

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.17 (br s, 1H, NH), 7.42 (s, 1H, H-6), 6.08 (d, 1H, *J*<sub>1'-2'</sub> = 4.2 Hz, H-1'), 5.45 (d, 1H, *J*<sub>4'-5'</sub> = 9.8 Hz, H-4'), 5.30 (d, 1H, H-2'), 4.31-4.22 (m, 2H, H-3', H-5a'), 4.10 (dd, 1H, *J*<sub>4'-5b'</sub> = 1.3 Hz, *J*<sub>5a'-5b'</sub> = 10.7 Hz, H-5b'), 2.14, 2.11, 2.09 (3s, 9H, 3OAc).

### III.4.2 Γενική μέθοδος σύνθεσης τελικών αλκυνίων της ουρακίλης **22**, **24** (Sonogashira reaction)

#### 1-(2',3',5'-Τρις-*O*-ακετυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2-φθοροφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (**20a**)

Η σύνθεση του **20a** επιτεύχθηκε με τη μέθοδο των μικροκυμάτων ως εξής: σε γυάλινο φιαλίδιο των 10 ml διαλύονται (100 mg, 0.20 mmol) 1-(2',3',5'-Τρις-*O*-ακετυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-ιωδοουρακίλη (**19**) σε 1 ml άνυδρο *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF), προσθέτοντας 0.60 mmol 2-φθορο-φαινυλο ακετυλένιο, (23 mg, 0.02 mmol) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, CuI (3.8 mg, 0.02 mmol), και (83 μl, 0.34 mmol) Et<sub>3</sub>N και στη συνέχεια ακτινοβολούνται με μικροκύματα σε 200 Watt, για 5 λεπτά στους 50°C. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), απομακρύνεται ο διαλύτης υπό κενό και ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **20a** (80 mg, 82%) ως άχρωμο αφρώδες στερεό. R<sub>f</sub> = 0.19 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$$[\alpha]_D^{22} = -4^\circ \quad (c\ 0.22, \text{χλωροφόρμιο})$$

$\lambda_{\max}$  340 nm ( $\epsilon$  8250)

ESI-MS (m/z): 489.12 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>9</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 56.56      H : 4.33      N : 5.74

Ευρ. (%)      C : 56.86      H : 4.08      N : 5.94

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  8.65 (brs, 1H, NH), 7.89 (s, 1H, H-6), 7.53-7.50 (m, 1H, ArH), 7.35-7.30 (m, 1H, ArH), 7.13-7.06 (m, 2H, ArH), 6.14 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 4.6\text{Hz}$ , H-1'), 5.38-5.35 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.41-4.38 (m, 3H, H-3', H-5a', H-5b'), 2.21, 2.13, 2.12 (3s, 9H, 3OAc).

<sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  169.00, 168.62, 168.34, 159.23, 148.00, 140.17, 132.53, 128.84, 128.32, 125.54, 121.63, 100.23, 89.92, 86.45, 83.03, 79.80, 72.24, 69.55, 61.53, 19.84, 19.50, 19.31.

**1-(2',3',5'-Τρις-Ο-ακετυλ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2-χλωροφαινυλο)αιθινυλο]ουρακίλη (20β)**

Το παράγωγο **20β** συντίθεται από την ένωση **19** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20α**. Το επιθυμητό προϊόν **20β** (84 mg, 83%) παραλαμβάνεται ως άχρωμο αφρώδες στερεό. Rf = 0.19 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -3^{\circ} \quad (\text{c } 0.31 \text{ χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\text{max}} \text{ 341nm } (\epsilon \text{ 4350})$$

ESI-MS (*m/z*): 505.09 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>9</sub>:) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 54.72            H : 4.19            N : 5.55

Ευρ. (%)            C : 54.46            H : 4.08            N : 5.85

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.59 (brs, 1H, NH), 7.86 (s, 1H, H-6), 7.54 (dd, 1H, *J* = 7.5 Hz, *J* = 1.6 Hz, ArH), 7.39 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz, ArH), 7.28-7.20 (m, 2H, ArH), 6.11 (d, 1H, *J*<sub>1'-2'</sub> = 4.8 Hz, H-1'), 5.37-5.33 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.39-4.36 (m, 3H, H-3', H-5a', H-5b'), 2.18, 2.12, 2.10 (3s, 9H, 3OAc).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 170.23, 169.62, 169.04, 161.23, 150.82, 142.17, 135.53, 134.84, 132.32, 129.74, 128.63, 118.23, 100.92, 96.45, 93.03, 86.80, 81.24, 78.55, 74.53, 62.84, 21.04 19.50, 19.31.

**1-(2',3',5'-Τρις-Ο-ακετυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2,5-διμεθυλοφαινυλο)αιθινυλο]ουρακίλη (20γ)**

Το παράγωγο **20γ** συντίθεται από την ένωση **19** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20α**. Το επιθυμητό προϊόν **20γ** (78 mg, 78% ) παραλαμβάνεται ως άχρωμο αφρώδες στερεό. Rf = 0.24 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -2^{\circ} \quad (\text{c } 0.40 \text{ χλωροφόρμιο})$$

$\lambda_{\max}$  315nm ( $\epsilon$  11553)

ESI-MS ( $m/z$ ): 499.16 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{25}H_{26}N_2O_9$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 60.24        H : 5.26            N : 5.62

Ευρ. (%)            C : 60.64        H : 5.42            N : 5.60

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ )

$\delta$  8.43 (br s, 1H, NH), 7.78(s, 1H, H-6), 7.25 (brs, 1H, ArH), 7.10 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz, ArH), 7.05 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz, ArH), 6.12 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 4.5$  Hz, H-1'), 5.39-5.36 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.39-4.36 (m, 3H, H-3', H-5a', H-5b'), 2.43, 2.29 (2s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2.20, 2.14, 2.12 (3s, 9H, 3OAc).

$^{13}C$  NMR (75.5 MHz,  $CDCl_3$ )

$\delta$  170.23, 169.62, 169.04, 161.43, 151.82, 142.58, 136.43, 134.54, 131.61, 129.83, 128.93, 117.51, 101.03, 95.12, 93.56, 86.92, 81.57, 79.05, 74.53, 63.84, 20.70, 20.50, 20.47, 20.31, 20.20.

**1-(2',3',5'-Τρις-*O*-ακετυλο- $\beta$ -D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2,4,5-τριμεθυλοφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (20δ)**

Το παράγωγο **20δ** συντίθεται από την ένωση **19** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20α**. Το επιθυμητό προϊόν **20δ** (85 mg, 83%) παραλαμβάνεται ως άχρωμο αφρώδες στερεό.  $R_f = 0.19$  (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$[\alpha]_D^{22} = -9^\circ$             (c 0.40 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  320nm ( $\epsilon$  13789)

ESI-MS ( $m/z$ ): 513.18 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{26}H_{28}N_2O_9$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 60.93        H : 5.51            N : 5.47

Ευρ. (%)            C : 60.53        H : 5.19            N : 5.87

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.28 (brs, 1H, NH), 7.77 (s, 1H, H-6), 7.20 (s, 1H, ArH), 6.98 (s, 1H, ArH), 6.13 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 4.5$  Hz, H-1'), 5.38-5.35 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.39-4.36 (m, 3H, H-3', H-5a', H-5b'), 2.41, 2.23, 2.214 (3s, 9H, 3CH<sub>3</sub>), 2.19, 2.13, 2.12 (3s, 9H, 3OAc).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 170.23, 169.62, 169.04, 161.43, 151.82, 142.58, 136.43, 134.54, 131.61, 129.83, 128.93, 117.51, 101.03, 95.12, 93.56, 86.92, 81.57, 79.05, 74.53, 63.84, 20.70, 20.50, 20.47, 20.31, 20.20, 20.12.

**1-(2',3',5'-Τρις-Ο-ακετυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(6-μεθοξυναφθαλενυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (21)**

Το παράγωγο **21** συντίθεται από την ένωση **19** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20a**. Το επιθυμητό προϊόν **21** (72 mg, 65%) παραλαμβάνεται με άχρωμο αφρώδες στερεό. R<sub>f</sub> = 0.17 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$[\alpha]_D^{22} = -6^\circ$  (c 0.14 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  322nm (ε 18553)

ESI-MS (*m/z*): 551.16 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>28</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 61.09            H : 4.76            N : 5.09

Ευρ. (%)            C : 61.39            H : 4.63            N : 4.82

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.48 (brs, 1H, NH), 7.94 (s, 1H, H-6), 7.85-7.11 (m, 6H, naphthalene), 6.13 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 4.8$  Hz, H-1'), 5.40-5.36 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.43-4.46 (m, 3H, H-3', H-5a', H-5b'), 3.93 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.23, 2.14, 2.13 (3s, 9H, 3OAc).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 169.72, 169.50, 169.36, 160.02, 157.86, 148.97, 140.74, 134.45, 131.82, 129.47, 128.83, 126.84, 126.12, 119.52, 105.87, 102.27, 95.27, 80.66, 78.95, 75.19, 72.57, 69.73, 67.71, 61.63, 55.37, 20.74, 20.50, 20.32.



**1-(β-D-Ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2-φθοροφαινυλο)αιθουνολο]ουρακίλη (22α)**

Ο νουκλεοζίτης **22α** συντίθεται από την ένωση **20α** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **14α**. Το επιθυμητό προϊόν **22α** (73 mg, 88%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή κίτρινου αφρώδους στερεού μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2. Rf = 0.55 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2).

$$[\alpha]_D^{22} = -3^\circ \quad (\text{c } 0.13 \text{ μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\text{max}} \text{ 340 nm } (\epsilon \text{ 1765})$$

ESI-MS (m/z): 363.09 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 56.36            H : 4.17            N : 7.73

Ευρ. (%)            C : 56.76            H : 4.98            N : 7.43

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 8.51 (s, 1H, H-6), 7.54-7.10 (m, 4H, ArH), 5.90 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 3.8\text{Hz}$ , H-1'), 4.21-4.17(m, 2H, H-2', H-4'), 4.02-4.01 (m, 1H, H-3'), 3.89 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 2.2 \text{ Hz}$ ,  $J_{5a'-5b'} = 12.2 \text{ Hz}$ , H-5a'), 3.75 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.4\text{Hz}$ , H-5b').

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 164.01, 151.45, 145.77, 136.68, 134.49, 130.84, 130.39, 127.87, 124.17, 100.33, 91.26, 90.49, 87.12, 86.39, 76.21, 70.93, 61.78.

**1-(β-D-Ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2-χλωροφαινυλο)αιθουνολο]ουρακίλη (22β)**

Ο νουκλεοζίτης **22β** συντίθεται από την ένωση **20β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **14α**. Το επιθυμητό προϊόν **22β** (39 mg, 86%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή κίτρινου αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2. Rf = 0.56 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2).

$$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ \quad (\text{c } 0.40 \text{ μεθανόλη})$$

$\lambda_{\max}$  340 nm ( $\epsilon$  14867)

ESI-MS ( $m/z$ ): 379.06 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{17}H_{15}ClN_2O_6$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 53.91            H : 3.99            N : 7.40

Ευρ. (%)            C : 53.61            H : 4.18            N : 7.65

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $CD_3OD$ )

$\delta$  8.55 (s, 1H, H-6), 7.58-7.26 (m, 4H, ArH), 5.90 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 3.4$  Hz, H-1'), 4.21-4.17 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.02-4.01 (m, 1H, H-3'), 3.90 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 2.2$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.2$  Hz, H-6a'), 3.75 (m, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.4$  Hz, H-5b').

$^{13}C$  NMR (75.5 MHz,  $CD_3OD$ )

$\delta$  164.01, 151.45, 145.77, 136.68, 134.50, 130.84, 130.40, 127.87, 124.17, 100.33, 91.26, 90.50, 87.22, 86.40, 76.21, 70.93, 61.78.

### 1-( $\beta$ -D-Ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2,5-διμεθυλοφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (22γ)

Ο νουκλεοζίτης **22γ** συντίθεται από την ένωση **20γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **14α**. Το επιθυμητό προϊόν **22γ** (41 mg, 92%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή κίτρινου αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2.  $R_f = 0.46$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2).

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$             (c 0.35 μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  311 nm ( $\epsilon$  20845)

ESI-MS ( $m/z$ ): 373.13 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{19}H_{20}N_2O_6$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 61.28            H : 5.41            N : 7.52

Ευρ. (%)            C : 61.58            H : 5.11            N : 7.12

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 8.50 (s, 1H, H-6), 7.25 (s, 1H, ArH), 7.08 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz, ArH), 7.02 (d, 1H, ArH), 5.90 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 3.5$  Hz, H-1'), 4.20-4.17 (m, 2H, H-2', H-4') 4.02-4.00 (m, 1H, H-3'), 3.90 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 2.2$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.2$  Hz, H-5a'), 3.75 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.4$  Hz, H-5b'), 2.35, 2.25 (2s, 6H, 2CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 164.01, 151.45, 145.77, 136.68, 134.50, 130.84, 130.40, 127.87, 124.17, 100.33, 91.26, 90.50, 87.22, 86.40, 76.21, 70.93, 61.78, 20.81, 20.39.

**1-(β-D-Ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2,4,5-τριμεθυλοφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (22δ)**

Ο νουκλεοζίτης **22δ** συντίθεται από την ένωση **20δ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **14α**. Το επιθυμητό προϊόν **22δ** (39 mg, 84%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2. Rf = 0.16 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2).

$$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ \quad (\text{c } 0.35 \text{ μεθανόλη})$$

$\lambda_{\text{max}}$  313 nm ( $\epsilon$  11204)

ESI-MS ( $m/z$ ): 387.15 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 62.17            H : 5.74            N : 7.25

Ευρ. (%)            C : 62.57            H : 5.64            N : 7.35

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 8.45 (s, 1H, H-6), 7.19 (s, 1H, ArH), 6.97 (s, 1H, ArH), 5.90 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 3.4$  Hz, H-1'), 4.20-4.17 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.10-4.01 (m, 1H, H-3'), 3.90 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 2.2$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.2$  Hz, H-6a'), 3.75 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.4$  Hz, H-5b'), 2.35, 2.20, 2.17 (3s, 9H, 3CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 164.01, 151.45, 145.77, 136.68, 134.50, 130.84, 130.40, 127.87, 124.17, 100.33, 91.26, 90.50, 87.22, 86.40, 76.21, 70.93, 61.78, 20.81, 20.39, 19.14.

**1-(β-D-Ριβοφουρανοζυλο)-5-[(6-μεθοξυναφθαλενιο)αιθουλο]ουρακίλη (23)**

Ο νουκλεοζίτης **23** συντίθεται από την ένωση **21** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **14a**. Το επιθυμητό προϊόν **23** (38 mg, 74%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρού μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλυσης διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2. Rf = 0.17 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2).

$[\alpha]_D^{22} = -4^\circ$  (c 0.20 μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  322 nm (ε 20173)

ESI-MS (*m/z*): 425.13 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 62.26        H : 4.75            N : 6.60

Ευρ. (%)            C : 62.56        H : 4.65            N : 6.30

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 8.54 (s, 1H, H-6), 7.96-7.15 (m, 6H, naphthalene), 5.94 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 3.5$  Hz, H-1'), 4.24-4.21 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.06-4.03 (m, 1H, H-3'), 3.94 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 2.2$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.2$  Hz, H-5a'), 3.92 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.80 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.4$  Hz, H-5b').

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 161.15, 158.06, 149.74, 144.51, 133.82, 130.71, 129.26, 128.25, 127.95, 127.08, 119.35, 117.04, 106.04, 98.87, 92.57, 81.65, 79.87, 76.50, 71.01, 69.18, 60.81, 55.25.

### ΠΙ.4.3 Σύνθεση C5 αλκυνολο 3' - δεοξυ-ριβοφουρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης (30, 32)

#### 5-O-Βενζουλο-3-δεοξυ-1,2-O-ισοπροπυλιδενο-α-D-ριβοφουρανόζη (26)

Το δέοξυ σάκχαρο **26** συντίθεται από την ένωση **25** (Gosselin G, *et al.* 1993) ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **6a**. Το επιθυμητό προϊόν **23** (814 mg, 61%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή κίτρινου ελαίου, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8. Rf = 0.26 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8).

ESI-MS (*m/z*): 279.12 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub>) C, H

Υπολ. (%)            C : 64.74        H : 6.52

Ευρ. (%)            C : 64.34        H : 6.82

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.55 (d, 2H, *J* = 7.6 Hz, Bz), 7.54 (t, 1H, *J* = 7.4 Hz, *J* = 14.7 Hz, Bz), 7.21 (t, 2H, Bz), 5.84 (d, 1H, *J*<sub>1-2</sub> = 2.5 Hz, H-1), 4.75 (t, 1H, *J*<sub>2-3b</sub> = 3.0 Hz, H-2), 4.55-4.49 (m, 2H, H-4, H-5b), 4.34 (dd, 1H, *J*<sub>4-5a</sub> = 5.3 Hz, *J*<sub>5a-5b</sub> = 11.6 Hz, H-5a), 2.16 (dd, 1H, *J*<sub>3a-3b</sub> = 12.8 Hz, H-3b), 1.76-1.69 (m, 1H, H-3a), 1.50 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.30 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 165.01, 133.45, 129.77, 128.68, 121.50, 108.84, 81.40, 73.87, 66.17, 32.33, 26.26.

#### 1,2-δισ-O-Ακετυλο-5-O-βενζουλο-3-δεοξυ-β-D-ρίβοφουρανοζη (27)

Το σάκχαρο **27** συντίθεται από την ένωση **26** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **3a**. Το επιθυμητό προϊόν **27** (1.62 g, 80%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή παχύρευστου ελαίου, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8. Rf = 0.30 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8).

ESI-MS (*m/z*): 323.11 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>O<sub>7</sub>) C, H

Υπολ. (%) C : 59.62 H : 5.63

Ευρ. (%) C : 59.82 H : 5.43

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.10 (d, 2H,  $J= 7.6$  Hz, Bz), 7.60 (t, 1H,  $J= 7.4$  Hz,  $J= 14.7$  Hz, Bz), 7.47 (t, 2H, Bz), 5.84 (d, 1H,  $J_{1-2} = 2.5$  Hz, H-1), 4.94 (s, 1H, H-2), 4.71-4.66 (m, 1H, H-4), 4.48 (dd, 1H,  $J_{4-5b} = 3.9$  Hz,  $J_{5a-5b} = 11.6$  Hz, H-5b), 4.34 (dd, 1H,  $J_{4-5a} = 6.2$  Hz, H-5a), 2.27-2.21 (m, 1H, H-3), 2.17-2.13 (m, 1H, H-3), 2.10, 2.09 (2s, 6H, 2OAc).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 170, 24, 165.81, 133.65, 129.91, 128.60, 106.67, 77.40, 73.17, 66.24, 31.33, 21.26.

**1-(2'-O-Ακετυλο-5'-O-βενζουλο-3'-δεοξυ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-ιωδοουρακιλη (28)**

Ο νουκλεοζίτης **28** συντίθεται από την ένωση **27** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **19**. Το επιθυμητό προϊόν **28** (1.16 g, 82%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5. Σημείο Τήξης 301–303°C. Rf = 0.27 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$[\alpha]_D^{22} = -3$  (c 0.48, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max} 290$  nm (ε 6540)

ESI-MS (*m/z*): 501.01 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N

Υπολ. (%) C : 43.22 H : 3.43 N : 5.60

Ευρ. (%) C : 43.62 H : 3.53 N : 5.40

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.9 (brs, 1H, NH), 8.07 (d, 2H,  $J= 7.6$  Hz, Bz), 7.81 (s, 1H, H-6), 7.60 (t, 1H,  $J= 7.4$  Hz,  $J= 14.7$  Hz, Bz), 7.49 (t, 2H, Bz), 5.78 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 2.5$  Hz, H-1'), 4.94 (s, 1H, H-2'), 4.71-4.65 (m, 1H, H-4'), 4.45 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 3.9$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 11.6$  Hz, H-

5b'), 4.34 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 6.2$  Hz, H-5a'), 2.27-2.21 (m, 1H, H-3'), 2.17-2.13 (m, 1H, H-3'), 2.10 (s, 3H, OAc).

$^{13}\text{C NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$  170, 24, 165.81, 161.05, 150.53, 144.19, 133.08, 129.71, 128.34, 101.67, 74.40, 73.17, 68.13, 66.42, 32.33, 21.06.

**1-(2'-O-Ακετυλο-5'-O-βενζουλο-3'-δεοξυ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2-φθοροφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (29a)**

Το παράγωγο **29a** συντίθεται από την ένωση **28** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20a**. Το επιθυμητό προϊόν **29a** (80 mg, 81%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5.  $R_f = 0.19$  (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$[\alpha]_D^{22} = -4$  (c 0.22, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\text{max}} 336$  nm ( $\epsilon$  9320)

**ESI-MS** ( $m/z$ ): 493.13 ( $\text{M}+\text{H}^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{FN}_2\text{O}_7$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 63.41            H : 4.30            N : 5.69

Ευρ. (%)            C : 63.61            H : 4.50            N : 5.49

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$  8.66 (brs, 1H, NH), 8.04 (d, 2H,  $J = 7.6$  Hz, Bz), 7.79 (s, 1H, H-6), 7.42-7.35 (m, 5H, Bz, 4 ArH), 7.08 (t, 2H, Bz), 5.81 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 2.5$  Hz, H-1'), 5.43 (s, 1H, H-2'), 4.70-4.65 (m, 2H, H-4', H-5b'), 4.34 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 6.2$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 11.6$  Hz, H-5a'), 2.44-2.34 (m, 1H, H-3'), 2.23-2.16 (m, 1H, H-3'), 2.13 (s, 3H, OAc).

$^{13}\text{C NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$  170, 32, 165.89, 161.65, 160.78, 150.83, 142.19, 133.98, 133.15, 129.99, 128.13, 126.81, 123.53, 115.21, 109.42, 101.94, 100.82, 93.15, 86.23, 74.01, 73.32, 66.12, 32.23, 21.18.

**1-(2'-*O*-Ακετυλο-5'-*O*-βενζουλο-3'-δεοξυ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2-χλωροφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (29β)**

Το παράγωγο **29β** συντίθεται από την ένωση **28** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20α**. Το επιθυμητό προϊόν **29β** (82 mg, 81%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5.  $R_f = 0.19$  (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).  $[\alpha]_D^{22} = -2$  (c 0.15, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max} 341 \text{ nm}$  ( $\epsilon$  8920)

ESI-MS ( $m/z$ ): 509.10 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{26}H_{21}ClN_2O_7$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 61.36            H : 4.16            N : 5.50

Ευρ. (%)            C : 61.56            H : 4.26            N : 5.90

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ )

$\delta$  8.26 (brs, 1H, NH), 8.04 (d, 2H,  $J = 7.6 \text{ Hz}$ , Bz), 7.80 (s, 1H, H-6), 7.41-7.34 (m, 5H, Bz, 4ArH), 7.21 (t, 2H, Bz), 5.81 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 2.5 \text{ Hz}$ , H-1'), 5.45-5.43 (m, 1H, H-2'), 4.63-4.65 (m, 2H, H-4', H-5b'), 4.59 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 6.2 \text{ Hz}$ ,  $J_{5a'-5b'} = 11.6 \text{ Hz}$ , H-5a'), 2.44-2.34 (m, 1H, H-3'), 2.25-2.19 (m, 1H, H-3'), 2.14 (s, 3H, OAc).

$^{13}C$  NMR (75.5 MHz,  $CDCl_3$ )

$\delta$  170, 32, 165.89, 161.65, 150.83, 142.19, 134.92, 133.98, 133.15, 129.99, 128.13, 126.81, 123.53, 115.21, 109.42, 101.94, 100.82, 93.15, 86.23, 74.01, 73.32, 66.12, 32.23, 21.18.

**1-(2'-*O*-Ακετυλο-5'-*O*-βενζουλο-3'-δεοξυ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2,5-διμεθυλοφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (29γ)**

Το παράγωγο **29γ** συντίθεται από την ένωση **28** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20α**. Το επιθυμητό προϊόν **29γ** (84 mg, 84%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη



έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5. Rf = 0.24 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$[\alpha]_D^{22} = -2$  (c 0.32, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max} 339 \text{ nm}$  ( $\epsilon$  10250)

ESI-MS (*m/z*): 503.17 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>28</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N

Υπολ. (%) C : 66.92 H : 5.22 N : 5.57

Ευρ. (%) C : 66.62 H : 5.52 N : 5.67

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  8.26 (brs, 1H, NH), 8.04 (d, 2H,  $J = 7.6 \text{ Hz}$ , Bz), 7.80 (s, 1H, H-6), 7.43-7.36 (m, 4H, Bz, 3ArH), 7.21 (t, 2H, Bz), 5.81 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 2.5 \text{ Hz}$ , H-1'), 5.45-5.43 (m, 1H, H-2'), 4.63-4.65 (m, 2H, H-4', H-5b'), 4.59 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 6.2 \text{ Hz}$ ,  $J_{5a'-5b'} = 11.6 \text{ Hz}$ , H-5a'), 2.44-2.34 (m, 1H, H-3'), 2.25-2.20 (m, 1H, H-3'), 2.19, 2.16 (2s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2.14 (s, 3H, OAc)

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  170, 32, 165.89, 161.65, 150.83, 142.19, 139.92, 133.98, 133.15, 129.99, 128.13, 126.81, 123.53, 115.21, 109.42, 101.94, 100.82, 93.15, 86.23, 74.01, 73.32, 66.12, 32.23, 21.18, 20.11, 20.05.

**1-(2'-*O*-Ακετυλο-5'-*O*-βενζουλο-3'-δεοξυ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2,4,5-τριμεθυλοφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (29δ)**

Το παράγωγο **29δ** συντίθεται από την ένωση **28** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20α**. Το επιθυμητό προϊόν **29δ** (82mg, 79%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5. Rf = 0.29 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$[\alpha]_D^{22} = -5^\circ$  (c 0.35, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max} 336 \text{ nm}$  ( $\epsilon$  11290)

ESI-MS ( $m/z$ ): 517.19 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>29</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 67.43            H : 5.46            N : 5.42

Ευρ. (%)            C : 67.63            H : 5.56            N : 5.22

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.26 (brs, 1H, NH), 8.04 (d, 2H,  $J = 7.6$  Hz, Bz), 7.80 (s, 1H, H-6), 7.47-7.35 (m, 3H, Bz, 2ArH), 7.21 (t, 2H, Bz), 5.81 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 2.5$  Hz, H-1'), 5.45-5.43 (m, 1H, H-2'), 4.63-4.65 (m, 2H, H-4', H-5b'), 4.59 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 6.2$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 11.6$  Hz, H-5a'), 2.44-2.34 (m, 1H, H-3'), 2.25-2.20 (m, 1H, H-3'), 2.19, 2.16 (2s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2.14 (s, 3H, OAc).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 170, 32, 165.89, 161.65, 150.83, 142.19, 139.92, 133.98, 133.15, 129.99, 128.13, 126.81, 123.53, 115.21, 109.42, 101.94, 100.82, 93.15, 86.23, 74.01, 73.32, 66.12, 32.23, 21.18, 20.11, 20.05.

**1-(2'-O-Ακετυλο-5'-O-βενζουλο-3'-δεοξυ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(6-μεθοξυναφθαλενιο)αιθυνο]ουρακίλη (31)**

Το παράγωγο **31** συντίθεται από την ένωση **28** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20a**. Το επιθυμητό προϊόν **31** (80 mg, 72%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5. R<sub>f</sub> = 0.15 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$[\alpha]_D^{22} = -4^\circ$  (c 0.22, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max} 346$  nm (ε 18010)

ESI-MS ( $m/z$ ): 555.17 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>31</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 67.14            H : 4.73            N : 5.05

Ευρ. (%)            C : 67.34            H : 4.93            N : 5.15

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.14 (brs, 1H, NH), 8.04 (d, 2H,  $J = 7.6$  Hz, Bz), 7.83 (s, 1H, H-6), 7.80-7.13 (m, 9H, 3Bz, naphthalene), 5.88 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 1.4$  Hz, H-1'), 5.48-5.45 (m, 1H, H-2'), 4.74-4.61 (m, 3H, H-4', H-5a', H-5b'), 3.96 (s, 1H, OCH<sub>3</sub>), 2.49-2.36 (m, 1H, H-3'), 2.29-2.21 (m, 1H, H-3'), 2.18 (s, 3H, OAc).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 170, 32, 165.99, 161.64, 157.24, 150.72, 142.79, 134.92, 133.98, 131.15, 130.10, 129.84, 128.62, 126.79, 118.21, 117.32, 105.42, 101.73, 100.64, 90.15, 86.44, 74.12, 73.32, 66.19, 55.73, 32.45, 21.18.

**1-(3'-δεοξυ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2-φθοροφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (30a)**

Το παράγωγο **30a** συντίθεται από την ένωση **29a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **5a**. Το επιθυμητό προϊόν **30a** (30 mg, 72%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2. R<sub>f</sub> = 0.13 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2).

$[\alpha]_D^{22} = -3^\circ$  (c 0.13, μεθανόλη)

$\lambda_{\max} 337$  nm (ε 7765)

ESI-MS ( $m/z$ ): 347.10 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 58.96            H : 4.37            N : 8.09

Ευρ. (%)            C : 58.76            H : 4.47            N : 8.19

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)

δ 11.67 (brs, 1H, NH), 8.65 (s, 1H, H-6), 7.54-7.22 (m, 4H, ArH), 5.63 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 3.3$  Hz, H-1'), 5.57 (d, 1H, H-2'), 5.26-5.22 (m, 1H, H-4'), 4.36-4.33 (m, 1H, OH), 4.28 (brs, 1H, OH), 3.84 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 2.2$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.2$  Hz, H-5a'), 3.56 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.4$  Hz, H-5b'), 2.05-2.00 (m, 1H, H-3b'), 1.74-1.70 (m, 1H, H-3a').

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)

$\delta$  161.01, 160.58, 150.45, 142.77, 133.68, 126.82, 123.17, 115.33, 109.28, 105.43, 100.97, 93.26, 87.12, 76.93, 70.33, 63.78, 35.47.

**1-(3'-Δεοξυ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2-χλωροφαινυλο)αιθινυλο]ουρακίλη  
(30β)**

Το παράγωγο **30β** συντίθεται από την ένωση **29β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **5a**. Το επιθυμητό προϊόν **30β** (40 mg, 92%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2.  $R_f = 0.15$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2).

$[\alpha]_D^{22} = -4^\circ$  (c 0.22, μεθανόλη)

$\lambda_{\max} 339 \text{ nm}$  ( $\epsilon$  7150)

ESI-MS ( $m/z$ ): 363.07 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{17}H_{15}ClN_2O_5$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 56.28            H : 4.17            N : 7.72

Ευρ. (%)            C : 56.48            H : 4.27            N : 7.52

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )

$\delta$  11.67 (brs, 1H, NH), 8.67 (s, 1H, H-6), 7.57-7.37 (m, 4H, ArH), 5.64 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 3.3\text{Hz}$ , H-1'), 5.58 (d, 1H, H-2'), 5.26-5.22 (m, 1H, H-4'), 4.36-4.33 (m, 1H, OH), 4.28 (brs, 1H, OH), 3.85 (dd, 1H,  $J_{4'-5ca'} = 2.2 \text{ Hz}$ ,  $J_{5a'-5b'} = 12.2 \text{ Hz}$ , H-5a'), 3.56 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.4\text{Hz}$ , H-5b'), 2.05-2.00 (m, 1H, H-3b'), 1.74-1.70 (m, 1H, H-3a').

$^{13}\text{C NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )

$\delta$  161.61, 150.58, 142.79, 135.68, 134.82, 132.17, 129.33, 128.28, 118.43, 105.97, 100.26, 93.12, 86.93, 77.33, 70.78, 63.83, 35.37.

**1-(3'-Δεοξυ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2,5-διμεθυλοφαινυλο)αιθινυλο]ουρακίλη  
(30γ)**

Το παράγωγο **30γ** συντίθεται από την ένωση **29γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **5a**. Το

επιθυμητό προϊόν **30γ** (39 mg, 91%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλυσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1.  $R_f = 0.19$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

$$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ \quad (c\ 0.22, \text{μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 336\ \text{nm} \quad (\epsilon\ 9380)$$

ESI-MS ( $m/z$ ): 357.14 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{19}H_{20}N_2O_5$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 64.04            H : 5.66            N : 7.86

Ευρ. (%)            C : 64.44            H : 5.56            N : 7.46

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )

$\delta$  11.63 (brs, 1H, NH), 8.62 (s, 1H, H-6), 7.21-7.07 (m, 3H, ArH), 5.65 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 3.3\text{Hz}$ , H-1'), 5.58 (d, 1H, H-2'), 5.26-5.22 (m, 1H, H-4'), 4.36-4.33 (m, 1H, OH), 4.27 (brs, 1H, OH), 3.85 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 2.2\ \text{Hz}$ ,  $J_{5a'-5b'} = 12.2\ \text{Hz}$ , H-5a'), 3.57 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.4\text{Hz}$ , H-5b'), 2.35, 2.17 (2s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2.06-2.00 (m, 1H, H-3b'), 1.74-1.71 (m, 1H, H-3a').

$^{13}\text{C NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )

$\delta$  161.47, 149.38, 143.40, 136.20, 134.74, 131.36, 129.35, 122.09, 97.56, 91.81, 90.60, 86.00, 81.31, 75.01, 60.71, 32.24, 20.16, 19.67.

### **1-(3'-Δεοξυ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2,4,5-τριμεθυλοφαινυλο)αιθυνο]ο ουρακίλη (30δ)**

Το παράγωγο **30δ** συντίθεται από την ένωση **29δ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **5α**. Το επιθυμητό προϊόν **30δ** (38 mg, 86%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλυσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1.  $R_f = 0.22$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

$$[\alpha]_D^{22} = -3^\circ \quad (c\ 0.22, \text{μεθανόλη})$$

$\lambda_{\max}$  339 nm ( $\epsilon$  10250)

ESI-MS ( $m/z$ ): 371.15 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{20}H_{22}N_2O_5$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 64.85            H : 5.99            N : 7.56

Ευρ. (%)            C : 64.45            H : 5.59            N : 7.66

$^1H$ -NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )

$\delta$  11.61 (brs, 1H, NH), 8.58 (s, 1H, H-6), 7.16, 7.05 (2s, 2H, ArH), 5.65 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 3.3$ Hz, H-1'), 5.57 (d, 1H, H-2'), 5.26-5.22 (m, 1H, H-4'), 4.36-4.33 (m, 1H, OH), 4.27 (brs, 1H, OH), 3.84 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 2.2$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.2$  Hz, H-5a'), 3.56 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.4$ Hz, H-5b'), 2.32, 2.19, 2.17 (3s, 9H, 2CH<sub>3</sub>), 2.06-2.00 (m, 1H, H-3b'), 1.75-1.71 (m, 1H, H-3a').

$^{13}C$  NMR (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ )

$\delta$  161.53, 149.41, 143.13, 136.85, 136.55, 133.55, 131.85, 130.70, 119.48, 97.81, 91.80, 90.78, 85.26, 81.30, 75.02, 60.77, 32.30, 19.59, 19.17, 18.52.

**1-(3'-Δεοξυ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(6-μεθοξυναφθαλενιο)αιθυνο]ουρακίλη  
(32)**

Το παράγωγο **32** συντίθεται από την ένωση **31** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **5a**. Το επιθυμητό προϊόν **32** (42 mg, 86%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλυσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2.  $R_f = 0.23$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2).

$[\alpha]_D^{22} = -4^\circ$  (c 0.34, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  344 nm ( $\epsilon$  13250)

ESI-MS ( $m/z$ ): 409.13 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{22}H_{20}N_2O_6$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 64.70            H : 4.94            N : 6.86

Ευρ. (%)            C : 64.30        H : 4.84        N : 7.06

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)

δ 11.61 (brs, 1H, NH), 8.61 (s, 1H, H-6), 7.98-7.34 (m, 6H, naphthalene), 5.66 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 1.4$  Hz, H-1'), 5.56-5.53 (m, 1H, H-2'), 4.29-4.26 (m, 1H, H-4'), 4.36-4.33 (m, 1H, OH), 4.27 (brs, 1H, OH), 3.88 (s, 1H, OCH<sub>3</sub>), 3.84 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 2.2$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.2$  Hz, H-6a'), 3.56 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.4$  Hz, H-5b'), 2.10-2.00 (m, 1H, H-3b'), 1.78-1.71 (m, 1H, H-3a').

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)

δ 131, 32, 157.99, 150.64, 142.24, 134.72, 131.79, 130.92, 129.98, 129.15, 126.10, 118.84, 117.62, 105.79, 105.21, 100.32, 90.54, 86.73, 77.64, 70.15, 63.44, 55.12, 35.32.

### ΠΙ.4.4 Σύνθεση C5 αλκυνολο 3'-δεοξυ- 3'-C-μεθυλο ριβοφουρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης (40, 41)

#### 1-(2'-O-Ακετυλο-5'-O-βενζοϋλο-3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-ιωδοουρακίλη (37)

Ο νουκλεοζίτης **37** συντίθεται από την ένωση **26** (Couturier *et al.*, 2007) ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **19**. Το επιθυμητό προϊόν **37** (1.16 g, 82%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5. Σημείο Τήξης 329-331 °C. Rf = 0.27 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$[\alpha]_D^{22} = -3$  (c 0.48, χλωροφόρμιο)  
 $\lambda_{\max} 290 \text{ nm}$  ( $\epsilon$  7650)

ESI-MS (*m/z*): 515.02 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>IN<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 44.37	H : 3.72	N : 5.45
Ευρ. (%)	C : 44.57	H : 3.52	N : 5.95

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  8.94 (br s, 1H, NH), 8.07 (d, 2H,  $J = 7.6 \text{ Hz}$ , Bz), 7.80 (s, 1H, H-6), 7.60 (t, 1H,  $J = 7.4 \text{ Hz}$ ,  $J = 14.7 \text{ Hz}$ , Bz), 7.49 (t, 2H, Bz), 6.08 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 1.2 \text{ Hz}$ , H-1'), 5.45 (dd, 1H,  $J_{2',3'} = 5.9 \text{ Hz}$ , H-2'), 4.67 (dd, 1H,  $J_{4',5a'} = 2.4 \text{ Hz}$ ,  $J_{5a',5b'} = 12.6 \text{ Hz}$ , H-5a'), 4.55 (dd, 1H,  $J_{4',5b'} = 3.8 \text{ Hz}$ , H-5b'), 4.15 (m, 1H, H-4'), 2.40 (m, 1H, H-3'), 2.13 (s, 3H, OAc), 1.04 (d, 3H,  $J_{\text{CH}_3-3'} = 6.8 \text{ Hz}$ , CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  170, 24, 165.81, 161.05, 150.83, 144.19, 133.08, 129.71, 128.34, 95.67, 86.93, 81.22, 68.13, 63.42, 35.33, 21.06, 10.09.



**1-(2'-*O*-Ακετυλο-5'-*O*-βενζοϋλο-3'-δεοξυ-3'-*C*-μεθυλο-β-*D*-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2-φθοροφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (38α)**

Το παράγωγο **38α** συντίθεται από την ένωση **37** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20α**. Το επιθυμητό προϊόν **38α** (74 mg, 86%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5. Rf = 0.19 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -3^{\circ} \quad (\text{c } 0.31, \text{ χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\text{max}} 342 \text{ nm} \quad (\epsilon 8970)$$

**ESI-MS (*m/z*):** 507.15 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>27</sub>H<sub>23</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 64.03            H : 4.58            N : 5.53

Ευρ. (%)            C : 64.23            H : 4.38            N : 5.33

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.29 (brs, 1H, NH), 8.04 (d, 2H, *J* = 8.0 Hz, Bz), 7.86 (s, 1H, H-6), 7.36-7.29 (m, 5H, Bz, 4 ArH), 7.07 (dd, 2H, *J* = 8.0 Hz, *J* = 15.6, Bz), 5.78 (brs, 1H, H-1'), 5.51 (d, 1H, *J*<sub>2'-3'</sub> = 6.2 Hz, H-2'), 4.71-4.57 (m, 2H, H-4', H-5a'), 4.34 (dd, 1H, *J*<sub>4'-5b'</sub> = 3.8 Hz, *J*<sub>5a'-5b'</sub> = 11.6 Hz, H-5b'), 2.55-2.45 (m, 1H, H-3'), 2.17 (s, 3H, OAc), 1.09 (d, 3H, *J*<sub>CH<sub>3</sub>-3'</sub> = 6.8 Hz, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR** (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 170, 32, 165.89, 161.62, 160.75, 150.83, 142.19, 133.98, 133.15, 129.99, 128.13, 126.81, 123.53, 115.21, 109.42, 100.82, 96.15, 93.15, 86.23, 81.23, 63.32, 35.23, 21.18, 10.02.

**1-(2'-*O*-Ακετυλο-5'-*O*-βενζοϋλο-3'-δεοξυ-3'-*C*-μεθύλο-β-*D*-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2-χλωροφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (38β)**

Το παράγωγο **38β** συντίθεται από την ένωση **37** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20α**. Το επιθυμητό προϊόν **38β** (73 mg, 82%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού

αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5.  $R_f = 0.19$  (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$$[\alpha]_D^{22} = -4^\circ \quad (c\ 0.45, \text{χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 341\ \text{nm} \quad (\epsilon\ 9150)$$

**ESI-MS ( $m/z$ ):** 523.12 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{27}H_{23}ClN_2O_7$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 62.01            H : 4.43            N : 5.36

Ευρ. (%)            C : 62.21            H : 4.33            N : 5.56

**$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**

$\delta$  8.29 (brs, 1H, NH), 8.04 (d, 2H,  $J = 8.0$  Hz, Bz), 7.86 (s, 1H, H-6), 7.36-7.29 (m, 5H, Bz, 4 ArH), 7.07 (dd, 2H,  $J = 8.0$  Hz,  $J = 15.6$ , Bz), 5.78 (brs, 1H, H-1'), 5.51 (d, 1H,  $J_{2'-3'} = 6.2$  Hz, H-2'), 4.71-4.57 (m, 2H, H-4', H-5a'), 4.34 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 3.8$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 11.6$  Hz, H-5b'), 2.55-2.45 (m, 1H, H-3'), 2.17 (s, 3H, OAc), 1.09 (d, 3H,  $J_{\text{CH}_3-3'} = 6.8$  Hz,  $\text{CH}_3$ ).

**$^{13}\text{C NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**

$\delta$  170, 32, 165.89, 161.62, 160.75, 150.83, 142.19, 133.98, 133.15, 129.99, 128.13, 126.81, 123.53, 115.21, 109.42, 100.82, 96.15, 93.15, 86.23, 81.23, 63.32, 35.23, 21.18, 10.02.

**1-(2'-*O*-Ακετυλο-5'-*O*-βενζοϋλο-3'-δεοξυ-3'-*C*-μεθυλο- $\beta$ -D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2,5-διμεθυλοφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (38 $\gamma$ )**

Το παράγωγο **38 $\gamma$**  συντίθεται από την ένωση **37** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20a**. Το επιθυμητό προϊόν **38 $\gamma$**  (81 mg, 92%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5.  $R_f = 0.22$  (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ \quad (c\ 0.19, \text{χλωροφόρμιο})$$

$\lambda_{\max}$  342 nm ( $\epsilon$  10030)

ESI-MS ( $m/z$ ): 517.19 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{29}H_{28}N_2O_7$ ) C, H, N

Υπολ. (%) C : 67.43 H : 5.46 N : 5.42

Ευρ. (%) C : 67.63 H : 5.66 N : 5.12

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ )

$\delta$  8.40 (brs, 1H, NH), 8.05 (d, 2H,  $J = 8.0$  Hz, Bz), 7.82 (s, 1H, H-6), 7.38-7.34 (m, 4H, Bz, 3ArH), 7.05 (dd, 2H,  $J = 8.0$  Hz,  $J = 15.6$ , Bz), 5.80 (brs, 1H, H-1'), 5.52 (d, 1H,  $J_{2'-3'} = 6.2$  Hz, H-2'), 4.70-4.62 (m, 2H, H-4', H-5a'), 4.24 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 3.8$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 11.6$  Hz, H-5b'), 2.54-2.48 (m, 1H, H-3'), 2.33, 2.24 (2s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2.18 (s, 3H, OAc), 1.08 (d, 3H,  $J_{CH_3-3'} = 6.8$  Hz, CH<sub>3</sub>).

$^{13}C$  NMR (75.5 MHz,  $CDCl_3$ )

$\delta$  169, 58, 166.30, 160.66, 148.70, 140.80, 137.38, 134.72, 132.28, 129.55, 129.23, 129.03, 128.65, 121.92, 101.03, 93.68, 91.09, 83.94, 83.11, 78.60, 63.01, 36.29, 20.67, 20.63, 20.11, 9.33.

**1-(2'-O-Ακετυλο-5'-O-βενζοϋλο-3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2,4,5-τριμεθυλοφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (38δ)**

Το παράγωγο **38δ** συντίθεται από την ένωση **37** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20α**. Το επιθυμητό προϊόν **38δ** (82 mg, 90%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5. Rf = 0.25 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$[a]_D^{22} = -4^\circ$  (c 0.38, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  342 nm ( $\epsilon$  10920)

ESI-MS ( $m/z$ ): 531.21 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{29}H_{28}N_2O_7$ ) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 67.91	H : 5.70	N : 5.28
Ευρ. (%)	C : 67.71	H : 5.60	N : 5.48

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  8.41 (brs, 1H, NH), 8.05 (d, 2H,  $J = 8.0$  Hz, Bz), 7.80 (s, 1H, H-6), 7.40-7.34 (m, 3H, Bz, 2ArH), 7.05 (dd, 2H,  $J = 8.0$  Hz,  $J = 15.6$ , Bz), 5.80 (brs, 1H, H-1'), 5.51 (d, 1H,  $J_{2'-3'} = 6.2$  Hz, H-2'), 4.69-4.62 (m, 2H, H-4', H-5a'), 4.23 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 3.8$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 11.6$  Hz, H-5b'), 2.52-2.48 (m, 1H, H-3'), 2.32, 2.22, 2.18 (3s, 9H, 3CH<sub>3</sub>), 2.15 (s, 3H, OAc), 1.08 (d, 3H,  $J_{CH_3-3} = 6.8$  Hz, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  169, 60, 166.31, 160.78, 159.87, 148.74, 140.56, 137.75, 133.46, 132.75, 130.76, 129.57, 128.66, 119.32, 101.24, 93.88, 91.09, 83.91, 78.59, 63.05, 36.33, 29.68, 20.62, 19.98, 19.70, 18.97, 9.34.

**1-(2'-*O*-Ακετυλο-5'-*O*-βενζοϋλο-3'-δεέοξυ-3'-*C*-μεθυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(6-μεθοξυναφθαλενιο)αιθυνολο]ουρακίλη (39)**

Το παράγωγο **39** συντίθεται από την ένωση **37** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20a**. Το επιθυμητό προϊόν **39** (73 mg, 76%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 6:4.  $R_f = 0.19$  (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 6:4).  $[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c 0.19, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max} 349$  nm ( $\epsilon$  12020)

ESI-MS ( $m/z$ ): 569.18 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>32</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 67.60	H : 4.96	N : 4.93
Ευρ. (%)	C : 67.90	H : 5.16	N : 4.63

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  8.33 (brs, 1H, NH), 8.08 (d, 2H,  $J = 8.0$  Hz, Bz), 7.89 (s, 1H, H-6), 7.71-7.09 (m, 9H, 3Bz, 6naphthalene), 5.82 (brs, 1H, H-1'), 5.53 (d, 1H,  $J_{2'-3'} = 6.2$  Hz, H-2'), 4.72-

4.64 (m, 2H, H-4', H-5a'), 4.24 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 3.8$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 11.6$  Hz, H-5b'), 3.93 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.54-2.49 (m, 1H, H-3'), 2.18 (s, 3H, OAc), 1.08 (d, 3H,  $J_{CH_3-3'} = 6.8$  Hz, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 169.55, 166.32, 165.80, 158.44, 148.61, 141.15, 133.55, 131.61, 129.58, 129.38, 129.03, 128.86, 128.74, 128.22, 126.59, 119.51, 117.22, 105.76, 84.00, 79.48, 78.64, 62.88, 55.35, 36.18, 20.63, 9.28.

**1-(3'-Δεοξυ-3'-C-μεθυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2-φθοροφαινυλο)αιθυνουλο] ουρακίλη (40a)**

Το παράγωγο **40a** συντίθεται από την ένωση **38a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **5a**. Το επιθυμητό προϊόν **40a** (34 mg, 79%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους υλικού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2. R<sub>f</sub> = 0.35 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2).

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c 0.15, μεθανόλη)

$\lambda_{\max} 341$  nm (ε 6765)

ESI-MS (*m/z*): 361.11 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 60.00            H : 4.76            N : 7.77

Ευρ. (%)            C : 60.40            H : 4.46            N : 7.57

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 8.81 (s, 1H, H-6), 7.54-7.11 (m, 4H, ArH), 5.74 (brs, 1H, H-1'), 4.17 (d, 1H,  $J_{2'-3'} = 4.5$  Hz, H-2'), 4.04-3.70 (m, 3H, H-4', H-5a', H-5b'), 2.28-2.23 (m, 1H, H-3'), 1.05 (d, 3H,  $J_{CH_3-3'} = 6.7$  Hz, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 161.58, 160.75, 150.77, 142.68, 133.82, 126.87, 123.33, 115.28, 109.43, 100.97, 100.42, 93.26, 86.12, 84.93, 78.33, 61.78, 38.47, 10.23.

**1-(3'-Δεοξυ-3'-C-μεθυλο-β-D-ριβοφουρανοζύλο)-5-[(2-χλωροφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (40β)**

Το παράγωγο **40α** συντίθεται από την ένωση **38β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **5α**. Το επιθυμητό προϊόν **40β** (36 mg, 80%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2. Rf = 0.33 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2).

$$[\alpha]_D^{22} = -3^\circ \quad (c\ 0.13, \text{μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 339\ \text{nm} \quad (\epsilon\ 6765)$$

ESI-MS (*m/z*): 377.08 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 57.38            H : 4.43            N : 7.77

Ευρ. (%)            C : 57.58            H : 4.63            N : 7.57

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 8.81 (s, 1H, H-6), 7.55-7.13 (m, 4H, ArH), 5.74 (brs, 1H, H-1'), 4.17 (d, 1H, *J*<sub>2'-3'</sub> = 4.5Hz, H-2'), 4.04-3.70 (m, 3H, H-4', H-5a', H-5b'), 2.27-2.23 (m, 1H, H-3'), 1.05 (d, 3H, *J*<sub>CH<sub>3</sub>-3'</sub> = 6.7 Hz, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 161.58, 160.75, 150.77, 142.68, 133.82, 126.87, 123.33, 115.28, 109.43, 100.97, 100.42, 93.26, 86.12, 84.93, 78.33, 61.78, 38.47, 10.23.

**1-(3'-Δεοξυ-3'-C-μεθυλο-β-D-ριβοφουρανοζύλο)-5-[(2,5-διμεθυλοφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (40γ)**

Το παράγωγο **40γ** συντίθεται από την ένωση **38γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **5α**. Το επιθυμητό προϊόν **40γ** (35 mg, 79%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1. Rf = 0.19 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -3^{\circ} \quad (\text{c } 0.22, \text{ μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\text{max}} 341 \text{ nm} \quad (\epsilon 9432)$$

ESI-MS ( $m/z$ ): 371.15 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{20}H_{22}N_2O_5$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 64.85            H : 5.99            N : 7.56

Ευρ. (%)            C : 65.05            H : 5.69            N : 7.46

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

$\delta$  8.80 (s, 1H, H-6), 7.27-7.03 (m, 3H, 3ArH), 5.75 (brs, 1H, H-1'), 4.16 (d, 1H,  $J_{2'-3'} = 4.6$  Hz, H-2'), 4.05-3.71 (m, 3H, H-4', H-5a', H-5b'), 4.24 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 3.8$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 11.6$  Hz, H-6b'), 2.54-2.48 (m, 1H, H-3'), 2.40, 2.27 (2s, 6H, 2 $\text{CH}_3$ ), 2.25-2.23 (m, 1H, H-3'), 1.05 (d, 3H,  $J_{\text{CH}_3-3'} = 6.7$  Hz,  $\text{CH}_3$ )

$^{13}\text{C NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

$\delta$  164, 57, 151.32, 144.89, 138.19, 136.29, 133.09, 130.41, 130.32, 123.94, 99.88, 93.62, 92.83, 88.17, 85.62, 79.62, 60.59, 35.80, 20.83, 20.45, 9.04.

**1-(3'-Δεοξυ-3'-C-μεθυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2,4,5-τριμεθυλοφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (40δ)**

Το παράγωγο **40δ** συντίθεται από την ένωση **38δ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **5α**. Το επιθυμητό προϊόν **40γ** (39 mg, 85%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1.  $R_f = 0.19$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -3^{\circ} \quad (\text{c } 0.28, \text{ μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\text{max}} 343 \text{ nm} \quad (\epsilon 9652)$$

ESI-MS ( $m/z$ ): 385.17 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{21}H_{24}N_2O_5$ ) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 65.61	H : 6.29	N : 7.29
Ευρ. (%)	C : 65.71	H : 6.49	N : 7.59

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  8.77 (s, 1H, H-6), 7.21, 6.99 (2s, 2H, 2ArH), 5.75 (brs, 1H, H-1'), 4.16 (d, 1H,  $J_{2'-3'} = 4.4$  Hz, H-2'), 4.04-3.71 (m, 3H, 3H, H-4', H-5a', H-5b'), 2.37 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.28-2.25 (m, 1H, H-3'), 2.23, 2.20 (2s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 1.05 (d, 3H,  $J_{\text{CH}_3-3'} = 6.7$  Hz, CH<sub>3</sub>)

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  164, 53, 151.34, 144.82, 138.15, 136.28, 133.19, 130.42, 130.35, 123.94, 99.88, 93.62, 92.83, 88.17, 85.62, 79.62, 60.59, 35.80, 20.83, 20.45, 19.82, 9.04.

**1-(3'-Δεοξυ-3'-C-μεθυλο-β-D-ριβοφουρανοζύλο)-5-[(6-μεθοξυναφθαλενιο)αιθονύλο]ουρακίλη (41)**

Το παράγωγο **41** συντίθεται από την ένωση **39** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **5a**. Το επιθυμητό προϊόν **41** (32 mg, 63%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2. Rf = 0.26 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2).

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -3^\circ$  (c 0.29, μεθανόλη)

$\lambda_{\text{max}}$  345 nm (ε 10834)

ESI-MS ( $m/z$ ): 423.15 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 65.39	H : 5.25	N : 6.63
Ευρ. (%)	C : 65.59	H : 5.55	N : 6.93

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  8.83 (s, 1H, H-6), 7.74-7.23 (m, 6H, naphthalene), 5.76 (brs, 1H, H-1'), 4.183 (d, 1H,  $J_{2'-3'} = 4.6$  Hz, H-2'), 4.07-3.96 (m, 2H, H-4', H-5a'), 3.92 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.76 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 3.8$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 11.6$  Hz, H-5b'), 2.30-2.25 (m, 1H, H-3'), 1.06 (d, 3H,  $J_{\text{CH}_3-3'} = 6.8$  Hz, CH<sub>3</sub>)



$^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

$\delta$  161.62, 157.44, 150.61, 142.15, 134.55, 131.52, 130.05, 129.66, 129.11, 118.89,  
117.48, 105.93, 100.91, 100.12, 90.53, 86.45, 84.39, 79.01, 61.53, 55.84, 38.25, 9.28.

### III.4.5 Σύνθεση C5 αλκυνυλο 2'-δεοξυ-ριβοφουρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης (44, 46)

#### 1-(2'-Δεοξυ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2-φθοροφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (43α)

Το παράγωγο **43α** συντίθεται από την ένωση **42** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20α**. Το επιθυμητό προϊόν **43α** (80 mg, 83%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1. Rf = 0.19 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

$$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ \quad (\text{c } 0.25, \text{ μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\text{max}} 343 \text{ nm} \quad (\epsilon \text{ } 6329)$$

ESI-MS (*m/z*): 347.10 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 58.96            H : 4.37            N : 8.09

Ευρ. (%)            C : 59.16            H : 4.17            N : 8.19

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 8.45 (s, 1H, H-6), 7.56-7.53 (m, 1H, ArH), 7.40-7.36 (m, 1H, ArH), 7.18-7.12 (m, 2H, ArH), 6.27 (t, 1H, *J*<sub>1'-2a'</sub> = 13.0 Hz, *J*<sub>1'-2b'</sub> = 6.5 Hz H-1'), 4.44-4.41 (m, 1H, H-4'), 3.95-3.93 (m, 1H, H-3'), 3.85 (dd, 1H, *J*<sub>4'-5b'</sub> = 2.9 Hz, *J*<sub>5a'-5b'</sub> = 12.0 Hz, H-5b'), 3.76 (dd, 1H, *J*<sub>4'-5a'</sub> = 3.3 Hz, *J*<sub>5a'-5b'</sub> = 12.0 Hz, H-5a'), 2.37-2.25 (m, 1H, H-2').

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 161.58, 160.43, 150.74, 142.52, 133.89, 126.74, 123.88, 115.19, 109.24, 100.92, 93.45, 93.02, 89.07, 86.45, 70.51, 61.29, 40.56.

#### 1-(2'-Δεοξυ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2-χλωροφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (43β)

Το παράγωγο **43β** συντίθεται από την ένωση **42** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20α**. Το επιθυμητό προϊόν **43β** (79 mg, 78%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη

έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1. Rf = 0.19 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -4^{\circ} \quad (c \text{ 0.36, μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\text{max}} 341 \text{ nm} \quad (\epsilon \text{ 7934})$$

ESI-MS ( $m/z$ ): 363.07 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{17}H_{15}ClN_2O_5$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 56.28            H : 4.17            N : 7.72

Ευρ. (%)            C : 56.58            H : 4.47            N : 7.32

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

$\delta$  8.47 (s, 1H, H-6), 7.60-7.58 (m, 1H, ArH), 7.46-7.44 (m, 1H, ArH), 7.34-7.27 (m, 2H, ArH), 6.28 (t, 1H,  $J_{1'-2a'} = 13.0$  Hz,  $J_{1'-2b'} = 6.5$  Hz H-1'), 4.44-4.41 (m, 1H, H-4'), 3.96-3.94 (m, 1H, H-3'), 3.85 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.9$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.0$  Hz, H-5b'), 3.77 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 3.3$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.0$  Hz, H-5a'), 2.37-2.26 (m, 2H, H-2').

$^{13}\text{C NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

$\delta$  161.64, 151.23, 145.66, 136.66, 134.49, 130.84, 130.40, 127.88, 124.19, 100.24, 93.25, 90.45, 89.24, 87.24, 71.94, 62.50, 41.91.

**1-(2'-Δεοξυ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2,5-διμεθυλοφαινυλο)αιθινυλο]ουρακίλη (43γ)**

Το παράγωγο **43γ** συντίθεται από την ένωση **42** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20α**. Το επιθυμητό προϊόν **43γ** (83 mg, 83%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1. Rf = 0.23 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -3^{\circ} \quad (c \text{ 0.25, μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\text{max}} 339 \text{ nm} \quad (\epsilon \text{ 8482})$$

ESI-MS ( $m/z$ ): 357.14 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) C, H, N

Υπολ. (%) C : 64.04 H : 5.66 N : 7.86

Ευρ. (%) C : 64.34 H : 5.26 N : 7.66

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 8.47 (s, 1H, H-6), 7.25 (s, 1H, ArH), 7.10 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz ArH), 7.05 (d, 1H, ArH), 6.28 (t, 1H, *J*<sub>1'-2a'</sub> = 13.0 Hz, *J*<sub>1'-2b'</sub> = 6.5 Hz, H-1'), 4.44-4.41 (m, 1H, H-4'), 3.96-3.94 (m, 1H, H-3'), 3.85 (dd, 1H, *J*<sub>4'-5b'</sub> = 2.9 Hz, *J*<sub>5a'-5b'</sub> = 12.0 Hz, H-5b'), 3.77 (dd, 1H, *J*<sub>4'-5a'</sub> = 3.3 Hz, *J*<sub>5a'-5b'</sub> = 12.0 Hz, H-5a'), 2.43, 2.29 (2s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2.26-2.21 (m, 2H, H-2').

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 161.64, 151.23, 145.66, 136.66, 134.49, 130.84, 130.40, 127.88, 124.19, 100.24, 93.25, 90.45, 89.24, 87.24, 71.94, 62.50, 41.91, 21.14, 19.05.

### 1-(2'-Δεοξυ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2,4,5-τριμεθυλοφαινυλο)αιθυνυλο] ουρακίλη (43δ)

Το παράγωγο **43δ** συντίθεται από την ένωση **42** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20a**. Το επιθυμητό προϊόν **43δ** (85 mg, 82%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους υλικού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1. R<sub>f</sub> = 0.29 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -4° (c 0.39, μεθανόλη)

λ<sub>max</sub> 343 nm (ε 8953)

ESI-MS (*m/z*): 371.15 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) C, H, N

Υπολ. (%) C : 64.85 H : 5.99 N : 7.56

Ευρ. (%) C : 64.55 H : 5.69 N : 7.96

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 8.47 (s, 1H, H-6), 7.20 (s, 1H, ArH), 6.98 (s, 1H), 6.28 (t, 1H,  $J_{1'-2a'} = 13.0$  Hz,  $J_{1'-2b'} = 6.5$  Hz H-1'), 4.44-4.41 (m, 1H, H-4'), 3.96-3.94 (m, 1H, H-3'), 3.85 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.9$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.0$  Hz, H-5b'), 3.77 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 3.3$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.0$  Hz, H-5a'), 2.40 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.27-2.25 (m, 2H, H-2'), 2.23, 2.19 (2s, 6H, 2CH<sub>3</sub>)

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 161.64, 151.23, 145.66, 136.66, 134.49, 130.84, 130.40, 127.88, 124.19, 100.24, 93.25, 90.45, 89.24, 87.24, 71.94, 62.50, 41.91, 21.14, 20.31, 19.05.

**1-(2'-Δεοξυ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(6-μεθοξυναφθαλενιο)αιθυνο]ουρακίλη (45)**

Το παράγωγο **45** συντίθεται από την ένωση **42** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20a**. Το επιθυμητό προϊόν **45** (74 mg, 65%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2. R<sub>f</sub> = 0.24 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2).

$[\alpha]_D^{22} = -4^\circ$  (c 0.45, μεθανόλη)

$\lambda_{\max} 349$  nm (ε 9964)

ESI-MS (*m/z*): 409.13 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 64.70            H : 4.94            N : 6.86

Ευρ. (%)            C : 64.90            H : 5.16            N : 6.56

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 8.44 (s, 1H, H-6), 7.95-7.13 (m, 6H, naphthalene), 6.28 (t, 1H,  $J_{1'-2a'} = 13.0$  Hz,  $J_{1'-2b'} = 6.5$  Hz, H-1'), 4.44-4.42 (m, 1H, H-4'), 3.96-3.94 (m, 1H, H-3'), 3.91 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.86 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.9$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.0$  Hz, H-5b'), 3.78 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 3.3$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.0$  Hz, H-5a'), 2.36-2.25 (m, 2H, H-2').

$^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

$\delta$  161, 32, 157.99, 150.64, 142.24, 134.72, 131.79, 130.92, 129.98, 129.15, 126.10, 118.84, 117.62, 105.79, 105.21, 100.32, 90.54, 86.73, 77.64, 70.15, 63.44, 55.12, 35.32.

**1-(3,5-δισ-*O*-Ακετυλο-2'-δεοξυ- $\beta$ -D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2-φθοροφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (44a)**

H 1-(2'-Δεοξυ- $\beta$ -D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2-φθοροφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (43a) (83.3 mg, 0.24 mmol) διαλύεται σε πυριδίνη (1 mL) και προστίθεται  $\text{Ac}_2\text{O}$  (0.5 mL). Το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), το διάλυμα ψύχεται στους  $0^\circ\text{C}$  και προστίθεται μεθανόλη (2 mL) για να καταστείλει την αντίδραση. Οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό, το υπόλειμμα διαλύεται σε οξικό αιθυλεστέρα και πλένεται αρχικά με κορεσμένο διάλυμα όξινου θειϊκού νατρίου ( $\text{NaHSO}_4$ ), στη συνέχεια με κορεσμένο διάλυμα  $\text{NaHCO}_3$  και τέλος με νερό. Η οργανική φάση ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το επιθυμητό προϊόν 44a (95 mg, 92%) ελήφθη ως έλαιο.  $R_f = 0.19$  (οξικό αιθυλεστέρα / n-εξάνιο 5:5).

$[\alpha]_D^{22} = -4^\circ$  (c 0.28, χλώροφορμιο)

$\lambda_{\text{max}} 342 \text{ nm}$  ( $\epsilon$  8657)

ESI-MS ( $m/z$ ): 431.12 ( $\text{M}+\text{H}^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{FN}_2\text{O}_7$ ) C, H, N

Υπολ. (%) C : 58.60 H : 4.45 N : 6.51

Ευρ. (%) C : 58.90 H : 4.15 N : 6.81

 $^1\text{H}$ -NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$  8.76 (brs, 1H, NH), 7.95 (s, 1H, H-6), 7.53-7.50 (m, 1H, ArH), 7.35-7.30 (m, 1H, ArH), 7.13-7.06 (m, 2H, ArH), 6.36 (t, 1H,  $J_{1'-2a'} = 13.8 \text{ Hz}$ ,  $J_{1'-2b'} = 6.0 \text{ Hz}$ , H-1'), 5.27-5.25 (m, 1H, H-4'), 4.42-4.31 (m, 3H, H-3', H-5a', H-5b'), 2.58-2.54 (m, 1H, H-2'), 2.27-2.22 (m, 1H, H-2'), 2.18, 2.12 (2s, 6H, 2Oac).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  170.34, 170.21, 164.50, 160.53, 149.01, 141.62, 133.639, 130.63, 124.08, 115.66, 110.86, 100.74, 93.45, 93.02, 87.32, 85.47, 74.06, 63.79, 38.31, 20.85, 20.70.

**1-(3,5-δισ-*O*-Ακετυλο-2'-δεοξυ- $\beta$ -D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2-  
χλωροφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (44 $\beta$ )**

Το παράγωγο **44 $\beta$**  συντίθεται από την ένωση **43 $\beta$**  ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **44 $\alpha$** . Το επιθυμητό προϊόν **44 $\beta$**  (100mg, 94%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5. R<sub>f</sub> = 0.20 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -4° (c 0.39, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  342 nm (ε 8419)

ESI-MS (*m/z*): 447.09 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 56.45            H : 4.29            N : 6.27

Ευρ. (%)            C : 56.85            H : 4.69            N : 6.47

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  8.62 (brs, 1H, NH), 7.94 (s, 1H, H-6), 7.56-7.54 (m, 1H, ArH), 7.41-7.40 (m, 1H, ArH), 7.29-7.21 (m, 2H, ArH), 6.34 (t, 1H,  $J_{1'-2a'}$  = 13.8 Hz,  $J_{1'-2b'}$  = 6.0 Hz, H-1'), 5.27-5.25 (m, 1H, H-4'), 4.42-4.31 (m, 3H, H-3', H-5a', H-5b'), 2.60-2.55 (m, 1H, H-2'), 2.27-2.21 (m, 1H, H-2'), 2.16, 2.12 (2s, 6H, 2Oac).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  170.34, 170.12, 160.48, 148.99, 141.59, 135.73, 133.53, 129.81, 129.29, 126.52, 122.31, 100.69, 90.63, 85.65, 84.87, 82.75, 74.10, 63.80, 38.33, 20.86.

**1-(3,5-δισ-*O*-Ακετυλο-2'-δεοξυ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2,5-διμεθυλοφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (44γ)**

Το παράγωγο **44γ** συντίθεται από την ένωση **43γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **44α**. Το επιθυμητό προϊόν **44γ** (97 mg, 92%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλυσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5. Rf = 0.24 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$$[\alpha]_D^{22} = -4^\circ \quad (c\ 0.34, \text{χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 341\ \text{nm} \quad (\epsilon\ 9961)$$

ESI-MS (*m/z*): 441.16 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 62.72            H : 5.49            N : 6.36

Ευρ. (%)            C : 62.92            H : 5.79            N : 6.06

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.64 (brs, 1H, NH), 7.85 (s, 1H, H-6), 7.25 (s, 1H, ArH), 7.10 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz, ArH), 7.05 (d, 1H, ArH), 6.35 (t, 1H, *J*<sub>1'-2a'</sub> = 13.8 Hz, *J*<sub>1'-2b'</sub> = 6.0 Hz, H-1'), 5.27-5.25 (m, 1H, H-4'), 4.39-4.31 (m, 3H, H-3', H-5a', H-5b'), 2.59-2.55 (m, 1H, H-2'), 2.43, 2.29 (2s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2.27-2.21 (m, 1H, H-2'), 2.17, 2.13 (2s, 6H, 2Oac).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 170.35, 170.08, 160.60, 149.04, 140.39, 137.35, 135.02, 132.22, 129.74, 129.41, 121.82, 101.43, 93.51, 85.51, 83.10, 82.64, 74.04, 63.81, 38.23, 20.86, 20.82, 20.70, 20.16.

**1-(3,5-δισ-*O*-Ακετυλο-2'-δεοξυ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2,4,5-τριμεθυλοφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (44δ)**

Το παράγωγο **44δ** συντίθεται από την ένωση **43δ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **44α**. Το επιθυμητό προϊόν **44δ** (100 mg, 92%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη



έκλυσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5. Rf = 0.25 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 5:5).

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c 0.29, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max} 342 \text{ nm}$  (ε 9650)

ESI-MS (*m/z*): 455.17 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 63.43            H : 5.77            N : 6.16

Ευρ. (%)            C : 62.03            H : 5.37            N : 6.46

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.68 (brs, 1H, NH), 7.84 (s, 1H, H-6), 7.20, 6.98 (2s, 2H, ArH), 6.35 (t, 1H,  $J_{1'-2a'} = 13.8 \text{ Hz}$ ,  $J_{1'-2b'} = 6.0 \text{ Hz}$ , H-1'), 5.27-5.25 (m, 1H, H-4'), 4.39-4.30 (m, 3H, H-3', H-5a', H-5b'), 2.58-2.54 (m, 1H, H-2'), 2.40, (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.27-2.25 (m, 1H, H-2'), 2.23, 2.19 (2s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2.16, 2.12 (2s, 6H, 2OAc).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 170.35, 170.10, 160.66, 149.07, 140.17, 137.77, 137.61, 133.72, 132.70, 130.92, 119.21, 101.63, 93.67, 85.45, 82.61, 82.48, 74.06, 63.82, 38.20, 20.86, 20.82, 20.02, 19.70, 19.02.

**1-(3,5-δισ-*O*-Ακετυλο-2'-δεοξυ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(6-μεθοξυναφθαλενιο)αιθυνολο]ουρακίλη (46)**

Το παράγωγο **46** συντίθεται από την ένωση **45** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **44a**. Το επιθυμητό προϊόν **46** (105mg, 89%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλυσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 6:4. Rf = 0.19 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 6:4).  $[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c 0.26, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max} 342 \text{ nm}$  (ε 10249)

ESI-MS (*m/z*): 493.15 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>26</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 63.41        H : 4.91        N : 5.69

Ευρ. (%)            C : 63.81        H : 4.71        N : 5.49

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.68 (brs, 1H, NH), 7.84 (s, 1H, H-6), 7.95-7.13 (m, 6H, naphthalene), 6.35 (t, 1H,  $J_{1'-2a'} = 13.8$  Hz,  $J_{1'-2b'} = 6.0$  Hz, H-1'), 5.27-5.25 (m, 1H, H-4'), 4.39-4.30 (m, 3H, H-3', H-5a', H-5b'), 3.91 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.58-2.54 (m, 1H, H-2'), 2.27-2.25 (m, 1H, H-2'), 2.16, 2.12 (2s, 6H, 2OAc).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 170.35, 170.10, 161, 32, 157.99, 150.64, 142.24, 134.72, 131.79, 130.92, 129.98, 129.15, 126.10, 118.84, 117.62, 105.79, 105.21, 100.32, 90.54, 86.73, 77.64, 70.15, 63.44, 55.12, 35.32.

**III.5 Σύνθεση C5 αλκυνυλο άκυκλων νουκλεοζιτών της ουρακίλης****III.5.1 Σύνθεση C5 αλκυνυλο 1-(1-((1,3-διυδροξυπροπαν-2-υλ)οξυ)-2-υδροξυαιθυλ)-5-ιωδοουρακίλης (54, 55)****1-(5'-O-Τριτυλο-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-ιωδοουρακίλη (48)**

Ένα διάλυμα τριτυλο χλωριδίου (2.8 g, 9.90 mmol) σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο προστίθεται στάγδην σε διάλυμα που περιέχει ριβοφούρανο 5 ιωδοουρακίλη (47) (3.0 g, 8.26 mmol) σε άνυδρη πυριδίνη (35 ml) στους 0°C, και αφήνεται να έρθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και η αντίδραση συνεχίζεται για 12 ώρες. Μετά το πέρας της αντίδρασης προστίθεται στο μείγμα 7 ml MeOH και οξικός αιθυλεστέρας και πλένεται διαδοχικά με κορεσμένο διάλυμα NaHCO<sub>3</sub> και H<sub>2</sub>O. Η οργανική φάση ξηραίνεται με MgSO<sub>4</sub> και συμπυκνώνεται. Το μείγμα κρυσταλλώθηκε με χλωροφόρμιο (CHCl<sub>3</sub>) και μετά από διήθηση το προϊόν 48 ελήφθη με την μορφή λευκών κρυστάλλων. Σημείο Τήξης 162-163 °C. Rf = 0.27 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 7:3).

$$[\alpha]_D^{22} = +17 \quad (\text{c } 0.10, \text{ χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\text{max}} 383 \text{ nm} \quad (\epsilon 21460)$$

**ESI-MS (*m/z*):** 612.08 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>40</sub>H<sub>41</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 59.41        H : 4.11        N : 4.57

Ευρ. (%)            C : 59.61        H : 4.41        N : 4.97

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**

δ 8.14 (s, 1H, H-6), 7.49-7.24 (m, 15H, Tr), 5.90 (d, 1H, *J*<sub>1',2'</sub> = 4.8 Hz, H-1'), 5.35 - 4.31 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.10 (t, 1H, *J* = 2.7, *J*' = 1.2 Hz, H-3'), 3.41 (dd, 1H, *J*<sub>4'-5a'</sub> = 3.2 Hz, *J*<sub>5a'-5b'</sub> = 10.8 Hz, H-5b'), 4.55 (dd, 1H, *J*<sub>4'-5b'</sub> = 2.1 Hz, H-5a').

**<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**

δ 161.80, 150.83, 144.19, 143.65, 129.71, 128.34, 126.28, 97.67, 94.83, 86.93, 73.22, 70.11, 68.42, 63.92.

**1-(2-Υδροξυ-1-(1-υδροξυ-3-(τριτυλοξυ)προπαν-2-υλ)οξυ)αιθυλο)-5-ιωδοουρακίλη (49)**

Ο άκυκλος νουκλεοζίτης **49** συντίθεται από την ένωση **48** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **11a**. Το επιθυμητό προϊόν **49** (650 mg, 86%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 7:3. Rf = 0.35 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 7:3).

$$[\alpha]_D^{22} = +13 \quad (c \ 0.1, \text{χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 305 \text{ nm} \quad (\epsilon \ 21400)$$

ESI-MS (*m/z*): 614.09 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>28</sub>H<sub>27</sub>IN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 54.73            H : 4.43            N : 4.56

Ευρ. (%)            C : 54.33            H : 4.83            N : 4.96

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 9.97 (brs, 1H, NH), 7.84 (s, 1H, H-6), 7.39-7.25 (m, 15H, Tr), 5.99 (t, 1H, J<sub>1',2a'</sub> = 5.2 Hz, J<sub>1',2b'</sub> = 5.0 Hz, H-1'), 3.87-3.72 (m, 7H, H-2', H-3', H-4', OH, OH), 3.26 (dd, 1H, J<sub>4'-5a'</sub> = 3.7 Hz, J<sub>5a'-5b'</sub> = 10.8 Hz, H-5a'), 3.16 (dd, 1H, J<sub>4'-5b'</sub> = 6.0 Hz, H-5b').

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 161.80, 150.83, 144.19, 143.65, 129.71, 128.34, 126.28, 96.25, 94.83, 83.63, 68.42, 63.92, 61.81, 61.13.

**1-(1-((1,3-διυδροξυπροπαν-2-υλ)οξυ)-2-υδροξυαιθυλο)-5-ιωδοουρακίλη (50)**

Σε διάλυμα που περιέχει το **49** (1 g, 1.62 mmol) προσθέτουμε μείγμα HCOOH / Et<sub>2</sub>O με αναλογία 1:1 (29 ml) και θερμαίνουμε με κάθετο ψυκτήρα για 30 λεπτά. Στη συνέχεια το μίγμα εξουδετερώνεται με στερεό NaHCO<sub>3</sub> και εκχυλίζεται, διαδοχικά, με NaCl και H<sub>2</sub>O, ξηραίνεται με MgSO<sub>4</sub> και συμπυκνώνεται. Το προϊόν **50** (554 mg, 92%) ελήφθη ως άχρωμο έλαιο με στήλη χρωματογραφίας διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1. Rf = 0.25 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

$$[\alpha]_D^{22} = +9 \quad (c \ 0.14, \text{χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 286 \text{ nm} \quad (\epsilon \ 18592)$$

ESI-MS ( $m/z$ ): 372.98 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>IN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 29.05            H : 3.52            N : 7.53

Ευρ. (%)            C : 29.45            H : 3.92            N : 7.93

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 8.12 (s, 1H, H-6), 7.55-7.11 (m, 4H, Bz), 8.99 (t, 1H,  $J= 4.9$  Hz,  $J= 4.9$  Hz N-CH-C), 3.80 – 3.51 (m, 7H, 3 x -CH<sub>2</sub>OH, C-CH-C).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 161.30, 150.83, 144.19, 96.25, 94.83, 80.63, 68.22, 60.92, 58.32.

### **2-(2-ακετοξυ-1-(5-ιωδο-ουρακιλη)αιθοξυ)προπαν-1,3-διωλ διακέτυλο (51)**

Το παράγωγο **51** συντίθεται από την ένωση **50** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **43a**. Το επιθυμητό προϊόν **50** (80 mg, 95%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8. Σημείο Τήξης 215-217 °C Rf = 0.22 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8).

$[\alpha]_D^{22} = +12$  (c 0.25, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max} 286$  nm (ε 16459)

ESI-MS ( $m/z$ ): 499.01 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>IN<sub>2</sub>O<sub>9</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 36.16            H : 3.84            N : 5.62

Ευρ. (%)            C : 36.56            H : 4.04            N : 5.92

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.47 (brs, 1H, NH), 7.85 (s, 1H, H-6), 6.13 (t, 1H,  $J= 5.1$  Hz,  $J= 5.3$  Hz N-CH-C), 4.46 – 3.95 (m, 7H, 3 x -CH<sub>2</sub>OAc, C-CH-C), 2.13, 2.09, 2.07 (3s, 9H, 3xOAc).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 170.48, 170.44, 169.98, 159.46, 150.24, 144.14, 81.34, 75.76, 68.85, 63.36, 63.05, 62.50, 21.06, 20.67, 20.49.

**2-(2-Ακετοξυ-1-(5-((2-φθοροφαινυλ)αιθυνυλο)ουρακιλη)αιθοξυ)προπαν-1,3-διωλ διακέτυλο (52a)**

Το παράγωγο **52a** συντίθεται από την ένωση **51** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20a**. Το επιθυμητό προϊόν **52a** (75 mg, 78%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8. Rf = 0.24 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8).

$[\alpha]_D^{22} = +12$  (c 0.15, μεθανόλη)

$\lambda_{\max} 286$  nm (ε 17254)

ESI-MS (*m/z*): 491.14 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>9</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 56.33            H : 4.73            N : 5.71

Ευρ. (%)            C : 56.73            H : 4.33            N : 5.91

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.70 (brs, 1H, NH), 7.80 (s, 1H, H-6), 7.52 (t, 1H,  $J= 7.5$  Hz,  $J= 7.1$  Hz, Bz), 7.35 (dd, 1H,  $J= 7.2$  Hz,  $J= 13.8$  Hz, Bz), 7.14 – 7.07 (m, 2H, Bz), 6.20 (t, 1H,  $J= 5.3$  Hz,  $J= 5.6$  Hz N-CH-C), 4.46 – 3.95 (m, 7H, 3 x -CH<sub>2</sub>OAc, C-CH-C), 2.13, 2.09, 2.08 (3s, 9H, 3xOAc).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  170.60, 170.48, 170.00, 160.49, 149.61, 142.08, 133.56, 130.74, 130.62, 124.09, 124.03, 115.70, 115.37, 100.69, 81.30, 75.55, 63.39, 63.03, 62.44, 21.06, 20.67, 20.50.

**2-(2-Ακετοξυ-1-(5-((2-χλωροφαινυλο)αιθυνυλο)ουρακιλη)αιθοξυ)προπαν-1,3-διωλ διακέτυλο (52β)**

Το παράγωγο **52β** συντίθεται από την ένωση **51** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20α**. Το επιθυμητό προϊόν **52β** (80 mg, 79%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8. Rf = 0.26 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8).

$[\alpha]_D^{22} = +15$  (c 0.19, μεθανόλη)

$\lambda_{\max} 286\text{nm}$  ( $\epsilon$  17845)

ESI-MS ( $m/z$ ): 507.11 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>9</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 54.50            H : 4.57            N : 5.53

Ευρ. (%)            C : 54.10            H : 4.27            N : 5.93

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  8.56 (brs, 1H, NH), 7.80 (s, 1H, H-6), 7.55 (t, 1H,  $J=7.5$  Hz,  $J=7.1$  Hz, Bz), 7.41 (dd, 1H,  $J=7.2$  Hz,  $J=13.8$  Hz, Bz), 7.30 – 7.22 (m, 2H, Bz), 6.19 (t, 1H,  $J=5.2$  Hz,  $J=5.5$  Hz N-CH-C), 4.47 – 3.93 (m, 7H, 3 x -CH<sub>2</sub>OAc, C-CH-C), 2.14, 2.09 (2s, 9H, 3xOAc).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  170.53, 170.48, 170.00, 160.33, 149.55, 142.09, 135.76, 133.45, 129.90, 129.33, 126.54, 122.19, 100.73, 91.03, 84.66, 81.36, 75.70, 63.38, 63.05, 62.47, 20.78, 20.67, 20.51.

**2-(2-Ακετοξυ-1-(5-((1,4-διμεθυλοφαινυλο)αιθυνο)ουρακιλη)αιθοξυ)προπαν-1,3-διωλ διακέτυλο (52γ)**

Το παράγωγο **52γ** συντίθεται από την ένωση **51** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20a**. Το επιθυμητό προϊόν **52γ** (83 mg, 81%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8. Σημείο τήξης 251-253 °C. Rf = 0.30 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8).

$$[\alpha]_D^{22} = +12 \quad (c \ 0.22, \text{χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 286 \text{ nm} \quad (\epsilon \ 14523)$$

ESI-MS (*m/z*): 501.18 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 59.99            H : 5.64            N : 5.60

Ευρ. (%)            C : 59.59            H : 5.24            N : 5.20

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.28 (brs, 1H, NH), 7.71 (s, 1H, H-6), 7.22 (t, 1H, *J* = 4.5 Hz, *J* = 5.9 Hz, Bz), 7.11 (d, 1H, *J* = 4.5 Hz, Bz), 7.06 (d, 1H, *J* = 7.2 Hz, Bz), 6.19 (t, 1H, *J* = 5.6 Hz, *J* = 5.6 Hz N-CH-C), 4.47 – 3.96 (m, 7H, 3 x -CH<sub>2</sub>OAc, C-CH-C), 2.44, 2.29 (2s, 6H, 2x CH<sub>3</sub>) 2.14, 2.08, 2.07 (3s, 9H, 3xOAc).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 170.53, 170.48, 170.00, 160.33, 149.55, 142.09, 135.76, 133.45, 129.90, 129.33, 126.54, 122.19, 100.73, 91.03, 84.66, 81.36, 75.70, 63.38, 63.05, 62.47, 20.74, 20.70, 20.62, 20.54, 20.21.

**2-(2-Ακετοξυ-1-(5-((6-μεθοξυναφθαλενιο)αιθυνο)ουρακιλη)αιθοξυ)προπαν-1,3-διωλ διακέτυλο (53)**

Το παράγωγο **53** συντίθεται από την ένωση **51** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20a**. Το επιθυμητό προϊόν **53** (83 mg, 81%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό



αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8. Σημείο τήξης 286-289 °C. Rf = 0.30 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 2:8).

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c 0.16, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max} 286 \text{ nm}$  (ε 16895)

ESI-MS (*m/z*): 553.17 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>28</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 60.87            H : 5.11            N : 5.07

Ευρ. (%)            C : 60.47            H : 5.31            N : 5.27

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.43 (brs, 1H, NH), 7.96 (s, 1H, H-6), 7.77 (s, 1H, naphthalene), 7.70 (t, 2H, *J* = 7.7 Hz, *J* = 8.2 Hz, naphthalene), 7.49 (d, 1H, *J* = 8.7 Hz, naphthalene), 7.16 (d, 1H, *J* = 8.7 Hz, naphthalene), 7.11 (s, 1H, naphthalene), 6.20 (t, 1H, *J* = 5.4 Hz, *J* = 5.6 Hz N-CH-C), 4.48 – 3.97 (m, 7H, 3 x -CH<sub>2</sub>OAc, C-CH-C), 3.93 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.14, 2.11, 2.09 (3s, 9H, 3xOAc).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 170.53, 170.48, 170.00, 160.33, 158.92, 149.55, 142.09, 135.76, 133.45, 129.90, 129.33, 126.54, 122.19, 119.89, 117.50, 105.96, 100.73, 91.03, 84.66, 81.36, 75.70, 63.38, 63.05, 62.47, 55.41, 20.74, 20.70, 20.62.

**1-(1-((1,3-Διυδροξυπροπαν-2-υλ)οξυ)-2-υδροξυαιθυλ)-5-[(2-φθοροφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (54a)**

Το παράγωγο **54a** συντίθεται από την ένωση **52a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **5a**. Το επιθυμητό προϊόν **51a** (80 mg, 85%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1. Σημείο Τήξης 189-192 °C Rf = 0.19 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

$[\alpha]_D^{22} = +8$  (c 0.24, μεθανόλη)

$\lambda_{\max} 286 \text{ nm}$  (ε 13564)

ESI-MS ( $m/z$ ): 365.11 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{17}H_{17}FN_2O_6$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 56.04            H : 4.70            N : 7.69

Ευρ. (%)            C : 56.44            H : 4.30            N : 8.09

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $CD_3OD$ )

$\delta$  8.12 (s, 1H, H-6), 7.55-7.11 (m, 4H, Bz), 8.99 (t, 1H,  $J= 4.9$  Hz,  $J= 4.9$  Hz N-CH-C), 3.80 – 3.51 (m, 7H, 3 x - $CH_2OH$ , C-CH-C).

$^{13}C$  NMR (75.5 MHz,  $CD_3OD$ )

$\delta$  162.79, 150.64, 144.70, 133.25, 130.25, 130.12, 123.99, 123.93, 115.24, 114.90, 98.71, 85.62, 84.36, 81.11, 62.21, 61.13, 60.69.

**1-(1-((1,3-Διυδροξυπροπαν-2-υλ)οξυ)-2-υδροξυαιθυλο)-5-[(2-χλωροφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (54β)**

Το παράγωγο **54β** συντίθεται από την ένωση **52β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **5α**. Το επιθυμητό προϊόν **54β** (84 mg, 85%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1. Σημείο Τήξης 195-197 °C. Rf = 0.22 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).  $[a]_D^{22} = +9$  (c 0.23, μεθανόλη)

$\lambda_{max}$  286nm (ε 15732)

ESI-MS ( $m/z$ ): 381.08 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{17}H_{17}ClN_2O_6$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 53.62            H : 4.50            N : 7.36

Ευρ. (%)            C : 54.02            H : 4.30            N : 7.76

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $CD_3OD$ )

$\delta$  8.12 (s, 1H, H-6), 7.59-7.27 (m, 4H, Bz), 5.99 (t, 1H,  $J_{1'-2a'} = 4.9$  Hz,  $J_{1'-2b'} = 4.9$  Hz N-CH-C), 3.79 – 3.53 (m, 7H, 3 x - $CH_2OH$ , C-CH-C).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  164.16, 152.08, 146.15, 136.60, 134.53, 130.85, 127.90, 124.21, 100.19, 90.49, 87.23, 85.88, 82.58, 63.70, 62.81, 62.20.

**1-(1-((1,3-Διυδροξυπροπαν-2-υλ)οξυ)-2-υδροξυαιθυλ)-5-[(1,4-διμεθυλοφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (54γ)**

Το παράγωγο **54γ** συντίθεται από την ένωση **52γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **5α**. Το επιθυμητό προϊόν **54γ** (88 mg, 85%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλυσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1. Σημείο Τήξης 220-221 °C. Rf = 0.28 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

$[\alpha]_D^{22} = +12$  (c 0.18, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  282 nm (ε 18563)

ESI-MS (m/z): 375.15 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 60.95            H : 5.92            N : 7.48

Ευρ. (%)            C : 60.55            H : 5.62            N : 7.08

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  8.07 (s, 1H, H-6), 7.25 (s, 1H, ArH), 7.10 (d, 1H,  $J = 7.6$ , Bz), 7.04 (d, 1H, Bz), 5.99 (t, 1H,  $J = 4.9$  Hz,  $J = 4.9$  Hz N-CH-C), 3.80 – 3.52 (m, 7H, 3 x -CH<sub>2</sub>OH, C-CH-C), 2.40, 2.26 (2s, 6H, 2 x CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  164.16, 152.08, 146.15, 136.60, 134.53, 130.85, 127.90, 124.21, 100.19, 90.49, 87.23, 85.88, 82.58, 63.70, 62.81, 62.20, 19.37, 18.94.

**1-(1-((1,3-Διυδροξυπροπαν-2-υλ)οξυ)-2-υδροξυαιθυλ)-5-[(6-μεθοξυφθαλενιο)αιθυνο]ουρακίλη (55)**

Το παράγωγο **55** συντίθεται από την ένωση **53** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **5α**. Το

επιθυμητό προϊόν **55** (88 mg, 65%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1. Σημείο Τήξης 162-163 °C. Rf = 0.15 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

$[\alpha]_D^{22} = +15$  (c 0.17, μεθανόλη)

$\lambda_{\max} 286\text{nm}$  ( $\epsilon$  19654)

ESI-MS ( $m/z$ ): 427.14 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{22}H_{22}N_2O_7$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 61.97            H : 5.20            N : 6.57

Ευρ. (%)            C : 62.27            H : 5.60            N : 6.97

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

$\delta$  8.12 (s, 1H, H-6), 7.94-7.12 (m, 6H, naphthalene), 5.99 (t, 1H,  $J = 5.15$  Hz,  $J = 5.13$  Hz N-CH-C), 3.90 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.82 – 3.53 (m, 7H, 3 x  $-\text{CH}_2\text{OH}$ , C-CH-C).

$^{13}\text{C NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

$\delta$  164.57, 160.07, 152.13, 145.48, 135.85, 132.14, 130.38, 129.95, 129.69, 128.09, 120.60, 119.17, 106.90, 100.77, 94.59, 85.79, 82.55, 81.41, 63.69, 62.82, 62.16, 55.89.

**ΠΙ.5.2 Σύνθεση των C5 αλκυνολο (E)-αιθυλο 4-(((E)-4-αιθοξυ-1-(5-ιωδο-ουρακιλη)-4-οξοβουτ-2-εν-1-υλ)οξυ)-5-υδροξυπεντ-2-ενοϊκών εστέρων (59, 60)  
(E)-Αιθυλο 4-(((E)-4-αιθοξυ-1-(5-ιωδο-ουρακιλη)-4-οξοβουτ-2-εν-1-υλ)οξυ)-5-(τριτυλοξυλ)πεντ-2-ενοϊκός εστέρας (57)**

Ένα διάλυμα που περιέχει NaIO<sub>4</sub> (0.23 g, 1.09 mmol) σε H<sub>2</sub>O (10 ml) προστίθεται αργά σε ψυχρό διάλυμα του νουκλεοζίτη **48** (0.612 g, 1 mmol) σε μεθανόλη (10 ml). Το μείγμα της αντίδρασης αναδεύτηκε για μία ώρα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και διηθήθηκε για την απομάκρυνση των αλάτων. Στη συνέχεια εκχυλίστηκε με οξικό αιθυλεστέρα και πλύθηκε με κορεσμένο διάλυμα NaCl και ξηράθηκε υπεράνω MgSO<sub>4</sub>. Ο διαλύτης απομακρύνθηκε με εξάτμιση και παρέμεινε μία λευκή σκόνη που αντιστοιχούσε στην παραγόμενη διαλδεΰδη. Η ακατέργαστη διαλδεΰδη διαλύθηκε σε πρόσφατα απεσταγμένο THF, προστέθηκε (αιθοξυκαρβονυλομεθυλεν)τριφαινοφωσφοράνιο (0.871 g, 2.5 mmol) και το μίγμα θερμάνθηκε στους 40°C με κάθετο ψυκτήρα για μία ώρα. Μετά το πέρας της αντίδρασης το μίγμα εκχυλίστηκε με κορεσμένο διάλυμα NH<sub>4</sub>Cl και ξηράθηκε υπεράνω MgSO<sub>4</sub>, ο διαλύτης εξατμίστηκε και το κίτρινο έλαιο που παρέμεινε καθαρίστηκε με στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθύλεστερα / *n*-εξάνιο 2:8 για να δώσει τον προστατευμένο νουκλεοζίτη **57** (0.435 g, 0.58 mmol) υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού. R<sub>f</sub> = 0.52 (οξικό αιθύλεστερα / *n*-εξάνιο 2:8).

$$[\alpha]_D^{22} = +22 \quad (c 0.25, \text{χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 286 \text{ nm} \quad (\epsilon 21538)$$

ESI-MS (*m/z*): 751.14 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>36</sub>H<sub>35</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 57.61            H : 4.70            N : 3.73

Ευρ. (%)            C : 58.01            H : 5.10            N : 4.13

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.62 (s, 1H, NH), 7.61 (s, 1H, H-6), 7.41-7.25 (m, 15H, trityl), 6.72 (dd, 1H, *J* = 3.5 Hz, *J* = 15.6 Hz, H-3), 6.69 (dd, 1H, *J* = 6.7 Hz, *J* = 15.8 Hz, H-2), 6.35 (dd, 1H, *J* = 6.7 Hz, *J* = 15.8 Hz, H-2'), 6.29 (t, 1H, *J* = 3.4 Hz, H-1), 6.11 (dd, 1H, *J* = 1.2 Hz, *J* =

15.8 Hz, H-3'), 4.28 (dd, 2H,  $J = 6.1$  Hz,  $J = 13.3$  Hz, CH<sub>2</sub>), 4.21 (dd, 2H,  $J = 7.1$  Hz,  $J = 14.2$  Hz, CH<sub>2</sub>), 4.03-3.99 (m, 1H, H-4), 3.38 (dd, 1H,  $J = 7.4$  Hz,  $J = 11.0$  Hz, -H-5), 3.23 (dd, 1H,  $J = 3.4$  Hz, H-5'), 1.35 (t, 3H,  $J = 7.2$  Hz, CH<sub>3</sub>), 1.29 (t, 3H,  $J = 7.2$  Hz, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  165.32, 164.96, 159.38, 150.07, 144.07, 143.36, 141.21, 139.76, 128.64, 128.47, 128.05, 127.96, 127.90, 127.30, 127.23, 127.14, 126.10, 125.27, 87.38, 79.79, 77.24, 70.25, 65.56, 61.26, 60.90, 14.15.

**(E)-Αιθυλο, 4-(((E)-4-αιθοξυ-1-(5-ιωδο-ουρακιλη)-4-οξοβουτ-2-εν-1-υλ)οξυ)-5-υδροξυπεντ-2-ενοϊκός εστέρας (58)**

Το παράγωγο **58** συντίθεται από την ένωση **57** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **50**. Το επιθυμητό προϊόν **58** (88 mg, 95%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 3:7. Σημείο Τήξης 182-184 °C. Rf = 0.35 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 3:7).

$[\alpha]_D^{22} = +23$  (c 0.31, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max} 286$  nm ( $\epsilon$  24167)

ESI-MS ( $m/z$ ): 509.03 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 40.17            H : 4.16            N : 5.51

Ευρ. (%)            C : 40.57            H : 4.36            N : 5.81

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  8.80 (s, 1H, NH), 7.71 (s, 1H, H-6), 6.79 (dd, 1H,  $J = 6.7$  Hz,  $J = 15.3$  Hz, H-2), 6.75 (dd, 1H,  $J = 3.9$  Hz,  $J = 15.8$  Hz, H-3), 6.38 (t, 1H,  $J = 3.3$  Hz, H-1), 6.35 (dd, 1H,  $J = 1.2$  Hz,  $J = 15.8$  Hz, H-3'), 6.11 (dd, 1H,  $J = 1.2$  Hz,  $J = 15.8$  Hz, H-2'), 4.32 (s, 1H, OH), 4.28-4.18 (m, 4H, 2x CH<sub>2</sub>, H-4), 3.74 (dd, 1H,  $J = 2.9$  Hz,  $J = 11.9$  Hz, -H-5), 3.67 (dd, 1H,  $J = 7.5$  Hz, H-5'), 1.34 (t, 3H,  $J = 7.2$  Hz, CH<sub>3</sub>), 1.31 (t, 3H,  $J = 7.2$  Hz, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 165.48, 165.01, 159.96, 150.61, 144.68, 144.04, 139.63, 126.23, 125.15, 80.59, 79.07, 69.76, 64.25, 61.29, 60.98, 14.14.

**(E)-Αιθυλο 4-(((E)-4-αιθοξυ-1-((2-φθοροφαινυλο)αιθυνολουρακίλη)-4-όξοβουτ-2-εν-1-υλο)οξυ)-5-υδροξυπεντ-2-ενοϊκός εστέρας (59a)**

Το παράγωγο **59a** συντίθεται από την ένωση **58** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20a**. Το επιθυμητό προϊόν **59a** (75 mg, 74%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 3:7. R<sub>f</sub> = 0.36 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 3:7).

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = +21 (c 0.14, χλωροφόρμιο)

λ<sub>max</sub> 286 nm (ε 19547)

ESI-MS (m/z): 501.16 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>25</sub>H<sub>25</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 60.00            H : 5.03            N : 5.60

Ευρ. (%)            C : 60.20            H : 5.13            N : 5.90

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.83 (s, 1H, NH), 7.66 (s, 1H, H-6), 7.51 (dd, 1H, *J* = 8.2 Hz, *J* = 7.4 Hz, Bz), 7.32 (dd, 1H, *J* = 8.2 Hz, *J* = 7.4 Hz, Bz), 7.01 (dd, 2H, *J* = 6.7 Hz, *J* = 15.3 Hz, Bz), 6.81 (dd, 1H, *J* = 3.9 Hz, *J* = 15.8 Hz, H-3), 6.77 (dd, 1H, *J* = 3.9 Hz, *J* = 15.8 Hz, H-2), 6.46 (t, 1H, *J* = 3.3 Hz, H-1), 6.39 (dd, 1H, *J* = 1.2 Hz, *J* = 15.8 Hz, H-3'), 6.13 (dd, 1H, *J* = 1.2 Hz, *J* = 15.8 Hz, H-2'), 4.36 (s, 1H, OH), 4.28-4.20 (m, 5H, 2x CH<sub>2</sub>, H-4), 3.74 (dd, 1H, *J* = 2.9 Hz, *J* = 11.9 Hz, H-5), 3.67 (dd, 1H, *J* = 7.5 Hz, H-5'), 1.33 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz, CH<sub>3</sub>), 1.30 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz, CH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$  165.48, 165.01, 160.07, 159.96, 150.61, 144.68, 144.04, 139.63, 133.11, 126.23, 126.08, 125.15, 123.09, 115.01, 109.32, 93.25, 86.43, 80.59, 79.07, 69.76, 64.25, 61.29, 60.98, 14.14.

**(E)-Αιθυλο 4-(((E)-4-αιθοξυ-1-((2-χλωροφαινυλο)αιθυλοουρακιλη)-4-οξοβουτ-2-εν-1-υλ)οξυ)-5-υδροξυπεντ-2-ενοϊκός εστέρας (59β)**

Το παράγωγο **59β** συντίθεται από την ένωση **58** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20α**. Το επιθυμητό προϊόν **59β** (75 mg, 78%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 3:7. Rf = 0.42 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 3:7).

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +19$  (c 0.15, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\text{max}} 286 \text{ nm}$  ( $\epsilon$  21547)

ESI-MS ( $m/z$ ): 517.13 ( $\text{M}+\text{H}^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{ClN}_2\text{O}_8$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 58.09            H : 4.87            N : 5.42

Ευρ. (%)            C : 58.49            H : 4.47            N : 5.82

 $^1\text{H}$ -NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$  8.70 (s, 1H, NH), 7.66 (s, 1H, H-6), 7.56 (dd, 1H,  $J = 8.2 \text{ Hz}$ ,  $J = 7.4 \text{ Hz}$ , Bz), 7.40 (dd, 1H,  $J = 8.2 \text{ Hz}$ ,  $J = 7.4 \text{ Hz}$ , Bz), 7.21 (dd, 2H,  $J = 6.7 \text{ Hz}$ ,  $J = 15.3 \text{ Hz}$ , Bz), 6.80 (dd, 1H,  $J = 3.9 \text{ Hz}$ ,  $J = 15.8 \text{ Hz}$ , H-3), 6.78 (dd, 1H,  $J = 3.9 \text{ Hz}$ ,  $J = 15.8 \text{ Hz}$ , H-2), 6.45 (t, 1H,  $J = 3.3 \text{ Hz}$ , H-1), 6.39 (dd, 1H,  $J = 1.2 \text{ Hz}$ ,  $J = 15.8 \text{ Hz}$ , H-3'), 6.14 (dd, 1H,  $J = 1.2 \text{ Hz}$ ,  $J = 15.8 \text{ Hz}$ , H-2'), 4.34 (s, 1H, OH), 4.28-4.21 (m, 5H, 2x  $\text{CH}_2$ , H-4), 3.74 (dd, 1H,  $J = 2.9 \text{ Hz}$ ,  $J = 11.9 \text{ Hz}$ , H-5), 3.67 (dd, 1H,  $J = 7.5 \text{ Hz}$ , H-5'), 1.34 (t, 3H,  $J = 7.2 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_3$ ), 1.31 (t, 3H,  $J = 7.2 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_3$ ).



$^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$  165.48, 165.01, 160.07, 159.96, 150.61, 144.68, 144.04, 139.63, 133.11, 126.23, 126.08, 125.15, 123.09, 115.01, 109.32, 93.25, 86.43, 80.59, 79.07, 69.76, 64.25, 61.29, 60.98, 14.14.

**(E)-Αιθυλο 4-(((E)-4-αιθοξυ-1-((1,4-διμεθυλοφαινυλο)αιθυλοουρακιλη)-4-οξοβουτ-2-εν-1-υλ)οξυ)-5-υδροξυπεντ-2-ενοϊκός εστέρας (59γ)**

Το παράγωγο **59γ** συντίθεται από την ένωση **58** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20α**. Το επιθυμητό προϊόν **59γ** (79 mg, 82%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 3:7. Rf = 0.42 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 3:7).

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +24^\circ$  (c 0.18, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\text{max}}$  286 nm ( $\epsilon$  21574)

ESI-MS ( $m/z$ ): 511.20 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 63.52            H : 5.92            N : 5.49

Ευρ. (%)            C : 63.92            H : 5.62            N : 5.89

 $^1\text{H}$ -NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$  8.83 (s, 1H, NH), 7.57 (s, 1H, H-6), 7.27 (s, 1H, Bz), 7.07 (d, 1H,  $J = 7.7$  Hz, Bz), 7.02 (d, 1H,  $J = 7.7$  Hz, Bz), 6.80 (dd, 1H,  $J = 3.9$  Hz,  $J = 15.8$  Hz, H-3), 6.77 (dd, 1H,  $J = 3.9$  Hz,  $J = 15.8$  Hz, H-2), 6.45 (t, 1H,  $J = 3.3$  Hz, H-1), 6.39 (dd, 1H,  $J = 1.2$  Hz,  $J = 15.8$  Hz, H-3'), 6.14 (dd, 1H,  $J = 1.2$  Hz,  $J = 15.8$  Hz, H-2'), 4.35 (s, 1H, OH), 4.26-4.20 (m, 5H, 2xCH<sub>2</sub>, H-4), 3.73 (dd, 1H,  $J = 2.9$  Hz,  $J = 11.9$  Hz H-5), 3.67 (dd, 1H,  $J = 7.5$  Hz, H-5'), 2.42, 2.27 (2s, 6H, 2xCH<sub>3</sub>), 1.32 (t, 3H,  $J = 7.2$  Hz, CH<sub>3</sub>), 1.29 (t, 3H,  $J = 7.2$  Hz, CH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$  165.48, 165.01, 160.07, 159.96, 150.61, 144.68, 144.04, 139.63, 133.11, 126.23, 126.08, 125.15, 123.09, 115.01, 109.32, 93.25, 86.43, 80.59, 79.07, 69.76, 64.25, 61.29, 60.98, 20.75, 20.22, 14.34, 14.14.

**(E)-Αιθυλο 4-(((E)-4-αιθοξυ-1-((6-μεθοξυναφθαλενιο)αιθυλοουρακιλη)-4-οξοβουτ-2-εν-1-υλ)οξυ)-5-υδροξυπεντ-2-ενοϊκός εστέρας (60)**

Το παράγωγο **60** συντίθεται από την ένωση **58** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **20a**. Το επιθυμητό προϊόν **60** (68 mg, 69%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού στερεού, μετά από καθαρισμό σε στήλη χρωματογραφίας με διαλύτη έκλουσης, οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 3:7. Σημείο τήξης 192-193 °C. Rf = 0.28 (οξικό αιθυλεστέρα / *n*-εξάνιο 3:7).

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +24$  (c 0.10, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\text{max}}$  286 nm ( $\epsilon$  26413)

ESI-MS (*m/z*): 563.20 ( $\text{M}+\text{H}^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_9$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 64.05            H : 5.38            N : 4.98

Ευρ. (%)            C : 64.25            H : 5.58            N : 4.78

 $^1\text{H}$ -NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$  8.83 (s, 1H, NH), 7.57 (s, 1H, H-6), 7.27 (s, 1H, Bz), 7.07 (d, 1H,  $J = 7.7$  Hz, Bz), 7.02 (d, 1H,  $J = 7.7$  Hz, Bz), 6.80 (dd, 1H,  $J = 3.9$  Hz,  $J = 15.8$  Hz, H-3), 6.77 (dd, 1H,  $J = 3.9$  Hz,  $J = 15.8$  Hz, H-2), 6.45 (t, 1H,  $J = 3.3$  Hz, H-1), 6.39 (dd, 1H,  $J = 1.2$  Hz,  $J = 15.8$  Hz, H-3'), 6.14 (dd, 1H,  $J = 1.2$  Hz,  $J = 15.8$  Hz, H-2'), 4.00 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 4.35 (s, 1H, OH), 4.26-4.20 (m, 5H,  $2 \times \text{CH}_2$ , H-4), 3.73 (dd, 1H,  $J = 2.9$  Hz,  $J = 11.9$  Hz, H-5), 3.67 (dd, 1H,  $J = 7.5$  Hz, H-5'), 1.32 (t, 3H,  $J = 7.2$  Hz,  $\text{CH}_3$ ), 1.29 (t, 3H,  $J = 7.2$  Hz,  $\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$  165.48, 165.01, 160.07, 159.96, 150.61, 144.68, 144.04, 139.63, 133.11, 129.64, 129.16, 126.23, 126.08, 125.15, 123.09, 115.01, 109.32, 105.93, 93.25, 86.43, 80.59, 79.07, 69.76, 64.25, 61.29, 60.98, 55.82, 14.28.

#### IV. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Με επιτακτική την ανάγκη για την εύρεση νέων χημειοθεραπευτικών παραγόντων και με βάση τις σημαντικές φαρμακευτικές ιδιότητες των νουκλεοζιτικών αναλόγων, στην παρούσα διατριβή παρουσιάστηκε η σύνθεση και η βιολογική αποτίμηση 70 νέων νουκλεοζιτών, οι οποίοι φέρουν τροποποιημένους εξαμελείς, πενταμελείς υδατανθρακικούς δακτυλίους καθώς και άκυκλα τμήματα αλλά και τροποποίηση στον άνθρακα (C5) της ουρακίλης. Όλα τα μόρια-στόχοι ταυτοποιήθηκαν φασματοσκοπικά με φάσματα υπεριώδους, πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού άνθρακα και υδρογόνου, φασματοσκοπία μάζας, καθώς και στοιχειακές αναλύσεις.

Η προτεινόμενη συνθετική μεθοδολογία είχε ως κεντρικούς άξονες είτε αντιδράσεις που αφορούσαν την αρχική τροποποίηση των σακχάρων και την μετέπειτα σύζευξή τους με τις αντίστοιχες νουκλεοβάσεις (φθορουρακίλη, ιωδοουρακίλη) και στην συνέχεια τροποποίηση της βάσης, είτε αντιδράσεις τροποποίησης των υδατανθρακικών δακτυλίων ήδη συντεθειμένων νουκλεοζιτών. Με βάση την πρώτη συνθετική κατεύθυνση σχεδιάστηκαν και συντέθηκαν οι 3'-C-τριφθορομεθυλο-, 3'-C-μεθυλο-πυρανονουκλεοζίτες, 3'-C-δεοξυ-3'-C-μεθυλο-φουρανονουκλεοζίτες και 3'-C-δεοξυ-φουρανονουκλεοζίτες ενώ επιλέγοντας τη δεύτερη συνθετική προσέγγιση παρασκευάστηκαν οι 2'-C-δεοξυ-φουρανονουκλεοζίτες και οι άκυκλοι νουκλεοζίτες. Πρέπει να τονιστεί ότι στις περισσότερες περιπτώσεις οι αντιδράσεις πυρηνόφιλης προσθήκης της τριφθορομεθυλο- και της μεθυλο- ομάδας στα κατάλληλα υποστρώματα, αλλά και οι αντιδράσεις αναγωγής για την παρασκευή των αντίστοιχων δεοξυ-νουκλεοζιτών λαμβάνουν χώρα με εξαιρετικό στερεοχημικό έλεγχο, οδηγώντας στη σύνθεση ενός μόνο από τα δύο πιθανά ισομερή.

Αναλυτικότερα μέσω μιας απλής και σύντομης συνθετικής πορείας με αφετηρία ένα εύκολα προσβάσιμο αρχικό υπόστρωμα, παρασκευάστηκαν οι 3'-C-τριφθορομεθυλο- (**5α**) και 3'-C-μεθυλο-πυρανονουκλεοζίτες (**5β**). Βιολογικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στους συγκεκριμένους πυρανονουκλεοζίτες, απέδειξαν ότι ο 3'-C-τριφθορομεθυλο-νουκλεοζίτης της 5-φθορουρακίλης (**5α**) εμφάνισε μέτρια κυτταροτοξική δράση έναντι των L1210 και HeLa καρκινικών κυτταρικών σειρών με τιμές 38 και 44  $\mu\text{M}$ , αντίστοιχα. Προκειμένου να εξαχθούν χρήσιμα συμπεράσματα για τη σχέση χημικής δομής-βιολογικής δραστηριότητας των

τριφθορομεθυλο- και μεθυλο-πυρανονουκλεοζιτών κρίθηκε σκόπιμη η σύνθεση των αντίστοιχων δεοξυ- αναλόγων τους. Εκμεταλλευόμενοι την διαθεσιμότητα των τριφθορομεθυλο- (**2α**) και μεθυλο- (**2β**) σακχάρων παρασκευάστηκαν τα αντίστοιχα 3-δεοξυ- **6α,β** σάκχαρα μέσω μιας αντίδρασης αποξυγόνωσης τύπου Barton-McCombie, με την επιθυμητή 3*R* διαμόρφωση. Όμως, η υδρόλυση των δύο ακετονιδίων των σακχάρων **6α,β**, χρησιμοποιώντας υδατικό διάλυμα όξινης ρητίνης IR-120 H<sup>+</sup> και στη συνέχεια απευθείας ακετυλίωση με επίδραση οξικού ανυδρίτη (Ac<sub>2</sub>O) σε πυριδίνη οδήγησε στα 3-δεοξυ-3-*C*-τριφθορομεθυλο- **8α** και 3-δεοξυ-3-*C*-μεθυλο- **8β** φουρανο- σάκχαρα, αντί για τα αναμενόμενα πυρανοσαάκχαρα. Το αποτέλεσμα αυτό αποδεικνύεται τόσο από τις σταθερές σύζευξης των πρωτονίων H-1 και H-2, όσο και από πειράματα μοριακής δυναμικής που διενεργήσαμε, με την χρήση ηλεκτρονικού υπολογιστή. Έτσι οδηγηθήκαμε στην σύνθεση των φουρανο-νουκλεοζιτών της 5 φθοροουρακίλης **10α,β** και **11α,β**.

Στην προσπάθεια μας να ξεπεράσουμε τις δυσκολίες που συναντήσαμε κατά την προηγούμενη πειραματική διαδικασία και να συνθέσουμε επιτυχώς τα δεοξυ-πυρανοζυλο- ανάλογα της 5-φθοροουρακίλης αποφασίσαμε να ακολουθήσουμε διαφορετική πορεία. Χρησιμοποιώντας τις αλλοπυρανόζες **3α,β**, και μέσω της ίδιας αντίδρασης αποξυγόνωσης οδηγηθήκαμε στις 3'-δεοξυ-3'-*C*-τριφθορομεθυλο- και 3'-*C*-μεθυλο-γλυκοπυρανόζες **12α,β**, οι οποίες στην συνέχεια μετατράπηκαν στους αντίστοιχους νουκλεοζίτες της 5-φθοροουρακίλης **14α,β**.

Οι νεοσυντιθέμενοι πυρανονουκλεοζίτες **10α,β**, **11α,β** και **14α,β** μελετήθηκαν ως προς την ανασταλτική τους δράση έναντι των κυττάρων λευχαιμίας ποντικού (L1210), του ανθρώπινου λεμφώματος (CEM) καθώς και των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του τραχήλου της μήτρας (HeLa). Ο νουκλεοζίτης 1-(3'-δεοξυ-3'-*C*-μεθυλ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλη **11β** (~7 μM) παρουσίασε σημαντική κυτταροτοξική δράση έναντι και των τριών κυτταρικών σειρών, παρόμοια με αυτή της ελεύθερης βάσης 5-φθοροουρακίλη (0.49 - 18 μM).

Η αξιολόγηση κυτταροτοξική δράση του 3'-*C*-τριφθορομεθυλο-αλλοπυρανονουκλεοζίτη της 5-φθοροουρακίλης (**5α**), μας οδήγησε να σχεδιάσουμε και να συνθέσουμε μία νέα τάξη C5- φαινυλο υποκατεστημένων 3'-*C*-τριφθορομεθυλο-αλλοπυρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης που θα φέρουν υποκατεστημένους φαινολικούς δακτυλίους. Έτσι, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση και η βιολογική αποτίμηση μιας νέας τάξης C5-φαινυλο-αλκυνο-3'-*C*-τριφθορομεθυλο-αλλοπυρανονουκλεοζιτών αναλόγων της ουρακίλης, που φέρουν

υποκατεστημένο αρωματικό δακτύλιο με αλογόνα (F, Cl), μεθυλο- ομάδες (CH<sub>3</sub>) και μεθοξυ-ομάδες (OCH<sub>3</sub>) στη θέση (*ortho*, *meta*, *para*) του αρωματικού δακτυλίου. Οι C5 τριφθορομεθυλο- νουκλεοζίτες **16α-ε** και **17α-ε** της ουρακίλης που προέκυψαν αποτιμήθηκαν προς την αντιική και κυτταροτοξική τους δράση. Οι νουκλεοζίτες **16γ** και **16δ**, οι οποίοι φέρουν μεθυλο- υποκατάσταση στον βενζολικό δακτύλιο εμφάνισαν μέτρια κυτταροστατική δράση έναντι των καρκινικών κυτταρικών σειρών L1210 και HeLa με IC<sub>50</sub> 23 και 20 μM, αντίστοιχα, ενώ εμφάνισαν εφάμιλλη δράση με αυτή της 5-FU (IC<sub>50</sub> 18 ± 5 μM) για την καρκινική σειρά CEM με τιμές IC<sub>50</sub> 20 και 19 μM, αντίστοιχα.

Λόγω της σημαντικής κυτταροτοξικής δράσης που εμφάνισε ο 3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλο-φουρανονουκλεοζίτης της 5-φθοροουρακίλης (**11β**) (IC<sub>50</sub>: 6.5-9.0μM), θεωρήσαμε ενδιαφέρον να σχεδιάσουμε και να συνθέσουμε μία νέα τάξη C5-φαίνυλο- υποκατεστημένων ριβοφουρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης που θα φέρουν υποκατεστημένους φαινολικούς δακτυλίους, καθώς και πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες. Έτσι, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση και η βιολογική αποτίμηση μιας νέας τάξης C5-φαινυλο-αλκυνολο 3'-δυοξυ-, 3'-δυοξυ-3'-C-μεθυλο-, 2'-δέοξυ-ριβοφουρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης, με υποκατεστημένο αρωματικό δακτύλιο. Οι νεοσυντιθέμενοι C5 τροποποιημένοι **20α-δ**, **21**, **22α-δ**, **23**, 3'-δεοξυ-**29α-δ**, **30α-δ**, **31**, **32**, 3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλο- **38α-δ**, **39**, **40α-δ**, **41**, 2'-δεοξυ- **43α-δ**, **44α-δ**, **45**, **46** ριβοφουρανοζύλο- νουκλεοζίτες της ουρακίλης, εξετάστηκαν για τη πιθανή αντιική και αντικαρκινική τους δράση. Οι C5 τροποποιημένοι προστατευμένοι νουκλεοζίτες 3'-δεοξυ-2-χλωροφαινυλακετυλένιο (**29β**), -2,4-διμεθυλφαινυλ ακετυλένιο (**29γ**), -2,4,5 - τριμεθυλφαινυλαιθυνολο- (**29δ**) και 3'-δεοξυ-3'-μεθυλ-2-φθοροφαινυλαιθυνολο (**38α**), 2-χλωροφαινυλαιθυνολο- (**38β**), -2,4-διμεθυλφαινυλαιθυνολο- (**38γ**), έδειξαν ότι παρεμποδίζουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων CEM, με τιμές IC<sub>50</sub> (~20 μM) συγκρίσιμες με αυτή της 5-FU (18 μM).

Τα τελικά προϊόντα αποτιμήθηκαν επίσης για την αντιική τους δράση έναντι μιας πληθώρας τόσο DNA όσο και RNA ιών. Τα νουκλεοζιτικά ανάλογα **29β**, **31**, **38α-γ**, εμφάνισαν αναστολή της αντιγραφής του ιού Coxsackie B4, του ιού της αναπνευστικής ανεπάρκειας, του ιού του κίτρινου πυρετού και του ανθρώπινου κορωνοϊού (229E), με τιμές EC<sub>50</sub> από 1.4 έως 34 μM. Συγκεκριμένα, η 1-(2'-O-ακετυλ-5'-O-βενζοϋλ-3'-δεοξυ-β-D-ριβοφουρανοζύλο)-5-[(2-χλωροφαινυλ)αιθυνολ]ουρακίλη (**29β**) ήταν ενεργή ενάντια στον ιό Coxsackie B4 σε

HeLa και Vero κύτταρα ( $EC_{50}$  10.5 και 13  $\mu\text{M}$ , αντίστοιχα), στον ιό της αναπνευστικής ανεπάρκειας σε HeLa κύτταρα ( $EC_{50}$  20  $\mu\text{M}$ ) και στον ιό του κίτρινου πυρατού σε Vero κύτταρα ( $EC_{50}$  10.5  $\mu\text{M}$ ) όπου η ελάχιστη συγκέντρωση που παρατηρούνταν αλλαγή στην μορφολογία των φυσιολογικών (MCC) να είναι της τάξης των 100  $\mu\text{M}$  τόσο για την κυτταρική σειρά Vero, όσο και για την HeLa. Οι νουκλεοζίτες 1-(2'-O-ακετυλ-5'-O-βενζοϋλ-3'-δεοξυ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(6-μεθοξυναφθαλεν)αιθυνυλ]ουρακίλης (**31**) και 1-(2'-O-ακετυλ-5'-O-βενζοϋλ-3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2-φθοροφαινυλ)αιθυνυλ]ουρακίλη (**38a**) επέδειξαν δράση έναντι του ιού του κίτρινου πυρετού σε κύτταρα Vero ( $EC_{50}$  10.5 και 11  $\mu\text{M}$ , αντίστοιχα). Ο νουκλεοζίτης 1-(2'-O-ακετυλ-5'-O-βενζοϋλ-3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2,5-διμεθυλφαινυλ)αιθυνυλ]ουρακίλη (**38γ**) εμφάνισε δράση έναντι του ιού Coxsackie B4 σε Vero κύτταρα ( $EC_{50}$  1.4  $\mu\text{M}$ ), ενώ ο 1-(2'-O-ακετυλ-5'-O-βενζοϋλ-3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλ-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5-[(2,4,5-τριμεθυλφαινυλ)αιθυνυλ]ουρακίλη (**38δ**) εμφάνισε δράση έναντι του ανθρώπινου κορωνοϊού σε HEL κύτταρα ( $EC_{50}$  34  $\mu\text{M}$ ). Το παράγωγο **38γ** (MCC 20  $\mu\text{M}$  για τα Vero κύτταρα) αποδείχθηκε περισσότερο τοξικό από ότι τα παράγωγα **31**, **38a** (MCC 100  $\mu\text{M}$  για τα κύτταρα Vero) and **38δ** (MCC >100  $\mu\text{M}$  για τα HEL κύτταρα). Πρέπει επίσης να επισημανθεί ότι ο δείκτης εκλεκτικότητας (SI) για τους νουκλεοζίτες **29β**, **31**, **38a** και **38γ** έναντι των ιών Coxsackie B4 και κίτρινου πυρετού κυμάνθηκε σε υψηλά επίπεδα από 8 έως 14.

Αναλογιζόμενοι την αξιοσημείωτη βιολογική δράση των άκυκλων νουκλεοζιτών καθώς και την σημαντική αντιική δράση που επέδειξαν οι C5 τροποποιημένοι 3'-δεοξυ- (**29β**, **31**) και 3'-δεοξυ-3'-C-μεθυλο- (**38a,γ,δ**) της ουρακίλης, αποφασίσαμε να συνθέσουμε νέους άκυκλους νουκλεοζίτες οι οποίοι θα φέρουν τα ίδια τμήματα στον C5 της ουρακίλης με αυτά των προαναφερθέντων μορίων δηλαδή, υποκατεστημένο αρωματικό δακτύλιο με τα αλογόνα φθορίου (F) και χλωρίου (Cl), μεθυλο-ομάδες σε διάφορες θέσεις του δακτυλίου και το 6-μεθοξυ-ναφθαλίνιο. Οι νεοσυντιθέμενοι C5 τροποποιημένοι άκυκλοι νουκλεοζίτες της ουρακίλης **50**, **51**, **52a-γ**, **53**, **54a-γ**, **55**, **59a-γ**, **60** Οι ενώσεις αξιολογήθηκαν για την κυτταροστατική τους δράση έναντι του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων παγκρεατικού αδενοκαρκινώματος (Capan-1), χρόνιας μυελογενής λευχαιμίας (Har-1), καρκινώματος του ορθού (HCT-116), καρκίνου του πνεύμονος (NCI-H460), οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας (DND-41), οξείας μυελογενούς λευχαιμίας (HL-

60), χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας (K-562) και μη-Hodgkin λέμφωμα (Z-138). Κανένα από τα μόρια δεν εμφάνισε αξιόλογη κυτταροστατική δράση.

Αξίζει επίσης να επισημανθεί ότι, όλες οι αντιδράσεις που απαιτούσαν θέρμανση διεξήχθησαν με την μέθοδο των μικροκυμάτων. Αυτή η μέθοδος θεωρείται «πράσινη» τεχνική, φιλική προς το περιβάλλον, καθώς η δυνατότητα εκτέλεσης αντιδράσεων με απ' ευθείας αλληλεπίδραση μικροκυματικής ενέργειας επί του μίγματος της αντίδρασης, σε πολύ μικρούς χρόνους, σε αντιδιαστολή προς την έμμεση μεταφορά ενέργειας με την χρήση ελαιόλουτρου ή παρόμοιας συσκευής, οδηγεί σε μειωμένη κατανάλωση ενέργειας.



## V. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Agrofolio, L.A.; Gillaizeau, I.; Saito, Y., *Chem. Rev.*, **2003**, *103*, 1875.
- Ahn, Y. J.; Park, S. J.; Lee, S. G.; Shin, S. C.; Choi D. H., *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 2744.
- Aivazashalli, V. A.; Mikhailov, S. N.; Padyukova, N. Sh.; Karpeiskii, M. Ya.; Bibilashvilli, R. H. *Biorg. Khim.*, **1986**, *12*, 708.
- Andrei, G.; Snoeck, R.; Goubau, P.; Desmyter, J.; De Clercq, E., *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, **1992**, *11*, 143.
- Andrei, G.; Snoeck, R.; Schols, D.; Goubau, P.; Desmyter, J.; De Clercq, E., *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, **1991**, *10*, 1026.
- Antonakis, K. "Hexopyranose nucleosides". In *Studies in Natural Products Chemistry, Stereoselective Synthesis (Part C)*; Elsevier, Amsterdam, **1989**, *4*, p. 241.
- Arshad, L; Jantan, I; Haque, A., *Frontiers in Pharmacology*, **2017**, *8*, 1.
- Balatsos, N. A. A.; Vlachakis, D.; Maragozidis, P.; Manta, S.; Anastasakis, D.; Kyritsis, A.; Vlassi, M.; Komiotis, D.; Stathopoulos, C., *Biochemistry* **2009**, *48*, 6044.
- Balatsos, N.; Vlachakis, D.; Chatzigeorgiou, V.; Manta, S.; Komiotis, D.; Vlassi, M.; Stathopoulos C., *Biochimie* **2012**, *94*, 214.
- Baldwin, S.A.; Beal, P.R.; Yao, S.Y.; King, A.E.; Cass, C.E.; Young, J.D., *Pflugers. Arch-Eur. J. Physiol.* **2004**, *447*, 735.
- Balzarini, J.; Aquaro, S.; Perno, C.-F.; Witvrouw, M.; Holy', A.; DeClercq, E., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1996**, *219*, 337.
- Barba, P.; Sampol, A.; Calbacho, M.; Gonzalez, J.; Serrano, J.; Martinez-Sanchez, P.; Fernández, P.; García-Boyeró, R.; Bueno, J.; Ribera, J.M., *Am J Hematol.*, **2012**, *87*, 631.
- Barletta, J; Greer, S.B., *Antiviral Res.*, **1992**, *1*.
- Barton, D. H. R.; McCombie, S. W., *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1975**, *1*, 1574.
- Bazzaro, M; Anchoori, R.K.; Mudiam, M.K.R.; Issaenko, O.; Kumar, S.; Karanam, B.; Lin, Z; Isaksson - Vogel, R.; Gavioli, R.; Destro, F.; Ferretti, V.; Roden, R.B.S.; Khan, S.R., *J. Med. Chem.*, **2011**, *54*, 449.
- Berdis, A. J., *Biochemistry* **2008**, *47*, 8253.

- Bhat, U. G.; Pandit, B.; Gartel, A. L., *Molecular cancer therapeutics* **2010**, *9*, 1688.
- Blackburn, G. M.; Gait, M. J., *Nucleic Acids in Chemistry and Biology*. Oxford University Press: New York, **1990**; p 446.
- Bothner-By, A.A., *Adv. Magn. Reson.*, **1965**, *1*, 195.
- Boyd, MR.; Bacon, TH.; Sutton, D.; Cole, M., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **1987**, *31*, 1238.
- Brakta, M.; Murthy, D.; Ellis, L.; Phadtare, S. *Bioorg. Med. Chem.*, **2002**, *12*, 1489.
- Chirakul, P.; Sigurdsson, S.T. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 917. Liu, X.; Guo, X.; Wang, F.; Lei, G.; Luo, D., *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **2007**, *26*, 45.
- Chong, Y.; Choo, H.; Lee, S.; Choi, Y.; Shcinazi, R. F.; Chu, C. K., *J. Med. Chem.*, **2002**, *45*, 4888.
- Chu, C. K.; Ma, T. W.; Shanmuganathan, K.; Wang, C. G.; Xiang, Y. J.; Pai, S. B.; Yao, G. Q.; Sommadossi, J.-P.; Cheng, Y.-C., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1995**, *4*, 979.
- Čihac, A., *Oncology*, **1974**, *30*, 405.
- Cohen, M. H.; Johnson, J. R.; Justice, R; Pazdur, R., *The Oncologist*, **2008**, *13*, 709.
- Couturier, S.; Aljarah, M.; Gosselin, G.; Mathe, C.; Perigaud, C., *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 11260.
- De Clercq, E., *Biochim Biophys Acta.*, **2002a**, *1587*, 258.
- De Clercq, E., *J. Clin. Virol.*, **2004**, *30*:115-133
- De Clercq, E.; Descamps, J.; Balzarini, J.; Giziewicz, J.; Barr, P. J.; Robins, M. J., *J. Med. Chem.*, **1983**, *26*, 661-666.
- Dewar, M. J. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, *106*, 669.
- Dimopoulou, A.; Manta, S.; Kiritsis, C.; Gkaragkouni, D.N.; Papisotiriou, I.; Balzarini, J.; Komiotis, D., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2013**, *23*, 1330.
- Dimopoulou, A.; Manta, S.; Kiritsis, C.; Gkaragkouni, D.N.; Papisotiriou, I.; Balzarini, J.; Komiotis, D., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2013**, *23*, 1330.
- Dryer, G. B.; Dervan, P. B., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **1981**, *78*, 6633.
- Efangea, S.M.N.; Cheng, Y.-C.; Bardos, T. J., *Nucleos. Nucleot.*, **1985**, *4*, 545.

- Eldrup, A.B; Allerson, C.R.; Bennett, C.F.; Bera, S.; Bhat, B.; Bhat, N.; Bosserman, M. R.; Brooks, J.; Burlein, C.; Carroll, S. S.; Dan Cook, P.; Getty, K. L.; MacCoss, M.; McMasters, D. R.; Olsen, D. B.; Prakash, T. P.; Prhavic, M.; Song, Q.; Tomassini, J. E.; Xia, *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 2283.
- Elhalabi, J.; Rice, K. G., *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **2004**, *23*, 195.
- Elion, GB; Rideout, JL; De Miranda, P; Collins, P; Bauer, DJ., *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1975**, *225*, 468.
- Estey, E.H., *Leukemia*, **2013**, *1*.
- Etzold, G.; Hintsche, R.; Kowollik, G.; Langen, P., *Tetrahedron* **1971**, *27*, 2463.
- Ewald, B.; Sampath, D.; Plunkett, W., *Oncogene*, **2008**, *27*, 6522-6537.
- Eyer, L.; Valdés, J. J.; Gil, V. A.; Nencka, R.; Hrebabecký, H.; Šála, M.; Salát, J.; Cerný, J.; Palus, M.; De Clercq, E.; Ružeka, D., *Antimicrob Agents Chemother.*, **2015**, 5483.
- Ferrero, M.; Gotor, V., *Chem. Rev.*, **2000**, *100*, 4319.
- Field, A.K.; Davis, M.E.; De Witt, C.; Perry, H.C.; Liou, R.; Germershausen, J.; Karkas, J.D.; Ashton, W.T.; Johnston, D.B.R.; Tolman, R.L., *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **1983**, *80*, 4139.
- Fischer E.; Helferich B. Ber., *Deutsch. Chem. Ges.* **1914**, *47*, 210.
- Flowers, M.; Fabrias, G.; Delgado, A.; Casas, J.; Abad, J.L.; Cabot, M.C., *Breast Cancer Res. Treat.*, **2012**, *133*, 447.
- Földesi, A; Nilson,F.P.; Glemarec, C.; Gioeli, C.; Chattopadhyaya, J., *Tetrahedron*, **1992**, *41*, 9033.
- Froehler, B. C.; Wadwani, S.; Terhorst, T. J.; Gerrard, S. R., *Tetrahedron Lett.*, **1992**, *33*, 5307.
- Galmarini, C. M.; Mackey, J. R.; Dumontet, C., *Lancet. Oncol.*, **2002**, *3*, 415.
- Gedye, R.; Smith, F.; Westway, K.; Ali, H.; Laberge, L.; Rousell, J., *Tetrahedron Lett.*, **1986**, *27*, 279.
- Giguere, R. G.; Bray, T. L.; Duncan, S. M.; Majetich, G., *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 4945.
- Goodwin, J. T.; Glick, G. D., *Tetrahedron Lett.*, **1993**, *34*, 5549.

- Gosselin, G; Puech, F; Genu-Dellac, C; Imbach, J.L., *Carbohydr. Res.*, **1993**, 249, 1.
- Gumina, G.; Song, G. Y.; Chu, C. K., *FEMS Microbiology Letters*, **2001**, 202, 9.
- Haines, D. R.; Tseng, C. K. H.; Marquez, V. E., *J. Med. Chem.*, **1987**, 30, 943.
- Haouz, A.; Vanheusden, V.; Munier-Lechman, H.; Froeyen, M.; Herdewijn, P.; Van Galenbergh, S.; Delarue, M., *J. Biol. Chem.*, **2003**, 278, 4963.
- Hayes, J. M.; Skamnaki, V. T.; Drakou, C.; Zographos, S. E.; Komiotis, D.; Leonidas, D., *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, 18, 3413.
- Herdewijn, P. (2008). *Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Hernández-Reyes, C. X.; Angeles-Beltrán, D.; Lomas-Romero, L.; González-Zamora, E.; Gaviño, R.; Cárdenas, J.; Morales-Serna, J. A.; Negrón-Silva, G. E., *Molecules*, **2012**, 17, 3359-3369.
- Hertel, L.W.; Kroin, J. S.; Misner, J.W.; Tustin, J. M., *J. Org. Chem.*, **1988**, 53, 2406.
- Huheey, J., E. *J. Phys. Chem.*, **1965**, 69, 3284.
- Ichikawa E. ; Kato K., *Curr. Med. Chem.*, **2001**, 4, 385.
- Jeannot, F.; Gosselin, G.; Standring, D.; Bryant, M.; Sommadossi, J.-P.; A. G. Loi, A. G.; La Colla, P.; Math`e, C., *Bioorg. Med. Chem.*, **2002**, 10, 3153.
- Johansson, N. G.; Eriksson, S., *Acta Biochim Pol.*, **1996**, 43, 143-160.
- Johnson, C. R.; Bhumralkar, D. R., *Nucleosides & Nucleotides*, **1995**, 14, 185.
- Jordheim, L.P.; Durantel, D.; Zoulim, F.; Dumontet, C., *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2013**, 12, 447.
- Karran, P., *Br. Med. Bull.*, **2006**, 79-80, 153.
- King, A.E.; Ackley, M.A.; Cass, C.E.; Young, J.D.; Baldwin, S.A., *Trends Pharmacol. Sci.*, **2006**, 27, 416.
- Kiritsis C.; Manta S.; Papisotiriou I.; Coutouli-Argyropoulou E.; Trakossas S.; Balzarini J., *Med. Chem.*, **2012**, 8, 320.
- Komiotis, D.; Agelis, G.; Manta, S.; Tzioumaki, N.; Tsoukala, E., *Journal of Carbohydrate Chemistry*, **2006**, 25, 441.
- Kumar, R.; Sharma, N.; Nath, M.; Saffran, H. A.; Tyrrell, D. L., *J. Med. Chem.*, **2001**, 44, 4225.

- Lagoja, I.M., Pyrimidine as constituent of natural biologically active compounds. *Chem. Biodivers.*, **2005**, *2*, 1.
- Lavaire S.; Plantier-Royon R.; Portella C., *J. Carbohydr. Chem.*, **1996**, *15*, 361.
- Lefebvre, D.J.; De Vleeschauwer, A.R.; Goris, N.; Kollanur, D.; Billiet, A.; Murao, L.; Neyts, J.; De Clercq, K., *Transbound Emerg. Dis.*, **2014**, E89.
- Leist, T.P.; Vermersch, P., *Curr. Med. Res. Opin.*, **2007**, *23*, 2667.
- Leven, P. A.; Jacobs, W. A., *Ber.*, **1909**, *42*, 2474.
- Lin, J. C.; De Clercq, E.; Pagano, J. S., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1987**, *31*, 1431.
- Lin, T. S.; Zhu, J. L.; Dutschman, G. E.; Cheng, Y. C.; Prusoff, W. H., *J. Med. Chem.*, **1993**, *36*, 353.
- Liotta, D.C.; Painter, G.R., *Acc. Chem. res.*, **2016**, *49*, 2091.
- Lucki, N.C.; Sewer, M.B., *J. Biol. Chem.*, **2011**, *286*, 19399.
- Lui, V. W. Y. W.; Lau, C. P. Y. P.; Cheung, C. S. F. S.; Ho, K.; Ng, M. H. L. H.; Cheng, S. H. H.; Hong, B.; Tsao, S.-W. W.; Tsang, C. M. M.; Lei, K. I. K. I.; Yamasaki, Y.; Mita, A.; Chan, A. T., *Biochemical pharmacology*, **2010**, *79*, 1772.
- MacCoss, M.; Robins, M. J. "Anticancer Pyrimidines, Pyrimidine Nucleosides and Prodrugs". In the chemistry of Antitumor Agents; Wilman, D. E. V. Ed.; Chapman and Hall: New York, **1990**, p. 261.
- Mane, R.S.; Ghosh, S.; Chopade, B.A; Reiser, O.; Dhavale, D.D., *J. Org. Chem.*, **2011**, *76*, 2892.
- Manta, S.; Agelis, G.; Botić, T.; Cencič, A.; Komiotis, D., *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, *15*, 980.
- Manta, S.; Agelis, G.; Botić, T.; Cencič, A.; Komiotis, D., *Eur. J. Med. Chem.*, **2008**, *43*, 420.
- Manta, S.; Parmenopoulou, V.; Kiritsis, C.; Dimopoulou, A.; Kollatos, N.; Papatirou, I.; Balzarini, J.; Komiotis, D., *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, **2012**, *31*, 522.
- Manuprasad, BK; Murthy, VS; Shashikanth, S; Rakshith, D; Satish, S; Raveesha, KA., *Der Pharma Chem.*, **2011**, *3*, 45.

- Matsuda, A.; Okajima, H.; Masuda, A.; Kakefuda, A.; Yoshimura, Y.; Ueda, T., *Nucleosides Nucleotides*, **1992**, *104*, 197.
- Maurinsh, Y.; Schraml, J.; De Winter, H.; Blaton, N.; Peeters, O.; Lescrinier, E.; Rozenski, J.; Van Aerschot, A.; De Clercq, E.; Busson, R.; Herdewijn, P., *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 2861.
- McLeod, H.L.; Coulthard, S.; Thomas, A.E.; Pritchard, S.C.; King, D.J.; Richards, S.M.; Eden, O.B.; Hall, A.G.; Gibson, B.E., *Br. J. Haematol.*, **1999**, *105*, 696.
- Meneni, S.; Ott, I.; Sergeant, C. D.; Sniady, A.; Gust, R.; Dembinski, R., *Med. Chem.*, **2007**, *15*, 3082.
- Miethchen, R. J., *Fluorine Chem.*, **2004**, *125*, 895.
- Montagu, A.; Roy, V.; Balzarini, J.; Snoeck, R.; Andrei, G. Agrofoglio, L.A., *Eur. J. Med. Chem.*, **2011**, *46*, 778.
- Lee, Y.S.; Park, S.M.; Kim, H.M.; Park, S.K.; Lee, K.; Lee, C.W.; Kim, B.H., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, *19*, 4688.
- Naito, T.; Yokogawa, T.; Kim, H.S.; Futagami, M.; Wataya, Y.; Matsuda, A.; Fukushima, M.; Kitade, Y.; Sasaki, T., *Nucleic Acids Res. Suppl.*, **2002**, *241*, 2.
- Nord, D. L.; Dalley, N. K.; Mc Kernan, P. A.; Robins, R. K., *J. Med. Chem.*, **1987**, *30*, 1044.
- Nutt, R. F.; Dickinson, M. J.; Holly, F. W.; Walton, E., *J. Org. Chem.*, **1968**, *33*, 1789.
- Ojima, W.; Geng, X.; Wu, X.; Qu, C.; Borella, C. P.; Xie, H.; Wilhelm, S. D.; Leece, B. A.; Bartle, L. M.; Goldmacher, V. S.; Chari, R. V. J., *J. Med. Chem.*, **2002**, *45*, 5620.
- Ostrowski, T.; Wroblowski, B.; Busson, R.; Rozenski, J.; De Clercq, E.; Bennet, M. S.; Champness, J. N.; Summers, W. C.; Sanderson, M. R.; Herdewijn, P., *J. Med. Chem.*, **1998**, *41*, 4343.
- Paddon-Row, M. N.; Houk, K. N., *J. Phys. Chem.*, **1985**, *89*, 3771.
- Pałasz, A.; Ciez, D., *Eur. J. Med. Chem.*, **2014**, *97*, 582.
- Parker, W.B.; Cheng Y.C., *Pharmacol Ther.*, **1990**, *48*, 381.
- Pastor-Anglada, M.; Felipe, A.; Casado, F.J., *Trends Pharmacol Sci.*, **1998**, *19*, 424.

- Pauwels, R; Balzarini, J.; Schols, D.; Baba, M.; Desmyter, J.; Rosenberg, I.; Holy', A.; De Clercq, E., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1988**, *32*, 1025.
- Perigaud, C.; Gosselin, G.; Imbach, J. L., *Nucleos. Nucleot.*, **1992**, *11*, 903.
- Pizzirani, D.; Bach, A.; Realini, N.; Armirotti, A.; Mengatto, L.; Bauer, I.; Giroto, S.; Pagliuca, C.; De Vivo, M.; Summa, M.; Ribeiro, A.; Piomelli, D., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2015**, *54*, 485.
- Rai, D.; Johar, M.; Manning, T; Agrawal, B; Kunimoto, D.Y.; Kumar, R. J., *Med. Chem.*, **2005**, *48*, 7012.
- Raić-Malić, S.; Meščić, A., *Curr. Med. Chem.*, **2015**, *22*, 1462.
- Realini, N.; Solorzano, C.; Pagliuca, C.; Pizzirani, D.; Armirotti, A.; Luciani, R.; Costi, M.P.; Bandiera, T.; Piomelli, D., *Sci. Rep.*, **2013**, *3*, 1035.
- Relling, M.V.; Hancock, M.L.; Boyett, J.M.; Pui, C.H.; Evans, W.E., *Blood*. **1999**, *93*, 2817.
- Robins, M.J.; Barr, P.J., *J. Org.Chem.*, **1983**, *48*, 1854.
- Robins, R. K.; Kini, G. D. "Purines and Purine Nucleoside Analogues as Antitumor Agents". In *The Chemistry of Antitumor Agents*; Wilman, D. E. V. Ed.; Chapman and Hall: New York, **1990**, p.299.
- Rocha-Pereira, J.; Jochmans, D.; Dallmeier, K.; Leyssen, P.; Cunha, R.; Costa, I.; Nascimento, M.S.J.; Neyts, J., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2012**, *796*.
- Rocha-Pereira, J.; Jochmans, D.; Debing, Y.; Verbeken, E.; Nascimento, M.S.J.; Neyts, J., *J. Virol.*, **2013**, *11*, 798.
- Rüngeler, P; Castro,V; Mora, G; Gören, N; Vichnewski, W; Pahl, H.L.; Merfort, I; Schmidt, T.J., *Biorg. Med. Chem.*, **1999**, *7*, 2343.
- Sági, J.; Szemző, A.; Ébinger, K.; Szabolcs, A.; Sági, G.; Ruff, E.; Ötvös, L., *Tetrahedron Lett.*, **1993**, *34*, 2191.
- Sari, O.; Roy, V.; Balzarini, J.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Agrofoglio,L.A., *Eur. J. Med. Chem.*, **2012**, *53*, 220.
- Seebach, D., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1990**, *29*, 1320.
- Sharma PK; Nair V., *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, **2000**, *19*, 757.
- Siev, M.; Weinberg, R.; Penman, S., *J. Cell Biol.*, **1969**, *41*, 510.
- Smee, D.F.; Martin, J.C.; Verheyden, J.P.H.; Matthews, T.R., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **1983**, *23*, 576.

- Sonogashira, K.; Tohda, Y.; Hagihara, N., *Tetrahedron Lett.*, **1975**, *16*, 4467.
- Spanou, C.; Manta, S.; Komiotis D.; Dervishi, A.; Kouretas, D., *Int. J. Mol. Sci.*, **2007**, *8*, 695.
- Spanou, C.; Tzioumaki, N.; Manta, S.; Margaris, P.; Kouretas, D.; Komiotis, D.; Liadaki, K., *Pharmacology & Pharmacy*, **2011**, *2*, 122.
- Stauffer, C.S.; Fothergill, A.W.; Rinaldi, M.G.; Dutta, A., *Future Med. Chem.*, **2009**, *1*, 379.
- Szafraniec, S. I.; Stacknic, K. J.; Skierski, J. S., *Acta Pol. Pharm. Drug.*, **2004**, *61*, 223.
- Takatori, S.; Kanda, H.; Takenaka, K.; Wataya, Y.; Matsuda, A.; Fukushima, M.; Shimamoto, Y.; Tanaka, M.; Sasaki, T., *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **1999**, *44*, 97.
- Tong, G. L.; Lee, W. W.; Goodman, L., *J.Org. Chem.*, **1967**, *32*, 1984.
- Tsoukala, E.; Tzioumaki, N.; Manta, S.; Riga, A.; Balzarini, J.; Komiotis, D., *Bioorg. Chem.*, **2010**, *38*, 285.
- Tzioumaki, N.; Manta, S.; Tsoukala, E.; Voorde J.V.; Liekens, S.; Komiotis, D.; Balzarini, J. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 993.
- Tzioumaki, N.; Tsoukala, E.; Manta, S.; Agelis, G.; Balzarini, J.; Komiotis, D., *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, **2009**, *342*, 353.
- Van Rompay, A R.; Johansson, M.; Karlsson, A., *Pharmacol Ther.*, **2000**, *87*, 189.
- Vanheusden, V.; Lehmann, H. M.; Froeyen, M.; Dugue, L.; Heyerick, J. A.; De Keukeleire, D.; Pochet, S.; Busson, R.; Herdewijn, P.; Van Calenbergh, S., *Med. Chem.*, **2003**, *46*, 3811.
- Vastmans, K.; Pochet, S.; Peys, A.; Kerremans, L.; Van Aerschot, A.; Hendrix, C.; Marliere, P.; Herdewijn, P., *Biochemistry*, **2000**, *39*, 12757.
- Verheggen, I.; Van Aerschot, A.; Toppet, S.; Snoeck, R.; Janssen, G.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Herdewijn, P., *J. Med. Chem.*, **1993**, *36*, 2033.
- Verheggen, I.; Van Aerschot, A.; Van Meervelt, L.; Rozenski, J.; Wiebe, L.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Balzarini, J.; Claes, P.; De Clercq, E.; Herdewijn, P., *J. Med. Chem.*, **1995**, *38*, 826.
- Vincent, P.; Beaucourt, J. P.; Pichat, L.; Balzarini, J.; De Clercq, E., *Nucleos. Nucleot.*, **1985**, *4*, 429.



- Vorbrüggen, H.; Höfle, G., *Chem. Ber.*, **1981**, *114*, 1256.
- Vorbrüggen, H.; Krolukiewicz, K.; Benua, B.U., *Chem. Ber.*, **1981**, *114*, 1234.
- Wagner, C. R.; Iyer, V. V.; McIntee, E., *J. Med. Res. Rev.*, **2000**, *20*, 417.
- Walko, C.M.; McLeod, H., *Nat. Clin. Pract. Oncol.*, **2009**, *6*, 153.
- Walton, E.; Jenkis, S.; Nutt, R. F.; Zimmerman, M.; Holly, F. W., *J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, *88*, 4524.
- Watanabe, K. A.; Reichman, U.; Hirota, K.; Lopez, C.; Fox, J. J., *J. Med. Chem.*, **1979**, *22*, 21.
- Watanabe, K.A.; Chiu, T.M.K.; Hollenberg, D.H.; Fox, J.J., *J. Org. Chem.*, **1974**, *39*, 2482.
- Wataya, Y.; Futagami, M.; Naito, T.; Uchikubo, Y.; Yokogawa, T.; Takenaka, K.; Kim, H.S.; Matsuda, A.; Fukushima, M.; Kitade, Y., *Nucleic Acids Res. Suppl.*, **2001**, *4*, 233.
- Wu, Y.; Hong, J. H., *Il Farmaco*, **2005**, *60*, 739.
- Yoshimura, Y.; Saitoh, K.; Ashida, N.; Sakata, S.; Matsuda, A., *Bioorg. Med. Chem.Lett.*, **1994**, *4*, 721.
- Zhang, J.; Visser, F.; King, K.M.; Baldwin, S.A.; Young, J.D.; Cass, C.E., *Cancer Metastasis Rev.*, **2007**, *26*, 85.
- Zhou, W.; Gumina, G.; Chong, Y.; Wang, J.; Schinazi, R. F.; Chu, C. K., *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 3399.
- Wang, A; Wu, S.; Zeyu Tao, Z.; Li, X.; Kai Lv, K.; Ma,C.; Li, Y.; Li, L.; Liu, M., *Med. Chem. Lett.*, **2019**, *10*, 991.

## ABSTRACT

The important role of nucleosides in their chemical behavior and biological activity has led the researchers to synthesize modified nucleosides in both moieties, the base and carbohydrate ring, with excellent antiviral, anticancer and antimicrobial activity. This dissertation is focused on the synthesis of novel nucleoside analogs with modifications in both moieties, the sugar and the uracil ring, and on acyclic nucleosides with a modification on the uracil base, as well.

On the basis of the great biological importance of nucleosides for the health and well being of humans as well as previously reported data that: a) trifluoromethyl and methyl groups are considerable pharmacophore groups for biological activity, b) acyclic nucleosides considered to have exceptional antiviral and cytostatic activities and c) alkynyl-modified nucleosides and especially pyrimidine derivatives substituted at C5, have been shown to possess interesting biological properties. It was of interest to design and synthesize a new series of modified C5 uracil nucleosides bearing modified pyrano- and furano carbohydrate rings as well as acyclic moieties.

The target nucleosides were evaluated for their antiviral and cytostatic properties using several virus strains and cancer cell lines.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ-ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ



## Note

## Branched-chain sugar nucleosides: stereocontrolled synthesis and bioevaluation of novel 3'-C-trifluoromethyl and 3'-C-methyl pyranonucleosides



Nikolaos Kollatos<sup>a</sup>, Stella Manta<sup>a</sup>, Athina Dimopoulou<sup>a</sup>, Vanessa Parmenopoulou<sup>a</sup>, Virginia V. Triantakonstanti<sup>b</sup>, Tahsin Kellici<sup>c,d</sup>, Thomas Mavromoustakos<sup>c</sup>, Dominique Schols<sup>e</sup>, Dimitri Komiotis<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Biochemistry and Biotechnology, Laboratory of Bioorganic Chemistry, University of Thessaly, 41221 Larissa, Greece

<sup>b</sup> Department of Chemistry, Aristotle University of Thessaloniki, University Campus, 54124 Thessaloniki, Greece

<sup>c</sup> Department of Chemistry, Laboratory of Organic Chemistry, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimioupolis, Zografou 15771, Greece

<sup>d</sup> Department of Chemistry, Section of Organic Chemistry and Biochemistry, University of Ioannina, GR-45110 Ioannina, Greece

<sup>e</sup> Department of Microbiology and Immunology, Rega Institute for Medical Research, KU Leuven, B-3000 Leuven, Belgium

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 11 November 2014

Received in revised form

27 January 2015

Accepted 28 January 2015

Available online 7 February 2015

## Keywords:

C-Trifluoromethyl nucleosides

C-Methyl nucleosides

Cytotoxicity

5-Fluorouracil

## ABSTRACT

A new series of 3'-C-trifluoromethyl- and 3'-C-methyl-β-D-allopyranonucleosides of 5-fluorouracil and their deoxy derivatives has been designed and synthesized. Treatment of ketosugar **1** with trifluoromethyltrimethylsilane under catalytic fluoride activation and methyl magnesium bromide, gave 1,2:5,6-di-O-isopropylidene-3-C-trifluoromethyl (**2a**) and 3-C-methyl (**2b**)-α-D-allofuranose, respectively, in a virtually quantitative yield and with complete stereoselectivity. Hydrolysis followed by acetylation led to the 1,2,4,6-tetra-O-acetyl-3-C-trifluoromethyl (**3a**) and 3-C-methyl (**3b**)-β-D-allopyranose. Compounds **3a,b** were then condensed with silylated 5-fluorouracil and deacetylated to afford the target nucleosides **5a,b**. Deoxygenation of the peracetylated allopyranoses **3a,b** followed by condensation with silylated 5-fluorouracil and subsequent deacetylation yielded the target 3'-deoxy-3'-C-trifluoromethyl and 3'-deoxy-3'-C-methyl-β-D-glucopyranonucleosides **14a,b**. The newly synthesized compounds were evaluated for their potential antiviral and cytostatic activities. The 3'-deoxy-3'-C-methyl-ribonucleoside **11b** showed significant cytotoxic activity (~7 μM) almost equally active against a variety of tumor cell lines.

© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Nucleosides possess a broad spectrum of biological functions, ranging from their primary roles as building blocks in the genetic code to other functions such as biosynthetic intermediates, energy donors, metabolic regulators, and cofactors in enzymatic processes. Because of this, nucleosides and their synthetic analogs have generated considerable scientific interest in their chemistry and biology.<sup>1</sup> However, as some of these nucleosides also undergo enzymatic degradations, a number of modifications has been carried out on both the sugar portion and the heterocycle to circumvent these deactivating processes.

Alterations of the sugar moiety of nucleosides may lead to significant changes in the spectrum of their biological activity and degree of selective toxicity, as well as in their physicochemical properties.<sup>2</sup> Branched chain sugar nucleosides have received much attention as potential chemotherapeutic agents as well as in antisense oligonucleotide research.<sup>3</sup> Among the most important modifications, trifluoromethyl and methyl are considerable pharmacophore groups for biological activity. Thus, a number of 3'-C-branched nucleosides are known including 1-(3'-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)uracil-5'-phosphate, an effective terminator of the synthesis of RNA catalyzed by *E. coli* RNA polymerase,<sup>4</sup> while trifluoromethyl containing compounds are commonly applied as agents with better pharmacokinetic properties like increased membrane permeability, enhanced hydrophobic properties, and comparatively less environmental and mammalian toxicity.<sup>5</sup>

\* Corresponding author. University of Thessaly, Department of Biochemistry & Biotechnology, Laboratory of Bioorganic Chemistry, 26 Ploutonos Str., 41221 Larissa, Greece. Tel.: +30 2410 565285; fax: +30 2410 565290.

E-mail address: [dkom@bio.uth.gr](mailto:dkom@bio.uth.gr) (D. Komiotis).

During recent years and in connection with our interest on synthetic nucleoside mimetics, we reported novel series of sugar modified pyranonucleosides as *anti*-rotavirus,<sup>6</sup> antioxidant<sup>7</sup> and cytotoxic agents<sup>8</sup> against various cancer cell lines. The introduction of fluoro, keto,<sup>6,9–13</sup> exomethylene,<sup>14–16</sup> ethynyl,<sup>17</sup> azido, amino<sup>18</sup> and cyano<sup>19,20</sup> groups to pyranonucleosides has led to novel scaffolds endowed with interesting biological activities. As a continuation of this work, we embarked on the stereocontrolled synthesis and biological assessment of novel branched chain C-trifluoromethyl and C-methyl pyrimidine pyranonucleosides, 3'-C-trifluoromethyl and 3'-C-methyl-β-D-allopyranonucleosides **5a,b** as well as 3'-C-trifluoromethyl and 3'-C-methyl-3'-deoxy-β-D-glucopyranonucleosides **14a,b** containing 5-fluorouracil as base moiety, since its efficacy makes it one of the most widely used agents against solid tumors.<sup>21</sup>

Our first synthesis included the preparation of 3'-C-trifluoromethyl- and 3'-C-methyl-β-D-allopyranonucleosides of 5-fluorouracil **5a,b**. Retrosynthetic analysis suggested that the target compounds could be obtained after direct introduction of the trifluoromethyl and methyl group at the 3'-position of the corresponding 3'-keto deoxynucleosides. However, the instability of the 3'-ketonucleosides, due to their susceptibility to β-elimination of the nucleobase<sup>22</sup> prompted us to prepare the appropriate carbohydrate precursors and to subsequently couple them with the nucleobase. The carbohydrate precursors were compounds **3a,b** and they were synthesized from 1,2:5,6-di-O-isopropylidene-α-D-ribo-hexofuranos-3-ulose (**1**)<sup>23</sup> as shown in Scheme 1. Treatment of ketosugar **1** with trifluoromethyltrimethylsilane (TFMTS) under catalytic fluoride activation and methyl magnesium bromide in dry diethyl ether (Et<sub>2</sub>O) at –20 °C, gave 1,2:5,6-di-O-isopropylidene-3-C-trifluoromethyl (**2a**) and 3-C-methyl (**2b**)-α-D-allofuranose<sup>24,25</sup> respectively, in a virtually quantitative yield and with complete stereoselectivity. Stereochemical control of this reaction arises from the presence of the adjacent isopropylidene group, which prevents the trifluoromethyl and methyl group from approaching from α-face of the sugar ring. Hydrolysis of **2a** and **2b** using Amberlite IR 120 (H<sup>+</sup>) resin in methanol (MeOH) followed by acetylation using acetic anhydride (Ac<sub>2</sub>O) in pyridine led to the 1,2,4,6-tetra-O-

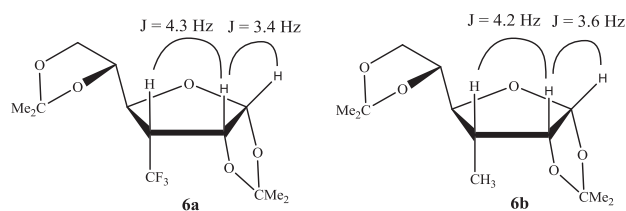
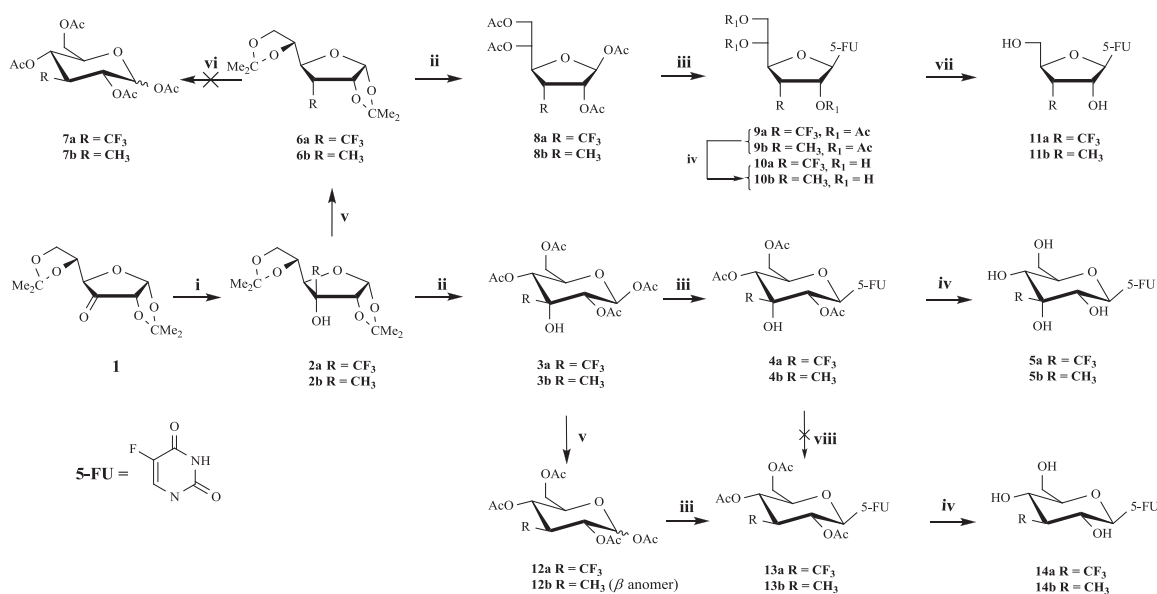


Fig. 1. Coupling constant data from the <sup>1</sup>H NMR spectra of **6a** and **6b**.

acetyl-3-C-trifluoromethyl (**3a**) and -3-C-methyl-β-D-allopyranose (**3b**), respectively. Glycosylation reactions with persilylated 5-fluorouracil and sugar precursors **3a** and **3b**, under Vorbruggen<sup>26</sup> conditions using (trimethylsilyl) trifluoromethane sulfonate (TMSOTf) as a catalyst in anhydrous acetonitrile (CH<sub>3</sub>CN), afforded peracetylated allopyranonucleosides **4a,b**. <sup>1</sup>H NMR data showed large coupling constants between protons H-1' and H-2' (J<sub>1',2'</sub> 9.2 Hz for **4a** and 9.4 Hz for **4b**) and revealed that, as expected, these compounds had the β configuration. Fully deprotection of **4a,b**, performed by saturated methanolic ammonia, gave the target nucleosides **5a,b**.

To further investigate the structural determinants of trifluoromethyl and methyl nucleosides for the biological activity, the synthesis of a new class of 3'-C-trifluoromethyl and 3'-C-methyl-3'-deoxy-pyranonucleosides was also undertaken (Scheme 1). Thus, treatment of **2a,b** with methyl oxalyl chloride in anhydrous CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gave the corresponding ester derivatives, which underwent subsequent deoxygenation and hydrogen atom abstraction from tributyltin hydride (Bu<sub>3</sub>SnH) from the β-face to give **6a,b** with the desired 3R configuration, in good yields.<sup>24,25</sup> The α-stereochemistry of the trifluoromethyl and methyl group was established from the observed *cis*-coupling between H-2 and H-3 (Fig. 1). The strategy attempted to successfully synthesize the desired 3-deoxy pyranoses **7a,b**, involved acetolysis of their di-O-isopropylidene furanose intermediates **6a,b**, as previously reported.<sup>6,17–19</sup> Surprisingly, treatment of **6a,b** either with Amberlite IR 120 (H<sup>+</sup>) resin in MeOH followed by Ac<sub>2</sub>O or acetic acid (AcOH)/Ac<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, or



**Scheme 1.** (i) THF, TFMTS, Tetrabutylammonium fluoride 1 M, 1 h, or Et<sub>2</sub>O, CH<sub>3</sub>MgBr 1 M, –20 °C, 3 h; (ii) a) H<sub>2</sub>O, MeOH, Amberlite IR 120 (H<sup>+</sup>), reflux, 12 h; b) Ac<sub>2</sub>O, pyridine, 1 h; (iii) Silylated 5-FU, CH<sub>3</sub>CN, TMSOTf, reflux, 1 h; (iv) Methanolic ammonia, 12 h; (v) a) Methyl oxalyl chloride, pyridine, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 1 h; b) Bu<sub>3</sub>SnH, AIBN, toluene, 100 °C, 1 h; (vi) a) H<sub>2</sub>O, MeOH, Amberlite IR 120 (H<sup>+</sup>), reflux, 12 h; b) Ac<sub>2</sub>O, pyridine, 1 h, or (AcOH)/Ac<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, or trifluoroacetic acid, Ac<sub>2</sub>O; (vii) NaIO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O, MeOH, ethylene glycol, NaBH<sub>4</sub>, 2 h; (viii) a) Methyl oxalyl chloride, pyridine, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 1 h; b) Bu<sub>3</sub>SnH, AIBN, toluene, 100 °C, 1 h, or Et<sub>3</sub>SiH, trifluoroacetic acid, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 1 h.

trifluoroacetic acid and Ac<sub>2</sub>O, afforded solely the peracetylated β-D-allofuranoses **8a,b**. The β-stereochemistry of the 1-OAc group of compounds **8a,b** was confirmed by the small *trans*-coupling constant observed between H-1 and H-2 ( $J_{1,2} \sim 0$  Hz).<sup>27</sup> A glycosylation reaction with silyl-protected 5-fluorouracil and **8a,b** using TMSOTf as catalyst, led exclusively to the 3'-deoxy-3'-C-trifluoromethyl (**9a**) and 3'-C-methyl (**9b**)-β-D-allofuranosyl nucleosides, due to 2-O-acyl participating group in the starting sugars. Total deprotection of **9a,b**, with saturated methanolic ammonia, provided the nucleosides **10a,b**, which upon periodate oxidation, followed by borohydride reduction of the resulting aldehyde (one pot), furnished the corresponding β-D-ribofuranosyl nucleosides **11a,b**. The degradation of the allo-nucleosides **10a,b** to the ribonucleosides **11a,b** by steps, which are known not to alter the configuration of sugars, together with <sup>1</sup>H NMR evidence ( $J_{1,2} \sim 0$  Hz for **11a,b**) corroborates the existence of β-anomeric ribofuranose rings.<sup>28</sup>

In order to overcome the difficulty encountered in the previous route and to successfully synthesize the desired 3'-C-trifluoromethyl and 3'-C-methyl-3'-deoxy-pyranonucleosides, a different synthetic approach was then investigated (Scheme 1). The peracylated allopyranoses **3a,b** were treated with methyl oxalyl chloride and pyridine in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> to give the corresponding ester derivatives, which were proved to be unstable during the purification process. Therefore, they were directly submitted to deoxygenation with Bu<sub>3</sub>SnH in the presence of 2,2'-azobis(isobutyronitrile) (AIBN), affording anomeric acetates **12a** (ratio of α to β anomer, 0.3:0.7) and the peracetylated β-D-glucopyranose **12b**. Condensation of **12a,b** with per-O-silylated 5-fluorouracil, using TMSOTf as activator, afforded the peracylated 3'-deoxy glucopyranonucleosides **13a,b**, whose <sup>1</sup>H NMR data ( $J_{1,2'}$ ,  $J_{2',3'}$ ,  $J_{3',4'}$  ≥ 9.2 Hz) showed large coupling constants of the neighboring protons H-1', H-2', H-3' and H-4' indicating a β configuration and equatorially oriented base ring as well as trifluoromethyl and methyl groups. Finally, **13a,b** were treated with NH<sub>3</sub>/MeOH to afford the fully deprotected nucleosides **14a,b** in 87% and 59% yields, respectively. Attempts to obtain the desired 3'-deoxy derivatives **13a,b** from their partially acetylated precursors **4a,b** either via esterification and subsequent deoxygenation or treatment with trifluoroacetic acid and triethylsilane<sup>29</sup> in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, were not successful since the starting materials or the unprotected nucleosides **5a,b**, were respectively isolated from the reaction mixture.

The preference of furanose or pyranose products during hydrolysis of di-O-isopropylidene derivatives **2** and **6** can possibly be explained through their intermediate structures shown in Fig. 2. For the reaction shown in Scheme 2, which preferentially leads to the pyranose product, the upper left intermediate is constructed and subjected to energy minimization. The MD calculations were used to monitor the distance of oxygen 1 and 2 and the carbonyl group (shown in dashed lines in Fig. 2) for 2000 conformers that were produced during a 100 ns simulation. Attack of the oxygen 1 to carbonyl group would lead to furanose product while attack of the oxygen 2 would lead to pyranose product. Calculating the average distance between oxygen 1 and the carbon of the carbonyl group over the 2000 low energy conformers, this was found to be 4.2533 Å. The average distance between oxygen 2 and the carbon in the carbonyl group was found to be 3.89 Å justifying the closure of the six member ring versus the five member ring (Fig. 2A). A plausible reason for this is that oxygen 1 of hydroxyl group is oriented towards the adjacent –OH and –CF<sub>3</sub> groups with high propensity of forming hydrogen bonds.

For the reaction of Scheme 3 (R=CF<sub>3</sub>) that leads to the furanose structure, the intermediate structure is shown in Fig. 2B. The MD calculations were used for measuring the distance of oxygen 1 and 2 of 2000 low energy conformers. Attack of the oxygen 1 to carbonyl group would lead to furanose product while attack of the

oxygen 2 would lead to pyranose product. The average distance between oxygen 1 and the carbon of the carbonyl group over the 2000 low energy conformers, was found to be 4.26 Å. The average distance between oxygen 2 and the carbon in the carbonyl group was found to be 4.63 Å justifying the closure of the five member ring versus the six member ring. It is interesting to note that for oxygen 1 in both intermediates the average distance remains almost constant. In this case it is the distance of oxygen 2 that is not favored. A possible explanation for this is that the absence of hydroxyl group geminal to –CF<sub>3</sub> favors a different orientation of the two hydroxyl groups containing oxygen 1 and oxygen 2. As a matter of fact these two hydroxyl groups appear in the same side, in contrast to the previous intermediate, which direct to the opposite sites due to the additional hydroxyl group.

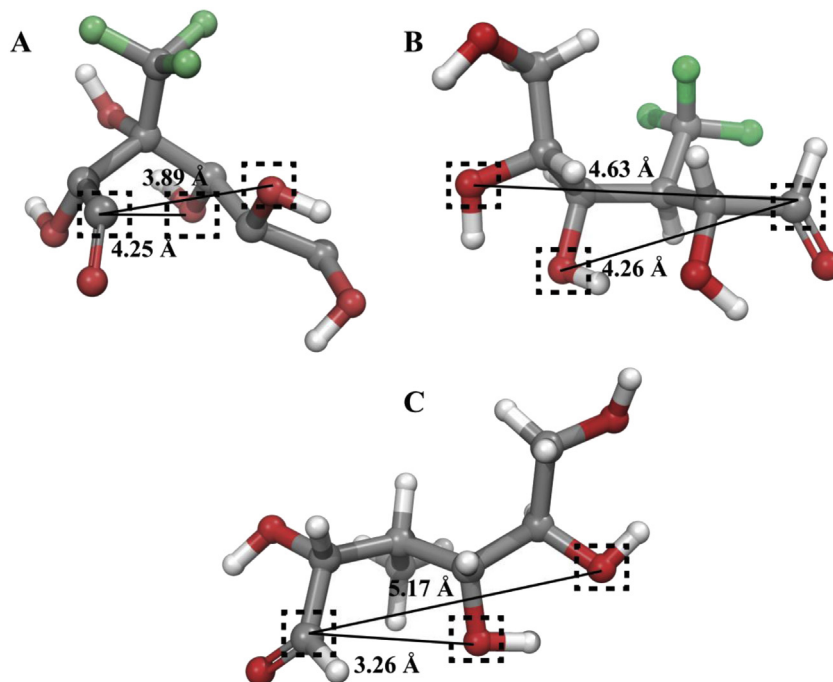
For the same reaction of Scheme 3 (R=CH<sub>3</sub>) (Fig. 2C), the results were even more striking. The average distance between oxygen 1 and the carbon in the carbonyl group was found to be 3.26 Å while the average distance between oxygen 2 and the carbon of the carbonyl group was found to be 5.1715 Å, thus showing the favoring of the furanose structure. An identical reason can explain the synthetic product.

It does not escape our attention that many other reasons can explain the experimental results, like the difference in the activation energy towards the transition state, the possible stability of the intermediates and the products. In an attempt to explain the two possible products for each Schemes 2 and 3 we have compared their energies using DFT and B3LYP/6.31G\* method. The results showed that in both cases the six membered ring products had lower energy as it is expected. However, in the case of Scheme 2, the energy difference between the two possible products was significantly higher than the two possible products of the Scheme 3 ( $\Delta E = 0.01634 E_h$  (42.90 kJ/mol) for Scheme 2, and  $\Delta E = 0.003088 E_h$  (8.10 kJ/mol) for Scheme 3 (Fig. 3).

Thus, the energy values of the two possible products of Scheme 2, justified the six membered ring product. The products of Scheme 3 do not differ in energy significantly and this shows that the five membered ring is almost equally energetically favored as the six membered ring product. This obtained result strengthens our above assumption that the more favored intermediate for five member product can lead to a stable five membered product.

The cytostatic activity of **5a,b**, **10a,b**, **11a,b** and **14a,b** was determined against murine leukemia (L1210), human lymphocyte (CEM) and human cervix carcinoma (HeLa) cell cultures (Table 1). Derivative **11b** showed significant cytotoxic activity against all three tumor cell lines, as these values were quite comparable (~7 μM), while **5a** proved moderately cytostatic against L1210 and HeLa cells (38 and 44 μM, respectively). All synthesized compounds have been also evaluated against a broad panel of DNA and RNA viruses, but were found to be inactive at the highest tested concentration (100–200 μM) showing poor, if any cytostatic activity, in the monolayer cell cultures used for the antiviral assays. To the best of our knowledge, none of the similarly derivatized thymidine and uridine nucleoside analogs reported in the literature,<sup>27,30–32</sup> was endowed with significant antiviral or antitumor activity.

In conclusion, the synthesis of 3'-C-trifluoromethyl- and 3'-C-methyl-β-D-allopyranonucleosides of 5-fluorouracil as well as their 3'-deoxy-ribonucleosides and 3'-deoxy-glucopyranonucleosides was undertaken. The preference of furanose or pyranose structure during hydrolysis of di-O-isopropylidene synthons was successfully explained via MD calculations. All target compounds were subjected to screening for antiviral and cytostatic activity. Whereas no marked antiviral activity was found, the activity of derivative **11b** was in the lower μM range (~7 μM) and almost equally active against L1210, CEM and HeLa tumor cell lines.



**Fig. 2.** (A–C). The lowest energy conformers produced using MD calculations and the average distances between oxygen 1 and 2 with the carbon of aldehyde intermediate over 2000 conformers generated in the simulation trajectory.

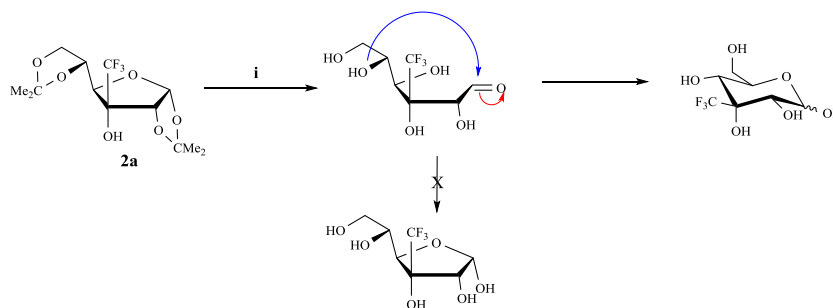
## 1. Experimental part

### 1.1. General procedure

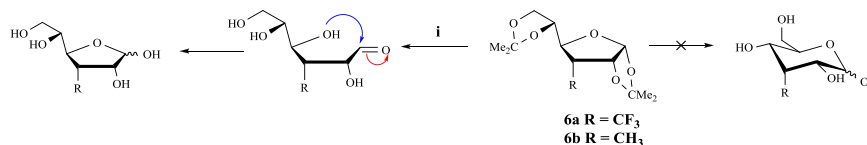
Melting points were recorded in a Mel-Temp apparatus and are uncorrected. Thin layer chromatography (TLC) was performed on Merck precoated 60F<sub>254</sub> plates. Reactions were monitored by TLC on silica gel, with detection by UV light (254 nm) or by charring with sulfuric acid. Flash column chromatography was performed using silica gel (240–400 mesh, Merck). <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectra were obtained at room temperature with a Bruker 300 spectrometer at 300 and 75.5 MHz, respectively using chloroform-*d* (CDCl<sub>3</sub>), dimethylsulfoxide-*d*<sub>6</sub> (DMSO-*d*<sub>6</sub>) and methanol-*d*<sub>4</sub> (CD<sub>3</sub>OD) with internal tetramethylsilane (TMS). Chemical shifts ( $\delta$ ) were given in

parts per million measured downfield from TMS, and spin–spin coupling constants are in Hertz. Mass spectra were obtained on a ThermoQuest Finnigan AQA Mass Spectrometer (electrospray ionization). Optical rotations were measured using an Autopol I polarimeter and UV–Vis spectra were recorded on a PG T70 UV–VIS spectrometer.

Dichloromethane was distilled from phosphorous pentoxide and stored over 4E molecular sieves. Acetonitrile and toluene were distilled from calcium hydride and stored over 3E molecular sieves. Tetrahydrofuran (THF) and Et<sub>2</sub>O were freshly distilled under nitrogen from sodium/benzophenone before use. Pyridine was stored over potassium hydroxide pellets. All reactions sensitive to oxygen or moisture were carried out under nitrogen atmosphere. 1,2:5,6-Di-O-isopropylidene-3-C-trifluoromethyl (**2a**) and 3-C-methyl



**Scheme 2.** (i) H<sub>2</sub>O, MeOH, Amberlite IR 120 (H<sup>+</sup>), reflux, 12 h.



**Scheme 3.** (i) H<sub>2</sub>O, MeOH, Amberlite IR 120 (H<sup>+</sup>), reflux, 12 h.

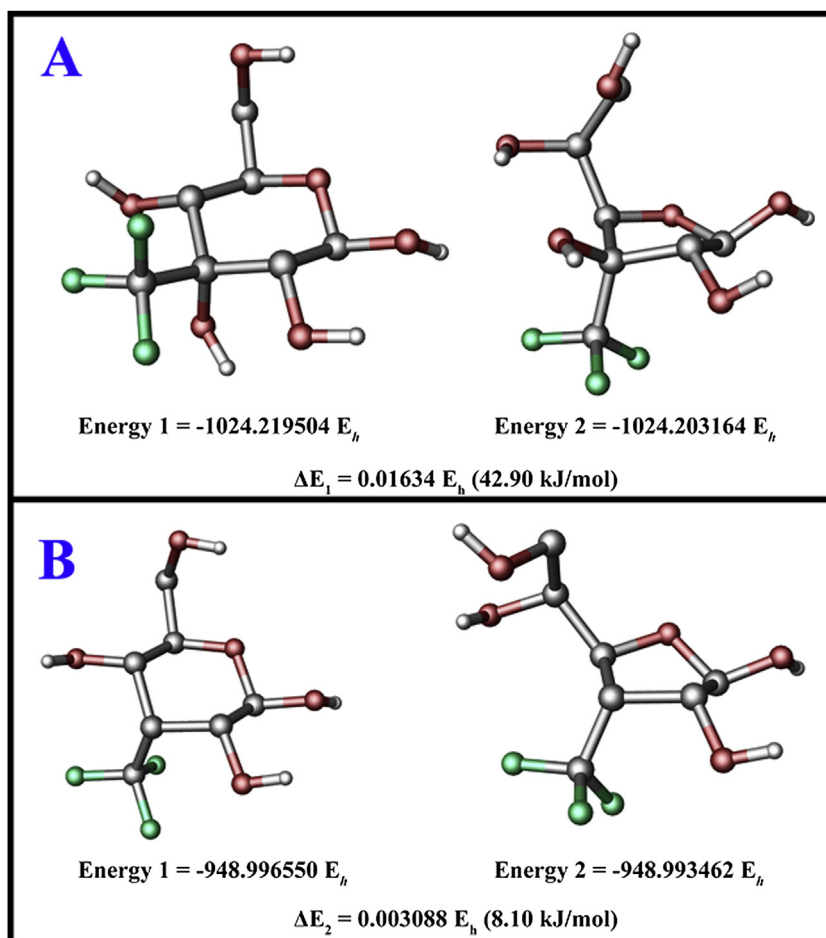


Fig. 3. (A) The two possible products of Scheme 2 and (B) the two possible products of Scheme 3.

(2b)- $\alpha$ -D-allofuranose<sup>24,25</sup> as well as 3-deoxy-1,2:5,6-di-O-isopropylidene-3-C-trifluoromethyl (6a) and 3-C-methyl (6b)- $\alpha$ -D-allofuranose<sup>24,25</sup> were prepared according to the procedures described in literature and their chemical and physical properties were in agreement with previous data.

## 1.2. Synthesis of 1-(3'-C-trifluoromethyl- $\beta$ -D-allopyranosyl)5-fluorouracil (5a)

### 1.2.1. 1,2,4,6-Tetra-O-acetyl-3-C-trifluoromethyl- $\beta$ -D-allopyranose (3a)

To a solution of 2a<sup>24</sup> (2.0 g, 6.09 mmol) in MeOH (9.50 mL) and H<sub>2</sub>O (54 mL) was added Amberlite IR 120 (H<sup>+</sup>) resin and the mixture was refluxed overnight. The reaction mixture was filtered

and evaporated to dryness. The residue was then dissolved in a mixture of pyridine (21 mL) and Ac<sub>2</sub>O (11 mL). The reaction was carried out at room temperature for 1 h, then was quenched with MeOH at 0 °C and was concentrated in vacuum. The residue was diluted with ethyl acetate (EtOAc), washed with saturated NaHSO<sub>4</sub>, NaHCO<sub>3</sub> and H<sub>2</sub>O. The organic extract was dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and evaporated to dryness to give compound 3a (2.03 g, 80%) as a syrup.  $[\alpha]_D^{25} +23$  (c 0.48, CHCl<sub>3</sub>); Rf=0.27 (EtOAc/Hexane, 2:8); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):  $\delta$  5.94 (d, 1H,  $J_{1,2}$ =8.2 Hz, H-1), 5.44 (d, 1H,  $J_{4,5}$ =9.8 Hz, H-4), 5.38 (d, 1H, H-2), 4.27 (dd, 1H,  $J_{5,6b}$ =3.0 Hz,  $J_{6a,6b}$ =12.7 Hz, H-6b), 4.18–4.06 (m, 2H, H-5, H-6a), 2.10 (br s, 12H, 4OAc); Anal. Calcd for C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>F<sub>3</sub>O<sub>10</sub>: C, 43.28; H, 4.60. Found: C, 43.58; H, 4.30; ESI-MS ( $m/z$ ): 416.99 (M+H<sup>+</sup>).

### 1.2.2. 1-(2',4',6'-tri-O-acetyl-3'-C-trifluoromethyl- $\beta$ -D-allopyranosyl)5-fluorouracil (4a)

A mixture of 5-fluorouracil (646 mg, 4.68 mmol), hexamethyldisilazane (HMDS) (1.20 mL, 5.78 mmol) and saccharine (40 mg, 0.22 mmol) in anhydrous CH<sub>3</sub>CN (33.0 mL) was refluxed for 30 min under nitrogen. 1,2,4,6-Tetra-O-acetyl-3-C-trifluoromethyl- $\beta$ -D-allopyranose (3a) (1.62 g, 3.89 mmol) and TMSOTf (1.0 mL, 5.45 mmol) were then added and the reaction mixture was refluxed for 1 h, cooled, neutralized with aqueous NaHCO<sub>3</sub>, and extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×300 mL). The organic extract was dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and evaporated to dryness. The residue was purified by flash chromatography (EtOAc/Hexane, 2:8) to give pure 4a (1.33 g, 70%) as a white solid. mp 122–124 °C;  $[\alpha]_D^{22} -15$  (c 0.41, CHCl<sub>3</sub>); Rf=0.29 (EtOAc/Hexane, 2:8);  $\lambda_{max}$  262 nm ( $\epsilon$  8434);

Table 1  
Cytostatic activity of test compounds against tumor cell proliferation in cell culture

Compound	IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (μM)		
	L1210	CEM	HeLa
5a	38±6	>250	44±5
5b	>250	>250	>250
10a	223±38	>250	>250
10b	167±0	>250	154±4
11a	218±46	>250	217±47
11b	8.3±1.6	9.0±2.0	6.5±5.9
14a	>250	>250	≥250
14b	>250	>250	>250
5-Fluorouracil	0.33±0.17	18±5	0.54±0.12

<sup>a</sup> 50% inhibitory concentration or compound concentration required to inhibit tumoral proliferation by 50%.



<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 8.17 (br s, 1H, NH), 7.42 (d, 1H, J<sub>6,F5</sub>=5.6 Hz, H-6), 6.08 (dd, 1H, J<sub>1',2'</sub>=9.2 Hz, J<sub>1',F5</sub>=1.3 Hz, H-1'), 5.45 (d, 1H, J<sub>4',5'</sub>=9.8 Hz, H-4'), 5.30 (d, 1H, H-2'), 4.31–4.22 (m, 2H, H-5', H-6'a), 4.10 (dd, 1H, J<sub>5',6'b</sub>=1.3 Hz, J<sub>6'a,6'b</sub>=10.7 Hz, H-6'b), 3.40 (br s, 1H, OH), 2.14, 2.11, 2.09 (3s, 9H, 3OAc); Anal. Calcd for C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>: C, 41.98; H, 3.73; N, 5.76. Found: C, 42.28; H, 4.01; N, 5.36; ESI-MS (*m/z*): 487.01 (M+H<sup>+</sup>).

### 1.2.3. 1-(3'-C-trifluoromethyl-β-D-allopyranosyl)5-fluorouracil (**5a**)

Compound **4a** (700 mg, 1.44 mmol) was treated with ammonia/MeOH (saturated at 0 °C, 61.0 mL). The solution was stirred overnight at room temperature and then was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 9.8:0.2) to afford pure **5a** (456 mg, 88%) as a syrup. [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> +10 (c 0.39, MeOH); Rf=0.24 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 9.8:0.2); λ<sub>max</sub> 263 nm (ε 8696); <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 300 MHz): δ 8.09 (d, 1H, J<sub>6,F5</sub>=6.7 Hz, H-6), 5.90 (d, 1H, J<sub>1',2'</sub>=9.4 Hz, H-1'), 4.02–3.82 (m, 5H, H-2', H-4', H-5', H-6'a, H-6'b); <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 75.5 MHz): δ 159.3, 151.1, 143.7, 129.3, 126.8, 83.2, 67.2, 64.5, 61.9, 51.6, 51.3. Anal. Calcd for C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 36.68; H, 3.36; N, 7.78. Found: C, 36.98; H, 3.26; N, 7.68; ESI-MS (*m/z*): 360.98 (M+H<sup>+</sup>).

## 1.3. Synthesis of 1-(3'-deoxy-3'-C-trifluoromethyl-β-D-ribofuranosyl)5-fluorouracil (**11a**)

### 1.3.1. 1,2,4,6-Tetra-O-acetyl-3-deoxy-3-C-trifluoromethyl-β-D-allofuranose (**8a**)

Compound **8a** was synthesized from **6a**<sup>24</sup> by the similar procedure as described for **3a**. Purified by flash chromatography (EtOAc/Hexane, 3:7) to give pure **8a** (1.42 g, 71%) as a white solid. mp 82–84 °C; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> +4 (c 0.52, CHCl<sub>3</sub>); Rf=0.22 (EtOAc/Hexane, 3:7); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 6.14 (s, 1H, H-1), 5.49 (d, 1H, J<sub>2,3</sub>=5.7 Hz, H-2), 5.17–5.12 (m, 1H, H-5), 4.62 (t, 1H, J=7.5 Hz, H-4), 4.48 (dd, 1H, J<sub>5,6b</sub>=3.1 Hz, J<sub>6a,6b</sub>=12.2 Hz, H-6b), 4.07 (dd, 1H, J<sub>5,6a</sub>=5.9 Hz, H-6a), 3.35–3.22 (m, 1H, H-3), 2.13, 2.10, 2.07 (3s, 12H, 4OAc); Anal. Calcd for C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>F<sub>3</sub>O<sub>9</sub>: C, 45.01; H, 4.78. Found: C, 45.21; H, 5.08; ESI-MS (*m/z*): 401.08 (M+H<sup>+</sup>).

### 1.3.2. 1-(2',4',6'-Tri-O-acetyl-3'-deoxy-3'-C-trifluoromethyl-β-D-allofuranosyl)5-fluorouracil (**9a**)

Compound **9a** was synthesized from **8a** by the similar procedure as described for **4a**. Purified by flash chromatography (EtOAc/Hexane, 2:8) to give pure **9a** (1.16 g, 82%) as a white solid. mp 119–121 °C; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> +10 (c 0.36, CHCl<sub>3</sub>); Rf=0.26 (EtOAc/Hexane, 2:8); λ<sub>max</sub> 266 nm (ε 7424); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 8.88 (br s, 1H, NH), 7.24 (d, 1H, J<sub>6,F5</sub>=5.6 Hz, H-6), 5.74 (d, 1H, J<sub>1',2'</sub>=5.7 Hz, H-1'), 5.53 (t, 1H, J=5.8 Hz, H-4'), 5.37–5.31 (m, 1H, H-5'), 4.55 (t, 1H, J=5.6 Hz, H-2'), 4.45 (dd, 1H, J<sub>5',6'b</sub>=3.9 Hz, J<sub>6'a,6'b</sub>=12.2 Hz, H-6'b), 4.14 (dd, 1H, J<sub>5',6'a</sub>=5.3 Hz, H-6'a), 3.65–3.48 (m, 1H, H-3'), 2.10, 2.04 (2s, 9H, 3OAc); Anal. Calcd for C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>: C, 43.41; H, 3.86; N, 5.96. Found: C, 43.55; H, 4.03; N, 5.56; ESI-MS (*m/z*): 471.08 (M+H<sup>+</sup>).

### 1.3.3. 1-(3'-Deoxy-3'-C-trifluoromethyl-β-D-allofuranosyl)5-fluorouracil (**10a**)

Compound **10a** was synthesized from **9a** by the similar procedure as described for **5a**. Purified by flash chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 9.5:0.5) to give pure **10a** (1.06 g, 89%) as an oil. [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> +15 (c 0.45, MeOH); Rf=0.29 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 9.5:0.5); λ<sub>max</sub> 265 nm (ε 7589); <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz): δ 11.89 (br s, 1H, NH), 8.14 (d, 1H, J<sub>6,F5</sub>=7.1 Hz, H-6), 6.04 (d, 1H, J<sub>1',2'</sub>=5.3 Hz, H-1'), 5.80 (d, 1H, J=6.5 Hz, OH), 5.60 (d, 1H, J=4.7 Hz, OH), 4.77 (t, 1H, J=5.2 Hz, H-2'), 4.47–4.40 (m, 1H, H-5'), 4.34 (t, 1H, J=3.0 Hz, OH), 3.80–3.72 (m, 1H, H-4'), 3.44–3.37 (m, 2H, H-6'a, H-6'b), 3.24–3.17 (m, 1H, H-3'); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 75.5 MHz): δ 157.08, 149.50, 141.81, 128.19,

124.55, 87.65, 78.37, 72.18, 61.96, 44.06, 43.73. Anal. Calcd for C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 38.38; H, 3.51; N, 8.14. Found: C, 38.18; H, 3.90; N, 8.34; ESI-MS (*m/z*): 344.98 (M+H<sup>+</sup>).

### 1.3.4. 1-(3'-Deoxy-3'-C-trifluoromethyl-β-D-ribofuranosyl)5-fluorouracil (**11a**)

Compound **10a** (5.0 g, 14.5 mmol) was added to a stirred solution of NaIO<sub>4</sub> (5.1 g, 23.8 mmol) in H<sub>2</sub>O (79 mL) and MeOH (79 mL) leading to immediate precipitation of NaIO<sub>3</sub>. After 1 h at room temperature, any residual periodate was destroyed with a drop of ethylene glycol. The reaction mixture was stirred for 1 h at room temperature with NaBH<sub>4</sub> (2.0 g, 52.9 mmol), neutralized with aqueous NaHCO<sub>3</sub>, and then extracted with ethyl acetate (EtOAc) (4×300 mL). The organic layer was washed with NaHSO<sub>4</sub>, dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, evaporated to dryness, and purified by column chromatography with EtOAc/Hexane (2:8) to give compound **11a** (4.0 g, 88%) as a syrup. [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> +12 (c 0.36, MeOH); Rf=0.3 (EtOAc/Hexane, 2:8); λ<sub>max</sub> 266 nm (ε 8231); <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz): δ 11.76 (br s, 1H, NH), 8.33 (d, 1H, J<sub>6,F5</sub>=7.3 Hz, H-6), 6.17 (d, 1H, J=5.2 Hz, OH), 5.68 (s, 1H, H-1'), 5.46 (s, 1H, OH), 4.54–4.37 (m, 2H, H-4', H-2'), 3.88 (dd, 1H, J<sub>4',5'b</sub>=1.5 Hz, J<sub>5'a,5'b</sub>=12.5 Hz, H-5'b), 3.58 (dd, 1H, J<sub>4',5'a</sub>=4.6 Hz, H-5'a), 3.21–3.15 (m, 1H, H-3'); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 75.5 MHz): δ 156.4, 148.3, 140.7, 126.6, 124.07, 89.7, 78.4, 72.6, 59.6, 43.5. Anal. Calcd for C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: C, 38.23; H, 3.21; N, 8.92. Found: C, 38.03; H, 3.26; N, 9.01; ESI-MS (*m/z*): 314.98 (M+H<sup>+</sup>).

## 1.4. Synthesis of 1-(3'-deoxy-3'-C-trifluoromethyl-β-D-glucopyranosyl)5-fluorouracil (**14a**)

### 1.4.1. 1,2,4,6-Tetra-O-acetyl-3-deoxy-3-C-trifluoromethyl-D-glucopyranose (**12a**)

Methyl oxalyl chloride (0.95 mL, 10.33 mmol) was added to a solution of **3a** (2.0 g, 4.80 mmol), pyridine and CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> under nitrogen at room temperature. The mixture was stirred for 1 h and then diluted with EtOAc (300 mL). The whole was washed with H<sub>2</sub>O (200 mL) and the separated organic phase was dried over anhydrous sodium sulfate, filtered and evaporated to dryness. The residue was coevaporated two times with toluene and then was dissolved in toluene (73.68 mL). Bu<sub>3</sub>SnH (2.98 mL, 11.06 mmol) was added to the above solution containing AIBN (1.10 mmol, 182 mg) at 100 °C under nitrogen. After being heated for 1 h, the solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (EtOAc/Hexane, 2:8) to give anomeric acetates **12a** (1.18 g, 61%). [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> –4 (c 0.28, CHCl<sub>3</sub>); Rf=0.26 (EtOAc/Hexane, 2:8); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 6.05 and 5.71 (α: d, 0.3H, J<sub>1,2</sub>=3.3 Hz, β: d, 0.7H, J<sub>1,2</sub>=7.8 Hz, H-1), 5.36–5.27 (m, 2H), 4.35–4.09 (m, 2H), 3.86–3.83 (m, 1H), 3.20–2.80 (m, 1H), 2.14–2.06 (m, 12H, 4OAc); Anal. Calcd for C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>F<sub>3</sub>O<sub>9</sub>: C, 45.01; H, 4.78. Found: C, 45.13; H, 4.75; ESI-MS (*m/z*): 401.05 (M+H<sup>+</sup>).

### 1.4.2. 1-(2',4',6'-Tri-O-acetyl-3'-deoxy-3'-C-trifluoromethyl-β-D-glucopyranosyl)5-fluorouracil (**13a**)

Compound **12a** was synthesized from **12a** by the similar procedure as described for **4a**. Purified by flash chromatography (EtOAc/Hexane, 5:5) to afford pure **13a** (376 mg, 69%) as a yellow oil. [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> +2 (c 0.11, CHCl<sub>3</sub>); Rf=0.23 (EtOAc/Hexane, 5:5); λ<sub>max</sub> 264 nm (ε 8329); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 8.50 (br s, 1H, NH), 7.41 (d, 1H, J<sub>6,F5</sub>=5.6 Hz, H-6), 5.81 (dd, 1H, J<sub>1',2'</sub>=9.2 Hz, J<sub>1',F5</sub>=1.1 Hz, H-1'), 5.38 (t, 1H, J=10.2 Hz, H-4'), 5.24 (t, 1H, J=10.3 Hz, H-2'), 4.22 (dd, 1H, J<sub>5',6'a</sub>=4.8 Hz, J<sub>6'a,6'b</sub>=12.7 Hz, H-6'a), 4.12 (dd, 1H, J<sub>5',6'b</sub>=2.0 Hz, H-6'b), 3.93–3.90 (m, 1H, H-5'), 3.00–2.90 (m, 1H, H-3'), 2.10, 2.04 (2s, 9H, 3OAc); Anal. Calcd for C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>: C, 43.41; H, 3.86; N, 5.96. Found: C, 43.18; H, 3.95; N, 5.75; ESI-MS (*m/z*): 471.08 (M+H<sup>+</sup>).

#### 1.4.3. 1-(3'-Deoxy-3'-C-trifluoromethyl-β-D-glucopyranosyl)-5-fluorouracil (**14a**)

Compound **14a** was synthesized from **13a** by the similar procedure as described for **5a**. Purified by flash chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 9:1) to afford pure **14a** (320 mg, 87%) as an oil.  $[\alpha]_D^{22}$  -6 (c 0.10, MeOH); Rf=0.23 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 9:1);  $\lambda_{\max}$  264 nm ( $\epsilon$  8334); <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 300 MHz):  $\delta$  8.22 (d, 1H, J<sub>6,F5</sub>=6.6 Hz, H-6), 5.99 (dd, 1H, J<sub>1',2'</sub>=8.7 Hz, J<sub>1',F5</sub>=0.9 Hz, H-1'), 5.47 (t, 1H, J=9.7 Hz, H-4'), 4.15–3.94 (m, 3H, H-2', H-6'a, H-6'b), 3.84–3.80 (m, 1H, H-5'), 3.24–3.21 (m, 1H, H-3'); <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 75.5 MHz):  $\delta$  158.9, 150.8, 143.4, 129.1, 126.5, 82.9, 66.9, 64.2, 61.6, 51.3, 50.9. Anal. Calcd for C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 38.38; H, 3.51; N, 8.14. Found: C, 38.28; H, 3.38; N, 8.20; ESI-MS (*m/z*): 345.04 (M+H<sup>+</sup>).

#### 1.5. Synthesis of 1-(3'-C-methyl-β-D-allopyranosyl)-5-fluorouracil (**5b**)

##### 1.5.1. 1,2,4,6-Tetra-O-acetyl-3-C-methyl-β-D-allopyranose (**3b**)

Compound **3b** was synthesized from **2b**<sup>25</sup> by the similar procedure as described for **3a**. Purified by flash chromatography (EtOAc/Hexane, 3:7) to give pure **3b** (1.50 g, 82%) as a colorless oil.  $[\alpha]_D^{22}$  -6 (c 0.52, CHCl<sub>3</sub>); Rf=0.26 (EtOAc/Hexane, 3:7); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):  $\delta$  5.99 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=8.3 Hz, H-1), 5.00 (d, 1H, J<sub>4,5</sub>=9.7 Hz, H-4), 4.95 (d, 1H, H-2), 4.32–4.21 (m, 2H, H-5, H-6b), 4.07 (d, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=12.1 Hz, H-6a), 2.13, 2.08, 2.07 (3s, 12H, 4OAc), 1.17 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); Anal. Calcd for C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>10</sub>: C, 49.72; H, 6.12; Found: C, 49.32; H, 6.22; ESI-MS (*m/z*): 363.08 (M+H<sup>+</sup>).

##### 1.5.2. 1-(2',4',6'-Tri-O-acetyl-3'-C-methyl-β-D-allopyranosyl)-5-fluorouracil (**4b**)

Compound **4b** was synthesized from **3b** by the similar procedure as described for **4a**. Purified by flash chromatography (EtOAc/Hexane, 2:8) to give pure **4b** (1.08 g, 72%) as a white solid. mp 131–133 °C;  $[\alpha]_D^{22}$  +8 (c 0.43, CHCl<sub>3</sub>); Rf=0.22 (EtOAc/Hexane, 2:8);  $\lambda_{\max}$  261 nm ( $\epsilon$  7632); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):  $\delta$  8.35 (br s, 1H, NH), 7.41 (d, 1H, J<sub>6,F5</sub>=5.8 Hz, H-6), 6.06 (dd, 1H, J<sub>1',2'</sub>=9.1 Hz, J<sub>1',F5</sub>=1.0 Hz, H-1'), 4.88 (d, 1H, J<sub>4',5'</sub>=9.7 Hz, H-4'), 4.79 (d, 1H, H-2'), 4.30–4.20 (m, 2H, H-5', H-6'b), 4.03 (d, 1H, J<sub>6'a,6'b</sub>=10.7 Hz, H-6'a), 2.13, 2.10, 2.09 (3s, 9H, 3OAc), 1.23 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); Anal. Calcd for C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>10</sub>: C, 47.23; H, 4.90; N, 6.48. Found: C, 47.43; H, 4.70; N, 6.40; ESI-MS (*m/z*): 433.12 (M+H<sup>+</sup>).

##### 1.5.3. 1-(3'-C-Methyl-β-D-allopyranosyl)-5-fluorouracil (**5b**)

Compound **5b** was synthesized from **4b** by the similar procedure as described for **5a**. Purified by flash chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 9:1) to give pure **5b** (898 mg, 84%) as a colorless oil.  $[\alpha]_D^{22}$  +10 (c 0.41, MeOH); Rf=0.32 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 9:1);  $\lambda_{\max}$  264 nm ( $\epsilon$  7729); <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz):  $\delta$  11.70 (br s, 1H, NH), 8.03 (d, 1H, J<sub>6,F5</sub>=7.2 Hz, H-6), 5.65 (dd, 1H, J<sub>1',2'</sub>=9.2 Hz, J<sub>1',F5</sub>=1.5 Hz, H-1'), 4.91, 4.55, 4.37 (3 br s, 4H, 4OH), 3.69–3.39 (m, 5H, H-2', H-4', H-5', H-6'a, H-6'b), 1.23 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 75.5 MHz):  $\delta$  156.9, 149.5, 141.3, 126.0, 80.6, 77.3, 72.8, 71.1, 69.8, 61.2, 21.7. Anal. Calcd for C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 43.14; H, 4.94; N, 9.15. Found: C, 43.34; H, 4.64; N, 8.95; ESI-MS (*m/z*): 307.08 (M+H<sup>+</sup>).

#### 1.6. Synthesis of 1-(3'-deoxy-3'-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-5-fluorouracil (**11b**)

##### 1.6.1. 1,2,4,6-Tetra-O-acetyl-3-deoxy-3-C-methyl-β-D-allofuranose (**8b**)

Compound **8b** was synthesized from **6b**<sup>25</sup> by the similar procedure as described for **3a**. Purified by flash chromatography (EtOAc/Hexane, 3:7) to give anomeric acetates **8b** (1.20 g, 62%) as a yellow foam.  $[\alpha]_D^{22}$  -4 (c 0.58, CHCl<sub>3</sub>); Rf=0.26 (EtOAc/Hexane, 3:7);

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):  $\delta$  6.14 (s, 1H, H-1), 5.50 (d, 1H, J<sub>2,3</sub>=5.7 Hz, H-2), 5.19–5.15 (m, 1H, H-5), 4.61 (t, 1H, J=7.5 Hz, H-4), 4.47 (dd, 1H, J<sub>5,6b</sub>=3.0 Hz, J<sub>6a,6b</sub>=12.1 Hz, H-6b), 4.07 (dd, 1H, J<sub>5,6a</sub>=5.9 Hz, H-6a), 3.34–3.27 (m, 1H, H-3), 2.15, 2.12, 2.10 (3s, 12H, 4OAc), 1.25 (br s, 3H, CH<sub>3</sub>); Anal. Calcd for C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>9</sub>: C, 52.02, H, 6.40. Found: C, 52.21; H, 6.22; ESI-MS (*m/z*): 347.11 (M+H<sup>+</sup>).

##### 1.6.2. 1-(2',4',6'-Tri-O-acetyl-3'-deoxy-3'-C-methyl-β-D-allofuranosyl)-5-fluorouracil (**9b**)

Compound **9b** was synthesized from **8b** by the similar procedure as described for **4a**. Purified by flash chromatography (EtOAc/Hexane, 3:7) to give pure **9b** (770 mg, 64%) as a white foam.  $[\alpha]_D^{22}$  +13 (c 0.56, CHCl<sub>3</sub>); Rf=0.27 (EtOAc/Hexane, 3:7);  $\lambda_{\max}$  263 nm ( $\epsilon$  7721); <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz):  $\delta$  7.96 (d, 1H, J<sub>6,F5</sub>=6.8 Hz, H-6), 5.66 (d, 1H, J<sub>1',2'</sub>=2.1 Hz, H-1'), 5.38–5.20 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.38 (dd, 1H, J<sub>5',6'b</sub>=2.7 Hz, J<sub>6'a,6'b</sub>=12.3 Hz, H-6'b), 4.09 (dd, 1H, J<sub>5',6'a</sub>=6.9 Hz, H-6'a), 3.91–3.85 (m, 1H, H-5'), 3.37–3.20 (m, 1H, H-3'), 2.09, 2.06, 2.00 (3s, 9H, 3OAc), 0.97 (d, 3H, J<sub>CH3-3'</sub>=6.8 Hz, CH<sub>3</sub>); Anal. Calcd for C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>9</sub>: C, 49.04; H, 5.08; N, 6.73. Found: C, 49.14; H, 4.98; N, 6.76; ESI-MS (*m/z*): 417.09 (M+H<sup>+</sup>).

##### 1.6.3. 1-(3'-Deoxy-3'-C-methyl-β-D-allofuranosyl)-5-fluorouracil (**10b**)

Compound **10b** was synthesized from **9b** by the similar procedure as described for **5a**. Purified by flash chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 9:1) to give pure **10b** (624 mg, 82%) as a syrup.  $[\alpha]_D^{22}$  +6 (c 0.50, MeOH); Rf=0.25 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 9:1);  $\lambda_{\max}$  263 nm ( $\epsilon$  7825); <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz):  $\delta$  8.41 (d, 1H, J<sub>6,F5</sub>=7.5 Hz, H-6), 5.59 (s, 1H, H-1'), 5.50 (br s, 1H, OH), 5.31 (br s, 1H, OH), 4.71 (br s, 1H, OH), 4.04 (br s, 1H, H-2'), 3.90–3.84 (m, 2H, H-5', H-6'a), 3.60–3.43 (m, 2H, H-4', H-6'b), 2.25–2.20 (m, 1H, H-3'), 0.96 (d, 3H, J<sub>CH3-3'</sub>=6.6 Hz, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 75.5 MHz):  $\delta$  156.9, 148.8, 137.9, 124.9, 101.7, 89.8, 85.4, 72.1, 62.6, 34.3, 10.9. Anal. Calcd for C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 45.52; H, 5.21; N, 9.65. Found: C, 45.62; H, 5.41; N, 9.60; ESI-MS (*m/z*): 291.08 (M+H<sup>+</sup>).

##### 1.6.4. 1-(3'-Deoxy-3'-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-5-fluorouracil (**11b**)

Compound **11b** was synthesized from **10b** by the similar procedure as described for **11a**. Purified by flash chromatography (EtOAc/Hexane, 7:3) to give pure **11b** (650 mg, 86%) as a yellow oil.  $[\alpha]_D^{22}$  +6 (c 0.35, MeOH); Rf=0.3 in EtOAc/Hexane, 8:2);  $\lambda_{\max}$  263 nm ( $\epsilon$  7824); <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz):  $\delta$  8.50 (d, 1H, J<sub>6,F5</sub>=7.8 Hz, H-6), 5.58 (s, 1H, H-1'), 5.50, 5.22, (2br s, 2H, 2OH), 4.03 (br s, 1H, H-2'), 3.85–3.77 (m, 2H, H-4', H-5'a), 3.59–3.51 (m, 1H, H-5'b), 2.15–2.09 (m, 1H, H-3'), 0.92 (d, 3H, J<sub>CH3-3'</sub>=6.7 Hz, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 75.5 MHz):  $\delta$  157.0, 148.6, 140.8, 124.9, 90.8, 85.9, 76.8, 58.9, 34.0, 8.7. Anal. Calcd for C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: C, 46.16; H, 5.04; N, 10.77. Found: C, 46.36; H, 5.24; N, 10.57; ESI-MS (*m/z*): 261.08 (M+H<sup>+</sup>).

#### 1.7. Synthesis of 1-(3'-deoxy-3'-C-methyl-β-D-glucopyranosyl)-5-fluorouracil (**14b**)

##### 1.7.1. 1,2,4,6-Tetra-O-acetyl-3-deoxy-3-C-methyl-β-D-glucopyranose (**12b**)

Compound **12b** was synthesized from **3b** by the similar procedure as described for **12a**. Purified by flash chromatography (EtOAc/Hexane, 2:8) to give pure **12b** (650 g, 69%) as a yellow oil.  $[\alpha]_D^{22}$  +4 (c 0.19, CHCl<sub>3</sub>); Rf=0.29 (EtOAc/Hexane, 2:8); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):  $\delta$  5.64 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=8.2 Hz, H-1), 4.85 (t, 1H, J=8.2 Hz, H-2), 4.81 (t, 1H, J=9.7 Hz, H-4), 4.23 (dd, 1H, J<sub>5,6a</sub>=4.8 Hz, J<sub>6a,6b</sub>=12.4 Hz, H-6a), 4.06 (dd, 1H, J<sub>5,6b</sub>=2.2 Hz, H-6b), 3.78–3.74 (m, 1H, H-5), 2.10, 2.09, 2.08, 2.07 (4s, 12H, 4OAc), 2.00–1.91 (m, 1H, H-3), 0.95 (d,

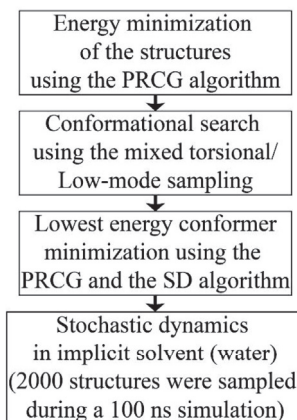
$^3\text{H}$ ,  $J_{\text{CH}_3-3'}=6.5$  Hz,  $\text{CH}_3$ ); Anal. Calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_9$ : C, 52.02; H, 6.40. Found: C, 52.22; H, 6.18; ESI-MS ( $m/z$ ): 347.12 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ).

### 1.7.2. 1-(2',4',6'-Tri-O-acetyl-3'-deoxy-3'-C-methyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)5-fluorouracil (**13b**)

Compound **13b** was synthesized from **12b** by the similar procedure as described for **4a**. Purified by flash chromatography (EtOAc/Hexane, 4:6) to give pure **13b** (1.16 g, 82%) as a yellow oil.  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} +2$  (c 0.10,  $\text{CHCl}_3$ ); Rf=0.28 (EtOAc/Hexane, 4:6);  $\lambda_{\text{max}}$  268 nm ( $\epsilon$  8720);  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  8.45 (br s, 1H, NH), 7.41 (d,

set to  $0.001$  kJ mol $^{-1}$  Å $^{-1}$ . MD simulations were performed using the Stochastic Dynamics method as implemented in the MacroModel module (Maestro version 9.3 Schrodinger Suite 2012.1).<sup>34</sup> The simulation temperature was set to 298.1 K in implicit water solvent (GB/SA solvation model). The MD runs included 1 ns of equilibration and 100 ns of simulation. The integration of time-step was set to 2 fs. During the simulation time 2000 structures were sampled. The critical distances were monitored during the whole simulation.

The procedure in brief is illustrated in the following flow chart.



Flow chart illustrating the approach used to explain the preference of the pyranose or furanose products.

1H,  $J_{6,\text{F}5}=5.8$  Hz, H-6), 5.71 (dd, 1H,  $J_{1',2'}=9.2$  Hz,  $J_{1',\text{F}5}=1.4$  Hz, H-1'), 4.84 (t, 1H,  $J=10.2$  Hz, H-4'), 4.77 (t, 1H,  $J=10.7$  Hz, H-2'), 4.21 (dd, 1H,  $J_{5',6'a}=5.2$  Hz,  $J_{6'a,6'b}=12.6$  Hz, H-6'a), 4.08 (dd, 1H,  $J_{5',6'b}=2.0$  Hz, H-6'b), 3.85–3.82 (m, 1H, H-5'), 2.10, 2.07, 2.03 (3s, 9H, 3OAc), 1.67–1.61 (m, 1H, H-3'), 0.99 (d, 3H,  $J_{\text{CH}_3-3'}=6.6$  Hz,  $\text{CH}_3$ ); Anal. Calcd for  $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{FN}_2\text{O}_9$ : C, 49.04; H, 5.08; N, 6.73. Found: C, 49.12; H, 5.24; N, 6.79; ESI-MS ( $m/z$ ): 417.12 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ).

### 1.7.3. 1-(3'-Deoxy-3'-C-methyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)5-fluorouracil (**14b**)

Compound **14b** was synthesized from **13b** by the similar procedure as described for **5a**. Purified by flash chromatography ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ , 9:1) to give pure **14b** (1.06 g, 59%) as a colorless oil.  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} -4$  (c 0.11, MeOH); Rf=0.22 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ , 9:1);  $\lambda_{\text{max}}$  267 nm ( $\epsilon$  8832);  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 300 MHz):  $\delta$  8.00 (d, 1H,  $J_{6,\text{F}5}=6.7$  Hz, H-6), 5.65 (dd, 1H,  $J_{1',2'}=9.1$  Hz,  $J_{1',\text{F}5}=1.4$  Hz, H-1'), 4.79 (t, 1H,  $J=9.2$  Hz, H-2'), 3.88 (dd, 1H,  $J_{5',6'b}=2.1$  Hz,  $J_{6'a,6'b}=12.0$  Hz, H-6'b), 3.76 (dd, 1H,  $J_{5',6'a}=5.3$  Hz, H-6'a), 3.52–3.49 (m, 1H, H-5'), 3.36 (t, 1H,  $J=9.7$  Hz, H-4'), 1.91–1.86 (m, 1H, H-3'), 1.13 (d, 3H,  $J_{\text{CH}_3-3'}=6.7$  Hz,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 75.5 MHz):  $\delta$  159.7, 149.6, 141.4, 125.6, 82.2, 72.4, 68.7, 60.9, 41.9, 18.9, 12.6. Anal. Calcd for  $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{FN}_2\text{O}_6$ : C, 45.52; H, 5.21; N, 9.65. Found: C, 45.29; H, 5.24; N, 9.69; ESI-MS ( $m/z$ ): 291.08 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ).

## 1.8. Computational methods

The structures shown in Fig. 2 were minimized using the OPLS-2005 force field. In MacroModel 9.9 the Generalized Born/Surface Area (GB/SA) continuum solvation is used for the treatment of molecules in aqueous solutions.<sup>33</sup> Extended non-bonded cutoff were applied. The Polak Ribiere Conjugated Gradient (PRCG) method was used for the minimization with convergence threshold

*Geometry optimization:* The 4 structures shown below were optimized using Jaguar 7.9. The calculations were based on the density functional theory (DFT) using the B3LYP/6.31G\* method and an accurate level of accuracy (with the continuum solvation model Poisson Boltzmann).

## 1.9. Antiviral activity assays

The antiviral assays, other than the anti-HIV assays, were based on the inhibition of virus-induced cytopathicity or plaque formation in HEL [herpes simplex virus type 1 (HSV-1) (KOS), HSV-2 (G), vaccinia virus, vesicular stomatitis virus, human cytomegalovirus (HCMV), and varicella-zoster virus (VZV)], Vero (parainfluenza-3, reovirus-1, Sindbis virus, and Cocksackie B4), HeLa (vesicular stomatitis virus, Cocksackie virus B4, and respiratory syncytial virus) or MDCK [influenza A (H1N1; H3N2) and influenza B] cell cultures. The confluent cell cultures (or nearly confluent for MDCK cells) in microtiter 96-well plates were inoculated with 100 CCID<sub>50</sub> of virus (1 CCID<sub>50</sub> being the virus dose to infect 50% of the cell cultures) or with 20 plaque-forming units (PFU) (for VZV) in the presence of varying concentrations (100, 20, ...  $\mu\text{M}$ ) of the test compounds. The viral cytopathicity was recorded as soon as it reached completion in the control virus-infected cell cultures that were not treated with the test compounds. The antiviral activity was expressed as the EC<sub>50</sub> or the compound concentration required to reduce virus-induced cytopathogenicity or viral plaque (VZV) plaque formation by 50%. The minimal cytotoxic concentration (MCC) of the compounds was defined as the compound concentration that caused a microscopically visible alteration of cell morphology. Alternatively, the cytostatic activity of the test compounds was measured based on the inhibition of cell growth. HEL cells were seeded at a rate of  $5 \times 10^3$  cells/well into 96-well microtiter plates and allowed to

proliferate for 24 h. Then, the medium containing different concentrations of the test compounds was added. After three days of incubation at 37 °C, the cell number was determined with a Coulter counter. The cytostatic concentration was calculated as the CC<sub>50</sub>, or the compound concentration required to reduce cell proliferation by 50% relative to the number of cells in the untreated controls. The methodology of the anti-HIV assays was as follows: human CEM (~3 × 10<sup>5</sup> cells/cm<sup>3</sup>) cells were infected with 100 CCID<sub>50</sub> of HIV(IIIB) or HIV-2(ROD)/mL and seeded in 200 μL wells of a microtiter plate containing appropriate dilutions of the test compounds. After four days of incubation at 37 °C, the HIV-induced CEM giant cell formation was examined microscopically.

### 1.10. Antiproliferative assays

All the compounds in Scheme 1 were evaluated for their cytostatic activity against human HeLa cervix carcinoma cells, human CEM CD4<sup>+</sup> T-lymphocytes as well as murine L1210 cells. All assays were performed in 96-well microtiter plates. To each well were added (5–7.5) × 10<sup>4</sup> tumor cells and a given amount of the test compound. The cells were allowed to proliferate for 48 h (murine leukemia L1210 cells) or 72 h (human lymphocytic CEM and human cervix carcinoma HeLa cells) at 37 °C in a humidified CO<sub>2</sub>-controlled atmosphere. At the end of the incubation period, the cells were counted in a Coulter counter. The IC<sub>50</sub> (50% inhibitory concentration) was defined as the concentration of the compound that inhibited cell proliferation by 50%. Experiments were repeated at least three times and these data are presented in Table 1.

### Acknowledgments

This work was supported in part by the Postgraduate Programmes 'Biotechnology-Quality assessment in Nutrition and the Environment', 'Application of Molecular Biology-Molecular Genetics-Molecular Markers', Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, and the KU Leuven (GOA 10/14). We thank Lizette van Berckelaer for her excellent technical assistance in the biological assays.

### Supplementary data

Supplementary data related to this article can be found at <http://dx.doi.org/10.1016/j.carres.2015.01.021>.

### References

- (a) Jordheim LP, Durantel D, Zoulim F, Dumontet C. *Nat. Rev. Drug Discovery* 2013;**12**:447–64;
- (b) Galmarini CM, Mackey JR, Dumontet C. *Lancet Oncol.* 2002;**3**:415–24;
- (c) De Clercq J. *Med. Chem.* 2010;**53**:1438–50;
- (d) Manta S, Kiritis C, Dimopoulou A, Parmenopoulou V, Kollatos N, Tsoinis A, et al. *Anti-Infect. Agents* 2013;**12**:2–57.
- Ichikawa E, Kato K. *Curr. Med. Chem.* 2001;**4**:385–423.
- Manuprasad BK, Murthy VS, Shashikanth S, Rakshith D, Satish S, Raveesha KA. *Der Pharma Chem.* 2011;**3**:45–55.
- Aivazashalli VA, Mikhailov SN, Padyukova N Sh, Karpeiskii M Ya, Bibilashvili RH. *Biorg. Khim.* 1986;**12**:708–10.
- (a) Ram VJ, Haque N. *Indian J. Chem.* 1995;**34**:514–20;
- (b) Bruni F, Chimichi S, Cosimelli B, Costanzo A, Guerrini G, Selleri S. *Heterocycles* 1990;**31**:1141–9;
- (c) Krishnaiah A, Narsaiah B. *J. Fluorine Chem.* 2001;**109**:183–7.
- Manta S, Agelis G, Botić T, Cencić A, Komiotis D. *Bioorg. Med. Chem.* 2007;**15**:980–7.
- Spanou C, Tzioumaki N, Manta S, Margaritis P, Kouretas D, Komiotis D, et al. *Pharmacol. Pharm.* 2011;**2**:122–6.
- Tsoukala E, Manta S, Kiritis C, Komiotis D. *Mini-Rev. Med. Chem.* 2012;**12**:255–75.
- Manta S, Agelis G, Botić T, Cencić A, Komiotis D. *Eur. J. Med. Chem.* 2008;**43**:420–8.
- Manta S, Tzioumaki N, Tsoukala E, Panagiotopoulou A, Pelecanou M, Balzarini J, et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2009;**44**:4764–71.
- Manta S, Tsoukala E, Tzioumaki N, Goropevšek A, Pamulapati RT, Cencić A, et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2009;**44**:2696–704.
- Manta S, Tsoukala E, Tzioumaki N, Kiritis C, Balzarini J, Komiotis D. *Bioorg. Chem.* 2010;**38**:48–55.
- Tsoukala E, Manta S, Tzioumaki N, Kiritis C, Komiotis D. *Carbohydr. Res.* 2011;**346**:2011–5.
- Tzioumaki N, Tsoukala E, Manta S, Kiritis C, Balzarini J, Komiotis D. *Carbohydr. Res.* 2011;**346**:328–33.
- Agelis G, Tzioumaki N, Tselios T, Botić T, Cencić A, Komiotis D. *Eur. J. Med. Chem.* 2008;**43**:1366–75.
- Tzioumaki N, Tsoukala E, Manta S, Agelis G, Balzarini J, Komiotis D. *Arch. Pharmacol.* 2009;**342**:353–60.
- Kiritis C, Manta S, Papisotiriou I, Coutouli-Argyropoulou E, Trakossas S, Balzarini J, et al. *Med. Chem.* 2012;**8**:320–9.
- Manta S, Parmenopoulou V, Kiritis C, Dimopoulou A, Kollatos N, Papisotiriou I, et al. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 2012;**31**:522–35.
- Kiritis C, Manta S, Parmenopoulou V, Balzarini J, Komiotis D. *Eur. J. Med. Chem.* 2011;**46**:5668–74.
- Kiritis C, Manta S, Parmenopoulou V, Dimopoulou A, Kollatos N, Papisotiriou I, et al. *Carbohydr. Res.* 2012;**364**:8–14.
- Longley DB, Harkin DP, Johnston PG. *Nat. Rev. Cancer* 2003;**3**:330–8.
- Liu X, Guo X, Wang F, Lei G, Luo D. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 2007;**26**:45–9.
- Elhalabi J, Rice KG. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 2004;**23**:195–205.
- Lavaire S, Plantier-Royon R, Portella C. *J. Carbohydr. Chem.* 1996;**15**:361–70.
- Bonjouclian R, Ganem B. *Carbohydr. Res.* 1979;**76**:245–51.
- Vorbruggen H, Bennua B. *Chem. Ber. Recl.* 1981;**114**:1279–89.
- Sharma PK, Nair V. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 2000;**19**:757–74.
- Rosenthal A, Sprinzl M. *Can. J. Chem.* 1969;**47**:3941–6.
- Carey FA, Tremper HS. *J. Am. Chem. Soc.* 1968;**90**:2578–83.
- Couturier S, Aljarah M, Gosselin G, Mathé C, Périgaud C. *Tetrahedron* 2007;**63**:11260–6.
- Aljarah M, Couturier S, Gosselin G, Mathé C, Périgaud C. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 2007;**26**:1125–8.
- Lavaire S, Plantier-Royon R, Portella C, de Monte M, Kirn A, Aubertin A-M. *Nucleosides Nucleotides* 1998;**12**:2267–80.
- MacroModel, Version 9.9. New York, NY: Schrödinger, LLC; 2012.
- Maestro, Version 9.3. New York, NY: Schrödinger, LLC; 2012.

## RESEARCH ARTICLE

# Facile Microwave-assisted Synthesis of Various C5-modified Pyrimidine Pyranonucleosides as Potential Cytotoxic Antitumor Agents

Athina Dimopoulou<sup>a#</sup>, Nikolaos Kollatos<sup>a#</sup>, Stella Manta<sup>a</sup>, Aggeliki Panagiotopoulou<sup>b</sup>, Athanasios Karastergiou<sup>a</sup>, Filitsa Kontopoulou<sup>a</sup>, Dominique Schols<sup>c</sup> and Dimitri Komiotis<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup>Department of Biochemistry and Biotechnology, Laboratory of Bioorganic Chemistry, University of Thessaly, Larissa, Greece; <sup>b</sup>Institute of Biology, National Centre for Scientific Research ‘‘Demokritos’’, 15310 Ag. Paraskevi, Athens, Greece; <sup>c</sup>Department of Microbiology and Immunology, Rega Institute for Medical Research, KU Leuven, Leuven, Belgium

**Abstract: Background:** Modified pyrimidines is a very important pharmacophore core of naturally occurring and synthetic bioactive compounds, interacting with the synthesis and function of nucleic acids, interfering with biosynthetic pathways and competing for the same binding sites of naturally occurring pyrimidines.

**Method:** C5-arylalkynyl glucopyranonucleosides **3**, **5** and -3'-C-trifluoromethyl-β-D-allopyranonucleosides of uracil **13**, were synthesized using the one-step Sonogashira reaction under microwave irradiation and subsequent deprotection. Hydrogenation of acetylated **2a,e,i,j,k,n** with NiCl<sub>2</sub> and NaBH<sub>4</sub>, gave C5-phenylethenyl **6n** and C5-arylethyl **8a,e,i,j,k** uracil pyranonucleosides, which upon deacetylation, afforded the unprotected pyranonucleosides **7n** and **9a,e,i,j,k**, respectively.

**Results:** The newly synthesized compounds were evaluated for their potential cytostatic activities in cell culture.

**Conclusion:** The results of the cytostatic examinations indicated that compounds **2a,e,i,j** and **12c,d** are suitable candidates for further biological studies on lead drug and structural optimization.

## ARTICLE HISTORY

Received: December 16, 2016  
Revised: July 09, 2017  
Accepted: July 09, 2017

DOI:  
10.2174/2213335604666170720151941

**Keywords:** C5-pyrimidine pyranonucleosides, cytotoxic activity, microwave irradiation, sonogashira reaction.

## 1. INTRODUCTION

Modified pyrimidines is a very important pharmacophore core of naturally occurring and synthetic bioactive compounds, interacting with the synthesis and function of nucleic acids, interfering with biosynthetic pathways and competing for the same binding sites of naturally occurring pyrimidines [1]. Among them, alkynyl modified uridines exhibited significant antiviral [2-4] and anticancer activities [4], such as 5-ethynyl-2'-deoxyuridine, which proved to be the most potent inhibitor against MCF-7 and MDA-MB-231 human breast cancer cells (IC<sub>50</sub> 0.4 ± 0.3 μM and 4.4 ± 0.4 μM, respectively), while internal aromatic-substituted alkyne *p*-tolylethynyl-2'-deoxyuridine showed high potency with MCF-7 (IC<sub>50</sub> 0.9 ± 0.2 μM), comparable to 5-fluorouracil and Cisplatin [5].

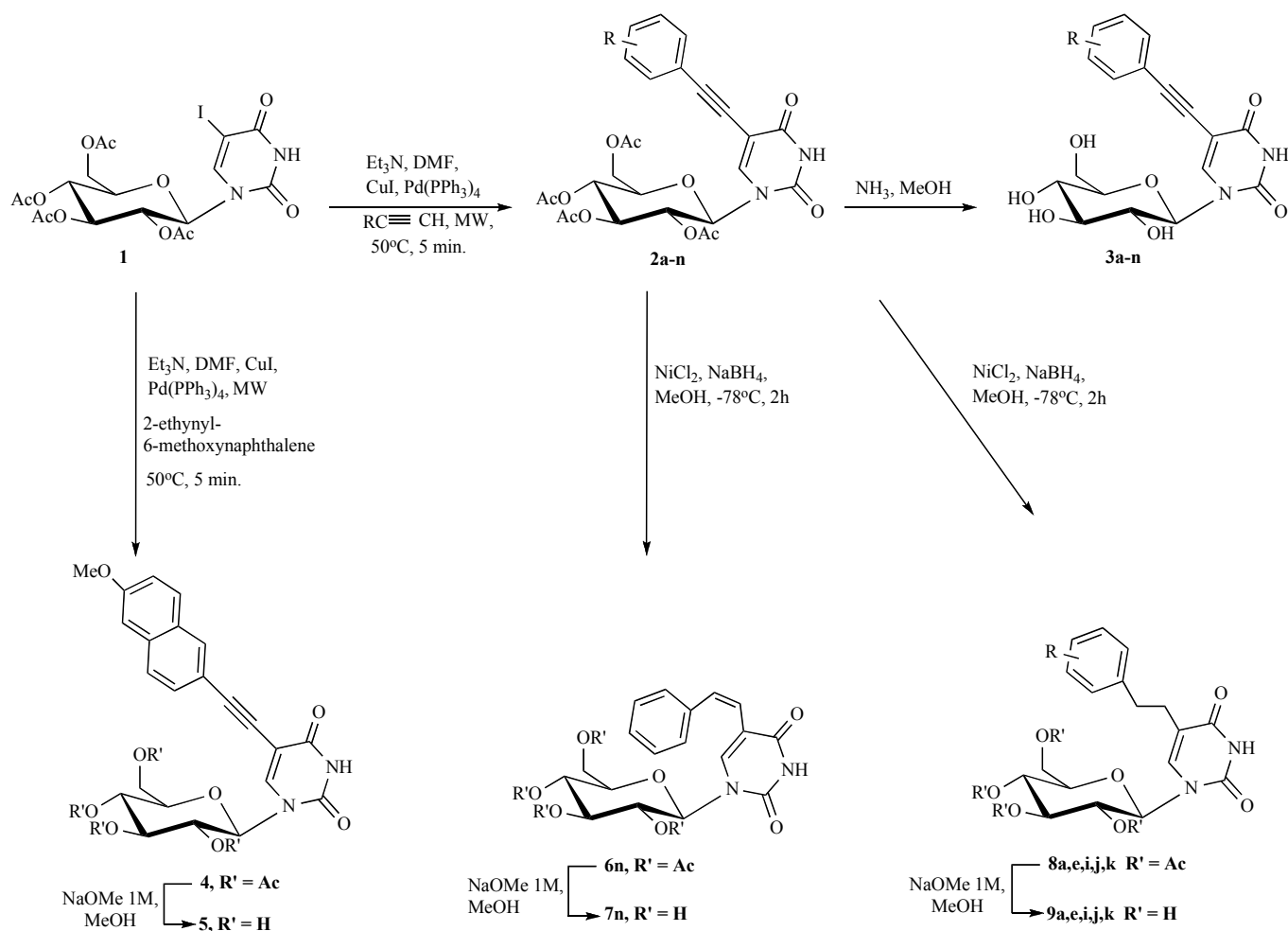
In the last decades, nucleosides containing pyranosyl rings instead of furanosyl ones have been chosen, due to

their resistance to hydrolysis, since glycosidic bond cleavage is a frequently encountered degradative pathway of furanopyranonucleosides. In our continuing efforts to investigate biologically active pyranonucleosides, we have previously reported various modifications on their sugar and base entities, which exhibited interesting antitumor [6, 7], antiviral [8, 9], antioxidant [10] and antimicrobial [11] properties. Among them, C5-phenylethynyluracil glucopyranonucleoside [12] showed appreciable cytotoxic activity (IC<sub>50</sub> of 5.2-6.2 μM), comparable to 5-fluorouracil, while 3'-C-trifluoromethyl allopyranonucleoside of 5-fluorouracil [13] proved to be cytostatic against L1210 and HeLa cell lines.

In view of the above observations and considering that substituted benzenes bind stronger on the hydrogen bonding capacity of stacked DNA/RNA bases [14, 15], it was of interest to design and synthesize a novel class of C5-alkynyl pyrimidine pyranonucleosides bearing substituted benzene rings as well as polycyclic aromatic hydrocarbon. Thus, we performed the synthesis and biological evaluation of C5-arylalkynyl uracil pyranonucleosides bearing D-glucose and 3'-C-trifluoromethyl-D-allose as sugar moiety. Aiming at more detailed structure-activity relationship studies, the aromatic ring was substituted with halogens (fluoro, chloro,

\*Address correspondence to this author at the University of Thessaly, Department of Biochemistry and Biotechnology, Laboratory of Bioorganic Chemistry, Viopolis, 41500 Larissa, Greece; Tel: +30 2410 565285; Fax: +30 2410 565290; E-mail: [dkom@bio.uth.gr](mailto:dkom@bio.uth.gr)

<sup>#</sup>Authors contributed equally at this work.



R = (a) 2-fluoro; (b) 3-fluoro; (c) 3,4-difluoro; (d) 3,5-difluoro; (e) 2-chloro; (f) 3-chloro; (g) 4-bromo; (h) 4-methyl; (i) 2,5-dimethyl; (j) 2,4,5-trimethyl; (k) 3,4,5-trimethoxy; (l) 4-methoxy; (m) 4-methoxy, 2-methyl, (n) H.

**Scheme 1.** Synthetic route of unprotected C5-alkynyl uracil pyranonucleosides **3a-n**, **5**, of 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[phenylethenyl]uracil (**7n**) and 5-[phenylsubstituted ethyl]uracil **9a,e,i,j,k**.

bromo), methyl group (CH<sub>3</sub>), methoxy group (OCH<sub>3</sub>) and location (*ortho*, *meta*, *para*) of the aromatic ring, as well as 6-methoxynaphthalene moiety.

## 2. RESULTS AND DISCUSSION

### 2.1. Chemistry

The synthetic strategy of the present study is depicted in Scheme 1. The new series of C5-substituted uracil pyranonucleosides was synthesized under microwave irradiation *via* Sonogashira coupling reaction between the known nucleoside **1** [16] with several acetylenes. To provide a starting position for more detailed structure-activity relationship studies, diverse alkyne substituents R were selected, which include an aromatic ring (**2n**, R = H), substituted with halogens (**2a**, R = 2-fluoro, **2b**, R = 3-fluoro, **2c**, R = 3,4-difluoro, **2d**, R = 3,5-difluoro, **2e**, R = 2-chloro, **2f**, R = 3-chloro, **2g**, R = 4-bromo), linear (**2h**, R = 4-methyl, **2i**, R = 2,5-dimethyl, **2j**, R = 2,4,5-trimethyl), alkoxy (**2k**, R = 3,4,5-trimethoxy, **2l**, R = 4-methoxy, **2m**, R = 4-methoxy, 2-methyl), and polycyclic aromatic hydrocarbon substituted

with alkoxy (**4**, R = 6-methoxynaphthalene). Briefly, to a solution of **1** (0.18 mmol) in dry DMF (1.0 mL), and (0.36 mmol) Et<sub>3</sub>N (as base) under nitrogen atmosphere, (0.018 mmol) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (as catalyst), (0.018 mmol) CuI (as co-catalyst), and the appropriate alkyne (0.54 mmol) were added and the reaction mixture was microwave irradiated at 50°C for 5 min [5]. After removing volatiles *in vacuo*, the solid residues were purified by flash chromatography to provide **2** and **4** as pure compounds, which upon the action of saturated methanolic ammonia afforded the target derivatives **3** and **5** in fair to excellent yields (62–96%).

Among the nucleosides tested compounds **2a**, **2e**, **2i** and **2j** proved to be the most cytotoxic (IC<sub>50</sub> 18–42  $\mu$ M) against the murine leukemia L1210, the human lymphocyte CEM, and the human cervix carcinoma HeLa cells (Table 1).

The aforementioned data combined with the importance of 3,4,5-trimethoxy substituted ring and the *cis* double bond of the known anticancer agent compretastantin [17, 18], prompted us to explore whether a *cis* configured double bond, between the aryl ring and uracil moiety could lead to

Table 1. Cytostatic activity of the compounds against tumor cell (L1210, CEM and HeLa) proliferation.

Compounds	IC <sub>50</sub> (μM)		
	L1210	CEM	HeLa
2a	25 ± 4	42 ± 6	36 ± 6
3a	> 250	> 250	> 250
2b	194 ± 80	168 ± 8	192 ± 83
3b	>250	>250	>250
2c	102 ± 34	108 ± 8	175 ±106
3c	> 250	> 250	> 250
2d	97 ± 0	108 ± 10	142 ± 46
3d	> 250	> 250	> 250
2e	37 ± 16	32 ± 1	41 ± 25
3e	> 250	> 250	> 250
2f	100 ± 21	93 ± 1	91 ± 8
3f	> 250	> 250	> 250
2g	83 ± 54	57 ± 13	101 ± 34
3g	> 250	> 250	> 250
2h	104 ± 22	93 ± 14	85 ± 12
3h	> 250	> 250	> 250
2i	23 ± 1	21 ± 3	21 ± 2
3i	> 250	> 250	> 250
2j	21 ± 0	18 ± 8	35 ± 15
3j	> 250	> 250	> 250
2k	107 ± 16	99 ± 28	152 ± 88
3k	> 250	> 250	> 250
2l	132 ± 39	101 ± 7	> 250
3l	144 ± 18	≥ 250	199 ± 48
2m	118 ± 29	138 ± 43	134 ± 17
3m	> 250	> 250	> 250
2n	87 ± 36	91 ± 24	70 ± 4
3n	6.2±0.4	5.2±2.6	5.4±0.0
4	80 ± 43	≥ 250	≥ 250
5	> 250	> 250	> 250
6n	127 ± 23	88 ± 24	108 ± 2
7n	207 ± 61	≥ 250	≥ 250
8a	94 ± 37	87 ± 45	96 ± 4
9a	179 ±100	> 250	171 ±111
8e	78 ± 52	77 ± 40	102 ± 6

(Table 1) contd....

Compounds	IC <sub>50</sub> (μM)		
	L1210	CEM	HeLa
9e	≥ 250	> 250	≥ 250
8i	123 ± 47	≥ 250	≥ 250
9i	105 ± 78	153 ± 92	103 ± 18
8j	72 ± 40	62 ± 35	87 ± 15
9j	117 ± 32	156 ± 23	94 ± 0
8k	132 ± 40	132 ± 32	≥ 250
9k	≥ 250	> 250	> 250
12a	118 ± 6	64 ± 3	76 ± 3
13a	> 250	> 250	> 250
12b	91 ± 13	100 ± 8	≥ 250
13b	> 250	> 250	> 250
12c	23 ± 4	20 ± 1	23 ± 1
13c	> 250	> 250	> 250
12d	23 ± 1	19 ± 3	20 ± 2
13d	170 ± 61	178 ± 28	> 250
12e	99 ± 11	76 ± 12	70 ± 14
13e	> 250	> 250	> 250
5-Fluorouracil	0.33 ± 0.17	18 ± 5	0.54 ± 0.12

\*50% inhibitory concentration or compound concentration required to inhibit tumor cell proliferation by 50%.

nucleosides with enhanced biological properties. When the target compounds **2a**, **2e**, **2i**, **2j**, **2k** and **2n** were treated with NiCl<sub>2</sub> and NaBH<sub>4</sub> at -78°C [19], only the (*Z*)-alkene **6n** was obtained in acceptable yield (42%), while the fully saturated analogues **8a,e,i,j,k** were isolated from the reaction mixture. All attempts, using either P-2 nickel catalyst [20] or NaBH<sub>4</sub>/Ni(OAc)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O in mixed solvent (THF/MeOH 1:1) [21] or Zn powder, AcOH in mixed solvent (THF/MeOH 10:1) [22] or Zn(Cu/Ag)/TMSCl and triethylsilane (Et<sub>3</sub>SiH) [23] or Lindlar catalyst with quinoline in acetone [24], resulted in intractable materials. The <sup>1</sup>H NMR spectra of nucleoside **6n** revealed a vinylic coupling constant of 12.2 Hz at 300-MHz resolution, which was consistent with the *cis* geometry [24]. This was firmly established *via* two-dimensional NOESY experiments which observed a cross peak between the acetyl group attached at 6'-C and the protons of phenyl group.

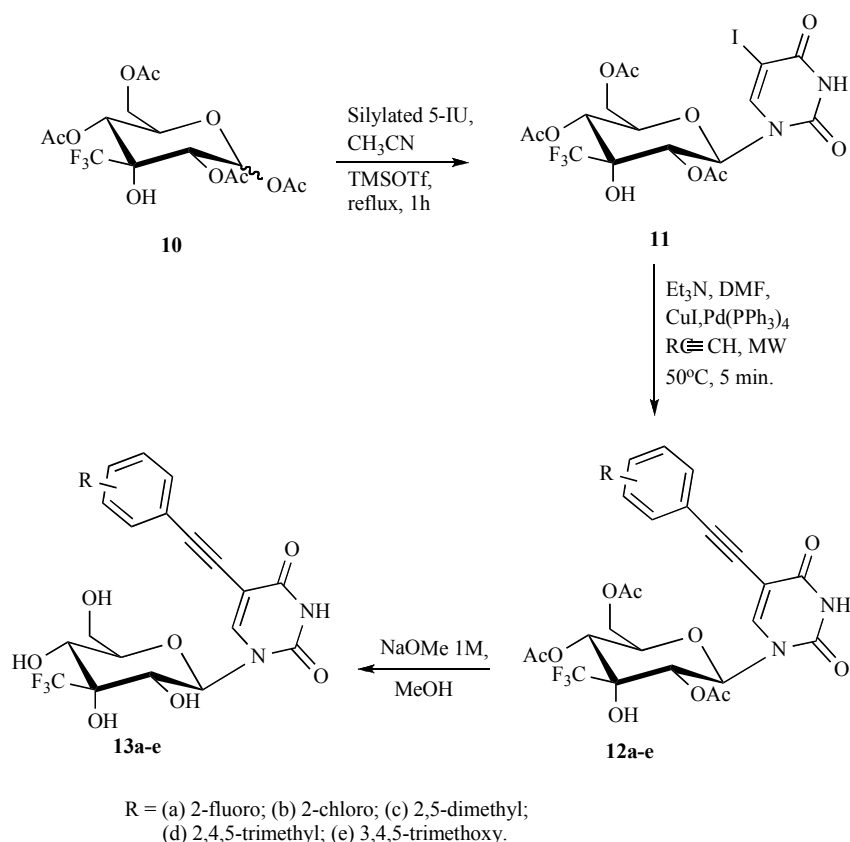
Finally, as an extension of the current study, we similarly modified the base entity of the previously reported sugar-modified highly cytotoxic analogue *i.e.* 3'-*C*-trifluoromethyl-β-D-allopyranonucleoside [13]. Our synthetic route to the target compounds *C*5-arylalkynyl-3'-*C*-trifluoromethyl-β-D-allopyranonucleosides (**13a-e**), is shown in Scheme 2. The protected 1-(2,4,6-tri-*O*-acetyl-3'-*C*-trifluoromethyl-β-D-allopyranosyl) nucleoside of 5-iodouracil (**11**), was obtained upon condensation of 1,2,4,6-tetra-*O*-acetyl-3'-*C*-trifluoromethyl-β-D-allopyranose (**10**) [13] with silylated 5-iodouracil,

in the presence of trimethylsilyltrifluoromethane-sulfonate in refluxing acetonitrile. The large coupling constants between protons H-1' and H-2' (*J*<sub>1,2'</sub> = 9.2 Hz) revealed the β-configuration of the sugar moiety. Using the same one-pot Sonogashira protocol, the novel arylalkynyl trifluoromethyl derivatives **12a-e** were successfully obtained, in very good yields (79-83%). Deacetylation of **6n**, **8a,e,i,j,k** and **12a-e** with sodium methoxide (MeONa) in dry methanol furnished the target products **7n**, **9a,e,i,j,k** and **13a-e** respectively, in satisfying yields (75-89%).

## 2.2. Biological Evaluation

The cytostatic activity of the novel *C*5-modified pyrimidine pyranonucleosides (**2**, **3**, **4**, **5**, **6n**, **7n**, **8**, **9**, **12**, **13**) was determined against murine leukemia (L1210), human lymphocyte (CEM) and human cervix carcinoma (HeLa) cell cultures (Table 1). Cytostatic activities of compounds tested, were compared with those of 5-fluorouracil (5-FU). Compounds **2a,e,i,j** and **12c,d** were less cytostatic than 5-fluorouracil on murine leukemia (L1210) (IC<sub>50</sub>: 21-37 μM), and human cervix carcinoma (HeLa) cells (IC<sub>50</sub>: 20-41 μM), while the same compounds proved to be active like 5-fluorouracil on human lymphocyte (CEM) cells (IC<sub>50</sub>: 18-42 μM). The series of *C*5-phenylethenyl **6n**, **7n** (IC<sub>50</sub>: 88-250 μM), and *C*5-arylethyl uracil pyranonucleosides **8a,e,i,j,k** (IC<sub>50</sub>: 62-250 μM), and **9a,e,i,j,k** (IC<sub>50</sub>: 103-250 μM), were devoid of significant cytostatic activity.





**Scheme 2.** Synthetic route of 1-(3'-C-trifluoromethyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-[(phenylsubstituted)ethynyl]uracil **13a-e**.

### 3. EXPERIMENTAL SECTION

#### 3.1. General Methods

Thin layer chromatography (TLC) was performed on Merck precoated 60F254 plates. Reactions were monitored by TLC on silica gel, with detection by UV light (254 nm) or by charring with sulfuric acid. Flash column chromatography was performed using silica gel (240-400 mesh, Merck).  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra were obtained at room temperature with a Bruker 300 spectrometer at 300 and 75.5 MHz, respectively using chloroform- $d$  ( $\text{CDCl}_3$ ), methanol- $d_4$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) and dimethylsulfoxide- $d_6$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ) with internal tetramethylsilane (TMS). The  $^1\text{H}$  assignments were based on  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  NOESY experiments executed using standard Varian software. Chemical shifts ( $\delta$ ) were given in ppm measured downfield from TMS, and spin-spin coupling constants are in Hz. Mass spectra were obtained on a ThermoQuest Finnigan AQA Mass Spectrometer (electrospray ionization). Optical rotations were measured using an Autopol I polarimeter and UV-Vis spectra were recorded on a PG T70 UV-VIS spectrometer. Acetonitrile ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) was distilled from calcium hydride and stored over 3Å molecular sieves.  $N,N$ -Dimethylformamide (DMF) was stored over 3Å molecular sieves. All reactions sensitive to oxygen or moisture were carried out under nitrogen atmosphere using oven-dried glassware. All microwave irradiation experiments were carried out in a dedicated CEM-Explorer and CEM Discover monomode microwave apparatus, operating at a frequency of 2.45 GHz with continuous irradiation power from 0 to 300 W with utilization of the standard absorbance level of 300 W

maximum power. The reactions were carried out in 10-mL glass tubes, sealed with a Teflon septum and placed in the microwave cavity. Initially, microwave irradiation of required watts was used, and the temperature was ramped from room temperature to the desired temperature. Once this was reached the reaction mixture was held at this temperature for the required time. The reaction mixture was continuously stirred during the reaction. The temperature was measured with an IR sensor on the outer surface of the process vial. After the irradiation period, gas jet cooling rapidly cooled the reaction vessel to ambient temperature.

#### 3.2. Antiproliferative Assay

Compounds **2-5**, **6n**, **7n**, **8**, **9**, **12** and **13**, were evaluated for their cytostatic activity against human cervix carcinoma (HeLa) cells, human lymphocytes (CEM) as well as murine leukemia (L1210) cells. All assays were performed in 96-well microtiter plates. To each well ( $5-7.5$ )  $\times 10^4$  tumor cells were added with varying concentrations of the test compounds ranging from 250, 50, 10, 2, 0.4 to 0.08  $\mu\text{M}$ . The tumor cells were allowed then to proliferate at 37°C in a humidified  $\text{CO}_2$ -controlled atmosphere. To obtain their optimal growth curves this is for 2 days of the murine leukemia (L1210) cells and for 3 days for the human lymphocytic (CEM) cells and the human cervix carcinoma (HeLa) cells, at the end of the incubation period, the cells were counted in a Coulter counter. The  $\text{IC}_{50}$  (50% inhibitory concentration) was defined as the concentration of the compound that inhibited cell proliferation by 50%. Experiments were repeated at least three times and these data are presented in Table 1.

### 3.3. General Procedure for the Preparation of C5-alkynyl Uracil Pyranonucleosides 2a-n, 4

The appropriate alkynes (0.54 mmol), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (21 mg, 0.018 mmol), CuI (3.5 mg, 0.018 mmol), triethylamine (50 μL, 0.36 mmol) and 1-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl-β-*D*-glucopyranosyl)5-iodouracil (1) (100 mg, 0.18 mmol) were irradiated in a microwave (200 Watt), in 1.0 mL of anhydrous DMF for 5 minutes at 50°C [5]. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure and the crude residue was purified by flash chromatography on silica gel. The purified material was dried *in vacuo* to afford the corresponding derivatives 2a-n and 4 in 61-94% yields, as colorless foams.

### 3.4. Spectral Data

#### 3.4.1. 1-(2',3',4',6'-Tetra-*O*-acetyl-β-*D*-glucopyranosyl)-5-[(2-fluorophenyl)ethynyl]uracil (2a)

70 mg, 78%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -2° (c 0.19, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.19 (EtOAc/Hexane 5:5); λ<sub>max</sub> 306 nm (ε 8321); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.42 (br s, 1H, NH), 7.69 (s, 1H, H-6), 7.55-7.52 (m, 1H, ArH), 7.36-7.31 (m, 1H, ArH), 7.15-7.07 (m, 2H, ArH), 5.87 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 9.4 Hz, H-1'), 5.41 (t, 1H, J = 9.4 Hz, H-3'), 5.21-5.14 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.30 (dd, 1H, J<sub>5'-6a'</sub> = 5.0 Hz, J<sub>6a'-6b'</sub> = 12.7 Hz, H-6a'), 4.17 (dd, 1H, J<sub>5'-6b'</sub> = 1.7 Hz, H-6b'), 3.96-3.93 (m, 1H, H-5'), 2.12, 2.06, 2.03, 2.02 (4s, 12H, 4OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 170.60, 169.73, 169.50, 169.34, 159.93, 149.00, 141.49, 133.68, 130.66, 130.60, 123.99, 115.63, 115.46, 101.73, 87.87, 80.67, 75.15, 72.51, 69.80, 67.67, 61.55, 20.70, 20.50, 20.48, 20.31; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 561.16; Anal. Calcd. for C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>11</sub>: C, 55.72; H, 4.50; N, 5.00; F, 3.39 % Found: C, 55.53; H, 4.58; N, 5.35; F, 3.15%.

#### 3.4.2. 1-(2',3',4',6'-Tetra-*O*-acetyl-β-*D*-glucopyranosyl)-5-[(3-fluorophenyl)ethynyl]uracil (2b)

95 mg, 94%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -4° (c 0.16, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.45 (EtOAc/Hexane 7:3); λ<sub>max</sub> 306 nm (ε 16361); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.93 (br s, 1H, NH), 7.67 (s, 1H, H-6), 7.31-7.29 (m, 2H, ArH), 7.24-7.22 (m, 1H, ArH), 7.08-7.03 (m, 1H, ArH), 5.90 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 9.4 Hz, H-1'), 5.42 (t, 1H, J = 9.4 Hz, H-3'), 5.21-5.14 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.31 (dd, 1H, J<sub>5'-6a'</sub> = 5.2 Hz, J<sub>6a'-6b'</sub> = 12.7 Hz, H-6a'), 4.15 (dd, 1H, J<sub>5'-6b'</sub> = 1.7 Hz, H-6b'), 3.98-3.95 (m, 1H, H-5'), 2.10, 2.06, 2.02, 2.01 (4s, 12H, 4OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 170.46, 169.70, 169.56, 169.37, 160.22, 149.11, 141.47, 129.89, 127.66, 124.15, 118.57, 116.25, 101.61, 93.14, 80.57, 75.11, 72.49, 69.73, 67.68, 61.61, 20.68, 20.47, 20.44, 20.28; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 561.12; Anal. Calcd. for C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>11</sub>: C, 55.72; H, 4.50; N, 5.00; F, 3.39 % Found: C, 55.63; H, 4.48; N, 5.15; F, 3.35%.

#### 3.4.3. 1-(2',3',4',6'-Tetra-*O*-acetyl-β-*D*-glucopyranosyl)-5-[(3,4-difluorophenyl)ethynyl]uracil (2c)

64 mg, 61%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -4° (c 0.15, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.30 (EtOAc/Hexane 6:4); λ<sub>max</sub> 305 nm (ε 13197); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.59 (br s, 1H, NH), 7.66 (s, 1H, H-6), 7.38-7.28 (m, 2H, ArH), 7.16-7.11 (m, 1H, ArH), 5.88 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 9.4 Hz, H-1'), 5.41 (t, 1H, J = 9.5 Hz, H-3'), 5.20-5.14 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.31 (dd, 1H, J<sub>5'-6a'</sub> = 5.2 Hz, J<sub>6a'-6b'</sub> =

12.7 Hz, H-6a'), 4.15 (dd, 1H, J<sub>5'-6b'</sub> = 1.9 Hz, H-6b'), 3.97-3.94 (m, 1H, H-5'), 2.11, 2.06, 2.02, 2.01 (4s, 12H, 4OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 170.43, 169.68, 169.58, 169.37, 160.02, 151.85, 148.97, 141.48, 128.50, 120.77, 120.63, 117.63, 101.47, 92.27, 80.62, 79.92, 75.20, 72.47, 69.75, 67.69, 61.63, 20.71, 20.49, 20.46, 20.30; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 579.11; Anal. Calcd. for C<sub>26</sub>H<sub>24</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub>: C, 53.98; H, 4.18; N, 4.84; F, 6.57% Found: C, 53.83; H, 4.35; N, 4.95; F, 6.77%.

#### 3.4.4. 1-(2',3',4',6'-Tetra-*O*-acetyl-β-*D*-glucopyranosyl)-5-[(3,5-difluorophenyl)ethynyl]uracil (2d)

64 mg, 61%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -6° (c 0.25, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.30 (EtOAc/Hexane 6:4); λ<sub>max</sub> 305 nm (ε 11302); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.48 (br s, 1H, NH), 7.68 (s, 1H, H-6), 7.06-7.02 (m, 2H, ArH), 6.84-6.80 (m, 1H, ArH), 5.87 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 9.4 Hz, H-1'), 5.41 (t, 1H, J = 9.5 Hz, H-3'), 5.22-5.13 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.31 (dd, 1H, J<sub>5'-6a'</sub> = 5.2 Hz, J<sub>6a'-6b'</sub> = 12.7 Hz, H-6a'), 4.16 (dd, 1H, J<sub>5'-6b'</sub> = 1.6 Hz, H-6b'), 3.99-3.94 (m, 1H, H-5'), 2.11, 2.06, 2.03, 2.02 (4s, 12H, 4OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 170.44, 169.68, 169.59, 169.36, 159.82, 148.89, 141.88, 114.81, 114.59, 105.03, 101.21, 92.10, 81.37, 80.65, 75.23, 72.45, 69.77, 67.67, 61.61, 20.71, 20.49, 20.46, 20.30; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 579.11; Anal. Calcd. for C<sub>26</sub>H<sub>24</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub>: C, 53.98; H, 4.18; N, 4.84; F, 6.57% Found: C, 53.63; H, 4.48; N, 5.05; F, 6.41%.

#### 3.4.5. 1-(2',3',4',6'-Tetra-*O*-acetyl-β-*D*-glucopyranosyl)-5-[(2-chlorophenyl)ethynyl]uracil (2e)

73 mg, 72%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -2° (c 0.13, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.26 (EtOAc/Hexane 5:5); λ<sub>max</sub> 308 nm (ε 14286); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.50 (br s, 1H, NH), 7.68 (s, 1H, H-6), 7.58 (dd, 1H, J = 7.5 Hz, J = 1.4 Hz, ArH), 7.42 (d, 1H, J = 7.8 Hz, ArH), 7.29 (dd, 1H, J = 7.6 Hz, J = 1.5 Hz, ArH), 7.23 (d, 1H, J = 7.5 Hz, ArH), 5.89 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 9.4 Hz, H-1'), 5.41 (t, 1H, J = 9.4 Hz, H-3'), 5.21-5.16 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.29 (dd, 1H, J<sub>5'-6a'</sub> = 5.0 Hz, J<sub>6a'-6b'</sub> = 12.7 Hz, H-6a'), 4.17 (d, 1H, J<sub>5'-6b'</sub> = 1.5 Hz, H-6b'), 3.96-3.93 (m, 1H, H-5'), 2.11, 2.06, 2.03, 2.02 (4s, 12H, 4OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 170.48, 169.72, 169.50, 169.36, 159.88, 149.01, 141.43, 135.92, 133.56, 129.83, 129.30, 126.47, 122.34, 101.77, 91.17, 84.37, 80.65, 75.11, 72.50, 69.73, 67.62, 61.52, 20.70, 20.50, 20.47, 20.31; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 577.12; Anal. Calcd. for C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>11</sub>: C, 54.13; H, 4.37; N, 4.86; Cl, 6.15% Found: C, 54.03; H, 4.48; N, 4.95; Cl, 6.20%.

#### 3.4.6. 1-(2',3',4',6'-Tetra-*O*-acetyl-β-*D*-glucopyranosyl)-5-[(3-chlorophenyl)ethynyl]uracil (2f)

50 mg, 75%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -38° (c 0.40, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.14 (EtOAc/Hexane 5:5); λ<sub>max</sub> 308 nm (ε 16050); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.47 (br s, 1H, NH), 7.67 (s, 1H, H-6), 7.53-7.27 (m, 4H, ArH), 5.87 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 9.4 Hz, H-1'), 5.41 (t, 1H, J = 9.4 Hz, H-3'), 5.22-5.13 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.31 (dd, 1H, J<sub>5'-6a'</sub> = 5.2 Hz, J<sub>6a'-6b'</sub> = 12.7 Hz, H-6a'), 4.15 (d, 1H, J<sub>5'-6b'</sub> = 1.7 Hz, H-6b'), 3.97-3.92 (m, 1H, H-5'), 2.12, 2.06, 2.03, 2.02 (4s, 12H, 4OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 170.46, 169.70, 169.55, 169.36, 160.02, 149.01, 141.47, 134.21, 131.58, 129.84, 129.57, 129.09, 124.00, 101.60, 93.00, 80.62, 75.18, 72.50, 69.74, 67.69, 61.62, 20.71, 20.49, 20.46, 20.30; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 577.09; Anal.

Calcd. for  $C_{26}H_{25}ClN_2O_{11}$ : C, 54.13; H, 4.37; N, 4.86; Cl, 6.15% Found: C, 54.23; H, 4.18; N, 4.65; Cl, 6.37%.

### 3.4.7. 1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-[(4-bromophenyl)ethynyl]uracil (2g)

87 mg, 78%;  $[\alpha]_D^{22} = -18^\circ$  (c 0.40,  $CHCl_3$ );  $R_f = 0.19$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{max}$  308 nm ( $\epsilon$  18050);  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  8.48 (br s, 1H, NH), 7.65 (s, 1H, H-6), 7.48 (d, 2H,  $J = 8.4$  Hz, ArH), 7.39 (d, 2H,  $J = 8.4$  Hz, ArH), 5.87 (d, 1H,  $J_{1-2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 5.41 (t, 1H,  $J = 9.5$  Hz, H-3'), 5.20-5.13 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.31 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'} = 5.2$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 4.15 (dd, 1H,  $J_{5'-6b'} = 1.6$  Hz, H-6b'), 3.97-3.94 (m, 1H, H-5'), 2.11, 2.06, 2.02, 2.01 (4s, 12H, 4OAc);  $^{13}C$  NMR (75.5 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  170.44, 169.68, 169.55, 169.36, 159.97, 148.97, 141.24, 133.15, 131.66, 123.21, 121.26, 101.77, 93.46, 80.63, 80.51, 75.19, 72.51, 69.75, 67.70, 61.63, 20.71, 20.49, 20.46, 20.30; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 621.08; Anal. Calcd. for  $C_{26}H_{25}BrN_2O_{11}$ : C, 50.25; H, 4.06; N, 4.51; Br, 12.86% Found: C, 50.13; H, 4.18; N, 4.65; Br, 12.67%.

### 3.4.8. 1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-[(4-methylphenyl)ethynyl]uracil (2h)

75 mg, 78%;  $[\alpha]_D^{22} = -16^\circ$  (c 0.28,  $CHCl_3$ );  $R_f = 0.15$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{max}$  311 nm ( $\epsilon$  18521);  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  8.49 (br s, 1H, NH), 7.63 (s, 1H, H-6), 7.43 (d, 2H,  $J = 8.0$  Hz, ArH), 7.15 (d, 2H,  $J = 8.0$  Hz, ArH), 5.88 (d, 1H,  $J_{1-2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 5.40 (t, 1H,  $J = 9.4$  Hz, H-3'), 5.21-5.14 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.30 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'} = 5.1$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 4.15-4.13 (m, 1H, H-6b'), 3.96-3.93 (m, 1H, H-5'), 2.36 (s, 3H,  $CH_3$ ), 2.11, 2.06, 2.02, 2.01 (4s, 12H, 4OAc);  $^{13}C$  NMR (75.5 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  170.47, 169.72, 169.48, 169.36, 160.18, 149.07, 140.71, 139.07, 131.68, 129.09, 119.20, 102.24, 94.81, 80.60, 78.66, 75.13, 72.56, 69.71, 67.69, 61.61, 21.53, 20.71, 20.50, 20.47, 20.31; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 557.16; Anal. Calcd. for  $C_{27}H_{28}N_2O_{11}$ : C, 58.27; H, 5.07; N, 5.03% Found: C, 58.57; H, 5.17; N, 4.87%.

### 3.4.9. 1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-[(2,5-dimethylphenyl)ethynyl]uracil (2i)

80 mg, 78%;  $[\alpha]_D^{22} = -22^\circ$  (c 0.40,  $CHCl_3$ );  $R_f = 0.24$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{max}$  315 nm ( $\epsilon$  11553);  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  8.60 (br s, 1H, NH), 7.61 (s, 1H, H-6), 7.32 (s, 1H, ArH), 7.10 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz, ArH), 7.05 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz, ArH), 5.89 (d, 1H,  $J_{1-2'} = 9.5$  Hz, H-1'), 5.41 (t, 1H,  $J = 9.5$  Hz, H-3'), 5.22-5.15 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.30 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'} = 5.1$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 4.16 (dd, 1H,  $J_{5'-6b'} = 1.8$  Hz, H-6b'), 3.97-3.93 (m, 1H, H-5'), 2.47, 2.30 (2s, 6H, 2 x  $CH_3$ ), 2.11, 2.06, 2.03, 2.02 (4s, 12H, 4OAc);  $^{13}C$  NMR (75.5 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  170.47, 169.72, 169.48, 169.39, 160.22, 149.19, 140.25, 137.46, 134.99, 132.39, 129.76, 129.37, 121.81, 102.44, 94.04, 82.65, 80.56, 75.08, 72.58, 69.63, 67.67, 61.59, 20.70, 20.50, 20.47, 20.31, 20.20; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 571.19; Anal. Calcd. for  $C_{28}H_{30}N_2O_{11}$ : C, 58.94; H, 5.30; N, 4.91% Found: C, 58.77; H, 5.42; N, 4.60%.

### 3.4.10. 1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-[(2,4,5-trimethylphenyl)ethynyl]uracil (2j)

80 mg, 78%;  $[\alpha]_D^{22} = -30^\circ$  (c 0.40,  $CHCl_3$ );  $R_f = 0.19$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{max}$  320 nm ( $\epsilon$  13770);  $^1H$  NMR (300

MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  8.55 (br s, 1H, NH), 7.59 (s, 1H, H-6), 7.27 (s, 1H, ArH), 7.00 (s, 1H, ArH), 5.88 (d, 1H,  $J_{1-2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 5.41 (t, 1H,  $J = 9.5$  Hz, H-3'), 5.22-5.15 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.30 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'} = 5.1$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 4.16 (dd, 1H,  $J_{5'-6b'} = 1.8$  Hz, H-6b'), 3.96-3.93 (m, 1H, H-5'), 2.44, 2.23, 2.20 (3s, 9H, 3 x  $CH_3$ ), 2.11, 2.06, 2.02, 2.01 (4s, 12H, 4OAc);  $^{13}C$  NMR (75.5 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  170.48, 169.73, 169.46, 169.38, 160.25, 149.19, 139.98, 137.83, 137.79, 133.70, 132.88, 130.89, 119.21, 102.62, 94.22, 82.04, 80.56, 75.07, 72.60, 69.63, 67.68, 61.59, 20.70, 20.50, 20.47, 20.31, 20.07, 19.71, 18.99; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 585.19; Anal. Calcd. for  $C_{29}H_{32}N_2O_{11}$ : C, 59.58; H, 5.52; N, 4.79% Found: C, 59.77; H, 5.22; N, 4.85%.

### 3.4.11. 1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-[(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethynyl]uracil (2k)

82 mg, 72%;  $[\alpha]_D^{22} = -12^\circ$  (c 0.20,  $CHCl_3$ );  $R_f = 0.18$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{max}$  319 nm ( $\epsilon$  15873);  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  8.35 (br s, 1H, NH), 7.63 (s, 1H, H-6), 6.78 (s, 2H, ArH), 5.87 (d, 1H,  $J_{1-2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 5.40 (t, 1H,  $J = 9.4$  Hz, H-3'), 5.21-5.13 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.31 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'} = 5.3$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 4.15 (dd, 1H,  $J_{5'-6b'} = 1.4$  Hz, H-6b'), 3.96-3.92 (m, 1H, H-5'), 3.87 (s, 9H, 3 x  $OCH_3$ ), 2.11, 2.06, 2.02 (3s, 12H, 4OAc);  $^{13}C$  NMR (75.5 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  170.43, 169.68, 169.55, 169.39, 160.26, 153.06, 149.05, 140.91, 117.18, 109.06, 102.00, 94.64, 80.57, 78.41, 75.14, 72.55, 69.71, 67.70, 61.65, 60.95, 56.20, 20.70, 20.48, 20.45, 20.30; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 633.19; Anal. Calcd. for  $C_{29}H_{32}N_2O_{14}$ : C, 55.06; H, 5.10; N, 4.43% Found: C, 55.27; H, 5.22; N, 4.12%.

### 3.4.12. 1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-[(4-methoxyphenyl)ethynyl]uracil (2l)

80 mg, 78%;  $[\alpha]_D^{22} = -8^\circ$  (c 0.40,  $CHCl_3$ );  $R_f = 0.17$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{max}$  320 nm ( $\epsilon$  19720);  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  8.59 (br s, 1H, NH), 7.62 (s, 1H, H-6), 7.47 (d, 2H,  $J = 8.7$  Hz, ArH), 6.86 (d, 2H,  $J = 8.7$  Hz, ArH), 5.88 (d, 1H,  $J_{1-2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 5.40 (t, 1H,  $J = 9.5$  Hz, H-3'), 5.21-5.13 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.30 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'} = 5.1$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 4.13 (m, 1H, H-6b'), 3.96-3.92 (m, 1H, H-5'), 3.82 (s, 3H,  $OCH_3$ ), 2.11, 2.06, 2.02, 2.01 (4s, 12H, 4OAc);  $^{13}C$  NMR (75.5 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  170.49, 169.73, 169.49, 169.37, 160.31, 160.04, 149.10, 140.48, 133.32, 114.34, 113.98, 102.35, 94.65, 80.56, 78.02, 75.10, 72.56, 69.69, 67.64, 61.61, 55.28, 20.72, 20.50, 20.47, 20.31; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 573.17; Anal. Calcd. for  $C_{27}H_{28}N_2O_{12}$ : C, 56.64; H, 4.93; N, 4.89% Found: C, 56.55; H, 4.87; N, 4.92%.

### 3.4.13. 1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-[(4-methoxy,2-methylphenyl)ethynyl]uracil (2m)

100 mg, 94%;  $[\alpha]_D^{22} = -54^\circ$  (c 0.40,  $CHCl_3$ );  $R_f = 0.14$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{max}$  325 nm ( $\epsilon$  13330);  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  8.54 (br s, 1H, NH), 7.58 (s, 1H, H-6), 7.41 (d, 1H,  $J = 8.5$  Hz, ArH), 6.76 (d, 1H,  $J = 2.1$  Hz, ArH), 6.71 (dd, 1H,  $J = 2.4$  Hz,  $J = 8.5$  Hz, ArH), 5.88 (d, 1H,  $J_{1-2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 5.41 (t, 1H,  $J = 9.4$  Hz, H-3'), 5.22-5.15 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.30 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'} = 5.1$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 4.16 (dd, 1H,  $J_{5'-6b'} = 1.6$  Hz, H-6b'), 3.96-3.93 (m, 1H, H-5'), 3.81 (s, 3H,  $OCH_3$ ), 2.49 (s, 3H,  $CH_3$ ), 2.11, 2.06, 2.02, 2.01 (4s, 12H, 4OAc);  $^{13}C$  NMR (75.5 MHz,

CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  170.50, 169.72, 169.47, 169.38, 160.24, 159.98, 149.15, 142.52, 139.80, 133.34, 115.11, 114.37, 111.27, 102.65, 93.94, 81.67, 80.56, 75.08, 72.59, 69.62, 67.67, 61.59, 55.22, 21.01, 20.70, 20.50, 20.47, 20.32; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 587.17; Anal. Calcd. for C<sub>28</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>12</sub>: C, 57.34; H, 5.16; N, 4.78% Found: C, 57.55; H, 5.33; N, 4.92%.

### 3.4.14. 1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-(phenylethynyl)uracil (2n)

79 mg, 81%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = + 2° (c 0.13, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.21 (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{\max}$  262 nm ( $\epsilon$  8990); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.32 (br s, 1H, NH), 7.65 (s, 1H, H-6), 7.56-7.29 (m, 5H, Ph), 5.88 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 9.4 Hz, H-1'), 5.42 (t, 1H, J = 9.5 Hz, H-3'), 5.24-5.13 (m, 2H, H-4', H-2'), 4.32 (dd, 1H, J<sub>5'-6a'</sub> = 5.0 Hz, J<sub>6a'-6b'</sub> = 12.7 Hz, H-6a'), 4.17-4.09 (m, 1H, H-6b'), 3.99-3.92 (m, 1H, H-5'), 2.11, 2.06, 2.02, (3s, 12H, 4OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  171.01, 170.58, 170.15, 169.92, 162.72, 151.02, 142.71, 133.09, 128.45, 127.9, 123.35, 101.01, 90.82, 86.45, 85.62, 76.03, 72.07, 71.04, 69.08, 62.04, 20.85, 20.46, 20.22, 20.05; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 543.15; Anal. Calcd. for C<sub>26</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub>: C, 57.56; H, 4.83; N, 5.16% Found: C, 57.40; H, 4.72; N, 5.35%.

### 3.4.15. 1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-[(6-methoxynaphthalene)ethynyl]uracil (4)

67 mg, 61%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = - 6° (c 0.14, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.37 (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{\max}$  322 nm ( $\epsilon$  18553); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.18 (br s, 1H, NH), 8.00 (s, 1H, H-6), 7.73-7.10 (m, 6H, naphthalene), 5.88 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 9.4 Hz, H-1'), 5.41 (t, 1H, J = 9.4 Hz, H-3'), 5.26-5.14 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.31 (dd, 1H, J<sub>5'-6a'</sub> = 5.1 Hz, J<sub>6a'-6b'</sub> = 12.7 Hz, H-6a'), 4.18-4.13 (m, 1H, H-6b'), 3.98-3.95 (m, 1H, H-5'), 3.93 (s, 1H, OCH<sub>3</sub>), 2.12, 2.06, 2.03 (3s, 12H, 4OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  169.72, 169.50, 169.36, 160.02, 157.86, 148.97, 140.74, 134.45, 131.82, 129.47, 128.83, 126.84, 126.12, 119.52, 105.87, 102.27, 95.27, 80.66, 78.95, 75.19, 72.57, 69.73, 67.71, 61.63, 55.37, 20.74, 20.50, 20.32; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 623.17; Anal. Calcd. for C<sub>31</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>12</sub>: C, 59.81; H, 4.86; N, 4.50% Found: C, 59.67; H, 4.63; N, 4.72%.

## 3.5. General Procedure for the Preparation of Unprotected C5-alkynyl Uracil Pyranonucleosides 3a-n, 5 (Fig. 1)

The protected nucleosides **2a-n**, **4** (0.12 mmol), were treated with methanolic ammonia (saturated at 0°C, 6.7 mL). The solution was stirred overnight at room temperature and then evaporated under reduced pressure [25]. The residue was purified by flash column chromatography to afford the unprotected derivatives **3a-n**, **5** in 62-96% yields, as yellowish and white foams.

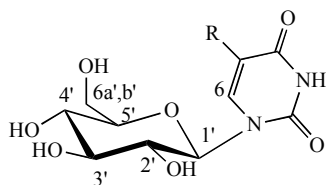


Fig. (1). <sup>1</sup>H assignments of compound **3a-n**, **5**.

### 3.5.1. 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[(2-fluorophenyl)ethynyl]uracil (3a)

30 mg, 67%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = - 3° (c 0.13, MeOH); R<sub>f</sub> = 0.55 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 8:2);  $\lambda_{\max}$  306 nm ( $\epsilon$  1765); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  11.77 (br s, 1H, NH), 8.21 (s, 1H, H-6), 7.58-7.44 (m, 2H, ArH), 7.34-7.24 (m, 2H, ArH), 5.42 (d, 1H, J = 5.0 Hz, OH), 5.37 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 9.2 Hz, H-1'), 5.18 (d, 1H, J = 4.2 Hz, OH), 5.08 (d, 1H, J = 5.4 Hz, OH), 4.59 (t, 1H, J = 5.8 Hz, OH), 3.71 (dd, 1H, J<sub>5'-6a'</sub> = 5.1 Hz, J<sub>6a'-6b'</sub> = 11.1 Hz, H-6a'), 3.54-3.44 (m, 2H, H-5', H-6b'), 3.30-3.20 (m, 3H, H-3', H-4', H-2'); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  160.97, 149.70, 145.22, 133.33, 130.94, 130.88, 124.75, 115.75, 115.59, 98.32, 86.96, 85.21, 82.78, 79.88, 76.48, 70.99, 69.15, 60.81; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 393.11; Anal. Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 55.10; H, 4.37; N, 7.14, F, 4.84% Found: C, 55.07; H, 4.58; N, 7.00; F, 4.80%.

### 3.5.2. 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[(3-fluorophenyl)ethynyl]uracil (3b)

29 mg, 62%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = - 5° (c 0.26, MeOH); R<sub>f</sub> = 0.34 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 8:2);  $\lambda_{\max}$  306 nm ( $\epsilon$  11424); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  11.77 (br s, 1H, NH), 8.21 (s, 1H, H-6), 7.49-7.44 (m, 1H, ArH), 7.35-7.24 (m, 3H, ArH), 5.42 (d, 1H, J = 5.0 Hz, OH), 5.37 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 9.2 Hz, H-1'), 5.20 (d, 1H, J = 3.6 Hz, OH), 5.00 (d, 1H, J = 5.3 Hz, OH), 4.58 (t, 1H, J = 5.8 Hz, OH), 3.71 (dd, 1H, J<sub>5'-6a'</sub> = 5.0 Hz, J<sub>6a'-6b'</sub> = 11.7 Hz, H-6a'), 3.53-3.44 (m, 2H, H-5', H-6b'), 3.33-3.19 (m, 3H, H-3', H-4', H-2'); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  162.72, 160.97, 149.69, 145.32, 130.84, 127.41, 124.28, 117.61, 115.78, 98.23, 90.63, 83.24, 82.71, 79.87, 76.47, 70.99, 69.19, 60.79; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 393.09; Anal. Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 55.10; H, 4.37; N, 7.14, F, 4.84% Found: C, 55.22; H, 4.35; N, 6.95, F, 4.93%.

### 3.5.3. 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[(3,4-difluorophenyl)ethynyl]uracil (3c)

29 mg, 78%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = - 4° (c 0.15, MeOH); R<sub>f</sub> = 0.13 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 9:1);  $\lambda_{\max}$  305 nm ( $\epsilon$  27021); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  11.75 (br s, 1H, NH), 8.20 (s, 1H, H-6), 7.62-7.35 (m, 3H, ArH), 5.42 (d, 1H, J = 5.0 Hz, OH), 5.37 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 9.2 Hz, H-1'), 5.21 (d, 1H, J = 4.3 Hz, OH), 5.10 (d, 1H, J = 5.5 Hz, OH), 4.59 (t, 1H, J = 5.8 Hz, OH), 3.71 (dd, 1H, J<sub>5'-6a'</sub> = 5.3 Hz, J<sub>6a'-6b'</sub> = 10.8 Hz, H-6a'), 3.52-3.44 (m, 2H, H-5', H-6b'), 3.32-3.19 (m, 3H, H-3', H-4', H-2'); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  160.96, 150.71, 149.69, 145.33, 128.68, 120.12, 119.98, 118.23, 98.16, 89.80, 82.81, 79.88, 76.47, 71.03, 69.20, 60.79; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 411.10; Anal. Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 52.69; H, 3.93; N, 6.83; F, 9.26%. Found: C, 52.51; H, 4.10; N, 6.50; F, 9.33%.

### 3.5.4. 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[(3,5-difluorophenyl)ethynyl]uracil (3d)

29 mg, 78%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = - 7° (c 0.17, MeOH); R<sub>f</sub> = 0.38 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 8:2);  $\lambda_{\max}$  307 nm ( $\epsilon$  25931); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  11.79 (br s, 1H, NH), 8.24 (s, 1H, H-6), 7.36-7.32 (m, 1H, ArH), 7.26-7.22 (m, 2H, ArH), 5.42 (d, 1H, J = 5.0 Hz, OH), 5.37 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 9.2 Hz, H-1'), 5.22

(d, 1H,  $J = 4.1$  Hz, OH), 5.10 (d, 1H,  $J = 5.5$  Hz, OH), 4.58 (t, 1H,  $J = 5.8$  Hz, OH), 3.71 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'} = 5.2$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 10.9$  Hz, H-6a'), 3.52-3.44 (m, 2H, H-5', H-6b'), 3.32-3.19 (m, 3H, H-3', H-4', H-2');  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  160.83, 149.66, 145.85, 125.19, 114.36, 114.14, 104.86, 97.87, 84.54, 82.70, 79.89, 76.45, 71.04, 69.22, 60.78; Mass (M+H) $^+$ : 411.09; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_7$ : C, 52.69; H, 3.93; N, 6.83; F, 9.26%. Found: C, 52.60; H, 4.03; N, 6.71; F, 9.30%.

### 3.5.5. 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[(2-chlorophenyl)ethynyl]uracil (3e)

33 mg, 67%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -2^\circ$  (c 0.40, MeOH);  $R_f = 0.10$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  9:1);  $\lambda_{\text{max}}$  308 nm ( $\epsilon$ 14867);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  11.75 (br s, 1H, NH), 8.18 (s, 1H, H-6), 7.62 (dd, 1H,  $J = 7.4$  Hz,  $J = 1.7$  Hz, ArH) 7.57 (dd, 1H,  $J = 7.0$  Hz,  $J = 1.0$  Hz, ArH) 7.44-7.37 (m, 2H, ArH), 5.43 (d, 1H,  $J = 5.0$  Hz, OH), 5.37 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 9.2$  Hz, H-1'), 5.18 (d, 1H,  $J = 4.2$  Hz, OH), 5.08 (d, 1H,  $J = 5.4$  Hz, OH), 4.58 (t, 1H,  $J = 5.8$  Hz, OH), 3.71 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'} = 5.3$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 10.8$  Hz, H-6a'), 3.55-3.44 (m, 2H, H-5', H-6b') 3.31-3.21 (m, 3H, H-3', H-4', H-2');  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  160.91, 149.70, 145.14, 134.22, 133.39, 130.21, 129.31, 127.27, 122.01, 98.36, 88.57, 87.00, 82.82, 79.91, 76.49, 70.96, 69.17, 60.80; Mass (M+H) $^+$ : 409.08; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{ClN}_2\text{O}_7$ : C, 52.89; H, 4.19; N, 6.85; Cl, 8.67% Found: C, 52.67; H, 4.08; N, 6.65; Cl, 8.80%.

### 3.5.6. 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[(3-chlorophenyl)ethynyl]uracil (3f)

33 mg, 67%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -8^\circ$  (c 0.20, MeOH);  $R_f = 0.10$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  9:1);  $\lambda_{\text{max}}$  308 nm ( $\epsilon$ 14106);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  11.78 (br s, 1H, NH), 8.22 (s, 1H, H-6), 7.55-7.44 (m, 4H, ArH), 5.43 (d, 1H,  $J = 5.0$  Hz, OH), 5.37 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 9.1$  Hz, H-1'), 5.22 (d, 1H,  $J = 4.2$  Hz, OH), 5.11 (d, 1H,  $J = 5.5$  Hz, OH), 4.61 (t, 1H,  $J = 5.9$  Hz, OH), 3.71 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'} = 5.2$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 11.3$  Hz, H-6a'), 3.53-3.43 (m, 4H, H-2', H-3', H-4', H-6b') 3.24-3.19 (m, 1H, H-5');  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  160.94, 149.69, 145.43, 133.19, 130.58, 130.42, 129.63, 128.66, 124.26, 98.21, 90.41, 83.65, 79.90, 76.46, 71.00, 69.20, 60.81; Mass (M+H) $^+$ : 409.10; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{ClN}_2\text{O}_7$ : C, 52.89; H, 4.19; N, 6.85; Cl, 8.67% Found: C, 52.73; H, 4.38; N, 6.95; Cl, 8.50%.

### 3.5.7. 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[(4-bromophenyl)ethynyl]uracil (3g)

33 mg, 96%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -2^\circ$  (c 0.20, MeOH);  $R_f = 0.13$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  9:1);  $\lambda_{\text{max}}$  310 nm ( $\epsilon$  22494);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  11.77 (br s, 1H, NH), 8.22 (s, 1H, H-6), 7.63 (d, 2H,  $J = 8.3$  Hz, ArH), 7.44 (d, 2H,  $J = 8.3$  Hz, ArH), 5.42 (d, 1H,  $J = 4.8$  Hz, OH), 5.36 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 9.0$  Hz, H-1'), 5.22 (br s, 1H, OH), 5.10 (d, 1H,  $J = 5.1$  Hz, OH), 4.59 (t, 1H,  $J = 4.8$  Hz, OH), 3.70 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'} = 4.3$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 11.5$  Hz, H-6a'), 3.55-3.40 (m, 3H, H-5', H-3', H-6b') 3.25-3.18 (m, 2H, H-4', H-2');  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  160.98, 149.69, 145.09, 132.91, 131.72, 121.91, 121.52, 98.37, 90.86, 83.43, 82.70, 79.86, 76.47, 70.98, 69.17, 60.79; Mass (M+H) $^+$ : 453.03; Anal. Calcd. for

$\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{BrN}_2\text{O}_7$ : C, 47.70; H, 3.78; N, 6.18; Br, 17.63% Found: C, 47.57; H, 3.88; N, 6.45; Br, 17.38%.

### 3.5.8. 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[(4-methylphenyl)ethynyl]uracil (3h)

35 mg, 75%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -2^\circ$  (c 0.25, MeOH);  $R_f = 0.47$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  8:2);  $\lambda_{\text{max}}$  309 nm ( $\epsilon$  21742);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  11.66 (br s, 1H, NH), 8.12 (s, 1H, H-6), 7.36 (d, 2H,  $J = 8.0$  Hz, ArH), 7.20 (d, 2H,  $J = 8.0$  Hz, ArH), 5.38 (d, 1H,  $J = 5.0$  Hz, OH), 5.33 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 9.2$  Hz, H-1'), 5.16 (d, 1H,  $J = 4.0$  Hz, OH), 5.05 (d, 1H,  $J = 5.4$  Hz, OH), 4.55 (t, 1H,  $J = 5.7$  Hz, OH), 3.68 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'} = 4.0$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 11.0$  Hz, H-6a'), 3.50-3.41 (m, 2H, H-2', H-3'), 3.28-3.17 (m, 3H, H-4', H-5', H-6b'), 2.47 (s, 3H, CH $_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  161.13, 149.73, 144.48, 138.37, 130.97, 129.28, 119.26, 98.80, 92.10, 82.65, 81.37, 79.86, 76.50, 70.96, 69.16, 60.81, 20.93; Mass (M+H) $^+$ : 389.12; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_7$ : C, 58.76; H, 5.19; N, 7.21% Found: C, 58.63; H, 5.32; N, 7.09%.

### 3.5.9. 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[(2,5-dimethylphenyl)ethynyl]uracil (3i)

30 mg, 62%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +2^\circ$  (c 0.35, MeOH);  $R_f = 0.16$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  8:2);  $\lambda_{\text{max}}$  311 nm ( $\epsilon$  20845);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, CD $_3$ OD):  $\delta$  8.05 (s, 1H, H-6), 7.28 (s, 1H, ArH), 7.11 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz, ArH), 7.06 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz, ArH), 5.89 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 9.2$  Hz, H-1'), 3.87 (d, 1H,  $J_{6a'-6b'} = 12.0$  Hz, H-6a') 3.77 (dd, 1H,  $J_{5'-6b'} = 3.5$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.2$  Hz, H-6b'), 3.61 (t, 1H,  $J = 8.7$  Hz, H-3'), 3.54-3.47 (m, 3H, H-2', H-4', H-5'), 2.42, 2.28 (2s, 6H, 2 x CH $_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz, CD $_3$ OD):  $\delta$  163.87, 151.77, 144.60, 138.29, 136.40, 133.18, 130.58, 130.50, 123.69, 101.83, 93.50, 85.00, 84.60, 81.14, 78.53, 73.21, 70.79, 62.29, 20.81, 20.38; Mass (M+H) $^+$ : 403.15; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_7$ : C, 59.70; H, 5.51; N, 6.96% Found: C, 59.63; H, 5.32; N, 7.12%.

### 3.5.10. 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[(2,4,5-trimethylphenyl)ethynyl]uracil (3j)

30 mg, 62%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -2^\circ$  (c 0.35, MeOH);  $R_f = 0.16$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  8:2);  $\lambda_{\text{max}}$  313 nm ( $\epsilon$  11204);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, CD $_3$ OD):  $\delta$  8.02 (s, 1H, H-6), 7.22 (s, 1H, ArH), 7.00 (s, 1H, ArH), 5.58 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 9.2$  Hz, H-1'), 3.88-3.74 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 3.61 (t, 1H,  $J = 8.8$  Hz, H-3'), 3.55-3.48 (m, 3H, H-2', H-4', H-5'), 2.39, 2.23, 2.20 (3s, 9H, 3 x CH $_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz, CD $_3$ OD):  $\delta$  163.93, 151.78, 144.32, 138.72, 134.97, 133.70, 131.87, 121.12, 102.03, 93.69, 84.59, 81.13, 78.54, 73.20, 70.79, 62.30, 20.29, 19.74, 19.14; Mass (M+H) $^+$ : 417.15; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_7$ : C, 60.57; H, 5.81; N, 6.73% Found: C, 60.63; H, 5.62; N, 6.68%.

### 3.5.11. 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethynyl]uracil (3k)

30 mg, 62%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -8^\circ$  (c 0.40, MeOH);  $R_f = 0.16$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  8:2);  $\lambda_{\text{max}}$  319 nm ( $\epsilon$  12200);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, CD $_3$ OD):  $\delta$  8.08 (s, 1H, H-6), 6.86 (s, 2H, ArH), 5.58 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 9.0$  Hz, H-1'), 3.87 (d, 1H,  $J = 11.5$  Hz, H-6b'), 3.84, 3.78 (2s, 9H, 3 x OCH $_3$ ), 3.76 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'} = 4.3$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.1$  Hz, H-6a'), 3.59 (t, 1H,  $J = 8.8$  Hz, H-3'), 3.54-3.45 (m, 3H, H-2', H-4', H-5');  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,

CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  164.07, 154.57, 151.61, 145.12, 140.29, 119.57, 110.07, 101.41, 94.39, 84.57, 81.13, 78.48, 73.35, 70.81, 62.33, 61.25, 56.76; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 465.11; Anal. Calcd. for C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>: C, 54.31; H, 5.21; N, 6.03% Found: C, 54.63; H, 5.42; N, 6.38%.

### 3.5.12. 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[(4-methoxyphenyl)ethyl]uracil (3l)

42 mg, 83%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = - 6° (c 0.40, MeOH); R<sub>f</sub> = 0.06 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 9:1);  $\lambda_{\max}$  314 nm ( $\epsilon$  16898); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  11.70 (br s, 1H, NH), 8.11 (s, 1H, H-6), 7.43 (d, 2H, *J* = 8.8 Hz, ArH), 6.97 (d, 2H, *J* = 8.8 Hz, ArH), 5.40 (d, 1H, *J* = 5.1 Hz, OH), 5.36 (d, 1H, *J*<sub>1'-2'</sub> = 9.2 Hz, H-1'), 5.18 (d, 1H, *J* = 4.4 Hz, OH), 5.07 (d, 1H, *J* = 5.5 Hz, OH), 4.58 (t, 1H, *J* = 5.9 Hz, OH), 3.79 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.70 (dd, 1H, *J*<sub>5'-6a'</sub> = 5.4 Hz, *J*<sub>6a'-6b'</sub> = 10.8 Hz, H-6a'), 3.54-3.43 (m, 2H, H-2', H-3'), 3.29-3.19 (m, 3H, H-4', H-5', H-6b'); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  161.18, 159.39, 149.74, 144.15, 132.65, 114.30, 98.99, 92.02, 82.66, 80.47, 79.85, 76.51, 70.96, 69.16, 60.81, 55.18; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 405.11; Anal. Calcd. for C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>: C, 56.43; H, 4.99; N, 6.93% Found: C, 56.63; H, 5.12; N, 6.78%.

### 3.5.13. 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[(4-methoxy, 2-methylphenyl)ethynyl]uracil (3m)

35 mg, 75%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = - 4° (c 0.28, MeOH); R<sub>f</sub> = 0.12 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 9:1);  $\lambda_{\max}$  316 nm ( $\epsilon$  22563); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  11.68 (br s, 1H, NH), 8.08 (s, 1H, H-6), 7.36 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, ArH), 6.89 (d, 1H, *J* = 2.0 Hz, ArH), 6.80 (dd, 1H, *J* = 2.3 Hz, *J* = 8.5 Hz, ArH), 5.40 (d, 1H, *J* = 5.0 Hz, OH), 5.36 (d, 1H, *J*<sub>1'-2'</sub> = 9.2 Hz, H-1'), 5.19 (d, 1H, *J* = 3.4 Hz, OH), 5.08 (d, 1H, *J* = 5.2 Hz, OH), 4.58 (t, 1H, *J* = 5.7 Hz, OH), 3.77 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.71 (dd, 1H, *J*<sub>5'-6a'</sub> = 4.3 Hz, *J*<sub>6a'-6b'</sub> = 11.0 Hz, H-6a'), 3.55-3.44 (m, 2H, H-2', H-3'), 3.29-3.20 (m, 3H, H-4', H-5', H-6b'), 2.41 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  161.22, 159.30, 149.80, 143.51, 141.40, 132.72, 114.25, 112.16, 111.17, 99.31, 91.19, 84.01, 82.72, 79.55, 76.89, 71.06, 69.38, 55.67, 20.39; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 419.12; Anal. Calcd. for C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>: C, 57.41; H, 5.30; N, 6.70% Found: C, 57.63; H, 5.12; N, 6.78%.

### 3.5.14. 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-(phenylethynyl)uracil (3n)

37 mg, 82%; Chemical and physical properties of nucleoside **3n** are in agreement with previously reported data [12].

### 3.5.15. 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[(6-methoxynaphthalene)ethynyl]uracil (5)

38 mg, 67%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = - 4° (c 0.20, MeOH); R<sub>f</sub> = 0.17 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 8:2);  $\lambda_{\max}$  322 nm ( $\epsilon$  20173); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  8.11 (s, 1H, H-6), 7.96-7.14 (m, 6H, naphthalene), 5.60 (d, 1H, *J*<sub>1'-2'</sub> = 9.1 Hz, H-1'), 3.92 (s, 3H, O-CH<sub>3</sub>), 3.89-3.48 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b'); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  161.15, 158.06, 149.74, 144.51, 133.82, 130.71, 129.26, 128.25, 127.95, 127.08, 119.35, 117.04, 106.04, 98.87, 92.57, 81.65, 79.87, 76.50, 71.01, 69.18, 60.81, 55.25; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 455.12; Anal. Calcd. for C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>: C, 60.79; H, 4.88; N, 6.16% Found: C, 60.63; H, 4.62; N, 6.38%.

## 3.6. General Procedure for the Preparation of C5-phenylethenyl **6n** and C5-arylethyl Uracil Pyranonucleosides **8a,e,i,j,k**

Nucleosides **2a,e,i,j,k,n** (0.27 mmol, 0.150 g) were dissolved in excess dry methanol (20.0 mL) and cooled to -78°C. NiCl<sub>2</sub> (3 mmol, 0.350 g) was dissolved in hot MeOH (2.0 mL) and added to the reaction mixture. NaBH<sub>4</sub> (3 mmol, 0.128 g) was added to the reaction mixture portion-wise over 3 min and the reaction mixture held at -78°C for 30 min. The reaction mixture was then allowed to warm until it went black at which point silica was immediately added (an equal mass to that of the starting nucleoside). The reaction mixture was then adsorbed onto the silica, and purified by column chromatography [19].

### 3.6.1. 1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-(phenylethenyl)uracil (6n)

63 mg, 42%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = + 4° (c 0.20, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.25 (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{\max}$  262 nm ( $\epsilon$  20173); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  9.12 (br s, 1H, NH), 7.54-7.45 (m, 6H, Ph, H-6), 6.88 (d, 1H, *J* = 12.2 Hz, CH=CH), 6.52 (d, 1H, *J* = 12.2 Hz, CH=CH), 5.83 (d, 1H, *J*<sub>1'-2'</sub> = 9.2 Hz, H-1'), 5.39 (t, 1H, *J* = 9.5 Hz, H-3'), 4.89 (t, 1H, *J* = 9.8 Hz, H-4'), 4.73 (t, 1H, *J* = 9.3 Hz, H-2'), 4.15-4.12 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 3.92-3.89 (m, 1H, H-5'), 2.19, 2.16, 2.15, 2.10 (4s, 12H, OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  170.36, 169.62, 169.36, 169.34, 162.20, 149.39, 137.18, 136.54, 131.84, 129.07, 128.37, 127.66, 119.19, 112.00, 80.16, 74.48, 72.25, 70.47, 67.61, 61.88, 20.68, 20.47, 20.43, 20.26; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 545.16; Anal. Calcd. for C<sub>26</sub>H<sub>28</sub>ON<sub>2</sub>O<sub>11</sub>: C, 57.35; H, 5.18; N, 5.14% Found: C, 57.63; H, 5.32; N, 5.38%.

### 3.6.2. 1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-[(2-fluorophenyl)ethyl]uracil (8a)

79 mg, 52%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = - 2° (c 0.19, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.19 (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{\max}$  306 nm ( $\epsilon$  8321); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.18 (br s, 1H, NH), 7.19 (m, 2H, ArH), 7.07-6.99 (m, 2H, ArH), 6.96 (s, 1H, H-6), 5.80 (d, 1H, *J*<sub>1'-2'</sub> = 9.5 Hz, H-1'), 5.36 (t, 1H, *J* = 9.4 Hz, H-3'), 5.12-5.07 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.22 (dd, 1H, *J*<sub>5'-6a'</sub> = 5.0 Hz, *J*<sub>6a'-6b'</sub> = 12.6 Hz, H-6a'), 4.11 (dd, 1H, *J*<sub>5'-6b'</sub> = 1.8 Hz, H-6b'), 3.90-3.86 (m, 1H, H-5'), 2.93-2.82 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.74-2.69 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.63-2.57 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.11, 2.05, 2.02, 1.98 (4s, 12H, 4OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  170.2, 169.8, 166.3, 162.5, 150.8, 141.2, 132.5, 128.3, 127.4, 124.4, 115.4, 111.8, 86.7, 76.9, 72.9, 70.4, 68.8, 62.4, 32.9, 25.1, 21.2, 20.7, 20.4, 20.2; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 565.18; Anal. Calcd. for C<sub>26</sub>H<sub>29</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>11</sub>: C, 55.32; H, 5.18; N, 4.96; F, 3.37% Found: C, 55.52; H, 4.78; N, 5.35; F, 3.15%.

### 3.6.3. 1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-[(2-chlorophenyl)ethyl]uracil (8e)

74 mg, 49%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = - 2° (c 0.13, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.26 (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{\max}$  308 nm ( $\epsilon$  14286); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.25 (br s, 1H, NH), 7.28 (t, 2H, *J* = 8.0, ArH), 7.21 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz, ArH), 6.94 (s, 1H, H-6), 5.80 (d, 1H, *J*<sub>1'-2'</sub> = 9.5 Hz, H-1'), 5.36 (t, 1H, *J* = 9.4 Hz, H-3'), 5.13-5.07 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.23 (dd, 1H, *J*<sub>5'-6a'</sub> = 5.1 Hz, *J*<sub>6a'-6b'</sub> = 12.6 Hz, H-6a'), 4.11 (dd, 1H, *J*<sub>5'-6a'</sub> = 1.6 Hz, H-6b'), 3.90-3.87 (m, 1H, H-5'), 2.86 (t, 2H, *J* = 7.7 Hz, CH<sub>2</sub>),

2.72-2.60 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 170.48, 169.72, 169.46, 169.38, 162.32, 150.02, 140.78, 135.06, 128.59, 128.46, 126.17, 115.30, 80.21, 74.83, 72.64, 69.30, 67.73, 61.77, 34.42, 28.72, 20.74, 20.52, 20.34; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 581.15; Anal. Calcd. for C<sub>26</sub>H<sub>29</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>11</sub>: C, 53.75; H, 5.03; N, 4.82; Cl, 6.10% Found: C, 54.03; H, 5.23; N, 4.92; Cl, 6.35%.

### 3.6.4. 1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(2,5-dimethylphenyl)ethyl]uracil (8i)

66 mg, 44%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -22° (c 0.40, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.24 (EtOAc/Hexane 5:5); λ<sub>max</sub> 315 nm (ε 11553); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.12 (br s, 1H, NH), 7.04 (d, 2H, J = 8.4 Hz, ArH), 6.99 (s, 1H, H-6), 6.93 (d, 1H, J = 7.6 Hz, ArH), 5.83 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 9.5 Hz, H-1'), 5.38 (t, 1H, J = 9.5 Hz, H-3'), 5.16-5.07 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.25 (dd, 1H, J<sub>5'-6a'</sub> = 5.2 Hz, J<sub>6a'-6b'</sub> = 12.7 Hz, H-6a'), 4.11 (dd, 1H, J<sub>5'-6b'</sub> = 1.9 Hz, H-6b'), 3.92-3.89 (m, 1H, H-5'), 2.81-2.77 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.62-2.54 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.32, 2.29 (2s, 6H, 2 x CH<sub>3</sub>), 2.10, 2.06, 2.02, 2.00 (4s, 12H, 4OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 170.50, 169.68, 169.46, 169.35, 162.32, 150.82, 140.76, 135.16, 128.63, 128.54, 126.23, 115.34, 80.22, 74.93, 72.64, 69.38, 67.73, 61.81, 34.44, 28.72, 20.74, 20.52, 20.34, 19.82, 19.15; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 575.22; Anal. Calcd. for C<sub>28</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub>: C, 58.53; H, 5.96; N, 4.88% Found: C, 58.75; H, 5.62; N, 4.68%.

### 3.6.5. 1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(2,4,5-trimethylphenyl)ethyl]uracil (8j)

65 mg, 43%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -30° (c 0.40, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.19 (EtOAc/Hexane 5:5); λ<sub>max</sub> 320 nm (ε 13770); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.24 (br s, 1H, NH), 7.10 (s, 1H, H-6), 6.45 (s, 2H, ArH), 5.84 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 9.5 Hz, H-1'), 5.38 (t, 1H, J = 9.4 Hz, H-3'), 5.19-5.11 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.28 (dd, 1H, J<sub>5'-6a'</sub> = 5.1 Hz, J<sub>6a'-6b'</sub> = 12.6 Hz, H-6a'), 4.14 (d, 1H, H-6b'), 2.81-2.77 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.58-2.54 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.30, 2.21, 2.20 (3s, 9H, 3 x CH<sub>3</sub>), 2.10, 2.06, 2.03, 2.00 (4s, 12H, 4OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 170.50, 169.68, 169.46, 169.35, 162.32, 150.82, 140.76, 135.16, 128.63, 128.54, 126.23, 115.34, 80.22, 74.93, 72.64, 69.38, 67.73, 61.81, 34.44, 28.72, 20.74, 20.52, 20.34, 19.82, 19.15, 19.10; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 589.23; Anal. Calcd. for C<sub>29</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub>: C, 59.18; H, 6.16; N, 4.76% Found: C, 59.57; H, 5.96; N, 4.36%.

### 3.6.6. 1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethyl]uracil (8k)

69 mg, 46%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -12° (c 0.20, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.18 (EtOAc/Hexane 5:5); λ<sub>max</sub> 319 nm (ε 15873); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.27 (br s, 1H, NH), 7.10 (s, 1H, H-6), 7.10 (s, 2H, ArH), 5.84 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 9.5 Hz, H-1'), 5.38 (t, 1H, H-2'), 5.19-5.11 (m, 2H, H-3', H-4'), 4.28 (dd, 1H, J<sub>5'-6a'</sub> = 5.1 Hz, J<sub>6a'-6b'</sub> = 12.6 Hz, H-6a'), 4.12 (d, 1H, H-6b'), 3.93-3.90 (m, 1H, H-5'), 3.86, 3.82 (s, 9H, 3 x OCH<sub>3</sub>), 2.81-2.77 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.66-2.63 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.10, 2.06, 2.02, 2.00 (4s, 12H, 4OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 170.43, 169.68, 169.55, 169.39, 160.26, 153.06, 149.05, 140.91, 136.02, 111.18, 105.06, 85.60, 76.90, 78.41, 73.02, 70.08, 69.21, 67.70, 62.40, 60.95, 56.20, 32.86, 32.24, 20.48, 20.45,

20.30; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 637.22; Anal. Calcd. for C<sub>29</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>14</sub>: C, 54.71; H, 5.70; N, 4.40% Found: C, 55.11; H, 5.90; N, 4.30%.

### 3.7. 1-(2',4',6'-Tri-O-acetyl-3'-C-trifluoromethyl-β-D-glucopyranosyl)5-iodouracil (11)

A mixture of 5-iodouracil (646 mg, 4.68 mmol), hexamethyldisilazane (HMDS) (1.2 mL, 5.78 mmol) and saccharine (40 mg, 0.22 mmol) in anhydrous CH<sub>3</sub>CN (33.0 mL) was refluxed for 30 min under nitrogen. 1,2,4,6-Tetra-O-acetyl-3-C-trifluoromethyl-β-D-allopyranose [13] (1.62 g, 3.89 mmol) and TMSOTf (1.0 mL, 5.45 mmol) were then added and the reaction mixture was refluxed for 1h, cooled, neutralized with aqueous NaHCO<sub>3</sub>, and extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3x300 mL). The organic extract was dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and evaporated to dryness. The residue was purified by flash chromatography (EtOAc/Hexane, 2:8) to give pure **11** (1.33 g, 70%) as a white solid. m.p. 122-124°C; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -15 (c 0.41, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.29 (EtOAc/Hexane, 2:8); λ<sub>max</sub> 262 nm (ε 8434); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 8.17 (br s, 1H, NH), 7.42 (s, 1H, H-6), 6.08 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 9.2 Hz, H-1'), 5.45 (d, 1H, J<sub>4'-5'</sub> = 9.8 Hz, H-4'), 5.30 (d, 1H, H-2'), 4.31-4.22 (m, 2H, H-5', H-6a'), 4.10 (dd, 1H, J<sub>5'-6b'</sub> = 1.3 Hz, J<sub>6a'-6b'</sub> = 10.7 Hz, H-6b'), 2.14, 2.11, 2.09 (3s, 9H, 3OAc); ESI-MS (m/z): 595.00 (M+H)<sup>+</sup>. Anal. Calcd. for C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>I<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>: C, 34.36; H, 3.05; N, 4.71; I, 21.36; F, 9.59% Found: C, 34.56; H, 3.25; N, 4.51; I, 21.26; F, 9.69%.

### 3.8. General Procedure for the Preparation of C5-arylalkynyl-3'-C-trifluoromethyl Uracil Pyranonucleosides 12a-e

The appropriate alkynes (0.54 mmol), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (20 mg, 0.017 mmol), CuI (3.2 mg, 0.017 mmol), triethylamine (47 μL, 0.34 mmol) and 1-(2',4',6'-tri-O-acetyl-3'-C-trifluoromethyl-β-D-glucopyranosyl)5-iodouracil (**11**) (100 mg, 0.17 mmol) were irradiated in a microwave (200 Watt), in 1.0 mL of anhydrous DMF for 5 minutes at 50°C. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure and the crude residue was purified by flash chromatography on silica gel. The purified material was dried *in vacuo* to afford the corresponding derivatives **12a-e** in 79-83% yields, as colorless foams.

#### 3.8.1. 1-(2',4',6'-Tri-O-acetyl-3'-C-trifluoromethyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(2-fluorophenyl)ethynyl]uracil (12a)

80 mg, 81%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -4° (c 0.22, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.19 (EtOAc/Hexane 5:5); λ<sub>max</sub> 306 nm (ε 8250); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.23 (br s, 1H, NH), 7.69 (s, 1H, H-6), 7.58-7.52 (m, 1H, ArH), 7.37-7.29 (m, 1H, ArH), 7.13 (dd, 2H, J = 7.2 Hz, J = 15.3 Hz, ArH), 6.48 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 8.9 Hz, H-1'), 5.56 (d, 1H, J<sub>4'-5'</sub> = 9.9 Hz, H-4'), 5.41 (d, 1H, H-2'), 4.57-4.52 (m, 1H, H-5'), 4.20-4.10 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 2.12, 2.11, 2.06 (3s, 9H, 3OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 170.60, 169.50, 169.34, 161.6, 159.93, 149.17, 141.38, 133.53, 128.84, 126.62, 123.95, 115.63, 109.03, 101.73, 93.15, 89.67, 86.15, 80.03, 72.80, 63.67, 61.55, 46.53, 20.70, 20.50, 20.31; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 587.12; Anal. Calcd. for C<sub>25</sub>H<sub>22</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>: C, 51.20; H, 3.78; N, 4.78; F, 12.96% Found: C, 51.50; H, 4.08; N, 4.58; F, 12.76%.

### 3.8.2. 1-(2',4',6'-Tri-O-acetyl-3'-C-trifluoromethyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(2-chlorophenyl)ethynyl]uracil (12b)

81 mg, 79 %;  $[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c 0.18, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.24$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{max}$  318 nm ( $\epsilon$  9524); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.19 (br s, 1H, NH), 7.71 (s, 1H, H-6), 7.62 (d, 1H,  $J = 7.5$  Hz, ArH), 7.45 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz, ArH), 7.34-7.24 (m, 2H, ArH), 6.51 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 8.6$  Hz, H-1'), 5.59 (d, 1H,  $J_{4'-5'} = 9.6$  Hz, H-4'), 5.44 (d, 1H, H-2'), 4.60-4.56 (m, 1H, H-5'), 4.23-4.17 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 2.34, 2.15, 2.09 (3s, 9H, 3OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  170.65, 169.68, 169.24, 169.02, 159.93, 149.17, 141.38, 135.49, 134.71, 132.52, 129.33, 128.12, 118.73, 101.12, 93.73, 89.90, 86.67, 79.16, 72.54, 69.81, 67.41, 61.55, 20.70, 20.50, 20.48; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 603.09; Anal. Calcd. for C<sub>25</sub>H<sub>22</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>: C, 49.80; H, 3.68; N, 4.65; Cl, 5.88; F, 9.45% Found: C, 50.20; H, 3.90; N, 4.25; Cl, 5.68; F, 9.25%.

### 3.8.3. 1-(2',4',6'-Tri-O-acetyl-3'-C-trifluoromethyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(2,5-dimethylphenyl)ethynyl]uracil (12c)

80 mg, 83%;  $[\alpha]_D^{22} = -20^\circ$  (c 0.38, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.26$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{max}$  317 nm ( $\epsilon$  13356); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.16 (br s, 1H, NH), 7.60 (d, 1H,  $J = 1.3$  Hz, ArH), 7.33 (s, 1H, H-6), 7.10 (dd, 2H,  $J = 7.1$  Hz,  $J = 17.0$  Hz, ArH), 6.47 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 8.7$  Hz, H-1'), 5.55 (d, 1H,  $J_{4'-5'} = 9.9$  Hz, H-4'), 5.42 (d, 1H, H-2'), 4.56-4.52 (m, 1H, H-5'), 4.20-4.10 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 2.47, 2.31 (2s, 6H, 2 x CH<sub>3</sub>), 2.30, 2.12, 2.06 (3s, 9H, 3OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  170.47, 169.81, 169.22, 169.13, 160.56, 149.21, 142.24, 139.44, 134.99, 133.42, 128.71, 128.24, 123.79, 100.49, 93.14, 89.63, 86.56, 79.09, 72.58, 63.63, 61.67, 46.52, 20.70, 20.50, 20.47, 20.31, 20.20; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 597.17; Anal. Calcd. for C<sub>27</sub>H<sub>27</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>: C, 54.36; H, 4.56; N, 4.70; F, 9.55% Found: C, 54.76; H, 4.96; N, 4.60; F, 9.95%.

### 3.8.4. 1-(2',4',6'-Tri-O-acetyl-3'-C-trifluoromethyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(2,4,5-trimethylphenyl)ethynyl]uracil (12d)

85 mg, 82%;  $[\alpha]_D^{22} = -29^\circ$  (c 0.40, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.19$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{max}$  320 nm ( $\epsilon$  13789); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.12 (br s, 1H, NH), 7.59 (s, 1H, H-6), 7.28 (s, 1H, ArH), 7.00 (s, 1H, ArH), 5.47 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 8.8$  Hz, H-1'), 5.55 (d, 1H,  $J_{4'-5'} = 9.9$  Hz, H-4'), 5.42 (d, 1H, H-2'), 4.59-4.51 (m, 1H, H-5'), 4.20-4.14 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 2.45, 2.31, 2.24 (3s, 9H, 3 x CH<sub>3</sub>), 2.20, 2.12, 2.05 (3s, 9H, 3OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  170.48, 169.73, 169.46, 160.25, 149.19, 142.98, 139.83, 136.79, 133.70, 130.88, 128.21, 119.21, 100.62, 93.22, 89.04, 80.56, 69.63, 67.68, 46.50, 20.70, 20.50, 20.47, 20.31, 20.07, 19.71, 18.99; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 611.18; Anal. Calcd. for C<sub>28</sub>H<sub>29</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>: C, 55.08; H, 4.79; N, 4.59; F, 9.34% Found: C, 55.48; H, 5.19; N, 4.70; F, 9.54%.

### 3.8.5. 1-(2',4',6'-Tri-O-acetyl-3'-C-trifluoromethyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethynyl]uracil (12e)

88 mg, 79%;  $[\alpha]_D^{22} = -13^\circ$  (c 0.19, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.22$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{max}$  319 nm ( $\epsilon$  15973); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.36 (br s, 1H, NH), 7.64 (s, 1H, H-6), 6.79 (s, 2H, ArH), 6.49 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 8.9$  Hz, H-1'), 5.53 (d, 1H,  $J_{4'-5'} = 10.0$  Hz, H-4'), 5.40 (d, 1H, H-2'), 4.56-4.52 (m, 1H,

H-5'), 4.18 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'} = 5.1$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 4.09 (dd, 1H,  $J_{5'-6b'} = 2.4$  Hz, H-6b'), 3.87 (s, 9H, 3 x OCH<sub>3</sub>), 2.31, 2.12, 2.06 (3s, 9H, 3OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  170.43, 169.68, 169.55, 169.39, 160.26, 153.06, 149.05, 140.91, 128.13, 117.18, 109.06, 102.00, 94.64, 80.57, 78.41, 75.14, 72.55, 69.71, 67.70, 61.65, 60.95, 56.20, 20.70, 20.48, 20.45, 20.30; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 659.16; Anal. Calcd. for C<sub>28</sub>H<sub>29</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>13</sub>: C, 51.07; H, 4.44; N, 4.25; F, 8.65% Found: C, 51.27; H, 4.84; N, 4.12; F, 9.05%.

## 3.9. General Procedure for the Preparation of Unprotected Pyranonucleosides 7n, 9a,e,i,j,k, 13a-e. (Fig. 2)

The protected nucleosides **6n**, **8a,e,i,j,k**, **12a-e** (0.18 mmol) were dissolved in dry MeOH (12.0 mL), (1.9 mL) of 1 M methanolic sodium methoxide (NaOMe) solution were added and the reaction mixture was kept at 0°C until completion of the reaction Amberlyst 15 (H<sup>+</sup> form) was then added to remove sodium ions, the resin was filtered off, the solvent was removed and the residue was purified by flash chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 8:2) to afford pure **7n**, **9a,e,i,j,k** and **13a-e** in fine yields 75-89%.

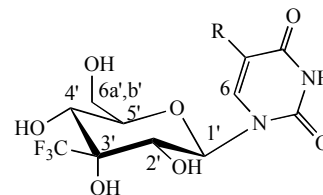


Fig. (2). <sup>1</sup>H assignments of compound **13a-e**.

### 3.9.1. 1-(β-D-Glucopyranosyl)-5-[phenylethenyl]uracil (7n)

34 mg, 75%;  $[\alpha]_D^{22} = +2^\circ$  (c 0.17, MeOH);  $R_f = 0.30$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 8:2);  $\lambda_{max}$  262 nm ( $\epsilon$  5765); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  7.41-7.25 (m, 6H, H-6, Ph), 6.70 (d, 1H,  $J = 12.2$  Hz, CH=CH), 6.34 (d, 1H,  $J = 12.2$  Hz, CH=CH) 5.42 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 9.3$  Hz, H-1'), 3.80 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'} = 1.5$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.0$  Hz, H-6a'), 3.53-3.48 (m, 1H, H-6b'), 3.40-3.35 (m, 2H, H-4', H-5'), 3.00 (t, 1H,  $J = 9.4$  Hz, H-3'), 2.89 (t, 1H,  $J = 9.2$  Hz, H-2'); <sup>13</sup>C NMR (75.5 Hz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  165.15, 152.07, 139.78, 138.74, 132.28, 130.20, 129.45, 128.78, 120.77, 112.12, 83.99, 81.11, 78.24, 73.54, 71.22, 62.75; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 377.11; Anal. Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 57.44; H, 5.36; N, 7.44% Found: C, 57.27; H, 5.58; N, 7.76%.

### 3.9.2. 1-(β-D-Glucopyranosyl)-5-[(2-fluorophenyl)ethyl]uracil (9a)

61 mg, 86 %;  $[\alpha]_D^{22} = -3^\circ$  (c 0.13, MeOH);  $R_f = 0.55$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 8:2);  $\lambda_{max}$  306 nm ( $\epsilon$  1545); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  7.38 (s, 1H, H-6), 7.26 (t, 1H,  $J = 7.6$  Hz, ArH), 7.21 (t, 1H,  $J = 7.7$  Hz, ArH), 7.10 (t, 1H,  $J = 7.4$  Hz, ArH), 7.05 (t, 1H,  $J = 9.9$  Hz, ArH), 5.50 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 8.9$  Hz, H-1'), 3.86 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'} = 1.8$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.0$  Hz, H-6b'), 3.71 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'} = 5.0$  Hz, H-6a'), 3.94-3.37 (m, 4H, H-2', H-3', H-4', H-5'), 2.88 (t, 2H,  $J = 7.3$  Hz, CH<sub>2</sub>), 2.61 (t, 2H,  $J = 8.3$  Hz, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  138.84, 132.10, 132.00, 129.27, 129.14, 125.41, 125.36, 116.39, 116.03, 115.15, 84.30, 81.02, 78.66, 73.00, 70.90, 62.40, 29.08, 28.73; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 397.13; Anal. Calcd. for



C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 54.54; H, 5.34; N, 7.07; F, 4.79% Found: C, 54.74; H, 5.64; N, 7.27; F, 4.89%.

### 3.9.3. 1-(β-D-Glucopyranosyl)-5-[(2-chlorophenyl)ethyl]uracil (9e)

64 mg, 86%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = - 2° (c 0.40, MeOH); R<sub>f</sub> = 0.10 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 9:1);  $\lambda_{\max}$  308 nm ( $\epsilon$  1589); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  7.40 (s, 1H, H-6), 7.28 (t, 2H,  $J$  = 7.5 Hz, ArH), 7.22 (d, 1H,  $J$  = 7.2 Hz, ArH), 7.18 (t, 1H,  $J$  = 7.2 Hz, ArH), 8.72 (d, 1H,  $J_{1'-2'}$  = 8.7 Hz, H-1'), 3.85 (d, 1H,  $J_{6a'-6b'}$  = 12.0 Hz, H-6b'), 3.72 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'}$  = 4.8 Hz, H-6a'), 3.50-3.37 (m, 4H, H-2', H-3', H-4', H-5'), 2.82 (t, 2H,  $J$  = 7.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.61 (t, 2H,  $J$  = 7.0 Hz, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  166.35, 149.70, 145.22, 141.52, 130.94, 130.88, 126.52, 124.75, 115.75, 91.48, 82.45, 77.19, 71.42, 70.58, 62.03, 32.45, 26.86; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 413.10; Anal. Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 52.37; H, 5.13; N, 6.79; Cl, 8.59% Found: C, 52.67; H, 5.23; N, 6.65; Cl, 8.80%.

### 3.9.4. 1-(β-D-Glucopyranosyl)-5-[(2,5-dimethylphenyl)ethyl]uracil (9i)

64 mg, 87%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = + 2° (c 0.35, MeOH); R<sub>f</sub> = 0.16 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 8:2);  $\lambda_{\max}$  311 nm ( $\epsilon$  20233); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  7.45 (s, 1H, H-6), 7.00 (t, 2H,  $J$  = 7.9 Hz, ArH), 6.89 (d, 1H,  $J$  = 7.5 Hz, ArH), 5.51 (d, 1H,  $J_{1'-2'}$  = 8.3 Hz, H-1'), 3.85 (d, 1H,  $J_{6a'-6b'}$  = 11.9 Hz, H-6b'), 3.73 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'}$  = 4.3 Hz, H-6a'), 3.50-3.41 (m, 4H, H-2', H-3', H-4', H-5'), 2.77 (t, 2H,  $J$  = 7.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.53 (t, 2H,  $J$  = 8.1 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.29, 2.26 (2s, 6H, 2 x CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  165.66, 152.62, 140.44, 138.45, 135.97, 133.39, 130.86, 130.44, 127.55, 115.91, 84.01, 80.68, 78.33, 72.62, 70.56, 62.03, 33.20, 28.85, 20.77, 18.65; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 407.17; Anal. Calcd. for C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 59.10; H, 6.45; N, 6.89% Found: C, 59.40; H, 6.55; N, 7.19%.

### 3.9.5. 1-(β-D-Glucopyranosyl)-5-[(2,4,5-trimethylphenyl)ethyl]uracil (9j)

67 mg, 89%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = - 2° (c 0.35, MeOH); R<sub>f</sub> = 0.16 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 8:2);  $\lambda_{\max}$  313 nm ( $\epsilon$  10512); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  7.41 (s, 1H, H-6), 6.91 (s, 1H, ArH), 6.88 (s, 1H, ArH), 5.51 (d, 1H,  $J_{1'-2'}$  = 8.5 Hz, H-1'), 3.85 (d, 1H,  $J_{6a'-6b'}$  = 11.8 Hz, H-6b'), 3.72 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'}$  = 4.6 Hz, H-6a'), 3.50-3.38 (m, 4H, H-2', H-3', H-4', H-5'), 2.74 (t, 2H,  $J$  = 7.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.53 (dd, 2H,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 14.5 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.25, 2.19, 2.18 (3s, 9H, 3 x CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  165.81, 152.90, 138.61, 138.03, 135.10, 134.22, 132.57, 131.41, 115.80, 84.36, 81.02, 78.67, 73.00, 70.94, 62.40, 33.08, 29.21, 19.34, 19.31, 18.88; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 421.18; Anal. Calcd. for C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 59.99; H, 6.71; N, 6.66% Found: C, 60.29; H, 6.62; N, 7.06%.

### 3.9.6. 1-(β-D-Glucopyranosyl)-5-[(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethyl]uracil (9k)

71 mg, 85%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = - 8° (c 0.40, MeOH); R<sub>f</sub> = 0.16 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 8:2);  $\lambda_{\max}$  319 nm ( $\epsilon$  12200); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  7.65 (dd, 1H,  $J$  = 7.3 Hz,  $J$  = 12.4 Hz, ArH), 7.56 (dd, 1H,  $J$  = 3.1 Hz, ArH), 7.42 (s, 1H, H-6), 5.50 (d, 1H,  $J_{1'-2'}$  = 8.9 Hz, H-1'), 3.85 (dd, 1H,  $J_{5'-6b'}$  = 1.6 Hz,  $J_{6a'-6b'}$  = 12.2 Hz, H-6b'), 3.81, 3.73 (2s, 9H, 3 x OCH<sub>3</sub>), 3.71 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'}$  = 1.6 Hz, H-6a'), 3.48-3.38 (m, 4H, H-2', H-3', H-4', H-5'), 2.79-2.71 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.65-2.53 (m, 2H,

CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  165.30, 154.22, 152.27, 138.65, 133.48, 132.88, 132.72, 129.80, 129.60, 115.01, 106.55, 83.97, 80.74, 78.34, 72.65, 70.61, 62.07, 60.87, 56.29, 36.09, 29.79; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 469.16; Anal. Calcd. for C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>: C, 53.84; H, 6.02; N, 5.98% Found: C, 54.04; H, 6.42; N, 5.88%.

### 3.9.7. 1-(3'-C-Trifluoromethyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(2-fluorophenyl)ethynyl]uracil (13a)

73 mg, 88%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = - 4° (c 0.19, MeOH); R<sub>f</sub> = 0.17 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 9:1);  $\lambda_{\max}$  308 nm ( $\epsilon$  8852); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  8.23 (s, 1H, H-6), 7.57 (t, 1H,  $J$  = 7.2 Hz, ArH), 7.40 (dd, 1H,  $J$  = 6.5 Hz,  $J$  = 13.2 Hz, ArH), 7.20-7.14 (m, 2H, ArH), 5.88 (d, 1H,  $J_{1'-2'}$  = 9.1 Hz, H-1'), 4.03 (d, 1H, H-2'), 3.96 (d, 1H,  $J_{4'-5'}$  = 9.5 Hz, H-4'), 3.86 (d, 1H,  $J_{6a'-6b'}$  = 10.4 Hz, H-6b'), 3.80-3.77 (m, 2H, H-5', H-6a'); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  166.10, 154.45, 152.14, 145.64, 134.71, 131.79, 131.72, 125.44, 116.81, 116.62, 116.45, 87.41, 82.50, 78.52, 69.19, 66.37, 62.28; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 461.09; Anal. Calcd. for C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 49.57; H, 3.50; N, 6.09; F, 16.51% Found: C, 49.87; H, 3.89; N, 6.29; F, 16.66%.

### 3.9.8. 1-(3'-C-Trifluoromethyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(2-chlorophenyl)ethynyl]uracil (13b)

74 mg, 86%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = - 4° (c 0.13, MeOH); R<sub>f</sub> = 0.22 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 9:1);  $\lambda_{\max}$  305 nm ( $\epsilon$  11256); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  8.20 (s, 1H, H-6), 7.61 (dd, 1H,  $J$  = 1.7 Hz,  $J$  = 7.5 Hz, ArH), 7.47 (dd, 1H,  $J$  = 1.1 Hz,  $J$  = 8.0 Hz, ArH), 7.36-7.29 (m, 2H, ArH), 5.89 (d, 1H,  $J_{1'-2'}$  = 9.1 Hz, H-1'), 4.04 (d, 1H, H-2'), 4.0 (d, 1H,  $J_{4'-5'}$  = 9.3 Hz, H-4'), 3.86 (d, 1H,  $J_{6a'-6b'}$  = 10.0 Hz, H-6b'), 3.80-3.76 (m, 2H, H-5', H-6a'); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  165.10, 154.40, 151.14, 145.60, 134.52, 130.79, 130.48, 125.44, 116.85, 116.64, 116.45, 87.31, 82.58, 78.52, 68.19, 66.40, 62.28; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 477.06; Anal. Calcd. for C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 47.86; H, 3.38; N, 5.88; Cl, 7.44; F, 11.95% Found: C, 48.06; H, 3.68; N, 5.98; Cl, 7.54; F, 11.85%.

### 3.9.9. 1-(3'-C-Trifluoromethyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(2,5-dimethylphenyl)ethynyl]uracil (13c)

74 mg, 87%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = - 2° (c 0.13, MeOH); R<sub>f</sub> = 0.26 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 9:1);  $\lambda_{\max}$  308 nm ( $\epsilon$  14895); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  8.15 (s, 1H, H-6), 7.28 (s, 1H, ArH), 7.12 (d, 1H,  $J$  = 7.8 Hz, ArH), 7.06 (d, 1H,  $J$  = 7.7 Hz, ArH), 5.88 (d, 1H,  $J_{1'-2'}$  = 9.2 Hz, H-1'), 4.04 (d, 1H, H-2'), 3.96 (d, 1H,  $J_{4'-5'}$  = 9.5 Hz, H-4'), 3.86 (d, 1H,  $J_{6a'-6b'}$  = 10.1 Hz, H-6b'), 3.81-3.77 (m, 2H, H-5', H-6a'), 2.43, 2.28 (2s, 6H, 2 x CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  161.46, 151.52, 142.68, 139.25, 135.12, 132.21, 128.58, 127.52, 123.52, 101.02, 94.25, 93.12, 89.02, 86.45, 79.32, 62.35, 57.24, 47.58, 21.02, 20.59; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 471.13; Anal. Calcd. for C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 53.62; H, 4.50; N, 5.96; F, 12.12% Found: C, 54.02; H, 4.86; N, 6.06; F, 12.32%.

### 3.9.10. 1-(3'-C-Trifluoromethyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(2,4,5-trimethylphenyl)ethynyl]uracil (13d)

75 mg, 86%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = - 30° (c 0.40, MeOH); R<sub>f</sub> = 0.22 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 9:1);  $\lambda_{\max}$  319 nm ( $\epsilon$  13932); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  8.12 (s, 1H, H-6), 7.22 (s, 1H, ArH), 7.01 (s, 1H, ArH), 5.88 (d, 1H,  $J_{1'-2'}$  = 9.2 Hz, H-1'), 4.04 (d, 1H,

H-2'), 3.97 (d, 1H,  $J_{4'-5'} = 9.5$  Hz, H-4'), 3.87 (d, 1H,  $J_{6a'-6b'} = 10.0$  Hz, H-6b'), 3.81-3.77 (m, 2H, H-5', H-6a'), 2.40, 2.24, 2.21 (3s, 9H, 3 x CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 164.10, 151.79, 144.79, 138.73, 138.68, 134.97, 133.72, 131.87, 121.12, 102.06, 93.71, 84.25, 82.46, 78.52, 69.10, 66.40, 62.29, 30.55, 19.94, 19.39, 18.80; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 485.15; Anal. Calcd. for C<sub>22</sub>H<sub>23</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 54.55; H, 4.79; N, 5.78; F, 11.77% Found: C, 54.85; H, 5.19; N, 6.08; F, 11.97%.

### 3.9.11. 1-(3'-C-Trifluoromethyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethynyl]uracil (13e)

82 mg, 86%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = - 27° (c 0.40, MeOH); R<sub>f</sub> = 0.19 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 9:1);  $\lambda_{\max}$  316 nm ( $\epsilon$  14531); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8.17 (s, 1H, H-6), 6.86 (s, 2H, ArH), 5.88 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 9.2$  Hz, H-1'), 4.00 (d, 1H, H-2'), 3.96 (d, 1H,  $J_{4'-5'} = 9.1$  Hz, H-4'), 3.87 (d, 1H,  $J_{6a'-6b'} = 10.0$  Hz, H-6b'), 3.85 (s, 6H, 2 x OCH<sub>3</sub>) 3.81-3.77 (m, 2H, H-5', H-6a'), 3.79 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 164.22, 151.02, 150.41, 142.83, 138.73, 127.69, 117.12, 103.25, 101.12, 93.35, 90.86, 87.35, 86.23, 80.04, 62.89, 61.02, 57.45, 48.53; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 533.13; Anal. Calcd. for C<sub>22</sub>H<sub>23</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>: C, 49.63; H, 4.35; N, 5.26; F, 10.70% Found: C, 49.93; H, 4.65; N, 5.46; F, 11.07%.

## CONCLUSION

In the present study, we report the synthesis of novel C5-modified pyrimidine pyranonucleosides using the simple and convenient one-step Sonogashira coupling reaction under microwave irradiation. The target nucleosides **2**, **3**, **4**, **5**, **6n**, **7n**, **8a,e,i,j,k**, **9a,e,i,j,k**, **12** and **13**, were examined for their inhibitory effects on the proliferation of murine leukemia (L1210), human lymphocyte (CEM) and human cervix carcinoma (HeLa) cell cultures (Table 1). The protected compounds **2a,e,i,j** and **12c,d** showed a moderate cytostatic activity against human lymphocyte CEM tumor cell cultures (IC<sub>50</sub>: 18-42 μM) in contrast with the final nucleosides **3a,e,i,j** and **13c,d** (IC<sub>50</sub>: 178-250 μM) that did not enhance growth inhibition of CEM cells. Thus, the results of the cytostatic examinations indicated that compounds **2a,e,i,j** and **12c,d** are suitable candidates for further biological studies on lead drug and structural optimization.

## ABBREVIATIONS

<sup>13</sup> C NMR	=	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
<sup>1</sup> H NMR	=	Proton Magnetic Resonance Spectroscopy
AcOH	=	Acetic Acid
CD <sub>3</sub> OD	=	Deuterated Methanol
CDCl <sub>3</sub>	=	Deuterated Chloroform
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	=	Dichloromethane
CH <sub>3</sub> CN	=	Acetonitrile
CuI	=	Copper(I) Iodide
DMF	=	Dimethylformamide

DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	=	Deuterated Dimethyl Sulfoxide
Et <sub>3</sub> N	=	Triethylamine
Et <sub>3</sub> SiH	=	Triethylsilane
EtOAc	=	Ethyl Acetate
HMDS	=	Hexamethyldisiloxane
MeOH	=	Methanol
MeONa	=	Sodium Methoxide
MW	=	Microwave
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	=	Sodium Sulfate
NaBH <sub>4</sub>	=	Sodium Borohydride
NaHCO <sub>3</sub>	=	Sodium Bicarbonate
Ni(OAc) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	=	Nickel(II) Acetate Tetrahydrate
NiCl <sub>2</sub>	=	Nickel(II) Chloride
NOESY	=	Two-dimensional Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	=	Tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0)
THF	=	Tetrahydrofuran
TLC	=	Thin Layer Chromatography
TMS	=	Tetramethylsilane
TMSCl	=	Trimethylsilyl Chloride
TMSOTf	=	Trimethylsilyl Trifluoromethanesulfonate
UV-Vis	=	Ultraviolet-visible Spectroscopy

## ETHICS APPROVAL AND CONSENT TO PARTICIPATE

Not applicable.

## HUMAN AND ANIMAL RIGHTS

No Animals/Humans were used for studies that are base of this research.

## CONSENT FOR PUBLICATION

Not applicable.

## CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest, financial or otherwise.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported in part by the Postgraduate Programmes 'Biotechnology-Quality assessment in Nutrition and the Environment', 'Application of Molecular Biology-Molecular Genetics- Molecular Markers', Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, and the KU Leuven (GOA 10/14). We thank Lizette van Berckelaer for her excellent technical assistance in the biological assays.

## REFERENCES

- [1] Lagoja, I.M. Pyrimidine as constituent of natural biologically active compounds. *Chem. Biodivers.*, **2005**, *2*, 1-50.
- [2] De Clercq, E.; Descamps, J.; Balzarini, J.; Giziewicz, J.; Barr, P.J.; Robins, M.J. Nucleic acid related compounds. 40. Synthesis and biological activities of 5-alkynyluracil nucleosides, *J. Med. Chem.*, **1983**, *26*, 661-666.
- [3] Efangea, S.M.N.; Cheng, Y.C.; Bardos, T.J. Synthesis and biological activities of 2-Pyrimidinone Nucleosides. III.1,2 5-Alkynyl-2-Pyrimidinone 2'-Deoxyribosides. *Nucleos. Nucleot.*, **1985**, *4*, 545-564.
- [4] Vincent, P.; Beaucourt, J.P.; Pichat, L.; Balzarini, J.; De Clercq, E. Syntheses, Activites Biologiques et Etude Conformationnelle D'Alcynyl-5 Desoxy-2' Uridines. *Nucleos. Nucleot.*, **1985**, *4*, 429-445.
- [5] Meneni, S.; Ott, I.; Sergeant, C.D.; Sniady, A.; Gust, R.; Dembinski, R. 5-Alkynyl-2'-deoxyuridines: chromatography-free synthesis and cytotoxicity evaluation against human breast cancer cells. *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, *15*, 3082-3088.
- [6] Tsoukala, E.; Manta, S.; Kiritsis, C.; Komiotis, D. Keto and Exomethylene Pyranonucleosides as Antitumor Agents. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, **2012**, *12*, 255-275.
- [7] Dimopoulou, A.; Manta, S.; Parmenopoulou, V.; Kollatos, N.; Christidou, O.; Triantakostanti, V.V.; Schols, D.; Komiotis, D. An easy microwave-assisted synthesis of C8-alkynyl adenine pyranonucleosides as novel cytotoxic antitumor agents. *Front. Chem.*, **2015**, *3*, 1-7.
- [8] Manta, S.; Tsoukala, E.; Tzioumaki, N.; Goropevek, A.; Pamulapati, R.T.; Cenci, A.; Balzarini, J.; Komiotis, D. Dideoxy fluoro-ketopyranosyl nucleosides as potent antiviral agents: Synthesis and biological evaluation of 2,3- and 3,4-dideoxy-3-fluoro-4- and -2-keto-β-D-glucopyranosyl derivatives of N<sup>4</sup>benzoyl cytosine. *Eur. J. Med. Chem.*, **2009**, *44*, 2696-2704.
- [9] Tsoukala, E.; Agelis, G.; Cencic, A.; Dolins, J.; Komiotis, D.; Botic, T. An efficient synthesis of 3-fluoro-5-thio-xylofuranosyl nucleosides of thymine, uracil, and 5- fluorouracil as potential antitumor or/and antiviral agents. *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, *15*, 3241-3247.
- [10] Spanou, C.; Manta, S.; Komiotis, D.; Dervishi, A.; Kouretas, D. Antioxidant Activity of a Series of Fluorinated Pyrano-nucleoside Analogues of N<sup>4</sup>-benzoyl Cytosine and N<sup>6</sup>-benzoyl Adenine. *Int. J. Mol. Sci.*, **2007**, *8*, 695-704.
- [11] Haouz, A.; Vanheusden, V.; Munier-Lechman, H.; Froeyen, M.; Herdewijn, P.; Van Galenbergh, S.; Delarue, M. Enzymatic and Structural Analysis of Inhibitors Designed against *Mycobacterium tuberculosis* Thymidylate Kinase. *J. Biol. Chem.*, **2003**, *278*, 4963-4971.
- [12] Dimopoulou, A.; Manta, S.; Kiritsis, C.; Gkaragkouni, D.N.; Papisotiriou, I.; Balzarini, J.; Komiotis, D. Rapid microwave-enhanced synthesis of C5-alkynyl pyranonucleosides as novel cytotoxic antitumor agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2013**, *23*, 1330-1333.
- [13] Kollatos, N.; Manta, S.; Dimopoulou, A.; Parmenopoulou, V.; Triantakostanti, V.V.; Kellici, T.; Mavromoustakos, T.; Schols, D.; Komiotis, D. Branched-chain sugar nucleosides: stereocontrolled synthesis and bioevaluation of novel 3'-C-trifluoromethyl and 3'-C-methyl pyranonucleosides. *Carbohydr. Res.*, **2015**, *407*, 170-178.
- [14] Mignon, P.; Loverix, S.; De Proft, F.; Geerlings, P. Influence of Stacking on Hydrogen Bonding: Quantum Chemical Study on Pyridine-Benzene Model Complexes. *J. Phys. Chem. A*, **2004**, *108*, 6038-6044.
- [15] Mignon, P.; Loverix, S.; Geerlings, P. Interplay between π-π interactions and the H-bonding ability of aromatic nitrogen bases. *Chem. Phys. Lett.*, **2005**, *401*, 40-46.
- [16] Kantsadi, A.L.; Hyes, J.M.; Manta, S.; Skamnaki, V.T.; Kiritsis, C.; Psara, A.-M.G.; Koutsogiannis, Z.; Dimopoulou, A.; Theofanous, S.; Nikoleousakos, N.; Zoumpoulakis, P.; Kontou, M.; Papadopoulos, G.; Zographos, S.E.; Komiotis, D.; Leonidas, D.D. The σ-Hole phenomenon of halogen atoms of the strong inhibitory potent of C5 halogen substituted glucopyranosyl nucleosides towards glycogen phosphorylase b. *ChemMedChem.*, **2012**, *7*, 722-732.
- [17] Odlo, K.; Hentzen, J.; Fournier dit Chabert, J.; Ducki, S.; Gani, O.A.B.S.M.; Sylte, I.; Skrede, M.; Florenes, V.A.; Hansen, T.V. 1,5-Disubstituted 1,2,3-triazoles as cis-restricted analogues of combretastatin A-4: Synthesis, molecular modeling and evaluation as cytotoxic agents and inhibitors of tubulin. *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, *16*, 4829-4838.
- [18] Tron, G.C.; Pirali, T.; Sorba, G.; Pagliai, F.; Busacca, S.; Genazzani, A.A. Medicinal Chemistry of Combretastatin A4: Present and Future Directions. *J. Med. Chem.*, **2006**, *49*, 3033-3044.
- [19] Lee, S.E.; Vyle, J.S.; Williams, D.M.; Grasby, J.A. Novel Syntheses of (Z)-Alkene and Alkane Based-Modified Nucleosides. *Tetrahedron Lett.*, **2000**, *41*, 267-270.
- [20] Nikas, S.P.; D'Souza, M.; Makriyannis, A. Enantioselective synthesis of (10S)- and (10R)-methyl-anandamides. *Tetrahedron*, **2012**, *68*, 6329-6337.
- [21] Cheng, C.F.; Lai, Z.C.; Lee, Y.J. Total synthesis of (±)-camphorataimides and (±)-himanimides by NaBH<sub>4</sub>/Ni(OAc)<sub>2</sub> or Zn/AcOH stereoselective reduction. *Tetrahedron*, **2008**, *64*, 4347-4353.
- [22] Kaufman, D.; Johnson, E.; Mosher, M.D. Zinc reduction of alkynes. *Tetrahedron Lett.*, **2005**, *46*, 5613-5615.
- [23] Mohamed, Y.M.A.; Hansen, T.V. Z-Stereoselective Semi-Reduction of Alkynes: Modification of the Boland Protocol. *Tetrahedron*, **2013**, *69*, 3872-3877.
- [24] Robins, M.J.; Barr, P.J. Nucleic acid related compounds. 39. Efficient conversion of 5-iodo to 5-alkynyl and derived 5-substituted uracil bases and nucleosides. *J. Org. Chem.*, **1983**, *48*, 1854-1862.
- [25] Vanheusden, V.; Busson, R.; Herdewijn, P.; Van Calenbergh, S. Synthesis and conformational analysis of 1-[2,4-dideoxy-4-C-hydroxymethyl-α-L-lyxopyranosyl]thymine. *J. Org. Chem.*, **2004**, *69*, 4446-4453.

## RESEARCH ARTICLE

# Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Novel C5-Modified Pyrimidine Ribofuranonucleosides as Potential Antitumor or/and Antiviral Agents.

Nikolaos Kollatos<sup>a</sup>, Christos Mitsos<sup>a</sup>, Stella Manta<sup>a</sup>, Niki Tzioumaki<sup>a</sup>, Christos Giannakas<sup>a</sup>, Tania Alexouli<sup>a</sup>, Aggeliki Panagiotopoulou<sup>b</sup>, Dominique Schols<sup>c</sup>, Graciela Andrei<sup>c</sup> and Dimitri Komiotis<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>Department of Biochemistry and Biotechnology, Laboratory of Bioorganic Chemistry, University of Thessaly, Larissa, Greece; <sup>b</sup>Institute of Biosciences and Applications National Centre for Scientific Research "Demokritos", Athens, Greece; <sup>c</sup>Department of Microbiology and Immunology, Rega Institute for Medical Research, KU Leuven, Leuven, Belgium

**Abstract: Background:** Nucleoside analogues are well-known antitumor, antiviral, and chemotherapeutic agents. Alterations on both their sugar and the heterocyclic parts may lead to significant changes in the spectrum of their biological activity and the degree of selective toxicity, as well as in their physicochemical properties.

**Method:** C5-arylalkynyl- $\beta$ -D-ribofuranonucleosides **3-6**, 3'-deoxy **12-15**, 3'-deoxy-3'-C-methyl- $\beta$ -D-ribofuranonucleosides **18-21** and 2'-deoxy- $\beta$ -D-ribofuranonucleosides **23-26** of uracil, were synthesized using a one-step Sonogashira reaction under microwave irradiation and subsequent deprotection.

**Results:** All newly synthesized nucleosides were tested for their antitumor or antiviral activity. Moderate cytostatic activity against cervix carcinoma (HeLa), murine leukemia (L1210) and human lymphocyte (CEM) tumor cell lines was displayed by the protected 3'-deoxy derivatives **12b**, **12c**, **12d**, and the 3'-deoxy-3'-methyl **18a**, **18b**, **18c**. The antiviral evaluation revealed appreciable activity against Cocksackie virus B4, Respiratory syncytial virus, Yellow Fever Virus and Human Coronavirus (229E) for the 3'-deoxy compounds **12b**, **14**, and the 3'-deoxy-3'-methyl **18a**, **18c**, **18d**, accompanied by low cytotoxicity.

**Conclusion:** This report describes the total and facile synthesis of modified furanonucleosides of uracil, with alterations on both the sugar and the heterocyclic portions. Compounds **12b**, **14** and **18a,c,d** showed noticeable antiviral activity against a series of RNA viruses and merit further biological and structural optimization investigations.

---

**ARTICLE HISTORY**

Received: October 15, 2018

Revised: February 07, 2019

Accepted: February 07, 2019

DOI:

10.2174/1573406415666190225112950

**Keywords:** Sonogashira reaction, C5-pyrimidine ribofurano nucleosides, microwave irradiation, cytotoxic activity, antiviral activity.

## 1. INTRODUCTION

Nucleoside analogues are well-known antitumor, antiviral, and chemotherapeutic agents. [1, 2]. The mode of action of these derivatives is related to their intracellular conversion to the respective phosphorylated forms (nucleotides), which can interact with different cellular or viral enzymatic systems participating in the nucleic acids biosynthesis. While several modified nucleosides have clinically verified utility in the treatment of virus infections, such as HIV, they also demonstrate toxic side effects including cardiomyopathy, peripheral

neuropathy, sensorineural deafness, lactic acidosis, diabetes and cytopenia [3, 4]. Therefore, cytotoxic assays are an essential tool, which can eliminate compounds with high potential for toxicity early on during the drug discovery process and efficiently guide the screening and search for new compounds. Moreover, as some of these nucleosides also undergo enzymatic degradations, a number of modifications have been imposed on both the sugar and the heterocyclic portions to circumvent these deactivating processes [5, 6].

Alterations on the sugar or the heterocyclic moiety of nucleosides may induce significant changes on their biological profile, and also improve their physicochemical properties. In this regard, removal of the hydroxyl groups on the 2'- and 3'- positions of the sugar led to the discovery of biologically active dideoxy- or dideoxy-didehydronucleosides [1].

---

\*Address correspondence to this author at the University of Thessaly, Department of Biochemistry and Biotechnology, Laboratory of Bioorganic Chemistry, Viopolis, 41500 Larissa, Greece; Tel: +30 2410 565285; Fax: +30 2410 565290; E-mail: [dkom@bio.uth.gr](mailto:dkom@bio.uth.gr)

Moreover, modified nucleobases interfere in the biosynthesis of nucleic acids and function, either by substituting the standard pyrimidine and purine bases or by competing with them for the same binding sites [7]. Among the alterations on the nucleobases carried out in the past, the introduction of an alkynyl group has been a particularly promising substitution towards the development of derivatives of pharmaceutical interest. Specifically, alkynyl modified uridines have exhibited significant antiviral [8, 9] and anticancer properties [10], whereas 5-dodecynyl-2'-deoxyuridine and 5-tetradecenyl-2'-deoxyuridine have shown high antimycobacterial potency against *M. bovis* and *M. avium* [11].

In the last fifteen years, we have sought to investigate novel nucleosides with enhanced biological properties and to this end, various modifications on the sugar and base entities have been examined, leading to analogues with noteworthy antitumor [12-14], antiviral [15, 16], antioxidant [17] and antimicrobial [18] properties. Among them, C5-phenylethynyluracil glucopyranonucleoside [19] (IC<sub>50</sub>: 5.2-6.2 μM) and 3'-deoxy-3'-C-methyl- ribonucleoside of 5-fluorouracil (IC<sub>50</sub>: 6.5-9.0 μM) showed appreciable cytotoxic activity against L1210, CEM and HeLa cell lines, comparable to that displayed by 5-fluorouracil [20].

In view of the above observations and considering that substituted benzenes bind stronger on the hydrogen bonding capacity of stacked DNA/RNA bases [21, 22], we designed a novel class of C5-alkynyl pyrimidine ribofuranonucleosides bearing suitably substituted phenyl rings or polycyclic aromatic hydrocarbons. Thus, we synthesized and tested C5-arylalkynyl uracil ribofuranonucleosides bearing 3'-deoxy, 2'-deoxy, 3'-deoxy-3'-C-methyl ribofuranose, sugar moieties. Aiming at more detailed structure-activity relationships, the phenyl ring was substituted with halogens (fluorine, chlorine) and methyl groups, or replaced by 6-methoxynaphthalene. The newly synthesized nucleosides were preliminarily examined for their cytotoxic activity against L1210, CEM and HeLa cell lines, as well as their antiviral activity against a broad panel of DNA and RNA viruses in cell cultures, in order to identify potential lead compounds worthy of further investigation.

## 2. EXPERIMENTAL SECTION

### 2.1. General Methods

Melting points were recorded in a Mel-Temp apparatus and are uncorrected. Thin layer chromatography (TLC) was performed on Merck precoated 60F254 plates. Reactions were monitored by TLC on silica gel, with detection by UV light (254 nm) or by charring with sulfuric acid. Flash column chromatography was performed using silica gel (240-400 mesh, Merck). <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectra were obtained at ambient temperature using a Bruker 300 spectrometer at 300 and 75.5 MHz, respectively using chloroform-d (CDCl<sub>3</sub>), dimethylsulfoxide-d<sub>6</sub> (DMSO-d<sub>6</sub>) or methanol-d<sub>4</sub> (CD<sub>3</sub>OD) with internal tetramethylsilane (TMS). Chemical shifts (δ) are given in ppm measured downfield from TMS, and spin-spin coupling constants in Hz. Mass spectra were obtained on a ThermoQuestFinnigan AQA Mass Spectrometer (electrospray ionization). All microwave irradiation experiments were carried out in a dedicated CEM-Explorer and CEM Discover monomode microwave apparatus, operating

at a frequency of 2.45 GHz, with continuous irradiation power, from 0 to 300 W with utilization of the standard absorbance level of 300 W maximum power. The reactions were carried out in 10-mL glass tubes, sealed with a Teflon septum and placed in the microwave cavity. Initially, microwave irradiation of requisite Watts was used, and the temperature was ramped from room temperature to the desired temperature. Once this was reached the reaction mixture was held at this temperature for the required time. The reaction mixture was continuously stirred during the reaction. The temperature was measured with an IR sensor on the outer surface of the process vial. After the irradiation period, gas jet cooling rapidly cooled the reaction vessel to ambient temperature. Dichloromethane was distilled from phosphorous pentoxide and stored over 4Å molecular sieves. Acetonitrile and toluene were distilled from calcium hydride and stored over 3 Å molecular sieves. Diethylether (Et<sub>2</sub>O) was freshly distilled under nitrogen from sodium/benzophenone before use. Pyridine was stored over potassium hydroxide pellets, *N,N*-Dimethylformamide (DMF) was stored over 3Å molecular sieves. All reactions sensitive to oxygen or moisture were carried out under an Argon atmosphere. 5-*O*-Benzoyl-1,2-*O*-isopropylidene- $\alpha$ -*D*-xylofuranose (**8**) and 1,2-di-*O*-acetyl-5-*O*-benzoyl-3-deoxy-3-methyl- $\beta$ -*D*-ribofuranose (**16**) were prepared according to the procedures described in the literature; their chemical and physical properties were in full agreement with the respective reported data [23, 24].

### 2.2. Antiproliferative Assays

Compounds **3-6**, **12-15**, **18-21**, **23-26**, were evaluated for their cytostatic activity against the human cells: cervix carcinoma (HeLa), human lymphocytes (CEM) and murine leukemia (L1210). All assays were performed in 96-well microtiter plates. To each well (5-7.5) × 10<sup>4</sup> tumor cells were added, along with and varying concentrations of the test compounds ranging from 250, 50, 10, 2, 0.4 to 0.08 μM. The tumor cells were then allowed to proliferate at 37 °C in a humidified CO<sub>2</sub>-controlled atmosphere. To obtain optimal growth curves, 2 days of the murine leukemia (L1210) cells, and 3 days for the human lymphocytic (CEM) cells and the human cervix carcinoma (HeLa) cells, were required. At the end of the incubation period, the cells were counted in a Coulter counter. The IC<sub>50</sub> (50% inhibitory concentration) was defined as the concentration of the compound that inhibited cell proliferation by 50%.

### 2.3. Antiviral and Cytotoxicity Activity Assays

The compounds were evaluated against different herpesviruses, including herpes simplex virus type 1 (HSV-1) strain KOS, thymidine kinase-deficient (TK<sup>-</sup>) HSV-1 KOS strain resistant to ACV (ACV<sup>r</sup>), herpes simplex virus type 2 (HSV-2) strain G, varicella-zoster virus (VZV) strain Oka, TK<sup>-</sup> VZV strain 07-1, human cytomegalovirus (HCMV) strains AD-169 and Davis as well as vaccinia virus, adeno virus-2, vesicular stomatitis virus, para-influenza-3 virus, reovirus-1, Sindbis virus, Cocksackie virus B4, Punta Toro virus, respiratory syncytial virus (RSV), feline coronavirus (FIPV) and influenza A virus subtypes H1N1 (A/PR/8), H3N2 (A/HK/7/87) and influenza B virus (B/HK/5/72). The antiviral assays were based on inhibition of virus-induced

cytopathicity or plaque formation in human embryonic lung (HEL) fibroblasts, African green monkey kidney cells (Vero), human epithelial cervix carcinoma cells (HeLa), Crandell-Rees feline kidney cells (CRFK), or Madin Darby canine kidney cells (MDCK). Confluent cell cultures in microtiter 96-well plates were inoculated with 100 CCID<sub>50</sub> of virus (1 CCID<sub>50</sub> being the virus dose to infect 50% of the cell cultures) or with 20 plaque forming units (PFU) After 2 h adsorption period, viral inoculum was removed and the cell cultures were incubated in the presence of varying concentrations of the test compounds. Viral cytopathicity or plaque formation (VZV) was recorded as soon as it reached completion in the control virus-infected cell cultures that were not treated with the test compounds. Ganciclovir, cidofovir, acyclovir, brivudin, zalcitabine, zanamivir, alovudine, amantadine, rimantadine, ribavirin, dextran sulfate (molecular weight 10000, DS-10000), mycophenolic acid, Hippeastrum hybrid agglutinin (HHA) and Urtica dioica agglutinin (UDA) were used as the reference compounds. Antiviral activity was expressed as the EC<sub>50</sub> or compound concentration required reducing virus-induced cytopathicity or viral plaque formation by 50%. Cytotoxicity of the test compounds was expressed as the minimum cytotoxic concentration (MCC) or the compound concentration that caused a microscopically detectable alteration of cell morphology. Selectivity index (SI) was calculated as the ratio of MCC to EC<sub>50</sub>.

#### 2.4. 1-(2',3',5'-Tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-5-iodouracil (2)

A mixture of 5-iodouracil (646 mg, 4.68 mmol), hexamethyldisilazane (HMDS) (1.2 mL, 5.78 mmol) and saccharine (40 mg, 0.22 mmol) in anhydrous CH<sub>3</sub>CN (33.0 mL) was refluxed for 30 min under nitrogen. 1,2,3,5-tetra-O-acetyl-β-D-ribofuranose (1) (1.24 g, 3.89 mmol) and TMSOTf (1.0 mL, 5.45 mmol) were then added at 0 °C and the reaction mixture was stirred for 1h at room temperature, neutralized with aqueous NaHCO<sub>3</sub>, and extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×300 mL). The combined organic extracts were dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and evaporated to dryness, under reduced pressure. The remaining residue was purified by flash chromatography (EtOAc/ Hexane, 5:5) to give pure **2** (1.33 g, 69%) as a white solid. m.p. 289–292 °C; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -8 (c 0.41, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.29 (EtOAc/ Hexane, 5:5); λ<sub>max</sub> 289 nm (ε 8434); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 8.17 (br s, 1H, NH), 7.42 (s, 1H, H-6), 6.08 (d, 1H, J<sub>1-2'</sub> = 4.2 Hz, H-1'), 5.45 (d, 1H, J<sub>4'-5'</sub> = 9.8 Hz, H-4'), 5.30 (d, 1H, H-2'), 4.31–4.22 (m, 2H, H-3', H-5a'), 4.10 (dd, 1H, J<sub>4'-5b'</sub> = 1.3 Hz, J<sub>5a'-5b'</sub> = 10.7 Hz, H-5b'), 2.14, 2.11, 2.09 (3s, 9H, 3OAc); ESI-MS (m/z): 497.00 (M+H<sup>+</sup>). Anal. Calcd. for C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>: C, 36.31; H, 3.45; N, 5.65; I, 25.57% Found: C, 36.51; H, 3.25; N, 4.75; I, 25.67%.

#### 2.5. General Procedure for the Preparation of the C5-arylalkynyl Uracil Ribofuranonucleosides 3a-d, 5

Mixtures of the appropriate alkynes (0.60 mmol), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (23 mg, 0.02 mmol), CuI (3.8 mg, 0.02 mmol), triethylamine (83 μL, 0.34 mmol) and 1-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-5-iodouracil (**2**) (100 mg, 0.20 mmol) in 1.0 mL of anhydrous DMF, were irradiated in a microwave apparatus (200 Watt maximum power) for 5 minutes at 50 °C. The reaction mixture was concentrated

under reduced pressure and the crude residue was purified by flash chromatography on silica gel. The purified material was dried *in vacuo* to afford the corresponding derivatives **3a-d**, **5** in 65–83% yields, as colorless foams.

##### 2.5.1. 1-(2',3',5'-Tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-5-[(2-fluorophenyl)ethynyl]uracil (3a)

80 mg, 82%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -4 (c 0.22, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.19 (EtOAc/ Hexane 5:5); λ<sub>max</sub> 340 nm (ε 8250); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.65 (brs, 1H, NH), 7.89 (s, 1H, H-6), 7.53–7.50 (m, 1H, ArH), 7.35–7.30 (m, 1H, ArH), 7.13–7.06 (m, 2H, ArH), 6.14 (d, 1H, J<sub>1-2'</sub> = 4.6 Hz, H-1'), 5.38–5.35 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.41–4.38 (m, 3H, H-3', H-5a', H-5b'), 2.21, 2.13, 2.12 (3s, 9H, 3OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 169.00, 168.62, 168.34, 159.23, 148.00, 140.17, 132.53, 128.84, 128.32, 125.54, 121.63, 100.23, 89.92, 86.45, 83.03, 79.80, 72.24, 69.55, 61.53, 19.84, 19.50, 19.31; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 489.12; Anal. Calcd. for C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>9</sub>: C, 56.56; H, 4.33; N, 5.74; F, 3.89% Found: C, 56.86; H, 4.08; N, 5.94; F, 3.79%.

##### 2.5.2. 1-(2',3',5'-Tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-5-[(2-chlorophenyl)ethynyl]uracil (3b)

84 mg, 83%; 84 mg, 83%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -3 (c 0.31, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.19 (EtOAc/ Hexane 5:5); λ<sub>max</sub> 341 nm (ε 4350); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.59 (brs, 1H, NH), 7.86 (s, 1H, H-6), 7.54 (dd, 1H, J = 7.5 Hz, J = 1.6 Hz, ArH), 7.39 (d, 1H, J = 7.8 Hz, ArH), 7.28–7.20 (m, 2H, ArH), 6.11 (d, 1H, J<sub>1-2'</sub> = 4.8 Hz, H-1'), 5.37–5.33 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.39–4.36 (m, 3H, H-3', H-5a', H-5b'), 2.18, 2.12, 2.10 (3s, 9H, 3OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 170.23, 169.62, 169.04, 161.23, 150.82, 142.17, 135.53, 134.84, 132.32, 129.74, 128.63, 118.23, 100.92, 96.45, 93.03, 86.80, 81.24, 78.55, 74.53, 62.84, 21.04, 19.50, 19.31; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 505.09; Anal. Calcd. for C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>9</sub>: C, 54.72; H, 4.19; N, 5.55; Cl, 7.02% Found: C, 54.46; H, 4.08; N, 5.85; Cl, 7.42%.

##### 2.5.3. 1-(2',3',5'-Tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-5-[(2,5-dimethylphenyl)ethynyl]uracil (3c)

78 mg, 78%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -2 (c 0.40, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.24 (EtOAc/ Hexane 5:5); λ<sub>max</sub> 315 nm (ε 11553); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.43 (br s, 1H, NH), 7.78 (s, 1H, H-6), 7.25 (brs, 1H, ArH), 7.10 (d, 1H, J = 7.8 Hz, ArH), 7.05 (d, 1H, J = 7.8 Hz, ArH), 6.12 (d, 1H, J<sub>1-2'</sub> = 4.5 Hz, H-1'), 5.39–5.36 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.39–4.36 (m, 3H, H-3', H-5a', H-5b'), 2.43, 2.29 (2s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2.20, 2.14, 2.12 (3s, 9H, 3OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 170.23, 169.62, 169.04, 161.43, 151.82, 142.58, 136.43, 134.54, 131.61, 129.83, 128.93, 117.51, 101.03, 95.12, 93.56, 86.92, 81.57, 79.05, 74.53, 63.84, 20.70, 20.50, 20.47, 20.31, 20.20; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 499.16; Anal. Calcd. for C<sub>25</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>: C, 60.24; H, 5.26; N, 5.62% Found: C, 60.64; H, 5.42; N, 5.60%.

##### 2.5.4. 1-(2',3',5'-Tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-5-[(2,4,5-trimethylphenyl)ethynyl]uracil (3d)

85 mg, 83%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -9 (c 0.40, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.19 (EtOAc/ Hexane 5:5); λ<sub>max</sub> 320 nm (ε 13789); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.28 (brs, 1H, NH), 7.77 (s, 1H, H-6), 7.20 (s, 1H, ArH), 6.98 (s, 1H, ArH), 6.13 (d, 1H, J<sub>1-2'</sub> = 4.5 Hz, H-1'), 5.38–5.35 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.39–4.36 (m, 3H, H-3', H-5a', H-5b'), 2.41, 2.23, 2.214 (3s, 9H, 3CH<sub>3</sub>), 2.19,

2.13, 2.12 (3s, 9H, 3OAc);  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  170.23, 169.62, 169.04, 161.43, 151.82, 142.58, 136.43, 134.54, 131.61, 129.83, 128.93, 117.51, 101.03, 95.12, 93.56, 86.92, 81.57, 79.05, 74.53, 63.84, 20.70, 20.50, 20.47, 20.31, 20.20, 20.12; Mass (M+H) $^+$ : 513.18; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_9$ : C, 60.93; H, 5.51; N, 5.47% Found: C, 60.53; H, 5.19; N, 5.87%.

#### 2.5.5. 1-(2',3',5'-Tri-O-acetyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-5-[(6-methoxynaphthalene)ethynyl]uracil (5)

72 mg, 65%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -6$  (c 0.14,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.17$  (EtOAc/Hexane 5:5);  $\lambda_{\text{max}}$  322 nm ( $\epsilon$  18553);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.48 (brs, 1H, NH), 7.94 (s, 1H, H-6), 7.85-7.11 (m, 6H, naphthalene), 6.13 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 4.8$  Hz, H-1'), 5.40-5.36 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.43-4.46 (m, 3H, H-3', H-5a', H-5b'), 3.93 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2.23, 2.14, 2.13 (3s, 9H, 3OAc);  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  169.72, 169.50, 169.36, 160.02, 157.86, 148.97, 140.74, 134.45, 131.82, 129.47, 128.83, 126.84, 126.12, 119.52, 105.87, 102.27, 95.27, 80.66, 78.95, 75.19, 72.57, 69.73, 67.71, 61.63, 55.37, 20.74, 20.50, 20.32; Mass (M+H) $^+$ : 551.16; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_{10}$ : C, 61.09; H, 4.76; N, 5.09% Found: C, 61.39; H, 4.63; N, 4.82%.

### 2.6. General Procedure for the Preparation of the Unprotected C5-alkynyl Uracil Ribofuranonucleosides 4a-d, 6

The protected nucleosides **3a-d**, **5** (0.12 mmol), were treated with methanolic ammonia (saturated at 0 °C, 6.7 mL). The solution was stirred overnight at room temperature and then evaporated under reduced pressure [25]. The residue obtained was purified by flash column chromatography to afford the unprotected derivatives **4a-d**, **6** in 74-92% yields, as yellowish and white foams.

#### 2.6.1. 1-( $\beta$ -D-Ribofuranosyl)-5-[(2-fluorophenyl)ethynyl]uracil (4a)

40 mg, 92%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -3$  (c 0.13, MeOH);  $R_f = 0.55$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  8:2);  $\lambda_{\text{max}}$  340 nm ( $\epsilon$  1765);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  8.51 (s, 1H, H-6), 7.54-7.10 (m, 4H, ArH), 5.90 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 3.8$  Hz, H-1'), 4.21-4.17 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.02-4.01 (m, 1H, H-3'), 3.89 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 2.2$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.2$  Hz, H-5a'), 3.75 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.4$  Hz, H-5b');  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  164.01, 151.45, 145.77, 136.68, 134.49, 130.84, 130.39, 127.87, 124.17, 100.33, 91.26, 90.49, 87.12, 86.39, 76.21, 70.93, 61.78; Mass (M+H) $^+$ : 363.09; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{FN}_2\text{O}_6$ : C, 56.36; H, 4.17; N, 7.73; F, 5.24% Found: C, 56.76; H, 4.38; N, 7.43; F, 5.04%.

#### 2.6.2. 1-( $\beta$ -D-Ribofuranosyl)-5-[(2-chlorophenyl)ethynyl]uracil (4b)

39 mg, 86%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -2$  (c 0.40, MeOH);  $R_f = 0.10$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  9:1);  $\lambda_{\text{max}}$  340 nm ( $\epsilon$  14867);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  8.55 (s, 1H, H-6), 7.58-7.26 (m, 4H, ArH), 5.90 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 3.4$  Hz, H-1'), 4.21-4.17 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.02-4.01 (m, 1H, H-3'), 3.90 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 2.2$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.2$  Hz, H-6a'), 3.75 (m, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.4$  Hz, H-5b');  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  164.01, 151.45, 145.77, 136.68, 134.50, 130.84, 130.40, 127.87, 124.17, 100.33, 91.26, 90.50, 87.22, 86.40, 76.21, 70.93, 61.78; Mass (M+H) $^+$ : 379.06; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}_6$ : C,

53.91; H, 3.99; N, 7.40; Cl, 9.36% Found: C, 53.61; H, 4.18; N, 7.65; Cl, 9.06%.

#### 2.6.3. 1-( $\beta$ -D-Ribofuranosyl)-5-[(2,5-dimethylphenyl)ethynyl]uracil (4c)

41 mg, 92%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +2$  (c 0.35, MeOH);  $R_f = 0.16$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  8:2);  $\lambda_{\text{max}}$  311 nm ( $\epsilon$  20845);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  8.50 (s, 1H, H-6), 7.25 (s, 1H, ArH), 7.08 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz, ArH), 7.02 (d, 1H, ArH), 5.90 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 3.5$  Hz, H-1'), 4.20-4.17 (m, 2H, H-2', H-4') 4.02-4.00 (m, 1H, H-3'), 3.90 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 2.2$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.2$  Hz, H-5a'), 3.75 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.4$  Hz, H-5b'), 2.35, 2.25 (2s, 6H, 2 $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  164.01, 151.45, 145.77, 136.68, 134.50, 130.84, 130.40, 127.87, 124.17, 100.33, 91.26, 90.50, 87.22, 86.40, 76.21, 70.93, 61.78, 20.81, 20.39; Mass (M+H) $^+$ : 373.13; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_6$ : C, 61.28; H, 5.41; N, 7.52% Found: C, 61.58; H, 5.11; N, 7.12%.

#### 2.6.4. 1-( $\beta$ -D-Ribofuranosyl)-5-[(2,4,5-trimethylphenyl)ethynyl]uracil (4d)

39 mg, 84%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -2$  (c 0.35, MeOH);  $R_f = 0.16$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  8:2);  $\lambda_{\text{max}}$  313 nm ( $\epsilon$  11204);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  8.45 (s, 1H, H-6), 7.19 (s, 1H, ArH), 6.97 (s, 1H, ArH), 5.90 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 3.4$  Hz, H-1'), 4.20-4.17 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.10-4.01 (m, 1H, H-3'), 3.90 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 2.2$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.2$  Hz, H-6a'), 3.75 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.4$  Hz, H-5b'), 2.35, 2.20, 2.17 (3s, 9H, 3 $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  164.01, 151.45, 145.77, 136.68, 134.50, 130.84, 130.40, 127.87, 124.17, 100.33, 91.26, 90.50, 87.22, 86.40, 76.21, 70.93, 61.78, 20.81, 20.39, 19.14; Mass (M+H) $^+$ : 387.15; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6$ : C, 62.17; H, 5.74; N, 7.25% Found: C, 62.57; H, 5.64; N, 7.35%.

#### 2.6.5. 1-( $\beta$ -D-Ribofuranosyl)-5-[(6-methoxynaphthalene)ethynyl]uracil (5)

38 mg, 74%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -4$  (c 0.20, MeOH);  $R_f = 0.17$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  8:2);  $\lambda_{\text{max}}$  322 nm ( $\epsilon$  20173);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  8.54 (s, 1H, H-6), 7.96-7.15 (m, 6H, naphthalene), 5.94 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 3.5$  Hz, H-1'), 4.24-4.21 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.06-4.03 (m, 1H, H-3'), 3.94 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 2.2$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.2$  Hz, H-5a'), 3.92 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.80 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.4$  Hz, H-5b');  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{DM}_2\text{SO}-d_6$ ):  $\delta$  161.15, 158.06, 149.74, 144.51, 133.82, 130.71, 129.26, 128.25, 127.95, 127.08, 119.35, 117.04, 106.04, 98.87, 92.57, 81.65, 79.87, 76.50, 71.01, 69.18, 60.81, 55.25; Mass (M+H) $^+$ : 425.13; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_7$ : C, 62.26; H, 4.75; N, 6.60% Found: C, 62.56; H, 4.65; N, 6.30%.

### 2.7. 5-O-Benzoyl-3-deoxy-1,2-O-isopropylidene-a-D-ribofuranose (9)

Methyl oxalyl chloride (0.95 mL, 10.33 mmol) was added to a solution of **8** [21] (1.4g, 4.80 mmol) in pyridine and  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  under nitrogen at ambient temperature. The mixture was stirred for 1 h and then diluted with EtOAc (300 mL). The resulting solution was washed with  $\text{H}_2\text{O}$  (200 mL) and the separated organic phase was dried over anhydrous sodium sulfate, filtered and evaporated to dryness. The residue was treated twice with toluene and evaporated.  $\text{Bu}_3\text{SnH}$

(2.98 mL, 11.06 mmol) was then added to a solution of the above residue in toluene (74 mL), containing AIBN (1.10 mmol, 182 mg), and heated at 100 °C under nitrogen, for 1 h. The solvent was removed under reduced pressure and the residue purified by flash column chromatography (EtOAc/Hexane, 2:8) to give **9** (814 mg, 61%).  $R_f = 0.26$  (EtOAc/Hexane, 2:8);  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.55 (d, 2H,  $J = 7.6$  Hz, Bz), 7.54 (t, 1H,  $J = 7.4$  Hz,  $J = 14.7$  Hz, Bz), 7.21 (t, 2H, Bz), 5.84 (d, 1H,  $J_{1-2} = 2.5$  Hz, H-1), 4.75 (t, 1H,  $J_{2-3b} = 3.0$  Hz, H-2), 4.55-4.49 (m, 2H, H-4, H-5b), 4.34 (dd, 1H,  $J_{4-5a} = 5.3$  Hz,  $J_{5a-5b} = 11.6$  Hz, H-5a), 2.16 (dd, 1H,  $J_{3a-3b} = 12.8$  Hz, H-3b), 1.76-1.69 (m, 1H, H-3a), 1.50 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.30 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  165.01, 133.45, 129.77, 128.68, 121.50, 108.84, 81.40, 73.87, 66.17, 32.33, 26.26; Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 279.12; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_5$ : C, 64.74; H, 6.52% Found: C, 64.34; H, 6.82%.

### 2.8. 1,2-di-O-Acetyl-5-O-benzoyl-3-deoxy- $\beta$ -D-ribofuranose (**10**)

To a solution of **9** (1.69 g, 6.09 mmol) in MeOH (9.50 mL) and  $\text{H}_2\text{O}$  (54 mL) was added Amberlite IR 120 ( $\text{H}^+$ ) resin and the mixture was refluxed overnight. The reaction mixture was filtered and evaporated to dryness. The residue was then dissolved in a mixture of pyridine (21 mL) and  $\text{Ac}_2\text{O}$  (11 mL) and the solution was stirred at room temperature for 1 h before quenched with MeOH at 0 °C and concentrated under vacuum. The residue obtained was diluted with ethyl acetate (EtOAc) and washed sequentially with saturated  $\text{NaHSO}_4$ ,  $\text{NaHCO}_3$  and  $\text{H}_2\text{O}$ . The organic extract was dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtered and evaporated to dryness to give compound **10** (1.62 g, 80%) as a syrup.  $R_f = 0.30$  (EtOAc/Hexane, 2:8);  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.10 (d, 2H,  $J = 7.6$  Hz, Bz), 7.60 (t, 1H,  $J = 7.4$  Hz,  $J = 14.7$  Hz, Bz), 7.47 (t, 2H, Bz), 5.84 (d, 1H,  $J_{1-2} = 2.5$  Hz, H-1), 4.94 (s, 1H, H-2), 4.71-4.66 (m, 1H, H-4), 4.48 (dd, 1H,  $J_{4-5b} = 3.9$  Hz,  $J_{5a-5b} = 11.6$  Hz, H-5b), 4.34 (dd, 1H,  $J_{4-5a} = 6.2$  Hz, H-5a), 2.27-2.21 (m, 1H, H-3), 2.17-2.13 (m, 1H, H-3), 2.10, 2.09 (2s, 6H, 2OAc);  $^{13}\text{C NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  170, 24, 165.81, 133.65, 129.91, 128.60, 106.67, 77.40, 73.17, 66.24, 31.33, 21.26; Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 323.11; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_7$ : C, 59.62; H, 5.63% Found: C, 59.82; H, 5.43%.

### 2.9. 1-(2'-O-Acetyl-5'-O-benzoyl-3'-deoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-5-iodouracil (**11**)

Compound **11** was synthesized from **10** by a similar procedure to that described for the preparation of **2**. The crude product was purified by flash column chromatography (EtOAc/Hexane, 5:5) to give analogue **11** (1.16 g, 82%) as a white solid. mp 301-303 °C;  $[\alpha]_D^{22} = -3$  (c 0.48,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.27$  (EtOAc/Hexane, 5:5);  $\lambda_{\text{max}}$  290 nm ( $\epsilon$  6540);  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.9 (brs, 1H, NH), 8.07 (d, 2H,  $J = 7.6$  Hz, Bz), 7.81 (s, 1H, H-6), 7.60 (t, 1H,  $J = 7.4$  Hz,  $J = 14.7$  Hz, Bz), 7.49 (t, 2H, Bz), 5.78 (d, 1H,  $J_{1-2'} = 2.5$  Hz, H-1'), 4.94 (s, 1H, H-2'), 4.71-4.65 (m, 1H, H-4'), 4.45 (dd, 1H,  $J_{4-5b'} = 3.9$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 11.6$  Hz, H-5b'), 4.34 (dd, 1H,  $J_{4-5a'} = 6.2$  Hz, H-5a'), 2.27-2.21 (m, 1H, H-3'), 2.17-2.13 (m, 1H, H-3'), 2.10 (s, 3H, OAc);  $^{13}\text{C NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  170, 24, 165.81, 161.05, 150.53, 144.19, 133.08, 129.71, 128.34, 101.67, 74.40, 73.17, 68.13, 66.42, 32.33, 21.06;

Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 501.01; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{IN}_2\text{O}_7$ : C, 43.22; H, 3.43; I, 25.37; N, 5.60% Found: C, 43.62; H, 3.53; I, 25.57; N, 5.40%.

## 2.10. General Procedure for the Preparation of the C5-arylalkynyl 3'-deoxy Uracil Ribofuranonucleosides **12a-d**, **14**

The appropriate alkynes (0.60 mmol),  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (69 mg, 0.60 mmol),  $\text{CuI}$  (11 mg, 0.06 mmol), triethylamine (47  $\mu\text{L}$ , 0.60 mmol) and 1-(2'-O-acetyl-5'-O-benzoyl-3'-deoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-5-iodouracil (**11**) (100 mg, 0.20 mmol), in 1.0 mL of anhydrous DMF, were irradiated in a microwave apparatus (200 Watt maximum power) at 50 °C for 5 minutes. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure and the crude residue was purified by flash chromatography on silica gel. The purified material was dried *in vacuo* to afford the corresponding derivatives **12a-d**, **14** in 72-84% yields, as colorless foams.

### 2.10.1. 1-(2'-O-Acetyl-5'-O-benzoyl-3'-deoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-5-[(2-fluorophenyl)ethynyl]uracil (**12a**)

80 mg, 81%;  $[\alpha]_D^{22} = -4$  (c 0.22,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.19$  (EtOAc/Hexane 5:5);  $\lambda_{\text{max}}$  336 nm ( $\epsilon$  9320);  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.66 (brs, 1H, NH), 8.04 (d, 2H,  $J = 7.6$  Hz, Bz), 7.79 (s, 1H, H-6), 7.42-7.35 (m, 5H, Bz, 4 ArH), 7.08 (t, 2H, Bz), 5.81 (d, 1H,  $J_{1-2'} = 2.5$  Hz, H-1'), 5.43 (s, 1H, H-2'), 4.70-4.65 (m, 2H, H-4', H-5b'), 4.34 (dd, 1H,  $J_{4-5a'} = 6.2$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 11.6$  Hz, H-5a'), 2.44-2.34 (m, 1H, H-3'), 2.23-2.16 (m, 1H, H-3'), 2.13 (s, 3H, OAc);  $^{13}\text{C NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  170, 32, 165.89, 161.65, 160.78, 150.83, 142.19, 133.98, 133.15, 129.99, 128.13, 126.81, 123.53, 115.21, 109.42, 101.94, 100.82, 93.15, 86.23, 74.01, 73.32, 66.12, 32.23, 21.18; Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 493.13; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{FN}_2\text{O}_7$ : C, 63.41; H, 4.30; F, 3.86; N, 5.69% Found: C, 63.61; H, 4.50; F, 4.16; N, 5.49%.

### 2.10.2. 1-(2'-O-Acetyl-5'-O-benzoyl-3'-deoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-5-[(2-chlorophenyl)ethynyl]uracil (**12b**)

82 mg, 81%;  $[\alpha]_D^{22} = -2$  (c 0.15,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.19$  (EtOAc/Hexane 5:5);  $\lambda_{\text{max}}$  341 nm ( $\epsilon$  8920);  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.26 (brs, 1H, NH), 8.04 (d, 2H,  $J = 7.6$  Hz, Bz), 7.80 (s, 1H, H-6), 7.41-7.34 (m, 5H, Bz, 4ArH), 7.21 (t, 2H, Bz), 5.81 (d, 1H,  $J_{1-2'} = 2.5$  Hz, H-1'), 5.45-5.43 (m, 1H, H-2'), 4.63-4.65 (m, 2H, H-4', H-5b'), 4.59 (dd, 1H,  $J_{4-5a'} = 6.2$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 11.6$  Hz, H-5a'), 2.44-2.34 (m, 1H, H-3'), 2.25-2.19 (m, 1H, H-3'), 2.14 (s, 3H, OAc);  $^{13}\text{C NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  170, 32, 165.89, 161.65, 150.83, 142.19, 134.92, 133.98, 133.15, 129.99, 128.13, 126.81, 123.53, 115.21, 109.42, 101.94, 100.82, 93.15, 86.23, 74.01, 73.32, 66.12, 32.23, 21.18; Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 509.10; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{ClN}_2\text{O}_7$ : C, 61.36; H, 4.16; N, 5.50; Cl, 6.97% Found: C, 61.56; H, 4.26; N, 5.90; Cl, 7.27%.

### 2.10.3. 1-(2'-O-Acetyl-5'-O-benzoyl-3'-deoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-5-[(2,5-dimethylphenyl)ethynyl]uracil (**12c**)

84 mg, 84%;  $[\alpha]_D^{22} = -2$  (c 0.32,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.24$  (EtOAc/Hexane 5:5);  $\lambda_{\text{max}}$  339 nm ( $\epsilon$  10250);  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.26 (brs, 1H, NH), 8.04 (d, 2H,  $J = 7.6$  Hz, Bz), 7.80 (s, 1H, H-6), 7.43-7.36 (m, 4H, Bz, 3ArH), 7.21 (t, 2H, Bz), 5.81 (d, 1H,  $J_{1-2'} = 2.5$  Hz, H-1'), 5.45-5.43 (m, 1H, H-2'), 4.63-4.65 (m, 2H, H-4', H-5b'), 4.59 (dd, 1H,  $J_{4-5a'}$



$J_{5a'-5b'} = 11.6$  Hz, H-5a'), 2.44-2.34 (m, 1H, H-3'), 2.25-2.20 (m, 1H, H-3'), 2.19, 2.16 (2s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2.14 (s, 3H, OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 170, 32, 165.89, 161.65, 150.83, 142.19, 139.92, 133.98, 133.15, 129.99, 128.13, 126.81, 123.53, 115.21, 109.42, 101.94, 100.82, 93.15, 86.23, 74.01, 73.32, 66.12, 32.23, 21.18, 20.11, 20.05; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 503.17; Anal. Calcd. for C<sub>28</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 66.92; H, 5.22; N, 5.57% Found: C, 66.62; H, 5.52; N, 5.67%.

#### 2.10.4. 1-(2'-O-Acetyl-5'-O-benzoyl-3'-deoxy-β-D-ribofuranosyl)-5-[(2,4,5-trimethylphenyl)ethynyl]uracil (12d)

82mg, 79%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -5 (c 0.35, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.29 (EtOAc/ Hexane 5:5); λ<sub>max</sub> 336 nm (ε 11290); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.26 (brs, 1H, NH), 8.04 (d, 2H, J = 7.6 Hz, Bz), 7.80 (s, 1H, H-6), 7.47-7.35 (m, 3H, Bz, 2ArH), 7.21 (t, 2H, Bz), 5.81 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 2.5 Hz, H-1'), 5.45-5.43 (m, 1H, H-2'), 4.63-4.65 (m, 2H, H-4', H-5b'), 4.59 (dd, 1H, J<sub>4'-5a'</sub> = 6.2 Hz, J<sub>5a'-5b'</sub> = 11.6 Hz, H-5a'), 2.44-2.34 (m, 1H, H-3'), 2.25-2.20 (m, 1H, H-3'), 2.19, 2.16 (2s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2.14 (s, 3H, OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 170, 32, 165.89, 161.65, 150.83, 142.19, 139.92, 133.98, 133.15, 129.99, 128.13, 126.81, 123.53, 115.21, 109.42, 101.94, 100.82, 93.15, 86.23, 74.01, 73.32, 66.12, 32.23, 21.18, 20.11, 20.05; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 517.19; Anal. Calcd. for C<sub>29</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 67.43; H, 5.46; N, 5.42% Found: C, 67.632; H, 5.56; N, 5.22%.

#### 2.10.5. 1-(2'-O-Acetyl-5'-O-benzoyl-3'-deoxy-β-D-ribofuranosyl)-5-[(6-methoxynaphthalene)ethynyl]uracil (14)

80 mg, 72%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -4 (c 0.22, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.15 (EtOAc/ Hexane 5:5); λ<sub>max</sub> 346 nm (ε 18010); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.14 (brs, 1H, NH), 8.04 (d, 2H, J = 7.6 Hz, Bz), 7.83 (s, 1H, H-6), 7.80-7.13 (m, 9H, 3Bz, naphthalene), 5.88 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 1.4 Hz, H-1'), 5.48-5.45 (m, 1H, H-2'), 4.74-4.61 (m, 3H, H-4', H-5a', H-5b'), 3.96 (s, 1H, OCH<sub>3</sub>), 2.49-2.36 (m, 1H, H-3'), 2.29-2.21 (m, 1H, H-3'), 2.18 (s, 3H, OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 170, 32, 165.99, 161.64, 157.24, 150.72, 142.79, 134.92, 133.98, 131.15, 130.10, 129.84, 128.62, 126.79, 118.21, 117.32, 105.42, 101.73, 100.64, 90.15, 86.44, 74.12, 73.32, 66.19, 55.73, 32.45, 21.18; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 555.17; Anal. Calcd. for C<sub>31</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>: C, 67.14; H, 4.73; N, 5.05% Found: C, 66.34; H, 4.93; N, 5.15%.

### 2.11. General Procedure for the Preparation of the Unprotected C5-alkynyl Uracil Pyranonucleosides 13a-d, 15

The protected nucleosides **12a-d**, **14** (0.12 mmol), were treated with methanolic ammonia (saturated at 0 °C, 6.7 mL). The solution was stirred overnight at room temperature and then evaporated under reduced pressure [26]. The residue was purified by flash column chromatography to afford the unprotected derivatives **13a-d**, **15** in 72-92% yields, as yellowish and white foams.

#### 2.11.1. 1-(3'-Deoxy-β-D-ribofuranosyl)-5-[(2-fluorophenyl)ethynyl]uracil (13a)

30 mg, 72%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -3 (c 0.13, MeOH); R<sub>f</sub> = 0.35 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 8:2); λ<sub>max</sub> 337 nm (ε 7765); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 11.67 (brs, 1H, NH), 8.65 (s, 1H, H-6), 7.54-7.22 (m, 4H, ArH), 5.63 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 3.3Hz, H-1'),

5.57 (d, 1H, H-2'), 5.26-5.22 (m, 1H, H-4'), 4.36-4.33 (m, 1H, OH), 4.28 (brs, 1H, OH), 3.84 (dd, 1H, J<sub>4'-5a'</sub> = 2.2 Hz, J<sub>5a'-5b'</sub> = 12.2 Hz, H-5a'), 3.56 (dd, 1H, J<sub>4'-5b'</sub> = 2.4 Hz, H-5b'), 2.05-2.00 (m, 1H, H-3b'), 1.74-1.70 (m, 1H, H-3a'); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 161.01, 160.58, 150.45, 142.77, 133.68, 126.82, 123.17, 115.33, 109.28, 105.43, 100.97, 93.26, 87.12, 76.93, 70.33, 63.78, 35.47; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 347.10; Anal. Calcd. for C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: C, 58.96; H, 4.37; N, 8.09, F, 5.49% Found: C, 58.76; H, 4.47; N, 8.19; F, 5.09%.

#### 2.11.2. 1-(3'-Deoxy-β-D-ribofuranosyl)-5-[(2-chlorophenyl)ethynyl]uracil (13b)

40 mg, 92%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -4 (c 0.22, CH<sub>3</sub>OH); R<sub>f</sub> = 0.32 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 8:2); λ<sub>max</sub> 339 nm (ε 7150); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 11.67 (brs, 1H, NH), 8.67 (s, 1H, H-6), 7.57-7.37 (m, 4H, ArH), 5.64 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 3.3Hz, H-1'), 5.58 (d, 1H, H-2'), 5.26-5.22 (m, 1H, H-4'), 4.36-4.33 (m, 1H, OH), 4.28 (brs, 1H, OH), 3.85 (dd, 1H, J<sub>4'-5a'</sub> = 2.2 Hz, J<sub>5a'-5b'</sub> = 12.2 Hz, H-5a'), 3.56 (dd, 1H, J<sub>4'-5b'</sub> = 2.4Hz, H-5b'), 2.05-2.00 (m, 1H, H-3b'), 1.74-1.70 (m, 1H, H-3a'); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 161.61, 150.58, 142.79, 135.68, 134.82, 132.17, 129.33, 128.28, 118.43, 105.97, 100.26, 93.12, 86.93, 77.33, 70.78, 63.83, 35.37; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 363.07; Anal. Calcd. for C<sub>17</sub>H<sub>13</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: C, 56.28; H, 4.17; N, 7.72; Cl, 9.77% Found: C, 56.48; H, 4.27; N, 7.52; Cl, 9.97%.

#### 2.11.3. 1-(3'-Deoxy-β-D-ribofuranosyl)-5-[(2,5-dimethylphenyl)ethynyl]uracil (13c)

39 mg, 91%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -2 (c 0.22, CH<sub>3</sub>OH); R<sub>f</sub> = 0.19 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 9:1); λ<sub>max</sub> 336 nm (ε 9380); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 11.63 (brs, 1H, NH), 8.62 (s, 1H, H-6), 7.21-7.07 (m, 3H, ArH), 5.65 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 3.3Hz, H-1'), 5.58 (d, 1H, H-2'), 5.26-5.22 (m, 1H, H-4'), 4.36-4.33 (m, 1H, OH), 4.27 (brs, 1H, OH), 3.85 (dd, 1H, J<sub>4'-5a'</sub> = 2.2 Hz, J<sub>5a'-5b'</sub> = 12.2 Hz, H-5a'), 3.57 (dd, 1H, J<sub>4'-5b'</sub> = 2.4Hz, H-5b'), 2.35, 2.17 (2s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2.06-2.00 (m, 1H, H-3b'), 1.74-1.71 (m, 1H, H-3a'); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 161.47, 149.38, 143.40, 136.20, 134.74, 131.36, 129.35, 122.09, 97.56, 91.81, 90.60, 86.00, 81.31, 75.01, 60.71, 32.24, 20.16, 19.67; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 357.14; Anal. Calcd. for C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: C, 64.04; H, 5.66; N, 7.86% Found: C, 64.44; H, 5.56; N, 7.46%.

#### 2.11.4. 1-(3'-Deoxy-β-D-ribofuranosyl)-5-[(2,4,5-trimethylphenyl)ethynyl]uracil (13d)

38 mg, 86%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -3 (c 0.22, CH<sub>3</sub>OH); R<sub>f</sub> = 0.22 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 9:1); λ<sub>max</sub> 339 nm (ε 10250); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 11.61 (brs, 1H, NH), 8.58 (s, 1H, H-6), 7.16, 7.05 (2s, 2H, ArH), 5.65 (d, 1H, J<sub>1'-2'</sub> = 3.3Hz, H-1'), 5.57 (d, 1H, H-2'), 5.26-5.22 (m, 1H, H-4'), 4.36-4.33 (m, 1H, OH), 4.27 (brs, 1H, OH), 3.84 (dd, 1H, J<sub>4'-5a'</sub> = 2.2 Hz, J<sub>5a'-5b'</sub> = 12.2 Hz, H-5a'), 3.56 (dd, 1H, J<sub>4'-5b'</sub> = 2.4Hz, H-5b'), 2.32, 2.19, 2.17 (3s, 9H, 2CH<sub>3</sub>), 2.06-2.00 (m, 1H, H-3b'), 1.75-1.71 (m, 1H, H-3a'); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 161.53, 149.41, 143.13, 136.85, 136.55, 133.55, 131.85, 130.70, 119.48, 97.81, 91.80, 90.78, 85.26, 81.30, 75.02, 60.77, 32.30, 19.59, 19.17, 18.52; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 371.15; Anal. Calcd. for C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: C, 64.85; H, 5.99; N, 7.56% Found: C, 64.45; H, 5.59; N, 7.66%.

### 2.11.5. 1-(3'-Deoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-5-[(6-methoxy-naphthalene)ethynyl]uracil (15)

42 mg, 86%;  $[\alpha]_D^{22} = -4$  (c 0.34, CH<sub>3</sub>OH);  $R_f = 0.23$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 8:2);  $\lambda_{max}$  344 nm ( $\epsilon$  13250); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  11.61 (brs, 1H, NH), 8.61 (s, 1H, H-6), 7.98-7.34 (m, 6H, naphthalene), 5.66 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 1.4$  Hz, H-1'), 5.56-5.53 (m, 1H, H-2'), 4.29-4.26 (m, 1H, H-4'), 4.36-4.33 (m, 1H, OH), 4.27 (brs, 1H, OH), 3.88 (s, 1H, OCH<sub>3</sub>), 3.84 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 2.2$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.2$  Hz, H-6a'), 3.56 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.4$  Hz, H-5b'), 2.10-2.00 (m, 1H, H-3b'), 1.78-1.71 (m, 1H, H-3a'); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  131, 32, 157.99, 150.64, 142.24, 134.72, 131.79, 130.92, 129.98, 129.15, 126.10, 118.84, 117.62, 105.79, 105.21, 100.32, 90.54, 86.73, 77.64, 70.15, 63.44, 55.12, 35.32; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 409.13; Anal. Calcd. for C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 64.70; H, 4.94; N, 6.86% Found: C, 66.30; H, 4.84; N, 7.06%.

### 2.12. 1-(2'-O-Acetyl-5'-O-benzoyl-3'-deoxy-3'-C-methyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-5-iodouracil (17)

Compound **17** was synthesized from 1,2-di-*O*-Acetyl-5-*O*-benzoyl-3'-deoxy-3'-methyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl [24] by a similar procedure described for the preparation of analogue **2**. The crude compound was purified by flash column chromatography (EtOAc/ Hexane, 5:5) to give **17** (1.16 g, 82%) as a white solid. mp 329-331 °C;  $[\alpha]_D^{22} = -3$  (c 0.48, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.27$  (EtOAc/ Hexane, 5:5);  $\lambda_{max}$  290 nm ( $\epsilon$  7650); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):  $\delta$  8.94 (br s, 1H, NH), 8.07 (d, 2H,  $J = 7.6$  Hz, Bz), 7.80 (s, 1H, H-6), 7.60 (t, 1H,  $J = 7.4$  Hz,  $J = 14.7$  Hz, Bz), 7.49 (t, 2H, Bz), 6.08 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 1.2$  Hz, H-1'), 5.45 (dd, 1H,  $J_{2'-3'} = 5.9$  Hz, H-2'), 4.67 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 2.4$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.6$  Hz, H-5a'), 4.55 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 3.8$  Hz, H-5b'), 4.15 (m, 1H, H-4'), 2.40 (m, 1H, H-3'), 2.13 (s, 3H, OAc), 1.04 (d, 3H,  $J_{CH_3-3} = 6.8$  Hz, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  170, 24, 165.81, 161.05, 150.83, 144.19, 133.08, 129.71, 128.34, 95.67, 86.93, 81.22, 68.13, 63.42, 35.33, 21.06, 10.09; ESI-MS (*m/z*): 515.02 (M+H)<sup>+</sup>. Anal. Calcd. for C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>I<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 44.37; H, 3.72; N, 5.45; I, 24.68% Found: C, 44.57; H, 3.52; N, 5.95; I, 24.38; F, 9.69%.

### 2.13. General Procedure for the Preparation of the C5-arylalkynyl 3'-deoxy-3'-C-methyluracil Ribofuranonucleosides 18a-d, 20

A mixture of the appropriate alkyne (0.54 mmol), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (20 mg, 0.017 mmol), CuI (3.2 mg, 0.017 mmol), triethylamine (47  $\mu$ l, 0.34 mmol) and 1-(2'-*O*-acetyl-5'-*O*-benzoyl-3'-deoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-5-iodouracil (**17**) (100 mg, 0.17 mmol), in 1.0 mL of anhydrous DMF, was irradiated in a microwave apparatus (200 Watt maximum power) at 50 °C for 5 minutes. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure and the crude residue was purified by flash chromatography on silica gel. The purified material was dried *in vacuo* to afford the corresponding derivatives **18a-d**, **20** in 76-92% yields, as colorless foams.

#### 2.13.1. 1-(2'-O-Acetyl-5'-O-benzoyl-3'-deoxy-3'-C-methyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-5-[(2-fluorophenyl)ethynyl]uracil (18a)

74 mg, 86%;  $[\alpha]_D^{22} = -3$  (c 0.31, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.19$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{max}$  342 nm ( $\epsilon$  8970); <sup>1</sup>HNMR (300

MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.29 (brs, 1H, NH), 8.04 (d, 2H,  $J = 8.0$  Hz, Bz), 7.86 (s, 1H, H-6), 7.36-7.29 (m, 5H, Bz, 4 ArH), 7.07 (dd, 2H,  $J = 8.0$  Hz,  $J = 15.6$ , Bz), 5.78 (brs, 1H, H-1'), 5.51 (d, 1H,  $J_{2'-3'} = 6.2$  Hz, H-2'), 4.71-4.57 (m, 2H, H-4', H-5a'), 4.34 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 3.8$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 11.6$  Hz, H-5b'), 2.55-2.45 (m, 1H, H-3'), 2.17 (s, 3H, OAc), 1.09 (d, 3H,  $J_{CH_3-3} = 6.8$  Hz, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  170, 32, 165.89, 161.62, 160.75, 150.83, 142.19, 133.98, 133.15, 129.99, 128.13, 126.81, 123.53, 115.21, 109.42, 100.82, 96.15, 93.15, 86.23, 81.23, 63.32, 35.23, 21.18, 10.02; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 507.15; Anal. Calcd. for C<sub>27</sub>H<sub>23</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 64.03; H, 4.58; F, 3.75; N, 5.53% Found: C, 64.23; H, 4.38; F, 3.55; N, 5.33%.

#### 2.13.2. 1-(2'-O-Acetyl-5'-O-benzoyl-3'-deoxy-3'-C-methyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-5-[(2-chlorophenyl)ethynyl]uracil (18b)

73 mg, 82%;  $[\alpha]_D^{22} = -4$  (c 0.452, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.19$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{max}$  341 nm ( $\epsilon$  9150); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.29 (brs, 1H, NH), 8.04 (d, 2H,  $J = 8.0$  Hz, Bz), 7.86 (s, 1H, H-6), 7.36-7.29 (m, 5H, Bz, 4 ArH), 7.07 (dd, 2H,  $J = 8.0$  Hz,  $J = 15.6$ , Bz), 5.78 (brs, 1H, H-1'), 5.51 (d, 1H,  $J_{2'-3'} = 6.2$  Hz, H-2'), 4.71-4.57 (m, 2H, H-4', H-5a'), 4.34 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 3.8$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 11.6$  Hz, H-5b'), 2.55-2.45 (m, 1H, H-3'), 2.17 (s, 3H, OAc), 1.09 (d, 3H,  $J_{CH_3-3} = 6.8$  Hz, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  170, 32, 165.89, 161.62, 160.75, 150.83, 142.19, 133.98, 133.15, 129.99, 128.13, 126.81, 123.53, 115.21, 109.42, 100.82, 96.15, 93.15, 86.23, 81.23, 63.32, 35.23, 21.18, 10.02; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 523.12; Anal. Calcd. for C<sub>27</sub>H<sub>23</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 62.01; H, 4.43; Cl, 6.78; N, 5.36% Found: C, 62.21; H, 4.33; Cl, 6.58; N, 5.56%.

#### 2.13.3. 1-(2'-O-Acetyl-5'-O-benzoyl-3'-deoxy-3'-C-methyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-5-[(2,5-dimethylphenyl)ethynyl]uracil (18c)

81 mg, 92%;  $[\alpha]_D^{22} = -2$  (c 0.19, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.22$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{max}$  342 nm ( $\epsilon$  10030); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.40 (brs, 1H, NH), 8.05 (d, 2H,  $J = 8.0$  Hz, Bz), 7.82 (s, 1H, H-6), 7.38-7.34 (m, 4H, Bz, 3ArH), 7.05 (dd, 2H,  $J = 8.0$  Hz,  $J = 15.6$ , Bz), 5.80 (brs, 1H, H-1'), 5.52 (d, 1H,  $J_{2'-3'} = 6.2$  Hz, H-2'), 4.70-4.62 (m, 2H, H-4', H-5a'), 4.24 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 3.8$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 11.6$  Hz, H-5b'), 2.54-2.48 (m, 1H, H-3'), 2.33, 2.24 (2s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2.18 (s, 3H, OAc), 1.08 (d, 3H,  $J_{CH_3-3} = 6.8$  Hz, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  169, 58, 166.30, 160.66, 148.70, 140.80, 137.38, 134.72, 132.28, 129.55, 129.23, 129.03, 128.65, 121.92, 101.03, 93.68, 91.09, 83.94, 83.11, 78.60, 63.01, 36.29, 20.67, 20.63, 20.11, 9.33; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 517.19; Anal. Calcd. for C<sub>29</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 67.43; H, 5.46; N, 5.42% Found: C, 67.63; H, 5.66; N, 5.12%.

#### 2.13.4. 1-(2'-O-Acetyl-5'-O-benzoyl-3'-deoxy-3'-C-methyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-5-[(2,4,5-trimethylphenyl)ethynyl]uracil (18d)

82 mg, 90%;  $[\alpha]_D^{22} = -4$  (c 0.38, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.25$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{max}$  342 nm ( $\epsilon$  10920); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.41 (brs, 1H, NH), 8.05 (d, 2H,  $J = 8.0$  Hz, Bz), 7.80 (s, 1H, H-6), 7.40-7.34 (m, 3H, Bz, 2ArH), 7.05 (dd, 2H,  $J = 8.0$  Hz,  $J = 15.6$ , Bz), 5.80 (brs, 1H, H-1'), 5.51 (d, 1H,  $J_{2'-3'} = 6.2$  Hz, H-2'), 4.69-4.62 (m, 2H, H-4', H-5a'), 4.23 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 3.8$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 11.6$  Hz, H-5b'), 2.52-

2.48 (m, 1H, H-3'), 2.32, 2.22, 2.18 (3s, 9H, 3CH<sub>3</sub>), 2.15 (s, 3H, OAc), 1.08 (d, 3H,  $J_{\text{CH}_3-3} = 6.8$  Hz, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 169, 60, 166.31, 160.78, 159.87, 148.74, 140.56, 137.75, 133.46, 132.75, 130.76, 129.57, 128.66, 119.32, 101.24, 93.88, 91.09, 83.91, 78.59, 63.05, 36.33, 29.68, 20.62, 19.98, 19.70, 18.97, 9.34; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 531.21; Anal. Calcd. for C<sub>30</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 67.91; H, 5.70; N, 5.28% Found: C, 67.71; H, 5.60; N, 5.48%.

**2.13.5. 1-(2'-O-Acetyl-5'-O-benzoyl-3'-deoxy-3'-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-5-[(6-methoxynaphthalene)ethynyl]uracil (20)**

73 mg, 76%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -2$  (c 0.19, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.19 (EtOAc/Hexane 6:4); λ<sub>max</sub> 349 nm (ε 12020); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.33 (brs, 1H, NH), 8.08 (d, 2H, J = 8.0 Hz, Bz), 7.89 (s, 1H, H-6), 7.71-7.09 (m, 9H, 3Bz, 6naphthalene), 5.82 (brs, 1H, H-1'), 5.53 (d, 1H,  $J_{2-3} = 6.2$  Hz, H-2'), 4.72-4.64 (m, 2H, H-4', H-5a'), 4.24 (dd, 1H,  $J_{4-5b'} = 3.8$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 11.6$  Hz, H-5b'), 3.93 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.54-2.49 (m, 1H, H-3'), 2.18 (s, 3H, OAc), 1.08 (d, 3H,  $J_{\text{CH}_3-3} = 6.8$  Hz, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 169.55, 166.32, 165.80, 158.44, 148.61, 141.15, 133.55, 131.61, 129.58, 129.38, 129.03, 128.86, 128.74, 128.22, 126.59, 119.51, 117.22, 105.76, 84.00, 79.48, 78.64, 62.88, 55.35, 36.18, 20.63, 9.28; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 569.18; Anal. Calcd. for C<sub>32</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>: C, 67.60; H, 4.96; N, 4.93% Found: C, 67.90; H, 5.16; N, 4.63%.

**2.14. General Procedure for the Preparation of Unprotected C5-alkynyl uracil 3'-deoxy-3'-C-methyluracil Ribofuranonucleosides 19a-d, 21**

The protected nucleosides **18a-d**, **20** (0.12 mmol), were treated with methanolic ammonia (saturated at 0 °C, 6.7 mL). The solution was stirred overnight at room temperature and then evaporated under reduced pressure [27]. The residue was purified by flash column chromatography to afford the unprotected derivatives **19a-d**, **21** in 63-85% yields, as yellowish and white foams.

**2.14.1. 1-(3'-Deoxy-3'-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-5-[(2-fluorophenyl)ethynyl]uracil (19a)**

34 mg, 79%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -2$  (c 0.13, MeOH); R<sub>f</sub> = 0.35 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 8:2); λ<sub>max</sub> 341 nm (ε 6765); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8.81 (s, 1H, H-6), 7.54-7.11 (m, 4H, ArH), 5.74 (brs, 1H, H-1'), 4.17 (d, 1H,  $J_{2-3} = 4.5$  Hz, H-2'), 4.04-3.70 (m, 3H, H-4', H-5a', H-5b'), 2.28-2.23 (m, 1H, H-3'), 1.05 (d, 3H,  $J_{\text{CH}_3-3} = 6.7$  Hz, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 161.58, 160.75, 150.77, 142.68, 133.82, 126.87, 123.33, 115.28, 109.43, 100.97, 100.42, 93.26, 86.12, 84.93, 78.33, 61.78, 38.47, 10.23; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 361.11; Anal. Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: C, 60.00; H, 4.76; N, 7.77, F, 5.27% Found: C, 60.40; H, 4.46; N, 7.57; F, 5.07%.

**2.14.2. 1-(3'-Deoxy-3'-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-5-[(2-chlorophenyl)ethynyl]uracil (19b)**

36 mg, 80%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -3$  (c 0.13, MeOH); R<sub>f</sub> = 0.33 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 8:2); λ<sub>max</sub> 339 nm (ε 6765); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8.81 (s, 1H, H-6), 7.55-7.13 (m, 4H, ArH), 5.74 (brs, 1H, H-1'), 4.17 (d, 1H,  $J_{2-3} = 4.5$  Hz, H-2'), 4.04-3.70 (m, 3H, H-4', H-5a', H-5b'), 2.27-2.23 (m, 1H, H-3'), 1.05 (d, 3H,  $J_{\text{CH}_3-3} = 6.7$  Hz, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz,

CD<sub>3</sub>OD): δ 161.58, 160.75, 150.77, 142.68, 133.82, 126.87, 123.33, 115.28, 109.43, 100.97, 100.42, 93.26, 86.12, 84.93, 78.33, 61.78, 38.47, 10.23; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 377.08; Anal. Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: C, 57.38; H, 4.43; N, 7.77, Cl, 9.41% Found: C, 57.58; H, 4.63; N, 7.57; Cl, 9.61%.

**2.14.3. 1-(3'-Deoxy-3'-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-5-[(2,5-dimethylphenyl)ethynyl]uracil (19c)**

35 mg, 79%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -3$  (c 0.22, CH<sub>3</sub>OH); R<sub>f</sub> = 0.19 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 9:1); λ<sub>max</sub> 341 nm (ε 9432); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8.80 (s, 1H, H-6), 7.27-7.03 (m, 3H, 3ArH), 5.75 (brs, 1H, H-1'), 4.16 (d, 1H,  $J_{2-3} = 4.6$  Hz, H-2'), 4.05-3.71 (m, 3H, H-4', H-5a', H-5b'), 4.24 (dd, 1H,  $J_{4-5b'} = 3.8$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 11.6$  Hz, H-6b'), 2.54-2.48 (m, 1H, H-3'), 2.40, 2.27 (2s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2.25-2.23 (m, 1H, H-3'), 1.05 (d, 3H,  $J_{\text{CH}_3-3} = 6.7$  Hz, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 164, 57, 151.32, 144.89, 138.19, 136.29, 133.09, 130.41, 130.32, 123.94, 99.88, 93.62, 92.83, 88.17, 85.62, 79.62, 60.59, 35.80, 20.83, 20.45, 9.04; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 371.15; Anal. Calcd. for C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: C, 64.85; H, 5.99; N, 7.56% Found: C, 65.05; H, 5.69; N, 7.46%.

**2.14.4. 1-(3'-Deoxy-3'-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-5-[(2,4,5-trimethylphenyl)ethynyl]uracil (19d)**

39 mg, 85%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -3$  (c 0.28, CH<sub>3</sub>OH); R<sub>f</sub> = 0.19 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 9:1); λ<sub>max</sub> 343 nm (ε 9652); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8.77 (s, 1H, H-6), 7.21, 6.99 (2s, 2H, 2ArH), 5.75 (brs, 1H, H-1'), 4.16 (d, 1H,  $J_{2-3} = 4.4$  Hz, H-2'), 4.04-3.71 (m, 3H, 3H, H-4', H-5a', H-5b'), 2.37 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.28-2.25 (m, 1H, H-3'), 2.23, 2.20 (2s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 1.05 (d, 3H,  $J_{\text{CH}_3-3} = 6.7$  Hz, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 164, 53, 151.34, 144.82, 138.15, 136.28, 133.19, 130.42, 130.35, 123.94, 99.88, 93.62, 92.83, 88.17, 85.62, 79.62, 60.59, 35.80, 20.83, 20.45, 19.82, 9.04; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 385.17; Anal. Calcd. for C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: C, 65.61; H, 6.29; N, 7.29% Found: C, 65.71; H, 6.49; N, 7.59%.

**2.15.5. 1-(3'-Deoxy-3'-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-5-[(6-methoxynaphthalene)ethynyl]uracil (21)**

32 mg, 63%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -3$  (c 0.29, CH<sub>3</sub>OH); R<sub>f</sub> = 0.26 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 8:2); λ<sub>max</sub> 345 nm (ε 10834); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8.83 (s, 1H, H-6), 7.74-7.23 (m, 6H, naphthalene), 5.76 (brs, 1H, H-1'), 4.183 (d, 1H,  $J_{2-3} = 4.6$  Hz, H-2'), 4.07-3.96 (m, 2H, H-4', H-5a'), 3.92 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.76 (dd, 1H,  $J_{4-5b'} = 3.8$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 11.6$  Hz, H-5b'), 2.30-2.25 (m, 1H, H-3'), 1.06 (d, 3H,  $J_{\text{CH}_3-3} = 6.8$  Hz, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 161.62, 157.44, 150.61, 142.15, 134.55, 131.52, 130.05, 129.66, 129.11, 118.89, 117.48, 105.93, 100.91, 100.12, 90.53, 86.45, 84.39, 79.01, 61.53, 55.84, 38.25, 9.28; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 423.15; Anal. Calcd. for C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 65.39; H, 5.25; N, 6.63% Found: C, 65.59; H, 5.55; N, 6.93%.

**2.16. General Procedure for the Preparation of the C5-arylalkynyl 2'-deoxy-uracil Ribofuranonucleosides 23a-d, 25**

A mixture comprised of the appropriate alkyne (0.54 mmol), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (20 mg, 0.017 mmol), CuI (3.2 mg, 0.017 mmol), triethylamine (47 μL, 0.34 mmol) and 1-(2'-deoxy-β-D-ribofuranosyl) 5-iodouracil (**22**) (100 mg, 0.28 mmol), in 1.0 mL of anhydrous DMF, was irradiated in a microwave

apparatus (200 Watt maximum power) at 50 °C for 5 minutes. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure and the crude residue was purified by flash chromatography on silica gel. The purified material was dried *in vacuo* to afford the corresponding derivatives **23a-d**, **25** in 65-83% yields, as colorless foams.

### 2.16.1. 1-(2'-Deoxy-β-D-ribofuranosyl)-5-[(2-fluorophenyl)ethynyl]uracil (23a)

80 mg, 83%;  $[\alpha]_D^{22} = -2$  (c 0.25, CH<sub>3</sub>OH);  $R_f = 0.19$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 9:1);  $\lambda_{max}$  343 nm ( $\epsilon$  6329); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  8.45 (s, 1H, H-6), 7.56-7.53 (m, 1H, ArH), 7.40-7.36 (m, 1H, ArH), 7.18-7.12 (m, 2H, ArH), 6.27 (t, 1H,  $J_{1'-2a'} = 13.0$  Hz,  $J_{1'-2b'} = 6.5$  Hz H-1'), 4.44-4.41 (m, 1H, H-4'), 3.95-3.93 (m, 1H, H-3'), 3.85 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.9$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.0$  Hz, H-5b'), 3.76 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 3.3$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.0$  Hz, H-5a'), 2.37-2.25 (m, 1H, H-2'); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  161.58, 160.43, 150.74, 142.52, 133.89, 126.74, 123.88, 115.19, 109.24, 100.92, 93.45, 93.02, 89.07, 86.45, 70.51, 61.29, 40.56; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 347.10; Anal. Calcd. for C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: C, 58.96; H, 4.37; F, 5.49; N, 8.09% Found: C, 58.16; H, 4.17; F, 5.69; N, 8.19%.

### 2.16.2. 1-(2'-Deoxy-β-D-ribofuranosyl)-5-[(2-chlorophenyl)ethynyl]uracil (23b)

79 mg, 78%;  $[\alpha]_D^{22} = -4$  (c 0.36, CH<sub>3</sub>OH);  $R_f = 0.19$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 9:1);  $\lambda_{max}$  341 nm ( $\epsilon$  7934); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  8.47 (s, 1H, H-6), 7.60-7.58 (m, 1H, ArH), 7.46-7.44 (m, 1H, ArH), 7.34-7.27 (m, 2H, ArH), 6.28 (t, 1H,  $J_{1'-2a'} = 13.0$  Hz,  $J_{1'-2b'} = 6.5$  Hz H-1'), 4.44-4.41 (m, 1H, H-4'), 3.96-3.94 (m, 1H, H-3'), 3.85 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.9$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.0$  Hz, H-5b'), 3.77 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 3.3$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.0$  Hz, H-5a'), 2.37-2.26 (m, 2H, H-2'); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  161.64, 151.23, 145.66, 136.66, 134.49, 130.84, 130.40, 127.88, 124.19, 100.24, 93.25, 90.45, 89.24, 87.24, 71.94, 62.50, 41.91; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 363.07; Anal. Calcd. for C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: C, 56.28; H, 4.17; Cl, 9.77; N, 7.72% Found: C, 56.58; H, 4.47; Cl, 9.57; N, 7.32%.

### 2.16.3. 1-(3'-Deoxy-β-D-ribofuranosyl)-5-[(2,5-dimethylphenyl)ethynyl]uracil (23c)

83 mg, 83%;  $[\alpha]_D^{22} = -3$  (c 0.25, CH<sub>3</sub>OH);  $R_f = 0.23$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 9:1);  $\lambda_{max}$  339 nm ( $\epsilon$  8482); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  8.47 (s, 1H, H-6), 7.25 (s, 1H, ArH), 7.10 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz ArH), 7.05 (d, 1H, ArH), 6.28 (t, 1H,  $J_{1'-2a'} = 13.0$  Hz,  $J_{1'-2b'} = 6.5$  Hz, H-1'), 4.44-4.41 (m, 1H, H-4'), 3.96-3.94 (m, 1H, H-3'), 3.85 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.9$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.0$  Hz, H-5b'), 3.77 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 3.3$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.0$  Hz, H-5a'), 2.43, 2.29 (2s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2.26-2.21 (m, 2H, H-2'); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  161.64, 151.23, 145.66, 136.66, 134.49, 130.84, 130.40, 127.88, 124.19, 100.24, 93.25, 90.45, 89.24, 87.24, 71.94, 62.50, 41.91, 21.14, 19.05; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 357.14; Anal. Calcd. for C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: C, 64.04; H, 5.66; N, 7.86% Found: C, 64.34; H, 5.26; N, 7.66%.

### 2.16.4. 1-(2'-Deoxy-β-D-ribofuranosyl)-5-[(2,4,5-trimethylphenyl)ethynyl]uracil (23d)

85 mg, 82%;  $[\alpha]_D^{22} = -4$  (c 0.39, CH<sub>3</sub>OH);  $R_f = 0.29$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 9:1);  $\lambda_{max}$  343 nm ( $\epsilon$  8953); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  8.47 (s, 1H, H-6), 7.20 (s, 1H, ArH), 6.98 (s, 1H), 6.28 (t, 1H,  $J_{1'-2a'} = 13.0$  Hz,  $J_{1'-2b'} = 6.5$  Hz H-1'),

4.44-4.41 (m, 1H, H-4'), 3.96-3.94 (m, 1H, H-3'), 3.85 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.9$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.0$  Hz, H-5b'), 3.77 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 3.3$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.0$  Hz, H-5a'), 2.40 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.27-2.25 (m, 2H, H-2'), 2.23, 2.19 (2s, 6H, 2CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  161.64, 151.23, 145.66, 136.66, 134.49, 130.84, 130.40, 127.88, 124.19, 100.24, 93.25, 90.45, 89.24, 87.24, 71.94, 62.50, 41.91, 21.14, 20.31, 19.05; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 371.15; Anal. Calcd. for C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: C, 64.85; H, 5.99; N, 7.56% Found: C, 64.55; H, 5.69; N, 7.96%.

### 2.16.5. 1-(2'-deoxy-β-D-ribofuranosyl)-5-[(6-methoxynaphthalene)ethynyl]uracil (25)

74 mg, 65%;  $[\alpha]_D^{22} = -4$  (c 0.45, CH<sub>3</sub>OH);  $R_f = 0.24$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 8:2);  $\lambda_{max}$  349 nm ( $\epsilon$  9964); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.44 (s, 1H, H-6), 7.95-7.13 (m, 6H, naphthalene), 6.28 (t, 1H,  $J_{1'-2a'} = 13.0$  Hz,  $J_{1'-2b'} = 6.5$  Hz, H-1'), 4.44-4.42 (m, 1H, H-4'), 3.96-3.94 (m, 1H, H-3'), 3.91 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.86 (dd, 1H,  $J_{4'-5b'} = 2.9$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.0$  Hz, H-5b'), 3.78 (dd, 1H,  $J_{4'-5a'} = 3.3$  Hz,  $J_{5a'-5b'} = 12.0$  Hz, H-5a'), 2.36-2.25 (m, 2H, H-2'); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  161, 32, 157.99, 150.64, 142.24, 134.72, 131.79, 130.92, 129.98, 129.15, 126.10, 118.84, 117.62, 105.79, 105.21, 100.32, 90.54, 86.73, 77.64, 70.15, 63.44, 55.12, 35.32; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 409.13; Anal. Calcd. for C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 64.70; H, 4.94; N, 6.86% Found: C, 64.90; H, 5.14; N, 6.56%.

## 2.17. General Procedure for the Preparation of the Acetylated C5-arylalkynyl 2'-deoxy-uracil Ribofuranonucleosides 24a-d, 26

The C5-arylalkynyluracil 2'-deoxyribofuranonucleosides **23a-d**, **25** (0.24 mmol), were dissolved in a mixture of pyridine and acetic anhydride. The mixture was stirred at room temperature for 1 h, quenched with MeOH at 0 °C and then concentrated under vacuum. The residue was diluted with ethyl acetate (EtOAc), washed with saturated NaHSO<sub>4</sub>, NaHCO<sub>3</sub> and H<sub>2</sub>O. The organic extract was dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and evaporated to dryness to give **24a-d**, **26** in 89-94% yields as a syrup.

### 2.17.1. 1-(3,5-di-O-Acetyl-2'-deoxy-β-D-ribofuranosyl)-5-[(2-fluorophenyl)ethynyl]uracil (24a)

95 mg, 92%;  $[\alpha]_D^{22} = -4$  (c 0.28, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.19$  (EtOAc/Hexane 5:5);  $\lambda_{max}$  342 nm ( $\epsilon$  8657); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.76 (brs, 1H, NH), 7.95 (s, 1H, H-6), 7.53-7.50 (m, 1H, ArH), 7.35-7.30 (m, 1H, ArH), 7.13-7.06 (m, 2H, ArH), 6.36 (t, 1H,  $J_{1'-2a'} = 13.8$  Hz,  $J_{1'-2b'} = 6.0$  Hz, H-1'), 5.27-5.25 (m, 1H, H-4'), 4.42-4.31 (m, 3H, H-3', H-5a', H-5b'), 2.58-2.54 (m, 1H, H-2'), 2.27-2.22 (m, 1H, H-2'), 2.18, 2.12 (2s, 6H, 2Oac); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  170.34, 170.21, 164.50, 160.53, 149.01, 141.62, 133.639, 130.63, 124.08, 115.66, 110.86, 100.74, 93.45, 93.02, 87.32, 85.47, 74.06, 63.79, 38.31, 20.85, 20.70; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 431.12; Anal. Calcd. for C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 58.60; H, 4.45; F, 4.41; N, 6.51% Found: C, 58.90; H, 4.15; F, 4.61; N, 6.81%.

### 2.17.2. 1-(3,5-di-O-Acetyl-2'-deoxy-β-D-ribofuranosyl)-5-[(2-chlorophenyl)ethynyl]uracil (24b)

100mg, 94%;  $[\alpha]_D^{22} = -4$  (c 0.39, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.20$  (EtOAc/Hexane 5:5);  $\lambda_{max}$  342 nm ( $\epsilon$  8419); <sup>1</sup>HNMR (300

MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.62 (brs, 1H, NH), 7.94 (s, 1H, H-6), 7.56-7.54 (m, 1H, ArH), 7.41-7.40 (m, 1H, ArH), 7.29-7.21 (m, 2H, ArH), 6.34 (t, 1H,  $J_{1'-2a'} = 13.8$  Hz,  $J_{1'-2b'} = 6.0$  Hz, H-1'), 5.27-5.25 (m, 1H, H-4'), 4.42-4.31 (m, 3H, H-3', H-5a', H-5b'), 2.60-2.55 (m, 1H, H-2'), 2.27-2.21 (m, 1H, H-2'), 2.16, 2.12 (2s, 6H, 2OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  170.34, 170.12, 160.48, 148.99, 141.59, 135.73, 133.53, 129.81, 129.29, 126.52, 122.31, 100.69, 90.63, 85.65, 84.87, 82.75, 74.10, 63.80, 38.33, 20.86; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 447.09; Anal. Calcd. for C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 56.45; H, 4.29; Cl, 7.93; N, 6.27% Found: C, 56.85; H, 4.69; Cl, 7.53; N, 6.47%.

#### 2.17.3. 1-(3,5-di-O-Acetyl-2'-deoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-5-(2,5-dimethylphenyl)ethynyluracil (24c)

97 mg, 92%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -4 (c 0.34, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.24 (EtOAc/Hexane 5:5);  $\lambda_{\max}$  341 nm ( $\epsilon$  9961); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.64 (brs, 1H, NH), 7.85 (s, 1H, H-6), 7.25 (s, 1H, ArH), 7.10 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz, ArH), 7.05 (d, 1H, ArH), 6.35 (t, 1H,  $J_{1'-2a'} = 13.8$  Hz,  $J_{1'-2b'} = 6.0$  Hz, H-1'), 5.27-5.25 (m, 1H, H-4'), 4.39-4.31 (m, 3H, H-3', H-5a', H-5b'), 2.59-2.55 (m, 1H, H-2'), 2.43, 2.29 (2s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2.27-2.21 (m, 1H, H-2'), 2.17, 2.13 (2s, 6H, 2OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  170.35, 170.08, 160.60, 149.04, 140.39, 137.35, 135.02, 132.22, 129.74, 129.41, 121.82, 101.43, 93.51, 85.51, 83.10, 82.64, 74.04, 63.81, 38.23, 20.86, 20.82, 20.70, 20.16; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 441.16; Anal. Calcd. for C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 62.72; H, 5.49; N, 6.36% Found: C, 62.92; H, 5.79; N, 6.06%.

#### 2.17.4. 1-(3,5-di-O-Acetyl-2'-deoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-5-(2,4,5-trimethylphenyl)ethynyluracil (24d)

100 mg, 92%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -2 (c 0.29, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.25 (EtOAc/Hexane 5:5);  $\lambda_{\max}$  342 nm ( $\epsilon$  9650); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.68 (brs, 1H, NH), 7.84 (s, 1H, H-6), 7.20, 6.98 (2s, 2H, ArH), 6.35 (t, 1H,  $J_{1'-2a'} = 13.8$  Hz,  $J_{1'-2b'} = 6.0$  Hz, H-1'), 5.27-5.25 (m, 1H, H-4'), 4.39-4.30 (m, 3H, H-3', H-5a', H-5b'), 2.58-2.54 (m, 1H, H-2'), 2.40, (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.27-2.25 (m, 1H, H-2'), 2.23, 2.19 (2s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2.16, 2.12 (2s, 6H, 2OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  170.35, 170.10, 160.66, 149.07, 140.17, 137.77, 137.61, 133.72, 132.70, 130.92, 119.21, 101.63, 93.67, 85.45, 82.61, 82.48, 74.06, 63.82, 38.20, 20.86, 20.82, 20.02, 19.70, 19.02; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 455.17; Anal. Calcd. for C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 63.43; H, 5.77; N, 6.16% Found: C, 63.03; H, 5.37; N, 6.46%.

#### 2.17.5. 1-(3,5-di-O-Acetyl-2'-deoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-5-(6-methoxynaphthalene)ethynyluracil (26)

105mg, 89%; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -2 (c 0.26, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.19 (EtOAc/Hexane 6:4);  $\lambda_{\max}$  342 nm ( $\epsilon$  10249); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.68 (brs, 1H, NH), 7.84 (s, 1H, H-6), 7.95-7.13 (m, 6H, naphthalene), 6.35 (t, 1H,  $J_{1'-2a'} = 13.8$  Hz,  $J_{1'-2b'} = 6.0$  Hz, H-1'), 5.27-5.25 (m, 1H, H-4'), 4.39-4.30 (m, 3H, H-3', H-5a', H-5b'), 3.91 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.58-2.54 (m, 1H, H-2'), 2.27-2.25 (m, 1H, H-2'), 2.16, 2.12 (2s, 6H, 2OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  170.35, 170.10, 161, 32, 157.99, 150.64, 142.24, 134.72, 131.79, 130.92, 129.98, 129.15, 126.10, 118.84, 117.62, 105.79, 105.21, 100.32, 90.54, 86.73, 77.64, 70.15, 63.44, 55.12, 35.32; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 493.15; Anal. Calcd. for C<sub>26</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>: C,

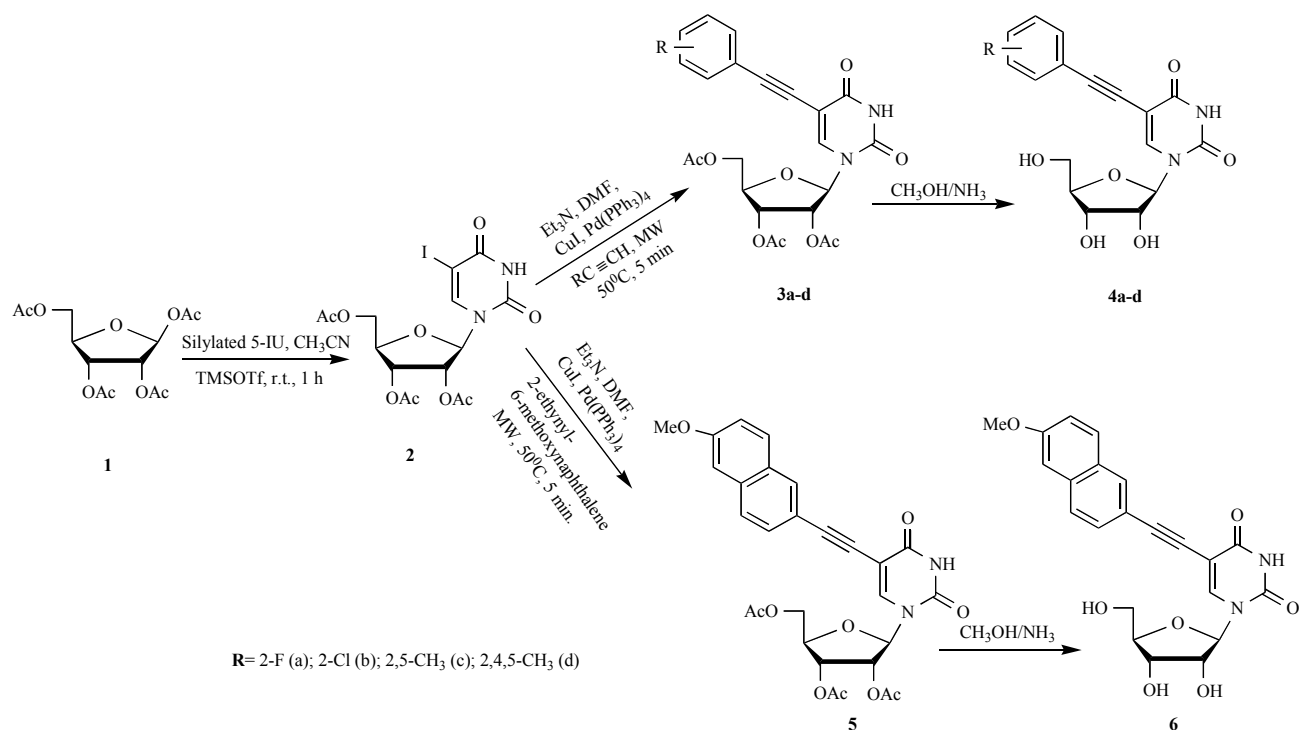
63.41; H, 4.91; N, 5.69% Found: C, 63.81; H, 4.71; N, 5.49%.

## 3. RESULTS AND DISCUSSION

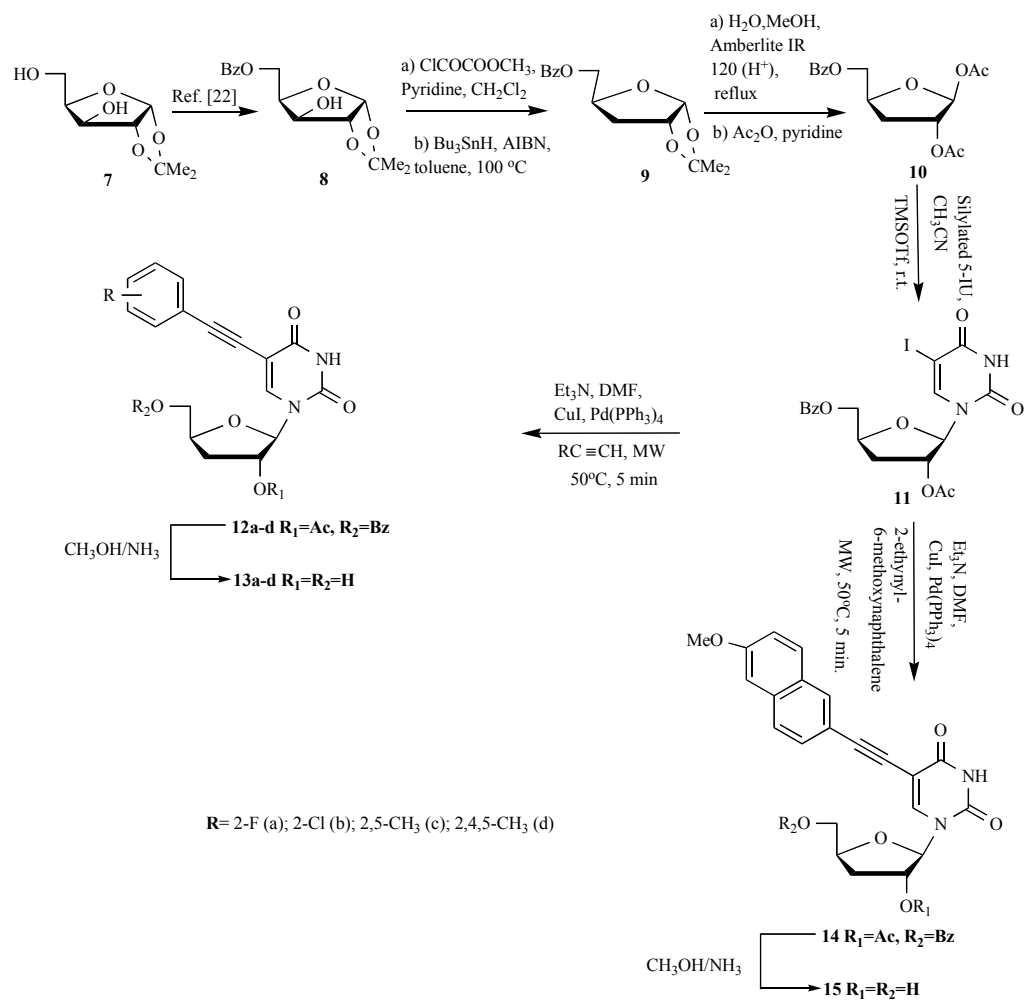
### 3.1. Chemistry

Our first synthetic efforts focused on the preparation of the C5-substituted uracil ribofuranonucleosides (Scheme 1). Condensation of commercially available 1,2,3,5-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-ribofuranose (**1**) with silylated 5-iodouracil in the presence of trimethylsilyltrifluoromethane-sulfonate, followed by Sonogashira coupling reaction with several acetylenes, under microwave irradiation, furnished the protected nucleosides **3**, **5**, in 65-83% yields. In order to extract more detailed structure-activity relationships, diverse alkyne substituents R were selected, which included a phenyl ring substituted with halogens (**3a**, R = 2-fluoro, **3b**, R = 2-chloro) or methyl groups (**3c**, R = 2,5-dimethyl, **3d**, R = 2,4,5-trimethyl) and a polycyclic aromatic hydrocarbon substituted with a methoxyl group (**5**, R = 6-methoxynaphthalene). In a typical experiment, the protected nucleoside of 5-iodouracil (**2**) was mixed with *N,N*-dimethylformamide (DMF), the appropriate alkyne, triethylamine (base), copper(I) iodide (CuI) (co-catalyst) and tetrakis(triphenylphosphine) palladium (0) (Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>) (catalyst), and were irradiated at 50 °C for 5 min [22]. After removing all the volatile materials *in vacuo*, the solid obtained was purified by flash chromatography to provide the C5-alkynyl ribofuranonucleosides **3**, **5**, which upon treatment with saturated methanolic ammonia afforded the unprotected derivatives **4** and **6**, in good to excellent yields (74-96%).

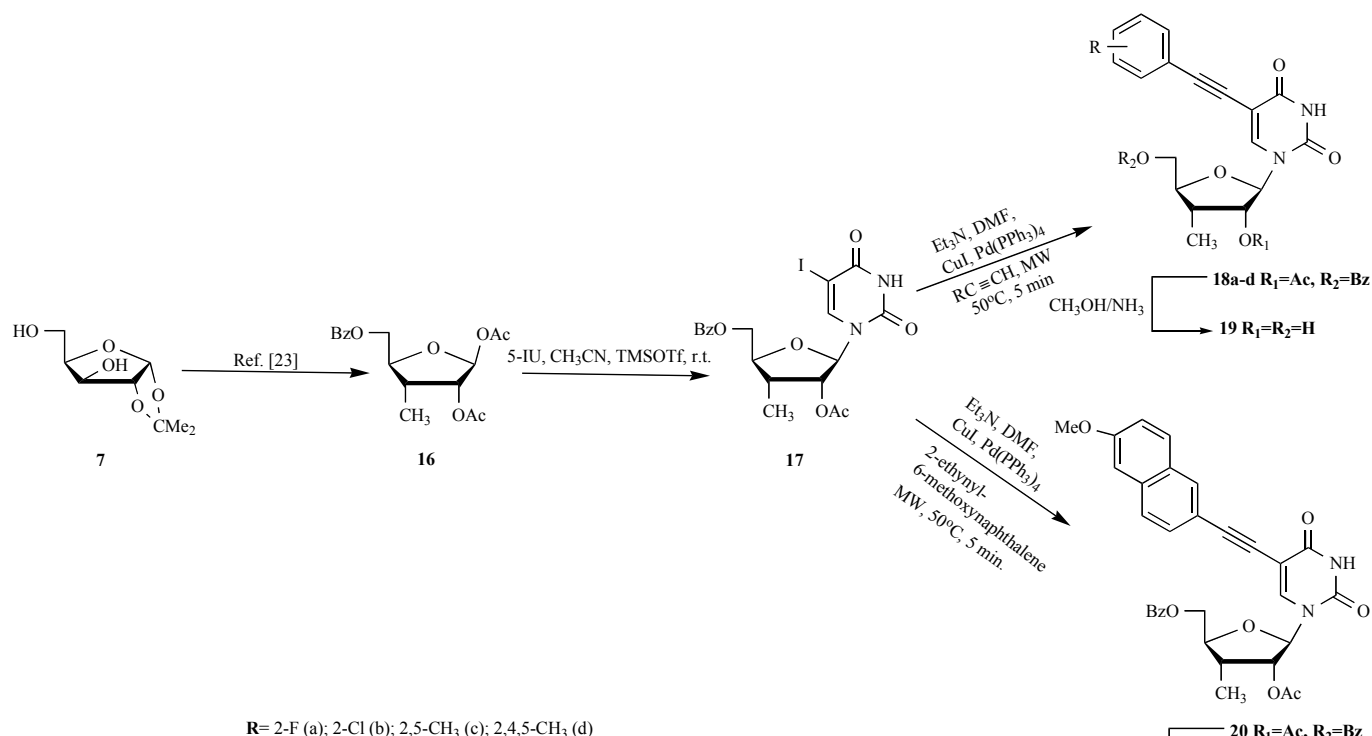
To further investigate whether modifications on the sugar portion, of the aforementioned compounds **3**, **4**, **5** and **6**, could lead to nucleosides with improved biological activity, we synthesized C5-arylalkynyl uracil nucleosides bearing 3'-deoxy, 2'-deoxy, 3'-deoxy-3'-C-methyl ribofuranose. The synthesis of the C5-substituted uracil 3'-deoxy ribofuranonucleosides is outlined in Scheme 2. Our synthetic approach was based on the preparation of the 3'-deoxy- $\beta$ -D-ribofuranonucleoside of 5-iodouracil (**11**) as the key intermediate (Scheme 2). Thus, selective protection of the primary 5-hydroxy group was achieved by treatment of 1,2-O-isopropylidene- $\alpha$ -D-xylofuranose (**7**) with benzoyl chloride in anhydrous pyridine at 0 °C [24], resulting to **8**, as a crystalline solid. Compound **8** was then converted, on treatment with methyl oxalyl chloride in anhydrous CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, to the corresponding ester derivative, which underwent subsequent deoxygenation with tributyl tin hydride (Bu<sub>3</sub>SnH), by refluxing in anhydrous toluene with *a,a'*-azobisisobutyronitrile (AIBN) as initiator, to afford the 5-O-benzoyl-3-deoxy-1,2-O-isopropylidene- $\alpha$ -D-ribofuranose (**9**). Hydrolysis of **9** using Amberlite IR 120 (H<sup>+</sup>) resin in methanol (MeOH), followed by acetylation using acetic anhydride (Ac<sub>2</sub>O) in pyridine, led to the 1,2-di-O-acetyl-5-O-benzoyl-3-deoxy- $\beta$ -D-ribofuranose (**10**). Glycosylation reactions with persilylated 5-iodouracil and the sugar precursor **10**, under Vorbruggen [27] conditions using (trimethylsilyl)trifluoromethanesulfonate (TMSOTf), as catalyst, in anhydrous acetonitrile (CH<sub>3</sub>CN) at 0 °C, afforded the ribofuranonucleoside **11**. Using the same one-pot Sonogashira protocol as previously discussed, the novel arylalkynyl 3'-deoxy derivatives **12** and



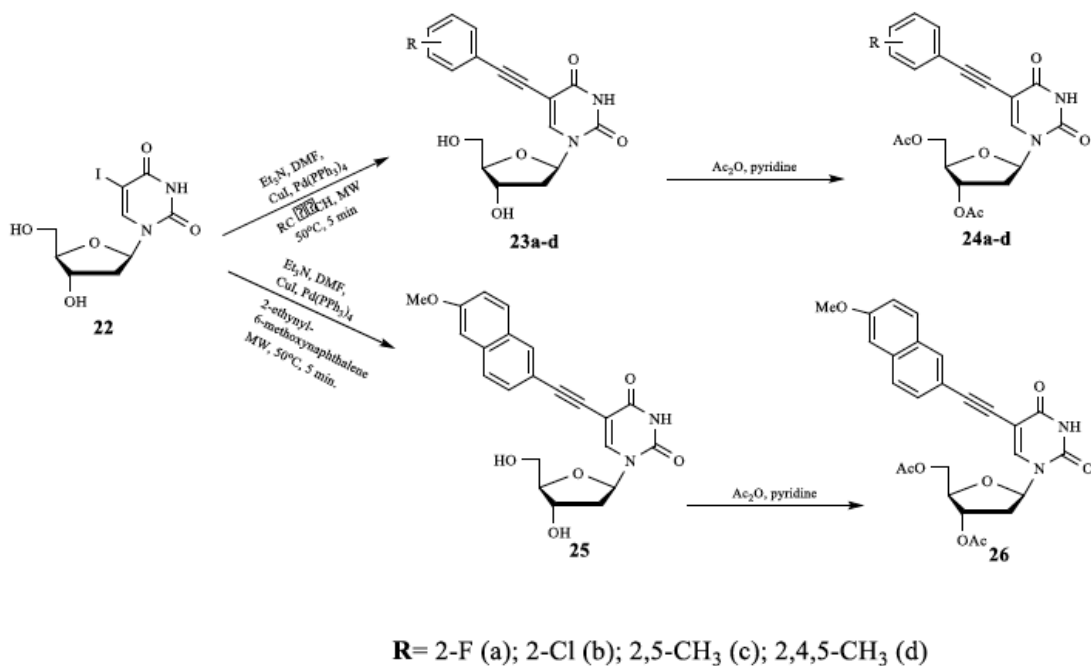
Scheme 1. Synthetic route of C5-alkynyl uracil ribofuranonucleosides 3-6.



Scheme 2. Synthetic route of C5-alkynyl 3'-deoxy uracil ribofuranonucleosides 12-15.



**Scheme 3.** Synthetic route of *C5*-alkynyl 3'-deoxy-3'-*C*-methyl uracil ribofuranonucleosides **18-21**.



**Scheme 4.** Synthetic route of *C5*-alkynyl 2'-deoxy uracil ribofuranonucleosides **23-26**.

**14** were obtained, in satisfying yields (72-84%). Deprotection of **12** and **14** with saturated methanolic ammonia furnished the target products **13** and **15**, respectively, in good to excellent yields (72-92%).

The synthesis of the *C5*-substituted uracil 3'-deoxy-3'-*C*-methyl ribofuranonucleosides is outlined in Scheme 3. From commercial available 1,2-*O*-isopropylidene-*a*-*D*-xylofuran-

ose (**7**) and following a synthetic pathway previously reported by Couturier *et al.* [25], we synthesized the 1,2-di-*O*-acetyl-5-*O*-benzoyl-3-deoxy-3-*C*-methyl- $\beta$ -*D*-ribofuranose (**16**). Glycosylation reactions with persilylated 5-iodouracil and the sugar precursor **10**, under Vorbruggen [27] conditions, gave the ribofuranonucleoside **17**. Using the same microwave assisted Sonogashira reaction, the novel arylalkynyl 3'-deoxy derivatives **18** and **20** were obtained, in good yields

Table 1. Cytostatic activity of compounds 3-6, 12-15, 18- 21, 23- 26 against a panel of tumor cell lines.

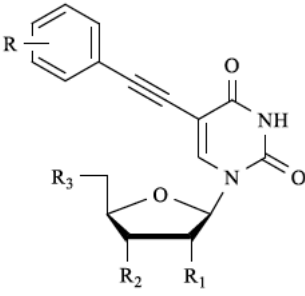
								
	Compound	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	IC <sub>50</sub> <sup>†</sup> (μM)		
						L1210	CEM	HeLa
3a	2-F	OAc	OAc	OAc	OAc	> 250	132 ± 3	> 250
3b	2-Cl	OAc	OAc	OAc	OAc	162 ± 23	100 ± 8	≥ 250
3c	2,5-CH <sub>3</sub>	OAc	OAc	OAc	OAc	140 ± 11	79 ± 4	149 ± 52
3d	2,4,5-CH <sub>3</sub>	OAc	OAc	OAc	OAc	114 ± 3	41 ± 26	92 ± 8
4a	2-F	OH	OH	OH	OH	≥ 250	≥ 250	≥ 250
4b	2-Cl	OH	OH	OH	OH	>250	≥ 250	>250
4c	2,5-CH <sub>3</sub>	OH	OH	OH	OH	247 ± 4	148 ± 12	>250
4d	2,4,5-CH <sub>3</sub>	OH	OH	OH	OH	152 ± 4	48 ± 19	65 ± 1
12a	2-F	OAc	H	OBz	OBz	69 ± 24	46 ± 24	88 ± 2
12b	2-Cl	OAc	H	OBz	OBz	25 ± 2	22 ± 2	39 ± 4
12c	2,4-CH <sub>3</sub>	OAc	H	OBz	OBz	21 ± 3	16 ± 3	24 ± 2
12d	2,4,5-CH <sub>3</sub>	OAc	H	OBz	OBz	22 ± 1	17 ± 1	22 ± 0
13a	2-F	OH	H	OH	OH	> 250	> 250	> 250
13b	2-Cl	OH	H	OH	OH	≥ 250	≥ 250	> 250
13c	2,4-CH <sub>3</sub>	OH	H	OH	OH	158 ± 31	96 ± 36	> 250
13d	2,4,5-CH <sub>3</sub>	OH	H	OH	OH	> 250	≥ 250	> 250
18a	2-F	OAc	CH <sub>3</sub>	OBz	OBz	21 ± 4	24 ± 4	15 ± 1
18b	2-Cl	OAc	CH <sub>3</sub>	OBz	OBz	24 ± 3	23 ± 2	17 ± 2
18c	2,4-CH <sub>3</sub>	OAc	CH <sub>3</sub>	OBz	OBz	17 ± 4	18 ± 1	17 ± 2
18d	2,4,5-CH <sub>3</sub>	OAc	CH <sub>3</sub>	OBz	OBz	49 ± 12	53 ± 22	102 ± 10
19a	2-F	OH	CH <sub>3</sub>	OH	OH	80 ± 42	102 ± 38	67 ± 3
19b	2-Cl	OH	CH <sub>3</sub>	OH	OH	169 ± 114	≥ 250	193 ± 49
19c	2,4-CH <sub>3</sub>	OH	CH <sub>3</sub>	OH	OH	184 ± 93	130 ± 30	> 250
19d	2,4,5-CH <sub>3</sub>	OH	CH <sub>3</sub>	OH	OH	173 ± 90	109 ± 23	143 ± 4
23a	2-F	H	OH	OH	OH	≥ 250	≥ 250	> 250
23b	2-Cl	H	OH	OH	OH	≥ 250	194 ± 79	> 250
23c	2,4-CH <sub>3</sub>	H	OH	OH	OH	119 ± 8	59 ± 0	104 ± 9
23d	2,4,5-CH <sub>3</sub>	H	OH	OH	OH	≥ 250	125 ± 30	≥ 250
24a	2-F	H	OAc	OAc	OAc	110 ± 38	96 ± 34	123 ± 0

Table 1. contd...



Compound	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	IC <sub>50</sub> <sup>*</sup> (μM)		
					L1210	CEM	HeLa
24b	2-Cl	H	OAc	OAc	99 ± 35	80 ± 23	102 ± 5
24c	2,4-CH <sub>3</sub>	H	OAc	OAc	72 ± 24	48 ± 23	114 ± 16
24d	2,4,5-CH <sub>3</sub>	H	OAc	OAc	79 ± 25	25 ± 4	37 ± 0
5	-	OAc	OAc	OAc	108 ± 11	63 ± 9	94 ± 4
6	-	OH	OH	OH	174 ± 28	106 ± 24	144 ± 28
14	-	OAc	H	OBz	129 ± 7	90 ± 6	94 ± 8
15	-	OH	H	OH	192 ± 2	130 ± 2	182 ± 13
20	-	OAc	CH <sub>3</sub>	OBz	103 ± 11	54 ± 34	122 ± 0
21	-	OH	CH <sub>3</sub>	OH	75 ± 34	30 ± 12	64 ± 14
25	-	H	OH	OH	218 ± 44	187 ± 62	> 250
26	-	H	OAc	OAc	146 ± 18	83 ± 19	136 ± 2
5-Fluorouracil					0.33±0.17	18 ± 5	0.54±0.22

\*50% inhibitory concentration, or compound concentration required to inhibit cell proliferation by 50%.

(76-92%). Full deprotection of **18** and **20**, performed by using saturated methanolic ammonia, gave nucleosides **19** and **21**, in satisfying yields (63-85%).

Our final target was the synthesis of C5-arylalkynyl uracil 2'-deoxy-β-D-ribofuranonucleosides, as depicted in Scheme 4. Coupling reaction of commercial available 5-iodo-2'-deoxyuridine (**22**) with the appropriate alkynes under Sonogashira conditions, gave nucleosides **23** and **25**, which upon acetylation, using acetic anhydride (Ac<sub>2</sub>O) in pyridine, furnished the protected nucleosides **24** and **26**, respectively, in excellent yields (89-94%).

### 3.2. Biological Evaluation

The cytostatic activity of **3-6**, **12-15**, **18-21** and **23-26** was determined against murine leukemia (L1210), human lymphocyte (CEM) and human cervix carcinoma (HeLa) cell cultures (Table 1). Derivatives **12b,c,d** and **18a,b,c** showed moderate cytotoxic activity, with comparable IC<sub>50</sub> values (~20 μM) against all three tumor cell lines compared to 5-FU.

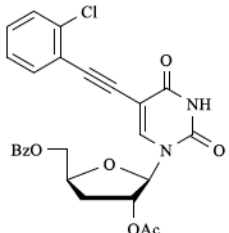
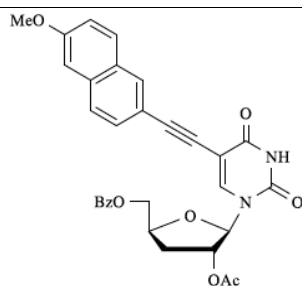
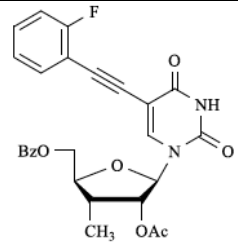
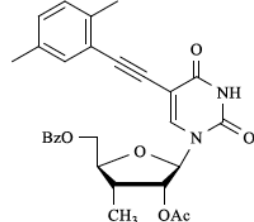
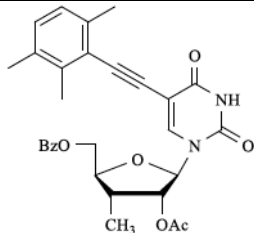
The synthesized derivatives were evaluated for broad-spectrum antiviral activity. The antiviral evaluation indicated that derivatives **12b**, **14** and **18a,c,d** were able to inhibit the

replication of coxsackie virus B4, respiratory syncytial virus, yellow fever virus and human coronavirus (229E), with EC<sub>50</sub> values in the range of 1.4-34 μM. In particular, compound **12b** was active against coxsackie virus B4 in HeLa and Vero cells (EC<sub>50</sub> 10.5 and 13 μM, respectively), respiratory syncytial virus in HeLa cells (EC<sub>50</sub> 20 μM), and yellow fever virus in Vero cells (EC<sub>50</sub> 10.5 μM) with a minimal cytotoxic concentration (MCC) of 100 μM for both Vero and HeLa cells. Nucleosides **14** and **18a** showed activity against yellow fever virus in Vero cells (EC<sub>50</sub> 10.5 and 11 μM, respectively). Derivative **18c** exhibited activity against coxsackie virus B4 in Vero cells (EC<sub>50</sub> 1.4 μM), whilst compound **18d** displayed activity against the human coronavirus (229E) in HEL cells (EC<sub>50</sub> 34 μM). Compound **18c** (MCC 20 μM for Vero cells) proved more toxic than compounds **14**, **18a** (MCC 100 μM for Vero cells) and **18d** (MCC >100 μM for HEL cells). However, the selectivity indices for compound **12b**, **14**, **18a** and **18c** against coxsackie virus B4 and yellow fever was in the range of 8-14.

### CONCLUSION

In the present study, the synthesis of novel C5-modified pyrimidine ribofuranonucleosides, using an efficient and facile one-step Sonogashira coupling reaction, under micro

Table 2. Antiviral activity of compounds 12b, 14, 18a,c,d against a panel of viruses.

	Compound	MCC <sup>a</sup> (μM)	EC <sub>50</sub> <sup>b</sup> (μM)	SI <sup>c</sup>	Virus	Cells
	12b	100	10.5 ± 2.2	10	Coxsackie virus B4	HeLa
	12b	100	20.0 ± 0	5	Respiratory syncytial virus	HeLa
	12b	100	13.0 ± 1.4	8	Coxsackie virus B4	Vero
	12b	100	10.5 ± 2.2	10	Yellow Fever virus	Vero
	14	100	10.5 ± 2.2	10	Yellow Fever virus	Vero
	18a	100	11 ± 1.4	9	Yellow Fever virus	Vero
	18c	20	1.4 ± 0.6	14	Coxsackie virus B4	Vero
	18d	>100	34 ± 8.5	>3	Human Coronavirus (229E)	HEL
Dextran sulfate 10.000 <sup>d</sup>		>100	10	>10	Coxsackie virus B4	Vero
			1.3 ± 0.7	>77	Yellow fever virus	
		>100	0.8	>125	Respiratory syncytial virus	HeLa
Mycophenolic acid		>100	2.7 ± 1.8	>37	Yellow fever virus	Vero
Ribavirin		>250	4.5	>56	Respiratory syncytial virus	HeLa

<sup>a</sup>Required to cause a microscopically detectable alteration of normal cell morphology.<sup>b</sup>Required to reduce virus-induced cytopathogenicity by 50 %.<sup>c</sup>Selectivity index: ratio of MCC to EC<sub>50</sub>.<sup>d</sup>Data are expressed in μg/ml.

wave irradiation, is reported. The protected 3'-deoxy (**12b,c,d**) and 3'-deoxy-3'-methyl (**18a,b,c**) furanonucleosides showed a moderate cytostatic activity against murine leukemia L1210 (IC<sub>50</sub>: 17-25 μM) and human lymphocyte CEM (IC<sub>50</sub>: 16-22 μM) tumor cell cultures (Table 1). The antiviral evaluation of the new nucleoside derivatives 3'-deoxy (**12b, 14**) and 3'-deoxy-3'-methyl (**18a,c,d**) gave promising results against the Coxsackie virus B4, Respiratory syncytial virus, Yellow Fever Virus and the Human Coronavirus (229E) (Table 2). Analogues **12b, 14** and **18a,c,d**, bearing an acetyl and a benzoyl group on the 2' and the 5' OH, respectively, were endowed with higher antiviral potency than the corresponding nucleosides with free hydroxyl groups, indicating that introduction of lipophilic moieties enhances antiviral activity, possibly by increasing cell membrane penetrating ability. Secondly, a free 5' primary hydroxyl group does not appear to be a prerequisite for biological activity, whereas the absence of the 3'-OH of the sugar moiety seems to play an important role on the antiviral properties of the above derivatives. Furthermore, these compounds exert their potency via their intact nucleoside moiety (or an anabolite derived thereof), rather than a catabolic metabolite (there is no need to be converted first to the free base prior to further metabolic activation), since the unprotected analogues had displayed no cytotoxic or antiviral properties. In order to clarify the mechanism of their biological action further biological and structural optimization investigations must be carried out.

#### LIST OF ABBREVIATIONS

<sup>13</sup> C NMR	=	Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy
<sup>1</sup> H NMR	=	Proton magnetic resonance spectroscopy
AcOH	=	Acetic acid
CD <sub>3</sub> OD	=	Deuterated methanol
CDCl <sub>3</sub>	=	Deuterated chloroform
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	=	Dichloromethane
CH <sub>3</sub> CN	=	Acetonitrile
CuI	=	Copper(I) iodide
DMF	=	Dimethylformamide
DMSO- <i>d</i> 6	=	Deuterated dimethyl sulfoxide
Et <sub>3</sub> N	=	Triethylamine
EtOAc	=	Ethyl acetate
HMDS	=	Hexamethyldisilazane
MeOH	=	Methanol
MW	=	Microwave
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	=	Sodium sulfate
NaHCO <sub>3</sub>	=	Sodium bicarbonate
Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	=	Tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0)
TLC	=	Thin layer chromatography

TMS	=	Tetramethylsilane
TMSCl	=	Trimethylsilyl chloride
TMSOTf	=	Trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate
UV-Vis	=	Ultraviolet-visible spectroscopy

#### ETHICS APPROVAL AND CONSENT TO PARTICIPATE

Not applicable.

#### HUMAN AND ANIMAL RIGHTS

No Animals/Humans were used for studies that are the basis of this research.

#### CONSENT FOR PUBLICATION

Not applicable.

#### CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest, financial or otherwise.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported in part by the Postgraduate Program "Toxicology", Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly. The authors wish to express their gratitude to Leentje Persoons, Ellen De Waegenare, Bianca Stals, Kirsten Lepage, Niels Willems and Nathalie Van Winkel for excellent technical assistance.

#### REFERENCES

- [1] Zhou, W.; Gumina, G.; Chong, Y.; Wang, J.; Shinazi, R.F.; Chu, C. K. Synthesis, Structure-Activity Relationships, and Drug Resistance of β-D-3'-Fluoro-2',3'-Unsaturated Nucleosides as Anti-HIV Agents. *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 3399-3408.
- [2] Perigaud, C.; Gosselin, G.; Imbach, J. L. Nucleoside Analogues as Chemotherapeutic Agents: A Review. *Nucleosides Nucleotides*, **1992**, *11*, 903-945.
- [3] Brinkman, K.; Kakuda T.N. Mitochondrial toxicity of nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors: a looming obstacle for long-term antiretroviral therapy? *Curr Opin Infect Dis*, **2000**, *13*, 5-11.
- [4] Johnson, A.A.; Ray, A.S.; Hanes, J. Toxicity of antiviral nucleoside analogs and the human mitochondrial DNA polymerase. *J Biol Chem*, **2001**, *276*, 40847-40857.
- [5] Robins, R. K.; Kini, G. D. *Purines and purine nucleoside analogues as antitumor agents. In The Chemistry of Antitumor Agents*; Wilman, D. E. V., Ed.; Chapman and Hall: New York, **1990**; pp 299-321.
- [6] MacCoss, M.; Robins, M. J. *Anticancer pyrimidines, pyrimidine nucleosides and prodrugs. In The chemistry of Antitumor Agents*; Wilman, D. E. V., Ed.; Chapman and Hall: New York, **1990**; pp 261-298.
- [7] Lagoja, I.M. Pyrimidine as constituent of natural biologically active compounds. *Chem. Biodivers.*, **2005**, *2*, 1-50.
- [8] De Clercq, E.; Descamps, J.; Balzarini, J.; Giszewicz, J.; Barr, P.J.; Robins, M.J. Nucleic acid related compounds. 40. Synthesis and biological activities of 5-alkynyluracil nucleosides. *J. Med. Chem.*, **1983**, *26*, 661-666.
- [9] Efangae, S.M.N.; Cheng, Y.C.; Bardos, T.J. Synthesis and biological activities of 2-Pyrimidinone Nucleosides. III. <sup>1,25</sup>-Alkynyl-2-Pyrimidinone 2'-Deoxyribosides. *Nucleos. Nucleot.*, **1985**, *4*, 545-564.

- [10] Vincent, P.; Beaucourt, J.P.; Pichat, L.; Balzarini, J.; De Clercq, E. Syntheses, Activites Biologiques et Etude Conformationnelle D'Alcynyl-5 Desoxy-2' Uridines. *Nucleos. Nucleot.*, **1985**, *4*, 429-445.
- [11] Rai D.; Johar M.; Manning T; Agrawal B; Kunimoto D.Y.; Kumar R .Design and Studies of Novel 5-Substituted Alkynylpyrimidine Nucleosides as Potent Inhibitors of Mycobacteria. *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 7012-7017.
- [12] Tsoukala, E.; Manta, S.; Kiritsis C.; Komiotis, D. Keto and Exomethylene Pyranonucleosides as Antitumor Agents. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, **2012**, *12*, 255-275.
- [13] Dimopoulou, A.; Manta, S.; Parmenopoulou, V.; Kollatos, N.; Christidou, O.; Triantakostanti, V.V.; Schols, D.; Komiotis, D. An easy microwave-assisted synthesis of C8-alkynyl adenine pyranonucleosides as novel cytotoxic antitumor agents. *Front. Chem.*, **2015**, *3*, 1-7.
- [14] Tzioumaki, N ; Manta, S ; Tsoukala, E ; Vande Voorde, J ; Liekens, S ; Komiotis, D ; Balzarini, J. Synthesis and biological evaluation of unsaturated keto and exomethylene D-arabinopyranonucleoside analogs: Novel 5-fluorouracil analogs that target thymidylate synthase. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2011**, *46*, 993-1005.
- [15] Manta, S.; Tsoukala, E.; Tzioumaki, N.; Goropevek, A.; Pamulapati, R.T.; Cenci, A.; Balzarini, J.; Komiotis, D. Dideoxy fluoro-ketopyranosyl nucleosides as potent antiviral agents: Synthesis and biological evaluation of 2,3- and 3,4-dideoxy-3-fluoro-4- and -2-keto- $\beta$ -D-glucopyranosyl derivatives of N<sup>6</sup>benzoyl cytosine. *Eur. J. Med. Chem.*, **2009**, *44*, 2696-2704.
- [16] Tsoukala, E.; Agelis, G.; Cencic, A.; Dolins, J.; Komiotis, D.; Botic, T. An efficient synthesis of 3-fluoro-5-thio-xylofuranosyl nucleosides of thymine, uracil, and 5- fluorouracil as potential antitumor or/and antiviral agents. *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, *15*, 3241-3247.
- [17] Spanou, C.; Manta, S.; Komiotis, D.; Dervishi, A.; Kouretas, D. Antioxidant Activity of a Series of Fluorinated Pyrano-nucleoside Analogues of N<sup>1</sup>-benzoyl Cytosine and N<sup>6</sup>-benzoyl Adenine. *Int. J. Mol. Sci.*, **2007**, *8*, 695-704.
- [18] Haouz, A.; Vanheusden, V.; Munier-Lechman, H.; Froeyen, M.; Herdewijn, P.; Van Galenbergh, S.; Delarue, M. Enzymatic and Structural Analysis of Inhibitors Designed against *Mycobacterium tuberculosis* Thymidylate Kinase. *J. Biol. Chem.*, **2003**, *278*, 4963-4971.
- [19] Dimopoulou, A.; Manta, S.; Kiritsis, C.; Gkaragkouni, D.N.; Papatiriou, I.; Balzarini, J.; Komiotis, D. Rapid microwave-enhanced synthesis of C5-alkynyl pyranonucleosides as novel cytotoxic antitumor agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2013**, *23*, 1330-1333.
- [20] Kollatos, N.; Manta, S.; Dimopoulou, A.; Parmenopoulou, V.; Triantakostanti, V.V.; Kellici, T.; Mavromoustakos, T.; Schols, D.; Komiotis, D. Branched-chain sugar nucleosides: stereocontrolled synthesis and bioevaluation of novel 3'-C-trifluoromethyl and 3'-C-methyl pyranonucleosides. *Carbohydr. Res.*, **2015**, *407*, 170-178.
- [21] Mignon, P.; Loverix, S.; De Proft, F.; Geerlings, P. Influence of Stacking on Hydrogen Bonding: Quantum Chemical Study on Pyridine-Benzene Model Complexes. *J. Phys. Chem. A*, **2004**, *108*, 6038-6044.
- [22] Mignon, P.; Loverix, S.; Geerlings, P. Interplay between  $\pi$ - $\pi$  interactions and the H-bonding ability of aromatic nitrogen bases. *Chem. Phys. Lett.*, **2005**, *401*, 40-46.
- [23] Meneni, S.; Ott, I.; Sergeant, C.D.; Sniady, A.; Gust, R.; Dembinski, R. 5- Alkynyl-2'-deoxyuridines: chromatography-free synthesis and cytotoxicity evaluation against human breast cancer cells. *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, *15*, 3082-3088.
- [24] Gosselin, G.; Puech, F.; Genu-Dellac, C.; Imbach, J.L. 1,2-Di-O-acetyl-5-O-benzoyl-3-deoxy-3-fluoro-D-xylofuranose\*. A versatile precursor for the synthesis of 3-deoxy-3-fluoro- $\beta$ -D-xylofuranosyl nucleosides as potential antiviral agents. *Carbohydr. Res.*, **1993**, *249*, 1-17.
- [25] Couturier, S.; Aljarah, M.; Gosselin, G.; Christophe Mathea, C.; Christian Perigaud, C. Synthesis of 3'-deoxy-3'-C-methyl- $\beta$ -D-ribonucleoside analogs. *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 11260-11266.
- [26] Tong, G. L.; Lee, W. W.; Goodman, L. Synthesis of some 3'-O-Methyl Purine Ribonucleosides. *J. Org. Chem.*, **1967**, *32*, 1984-1986.
- [27] Vorbruggen H.; Benua B. A New Simplified Nucleoside Synthesis<sup>2</sup> *Chem. Ber.*, **1981**, *114*, 1279-1286.
- [28] Vanheusden, V.; Busson, R.; Herdewijn, P.; Van Calenbergh, S. Synthesis and conformational analysis of 1-[2,4-dideoxy-4-C-hydroxymethyl- $\alpha$ -L-lyxopyranosyl]thymine. *J. Org. Chem.*, **2004**, *69*, 4446-4453.

DISCLAIMER: The above article has been published in Epub (ahead of print) on the basis of the materials provided by the author. The Editorial Department reserves the right to make minor modifications for further improvement of the manuscript.

## Design, Synthesis and Biological Evaluation of Novel C5-Modified Pyrimidine Acyclic Nucleosides

Nikolaos Kollatos<sup>1</sup>, Christos Mitsos<sup>1</sup>, Roula Karetsou<sup>1</sup>, Styliani Danai Antonaki<sup>1</sup>, Aggeliki Panagiotopoulou<sup>2</sup>, Niki Tzioumaki<sup>1</sup>, Stella Manta<sup>1</sup>, Dominique Schols<sup>3</sup> and Dimitri Komiotis<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biochemistry and Biotechnology, Laboratory of Bioorganic Chemistry, University of Thessaly, Larissa, Greece

<sup>2</sup>Institute of Biosciences and Applications, National Centre for Scientific Research "Demokritos", Athens, Greece

<sup>3</sup>Department of Microbiology and Immunology, Rega Institute for Medical Research, KU Leuven, Leuven, Belgium.

Received August 30, 2019; Accepted September 09, 2019; Published December 09, 2019

### ABSTRACT

We report the synthesis of novel C5-arylalkynyl acyclic pyrimidine analogues with  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated carbonyl structures, at the acyclic portion, using a double Wittig reaction. The newly synthesized compounds were tested for their cytostatic activity against a broad panel of cancer cells. The antiviral assays showed that (E)-ethyl 4-(((E)-4-ethoxy-1-((2-fluorophenyl)ethynyl)uracil)-4-oxobut-2-en-1-yl)oxy)-5-hydropent-2-enoate (13a) had a noticeable activity against TK<sup>-</sup> VZV strain (EC<sub>50</sub> 20  $\mu$ M, MCC 100  $\mu$ M).

**Keywords:** C5-pyrimidine acyclic nucleosides, Cytotoxic antiviral activity

**Abbreviations:** <sup>13</sup>C NMR: Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy; <sup>1</sup>H NMR: Proton Magnetic Resonance Spectroscopy; AcOH: Acetic Acid; CD<sub>3</sub>OD: Deuterated Methanol; CDCl<sub>3</sub>: Deuterated Chloroform; CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: Dichloromethane; CH<sub>3</sub>CN: Acetonitrile; CuI: Copper(I) Iodide; DMF: Dimethyl Formamide; DMSO-d<sub>6</sub>: Deuterated Dimethyl Sulfoxide; Et<sub>3</sub>N: Triethylamine; EtOAc: Ethyl Acetate; HMDS: Hexamethyldisilazane; MeOH: Methanol; MW: Microwave; Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: Sodium Sulfate; NaHCO<sub>3</sub>: Sodium Bicarbonate; Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>: Tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0); TLC: Thin Layer Chromatography; TMS: Tetramethylsilane; TMSOTf: Trimethylsilyl Trifluoromethanesulfonate; UV-Vis: Ultraviolet-Visible Spectroscopy

### INTRODUCTION

The synthesis of acyclic nucleosides such as Acyclovir (ACV) [1] and the discovery of its important antiviral properties have opened a new era in antiviral therapy, the study of acyclic nucleosides with excellent biological properties against a broad band of RNA viruses. Acyclovir is highly active against Herpes Simplex Virus (HSV), where it prevents virus replication by interacting with the DNA polymerase after metabolizing to its active triphosphate structure by disrupting DNA synthesis of the virus.

Among the numerous modified acyclic nucleosides with interesting biological properties [2-4], C5 modified acyclic nucleosides of uracil have been investigated as anticancer and antiviral agents [5-8]. Specifically Carmofur is used to treat colorectal cancer [9] and inhibits acidic ceramidase (ASAHI) [10] which plays an important role in the occurrence of metastatic breast cancer [11], while 1-[4-hydroxy-3-(hydroxymethyl)-1-butyl]-5-(1-azido-2-chloroethyl)uracil proved to be effective *in vitro* against

Duck hepatitis B virus (EC<sub>50</sub> 0.31-1.55  $\mu$ M) and Cytomegalovirus (EC<sub>50</sub> 3.1  $\mu$ M) [12]. Furthermore, C5-arylalkynyl nucleosides of uracil showed antiviral activity, against Coxsackie virus B4, respiratory syncytial virus and yellow fever virus [13-16] and cytotoxic activity against murine leukemia, human T-lymphocyte, cervix carcinoma and hepatocellular carcinoma cells [17].

Considering the biological importance of acyclic nucleosides

**Corresponding author:** Dr. Dimitri Komiotis, University of Thessaly, Department of Biochemistry and Biotechnology, Laboratory of Bioorganic Chemistry, Viopolis, 41500 Larissa, Greece, Tel: +30 2410 565285; Fax: +30 2410 565290; E-mail: dkom@bio.uth.gr

**Citation:** Kollatos N, Mitsos C, Karetsou R, Antonaki SD, Panagiotopoulou A, et al. (2019) Design, Synthesis and Biological Evaluation of Novel C5-Modified Pyrimidine Acyclic Nucleosides. J Pharm Drug Res, 3(1): 265-275.

**Copyright:** ©2019 Kollatos N, Mitsos C, Karetsou R, Antonaki SD, Panagiotopoulou A, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

and the significant antiviral activity demonstrated by C5 modified uracil 3'-deoxy and 3'-deoxy-3'-C-methyl ones [16], we have decided to synthesize novel acyclic uracil nucleosides with  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated carbonyl structures incorporated into the acyclic fragment. The  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated carbonyl structures have been shown to be vital for the biological activity exhibited by both plant products and synthetic molecules [18-23], whereas introduction of a double bond into the acyclic portion of modified nucleosides appears to increase their activity [24,25]. Thus, we performed the synthesis and biological evaluation of C5-arylkynyl uracil acyclic nucleosides bearing  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated carbonyl structures at the acyclic portion of the novel synthesized analogues.

## EXPERIMENTAL SECTION

### General methods

Melting points were recorded in a Mel-Temp apparatus and are uncorrected. Thin Layer Chromatography (TLC) was performed on Merck pre-coated 60F254 plates. Reactions were monitored by TLC on silica gel, with detection by UV light (254 nm) or by charring with sulfuric acid. Flash column chromatography was performed using silica gel (240-400 mesh, Merck).  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra were obtained at ambient temperature using a Bruker 300 spectrometer at 300 and 75.5 MHz, respectively using chloroform-d ( $\text{CDCl}_3$ ), dimethylsulfoxide-d<sub>6</sub> ( $\text{DMSO-d}_6$ ) or methanol-d<sub>4</sub> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) with internal tetramethylsilane (TMS). Chemical shifts ( $\delta$ ) are given in ppm measured downfield from TMS and spin-spin coupling constants in Hz. Mass spectra were obtained on a ThermoQuestFinnigan AQA Mass Spectrometer (electrospray ionization). All microwave irradiation experiments were carried out in a dedicated CEM-Explorer and CEM Discover monomode microwave apparatus, operating at a frequency of 2.45 GHz, with continuous irradiation power, from 0 to 300 W with utilization of the standard absorbance level of 300 W maximum powers. The reactions were carried out in 10 mL glass tubes, sealed with a Teflon septum and placed in the microwave cavity. Initially, microwave irradiation of requisite Watts was used, and the temperature was ramped from room temperature to the desired temperature. Once this was reached the reaction mixture was held at this temperature for the required time. The reaction mixture was continuously stirred during the reaction. The temperature was measured with an IR sensor on the outer surface of the process vial. After the irradiation period, gas jet cooling rapidly cooled the reaction vessel to ambient temperature. Dichloromethane was distilled from phosphorous pentoxide and stored over 4 Å molecular sieves. Acetonitrile and toluene were distilled from calcium hydride and stored over 3 Å molecular sieves. Diethylether ( $\text{Et}_2\text{O}$ ) was freshly distilled under nitrogen from sodium/benzophenone before use. Pyridine was stored over potassium hydroxide pellets, N,N-Dimethylformamide (DMF) was stored over 3 Å

molecular sieves. All reactions sensitive to oxygen or moisture were carried out under an Argon atmosphere.

### Anti-proliferative assays

Compounds 4-9, 12-14, were evaluated for their cytostatic activity against the human cells: pancreatic adenocarcinoma (Capan-1), chronic myeloid leukemia (Hap-1), colorectal carcinoma (HCT-116), lung carcinoma (NCI-H460), acute lymphoblastic leukemia (DND-41), acute myeloid leukemia (HL-60), chronic myeloid leukemia (K-562) and non-Hodgkin lymphoma (Z-138). All assays were performed in 96-well microtiter plates. To each well ( $5-7.5 \times 10^4$  tumor cells were added, along with varying concentrations of the test compounds ranging from 250, 50, 10, 2, 0.4 to 0.08  $\mu\text{M}$ . The tumor cells were then allowed to proliferate at 37°C in a humidified  $\text{CO}_2$ -controlled atmosphere. To obtain optimal growth curves, 2 days of the: pancreatic adenocarcinoma (Capan-1), chronic myeloid leukemia (Hap-1), colorectal carcinoma (HCT-116), lung carcinoma (NCI-H460), acute lymphoblastic leukemia (DND-41), acute myeloid leukemia (HL-60) and 3 days for the chronic myeloid leukemia (K-562) and non-Hodgkin lymphoma (Z-138), were required. At the end of the incubation period, the cells were counted in a Coulter counter. The  $\text{IC}_{50}$  (50% inhibitory concentration) was defined as the concentration of the compound that inhibited cell proliferation by 50%.

### Antiviral activity assays

The antiviral tests were based on inhibition of the virus-induced cytopathicity in Human Embryonic Lung (HEL) (Varicella-Zoster Virus (VZV)) cell cultures. Confluent cell cultures in microtiter 96-well plates were inoculated with 100 cell culture inhibitory dose-50 ( $\text{CCID}_{50}$ ) of virus (1  $\text{CCID}_{50}$  being the virus dose to infect 50% of the cell cultures). After a 1 h virus adsorption period, the residual virus was removed, and the cell cultures were incubated in the presence of varying concentrations (200, 40, 8, ...  $\mu\text{M}$ ) of the test compounds. Viral cytopathicity was recorded as soon as it reached completion in the control virus-infected cell cultures, which were not treated with the test compounds.

### Synthesis of C5 alkynyl 1-(1-((1,3-dihydropropan-2-yl)oxy)-2-hydroxyethyl)-5-iodouracil (7, 9)1-(5'-O-Trityl-ribofuranoyl)-5-iodouracil (2)

A solution of trityl chloride (2.8 g, 9.90 mmol) in anhydrous dichloromethane (19 mL) was added drop wise to a solution of 1 (3.0 g, 8.26 mmol) in anhydrous pyridine (35 mL) at 0°C. Following the addition, the mixture was allowed to warm slowly to room temperature and set aside for 12 h. Methanol (7 mL) and ethyl acetate (50 mL) were added and the mixture was washed successively with saturated aqueous  $\text{NaHCO}_3$  (200 mL) and  $\text{H}_2\text{O}$  (100 mL). The organic phase was dried over  $\text{MgSO}_4$  and evaporated under reduced pressure. The resulting residue was crystallized from chloroform to give 6 (2.3 g; 82%). m.p. 162-163°C;  $[\alpha]_D^{22} = -$

8 (c 0.10, CHCl<sub>3</sub>); Rf=0.27 (EtOAc/Hexane, 7:3);  $\lambda_{\max}$  383 nm ( $\epsilon$  21460); <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  8.14 (s, 1H, H-6), 7.49-7.24 (m, 15H, Tr), 5.90 (d, 1H,  $J_{1',2'}=4.8$  Hz, H-1'), 5.35-4.31 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.10 (t, 1H,  $J=2.7$ ,  $J=1.2$  Hz, H-3'), 3.41 (dd, 1H,  $J_{4',5a'}=3.2$  Hz,  $J_{5a',5b'}=10.8$  Hz, H-5b'), 4.55 (dd, 1H,  $J_{4',5b'}=2.1$  Hz, H-5a'); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  161.80, 150.83, 144.19, 143.65, 129.71, 128.34, 126.28, 97.67, 94.83, 86.93, 73.22, 70.11, 68.42, 63.92; Anal. Calcd. for C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>IN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 59.41; H, 4.11; N, 4.57%; found: C, 59.61; H, 4.41; N, 4.97%; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 612.08.

### 1-(2-Hydroxy-1-(1-hydroxy-3-(trityloxy)propan-2-yl)oxy)ethyl-5-iodouracil (3)

Compound 2 (1.1 g, 1.8 mmol) was added to a stirred solution of NaO<sub>4</sub> (425 mg, 1.98 mmol) in H<sub>2</sub>O (19 mL) and MeOH (19 mL) leading to immediate precipitation of NaIO<sub>3</sub>. After 1 h at room temperature, any residual periodate was destroyed with a drop of ethylene glycol. The reaction mixture was stirred for 1 h at room temperature with NaBH<sub>4</sub> (500 mg, 18.5 mmol), neutralized with aqueous NaHCO<sub>3</sub> and then extracted with ethyl acetate (EtOAc) (4 × 300 mL). The organic layer was washed with NaHSO<sub>4</sub>, dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, evaporated to dryness and purified by column chromatography with EtOAc/Hexane (7:3) to give compound 3 (650 mg, 86%) as a syrup.  $[\alpha]_D^{22}+13$  (c 0.10, MeOH); Rf=0.35 (EtOAc/Hexane, 7:3);  $\lambda_{\max}$  305 nm ( $\epsilon$ 21400); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  9.97 (brs, 1H, NH), 7.84 (s, 1H, H-6), 7.39-7.25 (m, 15H,Tr), 5.99 (t, 1H,  $J_{1',2a'}=5.2$  Hz,  $J_{1',2b'}=5.0$  Hz, H-1'), 3.87-3.72 (m, 7H, H-2', H-3', H-4', OH, OH), 3.26 (dd, 1H,  $J_{4',5a'}=3.7$  Hz,  $J_{5a',5b'}=10.8$  Hz, H-5a'), 3.16 (dd, 1H,  $J_{4',5b'}=6.0$  Hz, H-5b'); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  161.80, 150.83, 144.19, 143.65, 129.71, 128.34, 126.28, 96.25, 94.83, 83.63, 68.42, 63.92, 61.81, 61.13; Anal. Calcd for C<sub>28</sub>H<sub>27</sub>IN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 54.73; H, 4.43; N, 4.56. Found: C, 54.33; H, 4.83; N, 4.96; ESI-MS (m/z): 614.09 (M+H)<sup>+</sup>.

### 1-(1-(1,3-Dihydroxypropan-2-yl)oxy)-2-hydroxyethyl-5-iodouracil (4)

To a solution containing 3 (1 g, 1.62 mmol) is added 1: 1 mixture of formic acid (HCOOH)/diethyl ether (Et<sub>2</sub>O) (29 ml) and reflux for 30 min. The mixture is then neutralized with solid sodium bicarbonate (NaHCO<sub>3</sub>) and extracted sequentially with sodium chloride (NaCl) and water (H<sub>2</sub>O), dried over magnesium sulphate (MgSO<sub>4</sub>), evaporated to dryness and purified by column chromatography with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (9:1) to give compound 4 (554 mg, 92%) as a syrup.  $[\alpha]_D^{22}+9$  (c 0.14, MeOH); Rf=0.25 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1);  $\lambda_{\max}$  286 nm ( $\epsilon$ 18592); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  8.12 (s, 1H, H-6), 7.55-7.11 (m, 4H, Bz), 8.99 (t, 1H,  $J=4.9$  Hz,  $J=4.9$  Hz N-CH-C), 3.80-3.51 (m, 7H, 3x -CH<sub>2</sub>OH, C-CH-C); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  161.30, 150.83, 144.19, 96.25, 94.83, 80.63, 68.22, 60.92, 58.32; Anal. Calcd for C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>IN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 29.05; H, 3.52; N, 7.53. Found: C, 29.45; H, 3.92; N, 7.93; ESI-MS (m/z): 372.98 (M+H)<sup>+</sup>.

### 2-(2-Acetoxy-1-(5-iodouracil)ethoxy)propan-1,3-diyl diacetylo (5)

To a solution of 4 (84 mg, 0.23 mmol) added dry pyridine (2 ml) and acetic anhydride (1 ml). The reaction was carried out at room temperature for 1 h, then was quenched with MeOH at 0°C and was concentrated in vacuum. The residue was diluted with ethyl acetate (EtOAc), washed with saturated NaHSO<sub>4</sub>, NaHCO<sub>3</sub> and H<sub>2</sub>O. The organic extract was dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and evaporated to dryness to give compound 5 (80 mg, 95%) as a white crystal. M.P. 215-217°C;  $[\alpha]_D^{22}+12$  (c 0.25, CHCl<sub>3</sub>); Rf=0.22 (EtOAc/Hexane, 2:8);  $\lambda_{\max}$  286 nm ( $\epsilon$  16459); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.47 (brs, 1H, NH), 7.85 (s, 1H, H-6), 6.13 (t, 1H,  $J=5.1$  Hz,  $J=5.3$  Hz N-CH-C), 4.46-3.95 (m, 7H, 3x-CH<sub>2</sub>OAc, C-CH-C), 2.13, 2.09, 2.07 (3s, 9H, 3x-OAc); <sup>13</sup>CNMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  170.48, 170.44, 169.98, 159.46, 150.24, 144.14, 81.34, 75.76, 68.85, 63.36, 63.05, 62.50, 21.06, 20.67, 20.49; Anal. Calcd for C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>IN<sub>2</sub>O<sub>9</sub>: C, 36.16; H, 3.84, N 5.62. Found: C, 36.56; H, 4.04, N 5.92; ESI-MS (m/z): 416.99 (M+H)<sup>+</sup>.

### General procedure for the preparation of the C5-arylkynyl uracil acyclic nucleosides-6,8

Mixtures of the appropriate alkynes (0.72 mmol), Pd (PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (28 mg, 0.02 mmol), CuI (5.3 mg, 0.02 mmol), triethylamine (116  $\mu$ l, 0.34 mmol) and 2-(2-Acetoxy-1-(5-iodouracil)ethoxy)propan-1,3-diyl diacetylo (5) (100 mg, 0.24 mmol) in 1.0 mL of anhydrous DMF, were irradiated in a microwave apparatus (200 W maximum power) for 5 min at 50°C. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure and the crude residue was purified by flash chromatography on silica gel. The purified material was dried in vacuo to afford the corresponding derivatives 6, 8 in 78-81% yields.

### 2-(2-Acetoxy-1-(5-((2-fluorophenyl)ethynyl)uracil)ethoxy)propan-1,3-diyl diacetyl (6a)

75 mg, 78% as white foam;  $[\alpha]_D^{22}+12$  (c 0.15, CHCl<sub>3</sub>); Rf=0.24 (EtOAc/Hexane 2:8);  $\lambda_{\max}$  286 nm ( $\epsilon$ 17254); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.70 (brs, 1H, NH), 7.80 (s, 1H, H-6), 7.52 (t, 1H,  $J=7.5$  Hz,  $J=7.1$  Hz, Bz), 7.35 (dd, 1H,  $J=7.2$  Hz,  $J=13.8$  Hz, Bz), 7.14-7.07 (m, 2H, Bz), 6.20 (t, 1H,  $J=5.3$  Hz,  $J=5.6$  Hz N-CH-C), 4.46-3.95 (m, 7H, 3x-CH<sub>2</sub>OAc, C-CH-C), 2.13, 2.09, 2.08 (3s, 9H, 3xOAc); <sup>13</sup>CNMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  170.60, 170.48, 170.00, 160.49, 149.61, 142.08, 133.56, 130.74, 130.62, 124.09, 124.03, 115.70, 115.37, 100.69, 81.30, 75.55, 63.39, 63.03, 62.44, 21.06, 20.67, 20.50; Anal. Calcd. for C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>9</sub>: C, 56.33; H, 4.73; N, 5.71%; Found: C, 56.73; H, 4.33; N, 5.91%; ESI-MS (m/z): Mass (M+H)<sup>+</sup>: 491.14.

### 2-(2-Acetoxy-1-(5-((2-chlorophenyl)ethynyl)uracil)ethoxy)propan-1,3-diyl diacetyl (6b)

80 mg, 79% as white foam;  $[\alpha]_D^{22}+15$  (c 0.19, CHCl<sub>3</sub>); Rf=0.26 (EtOAc/Hexane 2:8);  $\lambda_{\max}$  286 nm ( $\epsilon$  17845);

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.56 (brs, 1H, NH), 7.80 (s, 1H, H-6), 7.55 (t, 1H, J=7.5 Hz, J=7.1 Hz, Bz), 7.41 (dd, 1H, J=7.2 Hz, J=13.8 Hz, Bz), 7.30-7.22 (m, 2H, Bz), 6.19 (t, 1H, J=5.2 Hz, J=5.5 Hz N-CH-C), 4.47-3.93 (m, 7H, 3x-CH<sub>2</sub>OAc, C-CH-C), 2.14, 2.09 (2s, 9H, 3xOAc); <sup>13</sup>CNMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.53, 170.48, 170.00, 160.33, 149.55, 142.09, 135.76, 133.45, 129.90, 129.33, 126.54, 122.19, 100.73, 91.03, 84.66, 81.36, 75.70, 63.38, 63.05, 62.47, 20.78, 20.67, 20.51; Anal. Calcd. for C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>9</sub>: C, 54.50; H, 4.57; N, 5.53%; Found: C, 54.10; H, 4.27; N, 5.93%; ESI-MS (m/z): Mass (M+H)<sup>+</sup>: 507.11.

### 2-(2-Acetoxy-1-(5-((1,4-dimethylphenyl)ethynyl)uracily)ethoxy)propan-1,3-diyldiacetyl (6c)

80 mg, 79% as white solid; M.P. 251-253°C; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup>=+12 (c 0.22, CHCl<sub>3</sub>); Rf=0.30 (EtOAc/Hexane 2:8); λ<sub>max</sub> 286 nm (ε 14523); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.28 (brs, 1H, NH), 7.71 (s, 1H, H-6), 7.22 (t, 1H, J=4.5 Hz, J=5.9 Hz, Bz), 7.11 (d, 1H, J=4.5 Hz, Bz), 7.06 (d, 1H, J=7.2 Hz, Bz), 6.19 (t, 1H, J=5.6 Hz, J=5.6 Hz N-CH-C), 4.47-3.96 (m, 7H, 3x-CH<sub>2</sub>OAc, C-CH-C), 2.44, 2.29 (2s, 6H, 2x CH<sub>3</sub>), 2.14, 2.08, 2.07 (3s, 9H, 3xOAc); <sup>13</sup>CNMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.53, 170.48, 170.00, 160.33, 149.55, 142.09, 135.76, 133.45, 129.90, 129.33, 126.54, 122.19, 100.73, 91.03, 84.66, 81.36, 75.70, 63.38, 63.05, 62.47, 20.74, 20.70, 20.62, 20.54, 20.21; Anal. Calcd. for C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>: C, 59.59; H, 5.64; N, 5.50%; Found: C, 59.59; H, 5.24; N, 5.20%; ESI-MS (m/z): Mass (M+H)<sup>+</sup>: 501.18.

### 2-(2-Acetoxy-1-(5-((6-methoxynaphthalene)ethynyl)uracily)ethoxy)propan-1,3-diyldiacetyl (8)

83 mg, 81% as white solid; M.P. 286-289°C; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup>=-2 (c 0.16, CHCl<sub>3</sub>); Rf=0.30 (EtOAc/Hexane 2:8); λ<sub>max</sub> 286 nm (ε 16895); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.43 (brs, 1H, NH), 7.96 (s, 1H, H-6), 7.77 (s, 1H, naphthalene), 7.70 (t, 2H, J=7.7 Hz, J=8.2 Hz, naphthalene), 7.49 (d, 1H, J=8.7 Hz, naphthalene), 7.16 (d, 1H, J=8.7 Hz, naphthalene), 7.11 (s, 1H, naphthalene), 6.20 (t, 1H, J=5.4 Hz, J=5.6 Hz N-CH-C), 4.48-3.97 (m, 7H, 3x-CH<sub>2</sub>OAc, C-CH-C), 3.93 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.14, 2.11, 2.09 (3s, 9H, 3xOAc); <sup>13</sup>CNMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.53, 170.48, 170.00, 160.33, 158.92, 149.55, 142.09, 135.76, 133.45, 129.90, 129.33, 126.54, 122.19, 119.89, 117.50, 105.96, 100.73, 91.03, 84.66, 81.36, 75.70, 63.38, 63.05, 62.47, 55.41, 20.74, 20.70, 20.62; Anal. Calcd. for C<sub>28</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>: C, 60.87; H, 5.11; N, 5.07%; Found: C, 60.47; H, 5.31; N, 5.27%; ESI-MS (m/z): Mass (M+H)<sup>+</sup>: 553.17.

### General procedure for the preparation of the unprotected C5-arylalkynyl uracil acyclic nucleosides-7,9

The protected nucleosides 6, 8 (0.12 mmol), were treated with methanolic ammonia (saturated at 0°C, 6.7 mL). The solution was stirred overnight at room temperature and then evaporated under reduced pressure. The residue obtained was purified by flash column chromatography to afford the

unprotected derivatives 7, 9 in 65-85% yields, as white solids.

### 1-(1-((1,3-Dihydroxypropan-2-yl)oxy)-2-hydroxyethyl)-5-[(2-fluorophenyl) ethynyl] uracil (7a)

80 mg, 85% as white solid; M.P. 189-192°C; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup>=+8 (c 0.24, MeOH); Rf=0.19 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1); λ<sub>max</sub> 286 nm (ε 13564); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8.12 (s, 1H, H-6), 7.55-7.11 (m, 4H, Bz), 8.99 (t, 1H, J=4.9 Hz, J=4.9 Hz N-CH-C), 3.80-3.51 (m, 7H, 3x-CH<sub>2</sub>OH, C-CH-C); <sup>13</sup>CNMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 162.79, 150.64, 144.70, 133.25, 130.25, 130.12, 123.99, 123.93, 115.24, 114.90, 98.71, 85.62, 84.36, 81.11, 62.21, 61.13, 60.69; Anal. Calcd. for C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 56.04; H, 4.70; N, 7.69%; Found: C, 56.44; H, 4.30; N, 8.09%; ESI-MS (m/z): Mass (M+H)<sup>+</sup>: 365.11.

### 1-(1-((1,3-Dihydroxypropan-2-yl)oxy)-2-hydroxyethyl)-5-[(2-chlorophenyl) ethynyl] uracil (7b)

84 mg, 85% as white solid; M.P. 195-197°C; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup>=+9 (c 0.23, MeOH); Rf=0.22 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1); λ<sub>max</sub> 286 nm (ε 15732); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8.12 (s, 1H, H-6), 7.59-7.27 (m, 4H, Bz), 5.99 (t, 1H, J<sub>1'-2a'</sub>=4.9 Hz, J<sub>1'-2b'</sub>=4.9 Hz N-CH-C), 3.79-3.53 (m, 7H, 3x-CH<sub>2</sub>OH, C-CH-C); <sup>13</sup>CNMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 164.16, 152.08, 146.15, 136.60, 134.53, 130.85, 127.90, 124.21, 100.19, 90.49, 87.23, 85.88, 82.58, 63.70, 62.81, 62.20; Anal. Calcd. for C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 53.62; H, 4.50; N, 7.36%; Found: C, 54.02; H, 4.30; N, 7.76%; ESI-MS (m/z): Mass (M+H)<sup>+</sup>: 381.08.

### 1-(1-((1,3-Dihydroxypropan-2-yl)oxy)-2-hydroxyethyl)-5-[(1,4-dimethylphenyl) ethynyl] uracil (7c)

88 mg, 85% as white solid; M.P. 220-221°C; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup>=+12 (c 0.18, MeOH); Rf=0.28 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1); λ<sub>max</sub> 282 nm (ε 18563); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8.07 (s, 1H, H-6), 7.25 (s, 1H, ArH), 7.10 (d, 1H, J=7.6, Bz), 7.04 (d, 1H, Bz), 5.99 (t, 1H, J=4.9 Hz, J=4.9 Hz N-CH-C), 3.80-3.52 (m, 7H, 3x-CH<sub>2</sub>OH, C-CH-C), 2.40, 2.26 (2s, 6H, 2xCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>CNMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 164.16, 152.08, 146.15, 136.60, 134.53, 130.85, 127.90, 124.21, 100.19, 90.49, 87.23, 85.88, 82.58, 63.70, 62.81, 62.20, 19.37, 18.94; Anal. Calcd. for C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 60.95; H, 5.92; N, 7.48%; Found: C, 60.55; H, 5.62; N, 7.08%; ESI-MS (m/z): Mass (M+H)<sup>+</sup>: 375.15.

### 1-(1-((1,3-Dihydroxypropan-2-yl)oxy)-2-hydroxyethyl)-5-[(6-methoxynaphthalene) ethynyl] uracil (9)

88 mg, 65% as white solid; M.P. 162-163°C; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup>=+15 (c 0.17, MeOH); Rf=0.15 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1); λ<sub>max</sub> 286 nm (ε 19654); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8.12 (s, 1H, H-6), 7.94-7.12 (m, 6H, naphthalene), 5.99 (t, 1H, J=5.15 Hz, J=5.13 Hz N-CH-C), 3.90 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.82-3.53 (m, 7H, 3x-CH<sub>2</sub>OH, C-CH-C); <sup>13</sup>CNMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 164.57, 160.07, 152.13, 145.48, 135.85, 132.14, 130.38, 129.95, 129.69, 128.09, 120.60, 119.17, 106.90, 100.77, 94.59, 85.79, 82.55, 81.41, 63.69, 62.82, 62.16, 55.89; Anal. Calcd. for C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 61.97; H, 5.20; N, 6.57%; Found:



C, 62.27; H, 5.60; N, 6.97%; ESI-MS (m/z): Mass (M+H)<sup>+</sup>: 427.14.

#### Synthesis of (E)-ethyl 4-(((E)-4-ethoxy-1-(5-iodo-uracil)-4-oxobout-2-en-1-yl)oxy)-5-(trityloxy)pent-2-enoate (11)

A solution of sodium periodate (0.23 g, 1.09 mmol) in water (5 mL) was slowly added to a cooled stirred solution of the protected nucleoside 2 (0.612 g, 1 mmol) in methanol (10 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature for 1 h and then filtered to remove the salts. The solution was diluted with ethyl acetate (15 mL), washed with a saturated solution of NaCl (2 × 15 mL) and dried over MgSO<sub>4</sub>. The solvent was removed by evaporation under reduced pressure to yield a white powder of the corresponding dialdehyde derivative. The crude dialdehyde was dissolved in freshly distilled tetrahydrofuran (5 mL) and (ethoxycarbonylmethylene) triphenylphosphorane (0.871 g, 2.5 mmol) added and the mixture was heated at 40°C for 1 h under nitrogen. The reaction mixture washed twice with a saturated solution of ammonium chloride (2 × 30 mL), dried over MgSO<sub>4</sub>, evaporated to a yellow syrup and purified by column chromatography (ethyl acetate/hexane, 2:8) to afford the protected nucleoside 11 (0.435 g, 53%) as a foam.  $[\alpha]_D^{22} +22$  (c 0.25, CHCl<sub>3</sub>); Rf=0.52 (EtOAc/Hexane, 2:8);  $\lambda_{max}$  286 nm ( $\epsilon$  24538); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.62 (s, 1H, NH), 7.61 (s, 1H, H-6), 7.41-7.25 (m, 15H, trityl), 6.72 (dd, 1H, J=3.5 Hz, J=15.6 Hz, H-3), 6.69 (dd, 1H, J=6.7 Hz, J=15.8 Hz, H-2), 6.35 (dd, 1H, J=6.7 Hz, J=15.8 Hz, H-2'), 6.29 (t, 1H, J=3.4 Hz, H-1), 6.11 (dd, 1H, J=1.2 Hz, J=15.8 Hz, H-3'), 4.28 (dd, 2H, J=6.1 Hz, J=13.3 Hz, CH<sub>2</sub>), 4.21 (dd, 2H, J=7.1 Hz, J=14.2 Hz, CH<sub>2</sub>), 4.03-3.99 (m, 1H, H-4), 3.38 (dd, 1H, J=7.4 Hz, J=11.0 Hz, -H-5), 3.23 (dd, 1H, J=3.4 Hz, H-5'), 1.35 (t, 3H, J=7.2 Hz, CH<sub>3</sub>), 1.29 (t, 3H, J=7.2 Hz, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>CNMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  165.32, 164.96, 159.38, 150.07, 144.07, 143.36, 141.21, 139.76, 128.64, 128.47, 128.05, 127.96, 127.90, 127.30, 127.23, 127.14, 126.10, 125.27, 87.38, 79.79, 77.24, 70.25, 65.56, 61.26, 60.90, 14.15; Anal. Calcd for C<sub>36</sub>H<sub>35</sub>IN<sub>2</sub>O<sub>8</sub>: C, 57.61; H, 4.70, N 3.73. Found: C, 58.01; H, 5.10, N 4.13; ESI-MS (m/z): 751.14 (M+H)<sup>+</sup>.

#### Synthesis of (E)-ethyl 4-(((E)-4-ethoxy-1-(5-iodo-uracil)-4-oxobout-2-en-1-yl)oxy)-5-hydroxypent-2-enoate (12)

Compound 12 was synthesized from 11 by a similar procedure to that described for the preparation of 4. The crude product was purified by flash column chromatography (EtOAc/Hexane, 3:7) to give analogue 12 (88 mg, 95%) as a white solid. M.P. 182-184°C;  $[\alpha]_D^{22} = 23$  (c 0.31, CHCl<sub>3</sub>); Rf=0.35 (EtOAc/Hexane, 3:7);  $\lambda_{max}$  286 nm ( $\epsilon$  24167); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.80 (s, 1H, NH), 7.71 (s, 1H, H-6), 6.79 (dd, 1H, J=6.7 Hz, J=15.3 Hz, H-2), 6.75 (dd, 1H, J=3.9 Hz, J=15.8 Hz, H-3), 6.38 (t, 1H, J=3.3 Hz, H-1), 6.35 (dd, 1H, J=1.2 Hz, J=15.8 Hz, H-3'), 6.11 (dd, 1H, J=1.2 Hz, J=15.8 Hz, H-2'), 4.32 (s, 1H, OH), 4.28-4.18 (m, 4H, 2xCH<sub>2</sub>, H-4), 3.74 (dd, 1H, J=2.9 Hz, J=11.9 Hz, -H-5), 3.67 (dd, 1H, J=7.5 Hz, H-5'), 1.34 (t, 3H, J=7.2 Hz, CH<sub>3</sub>),

1.31 (t, 3H, J=7.2 Hz, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>CNMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  165.48, 165.01, 159.96, 150.61, 144.68, 144.04, 139.63, 126.23, 125.15, 80.59, 79.07, 69.76, 64.25, 61.29, 60.98, 14.14; Anal. Calcd. for C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>IN<sub>2</sub>O<sub>8</sub>: C, 40.17; H, 4.16, N 5.51. Found: C, 40.57; H, 4.36, N 5.81; ESI-MS (m/z): 509.03 (M+H)<sup>+</sup>.

#### General procedure for the preparation of the C5-arylalkynyl (E)-ethyl 4-(((E)-4-ethoxy-1-(5-iodo-uracil)-4-oxobout-2-en-1-yl)oxy)-5-hydroxypent-2-enoate (13, 14)

Mixtures of the appropriate alkynes (0.72 mmol), Pd (PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (28 mg, 0.02 mmol), CuI (5.3 mg, 0.02 mmol), triethylamine (116  $\mu$ l, 0.34 mmol) and (E)-ethyl 4-(((E)-4-ethoxy-1-(5-iodo-uracil)-4-oxobout-2-en-1-yl)oxy)-5-hydroxypent-2-enoate (12) (100 mg, 0.20 mmol) in 1.0 mL of anhydrous DMF, were irradiated in a microwave apparatus (200 W maximum power) for 5 min at 50°C. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure and the crude residue was purified by flash chromatography on silica gel. The purified material was dried in vacuo to afford the corresponding derivatives 13, 14 in 69-82% yields.

#### (E)-ethyl 4-(((E)-4-ethoxy-1-((2-fluorophenyl)ethynyl-uracil)-4-oxobout-2-en-1-yl)oxy)-5-hydroxypent-2-enoate (13a)

75 mg, 74% as white foam;  $[\alpha]_D^{22} = +21$  (c 0.14, CHCl<sub>3</sub>); Rf=0.36 (EtOAc/Hexane 3:7);  $\lambda_{max}$  286 nm ( $\epsilon$  19547); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.83 (s, 1H, NH), 7.66 (s, 1H, H-6), 7.51 (dd, 1H, J=8.2 Hz, J=7.4 Hz, Bz), 7.32 (dd, 1H, J=8.2 Hz, J=7.4 Hz, Bz), 7.01 (dd, 2H, J=6.7 Hz, J=15.3 Hz, Bz), 6.81 (dd, 1H, J=3.9 Hz, J=15.8 Hz, H-3), 6.77 (dd, 1H, J=3.9 Hz, J=15.8 Hz, H-2), 6.46 (t, 1H, J=3.3 Hz, H-1), 6.39 (dd, 1H, J=1.2 Hz, J=15.8 Hz, H-3'), 6.13 (dd, 1H, J=1.2 Hz, J=15.8 Hz, H-2'), 4.36 (s, 1H, OH), 4.28-4.20 (m, 5H, 2xCH<sub>2</sub>, H-4), 3.74 (dd, 1H, J=2.9 Hz, J=11.9 Hz, H-5), 3.67 (dd, 1H, J=7.5 Hz, H-5'), 1.33 (t, 3H, J=7.2 Hz, CH<sub>3</sub>), 1.30 (t, 3H, J=7.2 Hz, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>CNMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  165.48, 165.01, 160.07, 159.96, 150.61, 144.68, 144.04, 139.63, 133.11, 126.23, 126.08, 125.15, 123.09, 115.01, 109.32, 93.25, 86.43, 80.59, 79.07, 69.76, 64.25, 61.29, 60.98, 14.14; Anal. Calcd. for C<sub>25</sub>H<sub>25</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>8</sub>: C, 60.00; H, 5.03; N, 5.60%; Found: C, 60.20; H, 5.13; N, 5.90%; ESI-MS (m/z): Mass (M+H)<sup>+</sup>: 501.16.

#### (E)-ethyl 4-(((E)-4-ethoxy-1-((2-chlorophenyl)ethynyl-uracil)-4-oxobout-2-en-1-yl)oxy)-5-hydroxypent-2-enoate (13b)

75 mg, 78% as white foam;  $[\alpha]_D^{22} = +19$  (c 0.15, CHCl<sub>3</sub>); Rf=0.42 (EtOAc/Hexane 3:7);  $\lambda_{max}$  286 nm ( $\epsilon$  21547); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.70 (s, 1H, NH), 7.66 (s, 1H, H-6), 7.56 (dd, 1H, J=8.2 Hz, J=7.4 Hz, Bz), 7.40 (dd, 1H, J=8.2 Hz, J=7.4 Hz, Bz), 7.21 (dd, 2H, J=6.7 Hz, J=15.3 Hz, Bz), 6.80 (dd, 1H, J=3.9 Hz, J=15.8 Hz, H-3), 6.78 (dd, 1H, J=3.9 Hz, J=15.8 Hz, H-2), 6.45 (t, 1H, J=3.3 Hz, H-1), 6.39 (dd, 1H, J=1.2 Hz, J=15.8 Hz, H-3'), 6.14 (dd, 1H, J=1.2 Hz,

J=15.8 Hz, H-2'), 4.34 (s, 1H, OH), 4.28-4.21 (m, 5H, 2xCH<sub>2</sub>, H-4), 3.74 (dd, 1H, J=2.9 Hz, J=11.9 Hz, H-5), 3.67 (dd, 1H, J=7.5 Hz, H-5'), 1.34 (t, 3H, J=7.2 Hz, CH<sub>3</sub>), 1.31 (t, 3H, J=7.2 Hz, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>CNMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 165.48, 165.01, 160.07, 159.96, 150.61, 144.68, 144.04, 139.63, 133.11, 126.23, 126.08, 125.15, 123.09, 115.01, 109.32, 93.25, 86.43, 80.59, 79.07, 69.76, 64.25, 61.29, 60.98, 14.14; Anal. Calcd. for C<sub>25</sub>H<sub>25</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>8</sub>: C, 58.09; H, 4.87; N, 5.42%; Found: C, 58.49; H, 4.47; N, 5.82%; ESI-MS (m/z): Mass (M+H)<sup>+</sup>: 517.13.

**(E)-ethyl4-(((E)-4-ethoxy-1-((1,4-dimethylphenyl)ethynyl-uracil)-4-oxobout-2-en-1-yl)oxy)-5-hydropent-2-enoate (13c)**

79 mg, 82% as white foam; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup>=+24 (c 0.18, CHCl<sub>3</sub>); Rf=0.42 (EtOAc/Hexane 3:7); λ<sub>max</sub> 286 nm (ε 21574); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.83 (s, 1H, NH), 7.57 (s, 1H, H-6), 7.27 (s, 1H, Bz), 7.07 (d, 1H, J=7.7 Hz, Bz), 7.02 (d, 1H, J=7.7 Hz, Bz), 6.80 (dd, 1H, J=3.9 Hz, J=15.8 Hz, H-3), 6.77 (dd, 1H, J=3.9 Hz, J=15.8 Hz, H-2), 6.45 (t, 1H, J=3.3 Hz, H-1), 6.39 (dd, 1H, J=1.2 Hz, J=15.8 Hz, H-3'), 6.14 (dd, 1H, J=1.2 Hz, J=15.8 Hz, H-2'), 4.35 (s, 1H, OH), 4.26-4.20 (m, 5H, 2xCH<sub>2</sub>, H-4), 3.73 (dd, 1H, J=2.9 Hz, J=11.9 Hz, H-5), 3.67 (dd, 1H, J=7.5 Hz, H-5'), 2.42, 2.27 (2s, 6H, 2xCH<sub>3</sub>), 1.32 (t, 3H, J=7.2 Hz, CH<sub>3</sub>), 1.29 (t, 3H, J=7.2 Hz, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>CNMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 165.48, 165.01, 160.07, 159.96, 150.61, 144.68, 144.04, 139.63, 133.11, 126.23, 126.08, 125.15, 123.09, 115.01, 109.32, 93.25, 86.43, 80.59, 79.07, 69.76, 64.25, 61.29, 60.98, 20.75, 20.22, 14.34, 14.14; Anal. Calcd. for C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>: C, 63.52; H, 5.92; N, 5.49%; Found: C, 63.92; H, 5.62; N, 5.89%; ESI-MS (m/z): Mass (M+H)<sup>+</sup>: 511.20.

**(E)-ethyl4-(((E)-4-ethoxy-1-((6-methoxynaphthalene)ethynyl-uracil)-4-oxobout-2-en-1-yl)oxy)-5-hydropent-2-enoate (14)**

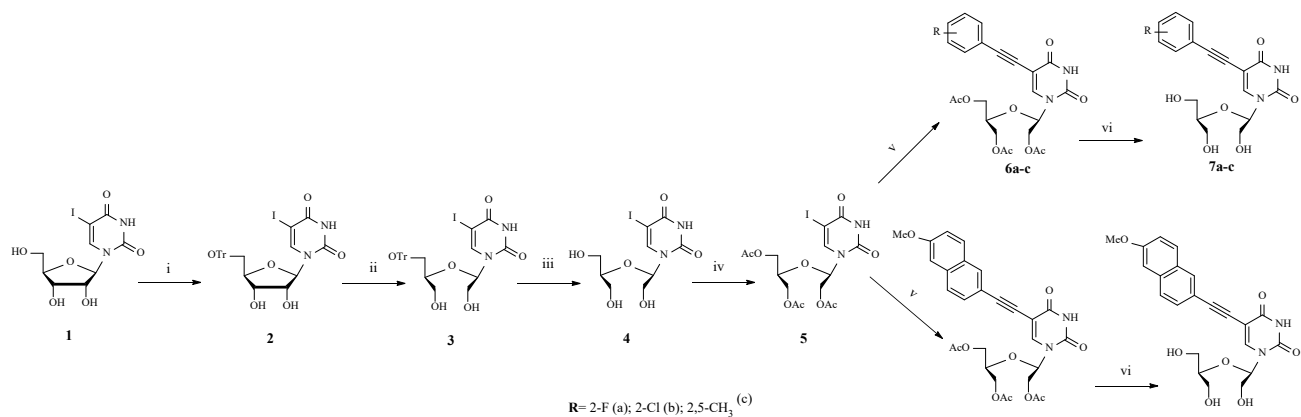
68 mg, 69% as white solid; M.P. 192-193°C; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup>=+24 (c 0.10, CHCl<sub>3</sub>); Rf=0.28 (EtOAc/Hexane 3:7); λ<sub>max</sub> 286 nm (ε 26413); <sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.83 (s, 1H, NH), 7.57 (s, 1H, H-6), 7.27 (s, 1H, Bz), 7.07 (d, 1H, J=7.7 Hz, Bz), 7.02 (d, 1H, J=7.7 Hz, Bz), 6.80 (dd, 1H, J=3.9 Hz, J=15.8 Hz, H-3), 6.77 (dd, 1H, J=3.9 Hz, J=15.8 Hz, H-2), 6.45 (t, 1H, J=3.3 Hz, H-1), 6.39 (dd, 1H, J=1.2 Hz, J=15.8 Hz, H-3'), 6.14 (dd, 1H, J=1.2 Hz, J=15.8 Hz, H-2'), 4.00 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.35 (s, 1H, OH), 4.26-4.20 (m, 5H, 2xCH<sub>2</sub>, H-

4), 3.73 (dd, 1H, J=2.9 Hz, J=11.9 Hz, H-5), 3.67 (dd, 1H, J=7.5 Hz, H-5'), 1.32 (t, 3H, J=7.2 Hz, CH<sub>3</sub>), 1.29 (t, 3H, J=7.2 Hz, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>CNMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 165.48, 165.01, 160.07, 159.96, 150.61, 144.68, 144.04, 139.63, 133.11, 129.64, 129.16, 126.23, 126.08, 125.15, 123.09, 115.01, 109.32, 105.93, 93.25, 86.43, 80.59, 79.07, 69.76, 64.25, 61.29, 60.98, 55.82, 14.28; Anal. Calcd. for C<sub>30</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>: C, 64.05; H, 5.38; N, 4.98%; Found: C, 64.25; H, 5.58; N, 4.78%; ESI-MS (m/z): Mass (M+H)<sup>+</sup>: 563.20.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Chemistry

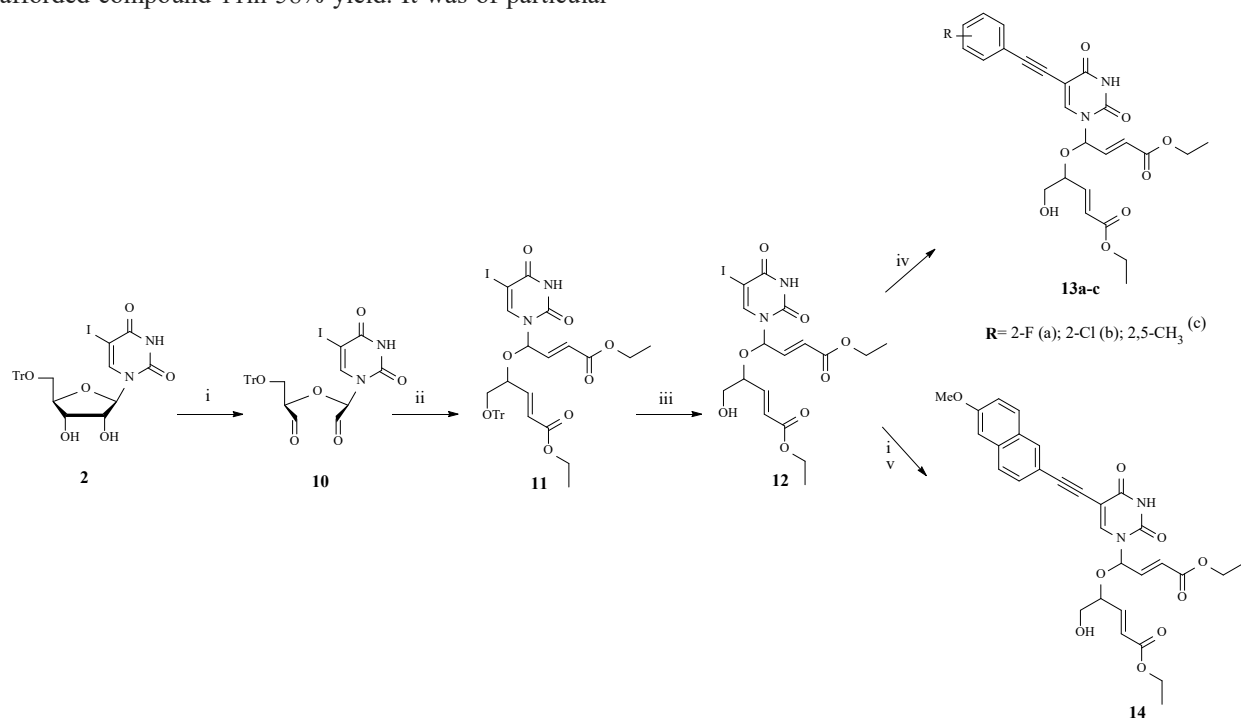
Our first synthetic efforts focused on the preparation of the C5-substituted uracil 1-(1-((1,3-dihydroxyprapan-2-yl)oxy)-2-hydroxyethyl) (**Figure 1**). Uridine 1 was treated in pyridine with an excess of trityl chloride (TrCl), in the presence of a catalytic amount of 4,4-dimethylaminopyridine (DMAP) to give the corresponding trityl derivative 2 in 82% yield [26]. The oxidative cleavage of the cis-diol in the 2',3'-position of compound 2 followed by borohydride reduction of the resulting aldehyde (one pot), furnished the corresponding acyclic nucleoside 3. Deprotection of the 5'-O-trityl 3 by treatment with formic acid (HCOOH) in diethylether (Et<sub>2</sub>O) gave the acyclic nucleoside of iodouracil 4 [27]. The next step of the synthesis involves the acetylation of the hydroxyl groups of the nucleoside 4 using acetic anhydride in the presence of pyridine led to acetylated derivative 5. In order to extract more detailed structure-activity relationships, diverse alkyne substituents R were selected, which included a phenyl ring substituted with halogens (6a, R=2-fluoro, 6b, R=2-chloro) or methyl groups (6c, R=2,5-dimethyl) and a polycyclic aromatic hydrocarbon substituted with a methoxyl group (8, R=6-methoxynaphthalene). In a typical experiment, the acetylated acyclic nucleoside of 5-iodouracil (5) was mixed with N,N-dimethylformamide (DMF), the appropriate alkyne, triethylamine (base), copper(I) iodide (CuI) (co-catalyst) and tetrakis(triphenylphosphine) palladium (0) (Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>) (catalyst) and were irradiated at 50°C for 5 min. After removing all the volatile materials in vacuo, the solid obtained was purified by flash chromatography to provide the C5-alkynyl acyclic nucleosides 6, 8, which upon treatment with saturated methanolic ammonia afforded the unprotected derivatives 7 and 9, in good yields (65-85%).



**Figure 1.** i) TrCl, pyridine, DMAP; ii) a) NaIO<sub>4</sub>, MeOH, H<sub>2</sub>O, 1h, b) NaBH<sub>4</sub>, 1h; iii) HCOOH, Et<sub>2</sub>O; iv) Ac<sub>2</sub>O, pyridine, 1h; v) DMF, CuI, Et<sub>3</sub>N, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> and the appropriate alkyne; vi) MeOH/NH<sub>3</sub>.

The next objective was to synthesize C5 modified acyclic nucleosides of uracil, wherein the acyclic moiety would have been introduced into  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated carbonyl structures that have been shown to confer particular biological activity on the molecules carrying them. The synthesis of the C5-substituted uracil  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated carbonyl acyclic nucleosides is outlined in **Figure 2**. The oxidative cleavage of the cis-diol in the 2',3'-position of compound 2 was achieved with sodium periodate in a mixture of methanol/water. The dialdehyde were unstable, hence after isolation they were directly subjected to a double Wittig olefination, using (ethoxycarbonylmethylene) triphenylphosphorane in tetrahydrofuran (THF) at 40°C for 1 h afforded compound 11 in 58% yield. It was of particular

note, that under such reaction conditions no diastereoisomeric by products observed, by <sup>1</sup>HNMR and COSY spectroscopy, indicating that complete chiral integrity was retained at carbon atoms C1 and C4 of 11, the iodouracil base retains the  $\beta$  configuration and finally the protons of the two double bonds are in trans position as we observe large coupling constants (15.8 Hz) [28-30]. Deprotection of the 5'-O-trityl 11 by treatment with formic acid (HCOOH) in diethylether (Et<sub>2</sub>O) gave the acyclic nucleoside of iodouracil 12. Using the same one-pot Sonogashira protocol as previously discussed, the novel aryl alkynyl acyclic nucleosides 13 and 14 were obtained, in satisfying yields (69-82%).



**Figure 2.** i) NaIO<sub>4</sub>, MeOH, H<sub>2</sub>O, 1h; ii) (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>P=CHCO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, THF, 40°C, 1h; iii) HCOOH, Et<sub>2</sub>O; iv) DMF, CuI, Et<sub>3</sub>N, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> and the appropriate alkyne.

### Biological evaluation

Compounds 4-9, 12-14, were evaluated for their cytostatic activity against the human cells: pancreatic adenocarcinoma (Capan-1), chronic myeloid leukemia (Hap-1), colorectal carcinoma (HCT-116), lung carcinoma (NCI-H460), acute lymphoblastic leukemia (DND-41), acute myeloid leukemia (HL-60), chronic myeloid leukemia (K-562) and non-Hodgkin lymphoma (Z-138) and their antiviral activity varicella-zoster virus (VZV) in human embryonic lung

(HEL) cell cultures. The results of cytotoxic and antiviral activity are shown in **Tables 1 and 2**, respectively. Unfortunately none of the tested compound showed any significant cytostatic activity at a broad panel of cancer cell lines. The antiviral assays showed that (E)-ethyl 4-(((E)-4-ethoxy-1-((2-fluorophenyl)ethynyl)uracil)-4-oxobut-2-en-1-yl)oxy)-5-hydropent-2-enoate (13a) had a noticeable activity against TK<sup>-</sup> VZV strain (EC<sub>50</sub> 20 μM, MCC 100 μM).

**Table 1.** Cytostatic activity of compounds 4-9, 12-14, against a panel of tumor cell lines.

Compounds	IC <sub>50</sub> (μM)	Pancreatic adenocarcinoma Capan-1	Chronic myeloid leukemia Hap-1	Colorectal carcinoma HCT-116	Lung carcinoma NCI-H460	Acute lymphoblastic leukemia DND-41	Acute myeloid leukemia HL-60	Chronic myeloid leukemia K-562	Non-Hodgkin lymphoma Z-138
		<b>Average</b>							
4	μM	>100	>100	>100	44,6	>100	>100	>100	>100
7a	μM	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
7b	μM	>100	>100	>100	47,0	>100	>100	>100	>100
7c	μM	>100	>100	56,2	46,1	>100	>100	>100	>100
9	μM	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
5	μM	58.0	>100	79.0	>100	96.6	>100	>100	40.0
6a	μM	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
6b	μM	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
6c	μM	64.7	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
8	μM	>100	88.9	>100	>100	>100	>100	>100	>100
12	μM	37.2	23.8	55.7	57.9	22.5	45.8	62.4	21.1
13a	μM	47.4	49.1	44.5	68.5	34.1	48.6	51.6	23.4
13b	μM	>100	>100	93.3	>100	>100	>100	80.7	>100
13c	μM	44.1	45.7	35.0	>100	37.9	52.4	42.2	36.6
14	μM	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
Docetaxel	nM	21.9	3.0	19.3	4.9	1.7	5.4	2.1	1.1
Staurosporine	nM	49.5	46.1	66.5	60.0	28.1	52.9	39.1	9.9

\*50% inhibitory concentration or compound concentration required to inhibit cell proliferation by 50%

**Table 2.** Antiviral activity of compounds 4-9, 12-14 varicella-zoster virus (VZV).

Compounds	Antiviral activity EC <sub>50</sub> (μM) <sup>a</sup>		Cytotoxicity (μM)	
	TK <sup>+</sup> VZV strain	TK <sup>-</sup> VZV strain	Cell morphology	Cell growth
	OKA	07-1	(MCC) <sup>b</sup>	(CC50) <sup>c</sup>
4	>100	>100	>100	ND <sup>d</sup>
7a	>100	>100	>100	ND
7b	>100	>100	>100	ND
7c	>100	>100	>100	ND
9	>100	>100	>100	ND
5	>100	>100	>100	ND
6a	>100	>100	>100	ND
6b	>100	>100	>100	ND
6c	>100	>100	>100	ND
8	>100	>100	>100	ND
12	54.69	41.37	>100	ND
13a	>20	>20	100	ND
13b	>100	>100	100	ND
13c	38.07	32.82	100	ND
14	>100	>100	100	ND
Acyclovir	0.58	36.63	>440	ND
Brivudin	0.039	4.65	>300	ND

<sup>a</sup>Effective concentration required to reduce virus plaque formation by 50%. Virus input was 20 plaque forming units (PFU)

<sup>b</sup>Minimum cytotoxic concentration that causes a microscopically detectable alteration of cell morphology

<sup>c</sup>Cytotoxic concentration required to reduce cell growth by 50%

<sup>d</sup>Not determined

## CONCLUSION

In the present study, we report the synthesis of novel C5-arylalkynyl pyrimidine acyclic nucleosides, by developing highly efficient synthetic routes. Nucleoside (E)-ethyl 4-(((E)-4-ethoxy-1-((2-fluorophenyl)ethynyl)uracil)-4-oxobut-2-en-1-yl)oxy)-5-hydropent-2-enoate (13a) had a noticeable activity against TK<sup>+</sup> VZV strain (EC<sub>50</sub> 20 μM, MCC 100 μM) (Table 2).

## CONFLICT OF INTEREST

The authors confirm that this article content has no conflict of interest.

## REFERENCES

1. Elion GB, Rideout JL, De Miranda P, Collins P, Bauer DJ (1975) Biological activities of some purine arabinosides. *Ann N Y Acad Sci* 255: 468-480.
2. Ferrero M, Gotor V (2000) Biocatalytic selective modifications of conventional nucleosides, carbocyclic nucleosides and C-Nucleosides. *Chem Rev* 100: 4319-4348.
3. Galmarini CM, Mackey JR, Dumontet C (2002) Nucleoside analogues and nucleobases in cancer treatment. *Lancet Oncol.* 3: 415-424.
4. Raić-Malić S, Mešćić A (2015) Recent trends in 1, 2, 3-triazolo-nucleosides as promising anti-infective and anticancer agents. *Curr Med Chem* 22: 1462-1499.
5. Pałasz A, Ciez D (2015) In search of uracil derivatives as bioactive agents. Uracils and fused uracils: Synthesis, biological activity and applications. *Eur J Med Chem* 97: 582-611.
6. Sari O, Roy V, Balzarini J, Snoeck R, Andrei G, et al. (2012) Synthesis and antiviral evaluation of C5-

- substituted-(1,3-diyne)-2'-deoxyuridines. *Eur J Med Chem* 53: 220-228.
- Montagu A, Roy V, Balzarini J, Snoeck R, Andrei G, et al. (2011) Synthesis of new C5-(1-substituted-1,2,3-triazol-4 or 5-yl)-2'-deoxyuridines and their antiviral evaluation. *Eur J Med Chem* 46: 778-786.
  - Lee YS, Park SM, Kim HM, Park SK, Lee K, et al. (2009) C5-Modified nucleosides exhibiting anticancer activity. *Bioorg Med Chem Lett* 19: 4688-4691.
  - Realini N, Solorzano C, Pagliuca C, Pizzirani D, Armirotti A, et al. (2013) Discovery of highly potent acid ceramidase inhibitors with *in vitro* tumor chemosensitizing activity. *Sci Rep* 3: 1035-1041.
  - Pizzirani D, Bach A, Realini N, Armirotti A, Mengatto L, et al. (2015) Benzoxazolone carboxamides: Potent and systemically active inhibitors of intracellular acid ceramidase. *Angew Chem Int Ed* 54: 485-489.
  - Lucki NC, Sewer MB (2012) Genistein stimulates MCF-7 breast cancer cell growth by inducing acid ceramidase (ASAH1) gene expression. *J Biol Chem* 286: 19399.
  - Flowers M, Fabrias G, Delgado A, Casas J, Abad JL, et al. (2012) C6-Ceramide and targeted inhibition of acid ceramidase induce synergistic decreases in breast cancer cell growth. *Breast Cancer Res Treat* 133: 447-458.
  - Kumar R, Sharma N, Nath M, Saffran HA, Tyrrell DL (2001) Synthesis and antiviral activity of novel acyclic nucleoside analogues of 5-(1-Azido-2-haloethyl) uracils. *J Med Chem* 44: 4225-4229.
  - Dimopoulou A, Manta S, Kiritsis C, Gkaragkouni DN, Papatiriu I, et al. (2013) Rapid microwave-enhanced synthesis of C5-alkynyl pyranonucleosides as novel cytotoxic antitumor agents. *Bioorg Med Chem Lett* 23: 1330-1333.
  - Dimopoulou A, Kollatos N, Manta S, Panagiotopoulou A, Karastergiou A, et al. (2017) Facile microwave-assisted synthesis of various C5-modified pyrimidine pyranonucleosides as potential cytotoxic antitumor agents. *Curr Microwave Chem* 4: 324-338.
  - Kollatos N, Mitsos C, Manta S, Tzioumaki N, Giannakas C, et al. (2019) Design, synthesis and biological evaluation of novel C5-modified pyrimidine ribofuranonucleosides as potential antitumor or/and antiviral agents. *Med Chem*.
  - Gazivoda T, Raic'-Malic' S, Kriřtafor V, Makuc D, Plavec J, et al. (2008) Synthesis, cytostatic and anti-HIV evaluations of the new unsaturated acyclic C-5 pyrimidine nucleoside analogues. *Bioorg Med Chem* 16: 5624.
  - Tzioumaki N, Tsoukala E, Manta S, Agelis G, Balzarini J, et al. (2009) Synthesis, antiviral and cytostatic evaluation of unsaturated exomethylene and keto D-lyxopyranonucleoside analogues. *Arch Pharm Chem Life Sci* 342: 353-360.
  - Tzioumaki N, Tsoukala E, Manta S, Kiritsis C, Balzarini J, et al. (2011) Efficient synthesis of exomethylene- and keto-exomethylene-D-glucopyranosyl nucleoside analogs as potential cytotoxic agents. *Carbohydr Res* 346: 328-333.
  - Agelis G, Tzioumaki N, Tselios T, Botić T, Cencic A, et al. (2008) Synthesis and molecular modeling of unsaturated exomethylene pyranonucleoside analogues with antitumor and antiviral activities. *Eur J Med Chem* 43: 1366-1385.
  - Rüngeler P, Castro V, Mora G, Gören N, Vichnewski W, et al. (1999) Inhibition of transcription factor NF- $\kappa$ B by sesquiterpene lactones: A proposed molecular mechanism of action. *Biorg Med Chem* 7: 2343-2352.
  - Bazzaro M, Anchoori RK, Mudiam MKR, Issaenko O, Kumar S, et al. (2011)  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated carbonyl system of chalcone-based derivatives is responsible for broad inhibition of proteasomal activity and preferential killing of human papilloma virus (HPV) positive cervical cancer cells. *J Med Chem* 54: 449-456.
  - Arshad L, Jantan I, Haque A (2017) Immunosuppressive effects of natural  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated carbonyl-based compounds and their analogs and derivatives, on immune cells: A review. *Front Pharmacol* 8: 1-21.
  - Wu Y, Hong JH (2005) Synthesis and anti-HIV activity of novel phenyl branched cyclopropyl nucleosides II. *Farmaco* 60: 739-744.
  - Haines DR, Tseng CKH, Marquez VE (1987) Synthesis and biological activity of unsaturated carboacyclic purine nucleoside analogs. *J Med Chem* 30: 943-947.
  - Matsuda A, Okajima H, Masuda A, Kakefuda A, Yoshimura Y, et al. (1992) Nucleosides and nucleotides. 104. Radical and palladium-catalyzed deoxygenation of the allylic alcohol systems in the sugar moiety of pyrimidine nucleosides. *Nucleosides Nucleotides* 104: 197-226.
  - Komiotis D, Agelis G, Manta S, Tzioumaki N, Tsoukala E (2006) A facile, one-step conversion of 6-O-trityl and 6-O-TBDMS monosaccharides into the corresponding formate esters. *J Carbohydr Chem* 25: 441-450.
  - Aksel A, Bothner BY (1965) Geminal and vicinal proton-proton coupling constants in organic compounds. *Adv Magn Reson* 1: 195-316.

29. Robins MJ, Barr PJ, (1983) Nucleic acid related compounds. 39. Efficient conversion of 5-iodo to 5-alkynyl and derived 5-substituted uracil bases and nucleosides. *J Org Chem* 48: 1854-1862.
30. Tong GL, Lee WW, Goodman L (1967) Synthesis of some 3'-O-Methyl purine ribonucleosides. *J Org Chem* 32: 1984-1986.