

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

**ΑΘΗΝΑ ΔΗΜΟΠΟΥΛΟΥ**  
**ΕΠΟΠΤΗΣ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟΙ ΣΤΗ ΒΑΣΗ ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ**  
**ΜΕ ΠΙΘΑΝΗ ΑΝΤΙΪΚΗ, ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΚΑΙ**  
**ΑΝΤΙΔΙΑΒΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ: ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΛΑΡΙΣΑ 2017**

**Τροποποιημένοι στη βάση πυρανονουκλεοζίτες με πιθανή αντιϊκή,  
αντικαρκινική και αντιδιαβητική δράση: σχεδιασμός και σύνθεση**

### **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**Δημήτριος Κομιώτης** (Επιβλέπων), Καθηγητής Οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**Ανδρέας Τσοτίνης**, Καθηγητής του Τομέα Φαρμακευτικής Χημείας του Τμήματος Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Αθηνών

**Παπαδόπουλος Μηνάς**, Ερευνητής Α΄ στο Εθνικό Κέντρο Έρευνας Φυσικών Επιστημών “Δημόκριτος”

### **ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**Παναγιώτης Μαρκουλάτος**, Καθηγητής Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**Ιωάννης Πιρμεττής**, Ερευνητής Α΄ στο Εθνικό Κέντρο Έρευνας Φυσικών Επιστημών “Δημόκριτος”

**Δημήτριος Κουρέτας**, Καθηγητής Φυσιολογίας Ζωικών οργανισμών – Τοξικολογίας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**Γρηγόριος Αμούτζιας**, Επίκουρος Καθηγητής Βιοπληροφορικής στη Γενωμική του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**Δημήτριος Κομιώτης**, Καθηγητής Οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**Ανδρέας Τσοτίνης**, Καθηγητής του Τομέα Φαρμακευτικής Χημείας του Τμήματος Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Αθηνών

**Παπαδόπουλος Μηνάς**, Ερευνητής Α΄ στο Εθνικό Κέντρο Έρευνας Φυσικών Επιστημών “Δημόκριτος”

**ΑΘΗΝΑ ΔΗΜΟΠΟΥΛΟΥ**

**ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟΙ ΣΤΗ ΒΑΣΗ ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ  
ΜΕ ΠΙΘΑΝΗ ΑΝΤΙΪΚΗ, ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΚΑΙ  
ΑΝΤΙΔΙΑΒΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ: ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ**







**ΑΘΗΝΑ ΔΗΜΟΠΟΥΛΟΥ**

**ΛΑΡΙΣΑ 2017**

**ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟΙ ΣΤΗ ΒΑΣΗ ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ  
ΜΕ ΠΙΘΑΝΗ ΑΝΤΙΪΚΗ, ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΚΑΙ  
ΑΝΤΙΔΙΑΒΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ: ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ, ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**

Αριθμός προκαταρκτικών σελίδων: 16

Συνολικός αριθμός σελίδων: 269

Συνολικός αριθμός πινάκων: 7

Αριθμός των Εικόνων: 1

Αριθμός των Παραρτημάτων: 1

Συνολικός αριθμός των Βιβλιογραφικών παραπομπών: 146

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα τελευταία χρόνια, οι τροποποιημένοι νουκλεοζίτες και ιδιαίτερα τα τροποποιημένα στη βάση νουκλεοζιτικά παράγωγα έχουν ερευνηθεί εκτενώς λόγω της αντιϊκής και αντικαρκινικής τους δράσης καθώς επίσης και ως αναστολείς διαφόρων ενζύμων. Η πιο διαδεδομένη μέθοδος για την τροποποίηση των πουρινικών και πυριμιδινικών αναλόγων είναι η καταλυόμενη από παλλάδιο αντίδραση διασταυρούμενης σύζευξης, μέσω του σχηματισμού νέων δεσμών άνθρακα-άνθρακα και άνθρακα-ετεροατόμου. Η παρούσα διδακτορική διατριβή εστιάζεται κυρίως στη σύνθεση νέων τροποποιημένων στην ετεροκυκλική βάση πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων.

Με βάση τα ανωτέρω ευρήματα και σε συνδυασμό με το ότι: α) οι αλκυνυλο-τροποποιημένοι C5-πυριμιδινικοί και C8-πουρινικοί νουκλεοζίτες έχει αποδειχθεί ότι κατέχουν ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες, β) πολλά ανάλογα της γλυκόζης μπορούν να δράσουν ως αναστολείς της φωσφορύλασης του γλυκογόνου, και γ) και οι θειοπουρίνες έχουν τη φήμη αποτελεσματικών αντικαρκινικών και ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων, θεωρήθηκε ενδιαφέρον, να σχεδιαστούν και στη συνέχεια να συντεθούν: 1) μιας νέας σειράς τροποποιημένων C5-πυριμιδινικών και C8-πουρινικών αλκυνυλο-υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτών, 2) καθώς και νέων θειοπουρινικών πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων.

Οι τελικοί νουκλεοζίτες αξιολογήθηκαν για την αντιϊκή και αντικαρκινική τους δράση έναντι διαφόρων ιικών στελεχών και καρκινικών κυτταρικών σειρών καθώς επίσης και ως αντιδιαβητικοί παράγοντες.

## 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 Ερευνητή Α΄ κ. Μηνά Παπαδόπουλο του Εθνικού Κέντρου Έρευνας Φυσικών Επιστημών “Δημόκριτος”, 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 κύριο Παναγιώτη Μαρκουλάτο, Καθηγητή Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, τον κ. Δημήτριο Κουρέτα, Καθηγητή Φυσιολογίας Ζωικών οργανισμών – Τοξικολογίας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, τον κ. Γρηγόριο Αμούτζια, Επίκουρο Καθηγητή Βιοπληροφορικής στη Γενωμική του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, καθώς και τον κ. Ιωάννη Πιρμεττή, Ερευνητή Α΄ στο Εθνικό Κέντρο Έρευνας Φυσικών Επιστημών “Δημόκριτος” για τις πολύ σωστές παρατηρήσεις τους, που συνέβαλαν στην αρτιότερη εμφάνιση της διατριβής.

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 Νικόλαο Κολλάτο, Βανέσα Παρμενοπούλου, Αλεξάνδρα Κουταρέλου, Ευαγγελία Γελαδάρη, Σταυρούλα Ζησοπούλου και Ουρανία Χριστίδου. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω και την Καντσάδη Αναστασία του εργαστηρίου Δομικής & Λειτουργικής Βιοχημείας για τη λήψη των δομικών και κινητικών μελέτων, την Βιργινία Τριαντακωνσταντή του τμήματος Χημείας του Α.Π.Θ. 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 στους μεταδιδακτορικούς ερευνητές και πολύ καλούς μου φίλους την κ. Στυλιανή Μαντά και τον κ. Χρήστο Κυρίτση για την αμέριστη υποστήριξη τους, την ευγενική βοήθεια καθώς και τις γνώσεις που μου μετέφεραν για την ολοκλήρωση αυτής της διατριβής.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον σύντροφο μου Κώστα για την οικονομική και την ηθική συμπαράσταση, που μου πρόσφερε, χωρίς τον οποίο θα ήταν αδύνατο να πραγματοποιηθεί και να ολοκληρωθεί η παρούσα διδακτορική διατριβή καθώς επίσης την οικογένεια μου και τους υπόλοιπους φίλους μου για την ηθική τους συμπαράσταση.

## ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

Οι δημοσιεύσεις που προέκυψαν από την παρούσα διδακτορική διατριβή είναι

οι ακόλουθες:

- Rapid microwave-enhanced synthesis of C5-alkynyl pyranonucleosides as novel cytotoxic antitumor agents. Athina Dimopoulou, Stella Manta, Christos Kiritsis, Dimitra-Niki Gkaragkouni, Ioannis Papasotiriou, Jan Balzarini and Dimitri Komiotis. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, 23, 1330-1333. doi: 10.1016/j.bmcl.2012.12.092.
- Synthesis of Novel Thiopurine Pyranonucleosides: Evaluation of Their Bioactivity. Athina Dimopoulou, Stella Manta, Vanessa Parmenopoulou, Petros Gkizis, Evdoxia Coutouli-Argyropoulou, Dominique Schols and Dimitri Komiotis. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, **2015**, 43, 289-308. doi: 10.1080/15257770.2014.992532.
- An easy microwave-assisted synthesis of C8-alkynyl adenine pyranonucleosides as novel cytotoxic antitumor agents. Athina Dimopoulou, Stella Manta, Vanessa Parmenopoulou, Nikolaos Kollatos, Ourania Christidou, Virginia V. Triantakoustanti, Dominique Schols and Dimitri Komiotis. *Front Chem.* **2015**, 3:21. doi: 10.3389/fchem.2015.00021. *eCollection 2015*.
- 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*, **2016**, submitted.

## **ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ**

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	vii
ΠΡΟΛΟΓΟΣ-ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	viii
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	xi
<b>I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b>	<b>1</b>
<b>I.1</b> Νουκλεοζίτες, Νουκλεοτίδια και Νουκλεϊκά οξέα	1
<b>I.2</b> Νουκλεοζιτικά ανάλογα	2
<b>I.3</b> Τρόπος δράσης των νουκλεοζιτών	4
<b>I.4</b> Τροποποίηση των νουκλεοζιτών	7
<b>I.5</b> Αντιϊικά νουκλεοζιτικά ανάλογα	8
<b>I.6</b> Αντικαρκινικά νουκλεοζιτικά ανάλογα	9
<b>I.6.1</b> Αντικαρκινικά ανάλογα νουκλεοβάσεων	11
<b>I.7</b> Αντιδιαβητικά νουκλεοζιτικά ανάλογα	12
<b>I.8</b> Φουρανονουκλεοζίτες	17
<b>I.8.1</b> Πυριμιδινικοί και Πουρινικοί Φουρανονουκλεοζίτες	17
<b>I.8.2</b> Θείο-Φουρανονουκλεοζίτες	19
<b>I.9</b> Πυρανονουκλεοζίτες	20
<b>I.10</b> Σύνθεση νουκλεοζιτικών αναλόγων	22
<b>I.11</b> Στόχοι της παρούσας διατριβής	28
<b>II. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ-ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ</b>	<b>34</b>

<b>II.1</b> Σύνθεση των C5-αλογονομένων πυρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης	34
<b>II.1.1</b> Σύνθεση των C5-αλογονομένων-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της 5-ιωδοουρακίλης <b>3α</b> , 5-φθοροουρακίλης <b>3β</b> , 5-χλωροουρακίλης <b>3γ</b> , 5-βρωμοουρακίλης <b>3δ</b> , ουρακίλης <b>3ε</b> και 5-τριφθορομεθυλοουρακίλης <b>3στ</b>	36
<b>II.1.1.1</b> Χρήση μικροκυμάτων	37
<b>II.1.2</b> Σχηματισμός γλυκοζιτικού δεσμού	38
<b>II.1.3</b> Καθορισμός της στερεοχημείας στο ανώμερικό κέντρο	41
<b>II.1.4</b> Δομικές μελέτες των C5-αλογονομένων-β-D-πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων <b>3α-στ</b>	43
<b>II.1.5</b> Κινητική μελέτη των C5-αλογονομένων-β-D-πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων <b>3α-στ</b>	44
<b>II.2</b> Σύνθεση των θειοπυρινικών πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων	46
<b>II.2.1</b> Σύνθεση των θειοπυρινικών πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της γλυκόζης, της γαλακτόζης, της ξυλόζης, της μαννόζης και της λυξόζης ( <b>6α-ε</b> , <b>8α-ε</b> )	47
<b>II.2.2</b> Σύνθεση των θειοπυρινικών πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της γλυκόζης, της γαλακτόζης, της ξυλόζης, της μαννόζης και της λυξόζης ( <b>11α-ε</b> , <b>14α-ε</b> ) μέσω των πρόδρομων νουκλεοζιτικών αναλόγων της 6-χλωροπυρίνης και της 2-αμινο-6-χλωροπυρίνης	53
<b>II.2.3</b> Αντιϊκή και αντικαρκινική δράση των θειοπυρινικών πυρανονουκλεοζιτών αναλόγων <b>6α-ε</b> , <b>8α-ε</b> , <b>11α-ε</b> , <b>14α-ε</b>	60
<b>II.3</b> Σύνθεση των C5-αλκύνυλο πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης και της κυτοσίνης	63
<b>II.3.1</b> Σύνθεση των C5-αλκύνυλο-β-D-γλυκοπυρανόζυλο αναλόγων της ουρακίλης ( <b>15α-21α</b> ) και της κυτοσίνης ( <b>15ζ-21ζ</b> )	65
<b>II.3.2</b> Γενική μέθοδος σύνθεσης τελικών αλκυνίων (Sonogashira reaction)	66
<b>II.3.2.1</b> Μηχανισμός Sonogashira reaction	68



<b>Π.3.3</b> Σύνθεση του φαινυλο και των πυριδινυλο και πυριδινιμυλο πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης <b>17a, 24-35</b>	76
<b>Π.3.4</b> Αντιϊκή και αντικαρκινική δράση των C5-αλκύνυλο πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης και της κυτοσίνης ( <b>15a,ζ-19a,ζ, 21a,ζ, 22a, 23a, 25-35</b> )	82
<b>Π.3.5</b> Κινητική μελέτη των C5-αλκύνυλο πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης <b>15a, 16a</b> και <b>21a-23a</b>	88
<b>Π.4</b> Σύνθεση των φαίνυλο υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης	90
<b>Π.4.1</b> Σύνθεση των φαίνυλο υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης <b>38a-μ</b> και <b>39</b>	93
<b>Π.4.2</b> Αντικαρκινική δράση των φαίνυλο υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης <b>36a-μ, 37, 38a-μ</b> και <b>39</b>	98
<b>Π.5</b> Σύνθεση των C8-υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτών της αδερίνης και της γουανίνης	104
<b>Π.5.1</b> Σύνθεση των C8-υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της αδερίνης <b>42ε, 43a-δ</b>	106
<b>Π.5.2</b> Σύνθεση των C8-υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτών της γουανίνης <b>47a,β</b>	114
<b>Π.5.3</b> Αντικαρκινική και αντιϊκή δράση των C8-αλκύνυλο πυρανονουκλεοζιτών της αδερίνης <b>42ε, 43a-δ</b> και της γουανίνης <b>47a,β</b>	121
<b>Π.6</b> Σύνθεση των C5-υποκατεστημένων νουκλεοβάσεων της ουρακίλης και της C8-υποκατεστημένης νουκλεοβάσης της αδερίνης	124
<b>Π.6.1</b> Σύνθεση της 8-φαινυλοαιθυνυλο-ουρακίλης ( <b>49a</b> ) και της 8-(4-μεθυλοφαινυλο)αιθυνυλο-ουρακίλης ( <b>49β</b> )	124
<b>Π.6.2</b> Σύνθεση της 8-φαινυλοαιθυνυλο-αδερίνης ( <b>51</b> )	124
<b>Π.6.3</b> Αντικαρκινική και αντιϊκή δράση των ενώσεων <b>49a,β</b> και <b>51</b>	126

<b>III. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	<b>128</b>
Γενικές παρατηρήσεις	128
<b>III.1</b> Σύνθεση των C5-αλογονομένων πυρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης <b>3α-στ</b>	131
<b>III.2</b> Σύνθεση των θειοपुरινικών πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων	137
<b>III.2.1</b> Σύνθεση των 9- $\beta$ -D-πυροανονουκλεοζιτικών αναλόγων της 6-μερκαπτοपुरίνης <b>6α-ε</b> και της 6-θειογουανίνης <b>8α-ε</b>	137
<b>III.2.2</b> Σύνθεση των 7- $\beta$ -D-πυροανονουκλεοζιτικών αναλόγων της 6-μερκαπτοपुरίνης <b>11α-γ</b> και της 6-θειογουανίνης <b>14α-γ</b> και των 7- $\alpha$ -D-πυροανονουκλεοζιτικών αναλόγων της 6-μερκαπτοपुरίνης <b>11δ,ε</b> και της 6-θειογουανίνης <b>14δ,ε</b>	153
<b>III.3</b> Σύνθεση των C5-αλκύνυλο πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης και της κυτοσίνης	169
<b>III.3.1</b> Σύνθεση των C5-αλκύνυλο πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης <b>15α-23α</b>	169
<b>III.3.2</b> Γενική μέθοδος σύνθεσης τελικών αλκυνίων <b>15α-23α</b> (Sonogashira reaction)	170
<b>III.3.3</b> Σύνθεση των C5-αλκύνυλο πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της κυτοσίνης <b>15ζ-21ζ</b>	178
<b>III.3.4</b> Σύνθεση του φαινυλο και των πυριδινυλο και πυριδινιμυλο πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης <b>24-35</b>	185
<b>III.4</b> Σύνθεση των φαινυλο υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης <b>38α-μ</b> και <b>39</b>	196
<b>III.5</b> Σύνθεση των C8-υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτών της αδενίνης και της γουανίνης	221
<b>III.5.1</b> Σύνθεση των C8-υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτών της αδενίνης <b>42ε, 43α-δ</b>	221

<b>III.5.2</b> Σύνθεση των C8-υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτών της γουανίνης <b>47a,β</b>	231
<b>III.6</b> Σύνθεση των C5-υποκατεστημένων νουκλεοβάσεων της ουρακίλης και της C8-υποκατεστημένης νουκλεοβάσης της αδενίνης	236
<b>III.6.1</b> Σύνθεση των C5-υποκατεστημένων νουκλεοβάσεων της ουρακίλης <b>49a,β</b>	236
<b>III.6.2</b> Σύνθεση της C8-υποκατεστημένης νουκλεοβάσης της αδενίνης <b>51</b>	237
<b>IV. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ</b>	<b>239</b>
<b>V. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	<b>243</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>252</b>
<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ-ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ</b>	<b>253</b>

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

**Πίνακας 1:** Αποτελέσματα κινητικής μελέτης των C5-αλογονομένων-β-D-πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων **3α-στ**.

**Πίνακας 2:** Ανασταλτική δράση των ενώσεων **6α-ε, 8α-ε, 11α-ε** και **14α-ε** έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων L1210, CEM και HeLa.

**Πίνακας 3:** Ανασταλτική δράση των ενώσεων **15α,ζ- 19α,ζ, 21α,ζ, 22α, 23α** και **25-35** έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων L1210, CEM και HeLa.

**Πίνακας 4:** Αποτελέσματα των πειραμάτων κινητικής μελέτης των ενώσεων **15α, 16α, 21α-23α**.

**Πίνακας 5:** Ανασταλτική δράση των ενώσεων **36α-μ, 37, 38α-μ** και **39** έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων L1210, CEM και HeLa.

**Πίνακας 6:** Ανασταλτική δράση των ενώσεων **42ε, 43α-δ** και **47α,β** έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων L1210, CEM και HeLa.

**Πίνακας 7:** Ανασταλτική δράση των ενώσεων **49α,β** και **51** έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων L1210, CEM και HeLa.

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

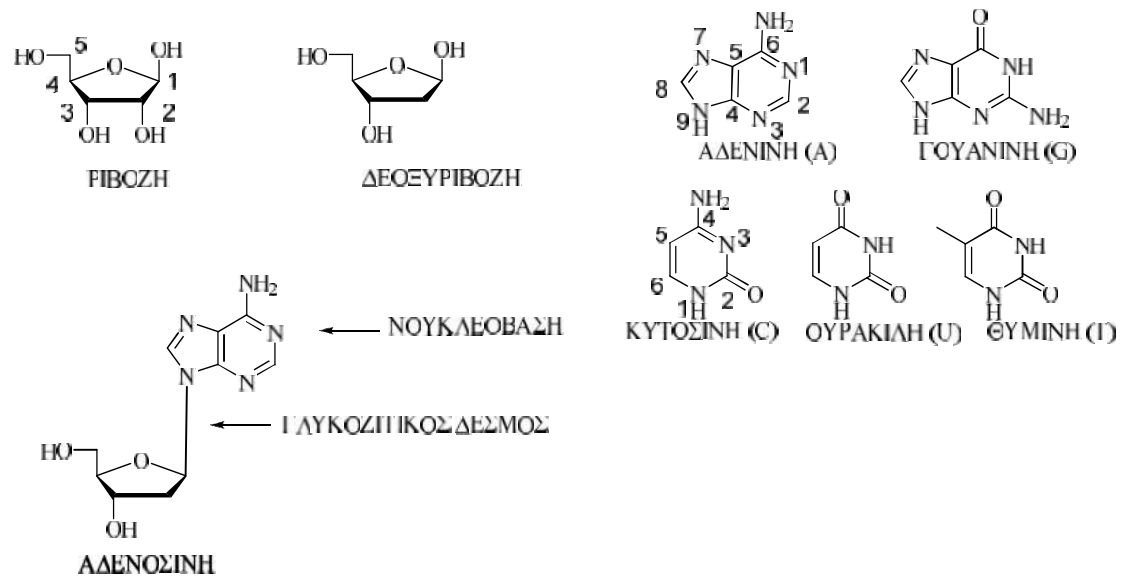
**Εικόνα 1:** Προτεινόμενος μηχανισμός Sonogashira reaction

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

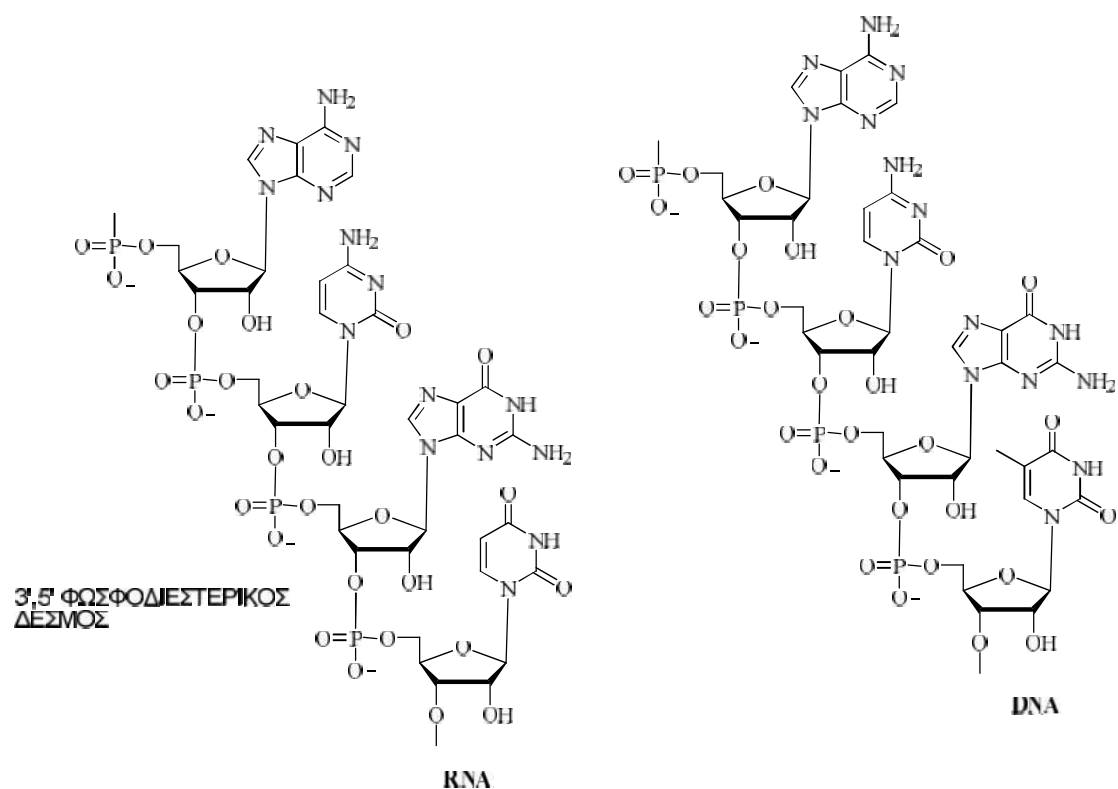
### 1.1 Νουκλεοζίτες, Νουκλεοτίδια και Νουκλεϊκά οξέα

Οι νουκλεοζίτες (ή νουκλεοζίδια) αποτελούν θεμελιώδη συστατικά των διαφόρων βιολογικών συστημάτων. Απαντώνται σε όλους τους οργανισμούς στη φύση διότι αποτελούν πρόδρομες ενώσεις των νουκλεοτιδίων, των βασικών δομικών μονάδων του γενετικού υλικού, καθώς επίσης και το υπόστρωμα των πολυμερασών για τη σύνθεση DNA και RNA. Ο όρος «νουκλεοζίτης» αρχικά επινοήθηκε από τον Leven και Jacobs (Leven και Jacobs 1909).

Οι νουκλεοζίτες είναι γλυκοσυλαμίνες που προέρχονται από την ένωση μιας νουκλεοβάσης (αδενίνη, γουανίνη, κυτοσίνη, θυμίνη, ουρακίλη) και της ριβόζης (ριβονουκλεοζίτες) ή της δεοξυριβόζης (δεοξυριβονουκλεοζίτες). Ο όρος αναφέρεται στην ένωση που αποτελείται από δυο μέρη, από μια βάση πουρίνης ή πυριμιδίνης ενωμένη στη θέση 1' μιας πεντόζης με  $\beta$ -N-γλυκοζιτικό δεσμό (Σχήμα 1). Όταν στον νουκλεοζίτη προστεθεί μια φωσφορική ομάδα προκύπτει το νουκλεοτίδιο (Σχήμα 2).



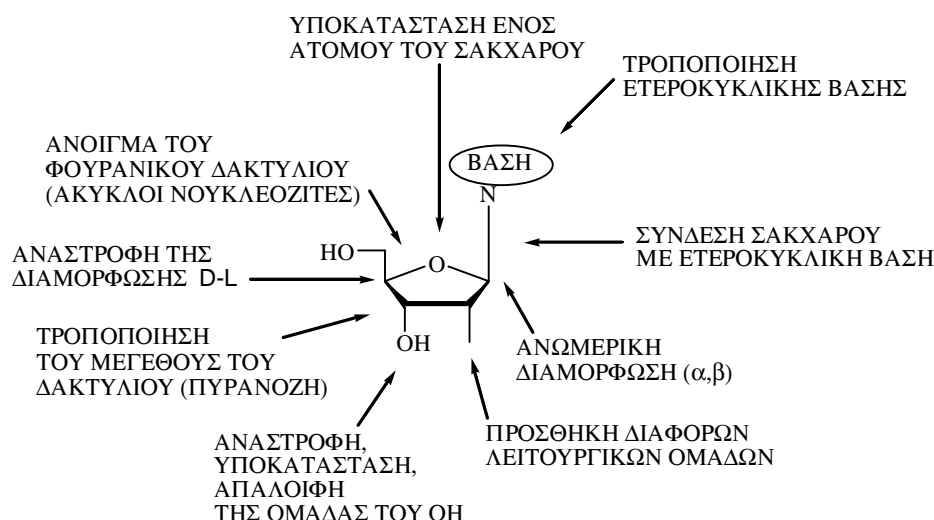
Σχήμα 1. Γλυκοζιτικός δεσμός - Νουκλεοζίτης



**Σχήμα 2. Μέρος από τις χημικές δομές νουκλεοτιδίων των κλώνων του DNA και του RNA**

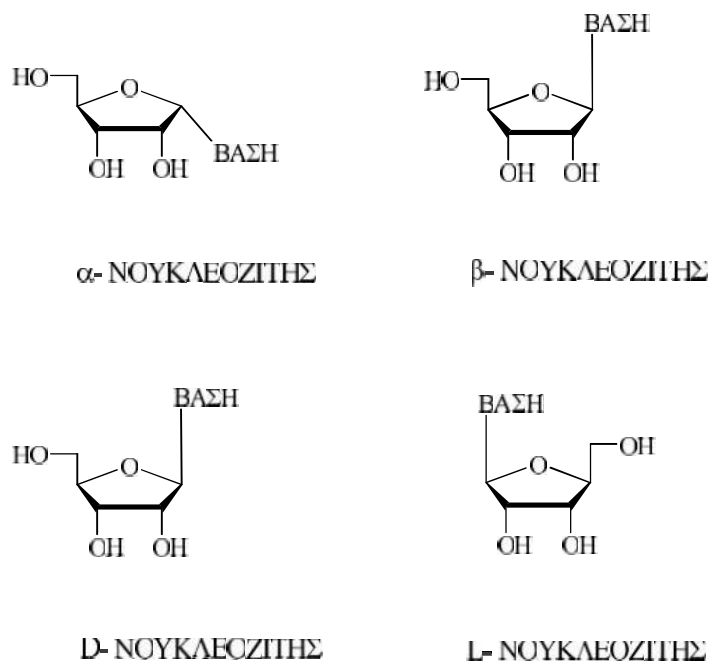
## 1.2 Νουκλεοζιτικά ανάλογα

Οι νουκλεοζίτες και τα ανάλογά τους έχουν παρουσιάσει ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια, κυρίως λόγω των ιδιοτήτων τους, που τα καθιστούν αντικαρκινικούς, αντιβακτηριδιακούς, αντιϊκούς παράγοντες, καθώς και ως αντιοξειδωτικά (Zhou *et al*, 2004, Perigaud *et al*, 1992, Robins *et al*, 1990, MacCoss *et al*, 1990). Το εξαιρετικό ενδιαφέρον που παρουσιάζουν έχει ως αποτέλεσμα τη χημική σύνθεση και μελέτη ενός μεγάλου αριθμού παραγώγων με ιδιαίτερη ποικιλομορφία. Έτσι, ο κύριος σκοπός για τις συνθέσεις των νουκλεοτιδίων είναι, η ανάπτυξη νέων ενώσεων με χημειοθεραπευτικό ενδιαφέρον. Οι τροποποιήσεις μπορεί να λάβουν χώρα είτε στο τμήμα της ετεροκυκλικής βάσης είτε στον υδατανθρακικό δακτύλιο (Σχήμα 3).



**Σχήμα 3. Τροποποιήσεις στη δομή ενός φυσικού νουκλεζίτη**

Ένας νουκλεοζίτης μπορεί να υπάρχει σε δύο ανωμερείς μορφές, είτε στην  $\beta$ , όπου ο υποκαταστάτης του C1' ανωμερικού άνθρακα βρίσκεται στην ίδια πλευρά με το υδροξύλιο του C4' άνθρακα (*cis*), είτε στην  $\alpha$ , όπου ο υποκαταστάτης του C1' ανωμερικού άνθρακα δεν βρίσκεται στην ίδια πλευρά με το υδροξύλιο του C4' άνθρακα (*trans*). Καθώς επίσης μπορεί να υπάρχει σε δύο εναντιομερείς μορφές, στη *D* μορφή λεγόμενη «φυσική διαμόρφωση» και στην *L* μορφή τη «μη φυσική διαμόρφωση» (Σχήμα 4).



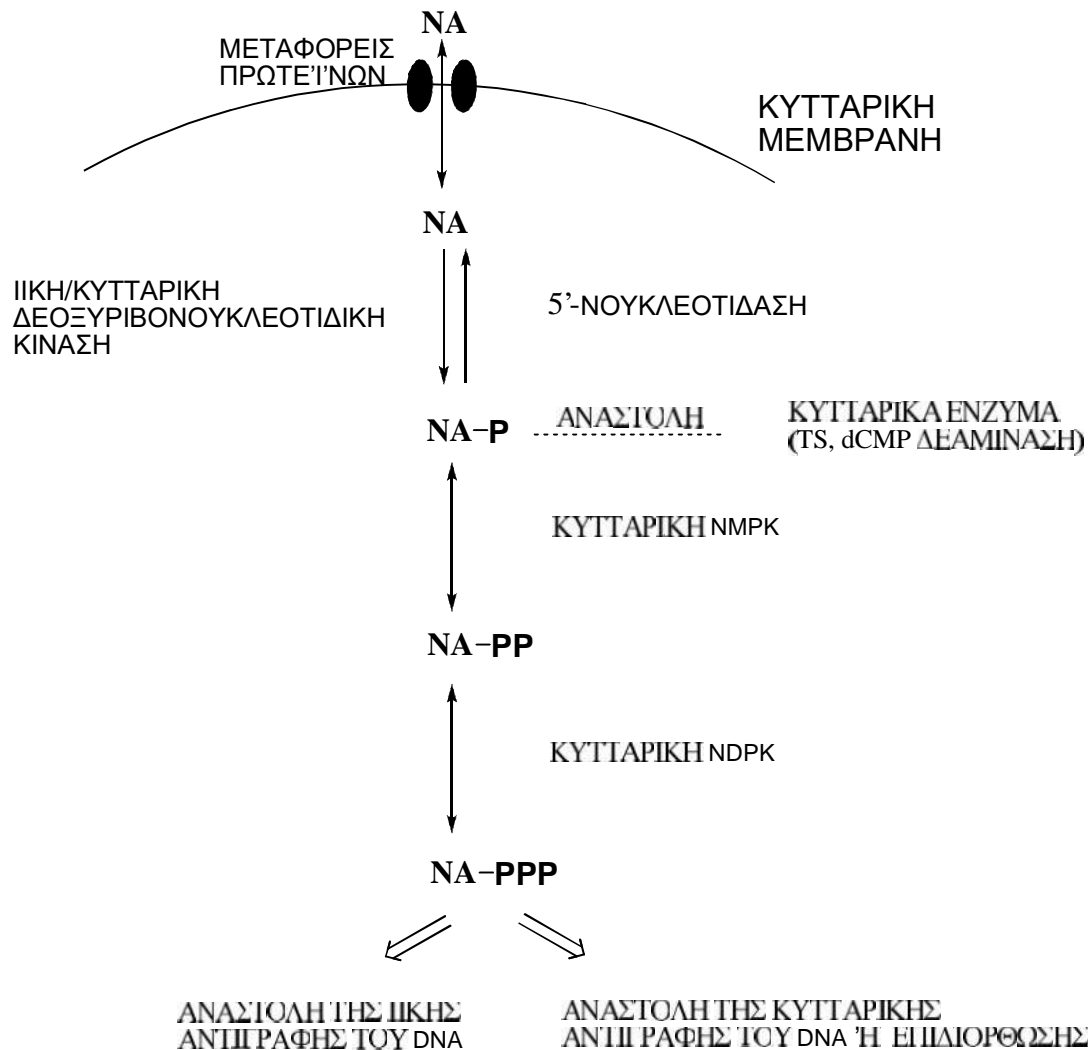
**Σχήμα 4. Διαφορετικές μορφές νουκλεοζιτών**

### 1.3 Τρόπος δράσης των νουκλεοζιτών

Η σύνθεση των φυσικών νουκλεοζιτών πραγματοποιείται ενδοκυτταρικά (από την πορεία σύνθεσης εξ αρχής (de novo), από πρόδρομα μόρια με διαδοχικές αντιδράσεις, ή από την πορεία περισώσης (salvage) των υπαρχόντων βάσεων που προκύπτουν από την αποικοδόμηση (υδρόλυση) των νουκλεϊνικών οξέων), αλλά έχουν και τη δυνατότητα να εισέλθουν στα κύτταρα με παθητική διάχυση, όπως επίσης και μέσω πρωτεϊνών μεταφορέων νουκλεοζιτών (NTs nucleoside transporters) (Baldwin *et al*, 2004, King *et al*, 2006, Zhang *et al*, 2007, Damaraju *et al*, 2003, Cano-Soldado *et al*, 2011, Minuesa *et al*, 2011). Οι πρωτεΐνες μεταφορείς είναι υπεύθυνες για την μεταφορά νουκλεοζιτικών αναλόγων που δρουν ως αντικαρκινικά (gemcitabine και 5'-deoxy-5'-fluorouridine) (Mackey *et al*, 1999, Mata *et al*, 2001,) και αντιϊκά φάρμακα (ribavirin) (Yamamoto *et al*, 2007, Patil *et al*, 1998), ιδιότητες τις οποίες εκμεταλλευόμαστε στην σύνθεση των τροποποιημένων νουκλεοζιτικών αναλόγων. Τα νουκλεοζιτικά ανάλογα διατηρούν χαρακτηριστικά των φυσικών μορίων, αλλά είναι σχεδιασμένα με τέτοιο τρόπο, ώστε, όταν εισέλθουν στο κύτταρο και μεταβολιστούν, να μπορούν να παρέμβουν στην σύνθεση νουκλεϊκών οξέων και να ασκήσουν την κυτταροστατική και την αντιϊκή τους δράση (Wataya *et al*, 2001, Takatori *et al*, 1999, Naito *et al*, 2002).

Τα νουκλεοζιτικά ανάλογα συνήθως δρουν ως προφάρμακα, δηλαδή είναι ανενεργά στην μορφή που χορηγούνται και πρέπει να μεταβολιστούν προς τις ενεργές τριφωσφορικές δομές τους (Σχήμα 5), για να ασκήσουν την θεραπευτική τους δράση (Johansson και Eriksson 1996). Οι φωσφορικές μορφές των νουκλεοζιτικών αναλόγων δεν μπορούν να διαπεράσουν με ευκολία την κυτταρική μεμβράνη, λόγω φορτίου, όπως επίσης και όταν δημιουργηθούν μέσα στο κύτταρο η μετακίνησή τους προς γειτονικά κύτταρα είναι δύσκολη λόγω του διαφορετικού pH που υπάρχει στα διάφορα κυτταρικά διαμερίσματα. Η φωσφορυλίωση αρχίζει με την προσθήκη μιας φωσφορικής ομάδας στην 5'-θέση του σακχάρου, η οποία καταλύεται από ειδικές ιϊκές νουκλεοζιτικές κινάσες προς τη δημιουργία ενός μονοφωσφορικού νουκλεοζίτη. Οι μετέπειτα φωσφορυλίώσεις προς τις διφωσφορικές και τριφωσφορικές μορφές των νουκλεοζιτικών αναλόγων καταλύονται από νουκλεοτιδικές κινάσες και νουκλεοζιτικές διφωσφορικές κινάσες αντιστοίχως (Wagner *et al*, 2000, Bourdais *et al*, 1996, Schneider *et al*, 1998, V. Rompay *et al*, 2000).

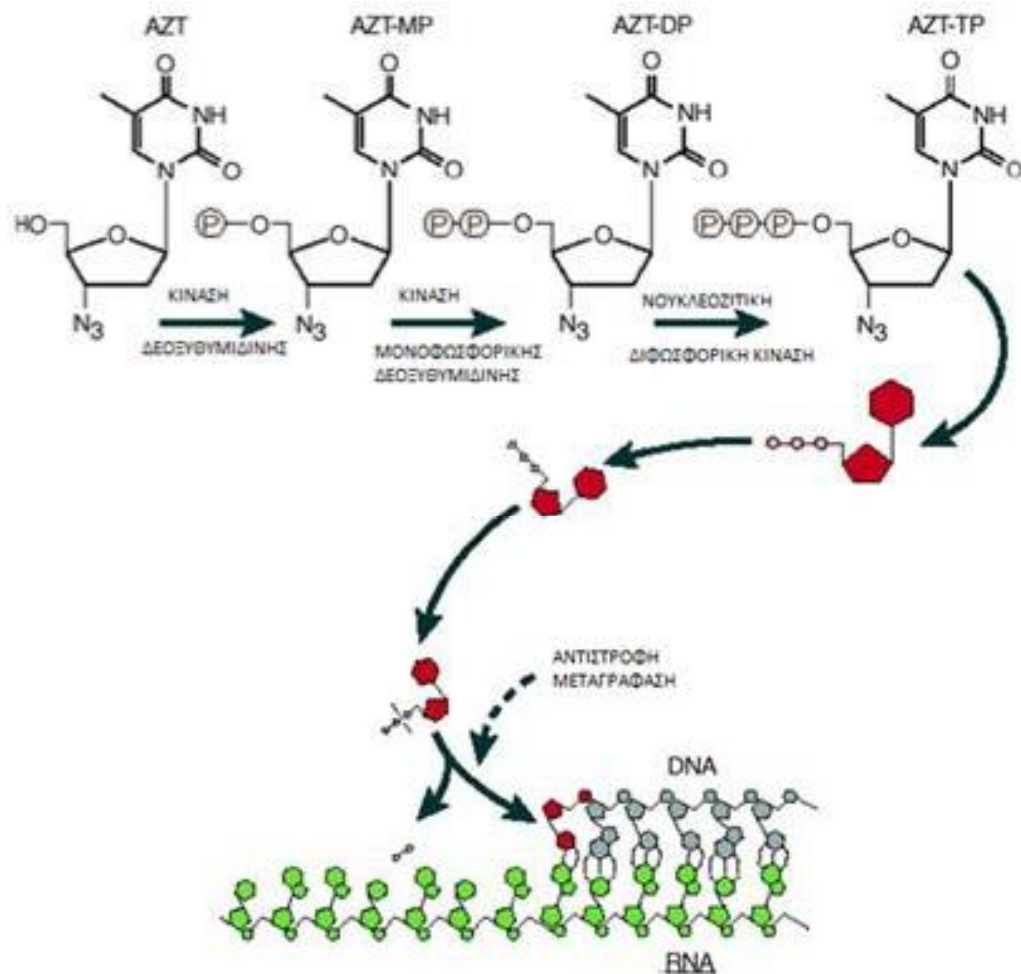




**Σχήμα 5. Φωσφορυλίωση των νουκλεοζιτικών αναλόγων προς την τριφωσφορική τους ενεργή δομή.**

Ένας κοινός μηχανισμός αντιϊκής και αντικαρκινικής δράσης των νουκλεοζιτικών αναλόγων κατά τη διάρκεια σύνθεσης των νουκλεονικών οξέων του DNA και του RNA είναι η ενσωμάτωσή τους στην επιμηκυνόμενη αλυσίδα (DNA/RNA), προκαλώντας την διακοπή της επιμήκυνσής της (τερματισμός της αλυσίδας). Χαρακτηριστικό παράδειγμα αυτής της κατηγορίας είναι το γνωστό φάρμακο AZT, όπου εισέρχεται στο κύτταρο στην ανενεργή του μορφή και έπειτα από ενδοκυτταρική φωσφορυλίωση μετατρέπεται στην ενεργό τριφωσφορική του δομή, όπου στην συνέχεια δρα ως αναστολέας της αντίστροφης μεταγραφάσης (τερματισμός της αλυσίδας του DNA) (Σχήμα 6) (De Clercq 2004). 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. Εάν ένα νουκλεοζιτικό ανάλογο δεν έχει μια ομάδα 3'-υδροξυλίου, δεν μπορεί να ενωθεί με τη 5'-φωσφορική ομάδα του επόμενου νουκλεοτιδίου και αυτό παρεμποδίζει αποτελεσματικά την επιμήκυνση της αλυσίδας.



**Σχήμα 6. Τρόπος δράσης του φαρμάκου AZT**

Εκτός του παραπάνω μηχανισμού, τα διφωσφορικά και τριφωσφορικά νουκλεοζιτικά ανάλογα μπορούν να αναστείλουν και άλλα ένζυμα, όπως την ριβονουκλεοτιδική αναγωγή, βασικό ένζυμο που εμπλέκεται στον μεταβολισμό των νουκλεοτιδίων, με αποτέλεσμα την μείωση δραστικών μεταβολιτών, όπως η δεαμινάση και η 5'-νουκλεοτιδάση (Jordheim *et al*, 2013).

Άλλος ένας τρόπος δράσης των νουκλεοζιτικών αναλόγων είναι η ενεργοποίηση της διαδικασίας της απόπτωσης (Sampath *et al*, 2003) στα καρκινικά κύτταρα μέσω της καταστολής αντιαποπτωτικών γονιδίων (Lui *et al*, 2010).

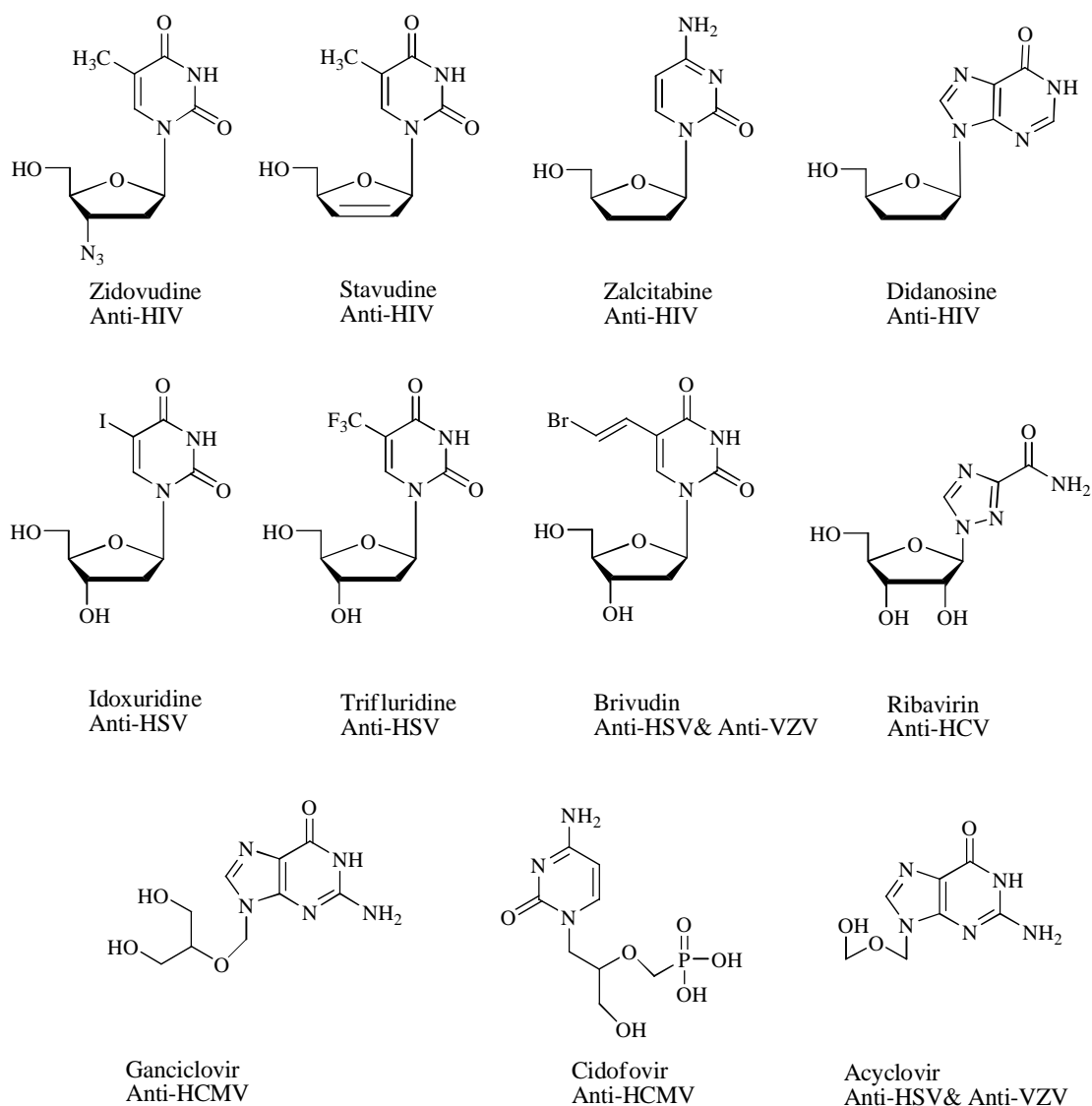
Ο μηχανισμός δράσης των νουκλεοζιτικών αναλόγων, τα οποία δρουν ως αντιβιοτικά, βασίζεται, είτε στο ότι καταστρέφουν συγκεκριμένα τμήματα των βακτηρίων, όπως τη μεμβράνη και το κυτταρικό τοίχωμά τους, είτε στο ότι επιδρούν στην σύνθεση των πρωτεϊνών (Siev M. *et al*, 1969) και στη μεταφορά ιόντων μέσω της πλασματικής μεμβράνης (Ahn Y. J. *et al*, 2000).

#### **I.4 Τροποποίηση των νουκλεοζιτών**

Η τροποποίηση του τμήματος του σακχάρου στη δομή ενός νουκλεοζίτη έχει οδηγήσει στην σύνθεση νουκλεοζιτικών αναλόγων με σημαντική αντιϊκή και αντικαρκινική δράση. Το γεγονός αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι, ο κύριος παράγων για την αναγνώρισή τους από τις πολυμεράσες και την ενσωμάτωσή τους στην νεοσυντιθέμενη αλυσίδα, είναι το τμήμα του σακχάρου. Παρ' όλα αυτά, η εμφάνιση νέων ιών ή νέων στελεχών μεταλλαγμένων ιών υπογραμμίζουν τη σημασία της ανάπτυξης νέων πιο αποδοτικών και ανθεκτικών νουκλεοζιτικών αναλόγων. Για την επίτευξη αυτού του στόχου το ερευνητικό ενδιαφέρον στράφηκε στη σύνθεση νέων νουκλεοζιτικών αναλόγων τροποποιημένων στο τμήμα της ετεροκυκλικής βάσης, καθώς έχει αναφερθεί ότι η C5-υποκατεστημένη πυριμιδίνη (Jäger *et al*, 2005) αποτελεί ως επί το πλείστον ένα εξαιρετικό υπόστρωμα για την DNA πολυμεράση. Μια από τις πιο χρήσιμες μεθόδους για τον σχηματισμό δεσμού C-C, που χρησιμοποιούνται ευρέως για την τροποποίηση των νουκλεοβάσεων των νουκλεοζιτικών αναλόγων, είναι η αντίδραση διασταυρούμενης σύζευξης καταλυόμενης από Pd (Agrofolio *et al*, 2003). Η πρώτη φορά που αναφέρθηκε ο μηχανισμός αυτής της αντίδρασης ήταν από τον Sonogashira το 1975 (Sonogashira *et al*, 1975). Μέσω αυτής της αντίδρασης υφίστανται τροποποίηση οι νουκλεοζίτες των αλογονομένων C-5 πυριμιδινών και C-2, C-6 ή C-8 των πουρινών, προσδίδοντας στις νέες δομές διάφορες βιολογικές ιδιότητες. Η αντίδραση Sonogashira αποτελεί ένα σημαντικό εργαλείο στη σύνθεση οργανικών ενώσεων, η οποία έχει εφαρμογές στην παρασκευή φαρμακευτικών και φυσικών προϊόντων.

## 1.5 Αντιϊικά νουκλεοζιτικά ανάλογα

Τις τελευταίες δεκαετίες τα συνθετικά τροποποιημένα νουκλεοζιτικά ανάλογα έχουν διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην θεραπεία των ιογενών μολυσματικών ασθενειών, όπως είναι ο ιός της ανθρώπινης ανοσοποιητικής ανεπάρκειας (Human Immunodeficiency Virus, HIV), ο ιός της ηπατίτιδας (Hepatitis Virus, HCV), ο κυτταρομεγαλοϊός του ανθρώπου (Human Cytomegalovirus, HCMV) και ο ιός του απλού έρπητα (Herpes Simplex Virus, HSV) (De Clercq 2004, De Clercq 2005, Manta et al, 2014). Ο γενικός τρόπος δράσης των νουκλεοζιτικών αναλόγων είναι η αναστολή της ιϊκής DNA πολυμεράσης δρώντας ως ανταγωνιστικοί αναστολείς ή / και προκαλώντας τον τερματισμό της αλυσίδας του DNA. Από τα 40 αντιϊικά φάρμακα που έχουν επίσημη άδεια για κλινική χρήση από την Διεύθυνση Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (Food and Drug Administration, FDA), (De Clercq 2004), τα 20 χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία του ιού της ανθρώπινης ανοσοποιητικής ανεπάρκειας (HIV). Κάποια από αυτά είναι η ζιδοβουδίνη (zidovudine), η διδανοσίνη (didanosine), η ζαλσιταβίνη (zalcitabine), η σταβουδίνη (stavudine), η λαμβιβουδίνη (lamivudine) και η αβακαβίρη (abacavir), τα οποία δρουν ως νουκλεοζιτικοί αναστολείς της αντίστροφης μεταγραφάσης (Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors, NRTIs). Νουκλεοζιτικά ανάλογα που χρησιμοποιούνται έναντι του ιού του απλού έρπητα (HSV) είναι η ακυκλοβίρη (acyclovir), η βαλακυκλοβίρη (valacyclovir), η φαμκυκλοβίρη (famciclovir), η μπριβουδίνη (brivudin), η πενσικλοβίρη (penciclovir), η ιδοξουριδίνη (idoxuridine) και η τριφλουριδίνη (trifluridine), ενώ τα τέσσερα πρώτα χρησιμοποιούνται και έναντι του ιού έρπητα ζωστήρα (varicella-zoster virus, VZV). Η γκανσικλοβίρη (ganciclovir), η βαλγκανσικλοβίρη (valganciclovir), και η σιδοφοβίρη (cidofovir) χρησιμοποιούνται έναντι του κυτταρομεγαλοϊού (HCMV) και έναντι του ιού της ηπατίτιδας C (HCV) χρησιμοποιείται η ιντερφερόνη-α σε συνδυασμό με τη ριμπαβίρη (ribavirin) (Σχήμα 7).



### Σχήμα 7. Δομές αντιϊκών νουκλεοζιτικών αναλόγων

Παρά τα επιτεύγματα αυτά, είναι συνεχής η ανάγκη σύνθεσης και ανακάλυψης νέων νουκλεοζιτικών αναλόγων, προκειμένου να αντιμετωπιστούν προβλήματα, όπως η τοξικότητα, η μη μεταβολική σταθερότητα, και επιπλέον η εμφάνιση ανθεκτικών ιικών στελεχών και κατ' επέκταση νεοεμφανιζόμενων ιικών ασθενειών.

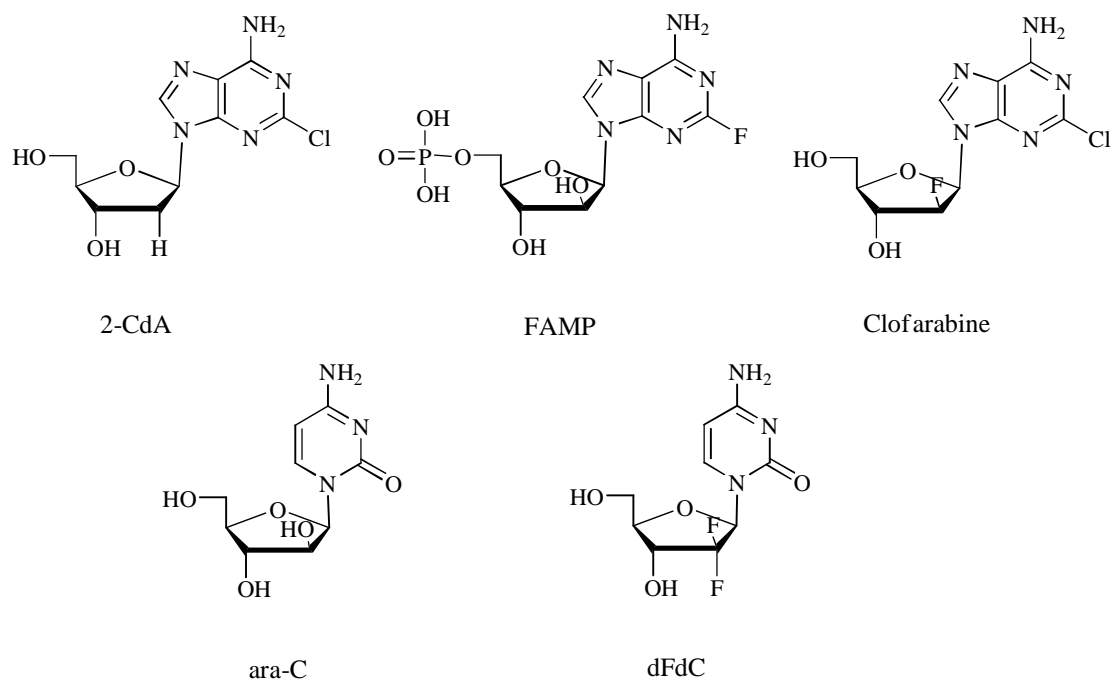
### 1.6 Αντικαρκινικά νουκλεοζιτικά ανάλογα

Ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων σ' έναν υγιή οργανισμό υπόκειται πάντα σε αυστηρές ρυθμίσεις, που επιτρέπουν στα κύτταρα να αυξηθούν, να διαφοροποιηθούν και να λειτουργήσουν αρμονικά. Οι μηχανισμοί, που ελέγχουν τις

ρυθμίσεις αυτές, περιλαμβάνουν ένα σύστημα χημικών μηνυμάτων με τη διαμεσολάβηση, για παράδειγμα, ορμονών και συγκεκριμένων μεμβρανικών υποδοχέων. Σε ορισμένες όμως περιπτώσεις, η ισορροπία αυτή διαταράσσεται και η μιτωτική διαίρεση ορισμένων κυττάρων συνεχίζεται ανεξέλεγκτα χωρίς να υπακούει σε περιοριστικούς κανόνες. Τα κύτταρα χάνουν τη διαφοροποιημένη μορφή τους και περνούν σε μια αδιαφοροποίητη κατάσταση. Το αποτέλεσμα είναι η δημιουργία όγκων ή καρκινωμάτων. Τα τελευταία χρόνια πλήθος ερευνητικών προγραμμάτων εστιάζεται στη μελέτη νέων φαρμάκων χημειοθεραπείας, τα οποία διαθέτουν αυξημένη δραστηριότητα, μειωμένη τοξικότητα, βελτιωμένο θεραπευτικό δείκτη και το σημαντικότερο όλων, ευρύ φάσμα δράσης. Νέες αντικαρκινικές ουσίες, οι οποίες έχουν μελετηθεί εντατικά, είναι οι νουκλεοζίτες και τα ανάλογά τους. Τα νουκλεοζιτικά ανάλογα αποτελούν μια σημαντική κατηγορία αντιμεταβολιτών και έχουν όμοια δομή με τους φυσιολογικούς μεταβολίτες που είναι απαραίτητοι για την δομή και τη λειτουργία του κυττάρου. Οι αντιμεταβολίτες μιμούμενοι τους φυσικούς νουκλεοζίτες παίρνουν μέρος στη σύνθεση του DNA με αποτέλεσμα, είτε την αναστολή του DNA, είτε την πρόκληση του τερματισμού της αλυσίδας. Επιπλέον, μερικοί από αυτούς, αναστέλλουν κάποια ένζυμα που παίρνουν μέρος στην παραγωγή των πουρινικών και πυριμιδινικών νουκλεοτιδίων, με αποτέλεσμα να οδηγείται το κύτταρο σε θάνατο. Η ικανότητα των νουκλεοζιτικών αναλόγων να ενεργοποιούν αποπτωτικούς μηχανισμούς (Ewald *et al*, 2008) σε ένα εύρος καρκινικών κυτταρικών σειρών αποδεικνύει περαιτέρω την χρησιμότητά τους, ως αντικαρκινικούς παράγοντες.

Τα αντικαρκινικά νουκλεοζιτικά φάρμακα περιλαμβάνουν ανάλογα των φυσιολογικών πουρινικών και πυριμιδινικών νουκλεοτιδίων. Από την κατηγορία των πουρινικών αναλόγων, τα δυο κυριότερα που χρησιμοποιούνται είναι η 2-χλωροδεοξυαδενοσίνη (2-CdA, cladribine) και η 5-μονοφωσφορική-αραβινο-2-φθορο-αδενίνη (FAMP, fludarabine). Αυτά τα δυο φάρμακα χρησιμοποιούνται κυρίως για την θεραπεία αιματολογικών κακοηθειών (Szafraniec *et al*, 2004). Επίσης, δεν θα μπορούσαμε να παραλείψουμε το ανάλογο της αδενοσίνης, την κλοφαραβίνη (clofarabine) που έχει εγκριθεί για τη θεραπεία ασθενών με οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία και λέμφωμα (Barba *et al*, 2012). Μεταξύ των διαθέσιμων αντικαρκινικών πυριμιδινικών αναλόγων, το ανάλογο της αραβινόζης της κυτοσίνης arabinoside (ara-C, cytarabine) είναι αυτό που χρησιμοποιείται κυρίως έναντι της οξείας λευχαιμίας,

καθώς επίσης και το ανάλογο της 2-διφθοροδεοξυκυτοσίνης (dFdC, gemcitabine) το οποίο επιδυνώνει δραστηριότητα σε ποικίλους καρκινικούς όγκους καθώς επίσης και έναντι των αιματολογικών κακοηθειών (Szafraniec *et al*, 2004) (Σχήμα 8).

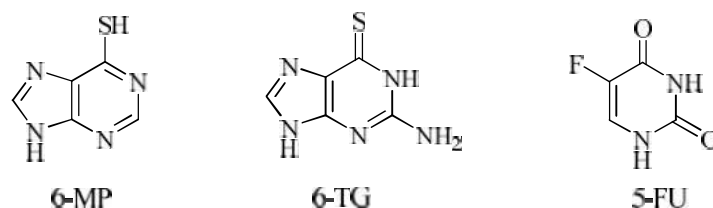


**Σχήμα 8. Δομές αντικαρκινικών νουκλεοζιτικών αναλόγων**

### **1.6.1 Αντικαρκινικά ανάλογα νουκλεοβάσεων**

Μια κατηγορία πουρινικών αντικαρκινικών αναλόγων των νουκλεοβάσεων αποτελούν οι θειοπουρίνες, η 6-θειογουανίνη (6-TG) και η 6-μερκαπτοπουρίνη (6-MP) (Walko 2009). Πρόκειται για αντιμεταβολίτες και είναι τα ανάλογα των φυσικών πουρινών υποξανθίνης και γουανίνης (Elion 1989), τα οποία μπορούν να ασκήσουν την κυτταροτοξική τους δράση παρεμβαίνοντας στο μεταβολισμό των πουρινών με αποτέλεσμα να αναστέλλουν τη σύνθεση του DNA και RNA. Αυτοί οι ανοσοκατασταλτικοί παράγοντες χρησιμοποιούνται στη θεραπεία της λευχαιμίας και των αυτοάνοσων διαταραχών, είναι αποτελεσματικοί 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).

Από την άλλη, στην κατηγορία των αντικαρκινικών αναλόγων των πυριμιδινικών νουκλεοβάσεων ανήκει η 5-φθοροουρακίλη (5-fluorouracil, 5FU), που είναι αναστολέας της συνθάσης του θυμιδικού (TS) (Parker και Cheng 1990, Pinedo και Peters 1988) και ανήκει στην κατηγορία των αντιμεταβολιτών. Αποτελεί το πρώτο ανάλογο της ουρακίλης έναντι της θεραπείας του καρκίνου από το 1960 (Heindelberger *et al*, 1983) και μέχρι σήμερα παραμένει ο ακρογωνιαίος λίθος για τη θεραπεία του καρκίνου του παχέος εντέρου (Σχήμα 9).



**Σχήμα 9. Δομές αντικαρκινικών αναλόγων νουκλεοβάσεων**

### **I.7 Αντιδιαβητικά νουκλεοζιτικά ανάλογα**

Ο Σακχαρώδης Διαβήτης (ΣΔ) είναι μία χρόνια πάθηση του μεταβολικού συστήματος που προκαλείται από κληρονομική ή/και επίκτητη ανεπάρκεια στην παραγωγή ινσουλίνης από το πάγκρεας ή από την αναποτελεσματικότητα της δράσης της παραγόμενης ινσουλίνης.

Ινσουλίνη ονομάζεται η ορμόνη που εκκρίνεται από το πάγκρεας και βοηθάει τη γλυκόζη, που κυκλοφορεί στο αίμα να εισέλθει στα κύτταρα του οργανισμού μας για να τα θρέψει. Όταν η ινσουλίνη απουσιάζει ή δεν επαρκεί, εμφανίζεται υπεργλυκαιμία, δηλαδή αυξημένα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα, τα οποία μπορεί να προκαλέσουν διάφορες παθολογικές καταστάσεις, που είναι γνωστές ως διαβητικές επιπλοκές. Ο Σακχαρώδης Διαβήτης διακρίνεται κυρίως σε τρεις μορφές: το διαβήτη κύησης, το διαβήτη τύπου 1 και το διαβήτη τύπου 2.

Ο σακχαρώδης διαβήτης κύησης, όπως φαίνεται και από την ονομασία του, εμφανίζεται σε έγκυες γυναίκες. Οι ορμόνες που παράγονται από το γυναικείο σώμα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης ανταγωνίζονται και περιορίζουν τη δράση της ινσουλίνης, οδηγώντας στην εμφάνιση υπεργλυκαιμίας, η οποία μπορεί να βλάψει τη



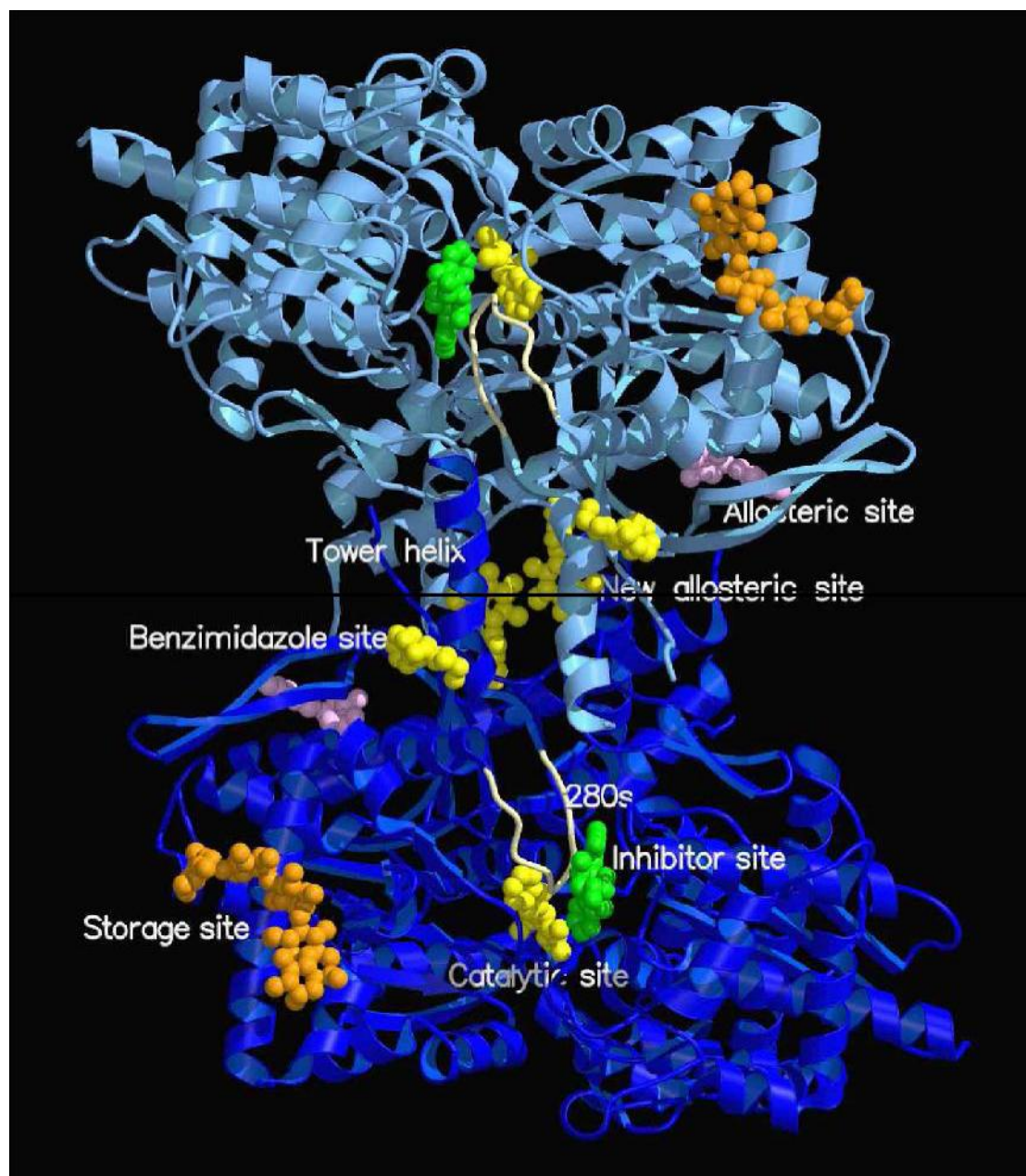
μητέρα και να επηρεάσει την ανάπτυξη του εμβρύου. Αν ο διαβήτης κύησης δεν γίνει αντιληπτός, υπάρχει κίνδυνος εμφάνισης επιπλοκών κατά τον τοκετό.

Ο Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 1 εμφανίζεται όταν τα β-κύτταρα του παγκρέατος δεν παράγουν καθόλου ή παράγουν ελάχιστες ποσότητες ινσουλίνης. Η διάγνωση συνήθως γίνεται σε ηλικία κάτω των 20 ετών, κυρίως κατά την έναρξη της εφηβείας και μέχρι σήμερα δεν έχει βρεθεί τρόπος να αποφευχθεί η εμφάνιση της νόσου. Για την αντιμετώπιση του απαιτούνται ενέσεις ινσουλίνης.

Ο Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2 είναι ο συνηθέστερος τύπος διαβήτη (περίπου 80% του συνόλου των ατόμων με διαβήτη πάσχουν από διαβήτη τύπου 2). Χαρακτηρίζεται από σχετική έλλειψη ινσουλίνης ή από τη μειωμένη δραστηριότητα της ινσουλίνης (ινσουλινοαντίσταση). Συνήθως εμφανίζεται σε άτομα ηλικίας άνω των 45 ετών, αλλά πλέον παρουσιάζεται και σε μικρότερες ηλικίες. Επειδή τα συμπτώματά του εμφανίζονται βραδέως, πολλές φορές δεν γίνεται αντιληπτός, με αποτέλεσμα πολλά άτομα να πάσχουν χωρίς να το γνωρίζουν. Ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση διαβήτη τύπου 2 τόσο σε ενήλικες όσο και σε παιδιά είναι η παχυσαρκία. Στον διαβήτη τύπου 2 στόχος της θεραπευτικής αντιμετώπισης είναι η εξάλειψη των συμπτωμάτων και η διατήρηση των τιμών της γλυκόζης στο αίμα εντός των φυσιολογικών ορίων με συγκεκριμένη διατροφή, άσκηση και χορήγηση υπογλυκαιμικών φαρμάκων, αν αυτά αποτύχουν, με χορήγηση ινσουλίνης. Ωστόσο, δεν έχουν πάντα ικανοποιητικά αποτελέσματα, έτσι το επιστημονικό ενδιαφέρον στράφηκε στην σύνθεση και ανακάλυψη νέων υπογλυκαιμικών φαρμάκων με σκοπό τον καλύτερο γλυκαιμικό έλεγχο με αποτέλεσμα την ελάττωση συχνότητας εμφάνισης της νόσου και των επιπλοκών της.

Η φωσφορυλάση του γλυκογόνου έχει συνδεθεί με τον διαβήτη τύπου 2, που δείχνει τη σημασία αυτού του στόχου για την ανθρώπινη υγεία. Ως εκ τούτου, η έρευνα για ισχυρούς και εκλεκτικούς αναστολείς του ενζύμου αυτού, το οποίο μπορεί να οδηγήσει σε αντιυπεργλυκαιμική θεραπεία, έχει λάβει ιδιαίτερη προσοχή. Η αναστολή της ηπατικής φωσφορυλάσης του γλυκογόνου, (GP, ένζυμο κλειδί που παίρνει μέρος στη γλυκογονόλυση), θεωρείται μία θεραπευτική στρατηγική για τον έλεγχο της γλυκόζης στο αίμα στο διαβήτη τύπου 2 (Treadway *et al*, 2001). Η GP είναι μία αλλοστερική πρωτεΐνη, η οποία βρίσκεται στους μύες, το ήπαρ και τον

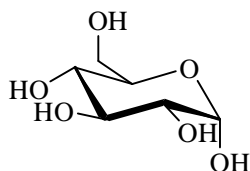
εγκέφαλο και υπάρχει σε δύο μορφές, την GPb (ανενεργός, T-διαμόρφωση) και την GPa (ενεργός, R-διαμόρφωση).



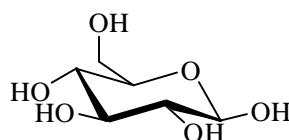
**Σχηματικό διάγραμμα 1.** Απεικόνιση της μυϊκής GPb όπου διαφαίνονται τόσο το καταλυτικό και το αλλοστερικό κέντρο, η περιοχή αποθήκευσης του γλυκογόνου, κέντρο αναστολής, το νέο αλλοστερικό κέντρο και η περιοχή πρόσδεσης για το βενζιμιδαζόλιο. Το καταλυτικό κέντρο, είναι καλυμένο στο κέντρο και είναι προσβάσιμο από το διαλύτη μέσω ενός καναλιού μήκους 15 Å. Πρόσδεση του βενζιμιδαζολίου ως ανταγωνιστικού αναστολέα προωθεί τη λιγότερο ενεργή κατάσταση T μέσω σταθεροποίησης της κλειστής θέσης του βρόχου 280s. Το

αλλοστερικό κέντρο, στο οποίο προσδένεται ο ενεργοποιητής AMP, βρίσκεται στην περιοχή μεταξύ των 2 υπομονάδων περίπου 30 Å από το καταλυτικό κέντρο. Το κέντρο αναστολής, το οποίο προσδένει πουρινικά μόρια όπως η καφεΐνη είναι τοποθετημένο στην επιφάνεια του ενζύμου, περίπου 12 Å από το καταλυτικό κέντρο εμποδίζοντας την είσοδο σε αυτό κατά την κατάσταση T. Το κέντρο αποθήκευσης του γλυκογόνου, βρίσκεται επίσης στην επιφάνεια του μορίου 30 Å από το καταλυτικό και 40 Å από το αλλοστερικό κέντρο, ενώ απέχει 50 Å από το νέο αλλοστερικό κέντρο του αναστολέα. Η νέα αλλοστερική περιοχή ή περιοχή πρόσδεσης ινδολίου, βρίσκεται εντός του κεντρικού τμήματος και σχηματίζεται κατά τη σύνδεση των 2 υπομονάδων μεταξύ τους. Προσδένονται δε σε αυτό, καρβοξαμινικά ανάλογα του ινδολίου, *N*-βενζοϋλο-*N'*-β-D-γλυκοπυρανοζυλουργίες καθώς και το βενζιμιδαζόλιο. Απέχει δε 31 Å από το καταλυτικό κέντρο, 32 Å από το αλλοστερικό κέντρο καθώς και το σημείο πρόσδεσης για το ινδόλιο.

Η GP καταλύει το πρώτο στάδιο της ενδοκυτταρικής αποικοδόμησης του γλυκογόνου προς 1-P-γλυκόζη. Η αναστολή της ενζυμικής δράσης της GP από τη γλυκόζη έχει φυσιολογική σημασία στο ήπαρ. Η γλυκόζη, ως φυσιολογικός ρυθμιστικός παράγοντας του μεταβολισμού του γλυκογόνου, προκαλεί αδρανοποίηση της GP (Stalmans *et al*, 1974, Hers 1976) και δρα συνεργιστικά με την ινσουλίνη (Witters και Avruch 1978, Hartmann *et al*, 1987). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ελάττωση της αποικοδόμησης και την παράλληλη αύξηση της σύνθεσης γλυκογόνου (που επιτυγχάνεται με τη δράση της γλυκογονικής συνθάσης, GS) (Oikonomakos, 2002). Η γλυκόζη αδρανοποιεί την φωσφορυλάση α ως ανταγωνιστικός αναστολέας και σταθεροποιεί την T-διαμόρφωση (λιγότερη δραστική μορφή) του ενζύμου (Monod 1965). Η υπόθεση ότι τα ανάλογα της γλυκόζης μπορεί να οδηγήσουν σε καλύτερα αποτελέσματα (μεγαλύτερη αναστολή έναντι της φωσφορυλάσης του γλυκογόνου) έχει αναφερθεί από τον Martin το 1991 (Martin *et al*, 1991). Το γεγονός αυτό οδήγησε την επιστημονική κοινότητα στον σχεδιασμό και την σύνθεση νέων αναλόγων παρόμοιας δομής με της γλυκόζης (Σχήμα 10) όπως τα N-γλυκοπυρανοζυλο παράγωγα πυριμιδίνης με σταθερά αναστολής  $K_i$  5.5- 6.1 μM και πουρίνης 170- 310 μM (Σχήμα 11) (Gimisis 2010 ).



$\alpha$ -D-glucose  
 $K_i = 1700 \mu\text{M}$



$\beta$ -D-glucose  
 $K_i = 7400 \mu\text{M}$

**Σχήμα 10.** Δομή της  $\alpha$ - και  $\beta$ -D-γλυκόζης με τις σταθερές αναστολής τους έναντι της RMGPb.

ΔΟΜΗ	$K_i (\mu\text{M})$
	310
	170
	6.1
	5.5
	7.7

**Σχήμα 11.** Αναστολή της RMGPb από πουρινικά και πυριμιδινικά ανάλογα της γλυκόζης.

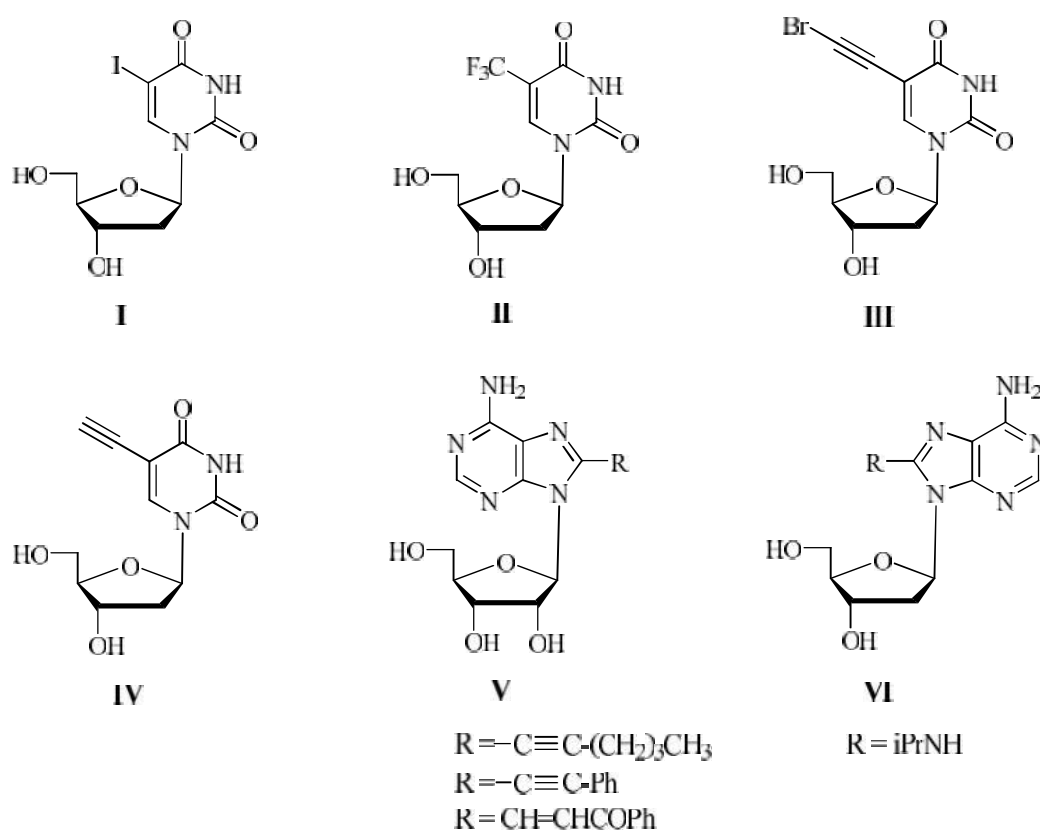
## 1.8 Φουρανονουκλεοζίτες

Οι έρευνες, που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα με στόχο τη δημιουργία νέων αποτελεσματικότερων φαρμάκων με αντιϊκή και αντικαρκινική δράση, αφορούν κυρίως στη χρήση νουκλεοζιτών αναλόγων που φέρουν έναν πενταμελή υδατανθρακικό δακτύλιο ως σάκχαρο (μια πεντόζη). Η σπουδαιότητα των πεντοζών αναγνωρίστηκε από τη στιγμή που η ριβόζη και η δεοξυριβόζη ταυτοποιήθηκαν ως συστατικά των νουκλεϊνικών οξέων. Όπως είναι ήδη γνωστό, όλοι οι νουκλεοζίτες στο DNA και RNA αποτελούνται από ένα *D*-πεντοφουρανοζικό δακτύλιο συνδεδεμένο με μία ετεροκυκλική νουκλεοβάση (πουρίνη ή πυριμιδίνη), μέσω ενός  $\beta$ -*N*-γλυκοζιτικού δεσμού (Saenger 1984, Blackburn και Gait 1996, Bloomfield *et al*, 1999). Δύο από τις κατηγορίες που έχουν προκαλέσει το ενδιαφέρον στην επιστημονική κοινότητα τα τελευταία χρόνια για την μελέτη των φουρανονουκλεοζιτικών αναλόγων αποτελούν οι πυριμιδινικοί και οι πουρινικοί φουρανονουκλεοζίτες καθώς και οι θείο-φουρανονουκλεοζίτες, λόγω της βιολογικής τους δράσης.

### 1.8.1 Πυριμιδινικοί και Πουρινικοί Φουρανονουκλεοζίτες

Τα φουρανονουκλεοζιτικά ανάλογα που φέρουν τροποποιήσεις στο τμήμα των νουκλεοβάσεων αποτελούν αντικείμενο μελέτης, λόγω των βιολογικών ιδιοτήτων τους ως αντιϊκοί και αντικαρκινικοί παράγοντες (Manta *et al*, 2014, Herdewijn 2008). Έχει αναφερθεί ότι η πιο κατάλληλη θέση για υποκατάσταση με διάφορες λειτουργικές ομάδες σε μια πυριμιδινική βάση είναι η C5 (Sági *et al*, 1993, Froehler *et al*, 1992) διότι οι C5-υποκατεστημένες πυριμιδίνες συχνά επιδεικνύουν ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες (Mitsuya και Broder 1987, Dryer *et al*, 1981, Goodwin *et al*, 1993). Μερικά πυριμιδινικά ανάλογα που χρησιμοποιούνται εδώ και αρκετά χρόνια ως αντιϊκοί παράγοντες είναι η 5-ιωδο-2'-δεοξουριδίνη και η 5-τριφθορομεθυλο-2'-δεοξουριδίνη (Cerman *et al*, 1964, Béres *et al*, 1986, Brulíkova *et al*, 2011). Η 5-βρομοαιθυνο-ουριδίνη έχει σημαντικές αντι-HCV ιδιότητες, ενώ η 5-αιθυνο-2'-δεοξουριδίνη επέδειξε αντιπολλαπλασιαστική δράση έναντι ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του μαστού, υπερβαίνοντας την δράση της σισπλατίνης και της 5-φθοροουρακίλης (Meneni *et al*, 2007, Escuret *et al*, 2005).

Παράλληλα η τροποποίηση στην 8-θέση μιας πουρινικής βάσης έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, δεδομένου ότι θα μπορούσε να επηρεάσει τη *syn/anti* διαμόρφωση της πουρίνης, η οποία με τη σειρά της θα μπορούσε να προκαλέσει σημαντικές αλλαγές στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των υποστρωμάτων και των ενεργών κέντρων διαφόρων ενζύμων ή υποδοχέων (Mamos *et al*, 1992). Παρά το γεγονός ότι, δεν έχει γίνει εκτεταμένη έρευνα προς την κατεύθυνση της σύνθεσης των C8-τροποποιημένων πουρινικών νουκλεοζιτικών αναλόγων, έχουν αναφερθεί ορισμένες περιπτώσεις με ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες, όπως οι 8-αλκυνολο-αδενοσίνες, που αποδείχτηκαν εκλεκτικοί προσδέτες για τον A3 υποδοχέα της αδενοσίνης και συμπεριφέρονται ως ανταγωνιστές της αδενοσίνης (Volpini *et al*, 2001) καθώς επίσης και οι C8-τροποποιημένες 2'-δεοξυ αδενοσίνες, οι οποίες ευθύνονται για την καθυστέρηση τερματισμού της αλυσίδας *in vitro* με αποτέλεσμα την αναστολή της σύνθεσης του DNA (Vivet-Boudou *et al*, 2011) (Σχήμα 12).



**Σχήμα 12.** Δομές πυριμιδινικών και πουρινικών νουκλεοζιτικών αναλόγων

### 1.8.2 Θείο-Φουρανονουκλεοζίτες

Παραπάνω από μισό αιώνα οι θειοπουρίνες έχουν τη φήμη αποτελεσματικών αντικαρκινικών και ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων (Fotoohi *et al*, 2010). Η 6-μερκαπτοπουρίνη και η 6-θειογουανίνη που είναι τα ανάλογα των φυσικών πουρινών υποξανθίνης και γουανίνης, είναι θειοπουρινικοί αντιμεταβολίτες, που αναστέλλουν τη σύνθεση του DNA με την ενσωμάτωση εσφαλμένων βάσεων (νουκλεοτίδια θειογουανίνης) (Walko *et al*, 2009). Συντέθηκαν για πρώτη φορά το 1951 από τον Elion (Elion *et al*, 1951), αντικαθιστώντας το άτομο οξυγόνου (O) του άνθρακα 6 της υποξανθίνης ή της γουανίνης με ένα άτομο θείου (S). Οι θειοπουρίνες χρησιμοποιούνται ευρέως για τη θεραπεία της οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας και έναντι αυτοάνοσων διαταραχών (π.χ., νόσος του Crohn και ρευματοειδή αρθρίτιδα) (Karran *et al*, 2006, Mcleod *et al*, 1999, Relling *et al*, 1999). Οι θειοπουρίνες είναι ανενεργά προφάρμακα, όπου μεταβολίζονται ενδοκυτταρικά στις ενεργές τριφωσφορικές τους δομές, για να δράσουν. Οι θειοπουρίνες υφίστανται θείο-μεθυλίωση, καταλυόμενη από την θειοπουρινική μεθυλοτρανσφεράση (TPMT)- ένα σημαντικό ένζυμο στο μεταβολισμό των θειοπουρινικών φαρμάκων- σε μεθυλομερκαπτοπουρίνη ή οξειδωση σε θειουρικό οξύ μέσω της οξειδάσης της ξανθίνης (XO) (Ho *et al*, 2004). Παλαιότερες μελέτες έδειξαν ότι αρκετά θειοπουρινικά νουκλεοζιτικά ανάλογα έχουν αντικαρκινικές ιδιότητες. Μερικά παραδείγματα αποτελούν η 2'-δεοξυριβόζη της μερκαπτοπουρίνης και της θειογουανίνης όπου αποδείχθηκαν αποτελεσματικές έναντι του σαρκώματος 180 και Nakahara - Fukuoaka σάρκωμα σε ποντικούς, και ανέστειλαν επίσης την ανάπτυξη των ανθρώπινων λεμφοβλαστοειδών κυττάρων WI -L2 (Saneyoshi *et al*, 1980, Acton *et al*, 1979) (Σχήμα 13).

#### Σχήμα 13. Δομές θείο-πουρινικών νουκλεοζιτικών αναλόγων

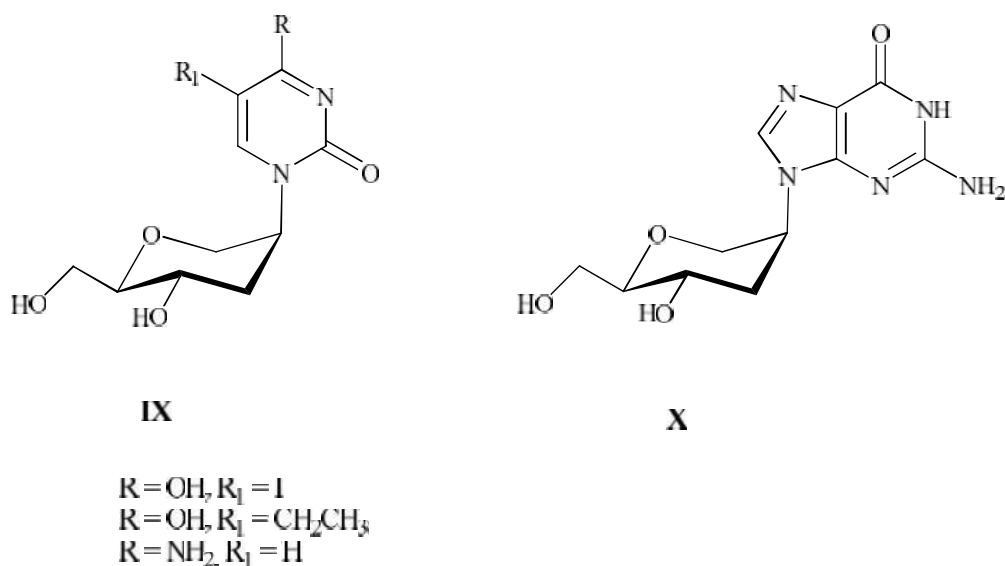
## 1.9 Πυρανονουκλεοζίτες

Οι έρευνες, που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα με στόχο τη δημιουργία φαρμάκων με αντιϊκή και αντικαρκινική δράση, αφορούσαν κυρίως στη χρήση νουκλεοζιτικών αναλόγων, που έχουν ως σάκχαρο μία πεντόζη και φέρουν τη β-απεικόνιση. Ωστόσο, από τη χρήση των φουρανονουκλεοζιτικών αναλόγων προέκυψαν ορισμένα προβλήματα, όπως ο ανεπαρκής μεταβολισμός προς τις τριφωσφορικές ενεργές τους δομές, η χημική ή ενζυματική απενεργοποίησή τους, η υψηλή τοξικότητα, η εμφάνιση νέων ανθεκτικών ιών και όγκων και τέλος ο μικρός χρόνος ημιζωής και κατά συνέπεια χρόνος δράσης τους. Έτσι το επιστημονικό ενδιαφέρον στράφηκε στη μελέτη νέων κατηγοριών νουκλεοζιτικών αναλόγων με αντικαρκινική και αντιϊκή δράση, μια από τις κατηγορίες αυτές αποτελούν τα νουκλεοζιτικά ανάλογα, που φέρουν ως σάκχαρο μια εξόζη.

Τα τελευταία χρόνια νουκλεοζιτικά ανάλογα με εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο έχουν αξιολογηθεί για τις πιθανές αντιϊκές (Verheggen *et al*, 1993, Verheggen *et al*, 1995, Maurinsh *et al*, 1997, Ostrowski *et al*, 1998), αντικαρκινικές (Antonakis *et al*, 1989) και αντιβιοτικές τους ιδιότητες (Haouz *et al*, 2003), καθώς και ως δομικές μονάδες στη σύνθεση νουκλεϊκών οξέων (Vastmans *et al*, 2000, Vastmans *et al*, 2001). Μάλιστα νουκλεοζιτικά ανάλογα με σάκχαρο μια εξόζη έδειξαν αντίσταση στην υδρόλυση, καθώς το σπάσιμο του γλυκοζιτικού δεσμού είναι ένα συνηθισμένο μονοπάτι αποικοδόμησης των αντιϊκών νουκλεοζιτών, ιδιαίτερα των 2',3'-διδεοξυνουκλεοζιτών (Nair *et al*, 1990). Τα πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα διαθέτουν λοιπόν αυξημένη σταθερότητα, μεγαλύτερο χρόνο ημιζωής, άρα και εν δυνάμει περισσότερο χρόνο δράσης.

Από μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα (Σχήμα 14), διαπιστώθηκε ότι, τα ανάλογα της 5-ιωδοουρακίλης και 5-αιθυλοουρακίλης εμφανίζουν υψηλή εκλεκτικότητα για το ένζυμο της κινάσης της θυμιδίνης και αποτελούν αναστολείς του ιού HSV-1 και HSV-2, ενώ τα ανάλογα της κυτοσίνης και της γουανίνης είναι δραστικά έναντι και άλλων ερπητοϊών, όπως του ιού VZV και του ιού HCMV (Verheggen *et al*, 1993, Verheggen *et al*, 1995).



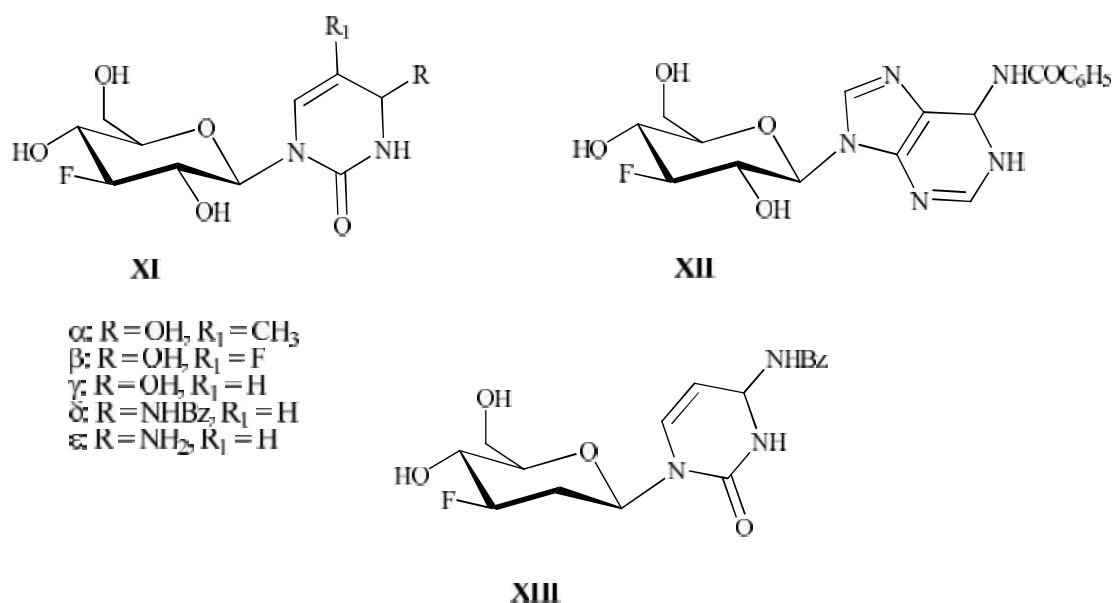


### Σχήμα 14

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η εισαγωγή ενός φθορίου είτε στο τμήμα του σακχάρου είτε στη νουκλεοβάση των φουρανονουκλεοζιτών, οδηγεί σε ενώσεις, οι οποίες διαθέτουν ένα ευρύ φάσμα αντιϊκών και αντικαρκινικών ιδιοτήτων (Herdewijn *et al*, 1989, Tsuchiya 1990, Ternansky *et al*, 1993, Pankiewicz 2000). Έτσι, νέοι φθοριωμένοι πυρανονουκλεοζίτες έχουν συντεθεί και μελετηθεί τόσο για τις βιολογικές τους ιδιότητες, ως αντιϊκοί και αντικαρκινικοί παράγοντες όσο και για τη δράση τους σε μοριακό επίπεδο. Η εισαγωγή του ηλεκτραρνητικού ατόμου φθορίου στον εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο οδήγησε σε μια νέα σειρά φθοριωμένων πυρανονουκλεοζιτών αναλόγων **XIa-δ** και **XII** (Σχήμα 15). Αυτά επέδειξαν σημαντική δράση σε μοριακό επίπεδο ως αναστολείς του ενζύμου της πολυ(Α)-εξειδικευμένης ριβονουκλεάσης (PARN), ένα σημαντικό ένζυμο-κλειδί στην αποικοδόμηση του mRNA μέσω της βράχυνσης της πολυ(Α) ουράς του (Balatsos *et al*, 2009, Balatsos *et al*, 2012). Κινητικά πειράματα απέδειξαν ότι οι φθορογλυκοπυρανονουκλεοζίτες αναστέλλουν το ένζυμο της PARN σε χαμηλές συγκεντρώσεις, με τον νουκλεοζίτη της ουρακίλης **XIγ** να αποτελεί τον πλέον αποτελεσματικό αναστολέα. Οι ενώσεις που εξετάστηκαν και αναστέλλουν αποτελεσματικά το ένζυμο της PARN, μπορούν πιθανότατα να έχουν φαρμακευτικές εφαρμογές στη ρύθμιση της αποικοδόμησης του mRNA, κυρίως σε περιπτώσεις από-ρυθμιζόμενων (καρκινικών) κυτταρικών σειρών (Balatsos *et al*, 2012).

Επιπλέον οι πυριμιδινικοί φθοριωμένοι πυρανονουκλεοζίτες (ενώσεις **XIβ-ε**, **XIII**, Σχήμα 15) επιδεικνύουν σημαντική δράση ως ανταγωνιστικοί αναστολείς της

φωσφορυλάσης του μυϊκού γλυκογόνου (GP) (Tsirkone *et al*, 2010). Οι συγκεκριμένες μελέτες είναι αρκετά σημαντικές καθώς η GP -όπως προαναφέρθηκε- είναι ένα ένζυμο με κεντρικό ρόλο στον καταβολισμό του γλυκογόνου και θεωρείται ένας αρκετά υποσχόμενος μοριακός στόχος για το σχεδιασμό αναστολέων που θα επιτρέψουν το βελτιωμένο γλυκαιμικό έλεγχο στο διαβήτη τύπου 2.



**Σχήμα 15**

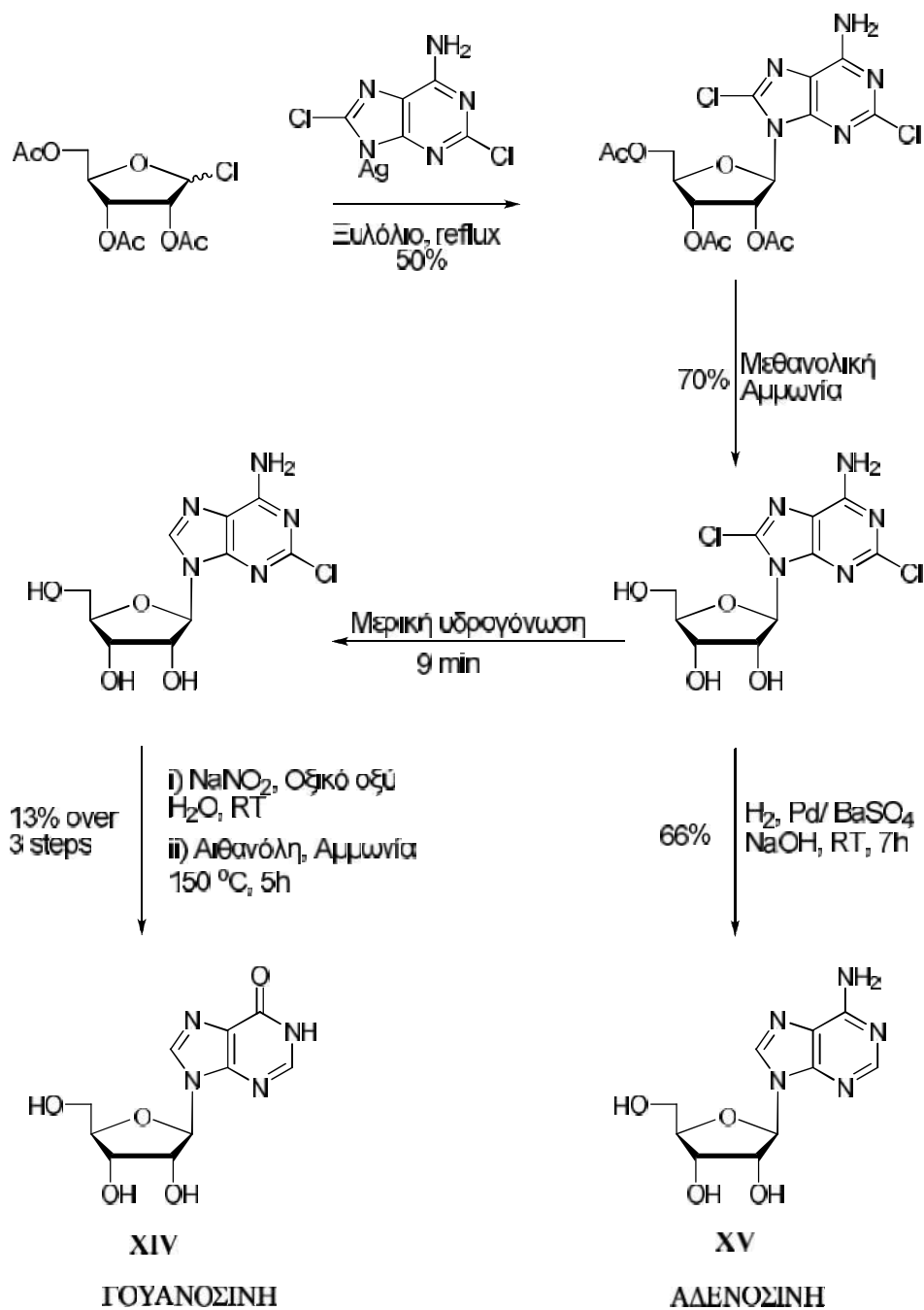
### **I.10 Σύνθεση νουκλεοζιτικών αναλόγων**

Εδώ και μισό αιώνα είναι γνωστή η σύνθεση νουκλεοζιτικών αναλόγων με ένα C-N γλυκοζιτικό δεσμό (Michelson 1963, Dekker και Goodman 1970, Goodman 1974, Walker 1979) με διάφορα αντιπροσωπευτικά παραδείγματα όλων των τύπων των χημικών διαδικασιών σύζευξης. Αναλυτικότερα, η σύνθεση των νουκλεοζιτικών αναλόγων περιλαμβάνει τη σύζευξη μιας πυρινόφιλης πυριμιδίνης, πουρίνης, ή άλλης ετεροκυκλικής βάσης με ένα παράγωγο της ριβόζης, που είναι ηλεκτρονιόφιλο στον ανωμερικό άνθρακα με τον σχηματισμό ενός *N*-γλυκοζιτικού δεσμού (βασικά ζητήματα αποτελούν i) η τοποεκλεκτική υποκατασταση της βάσης και ii) η αναλογία α:β ανωμερών). Η αντίδραση μπορεί να οδηγήσει σε -α ή β- νουκλεοζιτικά ανάλογα και επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από την ομάδα που συνδέεται στο C2' του σακχάρου. Όταν στον C2' υπάρχει μια ακετύλο ή βενζυόλο ομάδα, είναι σε θέση να

σταθεροποιήσει το ενδιάμεσο καρβοκατιόν που σχηματίζεται και οδηγούμαστε στη λήψη του β-ανωμερούς νουκλεοζιτικού αναλόγου, (σημασία της συμμετοχής των γειτονικών ομάδων μεταξύ  $C1'$  και  $C2'$ ), οπότε η βάση περιορίζεται να αντιδράσει από την β πάνω όψη του υδατανθρακικού δακτυλίου (ακολουθεί τον 1,2 trans κανόνα του Baker) (Baker 1957). Στην περίπτωση της σύνθεσης των νουκλεοζιτικών αναλόγων από την δεοξυριβόζη είναι πιο δύσκολο να επιτευχθεί η στερεοεπιλεκτική σύνθεση του β-ανωμερούς, λόγω της απουσίας της προστατευτικής ομάδας στον  $C2'$ .

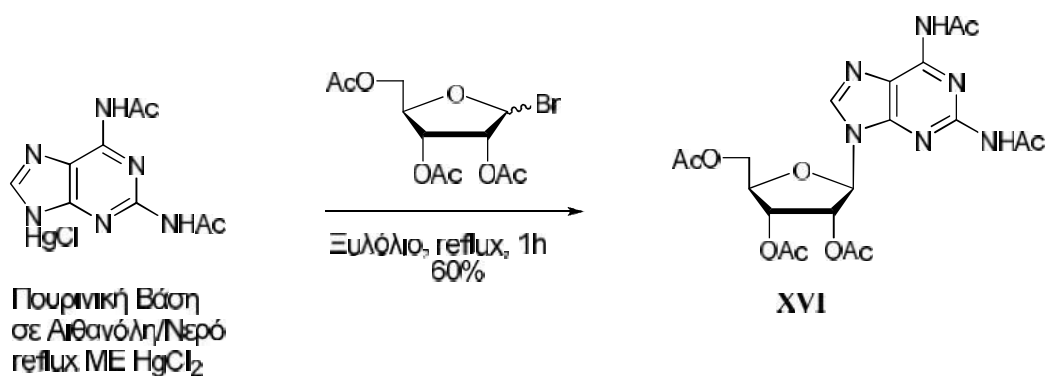
Πέντε γενικές μέθοδοι έχουν χρησιμοποιηθεί για την σύνθεση νουκλεοζιτικών αναλόγων από πυρηνόφιλες βάσεις και ηλεκτρονιόφιλα σάκχαρα: α) η σύζευξη μεταλλικών αλάτων με ένα  $C1'$  αλογονωμένο σάκχαρο, β) η Fushion σύνθεση, γ) η Hilbert-Jonhson αντίδραση, δ) η μέθοδος Vorbrüggen και ε) η ηλεκτρονιόφιλη προσθήκη σε μια γλυκάλη (glycal).

Η πρώτη σύνθεση νουκλεοζιτικών αναλόγων (αδενοσίνης και γουανοσίνης) επιτεύχθηκε με την μέθοδο Fisher-Helferich (Fisher και Helferich 1914) μέσω της σύζευξης αλάτων Ag και Hg(II) ετεροκυκλικών βάσεων με αλογονωμένα σάκχαρα. Η μέθοδος της αντίδρασης αυτής περιλαμβάνει μια πυρινόφιλη υποκατάσταση τύπου  $S_N2$ , του αλογόνου (Cl ή Br) ενός σακχάρου από το μεταλλικό άλας της νουκλεοβάσης (Σχήμα 16).



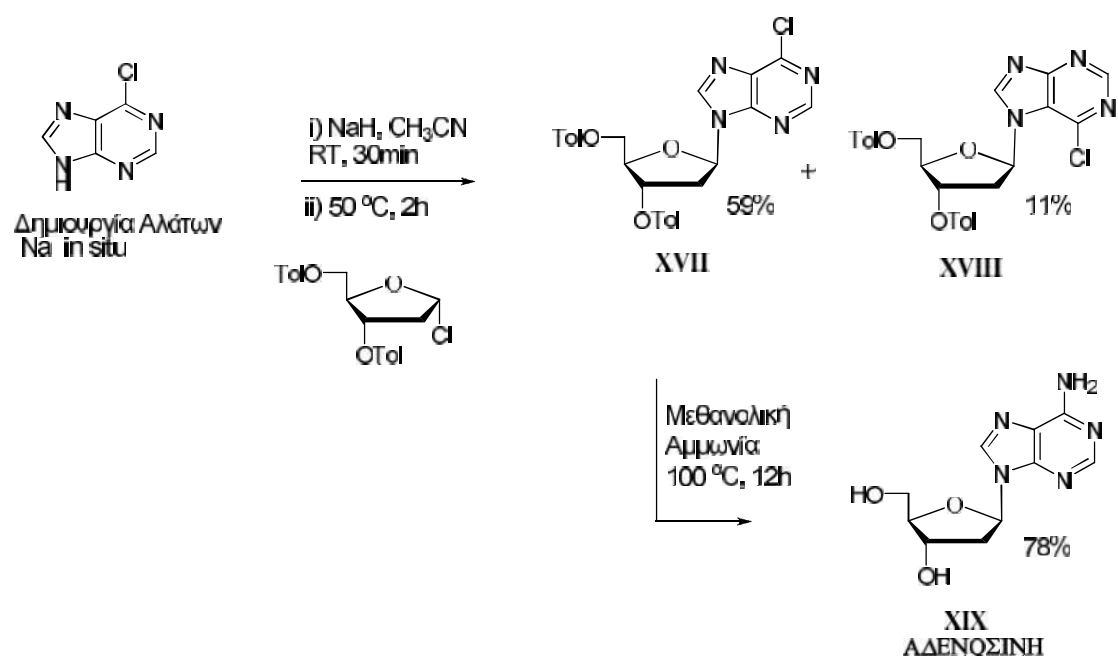
## Σχήμα 16

Με τη χρήση αλάτων του Hg(II) στην νουκλεοβάση παρατηρήθηκε ότι η απόδοση του νουκλεοζιτικού αναλόγου αυξάνεται σε σχέση με την χρήση των αλάτων Ag (Davoll 1951) (XVI, Σχήμα 17).



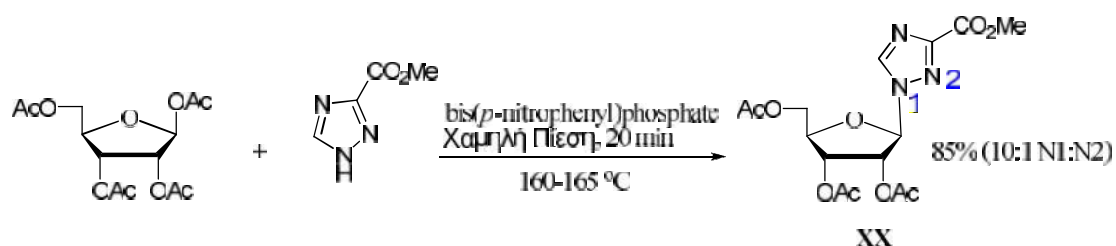
### Σχήμα 17

Αργότερα παρατηρήθηκε ότι, η αντικατάσταση των βαρέων μετάλλων από άλατα νατρίου (λιγότερα τοξικά και πιο οικονομικά), οδήγησε στην λήψη νουκλεοζιτικών παραγώγων με ακόμα μεγαλύτερες αποδόσεις (Kazimierczuk *et al*, 1984) (Σχήμα 18).



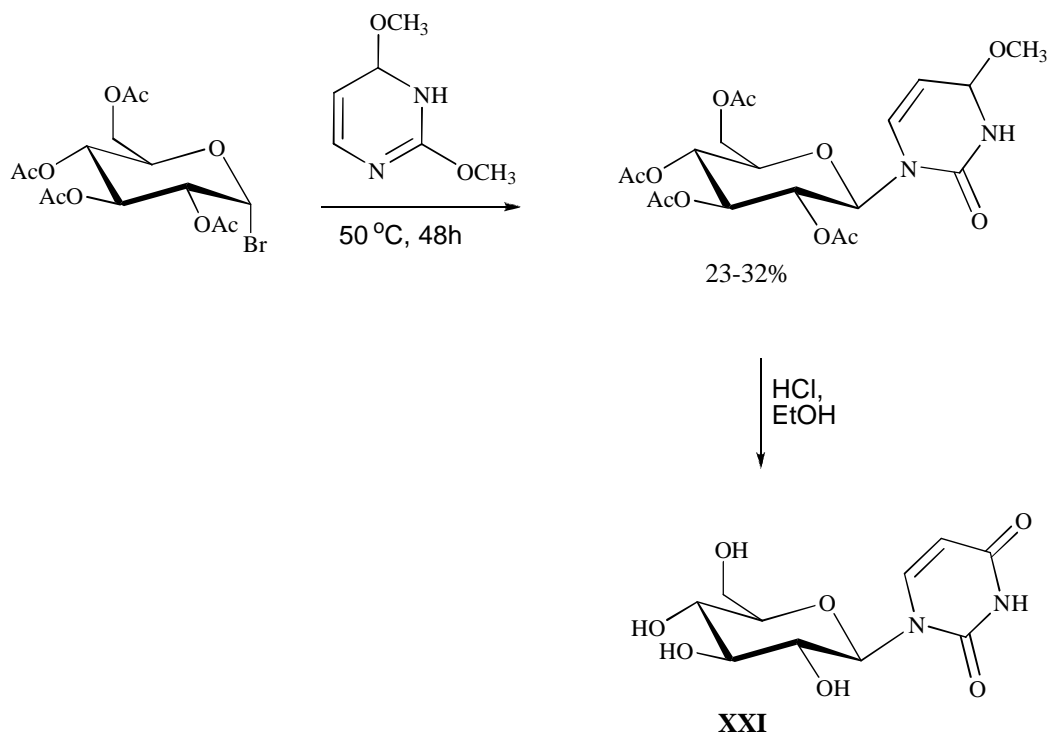
### Σχήμα 18

Η Fushion σύνθεση (Witkowski *et al*, 1972) λαμβάνει χώρα σε υψηλή θερμοκρασία με ένα ακετυλιωμένο σάκχαρο, την βάση και ένα οξύ κατά Lewis (XX, Σχήμα 19) (χρησιμοποιείται για την σύνθεση του ribavirin).



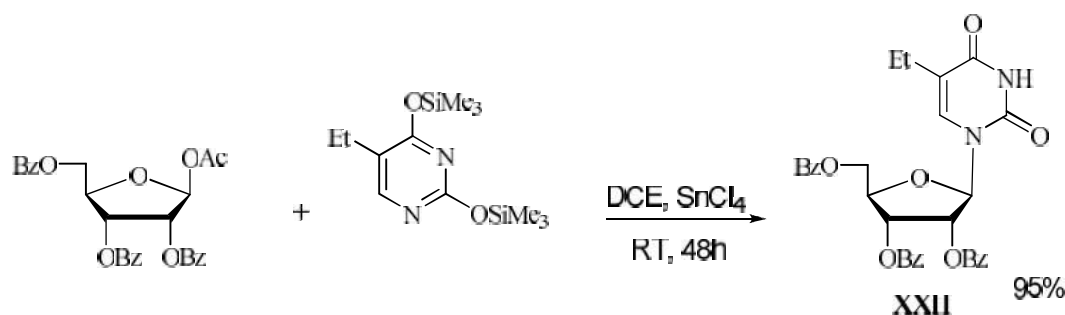
Σχήμα 19

Μία ακόμη μέθοδος σύνθεσης νουκλεοζιτών είναι και η Hilbert-Jonhson αντίδραση με αλκοξυ πυριμιδίνες. Αυτή η μέθοδος έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για τη σύνθεση πυριμιδινικών νουκλεοζιτικών αναλόγων και έχει βελτιωθεί σημαντικά από την αρχική έρευνα. Ένα τυπικό παράδειγμα αυτής της μεθόδου είναι η συμπύκνωση της 2,4-δι-αλκοξυπυριμιδίνης με το αλογονοσάκχαρο και με την παρουσία ενός οξέος κατά Lewis για να δώσει το *N*-1-πυριμιδινικό νουκλεοζιτικό ανάλογο της ουρακίλης (Johnson και Hilbert 1929, Hilbert και Johnson 1930) (XXI, Σχήμα 20).



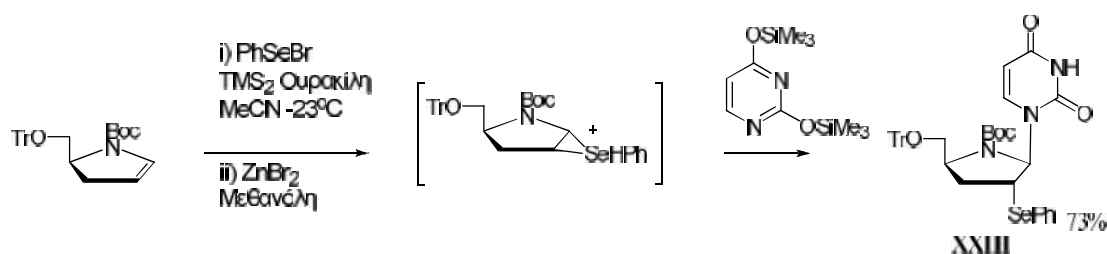
Σχήμα 20

Η μέθοδος Vorbrüggen αποτελεί μια τροποποιημένη Hilbert-Johnson αντίδραση (Vorbrüggen 1970). Είναι η πιο κοινή μέθοδος για την σύνθεση νουκλεοζιτικών αναλόγων. Πραγματοποιείται με την παρουσία ενός Friedel-Crafts καταλύτη όπως  $\text{SnCl}_4$ ,  $\text{ZnCl}_2$  και  $\text{Me}_3\text{SiSO}_3\text{CF}_3$  με σιλίλο-προστατευμένες νουκλεοβάσεις, σε ήπιες συνθήκες (συνήθως θερμοκρασία περιβάλλοντος) και ακετυλιωμένα σάκχαρα. Ο μηχανισμός της αντίδρασης αρχίζει με το σχηματισμό του ενδιάμεσου κυκλικού καρβοκατιόντος και συνεχίζει με την πυρηνόφιλη επίθεση στην ανωμερική θέση του σακχάρου, από το πιο πυρηνόφιλο άζωτο ( $N1$ ) της νουκλεοβάσης, αποδίδοντας τον επιθυμητό β-νουκλεοζίτη (XXII, Σχήμα 21).



Σχήμα 21

Η ηλεκτρονιόφιλη προσθήκη σε μια γλυκάλη (Costenaro *et al*, 2001) πραγματοποιείται με την ενεργοποίηση της γλυκάλης παρουσία ενός ηλεκτρονιόφιλου αντιδραστήριου όπως I, S, Se και ακολουθεί η πυρηνόφιλη προσβολή μιας σιλυλιωμένης βάσης στο σάκχαρο (Σχήμα 22).



Σχήμα 22

### I.11 Στόχοι της παρούσας διατριβής

Η ανάγκη, για την εύρεση νέων φαρμακευτικών ουσιών με αυξημένη βιολογική δράση, ελαττωμένη τοξικότητα και λιγότερες ανοσοκατασταλτικές παρενέργειες, καθώς και η ραγδαία και συνεχής ανάπτυξη της φαρμακολογίας και της φαρμακευτικής χημείας επέτρεψε τη μελέτη, τη σύνθεση και την προώθηση στην αγορά, πληθώρας φαρμάκων, που περιέχουν ως δραστική ουσία κάποιο νουκλεοζιτικό ανάλογο. Όπως ήδη είναι γνωστό στην επιστημονική κοινότητα, εκτεταμένες μετατροπές έχουν γίνει τόσο στην ετεροκυκλική βάση όσο και στο τμήμα του σακχάρου για την σύνθεση νέων αποτελεσματικών νουκλεοζιτικών αναλόγων με βελτιωμένη βιολογική δράση. Το ερευνητικό ενδιαφέρον της παρούσας διατριβής εστιάζεται στη σύνθεση και την βιολογική αποτίμηση νέων τροποποιημένων στην ετεροκυκλική βάση πυρανονουκλεοζιτών αναλόγων.

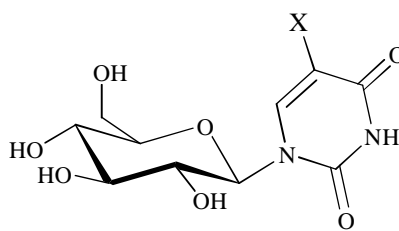
Ο σχεδιασμός των μορίων, τα οποία συντέθηκαν στη συγκεκριμένη διατριβή, βασίστηκε στα παρακάτω δεδομένα:

- Τα τροποποιημένα νουκλεοζιτικά ανάλογα με εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο έχουν επιδείξει σημαντική αντικαρκινική, αντιϊκή, αντιβιοτική και αντιοξειδωτική δράση.
- Η 6-μερκαπτοπουρίνη και η 6-θειογουανίνη έχουν ενδιαφέρουσα φαρμακολογική δράση.
- Οι C5-υποκατεστημένοι νουκλεοζίτες πυριμιδίνης και οι C8-υποκατεστημένοι νουκλεοζίτες πουρίνης έχουν ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες (αντιϊκές και αντικαρκινικές).
- Η γουανίνη και η αδενίνη συμμετέχουν σε ένα μεγάλο αριθμό βιολογικών διεργασιών.

Οι νέες σειρές τροποποιημένων στην ετεροκυκλική βάση πυρανονουκλεοζιτών αναλόγων που συντέθηκαν και αποτιμήθηκαν βιολογικά στην παρούσα διατριβή είναι:

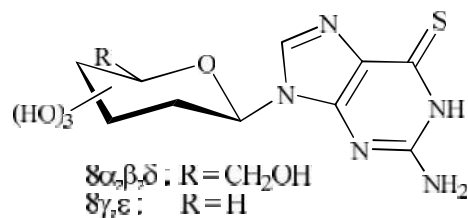
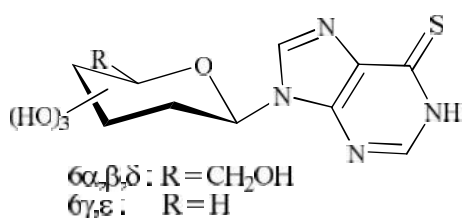
1. Υποκατεστημένοι C5-αλογονομένοι πυρανονουκλεοζίτες της ουρακίλης που φέρουν τη γλυκόζη ως υδατανθρακικό δακτύλιο.





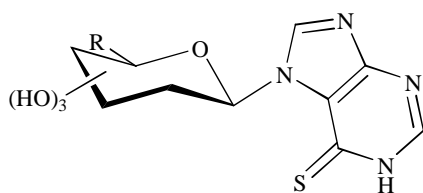
$3\alpha$ : X = I  
 $\beta$ : X = F  
 $\gamma$ : X = Cl  
 $\delta$ : X = Br  
 $\epsilon$ : X = H  
 $\sigma\tau$ : X = CF<sub>3</sub>

2. Θειοπουρινικά πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα που φέρουν πέντε διαφορετικούς υδατανθρακικούς δακτυλίους: γλυκόζη ( $\alpha$ ), γαλακτόζη ( $\beta$ ), ξυλόζη ( $\gamma$ ), μαννόζη ( $\delta$ ) και λυξόζη ( $\epsilon$ ).

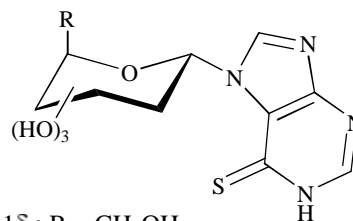


$4\alpha$ : AcGlc  
 $4\beta$ : AcGal  
 $4\gamma$ : AcXyl  
 $4\delta$ : AcMan  
 $4\epsilon$ : AcLyx

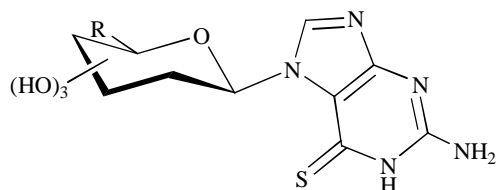
*N*-9 ισομερή



11 $\alpha,\beta$ : R = CH<sub>2</sub>OH  
11 $\gamma$ : R = H

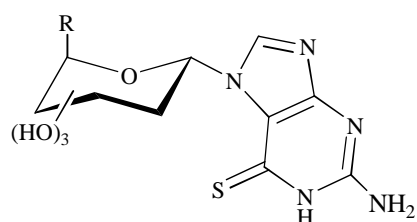


11 $\delta$ : R = CH<sub>2</sub>OH  
11 $\epsilon$ : R = H



14 $\alpha,\beta$ : R = CH<sub>2</sub>OH  
14 $\gamma$ : R = H

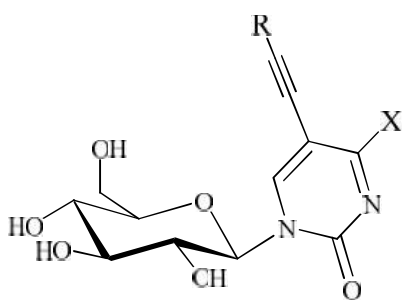
4 $\alpha$ : AcGlc  
4 $\beta$ : AcGal  
4 $\gamma$ : AcXyl  
4 $\delta$ : AcMan  
4 $\epsilon$ : AcLyx



14 $\delta$ : R = CH<sub>2</sub>OH  
14 $\epsilon$ : R = H

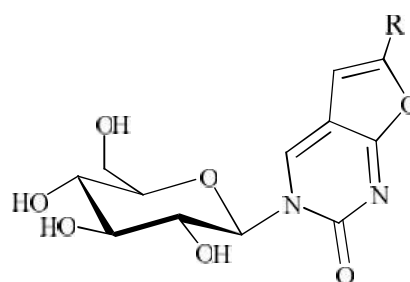
### N-7 ισομερή

3. Νέοι C5-υποκατεστημένοι πυρανονουκλεοζίτες της ουρακίλης και της κυτοσίνης.

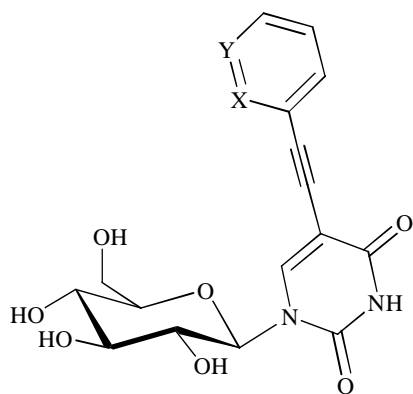


$\alpha$ : X = OH  
 $\zeta$ : X = NH<sub>2</sub>

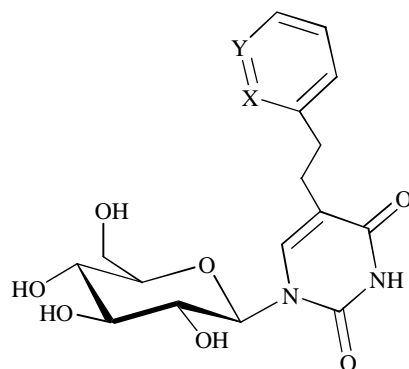
15R = C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>  
16R = C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>  
17R = Ph  
18R = *p*-CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>  
19R = *p*-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>  
20R = Me<sub>3</sub>Si  
21R = H



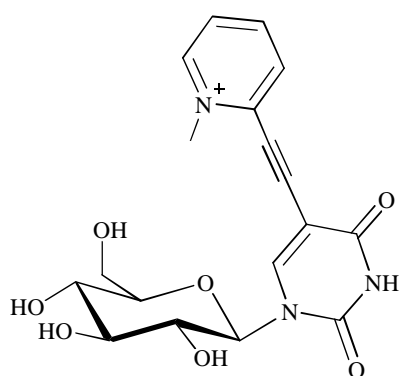
22 $\alpha$ : R = C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>  
23 $\alpha$ : R = C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>



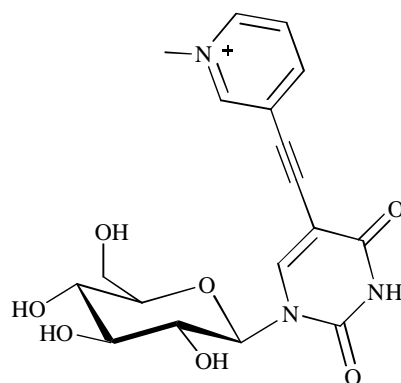
17α: X = C, Y = C  
 28: X = N, Y = C  
 29: X = C, Y = N



29: X = C, Y = C  
 30: X = N, Y = C  
 31: X = C, Y = N

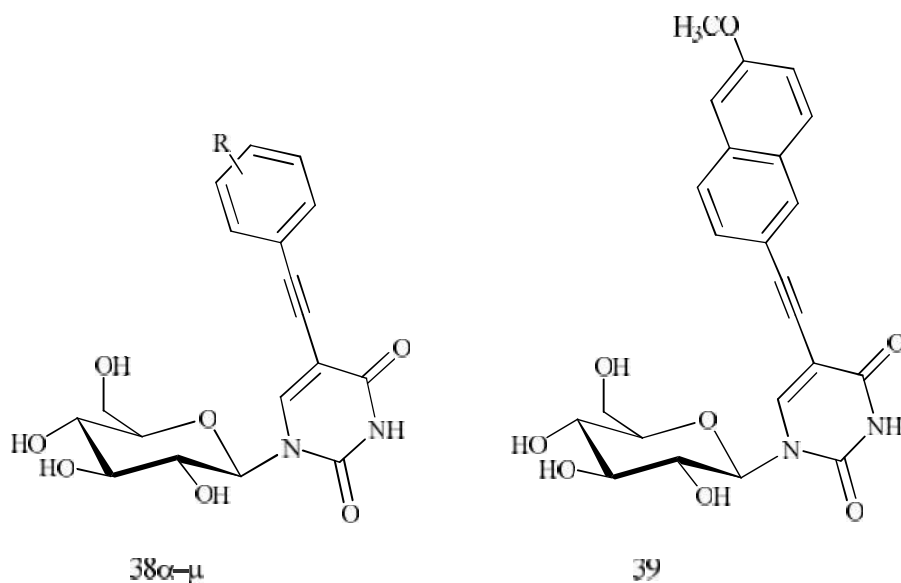


33



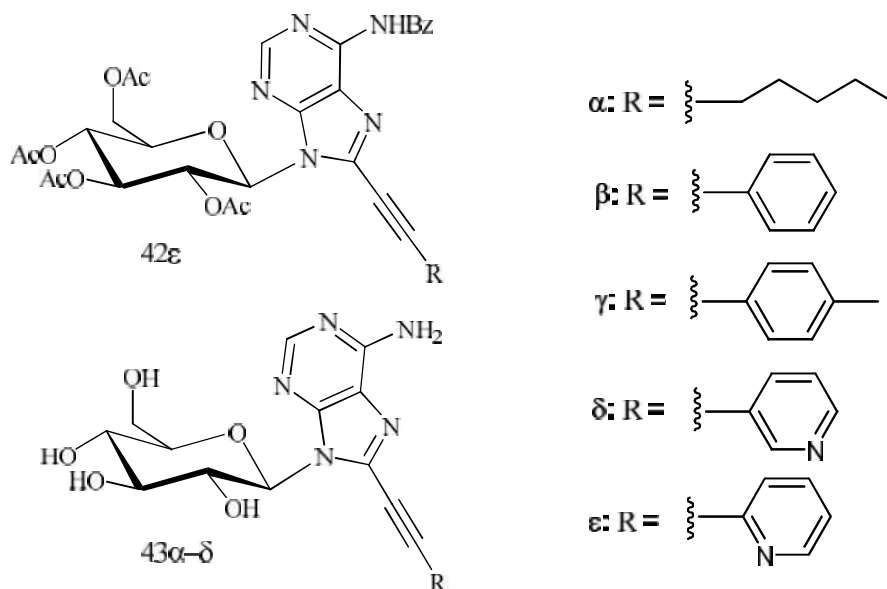
35

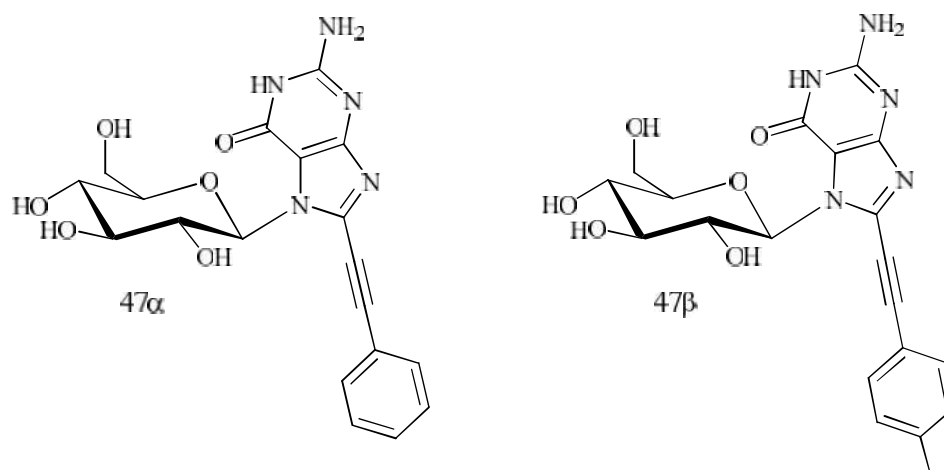
4. Νέοι C5-φαίνυλο υποκατεστημένοι πυρανονουκλεοζίτες της ουρακίλης.



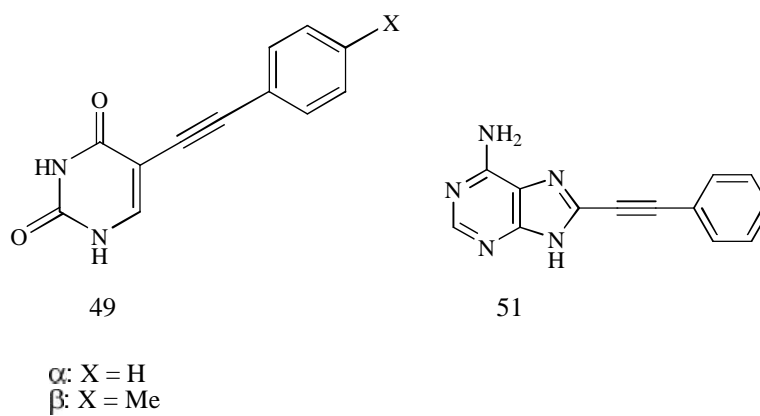
R = Cl, ή F, ή Br, ή CH<sub>3</sub>, ή OCH<sub>3</sub>

5. Νέοι C8-υποκατεστημένοι πυρανονουκλεοζίτες της αδερίνης και της γουανίνης





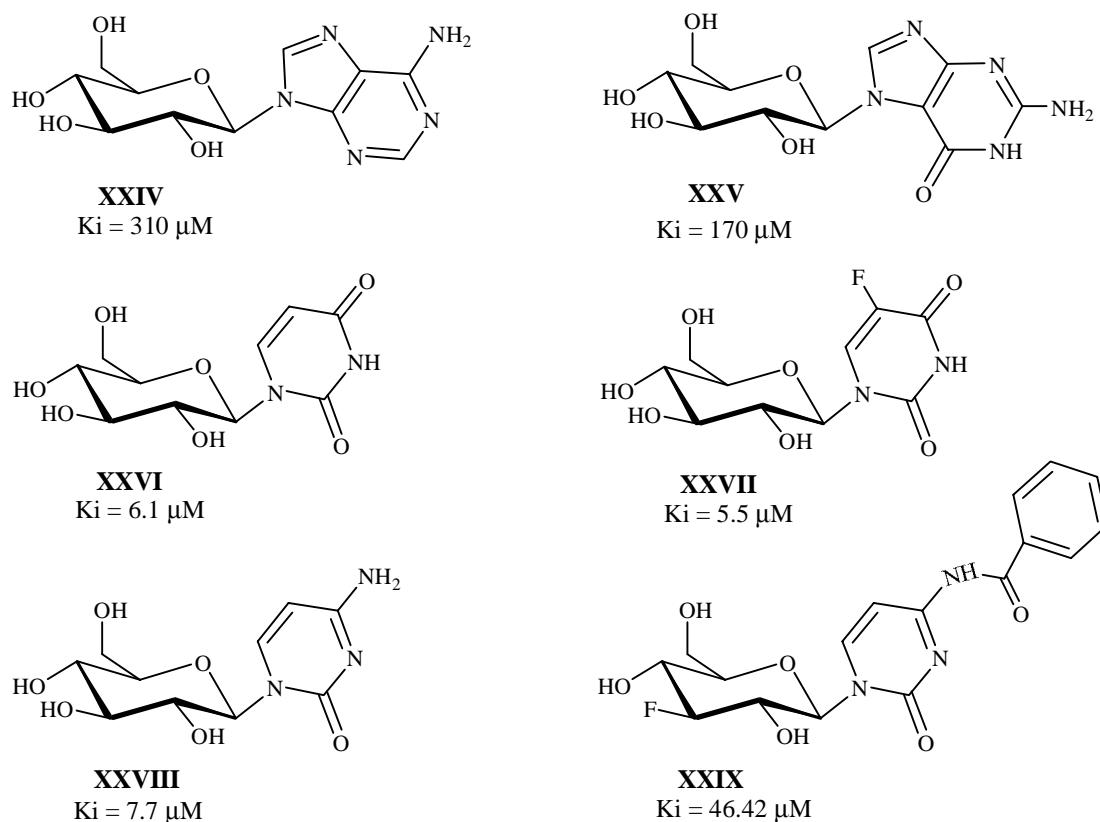
6. Σύνθεση των C5-υποκατεστημένων αναλόγων της ουρακίλης, και C8-υποκατεστημένης αδενίνης.



## II. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ-ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

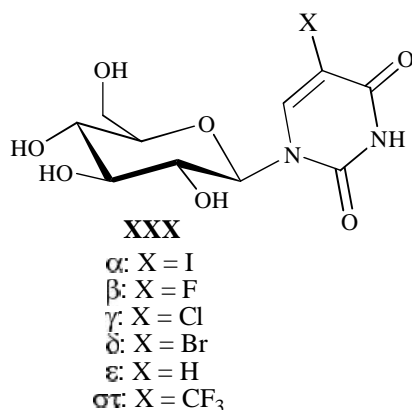
### II.1 Σύνθεση των C5-αλογονομένων πυρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης

Όπως προαναφέρθηκε, η γλυκόζη αδρανοποιεί την φωσφορυλάση  $\alpha$  ως ανταγωνιστικός αναστολέας και σταθεροποιεί την T-διαμόρφωση (λιγότερη δραστική μορφή) του ενζύμου (Monod 1965). Η υπόθεση ότι τα ανάλογα της γλυκόζης, μπορεί να οδηγήσουν σε καλύτερα αποτελέσματα (μεγαλύτερη αναστολή έναντι της φωσφορυλάσης του γλυκογόνου) σε συνδυασμό με το ότι τα πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα αποτελούν ισχυρούς ανταγωνιστικούς αναστολείς της GPb (Tsirkone *et al*, 2010, Manta *et al*, 2012), οδήγησε την επιστημονική κοινότητα στον σχεδιασμό και την σύνθεση νέων αναλόγων παρόμοιας δομής με αυτήν της γλυκόζης. Παρακάτω παρουσιάζονται διάφορα N-γλυκοπυρανοζυλο παράγωγα πυριμιδίνης και πουρίνης που εμφανίζουν καλύτερες σταθερές αναστολής έναντι της φωσφορυλάσης του γλυκογόνου (Σχήμα 23) (Gimisis 2010, Tsirkone *et al*, 2010).



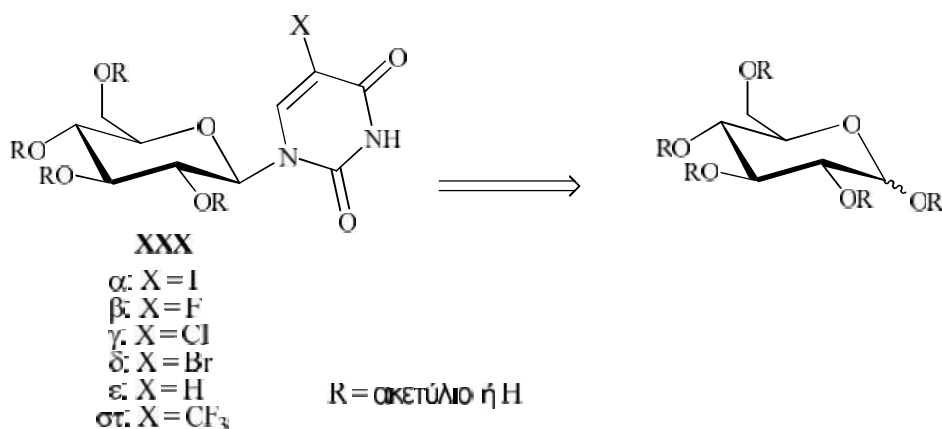
Σχήμα 23

Λαμβάνοντας υπόψη τις αξιοσημείωτες βιολογικές ιδιότητες των ανωτέρω πυριμιδινικών και πουρινικών νουκλεοζιτικών αναλόγων ως αναστολείς της GPb συντέθηκε και αποτιμήθηκε βιολογικά μία νέα τάξη πυρανονουκλεοζιτών που φέρουν την γλυκοπυρανόζη ως υδατανθρακικό δακτύλιο, με ετεροκυκλικές βάσεις την 5-ιωδοουρακίλη, 5-φθοροουρακίλη, 5-χλωροουρακίλη, 5-βρωμοουρακίλη, ουρακίλη και 5-τριφθορομεθυλοουρακίλη. Πιο αναλυτικά-συγκεκριμένα οι ενώσεις που συντέθηκαν έχουν τον παρακάτω γενικό τύπο (Ενώσεις **XXX**, Σχήμα 24):



Σχήμα 24

Η ρετροσυνθετική προσέγγιση για την παρασκευή των επιθυμητών C5-αλογονομένων πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων **XXX**, περιγράφεται στο σχήμα 25 που ακολουθεί .

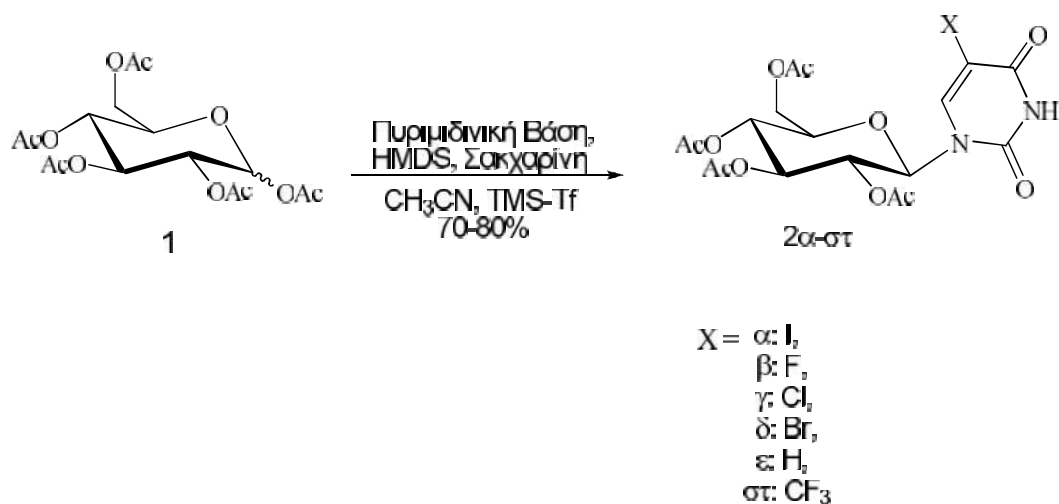


Σχήμα 25

### Π.1.1 Σύνθεση των C5-αλογονομένων-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της 5-ιωδοουρακίλης 3α, 5-φθοροουρακίλης 3β, 5-χλωροουρακίλης 3γ, 5-βρωμοουρακίλης 3δ, ουρακίλης 3ε και 5-τριφθορομεθυλοουρακίλης 3στ

Το πρώτο βήμα της συνθετικής πορείας είναι η σύνθεση των προστατευμένων πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων **2α-στ** (Σχήμα 26). Συγκεκριμένα επιτυγχάνεται η σύζευξη της εμπορικά διαθέσιμης 1,2,3,4,6-πεντακίς-*O*-ακετυλο-*D*-γλυκοπυρανόζης (**1**) με τις κατάλληλες πυριμιδινικές βάσεις με την μέθοδο Vorbrüggen. Η γλυκοπυρανόζη (**1**) με την κατάλληλη πυριμιδινική βάση διαλύονται σε άνυδρο ακετονιτρίλιο ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) παρουσία του εξαμεθυλοδισιλαζάνιου (HMDS), καθώς και καταλυτικής ποσότητας σακχαρίνης. Τέλος, προστίθεται ο τριφθορομεθανοσουλφονικός τριμεθυλοσιλυλεστέρας ( $\text{Me}_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$ ) και το μίγμα ακτινοβολείται με μικροκύματα σε 100 Watt για 3 λεπτά (Vorbrüggen και Bennua 1981). Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), το μίγμα ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου, εξουδετερώνεται με κορεσμένο διάλυμα ανθρακικού νατρίου ( $\text{NaHCO}_3$ ) και εκχυλίζεται με διχλωρομεθάνιο ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Η οργανική φάση ξηραίνεται με άνυδρο θειικό νάτριο ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, οπότε παραλαμβάνονται τα επιθυμητά προϊόντα **2α-στ**, σε ικανοποιητικές αποδόσεις (70-80%). Τα καλύτερα αποτελέσματα επιτυγχάνονται με τις πυριμιδινικές βάσεις της 5-ιωδοουρακίλης (**2α**) (80%) και 5-χλωροουρακίλης (**2γ**) (79%) ενώ το πυριμιδινικό ανάλογο **2δ** της 8-βρωμοουρακίλης έχει την μικρότερη απόδοση (70%). Από την μελέτη των φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR των ενώσεων **2α-στ** εμφανίζονται μεγάλες σταθερές σύζευξης ( $J_{1',2'} = 9.4-10.0$  Hz) μεταξύ των πρωτονίων H-1' και H-2', υποδεικνύοντας έναν αξονικό προσανατολισμό για τα δύο αυτά πρωτόνια, με την ετεροκυκλική βάση να καταλαμβάνει την ισημερινή θέση του σακχάρου.





Σχήμα 26

### Π.1.1.1 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 αποτελεσματικότητάς της.

Μια από τις πιο σημαντικές και περισσότερο μελετημένες ομάδες των αντιδράσεων που υποβοηθούνται με μικροκύματα, είναι η σύνθεση των νουκλεοζιτικών αναλόγων με την μέθοδο Vorbrüggen (Vorbrüggen 1970). Αποτελεί την πιο κοινή μέθοδο για την σύνθεση νουκλεοζιτικών αναλόγων. Πραγματοποιείται με την παρουσία ενός Friedel-Crafts καταλύτη όπως  $\text{SnCl}_4$ ,  $\text{ZnCl}_2$  και  $\text{Me}_3\text{SiSO}_3\text{CF}_3$  με σιλιλο-προστατευμένες νουκλεοβάσεις και ακετυλιωμένα σάκχαρα. Φαίνεται ότι με την χρήση μικροκυμάτων παράγονται πολύ γρηγορότερα οι δεσμοί άνθρακα-

αζώτου C-N, οπότε επιτυγχάνεται η σύνθεση των νουκλεοζιτικών αναλόγων σε μικρότερο χρονικό διάστημα και σε υψηλότερες αποδόσεις.

Γενικά θα μπορούσαμε να πούμε ότι η οργανική σύνθεση με χρήση μικροκυμάτων αποτελεί “πράσινη” τεχνική και υπερέχει σε σχέση με τη συμβατική θέρμανση στα εξής βασικά σημεία:

- Προσφέρει ομοιόμορφη θέρμανση σε όλο το μίγμα της αντίδρασης
- Αυξάνει σημαντικά την ταχύτητα της αντίδρασης
- Ελαττώνει τις παράπλευρες αντιδράσεις
- Παρέχει αυξημένες αποδόσεις

### II.1.2 Σχηματισμός γλυκοζιτικού δεσμού

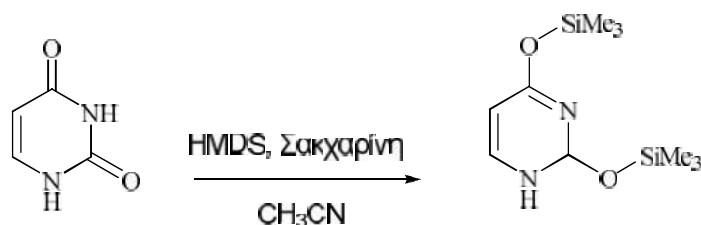
Αποτελεί γεγονός ότι κατά το σχηματισμό του γλυκοζιτικού δεσμού στη θέση του ανωμερικού άνθρακα του σακχάρου, προκύπτουν 2 σημαντικά ζητήματα:

1. Η *regio*-εκλεκτικότητα υποκατάστασης της νουκλεοβάσης.
2. Η αναλογία του σχηματισμού των  $\alpha:\beta$  νουκλεοζιτικών ανωμερών.

Για το σχηματισμό του γλυκοζιτικού δεσμού στους πυρανονουκλεοζίτες εφαρμόστηκε η σιλυλο-τροποποιημένη αντίδραση των Hilbert-Johnson, γνωστή και ως μέθοδος Vorbrüggen (Vorbrüggen και Höfle, 1981). Η συγκεκριμένη αντίδραση σιλυλιωμένων ετεροκυκλικών βάσεων με ακετυλιωμένα σάκχαρα παρουσία Friedel-Crafts καταλυτών όπως τετραχλωριούχου κασσιτέρου ( $\text{SnCl}_4$ ) ή τριφθορομεθανοσουλφονικού τριμεθυλοσιλυλεστέρα ( $\text{Me}_3\text{SiSO}_3\text{CF}_3$ ), έχει γίνει η πρότυπη συνθετική μέθοδος για το σχηματισμό πυριμιδινικών, πουρινικών ή και άλλων νουκλεοζιτών, με τη διαδικασία να δίνει κατά κανόνα μια προβλεπόμενη στερεοχημεία, όπως παρατηρείται και παρακάτω.

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 ουρακίλης (Σχήμα 27). 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 27**

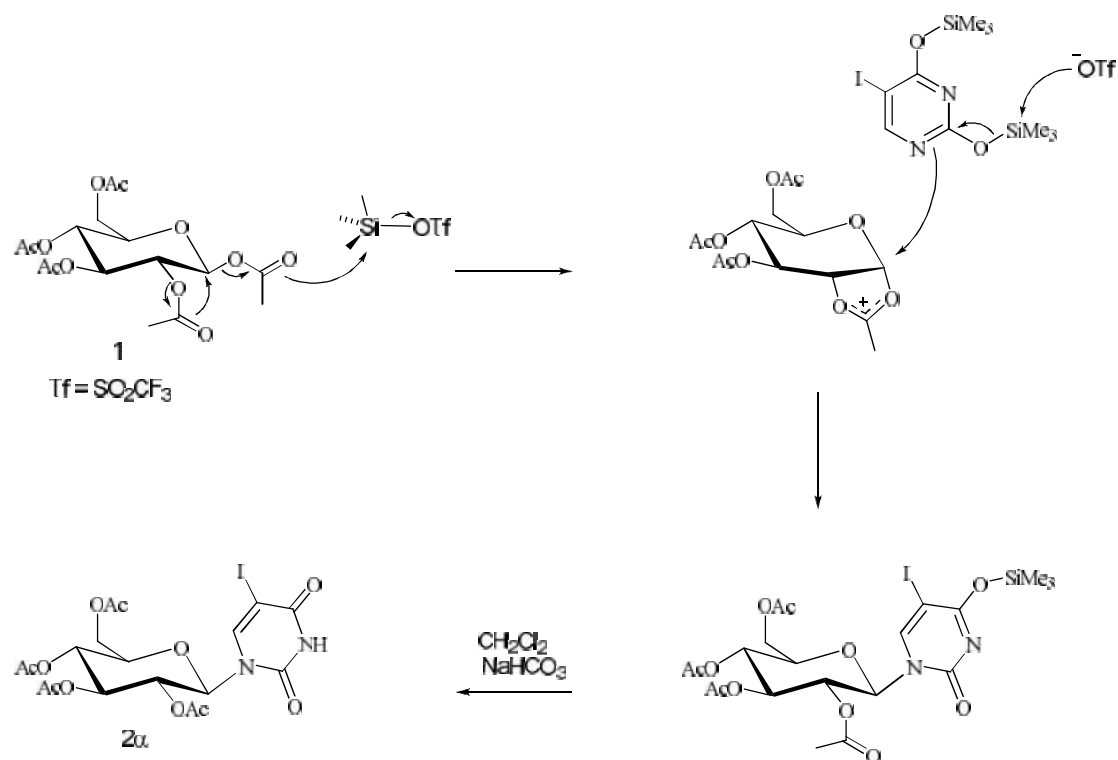
Κατά τη διάρκεια σχηματισμού των πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων λαμβάνουν χώρα ταυτόχρονα οι εξής δυο διαδικασίες:

1. Σχηματισμός του ηλεκτρονιόφιλου κατιόντος του σακχάρου.
2. Αντίδραση του ηλεκτρονιόφιλου κατιόντος του σακχάρου με την σιλυλιωμένη βάση προς το σχηματισμό του νουκλεοζίτη.

Αναλυτικότερα το Me<sub>3</sub>SiSO<sub>3</sub>CF<sub>3</sub>, ένα οξύ κατά Lewis, ενεργοποιεί το ακετυλιωμένο σάκχαρο **1**, προκαλώντας τον εκτοπισμό της ακετυλομάδας από τον ανωμερικό άνθρακα (Σχήμα 28). Στη συνέχεια, δημιουργείται 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 CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub><sup>-</sup> βοηθάει στην αποσιλυλίωση της. Ο νουκλεοζίτης στη συνέχεια κατεργάζεται με CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> και κορεσμένο διάλυμα NaHCO<sub>3</sub> και λαμβάνεται έπειτα από χρωματογραφία στήλης το τελικό προϊόν, όπως φαίνεται και στο χαρακτηριστικό παράδειγμα του νουκλεοζίτη **2a** (Σχήμα 28).

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 σε αδρανοποίηση τη νουκλεοβάση. Με τη χρησιμοποίηση ωστόσο του  $\text{Me}_3\text{SiSO}_3\text{CF}_3$  που είναι ασθενέστερο οξύ κατά Lewis από το  $\text{SnCl}_4$  (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).

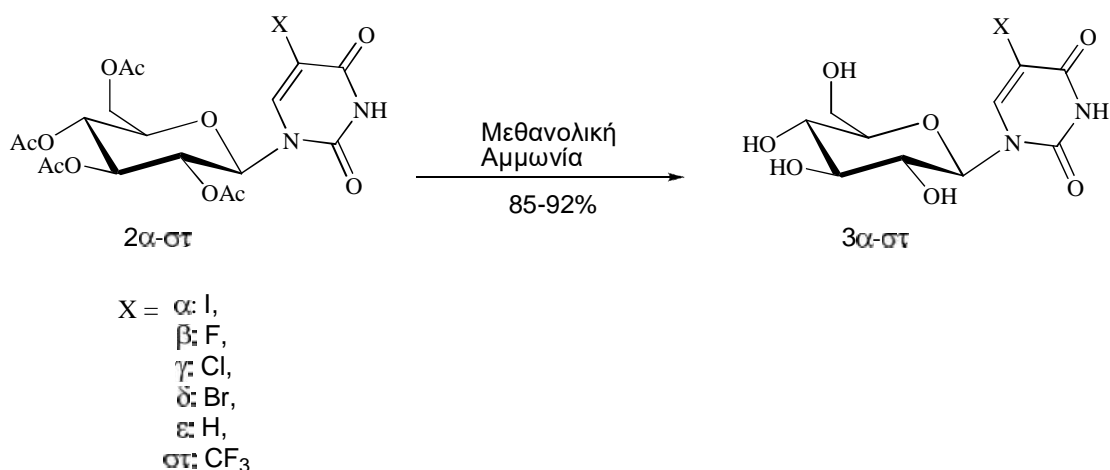


Σχήμα 28

### Π.1.3 Καθορισμός της στεreoχημείας στο ανωμερικό κέντρο

Όσον αφορά τη στεreoχημεία στο ανωμερικό κέντρο του νουκλεοζίτη, έχει αποδειχτεί ότι εξαρτάται σημαντικά από τη φύση και τη στεreoχημική 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).

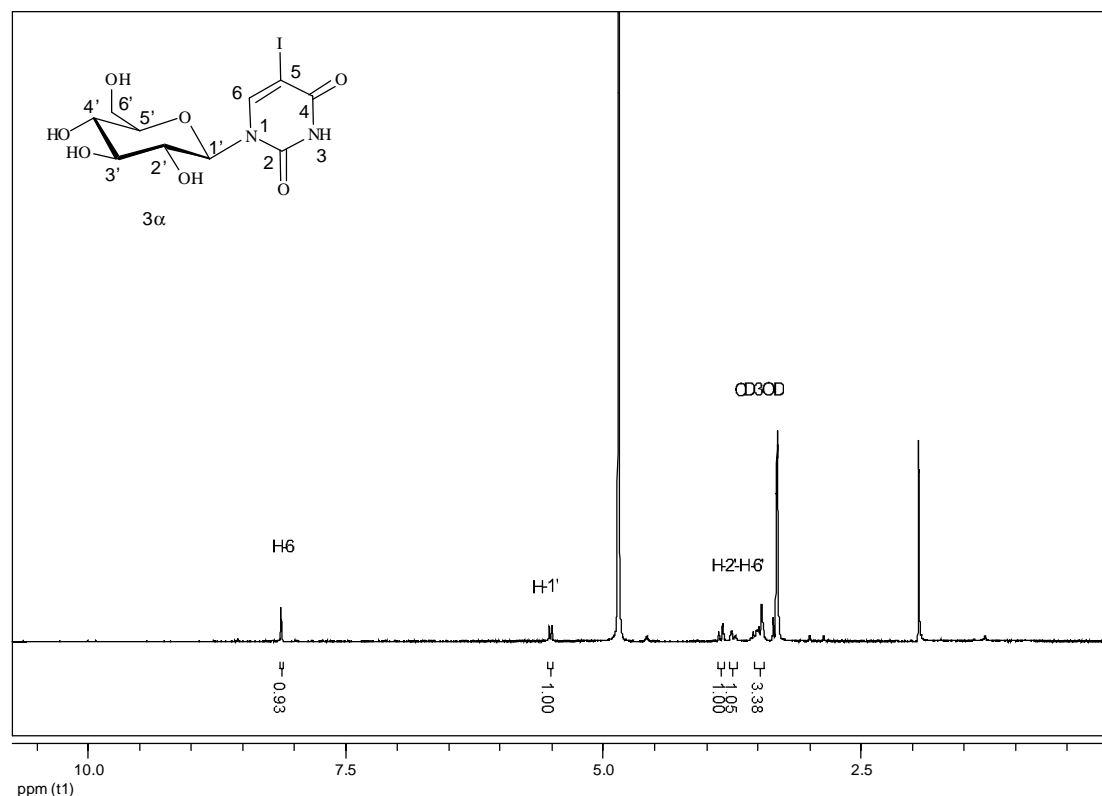
Το τελικό στάδιο της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την αποπροστασία των ενώσεων **2α-στ** με κατεργασία τους με μεθανολική αμμωνία (Neilson και Werstuik 1971), οπότε και λαμβάνονται οι επιθυμητοί C5-αλογονομένοι πυρανονουκλεοζίτες **3α-στ** σε πολύ καλές αποδόσεις (85-92%) (Σχήμα 29).



**Σχήμα 29**

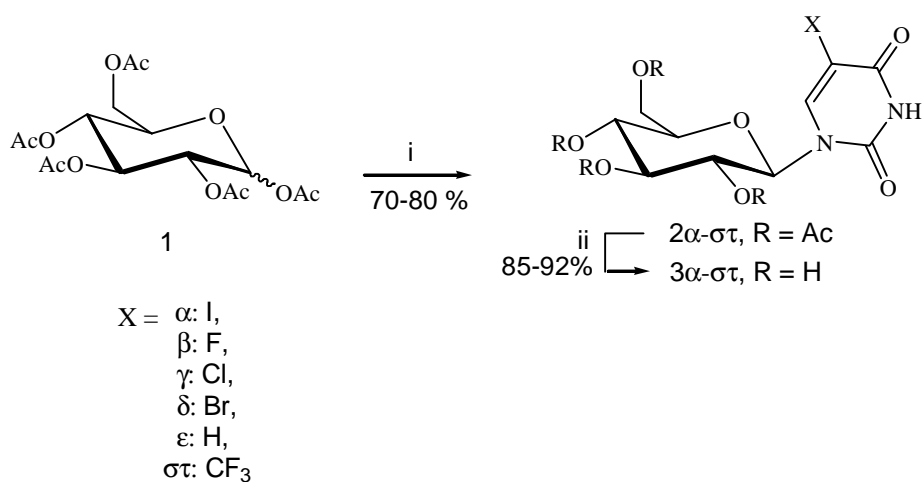
Στο σχήμα 30, παρατίθεται ενδεικτικά το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του νουκλεοζίτη της 5-ιωδοουρακίλης **3α**. Από την μελέτη του προκύπτει ότι η απλή κορυφή στα 8.12 ppm, αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-6 της 5-ιωδοουρακίλης. Ακολουθεί μία διπλή κορυφή με σταθερά σύζευξης  $J_{1',2'} = 7.9$  Hz στα 5.50 ppm, η οποία αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-1' του σακχάρου. Επίσης από την μελέτη του φάσματος παρατηρούμε ότι ακολουθούν τα σήματα πρωτονίων H-2', H-4', H-3', H-5', H-6α' και H-6β' του σακχάρου ως πολλαπλές κορυφές στην περιοχή των 3.87-3.45 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 30**

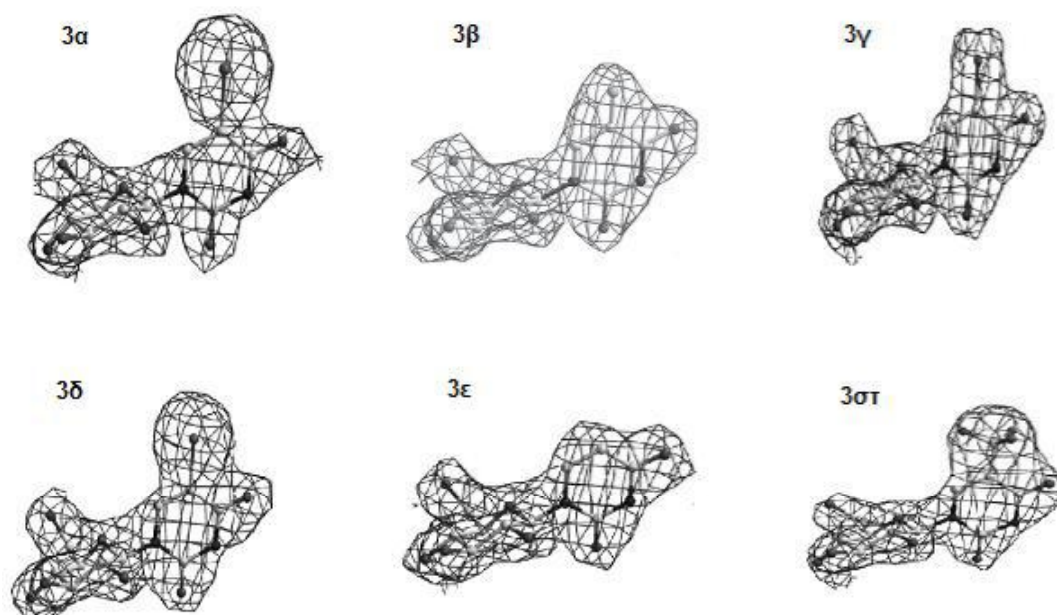
Η γενική πορεία για τη σύνθεση των *C*5-αλογονομένων-β-*D*-πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων φαίνεται στο σχήμα 31 που ακολουθεί:



i) Πυριδινική Βάση, HMDS, Σακχαρίνη, CH<sub>3</sub>CN, TMS-Tf  
 ii) Μεθανολική Αμμωνία

**Σχήμα 31****Π.1.4 Δομικές μελέτες των C5-αλογονομένων-β-D-πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων 3α-στ**

Για να αποσαφηνιστεί η δομική βάση της αναστολής και οι διαφορές στις σταθερές αναστολής, προσδιορίσαμε τις κρυσταλλικές δομές της GPb σε σύμπλοκο με κάθε μία από τις ενώσεις: GlcIU, GlcFU, GlcCIU, GlcBrU, GlcU και GlcCF<sub>3</sub>U. Οι χάρτες ηλεκτρονιακής πυκνότητας 2Fo-Fc και Fo-Fc καθορίζουν με σαφήνεια τη θέση του κάθε ατόμου των αναστολέων (Σχήμα 32) και συγκεκριμένα δείχνουν ότι όλοι οι αναστολείς προσδένονται στο ενεργό κέντρο της GPb. Το σημείο πρόσδεσης κάθε αναστολέα είναι το γλυκοζιτικό τμήμα, το οποίο δεσμεύεται μέσω αλληλεπιδράσεων δεσμών υδρογόνου και van der Waals, με τα κατάλοιπα του καταλυτικού κέντρου του ενζύμου να είναι ουσιαστικά τα ίδια με εκείνα που σχηματίζονται από τη γλυκόζη με GPb.



**Σχήμα 32.** Στερεοδιάγραμμα των τελικών μοντέλων των C5 αλογονομένων-β-D-πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων **3α-στ** και του χάρτη ηλεκτρονιακής πυκνότητας 2Fo-Fc.

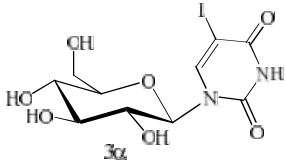
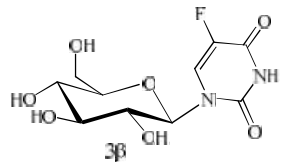
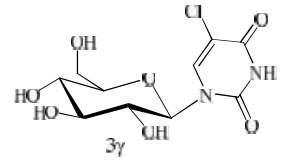
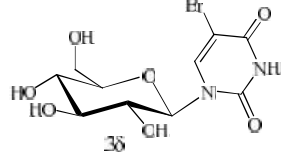
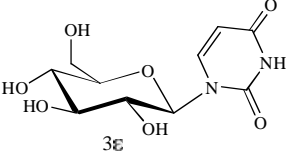
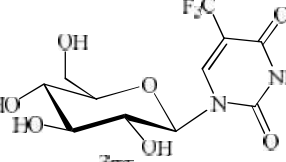
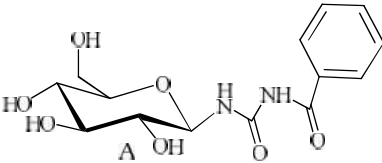
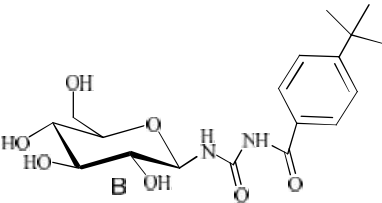
### Π.1.5 Κινητική μελέτη των C5-αλογονομένων-β-D-πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων 3α-στ

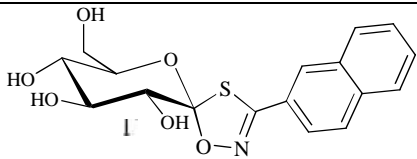
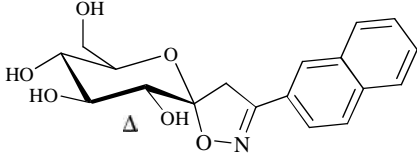
Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε συνεργασία με το εργαστήριο Δομικής και Λειτουργικής Βιοχημείας του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Η βιοδραστικότητα των νέων αναστολέων αποτιμήθηκε στην gmGPb που είχε προηγούμενα απομονωθεί από το μυϊκό ιστό κουνελιού. Δεδομένου ότι η ανθρώπινη GP του ήπατος και η gmGPb έχουν πανομοιότυπη αλληλουχία αμινοξέων και αρχιτεκτονική δομή στο καταλυτικό κέντρο αναμένεται ότι οι αναστολείς θα έχουν παρόμοια δράση και στα δυο ισόενζυμα.

Τα αποτελέσματα των πειραμάτων κινητικής μελέτης παρατίθενται στον Πίνακα 1 και συγκρίνονται με την δράση των πρότυπων ενώσεων A, B, Γ και Δ (Somsak *et al*, 2008, Benlifa *et al*, 2009, Somsak 2011). Όλοι οι αναστολείς επέδειξαν ανταγωνιστική αναστολή ως προς το υπόστρωμα (1-φωσφορική γλυκόζη), με το ανάλογο της 5-χλωροουρακίλης **3γ** ( $K_i = 1.02 \mu\text{M}$ ) να αποτελεί τον έκτο καλύτερο αναστολέα παγκοσμίως. Ακολουθούν τα ανάλογα της 5-ιωδοουρακίλης **3α** ( $K_i = 1.94 \mu\text{M}$ ), της 5-βρωμοουρακίλης **3δ** ( $K_i = 3.27 \mu\text{M}$ ) και της 5-φθοροουρακίλης **3β** ( $K_i = 7.86 \mu\text{M}$ ), τα οποία εμφανίζουν μικρότερη-ασθενέστερη- αναστολή σε σύγκριση με το **3γ**. Από την άλλη πλευρά, τα ανάλογα της ουρακίλης **3ε** ( $K_i = 12.39 \mu\text{M}$ ) και της τριφθορομεθυλοουρακίλης **3στ** ( $K_i = 17.00 \mu\text{M}$ ) εμφάνισαν την μικρότερη αναστολή. Η σειρά δραστηριότητας των αλογονομένων υποκαταστατών ακολουθεί την τάση: Cl > I > Br > F.



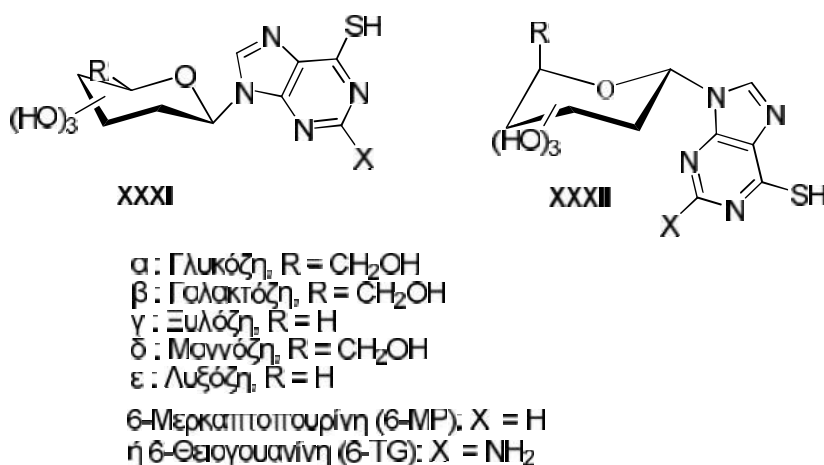
**Πίνακας 1.** Αποτελέσματα κινητικής μελέτης των C5-αλογονομένων-β-D-πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων **3α-στ**

Προϊόν	$K_i$ ( $\mu\text{M}$ )
 3α	1.94±0.09
 3β	7.86 ±0.35
 3γ	1.02 ±0.15
 3δ	3.27 ±0.44
 3ε	12.39 ±0.94
 3στ	17.00 ±1.26
 A	0.35
 B	0.7

	0.16
	0.63±0.02

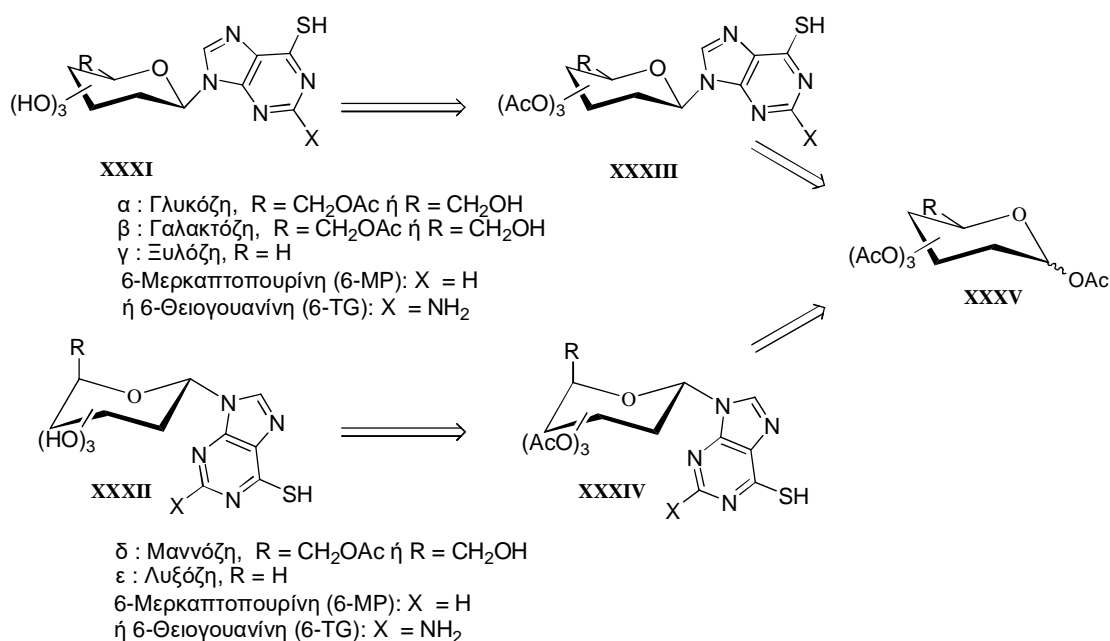
## Π.2 Σύνθεση των θειοπουρινικών πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων

Εδώ και πολλές δεκαετίες οι θειοπουρίνες έχουν τη φήμη αποτελεσματικών αντικαρκινικών και ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων (Fotoohi *et al*, 2010). Η 6-μερκαπτοπουρίνη και η 6-θειογουανίνη είναι θειοπουρινικοί αντιμεταβολίτες, που αναστέλλουν τη σύνθεση του DNA ενσωματώνοντας εσφαλμένες βάσεις (νουκλεοτίδια θειογουανίνης) (Walko *et al*, 2009). Χρησιμοποιούνται ευρέως για τη θεραπεία της οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας και έναντι αυτοάνοσων διαταραχών (Karran *et al*, 2006, Mcleod *et al*, 1999, Relling *et al*, 1999). Παλαιότερες μελέτες έδειξαν ότι αρκετά θειοπουρινικά νουκλεοζιτικά ανάλογα, όπως η 2'-δεοξυριβόζη της μερκαπτοπουρίνης και της θειογουανίνης, έχουν αντικαρκινικές ιδιότητες (Saneyoshi *et al*, 1980, Acton *et al*, 1979). Με βάση τα ανωτέρω, θεωρήθηκε ενδιαφέρουσα η σύνθεση πυρανονουκλεοζιτικών θειοπουρινικών αναλόγων που θα φέρουν ως υδατανθρακικούς δακτυλίους τη γλυκόζη, τη γαλακτόζη, την ξυλόζη, τη μαννόζη και τη λυξόζη (Σχήμα 33).



Σχήμα 33

Με βάση τον συνθετικό σχεδιασμό, η ρετροσυνθετική προσέγγιση για την παρασκευή των επιθυμητών θειοπυρινικών πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων **XXXI** και **XXXII**, έχουν ως πρόδρομες ενώσεις τα προστατευμένα θειοπυρινικά ανάλογα **XXXIII** και **XXXIV** αντίστοιχα. Η ρετροσυνθετική πορεία που ακολουθήθηκε για την παρασκευή των θειοπυρινικών πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων, περιγράφεται στο παρακάτω σχήμα 34:

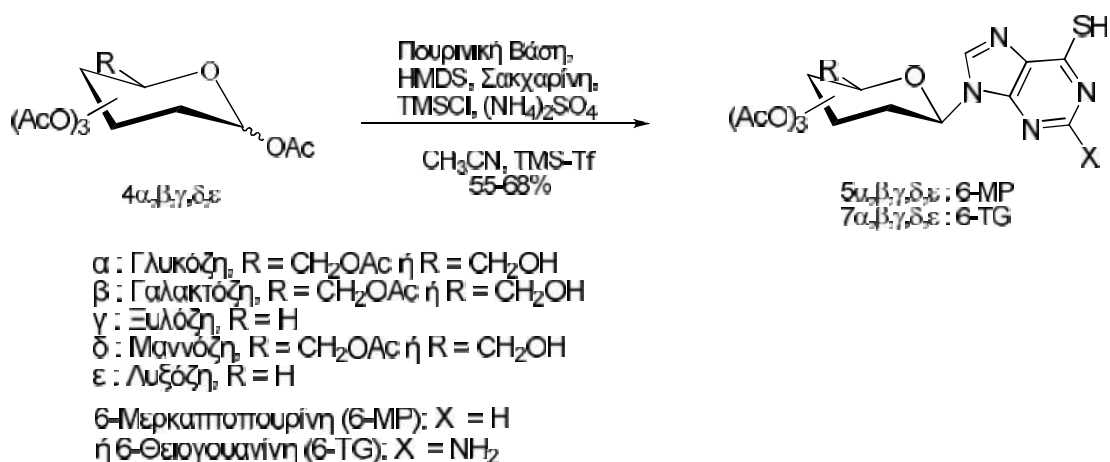


**Σχήμα 34**

### Π.2.1 Σύνθεση των θειοπυρινικών πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της γλυκόζης, της γαλακτόζης, της ξυλόζης, της μαννόζης και της λυξόζης (6α-ε, 8α-ε)

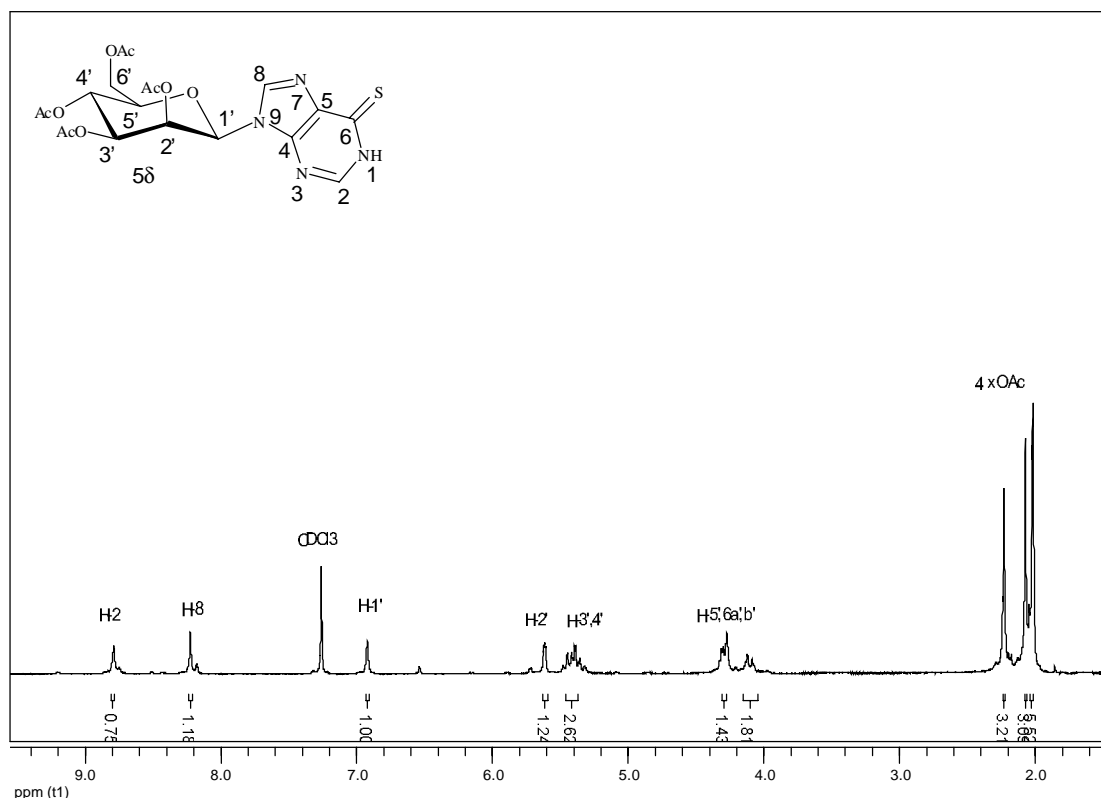
Αρχικά πραγματοποιήθηκε η σύνθεση των προστατευμένων πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων **5α-ε** και **7α-ε** (Σχήμα 35) μέσω σύζευξης των εμπορικά διαθέσιμων ακετυλιωμένων πυρανοσακχάρων (**4α-ε**) με τις κατάλληλες πυρινικές βάσεις (6-MP και 6-TG) με την μέθοδο Vorbrüggen. Συγκεκριμένα, οι πυρινικές βάσεις 6-μερκαπτοπυρίνη και 2-αμινο-6-μερκαπτοπυρίνη διαλύονται σε άνυδρο ακετονιτρίλιο παρουσία του εξαμεθυλοδισιλαζανίου (HMDS), θεικού αμμώνιου [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>], τριμεθυλοσιλυλοχλωριδίου (TMSCl) και σακχαρίνης και το

προκύπτουν εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα με επαναρροή για 5 ώρες υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται το κατάλληλο ακετυλιωμένο πυρανοσάκχαρο (**4α-ε**) και ο τριφθορομεθανοσουλφονικός τριμεθυλοσιλυλεστέρας ( $\text{Me}_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$ ) ως καταλύτης. Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 3 επιπλέον ώρες με κάθετο ψυκτήρα με επαναρροή στους 90 °C (Pejanović *et al*, 2003). Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), το μίγμα ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου, εξουδετερώνεται με κορεσμένο διάλυμα  $\text{NaHCO}_3$  και εκχυλίζεται με οξικό αιθυλεστέρα ( $\text{EtOAc}$ ). Η οργανική φάση ξηραίνεται με άνυδρο  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Ακολουθεί καθαρισμός των υπολειμμάτων σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, οπότε παραλαμβάνονται τα επιθυμητά προϊόντα **5α-ε** και **7α-ε** με ικανοποιητικές αποδόσεις 55-68%. Στις περιπτώσεις της γλυκόζης, γαλακτόζης και ξυλόζης λαμβάνονται τα αναμενόμενα  $\beta$ -πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα (Vorbrüggen και Höfle 1981) **5α-γ** και **7α-γ**. Από την μελέτη των φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR, εμφανίζονται μεγάλες σταθερές σύζευξης ( $J_{1',2'} = 6.1-10.5$  Hz) μεταξύ των πρωτονίων H-1' και H-2', υποδεικνύοντας έναν αξονικό προσανατολισμό για τα δύο αυτά πρωτόνια, με την ετεροκυκλική βάση να καταλαμβάνει την ισημερινή θέση του σακχάρου. Στις περιπτώσεις της μαννόζης **5δ**, **7δ** και της λυξόζης **5ε**, **7ε** λαμβάνονται τα μη αναμενόμενα  $\beta$ -πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα σε αντίθεση με προηγούμενα δημοσιευμένα δεδομένα (Agelis *et al*, 2008, Tzioumaki *et al*, 2009, Kiritsis *et al*, 2012). Από την μελέτη των φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR εμφανίζονται μικρές *cis* σταθερές σύζευξης ( $J_{1',2'} = 0-4.0$  Hz) μεταξύ των πρωτονίων H-1' και H-2'.



### Σχήμα 35

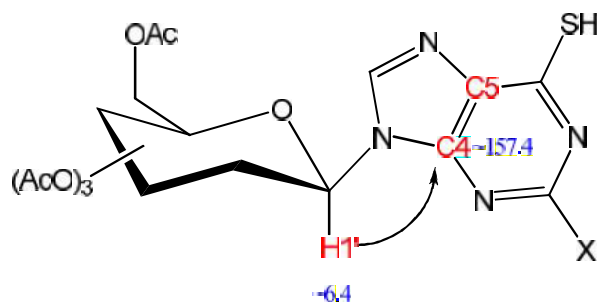
Στο παρακάτω σχήμα 36 παρατίθεται ενδεικτικά το φάσμα  $^1\text{H-NMR}$  της 6-μερκαπτο-9-(2',3',4',6'-τετρακίς-*O*-ακετυλο- $\beta$ -*D*-μανοφυρανοζυλο)πουρίνης (**5δ**). Από την μελέτη του προκύπτει ότι οι απλές κορυφές που εμφανίζονται στα 8.79 και 8.23 ppm αντιστοιχούν στα πρωτόνια της ετεροκυκλικής βάσης H-2 και H-8 αντίστοιχα. Ακολουθεί το πρωτόνιο H-1' στα 6.92 ppm ως απλή κορυφή που αποδεικνύει ότι είναι το  $\beta$ - ανωμερές, έπειτα εμφανίζονται τα υπόλοιπα πρωτόνια του σακχάρου, H-2' - H-6', στην περιοχή των 5.62-4.10 ppm. Τέλος, διακρίνονται τα σήματα των πρωτονίων των ακετυλο ομάδων στα 2.23, 2.07, 2.02, 2.01 ppm ως 4 απλές κορυφές.



**Σχήμα 36**

Όλα τα πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα **5α-ε** και **7α-ε** ελήφθησαν ως *N*-9 ισομερή όπως προσδιορίζονται από τα πειράματα HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) (Σχήμα 37) των ενώσεων **5β**, **7α** και **7δ**. Από την μελέτη των πειραμάτων αποδεικνύεται ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των ανωμερικών πρωτονίων, των **5β**, **7α** και **7δ** στα  $\delta$  6.32, 6.19 και 6.68 ppm αντίστοιχα, με τον C4

άνθρακα της πουρινικής βάσης στα  $\delta$  157.00 έως 157.70 ppm ( $^3J_{CH}$ ) όπως αναμένεται για το *N*-9 ισομερές (Dong και Paquette 2005, Martínez-Montero *et al*, 2012).

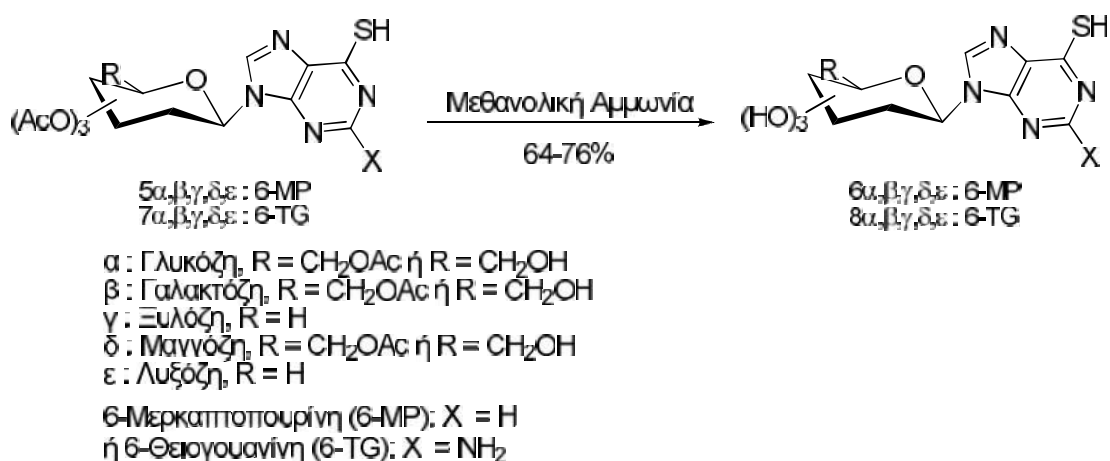


X = H ή NH<sub>2</sub>

*N*-9 ισομερή

### Σχήμα 37

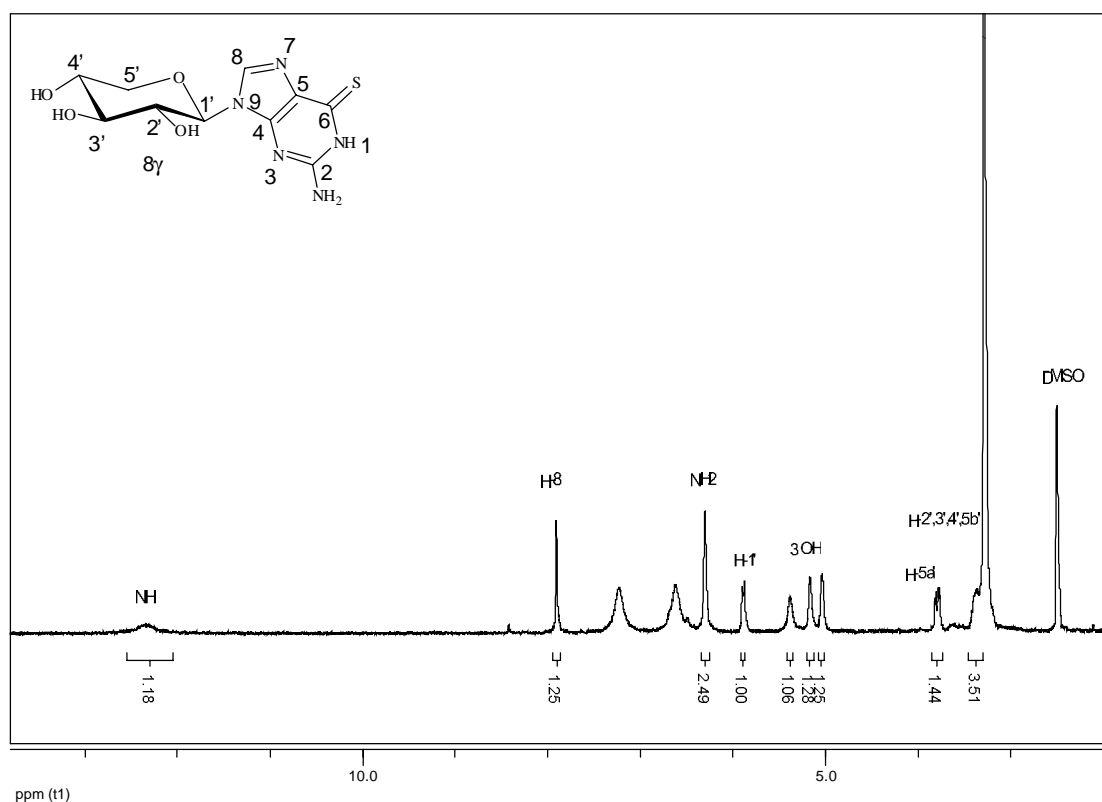
Το τελικό στάδιο της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την αποπροστασία των ενώσεων **5α-ε** και **7α-ε** με κατεργασία τους με μεθανολική αμμωνία (Neilson και Werstuik 1971), οπότε και λαμβάνονται οι τελικοί  $\beta$ -πυρανονουκλεοζίτες της 6-μερκαπτοπυρίνης **6α-ε** και της 6-θειογουανίνης **8α-ε** σε καλές αποδόσεις (64-76%) (Σχήμα 38).



### Σχήμα 38

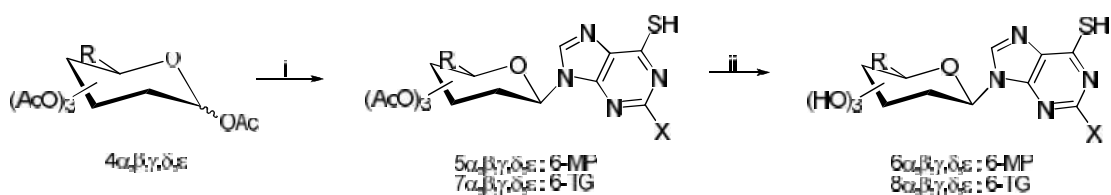
Στο παρακάτω σχήμα 39 παρατίθεται ενδεικτικά το φάσμα  $^1\text{H-NMR}$  της 2-αμινο-6-μερκαπτο-9-( $\beta$ -D-ξυλοπυρανοζυλο)πυρίνης (**8γ**). Από την εξέταση του συγκεκριμένου φάσματος προκύπτει ότι η κορυφή που εμφανίζεται στα 12.30 ppm

αντιστοιχεί στην αμινομάδα της ετεροκυκλικής βάσης, στη συνέχεια ακολουθούν τα υπόλοιπα πρωτόνια της ετεροκυκλικής βάσης H-8 στα 7.91 ppm και της δεύτερης αμινομάδας στα 6.30 ppm. Χαρακτηριστική είναι η διπλή κορυφή με υψηλή σταθερά σύζευξης  $J_{1',2'} = 8.2$  Hz που εμφανίζεται στα 5.89 ppm και αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-1' του σακχάρου. Στη συνέχεια, εμφανίζονται τα πρωτόνια των τριών υδροξυλίων του σακχάρου στα 5.39, 5.16 και 5.04 ppm ως ευρείες κορυφές. Τέλος, πολλαπλές κορυφές παρουσιάζονται στην περιοχή των 3.47-3.33 ppm, οι οποίες αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-2', H-3', H-4' και H-5b' του σακχάρου, ενώ χαρακτηριστική είναι η διπλή διπλών κορυφή που αναφέρεται στο πρωτόνιο H-5a', η οποία εμφανίζεται στα 3.81 ppm με σταθερές σύζευξης  $J_{4',5a'} = 4.2$  Hz και  $J_{5a',5b'} = 10.8$  Hz.



**Σχήμα 39**

Ολόκληρη η γενική πορεία για τη σύνθεση των θειοπυριμικών- $\beta$ -D-πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων φαίνεται στο σχήμα 40 που ακολουθεί:



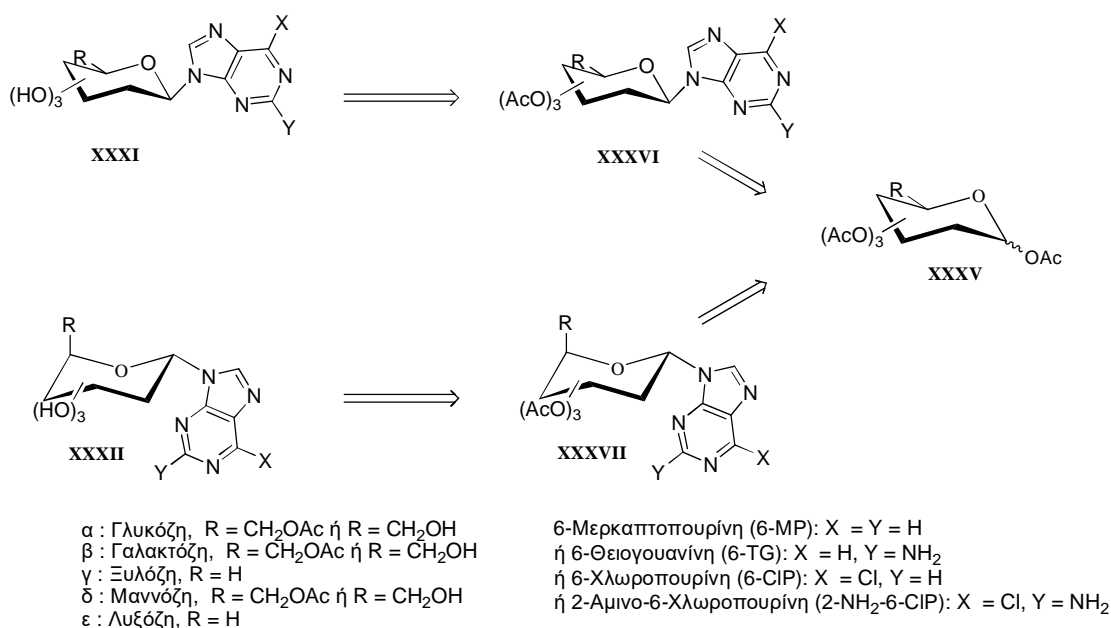
α: Γλυκόζη, R = CH<sub>2</sub>OAc ή R = CH<sub>2</sub>OH  
 β: Γαλακτόζη, R = CH<sub>2</sub>OAc ή R = CH<sub>2</sub>OH  
 γ: Ξυλόζη, R = H  
 δ: Μαννόζη, R = CH<sub>2</sub>OAc ή R = CH<sub>2</sub>OH  
 ε: Λυξόζη, R = H

6-Μερκαπτοπουρίνη (6-MP): X = H  
 ή 6-Θειογουανίνη (6-TG): X = NH<sub>2</sub>

i) Πουρινική Βάση, HMDS, Σακχαρίνη, TMSCl, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CH<sub>3</sub>CN, TMS-Tf  
 ii) Μεθανολική Αμμωνία

## Σχήμα 40

Με στόχο να διερευνηθεί περαιτέρω η στερεοεκλεκτικότητα των σακχάρων καθώς επίσης και η θέση σύζευξης της ετεροκυκλικής βάσης, σχεδιάσαμε έναν εναλλακτικό τρόπο σύνθεσης προς τους επιθυμητούς θειοπουρινικούς πυρανονουκλεοζίτες **XXXI** και **XXXII**. Ως αφετηρία χρησιμοποιήσαμε τις πρόδρομες ενώσεις της 6-χλωροπουρίνης και της 2-αμινο-6-χλωροπουρίνης. Ολόκληρη η ρετροσυνθετική πορεία που ακολουθήθηκε για την παρασκευή των θειοπουρινικών πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων, περιγράφεται στο παρακάτω σχήμα 41:

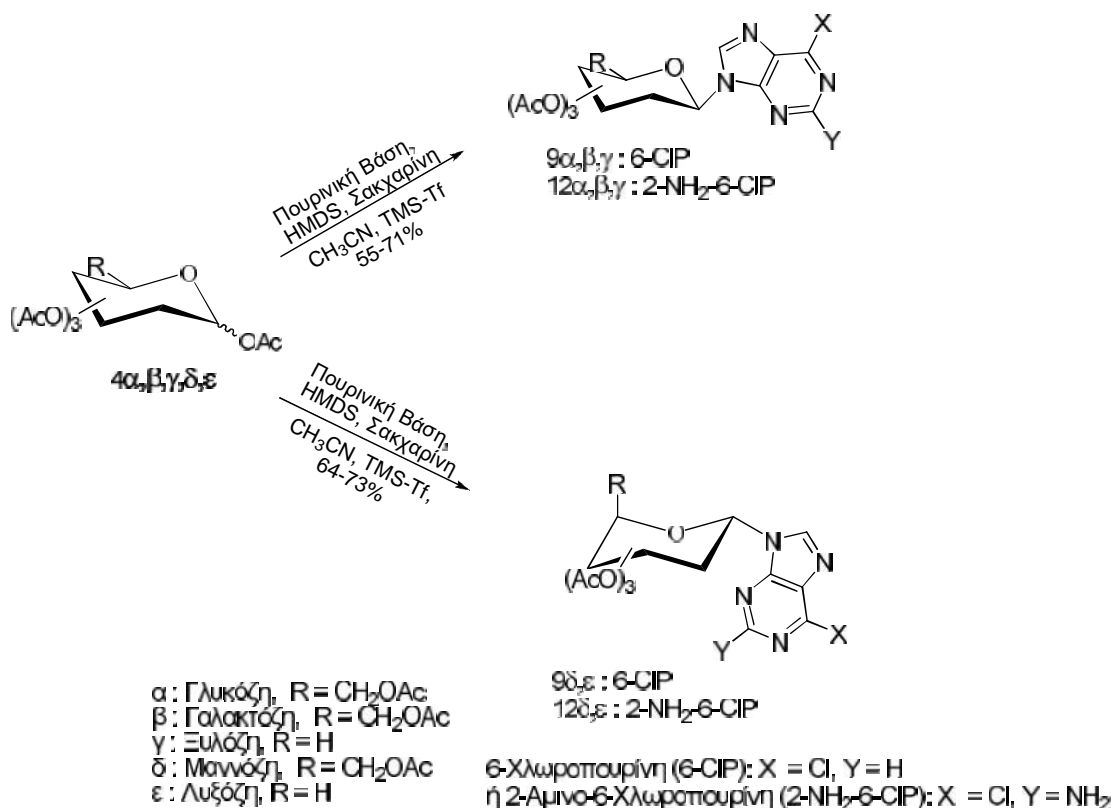


## Σχήμα 41



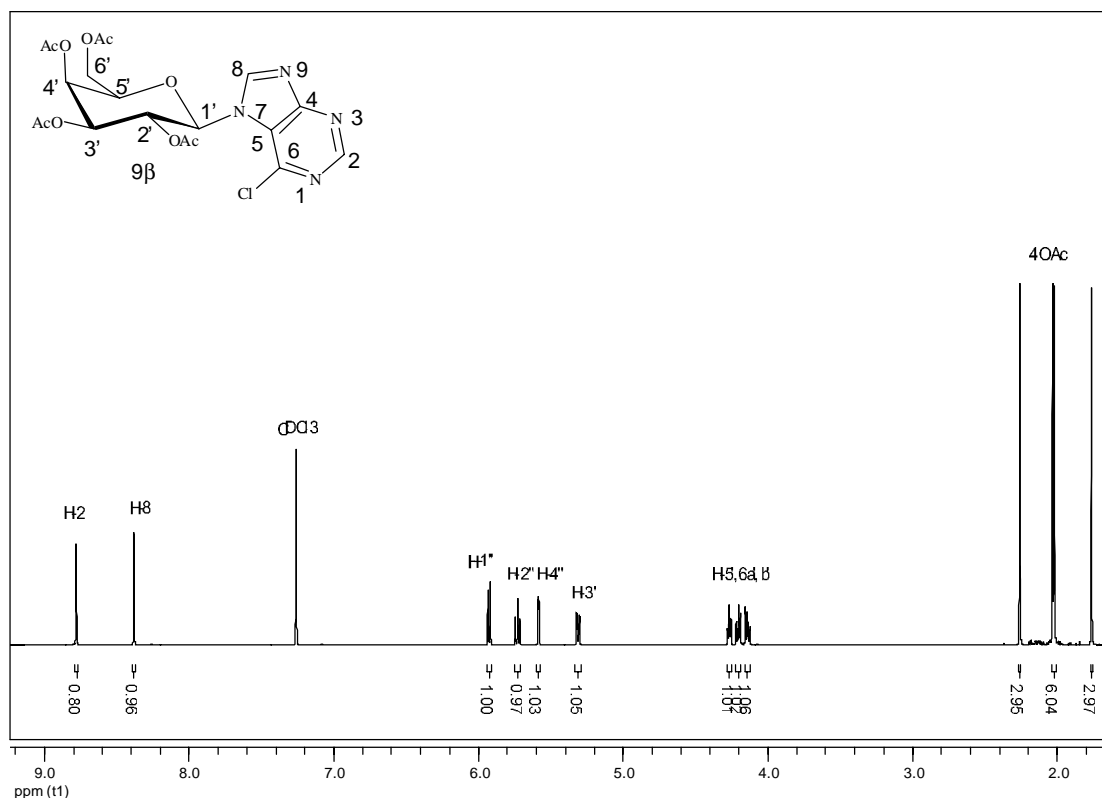
### Π.2.2 Σύνθεση των θειοπουρινικών πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της γλυκόζης, της γαλακτόζης, της ξυλόζης, της μαννόζης και της λυξόζης (11α-ε, 14α-ε) μέσω των πρόδρομων νουκλεοζιτικών αναλόγων της 6-χλωροπουρίνης και της 2-αμινο-6-χλωροπουρίνης

Αρχικά πραγματοποιήθηκε η σύνθεση των προστατευμένων πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων **9α-ε** και **12α-ε** (Σχήμα 42) μέσω σύζευξης των εμπορικά διαθέσιμων ακετυλιωμένων πυρανοσακχάρων (**4α-ε**) με τις κατάλληλες πουρινικές βάσεις (6-ClP και 2-NH<sub>2</sub>-6-ClP) με την μέθοδο Vorbrüggen. Συγκεκριμένα, οι πουρινικές βάσεις 6-χλωροπουρίνη και 2-αμινο-6-χλωροπουρίνη διαλύονται σε άνυδρο ακετονιτρίλιο παρουσία του εξαμεθυλοδιισιλαζανίου (HMDS) και σακχαρίνης και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα με επαναροή για 1 ώρα υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Τέλος, αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται το κατάλληλο ακετυλιωμένο πυρανοσάκχαρο (**4α-ε**) και ο τριφθορομεθανοσουλφονικός τριμεθυλοσιλυλεστέρας (Me<sub>3</sub>SiOSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>) ως καταλύτης και το μίγμα αναδεύεται για 2 επιπλέον ώρες με κάθετο ψυκτήρα με επαναροή στους 60 °C. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), το μίγμα ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου, εξουδετερώνεται με κορεσμένο διάλυμα NaHCO<sub>3</sub> και εκχυλίζεται με EtOAc. Η οργανική φάση ξηραίνεται με άνυδρο Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Ακολουθεί καθαρισμός των υπολειμμάτων σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, οπότε παραλαμβάνονται τα πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα της 6-χλωροπουρίνης **9α-ε** και της 2-αμινο-6-χλωροπουρίνης **12α-ε** με ικανοποιητικές αποδόσεις 55-73% (Σχήμα 42). Από την μελέτη των φασμάτων <sup>1</sup>H NMR των πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων **9δ,ε** και **12δ,ε** αποδεικνύεται ότι λαμβάνονται τα αναμενόμενα α- πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα (Baker 1957), καθώς εμφανίζονται μεγάλες σταθερές σύζευξης ( $J_{1',2'} = 7.7-9.9$  Hz) μεταξύ των πρωτονίων H-1' και H-2', σε αντίθεση με τα ανάλογα **5δ,ε** και **7δ,ε** της προηγούμενης συνθετικής πορείας.



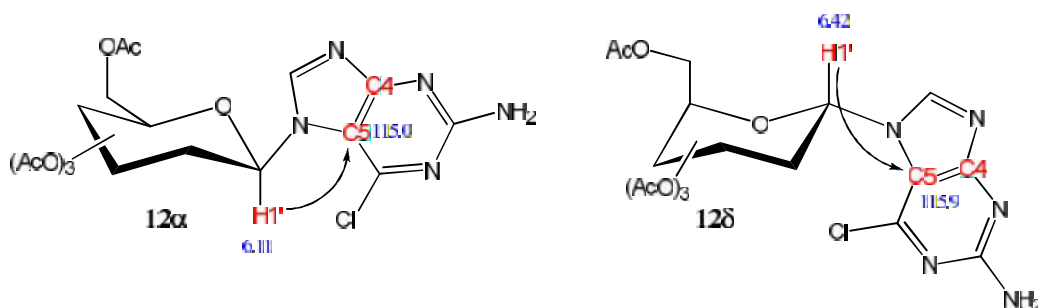
Σχήμα 42

Στο παρακάτω σχήμα 43 παρατίθεται ενδεικτικά το φάσμα  $^1H$ -NMR της 6-χλωρο-7-(2',3',4',6'-τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-*D*-γαλακτοπυρανοζυλο)πουρίνης (**9β**) από την μελέτη του οποίου διαπιστώνεται ότι οι απλές κορυφές που εμφανίζονται στα 8.78 και 8.38 ppm αντιστοιχούν στα δύο πρωτόνια H-2 και H-8 της ετεροκυκλικής βάσης, ενώ η διπλή κορυφή που ακολουθεί στα 5.93 ppm με σταθερά σύζευξης  $J_{1',2'} = 9.4$  Hz, αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-1' του σακχάρου. Στη συνέχεια, εμφανίζονται τα σήματα του πρωτονίου H-2' ως τριπλή κορυφή στα 5.74 ppm με υψηλή σταθερά σύζευξης ( $J_{2',3'} = 9.9$  Hz) και του H-4' ως διπλή κορυφή με μικρή σταθερά σύζευξης ( $J_{4',5'} = 2.6$  Hz) στα 5.59 ppm, ενώ το H-3' εμφανίζεται ως διπλή διπλών στα 5.32 ppm. Ακολουθούν τα σήματα του H-5' ως πολλαπλή κορυφή, ενώ χαρακτηριστικές είναι οι κορυφές που αντιστοιχούν στα H-6a' και H-6b' που εμφανίζονται ως διπλές διπλών στα 4.21 και 4.15 ppm αντίστοιχα. Τέλος, εμφανίζονται τα πρωτόνια των 4 ακετυλο ομάδων ως απλές κορυφές στα 2.26, 2.03, 2.02 και 1.76 ppm.



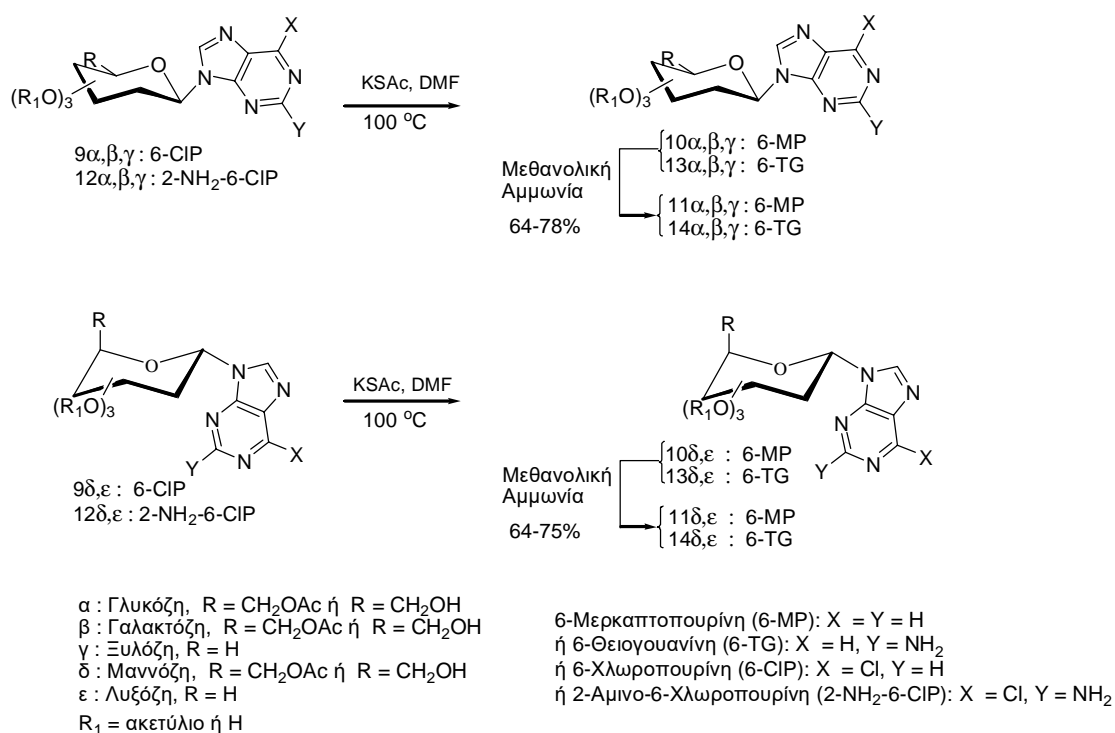
Σχήμα 43

Όλα τα πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα **9a-e** και **12a-e** ελήφθησαν ως *N*-7 ισομερή όπως προσδιορίζονται από τα πειράματα HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) (Σχήμα 44) των ενώσεων **12a** και **12δ**. Από την μελέτη των πειραμάτων αποδεικνύεται ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των ανωμερικών πρωτονίων, των **12a** και **12δ** στα  $\delta$  6.11 και 6.42 ppm αντίστοιχα, με τον πιο προστατευμένο C5 άνθρακα της πουρινικής βάσης στα  $\delta$  115.00 έως 115.90 ppm ( $^3J_{CH}$ ) όπως αναμένεται για το *N*-7 ισομερές (Dong και Paquette 2005).

*N*-7 ισομερή

Σχήμα 44

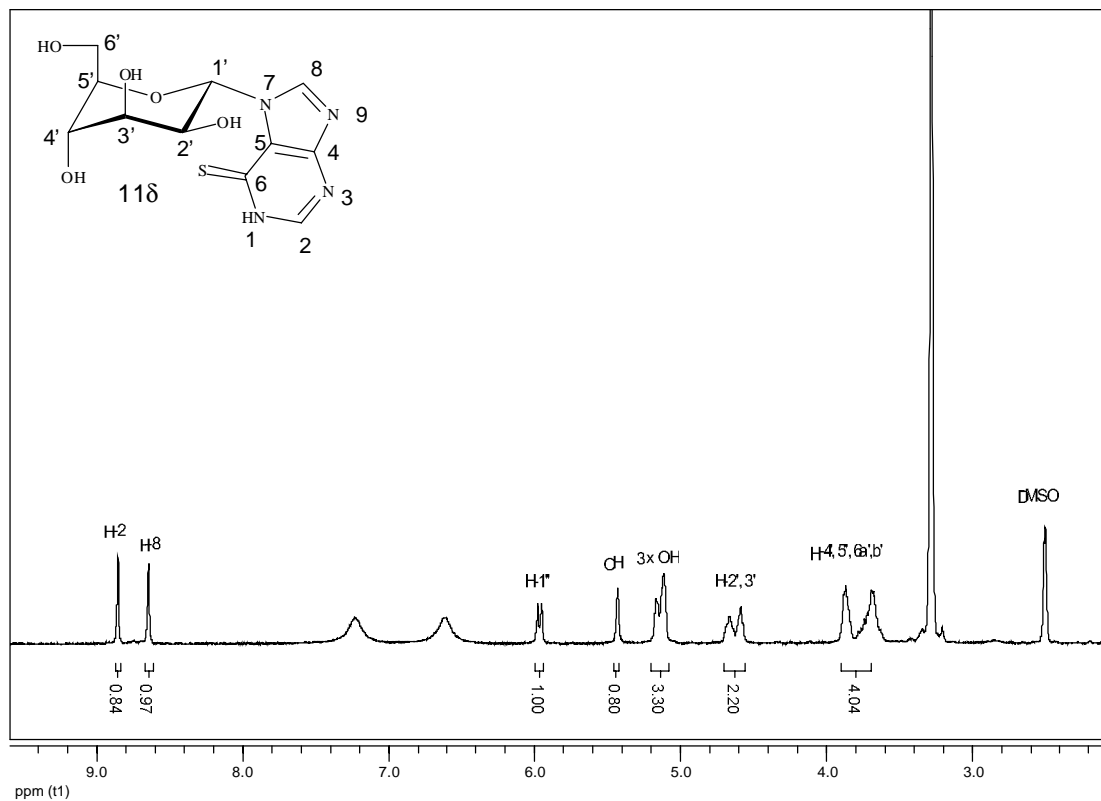
Το επόμενο βήμα για τη σύνθεση των επιθυμητών θειοπυρινικών πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων, περιλαμβάνει την κατεργασία του θειοπαραγώγου της 6-χλωροπυρίνης **9α-ε** και της 2-αμινο-6-χλωροπυρίνης **12α-ε**, με θειοακετοξικό κάλιο (KSAc) σε άνυδρο *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF) στους 100 °C (Hughes and Munkombwe 1985), προς το σχηματισμό των προστατευμένων πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της 6-μερκαπτοπυρίνης **10α-ε** και της 2-αμινο-6-μερκαπτοπυρίνης **13α-ε** όπου δεν απομονώνονται και συνεχίζεται η κατεργασία τους με μεθανολική αμμωνία (Neilson και Werstuik 1971), οπότε και λαμβάνονται οι τελικοί  $\beta$ -πυρανονουκλεοζίτες της 6-μερκαπτοπυρίνης **11α,β,γ** και της 6-θειογουανίνης **14α,β,γ** καθώς και οι  $\alpha$ -πυρανονουκλεοζίτες της 6-μερκαπτοπυρίνης **11δ,ε** και της 6-θειογουανίνης **14δ,ε** σε καλές αποδόσεις (64-78%) (Σχήμα 45).



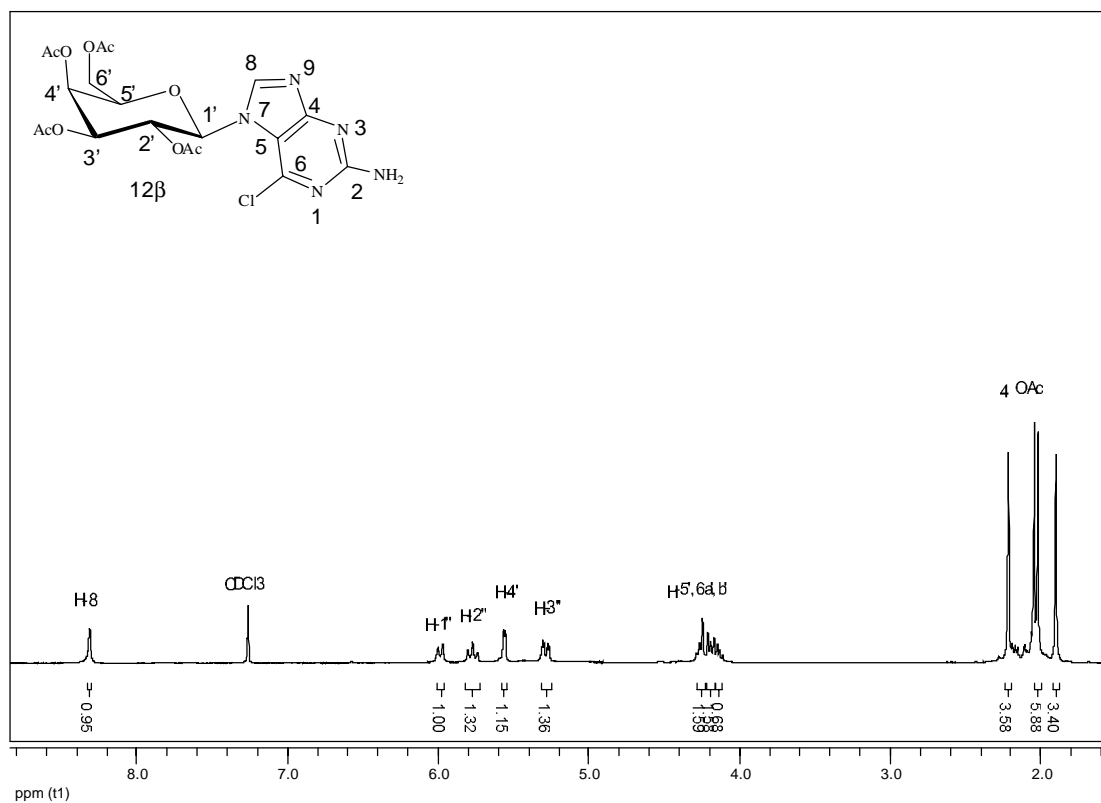
## Σχήμα 45

Ακολουθούν ενδεικτικά τα φάσματα των *N*-7 νουκλεοζιτικών αναλόγων: 6-μερκαπτο-7-( $\alpha$ -D-μαννοπυρανοζυλο)πυρίνη (**11δ**) Σχήμα 46, 2-αμινο-6-χλωρο-7-(2',3',4',6'-τετρακис-*O*-ακετυλο- $\beta$ -D-γαλακτοπυρανοζυλο)πυρίνη (**12β**) Σχήμα 47, 2-αμινο-6-χλωρο-7-(2',3',4',6'-τετρακис-*O*-ακετυλο- $\alpha$ -D-μαννοπυρανοζυλο)πυρίνη

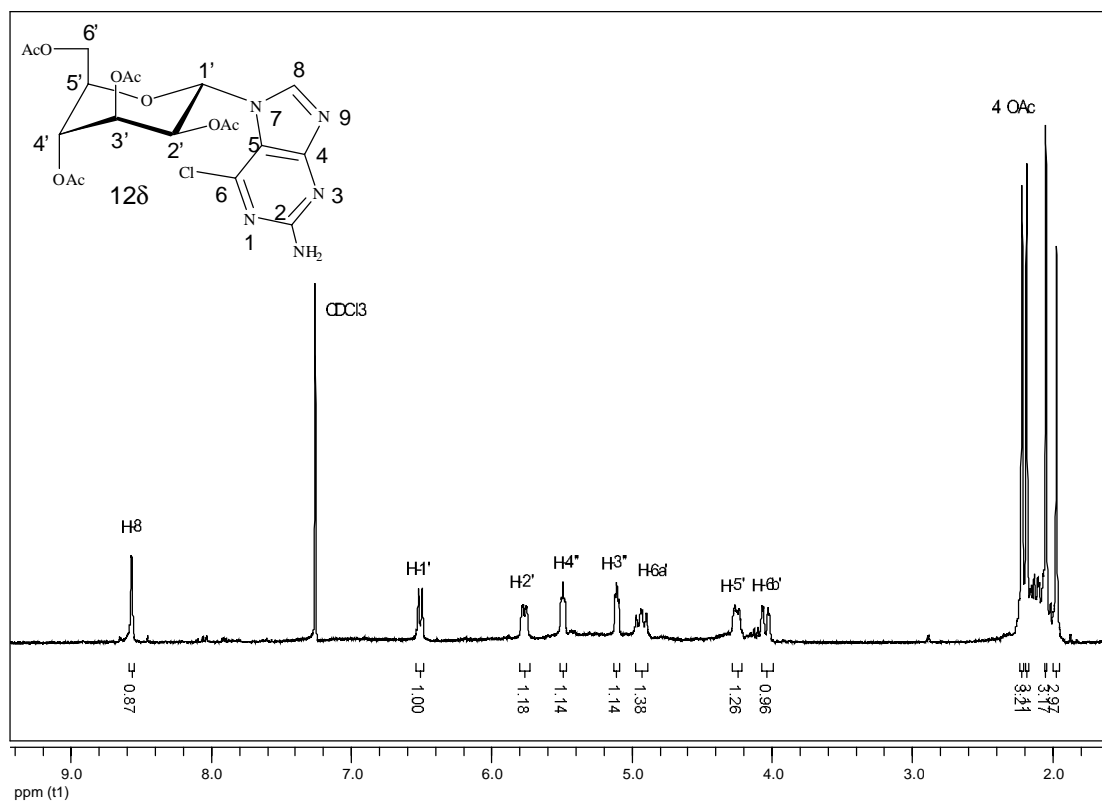
(12δ) Σχήμα 48 και 2-αμινο-6-μερκαπτο-7-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)πουρίνη (14α) Σχήμα 49.



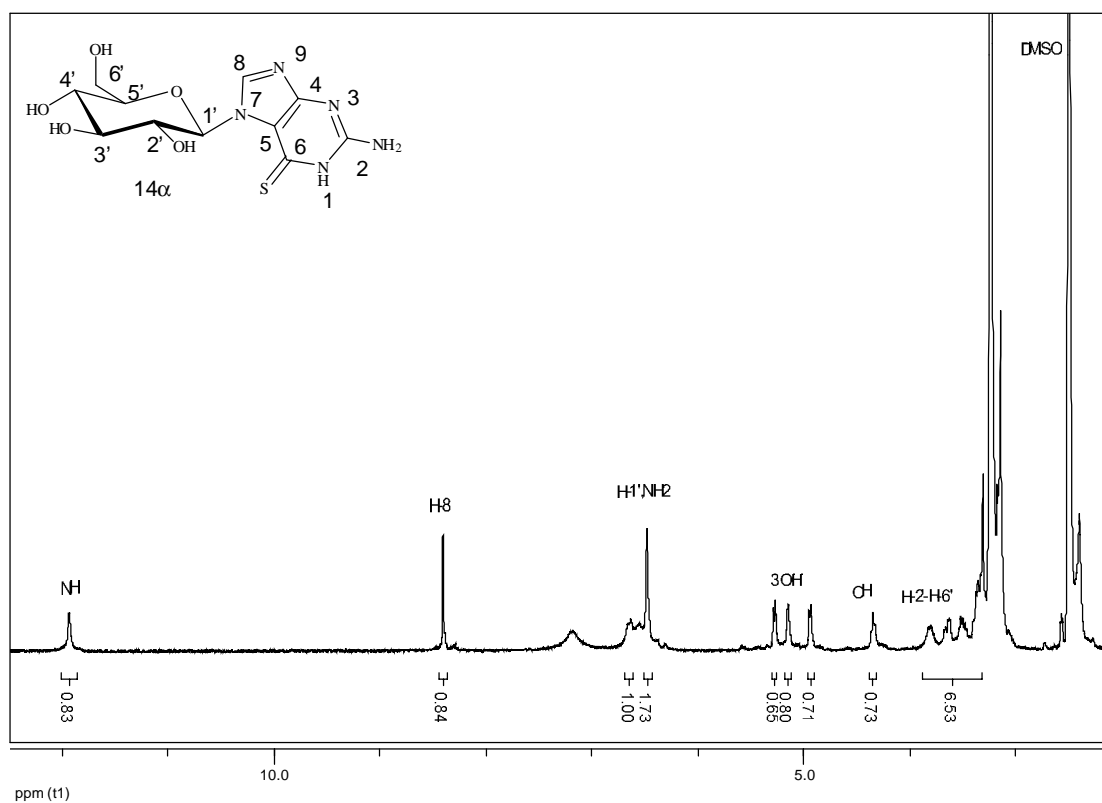
Σχήμα 46



Σχήμα 47

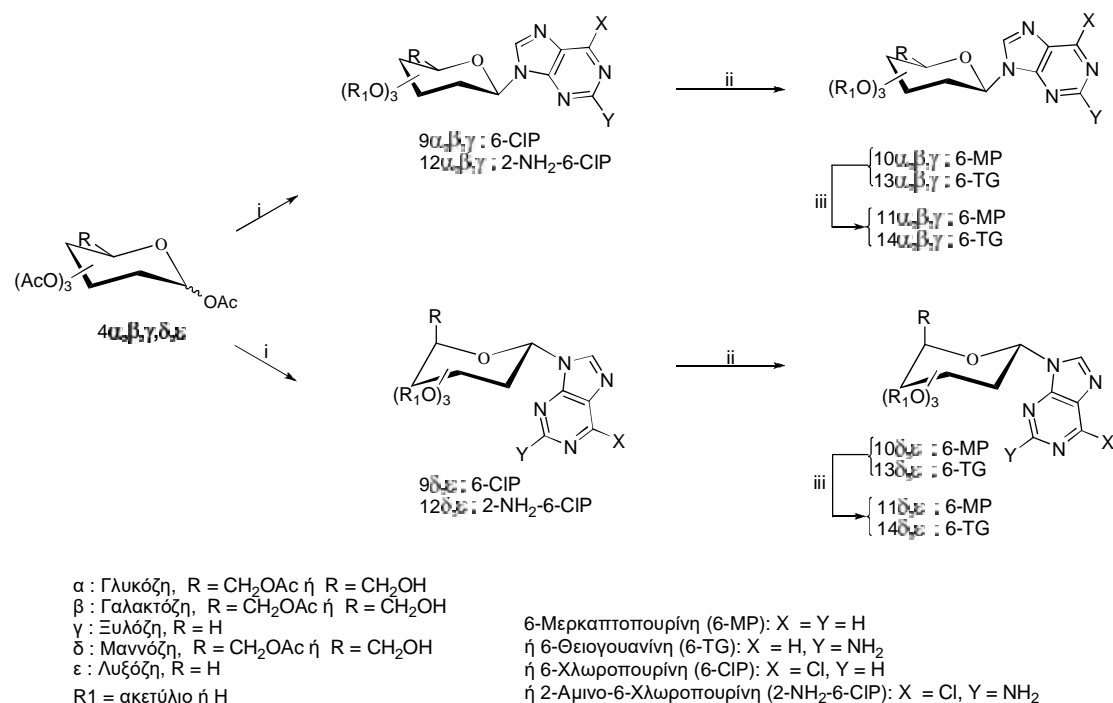


Σχήμα 48



Σχήμα 49

Ολόκληρη η γενική πορεία για τη σύνθεση των θειοπουρινικών  $\alpha$  και  $\beta$ -D-πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων φαίνεται στο σχήμα 50 που ακολουθεί:



- i) Πουρινική Βάση, HMDS, Σακχαρίνη, CH<sub>3</sub>CN, TMS-Tf  
 ii) KSAc, DMF, 100 °C  
 iii) Μεθανολική Αμμωνία

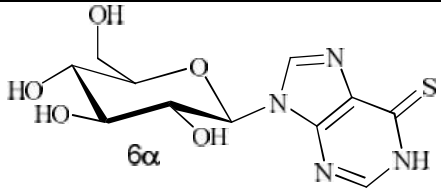
## Σχήμα 50

Η επιλογή της *regio*-εκλεκτικότητας των πουρινικών βάσεων στις αντιδράσεις γλυκοζυλίωσης είναι μάλλον μη προσδιορίσιμη. Συνήθως στις αντιδράσεις γλυκοζυλίωσης οι πουρινικές βάσεις δίνουν ένα μίγμα *N*-9 και *N*-7 ισομερών, με το *N*-9 ισομερές να είναι στις περισσότερες περιπτώσεις το κύριο προϊόν. Είναι γενικά αποδεκτό ότι οι *N*-9 νουκλεοζίτες ευνοούνται θερμοδυναμικά έναντι των *N*-7 ισομερών τους. Ξεκινώντας από το ίδιο υπόστρωμα **4a-e**, με δυο διαφορετικές συνθετικές προσεγγίσεις επετεύχθη η τοποεκλεκτική σύνθεση των δύο *N*-7 και *N*-9 θειοπουρινικών νουκλεοζιτικών αναλόγων με τον έλεγχο των κινητικών και θερμοδυναμικών συνθηκών της αντίδρασης (Garner *et al*, 1988, Schwarz *et al*, 2014).

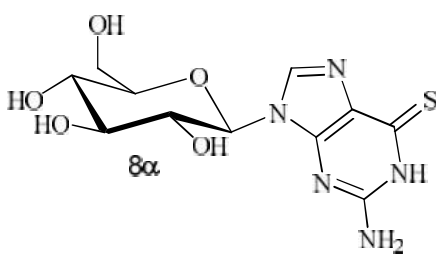
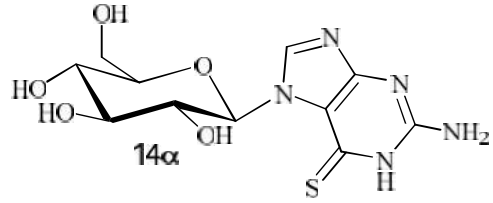
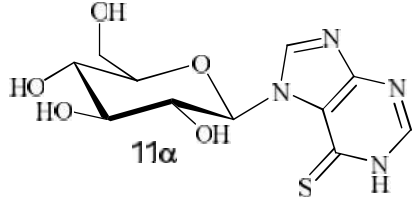
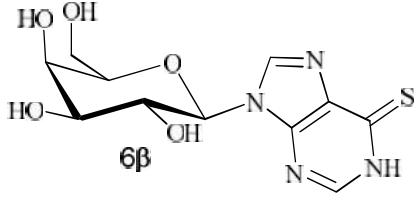
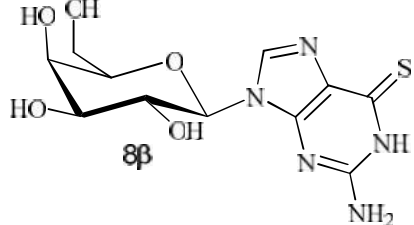
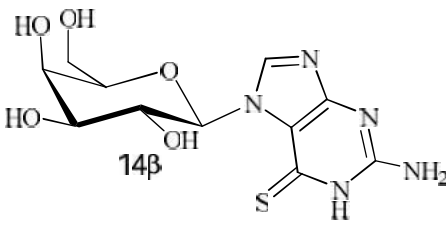
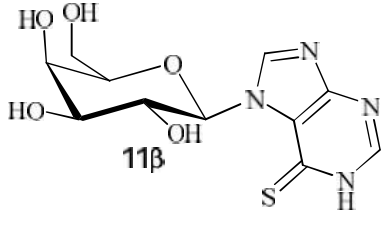
### Π.2.3 Αντιϊκή και αντικαρκινική δράση των θειοπουρινικών πυρανονουκλεοζιτών αναλόγων **6α-ε**, **8α-ε**, **11α-ε**, **14α-ε**

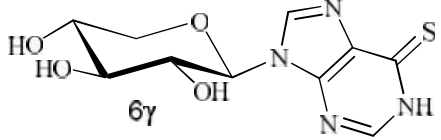
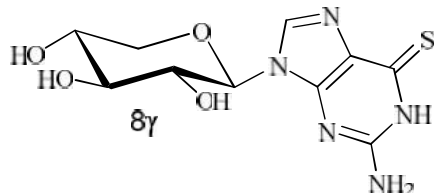
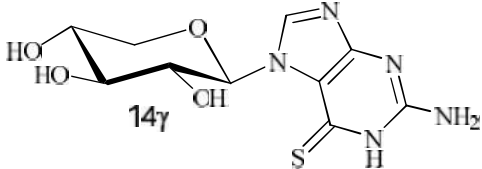
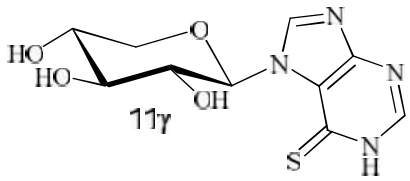
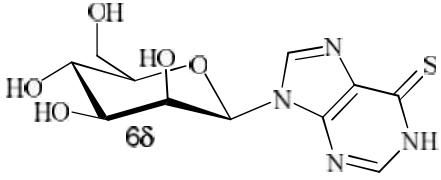
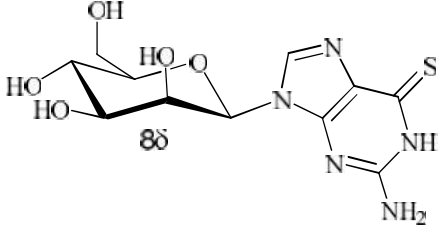
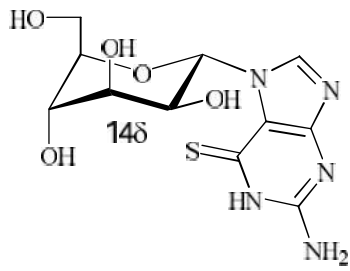
Μετά την επιτυχή ολοκλήρωση της σύνθεσης των ενώσεων-στόχων εξετάστηκε η αντιϊκή και αντικαρκινική τους δράση σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Ιολογίας και Χημειοθεραπείας του Ινστιτούτου Ιατρικής Έρευνας Rega στο Βέλγιο. Οι ενώσεις **6α-ε**, **8α-ε**, **11α-ε** και **14α-ε** αξιολογήθηκαν 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). Κανένα από τα μόρια δεν εμφάνισε αξιόλογη κυτταροστατική δράση, υπήρξαν ωστόσο δυο νουκλεοζίτες της θειογουανίνης, της γαλακτόζης (**8β**) και της μαννόζης (**8δ**), οι οποίοι εμφάνισαν μια μέτρια κυτταροστατική δράση έναντι των παραπάνω καρκινικών κυτταρικών σειρών. Ειδικότερα, ο νουκλεοζίτης της γαλακτόζης **8β** είχε παρόμοια ανασταλτική δράση και στις τρεις καρκινικές κυτταρικές σειρές (14-21  $\mu\text{M}$ ) (Πίνακας 2). Για την εκτίμηση της κυτταροτοξικής δράσης χρησιμοποιήθηκε η παράμετρος  $\text{IC}_{50}$ , η οποία αντιπροσωπεύει τη συγκέντρωση του φάρμακου που απαιτείται για την αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης κατά 50%. Τα τελικά προϊόντα αποτιμήθηκαν επίσης ως προς την αντιϊκή τους δράση έναντι μιας πληθώρας τόσο DNA όσο και RNA ιών, δεν ανέστειλαν όμως τους ιούς ακόμα και όταν χρησιμοποιήθηκαν σε υψηλές συγκεντρώσεις (100-200  $\mu\text{M}$ ).

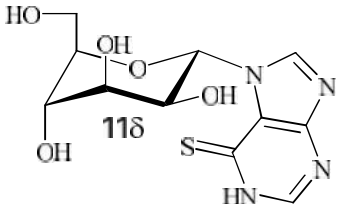
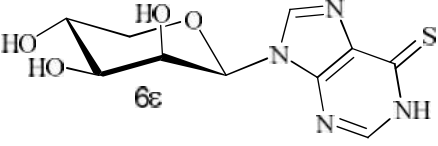
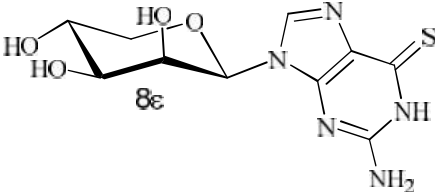
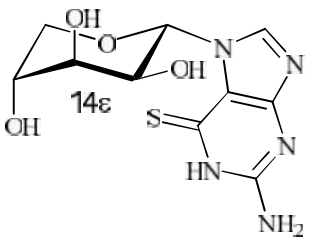
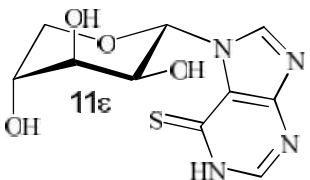
**Πίνακας 2.** Ανασταλτική δράση των ενώσεων **6α-ε**, **8α-ε**, **11α-ε** και **14α-ε** έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων L1210, CEM και HeLa.

ΠΡΟΪΟΝ	$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )		
	L1210	CEM	HeLa
 6α	161 $\pm$ 41	201 $\pm$ 38	95 $\pm$ 22



	$66 \pm 23$	$102 \pm 10$	$51 \pm 17$
	$113 \pm 8$	$> 250$	$142 \pm 24$
	$158 \pm 5$	$> 250$	$> 250$
	$112 \pm 62$	$63 \pm 9$	$18 \pm 3$
	$14 \pm 3$	$21 \pm 2$	$16 \pm 5$
	$> 250$	$> 250$	$> 250$
	$> 250$	$208 \pm 59$	$> 250$

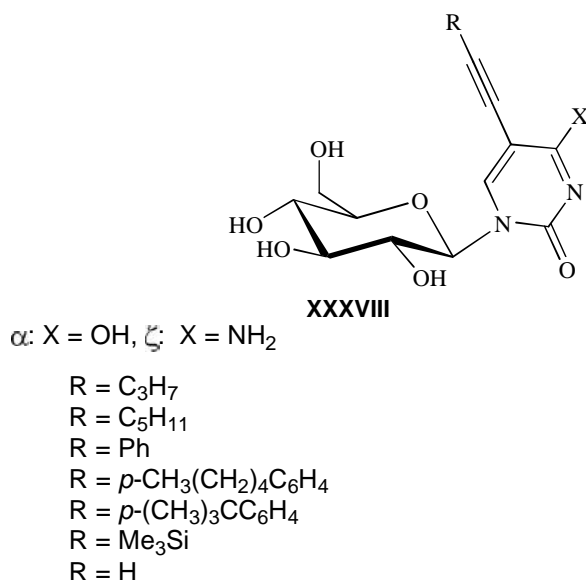
	$\geq 250$	$> 250$	$209 \pm 57$
	$145 \pm 38$	$145 \pm 49$	$108 \pm 34$
	$> 250$	$> 250$	$> 250$
	$210 \pm 13$	$> 250$	$134 \pm 75$
	$131 \pm 39$	$128 \pm 5$	$72 \pm 14$
	$37 \pm 1$	$31 \pm 3$	$22 \pm 9$
	$146 \pm 32$	$\geq 250$	$> 250$

	> 250	> 250	> 250
	82±11	66 ± 13	56 ± 12
	82 ± 15	121 ± 13	67 ± 6
	> 250	> 250	> 250
	> 250	> 250	> 250
<b>6-Μερκαπτοπουρίνη</b>	2.8 ± 1.1	2.8 ± 1.3	1.1 ± 0.1
<b>6-Θειογουανίνη</b>	0.94 ± 0.04	1.1 ± 0.3	0.38 ± 0.17

### Π.3 Σύνθεση των C5-αλκύνυλο πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης και της κυτοσίνης

Τα φουρανονουκλεοζιτικά ανάλογα που φέρουν τροποποιήσεις στο τμήμα των νουκλεοβάσεων αποτελούν αντικείμενο μελέτης, λόγω των βιολογικών ιδιοτήτων τους ως αντιϊκά και αντικαρκινικά παράγωγα (Manta *et al*, 2014, Herdewijn, 2008). Έχει αναφερθεί ότι η πιο κατάλληλη θέση για υποκατάσταση με διάφορες λειτουργικές ομάδες σε μια πυριμιδινική βάση είναι η C5 (Sági *et al*, 1993, Froehler

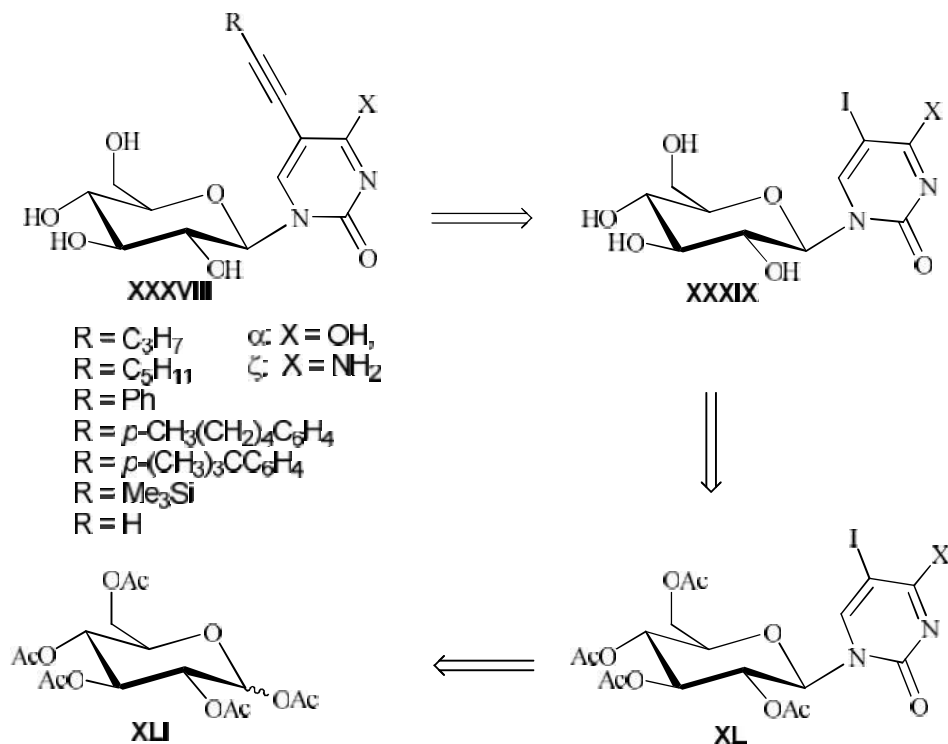
*et al*, 1992) διότι οι C5-υποκατεστημένες πυριμιδίνες συχνά επιδεικνύουν ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες (Misnya *et al*, 1987, Dwyer *et al*, 1981, Goodwin *et al*, 1993). Μια από τις πιο χρήσιμες μεθόδους για τον σχηματισμό δεσμού C-C, που χρησιμοποιούνται ευρέως για την τροποποίηση των νουκλεοβάσεων των νουκλεοζιτικών αναλόγων, είναι η αντίδραση διασταυρούμενης σύζευξης καταλυόμενης από Pd (Agrofolio *et al*, 2003). Η πρώτη φορά που αναφέρθηκε ο μηχανισμός αυτής της αντίδρασης ήταν 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. Λαμβάνοντας υπόψη τις αξιοσημείωτες βιολογικές ιδιότητες των πυριμιδινικών νουκλεοζιτικών αναλόγων, συντέθηκε και αποτιμήθηκε βιολογικά μία νέα τάξη πυρανονουκλεοζιτών που φέρουν την γλυκοπυρανόζη ως υδατανθρακικό δακτύλιο, με τροποποιημένες ετεροκυκλικές βάσεις την ουρακίλη, και την κυτοσίνη. Πιο αναλυτικά-συγκεκριμένα οι ενώσεις που συντέθηκαν έχουν τον παρακάτω γενικό τύπο (Ενώσεις **XXXVIII**, Σχήμα 51):



## Σχήμα 51

Με βάση τον συνθετικό σχεδιασμό, η ρετροσυνθετική προσέγγιση για την παρασκευή των επιθυμητών C5-αλκύνυλο πυριμιδινικών πυρανονουκλεοζιτικών

αναλόγων **XXXVIII**, έχουν ως πρόδρομες ενώσεις τα πυριμιδινικά γλυκοπυρανόζυλο ανάλογα της 5-ιωδοουρακίλης και της 5-ιωδοκυτοσίνης **XXXIX**. Η ρετροσυνθετική πορεία που ακολουθήθηκε για την παρασκευή των C5 αλκύνυλο πυριμιδινικών πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων, περιγράφεται στο παρακάτω σχήμα 52.

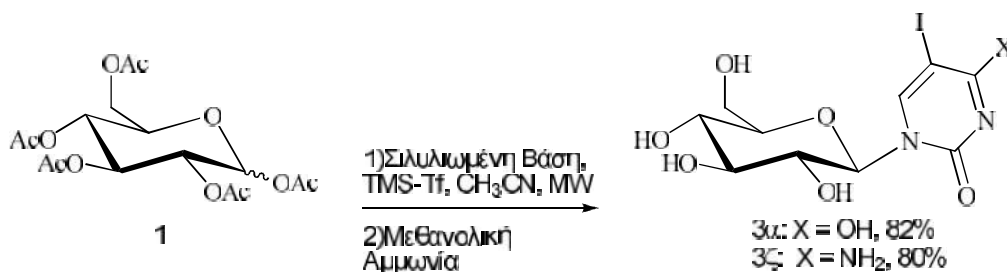


Σχήμα 52

### II.3.1 Σύνθεση των C5-αλκύνυλο-β-D-γλυκοπυρανόζυλο αναλόγων της ουρακίλης (15α-21α) και της κυτοσίνης (15ζ-21ζ)

Οι β-πυρανονουκλεοζίτες της 5-ιωδοουρακίλης **2α**, και της 5-ιωδοκυτοσίνης **2ζ** (Σχήμα 53), συντέθηκαν με την μέθοδο Vobruggen. Η εμπορικά διαθέσιμη 1,2,3,4,6-πεντακίς-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανόζη (**1**) με την κατάλληλη νουκλεοβάση, διαλύονται σε άνυδρο ακετονιτρίλιο ( $CH_3CN$ ), παρουσία του εξαμεθυλοδισιλαζάνιου (HMDS), καθώς και καταλυτικής ποσότητας σακχαρίνης υπό ατμόσφαιρα αζώτου και με την προσθήκη του τριφθορομεθανοσουλφονικού τριμεθυλοσιλυλεστέρα ( $Me_3SiOSO_2CF_3$ ) ακτινοβολούνται με μικροκύματα σε 120 Watt για 3 λεπτά. Στη συνέχεια ακολουθεί η αποπροστασία τους με μεθανολική αμμωνία. Από την εξέταση των φασμάτων  $^1H$  NMR των νουκλεοζιτών **2α,ζ**, παρατηρείται μια μεγάλη σταθερά σύζευξης ( $J_{1',2'} = 9.3-9.5$  Hz), μεταξύ των

γειτονικών πρωτονίων H-1' και H-2', υποδεικνύοντας τον αξονικό προσανατολισμό των δύο υδρογόνων, με την ετεροκυκλική βάση να λαμβάνει την ισημερινή θέση στο τμήμα του σακχάρου. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα έρχονται σε συμφωνία με την υιοθέτηση των β-ανωμερικών νουκλεοζιτών μιας  $^4C_1$  διαμόρφωσης.

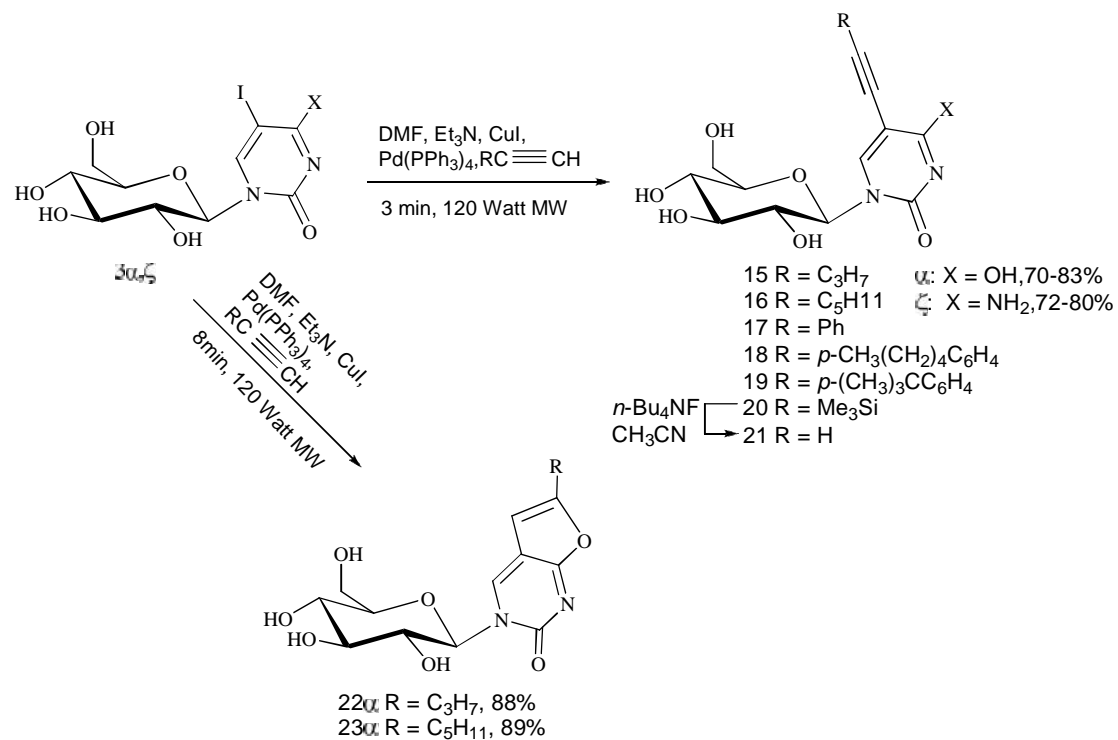


Σχήμα 53

### Π.3.2 Γενική μέθοδος σύνθεσης τελικών αλκυνίων (Sonogashira reaction)

Το τελικό στάδιο της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την διασταυρούμενη σύζευξη καταλυόμενη από Pd των τελικών αλκυνίων με τους πυρανονουκλεοζίτες της 5-ιωδοουρακίλης (**3α**) και της 5-ιωδοκυτοσίνης (**3ζ**) (Σχήμα 54). Συγκεκριμένα, ο πυρανονουκλεοζίτης της 5-ιωδοουρακίλης (**3α**) και της 5-ιωδοκυτοσίνης (**3ζ**) διαλύεται σε άνυδρο *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF), προσθέτοντας το κατάλληλο αλκύνιο, το τετράκις-τριφαίνυλοφωσφορικό παλλάδιο (Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>) ως καταλύτη, τον ιωδιούχο χαλκό (CuI) ως συγκαταλύτη, και την τριαιθυλαμίνη (Et<sub>3</sub>N) ως βάση υπό ατμόσφαιρα αζώτου και στη συνέχεια ακτινοβολούνται με μικροκύματα σε 120 Watt, για 3 λεπτά (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 **15α-20α** (70-82%) και **15ζ-20ζ** (72-80%). Τα τελικά αλκύνια **21α** (83%) και **21ζ** (80%) παραλαμβάνονται από τα σιλιλιωμένα αλκύνια **20α,ζ** ύστερα από κατεργασία τους με άνυδρο ακετονιτρίλιο (CH<sub>3</sub>CN) και άνυδρο τετρα-βουτυλοφθοριούχο αμμώνιο (*n*-Bu<sub>4</sub>NF x 3H<sub>2</sub>O) (Escuret *et al*, 2005). Αξίζει να παρατηρηθεί ότι παρατείνοντας τον χρόνο της αντίδρασης στα 8 λεπτά, τα ανάλογα της ουρακίλης 5-πεντύνυλο (**15α**) και το 5-επτύνυλο (**16α**) υπέστησαν ενδομοριακή κυκλοποίηση προς τα δικυκλικά φουρανοπυριμιδικά ανάλογα **22α** (88%) και **23α** (89%), αντίστοιχα. Από την μελέτη των φασμάτων <sup>1</sup>H NMR των προϊόντων **22α** και **23α**

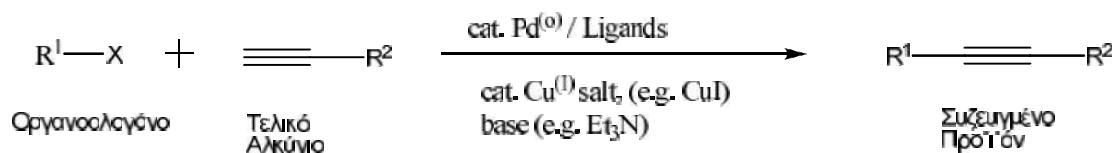
παρατηρείται η εμφάνιση ενός νέου ολεφινικού πρωτονίου στα 6.39 και 6.30 ppm, αντίστοιχα, αποδεικνύοντας την δικυκλική κυκλοποιημένη δομή τους.



Σχήμα 54

### II.3.2.1 Μηχανισμός Sonogashira reaction

#### Προτεινόμενος μηχανισμός αντίδρασης



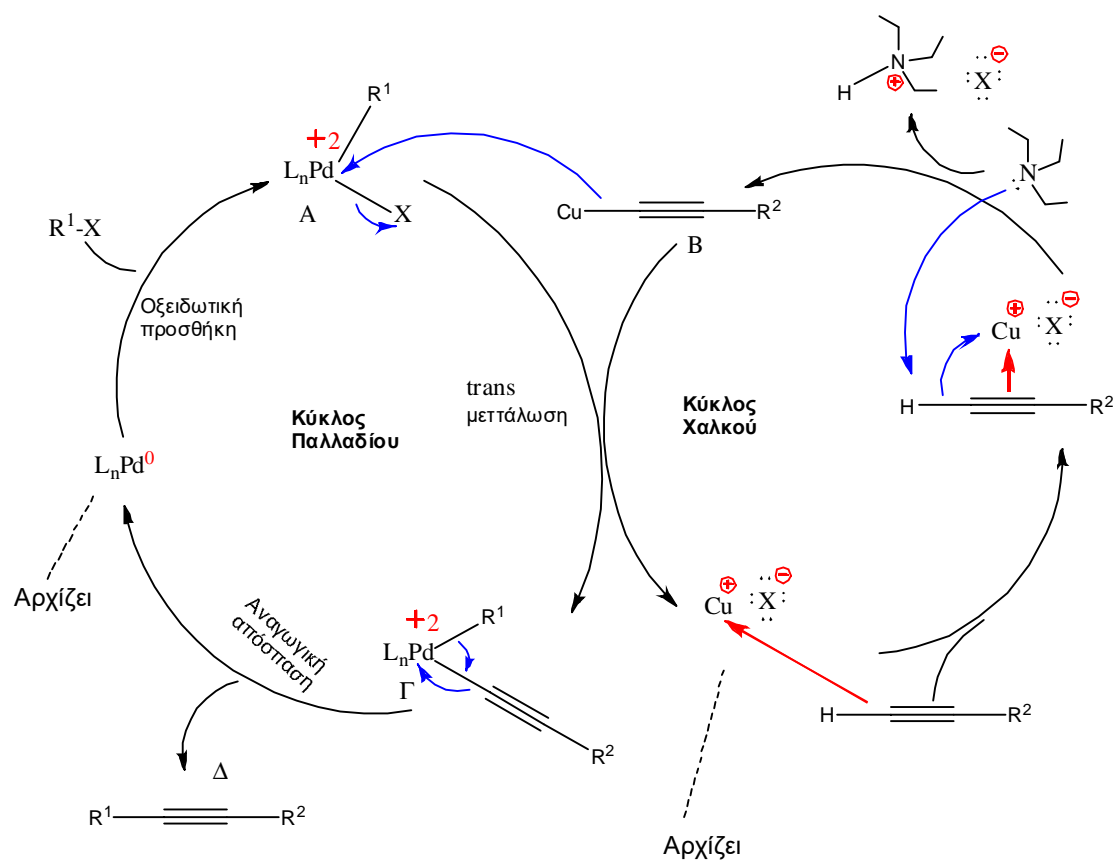
$\text{R}^1 = \text{aryl, alkenyl, alkyl}$

$\text{R}^2 = \text{H, aryl, alkenyl, alkyl}$

$\text{X} = \text{Cl, Br, I}$

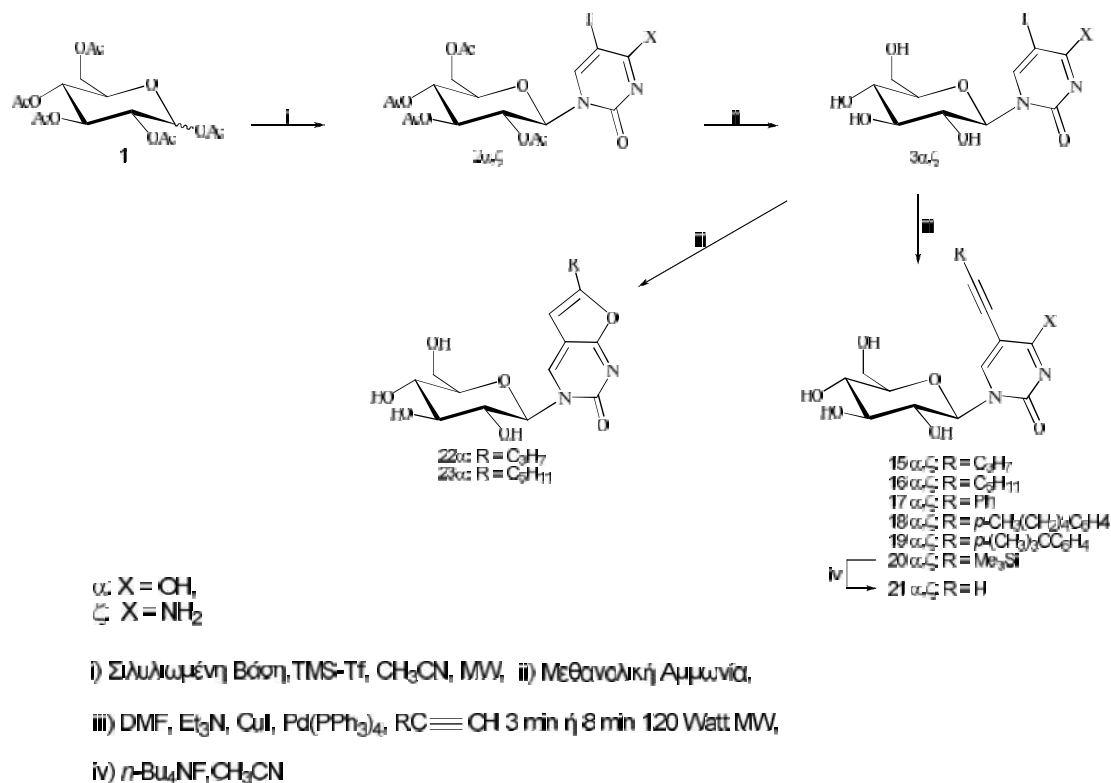
Η αντίδραση διασταυρούμενης σύζευξης καταλυόμενη από Pd (Sonogashira 1975) είναι η οργανική αντίδραση ενός οργανοαλογόνου με ένα τελικό αλκύνιο προς το σχηματισμό του συζευγμένου προϊόντος χρησιμοποιώντας για καταλύτη το παλλαδίο, έναν συγκαταλύτη όπως ο ιωδιούχος χαλκός και μια βάση όπως η τριαιθυλαμίνη. Ο μηχανισμός αρχίζει στον κύκλο του παλλαδίου με την οξειδωτική προσθήκη του οργανοαλογόνου στο  $\text{Pd}^0$  για να σχηματίσει το σύμπλοκο **A** ( $\text{Pd}^{\text{II}}$ ) (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 αλκυνίου (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 (Εικόνα 1).





**Εικόνα 1.** Προτεινόμενος μηχανισμός Sonogashira reaction

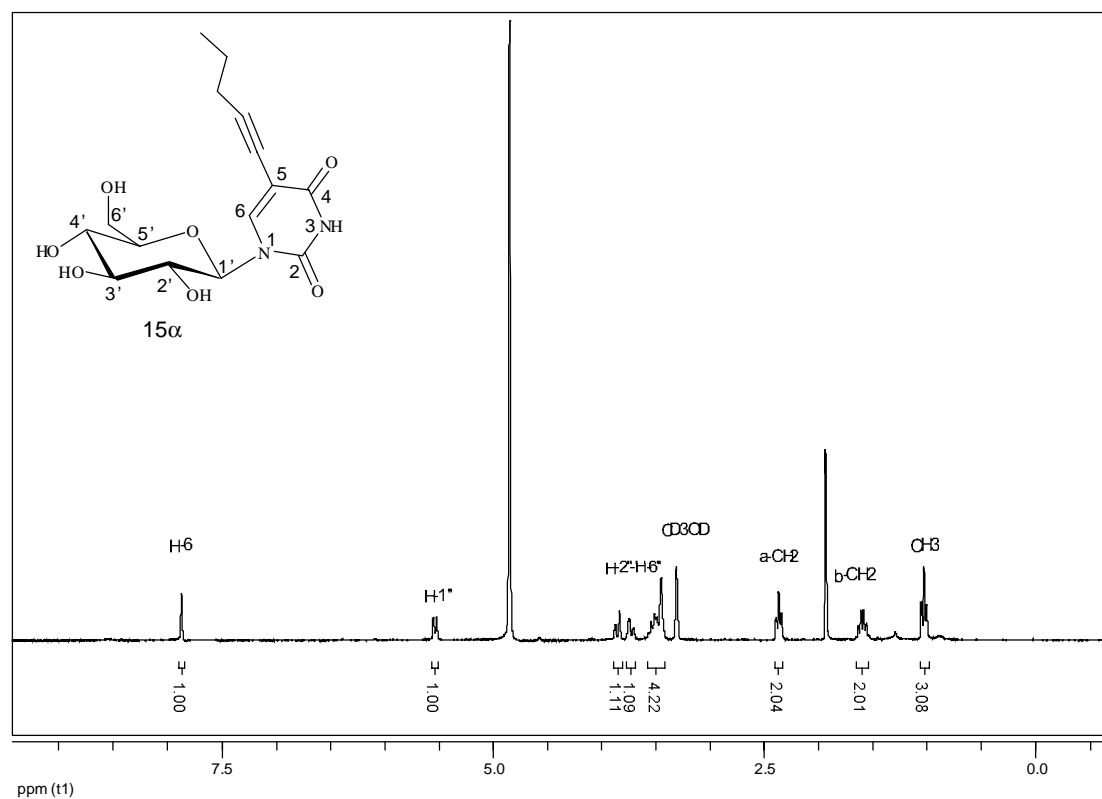
Η γενική πορεία για τη σύνθεση των C5-αλκύνυλο πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης και της κυτοσίνης φαίνεται στο σχήμα 55 που ακολουθεί:

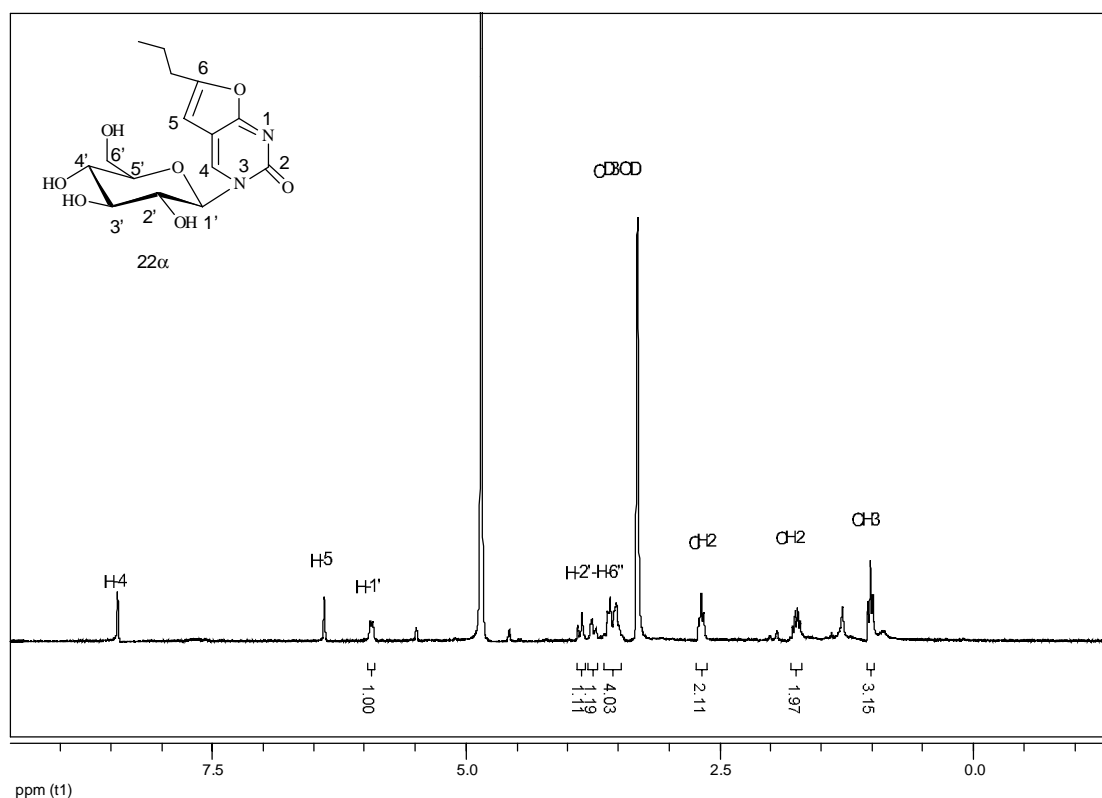


### Σχήμα 55

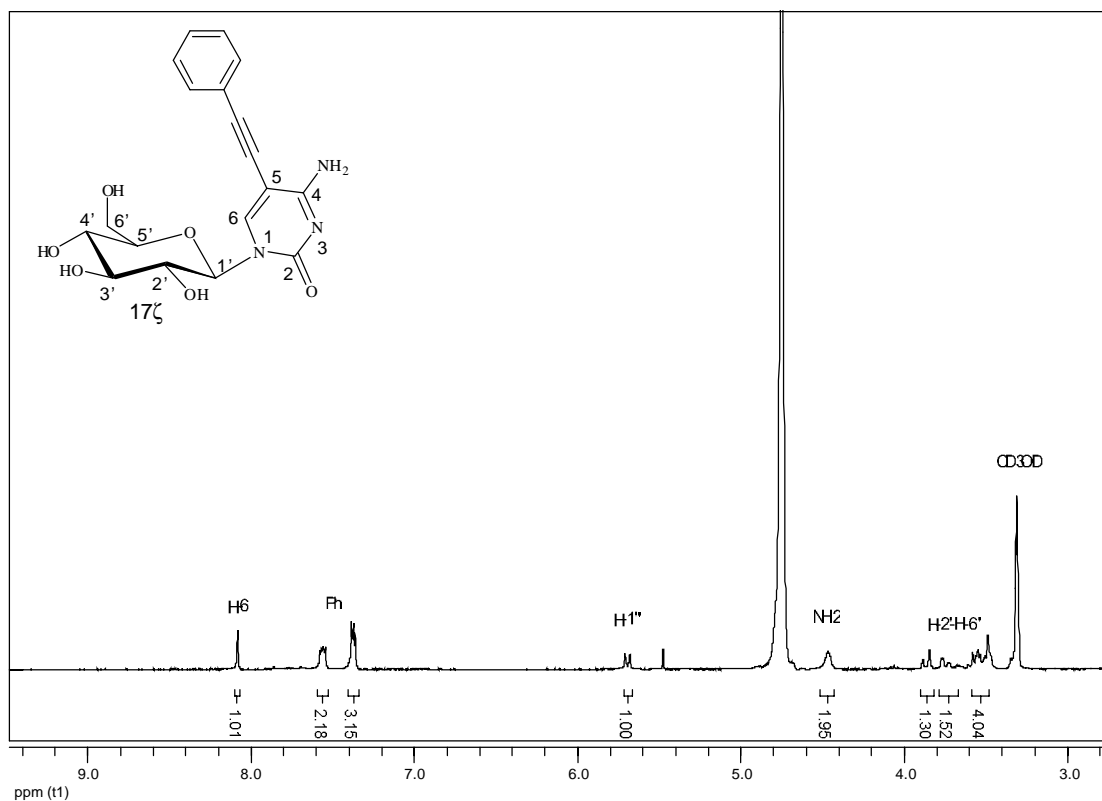
Στο σχήμα 56 που ακολουθεί απεικονίζονται τα χαρακτηριστικά φάσματα <sup>1</sup>H-NMR του 1-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-(πεντυνυλο)ουρακίλη (**15α**) και το αντίστοιχο δικυκλικό κυκλοποιημένο ανάλογο 6-*n*-προπυλο-3[1-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-φουρανο[2,3-*d*]πυριμιδινο-2-ονη (**22α**). Από τη μελέτη των φασμάτων παρατηρούμε ότι για το προϊόν **15α** εμφανίζεται το σήμα του πρωτονίου της ετεροκυκλικής βάσης H-6 στα 7.87 ppm και ακολουθεί η χαρακτηριστική διπλή κορυφή στα 5.53 ppm με σταθερά σύζευξης  $J_{1',2'} = 8.7$  Hz, που αντιστοιχεί στο σήμα πρωτονίου H-1' του σακχάρου. Έπειτα, ακολουθούν τα σήματα πρωτονίων H-2'-H-6' στην περιοχή των 3.87-3.31 ppm. Τέλος, δύο τριπλές κορυφές εμφανίζονται στα 2.36 και 1.00 ppm με σταθερές σύζευξης  $J = 6.9$  Hz και  $J = 7.3$  Hz αντίστοιχα, καθώς και μια πολλαπλή κορυφή στα 1.59 ppm που αντιστοιχούν στα πρωτόνια της αλκύνυλο αλυσίδας. Από την μελέτη του φάσματος του προϊόντος **22α** παρατηρούμε ότι στα 8.43 ppm εμφανίζεται το σήμα του πρωτονίου H-4 και στα 6.39 ppm εμφανίζεται το σήμα του

πρωτονίου H-5 του φουρανοπυριμιδικού δακτυλίου, το οποίο αποτελεί απόδειξη της κυκλοποιημένης δομής του. Ακολουθεί η χαρακτηριστική διπλή κορυφή του πρωτονίου H-1' του σακχάρου στα 5.93 ppm με σταθερά σύζευξης  $J_{1',2'} = 7.2$  Hz. Τέλος, εμφανίζονται τα σήματα των υπόλοιπων πρωτονίων H-2'-H-6' του σακχάρου στην περιοχή των 3.89-3.51 ppm και τα πρωτόνια της αλκύνυλο αλυσίδας ως δύο τριπλές και μια πολλαπλή κορυφή στην περιοχή των 2.68-1.00 ppm.

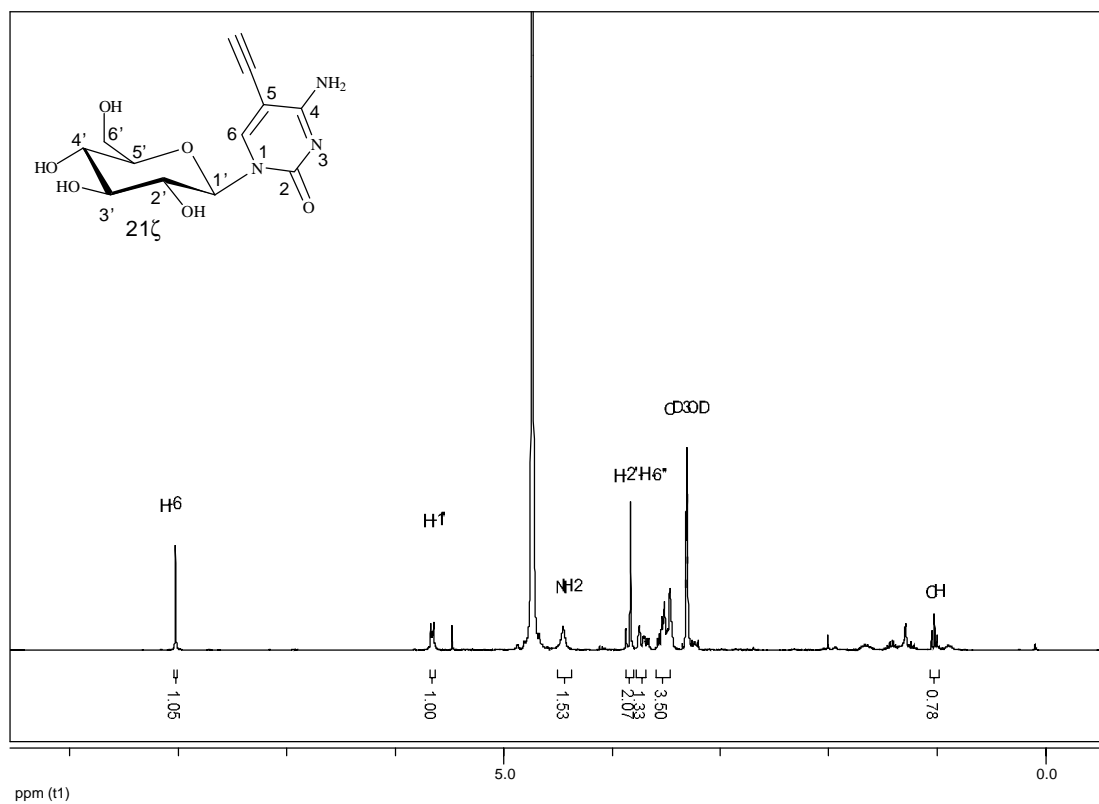


**Σχήμα 56**

Ακολουθούν ενδεικτικά τα φάσματα των νουκλεοζιτικών αναλόγων της κυτοσίνης: 1-(β-D-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(φαινυλο)αιθυνυλο]κυτοσίνη (**17ζ**) Σχήμα 57 και 1-(β-D-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-(αιθυνυλο)κυτοσίνη (**21ζ**) Σχήμα 58.



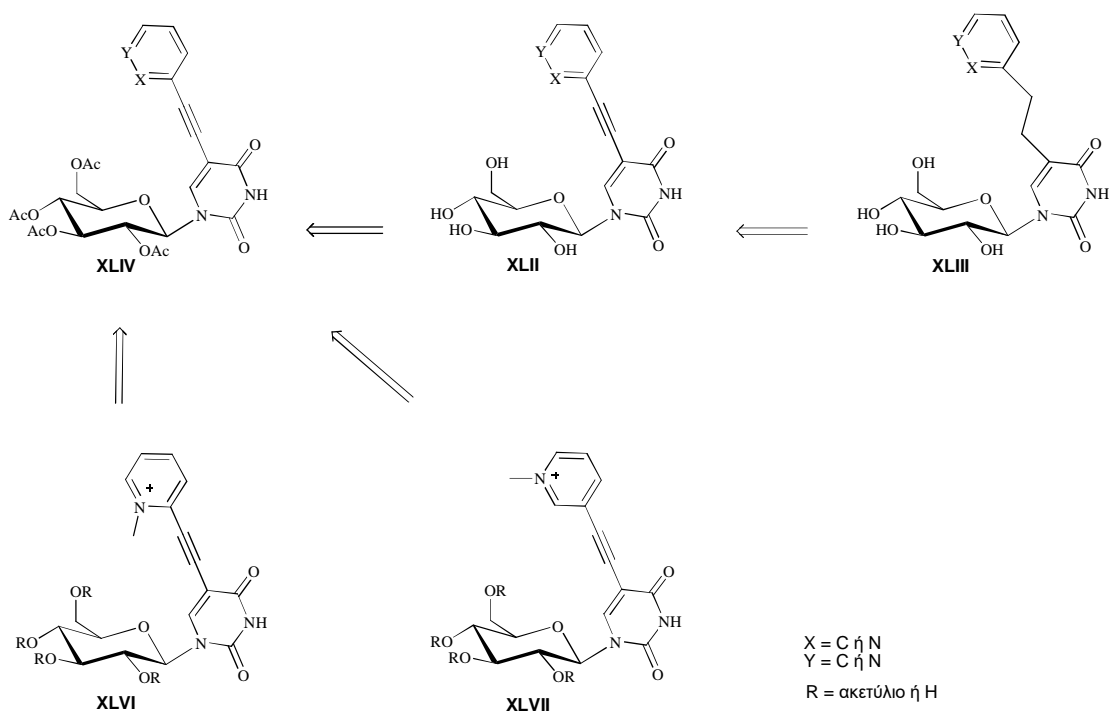
Σχήμα 57



Σχήμα 58

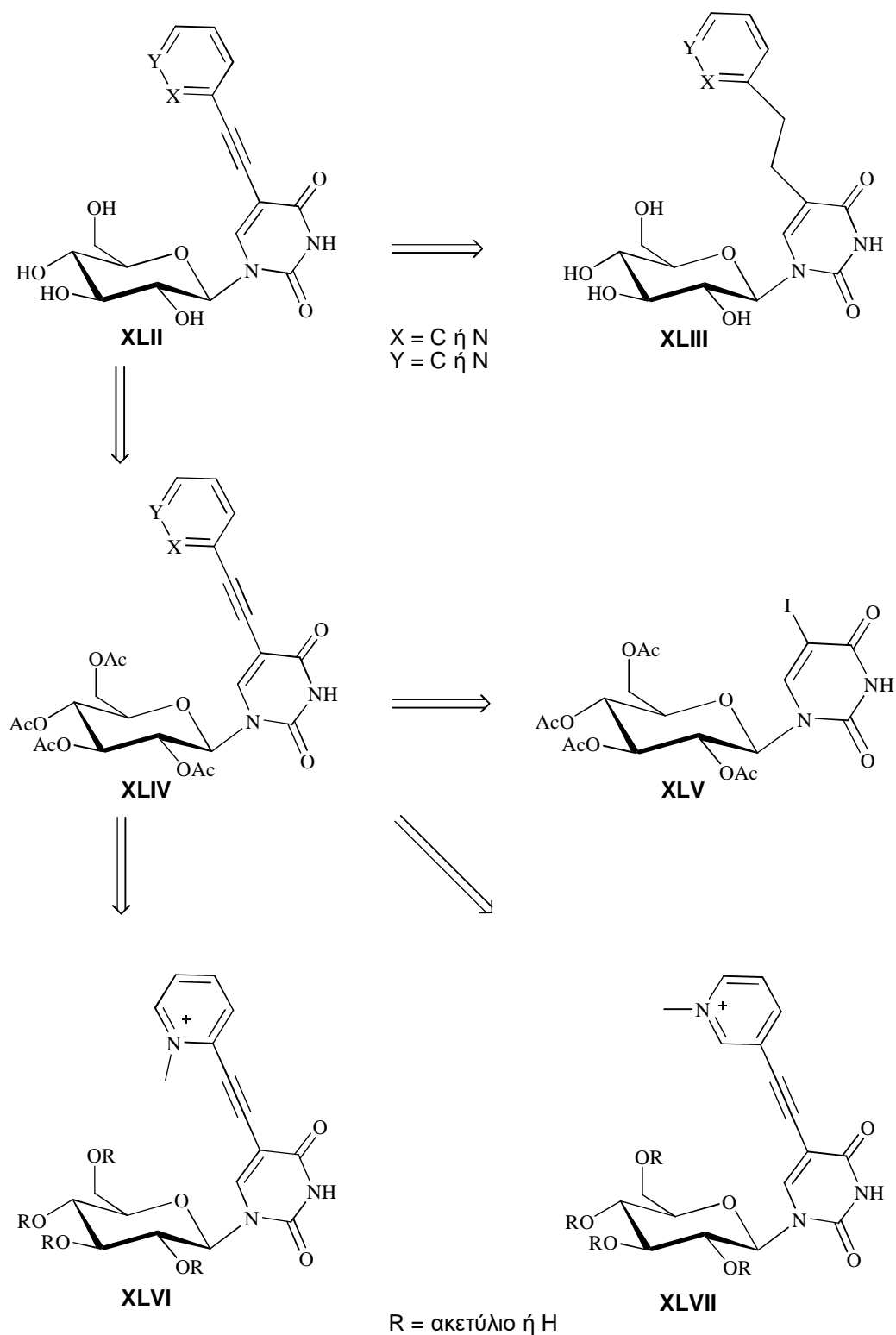
Βασιζόμενοι στην αξιοσημείωτη δράση του νουκλεοζίτη της ουρακίλης 1-( $\beta$ -D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(φαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (**17a**) και ως συνέχεια του ενδιαφέροντός μας στους τροποποιημένους στην ετεροκυκλική βάση πυρανονουκλεοζίτες, θεωρήσαμε ενδιαφέρουσα την εισαγωγή ενός ετεροατόμου, και ειδικότερα ενός αζώτου, στο φαινολικό δακτύλιο, με στόχο την εύρεση νέων αποτελεσματικότερων θεραπευτικών αναλόγων. Συνεπώς, στην παρούσα εργασία περιγράφεται η σύνθεση των πυριδίνυλο γλυκοπυρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης **27** και **28** καθώς και των αναλόγων τους που φέρουν την τεταρτοταγή κατιονική μορφή, των πυριδινίμυλο γλυκοπυρανονουκλεοζιτών **33** και **35**. Συγκεκριμένα, τα τελευταία μόρια θα μπορούσαν να λειτουργήσουν ως δέκτες ηλεκτρονίων όταν ενσωματωθούν σε διμερή μόρια DNA (Gaballah και Netzel 2002). Επιπλέον, με στόχο να εξετάσουμε την επίδραση του τριπλού δεσμού στην ανασταλτική δράση των νέων ενώσεων, πραγματοποιήσαμε την καταλυτική υδρογόνωση των ενώσεων **17a**, **27** και **28** από τις οποίες λήφθησαν τα υδρογονωμένα παράγωγα **29**, **30** και **31** αντίστοιχα.

Η ρετροσυνθετική προσέγγιση για την παρασκευή των επιθυμητών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων **XLII**, **XLIII**, **XLVI** και **XLVII** έχουν ως πρόδρομη ένωση το αντίστοιχο ακετυλιωμένο πυρανονουκλεοζιτικό ανάλογο **XLIV** (Σχήμα 59).



### Σχήμα 59

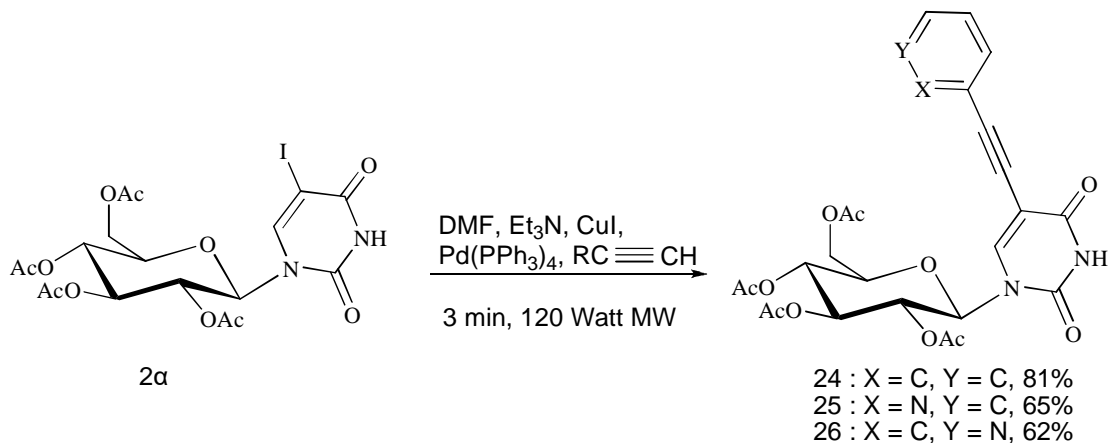
Αναλυτικότερα η ρετροσυνθετική πορεία που σχεδιάστηκε απεικονίζεται στο παρακάτω σχήμα 60:



## Σχήμα 60

## Π.3.3 Σύνθεση του φαίνυλο και των πυριδίνυλο και πυριδινίμυλο πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης 17a, 24-35

Έχοντας εξασφαλίσει την διαθεσιμότητα του ακετυλιωμένου πυρανονουκλεοζίτη της ουρακίλης **2a** συνεχίζουμε την συνθετική μας πορεία με την διασταυρούμενη σύζευξη καταλυόμενη από Pd των τελικών αλκυνίων (φαίνυλοαιθύνυλο, -2-πυριδινυλοαιθύνυλο, -3-πυριδινυλοαιθύνυλο). Συγκεκριμένα ο νουκλεοζίτης **2a** διαλύεται σε άνυδρο *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF), προσθέτοντας το κατάλληλο αλκύνιο, το τετράκις-τριφαίνυλοφωσφορικό παλλάδιο ( $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ ) ως καταλύτη, τον ιωδιούχο χαλκό (CuI) ως συγκαταλύτη, και την τριαιθυλαμίνη ( $\text{Et}_3\text{N}$ ) ως βάση υπό ατμόσφαιρα αζώτου και στη συνέχεια ακτινοβολείται με μικροκύματα σε 120 Watt, για 3 λεπτά (Gaballah και Netzel 2002). 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 προστατευμένα προϊόντα **24**, **25** και **26** με ικανοποιητικές αποδόσεις (62-81%) σχήμα 61.

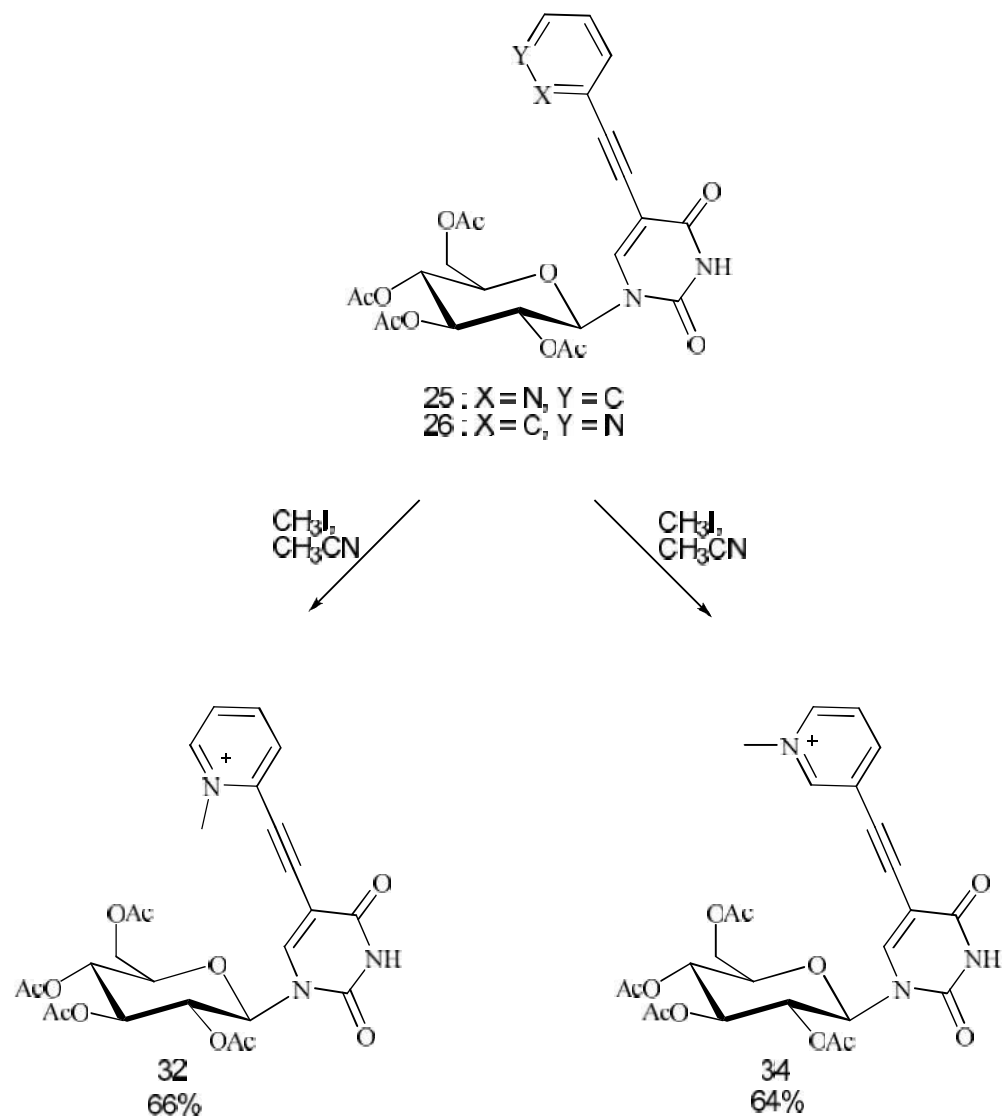


## Σχήμα 61

Το επόμενο βήμα της συνθετικής μας πορείας αποτελεί η μετατροπή των πυριδίνυλο νουκλεοζιτικών αναλόγων **25** και **26** στην τεταρτοταγή κατιονική μορφή τους, έπειτα από την κατεργασία τους με άνυδρο ακετονιτρίλιο ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) και με την προσθήκη του ιωδιούχου μεθανίου ( $\text{CH}_3\text{I}$ ), όπου το μίγμα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα με επαναροή για 20 ώρες στους 60 °C υπό ατμόσφαιρα αζώτου (Gaballah και Netzel 2002). Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), ο διαλύτης απομακρύνεται

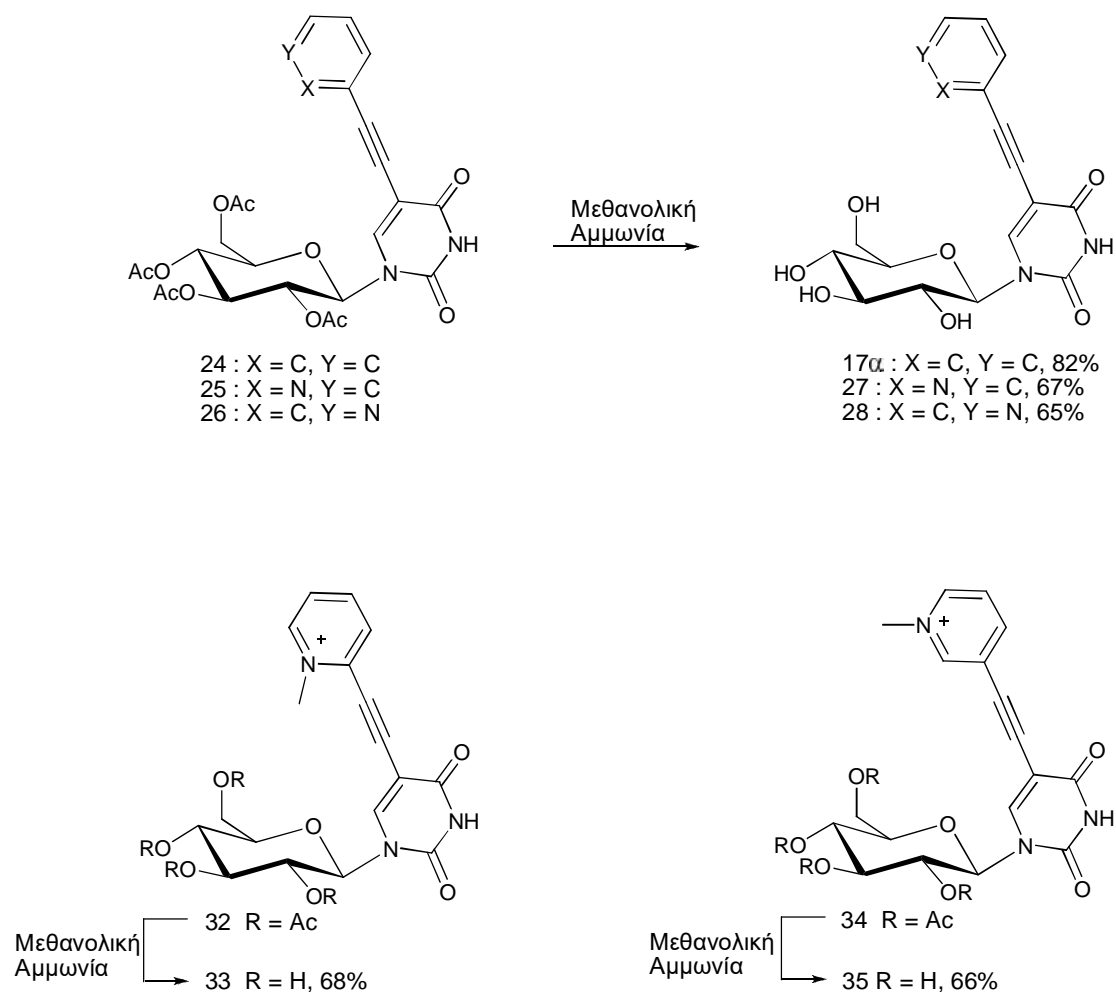


υπό κενό. Ακολουθεί καθαρισμός των υπολειμμάτων σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, οπότε παραλαμβάνονται τα επιθυμητά πυριδινύλιο ανάλογα τους **32** και **34** με αποδόσεις 66% και 64% αντίστοιχα (Σχήμα 62).



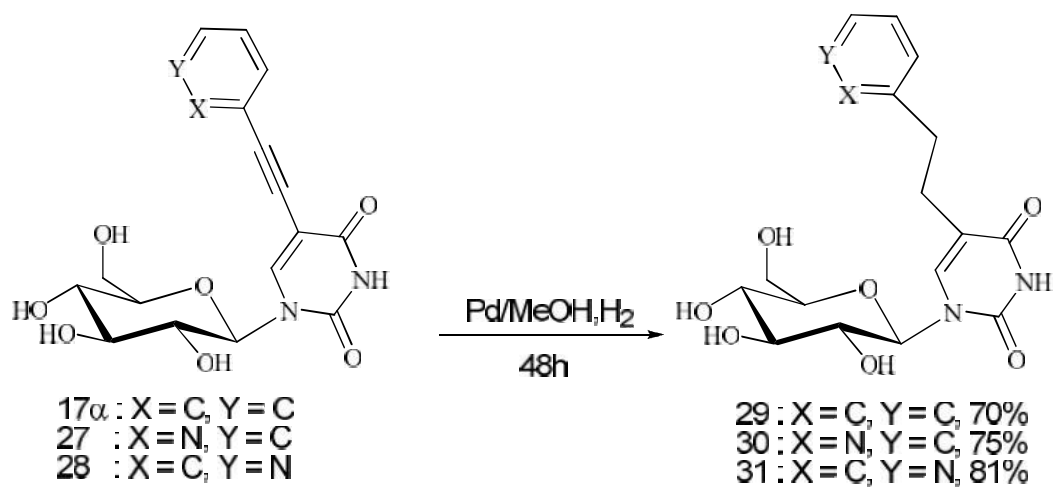
**Σχήμα 62**

Στο επόμενο στάδιο πραγματοποιείται η αποπροστασία των ενώσεων **24**, **25**, **26**, **32** και **34** με κατεργασία τους με μεθανολική αμμωνία (Neilson και Werstuijk 1971), οπότε παραλαμβάνονται τα τελικά νουκλεοζιτικά ανάλογα **17a**, **27**, **28**, **33** και **35**, αντίστοιχα (Σχήμα 63).



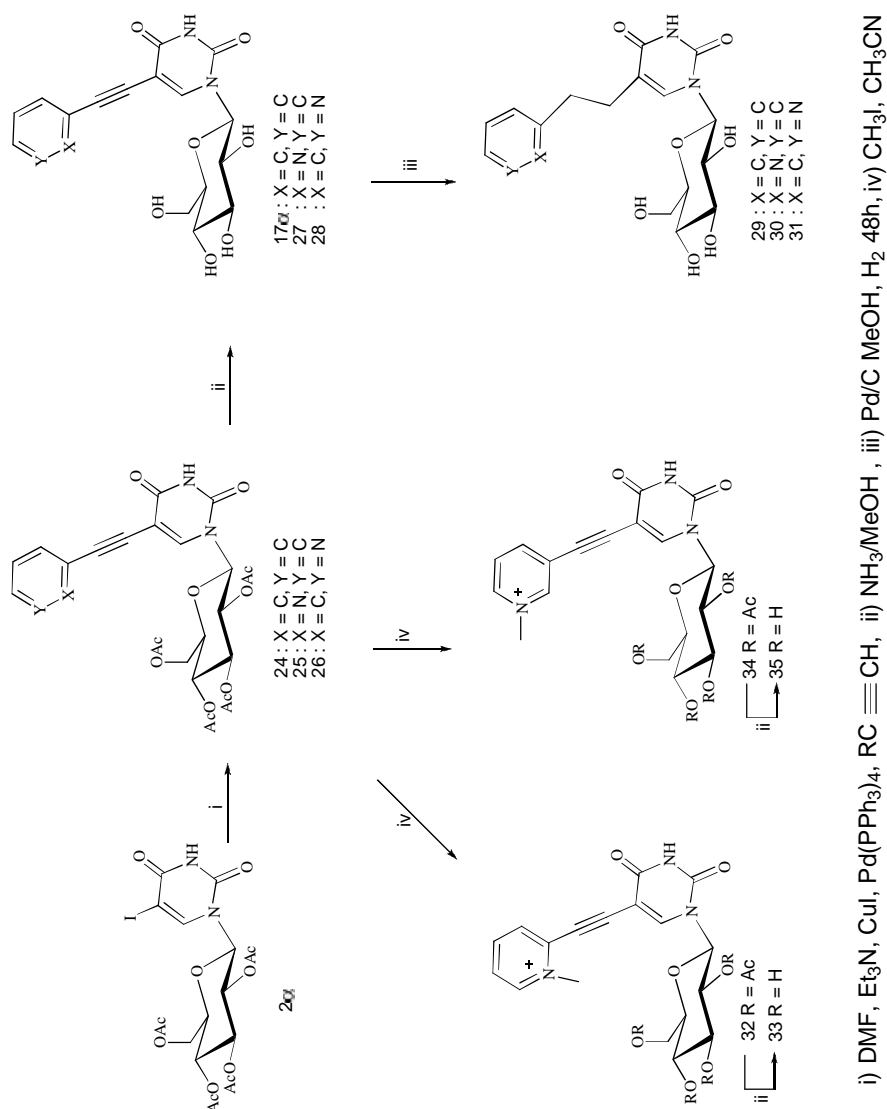
### Σχήμα 63

Μετά την επιτυχή παρασκευή των **17a**, **27**, **28** συνεχίστηκε η συνθετική μας πορεία με την καταλυτική υδρογόνωση τους προς τα παράγωγα **29**, **30**, **31** με τη βοήθεια παλλαδίου επί άνθρακα 10% και διαλύτη μεθανόλη στους 20 °C για 48 ώρες (Jarrahpour 2007). Μετά το πέρας της αντίδρασης το μίγμα διηθείται μέσω γης διατόμων (Celite) και από το διήθημα απομακρύνεται ο διαλύτης υπό κενό. Πραγματοποιήθηκε καθαρισμός των υπολειμμάτων σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, οπότε παραλαμβάνονται τα επιθυμητά προϊόντα **29**, **30**, **31** με απόδοση 70%, 75% και 81% αντίστοιχα (Σχήμα 64).



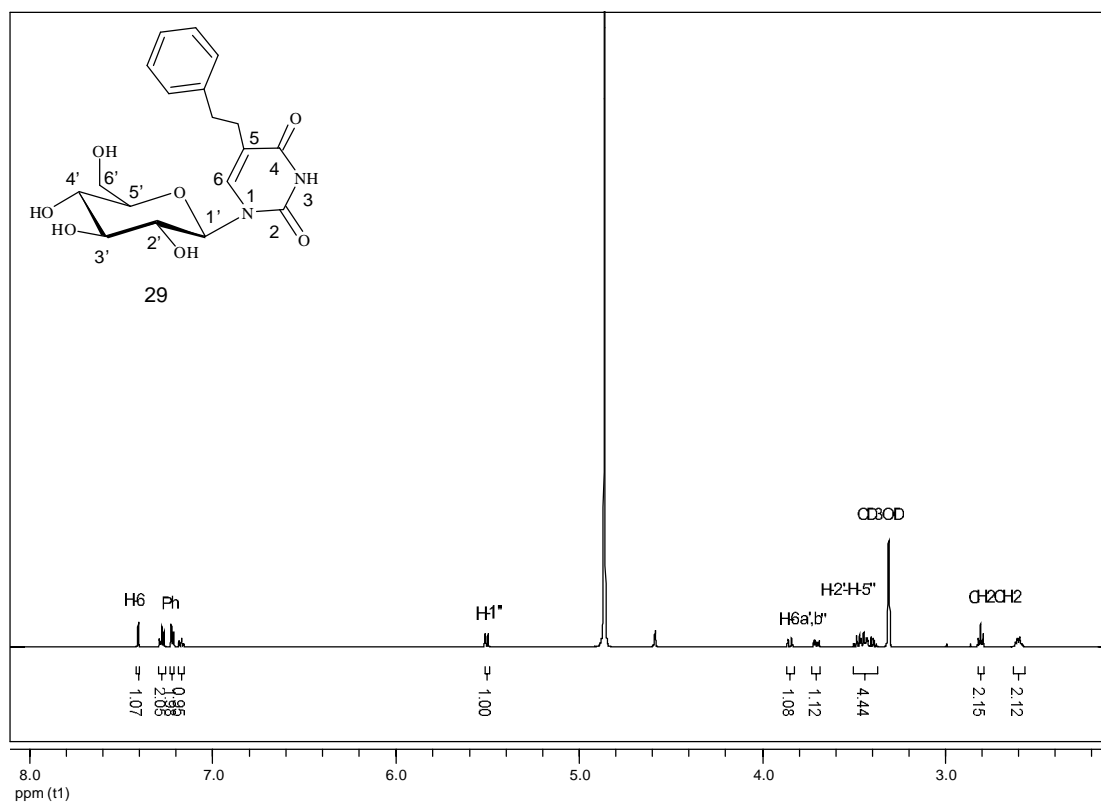
Σχήμα 64

Ολόκληρη η γενική πορεία για τη σύνθεση των C5-αλκύνυλο πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης φαίνεται στο σχήμα 65 που ακολουθεί:

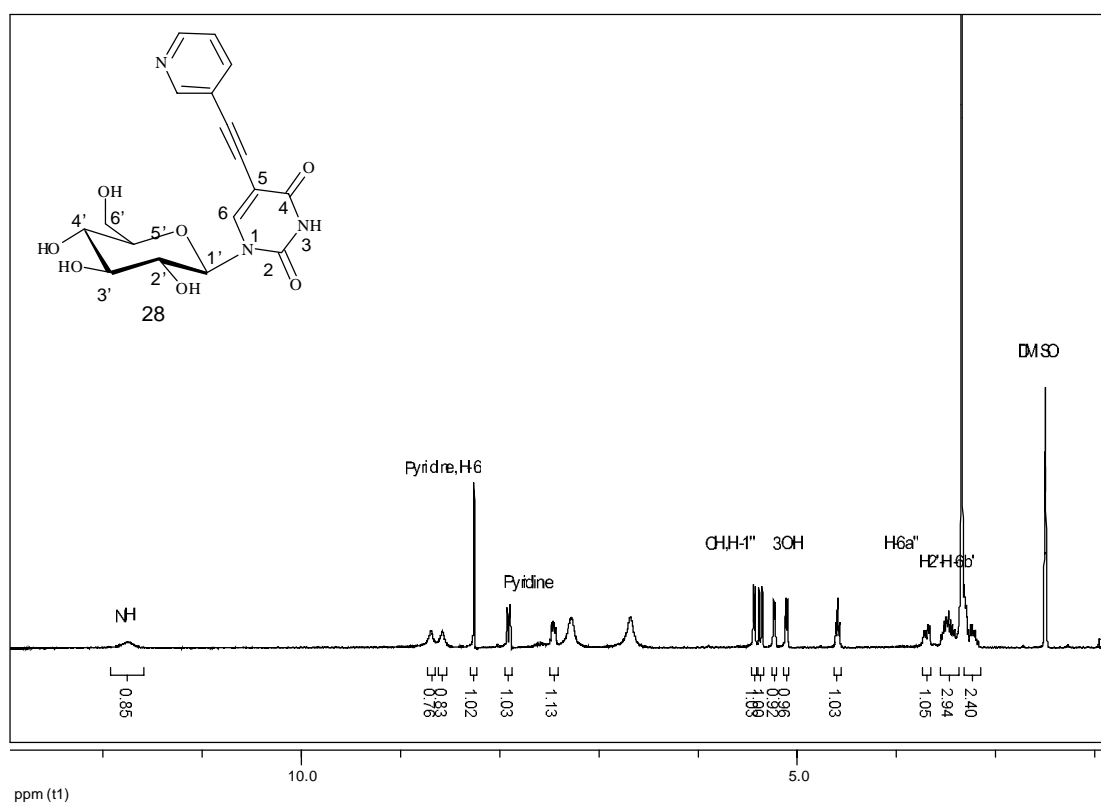


Σχήμα 65

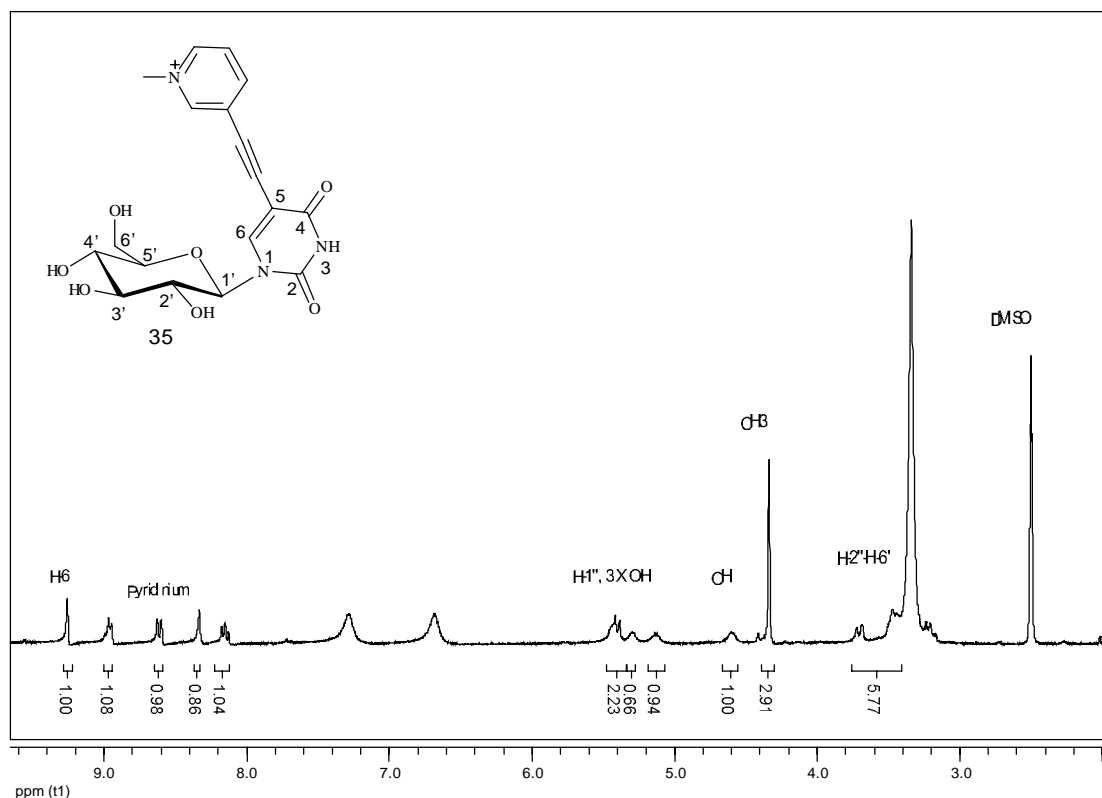
Ακολουθούν ενδεικτικά τα φάσματα των νουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης 1-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-(φαινυλοαιθυλο)ουρακίλη (**29**) σχήμα 66, 1-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(πυριδιν-3-υλ)αιθυνο]ουρακίλη (**28**) σχήμα 67 και 3-[(1-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)ουρακίλη-5-υλ-αιθυνο]-N-μεθυλο πυριδινιμυλο) ιωδίδιο (**35**) σχήμα 68.



Σχήμα 66



Σχήμα 67



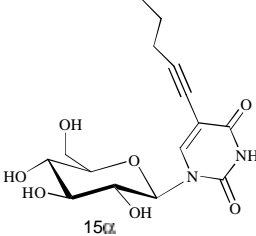
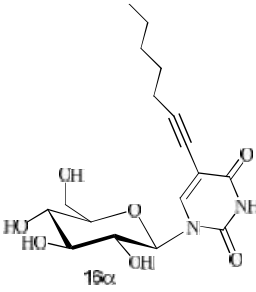
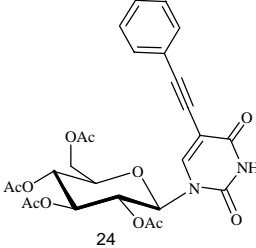
Σχήμα 68

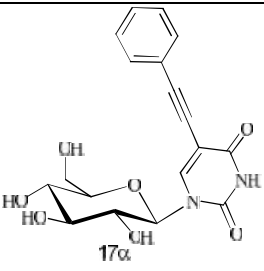
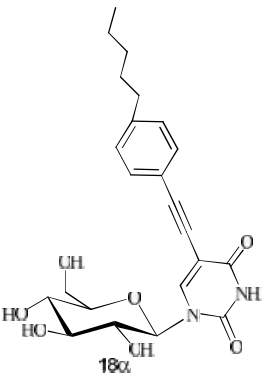
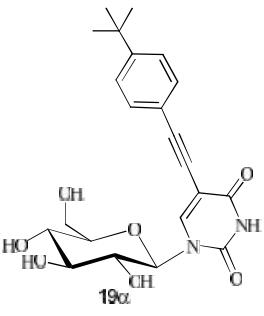
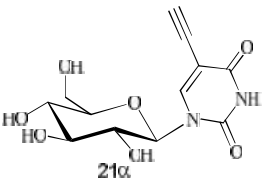
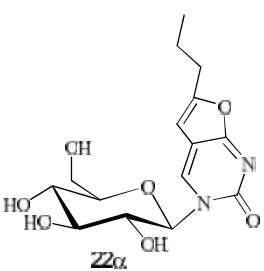
### Π.3.4 Αντιϊική και αντικαρκινική δράση των C5-αλκύνυλο πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης και της κυτοσίνης (15α,ζ-19α,ζ, 21α,ζ, 22α, 23α και 25-35)

Μετά την επιτυχή ολοκλήρωση της σύνθεσης των ενώσεων-στόχων εξετάστηκε η αντιϊική και αντικαρκινική τους δράση σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Ιολογίας και Χημειοθεραπείας του Ινστιτούτου Ιατρικής Έρευνας Rega στο Βέλγιο. Οι ενώσεις **15α,ζ-19α,ζ**, **21α,ζ**, **22α**, **23α** και **25-35** 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). Όπως προκύπτει από τον παρακάτω πίνακα 3, η 1-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-φαινυλοαιθυνοουρακίλη (**17α**) εμφάνισε εξαιρετική ανασταλτική δράση έναντι των κυττάρων λευχαιμίας ποντικού (L1210), του ανθρώπινου λεμφώματος (CEM) καθώς και των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του τραχήλου της μήτρας (HeLa) της τάξεως των ~ 5.6 μM. Επίσης, παρατηρούμε ότι μέτρια ανασταλτική δράση εμφάνισαν η 1-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο) 5-[(4-πεντυλοφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη

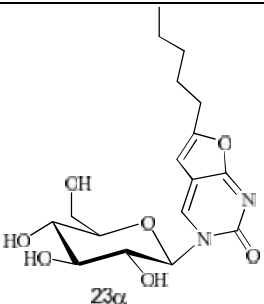
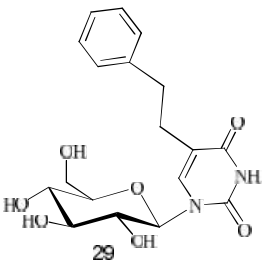
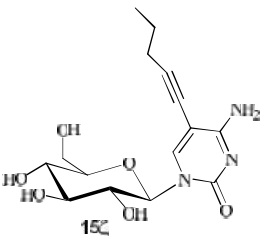
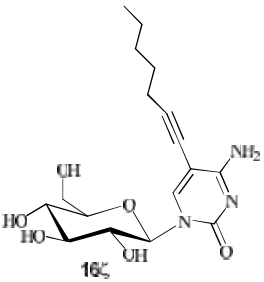
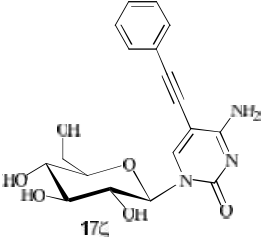
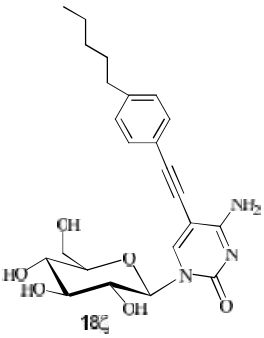
(**18a**) της τάξεως των  $\sim 60.6 \mu\text{M}$  και η 1-( $\beta$ -D- γλυκοπυρανοζυλο)-5-(επτυνυλο)ουρακίλη (**16a**) της τάξεως των  $\sim 25.6 \mu\text{M}$  έναντι της ανάπτυξης των καρκινικών κυτταρικών σειρών L1210, CEM και HeLa. Καμία από τις υπόλοιπες ενώσεις τόσο της ουρακίλης όσο και της κυτοσίνης δεν εμφάνισαν αξιόλογη κυτταροστατική δράση. Για την εκτίμηση της κυτταροτοξικής δράσης χρησιμοποιήθηκε η παράμετρος  $\text{IC}_{50}$ , η οποία αντιπροσωπεύει τη συγκέντρωση του φάρμακου που απαιτείται για την αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης κατά 50%. Τα τελικά προϊόντα αποτιμήθηκαν επίσης ως προς την αντιϊκή τους δράση έναντι μιας πληθώρας τόσο DNA όσο και RNA ιών, δεν ανέστειλαν όμως τους ιούς ακόμα και όταν χρησιμοποιήθηκαν σε υψηλές συγκεντρώσεις (100-200  $\mu\text{M}$ ).

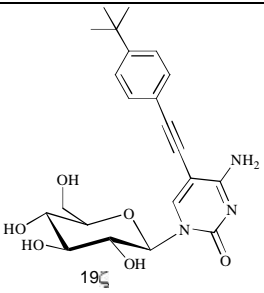
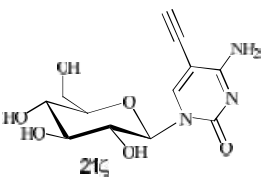
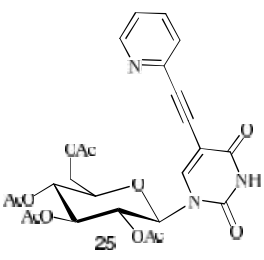
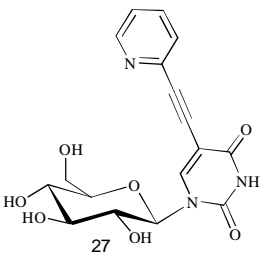
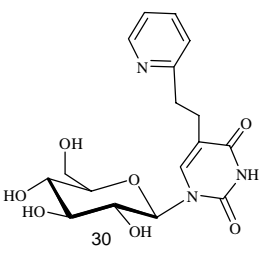
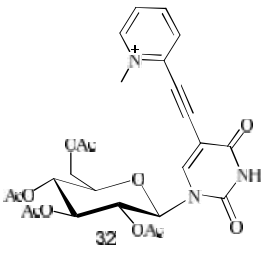
**Πίνακας 3.** Ανασταλτική δράση των ενώσεων **15a,ζ**, **19a,ζ**, **21a,ζ**, **22a**, **23a** και **25-35** έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων L1210, CEM και HeLa.

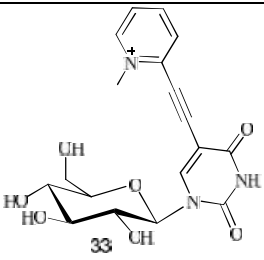
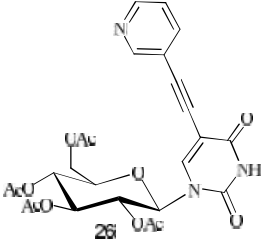
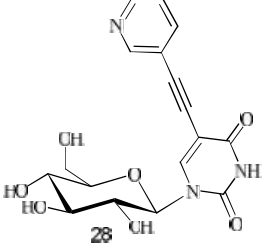
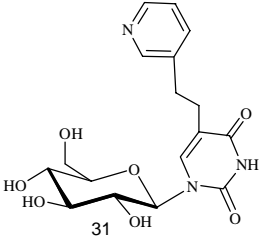
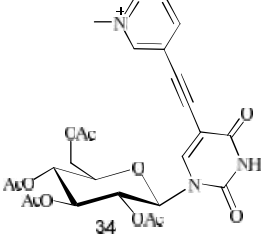
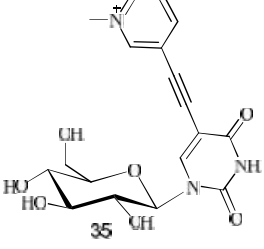
ΠΡΟΪΟΝ	$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )		
	L1210	CEM	HeLa
 15a	115±1	123±32	95±17
 16a	22±0	26±22	29±2
 24	87±36	91±24	70±4

 17α	6.2±0.4	5.2±2.6	5.4±0.0
 18α	70 ± 23	81 ± 30	31 ± 12
 19α	185 ± 91	> 250	37 ± 5
 21α	141±67	> 250	231±27
 22α	132 ± 29	173 ± 10	125 ± 5



 <p>23α</p>	≥ 250	> 250	> 250
 <p>29</p>	300 ± 0	244 ± 0	43 ± 7
 <p>15ζ</p>	≥ 250	> 250	191 ± 25
 <p>16ζ</p>	≥ 250	> 250	≥ 250
 <p>17ζ</p>	≥ 250	> 250	201 ± 68
 <p>18ζ</p>	132 ± 2	115 ± 15	43 ± 9

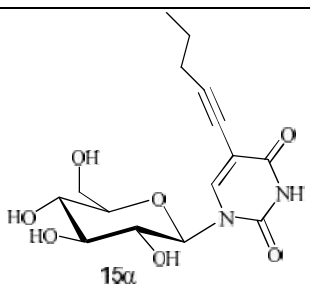
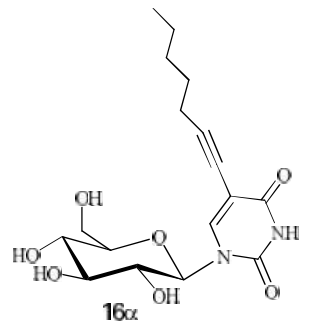
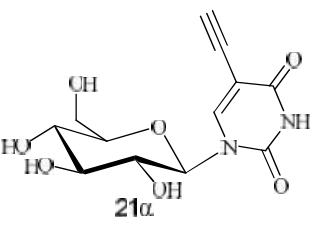
 19 <sub>c</sub>	> 250	> 250	140 ± 63
 21 <sub>c</sub>	≥ 250	> 250	≥ 250
 25	115 ± 4	139 ± 39	90 ± 1
 27	71 ± 10	79 ± 11	66 ± 0
 30	93 ± 28	152 ± 56	160 ± 78
 32	203 ± 49	> 250	232 ± 25

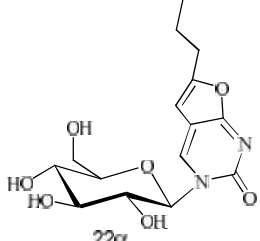
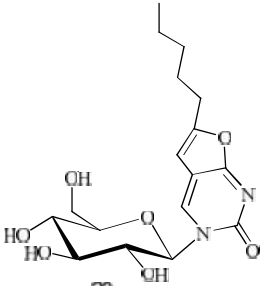
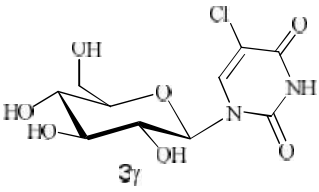
 33	$152 \pm 12$	$> 250$	$244 \pm 6$
 26	$> 250$	$182 \pm 95$	$> 250$
 28	$> 250$	$> 250$	$> 250$
 31	$\geq 250$	$\geq 250$	$> 250$
 34	$> 250$	$> 250$	$> 250$
 35	$> 250$	$> 250$	$> 250$
<b>5-Φθοροουρακίλη</b>	$0.33 \pm 0.16$	$18 \pm 5$	$0.54 \pm 0.12$

### Π.3.5 Κινητική μελέτη των C5-αλκύνυλο πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης **15a**, **16a** και **21a-23a**

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε συνεργασία με το εργαστήριο Δομικής και Λειτουργικής Βιοχημείας του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Η βιοδραστητικότητα των νέων αναστολέων αποτιμήθηκε στην rmGPb που είχε προηγούμενα απομονωθεί από το μυϊκό ιστό κουνελιού. Δεδομένου ότι η ανθρώπινη GP του ήπατος και η rmGPb έχουν πανομοιότυπη αλληλουχία αμινοξέων και αρχιτεκτονική δομή στο καταλυτικό κέντρο αναμένεται ότι οι αναστολείς θα έχουν παρόμοια δράση και στα δυο ισόενζυμα.

Τα αποτελέσματα των πειραμάτων κινητικής μελέτης των C5 αλκύνυλο πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης **15a**, **16a** και **21a-23a** παρατίθενται στον παρακάτω **Πίνακα 4**.

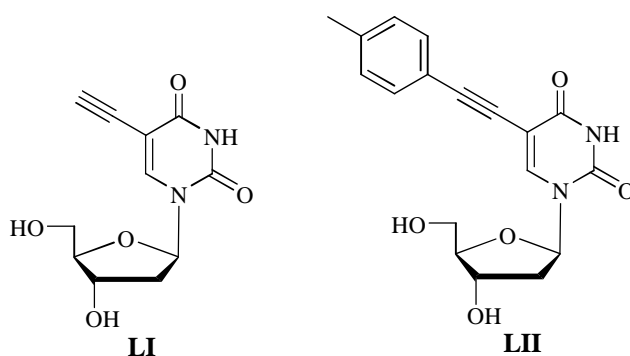
ΠΡΟΪΟΝ	<i>K<sub>i</sub></i> (μM)
 <b>15a</b>	303.0 ±6.7
 <b>16a</b>	3204 ±144.0
 <b>21a</b>	4.7 ±0.4

 <p>22α</p>	32.0 ±0.5
 <p>23α</p>	33.4 ±4.0
 <p>3γ</p>	1.02 ±0.15

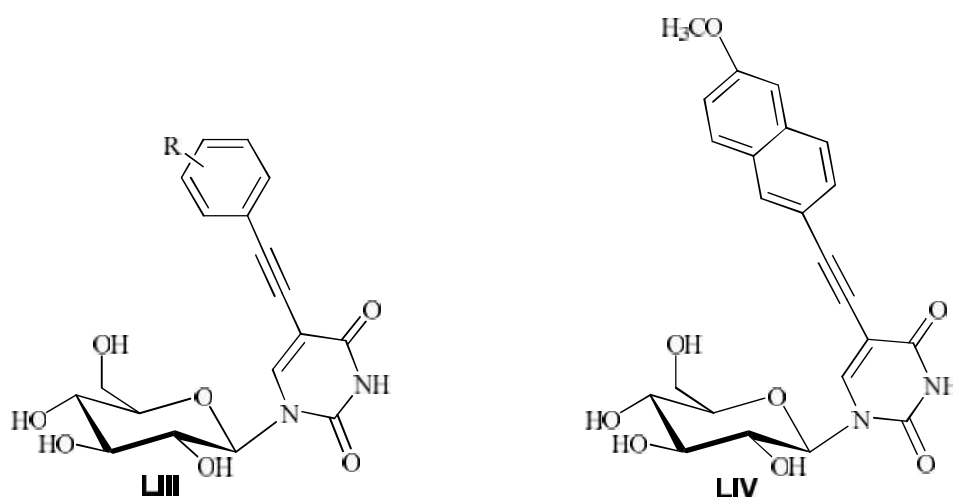
Όπως παρατηρούμε από τον πίνακα 4 διάφορες αλκύνυλο ομάδες μεταβλητού μήκους έχουν αντικαταστήσει το άτομο του χλωρίου που βρίσκεται στην θέση C5 της ετεροκυκλικής βάσης του πυρανονουκλεοζιτικού αναλόγου **3γ**. Όλες οι ενώσεις εκτός από δύο (**15α** και **16α**) εμφανίζουν υψηλή σταθερά αναστολής του ενζύμου, ωστόσο, δεν υπάρχει σημαντική βελτίωση της ανασταλτικής δράσης σε σύγκριση με εκείνη της ένωσης **3γ**. Τα ευρήματα αυτά θα μπορούσαν να οφείλονται στην έλλειψη αλληλεπίδρασης των αναστολέων με την καταλυτική θέση του ενζύμου. Πειράματα από τις κρυσταλλογραφικές μελέτες έχουν δείξει ότι οι τρεις αναστολείς **16α**, **22α** και **23α** προκαλούν σημαντικές διαμορφωτικές μεταβολές στον βρόχο 280s της GP, εμποδίζοντας έτσι την είσοδο τους στο ενεργό κέντρο. Η ένωση με την καλύτερη σταθερά αναστολής είναι η ένωση **21α** ( $K_i = 4.7 \pm 0.4 \mu\text{M}$ ) που εμφανίζει παρόμοια τιμή  $K_i$  με την ένωση **3γ** ( $K_i = 1.02 \pm 0.15 \mu\text{M}$ ). Από τα παραπάνω προκύπτει το συμπέρασμα πως η δραστηριότητα των αναστολέων που μελετήθηκαν, εξαρτάται από τον υποκαταστάτη που προστίθεται στη θέση C5 της ουρακίλης. Υποκαταστάτες με ιδιαίτερα μεγάλο μήκος ή μέγεθος παρεμποδίζουν την πρόσβαση στο καταλυτικό κέντρο με αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται και η αναστολή της βιολογικής δραστηριότητας του ενζύμου.

## Π.4 Σύνθεση των φαίνυλο υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης

Τα φουρανονουκλεοζιτικά ανάλογα που φέρουν τροποποιήσεις στο τμήμα των νουκλεοβάσεων αποτελούν αντικείμενο μελέτης εδώ και αρκετά χρόνια, λόγω των βιολογικών ιδιοτήτων τους ως αντιϊκά και αντικαρκινικά παράγωγα (Manta *et al*, 2014, Herdewijn 2008). Έχει αποδειχθεί ότι αρκετές 5-υποκατεστημένες 2'-δεοξουριδίνες παρουσιάζουν σημαντικές αντιϊκές (De Clercq *et al*, 1983, Efangea *et al*, 1985, Vincent *et al*, 1985 ) και αντικαρκινικές ιδιότητες (Vincent *et al*, 1985). Συγκεκριμένα, η 5-αιθυνυλο-2'-δεοξουριδίνη (**LI**), 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, καθώς επίσης και η 4-(μεθυλοφαινυλο)αιθυνυλο-2'-δεοξουριδίνη (**LII**) έδειξε υψηλή ανασταλτική δράση έναντι των MCF-7 με  $IC_{50}$   $0,9 \pm 0,2$   $\mu$ M συγκρίσιμη με αυτήν της 5-φθοροουρακίλης και της Σισπλατίνης (Cisplatin) (Meneni *et al*, 2007) Σχήμα 69. Επιπλέον, οι υποκατεστημένοι αρωματικοί δακτύλιοι έχουν την ικανότητα να δημιουργούν ισχυρότερους δεσμούς υδρογόνου όταν στοιβάζονται στις βάσεις του DNA/RNA (Mignon *et al*, 2004, Mignon *et al*, 2005). Με βάση τα ανωτέρω πειραματικά ευρήματα σε συνδυασμό με την αξιολόγηση κυτταροτοξική δράση της 1-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(φαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλης (**17a**) ( $IC_{50}$  5.2-6.2  $\mu$ M), θεωρήθηκε ενδιαφέρουσα ο σχεδιασμός και η σύνθεση μίας νέας κατηγορίας C5 φαίνυλο υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων που θα φέρουν υποκατεστημένους φαινολικούς δακτυλίους, καθώς και πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες. Έτσι, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση και η βιολογική αποτίμηση μιας νέας τάξης C5-φαίνυλο-αλκύνυλο πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης, που φέρουν υποκατεστημένο αρωματικό δακτύλιο με αλογόνα (F, Cl, Br), μέθυλο ομάδες (CH<sub>3</sub>) και μέθοξυ ομάδες (OCH<sub>3</sub>) στη θέση (*ortho*, *meta*, *para*) του αρωματικού δακτυλίου, καθώς επίσης και το 6-μεθοξυ-ναφθαλένιο.

**Σχήμα 69**

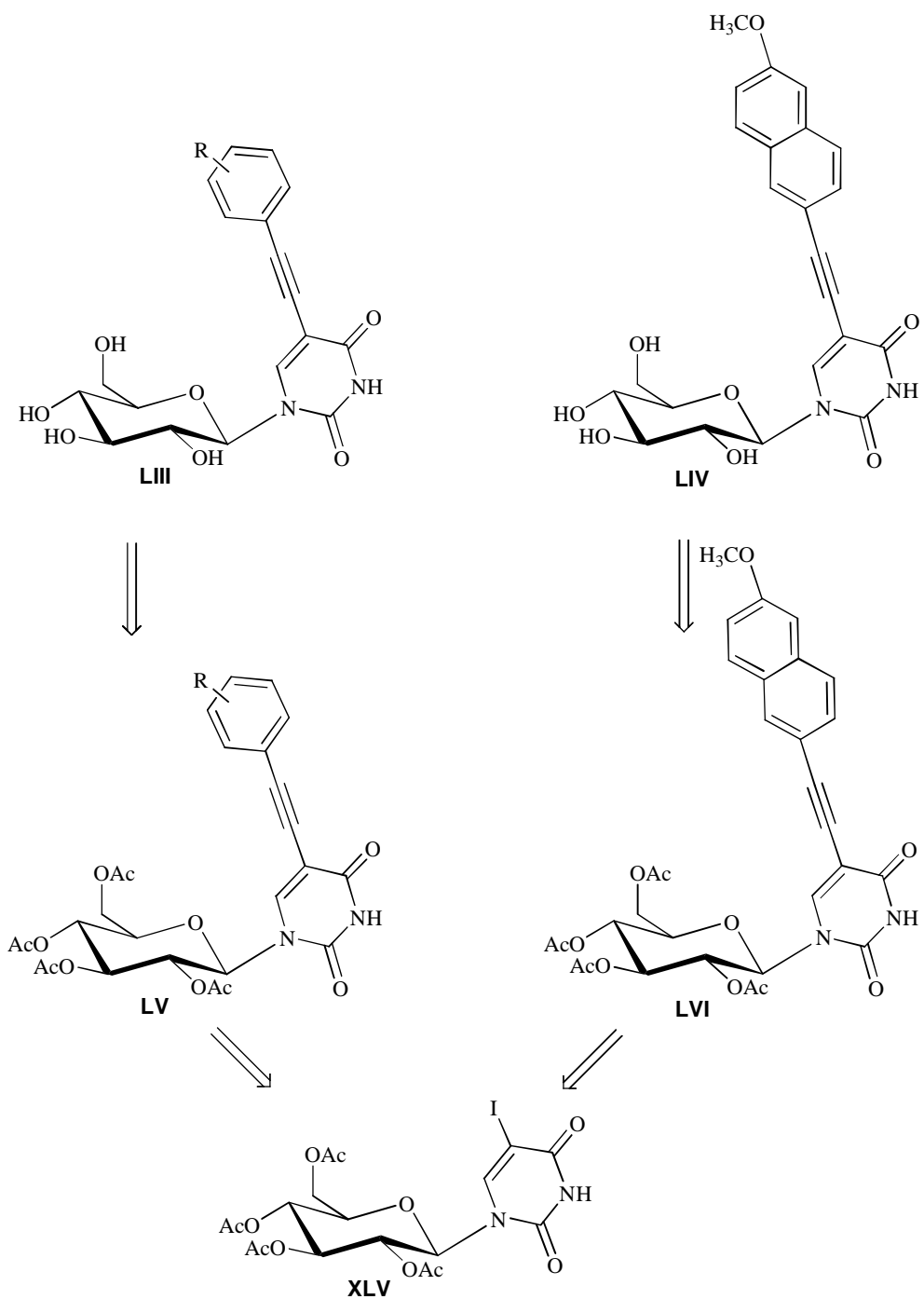
Η δομή των μορίων **LIII** και **LIV** που στόχευσε η συνθετική μας πορεία απεικονίζεται στο σχήμα 70.



**R** = 2-F(α), 3-F(β), 3,4-2F(γ), 3,5-2F(δ), 2-Cl(ε), 3-Cl(ζ), 4-Br(στ), 4-CH<sub>3</sub>(η), 2,5-2CH<sub>3</sub>(θ), 2,4,5-3CH<sub>3</sub>(ι), 3,4,5-3OCH<sub>3</sub>(κ), 4-OCH<sub>3</sub>(λ), 4-OCH<sub>3</sub>,2-CH<sub>3</sub> (μ)

**Σχήμα 70**

Εφαρμόζοντας μια ανάλογη ρετροσυνθετική προσέγγιση με αυτή των C5 αλκύνυλο πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης, οι νέοι φαίνυλο υποκατεστημένοι πυρανονουκλεοζίτες της ουρακίλης **LIII** και **LIV** μπορούν να προκύψουν από τον ίδιο προστατευμένο πυρανονουκλεοζίτη της ουρακίλης **XLV** με την γνωστή αντίδραση Sonogashira. Η ρετροσυνθετική πορεία που σχεδιάστηκε απεικονίζεται στο σχήμα 71.



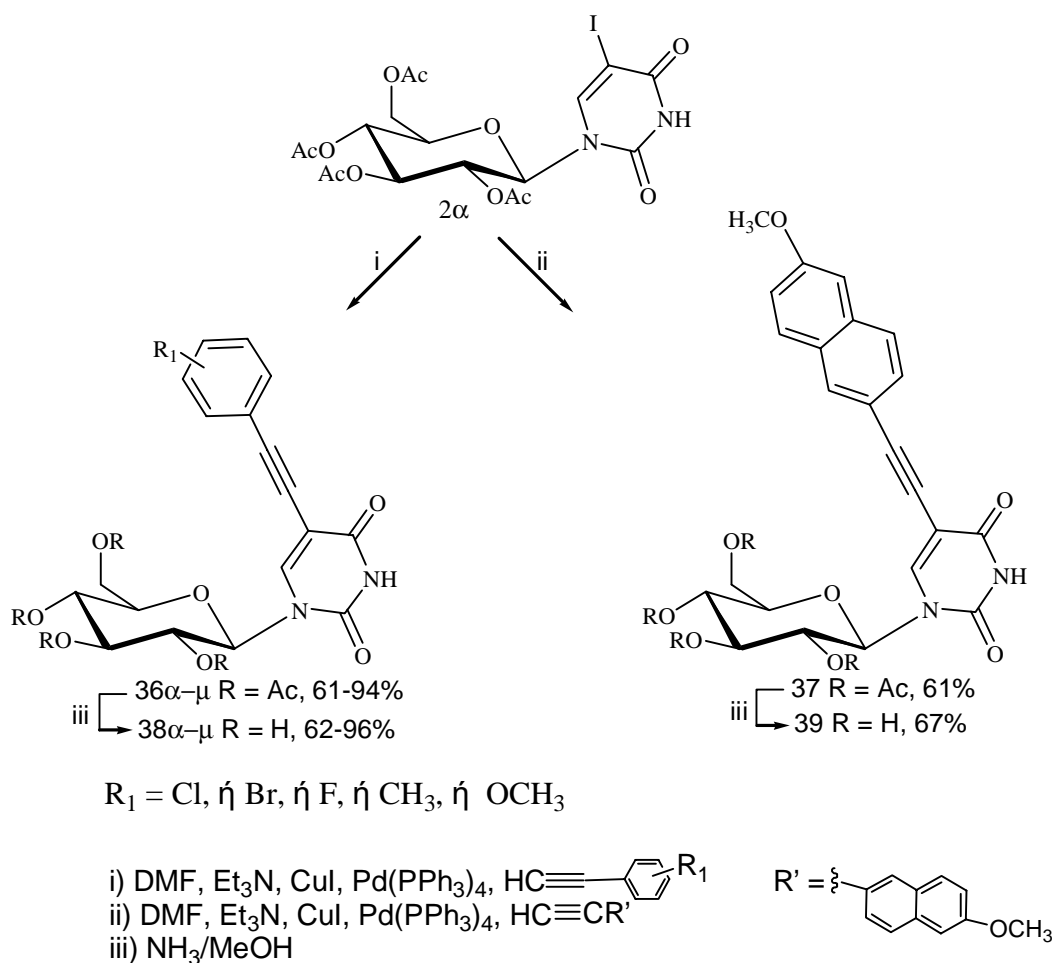
R = Cl, ή Br, ή F, ή CH<sub>3</sub>, ή OCH<sub>3</sub>

Σχήμα 71



#### Π.4.1 Σύνθεση των φαίνυλο υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης **38a-μ** και **39**

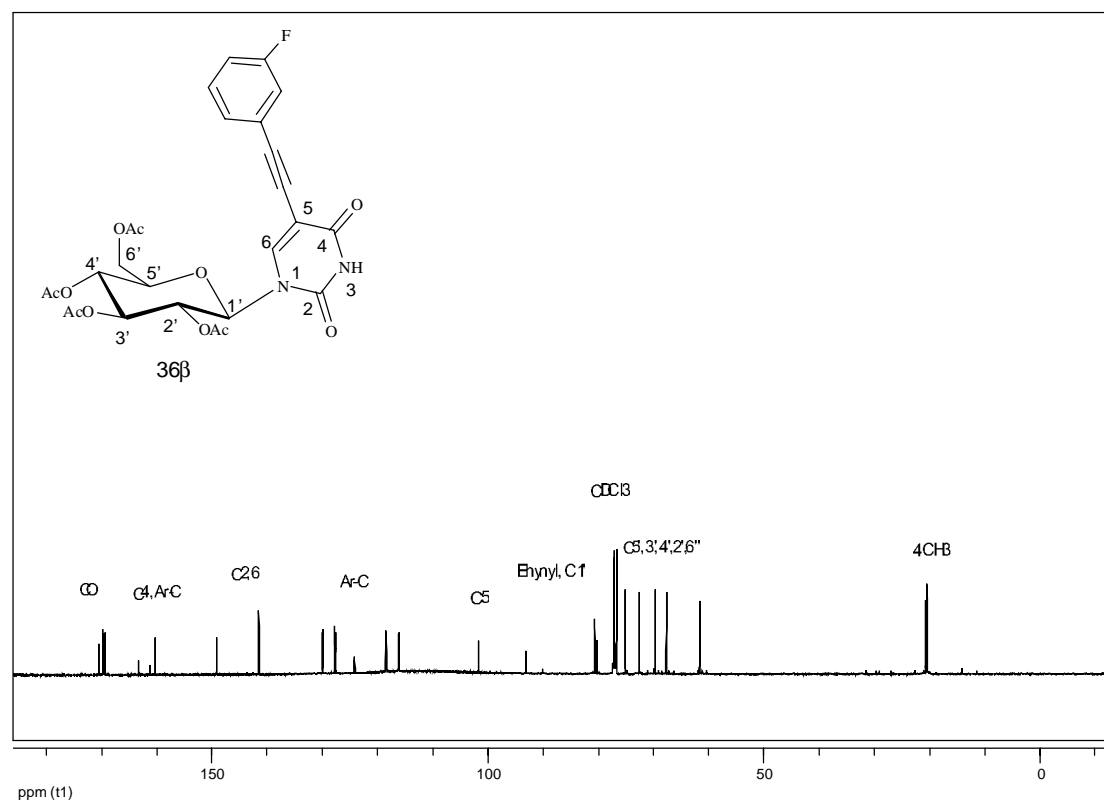
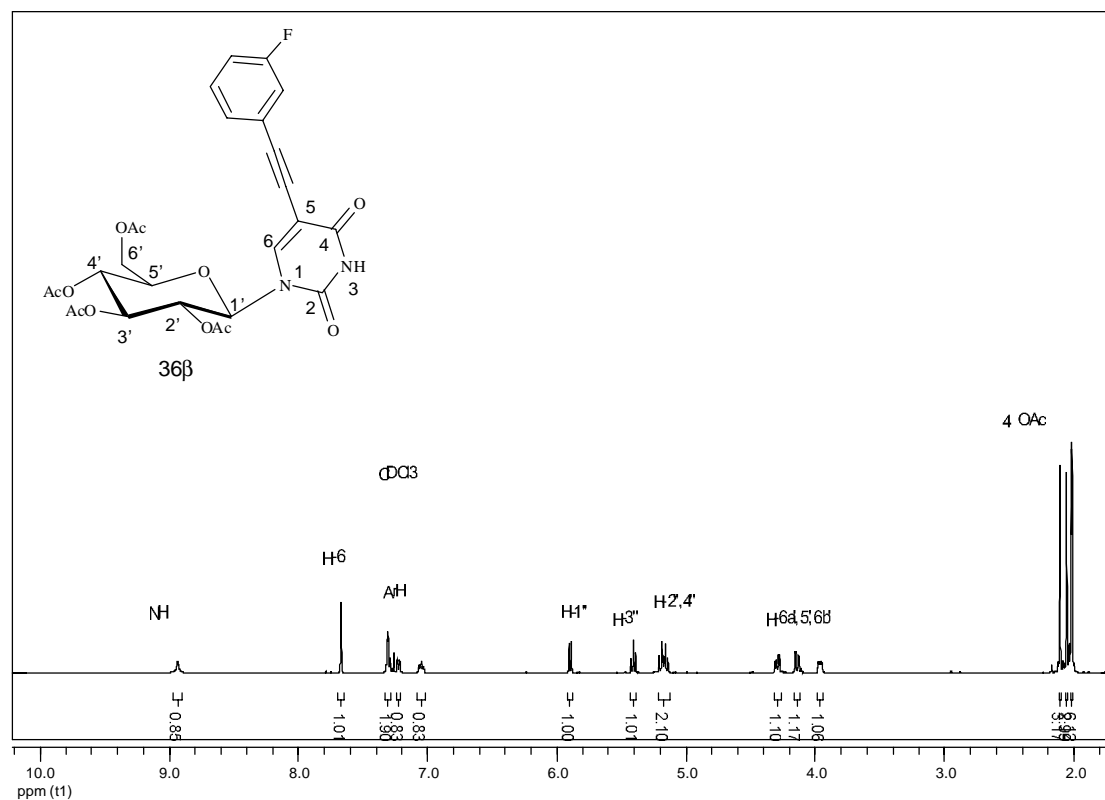
Έχοντας εξασφαλίσει τη διαθεσιμότητα του ακετυλιωμένου πυρανονουκλεοζίτη της ουρακίλης **2a** συνεχίζουμε την συνθετική μας πορεία με την διασταυρούμενη σύζευξη καταλυόμενη από Pd του **2a** με τα φαίνυλο υποκατεστημένα αλκύνια καθώς επίσης και με το 6-μεθοξυναφθαλένιο. Συγκεκριμένα, ο νουκλεοζίτης **2a** διαλύεται σε άνυδρο *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF), προστίθεται το κατάλληλο αλκύνιο, το τετράκις-τριφαίνυλοφωσφορικό παλλάδιο ( $\text{Pd(PPh}_3)_4$ ) ως καταλύτης, ο ιωδιούχος χαλκός (CuI) ως συγκαταλύτης, και η τριαιθυλαμίνη ( $\text{Et}_3\text{N}$ ) ως βάση υπό ατμόσφαιρα αζώτου και στη συνέχεια το μίγμα ακτινοβολείται 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 προστατευμένα προϊόντα **36a-μ** και **37** με πολύ καλές αποδόσεις (61-94%) σχήμα 72.



## Σχήμα 72

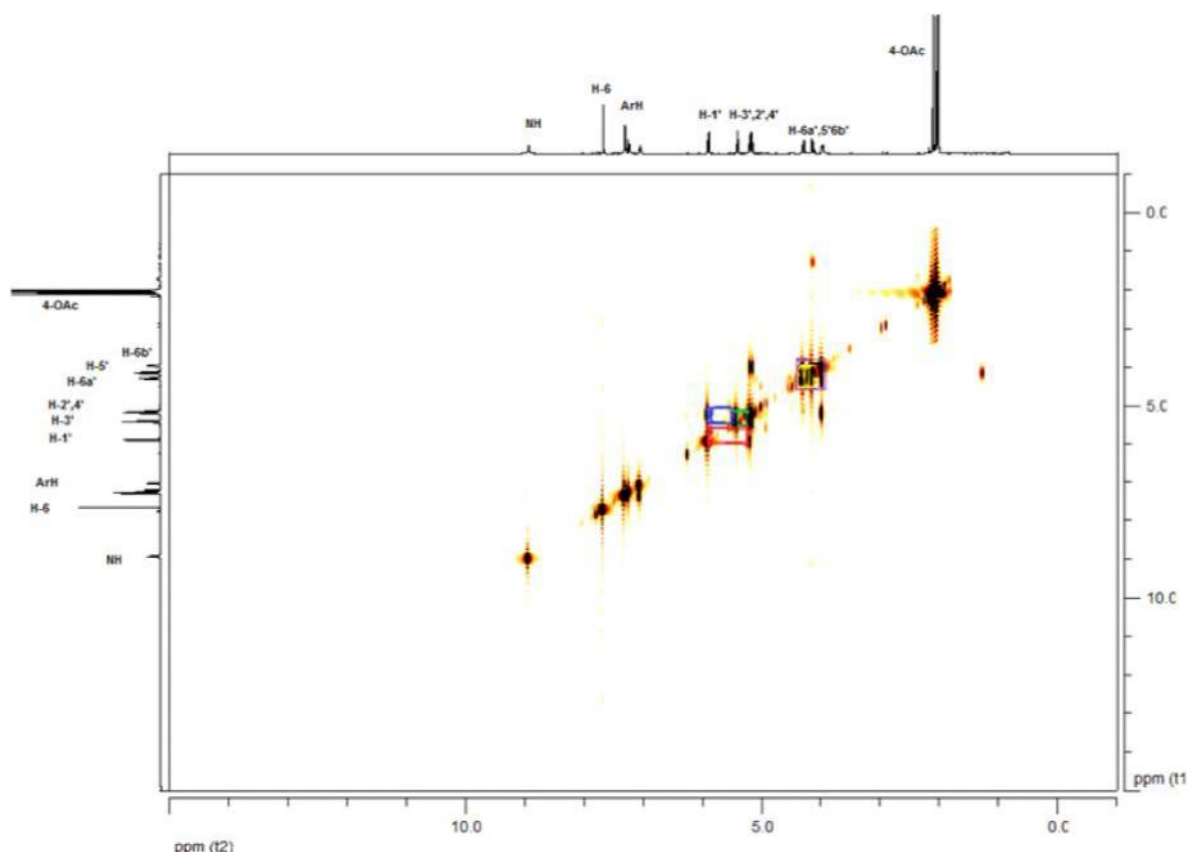
Στο σχήμα 73 που ακολουθεί απεικονίζονται τα φάσματα <sup>1</sup>H NMR και <sup>13</sup>C NMR της 1-(2',3',4',6'-τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(3-φθοροφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (**36β**). Από την μελέτη του φάσματος <sup>1</sup>H NMR προκύπτει ότι η αμινομάδα της ετεροκυκλικής βάσης εμφανίζεται στα 8.93 ppm, ενώ στα 7.66 ppm διακρίνεται το σήμα πρωτονίου του H-6. Έπειτα, ακολουθούν τα σήματα του αρωματικού δακτυλίου στην περιοχή των 7.31-7.03 ppm. Χαρακτηριστική είναι η εμφάνιση της διπλής κορυφής στα 5.90 ppm με υψηλή σταθερά σύζευξης ( $J_{1'-2'} = 9.4 \text{ Hz}$ ) που αντιστοιχεί στο H-1' πρωτόνιο του σακχάρου, ενώ η τριπλή κορυφή στα 5.42 ppm αντιστοιχεί στο σήμα του H-3' πρωτονίου του σακχάρου. Ακολουθούν τα σήματα των H-2' και H-4' πρωτονίων του σακχάρου ως πολλαπλές κορυφές στην περιοχή των 5.21-5.14 ppm, ενώ τα σήματα των H-6a',b' εμφανίζονται ως δύο διπλές διπλών κορυφές στα 4.31 και 4.15 ppm, αντίστοιχα. Το σήμα του H-5' του σακχάρου εμφανίζεται ως πολλαπλή κορυφή στην περιοχή των 3.98-3.95 ppm και τέλος εμφανίζονται 4 απλές κορυφές στα 2.10, 2.06, 2.02, 2.01

ppm που αντιστοιχούν στα σήματα των πρωτονίων των ακέτυλο ομάδων του σακχάρου.



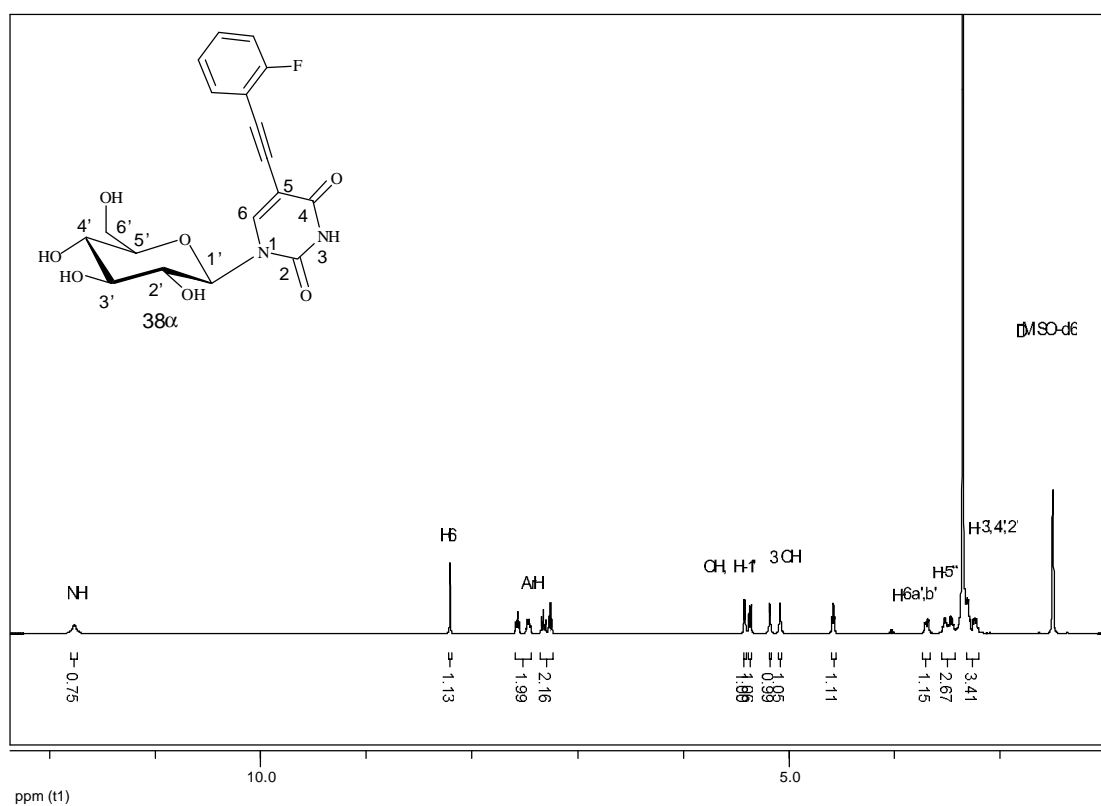
**Σχήμα 73**

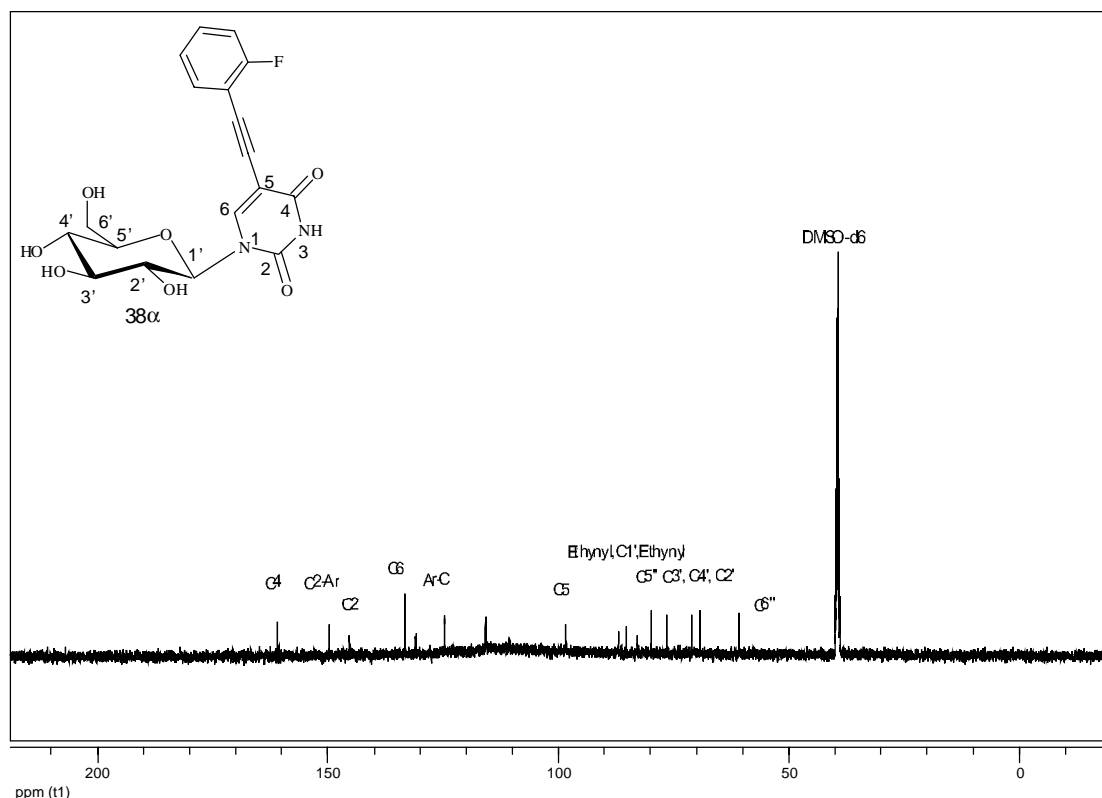
Στο σχήμα 74, που ακολουθεί δίνεται το χαρακτηριστικό φάσμα  $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY του προστατευμένου νουκλεοζίτη **36β**, όπου παρατηρείται αρχικά η ευρεία κορυφή της αμινομάδας της νουκλεοβάσης στα 8.93 ppm, η οποία δεν συσχετίζεται με κάποιο άλλο πρωτόνιο. Έπειτα, ακολουθεί το σήμα H-6 της νουκλεοβάσης στα 7.66 ppm, ενώ στην περιοχή 7.31-7.03 ppm εμφανίζονται τα πρωτόνια του αρωματικού δακτυλίου όπου αλληλεπιδρούν μεταξύ τους, όπως αναμενόταν. Ακολουθεί το σήμα του H-1' του σακχάρου στα 5.90 ppm, το οποίο αλληλεπιδρά στο COSY με το H-3' στα 5.42 ppm (μπλε χρώμα τετράγωνο). Διαφαίνονται τα σήματα των πρωτονίων H-2' και H-4' στην περιοχή των 5.21-5.14 ppm που αλληλεπιδρούν με το H-3' στα 5.42 ppm (πράσινο χρώμα τετράγωνο). Επίσης, το H-1' στα 5.90 ppm αλληλεπιδρά με το H-2' (κόκκινο χρώμα τετράγωνο). Στην περιοχή των 4.31-3.95 ppm παρατηρούνται τα υπόλοιπα υδρογόνα του σακχάρου και οι μεταξύ τους συσχετισμοί (μώβ, κίτρινο χρώμα τετράγωνα). Τέλος, στην περιοχή 2.10-2.01 φαίνονται τα τέσσερα μεθύλια των ακέτυλο ομάδων του σακχάρου.



Σχήμα 74

Ακολουθεί η αποπροστασία των νέων φαίνυλο υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης **36a-μ** και **37** με μεθανολική αμμωνία (Neilson και Werstuik 1971) οπότε παραλαμβάνονται οι τελικοί πυρανονουκλεοζίτες της ουρακίλης **38a-μ** και **39** με αποδόσεις 62-96%. Στο σχήμα 75 που ακολουθεί παρατίθενται ενδεικτικά τα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR και  $^{13}\text{C}$  NMR της 1-( $\beta$ -D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(2- φθοροφαίνυλο)αιθυνυλο]ουρακίλης (**38a**).





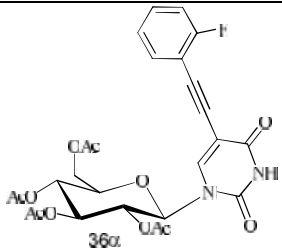
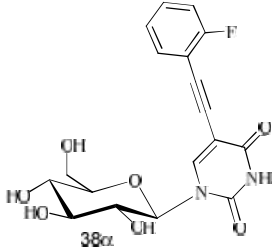
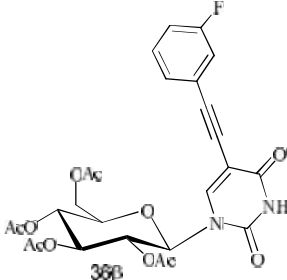
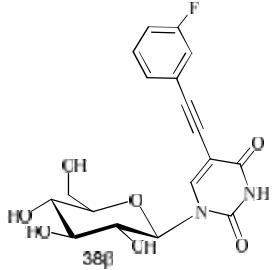
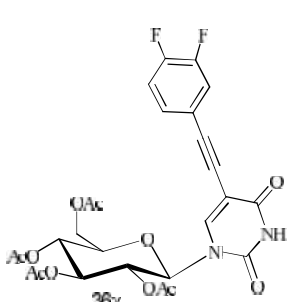
Σχήμα 75

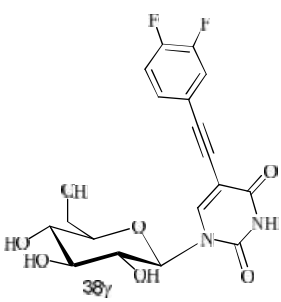
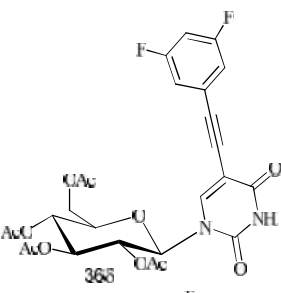
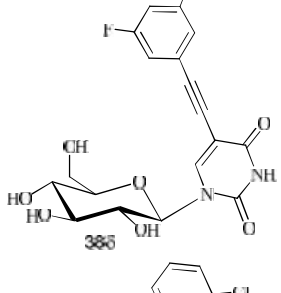
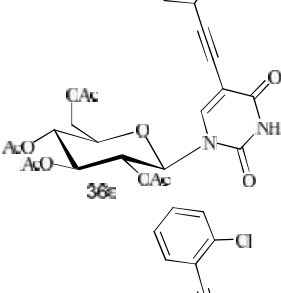
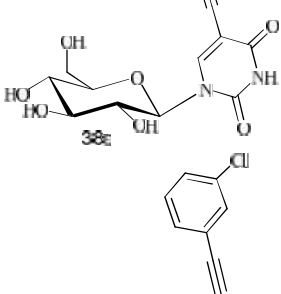
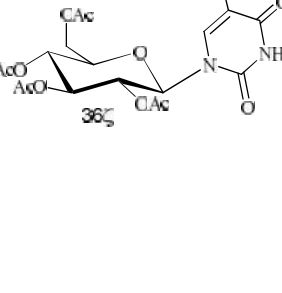
#### Π.4.2 Αντικαρκινική δράση των φαίνυλο υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης 36a-μ, 37, 38a-μ και 39

Αφού ολοκληρώθηκε η σύνθεση των ενώσεων-στόχων **36a-μ**, **37**, **38a-μ** και **39** εξετάστηκε η 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). Όπως προκύπτει από τον παρακάτω πίνακα 5 τα τέσσερα προστατευμένα προϊόντα **36a** (2-F), **36e** (2-Cl), **36θ** (2,5-2CH<sub>3</sub>) και **36i** (2,4,5-3CH<sub>3</sub>) εμφάνισαν μέτρια ανασταλτική δράση έναντι των κυττάρων λευχαιμίας ποντικού (L1210), του ανθρώπινου λεμφώματος (CEM) καθώς και των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του τραχήλου της μήτρας (HeLa) της τάξεως 18-42 μM ωστόσο, δεν υπάρχει σημαντική βελτίωση της ανασταλτικής δράσης τους σε σύγκριση με εκείνη της πρόδρομης ένωσης **17a**. 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%.

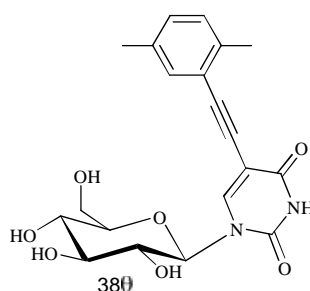
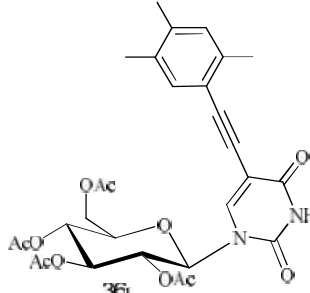
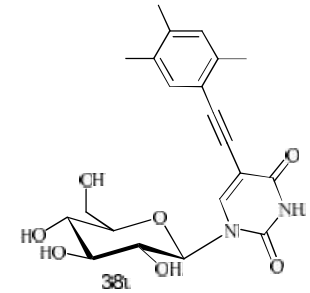
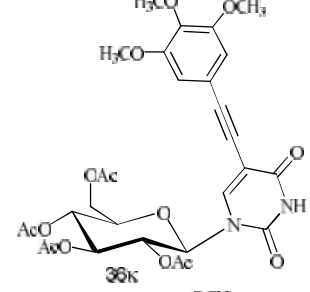
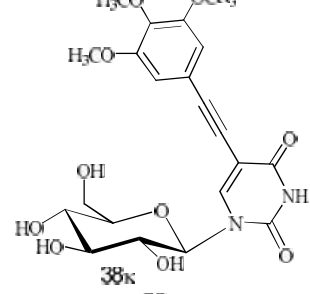
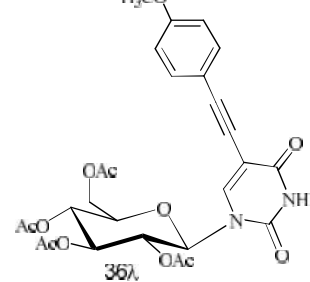
**Πίνακας 5.** Ανασταλτική δράση των ενώσεων **36α-μ**, **37**, **38α-μ** και **39** έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων L1210, CEM και HeLa.

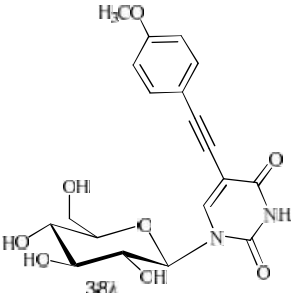
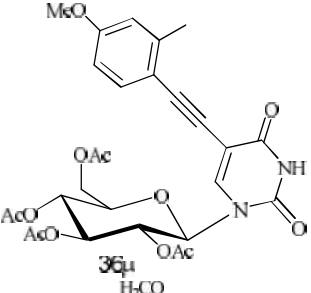
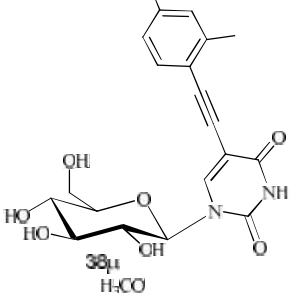
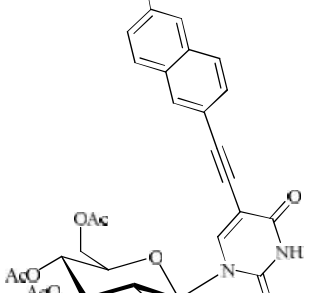
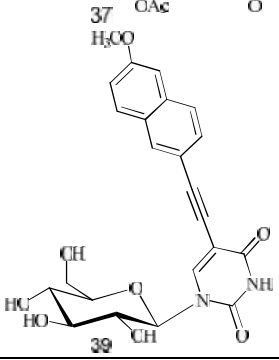
ΠΡΟΪΟΝ	L1210	IC <sub>50</sub> (μM) CEM	HeLa
 36α	25 ± 4	42 ± 6	36 ± 6
 38α	> 250	> 250	> 250
 36β	194 ± 80	168 ± 8	192 ± 83
 38β	> 250	> 250	> 250
 36γ	102 ± 34	108 ± 8	175 ± 106

	> 250	> 250	> 250
	97 ± 0	108 ± 10	142 ± 46
	> 250	> 250	> 250
	37 ± 16	32 ± 1	41 ± 25
	> 250	> 250	≥ 250
	100 ± 21	93 ± 1	91 ± 8



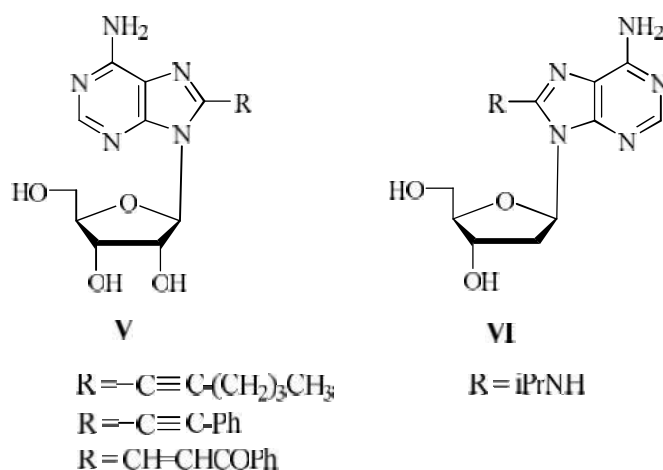
	> 250	> 250	> 250
	83 ± 54	57 ± 13	101 ± 34
	> 250	> 250	> 250
	104 ± 22	93 ± 14	85 ± 12
	> 250	> 250	> 250
	23 ± 1	21 ± 3	21 ± 2

	> 250	> 250	> 250
	21 ± 0	18 ± 8	35 ± 15
	> 250	> 250	> 250
	107 ± 16	99 ± 28	152 ± 88
	> 250	> 250	> 250
	132 ± 39	101 ± 7	> 250

 38λ	144 ± 18	≥ 250	199 ± 48
 36μ	118 ± 29	138 ± 43	134 ± 17
 38μ	> 250	> 250	> 250
 37	80 ± 43	≥ 250	≥ 250
 39	> 250	> 250	> 250
<b>5-Φθοροουρακίλη</b>	0.33±0.16	18±5	0.54±0.12

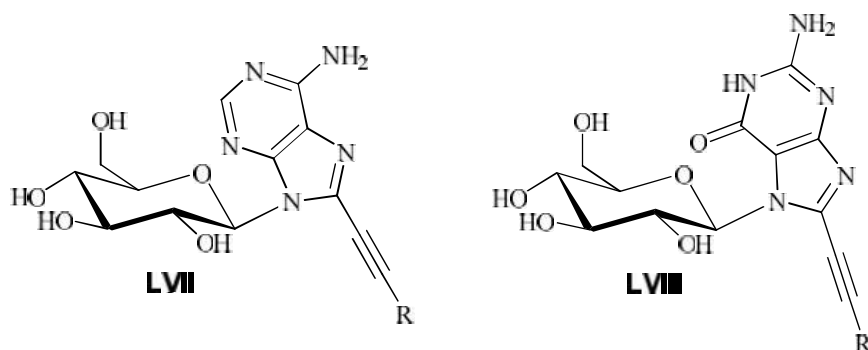
## II.5 Σύνθεση των C8-υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτών της αδενίνης και της γουανίνης

Τα ένζυμα που παίρνουν μέρος στον μεταβολισμό των νουκλεοτιδίων και των νουκλεϊνικών οξέων χρησιμοποιούν βάσεις πουρίνης, νουκλεοζίτες και νουκλεοτίδια ως υποστρώματα. Επιπλέον, οι πουρίνες αποτελούν συστατικά πολλών παραγόντων (NADH, FAD, AcetylCoA, ATP) που χρησιμοποιούνται από πολλές σημαντικές κατηγορίες ενζύμων (οξειδοαναγωγάσες, μεταφεράσες, λιγάσες). Ως εκ τούτου, τα περισσότερα ένζυμα που συμμετέχουν στο μεταβολισμό των νουκλεϊκών οξέων και διαφόρων ενζύμων χρησιμοποιούν παράγοντες που περιέχουν νουκλεοτίδια πουρινών (συνήθως αδενίνη) στη θέση πρόσδεσης. Επιπλέον, οι πουρίνες, οι νουκλεοζίτες και τα πουρινικά νουκλεοτίδια συμμετέχουν στην μεταγωγή σήματος και ρύθμιση πολλών βιολογικών διεργασιών σε κύτταρα και ιστούς ως προσδέτες των υποδοχέων (υποδοχείς πουρινών, υποδοχείς αδενοσίνης) και ως αγγελιοφόροι (c-AMP). Παράλληλα, η τροποποίηση στην 8-θέση μιας πουρινικής βάσης έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, δεδομένου ότι μπορεί να επηρεάσει τη syn/anti διαμόρφωση της πουρίνης, η οποία με τη σειρά της θα μπορούσε να προκαλέσει σημαντικές αλλαγές στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των υποστρώματων και των ενεργών κέντρων διαφόρων ενζύμων ή υποδοχέων (Mamos *et al*, 1992). Παρά τις λίγες συνθετικές προσπάθειες για τη δημιουργία νέων τροποποιημένων C8-πουρινικών νουκλεοζιτών, υπάρχουν ανάλογα της συγκεκριμένης κατηγορίας ενώσεων με ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες, όπως οι 8-αλκύνυλο-αδενοσίνες (V), οι οποίες αποδείχτηκαν εκλεκτικοί προσδέτες για τον A3 υποδοχέα της αδενοσίνης και συμπεριφέρονται ως ανταγωνιστές της αδενοσίνης (Volpini *et al*, 2001) καθώς επίσης και οι C8-τροποποιημένες 2'-δεοξυ αδενοσίνες (VI), οι οποίες ευθύνονται για την καθυστέρηση τερματισμού της αλυσίδας *in vitro* με αποτέλεσμα την αναστολή της σύνθεσης του DNA (Vivet-Boudou *et al*, 2011) (Σχήμα 76). Από την άλλη πλευρά, η εισαγωγή ενός υποκαταστάτη στη θέση 8 μιας πουρίνης, διατηρεί την αντιστοίχιση της με μια πυριμιδινική βάση, και την ικανότητα της να παίρνει μέρος στο σχηματισμό της διπλής έλικας του DNA, καθώς επίσης να δημιουργεί αλληλεπιδράσεις με τις πρωτεΐνες. Άλλο ένα σημαντικό χαρακτηριστικό του δεσμού C-C- των πουρινών (σταθερός δεσμός C-C) αποτελεί η αυξημένη σταθερότητα που έχουν στην ενζυματική διάσπαση (απαμίνωση).



Σχήμα 76

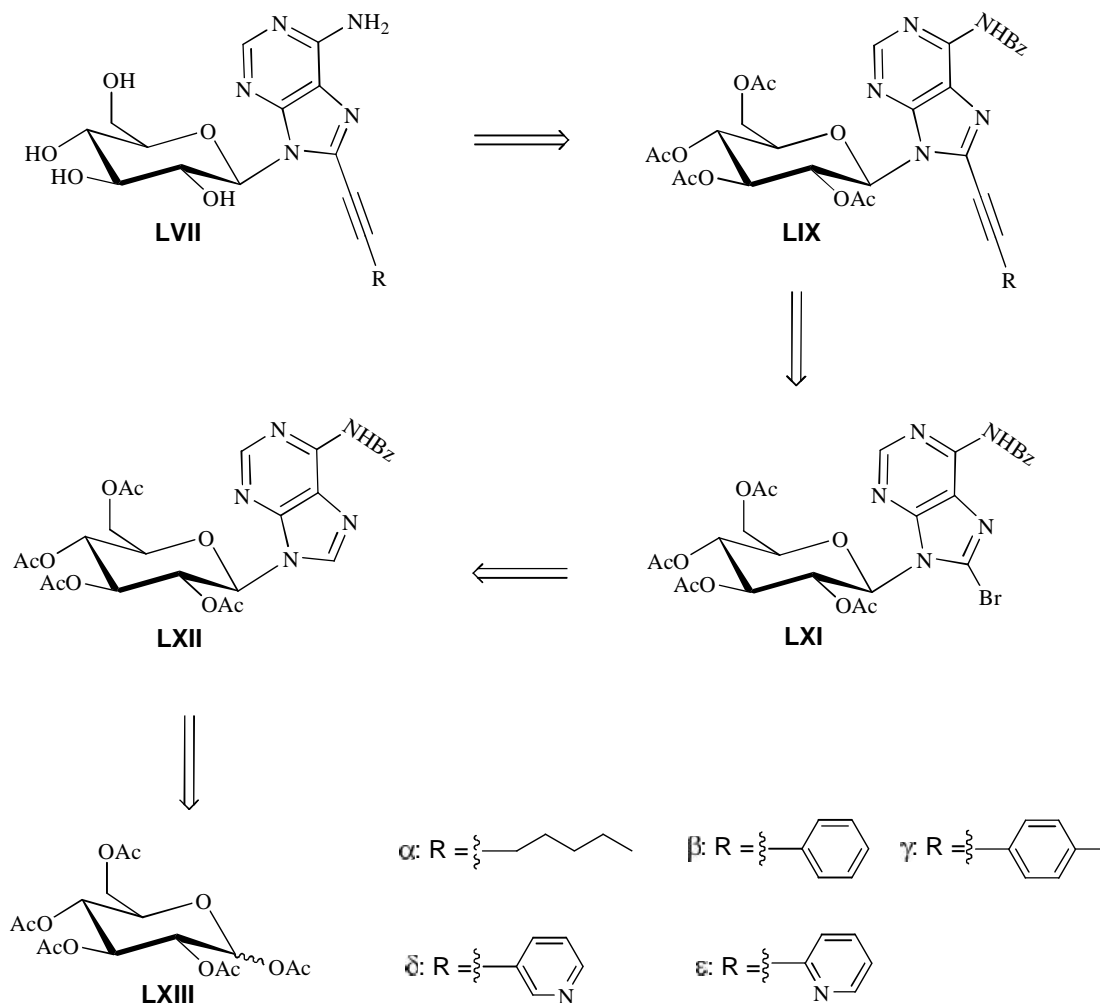
Με βάση τα ανωτέρω πειραματικά αποτελέσματα και ως συνέχεια του ενδιαφέροντός μας στους τροποποιημένους στην ετεροκυκλική βάση πυρανονουκλεοζίτες, θεωρήσαμε ενδιαφέρον τον σχεδιασμό και την σύνθεση μιας νέας τάξης C8-τροποποιημένων πουρινικών νουκλεοζιτικών αναλόγων που θα φέρουν ως ετεροκυκλικές βάσεις διάφορες τροποποιημένες στην C8-θέση αδενίνες και γουανίνες και ως σάκχαρο την γλυκοπυρανόζη. Η δομή των μορίων **LVII** και **LVIII** που στόχευσε η συνθετική μας πορεία απεικονίζεται στο σχήμα 77.



Σχήμα 77

Σύμφωνα με τη ρετροσυνθετική μας προσέγγιση τα C8-αλκύνυλο πυρανονουκλεοζιτικά αναλόγα της αδενίνης **LVII** και της γουανίνης **LVIII**, μπορούν να προκύψουν από τα προστατευμένα πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα τους **LIX** και

**LX**, αντίστοιχα. Η ρετροσυνθετική πορεία της αδενίνης απεικονίζεται στο σχήμα 78 που ακολουθεί.

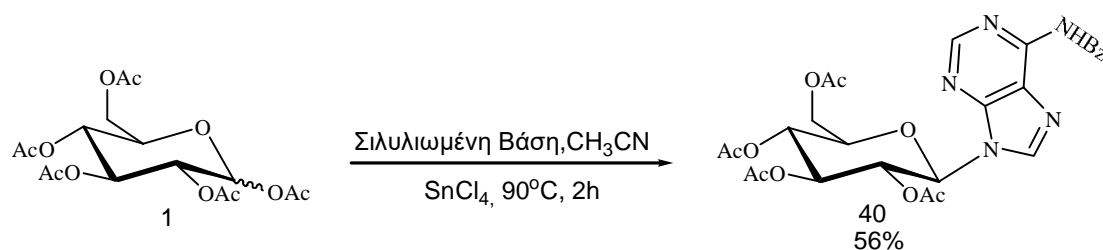


**Σχήμα 78**

### Π.5.1 Σύνθεση των C8-υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της αδενίνης 42ε, 43α-δ

Το πρώτο βήμα της συνθετικής μας πορείας περιλαμβάνει την σύζευξη της  $N^6$ -βενζοϋλοαδενίνης με την εμπορικά διαθέσιμη 1,2,3,4,6-πεντακίς-*O*-ακετυλο-*D*-γλυκοπυρανόζη (**1**) με την μέθοδο Vorbrüggen (Σχήμα 79). Συγκεκριμένα σ' ένα διάλυμα  $N^6$ -βενζοϋλοαδενίνης σε άνυδρο  $\text{CH}_3\text{CN}$  προστίθεται HMDS και σακχαρίνη, το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα με επαναρροή για 1 ώρα υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η 1,2,3,4,6-πεντακίς-*O*-ακετυλο-*D*-γλυκοπυρανόζη (**1**) και ο τετραχλωριούχος κασίτερος ( $\text{SnCl}_4$ ) ως καταλύτης και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 2 επιπλέον ώρες με κάθετο

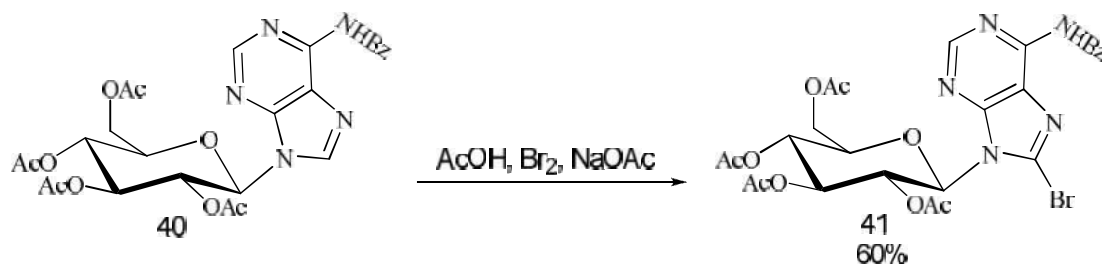
ψυκτήρα με επαναρροή στους 90 °C. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), το μίγμα ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου, εξουδετερώνεται με κορεσμένο διάλυμα NaHCO<sub>3</sub> και εκχυλίζεται με EtOAc. Η οργανική φάση ξηραίνεται με άνυδρο Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, οπότε παραλαμβάνεται επιλεκτικά το *N*-9 ισομερές της *N*<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνης (**40**) ελέγχοντας θερμοδυναμικά την αντίδραση (συνθήκες : SnCl<sub>4</sub>/CH<sub>3</sub>CN, reflux) με απόδοση 56% (Garner και Ramakanth 1987). Από την μελέτη του φάσματος <sup>1</sup>H NMR της ένωσης **40** παρατηρείται μεγάλη σταθερά σύζευξης (*J*<sub>1',2'</sub> = 9.4 Hz) μεταξύ των πρωτονίων H-1' και H-2', υποδεικνύοντας έναν αξονικό προσανατολισμό για τα δύο αυτά πρωτόνια, με την ετεροκυκλική βάση να καταλαμβάνει την ισημερινή θέση του σακχάρου (Baker, 1957).



### Σχήμα 79

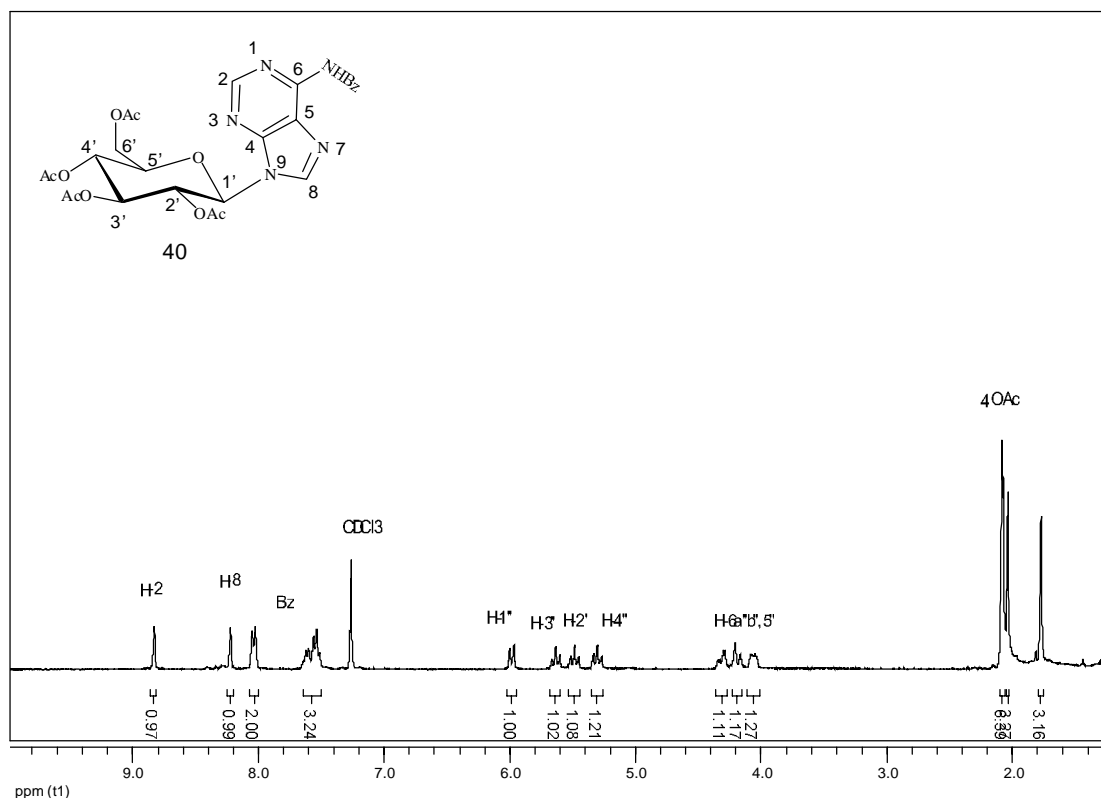
Το επόμενο βήμα της συνθετικής μας πορείας περιλαμβάνει την βρομίωση του νουκλεοζίτη **40** στην C8 θέση της πουρινικής βάσης, εφόσον έχει αποδειχτεί ότι τα C8-αλογονομένα πουρινικά ανάλογα αποτελούν χρήσιμα ενδιάμεσα για την επιτυχή σύνθεση των αντίστοιχων C8-αλκύνυλο παραγώγων τους (Agrofoglio *et al*, 2003). Το προστατευμένο νουκλεοζιτικό ανάλογο της αδενίνης **40** διαλύεται σε οξικό οξύ (AcOH) και προστίθεται στο διάλυμα οξικό νάτριο (NaOAc) και βρώμιο (Br<sub>2</sub>) (Holmes και Robins, 1964) Σχήμα 80. Το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 14 ώρες μέχρι το πέρας της αντίδρασης (TLC). Στη συνέχεια, η αντίδραση αραιώνεται με οξικό αιθυλεστέρα και εκχυλίζεται με διάλυμα θειοθειικού νατρίου (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). Η οργανική φάση ξηραίνεται με άνυδρο Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **41** με απόδοση 60%. Η θέση υποκατάστασης του ατόμου του βρωμίου επιβεβαιώθηκε, από

την μελέτη των φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης **40** και **41** (σχήμα 81), λόγω της απουσίας της χαρακτηριστικής οξείας κορυφής απορρόφησης του πρωτονίου H-8 της πουρινικής βάσης στα 8.22 ppm, ενώ η διαμόρφωση *syn* αποδίδεται στον ογκώδη υποκαταστάτη (βρώμιο) που βρίσκεται στον C8 άνθρακα της πουρινικής βάσης (Sarma *et al*, 1974).

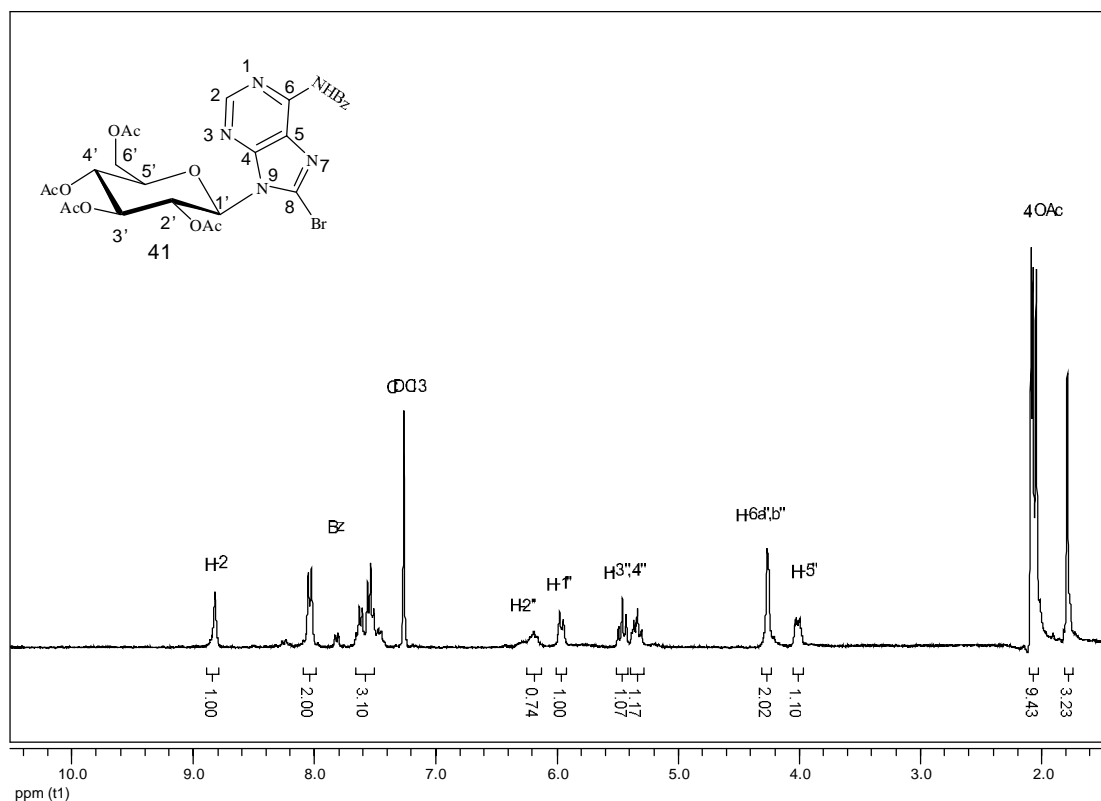


**Σχήμα 80.**

Ακολουθούν τα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 9-(2',3',4',6'-τετρακис-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-*N*<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδερίνης (**40**) και της 9-(2',3',4',6'-τετρακис-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-8-βρωμο-*N*<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδερίνη (**41**) στο παρακάτω σχήμα 81.

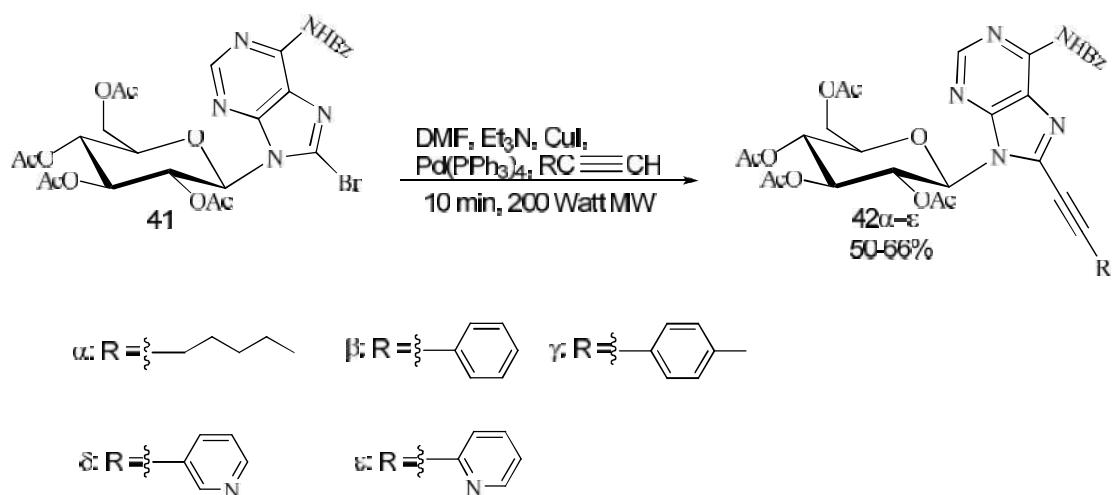






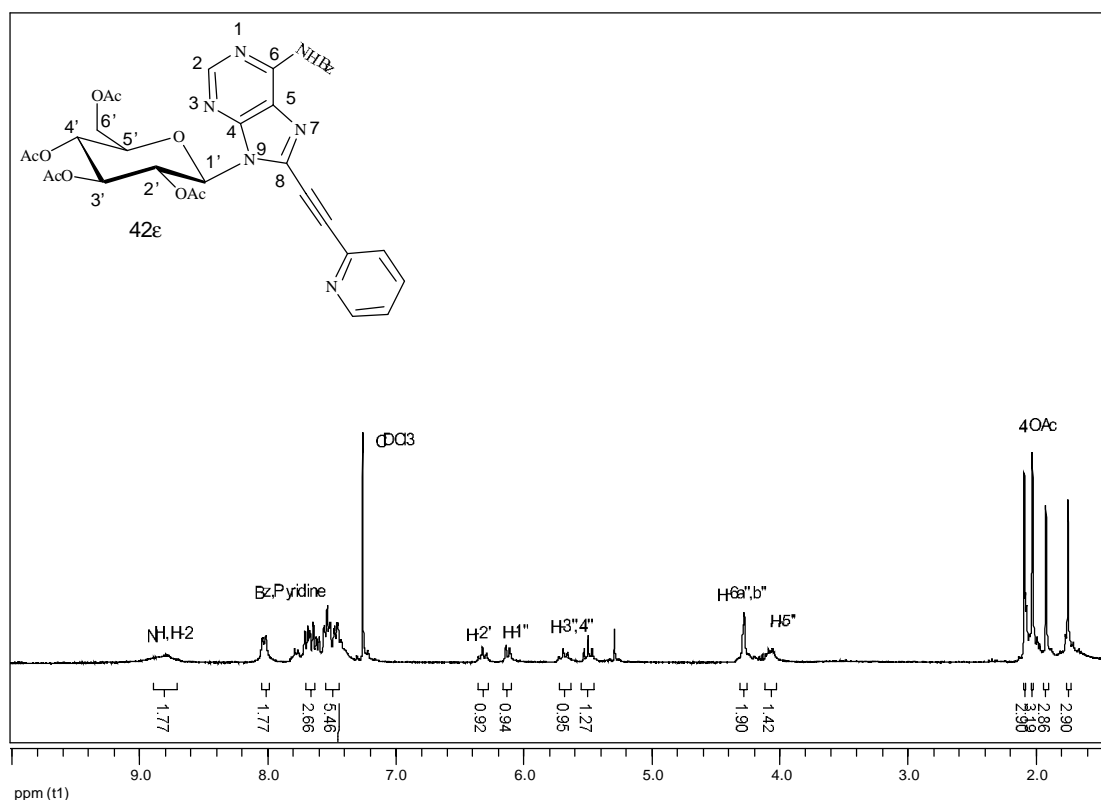
Σχήμα 81

Στη συνέχεια ακολουθεί η γνωστή αντίδραση Sonogashira με τον προστατευμένο 8-βρωμο-πυρανονουκλεοζίτη της *N*<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνης **41** με διάφορα τελικά αλκύνια υπό ακτινοβολία μικροκυμάτων (Σχήμα 82). Συγκεκριμένα η 9-(2',3',4',6'-τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-8-βρωμο-*N*<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (**41**) διαλύεται σε άνυδρο *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF), προστίθεται το κατάλληλο αλκύνιο, το τετράκίς-τριφαίνυλοφωσφορικό παλλάδιο Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> ως καταλύτη, CuI ως συγκαταλύτη, και την Et<sub>3</sub>N ως βάση και στη συνέχεια ακτινοβολούνται με μικροκύματα σε 200 Watt, για 10 λεπτά στους 120 °C (Firth *et al*, 2006). 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 **42a-ε** με αποδόσεις 50-66%.



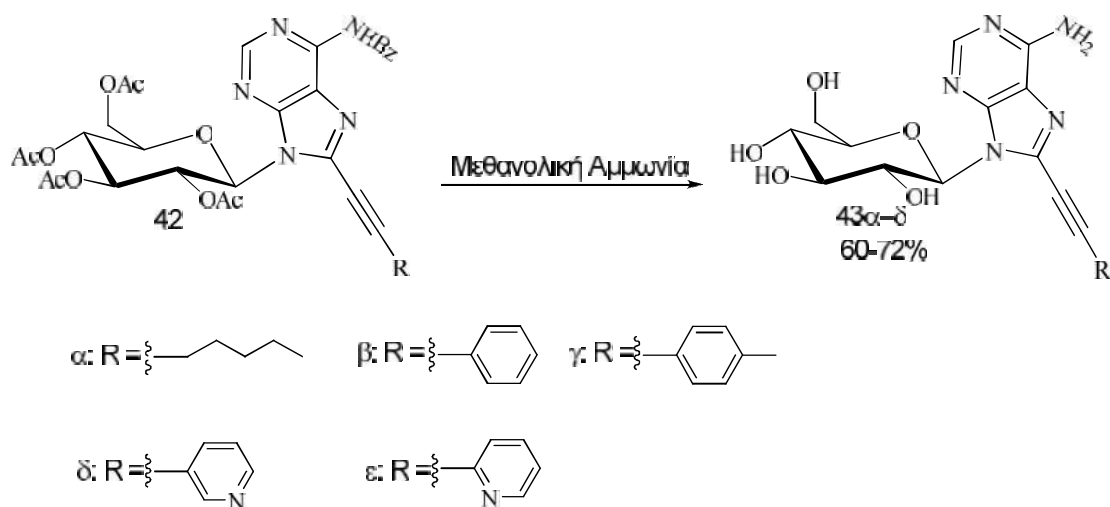
Σχήμα 82

Στο παρακάτω σχήμα 83 παρατίθεται ενδεικτικά το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 9-(2',3',4',6'-τετρακис-*O*-ακετυλο- $\beta$ -*D*-γλυκοκυρανοζυλο)-8-(πυριδιν-2-υλ-αιθυνυλο) -*N*<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνης (**42ε**) .



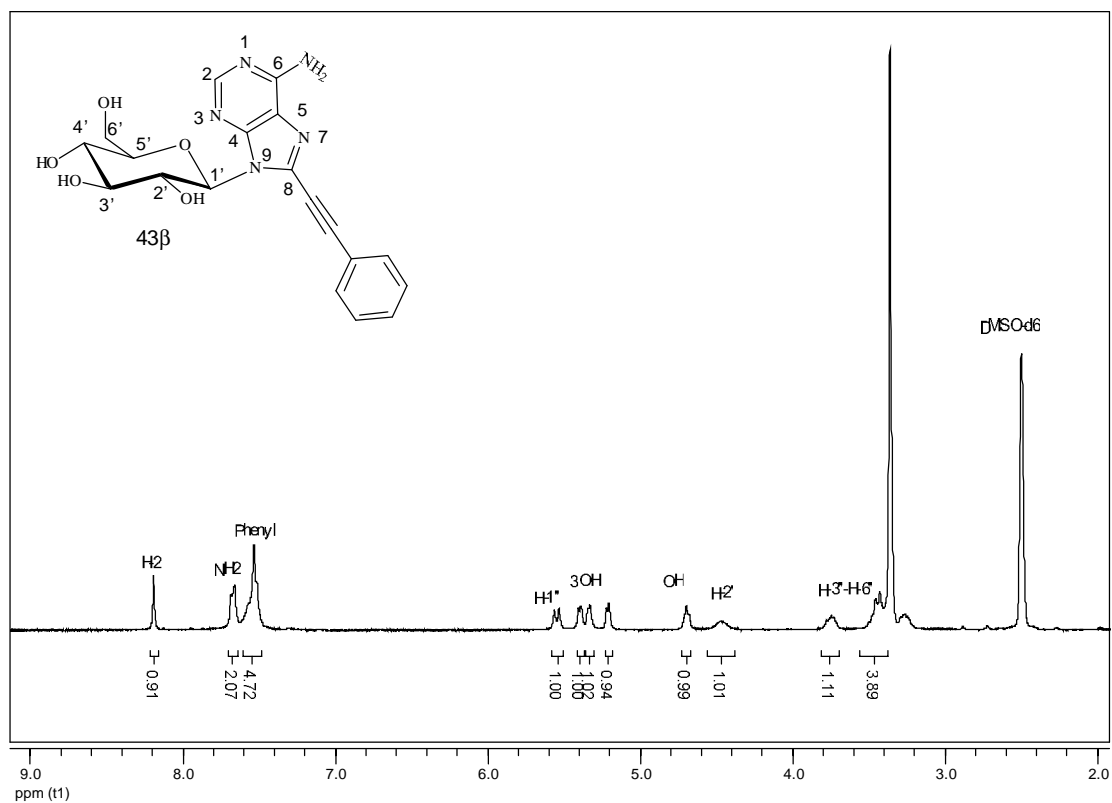
Σχήμα 83

Το τελικό στάδιο της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την αποπροστασία των ενώσεων **42α-ε** (Σχήμα 84) με κατεργασία τους με μεθανολική αμμωνία (Neilson και Werstuijk 1971), όπου απέδωσε μόνο τα **43α-δ** C8-αλκύνυλο νουκλεοζιτικά ανάλογα της αδερίνης, ενώ οι προσπάθειες για την απομάκρυνση όλων των προστατευτικών ομάδων από την ένωση **42ε** είτε με μεθοξείδιο του νατρίου (Bozó *et al*, 1998) είτε με κατεργασία ανθρακικού καλίου /μεθανόλης (Plattner *et al*, 1972) είχε ως αποτέλεσμα τη λήψη ενός μίγματος αποτελούμενου από μη διαχωρίσιμα και ακατέργαστα υλικά.



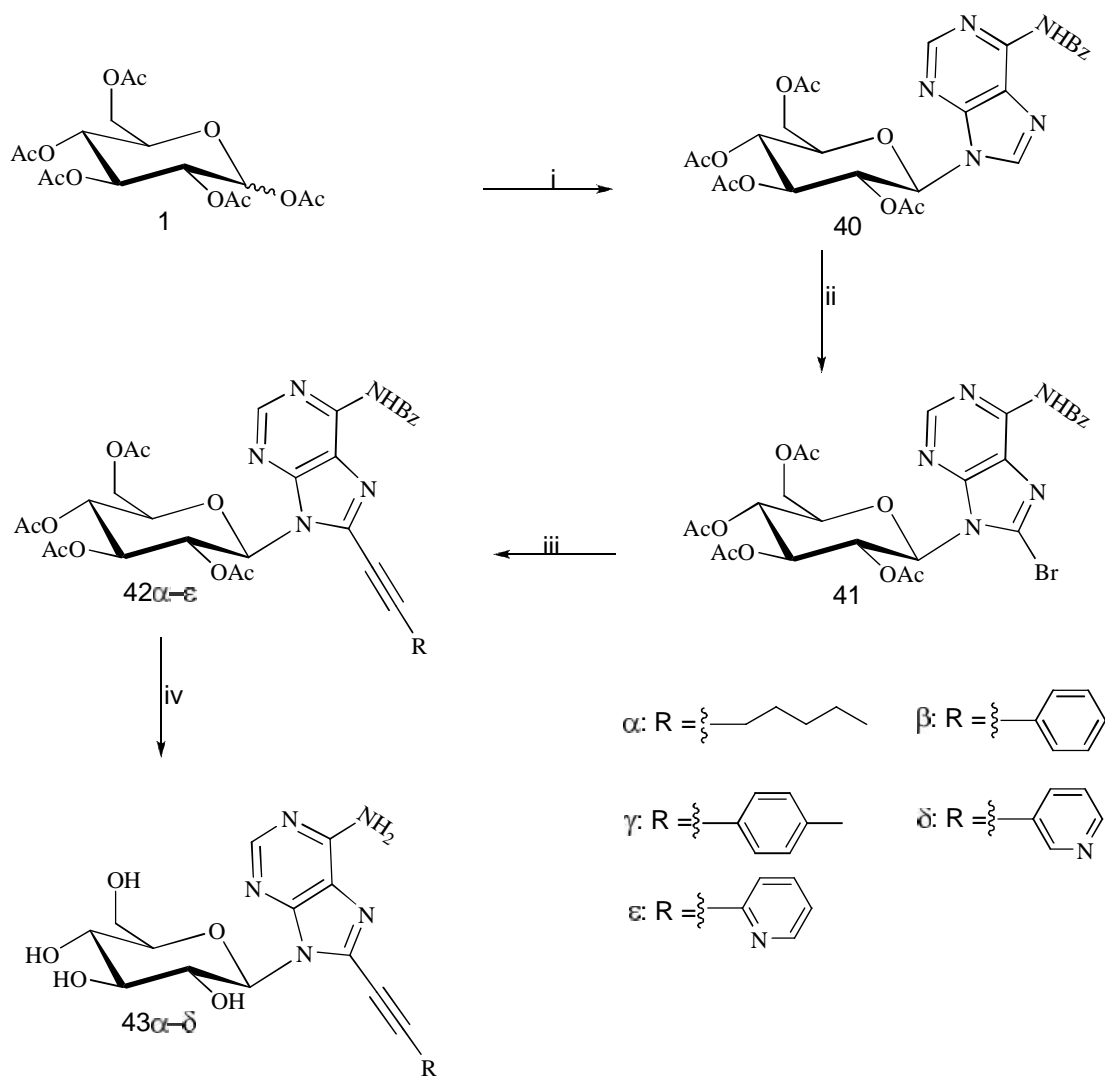
**Σχήμα 84**

Παρατίθεται ενδεικτικά το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 9-( $\beta$ -D-γλυκοπυρανοζυλο)-8-[(φαινυλο)αιθυνυλο]αδερίνη (**43β**) (Σχήμα 85).



Σχήμα 85

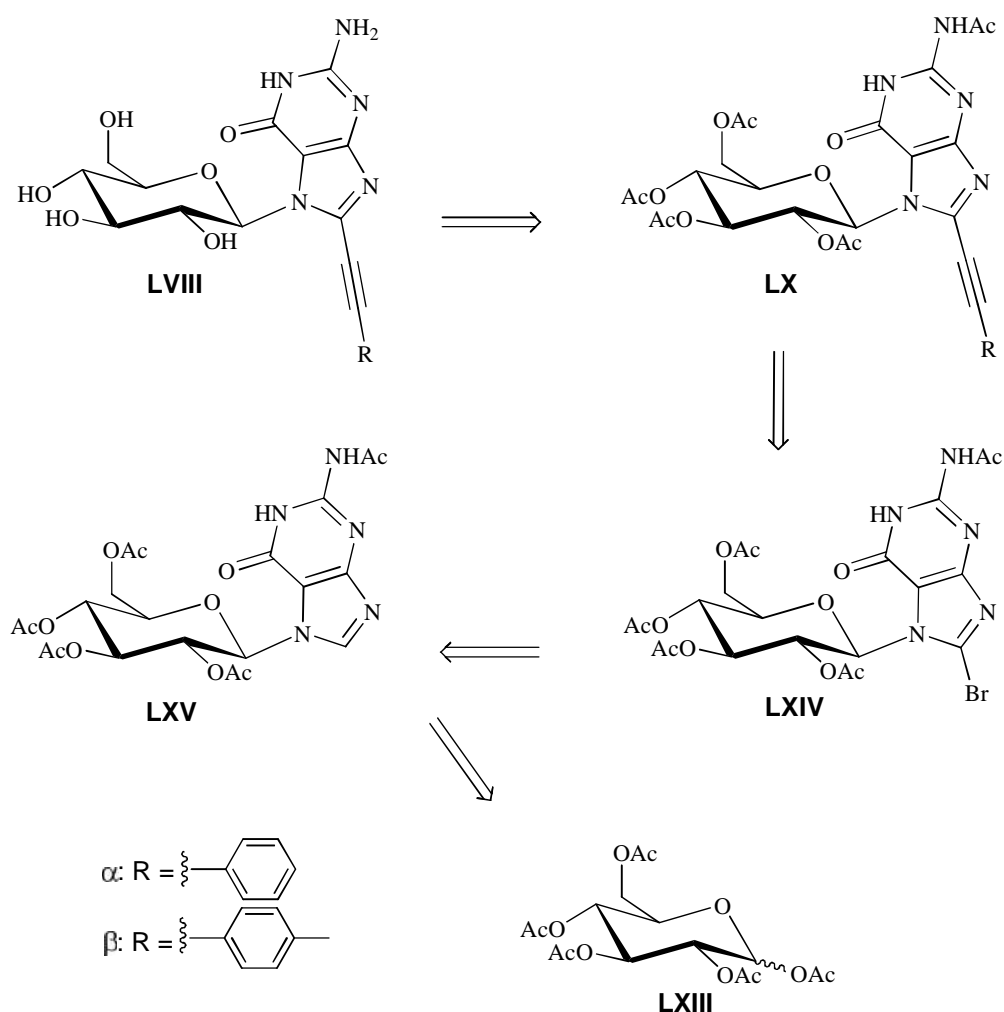
Στο σχήμα 86 που ακολουθεί παρουσιάζεται ολόκληρη η συνθετική πορεία για τα πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα της αδερίνης.



- i) Σιλυλιωμένη Βάση,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ,  $\text{SnCl}_4$   $90^\circ\text{C}$   
 ii)  $\text{AcOH}$ ,  $\text{Br}_2$ ,  $\text{NaOAc}$   
 iii)  $\text{DMF}$ ,  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{CuI}$ ,  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ ,  $\text{RC}\equiv\text{CH}$   
 iv) Μεθανολική Αμμωνία

Σχήμα 86

Η ρετροσυνθετική πορεία της γουανίνης απεικονίζεται στο σχήμα 87.

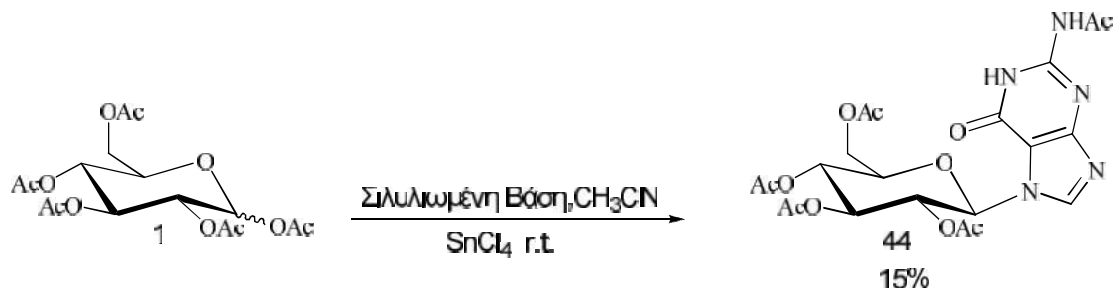


**Σχήμα 87**

### II.5.2 Σύνθεση των C8-υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτών της γουανίνης 47α,β

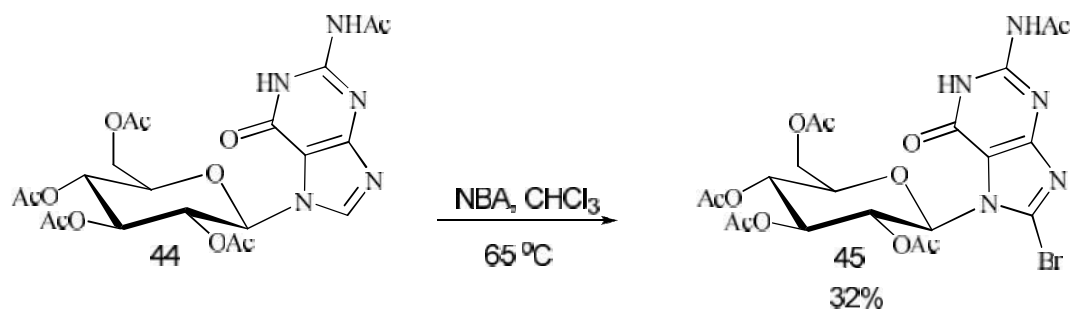
Το πρώτο βήμα της συνθετικής μας πορείας περιλαμβάνει την σύζευξη της  $N^2$ -ακετυλογουανίνης με την εμπορικά διαθέσιμη 1,2,3,4,6-πεντακίς-*O*-ακετυλο-*D*-γλυκοπυρανόζη (**1**) με την μέθοδο Vorbrüggen (Σχήμα 88). Συγκεκριμένα, σ' ένα διάλυμα  $N^2$ -ακετυλογουανίνης σε άνυδρο  $\text{CH}_3\text{CN}$  προστίθεται HMDS και  $\text{TMSCl}$ , το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα με επαναρροή για 3 ώρες στους  $120^\circ\text{C}$  υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η 1,2,3,4,6-πεντακίς-*O*-ακετυλο-*D*-γλυκοπυρανόζη (**1**) παρουσία τραχλωριούχου κασίτερου ( $\text{SnCl}_4$ ) ως καταλύτη και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 12

επιπλέον ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), το μίγμα εξουδετερώνεται με κορεσμένο διάλυμα  $\text{NaHCO}_3$  και εκχυλίζεται με  $\text{EtOAc}$ . Η οργανική φάση ξηραίνεται με άνυδρο  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, οπότε παραλαμβάνεται το *N*-7 ισομερές της γουανίνης (**44**) ελέγχοντας κινητικά την αντίδραση (συνθήκες :  $\text{SnCl}_4/\text{CH}_3\text{CN}$ , θερμοκρασία δωματίου) σε πολύ χαμηλή απόδοση 15% (Garner και Ramakanth 1987). Από την μελέτη του φάσματος  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης **44** εμφανίζεται μεγάλη σταθερά σύζευξης ( $J_{1',2'} = 9.4$  Hz) μεταξύ των πρωτονίων H-1' και H-2', υποδεικνύοντας έναν αξονικό προσανατολισμό για τα δύο αυτά πρωτόνια, με την ετεροκυκλική βάση να καταλαμβάνει την ισημερινή θέση του σακχάρου (Baker, 1957).



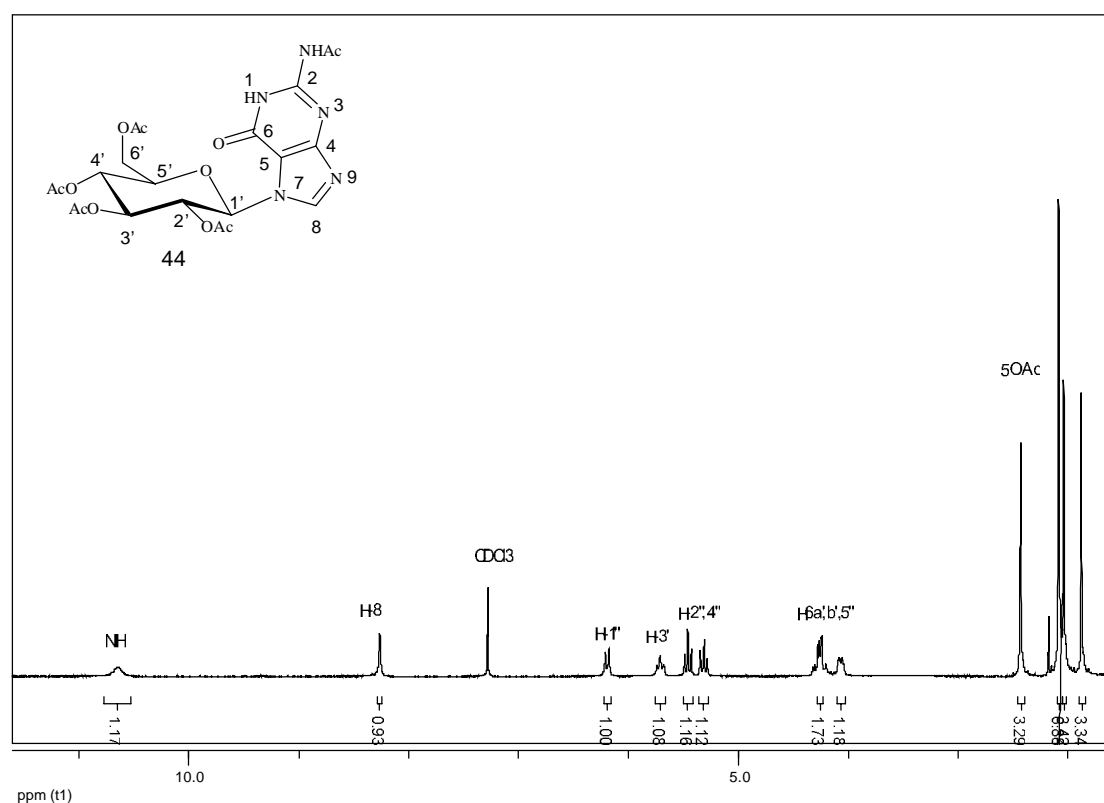
### Σχήμα 88

Το επόμενο βήμα της συνθετικής μας πορείας περιλαμβάνει την βρωμίωση του νουκλεοζίτη **44** στον C8 άνθρακα της πουρινικής βάσης. Το προστατευμένο νουκλεοζιτικό ανάλογο της γουανίνης **44** διαλύεται σε άνυδρο χλωροφόρμιο ( $\text{CHCl}_3$ ) και υπό ατμόσφαιρα αζώτου προστίθεται το βρωμοακεταμίδιο (NBA). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα με επαναροή για 3.5 ώρες στους  $65^\circ\text{C}$  υπό ατμόσφαιρα αζώτου (Σχήμα 89) (Holmes και Robins 1964). Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), το μίγμα αραιώνεται με οξικό αιθυλεστέρα και εκχυλίζεται με διάλυμα  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ . Η οργανική φάση ξηραίνεται με άνυδρο  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **45** με απόδοση 32%. Η θέση υποκατάστασης του ατόμου του βρωμίου επιβεβαιώθηκε, από την μελέτη των φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης **44** και **45** (σχήμα 91), λόγω της απουσίας της χαρακτηριστικής οξείας κορυφής απορρόφησης του πρωτονίου H-8 της πουρινικής βάσης στα 8.24 ppm, ενώ η διαμόρφωση *syn* αποδίδεται στον ογκώδη υποκαταστάτη (βρώμιο) που βρίσκεται στον C8 άνθρακα της πουρινικής βάσης (Sarma *et al*, 1974).

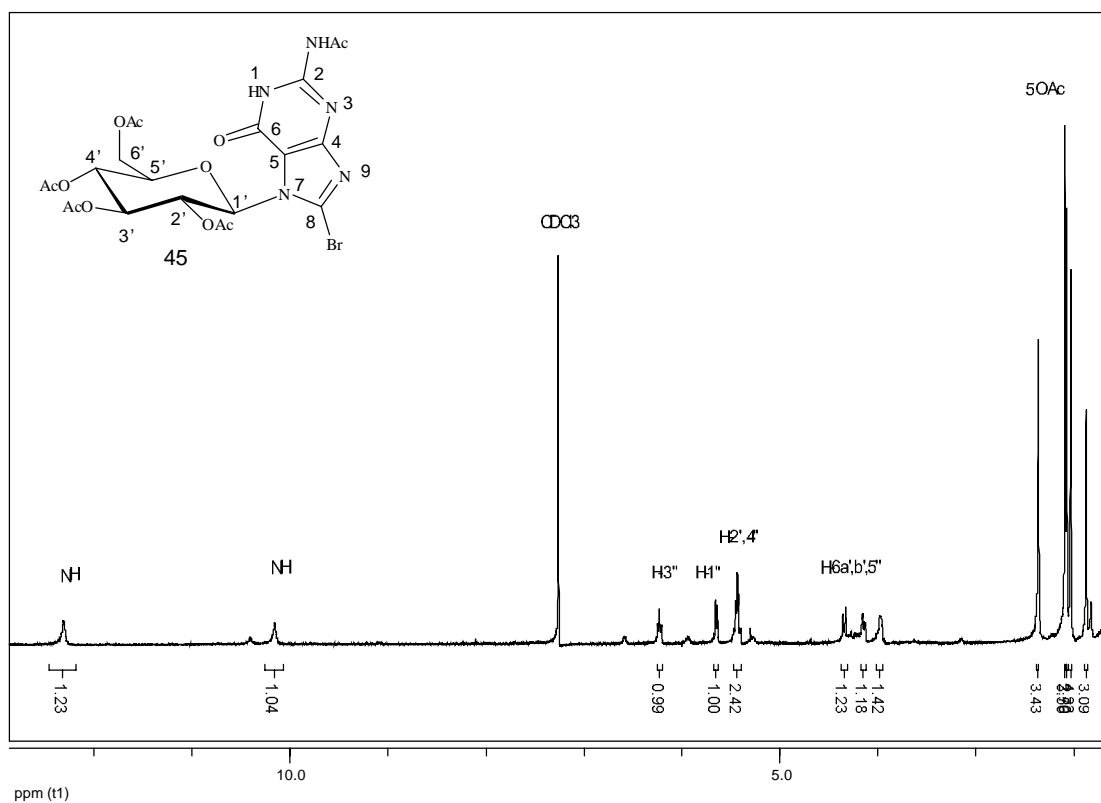
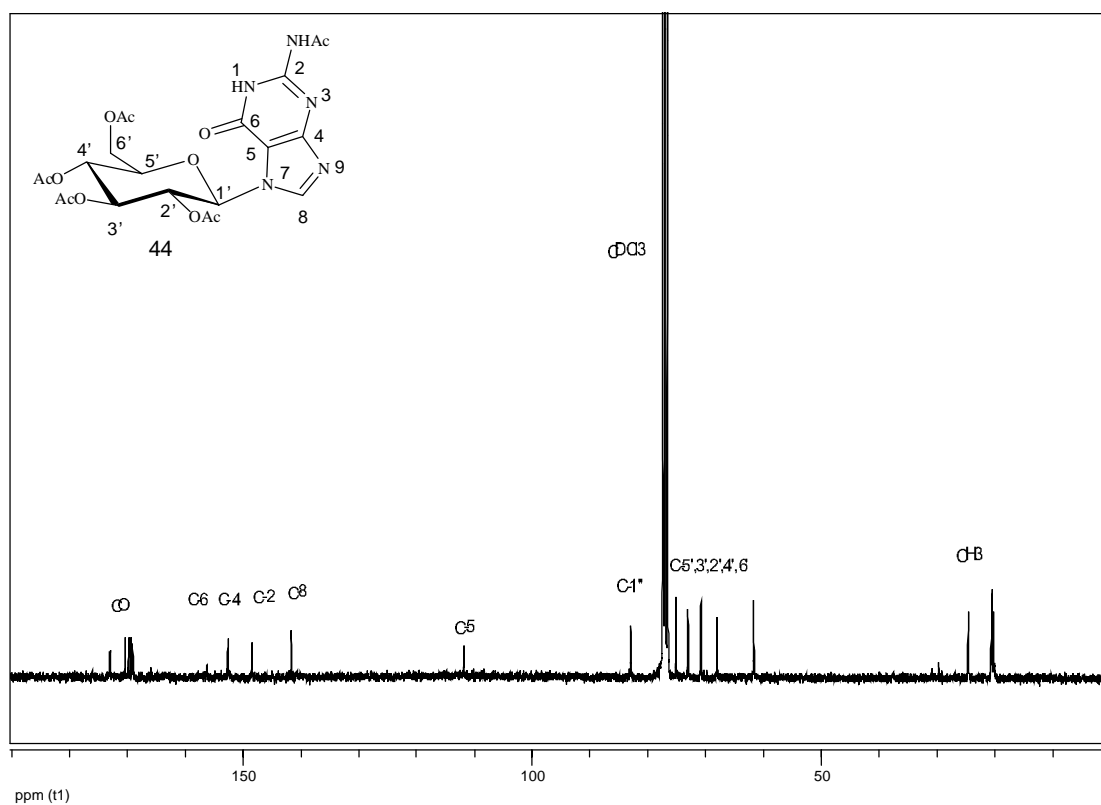


### Σχήμα 89.

Στο παρακάτω σχήμα 90, παρατίθενται τα φάσματα των ενώσεων 7-(2',3',4',6'-τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-*N*<sup>2</sup>-ακετυλογουανίνης (**44**) και 7-(2',3',4',6'-τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-8-(βρωμο)-*N*<sup>2</sup>-ακετυλογουανίνης (**45**).

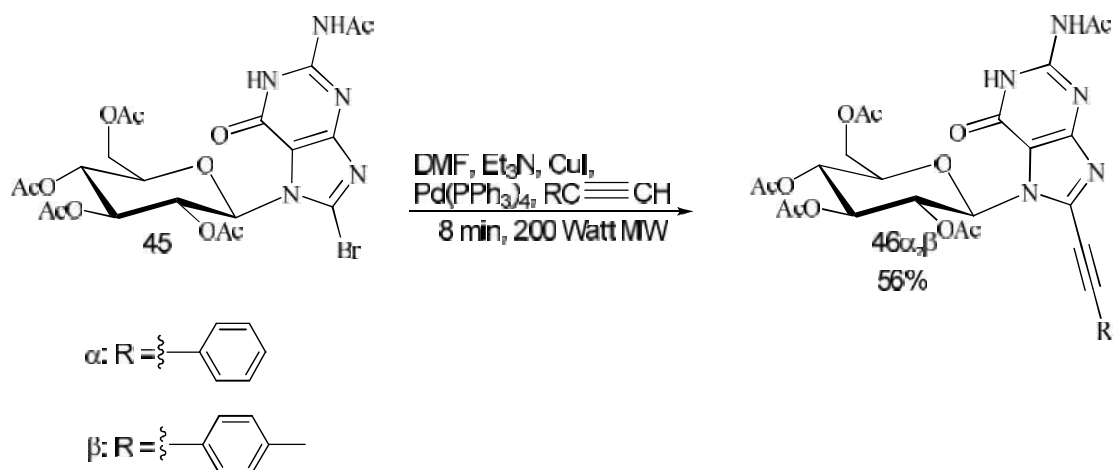






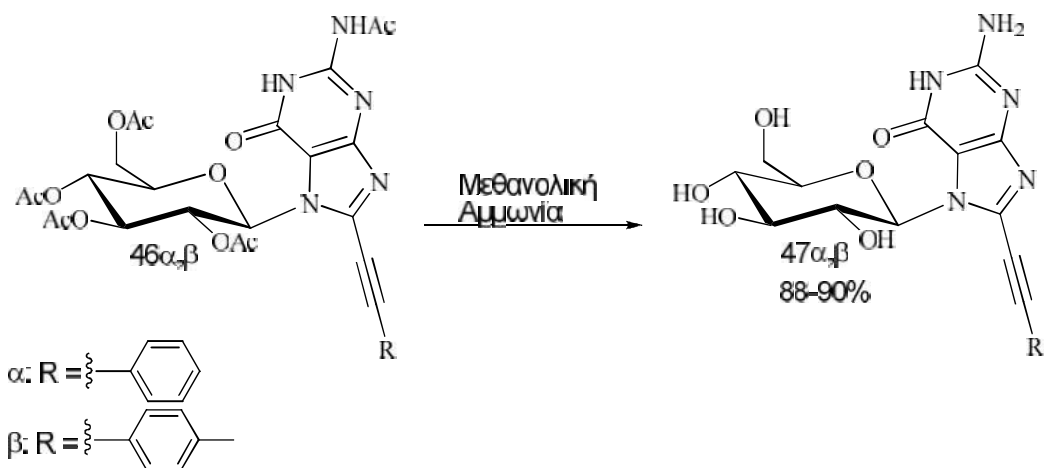
Σχήμα 90

Έχοντας εξασφαλίσει το βρωμιωμένο ανάλογο της γουανίνης **45** ακολουθεί η γνωστή αντίδραση Sonogashira με διάφορα τελικά αλκύνια υπο την ακτινοβολία μικροκυμάτων (Σχήμα 91). Συγκεκριμένα, η 7-(2',3',4',6'-τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-8-βρωμο-*N*<sup>2</sup>-ακετυλο γουανίνη (**45**) διαλύεται σε άνυδρο *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF), προσθέτοντας το κατάλληλο αλκύνιο, το τετράκις-τριφαίνυλοφωσφορικό παλλάδιο  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  ως καταλύτη,  $\text{CuI}$  ως συγκαταλύτη, και την  $\text{Et}_3\text{N}$  ως βάση και στη συνέχεια ακτινοβολούνται με μικροκύματα σε 200 Watt, για 8 λεπτά στους 80 °C (Firth *et al*, 2006). Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), απομακρύνεται ο διαλύτης υπό κενό και ακολουθεί καθαρισμός των υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, οπότε παραλαμβάνονται τα επιθυμητά προϊόντα **46a,β** με ικανοποιητική αποδόση 56%.



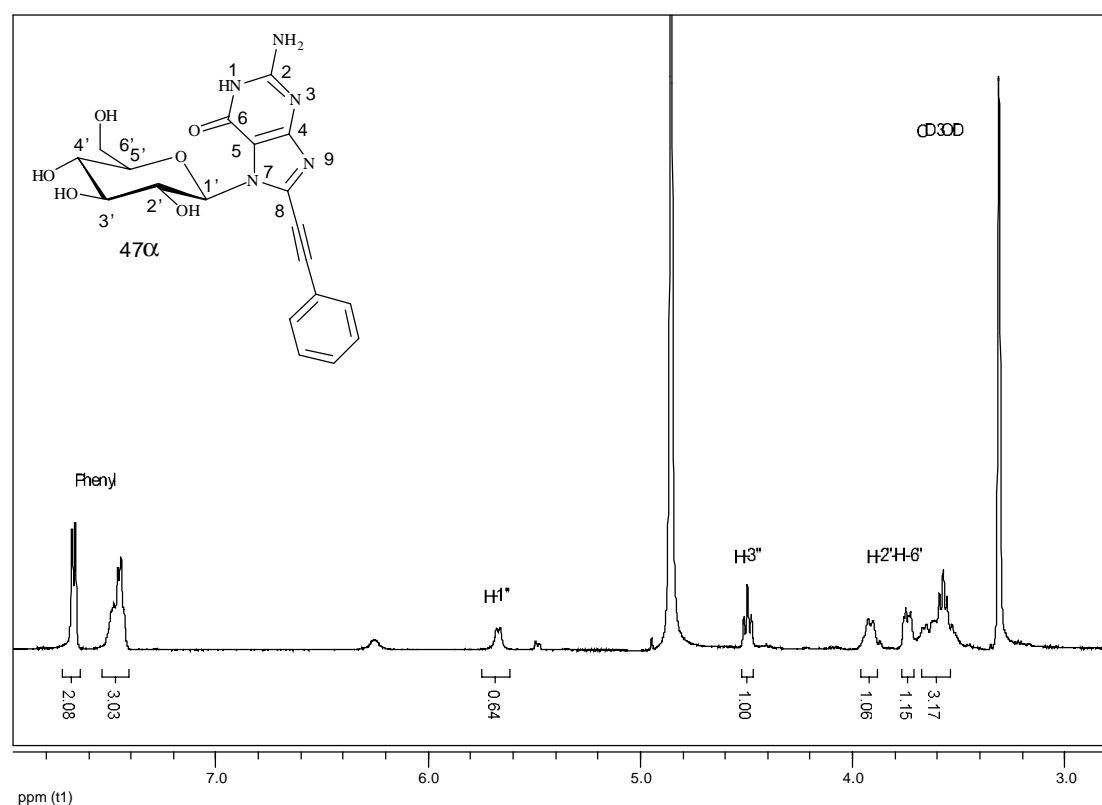
Σχήμα 91

Το τελικό στάδιο της συνθετικής πορείας αποτελεί η αποπροστασία των ενώσεων **46a,β** με κατεργασία τους με μεθανολική αμμωνία (Neilson και Werstuijk 1971) (Σχήμα 92), οπότε λαμβάνονται τα τελικά *N*7 πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα της γουανίνης **47a,β** με πολύ καλές αποδόσεις 90% και 88% αντίστοιχα.



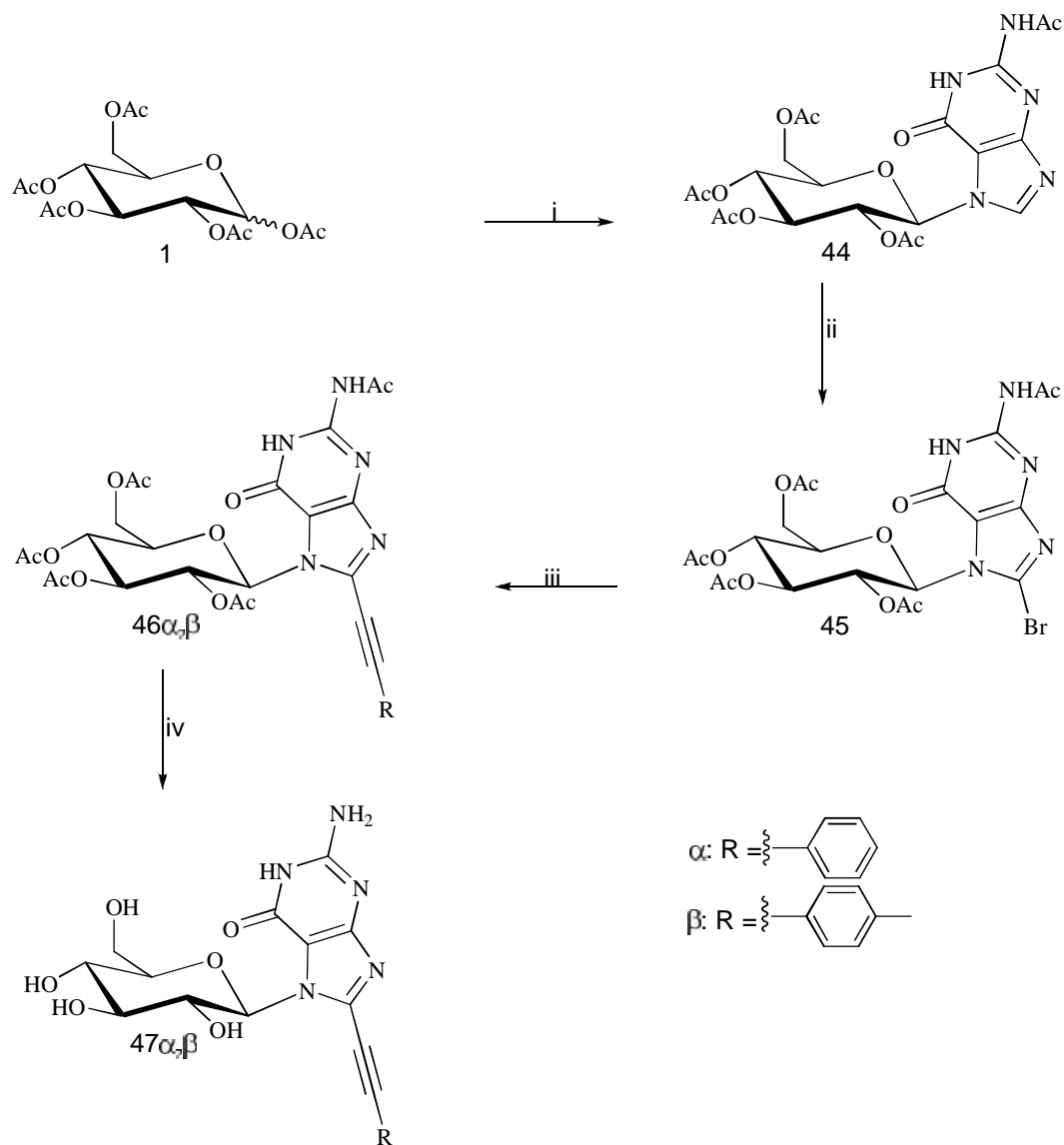
Σχήμα 92

Ενδεικτικά παρατίθεται το φάσμα της 7-( $\beta$ -D-γλυκοπυρανοζυλο)-8-[(φαινυλο)αιθυνυλο]γουανίνης (**47α**) στο παρακάτω σχήμα 93.



Σχήμα 93

Στο σχήμα 94 που ακολουθεί παρουσιάζεται ολόκληρη η συνθετική πορεία για τα πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα της γουανίνης.



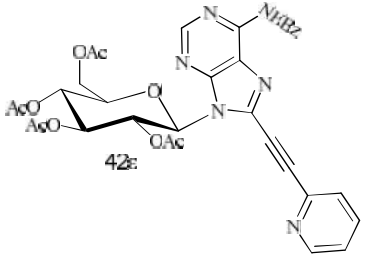
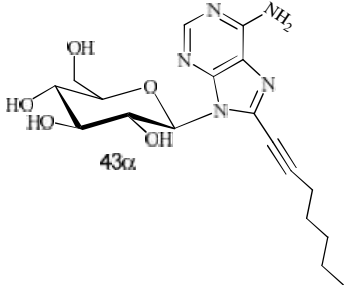
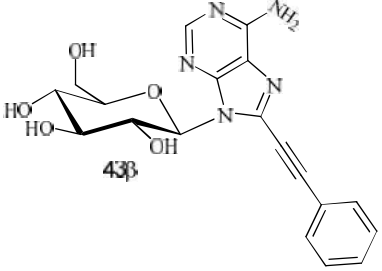
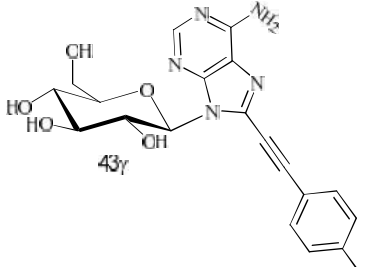
- i) Σιλυλιωμένη Βάση,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ,  $\text{SnCl}_4$  r.t.
- ii) NBA,  $\text{CHCl}_3$ ,  $65^\circ\text{C}$
- iii) DMF,  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{CuI}$ ,  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ ,  $\text{RC}\equiv\text{CH}$
- iv) Μεθανολική Αμμωνία

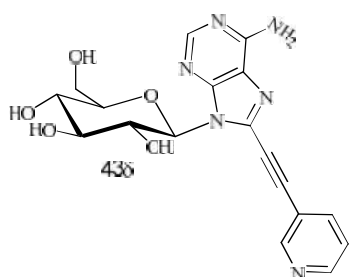
**Σχήμα 94**

### Π.5.3 Αντικαρκινική και αντιϊκή δράση των C8-αλκύνυλο πυρανονουκλεοζιτών της αδενίνης **42ε**, **43α-δ** και της γουανίνης **47α,β**

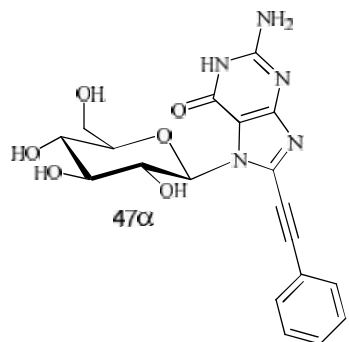
Μετά την επιτυχή ολοκλήρωση της σύνθεσης των ενώσεων-στόχων εξετάστηκε η αντικαρκινική τους δράση σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Ιολογίας και Χημειοθεραπείας του Ινστιτούτου Ιατρικής Έρευνας Rega στο Βέλγιο. Συγκεκριμένα, εξετάστηκε η βιολογική δράση των **42ε**, **43α-δ** και **47α,β** (πίνακας 6). 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). Όπως προκύπτει από τον παρακάτω πίνακα 6 καμία ένωση τόσο από την σειρά της αδενίνης όσο και από την σειρά της γουανίνης δεν εμφάνισε αξιοσημείωτη ανασταλτική δράση εκτός από τον προστατευμένο νουκλεοζίτη **42ε** της αδενίνης ( $IC_{50}$  1.2-3.0  $\mu$ M) που εμφάνισε παρόμοια ανασταλτική δράση με αυτήν της 5-φθοροουρακίλης ( $IC_{50}$  0.33-18.0  $\mu$ M) έναντι των κυττάρων λευχαιμίας ποντικού (L1210), του ανθρώπινου λεμφώματος (CEM) καθώς και των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του τραχήλου της μήτρας (HeLa). Για την εκτίμηση της κυτταροτοξικής δράσης χρησιμοποιήθηκε η παράμετρος  $IC_{50}$ , η οποία αντιπροσωπεύει τη συγκέντρωση του φάρμακου που απαιτείται για την αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης κατά 50%. Οι νέες ενώσεις μελετήθηκαν ως προς τις αντιϊκές τους ιδιότητες έναντι διαφόρων DNA και RNA ιών, χωρίς όμως να παρουσιάσουν κάποια ενδιαφέρουσα δράση.

**Πίνακας 6.** Ανασταλτική δράση των ενώσεων **42ε**, **43α-δ** και **47α,β** έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων L1210, CEM και HeLa.

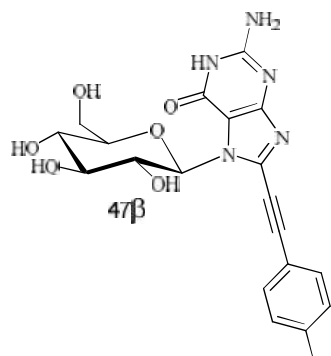
ΠΡΟΪΟΝ	IC <sub>50</sub> (μM)		
	L1210	CEM	HeLa
 <b>42ε</b>	2.9 ± 0.0	1.2 ± 0.2	3.0 ± 0.7
 <b>43α</b>	> 250	> 250	> 250
 <b>43β</b>	> 250	> 250	> 250
 <b>43γ</b>	> 250	> 250	> 250



> 250      > 250       $\geq 250$



> 250      > 250      > 250



> 250      > 250      > 250

---

**5-Φθοροουρακίλη**

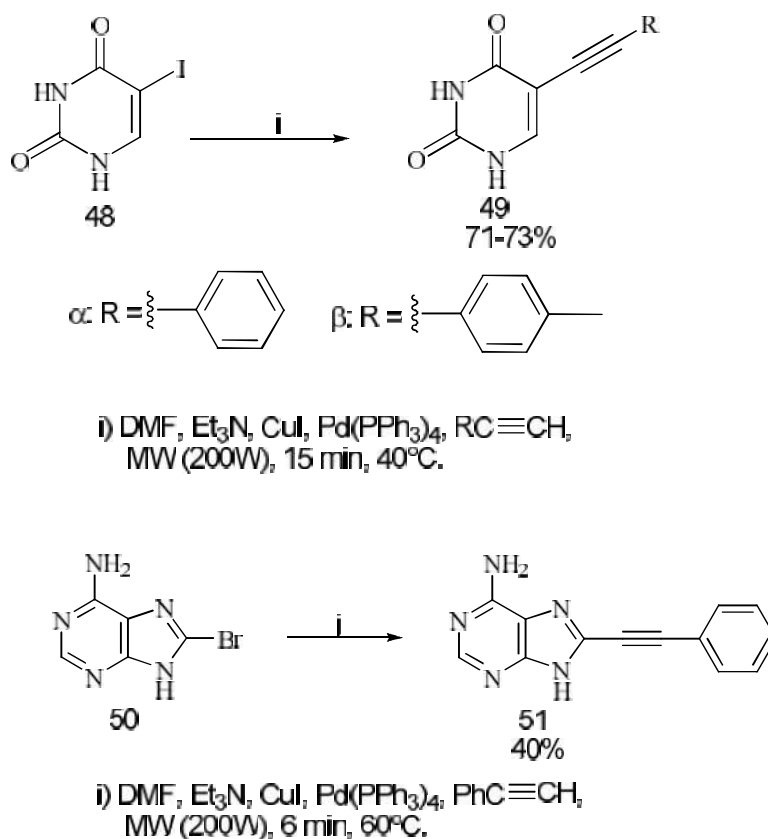
$0.33 \pm 0.17$

$18 \pm 5$

$0.54 \pm 0.12$

---

Έχοντας ολοκληρώσει όλες τις πειραματικές πορείες των ενώσεων στη συγκεκριμένη διατριβή και με στόχο την εξαγωγή συμπερασμάτων για τη σχέση χημικής δομής-βιολογικής δραστηριότητας, κρίθηκε ενδιαφέρουσα η σύζευξη με τελικά αλκύνια και τις ετεροκυκλικές βάσεις 5-ιωδοουρακίλη και 8-βρωμοαδενίνη για να συγκρίνουμε την ανασταλτική τους δράση με τη δράση των αντίστοιχων πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης **17a** και αδενίνης **43b** που φέρουν το ίδιο τελικό αλκύνιο. Στο σχήμα 95 που ακολουθεί απεικονίζεται η συνθετική πορεία της 8-φαινυλοαιθυνο-ουρακίλης (**49a**), 8-(4-μεθυλοφαινυλο)αιθυνο-ουρακίλης (**49b**) και 8-φαινυλοαιθυνο-αδενίνης (**51**).



## Σχήμα 95

### Π.6 Σύνθεση των C5-υποκατεστημένων νουκλεοβάσεων της ουρακίλης και της C8-υποκατεστημένης νουκλεοβάσης της αδενίνης

#### Π.6.1 Σύνθεση της 8-φαινυλοαιθινυλο-ουρακίλης (49α) και της 8-(4-μεθυλοφαινυλο)αιθινυλο-ουρακίλης (49β)

Η 5-ιωδοουρακίλη (48) διαλύεται σε άνυδρο *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF), προστίθεται το κατάλληλο αλκύνιο, ο Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> ως καταλύτης, ο CuI ως συγκαταλύτης και η Et<sub>3</sub>N ως βάση και στη συνέχεια ακτινοβολούνται με μικροκύματα σε 200 Watt, για 15 λεπτά στους 40 °C (Petricci *et al*, 2003). Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), απομακρύνεται ο διαλύτης υπό κενό και ακολουθεί καθαρισμός των υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, οπότε παραλαμβάνονται τα επιθυμητά προϊόντα **49α** (73%) και **49β** (71%).

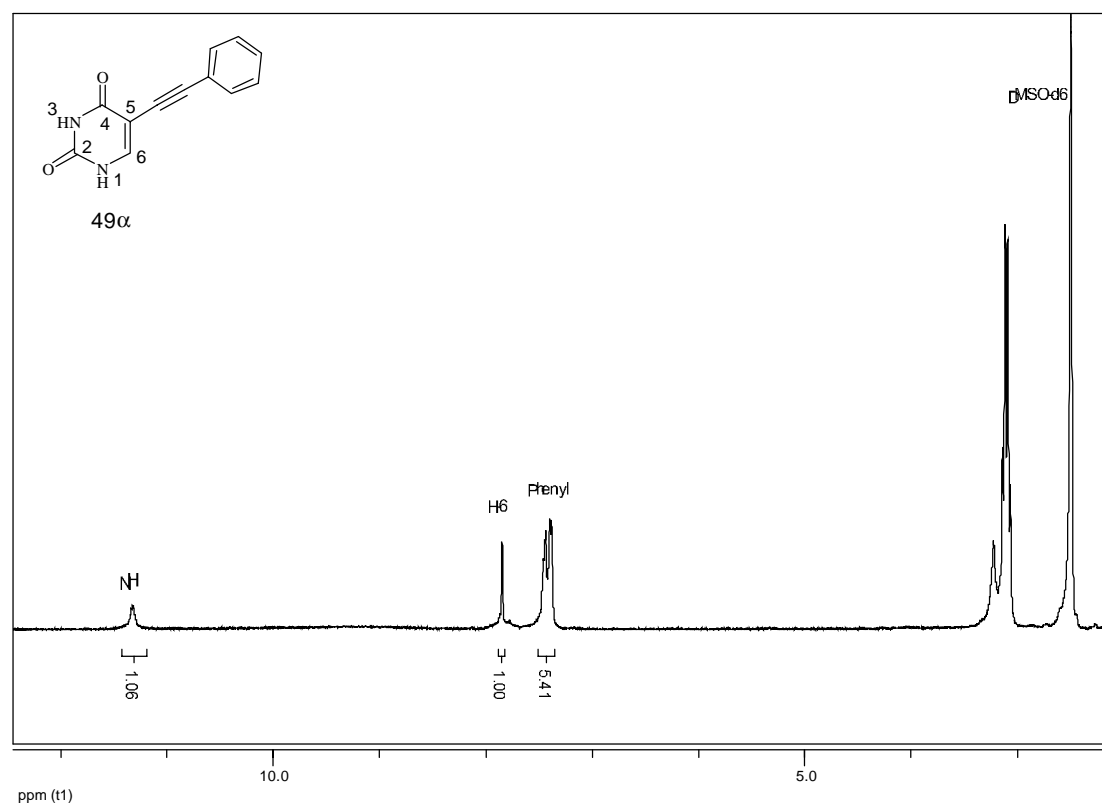
#### Π.6.2 Σύνθεση της 8-φαινυλοαιθινυλο-αδενίνης (51)

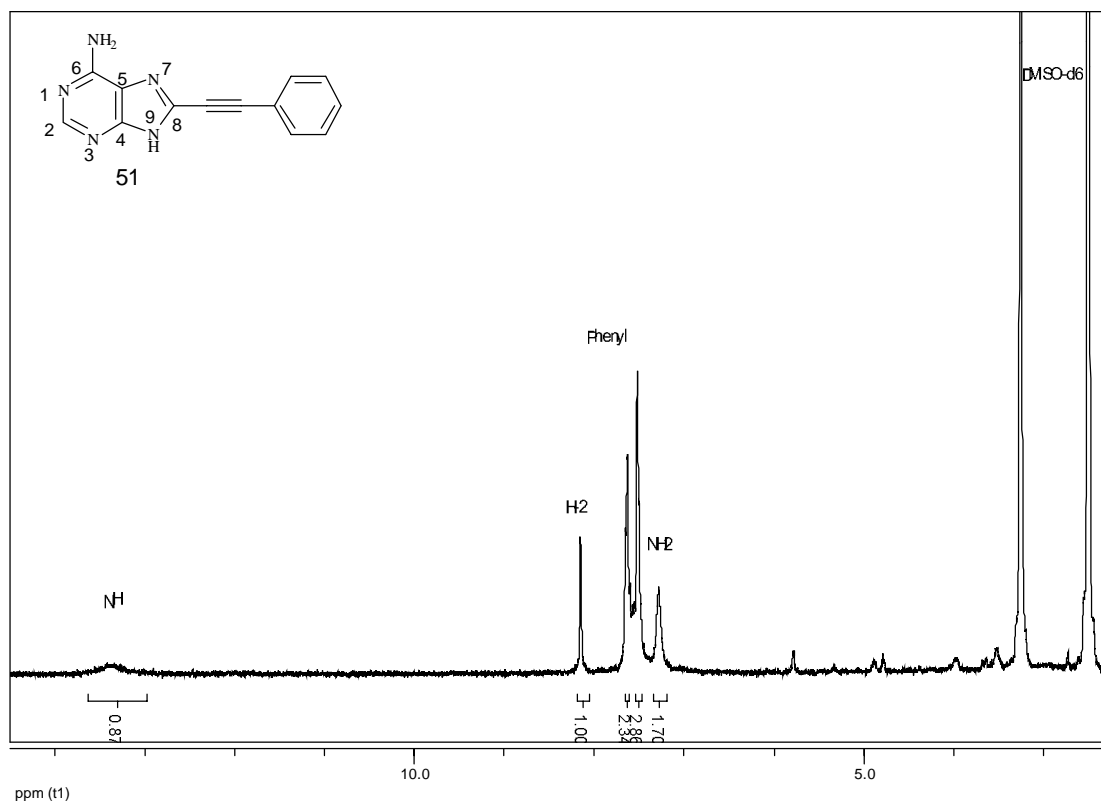
Η 8-βρωμοαδενίνη (50) διαλύεται σε άνυδρο *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF), προστίθεται το τελικό ακραίο αλκύνιο, ο Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> ως καταλύτης, ο CuI ως



συγκαταλύτης και η Et<sub>3</sub>N ως βάση και στη συνέχεια ακτινοβολείται με μικροκύματα σε 200 Watt, για 6 λεπτά στους 60 °C (Petricci *et al*, 2003). Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), απομακρύνεται ο διαλύτης υπό κενό και ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **51** με απόδοση 40%.

Στο σχήμα 96 που ακολουθεί παρατίθενται ενδεικτικά τα φάσματα <sup>1</sup>H NMR των ενώσεων **49a** και **51**.





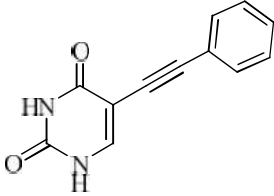
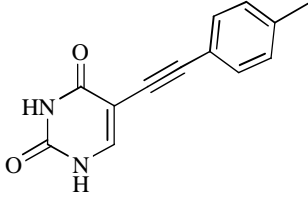
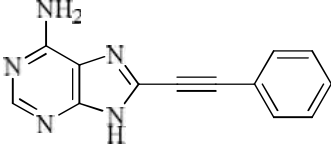
Σχήμα 96

### II.6.3 Αντικαρκινική και αντιϊκή δράση των ενώσεων 49α,β και 51

Έχοντας ολοκληρώσει την σύνθεση των τελευταίων στόχων εξετάστηκε η αντικαρκινική τους δράση σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Ιολογίας και Χημειοθεραπείας του Ινστιτούτου Ιατρικής Έρευνας Rega στο Βέλγιο. Συγκεκριμένα, εξετάστηκε η βιολογική δράση των **49α,β** και **51** (πίνακας 7). 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). Όπως προκύπτει από τον παρακάτω πίνακα 7 την καλύτερη ανασταλτική δράση εμφάνισε η ένωση **51** (IC<sub>50</sub> 4.2-10.0 μM) παρόμοιας με αυτήν της 5-φθοροουρακίλης (IC<sub>50</sub> 0.33-18.0 μM) έναντι των κυττάρων λευχαιμίας ποντικού (L1210), του ανθρώπινου λεμφώματος (CEM) καθώς και των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του τραχήλου της μήτρας (HeLa). 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%. Οι νέες ενώσεις μελετήθηκαν ως προς τις αντιϊκές

τους ιδιότητες έναντι διαφόρων DNA και RNA ιών, χωρίς όμως να παρουσιάσουν κάποια ενδιαφέρουσα δράση.

**Πίνακας 7.** Ανασταλτική δράση των ενώσεων **49α,β** και **51** έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων L1210, CEM και HeLa.

ΠΡΟΪΟΝ	IC <sub>50</sub> (μM)		
	L1210	CEM	HeLa
 <b>49α</b>	129 ± 6	113 ± 24	71 ± 15
 <b>49β</b>	≥250	105±0	112±2
 <b>51</b>	5.9 ± 5.5	4.2 ± 0.8	10 ± 3.0
<b>5-Φθοροουρακίλη</b>	0.33 ± 0.17	18 ± 5	0.54 ± 0.12

### III. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

#### 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)

Για την παρακολούθηση της πορείας τους χρησιμοποιήθηκαν εμπορικά διαθέσιμες πλάκες TLC επικαλυμμένες με silica gel 60 F254 (πάχους στοιβάδας 0.20 mm) και ο εντοπισμός των κηλίδων έγινε με λάμπα UV, για ενώσεις που απορροφούν στην περιοχή του υπεριώδους, ενώ για όσες δεν απορροφούν, η εμφάνιση έγινε με ψεκασμό με διάλυμα θειϊκού οξέος 30% και θέρμανση.

#### Χρωματογραφία στήλης

Η χρωματογραφία στήλης υπό πίεση (flash column chromatography), επιτεύχθηκε με την εισαγωγή αέρα υπό πίεση εντός στήλης πακτωμένης με προσροφητικό υλικό silica gel 60 (230-400 mesh) της εταιρίας E. Merk και οι διαλύτες έκλουσης ήταν καθαρότητας εμπορίου και αποστάχθηκαν αμέσως πριν τη χρήση τους.

#### Μέτρηση της οπτικής ενεργότητας

Οι μετρήσεις της γωνίας στροφής 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 = συγκέντρωση της ουσίας σε mol/L

d = μήκος κυψελίδας σε cm

### Φάσματα NMR

Τα φάσματα NMR καταγράφηκαν σε φασματόμετρο τύπου: α) Bruker AM300 με συχνότητα συντονισμού τα 300.1 MHz για τους πυρήνες  $^1\text{H}$  και 75.5 MHz για τους πυρήνες  $^{13}\text{C}$  και β) Bruker AM400 με συχνότητα συντονισμού τα 400 MHz για τους πυρήνες  $^1\text{H}$  και 100 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

Οι μετρήσεις μάζας έγιναν σε φασματόμετρο τύπου Thermo Quest Finnigan AQA και η χρησιμοποιούμενη μέθοδος ιονισμού ήταν διά ψεκασμού (electron spray ionization ESI).

### Προσδιορισμός των σημείων τήξεως

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

### Συσκευές μικροκυμάτων

Όλα τα πειράματα που διεξήχθησαν υπο μικροκύματα πραγματοποιήθηκαν σε συσκευή μικροκυμάτων: α) 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, β) οικιακό κλίβανο (Toyotomi μοντέλο No: MM720CMF(W)) με μέγιστη εκπεμπόμενη ισχύ των 700 Watt.

**Ξήρανση διαλυτών**

Όλες οι αντιδράσεις που περιελάμβαναν άνυδρους διαλύτες ή ουσίες ευαίσθητες στην ατμόσφαιρα έλαβαν χώρα υπό αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου. Το ακετονιτρίλιο και το *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο αποστάχθηκαν υπεράνω υδριδίου του ασβεστίου και το απόσταγμα συλλέχθηκε σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 4Å, όπου και αποθηκεύτηκε. Το χλωροφόρμιο αποστάχθηκε υπεράνω πεντοξειδίου του φωσφόρου και το απόσταγμα συλλέχθηκε σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 4Å, όπου και αποθηκεύτηκε. Η μεθανόλη αποστάχθηκε υπεράνω μεθοξειδίου του μαγνησίου και το απόσταγμα συλλέχθηκε σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 3Å, όπου και αποθηκεύτηκε.

**Στοιχειακή ανάλυση**

Οι στοιχειακές αναλύσεις των ουσιών έγιναν με τη χρήση αυτοματοποιημένων αναλυτών της εταιρίας Perkin-Elmer 2400 (% προσδιορισμός C, H, N, S, Cl και Br) και οι τιμές κυμαίνονται σε εύρος  $\pm 0.5\%$  των θεωρητικών.

**III.1 Σύνθεση των C5-αλογονομένων πυρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης (3α-στ)****1-(2',3',4',6'-Τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-5-ιωδοουρακίλη (2α)**

Η εμπορικά διαθέσιμη 1,2,3,4,6-πεντακίς-*O*-ακετυλο-*D*-γλυκοπυρανόζη (1) (1g, 2.56 mmol), με την πυριμιδική βάση 5-ιωδοουρακίλη (852 mg, 3.58 mmol), διαλύονται σε άνυδρο ακετονιτρίλιο (CH<sub>3</sub>CN) (12.6 mL), παρουσία του εξαμεθυλοδισιλαζάνιου (HMDS) (937 μl, 4.44 mmol), καθώς και καταλυτικής ποσότητας σακχαρίνης (29.3 mg, 0.16 mmol) και με την προσθήκη του τριφθορομεθανοσουλφονικού τριμεθυλοσιλυλεστέρα (Me<sub>3</sub>SiOSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>) (647 μl, 3.58 mmol) ακτινοβολούνται με μικροκύματα σε 100 Watt για 3 λεπτά. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), το μίγμα ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου, εξουδετερώνεται με κορεσμένο διάλυμα NaHCO<sub>3</sub> και εκχυλίζεται με CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Η οργανική φάση ξηραίνεται με άνυδρο Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **2α** (1.16 g, 80%) με κίτρινη αφρώδη υφή. R<sub>f</sub> = 0.18 (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5).

$$[\alpha]_D^{22} = -3.0^\circ \quad (c=0.11, \text{χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 270 \text{ nm } (\epsilon = 6532)$$

$$\text{ESI-MS (m/z): } 569.3 \text{ (M+H}^+\text{)}$$

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>IN<sub>2</sub>O<sub>11</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 38.04        H : 3.72        N : 4.93

Ευρ. (%)            C : 37.95        H : 3.88        N : 5.10

<sup>1</sup>H- NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.30 (br s, 1H, NH), 7.62 (s, 1H, H-6), 5.89 (d, 1H, *J*<sub>1',2'</sub> = 9.5 Hz, H-1'), 5.35 (t, 1H, *J*<sub>2',3'</sub> = *J*<sub>3',4'</sub> = 9.4 Hz, H-3'), 5.16–5.11 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.32–4.09 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 3.90 (m, 1H, H-5'), 2.10, 2.07, 2.03, 2.02 (4s, 12H, 4OAc).

**1-(β-D-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-ιωδοουρακίλη (3α)**

Διάλυμα της ένωσης 5-ιωδοουρακίλης **2α** (569.3 mg, 1 mmol) σε μεθανολική αμμωνία (κορεσμένη στους 0°C, 56.0 mL) αναδεύεται για 12 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **3α** (357 mg, 89%) ως άχρωμο έλαιο.  $R_f = 0.35$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1).

$[\alpha]_D^{22} = +2.0^\circ$  (c=0.50, μεθανόλη)

$\lambda_{max}$  269 nm ( $\epsilon = 5044$ )

ESI-MS (m/z): 401.2 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{10}H_{13}IN_2O_7$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 30.02      H : 3.27      N : 7.00

Ευρ. (%)      C : 29.93      H : 3.43      N : 6.88

$^1H$ - NMR (400 MHz,  $CD_3OD$ )

$\delta$  8.12 (s, 1H, H-6), 5.50 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 7.9$  Hz, H-1'), 3.87-3.70 (m, 2H, H-2', H-4'), 3.54-3.45 (m, 4H, H-3', H-5', H-6a', H-6b').

$^{13}C$ - NMR (100 MHz,  $CD_3OD$ )

$\delta$  160.34, 150.35, 145.20, 83.44, 80.11, 77.54, 72.33, 69.90, 68.59, 61.55.

**1-(2',3',4',6'-Τετρακis-O-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλη (2β)**

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **2β** συντίθεται από το σάκχαρο **1** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **2α** από την ένωση **1**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξανίο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **2β** (849 mg, 72%). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα της ένωσης **2β** είναι σε συμφωνία με αυτά που αναφέρονται σε διεθνή βιβλιογραφία ( John Wiley & Sons, Ltd. 1996).



**1-(β-D-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλη (3β)**

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **3β** συντίθεται από την ένωση **2β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **3α**. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **3β** (249 mg, 85%) ως λευκό στερεό. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα της ένωσης **3β** είναι σε συμφωνία με αυτά που αναφέρονται σε διεθνή βιβλιογραφία (John Wiley & Sons, Ltd. 1996).

**1-(2',3',4',6'-Τετρακίς-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-χλωροουρακίλη (2γ)**

Το παράγωγο της 5-χλωροουρακίλης **2γ** συντίθεται από το σάκχαρο **1** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **2α** από την ένωση **1**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **2γ** (965 mg, 79%). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα της ένωσης **2γ** είναι σε συμφωνία με αυτά που αναφέρονται σε διεθνή βιβλιογραφία (Khan *et al*, 2001).

**1-(β-D-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-χλωροουρακίλη (3γ)**

Το παράγωγο της 5-χλωροουρακίλης **3γ** συντίθεται από την ένωση **2γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **3α**. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **3γ** (273 mg, 88%) ως άχρωμο έλαιο.  $R_f = 0.22$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1).

$$[\alpha]_D^{22} = +1.0^\circ \quad (c=0.11, \text{ μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 274 \text{ nm } (\epsilon = 7220)$$

$$\text{ESI-MS (m/z): } 309.8 \text{ (M+H}^+\text{)}$$

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 38.91      H : 4.25      N : 9.08

Ευρ. (%)            C : 39.41        H : 4.45        N : 9.23

<sup>1</sup>H- NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 8.03 (s, 1H, H-6), 5.53 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.3$  Hz, H-1'), 3.87–3.70 (m, 2H, H-2', H-4'), 3.55–3.45 (m, 4H, H-3', H-5', H-6a', H-6b').

<sup>13</sup>C- NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 159.09, 149.76, 137.80, 108.61, 83.55, 80.07, 77.47, 72.28, 69.91, 61.58.

**1-(2',3',4',6'-Τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-5-βρωμοουρακίλη (2δ)**

Το παράγωγο της 5-βρωμοουρακίλης **2δ** συντίθεται από το σάκχαρο **1** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **2α** από την ένωση **1**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξανίο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **2δ** (934 mg, 70%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.25$  (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξανίο 5:5).

$[\alpha]_D^{22} = -1.0^\circ$  (c=0.11, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  275 nm ( $\epsilon = 7551$ )

ESI-MS (m/z): 522.3 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>11</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 41.47        H : 4.06        N : 5.37

Ευρ. (%)            C : 41.25        H : 4.38        N : 5.51

<sup>1</sup>H- NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.26 (br s, 1H, NH), 7.64 (s, 1H, H-6), 5.82 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 5.39 (t, 1H,  $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 9.4$  Hz, H-3'), 5.18–5.09 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.31–4.11 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 3.93 (m, 1H, H-5'), 2.11, 2.06, 2.02, 2.01 (4s, 12H, 4OAc).

**1-(β-D-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-βρωμοουρακίλη (3δ)**

Το παράγωγο της 5-βρωμοουρακίλης **3δ** συντίθεται από την ένωση **2δ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **3α**. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **3δ** (319 mg, 90%) ως παχύρευστο έλαιο.  $R_f = 0.31$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1).

$[\alpha]_D^{22} = -2.0^\circ$  (c=0.11, μεθανόλη)

$\lambda_{max}$  276 nm ( $\epsilon = 4280$ )

ESI-MS (m/z): 354.2 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{10}H_{13}BrN_2O_7$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 34.01      H : 3.71      N : 7.93

Ευρ. (%)      C : 34.21      H : 3.61      N : 8.06

$^1H$ - NMR (400 MHz,  $CD_3OD$ )

$\delta$  8.11 (s, 1H, H-6), 5.53 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.4$  Hz, H-1'), 3.87–3.70 (m, 2H, H-2', H-4'), 3.54–3.46 (m, 4H, H-3', H-5', H-6a', H-6b').

$^{13}C$ - NMR (100 MHz,  $CD_3OD$ )

$\delta$  149.99, 140.31, 96.60, 89.88, 83.55, 80.09, 77.50, 72.31, 69.89, 61.56.

**1-(2',3',4',6'-Τετρακis-O-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)ουρακίλη (2ε)**

Το παράγωγο της ουρακίλης **2ε** συντίθεται από το σάκχαρο **1** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **2α** από την ένωση **1**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξανίο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **2ε** (829 mg, 73%). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα της ένωσης **2ε** είναι σε συμφωνία με αυτά που αναφέρονται σε διεθνή βιβλιογραφία ( John Wiley & Sons, Ltd. 1996).

**1-(β-D-Γλυκοπυρανοζυλο)ουρακίλη (3ε)**

Το παράγωγο της ουρακίλης **3ε** συντίθεται από την ένωση **2ε** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **3α**. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **3ε** (239 mg, 87%) ως λευκό στερεό. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα της ένωσης **3ε** είναι σε συμφωνία με αυτά που αναφέρονται σε διεθνή βιβλιογραφία (Huston *et al*, 1930).

**1-(2',3',4',6'-Τετρακis-O-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-τριφθορομεθυλοουρακίλη (2στ)**

Το παράγωγο της 5-τριφθορομεθυλοουρακίλης **2στ** συντίθεται από το σάκχαρο **1** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **2α** από την ένωση **1**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **2στ** (980 mg, 75%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.31$  (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5).

$$[\alpha]_D^{22} = -2.0^\circ \quad (c=0.11, \text{χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 256 \text{ nm } (\epsilon = 5933)$$

**ESI-MS (m/z):** 511.3 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{19}H_{21}F_3N_2O_{11}$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 44.71      H : 4.15      N : 4.93

Ευρ. (%)      C : 44.93      H : 3.98      N : 5.20

**<sup>1</sup>H- NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ )

$\delta$  8.32 (br s, 1H, NH), 7.80 (s, 1H, H-6), 5.86 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 5.42 (t, 1H,  $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 9.4$  Hz, H-3'), 5.20-5.08 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.30-4.11 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 3.95 (m, 1H, H-5'), 2.10, 2.06, 2.03, 2.01 (4s, 12H, 4OAc).

**1-(β-D-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-τριφθορομεθυλοουρακίλη (3στ)**

Το παράγωγο της 5-τριφθορομεθυλοουρακίλης **3στ** συντίθεται από την ένωση **2στ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη

σύνθεση του προϊόντος **3a**. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **3στ** (316 mg, 92%) ως παχύρευστο έλαιο.  $R_f = 0.21$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1).

$[\alpha]_D^{22} = -2.0^\circ$  (c=0.11, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  260 nm ( $\epsilon = 1378$ )

ESI-MS (m/z): 343.2 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{11}H_{13}F_3N_2O_7$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 38.61        H : 3.83        N : 8.19

Ευρ. (%)            C : 38.83        H : 3.66        N : 8.44

$^1H$ - NMR (400 MHz,  $CD_3OD$ )

$\delta$  8.18 (s, 1H, H-6), 5.58 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.7$  Hz, H-1'), 3.87–3.71 (m, 2H, H-2', H-4'), 3.54–3.45 (m, 4H, H-3', H-5', H-6a', H-6b').

$^{13}C$ - NMR (100 MHz,  $CD_3OD$ )

$\delta$  149.55, 141.80, 123.81, 120.31, 105.23, 83.67, 80.20, 72.46, 72.31, 69.82, 61.44.

## III.2 Σύνθεση των θειοπυρινικών πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων

### III.2.1 Σύνθεση των 9- $\beta$ -D-πυροανονουκλεοζιτικών αναλόγων της 6-μερκαπτοπυρίνης 6a-ε και της 6-θειογουανίνης 8a-ε

#### 6-Μερκαπτο-9-(2',3',4',6'-τετρακίς-O-ακετυλο- $\beta$ -D-γλυκοπυρανοζυλο)πυρίνη (5a)

Σε διάλυμα 6-μερκαπτοπυρίνης (507 mg, 3.33 mmol) σε άνυδρο  $CH_3CN$  (14 mL) προστίθεται HMDS (871  $\mu$ l, 4.13 mmol),  $(NH_4)_2SO_4$  (149 mg, 1.13 mmol), TMSCl (1 mL, 8.23 mmol) και σακχαρίνη (27.5 mg, 0.15 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα με επαναρροή για 5 ώρες υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η 1,2,3,4,6-πεντακίς-O-ακετυλο- $\beta$ -D-γλυκοπυρανόζη (**4a**) (1 g, 2.56 mmol) και  $Me_3SiOSO_2CF_3$  (647  $\mu$ l, 3.58 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 3 επιπλέον ώρες με κάθετο ψυκτήρα με

επαναρροή στους 110 °C. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), το μίγμα ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου, εξουδετερώνεται με κορεσμένο διάλυμα NaHCO<sub>3</sub> και εκχυλίζεται με EtOAc. Η οργανική φάση ξηραίνεται με άνυδρο Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9.8:0.2, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **5a** (840 mg, 68%) ως κίτρινο έλαιο. R<sub>f</sub> = 0.19 (9.5 διχλωρομεθάνιο/0.5 μεθανόλη).

$$[\alpha]_D^{22} = +10^\circ \quad (c=0.25, \text{χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS (m/z): 483.09 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>S) C, H, N, S

Υπολ. (%)      C : 47.30    H : 4.60    N : 11.61    S : 6.65

Ευρ. (%)      C : 47.43    H : 4.80    N : 11.75    S : 6.72

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

δ 10.42 (br s, 1H, NH), 8.78 (s, 1H, H-2), 8.19 (s, 1H, H-8), 6.30 (d, 1H, J<sub>1',2'</sub> = 10.2 Hz, H-1'), 5.44-5.29 (m, 2H, H-2', H-3'), 5.21 (t, 1H, J<sub>3',4'</sub> = 9.9 Hz, H-4'), 4.27 (dd, 1H, J<sub>5',6a'</sub> = 4.4 Hz, J<sub>6a',6b'</sub> = 12.4 Hz, H-6a'), 4.14 (dd, 1H, J<sub>5',6b'</sub> = 2.1 Hz, H-6b'), 4.05 (m, 1H, H-5'), 2.06, 2.04, 2.03, 2.00 (4s, 12H, 4OAc).

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

δ 170.9, 170.7, 170.5, 169.4, 157.3, 142.9, 130.6, 126.2, 122.6, 79.6, 74.2, 72.4, 67.7, 66.2, 61.8, 20.9, 20.7, 20.6.

#### **6-Μερκαπτο-9-(β-D-γλυκοκυρανοζυλο)πουρίνη (6a)**

Διάλυμα της ένωσης **5a** (387 mg, 0.8 mmol) σε μεθανολική αμμωνία (κορεσμένη στους 0°C, 44.6 mL) αναδεύεται για 12 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **6a** (174 mg, 69%) με κίτρινη αφρώδη υφή. R<sub>f</sub> = 0.25 (8 διχλωρομεθάνιο / 2 μεθανόλη).

$$[\alpha]_D^{22} = +8^\circ \quad (c=0.25, \text{μεθανόλη})$$

ESI-MS (m/z): 315.09 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{11}H_{14}N_4O_5S$ ) C, H, N, S

Υπολ. (%)      C : 42.03      H : 4.49      N : 17.82      S : 10.20

Ευρ. (%)      C : 41.84      H : 4.31      N : 17.59      S : 10.30

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $DMSO-d_6$ )

$\delta$  12.69 (br s, 1H, NH), 8.68 (s, 1H, H-2), 8.42 (s, 1H, H-8), 6.87 (d, 1H,  $J = 5.3$  Hz, OH), 5.87 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.5$  Hz, H-1'), 5.18-4.74 (m, 3H, 3OH), 3.74-3.42 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b').

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

$\delta$  158.0, 151.7, 145.3, 138.6, 131.9, 84.1, 80.2, 76.9, 72.7, 70.5, 63.7.

**6-Μερκαπτο-9-(2',3',4',6'-τετρακίς-*O*-ακετυλο- $\beta$ -*D*-γαλακτοπυρανοζυλο)πουρίνη (5β)**

Το παράγωγο της 6-μερκαπτοπουρίνης **5β** συντίθεται από το σάκχαρο **4β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **5α** από την ένωση **4α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9.6:0.4, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **5β** (778 mg, 63%) ως κίτρινο έλαιο.  $R_f = 0.37$  (9.5 διχλωρομεθάνιο/0.5 μεθανόλη).

$[\alpha]_D^{22} = +30^\circ$  (c=0.40, χλωροφόρμιο)

ESI-MS (m/z): 483.11 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{19}H_{22}N_4O_9S$ ) C, H, N, S

Υπολ. (%)      C : 47.30      H : 4.60      N : 11.61      S : 6.65

Ευρ. (%)      C : 47.08      H : 4.49      N : 11.47      S : 6.75

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

$\delta$  10.47 (br s, 1H, NH), 8.79 (s, 1H, H-2), 8.22 (s, 1H, H-8), 6.32 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 10.5$  Hz, H-1'), 5.50 (m, 2H, H-2', H-4'), 5.26 (dd, 1H,  $J_{3',4'} = 3.2$  Hz,  $J_{2',3'} = 10.0$  Hz, H-3'), 4.26-4.11 (m, 3H, H-5', H-6a', H-6b'), 2.19, 2.02, 2.00, 1.99 (4s, 12H, 4OAc).

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

$\delta$  170.4, 170.3, 170.1, 169.5, 157.4, 142.1, 130.5, 126.8, 122.3, 79.8, 74.6, 72.1, 67.3, 66.6, 61.2, 20.7, 20.6, 20.1.

**6-Μερκαπτο-9-(β-D-γαλακτοπυρανοζυλο)πουρίνη (6β)**

Το παράγωγο της 6-μερκαπτοπουρίνης **6β** συντίθεται από την ένωση **5β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **6α**. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **6β** (176 mg, 70%) με κίτρινη αφρώδη υφή.  $R_f = 0.18$  (8 διχλωρομεθάνιο / 2 μεθανόλη).

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c=0.15, μεθανόλη)

ESI-MS (m/z): 315.10 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S) C, H, N, S

Υπολ. (%)      C : 42.03      H : 4.49      N : 17.82      S : 10.20

Ευρ. (%)      C : 42.18      H : 4.71      N : 17.59      S : 10.28

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

$\delta$  12.56 (br s, 1H, NH), 8.68 (s, 1H, H-2), 8.42 (s, 1H, H-8), 5.80 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 10.0$  Hz, H-1'), 4.81 (br s, 1H, OH), 4.49 (m, 2H, 2OH), 3.79 (br s, 1H, OH), 3.65- 3.38 (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>)

$\delta$  158.1, 152.7, 144.9, 138.3, 132.8, 85.1, 81.8, 76.6, 72.6, 70.9, 63.0.



**6-Μερκαπτο-9-(2',3',4'-τρις-*O*-ακετυλο-β-*D*-ξυλοπυρανοζυλο)πουρίνη (5γ)**

Το παράγωγο της 6-μερκαπτοπουρίνης **5γ** συντίθεται από το σάκχαρο **4γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **5α** από την ένωση **4α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9.8:0.2, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **5γ** (630 mg, 60%) ως κίτρινο έλαιο.  $R_f = 0.30$  (9.8 διχλωρομεθάνιο/0.2 μεθανόλη).

$$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ \quad (c=0.25, \text{χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS (m/z): 411.08 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{16}H_{18}N_4O_7S$ ) C, H, N, S

Υπολ. (%)      C : 46.83      H : 4.42      N : 13.65      S : 7.81

Ευρ. (%)      C : 46.77      H : 4.33      N : 13.48      S : 7.61

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

$\delta$  10.77 (br s, 1H, NH), 8.83 (s, 1H, H-2), 8.23 (s, 1H, H-8), 6.53 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 6.7$  Hz, H-1'), 5.29 (t, 1H,  $J_{2',3'} = 6.8$  Hz, H-2'), 5.21 (t, 1H,  $J_{3',4'} = 6.7$  Hz, H-3'), 4.98 (m, 1H, H-4'), 4.32 (dd, 1H,  $J_{4',5a'} = 4.1$  Hz,  $J_{5a',5b'} = 12.0$  Hz, H-5a'), 3.72 (dd, 1H,  $J_{4',5b'} = 6.7$  Hz, H-5b'), 2.11, 2.07, 2.06 (3s, 9H, 3OAc).

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

$\delta$  170.5, 170.4, 170.1, 157.3, 143.1, 131.3, 127.7, 122.0, 78.7, 75.8, 73.3, 68.6, 64.6, 20.5, 20.4, 20.1.

**6-Μερκαπτο-9-(β-*D*-ξυλοπυρανοζυλο)πουρίνη (6γ)**

Το παράγωγο της 6-μερκαπτοπουρίνης **6γ** συντίθεται από την ένωση **5γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **6α**. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **6γ** (177 mg, 78%) με κίτρινη αφρώδη υφή.  $R_f = 0.19$  (8 διχλωρομεθάνιο / 2 μεθανόλη).

$$[\alpha]_D^{22} = +8^\circ \quad (c=0.23, \text{μεθανόλη})$$

ESI-MS (m/z): 285.08 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S) C, H, N, S

Υπολ. (%)      C : 42.25    H : 4.25    N : 19.71    S : 11.28

Ευρ. (%)      C : 42.10    H : 4.13    N : 19.66    S : 11.38

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

δ 13.09 (br s, 1H, NH), 8.69 (s, 1H, H-2), 8.46 (s, 1H, H-8), 5.93 (d, 1H, *J*<sub>1',2'</sub> = 8.3 Hz, H-1'), 5.43-5.05 (m, 3H, 3OH), 3.83 (dd, 1H, *J*<sub>4',5a'</sub> = 4.6 Hz, *J*<sub>3',4'</sub> = 11.2 Hz, H-4'), 3.45-3.35 (m, 2H, H-2', H-3'), 3.23 (m, 2H, H-5a', H-5b').

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

δ 157.5, 152.6, 145.1, 138.5, 129.7, 83.4, 77.7, 72.7, 70.0, 69.5.

**6-Μερκαπτο-9-(2',3',4',6'-τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-*D*-μαννοπυρανοζυλο)πουρίνη (5δ)**

Το παράγωγο της 6-μερκαπτοπουρίνης **5δ** συντίθεται από το σάκχαρο **4δ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **5α** από την ένωση **4α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9.6:0.4, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **5δ** (679 mg, 55%) ως κίτρινο έλαιο. R<sub>f</sub> = 0.19 (9.5 διχλωρομεθάνιο/0.5 μεθανόλη).

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = +10°    (c=0.25, χλωροφόρμιο)

ESI-MS (m/z): 483.13 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>S) C, H, N, S

Υπολ. (%)      C : 47.30    H : 4.60    N : 11.61    S : 6.65

Ευρ. (%)      C : 47.58    H : 4.75    N : 11.96    S : 6.78

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

δ 8.79 (s, 1H, H-2), 8.23 (s, 1H, H-8), 6.92 (s, 1H, H-1'), 5.62 (m, 1H, H-2'), 5.48-5.31 (m, 2H, H-3', H-4'), 4.29-4.10 (m, 3H, H-5', H-6a', H-6b'), 2.23, 2.07, 2.02, 2.01 (4s, 12H, 4OAc).

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

δ 171.2, 171.1, 170.9, 169.9, 157.7, 142.7, 131.6, 126.8, 122.8, 79.2, 74.6, 72.4, 67.5, 66.9, 61.6, 20.9, 20.7, 20.6.

**6-Μερκαπτο-9-(β-D-μαννοπυρανοζυλο)πουρίνη (6δ)**

Το παράγωγο της 6-μερκαπτοπουρίνης **6δ** συντίθεται από την ένωση **5δ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **6α**. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **6δ** (189 mg, 75%) με κίτρινη αφρώδη υφή.  $R_f = 0.25$  (8 διχλωρομεθάνιο / 2 μεθανόλη).

$[\alpha]_D^{22} = -4^\circ$  (c=0.15, μεθανόλη)

ESI-MS (m/z): 315.08 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S) C, H, N, S

Υπολ. (%)      C : 42.03      H : 4.49      N : 17.82      S : 10.20

Ευρ. (%)      C : 42.31      H : 4.82      N : 17.93      S : 10.35

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

δ 11.40 (br s, 1H, NH), 8.72 (s, 1H, H-2), 8.45 (s, 1H, H-8), 6.78 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 1.7$  Hz, H-1'), 5.23, 4.83, 4.75, 3.94 (4 br s, 4H, 4OH), 3.65-3.48 (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>)

δ 157.8, 151.9, 145.7, 138.5, 133.4, 84.9, 80.0, 75.8, 72.5, 69.9, 63.6.

**6-Μερκαπτο-9-(2',3',4'-τρις-*O*-ακετυλο-β-*D*-λνξοπυρανοζυλο)πουρίνη (5ε)**

Το παράγωγο της 6-μερκαπτοπουρίνης **5ε** συντίθεται από το σάκχαρο **4ε** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **5α** από την ένωση **4α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9.8:0.2, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **5ε** (609 mg, 58%) ως κίτρινο έλαιο.  $R_f = 0.22$  (9.5 διχλωρομεθάνιο/0.5 μεθανόλη).

$$[\alpha]_D^{22} = +6^\circ \quad (c = 0.28, \text{χλωροφόρμιο})$$

**ESI-MS (m/z):** 411.11 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{16}H_{18}N_4O_7S$ ) C, H, N, S

Υπολ. (%)      C : 46.83      H : 4.42      N : 13.65      S : 7.81

Ευρ. (%)      C : 47.00      H : 4.72      N : 13.74      S : 7.71

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz,  $CDCl_3$ )

$\delta$  10.65 (br s, 1H, NH), 8.85 (s, 1H, H-2), 8.39 (s, 1H, H-8), 6.77 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 4.0$  Hz, H-1'), 5.58 (t, 1H,  $J_{2',3'} = 3.7$  Hz, H-2'), 5.39 (dd, 1H,  $J_{3',4'} = 8.5$  Hz, H-3'), 5.27 (m, 1H, H-4'), 4.11 (dd, 1H,  $J_{4',5a'} = 4.5$  Hz,  $J_{5a',5b'} = 12.0$  Hz, H-5a'), 3.94 (dd, 1H,  $J_{4a',5b'} = 8.1$  Hz, H-5b'), 2.16, 2.09, 2.08 (3s, 9H, 3OAc)

**<sup>13</sup>C-NMR** (75.5 MHz,  $CDCl_3$ )

$\delta$  170.2, 170.1, 170.0, 157.3, 142.8, 131.8, 127.3, 122.1, 78.1, 74.2, 73.6, 68.5, 65.0, 20.6, 20.5, 20.4.

**6-Μερκαπτο-9-(β-*D*-λνξοπυρανοζυλο)πουρίνη (6ε)**

Το παράγωγο της 6-μερκαπτοπουρίνης **6ε** συντίθεται από την ένωση **5ε** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **6α**. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **6ε** (146 mg, 64%) με κίτρινη αφρώδη υφή.  $R_f = 0.21$  (8 διχλωρομεθάνιο / 2 μεθανόλη).

$$[\alpha]_D^{22} = +4^\circ \quad (c = 0.23, \text{μεθανόλη})$$

**ESI-MS (m/z):** 285.05 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S) C, H, N, S

Υπολ. (%)      C : 42.25      H : 4.25      N : 19.71      S : 11.28

Ευρ. (%)      C : 42.42      H : 4.33      N : 19.80      S : 11.18

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

δ 12.90 (br s, 1H, NH), 8.70 (s, 1H, H-2), 8.42 (s, 1H, H-8), 6.50 (d, 1H, *J*<sub>1',2'</sub> = 5.0 Hz, H-1'), 5.11-4.73 (m, 3H, 3OH), 4.05-3.63 (m, 5H, H-2', H-3', H-4', H-5a', H-5b')

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

δ 158.0, 152.7, 145.7, 138.7, 129.1, 84.9, 78.4, 71.8, 69.7, 68.7.

**2-Αμινο-6-μερκαπτο-9-(2',3',4',6'-τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοκυρανοζύλο)πουρίνη (7a)**

Σε διάλυμα 2-αμινο-6-μερκαπτοπουρίνης (557 mg, 3.33 mmol) σε άνυδρο CH<sub>3</sub>CN (14 mL) προστίθεται HMDS (871 μl, 4.13 mmol), (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (149 mg, 1.13 mmol), TMSCl (1 mL, 8.23 mmol) και σακχαρίνη (27 mg, 0.15 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα με επαναροή για 5 ώρες υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η 1,2,3,4,6-πεντακίς-*O*-ακετυλο-*D*-γλυκοκυρανόζη (**4a**) (1 g, 2.56 mmol) και Me<sub>3</sub>SiOSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub> (647 μl, 3.58 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 3 επιπλέον ώρες με κάθετο ψυκτήρα με επαναροή στους 90 °C. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), το μίγμα ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου, εξουδετερώνεται με κορεσμένο διάλυμα NaHCO<sub>3</sub> και εκχυλίζεται με EtOAc. Η οργανική φάση ξηραίνεται με άνυδρο Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης τον οξικό αιθυλεστέρα, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **7a** (853 mg, 67%) ως κίτρινο έλαιο. R<sub>f</sub> = 0.28 (οξικός αιθυλεστέρας).

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = +2° (c=0.21, χλωροφόρμιο)

ESI-MS (m/z): 498.11 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub>S) C, H, N, S

Υπολ. (%) C : 45.87 H : 4.66 N : 14.08 S : 6.45

Ευρ. (%) C : 46.06 H : 4.81 N : 14.37 S : 6.40

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

δ 10.31 (br s, 1H, NH), 7.83 (s, 1H, H-8), 6.19 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 10.4$  Hz, H-1'), 5.41 (t, 1H,  $J_{2',3'} = 9.1$  Hz, H-3'), 5.30 (t, 1H, H-2'), 5.19 (t, 1H,  $J_{3',4'} = 9.9$  Hz, H-4'), 5.11 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 4.26 (dd, 1H,  $J_{5',6a'} = 4.8$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 12.5$  Hz, H-6a'), 4.16 (dd, 1H,  $J_{5',6b'} = 2.2$  Hz, H-6b'), 4.01 (m, 1H, H-5'), 2.06 (s, 3H, OAc), 2.03 (s, 6H, 2OAc), 2.00 (s, 3H, OAc).

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

δ 170.9, 170.2, 169.5, 169.4, 158.6, 157.7, 152.1, 139.1, 124.0, 79.5, 75.8, 74.1, 69.4, 68.5, 62.2, 20.8, 20.7, 20.6, 20.5.

### 2-Αμινο-6-μερκαπτο-9-(β-D-γλυκοκυρανοζυλο)πουρίνη (8a)

Διάλυμα της ένωσης **7a** (398 mg, 0.8 mmol) σε μεθανολική αμμωνία (κορεσμένη στους 0°C, 44.6 mL) αναδεύεται για 12 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **8a** (193 mg, 73%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.24$  (8 διχλωρομεθάνιο / 2 μεθανόλη).

$[\alpha]_D^{22} = +2^\circ$  (c= 0.10, μεθανόλη)

ESI-MS (m/z): 330.09 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S) C, H, N, S

Υπολ. (%) C : 40.12 H : 4.59 N : 21.27 S : 9.74

Ευρ. (%) C : 40.35 H : 4.77 N : 21.60 S : 9.88

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

δ 11.97 (br s, 1H, NH), 7.92 (s, 1H, H-8), 6.33 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.83 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.7$  Hz, H-1'), 5.42, (d, 1H,  $J = 5.4$  Hz, OH), 5.13, (d, 1H,  $J = 4.0$  Hz, OH), 5.00 (d, 1H,  $J$

= 4.6 Hz, OH), 4.40 (br s, 1H, OH), 3.61-3.19 (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>)

δ 159.4, 157.6, 152.1, 139.0, 123.9, 81.5, 80.8, 78.5, 72.2, 69.5, 60.6.

**2-Αμινο-6-μερκαπτο-9-(2',3',4',6'-τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-*D*-γαλακτοπυρανοζύλο)πουρίνη (7β)**

Το παράγωγο της 2-αμινο-6-μερκαπτοπουρίνης **7β** συντίθεται από το σάκχαρο **4β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **7α** από την ένωση **4α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9.6:0.4, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **7β** (828 mg, 65%) ως κίτρινο έλαιο. R<sub>f</sub> = 0.26 (9 διχλωρομεθάνιο/1 μεθανόλη).

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = +28° (c = 0.15, χλωροφόρμιο)

ESI-MS (m/z): 498.13 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub>S) C, H, N, S

Υπολ. (%)      C : 45.87    H : 4.66    N : 14.08    S : 6.45

Ευρ. (%)      C : 46.03    H : 4.86    N : 14.30    S : 6.58

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

δ 10.25 (br s, 1H, NH), 7.87 (s, 1H, H-8), 6.17 (d, 1H, *J*<sub>1',2'</sub> = 10.3 Hz, H-1'), 5.50-5.43 (m, 2H, H-2', H-4'), 5.23 (dd, 1H, *J*<sub>3',4'</sub> = 3.0 Hz, *J*<sub>2',3'</sub> = 10.3 Hz, H-3'), 5.10 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 4.23-4.10 (m, 3H, H-5', H-6a', H-6b'), 2.18 (s, 3H, OAc), 2.00 (s, 9H, 3OAc).

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

δ 170.6, 170.3, 169.7, 169.6, 159.3, 157.2, 152.8, 139.5, 123.7, 79.1, 77.0, 75.4, 68.7, 67.9, 61.8, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6.

**2-Αμινο-6-μερκαπτο-9-(β-D-γαλακτοπυρανοζυλο)πουρίνη (8β)**

Το παράγωγο της 2-αμινο-6-μερκαπτοπουρίνης **8β** συντίθεται από την ένωση **7β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **8α**. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **8β** (198 mg, 75%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.18$  (8 διχλωρομεθάνιο / 2 μεθανόλη).

$$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ \quad (c = 0.46, \text{μεθανόλη})$$

ESI-MS (m/z): 330.08 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{11}H_{15}N_5O_5S$ ) C, H, N, S

Υπολ. (%)      C : 40.12      H : 4.59      N : 21.27      S : 9.74

Ευρ. (%)      C : 40.37      H : 4.79      N : 21.57      S : 9.66

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $DMSO-d_6$ )

$\delta$  12.40 (br s, 1H, NH), 7.90 (s, 1H, H-8), 6.26 (s, 2H,  $NH_2$ ), 5.78 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.9$  Hz, H-1'), 5.20, 4.83 (2 br s, 2H, 2OH), 4.55-4.46 (m, 2H, 2OH), 3.78-3.37 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b').

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

$\delta$  159.3, 157.7, 152.1, 138.9, 123.9, 81.9, 79.1, 75.0, 69.1, 68.2, 60.1.

**2-Αμινο-6-μερκαπτο-9-(2',3',4'-τρις-O-ακετυλο-β-D-ξυλοπυρανοζυλο)πουρίνη (7γ)**

Το παράγωγο της 2-αμινο-6-μερκαπτοπουρίνης **7γ** συντίθεται από το σάκχαρο **4γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **7α** από την ένωση **4α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9.8:0.2, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **7γ** (686 mg, 63%) ως κίτρινο έλαιο.  $R_f = 0.28$  (9.8 διχλωρομεθάνιο/0.2 μεθανόλη).

$$[\alpha]_D^{22} = -10^\circ \quad (c=0.30, \text{χλωροφόρμιο})$$



ESI-MS (m/z): 426.11 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{16}H_{19}N_5O_7S$ ) C, H, N, S

Υπολ. (%)      C : 45.17      H : 4.50      N : 16.46      S : 7.54

Ευρ. (%)      C : 45.07      H : 4.39      N : 16.38      S : 7.44

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

$\delta$  10.35 (br s, 1H, NH), 7.88 (s, 1H, H-8), 6.47 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 6.1$  Hz, H-1'), 5.25 (t, 1H,  $J_{3',4'} = 6.3$  Hz, H-3'), 5.17 (t, 1H,  $J_{2',3'} = 6.2$  Hz, H-2'), 5.13 (br s, 2H,  $NH_2$ ), 4.94 (m, 1H, H-4'), 4.33 (dd, 1H,  $J_{4',5a'} = 3.5$  Hz,  $J_{5a',5b'} = 12.3$  Hz, H-5a'), 3.72 (dd, 1H,  $J_{4',5b'} = 6.1$  Hz, H-5b'), 2.13, 2.10, 2.09 (3s, 9H, 3OAc).

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

$\delta$  171.8, 171.3, 169.8, 159.7, 157.9, 153.0, 138.8, 123.4, 79.5, 76.3, 75.6, 67.7, 62.1, 20.7, 20.6, 20.5.

### 2-Αμινο-6-μερκαπτο-9-(β-D-ξυλοπυρανοζυλο)πουρίνη (8γ)

Το παράγωγο της 2-αμινο-6-μερκαπτοπουρίνης **8γ** συντίθεται από την ένωση **7γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **8α**. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **8γ** (182 mg, 76%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.32$  (9 διχλωρομεθάνιο / 1 μεθανόλη).

$[\alpha]_D^{22} = -4^\circ$  (c= 0.10, μεθανόλη)

ESI-MS (m/z): 300.07 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{10}H_{13}N_5O_4S$ ) C, H, N, S

Υπολ. (%)      C : 40.13      H : 4.38      N : 23.40      S : 10.71

Ευρ. (%)      C : 40.27      H : 4.53      N : 23.57      S : 10.91

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $DMSO-d_6$ )

$\delta$  12.30 (br s, 1H, NH), 7.91 (s, 1H, H-8), 6.30 (s, 2H,  $NH_2$ ), 5.89 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.2$  Hz, H-1'), 5.39, 5.16, 5.04 (3 br s, 3H, 3OH), 3.81 (dd, 1H,  $J_{4',5a'} = 4.2$  Hz,  $J_{5a',5b'} = 10.8$  Hz, H-5a'), 3.47-3.33 (m, 4H, H-2', H-3', H-4', H-5b').

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

δ 159.4, 157.4, 152.1, 138.9, 123.9, 81.9, 77.0, 71.9, 69.2, 68.5.

**2-Αμινο-6-μερκαπτο-9-(2',3',4',6'-τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-*D*-μαννοπυρανοζυλο)πουρίνη (7δ)**

Το παράγωγο της 2-αμινο-6-μερκαπτοπουρίνης **7δ** συντίθεται από το σάκχαρο **4δ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **7α** από την ένωση **4α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9.6:0.4, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **7δ** (777 mg, 61%) ως κίτρινο έλαιο. *R<sub>f</sub>* = 0.25 (9.5 διχλωρομεθάνιο/0.5 μεθανόλη).

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = +8° (c 0.20, χλωροφόρμιο)

ESI-MS (*m/z*): 498.12 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub>S) C, H, N, S

Υπολ. (%)      C : 45.87      H : 4.66      N : 14.08      S : 6.45

Ευρ. (%)      C : 45.73      H : 4.43      N : 13.83      S : 6.52

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

δ 10.19 (br s, 1H, NH), 7.80 (s, 1H, H-8), 6.68 (s, 1H, H-1'), 5.71 (s, 1H, H-2'), 5.42 (m, 2H, H-3', H-4'), 5.09 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 4.36 (dd, 1H, *J*<sub>5',6a'</sub> = 4.3 Hz, *J*<sub>6a',6b'</sub> = 12.7 Hz, H-6a'), 4.27-4.07 (m, 2H, H-5', H-6b'), 2.23, 2.07, 2.06, 2.02 (4s, 12H, 4OAc).

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

δ 170.6, 170.1, 170.0, 169.6, 158.9, 157.0, 151.9, 139.6, 124.0, 79.4, 72.5, 71.6, 69.7, 65.7, 62.1, 21.0, 20.7, 20.6, 20.5.

**2-Αμινο-6-μερκαπτο-9-(β-*D*-μαννοπυρανοζυλο)πουρίνη (8δ)**

Το παράγωγο της 2-αμινο-6-μερκαπτοπουρίνης **8δ** συντίθεται από την ένωση **7δ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση

του προϊόντος **8a**. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **8d** (184mg, 70%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.19$  (7 διχλωρομεθάνιο / 3 μεθανόλη).

$[\alpha]_D^{22} = +10^\circ$  (c= 0.50, μεθανόλη)

ESI-MS (m/z): 330.11 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{11}H_{15}N_5O_5S$ ) C, H, N, S

Υπολ. (%)      C : 40.12    H : 4.59    N : 21.27    S : 9.74

Ευρ. (%)      C : 40.27    H : 4.97    N : 21.44    S : 9.60

$^1H$ -NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )

$\delta$  12.50 (br s, 1H, NH), 7.91 (s, 1H, H-8), 6.70 (s, 1H, H-1'), 6.31 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.12 (br s, 1H, OH), 4.79 (br s, 2H, 2OH), 4.38 (br s, 1H, OH), 3.90 (m, 1H, H-2'), 3.65-3.47 (m, 5H, H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b').

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

$\delta$  159.9, 157.7, 152.9, 138.3, 123.8, 83.8, 79.5, 78.7, 72.8, 69.9, 62.7.

### **2-Αμινο-6-μερκαπτο-9-(2',3',4'-τρις-*O*-ακετυλο- $\beta$ -*D*-λυξοπυρανοζυλο)πουρίνη (7ε)**

Το παράγωγο της 2-αμινο-6-μερκαπτοπουρίνης **7ε** συντίθεται από το σάκχαρο **4ε** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **7a** από την ένωση **4a**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9.6:0.4, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **7ε** (675 mg, 62%) ως κίτρινο έλαιο.  $R_f = 0.35$  (9 διχλωρομεθάνιο/1 μεθανόλη).

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

ESI-MS (m/z): 426.09 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{16}H_{19}N_5O_7S$ ) C, H, N, S

Υπολ. (%) C : 45.17 H : 4.50 N : 16.46 S : 7.54

Ευρ. (%) C : 45.10 H : 4.42 N : 16.33 S : 7.47

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

δ 10.49 (br s, 1H, NH), 7.83 (s, 1H, H-8), 6.56 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 2.8$  Hz, H-1'), 5.68 (t, 1H,  $J_{2',3'} = 3.1$  Hz, H-2'), 5.42 (dd, 1H,  $J_{3',4'} = 9.2$  Hz, H-3'), 5.29 (m, 1H, H-4'), 5.12 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 4.09 (dd, 1H,  $J_{4',5a'} = 4.9$  Hz,  $J_{5a',5b'} = 11.7$  Hz, H-5a'), 3.84 (m, 1H, H-5b'), 2.18, 2.08, 2.06 (3s, 9H, 3OAc).

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

δ 171.7, 171.5, 169.9, 159.7, 157.6, 152.6, 137.8, 123.9, 79.4, 77.8, 76.6, 68.3, 63.9, 20.9, 20.8, 20.7.

**2-Αμινο-6-μερκαπτο-9-(β-D-λνξοπυρανοζυλο)πουρίνη (8ε)**

Το παράγωγο της 2-αμινο-6-μερκαπτοπουρίνης **8ε** συντίθεται από την ένωση **7ε** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **8α**. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **8ε** (163 mg, 68%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.19$  (8 διχλωρομεθάνιο / 2 μεθανόλη).

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c= 0.22, μεθανόλη)

ESI-MS (m/z): 300.09 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>S) C, H, N, S

Υπολ. (%) C : 40.13 H : 4.38 N : 23.40 S : 10.71

Ευρ. (%) C : 40.03 H : 4.27 N : 23.27 S : 10.85

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

δ 12.25 (br s, 1H, NH), 7.92 (s, 1H, H-8), 6.45 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 4.3$  Hz, H-1'), 6.31 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.16 (br s, 1H, OH), 4.88 (br s, 2H, 2OH), 3.89-3.40 (m, 5H, H-2', H-3', H-4', H-5a', H-5b').

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

$\delta$  159.6, 157.9, 152.5, 139.0, 123.6, 81.6, 78.8, 71.0, 69.4, 68.9.

**III.2.2 Σύνθεση των 7-  $\beta$ -D-πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της 6-μερκαπτοπουρίνης 11α-γ και της 6-θειογουανίνης 14α-γ και των 7-  $\alpha$ -D-πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της 6-μερκαπτοπουρίνης 11δ,ε και της 6-θειογουανίνης 14δ,ε**

**6-Χλωρο-7-(2',3',4',6'-τετρακίς-O-ακετυλο- $\beta$ -D-γλυκοπυρανοζυλο)πουρίνη (9α)**

Σε διάλυμα 6-χλωροπουρίνης (515 mg, 3.33 mmol) σε άνυδρο  $\text{CH}_3\text{CN}$  (14 mL) προστίθεται HMDS (871  $\mu\text{l}$ , 4.13 mmol), και σακχαρίνη (27.5 mg, 0.15 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα με επαναρροή για 1 ώρα υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η 1,2,3,4,6-πεντακίς-O-ακετυλο-D-γλυκοπυρανόζη (**4α**) (1 g, 2.56 mmol) και  $\text{Me}_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$  (647  $\mu\text{l}$ , 3.58 mmol) και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 2 επιπλέον ώρες με κάθετο ψυκτήρα με επαναρροή στους 60 °C. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), το μίγμα ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου, εξουδετερώνεται με κορεσμένο διάλυμα  $\text{NaHCO}_3$  και εκχυλίζεται με EtOAc. Η οργανική φάση ξηραίνεται με άνυδρο  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 6:4, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **9α** (745 mg, 60%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.35$  (7 οξικός αιθυλεστέρας / 3 *n*-εξάνιο).

$[\alpha]_D^{22} = -4^\circ$  ( $c=0.21$ , χλωροφόρμιο)

ESI-MS (m/z): 485.11 ( $\text{M}+\text{H}^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{ClN}_4\text{O}_9$ ) C, H, N, Cl

Υπολ. (%)      C : 47.07      H : 4.37      N : 11.56      Cl : 7.31

Ευρ. (%)      C : 47.27      H : 4.56      N : 11.83      Cl : 7.51

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

$\delta$  8.77 (s, 1H, H-2), 8.33 (s, 1H, H-8), 5.94 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.5$  Hz, H-1'), 5.67 (t, 1H,  $J_{2',3'} = 9.5$  Hz, H-2'), 5.48 (t, 1H,  $J_{3',4'} = 9.5$  Hz, H-3'), 5.31 (t, 1H,  $J_{4',5'} = 9.9$  Hz, H-

4'), 4.30 (dd, 1H,  $J_{5',6a'} = 4.8$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 12.6$  Hz, H-6a'), 4.14 (dd, 1H,  $J_{5',6b'} = 2.2$  Hz, H-6b'), 4.04 (m, 1H, H-5'), 2.07 (s, 3H, OAc), 2.06 (s, 3H, OAc), 2.03 (s, 6H, 2OAc).

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

$\delta$  170.4, 169.8, 169.3, 168.9, 162.0, 152.5, 148.6, 142.9, 131.5, 80.8, 75.2, 72.7, 70.1, 67.7, 61.4, 20.6, 20.5, 20.4, 20.1.

### 6-Μερκαπτο-7-( $\beta$ -D-γλυκοκυρανοζυλο)πουρίνη (11a)

Σ' ένα διάλυμα του προστατευμένου νουκλεοζίτη της 6-χλωροπουρίνης **9a** (485.1 mg, 1 mmol) σε 4 mL άνυδρης DMF προστίθεται KSAc (155 mg, 1.36 mmol), και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα στους 100 °C για 30 λεπτά. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), ο διαλύτης απομακρύνεται υπο κενό. Το υπόλειμμα διαλύεται σε οξικό αιθυλεστέρα και εκχυλίζεται με NaCl, η οργανική φάση ξηραίνεται με άνυδρο  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  και ο διαλύτης απομακρύνεται υπο κενό. Το προκύπτον έλαιο διαλύεται σε μεθανολική αμμωνία (κορεσμένη στους 0°C, 55.8 mL), και αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 12 ώρες. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), απομακρύνεται ο διαλύτης υπο κενό και το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **11a** (202 mg, 64%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.12$  (7 διχλωρομεθάνιο / 3 μεθανόλη).

$[\alpha]_D^{22} = -3^\circ$  (c=0.22, μεθανόλη)

ESI-MS (m/z): 315.08 ( $\text{M}+\text{H}^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$ ) C, H, N, S

Υπολ. (%)      C : 42.03      H : 4.49      N : 17.82      S : 10.20

Ευρ. (%)      C : 41.81      H : 4.36      N : 17.55      S : 10.38

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

$\delta$  13.60 (br s, 1H, NH), 8.86 (s, 1H, H-2), 8.69 (s, 1H, H-8), 5.53 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.3$  Hz, H-1'), 5.43, 5.35, 5.14, 4.53 (4br s, 4H, 4OH), 4.06 (t, 1H,  $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 9.0$  Hz, H-3'), 3.73 (m, 1H, H-2'), 3.46-3.38 (m, 4H, H-4', H-5', H-6a', H-6b').

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

δ 157.6, 151.5, 148.9, 143.9, 130.7, 83.3, 80.0, 76.9, 71.1, 69.6, 60.8.

**6-Χλωρο-7-(2',3',4',6'-τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-*D*-γαλακτοπυρανοζυλο)πουρίνη (9β)**

Το παράγωγο της 6-χλωροπουρίνης **9β** συντίθεται από το σάκχαρο **4β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **9α** από την ένωση **4α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 4:6, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **9β** (683 mg, 55%) με λευκή αφρώδη υφή. R<sub>f</sub> = 0.49 (4 οξικός αιθυλεστέρας / 6 *n*-εξάνιο).

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -2° (c=0.27, χλωροφόρμιο)

ESI-MS (m/z): 485.09 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>9</sub>) C, H, N, Cl

Υπολ. (%)      C : 47.07    H : 4.37    N : 11.56    Cl : 7.31

Ευρ. (%)      C : 47.30    H : 4.75    N : 11.78    Cl : 7.48

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

δ 8.78 (s, 1H, H-2), 8.38 (s, 1H, H-8), 5.93 (d, 1H, *J*<sub>1',2'</sub> = 9.4 Hz, H-1'), 5.74 (t, 1H, *J*<sub>2',3'</sub> = 9.9 Hz, H-2'), 5.59 (d, 1H, *J*<sub>4',5'</sub> = 2.6 Hz, H-4'), 5.32 (dd, 1H, *J*<sub>3',4'</sub> = 3.3 Hz, H-3'), 4.27 (m, 1H, H-5'), 4.21 (dd, 1H, *J*<sub>5',6a'</sub> = 6.1 Hz, *J*<sub>6a',6b'</sub> = 11.5 Hz, H-6a'), 4.15 (dd, 1H, *J*<sub>5',6b'</sub> = 6.8 Hz, H-6b'), 2.26, 2.03, 2.02, 1.76 (4s, 12H, 4OAc).

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

δ 171.4, 170.8, 170.3, 169.9, 162.9, 152.9, 149.3, 143.7, 132.7, 81.3, 76.9, 73.5, 71.5, 68.3, 62.9, 21.8, 21.6, 21.5, 20.2.

**6-Μερκαπτο-7-(β-*D*-γαλακτοπυρανοζυλο)πουρίνη (11β)**

Το παράγωγο της 6-μερκαπτοπουρίνης **11β** συντίθεται από τον προστατευμένο νουκλεοζίτη **9β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που

περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **11a** από την ένωση **9a**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9.5:0.5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **11b** (217 mg, 69%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.10$  (9 διχλωρομεθάνιο / 1 μεθανόλη).

$[\alpha]_D^{22} = -6^\circ$  (c=0.15, μεθανόλη)

ESI-MS (m/z): 315.09 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{11}H_{14}N_4O_5S$ ) C, H, N, S

Υπολ. (%)      C : 42.03    H : 4.49    N : 17.82    S : 10.20

Ευρ. (%)      C : 41.79    H : 4.40    N : 17.60    S : 10.36

$^1H$ -NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )

$\delta$  13.67 (br s, 1H, NH), 8.40 (s, 1H, H-2), 8.20 (s, 1H, H-8), 5.36 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.2$  Hz, H-1'), 5.23, 4.96, 4.63, 4.54 (4 br s, 4H, 4OH), 4.15 (t, 1H,  $J_{2',3'} = 8.4$  Hz, H-2'), 3.79-3.53 (m, 5H, H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b').

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

$\delta$  157.9, 152.5, 149.2, 144.1, 131.8, 84.1, 79.9, 75.7, 72.3, 70.5, 61.3.

#### **6-Χλωρο-7-(2',3',4'-τρις-Ο-ακετυλο-β-D-ξυλοπυρανοζυλο)πουρίνη (9γ)**

Το παράγωγο της 6-χλωροπουρίνης **9γ** συντίθεται από το σάκχαρο **4γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **9a** από την ένωση **4a**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **9γ** (687 mg, 65%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.38$  (6 οξικός αιθυλεστέρας / 4 *n*-εξάνιο).

$[\alpha]_D^{22} = +2^\circ$  (c=0.23, χλωροφόρμιο)

ESI-MS (m/z): 413.10 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{16}H_{17}ClN_4O_7$ ) C, H, N, Cl



Υπολ. (%) C : 46.56 H : 4.15 N : 13.57 Cl : 8.59

Ευρ. (%) C : 46.26 H : 4.11 N : 13.37 Cl : 8.72

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

δ 8.93 (s, 1H, H-2), 8.49 (s, 1H, H-8), 6.13 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.1$  Hz, H-1'), 5.58 (t, 1H,  $J_{2',3'} = 9.1$  Hz, H-2'), 5.49 (t, 1H,  $J_{3',4'} = 9.3$  Hz, H-3'), 5.21 (m, 1H, H-4'), 4.36 (dd, 1H,  $J_{4',5a'} = 5.6$  Hz,  $J_{5a',5b'} = 11.4$  Hz, H-5a'), 3.67 (t, 1H,  $J_{4',5b'} = 11.0$  Hz, H-5b'), 2.09, 2.08, 1.85 (3s, 9H, 3OAc).

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

δ 169.9, 168.8, 168.6, 162.6, 152.3, 146.1, 142.2, 123.0, 81.4, 69.7, 69.1, 68.2, 67.0, 20.8, 20.7, 20.6.

**6-Μερκαπτο-7-(β-D-ξυλοπυρανοζυλο)πουρίνη (11γ)**

Το παράγωγο της 6-μερκαπτοπουρίνης **11γ** συντίθεται από τον προστατευμένο νουκλεοζίτη **9γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **11α** από την ένωση **9α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **11γ** (222 mg, 78%) με λευκή αφρώδη υφή. R<sub>f</sub> = 0.23 (8 διχλωρομεθάνιο / 2 μεθανόλη).

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

ESI-MS (m/z): 285.05 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S) C, H, N, S

Υπολ. (%) C : 42.25 H : 4.25 N : 19.71 S : 11.28

Ευρ. (%) C : 42.35 H : 4.38 N : 19.88 S : 11.10

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

δ 13.67 (br s, 1H, NH), 8.77 (s, 1H, H-2), 8.20 (s, 1H, H-8), 6.80 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.8$  Hz, H-1'), 5.42 (d, 1H,  $J = 5.1$  Hz, OH), 5.32 (br s, 1H, OH), 5.08 (d, 1H,  $J = 4.4$  Hz, OH), 3.95-3.80 (m, 2H, H-4', H-5a'), 3.51-3.35 (m, 3H, H-2', H-3', H-5b').

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

δ 157.5, 152.2, 144.3, 143.8, 124.5, 82.4, 72.7, 70.9, 68.8, 67.9.

**6-Χλωρο-7-(2',3',4',6'-τετρακίς-*O*-ακετυλο- $\alpha$ -*D*-μαννοπυρανοζυλο)πουρίνη (9δ)**

Το παράγωγο της 6-χλωροπουρίνης **9δ** συντίθεται από το σάκχαρο **4δ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **9α** από την ένωση **4α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 4:6, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **9δ** (794 mg, 64%) με λευκή αφρώδη υφή. *R*<sub>f</sub> = 0.28 (5 οξικός αιθυλεστέρας / 5 *n*-εξάνιο).

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = +10° (c=0.32, χλωροφόρμιο)

ESI-MS (m/z): 485.10 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>9</sub>) C, H, N, Cl

Υπολ. (%)      C : 47.07    H : 4.37    N : 11.56    Cl : 7.31

Ευρ. (%)      C : 46.92    H : 4.09    N : 11.25    Cl : 7.22

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

δ 8.80 (s, 1H, H-2), 8.31 (s, 1H, H-8), 6.31 (dd, 1H, *J*<sub>2',3'</sub> = 3.2 Hz, *J*<sub>1',2'</sub> = 7.7 Hz, H-2'), 6.22 (d, 1H, H-1'), 5.61 (dd, 1H, *J*<sub>3',4'</sub> = 4.6 Hz, H-3'), 5.11 (t, 1H, *J*<sub>4',5'</sub> = 4.6 Hz, H-4'), 4.82 (dd, 1H, *J*<sub>5',6a'</sub> = 3.9 Hz, *J*<sub>6a',6b'</sub> = 12.3 Hz, H-6a'), 4.34 (m, 1H, H-5'), 4.12 (dd, 1H, *J*<sub>5',6b'</sub> = 3.5 Hz, H-6b'), 2.21, 2.20, 2.06, 1.92 (4s, 12H, 4OAc).

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

δ 170.8, 169.2, 169.1, 169.0, 152.8, 152.2, 148.6, 143.1, 132.8, 81.3, 76.8, 73.4, 71.7, 68.6, 62.8, 21.4, 21.3, 21.2, 20.2.

**6-Μερκαπτο-7-( $\alpha$ -*D*-μαννοπυρανοζυλο)πουρίνη (11δ)**

Το παράγωγο της 6-μερκαπτοπουρίνης **11δ** συντίθεται από τον προστατευμένο νουκλεοζίτη **9δ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **11α** από την ένωση **9α**. Το προκύπτον

έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **11δ** (229 mg, 73%) με λευκή αφρώδη υφή. Rf = 0.29 (8 διχλωρομεθάνιο / 2 μεθανόλη).

$[\alpha]_D^{22} = +4^\circ$  (c=0.18, μεθανόλη)

ESI-MS (m/z): 315.06 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S) C, H, N, S

Υπολ. (%)      C : 42.03      H : 4.49      N : 17.82      S : 10.20

Ευρ. (%)      C : 42.36      H : 4.74      N : 18.11      S : 10.44

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

δ 8.85 (s, 1H, H-2), 8.64 (s, 1H, H-8), 5.96 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.1$  Hz, H-1'), 5.43 (br s, 1H, OH), 5.17-5.11 (m, 3H, 3OH), 4.69-4.57 (m, 2H, H-2', H-3'), 3.88-3.63 (m, 4H, H-4', H-5', H-6a', H-6b').

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

δ 157.5, 151.4, 148.3, 143.8, 132.9, 84.1, 79.9, 76.4, 70.7, 69.9, 63.0.

#### **6-Χλωρο-7-(2',3',4'-τρις-Ο-ακετυλο-α-D-λυξοπυρανοζυλο)πουριίνη (9ε)**

Το παράγωγο της 6-χλωροπουρίνης **9ε** συντίθεται από το σάκχαρο **4ε** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **9α** από την ένωση **4α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 4:6, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **9ε** (687 mg, 65%) με λευκή αφρώδη υφή. Rf = 0.15 (4 οξικός αιθυλεστέρας / 6 *n*-εξάνιο).

$[\alpha]_D^{22} = -6^\circ$  (c=0.25, χλωροφόρμιο)

ESI-MS (m/z): 413.09 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N, Cl

Υπολ. (%)      C : 46.56      H : 4.15      N : 13.57      Cl : 8.59

Ευρ. (%) C : 46.80 H : 4.33 N : 13.82 Cl : 8.81

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

δ 8.92 (s, 1H, H-2), 8.48 (s, 1H, H-8), 6.43 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.9$  Hz, H-1'), 5.60-5.57 (m, 2H, H-2', H-3'), 4.99 (m, 1H, H-4'), 4.27, 4.16 (q, AB-system, 2H,  $J = 14.1$  Hz, H-5a', H-5b'), 2.23 (s, 6H, 2OAc), 1.82 (s, 3H, OAc).

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

δ 169.4, 168.8, 168.7, 162.2, 152.9, 146.3, 142.8, 122.3, 80.5, 68.5, 68.1, 67.6, 66.6, 20.9, 20.6, 20.2.

### 6-Μερκαπτο-7-(α-D-λυξοπυρανοζυλο)πουρίνη (11ε)

Το παράγωγο της 6-μερκαπτοπουρίνης **11ε** συντίθεται από τον προστατευμένο νουκλεοζίτη **9ε** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **11α** από την ένωση **9α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **11ε** (229 mg, 64%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.24$  (8 διχλωρομεθάνιο / 2 μεθανόλη).

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c=0.20, μεθανόλη)

ESI-MS (m/z): 285.07 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S) C, H, N, S

Υπολ. (%) C : 42.25 H : 4.25 N : 19.71 S : 11.28

Ευρ. (%) C : 42.37 H : 4.15 N : 19.87 S : 11.35

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

δ 13.64 (br s, 1H, NH), 8.70 (s, 1H, H-2), 8.18 (s, 1H, H-8), 7.04 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.8$  Hz, H-1'), 5.20 (br s, 1H, OH), 5.07 (d, 1H,  $J = 4.0$  Hz, OH), 4.95 (d, 1H,  $J = 7.1$  Hz, OH), 4.34 (dd, 1H,  $J_{2',3'} = 2.7$  Hz, H-2'), 4.03-3.94 (m, 2H, H-3', H-4'), 3.63-3.59 (m, 2H, H-5a', H-5b').

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

$\delta$  158.0, 151.2, 146.0, 144.4, 125.8, 81.2, 71.5, 69.7, 67.4, 66.7.

**2-Αμινο-6-χλωρο-7-(2',3',4',6'-τετρακίς-*O*-ακετυλο- $\beta$ -*D*-γλυκοκυρανοζυλο)πουρίνη (12a)**

Σε διάλυμα 2-αμινο-6-χλωροπουρίνης (565 mg, 3.33 mmol) σε άνυδρο  $\text{CH}_3\text{CN}$  (14 mL) προστίθεται HMDS (871  $\mu\text{L}$ , 4.13 mmol) και σακχαρίνη (27.5 mg, 0.15 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα με επαναρροή για 1 ώρα υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η 1,2,3,4,6-πεντακίς-*O*-ακετυλο-*D*-γλυκοκυρανόζη (**4a**) (1 g, 2.56 mmol) και  $\text{Me}_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$  (647  $\mu\text{L}$ , 3.58 mmol) και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 2 επιπλέον ώρες με κάθετο ψυκτήρα με επαναρροή στους 60 °C. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), το μίγμα ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου, εξουδετερώνεται με κορεσμένο διάλυμα  $\text{NaHCO}_3$  και εκχυλίζεται με  $\text{EtOAc}$ . Η οργανική φάση ξηραίνεται με άνυδρο  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **12a** (819 mg, 64%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.25$  (οξικός αιθυλεστέρας).

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  ( $c=0.40$ , χλωροφόρμιο).

ESI-MS ( $m/z$ ): 500.13 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{ClN}_5\text{O}_9$ ) C, H, N, Cl

Υπολ. (%)      C : 45.65      H : 4.44      N : 14.01      Cl : 7.09

Ευρ. (%)      C : 45.38      H : 4.29      N : 13.90      Cl : 7.29

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

$\delta$  8.24 (s, 1H, H-8), 6.11 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.0$  Hz, H-1'), 5.67 (t, 1H,  $J_{2',3'} = 9.2$  Hz, H-2'), 5.60 (br s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 5.50 (t, 1H,  $J_{3',4'} = 9.4$  Hz, H-3'), 5.27 (t, 1H,  $J_{4',5'} = 9.8$  Hz, H-4'), 4.30-4.21 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 4.04 (m, 1H, H-5'), 2.08, 2.07, 2.06, 1.91 (4s, 12H, 4OAc).

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

$\delta$  171.2, 170.6, 169.9, 169.3, 164.5, 158.2, 145.4, 143.6, 115.0, 74.9, 72.9, 69.9, 67.6, 61.4, 60.4, 20.7, 20.6, 20.5, 20.3.

**2-Αμινο-6-μερκαπτο-7-( $\beta$ -D-γλυκοπυρανοζυλο)πουρίνη (14a)**

Σ' ένα διάλυμα του προστατευμένου νουκλεοζίτη της 2-αμινο-6-χλωροπουρίνης **12a** (500.1 mg, 1 mmol) σε 4 mL άνυδρης DMF προστίθεται KSAc (155 mg, 1.36 mmol), και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα στους 100 °C για 30 λεπτά. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), ο διαλύτης απομακρύνεται υπο κενό. Το υπόλειμμα διαλύεται σε οξικό αιθυλεστέρα και εκχυλίζεται με NaCl, η οργανική φάση ξηραίνεται με άνυδρο  $\text{NaSO}_4$  και ο διαλύτης απομακρύνεται υπο κενό. Το προκύπτον έλαιο διαλύεται σε μεθανολική αμμωνία (κορεσμένη στους 0°C, 55.8 mL), αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 12 ώρες. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), απομακρύνεται ο διαλύτης υπο κενό και το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **14a** (241 mg, 73%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.24$  (8 διχλωρομεθάνιο / 2 μεθανόλη).

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c=0.10, μεθανόλη)

ESI-MS (m/z): 330.10 ( $\text{M}+\text{H}^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$ ) C, H, N, S

Υπολ. (%)      C : 40.12    H : 4.59    N : 21.27    S : 9.74

Ευρ. (%)      C : 40.42    H : 4.68    N : 21.45    S : 9.67

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

$\delta$  11.93 (br s, 1H, NH), 8.40 (s, 1H, H-8), 6.65 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.3$  Hz, H-1'), 6.48 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 5.27 (d, 1H,  $J = 5.4$  Hz, OH), 5.15 (d, 1H,  $J = 2.4$  Hz, OH), 4.94 (d, 1H,  $J = 4.8$  Hz, OH), 4.36 (t, 1H,  $J = 5.9$  Hz, OH), 3.83-3.40 (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>)

δ 156.7, 152.9, 145.4, 136.6, 119.1, 82.8, 80.0, 77.5, 71.1, 69.4, 60.4.

**2-Αμινο-6-χλωρο-7-(2',3',4',6'-τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-*D*-γαλακτοπυρανοζυλο)πουρίνη (12β)**

Το παράγωγο της 2-αμινο-6-χλωροπουρίνης **12β** συντίθεται από το σάκχαρο **4β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **12α** από την ένωση **4α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 8:2, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **12β** (870 mg, 68%) με λευκή αφρώδη υφή. *R*<sub>f</sub> = 0.13 (9 οξικός αιθυλεστέρας / 1 *n*-εξάνιο).

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -6° (c=0.30, χλωροφόρμιο)

ESI-MS (m/z): 500.10 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>9</sub>) C, H, N, Cl

Υπολ. (%)      C : 45.65      H : 4.44      N : 14.01      Cl : 7.09

Ευρ. (%)      C : 45.50      H : 4.53      N : 14.33      Cl : 7.15

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

δ 8.31 (s, 1H, H-8), 6.00 (d, 1H, *J*<sub>1',2'</sub> = 9.3 Hz, H-1'), 5.79 (t, 1H, *J*<sub>2',3'</sub> = 9.7 Hz, H-2'), 5.56 (d, 1H, *J*<sub>3',4'</sub> = 3.0 Hz, H-4'), 5.30 (dd, 1H, H-3'), 4.28-4.11 (m, 3H, H-5', H-6a', H-6b'), 2.22, 2.04, 2.02, 1.90 (4s, 12H, 4OAc).

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

δ 170.2, 169.8, 169.7, 169.1, 164.2, 159.2, 146.7, 144.0, 115.4, 79.2, 74.1, 71.3, 67.8, 67.1, 61.3, 20.6, 20.4, 20.3, 20.2.

**2-Αμινο-6-μερκαπτο-7-(β-*D*-γαλακτοπυρανοζυλο)πουρίνη (14β)**

Το παράγωγο της 2-αμινο-6-μερκαπτοπουρίνης **14β** συντίθεται από τον προστατευμένο νουκλεοζίτη **12β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **14α** από την ένωση **12α**. Το προκύπτον

έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **14β** (247 mg, 75%) με λευκή αφρώδη υφή. R<sub>f</sub> = 0.18 (8 διχλωρομεθάνιο / 2 μεθανόλη).

$[\alpha]_D^{22} = +2^\circ$  (c=0.33, μεθανόλη)

**ESI-MS (m/z):** 330.09 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S) C, H, N, S

Υπολ. (%)      C : 40.12    H : 4.59    N : 21.27    S : 9.74

Ευρ. (%)      C : 40.29    H : 4.69    N : 21.47    S : 9.78

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

δ 11.94 (br s, 1H, NH), 8.33 (s, 1H, H-8), 6.66-6.45 (m, 3H, H-1', NH<sub>2</sub>), 5.17, 4.87, 4.51, 4.44 (4br s, 4H, 4OH), 4.09-3.48 (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>)

δ 159.0, 152.3, 145.2, 136.7, 119.5, 82.8, 78.6, 74.0, 69.0, 68.1, 60.0.

## 2-Αμινο-6-χλωρο-7-(2',3',4'-τρις-*O*-ακετυλο-β-*D*-ξυλοπυρανοζυλο)πουρίνη (12γ)

Το παράγωγο της 2-αμινο-6-χλωροπουρίνης **12γ** συντίθεται από το σάκχαρο **4γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **12α** από την ένωση **4α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 6:4, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **12γ** (778 mg, 71%) με λευκή αφρώδη υφή. R<sub>f</sub> = 0.33 (7 οξικός αιθυλεστέρας / 3 *n*-εξάνιο).

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c=0.20, χλωροφόρμιο)

**ESI-MS (m/z):** 428.10 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N, Cl

Υπολ. (%)      C : 44.92    H : 4.24    N : 16.37    Cl : 8.29



Ευρ. (%) C : 45.07 H : 4.33 N : 16.44 Cl : 8.38

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

δ 7.90 (s, 1H, H-8), 5.61 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.57 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 5.42 (t, 1H,  $J_{2',3'} = 9.0$  Hz, H-2'), 5.24-5.15 (m, 2H, H-3', H-4'), 4.30 (dd, 1H,  $J_{4',5a'} = 5.6$  Hz,  $J_{5a',5b'} = 11.5$  Hz, H-5a'), 3.56 (m, 1H, H-5b'), 2.08, 2.06, 1.82 (3s, 9H, 3OAc).

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

δ 170.7, 169.2, 169.1, 164.7, 159.6, 145.7, 143.7, 115.7, 79.2, 76.6, 75.3, 68.8, 65.1, 20.6, 20.4, 20.2.

**2-Αμινο-6-μερκαπτο-7-(β-D-ξυλοπυρανοζυλο)πουρίνη (14γ)**

Το παράγωγο της 2-αμινο-6-μερκαπτοπουρίνης **14γ** συντίθεται από τον προστατευμένο νουκλεοζίτη **12γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **14α** από την ένωση **12α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **14γ** (227 mg, 76%) με λευκή αφρώδη υφή. R<sub>f</sub> = 0.22 (9 διχλωρομεθάνιο / 1 μεθανόλη).

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c=0.15, μεθανόλη)

ESI-MS (m/z): 300.08 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>S) C, H, N, S

Υπολ. (%) C : 40.13 H : 4.38 N : 23.40 S : 10.71

Ευρ. (%) C : 40.27 H : 4.53 N : 23.57 S : 10.61

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

δ 11.68 (br s, 1H, NH), 8.00 (s, 1H, H-8), 6.78 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.32-5.08 (m, 4H, 3OH, H-1'), 3.88-3.81 (m, 3H, H-2', H-3', H-4'), 3.53-3.45 (m, 2H, H-5a', H-5b').

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

δ 159.6, 152.9, 147.9, 138.5, 118.0, 83.1, 77.2, 70.8, 68.9, 68.3.

**2-Αμινο-6-χλωρο-7-(2',3',4',6'-τετρακίς-*O*-ακετυλο- $\alpha$ -*D*-μαννοπυρανοζυλο)πουρίνη (12δ)**

Το παράγωγο της 2-αμινο-6-χλωροπουρίνης **12δ** συντίθεται από το σάκχαρο **4δ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **12α** από την ένωση **4α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 7:3, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **12δ** (883 mg, 69%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.26$  (8 οξικός αιθυλεστέρας / 2 *n*-εξάνιο).

$$[\alpha]_D^{22} = +8^\circ \quad (c\ 0.39, \text{χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS (m/z): 500. 90 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>9</sub>) C, H, N, Cl

Υπολ. (%)      C : 45.65      H : 4.44      N : 14.01      Cl : 7.09

Ευρ. (%)      C : 45.42      H : 4.33      N : 13.83      Cl : 7.35

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

$\delta$  8.57 (s, 1H, H-8), 6.42 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 7.8$  Hz, H-1'), 5.77 (dd, 1H,  $J_{2',3'} = 3.2$  Hz, H-2'), 5.49 (t, 1H,  $J_{3',4'} = 4.0$  Hz,  $J_{4',5'} = 3.6$  Hz, H-4'), 5.11 (t, 1H, H-3'), 4.95 (m, 1H, H-6a'), 4.25 (m, 1H, H-5'), 4.05 (dd, 1H,  $J_{5',6b'} = 3.8$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 12.8$  Hz, H-6b'), 2.22, 2.19, 2.06, 1.97 (4s, 12H, 4OAc).

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

$\delta$  170.6, 169.3, 168.2, 168.10, 164.2, 159.4, 146.6, 144.0, 115.9, 77.9, 75.1, 68.4, 67.2, 67.1, 60.1, 20.8, 20.7, 20.6, 20.4.

**2-Αμινο-6-μερκαπτο-7-( $\alpha$ -*D*-μαννοπυρανοζυλο)πουρίνη (14δ)**

Το παράγωγο της 2-αμινο-6-μερκαπτοπουρίνης **14δ** συντίθεται από τον προστατευμένο νουκλεοζίτη **12δ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **14α** από την ένωση **12α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2, οπότε

παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **14δ** (224 mg, 68%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.22$  (7 διχλωρομεθάνιο / 3 μεθανόλη).

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c=0.10, μεθανόλη)

ESI-MS (m/z): 330.08 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{11}H_{15}N_5O_5S$ ) C, H, N, S

Υπολ. (%)      C : 40.12    H : 4.59    N : 21.27    S : 9.74

Ευρ. (%)      C : 39.99    H : 4.26    N : 20.98    S : 9.90

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

$\delta$  8.50 (s, 1H, H-8), 7.37 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.2$  Hz, H-1'), 4.40-4.35 (m, 2H, H-2', H-3'), 4.08 (m, 1H, H-4'), 3.97 (m, 1H, H-5'), 3.68 (m, 2H, H-6a', H-6b').

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

$\delta$  159.6, 152.4, 145.9, 137.3, 119.3, 82.2, 78.9, 77.8, 70.9, 69.8, 60.8.

### **2-Αμινο-6-χλωρο-7-(2',3',4'-τρις-*O*-ακετυλο- $\alpha$ -D-λυξοπυρανοζύλο)πουρίνη (12ε)**

Το παράγωγο της 2-αμινο-6-χλωροπουρίνης **12ε** συντίθεται από το σάκχαρο **4ε** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **12α** από την ένωση **4α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξανίο 6:4, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **12ε** (799 mg, 73%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.40$  (8 οξικός αιθυλεστέρας / 2 *n*-εξανίο).

$[\alpha]_D^{22} = -36^\circ$  (c=0.50, χλωροφόρμιο)

ESI-MS (m/z): 428.11 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{16}H_{18}ClN_5O_7$ ) C, H, N, Cl

Υπολ. (%)      C : 44.92    H : 4.24    N : 16.37    Cl : 8.29

Ευρ. (%)      C : 45.11    H : 4.40    N : 16.57    Cl : 8.49

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

δ 8.61 (s, 1H, H-8), 6.09 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 7.8$  Hz, H-1'), 5.61 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.40 (m, 1H, H-3'), 4.95 (m, 1H, H-4'), 4.19-4.13 (m, 3H, H-2', H-5a', H-5b'), 2.22 (s, 3H, OAc) 2.20 (s, 6H, 2OAc).

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

δ 170.4, 169.6, 169.4, 164.7, 159.8, 148.9, 145.9, 115.8, 80.5, 75.9, 71.3, 68.4, 65.6, 20.8, 20.5, 20.4.

**2-Αμινο-6-μερκαπτο-7-(α-D-λυσοπυρανοζυλο)πουρίνη (14ε)**

Το παράγωγο της 2-αμινο-6-μερκαπτοπουρίνης **14ε** συντίθεται από τον προστατευμένο νουκλεοζίτη **12ε** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **14α** από την ένωση **12α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **14ε** (224 mg, 75%) με λευκή αφρώδη υφή. R<sub>f</sub> = 0.16 (8 διχλωρομεθάνιο / 2 μεθανόλη).

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c=0.15, μεθανόλη)

ESI-MS (m/z): 300.06 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>S) C, H, N, S

Υπολ. (%)      C : 40.13      H : 4.38      N : 23.40      S : 10.71

Ευρ. (%)      C : 40.03      H : 4.27      N : 23.27      S : 10.57

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

δ 11.97 (br s, 1H, NH), 8.39 (s, 1H, H-8), 6.84 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 6.52 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.18, 5.06, 4.93 (3br s, 3H, 3OH), 4.26 (m, 1H, H-2'), 4.03-3.90 (m, 2H, H-3', H-4'), 3.60-3.54 (m, 2H, H-5a', H-5b').

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

δ 159.2, 152.7, 147.9, 138.4, 118.0, 80.0, 77.2, 70.7, 68.7, 68.1.

### III.3 Σύνθεση των C5-αλκύνυλο πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης και της κυτοσίνης

#### III.3.1 Σύνθεση των C5-αλκύνυλο πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης 15a-23a

##### 1-(2',3',4',6'-Τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-5-ιωδοουρακίλη (2a)

Η εμπορικά διαθέσιμη 1,2,3,4,6-πεντακίς-*O*-ακετυλο-*D*-γλυκοπυρανόζη (1) (1g, 2.6 mmol), με την πυριμιδική βάση 5-ιωδοουρακίλη (857 mg, 3.6 mmol), διαλύονται σε άνυδρο ακετονιτρίλιο (CH<sub>3</sub>CN) (12.8 mL), παρουσία του εξαμεθυλοδισιλαζανίου (HMDS) (949 μl, 4.5 mmol), καθώς και καταλυτικής ποσότητας σακχαρίνης (27 mg, 0.2 mmol) και με την προσθήκη του τριφθορομεθανοσουλφονικού τριμεθυλοσιλυλεστέρα (Me<sub>3</sub>SiOSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>) (984 μl, 3.6 mmol) ακτινοβολούνται με μικροκύματα σε 120 Watt για 3 λεπτά. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), το μίγμα ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου, εξουδετερώνεται με κορεσμένο διάλυμα NaHCO<sub>3</sub> και εκχυλίζεται με CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Η οργανική φάση ξηραίνεται με άνυδρο Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξανίο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **2a** (1.21g, 83%). R<sub>f</sub> = 0.18 (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξανίο 5:5).

$$[\alpha]_D^{22} = -3.0^\circ \quad (c=0.11, \text{χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 270 \text{ nm } (\epsilon = 6532)$$

$$\text{ESI-MS (m/z): } 569.3 \text{ (M+H}^+\text{)}$$

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>IN<sub>2</sub>O<sub>11</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 38.04            H : 3.72            N : 4.93

Ευρ. (%)            C : 37.95            H : 3.88            N : 5.10

<sup>1</sup>H- NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.30 (br s, 1H, NH), 7.62 (s, 1H, H-6), 5.89 (d, 1H, *J*<sub>1',2'</sub> = 9.5 Hz, H-1'), 5.35 (t, 1H, *J*<sub>2',3'</sub> = *J*<sub>3',4'</sub> = 9.4 Hz, H-3'), 5.16–5.11 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.32–4.09 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 3.90 (m, 1H, H-5'), 2.10, 2.07, 2.03, 2.02 (4s, 12H, 4OAc).

**1-(β-D-Γλυκοπυρανοζυλο)- 5-ιωδοουρακίλη (3a)**

Διάλυμα της ένωσης **2a** (569.3 mg, 1 mmol) σε μεθανολική αμμωνία (κορεσμένη στους 0°C, 56.0 mL) αναδεύεται για 12 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **3a** (349 mg, 87%) ως λευκό στερεό.  $R_f = 0.35$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1).

$[\alpha]_D^{22} = +2.0^\circ$  (c=0.50, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  269 nm ( $\epsilon = 5044$ )

ESI-MS (m/z): 401.2 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{10}H_{13}IN_2O_7$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 30.02      H : 3.27      N : 7.00

Ευρ. (%)      C : 29.93      H : 3.43      N : 6.88

$^1H$ - NMR (400 MHz,  $CD_3OD$ )

$\delta$  8.12 (s, 1H, H-6), 5.50 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 7.9$  Hz, H-1'), 3.87-3.70 (m, 2H, H-2', H-4'), 3.54-3.45 (m, 4H, H-3', H-5', H-6a', H-6b').

$^{13}C$ - NMR (100 MHz,  $CD_3OD$ )

$\delta$  160.34, 150.35, 145.20, 83.44, 80.11, 77.54, 72.33, 69.90, 68.59, 61.55.

### **III.3.2 Γενική μέθοδος σύνθεσης τελικών αλκυνίων της ουρακίλης 15a-23a (Sonogashira reaction)**

#### **1-(β-D- Γλυκοπυρανοζυλο)-5-(πεντυνυλο)ουρακίλη (15a)**

Η σύνθεση του **15a** επιτεύχθηκε με τη μέθοδο των μικροκυμάτων ως εξής: σε γυάλινο φιαλίδιο των 10 ml διαλύονται (642 mg, 1.6 mmol) της 1-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-ιωδοουρακίλης (**3a**) σε 3 ml άνυδρο *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF), προσθέτοντας 4.8 mmol του κατάλληλου αλκυνίου, (185 mg, 0.16 mmol)  $Pd(PPh_3)_4$ , (30 mg, 0.16 mmol)  $CuI$ , και (444  $\mu$ l, 3.2 mmol)  $Et_3N$  και στη συνέχεια ακτινοβολούνται με μικροκύματα σε 120 Watt, για 3 λεπτά. 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 οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9.5:0.5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **15a** (399 mg, 73%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.21$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9.5:0.5).

$$[\alpha]_D^{22} = -2.0^\circ \quad (c=0.17, \text{μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 290 \text{ nm } (\epsilon = 4087)$$

ESI-MS (m/z): 341.28 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{15}H_{20}N_2O_7$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 52.94      H : 5.92      N : 8.23

Ευρ. (%)      C : 52.67      H : 6.23      N : 8.11

$^1H$ - NMR (400 MHz,  $CD_3OD$ )

$\delta$  8.77 (s, 1H, H-6), 5.53 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.7$  Hz, H-1'), 3.87-3.71 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b'), 2.36 (t, 2H,  $J = 6.9$  Hz,  $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 1.59 (m, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>), 1.02 (t, 3H,  $J = 7.3$  Hz, CH<sub>3</sub>).

$^{13}C$ - NMR (100 MHz,  $CD_3OD$ )

$\delta$  162.15, 149.69, 142.35, 100.74, 94.17, 83.40, 80.10, 77.55, 72.28, 71.67, 69.93, 61.59, 23.09, 22.15, 13.95.

### **1-( $\beta$ -D- Γλυκοκυρανοζυλο)-5-(επτυνυλο)ουρακίλη (16a)**

Το παράγωγο **16a** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **3a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **15a** από την ένωση **3a**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9.5:0.5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **16a** (414 mg, 70%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.28$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9.5:0.5).

$$[\alpha]_D^{22} = +2.0^\circ \quad (c=0.17, \text{μεθανόλη})$$

$\lambda_{\max}$  290 nm ( $\epsilon = 3326$ )

ESI-MS (m/z): 369.27 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{17}H_{24}N_2O_7$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 55.43      H : 6.57      N : 7.60

Ευρ. (%)      C : 55.25      H : 6.76      N : 8.88

$^1H$ - NMR (400 MHz,  $CD_3OD$ )

$\delta$  7.78 (s, 1H, H-6), 5.45 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.1$  Hz, H-1'), 3.78-3.76 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b'), 2.30 (t, 2H,  $J = 7.1$  Hz,  $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 1.49 (m, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>), 1.37-1.25 (m, 4H, 2 x CH<sub>2</sub>), 0.84 (t, 3H,  $J = 7.3$  Hz, CH<sub>3</sub>).

$^{13}C$ - NMR (100 MHz,  $CD_3OD$ )

$\delta$  162.76, 150.82, 142.31, 100.78, 94.43, 87.37, 83.49, 80.19, 77.55, 72.40, 69.93, 61.60, 32.05, 29.31, 23.26, 20.20, 14.42.

### **1-( $\beta$ -D-Γλυκοπυρανοζύλο)-5-[(φαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (**17a**)**

Το παράγωγο **17a** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **3a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **15a** από την ένωση **3a**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **17a** (492 mg, 82%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.26$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1).

$[\alpha]_D^{22} = + 2^\circ$  (c=0.17, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  262 nm ( $\epsilon$  1765)

ESI-MS (m/z): 375.37 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{18}H_{18}N_2O_7$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 57.75      H : 4.85      N : 7.48



Ευρ. (%) C : 58.07 H : 4.58 N : 7.80

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD):

δ 8.10 (s, 1H, H-6), 7.85-7.36 (m, 5H, Ph), 5.58 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.5$  Hz, H-1'), 3.90-3.48 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b').

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 162.50, 151.69, 141.56, 131.68, 127.45, 127.39, 121.45, 101.70, 94.30, 85.38, 84.79, 77.38, 75.42, 70.35, 70.17, 63.25.

### 1-(β-D-Γλυκοπυρανοζυλο)- 5-[(4-πεντυλοφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (**18a**)

Το παράγωγο **18a** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **3a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **15a** από την ένωση **3a**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **18a** (549 mg, 77%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.50$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1).

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c=0.56, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  262 nm (ε 1065)

ESI-MS (m/z): 445.50 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N

Υπολ. (%) C : 62.15 H : 6.35 N : 6.30

Ευρ. (%) C : 62.03 H : 6.25 N : 6.17

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 8.07 (s, 1H, H-6), 7.42 (d, 2H,  $J = 7.9$  Hz, *o*-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>C≡C), 7.18 (d, 2H,  $J = 8.0$  Hz, *m*-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>C≡C), 5.58 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.8$  Hz, H-1'), 3.87 (d, 1H,  $J_{6a',6b'} = 12.1$  Hz, H-6a'), 3.75 (dd, 1H,  $J_{5',6b'} = 2.3$  Hz, H-6b'), 3.61-3.48 (m, 4H, H-2', H-3', H-4', H-5'), 2.62 (t, 2H,  $J = 7.7$  Hz, H-1''), 1.62 (p, 2H,  $J = 7.1$  Hz, H-2''), 1.39-1.29 (m, 4H, H-3'', H-4''), 0.90 (t, 3H,  $J = 6.5$  Hz, H-5'').

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  162.10, 151.30, 143.40, 138.90, 132.60, 128.30, 120.30, 101.40, 93.60, 87.00, 83.90, 79.10, 74.70, 71.60, 71.50, 62.40, 36.50, 31.90, 31.70, 23.40, 14.70.

**1-( $\beta$ -D-Γλυκοπυρανοζυλο)- 5-[(4-*tert* -βουτυλοφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (19a)**

Το παράγωγο **19a** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **3a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **15a** από την ένωση **3a**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **19a** (538 mg, 78%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.50$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1).

$[\alpha]_D^{22} = +2^\circ$  (c=0.22, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  262 nm ( $\epsilon$  1720)

ESI-MS (m/z): 431.48 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 61.39      H : 6.09      N : 6.51

Ευρ. (%)      C : 61.60      H : 6.27      N : 6.73

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD+CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  7.90 (s, 1H, H-6), 7.43 (d, 2H,  $J = 8.5$  Hz, *o*-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>C $\equiv$ C), 7.35 (d, 2H,  $J = 8.5$  Hz, *m*-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>C $\equiv$ C), 5.57 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.8$  Hz, H-1'), 3.88-3.33 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b'), 1.30 (s, 9H, *t*-Bu).

<sup>13</sup>C-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD+CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  162.15, 151.35, 150.18, 143.25, 132.33, 125.13, 119.73, 101.27, 93.45, 86.80, 83.79, 78.85, 74.53, 71.69, 71.55, 62.45, 41.18, 31.77.

**1-( $\beta$ -D-Γλυκοπυρανοζυλο)- 5-[(τριμεθυλοσιλυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (20a)**

Το παράγωγο **20a** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **3a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **15a** από την ένωση **3a**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό

πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9.5:0.5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **20a** (414 mg, 70%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.23$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1).

$$[\alpha]_D^{22} = -3^\circ \quad (c=0.22, \text{μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 290 \text{ nm } (\epsilon 4025)$$

$$\text{ESI-MS (m/z): } 369.35 \text{ (M+H}^+\text{)}$$

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>Si) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 48.64      H : 5.99      N : 7.56

Ευρ. (%)      C : 48.92      H : 5.87      N : 7.74

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  7.97 (s, 1H, H-6), 5.48 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.0$ , Hz, H-1'), 3.81-3.40 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b'), 0.14 (s, 9H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  161.60, 150.80, 144.16, 100.05, 98.09, 95.85, 83.44, 80.12, 77.49, 72.42, 69.91, 61.54, 0.19.

### **1-(β-D-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-(αιθυνολο)ουρακίλη (21a)**

Το συλιωμένο αλκυνίο **20a** (443.2 mg, 1.2 mmol) διαλύεται σε άνυδρο CH<sub>3</sub>CN (1.7 mL) και προστίθεται *n*-Bu<sub>4</sub>NF x 3H<sub>2</sub>O (410 mg, 1.3 mmol), το προκύπτον διάλυμα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9.5:0.5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **21a** (298 mg, 83%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.15$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1).

$$[\alpha]_D^{22} = +3^\circ \quad (c=0.28, \text{μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 286 \text{ nm } (\epsilon 3196)$$

$$\text{ESI-MS (m/z): } 299.27 \text{ (M+H}^+\text{)}$$

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N

Υπολ. (%) C : 48.32 H : 4.73 N : 9.39

Ευρ. (%) C : 48.50 H : 4.48 N : 9.17

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 8.07 (s, 1H, H-6), 5.57 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.6$ , Hz, H-1'), 3.89-3.48 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b'), 1.31 (s, 1H, C  $\equiv$  CH).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 161.96, 150.25, 132.10, 98.57, 84.40, 80.43, 77.04, 76.55, 71.52, 61.42, 69.59, 67.84.

#### 6-*n*-Προπυλο-3[1-(β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-φουρανο[2,3-*d*]πυριμιδινό-2-ονη (22a)

Το παράγωγο **22a** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **3a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **15a** από την ένωση **3a** παρατίνοντας τον χρόνο της αντίδρασης στα 8 λεπτά. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **22a** (481 mg, 88%) με λευκή αφρώδη υφή. R<sub>f</sub> = 0.25 (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 8:2).

$[\alpha]_D^{22} = +1^\circ$  (c=0.11, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  241 nm (ε 1514)

ESI-MS (m/z): 341.35 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N

Υπολ. (%) C : 52.94 H : 5.92 N : 8.23

Ευρ. (%) C : 53.23 H : 5.61 N : 8.40

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  8.43 (s, 1H, H-4), 6.39 (s, 1H, H-5), 5.93 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 7.2$ , Hz, H-1'), 3.89-3.51 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b'), 2.68 (t, 2H,  $J = 7.5$  Hz, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.74 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.00 (t, 3H,  $J = 7.3$  Hz, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  170.82, 159.58, 155.43, 137.16, 109.00, 99.40, 85.32, 80.43, 77.58, 73.80, 70.14, 61.64, 30.75, 21.28, 13.91.

**6-*n*-Πεντυλο-3[1-(β-*D*-γλυκοκυρανοζυλο)-φουρανο[2,3-*d*]πυριμιδινό-2-ονη (23a)**

Το παράγωγο **23a** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **3a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **15a** από την ένωση **3a** παρατίνοντας τον χρόνο της αντίδρασης στα 8 λεπτά. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **23a** (526 mg, 89%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.32$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 8:2).

$[\alpha]_D^{22} = +3^\circ$  (c=0.11, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  245 nm ( $\epsilon$  2307)

ESI-MS (m/z): 369.40 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 55.43      H : 6.57      N : 7.60

Ευρ. (%)      C : 55.75      H : 6.35      N : 7.32

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  8.34 (s, 1H, H-4), 6.30 (s, 1H, H-5), 5.85 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 7.7$ , Hz, H-1'), 3.81-3.43 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b'), 2.62 (t, 2H,  $J = 7.4$  Hz, CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.63 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.30 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 0.84 (t, 3H,  $J = 7.1$  Hz, CH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

$\delta$  160.67, 137.63, 115.62, 113.33, 109.11, 99.21, 84.95, 79.96, 77.06, 73.22, 69.50, 60.86, 30.86, 27.49, 26.18, 21.93, 12.83.

### III.3.3 Σύνθεση των C5-αλκύνυλο πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της κυτοσίνης 15ζ-21ζ

#### 1-(2',3',4',6'-Τετρα-*O*-ακετυλο- $\beta$ -*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-5-ιωδοκυτοσίνη (2ζ)

Η εμπορικά διαθέσιμη 1,2,3,4,6-πεντακίς-*O*-ακετυλο-*D*-γλυκοπυρανόζη (1) (1g, 2.6 mmol), με την πυριμιδική βάση 5-ιωδοκυτοσίνη (853.2 mg, 3.6 mmol), διαλύονται σε άνυδρο ακετονιτρίλιο ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) (12.8 mL), παρουσία του εξαμεθυλοδισιλαζανίου (HMDS) (949  $\mu\text{L}$ , 4.5 mmol), καθώς και καταλυτικής ποσότητας σακχαρίνης (37 mg, 0.2 mmol) και με την προσθήκη του τριφθορομεθανοσουλφονικού τριμεθυλοσιλυλεστέρα ( $\text{Me}_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$ ) (651  $\mu\text{L}$ , 3.6 mmol) ακτινοβολούνται με μικροκύματα σε 120 Watt για 3 λεπτά. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), το μίγμα ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου, εξουδετερώνεται με κορεσμένο διάλυμα  $\text{NaHCO}_3$  και εκχυλίζεται με  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Η οργανική φάση ξηραίνεται με άνυδρο  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν 2ζ (1.21g, 82%).  $R_f = 0.22$  (οξικός αιθυλεστέρας).

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -4^\circ$  ( $c=0.20$ , χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\text{max}}$  264 nm ( $\epsilon$  1318)

ESI-MS (m/z): 568.37 ( $\text{M}+\text{H}^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{IN}_3\text{O}_{10}$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 38.11      H : 3.91      N : 7.41

Ευρ. (%)      C : 38.47      H : 4.13      N : 7.60

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  7.71 (s, 1H, H-6), 6.05 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.3$  Hz, H-1'), 5.39 (t, 1H,  $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 9.4$  Hz, H-3'), 5.17-5.06 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.29-4.11 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 3.95 (m, 1H, H-5'), 2.10, 2.06, 2.00, 1.99 (4s, 12H, 4OAc), 1.26 (s, 2H, NH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  170.80, 170.77, 170.73, 170.70, 164.40, 155.60, 138.60, 80.40, 72.30, 69.40, 68.50, 68.30, 62.90, 57.50, 21.50, 21.45, 21.40, 21.20.

**1-( $\beta$ -D-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-ιωδοκυτοσίνη (3ζ)**

Διάλυμα της ένωσης **2ζ** (568.4 mg, 1 mmol) σε μεθανολική αμμωνία (κορεσμένη στους 0°C, 56.0 mL) αναδεύεται για 12 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **3ζ** (320mg, 80%) ως λευκό στερεό. R<sub>f</sub> = 0.27 (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη, 8:2)

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c=0.19, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  262 nm ( $\epsilon$  1050)

ESI-MS (m/z): 400.19 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>IN<sub>3</sub>O<sub>6</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 30.09      H : 3.54      N : 10.53

Ευρ. (%)      C : 29.97      H : 3.21      N : 10.26

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)

$\delta$  7.92 (s, 1H, H-6), 5.41 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.3$  Hz, H-1'), 5.20 (d, 1H,  $J = 5.6$  Hz, 3'-OH), 5.14 (d, 1H,  $J = 4.2$  Hz, 4'-OH), 5.03 (d, 1H,  $J = 5.1$  Hz, 2'-OH), 4.55 (t, 1H,  $J = 5.8$  Hz, 6'-OH), 3.66 (dd, 1H,  $J_{5',6a'} = 5.5$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 11.9$  Hz, H-6a'), 3.47-3.37 (m, 2H, H-2', H-5'), 3.30-3.16 (m, 3H, H-3', H-4', H-6b').

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)

$\delta$  164.30, 155.60, 138.40, 83.80, 79.00, 74.60, 71.80, 71.50, 62.50, 57.40.

**1-(β-D- Γλυκοπυρανοζυλο)-5-(πεντυνυλο)κυτοσίνη (15ζ)**

Η σύνθεση του **15ζ** επιτεύχθηκε με τη μέθοδο των μικροκυμάτων ως εξής: σε γυάλινο φιαλίδιο των 10 ml διαλύονται (560 mg, 1.4 mmol) της 1-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-ιωδοκυτοσίνης (**3ζ**) σε 3 ml άνυδρο *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF), προσθέτοντας 4.8 mmol του τελικού αλκινίου, (185 mg, 0.16 mmol) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, (30 mg, 0.16 mmol) CuI, και (444 μl, 3.2 mmol) Et<sub>3</sub>N και στη συνέχεια ακτινοβολούνται με μικροκύματα σε 120 Watt, για 3 λεπτά. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **15ζ** (343 mg, 72%) με λευκή αφρώδη υφή. R<sub>f</sub> = 0.48 (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 8:2).

$$[\alpha]_D^{22} = -3^\circ \quad (c=0.21, \text{μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 297 \text{ nm } (\epsilon 3035)$$

$$\text{ESI-MS (m/z): } 340.32 \text{ (M+H}^+\text{)}$$

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>15</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 53.09      H : 6.24      N : 12.38

Ευρ. (%)      C : 53.36      H : 6.47      N : 12.60

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 7.86 (s, 1H, H-6), 5.65 (d, 1H, *J*<sub>1',2'</sub> = 8.9 Hz, H-1'), 4.47 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.87-3.46 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b'), 2.43 (t, 2H, *J* = 7.0 Hz, α-CH<sub>2</sub>), 1.63 (m, 2H, β-CH<sub>2</sub>), 1.04 (t, 3H, *J* = 7.3 Hz, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 164.52, 155.48, 137.56, 97.38, 93.18, 84.10, 78.83, 78.62, 74.62, 71.56, 71.48, 62.47, 22.68, 21.78, 13.23.



**1-(β-D- Γλυκοκυρανοζυλο)-5-(επτυνυλο)κυτοσίνη (16ζ)**

Το παράγωγο **16ζ** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **3ζ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **15ζ** από την ένωση **3ζ**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9.5:0.5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **16ζ** (377 mg, 73%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.42$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 8:2).

$$[\alpha]_D^{22} = + 2^\circ \quad (c=0.22, \text{μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 298 \text{ nm } (\epsilon 3157)$$

$$\text{ESI-MS (m/z): } 368.42 \text{ (M+H}^+\text{)}$$

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 55.58      H : 6.86      N : 11.44

Ευρ. (%)      C : 55.48      H : 6.75      N : 11.30

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  7.86 (s, 1H, H-6), 5.65 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.9$  Hz, H-1'), 4.45 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.87-3.46 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b'), 2.45 (t, 2H,  $J = 7.1$  Hz,  $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 1.66-1.29 (m, 6H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>, 3 x CH<sub>2</sub>), 0.93 (t, 3H,  $J = 7.0$  Hz, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  164.48, 155.53, 137.47, 97.35, 92.15, 84.23, 78.88, 75.95, 74.56, 71.63, 71.48, 62.47, 31.08, 29.20, 22.23, 19.65, 14.55.

**1-(β-D-Γλυκοκυρανοζυλο)-5-[(φαινυλο)αιθυνο]κυτοσίνη (17ζ)**

Το παράγωγο **17ζ** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **3ζ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **15ζ** από την ένωση **3ζ**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **17ζ** (419 mg, 80%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.42$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 8:2).

$$[\alpha]_D^{22} = +4^\circ \quad (c=0.16, \text{μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 270 \text{ nm } (\epsilon 9629)$$

ESI-MS (m/z): 374.40 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 57.90      H : 5.13      N : 11.25

Ευρ. (%)      C : 58.11      H : 5.36      N : 11.49

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  8.08 (s, 1H, H-6), 7.58-7.36 (m, 5H, Ph), 5.69 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.7$  Hz, H-1'), 4.47 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.89-3.49 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b').

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  164.45, 155.47, 137.42, 132.66, 129.05, 128.93, 123.10, 97.45, 93.65, 86.88, 84.25, 79.00, 74.62, 71.75, 71.68, 62.35.

### **1-( $\beta$ -D-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(4-πεντυλοφαινυλο)αιθυνο]κυτοσίνη (18ζ)**

Το παράγωγο **18ζ** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **3ζ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **15ζ** από την ένωση **3ζ**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **18ζ** (473 mg, 76%) με λευκή αφρώδη υφή. R<sub>f</sub> = 0.14 (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1).

$$[\alpha]_D^{22} = +5^\circ \quad (c=0.50, \text{μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 262 \text{ nm } (\epsilon 6198)$$

ESI-MS (m/z): 444.47 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>23</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 62.29      H : 6.59      N : 9.47

Ευρ. (%)      C : 62.17      H : 6.48      N : 9.32

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  8.08 (s, 1H, H-6), 7.47 (d, 2H,  $J = 8.1$  Hz, *o*-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>C $\equiv$ C), 7.20 (d, 2H,  $J = 8.1$  Hz, *m*-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>C $\equiv$ C), 5.68 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.7$  Hz, H-1'), 3.86 (d, 1H,  $J_{6a',6b'} = 12.0$  Hz, H-6a'), 3.74 (dd, 1H,  $J_{5',6b'} = 2.9$  Hz, H-6b'), 3.59-3.47 (m, 4H, H-2', H-3', H-4', H-5'), 2.62 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz, H-1''), 1.62 (p, 2H,  $J = 7.3$  Hz, H-2''), 1.34-1.29 (m, 4H, H-3'' and H-4''), 0.90 (t, 3H,  $J = 6.5$  Hz, H-5'').

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  164.40, 155.45, 138.70, 137.50, 132.50, 128.10, 120.20, 97.40, 93.55, 86.95, 84.25, 78.90, 74.60, 71.57, 71.48, 62.45, 36.50, 31.80, 31.45, 23.20, 14.60.

**1-( $\beta$ -D-Γλυκοπυρανοζυλο)- 5-[(4-*tert* -βουτυλοφαινυλο)αιθυνυλο]κυτοσίνη (19ζ)**

Το παράγωγο **19ζ** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **3ζ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **15ζ** από την ένωση **3ζ**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **19ζ** (452 mg, 75%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.36$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 8:2).

$[\alpha]_D^{22} = +4^\circ$  (c=0.50, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  262 nm ( $\epsilon$  10226)

ESI-MS (m/z): 430.49 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>22</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 61.53      H : 6.34      N : 9.78

Ευρ. (%)      C : 61.65      H : 6.46      N : 9.88

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  8.17 (s, 1H, H-6), 7.59 (d, 2H,  $J = 8.6$  Hz, *o*-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>C $\equiv$ C), 7.52 (d, 2H,  $J = 8.5$  Hz, *m*-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>C $\equiv$ C), 5.79 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 7.7$  Hz, H-1'), 4.56 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.97 (d, 1H,  $J_{6a',6b'} = 12.1$  Hz, H-6a'), 3.85 (dd, 1H,  $J_{5',6b'} = 2.3$  Hz, H-6b'), 3.71-3.59 (m, 4H, H-2', H-3', H-4', H-5'), 1.42 (s, 9H, *t*-Bu).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  164.50, 155.45, 150.20, 137.35, 132.42, 125.10, 120.05, 97.30, 93.48, 86.85, 84.25, 78.90, 74.65, 71.65, 71.45, 62.40, 41.20, 31.88.

**1-( $\beta$ -D-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(τριμεθυλοσιλυλο)αιθυνο]κυτοσίνη (20ζ)**

Το παράγωγο **20ζ** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **3ζ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **15ζ** από την ένωση **3ζ**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **20ζ** (410 mg, 79%) με λευκή αφρώδη υφή. R<sub>f</sub> = 0.32 (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 8:2).

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c=0.25, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  263 nm ( $\epsilon$  8089)

ESI-MS (m/z): 370.49 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>Si) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 48.77      H : 6.27      N : 11.37

Ευρ. (%)      C : 49.09      H : 6.50      N : 11.16

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  8.00 (s, 1H, H-6), 5.65 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.8$  Hz, H-1'), 4.45 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.84 (d, 1H,  $J_{6a',6b'} = 11.9$  Hz, H-6a'), 3.73 (dd, 1H,  $J_{5',6b'} = 3.5$  Hz, H-6b'), 3.58-3.46 (m, 4H, H-2', H-3', H-4', H-5'), 0.24 (s, 9H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  164.45, 155.40, 137.40, 99.95, 97.48, 84.20, 79.20, 78.85, 74.65, 71.60, 71.45, 62.40, 0.25.

**1-( $\beta$ -D-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-(αιθυνο)κυτοσίνη (21ζ)**

Το συλιωμένο αλκύνιο **20ζ** (445 mg, 1.2 mmol) διαλύεται σε άνυδρο CH<sub>3</sub>CN (1.7 mL) και προστίθεται *n*-Bu<sub>4</sub>NF<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O (410 mg, 1.3 mmol), το προκύπτον διάλυμα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά. Μετά το πέρας της

αντίδρασης (TLC), ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **21ζ** (286 mg, 80%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.26$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 8:2).

$[\alpha]_D^{22} = + 2^\circ$  (c=0.25, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  293 nm ( $\epsilon$  6440)

ESI-MS (m/z): 298.27 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{12}H_{15}N_3O_6$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 48.48      H : 5.09      N : 14.14

Ευρ. (%)      C : 48.80      H : 5.21      N : 14.27

$^1H$  NMR (400 MHz,  $CD_3OD$ )

$\delta$  8.13 (s, 1H, H-6), 5.76 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.8$  Hz, H-1'), 4.55 (br s, 2H,  $NH_2$ ), 3.97-3.57 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b'), 1.39 (s, 1H,  $C\equiv CH$ ).

$^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CD_3OD$ )

$\delta$  164.48, 155.45, 137.48, 97.55, 84.20, 83.30, 81.65, 78.95, 74.65, 71.65, 71.45, 62.48.

### ΠΙ.3.4 Σύνθεση του φαινυλο και των πυριδινυλο και πυριδινιμυλο πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης 24-35

#### 1-(2',3',4',6'-Τετρακίς-*O*-ακετυλο- $\beta$ -*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-5-(φαινυλοαιθυνυλο)ουρακίλη (24)

Η σύνθεση του **24** επιτεύχθηκε με τη μέθοδο των μικροκυμάτων ως εξής: σε γυάλινο φιαλίδιο των 10 ml διαλύονται (228 mg, 0.4 mmol) της 1-(2',3',4',6'-τετρακίς-*O*-ακετυλο- $\beta$ -*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-5-ιωδοουρακίλης (**2α**) σε 2 ml άνυδρο *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF), προσθέτοντας 1.2 mmol του τελικού αλκυνίου, (23 mg, 0.02 mmol)  $Pd(PPh_3)_4$ , (7.6 mg, 0.04 mmol)  $CuI$ , και (111  $\mu$ l, 0.8 mmol)  $Et_3N$  και στη συνέχεια ακτινοβολούνται με μικροκύματα σε 120 Watt, για 3 λεπτά. Μετά το

πέρας της αντίδρασης (TLC), ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 4:6, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **24** (176 mg, 81%) με κίτρινη αφρώδη υφή.  $R_f = 0.21$  (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5).

$$[\alpha]_D^{22} = + 2^\circ \quad (c=0.13, \text{χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 262 \text{ nm } (\epsilon 8990)$$

ESI-MS (m/z): 543.50 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{26}H_{26}N_2O_{11}$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 57.56      H : 4.83      N : 5.16

Ευρ. (%)      C : 57.40      H : 4.72      N : 5.35

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  8.32 (br s, 1H, NH), 7.65 (s, 1H, H-6), 7.56-7.29 (m, 5H, Ph), 5.88 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.4 \text{ Hz}$ , H-1'), 5.42 (t, 1H,  $J = 9.5 \text{ Hz}$ , H-3'), 5.24-5.13 (m, 2H, H-4', H-2'), 4.32 (dd, 1H,  $J_{5',6a'} = 5.0 \text{ Hz}$ ,  $J_{6a',6b'} = 12.7 \text{ Hz}$ , 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).

#### **1-(β-D-Γλυκοκυρανοζυλο)-5-(φαινυλοαιθυνο)ουρακίλη (17a)**

Διάλυμα της ένωσης **24** (489 mg, 0.9 mmol) σε μεθανολική αμμωνία (κορεσμένη στους 0°C, 50.2 mL) αναδεύεται για 12h σε θερμοκρασία δωματίου. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **17** (277 mg, 82%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.26$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1).

$$[\alpha]_D^{22} = + 2^\circ \quad (c=0.17, \text{μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 262 \text{ nm } (\epsilon 1765)$$

ESI-MS (m/z): 375.37 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{18}H_{18}N_2O_7$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 57.75    H : 4.85    N : 7.48

Ευρ. (%)      C : 58.07    H : 4.58    N : 7.80

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 8.10 (s, 1H, H-6), 7.85-7.36 (m, 5H, Ph), 5.58 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.5$  Hz, H-1'), 3.90-3.48 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b').

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 162.50, 151.69, 141.56, 131.68, 127.45, 127.39, 121.45, 101.70, 94.30, 85.38, 84.79, 77.38, 75.42, 70.35, 70.17, 63.25.

### 1-(β-D-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-(φαινυλοαιθυλο)ουρακίλη (29)

Σε διάλυμα του αλκύνυλου πυρανονουκλεοζιτή **17a** (113 mg, 0.3 mmol) σε μεθανόλη (40.9 mL) προστέθηκε παλλάδιο σε άνθρακα 10% (102 mg) και το διάλυμα υδρογονώθηκε για 48 ώρες. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), το μίγμα διηθήθηκε μέσω γης διατόμων (Celite) και από το διήθημα απομακρύνθηκαν οι διαλύτες υπό κενό. Ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπο πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9.5:0.5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **29** (80 mg, 70%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.17$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9.5:0.5).  $R_f = 0.17$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9.5:0.5).

$[\alpha]_D^{22} = + 2^\circ$  (c=0.11, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  265 nm (ε 5271)

ESI-MS (m/z): 379.40 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 57.14    H : 5.86    N : 7.40

Ευρ. (%)      C : 57.47    H : 6.08    N : 7.59

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  7.39 (s, 1H, H-6), 7.26 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz, Ph), 7.20 (d, 2H,  $J = 7.2$  Hz, Ph), 7.15 (t, 1H,  $J = 7.3$  Hz, Ph), 5.48 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.9$  Hz, H-1'), 3.83 (dd, 1H,  $J_{6a',6b'} = 12.1$  Hz,  $J_{5',6a'} = 1.8$  Hz, H-6a'), 3.68 (dd, 1H,  $J_{5',6b'} = 5.1$  Hz, H-6b'), 3.48-3.36 (m, 4H, H-2', H-3', H-4' και H-5'), 2.79 (t, 2H,  $J = 7.9$  Hz, methylene), 2.62-2.54 (m, 2H, methylene).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  164.15, 151.37, 139.96, 137.18, 129.04, 128.10, 126.63, 111.68, 84.87, 79.03, 74.79, 71.78, 71.65, 62.53, 35.76, 33.47.

**1-(2',3',4',6'-Τετρακis-*O*-ακετυλο- $\beta$ -*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(πυριδιν-2-υλ)αιθυνυλο]ουρακίλη (25)**

Το παράγωγο **25** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **2a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **24** από την ένωση **2a**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 7:3, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **25** (142 mg, 65%) με κίτρινη αφρώδη υφή.  $R_f = 0.24$  (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 7:3)

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c=0.13, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  310 nm ( $\epsilon$  8990)

ESI-MS (m/z): 544.53 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>25</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>11</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 55.25      H : 4.64      N : 7.73

Ευρ. (%)      C : 55.40      H : 4.79      N : 7.85

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  8.66 (s, 1H, H-6), 8.35-7.50 (m, 4H, pyridine), 5.82 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.1$  Hz, H-1'), 5.39 (t, 1H,  $J = 9.7$  Hz, H-2'), 5.19 (m, 2H, H-3', H-4'), 4.31-4.14 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 3.95 (m, 1H, H-5'), 2.13, 2.03, 2.02, 1.99 (4s, 12H, 4OAc).



<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  170.90, 170.80, 170.77, 170.75, 162.18, 151.38, 149.29, 143.95, 143.25, 135.88, 128.38, 124.05, 101.42, 80.48, 80.26, 80.08, 72.33, 69.45, 68.57, 68.43, 62.87, 21.47, 21.38, 21.33, 21.30.

**1-( $\beta$ -D-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(πυριδιν-2-υλ)αιθυνο]ουρακίλη (27)**

Το παράγωγο **27** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **25** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **17a** από την ένωση **24**. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **27** (227 mg, 67%) ως κίτρινο έλαιο. Rf = 0.26 (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 8:2).

$[\alpha]_D^{22} = -4^\circ$  (c=0.29, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  311 nm ( $\epsilon$  15338)

ESI-MS (m/z): 376.35 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 54.40      H : 4.57      N : 11.20

Ευρ. (%)      C : 54.53      H : 4.72      N : 11.32

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)

$\delta$  11.81 (br s, 1H, NH), 8.60-8.58 (m, 1H, pyridine), 8.30 (s, 1H, H-6), 7.87-7.81 (m, 1H, pyridine), 7.57 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz, pyridine), 7.42-7.37 (m, 1H, pyridine), 5.44 (d, 1H,  $J_{3'-OH,3'} = 5.0$  Hz, 3'-OH), 5.34 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.2$  Hz, H-1'), 5.23 (d, 1H,  $J_{4'-OH,4'} = 3.7$  Hz, 4'-OH), 5.11 (d, 1H,  $J_{2'-OH,2'} = 5.0$  Hz, 2'-OH), 4.60 (t, 1H,  $J_{6'-OH,6'} = 5.9$  Hz, 6'-OH), 3.70 (dd, 1H,  $J_{5',6a'} = 5.1$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 11.5$  Hz, H6a'), 3.56-3.21 (m, 5H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6b').

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)

$\delta$  162.18, 151.35, 149.10, 143.96, 143.17, 136.08, 128.25, 124.00, 101.38, 83.95, 80.57, 80.36, 79.00, 74.66, 71.68, 71.45, 62.53.

**1-(β-D-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(πυριδιν-2-υλ)αιθυλο]ουρακίλη (30)**

Το παράγωγο **30** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **27** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **29** από την ένωση **17a**. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **30** (86 mg, 75%) ως κίτρινο έλαιο.  $R_f = 0.20$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 8:2).

$$[\alpha]_D^{22} = +6^\circ \quad (c=0.11, \text{μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 311 \text{ nm } (\epsilon 15276)$$

ESI-MS (m/z): 380.35 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{17}H_{21}N_3O_7$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 53.82      H : 5.58      N : 11.08

Ευρ. (%)      C : 53.73      H : 5.32      N : 11.32

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

$\delta$  8.45 (m, 1H, pyridine), 7.78-7.72 (m, 1H, pyridine), 7.38 (s, 1H, H-6), 7.31 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz, pyridine), 7.26-7.22 (m, 1H, pyridine), 5.48 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.8$  Hz, H-1'), 3.85 (dd, 1H,  $J_{6a',6b'} = 11.9$  Hz,  $J_{5',6a'} = 1.9$  Hz, H-6a'), 3.69 (dd, 1H,  $J_{5',6b'} = 4.8$  Hz, H-6b'), 3.51-3.38 (m, 4H, H-2', H-3', H-4', H-5'), 3.00 (t, 2H,  $J = 7.5$  Hz, methylene), 2.74-2.67 (m, 2H, methylene).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

$\delta$  164.00, 158.2, 150.90, 147.3, 141.00, 138.10, 123.60, 121.20, 111.80, 90.80, 83.30, 76.70, 71.70, 71.30, 62.00, 34.60, 33.40.

**2-[1-(2',3',4',6'-Τετρακίς-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)ουρακίλη-5-υλ-αιθυνο]-N-μεθυλο πυριδινιμυλο) ιωδίδιο (32)**

Σε διάλυμα του αλκύνυλου πυρανονουκλεοζίτη **25** (109 mg, 0.2 mmol) σε 7.5 mL άνυδρο ακετονιτρίλιο ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) προστίθεται (199  $\mu\text{l}$ , 3.2 mmol)  $\text{CH}_3\text{I}$  και το μίγμα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα για 20 ώρες υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, χρησιμοποιώντας

ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **32** (74 mg, 66%) ως κίτρινο έλαιο.  $R_f = 0.16$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 8:2).

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  ( $c=0.22$ , χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  289 nm ( $\epsilon$  11234)

ESI-MS (m/z): 559.50 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{26}H_{28}N_3O_{11}$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 55.91      H : 5.05      N : 7.52

Ευρ. (%)      C : 56.05      H : 5.16      N : 7.64

$^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )

$\delta$  9.60 (s, 1H, H-6), 8.45 (br s, 2H, pyridinium), 8.15 (d, 1H,  $J = 7.2$  Hz, pyridinium), 8.06 (br s, 1H, pyridinium), 5.94 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.1$  Hz, H-1'), 5.44 (t, 1H,  $J = 9.3$  Hz, H-2'), 5.33 (t, 1H,  $J = 8.9$  Hz, H-3'), 5.27 (t, 1H,  $J = 9.6$  Hz, H-4'), 4.73 (s, 3H,  $CH_3$ ), 4.32 (dd, 1H,  $J_{5',6a'} = 5.6$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 12.5$  Hz, H-6a'), 4.18 (d, 1H, H-6b'), 3.98 (m, 1H, H-5'), 2.11, 2.06, 2.04, 2.00 (4s, 12H, 4OAc).

$^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )

$\delta$  170.38, 170.30, 170.27, 170.24, 161.98, 151.33, 146.17, 145.99, 143.13, 136.55, 132.88, 128.79, 101.35, 80.56, 80.38, 80.05, 72.23, 69.45, 68.66, 68.43, 62.81, 40.77, 21.55, 21.49, 21.47, 21.44.

**2-[(1- $\beta$ -D-Γλυκοπυρανοζυλο)ουρακίλη-5-υλ-αιθυνο]ο-*N*-μεθυλο πυριδινιμυλο) ιωδίδιο (**33**)**

Το παράγωγο **33** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **32** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **17a** από την ένωση **24**. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **33** (240 mg, 68%) ως κίτρινο έλαιο.  $R_f = 0.15$  (μεθανόλη).

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  ( $c=0.11$ , μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  299 nm ( $\epsilon$  1067)

ESI-MS (m/z): 391.40 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{18}H_{20}N_3O_7$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 55.38      H : 5.16      N : 10.76

Ευρ. (%)      C : 55.51      H : 5.27      N : 10.91

$^1H$ -NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )

$\delta$  9.58 (s, 1H, H-6), 8.47 (br s, 2H, pyridinium), 8.07 (d, 1H,  $J = 7.5$  Hz, pyridinium), 7.82 (br s, 1H, pyridinium), 5.51-5.38 (m, 2H,  $J_{1',2'} = 9.1$  Hz, H-1', 3'-OH), 5.32, 5.17, 4.60 (3 br s, 3H, 4'-OH, 2'-OH, 6'-OH), 4.37 (s, 3H,  $CH_3$ ), 3.78-3.47 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b').

$^{13}C$ -NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )

$\delta$  162.05, 151.27, 146.20, 146.00, 143.25, 136.78, 132.97, 128.56, 101.48, 84.00, 80.62, 80.47, 78.97, 74.66, 71.70, 71.53, 62.48, 41.03.

**1-(2',3',4',6'-Τετρακis-*O*-ακετυλο- $\beta$ -*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(πυριδιν-3-υλ)αιθυνογλο]ουρακίλη (26)**

Το παράγωγο **26** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **2a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **24** από την ένωση **2a**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 6:4, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **26** (135 mg, 62%) με κίτρινη αφρώδη υφή.  $R_f = 0.23$  (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 6:4)

$[\alpha]_D^{22} = -4^\circ$  ( $c=0.14$ , χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  306 nm ( $\epsilon$  21117)

ESI-MS (m/z): 544.51 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{25}H_{25}N_3O_{11}$ ) C, H, N

Υπολ. (%) C : 55.25 H : 4.64 N : 7.73

Ευρ. (%) C : 55.38 H : 4.78 N : 7.88

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 9.32 (s, 1H, H-6), 8.18-7.45 (m, 4H, pyridine), 5.90 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 5.41 (t, 1H,  $J = 9.4$  Hz, H-2'), 5.21-5.15 (m, 2H, H-3', H-4'), 4.30 (dd, 1H,  $J_{6a',6b'} = 12.7$  Hz,  $J_{5',6a'} = 5.2$  Hz, H-6a'), 4.13 (d, 1H, H-6b'), 3.97 (m, 1H, H-5'), 2.10, 2.05, 2.02, 2.01 (4s, 12H, 4OAc).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 170.38, 170.26, 170.22, 170.18, 161.93, 153.44, 151.38, 149.87, 143.27, 140.23, 123.69, 117.00, 101.29, 80.77, 80.58, 80.17, 72.40, 69.44, 68.55, 68.48, 62.38, 21.45, 21.40, 21.38, 21.32.

### 1-(β-D-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(πυριδιν-3-υλ)αιθυνο]ουρακίλη (28)

Το παράγωγο **28** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **26** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **17a** από την ένωση **24**. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **28** (220 mg, 65%) ως κίτρινο έλαιο.  $R_f = 0.31$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 8:2).

$[\alpha]_D^{22} = +3^\circ$  (c=0.12, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  308 nm (ε 13213)

ESI-MS (m/z): 376.35 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N

Υπολ. (%) C : 54.40 H : 4.57 N : 11.20

Ευρ. (%) C : 54.50 H : 4.75 N : 11.32

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)

δ 11.75 (br s, 1H, NH), 8.70, 8.58 (2br s, 2H, pyridine), 8.26 (s, 1H, H-6), 7.91 (d, 1H,  $J = 7.9$  Hz, pyridine), 7.46 (m, 1H, pyridine), 5.44 (d, 1H,  $J_{3'-OH,3'} = 5.1$  Hz, 3'-OH),

5.37 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.2$  Hz, H-1'), 5.23 (d, 1H,  $J_{4'-OH,4'} = 4.0$  Hz, 4'-OH), 5.11 (d, 1H,  $J_{2'-OH,2'} = 5.3$  Hz, 2'-OH), 4.59 (t, 1H,  $J_{6'-OH,6'} = 5.8$  Hz, 6'-OH), 3.72 (dd, 1H,  $J_{5',6a'} = 6.1$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 3.55-3.18 (m, 5H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6b').

$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )

$\delta$  162.10, 153.50, 151.45, 150.30, 143.20, 140.33, 123.77, 116.97, 101.30, 84.00, 80.73, 80.57, 78.88, 74.63, 71.77, 71.63, 62.48.

### 1-( $\beta$ -D-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(πυριδιν-3-υλ)αιθυλο]ουρακίλη (**31**)

Το παράγωγο **31** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **28** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **29** από την ένωση **17a**. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **31** (220 mg, 81%) ως κίτρινο έλαιο.  $R_f = 0.20$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 7:3).

$[\alpha]_D^{22} = +4^\circ$  ( $c=0.29$ , μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  308 nm ( $\epsilon$  14131)

ESI-MS ( $m/z$ ): 380.38 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_7$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 53.82      H : 5.58      N : 11.08

Ευρ. (%)      C : 53.90      H : 5.67      N : 10.93

$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

$\delta$  8.41 (m, 2H, pyridine), 7.73 (d, 1H,  $J = 8.1$  Hz, pyridine), 7.43 (s, 1H, H-6), 7.40-7.36 (m, 1H, pyridine), 5.52 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.7$  Hz, H-1'), 3.87 (dd, 1H,  $J_{6a',6b'} = 12.4$  Hz,  $J_{5',6a'} = 1.6$  Hz, H-6a'), 3.70 (dd, 1H,  $J_{5',6b'} = 4.1$  Hz, H-6b'), 3.51-3.41 (m, 4H, H-2', H-3', H-4', H-5'), 2.90 (t, 2H,  $J = 7.4$  Hz, methylene), 2.66 (t, 2H,  $J = 7.3$  Hz, methylene).

$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

$\delta$  163.80, 150.20, 148.60, 146.30, 141.00, 139.10, 134.60, 122.20, 111.20, 91.00, 82.80, 77.10, 71.60, 71.20, 61.90, 33.20, 31.70.

**3-[1-(2',3',4',6'-Τετρακis-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοκυρανοζυλο)ουρακίλη-5-υλ-αιθινυλο]-*N*-μεθυλο πυριδινιμυλο) ιωδίδιο (34)**

Το παράγωγο **34** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **26** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **32** από την ένωση **25**. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **34** (220 mg, 64%) ως κίτρινο έλαιο.  $R_f = 0.29$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 7:3).

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

$\lambda_{\max}$  312 nm ( $\epsilon$  10528)

ESI-MS (m/z): 559.52 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{26}H_{28}N_3O_{11}$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 55.91      H : 5.05      N : 7.52

Ευρ. (%)      C : 56.08      H : 5.20      N : 7.65

$^1H$ -NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )

$\delta$  12.00 (s, 1H, NH), 9.28 (s, 1H, H-6), 8.98 (d, 1H,  $J = 6.0$  Hz, pyridinium), 8.70 (s, 1H, pyridinium), 8.62 (d, 1H,  $J = 8.1$  Hz, pyridinium), 8.17-8.14 (m, 1H, pyridinium), 6.14 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.1$  Hz, H-1'), 5.57 (t, 1H,  $J = 9.5$  Hz, H-2'), 5.46 (t, 1H,  $J = 9.3$  Hz, H-3'), 5.24 (t, 1H,  $J = 9.8$  Hz, H-4'), 4.41 (m, 1H, H-5'), 4.35 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.11 (dd, 1H,  $J_{5',6a'} = 6.3$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 12.4$  Hz, H-6a'), 4.00 (dd, 1H,  $J_{5',6b'} = 2.3$  Hz, H-6b'), 2.02, 2.01, 1.97, 1.94 (4s, 12H, 4OAc).

$^{13}C$ -NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )

$\delta$  170.45, 170.37, 170.34, 170.33, 162.18, 152.45, 151.33, 146.53, 146.03, 143.18, 128.57, 122.97, 101.40, 80.85, 80.47, 80.23, 72.33, 69.50, 68.57, 68.39, 62.88, 47.90, 21.60, 21.43, 21.38, 21.30.

**3-[(1-β-D-Γλυκοκυρανοζυλο)ουρακίλη-5-υλ-αιθυνο]ο-Ν-μεθυλο πυριδινιμυλο) ιωδίδιο (35)**

Το παράγωγο **35** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **34** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **17a** από την ένωση **24**. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **35** (232 mg, 66%) ως κίτρινο έλαιο.  $R_f = 0.10$  (μεθανόλη).

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

$$\lambda_{\max} 312 \text{ nm } (\epsilon 11491)$$

$$\text{ESI-MS (m/z): } 391.39 \text{ (M+H}^+\text{)}$$

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 55.38      H : 5.16      N : 10.76

Ευρ. (%)      C : 55.49      H : 5.27      N : 10.93

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)

$\delta$  9.26 (s, 1H, H-6), 8.96 (d, 1H,  $J = 6.1$  Hz, pyridinium), 8.61 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz, pyridinium), 8.33 (s, 1H, pyridinium), 8.18-8.13 (m, 1H, pyridinium), 5.46-5.39 (m, 2H,  $J_{1',2'} = 9.1$  Hz, H-1', 3'-OH), 5.30, 5.13, 4.59 (3 br s, 3H, 4'-OH, 2'-OH, 6'-OH), 4.34 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.73-3.42 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b').

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)

$\delta$  162.11, 152.49, 151.43, 146.67, 146.08, 143.32, 128.63, 123.35, 101.44, 83.88, 80.65, 80.45, 79.05, 74.70, 71.83, 71.66, 62.57, 47.91.

#### **ΠΙ.4 Σύνθεση των φαινυλο υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης 38a-μ και 39**

##### **1-(2',3',4',6'-Τετρακίς-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-5-[(2-φθοροφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (36a)**

Η σύνθεση του **376a** επιτεύχθηκε με τη μέθοδο των μικροκυμάτων ως εξής: σε γυάλινο φιαλίδιο των 10 mL διαλύονται (100 mg, 0.18 mmol) από την 1-(2',3',4',6'-τετρα-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-5-ιωδοουρακίλη (**2a**) σε 1 ml



άνυδρο *N,N*-διμεθυλοφωρμαμίδιο (DMF), προσθέτοντας 0.54 mmol του κατάλληλου αλκυνίου, (21 mg, 0.018 mmol) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, (3.5 mg, 0.018 mmol) CuI, και (50  $\mu$ l, 0.36 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 οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **36a** (70 mg, 78%) με κίτρινη αφρώδη υφή. R<sub>f</sub> = 0.19 (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5).

$$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ \quad (c=0.19, \text{χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 306 \text{ nm } (\epsilon 8321)$$

ESI-MS (m/z): 561.16 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>11</sub>) C, H, N, F

Υπολ. (%)      C : 55.72      H : 4.50      N : 5.00      F: 3.39

Ευρ. (%)      C : 55.53      H : 4.58      N : 5.35      F: 3.15

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

$\delta$  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,  $J_{1'-2'} = 9.4$  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,  $J_{5'-6a'} = 5.0$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 4.17 (dd, 1H,  $J_{5'-6b'} = 1.7$  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>)

$\delta$  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.

#### 1-( $\beta$ -D-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(2-φθοροφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (**38a**)

Διάλυμα της ένωσης **36a** (61 mg, 0.12 mmol) σε μεθανολική αμμωνία (κορεσμένη στους 0°C, 6.7 mL) αναδεύεται για 12 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου.

Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, και ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **38a** (30 mg, 67%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.55$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2).

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

$$\lambda_{\max} 306 \text{ nm } (\epsilon 1765)$$

ESI-MS (m/z): 393.11 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{18}H_{17}FN_2O_7$ ) C, H, N, F

Υπολ. (%)      C : 55.10      H : 4.37      N: 7.14      F : 4.84

Ευρ. (%)      C : 55.07      H : 4.58      N: 7.00      F : 4.80

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

$\delta$  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,  $J_{1'-2'} = 9.2$  Hz, H-1'), 5.18 (d, 1H,  $J = 4.2$  Hz, OH), 5.08 (d, 1H,  $J = 5.4$  Hz, OH), 4.59 (t, 1H,  $J = 5.8$  Hz, OH), 3.71 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'} = 5.1$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 11.1$  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').

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

$\delta$  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.

**1-(2',3',4',6'-Τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(3-φθοροφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (36β)**

Το παράγωγο **36β** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **2a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **36a** από την ένωση **2a**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 6:4, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **36β** (95 mg, 94%) με κίτρινη αφρώδη υφή.  $R_f = 0.45$  (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 7:3).

$$[\alpha]_D^{22} = -4^\circ \quad (c=0.16, \text{χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 306 \text{ nm } (\epsilon 16361)$$

ESI-MS (m/z): 561.12 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>11</sub>) C, H, N, F

Υπολ. (%)      C : 55.72      H : 4.50      N : 5.00      F: 3.39

Ευρ. (%)      C : 55.63      H : 4.48      N : 5.15      F: 3.35

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

$\delta$  8.93 (br s, 1H, NH), 7.66 (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,  $J_{1'-2'} = 9.4$  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,  $J_{5'-6a'} = 5.2$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 4.15 (dd, 1H,  $J_{5'-6b'} = 1.7$  Hz, 1H, 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>)

$\delta$  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.

### 1-(β-D-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(3-φθοροφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (38β)

Το παράγωγο **38β** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **36β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **38α** από την ένωση **36α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **38β** (29 mg, 62%) με λευκή αφρώδη υφή. R<sub>f</sub> = 0.34 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2).

$$[\alpha]_D^{22} = -5^\circ \quad (c=0.26, \text{μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 306 \text{ nm } (\epsilon 11424)$$

ESI-MS (m/z): 393.09 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N, F

Υπολ. (%) C : 55.10 H : 4.37 N: 7.14 F : 4.84

Ευρ. (%) C : 55.22 H : 4.35 N: 6.95 F : 4.93

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

δ 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>)

δ 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.

**1-(2',3',4',6'-Τετρακis-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(3,4-διφθοροφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (36γ)**

Το παράγωγο **36γ** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **2α** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **36α** από την ένωση **2α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **36γ** (64 mg, 61%) με κίτρινη αφρώδη υφή. *R*<sub>f</sub> = 0.30 (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 6:4).

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = - 4° (c=0.15, χλωροφόρμιο)

λ<sub>max</sub> 305 nm (ε 13197)

ESI-MS (m/z): 579.11 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>26</sub>H<sub>24</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub>) C, H, N, F

Υπολ. (%) C : 53.98 H : 4.18 N : 4.84 F: 6.57

Ευρ. (%) C : 53.83 H : 4.35 N : 4.95 F: 6.77

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

$\delta$  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,  $J_{1'-2'} = 9.4$  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,  $J_{5'-6a'} = 5.2$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 4.15 (dd, 1H,  $J_{5'-6b'} = 1.9$  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>)

$\delta$  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.

**1-( $\beta$ -D-Γλυκοκυρανοζυλο)-5-[(3,4-διφθοροφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (38γ)**

Το παράγωγο **38γ** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **36γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **38α** από την ένωση **36α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **38γ** (29 mg, 78%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.13$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

$[\alpha]_D^{22} = -4^\circ$  (c=0.15, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  305 nm ( $\epsilon$  27021)

ESI-MS (m/z): 411.10 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N, F

Υπολ. (%)      C : 52.69      H : 3.93      N : 6.83      F: 9.26

Ευρ. (%)      C : 52.51      H : 4.10      N : 6.50      F: 9.33

<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,  $J_{1'-2'} = 9.2$  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,  $J_{5'-6a'} = 5.3$  Hz,  $J_{6a'-6b'}$

$\delta_{b'} = 10.8$  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').

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

$\delta$  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.

**1-(2',3',4',6'-Τετρακίς-*O*-ακετυλο- $\beta$ -*D*-γλυκοκυρανοζυλο)-5-[(3,5-διφθοροφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (36δ)**

Το παράγωγο **36δ** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **2α** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **36α** από την ένωση **2α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **36δ** (64 mg, 61%) με κίτρινη αφρώδη υφή.  $R_f = 0.30$  (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 6:4).

$[\alpha]_D^{22} = -6^\circ$  (c=0.25, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  305 nm ( $\epsilon$  11302)

ESI-MS (m/z): 579.12 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{26}H_{24}F_2N_2O_{11}$ ) C, H, N, F

Υπολ. (%)	C : 53.98	H : 4.18	N : 4.84	F: 6.57
-----------	-----------	----------	----------	---------

Ευρ. (%)	C : 53.63	H : 4.48	N : 5.05	F: 6.41
----------	-----------	----------	----------	---------

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

$\delta$  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,  $J_{1'-2'} = 9.4$  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,  $J_{5'-6a'} = 5.2$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 4.16 (dd, 1H,  $J_{5'-6b'} = 1.6$  Hz, H-6b'), 3.99-3.94 (m, 1H, H-5'), 2.11, 2.06, 2.03, 2.02 (4s, 12H, 4OAc).

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

$\delta$  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.

### 1-( $\beta$ -D-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(3,5-διφθοροφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (38δ)

Το παράγωγο **38δ** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **36δ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **38α** από την ένωση **36α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **38δ** (29 mg, 78%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.38$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2).

$[\alpha]_D^{22} = -7^\circ$  (c=0.17, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  307 nm ( $\epsilon$  25931)

ESI-MS (m/z): 411.09 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{18}H_{16}F_2N_2O_7$ ) C, H, N, F

Υπολ. (%)	C : 52.69	H : 3.93	N : 6.83	F: 9.26
-----------	-----------	----------	----------	---------

Ευρ. (%)	C : 52.60	H : 4.03	N : 6.71	F: 9.30
----------	-----------	----------	----------	---------

$^1H$ -NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )

$\delta$  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,  $J_{1'-2'} = 9.2$  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').

$^{13}C$ -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.

**1-(2',3',4',6'-Τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(2-χλωροφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (36ε)**

Το παράγωγο **36ε** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **2α** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **36α** από την ένωση **2α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **36ε** (73 mg, 72%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.26$  (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5).

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  ( $c=0.13$ , χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  308 nm ( $\epsilon$  14286)

ESI-MS (m/z): 577.12 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{26}H_{25}ClN_2O_{11}$ ) C, H, N, Cl

Υπολ. (%)      C : 54.13      H : 4.37      N : 4.86      Cl: 6.15

Ευρ. (%)      C : 54.03      H : 4.48      N : 4.95      Cl: 6.20

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

$\delta$  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,  $J_{1'-2'} = 9.4$  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,  $J_{5'-6a'} = 5.0$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 4.17 (d, 1H,  $J_{5'-6b'} = 1.5$  Hz, H-6b'), 3.96-3.93 (m, 1H, H-5'), 2.11, 2.06, 2.03, 2.02 (4s, 12H, 4OAc).

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

$\delta$  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.

**1-(β-*D*-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(2-χλωροφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (38ε)**

Το παράγωγο **38ε** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **36ε** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **38α** από



την ένωση **36a**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **38ε** (33 mg, 67%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.10$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

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

$$\lambda_{\max} 308 \text{ nm } (\epsilon 14867)$$

ESI-MS (m/z): 409.08 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{18}H_{17}ClN_2O_7$ ) C, H, N, Cl

Υπολ. (%)      C : 52.89      H : 4.19      N : 6.85      Cl: 8.67

Ευρ. (%)      C : 52.67      H : 4.08      N : 6.65      Cl: 8.80

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

$\delta$  11.75 (br s, 1H, NH), 8.18 (s, 1H, H-6), 7.62 (dd, 1H,  $J = 7.4 \text{ Hz}$ ,  $J = 1.7 \text{ Hz}$ , ArH) 7.57 (dd, 1H,  $J = 7.0 \text{ Hz}$ ,  $J = 1.0 \text{ Hz}$ , ArH) 7.44-7.37 (m, 2H, ArH), 5.43 (d, 1H,  $J = 5.0 \text{ Hz}$ , OH), 5.37 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 9.2 \text{ Hz}$ , H-1'), 5.18 (d, 1H,  $J = 4.2 \text{ Hz}$ , OH), 5.08 (d, 1H,  $J = 5.4 \text{ Hz}$ , OH), 4.58 (t, 1H,  $J = 5.8 \text{ Hz}$ , OH), 3.71 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'} = 5.3 \text{ Hz}$ ,  $J_{6a'-6b'} = 10.8 \text{ Hz}$ , 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,  $\text{DMSO-}d_6$ )

$\delta$  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.

### **1-(2',3',4',6'-Τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(3-χλωροφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (**36ζ**)**

Το παράγωγο **36ζ** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **2a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **36a** από την ένωση **2a**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **36ζ** (50 mg, 75%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.14$  (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5).

$[\alpha]_D^{22} = -38^\circ$  (c=0.40, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  308 nm ( $\epsilon$  16050)

ESI-MS (m/z): 577.09 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>11</sub>) C, H, N, Cl

Υπολ. (%)      C : 54.13      H : 4.37      N : 4.86      Cl: 6.15

Ευρ. (%)      C : 54.23      H : 4.18      N : 4.65      Cl: 6.37

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

$\delta$  8.47 (br s, 1H, NH), 7.67 (s, 1H, H-6), 7.53-7.27 (m, 4H, ArH), 5.87 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 9.4$  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,  $J_{5'-6a'} = 5.2$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 4.15 (d, 1H,  $J_{5'-6b'} = 1.7$  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>)

$\delta$  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.

### 1-(β-D-Γλυκοκυρανοζυλο)-5-[(3-χλωροφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (38ζ)

Το παράγωγο **38ζ** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **36ζ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **38α** από την ένωση **36α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **38ζ** (33 mg, 67%) με λευκή αφρώδη υφή. R<sub>f</sub> = 0.10 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

$[\alpha]_D^{22} = -8^\circ$  (c=0.20, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  308 nm ( $\epsilon$  14106)

ESI-MS (m/z): 409.10 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N, Cl

Υπολ. (%)      C : 52.89      H : 4.19      N : 6.85      Cl: 8.67

Ευρ. (%)      C : 52.73      H : 4.38      N : 6.95      Cl: 8.50

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

δ 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*<sub>1'-2'</sub> = 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*<sub>5'-6a'</sub> = 5.2 Hz, *J*<sub>6a'-6b'</sub> = 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').

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

δ 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.

**1-(2',3',4',6'-Τετρακis-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(4-βρωμοφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (36στ)**

Το παράγωγο **36στ** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **2α** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **36α** από την ένωση **2α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **36στ** (87 mg, 78%) με λευκή αφρώδη υφή. *R*<sub>f</sub> = 0.19 (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5).

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = - 18° (c=0.40, χλωροφόρμιο)

λ<sub>max</sub> 308 nm (ε 18050)

ESI-MS (m/z): 621.08 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>11</sub>) C, H, N, Br

Υπολ. (%)      C : 50.25      H : 4.06      N : 4.51      Br : 12.86

Ευρ. (%)      C : 50.13      H : 4.18      N : 4.65      Br : 12.67

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

$\delta$  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).

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

$\delta$  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.

**1-( $\beta$ -D-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(4-βρωμοφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (38στ)**

Το παράγωγο **38στ** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **36στ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **38α** από την ένωση **36α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **38στ** (33 mg, 96%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.13$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c=0.20, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  310 nm ( $\epsilon$  22494)

ESI-MS (m/z): 453.03 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) C, H, N, Br

Υπολ. (%)	C : 47.70	H : 3.78	N : 6.18	Br : 17.63
-----------	-----------	----------	----------	------------

Ευρ. (%)	C : 47.57	H : 3.88	N : 6.45	Br : 17.38
----------	-----------	----------	----------	------------

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

$\delta$  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.

**1-(2',3',4',6'-Τετρακίς-*O*-ακετυλο- $\beta$ -*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(4-μεθυλοφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (36η)**

Το παράγωγο **36η** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **2α** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **36α** από την ένωση **2α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **36η** (75 mg, 78%) με κίτρινη αφρώδη υφή. Rf = 0.15 (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5).

$[\alpha]_D^{22} = -16^\circ$  (c=0.28, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  311 nm ( $\epsilon$  18521)

ESI-MS (m/z): 557.16 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>27</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 58.27      H : 5.07      N : 5.03

Ευρ. (%)      C : 58.57      H : 5.17      N : 4.87

$^1\text{H}$ -NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  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<sub>3</sub>), 2.11, 2.06, 2.02, 2.01 (4s, 12H, 4OAc).

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

$\delta$  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.

**1-( $\beta$ -D-Γλυκοκυρανοζυλο)-5-[(4-μεθυλοφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (38η)**

Το παράγωγο **38η** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **36η** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **38α** από την ένωση **36α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **38η** (35 mg, 75%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.47$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2).

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c=0.25, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  309 nm ( $\epsilon$  21742)

ESI-MS (m/z): 389.12 ( $\text{M}+\text{H}^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_7$ ) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 58.76	H : 5.19	N : 7.21
-----------	-----------	----------	----------

Ευρ. (%)	C : 58.63	H : 5.32	N : 7.09
----------	-----------	----------	----------

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

$\delta$  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,  $\text{CH}_3$ ).

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

$\delta$  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.

**1-(2',3',4',6'-Τετρακis-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(2,5-διμεθυλοφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (360)**

Το παράγωγο **360** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **2a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **36a** από την ένωση **2a**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **360** (80 mg, 78%) με κίτρινη αφρώδη υφή.  $R_f = 0.24$  (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5).

$[\alpha]_D^{22} = -22^\circ$  (c=0.4, χλωροφόρμιο)

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

ESI-MS (m/z): 571.19 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>28</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 58.94        H : 5.30        N : 4.91

Ευρ. (%)            C : 58.77        H : 5.42        N : 4.60

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

$\delta$  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<sub>3</sub>), 2.11, 2.06, 2.03, 2.02 (4s, 12H, 4OAc).

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

$\delta$  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.

**1-(β-*D*-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(2,5-διμεθυλοφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (380)**

Το παράγωγο **380** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **360** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **38a**

από την ένωση **36a**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **380** (30 mg, 62%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.16$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2).

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

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

ESI-MS (m/z): 403.15 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{20}H_{22}N_2O_7$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 59.70            H : 5.51            N : 6.96

Ευρ. (%)            C : 59.63            H : 5.32            N : 7.12

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

$\delta$  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  $\text{CH}_3$ ).

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

$\delta$  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.

**1-(2',3',4',6'-Τετρακίς-*O*-ακετυλο- $\beta$ -D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(2,4,5-τριμεθυλοφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (36i)**

Το παράγωγο **36i** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **2a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **36a** από την ένωση **2a**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **36i** (80 mg, 78%) με κίτρινη αφρώδη υφή.  $R_f = 0.19$  (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5).

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



$\lambda_{\max}$  320 nm ( $\epsilon$  13770)

ESI-MS (m/z): 585.19 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{29}H_{32}N_2O_{11}$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 59.58            H : 5.52            N : 4.79

Ευρ. (%)            C : 59.77            H : 5.22            N : 4.85

$^1H$ -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.

### 1-( $\beta$ -D-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(2,4,5-τριμεθυλοφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (**38i**)

Το παράγωγο **38i** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **36i** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **38a** από την ένωση **36a**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **38i** (30 mg, 62%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.16$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2).

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

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

ESI-MS (m/z): 417.15 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{21}H_{24}N_2O_7$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 60.57      H : 5.81      N : 6.73

Ευρ. (%)      C : 60.63      H : 5.62      N : 6.68

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

δ 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<sub>3</sub>).

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

δ 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.

**1-(2',3',4',6'-Τετρακis-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(3,4,5-τριμεθοξυφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (36κ)**

Το παράγωγο **36κ** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **2α** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **36α** από την ένωση **2α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **36κ** (82 mg, 72%) με λευκή αφρώδη υφή. R<sub>f</sub> = 0.18 (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5).

$[\alpha]_D^{22} = -12^\circ$  (c=0.2, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  319 nm (ε 15873)

ESI-MS (m/z): 633.19 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>29</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>14</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 55.06      H : 5.10      N : 4.43

Ευρ. (%)      C : 55.27      H : 5.22      N : 4.12

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

δ 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<sub>3</sub>), 2.11, 2.06, 2.02 (3s, 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, 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-(β-D-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(3,4,5-τριμεθοξυφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (38κ)

Το παράγωγο **38κ** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **36κ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **38α** από την ένωση **36α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **38κ** (30 mg, 62%) με λευκή αφρώδη υφή. R<sub>f</sub> = 0.16 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2).

$[\alpha]_D^{22} = -8^\circ$  (c=0.40, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  319 nm (ε 12200)

ESI-MS (m/z): 465.11 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 54.31	H : 5.21	N : 6.03
-----------	-----------	----------	----------

Ευρ. (%)	C : 54.63	H : 5.42	N : 6.38
----------	-----------	----------	----------

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

δ 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, 3x OCH<sub>3</sub>), 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').

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

δ 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.

**1-(2',3',4',6'-Τετρακis-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(4-μεθοξυφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (36λ)**

Το παράγωγο **36λ** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **2α** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **36α** από την ένωση **2α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **36λ** (80 mg, 78%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.17$  (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5).

$$[\alpha]_D^{22} = -8^\circ \quad (c=0.4, \text{χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 320 \text{ nm } (\epsilon 19720)$$

ESI-MS (m/z): 573.17 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{27}H_{28}N_2O_{12}$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 56.64        H : 4.93        N : 4.89

Ευρ. (%)            C : 56.55        H : 4.87        N : 4.92

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

$\delta$  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,  $\text{OCH}_3$ ), 2.11, 2.06, 2.02, 2.01 (4s, 12H, 4OAc).

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

$\delta$  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.

**1-(β-*D*-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(4-μεθοξυφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (38λ)**

Το παράγωγο **38λ** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **36λ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **38α**

από την ένωση **36a**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **38λ** (42 mg, 83%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.07$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

$$[\alpha]_D^{22} = -6^\circ \quad (c=0.40, \text{μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 314 \text{ nm } (\epsilon 16898)$$

ESI-MS (m/z): 405.11 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{19}H_{20}N_2O_8$ ) C, H, N

Υπολ. (%)            C : 56.43            H : 4.99            N : 6.93

Ευρ. (%)            C : 56.63            H : 5.12            N : 6.78

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

$\delta$  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,  $J_{1'-2'} = 9.2$  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,  $\text{OCH}_3$ ), 3.70 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'} = 5.4$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 10.8$  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').

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

$\delta$  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.

**1-(2',3',4',6'-Τετρακis-*O*-ακετυλο- $\beta$ -*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(4-μεθοξυ-2-μεθυλοφαινυλο)αιθυνο]ουρακίλη (36μ)**

Το παράγωγο **36μ** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **2a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **36a** από την ένωση **2a**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **36μ** (100 mg, 94%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.14$  (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5).

$[\alpha]_D^{22} = -54^\circ$  (c=0.4, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  325 nm ( $\epsilon$  13330)

ESI-MS (m/z): 587.17 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>28</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>12</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 57.34      H : 5.16      N : 4.78

Ευρ. (%)      C : 57.55      H : 5.33      N : 4.92

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

$\delta$  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<sub>3</sub>), 2.49 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.11, 2.06, 2.02, 2.01 (4s, 12H, 4OAc).

<sup>13</sup>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.

**1-( $\beta$ -D-Γλυκοκυρανοζυλο)-5-[(4-μεθοξυ-2-μεθυλοφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη  
(38μ)**

Το παράγωγο **38μ** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **36μ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **38α** από την ένωση **36α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **38μ** (35 mg, 75%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.12$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1).

$[\alpha]_D^{22} = -4^\circ$  (c=0.28, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  316 nm ( $\epsilon$  22563)

ESI-MS (m/z): 419.12 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{20}H_{22}N_2O_8$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 57.41      H : 5.30      N : 6.70

Ευρ. (%)      C : 57.63      H : 5.12      N : 6.78

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $DMSO-d_6$ )

$\delta$  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,  $J_{1'-2'} = 9.2$  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,  $OCH_3$ ), 3.71 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'} = 4.3$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 11.0$  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,  $CH_3$ ).

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

$\delta$  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.

**1-(2',3',4',6'-Τετρακis-*O*-ακετυλο- $\beta$ -D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(6-μεθοξynaφθαλενιο)αιθυνο]ουρακίλη (37)**

Το παράγωγο **37** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **2a** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **36a** από την ένωση **2a**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **37** (67 mg, 61%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.37$  (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 5:5).

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

$\lambda_{max}$  322 nm ( $\epsilon$  18553)

ESI-MS (m/z): 623.17 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{31}H_{30}N_2O_{12}$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 59.81      H : 4.86      N : 4.50

Ευρ. (%)      C : 59.67      H : 4.63      N : 4.72

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

δ 8.18 (br s, 1H, NH), 8.00 (s, 1H, H-6), 7.73-7.10 (m, 6H, naphthalene), 5.88 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 9.4$  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,  $J_{5'-6a'} = 5.1$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  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>)

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-Γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(6-μεθοξynaφθαλενιο)αιθινυλο]ουρακίλη (39)**

Το παράγωγο **39** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **37** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **38a** από την ένωση **36a**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **39** (38 mg, 67%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.17$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8:2).

$[\alpha]_D^{22} = -4^\circ$  (c=0.20, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  322 nm (ε 20173)

ESI-MS (m/z): 455.12 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 60.79      H : 4.88      N : 6.16

Ευρ. (%)      C : 60.63      H : 4.62      N : 6.38



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

δ 8.11 (s, 1H, H-6), 7.96-7.14 (m, 6H, naphthalene), 5.60 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 9.1$  Hz, H-1'), 3.92 (s, 3H, OCH<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>)

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.

### III.5 Σύνθεση των C8-υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτών της αδενίνης και της γουανίνης

#### III.5.1 Σύνθεση των C8-υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτών της αδενίνης 42ε, 43α-δ

##### 9-(2',3',4',6'-Τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοπυρανοζύλο)-*N*<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (40)

Σε διάλυμα *N*<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνης (797 mg, 3.33 mmol) σε άνυδρο CH<sub>3</sub>CN (14 mL) προστίθεται HMDS (871 μL, 4.13 mmol) και σακχαρίνη (27 mg, 0.15 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα με επαναρροή για 1 ώρα υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η 1,2,3,4,6-πεντακίς-*O*-ακετυλο-*D*-γλυκοπυρανόζη (**1**) (1 g, 2.56 mmol) και SnCl<sub>4</sub> (419 μL, 3.58 mmol) και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 2 επιπλέον ώρες με κάθετο ψυκτήρα με επαναρροή στους 90 °C. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), το μίγμα ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου, εξουδετερώνεται με κορεσμένο διάλυμα NaHCO<sub>3</sub> και εκχυλίζεται με EtOAc. Η οργανική φάση ξηραίνεται με άνυδρο Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 7:3, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **40** (814 mg, 56%) ως λευκό στερεό. Σημείο Τήξεως 169-171 °C. R<sub>f</sub> = 0.47 (οξικός αιθυλεστέρας).

$[\alpha]_D^{22} = -6^\circ$  (c=0.2, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  280 nm (ε 20557)

ESI-MS (m/z): 570.16(M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>26</sub>H<sub>27</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub>) C, H, N

Υπολ. (%) C : 54.83 H : 4.78 N : 12.30

Ευρ. (%) C : 55.16 H : 4.66 N : 12.53

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

δ 8.83 (s, 1H, H-2), 8.22 (s, 1H, H-8), 8.04-7.51 (m, 5H, Bz), 5.98 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 5.65 (t, 1H,  $J = 9.3$  Hz, H-3'), 5.50 (t, 1H,  $J = 9.4$  Hz, H-2'), 5.32 (t, 1H,  $J = 9.7$  Hz, H-4'), 4.34 (dd, 1H,  $J_{5',6a'} = 4.1$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 12.8$  Hz, H-6a'), 4.24-4.14 (m, 1H, H-6b'), 4.11-4.02 (m, 1H, H-5'), 2.08, 2.07, 2.04, 1.79 (4s, 12H, 4OAc).

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

δ 170.4, 169.8, 169.3, 169.0, 164.5, 152.0, 151.9, 149.5, 140.9, 133.1, 133.0, 128.9, 128.1, 122.2, 80.6, 75.2, 72.7, 70.3, 67.7, 61.5, 20.6, 20.5, 20.4, 20.1.

**9-(2',3',4',6'-Τετρακis-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-8-βρωμο-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (41)**

Σε ένα υπό ανάδευση διάλυμα του προϊόντος (**40**) (250 mg, 0.44 mmol) σε AcOH (1.6 mL) και NaOAc (172 mg, 2.1 mmol) προστίθεται Br<sub>2</sub> (75μL, 1.45 mmol). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 14 ώρες μέχρι το πέρας της αντίδρασης (TLC). Στη συνέχεια η αντίδραση αραιώνεται με οξικό αιθυλεστέρα και εκχυλίζεται με Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Η οργανική φάση ξηραίνεται με άνυδρο 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 7:3, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **41** (171 mg, 60%). R<sub>f</sub> = 0.45 (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 7:3).

$[\alpha]_D^{22} = -3^\circ$  (c=0.2, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  282 nm (ε 21223)

ESI-MS (m/z): 648.08 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>26</sub>H<sub>26</sub>BrN<sub>5</sub>O<sub>10</sub>) C, H, N, Br

Υπολ. (%) C : 48.16 H : 4.04 N : 10.80 Br : 12.32

Ευρ. (%) C : 48.44 H : 4.15 N : 10.99 Br : 12.11

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

δ 8.82 (s, 1H, H-2), 8.04-7.49 (m, 5H, Bz), 6.21 (t, 1H, *J* = 9.6 Hz, H-2'), 5.96 (d, 1H, *J*<sub>1',2'</sub> = 9.6 Hz, H-1'), 5.47 (t, 1H, *J* = 9.4 Hz, H-3'), 5.35 (t, 1H, *J* = 9.9 Hz, H-4'), 4.26-4.25 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 4.06-3.96 (m, 1H, H-5'), 2.09, 2.07, 2.04, 1.79 (4s, 12H, 4OAc).

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

δ 170.5, 170.0, 169.9, 169.3, 164.7, 153.3, 152.9, 149.2, 133.3, 131.0, 128.9, 128.6, 128.2, 122.3, 78.2, 72.9, 68.8, 67.6, 67.5, 61.5, 20.7, 20.6, 20.5, 20.2.

**9-(2',3',4',6'-Τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοκυρανοζύλο)-8-επτυνυλο-*N*<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (42a)**

Η σύνθεση του **42a** επιτεύχθηκε με τη μέθοδο των μικροκυμάτων ως εξής: σε γυάλινο φιαλίδιο των 10 ml διαλύονται (240 mg, 0.37 mmol) από την 9-(2',3',4',6'-τετρα-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοκυρανοζύλο)-8-βρωμο-*N*<sup>6</sup>-βενζοϋλο αδενίνη (**41**) σε 1 ml άνυδρο *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF), προσθέτοντας 1.1 mmol του κατάλληλου αλκυνίου, (43 mg, 0.037 mmol) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, (7 mg, 0.037 mmol) CuI, και (103 μl, 0.74 mmol) Et<sub>3</sub>N και στη συνέχεια ακτινοβολούνται με μικροκύματα σε 200 Watt, για 10 λεπτά στους 120 °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 οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 6:4, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **42a** (139 mg, 56%) με άχρωμη αφρώδη υφή. R<sub>f</sub> = 0.10 (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 6:4)

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -4 (c=0.4, χλωροφόρμιο)

λ<sub>max</sub> 303 nm (ε 22594)

ESI-MS (m/z): 664.26 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>33</sub>H<sub>37</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub>) C, H, N

Υπολ. (%) C : 59.72 H : 5.62 N : 10.55

Ευρ. (%) C : 59.96 H : 5.94 N : 10.65

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

δ 8.99 (br s, 1H, NH), 8.85 (s, 1H, H-2), 8.03-7.41 (m, 5H, Bz), 6.28 (t, 1H,  $J = 9.4$  Hz, H-2'), 5.95 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.2$  Hz, H-1'), 5.46 (t, 1H,  $J = 9.3$  Hz, H-3'), 5.35 (t, 1H,  $J = 9.3$  Hz, H-4'), 4.28-4.19 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 4.04-3.87 (m, 1H, H-5'), 2.62 (t, 2H,  $J = 7.1$  Hz,  $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 2.09, 2.08, 2.05, 1.78 (4s, 12H, 4OAc), 1.56-1.35 (m, 6H, 3 x CH<sub>2</sub>), 0.96 (t, 3H,  $J = 7.2$  Hz, CH<sub>3</sub>).

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

δ 170.8, 170.5, 170.0, 169.8, 165.0, 153.5, 152.2, 151.3, 148.8, 134.9, 133.0, 129.2, 127.9, 119.9, 97.7, 94.5, 82.9, 70.8, 70.1, 67.5, 67.2, 63.7, 31.5, 31.2, 29.6, 22.3, 21.5, 21.3, 21.0, 20.9, 15.2.

**9-(β-D- Γλυκοκυρανοζυλο)-8-επτυνυλοαδενίνη (43a)**

Διάλυμα της ένωσης **42a** (332.1 mg, 0.5 mmol) σε μεθανολική αμμωνία (κορεσμένη στους 0°C, 27.9 mL) αναδεύεται για 12 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, και ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9.5:0.5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **43a** (117 mg, 60%) με λευκή αφρώδη υφή. R<sub>f</sub> = 0.17 (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 8:2)

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c=0.2, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  292 nm (ε 19971)

ESI-MS (m/z): 392.20 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>18</sub>H<sub>25</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>) C, H, N

Υπολ. (%) C : 55.23 H : 6.44 N : 17.89

Ευρ. (%) C : 54.90 H : 6.73 N : 17.72

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

δ 8.15 (s, 1H, H-2), 7.24 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.43 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.5$  Hz, H-1'), 5.16, 5.09, 5.00 (3br s, 3H, 3OH), 4.60-4.45 (m, 2H, OH, H-2'), 3.81-3.34 (m, 5H, H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b'), 1.78-1.76 (m, 2H, β-CH<sub>2</sub>), 1.63 (t, 2H,  $J = 7.2$  Hz, α-CH<sub>2</sub>), 1.51-1.30 (m, 4H, 2 x CH<sub>2</sub>), 0.93 (t, 3H,  $J = 7.2$  Hz, CH<sub>3</sub>).

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

δ 156.8, 152.7, 150.1, 148.3, 119.9, 96.2, 93.9, 83.2, 78.8, 73.6, 70.5, 66.7, 65.4, 30.9, 29.2, 22.3, 19.0, 14.5.

**9-(2',3',4',6'-Τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-8-[(φαινυλο)αιθυνυλο]-*N*<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (42β)**

Το παράγωγο **42β** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **41** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **42α** από την ένωση **41**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9.8:0.2, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **42β** (161 mg, 66%) με άχρωμη αφρώδη υφή.  $R_f = 0.33$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9.8:0.2).

$[\alpha]_D^{22} = -6^\circ$  (c=0.4, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  300 nm (ε 29706)

ESI-MS (m/z): 670.18 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>34</sub>H<sub>31</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 60.98      H : 4.67      N : 10.46

Ευρ. (%)      C : 61.23      H : 4.28      N : 10.80

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

δ 8.95 (br s, 1H, NH), 8.87 (s, 1H, H-2), 8.01-7.45 (m, 10H, Bz and Ph), 6.31 (t, 1H,  $J = 9.3$  Hz, H-2'), 6.10 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 5.49 (t, 1H,  $J = 9.2$  Hz, H-3'), 5.35 (t, 1H,  $J = 9.5$  Hz, H-4'), 4.31-4.22 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 4.08-3.98 (m, 1H, H-5'), 2.09, 2.05, 1.90, 1.77 (4s, 12H, 4OAc).

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

$\delta$  170.6, 170.3, 169.9, 169.7, 165.3, 153.1, 152.4, 150.5, 148.5, 134.5, 133.8, 133.5, 129.9, 129.5, 129.0, 128.3, 123.6, 119.3, 102.6, 98.7, 87.3, 83.6, 70.5, 67.9, 67.5, 63.5, 21.5, 21.3, 20.9, 20.5.

**9-( $\beta$ -D- Γλυκοκυρανοζυλο)-8-[(φαινυλο)αιθυνο]αδενίνη (43β)**

Το παράγωγο **43β** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **42β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **43α** από την ένωση **42α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9.5:0.5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **43β** (143 mg, 72%) με λευκή αφρώδη υφή. R<sub>f</sub> = 0.30 (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 9:1).

$[\alpha]_D^{22} = -6^\circ$  (c=0.1, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  313 nm ( $\epsilon$  14209)

ESI-MS (m/z): 398.15 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 57.43      H : 4.82      N : 17.62

Ευρ. (%)      C : 57.81      H : 4.51      N : 17.90

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

$\delta$  8.19 (s, 1H, H-2), 7.66 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.61-7.47 (m, 5H, Ph), 5.55 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.2$  Hz, H-1'), 5.40 (d, 1H,  $J = 5.3$  Hz, OH), 5.34 (d, 1H,  $J = 4.1$  Hz, OH), 5.21 (d, 1H,  $J = 5.1$  Hz, OH), 4.70 (t, 1H,  $J = 4.4$  Hz, OH), 4.54-4.40 (m, 1H, H-2'), 3.81-3.39 (m, 5H, H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b').

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

$\delta$  156.3, 152.6, 150.0, 148.1, 132.7, 128.9, 128.7, 123.0, 119.7, 101.9, 96.3, 86.8, 83.3, 78.1, 73.4, 70.8, 65.8.

**9-(2',3',4',6'-Τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-8-[(4-μεθυλοφαινυλο)αιθυνο]αδενίνη (42γ)**

Το παράγωγο **42γ** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **41** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **42α** από την ένωση **41**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 8:2, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **42γ** (157 mg, 61%) με άχρωμη αφρώδη υφή.  $R_f = 0.37$  (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 8:2).

$[\alpha]_D^{22} = -10^\circ$  (c=0.3, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  325 nm ( $\epsilon$  27336)

ESI-MS (m/z): 684.22 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>35</sub>H<sub>33</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 61.49      H : 4.87      N : 10.24

Ευρ. (%)      C : 61.84      H : 4.52      N : 10.02

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

$\delta$  8.98 (br s, 1H, NH), 8.86 (s, 1H, H-2), 8.02-7.29 (m, 9H, Bz and ArH), 6.31 (t, 1H,  $J = 9.4$  Hz, H-2'), 6.08 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.3$  Hz, H-1'), 5.48 (t, 1H,  $J = 9.4$  Hz, H-3'), 5.37 (t, 1H,  $J = 9.7$  Hz, H-4'), 4.29-4.22 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 4.07-3.98 (m, 1H, H-5'), 2.43 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.09, 2.05, 1.91, 1.77 (4s, 12H, 4OAc).

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

$\delta$  170.3, 170.1, 169.7, 169.3, 165.1, 153.2, 152.3, 150.7, 148.7, 139.5, 135.8, 133.7, 133.4, 129.6, 129.2, 128.8, 120.3, 120.1, 102.4, 98.3, 87.6, 83.5, 70.7, 67.5, 67.1, 63.7, 22.5, 21.7, 21.5, 21.0, 20.2.

**9-(β-*D*- Γλυκοπυρανοζυλο)-8-[(4-μεθυλοφαινυλο)αιθυνο]αδενίνη (43γ)**

Το παράγωγο **43γ** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **42γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **43α** από την ένωση **42α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας /

μεθανόλη 9.5:0.5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **43γ** (140 mg, 67%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.21$  (οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 8:2).

$$[\alpha]_D^{22} = -4^\circ \quad (c=0.1, \text{μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 316 \text{ nm } (\epsilon 12871)$$

ESI-MS (m/z): 412.17 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{20}H_{21}N_5O_5$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 58.39      H : 5.14      N : 17.02

Ευρ. (%)      C : 58.72      H : 5.45      N : 17.27

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

$\delta$  8.18 (s, 1H, H-2), 7.55 (d, 2H,  $J = 8.1$  Hz, ArH), 7.37 (br s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.32 (d, 2H,  $J = 8.0$  Hz, ArH), 5.55 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.3$  Hz, H-1'), 5.25 (d, 1H,  $J = 4.1$  Hz, OH), 5.15, 5.04 (2br s, 2H, 2OH), 4.58-4.47 (m, 2H, OH, H-2'), 3.81-3.34 (m, 5H, H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b'), 2.38 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

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

$\delta$  156.4, 152.1, 150.4, 148.5, 138.5, 132.5, 129.0, 122.3, 120.2, 101.8, 96.0, 86.9, 83.0, 78.9, 73.5, 70.7, 65.6, 24.6.

**9-(2',3',4',6'-Τετρακis-*O*-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-8-(πυριδιν-3-υλ-αιθυνο) -*N*<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (42δ)**

Το παράγωγο **42δ** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **41** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **42α** από την ένωση **41**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 6:4, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **42δ** (141 mg, 58%) με άχρωμη αφρώδη υφή.  $R_f = 0.23$  (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 6:4).

$$[\alpha]_D^{22} = -12^\circ \quad (c=0.2, \text{χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 320 \text{ nm } (\epsilon 16156)$$



ESI-MS (m/z): 671.21 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>33</sub>H<sub>30</sub>N<sub>6</sub>O<sub>10</sub>) C, H, N

Υπολ. (%) C : 59.10 H : 4.51 N : 12.53

Ευρ. (%) C : 59.42 H : 4.76 N : 12.22

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

δ 8.99 (br s, 1H, NH), 8.87 (s, 1H, H-2), 8.72-7.39 (m, 9H, Bz and pyridine), 6.26 (t, 1H, *J* = 9.5 Hz, H-2'), 6.11 (d, 1H, *J*<sub>1',2'</sub> = 9.3 Hz, H-1'), 5.48 (t, 1H, *J* = 9.3 Hz, H-3'), 5.35 (t, 1H, *J* = 9.7 Hz, H-4'), 4.32 (dd, 1H, *J*<sub>5',6a'</sub> = 4.7 Hz, *J*<sub>6a',6b'</sub> = 12.5 Hz, H-6a'), 4.21 (dd, 1H, *J*<sub>5',6b'</sub> = 2.0 Hz, *J*<sub>6a',6b'</sub> = 12.5 Hz, H-6b'), 4.09-4.00 (m, 1H, H-5'), 2.09, 2.05, 1.94, 1.78 (4s, 12H, 4OAc).

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

δ 170.4, 170.0, 169.6, 169.2, 165.4, 153.0, 152.7, 151.6, 150.7, 150.5, 148.8, 140.5, 135.4, 133.6, 129.5, 128.2, 124.6, 120.5, 117.1, 98.7, 95.6, 83.3, 75.7, 70.5, 67.5, 67.2, 63.5, 21.3, 21.0, 20.9, 20.7.

#### **9-(β-D-Γλυκοκυρανοζυλο)-8-(πυριδιν-3-υλ-αιθυνοϋλο)αδεονίνη (43δ)**

Το παράγωγο **43δ** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **42δ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **43α** από την ένωση **42α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **43δ** (139 mg, 70%) με λευκή αφρώδη υφή. *R<sub>f</sub>* = 0.16 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 7:3).

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = +2° (c=0.2, μεθανόλη)

λ<sub>max</sub> 306 nm (ε 7353)

ESI-MS (m/z): 399.15 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>) C, H, N

Υπολ. (%) C : 54.27 H : 4.55 N : 21.10

Ευρ. (%) C : 54.62 H : 4.74 N : 21.38

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

δ 8.89-8.68 (m, 2H, pyridine), 8.21 (s, 1H, H-2), 8.10-7.52 (m, 2H, pyridine), 7.44 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.58 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.3$  Hz, H-1'), 5.28, 5.07, 4.56 (3 br s, 3H, 3OH), 4.45 (t, 1H,  $J = 8.1$  Hz, OH), 3.81-3.40 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b').

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

δ 156.9, 152.5, 152.3, 150.5, 149.8, 148.5, 139.9, 123.8, 119.8, 116.8, 96.0, 95.7, 83.1, 78.7, 74.1, 73.9, 70.2, 65.2.

**9-(2',3',4',6'-Τετρακis-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-8-(πυριδιν-2-υλ-αιθυνυλο) -*N*<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (42ε)**

Το παράγωγο **42ε** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **41** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **42α** από την ένωση **41**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 7:3, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **42ε** (127 mg, 50%) με άχρωμη αφρώδη υφή.  $R_f = 0.21$  (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 7:3).

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c=0.1, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  315 nm (ε 22103)

ESI-MS (m/z): 671.20 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>33</sub>H<sub>30</sub>N<sub>6</sub>O<sub>10</sub>) C, H, N

Υπολ. (%) C : 59.10 H : 4.51 N : 12.53

Ευρ. (%) C : 59.40 H : 4.73 N : 12.34

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

δ 8.80 (br s, 2H, NH, H-2), 8.07-7.35 (m, 9H, Bz and pyridine), 6.31 (t, 1H,  $J = 9.4$  Hz, H-2'), 6.12 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.3$  Hz, H-1'), 5.71 (t, 1H,  $J = 9.5$  Hz, H-3'), 5.48 (t,

$^1\text{H}$ ,  $J = 9.5$  Hz, H-4'), 4.29-4.25 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 4.10-4.02 (m, 1H, H-5'), 2.09, 2.03, 1.92, 1.75 (4s, 12H, 4OAc).

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

$\delta$  170.6, 170.3, 169.7, 169.5, 164.3, 153.2, 152.8, 151.5, 149.9, 148.3, 145.2, 139.5, 134.6, 132.7, 128.6, 127.8, 127.6, 123.7, 119.7, 95.7, 92.5, 84.8, 82.7, 72.8, 69.5, 68.3, 65.7, 21.0, 20.7, 20.6, 20.5.

### III.5.2 Σύνθεση των C8-υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτών της γουανίνης 47α,β

#### 7-(2',3',4',6'-Τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-*N*<sup>2</sup>-ακετυλογουανίνη (44)

Σε διάλυμα *N*<sup>2</sup>-ακετυλογουανίνης (692 mg, 3.58 mmol) σε άνυδρο  $\text{CH}_3\text{CN}$  (14 mL) προστίθεται HMDS (937  $\mu\text{L}$ , 4.44 mmol) και TMSCl (301  $\mu\text{L}$ , 1.43 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα με επαναροή για 3 ώρες στους 120°C υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η 1,2,3,4,6-πεντακίς-*O*-ακετυλο-*D*-γλυκοπυρανόζη (**1**) (1 g, 2.56 mmol) με τον τραχλωριούχο κασίτερο ( $\text{SnCl}_4$ ) (1.8 mL, 15.36 mmol) και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 12 επιπλέον ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), το μίγμα εξουδετερώνεται με κορεσμένο διάλυμα  $\text{NaHCO}_3$  και εκχυλίζεται με EtOAc. Η οργανική φάση ξηραίνεται με άνυδρο  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **44** (201 mg, 15%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.15$  (οξικός αιθυλεστέρας).

$[\alpha]_D^{22} = +14^\circ$  (c=0.3, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\text{max}}$  264 nm ( $\epsilon$  12147)

ESI-MS (m/z): 524.10(M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_{11}$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 48.19      H : 4.81      N : 13.38

Ευρ. (%) C : 48.36 H : 4.66 N : 13.53

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

δ 10.63 (br s, 1H, NH), 8.24 (s, 1H, H-8), 6.18 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 5.68 (t, 1H,  $J = 9.5$  Hz, H-3'), 5.46 (t, 1H,  $J = 9.4$  Hz, H-2'), 5.28 (t, 1H,  $J = 9.6$  Hz, H-4'), 4.29 (dd, 1H,  $J_{5',6a'} = 4.7$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 12.6$  Hz, H-6a'), 4.23 (dd, 1H,  $J_{5',6b'} = 2.0$  Hz, H-6b'), 4.08-4.02 (m, 1H, H-5'), 2.41, 2.07, 2.02, 1.86 (4s, 15H, 5OAc).

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

δ 173.0, 170.4, 169.8, 169.3, 169.1, 156.3, 152.6, 148.4, 141.7, 111.8, 82.9, 75.1, 73.0, 70.8, 68.0, 61.7, 24.6, 20.6, 20.4, 20.2.

**7-(2',3',4',6'-Τετρακίς-*O*-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-8-(βρωμο)-*N*<sup>2</sup>-ακετυλογουανίνη (45)**

Σε ένα υπό ανάδευση διάλυμα του προϊόντος (**44**) (200 mg, 0.38 mmol) σε άνυδρο CHCl<sub>3</sub> (1.5 mL) προστίθεται NBA (146 mg, 1.06 mmol). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα για 3.5 ώρες στους 65°C υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC), η αντίδραση αραιώνεται με οξικό αιθυλεστέρα και εκχυλίζεται με Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Η οργανική φάση ξηραίνεται με άνυδρο 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 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **45** (72 mg, 32%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.18$  (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 9:1).

$[\alpha]_D^{22} = +8^\circ$  (c=0.4, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  287 nm (ε 13782)

ESI-MS (m/z): 602.09(M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>BrN<sub>5</sub>O<sub>11</sub>) C, H, N, Br

Υπολ. (%) C : 41.87 H : 4.02 N : 11.63 Br : 13.27

Ευρ. (%) C : 41.66 H : 4.36 N : 11.53 Br : 13.42

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

$\delta$  12.31 (br s, 1H, NH), 10.15 (br s, 1H, NH), 6.22 (t, 1H,  $J = 9.0$  Hz, H-3') 5.65 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 5.46 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.37-4.32 (m, 1H, H-6a'), 4.15 (dd, 1H,  $J_{5',6b'} = 4.4$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 12.5$  Hz, H-6b'), 3.99-3.95 (m, 1H, H-5'), 2.36, 2.09, 2.07, 2.03, 1.88 (5s, 15H, 5OAc).

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

$\delta$  173.1, 172.4, 171.8, 171.3, 171.1, 166.3, 160.0, 148.2, 126.7, 114.2, 92.9, 83.1, 70.0, 67.8, 68.0, 62.7, 23.2, 20.6, 20.4, 20.2, 20.0.

**7-(2',3',4',6'-Τετρακίς-*O*-ακετυλο- $\beta$ -*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-8-[(φαινυλο)αιθυνυλο]-*N*<sup>2</sup>-ακετυλογουανίνη (46a)**

Η σύνθεση του **46a** επιτεύχθηκε με τη μέθοδο των μικροκυμάτων ως εξής: σε γυάλινο φιαλίδιο των 10 ml διαλύονται (100 mg, 0.17 mmol) από την 7-(2',3',4',6'-τετρα-*O*-ακετυλο- $\beta$ -*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-8-βρωμο-*N*<sup>2</sup>-ακετυλο γουανίνη (**45**) σε 1.4 ml άνυδρο *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF), προστίθενται 0.34 mmol από το κατάλληλο αλκύνιο, (20 mg, 0.017 mmol) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, (13 mg, 0.068 mmol) CuI, και (71  $\mu$ l, 0.51 mmol) Et<sub>3</sub>N και στη συνέχεια ακτινοβολούνται με μικροκύματα σε 200 Watt, για 5 λεπτά στους 80 °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 οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 6:4, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **46a** (59 mg, 56%) με κίτρινη αφρώδη υφή. R<sub>f</sub> = 0.22 (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο / μεθανόλη 7:2.8:0.2)

$[\alpha]_D^{22} = -12^\circ$  (c=0.3, χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  325 nm ( $\epsilon$  20553)

ESI-MS (m/z): 624.20 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>29</sub>H<sub>29</sub>N<sub>5</sub>O<sub>11</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 55.86      H : 4.69      N : 11.23

Ευρ. (%) C : 55.96 H : 4.84 N : 11.55

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

δ 10.75 (br s, 1H, NH), 7.71-7.45 (m, 5H, Ph), 6.19 (t, 1H,  $J = 9.4$  Hz, H-3'), 5.86 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.7$  Hz, H-1'), 5.52-5.41 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.38-4.15 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 4.06-3.96 (m, 1H, H-5'), 2.41, 2.09, 2.07, 2.04, 1.86 (5s, 15H, 5OAc).

**7-(β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-8-[(φαινυλο)αιθυνο]γουανίνη (47α)**

Διάλυμα της ένωσης **46α** (312.1 mg, 0.5 mmol) σε μεθανολική αμμωνία (κορεσμένη στους 0°C, 34.9 mL) αναδεύεται για 12 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, και ακολουθεί καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **47α** (186 mg, 90%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.28$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1)

$[\alpha]_D^{22} = +2^\circ$  (c=0.2, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  332 nm (ε 13825)

ESI-MS (m/z): 414.11 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>) C, H, N

Υπολ. (%) C : 55.20 H : 4.63 N : 16.94

Ευρ. (%) C : 55.44 H : 4.73 N : 16.72

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

δ 7.68-7.41 (m, 5H, Ph), 5.67 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.7$  Hz, H-1'), 4.50 (t, 1H,  $J = 8.9$  Hz, H-3') 3.96-3.52 (m, 5H, H-2', H-4', H-5', H-6a', H-6b').

**7-(2',3',4',6'-Τετρακis-O-ακετυλο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-8-[(4-μεθυλοφαινυλο)αιθυνο]-N<sup>2</sup>-ακετυλογουανίνη (46β)**

Το παράγωγο **46β** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **45** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **46α** από την ένωση **45**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό

πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο 6:4, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **46β** (61 mg, 56%) με κίτρινη αφρώδη υφή.  $R_f = 0.18$  (οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο / μεθανόλη 7:2.8:0.2).

$$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ \quad (c=0.2, \text{χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 325 \text{ nm } (\epsilon 18439)$$

ESI-MS (m/z): 638.19 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{30}H_{31}N_5O_{11}$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 56.51      H : 4.90      N : 10.98

Ευρ. (%)      C : 56.44      H : 4.73      N : 10.72

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

$\delta$  10.95 (br s, 1H, NH), 7.69-7.45 (m, 4H, ArH), 6.17 (t, 1H,  $J = 8.2$  Hz, H-3'), 5.85 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.5$  Hz, H-1'), 5.49-5.41 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.37-4.13 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 4.05-3.95 (m, 1H, H-5'), 2.41, 2.08, 2.07, 2.03, 1.86 (5s, 15H, 5OAc).

#### **7-(β-D-Γλυκοπυρανοζυλο)-8-[(4-μεθυλοφαινυλο)αιθυνο]γουανίνη (47β)**

Το παράγωγο **47β** συντίθεται από τον νουκλεοζίτη **46β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **47α** από την ένωση **46α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9:1, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **47β** (188 mg, 88%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.21$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 7:3).

$$[\alpha]_D^{22} = +8^\circ \quad (c=0.4, \text{μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 333 \text{ nm } (\epsilon 17901)$$

ESI-MS (m/z): 428.14 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $C_{20}H_{21}N_5O_6$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 56.20      H : 4.95      N : 16.39

Ευρ. (%) C : 56.34 H : 4.83 N : 16.52

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

δ 7.92-7.37 (m, 4H, ArH), 6.71-6.39 (m, 2H, 2OH), 5.81-5.21 (m, 4H, H-1', H-3', 2OH), 4.98-3.82 (m, 5H, H-2', H-4', H-5', H-6a', H-6b').

### III.6 Σύνθεση των C5-υποκατεστημένων νουκλεοβάσεων της ουρακίλης και της C8-υποκατεστημένης νουκλεοβάσης της αδενίνης

#### III.6.1 Σύνθεση των C5-υποκατεστημένων νουκλεοβάσεων της ουρακίλης 49α,β

##### 5-[(Φαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (49α)

Η σύνθεση του **49α** επιτεύχθηκε με τη μέθοδο των μικροκυμάτων ως εξής: σε γυάλινο φιαλίδιο των 10 ml διαλύονται (50 mg, 0.21 mmol) από την 5-ιωδο-ουρακίλη (**48**) σε 1 ml άνυδρο *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF), προστίθενται (0.6 mmol) από το κατάλληλο αλκύνιο, (23 mg, 0.02 mmol) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, (11 mg, 0.06 mmol) CuI, και (55 μl, 0.4 mmol) Et<sub>3</sub>N και στη συνέχεια ακτινοβολούνται με μικροκύματα σε 200 Watt, για 15 λεπτά στους 40 °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 διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9.5:0.5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **49α** (32 mg, 73%) με κίτρινη αφρώδη υφή. R<sub>f</sub> = 0.33 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9.5:0.5)

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -2° (c=0.2, μεθανόλη)

λ<sub>max</sub> 303 nm (ε 3896)

ESI-MS (m/z): 213.05 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) C, H, N

Υπολ. (%) C : 67.92 H : 3.80 N : 13.20

Ευρ. (%) C : 67.59 H : 3.63 N : 13.32

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

δ 11.32 (br s, 1H, NH), 7.85 (s, 1H, H-6), 7.56-7.38 (m, 5H, Ph).



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

$\delta$  161.5, 151.3, 143.0, 133.0, 129.1, 129.0, 123.0, 101.5, 91.0, 87.2.

**5-[(4-Μεθυλοφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη (49β)**

Το παράγωγο **49β** συντίθεται από την ετεροκυκλική βάση **48** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **49α** από την ένωση **48**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9.5:0.5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **49β** (34 mg, 71%) με λευκή αφρώδη υφή.  $R_f = 0.32$  (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9.5:0.5).

$[\alpha]_D^{22} = +2^\circ$  (c=0.2, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  306 nm ( $\epsilon$  2425)

ESI-MS (m/z): 227.08 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση: ( $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$ ) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 69.02      H : 4.46      N : 12.38

Ευρ. (%)      C : 69.32      H : 4.74      N : 12.55

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

$\delta$  11.32 (br s, 1H, NH), 7.82 (s, 1H, H-6), 7.34 (d, 2H,  $J = 8.00\text{Hz}$ , ArH), 7.20 (d, 2H,  $J = 8.00\text{Hz}$ , ArH), 2.32 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

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

$\delta$  162.0, 151.5, 143.2, 139.2, 133.1, 129.4, 120.2, 101.3, 91.2, 87.3, 21.7.

**III.6.2 Σύνθεση της C8-υποκατεστημένης νουκλεοβάσης της αδενίνης 51****8-[(Φαινυλο)αιθυνυλο]αδενίνη (51)**

Η σύνθεση του **51** επιτεύχθηκε με τη μέθοδο των μικροκυμάτων ως εξής: σε γυάλινο φιαλίδιο των 10 ml διαλύονται (43 mg, 0.2 mmol) από την 8-βρωμο-αδενίνη (**50**) σε 1 ml άνυδρο  $N,N$ -διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF), προστίθενται (66  $\mu\text{L}$ , 0.6 mmol) από το τελικό ακραίο αλκύνιο, (23 mg, 0.02 mmol)  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ , (11 mg, 0.06

mmol) CuI, και (55  $\mu$ l, 0.4 mmol) Et<sub>3</sub>N και στη συνέχεια ακτινοβολούνται με μικροκύματα σε 200 Watt, για 6 λεπτά στους 60 °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 διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 9.5:0.5, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **51** (19 mg, 40%) με κίτρινη αφρώδη υφή. R<sub>f</sub> = 0.13 (διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 8.5:1.5)

$[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c=0.2, μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  308 nm ( $\epsilon$  9701)

ESI-MS (m/z): 236.08 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>N<sub>5</sub>) C, H, N

Υπολ. (%)      C : 66.37      H : 3.86      N : 29.77

Ευρ. (%)      C : 66.59      H : 4.01      N : 29.40

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

$\delta$  13.38 (br s, 1H, NH), 8.15 (s, 1H, H-2), 7.65-7.49 (m, 5H, Ph), 7.27 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>).

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

$\delta$  156.8, 154.2, 152.6, 148.1, 132.7, 129.1, 129.0, 123.0, 119.8, 101.8, 67.1.

#### IV. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα τελευταία χρόνια πλήθος ερευνητικών προγραμμάτων εστιάζεται στην σύνθεση και μελέτη νέων αντιϊκών, αντικαρκινικών και αντιδιαβητικών παραγόντων, οι οποίοι διαθέτουν αυξημένη δραστικότητα, μειωμένη τοξικότητα, βελτιωμένο θεραπευτικό δείκτη και το σημαντικότερο όλων, ευρύ φάσμα δράσης. Στην παρούσα διδακτορική διατριβή παρουσιάστηκαν οι έρευνες, οι οποίες σχετίζονται με τη σύνθεση και τη βιολογική αποτίμηση 87 νέων πυρανονουκλεοζιτικών ενώσεων που φέρουν τροποποιημένες ετεροκυκλικές βάσεις. Όλα τα μόρια-στόχοι ταυτοποιήθηκαν φασματοσκοπικά με φάσματα υπεριώδους, πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού άνθρακα και υδρογόνου, φασματοσκοπία μάζας, καθώς και στοιχειακές αναλύσεις.

Συγκεκριμένα, επιτεύχθηκε η σύνθεση και η βιολογική αποτίμηση: α) έντεκα νέων C5-υποκατεστημένων γλυκοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της ουρακίλης ως αναστολείς της φωσφορυλάσης του γλυκογόνου και β) εβδομήντα έξι πυριμιδινικών και πουρινικών πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων ως πιθανοί αντικαρκινικοί και αντιϊκοί παράγοντες.

Ως προς την φωσφορυλάση του γλυκογόνου, οι νέες ενώσεις αναστέλλουν το ένζυμο, ανταγωνιστικά ως προς το υπόστρωμα (1-φωσφορική γλυκόζη). Οι ενώσεις που εμφάνισαν υψηλές σταθερές αναστολής ήταν το 5-χλώρο παράγωγο **3γ** ( $K_i = 1.02 \pm 0.15 \mu\text{M}$ ), το 5-ιώδο παράγωγο **3α** ( $K_i = 1.94 \pm 0.09 \mu\text{M}$ ), το 5-βρώμο παράγωγο **3δ** ( $K_i = 3.27 \pm 0.44 \mu\text{M}$ ) και το ακόρεστο αλκύνυλο παράγωγο **21α** της ουρακίλης ( $K_i = 4.7 \pm 0.4 \mu\text{M}$ ) αντίστοιχα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός ότι το ανάλογο της 5-χλωρουρακίλης **3γ** αποτελεί τον έκτο καλύτερο αναστολέα παγκοσμίως. Από τις βιολογικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στους νέους C5-αλογονομένους πυρανονουκλεοζίτες **3α-δ** της ουρακίλης και στους C5-αλκύνυλο υποκατεστημένους πυρανονουκλεοζίτες της ουρακίλης **15α**, **16α** και **21α-23α** προκύπτει το συμπέρασμα ότι οι υποκαταστάτες με ιδιαίτερα μεγάλο μήκος ή μέγεθος παρεμποδίζουν την πρόσβαση στο καταλυτικό κέντρο με αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται και η αναστολή της βιολογικής δραστικότητας του ενζύμου.

Όλα τα υπόλοιπα νέα πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα (**6α-ε**, **8α-ε**, **11α-ε**, **14α-ε**, **15α,ζ-19α,ζ**, **21α,ζ**, **22α**, **23α**, **25-35**, **36α-μ**, **37**, **38α-μ**, **39**, **42ε**, **43α-δ**, **47α,β**, **49α,β**, **51**) 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). Συγκεκριμένα, από τα ανάλογα της 6-μερκαπτοπυρίνης και 6-θειογουανίνης, δυο νουκλεοζίτες της θειογουανίνης, που φέρουν ως υδατανθρακικό δακτύλιο τη γαλακτόζη **8β** (IC<sub>50</sub> 14-21 μM) και τη μαννόζη **8δ** (IC<sub>50</sub> 22-37 μM), εμφάνισαν μια μέτρια ανασταλτική δράση έναντι των παραπάνω καρκινικών κυτταρικών σειρών. Ενώ, ο νουκλεοζίτης της γαλακτόζης **8β** είχε παρόμοια ανασταλτική δράση και στις τρεις καρκινικές κυτταρικές σειρές.

Από τους C5-αλκύνυλο πυρανονουκλεοζίτες της ουρακίλης και της κυτοσίνης η 1-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-φαινυλοαιθυνυλοουρακίλη (**17α**) είχε εξαιρετική ανασταλτική δράση έναντι των κυττάρων λευχαιμίας ποντικού (L1210), του ανθρώπινου λεμφώματος (CEM) καθώς και των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του τραχήλου της μήτρας (HeLa) (IC<sub>50</sub> 5.2-6.2 μM).

Προκειμένου να διερευνηθεί περαιτέρω η σχέση δομής-βιολογικής δράσης της ένωσης **17α** αποφασίσαμε να συνθέσουμε τους νέους C5-φαίνυλο-υποκατεστημένους πυρανονουκλεοζίτες της ουρακίλης που θα φέρουν στον αρωματικό δακτύλιο διάφορους δότες και δέκτες ηλεκτρονίων όπως αλογόνα (F, Cl, Br), μέθυλο ομάδες (CH<sub>3</sub>), μέθοξυ ομάδες (OCH<sub>3</sub>) στη θέση (*ortho*, *meta*, *para*) του αρωματικού δακτυλίου, καθώς επίσης και πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι τα ακετυλιωμένα ανάλογα φάνηκαν να έχουν καλύτερη αντικαρκινική δράση σε σύγκριση με τα αποπροστατευμένα ανάλογά τους. Συγκεκριμένα, οι νέες ενώσεις **36α** (2-φθόρο), **36ε** (2-χλώρο), **36θ** (2,5-διμέθυλο) και **36ι** (2,4,5-τριμέθυλο) εμφάνισαν μια μέτρια ανασταλτική δράση έναντι των κυττάρων λευχαιμίας ποντικού (L1210), του ανθρώπινου λεμφώματος (CEM) καθώς και των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του τραχήλου της μήτρας (HeLa) της τάξεως των 18-42 μM ωστόσο, δεν υπάρχει σημαντική βελτίωση της ανασταλτικής δράσης τους σε σύγκριση με εκείνη της ένωσης **17α** (IC<sub>50</sub> 5.2-6.2 μM).

Από τα C8-τροποποιημένα πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα της αδερίνης και της γουανίνης καμία ένωση δεν επέφερε αξιόλογη ανασταλτική δράση έναντι των καρκινικών κυτταρικών σειρών L1210, CEM και HeLa εκτός από τον προστατευμένο νουκλεοζίτη **42ε** της αδερίνης (IC<sub>50</sub> 1.2-3.0 μM) που εμφάνισε

παρόμοια ανασταλτική δράση με αυτήν της 5-φθοροουρακίλης ( $IC_{50}$  0.33-18.0  $\mu M$ ). Μάλιστα, έναντι των καρκινικών κυττάρων του ανθρώπινου λεμφώματος (CEM) εμφανίστηκε κατά 15 φορές ισχυρότερος ( $IC_{50}$   $1.2 \pm 0.2 \mu M$ ) από την 5-φθοροουρακίλη ( $IC_{50}$   $18 \pm 5 \mu M$ ).

Προκειμένου να εξαχθούν χρήσιμα συμπεράσματα για τη σχέση δομής-βιολογικής δραστηριότητας των τροποποιημένων C5-πυριμιδικών και C8-πουρινικών νουκλεοζιτικών αναλόγων αποφασίσαμε να συνθέσουμε τις τροποποιημένες C5-ουρακίλες και την C8-αδενίνη για να συγκρίνουμε την ανασταλτική τους δράση. Από την βιολογική μελέτη των ενώσεων αποδείχθηκε ότι η ένωση C8-φαινυλοαιθυνυλο-αδενίνη (**51**) εμφάνισε παρόμοια ανασταλτική δράση ( $IC_{50}$  4.2-10.0  $\mu M$ ) με αυτήν της 5-φθοροουρακίλης ( $IC_{50}$  0.33-18.0  $\mu M$ ) έναντι των κυττάρων λευχαιμίας ποντικού (L1210), του ανθρώπινου λεμφώματος (CEM) καθώς και των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του τραχήλου της μήτρας (HeLa) σε αντίθεση με την 9-( $\beta$ -D-γλυκοπυρανοζυλο)-8-[(φαινυλο)αιθυνυλο]αδενίνη (**43β**) ( $IC_{50}$  >250  $\mu M$ ) που δεν εμφάνισε καμία ανασταλτική δράση στους συγκεκριμένους καρκινικούς τύπους κυττάρων. Στην περίπτωση της ουρακίλης βλέπουμε να συμβαίνει το αντίθετο, μειώνεται η ανασταλτική δράση της 8-φαινυλοαιθυνυλο-ουρακίλης (**49α**) ( $IC_{50}$  71-129  $\mu M$ ) σε σχέση με την αξιοσημείωτη ανασταλτική δράση του νουκλεοζίτη 1-( $\beta$ -D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-φαινυλοαιθυνυλοουρακίλη (**17α**) ( $IC_{50}$  5.2-6.2  $\mu M$ ). Από τα παραπάνω αποτελέσματα προκύπτει το συμπέρασμα ότι όλα τα νέα πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα είναι σταθερά και δεν υδρολύονται.

Οι νέες ενώσεις (**6α-ε**, **8α-ε**, **11α-ε**, **14α-ε**, **15α,ζ**, **19α,ζ**, **21α,ζ**, **22α**, **23α**, **25-35**, **42ε**, **43α-δ**, **47α,β**, **49α,β**, **51**) μελετήθηκαν ως προς τις αντιϊκές τους ιδιότητες έναντι διαφόρων DNA και RNA ιών, χωρίς όμως να παρουσιάσουν κάποια ενδιαφέροντα δράση.

Οι συνθετικές πορείες που ακολουθήθηκαν ήταν απλές και περιελάμβαναν μικρό αριθμό σταδίων. Για την τροποποίηση των C5-πυριμιδικών και C8-πουρινικών αναλόγων χρησιμοποιήθηκε η διασταυρούμενη σύζευξη καταλυόμενη από παλλάδιο (Sonogashira) με καλές αποδόσεις. Όλα τα πειράματα διεξήχθησαν με την συμβατική μέθοδο αλλά και με την βοήθεια των μικροκυμάτων. Η χρήση μικροκυμάτων, αποτελεί “πράσινη” τεχνική και υπερέχει σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο αντιδράσεων υπό θέρμανση, στα εξής βασικά σημεία: α) προσφέρει

ομοιόμορφη θέρμανση σε όλο το μίγμα της αντίδρασης, β) αυξάνει σημαντικά την ταχύτητα της αντίδρασης, γ) ελαττώνει τον σχηματισμό παραπροϊόντων και δ) παρέχει αυξημένες αποδόσεις.

## V. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Acton, E.M.; Goerner, R.N.; Uh, H.S.; Ryan, K.J.; Henry, D.W.; Cass, C.E.; LePage, G.A. *J. Med. Chem.* **1979**, 22, 518-525.
- Agelis, G.; Tzioumaki, N.; Tselios, T.; Botić, T.; Cencić, A.; Komiotis, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, 43, 1366-1375.
- Agrofoglio, L.A.; Gillaizeau, I.; Saito, Y. *Chem. Rev.* **2003**, 103, 1875-1916.
- Ahn, Y. J.; Park, S. J.; Lee, S. G.; Shin, S. C.; Choi D. H. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, 48, 2744.
- Antonakis, K. "Hexopyranose nucleosides". In *Studies in Natural Products Chemistry, Stereoselective Synthesis (Part C)*; Elsevier, Amsterdam, **1989**, 4, p. 241.
- Baker, B.R. 1957. Stereochemistry of Nucleoside Synthesis. In *ciba foundation symposium on the chemistry and biology of purines*, ed, G.E.W.Wohlstenholme, C.M. O'Connor, Churchill, London, **1957**, pp.120-129.
- Balatsos, N. A. A.; Vlachakis, D.; Maragozidis, P.; Manta, S.; Anastasakis, D.; Kyritsis, A.; Vlassi, M.; Komiotis, D.; Stathopoulos, C. *Biochemistry* **2009**, 48, 6044-6051.
- Balatsos, N.; Vlachakis, D.; Chatzigeorgiou, V.; Manta, S.; Komiotis, D.; Vlassi, M.; Stathopoulos C. *Biochimie* **2012**, 94, 214-221.
- 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, 735-743.
- Barba, P.; Sampol, A.; Calbacho, M.; Gonzalez, J.; Serrano, J.; Martinez-Sanchez, P.; Fernández, P.; García-Boyer, R.; Bueno, J.; Ribera, J.M. *Am J Hematol.*, **2012**, 87, 631-634.
- Benlifa, M.; Hayes, J. M.; Vidal, S.; Gueyrard, D.; Goekjian, P. G.; Praly, J.-P.; Kizilis, G.; Tiraidis, C.; Alexacou, K. M.; Chrysina, E. D.; Zographos, S. E.; Leonidas, D. D.; Archontis, G.; Oikonomakos, N. G. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, 17, 7368.
- Béres, J.; Sági, G.; Bentrude, W. G.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Otvos, L. *J. Med. Chem.* **1986**, 29, 1243-1249.
- Bhat, U. G.; Pandit, B.; Gartel, A. L. *Mol Cancer Ther.* **2010**, 9, 1688-1696.

- Blackburn, G. M.; Gait, M. J. "Nucleic Acids in Chemistry and Biology", Oxford University Press, New York, **1996**.
- Blackburn, G. M.; Gait, M. J. Nucleic Acids in Chemistry and Biology. Oxford University Press: New York, **1990**; p 446.
- Bloomfield, V. A.; Crothers, D. M.; Tinoco, I. "Nucleic Acids: Structure, Properties and Functions", University Science Books, Sausalito, California, **1999**.
- Bourdais, J.; Biondi, R.; Sarfati, S.; Guerreiro, C.; Lascu, I.; Janin, J.; Veron, M. *J Biol Chem.* **1996**, 271, 7887–7890.
- Bozó, E.; Boros, S.; Kuszmann, J.; Gács-Baitz, E.; Párkányi, L. *Carbohydr. Res.* **1998**, 308, 297-310.
- Brulikova, L.; Hlavac, J. *Beilstein J Org Chem.* **2011**, 7, 678-698.
- Burns, C. J. *Curr. Med. Chem.- Anti-Infective Agents*, **2005**, 4, 4.
- Camerman, N.; Trotter, J. *Science* **1964**, 144, 1348-1350.
- Cano-Soldado, P.; Pastor-Anglada, M. *Med. Res. Rev.* **2012**, 32, 428–457 .
- Chong, Y.; Choo, H.; Lee, S.; Choi, Y.; Mathew, J.; Shcinazi, R. F.; Chu, C. K. *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 4888.
- Costenaro, E. R.; Fontoura, L. A. M.; Oliveira D. F.; Correia. C. R. D. *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 1599-1602.
- Damaraju, V. L.; Damaraju, S.; Young, J. D.; Baldwin, S. A.; Mackey, J.; Sawyer M.B.; Cass, C.E.. *Oncogene* **2003**, 22, 7524–7536.
- Davoll, J.; Lowy, B. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, 73, 1650-1655.
- Davoll, J.; Lythgoe, B.; Todd, A. R. *J. Chem. Soc.* **1948**, 967-969.
- De Clercq E. *Curr Opin Microbiol.* **2005**, 8, 552–560.
- De Clercq E. *J Clin Virol.* **2004**, 30:115-133.
- De Clercq, E. *Nat Rev Drug Discov* **2002**, 1, 13–25.
- De Clercq, E.; Descamps, J.; Balzarini, J.; Giziewicz, J.; Barr, P. J.; Robins, M. J. *J. Med. Chem.* **1983**, 26, 661-666.
- Dekker, C. A.; Goodman, L.; The Carbohydrates; Academic Press; New York, **1970**, Vol. 2A, Page 1.
- Dong, S.; Paquette, L.A. *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 1580-1596.
- Dryer, G. B.; Dervan, P. B. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1981**, 78, 6633-6637.



- Efangea, S.M.N.; Cheng, Y.-C.; Bardos, T. J. *Nucleos. Nucleot*, **1985**, *4*, 545-564.
- Elion G.B., *Science*. **1989**, *244*, 41-47.
- Ewald B.; Sampath D.; Plunkett W. *Oncogene*, **2008**, *27*, 6522-6537.
- Elion, G.B.; Hitchings, G.H.; Vanderwerff, H. *J Biol Chem*. **1951**, *192*, 505–18.
- Escuret, V.; Aucagne, V.; Joubert, N.; Durantel, D.; Rapp, L.K.; Schinazi, F.R.; Zoulim, F.; Agrofoglio, L.A. *Bioorg. Med. Chem*. **2005**, *13*, 6015-6024.
- Firth, G.A.; Fairlamb, J.S.I.; Darley, K.; Baumann, C. *Tetrahedron Lett*, **2006**, *47*, 3529-3533.
- Fischer, E.; Helferich, B. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1914**, *47*, 210.
- Fotoohi, K.A.; Coulthard, A.S.; Albertioni, F. *Biochem. Pharmacol*. **2010**, *79*, 1211-1220.
- Froehler, B. C.; Wadwani, S.; Terhorst, T. J.; Gerrard, S. R. *Tetrahedron Lett*. **1992**, *33*, 5307.
- Gaballah, S. T.; Netzel, T. L. *Nucleos. Nucleot Nucl*, **2002**, *21*, 681.
- Garner, P.; Ramakanth, S. *J. Org. Chem*. **1988**, *53*, 1294-1298.
- Gedye, R.; Smith, F.; Westway, K.; Ali, H.; Laberge, L.; Rousell, J. *Tetrahedron Lett*. **1986**, *27*, 279-282.
- Giguere, R. G.; Bray, T. L.; Duncan, S. M.; Majetich, G. *Tetrahedron Lett*. **1986**, *27*, 4945-4948.
- Gimisis, T. *Mini Rev Med Chem.*, **2010**, *10*, 1127-1138.
- Goodman, L.; Basic Principles in Nucleic Acid Chemistry; Academic Press; New York, **1974**, Vol. 1, Page 93.
- Goodwin, J. T.; Glick, G. D. *Tetrahedron Lett*. **1993**, *34*, 5549-5552.
- Haeckel, R.; Weberl, K.; Germann, C.; Haberkornz, U.; Zeislerl, S.; Eisenbarth, J.; Wiessle, M.; Oberdorferl, F. *John Wiley & Sons, Ltd*. **1996**.
- Haouz, A.; Vanheusden, V.; Munier-Lechman, H.; Froeyen, M.; Herdewijn, P.; Van Galenbergh, S.; Delarue, M. *J. Biol. Chem*. **2003**, *278*, 4963.
- Hartmann, H.; Probst, I.; Jungermann, K.; Creutzfeldt, W. *Diabetes*. **1987**, *36*, 551-555.
- Hatse, S.; De Clercq, E.; Balzarini, J. *Biochem Pharmacol*. **1999**, *58*, 539-555.

- Heidelberger, C.; Chaudhuri, N.K.; Danneberg, P.; Mooren, D.; Griesbach, L.; Duschinsky, R.; Schnitzer, R.J.; Plevin, E.; Scheiner, J. *Nature*. **1957**, *179*, 663–666.
- Heidelberger, C.; Danenberg, P.V.; Moran, R.G. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol*. **1983**, *54*, 58–119.
- Herdewijn, P. (2008). *Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Herdewijn, P.; Van Aerschot, A.; Kerremans, L. *Nucleos. Nucleot*, **1989**, *8*, 65.
- Hers, H.G. *Annu Rev Biochem*. **1976**, *45*, 167-189.
- Hilbert, G. E.; Johnson, T. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1930**, *52*, 4489-4494.
- Ho, G.T.; Lees, C.; Satsangi, J. *Inflamm. Bowel. Dis*. **2004**, *10*, 148-158.
- Holmes, E.R.; Robins, K.R. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 1242-1245.
- Hughes, A.N.; Munkombe, M.N. *Carbohydr. Res*. **1985**, *136*, 397-409.
- Huston, R. C.; Swartout, H. A.; Wardwell, G. K. *J. Am. Chem. Soc.*, **1930**, *52*, 4484–4489.
- Jäger, S.; Rasched, G.; Kornreich-Leshem, H.; Engeser, M.; Thum, O.; Famulok, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15071–15082.
- Jarrahpour, A.; Alvand, P. *Iran J Sci Tech Trans a-Sci*, **2007**, *31*, 17.
- Johansson, N. G.; Eriksson, S. *Acta Biochim Pol.*, **1996**, *43*, 143-160.
- Johnson, T. B.; Hilbert, G. E. *Science* **1929**, *69*, 579.
- Jordheim, L. P.; Durantel, D.; Zoulim, F.; Dumontet, C. *Nat Rev Drug Discov*. **2013**, *12*, 447-464.
- Karran, P. *Br. Med. Bull.* **2006**, *79-80*, 153-170.
- Kazimierczuk, Z.; Cottam, H. B.; Revankar, G. R.; Robins, R. K. *J. Am. Chem. Soc.*, 1984, *106*, 6379-6382.
- Khan, A.R, Mulligan, K.X, Ollapally, A.P. *Nucleos. Nucleot. Nucl*, **2001**, *20*, 759-62.
- King, A.E.; Ackley, M.A.; Cass, C.E.; Young, J.D.; Baldwin, S.A.; *Trends Pharmacol. Sci*. **2006**, *27*, 416–425.
- Kiritsis, C.; Manta, S.; Parmenopoulou, V.; Dimopoulou, A.; Kollatos, N.; Papasotiriou, I.; Balzarini, J.; Komiotis, D. *Carbohydr. Res*. **2012**, *364*, 8-14.
- Leven, P. A.; Jacobs, W. A. *Ber*. **1909**, *42*, 2474.

- Lewin, B. *Genes* **2003**, *VIII*, 6.
- Lui, V. W.; Lau, C.P.; Cheung, C.S.; Ho, K.; Ng, M.H.; Cheng, S.H.; Hong, B.; Tsao, S.W.; Tsang, C.M.; Lei, K.I.; Yamasaki, Y.; Mita, A.; Chan, A.T. *Biochem Pharmacol.* **2010**, *79*, 1772-1780.
- 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.
- Mackey, J.R.; Yao, S.Y.; Smith, K. M.; Karpinski, E.; Baldwin, S. A.; Cass, C. E.; Young, J. D. *J Natl Cancer Instit.*, **1999**, *91*, 1876–81.
- Mamos, P.; Van Aerschot, A. A.; Weyns, N. J.; Herdewijn, P. A. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 2413.
- Manta, S.; Kiritsis, C.; Dimopoulou, A.; Parmenopoulou, V.; Kollatos, N.; Tsotinis, A.; Komiotis, D. *Anti-Infective Agents*, **2014**, *12*, 2-57.
- Manta, S.; Xipnitou, A.; Kiritsis, A.; Kantsadi, A. L.; Hayes, J. M.; Skamnaki, V. T.; Lamprakis, C.; Kontou, M.; Zoumpoulakis, P.; Zographos, S. E.; Leonidas, D. D.; Komiotis, D. *Chem. Biol. Drug Des.* **2012**, *79*, 663-73.
- Martin, J.L.; Veluraja, K.; Johnson, L.N.; Fleet, G.W.J.; Ramsden, N.G.; Bruce, I.; Oikonomakos, N.G.; Papageorgiou, A.C.; Leonidas, D.D.; Tsitoura, H.S. *Biochemistry*. **1991**, *30*, 10101-10116.
- Martínez-Montero, S.; Fernández, S.; Sanghvi, Y.S.; Theodorakis, E.A.; Detorio, M.A.; McBrayer, T.R.; Whitaker, T.; Schinazi, R.F.; Gotor, V.; Ferrero, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 6885-6893.
- Mata, J.F.; Garcia-Manteiga, J. M.; Lostao, M. P.; Fernandez-Veledo, S.; Guillén-Gómez, E.; Larrayoz, I. M.; Lloberas, J.; Casado, F. J.; Pastor-Anglada, M. *Mol Pharmacol* **2001**, *59*, 1542–8.
- 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*, 696-700.
- Meneni, S.; Ott, I.; Sergeant, C. D.; Sniady, A.; Gust, R.; Dembinski, R. *Med Chem.* **2007**, *15*, 3082-3088.

- Michelson, A. M.; The Chemistry of Nucleosides and Nucleotides; Academic Press; London, **1963**, chapter 2.
- Mignon, P.; Loverix, S.; De Proft, F.; Geerlings, P. *J. Phys. Chem. A*, **2004**, *108*, 6038-6044.
- Mignon, P.; Loverix, S.; Geerlings, P. *Chemical Physics Letters*, **2005**, *401*, 40–46.
- Minuesa, G.; Huber-Ruano, I.; Pastor-Anglada, M.; Koepsell, H.; Clotet, B.; Martinez-Picado, J. *Pharmacol. Ther.* **2011**, *132*, 268–279.
- Mitsuya, H.; Broder, S. *Nature*. **1987**, *325*, 773-778.
- Monod, J.; Wyman, J.; Changeux, J.P. *J Mol Biol.* **1965**, *12*, 88-118.
- Nair, V.; Buenger, G. S. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 3695-3697.
- 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.
- Neilson, T.; Werstiuk, E. S. *Can. J. Chem.* **1971**, *49*, 493-499.
- NiedbaLla, U.; Vorbrüggen, H. *Angew Chem Int Ed Engl.* **1970**, *9*, 461-462.
- Oikonomakos, N.G. *Curr Protein Pept Sci.* **2002**, *3*, 561-86.
- 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.
- Pankiewicz, K.W. *Carbohydr. Res.* **2000**, *327*, 87.
- Parker, W.B.; Chen, Y.C. *Pharmacol Ther.* **1990**, *48*, 381–385.
- Patil, S. D.; Ngo, L.Y.; Glue, P.; Unadkat, J. D. *Pharm Res* **1998**, *15*, 950–952.
- Pejanović, V.; Stokić, Z.; Stojanović, B.; Piperski, V.; Popsavin, M.; Popsavin, V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 1849–1852.
- Perigaud, C.; Gosselin, G.; Imbach, J. L. *Nucleos.Nucleot.* **1992**, *11*, 903.
- Petricci, E.; Radi, M.; Corelli, F.; Botta, M. *Tetrahedron Lett*, **2003**, *44*, 9181-9184.
- Pinedo, H.M.; Peters, G.F. *J Clin Oncol.* **1988**, *6*, 1653-64.
- Plattner, J.J.; Gless, R.D.; Rapoport, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 8613-8615.

- Relling, M.V.; Hancock, M.L.; Boyett, J.M.; Pui, C.H.; Evans, W.E. *Blood*. **1999**, *93*, 2817-2823.
- 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.
- Saenger, W. "Principles of Nucleic Acid Chemistry", Springer-Verlag, New York, **1984**.
- Sági, J.; Szemző, A.; Ébinger, K.; Szabolcs, A.; Sági, G.; Ruff, E.; Ötvös, L. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 2191.
- Sampath, D.; Rao, V.A.; Plunkett, W. *Oncogene*. **2003**, *22*, 9063–9074.
- Saneyoshi, M.; Nishimura, S.; Okabe, M.; Fukuoka, F. *J. Pharmacobiodyn.* **1980**, *3*, 105-110.
- Sarma, H.R.; Lee, Che-H.; Evans, E.F.; Yathindra, N.; Sundaralingam, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 7337-7348.
- Schneider, B.; Xu, Y.W.; Sellam, O.; Sarfati, R.; Janin, J.; Veron, M.; Deville-Bonne, D. *J Biol Chem.* **1998**, *273*, 11491–11497.
- Schwarz, S.; Csukb, R.; Rauter, A.P. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 2446-2456.
- Siev, M.; Weinberg, R.; Penman, S. *J. Cell Biol.* **1969**, *41*, 510.
- Somsak, L. *C. R. Chim.* **2011**, *14*, 211.
- Somsak, L.; Czifrak, K.; Toth, M.; Bokor, E.; Chrysina, E. D.; Alexacou, K. M.; Hayes, J. M.; Tiraidis, C.; Lazoura, E.; Leonidas, D. D.; Zographos, S. E.; Oikonomakos, N. G. *Curr. Med. Chem.* **2008**, *15*, 2933.
- Sonogashira, K.; Tohda, Y.; Hagihara, N. *Tetrahedron Lett.*, **1975**, *16*, 4467.
- Stalmans, W.; De Wulf, H.; Hue, L.; Hers, H.G. *Eur J Biochem.* **1974**, *41*, 127-134.
- Szafraniec S. I.; Stacknic K. J.; Skierski J. S. *Acta Pol Pharm. Drug.* **2004**, *61*, 223-232.
- Takatori, S.; Kanda, H.; Takenaka, K.; Wataya, Y.; Matsuda, A.; Fukushima, M.; Shimamoto, Y.; Tanaka, M.; Sasaki, T. *Cancer Chemother Pharmacol.* **1999**, *44*, 97–104.
- Treadway, J. L.; Mendys, P.; Hoover, D. J. *Expert Opin Invest Drugs.* **2001**, *10*, 439.

- Tsirkone, V. G.; Tsoukala, E.; Lamprakis, C.; Manta, S.; Hayes, J. M.; Skamnaki, V. T.; Drakou, C.; Zographos, S. E.; Komiotis, D.; Leonidas, D. D. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 3413-3425.
- Tsuchiya, T. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1990**, *48*, 91.
- Tzioumaki, N.; Tsoukala, E.; Manta, S.; Agelis, G.; Balzarini, J.; Komiotis, D. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2009**, *342*, 353-360.
- Van Rompay, A R.; Johansson, M.; Karlsson, A. *Pharmacol Ther.* **2000**, *87*, 189-198.
- Vastmans, K.; Froeyen, M.; Kerremans, L.; Pochet, S.; Herdewijn, P. *Nucleic Acids Res.* **2001**, *29*, 3154.
- 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*, 2033-2040.
- 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*, 826-835.
- Vincent, P.; Beaucourt, J. P.; Pichat, L.; Balzarini, J.; De Clercq, E. *Nucleos Nucleot*, **1985**, *4*, 429-445.
- Vivet-Boudou, V.; Isel, C.; Sleiman, M.; Smyth, R.; Ben Gaied, N.; Barhoum, P.; Laumond, G.; Bec, G.; Götte, M.; Mak, J.; Aubertin, A.N.; Burger, A.; Marquet, A. *PLoS ONE* **2011**, *6*:11. e27456.
- Volpini, R.; Costanzi, S.; Lambertucci, C.; Vittori, S.; Klotz, K.; Lorenzen, A.; Cristalli G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1931-1934.
- Vorbrüggen, H.; Höfle, G. *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 1256-1268.
- Vorbrüggen, H.; Kroliekiewicz, K.; Bennua, B.U.; *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 1234-1255
- Vorbrüggen, H.; Bennua, B. *Chem. Ber. Recl.* **1981**, *114*, 1279.
- Wagner, C. R.; Iyer, V. V.; McIntee, E. J. *Med. Res. Rev.* **2000**, *20*, 417-451.
- Walker, R. T.; Comprehensive Organic Chemistry; Pergamon Press; Oxford, **1979**, Vol. 5, Page 53-104.
- Walko, C.M.; McLeod, H. *Nat. Clin. Pract. Oncol.* **2009**, *6*, 153-162 .

- 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**, 233–4.
- Witkowski, J. T.; Robins, R. K.; Sidwell, R. W.; Simon, L. N. *J. Med. Chem.*, **1972**, 15, 1150–1154.
- Witters, L.A.; Avrueh, J. *Biochemistry* **1978**, 17, 406-410.
- Yamamoto, T.; Kuniki, K.; Takekuma, Y.; Hirano, T.; Iseki, K.; Sugawara, M. *Eur J Pharmacol*, **2007**, 557, 1–8.
- Zhang, J.; Visser, F.; King, K.M.; Baldwin, S.A.; Young, J.D.; Cass, C.E, *Cancer Metastasis Rev.* **2007**, 26, 85–110.
- Zhou, W.; Gumina, G.; Chong, Y.; Wang, J.; Schinazi, R. F.; Chu, C. K. *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 3399.

## ABSTRACT

Modified nucleosides and nucleic acid bases have been extensively investigated due to their potential activity, as antivirals, enzyme inhibitors, and antitumor agents. Covalent modification of the purine and pyrimidine bases is an important strategy for the synthesis of these adducts. Palladium-catalyzed cross-coupling is a powerful method to attach groups to the heterocyclic base through the formation of new carbon-carbon and carbon-heteroatom bonds. The present PhD thesis is mainly focused on the synthesis of base modified nucleosides containing pyranosyl rings.

On the basis of the above findings along with previously reported data that: a) alkynyl-modified nucleosides and especially pyrimidine derivatives substituted at C5 and purine derivatives substituted at C8, have been shown to possess interesting biological properties, b) many glucose analogues can act as inhibitors of glycogen phosphorylase and c) thiopurines have the reputation of effective anti-cancer and immunosuppressive drugs, it was intriguing to design and synthesize a new series of C5-alkynyl pyrimidine pyranonucleosides, as well as C8-alkynyl purine pyranonucleosides bearing a variety of alkyne substituents, which include linear alkyl chains, substituted benzene rings and polycyclic aromatic hydrocarbons. Finally, it was of great interest to synthesise novel thiopurine pyranonucleosides.

The target nucleosides were evaluated for their antiviral and cytostatic properties using several virus strains and cancer cell lines as well as for their antidiabetic properties.



## **ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ**

### **ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ**



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

# Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/bmcl](http://www.elsevier.com/locate/bmcl)

## Rapid microwave-enhanced synthesis of C5-alkynyl pyranonucleosides as novel cytotoxic antitumor agents

Athina Dimopoulou<sup>a</sup>, Stella Manta<sup>a</sup>, Christos Kiritsis<sup>a</sup>, Dimitra-Niki Gkaragkouni<sup>a</sup>, Ioannis Papasotiriou<sup>b</sup>, Jan Balzarini<sup>c</sup>, Dimitri Komiotis<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Biochemistry and Biotechnology, Laboratory of Bio-Organic Chemistry, University of Thessaly, 26 Ploutonos Str., 41221 Larissa, Greece

<sup>b</sup> Research Genetic Cancer Center (R.G.C.C. Ltd), Megalou Alexandrou 155 Str., GR-53070 Filotas, Greece

<sup>c</sup> Rega Institute for Medical Research, KU Leuven, B-3000 Leuven, Belgium

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 13 November 2012

Revised 22 December 2012

Accepted 27 December 2012

Available online 7 January 2013

#### Keywords:

C5-Alkynyl pyranonucleosides

Microwave-irradiation

Sonogashira coupling reaction

Cytotoxic activity

### ABSTRACT

A microwave-assisted, one-pot, coupling reaction for the synthesis of C5-alkynyl-uracil and cytosine glucopyranonucleosides has been developed. The reaction is carried out under standard Sonogashira coupling conditions from glucopyranonucleosides of 5-iodouracil or 5-iodocytosine and various terminal alkynes. All compounds were evaluated for their cytostatic and antiviral activity. The 5-phenylethynyl-uracil pyranonucleoside derivative **6a** showed the most promising cytostatic activity (50% inhibitory concentration in the lower micromolar range). No meaningful antiviral activity was recorded.

© 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Nucleoside analogues, as potential inhibitors of nucleic acid metabolism, play a significant role in the treatment of patients with devastating cancer and viral infections.<sup>1–3</sup> Extensive variations have been made to both the heterocyclic base and the sugar moiety in the search for effective and selective derivatives with a benign profile. Due to the need for the base moiety to preserve the base pairing functionalities, only minor modifications of the base are usually found in biologically active nucleoside analogues.<sup>4,5</sup> On the contrary, a lot of variations have been made in the sugar part by introducing pyranosyl, carbocyclic or heterocyclic rings and acyclic moieties.<sup>5</sup>

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. Nearly at the same time, we became interested in base-modified nucleosides, since C5-substituted pyrimidine nucleosides are known to have interesting biological properties and have been investigated as antiviral and anticancer agents.<sup>9–11</sup> Thus, we performed the synthesis of C5-halogen- and C5-alkynyl-uracil glucopyranonucleosides, which have been discovered as some of the most potent inhibitors of the active site of glycogen phosphorylase.<sup>12,13</sup>

As a continuation of our long-term interest in the chemical and pharmacological properties of modified pyranonucleosides, we hereby report an efficient, extremely rapid and high-yield method-

ology for the synthesis of various C5-alkynyl-uracil and cytosine glucopyranonucleosides under microwave-assisted Sonogashira coupling conditions. The biological activity of the synthesized compounds was also examined.

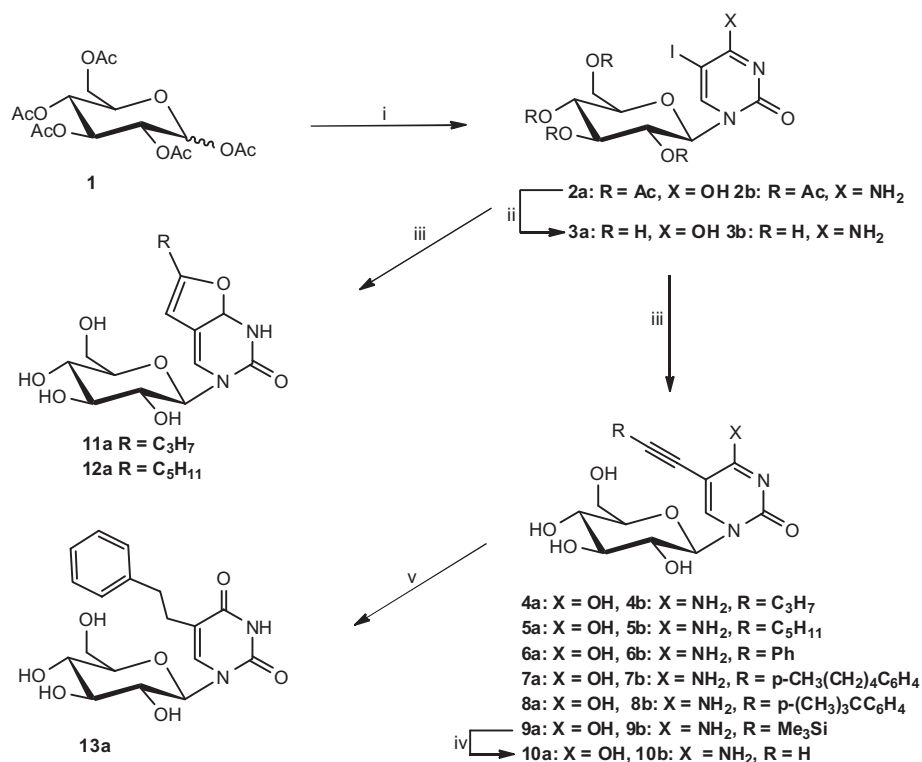
The starting nucleoside synthons, 1-(β-D-glucopyranonucleosides) of 5-iodouracil **3a**<sup>12</sup> and 5-iodocytosine **3b** (Scheme 1) were obtained by performing the two-step Vorbruggen coupling reaction,<sup>14</sup> in one-pot, within 3 min reaction, using a domestic microwave oven, followed by subsequent deacetylation by the action of saturated methanolic ammonia.<sup>15</sup>

A common approach for the synthesis of the C5-alkynyl glucopyranonucleosides (compounds **4–10**) and alkylfurano[2,3-d]pyrimidino glucopyranonucleosides (compounds **11a** and **12a**) is based upon the attachment of the active units via the ethynyl arm on C5 of the uracil and cytosine bases. Aiming at more detailed structure-activity relationship studies, a variety of alkyne substituents was chosen, which include linear alkyl chains (**4a,b**, R = C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>, **5a,b**, R = C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>), aromatic rings (**6a,b**, R = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>) substituted with linear (**7a,b**, R = *p*-pentylphenyl) and branched alkyl groups (**8a,b**, R = *p*-tert-butylphenyl) and the trimethylsilylo-functionality (**9a,b**). The nucleosides containing a terminal alkyne (**10a,b**, R = H) were prepared by desilylating **9a,b** with *n*-Bu<sub>4</sub>NF/CH<sub>3</sub>CN.<sup>16</sup>

In a typical experiment, the unprotected nucleosides of 5-iodouracil **3a** or 5-iodocytosine **3b** were mixed with N,N-dimethylformamide (DMF), the appropriate alkyne, triethylamine (base), copper (I) iodide (CuI) (cocatalyst) and tetrakis(triphenylphosphine)palladium (0) (Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>) (catalyst) and were irradiated for 3 min with the microwave power of ~120 W. After removing all

\* Corresponding author. Tel.: +30 2410 565285; fax: +30 2410 565290.

E-mail addresses: [dkom@bio.uth.gr](mailto:dkom@bio.uth.gr), [komiotisd@gmail.com](mailto:komiotisd@gmail.com) (D. Komiotis).



**Scheme 1.** Reagents and conditions: (i) silylated base, Me<sub>3</sub>SiOSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>CN, HMDS, Saccharine, MW (~120 W), 3 min; (ii) ammonia/MeOH; (iii) R-C≡CH, CuI, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, Et<sub>3</sub>N, DMF, MW (~120 W), 3 min or 8 min; (iv) *n*-Bu<sub>4</sub>NF, CH<sub>3</sub>CN; (v) Pd/C, H<sub>2</sub>, MeOH, 48 h.

the volatile materials in vacuo, the solid obtained was purified by flash chromatography to provide C5-alkynyl pyranonucleosides **4–10**<sup>17,18</sup> as pure compounds, in high yields 72–83%. When the reaction time is longer (irradiation for 8 min), 5-pentynyl **4a** and 5-heptynyl **5a** uracil pyranonucleosides undergo intramolecular cyclization to the bicyclic furanopyrimidine derivatives<sup>13</sup> **11a** and **12a**, respectively. Identical results were obtained when the reactions were proceeded at the same wattage in different domestic ovens.

All new compounds were characterized by NMR and UV spectroscopy, mass spectrometry and elemental analysis. The characteristic NMR signals for **4–10** include the <sup>1</sup>H H-6 signal (8.17–7.78 ppm) and <sup>13</sup>C signals of C5 (101.70–97.30 ppm) and C≡C (99.95–72.28 ppm). The <sup>1</sup>H NMR spectra of **11a** and **12a** provided conclusive evidence of cyclization, as the signal of a new olefinic proton appeared at 6.39 and 6.30 ppm,<sup>13</sup> respectively.

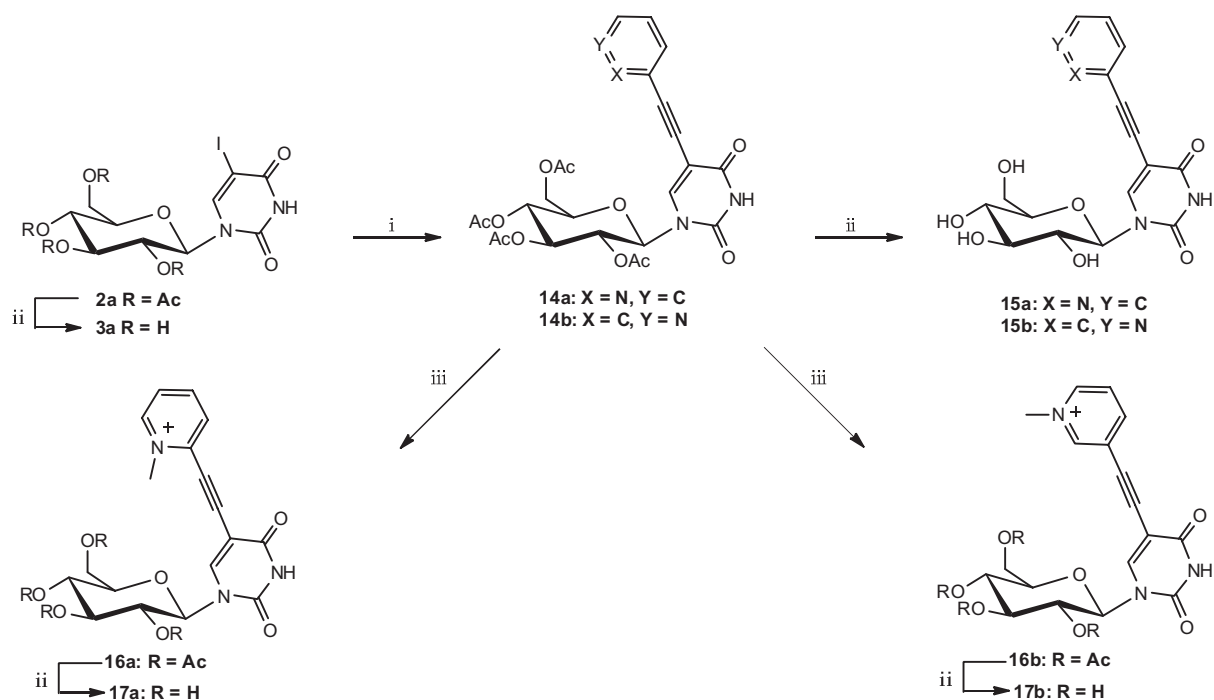
Among the pyranonucleosides tested, the phenyluracil derivative **6a** exhibited the highest cytostatic activity. This observation prompted us to explore the possibility of replacing the phenyl ring with pyridine, by linking pyridine moieties to 5-iodouracil nucleoside **2a** (pyridinyl analogues **15a,b**) and then converting them into pyridiniumyl-conjugates **17a,b** (Scheme 2), since the latter molecules could function as reversible electron acceptors when incorporated into DNA duplexes.<sup>19</sup> Thus, 2- and 3-ethynylpyridines were efficiently coupled with acetylated 5-iodouracil nucleoside **2a** under microwave irradiation, giving conjugates **14a,b**.<sup>20</sup> Subsequently, these analogues were quaternized readily in dry acetonitrile containing iodomethane to give the protected 5-(*N*-methylpyridinium) nucleosides **16a,b**.<sup>21</sup> Deacetylation of **14a,b** and **16a,b**, performed with saturated methanolic ammonia, led to the target pyridinyl **15a,b**<sup>22</sup> and pyridiniumyl **17a,b**<sup>22</sup> nucleosides, respectively.

The cytostatic activity was determined, for the uracil (**4a–10a**) and cytosine (**4b–10b**) series, against three tumor cell lines (murine leukemia L1210, human lymphocyte CEM and human cer-

vix carcinoma HeLa) (Table 1). The 5-substituted uracil pyranonucleosides showed superior antiproliferative activity to their cytosine counterparts. The most striking data were obtained for the phenylethynyl uracil pyranonucleoside derivative **6a**, which effectively inhibited tumor cell proliferation (IC<sub>50</sub> of 5.2–6.2 μM), whereas its cytosine congener showed no appreciable cytostatic action (IC<sub>50</sub> 201–250 μM). It was interesting to observe that the phenylethynyl uracil pyranonucleoside derivative **13a**<sup>23</sup> was devoid of significant cytostatic activity pointing to the necessity to have a rather bulky but rigid substituent at the 5-position of uracil. Besides **5a** (a heptynyluracil derivative) and **7a** (a *p*-pentylphenylethynyl uracil derivative), none of the other 5-substituted uracil and cytosine derivatives showed appreciable antiproliferative action. It is interesting to note that **10a**, which is an unsubstituted 5-ethynyluracil pyranonucleoside derivative, is virtually devoid of cytostatic activity, whereas the corresponding 5-ethynyl-2'-deoxyuridine derivative ranks among the most potent thymidylate synthase (TS) inhibitors, and is endowed with a pronounced cytostatic action.<sup>24</sup> This may indicate that compound **10a** (and the other uracil derivatives in this study) is not phosphorylated to the monophosphate derivative (to allow for an interaction with thymidylate synthase, TS) and/or the presence of a hydroxyl entity at the 2 or 3 position of the pyranose ring prevents efficient interaction with TS.

Given the interesting activity of **6a**, the phenyl moiety was replaced by a pyridine (**15a,b**) or a pyridinium (**17a,b**) entity, but these modifications resulted in a marked loss of cytostatic potential of **6a**. Also **11a** and **12a**, containing an alkyl-substituted fused ethenouracil ring, did not show any appreciable activity. When the compounds were evaluated against a broad variety of DNA and RNA viruses, no action was recorded.

In conclusion, an efficient microwave-assisted, one-pot, coupling reaction for the synthesis of C5-alkynyl-uracil and cytosine glucopyranonucleosides has been developed. Among the various 5-substituted pyrimidine pyranonucleosides tested, the 5-phenylethynyluracil derivative **6a** showed appreciable cytostatic activity.



**Scheme 2.** Reagents and conditions: (i) 2-or 3-ethynyl pyridine, CuI, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, Et<sub>3</sub>N, DMF, MW (~120 W), 3 min; (ii) ammonia/MeOH; (iii) CH<sub>3</sub>I, CH<sub>3</sub>CN.

**Table 1**  
Cytostatic activity of **4–13a** and **14–17** against a panel of tumor cell lines

Compound	IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (μM)		HeLa
	L1210	CEM	
<b>4a</b>	115 ± 1	123 ± 32	95 ± 17
<b>5a</b>	22 ± 0	26 ± 22	29 ± 2
<b>6a</b>	6.2 ± 0.4	5.2 ± 2.6	5.4 ± 0.0
<b>7a</b>	70 ± 23	81 ± 30	31 ± 12
<b>8a</b>	185 ± 91	>250	37 ± 5
<b>10a</b>	141 ± 67	>250	231 ± 27
<b>11a</b>	132 ± 29	173 ± 10	125 ± 5
<b>12a</b>	≥250	>250	>250
<b>13a</b>	300 ± 0	244 ± 0	43 ± 7
<b>4b</b>	≥250	>250	191 ± 25
<b>5b</b>	≥250	>250	≥250
<b>6b</b>	≥250	>250	201 ± 68
<b>7b</b>	132 ± 2	115 ± 15	43 ± 9
<b>8b</b>	>250	>250	140 ± 63
<b>10b</b>	≥250	>250	≥250
<b>14a</b>	115 ± 4	139 ± 39	90 ± 1
<b>15a</b>	71 ± 10	79 ± 11	66 ± 0
<b>16a</b>	203 ± 49	>250	232 ± 25
<b>17a</b>	152 ± 12	>250	244 ± 6
<b>14b</b>	>250	182 ± 95	>250
<b>15b</b>	>250	>250	>250
<b>16b</b>	>250	>250	>250
<b>17b</b>	>250	>250	>250

<sup>a</sup> 50% Inhibitory concentration or compound concentration required to inhibit tumoral proliferation by 50%.

The introduction of functional substituents on the phenyl ring, such as short alkyl groups, halogens, amino or nitro groups could be explored in the future in an attempt to further increase the cytostatic potential of this lead compound.

## Acknowledgments

This work was supported by the Research Programme Aristeia I 'Structure-assisted Design, Synthesis, and Evaluation of Bioactive compounds for type 2 Diabetes mellitus' and by Postgraduate Pro-

grammes '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, Leen Ingels, Leentje Persoons and Frieda De Meyer for excellent technical assistance in the biological assays.

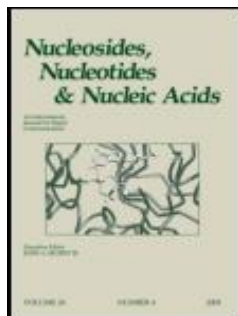
## Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.12.092>.

## References and notes

- Galmarini, C. M.; Mackey, J. R.; Dumontet, C. *Lancet Oncol.* **2002**, *3*, 415.
- De Clercq, E. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2002**, *2*, 163.
- Komiotis, D.; Manta, S.; Tsoukala, E.; Tzioumaki, N. *Curr. Med. Chem.: Anti-Infect. Agents* **2008**, *7*, 219.
- Harris, D. G.; Shao, J. Y.; Morrow, B. D.; Zimmerman, S. S. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids* **2004**, *23*, 555.
- Coutouli-Argyropoulou, E.; Lianis, P.; Mitakou, M.; Giannoulis, A.; Nowak, J. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 1494.
- Manta, S.; Agelis, G.; Botić, T.; Cencić, A.; Komiotis, D. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 980.
- Spanou, C.; Tzioumaki, N.; Manta, S.; Margaritis, P.; Kouretas, D.; Komiotis, D.; Liadaki, K. *Pharmacol. Pharm.* **2011**, *2*, 122.
- Tsoukala, E.; Manta, S.; Kiritsis, C.; Komiotis, D. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2012**, *12*, 255.
- Montagu, A.; Roy, V.; Balzarini, J.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Agrofoglio, L. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 778.
- Gazivoda, T.; Raić-Malić, S.; Krištafor, V.; Makuc, D.; Plavec, J.; Bratulić, S.; Kraljević-Pavlić, S.; Pavelić, K.; Naesens, L.; Andrei, G.; Snoeck, R.; Balzarini, J.; Mintas, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 5624.
- 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.
- Kantsadi, A. L.; Hayes, 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. *ChemMedChem* **2012**, *7*, 722.
- Kantsadi, A. L.; Manta, S.; Psara, A.-M. G.; Dimopoulou, A.; Kiritsis, C.; Parmenopoulou, V.; Skamnaki, V. T.; Zoumpoulakis, P.; Zographos, S. E.; Leonidas, D. D.; Komiotis, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *54*, 740.

14. Vorbrüggen, H.; Bennua, B. *Chem. Ber. Recl.* **1981**, *114*, 1279.
15. Experimental details of the general procedure for the preparation of 1-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)pyrimidine nucleosides **3a,b** are provided in [Supplementary data](#).
16. Escuret, V.; Aucagne, V.; Joubert, N.; Durantel, D.; Rapp, K. L.; Schinazi, R. F.; Zoulim, F.; Agrofoglio, L. A. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 6015.
17. Experimental details of the general procedure for the preparation of C5-alkynyl pyranonucleosides **4–9** are provided in [Supplementary data](#).
18. Experimental details of the general procedure for the preparation of 1-( $\beta$ -D-glucopyranosyl) nucleosides of 5-ethynyluracil (**10a**) and of 5-ethynylcytosine (**10b**) are provided in [Supplementary data](#).
19. Gaballah, S. T.; Netzel, T. L. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids* **2002**, *21*, 681.
20. Experimental details of the general procedure for the preparation of 1-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-(2-and 3-ethynylpyridinyl)-uracil nucleosides (**14a, b**) are provided in [Supplementary data](#).
21. Experimental details of the general procedure for the preparation of 1-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl) nucleosides of 5-(N-methylpyridiniumyl)uracil (**16a, b**) are provided in [Supplementary data](#).
22. Experimental details of the general procedure for the preparation of 1-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-(2-and 3-ethynylpyridinyl)uracil (**15a, b**) and 1-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-(N-methyl-pyridiniumyl)uracil nucleosides (**17a, b**) are provided in [Supplementary data](#).
23. Experimental details of the general procedure for the preparation of 1-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-phenylethyluracil (**13a**) are provided in [Supplementary data](#).
24. Balzarini, J.; De Clercq, E.; Mertes, M. P.; Shugar, D.; Torrence, P. F. *Biochem. Pharmacol.* **1982**, *31*, 3673.



## Synthesis of Novel Thiopurine Pyranonucleosides: Evaluation of Their Bioactivity

Athina Dimopoulou, Stella Manta, Vanessa Parmenopoulou, Petros Gkizis, Evdoxia Coutouli-Argyropoulou, Dominique Schols & Dimitri Komiotis

To cite this article: Athina Dimopoulou, Stella Manta, Vanessa Parmenopoulou, Petros Gkizis, Evdoxia Coutouli-Argyropoulou, Dominique Schols & Dimitri Komiotis (2015) Synthesis of Novel Thiopurine Pyranonucleosides: Evaluation of Their Bioactivity, *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, 34:4, 289-308, DOI: [10.1080/15257770.2014.992532](https://doi.org/10.1080/15257770.2014.992532)

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/15257770.2014.992532>



Published online: 16 Mar 2015.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 102



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

Full Terms & Conditions of access and use can be found at  
<http://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=lncn20>

## SYNTHESIS OF NOVEL THIOPURINE PYRANONUCLEOSIDES: EVALUATION OF THEIR BIOACTIVITY

Athina Dimopoulou,<sup>1</sup> Stella Manta,<sup>1</sup> Vanessa Parmenopoulou,<sup>1</sup>  
Petros Gkizis,<sup>2</sup> Evdoxia Coutouli-Argyropoulou,<sup>2</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>Department of Chemistry, Aristotle University of Thessaloniki, University Campus,  
Thessaloniki, Greece

<sup>3</sup>Department of Microbiology and Immunology, Rega Institute for Medical Research,  
KU Leuven, Leuven, Belgium

□ We report the synthesis of novel thiopurine pyranonucleosides. Direct coupling of silylated 6-mercaptopurine and 6-thioguanine with the appropriate pyranoses **1a–e** via Vorbrüggen nucleosidation, gave the N-9 linked mercaptopurine **2a–e** and thioguanine **4a–e** nucleosides, while their N-7 substituted congeners **10a–e** and **7a–e**, were obtained through condensation of the same acetates with 6-chloro and 2-amino-6-chloropurines, followed by subsequent thionation. Nucleosides **3a–e**, **5a–e**, **8a–e**, and **11a–e** were evaluated for their cytostatic activity in three different tumor cell proliferative assays.

**Keywords** 6-Mercaptopurine; 6-thioguanine; 6-chloropurine; 2-amino-6-chloropurine; pyranonucleosides; cytotoxic activity

### INTRODUCTION

For the past half century, thiopurines have the reputation of effective anticancer and immunosuppressive drugs.<sup>[1]</sup> 6-Mercaptopurine and 6-thioguanine, the analogues of natural purines hypoxanthine and guanine, are thiopurine antimetabolites, which inhibit DNA synthesis by incorporation of incorrect bases (thioguanine nucleotides).<sup>[2]</sup> These immunosuppressive agents are used in the treatment of leukemias and autoimmune disorders. Both drugs are effective against colitis, psoriasis and

Received 23 October 2014; accepted 24 November 2014.

Address correspondence to Dr. Dimitri Komiotis, Department of Biochemistry and Biotechnology, Laboratory of Bioorganic Chemistry, University of Thessaly, 26 Ploutonos Str., 41221 Larissa, Greece. E-mail: dkom@bio.uth.gr

Color versions of one or more of the figures in the article can be found online at [www.tandfonline.com/Incn](http://www.tandfonline.com/Incn).

rheumatoid arthritis and remain valuable agents for the induction and maintenance of remissions in patients with myelocytic and acute lymphocytic leukemia.<sup>[3–5]</sup> Despite their proved clinical importance, therapeutic disadvantages of 6-mercaptopurine and 6-thioguanine,<sup>[6–9]</sup> stimulated the search for novel thiopurine derivatives in order to enhance therapeutic efficacy.

With the aim of further improving biological activity and reducing side effects, considerable efforts have been made to prepare novel mercaptopurine and thioguanine nucleosides, since the latter are substrates for thiopurine S-methyltransferase (TPMT), an important enzyme in metabolism of thiopurine drugs.<sup>[10,11]</sup> Since their biotransformation leads to metabolites that interfere with DNA synthesis, a number of thioguanine and mercaptopurine nucleosides have been screened for their anti-tumor properties. Among them, the 2'-deoxyribonucleosides proved to be effective against ascites Sarcoma 180 and Nakahara-Fukuoka sarcoma in mice and they also inhibited the growth of WI-L2 human lymphoblastoid cells.<sup>[12,13]</sup>

In recent years, pyranosyl nucleosides are viewed as important modifications of natural nucleosides, offering promising avenues in the development of novel bioactive agents with promising therapeutic potential.<sup>[14–24]</sup> In our previous investigations, we demonstrated that base-modified pyranonucleosides rank among the most potent glycogen phosphorylase (GP)<sup>[25,26]</sup> and thymidylate synthase (TS)<sup>[27]</sup> inhibitors, and were endowed with a pronounced cytostatic and antiviral action.<sup>[28]</sup> As a continuation of this research and based on the pharmacological properties of thiopurine analogues, we now report the synthesis and biology of new thiopurine pyranonucleosides via glycosylation of mercaptopurine and thioguanine pyranonucleosides bearing D-glucose, D-galactose, D-xylose, D-mannose, and D-lyxose as sugar moiety.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Chemistry

The commercially available fully acetylated D-glucose (**1a**), D-galactose (**1b**), D-xylose (**1c**), D-mannose (**1d**), and D-lyxose (**1e**) were chosen as model substrates for glycosylation. Our first approach involved the coupling reaction of acetates **1a–e** with 6-mercaptopurine and 6-thioguanine, by applying a modified Vorbrüggen method.<sup>[29]</sup> The nucleobases were conventionally refluxed in CH<sub>3</sub>CN/hexamethyldisilazane (HMDS), and the resulting silylated bases reacted with **1a–e**, in the presence of trimethylsilyl triflate (TMSOTf) as a Lewis acid, to afford the protected 6-mercaptopurine **2a–e** and 6-thioguanine **4a–e** pyranonucleosides, in acceptable yields (55–68%).



The  $\beta$ -configured glucose, galactose, and xylose nucleosides **2a–c** and **4a–c** were solely obtained (expected on mechanistic grounds)<sup>[29]</sup> as deduced from  $^1\text{H}$  NMR vicinal coupling data ( $J_{1',2'} = 6.1\text{--}10.5$  Hz). Contrary to our previously reported data,<sup>[16,30,31]</sup> in the case of mannose **2d**, **4d** and lyxose **2e**, **4e** nucleosides, the unexpected  $\beta$ -stereochemistry was also confirmed by the small cis coupling constants between  $\text{H}_{1'}$  and  $\text{H}_{2'}$  ( $J_{1',2'} = 0\text{--}4.0$  Hz). All these nucleosides were obtained as a single N-9 isomer as determined by HMBC experiments (Scheme 3) on compounds **2b**, **4a**, and **4d**. Thus, the anomeric proton of **2b**, **4a**, and **4d** at  $\delta$  6.32, 6.19, and 6.68, respectively was correlated via a  $^3J_{\text{CH}}$  coupling with the carbon at  $\delta$  157.00–157.70 (assigned as the C4 carbon), as expected for the N-9 isomer.<sup>[32,33]</sup>

In order to further examine the anomeric configuration of the sugar (stereoselectivity) and position of attachment to the heterocyclic base, we investigated an alternative route to the desired 6-mercaptapurine and 6-thioguanine nucleosides, via their 6-chloropurine congeners. The introduction of the pair of purine bases was accomplished by condensing acetates **1a–e** with the persilylated 6-chloro and 2-amino-6-chloropurines to give the corresponding pyranonucleosides **9a–e** and **6a–e**, respectively. Contrary to previously synthesized mannose **2d**, **4d** and lyxose **2e**, **4e** nucleosides, the derivatives **6d**, **e** and **9d**, **e** followed Baker's rule<sup>[34]</sup> and they were assigned the  $\alpha$  configuration ( $J_{1',2'} = 7.7\text{--}9.9$  Hz), while all chloropurine nucleosides were exclusively obtained as N-7 regioisomers, as HMBC spectra (Scheme 3) of compounds **6a** and **6d** revealed the expected correlation between the anomeric proton  $\text{H}_{1'}$  ( $\delta$  6.11 and 6.42) and the more protected carbon of purine moiety C5 ( $\delta$  115.00 and 115.90).<sup>[32]</sup>

Thionation of **9a–e** and **6a–e** upon treatment with potassium thioacetate (KSAc) in hot *N,N*-dimethylformamide (DMF)<sup>[35]</sup> afforded the corresponding N-7 linked 6-mercaptapurine **10a–e** and 6-thioguanine **7a–e** pyranonucleosides. Finally, all blocked nucleosides **2a–e**, **4a–e**, **7a–e**, and **10a–e** were deprotected by the action of saturated methanolic ammonia to yield compounds **3a–e**, **5a–e**, **8a–e**, and **11a–e**, in 64–78% yields.

The reverse of the regioselectivity to the glycosylation reactions upon the structural change of the purine bases is rather unexpected. Glycosylation reactions of purine bases give usually mixture of N-9 and N-7 isomers, N-9 isomer being in most cases the major product. It is generally accepted that N-9 nucleosides are thermodynamically favored over their N-7 isomers. Starting from the same substrate, regioselective synthesis of both N-7 and N-9 pyranosylguanine nucleosides has been achieved by application of kinetic and thermodynamic control reaction conditions respectively<sup>[36,37]</sup> In the present study, the structural differentiation of the purine base affects probably the stability of the intermediate transition state resulting in the case of thio purines more easily the thermodynamically favored N-9 isomers.

**TABLE 1** Cytostatic activity of the compounds against tumor cell (L1210, CEM and HeLa) proliferation

Compound	IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (μM)		
	L1210	CEM	HeLa
<b>3a</b>	161 ± 41	201 ± 38	95 ± 22
<b>5a</b>	66 ± 23	102 ± 10	51 ± 17
<b>8a</b>	113 ± 8	>250	142 ± 24
<b>11a</b>	158 ± 5	>250	>250
<b>3b</b>	112 ± 62	63 ± 9	18 ± 3
<b>5b</b>	14 ± 3	21 ± 2	16 ± 5
<b>8b</b>	>250	>250	>250
<b>11b</b>	>250	208 ± 59	>250
<b>3c</b>	≥250	>250	209 ± 57
<b>5c</b>	145 ± 38	145 ± 49	108 ± 34
<b>8c</b>	>250	>250	>250
<b>11c</b>	210 ± 13	>250	134 ± 75
<b>3d</b>	131 ± 39	128 ± 5	72 ± 14
<b>5d</b>	37 ± 1	31 ± 3	22 ± 9
<b>8d</b>	146 ± 32	≥ 250	>250
<b>11d</b>	>250	>250	>250
<b>3e</b>	82 ± 11	66 ± 13	56 ± 12
<b>5e</b>	82 ± 15	121 ± 13	67 ± 6
<b>8e</b>	>250	>250	>250
<b>11e</b>	>250	>250	>250
<b>6-mercaptopurine</b>	2.8 ± 1.1	2.8 ± 1.3	1.1 ± 0.1
<b>6-thioguanine</b>	0.94 ± 0.04	1.1 ± 0.3	0.38 ± 0.17

<sup>a</sup>50% inhibitory concentration or compound concentration required to inhibit tumor cell proliferation by 50%.

### Cytostatic Activity

The cytostatic activity of the novel thiopyranonucleosides was determined against murine leukemia L1210, human CD4+ T-lymphocyte (CEM), and human cervix carcinoma HeLa cell cultures (Table 1). Compounds **5b**, **5d**, and **5e** showed the highest anti-proliferative activity. Especially, the activity of compound **5b** was in the lower μM range and almost equally active against all three tumor cell lines.

### CONCLUSION

In conclusion, we have defined a way that allows the synthesis of N-7 or N-9 thiopurine pyranonucleosides. While the formation of N-9 mercaptopurine and thioguanine nucleosides was achieved via direct coupling of peracetylated pyranoses with the corresponding silylated bases, their N-7 substituted congeners were obtained through condensation of the same acetates with 6-chloro and 2-amino-6-chloropurines, followed by subsequent thionation. The target nucleosides were tested for their inhibitory effects on the proliferation of murine leukemia (L1210), human lymphocyte (CEM),

and human cervix carcinoma (HeLa) cell cultures. Compounds **5b** and **5d** were the most potent ( $\mu\text{M}$  scale) in inhibiting tumor cell proliferation.

## EXPERIMENTAL

### General Methods

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>), methanol-*d*<sub>4</sub> (CD<sub>3</sub>OD), and dimethylsulfoxide-*d*<sub>6</sub> (DMSO-*d*<sub>6</sub>) with internal tetramethylsilane (TMS). HMBC spectra were obtained with an Agilent 500 MHz spectrometer. 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. CH<sub>3</sub>CN was distilled from calcium hydride and stored over 3E molecular sieves. DMF was stored over 3E molecular sieves. All reactions sensitive to oxygen or moisture were carried out under nitrogen atmosphere using oven-dried glassware.

### General Method for the Preparation of 6-mercapto-9-(per-*O*-acetyl- $\beta$ -*D*-pyranosyl)purines (**2a-e**) and 2-amino-6-mercapto-9-(per-*O*-acetyl- $\beta$ -*D*-pyranosyl)purines (**4a-e**)

A mixture of 6-mercaptapurine or 6-thioguanine (3.33 mmol, 1.3 eq), HMDS (4.13 mmol, 1.24 eq), saccharine (0.15 mmol, 0.046 eq), ammonium sulfate ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (1.13 mmol, 0.34 eq), and trimethylsilyl chloride (TMS-Cl) (8.23 mmol, 2.5 eq) in anhydrous CH<sub>3</sub>CN (14 mL) was refluxed for 5 hours under nitrogen. The desired acetylated sugar **1a-e** (2.56 mmol) and TMSOTf (3.58 mmol, 1.4 eq) were then added and the reaction mixture was refluxed for three more hours, cooled, neutralized with aqueous sodium bicarbonate, and extracted with ethyl acetate (EtOAc, 1000 mL). The organic extract was dried over anhydrous sodium sulfate, filtered, and evaporated to dryness. The residue was purified by flash column chromatography to give compounds **2a-e** and **4a-e**, in 55–68% yields as yellow oils.

#### 6-Mercapto-9-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl)purine (**2a**)

Yield: 840 mg, 68%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +10$  (c 0.25, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.19$  (9.5CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/0.5MeOH); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):  $\delta$  10.42 (br s, 1H, NH), 8.78 (s, 1H, H-2), 8.19 (s, 1H, H-8), 6.30 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 10.2$  Hz, H-1'),

5.44–5.29 (m, 2H, H-2', H-3'), 5.21 (t, 1H,  $J_{3',4'} = 9.9$  Hz, H-4'), 4.27 (dd, 1H,  $J_{5',6a'} = 4.4$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 12.4$  Hz, H-6a'), 4.14 (dd, 1H,  $J_{5',6b'} = 2.1$  Hz, H-6b'), 4.05 (m, 1H, H-5'), 2.06, 2.04, 2.03, 2.00 (4s, 12H, 4OAc);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 75.5 MHz):  $\delta$  170.9, 170.7, 170.5, 169.4, 157.3, 142.9, 130.6, 126.2, 122.6, 79.6, 74.2, 72.4, 67.7, 66.2, 61.8, 20.9, 20.7, 20.6; ESIMS ( $m/z$ ) 483.09 [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}$ : C, 47.30; H, 4.60; N, 11.61; S, 6.65. Found: C, 47.43; H, 4.80; N, 11.75; S, 6.72.

**6-Mercapto-9-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)purine (2b)**

Yield: 778 mg, 63%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +30$  (c 0.40,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.37$  (9.5 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /0.5MeOH);  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  10.47 (br s, 1H, NH), 8.79 (s, 1H, H-2), 8.22 (s, 1H, H-8), 6.32 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 10.5$  Hz, H-1'), 5.50 (m, 2H, H-2', H-4'), 5.26 (dd, 1H,  $J_{3',4'} = 3.2$  Hz,  $J_{2',3'} = 10.0$  Hz, H-3'), 4.26–4.11 (m, 3H, H-5', H-6a',b'), 2.19, 2.02, 2.00, 1.99 (4s, 12H, 4OAc);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 75.5 MHz):  $\delta$  170.4, 170.3, 170.1, 169.5, 157.4, 142.1, 130.5, 126.8, 122.3, 79.8, 74.6, 72.1, 67.3, 66.6, 61.2, 20.7, 20.6, 20.1; ESIMS ( $m/z$ ) 483.11 [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}$ : C, 47.30; H, 4.60; N, 11.61; S, 6.65. Found: C, 47.08; H, 4.49; N, 11.47; S, 6.75.

**6-Mercapto-9-(2',3',4'-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-xylopyranosyl)purine (2c)**

Yield: 630 mg, 60%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -2$  (c 0.25,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.30$  (9.8 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /0.2MeOH);  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  10.77 (br s, 1H, NH), 8.83 (s, 1H, H-2), 8.23 (s, 1H, H-8), 6.53 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 6.7$  Hz, H-1'), 5.29 (t, 1H,  $J_{2',3'} = 6.8$  Hz, H-2'), 5.21 (t, 1H,  $J_{3',4'} = 6.7$  Hz, H-3'), 4.98 (m, 1H, H-4'), 4.32 (dd, 1H,  $J_{4',5a'} = 4.1$  Hz,  $J_{5a',5b'} = 12.0$  Hz, H-5a'), 3.72 (dd, 1H,  $J_{4',5b'} = 6.7$  Hz, H-5b'), 2.11, 2.07, 2.06 (3s, 9H, 3OAc);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 75.5 MHz):  $\delta$  170.5, 170.4, 170.1, 157.3, 143.1, 131.3, 127.7, 122.0, 78.7, 75.8, 73.3, 68.6, 64.6, 20.5, 20.4, 20.1; ESIMS ( $m/z$ ) 411.08 [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_7\text{S}$ : C, 46.83; H, 4.42; N, 13.65; S, 7.81. Found: C, 46.77; H, 4.33; N, 13.48; S, 7.61.

**6-Mercapto-9-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-mannopyranosyl)purine (2d)**

Yield: 679 mg, 55%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +10$  (c 0.25,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.19$  (9.5 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /0.5MeOH);  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  10.56 (br s, 1H, NH), 8.79 (s, 1H, H-2), 8.23 (s, 1H, H-8), 6.92 (s, 1H, H-1'), 5.62 (m, 1H, H-2'), 5.48–5.31 (m, 2H, H-3', H-4'), 4.29–4.10 (m, 3H, H-5', H-6a',b'), 2.23, 2.07, 2.02, 2.01 (4s, 12H, 4OAc);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 75.5 MHz):  $\delta$  171.2, 171.1, 170.9, 169.9, 157.7, 142.7, 131.6, 126.8, 122.8, 79.2, 74.6, 72.4, 67.5, 66.9, 61.6, 20.9, 20.7, 20.6; ESIMS ( $m/z$ ) 483.13 [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}$ : C, 47.30; H, 4.60; N, 11.61; S, 6.65. Found: C, 47.58; H, 4.75; N, 11.96; S, 6.78.

**6-Mercapto-9-(2',3',4'-tri-O-acetyl-β-D-lyxopyranosyl)purine (2e)**

Yield: 609 mg, 58%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +6$  (c 0.28,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.22$  ( $9.5\text{CH}_2\text{Cl}_2/0.5\text{MeOH}$ );  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  10.65 (br s, 1H, NH), 8.85 (s, 1H, H-2), 8.39 (s, 1H, H-8), 6.77 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 4.0$  Hz, H-1'), 5.58 (t, 1H,  $J_{2',3'} = 3.7$  Hz, H-2'), 5.39 (dd, 1H,  $J_{3',4'} = 8.5$  Hz, H-3'), 5.27 (m, 1H, H-4'), 4.11 (dd, 1H,  $J_{4',5a'} = 4.5$  Hz,  $J_{5a',5b'} = 12.0$  Hz, H-5a'), 3.94 (dd, 1H,  $J_{4a',5b'} = 8.1$  Hz, H-5b'), 2.16, 2.09, 2.08 (3s, 9H, 3OAc);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 75.5 MHz):  $\delta$  170.2, 170.1, 170.0, 157.3, 142.8, 131.8, 127.3, 122.1, 78.1, 74.2, 73.6, 68.5, 65.0, 20.6, 20.5, 20.4; ESIMS ( $m/z$ ) 411.11  $[\text{M}+\text{H}^+]$ ; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_7\text{S}$ : C, 46.83; H, 4.42; N, 13.65; S, 7.81. Found: C, 47.00; H, 4.72; N, 13.74; S, 7.71.

**2-Amino-6-mercapto-9-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)purine (4a)**

Yield: 853 mg, 67%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +2$  (c 0.21,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.28$  (EtOAc);  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  10.31 (br s, 1H, NH), 7.83 (s, 1H, H-8), 6.19 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 10.4$  Hz, H-1'), 5.41 (t, 1H,  $J_{2',3'} = 9.1$  Hz, H-3'), 5.30 (t, 1H, H-2'), 5.19 (t, 1H,  $J_{3',4'} = 9.9$  Hz, H-4'), 5.11 (br s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 4.26 (dd, 1H,  $J_{5',6a'} = 4.8$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 12.5$  Hz, H-6a'), 4.16 (dd, 1H,  $J_{5',6b'} = 2.2$  Hz, H-6b'), 4.01 (m, 1H, H-5'), 2.06 (s, 3H, OAc), 2.03 (s, 6H, 2OAc), 2.00 (s, 3H, OAc).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 75.5 MHz):  $\delta$  170.9, 170.2, 169.5, 169.4, 158.6, 157.7, 152.1, 139.1, 124.0, 79.5, 75.8, 74.1, 69.4, 68.5, 62.2, 20.8, 20.7, 20.6, 20.5; ESIMS ( $m/z$ ) 498.11  $[\text{M}+\text{H}^+]$ ; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_9\text{S}$ : C, 45.87; H, 4.66; N, 14.08; S, 6.45. Found: C, 46.06; H, 4.81; N, 14.37; S, 6.40.

**2-Amino-6-mercapto-9-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)purine (4b)**

Yield: 828 mg, 65%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +28$  (c 0.15,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.26$  ( $9\text{CH}_2\text{Cl}_2/1\text{MeOH}$ );  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  10.25 (br s, 1H, NH), 7.87 (s, 1H, H-8), 6.17 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 10.3$  Hz, H-1'), 5.50-5.43 (m, 2H, H-2', H-4'), 5.23 (dd, 1H,  $J_{3',4'} = 3.0$  Hz,  $J_{2',3'} = 10.3$  Hz, H-3'), 5.10 (br s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 4.23-4.10 (m, 3H, H-5', H-6a',b'), 2.18 (s, 3H, OAc), 2.00 (s, 9H, 3OAc).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 75.5 MHz):  $\delta$  170.6, 170.3, 169.7, 169.6, 159.3, 157.2, 152.8, 139.5, 123.7, 79.1, 77.0, 75.4, 68.7, 67.9, 61.8, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6; ESIMS ( $m/z$ ) 498.13  $[\text{M}+\text{H}^+]$ ; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_9\text{S}$ : C, 45.87; H, 4.66; N, 14.08; S, 6.45. Found: C, 46.03; H, 4.86; N, 14.30; S, 6.58.

**2-Amino-6-mercapto-9-(2',3',4'-tri-O-acetyl-β-D-xylopyranosyl)purine (4c)**

Yield: 686 mg, 63%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -10$  (c 0.30,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.28$  ( $9.8\text{CH}_2\text{Cl}_2/0.2\text{MeOH}$ );  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  10.35 (br s, 1H, NH), 7.88 (s, 1H, H-8), 6.47 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 6.1$  Hz, H-1'), 5.25 (t, 1H,  $J_{3',4'} = 6.3$  Hz, H-3'), 5.17 (t, 1H,  $J_{2',3'} = 6.2$  Hz, H-2'), 5.13 (br s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 4.94 (m, 1H, H-4'), 4.33 (dd, 1H,  $J_{4',5a'} = 3.5$  Hz,  $J_{5a',5b'} = 12.3$  Hz, H-5a'), 3.72

(dd, 1H,  $J_{4',5b'} = 6.1$  Hz, H-5b'), 2.13, 2.10, 2.09 (3s, 9H, 3OAc).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 75.5 MHz):  $\delta$  171.8, 171.3, 169.8, 159.7, 157.9, 153.0, 138.8, 123.4, 79.5, 76.3, 75.6, 67.7, 62.1, 20.7, 20.6, 20.5; ESIMS ( $m/z$ ) 426.11 [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_7\text{S}$ : C, 45.17; H, 4.50; N, 16.46; S, 7.54. Found: C, 45.07; H, 4.39; N, 16.38; S, 7.44.

**2-Amino-6-mercapto-9-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-mannopyranosyl)purine (4d)**

Yield: 777 mg, 61%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +8$  (c 0.20,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.25$  ( $9.5\text{CH}_2\text{Cl}_2/0.5\text{MeOH}$ );  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  10.19 (br s, 1H, NH), 7.80 (s, 1H, H-8), 6.68 (s, 1H, H-1'), 5.71 (s, 1H, H-2'), 5.42 (m, 2H, H-3', H-4'), 5.09 (br s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 4.36 (dd, 1H,  $J_{5',6a'} = 4.3$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 4.27–4.07 (m, 2H, H-5', H-6b'), 2.23, 2.07, 2.06, 2.02 (4s, 12H, 4OAc).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 75.5 MHz):  $\delta$  170.6, 170.1, 170.0, 169.6, 158.9, 157.0, 151.9, 139.6, 124.0, 79.4, 72.5, 71.6, 69.7, 65.7, 62.1, 21.0, 20.7, 20.6, 20.5; ESIMS ( $m/z$ ) 498.12 [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_9\text{S}$ : C, 45.87; H, 4.66; N, 14.08; S, 6.45. Found: C, 45.73; H, 4.43; N, 13.83; S, 6.52.

**2-Amino-6-mercapto-9-(2',3',4'-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-lyxopyranosyl)purine (4e)**

Yield: 675 mg, 62%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -6$  (c 0.10,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.35$  ( $9\text{CH}_2\text{Cl}_2/1\text{MeOH}$ );  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  10.49 (br s, 1H, NH), 7.83 (s, 1H, H-8), 6.56 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 2.8$  Hz, H-1'), 5.68 (t, 1H,  $J_{2',3'} = 3.1$  Hz, H-2'), 5.42 (dd, 1H,  $J_{3',4'} = 9.2$  Hz, H-3'), 5.29 (m, 1H, H-4'), 5.12 (br s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 4.09 (dd, 1H,  $J_{4',5a'} = 4.9$  Hz,  $J_{5a',5b'} = 11.7$  Hz, H-5a'), 3.84 (m, 1H, H-5b'), 2.18, 2.08, 2.06 (3s, 9H, 3OAc).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 75.5 MHz):  $\delta$  171.7, 171.5, 169.9, 159.7, 157.6, 152.6, 137.8, 123.9, 79.4, 77.8, 76.6, 68.3, 63.9, 20.9, 20.8, 20.7; ESIMS ( $m/z$ ) 426.09 [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_7\text{S}$ : C, 45.17; H, 4.50; N, 16.46; S, 7.54. Found: C, 45.10; H, 4.42; N, 16.33; S, 7.47.

**General Procedure for the Preparation of 6-mercapto-9-( $\beta$ -D-pyranosyl)purines (3a-e) and 2-amino-6-mercapto-9-( $\beta$ -D-pyranosyl)purines (5a-e)**

The protected nucleosides **2a-e** and **4a-e** (0.8 mmol) were treated with methanolic ammonia (saturated at  $0^\circ\text{C}$ , 44.6 mL). The solution was stirred overnight at room temperature. The solvent was evaporated under reduced pressure to afford pure **3a-e** and **5a-e** in 64–78% yields, as yellowish and white foams.

**6-Mercapto-9-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)purine (3a)**

Yield: 174 mg, 69%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +8$  (c 0.25, MeOH);  $R_f = 0.25$  ( $8\text{CH}_2\text{Cl}_2/2\text{MeOH}$ );  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  12.69 (br s, 1H, NH),

8.68 (s, 1H, H-2), 8.42 (s, 1H, H-8), 6.87 (d, 1H,  $J = 5.3$  Hz, OH), 5.87 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.5$  Hz, H-1'), 5.18–4.74 (m, 3H, 3OH), 3.74–3.42 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a',b').  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 75.5 MHz):  $\delta$  158.0, 151.7, 145.3, 138.6, 131.9, 84.1, 80.2, 76.9, 72.7, 70.5, 63.7; ESIMS ( $m/z$ ) 315.09 [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$ : C, 42.03; H, 4.49; N, 17.82; S, 10.20. Found: C, 41.84; H, 4.31; N, 17.59; S, 10.30.

**6-Mercapto-9-( $\beta$ -D-galactopyranosyl)purine (3b)**

Yield: 176 mg, 70%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -2$  (c 0.15, MeOH);  $R_f = 0.18$  (8CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/2MeOH);  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  12.56 (br s, 1H, NH), 8.68 (s, 1H, H-2), 8.42 (s, 1H, H-8), 5.80 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 10.0$  Hz, H-1'), 4.81 (br s, 1H, OH), 4.49 (m, 2H, 2OH), 3.79 (br s, 1H, OH), 3.65–3.38 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a',b').  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 75.5 MHz):  $\delta$  158.1, 152.7, 144.9, 138.3, 132.8, 85.1, 81.8, 76.6, 72.6, 70.9, 63.0; ESIMS ( $m/z$ ) 315.10 [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$ : C, 42.03; H, 4.49; N, 17.82; S, 10.20. Found: C, 42.18; H, 4.71; N, 18.09; S, 10.28.

**6-Mercapto-9-( $\beta$ -D-xylopyranosyl)purine (3c)**

Yield: 177 mg, 78%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +8$  (c 0.23, MeOH);  $R_f = 0.19$  (8CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/2MeOH);  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  13.09 (br s, 1H, NH), 8.69 (s, 1H, H-2), 8.46 (s, 1H, H-8), 5.93 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.3$  Hz, H-1'), 5.43–5.05 (m, 3H, 3OH), 3.83 (dd, 1H,  $J_{4',5a'} = 4.6$  Hz,  $J_{3',4'} = 11.2$  Hz, H-4'), 3.45–3.35 (m, 2H, H-2', H-3'), 3.23 (m, 2H, H-5a',b').  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 75.5 MHz):  $\delta$  157.5, 152.6, 145.1, 138.5, 129.7, 83.4, 77.7, 72.7, 70.0, 69.5; ESIMS ( $m/z$ ) 285.08 [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$ : C, 42.25; H, 4.25; N, 19.71; S, 11.28. Found: C, 42.10; H, 4.13; N, 19.66; S, 11.38.

**6-Mercapto-9-( $\beta$ -D-mannopyranosyl)purine (3d)**

Yield: 189 mg, 75%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -4$  (c 0.15, MeOH);  $R_f = 0.25$  (8CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/2MeOH);  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  11.40 (br s, 1H, NH), 8.72 (s, 1H, H-2), 8.45 (s, 1H, H-8), 6.78 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 1.7$  Hz, H-1'), 5.23, 4.83, 4.75, 3.94 (4 br s, 4H, 4OH), 3.65–3.48 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a',b').  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 75.5 MHz):  $\delta$  157.8, 151.9, 145.7, 138.5, 133.4, 84.9, 80.0, 75.8, 72.5, 69.9, 63.6; ESIMS ( $m/z$ ) 315.08 [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$ : C, 42.03; H, 4.49; N, 17.82; S, 10.20. Found: C, 42.31; H, 4.82; N, 17.93; S, 10.35.

**6-Mercapto-9-( $\beta$ -D-lyxopyranosyl)purine (3e)**

Yield: 146 mg, 64%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +4$  (c 0.23, MeOH);  $R_f = 0.21$  (8CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/2MeOH);  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  12.90 (br s, 1H, NH), 8.70 (s, 1H, H-2), 8.42 (s, 1H, H-8), 6.50 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 5.0$  Hz, H-1'), 5.11–4.73 (m, 3H, 3OH), 4.05–3.63 (m, 5H, H-2', H-3', H-4', H-5a',b').  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 75.5 MHz):  $\delta$  158.0, 152.7, 145.7, 138.7, 129.1, 84.9, 78.4,

71.8, 69.7, 68.7; ESIMS ( $m/z$ ) 285.05 [ $M+H^+$ ]; Anal. Calcd. for  $C_{10}H_{12}N_4O_4S$ : C, 42.25; H, 4.25; N, 19.71; S, 11.28. Found: C, 42.42; H, 4.33; N, 19.80; S, 11.18.

**2-Amino-6-mercapto-9-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)purine (5a)**

Yield: 192 mg, 73%;  $[\alpha]_D^{22} = +2$  (c 0.10, MeOH);  $R_f = 0.24$  ( $8CH_2Cl_2/2MeOH$ );  $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  11.97 (br s, 1H, NH), 7.92 (s, 1H, H-8), 6.33 (s, 2H,  $NH_2$ ), 5.83 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.7$  Hz, H-1'), 5.42, (d, 1H,  $J = 5.4$  Hz, OH), 5.13, (d, 1H,  $J = 4.0$  Hz, OH), 5.00 (d, 1H,  $J = 4.6$  Hz, OH), 4.40 (br s, 1H, OH), 3.61–3.19 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a',b').  $^{13}C$  NMR (DMSO- $d_6$ , 75.5 MHz):  $\delta$  159.4, 157.6, 152.1, 139.0, 123.9, 81.5, 80.8, 78.5, 72.2, 69.5, 60.6; ESIMS ( $m/z$ ) 330.09 [ $M+H^+$ ]; Anal. Calcd. for  $C_{11}H_{15}N_5O_5S$ : C, 40.12; H, 4.59; N, 21.27; S, 9.74. Found: C, 40.35; H, 4.77; N, 21.60; S, 9.88.

**2-Amino-6-mercapto-9-( $\beta$ -D-galactopyranosyl)purine (5b)**

Yield: 198 mg, 75%;  $[\alpha]_D^{22} = -2$  (c 0.46, MeOH);  $R_f = 0.18$  ( $8CH_2Cl_2/2MeOH$ );  $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  12.40 (br s, 1H, NH), 7.90 (s, 1H, H-8), 6.26 (s, 2H,  $NH_2$ ), 5.78 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.9$  Hz, H-1'), 5.20, 4.83 (2 br s, 2H, 2OH), 4.55–4.46 (m, 2H, 2OH), 3.78–3.37 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a',b').  $^{13}C$  NMR (DMSO- $d_6$ , 75.5 MHz):  $\delta$  159.3, 157.7, 152.1, 138.9, 123.9, 81.9, 79.1, 75.0, 69.1, 68.2, 60.1; ESIMS ( $m/z$ ) 330.08 [ $M+H^+$ ]; Anal. Calcd. for  $C_{11}H_{15}N_5O_5S$ : C, 40.12; H, 4.59; N, 21.27; S, 9.74. Found: C, 40.37; H, 4.79; N, 21.57; S, 9.66.

**2-Amino-6-mercapto-9-( $\beta$ -D-xylopyranosyl)purine (5c)**

Yield: 182 mg, 76%;  $[\alpha]_D^{22} = -4$  (c 0.10, MeOH);  $R_f = 0.32$  ( $9CH_2Cl_2/1MeOH$ );  $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  12.30 (br s, 1H, NH), 7.91 (s, 1H, H-8), 6.30 (s, 2H,  $NH_2$ ), 5.89 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.2$  Hz, H-1'), 5.39, 5.16, 5.04 (3 br s, 3H, 3OH), 3.81 (dd, 1H,  $J_{4',5a'} = 4.2$  Hz,  $J_{5a',5b'} = 10.8$  Hz, H-5a'), 3.47–3.33 (m, 4H, H-2', H-3', H-4', H-5b').  $^{13}C$  NMR (DMSO- $d_6$ , 75.5 MHz):  $\delta$  159.4, 157.4, 152.1, 138.9, 123.9, 81.9, 77.0, 71.9, 69.2, 68.5; ESIMS ( $m/z$ ) 300.07 [ $M+H^+$ ]; Anal. Calcd. for  $C_{10}H_{13}N_5O_4S$ : C, 40.13; H, 4.38; N, 23.40; S, 10.71. Found: C, 40.27; H, 4.53; N, 23.57; S, 10.91.

**2-Amino-6-mercapto-9-( $\beta$ -D-mannopyranosyl)purine (5d)**

Yield: 184 mg, 70%;  $[\alpha]_D^{22} = +10$  (c 0.50, MeOH);  $R_f = 0.19$  ( $7CH_2Cl_2/3MeOH$ );  $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  12.50 (br s, 1H, NH), 7.91 (s, 1H, H-8), 6.70 (s, 1H, H-1'), 6.31 (s, 2H,  $NH_2$ ), 5.12 (br s, 1H, OH), 4.79 (br s, 2H, 2OH), 4.38 (br s, 1H, OH), 3.90 (m, 1H, H-2'), 3.65–3.47 (m, 5H, H-3', H-4', H-5', H-6a',b').  $^{13}C$  NMR (DMSO- $d_6$ , 75.5 MHz):  $\delta$  159.9, 157.7, 152.9, 138.3, 123.8, 83.8, 79.5, 78.7, 72.8, 69.9, 62.7; ESIMS



(*m/z*) 330.11 [*M*+*H*<sup>+</sup>]; Anal. Calcd. for C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S: C, 40.12; H, 4.59; N, 21.27; S, 9.74. Found: C, 40.27; H, 4.97; N, 21.44; S, 9.60.

**2-Amino-6-mercapto-9-(β-D-lyxopyranosyl)purine (5e)**

Yield: 163 mg, 68%; [*α*]<sub>D</sub><sup>22</sup> = −2 (c 0.22, MeOH); *R*<sub>f</sub> = 0.19 (8CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/2MeOH); <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz): δ 12.25 (br s, 1H, NH), 7.92 (s, 1H, H-8), 6.45 (d, 1H, *J*<sub>1',2'</sub> = 4.3 Hz, H-1'), 6.31 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.16 (br s, 1H, OH), 4.88 (br s, 2H, 2OH), 3.89-3.40 (m, 5H, H-2', H-3', H-4', H-5a',b'). <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 75.5 MHz): δ 159.6, 157.9, 152.5, 139.0, 123.6, 81.6, 78.8, 71.0, 69.4, 68.9; ESIMS (*m/z*) 300.09 [*M*+*H*<sup>+</sup>]; Anal. Calcd. for C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>S: C, 40.13; H, 4.38; N, 23.40; S, 10.71. Found: C, 40.03; H, 4.27; N, 23.27; S, 10.85.

**General Method for the Preparation of 2-amino-6-chloro-7-(per-*O*-acetyl-β-*D*-pyranosyl)purines (6a-e) and 6-chloro-7-(per-*O*-acetyl-β-*D*-pyranosyl)purines (9a-e)**

A mixture of 2-amino-6-chloropurine or 6-chloropurine (3.33 mmol, 1.3 eq), hexamethyldisilazane (HMDS) (4.13 mmol, 1.24 eq), saccharine (0.15 mmol, 0.046 eq), in anhydrous CH<sub>3</sub>CN (14 mL) was refluxed for 1 hour under nitrogen. A mixture of the desired acetylated sugar **1a-e** (2.56 mmol), and TMSOTf (3.58 mmol, 1.4 eq) were then added and the reaction mixture was stirring from room temperature to reflux temperature for two more hours, cooled, neutralized with aqueous sodium bicarbonate, and extracted with ethyl acetate (EtOAc, 1000 mL). The organic extract was dried over anhydrous sodium sulfate, filtered, and evaporated to dryness. The residue was purified by flash column chromatography to give compounds **6a-e** and **9a-e**, in 55–73% yields as white foams.

**2-Amino-6-chloro-7-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl-β-*D*-glucopyranosyl)purine (6a)**

Yield: 819 mg, 64%; [*α*]<sub>D</sub><sup>22</sup> = −2 (c 0.40, CHCl<sub>3</sub>); *R*<sub>f</sub> = 0.25 (EtOAc); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 8.24 (s, 1H, H-8), 6.11 (d, 1H, *J*<sub>1',2'</sub> = 9.0 Hz, H-1'), 5.67 (t, 1H, *J*<sub>2',3'</sub> = 9.2 Hz, H-2'), 5.60 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.50 (t, 1H, *J*<sub>3',4'</sub> = 9.4 Hz, H-3'), 5.27 (t, 1H, *J*<sub>4',5'</sub> = 9.8 Hz, H-4'), 4.30–4.21 (m, 2H, H-6a',b'), 4.04 (m, 1H, H-5'), 2.08, 2.07, 2.06, 1.91 (4s, 12H, 4OAc). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75.5 MHz): δ 171.2, 170.6, 169.9, 169.3, 164.5, 158.2, 145.4, 143.6, 115.0, 74.9, 72.9, 69.9, 67.6, 61.4, 60.4, 20.7, 20.6, 20.5, 20.3; ESIMS (*m/z*) 500.13 [*M*+*H*<sup>+</sup>]; Anal. Calcd. for C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>9</sub>: C, 45.65; H, 4.44; Cl, 7.09; N, 14.01. Found: C, 45.38; H, 4.29; Cl, 7.29; N, 13.90.

**2-Amino-6-chloro-7-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl-β-*D*-galactopyranosyl)purine (6b)**

Yield: 870 mg, 68%; [*α*]<sub>D</sub><sup>22</sup> = −6 (c 0.30, CHCl<sub>3</sub>); *R*<sub>f</sub> = 0.13 (9EtOAc/1Hex); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 8.31 (s, 1H, H-8), 6.00

(d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.3$  Hz, H-1'), 5.79 (t, 1H,  $J_{2',3'} = 9.7$  Hz, H-2'), 5.62 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.56 (d, 1H,  $J_{3',4'} = 3.0$  Hz, H-4'), 5.30 (dd, 1H, H-3'), 4.28-4.11 (m, 3H, H-5', H-6a',b'), 2.22, 2.04, 2.02, 1.90 (4s, 12H, 4OAc). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75.5 MHz):  $\delta$  170.2, 169.8, 169.7, 169.1, 164.2, 159.2, 146.7, 144.0, 115.4, 79.2, 74.1, 71.3, 67.8, 67.1, 61.3, 20.6, 20.4, 20.3, 20.2; ESIMS ( $m/z$ ) 500.10 [M+H<sup>+</sup>]; Anal. Calcd. for C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>9</sub>: C, 45.65; H, 4.44; Cl, 7.09; N, 14.01. Found: C, 45.50; H, 4.53; Cl, 7.15; N, 14.33.

**2-Amino-6-chloro-7-(2',3',4'-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-xylopyranosyl)purine (6c)**

Yield: 778 mg, 71%;  $[\alpha]_D^{22} = -2$  (c 0.20, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.33$  (7EtOAc/3Hex); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):  $\delta$  7.90 (s, 1H, H-8), 5.61 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.57 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 5.42 (t, 1H,  $J_{2',3'} = 9.0$  Hz, H-2'), 5.24-5.15 (m, 2H, H-3', H-4'), 4.30 (dd, 1H,  $J_{4',5a'} = 5.6$  Hz,  $J_{5a',5b'} = 11.5$  Hz, H-5a'), 3.56 (m, 1H, H-5b'), 2.08, 2.06, 1.82 (3s, 9H, 3OAc). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75.5 MHz):  $\delta$  170.7, 169.2, 169.1, 164.7, 159.6, 145.7, 143.7, 115.7, 79.2, 76.6, 75.3, 68.8, 65.1, 20.6, 20.4, 20.2; ESIMS ( $m/z$ ) 428.10 [M+H<sup>+</sup>]; Anal. Calcd. for C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>7</sub>: C, 44.92; H, 4.24; Cl, 8.29; N, 16.37. Found: C, 45.07; H, 4.33; Cl, 8.38; N, 16.44.

**2-Amino-6-chloro-7-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyl)purine (6d)**

Yield: 883 mg, 69%;  $[\alpha]_D^{22} = +8$  (c 0.39, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.26$  (8EtOAc/2Hex); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):  $\delta$  8.57 (s, 1H, H-8), 6.42 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 7.8$  Hz, H-1'), 5.77 (dd, 1H,  $J_{2',3'} = 3.2$  Hz, H-2'), 5.59 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.49 (t, 1H,  $J_{3',4'} = 4.0$  Hz,  $J_{4',5'} = 3.6$  Hz, H-4'), 5.11 (t, 1H, H-3'), 4.95 (m, 1H, H-6a'), 4.25 (m, 1H, H-5'), 4.05 (dd, 1H,  $J_{5',6b'} = 3.8$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 12.8$  Hz, H-6b'), 2.22, 2.19, 2.06, 1.97 (4s, 12H, 4OAc). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75.5 MHz):  $\delta$  170.6, 169.3, 168.2, 168.10, 164.2, 159.4, 146.6, 144.0, 115.9, 77.9, 75.1, 68.4, 67.2, 67.1, 60.1, 20.8, 20.7, 20.6, 20.4; ESIMS ( $m/z$ ) 500.09 [M+H<sup>+</sup>]; Anal. Calcd. for C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>9</sub>: C, 45.65; H, 4.44; Cl, 7.09; N, 14.01. Found: C, 45.42; H, 4.33; Cl, 7.35; N, 13.83.

**2-Amino-6-chloro-7-(2',3',4'-tri-O-acetyl- $\alpha$ -D-lyxopyranosyl)purine (6e)**

Yield: 799 mg, 73%;  $[\alpha]_D^{22} = -36$  (c 0.50, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.40$  (8EtOAc/2Hex); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):  $\delta$  8.61 (s, 1H, H-8), 6.09 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 7.8$  Hz, H-1'), 5.61 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.40 (m, 1H, H-3'), 4.95 (m, 1H, H-4'), 4.19-4.13 (m, 3H, H-2', H-5a',b'), 2.22 (s, 3H, OAc) 2.20 (s, 6H, 2OAc). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75.5 MHz):  $\delta$  170.4, 169.6, 169.4, 164.7, 159.8, 148.9, 145.9, 115.8, 80.5, 75.9, 71.3, 68.4, 65.6, 20.8, 20.5, 20.4; ESIMS ( $m/z$ ) 428.11 [M+H<sup>+</sup>]; Anal. Calcd. for C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>7</sub>: C, 44.92; H, 4.24; Cl, 8.29; N, 16.37. Found: C, 45.11; H, 4.40; Cl, 8.49; N, 16.57.

**6-Chloro-7-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)purine (9a)**

Yield: 745 mg, 60%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -4$  (c 0.21,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.35$  (7EtOAc/3Hex);  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  8.77 (s, 1H, H-2), 8.33 (s, 1H, H-8), 5.94 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.5$  Hz, H-1'), 5.67 (t, 1H,  $J_{2',3'} = 9.5$  Hz, H-2'), 5.48 (t, 1H,  $J_{3',4'} = 9.5$  Hz, H-3'), 5.31 (t, 1H,  $J_{4',5'} = 9.9$  Hz, H-4'), 4.30 (dd, 1H,  $J_{5',6a'} = 4.8$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 12.6$  Hz, H-6a'), 4.14 (dd, 1H,  $J_{5',6b'} = 2.2$  Hz, H-6b'), 4.04 (m, 1H, H-5'), 2.07 (s, 3H, OAc), 2.06 (s, 3H, OAc), 2.03 (s, 6H, 2OAc).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 75.5 MHz):  $\delta$  170.4, 169.8, 169.3, 168.9, 162.0, 152.5, 148.6, 142.9, 131.5, 80.8, 75.2, 72.7, 70.1, 67.7, 61.4, 20.6, 20.5, 20.4, 20.1; ESIMS ( $m/z$ ) 485.11  $[\text{M}+\text{H}^+]$ ; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{ClN}_4\text{O}_9$ : C, 47.07; H, 4.37; Cl, 7.31; N, 11.56. Found: C, 47.27; H, 4.56; Cl, 7.51; N, 11.83.

**6-Chloro-7-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)purine (9b)**

Yield: 683 mg, 55%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -2$  (c 0.27,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.49$  (4EtOAc/6Hex);  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  8.78 (s, 1H, H-2), 8.38 (s, 1H, H-8), 5.93 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 5.74 (t, 1H,  $J_{2',3'} = 9.9$  Hz, H-2'), 5.59 (d, 1H,  $J_{4',5'} = 2.6$  Hz, H-4'), 5.32 (dd, 1H,  $J_{3',4'} = 3.3$  Hz, H-3'), 4.27 (m, 1H, H-5'), 4.21 (dd, 1H,  $J_{5',6a'} = 6.1$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 11.5$  Hz, H-6a'), 4.15 (dd, 1H,  $J_{5',6b'} = 6.8$  Hz, H-6b'), 2.26, 2.03, 2.02, 1.76 (4s, 12H, 4OAc).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 75.5 MHz):  $\delta$  171.4, 170.8, 170.3, 169.9, 162.9, 152.9, 149.3, 143.7, 132.7, 81.3, 76.9, 73.5, 71.5, 68.3, 62.9, 21.8, 21.6, 21.5, 20.2; ESIMS ( $m/z$ ) 485.09  $[\text{M}+\text{H}^+]$ ; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{ClN}_4\text{O}_9$ : C, 47.07; H, 4.37; Cl, 7.31; N, 11.56. Found: C, 47.30; H, 4.75; Cl, 7.48; N, 11.78.

**6-Chloro-7-(2',3',4'-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-xylopyranosyl)purine (9c)**

Yield: 687 mg, 65%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +2$  (c 0.23,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.38$  (6EtOAc/4Hex);  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  8.93 (s, 1H, H-2), 8.49 (s, 1H, H-8), 6.13 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.1$  Hz, H-1'), 5.58 (t, 1H,  $J_{2',3'} = 9.1$  Hz, H-2'), 5.49 (t, 1H,  $J_{3',4'} = 9.3$  Hz, H-3'), 5.21 (m, 1H, H-4'), 4.36 (dd, 1H,  $J_{4',5a'} = 5.6$  Hz,  $J_{5a',5b'} = 11.4$  Hz, H-5a'), 3.67 (t, 1H,  $J_{4',5b'} = 11.0$  Hz, H-5b'), 2.09, 2.08, 1.85 (3s, 9H, 3OAc).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 75.5 MHz):  $\delta$  169.9, 168.8, 168.6, 162.6, 152.3, 146.1, 142.2, 123.0, 81.4, 69.7, 69.1, 68.2, 67.0, 20.8, 20.7, 20.6; ESIMS ( $m/z$ ) 413.10  $[\text{M}+\text{H}^+]$ ; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{O}_7$ : C, 46.56; H, 4.15; Cl, 8.59; N, 13.57. Found: C, 46.26; H, 4.11; Cl, 8.72; N, 13.37.

**6-Chloro-7-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyl)purine (9d)**

Yield: 794 mg, 64%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +10$  (c 0.32,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.28$  (5EtOAc/5Hex);  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  8.80 (s, 1H, H-2), 8.31 (s, 1H, H-8), 6.31 (dd, 1H,  $J_{2',3'} = 3.2$  Hz,  $J_{1',2'} = 7.7$  Hz, H-2'), 6.22 (d, 1H, H-1'), 5.61 (dd, 1H,  $J_{3',4'} = 4.6$  Hz, H-3'), 5.11 (t, 1H,  $J_{4',5'} = 4.6$  Hz, H-4'), 4.82 (dd, 1H,  $J_{5',6a'} = 3.9$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 12.3$  Hz, H-6a'), 4.34 (m, 1H, H-5'), 4.12 (dd, 1H,  $J_{5',6b'} = 3.5$  Hz, H-6b'), 2.21, 2.20, 2.06, 1.92 (4s, 12H, 4OAc).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 75.5 MHz):  $\delta$  170.8, 169.2, 169.1, 169.0,

152.8, 152.2, 148.6, 143.1, 132.8, 81.3, 76.8, 73.4, 71.7, 68.6, 62.8, 21.4, 21.3, 21.2, 20.2; ESIMS ( $m/z$ ) 485.10  $[M+H^+]$ ; Anal. Calcd. for  $C_{19}H_{21}ClN_4O_9$ : C, 47.07; H, 4.37; Cl, 7.31; N, 11.56. Found: C, 46.92; H, 4.09; Cl, 7.22; N, 11.25.

**6-Chloro-7-(2',3',4'-tri-O-acetyl- $\alpha$ -D-lyxopyranosyl)purine (9e)**

Yield: 687 mg, 65%;  $[\alpha]_D^{22} = -6$  (c 0.25,  $CHCl_3$ );  $R_f = 0.15$  (4EtOAc/6Hex);  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 300 MHz):  $\delta$  8.92 (s, 1H, H-2), 8.48 (s, 1H, H-8), 6.43 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.9$  Hz, H-1'), 5.60–5.57 (m, 2H, H-2', H-3'), 4.99 (m, 1H, H-4'), 4.27, 4.16 (q, AB-system, 2H,  $J = 14.1$  Hz, H-5a',b'), 2.23 (s, 6H, 2OAc), 1.82 (s, 3H, OAc).  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ , 75.5 MHz):  $\delta$  169.4, 168.8, 168.7, 162.2, 152.9, 146.3, 142.8, 122.3, 80.5, 68.5, 68.1, 67.6, 66.6, 20.9, 20.6, 20.2; ESIMS ( $m/z$ ) 413.09  $[M+H^+]$ ; Anal. Calcd. for  $C_{16}H_{17}ClN_4O_7$ : C, 46.56; H, 4.15; Cl, 8.59; N, 13.57. Found: C, 46.80; H, 4.33; Cl, 8.81; N, 13.82.

**General Procedure for the Preparation of 2-amino-6-mercapto-7-( $\beta$ -D-pyranosyl)purines (8a-e) and 6-mercapto-7-( $\beta$ -D-pyranosyl)purines (11a-e)**

A mixture of the protected 2-amino-6-chloropurine (**6a–e**) or 6-chloropurine (**9a–e**) nucleosides (1 mmol) in 4 mL of anhydrous DMF and 1.36 mmol of KSAc was heated for 30 minutes under reflux. After that, the mixture was concentrated under high vacuum pump to eliminate the DMF. The whole was partitioned between brine and EtOAc, the organic extract was dried over anhydrous sodium sulfate, filtered, and evaporated to dryness. The residue was then treated with methanolic ammonia (saturated at 0°C, 55.8 mL), the solution was stirred overnight at room temperature and then evaporated under reduced pressure. The residue was purified by flash column chromatography to afford the unprotected derivatives **8a–e** and **11a–e**, in good yields 64–78% as white foams.

**2-Amino-6-mercapto-7-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)purine (8a)**

Yield: 240 mg, 73%;  $[\alpha]_D^{22} = -2$  (c 0.10, MeOH);  $R_f = 0.24$  (8 $CH_2Cl_2$ /2MeOH);  $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  11.93 (br s, 1H, NH), 8.40 (s, 1H, H-8), 6.65 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.3$  Hz, H-1'), 6.48 (s, 2H,  $NH_2$ ), 5.27 (d, 1H,  $J = 5.4$  Hz, OH), 5.15 (d, 1H,  $J = 2.4$  Hz, OH), 4.94 (d, 1H,  $J = 4.8$  Hz, OH), 4.36 (t, 1H,  $J = 5.9$  Hz, OH), 3.83–3.40 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a',b').  $^{13}C$  NMR (DMSO- $d_6$ , 75.5 MHz):  $\delta$  156.7, 152.9, 145.4, 136.6, 119.1, 82.8, 80.0, 77.5, 71.1, 69.4, 60.4; ESIMS ( $m/z$ ) 330.10  $[M+H^+]$ ; Anal. Calcd. for  $C_{11}H_{15}N_5O_5S$ : C, 40.12; H, 4.59; N, 21.27; S, 9.74. Found: C, 40.42; H, 4.68; N, 21.45; S, 9.67.

**2-Amino-6-mercapto-7-( $\beta$ -D-galactopyranosyl)purine (8b)**

Yield: 247 mg, 75%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +2$  (c 0.33, MeOH);  $R_f = 0.18$  (8CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/2MeOH); <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz):  $\delta$  11.94 (br s, 1H, NH), 8.33 (s, 1H, H-8), 6.66–6.45 (m, 3H, H-1', NH<sub>2</sub>), 5.17, 4.87, 4.51, 4.44 (4br s, 4H, 4OH), 4.09–3.48 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a', b'). <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 75.5 MHz):  $\delta$  159.0, 152.3, 145.2, 136.7, 119.5, 82.8, 78.6, 74.0, 69.0, 68.1, 60.0; ESIMS (*m/z*) 330.09 [M+H<sup>+</sup>]; Anal. Calcd. for C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S: C, 40.12; H, 4.59; N, 21.27; S, 9.74. Found: C, 40.29; H, 4.69; N, 21.47; S, 9.78.

**2-Amino-6-mercapto-7-( $\beta$ -D-xylopyranosyl)purine (8c)**

Yield: 227 mg, 76%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -2$  (c 0.15, MeOH);  $R_f = 0.22$  (9CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/1MeOH); <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz):  $\delta$  11.68 (br s, 1H, NH), 8.00 (s, 1H, H-8), 6.78 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.32–5.08 (m, 4H, 3OH, H-1'), 3.88–3.81 (m, 3H, H-2', H-3', H-4'), 3.53–3.45 (m, 2H, H-5a', b'). <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 75.5 MHz):  $\delta$  159.6, 152.9, 147.9, 138.5, 118.0, 83.1, 77.2, 70.8, 68.9, 68.3; ESIMS (*m/z*) 300.08 [M+H<sup>+</sup>]; Anal. Calcd. for C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>S: C, 40.13; H, 4.38; N, 23.40; S, 10.71. Found: C, 40.27; H, 4.53; N, 23.57; S, 10.61.

**2-Amino-6-mercapto-7-( $\alpha$ -D-mannopyranosyl)purine (8d)**

Yield: 224 mg, 68%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -2$  (c 0.10, MeOH);  $R_f = 0.19$  (7CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/3MeOH); <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 300 MHz):  $\delta$  8.50 (s, 1H, H-8), 7.37 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.2$  Hz, H-1'), 4.40–4.35 (m, 2H, H-2', H-3'), 4.08 (m, 1H, H-4'), 3.97 (m, 1H, H-5'), 3.68 (m, 2H, H-6a', b'). <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 75.5 MHz):  $\delta$  159.6, 152.4, 145.9, 137.3, 119.3, 82.2, 78.9, 77.8, 70.9, 69.8, 60.8; ESIMS (*m/z*) 330.08 [M+H<sup>+</sup>]; Anal. Calcd. for C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S: C, 40.12; H, 4.59; N, 21.27; S, 9.74. Found: C, 39.99; H, 4.26; N, 20.98; S, 9.90.

**2-Amino-6-mercapto-7-( $\alpha$ -D-lyxopyranosyl)purine (8e)**

Yield: 224 mg, 75%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -2$  (c 0.15, MeOH);  $R_f = 0.16$  (8CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/2MeOH); <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz):  $\delta$  11.97 (br s, 1H, NH), 8.39 (s, 1H, H-8), 6.84 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 6.52 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.18, 5.06, 4.93 (3br s, 3H, 3OH), 4.26 (m, 1H, H-2'), 4.03–3.90 (m, 2H, H-3', H-4'), 3.60–3.54 (m, 2H, H-5a', b'). <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 75.5 MHz):  $\delta$  159.2, 152.7, 147.9, 138.4, 118.0, 80.0, 77.2, 70.7, 68.7, 68.1; ESIMS (*m/z*) 300.06 [M+H<sup>+</sup>]; Anal. Calcd. for C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>S: C, 40.13; H, 4.38; N, 23.40; S, 10.71. Found: C, 40.03; H, 4.27; N, 23.27; S, 10.57.

**6-Mercapto-7-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)purine (11a)**

Yield: 201 mg, 64%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -3$  (c 0.22, MeOH);  $R_f = 0.12$  (7CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/3MeOH); <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz):  $\delta$  13.60 (br s, 1H, NH), 8.86 (s, 1H, H-2), 8.69 (s, 1H, H-8), 5.53 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.3$  Hz, H-1'),

5.43, 5.35, 5.14, 4.53 (4br s, 4H, 4OH), 4.06 (t, 1H,  $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 9.0$  Hz, H-3'), 3.73 (m, 1H, H-2'), 3.46–3.38 (m, 4H, H-4', H-5', H-6a',b').  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 75.5 MHz):  $\delta$  157.6, 151.5, 148.9, 143.9, 130.7, 83.3, 80.0, 76.9, 71.1, 69.6, 60.8; ESIMS ( $m/z$ ) 315.08 [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$ : C, 42.03; H, 4.49; N, 17.82; S, 10.20. Found: C, 41.81; H, 4.36; N, 17.55; S, 10.38.

**6-Mercapto-7-( $\beta$ -D-galactopyranosyl)purine (11b)**

Yield: 217 mg, 69%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -6$  (c 0.15, MeOH);  $R_f = 0.10$  (9CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/1MeOH);  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  13.67 (br s, 1H, NH), 8.40 (s, 1H, H-2), 8.20 (s, 1H, H-8), 5.36 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.2$  Hz, H-1'), 5.23, 4.96, 4.63, 4.54 (4 br s, 4H, 4OH), 4.15 (t, 1H,  $J_{2',3'} = 8.4$  Hz, H-2'), 3.79–3.53 (m, 5H, H-3', H-4', H-5', H-6a',b').  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 75.5 MHz):  $\delta$  157.9, 152.5, 149.2, 144.1, 131.8, 84.1, 79.9, 75.7, 72.3, 70.5, 61.3; ESIMS ( $m/z$ ) 315.09 [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$ : C, 42.03; H, 4.49; N, 17.82; S, 10.20. Found: C, 41.79; H, 4.40; N, 17.60; S, 10.36.

**6-Mercapto-7-( $\beta$ -D-xylopyranosyl)purine (11c)**

Yield: 222 mg, 78%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -2$  (c 0.13, MeOH);  $R_f = 0.23$  (8CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/2MeOH);  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  13.67 (br s, 1H, NH), 8.77 (s, 1H, H-2), 8.20 (s, 1H, H-8), 6.80 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.8$  Hz, H-1'), 5.42 (d, 1H,  $J = 5.1$  Hz, OH), 5.32 (br s, 1H, OH), 5.08 (d, 1H,  $J = 4.4$  Hz, OH), 3.95–3.80 (m, 2H, H-4', H-5a'), 3.51–3.35 (m, 3H, H-2', H-3', H-5b').  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 75.5 MHz):  $\delta$  157.5, 152.2, 144.3, 143.8, 124.5, 82.4, 72.7, 70.9, 68.8, 67.9; ESIMS ( $m/z$ ) 285.05 [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$ : C, 42.25; H, 4.25; N, 19.71; S, 11.28. Found: C, 42.35; H, 4.38; N, 19.88; S, 11.10.

**6-Mercapto-7-( $\alpha$ -D-mannopyranosyl)purine (11d)**

Yield: 229 mg, 73%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +4$  (c 0.18, MeOH);  $R_f = 0.29$  (8CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/2MeOH);  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  13.62 (br s, 1H, NH), 8.85 (s, 1H, H-2), 8.64 (s, 1H, H-8), 5.96 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.1$  Hz, H-1'), 5.43 (br s, 1H, OH), 5.17–5.11 (m, 3H, 3OH), 4.69–4.57 (m, 2H, H-2', H-3'), 3.88–3.63 (m, 4H, H-4', H-5', H-6a',b').  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 75.5 MHz):  $\delta$  157.5, 151.4, 148.3, 143.8, 132.9, 84.1, 79.9, 76.4, 70.7, 69.9, 63.0; ESIMS ( $m/z$ ) 315.06 [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$ : C, 42.03; H, 4.49; N, 17.82; S, 10.20. Found: C, 42.36; H, 4.74; N, 18.11; S, 10.44.

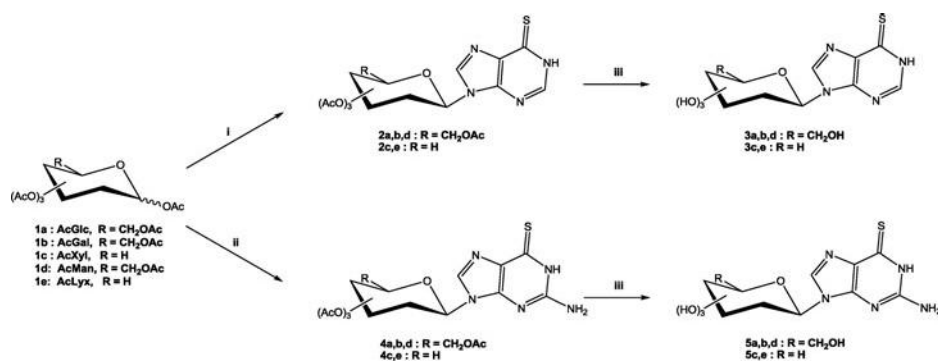
**6-Mercapto-7-( $\alpha$ -D-lyxopyranosyl)purine (11e)**

Yield: 182 mg, 64%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -2$  (c 0.20, MeOH);  $R_f = 0.24$  (8CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/2MeOH);  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  13.64 (br s, 1H, NH), 8.70 (s, 1H, H-2), 8.18 (s, 1H, H-8), 7.04 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.8$  Hz, H-1'), 5.20 (br s, 1H, OH), 5.07 (d, 1H,  $J = 4.0$  Hz, OH), 4.95 (d, 1H,  $J = 7.1$  Hz, OH), 4.34

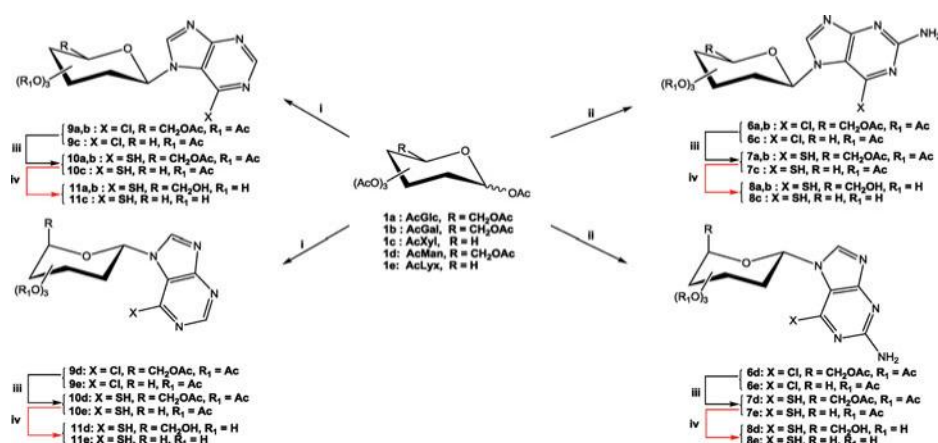
(dd, 1H,  $J_{2',3'} = 2.7$  Hz, H-2'), 4.03–3.94 (m, 2H, H-3', H-4'), 3.63–3.59 (m, 2H, H-5a',b').  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 75.5 MHz):  $\delta$  158.0, 151.2, 146.0, 144.4, 125.8, 81.2, 71.5, 69.7, 67.4, 66.7; ESIMS ( $m/z$ ) 285.07 [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$ : C, 42.25; H, 4.25; N, 19.71; S, 11.28. Found: C, 42.37; H, 4.15; N, 19.87; S, 11.35.

### Antiproliferative Assays

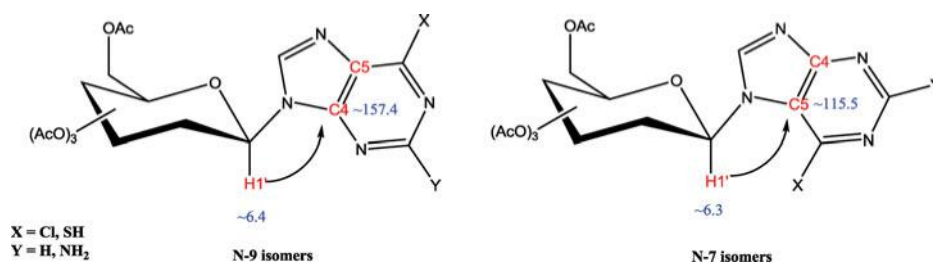
All the compounds in Schemes 1 and 2 were evaluated for their cytostatic activity against human HeLa cervix carcinoma cells, human CEM CD4+ T-lymphocytes as well as murine L1210 cells. All assays were performed in 96-well microtiter plates. To each well were added  $(5\text{--}7.5) \times 10^4$  tumor cells



**SCHEME 1** Reagents and Conditions: (i) 6-mercaptopurine, CH<sub>3</sub>CN, HMDS, Saccharine, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, TMSCl, TMSOTf; (ii) 6-thioguanine, CH<sub>3</sub>CN, HMDS, Saccharine, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, TMSCl, TMSOTf; (iii) ammonia/MeOH.



**SCHEME 2** Reagents and Conditions: (i) 6-chloropurine, CH<sub>3</sub>CN, HMDS, Saccharine, TMSOTf; (ii) 2-amino-6-chloropurine, CH<sub>3</sub>CN, HMDS, Saccharine, TMSOTf; (iii) KSac, DMF; (iv) ammonia/MeOH.



**SCHEME 3** HMBC correlations of N-9 and N-7 regioisomers.

and a given amount of the test compound. The cells were allowed to proliferate for 48 hours (murine leukemia L1210 cells) or 72 hours (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

We thank Lizette van Berckelaer for her excellent technical assistance in the biological assays.

## FUNDING

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).

## REFERENCES

1. Fotoohi, K.A.; Coulthard, A.S.; Albertioni, F. Thiopurines: factors influencing toxicity and response. *Biochem. Pharmacol.* **2010**, *79*, 1211–1220.
2. Walko, C.M.; McLeod, H. Pharmacogenomic progress in individualized dosing of key drugs for cancer patients. *Nat. Clin. Pract. Oncol.* **2009**, *6*, 153–162.
3. Karran, P. Thiopurines, DNA damage, DNA repair and therapy-related cancer. *Br. Med. Bull.* **2006**, *79*–80, 153–170.
4. 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. Analysis of thiopurine methyltransferase variant alleles in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Br. J. Haematol.* **1999**, *105*, 696–700.
5. Relling, M.V.; Hancock, M.L.; Boyett, J.M.; Pui, C.H.; Evans, W.E. Prognostic importance of 6-mercaptopurine dose intensity in acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* **1999**, *93*, 2817–2823.



6. Present, D.H.; Meltzer, S.J.; Krumholz, M.P.; Wolke, A.; Korelitz, B.I. 6-Mercaptopurine in the management of inflammatory bowel disease: short- and long-term toxicity. *Ann. Intern. Med.* **1989**, *111*, 641–649.
7. Korelitz, B.I.; Adler, D.J.; Mendelsohn, R.A.; Sacknoff, A.L. Long-term experience with 6-mercaptopurine in the treatment of Crohn's disease. *Am. J. Gastroenterol.* **1993**, *88*, 1198–1205.
8. Al Hadithy, A.F.; de Boer, N.K.; Derijks, L.J.; Escher, J.C.; Mulder, C.J.; Brouwers, J.R. Thiopurines in inflammatory bowel disease: pharmacogenetics, therapeutic drug monitoring and clinical recommendations. *Dig. Liver Dis.* **2005**, *37*, 282–297.
9. Setshedi, M.; Epstein, D.; Winter, T.A.; Myer, L.; Watermeyer, G.; Hift, R. Use of thiopurines in the treatment of inflammatory bowel disease is associated with an increased risk of non-melanoma skin cancer in an at-risk population: A cohort study. *J. Gastroenterol. Hepatol.* **2012**, *27*, 385–389.
10. Ho, G.T.; Lees, C.; Satsangi, J. Pharmacogenomics and IBD: TPMT and thiopurines. *Inflamm. Bowel Dis.* **2004**, *10*, 148–158.
11. Katsanos, K.H.; Tsianos, E.V. Azathioprine/6-mercaptopurine toxicity: The role of the TPMT gene. *Annals of Gastroenterology*, **2007**, *20*, 251–264.
12. Saneyoshi, M.; Nishimura, S.; Okabe, M.; Fukuoka, F. Synthetic nucleosides and nucleotides. XIV. Facile synthesis and antitumor activities of 6-Mercaptopurine 2'-Deoxyriboside and related compounds. *J. Pharmacobiodyn.* **1980**, *3*, 105–110.
13. Acton, E.M.; Goerner, R.N.; Uh, H.S.; Ryan, K.J.; Henry, D.W.; Cass, C.E.; LePage, G.A. Improved antitumor effects in 3'-branched homologues of 2'-deoxythioguanosine. Synthesis and evaluation of thioguanine nucleosides of 2,3-dideoxy-3-(hydroxymethyl)-D-erythro-pentofuranose. *J. Med. Chem.* **1979**, *22*, 518–525.
14. Manta, S.; Kiritsis, C.; Dimopoulou, A.; Parmenopoulou, V.; Kollatos, N.; Tsotinis, A.; Komiotis, D. Unsaturation: An important structural feature to nucleosides' Antiviral activity. *Anti-Infective Agents*, **2014**, *12*, 2–57.
15. Tsoukala, E.; Manta, S.; Kiritsis, C.; Komiotis, D. Keto and exomethylene pyranonucleosides as antitumor agents. *Mini Rev. Med. Chem.* **2012**, *12*, 255–275.
16. Kiritsis, C.; Manta, S.; Parmenopoulou, V.; Dimopoulou, A.; Kollatos, N.; Papasotiriou, I.; Balzarini, J.; Komiotis, D. Stereocontrolled synthesis of 4'-C-cyano and 4'-C-cyano-4'-deoxy pyrimidine pyranonucleosides as potential chemotherapeutic agents. *Carbohydr. Res.* **2012**, *364*, 8–14.
17. Kiritsis, C.; Manta, S.; Dimopoulou, A.; Parmenopoulou, V.; Gkizis, P.; Balzarini, J.; Komiotis, D. Stereoselective facile synthesis of 2'-spiro pyrimidine pyranonucleosides via their key intermediate 2'-C-cyano analogues. Evaluation of their bioactivity. *Carbohydr. Res.* **2014**, *383*, 50–57.
18. Manta, S.; Tsoukala, E.; Tzioumaki, N.; Kiritsis, C.; Balzarini, J.; Komiotis, D. Synthesis of 4,6-dideoxy-3-fluoro-2-keto- $\beta$ -D-glucopyranosyl analogues of 5-fluorouracil, N6-benzoyl adenine, uracil, thymine, N4-benzoyl cytosine and evaluation of their antitumor activities. *Bioorg. Chem.* **2010**, *38*, 48–55.
19. Manta, S.; Tsoukala, E.; Tzioumaki, N.; Goropevšek, A.; Pamulapati, R.T.; Cencič, 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 N4-benzoyl cytosine. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 2696–2704.
20. Kiritsis, C.; Manta, S.; Parmenopoulou, V.; Balzarini, J.; Komiotis, D. Branched-chain C-cyano pyranonucleosides: Synthesis of 3'-C-cyano & 3'-C-cyano-3'-deoxy pyrimidine pyranonucleosides as novel cytotoxic agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 5668–5674.
21. Manta, S.; Agelis, G.; Botić, T.; Cencič, A.; Komiotis, D. Unsaturated fluoro-ketopyranosyl nucleosides: Synthesis and biological evaluation of 3-fluoro-4-keto- $\beta$ -D-glucopyranosyl derivatives of N4-benzoyl cytosine and N6-benzoyl adenine. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 420–428.
22. Bisht, S.S.; Jaiswal, N.; Sharma, A.; Fatima, S.; Sharma, R.; Rahuja, N.; Srivastava A.K.; Bajpai, V.; Kumar, B.; Tripathi, R.P. A convenient synthesis of novel pyranosyl homo-C-nucleosides and their antidiabetic activities. *Carbohydr. Res.* **2011**, *346*, 1191–1201.
23. Khan, R.A.; Mulligan, X.K.; Öllapally, K.A. Synthesis of 5-chloro-1-(2,3-dideoxy-3-fluoro- $\beta$ -D-glucero-hex-2-enopyranose-4-ulosyl)uracil as potential anticancer/antiviral agent. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, **2001**, *20*, 759–762.
24. Agili, A.F. Synthesis optimization of some nucleoside analogues derivatives and their antiviral activity. *World J. Chem.* **2013**, *8*, 42–47.
25. Kantsadi, A.L.; Hayes, 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  $\sigma$ -hole phenomenon of halogen atoms

- forms the structural basis of the strong inhibitory potency of C5 halogen substituted glucopyranosyl nucleosides towards glycogen phosphorylase b. *ChemMedChem* **2012**, 7, 722–732.
26. Kantsadi, A.L.; Manta, S.; Psara, A.-M. G.; Dimopoulou, A.; Kiritsis, C.; Parmenopoulou, V.; Skamnaki, V.T.; Zoumpoulakis, P.; Zographos, S.E.; Leonidas, D.D.; Komiotis, D. The binding of C5-alkynyl and alkylfurano[2,3-d]pyrimidine glucopyranonucleosides to glycogen phosphorylase b: Synthesis, biochemical and biological assessment. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 54, 740–749.
  27. Tzioumaki, N.; Manta, S.; Tsoukala, E.; Voorde, V. 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. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, 46, 993–1005.
  28. Dimopoulou, A.; Manta, S.; Kiritsis, C.; Gkaragkouni, D.N.; Papatotiriou, 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.
  29. Vorbrüggen, H.; Hofle, G. Nucleosides Syntheses XXII: On the mechanism of the nucleoside synthesis. *Chem. Ber.* **1981**, 114, 1256–1268.
  30. Agelis, G.; Tzioumaki, N.; Tselios, T.; Botić, T.; Cencić, A.; Komiotis, D. Synthesis and molecular modelling of unsaturated exomethylene pyranonucleoside analogues with antitumor and antiviral activities. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, 43, 1366–1375.
  31. Tzioumaki, N.; Tsoukala, E.; Manta, S.; Agelis, G.; Balzarini, J.; Komiotis, D. Synthesis, antiviral and cytostatic evaluation of unsaturated exomethylene and keto D-lyxopyranonucleoside analogues. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2009**, 342, 353–360.
  32. Dong, S.; Paquette, L.A. Stereoselective synthesis of conformationally constrained 2'-deoxy-4'-thia  $\beta$ -anomeric spirocyclic nucleosides featuring either hydroxyl configuration at C5'. *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 1580–1596.
  33. Martínez-Montero, S.; Fernández, S.; Sanghvi, Y.S.; Theodorakis, E.A.; Detorio, M.A.; McBrayer, T.R.; Whitaker, T.; Schinazi, R.F.; Gotor, V.; Ferrero, M. Synthesis, evaluation of anti-HIV-1 and anti-HCV activity of novel 2',3'-dideoxy-2',2'-difluoro-4'-azanucleosides. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, 20, 6885–6893.
  34. Baker, B.R. 1957. Stereochemistry of Nucleoside Synthesis. In *ciba foundation symposium on the chemistry and biology of purines*, ed. G.E.W. Wohlstenholme, C.M. O'Connor, Churchill, London, 1957, pp.120–129.
  35. Hughes, A.N.; Munkombe, M.N. Synthesis of 5-thio-D-arabinose and 5-thio-D-lyxose and their methyl glycopyranosides. *Carbohydr. Res.* **1985**, 136, 397–409.
  36. Garner, P.; Ramakanth, S. A regiocontrolled synthesis of N7- and N9-guanine nucleosides. *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 1294–1298.
  37. Schwarz, S.; Csukb, R.; Rauter, A.P. Microwave-assisted synthesis of novel purine nucleosides as selective cholinesterase inhibitors. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, 12, 2446–2456.

# An easy microwave-assisted synthesis of C8-alkynyl adenine pyranonucleosides as novel cytotoxic antitumor agents

Athina Dimopoulou<sup>1</sup>, Stella Manta<sup>1</sup>, Vanessa Parmenopoulou<sup>1</sup>, Nikolaos Kollatos<sup>1</sup>, Ourania Christidou<sup>1</sup>, Virginia V. Triantakou<sup>2</sup>, Dominique Schols<sup>3</sup> and Dimitri Komiotis<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Bioorganic Chemistry, Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Larissa, Greece, <sup>2</sup> Laboratory of Organic Chemistry, Department of Chemistry, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece, <sup>3</sup> Department of Microbiology and Immunology, Rega Institute for Medical Research, KU Leuven, Leuven, Belgium

## OPEN ACCESS

### Edited by:

Stefano D'Errico,  
Università degli Studi di Napoli  
'Federico II', Italy

### Reviewed by:

Ahmed Mahal,  
University of Napoli, Italy  
Nunzio Cardullo,  
University of Catania, Italy

### \*Correspondence:

Dimitri Komiotis,  
Laboratory of Bioorganic Chemistry,  
Department of Biochemistry and  
Biotechnology, University of Thessaly,  
26 Ploutonos Str., 41221 Larissa,  
Greece  
dkom@bio.uth.gr

### Specialty section:

This article was submitted to  
Medicinal and Pharmaceutical  
Chemistry, a section of the journal  
Frontiers in Chemistry

Received: 04 December 2014

Accepted: 05 March 2015

Published: 23 March 2015

### Citation:

Dimopoulou A, Manta S,  
Parmenopoulou V, Kollatos N,  
Christidou O, Triantakou VV,  
Schols D and Komiotis D (2015) An  
easy microwave-assisted synthesis of  
C8-alkynyl adenine pyranonucleosides  
as novel cytotoxic antitumor agents.  
Front. Chem. 3:21.  
doi: 10.3389/fchem.2015.00021

We describe the synthesis of C8-alkynyl adenine pyranonucleosides **4**, **5**, and 8-phenylethynyl-adenine (**II**), via Sonogashira cross-coupling reaction under microwave irradiation. Compounds **4e** and **II** were less cytostatic than 5-fluorouracil (almost an order of magnitude) against murine leukemia (L1210) and human cervix carcinoma (HeLa) cells, while the same compounds proved to be more active than 5-fluorouracil against human lymphocyte (CEM) cells.

**Keywords:** Sonogashira coupling reaction, 8-bromoadenine, *N*<sup>6</sup>-benzoyladenine pyranonucleosides, microwave irradiation, cytotoxic activity

## Introduction

Synthetic nucleoside analogs with modified nucleobase moieties are of considerable importance in the search for promising lead candidates endowed with antiviral, anticancer, and antibacterial activities (Herdewijn, 2008; Manta et al., 2014). Among them, a number of purine and pyrimidine substituted nucleoside derivatives exhibited activity in both solid tumors and hematological malignancies, behaving as antimetabolites, competing with physiological nucleosides, and consequently, interacting with a large number of intracellular targets to induce cytotoxicity (Hatse et al., 1999).

Alkynyl-modified nucleosides and especially pyrimidine derivatives substituted at C5 and purine derivatives substituted at C8, have been shown to possess interesting biological properties (Lin et al., 1985; Meneni et al., 2007; Lee et al., 2009; Vivet-Boudou et al., 2011). Some representative examples include 5-ethynyl-2'-deoxyuridine, which exhibited antiproliferative activity against human breast cancer cells, exceeding that of cisplatin and 5-fluorouracil, while 5-bromoethynyluridine demonstrated significant anti-HCV properties (Escuret et al., 2005; Meneni et al., 2007). Although, little effort has been made toward the synthesis of C8-modified purine nucleosides, in some cases, interesting biological properties have been reported, such as some 8-alkynyl adenosines, which proved to be very selective ligands for the A<sub>3</sub> adenosine receptor subtype behaving as adenosine antagonists (Volpini et al., 2001) and various C8-modified 2'-deoxy adenosines, which induced delayed chain termination *in vitro* and showed moderate anti HIV-1 activity in cell culture (Vivet-Boudou et al., 2011).

Considering all the progress made toward this direction, we have recently embarked on the synthesis of C5-substituted uracil and cytosine glucopyranonucleosides bearing a variety of alkyne substituents, such as linear alkyl chains and aromatic rings substituted with linear and branched alkyl groups (Dimopoulou et al., 2013), which effectively inhibited the proliferation of a variety of tumor cell lines and they also proved as some of the most potent inhibitors of the active site of glycogen phosphorylase (Kantsadi et al., 2012). Among these agents, the C5-phenylethynyluracil pyranonucleoside showed appreciable cytotoxic activity ( $IC_{50}$  of 5.2–6.2  $\mu$ M), comparable to 5-fluorouracil (Dimopoulou et al., 2013).

As a continuation of our studies on the synthesis of base-modified pyranonucleosides and considering the interesting biological properties of substituted purines, it was speculated that the introduction of alkynyl modifications at the 8-position of either adenine pyranonucleosides or even adenine itself, could possibly lead to more efficacious therapeutic agents. This conjugation appeared to us as a challenge and the first biological results confirmed our hypothesis.

## Experimental (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).  $^1H$  and  $^{13}C$  NMR spectra were obtained at room temperature with a Bruker 300 spectrometer at 300 and 75.5 MHz, respectively using chloroform- $d$  ( $CDCl_3$ ) and dimethylsulfoxide- $d_6$  ( $DMSO-d_6$ ) with internal tetramethylsilane (TMS). The  $^1H$  assignments were based on  $^1H$ – $^1H$  COSY 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 ( $CH_3CN$ ) was distilled from calcium hydride and stored over 3 Å molecular sieves.  $N,N$ -Dimethylformamide (DMF) was stored over 3 Å 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.

### 9-(2',3',4',6'-Tetra-O-Acetyl- $\beta$ -D-Glucopyranosyl)- $N^6$ -Benzoyl Adenine (2)

A mixture of  $N^6$ -benzoyladenine (797 mg, 3.33 mmol, 1.3 equiv), hexamethyldisilazane (HMDS) (871  $\mu$ L, 4.13 mmol, 1.24 equiv) and saccharine (27 mg, 0.15 mmol, 0.046 equiv) in anhydrous  $CH_3CN$  (14 mL) was refluxed for 1 h under nitrogen. 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl-D-glucopyranose (**1**) (1 g, 2.56 mmol) and tin(IV) chloride ( $SnCl_4$ ) (419  $\mu$ L, 3.58 mmol, 1.4 equiv) were then added and the reaction mixture was stirring under reflux for 2 more h, cooled, neutralized with aqueous sodium bicarbonate, and extracted with ethyl acetate (1000 mL). The organic extract was dried over anhydrous sodium sulfate, filtered, and evaporated to dryness. The residue was purified by flash column chromatography (EtOAc/ hexane 7:3) to give compound **2**, as a white solid (814 mg, 56%); mp 169–171°C;  $[\alpha]_D^{22} = -6$  (c 0.2,  $CHCl_3$ );  $R_f = 0.47$  (EtOAc);  $\lambda_{max}$  280 nm ( $\epsilon$  20557);  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 300 MHz):  $\delta$  8.83 (s, 1H, H-2), 8.22 (s, 1H, H-8), 8.04–7.51 (m, 5H, Bz), 5.98 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 5.65 (t, 1H,  $J = 9.3$  Hz, H-3'), 5.50 (t, 1H,  $J = 9.4$  Hz, H-2'), 5.32 (t, 1H,  $J = 9.7$  Hz, H-4'), 4.34 (dd, 1H,  $J_{5',6a'} = 4.1$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 12.8$  Hz, H-6a'), 4.24–4.14 (m, 1H, H-6b'), 4.11–4.02 (m, 1H, H-5'), 2.08, 2.07, 2.04, 1.79 (4s, 12H, 4OAc);  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ , 75.5 MHz):  $\delta$  170.4, 169.8, 169.3, 169.0, 164.5, 152.0, 151.9, 149.5, 140.9, 133.1, 133.0, 128.9, 128.1, 122.2, 80.6, 75.2, 72.7, 70.3, 67.7, 61.5, 20.6, 20.5, 20.4, 20.1; Mass ( $M+H$ ) $^+$ : 570.16; Anal. Calcd. for  $C_{26}H_{27}N_5O_{10}$ : C, 54.83; H, 4.78; N, 12.30%. Found: C, 55.16; H, 4.66; N, 12.53%.

### 9-(2',3',4',6'-Tetra-O-Acetyl- $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-8-Bromo- $N^6$ -Benzoyl Adenine (3)

To a solution of 9-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $N^6$ -benzoyl adenine (**2**) (250 mg, 0.44 mmol), and sodium acetate (172 mg, 2.1 mmol) in 1.6 mL of glacial acetic acid, 75  $\mu$ L, 1.45 mmol of bromine were added. The reaction was left to stir at room temperature until completion (14 h). The whole was extracted with ethyl acetate and saturated  $Na_2S_2O_3$ . The organic layer was washed with water and brine, dried over anhydrous sodium sulfate, filtered, and evaporated to dryness. The residue was purified by flash column chromatography (EtOAc/ hexane 7:3) to give compound **3**, (171 mg, 60%);  $[\alpha]_D^{22} = -3$  (c 0.2,  $CHCl_3$ );  $R_f = 0.45$  (EtOAc/ hexane 7:3);  $\lambda_{max}$  282 nm ( $\epsilon$  21223);  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 300 MHz):  $\delta$  8.82 (s, 1H, H-2), 8.04–7.49 (m, 5H, Bz), 6.21 (t, 1H,  $J = 9.6$  Hz, H-2'), 5.96 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.6$  Hz, H-1'), 5.47 (t, 1H,  $J = 9.4$  Hz, H-3'), 5.35 (t, 1H,  $J = 9.9$  Hz, H-4'), 4.26–4.25 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 4.06–3.96 (m, 1H, H-5'), 2.09, 2.07, 2.04, 1.79 (4s, 12H, 4OAc);  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ , 75.5 MHz):  $\delta$  170.5, 170.0, 169.9, 169.3, 164.7, 153.3, 152.9, 149.2, 133.3, 131.0, 128.9, 128.6, 128.2, 122.3, 78.2, 72.9, 68.8, 67.6, 67.5, 61.5, 20.7, 20.6, 20.5, 20.2; Mass ( $M+H$ ) $^+$ : 648.08; Anal. Calcd. for  $C_{26}H_{26}BrN_5O_{10}$ : C, 48.16; H, 4.04; Br, 12.32; N, 10.80%. Found: C, 48.44; H, 4.15; Br, 12.11; N, 10.99%.

## General Experimental Procedure for the Preparation of Protected C8-Alkynyl Adenine Pyranonucleosides (4a–e)

The appropriate alkynes (3 equiv), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (43 mg, 0.1 equiv), CuI (7 mg, 0.1 equiv), triethylamine (103  $\mu$ L, 2 equiv) and 9-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-8-bromo-N<sup>6</sup>-benzoyl adenine (**3**) (240 mg, 0.37 mmol), were irradiated under microwaves (200 W) in 1 mL of anhydrous DMF for 10 min at 120°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 **4a–e**, as colorless foams.

### 9-(2',3',4',6'-Tetra-O-Acetyl- $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-8-Heptynyl-N<sup>6</sup>-Benzoyl Adenine (4a)

139 mg, 56%;  $[\alpha]_D^{22} = -4$  (c 0.4, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.10$  (EtOAc/hexane 6:4);  $\lambda_{\max}$  303 nm ( $\epsilon$  22594); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):  $\delta$  8.99 (br s, 1H, NH), 8.85 (s, 1H, H-2), 8.03–7.41 (m, 5H, Bz), 6.28 (t, 1H,  $J = 9.4$  Hz, H-2'), 5.95 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.2$  Hz, H-1'), 5.46 (t, 1H,  $J = 9.3$  Hz, H-3'), 5.35 (t, 1H,  $J = 9.3$  Hz, H-4'), 4.28–4.19 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 4.04–3.87 (m, 1H, H-5'), 2.62 (t, 2H,  $J = 7.1$  Hz,  $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 2.09, 2.08, 2.05, 1.78 (4s, 12H, 4OAc), 1.56–1.35 (m, 6H, 3  $\times$  CH<sub>2</sub>), 0.96 (t, 3H,  $J = 7.2$  Hz, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75.5 MHz):  $\delta$  170.8, 170.5, 170.0, 169.8, 165.0, 153.5, 152.2, 151.3, 148.8, 134.9, 133.0, 129.2, 127.9, 119.9, 97.7, 94.5, 82.9, 70.8, 70.1, 67.5, 67.2, 63.7, 31.5, 31.2, 29.6, 22.3, 21.5, 21.3, 21.0, 20.9, 15.2; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 664.26; Anal. Calcd. for C<sub>33</sub>H<sub>37</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub>: C, 59.72; H, 5.62; N, 10.55%. Found: C, 59.96; H, 5.94; N, 10.65%.

### 9-(2',3',4',6'-Tetra-O-Acetyl- $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-8-Phenylethynyl-N<sup>6</sup>-Benzoyl Adenine (4b)

161 mg, 66%;  $[\alpha]_D^{22} = -6$  (c 0.4, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.33$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9.8:0.2);  $\lambda_{\max}$  300 nm ( $\epsilon$  29706); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):  $\delta$  8.95 (br s, 1H, NH), 8.87 (s, 1H, H-2), 8.01–7.45 (m, 10H, Bz and Ph), 6.31 (t, 1H,  $J = 9.3$  Hz, H-2'), 6.10 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 5.49 (t, 1H,  $J = 9.2$  Hz, H-3'), 5.35 (t, 1H,  $J = 9.5$  Hz, H-4'), 4.31–4.22 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 4.08–3.98 (m, 1H, H-5'), 2.09, 2.05, 1.90, 1.77 (4s, 12H, 4OAc); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75.5 MHz):  $\delta$  170.6, 170.3, 169.9, 169.7, 165.3, 153.1, 152.4, 150.5, 148.5, 134.5, 133.8, 133.5, 129.9, 129.5, 129.0, 128.3, 123.6, 119.3, 102.6, 98.7, 87.3, 83.6, 70.5, 67.9, 67.5, 63.5, 21.5, 21.3, 20.9, 20.5; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 670.18; Anal. Calcd. for C<sub>34</sub>H<sub>31</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub>: C, 60.98; H, 4.67; N, 10.46%. Found: C, 61.23; H, 4.28; N, 10.80%.

### 9-(2',3',4',6'-Tetra-O-Acetyl- $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-8-p-Tolylethynyl-N<sup>6</sup>-Benzoyl Adenine (4c)

157 mg, 61%;  $[\alpha]_D^{22} = -10$  (c 0.3, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.37$  (EtOAc/hexane 8:2);  $\lambda_{\max}$  325 nm ( $\epsilon$  27336); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):  $\delta$  8.98 (br s, 1H, NH), 8.86 (s, 1H, H-2), 8.02–7.29 (m, 9H, Bz and ArH), 6.31 (t, 1H,  $J = 9.4$  Hz, H-2'), 6.08 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.3$  Hz, H-1'), 5.48 (t, 1H,  $J = 9.4$  Hz, H-3'), 5.37 (t, 1H,  $J = 9.7$  Hz,

H-4'), 4.29–4.22 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 4.07–3.98 (m, 1H, H-5'), 2.43 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.09, 2.05, 1.91, 1.77 (4s, 12H, 4OAc); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75.5 MHz):  $\delta$  170.3, 170.1, 169.7, 169.3, 165.1, 153.2, 152.3, 150.7, 148.7, 139.5, 135.8, 133.7, 133.4, 129.6, 129.2, 128.8, 120.3, 120.1, 102.4, 98.3, 87.6, 83.5, 70.7, 67.5, 67.1, 63.7, 22.5, 21.7, 21.5, 21.0, 20.2; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 684.22; Anal. Calcd. for C<sub>35</sub>H<sub>33</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub>: C, 61.49; H, 4.87; N, 10.24%. Found: C, 61.84; H, 4.52; N, 10.02%.

### 9-(2',3',4',6'-Tetra-O-Acetyl- $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-8-(Pyridin-3-yl-Ethynyl)-N<sup>6</sup>-Benzoyl Adenine (4d)

141 mg, 58%;  $[\alpha]_D^{22} = -12$  (c 0.2, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.23$  (EtOAc/hexane 6:4);  $\lambda_{\max}$  320 nm ( $\epsilon$  16156); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):  $\delta$  8.99 (br s, 1H, NH), 8.87 (s, 1H, H-2), 8.72–7.39 (m, 9H, Bz and pyridine), 6.26 (t, 1H,  $J = 9.5$  Hz, H-2'), 6.11 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.3$  Hz, H-1'), 5.48 (t, 1H,  $J = 9.3$  Hz, H-3'), 5.35 (t, 1H,  $J = 9.7$  Hz, H-4'), 4.32 (dd, 1H,  $J_{5',6a'} = 4.7$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 12.5$  Hz, H-6a'), 4.21 (dd, 1H,  $J_{5',6b'} = 2.0$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 12.5$  Hz, H-6b'), 4.09–4.00 (m, 1H, H-5'), 2.09, 2.05, 1.94, 1.78 (4s, 12H, 4OAc); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75.5 MHz):  $\delta$  170.4, 170.0, 169.6, 169.2, 165.4, 153.0, 152.7, 151.6, 150.7, 150.5, 148.8, 140.5, 135.4, 133.6, 129.5, 128.2, 124.6, 120.5, 117.1, 98.7, 95.6, 83.3, 75.7, 70.5, 67.5, 67.2, 63.5, 21.3, 21.0, 20.9, 20.7; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 671.21; Anal. Calcd. for C<sub>33</sub>H<sub>30</sub>N<sub>6</sub>O<sub>10</sub>: C, 59.10; H, 4.51; N, 12.53%. Found: C, 59.42; H, 4.76; N, 12.22%.

### 9-(2',3',4',6'-Tetra-O-Acetyl- $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-8-(Pyridin-2-yl-Ethynyl)-N<sup>6</sup>-Benzoyl Adenine (4e)

127 mg, 50%;  $[\alpha]_D^{22} = -2$  (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.21$  (EtOAc/hexane 7:3);  $\lambda_{\max}$  315 nm ( $\epsilon$  22103); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):  $\delta$  8.80 (br s, 2H, NH, H-2), 8.07–7.35 (m, 9H, Bz and pyridine), 6.31 (t, 1H,  $J = 9.4$  Hz, H-2'), 6.12 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.3$  Hz, H-1'), 5.71 (t, 1H,  $J = 9.5$  Hz, H-3'), 5.48 (t, 1H,  $J = 9.5$  Hz, H-4'), 4.29–4.25 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 4.10–4.02 (m, 1H, H-5'), 2.09, 2.03, 1.92, 1.75 (4s, 12H, 4OAc); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75.5 MHz):  $\delta$  170.6, 170.3, 169.7, 169.5, 164.3, 153.2, 152.8, 151.5, 149.9, 148.3, 145.2, 139.5, 134.6, 132.7, 128.6, 127.8, 127.6, 123.7, 119.7, 95.7, 92.5, 84.8, 82.7, 72.8, 69.5, 68.3, 65.7, 21.0, 20.7, 20.6, 20.5; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 671.20; Anal. Calcd. for C<sub>33</sub>H<sub>30</sub>N<sub>6</sub>O<sub>10</sub>: C, 59.10; H, 4.51; N, 12.53%. Found: C, 59.40; H, 4.73; N, 12.34%.

## General Procedure for the Preparation of Unprotected C8-Alkynyl Adenine Pyranonucleosides (5a–d)

The protected nucleosides **4a–e** (0.5 mmol), were treated with methanolic ammonia (saturated at 0°C, 27.9 mL). The solution was stirred overnight at room temperature and then evaporated under reduced pressure. The residue was purified by flash column chromatography to afford the unprotected derivatives **5a–d**, in 60–72% yields, as yellowish and white foams.

### 9-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-8-Heptynyl-Adenine (5a)

117 mg, 60%;  $[\alpha]_D^{22} = -2$  (c 0.2, MeOH);  $R_f = 0.17$  (EtOAc/MeOH 8:2);  $\lambda_{\max}$  292 nm ( $\epsilon$  19971); <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,



300 MHz):  $\delta$  8.15 (s, 1H, H-2), 7.24 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.43 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.5$  Hz, H-1'), 5.16, 5.09, 5.00 (3br s, 3H, 3OH), 4.60-4.45 (m, 2H, OH, H-2'), 3.81-3.34 (m, 5H, H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b'), 1.78-1.76 (m, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>), 1.63 (t, 2H,  $J = 7.2$  Hz,  $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 1.51-1.30 (m, 4H,  $2 \times$  CH<sub>2</sub>), 0.93 (t, 3H,  $J = 7.2$  Hz, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 75.5 MHz):  $\delta$  156.8, 152.7, 150.1, 148.3, 119.9, 96.2, 93.9, 83.2, 78.8, 73.6, 70.5, 66.7, 65.4, 30.9, 29.2, 22.3, 19.0, 14.5; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 392.20; Anal. Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>25</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>: C, 55.23; H, 6.44; N, 17.89%. Found: C, 54.90; H, 6.73; N, 17.72%.

### 9-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-8-Phenylethynyl-Adenine (5b)

143 mg, 72%;  $[\alpha]_D^{22} = -6$  (c 0.1, MeOH);  $R_f = 0.30$  (EtOAc/MeOH 9:1);  $\lambda_{\max}$  313 nm ( $\epsilon$  14209); <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz):  $\delta$  8.19 (s, 1H, H-2), 7.66 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.61-7.47 (m, 5H, Ph), 5.55 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.2$  Hz, H-1'), 5.40 (d, 1H,  $J = 5.3$  Hz, OH), 5.34 (d, 1H,  $J = 4.1$  Hz, OH), 5.21 (d, 1H,  $J = 5.1$  Hz, OH), 4.70 (t, 1H,  $J = 4.4$  Hz, OH), 4.54-4.40 (m, 1H, H-2'), 3.81-3.39 (m, 5H, H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b'). <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 75.5 MHz):  $\delta$  156.3, 152.6, 150.0, 148.1, 132.7, 128.9, 128.7, 123.0, 119.7, 101.9, 96.3, 86.8, 83.3, 78.1, 73.4, 70.8, 65.8; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 398.15; Anal. Calcd. for C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>: C, 57.43; H, 4.82; N, 17.62%. Found: C, 57.81; H, 4.51; N, 17.90%.

### 9-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-8-*p*-Tolylethynyl-Adenine (5c)

140 mg, 67%;  $[\alpha]_D^{22} = -4$  (c 0.1, MeOH);  $R_f = 0.21$  (EtOAc/MeOH 8:2);  $\lambda_{\max}$  316 nm ( $\epsilon$  12871); <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz):  $\delta$  8.18 (s, 1H, H-2), 7.55 (d, 2H,  $J = 8.1$  Hz, ArH), 7.37 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.32 (d, 2H,  $J = 8.0$  Hz, ArH), 5.55 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.3$  Hz, H-1'), 5.25 (d, 1H,  $J = 4.1$  Hz, OH), 5.15, 5.04 (2br s, 2H, 2OH), 4.58-4.47 (m, 2H, OH, H-2'), 3.81-3.34 (m, 5H, H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b'), 2.38 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 75.5 MHz):  $\delta$  156.4, 152.1, 150.4, 148.5, 138.5, 132.5, 129.0, 122.3, 120.2, 101.8, 96.0, 86.9, 83.0, 78.9, 73.5, 70.7, 65.6, 24.6; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 412.17; Anal. Calcd. for C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>: C, 58.39; H, 5.14; N, 17.02%. Found: C, 58.72; H, 5.45; N, 17.27%.

### 9-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-8-(Pyridin-3-yl-Ethynyl)-Adenine (5d)

139 mg, 70%;  $[\alpha]_D^{22} = +2$  (c 0.2, MeOH);  $R_f = 0.16$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 7:3);  $\lambda_{\max}$  306 nm ( $\epsilon$  7353); <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz):  $\delta$  8.89-8.68 (m, 2H, pyridine), 8.21 (s, 1H, H-2), 8.10-7.52 (m, 2H, pyridine), 7.44 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.58 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.3$  Hz, H-1'), 5.28, 5.07, 4.56 (3 br s, 3H, 3OH), 4.45 (t, 1H,  $J = 8.1$  Hz, OH), 3.81-3.40 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b'). <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 75.5 MHz):  $\delta$  156.9, 152.5, 152.3, 150.5, 149.8, 148.5, 139.9, 123.8, 119.8, 116.8, 96.0, 95.7, 83.1, 78.7, 74.1, 73.9, 70.2, 65.2; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 399.15; Anal. Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>: C, 54.27; H, 4.55; N, 21.10%. Found: C, 54.62; H, 4.74; N, 21.38%.

### 8-Phenylethynyl-Adenine (II)

8-Bromoadenine (I) (43 mg, 0.2 mmol) was mixed with anhydrous DMF (1 mL), phenylacetylene (66  $\mu$ L, 3 equiv),

triethylamine (55  $\mu$ L, 2 equiv), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (23 mg, 0.1 equiv), CuI (11 mg, 0.3 equiv) and irradiated with microwaves (200 W) for 6 min at 60°C. After removing volatiles *in vacuo*, the solid residue was purified by flash chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 9.5:0.5) to provide compound II, as yellowish foam. 19 mg, 40%;  $[\alpha]_D^{22} = -2$  (c 0.2, MeOH);  $R_f = 0.13$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 8.5:1.5);  $\lambda_{\max}$  308 nm ( $\epsilon$  9701); <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz):  $\delta$  13.38 (br s, 1H, NH), 8.15 (s, 1H, H-2), 7.65-7.49 (m, 5H, Ph), 7.27 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>). <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 75.5 MHz):  $\delta$  156.8, 154.2, 152.6, 148.1, 132.7, 129.1, 129.0, 123.0, 119.8, 101.8, 67.1; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 236.08; Anal. Calcd. for C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>N<sub>5</sub>: C, 66.37; H, 3.86; N, 29.77%. Found: C, 66.59; H, 4.01; N, 29.40%.

### Antiproliferative Assay

Compounds 4e, 5a-d, and II, 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 and varying concentrations of the test compounds ranging from 250, 50, 10, 2, 0.4, to 0.08  $\mu$ M. The tumor cells were allowed then to proliferate at 37°C in a humidified CO<sub>2</sub>-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 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.

### Results and Discussion

Herein, we describe the synthesis of C8-alkynyl adenine pyranonucleosides and present their biological properties. The starting material of our synthesis was the commercially available per-O-acetylated D-glucose 1 which upon coupling, *via* two-step Vorbrüggen method (Vorbrüggen and Höfle, 1981),

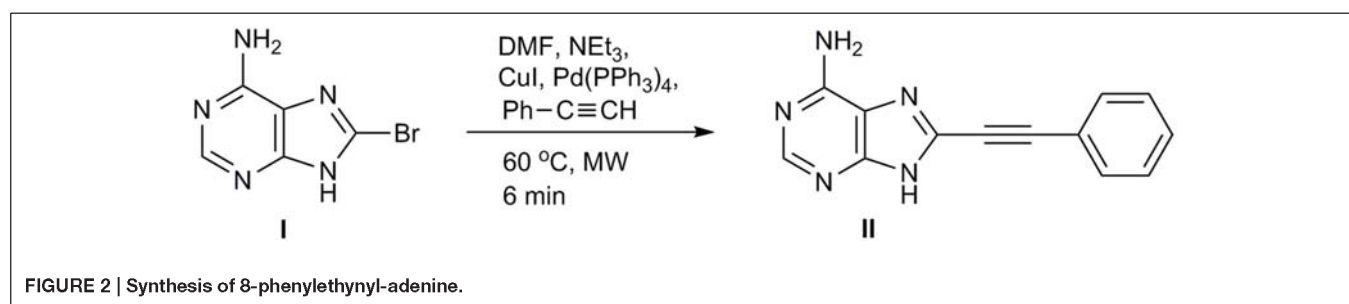
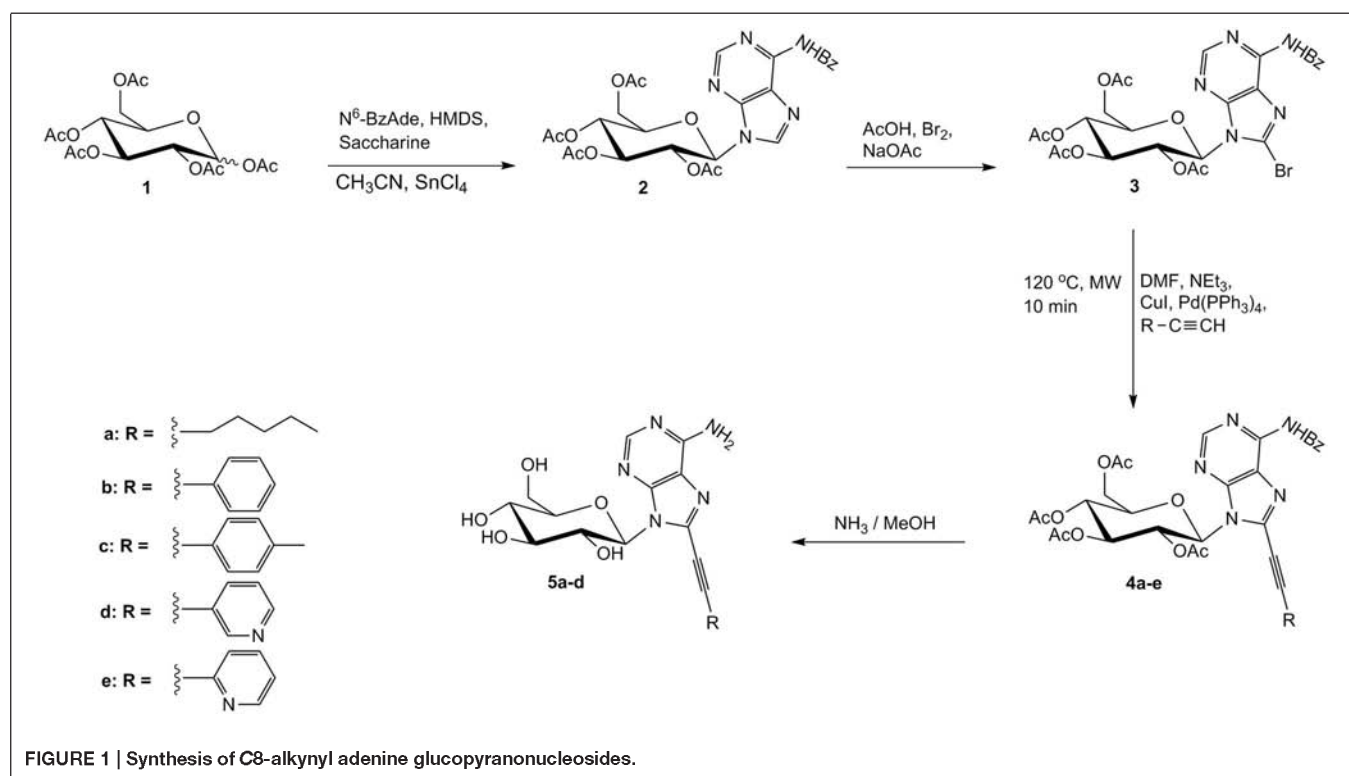
TABLE 1 | Cytostatic activity of the compounds against tumor cell (L1210, CEM, and HeLa) proliferation.

Compound	IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> ( $\mu$ M)		
	L1210	CEM	HeLa
4e	2.9 $\pm$ 0.0	1.2 $\pm$ 0.2	3.0 $\pm$ 0.7
5a	>250	>250	>250
5b	>250	>250	>250
5c	>250	>250	>250
5d	>250	>250	$\geq$ 250
II	5.9 $\pm$ 5.5	4.2 $\pm$ 0.8	10 $\pm$ 3.0
5-Fluorouracil	0.33 $\pm$ 0.17	18 $\pm$ 5	0.54 $\pm$ 0.12

<sup>a</sup>50% inhibitory concentration or compound concentration required to inhibit tumor cell proliferation by 50%.

with *N*<sup>6</sup>-benzoyl adenine, gave selectively the *N*9-isomeric adenine nucleoside **2**, under thermodynamically controlled conditions ( $\text{SnCl}_4/\text{CH}_3\text{CN}$ , reflux). Trans rule was followed (Baker, 1957) and the  $\beta$ -configured nucleoside **2** was solely obtained as deduced from  $^1\text{H}$  NMR vicinal coupling data ( $J_{1',2'} = 9.4$  Hz). Since halogenated C8-purine nucleosides have proven useful intermediates for the efficient preparation of their corresponding C8-alkynyl derivatives (Agrofoglio et al., 2003), the adenine nucleoside **2** was directly brominated after treatment with  $\text{Br}_2/\text{AcOH}/\text{AcONa}$  (Holmes and Robins, 1964), affording the 8-bromo analog **3**, in approximately 60% yield after aqueous work-up and flash chromatography. The position of substitution of the bromine atom was further confirmed by the absence of the characteristic sharp absorption peak at 8.22 ppm due to H-8 of nucleoside **2**, while the syn conformation for adenine was induced due to the bulky bromo substituent at C8 position (Sarma et al., 1974). 8-Alkynyl

adenine nucleosides **4** were accessed, through Sonogashira cross-coupling reaction of intermediate **3** with several terminal acetylenes, under microwave irradiation (200 W) (**Figure 1**). In a typical experiment, an effective catalyst ( $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ )/co-catalyst ( $\text{CuI}$ ) combination proved to be (1:1) ratio (Meneni et al., 2007) affording **4a–e**, in satisfactory yields (50–66%). To provide a detailed structure-activity relationship studies, diverse alkyl substituents *R* were selected which include linear alkyl chains (**4a**, *R* = *n*-pentyl), aromatic rings (**4b**, *R* = phenyl, **4c**, *R* = *p*-tolyl) and pyridine moieties (**4d**, *R* = 3-pyridyl, **4e**, *R* = 2-pyridyl). Finally, total deprotection of **4a–e** by the action of saturated methanolic ammonia afforded only the target derivatives **5a–d**, while attempts to remove all protecting groups from **4e** either with sodium methoxide (Bozó et al., 1998) or potassium carbonate-methanol (Plattner et al., 1972) resulted in a mixture of intractable and inseparable materials.



Based on the promising cytotoxic activity profile of our prior synthesized C5-phenylethynyl uracil glucopyranonucleoside (Dimopoulou et al., 2013) and in order to explore the impact of the glycosidic part on the biological activity as well as the potential inhibitory effects of adenine moiety, we sought to introduce phenylacetylene substituent in 8-position of adenine itself. Therefore, we investigated the development of the efficient Sonogashira alkynylation protocol for the cross-coupling of commercially available 8-bromoadenine (**I**) with phenylacetylene under microwave irradiation (200 W) (Figure 2). 8-Bromoadenine (**I**) was mixed with anhydrous DMF, phenylacetylene, triethylamine, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, CuI, irradiated with microwaves for 6 min at 60°C and after removing volatiles *in vacuo*, the solid residue was purified by flash chromatography to provide compound **II**, in acceptable yield (40%).

## Cytostatic Activity

The cytostatic activity of the novel C8-modified adenine pyranonucleosides **4e**, **5a–d** as well as 8-phenylethynyl-adenine (**II**) was determined against murine leukemia (L1210), human lymphocyte (CEM) and human cervix carcinoma (HeLa) cell cultures (Table 1). Compounds **4e** and **II** were less cytostatic than 5-fluorouracil (almost an order of magnitude) against murine leukemia (L1210) and human cervix carcinoma (HeLa) cells, while the same compounds proved to be more active than 5-fluorouracil against human lymphocyte (CEM) cells.

## References

- Agrofoglio, L. A., Gillaizeau, I., and Saito, Y. (2003). Palladium-assisted routes to nucleosides. *Chem. Rev.* 103, 1875–1916. doi: 10.1021/cr010374q
- Baker, B. R. (1957). "Stereochemistry of nucleoside synthesis," in *Ciba Foundation Symposium on the Chemistry and Biology of Purines*, eds G. E. W. Wohlstenholme and C. M. O'Connor (London: John Wiley & Sons), 120–129.
- Bozó, E., Boros, S., Kuszmann, J., Gács-Baitz, E., and Párkányi, L. (1998). An economic synthesis of 1,2,3,4-tetra-O-acetyl-5-thio-D-xylopyranose and its transformation into 4-substituted-phenyl 1,5-dithio-D-xylopyranosides possessing antithrombotic activity. *Carbohydr. Res.* 308, 297–310. doi: 10.1016/S0008-6215(98)00088-3
- Dimopoulou, A., Manta, S., Kiritsis, C., Gkaragkouni, D. N., Papasotiriou, I., Balzarini, J., et al. (2013). Rapid microwave-enhanced synthesis of C5-alkynyl pyranonucleosides as novel cytotoxic antitumor agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 23, 1330–1333. doi: 10.1016/j.bmcl.2012.12.092
- Escuret, V., Aucagne, V., Joubert, N., Durantel, D., Rapp, L. K., Schinazi, F. R., et al. (2005). Synthesis of 5-haloethynyl- and 5-(1,2-dihalo)vinyluracil nucleosides: antiviral activity and cellular toxicity. *Bioorg. Med. Chem.* 13, 6015–6024. doi: 10.1016/j.bmc.2005.06.021
- Hatse, S., De Clercq, E., and Balzarini, J. (1999). Role of antimetabolites of purine and pyrimidine nucleotide metabolism in tumor cell differentiation. *Biochem. Pharmacol.* 58, 539–555. doi: 10.1016/S0006-2952(99)00035-0
- Herdewijn, P. (2008). *Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Holmes, E. R., and Robins, K. R. (1964). Purine nucleosides. VII. Direct bromination of adenosine, deoxyadenosine, guanosine, and related purine nucleosides. *J. Am. Chem. Soc.* 86, 1242–1245. doi: 10.1021/ja01060a057

## Conclusion

In summary, we have prepared several novel C8-alkynyl adenine nucleosides as well as 8-phenylethynyl-adenine, *via* Sonogashira coupling conditions under microwave irradiation. Among the compound series tested, the protected adenine pyranonucleoside **4e**, as well as phenylethynyl adenine (**II**) showed significant cytotoxicity (IC<sub>50</sub> of 1.2–10.0 μM) against murine leukemia (L1210), human lymphocyte (CEM) and human cervix carcinoma (HeLa) cell cultures. Since the glucose derivative of phenylethynyl adenine, nucleoside **5b**, showed no activity, it is clear that it is stable and not susceptible to hydrolysis. The replacement of glucose with ribo, arabino, and deoxyribose moieties as well as the introduction of functional substituents on the phenyl ring, such as halogens, nitro or amino and alkyl groups, could be explored in the future in an attempt to further increase the cytostatic potential of these lead compounds.

## 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.

- Kantsadi, A. L., Manta, S., Psara, A. M., Dimopoulou, A., Kiritsis, C., Parmenopoulou, V., et al. (2012). The binding of C5-alkynyl and alkylfurano[2,3-d]pyrimidine glucopyranonucleosides to glycogen phosphorylase b: synthesis, biochemical and biological assessment. *Eur. J. Med. Chem.* 54, 740–749. doi: 10.1016/j.ejmech.2012.06.029
- Lee, Y. S., Park, S. M., Kim, H. M., Park, S. K., Lee, K., Lee, C. W., et al. (2009). C5-Modified nucleosides exhibiting anticancer activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19, 4688–4691. doi: 10.1016/j.bmcl.2009.06.072
- Lin, T. S., Cheng, J. C., Ishiguro, K., and Sartorelli, A. C. (1985). Purine and 8-substituted purine arabinofuranosyl and ribofuranosyl nucleoside derivatives as potential inducers of the differentiation of the Friend erythroleukemia. *J. Med. Chem.* 28, 1481–1485. doi: 10.1021/jm00148a018
- Manta, S., Kiritsis, C., Dimopoulou, A., Parmenopoulou, V., Kollatos, N., Tsotinis, A., et al. (2014). Unsaturation: an important structural feature to nucleosides' antiviral activity. *Anti Infect. Agents* 12, 2–57. doi: 10.2174/22113525113119990106
- Meneni, S., Ott, I., Sergeant, C. D., Sniady, A., Gust, R., and Dembinski, R. (2007). 5-Alkynyl-2'-deoxyuridines: chromatography-free synthesis and cytotoxicity evaluation against human breast cancer cells. *Bioorg. Med. Chem.* 15, 3082–3088. doi: 10.1016/j.bmc.2007.01.048
- Plattner, J. J., Gless, R. D., and Rapoport, H. (1972). Synthesis of some DE and CDE ring analogs of camptothecin. *J. Am. Chem. Soc.* 94, 8613–8615. doi: 10.1021/ja00779a072
- Sarma, H. R., Lee, C.-H., Evans, E. F., Yathindra, N., and Sundaralingam, M. (1974). Probing the interrelation between the glycosyl torsion, sugar pucker, and the backbone conformation in C(8) substituted adenine nucleotides by <sup>1</sup>H and <sup>1</sup>H-<sup>31</sup>P fast fourier transform nuclear magnetic resonance methods and conformational energy calculations. *J. Am. Chem. Soc.* 96, 7337–7348. doi: 10.1021/ja00830a028



- Vivet-Boudou, V., Isel, C., Sleiman, M., Smyth, R., Ben Gaied, N., Barhoum, P., et al. (2011). 8-Modified-2'-deoxyadenosine analogues induce delayed polymerization arrest during HIV-1 reverse transcription. *PLoS ONE* 6:e27456. doi: 10.1371/journal.pone.0027456
- Volpini, R., Costanzi, S., Lambertucci, C., Vittori, S., Klotz, K., Lorenzen, A., et al. (2001). Introduction of alkynyl chains on C-8 of adenosine led to very selective antagonists of the A(3) adenosine receptor. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 11, 1931–1934. doi: 10.1016/S0960-894X(01)00347-X
- Vorbrüggen, H., and Höfle, G. (1981). Nucleosides syntheses XXII: on the mechanism of the nucleoside synthesis. *Chem. Ber.* 114, 1256–1268. doi: 10.1002/cber.19811140405

**Conflict of Interest Statement:** The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2015 Dimopoulou, Manta, Parmenopoulou, Kollatos, Christidou, Triantakou, Schols and Komiotis. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

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

<sup>#</sup>Authors contributed equally at this work.

**\*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](mailto:dkom@bio.uth.gr)

**Keywords:** Sonogashira reaction, C5-pyrimidine pyranonucleosides, microwave irradiation, cytotoxic activity.

**Abstract**

C5-arylalkynyl glucopyranonucleosides **3**, **5** and -3'-C-trifluoromethyl- $\beta$ -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. The newly synthesized compounds were evaluated for their potential cytostatic activities in cell culture.

## 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 ( $IC_{50}$   $0.4 \pm 0.3 \mu M$  and  $4.4 \pm 0.4 \mu M$ , respectively), while internal aromatic-substituted alkyne *p*-tolylethynyl-2'-deoxyuridine showed high potency with MCF-7 ( $IC_{50}$   $0.9 \pm 0.2 \mu M$ ), comparable to 5-fluorouracil and Cisplatin [5].

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 furanucleosides. 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 ( $IC_{50}$  of 5.2-6.2  $\mu M$ ), 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, bromo), methyl group ( $CH_3$ ), methoxy group ( $OCH_3$ ) 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 were added (0.018 mmol) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (as catalyst), (0.018 mmol) CuI (as co-catalyst), the appropriate alkyne (0.54 mmol) 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 the target derivatives **3** and **5** were afforded, 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 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, since it was 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 previously reported sugar-modified highly cytotoxic analogue *i.e.* 3'-C-trifluoromethyl-β-D-allopyranonucleoside [13]. Our synthetic route to the target compounds C5-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' ( $J_{1,2'} = 9.2$  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 C5-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 C5-phenylethenyl **6n**, **7n** (IC<sub>50</sub>: 88-250 μM), and C5-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.

### 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*<sub>4</sub> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) and dimethylsulfoxide-*d*<sub>6</sub> ( $\text{DMSO}-d_6$ ) 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 3 Å molecular sieves. *N,N*-Dimethylformamide (DMF) was stored over 3 Å 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 and 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 CO<sub>2</sub>-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 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**.

### *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  $\mu\text{L}$ , 0.36 mmol) and 1-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -*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.



**Spectral Data****3.3.1. *1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(2-fluorophenyl)ethynyl]uracil (2a)***

70 mg, 78%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -2^\circ$  (c 0.19,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.19$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{\text{max}}$  306 nm ( $\epsilon$  8321);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  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,  $J_{1'-2'} = 9.4$  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,  $J_{5'-6a'} = 5.0$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 4.17 (dd, 1H,  $J_{5'-6b'} = 1.7$  Hz, H-6b'), 3.96-3.93 (m, 1H, H-5'), 2.12, 2.06, 2.03, 2.02 (4s, 12H, 4OAc);  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  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 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 561.16; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{FN}_2\text{O}_{11}$ : 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%.

**3.3.2 *1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(3-fluorophenyl)ethynyl]uracil (2b)***

95 mg, 94%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -4^\circ$  (c 0.16,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.45$  (EtOAc/ Hexane 7:3);  $\lambda_{\text{max}}$  306 nm ( $\epsilon$  16361);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  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,  $J_{1'-2'} = 9.4$  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,  $J_{5'-6a'} = 5.2$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 4.15 (dd, 1H,  $J_{5'-6b'} = 1.7$  Hz, H-6b'), 3.98-3.95 (m, 1H, H-5'), 2.10, 2.06, 2.02, 2.01 (4s, 12H, 4OAc);  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  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 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 561.12; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{FN}_2\text{O}_{11}$ : 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%.

**3.3.3 *1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(3,4-difluorophenyl)ethynyl]uracil (2c)***

64 mg, 61%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -4^\circ$  (c 0.15,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.30$  (EtOAc/ Hexane 6:4);  $\lambda_{\text{max}}$  305 nm ( $\epsilon$  13197);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  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,  $J_{1'-2'} = 9.4$  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,  $J_{5'-6a'} = 5.2$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 4.15 (dd, 1H,  $J_{5'-6b'} = 1.9$  Hz, H-6b'), 3.97-3.94 (m, 1H, H-5'), 2.11, 2.06, 2.02, 2.01 (4s, 12H, 4OAc);  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  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 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 579.11; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_{11}$ : 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%.

### 3.3.4 *1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-[(3,5-difluorophenyl)ethynyl]uracil (2d)*

64 mg, 61%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -6^\circ$  (c 0.25,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.30$  (EtOAc/ Hexane 6:4);  $\lambda_{\text{max}}$  305 nm ( $\epsilon$  11302);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  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,  $J_{1'-2'} = 9.4$  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,  $J_{5'-6a'} = 5.2$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 4.16 (dd, 1H,  $J_{5'-6b'} = 1.6$  Hz, H-6b'), 3.99-3.94 (m, 1H, H-5'), 2.11, 2.06, 2.03, 2.02 (4s, 12H, 4OAc);  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  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 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 579.11; Anal. Calcd. for  $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_{11}$ : 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%.

### 3.3.5 *1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-[(2-chlorophenyl)ethynyl]uracil (2e)*

73 mg, 72%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -2^\circ$  (c 0.13,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.26$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{\text{max}}$  308 nm ( $\epsilon$  14286);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  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,  $J_{1'-2'} = 9.4$  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,  $J_{5'-6a'} = 5.0$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 4.17 (d, 1H,  $J_{5'-6b'} = 1.5$  Hz, H-6b'), 3.96-3.93 (m, 1H, H-5'), 2.11, 2.06, 2.03, 2.02 (4s, 12H, 4OAc);  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  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 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 577.12; Anal. Calcd.

for  $C_{26}H_{25}ClN_2O_{11}$ : C, 54.13; H, 4.37; N, 4.86; Cl, 6.15% Found: C, 54.03; H, 4.48; N, 4.95; Cl, 6.20%.

### 3.3.6 *1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(3-chlorophenyl)ethynyl]uracil (2f)*

50 mg, 75%;  $[\alpha]_D^{22} = -38^\circ$  (c 0.40,  $CHCl_3$ );  $R_f = 0.14$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{max}$  308 nm ( $\epsilon$  16050);  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  8.47 (br s, 1H, NH), 7.67 (s, 1H, H-6), 7.53-7.27 (m, 4H, ArH), 5.87 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 9.4$  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,  $J_{5'-6a'} = 5.2$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 4.15 (d, 1H,  $J_{5'-6b'} = 1.7$  Hz, H-6b'), 3.97-3.92 (m, 1H, H-5'), 2.12, 2.06, 2.03, 2.02 (4s, 12H, 4OAc);  $^{13}C$  NMR (75.5 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  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%.

### 3.3.7 *1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl-β-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%.

### 3.3.8 *1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl-β-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<sub>3</sub>), 2.11, 2.06, 2.02, 2.01 (4s, 12H, 4OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  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<sub>27</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub>: C, 58.27; H, 5.07; N, 5.03%. Found: C, 58.57; H, 5.17; N, 4.87%.

### 3.3.9 *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<sub>3</sub>);  $R_f = 0.24$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{max}$  315 nm ( $\epsilon$  11553); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  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<sub>3</sub>), 2.11, 2.06, 2.03, 2.02 (4s, 12H, 4OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  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<sub>28</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub>: C, 58.94; H, 5.30; N, 4.91% Found: C, 58.77; H, 5.42; N, 4.60%.

### 3.3.10 *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<sub>3</sub>);  $R_f = 0.19$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{max}$  320 nm ( $\epsilon$  13770); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  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<sub>3</sub>), 2.11, 2.06, 2.02, 2.01 (4s, 12H, 4OAc); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  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%.

3.3.11 *1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl-β-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%.

3.3.12 *1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl-β-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%.

3.3.13 *1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl-β-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<sub>3</sub>), 2.49 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.11, 2.06, 2.02, 2.01 (4s, 12H, 4OAc); <sup>13</sup>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%.

### 3.3.14 *1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-(phenylethynyl)uracil (2n)*

79 mg, 81%;  $[\alpha]_D^{22} = +2^\circ$  (c 0.13, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.21$  (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,  $J_{1'-2'} = 9.4$  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,  $J_{5'-6a'} = 5.0$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  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%.

### 3.3.15 *1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-[(6-methoxynaphthalene)ethynyl]uracil (4)*

67 mg, 61%;  $[\alpha]_D^{22} = -6^\circ$  (c 0.14, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.37$  (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,  $J_{1'-2'} = 9.4$  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,  $J_{5'-6a'} = 5.1$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  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%.

### 3.4 General procedure for the preparation of unprotected C5-alkynyl uracil pyranonucleosides **3a-n**, **5**

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.

#### 3.4.1 1-(β-D-Glucopyranosyl)-5-[(2-fluorophenyl)ethynyl]uracil (**3a**)

30 mg, 67%; [α]<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); λ<sub>max</sub> 306 nm (ε 1765); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 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>): δ 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>FN<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%.

#### 3.4.2 1-(β-D-Glucopyranosyl)-5-[(3-fluorophenyl)ethynyl]uracil (**3b**)

29 mg, 62%; [α]<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); λ<sub>max</sub> 306 nm (ε 11424); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 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>): δ 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>FN<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%.



### 3.4.3 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[(3,4-difluorophenyl)ethynyl]uracil (**3c**)

29 mg, 78%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -4^\circ$  (c 0.15, MeOH);  $R_f = 0.13$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  9:1);  $\lambda_{\text{max}}$  305 nm ( $\epsilon$  27021);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  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,  $J_{1'-2'} = 9.2$  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,  $J_{5'-6a'} = 5.3$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 10.8$  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');  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  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 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 411.10; 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, 52.51; H, 4.10; N, 6.50; F, 9.33%.

### 3.4.4 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[(3,5-difluorophenyl)ethynyl]uracil (**3d**)

29 mg, 78%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -7^\circ$  (c 0.17, MeOH);  $R_f = 0.38$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  8:2);  $\lambda_{\text{max}}$  307 nm ( $\epsilon$  25931);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  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,  $J_{1'-2'} = 9.2$  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,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  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 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 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%.

### 3.4.5 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,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  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,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  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)<sup>+</sup>: 409.08; Anal. Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: 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%.

#### 3.4.6 1-(β-D-Glucopyranosyl)-5-[(3-chlorophenyl)ethynyl]uracil (3f)

33 mg, 67%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = - 8° (c 0.20, MeOH); R<sub>f</sub> = 0.10 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 9:1); λ<sub>max</sub> 308 nm (ε 14106); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 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*<sub>1'-2'</sub> = 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*<sub>5'-6a'</sub> = 5.2 Hz, *J*<sub>6a'-6b'</sub> = 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'); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 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)<sup>+</sup>: 409.10; Anal. Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: 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%.

#### 3.4.7 1-(β-D-Glucopyranosyl)-5-[(4-bromophenyl)ethynyl]uracil (3g)

33 mg, 96%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = - 2° (c 0.20, MeOH); R<sub>f</sub> = 0.13 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 9:1); λ<sub>max</sub> 310 nm (ε 22494); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 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*<sub>1'-2'</sub> = 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*<sub>5'-6a'</sub> = 4.3 Hz, *J*<sub>6a'-6b'</sub> = 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'); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 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)<sup>+</sup>: 453.03; Anal. Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: 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%.

#### 3.4.8 1-(β-D-Glucopyranosyl)-5-[(4-methylphenyl)ethynyl]uracil (3h)

35 mg, 75%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = - 2° (c 0.25, MeOH); R<sub>f</sub> = 0.47 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 8:2); λ<sub>max</sub> 309 nm (ε 21742); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 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*<sub>1'-2'</sub> = 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*<sub>5'-6a'</sub> = 4.0 Hz, *J*<sub>6a'-6b'</sub> = 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');

$\delta_{6b'}$  = 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<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  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)<sup>+</sup>: 389.12; Anal. Calcd. for C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 58.76; H, 5.19; N, 7.21% Found: C, 58.63; H, 5.32; N, 7.09%.

#### 3.4.9 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[(2,5-dimethylphenyl)ethynyl]uracil (**3i**)

30 mg, 62%;  $[\alpha]_D^{22} = +2^\circ$  (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 ( $\epsilon$  20845); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>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*<sub>1'-2'</sub> = 9.2 Hz, H-1'), 3.87 (d, 1H, *J*<sub>6a'-6b'</sub> = 12.0 Hz, H-6a') 3.77 (dd, 1H, *J*<sub>5'-6b'</sub> = 3.5 Hz, *J*<sub>6a'-6b'</sub> = 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<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>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)<sup>+</sup>: 403.15; Anal. Calcd. for C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 59.70; H, 5.51; N, 6.96% Found: C, 59.63; H, 5.32; N, 7.12%.

#### 3.4.10 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[(2,4,5-trimethylphenyl)ethynyl]uracil (**3j**)

30 mg, 62%;  $[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (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 ( $\epsilon$  11204); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  8.02 (s, 1H, H-6), 7.22 (s, 1H, ArH), 7.00 (s, 1H, ArH), 5.58 (d, 1H, *J*<sub>1'-2'</sub> = 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<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>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)<sup>+</sup>: 417.15; Anal. Calcd. for C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 60.57; H, 5.81; N, 6.73% Found: C, 60.63; H, 5.62; N, 6.68%.

#### 3.4.11 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethynyl]uracil (**3k**)

30 mg, 62%;  $[\alpha]_D^{22} = -8^\circ$  (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):  $\delta$  8.08 (s, 1H, H-6), 6.86 (s, 2H, ArH), 5.58 (d, 1H, *J*<sub>1'-2'</sub> = 9.0 Hz, H-1'), 3.87 (d, 1H, *J* = 11.5 Hz, H-6b'), 3.84, 3.78 (2s, 9H, 3 x OCH<sub>3</sub>), 3.76 (dd, 1H, *J*<sub>5'-6a'</sub> = 4.3 Hz, *J*<sub>6a'-6b'</sub> = 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'); <sup>13</sup>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%.

#### 3.4.12 1-(β-D-Glucopyranosyl)-5-[(4-methoxyphenyl)ethynyl]uracil (**3l**)

42 mg, 83%; [α]<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); λ<sub>max</sub> 314 nm (ε 16898); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 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>): δ 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%.

#### 3.4.13 1-(β-D-Glucopyranosyl)-5-[(4-methoxy, 2-methylphenyl)ethynyl]uracil (**3m**)

35 mg, 75%; [α]<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); λ<sub>max</sub> 316 nm (ε 22563); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 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>): δ 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%.

#### 3.4.14 1-(β-D-Glucopyranosyl)-5-(phenylethynyl)uracil (**3n**)

37 mg, 82%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = + 2° (c 0.17, MeOH); R<sub>f</sub> = 0.26 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 9:1); λ<sub>max</sub> 262 nm (ε 1765); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8.10 (s, 1H, H-6), 7.85-7.36 (m, 5H, Ph), 5.58 (d, 1H, *J*<sub>1'-2'</sub> = 9.5 Hz, H-1'), 3.90-3.48 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b'); <sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 162.50, 151.69, 141.56, 131.68, 127.45, 127.39, 121.45, 101.70, 94.30, 85.38, 84.79, 77.38, 75.42, 70.35, 70.17,

63.25; Mass (M+H)<sup>+</sup>: 375.37; Anal. Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 57.75; H, 4.85; N, 7.48% Found: C, 58.07; H, 4.58; N, 7.80%.

#### 3.4.15 1-(β-D-Glucopyranosyl)-5-[(6-methoxynaphthalene)ethynyl]uracil (**5**)

38 mg, 67%; [α]<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); λ<sub>max</sub> 322 nm (ε 20173); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 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, OCH<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>): 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; 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%.

### 3.5 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].

#### 3.5.1 1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-5-(phenylethenyl)uracil (**6n**)

63 mg, 42%; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = + 4° (c 0.20, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.25 (EtOAc/ Hexane 5:5); λ<sub>max</sub> 262 nm (ε 20173); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 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>): δ 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%.

### 3.5.2 *1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(2-fluorophenyl)ethyl]uracil (8a)*

79 mg, 52%; [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 8.18 (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>): δ 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%.

### 3.5.3 *1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(2-chlorophenyl)ethyl]uracil (8e)*

74 mg, 49%; [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 8.25 (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%.

### 3.5.4 *1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(2,5-dimethylphenyl)ethyl]uracil (8i)*

66 mg, 44%;  $[\alpha]_D^{22} = -22^\circ$  (c 0.40, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.24$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{max}$  315 nm ( $\epsilon$  11553); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  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,  $J_{1'-2'} = 9.5$  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,  $J_{5'-6a'} = 5.2$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.7$  Hz, H-6a'), 4.11 (dd, 1H,  $J_{5'-6b'} = 1.9$  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>):  $\delta$  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%.

### 3.5.5 *1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(2,4,5-trimethylphenyl)ethyl]uracil (8j)*

65 mg, 43%;  $[\alpha]_D^{22} = -30^\circ$  (c 0.40, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.19$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{max}$  320 nm ( $\epsilon$  13770); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.24 (br s, 1H, NH), 7.10 (s, 1H, H-6), 6.45 (s, 2H, ArH), 5.84 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 9.5$  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,  $J_{5'-6a'} = 5.1$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.6$  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>):  $\delta$  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%.

### 3.5.6 *1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethyl]uracil (8k)*

69 mg, 46%;  $[\alpha]_D^{22} = -12^\circ$  (c 0.20, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.18$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{max}$  319 nm ( $\epsilon$  15873); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.27 (br s, 1H, NH), 7.10 (s, 1H, H-6), 7.10 (s, 2H, ArH), 5.84 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 9.5$  Hz, H-1'), 5.38 (t, 1H, H-2'), 5.19-5.11 (m, 2H, H-3', H-4'), 4.28 (dd, 1H,  $J_{5'-6a'} = 5.1$  Hz,  $J_{6a'-6b'} = 12.6$  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%.

### 3.6 1-(2',4',6'-Tri-O-acetyl-3'-C-trifluoromethyl-β-D-glucopyranosyl)5-iodouracil (**11**)

A mixture of 5-iodoouracil (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>IN<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%.

### 3.7 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.

**3.7.1** *1-(2',4',6'-Tri-O-acetyl-3'-C-trifluoromethyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(2-fluorophenyl)ethynyl]uracil (12a)*

80 mg, 81%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -4^{\circ}$  (c 0.22, CHCl<sub>3</sub>);  $R_{\text{f}} = 0.19$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{\text{max}}$  306 nm ( $\epsilon$  8250); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.23 (brs, 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,  $J_{1'-2'} = 8.9$  Hz, H-1'), 5.56 (d, 1H,  $J_{4'-5'} = 9.9$  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>):  $\delta$  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%.

**3.7.2** *1-(2',4',6'-Tri-O-acetyl-3'-C-trifluoromethyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(2-chlorophenyl)ethynyl]uracil (12b)*

81 mg, 79 %;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -2^{\circ}$  (c 0.18, CHCl<sub>3</sub>);  $R_{\text{f}} = 0.24$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{\text{max}}$  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%.

**3.7.3** *1-(2',4',6'-Tri-O-acetyl-3'-C-trifluoromethyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(2,5-dimethylphenyl)ethynyl]uracil (12c)*

80 mg, 83%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -20^{\circ}$  (c 0.38, CHCl<sub>3</sub>);  $R_{\text{f}} = 0.26$  (EtOAc/ Hexane 5:5);  $\lambda_{\text{max}}$  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%.

### 3.7.4 1-(2',4',6'-Tri-O-acetyl-3'-C-trifluoromethyl- $\beta$ -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<sub>f</sub> = 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%.

### 3.7.5 1-(2',4',6'-Tri-O-acetyl-3'-C-trifluoromethyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-[(2,4,5-trimethoxyphenyl)ethynyl]uracil (**12e**)

88 mg, 79%;  $[\alpha]_D^{22} = -13^\circ$  (c 0.19, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 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%.

### 3.8 General procedure for the preparation of unprotected pyranonucleosides **7n**, **9a,e,i,j,k**, **13a-e**

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%.

#### 3.8.1 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 Hz, 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%.

#### 3.8.2 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%.

3.8.3 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[(2-chlorophenyl)ethyl]uracil (**9e**)

64 mg, 86%;  $[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c 0.40, MeOH);  $R_f = 0.10$  (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%.

3.8.4 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[(2,5-dimethylphenyl)ethyl]uracil (**9i**)

64 mg, 87%;  $[\alpha]_D^{22} = +2^\circ$  (c 0.35, MeOH);  $R_f = 0.16$  (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%.

3.8.5 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[(2,4,5-trimethylphenyl)ethyl]uracil (**9j**)

67 mg, 89%;  $[\alpha]_D^{22} = -2^\circ$  (c 0.35, MeOH);  $R_f = 0.16$  (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%.

### 3.8.6 1-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-5-[(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethyl]uracil (**9k**)

71 mg, 85%;  $[\alpha]_D^{22} = -8^\circ$  (c 0.40, MeOH);  $R_f = 0.16$  (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%.

### 3.8.7 1-(3'-C-Trifluoromethyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-[(2-fluorophenyl)ethynyl]uracil (**13a**)

73 mg, 88%;  $[\alpha]_D^{22} = -4^\circ$  (c 0.19, MeOH);  $R_f = 0.17$  (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%.

### 3.8.8 1-(3'-C-Trifluoromethyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-[(2-chlorophenyl)ethynyl]uracil (**13b**)

74 mg, 86%;  $[\alpha]_D^{22} = -4^\circ$  (c 0.13, MeOH);  $R_f = 0.22$  (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%.

3.8.9 *1-(3'-C-Trifluoromethyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(2,5-dimethylphenyl)ethynyl]uracil (13c)*

74 mg, 87%; [α]<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); λ<sub>max</sub> 308 nm (ε 14895); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 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*<sub>1'-2'</sub> = 9.2 Hz, H-1'), 4.04 (d, 1H, H-2'), 3.96 (d, 1H, *J*<sub>4'-5'</sub> = 9.5 Hz, H-4'), 3.86 (d, 1H, *J*<sub>6a'-6b'</sub> = 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): δ 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%.

3.8.10 *1-(3'-C-Trifluoromethyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(2,4,5-trimethylphenyl)ethynyl]uracil (13d)*

75 mg, 86%; [α]<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); λ<sub>max</sub> 319 nm (ε 13932); <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; 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%.

3.8.11 *1-(3'-C-Trifluoromethyl-β-D-glucopyranosyl)-5-[(2,4,5-trimethoxyphenyl)ethynyl]uracil (13e)*

82 mg, 86%; [α]<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); λ<sub>max</sub> 316 nm (ε 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*<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>); <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%.

#### 4. 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 unprotected 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

## CONFLICT OF INTEREST

The authors confirm that this article content has no conflict of interest.

## 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.; 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.



- [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.; Triantakoustanti, 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- $\beta$ -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.; Papasotiriou, 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.; Triantakoustanti, 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  $\pi$ - $\pi$  interactions and the H-bonding ability of aromatic nitrogen bases. *Chem. Phys. Lett.*, **2005**, *401*, 40-46.

[16] Kantsadi, A.L.; Manta, S.; Psara, A.-M.G.; Dimopoulou, A.; Kiritsis, C.; Parmenopoulou, V.; Skamnaki, V.T.; Zoumpoulakis, P.; Zographos, S.E.; Leonidas, D.D.; Komiotis, D. The binding of C5-alkynyl and alkylfurano[2,3-d]pyrimidine glucopyranonucleosides to glycogen phosphorylase b: synthesis, biochemical and biological assessment. *Eur. J. Med. Chem.*, **2012**, *54*, 740-749.

[17] Odlo, K.; Hentzen, J.; Fournier dit Chabert, J.; Ducki, S.; Gani, O.A.B.S.M.; Sylte, I.; Skrede, M.; Flørenes, 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 ( $\pm$ )-camphorataimides and ( $\pm$ )-himanimides by  $\text{NaBH}_4/\text{Ni}(\text{OAc})_2$  or  $\text{Zn}/\text{AcOH}$  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- $\alpha$ -*L*-lyxopyranosyl]thymine. *J. Org. Chem.*, **2004**, *69*, 4446-4453.

**TABLE**

**Table 1:** Cytostatic activity of the compounds tested against tumor cell (L1210, CEM and HeLa) proliferation.

Compounds	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)		
	L1210	CEM	HeLa
<b>2a</b>	25 $\pm$ 4	42 $\pm$ 6	36 $\pm$ 6
<b>3a</b>	> 250	> 250	> 250
<b>2b</b>	194 $\pm$ 80	168 $\pm$ 8	192 $\pm$ 83
<b>3b</b>	>250	>250	>250
<b>2c</b>	102 $\pm$ 34	108 $\pm$ 8	175 $\pm$ 106
<b>3c</b>	> 250	> 250	> 250
<b>2d</b>	97 $\pm$ 0	108 $\pm$ 10	142 $\pm$ 46
<b>3d</b>	> 250	> 250	> 250
<b>2e</b>	37 $\pm$ 16	32 $\pm$ 1	41 $\pm$ 25
<b>3e</b>	> 250	> 250	> 250
<b>2f</b>	100 $\pm$ 21	93 $\pm$ 1	91 $\pm$ 8
<b>3f</b>	> 250	> 250	> 250
<b>2g</b>	83 $\pm$ 54	57 $\pm$ 13	101 $\pm$ 34
<b>3g</b>	> 250	> 250	> 250
<b>2h</b>	104 $\pm$ 22	93 $\pm$ 14	85 $\pm$ 12
<b>3h</b>	> 250	> 250	> 250
<b>2i</b>	23 $\pm$ 1	21 $\pm$ 3	21 $\pm$ 2

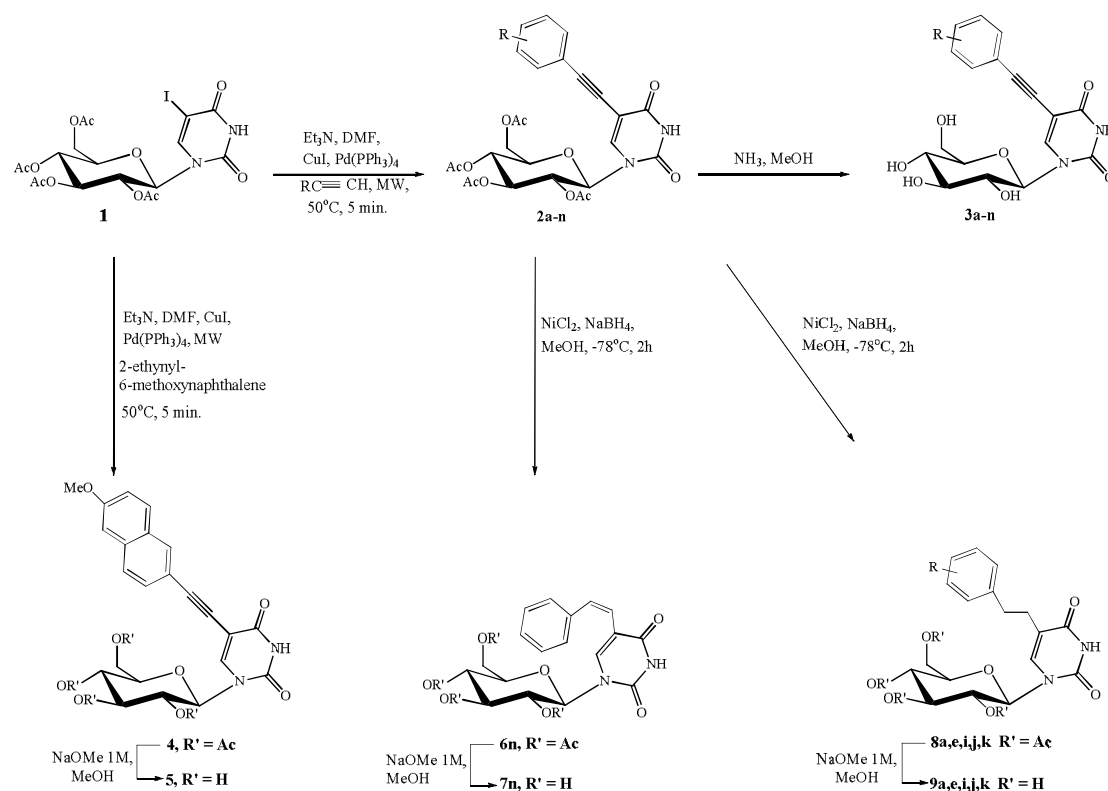
<b>3i</b>	> 250	> 250	> 250
<b>2j</b>	21 ± 0	18 ± 8	35 ± 15
<b>3j</b>	> 250	> 250	> 250
<b>2k</b>	107 ± 16	99 ± 28	152 ± 88
<b>3k</b>	> 250	> 250	> 250
<b>2l</b>	132 ± 39	101 ± 7	> 250
<b>3l</b>	144 ± 18	≥ 250	199 ± 48
<b>2m</b>	118 ± 29	138 ± 43	134 ± 17
<b>3m</b>	> 250	> 250	> 250
<b>2n</b>	87 ± 36	91 ± 24	70 ± 4
<b>3n</b>	6.2±0.4	5.2±2.6	5.4±0.0
<b>4</b>	80 ± 43	≥ 250	≥ 250
<b>5</b>	> 250	> 250	> 250
<b>6n</b>	127 ± 23	88 ± 24	108 ± 2
<b>7n</b>	207 ± 61	≥ 250	≥ 250
<b>8a</b>	94 ± 37	87 ± 45	96 ± 4
<b>9a</b>	179 ± 100	> 250	171 ± 111
<b>8e</b>	78 ± 52	77 ± 40	102 ± 6
<b>9e</b>	≥ 250	> 250	≥ 250
<b>8i</b>	123 ± 47	≥ 250	≥ 250
<b>9i</b>	105 ± 78	153 ± 92	103 ± 18
<b>8j</b>	72 ± 40	62 ± 35	87 ± 15

<b>9j</b>	117 ± 32	156 ± 23	94 ± 0
<b>8k</b>	132 ± 40	132 ± 32	≥ 250
<b>9k</b>	≥ 250	> 250	> 250
<b>12a</b>	118 ± 6	64 ± 3	76 ± 3
<b>13a</b>	> 250	> 250	> 250
<b>12b</b>	91 ± 13	100 ± 8	≥ 250
<b>13b</b>	> 250	> 250	> 250
<b>12c</b>	23 ± 4	20 ± 1	23 ± 1
<b>13c</b>	> 250	> 250	> 250
<b>12d</b>	23 ± 1	19 ± 3	20 ± 2
<b>13d</b>	170 ± 61	178 ± 28	> 250
<b>12e</b>	99 ± 11	76 ± 12	70 ± 14
<b>13e</b>	> 250	> 250	> 250
<b>5-Fluorouracil</b>	0.33 ± 0.17	18 ± 5	0.54 ± 0.12

<sup>a</sup>50% inhibitory concentration or compound concentration required to inhibit tumor cell proliferation by 50%.

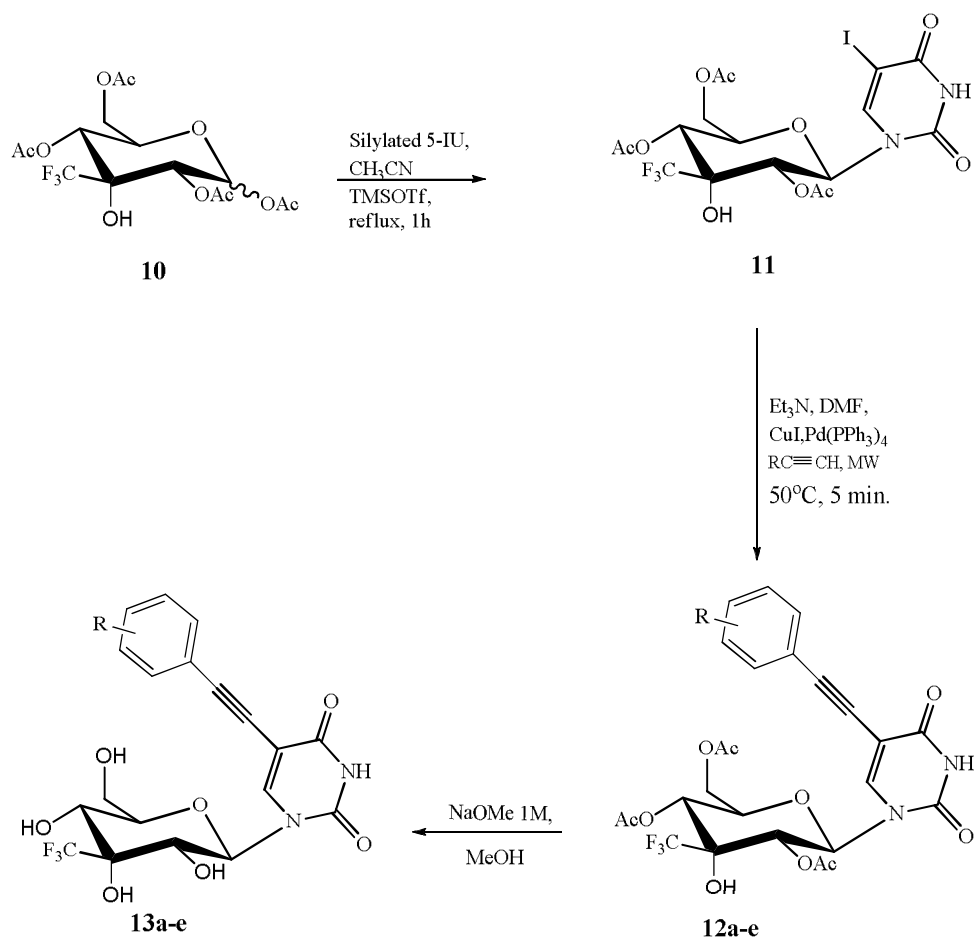
## FIGURE LEGENDS

**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**.



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 2.** Synthetic route of 1-(3'-C-trifluoromethyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-5-[(phenylsubstituted)ethynyl]uracil **13a-e**.



R = (a) 2-fluoro; (b) 2-chloro; (c) 2,5-dimethyl;  
(d) 2,4,5-trimethyl; (e) 3,4,5-trimethoxy.