

5' HELYZETBEN SZUBSZTITUÁLT URIDIN- SZULFIDSZÁRMAZÉKOK SZINTÉZISE

TDK Dolgozat

Debreceni Egyetem

Gyógyszerésztudományi Kar

Gyógyszerészi Kémiai Tanszék

Szerző: Bege Miklós

Témavezető: Dr. Borbás Anikó

2014 Debrecen

Tartalom

1. Rövidítésjegyzék.....	3
2. Bevezetés	5
3. Irodalmi áttekintés	7
3.1 Természetes nukleozidok és származékaik.....	7
3.2 Mesterséges nukleozidszármazékok.....	10
3.3 Szintetikus nukleinsavanalógok.....	12
3.4 Géncsendesítés	16
3.5 Tioladdíció	17
4. Célkitűzés	20
5. Elért eredmények	22
5.1 Uridin exometilénszármazékainak előállítása	22
5.2 Tioladdíciók	23
5.3 Peptid-nukleinsavak szintézise.....	27
5.3.1 Szintézisútvonal kiválasztása	27
5.3.2 Alkalmazott védőcsoportok.....	29
5.3.3 A konjugációra alkalmas reaktánsok előállítása	30
5.3.4 A monomerek szintézise	31
5.3.5 Dimerizálás	32
6. Kísérleti rész	34
7. Összefoglalás	46
8. Köszönetnyilvánítás	46
9. Irodalomjegyzék.....	47

1.Rövidítésjegyzék

Absz.= abszolút

boc= *tercier*-butoxikarbonil

cAMP= ciklikus adenzin-monofoszfát

cGMP= ciklikus guanozin-monofoszfát

DBU= diazabiciklo-undec-2-én

deszt.= desztillált

DKM= diklórmétán

DIPEA= diizopropil-etilamin

DMF= dimetil-formamid

DNS= dezoxiribonukleinsav

DPAP= 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenon

EDC= 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimid

EDC.HCL= 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimid-hidroklorid

Ekv.= ekvivalens

Et₃N= trietilamin

Et₃SiH= trietil-szilán

EtOAc= etil-acetát

Fmoc= 9-fluorenil-metoxikarbonil

HOBt= hidroxibenztriazol

MeOH= metanol

mRNS= messenger RNS (hírvivő RNS)

miRNS= mikroRNS

NAD= nikotinamid-adenin-dinukleotid

NADP= nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát

PNA= peptid-nukleinsav

PNS= peptid-nukleinsav

RNS= ribonukleinsav

TBS= *tercier*-butil-dimetilszilil

TFA= trifluorecetsav

THF= tetrahidrofurán

tritol= trifenil-metil

tRNS= transzfer RNS (szállító RNS)

TsCl= tozil-klorid (*para*-toluolszulfonsavklorid)

UPA= uridil-peptid antibiotikum

2. Bevezetés

A nukleozidok és származékaik a természetben változatos biológiai funkciókat töltenek be: részt vesznek a jelátviteli folyamatokban, a sejt energiatermelésében és különböző enzimatisz átalakításokban, bizonyos mikroorganizmusok által termelt nukleozid származékok (uridil-peptidek) pedig antibakteriális hatásúak. A nukleotidokból felépülő nukleinsavak a genetikai információ tárolásában, hordozásában, valamint különböző szabályozási és katalitikus folyamatokban vesznek részt.

A szintetikus nukleozid származékokat széles körben használják gyógyászati célokra daganatellenes szerként (pl. 5-fluoruracil, citarabin), antibiotikumként, vírusellenes szerként (zidovudin), vagy antimikotikumként (5-fluorocitozin). Az elmúlt évtizedekben előállítottak számos olyan módosított nukleotidot, melyeket szintetikus nukleinsav analógokká összekapcsolva olyan molekulákat nyertek, amelyek egy jelenleg intenzíven kutatott, nagy terápiás potenciállal bíró módszer, a géncsendesítés eszközei lehetnek a jövőben. A géncsendesítés során egy hibás fehérje által okozott betegség gyógyítása a cél az adott hibás fehérjét kódoló gén működésének szelektív gátlásával. Ehhez meghatározott szekvenciájú (a fehérjét kódoló génével, vagy az arról átíródó mRNS-sel komplementer) szintetikus nukleinsav analógokat használnak, amelyek a természetes nukleinsavaknál jobb fizikai és kémiai tulajdonságokkal (pl. nagyobb stabilitás) rendelkeznek. Terápiás szempontból ígéretes származékok a peptid-nukleinsavak (PNS vagy PNA), melyekben egy polipeptid vázhoz (ált. poli-aminoetilglicinhez) kapcsolódnak a nukleobázisok.

A tioladdíció fotokatalitikus, gyökös mechanizmusú reakció, mely során egy terminális alkénre addicionálódik egy tiolcsoportot tartalmazó vegyület. A kivitelezés során először egy UV fény hatására könnyen hasadó iniciátormolekulából (2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenon=DPAP) homolitikus kötés-hasadással szabadgyökök keletkeznek, melyek a tiollal reagálva tiilgyököket hoznak létre, és ezek a gyökök reagálnak az alkénnel. A reakció rendkívül előnyös tulajdonságokkal rendelkezik: nem igényel erélyes körülményeket, sokféle oldószerrel kompatibilis, gyors, egyszerű a végrehajtása és a feldolgozása, a felhasználható vegyületek köre pedig igen széles. Korábban telítetlen szénhidrátszármazékokon – így ribózból képezett 4-exometilén származékon - már tesztelték a reakciót, és teljes regio- és

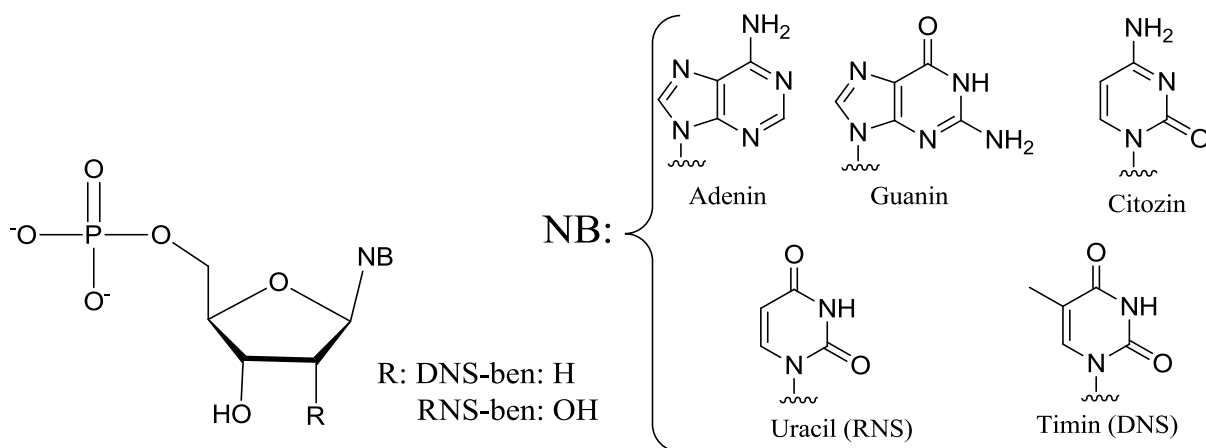
sztereoszelektivitást tapasztaltak; nukleozidon azonban még senki sem hajtott végre korábban tioladdíciót.

A célunk uridin ribóz komponensén képezett exometilén származékra addicionáltatni különböző tiolokat, így módon újfajta uridin származékokat szintetizálni, amelyek potenciális antimikrobás aktivitással rendelkeznek. Terveink között szerepel továbbá tioladdícióval cisztein-uridin konjugátumokat létrehozni, amelyekből peptidkémiai módszerekkel kémiai szerkezetüket tekintve teljesen új típusú peptid-nukleinsavak építhetők fel. Ezek a származékok egyrészt potenciális géncsendesítő ágensek, másrészt - mivel szerkezeti rokonságot mutatnak az uridil-peptid antibiotikumokkal - antibakteriális hatással is rendelkezhetnek.

3. Irodalmi áttekintés

3.1. Természetes nukleozidok és származékaik

A nukleotidok 3 fő komponensből állnak: egy nitrogéntartalmú, heterociklusos purin- (adenin, guanin) vagy pirimidinvázis (citozin, DNS-ben timin, RNS-ben uracil) bázisból, egy ehhez β -N-glikozidos kötéssel kapcsolódó pentofuranózból (DNS-ben: 2'-dezoxiribóz, RNS-ben: ribóz) és egy, a cukor 5'-hidroxilcsoportját észterező foszforsavból (**1. ábra**).



1. ábra: A természetes nukleotidok felépítése

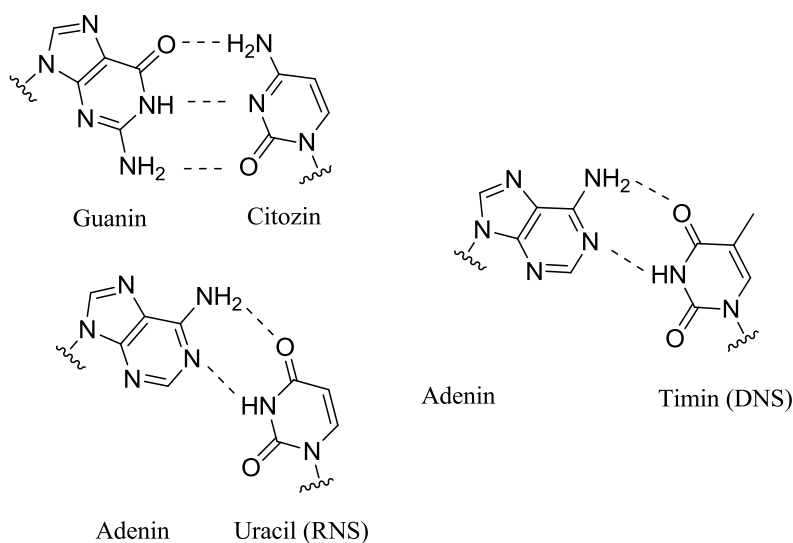
A természetes nukleotidokban lévő bázisok: adenin, guanin, citozin, timin, uracil. Utóbbi csak RNS-ben található meg, a DNS helyette timint tartalmaz. Az ezekből származtatott nukleozidok (melyek a ribóz komponenst is tartalmazzák β -N-ribofuranozidként): adenzin, guanozin, citidin, timidin, uridin. A nukleotidok elnevezése pedig nukleozid-monofoszfátként történik, pl. uridin-monofoszfát. A nukleotidok szénatomjainak számozása során a bázis szénatomjait a normál módon számozzuk, míg a szénhidrát komponens szénatomjai megkülönböztetésül 1'-5' számozást kapnak.

A nukleinsavak nukleotidokból épülnek fel olyképpen, hogy az egyik nukleotid 5' szénatomjához kapcsolódó foszforsav észterezíti a következő nukleotid 3' szénatomjához

DNS:
R = H
RNS:
R = OH

megfelelő érési folyamatok után egy fehérjekomplexbe (RISC komplex) beépülve képesek bizonyos mRNS-ek transzlációját gátolni, azok degradációja, vagy a riboszómával való kapcsolódás gátlása által [1-2].

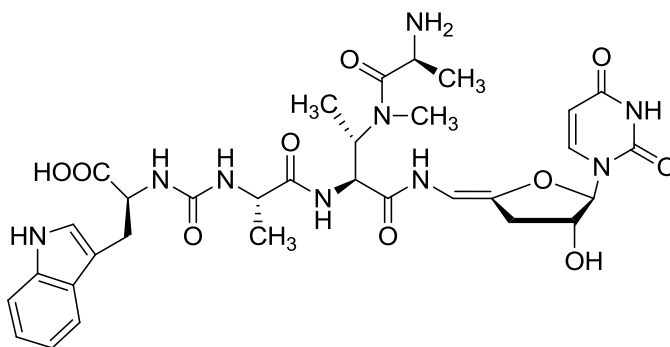
A fentebb leírt változatos biológiai szerepek ellátására a nukleinsavakat az a tulajdonságuk teszi alkalmassá, hogy a cukor-foszfát gerinchez kapcsolódó bázisok mindegyike csak meghatározott másik bázissal képes hidrogénhidakkal kötődni (az adenin timinnel ill. RNS-ben uracillal, a guanin citozinnal), ennek következtében egy nukleinsav templátról nagy pontossággal lehet komplementer nukleinsavat szintetizálni. A bázipárosodás szabályai (**3. ábra**) miatt pedig egy adott bázissorrendű nukleinsav csak vele komplementer nukleinsavval képes hibridizálni, ez teszi lehetővé a nukleinsavak által közvetített specifikus felismerési mechanizmusokat, pl. a miRNS a saját szekvenciájával komplementer szakaszt képes a gátolni kívánt mRNS-en felismerni.



3. ábra: A bázispárosodás alapjai

A nukleinsavak felépítésén kívül bizonyos nukleozidszármazékok más funkcióval is rendelkezhetnek. Lehetnek pl. enzimek kofaktorai a katabolikus (NAD) ill. anabolikus (NADP) folyamatokban, másodlagos hírvivő molekulák (cAMP, cGMP), biokémiai markerek (ADP), energiatároló molekulák (ATP). Bizonyos mikroorganizmusok által termelt ún. uridil-

peptidek (pl. pacidamycinek, muraymycinek) számottevő antibakteriális hatással rendelkeznek, elsősorban *Pseudomonas aeruginosa* ellen (**4. ábra**).

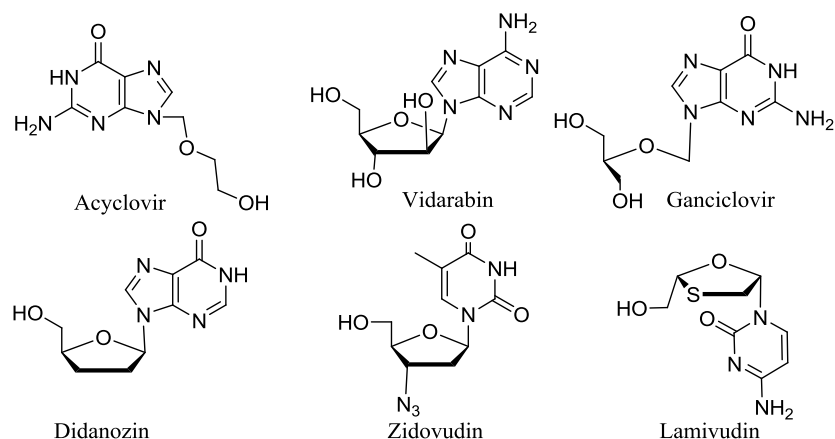


4. ábra: A pacidamycin D szerkezete

3.2. Mesterséges nukleozidszármazékok

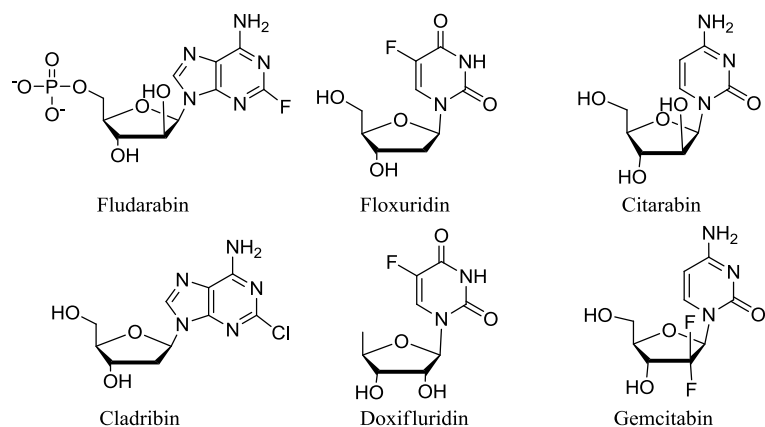
A szintetikus nukleozid-, nukleotid- és nukleobázis-származékokat széles körben használják a gyógyászatban, elsősorban vírus-, tumor- és gombaellenes szerként, valamint antibakteriális szerként, ezen felül számos kutatás folyik ilyen hatásokkal rendelkező nukleozidanalógok kifejlesztésére.

A vírusellenes nukleozidszármazékok (**5. ábra**) a vírus, vagy a gazdasejt enzimei által végzett foszforilálást követően válnak aktívvá. Ezek a származékok (pl. acyclovir, penciclovir, ganciclovir, vidarabin) a virális DNS szintézist kompetitív módon gátolják, vagy pedig az épülő DNS láncba beépülve „elrontott” nukleotidként láncterminációt okoznak. Különleges képviselői ennek a területnek a nukleozid reverz transzkriptáz inhibitorok (NRTI-k), melyek a retrovírusokra (pl. HIV) jellemző, az RNS-ből álló virális genomról mint templárról DNS-t szintetizáló reverz transzkriptáz enzim működését gátolják. A gátló hatás alapja, hogy ezek a vegyületek nem rendelkeznek 3'-hidroxilcsoporttal, ezért láncterminációt okoznak a szintetizálódó DNS láncba beépülve (pl. didanozin, zidovudin, lamivudin, stavudin) [3-5].



5. ábra: Néhány antivirális hatású nukleozidszármazék

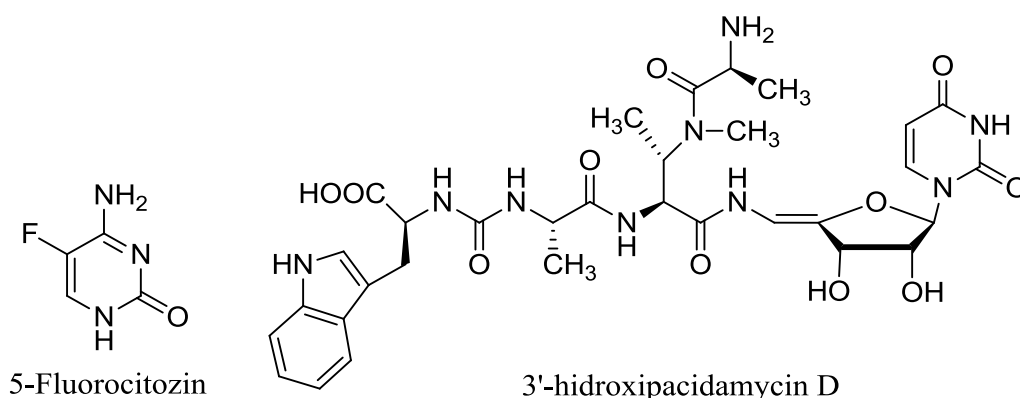
A tumorelleses hatású nukleozidszármazékok (**6. ábra**) a tumorelleses kemoterapeutikumokon belül az antimetabolitok közé tartoznak. Az antimetabolitok a sejt anyagcsere folyamatait gátolják. A rákos sejtek a gyors osztódások miatti megnövekedett nukleozid anyagcseréjük miatt nagyobb mennyiséget vesznek fel ezekből az anyagokból, mint az egészséges sejtek. A nukleozid típusú antimetabolitok hatásmechanizmusuk alapján a következő csoportokra oszthatóak: a purin antagonisták (fludarabin, cladribin) az AMP és GMP szintézist gátolják, a pirimidin antagonisták (floxuridin, doxifluridin) a timidilát-szintetáz gátolják, a dezoxicitidin analógok (citarabin, gemcitabin) a DNS szintézist gátolják [3, 5].



6. ábra: Néhány tumorelleses hatású nukleozidszármazék.

Gombaellenes hatással rendelkezik az 5-fluorocitozin (**7. ábra**), mely a gomba DNS- és fehérjeszintézisét gátolja.

Antibakteriális hatással rendelkező nukleozidszármazékok (**7. ábra**) a showdomycin, és az uridil-peptid antibiotikumok (UPA-k), melyek természetes eredetűek, viszont napjainkra már több félszintetikus ill. szintetikus UPA-t is előállítottak (pl. 3'-hidroxipacidamycin D), melyek az eredeti vegyületekhez képest megnövelt antibakteriális hatással rendelkeznek [5-7].



7. ábra: Gombaellenes és antibakteriális hatású nukleozidszármazékok

3.3. Szintetikus nukleinsavanalógok

Az elmúlt évtizedekben számos szintetikus nukleinsavanalógot fejlesztettek ki, melyek a természetes nukleinsavaktól az őket alkotó nukleotidok említett 3 komponense (bázis, cukor, foszforsav) közül bármelyikben különbözhetnek (**1. táblázat**), így tartalmazhatnak a természetben előforduló bázisok helyett különböző szintetikus bázisokat, pl. diaminopurint, vagy tiouracilt, D-ribofuranozid helyett változatos konfigurációjú hexo-, ill. pentopiranozókat, a polianionos sajátságú cukor-foszfát gerinc helyett pedig semleges csoportok alkotta vázat.

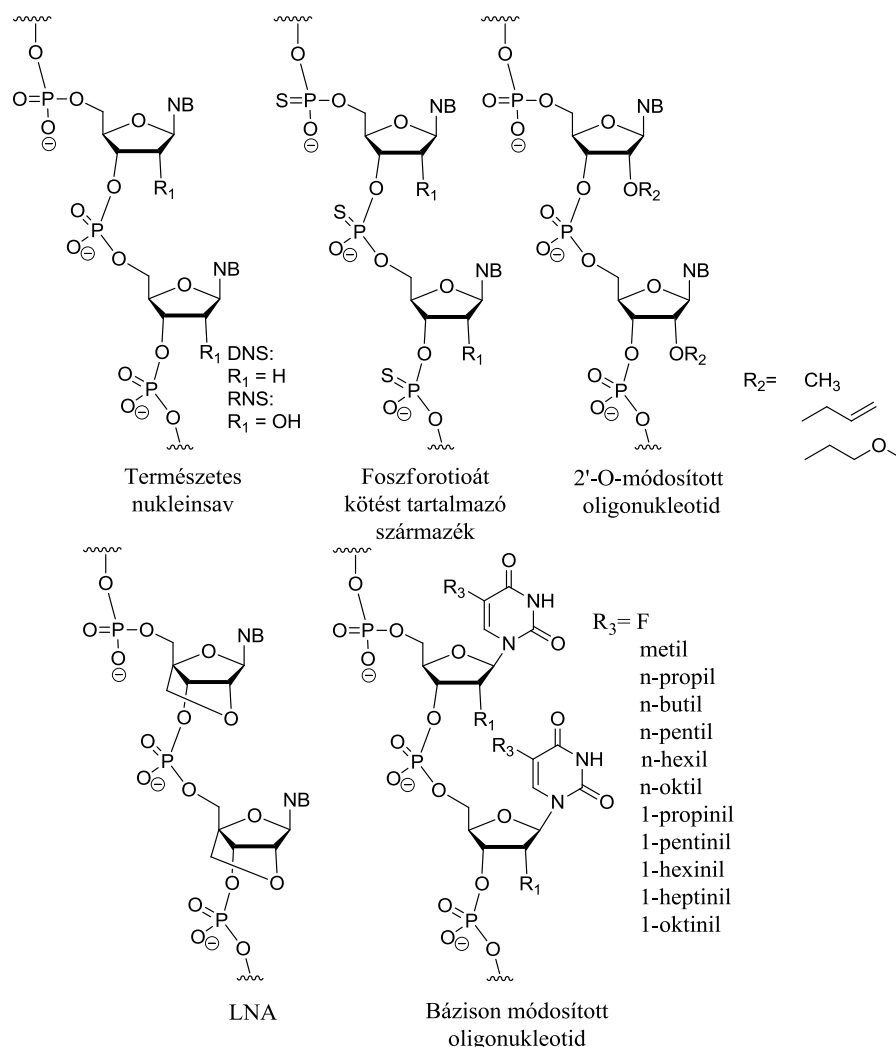
	Természetes nukleinsavak	Szintetikus analógok
Pentofuranóz	D-ribofuranozid (RNS) 2-dezoxi-D-ribofuranozid (DNS)	Glicerín Hexopiranozok Pentopiranozok
Bázis	Timin (DNS) Uracil (RNS) Adenin Guanin Citozin	Diaminopurin Tiouracil Pszeudoizocitozin
Váz	Polianionos cukor-foszfát gerinc	Dimetilén-szulfon hidak Poliipeptid váz

1. Táblázat: Szintetikus nukleinsavanalógok és természetes nukleinsavak összehasonlítása.

A szintetikus nukleinsavanalógok legfontosabb felhasználási területe a jövőben a géncsendesítő terápia lehet. A géncsendesítésre elméletileg módosíthatlan oligonukleotidok is alkalmasak lennének, azonban a sejtekben jelenlévő nukleázok, miatt ezen vegyületek féléletideje rendkívül rövid, így kevésbé alkalmasak terápiás hatás kifejtésére; ezen probléma kiküszöbölésére különböző kémiai módosításokat hajtanak végre a molekulákon. A változtatások befolyásolják az oligonukleotid stabilitását (a cél a nukleázrezisztencia növelésével a féléletidő növelése), a sejtbe való bejutást, a hibridizációs képességet (amelyet kvantitatíve az ún. T_m ponttal jellemezhetünk, ami az a hőmérséklet, ahol a kialakult duplexek fele már denaturálódott; minél magasabb a T_m , annál stabilabb a dupla hélix), az

RNáz H aktiváló képességet, a testben való eloszlást, a vívíanyagokkal való kompatibilitást (a semleges vázat tartalmazó vegyületek többféle hordozóval kompatibilisek) [8].

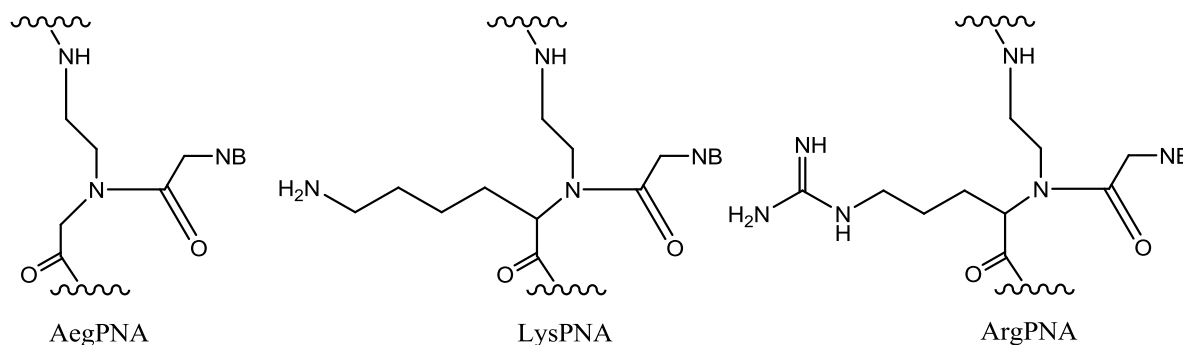
A fent említett problémák kiküszöbölése végett számos módosított oligonukleotidot fejlesztettek ki (**8. ábra**). Az egyik lehetőség az internukleotid kötés cseréje foszfátészterről foszforotioát, vagy foszforamidit kötésre, ami a nukleázrezisztenciát jelentősen növeli, de több problémát is okoz (pl. fehérjékkel való aspecifikus interakciók). A ribóz 2' hidroxilcsoportjának alkilálása növeli a nukleáz rezisztenciát és a T_m pontot, viszont ezek a származékok nem képesek aktiválni az RNáz H-t. Alkilcsoportként ebben az esetben legtöbbször metil- esetleg allil-, vagy metoxietilcsoport szerepel. A „locked” vagy „lakatolt” (vagyis rögzített konformációjú) nukleinsavakban (LNA) a pentóz 2' oxigénjét egy metilénhíd köti össze a 4' szénatommal. A lakatolt nukleinsavak a módosítatlan oligonukleotidokhoz képest jóval stabilabb duplexet képeznek. Végrehajtottak módosításokat a bázison is, ezek közül a legjelentősebbek a pirimidinen 5 helyzetben való szubsztitúciók, mert ezek a hibridizációt nem befolyásolják. Főleg halogenid-, alkil-, 1-alkenil- és 1-alkinilcsoportokat építettek így be a bázisokba. Ezen származékok tulajdonságai az 5 helyzetben lévő szubsztituensek méretétől és hidrofobicitásától függenek [2,9].



8. ábra: Néhány módosított oligonukleotid szerkezete

A módosított oligonukleotidok különleges csoportját képezik a peptid-nukleinsavak (PNS vagy PNA). Ezekben a származékokban a természetes nukleinsavakkal ellentétben a nukleobázisok nem egy sokszorosán negatív töltésű cukor-foszfát gerinchez, hanem egy semleges peptidvázhoz kapcsolódnak közvetlenül, vagy egy rövid összekötő hídon, pl. acetilcsoporton keresztül. Többféle peptid-nukleinsavat is kifejlesztettek (**9. ábra**). Ezek gerince felépülhet többféle aminosavból, pl. lizinből, vagy argininből is, de a legelterjedtebb származékok poli-aminoetilglicin vázat tartalmaznak (aegPNA). Ez utóbbi vegyületek tartalmazzák a legegyszerűbb, nem ciklikus, akirális, töltés nélküli vázat, és jelenlegi elterjedtségüket és a többi PNS-hez viszonyított dominanciájukat jelzi, hogy bizonyos szakirodalmak kifejezetten csak ezeket a származékokat tekintik peptid-nukleinsavnak.

Természetes nukleinsavakkal képezett duplexeik és triplexaik rendkívül stabilak, azonban a sejtbe való bejutásuk kismértékű [2,8].



9. ábra: Néhány peptid-nukleinsav szerkezete

3.4. Géncsendesítés

A géncsendesítés egy gén működésének szelektív gátlását jelenti. A természetes géncsendesítés a mikro RNS-ek (miRNS) és kis interferáló RNS-ek (siRNS) által valósul meg. Előbbiek célja a sejt saját génműködésének szabályozása, míg utóbbié a kórokozók elleni védelem, pl. a virális gének kifejeződésének gátlása által. A mesterséges géncsendesítés célját tekintve ma még elsősorban kísérleti, de a jövőben fontos terápiás alkalmazást nyerhet. A géncsendesítés segítségével ugyanis lehetővé válik betegséget okozó mutáns gének „kikapcsolása”, ill. vírusok szaporodásának gátlása. Jellegéből fakadóan a géncsendesítésben elsősorban daganatos és vírusos megbetegedések ellen rejlik nagy potenciál.

A géncsendesítés gyakorlati megvalósításának alapját az adja, hogy mint az fentebb említésre került, a nukleinsavak a bázissorrendjükkel komplementer nukleinsavakkal specifikusan képesek hibridizálni. Ez lehetővé teszi, hogy megfelelő méretű oligonukleotidok meghatározott szekvenciájú szakaszokat felismerjenek egy nukleinsav molekulán, és hozzákötődjenek, majd különböző mechanizmusokkal gátolják annak működését.

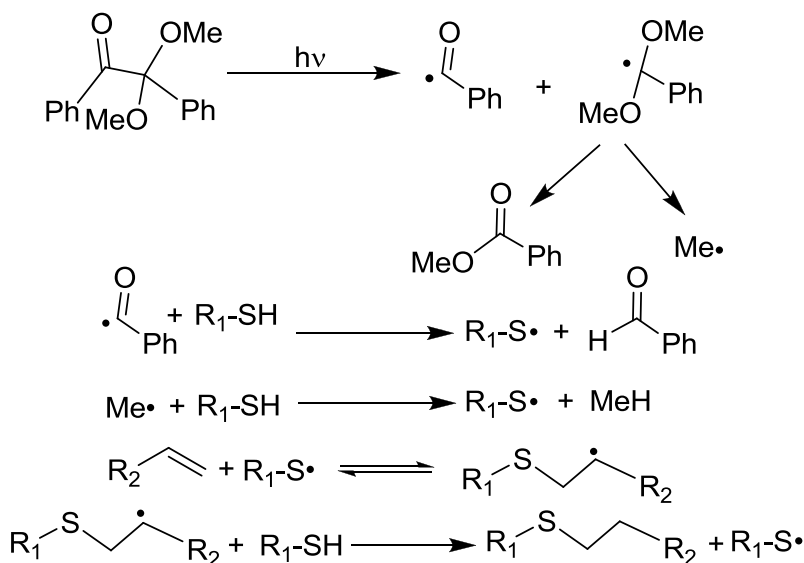
Egy gén működése több szinten gátolható, ennek megfelelően többféle módszer létezik géncsendesítésre. Az anti-gén stratégia lényege, hogy a gén transzkripcióját, vagy iniciációját

gátoljuk. Ehhez olyan oligonukleotidra van szükség, amely a célgén egy megfelelő szakaszának szekvenciájával komplementer és képes a DNS-sel tripla hélixet képezni. A módszer előnye, hogy egyetlen oligonukleotid molekula kötődése elég lehet a sikeres géncsendesítéshez, hátránya, hogy a csendesítő ágenszt be kell juttatni a sejtmagba. Az antiszenz elv lényege, hogy a már átíródott RNS érési folyamatait (splicing, capping, poliadenilálás), vagy a transzlációt gátoljuk egyszálú oligonukleotidokkal. Az antiszenz molekula kettősszálú adduktumot képez a célzott mRNS-sel, így egyrészt sztérikusan gátolja annak összekapcsolódását a riboszómával és ezáltal a transzlációt, másrészt a kettősszálú nukleinsav aktiválja az RNáz H-t, ami lebontja az mRNS-t. Ha az antiszenz molekulán megfelelő kémiai módosításokat végeznek, akkor a géncsendesítő ágens maga nem degradálódik, tehát a célmolekula lebomlása után újabb mRNS-sel kapcsolódhat össze. A ribozimekkel végzett géncsendesítés során azt használjuk ki, hogy a ribozimek képesek a nukleotidok közötti kötések hidrolízisét - és ezáltal bizonyos szekvenciájú nukleinsavak degradációját - katalizálni. A kis interferáló RNS alapú géncsendesítés alapja, hogy a bejuttatott rövid (általában 15-25 nukleotid) oligonukleotidok egy fehérjekomplexbe (siRISC= small interfering RNS Induced Silencing Complex) beépülve a célzott mRNS RISC komplex általi felismerését és a komplex egyik tagja (az argonaute fehérje) általi lebomlását idézik elő [1-2].

3.5.Tioladdíció

A tioladdíció az ún. click reakciók közé tartozik. Az elnevezés nem egy bizonyos típusú reakciót jelöl, hanem egy összefoglaló kifejezés mindazon reakciókra, amelyekkel egyszerűen, gyorsan és regio- és sztereoszelektíven lehet szén-heteroatom kötést kialakítani. Az előbbieken kívül feltétel még, hogy a reakció kivitelezése és feldolgozása, valamint a termék izolálása egyszerű legyen. A tioladdíciós reakciók termikusan és fotolitikusan is aktiválhatók. A fotokatalitikus reakció viszonylag gyorsan (egy ciklus 20 perces és általában legfeljebb 3 ciklus szükséges) végrehajtható enyhe körülmények között. Nem igényel sem fémkatalízist sem abszolút körülményeket és gyakorlatilag bármilyen oldószerrel kompatibilis. [10-11].

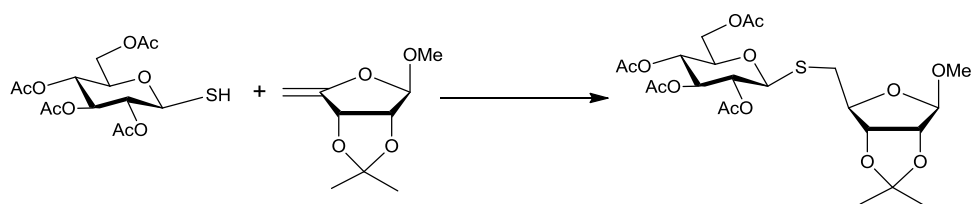
A reakció során egy alkén kettős kötése addíciónalódik egy tiolból keletkezett tiilgyök. A tiilgyök keletkezését iniciátor használatával segítjük elő. Erre a célra leggyakrabban 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenont használnak, ami a hasadó iniciátorok közé tartozik. A reakció során 365 nm hullámhosszú UV foton hatására az iniciátor homolitikus kötéshasadáson esik át. Az így keletkezett szabadgyökök a tiollal reagálva abból tiilgyöket hoznak létre, és ezek a tiilgyökök reagálnak az alkénnel (**10. ábra**)



10. ábra: A tioladdíció során lejátszódó folyamatok

A tioladdíció legnagyobb előnye, hogy - mivel sokféle oldószerrel kompatibilis, ezért számos reaktáns felhasználható - segítségével sokféle tiol és alkén összekapcsolható egymással, változatos szerkezetű konjugátumokat eredményezve.

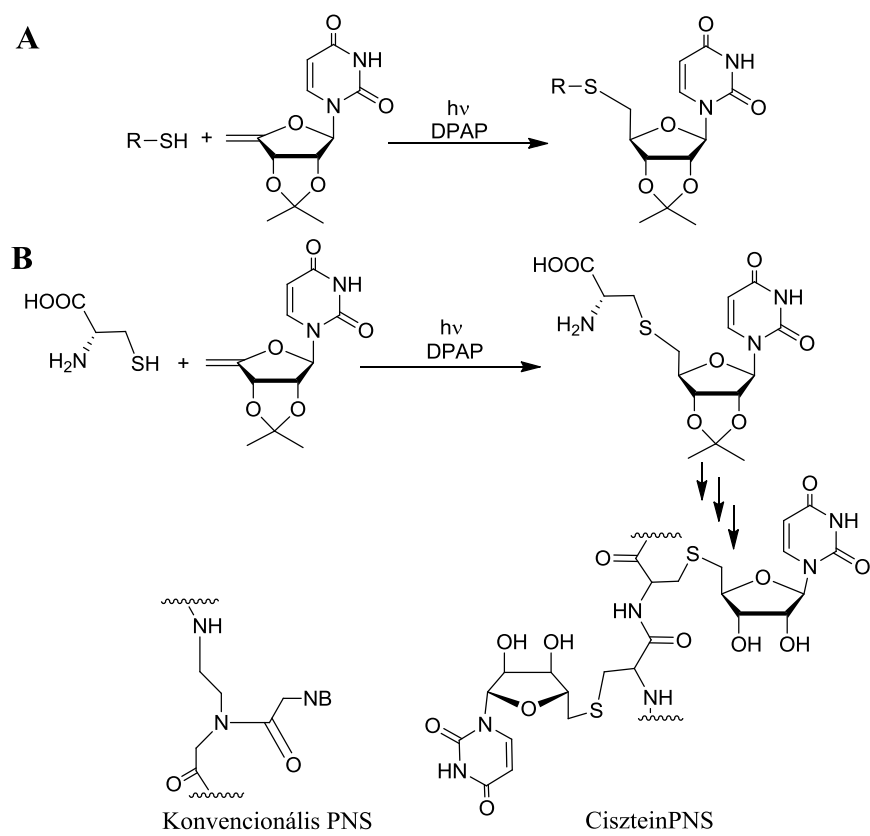
Korábban ribofuranozidból képezett exometilén származékokon már tanulmányozták a tioladdíciót, és teljes regio- és sztereoszelektivitást tapasztaltak (**11. ábra**) [12].



11. ábra: Tioladdíció telítetlen ribofuranózsármazékon

4. Célkitűzés

A kutatás célja kettős: egyrészt 5' helyzetben módosított uridinszármazékokat szeretnénk előállítani, szintetikus eszközként a tioladdíciót használva, másrészt távlati célként az ezzel a módszerrel létrehozott ciszteinil-uridin konjugátumokból konvencionális peptidkémiai módszerekkel új típusú peptid-nukleinsavak előállítását tervezzük (**12. ábra**). Ehhez először elő kell állítani a ribóz komponensen 4' helyzetben telítetlen kötést tartalmazó uridinszármazékot, amelyre a különböző tiolok addicionáltathatóak. Az így előállított módosított nukleozidok potenciálisan tumor-, vírus-, gomba-, ill. baktériumellenes hatással rendelkezhetnek. Ha pedig ciszteint kapcsolunk az uridinhez, akkor ezeket a konjugátumokat oligomerizálva teljesen új típusú peptid nukleinsavakat állíthatunk elő. A hagyományos PNS-ekben ugyanis a polipeptid (jellemzően poliaminoetilglicin) vázhoz kapcsolódnak közvetlenül, vagy egy rövid összekötő hídon, pl. acetilcsoporton keresztül, a bázisok, míg az általunk tervezett származékokban egy policisztein vázhoz kapcsolódnak a nukleozidok. Ezek az új típusú cisztein-nukleinsavak tehát a természetes nukleinsavakban megtalálható cukor komponenst is tartalmazzák, így azok szerkezetét jobban imitálják. Ezekről a származékoktól azt várjuk, hogy alkalmazhatóak lesznek géncsendesítésre, továbbá potenciális antibiotikumként is tekinthetünk rájuk, mivel szerkezeti rokonságot mutatnak az uridil-peptid antibiotikumokkal, melyekben egy szubsztituált oligopeptidhez kapcsolódik egy uridinszármazék.



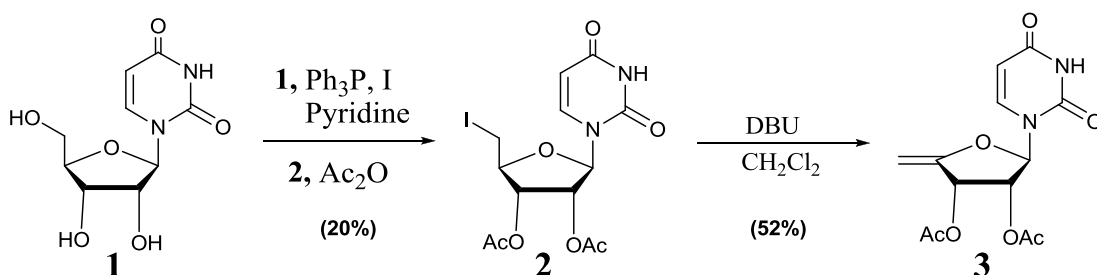
12. ábra: Célkitűzéseink

5. Elért eredmények

5.1. Az uridin exometilén származékainak előállítása

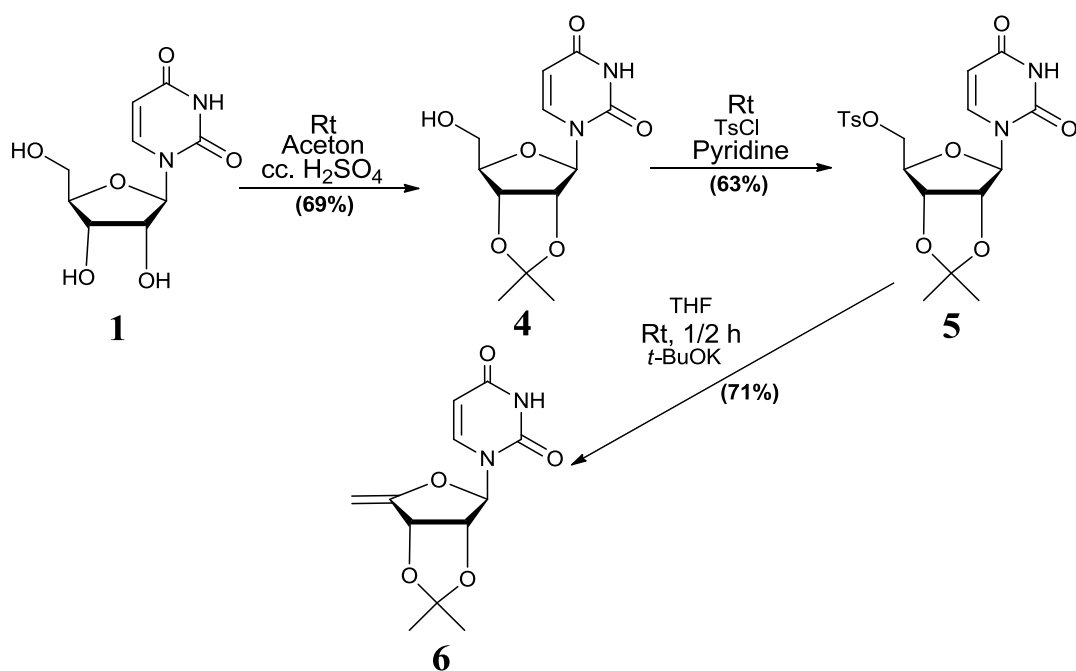
A tioladdíció végrehajtásához először elő kellett állítani a megfelelő alként, ami ebben az esetben 4' telítetlen uridinszármazékok előállítását jelentette. Két módszert alkalmaztunk.

Először az 5' hidroxilcsoportot egy jobb távozócsoportra, jódra cseréltük, majd 2',3' helyzetben acetileztük az uridint. Ezután bázisként DBU-t használva hidrogén-jodidot elimináltunk, így 2',3'-diacetilezett exometilén származékot kaptunk (**13. ábra**) [13-14]. Ez a módszer azonban rendkívül rossz konverzióval és alacsony hozammal ment, ezért egy másik útvonalat is kipróbáltunk.



13. ábra: Acetilcsoportokkal védett exometilén-uridin előállítása

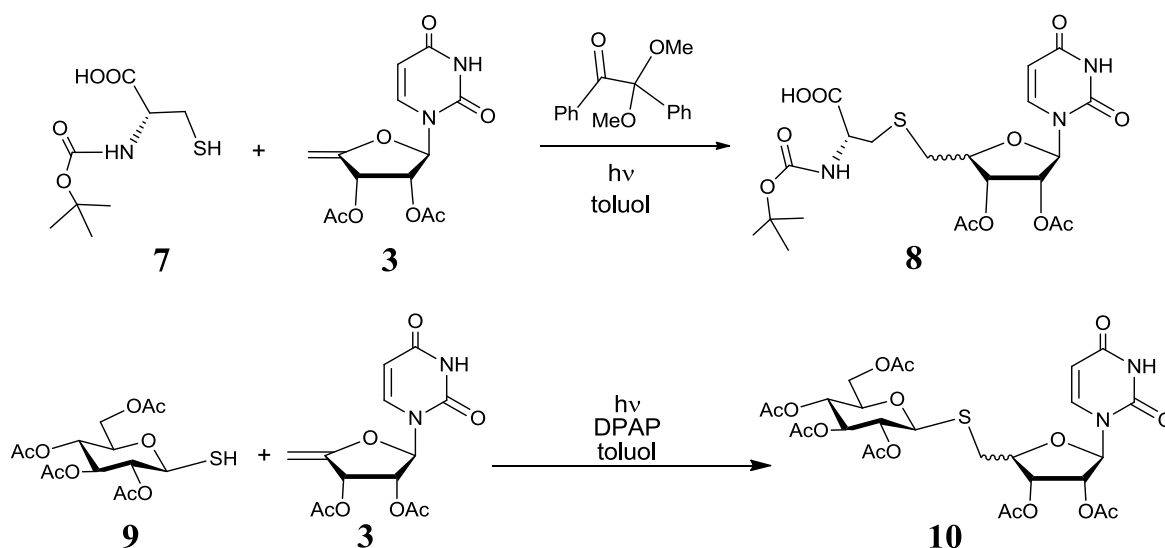
A második esetben először 2',3' helyzetben izopropilidéneztek az uridint, majd az 5' hidroxilcsoportot tozileztük, végül kálium-*terc*-butiláttal *p*-toluolszulfonsavat elimináltunk (**14. ábra**) [15-17].



14. ábra: Izopropilidén-csoporttal védett exometilén-uridin előállítása

5.2. Tioladdíciók

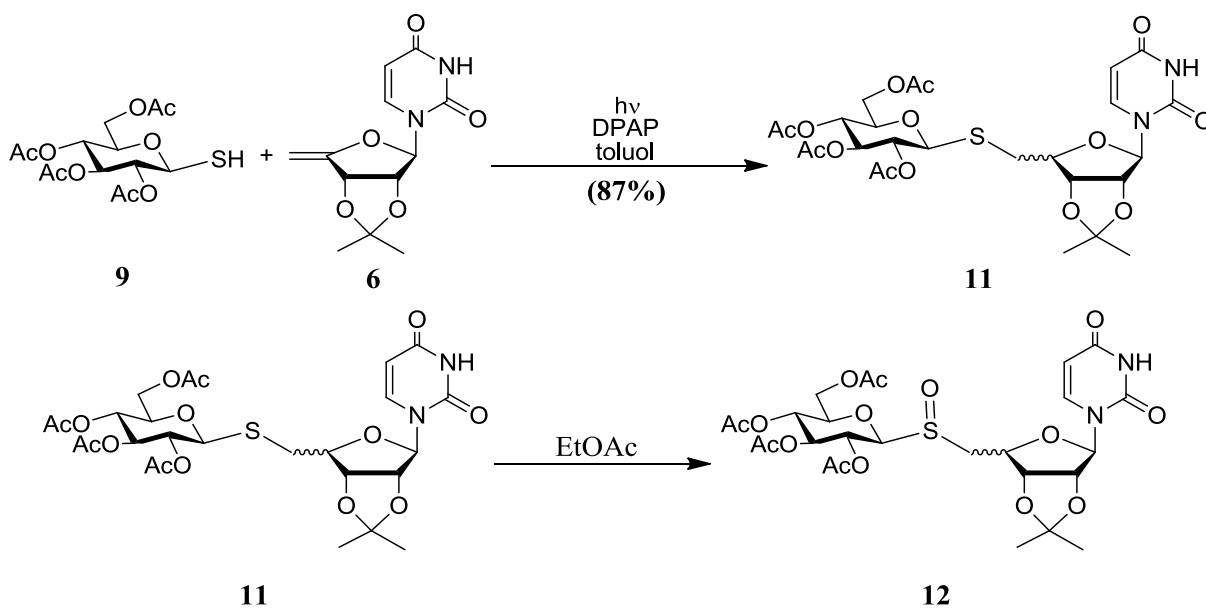
Először az acetilezett exometilén-származékon próbáltuk ki a tioladdíciót (15. ábra) tiolként N-boc-ciszteint használva, és azt tapasztaltuk, hogy a sztereoizomer keverék keletkezett. Végrehajtottuk a tioladdíciót 1-tioglükóz-peracetáttal is, azonban ebben az esetben sem tapasztaltunk érdemi sztereoselektivitást. A várt és kívánatos D-ribo izomer mellett azzal összevethető mennyiségű L-lixo izomer is képződött.



15. ábra: Az acetilezett exometilén származékon elvégzett tioladdíciók

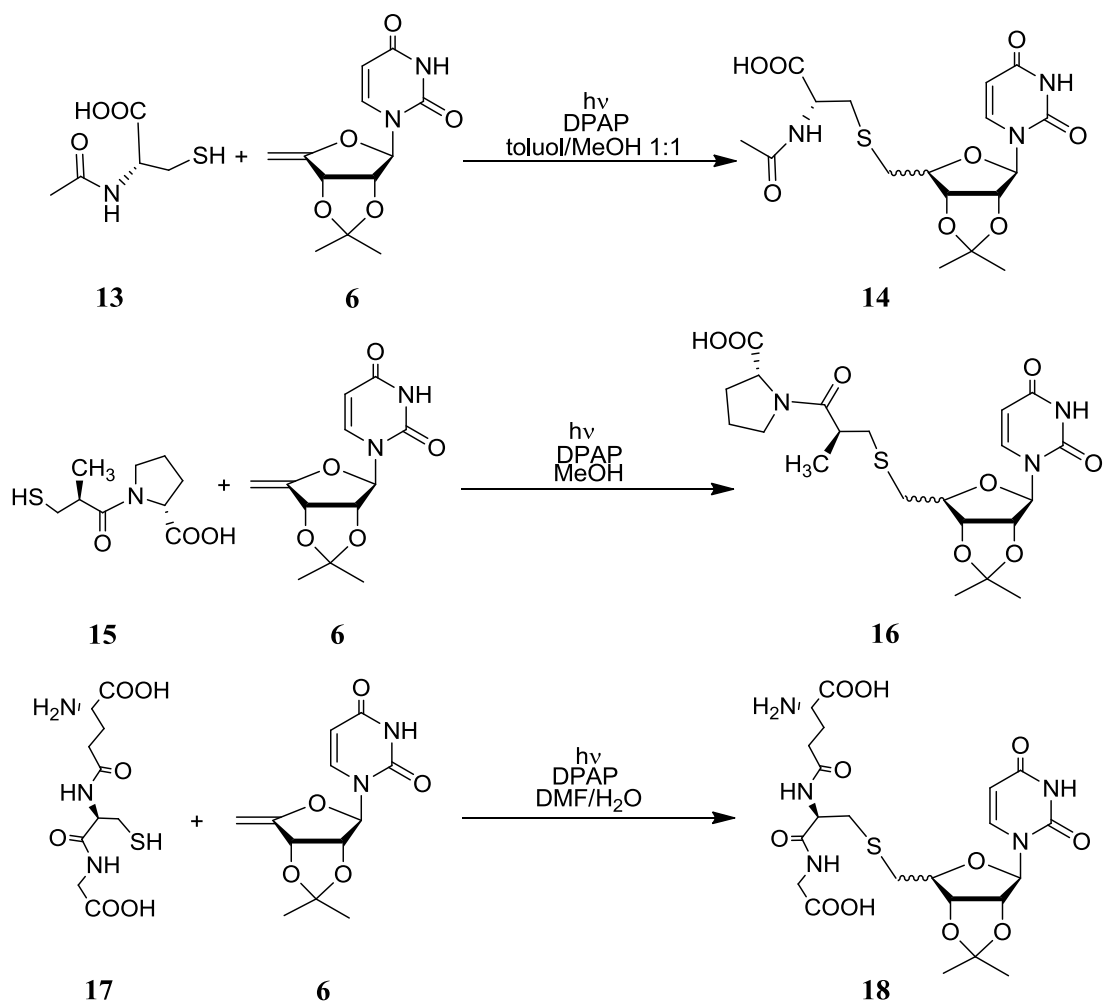
Az acetilcsoportok helyett izopropilidencsoportokkal védett **6** származékkal is végrehajtottuk a tioladdíciót (**16. ábra**). Azt gondoltuk ugyanis, hogy mivel ez a származék két egymással kondenzált gyűrűt tartalmaz, a furanózgyűrű konformációja jobban rögzített, ezért a reakció így módon sztereoszelektívvé tehető. Ezt a feltételezésünket erősítette az is, hogy a kutatás egyik előzményeként szolgáló reakcióban (**11. ábra**) is izopropilidénezett ribofuranozid származékot használtak [12]. A reakció rendkívül gyorsan és jó konverzióval ment végbe. A terméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk etil-acetát tartalmú eluenssel, és azt tapasztaltuk, hogy a termék egy része elbomlott. A tanszéken korábban szerzett tapasztalatok alapján feltételeztük, hogy a termék egy része szulfoxid-származékká oxidálódott, az etil-acetát tartalmú eluens hatására [18]. A bomlásterméket és a tioladdíciós terméket oszlopkromatográfiával egy etil-acetát mentes eluenssel elválasztottuk, majd mindkét anyagot megvizsgáltuk. A MALDI-ToF tömegspektrometria eredményei megerősítették a feltételezésünket, hogy szulfoxid bomlástermék keletkezett. Az NMR vizsgálat pedig feltárta azt is, hogy a tioladdíció terméke ebben az esetben is sztereoizomerek keveréke volt, ám az eredeti termékarányt az utólagos oxidációs reakció miatt nem tudtuk meghatározni. Megismételtük tehát a reakciót, majd etil-acetát mentes eluenssel megtisztítottuk a produktumot. Az NMR vizsgálatok szerint ebben az esetben is ~1:1 arányú

diasztereomer elegy keletkezett. A tioladdíció tehát ebben az esetben sem bizonyult sztereoszelektívnek.



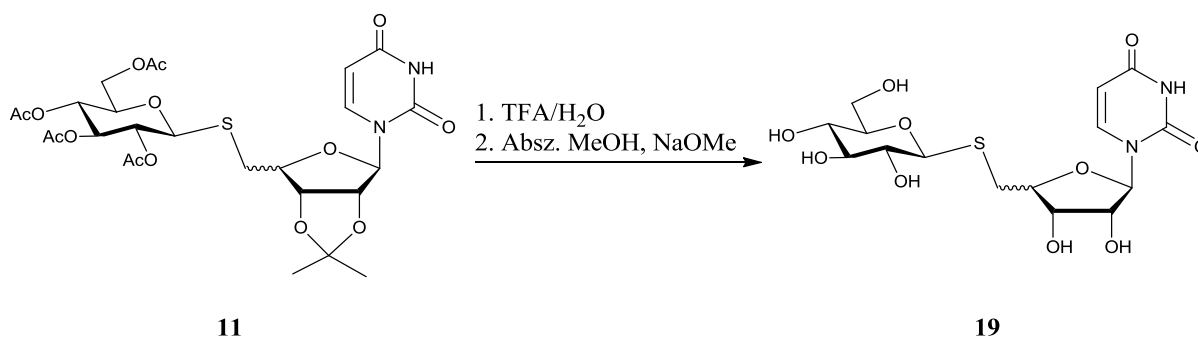
16. ábra: Az izopropilidén-uridin telítetlen származékán végrehajtott tioladdíció és a termék oxidációja etil-acetát tartalmú oldatban

További tioladdíciókat hajtottunk végre tiolként N-acetilciszteint, glutationt és kaptoprilt használva (**17. ábra**). A reakció minden esetben jó konverzióval ment végbe, de a termékek megtisztítása azok rossz kromatografálhatósága miatt rendkívül nehézkes volt. Az NMR vizsgálatok adatai alapján minden tiol esetében diasztereomer-keveréket eredményezett az addíció.



17. ábra: További végrehajtott tioladdíciók

A tioladdíció végrehajtása után a következő lépés a védőcsoportok eltávolítása. Erre eddig a **11** származék esetében került sor (**18. ábra**). Először az uridin komponensről távolítottuk el az izopropilidén csoportot trifluorecetsavas hidrolízissel, majd a glükóz komponenst dezacetileztük Zemplén féle módszerrel (vízmentes metanolban nátrium-metiláttal).

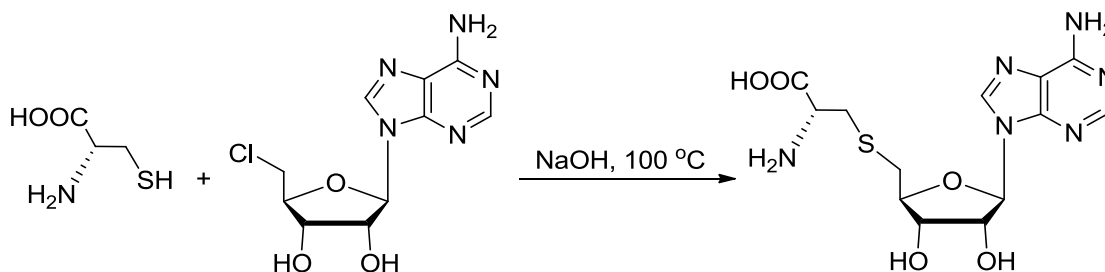


18. ábra: A védőcsoportok eltávolítása.

5.3. Peptid-nukleinsavak szintézise

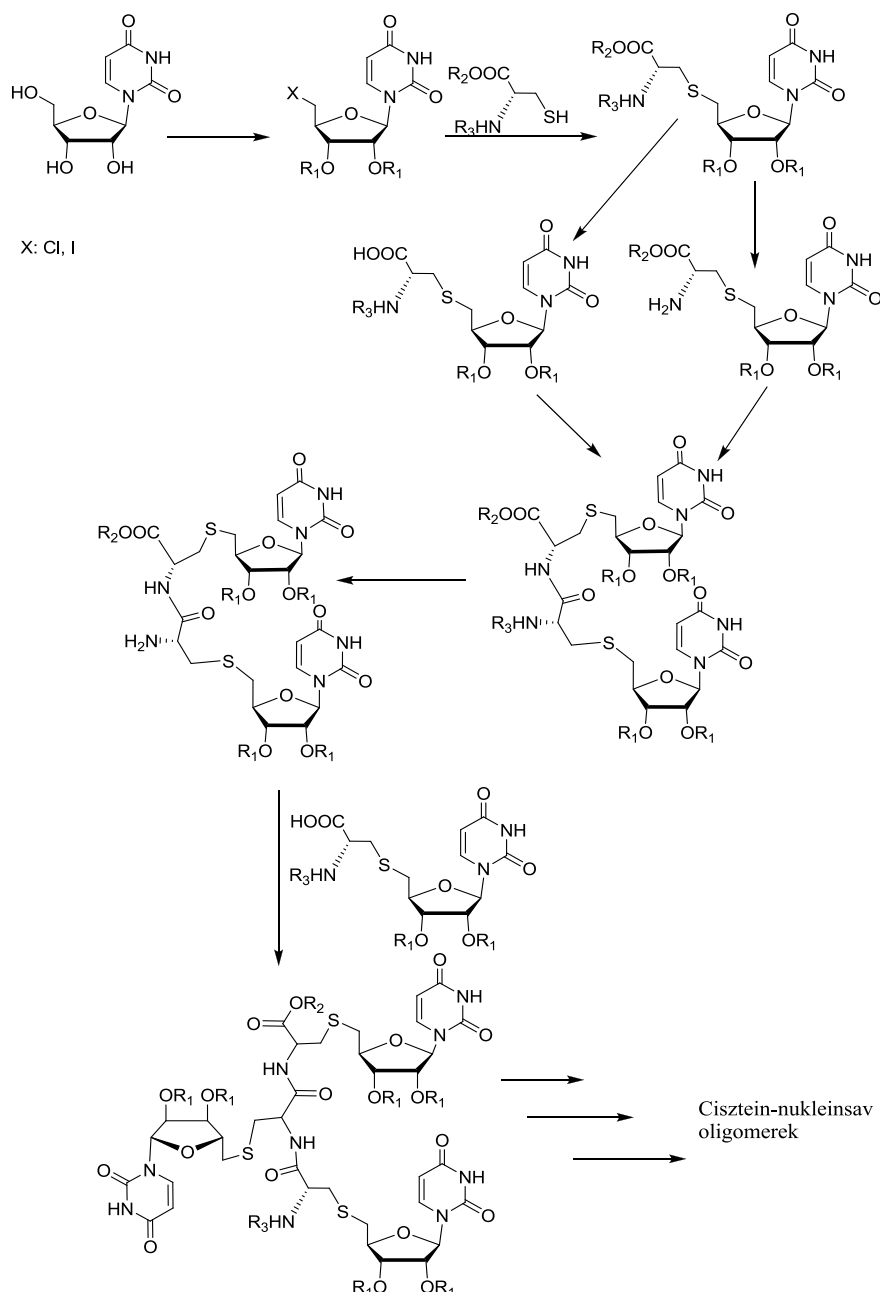
5.3.1. Szintézisútvonal kiválasztása

A módosított nukleozidok előállításán kívül a kutatás távlati célja volt olyan cisztein-uridin konjugátumok szintézise, melyekből konvencionális peptidkémiai módszerekkel új típusú peptid nukleinsavak állíthatóak elő (**12. ábra**). A tioladdíció azonban erre alkalmatlannak bizonyult, az érdemi sztereoselektivitás hiánya miatt. Olyan módszert kellett tehát találnunk, amellyel sztereoselektív módon lehet a ciszteint az uridinnal összekapcsolni. Ilyen módszer a bázisindukálta nukleofil szubsztitúció, melyet korábban nukleozidszármazékokon már sikeresen alkalmaztak (**19. ábra**) [19].



19. ábra: Irodalmi referencia nukleozidon végrehajtott nukleofil szubsztitúcióra.

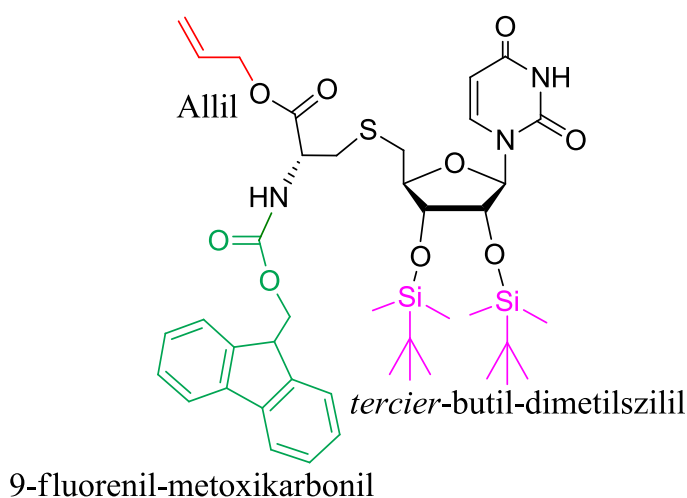
A kívánt termékek előállításához 5' helyzetben aktivált nukleozidszármazékot kell előállítani, majd ehhez hozzákapcsolni a ciszteint, melynek amino- és karboxilcsoportját szintén megfelelő védőcsoportokkal kell ellátni, majd az így létrehozott monomerek egyik felének az amino- a másik felének a karboxilcsoportját kell felszabadítani. Ezután a megfelelő származékok peptidkémiai módszerekkel összekapcsolhatóak, majd az egyik védőcsoport eltávolítása után a dimer újabb monomerek hozzákapcsolásával bővíthető oligomerekké.



20. ábra: A szintézis megtervezett útvonala újfajta peptid-nukleinsavak előállítására

5.3.2. Alkalmazott védőcsoportok

A szintézisútvonal megtervezése után az alkalmazandó konkrét védőcsoportokat is ki kellett választani (**21. ábra**). Mivel a peptidszintézis lépései során mindig csak az egyik védőcsoportot kell eltávolítani, ún. ortogonális védőcsoportokra volt szükség, tehát olyan védőcsoportokra, amelyek egymás jelenlétében szelektíven hasíthatóak a többi védőcsoport érintetlenül hagyásával. Védelmet igényel az uridin 2' és 3' hidroxilcsoportja, valamint a cisztein amino- és karboxilcsoportja. Végül az alábbi védőcsoportok mellett döntöttünk: az aminocsoportot 9-fluorenil-metoxikarbonil (Fmoc) védőcsoporttal láttuk el, mely bázikus közegben hasítható le, a karboxilcsoportot allilészter formájában védtük, amelyből palládiumkomplex és valamilyen nukleofil segítségével szabadítható fel a karboxilcsoport, a cukor hidroxilcsoportjait pedig *tercier*-butil-dimetilszilil (TBS) csoportokkal éteresítettük, melyek fluoridionokkal hasíthatóak.

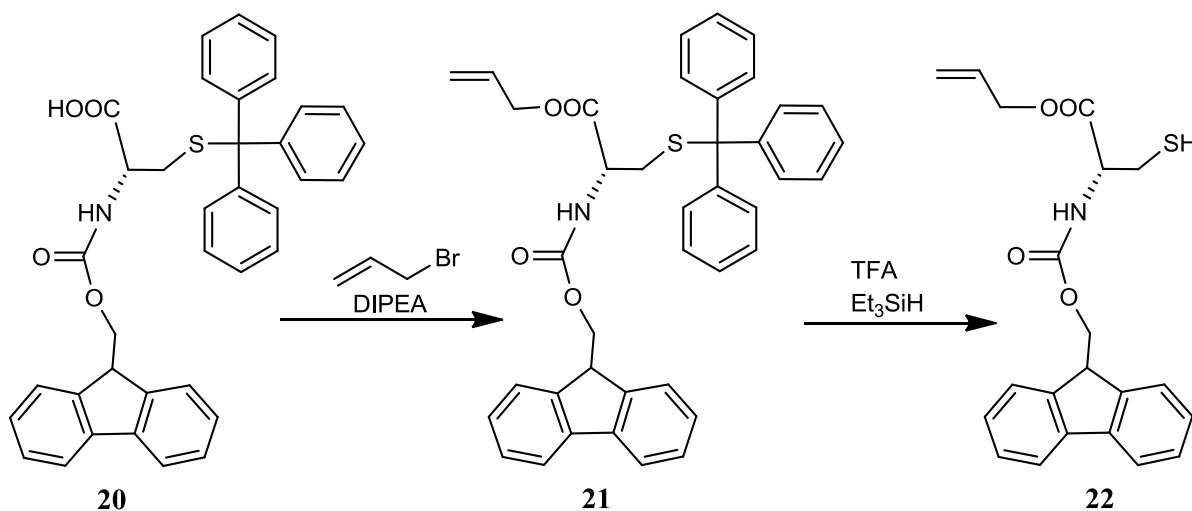


21. ábra: Alkalmazott védőcsoportok

5.3.3. A konjugációra alkalmas reaktánsok előállítása

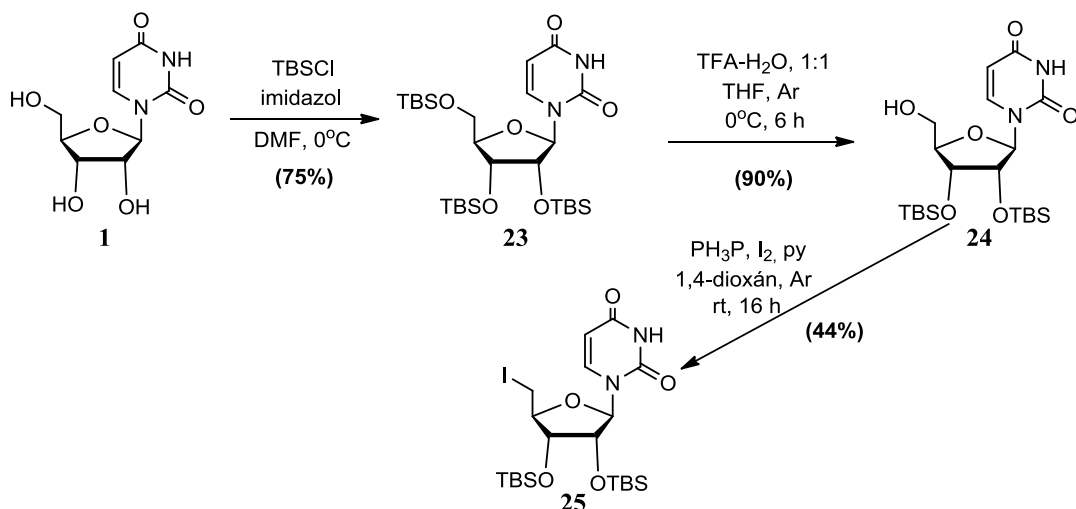
A nukleofil szubsztitúció végrehajtásához el kell látni a megfelelő védőcsoportokkal az uridint és a ciszteint, valamint 5' helyzetben aktiválni kell a nukleozidot.

A védett cisztein előállítására a kereskedelmi forgalomban kapható **20** S-tritil-N-Fmoc származékából került sor (**22. ábra**). Először allileztük a karboxilcsoportot allil-bromiddal, majd eltávolítottuk az S-tritil védőcsoportot.



22. ábra: Védett ciszteinszármazék előállítása

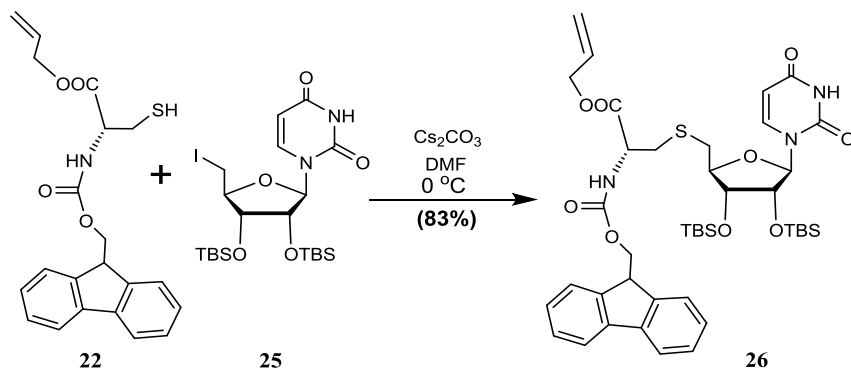
Az uridint a **23. ábrán** látható séma szerint derivatizáltuk: először az uridin valamennyi hidroxilcsoportját szilileztük. Ezt követte az 5' helyzetben lévő hidroxilcsoport deszililezése trifluorecetsavas hidrolízissel. Végül az így kapott szabad hidroxilcsoportot egy jobb távozócsoportra, jódra cseréltük [13]. Az így kapott **25** származékkal már elvégezhető a nukleofil szubsztitúció.



23. ábra: Védett uridinszármazék előállítás.

5.3.4. Monomerek szintézise

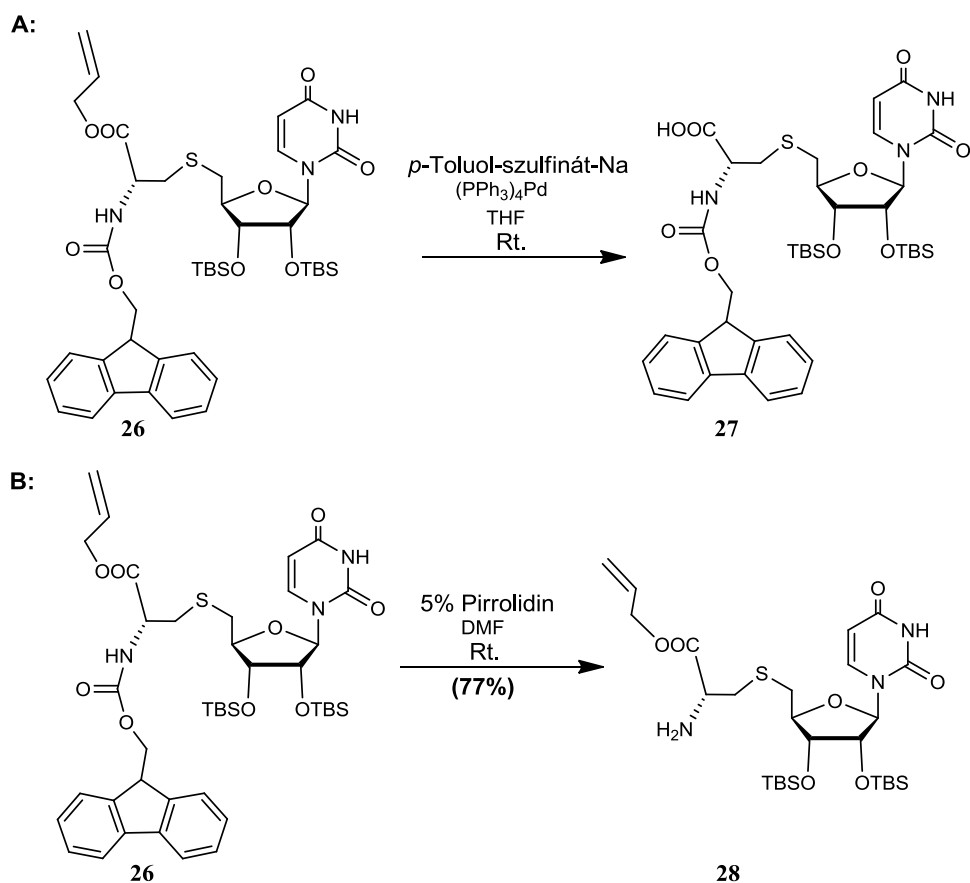
Az előállított **22** és **25** származékokból végeztük el a nukleofil szubsztitúciót (**24. ábra**). Többféle bázist is kipróbáltunk (pl. NaHCO_3 , Na_2CO_3), végül a Cs_2CO_3 bizonyult legalkalmasabbnak [20]. A reakció mechanizmusából fakadóan poláros aprotikus oldószer a legmegfelelőbb, ezért DMF-et használtunk.



24. ábra: Védett monomer szintézise.

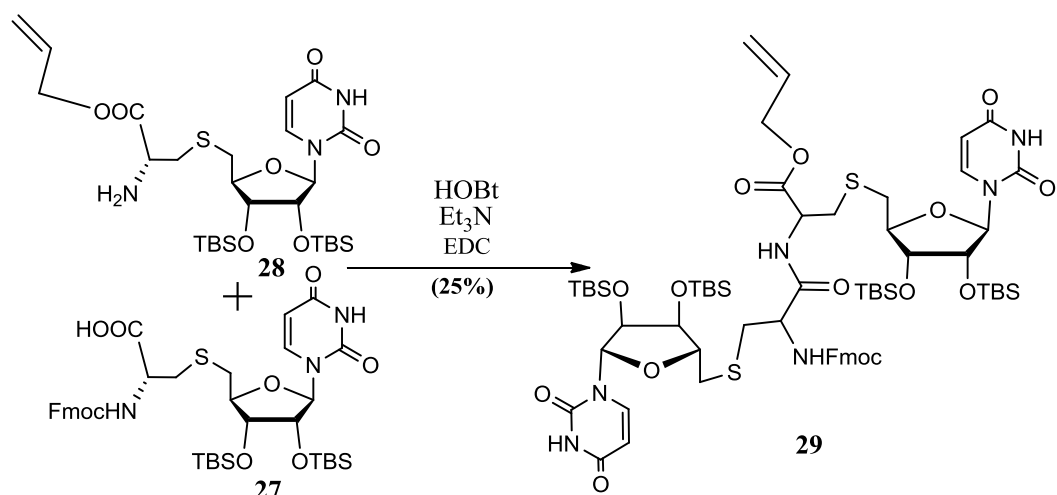
5.3.5. Dimerizálás

A dimerizáláshoz a **26** monomerből először olyan származékokat kellett előállítani, amelyek tartalmaznak szabad amin-, vagy karboxilcsoportot. A szabad aminos csoportot tartalmazó származékot a **26** vegyület 5% pirrolidin tartalmú DMF-es oldattal való kezelésével kaptuk meg (**25. ábra A**). Az allilcsoportot tetrakisz-trifnillfoszfin-palládiummal távolítottuk el nukleofilként *p*-toluolszulfínát-nátrium sóját használva (**25. ábra B**).



25. ábra: Oligomerizálásra alkalmas vegyületek előállítása.

A **27** és **28** vegyületeket a peptidkémiai elterjedt módszerrel kapcsoltuk össze (**26. ábra**), a karboxilcsoport aktiválásra 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimidet (EDC) és 1-hidroxibenzotriazolt (HOBt) használtunk. Ily módon sikeresen előállítottuk az első dipeptidet [21].



26. ábra: Dimerizálás.

6. Kísérleti rész

A reakciók lefutását vékonyréteg kromatográfiásan követtük, a termékek tisztaságát is így ellenőriztük. Oszlopkromatográfiás tisztításhoz és elválasztáshoz Szilika gél 60 (Merck 0.063-0.200 mm) oszloptöltetet alkalmaztunk. A szerves oldatokat csökkentett nyomáson, 40 °C-os vízfürdő alkalmazásával pároltuk be. Az optikai forgatóképesség mérések Perkin-Elmer 241 fényelektromos polariméteren, szobahőmérsékleten történtek. Bruker DRX-360 (^1H 360.13 MHz, ^{13}C 90.56 MHz) és Bruker DRX-400 (^1H 400.13 MHz, ^{13}C 100.03 MHz) spektrométeren készültek, CDCl_3 , CD_3OD vagy D_2O oldószerben, Me_4Si belső standard alkalmazásával (Me_4Si : 0.00 ppm ^1H ; CDCl_3 : 77.00 ppm ^{13}C). A használt oldószereket az egyes vegyületek leírásánál adjuk meg. A MALDI-TOF MS mérések BIFLEX III (Bruker) tömegspektrométeren pozitív reflektrom módban történtek. A mátrix 2,4,6-trihidroxi-acetofenon (THAP) telített MeCN-es oldata volt

5'-dezoxi-2',3'-di-O-acetil-5'-jód-uridin (2) [13]

15 g (61,5 mmol) uridint feloldottunk 150 ml dioxánban. Hozzáadtunk 10 ml (123 mmol= 2 ekv.) piridint, 24,2 g (92,25 mmol= 1,5 ekv.) PPh_3 -t és 23,4 g (92,25 mmol= 1,5 ekv.) I_2 -ot és szobahőn kevertettük egy éjszakán át. Másnap hozzáadtunk 8 ml MeOH-t és 14,3 ml telített $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -oldatot (10 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), majd bepároltuk.

A bepárolt nyersteget 150 ml piridinben oldottuk, majd hozzáadtunk 29 ml (307 mmol= 5 ekv.) ecetsavanhidridet, és szobahőn keverettük egy éjszakán át. Másnap bepároltuk, majd a nyersteget felvettük 250 ml CHCl_3 -ban és extraháltuk 150 ml 0,5 M HCl-oldattal. A fázisokat szétválasztottuk, a vizes fázist további 250 ml CHCl_3 -mal extraháltuk, végül az egyesített szerves fázist bepároltuk. A reakció lefutását VRK-val követtük nyomon ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$: 12/0,5, UV detektálás és kénsavas előhívás). A nyersteget oszlopkromatográfiával tisztítottuk $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$: 25/1 eluensben.

^1H NMR (360 MHz, CDCl_3) δ 7.57 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.08 (d, J = 6.2 Hz, 1H), 5.85 (dd, J = 8.1, 1.7 Hz, 1H), 5.38 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 5.22 (dd, J = 6.5, 4.4 Hz, 1H), 4.08 (q, J = 4.3 Hz, 1H), 3.52 (d, J = 4.3 Hz, 2H), 2.14 (s, 3H), 2.10 (s, 3H). ^{13}C NMR (91 MHz, CDCl_3) δ 169.71, 163.09, 150.49, 140.31, 103.76, 87.12, 80.68, 73.29, 72.39, 20.63, 20.47, 5.80.

Kitermelés: **20%**

1-(2',3'-di-O-acetil- β -D-eritro-pent-4'-enofuranozil)-uracil (3) [14]

1,9 g (4,3 mmol) **(2)**-t 15 ml acetonitrilben feloldottunk, majd 0 °C-ra hűtöttük. Hozzáadtunk 1,34 ml (10,8 mmol= 2,5 ekv.) DBU-t, és Ar alatt kevertettük egy éjszakán át. Másnap a reakcióelegyet tömény ecetsavval semlegesítettük és bepároltuk. Ezután a nyersterméket 150 ml CHCl₃-ban felvettük és 3x50 ml telített NaHCO₃ oldattal extraháltuk. A szerves fázist megszárítottuk, majd bepároltuk. A reakció lefutását VRK-val követtük nyomon (kloroform/MeOH:12/0,5, UV detektálás és kénsavas előhívás R_f=0,22). A nyersterméket flash kromatográfiával tisztítottuk (kloroform/MeOH: 12/0,1)

¹H NMR (360 MHz, CDCl₃) δ 9.68 (s, 1H), 7.22 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.27 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 5.85 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 5.40 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 4.71 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 4.48 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 2.16 (s, 3H), 2.11 (s, 3H). ¹³C NMR (91 MHz, CDCl₃) δ 169.81, 169.67, 162.99, 156.19, 150.41, 139.23, 104.01, 90.12, 88.07, 72.61, 69.44, 20.75, 20.46.

Kitermelés: **52%**

2',3'-O-izopropilidén-uridin (4) [15]

5 g (20,5 mmol) uridin szuszpendálva 250 ml absz. acetonban. Szobahőn csepegtetés közben hozzácsepegtetve 2,5 ml cc. H₂SO₄. Kevertetés 1 órán át szobahőn, molekulaszitán, CaCl₂-es cső alatt. A reakciót VRK-n követtük (DKM/Aceton: 6/4, UV detektálás és kénsavas előhívás, R_f= 0,45) és mivel 1 óra alatt nem tapasztaltunk változást, 20 cm³ 2,2-dimetoxipropánt adtunk hozzá, majd egy éjszakán át kevertettük szobahőn. Másnap trietilaminnal semlegesítettük, leszűrtük, majd bepároltuk az oldatot. A nyerstermék barna szirup, melyből a szennyezők egy része hexános mosással lett eltávolítva. A szirupból állás közben kikristályosodott a termék, melyet kevés MeOH hozzáadásával szuszpendáltunk, majd üvegszűrőn kiszűrtünk és hexánnal mostunk.

Kitermelés: **69 %.**

2',3'-O-izopropilidén,-5'-O-(*p*-toluol)szulfonil-uridin (5) [16]

1,99 g (**4**) (7 mmol) oldva absz. piridinben. Hozzáadtunk 1,58 g (8,3 mmol= 1,2 ekv.) *p*-toluolszulfonsavkloridot, majd kevertettük szobahőn. A reakciót VRK segítségével monitoroztuk (DKM/acetone: 6/4, UV detektálás + kénsavas előhívás, $R_f = 0,75$) és mivel 3 óra múlva csak kb. 50 % volt a konverzió még 0,6 ekv. TsCl-ot adtunk hozzá. Újabb 2 óra múlva 4 cm³ deszt. vizet adtunk a reakcióelegyhez és egy éjszakán át kevertettük. Másnap az oldatot bepároltuk sűrű barna sziruppá, amit feloldottunk 150 ml EtOAc-ban, majd 3x100 ml deszt. vízzel extraháltuk. A szerves fázist MgSO₄-en szárítottuk, majd bepároltuk.

Kitermelés: **63 %**

1-(2',3'-O-izopropilidén- β -D-eritro-pent-4'-enofuranozil)-uracil (6) [17]

1,89 g (**5**) (4,3 mmol) oldva 10 ml absz. THF-ben. Hozzáadva 1,23 g (11,18 mmol= 2,6 ekv.) kálium-terc-butilát. Kevertetés szobahőn fél óráig. A reakciót VRK-val követtük nyomon (DKM/acetone: 6/4, UV detektálás és kénsavas előhívás, $R_f = 0,66$). Fél óra múlva 30 ml vizet adtunk a reakcióelegyhez, majd jégecettel semlegesítettük. Ezután DKM-nal extraháltuk, majd a szerves fázist MgSO₄-en szárítottuk és bepároltuk. A tisztítás oszlopkromatográfiával DKM/acetone: 9/1 eluensben történt. MALDI-ToF: m/z számított: C₁₂H₁₄N₂NaO₅ [M+Na]⁺: 289.08, mért: 289.19.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.99 (s, 1H), 7.22 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 5.75 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 5.68 (s, 1H), 5.32 (d, $J = 6.2$ Hz, 1H), 5.04 (d, $J = 6.2$ Hz, 1H), 4.58 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H), 4.39 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 1.51 (s, 3H), 1.39 (s, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 163.85, 162.88, 150.32, 142.83, 114.00, 102.79, 96.67, 87.13, 83.06, 79.72, 26.68, 25.46.

Kitermelés: **71 %**

2',3'-di-O-acetil-5'-S-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glükopiranozil)-5'-tio-uridin és 1-[2',3'-di-O-acetil-5'-S-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glükopiranozil)-5'-tio- α -L-lixofuranozil]-uracil (10)

90 mg (0,29 mmol) **(3)**-at, 158 mg (1,5 ekv.) 1-tioglükóz-peracetátot és 7,4 mg (0,1 ekv.) DPAP-t oldottunk toluol/MeOH 5/1 arányú elegyében. A reakcióelegyet 20 percig besugároztuk UV fénnel ($\lambda_{\max}=365$ nm), majd bepároltuk. A reakció lefutását VRK-val követtük nyomon, a termék kétfoltos (kloroform/MeOH: 99/1, UV detektálás, ill. kénsavas előhívás $R_{f1}=0,27$, $R_{f2}=0,32$). A termék sztereoizomerek keveréke volt, melyeket oszlopkromatográfiával választottunk el kloroform/MeOH: 99/1 eluensben. A nagyobb mennyiségben keletkezett izomerből ($R_{f1}=0,27$) 40 mg-ot (**21%**) sikerült megtisztítani. Annak eldöntésére, hogy a főtermék D-ribo vagy L-lixo izomer, a vizsgálatok még folyamatban vannak.

A főtermék NMR adatai:

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.47 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.05 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 5.84 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 5.43 – 5.31 (m, 2H), 5.26 (t, $J = 9.4$ Hz, 1H), 5.15-5.04 (m, 2H), 4.56 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 4.37 – 4.33 (m, 1H), 4.26 (dd, $J = 12.4, 4.8$ Hz, 1H), 4.16 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 3.78 (dd, $J = 10.1, 2.5$ Hz, 1H), 3.15 (dd, $J = 14.1, 4.6$ Hz, 1H), 3.11 (ddd, $J = 30.3, 14.1, 4.6$ Hz, 2H), 3.07 (dd, $J = 14.1, 4.6$ Hz, 1H), 2.14 (s, 3H), 2.09 (s, 9H), 2.05 (s, 3H), 2.03 (s, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 195.23, 170.80, 170.22, 169.73, 169.62, 162.95, 150.43, 139.94, 128.94, 128.39, 82.07, 81.73, 77.48, 77.16, 76.84, 73.65, 72.41, 72.07, 69.55, 68.24, 62.13, 51.48, 29.78, 20.74, 20.62, 20.46.

2',3'-O-izopropilidén-5'-S-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glükopiranozil)-5'-tio-uridin és 1-[2',3'-O-izopropilidén-5'-S-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glükopiranozil)-5'-tio- α -L-lixofuranozil]-uracil (11); és a 11 vegyület S-oxid származéka (12)

133 mg **(6)**-ot (0,5 mmol), 364 mg 1-tioglükóz-peracetátot (1mmol= 2 ekv.) és 13 mg DPAP-t (0,05 mmol= 0,1 ekv) oldottunk 10 ml toluolban. 2x20 percig besugároztuk UV fénnel ($\lambda_{\max}=365$ nm), majd bepároltuk. A reakció lefolyását VRK-val követtük (DKM/aceton: 8/2, UV detektálás és kénsavas előhívás, $R_f = 0,45$). A nyersteget hexán/EtOAc: 4/6 eluenssel, oszlopkromatográfiával tisztítottuk, azonban azt tapasztaltuk, hogy a termék egy része elbomlott és a MALDI és NMR adatok alapján a **(12)** oxidált

származék keletkezett. A **(11)** és **(12)** anyagokat oszlopkromatográfiával választottuk el egymástól DKM/aceton: 8/2 eluenssel. MALDI-ToF **(11)**: m/z számított: $C_{26}H_{34}N_2NaO_{14}S$ $[M+Na]^+$: 653.16, mért: 653.21. MALDI-ToF **(12)**: m/z számított: $C_{26}H_{34}N_2NaO_{15}S$ $[M+Na]^+$: 669.16, mért: 669.20.

A reakciót megismételtük azzal a módosítással, hogy az oszlopkromatográfia során kizárólag DKM/aceton:8/2 eluent használtunk, így elkerülve az oxidációt. A kitermelés így **87%-**nak adódott.

(11) NMR adatai:

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.90 (s, 1H), 9.85 (s, 1H), 7.30 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 5.59 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 5.36 (s, 1H), 5.28-5.20 (m, 3H), 5.17-5.00 (m, 5H), 4.82 (dd, $J = 6.4, 3.9$ Hz, 1H), 4.66 (dd, $J = 10.5, 6.7$ Hz, 1H), 4.56 (dd, $J = 12.0, 10.1$ Hz, 2H), 4.29 (dt, $J = 14.5, 7.3$ Hz, 1H), 4.20 (tt, $J = 10.8, 5.3$ Hz, 2H), 4.13 (d, $J = 12.3$ Hz, 2H), 3.75 – 3.63 (m, 2H), 3.12 – 3.00 (m, 2H), 2.93 (dd, $J = 13.8, 6.6$ Hz, 1H), 2.82 (dd, $J = 13.9, 6.5$ Hz, 1H), 2.06 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.99 (s, 6H), 1.98 (s, 6H), 1.52 (s, 3H), 1.49 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.31 (s, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 170.85, 170.75, 170.24, 169.47, 163.92, 163.71, 150.91, 150.10, 143.75, 142.78, 114.46, 113.15, 102.69, 102.37, 96.96, 95.04, 87.14, 85.69, 85.42, 84.35, 83.57, 83.32, 82.84, 81.23, 77.48, 77.16, 76.84, 75.88, 75.80, 73.89, 73.66, 69.84, 69.64, 68.19, 62.04, 31.76, 29.68, 28.93, 27.05, 26.29, 25.22, 24.85, 20.77, 20.71, 20.61, 14.13.

(12) NMR adatai:

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.53 (s, 1H), 9.38 (s, 5H), 7.38 , 7.36 (2s, 5H), 7.28 (s, 1H), 5.77 (2s, 5H), 5.70 (s, 5H), 5.32 – 5.21 (m, 10H), 5.16, 5.14 (2s, 5H), 5.04 (s, 10H), 4.92 – 4.84 (m, 1H), 4.72 – 4.60 (m, 10H), 4.54 (s, 2H), 4.51 (s, 2H), 4.36-4.38 (2s, 1H), 4.26,4.24 (2s, 5H), 4.21,4.23 (2s, 5H), 3.88 (m, 1H), 3.82 – 3.73 (m, 5H), 3.51 (s, 1H), 3.50 (s, 1H), 3.48 (s, 1H), 3.46 (s, 1H), 3.37 (s, 1H), 3.35 (s, 1H), 3.33 (s, 1H), 3.32 (s, 1H), 2.64 (s, 1H), 2.18,2.17 (s, 2H), 2.10 (s, 20H), 2.07 (s, 20H), 2.05 (s, 20H), 2.03 (s, 20H), 1.88 (s, 15H), 1.56 (s, 25H), 1.36 (s, 30H), 1.26 (s, 80H), 0.87 (m, 20H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 170.85, 170.75, 170.24, 169.47, 163.92, 163.71, 150.91, 150.10, 143.75, 142.78, 114.46, 113.15, 102.69, 102.37, 96.96, 95.04, 87.14, 85.69, 85.42, 84.35, 83.57, 83.32, 82.84, 81.23,

77.48, 77.16, 76.84, 75.88, 75.80, 73.89, 73.66, 69.84, 69.64, 68.19, 62.04, 31.76, 29.68, 28.93, 27.05, 26.29, 25.22, 24.85, 20.77, 20.71, 20.61, 14.13.

1-[2',3'-O-izopropilidén-5'-S-(N-acetil-ciszteinil)-)-5'-tio-β-D-ribo és α-L-lixofuranóz-5'-il]-uracil (14)

133 mg **(6)**-ot (0,5 mmol), 163 mg N-acetil-ciszteint (1 mmol= 2 ekv.) és 13 mg DPAP-t (0,05 mmol= 0,1 ekv.) oldottunk 4 ml toluol és 4 ml MeOH elegyében. 20 percig sugároztuk be UV fénnel ($\lambda_{\max}$ =365 nm), majd bepároltuk. A reakció lefolyását VRK-val követtük nyomon (DKM/MeOH: 7/3, UV detektálás és kénsavas-molibdenátos előhívás, R_f = 0,55).

A vegyület tisztítása folyamatban van.

S-[1-(5'-dezoxi-2',3'-O-izopropilidén-β-D-ribo és α-L-lixofuranóz-5'-il)-uracil]-kaptopril (16)

133 mg **(6)**-ot (0,5 mmol), 130 mg kaptoprilt (7,5 mmol= 1,2 ekv.) és 13 mg DPAP-t (0,05 mmol= 0,1 ekv.) oldottunk 10 ml MeOH-ban. 2x20 percig besugároztuk UV fénnel ($\lambda_{\max}$ =365 nm), majd bepároltuk. A reakció lefolyását VRK-val követtük (DKM/MeOH: 8/2, UV detektálás és kénsavas-molibdenátos előhívás, R_f = 0,48). A terméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk DKM/MeOH:8/2 eluenssel. MALDI-ToF: m/z számított: $C_{21}H_{29}N_3NaO_8S$ $[M+Na]^+$: 506.16, mért: 506.09.

1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 7.70 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 5.82 – 5.64 (m, 3H), 5.53 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 4.90 (s, 58H), 4.40 (s, 6H), 4.25 – 4.13 (m, 1H), 3.70 (d, J = 26.6 Hz, 8H), 3.61 (s, 3H), 3.47 (dd, J = 13.7, 5.4 Hz, 3H), 3.37 (s, 1H), 3.33 (dt, J = 3.3, 1.6 Hz, 5H), 3.21 – 3.04 (m, 3H), 3.03 – 2.91 (m, 5H), 2.91 – 2.79 (m, 6H), 2.79 – 2.70 (m, 2H), 2.66 (dd, J = 13.2, 5.4 Hz, 4H), 2.24 (dd, J = 23.6, 4.5 Hz, 8H), 2.14 – 1.95 (m, 12H), 1.90 (d, J = 3.9 Hz, 4H), 1.62 – 1.44 (m, 8H), 1.44 – 1.28 (m, 20H), 1.26 – 1.04 (m, 18H), 0.98 – 0.83 (m, 3H).

γ -L-glutamil-[S-[1-(5'-dezoxi-2',3'-O-izopropilidén- β -D-ribo és α -L-lixofuranóz-5'-il)-uracil]-L-ciszteinil]-L-glicin (18)

133 mg (6)-ot (0,5 mmol), 184 mg glutationt (0,75 mmol= 1,2 ekv.) és 13 mg DPAP-t (0,05 mmol= 0,1 ekv.) oldottunk 7,5 ml deszt. víz és 7,5 ml DMF elegyében. 3x20 percig besugároztuk UV fénnel ($\lambda_{\max}$ =365 nm), majd bepároltuk. A reakció lefutását VRK-val követtük nyomon (DKM/MeOH/H₂O: 8/5/1, UV detektálás és kénsavas-molibdenátos előhívás, R_f= 0,43). A terméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk eluensként DKM/MeOH/H₂O: 8/5/1-et használva. MALDI-ToF: m/z számított: C₂₂H₃₁N₅NaO₁₁S [M+Na]⁺: 596.16, mért: 596.12.

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.81 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.72 (t, J = 9.9 Hz, 3H), 5.77 (s, 2H), 5.65 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 5.60 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 5.56 (s, 1H), 5.14 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 5.01 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 4.90 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 4.72 (s, 2H), 4.41 (d, J = 25.1 Hz, 4H), 4.08 (d, J = 3.1 Hz, 2H), 3.46 (d, J = 21.7 Hz, 27H), 2.98 (s, 3H), 2.76 (d, J = 43.7 Hz, 9H), 2.51 (s, 6H), 2.35 (d, J = 41.8 Hz, 6H), 1.97 (d, J = 33.9 Hz, 6H), 1.47 (s, 6H), 1.42 (s, 4H), 1.28 (s, 10H).

5'-dezoxi-5'-S-(- β -D-glükopiranozil)-uridin (19)

40 mg (11)-et 5 ml DKM-ben oldottunk, ezután 3 ml 10% TFA-oldatot adtunk hozzá és szobahőn kevertettük egy éjszakán át, majd bepároltuk. A reakciót VRK segítségével monitoroztuk (DKM/MeOH:95/5, UV detektálás és kénsavas előhívás, R_f= 0,43).

Az így kapott terméket absz. MeOH-ban oldottuk, majd 3 csepp NaOMe oldatot adtunk hozzá és egy éjszakán át kevertettük. A reakció lefolyását VRK-val követtük (DKM/MeOH/H₂O: 8/5/1, UV detektálás és kénsavas előhívás, R_f= 0,66).

N-(9-fluorenil-metoxikarbonil)-S-tritil-cisztein-allil-észter (21)

0,69 g (1,17 mmol) (20)-t oldottunk 7,5 ml absz. DMF-ben, majd 0 °C-ra hűtve hozzáadtunk 0,2 ml (2,3 mmol) allil-bromidot és 0,41 ml (2,3 mmol) DIPEA-t. Az elegyet 16 órán át kevertettük szobahőn. A reakció végbemenetelét VRK-val ellenőriztük

(hexán/EtOAc:9/1). Az elegyet 20 ml EtOAc-tal meghígítottuk, majd 4x20 ml deszt. vízzel, 1x20 ml telített vizes NaCl oldattal és 1x10 ml telített NaHCO₃ oldattal extraháltuk. A szerves fázist Na₂SO₄-en szárítottuk, majd az oldatot leszűrtük és bepároltuk. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk, eluensként hexán/EtOAc 9/1-et használva.

Kitermelés: **85%**

***N*-(9-fluorenil-metoxikarbonil)-cisztein-allil-észter (22)**

625 mg (1 mmol) (21)-et oldottunk 10 ml absz. DKM-ben, lassan hozzácepegtettünk 806 µl (5 mmol) Et₃SiH-t, majd 5 perc alatt hozzácepegtettünk 372 µl (5 mmol) TFA-t. Az elegyet 2 órán át kevertettük szobahőn. VRK-val követtük nyomon a reakció lefolyását (hexán/EtOAc: 3/1). Az elegyet bepároltuk, majd oszlopkromatográfiával tisztítottuk (eluens: DKM/hexán:9/1)

2',3',5'-tri-*O*-(*t*-butil-dimetilszilil)-uridin (23)

2,44 g (10 mmol) uridint 30 ml DMF-ben oldottunk, és 0 °C-ra hűtöttük. Hozzáadtunk 5,1 g (74,9 mmol) imidazolt és 9 g (57,9 mmol) *terc*-butil-dimetilszilil-kloridot. Ar alatt kevertettük egy éjszakán át 0 °C-on. A reakciót VRK-val monitoroztuk (hexán/EtOAc:8/2, UV detektálás és kénsavas előhívás, R_f= 0,36). Az elegyet 300 ml EtOAc-tal meghígítottuk, majd 3x70 ml deszt. vízzel extraháltuk. A szerves fázist Na₂SO₄-en szárítottuk, majd bepároltuk. A nyersterméket flash kromatográfiával tisztítottuk hexán/EtOAc:8/2 eluensben.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.99 (s, 1H), 8.18 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 5.98 (s, 1H), 5.82 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.22 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 4.20 (s, 2H), 4.13 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 3.89 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 1.11 – 0.97 (m, 27H), 0.4 – 0.09 (m, 18H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 163.94, 150.55, 140.47, 101.94, 89.19, 84.37, 76.25, 70.64, 61.74, 26.11, 25.93, 25.87, 18.57, 18.16, 18.06, -4.11, -4.43, -4.76, -4.79, -5.30, -5.51.

Kitermelés: **75%**

2',3'-di-O-(*t*-butil-dimetilszilil)-uridin (24)

4,4 g (7,5 mmol) (23)-at feloldottunk 80 ml THF-ben, majd hozzáadtuk 20 ml TFA és 20 ml deszt. víz elegyét. Ar atmoszférában kevertettük 0 °C-on 6 órán át. A reakciót VRK-val követtük nyomon (hexán/aceton:8/2, UV detektálás+ kénsavas előhívás, Rf= 0,22). Miután a reakció végbement, 300 ml telített NaHCO₃ oldattal meghígítottuk a reakcióelegyet, majd 2x150 ml EtOAc-tal extraháltuk. Ezután a szerves fázisokat egyesítettük, és telített NaHCO₃ oldattal, majd telített NaCl oldattal extraháltuk. Az etil-acetátos oldatot Na₂SO₄-en szárítottuk, majd bepároltuk. A tisztítás flash kromatográfiával történt hexán/aceton:8/2 eluenssel. $[\alpha]_D = -27,56$ (c= 0,0762 g/100 ml, CHCl₃).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.84 (s, 1H), 7.85 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 5.87 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 5.65 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 4.65 (s, 1H), 4.31 (s, 1H), 4.23 (s, 1H), 4.09 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H), 3.93 – 3.77 (m, 1H), 3.45 (s, 1H), 1.04 (s, 9H), 1.02 (s, 9H), 0.42 – 0.08 (m, 12H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 163.95, 150.59, 143.08, 102.13, 93.62, 86.03, 73.98, 71.61, 61.52, 25.94, 25.90, 18.18, 18.05.

Kitermelés: **90%**

5'-dezoxi-5'-jód-2',3'-di-O-(*t*-butil-dimetilszilil)-uridin (25)

2,84 g (6 mmol) (24)-et, 0,96 ml (12 mmol) piridint és 2,3 g (9 mmol) PPh₃-t oldottunk 70 ml 1,4-dioxánban, majd hozzáadtunk 2,3 g (9 mmol) I₂-ot és Ar atmoszféra alatt szobahőn kevertettük. A reakció lefutását VRK-val monitoroztuk (hexán/aceton: 8/2, UV detektálás, kénsavas molibdenátos előhívás, Rf= 0,3). Mivel másnap a konverzió még nem volt megfelelő: hozzáadtunk még 3 mmol I₂-ot és 3 mmol PPh₃-t és tovább kevertettük. Harmadnap hozzáadtunk 3,2 MeOH-t, és leszűrtük a csapadékos oldatot. A szűrlethez ezután hozzáadtunk 480 ml 10%-os Na₂S₂O₃ oldatot, majd 3x250 ml EtOAc-tal extraháltuk. Ezután a szerves fázisokat egyesítettük és telített NaCl oldattal extraháltuk, majd Na₂SO₄-en szárítottuk. Végül bepároltuk. A nyersterméket flash kromatográfiával tisztítottuk hexán/aceton: 85/15 eluenssel. $[\alpha]_D = +4,47$ (c= 0,0894 g/100 ml, CHCl₃).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.78 (s, 1H), 7.72 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 5.92 (dd, *J* = 8.0, 1.0 Hz, 1H), 5.79 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 4.60 (t, *J* = 4.5 Hz, 1H), 4.14 (q, *J* = 4.8 Hz, 1H), 4.08 (t, *J* =

4.4 Hz, 1H), 3.67 (dd, $J = 11.1, 5.3$ Hz, 1H), 3.49 (dd, $J = 11.1, 4.8$ Hz, 1H), 1.06 (s, 9H), 1.02 (s, 9H), 0.29 (s, 3H), 0.26 (s, 3H), 0.22 (s, 3H), 0.19 (s, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 163.61, 150.24, 141.73, 102.48, 91.99, 82.88, 74.95, 74.17, 25.97, 25.91, 18.13, 18.10.

Kitermelés: **44%**

***N*-(9-fluorenil-metoxikarbonil)-*S*-[5'-dezoxi-2',3'-di-*O*-(*t*-butil-dimetilszilil)-uridin-5'-il]-cisztein-allil-észter (26)**

343 mg (0,89 mmol) (22)-t és 582 mg (1 mmol) (25)-öt oldottunk 8 ml absz. DMF-ben. 400 mg 4 Å molekulaszitával 0 °C-on Ar alatt kevertettük, majd hozzáadtunk 487 mg Cs_2CO_3 -t. Az elegyet 0 °C-on kevertettük 2 órán át. A reakció lefutását VRK-val követtük nyomon (hexán/aceton:7/3, UV detektálás és kénsavas előhívás, $R_f = 0,42$). Miután a reakció végbement: az elegyet ioncserélő gyantával semlegesítettük, üvegszűrőn leszűrtük, majd bepároltuk. A nyersterméket flash kromatográfiával tisztítottuk eluensként hexán/aceton: 85/15-öt használva. $[\alpha]_D = +18,68$ ($c = 0,36$ g/100 ml, CHCl_3).

^1H NMR (360 MHz, CDCl_3) δ 7.77 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.61 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.41 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.31 (dd, $J = 14.5, 7.2$ Hz, 2H), 5.91 (ddd, $J = 22.7, 11.0, 5.8$ Hz, 1H), 5.83 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 5.76 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 5.68 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 5.32 (dd, $J = 27.3, 13.7$ Hz, 2H), 4.68 (d, $J = 5.3$ Hz, 3H), 4.50 – 4.33 (m, 2H), 4.25 (ddd, $J = 18.2, 9.5, 4.5$ Hz, 3H), 3.91 (t, $J = 4.7$ Hz, 1H), 2.95 (s, 2H), 2.89 (s, 3H), 1.26 (s, 2H), 0.90 (d, $J = 7.9$ Hz, 18H), 0.08 (dd, $J = 8.2, 1.9$ Hz, 12H). ^{13}C NMR (91 MHz, CDCl_3) δ 174.12, 163.29, 150.17, 143.79, 141.40, 140.98, 131.34, 127.85, 127.18, 125.18, 120.10, 119.32, 102.53, 91.61, 83.59, 74.48, 73.61, 67.39, 66.52, 54.06, 47.19, 35.78, 34.88, 25.94, 25.87, 18.12.

Kitermelés: **83%**

***N*-(9-fluorenil-metoxikarbonil)-*S*-[5'-dezoxi-2',3'-di-*O*-(*t*-butil-dimetilszilil)-uridin-5'-il]-cisztein(27)**

95 mg (0,113 mmol) **(26)**-ot oldottunk 0,716 ml THF-ben, majd szuszpendáltunk benne 7,6 mg Pd(PPh₃)-t. Ezután hozzáadtunk 28,5 mg 0,4 ml MeOH-ban oldott *p*-toluol-szulfínát-Na-t. Az elegyet fél órán át kevertettük szobahőn, majd ioncserélő gyantával kezeltük, leszűrtük, és a szűrletet bepároltuk. A reakciót VRK-val követtük nyomon (DKM/MeOH: 9/1, UV detektálás ill. kénsavas-molibdenátos előhívás, R_f= 0,3). A nyersterméket flash kromatográfiával tisztítottuk (gradiens elúció DKM/MeOH: 99/1, 95/5). [α]_D= +35,71 (c= 0,0140 g/100 ml, CHCl₃)

Kitermelés: **81%**

S-[5'-dezoxi-2',3'-di-O-(*t*-butil-dimetilszilil)-uridin-5'-il]-cisztein-allil-észter (28)

205 mg (0,24 mmol) **(26)**-ot oldottunk 1,83 ml DMF-ben, és hozzáadtunk 0,12 ml pirrolidint. Az elegyet 15 percig kevertettük szobahőn, majd bepároltuk. VRK-val monitoroztuk a reakció lefutását (hexán/aceton: 7/3, UV detektálás, ill. kénsavas előhívás, R_f= 0,25). A nyersterméket flash kromatográfiával tisztítottuk (gradiens elúció: DKM/EtOAc: 8/2, 1/1). [α]_D= +32,35 (c= 0,18 g/100 ml, CHCl₃).

¹H NMR (360 MHz, CDCl₃) δ 7.71 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.12 – 5.96 (m, 1H), 5.89 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 5.82 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H), 5.34 (dd, *J* = 17.2, 1.4 Hz, 1H), 5.26 (dd, *J* = 10.4, 1.1 Hz, 1H), 4.76 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H), 4.40 (t, *J* = 4.2 Hz, 1H), 4.33 (dd, *J* = 10.3, 5.2 Hz, 1H), 4.05 (t, *J* = 4.8 Hz, 1H), 3.84 (dd, *J* = 6.9, 4.7 Hz, 1H), 3.21 – 2.93 (m, 4H), 1.38 (s, 3H), 1.03, 1.01 (2 s, 2 x 9H), 0.22, 0.20 (2 s, 2 x 6H). ¹³C NMR (91 MHz, CDCl₃) δ 173.66, 163.48, 150.26, 140.97, 131.75, 119.04, 102.51, 91.36, 83.52, 74.65, 73.62, 66.03, 54.65, 38.34, 34.86, 25.96, 25.88, 18.14, 18.10, -4.12, -4.49, -4.54, -4.62.

Kitermelés: **77%**

N-(9-fluorenil-metoxikarbonil)-S-[5'-dezoxi-2',3'-di-O-(*t*-butil-dimetilszilil)-uridin-5'-il]-ciszteinil-S-[5'-dezoxi-2',3'-di-O-(*tercier*-butil-dimetilszilil)-uridin-5'-il]-cisztein-allil-észter (29)

48 mg(0,078 mmol) **(28)**-at oldottunk 1 ml absz. DMF-ben, és Ar alatt kevertettük 0 °C-on. Az oldathoz hozzáadtunk 63 mg (0,078 mmol) **(27)**-et, 21 mg (0,1578 mmol) HOBt-t és 22 µl (0,1578 mmol) Et₃N-t. Az elegyet fél óráig kevertettük 0 °C-on, majd hozzáadtunk 30 mg (0,1578 mmol) EDC.HCl-t. Az elegyet egy éjszakán át kevertettük, majd bepároltuk. A reakció monitorozása VRK-val történt (hexán/aceton:6/4, UV detektálás, kénsavas előhívás, R_f= 0,42). A nyersterméket flash kromatográfiával tisztítottuk hexán/aceton: 7/3 eluenssel. MALDI-ToF: m/z számított: C₆₆H₁₀₂N₆NaO₁₅S₂Si₄ [M+Na]⁺: 1417.58, mért: 1417.63.

¹H NMR (360 MHz, CDCl₃) δ 9.53 (s, 1H), 9.42 (s, 1H), 7.90 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.74 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.60 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 7.54 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.50 – 7.37 (m, 4H), 6.18 – 5.97 (m, 2H), 5.85 (dd, *J* = 13.5, 8.1 Hz, 2H), 5.69 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 5.56 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 5.48 (d, *J* = 17.3 Hz, 1H), 5.40 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H), 5.01 (dd, *J* = 12.4, 5.4 Hz, 1H), 4.80 (s, 2H), 4.70 (dd, *J* = 10.0, 5.1 Hz, 2H), 4.57 (dd, *J* = 10.1, 7.5 Hz, 1H), 4.50 – 4.40 (m, 1H), 4.36 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 4.27 (ddd, *J* = 15.6, 7.2, 4.1 Hz, 2H), 4.10 (dd, *J* = 8.1, 3.9 Hz, 2H), 3.30 (dd, *J* = 13.9, 4.4 Hz, 1H), 3.25 – 3.13 (m, 2H), 3.12-2.94 (m, 4H), 1.88 (s, 2H), 1.40 (s, 5H), 1.05, 1.02 (2 s, 2 x 18H), 0.32 – 0.10 (m, 24H). ¹³C NMR (91 MHz, CDCl₃) δ 142.23, 141.31, 127.75, 127.11, 125.16, 119.99, 119.27, 77.37, 77.02, 76.67, 25.83, 25.75, 18.03, 18.01, 17.92, -4.60.

Kitermelés: **25%**

7. Összefoglalás

Összegzésként tehát a cél egyrészt 5' helyzetben módosított uridinszármazékok, másrészt cisztein-uridin konjugátumok és később ezekből új típusú peptid-nukleinsavak előállítása volt tioladdícióval. A megfelelő telítetlen uridinszármazékok előállítása után több tioladdíciót is végrehajtottunk különböző tiolokkal többféle védőcsoportot (acetyl ill. izopropilidén) tartalmazó uridin-4'exometilén származékokon. Az irodalmi adatok alapján várt teljes sztereoszelektivitás nem valósult meg, az addíciós reakciók minden esetben sztereoizomer keveréket eredményeztek. Ettől függetlenül az így előállított új vegyületek biológiai hatásainak vizsgálata rendkívül érdekes eredményeket hozhat, ezért több származék antivirális hatásának vizsgálata is folyamatban van.

Távlati célunk elérésére, azaz a cisztein alapú peptid-nukleinsavak szintézisére azonban a tioladdíció a sztereoszelektivitás hiánya miatt nem volt alkalmas, ezért ennek a végrehajtásához egy másik szintetikus kémiai módszer, a bázisindukálta nukleofil szubsztitúció mellett döntöttünk. Ezzel a módszerrel sikerült is a védett ciszteinil-uridint előállítani, majd a megfelelő védőcsoportok hasítása után dimerizálni.

8. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom mindennek előtt témavezetőmnek Dr. Borbás Anikónak, aki koordinálta munkámat és számtalan elméleti és gyakorlati tanácsával segített.

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Bakai-Bereczki Ilonának a MALDI-ToF tömegspektrometriai vizsgálatok elvégzéséért és Dr. Herczeg Mihálynak az NMR spektrumok felvételéért.

Köszönetet mondok továbbá a Gyógyszerészi Kémiai Tanszék valamennyi munkatársának.

A kutatás az OTKA K-109208 pályázat támogatásával valósult meg.

9. Irodalomjegyzék

- [1.] Dr. Tömböl Zsófia, MikroRNS-ek expressziós mintázatának és patogenetikai szerepének vizsgálata a mellékvese daganataiban, Doktori értekezés, Semmelweis Egyetem, Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola, Budapest, **2011**
- [2.] Dr. Balajthy Zoltán, Dr. Aradi János, Dr. Balajthy Zoltán, Dr. Csősz Éva, Dr. Scholtz Beáta, Dr. Szatmári István, Dr. Tőzsér József, Dr. Varga Tamás, Molekuláris terápiák, Debrecen, **2011**
- [3.] Prof. Dr. Tósaki Árpád, A gyógyszerhatástan válogatott fejezetei, Budapest, **2011**
- [4.] Dr. Ádám Éva, Dr. Pusztai Rozália, Dr. Taródi Béla, Gyógyszerészi Mikrobiológia, Semmelweis Kiadó, Budapest, ISBN: 963 9214 14 0, **2001**
- [5.] Sendula Róbert, Új L-nukleozidok mint potenciális antivirális és tumorgátló szerek szintézise, Doktori értekezés, Magyar Tudományos Akadémia Természettudományi Kutatóközpontja, **2013**
- [6.] Flavia Marinelli, Olga Genniloud (editors), Antimicrobials New and Old Molecules in the Fight Against Multi-Resistant Bacteria, ISBN: 978-3-642-39967-1
- [7.] Kazuya Okomoto, Masahiro Sakagami, Fei Feng, Hiroko Togame, Hiroshi Takemoto, Satoshi Ichikawa, Akira Matsuda, Total Synthesis and Biological Evaluation of Pacidamycin D and Its 3'-Hydroxy Analogue, J. Org. Chem. **2012**, 77, 1367-1377
- [8.] Pier Luigi Luisi, Cristiano Chiarabelli (editors), Chemical Synthetic Biology, **2011**, John Wiley & Sons, ISBN: 978-0-470-71397-6
- [9.] Ötvös László, Sági Gyula, Daganatellenes antiszenz oligonukleotidok, MTA Kémiai Kutatóközpont, Budapest, Magyar Onkológia 48. évf. 3. szám, **2004**
- [10.] Csávás Magdolna, Lázár László, Hadházi Ádám, Demeter Tamás, Nábrádi Péter, Herczeg Mihály, Eszenyi Dániel, Mező Erika, Herczegh Pál, Borbás Anikó, Tiodiszacharidok és S-glikokonjugátumok szintézise tio-click módszerrel, Magyar Kémikusok Lapja, LXVIII. évf. 11. szám, **2013**

- [11.] László Lázár, Magdolna Csávás, Mihály Herczeg, Pál Herczegh, Anikó Borbás, Synthesis of S-Linked Glycoconjugates and S-dissacharides by Thiol-Ene Coupling Reaction of Enoses, *Org. Lett.*, Vol. 14, No 17, **2012**, 4650-4653.
- [12.] Michele Fiore, Alberto Marra, Alessandro Dondoni, Photoinduced Thiol-Ene Coupling as a Click Ligation Tool for Thiodissacharide Synthesis, *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 4422-4425.
- [13.] Kazuya Okamoto, Masahiro Sakagami, Fei Feng, Hiroko Togame, Hiroshi Takemoto, Satoshi Ichikawa, Akira Matsuda, Total Synthesis of Pacidamycin D by Cu(I)-Catalyzed Oxy Enamide Formation, *Org. Lett.* **2011**, Vol. 13, No. 19, 5240-5243.
- [14.] J. P. H. Verheyden, J. G. Moffatt, The Synthesis of a 4',5'-Unsaturated Nucleoside, *J. Am. Chem. Soc.* Vol. **1966**, 88, 5684-5685.
- [15.] Masahiro Fujihashi, Toyokazu Ishida, Shingo Kuroda, Lakshmi P. Kotra, Emil F. Pai, Kunio Miki, Substrate Distortion Contributes to the Catalysis of Orotidine 5'-Monophosphate Decarboxylase, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 17432-17443.
- [16.] Rou Wang, Darryl H. Steensma, Yoshikazu Takaoka, Joanne W. Yun, Tetsuya Kajimoto, Chi-Huey Wong, A Search for Pyrophosphate Mimics for the Development of Substrates and Inhibitors of Glycosyltransferases *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, Vol. 5, No. 4, 661-672,
- [17.] Hideki Takasu, Hironao Sajiki, Chemical Modofication of the Sugar Moiety of Pyrimidine Nucleosides via a 4',5'-Epoxyuridine Intermediate, *Heterocycles* **2005**, Vol. 65, No. 12, 2991-2999., DOI: 10.3987/COM-05-10551
- [18.] László Lázár, Magdolna Csávás, Ádám Hadházi, Mihály Herczeg, Marietta Tóth, László Somsák, Terézia Barna, Pál Herczegh, Anikó Borbás, Systematic study on free radical hydrothiolation of unsaturated monosaccharide derivatives with exo- and endicyclic double bonds, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, 11, 5339-5350.
- [19.] Robert W. Miles, Lars P. C. Nielsen, Gregory J. Ewing, Daniel Yin, Ronald T. Borchardt, Morris J. Robins, S-Homoadenosyl-L-cysteine and S-Homoadenosyl-L-

homocysteine. Synthesis and Binding Studies of Non-Hydrolyzed Substrate Analogues with S-Adenosyl-L-homocysteine Hydrolase, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 8258-8260.

- [20.] Yukari Fujimoto, Masahito Hashimoto, Maiko Furuyashiki, Mami Katsumoto, Tsukasa Seya, Yasuo Suda, Koichi Fukase, Lipopeptides from *Staphylococcus aureus* as Tlr2 ligands: Prediction with mRNA Expression, Chemical Synthesis, and Immunostimulatory Activities, *ChemBioChem*, **2009**, 10, 2311-2315
- [21.] Radim Hrdina, Christian E. Müller, Raffael C. Wende, Lukas Wanka, Peter R. Schreiner, Enantiomerically Enriched *trans*-Diols from Alkenes in One Pot: A Multicatalyst Approach, *Chem. Commun.* **2012**, 48, 2498-2500