



SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM

Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar

Orvosi Vegytani Intézet

TUDOMÁNYOS DIÁKKÖRI DOLGOZAT

Guanozin alkilezési stratégiák 2-(4-nitrofenil)etil- és 4-nitrofenacil-
csoportokkal

Készítette:

Ferenczi Lajos Szabolcs

Kémia B. Sc. szak

Témavezető: Dr. Kovács Lajos

Szeged

2022

Tartalmi összefoglaló

A guanozin és az adenozin a nukleinsavakban (DNS, RNS) előforduló purin vázas vegyületek. A természetes önszerveződés elsősorban a purinokban gazdag nukleinsavakra jellemző, amely során magasabb rendű szerkezetek (triplexek, kvadruplexek stb.) alakulhatnak ki.

TDK munkám során feladatomban volt a guanozin alkilezése 2-(4-nitrofenil)etil- és 4-nitrofenacil-csoportokkal, amelyek védőcsoportként funkcionálnak a kapott vegyületek xantinná történő átalakítása után az utóbbi alkilezéséhez és glikozilezéséhez. Ennek fő célja arra a korábbi tapasztalatra alapoz, hogy diazotálással a guanozinból nyert xantin 3-as helyzetére történő szubsztitúció úgy kivitelezhető, hogy ha a 7-es és az 1-es helyre történő *N*-alkilezéshez ezek a pozíciók védve vannak. A 3-as helyzetben szubsztituált xantin vegyületek szintén önszerveződést mutatnak, mint a többi purin-vázis vegyület.

A kutatócsoport korábban végrehajtott hasonló alkilezést, azonban a benzil- és 4-nitrobenzil védőcsoportok eltávolítása a 3-as szubsztitúciót követően nagyon csekély hatékonysággal volt kivitelezhető. Ennek okán a témavezetőmmel úgy döntöttünk, hogy a guanint a 7-es és a 3-as helyzetben egyaránt 2-(4-nitrofenil)etil-csoporttal védjük azért, hogy azokat a xantinná alakítást és a 3-as helyzetű szubsztitúciót követően hatékonyabban sikerüljön eltávolítani. A reakciók során a kiindulási guanozin és a 2-(4-nitrofenil)etil-bromid, a guanozin csekély oldhatósága miatt nem reagál egymással 70 °C hőmérséklet alatt DMF-ben. Ezen hőmérséklet felett viszont a reakció tovább halad, a 7-es és 9-es helyzetű szubsztitúció következik be a védőcsoporttal a ribóz termolízise mellett. Ezért a 2-(4-nitrofenil)etil-csoport helyett 4-nitrofenacil csoporttal szubsztituáltunk guanozint. Azt tapasztaltuk, hogy a reakció csak 65-70 °C-on ment végbe 4-nitrofenacil-bromiddal DMF-ben, magasabb hőmérsékleten bomlás játszódik le. A reakció heterogén fázisban indul a guanozin rossz oldhatósága miatt, majd a komponensek oldatfázisba kerülnek, végül pedig a termék kiválik az oldatfázisból, Ezen felül a reakció során a cukor-rész termolízissel lehasad a 7-(4-nitrofenacil)guanozínium bromidról.

A keletkező 7-(4-nitrofenacil)guanin diazotálása nem a várt 7-(4-nitrofenacil)xantint eredményezte, hanem a xantinszármazékban C-nitrozálás játszódott le a 4-nitrofenacilcsoport metilén-csoportján. Ennek az anyagnak a szerkezetét egy- és kétdimenziós NMR-spektroszkópiával bizonyítottuk. Nátrium-nitrit/trifluorecetsav reagenskombinációt használva szobahőmérsékleten egy további reakció is lejátszódik, ami a fenti termék fragmentációját okozza és 4-nitrobenzoesav keletkezik.

Kulcsszavak: guanozin, xantin, 2-(4-nitrofenil)etil-csoport, 4-nitrofenacil-csoport, alkilezés

Rövidítések jegyzéke:

DBU	1,8-diazabiciklo[5.4.0]undec-7-én
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamid
DMSO	dimetil-szulfoxid
ESI	electrospray
EtOAc	etil-acetát
5'-GMP	guanozin-5'-monofoszfát, guanilsav
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation (Heteronukleáris többszörös kötéskorreláció)
Hx	<i>n</i> -hexán
Me	metilcsoport
MeOH	metanol
MS	tömegspektrometria
NMR	mágneses magrezonancia-spektroszkópia
Npac	4-nitrofenacil-csoport
Npe	2-(4-nitrofenil)etil-csoport
β -D-Ribf	β -D-ribofuranozil-csoport
TES	trietyl-szilán
TFA	trifluorecetsav
VRK	vékonyréteg-kromatográfia

Tartalomjegyzék

I.	Bevezetés.....	1
A.	A nukleinsavak.....	1
B.	A kvadрупlexek	3
II.	Irodalmi áttekintés.....	5
III.	Célkitűzés.....	7
IV.	Saját vizsgálatok, tapasztalatok.....	8
A.	2-(4-Nitrofenil)etil-bromiddal végzett alkilezések.....	8
B.	4-Nitrofenacil-bromiddal végzett alkilezések	9
C.	Redukálási kísérletek.....	10
D.	Diazotálási kísérletek:	11
V.	Kísérleti rész.....	15
A.	2-Amino-7,9-bisz[2-(4-nitrofenil)etil]-6-oxo-6,7-dihidro-1 <i>H</i> -purin-9-ium-bromid (32) 16	
B.	7-(4-Nitrofenacil)guanin (34).....	16
C.	(<i>E</i>)-[1-(2,6-Dioxo-1,2,3,6-tetrahidro-7 <i>H</i> -purin-7-il)-2-(4-nitrofenil)-2-oxoetilidén](hidroxil)-λ ⁵ -azanilidén (38b).....	17
D.	4-Nitrobenzoesav (43) keletkezése	17
VI.	Összefoglalás.....	18
VII.	Irodalomjegyzék.....	19
VIII.	Köszönetnyilvánítás.....	20

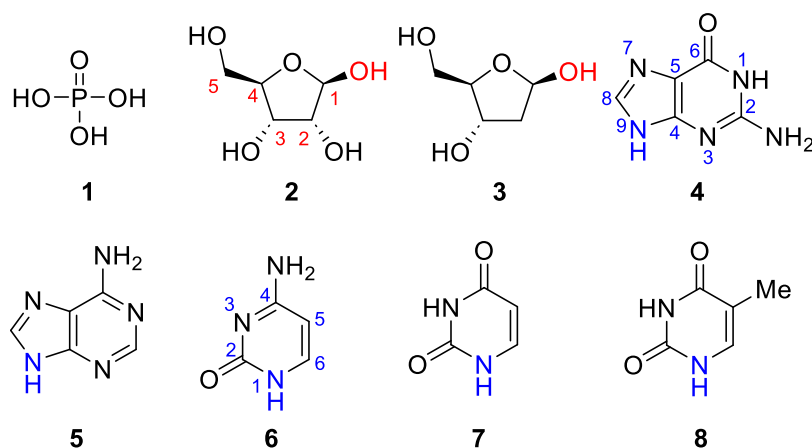
I. Bevezetés

A. A nukleinsavak

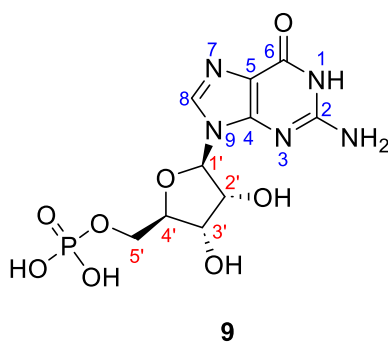
A nukleinsavak elágazást nem tartalmazó polimer makromolekulák.¹ Méretük a nukleinsav funkciójától függően néhány tucat elemi egységtől (nukleotid) néhány száz milliós, moláris tömegük ennek megfelelően néhány ezertől néhány száz tízmilliárd Daltonig (atomi tömegegységig) változhat.² A sejtekben általában (sok bázikus oldalláncot tartalmazó) fehérjékhez kötötten fordulnak elő, de ezektől oldhatósági különbségek (kicsapás, extrakció) és a megfelelő pH-n történő ioncserés oszlopkromatográfiás módszerekkel elválaszthatók.

A nukleinsav-polimerek elemi alkotórészei a foszforsav (1), a D-ribofuranóz (2) vagy 2-dezoxi-D-ribofuranóz (3) cukor és purin (4, 5) illetve pirimidin (6-8) heterociklus alapvázat tartalmazó nukleobázisok (1. ábra). A polimer molekulában az említett három alkotórészből a cukor és a foszforsav alakítja ki a láncot úgy, hogy egy cukor 3'-hidroxilcsoportja és a szomszédos cukor 5'-hidroxilcsoportja között egy foszforsav foszfodiészter kötést létesít. Az így létrejött cukor-foszfát poliészter-lánc minden egyes cukoregységének glikozidos szénatomjához egy nukleobázis kapcsolódik N-glikozidos kötéssel, ezeket nevezzük nukleozidoknak. A glikozidos kötés kialakítása pirimidinek esetében az 1-es, purinoknál a 9-es helyzetben következik be a furanózgyűrűs cukoregység 1-es szénatomján található hidroxilcsoport víz formájában való kilépésével. A nukleozidok létrejötte után a szénhidrát-egységek vesszős számozást kapnak.

A nukleozid-foszfátokat nukleotidoknak nevezzük (2. ábra), ha ezek óriásmolekulákká kapcsolódnak össze, a már említett 3'-5' foszfodiészterkötéssel, akkor pedig nukleinsavakról beszélhetünk (3. ábra). A nukleobázisok képesek meghatározni, kódolni az alapvető információt egy adott nukleinsavon belül.



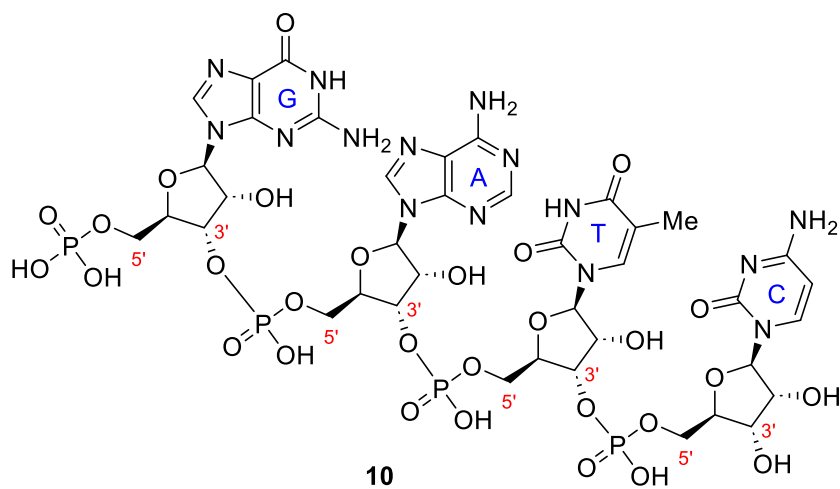
1. ábra. A nukleinsavak alkotórészei



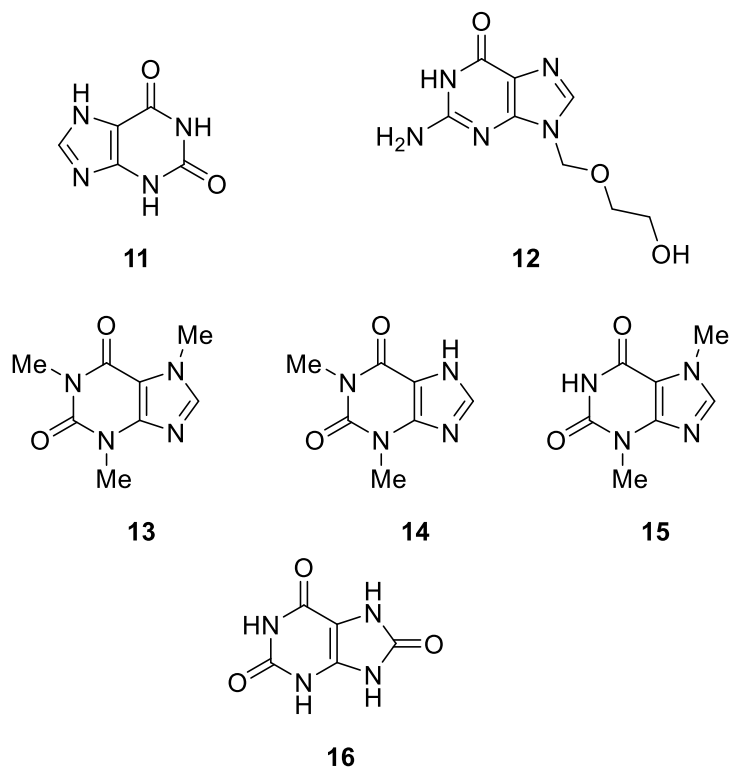
2. ábra. Egy nukleotid, a guanozin-5'-monofoszfát (5'-GMP, 9) szerkezete

A nukleinsavakra DNS-ként illetve RNS-ként hivatkozunk, amelyek a dezoxiribonukleinsavakat illetve a ribonukleinsavakat jelentenek, az alkotó szénhidrát egységtől függően. A DNS-ben elsősorban timin (8), az RNS-ben elsősorban uracil (7) fordul elő nukleobázisként. A kanonikus nukleobázisokon túl számos módosított nukleobázis található a nukleinsavakban, különösen az RNS-ben.

Jelen dolgozat a ribóz cukorrésszel és purin bázisrésszel rendelkező guanozinnal, illetve a purin bázisból felépülő xantinnal (11) foglalkozik. A guaninszármazékokkal a hétköznapiakban is találkozhatunk, például a vírusellenes aciklovir (12) gyógyszer hatóanyagaként. A xantin különböző mértékben és helyzetben metilezett származékai a koffein (13), a teofillin (14) és a teobromin (15), oxidált származékai a vizeletben is megtalálható húgysav (16) (4. ábra).



3. ábra. Egy RNS tetranukleotid (pGATC, **10**) szerkezete (p = 5'-foszfát)



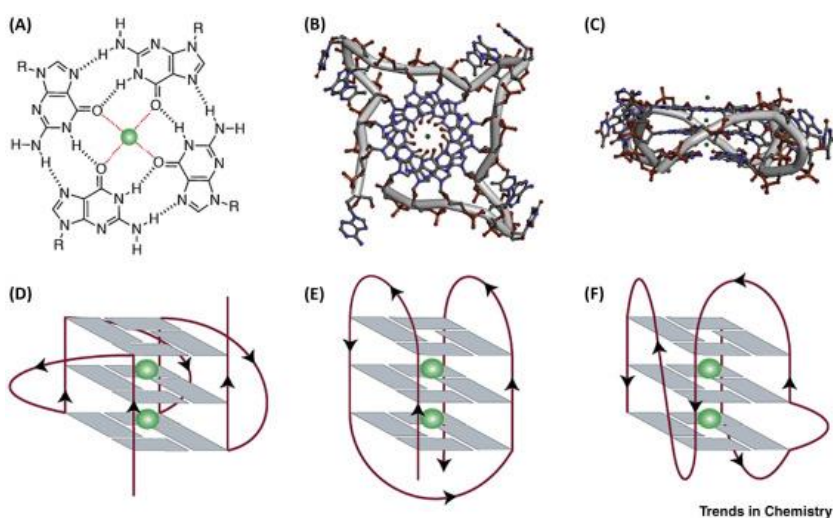
4. ábra. Néhány közismert purinszármazék szerkezete

B. A kvadruplexek

Az önszerveződés során molekulák és/vagy ionok meghatározott elrendeződést vesznek fel további külső behatás nélkül. Ezekben a rendszerekben a részecskéket másodlagos kölcsönhatások (hidrogénhíd, ion-molekula-kölcsönhatások, π - π tapadás stb.) tartják össze.³

Az önszerveződés számos következménye a nukleinsavak szerkezetében is megfigyelhető. A DNS klasszikus kettős hélice és más ismert magasabb rendű nukleinsav-szerkezetek (triplexek, i-motívumok, kvadruplexek stb.) mind a szupramolekuláris rendszerek kialakulását mutatják önszerveződés révén.⁴

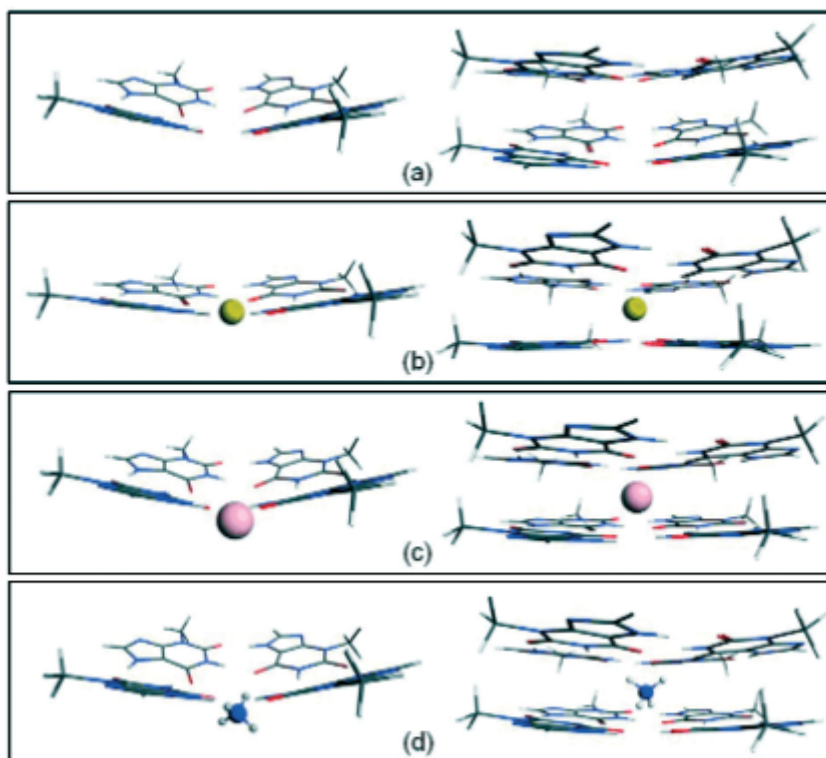
A nukleinsav-származékok szupramolekuláris önszerveződésének egyik régóta ismert és egyre intenzívebben kutatott területe a kvadruplexek képződése.⁵ Ivar Bang már 1910-ben leírta, hogy a guanilsav (5'-GMP, **9**) millimoláris koncentrációban gél képez, de a jelenség oka mintegy öt évtizedig rejtély maradt, míg 1962-ben Gellert és munkatársai röntgendiffrakciós szerkezetvizsgálatból megállapították, hogy az oligonukleotid láncokban a guanin bázisok hidrogénkötések révén kvartetteket képeznek és az egymás fölött elhelyezkedő rétegek között fémion (leggyakrabban kálium) található, amely a kialakuló kvadruplexeket stabilizálja (5. ábra). Ez a jelenség csupán érdekesség maradt volna, ha ki nem derül, hogy a guaninban gazdag DNS és RNS oligonukleotidok (kromoszómák telomerjei, génpromóter régiók, rekombináns RNS-szakaszok) hajlamosak G-kvadruplexeket képezni. A nukleobázisok közül egyedül a guanin rendelkezik számottevő mértékben kvartett- és kvadruplexképző képességgel, a képződő szerkezetek igen változatos topológiát mutatnak. A kvadruplexek a biológiai relevancián túl sajátos elektromos, mágneses és optikai tulajdonságokkal rendelkező új anyagok, amelyek az anyagtudomány érdeklődését is felkeltették.⁶



5. ábra. Néhány guanintartalmú kvadruplex szerkezete kettő és három dimenzióban. A szerkezetekben található fémionokat zöld gömbök jelzik^{5b}

Korábban a kutatócsoport a 3-szubsztituált xantinok kvadruplexképző képességének vizsgálatát tűzte ki célul.⁷ Ezen vegyületekben a domináns 7*H*-tautomer forma protonálás nélkül is lehetővé teszi a két hidrogénkötés kialakulását, a hidrogénhíd-mintázat váltakozó

donor-akceptor jelleget mutat. Feltételezték erős kölcsönhatások és teljesen sík szerkezet kialakulását és az elméleti számítógépes vizsgálatokhoz a legegyszerűbb purin modellt, a xantinaalkaloidok (koffein, teofillin, teobromin) metabolizmusából ismert 3-metilxantint választották. Sűrűségfunkcionál-számításaik során azt találták, hogy a különböző kationok hasonló stabilizáló hatást gyakoroltak a kialakult szerkezetekre, mint a guanin tetrádok esetében. A kationkötési kölcsönhatások a kétrétegű oktamer szerkezetek és a tetrád szerkezetek esetében azonosak voltak, a $\text{Na}^+ > \text{NH}_4^+ \approx \text{K}^+$ sorrendben változtak (6. ábra).

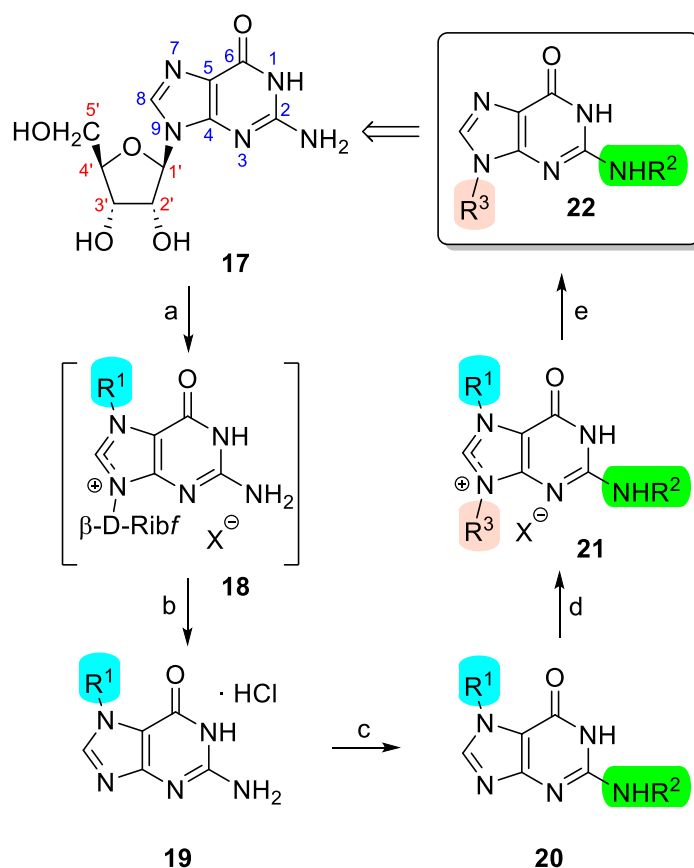


6. ábra. A 3-metilxantin tetrádok (bal oldali oszlop) és oktádok (jobb oldali oszlop) számított szerkezete kation nélkül (a), nátrium- (b), kálium- (c) és ammóniumionnal (d)⁷

II. Irodalmi áttekintés

A guanin és xantin regioszelektív funkcionálizálására (alkilezés, glikozilezés) több módszer létezik, de általában nem egyszerű feladat.⁸ Korábban a kutatócsoport foglalkozott a 9-es helyzetben regioszelektíven szubsztituált guanin-tartalmú peptidnukleinsav monomer előállításával (7. ábra).⁹ Az eljárás alapja az, hogy a guanozin (17) regioszelektíven alkilezhető 7-es helyzetben benzil-bromiddal.¹⁰ A keletkező guanozíniumsó (18) savas

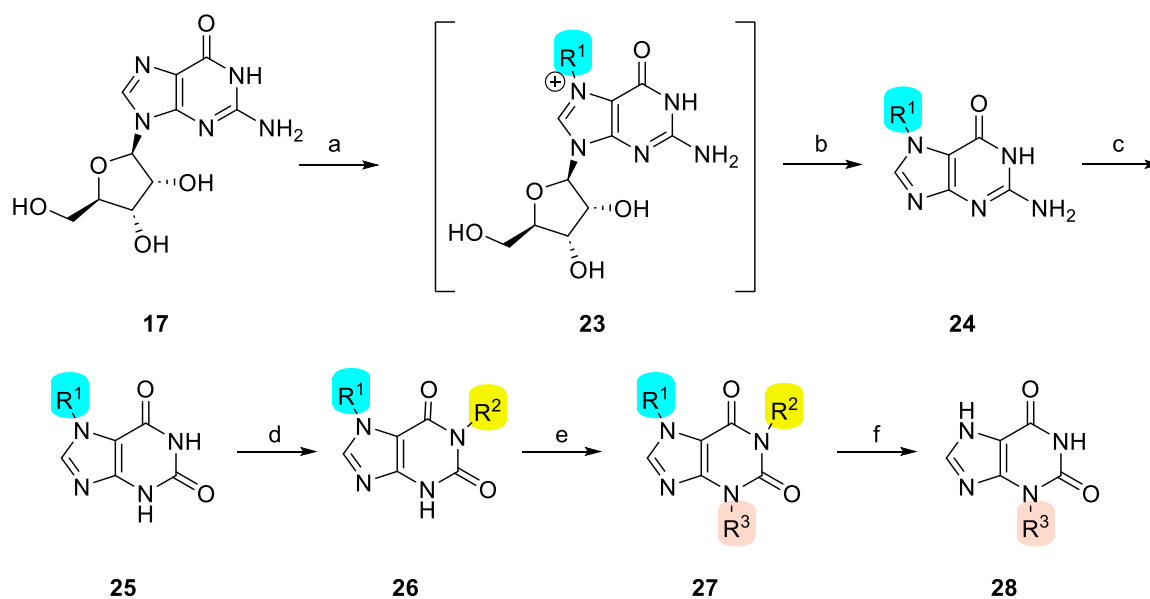
körülmények között hidrolizálható (**19**, azaz a ribofuranóz gyűrű az alkilezés során védő- és irányítócsoporthként viselkedik). A 7-benzilguanin (**19**) az aminocsoport acilezése után (**20**) 9-es helyzetben alkilezhető (**21**), majd a 7-es helyzetű benzilcsoport eltávolítása után a 9-alkilszármazékhoz (**22**) juthatunk. Az alkalmazott eljárás során a benzilcsoport hidrogenolízise nehézkes volt, ezért 4-nitrobenzilcsoportot alkalmaztak, amit nátrium-ditionitos redukcióval távolítottak el (7. ábra).⁹



7. ábra. A kutatócsoport által korábban végrehajtott guanozin alkilezési reakció: [a] benzilezés/4-nitrobenzilezés, [b] hidrolízis, [c] acilezés, [d] alkilezés, [e] benzil-/4-nitrobenzilcsoport eltávolítása

III. Célkitűzés

A 3-as helyzetben szubsztituált xantinnok a kvadruplexképző tulajdonságuk miatt fontosak, előállításuk közvetlenül nem lehetséges.¹¹ Egy lehetséges megoldás a regioszelektív alkilezés, amihez a puringyűrűben található szubsztituentek irányító hatását használhatjuk ki. Az előállításhoz az alábbi, irodalmi előzményeken alapuló, a guanin regioszelektív alkilezésével analóg szintézistervet alkalmaztuk (8. ábra). Az ábrán R¹ és az R² benzil-, 4-nitrobenzil- vagy 2-(4-nitrofenil)etil- (Npe) illetve 4-nitrofenacil- (Npac) csoport, R³ pedig a bevinni kívánt csoport.



8. ábra. A 3-szubsztituált xantinnok előállításának szintézisterve: [a] alkilezés, [b] hidrolízis, [c] diazotálás, [d] alkilezés, [e] alkilezés vagy glikozilezés, [f] védőcsoport-eltávolítás

A TDK munkám során a célom a guanozin alkilezése volt, a kapott vegyületek xantinná történő átalakítása és a 3-as pozíciójának alkilezése vagy glikozilezése céljából. A korábbi tapasztalatok alapján a benzil típusú védőcsoportot nehezen távolíthatók el, ezért 2-(4-nitrofenil)etil (Npe) csoport alkalmazását terveztük mind a 3-as, mind az 1-es helyzetben, amely csoport DBU-val könnyen eltávolítható.¹²

A reakcióterv (8. ábra) szerint a guanozint (17) a 7-es helyzetben kívántuk alkilezni 2-(4-nitrofenil)etil-bromiddal 23 guanozíniumsó előállításához [a], ezt követően hidrogén-bromid oldat segítségével hidrolizálni a cukorrészt [b]. A kapott 7-(4-nitrofenil)etilguanint (24) diazotálással xantinná (25) terveztük alakítani [c],⁵ majd ellátni az 1-es helyzetet ismételten 2-(4-nitrofenil)etil csoporttal (26) [d]. Ezután 3-as helyzetű alkilezést/glikozilezést (27) [e], végül a védőcsoportok eltávolítását terveztük (28) [f].

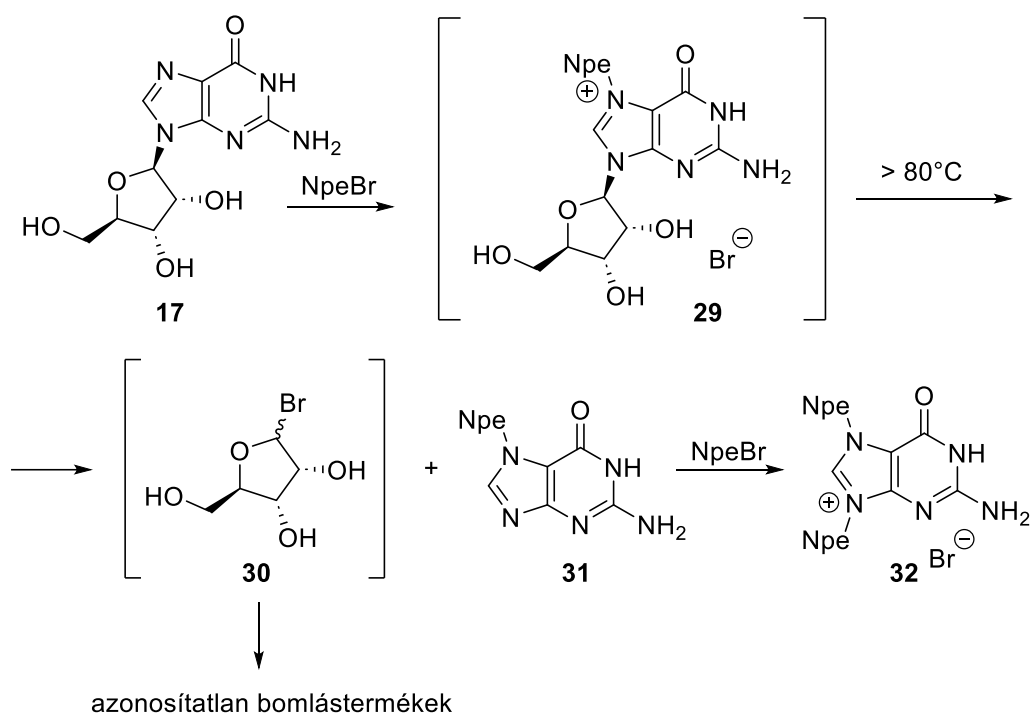
IV. Saját vizsgálatok, tapasztalatok

A. 2-(4-Nitrofenil)etil-bromiddal végzett alkilezések

A 2-(4-nitrofenil)etilcsoport (Npe) bázisérzékeny, DBU-val eltávolítható védőcsoport,¹² szemben a purinokról katalitikus hidrogénezéssel nehezen eltávolítható benzil illetve a 4-nitrobenzilcsoporttal.^{7,13}

Kísérleteink során azt tapasztaltuk, hogy az alkilezés kivitelezése is nehézkes a guanozin rossz oldhatósága miatt. Kezdetben DMSO-t használtunk, de ekkor többszöri próbálkozás után sem tapasztaltunk átalakulást 20-80 °C között, magasabb hőmérsékleten pedig elbomlott a kiindulási anyag. Ezután DMF-ben végeztük a kísérleteket, ebben az esetben is azt tapasztaltuk, hogy 70-80 °C alatt nem megy végbe a reakció. A 2-(4-nitrofenil)etil-bromid benzil-halogenidekhez képest csökkent reaktivitással rendelkezik (a benzil-halogenidek szobahőmérsékleten képesek alkilezni a guanozint).

Amennyiben a reakció lejátszódik, abban az esetben túlnyomórészt mellékterméket kapunk. A látványos mennyiségben jelenlévő melléktermékünk MS és NMR-alapján egy kétszeresen alkilezett kvaterner guanínium só képződött (**32**), miközben a ribofuranozil-csoport termolízist szenvedett (9. ábra). Azaz, mind a 7-es, mind a 9-es helyzetre lép be egy-egy 2-(4-nitrofenil)etil-csoport. MS alapján a tömegspektrumon egy nagy intenzitású csúcs látható, ami a kvaterner ammóniumsó (**32**) jelenlétét támasztja alá. Ezt az NMR vizsgálatunk eredménye is megerősíti.

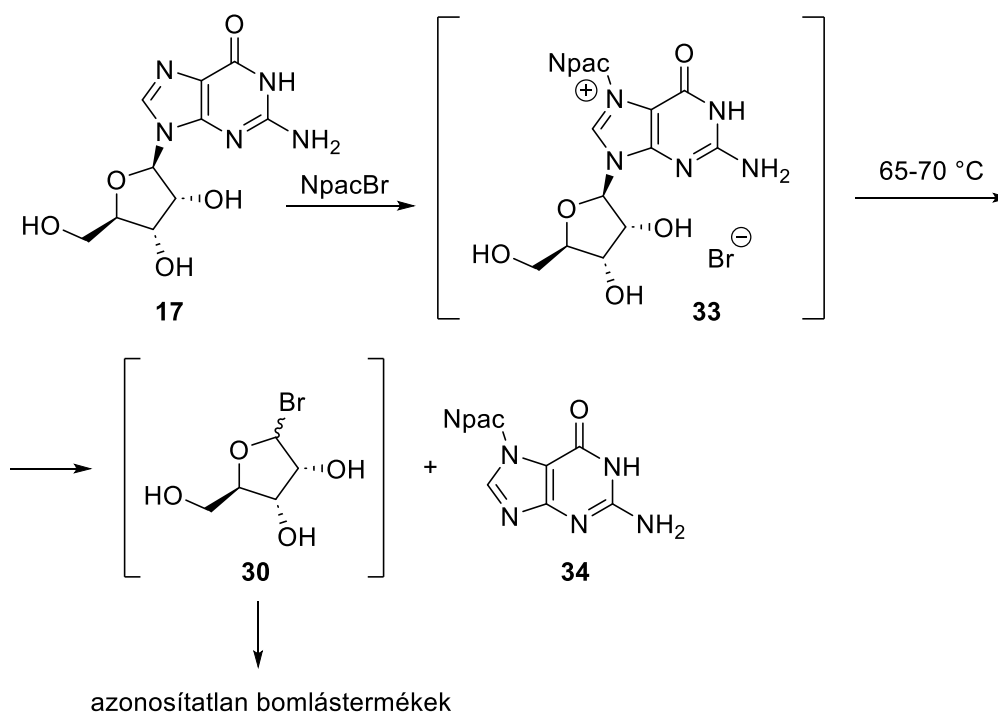


9. ábra. A guanozin 2-(4-nitrofenil)etil-bromiddal végzett alkilezése

B. 4-Nitrofenacil-bromiddal végzett alkilezések

Az előbbieik alapján a 2-(4-nitrofenil)etil-bromid (NpeBr) nem megfelelő alkilezőszer a tervezett célra. A 4-nitrofenacil-bromid (NpacBr) jobb választásnak tűnt, mivel az etilcsoport helyett a fenacil csoport reaktívabb alkilezőszer az oxocsoport polarizáló hatása miatt, így a szubsztitúció végrehajtható mellékreakció nélkül.¹⁴ A későbbiekben a 4-nitrofenacilcsoportot szelektív redukcióval 2-(4-nitrofenil)etilcsoporttá alakítható.^{15,16}

Többszöri próbálkozás után megállapítottuk, hogy ez a reakció kivitelezhető. A reakció jellemzője, hogy a guanozin (17) DMF-ben korlátozottan oldódik és emiatt kezdetben nem reagál. Kb. 65 °C-on egy óra elteltével a guanozin (17) beoldódik és reagál a 4-nitrofenacil-bromiddal. Ekkor két folyamat játszódik le, egyrészt elektrophil szubsztitúció megy végbe a guanin 7-es pozíciójában, másrészt termolízissel lehasad a ribofuranozilcsoport a molekuláról. Az utóbbi lépésben keletkező ribofuranozil-bromid (vagy kation) valószínűleg furánszármazékokká polimerizál, amit a reakcióelegy sötétbarna színe is jelez. Kb. 5 óra elteltével kiválik egy szilárd anyag (34), a tapasztalataink alapján minél több időt vesz igénybe a beoldódás, annyi időbe telik a termékképződés. A reakció bejáratottnak mondható, de hozama szerény (35%), valószínűleg a polimerizációs mellékreakció következtében (10. ábra).



10. ábra. A guanozin (17) 4-nitrofenacil-bromiddal végzett alkilezése

Az előállított 7-(4-nitrofenacil)guanint (34) két lépésben próbáltuk 7-[2-(4-nitrofenil)etil]xantinná átalakítani: a 4-nitrofenacil-csoport 2-(4-nitrofenil)etil-csoporttá történő redukciójával és a guaningyűrű xantinná való átalakításával diazotálás segítségével.

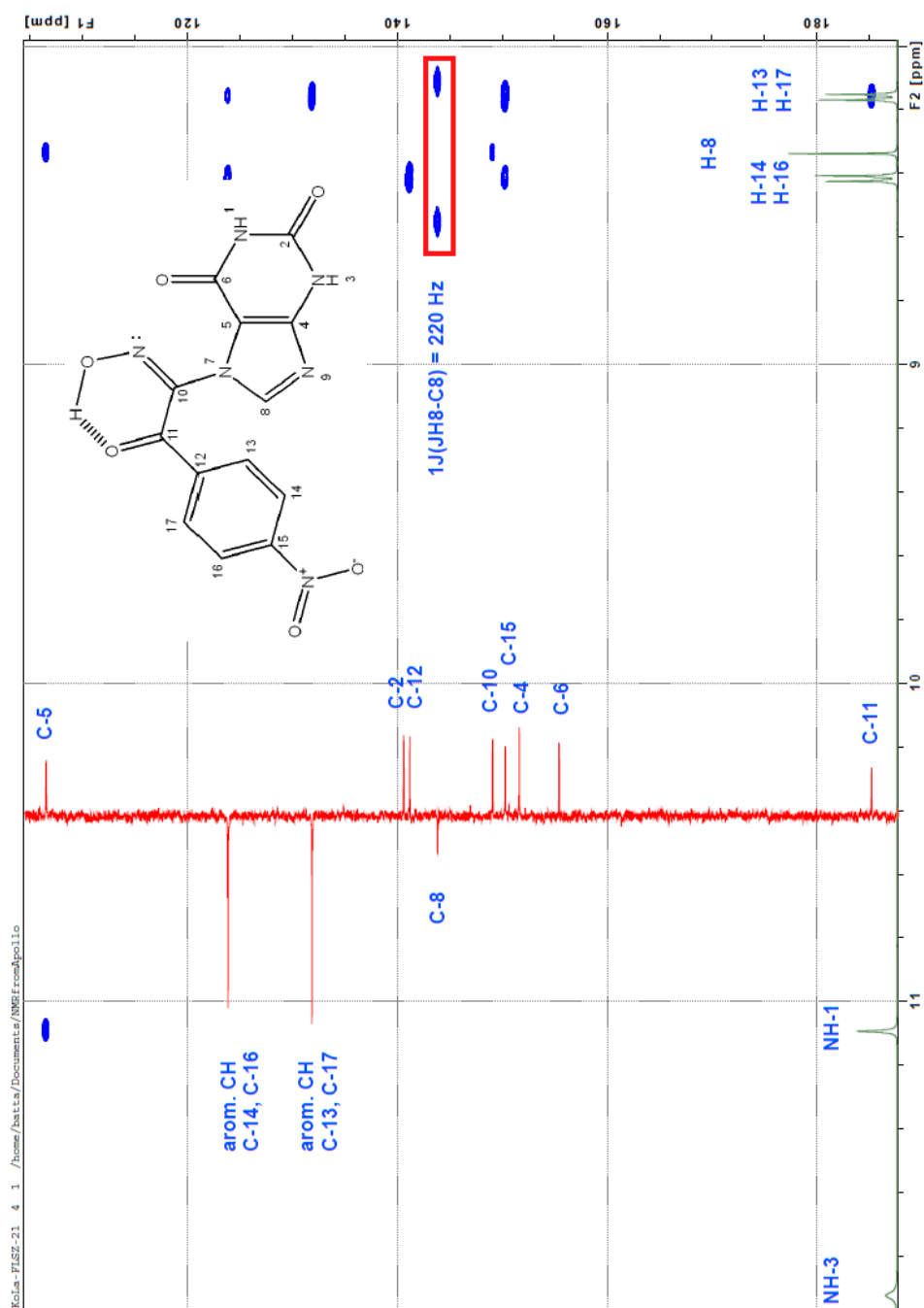
C. Redukálási kísérletek

A tervezett átalakítások közül 34 vegyület Npac-csoport ketocsoportjának ionos redukciót TFA-val és TES-nal próbáltuk ki. A reakció nem volt sikeres, a TES reakciója a TFA-val reagálva illékony hidrogént és trietil-szilanolt képez. A reakció sikertelenségét valószínűleg az okozta, hogy kis mennyiségekkel dolgoztunk, a cikkekben pedig nagy mennyiséget használtak, így nem történt érdemi reakció, mert a keletkező csekély mennyiségű redukáló hidrogén távozott a rendszerből mielőtt a redukció végbemehetett volna.^{15,17}

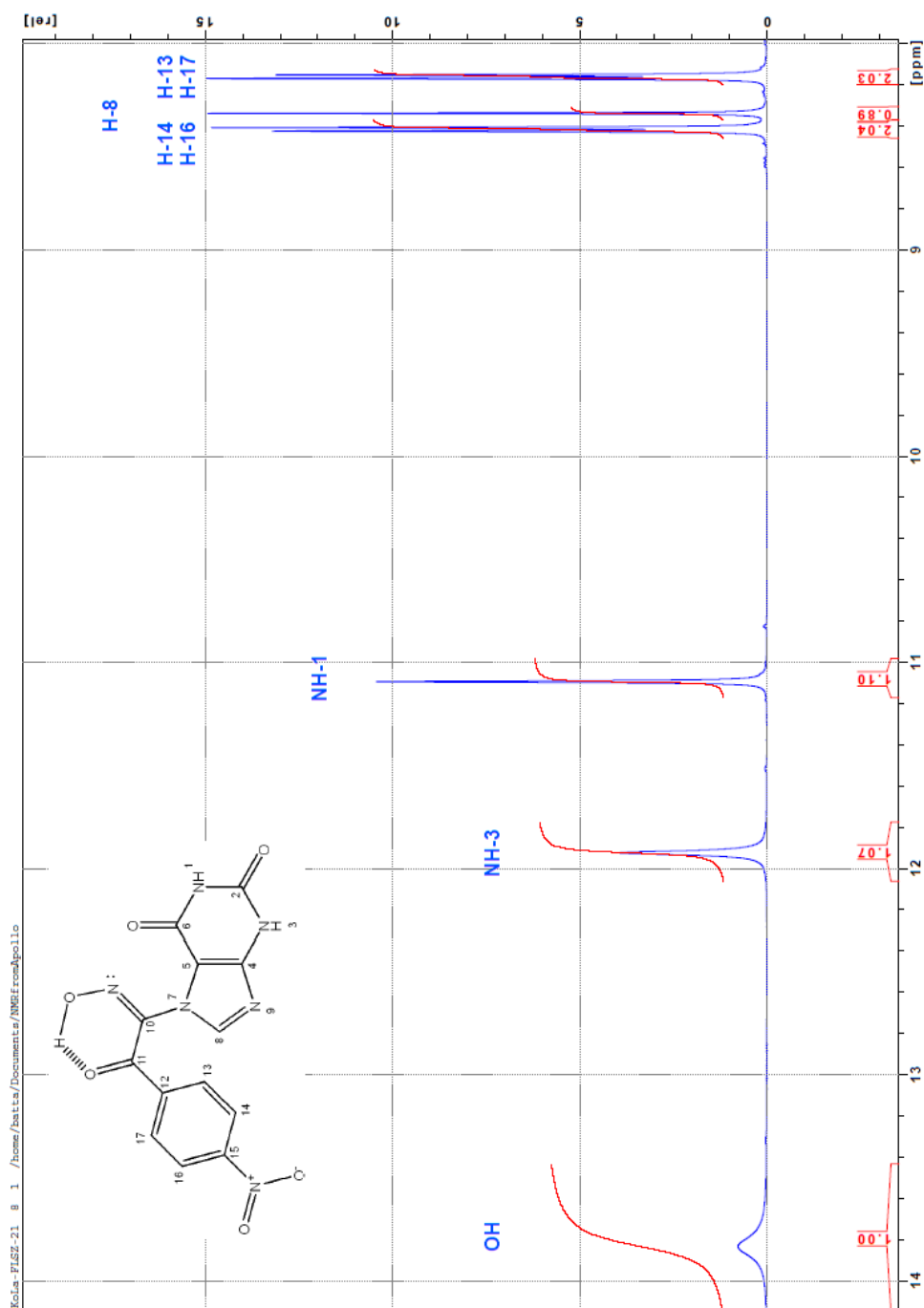
Ennél a reakciónál figyeltük meg azt a tulajdonságát a 7-(4-nitrofenacil)guaninnak (34), hogy TFA-ban meglepően jól oldódik, a jóval kevésbé savas 1,1,1,3,3,3-hexafluorizopropanolban is elfogadható oldhatósággal rendelkezik. Ez diazotálás és egy többlépéses redukcióban hasznos információ.¹⁸

D. Diazotálási kísérletek:

A diazotálási reakcióból két körülmény között próbáltam ki. Az első reakcióban **34** vegyület átalakításához 98%-os ecetsavat használtam vizes nátrium-nitrittel.¹¹ VRK lap segítségével megállapítottam, hogy az izolált végtermék R_f -értéke nagymértékben eltér a kiindulási anyagtól. A kapott termék és kétdimenziós NMR vizsgálatok alapján (11. és 12. *ábra*) meglepetésünkre olyan xantinszármazék képződött, amelyben a tervezett guanin $\rightarrow$ xantin (**34** $\rightarrow$ **35**, 13. *ábra*) átalakuláson túl C-nitrozálás/oximképzés is bekövetkezett az oldalláncban. Az eddigi eredmények alapján nem lehet eldönteni, hogy a C-nitrozoszármazék (**37**) vagy a oxim (**38a/38b**) struktúra írja le a vegyület szerkezetét, a továbbiakban az egyszerűség kedvéért a képletekben belső hidrogénhíddal stabilizált oximként (**38b**) tüntetjük fel ezt a vegyületet. A pontos szerkezet eldöntéséhez röntgenkristallográfiai vizsgálat van folyamatban.



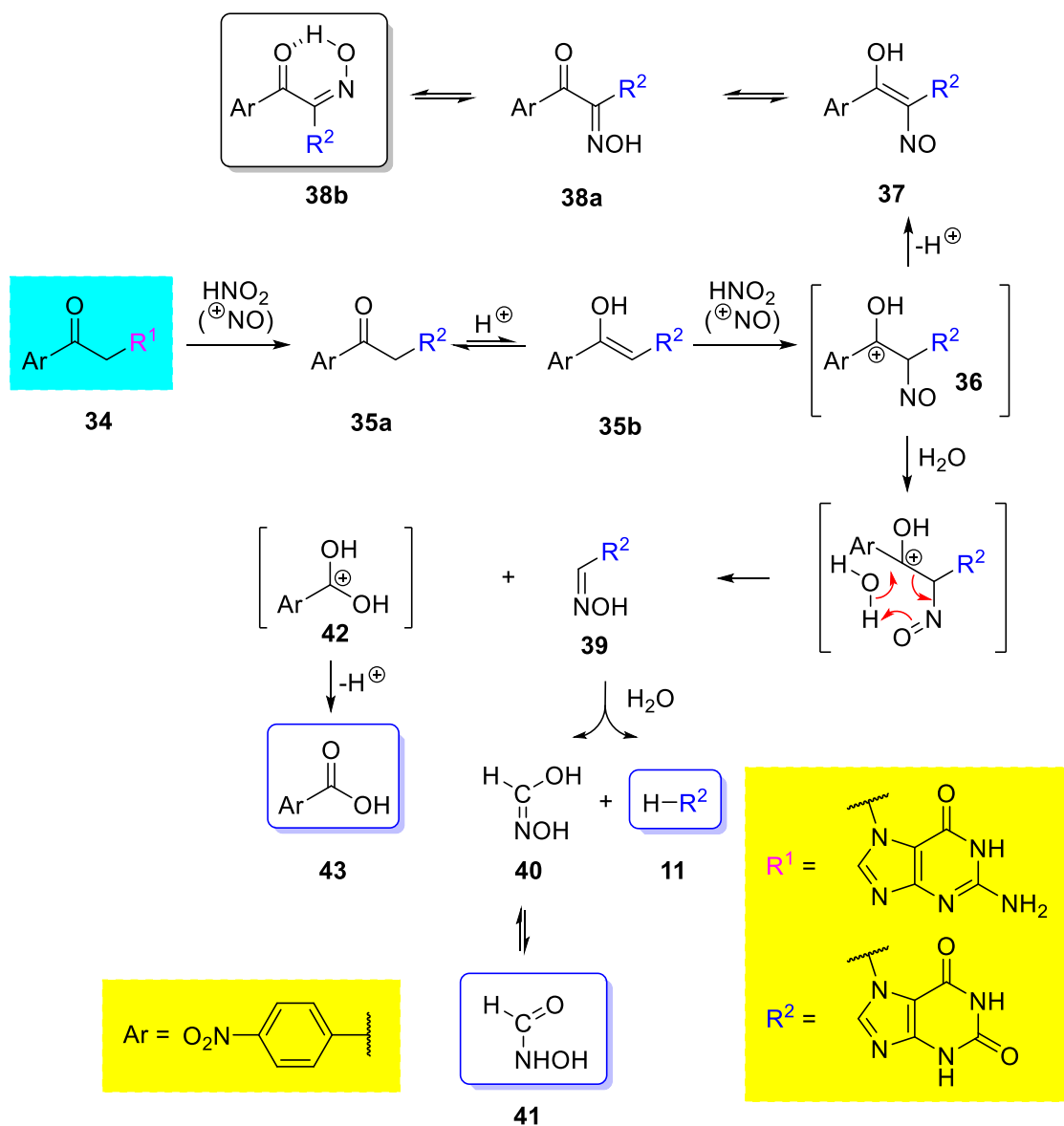
11. ábra. A nitrozálás során kapott vegyület HMBC NMR spektruma (valószínűsített szerkezet: **38b**)



12. ábra. A nitrozálás során kapott vegyület ¹H NMR spektruma (valószínűsített szerkezet: 38b)

A második reakcióban a redukció során megismert eredményeket használtuk fel. Vizes TFA-ban nátrium-nitritet használva a VRK lap alapján a korábban izolált C-nitrozovegyület (37)/oxim (38a/38b) mellett egy teljesen eltérő polaritású anyag keletkezett. MS és NMR vizsgálatok alapján a kapott anyagunk 4-nitrobenzoesav (43), ami a karbonilcsoport mellett C-nitrozo/oximcsoportot tartalmazó vegyületek esetében ismert fragmentációs reakció.¹⁹

A 13. ábrán feltüntetett fragmentációs reakció három terméke (xantin, **11**; *N*-hidroxiformamid, **41**; 4-nitrobenzoesav, **43**) közül a 4-nitrobenzoesavat (**43**) tudtuk izolálni.



13. ábra. **34** vegyület diazotálása során képződő termékek képződésének lehetséges magyarázata

V. Kísérleti rész

Szintézisekhez a használt reagensek és oldószerek kereskedelmi forgalomból származtak (Sigma-Aldrich, Molar, VWR).

A ^1H - és ^{13}C -NMR spektrumok felvétele Bruker DRX 500 és Bruker Ascend Sample Jet készülékekkel történt, oldószerként DMSO- d_6 -ot és acetonitril- d_3 -t használtunk.

A tömegspektrumokat Waters Aquity SQD készüléken vettük fel elektrospray ionforrással.

A reakciók lefutását vékonyréteg-kromatográfiával követtük, Kieselgel 60 (Merck), 0.2 mm vastagságú lapokat használtunk.

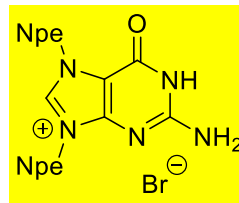
VRK: CH_2Cl_2 : MeOH = 9:1/8:2; Hx:EtOAc = 9:1/8:2 összetételű elegyek.

Az UV-aktív vegyületeket 254 nm hullámhosszúságú UV-fényben vizsgáltuk.

A reakciótermékek oszlopkromatográfiás elválasztása és tisztítása 40-63 μm szemcseméretű Kieselgel 60 (VWR) álló fázissal töltött oszlopon történt.

A. 2-Amino-7,9-bisz[2-(4-nitrofenil)etil]-6-oxo-6,7-dihidro-1H-purin-9-ium-bromid (32)

100 cm³-es gömblombikba bemértem 2,00 g (7,061 mmol) guanozin-hidrátot, ehhez hozzáadtam 17 mL DMF-et, ezt homogenizáltam, ekkor tejszerű elegyet kaptam. Hozzáadtam 1,624 g (7,061 mmol, 1ekv.) 2-(4-nitrofenil)etil-bromidot. 80 °C-on 24 órán át kevertettem, golyóshűtőre szerelt CaCl₂-os cső mellett. A hőmérsékletet 24 óra után 110 °C-ra emeltem majd 55 perc után levettem az elegyet. Hozzáadtam 3 mL cc. HBr oldatot, és egy hétre hűtőbe helyeztem kristályosodni. Az anyalúgból sárga kristályok váltak ki. A kész terméket szűrtem, acetonnal mostam. 0.230 g (12,3%).

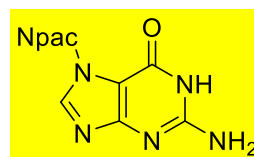


ESI-MS: 450.4, [M]⁺ (C₂₁H₂₀N₇O₅⁺, számított molekulatömeg: 450.434).

¹³C NMR (126 MHz, acetonitril-d₃) δ ppm 34,85; 36,02; 46,49; 50,37; 108,04; 124,53; 130,80; 137,70; 145,20; 145,41; 146,03; 147,84; 147,89; 151,12; 156,57.

B. 7-(4-Nitrofenacil)guanin (34)

250 cm³-es gömblombikba bemértem 5,00 g (17,65 mmol) guanozin-hidrátot, hozzáöntöttem 100 mL DMF-et és kevertettem 70 °C-on. Majd hozzáadtam 4,35 g (17,82 mmol, 1 ekv.) 4-nitrofenacil-bromidot. A reakció kezdetben halványsárga heterogén rendszer, 40 perc-1 óra után (diszperzitástól függően) kitisztul és homogén lesz, majd színe mélyül, előbb citromsárga, narancssárga, rozévrös majd vérvörös lesz az elegy. ~5 óra után pedig megindul a szilárd anyag kiválása. A reakció 24 óráig megy. Ekkor a hozama ~35%. A kivált anyagot szűrtem, acetonnal mostam. A kapott anyag citromsárga por. 1,747 g (35%).

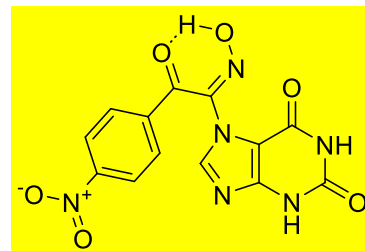


ESI-MS: 315,3 [M+H]⁺; 629,4 [2M+H]⁺; 943,6 [3M+H]⁺.

¹³C NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 53,31; 108,97; 124,57; 129,97; 139,32; 144,34; 150,90; 153,29; 155,09; 160,08; 193,00.

C. (E)-[1-(2,6-Dioxo-1,2,3,6-tetrahydro-7H-purin-7-il)-2-(4-nitrofenil)-2-oxoetilidén](hidroxi)-λ⁵-azanilidén (38b)

100 mL-es gömblombikba bemértem 1,00 g (3,18 mmol) 7-(4-nitrofenacil)guanint, ehhez adtam 20,2 mL 98%-os ecetsavat, 2,2 mL desztillált vizet és 1 órán keresztül 120 °C-on erőteljesen kevertettem. Az elegy ekkor egy sárga heterogén rendszer volt. Ezt követően megvártam, amíg az



elegy lehűl 50 °C-ra és az elegyhez óvatosan részletenként hozzáadtam 2,2 mL vízben oldott 0,9025 g (13,08 mmol, 3.6 ekv.) NaNO₂-et. Ekkor barna nitrózus gőzök fejlődése közben végbement egy exoterm reakció. Ezt követően az elegyet szobahőmérsékleten kevertettem 24 órán keresztül, közvetlenül anyagkiválást tapasztaltam. Az anyag tejeskávés színű por. 0,611 g (56%).

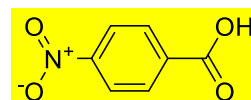
ESI-MS: 345,0573, [M+H]⁺ (C₁₃H₉N₆O₆⁺, számított molekulatömeg: 345,05836, ΔM: -1,5 ppm).

Egy- és kétdimenziós NMR-spektrumok: 11. és 12. ábra.

D. 4-Nitrobenzoésav (43) keletkezése

100 mL-es gömblombikba bemértem 0,50 g 7-(4-nitrofenacil)guanint.

Ehhez hozzáöntöttem 1 mL desztillált vizet és 10 mL trifluoecetsavat, szobahőmérsékleten kevertettem egy órán át. Majd óvatosan



hozzáadtam 1,5 mL desztillált vízben oldott 0,451 g (6,536 mmol; 5 ekv.) NaNO₂-et. Szintén barna nitrózus gőzök keletkezésével jár a folyamat. A kiindulási elegy színe sötétbarna, a NaNO₂ hozzáadását követően pedig mocsárszöld lesz. Az elegyet szárazra pároltam, majd vízzel eldörzöltem. Szűrtem vízzel mostam, a kapott anyag narancssárga por. 0,169 g (63%)

ESI-MS: 166,0 [M-H]⁻; 280,0 [M+CF₃COO⁻]; 302,0 [M-H+CF₃COONa]; 333,1 [2M-H]⁻.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 8.15 (d, J=8.70 Hz, 2 H, H-2, H-6); 8.30 (d, J=8.70 Hz, 2 H, H-3, H-6); 13.56 (széles s, 1 H, COOH).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 124.14 (C-3, C-5); 131.13 (C-2, C-6); 136.82 (C-1); 150.47 (C-4); 166.24 (COOH).

VI. Összefoglalás

TDK munkám során a guanozint alkileztem 2-(4-nitrofenil)etil- és 4-nitrofenacil-csoportokkal, amelyek védőcsoportként funkcionálnak a kapott vegyületek xantinná történő átalakítása után az utóbbi alkilezéséhez és glikozilezéséhez. Ezek a tervezett átalakítások kvadruplexképzéshez alkalmazható 3-szubsztituált xantinok szintézisét tűzték ki célul.

A kutatócsoport korábban végrehajtott hasonló alkilezési körülményeket módosítottam. A 2-(4-nitrofenil)etil-bromiddal végzett alkilezés során melléktermékként egy kétszeresen alkilezettkvaterner ammónium-só képződése játszódott le.

A 4-(nitrofenacil)-bromiddal végzett alkilezés során a guanozin rossz oldhatóságát, illetve a reagens csökkent reakciókészségét tapasztaltuk. A folyamat hozama alacsony lett, ami a termolízis során keletkező feltételezett polimer bomlástermékek keletkezésével, így azok izolálást nehezítő hatásával magyarázható. Ezzel a módszerrel 7-[4-(nitrofenacil)]-guanint állítottam elő.

Az alkilezést követő diazotálás/nitrozálás nem csak a várt xantint, hanem egy további reakcióban az oldalláncban szubsztituált oxim vagy C-nitrozo xantinvegyületet eredményezi NMR-vizsgálatok alapján, ennek a vegyületnek a további szerkezetvizsgálata röntgenkristallográfiás módszerrel folyamatban van. Amennyiben a diazotálás/nitrozálás reakcióját szobahőmérsékleten trifluorecetsav jelenlétében végeztük, fragmentációt figyeltünk meg, ami 4-nitrobenzoésavat eredményezett. Mindez arra utal, hogy a tervezett guanin $\rightarrow$ xantin átalakítást csak akkor tudjuk elvégezni, ha a 4-(nitrofenacil)-csoportot redukcióval 2-(4-nitrofenil)etil-csoporttá alakítjuk a guaninszármazékban.

Emellett új és hasznos információ, hogy a rossz oldhatóságú guaninvegyületek fluortartalmú oldószerekkel oldhatók.

A jövőben a xantinná alakítás optimalizálását tervezem vizsgálni a korábbi eredményeim alapján. Összességében nagyon hasznos és korszerű szerves preparatív kémiai munkában vehettem részt ebben az egy évben, és remélem, az eredményeim hasznosak lesznek a témával foglalkozó más kutatóknak is.

VII. Irodalomjegyzék

- (1) Antus, S.; Mátyus, P. *Szerves kémia*; Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest, 2005.
- (2) Adams, Roger L. P.; Knowler, J. T.; Leader, D. P. *The biochemistry of the nucleic acids*; Chapman and Hall, New York, 1992.
- (3) Steed, J. W.; Atwood, J. L., Eds. *Supramolecular Chemistry*, 3rd; John Wiley and Sons, 2022.
- (4) Blackburn, G. M.; Egli, M.; Gait, M. J.; Watts Jonathan K., Eds. *Nucleic Acids in Chemistry and Biology*, 4th; Royal Society of Chemistry, 2022.
- (5) a) Sugimoto, N. *Chemistry and biology of non-canonical nucleic acids*; Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2021; b) Spiegel, J.; Adhikari, S.; Balasubramanian, S. *Trends Chem.* **2020**, 2, 123–136;
- (6) Stefan, L.; Monchaud, D. *Nature Reviews Chemistry* **2019**, 3, 650–668.
- (7) Szolomájer, J.; Paragi, G.; Batta, G.; Fonseca Guerra, C.; Bickelhaupt, F. M.; Pádár, P.; Kupihár, Z.; Kovács, L. *New J. Chem.* **2011**, 35, 476–482.
- (8) Ferenc, G.; Pádár, P.; Szolomájer, J.; Kovács, L. *Curr. Org. Chem.* **2009**, 13, 1085–1135.
- (9) Ferenc, G.; Forgó, P.; Kele, Z.; Kovács, L. *Collect. Czechoslov. Chem. Commun.* **2005**, 70, 85–102.
- (10) Hijiya, T.; Yamashita, K.; Kojima, M.; Uchida, Y.; Katayama, S.; Torii, T.; Shiragami, H.; Izawa, K. *Nucleos. Nucleot.* **1999**, 18, 653–654.
- (11) Bridson, P. K.; Richmond, G.; Yeh, F. *Synth. Commun.* **1990**, 20, 2459–2467.
- (12) Pfleiderer, W. *Curr. Protoc. Nucleic Acid Chem.* **2007**, Chapter 2, Unit 2.13.
- (13) Szabó, R. L. Xantinszármazékok előállítása és vizsgálata. M. Sc. diplomamunka, Szegedi Tudományegyetem, Szeged, 2019.
- (14) Khlebnikov, A. F.; Tomashenko, O. A.; Funt, L. D.; Novikov, M. S. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, 12, 6598–6609.
- (15) Cueva, J.; Nichols, D. *Synthesis* **2009**, 715–720.
- (16) a) Pilipenko, A. S.; Mel'chin, V. V.; Trushkov, I. V.; Cheshkov, D. A.; Butin, A. V. *Tetrahedron* **2012**, 68, 619–627; b) Butin, A.; Tsiunchik, F.; Abaev, V.; Zavodnik, V. *Synlett* **2008**, 1145–1148;
- (17) Durieux, S.; Chanu, A.; Bochu, C.; Audinot, V.; Coumailleau, S.; Boutin, J. A.; Delagrangé, P.; Caignard, D. H.; Bennejean, C.; Renard, P.; Lesieur, D.; Berthelot, P.; Yous, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, 17, 2963–2974.
- (18) Tébéka, I. R. M.; Longato, G. B.; Craveiro, M. V.; Carvalho, J. E. de; Ruiz, A. L. T. G.; Silva, L. F. *Chem. - Eur. J.* **2012**, 18, 16890–16901.
- (19) a) Leis, J. R.; Peña, M. E.; Williams, D. L. H.; Mawson, S. D. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1988**, 157–162; b) Iglesias, E. *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 6583–6594; c) Williams, D. L. H. *Nitrosation Reactions and the Chemistry of Nitric Oxide*, 2004;

VIII. Köszönetnyilvánítás

Nagyon nagy hálával és köszönettel tartozom Kovács Lajos tanár úrnak, aki mindig nagy energiát és sok időt, figyelmet fordított a tudományos diákköri tevékenységre. Ezen felül szeretném megköszönni Kupihár Zoltánnak és Jámbor Csillának a munkáját és a rengeteg segítségét.