

UNIVERZITA KARLOVA
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Iryna Listakhava

**PŘÍPRAVA NUKLEOSIDŮ MODIFIKOVANÝCH NA
BÁZI I CUKRU**

Synthesis of nucleosides with modified nucleobase and sugar

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: prof. Ing. Michal Hocek, CSc., DSc.

Praha 2019

Tato práce byla vypracovávána na Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR v.v.i., v Praze, od října 2017, do července 2019.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědom toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 14. srpna 2019

Podpis

Abstrakt

V této bakalářské práci byly připraveny dvě série nukleosidů modifikovaných na cukru i bázi, které jsou potenciálně aktivní proti *Mycobacterium tuberculosis*. K dosažení výsledků byla optimalizována a použita nová one-pot metoda syntézy modifikovaných nukleosidů nevyžadující chránicí skupiny – přímá glykosylace, a cross-couplingové reakce.

Klíčová slova

Nukleosidy, deazapuriny, sacharidy, nukleobáze, glykosylace, cross-coupling reakce

Abstract

Two series of nucleosides modified on both sugar and base was prepared in this bachelor thesis. These ones are potentially active against *Mycobacterium tuberculosis*. In order to achieve these results a new one-pot protecting group-free strategy was optimized and used together with direct glycosylation, and cross-coupling reaction.

Keywords

Nucleosides, deazapurines, sugars, nucleobase, glycosylation, cross-coupling reaction

Seznam zkratek

ADDP – 1,1'-(azodikarbonyl)dipiperidin

ADK – adenosin kináza

angl. – anglicky

BSA – bis(trimethylsilyl)acetamid

Bz – benzyl

CHX – cyklohexan

DCE – dichlorethan

DCM – dichlormethan

DEAD – diethylazodikarboxylát

DMC – 2-chloro-1,3-dimethylimidazolinium chlorid

DMF – dimethylformamid

EA – ethylacetát

ekv. – ekvivalent

HCV – virus hepatitidy C

HPFC – vysokoúčinná kolonová chromatografie

IC₁₀₋₉₀ – koncentrace inhibující 10-90% aktivity enzymu

IC₅₀ – poloviční inhibiční koncentrace látky (koncentrace způsobující 50 % inhibici daného parametru)

kat. – katalyzátor

konc. – koncentrovaný

L – ligand

MIC – minimální inhibiční koncentrace

Mtb – Mycobacterium tuberculosis

n% – molární procent

NB – nukleobáze

NIS – *N*-iodosukcinimid

NP – normální fáze

Nu – nukleofil

PPh₃ – trifenylfosfin

rozp. – rozpouštědlo

RP – reverzní fáze

TBC – tuberkulóza

THF – tetrahydrofuran

TMSOTf – trimethylsilyltri-flát

Tol – p-methylfnyl

TPPTS – Trifenylfosfin-3,3',3''-trisulfonové kyseliny trisodná sůl

Ts – p-toluensulfonyl

Poděkování

Chtěla bych poděkovat svému školiteli, prof. Michalovi Hockovi za možnost pracovat v jeho výzkumné skupině, za vedení a cenné rady v řešení největších problémů vzniklých v průběhu práce. Také velké a upřímné poděkování patří mému supervizorovi Matouši Krömerovi za neuvěřitelnou trpělivost a hodnost při vedení, za pomoc, poučení a optimismus ve složitých chvílích. Dále musím poděkovat všem členům laboratoře za rady a pomoc, Lence Slavětínské-Poštové za NMR spektra a jejich interpretaci. Posledním v řadě ale neposledním v důležitosti chci poděkovat své mamince za podporu ve studiu daleko od domova, a svým kamarádům za pěknou studijní atmosféru, podporu a vtipy.

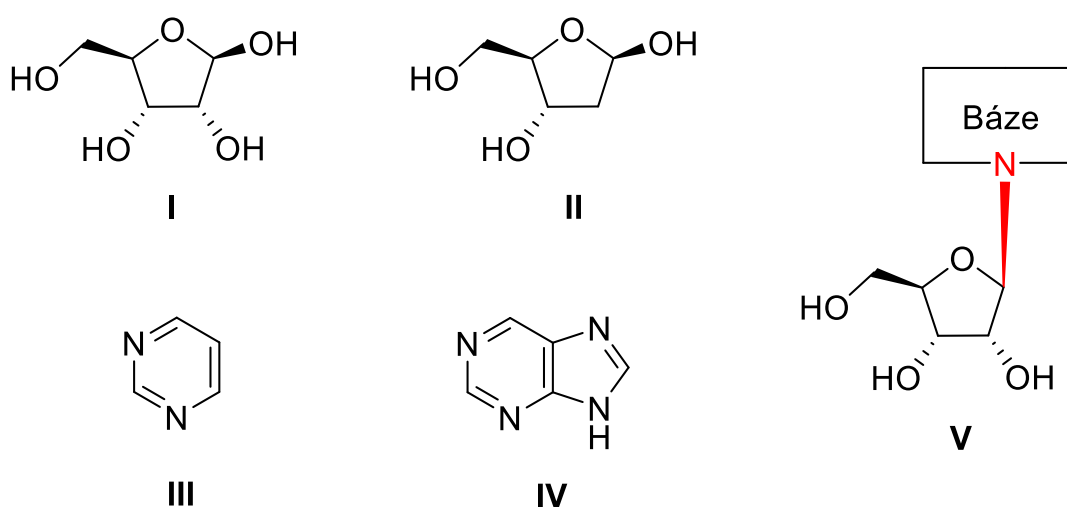
Obsah

1. Úvod.....	- 9 -
1.1. Nukleosidy	- 9 -
1.2. Použití v medicíně	- 9 -
1.2.1. Obecný mechanismus účinku	- 10 -
1.2.2. Design nukleosidových antibiotik	- 11 -
1.2.3. Syntetické nukleosidy a adenosin kináza	- 12 -
1.2.4. Výsledky modifikace na adeninu	- 13 -
1.2.5. Výsledky modifikace na ribóze	- 15 -
1.3. Strategie syntézy nukleosidů	- 17 -
1.3.1. Vorbrüggenova varianta Hilbert-Johnsonove reakce	- 17 -
1.3.2. Další metody vyžadující chránicí skupiny	- 18 -
1.3.3. Metody glykosylace bez použití chránících skupin.....	- 19 -
1.3.4. Přímá „protecting group-free“ glykosylace	- 20 -
1.4. Další metody modifikace nukleosidů a jejich částí	- 21 -
1.4.1. Nukleofilní substituce.....	- 21 -
1.4.2. Cross-coupling reakce	- 22 -
2. Cíle práce	- 26 -
3. Výsledky a diskuze	- 28 -
3.1. Předglykosylační modifikace.....	- 28 -
3.1.1. Příprava báze	- 28 -
3.1.2. Příprava cukrů	- 29 -
3.2. Glykosylace	- 31 -
3.3. Další úpravy.....	- 32 -
4. Závěr	- 35 -
5. Experimentální část.....	- 36 -
5.1. Obecné poznámky.....	- 36 -
5.2. Syntéza výchozích sloučenin	- 37 -
5.3. Glykosylace a aminace	- 39 -
5.4. Syntéza finálních látek.....	- 40 -
6. Seznam použité literatury	- 49 -

1. Úvod

1.1. Nukleosidy

Nukleosidy jsou důležité nízkomolekulární přírodní organické látky. Chemicky jsou glykosidy heterocyklických bází, složenými z pětiuhlíkatých sacharidů D-ribózy (**I**) nebo deoxy-D-ribózy (**II**) a dusíkatých purinových (**III**) nebo pyrimidinových (**IV**) bází (**Obrázek 1**). Vazba mezi bází a cukrem má kovalentní charakter, je odolná vůči alkalickému (ale ne kyselému) štěpení a nazývá se β -*N*-glykosidická (**V**, **Obrázek 1**)^[1].



Obrázek 1. Složky nukleosidů (**I-IV**) a znázornění β -*N*-glykosidické vazby (**V**).

Biologická role nukleosidů se především vztahuje k jejich fosforylaci a vytvoření nukleotidů, stavebních bloků, ze kterých se syntetizuje RNA a DNA přenášející genetickou informaci^[1]. Ale tohle není jediná jejich funkce. Nukleosidy buď to endogenního, nebo exogenního původu (přijaté s potravou) zúčastní mnoha biochemických reakcí, ovlivňují téměř všechny systémy a procesy v organismu (imunitní, metabolické atd.), a proto jsou zajímavé jak z hlediska biochemie, tak i pro medicínu^[2].

1.2. Použití v medicíně

Jelikož přírodní nukleosidy hrají v lidském organismu důležitou roli při replikaci

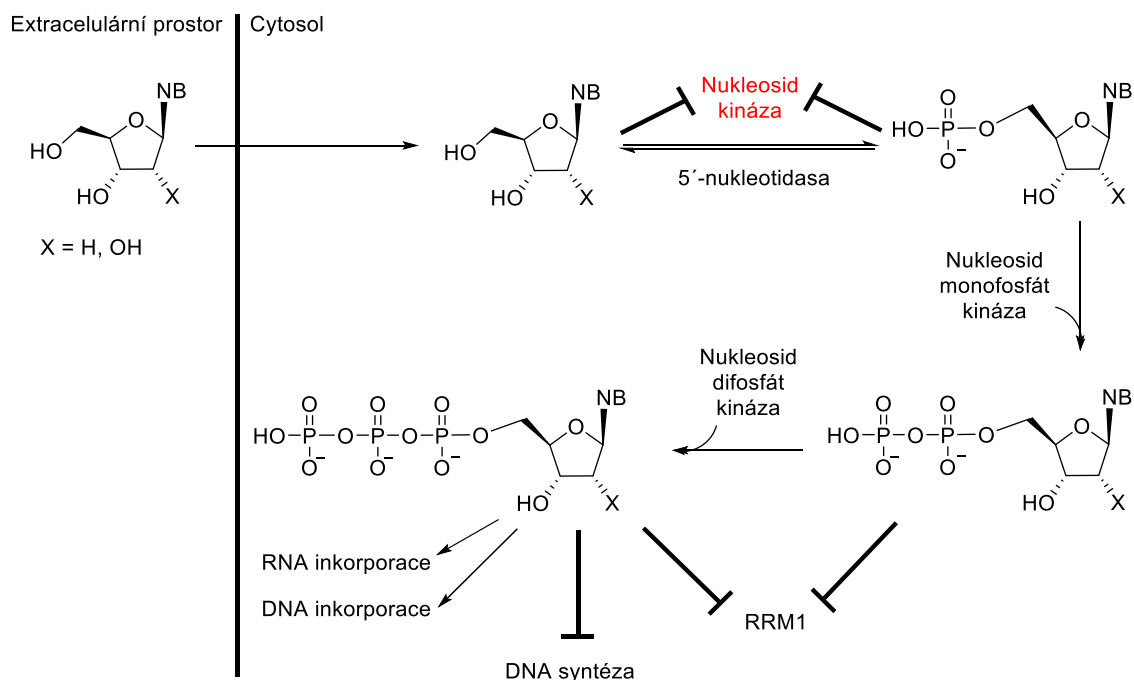
genetické informace a regulaci vnitřních procesů, cestou chemických modifikací nukleosidů lze tyto procesy cíleně ovlivňovat. Z medicinského hlediska tato modifikační možnost přináší řadu potenciálních benefitů, mezi které patří především léčba nádorových onemocnění a antivirová terapie. Modifikované syntetické nukleosidy soutěží s přírodními nukleosidy, zapojují se do replikačních procesů v nádorových buňkách anebo v buňkách infikovaných virem a tak mohou inhibovat množení buněk a virů. Jinou důležitou cestou, jak analogy mohou ovlivnit organismus, je inhibice nebo interakce s esenciálními enzymy: lidskými a virovými polymerázami, kinázami, DNA methyltransferázami, fosforylázami^[3].

V současné lékařské praxi se používá víc než 30 léčivých přípravků s nukleosidy (případně nukleotidy) jako aktivní látkou, a hodně dalších je ve stadiu preklinických a klinických testů. Tato léčiva jsou úspěšně využívána při léčbě nádorových onemocnění, některých nemocí vyvolaných virem (např. HIV, hepatitidy B a C, herpes, chřipka, cytomegalovirus, varicella-zoster virus, lidský respirační syncyziální virus, papillomavirus^[4]), a také bakteriálních, parazitárních a houbových infekcí^[5].

1.2.1. Obecný mechanismus účinku

Mechanismus účinků nukleosidových analogů spočívá v následném: molekula vniká do cytoplasmu buňky pomocí specifických transportérů, Concentrative nucleoside transporters (CNT; SLC28) a Equilibrative nucleoside transporters (ENT)^[6], kde ji postupně vážou nukleosid kináza, nukleosid monofosfát kináza a nukleosid difosfát kináza (nebo některé jiné enzymy) a katalyzují fosforylaci na 5'-hydroxylové skupině (**Obrázek 2**)^[3,7]. Ve výsledku se v buňce začínají hromadit di- a trifosfáty, které mohou jak inhibovat klíčové enzymy v replikačním procesu (polymerázy a ribonukleotid reduktázy), tak i zastavovat proces elongace řetězce DNA, čímž vyvolávat nárůst počtu mutací a výslednou apoptózu buňky^[3].

Na základě výše označeného lze také shrnout, že samotné nukleosidy a jejich analogy mohou být jak léčivem, tak i prodrugs^[3].



Obrázek 2. Mechanismus účinku nukleosidových analogů^[3].

RRM1 je ribonukleotid reduktáza M1, klíčový enzym v metabolismu nukleosidů, který může být inhibován di- a trifosfáty. Zároveň začleněním nukleosid-3-fosfátu do DNA/RNA může být inhibována DNA syntéza.

1.2.2. Design nukleosidových antibiotik

V říjnu 2018 Světová zdravotnická organizace zveřejnila zprávu s novou statistikou ohledně tuberkulózy (TBC). V soulasu s tím, TBC je stále jednou z 10 nejčastějších příčin smrti ve světě, na ni v roce 2017 zemřelo průměrně 1,3 milióny lidí, a nově diagnostikováno bylo přibližně 10,0 miliónu onemocnění. Situaci komplikují růst bakteriální multiresistence a koinfekce s HIV (hlavně v rozvojových zemích), proto je nutné provádět víc studií a vymýšlet nové možné cesty léčby a nové léky^[8].

Jednou z možných cest jsou modifikované nukleosidy. V případě *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), použití již existujících nenukleosidových léčiv je kvůli mechanismu jejich účinku komplikované u některých pacientů, například HIV pozitivních nebo diabetiků. Dalším důležitým negativním rysem je, že jen velmi málo léčiv může ovlivnit latentní formu TBC^[9]. S výběrem nukleosidů v roli působící látky, lze zasáhnout nejen reprodukci, ale i biochemickou podstatu života bakterie.

Klíčovým aspektem v designu nukleosidových analogů je předpoklad o odlišnosti

bakteriálního a lidského enzymatického vybavení. Pomocí této znalosti lze vybrat potenciální cíle, zaměřením na které je možné dosáhnout maximální odpovědi ze strany bakteriální buňky (tj. baktericidní anebo bakteriostatický efekt), aniž by došlo k poškození buněk pacienta. Takovým cílem byl v sérii prací naší laboratoři^[10-12] včetně této vybraný enzym bakteriální adenosin kináza.

Jelikož jde o enzymy, hodně faktorů (např. tvar molekuly, vodíkové vazby) má vliv na rozpoznávání a možnost interakce aktivního místa s nukleosidem, což je nutné uvažovat při modifikacích^[5]. Nukleosidy se obecně mohou modifikovat jak na cukru, tak i na bázi, anebo na obou dohromady. K cukerným úpravám patří (de)hydroxylace, saturace, otevření cyklu, methylace a halogenace. Purinové a pyrimidinové báze se obvykle halogenují, (de)azotují nebo konjugují přes dusík^[3].

1.2.3. Syntetické nukleosidy a adenosin kináza

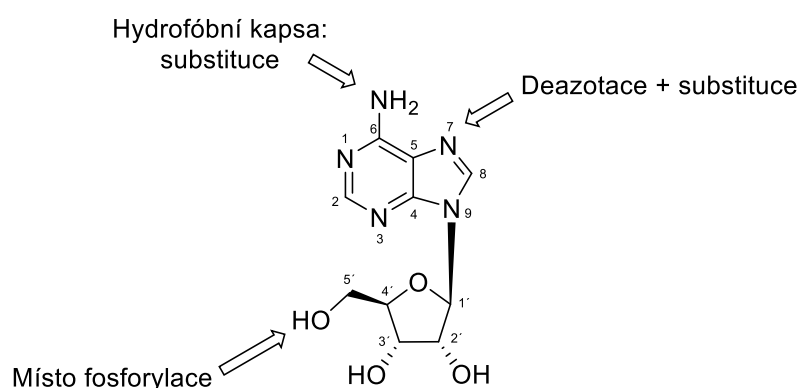
Adenosin kináza (ADK) je jeden z enzymů působících při biosyntéze purinových nukleotidů a je důležitý pro jejich metabolismus. ADK katalyzuje fosforylaci adenosinu na adenosin monofosfát za použití jako substrátu ATP^[7]. Tento enzym lze potkat skoro ve všech druzích organismů (eukaryota, rostliny, houby, parazity), ačkoliv se ADK zřídka vyskytuje u prokaryot^[13]. Inhibice ADK má široký potenciál pro farmakologii a medicínu. Např. u parazitických auxotrofních organismů postrádajících syntézu purinů *de novo*, (jako *Toxoplasma gondii*) aktivita ADK je jediným zdrojem purinových nukleotidů, a proto její inhibice vede k usmrcení parazitu^[14].

Bakterie, včetně *Mycobacterium tuberculosis* na rozdíl od *T. gondii* umí syntetizovat nukleotidy *de novo*, z jednoduchých molekul aminokyselin a bikarbonátu. Ale výjimečnost mykobakterii spočívá v tom, že ona má i záchrannou cestu syntézy nukleotidů, tzn. z meziproductů degradace DNA a RNA (báze a nukleosidy), ve které mimo jiné působí ADK^[13,15]. Jak bylo prokázáno, její biochemická příbuznost s lidskou ADK (*hADK*) je malá^[16-18]; isoforma *Mtb* ADK je zcela specifická: aminokyselinová sekvence je více podobná ribokinázám, její kvarterní strukturou je homodimer místo standardního monomeru, a aktivace enzymu neprobíhá za přítomnosti anorganického fosfátu, ale draslíku^[18]. Bez ohledu na cestu *de novo*, ADK je nezbytná pro život bakterie^[19].

Jedním z nejvýznamnějších nukleosidových analogů s antituberkulózní aktivitou

lze nazvat 2-methyladenosin, který má MIC na úrovni 3 $\mu\text{g/ml}$ a je příkladem prodrugu, jehož toxický pro bakterii efekt je vyvolán fosforylovaným metabolitem^[20]. Lidská a Mtb ADK mají různou afinitu k 2-methyladenosinu, z čehož vyplynul předpoklad o rozdílech v substrátovém vazebném místě enzymu^[21]. Doplnkově ke krystalografickým studiím ADK v předchozích letech byly syntetizovány a otestovány stovky analogů nukleosidů, které by mohly být substrátem a inhibítorem selektivně pro mykobakteriální adenosin kinázu (oproti lidské). Například, řada studií udává, že 7-deazapuriny mohou inhibovat aktivitu adenosin kinázy, a 7-(het)aryl-7-deazapurin ribonukleosidy jsou většinou výbornými inhibitory (IC_{50} v rozsahu mikromolů) výhradně pro Mtb, ale ne pro lidskou ADK^[11]. Z nich a dalších výzkumů lze odvodit některé zákonitosti o tom, jaké modifikace jsou preferovány Mtb ADK.

V jedné velké studii^[13,22] vztahů mezi strukturou a aktivitou bylo prozkoumáno přes 80 analogů adenosinu. V první části se modifikace prováděly na purinu, ve druhé na ribóze a poté se testoval vliv těchto úprav na aktivitu mykobakteriální ADK (**Obrázek 3**); nejlepší analoga se testovaly také na lidské ADK.



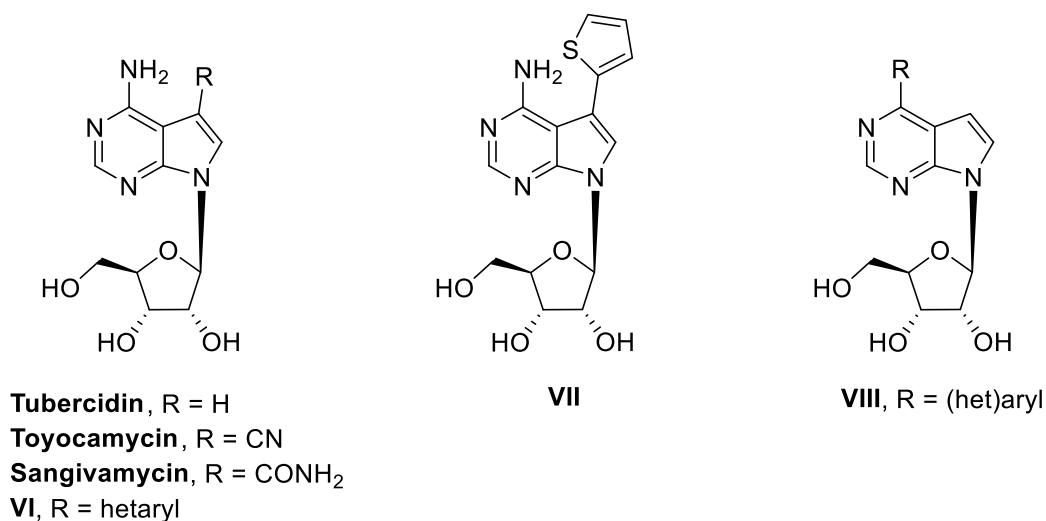
Obrázek 3. Některé významné polohy modifikace adenosinu.

1.2.4. Výsledky modifikace na adeninu

Substituce v pozici N^7 vede k drastickému snížení aktivity oproti adenosinu pro Mtb ADK, ale látky s touto modifikací jsou výbornými substráty pro lidskou ADK. Inhibiční efekt je opačný: slabý pro *h*ADK, ale slibný pro Mtb ADK. Exocyklická modifikace malými substituenty v poloze C^2 poskytuje výborné substráty a dobré inhibitory (IC_{10-90} 1-100 μM) pro Mtb ADK, přičemž jsou preferovány malé skupiny; podobně platí pro

hADK^[22,23]. Obzvláště je třeba označit, že pokud substituentem je fluor (i v kombinaci s jinými úpravami), látky poskytují vyšší specifitu pro *Mtb*. Dusík v poloze 3 je velice důležitý pro rozpoznání substrátu enzymem (vodíková vazba) a proto nemůže být endocyklicky substituován bez další substituce. Pozice 8 a *N*⁹ z hlediska substrátové a inhibiční aktivity vykázaly průměrné výsledky^[22].

Nejzajímavějších výsledků bylo dosaženo substitucí v polohách 6 a 7. Ačkoliv 6-NH₂ skupina je preferována, lidská a mykobakteriální ADK mají velký rozdíl v substrátové specifitě pro 6-substituované analogy adenosinu: pro *hADK* jejich aktivita je na stejném nebo i vyšším úrovní než u adenosinu, pro *Mtb* aktivita značně klesá. U inhibičních schopností platí opačné; nejlepšími inhibitory jsou látky, u kterých substituent obsahuje elektronegativní atom (O, N, S) a cyklus. Záměnou dusíku za uhlík u adenosinu v poloze 7 dostáváme jeho přírodní analog tubercidin, nalezený u *Streptomyces tubercidicus*, a následující substitucí v též poloze řadu dalších sloučenin (např. přírodní toyocamycin, sangivamycin z *Streptomyces rimosus*), které jsou velice dobrými substráty a inhibitory pro lidskou ADK^[22] (**Obrázek 4**).



Obrázek 4. Příklady 7-dezaadenosinů.

Tubercidin, toyocamycin a sangivamycin jsou také výbornými antibiotiky a antivirovými agenty, cytotoxicky působí proti nádorovým buňkám^[22,24]. V buňkách se tato nukleosidová analoga fosforylují na 5'-*O*-mono-, di- a trifosfáty a začleněním do RNA a DNA způsobují poškození funkcí nukleových kyselin. Tubercidin je inhibítoem proteinové syntézy a S-adenosylhomocystein hydrolázy, vadí mitochondriální respiraci,

posttranskripční úpravě rRNA a methyloaci tRNA, *de novo* syntéze purinů^[25,26]. Toyocamycin inhibuje fosfatidylinositol kinázu a rRNA syntézu a maturaci^[24,27]. Sangivamycin selektivně inhibuje protein kinázu C^[28].

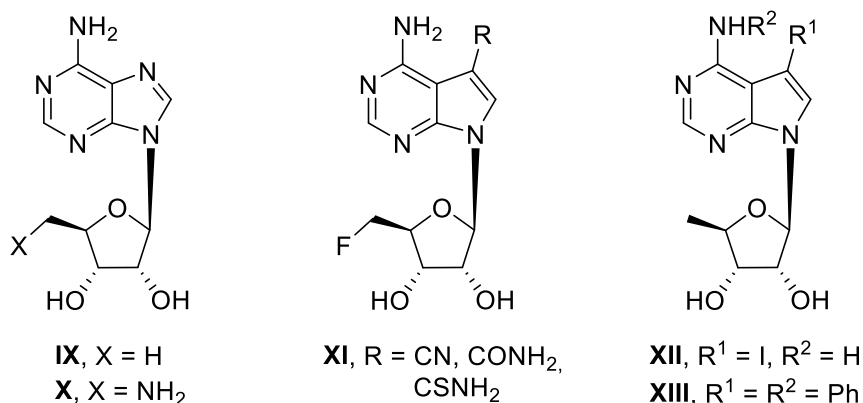
6- A/anebo 7-substituované-7-deazapuriny jsou především většinou excelentními inhibitory pro Mtb ADK^[10,11,22,29], ale projevují i jiné typy aktivit. 7-Hetaryl-7-deazapurinové nukleosidy odvozené od tubercidinu syntetizované v naší laboratoři (**VI**) s menšími substituenty jako furan jsou selektivně cytostatickými a cytotoxickými látkami pro nádorové buňky. Například, nejlepší v této řadě je 7-(2-thienyl)-7-deazaadenosin (**Obrázek 3, VII**) má IC₅₀ řádově v nanomolech; pomocí této látky byl studován mechanismus účinků **VI**. Po fosforylaci (která může efektivně probíhat pouze v nádorové buňce) *ribonukleotid* se inkorporuje přímo do DNA, čímž vyvolává spouštění mechanismů opravy, ale zároveň je substrátem pro polymerázy se zúčastňujících opravných procesu, což vede ve výsledku ke zhoršení situace, tj. dvojitým zlomům DNA. Kromě toho, **VI** může být inkorporován do RNA a tak znemožňuje translaci proteinů^[24]. Výraznou cytotoxicitu mají také 6-(het)aryl- a 6-(het)aryl-7-deazapurinové nukleosidy (**Obrázek 3, VIII**). Zajímavé je, že kombinací s cukernými modifikacemi se cytotoxicita zmíněných nukleosidů snižuje^[25].

Dalším účinkem mnohých **VI** a **VIII** je antivirová aktivita. Například, 6-substituované deriváty toyocamycinu projevují anti-HCV efekt^[25].

1.2.5. Výsledky modifikace na ribóze

Modifikace na cukerné části nukleosidových analogů jsou zodpovědné za fosforylaci a odhalily následující důležité rysy. Mtb ADK preferuje β -D-ribofuranosylovou konformaci (nebo blízké modifikace jako karbocyklický adenosin): L-enantiomery nejsou vůbec rozpoznány aktivním místem enzymu, α nejsou substráty, ale slabé inhibitory, jiné cukry než furany se nefosforylují. Substituce v poloze 2' je špatně tolerována adenosin kinázou, tzn. odvozené látky jsou podprůměrné substráty a inhibitory; stejně platí pro 3' a kombinace substitucí v těchto dvou polohách. Pro 4' kyslík výsledky substituce měli trochu větší rozsah: záměna jiným atomem vede ke značnému snížení substrátové aktivity řádově na nanomoly (kromě substituci uhlíkem), ale inhibiční schopnost je malá. Nejzajímavější a nejperspektivnější polohou modifikací je pozice 5', jelikož jde o místo fosforylace nukleosidu. Substrátová aktivita u těchto analogů je velice malá, ačkoliv pro

Mtb ADK lepší než u lidské. Inhibiční aktivita látek byla lepší než substrátová a specifická jen pro Mtb, čímž poskytla informaci o tom, že enzymy mají odlišná katalytická místa (což bylo potvrzeno studii krystalické struktury^[30]). 5'-Deoxyadenosin (**IX**) a 5'-amino-5'-deoxyadenosin (**X**) prokázaly nejlepší výsledky s IC₁₀₋₉₀ řádově 10 a 1 μM^[13] (**Obrázek 5**).



Obrázek 5. Příklady 5'-substituovaných adenosinových analogů.

Nukleosidové analogy substituované v poloze 5'-C (a nejen) mají také cytotoxické účinky, které jsou ale výrazně menší než u mateřských nukleosidů, což může být prospěšné pro řadu substituovaných 7-deazaadenosinových antivirových^[25]. Některé modifikované atomem fluoru na cukru nukleosidy jsou protinádorovými agenty^[31]. 5'-Deoxy-5'-fluoro deriváty sangivamycinu (**XI**) specificky inhibují protein kinázy A a C působící v regulaci buněčného růstu a diferenciaci. Efektivita inhibice kináz u nefosforylovatelných derivátů sangivamycinu je větší než u fosforylovatelných, ačkoliv u posledních je nespécifická inhibice růstu buněk lepší^[32]. Další zajímavou vlastností pro přírodní 5'-deoxy-5-iodotubercidin (**XII**) a jeho syntetický derivát (**XIII**) je silné myorelaxační účinky^[25].

Závěrem lze říct, že kombinací modifikací v poloze 6- a 7- na bázi a 5'- na cukru u 7-deoxyadenosinu je možné dostat nové deriváty s potenciálně velice zajímavými protinádorovými, antivirovými a antimikrobiálními účinky.

1.3. Strategie syntézy nukleosidů

Chemická syntéza nukleosidů začíná (před)přípravou cukru a báze. Potom následuje jejich coupling – *glykosylace* – mezi anomerním uhlíkem sacharidu (**donor**-elektrofil) a jinou molekulou, resp. bází (**akceptor**-nukleofil)^[33]. Na konci jsou možné i další úpravy produktu. Největší problém nastává obvykle ve stadiu glykosylace, vzhledem k vysoké reaktivitě hydroxylových skupin na pentózách a nutnosti chránit necílové dusíky na bázi^[34]. Existuje dvě základní chemické cesty glykosylace: s použitím nebo bez chránících skupin (angl. protecting group-free), což je strategie používaná zejména pro přípravu *O*-glykosidů^[35].

Dominantní metodou v syntéze nukleosidů s použitím chránících skupin je Vorbrüggenova varianta Hilbert-Johnsonovy reakce. Dalšími více známými možnostmi jsou tavná metoda (angl. fusion method) a Fischerova metoda^[36]. Významnou reakcí se pro rozvoj „protecting group-free“ metod stála reakce Mitsunobu (nebo spíše její podmínky: PPh₃ a DEAD pro substituci sekundárních alkoholů)^[33,37].

Mezi tyto strategie patří nejen chemické, ale i enzymatické metody využívající glykosyltransferasy pro syntézu přírodních a modifikovaných nukleosidů, a také oligosacharidů a glykoproteinů^[33].

Všechny metody mají svoje výhody a nevýhody; ideálním případem by byla stereoselektivní glykosylace bez chránění za neutrálních podmínek s vysokým výtěžkem. Tomuto ideálu se blíží reakce vyvinutá v roce 2015 a byla dále studována v této práci.

1.3.1. Vorbrüggenova varianta Hilbert-Johnsonove reakce

Nejvíce se pro *N*-glykosidy používá Vorbrüggenova reakce navržená Niedballou a Vorbrüggenem v roce 1970. Tato metoda spočívá v couplingu chráněného na všech hydroxylových skupinách cukru (např. acetylovými nebo benzoylovými skupinami) s silylovanou nukleobází v přítomnosti Lewisovy kyseliny (nejčastěji TMSOTf nebo SnCl₄) v acetonitrilu nebo dichlorethanu^[38]. Meziproduktem v reakci je cukerný benzoxoniový donorový iont, který potom reaguje s heterocyklickým akceptorem^[35,39] za vzniku β-*N*-nukleosidu (**Schéma 1**).

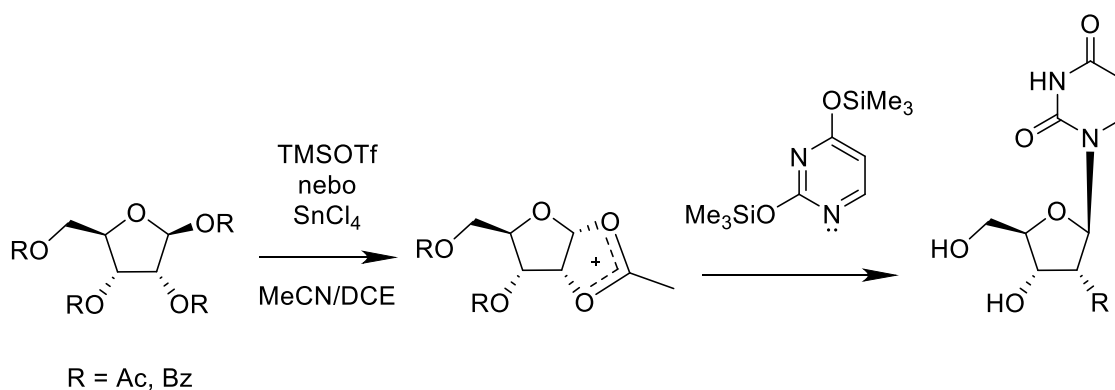


Schéma 1. Obecná schéma Vorbrüggenovy glykosylace

Výhodami této metody jsou stereoselektivita v prospěch β -glykosidů^[35], optimalizovatelnost, dobré až excelentní výtěžky^[40].

Nevýhodami jsou rozsáhlé využití chránicích skupin^[35] (kroky navíc, což výtěžky snižuje), obtížnost zacházení se snadno hydrolyzující silylovanou bází, a v případě použití TMSOTf nutnost stechiometrického množství reagentu (jako kyselina vytváří kyselé prostředí) a také jeho hygroskopičnost^[41].

1.3.2. Další metody vyžadující chránicí skupiny

Fisherova metoda se většinou používá pro syntézu 2'-deoxynukleosidů a spočívá v S_N2 substituci halogenu v chráněné α -halogenose za nukleobázi, používané ve formě kovové (sodíkové) soli^[42] (**Schéma 2**).

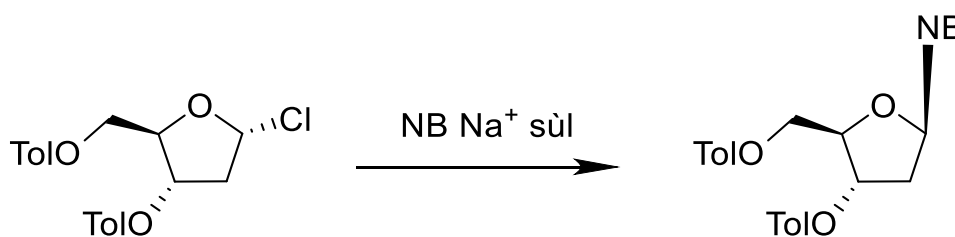


Schéma 2. Fischerova metoda glykosylace.

Výhodou tohoto způsobu je univerzálnost, jednoduchý mechanismus, stereospecifita a dobré až excelentní výtěžky^[42], nevýhodami jsou rozsáhlé využití chránicích skupin^[35] a nutnost předpřípravy halogenosy (relativně nestabilní často komerčně nedostupné sloučeniny, příprava které vyžaduje silně kyselých podmínek, např. proudu chlorovodíku^[43]).

Tavná metoda vyžaduje acetylovaný cukr, který se zahřívá ve vakuu na 150-190 °C s nukleobází (triazoly, pyrazoly) (**Schéma 3**). Je možná přítomnost katalyzátoru, např. jódu, bis(p-nitrofenyl)fosfátu, dibromoctové kyseliny, což má kladný vliv na regioselektivitu reakce^[44].

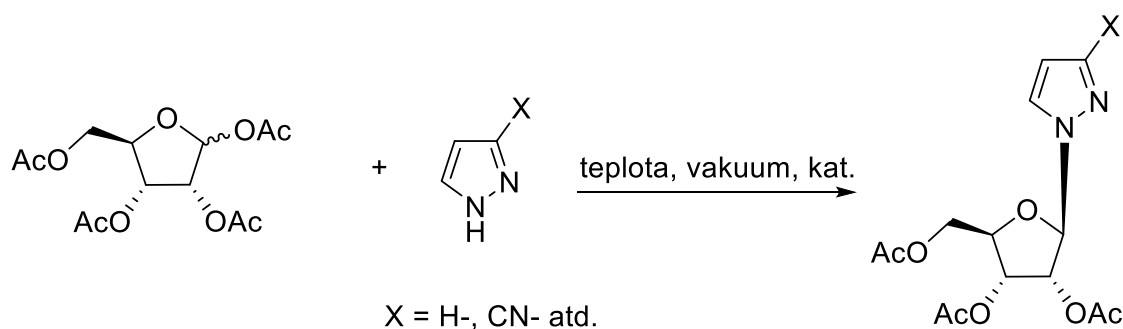


Schéma 3. Tavná metoda glykosylace.

Nevýhodou metody je použití drastičtějších podmínek a malá stereo- a regioselektivita (směs anomerů) jestliže nebyl použit katalyzátor^[44].

1.3.3. Metody glykosylace bez použití chránících skupin

Jak již bylo zmíněno, existuje i jiná principiálně odlišná cesta glykosylace, která nevyžaduje chránění cukerných hydroxylů ani báze. Vychází z relativně staré strategie zakládající se na Fischerově glykosylaci, kdy D-glukóza v prostředí kyseliny chlorovodíkové vytváří s methanolem methyl glykosid (**Schéma 4**)^[33]. Produktem v těchto metodách do nedávna byly pouze jednoduché *O*-glykosidy.

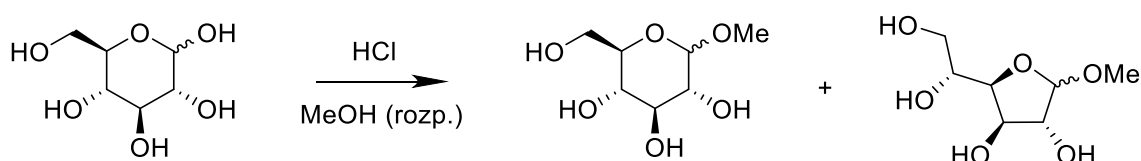


Schéma 4. Fischerova glykosylace.

Tato klasická glykosylace bez chránících skupin vyžaduje silně kyselé podmínky, které mohou být destruktivní pro některé reagenty, ale reakce probíhá chemoselektivně v anomerní poloze^[33]. Novější modifikace této metody typicky používají Lewisovy kyseliny, ale však stále potřebují jejich stechiometrické nebo nadměrné množství^[35].

Z toho vyplývají nevýhody strategie: LA jsou často toxické, reakční časy jsou dlouhé, jsou nutné vysoké teploty. Navíc, těmto podmínkám téměř úplně chybí stereochemická kontrola^[45,46].

Existuje i několik „protecting group-free“ metod (nebo spíš reakcí, vzhledem k jejich specifičnosti) glykosylace za neutrálních podmínek. První v této oblasti byla skupina Grynkiewiczze, kdy z glukózy za Mitsunobu podmínek v nadbytku fenolu připravili β -fenyl glykosid. Dalším významným krokem lze nazvat reakci Mahrwalda (**Schéma 5**). Za přítomnosti organického katalyzátoru v neutrálním prostředí byly z D-ribózy a alkoholů syntetizovány alifatické a benzylové furanosyl glykosidy s výtěžkem 14-77 %^[47]. Problémem těchto metod mimo jejich neúčinnost pro syntézu nukleosidů a velké spotřeby alkoholu v roli rozpouštědla (finančně nevýhodné), je výsledná směs anomerů produktu, a/nebo často se majoritním produktem stává nežádoucí pyranosový regioisomer^[35].

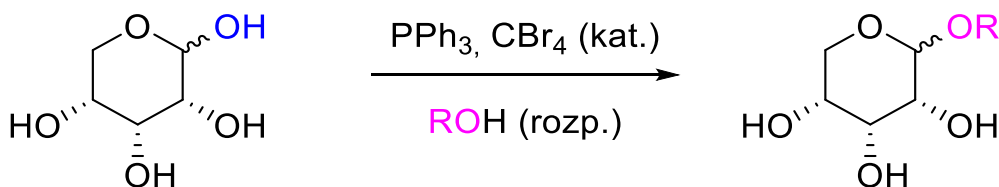


Schéma 5. Katalytická glykosylace Mahrwalda.

Ještě jednou zajímavou chemickou cestou glykosylace (kterou nelze úplně zařadit do „protecting-group free“) je aktivace anomerního centra prováděná jak přímo, tak i nepřímo. Při přímé aktivaci, řada specifických molekul (např., DMC nebo sulfonohydrazidy) selektivně aktivuje anomerní uhlík na cukru a tak umožňuje přímý coupling, čímž snižuje potřebu chránicích skupin při syntéze donoru na minimum. Při nepřímé aktivaci krok glykosylačního couplingu také nevyžaduje chránicí skupiny, ačkoliv donor chránění potřebuje. Výhodou většiny metod této strategie je použití vodního prostředí, nevýhodou je omezenější rozsah použitelných substrátů (poměrně jednoduché molekuly)^[33].

1.3.4. Přímá „protecting group-free“ glykosylace

V této bakalářské práci byla použita nová metoda přímé syntézy nukleosidů z roku

2015, vyvinutá v naší skupině ve spolupráci se skupinou profesora Mahrwalda s cílem optimalizace podmínek a rozšířením použitelnosti jejich metody na β -ribosyl nukleosidy. Daná metoda, založená na Mitsunobu podmínkách, v podstatě nevyžaduje chránění cukru, ačkoliv na 5'-uhlíku mohou být chránicí skupina nebo substituent. Posledním bodem této metody je její použitelnost pro syntézu v preparativním měřítku.

V průběhu studií bylo zjištěno, že 2'-hydroxyl má velký vliv na stereochemii reakce a v podstatě ji kontroluje^[36]. Dalším objevem pro tuto reakci byl ADDP v roli selektivního elektronového akceptoru, který se spolu s tributylfosfinem podílí na skoro kvantitativní konverzi cukru na relativně stabilní (přetrvává skladování za nepřítomnosti vlhkosti) epoxid. Poté co je konverze na epoxid ukončena (~15 min), se k němu přidává deprotonovaný nukleofil. Bylo prokázáno, že tato fáze (a celkově reakce) má perfektní stereoselektivitu a produktem je pouze β -anomer s dobrým výtěžkem (**Schéma 6**)^[35].

Reakce probíhá v neutrálních podmínkách a za laboratorní teploty, což je další výhodou této metody.

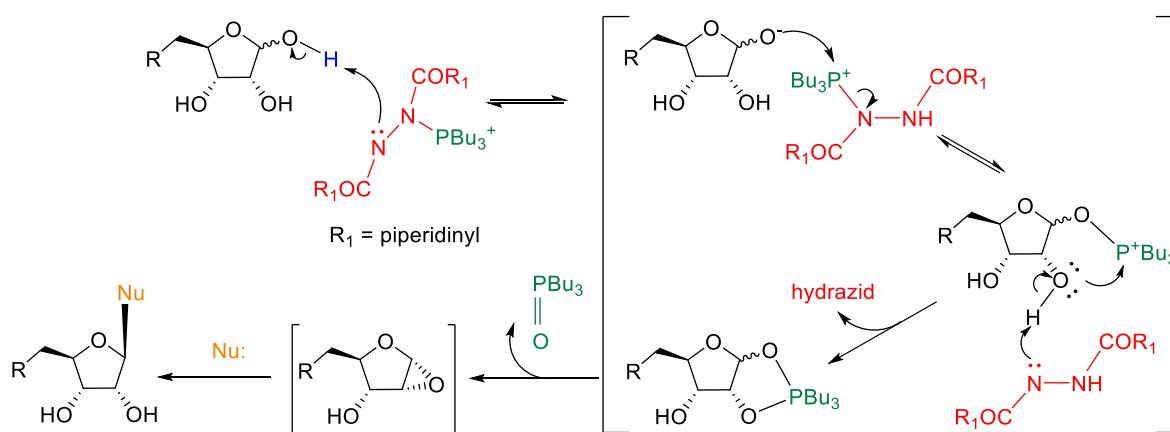


Schéma 6. Mechanismus nové metody přímé glykosylace.

1.4. Další metody modifikace nukleosidů a jejich částí

1.4.1. Nukleofilní substituce

Nukleofilní substituce má široké použití v organické chemii a uplatňuje se také

v syntéze nukleosidů. Například, při přípravě modifikovaných cukrů (**Schéma 7**):

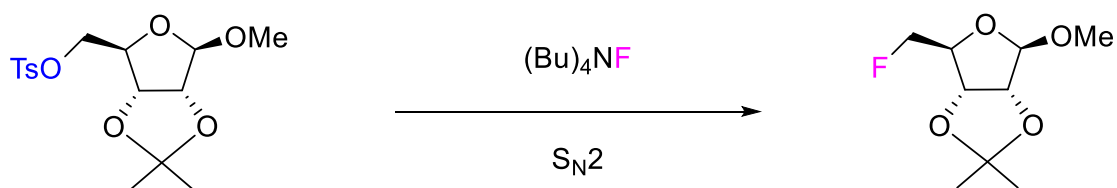


Schéma 7. Nukleofilní substituce na 5'C za fluor.

Tosyl je snadno odstupující skupina, která umožňuje mnohé substituční reakce a v některých případech má výhodnou stereochemii^[48]; stejně tak je jednoduchá i předcházející esterifikace hydroxylových skupin na tzv. tosylové estery neboli tosyláty.

V chemii purinů se substituce dusíkovými, uhlíkovými, sírovými a kyslíkovými nukleofily také široce uplatňuje, obzvlášť u halogenidů, které mohou být lokalizovány na libovolném uhlíku (C-2, C-6, C-8) a snadno odstupují v důsledku mezomerního efektu. Dalšími použitelnými substituenty jsou trifláty a sulfony, které odstupují v některých případech lépe než halogenidy^[49]. Příklady reakcí jsou uvedeny na **schématu 8**:

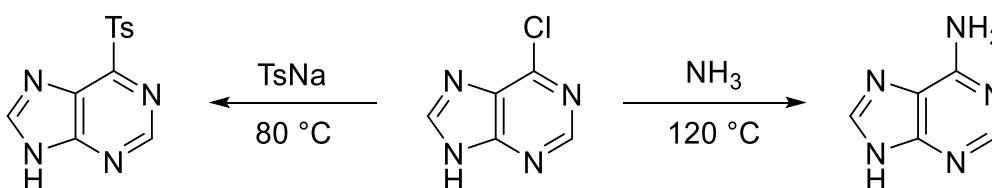


Schéma 8. Nukleofilní substituce na purinu; Ts = p-toluensulfonyl.

Nevýhodou nukleofilní substituce je nutnost použití bazického prostředí.

1.4.2. Cross-coupling reakce

Cross-coupling reakce jsou v organické syntéze důležitým typem reakcí umožňujícím přípravu velkých molekul z menších fragmentů cestou tvorby C-C, C-O a C-N vazeb za katalýzy *d*-kovem^[50], a proto se také široce používají při přípravě analogů nukleosidů^[51].

Reagujícími látkami v cross-couplingu jsou organické halogenidy typu R-X a

nukleofilní činidlo typu R-M jak organokovy (alkyl- a aryl- lithné, měďnaté, zinečnaté, cínaté), Grignardova činidla, či organoboronové kyseliny^[48,50]. Katalyzátorem je typicky palladium (v obou oxidačních stupních 0 a II^[51]), ale i nikl, měď a jiné přechodné kovy mohou být použity^[50]. Rozpouštědlem v těchto reakcích mohou být nejen organické, ale i vodné a směsné roztoky. To je další výhodou cross-couplingů v syntéze nukleosidových analogů. Jelikož některé z těchto látek jsou hydrofilní, bylo by nutné je převádět na méně polární pro reakce v běžných organických rozpouštědlech. Použitím vodných roztoků lze nukleosidy a nukleosidmono-, di- a trifosfáty dávat přímo do couplingu, a tak zkrátit syntézu^[52].

Významnou reakcí mezi cross-couplingy je **Suzukiho-Miyaurův coupling (Schéma 9)**, který v současné době zaujímá vedoucí pozici v počtu publikací a patentů mezi všemi couplingy^[50] a také byl využit v této práci. Nukleofilem je zde organoboronová kyselina (původně alkenyl- a arylborany), která v bazickém prostředí a za katalýzy palladiem reaguje s sp^2 -halogenidem (původně alkenylhalogeny); reakce je vysoce regio- a stereospecifická a poskytuje dobré výtěžky^[53]. Příkladem využití Suzukiho-Miyaurova couplingu v chemii nukleosidů je syntéza 2-, 6- a 8- alkenyl- a arylpurinových derivátů^[54,55]. Výhodou použití právě organoboranů je jejich komerční dostupnost, termická stabilita, a inertnost k vlhkosti a vzduchu, což dělá zacházení s těmito látkami jednoduchým^[56].

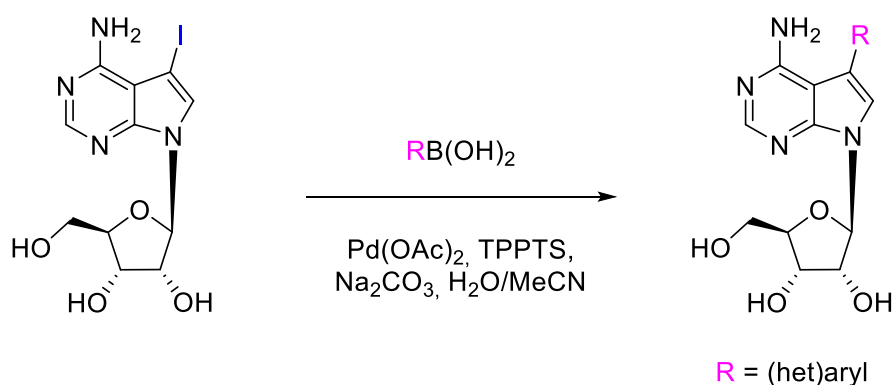


Schéma 9. Příklad Suzukiho-Miyaurova couplingu^[11].

Mechanismus cross-coupling reakcí se skládá ze tří základních kroků: *oxidativní adice* organohalogenidu R-X (nebo -triflátu, -tosylátu atd.) na katalyzátor se změnou jeho oxidačního čísla, *transmetalace* (výměna ligandů mezi katalytickým komplexem a

nukleofilním činidlem jako organokovy, organoborany) a *reduktivní eliminace* (odštěpení produktu a regenerace katalyzátoru)^[57], a také zahrnuje dvě cis-trans izomerace katalytického komplexu^[58]. V případě zmíněného Suzukiho-Miyaurova couplingu reakce probíhá, jak je ukázáno na **Schématu 10**.

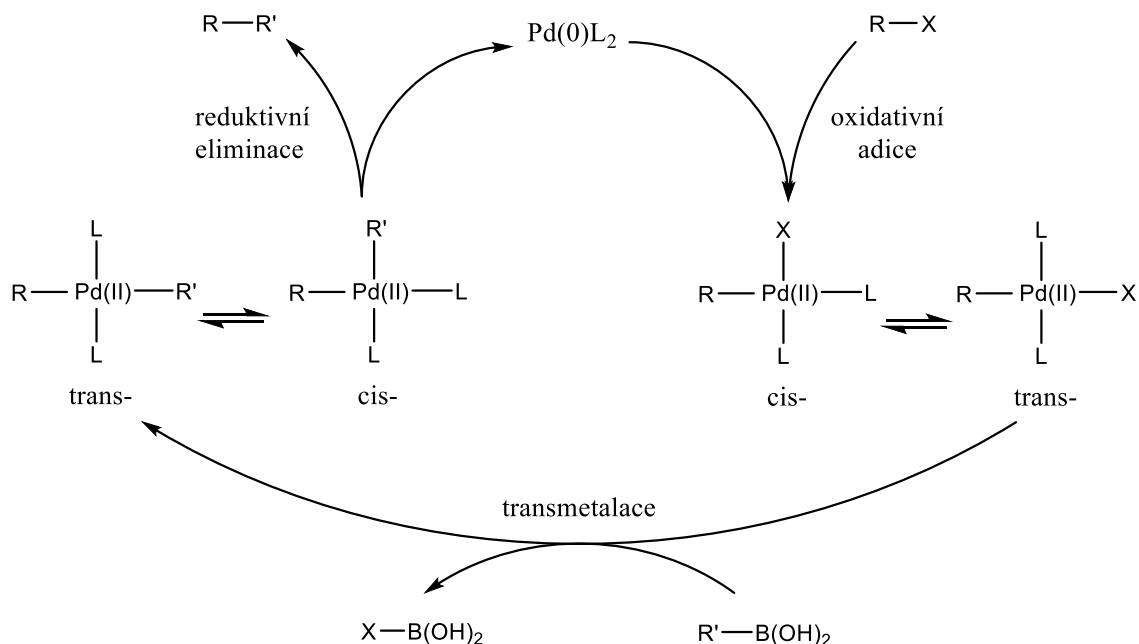


Schéma 10. Katalytický cyklus Suzukiho-Miyaurova couplingu^[59].

Jednou z prvních cross-coupling reakcí byl **Heckův coupling** spočívající v alkenylaci a arylaci alkenů halogenovanými (I, Cl) sloučeninami za katalýzy palladiem^[60]. V chemii nukleosidů byl palladiový coupling poprvé využit Bergstomem v sérii syntéz nukleosidových analogů, a poté se rozšířil i na modifikace na polohy C-5 pyrimidinů a C-2 a C-8 purinů^[51]. Od těch dob se metodologie syntézy na základě katalýzy palladiem značně rozšířila. Většina úsilí byla věnována vývoji ligandové části katalytických systémů pro zvýšení reaktivity a stability palladiového centra. Také se vyvíjeli i alternativní katalyzátory s jinými *d*-kovy^[52]. Příklad současného Heckova couplingu uplatněného pro nechráněné nukleosidy je na **Schématu 11a**.

Existují i další druhy cross-coupling reakcí (Sonogashirova, Liebeskind-Šroglova atd.) a všechny nachází své uplatnění v organické syntéze, včetně chemie nukleosidů^[51,56,61–63] (**Schéma 11b, c**).

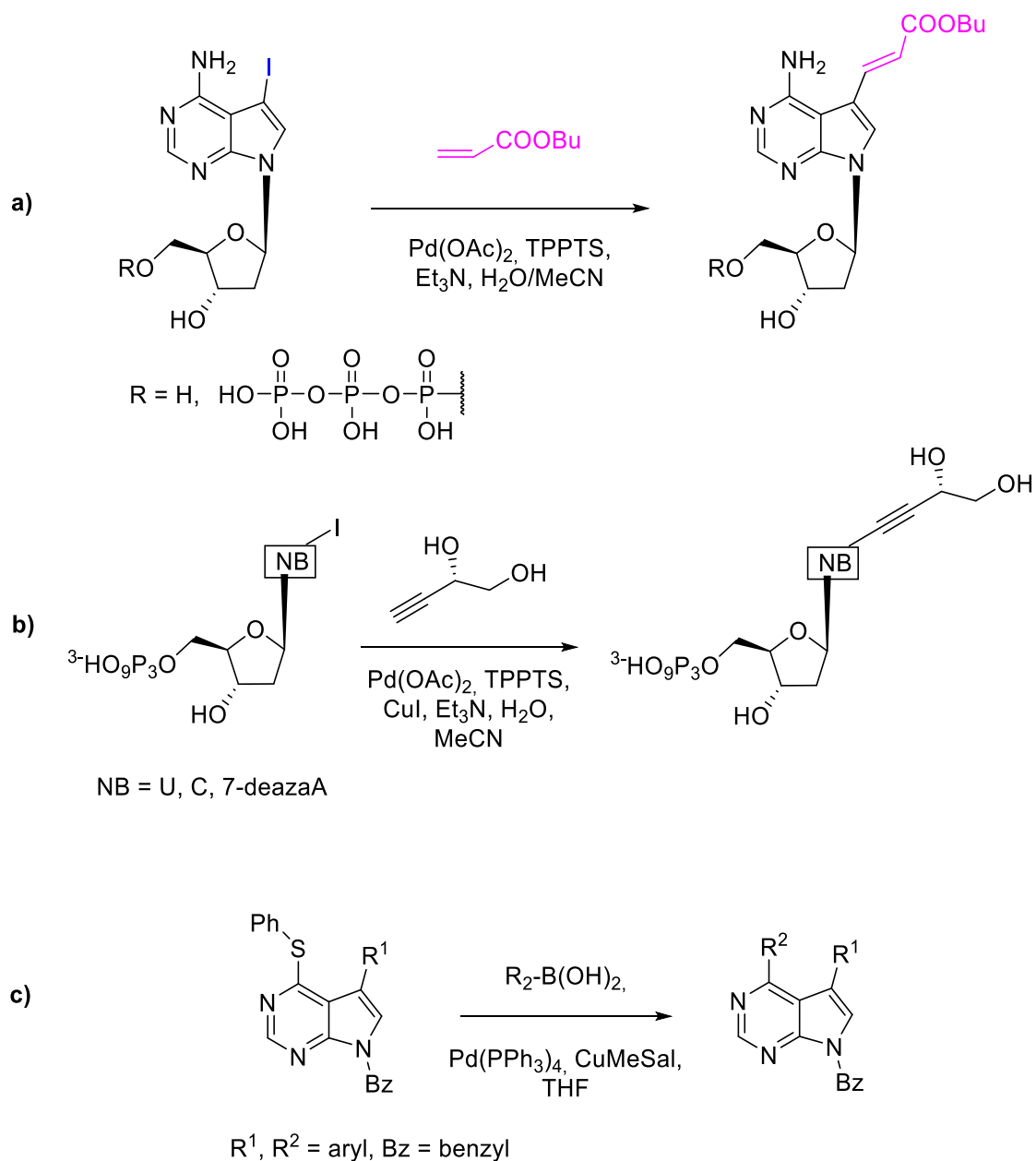
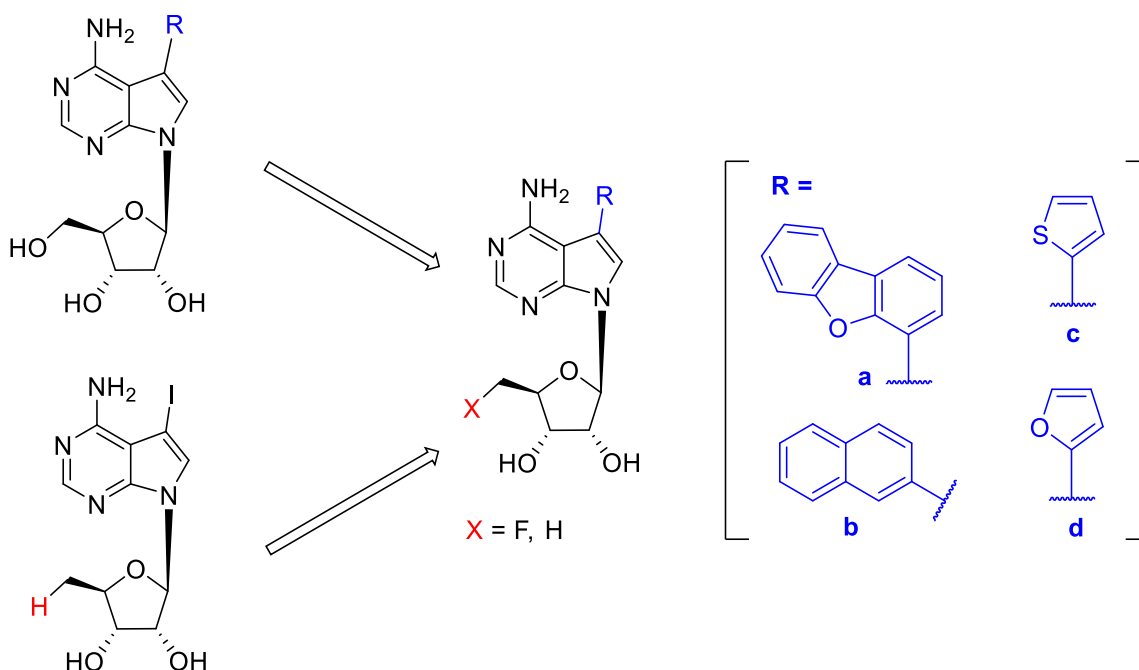


Schéma 11. a) Příklad Heckova couplingu^[64], b) Příklad vodného Sonogashirova couplingu^[62], c) Příklad Liebenskid-Šroglova couplingu^[63].

2. Cíle práce

- I. Vyzkoušet a optimalizovat novou přímou metodu glykosylace nevyžadující chránicí skupiny.
- II. Připravit řadu 7-modifikovaných nukleosidů na základě glykosylace 5'-modifikované D-ribózy s 4-chloro-5-iodo-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinem.

Pro tuto bakalářskou práci na základě předchozích studií byly vybrány perspektivní substituenty **a-d** pro polohu 7 na bázi (**Obrázek 5**). Dané substituenty vykázaly u 7-deazaadenosinu malou až žádnou cytotoxicitu (snižuje se s růstem velikosti substituentu R), inhibovaly ve značné míře pouze Mtb ADK, když pro lidskou ADK inhibiční aktivitu skoro neukázaly a ani nebyly pro ni dobrými substráty^[11]. Z hlediska cytostatického byly vyzkoušeny nukleosidy se substituentem **b** a **a**^[65], které prokázaly nízkou úroveň, a substituenty **c** a **d**, které prokázaly vysokou úroveň této aktivity^[66].



Obrázek 6. Struktury modifikovaného adenosinu a vybraných substituentů.

Záměna hydroxylové skupiny na 5' uhlíku cukru kromě zvýšení selektivní inhibiční aktivity (teoretickým srovnáním s analogy^[16,67] a také v experimentálním provedení^[13],

kde bylo prokázáno, že 5'-deoxy adenosin není substrátem ani inhibitorem pro lidskou ADK, ale dobře funguje u Mtb ADK) navíc vede k logické nemožnosti uskutečnit další fosforylaci, čímž přispívá ke snížení cytotoxicity výsledné látky svázané se začleněním modifikovaného nukleosidu do nukleosidového poolu^[1,68].

3. Výsledky a diskuze

Pro syntézu cílových látek bylo použito následné schéma, ve kterém lze reakce rozdělit do tří kategorií: 1 – předglykosylační modifikace (báze **1**→**2**, cukr **3**→**8**), 2 – glykosylace (**7**→**10**), 3 – další úpravy (**9**→**12**, cross-couplings **11**→**14**)

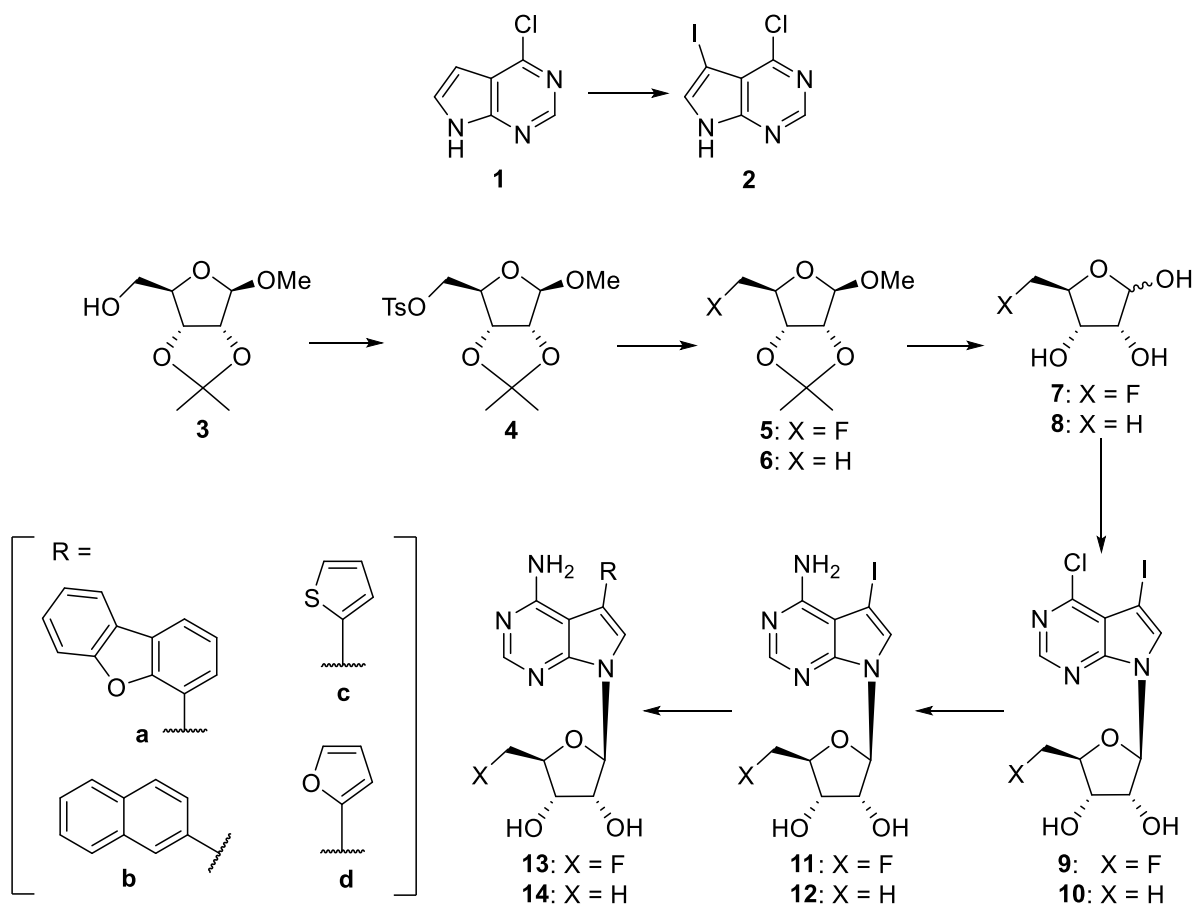


Schéma 10. Plán syntézy.

3.1. Předglykosylační modifikace

3.1.1. Příprava báze

4-Chloro-5-iodo-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (**2**) byl připraven podle publikovaného postupu^[69]. Reakce probíhala 20 hodin a konverze látek byla kontrolována TLC. Syntéza

byla provedena za celou dobu dvakrát, výtěžek první reakce byl 92 %, druhé 97 %.

3.1.2. Příprava cukrů

Cílem této části práce bylo připravit 5'-C substituovanou D-ribózu (**7**, **8**), která dále bude použita pro glykosylaci.

Z látky **3** převzaté v naší laboratoři byl dle postupu z literatury^[35,70] syntetizován tosylát **4** (**Schéma 13**). Po dvou hodinách TLC indikovalo plnou konverzi výchozí látky. Syntéza se prováděla celkově třikrát s excelentními výtěžky 90,5 %, 90,8 % a 86 % (veškeré výtěžky těchto i následujících látek byly spočítány pro čistou látku za odečtení nečistot). Ve všech případech ¹H NMR prokázal přítomnost stop (míň než 0,5 molárních procent) pyridinu.

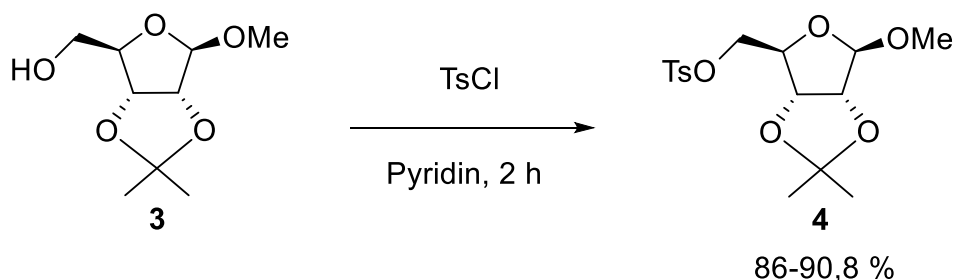


Schéma 11. Syntéza látky **4**.

Při substituci tosylátu v látce **4** za fluor (**5**, **Schéma 14a**), provedené 3x v preparativním (kolem 10 g) měřítku v souladu s postupem v literatuře^[35], vznikl problém s malými výtěžky: 34 %, 52 % a 38 % oproti uváděným 70+ %. Bylo zjištěno, že produkt reakce je těkavý a odpařuje se s použitými rozpouštědly a při převedení na silikagel, proto jsem se snažila optimalizovat postup zpracování a také vyloučit chromatografické přečištění. Byly vyzkoušeny: destilace při 65 °C, destilace při 73 °C, destilace se zahřátím pod vakuem, extrakce voda-ether. Ve všech pokusech produkt byl nalezen ve všech fázích; tím pádem optimalizace se nepovedla. *Poznámka:* ke směsi byl na začátku optimalizace chybně přidán methanol, což mohlo negativně ovlivnit výsledky. ¹H NMR spektra shodovaly s literaturou^[70].

Pro přípravu redukovaného cukru (**6**) byl využit postup z literatury^[71] a modifikován ve fázi zpracování (**Schéma 14b**). Reakce byla ponechána vždy přes noc, a po TLC kontrole se reakční směs extrahovala etherem, HCl a NaHCO₃. Reakce se prováděla za

celou dobu dvakrát s dobrým výtěžkem. V ^1H NMR spektru vždy byl nalezen ether (<0,5 %).

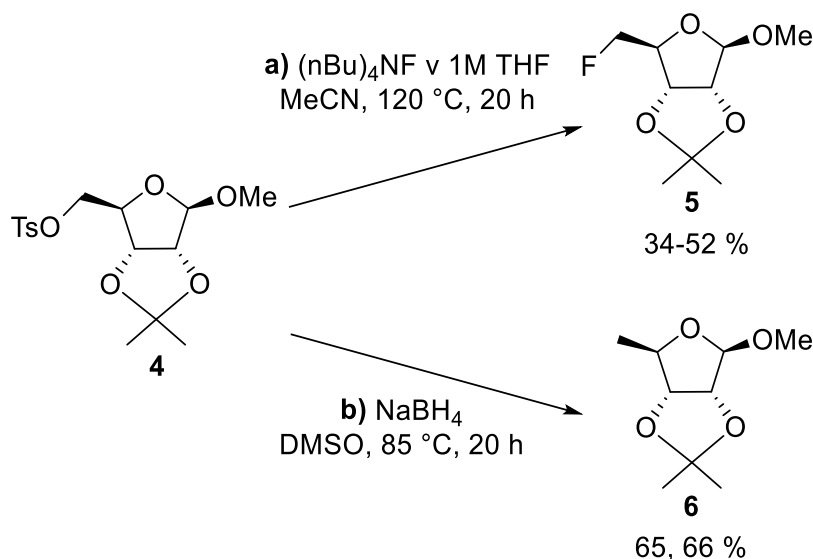


Schéma 12. Syntéza látek 5 a 6.

Následně bylo provedeno ochránění látek 5 a 6 na látky 7 a 8, které prošlo bez problémů. V případě látky 5 zaprvé bylo vyzkoušeno ochránění pomocí 1M HCl a chromatografie $\text{CH}_3\text{Cl}:\text{MeOH}$ 0→20 % na SiO_2 s podprůměrným výtěžkem 25 % (Schéma 15a), ve dvou dalších reakcích byl použit postup z literatury^[35] s výtěžky 96 % (s 15 molárních % nečistot podle ^1H NMR) a 38 % (Schéma 15b).

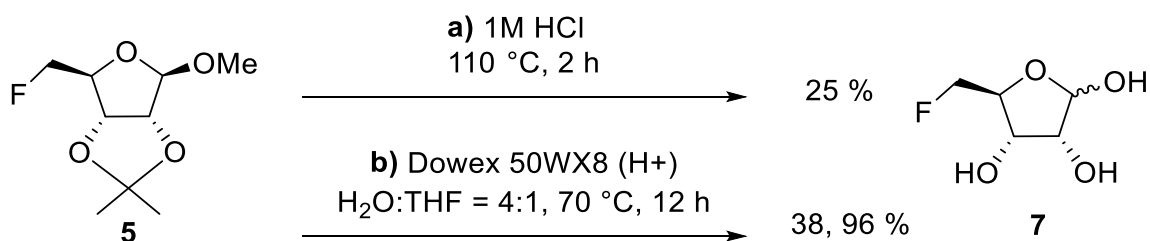


Schéma 13. Odchránění fluorovaného cukru.

Pro ochránění redukované ribózy (8) bylo využito dvou cest. První cesta provedená z látky 3^[35] v prvním kroku dala 53 % a produktový výtěžek činil 70 %, druhá z látky 6 analogicky jako na schématu 15b dala průměrné výtěžky 43 % a 67 % (Schéma 16a, b).

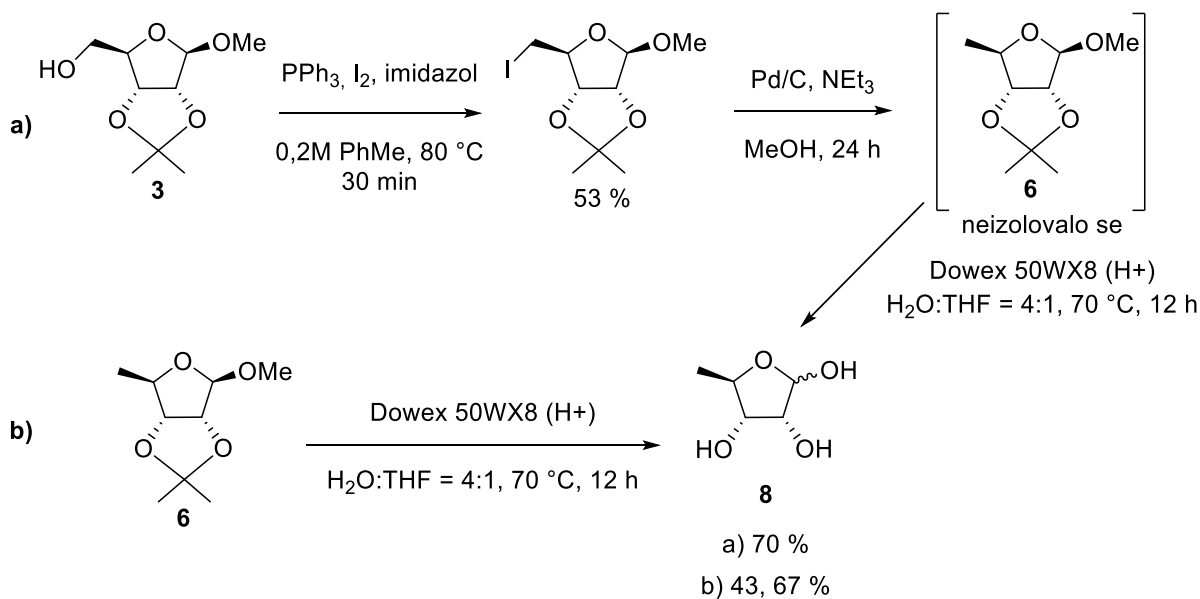


Schéma 14. Syntéza 5'-C redukované ribózy (8).

3.2. Glykosylace

Nejproblematictější krokem této práce se stala glykosylace, která je obecně zobrazena na schématu 17^[5]. V reakční směsi byla vždy přítomná nukleobáze, která se chová podobně jako nukleosid, a proto jakékoliv přečištění bylo neúplné a velmi obtížné, a také reakce stále poskytovala malé výtěžky (20-35 %).

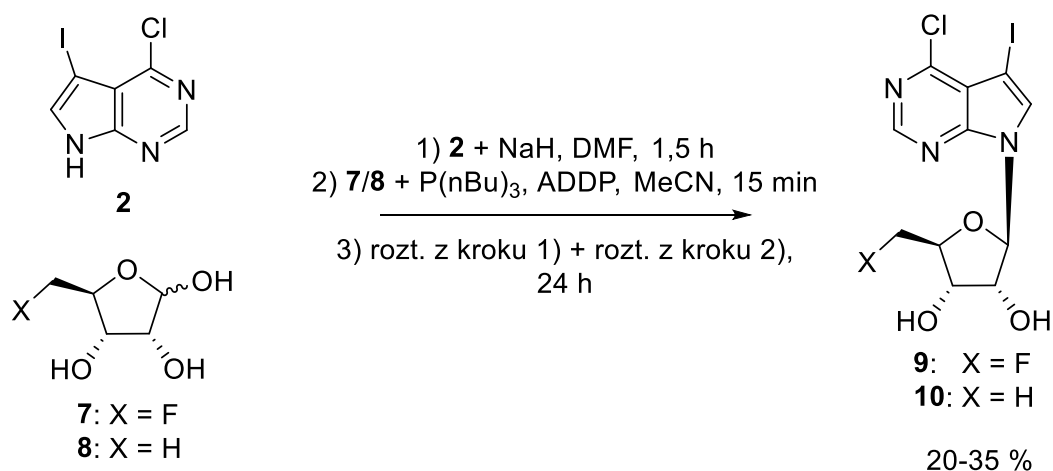


Schéma 15. Glykosylace.

Pro optimalizaci zaprvé bylo vyzkoušeno snížení množství použité báze z předepsaných 1,5 ekvivalentů na 0,8, což neovlivnilo finální složení reakční směsi a

separaci. Zadruhé byly vyzkoušeny různé metody zpracování směsi: chromatografie na normální fázi (DCM:EA 0→20/25 %), chromatografie na koloně s CN-skupinami (H₂O:MeCN 0→100 %), chromatografie na diolové koloně (DCM:EA 0→25 %), několikanásobná chromatografie (kombinace uvedených), krystalizace z vody a methanolu. Chromatografie ve všech případech poskytovala částečně čistý produkt, částečně směs nukleosidu s bází, a nejlepší výsledky byly dosaženy kombinací reverzní chromatografie H₂O:MeOH 5→100 % (z literatury) s následnou NP-chromatografií DCM:EA 0→20 %. Při krystalizaci z methanolu se obě látky rozdělovaly do obou fází, krystalizace z vody vůbec neprobíhala.

Také byla vyzkoušena alternativní cesta, Vorbrüggenova reakce v několika variantech. Podle jednoho z postupů^[69] podařilo se dosáhnout výtěžku 38 % (**Schéma 18**), ostatní^[72,73] neposkytovaly žádný produkt.

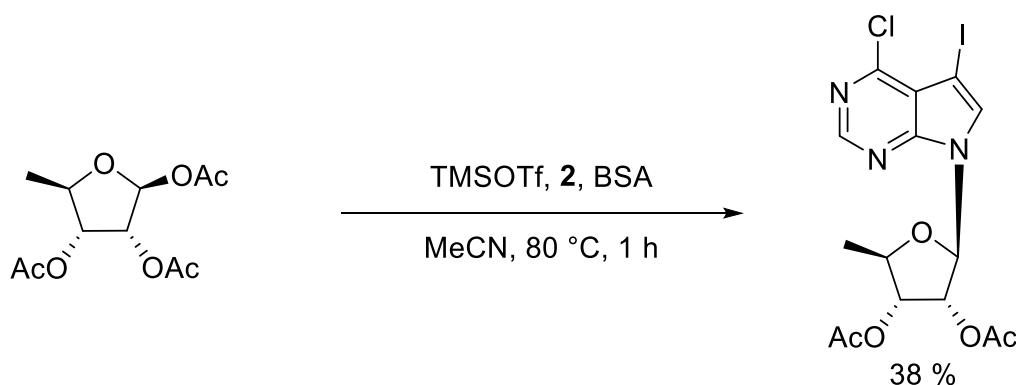


Schéma 16. Alternativní cesta glykosylace.

Poslední vyzkoušenou možností bylo přečištění reakční směsi na RP-chromatografii od vedlejších produktů a následné použití směsi nukleosidu a báze v dalším kroku (aminace).

3.3. Další úpravy

Nukleofilní substituce **9**→**12** byla provedena modifikovaným postupem z literatury^[69] pomocí koncentrovaného vodného roztoku amoniaku s dioxanem 1:1 a za 120 °C (**Schéma 19**). Poté se směs obsahující aminovaný nukleosid a aminovanou bázi separovala na RP-chromatografii H₂O:MeOH 5→50 % s následnou NP-chromatografií DCM:MeOH 5→100 %. Výtěžek přes dva kroky (**7-12**) se pro fluorovaný cukr rovná 4,4

%, pro redukovaný 4,5 %. ^1H NMR prokázal přítomnost stop (<0,5 n%) nečistot.

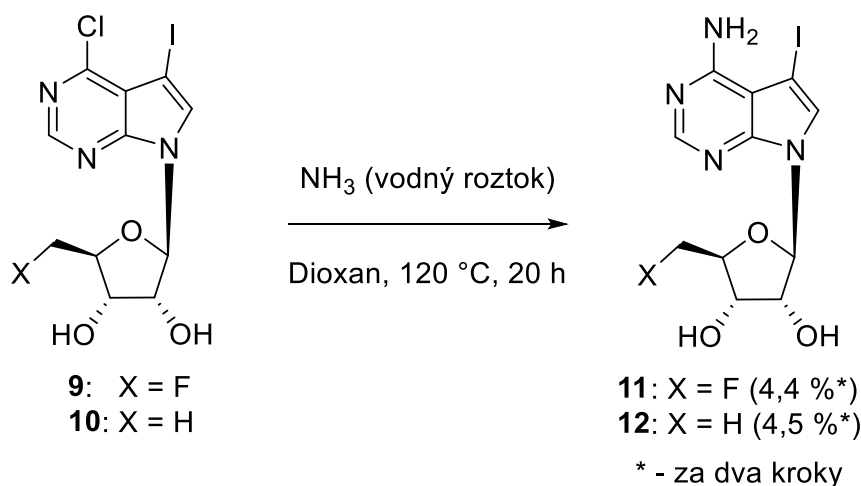


Schéma 17. Aminace v poloze 6.

Cross-couplingové reakce **8-9** se prováděly s příslušnými organoboronovými kyselinami RB(OH)_2 podle popsaného postupu^[66] s výjimkou drobné modifikace (záměna Na_2CO_3 za ekvivalentní množství reaktivnějšího v této reakci^[65] Cs_2CO_3 ; **schéma 20**).

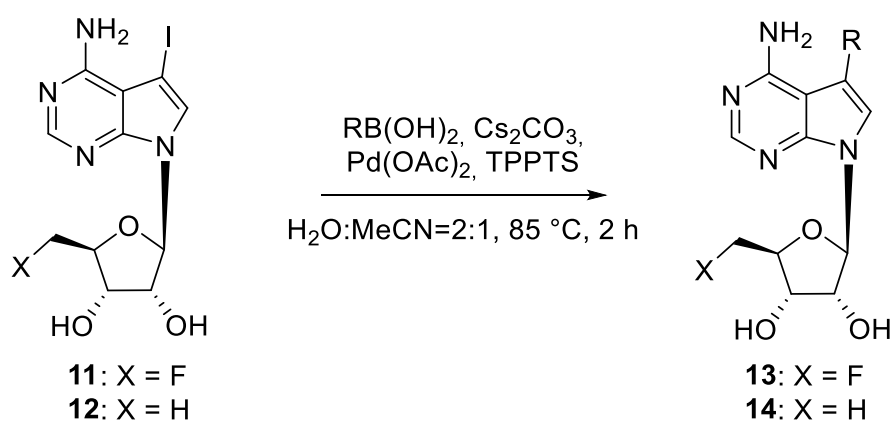
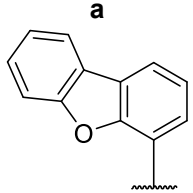
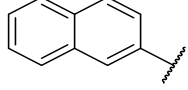
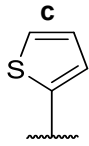
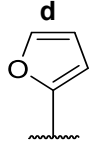


Schéma 18. Cross-couplingové reakce.

Celkově cross-couplings byly nejjednodušším krokem veškeré práce. Reakce probíhaly bez problémů, stejně jak i přečištění, s excelentní konverzí. Přečištění bylo RP-chromatografií $\text{H}_2\text{O:MeOH}$ 0→100 % s výtěžky 73-86 % (**Tabulka 1**). Jedinou výjimkou je látka **13d**, kde snížení výtěžku je dáno chybou při chromatografií.

Tabulka 1. Výtěžky cross-couplingových reakcí (v procentech).

Substituent X	Substituent R			
				
F (13)	80	75	74	53
H (14)	86	80	73	75

4. Závěr

V průběhu práce byla vyzkoušena nová metoda glykosylace, která v preparativním měřítku neukázala značnou efektivitu a poskytovala malé výtěžky 20-35 % a také nerozdělitelnou směs zbytků použité báze s produktem. Snaha optimalizovat postup se podařila pouze částečně pro separační krok, kde reakční směs byla přečištěna od vedlejších produktů a použita a separována v dalším kroku. Se záměnou reagentů na podobně působící lze dosáhnout větších výtěžků a/nebo lepší zpracovatelnosti.

Touto metodou byly připraveny osm 5'-C-modifikovaných nukleosidů, které zatím byly úspěšně modifikovány Suzuki-Miyaurovým cross-couplingem v poloze 7 na bázi. Látky byly odeslány pro testování na lidské a Mtb ADK.

5. Experimentální část

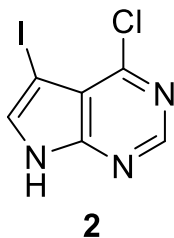
5.1. Obecné poznámky

Výchozí látky byly získány komerčně (firmy Sigma-Aldrich, Fluka, Penta a Acros organics) a pokud není uvedeno jinak, nebyly dále zpracovávány ani čištěny. Použitá rozpouštědla ke chromatografiím i prováděným reakcím byla zakoupena v p.a. kvalitě (kromě methanolu, použitého v kvalitě HPLC) a také nebyla nijak dále čištěna. Průběh reakcí byl sledován na deskách TLC Merck Kieselgel 60 F-254 a látky byly detekovány pod UV lampou při záření o vlnové délce 254 nm a 312 nm, u UV neaktivních látek roztokem anýzaldehydu (9,2 ml p-anýzaldehydu, 3,75 ml ledové kyseliny octové, 338 ml 96% ethanolu, 12,5 ml koncentrované H₂SO₄) a následným ohřevem horkovzdušnou pistolí. Ke sloupcovým chromatografiím byl využíván v kolonách a plnicích předkolonkách Merck Silica gel 60, a také kolony RediSep Rf Gold[®] C-18. Chromatografie byly prováděny na přístrojích HPFC TELEDYNE ISCO CombiFlash[®] Rf+ s UV detekcí při 254 nm a 312 nm.

Ke sledování reakcí a identifikaci produktů pomocí ¹H NMR a ¹⁹F NMR byly použity přístroje BRUKER Ascend[™] 400 Prodigy a BRUKER UltraShield[™] 400 při 25 °C. Měření probíhalo v kapalně fázi, rozpouštědly byly komerčně dostupná D₂O, DMSO-d₆ a CDCl₃. Chemické posuny byly referencovány vzhledem k signálu rozpouštědla. NMR spektra pro charakterizaci produktů byla měřena na spektrometru Bruker Avance[™] 500 MHz. Chemické posuny byly referencovány vůči signálům rozpouštědel a jsou uvedeny v ppm. Interakční konstanty jsou uvedeny v Hz. Signály jsou přiřazeny podle číslování použitého ve vzorcích látek. IČ spektra byla měřena metodou ATR na spektrometru BRUKER Alpha FT-IR[™] Platinum ATR. Vlnočty jsou uvedeny v cm⁻¹. Body tání byly měřeny na automatickém botodávku Stuart SMP40 a jsou nekorigované.

5.2. Syntéza výchozích sloučenin

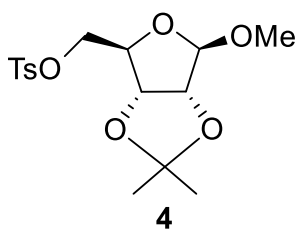
4-chloro-5-iodo-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (2)



Navážka látky **1** (1,0 ekv., 97,7 mmol, 15 g) byla rozpuštěna ve 147 ml DMF a k ní za míchání byl ve dvou dávkách přidán NIS (1,05 ekv., 102,6 mmol, 23,08 g), ponecháno reagovat 20 h při 20 °C. Konverze byla kontrolována TLC (DCM:EA = 10:1). Poté směs byla za míchání vylita na 500 ml ledové vody, vzniklá naoranžovělá sraženina **2** (25,06 g, 92 %) byla zfiltrována, promyta vodou a vysušena za vakua.

Naměřené ¹H NMR spektrum a odpovídá údajům v literatuře^[69].

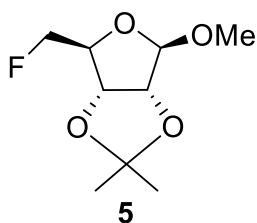
Methyl 5-*p*-toluensulfonyl-2,3-*O*-isopropyliden-β-D-ribofuranosid (4)



Do roztoku látky **3** (1,0 ekv., 98 mmol, 20 g) v pyridinu (80 ml) za míchání byl přidán *p*-toluensulfonyl chlorid (1,5 ekv., 146,9 mmol, 28 g), ponecháno reagovat 2 h při 20 °C. Konverze byla kontrolována TLC (CHX:EA = 7:1). Poté směs byla za míchání vylita na 500 ml ledové vody, vzniklá bledě nahnědlá sraženina **4** (30,267 g, 86 %) byla zfiltrována, dvakrát promyta vodou a vysušena za vakua.

Naměřené ¹H NMR spektrum odpovídá údajům v literatuře^[70].

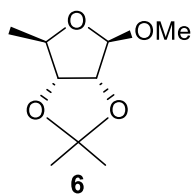
Methyl 5-Deoxy-5-fluoro-2,3-*O*-isopropyliden-β-D-ribofuranosid (5)



Do roztoku látky **4** (1,0 ekv., 22,3 mmol, 8,0 g) v MeCN (110 ml) byl přidán tetrabutylammonium fluorid (1 M roztok v THF, 2,0 ekv., 44,6 mmol, 45 ml), ponecháno reagovat za míchání pod zpětným chladičem 23 h při 90 °C. Konverze byla kontrolována TLC (CHX:EA = 7:1). Po ochlazení směs byla zakoncentrována (40 °C, 210 mBar) a chromatografována na HPFC (SiO₂, CHX:EA 0→20 %). Produkt byl obdržen jako průhledná olejovitá kapalina (2,38 g, 52 %).

Naměřené ^1H NMR spektrum odpovídá údajům v literatuře^[70].

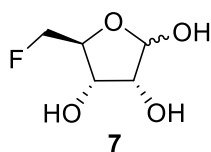
Methyl 5-Deoxy-2,3-O-isopropyliden- β -D-ribofuranosid (6)



Do roztoku látky **4** (1,0 ekv., 39 mmol, 14,0 g) v předem vysušeném nad molekulovým sítem DMSO (100 ml) byl přidán tetrahydridoboritan sodný (4,1 ekv., 160 mmol, 6,05 g), ponecháno reagovat za míchání pod zpětným chladičem 20 h při 85 °C. Konverze byla kontrolována TLC (CHX:EA = 7:1). Poté reakční směs byla extrahována z vody etherem 3x 300 ml, zatím spojené etherické frakce \rightarrow 0,5M HCl 3x300 ml a NaHCO_3 2x150 ml a byla vysušena nad Na_2SO_4 . Produkt byl obdržen jako bezbarvá kapalina (4,868 g, 66 %).

Naměřené ^1H NMR spektrum odpovídá údajům v literatuře^[71].

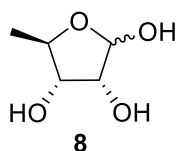
5-O-Deoxy 5-fluoro-D-ribofuranóza (7)



Do suspenze látky **5** (1,0 ekv., 10,8 mmol, 2,236 g) ve směsi H_2O :THF (4:1 v/v, 280 ml) byl přidán Dowex 50WX8 (H^+ forma, 5,325 g), ponecháno reagovat za míchání 20 h při 70 °C. Konverze byla kontrolována TLC (DCM:MeOH = 7:1). Poté Dowex byl zfiltrován a promyt vodou (~30 ml), filtrát byl neutralizován Et_3N a odpařen na produkt, hnědou olejovitou kapalinu (1,58 g, 96 %).

Naměřené ^1H NMR spektrum odpovídá údajům v literatuře^[35].

5-O-Deoxy D-ribofuranóza (8)

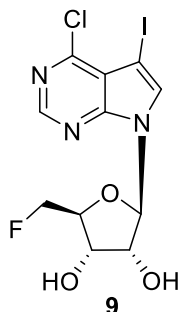


Do suspenze látky **6** (1,0 ekv., 26 mmol, 4,868 g) ve směsi H_2O :THF (4:1 v/v, 50 ml) byl přidán Dowex 50WX8 (H^+ forma, 12,2 g), ponecháno reagovat za míchání 24 h při 70 °C. Konverze byla kontrolována TLC (DCM:MeOH = 7:1). Poté Dowex byl zfiltrován a promyt vodou (~30 ml), filtrát byl neutralizován Et_3N a chromatografován na HPFC (SiO_2 , DCM:MeOH 0 \rightarrow 20 %). Produkt byl obdržen jako nažloutlá průhledná olejovitá kapalina (2,358 g, 67 %).

Naměřené ^1H NMR spektrum odpovídá údajům v literatuře^[35].

5.3. Glykosylace a aminace

4-Chloro-5-iodo-7-(5'-deoxy-5'-fluoro-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (9)

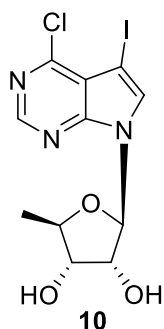


1) K látce **2** (1,5 ekv., 19,05 mmol, 5,32 g) pod argonem v opatřené septem baňce byla přidána suspenze hydridu sodného (60% v minerálním oleji, 2,0 ekv., 25,4 mmol, 1,02 g) v suchém DMF (15 ml), ponecháno reagovat za míchání 2 h při 20 °C.

2) K látce **7** (1,0 ekv., 12,7 mmol, 1,93 g) v suchém MeCN (150 ml) pod argonem v opatřené septem baňce byl přidán tri-n-butylfosfin (1,6 ekv., 20,32 mmol, 4,11 g, 5,1 ml) a ADDP (1,5 ekv., 19,05 mmol, 4,81 g), ponecháno reagovat za míchání 15 min při 20 °C.

3) Po formování epoxidu roztok z kroku 1 byl přidán k roztoku z kroku 2 a ponecháno reagovat 24 h při 20 °C. Konverze byla kontrolována TLC (DCM:MeOH = 10:1). Poté následovala RP-chromatografie na HPFC (C-18, H₂O:MeOH 15→100 %). Produkt byl obdržěn jako pevná hnědá látka ve směsi s bází a tributylfosfinoxidem (podle ¹H NMR^[35], 4,213 g) a použit pro přípravu látky **11**.

4-Chloro-5-iodo-7-(5'-deoxy-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (10)



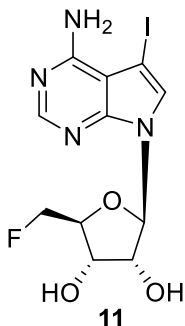
1) K látce **2** (1,5 ekv., 26,37 mmol, 7,37 g) pod argonem v opatřené septem baňce byla přidána suspenze hydridu sodného (60% v minerálním oleji, 2,0 ekv., 35,16 mmol, 1,41 g) v suchém DMF (17 ml), ponecháno reagovat za míchání 2 h při 20 °C.

2) K látce **8** (1,0 ekv., 17,58 mmol, 2,358 g) v suchém MeCN (150 ml) pod argonem v opatřené septem baňce byl přidán tri-n-butylfosfin (1,6 ekv., 28,13 mmol, 5,691 g, 7,0 ml) a ADDP (1,5 ekv., 26,37 mmol, 6,653 g), ponecháno reagovat za míchání 15 min při 20 °C.

3) Po formování epoxidu roztok z kroku 1 byl přidán k roztoku z kroku 2 a ponecháno reagovat 24 h při 20 °C. Konverze byla kontrolována TLC (DCM:MeOH = 10:1). Poté následovala RP-chromatografie na HPFC (C-18, H₂O:MeOH 10→100 %). Produkt byl obdržěn jako pevná bledá hnědo oranžová látka ve směsi s bází a

tributylfosfinoxidem (podle $^1\text{H NMR}^{[35,69]}$, 8,53 g) a použit pro přípravu látky **12**.

4-Amino-5-iodo-7-(5'-deoxy-5'-fluoro- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (**11**)

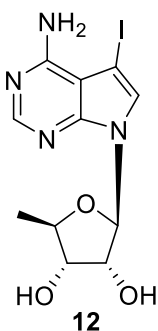


K látce **9** (směs, 4,213 g) v tlakové baňce byla přidána směs dioxan: $\text{NH}_3(\text{aq, konc.})$ (1:1 v/v, 30 ml), pevně uzavřeno a ponecháno reagovat za míchání 16 h při 120 °C. Konverze byla kontrolována TLC (DCM:MeOH = 10:1). Poté reakční směs byla odpařena a chromatografována na HPFC (1 – na RP, $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$ 5→50 %; 2 – na NP, DCM:MeOH 0→100 %). Produkt byl obdržen jako naoranžovělá

krystalická látka (0,223 g, 4,4 % přes 2 kroky).

Naměřené $^1\text{H NMR}$ spektrum odpovídá údajům v literatuře^[35].

4-Amino-5-iodo-7-(5'-deoxy- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (**12**)



K látce **10** (směs, 8,53 g) v tlakové baňce byla přidána směs dioxan: $\text{NH}_3(\text{aq, konc.})$ (1:1 v/v, 30 ml), pevně uzavřeno a ponecháno reagovat za míchání 16 h při 120 °C. Konverze byla kontrolována TLC (DCM:MeOH = 10:1). Poté reakční směs byla odpařena a chromatografována na HPFC (1 – na RP, $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$ 5→50 %; 2 – na NP, DCM:MeOH 0→100 %). Produkt byl obdržen jako naoranžovělá

krystalická látka (0,300 g, 4,5 % přes 2 kroky).

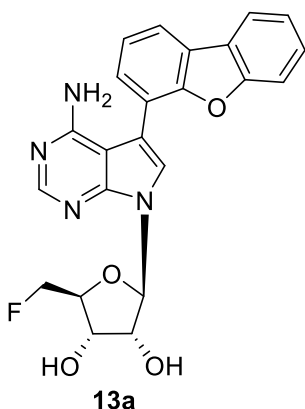
Naměřené $^1\text{H NMR}$ spektrum odpovídá literatuře^[35].

5.4. Syntéza finálních látek

Obecný postup

K látce **11/12** (1,0 ekv.) byla přidána organoboronová kyselina RB(OH)_2 (1,5 ekv.), Cs_2CO_3 (9,3 ekv.), Pd(OAc)_2 (0,006 ekv.), TPPTS (0,14 ekv.), $\text{H}_2\text{O}:\text{MeCN}$ (2:1 v/v) ponecháno reagovat za míchání 1,45-2 h při 85 °C. Poté reakční směs byla neutralizována 1 M HCl a následovala RP-chromatografie na HPFC (C-18, $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$ 0→100 %).

4-Amino-5-(dibenzo[*b,d*]furan-4-yl)-7-(5'-deoxy-5'-fluoro- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (13a)



Pro syntézu byla použita látka **11** (0,101 mmol, 40 mg), dibenzo[*b,d*]furan-4-ylboronová kyselina (0,152 mmol, 32 mg), Cs₂CO₃ (0,944 mmol, 308 mg), Pd(OAc)₂ (0,0006 mmol, 0,1 mg), TPPTS (0,014 mmol, 8 mg), H₂O:MeCN (2:1 v/v, 1,5 ml). Délka reakce 2 h.

Běžová pevná látka (35 mg, 80 %), b.t. 163,2 °C, $[\alpha]^{20}_{589} = -73.7$ (c = 0.232 g/100ml v DMSO)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): 4.11 (dtd, 1H, $J_{4',F} = 25.5$ Hz, $J_{4',5'a} = J_{4',3'} = 4.6$ Hz, $J_{4',5'b} = 3.1$ Hz, H-4'); 4.21 (bt, 1H, $J_{3',2'} = J_{2',4'} = 4.9$ Hz, H-3'); 4.48 (td, 1H, $J_{2',1'} = J_{2',3'} = 5.3$ Hz, $J_{2',F} = 1.1$ Hz, H-2'); 4.62 (ddd, 1H, $J_{5'a,F} = 47.3$ Hz, $J_{gem} = 10.4$ Hz, $J_{5'a,4'} = 4.7$ Hz, H-5'a); 4.66 (ddd, 1H, $J_{5'b,F} = 47.8$ Hz, $J_{gem} = 10.4$ Hz, $J_{5'b,4'} = 3.1$ Hz, H-5'b); 5.63 (bs, 2H, OH-2',3'); 6.08 (vbs, 2H, NH₂); 6.26 (d, 1H, $J_{1',2'} = 5.4$ Hz, H-1'); 7.43 (td, 1H, $J_{8,7} = J_{8,9} = 7.5$ Hz, $J_{8,6} = 1.0$ Hz, H-8-C₁₂H₇O); 7.49 – 7.55 (m, 3H, H-2,3,7-C₁₂H₇O); 7.64 (s, 1H, H-6); 7.69 (dm, 1H, $J_{6,7} = 8.2$ Hz, H-6-C₁₂H₇O); 8.17 (dd, 1H, $J_{1,2} = 6.2$ Hz, $J_{1,3} = 2.9$ Hz, H-1-C₁₂H₇O); 8.21 (s, 1H, H-2); 8.21 (dm, 1H, $J_{9,8} = 7.7$ Hz, H-9-C₁₂H₇O).

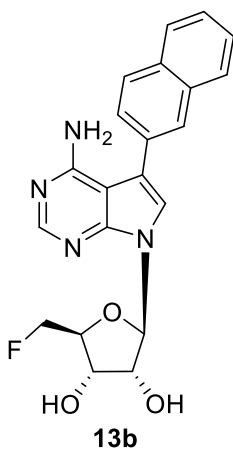
¹³C NMR (125.7 MHz, DMSO-*d*₆): 69.83 (d, $J_{C,F} = 5.6$ Hz, CH-3'); 73.84 (CH-2'); 82.24 (d, $J_{C,F} = 18.0$ Hz, CH-4'); 83.36 (d, $J_{C,F} = 168.3$ Hz, CH₂-5'); 87.39 (CH-1'); 101.63 (C-4a); 110.32 (C-5); 112.07 (CH-6-C₁₂H₇O); 118.98 (C-4-C₁₂H₇O); 120.45 (CH-1-C₁₂H₇O); 121.59 (CH-9-C₁₂H₇O); 121.99 (CH-6); 123.46 (CH-8-C₁₂H₇O); 123.83 (CH-2-C₁₂H₇O); 124.05 (C-9a-C₁₂H₇O); 124.39 (C-9b-C₁₂H₇O); 127.92 (CH-7-C₁₂H₇O); 128.67 (CH-3-C₁₂H₇O); 151.22 (C-7a); 152.32 (CH-2); 153.44 (C-4a-C₁₂H₇O); 155.72 (C-5a-C₁₂H₇O); 157.71 (C-4).

IČ (ATR) $\nu = 3473, 3328, 3147, 2949, 2358, 1618, 1450, 1293, 1187, 1081, 1010, 864, 821, 749, 617$ cm⁻¹.

HRMS (ESI) vypočteno pro C₂₃H₁₉FN₄O₄: $[M+H]^+ = 435.1469$, nalezeno 435.1497.

HPLC: $t_R = 14.60$ min, čistota 96.06 % (Luna Omega Polar PS 1,8 μ m, 150x2,1 mm, 30 min, 0.4 ml/min, H₂O:MeCN 0 \rightarrow 100 %)

4-Amino-5-(naftalen-2-yl)-7-(5'-deoxy-5'-fluoro- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (13b)



Pro syntézu byla použita látka **11** (0,101 mmol, 40 mg), naftalen-2-ylboronová kyselina (0,152 mmol, 26 mg), Cs_2CO_3 (0,944 mmol, 308 mg), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0,0006 mmol, 0,1 mg), TPPTS (0,014 mmol, 8 mg), $\text{H}_2\text{O}:\text{MeCN}$ (2:1 v/v, 1,5 ml). Reakce 2 h.

Běžová pevná látka (30 mg, 75 %), b.t. 157,3 °C, $[\alpha]^{20}_{589} = -61.5$ (c = 0.242 g/100ml v DMSO)

^1H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): 4.09 (dtd, 1H, $J_{4',F} = 25.0$ Hz, $J_{4',5'a} = J_{4',3'} = 4.6$ Hz, $J_{4',5'b} = 3.2$ Hz, H-4'); 4.16 (bt, 1H, $J_{3',2'} = J_{2',4'} = 4.9$ Hz, H-3'); 4.45 (td, 1H, $J_{2',1'} = J_{2',3'} = 5.4$ Hz, $J_{2',F} = 1.2$ Hz, H-2'); 4.62 (ddd, 1H, $J_{5'a,F} = 47.4$ Hz, $J_{gem} = 10.4$ Hz, $J_{5'a,4'} = 4.7$ Hz, H-5'a); 4.65 (ddd, 1H, $J_{5'b,F} = 47.8$ Hz, $J_{gem} = 10.4$ Hz, $J_{5'b,4'} = 3.2$ Hz, H-5'b); 5.60 (bs, 2H, OH-2',3'); 6.25 (d, 1H, $J_{1',2'} = 5.4$ Hz, H-1'); 6.25 (vbs, 2H, NH_2); 7.54 (s, 1H, H-6); 7.50 – 7.58 (m, 2H, H-6,7-naftyl); 7.65 (dd, 1H, $J_{3,4} = 8.4$ Hz, $J_{3,1} = 1.8$ Hz, H-3-naftyl); 7.94 – 7.99 (m, 2H, H-5,8-naftyl); 8.00 (d, 1H, $J_{1,3} = 1.8$ Hz, H-1-naftyl); 8.03 (d, 1H, $J_{4,3} = 8.5$ Hz, H-4-naftyl); 8.20 (s, 1H, H-2).

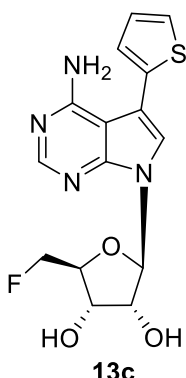
^{13}C NMR (125.7 MHz, DMSO-d_6): 69.83 (d, $J_{C,F} = 5.5$ Hz, CH-3'); 73.79 (CH-2'); 82.16 (d, $J_{C,F} = 18.2$ Hz, CH-4'); 83.39 (d, $J_{C,F} = 168.5$ Hz, CH_2 -5'); 87.02 (CH-1'); 100.62 (C-4a); 117.13 (C-5); 120.82 (CH-6); 126.17, 126.79 a 126.91 (CH-1,6,7-naftyl); 127.22 (CH-3-naftyl); 127.90 a 128.08 (CH-5,8-naftyl); 128.73 (CH-4-naftyl); 132.04 a 132.09 (C-2,4a-naftyl); 133.46 (C-8a-naftyl); 151.57 (C-7a); 152.28 (CH-2); 157.66 (C-4).

IČ (ATR) $\nu = 3467, 3293, 3151, 2951, 2361, 1630, 1579, 1466, 1292, 1099, 983, 818, 748, 639, 471$ cm^{-1} .

HRMS (ESI) vypočteno pro $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{FN}_4\text{O}_3$: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 395.1519$, nalezeno 395.1541.

HPLC: $t_R = 13.64$ min, čistota 95.07 % (Luna Omega Polar PS 1,8 μm , 150x2,1 mm, 30 min, 0.4 ml/min, $\text{H}_2\text{O}:\text{MeCN}$ 0 \rightarrow 100 %)

4-Amino-7-(5'-deoxy-5'-fluoro- β -D-ribofuranosyl)-5-(thiofen-2-yl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (13c)



Pro syntézu byla použita látka **11** (0,101 mmol, 40 mg), thiofen-2-ylboronová kyselina (0,152 mmol, 20 mg), Cs₂CO₃ (0,944 mmol, 308 mg), Pd(OAc)₂ (0,0006 mmol, 0,1 mg), TPPTS (0,014 mmol, 8 mg), H₂O:MeCN (2:1 v/v, 1,5 ml). Délka reakce 2 h.

Běžová pevná látka (26 mg, 74 %), b.t. 139,5 °C, $[\alpha]^{20}_{589} = -80.4$ (c = 0.220 g/100ml v DMSO)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆): 4.07 (dtd, 1H, $J_{4',F} = 25.4$ Hz, $J_{4',5'a} = J_{4',3'} = 4.4$ Hz, $J_{4',5'b} = 3.2$ Hz, H-4'); 4.16 (bt, 1H, $J_{3',2'} = J_{2',4'} = 4.8$ Hz, H-3'); 4.40 (td, 1H, $J_{2',1'} = J_{2',3'} = 5.4$ Hz, $J_{2',F} = 1.1$ Hz, H-2'); 4.60 (ddd, 1H, $J_{5'a,F} = 47.4$ Hz, $J_{gem} = 10.5$ Hz, $J_{5'a,4'} = 4.7$ Hz, H-5'a); 4.64 (ddd, 1H, $J_{5'b,F} = 47.8$ Hz, $J_{gem} = 10.5$ Hz, $J_{5'b,4'} = 3.2$ Hz, H-5'b); 5.62 (bs, 2H, OH-2',3'); 6.18 (d, 1H, $J_{1',2'} = 5.6$ Hz, H-1'); 6.35 (vbs, 2H, NH₂); 7.16 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, $J_{3,5} = 1.3$ Hz, H-3-thienyl); 7.19 (dd, 1H, $J_{4,5} = 5.1$ Hz, $J_{4,3} = 3.5$ Hz, H-4-thienyl); 7.47 (s, 1H, H-6); 7.58 (dd, 1H, $J_{5,4} = 5.1$ Hz, $J_{5,3} = 1.3$ Hz, H-5-thienyl); 8.18 (s, 1H, H-2).

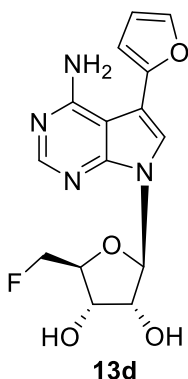
¹³C NMR (125.7 MHz, DMSO-d₆): 69.77 (d, $J_{C,F} = 5.5$ Hz, CH-3'); 73.72 (CH-2'); 82.26 (d, $J_{C,F} = 18.2$ Hz, CH-4'); 83.32 (d, $J_{C,F} = 168.0$ Hz, CH₂-5'); 86.96 (CH-1'); 100.68 (C-4a); 109.23 (C-5); 121.33 (CH-6); 126.16 (CH-5-thienyl); 126.70 (CH-3-thienyl); 128.55 (CH-4-thienyl); 135.55 (C-2-thienyl); 151.13 (C-7a); 152.52 (CH-2); 157.50 (C-4).

IČ (ATR) $\nu = 3463, 3306, 3118, 2949, 2358, 1618, 1546, 1458, 1269, 1081, 339, 389, 793, 699, 635$ cm⁻¹.

HRMS (ESI) vypočteno pro C₁₅H₁₅FN₄O₃S: $[M+H]^+ = 351.09247$, nalezeno 351.0956.

HPLC: $t_R = 10.73$ min, čistota 96.52 % (Luna Omega Polar PS 1,8 μ m, 150x2,1 mm, 30 min, 0.4 ml/min, H₂O:MeCN 0 \rightarrow 100 %)

4-Amino-7-(5'-deoxy-5'-fluoro-β-D-ribofuranosyl)-5-(furan-2-yl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (13d)



Pro syntézu byla použita látka **11** (0,101 mmol, 40 mg), furan-2-ylboronová kyselina (0,152 mmol, 17 mg), Cs₂CO₃ (0,944 mmol, 308 mg), Pd(OAc)₂ (0,0006 mmol, 0,1 mg), TPPTS (0,014 mmol, 8 mg), H₂O:MeCN (2:1 v/v, 1,5 ml). Délka reakce 2 h.

Běžová pevná látka (18 mg, 53 %), b.t. 144,4 °C, $[\alpha]^{20}_{589} = -96.0$ (c = 0.174 g/100ml v DMSO)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆): 4.08 (dtd, 1H, $J_{4',F} = 25.0$ Hz, $J_{4',5'a} = J_{4',3'} = 4.7$ Hz, $J_{4',5'b} = 3.2$ Hz, H-4'); 4.17 (bt, 1H, $J_{3',2'} = J_{2',4'} = 4.9$ Hz, H-3'); 4.38 (bt, 1H, $J_{2',1'} = J_{2',3'} = 5.3$ Hz, H-2'); 4.62 (ddd, 1H, $J_{5'a,F} = 47.4$ Hz, $J_{gem} = 10.5$ Hz, $J_{5'a,4'} = 4.8$ Hz, H-5'a); 4.65 (ddd, 1H, $J_{5'b,F} = 47.7$ Hz, $J_{gem} = 10.5$ Hz, $J_{5'b,4'} = 3.2$ Hz, H-5'b); 5.42 (bs, 1H, OH-3'); 5.58 (bs, 1H, OH-2'); 6.18 (d, 1H, $J_{1',2'} = 5.4$ Hz, H-1'); 6.62 (dd, 1H, $J_{4,3} = 3.3$ Hz, $J_{4,5} = 1.9$ Hz, H-4-furyl); 6.71 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.3$ Hz, $J_{3,5} = 0.9$ Hz, H-3-furyl); 6.94 (bs, 2H, NH₂); 7.72 (s, 1H, H-6); 7.79 (dd, 1H, $J_{5,4} = 1.9$ Hz, $J_{5,3} = 0.9$ Hz, H-5-furyl); 8.15 (s, 1H, H-2).

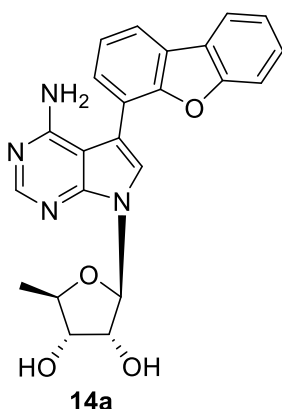
¹³C NMR (125.7 MHz, DMSO-d₆): 69.72 (d, $J_{C,F} = 5.5$ Hz, CH-3'); 73.69 (CH-2'); 82.17 (d, $J_{C,F} = 18.1$ Hz, CH-4'); 83.31 (d, $J_{C,F} = 168.7$ Hz, CH₂-5'); 86.95 (CH-1'); 99.33 (C-4a); 105.67 (CH-3-furyl); 106.92 (C-5); 112.17 (CH-4-furyl); 119.78 (CH-6); 142.30 (CH-5-furyl); 148.67 (C-2-furyl); 151.38 (C-7a); 152.58 (CH-2); 157.48 (C-4).

IČ (ATR) $\nu = 3463, 3328, 3118, 2953, 2359, 1643, 1576, 1484, 1300, 1182, 1065, 891, 792, 696, 589, 485$ cm⁻¹.

HRMS (ESI) vypočteno pro C₁₅H₁₅FN₄O₄: $[M+H]^+ = 335.1156$, nalezeno 335.1185.

HPLC: $t_R = 10.04$ min, čistota 94.64 % (Luna Omega Polar PS 1,8 μm, 150x2,1 mm, 30 min, 0.4 ml/min, H₂O:MeCN 0 → 100 %)

4-Amino-5-(dibenzo[*b,d*]furan-4-yl)-7-(5'-deoxy- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (14a)



Pro syntézu byla použita látka **12** (0,186 mmol, 70 mg), dibenzo[*b,d*]furan-4-ylboronová kyselina (0,279 mmol, 59 mg), Cs₂CO₃ (1,731 mmol, 564 mg), Pd(OAc)₂ (0,0011 mmol, 0,3 mg), TPPTS (0,026 mmol, 15 mg), H₂O:MeCN (2:1 v/v, 3 ml). Délka reakce 2 h.

Bílá pevná látka (66 mg, 86 %), b.t. 176,1 °C, $[\alpha]_{589}^{20} = -83.8$ (c = 0.211 g/100ml v DMSO)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): 1.30 (d, 3H, $J_{5',4'} = 6.3$ Hz, H-5'); 3.91 (bq, 1H, $J_{3',2'} = J_{3',OH} = J_{3',4'} = 5.2$ Hz, H-3'); 3.95 (qd, 1H, $J_{4',5'} = 6.3$ Hz, $J_{4',3'} = 4.9$ Hz, H-4'); 4.54 (dt, 1H, $J_{2',OH} = 5.9$ Hz, $J_{2',3'} = J_{2',1'} = 5.3$ Hz, H-2'); 5.15 (bd, 1H, $J_{OH,3'} = 5.4$ Hz, OH-3'); 5.42 (bd, 1H, $J_{OH,2'} = 6.0$ Hz, OH-2'); 6.15 (d, 1H, $J_{1',2'} = 5.1$ Hz, H-1'); 7.43 (td, 1H, $J_{8,7} = J_{8,9} = 7.5$ Hz, $J_{8,6} = 1.0$ Hz, H-8-C₁₂H₇O); 7.49 – 7.55 (m, 3H, H-2,3,7-C₁₂H₇O); 7.67 (s, 1H, H-6); 7.69 (dt, 1H, $J_{6,7} = 9.2$ Hz, $J_{6,8} = J_{6,9} = 0.8$ Hz, H-6-C₁₂H₇O); 8.17 (dd, 1H, $J_{1,2} = 6.6$ Hz, $J_{1,3} = 2.4$ Hz, H-1-C₁₂H₇O); 8.20 (s, 1H, H-2); 8.21 (ddd, 1H, $J_{9,8} = 7.7$ Hz, $J_{9,7} = 1.4$ Hz, $J_{9,6} = 0.6$ Hz, H-9-C₁₂H₇O).

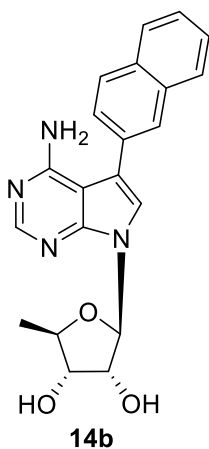
¹³C NMR (125.7 MHz, DMSO-*d*₆): 19.32 (CH₃-5'); 73.70 (CH-2'); 74.96 (CH-3'); 79.40 (CH-4'); 87.71 (CH-1'); 101.72 (C-4a); 110.14 (C-5); 112.09 (CH-6-C₁₂H₇O); 119.08 (C-4-C₁₂H₇O); 120.44 (CH-1-C₁₂H₇O); 121.58 (CH-9-C₁₂H₇O); 122.48 (CH-6); 123.45 (CH-8-C₁₂H₇O); 123.80 (CH-2-C₁₂H₇O); 124.06 (C-9a-C₁₂H₇O); 124.37 (C-9b-C₁₂H₇O); 127.91 (CH-7-C₁₂H₇O); 128.80 (CH-3-C₁₂H₇O); 151.11 (C-7a); 152.24 (CH-2); 153.50 (C-4a-C₁₂H₇O); 155.73 (C-5a-C₁₂H₇O); 157.68 (C-4).

IČ (ATR) $\nu = 3478, 3329, 3182, 2968, 2926, 2321, 1613, 1535, 1450, 1232, 1186, 1117, 1041, 992, 840, 750, 642$ cm⁻¹.

HRMS (ESI) vypočteno pro C₂₃H₂₀N₄O₄: $[M+H]^+ = 417.1563$, nalezeno 417.1588.

HPLC: $t_R = 14.29$ min, čistota 99.06 % (Luna Omega Polar PS 1,8 μ m, 150x2,1 mm, 30 min, 0.4 ml/min, H₂O:MeCN 0 \rightarrow 100 %)

4-Amino-7-(5'-deoxy- β -D-ribofuranosyl)-5-(naftalen-2-yl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (14b)



Pro syntézu byla použita látka **12** (0,186 mmol, 70 mg), naftalen-2-ylboronová kyselina (0,279 mmol, 48 mg), Cs₂CO₃ (1,731 mmol, 564 mg), Pd(OAc)₂ (0,0011 mmol, 0,3 mg), TPPTS (0,026 mmol, 15 mg), H₂O:MeCN (2:1 v/v, 3 ml). Délka reakce 1 h 45 min.

Běžová pevná látka (56 mg, 80 %), b.t. 150,0 °C, $[\alpha]_{589}^{20} = -64.1$ (c = 0.223 g/100ml v DMSO)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆): 1.30 (d, 3H, $J_{5',4'} = 6.3$ Hz, H-5'); 3.90 (t, 1H, $J_{3',2'} = J_{3',4'} = 5.0$ Hz, H-3'); 3.94 (qd, 1H, $J_{4',5'} = 6.3$ Hz, $J_{4',3'} = 4.9$ Hz, H-4'); 4.49 (t, 1H, $J_{2',1'} = J_{2',3'} = 5.2$ Hz, H-2'); 5.34 (bs, 2H, OH-2',3'); 6.15 (d, 1H, $J_{1',2'} = 5.2$ Hz, H-1'); 6.23 (vbs, 2H, NH₂); 7.50 – 7.58 (m, 2H, H-6,7-naftyl); 7.60 (s, 1H, H-6); 7.67 (dd, 1H, $J_{3,4} = 8.4$ Hz, $J_{3,1} = 1.8$ Hz, H-3-naftyl); 7.95 – 7.99 (m, 2H, H-5,8-naftyl); 8.01 (d, 1H, $J_{1,3} = 1.8$ Hz, H-1-naftyl); 8.03 (d, 1H, $J_{4,3} = 8.5$ Hz, H-4-naftyl); 8.19 (s, 1H, H-2).

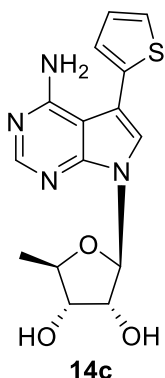
¹³C NMR (125.7 MHz, DMSO-d₆): 19.36 (CH₃-5'); 73.74 (CH-2'); 74.97 (CH-3'); 79.33 (CH-4'); 87.62 (CH-1'); 100.62 (C-4a); 116.97 (C-5); 121.35 (CH-6); 126.13, 126.76 a 126.93 (CH-1,6,7-naftyl); 127.31 (CH-3-naftyl); 127.89 a 128.07 (CH-5,8-naftyl); 128.66 (CH-4-naftyl); 132.06 a 132.12 (C-2,4a-naftyl); 133.46 (C-8a-naftyl); 151.50 (C-7a); 152.19 (CH-2); 157.63 (C-4).

IČ (ATR) $\nu = 3471, 3301, 3181, 2967, 2927, 1615, 1535, 1295, 1028, 664, 859, 747, 648, 590, 475$ cm⁻¹.

HRMS (ESI) vypočteno pro C₂₁H₂₀N₄O₃: [M+H]⁺ = 377.1614, nalezeno 377.1641.

HPLC: t_R = 13.52 min, čistota 97.44 % (Luna Omega Polar PS 1,8 μ m, 150x2,1 mm, 30 min, 0.4 ml/min, H₂O:MeCN 0 → 100 %)

4-Amino-7-(5'-deoxy- β -D-ribofuranosyl)-5-(thiofen-2-yl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (14c)



Pro syntézu byla použita látka **12** (0,186 mmol, 70 mg), thiofen-2-ylboronová kyselina (0,279 mmol, 36 mg), Cs₂CO₃ (1,731 mmol, 564 mg), Pd(OAc)₂ (0,0011 mmol, 0,3 mg), TPPTS (0,026 mmol, 15 mg), H₂O:MeCN (2:1 v/v, 3 ml). Délka reakce 2 h.

Běžová pevná látka (45 mg, 73 %), b.t. 154,5 °C, [α]²⁰₅₈₉ = - 84.5 (c = 0.252 g/100ml v DMSO)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆): 1.30 (d, 3H, $J_{5',4'} = 6.3$ Hz, H-5'); 3.90 (t, 1H, $J_{3',2'} = J_{3',4'} = 5.0$ Hz, H-3'); 3.94 (qd, 1H, $J_{4',5'} = 6.3$ Hz, $J_{4',3'} = 4.9$ Hz, H-4'); 4.49 (t, 1H, $J_{2',1'} = J_{2',3'} = 5.2$ Hz, H-2'); 5.34 (bs, 2H, OH-2',3'); 6.15 (d, 1H, $J_{1',2'} = 5.2$ Hz, H-1'); 6.23 (vbs, 2H, NH₂); 7.50 – 7.58 (m, 2H, H-6,7-naftyl); 7.60 (s, 1H, H-6); 7.67 (dd, 1H, $J_{3,4} = 8.4$ Hz, $J_{3,1} = 1.8$ Hz, H-3-naftyl); 7.95 – 7.99 (m, 2H, H-5,8-naftyl); 8.01 (d, 1H, $J_{1,3} = 1.8$ Hz, H-1-naftyl); 8.03 (d, 1H, $J_{4,3} = 8.5$ Hz, H-4-naftyl); 8.19 (s, 1H, H-2).

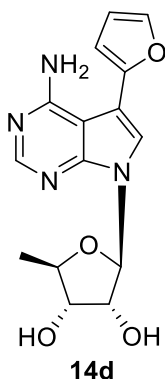
¹³C NMR (125.7 MHz, DMSO-d₆): 19.36 (CH₃-5'); 73.74 (CH-2'); 74.97 (CH-3'); 79.33 (CH-4'); 87.62 (CH-1'); 100.62 (C-4a); 116.97 (C-5); 121.35 (CH-6); 126.13, 126.76 a 126.93 (CH-1,6,7-naftyl); 127.31 (CH-3-naftyl); 127.89 a 128.07 (CH-5,8-naftyl); 128.66 (CH-4-naftyl); 132.06 a 132.12 (C-2,4a-naftyl); 133.46 (C-8a-naftyl); 151.50 (C-7a); 152.19 (CH-2); 157.63 (C-4).

IČ (ATR) $\nu = 3437, 3307, 3164, 2969, 2926, 2319, 1618, 1547, 1457, 1348, 1296, 1085, 1031, 901, 838, 794, 699, 635$ cm⁻¹.

HRMS (ESI) vypočteno pro C₁₅H₁₆N₄O₃S: [M+H]⁺ = 333.1021, nalezeno 333.1039.

HPLC: t_R = 10.54 min, čistota 98.52 % (Luna Omega Polar PS 1,8 μ m, 150x2,1 mm, 30 min, 0.4 ml/min, H₂O:MeCN 0 → 100 %)

4-Amino-7-(5'-deoxy- β -D-ribofuranosyl)-5-(furan-2-yl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (14d)



Pro syntézu byla použita látka **12** (0,226 mmol, 85 mg), furan-2-ylboronová kyselina (0,339 mmol, 38 mg), Cs₂CO₃ (2,102 mmol, 685 mg), Pd(OAc)₂ (0,0014 mmol, 0,3 mg), TPPTS (0,032 mmol, 18 mg), H₂O:MeCN (2:1 v/v, 3 ml). Délka reakce 2 h.

Oranžová pevná látka (45 mg, 73 %), b.t. 154,5 °C, $[\alpha]_{589}^{20} = -90.3$ (c = 0.237 g/100ml v DMSO)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆): 1.30 (d, 3H, $J_{5',4'} = 6.3$ Hz, H-5'); 3.90 (t, 1H, $J_{3',2'} = J_{3',4'} = 5.0$ Hz, H-3'); 3.94 (qd, 1H, $J_{4',5'} = 6.3$ Hz, $J_{4',3'} = 4.9$ Hz, H-4'); 4.49 (t, 1H, $J_{2',1'} = J_{2',3'} = 5.2$ Hz, H-2'); 5.34 (bs, 2H, OH-2',3'); 6.15 (d, 1H, $J_{1',2'} = 5.2$ Hz, H-1'); 6.23 (vbs, 2H, NH₂); 7.50 – 7.58 (m, 2H, H-6,7-naftyl); 7.60 (s, 1H, H-6); 7.67 (dd, 1H, $J_{3,4} = 8.4$ Hz, $J_{3,1} = 1.8$ Hz, H-3-naftyl); 7.95 – 7.99 (m, 2H, H-5,8-naftyl); 8.01 (d, 1H, $J_{1,3} = 1.8$ Hz, H-1-naftyl); 8.03 (d, 1H, $J_{4,3} = 8.5$ Hz, H-4-naftyl); 8.19 (s, 1H, H-2).

¹³C NMR (125.7 MHz, DMSO-d₆): 19.36 (CH₃-5'); 73.74 (CH-2'); 74.97 (CH-3'); 79.33 (CH-4'); 87.62 (CH-1'); 100.62 (C-4a); 116.97 (C-5); 121.35 (CH-6); 126.13, 126.76 a 126.93 (CH-1,6,7-naftyl); 127.31 (CH-3-naftyl); 127.89 a 128.07 (CH-5,8-naftyl); 128.66 (CH-4-naftyl); 132.06 a 132.12 (C-2,4a-naftyl); 133.46 (C-8a-naftyl); 151.50 (C-7a); 152.19 (CH-2); 157.63 (C-4).

IČ (ATR) $\nu = 3475, 3310, 3119, 2967, 2931, 2321, 1623, 1556, 1458, 1305, 1225, 1130, 1012, 890, 790, 706, 590$ cm⁻¹.

HRMS (ESI) vypočteno pro C₁₅H₁₆N₄O₄: [M+H]⁺ = 317.1250, nalezeno 317.1263.

HPLC: t_R = 9.80 min, čistota 98.45 % (Luna Omega Polar PS 1,8 μ m, 150x2,1 mm, 30 min, 0.4 ml/min, H₂O:MeCN 0 → 100 %)

6. Seznam použité literatury

- [1] D. L. Nelson, M. M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry*, 6th. ed., W.H. Freeman, **2012**.
- [2] G. Hu, F.-Q. Yang, *Chem. Rap. Commun.* **2014**, *2*, 22-28.
- [3] L. P. Jordheim, D. Durantel, F. Zoulim, C. Dumontet, *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2013**, *12*, 447–464.
- [4] E. De Clercq, G. Li, *Clin. Microbiol. Rev.* **2016**, *29*, 695–747.
- [5] K. L. Seley-Radtke, M. K. Yates, *Antiviral Res.* **2018**, *154*, 66–86.
- [6] P. Cano-Soldado, M. Pastor-Anglada, *Med. Res. Rev.* **2012**, *32*, 428–457.
- [7] E. P. Anderson, *The Enzymes*, **1973**, *9*, 49–96.
- [8] *Global tuberculosis report 2018*, WHO, **2018**.
- [9] S. Ahmad, *Respir. Res.* **2010**, *11*, 169.
- [10] P. Perlíková, P. Konečný, P. Nauš, J. Snášel, I. Votruba, P. Džubák, I. Pichová, M. Hajdúch, M. Hocek, *Med. Chem. Commun.* **2013**, *4*, 1497–1500.
- [11] J. Snášel, P. Nauš, J. Dostál, A. Hnízda, J. Fanfrlík, J. Brynda, A. Bourderieux, M. Dušek, H. Dvořáková, J. Stolaříková, et al., *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 8268–8279.
- [12] V. Malnuit, L. P. Slavětínská, P. Nauš, P. Džubák, M. Hajdúch, J. Stolaříková, J. Snášel, I. Pichová, M. Hocek, *Chem. Med. Chem.* **2015**, *10*, 1079–1093.
- [13] M. C. Long, S. C. Shaddix, O. Moukha-Chafiq, J. A. Maddry, L. Nagy, W. B. Parker, *Biochem. Pharmacol.* **2008**, *75*, 1588–1600.
- [14] Y. A. Kim, A. Sharon, C. K. Chu, R. H. Rais, O. N. Al Safarjalani, F. N. M. Naguib, M. H. el Kouni, *Biochem. Pharmacol.* **2007**, *73*, 1558–1572.
- [15] N. V. Bhagavan, C.-E. Ha, *Essentials of Medical Biochemistry*, 2nd. ed., Academic Press, **2015**.

-
- [16] F. Hulpia, G. D. Campagnaro, M. Scortichini, K. Van Hecke, L. Maes, H. P. de Koning, G. Caljon, S. Van Calenbergh, *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *164*, 689–705.
- [17] M. Tichý, S. Smoleň, E. Tloušť'ová, R. Pohl, T. Oždian, K. Hejtmánková, B. Lišková, S. Gurská, P. Džubák, M. Hajdúch, et al., *J. Med. Chem.* **2017**, *60*, 2411–2424.
- [18] M. C. Long, V. Escuyer, W. B. Parker, *J. of Bacteriology* **2003**, *185*, 6548–6555.
- [19] C. M. Sassetti, E. J. Rubin, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2003**, *100*, 12989–12994.
- [20] C.-K. Chen, E. W. Barrow, P. W. Allan, N. Bansal, J. A. Maddry, W. J. Suling, W. W. Barrow, W. B. Parker, *Microbiology (Reading, Engl.)*, **2002**, *148*, 289–295.
- [21] W. B. Parker, E. W. Barrow, P. W. Allan, S. C. Shaddix, M. C. Long, W. W. Barrow, N. Bansal, J. A. Maddry, *Tuberculosis (Edinb)*, **2004**, *84*, 327–336.
- [22] M. C. Long, W. B. Parker, *Biochem. Pharmacol.* **2006**, *71*, 1671–1682.
- [23] R. L. Miller, D. L. Adamczyk, W. H. Miller, *J. Biol. Chem.* **1979**, *254*, 2339–2345.
- [24] P. Perlíková, G. Rylová, P. Nauš, T. Elbert, E. Tloušť'ová, A. Bourderieux, L. P. Slavětínská, K. Motyka, D. Doležal, P. Znojek, et al., *Mol. Cancer Ther.* **2016**, *15*, 922–937.
- [25] P. Perlíková, M. Hocek, *Med. Res. Rev.* **2017**, *37*, 1429–1460.
- [26] G. Acs, E. Reich, M. Mori, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1964**, *52*, 493–501.
- [27] R. J. Suhadolnik, T. Uematsu, H. Uematsu, *Biochim. Biophys. Acta* **1967**, *149*, 41–49.
- [28] Y. Komi, O. Ohno, Y. Suzuki, M. Shimamura, K. Shimokado, K. Umezawa, S. Kojima, *Jpn. J. Clin. Oncol.* **2007**, *37*, 867–873.
- [29] P. Nauš, O. Caletková, P. Konečný, P. Džubák, K. Bogdanová, M. Kolář, J. Vrbková, L. Slavětínská, E. Tloušť'ová, P. Perlíková, et al., *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 1097–1110.

- [30] M. C. M. Reddy, S. K. Palaninathan, N. D. Shetty, J. L. Owen, M. D. Watson, J. C. Sacchettini, *J. Biol. Chem.* **2007**, *282*, 27334–27342.
- [31] P. Liu, A. Sharon, C. K. Chu, *J. Fluor. Chem.* **2008**, *129*, 743–766.
- [32] M. Bobek, A. Bloch, *Nucleosides and Nucleotides*, **1994**, *13*, 429–435.
- [33] A. M. Downey, M. Hocek, *Beilstein J. of Org. Chem.* **2017**, *13*, 1239–1279.
- [34] G. Romeo, U. Chiacchio, A. Corsaro, P. Merino, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 3337–3370.
- [35] A. M. Downey, R. Pohl, J. Roithová, M. Hocek, *Chemistry – A European Journal* **2017**, *23*, 3910–3917.
- [36] A. M. Downey, C. Richter, R. Pohl, R. Mahrwald, M. Hocek, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 4604–4607.
- [37] K. C. K. Swamy, N. N. B. Kumar, E. Balaraman, K. V. P. P. Kumar, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 2551–2651.
- [38] U. Niedballa, H. Vorbrüggen, *Angewandte Chemie International Ed. in Eng.* **1970**, *9*, 461–462.
- [39] Z. Wang, Ed., *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*, American Cancer Society, **2010**, 2915–2919.
- [40] B. Bennua-Skalmowski, K. Krolikiewicz, H. Vorbriiggen, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 7845–7848.
- [41] H. Shirouzu, H. Morita, M. Tsukamoto, *Tetrahedron*, **2014**, *70*, 3635–3639.
- [42] Z. Kazimierczuk, H. B. Cottam, G. R. Revankar, R. K. Robins, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 6379–6382.
- [43] E. Fischer, B. Helferich, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, **1914**, *47*, 210–235.

-
- [44] L. B. Townsend, Ed., *Chemistry of Nucleosides and Nucleotides: Volume 3*, Springer US, **1994**.
- [45] S. Hanessian, B. Lou, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4443–4464.
- [46] B. Capon, *Chem. Rev.* **1969**, *69*, 407–498.
- [47] S. Schmalisch, R. Mahrwald, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 5854–5857.
- [48] J. E. McMurry, *Organic Chemistry*, 9th. ed., Cengage Learning, **2015**.
- [49] J. A. Joule, K. Mills, *Heterocyclic Chemistry At A Glance*, 2nd ed., Wiley, **2012**.
- [50] T. Colacot, Ed., *New Trends in Cross-Coupling*, RSC Publishing, **2014**.
- [51] L. A. Agrofoglio, I. Gillaizeau, Y. Saito, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1875–1916.
- [52] K. H. Shaughnessy, *Molecules* **2015**, *20*, 9419–9454.
- [53] N. Miyaoura, K. Yamada, A. Suzuki, *Tetrahedron Letters* **1979**, *20*, 3437–3440.
- [54] M. Havelková, D. Dvořák, M. Hocek, *Synthesis* **2001**, *2001*, 1704–1710.
- [55] M. Hocek, A. Holý, I. Votruba, H. Dvořáková, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 1817–1825.
- [56] A. de Meijere, Editor, F. Diederich, Ed., *Metal-Catalyzed Cross-Coupling Reactions*, 2nd ed., Wiley, **2004**.
- [57] K. Matos, J. A. Soderquist, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 461–470.
- [58] A. L. Casado, P. Espinet, *Organometallics* **1998**, *17*, 954–959.
- [59] A. A. C. Braga, G. Ujaque, F. Maseras, *Organometallics* **2006**, *25*, 3647–3658.
- [60] R. F. Heck, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 5518–5526.
- [61] M. Klečka, L. P. Slavětínská, M. Hocek, *European Journal of Organic Chemistry* **2015**, *2015*, 7943–7961.
- [62] M. Krömer, K. Bártová, V. Raindlová, M. Hocek, *Chemistry – A European Journal*

2018, 24, 11890–11894.

- [63] M. Krömer, M. Klečka, L. Slavětínská, B. Klepetářová, M. Hocek, *European Journal of Organic Chemistry* **2014**, 2014, 7203–7210.
- [64] J. Dadová, P. Vidláková, R. Pohl, L. Havran, M. Fojta, M. Hocek, *J. Org. Chem.* **2013**, 78, 9627–9637.
- [65] Hocek group, nepublikováno.
- [66] A. Bourderioux, P. Naus, P. Perlíková, R. Pohl, I. Pichová, I. Votruba, P. Dzubák, P. Konecný, M. Hajdúch, K. M. Stray, et al., *J. Med. Chem.* **2011**, 54, 5498–5507.
- [67] M. Hocek, A. Holý, I. Votruba, H. Dvořáková, *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2000**, 65, 1683–1697.
- [68] S. H. Boyer, B. G. Ugarkar, J. Solbach, J. Kopcho, M. C. Matelich, K. Ollis, J. E. Gomez-Galeno, R. Mendonca, M. Tsuchiya, A. Nagahisa, et al., *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 6430–6441.
- [69] Y. Song, H. Ding, Y. Dou, R. Yang, Q. Sun, Q. Xiao, Y. Ju, *Synthesis* **2011**, 2011, 1442–1446.
- [70] X.-G. Li, S. Dall'Angelo, L. F. Schweiger, M. Zanda, D. O'Hagan, *Chem. Commun.* **2012**, 48, 5247–5249.
- [71] P. Sairam, R. Puranik, B. S. Rao, P. V. Swamy, S. Chandra, *Carbohydr. Res.* **2003**, 338, 303–306.
- [72] N.-S. Li, J. A. Piccirilli, *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 4018–4020.
- [73] M. Sharma, Y. X. Li, M. Ledvina, M. Bobek, *Nucleosides and Nucleotides* **1995**, 14, 1831–1852.