



GRZEGORZ FRAMSKI

BADANIA NAD MECHANIZMEM CHEMICZNEJ  
GLIKOZYLACJI ADENINY

Praca przedstawiona Radzie Naukowej  
Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu  
w celu uzyskania stopnia doktora nauk chemicznych

BIBLIOTEKA  
INSTYTUTU CHEMII BIOORGANICZNEJ  
POLSKIEJ AKADEMII NAUK  
ul. Noskowskiego 12/14  
51-701 Wrocław, Polska

D-127

Praca wykonana w Pracowni Chemii Nukleozydów  
Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu  
pod kierunkiem prof. dr hab. Jerzego Boryskiego

INSTYTUT CHEMII BIOORGANICZNEJ  
POLSKIEJ AKADEMII NAUK  
ul. Z. Noskowskiego 12/14  
61-704 Poznań, tel. 52-85-03  
Regon 000849327  
-9-

Mojemu Promotorowi

Panu Profesorowi dr hab. Jerzemu Boryskiemu

za wskazanie interesującego tematu badań

oraz za okazaną pomoc podczas realizacji pracy doktorskiej,  
wrozumiałość i cierpliwość

składam podziękowania



Mojej żonie za cierpliwość

dziękuję.





## SPIS TREŚCI

<b>1. METODY I MECHANIZMY WYTWARZANIA WIĄZANIA N-GLIKOZYDOWEGO W CHEMII NUKLEOZYDÓW .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Wstęp.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2. Przegląd metod stosowanych w glikozylacji zasad heterocyklicznych.....</b>	<b>3</b>
1.2.1. Metoda metalu ciężkiego .....	3
1.2.2. Metoda Hilberta-Johnsona .....	14
1.2.3. Metoda sililowa .....	21
1.2.4. Metoda stapiana (fuzji) .....	28
1.2.5. Metoda glikozylacji anionowej .....	33
1.2.6. Metoda wymiany (transpurynacja, transglikozylacja) .....	35
1.2.7. Metody enzymatyczne .....	46
<b>1.3. Stereoselektywność w syntezie nukleozydów .....</b>	<b>49</b>
1.3.1. Glikozylacja w serii rybofuranozy .....	49
1.3.2. Glikozylacja w serii 2-deoksycukrów .....	53
1.3.3. Stereochemia glikozylacji anionowej .....	54
<b>1.4. Tautomeria a regioselektywność glikozylacji .....</b>	<b>55</b>
<b>2. CEL PRACY .....</b>	<b>58</b>
<b>3. BADANIA WŁASNE .....</b>	<b>60</b>
<b>3.1. Wstęp.....</b>	<b>60</b>
<b>3.2. Próby wyodrębnienia kinetycznych produktów glikozylacji adeniny .....</b>	<b>61</b>
3.2.1. Rybozylacja w warunkach silnie kwasowych.....	61
3.2.2. Rybozylacja metodą stapiania.....	66
3.2.3. Rybozylacja wobec kwasu <i>p</i> -toluenosulfonowego .....	68
3.2.4. Rybozylacja wobec kwasu Lewisa.....	70
3.2.5. Glikozylacja adeniny eterem (2-acetoksyetylo)acetoksymetylowym.....	72
3.2.6. Podsumowanie .....	77
<b>3.3. Badanie przebiegu reakcji rybozylacji adeniny metodą sililową.....</b>	<b>78</b>
3.3.1. Wstęp.....	78
3.3.2. Reakcje rybozylacji nieblokowanej adeniny.....	79
3.3.2.1. Reakcja 7-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeniny w warunkach transglikozylacji .....	82
3.3.2.2. Mechanizm reakcji glikozylacji nieblokowanej adeniny .....	83

THE HISTORY OF THE UNITED STATES

- 1. The first settlement in North America was made by the English in 1607 at Jamestown, Virginia.
- 2. The Pilgrims, a group of English Puritans, settled at Plymouth in 1620.
- 3. The French established a colony at Quebec in 1608.
- 4. The Spanish discovered gold in California in 1791.
- 5. The American Revolution began in 1775.
- 6. The Declaration of Independence was signed in 1776.
- 7. The Constitution was adopted in 1787.
- 8. The Louisiana Purchase was made in 1803.
- 9. The War of 1812 was fought between the United States and Great Britain.
- 10. The Civil War was fought from 1861 to 1865.
- 11. The Reconstruction period followed the Civil War.
- 12. The Industrial Revolution began in the United States in the 1820s.
- 13. The Spanish-American War was fought in 1898.
- 14. World War I was fought from 1914 to 1918.
- 15. World War II was fought from 1939 to 1945.
- 16. The Cold War was fought between the United States and the Soviet Union from 1945 to 1991.
- 17. The Vietnam War was fought from 1955 to 1975.
- 18. The Space Age began in the 1950s.
- 19. The Vietnam War ended in 1975.
- 20. The Soviet Union collapsed in 1991.
- 21. The World Trade Organization was established in 1995.
- 22. The September 11 attacks occurred on September 11, 2001.
- 23. The Iraq War began in 2003.
- 24. The 2008 financial crisis began in 2008.
- 25. The Arab Spring began in 2011.
- 26. The 2014-2015 Ebola virus disease outbreak occurred in West Africa.
- 27. The 2017-2018 Zika virus outbreak occurred in South America.
- 28. The 2019-2020 COVID-19 pandemic began in 2019.

THE PRESENT

THE FUTURE

- 1. The United States is a democratic republic.
- 2. The United States is a member of the United Nations.
- 3. The United States is a member of the North Atlantic Treaty Organization (NATO).
- 4. The United States is a member of the Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD).
- 5. The United States is a member of the Group of Seven (G7).
- 6. The United States is a member of the Group of Twenty (G20).
- 7. The United States is a member of the World Trade Organization (WTO).
- 8. The United States is a member of the World Health Organization (WHO).
- 9. The United States is a member of the International Monetary Fund (IMF).
- 10. The United States is a member of the World Bank.
- 11. The United States is a member of the Organisation of American States (OAS).
- 12. The United States is a member of the Commonwealth of Independent States (CIS).
- 13. The United States is a member of the African Union (AU).
- 14. The United States is a member of the European Union (EU).
- 15. The United States is a member of the Association of South East Asian Nations (ASEAN).
- 16. The United States is a member of the Organisation of Islamic Cooperation (OIC).
- 17. The United States is a member of the Shanghai Cooperation Organisation (SCO).
- 18. The United States is a member of the BRICS nations (Brazil, Russia, India, China, South Africa).
- 19. The United States is a member of the G20 nations.
- 20. The United States is a member of the G7 nations.
- 21. The United States is a member of the G20 nations.
- 22. The United States is a member of the G7 nations.
- 23. The United States is a member of the G20 nations.
- 24. The United States is a member of the G7 nations.
- 25. The United States is a member of the G20 nations.
- 26. The United States is a member of the G7 nations.
- 27. The United States is a member of the G20 nations.
- 28. The United States is a member of the G7 nations.
- 29. The United States is a member of the G20 nations.
- 30. The United States is a member of the G7 nations.

3.3.3. Reakcje rybozylacji N <sup>6</sup> -acylowanych pochodnych adeniny .....	86
3.3.3.1. Otrzymywanie i charakterystyka strukturalna 1-rybofuranozyloadeniny .....	93
3.3.3.2. Reakcje N <sup>6</sup> -izobutyrylo-1-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeniny w warunkach transglikozylacji .....	96
3.3.3.3. Badanie procesu dekompozycji N <sup>6</sup> -izobutyrylo-1,9-bis-(2',3',5'-tri-O-acetyloribo- furanozylo)adeniny w warunkach transglikozylacji .....	99
3.3.3.4. Mechanizm reakcji rybozylacji metodą sililową .....	100
<b>4. WNIOSKI KOŃCOWE .....</b>	<b>103</b>
<b>5. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA .....</b>	<b>105</b>
<b>5.1. Metody ogólne .....</b>	<b>105</b>
<b>5.2. Szczegółowe dane eksperymentalne .....</b>	<b>107</b>
5.2.1. N <sup>6</sup> -Acetyloadenina (206) .....	107
5.2.2. N <sup>6</sup> -Benzoiloadenina (109) .....	107
5.2.3. N <sup>6</sup> -Izobutyryloadenina (197) .....	108
5.2.4. Synteza 9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozylo)adeniny (195) oraz 3-(2',3',5'- tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozylo)adeniny (196) .....	109
5.2.5. Reakcja izomeryzacji 3-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozylo)adeniny (196) w warunkach transglikozylacji .....	111
5.2.6. Synteza N <sup>6</sup> -izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozylo)-adeniny (198) oraz N <sup>6</sup> -izobutyrylo-3-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozylo)adeniny (199) .....	111
5.2.7. N <sup>6</sup> -Izobutyrylo-3-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozylo)adenina (199) i 3-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozylo)adenina (196) .....	112
5.2.8. Synteza N <sup>6</sup> -benzoilo-9-(2',3',5'-tri-O-benzoilo-β-D-rybofuranozylo)adeniny (204) i 9-(2',3',5'-tri-O-benzoilo-β-D-rybofuranozylo)adeniny (205) wobec 2,4-dinitrofenolu .....	113
5.2.9. Synteza N <sup>6</sup> -izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozylo)adeniny (198) i 9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozylo)adeniny (195) wobec 2,4-dinitrofenolu .....	114
5.2.10. Synteza N <sup>6</sup> -benzoilo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozylo)adeniny (110) wobec 2,4-dinitrofenolu .....	114
5.2.11. Próba kondensacji 1,2,3,5-tetra-O-acetylo-β-D-rybofuranozy (91) z adeniną (194) wobec 2,4-dinitrofenolu .....	115
5.2.12. Próba kondensacji adeniny (194) z 1,2,3,5-tetra-O-acetylo-β-D-rybofuranozą (91) wobec <i>p</i> -TsOH .....	115
5.2.13. N <sup>6</sup> -Benzoilo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozylo)adenina (110) .....	115
5.2.14. 9-Rybofuranozyloadenina (1) .....	116
5.2.15. Synteza N <sup>6</sup> -izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozylo)adeniny (198) wobec <i>p</i> -TsOH .....	117
5.2.16. Synteza N <sup>6</sup> -acetylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozylo)adeniny (207) wobec <i>p</i> -TsOH .....	117



5.2.17. Synteza N <sup>6</sup> -benzoilo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)adeniny ( <b>110</b> ) wobec HgCl <sub>2</sub> .....	117
5.2.18. Synteza 9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)adeniny ( <b>195</b> ) wobec SnCl <sub>4</sub> ..	118
5.2.19. Synteza N <sup>6</sup> -izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)adeniny ( <b>198</b> ) wobec SnCl <sub>4</sub> .....	118
5.2.20. Synteza 9-[(2-acetoksyetoksy)metylo]adeniny ( <b>211</b> ) i 1,1'-metyleno-bis-N <sup>6</sup> ,N <sup>6</sup> - {9-[(2-acetoksyetoksy)metylo]adeniny} ( <b>212</b> ) .....	119
5.2.21. Synteza N <sup>6</sup> -benzoilo-9-[(2-acetoksyetoksy)metylo]adeniny ( <b>220</b> ).....	120
5.2.22. Synteza N <sup>6</sup> -izobutyrylo-9-[(2-acetoksyetoksy)metylo]adeniny ( <b>221</b> ) oraz N <sup>6</sup> -izobutyrylo-9,N <sup>6</sup> -bis-[(2-acetoksyetoksy)metylo]adeniny ( <b>222</b> ) .....	121
5.2.23. Synteza 9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)adeniny ( <b>195</b> ) w warunkach sililujących z zastosowaniem BSA .....	122
5.2.24. Synteza 9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)adeniny ( <b>195</b> ) oraz 7-(2',3',5'- tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)adeniny ( <b>224</b> ) w warunkach sililujących z zastosowaniem HMDS .....	122
5.2.25. 7-Rybofuranozyladenina ( <b>4</b> ) .....	123
5.2.26. Izomeryzacja 7-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)adeniny ( <b>224</b> ) wobec kwasu <i>p</i> -TsOH .....	124
5.2.27. Synteza N <sup>6</sup> -izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)adeniny ( <b>198</b> ), N <sup>6</sup> -izobutyrylo-1-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)adeniny ( <b>231</b> ) oraz N <sup>6</sup> -izobutyrylo-1,9-bis-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)adeniny ( <b>232</b> ) z zastosowaniem czynnika sililującego BSA.....	125
5.2.28. Synteza N <sup>6</sup> -izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)adeniny ( <b>198</b> ) oraz N <sup>6</sup> -izobutyrylo-1,9-bis-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)adeniny ( <b>232</b> ) z zastosowaniem czynnika sililującego HMDS .....	127
5.2.29. Synteza N <sup>6</sup> -benzoilo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)adeniny ( <b>110</b> ) i N <sup>6</sup> -benzoilo-1-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)adeniny ( <b>236</b> ) z zastosowaniem BSA.....	128
5.2.31. Synteza N <sup>6</sup> -acetylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)adeniny ( <b>207</b> ) i N <sup>6</sup> -acetylo-1-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)adeniny ( <b>235</b> ) z zastosowaniem czynnika sililującego BSA .....	129
5.2.32. 1-Rybofuranozyladenina ( <b>2</b> ) .....	130
2.5.33. Próba odblokowania N <sup>6</sup> -izobutyrylo-1-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)- adeniny ( <b>231</b> ) .....	132
5.2.34. Próba odblokowania N <sup>6</sup> -benzoilo-1-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)- adeniny ( <b>236</b> ) .....	132
5.2.35. Reakcje N <sup>6</sup> -izobutyrylo-1-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)adeniny ( <b>231</b> ) w warunkach transglikozylacji.....	133
5.2.36. Reakcje N <sup>6</sup> -benzoilo-1-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)adeniny ( <b>236</b> ) w warunkach transglikozylacji.....	134
5.2.37. Dekompozycji N <sup>6</sup> -izobutyrylo-1,9-bis-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)- adeniny ( <b>232</b> ) w warunkach transglikozylacji .....	135



# 1. Metody i mechanizmy wytwarzania wiązania N-glikozydowego w chemii nukleozydów

## 1.1. Wstęp

Nukleozydy to związki chemiczne, które składają się z dwóch zasadniczych fragmentów: części cukrowej i zasady heterocyklicznej. Oba te elementy połączone są ze sobą wiązaniem N-glikozydowym. Związki te są jednostkami budulcowymi kwasów nukleinowych; kwasu rybonukleinowego (RNA), który składa się z rybozy i odpowiedniej zasady: adeniny, guaniny, cytozyny i uracylu; oraz kwasu deoksyrybonukleinowego (DNA) zbudowanego z deoksyrybozy i zasady heterocyklicznej: adeniny, guaniny, cytozyny lub tyminy.

Nukleozydy purynowe i pirymidynowe są przedmiotem badań naukowców już prawie od 100 lat. Pierwszą udaną chemiczną syntezę nukleozydu przeprowadzili w 1914 roku Fischer i Helferich<sup>1</sup>. Otrzymali oni pochodną adeniny w reakcji pochodnej srebrowej zasady heterocyklicznej z acetylobromoglukozą.

Dopiero Hilbert i Johnson<sup>3</sup> jako pierwsi przeprowadzili udaną syntezę nukleozydów pirymidynowych, w oparciu o wcześniejsze badania Knorra<sup>4</sup>. W latach 50-tych Davoll i Lowy<sup>5,6</sup> zmodyfikowali metodę metalu ciężkiego stosując zamiast soli srebrowych pochodne rtęciowe. W 1956 Helferich<sup>7</sup> zaproponował nową, udaną drogę syntezy wychodząc z nieblokowanych pirymidyn w nitrometanie, w obecności  $\text{Hg}(\text{CN})_2$ . W latach 60-tych Sato i jego współpracownicy<sup>8-11</sup> oraz grupa Robinsa<sup>12,13</sup> otrzymali nukleozydy metodą stapiania – fuzji. Następnie w 1969 roku Shimizu i Miyaki<sup>14</sup> przeprowadzili nukleozydy pirymidynowe w purynowe za pomocą metody wymiany zwanej też transglikozylacją. Umożliwiło to syntezywanie nowych nukleozydów purynowych i pirymidynowych oraz innych zasad heterocyklicznych. Od tego momentu chemiczna synteza nukleozydów zaczęła się szybko rozwijać.

Nukleozydy oraz ich analogi zaczęły zdobywać dużą popularność jako potencjalne terapeutyki. Także duży wpływ na rozwój chemii nukleozydów miał szybki postęp badań biotechnologicznych, medycznych i inżynierii genetycznej.

Szerokie możliwości syntezy nowych analogów nukleozydowych mają ogromny wpływ na rozwój medycyny, gdzie mogą być wykorzystywane jako nowa klasa chemioterapeutyków. Wiele chemicznie otrzymanych nukleozydów posiada wysoką aktywność przeciwwirusową, przeciwnowotworową i przeciwgrzybiczną. Do grupy takich związków można zaliczyć między innymi: acyklowir, gancyklowir, abakawir (ABC), 3'-azydotymidynę (AZT).



1. Theory and Methodology  
2. Literature Review

3. Results

3.1. Descriptive Statistics  
3.2. Regression Analysis  
3.3. Robustness Checks

4. Discussion  
4.1. Implications  
4.2. Limitations  
4.3. Future Research

5. Conclusion  
References  
Appendix

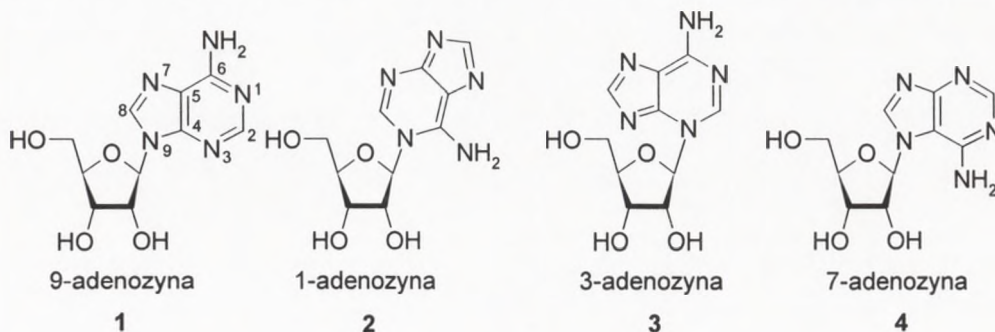
Nukleozydy i ich analogi wykorzystuje się także w badaniach przebiegu reakcji oraz poznawania ich mechanizmów, które mają kluczowy aspekt w wykorzystaniu ich do celów leczniczych. Za ich pomocą można wprowadzać zmiany konformacji kwasów nukleinowych. Związki te można wykorzystać jako nieradioizotopowe znaczniki oligonukleotydów i kwasów nukleinowych.

Istnieją dwa zasadnicze podejścia w syntezie analogów nukleozydów. Pierwszym z nich jest modyfikacja naturalnie występujących związków np.: alkiłowanie adenozyne jodkiem metylu, w wyniku czego otrzymujemy 1-metyloadenozyne. Natomiast innym podejściem w celu otrzymania nowych związków jest wytwarzanie wiązania N-glikozydowego, czego przykładem może być reakcja 1-metyloadeniny z rybozą i otrzymanie 1-metyloadenozyne. W obu przypadkach otrzymujemy ten sam finalny związek, natomiast wybór drogi reakcji zależy przede wszystkim od struktury zaplanowanego związku. W przypadku otrzymywania pochodnych pirymidynowych lub purynowych najlepiej jest modyfikować naturalne nukleozydy. Jednak w przypadku, gdy związek docelowy ma posiadać inny typ zasady heterocyklicznej lub inny typ cukru, jedyną słuszną drogą jest glikozylacja. Także bardzo ważną rolę odgrywa cena stosowanych do syntezy substratów, ich dostępność oraz sumaryczna wydajność całej syntezy.

Ze względu na duży pośpiech badaczy w celu otrzymania nowych nukleozydów o zaplanowanej strukturze, zanedbane zostały systematyczne badania nad mechanizmem ich syntezy. Poznanie takiego mechanizmu jest w większości przypadków kluczową sprawą w opracowaniu nowej drogi syntezy, która poza dobrymi wydajnościami powinna być również wysoce stereo- i regioselektywna.

W niniejszej pracy postanowiono skupić uwagę na mechanizmie rybozylacji adeniny. Przegląd literaturowy zaprezentowany w niej będzie w szczególności uwzględniał syntezę nukleozydów purynowych, ponieważ obiektem moich badań była synteza adenozyne.

Dzięki zastosowaniu różnych warunków reakcji otrzymano cztery N-podstawione izomery adenozyne (schemat 1), które zostaną omówione w następnych częściach pracy.



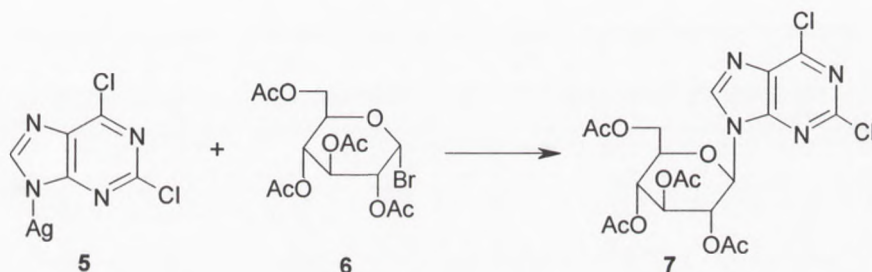
Schemat 1



## 1.2. Przegląd metod stosowanych w glikozylacji zasad heterocyklicznych

### 1.2.1. Metoda metalu ciężkiego

Jest to jedna z najstarszych metod wytwarzania wiązania N-glikozydowego. E. Fisher i B. Helferich<sup>1</sup> w 1914 zaproponowali pierwszą chemiczną syntezę nukleozydów. Metoda ta opierała się na reakcji srebrowej (5) lub rtęciowej pochodnej zasady heterocyklicznej z tetraacetylo-1-bromoglukozą (6), w obecności katalizatorów:  $\text{Ag}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{HgCl}_2$ ,  $\text{HgBr}_2$  lub  $\text{Hg}(\text{CN})_2$  (schemat 2). Stosowana była przede wszystkim do otrzymywania nukleozydów purynowych, w przypadku których dawała dobre rezultaty. Okazała się natomiast mało efektywna podczas syntezy pochodnych pirymidynowych<sup>1</sup>.



Schemat 2

Metoda ta opiera się na wytworzeniu wiązania kowalencyjnego spolaryzowanego (N-HgX lub N-Ag, gdzie  $\text{X}=\text{Cl}$ , Br, CN) i otrzymaniu tzw. „soli halogenortęciowych” lub „soli srebrowych”. Zaobserwowano, że podczas reakcji metodą metalu ciężkiego powstają 3- i 9-podstawione pochodne rybonukleozydów.

Montgomery i Thomas<sup>15</sup> zaproponowali, że podczas syntezy nukleozydów purynowych metodą rtęciową, halogenocukier atakuje bezpośrednio atom azotu podstawiony rtęcią. Jednak wkrótce pogląd ten został zweryfikowany przez Shimizu i Miyaki<sup>14,16</sup>, którzy stwierdzili, na podstawie licznych badań, że w obrębie atomu N3 występuje największa gęstość elektronowa. Powoduje to, że atom ten staje się silnym centrum nukleofilowym, a to z kolei prowadzi do utworzenia kinetycznego produktu 3-podstawionego.

Fox, Hollenberg i Watanabe<sup>17</sup> na podstawie eksperymentalnych prac Shimizu i Miyaki zaproponowali następujący mechanizm reakcji (schemat 3).

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

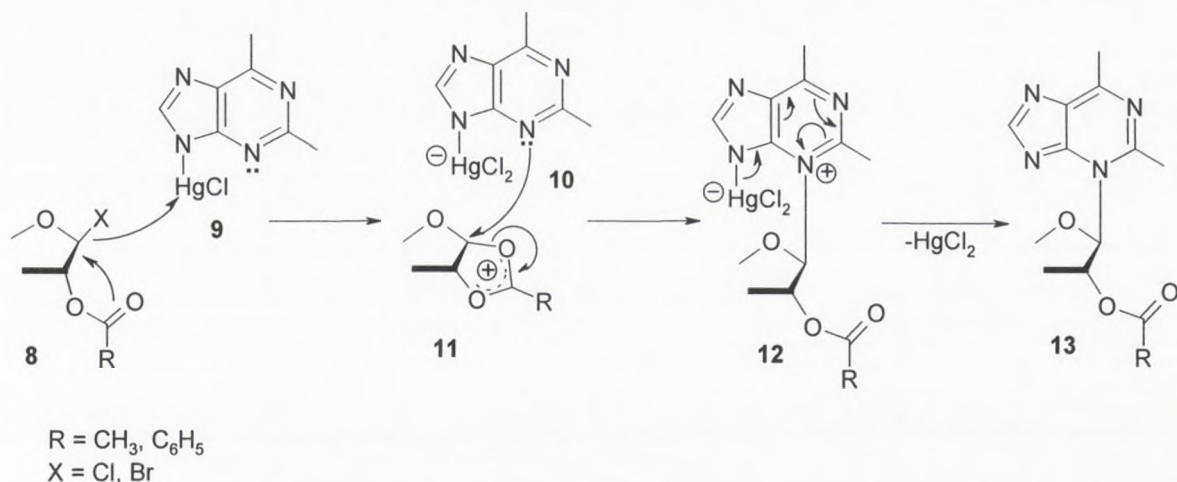
12. 12. 1954

12. 12. 1954

12. 12. 1954

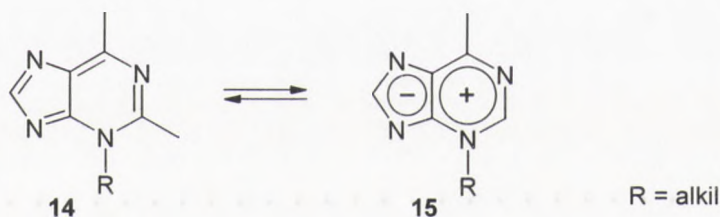
12. 12. 1954

12. 12. 1954



Schemat 3

W przedstawionym mechanizmie w wyniku dysocjacji halogenu od halogenozy (8) powstaje kation acyloksoniowy cukru (11), na który następuje nukleofilowy atak azotu N3 zasady purynowej z wytworzeniem nietrwałej soli czwartorzędowej (12). W wyniku jej rozpadu otrzymujemy 3-podstawioną pochodną adeniny (13), która ma znacznie zmieniony układ elektronowy w stosunku do adeniny. Posiada nadmiar elektronów w pierścieniu imidazolowym i ich niedobór w pirymidynowym.



Schemat 4

Ten niekorzystny układ elektronowy 3-podstawionej puryny jest według Shimizu i Miyaki siłą napędową nieodwracalnego przegrupowania N3 → N9, w wyniku którego powstaje bardziej trwały 9-izomer.

Jeżeli w pozycjach 2 i/lub 6 znajdują się podstawniki elektrodonorowe to następuje stabilizacja układu (15), natomiast podstawniki elektroakceptorowe przyspieszają proces migracji z atomu N3 w kierunku bogatego w elektrony pierścienia imidazolowego. Miyaki i Shimizu<sup>14,16</sup> na podstawie eksperymentalnych prac zaproponowali kolejność podstawników jakie przyspieszają transglikozylację 3→9 dla puryn, która wygląda następująco: N<sup>2</sup>HCOCH<sub>3</sub> i C<sub>6</sub>=O > N<sup>6</sup>HCOC<sub>6</sub>H<sub>5</sub> > N<sup>6</sup>H<sub>2</sub> ≥ N<sup>6</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Tak więc tri-O-benzoiloizoadenozyna i jej N<sup>6</sup>,N<sup>6</sup>-dimetylowa pochodna ulegają dużo wolniej transglikozylacji niż N<sup>6</sup>-benzoilo-tri-O-benzoiloadenozyna. Okazało się też, że gdy w pozycji C8 pierścienia imidazolowego znajduje



Wykres 1

Wzrost i rozwój zwierząt w różnych warunkach hodowli jest procesem złożonym, który zależy od wielu czynników. W tym celu należy przeanalizować wpływ różnych warunków hodowli na rozwój zwierząt. W tym celu należy przeanalizować wpływ różnych warunków hodowli na rozwój zwierząt.



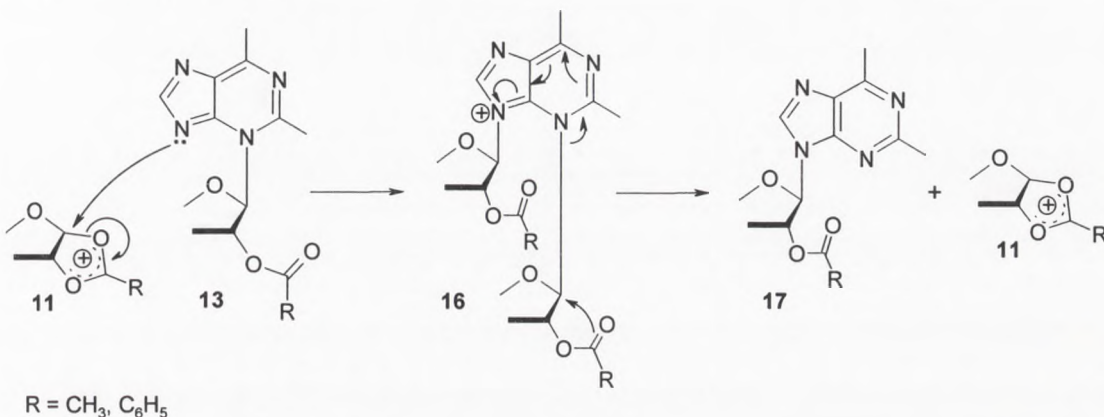
Wykres 2

Wzrost i rozwój zwierząt w różnych warunkach hodowli jest procesem złożonym, który zależy od wielu czynników. W tym celu należy przeanalizować wpływ różnych warunków hodowli na rozwój zwierząt. W tym celu należy przeanalizować wpływ różnych warunków hodowli na rozwój zwierząt.

Wzrost i rozwój zwierząt w różnych warunkach hodowli jest procesem złożonym, który zależy od wielu czynników. W tym celu należy przeanalizować wpływ różnych warunków hodowli na rozwój zwierząt. W tym celu należy przeanalizować wpływ różnych warunków hodowli na rozwój zwierząt.

się objętościowy podstawnik, powoduje to zwiększenie wydajności powstawania 3-izomeru. Także obecność grup elektroakceptorowych (Br, Cl, I) w tej pozycji powoduje, poprzez zmniejszenie gęstości elektronowej w pierścieniu imidazolowym, powstanie większych ilości 3-pochodnej w stosunku do 9-izomeru. Jest to wynikiem wolniejszego procesu transglikozylacji<sup>16</sup>.

Niekorzystny układ elektronowy 3-podstawionej puryny prowadzi do nieodwracalnego przegrupowania N3→N9, którego mechanizm zaproponowany został przez Foxa, Hollenberga i Watanabe<sup>17</sup> (schemat 5).



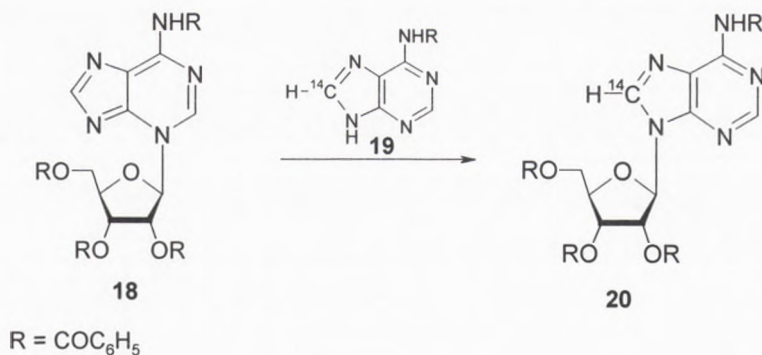
Schemat 5

W postulowanym przez nich mechanizmie kluczową rolę odgrywa kation acyloksoniowy (**11**), na którego atom C1 następuje atak nukleofilowego centrum N9 3-podstawionej pochodnej (**13**), co w efekcie prowadzi do powstania nietrwałej czwartorzędowej soli (**16**) 3,9-diglikozylpuryny. Ten nietrwały produkt przejściowy ulega rozpadowi do trwalszego termodynamicznie 9-podstawionego nukleozydu (**17**) z odtworzeniem kationu cukrowego (**11**). W rezultacie ostatecznym miejscem rybozylacji jest ta sama pozycja, do której uprzednio przyłączony był atom metalu ciężkiego.

Międzycząsteczkowy charakter transglikozylacji N3→N9 został potwierdzony przez Shimizu i Miyaki<sup>14</sup>, którzy przeprowadzili reakcję tri-O-benzoilo-N<sup>6</sup>-benzoiloizoadenozyny (**18**) w mieszaninie N,N-dimetyloformamidu (DMF) i ksyłenu w obecności HgBr<sub>2</sub> i dodatku N<sup>6</sup>-benzoiloadeniny-8-<sup>14</sup>C (**19**) otrzymując w rezultacie 51% znakowanej izotopowo tetrabenzoiloadenozyny (**20**) (schemat 6).







Schemat 6

W prowadzonych przez siebie badaniach zaobserwowali, że wykorzystując różne komponenty cukrowe w tych samych warunkach prowadzenia glikozylacji uzyskuje się różny stosunek izomeru 3 i 9. Miyaki i Shimizu zaproponowali, że szybkość przejścia podstawników z pozycji N3 w N9 rośnie w następującym szeregu: alkil, cukier sześciocząłowy, cukier pięciocząłowy<sup>16,18</sup>. Tak więc w przypadku rybozylacji chlorortęciowej pochodnej N<sup>6</sup>-dimetyloadeniny we wrzącym ksylenie otrzymywali praktycznie wyłącznie 9-rybozyd (bardzo szybka transrybozylacja 3→9), podczas gdy w wyniku glikozylacji tego samego związku otrzymywany jest tylko 3-glukozyd (nie zauważono praktycznie przejścia 3→9).

Fox, Hollenberg i Watanabe<sup>17</sup> uogólnili mechanizm transglikozylacji 3→9, który został dobrze udokumentowany dla pochodnych adeniny, na inne nukleozydy purynowe. Sądzone, że proces ten będzie miał również miejsce w przypadku guaniny.

Prace Shimizu i Miyaki<sup>18</sup> rzuciły nowe światło na proces tego przegrupowania. Przeprowadzając reakcję glikozylacji pochodnej chlorortęciowej N<sup>2</sup>-acetyloguaniny z 1-bromo-2,3,5-tri-O-benzoilo-D-rybofuranozą w DMA w temperaturze 60°C przez 40 godzin otrzymali oni zamiast spodziewanego 3-izomeru tylko 7- i 9-regioizomery guanozyny. Udało im się jednak uzyskać śladowe ilości (0.2%) 3-benzylowej pochodnej obok 7- i 9-izomerów (wydajności odpowiednio 22% i 16%) podczas reakcji alkilowania N<sup>2</sup>-acetyloguaniny bromkiem benzyłu, w takich samych warunkach jak w poprzednim eksperymencie. Także reakcja 3-benzylo-N<sup>2</sup>-benzoiloguaniny w temperaturze 100°C prowadzona przez 24 godziny dawała tylko 7- i 9-izomery.

Na podstawie powyższych eksperymentów Shimizu i Miyaki wysnuli przypuszczenie, że w przypadku pochodnych guaniny ma miejsce transglikozylacja 3→9, według już przyjętego wcześniej schematu. Jednak proces ten biegnie o wiele szybciej niż w przypadku serii adeniny. Reakcja ta jest na tyle szybka, że 3-podstawiony nukleozyd występuje w ilościach śladowych. Natomiast obserwowanie powstającego 7-izomeru jest wynikiem odwracalnej transglikozylacji 7⇌9 w obecności katalizatora HgBr<sub>2</sub> i prowadzi do otrzymania 7- i 9-nukleozydów w stosunku



1:2. Wykazali oni także, że 9-izomer jest trwalszy termodynamicznie, a cały proces izomeryzacji dla 6-oksopuryn przebiega według schematu  $3 \rightarrow 7 \rightleftharpoons 9$ .

Jednak dalsze badania procesu glikozylacji nukleozydów 6-oksopurynowych<sup>19-23</sup> nie potwierdziły zaproponowanego przez Shimizu i Miyaki mechanizmu.

W przypadku pochodnych pirymidynowych przebieg reakcji glikozylacji metodą metalu ciężkiego wygląda nieco inaczej niż w serii purynowej.

Podczas reakcji kondensacji srebrowej lub chlorortęciowej pochodnej pirymidynowej z blokowanym halogenocukrem jako pierwszy powstaje O-glikozyd. Związek ten ulega następnie dalszemu przegrupowaniu do trwalszego termodynamicznie N-nukleozydu<sup>17,24</sup>. Początkowo rezultat ten tłumaczono występowaniem tautomerii w układzie laktam-laktim w przypadku nieblokowanej pochodnej pirymidynowej. Fox<sup>6</sup> przeprowadzając reakcję dityminortęciowej pochodnej z acetylobromoglukożą we wrzącym toluenie otrzymał z dobrą wydajnością (60%) blokowany N-nukleozyd. Stwierdzono zatem, że to nie tautomeria jest przyczyną tworzenia się O-glikozydów, ale wpływają na to warunki, w których prowadzona jest reakcja. Duże znaczenie w syntezie nukleozydów pirymidynowych ma forma kompleksu metalu z pirymidyną. Dla pochodnych rtęciowych reakcja może zachodzić inaczej niż w przypadku pochodnych srebrowych.

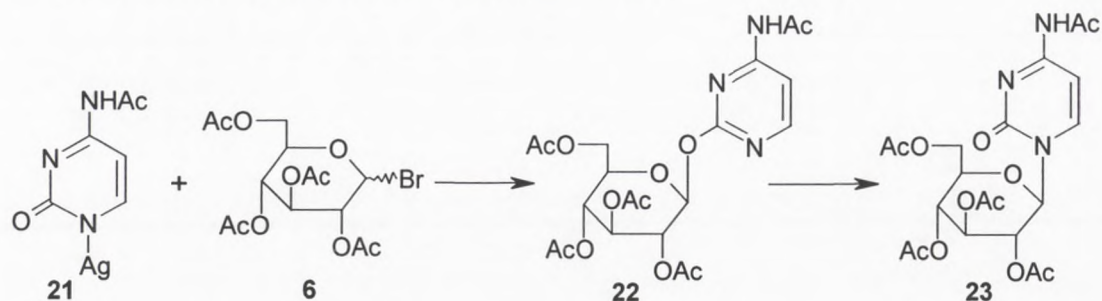
W przypadku reakcji kondensacji dityminortęciowej pochodnej z blokową halogenozą otrzymywano z dobrą wydajnością 1-nukleozyd. Stosując w tych samych warunkach jako komponent cukrowy 2-deoksyrybozę, powstaje mieszanina  $\alpha$ - i  $\beta$ -O-deoksyrybozydów<sup>25</sup>. Deoksyrybozylacja tyminy<sup>26</sup> wymaga użycia monortęciowych pochodnych. Natomiast w przypadku cytozyny<sup>27</sup> poza wymienionym poprzednio warunkiem, konieczne jest zablokowanie grupy egzoaminowej. Jeżeli oba te warunki nie zostaną spełnione, w wyniku reakcji otrzymuje się O-glikozyd nieblokowanej cytozyny, który poddawany transglikozylacji we wrzącym ksylenie wobec  $\text{HgBr}_2$  ulega dekompozycji, bez uzyskania N-nukleozydu.

Powstawanie O-glikozydu zaobserwowano także w reakcji chlorortęciowej soli 4-etoksy-2(1H)-pirymidynonu z acetylobromoglukożą. Powstający O-podstawiony związek był głównym produktem reakcji, który następnie przeprowadzano w 1-glukozyd w wyniku ogrzewania w ksylenie w obecności  $\text{HgBr}_2$ .

Tak więc synteza nukleozydów pirymidynowych z pochodnych rtęciowych powoduje powstawanie praktycznie zawsze O-glikozydów, które następnie można przeprowadzić w N-podstawione pochodne pod wpływem działania katalizatora. Niestety często się zdarzało, że powstające w reakcji O-glikozydy były pomijane przez badaczy, którzy zwracali uwagę przede wszystkim na N-podstawione pochodne.



Ulbricht<sup>28</sup> badając reakcję kondensacji soli srebrowej N-acetylocytozyny (**21**) z tetra-acetylobromoglukozą (**6**) uzyskał jako główny produkt O-glikozyd (**22**) i niewielką ilość N-podstawionego związku. Następnie wyizolowany O-glikozyd przeprowadził w N-nukleozyd (**23**) w toluenie wobec HgBr<sub>2</sub> lub SnCl<sub>4</sub> jako katalizatora.



Schemat 7

Jednak w wyniku reakcji acetylobromoglukopiranozy z srebrową pochodną uracylu lub tyminy we wrzącym ksylenie, otrzymano obok 1- i 3-nukleozydów także dipodstawione związki: 1,3, O<sup>2</sup>,O<sup>4</sup> oraz 1,O<sup>4</sup>. Zarówno związek O<sup>2</sup>,O<sup>4</sup> jak i 1,O<sup>4</sup> udało się w łatwy sposób przeprowadzić w 1-nukleozyd w warunkach transglikozylacji. Stwierdzono więc, że te dipodstawione pochodne są związkami pośrednimi<sup>29</sup> na drodze do otrzymania bardziej trwałych termodynamicznie N-glikozydów. Obserwowanie powstawania O- i N-nukleozydów w reakcji ze srebrowymi pochodnymi można wytłumaczyć istnieniem jonu ambidentnego w układzie O<sup>2</sup>-C2-N1. Powoduje to, że kation cukrowy może przyłączyć się do jednego z dwóch centrów nukleofilowych<sup>17</sup>. Zaobserwowano również, że w przypadku transglikozylacji O-glikozydów, które otrzymano w reakcji z pochodnymi srebrowymi trzeba było użyć silniejszych katalizatorów. Nie potrzebowały tego związki otrzymywane w reakcjach pirymidynowych soli rtęciowych. Schmidt i Farkaš<sup>30</sup> zaproponowali następujący szereg aktywności katalizatorów (typu kwasu Lewisa) wykorzystywanych do tego typu reakcji: SnCl<sub>4</sub> >> HgBr<sub>2</sub> ≈ HgCl<sub>2</sub> >> HgI<sub>2</sub> > AgClO<sub>4</sub>. Jak widać katalizator srebrowy znajduje się na samym końcu tego szeregu. Pozwoliło to na potwierdzenie rezultatów eksperymentów przeprowadzonych przez Ulbrichta<sup>28</sup>, któremu nie udało się otrzymać z O-glikozydów N-podstawionych pochodnych pirymidynowych w obecności AgBr. Nastąpiło to dopiero, gdy do środowiska reakcyjnego poza katalizatorem AgBr wprowadzono wolną halogenozę<sup>29</sup>. Obserwacje migracji podstawnika cukrowego przeprowadzone przez Ulbrichta<sup>2,31</sup> dla pirymidyn, zostały potwierdzone także przez Ukietę<sup>24</sup>. Otrzymał on O-glikozydy z 2-etoksy-4-etoksypirymidyn przeprowadzając reakcję w różnych warunkach, po czym przeprowadził je w N-podstawione pochodne we wrzącym ksylenie wobec HgBr<sub>2</sub>. Uzyskane przez niego N-nukleozydy były termodynamicznie trwałe i nie ulegały już dalszym procesom transglikozylacji.

The first part of the book is devoted to the study of the Laplace equation in the plane and in space. We begin with the two-dimensional case, where the Laplace equation is written as  $\Delta u = 0$ . The Dirichlet problem is solved by the method of conformal mappings, and the Neumann problem is solved by the method of images. The Poisson equation is solved by the method of Green's functions.

In the second part, we study the Laplace equation in spherical coordinates. The Dirichlet problem is solved by the method of separation of variables, and the Neumann problem is solved by the method of images. The Poisson equation is solved by the method of Green's functions.

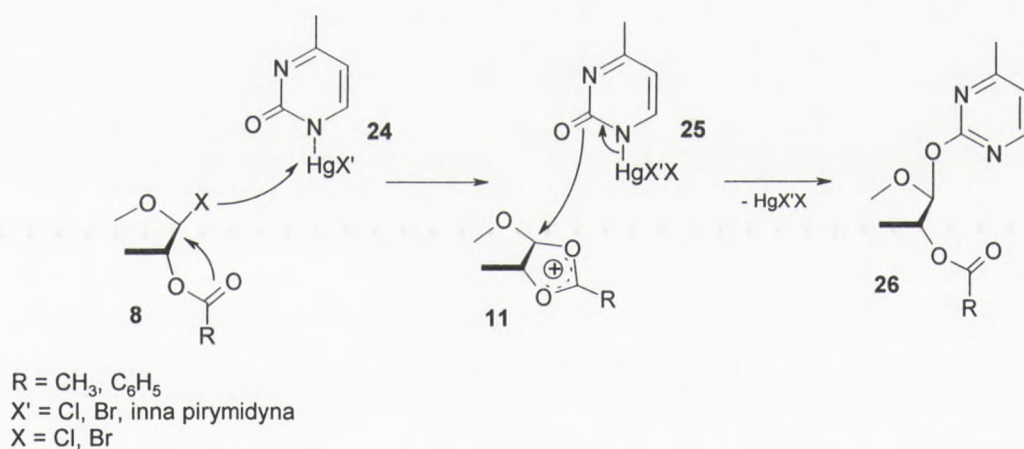
The third part of the book is devoted to the study of the Helmholtz equation in the plane and in space. We begin with the two-dimensional case, where the Helmholtz equation is written as  $\Delta u + k^2 u = 0$ . The Dirichlet problem is solved by the method of separation of variables, and the Neumann problem is solved by the method of images. The Poisson equation is solved by the method of Green's functions.

In the fourth part, we study the Helmholtz equation in spherical coordinates. The Dirichlet problem is solved by the method of separation of variables, and the Neumann problem is solved by the method of images. The Poisson equation is solved by the method of Green's functions.

The fifth part of the book is devoted to the study of the wave equation in the plane and in space. We begin with the two-dimensional case, where the wave equation is written as  $\Delta u - u_{tt} = 0$ . The Dirichlet problem is solved by the method of separation of variables, and the Neumann problem is solved by the method of images. The Poisson equation is solved by the method of Green's functions.

W 1962 roku Ulbricht<sup>28,31</sup> zaproponował mechanizm reakcji O-glikozylacji i migracji podstawnika cukrowego O→N w obecności katalizatora. Dalsze badania nad tym zagadnieniem prowadzili także Schmidt i Farkaš<sup>32</sup>. Przeprowadzili oni reakcję 2,4-di-O-(2,3,4,6-tetraacetylo-β-D-glukopiranozylo)tyminy wobec HgBr<sub>2</sub> w acetonitrylu i obserwowali, że związek ten w tych warunkach jest stabilny, nie ulegając przegrupowaniu nawet po prowadzeniu reakcji przez kilka dni. Dopiero po dodaniu niewielkich ilości HCl w tetrahydrofuranie udało się im przeprowadzić transglikozylację z wytworzeniem N-nukleozydu. Stwierdzili więc, że poprzez atak katalizatora następuje rozerwanie wiązania O-glikozydowego z powstaniem acyloksoniowego kationu cukrowego. Produkt ten ulega następnie atakowi pary elektronowej z atomu N1 z wytworzeniem wiązania N-glikozydowego. Taki 1,O<sup>4</sup>-dipodstawiony związek ulega następnie atakowi kolejnej cząsteczki katalizatora z oderwaniem kationu cukrowego, który może reagować ze związkiem O<sup>2</sup>,O<sup>4</sup>-dipodstawionym.

Mechanizm glikozylacji pirymidyn metodą metalu ciężkiego dla pochodnych rtęciowych został przedstawiony przez Foxa, Hollenberga i Watanabe<sup>17</sup> (schemat 8). Zaproponowali go w oparciu o zaobserwowany fakt powstawania kinetycznych produktów reakcji o strukturze O-glikozydów i O,N-bispodstawionych pochodnych.



Schemat 8

Pierwszym etapem prezentowanego mechanizmu jest oddysocjowanie halogenu od halogenozy (8) z wytworzeniem acyloksoniowego kationu cukrowego (11). Kolejnym etapem jest powstanie wiązania O-glikozydowego poprzez atak pary elektronowej atomu tlenu z cząsteczki pirymidyny na kation cukrowy (11). Jednocześnie powstaje sól rtęciowa typu HgX'X oraz następuje odtworzenie grupy acylowej w pozycji C2' w części cukrowej.

Podobny mechanizm otrzymywania O-glikozydów metodą „nitrometanową”<sup>37</sup> został zaproponowany także przez Foxa, Hollenberga i Watanabe (schemat 9).



1970s

1975

1980

1985

1990

1995

2000

2005

2010

2015

2020

2025

2030

2035

2040

2045

2050

2055

2060

2065

2070

2075

2080

2085

2090

2095

2100

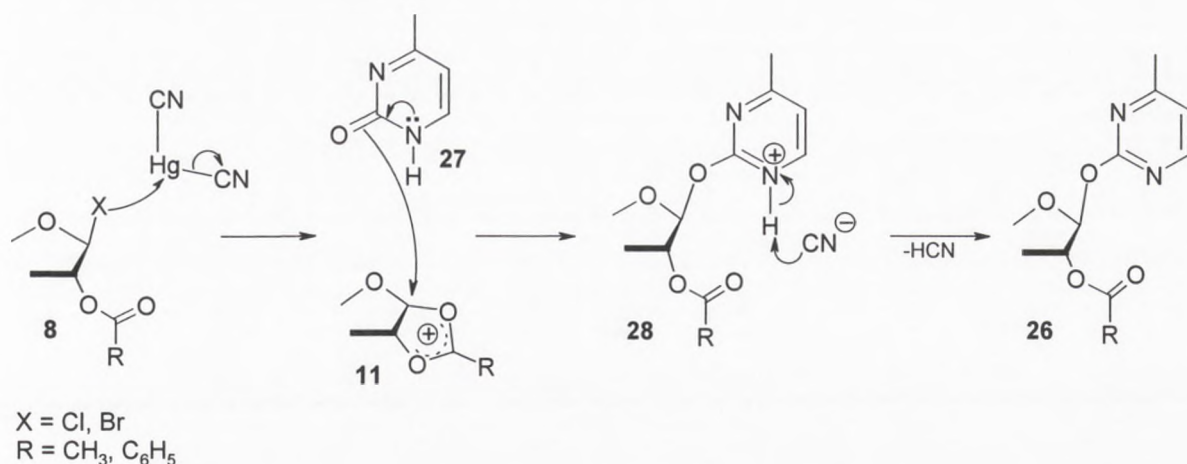
2105

2110

2115

2120

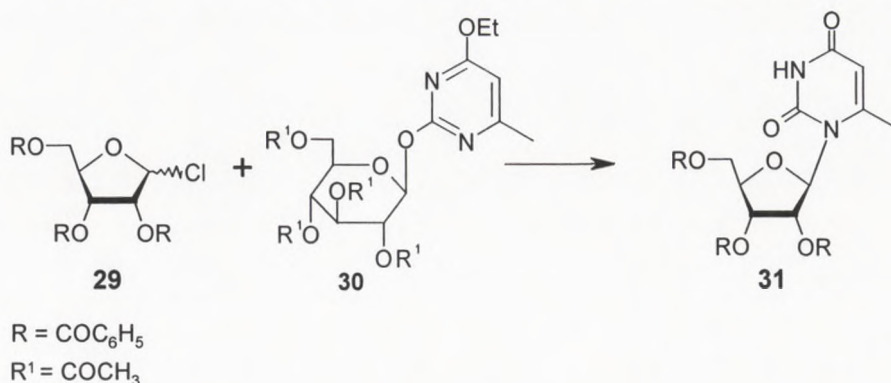
2125



Schemat 9

Reakcja ta została przeprowadzona w nitrometanie w obecności katalizatora Hg(CN)<sub>2</sub>. Pierwszym etapem proponowanego mechanizmu jest powstanie kationu cukrowego (11), przez oderwanie halogenu od halogenozy (8) przez atom rtęci katalizatora. Utworzony acyloksoniowy kation jest atakowany przez parę elektronową atomu tlenu O<sub>2</sub> z powstaniem czwartorzędowej soli pirymidyny (28), a następnie przez atak anionu cyjankowego oderwany zostaje proton (H1) z wytworzeniem HCN i powstaniem O<sup>2</sup>-glikozydu.

O-Nukleozyd jak już wcześniej wspomniano, ulega przegrupowaniu do bardziej trwałej, termodynamicznej formy. Reakcję transglikozylacji O→N jako pierwszy zaobserwował Ulbricht<sup>31</sup>, jego badania zostały następnie potwierdzone przez Ukietę<sup>24</sup>, który donosił o nieodwracalnej migracji podstawnika cukrowego z wytworzeniem 1-nukleozydu. Badania procesu wymiany glikozyłu przeprowadzone przez Pryštasa i Šorma<sup>34</sup> ostatecznie wykazały intermolekularny charakter tego procesu (schemat 10). W wyniku reakcji kondensacji 2-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetylo-β-D-glukopiranozylo)-4-etoksy-6-metylopirymidyny (30) z 1-chloro-2,3,5-tri-O-benzoilo-D-rybofuranozy (29) w acetonitrylu wobec HgBr<sub>2</sub> otrzymali 2',3',5'-tri-O-benzoilo-6-metylourydynę (31) oraz blokowany 1,3-dirybozylo-6-metylouracyl.



Schemat 10

The list contains several entries, each with a name and an address. The text is very faint and difficult to read, but it appears to be a standard list of names and addresses.

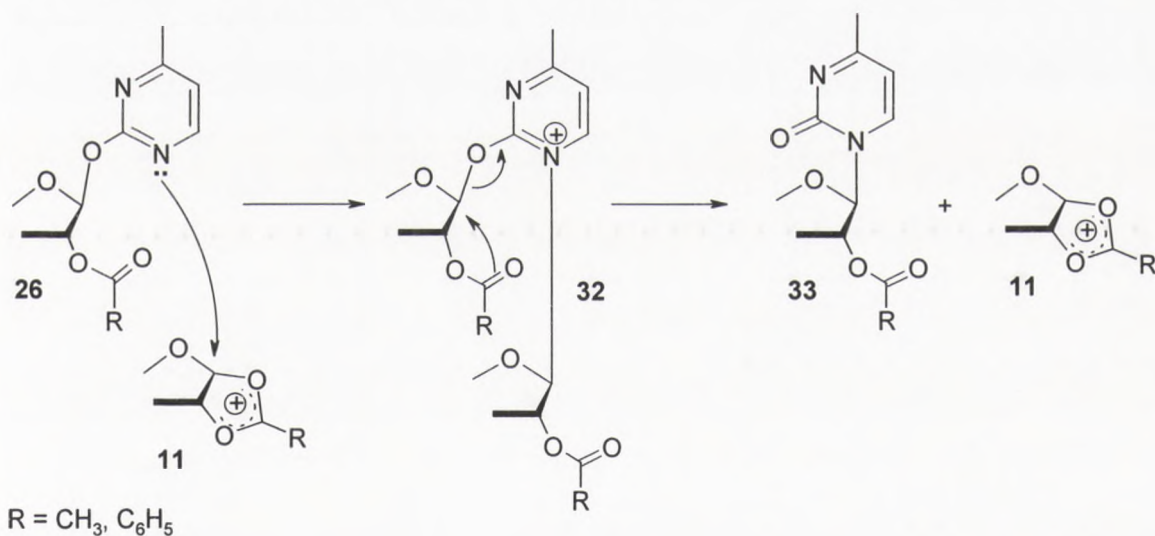
The second part of the document is a list of names and addresses, similar to the first part. It also contains several entries with names and addresses.

The third part of the document is a list of names and addresses, continuing the list from the previous sections. The text is very faint and difficult to read.

The final part of the document is a list of names and addresses, completing the list. The text is very faint and difficult to read.

Natomiast Schmidt i Farkaš<sup>32</sup> badając trwałość 2,4-di-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetylo-β-D-glukopiranozylo)tyminy w acetonitrylu w obecności HgBr<sub>2</sub> zaobserwowali, że związek ten jest bardzo trwały w tych warunkach, mimo prowadzenia reakcji przez kilka dni. Migracja podstawnika cukrowego nastąpiła dopiero po dodaniu do mieszaniny reakcyjnej niewielkich ilości HCl w tetrahydrofuranie. Zaproponowali więc, że rolą katalizatora w tym procesie jest rozerwanie wiązania O-glikozydowego i utworzenie kationu cukrowego, który następnie przyłącza się w pozycję N1 zasady pirymidynowej z wytworzeniem wiązania N-glikozydowego. Powstaje więc związek pośredni o strukturze N,O-dipodstawionej. Następnie odrywany jest O-podstawnik cukrowy przez katalizator z wytworzeniem acyloksoniowego kationu cukrowego, który może uczestniczyć w dalszym procesie transglikozylacji.

Mechanizm transglikozylacji opiera się na powstawaniu czwartorzędowej soli pirymidyniowej (**32**), która została zaproponowana przez Rabinowitza i Gurna<sup>35</sup>. Strukturę takiego związku pośredniego potwierdzili Ueda i Nishino<sup>36</sup>, którym jako pierwszym udało się wyizolować i scharakteryzować tę 1,O<sup>2</sup>-diglikozydową nietrwałą formę. Związek ten powstaje w wyniku nukleofilowego ataku azotu N1 O<sup>2</sup>-glikozydu (**26**) na kation cukrowy (**11**), a przez jego rozpad otrzymujemy trwałe termodynamicznie N1-nukleozyd (**33**), oraz odtworzony zostaje kation cukrowy (**11**) (schemat 11).



Schemat 11

Po przeprowadzeniu wielu eksperymentów okazało się, że na proces transglikozylacji O→N ma także duży wpływ zastosowany rozpuszczalnik, który powoduje powstawanie różnych stosunków O-glikozydów do N-podstawionych pochodnych. Pryštas i Šorm<sup>38,39</sup> badając przebieg reakcji kondensacji ręciovych pochodnych 4-benzyl-6(1H)-pirymidynonów oraz ich 2-metylo analogów z różnymi halogenocukrami zauważyli, że polarność zastosowanego w reakcji

The first part of the paper discusses the importance of positioning in the market. It highlights how a firm's position relative to its competitors can significantly impact its performance and profitability. The second part of the paper focuses on the role of the firm in the market, exploring how a firm can create value for its stakeholders and contribute to the overall economy. The third part of the paper discusses the challenges of positioning and the role of the firm in the market, and the fourth part of the paper discusses the opportunities of positioning and the role of the firm in the market.



The diagram illustrates the relationship between the firm and its market. It shows a central point representing the firm, with lines radiating outwards to different points representing its competitors and customers. This visualizes the firm's position in the market and its interactions with other stakeholders.

rozpuszczalnika ma wpływ na końcowy produkt reakcji. Z ich badań wynika, że w mało polarnym rozpuszczalniku podstawnik cukrowy przyłącza się do bardziej elektroujemnego centrum zasady pirymidynowej jakim jest egzocykliczny atom tlenu. Wynikiem tego jest powstanie większych ilości związków O-podstawionych. Natomiast w przypadku bardziej polarnego rozpuszczalnika, elektroujemne centrum O2 może ulec solwatowaniu, co prowadzi do tego, że reakcja biegnie poprzez nukleofilowy atom azotu (N1). Pryštas i Šorm zauważyli, że stosując rozpuszczalniki o różnej polarności, można uzyskać różne proporcje O- i N-glikozydów. Jednak taka sugestia wydaje się mało prawdopodobna, ponieważ jak wiadomo O-glikozydy pirymidynowe są kinetycznymi produktami reakcji, a N-podstawione pochodne produktami termodynamicznymi.

Dalsze badania przeprowadzone przez Pryštasa i Šorma, pokazały, że polarność zastosowanego rozpuszczalnika wpływa na szybkość procesu migracji podstawnika cukrowego O→N. Wynika stąd, że transglikozylacja z atomu tlenu na atom azotu przebiega o wiele szybciej w polarnym rozpuszczalniku (np.: acetonitryl) niż niepolarnym (np.: toluen, ksylen). Mały wpływ na powstawianie O- lub N-podstawionych nukleozydów ma więc solwatowanie substratu przez rozpuszczalnik.

Dopiero Vorbrüggen i Höfle<sup>40</sup> wytłumaczyli zależność między szybkością transglikozylacji O→N a rozpuszczalnikiem. Według nich decydującą rolę w tym procesie odgrywa trwałość  $\sigma$ -kompleksu między katalizatorem a centrum N1 pirymidyny. W przypadku rozpuszczalników niepolarnych, takich jak toluen, kompleks ten jest dość stabilny a jego siła zwiększa się w miarę wzrostu zasadowości pirymidyny, która rośnie wraz z obecnością podstawników elektronodonorowych w pozycji 5 i/lub 6. Natomiast w miarę zwiększania polarności rozpuszczalnika trwałość kompleksu zostaje obniżona.

Przebieg reakcji transglikozylacji O→N zależy więc od zastosowanego katalizatora, rozpuszczalnika, temperatury oraz od użytego komponentu cukrowego. Ulbricht<sup>28,33</sup> zaobserwował, że w przypadku transglikozylacji acetylowanego O-rybozydu cytozyny wobec  $\text{HgBr}_2$  w toluenie, reakcja biegnie szybciej do 1-nukleozydu niż stosując O-glukozyd w tych samych warunkach. Obserwacje takie można wytłumaczyć większą trwałością powstającego w wyniku reakcji kationu rybofuranozylowego w porównaniu z kationem glukopiranozylowym<sup>41</sup>. Reakcja kondensacji 1-bromo-3,4,6-O-acetylo-2-deoksy-2-[(2,4-dinitro)fenylo]amino- $\alpha$ -D-glukopiranozy z pochodną rtęciową cytozyny daje obok O-glukozydu z wydajnością 5-10% N-nukleozyd. Główny produkt reakcji nie ulega reakcji transglikozylacji we wrzącym ksylenie wobec  $\text{HgBr}_2$ . W przypadku analogicznej O-podstawionej pochodnej tyminy, reakcja transglikozylacji zachodzi z 7,5% wydajnością we wrzącym toluenie



i w obecności tego samego katalizatora. Takie zachowanie pochodnych rybo- oraz deoksyrybo-O-nukleozydów można wytłumaczyć tym, że w przypadku związków 2'-deoksy nie może powstać dość trwały kation cukrowy.

Metoda metalu ciężkiego jest obecnie rzadko stosowana, a otrzymywane w jej wyniku wydajności są raczej umiarkowane. Najczęściej spotykanym wariantem tej metody jest metoda nitrometanowa. Jak już wspomniano reakcja ta prowadzona jest w nitrometanie w obecności katalizatora  $\text{HgBr}_2$ . Innymi często stosowanymi nazwami metody metalu ciężkiego są: Koenigsa-Knorra, Fishera-Helfericha, metoda srebrowa, chloro-, bromo- lub cyjanortęciowa oraz nitrometanowa.

Zasadniczym etapem w tej metodzie jest wytworzenie acyloksoniowego kationu cukrowego poprzez oddziaływanie „soli halogenortęciowej” z halogenozą.

Reakcja ta ma w większości przypadków mechanizm dwuetapowy i przebiega przez kinetyczne produkty: O-podstawione w przypadku pirymidyny lub 3-glikozylowe pochodne dla puryny. Końcowym produktem są natomiast trwałe termodynamicznie N-nukleozydy odpowiednio: N1-podstawione pirymidyny i N9-podstawione pochodne purynowe. Stwierdzono także, że reakcja glikozylacji metodą metalu ciężkiego ma charakter międzycząsteczkowy. W obu przypadkach reakcja biegnie przez nietrwałe związki pośrednie: 1,O<sup>2</sup>-dipodstawione pirymidyny i 3,9-diglikozylpuryny.

Warto też zauważyć, że w produkcie termodynamicznym reszta cukrowa znajduje się w tej samej pozycji, w której znajdował się atom metalu ciężkiego w wyjściowym związku.

W przypadku otrzymywania rybonukleozydów powstają praktycznie tylko  $\beta$ -anomery, natomiast podczas syntezy 2'-deoksyrybonukleozydów otrzymujemy mieszaninę  $\alpha$ - i  $\beta$ -anomerów, co spowodowane jest brakiem możliwości powstania cyklicznego kationu cukrowego.



The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It emphasizes that every entry should be clearly documented, including the date, amount, and purpose of the transaction. This ensures transparency and allows for easy reconciliation of accounts.

In the second section, the author outlines the various methods used to collect and analyze data. This includes direct observation, interviews, and the use of specialized software tools. Each method is described in detail, highlighting its strengths and potential limitations.

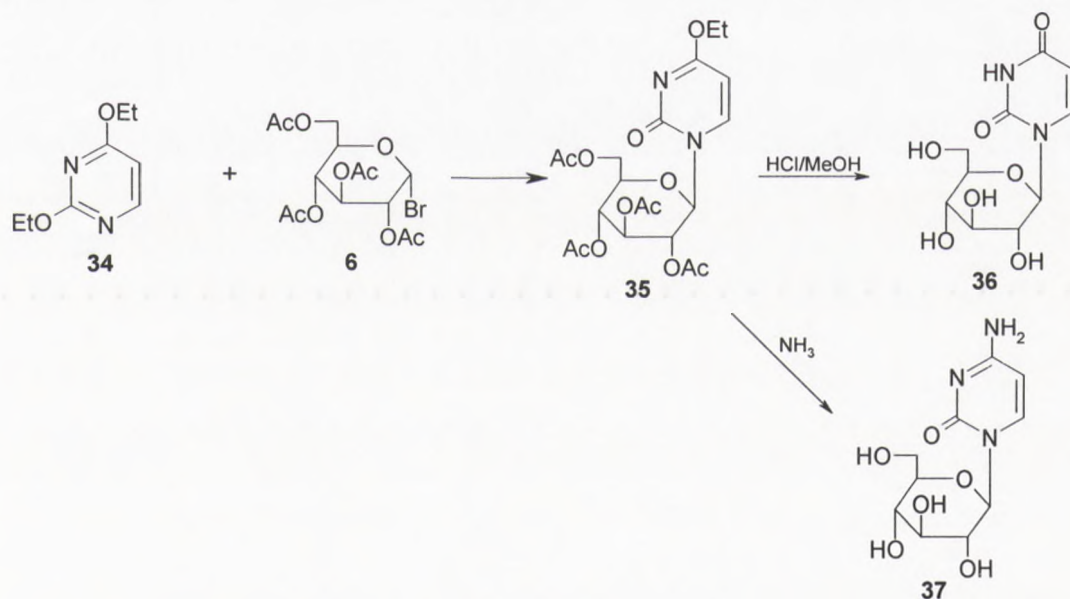
The third section focuses on the results of the study. It presents a series of tables and graphs that illustrate the key findings. The data shows a clear trend towards increased efficiency and cost reduction over the period of the study.

Finally, the document concludes with a series of recommendations for future research and implementation. It suggests that the findings should be applied to other similar contexts and that further studies should be conducted to explore the long-term effects of the proposed changes.

## 1.2.2. Metoda Hilberta-Johnsona

Hilbert i Johnson<sup>3</sup> jako pierwsi przeprowadzili udaną syntezę nukleozydów pirymidynowych. Substratem w ich badaniach były 2,4-dialkoksypirymidyny. Opierali się oni na wcześniejszych badaniach przeprowadzonych przez Knorra<sup>4</sup>, który zajmował się przegrupowaniami z przeniesieniem podstawników alkilowych w układzie laktam-laktim.

W 1930 roku Hilbert i Johnson<sup>42</sup> przeprowadzili reakcję 2,4-dimetoksyuracylu z jodkiem metylu w temperaturze pokojowej, otrzymując 4-metoksy-1-metylopiryd-2-on. Następnie związek ten pod wpływem kwasu przeprowadzili w 1-metylouracyl. Kontynuując swoje badania przeprowadzili reakcję kondensacji 2,4-dietoksyuracylu (34) z acetylobromoglukozą (6) bez użycia katalizatora, otrzymując 4-etoksy-1-(tetraacetylo-β-D-glukopiranozylo)uracyl (35). Produkt ten udało się im przekształcić w 1-glukozylouracyl (36) pod wpływem działania kwasu (HCl/MeOH) lub w pochodną cytozyny (37) po potraktowaniu związku 35 amoniakiem. Była to pierwsza udana synteza cytozyny, jednak całkowita wydajność reakcji była bardzo niska.



Schemat 12

Znaczne polepszenie wydajności otrzymano przez zastosowanie odpowiedniego rozpuszczalnika. Rabinowitz i Gurin<sup>43</sup> uzyskali 20-50% wzrost wydajności bloowanego 4-etoksy nukleozydu, przeprowadzając reakcję w mieszaninie chloroformu z pirydyną. W wykonanych licznych eksperymentach stosowane były także inne rozpuszczalniki jak: benzen, toluen, nitrometan, acetonitryl oraz chlorek metylenu, które były mieszane w różnych proporcjach, poprawiając wydajność reakcji<sup>44-48</sup>.

...the ... of ...

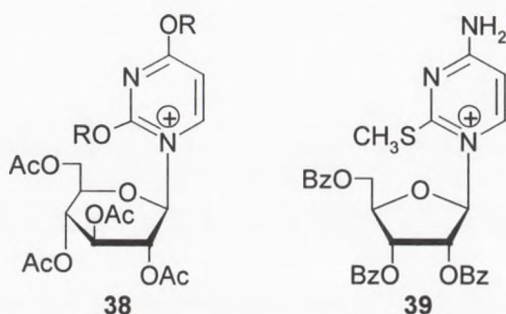
...the ... of ...

...the ... of ...

...the ... of ...

...the ... of ...

Hilbert i Johnson sugerowali, że reakcja ta zachodzi przez produkt pośredni, czwartorzędową sól nukleozydu 2,4-dialkoksypirymidynowego (**38**). Związek o takiej strukturze został wyizolowany przez Rabinowitza i Gurina<sup>43</sup>, jednak jego struktura nie została dobrze udokumentowana. Dopiero Udea i Nishino<sup>36</sup> w pełni scharakteryzowali czwartorzędową sól (**39**) otrzymaną w reakcji 4-amino-2-metylotiopirymidyny z tribenzoilochlororybozą. W wyniku działania na ten wiążek mieszaniną H<sub>2</sub>S w pirydynie uzyskano, tak jak się spodziewano, 2-tiocytydynę. Natomiast w przypadku użycia amoniaku otrzymywano 2,4-diamino-1-(β-D-rybofuranozylo)pirymidynę.

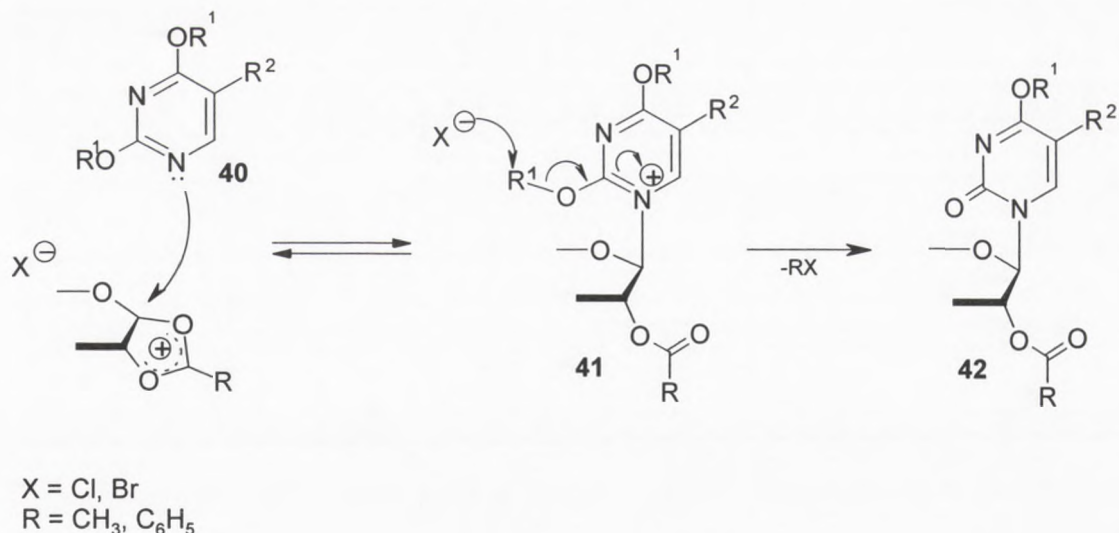


Schemat 13

Pryštas i Šorm<sup>45,48,49</sup> badając wpływ podstawników znajdujących się w pozycji C5 na reakcje przeprowadzane metodą Hilberta-Johnsona zaobserwowali, że wydajność reakcji kondensacji zmniejsza się ze zwiększaniem elektronosącego charakteru tego podstawnika w następującym szeregu: Me > H > p-metoksybenzyl > I > Br > Cl > F > CN > NO<sub>2</sub>. Pryštas i Šorm<sup>50</sup> przeprowadzili także badania efektu jaki wywiera zastosowanie różnego rodzaju grup alkoksylowych na wydajność reakcji kondensacji. Najlepsze wyniki otrzymano w przypadku 2,4-dibenzyloksypirymidym, natomiast 2,4-di-t-butoksypirymidyny nie ulegały reakcji. Po przeprowadzeniu serii kondensacji zauważyli, że wydajności powstających nukleozydów w metodzie Hilberta-Johnsona malała w następującej kolejności: PhCH<sub>2</sub> > p-MeOPhCH<sub>2</sub> > Me > Et > o,p-(MeO)<sub>2</sub>PhCH<sub>2</sub> > i-Pr >> t-Bu.

Watanabe, Hollenberg i Fox<sup>17</sup> na podstawie powyższych danych zaproponowali mechanizm procesu glikozylacji pirymidyn metodą Hilberta-Johnsona (schemat 14).

Faint, illegible text covering the majority of the page, possibly bleed-through from the reverse side.



Schemat 14

Obecność podstawników elektronoakceptorowych w pozycji 5 pierścienia pirymidynowego zmniejsza wydajność reakcji przez obniżenie nukleofilowości atomu azotu N1.

Pierwszym etapem przedstawionego mechanizmu jest nukleofilowy atak atomu N1 na anomeryczny atom węgla C1 kationu cukrowego, powstałego wskutek dysocjacji halogenu od halogenozy. Prowadzi to do powstania czwartorzędowej soli 2,4-dialkoksypirymidynowej (**41**). Kolejnym etapem jest nukleofilowy atak anionu halogenkowego z oderwaniem grupy alkilowej R<sup>1</sup>, prowadzący do powstania ugrupowania 2-karbonylowego, z wytworzeniem związku o strukturze (**42**).

Krokiem determinującym szybkość reakcji w tym przypadku będzie przejście związku **41** w **42**. Wyizolowanie względnie trwałej czwartorzędowej soli nukleozydu (**39**) (Ueda i Nishino<sup>36</sup>) pozwoliło na potwierdzenie zaproponowanego przez Watanabe, Hollenberga i Foxa mechanizmu.

Ważnym aspektem w dyskutowanym mechanizmie jest to, że reakcja halogenozy z pirymidyną posiadającą podstawnik 2-alkoksyłowy, powoduje powstanie najczęściej mieszaniny  $\alpha$ - i  $\beta$ -anomerów nukleozydu. Pod tym względem reakjom przeprowadzonym metodą Hilbeta-Johnsona brakuje generalnie stereospecyficzności, jaką można było obserwować w przypadku metody metalu ciężkiego. W większości opisywanych eksperymentów, w których używano chlorku tri-O-acetylo-D-pentafuranozy otrzymywano w wyniku reakcji kondensacji mieszaninę anomerów. Najprostszym wyjaśnieniem takiego braku specyficzności może więc być to, że dominującym mechanizmem jest dwucząsteczkowa substytucja S<sub>N</sub>2. Jednak mechanizm ten nie odpowiada pewnym obserwacjom.

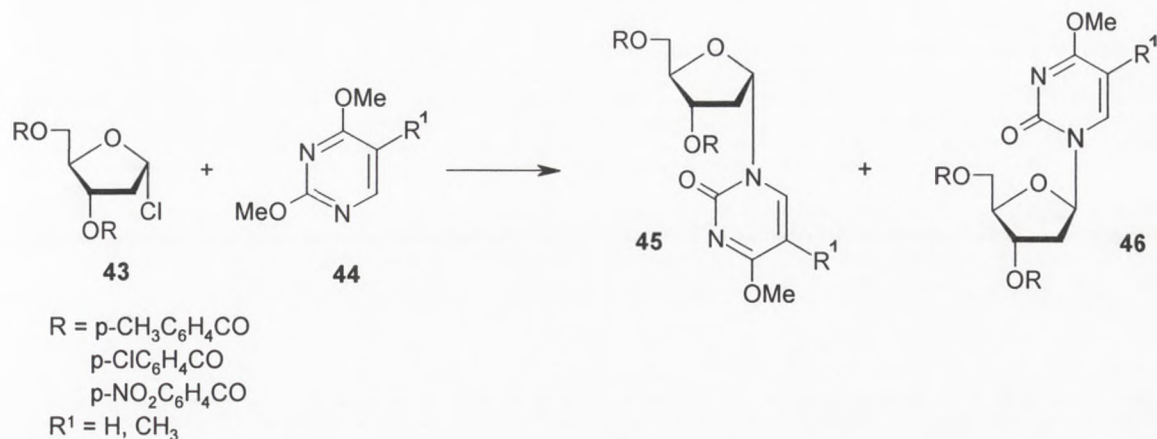
Pryštas<sup>46,48</sup> przeprowadzając reakcję kondensacji chlorku 3,5-O-acetylo-2-deoksy- $\alpha$ -D-

The first part of the paper discusses the importance of the physician's role in the health care system. It emphasizes the need for a strong medical profession and the importance of maintaining high standards of education and ethics. The author argues that the medical profession has a duty to the public and to the patients to provide the highest quality of care possible.

The second part of the paper discusses the challenges facing the medical profession in the 1960s. It addresses issues such as the shortage of physicians, the increasing costs of medical care, and the need for medical reform. The author calls for a renewed sense of purpose and commitment among medical professionals to address these challenges and to improve the health care system for all.

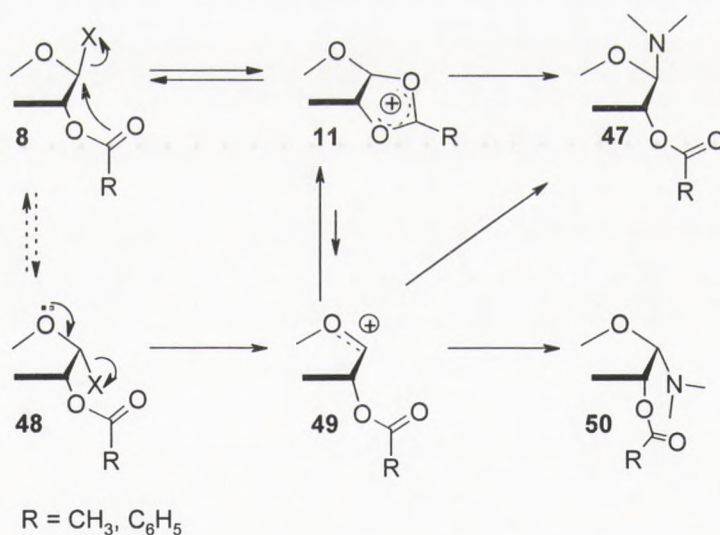
The final part of the paper offers suggestions for how the medical profession can meet these challenges. It emphasizes the need for a strong medical profession, the importance of continuing education, and the need for a renewed sense of purpose and commitment. The author concludes by calling for a renewed sense of purpose and commitment among medical professionals to address these challenges and to improve the health care system for all.

pentafuranozy (**43**) z 2,4-dialkoksypirymidyną (**44**) w mieszaninie benzenu z acetonitrylem otrzymał mieszaninę anomerów, w której  $\alpha$ -anomer (**45**) był głównym produktem reakcji (schemat 15).



Schemat 15

Warto zaznaczyć, że w klasycznej metodzie Hilberta-Johnsona dysocjacja halogenu od halogenozy z wytworzeniem 1,2-acykloksoniowego jonu nie jest wspomagana przez żadne sole metalu, jak miało to miejsce w przypadku metody metalu ciężkiego. Watanabe, Hollenberg i Fox<sup>17</sup> zaproponowali stereochemiczny przebieg tego procesu:



Schemat 16

W przypadku 1,2-*trans* halogenocukru (**8**) oddysocjowanie halogenu prowadzi do otrzymania jonu acyloksoniowego (**11**), powstającego w wyniku nukleofilowego, wewnątrzcząsteczkowego ataku na atom C1 przez grupę 2-acyloksylową. Powstały w tym przypadku nukleozyd posiada konfigurację  $\beta$  (**47**). Natomiast odłączenie halogenu z 1,2-*cis*

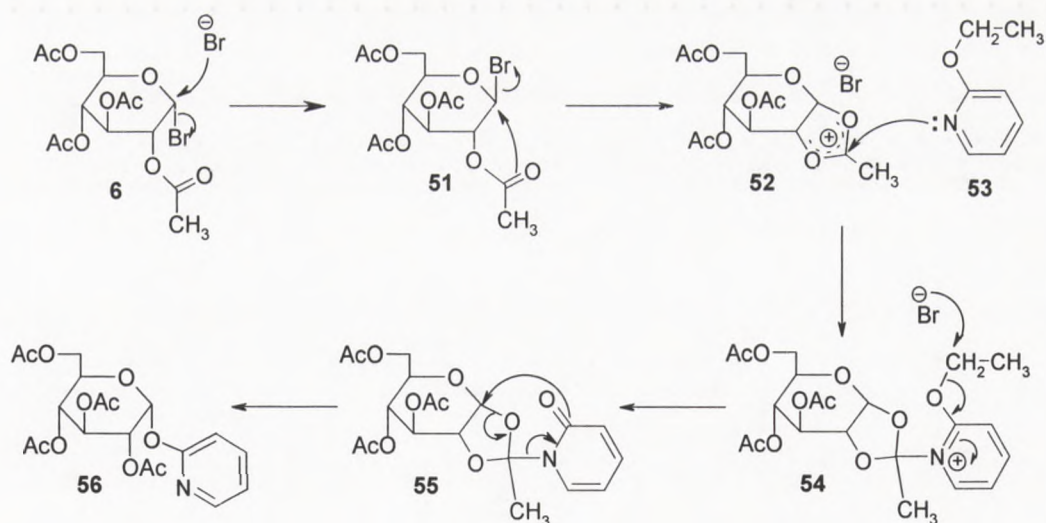




halogenozy (**48**) może nastąpić przez atak wolnej pary elektronowej atomu tlenu znajdującego się w pierścieniu cukrowym. W wyniku tego powstaje płaski jon karboksoniowy (**49**). Może on oczywiście przejść w bardziej trwały cykliczny jon z powstaniem  $\beta$ -anomeru nukleozydu. Kation taki może także ulec bezpośrednio reakcji z pirymidyną dając  $\alpha$ -anomer (**50**). W wyniku reakcji otrzymujemy więc mieszaninę anomerów. Takie założenie wyjaśniłoby więc powstawanie mieszaniny  $\alpha$ - i  $\beta$ -anomerów, które były otrzymywane w reakcji Hilberta-Johnsona, nawet gdy obecna była grupa 2-acyloksylowa w cząsteczce cukru. Jednak w większości przypadków izolowany był tylko  $\beta$ -anomer<sup>51</sup>.

Fox<sup>6</sup> prowadząc reakcję kondensacji metodą metalu ciężkiego otrzymał 1- $\beta$ -D-rybofuranozylotyminę. Jednak związek ten różnił się od związku otrzymanego przez Roberta i Vissera<sup>52</sup> metodą Hilberta-Johnsona. Dalsze badanie tej reakcji pokazały, że w wyniku reakcji powstają oba anomery, a wyizolowany  $\alpha$ -anomer okazał się identyczny ze związkiem otrzymanym przez Roberta i Vissera. Otrzymywanie obu anomerów z dialkoksypirymidyn zostało dobrze udokumentowane<sup>45,50,53,54</sup>.

Hilbert i Rist<sup>55</sup> donosili także o otrzymaniu O-glikozydów. W wyniku kondensacji bromku tetra-O-acetylo- $\beta$ -rybofuranozy z 2,4-dietoksypirymidyną otrzymali poza spodziewanym 1-nukleozydem dodatkowy produkt, O<sup>2</sup>-rybofuranozylo-4-etoksypirymidynę. Analogiczne obserwacje przeprowadzone były też przez Vissera, Goodmana i Dittmera<sup>56</sup>. Mechanizm procesu powstawania O-glikozydów w metodzie Hilberta-Johnsona został zaproponowany przez Lemieuxa i Morgana<sup>57</sup> (schemat 17).



Schemat 17

W wyniku kondensacji bromku tetraacetylo- $\alpha$ -D-glukopiranozy (**6**) z 2-etoksypirymidyną (**53**) w obecności bromku butyloaminy otrzymali oni związek **56**. Sugerowali, że pod wpływem

THE UNIVERSITY OF CHICAGO LIBRARY  
1207 EAST 58TH STREET  
CHICAGO, ILLINOIS 60637  
TEL: 773-936-3000  
WWW.CHICAGO.LIBRARY.EDU

THE UNIVERSITY OF CHICAGO LIBRARY  
1207 EAST 58TH STREET  
CHICAGO, ILLINOIS 60637  
TEL: 773-936-3000  
WWW.CHICAGO.LIBRARY.EDU

THE UNIVERSITY OF CHICAGO LIBRARY  
1207 EAST 58TH STREET  
CHICAGO, ILLINOIS 60637  
TEL: 773-936-3000  
WWW.CHICAGO.LIBRARY.EDU

THE UNIVERSITY OF CHICAGO LIBRARY  
1207 EAST 58TH STREET  
CHICAGO, ILLINOIS 60637  
TEL: 773-936-3000  
WWW.CHICAGO.LIBRARY.EDU

THE UNIVERSITY OF CHICAGO LIBRARY  
1207 EAST 58TH STREET  
CHICAGO, ILLINOIS 60637  
TEL: 773-936-3000  
WWW.CHICAGO.LIBRARY.EDU

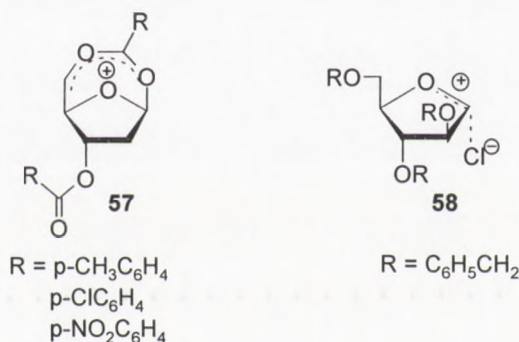
THE UNIVERSITY OF CHICAGO LIBRARY  
1207 EAST 58TH STREET  
CHICAGO, ILLINOIS 60637  
TEL: 773-936-3000  
WWW.CHICAGO.LIBRARY.EDU

THE UNIVERSITY OF CHICAGO LIBRARY  
1207 EAST 58TH STREET  
CHICAGO, ILLINOIS 60637  
TEL: 773-936-3000  
WWW.CHICAGO.LIBRARY.EDU

THE UNIVERSITY OF CHICAGO LIBRARY  
1207 EAST 58TH STREET  
CHICAGO, ILLINOIS 60637  
TEL: 773-936-3000  
WWW.CHICAGO.LIBRARY.EDU

anionu bromkowego  $\alpha$ -halogenoza przechodzi w  $\beta$ -anomer. Umożliwia to powstanie cyklicznego kationu cukrowego (**52**), który ulega następnie atakowi pirydyny z wytworzeniem czwartorzędowej soli (**54**). Usunięcie grupy etoksyłowej pod wpływem anionu bromkowego prowadzi do powstania grupy karboksylowej. Następnie po wewnątrzcząsteczkowym ataku pary elektronowej tlenu karbonyłowego powstaje  $\alpha$ -glukozyd (**56**). Lemieux i Morgan<sup>57</sup> sugerowali, że preferowany atak 2-etoksypirymidyny na pierścień dioksolanowy spowodowany jest istnieniem pary anion – kation (**52**), która utrudnia bezpośredni atak pirymidyny na anomeryczny atom węgla.

Pryštas<sup>46,48</sup> obserwując powstawanie 2'-deoksy- $\alpha$ -nukleozydu (**45**) jako głównego produktu reakcji (schemat 15) stwierdził, że ani mechanizm  $S_N2$ , ani możliwość istnienia pary anion – kation nie wyjaśnia retencji konfiguracji i powstawania w przewadze  $\alpha$ -anomeru. Zasugerował on, że proces ten może zachodzić przez 1,5-cykliczny jon (**57**), co ułatwia atak na atom C1 „od dołu”. Ta hipoteza znalazła poparcie w fakcie, że w reakcji anomerycznej mieszaniny chlorku 3,5-di-O-benzylo-2-deoksy-D-pentafuranozy z 2,4-dimetoksypirymidyną powstają  $\alpha$ - i  $\beta$ -anomery w równych proporcjach<sup>58</sup>.



Schemat 18

Pryštas<sup>48</sup> uważał, że powstanie 1,5-cyklicznego jonu powoduje powstanie większej ilości 2'-deoksy- $\alpha$ -nukleozydu. Jednak może to być też spowodowane czynnikami sterycznymi, powodujące przysłanianie centrum anomerycznego przez objętościowy podstawnik 5-acyloksylowy.

Natomiast w reakcji kondensacji dialkoksypirymidyny z chlorkiem tribenzylo- $\alpha$ -D-arabinofuranozy przeprowadzonej w chlorku metylenu otrzymano z dobrą wydajnością tylko  $\beta$ -anomer nukleozydu. Jego konfiguracja została wyznaczona przez Glaudemansa i Fletchera<sup>59</sup>. Jeżeli efekty steryczne miałyby tu odgrywać decydującą rolę, to należało by się spodziewać powstania przede wszystkim  $\alpha$ -nukleozydu z powodu dużej zawady przestrzennej, jaką jest grupa  $O^2$ -benzylowa. Powstanie  $\beta$ -anomeru może być racjonalnie wytłumaczone tym, że taki



$\alpha$ -halogenocukier może posiadać ładunki cząstkowe (58). Wtedy nukleofilowy atak następuje z przeciwnej strony do miejsca, w którym znajduje się podstawnik chlorowy.

Pryštas<sup>45,46</sup> obserwował, że dodanie  $\text{HgBr}_2$  do reakcji prowadzonej metodą Hilberta-Johnsona powodowało nie tylko zwiększanie wydajności, ale także wpływało na stereochemię produktów. Reakcja 5-benzylksymetylo-2,4-dimetoksyperyminy z chlorkiem tribenzyl-D-rybofuranozy w benzenie dawało mieszaninę  $\alpha$ - i  $\beta$ -anomerów w stosunku 1:4. Po dodaniu do reakcji katalizatora ( $\text{HgBr}_2$ ), ilość powstającego w wyniku reakcji  $\alpha$ -nukleozydu bardzo się obniżyła ( $\alpha/\beta$  1:11). Rola  $\text{HgBr}_2$  w reakcji Hilberta-Johnsona może mieć dwa aspekty. Halogenoza posiadająca grupę 2-acyloksylową pod wpływem rtęci może tworzyć kation 1,2-acyloksoniowy. Wtedy preferowana będzie reakcja prowadząca do powstania 1',2'-*trans*-nukleozydu. Natomiast w przypadku 2-deoksyhalogenozy  $\text{HgBr}_2$  uczestniczy w oddysocjowaniu halogenu z wytworzeniem płaskiego jonu karboksoniowego, w wyniku czego powstaje mieszanina anomerów. Kolejnym zagadnieniem jakie trzeba rozważyć jest możliwość utworzenia kompleksu, który może powstawać w wyniku oddziaływania czwartorzędowej soli nukleozydu z katalizatorem. Powodowałyby to wyciąganie elektronów z pierścienia pirymidynowego i osłabienie wiązania 2-alkoksyalkilowego, ułatwiając usunięcie alkilu.

Otrzymywanie nukleozydów metodą Hilberta-Johnsona ma zastosowanie tylko w przypadku syntezy pochodnych pirymidynowych, w serii purynowej nie stosuje się tego typu podejścia. W przypadku syntezy nukleozydów pirymidynowych występują jednak pewne ograniczenia. Jeżeli w pozycji 6 pierścienia znajduje się podstawnik to reakcja kondensacji nie zachodzi<sup>42,60,61</sup>. Także otrzymanie substratu – dialkoksypyrimidyny nie jest proste. Związki te nie są dostępne komercyjnie, a ich synteza jest często wieloetapowa. Ponadto wydajność kondensacji przeprowadzonej tą metodą nie jest zbyt wysoka.

W reakcji tej nie obserwuje się procesu transglikozylacji. Reszta cukrowa przyłącza się bezpośrednio w pozycję N1 pirymidyny. Głównym produktem reakcji metoda Hilberta-Johnsona jest N1-podstawiony nukleozyd, a produktami ubocznymi są 3- i O<sup>2</sup>-podstawione pochodne.

W przypadku serii rybonukleozydów powstają głównie  $\beta$ -anomery. Czasem jednak obserwuje się brak stereoselektywności, który prowadzi do powstania mieszaniny anomerów. Natomiast w przypadku otrzymywania 2'-deoksynukleozydów zawsze tworzą się  $\alpha$ - i  $\beta$ -anomery.

Metoda ta obecnie jest rzadko stosowana, jej rozwinięcie stanowi metoda glikozylacji Vorbrüggena.



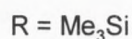
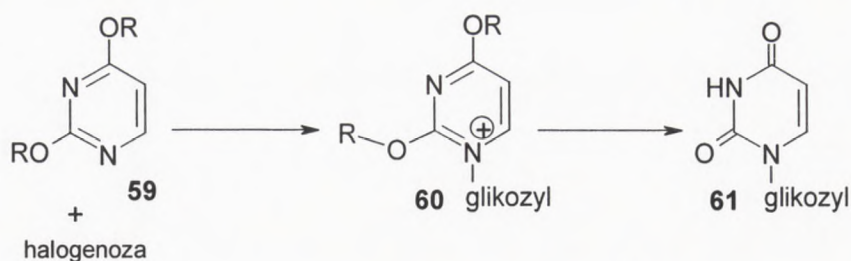
### 1.2.3. Metoda sililowa

Metoda sililowa jest rozwinięciem metody Hilberta-Johnsona. Grupy alkoksylowe zastąpione są grupami trimetylosililowymi<sup>62,63</sup>, takie pochodne otrzymuje się znacznie łatwiej niż alkoksylowe analogi. Także ich usunięcie jest o wiele prostsze i zachodzi podczas przerobu mieszaniny po zakończeniu reakcji, na skutek kontaktu z wodą lub alkoholem. Metoda ta nie ma ograniczeń do określonej grupy zasad heterocyklicznych, można ją stosować w przypadku różnych zasad (pirymidyn, puryn, imidazoli). Pochodne sililowe otrzymywane są w łatwy sposób przez traktowanie zasad heterocyklicznych odczynnikami sililującymi takimi jak: heksametylodisilazan (HMDS), chlorek trimetylosililowy (TMSCl), trimetyloaminosilan, N,O-bis(trimetylosililo)acetamid (BSA).

Wittenburg<sup>64</sup> badał reakcję kondensacji halogenozy z 2,4-bis-(trimetylosililo)-5-metylopirymidyną w różnych warunkach: ogrzewanie w suchych rozpuszczalnikach (toluen, benzen, DMF, nitrometan); w próżni, w warunkach fuzji 90-110°C; w suchym, obojętnym rozpuszczalniku w obecności nadchloranu srebra i temperaturze pokojowej; w obojętnym rozpuszczalniku wobec różnych soli rtęci (HgBr<sub>2</sub>, HgCl<sub>2</sub>, Hg(OAc)<sub>2</sub>, HgO) i różnych temperaturach. Najlepsze rezultaty uzyskał w przypadku zastosowania nadchloranu srebra<sup>65,66</sup> oraz w obecności soli rtęci<sup>64-66</sup>.

Z powodu niższej elektroujemności atomu krzemu w stosunku od atomu węgla, grupa sililowa jest bardziej podatna na atak nukleofilowy. Powoduje to, że grupa ta jest łatwiejsza do usunięcia niż grupa alkoksylowa. Ponadto efekt indukcyjny grup metylowych powoduje, że sililowane zasady heterocykliczne są lepszymi nukleofilami niż pochodne alkoksylowe.

Schemat powstawania nukleozydów w metodzie sililowej jest podobny do mechanizmu reakcji Hilberta-Johnsona.



Schemat 19

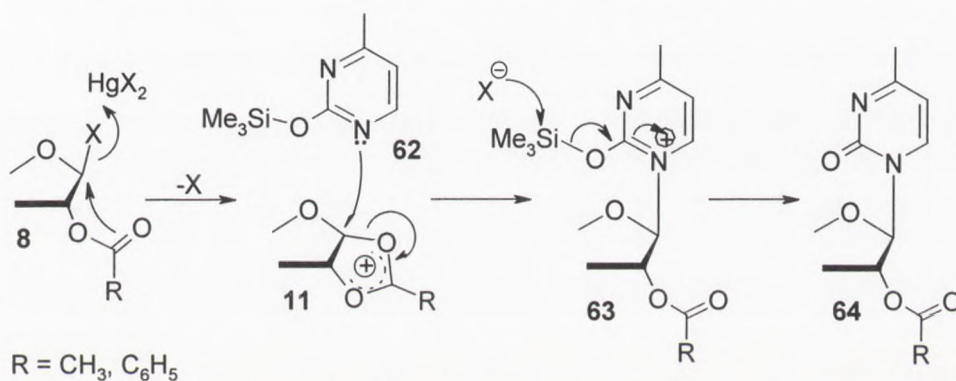




Różnica polega na tym, że w tym przypadku grupą opuszczającą nie jest grupa alkilowa. Krokiem determinującym szybkość reakcji jest najprawdopodobniej powstawanie wiązania glikozydowego C-N, natomiast w klasycznej metodzie Hilberta-Johnsona była to reakcja de-O-alkilacji. W wyniku reakcji kondensacji otrzymujemy mieszaninę anomerów nukleozydów z przewagą  $\beta$ -anomeru, nawet gdy obecna jest grupa 2-alkoksylowa w cząsteczce cukru. Powstawanie mieszaniny anomerów można wyjaśnić w taki sam sposób jak miało to miejsce w przypadku reakcji Hilberta-Johnsona.

Reakcje kondensacji z wykorzystaniem siliolowych pochodnych były także prowadzone, jak już wspomniano, w obecności soli rtęci. W takim podejściu reakcja syntezy nukleozydu przebiega w bardziej łagodnych warunkach z osiągnięciem wyższych wydajności.

Mechanizm reakcji powstawania nukleozydu pirymidynowego metodą siliolową w obecności  $\text{HgX}_2$  został zaproponowany przez Watanabe, Hollenberga i Foa<sup>17</sup> (schemat 20)



**Schemat 20**

Mechanizm ten jest analogiczny do mechanizmu reakcji Hilberta-Johnsona prowadzonej z użyciem alkoksypirymidyn w obecności  $\text{HgX}_2$ .

Ciekawych obserwacji dokonał Bardos<sup>67</sup>, który badał wpływ siliłowania zasad heterocyklicznych na przebieg reakcji. W wyniku kondensacji chlorku 3,5-di-O-chlorobenzyl-2-deoxy- $\alpha$ -D-pentafuranozy z 5-acetylotio-2,4-bis(trimetylosililo)pirymidyną w benzenie lub bez rozpuszczalnika oraz w wysokiej temperaturze otrzymał tylko  $\beta$ -anomer. Natomiast w łagodniejszych warunkach (temperatura pokojowa) obserwowano powstawanie tylko  $\alpha$ -anomeru.

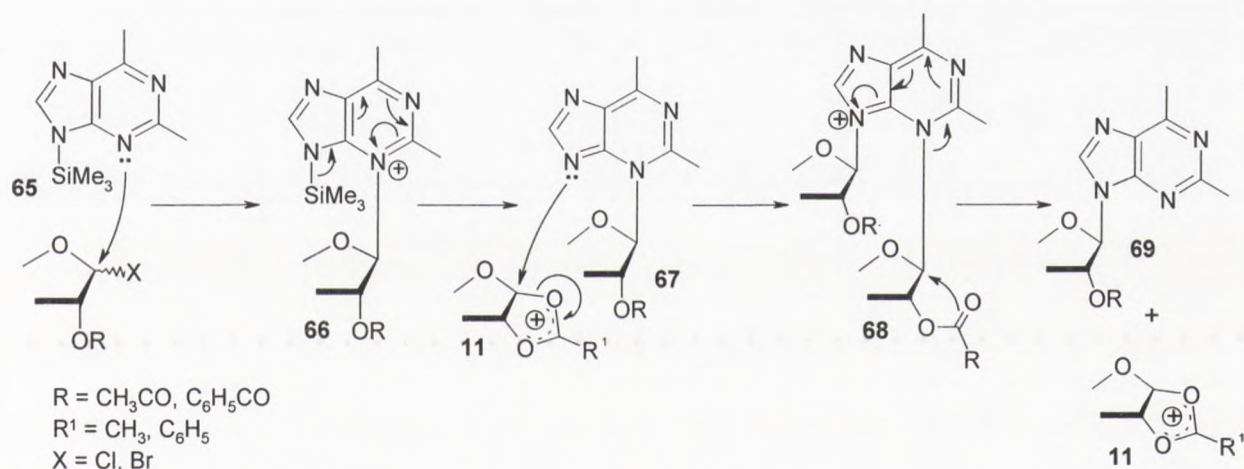
W kolejnych pracach Bardos<sup>68</sup> pokazał, że to jednak nie temperatura miała wpływ na stereochemię reakcji. Zaobserwował, on że powstawanie  $\alpha$ - lub  $\beta$ -anomeru zależy od obecności w mieszaninie reakcyjnej chlorku trimetylosililu. Podczas reakcji prowadzonych w temperaturze wrzenia benzenu lub reakcji fuzji, lotny chlorek szybko odparowywał z mieszaniny, co



prowadziło do powstawania  $\beta$ -anomeru. Natomiast jeżeli reakcję przeprowadzono w niższej temperaturze, w której chlorek nie zdołał odparować, jako główny produkt uzyskiwano  $\alpha$ -anomer nukleozydu.

Bardos<sup>68</sup> sugerował, że  $\beta$ -anomer powstaje w wyniku nukleofilowego ataku  $S_N2$  na  $\alpha$ -halogenozę przez silylowaną pirymidynę. Natomiast powstawanie  $\alpha$ -nukleozydu było rezultatem anomeryzacji  $\alpha$ -halogenozy z wytworzeniem mniej stabilnego, przez co bardziej reaktywnego  $\beta$ -anomeru cukru. Według Koticka dopiero ten związek ulega nukleofilowemu atakowi zasady z powstaniem  $\alpha$ -nukleozydu. Zaobserwowanie wysokiej stereospecyficzności w tej reakcji<sup>65,68</sup> względem reakcji prowadzonych przez Pryštasa<sup>46,48</sup> wynika z faktu, że grupa trimetylosilylowa powoduje zwiększenie nukleofilowości zasady bardziej niż grupa alkoksylowa.

Metoda silylowa znalazła również zastosowanie w przypadku otrzymywania nukleozydów purynowych. Mechanizm tego procesu został przedstawiony przez Watanabe, Hollenberga i Foxa<sup>17</sup>.

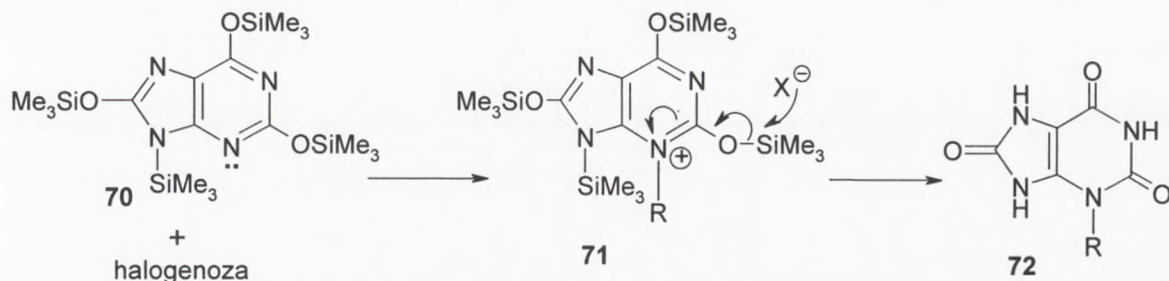


Schemat 21

W wyniku reakcji jako pierwszy powstaje kinetyczny 3-podstawiony produkt reakcji (67), który następnie w wyniku transglikozylacji 3→9 przechodzi w termodynamicznie bardziej trwałe 9-glikozyd (69). Powstanie od razu 9-podstawionego związku (69) nie jest możliwe, ponieważ w tej pozycji pierścienia purynowego znajduje się grupa silylowa. Siłą napędzającą przegrupowanie podstawnika cukrowego z pozycji 3 do 9 jest to, że w pierścieniu imidazolowym występuje nadmiar elektronów, natomiast w pirymidynowym ich niedomiar. Reakcja ta przebiega przez nietrwałą pochodną 3,9-diglikozylopurynę. Mechanizm ten jest analogiczny do mechanizmu jaki zaproponowano dla metody metalu ciężkiego.



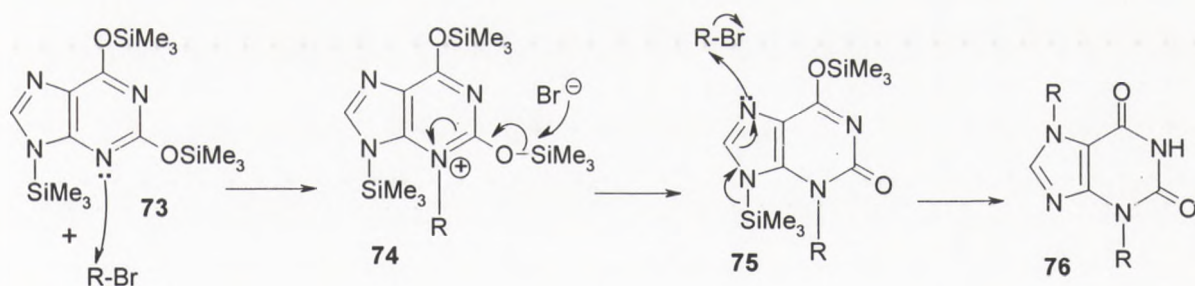
Znane są jednak przypadki, gdzie otrzymany 3-izomer jest jednym i głównym produktem reakcji. Birkhofer<sup>69</sup> obserwował powstawanie 3-podstawionego nukleozydu w reakcji halogenozy z tetrametylosililową pochodną kwasu moczowego (**70**) w obecności nadchloranu srebra. Dla tego 3-nukleozydu nie jest obserwowana migracja reszty cukrowej w pozycję N9, ponieważ związek ten posiada stabilną budowę odpowiadającą urydynie (**72**).



R = glikozyl

Schemat 22

W reakcji trimetylosililowej pochodnej ksantyny (**73**) z bromkiem tri-O-benzylo-D-rybofuranozy w mieszaninie toluenu z nitrometanem otrzymano 3-podstawiony nukleozyd (**75**). Natomiast ta sama reakcja przeprowadzona w acetonitrylu dawała 3,7-diglikozyłową pochodną (**76**)<sup>70</sup>. Mechanizm tego procesu został zaproponowany przez Watanabe, Hollenberga oraz Foa<sup>17</sup> i wygląda następująco:



R = glikozyl

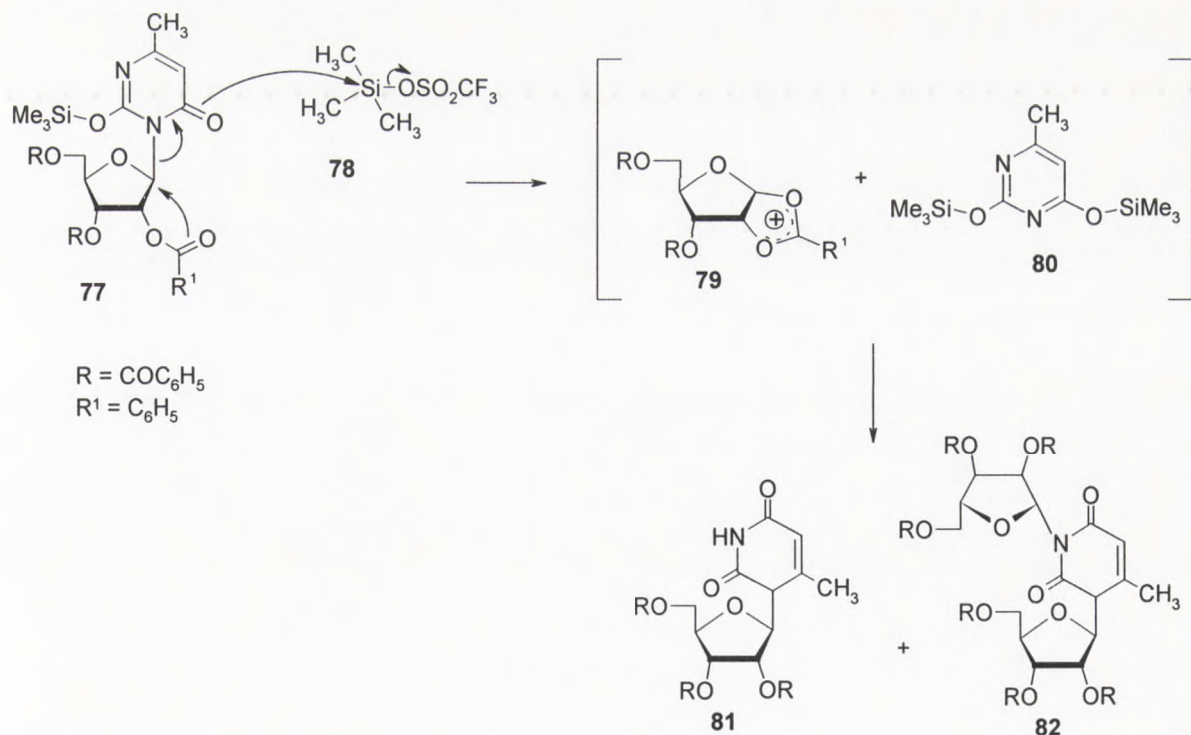
Schemat 23

Vorbrüggen<sup>40,71</sup> otrzymując nukleozydy pirymidynowe metodą sililową stwierdził, że powstawanie poza 1-nukleozydem także nienaturalnych 3-izomerów oraz 1,3-dipodstawionych pochodnych spowodowane jest charakterem podstawnika znajdującego się w pozycji 5 i 6 pirymidyny. Także duży wpływ na strukturę otrzymanego produktu ma zastosowany rozpuszczalnik oraz katalizator. W przypadku wzrostu zasadowości pochodnej



pirymidynowej wywołanej przez obecność podstawników elektronodonorowych:  $-\text{OCH}_3 > -\text{CH}_3 > -\text{H} > \text{NO}_2$ , wzrostu kwasowości katalizatora:  $\text{TiCl}_4 > \text{SnCl}_4 > \text{HgBr}_2 > (\text{CH}_3)_3\text{SiOS}_3\text{CF}_3$  oraz przez obniżenie polarności rozpuszczalnika: toluen  $>$  1,2-dichloroetan  $>$  acetonitryl wzrasta trwałości  $\sigma$ -kompleksu, przez co wydłuża się czas reakcji i zwiększa się ilość niepożądanych 3- oraz 1,3-pochodnych. Poprzez obniżenie trwałości tego kompleksu zwiększa się ilość zasady, która może uczestniczyć w reakcji, reagując z kationem cukrowym z uzyskaniem 1-nukleozydu. Według Vorbrüggena 1- oraz 3-podstawione nukleozydy mogą dawać w reakcji z kolejnym kationem cukrowym pochodne 1,3-dipodstawione. Przy założeniu, że reakcja ta jest odwracalna 3-pochodne oraz 1,3-dipodstawione związki można przeprowadzić w pożądaną 1-nukleozydy w wyniku transglikozylacji.

W wyniku reakcji benzoilowanej pochodnej 2-O-trimetylosililo-6-metylo-3-rybouracylu (**77**) wobec katalizatora  $(\text{CH}_3)_3\text{SiOS}_3\text{CF}_3$  (**78**) w acetonitrylu otrzymano 1-nukleozyd (**81**) z wydajnością 53% oraz 1,3-dipodstawiony związek (**82**). Wyizolowana i oczyszczona bispodstawiona pochodna została poddana następnie dalszej reakcji w obecności  $(\text{CH}_3)_3\text{SiOS}_3\text{CF}_3$  oraz dodatku sililowej pochodnej 6-metylouracylu (**80**) w 1,2-dichlorometanie. W wyniku przegrupowania otrzymano 1-podstawiony nukleozyd (**81**) z wydajnością 25%. Poddanie działaniu katalizatora **78** benzoilowanego nukleozydu 6-metylouracydiny (**81**) w 1,2-dichloroetanie przez 5 dni dawało po około 24% 1,3-dipodstawionego związku (**82**) i 3',5'-di-benzoil-2,2'-anhydro pochodnej.



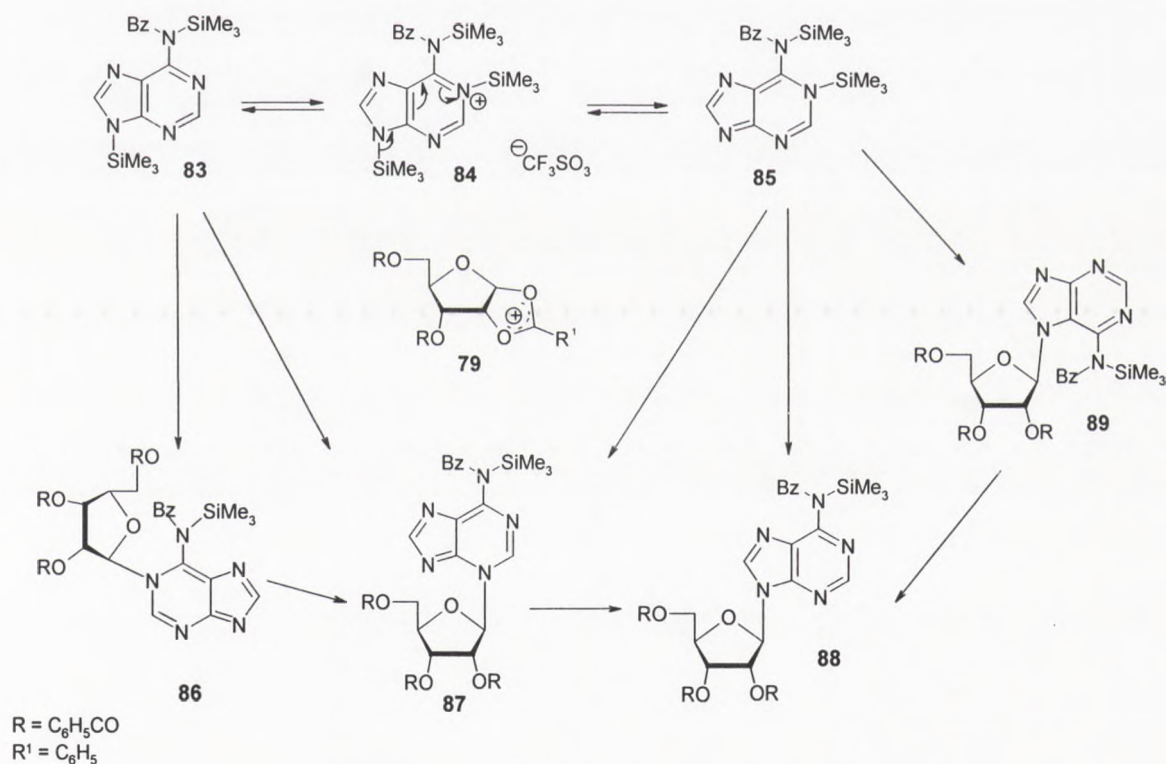
Schemat 24





Obserwowana przez Vorbrüggena transglikozylacja 3→1 prowadzi do otrzymania termodynamicznego produktu o strukturze 1-nukleozydu. Proces ten powinien zachodzić przez związek przejściowy jakim jest 1,3-dipodstawiony nukleozyd, jednak przypuszczenia te nie zostały sprecyzowane przez autora. Z obserwacji przeprowadzonych przez Vorbrüggena wynika, że silylowane nukleozydy pirymidynowe ulegają reakcji transglikozylacji N3→N1 oraz transformacji N1,N3 ⇌ N1.

Vorbrüggen i Höfle<sup>40</sup> badając mechanizm syntezy nukleozydów z silylowych pochodnych adeniny zaproponowali, że w przypadku rybozylacji persilylowanej N<sup>6</sup>-benzoiloadeniny mogą powstawać 1-, 3- i 7-regioizomery adenozyiny (**86**, **87**, **89**), które mają charakter produktów kinetycznych. Mechanizm tego procesu okazał się więc bardziej skomplikowany niż w przypadku pochodnych pirymidynowych. Vorbrüggen i Höfle tłumaczyli możliwość powstawania kilku kinetycznych produktów tym, że w wyniku silylowania adeniny możliwe jest otrzymanie mieszaniny kilku pochodnych silylowych (**83**, **84**, **85**). Przeprowadzając kondensację persilylowej pochodnej adeniny z komponentem cukrowym, po dłuższym czasie reakcji, otrzymali jako główny produkt termodynamicznie trwały 9-nukleozyd (**88**).



Schemat 25

Ryan, Acton i Goodman<sup>74</sup> zaobserwowali, że w wyniku reakcji kondensacji 1-chloro-2-S-benzyl-3,5-di-O-benzoilo-2-tiorybofuranoy z bis-(trimetylosililo)-N<sup>6</sup>-benzoiloadeniną w obecności katalizatora HgBr<sub>2</sub> w benzenie, powstaje 7-nukleozyd adeniny, który następnie

The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It emphasizes that every entry should be supported by a valid receipt or invoice. This ensures transparency and allows for easy verification of the data.

In addition, the document outlines the procedures for handling discrepancies. If there is a difference between the recorded amount and the actual amount received or paid, it is crucial to investigate the cause immediately. This could be due to a clerical error, a missing receipt, or a fraudulent transaction.

The document also provides guidelines for the storage and security of financial records. All records should be stored in a secure location, protected from fire, theft, and unauthorized access. Regular backups should be performed to prevent data loss.

Finally, the document stresses the importance of regular audits. Conducting periodic audits helps to identify any irregularities or errors in the accounting system. This proactive approach can prevent small issues from escalating into major problems.

20

ulega transglikozylacji 7→9. Zmiana struktury elektronowej zasad heterocyklicznych w przypadku metody siliłowej prowadzi do otrzymania nienaturalnych produktów reakcji.

Itoh i Mizuno<sup>72</sup> przeprowadzając reakcję kondensacji siliłowej pochodnej nieblokowanej adeniny z 1,2,3,5-tetra-O-acetylo-β-D-rybofuranozą w temperaturze pokojowej wobec tetrachlorku cyny w acetonitrylu, zaobserwowali tworzenie się 7-nukleozydu adeniny (α- i β-anomerów) oraz 9-podstawionego regioizomeru.

W serii pirymidyn reakcja kondensacji metodą siliłową może przebiegać dwiema drogami. Jednoetapowo, prowadząc do otrzymania 1-nukleozydu, w wyniku równoczesnego ataku nukleofilowego na centrum anomeryczne i usunięcie grupy 2-O-siliłowej z powstaniem termodynamicznego produktu reakcji. Drugą możliwością jest reakcja dwuetapowa poprzez czwartorzędową sól nukleozydu. W tym przypadku najpierw następuje glikozylacja i powstanie soli, a następnie poprzez jej przekształcenie otrzymujemy wolny nukleozyd. W przypadku pirymidyn nie mamy do czynienia z transglikozylacją. Reszta cukrowa przyłącza się bezpośrednio do centrum N1. Głównym produktem reakcji jest 1-nukleozyd, a produktami ubocznymi są 3- oraz 1,3-dipodstawione pochodne.

W przypadku syntezy nukleozydów purynowych metodą siliłową postulowanym produktem kinetycznym według Vorbrüggen i Höfle jest 1-, 3- lub 7-izomer, które następnie przechodzi podczas transglikozylacji w trwalszy termodynamicznie 9-podstawiony związek (w przypadku otrzymywania adenozyne). Proces ten biegnie przez nietrwale diglikozylpuryny i jest podobny do metody metalu ciężkiego.

[The following text is extremely faint and illegible due to low contrast and blurring. It appears to be a list of references or a table of contents.]

#### 1.2.4. Metoda stapiana (fuzji)

Klasyczna metoda stapiania polega na bezpośredniej reakcji peracetylowanego komponentu cukrowego z zasadą heterocykliczną bez rozpuszczalnika, w obecności kwasowego katalizatora.

Sato i współpracownicy<sup>8</sup> zastosowali reakcję Helfericha<sup>75-77</sup> do syntezy nukleozydów purynowych. Otrzymywali oni nukleozydy w wyniku stapiania tetra-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozy z różnymi zasadami heterocyklicznymi w próżni, w obecności katalitycznych ilości kwasu *p*-toluenosulfonowego w czasie od 10 do 20 minut. Uzyskane przez nich wydajności wahały się od 3% do 74% w zależności od rodzaju użytej zasady. W przeprowadzonych reakcjach otrzymali oni mieszaniny anomerów<sup>8</sup>.

W reakcji fuzji najczęściej używane są katalityczne ilości kwasów Lewisa takich jak: kwas *p*-toluenosulfonowy,  $ZnCl_2$ ,  $TiCl_4$ , kwas dichlorooctowy, ester trimetylosililowy kwasu trifluorometanosulfonowego ( $CF_3SO_3Si(CH_3)_3$ ), które są analogiczne do używanych w metodzie sililowej.

W przypadku stosowania puryn o niskich temperaturach topnienia, w wyniku stapiania ich z peracetylowanym komponentem cukrowym otrzymywane były nukleozydy z wydajnością od 40% do 80%. Natomiast zasady posiadające grupy aminowe lub hydroksylowe, których temperatury topnienia były bardzo wysokie okazały się praktycznie niereaktywne<sup>78</sup>. W przypadku stapiania zasad takich jak: adenina, guanina, hipoksantyna, ksantyna lub kwas moczowy związki użyte do reakcji odzyskiwane były w niezmienionej formie<sup>78</sup>. Dopiero acetylowe pochodne adeniny i guaniny prowadziły do otrzymania oczekiwanych nukleozydów.

Według Watanabe, Hollenberga i Foxa<sup>17</sup> użycie katalitycznych ilości kwasu Lewisa powoduje aktywację zasady purynowej. Pierwszym etapem jest tworzenie się kompleksu katalizatora z zasadą. Postulowanym miejscem przyłączenia się katalizatora jest pozycja N3. W reakcjach przeprowadzonych tą metodą nie ma eksperymentalnych dowodów na powstawanie 3-glikozylopuryn jako kinetycznych lub termodynamicznych produktów reakcji.

Ishido<sup>80</sup> w swoich pracach pokazał, że w przypadku stapiania niektórych puryn obecność katalizatora nie była wymagana do zajścia reakcji i powstania nukleozydu.

Hosono i współpracownicy<sup>79</sup> badając reakcję fuzji rzucili nowe światło na możliwy przebieg tego procesu. W wyniku reakcji stapiania 2,6-dichloropuryny z tetraacetylo- $\beta$ -D-rybofuranozą w temperaturze 152-154°C bez użycia katalizatora uzyskali 9- $\beta$ -D-rybofuranozylo-2,6-dichloropurynę. Na podstawie przeprowadzonej reakcji sformułowali następujące wnioski: reakcja ta jest reakcją autokatalityczną i zachodzi według mechanizmu bimolekularnego;

The first of these is the fact that the majority of the studies reviewed in this paper have been conducted in the United States. This is a limitation because the cultural context of the United States may influence the results of the studies. For example, the concept of self-esteem is a central concept in American culture, and it is possible that the results of the studies reviewed in this paper are specific to the United States.

The second limitation is that the majority of the studies reviewed in this paper have been conducted with college students. This is a limitation because the results of the studies may not be generalizable to other populations. For example, the results of the studies may not be generalizable to the general population or to other age groups.

The third limitation is that the majority of the studies reviewed in this paper have been conducted with men. This is a limitation because the results of the studies may not be generalizable to women. For example, the results of the studies may not be generalizable to women because of differences in the experience of self-esteem between men and women.

The fourth limitation is that the majority of the studies reviewed in this paper have been conducted with white participants. This is a limitation because the results of the studies may not be generalizable to other racial and ethnic groups. For example, the results of the studies may not be generalizable to African American or Hispanic participants because of differences in the experience of self-esteem between different racial and ethnic groups.

The fifth limitation is that the majority of the studies reviewed in this paper have been conducted with participants from the United States. This is a limitation because the results of the studies may not be generalizable to other countries. For example, the results of the studies may not be generalizable to other countries because of differences in the experience of self-esteem between different countries.

Despite these limitations, the studies reviewed in this paper provide a valuable contribution to the understanding of self-esteem. The studies reviewed in this paper provide a comprehensive overview of the research on self-esteem, and they provide a clear picture of the current state of the field. The studies reviewed in this paper also provide a clear picture of the future directions of the field.

The first of these future directions is the need for more research on the cultural context of self-esteem. The studies reviewed in this paper have shown that the cultural context of the United States may influence the results of the studies, and it is important to investigate the cultural context of self-esteem in other countries.

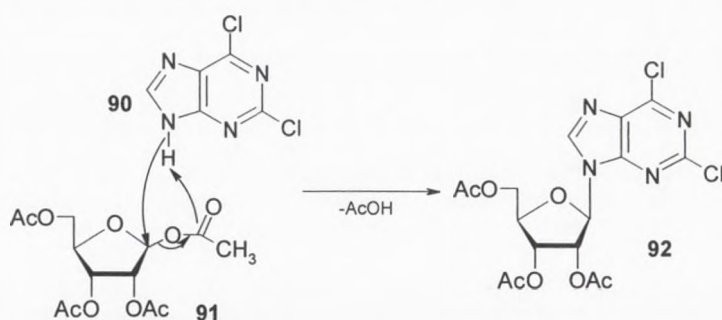
The second future direction is the need for more research on the generalizability of the results of the studies. The studies reviewed in this paper have shown that the results of the studies may not be generalizable to other populations, and it is important to investigate the generalizability of the results of the studies.

The third future direction is the need for more research on the experience of self-esteem in women. The studies reviewed in this paper have shown that the results of the studies may not be generalizable to women, and it is important to investigate the experience of self-esteem in women.

The fourth future direction is the need for more research on the experience of self-esteem in different racial and ethnic groups. The studies reviewed in this paper have shown that the results of the studies may not be generalizable to other racial and ethnic groups, and it is important to investigate the experience of self-esteem in different racial and ethnic groups.

The fifth future direction is the need for more research on the experience of self-esteem in other countries. The studies reviewed in this paper have shown that the results of the studies may not be generalizable to other countries, and it is important to investigate the experience of self-esteem in other countries.

krokiem determinującym szybkość reakcji jest eliminacja cząsteczki kwasu octowego. Mechanizm tego procesu został zaproponowany przez Hosono<sup>79</sup>.

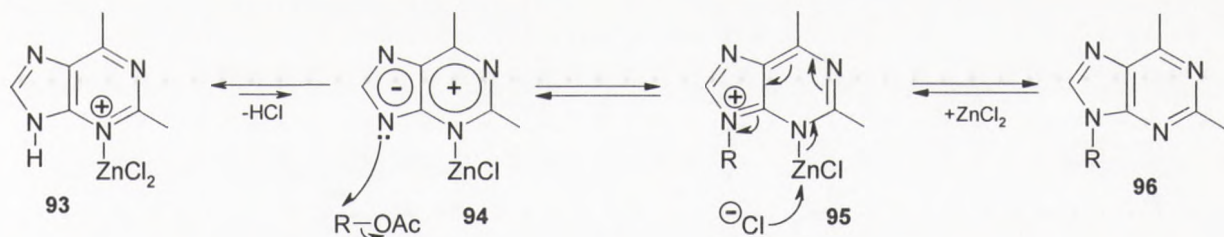


Schemat 26

Reakcja fuzji 6-chloro-, 6-jodo-, 6-cyjano-, 2,6-dichloro- lub 2,6,8-trichloropuryny z peracetylowanym komponentem cukrowym prowadzi do otrzymania nukleozydu. Natomiast zastosowanie do reakcji puryn takich jak: teofilina, 6-metoksyuryna nie prowadziło do uzyskania nukleozydu.

Hosono<sup>79</sup> sugerował, że mechanizm reakcji katalitycznej jak i autokatalitycznej jest podobny. W wyniku katalizy aktywowana jest puryna, która następnie ulega reakcji z komponentem cukrowym, co prowadzi do otrzymania nukleozydu.

Mechanizm aktywowania puryn przez katalizator został zaproponowany przez Watanabe, Hollenberga i Foxa<sup>17</sup>.



R = acetylowana reszta cukrowa

Schemat 27

Pierwszym krokiem w postulowanym mechanizmie jest powstanie kompleksu między puryną a kwasem Lewisa (**93**). Watanabe, Hollenberg i Fox sugerują, że kwas Lewisa przyłącza się w pozycję N3 pierścienia zasady purynowej, ponieważ gęstość elektronowa tego atomu jest największa, przez co zwiększa się jego podatność na elektrofilowy atak. Autorzy nie wykluczali, że możliwe jest też powstanie analogicznych kompleksów kwasu Lewisa z atomami azotu N1 lub N7 puryny. Powstały związek **93** może pozostawać w równowadze ze strukturą **94**. Ta ostatnia forma przypomina swoją budową 3-glikozylowaną purynę. Struktura ta posiada



The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It emphasizes that every entry should be supported by a valid receipt or invoice. This not only helps in tracking expenses but also ensures compliance with tax regulations.

In the second section, the author outlines the various methods used for data collection and analysis. These include surveys, interviews, and focus groups. Each method has its own strengths and weaknesses, and the choice depends on the specific research objectives.

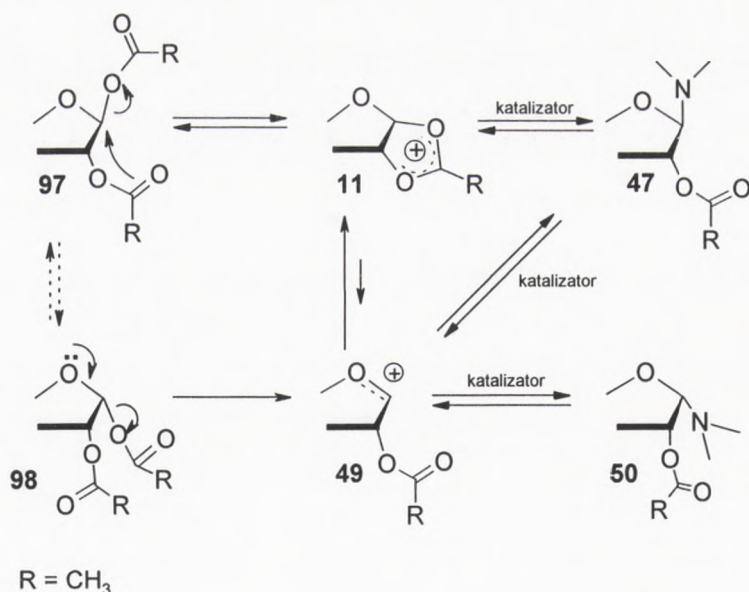
The third section delves into the statistical analysis of the collected data. It covers topics such as descriptive statistics, inferential statistics, and regression analysis. The goal is to identify patterns and trends in the data that can inform decision-making.

Finally, the document concludes with a summary of the findings and recommendations. It highlights the key insights gained from the research and provides practical advice for implementing these findings in a business context.

niekorzystny układ elektronowy, który jest siłą napędzającą przyłączenie kationu cukrowego, w wyniku czego powstaje chlorocynkowa pochodna 9-nukleozydu (**95**). Następnie w wyniku ataku anionu chlorkowego następuje oderwanie cząsteczki katalizatora i powstanie wolnego nukleozydu (**96**). Mechanizm ten jest analogiczny do procesu transglikozylacji zaproponowanego przez Watanabe, Hollenberga i Foxa dla metody metalu ciężkiego.

W podobny sposób można także przedstawić katalizę pod wpływem kwasu: *p*-toluenosulfonowego, dichlorooctowego lub amidosulfonowego. W tym przypadku następuje protonowanie atomu azotu N3 i powstanie związku typu **93**, a następnie przez przyłączenie reszty cukrowej i oderwanie protonu z pozycji N3 uzyskiwany jest 9-podstawiony nukleozyd oraz odtworzona zostaje cząsteczka katalizatora.

Ciekawe obserwacje przeprowadził Hosono<sup>79</sup> badając reakcję kondensacji 2,6-dichloropuryny z tetraacetylo- $\beta$ -rybofuranozą w próżni, w temperaturze 150°C bez obecności katalizatora. W wyniku reakcji otrzymał on tylko  $\beta$ -anomer N9-podstawionego nukleozydu. Natomiast zastosowanie do kondensacji  $\alpha$ -anomeru cukru prowadziło do otrzymania  $\alpha$ - i  $\beta$ -anomerów w stosunku 2:3. Podobna reakcja 2,6-dichloropuryny z  $\alpha$ -anomerem cukru przeprowadzona metodą stapiania wobec kwasu amidosulfonowego w czasie 1 minuty prowadzi do otrzymania jedynie  $\beta$ -nukleozydu. Jeżeli jednak synteza prowadzona była przez dłuższy czas (10 minut) dostarczała mieszaninę anomerów. W wyniku ogrzewania  $\beta$ -nukleozydu przez 10 minut, w temperaturze 150°C i obecności katalitycznych ilości kwasu amidosulfonowego otrzymano mieszaninę anomerów. Mechanizm tego procesu został zaproponowany przez Watanabe, Hollenberga i Foxa<sup>17</sup>.



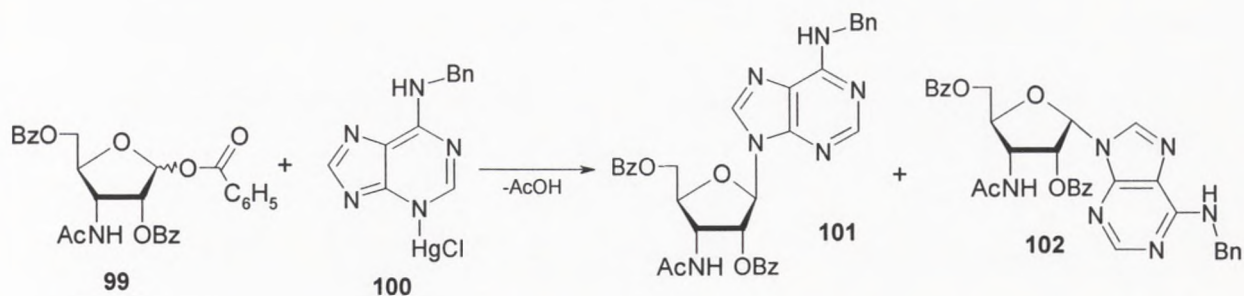
Schemat 28



W przypadku reakcji autokatalizy, w wyniku stapiania tetraacetylowanej rybozy z puryną w pierwszym etapie następuje przesunięcie pary elektronowej z wiązania C-O na atom tlenu (pozycja C1 rybozy), z równoczesnym atakiem pary elektronowej tlenu karbonylowego z grupy acetylowej z pozycji C2 na atom węgla C1 z wytworzeniem acyloksoniowego kationu cukrowego (11). Jon ten jest następnie atakowany przez anion purynowy z powstaniem  $\beta$ -nukleozydu.

Jeżeli jednak do reakcji użyty jest acetylowany  $\alpha$ -cukier (98) to otrzymuje się kation karboksoniowy (49). Jon taki jest wynikiem przesunięcia pary elektronowej z atomu tlenu z jednoczesnym oderwaniem grupy acylowej i prowadzi do otrzymania  $\alpha$ - i  $\beta$ -anomerów nukleozydu. Powstanie mieszaniny anomerów jest spowodowane tym, że taki płaski kation karboksoniowy (49) może być atakowany przez purynę z obu stron (z „góry” lub z „dołu”). Jon ten może też przejść w kation 1,2-acyloksoniowy dając w reakcji z puryną  $\beta$ -nukleozyd.

Nukleozyd typu 47 w wysokiej temperaturze i w obecności kwasowego katalizatora może ulec odwracalnemu procesowi rozerwania wiązania glikozydowego z powstaniem jonu cukrowego 11 lub 49 i aktywnej 2,6-dichloropuryny (analogicznej do związku 94). Następnie w wyniku rekombinacji komponentu cukrowego z aktywną puryną otrzymywana jest mieszanina  $\alpha$ - i  $\beta$ -anomerów. Tak więc przekształcenie  $\beta$ -nukleozydów w  $\alpha$ -pochodne w obecności kwasu amidosulfonowego staje się jasne. Zjawisko to może więc wyjaśnić obserwacje dokonane przez Bakera<sup>82</sup>, który przeprowadzając kondensację pochodnej chlorortęciowej N<sup>6</sup>-benzamidopuryny (100) z 1-O-acetylo-2,5-di-O-benzoilo-3-acetamido-3-deoksy-D-rybofuranozą (99) w obecności TiCl<sub>4</sub> otrzymał mieszaninę anomerów (schemat 29). Podobne obserwacje dokonał też Goldman<sup>83</sup>, który prowadził reakcję tego samego komponentu cukrowego 99 z chlorortęciową pochodną 6-chloropuryny wobec TiCl<sub>4</sub> także otrzymując mieszaninę  $\alpha$ - i  $\beta$ -anomerów.



Schemat 29

Jeżeli w reakcji bez użycia TiCl<sub>4</sub> zastosowano zamiast całkowicie blokowanej rybozy 1-halogenocukier obserwowano otrzymywanie tylko  $\beta$ -nukleozydów. Przyjęto więc, że obecność



TiCl<sub>4</sub> w reakcji puryny ze związkiem **99** powoduje powstanie β-nukleozydu, a następnie jego izomeryzację do α-pochodnej.

Powstawanie mieszaniny anomerów acetylowanych cukrów może być spowodowane reakcją autokatalizy. O takich przypadkach donoszono już wcześniej<sup>85</sup>. Anomeryzacja może być więc odpowiedzialna za powstawanie mieszaniny anomerów w obecności pewnych kwasów Lewisa. Jednak Hosono badając proces anomeryzacji acetylowanych cukrów typu **97** lub **98** w obecności kwasu sulfaminowego nie obserwował przechodzenia anomeru α w β. Dopiero w wyniku reakcji przeprowadzonej wobec ZnCl<sub>2</sub> lub TiCl<sub>4</sub> otrzymywano oba anomery.

Metoda fuzji znalazła też zastosowanie do otrzymania nukleozydów pirymidynowych. Pfleiderer i Robins<sup>86</sup> przeprowadzając reakcję kondensacji 4-hydroksypirymidyny z acetylowaną pochodną rybofuranozy w obecności kwasowego katalizatora otrzymali 4-oxo-3-β-D-rybofuranozylo-dihydropirymidynę.

Metodę ta może być zastosowana tylko w przypadku, jeżeli wszystkie komponenty użyte do reakcji (zasada heterocykliczna, cukier, katalizator) będą ulegały stopieniu. Często stosuje się więc blokowane zasady, co powoduje, że temperatura topnienia tak modyfikowanego związku ulega obniżeniu w porównaniu z nieblokowanymi zasadami.

W wyniku reakcji kondensacji powstaje związek z przyłączonym cukrem w tej samej pozycji, w której znajdował się proton w trwałym termodynamicznie tautomerze zasady heterocyklicznej.

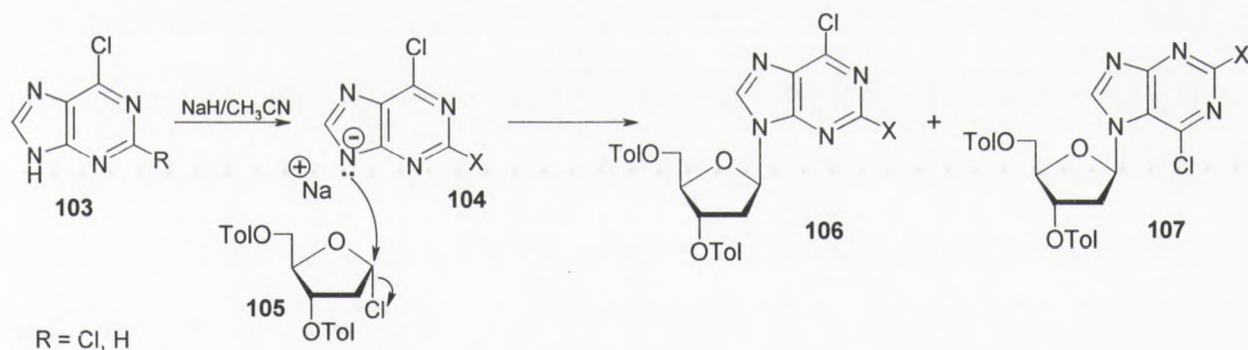


### 1.2.5. Metoda glikozylacji anionowej

Metoda ta została opracowana przez Kazimierczuka i współpracowników<sup>81</sup>. Znalazła zastosowanie w syntezie 2'-deoksynukleozydów, jest natomiast rzadko stosowana do otrzymywania rybonukleozydów. W reakcjach przeprowadzonych tą metodą uzyskiwane są praktycznie tylko  $\beta$ -anomery.

Wcześniej stosowane metody glikozylacji biegnące przez kation cukrowy, nie dawały dobrej stereoselektywnej kontroli w przypadku 2-deoksycukrów. W wyniku takich reakcji otrzymywano mieszaniny  $\alpha$ - i  $\beta$ -anomerów.

W wyniku reakcji 1-chloro-2-deoksy-3,5-di-O-*p*-toluilo- $\alpha$ -D-erytro-pentafuranozy z sodową solą 6-chlorpuryny (**104**) w bezwodnym acetonitrylu Kazimierczuk<sup>81</sup> otrzymał mieszaninę dwóch nukleozydów: 6-chloro-9-(2-deoksy-3,5-di-O-*p*-toluilo- $\beta$ -D-erytro-pentafuranozylo)puryny (**106**) oraz N7-izomeru tego związku (**107**) (wydajności odpowiednio: 59% i 11%). Także w reakcji komponentu cukrowego **105** z solą sodową 2,6-dichlorpuryny uzyskał mieszaninę 7- i 9-regioizomerów (13%, 59%). Związki te zostały wyizolowane, oczyszczone na kolumnie chromatograficznej i odblokowane (MeOH/NH<sub>3</sub>) dając wolne nukleozydy.



Schemat 30

Sól sodowa zasady heterocyklicznej otrzymywana jest w wyniku jej reakcji z wodorkiem sodu w acetonitrylu. Do tak przygotowanej soli dodawany jest  $\alpha$ -halogenocukier. Atak anionu zasady na halogenozę powoduje wytworzenie wiązania N-glikozydowego z równoczesnym odejściem anionu chlorkowego. W wyniku reakcji powstają regioizomery, co spowodowane jest tym, że ładunek ujemny w części imidazolowej może być zdelokalizowany pomiędzy różnymi atomami azotu. Tak więc regioselektywność w tego typu reakcjach (dla pochodnych





purynowych) jest znacznie niższa niż w przypadku reakcji przebiegających przez kation cukrowy.

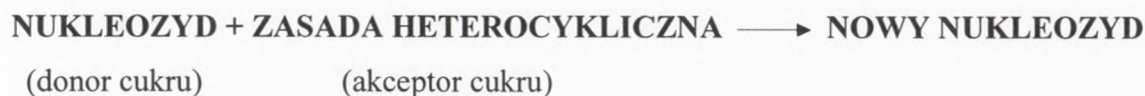
Zastosowanie tej metody w syntezie 2'-deoksynukleozydów nie wymaga stosowania wieloetapowych procedur, co znacznie przyspiesza pracę. Jednak istotną wadą jest to, że czyste  $\alpha$ -halogenocukry są dość nietrwałe, a ich cena jest stosunkowo wysoka.

Metoda ta ma głównie zastosowanie w reakcjach puryn oraz deazapuryn. Jest to klasyczny przykład reakcji jednoetapowej  $S_N2$  zachodzącej z inwersją konfiguracji na centrum anomerycznym.



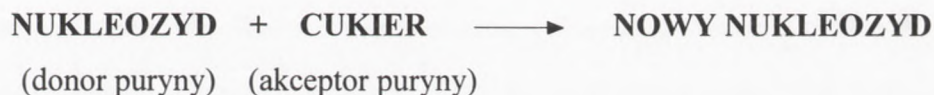
### 1.2.6. Metoda wymiany (transpurynacja, transglikozylacja)

W metodzie wymiany możemy wyróżnić dwa zasadnicze podejścia: transpurynacja i transglikozylacja. Ogólny schemat transglikozylacji można przedstawić następująco:



Przykładem takiej reakcji jest kondensacja N<sup>2</sup>,2',3',5'-tetraacetyloguanozyny z puryną. Migracja podstawnika cukrowego prowadzi do otrzymania nowego związku, 2',3',5'-triacetyloribozylpuryny.

Kolejnym podejściem w metodzie wymiany, na drodze otrzymania nukleozydu jest transpurynacja, gdzie „wymienianym” komponentem jest część cukrowa.



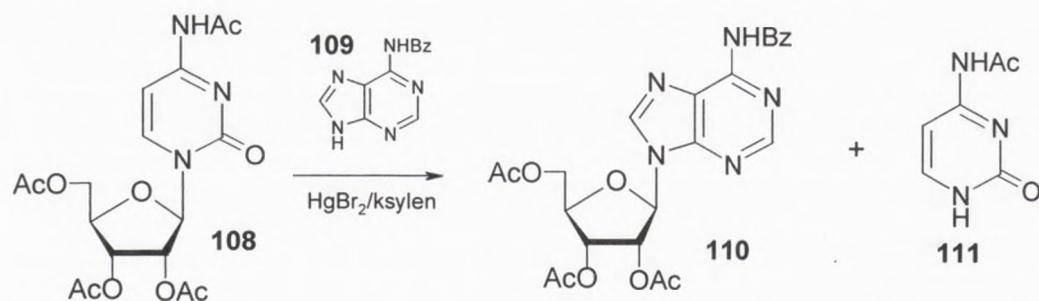
W obu przypadkach wymiana katalizowana jest przez kwasy: protonujące (np. *p*-TsOH) lub Lewisa (np. HgBr<sub>2</sub>). Reakcja taka może też zachodzić pod wpływem rozpuszczalnika lub wysokiej temperatury (stapianie).

Zarówno w podejściu transpurynacji jak i transglikozylacji mamy do czynienia z powstawaniem nowego wiązania N-glikozydowego.

Zwiększające się zapotrzebowanie na naturalne nukleozydy jak i ich analogi sprawiły, że z szeregu dostępnych metod, synteza nukleozydów metodą wymiany staje się coraz częściej stosowana.

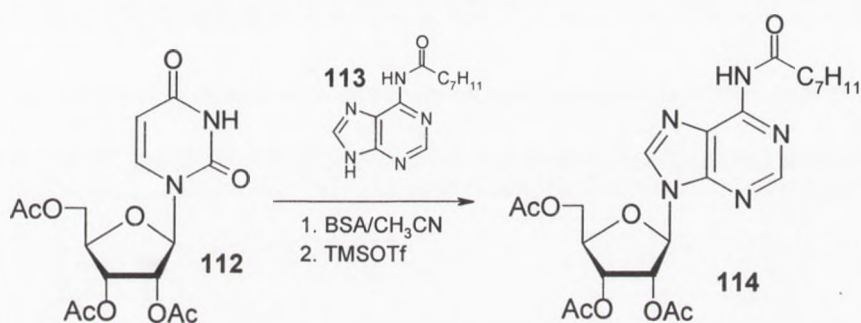
Pewnym jednak jej ograniczeniem jest to, że jako substrat stosowane mogą być nukleozydy o niskiej trwałości termodynamicznej. Przykładem tego typu reakcji jest transglikozylacja przeprowadzona przez Shimizu i Miyaki<sup>73</sup>. W wyniku ogrzewania N<sup>4</sup>,2',3',5'-tetraacetylocytydyny (**108**) wobec HgBr<sub>2</sub> w obecności N<sup>6</sup>-benzoiloadeniny (**109**) otrzymano 2',3',5'-tri-O-acetylo-N<sup>6</sup>-benzoiloadenozyne (**110**) oraz acetylowaną pochodną cytozyny (**111**).





Schemat 31

Innym przykładem wymiany wychodzącej z nukleozydów pirymidynowych jest reakcja przeprowadzona przez Ecksteina i Imazawę<sup>87</sup>. W wyniku transglikozylacji blokowanej urydyny (**112**) w obecności blokowanej adeniny i katalizatora TMSTF otrzymali oni, z dobrą wydajnością, odpowiednio blokową adenozyne (**114**).



Schemat 32

Jak już wcześniej wspomniano, początkowo sądzono, że zaproponowany i dobrze udokumentowany mechanizm transglikozylacji 3→9 dla pochodnych adeniny (wg Fox, Hollenberg i Watanabe<sup>17</sup>) może zostać uogólniony na inne nukleozydy purynowe. Przypuszczano więc, że proces ten będzie zachodził podobnie także w przypadku pochodnych guaninowych.

Shimizu i Miyaki<sup>18</sup> przeprowadzając reakcję glikozylacji pochodnej chlorortęciowej N<sup>2</sup>-acetyloguaniny z 1-bromo-2,3,5-tri-O-benzoilo-D-rybofuranozą (50°C, 40 godzin) dostali zamiast oczekiwanego 3-izomeru tylko 7- i 9-regioizomery guanozyny. Śladowe ilości (0,2%) 3-benzylowej pochodnej obok 7- i 9-izomerów (wydajności odpowiednio 22% i 16%) otrzymali w reakcji alkilowania N<sup>2</sup>-acetyloguaniny bromkiem benzylu. W wyniku ogrzewania 3-benzyl-N<sup>2</sup>-benzoiloguaniny w temperaturze 100°C przez 24 godziny uzyskali tylko 7- i 9-izomery.

Na tej podstawie Shimizu i Miyaki wysnuli przypuszczenie, że w przypadku pochodnych guaniny ma miejsce transglikozylacja 3→9, zgodnie z wcześniej już przyjętym schematem.

The following table shows the results of the experiments conducted during the year 1901-02. The data is presented in a tabular format, with columns representing different experimental conditions and rows representing the results of individual trials. The table is organized into several sections, each corresponding to a different aspect of the study. The first section deals with the general characteristics of the material being tested, while the subsequent sections focus on the effects of various factors such as temperature, pressure, and time on the material's properties. The data is presented in a clear and concise manner, allowing for easy comparison and analysis of the results. The table is organized into several sections, each corresponding to a different aspect of the study. The first section deals with the general characteristics of the material being tested, while the subsequent sections focus on the effects of various factors such as temperature, pressure, and time on the material's properties.

Series	Temperature (°C)	Pressure (atm)	Time (min)	Result 1	Result 2	Result 3
Series A	20	1	10	0.15	0.20	0.25
	40	1	10	0.18	0.22	0.28
	60	1	10	0.22	0.26	0.32
Series B	20	2	10	0.12	0.16	0.20
	40	2	10	0.14	0.18	0.22
	60	2	10	0.16	0.20	0.24
Series C	20	1	20	0.10	0.14	0.18
	40	1	20	0.12	0.16	0.20
	60	1	20	0.14	0.18	0.22
Series D	20	1	30	0.08	0.12	0.16
	40	1	30	0.10	0.14	0.18
	60	1	30	0.12	0.16	0.20

The results of the experiments show that the material's properties are significantly affected by temperature, pressure, and time. The data indicates that higher temperatures and pressures generally lead to higher values for the measured properties. Additionally, longer exposure times also result in higher values. The data is presented in a clear and concise manner, allowing for easy comparison and analysis of the results.

Według autorów proces ten zachodzi jednak znacznie szybciej niż w serii adeniny. Reakcja ta jest na tyle szybka, że 3-podstawiony nukleozyd występuje tylko w ilościach śladowych. Natomiast obserwowane powstawanie w wyniku reakcji 7-izomeru jest wynikiem odwracalnej transglikozylacji  $7 \rightleftharpoons 9$  w obecności katalizatora i prowadzi do otrzymania mieszaniny 7- i 9-nukleozydów w stosunku 1:2. Shimizu i Miyaki wykazali, że 9-izomer jest trwalszym termodynamicznie izomerem i założyli, że cały proces w przypadku 6-oksopuryn przebiega według schematu  $3 \rightarrow 7 \rightleftharpoons 9$ .

Jednak dalsze badania procesu glikozylacji nukleozydów 6-oksopurynowych<sup>19-23</sup> nie potwierdziły zaproponowanego przez Shimizu i Miyaki mechanizmu.

Kolejnym etapem na drodze poznania mechanizmu glikozylacji były badania przeprowadzone przez Dudycza i Wighta<sup>88</sup>. Obserwowali oni, że podczas syntezy nukleozydów 6-oksopurynowych powstaje tylko mieszanina 7- i 9-regioizomerów. Przeprowadzając reakcję tetraacetyloribozy z persililowanymi zasadami: N<sup>2</sup>-acetyloguaniną i N<sup>2</sup>-bromhipoksantyną w acetonitrylu wobec estru trimetylosililowego kwasu trifluorosulfonowego (TMSOTf) jako katalizatora, otrzymali tylko odpowiednie 7- i 9-podstawione nukleozydy, nie obserwując tworzenia się 3-regioizomeru. Dudycz i Wight przeprowadzając swoje badania przy użyciu wysokorozdzielczej chromatografii ciekowej HPLC (ang. High Performance Liquid Chromatography) pokazali, że powstający w reakcji jako pierwszy 7-izomer, jest kinetycznym produktem tej reakcji. Związek ten ulega następnie transglikozylacji do odpowiedniego 9-podstawionego produktu. Także badania McGee, Martina i Verheydena<sup>89</sup>, którzy przeprowadzili reakcję kondensacji 1,3-dipiwaloiolo-2-[(metylosulfinylo)metoksy]propanu z 9,N<sup>2</sup>-diacetyloguaniną w mieszaninie dimetylosulfotlenku (DMSO) z dimetyloformamidem (DMF) oraz obecności kwasu *p*-toluenosulfonowego (*p*-TsOH) jako katalizatora potwierdziły obserwacje, że powstający 7-izomer jest kinetycznym produktem reakcji, który następnie ulega transglikozylacji do trwalszego termodynamicznie 9-nukleozydu.

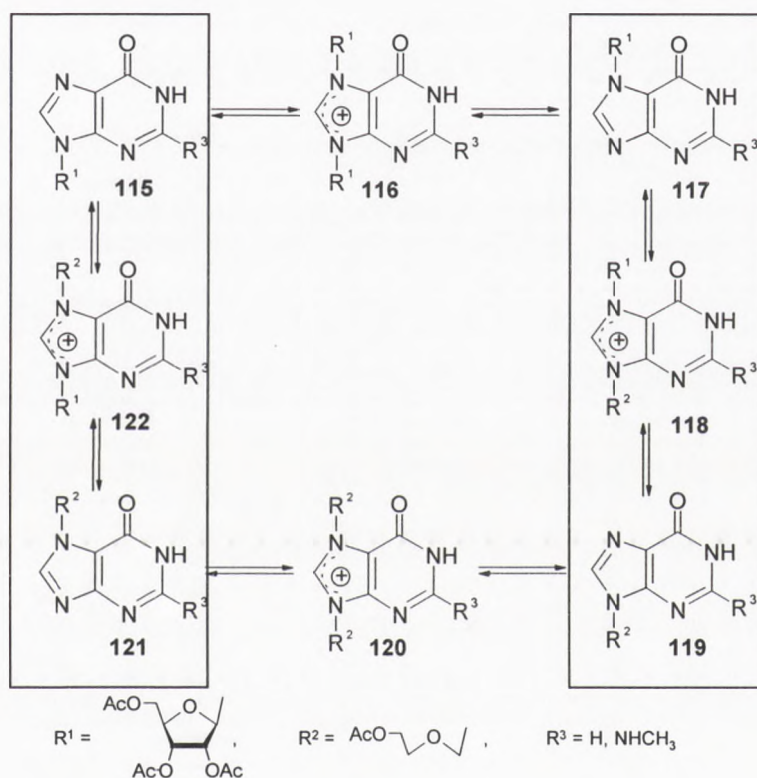
Dudycz i Wight<sup>88</sup> obserwowali także powstawanie dodatkowego produktu reakcji z wydajnością około 10%, który udało im się wyizolować i scharakteryzować jego strukturę jako 7,9-diribozylopurynę. Związek ten jest według autorów produktem pośrednim w reakcji transglikozylacji  $7 \rightleftharpoons 9$ . Mimo, że nie obserwowali oni podstawienia w pozycję N3, nie wykluczyli bardzo szybkiej transglikozylacji  $3 \rightarrow 7$ .

Dopiero Boryski<sup>90</sup> wyjaśnił i udowodnił mechanizm transglikozylacji nukleozydów 6-oksopurynowych. Przeprowadził on kondensację 2',3',5'-tri-O-acetylo-N<sup>2</sup>-acetyloguanozyny z eterem (2-acetoksyetylo)acetoksymetylowym, użytym w 10-krotnym nadmiarze. Reakcja prowadzona była w chlorobenzenie wobec kwasu *p*-TsOH jako katalizatora, w jej wyniku





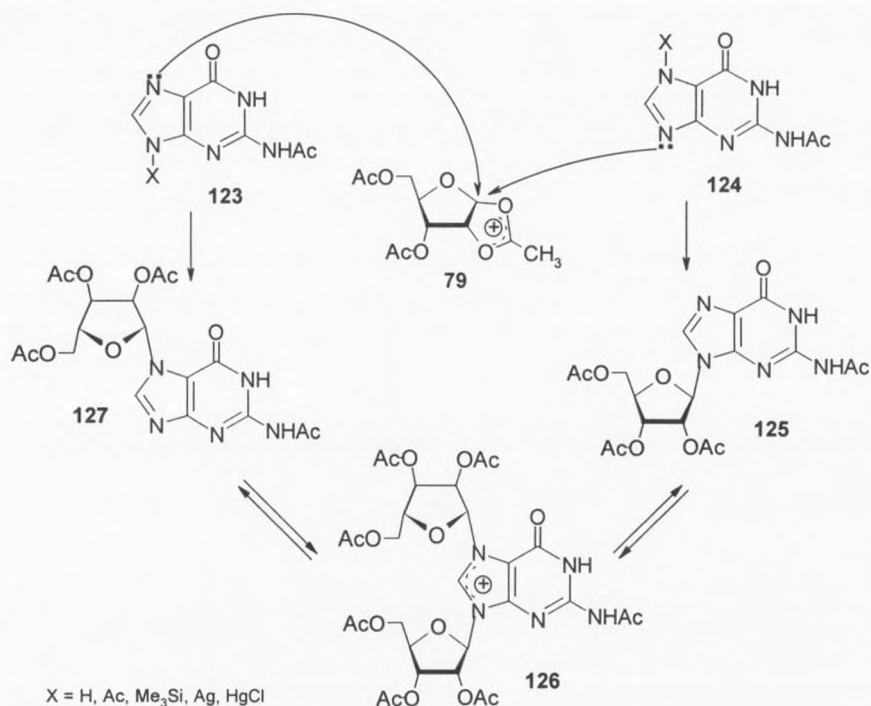
Boryski otrzymał jako główny produkt izomery 7- i 9-[(2-acetoksyetoksy)metylo]-N<sup>2</sup>-acetyloguaniny oraz niewielkie ilości 7- i 9-peracetylowanych rybonukleozydów guaninowych (schemat 33). Badania kinetyczne przebiegu reakcji prowadzone były przy użyciu HPLC. Boryski zauważył, że jeśli prowadzi się reakcję przez krótki czas (około 2 minut) i wychodzi z 7-tetraacetyloguanozyny (**117**), produktem kinetycznym jest 9-[(2-acetoksyetoksy)metylo]-N<sup>2</sup>-acetyloguanina (**119**). Natomiast jeżeli substratem jest 9-izomer tetraacetyloguanozyny (**115**) wtedy jako produkt kinetyczny tworzy się 7-podstawiona pochodna acyklowiru (**121**). Dalsze ogrzewanie mieszaniny reakcyjnej przez 1,5 godziny prowadziło do otrzymania mieszaniny 7- i 9-regioizomerów acyklowiru z przewagą 9-podstawionego związku, bez względu na użyty jako substrat 7- czy 9-rybonukleozyd. Także i w tym przypadku nie obserwowano powstawania 3-izomeru.



Schemat 33

W oparciu o przeprowadzone przez siebie obserwacje Boryski<sup>90,91</sup> zaproponował nowy mechanizm syntezy nukleozydów 6-oksopurynowych (schemat 34).

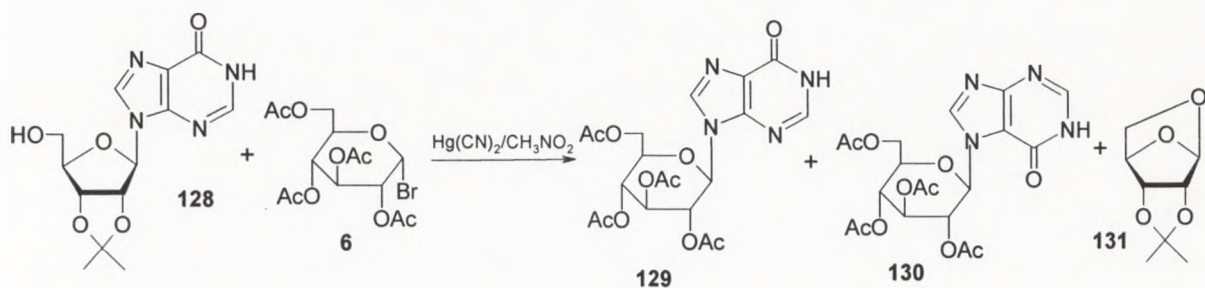




Schemat 34

Struktura kinetycznego produktu rybozylacji lub transglikozylacji zależy od podstawienia atomu azotu w heterocyklicznym substracie. Mechanizm zaproponowany przez Boryskiego opiera się na założeniu, że tylko atomy N7 i N9 pierścienia imidazolowego biorą udział w wymianie podstawnika. Wyłącznie one mogą służyć jako akceptory i donory reszt cukrowych<sup>90</sup>.

Ważnym elementem w proponowanym mechanizmie jest nietrwały związek pośredni o strukturze 7,9-diribozylopuryny (**126**). Taka forma czwartorzędowej soli zaproponowana została po raz pierwszy przez Lichtenthallera i Kitaharę<sup>92</sup>. W wyniku reakcji pochodnej inozyny (**128**) z tetraacetylbromoglukopiranozą (**6**) wobec Hg(CN)<sub>2</sub> w nitrometanie (metoda nitrometanowa), otrzymali oni 7- i 9-regioizomery tetraacetyloglukopiranozy (wydajności: 39%, 20%), co jest charakterystyczne dla nukleozydów 6-oksopurynowych. Był to pierwszy przykład wymiany reszty cukrowej w nukleozydzie (transpurynacji).



Schemat 35

The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It is essential to ensure that every entry is properly documented and verified. This process helps in identifying any discrepancies or errors early on, preventing them from escalating into larger issues. Regular audits and reconciliations are key to maintaining the integrity of the financial data.

Furthermore, it is crucial to establish a clear line of communication between all parties involved. Transparency is a cornerstone of trust, and open dialogue allows for the timely resolution of any concerns. By fostering a collaborative environment, the organization can ensure that all stakeholders are aligned and working towards the same goals.

In addition, the document emphasizes the need for continuous improvement. The financial system should be regularly reviewed and updated to reflect changes in the business environment. This includes staying abreast of new technologies and industry best practices. Investing in training and development for staff can also enhance the overall efficiency and accuracy of the financial operations.

Overall, the document provides a comprehensive overview of the financial management process. It highlights the importance of accuracy, communication, and continuous improvement. By following these guidelines, the organization can ensure that its financial records are reliable and that its operations are running smoothly.

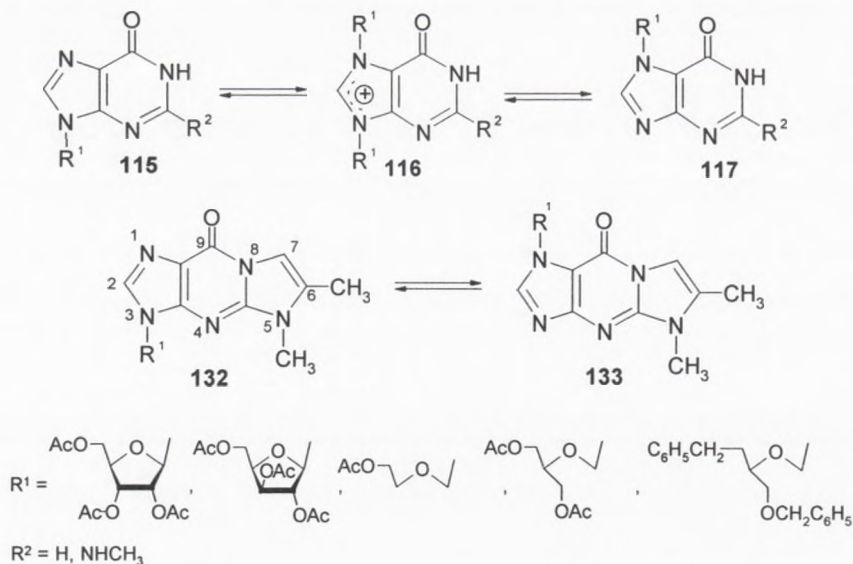
Lichtenthaller i Kitahara<sup>92</sup> postulują, że w wyniku ataku nukleofilowego atomu azotu N7 puryny na kation cukrowy, powstaje 7,9-diglikozylopuryna, która jest produktem pośrednim, będącym czwartorzędową solą. Forma ta następnie ulega rozpadowi do 7-podstawionej pochodnej nukleozydu, który izomeryzuje do 9-regioizomeru. Wynikiem tej transformacji jest powstanie mieszaniny izomerów. Rozerwanie pierwotnego wiązania N-glikozydowego między rybozą a atomem azotu N9 ułatwia wewnątrzcząsteczkowy atak pary elektronowej nieblokowanej grupy 5'-hydroksylowej. Zaproponowany przez autorów mechanizm jest pierwszą tego typu interpretacją, gdzie zakładanym produktem pośrednim jest 7,9-diglikozylopuryna, a nie 3,9-dipodstawiony związek, jak uważano dotychczas.

Taki związek o strukturze czwartorzędowej soli został wyizolowany i scharakteryzowany przez Dudycza i Wrighta<sup>21</sup> dla pochodnych rybonukleozydów. Natomiast Boryskiemu i Manikowskiemu<sup>91</sup> udało się w pełni scharakteryzować dipodstawiony związek przejściowy w serii pochodnych acykloguanozyny.

Proces transglikozylacji  $3 \rightarrow 9$  jak i  $7 \rightleftharpoons 9$  zachodzi pod wpływem katalizatorów takich jak: kwas Lewisa ( $\text{HgBr}_2$ ,  $\text{ZnCl}_2$ ,  $\text{FeCl}_3$ ); Friedla-Craftsa ( $(\text{CH}_3)_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$ ) lub też kwasów protonujących (monohydrat kwasu *p*-TsOH, HBr,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ).

Zaobserwowana przez Boryskiego i Golankiewicz<sup>19,93,94</sup> migracja podstawnika cukrowego pomiędzy atomami azotu N7 i N9 puryny podczas stapiania całkowicie blokowanych nukleozydów 6-oksopurynowych ma charakter procesu międzycząsteczkowego. W wyniku ogrzewania 7-izomeru acyklowiru w  $230^\circ\text{C}$  przez 5 minut otrzymano 9-nukleozyd z wydajnością 55%. Proces ten przebiega przez związek przejściowy 7,9-diglikozylopurynę (**120**). Blokowane nukleozydy 6-oksopurynowe ulegają w wysokiej temperaturze ( $190\text{-}250^\circ\text{C}$ ) odwracalnej  $7 \rightleftharpoons 9$  izomeryzacji bez użycia katalizatora. Reakcja ta w większości przypadków ma charakter całkowicie odwracalny, w wyniku czego ustala się stan równowagi między 7- i 9-izomerami w przybliżeniu 1:1.





Schemat 36

Niestety w przypadku odwracalnej transglikozylacji  $7 \rightleftharpoons 9$  występuje brak regioselektywności. Wydajność powstawania pożądanego 9-nukleozydu zależy od zastosowanego katalizatora, rozpuszczalnika, temperatury oraz czasu reakcji. Także duży wpływ na regioselektywność ma zastosowany komponent cukrowy.

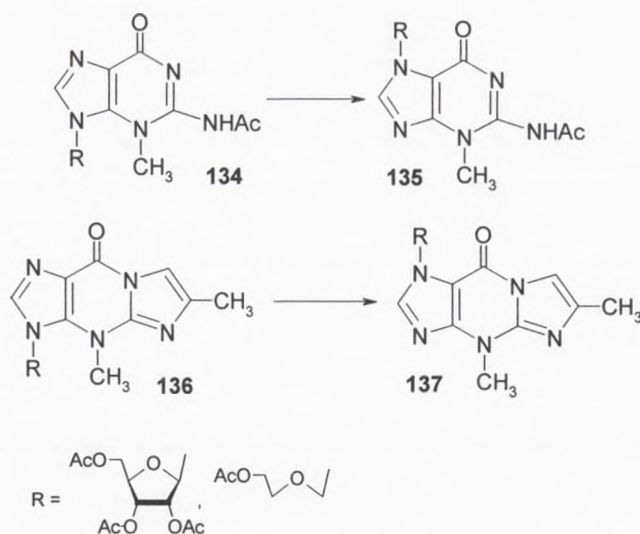
Boryski<sup>23</sup> zaproponował następującą systematykę typów reakcji transglikozylacji nukleozydów purynowych, którą można podzielić na dwie grupy:

- „typ adeniny” – mechanizm tego typu reakcji przebiega według mechanizmu zaproponowanego przez Watanabe, Hollenberga i Foxa<sup>17</sup>. Produktem kinetycznym w tym przypadku jest 3-glikozylpuryna, a termodynamicznym 9-nukleozyd. Proces transglikozylacji  $3 \rightarrow 9$  zachodzi w sposób nieodwracalny przez 3,9-diglikozylpurynę.
- „typ guaniny” – tego typu reakcje są charakterystyczne dla związków 6-oksopurynowych. Struktura produktu kinetycznego zależy od podstawienia w substracie. W wyniku transglikozylacji powstaje mieszanina regioizomerów w stosunku około 1:1, a cały odwracalny proces zachodzi przez nietrwałą formę 7,9-diglikozylpuryny.

Proces transglikozylacji w przypadku nukleozydów 6-oksopurynowych może mieć też charakter nieodwracalny. Przykładem tego typu reakcji jest termiczna transglikozylacja  $9 \rightarrow 7$  pochodnych 3-podstawionych 6-oksopuryn<sup>95,96</sup> (schemat 37).





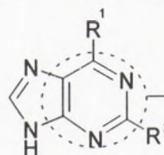


Schemat 37

Z badań przeprowadzonych przez Boryskiego i Golankiewicz wynika, że w przypadku całkowicie blokowanych pochodnych 3-metyloguanozyny (**134**) i wyozyzny (rybonukleozyd zasady Y) (**136**) podczas izomeryzacji 9-nukleozyd przechodzi ilościowo w 7-regioizomer. Można więc wnioskować, że 3-podstawione pochodne guanozyny są znacznie bardziej trwałe jako 7-nukleozydy niż 9-izomery.

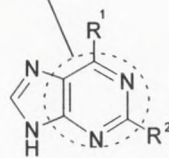
W przypadku adeniny mamy do czynienia z pełną aromatycznością pierścienia pirymidynowego. W tego typu związkach następuje nieodwracalna transglikozylacja 3→9. Natomiast w przypadku pochodnych guaninowych, pierścień pirymidynowy nie posiada pełnego układu aromatycznego i ma tu miejsce odwracalna transglikozylacja 7↔9.

## Pochodne adeniny

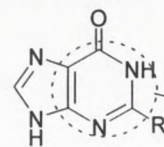


- 138** R<sup>1</sup> = NH<sub>2</sub>, R<sup>2</sup> = H  
**139** R<sup>1</sup> = CH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> = H  
**140** R<sup>1</sup> = NH<sub>2</sub>, R<sup>2</sup> = NH<sub>2</sub>  
**141** R<sup>1</sup> = R<sub>2</sub> = Cl

Pełna aromatyczność.  
Nieodwracalna transglikozylacja N3→N9



## Pochodne guaniny



- 144** R = NH<sub>2</sub>  
**145** R = H

- 142** R<sup>1</sup> = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>, R<sup>2</sup> = F  
**143** R<sup>1</sup> = CON(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>, R<sup>2</sup> = NH<sub>2</sub>

Brak pełnej aromatyczności.  
Odwracalna transglikozylacja N7↔N9

Schemat 38



Przez modyfikację struktury elektronowej części pirymidynowej można spowodować, że pierścień ten w pochodnej guanozynowej będzie posiadał pełną aromatyczność. Robins i współpracownicy<sup>97</sup> zmieniając układ karbonylowy guaniny w pozycji C6 na enolowy (143) uzyskali pochodną adeniny. Mechanizm transglikozylacji w tym przypadku zachodził będzie według „typu adeniny”. Tak więc proces ten odnosi się do wszystkich związków, które posiadają pełen układ aromatyczny w części pirymidynowej.

Jednak taka grupa blokująca powinna posiadać szereg właściwości: odporność na warunki reakcyjne, łatwość wprowadzania a następnie usuwania. Znalezienie i wprowadzenie odpowiedniej grupy w pozycje C6=O nukleozydów 6-oksopurynowych okazało się niezbyt proste.

Hata i współpracownicy<sup>98</sup> zastosowali do zablokowania grupy C6=O chlorek difenylokarbamoilowy w obecności diizopropylloetyloaminy. Spowodowało to wprowadzenie trwałej modyfikacji i zmianę układu elektronowego w purynie. Przez zastosowanie takiej modyfikacji uzyskuje się wysoką regioselektrywność, powstaje praktycznie tylko 9-izomer.

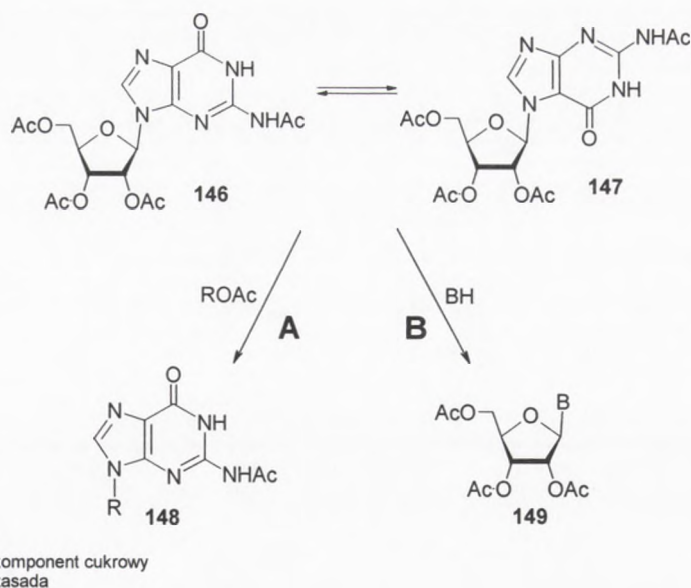
Można zatem wnioskować, że to struktura elektronowa części zasadowej nukleozydu decyduje o przebiegu procesu transglikozylacji, co daje możliwość kontrolowania reakcji przez wprowadzenie odpowiedniej modyfikacji.

Jeżeli w wyniku reakcji powstanie niepożądany 7-izomer tetraacetyloguanozyny to przy pomocy chlorku difenylokarbamoilowego można go szybko przeprowadzić w pochodną 6-difenylokarbamoilową. Następnie po silylowaniu i ogrzewaniu w toluenie (80°C) wobec TMSOTf związek ten można przekształcić w 9-nukleozyd. Dla tego typu pochodnej proces wymiany zachodzi w sposób nieodwracalny przez transglikozylację 7→9.

Jak już wcześniej wspomniano, w metodzie wymiany jako substrat może być zastosowany nukleozyd o stosunkowo niskiej trwałości termodynamicznej. Do tego typu związków zaliczane są nukleozydy 6-oksopurynowe (np. guanozyna, hiopksantyna). Jednak niezbędnym czynnikiem, aby taka wymiana mogła zajść jest utworzenie kationu cukrowego, który może powstać w wyniku działania katalizatora lub wysokiej temperatury.

Tak więc najczęściej stosowanym substratem w metodzie wymiany jest tetraacetyloguanozyna, której dodatkowym atutem jest też stosunkowo niska cena. Związek ten może być z powodzeniem stosowany zarówno w transpurynacji jak i transglikozylacji (schemat 38).

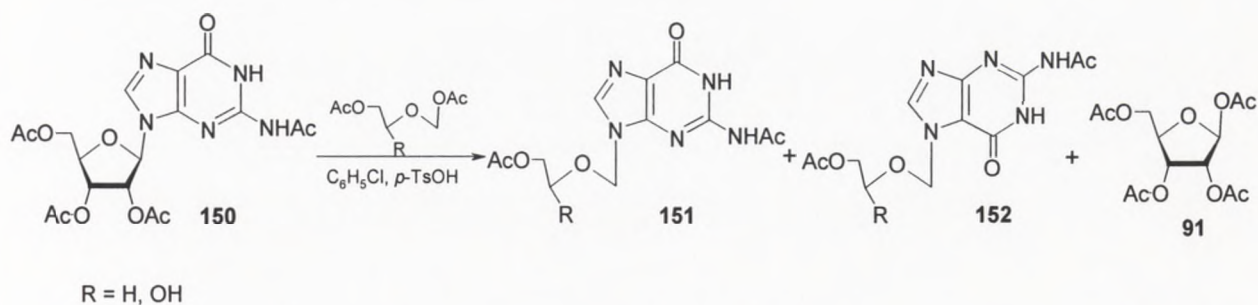




Schemat 39

Jeżeli do mieszaniny 7- i 9-izomerów tetraacetyloguanozyny, które znajdują się w termodynamicznej równowadze dodany zostanie nowy całkowicie acetylowany komponent cukrowy (ROAc), to uzyskany zostanie nowy nukleozyd guaninowy (transpurynacja – droga **A**). Natomiast przez dodanie nowej zasady heterocyklicznej (BH) uzyskany zostaje nowy rybonukleozyd (transglikozylacja – droga **B**).

Niestety, jeżeli peracetylowaną guanozynę podda się transpurynacji to jako produkt otrzymana będzie zawsze mieszanina izomerów zarówno produktów jak i substratów, która jest trudna do rozdzielenia metodami chromatograficznymi. Dopiero zastosowanie nadmiaru nowego komponentu cukrowego przesuną równowagę reakcji w kierunku 7- i 9-regioizomerów nowego nukleozydu. Przykładem tego typu podejścia jest reakcja tetraacetyloguanozyny (**150**) z nadmiarem estru (2-acetoksyetylo)acetoksymetylowego w obecności monohydratu kwasu *p*-toluenosulfonowego w chlorobenzenu (temperatura wrzenia).



Schemat 40



Produktami ubocznymi w tym przypadku są: 7-izomer (**152**) i tetraacetyloriboza (**91**). Niepożądany związek **152** można przeprowadzić w 9-izomer przez ogrzewanie w 230°C przez 5 minut, proces ten zachodzi z wydajnością 51%.

W celu stosowania mniej drastycznych warunków reakcji Azuma i Isono<sup>99</sup> używali do reakcji wymiany katalizatorów typu Friedla-Craftsa oraz siliowanych zasad heterocyklicznych, które są lepszymi akceptorami reszt cukrowych niż same zasady.

Wydajność transglikozylacji jest zazwyczaj większa jeżeli proces wymiany podstawnika zachodzi z puryny na pirymidynę, niż pirymidyna → puryna. Zjawisko to można wytłumaczyć tym, że trwałość wiązania N-glikozydowego jest większa w przypadku pirymidyn.

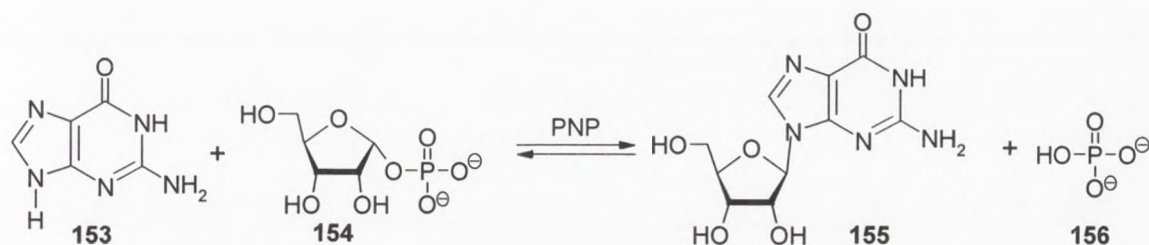
Jak więc widać, aby utworzyć nowy nukleozyd nie trzeba jedynie przeprowadzać kondensacji komponentu cukrowego z „wolną” zasadą heterocykliczną, także dobrym donorem kationu cukrowego lub zasady heterocyklicznej może być inny nukleozyd.





## 1.2.7. Metody enzymatyczne

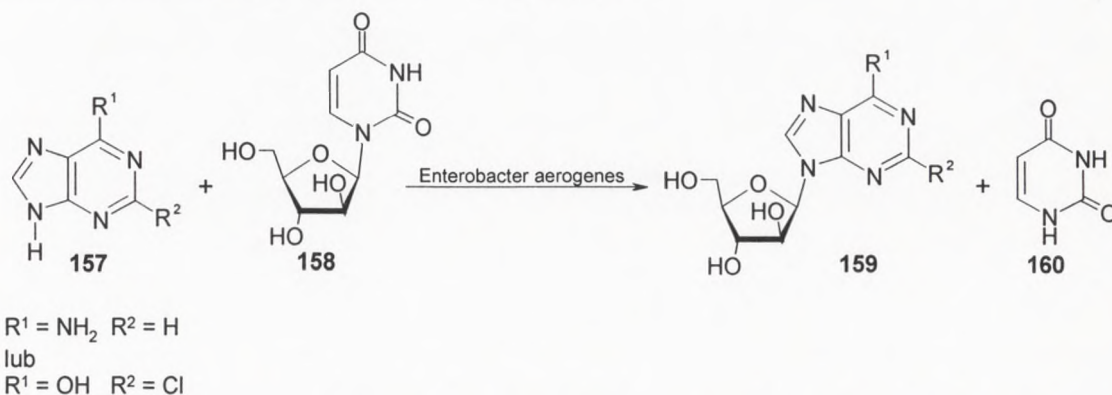
Pierwszym podejściem w syntezie nukleozydów metodami enzymatycznymi była reakcja przeprowadzona przez Kalckara<sup>100</sup> w 1947 roku (schemat 41). W wyniku reakcji nieblokowanej guaniny (**153**) z 1- $\alpha$ -fosforanem-D-rybozy (**154**) katalizowanej fosforylazą nukleozydów purynowych (PNP) otrzymał nieblokowaną guanozynę (**155**).



Schemat 41

Reakcja przeprowadzona w takich warunkach zachodzi z bardzo dużą regio- i stereoselektywnością. Jednak możliwość katalizowania przez PNP reakcji odwrotnej do tworzenia pożądanego nukleozydu powoduje, że uzyskiwane wydajności są stosunkowo niskie.

Kolejnym podejściem wykorzystującym reakcje enzymatyczne w syntezie nukleozydów była praca Morisawy<sup>101</sup> opublikowana w roku 1980. W latach 80-tych metody enzymatyczne rozwijały się głównie jako metody wymiany, w których nukleozydy stosowane były jako donory reszt cukrowych. Grupa Morisawy<sup>106</sup> przeprowadzała reakcje enzymatycznej wymiany zasad heterocyklicznych (schemat 42). W wyniku reakcji nieblokowanego arabinouracylu (**158**) z adeniną przeprowadzonej w buforze fosforanowym ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) o pH 7 wobec fosforylasy nukleozydów purynowych ze szczepu bakteryjnego *Enterobacter aerogenes* (temperatura 60°C), otrzymali arabinoadenozynę (**159**) z 92% wydajnością.

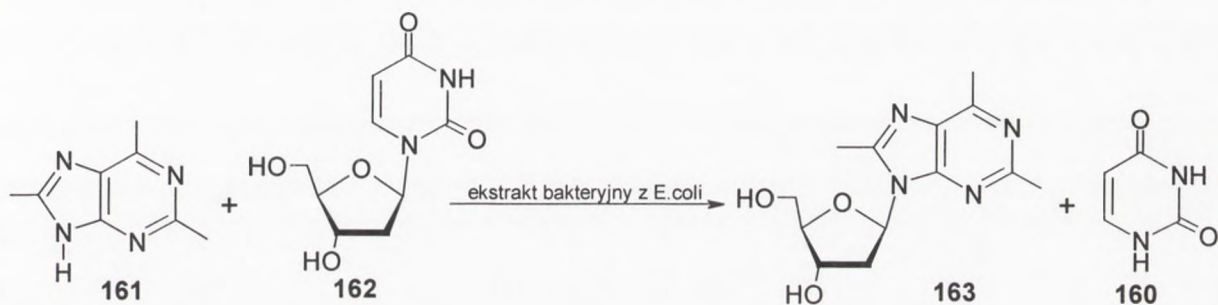


Schemat 42

*[The following text is extremely faint and illegible due to the quality of the scan. It appears to be a list of names and possibly a table of contents or index.]*

Stosowane w takich reakcjach enzymy typu PNP posiadają różną specyficzność w zależności od ich pochodzenia. Zaobserwowano, że enzym PNP pochodzący z *Enterobacter aerogenes*, który używany jest z powodzeniem do transarabinozylacji okazał się nieaktywny w przypadku, jeżeli komponent cukrowy posiadał grupę aminową w pozycji 2'. W reakcji transglikozylacji 2'-amino-2'-deoksyguanozyny z hipoksantyną aktywny okazał się ekstrakt bakteryjny z *Erwina herbicola*<sup>102</sup>.

Holy i Votruba<sup>103,104</sup> przeprowadzili szereg reakcji transglikozylacji enzymatycznych, katalizowanych enzymem z ekstraktu bakteryjnego uzyskanego z mutantów *Escherichia coli*. W wyniku reakcji 2'-deoksyurydyny (162) z zasadami purynowymi odpowiednio podstawionymi w pozycjach 2, 6 i 8 (161) badacze otrzymali nowe nukleozydy (163) oraz „wolny” uracyl.



Schemat 43

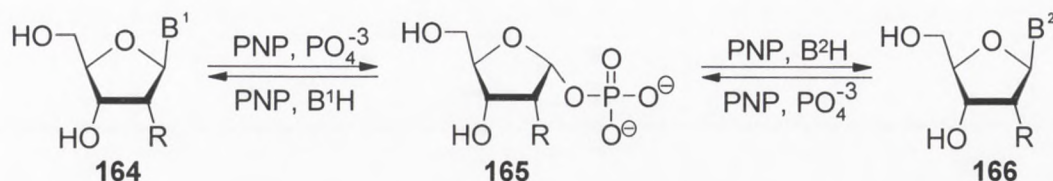
2'-Deoksyurydyna jak i jej analogi okazały się dobrymi donorami reszt cukrowych. Stwierdzono, że są one bardzo dobrymi substratami w tego typu reakcjach enzymatycznych. Uzyskiwane wydajności w wyniku transglikozylacji z większością zasad purynowych były dość wysokie (50-70%). Także metoda z wykorzystaniem 2'-deoksyurydyny charakteryzowała się dużą regio- i stereoselektywnością, w wyniku której otrzymywano wyłącznie N9-β-nukleozydy. Tylko dla nielicznych związków typu eteno lub dezaanalogów puryn wydajności enzymatycznej transglikozylacji były niższe lub też reakcja nie zachodziła, a czasem powstawał 7-izomer.

Holy i Votruba przeprowadzili także enzymatyczne reakcje transglikozylacji otrzymując jako produkty 2'-deoksynukleozydy pirymidynowe. Również w tym przypadku jako substrat badacze użyli deoksyurydyny. W wyniku reakcji otrzymywali wyłącznie β-anomery z wydajnością około 60%. Jeżeli jednak zasada pirymidynowa posiadała objętościowy podstawnik lub grupę elektronoszącą w pozycji 5 wówczas reakcja nie zachodzi. Zauważyli oni, że poza 2'-deoksyurydynam także 2',3'-dideoksyurydyna jest dobrym substratem. Natomiast w przypadku arabinonukleozydów, azydotymidyny (AZT) i związków, które



w pozycji 2' posiadały podstawniki takie jak -OMe, -NH<sub>2</sub> i -Cl nie obserwowano transglikozylacji katalizowanej ekstraktem z *Escherichia coli*. Także wprowadzenie w pozycje 2 i 3 rybozy innego podstawnika ma duży wpływ na wydajność reakcji.

Mikhailopulo<sup>105</sup> i Morisawa<sup>101</sup> zaproponowali dwuetapowy mechanizm transglikozylacji enzymatycznej zachodzący wobec fosforylasy nukleozydów purynowych (schemat 44).



R = H, OH  
B = zasada heterocykliczna

Schemat 44

Pierwszym etapem proponowanego mechanizmu jest degradacja wyjściowego nukleozydu (**164**) do wolnej zasady (B<sup>1</sup>H) i 1- $\alpha$ -fosforanu cukru (**165**). Niezbędnym elementem w tym procesie jest obecność fosforanów, reakcje tego typu najczęściej przeprowadza się w buforach fosforanowych. W drugim etapie związek **165** reaguje z nową zasadą heterocykliczną (B<sup>2</sup>H), w wyniku czego powstaje nukleozyd **166**. Transglikozylacja tego typu ma charakter całkowicie odwracalny, co powoduje, że wydajność reakcji tworzenia pożądanego nukleozydu jest niezbyt wysoka i zależna od stanu równowagi między związkami **164** i **166**. Powstający w wyniku reakcji 1- $\alpha$ -fosforan cukru jest związkiem pośrednim, stanowiącym cenne źródło reszty cukrowej w innych reakcjach enzymatycznych.

Tak jak w każdej innej metodzie i w tym przypadku występują pewne ograniczenia. Dużą trudność sprawia uzyskanie odpowiednio czystych i aktywnych preparatów enzymatycznych, które nie są dostępne komercyjnie. Sprawia to, że ich otrzymanie jest pracochłonne i dość drogie.

Holy i Votruba<sup>103</sup> zaobserwowali, że reakcje transglikozylacji z udziałem enzymów zachodzą łatwiej w przypadku puryn niż pirymidyn.

Reakcje prowadzone metodą enzymatyczną cechują się jednak bardzo wysoką stereo- i regioselektywnością. Niestety jej ograniczeniem jest wysoka specyficzność substratowa enzymów w stosunku do pewnych tylko nukleozydów, co utrudnia wykorzystanie jej do syntezy analogów nukleozydowych.



### 1.3. Stereoselektywność w syntezie nukleozydów

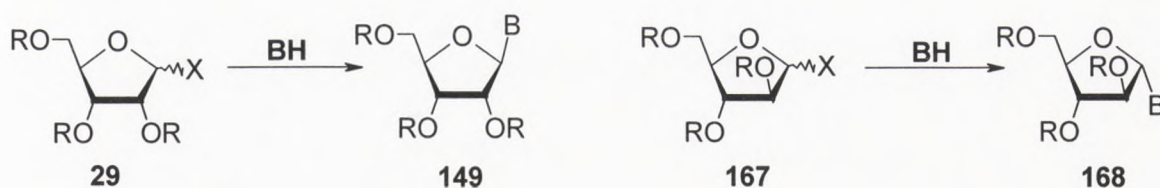
#### 1.3.1. Glikozylacja w serii rybofuranozy

Ważnym aspektem podczas przeprowadzania reakcji glikozylacji jest otrzymanie zaplanowanego nukleozydu z wysoką wydajnością oraz regio- i stereoselektywnością. Niestety często zdarza się, że w wyniku reakcji chemicznej otrzymywane są mieszaniny nie tylko różnych regioizomerów, ale również  $\alpha$ - i  $\beta$ -anomerów produktów.

Badacze przez długi czas zastanawiali się nad przyczyną oraz mechanizmem powstawania nienaturalnych  $\alpha$ -nukleozydów.

W 1949 roku Bristow i Lythgoe<sup>107</sup> przedstawili pierwsze próby wytłumaczenia powstawania głównie  $\beta$ -anomerów w serii rybonukleozydów. Według nich 1-halogenowe pochodne cukrów stosowane do reakcji posiadają konfigurację  $\alpha$  na atomie anomerycznym, a cały proces kondensacji zasady heterocyklicznej z komponentem cukrowym zachodzi według mechanizmu  $S_N2$ . W wyniku tego następuje inwersja konfiguracji prowadząc do powstania  $\beta$ -nukleozydów. Jednak jak się okazało, założenie to było błędne, ponieważ stosowane w reakcji glikozylacji 1-halogenozy są najczęściej mieszaniną  $\alpha$ - i  $\beta$ -anomerów.

Dopiero Baker<sup>108</sup> po przeprowadzeniu szeregu reakcji zaobserwował, że główną rolę w końcowej dystrybucji anomerów ma konfiguracja na atomie C2 komponentu cukrowego. Zauważył, że zasada heterocykliczna przyłącza się po przeciwnej stronie pierścienia cukrowego w stosunku do podstawnika acyloksylogowego znajdującego się w pozycji C2. Jest to więc synteza stereokontrolowana. Struktura substratu determinuje stereoselektywny przebieg reakcji. Reguła 1,2-*trans*-podstawienia w przypadku 2-O-acylowych cukrów nosi nazwę zasady Bakera.



R = CH<sub>3</sub>CO, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO

X = chalogen

B = zasada heterocykliczna

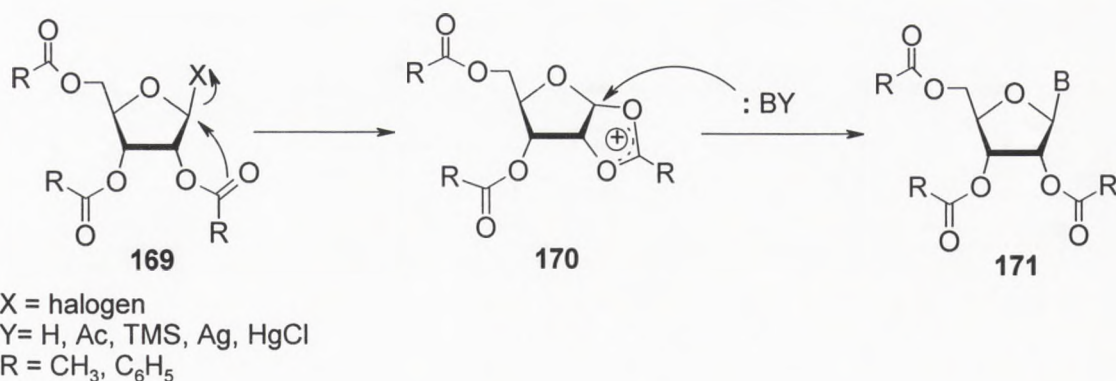
Schemat 45





Tak więc jeżeli do kondensacji użyty jest komponent cukrowy z podstawnikiem na atomie węgla C2 skierowanym „w dół” (29), wówczas otrzymywany jest  $\beta$ -nukleozyd (149). Jeżeli natomiast do reakcji zastosujemy cukier z podstawnikiem na atomie C2 skierowanym „w górę” (167) to jako główny produkt otrzymamy  $\alpha$ -anomer (168).

Jak już wcześniej wspomniano, powstający kation cukrowy ma zasadniczy wpływ na stereochemię reakcji. Według interpretacji Watanabe, Hollenberga i Foxa<sup>17</sup> z 1974 roku, w wyniku oddysocjowania anionu halogenkowego od 1-halogenorybozy zostaje utworzony kation cukrowy, co przedstawiono w rozdziale 1.2.2. (schemat 16). W przypadku  $\beta$ -anomeru cukru (169) pod wpływem wewnątrzcząsteczkowego oddziaływania grupy acylowej powstaje cykliczny 1,2-acyloksoniowy kation cukrowy (170). Ze względów sterycznych kation ten może być zaatakowany przez atom azotu zasady heterocyklicznej tylko „z góry”, co prowadzi do otrzymania  $\beta$ -anomeru nukleozydu. Natomiast w przypadku  $\alpha$ -anomeru halogenozy w wyniku dysocjacji halogenu od halogenozy powstaje płaski kation cukrowy (49). Ze względów stereoelektronowych nie jest możliwe powstanie acyloksoniowego kationu cukrowego. Kation karboksoniowy powstaje w wyniku ataku wolnej pary elektronowej, pochodzącej z atomu tlenu z pierścienia rybozy. Ten płaski kation może być atakowany z równym prawdopodobieństwem „z góry” jak i „z dołu”. W wyniku tego powstaje mieszanina anomerów. Kation karboksoniowy może jednak ulec przegrupowaniu do 1,2-acyloksoniowego kationu cukrowego, który ma bardziej stabilną strukturę, dodatni ładunek jest rozmyty na większą liczbę atomów. Cykliczna forma kationu cukrowego znajduje się więc w przewadze co prowadzi do powstawania w większej ilości  $\beta$ -anomeru nukleozydu. Ilość formy 49 decyduje o powstaniu produktu przyłączenia zasady heterocyklicznej typu 1,2-*cis*-podstawionej. Istnienie kationu cukrowego jako jonu acyloksoniowego (170) dobrze tłumaczy regułę Bakera. Struktura przestrzenna uniemożliwia więc atak zasady heterocyklicznej z powstaniem  $\alpha$ -nukleozydu.

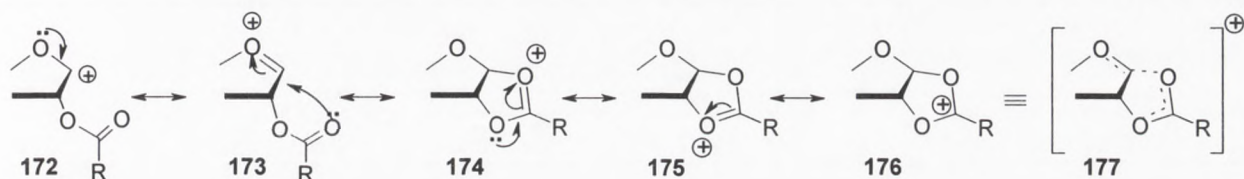


Schemat 46

[The text in this section is extremely faint and illegible. It appears to be a list or a series of entries, possibly a table of contents or a list of items, but the specific details cannot be discerned.]

Jednak cykliczny jon acyloksoniowy może powstać tylko jeżeli w pozycji C2 komponentu cukrowego znajduje się grupa acylowa.

Według Boryskiego<sup>112</sup> kation cukrowy w przypadku 2-acylocukrów powinien być rozpatrywany jako hybryda rezonansowa (177) kilku struktur granicznych (172-176), gdzie ładunek dodatni zlokalizowany jest na 5 atomach równocześnie. Tak więc kation karboksoniowy reprezentowany jest przez struktury 172-173, natomiast kation acyloksoniowy przedstawiają struktury 174-176.



R = CH<sub>3</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>

Schemat 47

W serii 2-acylocukrów stereochemia glikozylacji wymuszona jest więc przez przestrzenną strukturę kationu cukrowego. W przypadku rybozydów w wyniku 1,2-*trans*-podstawienia powstają β-anomery, natomiast dla arabinocukrów otrzymywane są α-anomery. Zasada heterocykliczna przyłącza się więc po przeciwnej stronie do znajdującej się w pozycji C2 grupy acylowej.

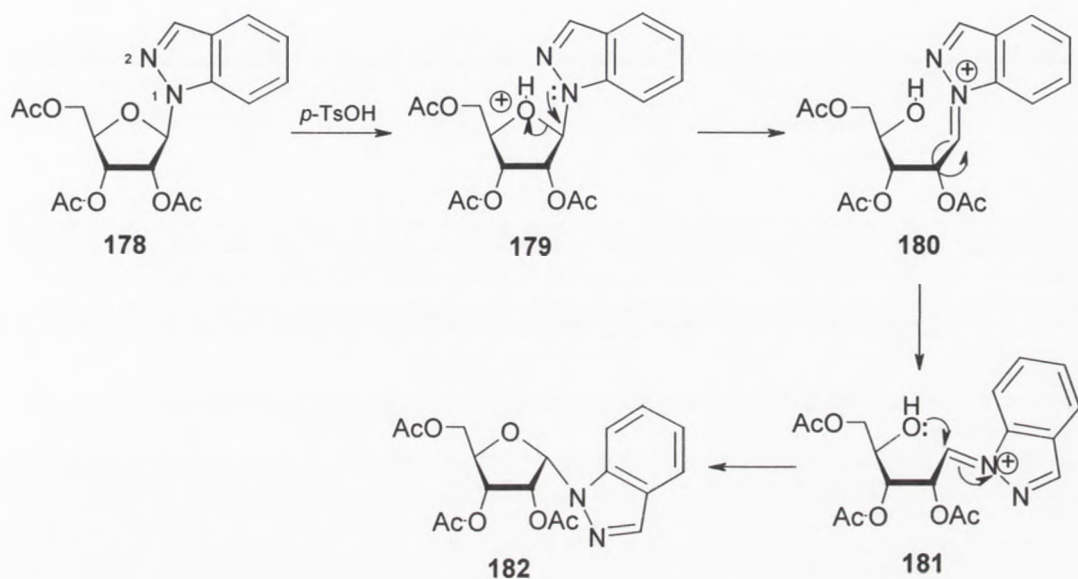
Zaobserwowano, że trwałość acyloksoniowego kationu cukrowego wzrasta, jeżeli w pozycji C2 znajduje się podstawnik zwiększający efekt indukcyjny według następującej kolejności: -COCH<sub>3</sub> < -COC<sub>6</sub>H<sub>5</sub> < -COC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CH<sub>3</sub><sup>109</sup>. Z badań przeprowadzonych przez Bakera, Kissmana i Pidacksa<sup>110</sup> wynika, że reakcja kondensacji tetrabenzoilowej pochodnej rybofuranozy z blokową adeniną zachodzi z większą wydajnością niż w przypadku użycia do reakcji tetraacetylorybofuranozy.

Także wielkość pierścienia cukrowego ma pewien wpływ na przebieg reakcji<sup>111</sup>. Zauważono, że w miarę zwiększania pierścienia proces tworzenia kationu cukrowego jest wolniejszy, co wpływa na szybkość i wydajność reakcji.

Czasem jednak obserwuje się powstawanie produktów ubocznych o strukturze 1,2-*cis* nukleozydów, nawet gdy komponent cukrowy posiada podstawnik acylowy w pozycji C2. Tego typu reakcje prowadzące do powstania α-anomerów w serii pochodnych rybofuranozydowych są rezultatem anomeryzacji, która uważana jest jako reakcja wtórna<sup>23,11</sup>. Mechanizm takiej reakcji został zaproponowany przez Boryskiego<sup>113</sup> na przykładzie anomeryzacji rybonukleozydów indazolowych (schemat 48). Anomeryzacja ta jest procesem, który zachodzi



już po przyłączeniu podstawnika cukrowego, a katalizowana jest przez kwasy stosowane jako katalizatory do wytwarzania kationu cukrowego. Proces ten zachodzi przez otwartopierścieniowe związki pośrednie. W wyniku protonowania tlenu znajdującego się w pierścieniu rybozy następuje rozerwanie wiązania C1'-O i otwarcie pierścienia z powstaniem zasady Shiffa (**180**). Następnie przez rotację wokół wiązania C1'-C2' oraz recyklizację pierścienia cukrowego powstaje produkt 1,2-*cis* podstawiony, czyli  $\alpha$ -anomer nukleozydu (**182**).



Schemat 48

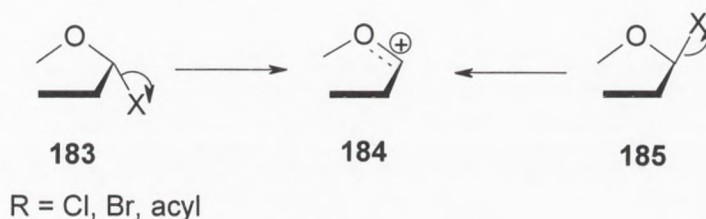
Zaobserwowano, że anomeryzacja związana jest z zasadowością aglikonu, w przypadku 1-ryboindazoli mamy do czynienia z zasadami o trzy rzędy słabszymi niż guanozyna. Tak więc im wyższa zasadowość nukleozydu tym mniejsze prawdopodobieństwo wystąpienia anomeryzacji. W przypadku 1-ryboindazolu, który jest słabszą zasadą, następuje protonacja na atomie tlenu, natomiast w przypadku guanozyny protonowany jest atom azotu N7, co nie prowadzi do anomeryzacji.



## 1.3.2. Glikozylacja w serii 2-deoksycukrów

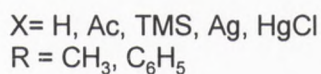
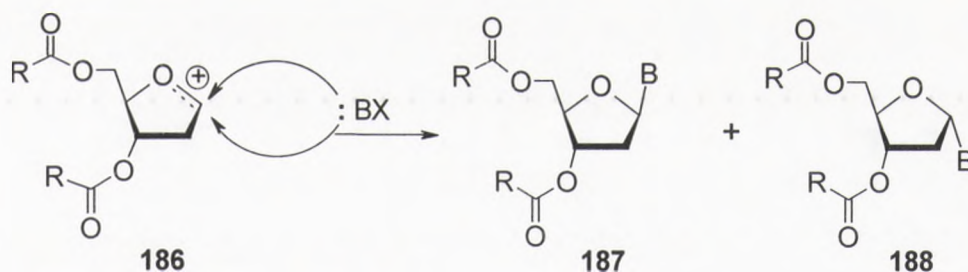
Jeżeli w pozycji C2 cukru nie ma podstawnika acylowego, to podczas syntezy nukleozydu z udziałem takiego komponentu cukrowego reakcja nie zachodzi stereoselektywnie, a w jej wyniku powstaje mieszanina anomerów.

W tym przypadku położenie podstawnika przy atomie węgla C1 nie ma większego znaczenia. W wyniku odejścia podstawnika z pozycji C1 otrzymywany jest płaski kation cukrowy (184).



Schemat 49

W przypadku 2-deoksyrybozylacji atak na kation cukrowy może następować z równym prawdopodobieństwem „z góry” jak i „z dołu” prowadząc do otrzymania mieszaniny anomerów (schemat 50).



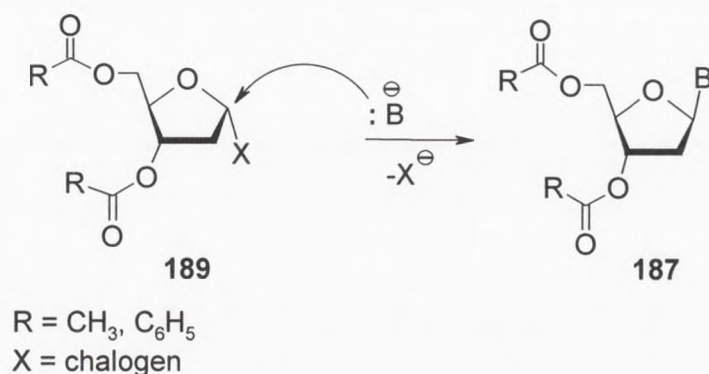
Schemat 50





## 1.3.3. Stereochemia glikozylacji anionowej

W tym przypadku mamy do czynienia z mechanizmem reakcji typu  $S_N2$ , prowadzącym do inwersji konfiguracji na centrum anomerycznym.



Schemat 51

Stereoselektywność reakcji determinowana jest konfiguracją na atomie C1 cukru. Z  $\alpha$ -halogenocukrów otrzymywane są tylko  $\beta$ -nukleozydy, natomiast wychodząc z  $\beta$ -halogenozy uzyskiwane są  $\alpha$ -anomery nukleozydu.

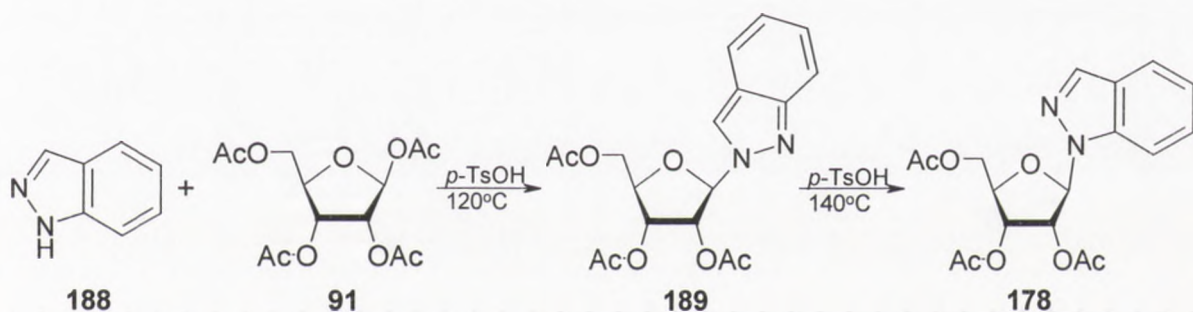
Regioselektywność w tego typu reakcjach jest jednak mniejsza niż w przypadku reakcji przebiegających przez kation cukrowy, ponieważ ładunek ujemny występujący w zasadzie heterocyklicznej (np. w pierścieniu imidazolowym zasady purynowych) może być zdelokalizowany, co może prowadzić do otrzymania różnych izomerów nukleozydów.



## 1.4. Tautomeria a regioselektywność glikozylacji

W przypadku rybozylacji zasad heterocyklicznych można zauważyć ścisłą zależność między tautomerem substratu a powstałym w wyniku reakcji trwałym termodynamicznie produktem.

Prostym przykładem tego typu zależności jest reakcja glikozylacji indazolu wobec protonującego katalizatora, przeprowadzona przez Boryskiego<sup>114</sup>. W wyniku reakcji termodynamicznie trwałego tautomeru N<sup>1</sup>H indazolu (**188**) z tetraacetylorybofuranozą (**91**) powstaje N2 podstawiony, kinetyczny produkt reakcji. Substrat nie posiada podstawnika na atomie azotu N2, dzięki czemu może on zaatakować kation cukrowy. Podczas prowadzenia reakcji w kinetycznych warunkach powstaje z dużą wydajnością 2-ryboindazol (**189**). Związek ten posiada jednak niekorzystną strukturę elektronową w porównaniu do niepodstawionego rybozyl indazolu. Pierścień benzenowy nie posiada pełnej aromatyczności, ten niekorzystny układ jest siłą napędową nieodwracalnej transglikozylacji 1→2.

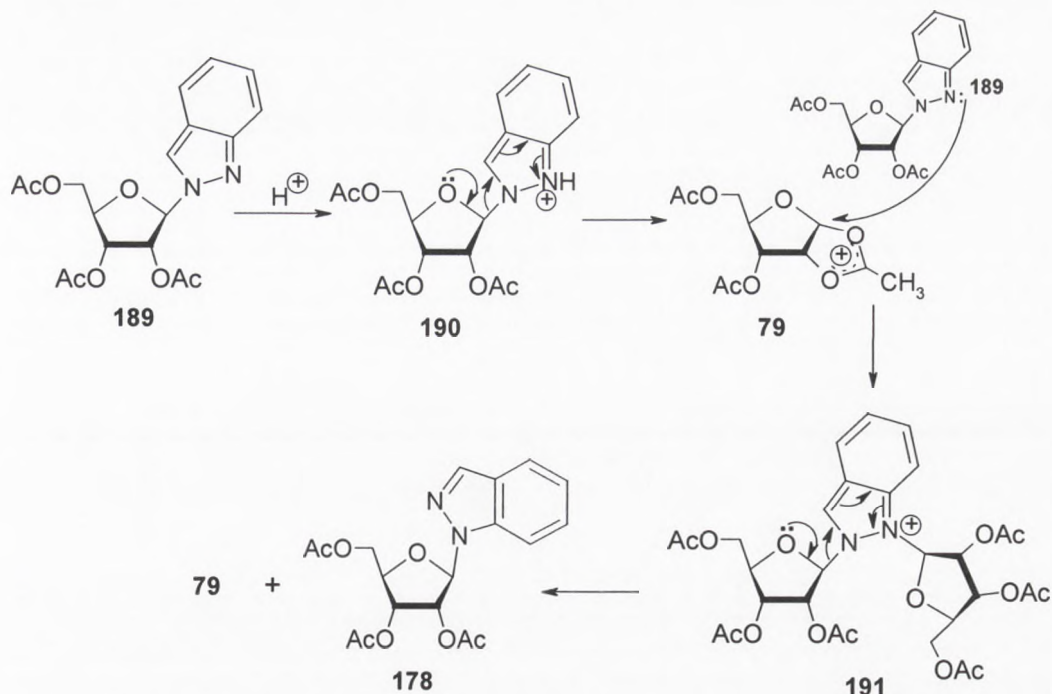


Schemat 52

Jeżeli reakcja prowadzona jest przez dłuższy czas oraz w wyższej temperaturze, to obserwuje się zanikanie kinetycznego produktu reakcji (**189**), natomiast otrzymywany jest tylko produkt termodynamiczny, 1-rybozylindazol (**178**). Produkt ten posiada taki sam układ elektronowy z jakim mamy do czynienia w przypadku substratu. Widma UV wykonane dla obu związków (**188**, **178**) wyglądają identycznie. W wyniku ogrzewania 2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozylindazolu wobec kwasu *p*-toluenosulfonowego otrzymano poza β-anomerem nukleozydu także α-podstawiony produkt (13%).

Szczegółowy mechanizm nieodwracalnego procesu transglikozylacji 1→2 w serii indazolowej został zaproponowany przez Boryskiego<sup>114</sup> (schemat 53).





Schemat 53

W wyniku protonowania atomu N1 następuje rozerwanie wiązania N-glikozydowego z utworzeniem kationu cukrowego oraz „wolnego” indazolu. Następnie proces biegnie przez stadium 1,2-dipodstawionego produktu przejściowego (**191**), który powstaje w wyniku nukleofilowego ataku atomu azotu N1 na atom C1 kationu cukrowego (**79**). Ten nietrwały produkt ulega degradacji, w wyniku czego powstaje N1-nukleozyd indazolowy oraz odtworzony zostaje kation cukrowy. Ważnym aspektem w tym przypadku jest zachowanie reguły *trans* podstawienia, prowadzącego do powstania głównie β-anomeru.

Glikozylację indazolu można więc porównać do glikozylacji adeniny. W obu przypadkach powstają kinetyczne produkty reakcji, w przypadku indazolu N2-podstawione pochodne natomiast dla adeniny 3- lub 7-pochodne. Związki te są nietrwałe i szybko przechodzą w termodynamiczne produkty, 1-glikozyloindazol i 9-glikozyloadeninę. Struktura końcowych, trwałych produktów reakcji, odpowiada najbardziej trwałym termodynamicznie tautomerom wyjściowych zasad heterocyklicznych.

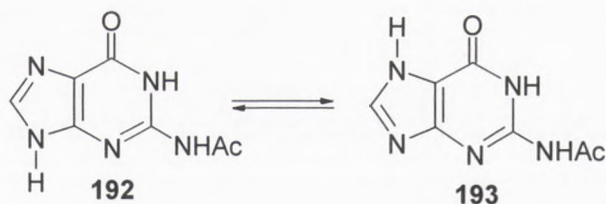
Natomiast glikozylacja N<sup>2</sup>-acetyloguaniny, jak już wcześniej wspomniano, prowadzi do otrzymania mieszaniny 7- i 9-regioizomerów. Powodem tego jest fakt, że związek ten występuje jako mieszanina dwóch stosunkowo trwałych tautomerów (schemat 54)<sup>115</sup>, co wykazano na podstawie widm <sup>1</sup>H NMR.

The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It is essential to ensure that every entry is properly documented and verified. This process helps in identifying any discrepancies or errors early on, preventing them from escalating into larger issues. Regular audits and reconciliations are key to maintaining the integrity of the financial data.

Furthermore, it is crucial to establish a clear system of internal controls. This involves defining roles and responsibilities, implementing segregation of duties, and ensuring that all personnel are adequately trained. A robust internal control system not only reduces the risk of fraud but also enhances the overall efficiency and reliability of the organization's operations.

In addition, transparency and communication are vital for success. Stakeholders should be kept informed about the company's financial performance and any potential risks. Regular reporting and open dialogue with investors, creditors, and other interested parties can build trust and confidence in the organization's management.

Finally, it is important to stay up-to-date with the latest regulations and industry trends. The financial landscape is constantly evolving, and organizations must adapt accordingly. This may involve investing in new technologies, hiring experts, or seeking professional advice. By staying proactive and informed, organizations can better navigate the challenges of the market and achieve long-term success.



Schemat 54

Każdy z tautomerów reaguje indywidualnie z kationem cukrowym. Tak więc glikozylacja tautomeru 7-H (**192**) prowadzi bezpośrednio do otrzymania 9-izomeru nukleozydu, natomiast z 9-H tautomeru (**193**) otrzymywana jest 7-podstawiona pochodna. Prowadzi to do powstania mieszaniny regioizomerów, których ostateczny stosunek ilościowy jest wynikiem ustalenia się stanu równowagi w reakcji  $7 \rightleftharpoons 9$  transglikozylacji. Ilości poszczególnych izomerów guanozyny odpowiadają stosunkowi tautomerów w substracie<sup>117</sup>.

Jeżeli trwały tautomer użyty do reakcji posiada proton przyłączony do atomu tlenu lub azotu, to miejsce takie należy traktować jako centrum zablokowane. Tak więc atak nukleofilowy na kation cukrowy musi być wyprowadzony z innego centrum nukleofilowego. W przypadku indazolu jest to atom N2, w serii puryn atomy N1, N3 lub N7, natomiast w przypadku pirymidyn jest to tlen O2. Produkty kinetyczne posiadają glikozyl w innej pozycji niż atom wodoru w trwałym tautomerze, a co za tym idzie układ taki jest mniej stabilny i jest to siłą napędową do izomeryzacji. Wynikiem tego procesu jest wytworzenie termodynamicznego produktu reakcji, w którym podstawnik cukrowy znajduje się w tej samej pozycji co proton w substracie.





## 2. Cel pracy

Jak już wcześniej wspomniano mechanizm glikozylacji zasad heterocyklicznych składający się z dwóch etapów zaproponowany został przez Watanabe, Hollenberga i Foxa<sup>17</sup> w latach siedemdziesiątych. Autorzy założyli, że w przypadku zasad purynowych proces ten biegnie przez kinetyczny produkt, N3-podstawiony nukleozyd, który następnie ulega przegrupowaniu do trwałego termodynamicznie N9-nukleozydu. Mechanizm ten, który opracowano na podstawie rybozylacji adeniny, został powszechnie zaakceptowany, a następnie rozszerzony na inne zasady purynowe np. guaninę. Ważnym aspektem tych założeń było to, że cały ten proces biegnie z udziałem kationu cukrowego i przechodzi przez nietrwałe stadium 3,9-dipodstawionych pochodnych.

Jednak z wykonanych w naszej Pracowni badań wynika, że mechanizm glikozylacji zasad 6-oksopurynowych różni się od mechanizmu glikozylacji adeniny. W przypadku takich zasad jak guanina czy hipoksantyna tylko atomy pierścienia imidazolowego N7 i N9 (a nie atom N3) są akceptorami lub donorami kationu cukrowego.

Całkowicie blokowane nukleozydy 6-oksopurynowe takie jak guanozyna czy inozyna, ulegają w pełni odwracalnej transglikozylacji 7 $\rightleftharpoons$ 9 wobec katalizatora lub wysokiej temperatury (bez stosowania katalizatora). Kluczowym aspektem w procesie transglikozylacji jest migracja podstawnika cukrowego w obrębie danej cząsteczki. Jednak proces ten jest procesem intermolekularnym oraz łańcuchowym, do którego niezbędna jest obecność kationu cukrowego. Jon tego typu może powstać w wyniku dysocjacji wiązania N-glikozydowego w nukleozydzie pod wpływem oddziaływania z katalizatorem kwasowym lub wysokiej temperatury.

Postanowiliśmy więc dokładniej sprawdzić, jak wygląda proces glikozylacji w serii adeniny, wiedząc już, że w przypadku pochodnych 6-oksopurynowych mechanizm okazał się inny niż uważano wcześniej. W doniesieniach literaturowych dotyczących glikozylacji adeniny można znaleźć informacje, że produktem kinetycznym jest 3- lub 7-regioizomer nukleozydu. Postanowiliśmy więc bliżej przyjrzeć się temu zagadnieniu.

Niniejsza praca jest kontynuacją badań procesów migracji podstawników cukrowych prowadzonych w Pracowni Chemii Nukleozydów Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu. Dotyczy zagadnień związanych z mechanizmem glikozylacji i transglikozylacji



nukleozydów purynowych ze szczególnym uwzględnieniem pochodnych adeninowych.

Głównym celem pracy miało być zweryfikowanie mechanizmu glikozylacji i transglikozylacji pochodnych adeniny. Dla realizacji tego celu należało rozwiązać zasadnicze zadania badawcze:

1. Otrzymanie substratów i związków modelowych do dalszych badań.
2. Przeprowadzenie reakcji transglikozylacji związków modelowych.
3. Wyizolowanie związków pośrednich powstających w wyniku procesu izomeryzacji.
4. Badanie procesów ubocznych zachodzących podczas transglikozylacji.
5. Określenie struktury otrzymanych produktów metodami spektroskopowymi i rentgenograficznymi.
6. Badanie wpływu zastosowanych warunków reakcji (środowisko, grupy blokujące) na powstawanie kinetycznych i termodynamicznych produktów reakcji.
7. Zaproponowanie mechanizmu glikozylacji adeniny i jej pochodnych w zależności od warunków reakcyjnych.

...the ... of ...

...the ... of ...

...the ... of ...

...the ... of ...

...the ... of ...

...the ... of ...

...the ... of ...

...the ... of ...

...the ... of ...

## 3. Badania własne

### 3.1. Wstęp

W niniejszej pracy postanowiono zbadać mechanizm glikozylacji adeniny oraz scharakteryzować powstające w wyniku reakcji produkty.

Mechanizm glikozylacji adeniny nie był do tej pory dobrze poznany. Powszechnie przyjęty model tego procesu zaproponowany przez Watanabe, Hollenberga i Foxa<sup>17</sup> na podstawie eksperymentalnych prac grupy Leonadra i Laursena<sup>117</sup> oraz Shimizu i Myaki<sup>14,16,18</sup> zakłada nieodwracalną transglikozylację 3→9. Według autorów tego mechanizmu proces przebiega przez stadium 3,9-dipodstawionych związków pośrednich, co jednak w świetle badań przeprowadzonych w naszej Pracowni nad mechanizmem transglikozylacji nukleozydów 6-oksopurynowych wydaje się mało prawdopodobne. Mechanizm glikozylacji/transglikozylacji w przypadku 6-oksopuryn wyjaśniony został przez Boryskiego<sup>90</sup> i zakłada, że tylko wolne pary elektronowe atomów azotu N7 lub N9 zasady purynowej biorą udział w ataku nukleofilowym. Wynikiem tego jest powstanie mieszaniny 7- i 9-regioizomerów nukleozydu, a odwracalny proces transglikozylacji 7⇌9 zachodzi przez 7,9-dipodstawioną purynę.

Na tej podstawie postanowiono dokładniej przyjrzeć się procesowi syntezy adenozyiny, gdzie zakładanym produktem kinetycznym glikozylacji jest N3-glikozyloadenina.

Wartym przypomnienia jest też fakt, że niezbędnym elementem do inicjacji reakcji glikozylacji jest wysoka temperatura lub katalizator typu kwasu Lewisa (HgBr<sub>2</sub>, ZnCl<sub>2</sub>), lub kwas protonujący (HBr, *p*-TsOH). Rolą tych czynników jest wytworzenie kationu cukrowego, który następnie może ulec nukleofilowemu atakowi.

W literaturze znaleźć można szereg doniesień o otrzymaniu kinetycznych produktów w glikozylacji adeniny. Jednym z pierwszych jest praca grupy Leonarda i Laursena<sup>84</sup> gdzie ubocznym produktem w syntezie adenozyiny był N3-podstawiony nukleozyd. Natomiast grupa Ishido<sup>116</sup> donosiła o otrzymaniu 7-podstawionych pochodnych adenozyiny w wyniku rybozylacji blokowanych pochodnych adeniny z komponentem cukrowym.

Łącząc powyższe fakty postanowiono zweryfikować doniesienia literaturowe oraz znaleźć odpowiednią korelację między procesem glikozylacji a warunkami reakcji.

The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It emphasizes that every entry should be supported by a valid receipt or invoice. This ensures transparency and allows for easy verification of the data.

Secondly, the document highlights the need for regular audits. By conducting periodic reviews, any discrepancies or errors can be identified and corrected promptly. This proactive approach helps in maintaining the integrity of the financial data.

Furthermore, it is advised to use standardized accounting practices. This includes following established guidelines for recording income, expenses, and assets. Consistency in reporting is crucial for meaningful analysis and comparison over time.

The document also touches upon the importance of data security. All financial records should be stored in a secure and protected environment to prevent unauthorized access or loss. Regular backups are recommended to ensure that the data is recoverable in case of an emergency.

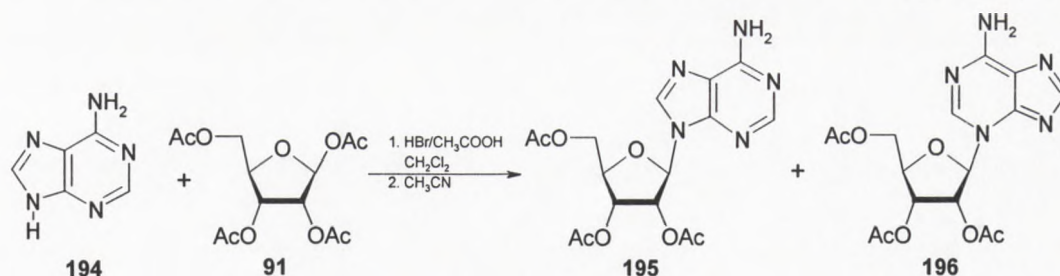
In conclusion, the document provides a comprehensive overview of the best practices for financial record-keeping. By adhering to these guidelines, individuals and businesses can ensure that their financial data is accurate, secure, and easy to manage.

## 3.2. Próby wyodrębnienia kinetycznych produktów glikozylacji adeniny

### 3.2.1. Rybozylacja w warunkach silnie kwasowych

W celu otrzymania kinetycznego produktu rybozylacji adeniny sięgnięto do jednej z najstarszych metod syntezy adenozyiny, zaproponowanej przez Leonarda i Laursena<sup>84</sup>, gdzie produktem ubocznym reakcji była 3-(2',3',5'-triacetyloribofuranozylo)adenina (izoadenozyina).

Synteza nukleozydu według tej metody jest procesem dwuetapowym. W pierwszym etapie 1,2,3,5-tetra-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranosa (**91**) poddawana jest reakcji bromowania w roztworze chlorku metylenu i 30% kwasu bromowego w kwasie octowym. W wyniku tego otrzymywana jest 1-bromopochodna wyjściowego cukru, a proces ten zachodzi ilościowo. Następnie po zagęszczeniu, produkt ten poddaje się reakcji kondensacji z nieblokowaną adeniną (**194**) w suchym acetonitrylu, co w efekcie prowadzi do otrzymywania mieszaniny 9- i 3-(tri-O-acetyloribofuranozylo)adeniny (**195**, **196**) (schemat 55) oraz nieprzereagowanych substratów. Szacunkowa wydajność 9- i 3-regioizomerów według TLC wyniosła odpowiednio ok. 50% i 10% po 19 godzinach. W celu usunięcia z mieszaniny nieprzereagowanej adeniny odparowano rozpuszczalnik, a pozostałą suchą masę rozpuszczono w chloroformie i ekstrahowano zimnym 5% roztworem kwaśnego węgla sodu. Adenina przechodzi do warstwy wodnej. W celu wyodrębnienia produktów reakcji (3- i 9-regioizomerów adenozyiny) stosowano dwa podejścia: wytrącanie lub rozdział chromatograficzny.



Schemat 55

Wytrącanie izoadenozyiny (**196**) prowadzono bezpośrednio z roztworu po ekstrakcji z kwaśnym węglanem sodu. Warstwę chloroformową pozostawiano na kilka godzin w temperaturze 5°C, w wyniku czego 3-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adenina wypadała z roztworu w formie bezpostaciowego żelu, natomiast w roztworze pozostawał 9-izomer.





Niestety w wyniku wytrącania nie udało się otrzymać czystych regioizomerów. Dopiero po przeprowadzeniu krystalizacji z gorącego etanolu uzyskano chromatograficznie czysty 3-nukleozyd z wydajnością 6,9%, natomiast związku **195** nie udało się oczyścić przez krystalizację, ze względu na jego skłonność do tworzenia oleju.

Podobne rezultaty otrzymano w wyniku rozdzielania chromatograficznego mieszaniny reakcyjnej bezpośrednio po usunięciu nieprzereagowanej adeniny przez ekstrakcję roztworem kwaśnego węgla sodu. Po odparowaniu, warstwa organiczna (chloroformowa) rozdzielona była na kolumnie chromatograficznej, stosując jako eluent mieszaninę: chloroform-metanol. Rozdział prowadzono w gradiencie stężenia od 98:2 do 9:1. Po odparowaniu frakcji zawierających związek **196** uzyskano wydajność 7,83%, natomiast po krystalizacji z etanolu wydajność zmalała do 5,7%. W przypadku 9-izomeru uzyskana po rozdziale wydajność wyniosła 17,2%.

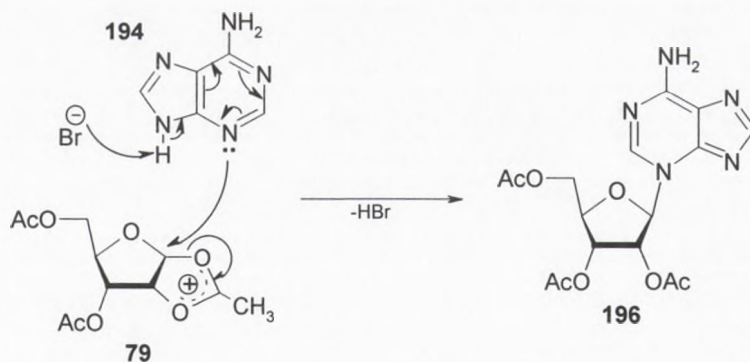
Wykonane widmo 3-izomeru w ultrafiolecie ( $\lambda_{\max}$  283.0 nm,  $\lambda_{\min}$  247.6 nm) zdecydowanie różniło się od widma 9-izomeru ( $\lambda_{\max}$  259.2 nm,  $\lambda_{\min}$  227.2 nm), co stanowiło dowód na inne podstawienie rybozą pierścienia purynowego. Także widma  $^1\text{H}$  NMR obu produktów wykonane w DMSO- $d_6$  mocno się różnią. W przypadku związku **195** obserwowano jeden ostry sygnał pochodzący od dwóch protonów grupy egzoaminowej (7.40 ppm), natomiast związek **196** posiadał dwa sygnały pochodzące od protonów  $\text{N}^6\text{H}$  (8.20 ppm i 8.35 ppm). Jednak obserwowanie dwóch sygnałów może być wynikiem szybkiej tautomerii  $\text{N}^6\text{H} \rightleftharpoons \text{N}^1\text{H}$ . Ciekawe informacje otrzymano także po porównaniu widm węglowych obu związków. W przypadku widma 3-izomeru triacetyloadenozyny obserwowano zmianę zakresu sygnałów pochodzących od atomów C-8 (153.11 ppm) oraz C-2 (143.83 ppm) w stosunku do 9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeniny: C-8 (140.04 ppm) i C-2 (152.8 ppm), co także potwierdzało inne podstawienie rybozą pierścienia adeninowego w obu przypadkach.

Przeprowadzona w analogicznych warunkach reakcja z zastosowaniem dłuższego czasu, prowadzi do zwiększenia wydajności 9-regioizomeru adenozyiny (**195**) w stosunku do 3-nukleozydu (**196**).

Także podczas ogrzewania 3-adenozyny (**196**) w warunkach transglikozylacji, wobec 10% molowych kwasu *p*-toluenosulfonowego we wrzącym chlorobenzenu przez 2 godziny otrzymano związek **195** z około 10% wydajnością (według TLC).

W wyniku przeprowadzonych eksperymentów potwierdzono fakt tworzenia się 3- i 9-rybonukleozydów w reakcji 1-bromo pochodnej cukrowej z nieblokowaną adeniną (**194**). Mechanizm tworzenia 3-adenozyny powinien więc być zgodny z mechanizmem zaproponowanym przez Watanabe, Hollenberga i Foxa<sup>17</sup> i wyglądać jak na schemacie 56.

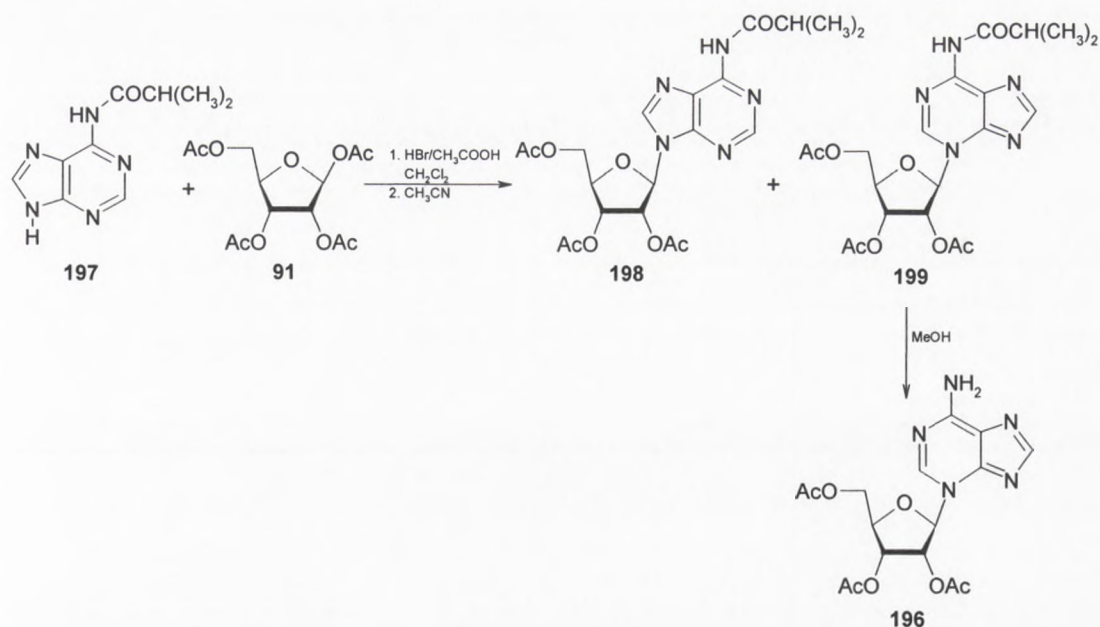




Schemat 56

Podobny rezultat uzyskano w wyniku reakcji N<sup>6</sup>-izobutyryloadeniny (197) z pochodną 1-bromotriacetyloribozy, gdzie w wyniku przeprowadzonej kondensacji w acetonitrylu (1 godzina, 45°C) otrzymano dwa główne produkty. Analiza TLC wykazała, że produkt o wyższym R<sub>f</sub> to N<sup>6</sup>-izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adenina (według chromatografii) (198), natomiast drugi związek poruszał się w kilku układach chromatograficznych (chloroform-metanol 9:1, chlorek metylenu-etanol 95:5) podobnie do N<sup>6</sup>-izobutyrylo-1-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeniny (232), której otrzymywanie opisano w rozdziale 3.3.3. Oba związki udało się wyizolować i poddać charakterystyce w ultrafiolecie. Analiza widm UV potwierdziła, że produkt o wyższym R<sub>f</sub> to 9-izomer (198) ( $\lambda_{\max}$  272.2 nm,  $\lambda_{\min}$  231.0 nm), natomiast drugi związek charakteryzował się widmem w ultrafiolecie o  $\lambda_{\max}$  295.2 nm,  $\lambda_{\min}$  253.2 nm, które różniło się od 1-regioizomeru (232) ( $\lambda_{\max}$  313.2 nm,  $\lambda_{\min}$  255.2 nm). Związek o niższym R<sub>f</sub> krystalizowano z metanolu, jednak jak się okazało, w wyniku krystalizacji uzyskano produkt posiadający widmo w ultrafiolecie o  $\lambda_{\max}$  283.2 nm oraz  $\lambda_{\min}$  247.6 nm, co wykazało, że otrzymano 3-(triacetyloribofuranozylo)adeninę ( $\lambda_{\max}$  283.4 nm,  $\lambda_{\min}$  247.8 nm). Tak więc próba krystalizacji doprowadziła do usunięcia grupy izobutyrylowej z pozycji N<sup>6</sup>, strukturę związku potwierdzono przy pomocy <sup>1</sup>H NMR. Widmo protonowego rezonansu jądrowego było identyczne z widmem 3-izomeru triacetyloadenozyny (196), posiadało charakterystyczne sygnały przy 8.20 ppm oraz 8.34 ppm pochodzące do protonów N<sup>6</sup>H. Schemat syntezy związku 198 i 199 oraz odblokowania 3-izomeru (196) przedstawiono na schemacie 57.



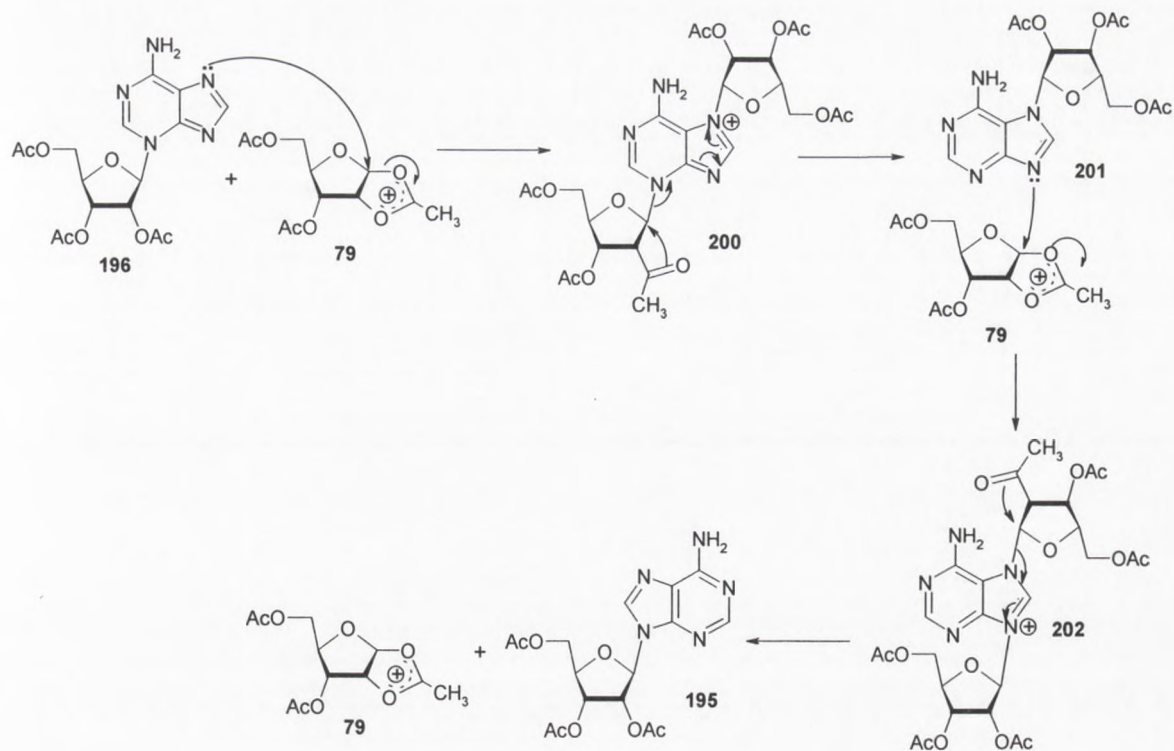


Schemat 57

Observacje dotyczące odblokowania grupy egzoaminowej potwierdzono też w eksperymencie, gdzie 3-izomer triacetyloadenozyny (196) poddano reakcji z bezwodnikiem izobutyrylowym w pirydynie otrzymując N<sup>6</sup>-izobutyrylo-3-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeninę (199), co potwierdzono wykonując widmo UV ( $\lambda_{\max}$  295.2 nm,  $\lambda_{\min}$  253.2 nm). Następnie związek poddano działaniu metanolu w temperaturze pokojowej przez noc otrzymując 3-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeninę (196), co potwierdzono w TLC i UV ( $\lambda_{\max}$  283.2 nm,  $\lambda_{\min}$  247.6 nm).

Na podstawie przeprowadzonych badań zaproponowano mechanizm procesu transglikozylacji 3-izomeru triacetyloadenozyny do 9-regioizomeru, który różni się od mechanizmu 3→9 izomeryzacji przedstawionego przez Watanabe, Hollenberga i Foxa<sup>17</sup> (schemat 5). Według autorów proces ten przebiega przez stadium 3,9-diglikozyloadeniny i wydaje się on niezbyt poprawny ze względów sterycznych. Obecność dwóch dużych podstawników cukrowych w tak bliskiej odległości wydają się być mało prawdopodobne. Tak więc mechanizm izomeryzacji 3→9 może wyglądać jak przedstawiono na schemacie 58.





Schemat 58

Proces ten według zaproponowanego mechanizmu przebiega według schematu 3→7→9 przez dwa związki pośrednie o strukturze dipodstawionej: 3,7-diglikozyloadeninę (**200**) oraz 7,9-diglikozyloadeninę (**202**). W wyniku nukleofilowego ataku atomu N7 na atom C1 kationu cukrowego 3-nukleozydu (**196**) powstaje 3,7-dipodstawiona pochodna (**200**), która ulega dekompozycji do 7-podstawionego produktu (**201**), jednak związek tego typu w tych warunkach może być nietrwały, przez co nie obserwowano go podczas reakcji. Powstanie związku 3,7-dipodstawionego jest bardziej prawdopodobne niż otrzymanie 3,9-dipodstawionego. Następnie nukleofilowy atak atomu N9 związku **201** na kation cukrowy (**79**), prowadzi do powstania 7,9-dipodstawionej pochodnej adenozyiny (**202**), której rozpad prowadzi do otrzymania trwałego termodynamicznie 9-izomeru (**195**).



10/10/10

Faint, illegible text covering the majority of the page, possibly bleed-through from the reverse side.

### 3.2.2. Rybozylacja metodą stapiania

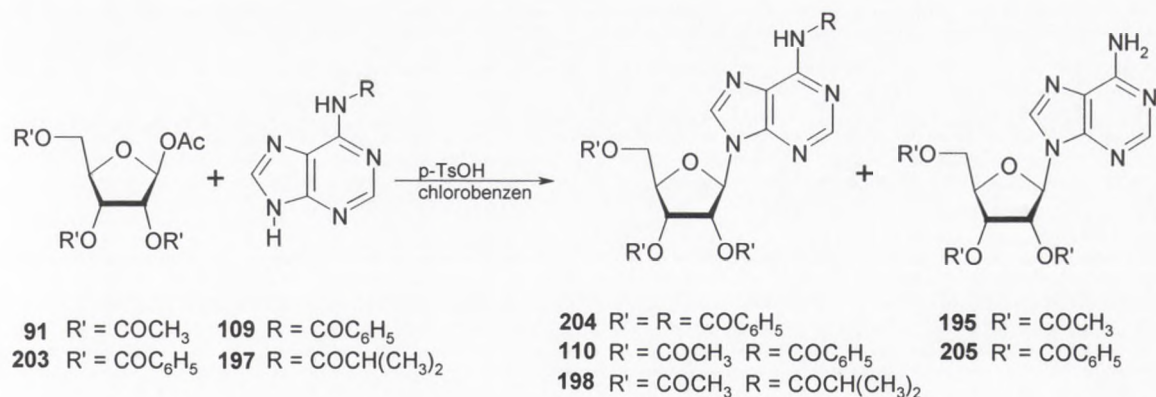
W dalszych badaniach podjęto także próby syntezy 7-regioizomeru adenozyiny. W celu otrzymania takiego izomeru przeprowadzono reakcję kondensacji N<sup>6</sup>-blokowanej adeniny wobec 2,4-dinitrofenolu (pełniącego rolę rozpuszczalnika oraz katalizatora kwasowego) z komponentem cukrowym.

Reakcje prowadzono w temperaturze 140-145°C (temperatura łaźni olejowej), podczas gdy temperatura topnienia 2,4-dinitrofenolu wynosi 108-112°C.

W wyniku kondensacji N<sup>6</sup>-benzoiloadeniny (**109**) z 1-O-acetylo-2,3,5-tri-O-benzoilorybofuranozą (**203**) otrzymano mieszaninę dwóch produktów (schemat 59). Reakcja kontrolowana była chromatograficznie i zakończono ją po 2 godzinach przez ochłodzenie, w wyniku czego otrzymano stałą, twardą masę. Analiza TLC pokazała, że związek o wyższym R<sub>f</sub> porusza się chromatograficznie jak N<sup>6</sup>,2',3',5'-tetrabenzoiloadenozyina. Substraty (**203**, **109**) nie przereagowały ze sobą całkowicie. Krótki czas reakcji miał na celu wychwycenie wszystkich powstających produktów. Uzyskaną twardą masę rozpuszczono w chloroformie, a następnie ekstrahowano wodnym roztworem NaHCO<sub>3</sub> w celu pozbycia się dinitrofenolu. Fazę organiczną suszono bezwodnym siarczanem sodu i odparowano, otrzymując gęsty olej, który rozdzielono na kolumnie chromatograficznej, stosując jako eluent fazę toluen-etanol w gradiencie stężenia 95:5 do 6:1.

Analiza widm <sup>1</sup>H NMR oraz UV potwierdziły, że produkt w wyższym R<sub>f</sub> to 9-izomer N<sup>6</sup>,2',3',5'-tetrabenzoiloadenozyiny (**204**) (wydajność 26,8%), natomiast widmo drugiego związku poruszającego się chromatograficznie wolniej posiadało dwuprotonowy sygnał przy 7.48 ppm charakterystyczny dla protonów grupy egzoaminowej, który pojawił się w rejonie sygnałów pochodzących od grup benzoilowych. W widmie protonowego rezonansu jądrowego obserwowano także sygnały pochodzące tylko od trzech grup benzoilowych (15 protonów). Struktura związku scharakteryzowana została jako 2',3',5'-tri-O-benzoiloadenozyina (**205**), czyli związek bez grupy benzoilowej w pozycji N<sup>6</sup>; jego wydajność wyniosła 5,1%. Tak więc w tym przypadku nie zaobserwowano tworzenia się kinetycznych produktów reakcji, jednak nie wyklucza to ich powstawania. Nieodwracalna transglikozylacji 7→9 może być na tyle szybka w warunkach reakcji (temperatura 140°C), że produkty te mogą być niezauważalne.





Schemat 59

Podobne rezultaty uzyskano także w reakcji N<sup>6</sup>-izobutyryloadeniny (**197**) z 1,2,3,5-tetra-O-acetylo-β-D-rybofuranozą (**91**) wobec 2,4-dinitrofenolu w temperaturze 140°C, prowadzonej przez 2 godziny, otrzymując w jej wyniku dwa produkty. Związki te wyizolowano i scharakteryzowano jako: N<sup>6</sup>-izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeninę (**198**) powstającą z wydajnością 25% oraz 9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeninę (**195**) otrzymaną z wydajnością 9,9%. Analogiczna reakcja przeprowadzona w niższej temperaturze (123°C) doprowadziła do powstania tylko związku **198**.

Natomiast w reakcji 1,2,3,5-tetra-O-acetylo-β-D-rybofuranozy (**91**) z N<sup>6</sup>-benzoiloadeniną (**109**) wobec 2,4-dinitrofenolu otrzymany został tylko związek **110**. W tym przypadku nie zaobserwowano odblokowania pozycji N<sup>6</sup>, nawet po 2 godzinach prowadzenia reakcji. Produkt kondensacji nie był izolowany, reakcje kontrolowano tylko chromatograficznie (TLC).

W kolejnym eksperymencie przeprowadzono próbę reakcji nieblokowanej adeniny (**194**) z 1,2,3,5-tetra-O-acetyloribofuranozą (**91**) wobec 2,4-dinitrofenolu w 140°C. Jednak adenina w tych warunkach nie uległa rozpuszczeniu, otrzymano mętną zawiesinę. Nie obserwowano powstawania żadnych produktów rybozylacji.

W serii reakcji w 2,4-dinitrofenolu nie zaobserwowano powstawania kinetycznych 7-podstawionych produktów reakcji. Wysoka temperatura w jakiej prowadzono rybozylację mogła wpłynąć na szybkość reakcji transglikozylacji 7→9, co doprowadziło do powstania tylko 9-nukleozydu. Proces izomeryzacji zachodzi więc w tych warunkach z dużą szybkością, co uniemożliwiło uzyskanie kinetycznych produktów kondensacji.



Die Synthese von Nucleotiden ist ein wichtiger Schritt in der Zellbiochemie. Sie erfolgt in mehreren Schritten, wobei die Bildung des Nucleotids aus Nucleosid und Phosphat ein zentraler Schritt ist. Dieser Prozess wird durch Enzyme katalysiert und ist energetisch durch die Hydrolyse von Pyrophosphat ( $\text{PP}_i$ ) angetrieben.

Die Nucleotidsynthese ist ein hochreguliertes Prozess, der von verschiedenen Faktoren wie der Verfügbarkeit von Vorläufern und der Energie abhängt. Die Enzyme, die an diesem Prozess beteiligt sind, sind in der Regel in der Cytoplasma-Phase lokalisiert.

Die Nucleotidsynthese ist ein wichtiger Bestandteil der Zellbiochemie und spielt eine zentrale Rolle in der Energieübertragung und der Signalübertragung. Die Nucleotidsynthese ist ein hochreguliertes Prozess, der von verschiedenen Faktoren wie der Verfügbarkeit von Vorläufern und der Energie abhängt.

Die Nucleotidsynthese ist ein wichtiger Bestandteil der Zellbiochemie und spielt eine zentrale Rolle in der Energieübertragung und der Signalübertragung. Die Nucleotidsynthese ist ein hochreguliertes Prozess, der von verschiedenen Faktoren wie der Verfügbarkeit von Vorläufern und der Energie abhängt.

### 3.2.3. Rybozylacja wobec kwasu *p*-toluenosulfonowego

Kolejnym etapem badań było przeprowadzenie kondensacji adeniny lub jej pochodnej z komponentem cukrowym wobec kwasu protonującego (*p*-TsOH).

Reakcję rybozylacji nieblokowanej adeniny prowadzono we wrzącym chlorobenzenie wobec kwasu *p*-toluenosulfonowego jako katalizatora (schemat 60). W wyniku przeprowadzonej kondensacji adeniny (**194**) z 1,2,3,5-tetra-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozą (**91**) obserwowano (TLC) bardzo niskie przereagowanie substratów, które wynosiło około 2% po 24 godzinach. Reakcja przebiegła cały czas w fazie heterogennej, mimo stosowania wysokiej temperatury. Słaba rozpuszczalność adeniny zmusiła nas do zastosowania grup blokujących w pozycji N<sup>6</sup> zasady heterocyklicznej, zwiększających jej rozpuszczalność w rozpuszczalnikach organicznych.

W pierwszym wariantcie wybrano grupę benzoilową. W celu otrzymania N<sup>6</sup>-benzoilowej pochodnej adeniny stosowano dwie procedury benzoilowania adeniny: reakcję prowadzono w pirydynie wobec chlorku benzoilu lub w samym bezwodniku benzoesowym bez stosowania rozpuszczalnika. Druga procedura okazała się bardziej wydajna (wydajności rzędu 87%) i mniej pracochłonna.

W wyniku przeprowadzonej kondensacji N<sup>6</sup>-benzoiloadeniny (**109**) z 1,2,3,5-tetra-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozą (**91**) wobec *p*-TsOH we wrzącym chlorobenzenie otrzymano N<sup>6</sup>-benzoilo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeninę (**110**) z wydajnością 24,3%. Reakcja prowadzona była przez 22 godziny, a przereagowanie blokowanej adeniny wyniosło 50%. Jednak także i w tym przypadku nie obserwowano powstawania kinetycznego produktu reakcji. Produkt kondensacji krystalizowano z gorącego 40% roztworu etanolu. Kolejnym etapem było usunięcie grup blokujących (O-acetylowych i N<sup>6</sup>-benzoilu), co osiągnięto przez reakcję związku **110** z wodnym roztworem amoniaku w metanolu. W wyniku odblokowania otrzymano 9-adenozynę (**1**), co potwierdzono za pomocą widma UV ( $\lambda_{\max}$  260.0 nm,  $\lambda_{\min}$  228.0 nm) oraz temperatury topnienia.

THE HISTORY OF THE

The first part of the history is devoted to the

description of the country and its inhabitants.

The second part contains the account of the

discovery of the country by the Spaniards.

The third part relates the progress of the

conquest, and the establishment of the

Spanish government in the country.

The fourth part describes the state of the

country at the present time, and the

present situation of the inhabitants.

The fifth part contains the history of the

war between the Spaniards and the

Indians, and the final conquest of the

country by the Spaniards.

The sixth part relates the progress of the

conquest, and the establishment of the

Spanish government in the country.

The seventh part describes the state of the

country at the present time, and the

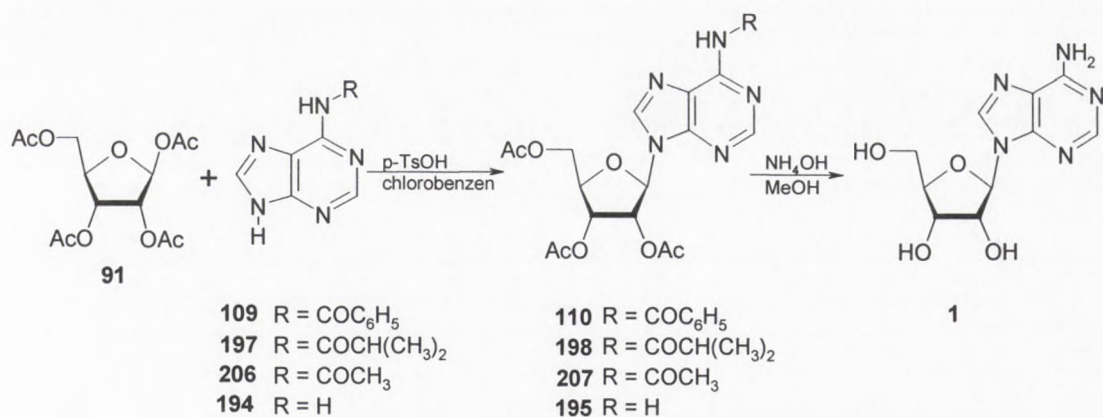
present situation of the inhabitants.

The eighth part contains the history of the

war between the Spaniards and the

Indians, and the final conquest of the

country by the Spaniards.



Schemat 60

Podobną reakcję wykonano stosując N<sup>6</sup>-izobutyrylową pochodną adeniny (**197**) otrzymując z 62% wydajnością N<sup>6</sup>-izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeninę (**198**), której strukturę potwierdzono za pomocą NMR. Reakcję kontrolowano chromatograficznie, obserwując powstawanie także niewielkich ilości produktu o niższym R<sub>f</sub> od związku **198**, którego jednak nie udało się wyizolować. Próba krystalizacji związku **198** nie powiodła się.

Przeprowadzono także reakcję kondensacji N<sup>6</sup>-acetyloadeniny (**206**) z tetraacetyloribofuranozą (**91**), którą prowadzono przez 52 godziny. Jednak słaba rozpuszczalność związku **206** spowodowała powstanie w niewielkiej ilości 9-pochodnej adenozyiny (**207**), co widoczne było podczas kontroli chromatograficznej reakcji. R<sub>f</sub> powstałego produktu był identyczny ze wzorcem tetraacetyloadenozyiny (**207**).

Tak więc w reakcji rybozylacji N<sup>6</sup>-acylowych pochodnych adeniny z użyciem kwasu *p*-toluenosulfonowego jako katalizatora nie udało się zaobserwować kinetycznych produktów.



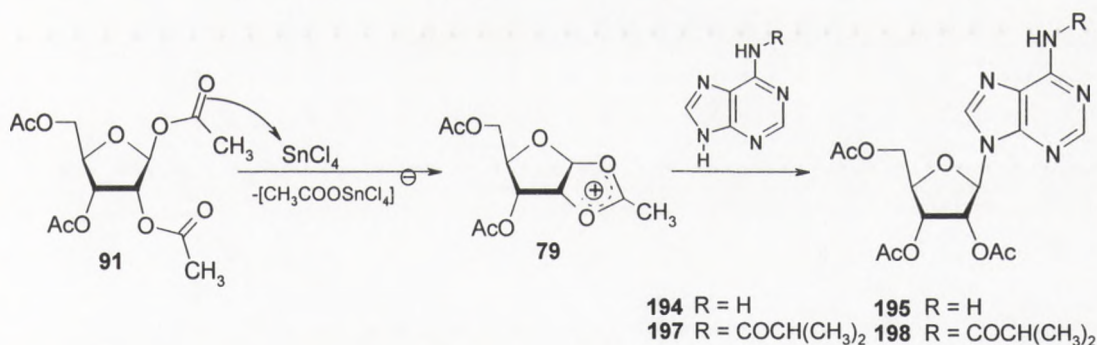


### 3.2.4. Rybozylacja wobec kwasu Lewisa

Kolejnymi zaplanowanymi eksperymentami były reakcje z zastosowaniem kwasów Lewisa:  $\text{SnCl}_4$  i  $\text{HgCl}_2$ .

W wyniku przeprowadzonej kondensacji  $\text{N}^6$ -benzoiloadeniny (**109**) z tetraacetylo-rybofuranozą (**91**) we wrzącym chlorobenzenu wobec  $\text{HgCl}_2$ , otrzymano zawiesinę, która do końca reakcji nie uległa rozpuszczeniu. Przyczyniło się to do uzyskania bardzo niskiego stopnia przereagowania, który po 20 godzinach wynosił ok. 1-2%. Analiza TLC pokazała, że w wyniku reakcji otrzymano tylko niewielką ilość związku o identycznym  $R_f$  jak  $\text{N}^6$ -benzoilo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-rybofuranozylo)adenina (**110**).

Następnie do reakcji użyto nieblokowanej adeniny (**194**) oraz komponentu cukrowego **91**. Kondensację prowadzono w suchym acetonitrylu i temperaturze pokojowej przez 96 godzin. Jako katalizatora użyto tetrachlorku cyny, po którego dodaniu substraty całkowicie się rozpuściły. Analiza TLC wykazała powstawanie tylko jednego produktu reakcji o takim samym  $R_f$  jak 9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-rybofuranozylo)adenina (**195**), którego wydajność po 25 godzinach wyniosła ok. 40% i nie uległa zmianie aż do końca reakcji. Mimo zastosowania łagodnych warunków reakcji nie zaobserwowano powstawania kinetycznych produktów reakcji. Schemat przeprowadzonej reakcji oraz mechanizm działania katalizatora ( $\text{SnCl}_4$ ), który inicjuje powstanie kationu cukrowego, przedstawiono na schemacie 61.



Schemat 61

Analogiczna reakcja kondensacji **91** z **194** przeprowadzona w temperaturze wrzenia acetonitrylu przez 3 godziny, wobec  $\text{SnCl}_4$  doprowadziła do otrzymania 9-adenozyny (**195**) z wydajności ok. 60% według TLC.



Natomiast w reakcji N<sup>6</sup>-izobutyryloadeniny (**197**) z komponentem cukrowym **91** we wrzącym acetonitrylu wobec SnCl<sub>4</sub> otrzymano N<sup>6</sup>-izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribo-furanozylo)adeninę z blisko 80% wydajnością.

Niestety poza termodynamicznym produktem reakcji, 9-podstawionym nukleozydem, nie obserwowano powstawania innych związków. Mechanizm tego typu rybozylacji powinien jednak najprawdopodobniej przebiegać według schematu 7→9 transglikozylacji, gdzie kinetycznym produktem powinien być 7-nukleozyd. Jednak powstawanie takiego produktu nie zostało potwierdzone eksperymentalnie.

Przeprowadzone eksperymenty potwierdziły wcześniejsze obserwacje Itoha i Mizuno<sup>72</sup>, którzy w wyniku reakcji nieblokowanej adeniny (**194**) ze związkiem **91** wobec SnCl<sub>4</sub> otrzymywali tylko 9-nukleozyd.

The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions and activities. It emphasizes the need for transparency and accountability in financial reporting. The second part details the various methods used to collect and analyze data, including surveys, interviews, and focus groups. The third part presents the findings of the study, highlighting key trends and insights. The final part concludes with recommendations for future research and practical applications of the findings.

The data collected from the study shows a clear trend towards digitalization and automation in the industry. This shift is driven by the need for efficiency and cost reduction. However, it also raises concerns about job displacement and the digital divide. The study identifies several key factors that influence the adoption of new technologies, such as organizational culture, leadership support, and employee training. These findings have important implications for managers and policymakers alike.

In conclusion, the study provides valuable insights into the current state of the industry and the challenges it faces. It highlights the need for a balanced approach to digitalization, one that considers both the benefits and the risks. The findings suggest that organizations should focus on building a strong digital foundation, investing in employee development, and fostering a culture of innovation. These steps are essential for long-term success in a rapidly changing market.

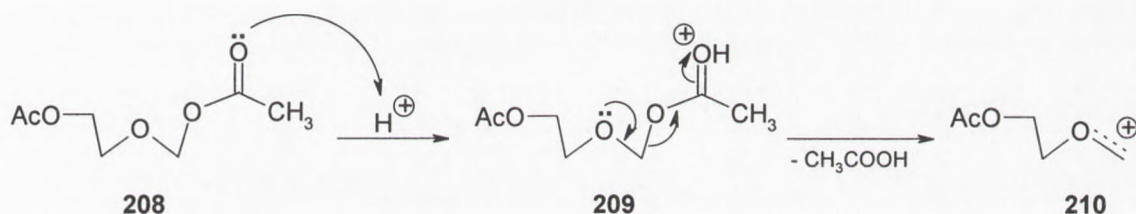
The author would like to thank the participants and the research team for their contributions to this study. The findings presented here are based on the data collected and analyzed during the project. Any errors or omissions are the responsibility of the author.

### 3.2.5. Glikozylacja adeniny eterem (2-acetoksyetylo)acetoksymetylowym

W dalszych badaniach procesu glikozylacji postanowiono zastosować inny komponent cukrowy, pseudocukier. Jako prosty model wybrano eter (2-acetoksyetylo)acetoksymetylowy (**208**), a reakcje prowadzono wobec kwasu protonującego (kwas *p*-toluenosulfonowy) w chlorobenzenie.

Tak jak w innych reakcjach glikozylacji tak i w tym przypadku kluczowym etapem całego procesu jest powstanie kationu pseudocukrowego (schemat 62), który jest niezbędny do zainicjowania kondensacji.

Oddziaływanie katalizatora z komponentem cukrowym (**209**), prowadzi do protonacji tlenu karboksylowego, a następnie w wyniku eliminacji cząsteczki kwasu octowego powstaje karboksoniowy kation pseudocukrowy (**210**), który może ulec nukleofilowemu atakowi atomu azotu zasady heterocyklicznej.



Schemat 62

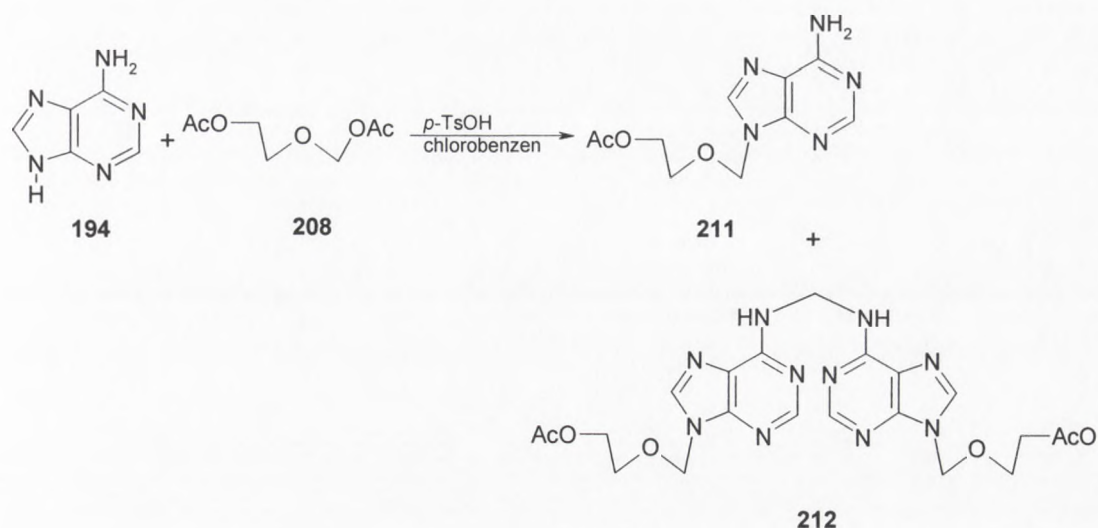
Reakcja glikozylacji adeniny (**194**) eterem **208** przebiegała w fazie heterogennej, co spowodowane jest słabą rozpuszczalnością substratu. Do reakcji użyto dwukrotnego nadmiaru komponentu **208** w stosunku do adeniny, otrzymując w jej wyniku mieszaninę dwóch związków (schemat 63), które obserwowano w TLC. Przereagowanie po 3 godzinach reakcji wyniosło zaledwie około 45%. Nieprzereagowaną adeninę odsączono na lejku piankowym. Przesącz odparowano otrzymując mętny, biały olej, który rozdzielono na kolumnie chromatograficznej, jako eluent stosując fazę chloroform-metanol w gradiencie stężenia od 9:1 do 6:1. Po wyizolowaniu obu związków wykonano widma  $^1H$  i  $^{13}C$  NMR. W wyniku ich analizy produkt o niższym  $R_f$  zidentyfikowano jako 9-[(2-acetoksyetylo)metylo]adeninę (**211**) powstającą z wydajnością 22,7%. Także widmo UV wykonane w metanolu potwierdziło strukturę związku ( $\lambda_{max}$  259.6 nm,  $\lambda_{min}$  226.2 nm), uzyskany kształt krzywej jest charakterystyczny dla N9-podstawionych pochodnych adeniny np.: 9-(2',3',5'-tri-O-acetylofuranozylo)adeniny ( $\lambda_{max}$

THE UNIVERSITY OF CHICAGO

The following is a list of the names of the members of the  
 Board of Trustees of the University of Chicago, as of  
 the date of the meeting of the Board on the 15th day  
 of June, 1900. The names are arranged in alphabetical  
 order of the surnames.

- 1. Mr. John D. Rockefeller
- 2. Mr. James H. Latta
- 3. Mr. John G. Thompson
- 4. Mr. Charles D. Walcott
- 5. Mr. John A. King
- 6. Mr. John C. Bennett
- 7. Mr. John W. Alden
- 8. Mr. John H. Wood
- 9. Mr. John S. Pillsbury
- 10. Mr. John H. Brown
- 11. Mr. John A. Dyer
- 12. Mr. John W. Foster
- 13. Mr. John H. Harlan
- 14. Mr. John C. Latta
- 15. Mr. John S. May
- 16. Mr. John W. Phelps
- 17. Mr. John H. Rorer
- 18. Mr. John A. Tracy
- 19. Mr. John W. Alden
- 20. Mr. John C. Bennett
- 21. Mr. John H. Brown
- 22. Mr. John S. Pillsbury
- 23. Mr. John H. Wood
- 24. Mr. John W. Alden
- 25. Mr. John C. Bennett
- 26. Mr. John H. Brown
- 27. Mr. John S. Pillsbury
- 28. Mr. John H. Wood
- 29. Mr. John W. Alden
- 30. Mr. John C. Bennett
- 31. Mr. John H. Brown
- 32. Mr. John S. Pillsbury
- 33. Mr. John H. Wood
- 34. Mr. John W. Alden
- 35. Mr. John C. Bennett
- 36. Mr. John H. Brown
- 37. Mr. John S. Pillsbury
- 38. Mr. John H. Wood
- 39. Mr. John W. Alden
- 40. Mr. John C. Bennett
- 41. Mr. John H. Brown
- 42. Mr. John S. Pillsbury
- 43. Mr. John H. Wood
- 44. Mr. John W. Alden
- 45. Mr. John C. Bennett
- 46. Mr. John H. Brown
- 47. Mr. John S. Pillsbury
- 48. Mr. John H. Wood
- 49. Mr. John W. Alden
- 50. Mr. John C. Bennett
- 51. Mr. John H. Brown
- 52. Mr. John S. Pillsbury
- 53. Mr. John H. Wood
- 54. Mr. John W. Alden
- 55. Mr. John C. Bennett
- 56. Mr. John H. Brown
- 57. Mr. John S. Pillsbury
- 58. Mr. John H. Wood
- 59. Mr. John W. Alden
- 60. Mr. John C. Bennett
- 61. Mr. John H. Brown
- 62. Mr. John S. Pillsbury
- 63. Mr. John H. Wood
- 64. Mr. John W. Alden
- 65. Mr. John C. Bennett
- 66. Mr. John H. Brown
- 67. Mr. John S. Pillsbury
- 68. Mr. John H. Wood
- 69. Mr. John W. Alden
- 70. Mr. John C. Bennett
- 71. Mr. John H. Brown
- 72. Mr. John S. Pillsbury
- 73. Mr. John H. Wood
- 74. Mr. John W. Alden
- 75. Mr. John C. Bennett
- 76. Mr. John H. Brown
- 77. Mr. John S. Pillsbury
- 78. Mr. John H. Wood
- 79. Mr. John W. Alden
- 80. Mr. John C. Bennett
- 81. Mr. John H. Brown
- 82. Mr. John S. Pillsbury
- 83. Mr. John H. Wood
- 84. Mr. John W. Alden
- 85. Mr. John C. Bennett
- 86. Mr. John H. Brown
- 87. Mr. John S. Pillsbury
- 88. Mr. John H. Wood
- 89. Mr. John W. Alden
- 90. Mr. John C. Bennett
- 91. Mr. John H. Brown
- 92. Mr. John S. Pillsbury
- 93. Mr. John H. Wood
- 94. Mr. John W. Alden
- 95. Mr. John C. Bennett
- 96. Mr. John H. Brown
- 97. Mr. John S. Pillsbury
- 98. Mr. John H. Wood
- 99. Mr. John W. Alden
- 100. Mr. John C. Bennett
- 101. Mr. John H. Brown
- 102. Mr. John S. Pillsbury
- 103. Mr. John H. Wood
- 104. Mr. John W. Alden
- 105. Mr. John C. Bennett
- 106. Mr. John H. Brown
- 107. Mr. John S. Pillsbury
- 108. Mr. John H. Wood
- 109. Mr. John W. Alden
- 110. Mr. John C. Bennett
- 111. Mr. John H. Brown
- 112. Mr. John S. Pillsbury
- 113. Mr. John H. Wood
- 114. Mr. John W. Alden
- 115. Mr. John C. Bennett
- 116. Mr. John H. Brown
- 117. Mr. John S. Pillsbury
- 118. Mr. John H. Wood
- 119. Mr. John W. Alden
- 120. Mr. John C. Bennett
- 121. Mr. John H. Brown
- 122. Mr. John S. Pillsbury
- 123. Mr. John H. Wood
- 124. Mr. John W. Alden
- 125. Mr. John C. Bennett
- 126. Mr. John H. Brown
- 127. Mr. John S. Pillsbury
- 128. Mr. John H. Wood
- 129. Mr. John W. Alden
- 130. Mr. John C. Bennett
- 131. Mr. John H. Brown
- 132. Mr. John S. Pillsbury
- 133. Mr. John H. Wood
- 134. Mr. John W. Alden
- 135. Mr. John C. Bennett
- 136. Mr. John H. Brown
- 137. Mr. John S. Pillsbury
- 138. Mr. John H. Wood
- 139. Mr. John W. Alden
- 140. Mr. John C. Bennett
- 141. Mr. John H. Brown
- 142. Mr. John S. Pillsbury
- 143. Mr. John H. Wood
- 144. Mr. John W. Alden
- 145. Mr. John C. Bennett
- 146. Mr. John H. Brown
- 147. Mr. John S. Pillsbury
- 148. Mr. John H. Wood
- 149. Mr. John W. Alden
- 150. Mr. John C. Bennett
- 151. Mr. John H. Brown
- 152. Mr. John S. Pillsbury
- 153. Mr. John H. Wood
- 154. Mr. John W. Alden
- 155. Mr. John C. Bennett
- 156. Mr. John H. Brown
- 157. Mr. John S. Pillsbury
- 158. Mr. John H. Wood
- 159. Mr. John W. Alden
- 160. Mr. John C. Bennett
- 161. Mr. John H. Brown
- 162. Mr. John S. Pillsbury
- 163. Mr. John H. Wood
- 164. Mr. John W. Alden
- 165. Mr. John C. Bennett
- 166. Mr. John H. Brown
- 167. Mr. John S. Pillsbury
- 168. Mr. John H. Wood
- 169. Mr. John W. Alden
- 170. Mr. John C. Bennett
- 171. Mr. John H. Brown
- 172. Mr. John S. Pillsbury
- 173. Mr. John H. Wood
- 174. Mr. John W. Alden
- 175. Mr. John C. Bennett
- 176. Mr. John H. Brown
- 177. Mr. John S. Pillsbury
- 178. Mr. John H. Wood
- 179. Mr. John W. Alden
- 180. Mr. John C. Bennett
- 181. Mr. John H. Brown
- 182. Mr. John S. Pillsbury
- 183. Mr. John H. Wood
- 184. Mr. John W. Alden
- 185. Mr. John C. Bennett
- 186. Mr. John H. Brown
- 187. Mr. John S. Pillsbury
- 188. Mr. John H. Wood
- 189. Mr. John W. Alden
- 190. Mr. John C. Bennett
- 191. Mr. John H. Brown
- 192. Mr. John S. Pillsbury
- 193. Mr. John H. Wood
- 194. Mr. John W. Alden
- 195. Mr. John C. Bennett
- 196. Mr. John H. Brown
- 197. Mr. John S. Pillsbury
- 198. Mr. John H. Wood
- 199. Mr. John W. Alden
- 200. Mr. John C. Bennett

259.2 nm,  $\lambda_{\min}$  227.0 nm). Acykliczny 9-nukleozyd krystalizowano z etanolu otrzymując duże, płaskie kryształy.



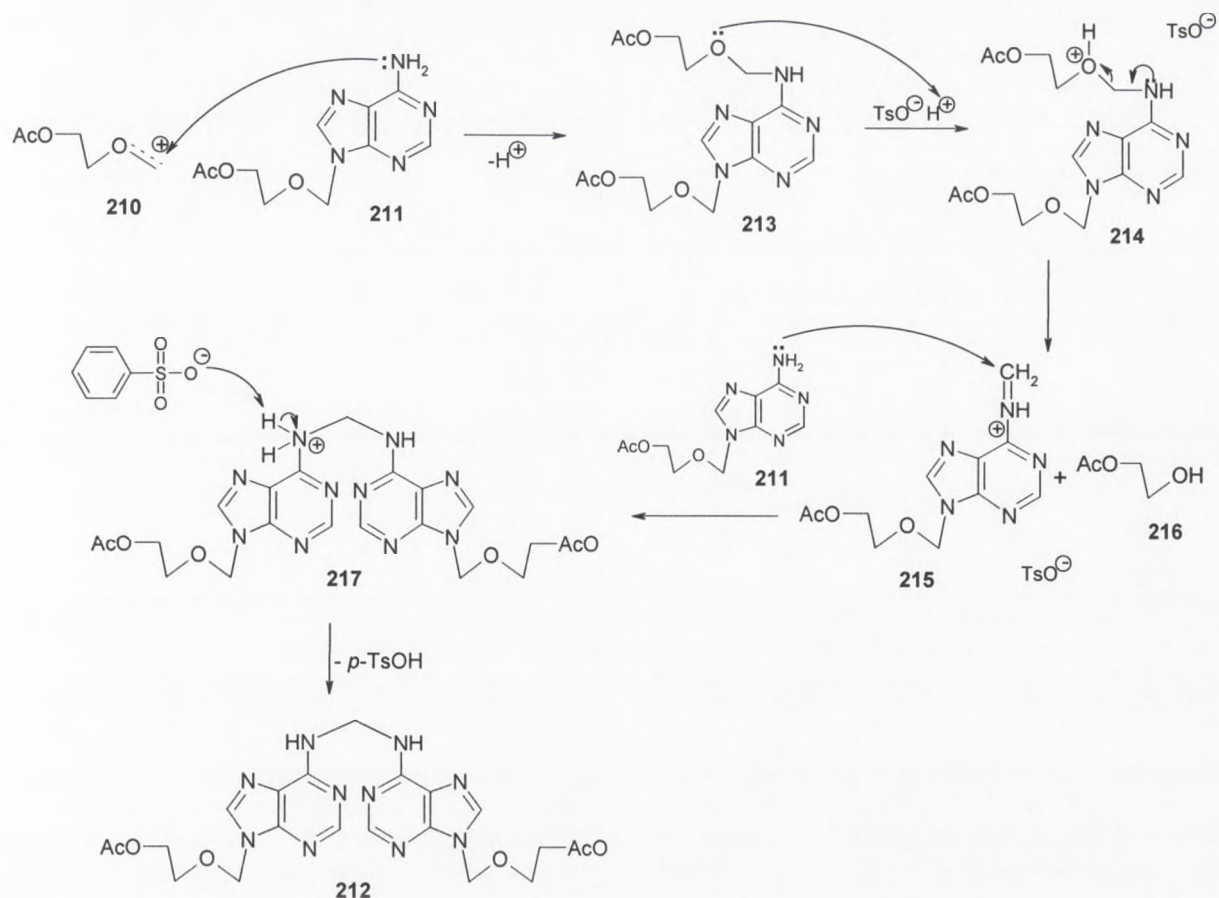
Schemat 63

Natomiast związek o wyższym  $R_f$  po wyizolowaniu krystalizowano z gorącego etanolu otrzymując białe kryształy. Początkowo wydawało się, że może to być produkt kinetyczny 3- lub 7-podstawiony, jednak związki takie powinny poruszać się chromatograficznie wolniej. Widmo UV tego produktu ( $\lambda_{\max}$  271.8 nm,  $\lambda_{\min}$  229.2 nm), nie przypominało kształtem widma żadnego otrzymanego dotąd związku. Dalszych informacji dostarczyła dopiero analiza widm  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  NMR, prowadząc do przypuszczenia, że mamy do czynienia z symetryczną strukturą składającą się z dwóch identycznych części połączonych mostkiem metylenowym. O takiej budowie świadczyła podwójna integracja sygnałów w analizowanych widmach rezonansu jądrowego poza jednym przy 5.37 ppm. Po wnikliwej interpretacji widm NMR ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC) oraz wykonaniu analizy elementarnej i widm masowych strukturę związku scharakteryzowano jako 1,1'-metyleno-bis- $\text{N}^6, \text{N}^6$ -{9-[(2-acetoksyetoksy)metylo]adeninę} (**212**). Dimer ten powstaje z 1,25% wydajnością.

Po scharakteryzowaniu struktury związku zaproponowano mechanizm jego powstawania (schemat 64).







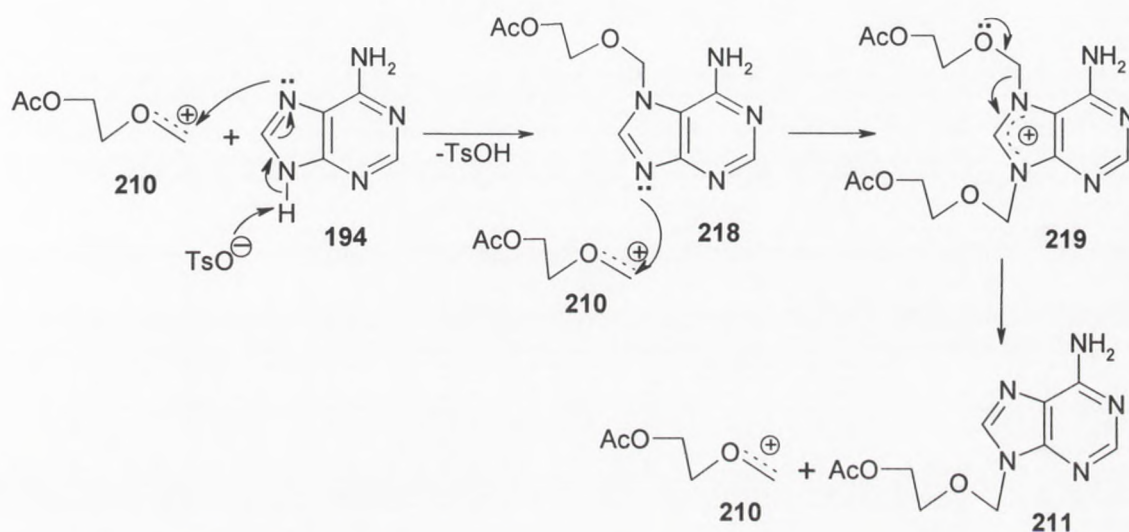
Schemat 64

Kluczowym elementem zaproponowanego mechanizmu jest istnienie w mieszaninie reakcyjnej karboksoniowego kationu cukrowego (210), który może ulec nukleofilowemu atakowi atomu azotu nieblokowanej grupy egzoaminowej, powstałego już wcześniej acyklicznego 9-nukleozydu (211). Ponieważ komponent pseudocukrowy użyty jest w dużym nadmiarze, kation cukrowy powinien występować w dużym stężeniu, dzięki czemu nukleofilowy atak azotu z pozycji N<sup>6</sup> nie jest konkurencyjny do tworzenia 9-nukleozydu. Z powstałego z przyłączenia kationu cukrowego związku zostaje następnie oderwany proton przez znajdujący się w roztworze anion tosyłowy, co prowadzi do otrzymania związku 213. W wyniku protonowania mostkowego tlenu w strukturze 214, rozerwaniu ulega wiązanie C-O, co prowadzi do wytworzenia reaktywnej zasady Schiffa (215) ulegającej nukleofilowemu atakowi kolejnej cząsteczki 9-podstawionego nukleozydu (211). Prowadzi to do powstania struktury 217, z której w wyniku oderwania protonu przez jon tosyłowy otrzymywana jest cząsteczka dimeru (212) oraz odtworzony zostaje katalizator (*p*-TsOH). Analogiczną dimeryzację zaobserwowano już wcześniej w przypadku acyklonukleozydów indazolowych<sup>113</sup>.

W przeprowadzonym eksperymencie nie zaobserwowano powstawania kinetycznego produktu N7- lub N3-podstawionego. Wysoka temperatura, w której prowadzono reakcję mogła

[The text in this section is extremely faint and illegible. It appears to be a list or a series of entries, possibly a table of contents or a detailed index, but the specific words and numbers cannot be discerned.]

powodować szybkie przejście produktu kinetycznego w trwały termodynamiczny związek N9-podstawiony. Jednak istnienie kinetycznych produktów jest niezbędne do zajścia reakcji i powstania 9-nukleozydu, ponieważ bezpośrednia glikozylacja w pozycję N9 jest niemożliwa z powodu zablokowania przez proton. Tak więc nukleofilowy atak na kation cukrowy musi być wyprowadzony z innego centrum nukleofilowego niż atom azotu N9. Pozostają więc pozycje N1, N3 lub N7. Najbardziej prawdopodobny wydaje się atak atomu azotu N7, ponieważ tylko w tym przypadku nie zostaje zaburzona aromatyczna struktura elektronowa w sześciocłonowym pierścieniu pirymidynowym. Proponowany mechanizm powstawania 9-podstawionego produktu w tej reakcji przedstawiono na schemacie 65.



Schemat 65

W pierwszym etapie proponowanego mechanizmu nukleofilowy atak atomu N7 na pozycję C1 kationu cukrowego, z równoczesnym oderwaniem protonu przez jon tosyłowy, prowadzi do powstawania związku **218**. Następnie w wyniku ataku nukleofilowego atomu azotu N9 na kolejny kation cukrowy, wytworzony zostaje nietrwały 7,9-dipodstawiony związek (**219**), którego dekompozycja prowadzi do otrzymania acyklicznego 9-nukleozydu (**211**) oraz odtworzenia kationu cukrowego (**210**).

Na podstawie powyższego eksperymentu postanowiono przeprowadzić reakcje N<sup>6</sup>-blokowanych pochodnych adeniny z eterem (2-acetoksyetylo)acetoksymetylowym wobec *p*-TsOH w chlorobenzenie.

W wyniku reakcji N<sup>6</sup>-benzoiloadeniny (**109**) ze związkiem **208** w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika (temperatura łaźni 154°C) prowadzonej przez 3 godziny uzyskano klarowny roztwór. Analiza TLC wykazała, że w wyniku kondensacji otrzymano dwa związki o R<sub>f</sub> wyższych od substratu. Produkt o najwyższym współczynniku R<sub>f</sub> powstawał z niewielką,

The first step in the synthesis of the polymer is the preparation of the monomer. This is done by the reaction of the starting material with the appropriate reagents. The reaction conditions are carefully controlled to ensure the formation of the desired monomer. The monomer is then polymerized using a suitable catalyst and reaction conditions. The polymerization process is monitored to ensure the formation of the desired polymer. The resulting polymer is then purified and characterized. The properties of the polymer are studied to determine its suitability for various applications. The synthesis of the polymer is a complex process that requires careful attention to detail. The reaction conditions and reagents used are critical to the success of the synthesis. The resulting polymer is a valuable material that can be used in a wide range of applications. The synthesis of the polymer is a key step in the development of new materials and technologies.

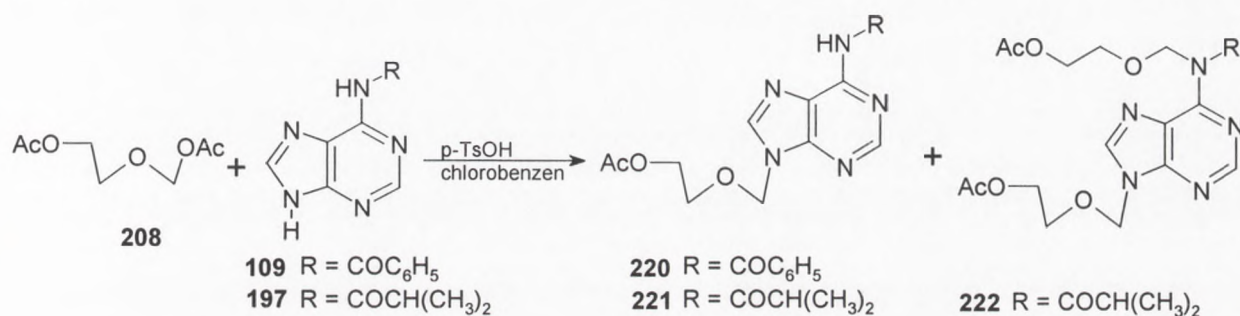


Scheme 1

The second step in the synthesis of the polymer is the purification of the monomer. This is done by the reaction of the monomer with a suitable reagent. The reaction conditions are carefully controlled to ensure the formation of the desired monomer. The monomer is then purified by distillation or extraction. The purified monomer is then polymerized using a suitable catalyst and reaction conditions. The polymerization process is monitored to ensure the formation of the desired polymer. The resulting polymer is then purified and characterized. The properties of the polymer are studied to determine its suitability for various applications. The synthesis of the polymer is a complex process that requires careful attention to detail. The reaction conditions and reagents used are critical to the success of the synthesis. The resulting polymer is a valuable material that can be used in a wide range of applications. The synthesis of the polymer is a key step in the development of new materials and technologies.

The third step in the synthesis of the polymer is the characterization of the polymer. This is done by the measurement of the molecular weight, the degree of polymerization, and the glass transition temperature. The molecular weight is measured by gel permeation chromatography (GPC). The degree of polymerization is measured by endgroup analysis. The glass transition temperature is measured by differential scanning calorimetry (DSC). The characterization of the polymer is a key step in the development of new materials and technologies. The properties of the polymer are studied to determine its suitability for various applications. The synthesis of the polymer is a complex process that requires careful attention to detail. The reaction conditions and reagents used are critical to the success of the synthesis. The resulting polymer is a valuable material that can be used in a wide range of applications. The synthesis of the polymer is a key step in the development of new materials and technologies.

kilkuprocentową wydajnością. Substraty użyte do reakcji nie przereagowały całkowicie (przereagowało ok. 50% związku **109**). Mieszaninę reakcyjną odparowano do sucha, a następnie rozdzielono chromatograficznie na kolumnie, stosując jako eluent układ chloroform-metanol w gradiencie stężenia. W wyniku rozdziału otrzymano tylko związek o niższym  $R_f$  w formie białego osadu z wydajnością 62%, który następnie krystalizowano na gorąco z 40% etanolu. Związku o wyższym  $R_f$  nie udało się wyizolować z powodu jego bardzo niskiej wydajności. Po przeprowadzonej analizie krystalicznego produktu metodami spektroskopowymi (UV,  $^1\text{H}$  NMR) strukturę związku scharakteryzowano jako  $N^6$ -benzoilo-9-[(2-acetoksyetoksy)metylo]adeninę (**220**).



Schemat 66

Natomiast w wyniku podobnej reakcji  $N^6$ -izobutyrylowej pochodnej adeniny (**197**) z komponentem pseudocukrowym otrzymano dwa produkty. Analiza TLC pokazała, że związek o niższym  $R_f$  porusza się analogicznie jak  $N^9$ -acyklo pochodna adenozyiny (**221**), produkt ten powstaje z dużą wydajnością. Natomiast produkt o wyższym  $R_f$  powstaje z niewielką wydajnością. Oba związki udało się wyizolować po przeprowadzeniu rozdziału na kolumnie chromatograficznej. Analiza widm UV oraz  $^1\text{H}$  NMR związku poruszającego się chromatograficznie wolniej potwierdziły jego strukturę jako  $N^6$ -izobutyrylo-9-[(2-acetoksyetoksy)metylo]adeninę (**221**) powstającą z wydajnością 67%. Natomiast drugi związek scharakteryzowano po wnikliwej analizie widm UV,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR jako  $N^6$ -izobutyrylo-9, $N^6$ -di-[(2-acetoksyetoksy)metylo]adeninę (**222**); powstaje on z wydajnością 0.8%.

W tym przypadku nie obserwowano tworzenia się dimeru jak miało to miejsce w przypadku glikozylacji nieblokowanej adeniny. Przyczyną uniemożliwiająca dimeryzację jest obecność drugiego podstawnika w pozycji  $N^6$ , który uniemożliwia przegrupowanie, prowadzące do utworzenia podwójnego wiązania C=N, jak miało to miejsce w odpowiedniej zasadzie Schiffa (schemat 64).

The synthesis of poly(2-vinylpyridine) (P2VP) was carried out in bulk and in solution. The molecular weight of the polymer was determined by gel permeation chromatography (GPC) using polystyrene as a standard. The GPC analysis showed that the molecular weight of the polymer was in the range of 100,000-200,000. The polymerization of P2VP was carried out in the presence of a radical initiator, benzoyl peroxide (BPO), in bulk and in solution. The polymerization was carried out at 60°C for 24 hours. The polymerization was carried out in the presence of a radical inhibitor, hydroquinone (HQ), in bulk and in solution. The polymerization was carried out in the presence of a radical inhibitor, BHT, in bulk and in solution. The polymerization was carried out in the presence of a radical inhibitor, TEMPO, in bulk and in solution. The polymerization was carried out in the presence of a radical inhibitor, PBN, in bulk and in solution. The polymerization was carried out in the presence of a radical inhibitor, DPPH, in bulk and in solution. The polymerization was carried out in the presence of a radical inhibitor, 2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl (TEMPO), in bulk and in solution. The polymerization was carried out in the presence of a radical inhibitor, 1,1-diphenylpicrylhydrazyl (DPPH), in bulk and in solution. The polymerization was carried out in the presence of a radical inhibitor, 2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl (TEMPO), in bulk and in solution. The polymerization was carried out in the presence of a radical inhibitor, 1,1-diphenylpicrylhydrazyl (DPPH), in bulk and in solution.



The radical inhibitors were synthesized by the following procedures: TEMPO was synthesized by the reaction of 2,2,6,6-tetramethylpiperidine with nitric oxide. DPPH was synthesized by the reaction of picrylhydrazyl with nitric oxide. BHT was synthesized by the reaction of phenol with butyl bromide. HQ was synthesized by the reaction of benzene with hydroquinone. PBN was synthesized by the reaction of phenylbutylamine with nitric oxide. The radical inhibitors were purified by recrystallization or distillation. The radical inhibitors were stored in the dark at room temperature. The radical inhibitors were used as received. The radical inhibitors were used in the polymerization of P2VP. The radical inhibitors were used in the polymerization of P2VP in bulk and in solution. The radical inhibitors were used in the polymerization of P2VP in the presence of a radical initiator, BPO, in bulk and in solution. The radical inhibitors were used in the polymerization of P2VP in the presence of a radical inhibitor, HQ, in bulk and in solution. The radical inhibitors were used in the polymerization of P2VP in the presence of a radical inhibitor, BHT, in bulk and in solution. The radical inhibitors were used in the polymerization of P2VP in the presence of a radical inhibitor, TEMPO, in bulk and in solution. The radical inhibitors were used in the polymerization of P2VP in the presence of a radical inhibitor, DPPH, in bulk and in solution.

The radical inhibitors were used in the polymerization of P2VP. The radical inhibitors were used in the polymerization of P2VP in bulk and in solution. The radical inhibitors were used in the polymerization of P2VP in the presence of a radical initiator, BPO, in bulk and in solution. The radical inhibitors were used in the polymerization of P2VP in the presence of a radical inhibitor, HQ, in bulk and in solution. The radical inhibitors were used in the polymerization of P2VP in the presence of a radical inhibitor, BHT, in bulk and in solution. The radical inhibitors were used in the polymerization of P2VP in the presence of a radical inhibitor, TEMPO, in bulk and in solution. The radical inhibitors were used in the polymerization of P2VP in the presence of a radical inhibitor, DPPH, in bulk and in solution.

### 3.2.6. Podsumowanie

W żadnym z przeprowadzonych eksperymentów we wrzącym chlorobenzenu wobec kwasu protonującego (p-TsOH) nie zaobserwowano powstawania kinetycznych produktów (N7-, N3- lub N1-podstawionych). Wyizolowane zostały tylko termodynamiczne produkty reakcji, 9-nukleozydy. Prawdopodobnie wysoka temperatura wpływa na szybką transformację kinetycznych produktów w trwalsze N9-podstawione regioizomery. Natomiast powstawanie dimeru (**212**) w reakcji kondensacji komponentu pseudocukrowego **208** z adeniną (**194**) czy też w przypadku N<sup>6</sup>-blokowanej adeniny związku N<sup>6</sup>,N<sup>6</sup>-dipodstawionego **222** spowodowane może być stosowaniem dużych nadmiarów substratu **208**.



In 1952, the first edition of the *Journal of the History of Biology* was published. The journal was founded by Philip Barbour and Robert Rosenblatt. The journal's focus was on the history of biology, and it was the first journal to publish research in this field. The journal was published by the University of Chicago Press. The journal's first issue was published in 1952. The journal's first issue was published in 1952. The journal's first issue was published in 1952.

### 3.3. Badanie przebiegu reakcji rybozylacji adeniny metodą sililową

#### 3.3.1. Wstęp

W rozdziale 1.2.3. niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań nad reakcjami syntezy nukleozydów metodą sililową, która znalazła zastosowanie zarówno do otrzymywania nukleozydów pirymidynowych<sup>64,67</sup> jak i purynowych<sup>40,70,71</sup>. W zależności od użytego rozpuszczalnika, rodzaju zastosowanej zasady heterocyklicznej oraz katalizatora, w wyniku reakcji otrzymać można różne N-podstawione nukleozydy. Mechanizm tych procesów zaproponowany został przez Watanabe, Hollenberga i Foxa<sup>17</sup> i według autorów rybozylacja puryny przebiega przez kinetyczne produkty 3- lub 7-podstawione pochodne w przypadku nukleozydów 6-oksopurynowych. Natomiast Vorbrüggen i Höfle<sup>40</sup> zaproponowali schemat reakcji w przypadku pochodnych N<sup>6</sup>-benzoilowych adeniny, gdzie rybozylacja prowadzić może do powstawania N1, N3 lub N7 regioizomeru adenozyiny (schemat 25). Według przewidywań autorów, które jednak nie zostały potwierdzone eksperymentalnie, możliwe jest otrzymywanie różnych kinetycznych produktów, ponieważ w wyniku reakcji sililowania adeniny powstawać mogą różne sililowe pochodne, które indywidualnie reagują z kationem cukrowym, prowadząc do otrzymania różnych N-podstawionych izomerów nukleozydu. Natomiast dłuższy czas reakcji prowadzi do powstania termodynamicznego produktu N9-podstawionego nukleozydu.

Sililowe pochodne zasad heterocyklicznych otrzymywane są w łatwy sposób przez potraktowanie zasady heterocyklicznej odczynnikiem sililującym takim jak: trimetylochlorosilan (TMSCl), heksametylodisilazan (HMDS) lub N,O-bis(trimetylosililo)acetamid (BSA). Grupy sililowe stosowane w syntezie nukleozydów polepszają rozpuszczalność związku i są także łatwe do usunięcia. Natomiast niższa elektroujemność atomu krzemu w stosunku od atomu węgla sprawia, że grupy te są podatne na atak nukleofilowy. Efekt indukcyjny wywołany przez grupy metylowe podstawnika trimetylosililowego sprawiają, że sililowana zasada heterocykliczna staje się lepszym nukleofilem.

Tak więc na podstawie powyższych faktów postanowiono zbadać przebieg reakcji glikozylacji metodą sililową adeniny oraz N<sup>6</sup>-blokowanych pochodnych adeniny.

24.1.1

Text block 1

Text block 2

Text block 3

Text block 4

Text block 5

Text block 6

Text block 7

Text block 8

### 3.3.2. Reakcje rybozylacji nieblokowanej adeniny

Reakcja syntezy adenozyiny z nieblokowanej adeniny i komponentu cukrowego przeprowadzili Itoh i Mizuno<sup>72</sup> w 1976 roku. Autorzy do kondensacji wykorzystali metodę siliłową, stosując jako katalizator tetrachlorek cyny, otrzymując w jej wyniku 7- i 9-regioizomery adenozyiny.

Postanowiliśmy więc sprawdzić poprawność uzyskanych wcześniej wyników przeprowadzając reakcję syntezy nukleozydu z zastosowaniem następujących czynników siliłujących: N,O-bis(trimetylosililo)acetamid (BSA) oraz heksametylodisilazan (HMDS). Natomiast jako katalizator zastosowano ester trimetylosililowy kwasu trifluorometano-sulfonowego (TMSOTf).

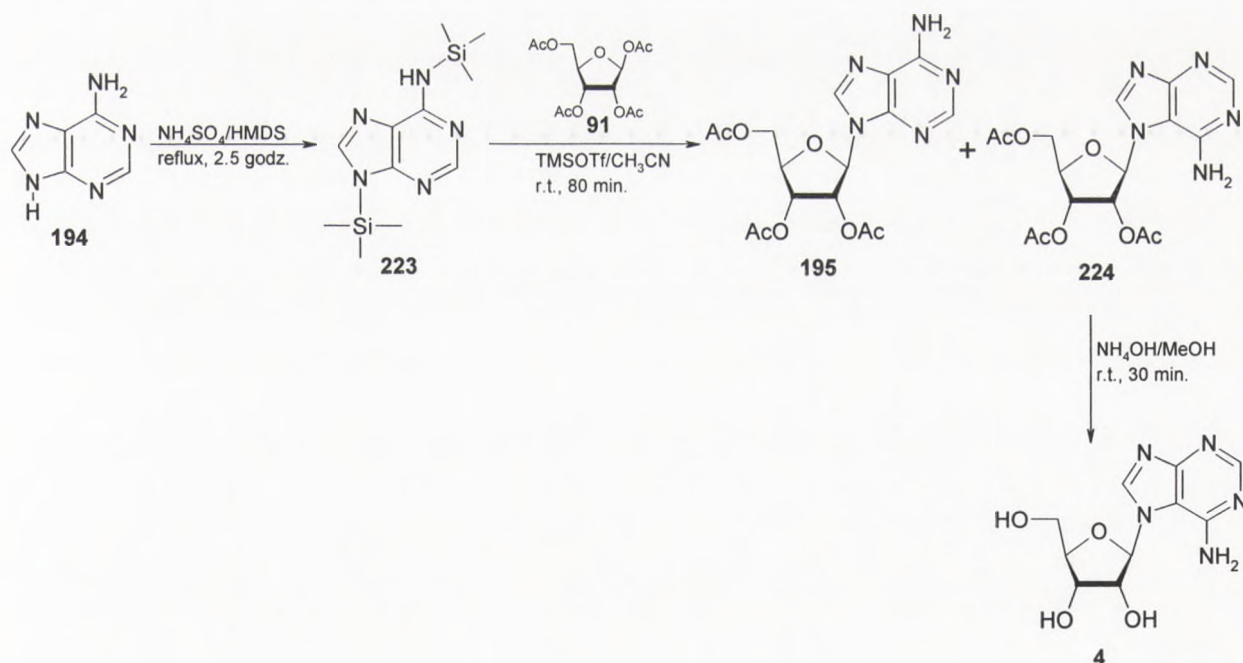
W celu syntezy 7-izomeru adenozyiny przeprowadzono reakcję siliłowania adeniny (**194**) w bezwodnym acetonitrylu stosując jako odczynnik siliłujący BSA, w wyniku czego substrat **194** uległ całkowitemu rozpuszczeniu. Następnie do uzyskanej mieszaniny dodano 1,2,3,5-tetra-O- $\beta$ -D-rybofuranozy (**91**) i TMSOTf. Komponent cukrowy **91** rozpuścił się całkowicie po kilku minutach; otrzymano klarowny roztwór. Reakcję kondensacji prowadzono w temperaturze 70°C przez 21 godzin. Analiza TLC pokazała tworzenie się z niewielką wydajnością dwóch produktów. Przereagowanie substratu było stosunkowo niskie i wynosiło około 20-30%. Związek o wyższym  $R_f$  poruszał się chromatograficznie jak triacetyloadenozyina (**195**), natomiast plamka o niższym  $R_f$  składała się prawdopodobnie z dwóch innych produktów. Mieszaninę reakcyjną odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie poddano rozdzielaniu na kolumnie chromatograficznej, otrzymując związek **195** z wydajnością 18.6%. Związek ten posiadał widmo UV o  $\lambda_{\max}$ =258.8 nm i  $\lambda_{\min}$ =227.4 nm, co potwierdziło strukturę produktu jako 9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranosylo)adeninę. Natomiast związek o niższym  $R_f$  uległ całkowitemu rozpadowi, co uniemożliwiło jego charakterystykę.

W celu zwiększenia wydajności reakcji syntezy nukleozydu, postanowiono zastosować inną procedurę siliłowania. W tym celu adeninę (**194**) poddano bezpośrednio reakcji z heksametylodisilazaniem, w atmosferze argonu wobec siarczanu (VI) amonu w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika. W wyniku reakcji substrat **194** rozpuścił się całkowicie. Następnie rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując biały, gęsty osad, który rozpuszczono w suchym acetonitrylu i w atmosferze argonu dodano tetraacetyloribofuranozę (**91**) oraz katalizator (TMSOTf). Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 80 minut. Analiza TLC mieszaniny reakcyjnej pokazała tworzenie się dwóch głównych produktów

3.2.2. *Statistical analysis*

The data were analysed using the SPSS 11.5 statistical package. The results are presented in the following sections. The first section describes the overall results of the study. The second section describes the results of the analysis of variance. The third section describes the results of the analysis of covariance. The fourth section describes the results of the analysis of regression. The fifth section describes the results of the analysis of correlation. The sixth section describes the results of the analysis of chi-square. The seventh section describes the results of the analysis of Fisher's exact test. The eighth section describes the results of the analysis of McNemar's test. The ninth section describes the results of the analysis of binomial test. The tenth section describes the results of the analysis of sign test. The eleventh section describes the results of the analysis of median test. The twelfth section describes the results of the analysis of rank-sum test. The thirteenth section describes the results of the analysis of sign-rank test. The fourteenth section describes the results of the analysis of Friedman two-way ANOVA. The fifteenth section describes the results of the analysis of Kruskal-Wallis test. The sixteenth section describes the results of the analysis of Scheffé's test. The seventeenth section describes the results of the analysis of Tukey's test. The eighteenth section describes the results of the analysis of Dunnett's test. The nineteenth section describes the results of the analysis of Bonferroni test. The twentieth section describes the results of the analysis of Sidak test. The twenty-first section describes the results of the analysis of Holm-Sidak test. The twenty-second section describes the results of the analysis of Dunnett-Sidak test. The twenty-third section describes the results of the analysis of Dunnett-Bonferroni test. The twenty-fourth section describes the results of the analysis of Dunnett-Sidak-Bonferroni test. The twenty-fifth section describes the results of the analysis of Dunnett-Sidak-Bonferroni-Sidak test. The twenty-sixth section describes the results of the analysis of Dunnett-Sidak-Bonferroni-Sidak-Bonferroni test. The twenty-seventh section describes the results of the analysis of Dunnett-Sidak-Bonferroni-Sidak-Bonferroni-Sidak test. The twenty-eighth section describes the results of the analysis of Dunnett-Sidak-Bonferroni-Sidak-Bonferroni-Sidak-Bonferroni test. The twenty-ninth section describes the results of the analysis of Dunnett-Sidak-Bonferroni-Sidak-Bonferroni-Sidak-Bonferroni-Sidak test. The thirtieth section describes the results of the analysis of Dunnett-Sidak-Bonferroni-Sidak-Bonferroni-Sidak-Bonferroni-Sidak-Bonferroni test.

poruszających się chromatograficznie szybciej od **194**. Związek o wyższym  $R_f$  poruszał się chromatograficznie jak triacetyloadenozyna (**195**) i powstawał z wydajnością ok. 5-10%, natomiast związek o  $R_f$  nieco wyższym od substratu **194** powstawał z szacunkową wydajnością ok. 30-40%. Po zakończeniu reakcji rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując białą pianę, którą poddano wstępnemu oczyszczeniu na kolumnie chromatograficznej stosując jako eluent układ chloroform-metanol 5:1. Umożliwiło to usunięcie nieprzereagowanych substratów (**194**, **91**) oraz kilku produktów reakcji powstających z niewielką wydajnością (1-3%). Frakcje zawierające oba główne produkty połączono razem i odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie poddano rozdzielaniu na kolumnie chromatograficznej stosując jako eluent chloroform-metanol w gradiencie stężenia 95:5  $\rightarrow$  9:1. W wyniku rozdzielania otrzymano 9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeninę (**195**) z wydajnością 5.3%. Strukturę związku potwierdzono wykonując widmo UV ( $\lambda_{\max}$  = 259.4 nm,  $\lambda_{\min}$  = 226.6 nm). Natomiast produkt o niższym  $R_f$  posiadał widmo w ultrafiolecie o  $\lambda_{\max}$  = 274.4 nm i  $\lambda_{\min}$  = 232.2 nm. Po wnikliwej analizie widm  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR związek ten scharakteryzowano jako 7-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeninę (**224**). Widmo węglowe tego produktu posiadało sygnał pochodzący od węgla C-5 przy 110.20 ppm, charakterystyczny dla N7-podstawionych pochodnych puryn. Znając strukturę związku obliczono jego wydajność, która wyniosła 35.7%. Syntezę obu regioizomerów (**195**, **224**) przedstawiono na schemacie 67.



Schemat 67

The first part of the report deals with the general situation of the country. It is noted that the weather has been very dry and hot, and that the crops are suffering. The government has taken steps to provide relief to the people, and it is hoped that these measures will be successful.

The second part of the report deals with the financial situation of the country. It is noted that the government has a large deficit, and that the public debt is increasing. It is suggested that the government should take steps to reduce its expenditure, and to increase its revenue.

The third part of the report deals with the social situation of the country. It is noted that there is a large amount of poverty and distress, and that the people are suffering from lack of food and clothing. It is suggested that the government should take steps to provide relief to the people, and to improve the social conditions of the country.

The fourth part of the report deals with the political situation of the country. It is noted that there is a large amount of corruption and mismanagement in the government, and that the people are suffering from the result. It is suggested that the government should take steps to reform itself, and to improve the political situation of the country.

The fifth part of the report deals with the military situation of the country. It is noted that the army is in a state of disrepair, and that the government has a large deficit in the military budget. It is suggested that the government should take steps to reform the army, and to improve the military situation of the country.

The sixth part of the report deals with the educational situation of the country. It is noted that there is a large amount of illiteracy, and that the government has a large deficit in the educational budget. It is suggested that the government should take steps to reform the educational system, and to improve the educational situation of the country.

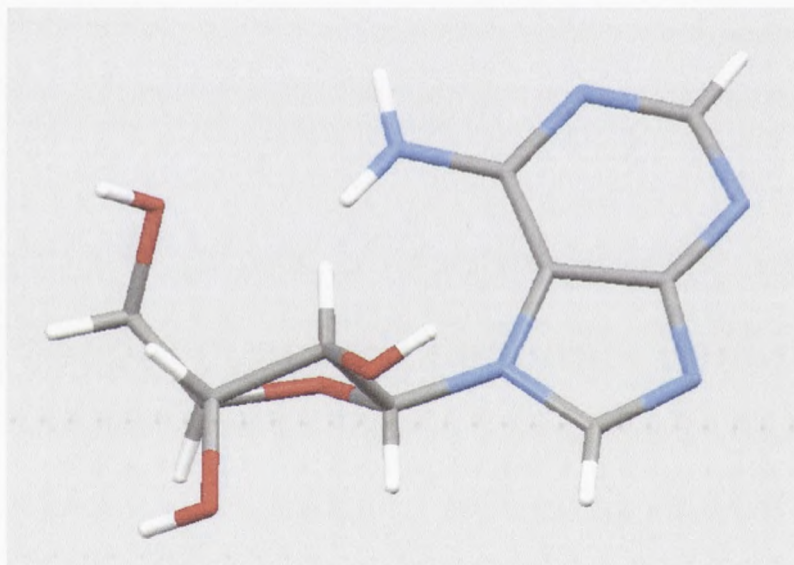
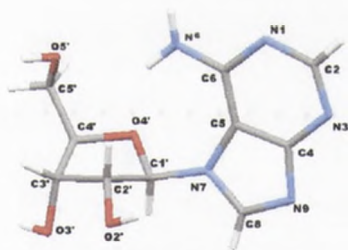
The seventh part of the report deals with the judicial situation of the country. It is noted that there is a large amount of delay and expense in the courts, and that the government has a large deficit in the judicial budget. It is suggested that the government should take steps to reform the judicial system, and to improve the judicial situation of the country.

The eighth part of the report deals with the administrative situation of the country. It is noted that there is a large amount of inefficiency and waste in the government, and that the government has a large deficit in the administrative budget. It is suggested that the government should take steps to reform the administrative system, and to improve the administrative situation of the country.

The ninth part of the report deals with the foreign situation of the country. It is noted that the country is in a state of isolation, and that the government has a large deficit in the foreign budget. It is suggested that the government should take steps to reform the foreign policy, and to improve the foreign situation of the country.

The tenth part of the report deals with the general conclusion. It is noted that the country is in a state of crisis, and that the government has a large deficit in the national budget. It is suggested that the government should take steps to reform itself, and to improve the general situation of the country.

Następnie związek **224** rozpuszczono w metanolu i poddano reakcji z 25% wodnym roztworem amoniaku. Usunięcie grup acetylowych prowadzono przez 30 minut w temperaturze pokojowej. Analiza TLC wykazała tworzenie się głównego produktu o niższym  $R_f$  od substratu (chloroform-metanol 4:1, izopropanol-amoniak-woda 7:1:2) powstającego z około 80-90% wydajnością. Następnie rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując biały osad, który mieszano w roztworze chloroform-metanol 95:5 przez 1 godzinę w celu usunięcia ubocznych produktów odblokowania. Produkt krystalizowano z metanolu, otrzymując drobnokrystaliczny osad, który poddano charakterystyce spektroskopowej (UV, NMR) oraz analizie rentgenograficznej. Analiza widm NMR pozwoliła na potwierdzenie struktury związku jako 7-adenozyny (**4**). Widmo  $^{13}\text{C}$  NMR posiadało charakterystyczny sygnał przy 110.05 ppm pochodzące od węgla C5. Także badania rentgenograficzne potwierdziły, że otrzymany związek to 7-rybofuranozyloadenina (**4**). Przestrzenną strukturę otrzymanego związku przedstawiono na rysunku 1 (rzut wzdłuż wiązania C3'-C4').



Rysunek 1

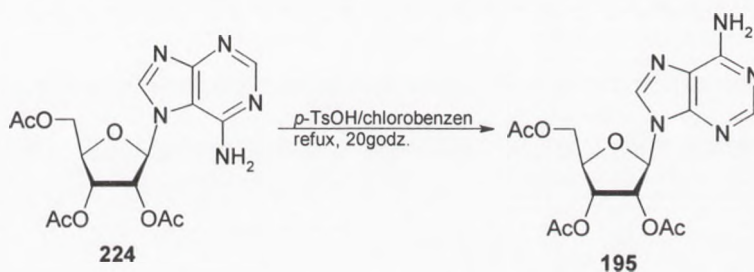
W wyniku analizy krystalograficznej związek **4** zaklasyfikowano do grupy przestrzennej  $P 2_1,2_1,2$ , gdzie w komórce elementarnej znajduje się jedna cząsteczka związku **4**. Na podstawie kątów torsyjnych: ( $\nu_0$ ) C4'-O4'-C1'-C2' ( $-41.22^\circ$ ), ( $\nu_1$ ) O4'-C1'-C2'-C3' ( $49.52^\circ$ ), ( $\nu_2$ ) C1'-C2'-C3'-C4' ( $-37.42^\circ$ ), ( $\nu_3$ ) C2'-C3'-C4'-O4' ( $14.94^\circ$ ), ( $\nu_4$ ) C3'-C4'-O4'-C1' ( $16.32^\circ$ ), obliczono kąt fazowy pseudorotacji  $P=141.38^\circ$ , z czego wynika, że pierścień rybozy znajduje się w konformacji  ${}^2T$ , czyli C2'-endo-C1'-egzo. Szczegółowe dane analizy krystalograficznej zostały przedstawione w części eksperymentalnej.





### 3.3.2.1. Reakcja 7-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeniny w warunkach transglukozytacji

Chcąc potwierdzić tezę, że 7-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adenina (**224**) jest kinetycznym produktem reakcji syntezy 9-nukleozydu, przeprowadzono izomeryzację związku **224** w bezwodnym chlorobenzenu wobec 10% molowych kwasu *p*-toluenosulfonowego jako katalizatora (schemat 68). Reakcję prowadzono przez 20 godzin, ogrzewając mieszaninę do temperatury wrzenia rozpuszczalnika. Analiza TLC (chloroform-metanol 9:1, toluen-etanol 4:1) wykazała, że już po 2,5 godziny nastąpiła konwersja związku **224** z wydajnością 50% do triacetyloadenozyny (**195**), natomiast po 20 godzinach w mieszaninie reakcyjnej obserwowano już tylko związek **195**; 7-regioizomer uległ całkowitej izomeryzacji do 9-nukleozydu.



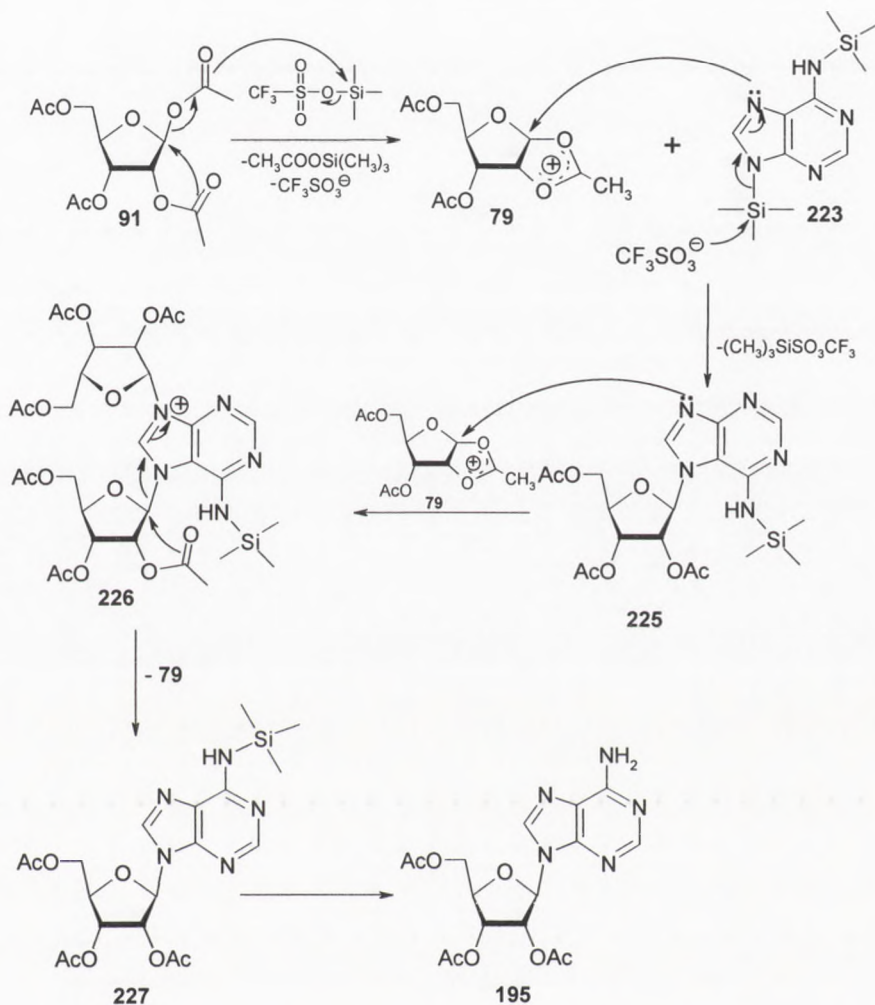
**Schemat 68**

Przeprowadzona reakcja pozwoliła potwierdzić, że związek **224** ulega izomeryzacji do odpowiedniego 9-nukleozydu (**195**), który jest termodynamicznie bardziej uprzywilejowany. Wykazano więc, że 7-izomer triacetyloadenozyny jest kinetycznym produktem reakcji przeprowadzonej metodą siliową, a obserwowany proces ma charakter nieodwracalnej 7→9 transglukozytacji.



## 3.3.2.2. Mechanizm reakcji glikozylacji nieblokowanej adeniny

Na podstawie przeprowadzonych badań reakcji rybozylacji nieblokowanej adeniny (**194**) zaproponowano mechanizm jej glikozylacji z wytworzeniem kinetycznego N7-podstawionego nukleozydu oraz jego izomeryzację do termodynamicznie trwałego 9-nukleozydu. Mechanizm tego procesu może więc wyglądać jak przedstawiony na schemacie 69.



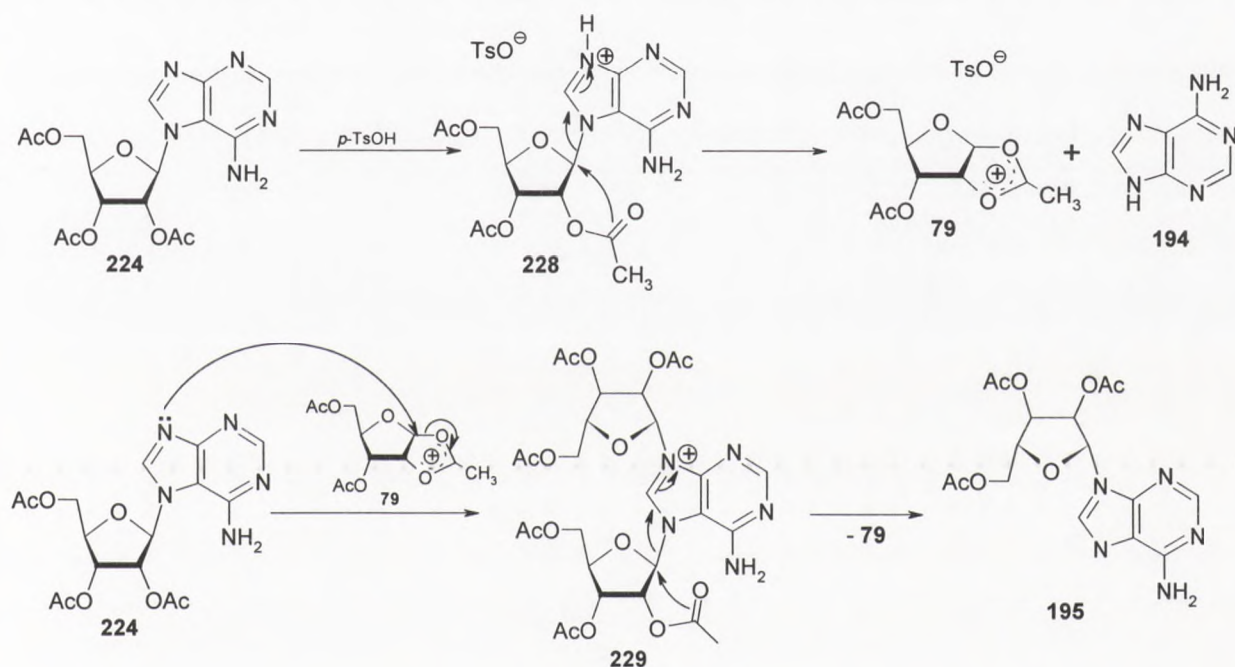
Schemat 69

Proces syntezy 9-(2',3',5'-tri-O-acetylrybofuranosyl)adeniny (**195**) metodą silylową można podzielić na kilka etapów. Pierwszym i kluczowym etapem jest wytworzenie 1,2-acyloksoniowego kationu cukrowego (**79**) w wyniku reakcji tetraacetylrybofuranosy (**91**) z estrem trimetylosililowym kwasu trifluorometanosulfonowego. Powstały kation **79** ulega następnie nukleofilowemu atakowi atomu N7 silylowej pochodnej adeniny (**223**) z równoczesnym usunięciem grupy silylowej z pozycji N9 przez resztę kwasu trifluorometanosulfonowego, w wyniku czego powstaje N<sup>6</sup>-silylowa pochodna 7-(triacetylrybo-



furanozylo)adeniny (**225**) oraz odtworzona zostaje cząsteczka katalizatora (TMSOTf). Atak bezpośrednio z pozycji N9 jest niemożliwy, ponieważ w związku **223** w tej pozycji znajduje się grupa trimetylosililowa, uniemożliwiająca wyprowadzenie nukleofilowego ataku na atom C1 kationu cukrowego **79**. W kolejnym etapie, w wyniku ataku pary elektronowej atomu N9 związku **225** na kation cukrowy **79**, otrzymana zostaje 7,9-diglikozyłowa pochodna adeniny **226**, której rozpad prowadzi do otrzymania sililowej pochodnej triacetyloadenozyny (**227**) oraz odtworzenia kationu cukrowego **79**. Następnie przez usunięcie grupy sililowej z pozycji N<sup>6</sup> otrzymana zostaje triacetyloadenozyna **195**.

Na podstawie przeprowadzonych obserwacji reakcji izomeryzacji 7-(triacetyloribo-furanozylo)adeniny (**224**) do 9-nukleozydu (**195**) w warunkach transglikozylacji (10% molowych *p*-TsOH, wrzący chlorobenzen) zaproponowano także mechanizm 7→9 izomeryzacji, zachodzącej wobec kwasu protonującego.



Schemat 70

W tym przypadku donorem kationu cukrowego jest sam 7-nukleozyd (**224**). W wyniku protonowania atomu N9 następuje rozerwanie wiązania N7-glikozydowego z powstaniem adeniny (**194**) oraz kationu **79**. Oczywiście możliwa jest ponowna kondensacja obu komponentów z odtworzeniem wyjściowego 7-nukleozydu, jednak proces rearanżacji wiązania N7-glikozydowego można uznać za mało znaczący, ponieważ równowaga reakcji rozpadu kinetycznego produktu oraz syntezy termodynamicznego powinna być przesunięta w kierunku tworzenia trwalszego nukleozydu. Powstały 1,2-acyloksoniowy kation cukrowy (**79**) atakowany

The first step in the synthesis of poly(2-vinylpyridine) (P2VP) is the polymerization of 2-vinylpyridine (2VP) initiated by a suitable initiator. The reaction is carried out in a suitable solvent at a temperature between 50°C and 100°C. The resulting P2VP is a linear polymer with a molecular weight of approximately 100,000. The second step is the grafting of polystyrene (PS) onto the P2VP backbone. This is achieved by the free-radical copolymerization of 2VP and styrene (St) in the presence of a suitable initiator. The resulting graft copolymer consists of a P2VP backbone with PS side chains of varying lengths. The length of the PS side chains can be controlled by the ratio of 2VP to St in the monomer feed.

The graft copolymer is then subjected to a series of treatments to remove any unreacted monomers and to stabilize the graft structure. The final product is a graft copolymer with a well-defined structure and a high degree of grafting. The graft copolymer is characterized by its unique morphology and its ability to form stable emulsions in aqueous media.



The graft copolymer is characterized by its unique morphology and its ability to form stable emulsions in aqueous media. The PS side chains provide the graft copolymer with a hydrophobic character, while the P2VP backbone provides it with a hydrophilic character. This combination of properties allows the graft copolymer to form stable emulsions in aqueous media. The graft copolymer is also characterized by its high thermal stability and its ability to resist coagulation.

jest następnie przez parę elektronową atomu N9 cząsteczki 7-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeniny (**224**), wynikiem czego jest otrzymanie związku o strukturze 7,9-dipodstawionej adeniny (**229**). Rozpad związku **229** prowadzi do otrzymania triacetyloadenozyny (**195**) oraz odtworzenia kationu **79**, który może uczestniczyć w dalszej reakcji izomeryzacji, ulegając nukleofilowemu atakowi kolejnej cząsteczki 7-nukleozydu (**224**).

Badanie procesu izomeryzacji 7-nukleozydu (**224**) pokazało więc, że związek ten jest rzeczywiście kinetycznym produktem reakcji prowadzonej metodą sililową, z zastosowaniem N<sup>6</sup>-nieblokowanej adeniny. Transglikozylacja ta ma charakter nieodwracalny i zachodzi według schematu 7→9 izomeryzacji przez produkt pośredni o strukturze 7,9-dirybozyloadeniny. Końcowym rezultatem tego procesu jest otrzymanie trwałego termodynamicznie związku, 9-nukleozydu **195**.



Main body of faint, illegible text, possibly a list or a series of entries.

Large section of extremely faint text, likely the main content of the document, which is mostly illegible due to low contrast.

### 3.3.3. Reakcje rybozylacji N<sup>6</sup>-acylowanych pochodnych adeniny

Badanie procesu rybozylacji N<sup>6</sup>-acyloanowych pochodnych adeniny prowadzono dwoma metodami stosując jako odczynnik siliujący BSA w acetonitrylu lub HMDS, który stanowił także rozpuszczalnik. Do reakcji kondensacji użyto pochodnych adeniny z grupami blokującymi w pozycji N<sup>6</sup> takimi jak: acetyl, benzoil lub izobutyryl.

W pierwszym eksperymencie przeprowadzono rybozylację N<sup>6</sup>-izobutyryloadeniny (**197**) w warunkach siliujących. Bezwodną mieszaninę tej pochodnej adeniny i 1,2,3,5-tetra-O-acetyloribofuranozy (**91**) w acetonitrylu potraktowano BSA. Reakcję prowadzono w atmosferze argonu w temperaturze 75°C do otrzymania klarownego roztworu (30 minut). Następnie dodano katalizator, ester trimetylosililowy kwasu trifluorometanosulfonowego (TMSOTf) i reakcję prowadzono dalej w tej samej temperaturze. Analiza TLC wykonana w układzie chromatograficznym chloroform-metanol 9:1 pokazała, że w wyniku kondensacji otrzymano trzy produkty o współczynnikach R<sub>f</sub> wyższych od substratu (R<sub>f</sub>=0.80, 0.70, 0.54). Szacunkowy stopień przereagowania substratu według TLC wyniósł około 60%. Związek o R<sub>f</sub>=0.70 poruszał się chromatograficznie identycznie jak N<sup>6</sup>-izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)-adenina (**198**). Reakcję zakończono po trzech godzinach ochładzając mieszaninę do temperatury pokojowej, dodając chlorku metylenu i ekstrahując nasyconym roztworem kwaśnego węgla sodu. Osuszoną nad bezwodnym siarczanem sodu i odparowaną pod zmniejszonym ciśnieniem mieszaninę reakcyjną rozdzielano następnie za pomocą chromatografii kolumnowej, jako eluent stosując układ chloroform-acetonitryl w gradiencie stężenia 2:1 → 1:1. Wszystkie trzy produkty reakcji wyizolowano i poddano charakterystyce za pomocą metod spektroskopowych (UV, NMR). Związek o najniższym R<sub>f</sub> charakteryzował się widmem w ultrafiolecie o λ<sub>max</sub> 313.2 nm i λ<sub>min</sub> 255.2 nm, produkt o R<sub>f</sub>=0.70 miał widmo o λ<sub>max</sub> 272.4 nm i λ<sub>min</sub> 233.6 nm, odpowiadające N<sup>6</sup>-izobutyrylowej pochodnej triacetyloadenozyny (**198**), natomiast związek o najwyższym R<sub>f</sub> wykazywał λ<sub>max</sub> przy 293.8 nm oraz λ<sub>min</sub> 240.4 nm.

Dalszych danych strukturalnych dostarczyły widma <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR, które wykazały że w przypadku wszystkich produktów występują sygnały pochodzące zarówno od części cukrowej jak i zasady heterocyklicznej. W przypadku związku o najniższym R<sub>f</sub> w widmie protonowym wykonanym w DMSO-d<sub>6</sub> zaobserwowano zanik sygnału w stosunku do substratu (**197**) przy 11.15 ppm, charakterystycznego dla protonu znajdującego się przy atomie azotu N<sup>6</sup>. Widoczny był też bardzo szeroki sygnał 12.36 - 13.13 ppm pochodzący najprawdopodobniej od protonu w pozycji N9. Nie jest jednak wykluczone, że powstanie tak szerokiego sygnału spowodowane

3.1.1. The ...

The ...

The ...

The ...

The ...

The ...

The ...

The ...

The ...

jest szybką tautomerią N7-H $\rightleftharpoons$ N9-H. Także sygnały pochodzące od protonów H-2, H-8 oraz C1'-H były szerokie. Dopiero wykonanie widma w CDCl<sub>3</sub> pozwoliło na uzyskanie ostrych, wyraźnych sygnałów zarówno w przypadku protonowego jak i węglowego rezonansu jądrowego. Jednak nie wystarczyło to na jednoznaczne określenie pozycji podstawienia pierścienia adeniny rybozą. Wykonano więc dodatkowo widma dwuwymiarowe (<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HMBC i MSQC, <sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N HMBC, <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY) oraz NOE, na których podstawie określono strukturę związku jako N<sup>6</sup>-izobutyrylo-1-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeninę (**231**). Analiza widm <sup>1</sup>H NMR wykazała, że najprawdopodobniej podstawieniu uległ pierścień pirymidynowy, a nie imidazolowy, na co wskazywał sygnał przy 12.94 ppm charakterystyczny dla protonu znajdującego się w pozycji N9. Nie obserwowano natomiast sygnału pochodzącego od protonu N<sup>6</sup>-H, co jest wynikiem powstania ugrupowania iminowego. Na podstawie widm korelacyjnych <sup>13</sup>C, <sup>1</sup>H HMQC przypisano poszczególnym protonom powiązane z nimi bezpośrednio atomy węgla.

Dowodem potwierdzającym podstawienie zasady heterocyklicznej w pozycji N1 rybozą były widma NOE, za pomocą których wykazano, że w pobliżu protonu 1'-H znajdują się: grupy metylowe pochodzące od grupy izobutyrylowej w pozycji N<sup>6</sup> oraz protony 2-H i 2'-H. Natomiast w bliskiej odległości od protonu w pozycji N9 lub N7 (dokładnego położenia protonu nie udało się ustalić) znajduje się proton 8-H, analogicznie naświetlenie charakterystyczną częstotliwością protonu 8-H (8.13 ppm) wykazało bliskość protonu N9-H/N7-H (12.49 ppm). Selektywne naświetlenie protonu 2-H (8.82 ppm) pokazało wzmocnienie sygnałów pochodzących od protonów rybozy. Widma te jednoznacznie potwierdziły podstawienie pierścienia adeniny rybozą w pozycji N1.

Dzięki poznaniu struktury związku stało się możliwe obliczenie wydajności powstałego N1-podstawionego rybozą produktu (**231**), która wyniosła 32.5%. Związek ten następnie krystalizowano z 40% roztworu etanolu, otrzymując drobnokrystaliczny osad.

Analiza widm spektroskopowych (UV, <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR) związku o R<sub>f</sub>=0.70 poruszającego się chromatograficznie jak N<sup>6</sup>-izobutyrylo-9-(2',3',5'-O-acetyloribofuranozylo)adenina (**198**) potwierdziła jego strukturę jako 9-nukleozydu (**198**). Uzyskane widma były identyczne z widmami związku otrzymanego w wyniku reakcji N<sup>6</sup>-izobutyryloadeniny (**197**) z tetraacetyloribofuranozą (**91**) wobec kwasu *p*-TsOH (rozdział 3.2.3.). Obliczona wydajność syntezy związku **198** wyniosła 10%.

Natomiast w przypadku związku o najwyższym R<sub>f</sub> określenie struktury okazało się bardziej skomplikowane. Wykonane widma <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR sygnalizowały, że związek posiada w swojej strukturze dwie reszty cukrowe. Pewnych informacji dostarczyły także widma protonowego rezonansu jądrowego, z których wynikało, że związek nie posiada protonu N9-H

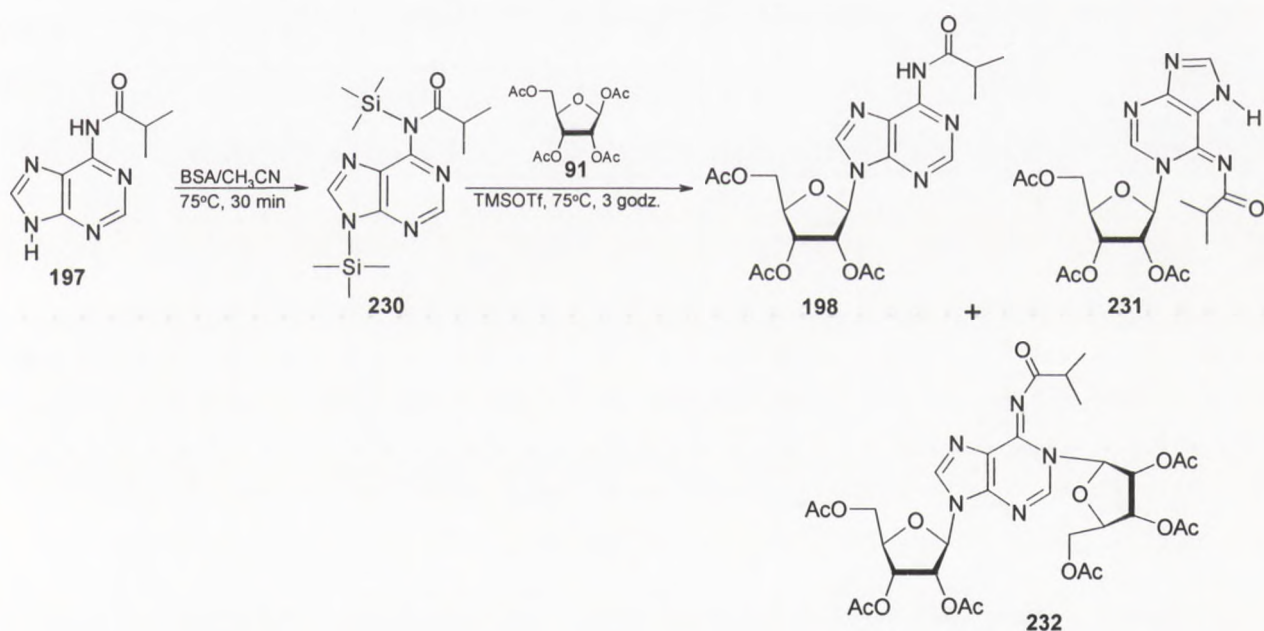


co świadczy o podstawieniu rybozą w pozycji N9, nie obserwowano także sygnału od protonu N<sup>6</sup>-H.

Szczegółowe dane strukturalne otrzymano po wykonaniu widm <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HMBC oraz TOSCY. Analiza widm TOCSY, gdzie obserwowano korelację wszystkich protonów należących do jednego układu spinowego, pozwoliła na wyodrębnienie poszczególnych sygnałów pochodzących od jednej jak i drugiej rybozy. Natomiast na podstawie widm <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HMBC oraz NOE ustalono, że zasada podstawiona jest w pozycji N9 oraz N1. Zatem otrzymany produkt jest związkiem o strukturze N<sup>6</sup>-izobutyrylo-1,9-bis-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofozanozyl)-adeniny. Znając masę związku (**232**) obliczono procentową wydajność jego otrzymywania, która wyniosła 5%.

Tak więc udało się wyizolować dwa powstające w wyniku reakcji regioizomery adenozyiny oraz związek 1,9-dipodstawiony, który był przewidywanym związkiem pośrednim w procesie transglikozylacji 1→9.

Syntezę obu regiomerów (**231**, **198**) oraz związku 1,9-podstawionego (**232**) przedstawiono na schemacie 71.



Schemat 71

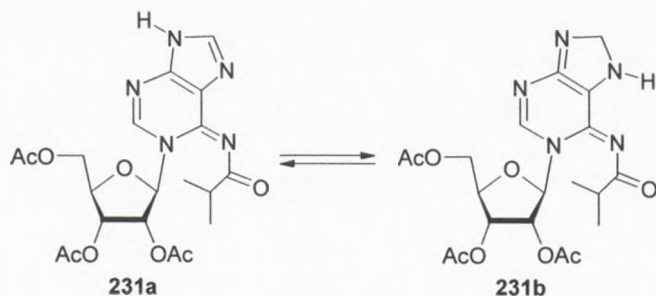
Omawiając szczegółowo strukturę kinetycznego produktu rybozylacji, 1-regioizomeru adenozyiny (**231**) należy dodać, że metodami NMR nie udało się ostatecznie ustalić położenia protonu N-H w pierścieniu imidazolowym. Widmo <sup>1</sup>H NMR wykonane w DMSO-d<sub>6</sub> może sugerować, że w tym rozpuszczalniku mamy do czynienia z mieszaniną tautomerów N9-H (**231a**) i N7-H (**231b**).

The first part of the paper discusses the importance of the study and the objectives of the research. It highlights the need for a comprehensive understanding of the subject matter and the role of the researcher in this process. The second part of the paper describes the methodology used in the study, including the data collection methods and the analysis techniques. The third part of the paper presents the results of the study and discusses their implications. The final part of the paper concludes the study and provides recommendations for future research.



Figure 1

The results of the study show that there is a significant relationship between the variables studied. The data indicates that as the independent variable increases, the dependent variable also increases. This relationship is supported by the statistical analysis performed on the data. The findings of this study have important implications for the field of study and provide a basis for further research.



Schemat 72

Przesunięcie chemiczne tego protonu  $\delta = 12.36\text{-}13.13$  ppm wyklucza raczej tautomer  $N^6\text{-H}$ , który występuje przy niższych częstościach, np. proton  $N^6\text{-H}$  w związku **198** ma przesunięcie chemiczne 10.73 ppm. Do podobnych wniosków może prowadzić analiza widm w ultrafiolecie. Widmo związku **231** różni się bowiem wyraźnie od widma 1,9-dipodstawionej pochodnej **232**, jak to przedstawiono już wcześniej. Fakty te świadczą, że związek **231** może występować w roztworze jako tautomer  $N^7\text{H}$  (**231b**), albo jako mieszanina tautomerów (**231a** i **231b**).

W wyniku analogicznej reakcji kondensacji  $N^6$ -izobutyryloadeniny (**197**) z komponentem cukrowym **91** wobec BSA i TMSOTf prowadzonej przez 4 godziny, w temperaturze  $70^\circ\text{C}$  otrzymano także mieszaninę trzech związków (**198**, **231** i **232**). Jednak ich wydajności były różne w stosunku do poprzedniej reakcji: związek **231** wyizolowano z wydajnością 16.3%, 9-regioizomer (**198**) z wydajnością 23.1%, natomiast produkt 1,9-dipodstawiony (**232**) z wydajnością 7.6%.

Z przeprowadzonych badań wynika, że prowadzenie reakcji przez dłuższy czas powoduje zwiększenie wydajności 9-podstawionego związku (**198**), natomiast wydajność syntezy 1-regioizomeru (**232**) ulega zmniejszeniu, co może świadczyć o kinetycznym charakterze tego związku oraz o tendencji do przechodzenia w trwalszy 9-nukleozyd.

W kolejnym etapie badań przeprowadzono syntezę nukleozydu metodą siliową z zastosowaniem HMDS.  $N^6$ -izobutyryloadeninę (**197**) rozpuszczono w HMDS wobec katalitycznych ilości siarczanu (VI) amonu w temperaturze  $135^\circ\text{C}$  i atmosferze argonu. Otrzymany klarowny roztwór odparowano do sucha pod zmniejszonym ciśnieniem, rozpuszczono w bezwodnym acetonitrylu i dodano 1,2,3,5-tetra-O-acetyloribofuranozy (**91**) oraz TMSOTf jako katalizatora. Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 2 godziny. Analiza TLC przeprowadzona w fazie chloroform-metanol 9:1 pokazała fakt powstawania trzech związków o  $R_f=0.81$ , 0.7, 0.58, takich samych jak w poprzednich eksperymentach. Główny produkt o  $R_f=0.7$  powstawał z szacunkową wydajnością około 30% natomiast pozostałe dwa produkty z wydajnością po około 5%. Mieszaninę reakcyjną po





odparowaniu pod zmniejszonym ciśnieniem poddano rozdzielni z wykorzystaniem chromatografii kolumnowej, jako eluent stosując fazę chloroform-acetonitryl 2:1 → 1:1. Produktu o najniższym  $R_f$  nie udało się wyizolować, natomiast pozostałe dwa związki po wyizolowaniu poddano charakterystyce UV i  $^1\text{H}$  NMR. Analiza widm potwierdziła, że wyizolowane związki to:  $\text{N}^6$ -izobutyrylo-1,9-bis-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adenina (**232**) powstająca z wydajnością 4.3% oraz  $\text{N}^6$ -izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)-adenina (**198**) otrzymana z wydajnością 21%.

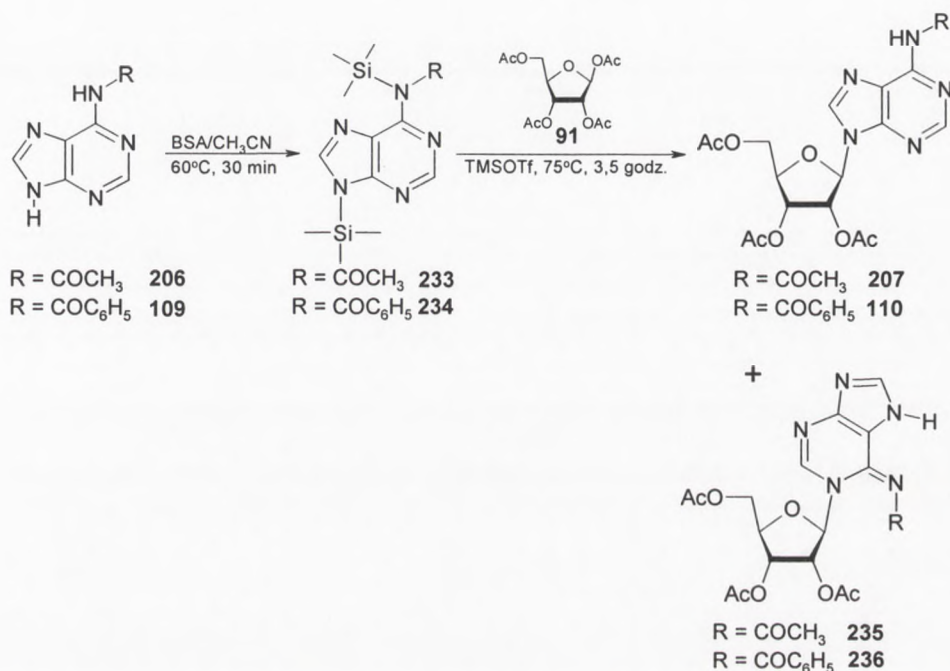
Na podstawie przeprowadzonych badań reakcji syntezy nukleozydów metodą sililową, można wyciągnąć wniosek, że związek **231** jest kinetycznym produktem reakcji przechodzącym w termodynamicznie trwałe  $\text{N}^9$ -nukleozyd **198**, a proces 1→9 transglikozylacji zachodzi przez związek 1,9-dipodstawiony **232**. Jednak potwierdzenie tych założeń wymagało dalszych badań, które opisano w kolejnych rozdziałach.

Następnie przeprowadzono próbę glikozylacji  $\text{N}^6$ -benzoiloadeniny (**109**), jako czynnik sililujący zastosowano BSA w suchym acetonitrylu i atmosferze argonu, a jako katalizator użyto TMSOTf (3.5 godziny,  $60^\circ\text{C}$ ). Analiza TLC pokazała tworzenie się dwóch głównych produktów reakcji. Związek o wyższym  $R_f$  poruszał się analogicznie jak  $\text{N}^6$ -benzoilo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adenina (**110**) w układzie chloroform-metanol 9:1 oraz toluen-etanol 4:1 i powstawał z szacowaną wydajnością około 10%. Natomiast produkt o nieco wyższym  $R_f$  od substratu powstawał z wydajnością około 30-40%. Przereagowanie  $\text{N}^6$ -benzoiloadeniny (**109**) wyniosło około 50%. Reakcję zakończono przez ochłodzenie, dodanie chlorku metylenu i ekstrahowano kwaśnym węglanem sodu. Po wysuszeniu bezwodnym siarczanem warstwy organicznej i odparowaniu pod zmniejszonym ciśnieniem przeprowadzono rozdział mieszaniny reakcyjnej na kolumnie chromatograficznej stosując jako eluent fazę chloroform-metanol w gradiencie stężenia 98:2 → 9:1. W wyniku rozdzielni odzyskano 62.2% nieprzereagowanej  $\text{N}^6$ -benzoiloadeniny (**109**), wyizolowano  $\text{N}^6$ -benzoilo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)-adeninę (**110**) z wydajnością 7.9% oraz związek o niższym  $R_f$ . Analiza spektroskopowa (UV,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR) potwierdziła fakt otrzymania 9-podstawionego nukleozydu (**110**), pozwoliła także na scharakteryzowanie struktury drugiego związku jako  $\text{N}^6$ -benzoilo-1-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeninę (**236**), której wydajność syntezy wyniosła 30.2%. Otrzymane widma  $^1\text{H}$  NMR obu związków były podobne do odpowiednich widm pochodnych w serii izobutyrylowej. Widmo protonowego rezonansu jądrowego produktu **236** także i w tym przypadku wykonane w  $\text{DMSO-d}_6$  posiadało niewyraźne, rozmyte sygnały pochodzące od protonów N-H, 8-H, 2-H oraz C1'-H. Dopiero zmiana rozpuszczalnika na  $\text{CDCl}_3$  spowodowała wyostrenie tych sygnałów, dzięki czemu jednoznacznie potwierdzono, że mamy do czynienia ze związkiem podstawionym w pozycji N1 rybozą. W widmie występował



charakterystyczny sygnał występujący przy 12.65 ppm pochodzący od protonu w pozycji N9-H lub N7-H (dokładnej pozycji proton nie udało się ustalić). Natomiast w przypadku związku **110** występował sygnał charakterystyczny dla protonu w pozycji N<sup>6</sup>-H (10.73 ppm).

Analogiczna reakcja prowadzona przez 66 godzin doprowadziła do 90% przereagowania związku **236** i powstania z dużą wydajnością 9-regioizomeru adenozyiny (**110**). Proces syntezy 1- i 9-podstawionych produktów przedstawiono na schemacie 73.



Schemat 73

Kolejny eksperyment wykonano z zastosowaniem grupy acetylowej w pozycji N<sup>6</sup> adeniny. Reakcję wykonano podobnie jak z przypadku pochodnej izobutyrylowej czy benzoilowej.

Suchą N<sup>6</sup>-acetyloadeninę (**206**) oraz 1',2',3',5'-tetra-O-acetyloribofuranozę (**91**) rozpuszczono w bezwodnym acetonitrylu i w atmosferze argonu dodano BSA, ogrzewając całość do 80°C przez 30 minut, a następnie dodano TMSOTf. Reakcję prowadzono przez 90 minut. Analiza TLC prowadzona w fazie chloroform-metanol 9:1 pokazała, że po tym czasie szacunkowe przereagowanie substratu (**206**) wynosiło około 60-70%. W wyniku reakcji powstały dwa główne produkty o podobnych wydajnościach około 20-30%, zaobserwowano także powstawanie z niewielką wydajnością związku poruszającego się chromatograficznie szybciej niż **207**. Reakcję zakończono ochładzając mieszaninę reakcyjną oraz dodając chlorku metylenu. Następnie całość ekstrahowano kwaśnym węglanem sodu i suszono nad siarczanem sodu. Po odparowaniu pod zmniejszonym ciśnieniem, wyizolowano produkty reakcji przy

...the first part of the ...

...the second part of the ...

...the third part of the ...

...the fourth part of the ...

...the fifth part of the ...

...the sixth part of the ...

...the seventh part of the ...

...the eighth part of the ...

...the ninth part of the ...

pomocy kolumny chromatograficznej jako eluent stosując gradient stężenia chloroform-acetonitryl 2:1 → 1:1. Główne produkty reakcji po wyizolowaniu poddano charakterystyce za pomocą spektroskopii (UV i NMR). Związek o wyższym  $R_f$  charakteryzował się widmem w ultrafiolecie o  $\lambda_{\max}$  271.2 nm,  $\lambda_{\min}$  233.0 nm i  $\lambda_{\max}$  214.6 nm, a jego kształt był identyczny jak w przypadku N<sup>6</sup>-izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeniny. Natomiast związek o niższym  $R_f$  posiadał widmo o  $\lambda_{\max}$  312.6 nm,  $\lambda_{\min}$  252.6 nm oraz  $\lambda_{\max}$  212.4 nm, co świadczyło o podstawieniu w innej pozycji niż N3 ( $\lambda_{\max}$  295.6 nm,  $\lambda_{\min}$  253.4 nm) i N9. Dalszych danych strukturalnych dostarczyły widma protonowego rezonansu jądrowego, które pozwoliły określić strukturę związku o niższym  $R_f$  jako N<sup>6</sup>-acetylo-1-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeninę (**235**), a drugiego jako N<sup>6</sup>-acetylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeninę (**207**).

The first part of the report deals with the general situation in the country. It is noted that the economy is still in a state of stagnation and that the government has failed to implement the necessary reforms. The report then goes on to discuss the various sectors of the economy, including agriculture, industry, and services. It is pointed out that the agricultural sector is still the backbone of the economy, but that it is being neglected by the government. The industrial sector is also in a state of stagnation, and the services sector is not growing fast enough to compensate for the decline in the other sectors.

The second part of the report deals with the social situation in the country. It is noted that the population is still growing rapidly, and that the government has failed to provide adequate social services. The report then goes on to discuss the various social problems, including unemployment, poverty, and ill health. It is pointed out that the government has failed to address these problems, and that the situation is becoming increasingly dire.

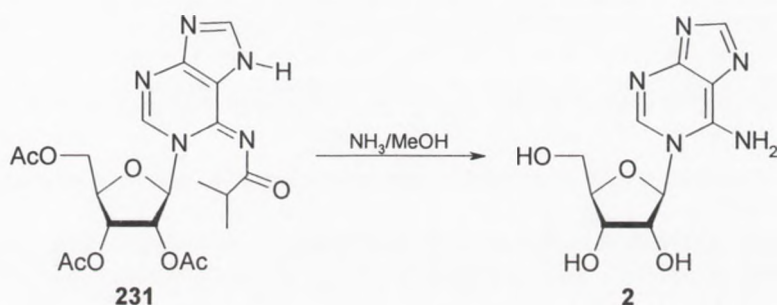
The third part of the report deals with the political situation in the country. It is noted that the government is still in power, but that it is facing increasing opposition. The report then goes on to discuss the various political parties and movements, and the role of the military. It is pointed out that the government is not representative of the people, and that the military is still a major force in the country.

The fourth part of the report deals with the international situation in the country. It is noted that the country is still isolated, and that it has failed to establish meaningful relations with other countries. The report then goes on to discuss the various international organizations and movements, and the role of the country in the world. It is pointed out that the country is not playing a constructive role in the world, and that it is being isolated by other countries.

Continued on next page

## 3.3.3.1. Otrzymywanie i charakterystyka strukturalna 1-rybofuranozyloadeniny

Krystaliczny związek **231** poddano reakcji odblokowania metanolanem sodu w metanolu w temperaturze pokojowej, jednak w tych warunkach nie udało się uzyskać całkowitego odblokowania, nawet po 58 godzinach prowadzenia reakcji. Dopiero potraktowanie związku **231** metanolem nasyconym amoniakiem przez 23 godziny doprowadziło do powstania produktu odblokowania, który wypadał z roztworu jako drobnokrystaliczny proszek (wydajność procesu 93%). Produkt krystalizowano z wody, a następnie poddano charakterystyce spektroskopowej (UV,  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  NMR) oraz analizie rentgenograficznej, które potwierdziły strukturę związku jako 1-(rybofuranozylo)adeninę (**2**). Reakcję odblokowania przedstawiono na schemacie 74.



Schemat 74

W reakcji odblokowania związku **231** stwierdzono więc nieoczekiwaną trudność w usunięciu grupy  $\text{N}^6$ -acylowej, w porównaniu z odblokowaniem izomerów 9-podstawionych. Podobne trudności zostały zauważone wcześniej przez Ryana, Actona i Godmana<sup>74</sup> w przypadku odblokowania produktu analogicznej rybozylacji  $\text{N}^6$ -benzoiloadeniny metodą sililową o domniemanej strukturze  $\text{N}^6$ -benzoilo-7-(2',3',5'-tri-O-benzoilorybofuranozylo)adeniny. Odblokowanie tego związku z użyciem metanolanu sodu w metanolu doprowadziło do końcowego produktu z wydajnością zaledwie 5%. Ta niska wydajność odblokowania, kłopoty z wyodrębnieniem końcowego produktu, a także fakt, że do określenia struktury tego związku autorzy użyli jedynie spektroskopii w podczerwieni i ultrafiolecie, mogło spowodować prawdopodobnie błędne określenie tej struktury jako 7-izomeru adenozyliny.

Widmo  $^1\text{H}$  NMR związku **2** wykonane w  $\text{DMSO-d}_6$  posiadało bardzo szeroki sygnał pochodzący od dwóch protonów grupy egzoaminowej  $\text{N}^6$  (6.2 ppm - 7.7 ppm), natomiast wszystkie inne sygnały pochodzące od protonów pierścienia purynowego i rybozy były wyraźne.

Krystaliczną 1-(rybofuranozylo)adeninę (**2**) uzyskaną w wyniku odblokowania poddano analizie rentgenograficznej, w wyniku której związek zakwalifikowano do grupy przestrzennej  $P 2_1$ , gdzie w komórce elementarnej znajdują się dwie cząsteczki nukleozydu. Z uzyskanych



The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It emphasizes that every entry should be supported by a valid receipt or invoice. This not only helps in tracking expenses but also ensures compliance with tax regulations. The document further outlines the procedures for handling discrepancies and the role of the accounting department in reconciling accounts.

In the second section, the focus is on budgeting and financial forecasting. It provides a detailed breakdown of the current year's budget and compares it with the previous year's performance. The document highlights areas where costs have been reduced and offers suggestions for further optimization. It also discusses the impact of market conditions on the company's financial outlook and provides a forecast for the next fiscal year.

The third part of the document addresses the issue of asset management. It details the process of inventorying physical assets and ensuring their proper maintenance. The document also covers the depreciation of fixed assets and the impact of asset disposal on the company's financial statements. It stresses the importance of regular audits to verify the accuracy of the asset register.

The fourth section discusses the company's financial reporting requirements. It outlines the schedule for preparing financial statements and the format in which they should be presented. The document also provides a checklist of items to be included in each report to ensure completeness and accuracy. It further discusses the process of reviewing and approving these reports and the role of external auditors in verifying the company's financial health.

In the fifth part, the document focuses on the management of financial risks. It identifies the various risks that the company faces, such as currency fluctuations, interest rate changes, and credit defaults. It then describes the strategies used to mitigate these risks, including the use of derivatives and credit insurance. The document also discusses the importance of regular risk assessments and the role of the risk management committee.

The sixth section covers the company's financial policies and procedures. It provides a comprehensive overview of the rules governing financial transactions, including the approval process for large expenditures and the handling of petty cash. The document also outlines the procedures for managing accounts payable and receivable, ensuring that the company maintains a healthy cash flow.

The seventh part of the document discusses the company's financial performance over the past year. It provides a detailed analysis of the key financial indicators, such as revenue, profit, and cash flow. The document compares the company's performance against its targets and industry benchmarks, highlighting areas of strength and weakness. It also discusses the reasons for any variances and provides a plan of action to address them.

In the eighth section, the document focuses on the company's financial strategy for the future. It outlines the long-term goals and the key initiatives that will be undertaken to achieve them. The document also discusses the role of financial management in supporting the company's overall business strategy and the importance of maintaining a strong financial foundation.

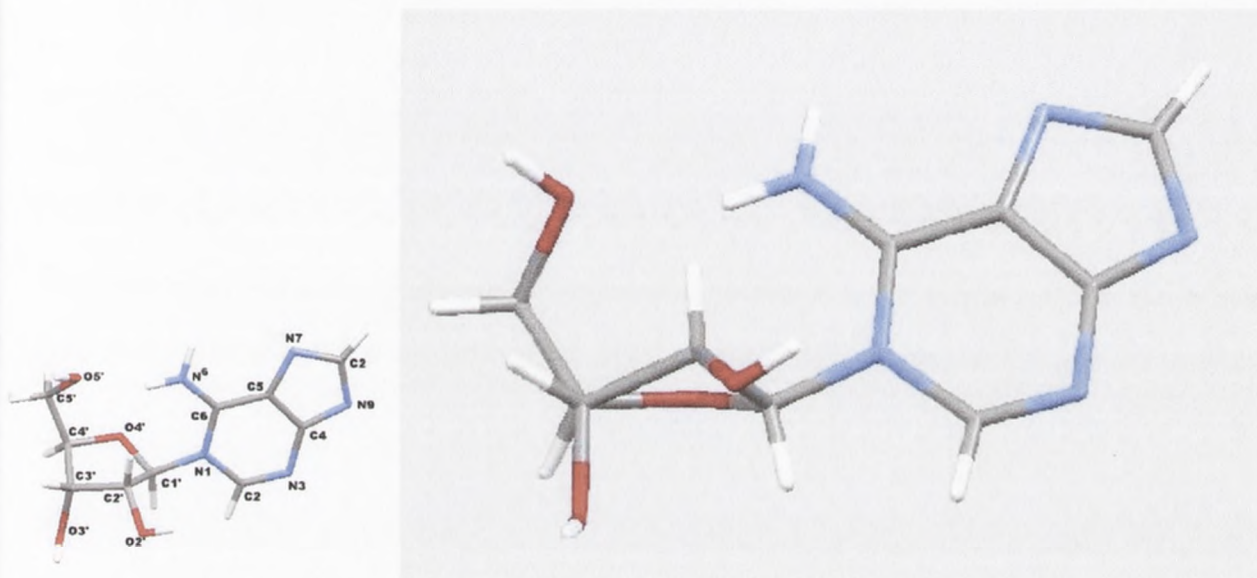
The ninth part of the document covers the company's financial compliance requirements. It details the various regulations and standards that the company must adhere to, including those related to accounting, taxation, and financial reporting. The document also discusses the measures taken to ensure compliance and the role of the compliance department in monitoring and reporting on these matters.

The final section of the document provides a summary of the key findings and recommendations. It reiterates the importance of maintaining accurate financial records and the need for regular audits. It also highlights the areas where the company has made significant improvements and offers suggestions for further enhancing its financial performance. The document concludes with a statement of confidence in the company's financial future and a commitment to transparency and accountability.

### 3. Badania własne

danych krystalograficznych obliczono kąty torsyjne obu cząsteczek: ( $\nu_0$ ) C4'-O4'-C1'-C2' (-28.85° i -28.18°), ( $\nu_1$ ) O4'-C1'-C2'-C3' (42.16° i 42.13°), ( $\nu_2$ ) C1'-C2'-C3'-C4' (-38.52° i -38.93°), ( $\nu_3$ ) C2'-C3'-C4'-O4' (23.42° i 23.86°), ( $\nu_4$ ) C3'-C4'-O4'-C1' (3.10° i 2.46°), a na ich podstawie wyznaczono kąty fazowe pseudorotacji P=156.84° oraz P=157.79°. Tak więc ryboza znajduje się w konformacji <sup>2</sup>E czyli C2'-endo. Szczegółowe dane krystalograficzne przedstawiono w części eksperymentalnej.

Przestrzenną strukturę otrzymanej 1-(rybofuranozylo)adeniny (**2**) przedstawiono na rysunku 2 (rzut wzdłuż wiązania C3'-C4').



Rysunek 2

Duże trudności przy usuwaniu grupy benzoilowej z atomu N<sup>6</sup> zaobserwowano także w przypadku próby odblokowywania N<sup>6</sup>-benzoilo-1-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeniny (**236**). Związek ten po rozpuszczeniu w metanolu potraktowano 25% roztworem amoniaku w wodzie. Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 4 godziny. Analiza TLC pokazała tworzenie się jednego, głównego produktu reakcji powstającego z około 50% wydajnością, który posiadał jednak R<sub>f</sub> wyższy od całkowicie odblokowanego 1-nukleozydu (**2**). Wyizolowany produkt poddano charakterystyce NMR. Widmo protonowego rezonansu jądrowego wykazało, że związek ten posiada grupę benzoilową w pozycji N<sup>6</sup>. Strukturę otrzymanego produktu określono jako N<sup>6</sup>-benzoilo-9-(rybofuranozylo)adeninę (**237**), powstającego z wydajnością 44%.

The first step in the synthesis of the copolymer is the preparation of the monomers. The monomers are prepared by the reaction of the starting materials in the presence of a catalyst. The reaction conditions are as follows: temperature, 100°C; time, 24 hours; solvent, toluene. The monomers are then purified by distillation and stored under nitrogen.

The copolymerization of the monomers is carried out in a three-necked round-bottomed flask equipped with a mechanical stirrer, a nitrogen inlet, and a thermometer. The reaction mixture is prepared by adding the monomers and the catalyst to the flask. The reaction is carried out at 100°C for 24 hours. The copolymer is then precipitated into methanol and purified by reprecipitation.

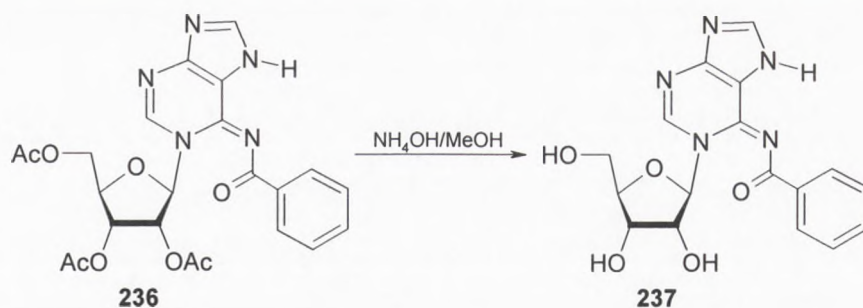
The copolymer is characterized by its molecular weight and its composition. The molecular weight is determined by gel permeation chromatography (GPC) and the composition is determined by elemental analysis.



Figure 1

The copolymerization of the monomers is carried out in a three-necked round-bottomed flask equipped with a mechanical stirrer, a nitrogen inlet, and a thermometer. The reaction mixture is prepared by adding the monomers and the catalyst to the flask. The reaction is carried out at 100°C for 24 hours. The copolymer is then precipitated into methanol and purified by reprecipitation.

The copolymer is characterized by its molecular weight and its composition. The molecular weight is determined by gel permeation chromatography (GPC) and the composition is determined by elemental analysis.



Schemat 75

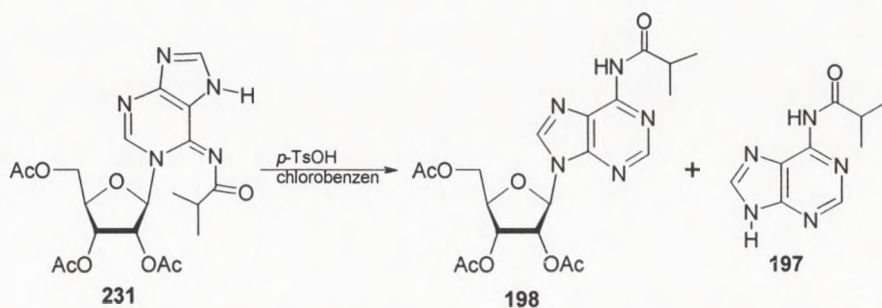
Postanowiono zastosować więc podobne warunki jak w przypadku odblokowywania N<sup>6</sup>-izobutyrylo-1-(triacetyloribofuranozylo)adeniny (**231**). Związek **236** rozpuszczono w metanolu nasyconym amoniakiem, reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 43 godziny. Analiza TLC wykazała, powstawanie kilku produktów. Związek o najniższym R<sub>f</sub> poruszał się chromatograficznie jak 1-(rybofuranozylo)adenina **2**, jednak jego wydajność była stosunkowo niewielkiego rzędu 5-8%.



### 3.3.3.2. Reakcje N<sup>6</sup>-izobutyrylo-1-(2',3',5'-tri-O-acetylobofuranozylo)adeniny w warunkach transglikozylacji

Chcąc potwierdzić wcześniejszą tezę, że N<sup>6</sup>-izobutyrylo-1-(2',3',5'-O-acetylobofuranozylo)adenina (**231**) jest produktem kinetycznym reakcji syntezy 9-nukleozydu przeprowadzono reakcję jej izomeryzacji w bezwodnym chlorobenzenu wobec kwasu *p*-toluenosulfonowego jako katalizatora oraz metodą stapania (220°C, bez stosowania rozpuszczalnika i katalizatora).

Izomeryzację związku **231** prowadzono w chlorobenzenu wobec 10% molowych kwasu *p*-TsOH ogrzewając mieszaninę do temperatury wrzenia rozpuszczalnika przez 8 minut. Analiza TLC reakcji prowadzona w fazie chloroform-metanol 95:5 pokazała tworzenie się dwóch głównych produktów reakcji ( $R_f=0.35$  i  $0.61$ ) oraz trzeciego związku, który widoczny był tylko przez pierwsze minuty reakcji, o najwyższym  $R_f$  ( $0.77$ ), a powstający z bardzo małą wydajnością. Produkt o najniższym  $R_f$  poruszał się chromatograficznie analogicznie do N<sup>6</sup>-izobutyryloadeniny (**197**), związek o  $R_f=0.61$  jak 9-izomer **198**, natomiast produkt o najwyższym  $R_f$  poruszał się jak N<sup>6</sup>-izobutyrylo-1,9-bis-(2',3',5'-tri-O-acetylobofuranozylo)-adenina (**232**), którego wydajność oszacowano na około 1-2%. W trakcie prowadzenia reakcji na płycie TLC obserwowano stopniowe przybywanie produktów o  $R_f=0.35$  i  $0.61$  oraz zmniejszanie stężenia substratu (**231**), który po 8 minutach zanikł całkowicie. Po ogrzaniu płytki obserwowano także rybozę o  $R_f=0.72$ . Powstające w reakcji związki (**197** i **198**) wyizolowano przy pomocy chromatografii kolumnowej stosując jako eluent fazę chloroform-metanol w gradencie stężenia 98:2 → 95:5, a następnie scharakteryzowano przy pomocy spektroskopii w ultrafiolecie. Strukturę związku o  $R_f=0.35$  określono jako N<sup>6</sup>-izobutyryloadeninę (wydajność 45.1%), natomiast produkt o  $R_f=0.61$  jako N<sup>6</sup>-izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylobofuranozylo)adeninę (wydajność 45.6%). Produktu o najwyższym  $R_f$  nie udało się wyizolować ze względu na jego całkowite przereagowanie po 8 minutach. Oba otrzymane w reakcji związki (**197**, **198**) przedstawiono na schemacie 76.



Schemat 76

THE HISTORY OF THE UNITED STATES

FROM THE EARLIEST PERIOD TO THE PRESENT

BY JOHN W. FOSTER

NEW YORK: G. P. PUTNAM'S SONS

1892

Copyright, 1892, by G. P. Putnam's Sons

Printed in Great Britain

By the University Press, Cambridge

and by the University Press, London

and by the University Press, Edinburgh

and by the University Press, Glasgow

and by the University Press, Aberdeen

and by the University Press, Belfast

and by the University Press, Cardiff

and by the University Press, Dublin

and by the University Press, Exeter

and by the University Press, Gloucester

and by the University Press, Hereford

and by the University Press, Ipswich

and by the University Press, Lancaster

and by the University Press, Leicester

and by the University Press, Lichfield

and by the University Press, Lincoln

and by the University Press, London

Tak więc w wyniku ogrzewania N1-postawionego związku (**231**) otrzymano 9-podstawioną pochodną (**198**) oraz „wolną” N<sup>6</sup>-blokowaną adeninę (**197**), powstającą w wyniku rozerwania wiązania N-glikozydowego w N1-podstawionym związku, który jest w tym przypadku donorem reszty cukrowej niezbędnym do zajścia transglikozytacji, która zachodzi według schematu 1→9.

W kolejnym etapie badań izomeryzacji związku **231** przeprowadzono analogiczną reakcję do przedstawionej powyżej, z zastosowaniem dłuższego czasu i niższej temperatury (30 minut, 112°C). Analiza TLC pokazała, że w wyniku reakcji substrat **231** całkowicie przereagował, a obserwowana szacunkowa wydajność powstawania 9-izomeru (**198**) jest dużo niższa niż w reakcji przeprowadzonej w temperaturze wrzenia chlorobenzenu. W tym przypadku otrzymano znacznie większe ilości związku **197**. Przyczyną tego jest najprawdopodobniej zbyt niska temperatura, która ma istotny wpływ na dostarczenie reagentom odpowiedniej energii aktywacji do przeprowadzenia nukleofilowego ataku pary elektronowej atomu azotu na kation cukrowy.

Przypuszczenie to zostało potwierdzone po przeprowadzeniu podobnej reakcji w temperaturze 60°C, w wyniku której obserwowano tylko dekompozycję związku **231** do N<sup>6</sup>-izobutyryloadeniny (**197**), w tym przypadku nie zauważono powstawania 9-nukleozydu (**198**). W niskiej temperaturze zostaje rozerwane jedynie wiązanie N-glikozydowe w wyjściowym N1-podstawionym związku, dostarczona energia jest zbyt niska do zainicjowania reakcji tworzenia nowego wiązania N-glikozydowego. Nie zachodzi więc nukleofilowy atak na kation cukrowy.

Postanowiono także przeprowadzić próbę izomeryzacji N1-podstawionej pochodnej adenozyiny metodą stapiania. Związek **231** ogrzewano przez 3 minuty w temperaturze 220°C bez rozpuszczalnika oraz katalizatora. Analiza TLC reakcji pokazała powstawanie także i tym przypadku 9-nukleozydu (**198**) oraz N<sup>6</sup>-izobutyryloadeniny.

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że N1-podstawiony związek **231** jest kinetycznym produktem reakcji rybozylacji N<sup>6</sup>-blokowanej adeniny, który w warunkach transglikozytacji przechodzi w termodynamicznie trwalszy 9-nukleozyd **198**. Zaproponowany mechanizm tego procesu przedstawiono w rozdziale 3.3.3.4.

Analogiczną reakcję izomeryzacji przeprowadzono także w przypadku N<sup>6</sup>-benzoilo-1-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeniny (**236**). Związek ten ogrzewano wobec kwasu *p*-toluenosulfonowego we wrzącym chlorobenzenu przez 15 minut, w wyniku czego otrzymano z wydajnością około 70% (według TLC) N<sup>6</sup>-benzoilo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)-adeninę (**110**) oraz N<sup>6</sup>-benzoiloadeninę (**109**) z wydajnością około 20% (schemat 77).



The first part of the paper discusses the importance of the curriculum in the context of the current educational reforms in the United Kingdom. It highlights the need for a more coherent and balanced curriculum that addresses the diverse needs of all learners.

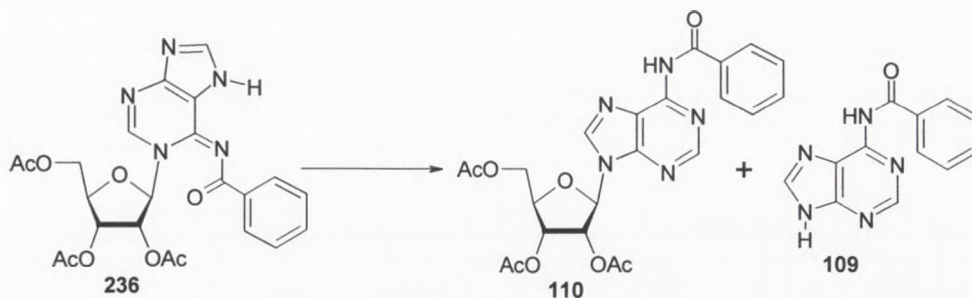
The second part of the paper examines the role of the teacher in the curriculum process. It argues that teachers should be seen as curriculum designers rather than just deliverers of a pre-determined syllabus. This requires a shift in the way teachers are trained and supported in their schools.

The third part of the paper explores the challenges of implementing a new curriculum. It identifies the need for a strong leadership team, effective communication, and ongoing professional development for all staff. It also discusses the importance of involving parents and the wider community in the process.

The fourth part of the paper discusses the role of the curriculum in promoting social and moral education. It argues that the curriculum should provide a common framework of values and beliefs that underpins the national identity and prepares young people for life in a democratic society.

The final part of the paper concludes by summarizing the key points and offering some suggestions for further research and action. It emphasizes the need for a collaborative approach to curriculum development and implementation that involves all stakeholders in the educational system.

Także w wyniku ogrzewania N<sup>6</sup>-benzoilo-1-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)-adeniny (**236**) w temperaturze 220°C przez 5 minut bez katalizatora i rozpuszczalnika, otrzymano około 50% związku **110** oraz około 10% N<sup>6</sup>-benzoiloadeniny (**109**).



Schemat 77

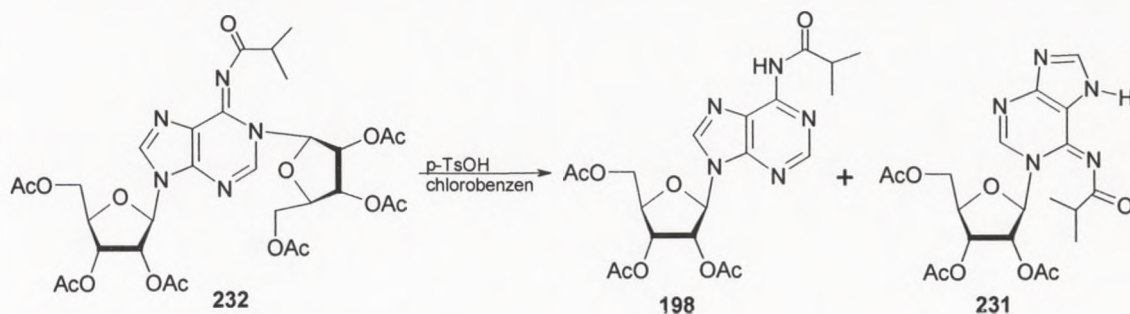
Przeprowadzone reakcje izomeryzacji pozwoliły potwierdzić tezę, że związek podstawiony rybozą na atomie N1 jest kinetycznym produktem reakcji kondensacji N<sup>6</sup>-acylowej pochodnej adeniny z komponentem cukrowym przy zastosowaniu metody silylowej. Produkt ten następnie ulega przemianie do odpowiedniego 9-nukleozydu, termodynamicznie bardziej trwałego. Proces ten ma charakter nieodwracalnej 1→9 transglikozylacji i zachodzi przez związek pośredni 1,9-dipodstawiony rybozą.



### 3.3.3.3. Badanie procesu dekompozycji N<sup>6</sup>-izobutyrylo-1,9-bis-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeniny w warunkach transglukozylacji

Badanie procesu dekompozycji N<sup>6</sup>-izobutyrylo-1,9-bis-(2',3',5'-O-acetyloribofuranozylo)adeniny (**232**) prowadzono tak jak w przypadku izomeryzacji N<sup>6</sup>-izobutyrylo-1-(2',3',5'-O-acetyloribofuranozylo)adeniny (**231**). Związek **232** rozpuszczono w bezwodnym chlorobenzenu wobec 10% molowych *p*-TsOH jako katalizatora. Mieszaninę ogrzewano w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 10 minut. Analiza TLC reakcji dekompozycji związku 1,9-dipodstawionego prowadzona w układzie chloroform-metanol 9:1 oraz chloroform-acetonitril 2:1 pokazała tworzenie się dwóch produktów reakcji o R<sub>f</sub> niższych od substratu. Szacunkowa wydajność związku o najniższym R<sub>f</sub> wyniosła około 10%, natomiast wydajność związku o wyższym R<sub>f</sub> około 60%. Produkt poruszający się chromatograficznie szybciej posiadał R<sub>f</sub> identyczny z N<sup>6</sup>-izobutyrylo-9-(2',3',5'-O-acetyloribofuranozylo)adeniną (**198**), natomiast R<sub>f</sub> drugiego związku odpowiadał N<sup>6</sup>-izobutyrylo-1-(2',3',5'-O-acetyloribofuranozylo)adeninie (**231**). Produkt o wyższym R<sub>f</sub> wyizolowano i scharakteryzowano za pomocą UV i <sup>1</sup>H NMR jako związek **198**, niestety drugiego związku nie udało się wyizolować ze względu na jego niewielką wydajność. Widmo w ultrafiolecie wyizolowanego związku o λ<sub>max</sub> 272.2 nm i λ<sub>min</sub> 232.6 nm wykazało, że jest to rzeczywiście 9-izomer, co potwierdzono także wykonując widma protonowego rezonansu jądrowego, gdzie zaobserwowano charakterystyczny sygnał pochodzący od N9-podstawionego związku o przesunięciu 10.73 ppm, który odpowiada protonowi w pozycji N<sup>6</sup>-H. Dzięki przeprowadzonej reakcji potwierdzono, że głównym produktem rozpadu związku **232** jest N9-podstawiony nukleozyd **198**.

Reakcja rozerwania wiązania N1-glikozydowego w 1,9-dipodstawionym związku zachodzi w tych warunkach (wysoka temperatura, katalizator) bardzo szybko, a tylko w niewielkim stopniu dotyczy to wiązania N9-glikozydowego. Na schemacie 78 przedstawiono produkty dekompozycji związku **232**.



Schemat 78

The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It emphasizes that every entry should be supported by a valid receipt or invoice to ensure transparency and accountability.

Furthermore, it is noted that regular audits are essential to identify any discrepancies or errors in the accounting process. This helps in maintaining the integrity of the financial data and ensures compliance with relevant regulations.

In addition, the document highlights the need for clear communication between all stakeholders involved in the financial operations. Regular meetings and reports should be conducted to keep everyone informed about the current financial status and any upcoming challenges.

It is also stressed that the financial team should stay updated with the latest market trends and economic indicators. This knowledge is crucial for making informed decisions and developing effective financial strategies.

The document concludes by reiterating the commitment to high standards of financial management. It encourages all employees to take ownership of their financial responsibilities and contribute to the overall success of the organization.

Finally, it is advised to seek professional advice from accountants or financial consultants when needed. Their expertise can provide valuable insights and help in navigating complex financial situations.

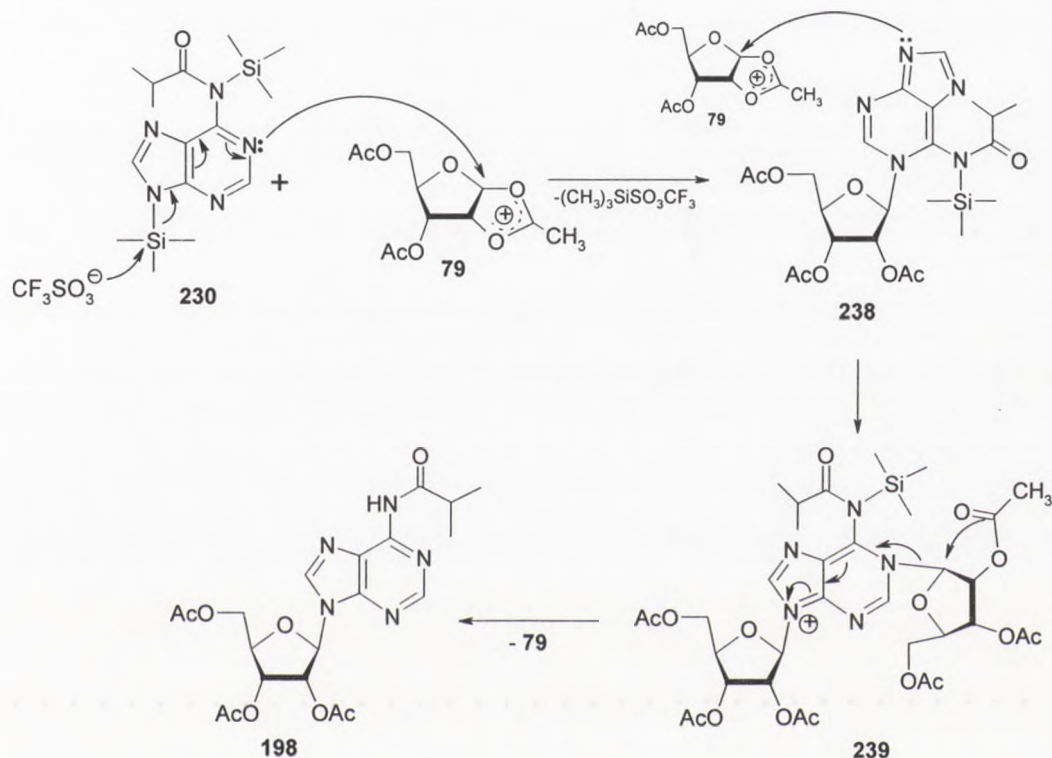
The document is signed by the Chief Financial Officer, who expresses confidence in the team's ability to manage the organization's finances effectively and responsibly.

For more information or to request a copy of this document, please contact the Finance Department at [contact information].

This document is confidential and should be handled accordingly. Any unauthorized disclosure of its contents is strictly prohibited.

## 3.3.3.4. Mechanizm reakcji rybozylacji metodą siliową

Łącząc przedstawione w powyższych rozdziałach fakty dotyczące reakcji rybozylacji  $N^6$ -acylowanej adeniny zaproponowano mechanizm powstawania produktu kinetycznego 1-nukleozydu i jego izomeryzację do termodynamicznego 9-podstawionego nukleozydu, który przedstawiono na schemacie 79 (dla pochodnej  $N^6$ -izobutyrylowej). Proces ten wygląda analogicznie przypadku  $N^6$ -benzoilowej pochodnej adeniny.



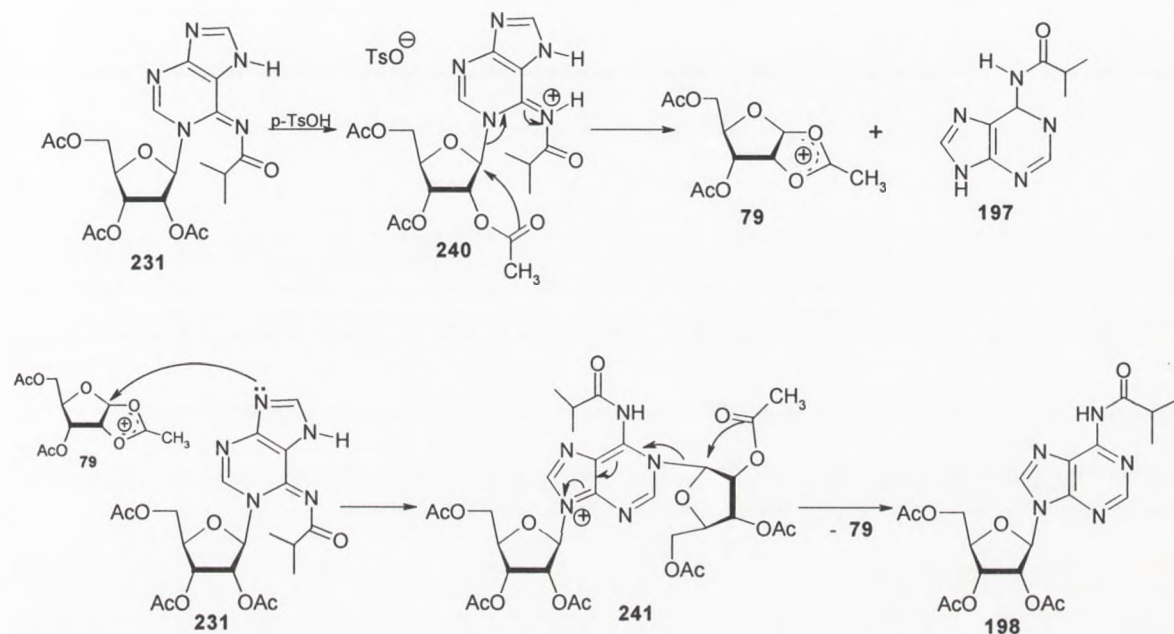
Schemat 79

W przypadku siliowych pochodnych adeniny posiadających grupę  $N^6$ -acylową nukleofilowy atak na kation cukrowy (79) wyprowadzony zostaje z pozycji N1 adeniny (230). Równocześnie w wyniku ataku anionu kwasu trifluorosulfonowego usunięta zostaje grupa trimetylosililowa z pozycji N9. W tym przypadku nie jest możliwe zaatakowanie kationu cukrowego przez parę elektronową atomu azotu N7, tak jak to miało miejsce dla nieblokowanej w pozycji  $N^6$  grupą acylową pochodnej siliowej adeniny (223). W przypadku związku 230 atom N7 jest przysłonięty przez grupę izobutyrylową. W wyniku przyłączenia cząsteczki rybozy otrzymany zostaje związek o strukturze 238 posiadający „wolną” pozycję N9, co umożliwia atak na atom C1 kationu 79, prowadzący do powstania związku 1,9-dipodstawionego rybozą 239. Dekompozycja tego produktu, usunięcie rybozy z pozycji N1 i grupy  $N^6$ -siliowej, prowadzi do



otrzymania finalnego, termodynamicznego 9-nukleozydu (**198**) oraz odtworzenia kationu cukrowego.

Na podstawie przeprowadzonych eksperymentów izomeryzacji wyizolowanego 1-nukleozydu do 9-podstawionego rybozą związku w warunkach transglikozylacji (kwas protonujący, temperatura wrzenia chlorobenzenu) zaproponowano także mechanizm procesu nieodwracalnej 1→9 izomeryzacji, który przedstawiono na schemacie 80.



Schemat 80

W tym przypadku donorem reszty cukrowej jest N<sup>6</sup>-izobutyrylo-1-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adenina (**231**). W wyniku protonowania tego związku następuje rozerwanie wiązania N1-glikozydowego, co prowadzi do powstania kationu cukrowego **79** oraz N<sup>6</sup>-izobutyryloadeniny (**197**). Wytworzony w ten sposób kation cukrowy ulega nukleofilowemu atakowi atomu N9 cząsteczki 1-nukleozydu **231**, w wyniku czego powstaje pochodna 1,9-diglikozyloadeniny (**241**). Rozpad tego związku prowadzi do otrzymania 9-nukleozydu (**198**) oraz odtworzenia kationu **79**, który może uczestniczyć w dalszej reakcji izomeryzacji.

Podobny mechanizm zaproponować można dla reakcji dekompozycji N<sup>6</sup>-izobutyrylo-1,9-bis-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeniny (**232**) zachodzącej wobec kwasu protonującego (*p*-TsOH) we wrzącym chlorobenzenu. Mechanizm ten przedstawiono na schemacie 81.

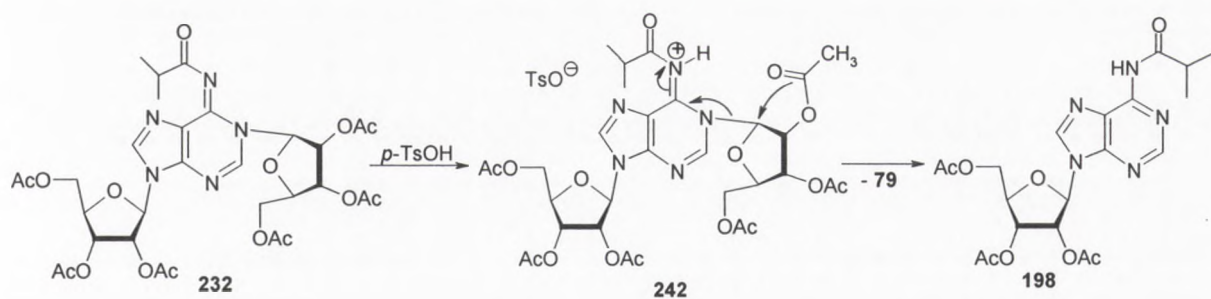


Faint, illegible text at the top of the page, possibly a header or introductory paragraph.

Main body of faint, illegible text, appearing to be several paragraphs of a document.

Lower section of faint, illegible text, possibly a conclusion or a separate section.

Faint text at the bottom of the page, possibly a footer or a signature area.



Schemat 81

Pierwszym etapem w proponowanym mechanizmie jest protonowanie atomu  $\text{N}^6$  w związku **232**, w wyniku czego otrzymana zostaje posiadająca ładunek dodatni cząsteczka o strukturze **242**, której rozpad prowadzi do otrzymania 9-nukleozydu **198** oraz kationu cukrowego **79**. Oczywiście możliwy jest też rozpad wiązania N9-glikozydowego, co obserwowano w TLC, z powstaniem kinetycznego 1-nukleozydu (**231**) oraz kationu **79**. Jednak proces dekompozycji związku **232** zachodzi w niewielkim stopniu w kierunku produktu **231**.

Analogiczne mechanizmy można także zaproponować dla  $\text{N}^6$ -benzoiłowych oraz  $\text{N}^6$ -acetylowych pochodnych adeniny.

Przeprowadzone badania reakcji kondensacji  $\text{N}^6$ -acylowych pochodnych adeniny z komponentem cukrowym, obserwacja procesu 1→9 izomeryzacji i rozpadu 1,9-diglikozyłowej pochodnej adeniny, a także przedstawione mechanizmy reakcji, w jednoznaczny sposób wykazują, że kinetycznym produktem reakcji jest w tym przypadku 1-nukleozyd. Natomiast proces nieodwracalnej 1→9 transglikozylacji zachodzi przez 1,9-dipodstawioną pochodną adeniny.

[The text on this page is extremely faint and illegible. It appears to be a list or a series of entries, possibly a table of contents or a list of references, but the specific content cannot be discerned.]

## 4. Wnioski końcowe

Cel główny niniejszej pracy, czyli weryfikacja mechanizmu glikozylacji adeniny, został zrealizowany. Ponadto przeprowadzone obserwacje reakcji transglikozylacji nukleozydowych pochodnych adeniny pozwoliły na wyciągnięcie bardziej generalnych wniosków.

1. W wyniku przeprowadzonych reakcji uzyskano wszystkie cztery możliwe regioizomery adenozyiny, to jest 1-, 3-, 7- oraz 9-rybofuranozyloadeninę. Eksperymentalnie potwierdzono, że trzy pierwsze z nich są kinetycznymi produktami reakcji rybozylacji adeniny, które następnie ulegają nieodwracalnej transglikozylacji do 9-nukleozydu. W wyniku przeprowadzonych badań określono warunki rybozylacji, w których powstają poszczególne regioizomery:

- w warunkach silnie kwasowych, gdzie prawdopodobnie pozycja N7 adeniny jest protonowana, obserwowane jest powstawanie N3-podstawionego produktu, który następnie ulega nieodwracalnej transglikozylacji 3→9 do 9-nukleozydu, jednak możliwy jest tu bardziej złożony proces izomeryzacji;
  - w reakcji rybozylacji prowadzonej z zastosowaniem odczynnika silującego oraz nieblokowanej adeniny powstający kinetyczny produkt reakcji ma strukturę 7-nukleozydu, ulega on następnie 7→9 transglikozylacji;
  - reakcja rybozylacji N<sup>6</sup>-acylowych pochodnych adeniny prowadzona metodą sililową prowadzi do uzyskania jako produktu kinetycznego 1-adenozyiny, która następnie ulega 1→9 transglikozylacji;
  - w przypadku prowadzenia reakcji glikozylacji wobec kwasu protonującego we wrzącym chlorobenzenu obserwowano tylko powstawanie termodynamicznego produktu reakcji, 9-podstawionego nukleozydu, wysoka temperatura jest prawdopodobnie przyczyną szybkiej izomeryzacji kinetycznego produktu do trwalszego termodynamicznie w tych warunkach związku.
2. Podczas prowadzenia reakcji kondensacji N<sup>6</sup>-izobutyryloadeniny (**197**) z tetraacetylo-rybofuranozą (**91**) z zastosowaniem metody sililowej, zaobserwowano tworzenie się poza 1- i 9-regioizomerami nukleozydu, także N<sup>6</sup>-izobutyrylo-1,9-bis-(2',3',5'-tri-O-acetyloribo-furanozylo)adeniny. W wyniku przeprowadzenia dekompozycji tego dipodstawionego związku otrzymano głównie 9-nukleozyd. Tak więc otrzymany związek 1,9-dipodstawiony rybozą jest ważnym elementem popierającym zaproponowany mechanizm nieodwracalnej 1→9 transglikozylacji. Kluczowym elementem w proponowanym mechanizmie jest istnienie



kationu cukrowego, cały proces glikozylacji ma charakter łańcuchowy. W wyniku rozerwania wiązania N1-glikozydowego, z „uwolnieniem” kationu cukrowego, w 1,9-dirybonukleozydzie możliwe jest powstanie nowego wiązania N1- lub N9-glikozydowego dzięki atakowi atomu azotu na atom C1 powstałego kationu cukrowego.

3. Przeprowadzone reakcje transglikozylacji związków 3-, 7-, 1-regioizomerów (**196**, **224**, **231**) wobec katalizatorów o charakterze kwasu protonującego we wszystkich trzech przypadkach doprowadziły do uzyskania odpowiedniego 9-nukleozydu. Wykazano więc, że związki te są kinetycznymi produktami reakcji w syntezie termodynamicznie trwałego 9-podstawionego nukleozydu, który posiada najbardziej trwałe wiązanie N-glikozydowe.
4. W trakcie prowadzenia reakcji glikozylacji adeniny nadmiarem estru (2-acetoksyetylo)-acetoksymetylowego wobec kwasu *p*-toluenosulfonowego obserwowano powstawanie poza 9-[(2-acetoksyetoksy)metylo]adeniną (**211**), także 1,1'-metyleno-bis-N<sup>6</sup>,N<sup>6</sup>-{9-[(2-acetoksyetoksy)metylo]adeniny} (**212**). Natomiast reakcja N<sup>6</sup>-izobutyryloadeniny (**197**) z estrem (2-acetoksyetylo)acetoksymetylowym prowadziła do otrzymania N<sup>6</sup>-izobutyrylo-9-[(2-acetoksyetoksy)metylo]adeniny oraz związku 9,N<sup>6</sup>-dipodstawionego.
5. Przeprowadzone reakcje glikozylacji adeniny pozwoliły na zaobserwowanie pewnej zależności tego procesu od rodzaju użytego komponentu cukrowego. W przypadku syntezy rybonukleozydów podstawieniu rybozą ulegają wyłącznie atomy azotu pierścienia purynowego (N1, N3, N7 lub N9), natomiast podczas syntezy acyklonukleozydów otrzymywane są także 9,N<sup>6</sup>-dipodstawione pochodne.



## 5. Część doświadczalna

### 5.1. Metody ogólne

- **Temperaturę topnienia (t.t.)** oznaczano w otwartych kapilarach przy użyciu aparatu Laboratory Devices Mel-Temp II w przypadku otrzymania krystalicznych związków.
  - **Analizy elementarne (anal.)** wykonywano w Pracowni Mikroanalitycznej Instytutu Chemii Organicznej PAN w Warszawie na analizatorze Perin-Elmer 240.
  - **Spektroskopia:**
    - **widma w ultrafiolecie (UV)** wykonywano przy pomocy spektrofotometru Perkin-Elmer Lambda EZ 201 używając metanolu lub wody jako rozpuszczalnika.
    - **widma magnetycznego rezonansu jądrowego:**
      - $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  ( $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR)** rejestrowano na aparacie Varian Unity 300 FT (częstotliwość robocza dla  $^1\text{H}$  NMR 299.949 MHz, dla  $^{13}\text{C}$  NMR 75.429 MHz). Wartości przesunięć chemicznych wyrażono w skali  $\delta$  (ppm) wobec tetrametylosilanu (TMS) jako wzorca wewnętrznego. Widma wykonano w DMSO- $d_6$ ,  $\text{CDCl}_3$  lub  $\text{D}_2\text{O}$ . Stałe sprzężenia (J) podano w Hz.
      - $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  i  $^{15}\text{N}$  ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  i  $^{15}\text{N}$  NMR)** rejestrowano na aparacie Bruker Avance 600 MHz (częstotliwość robocza dla  $^1\text{H}$  NMR 600.310 MHz,  $^{13}\text{C}$  NMR 150.963 MHz,  $^{15}\text{N}$  NMR 60.057 MHz). Wartości przesunięć chemicznych wyrażono w skali  $\delta$  (ppm) wobec tetrametylosilanu (TMS) jako wzorca wewnętrznego. Widma wykonano w DMSO- $d_6$ ,  $\text{CDCl}_3$  lub  $\text{D}_2\text{O}$ . Stałe sprzężenia (J) podano w Hz.
- stosowano następujące techniki NMR:**
- **COSY** (COrelation SpectroscopY),
  - **HMQC** (Heteronuclear Multiple Quantum Coherence),
  - **HMBC** (Heteronuclear Multiple Bond Coherence),
  - **TOCSY** (TOtally Correlated SpectroscopY),
  - **NOE** (Nuclear Overhauser Effect).
- **widma masowe (MS)** wykonano w Środowiskowym Laboratorium Unikalnych Analiz Chemicznych UAM w Poznaniu przy użyciu spektrometru AMD 604 wykorzystującą metodę LSIMS ( $\text{Cs}^+$  12 keV, NBA).



# A Child's Developmental

## 2.1. Introduction

The purpose of this study is to investigate the developmental process of children in the early years of life. The study is based on the theory of Piaget, who proposed that children's cognitive development occurs in a series of stages. The first stage is the sensorimotor stage, which lasts from birth to about two years of age. During this stage, children learn about the world through their senses and motor activities. The second stage is the pre-concrete stage, which lasts from about two to seven years of age. During this stage, children begin to use language and symbols to represent objects and events. The third stage is the concrete stage, which lasts from about seven to eleven years of age. During this stage, children can think about concrete objects and events. The fourth stage is the formal stage, which lasts from about eleven years of age to adulthood. During this stage, children can think about abstract concepts and events.

The study will focus on the first two stages of Piaget's theory, the sensorimotor and pre-concrete stages. The study will investigate how children's cognitive development changes during these stages. The study will also investigate how children's language development changes during these stages. The study will use a variety of methods to collect data, including observations, interviews, and tests. The study will also use a variety of statistical methods to analyze the data.

The study will have several contributions. First, it will provide a better understanding of the developmental process of children in the early years of life. Second, it will provide a better understanding of how children's language development changes during these stages. Third, it will provide a better understanding of how children's cognitive development changes during these stages. Fourth, it will provide a better understanding of the relationship between children's cognitive development and language development.

The study will be published in the *Journal of Child Psychology and Psychiatry*. The study will be available to the public through the *Journal of Child Psychology and Psychiatry* website. The study will be available to the public through the *Journal of Child Psychology and Psychiatry* website.

- **Analizy krystalograficzne (dane kryst.)** wykonywano na Dyfraktometrze KM4CCD firmy Oxford Diffraction.
- **Chromatografia:**
  - **Chromatografię cienkowarstwową analityczną (TLC)** wykonywano techniką wstępującą na szklanych płytkach o długości 7 cm, pokrytych żelem krzemionkowym F<sub>254</sub> typu 60 firmy Merck o grubości żelu 0.25 mm.
  - **Chromatografię preparatywną kolumnową** prowadzono na krótkich kolumnach szklanych na żelu krzemionkowym do chromatografii cienkowarstwowej firmy Merck typ 60 H.
- **Używane mieszaniny rozpuszczalników** (odmierzone w stosunkach objętościowych):
  - **A1:** chloroform-metanol 98:2
  - **A2:** chloroform-metanol 95:5
  - **A3:** chloroform-metanol 9:1
  - **A4:** chloroform-metanol 6:1
  - **A5:** chloroform-metanol 4:1
  - **B1:** toluen-etanol 9:1
  - **B2:** toluen-etanol 6:1
  - **B3:** toluen-etanol 4:1
  - **C1:** chloroform-acetonitryl 2:1
  - **C2:** chloroform-acetonitryl 1:1
  - **D1:** izopropanol-amoniak-woda 7:1:2
  - **E1:** kwas octowy-*n*-butanol-woda 5:3:2
  - **F1:** chlorek metylenu-etanol 98:2
  - **F2:** chlorek metylenu-etanol 95:5
  - **F3:** chlorek metylenu-etanol 9:1
- **Bezwodne rozpuszczalniki** przygotowywano przez destylację oraz suszenie nad sitami molekularnymi o rozmiarach: 4A (chlorobenzen, pirydyna, toluen), 3A (acetonitryl).
- **Etanol, metanol absolutny** otrzymywano przez osuszanie alkoholu w wyniku reakcji z alkoholanem magnezu.



## 5.2. Szczegółowe dane eksperymentalne

### 5.2.1. N<sup>6</sup>-Acetyloadenina (206)

Do wysuszonej w pistolecie próżniowym (78°C, 5 godzin, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) adeniny (**194**) (1.0 g, 7.4 mmol) dodano 10 mL pirydyny i 10 mL (10.82 g, 10.6 mmol) bezwodnika octowego. Powstałą zawiesinę intensywnie mieszano magnetycznie w temperaturze 70-80°C przez 24 godziny. Po tym czasie mieszaninę ochłodzono do temperatury pokojowej i odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem, otrzymując biały, gęsty olej, który kilkakrotnie współodparowano z absolutnym metanolem, a następnie z toluenem. Mieszaninę reakcyjną poddano rozdzielaniu na kolumnie chromatograficznej (12 cm x 4.5 cm) w układzie chloroform-metanol 95:5 → 6:1, w wyniku czego uzyskano 0.368 g (2.07 mmol, wydajność 28%) N<sup>6</sup>-acetyloadeniny w postaci białego osadu, który krystalizowano z gorącej wody, otrzymując drobnokrystaliczny osad (0.244 g).

**R<sub>f</sub>**: 0.25 (A3)

**t.t.**: nie topi się do 320°C (300-310°C brązowieje)

**UV (MeOH)**: λ<sub>max</sub> 280.0 nm, λ<sub>min</sub> 234.4 nm, przebiegię 288.8 nm i 256.4 nm

**<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)**: 2.24 (s, 3, OCOCH<sub>3</sub>), 8.41 (s, 1, 2-H), 8.62 (s, 1, 8-H), 11.15 (s, 1, N<sup>6</sup>-H), 12.21 (s, 1, N<sup>9</sup>-H)

### 5.2.2. N<sup>6</sup>-Benzoiloadenina (109)

Do wysuszonej w pistolecie próżniowym adeniny (**194**) (3.0 g, 22.2 mmol) dodano bezwodnika benzoowego (12.0 g, 53.0 mmol) i umieszczono w łaźni olejowej o temperaturze 140°C, otrzymując po kilku minutach bezbarwny, klarowny roztwór. Reakcję prowadzono przez 2 godziny z intensywnym mieszaniem magnetycznym. Następnie całość ochłodzono, otrzymując stałą, twardą masę, wypełniającą całą objętość mieszaniny reakcyjnej, do której porcjami dodano 270 mL absolutnego metanolu i pozostawiono do krystalizacji. Po kilku minutach z roztworu zaczęły wypadać białe, drobne kryształki N<sup>6</sup>-benzoiloadeniny (**109**) (4.6 g, 19.3 mmol, wydajność 86.9%).

**R<sub>f</sub>**: 0.43 (A3), 0.32 (B3)

**t.t.**: 236-237°C

The first part of the history of the county of ... is ...

The second part of the history of the county of ... is ...

**UV (MeOH):**  $\lambda_{\max}$  286.8 nm,  $\lambda_{\min}$  261.6 nm,  $\lambda_{\max}$  235.2 nm,  $\lambda_{\min}$  224.8 nm,

**$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ ):** 7.59 (t, 2, Ph), 7.69 (t, 1, Ph), 8.13 (d, 2, Ph) 8.53, 8.76 (2s, 2x1, 2-H, 8-H), 11.95 (s, 1, N9-H)

**$^1\text{H NMR}$  (CDCl $_3$ ):** 7.59 (t, 2, Ph), 7.69 (t, 1, Ph), 8.01 (d, 2, Ph) 8.37, 8.79 (2s, 2x1, 2-H, 8-H), 9.03 (2, 1, N $^6$ -H), 11.66 (s, 1, N9-H)

### 5.2.3. N $^6$ -Izobutyryloadenina (197)

Do wysuszonej w pistolecie próżniowym adeniny (**194**) (6.7 g, 49.58 mmol) dodano 160 mL bezwodnika izobutyrylowego otrzymując zawiesinę, którą intensywnie mieszano magnetycznie i ogrzewano w temperaturze 70°C. Po 2.5 godziny całą objętość roztworu wypełnił biały, galaretowaty osad. Analiza TLC wykazała powstawanie dwóch produktów. Reakcję prowadzono przez 4 godziny. Po tym czasie do mieszaniny reakcyjnej dodano 170 mL absolutnego metanolu i przez 2 godziny ogrzewano pod chłodnicą zwrotną w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika, aż do całkowitego zaniknięcia produktu o wyższym R $_f$ . Następnie rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując biały, oleisty osad, który krystalizowano na gorąco z etanolu otrzymując 12.0 g kryształów w formie waty o białoróżowym zabarwieniu i zapachu kwasu izobutyrylowego. Zanieczyszczoną N $^6$ -izobutyryloadeninę rekrytalizowano z etanolu otrzymując 9.15 g (44.6 mmol) kryształów w postaci białej waty. Wydajność całego procesu wyniosła 98.9%.

**R $_f$ :** 0.38 (A3), 0.28 (B3)

**t.t.:** 231-233°C (213°C mięknięcie)

**UV (MeOH):**  $\lambda_{\max}$  290.6 nm,  $\lambda_{\min}$  289.2 nm,  $\lambda_{\max}$  280.8 nm,  $\lambda_{\min}$  233.2 nm,

**$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ ):** 1.17 (d, 6, CH(CH $_3$ ) $_2$ ), 2.92 (septet, 1, CH(CH $_3$ ) $_2$ ), 8.39, 8.63 (2s, 2x1, 2-H, 8-H), 11.15 (s, 1, N $^6$ -H), 12.21 (s, 1, N9-H)

**$^1\text{H NMR}$  (CDCl $_3$ ):** 1.33 (d, 6, CH(CH $_3$ ) $_2$ ), 2.76 (septet, 1, CH(CH $_3$ ) $_2$ ), 8.32 (s, 1, 8-H), 8.54 (s, 1, N $^6$ -H), 8.76 (s, 1, 2-H), 11.59 (s, 1, N9-H)



**5.2.4. Synteza 9-(2',3',5'-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozyl)adeniny (195) oraz 3-(2',3',5'-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozyl)adeniny (196)****Metoda A**

1,2,3,5-Tetra-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozę (**91**) (4.71 g, 14.8 mmol) trzykrotnie odparowano z 15 mL suchego toluenu, a następnie rozpuszczono w 22 mL bezwodnego chlorku metylenu i dodano 70 mL 30% roztworu kwasu bromowodorowego w kwasie octowym. Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej z intensywnym mieszaniem przez 1.5 godziny, po czym odparowano rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem, otrzymując gęsty czerwono-brązowy olej, który 4-krotnie odparowano z suchym toluenem (do zaniku zapachu kwasu octowego). Tak przygotowany komponent cukrowy, 1-bromo-2,3,5-tri-O-acetyloribofuranozę rozpuszczono w 104 mL suchego acetonitrylu i dodano adeniny (**194**) (2.0 g, 14.8 mmol) wysuszonej w piśtolecie próżniowym (78°C, 5 godzin, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>). Powstałą zawiesinę mieszano magnetycznie przez 21 godzin w temperaturze 50°C. Analiza TLC, prowadzona podczas syntezy, wykazała powstawanie dwóch produktów. Reakcję zakończono przez odparowanie rozpuszczalnika pod zmniejszonym ciśnieniem, uzyskując suchą pozostałość, którą rozpuszczono w 150 mL chloroformu i kilkakrotnie wytrząsano z zimnym, nasyconym roztworem kwaśnego węgla sodu (250 mL). Czynność tę powtarzano do całkowitego usunięcia z warstwy chloroformowej nieprzereagowanej adeniny. Warstwę organiczną suszono nad siarczanem sodu, a następnie odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem, otrzymując brązowy, nieprzeźroczysty olej. Rozdział mieszaniny poreakcyjnej przeprowadzono na kolumnie chromatograficznej z żelu krzemionkowego (14.5 cm x 5 cm), stosując jako eluent chloroform-metanol w gradiencie stężenia 98:2 → 9:1. W wyniku rozdziału otrzymano 0.49 g (1.16 mmol, 7.83% wydajności) związku **196** oraz 1.03 g (2.6 mmol, 17.17% wydajnością) związku **195** w formie brązowego oleju. Związek **196** krystalizowano na gorąco z etanolu otrzymując biały, drobnokrystaliczny osad, natomiast związek **195** krystalizowano z gorącego etanolu otrzymując białe, duże kryształy.

**Metoda B**

Kilkukrotnie współodparowaną z suchym toluenem 1,2,3,5-tetra-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozę (**91**) (3.53 g, 11.1 mmol) rozpuszczono w 11 mL suchego chlorku metylenu. Całość intensywnie mieszano magnetycznie, a następnie dodano 36 mL 30% roztworu kwasu





bromowodorowego w kwasie octowym. Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 120 minut, po czym rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem, otrzymując ciemnopomarańczowy olej, który 3-krotnie odparowano z suchym toluenem (3 x 10 mL). Następnie olej rozpuszczono w 52 mL suchego acetonitrylu i dodano wysuszoną w pistolocie próżniowym (78°C, 5 godzin, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) adeninę (**194**) (1.0 g, 7.4 mmol). Uzyskaną zawiesinę mieszało magnetycznie w temperaturze 50°C. Analiza chromatograficzna wykazała powstawanie dwóch produktów. Po 19 godzinach rozpuszczalnik odparowano do sucha pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując brązowy olej, który rozpuszczono w 250 mL chloroformu i ekstrahowano 250 mL zimnego roztworu kwaśnego węgla sodu. Warstwę chloroformową zagęszczono do ok. 50% objętości i pozostawiono w temperaturze 5°C, otrzymując bezpostaciowy osad, który zawierał w przewodzie związek **196**. Osad przesączono i przemyto zimnym chloroformem. Jednak w wyniku wytrącenia nie udało się otrzymać bezpośrednio czystego chromatograficznie związku **196**. Dopiero w wyniku krystalizacji z etanolu otrzymano drobnokrystaliczny osad w formie igieł (0.20 g, 0.5 mmol, 6.9%). Natomiast 9-izomeru (**195**) nie udało się oczyścić przez krystalizację, zawierał duże ilości nieprzereagowanego komponentu cukrowego (**91**), co prawdopodobnie przyczyniło się do otrzymania oleju po odparowaniu.

### Związek 195

R<sub>f</sub>: 0.48 (A3), 0.32 (B3)

t.t.: 167-169°C

UV (MeOH): λ<sub>max</sub> 259.2 nm, λ<sub>min</sub> 227.2 nm

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): 2.01, 2.04, 2.12 (3s, 3x3, OCOCH<sub>3</sub>), 4.24 (dd, J<sub>Hb,Ha</sub>=11.3, 1, 5'b-H), 4.34-4.49 (m, 1, 4'-H), 4.42 (dd, J<sub>Ha,Hb</sub>=11.3, 1, 5'a-H), 5.63 (t, 1, 3'-H), 6.04 (t, J=5.7, 1, 2'-H), 6.21 (d, J<sub>1',2'</sub>=5.4, 1, 1'-H), 7.40 (s, 2, NH<sub>2</sub>), 8.17 (s, 1, 2-H), 8.36 (s, 1, 8-H)

<sup>13</sup>C NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): 20.17, 20.34, 20.45 (3 x OCOCH<sub>3</sub>), 63.49 (C-5'), 70.06 (C-3'), 71.86 (C-2'), 79.37 (C-4'), 85.56 (C-1'), 119.19 (C-5), 140.04 (C-8), 149.08 (C-4), 152.84 (C-2), 156.16 (C-6), 169.26, 169.44, 170.02 (3 x OCOCH<sub>3</sub>)

<sup>15</sup>N NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): 82.40 (N-6), 165.85 (N-9), 223.97 (N-3), 237.67 (N-1), 243.33 (N-7)

### Związek 196

R<sub>f</sub>: 0.34 (A3), 0.14 (B3)

t.t.: 210-213.5°C (205°C brązowienie)

UV (MeOH): λ<sub>max</sub> 283.0 nm, λ<sub>min</sub> 247.6 nm

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): 2.00, 2.07, 2.10 (3s, 3x3, OCOCH<sub>3</sub>), 4.29 (dd, J<sub>Hb,Ha</sub>=11.4, 1, 5'b-H), 4.34-4.40 (m, 1, 4'-H), 4.49 (dd, J<sub>Ha,Hb</sub>=11.7, 1, 5'a-H), 5.28 (t, J<sub>3',2'</sub>=6.3, 1, 3'-H), 6.10 (dd,



$J_{2',3'}=6.3$ ,  $J_{2',1'}=3.9$ , 1, 2'-H), 6.24 (d,  $J_{1',2'}=3.9$ , 1, 1'-H), 7.79 (s, 1, 8-H), 8.20, 8.35 (2s, 2x1, NH<sub>2</sub>), 8.50 (s, 1, 2-H)

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): 2.11, 2.13, 2.15 (3s, 3x3, OCOCH<sub>3</sub>), 4.43-4.55 (m, 3, 5'a,b-H, 4'-H), 5.67 (t, 1, 3'-H), 5.87 (dd, J=4.2, 1, 2'-H), 6.35 (d, J=3.9, 1, 1'-H), 8.04 (s, 1, 8-H), 8.36 (s, 1, 2-H)

<sup>13</sup>C NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): 20.94, 20.99, 21.18 (3 x OCOCH<sub>3</sub>), 63.49 (C-5'), 70.61 (C-3'), 72.73 (C-2'), 80.51 (C-4'), 92.98 (C-1'), 121.02 (C-5), 143.83 (C-2), 148.56 (C-4), 153.11 (C-8), 156.00 (C-6), 170.73, 170.07, 170.07 (3 x OCOCH<sub>3</sub>)

<sup>15</sup>N NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): 95.56 (N-6), 163.13 (N-3), 230.73 (N-1), 233.83 (N-9), 244.41 (N-7)

### 5.2.5. Reakcja izomeryzacji 3-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)-adeniny (196) w warunkach transglikozylacji

3-(2',3',5'-Tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)adeninę (**196**) (0.050 g, 0.127 mmol) i kwas *p*-toluenosulfonowy (0.005 g, 0.025 mmol) rozpuszczono w 1 mL suchego chlorobenzenu i ogrzewano pod chłodnicą zwrotną w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika. W tych warunkach reakcję prowadzono przez 90 minut z intensywnym mieszaniem. Analiza TLC mieszaniny prowadzona w układach chloroform-metanol 9:1 i toluen-etanol 4:1 pokazały, że w wyniku reakcji z około 10% wydajnością powstaje związek **195**.

### 5.2.6. Synteza N<sup>6</sup>-izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)-adeniny (**198**) oraz N<sup>6</sup>-izobutyrylo-3-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)adeniny (**199**)

Suchą 1,2,3,5-tetra-O-acetylo-β-D-rybofuranozę (**91**) (0.60 g, 1.88 mmol) rozpuszczono w 6 mL suchego chlorku metylenu. Całość intensywnie mieszano magnetycznie, a następnie dodano 4 mL 30% roztworu kwasu bromowodorowego w kwasie octowym, otrzymując jasnożółty, klarowny roztwór. Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 120 minut, po czym rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem, w wyniku czego uzyskano ciemnopomarańczowy olej, który kilkakrotnie odparowano z suchym toluenem. Następnie olej rozpuszczono w 15 mL suchego acetonitrylu i dodano wysuszoną w pistolecie próżniowym (78°C, 4 godziny, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) N<sup>6</sup>-izobutyryloadeninę (**197**) (0.36 g, 1.75 mmol). Uzyskaną zawiesinę mieszano magnetycznie w temperaturze 45°C. Analiza chromatograficzna wykazała powstawanie dwóch produktów. Po 1 godzinie rozpuszczalnik odparowano do sucha pod



zmniejszonym ciśnieniem otrzymując jasnobrązową pianę, którą poddano rozdzielaniu na kolumnie chromatograficznej z żelu krzemionkowego (7 cm x 4.5 cm), stosując jako eluent chlorek metylenu-etanol w gradiencie stężenia 98:2 → 9:1. W wyniku rozdzielania otrzymano 0.285 g (0.61 mmol, wydajność 26.20%) związku **198**, jako jasnożółty olej oraz 0.066 g (0.14 mmol, wydajność 8.12%) związku **199** w formie bezbarwnego oleju. N<sup>6</sup>-izobutyrylo-3-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozylo)adeninę (**199**) krystalizowano z metanolu (bez ogrzania) otrzymując drobnokrystaliczny, biały osad, którym okazała się 3-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozylo)adenina (**196**), co stwierdzono na podstawie widm UV i <sup>1</sup>H NMR oraz temperatury topnienia, które były identyczne ze związkiem otrzymanym w syntezie **5.2.4**.

### Związek 198

R<sub>f</sub>: 0.7 (A3), 0.46 (B3)

UV (MeOH): λ<sub>max</sub> 272.2 nm, λ<sub>min</sub> 231.0 nm,

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): 1.13 (d, 6, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2.01, 2.04, 2.13 (3s, 3x3, COCH<sub>3</sub>), 2.94 (septet, 1, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 4.22-4.29 (m, 1, 5'b-H), 4.38-4.45 (m, 2, 5'a-H, 4'-H), 5.65 (t, 1, 3'-H), 6.06 (t, J=5.4, 1, 2'-H), 6.32 (d, J=5.1, 1, 1'-H), 8.67, 8.69 (2s, 2x1, 2-H i 8-H), 10.73 (s, 1, N<sup>6</sup>-H)

### Związek 199

R<sub>f</sub>: 0.55 (A1), 0.40 (F2)

UV (MeOH): λ<sub>max</sub> 295.2 nm, λ<sub>min</sub> 253.2 nm

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): 1.31 (d, 6, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2.10, 2.14, 2.15 (3s, 3x3, OCOCH<sub>3</sub>), 3.00 (septet, 1, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 4.46-4.60 (m, 3, 5'a,b-H, 4'-H), 5.67 (t, 1, 3'-H), 5.90 (t, J=4.5, 1, 2'-H), 6.45 (d, J=4.5, 1, 1'-H), 8.21 (s, 1, 8-H), 8.69 (s, 1, 2-H)

### 5.2.7. N<sup>6</sup>-Izobutyrylo-3-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozylo)adenina (**199**) i 3-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozylo)adenina (**196**)

Do suchej 3-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozylo)adeniny (**196**) (0.004 g, 0.01 mmol) dodano 0.4 mL bezwodnej pirydyny i 0.2 mL bezwodnika izobutyrylowego. Uzyskaną zawiesinę intensywnie mieszano, ogrzewając w temperaturze 60°C przez 100 minut. Analiza TLC wykazał powstanie tylko jednego produktu reakcji o R<sub>f</sub> identycznym do pochodnej **199**. Następnie rozpuszczalnik odparowano, a otrzymany olej kilkukrotnie współodparowano z toluenem do zaniku zapachu pirydyny. Otrzymany produkt posiadał R<sub>f</sub> oraz widmo



UV identyczne z widmem N<sup>6</sup>-izobutyrylo-3-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)adeniny (199). Następnie związek ten rozpuszczono w metanolu i pozostawiono w nim przez 20 godzin, w wyniku czego z wydajnością ok. 90% otrzymano 3-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)adeninę (196).

### 5.2.8. Synteza N<sup>6</sup>-benzoilo-9-(2',3',5'-tri-O-benzoilo-β-D-rybofuranozyl)-adeniny (204) i 9-(2',3',5'-tri-O-benzoilo-β-D-rybofuranozyl)adeniny (205) wobec 2,4-dinitrofenolu

Kilkukrotnie odparowaną z toluenem 1-O-acetylo-2,3,5-tri-O-benzoilorybofuranozę (203) (0.484 g, 0.96 mmol), suchą N<sup>6</sup>-benzoiloadeninę (109) (0.30 g, 1.25 mmol) oraz suchy 2,4-dinitrofenol (1.150 g, 6.25 mmol) ogrzewano na łaźni olejowej o temperaturze 140°C przez 2 godziny. Po tym czasie mieszaninę reakcyjną ochłodzono i rozpuszczono w 100 mL chloroformu i ekstrahowano nasyconym roztworem kwaśnego węgla sodu. Warstwę organiczną suszono nad bezwodnym siarczanem sodu przez 60 minut, a następnie rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując 0.665 g gęstego oleju. Mieszaninę reakcyjną poddano rozdzielaniu na kolumnie chromatograficznej (15 cm x 2.5 cm) jako eluent stosując fazę toluen-etanol w gradiencie stężenie 95:5 → 6:1. W wyniku rozdzielania otrzymano 0.230 g (0.34 mmol) N<sup>6</sup>-benzoilo-9-(2',3',5'-tri-O-benzoilo-β-D-rybofuranozyl)-adeninę (204), powstającą z 26.8% wydajnością oraz 0.038 g (0.065 mmol, wydajność 5.1%) 9-(2',3',5'-tri-O-benzoilo-β-D-rybofuranozyl)adeniny (205).

#### Związek 204

R<sub>f</sub>: 0.68 (B1)

UV (MeOH): λ<sub>max</sub> 281.0 nm, λ<sub>min</sub> 255.6 nm, λ<sub>max</sub> 230.6 nm

#### Związek 205

R<sub>f</sub>: 0.26 (B1)

UV (MeOH): λ<sub>max</sub> 258.8 nm, λ<sub>min</sub> 251.5 nm, λ<sub>max</sub> 231.0 nm

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): 4.62-4.87 (m, 3, 5'a,b-H, 4'-H), 6.28 (t, 1, 3'-H), 6.51 (t, J=4.5, 1, 2'-H), 6.21 (d, J=5.1, 1, 1'-H), 7.36-7.53 (m, 8, Ph, NH<sub>2</sub>), 7.66 (q, 3, Ph), 7.88-8.01 (m, 6, Ph), 8.07 (s, 1, 2-H), 8.39 (s, 1, 8-H)





$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ): 63.12 (C-5'), 70.59 (C-3'), 72.90 (C-2'), 78.99 (C-4'), 86.30 (C-1'), 119.25 (C-5), 128.26, 128.66, 129.27, 133.40, 133.90 (Ph), 140.31 (C-8), 148.95 (C-4), 152.77 (C-2), 156.11 (C-6), 164.41, 164.60, 165.36 (3 x  $\text{OCOPh}$ )

### 5.2.9. Synteza $\text{N}^6$ -izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozyl)-adeniny (198) i 9-(2',3',5'-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozyl)adeniny (195) wobec 2,4-dinitrofenolu

Kilkukrotnie odparowaną z toluenem z 1,2,3,5-tetra-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozę (91) (0.318 g, 1.0 mmol), suchą  $\text{N}^6$ -izobutyryloadeninę (197) (0.205 g, 1.0 mmol) oraz suchy 2,4-dinitrofenol (1.3 g, 7.06 mmol) ogrzewano na łaźni olejowej o temperaturze  $140^\circ\text{C}$  przez 2 godziny. Po tym czasie mieszaninę reakcyjną ochłodzono i rozpuszczono w 150 mL chloroformu i ekstrahowano nasyconym roztworem kwaśnego węgla sodu (150 mL). Warstwę organiczną suszono nad bezwodnym siarczanem sodu przez 50 minut, a następnie rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując ciemnobrązowy olej. Mieszaninę reakcyjną poddano rozdzielowi na kolumnie chromatograficznej (11 cm x 3.5 cm) jako eluent stosując układ chloroform-metanol w gradiencie stężenia 98:2  $\rightarrow$  9:1. W wyniku rozdzielu otrzymano 0.116 g (0.25 mmol)  $\text{N}^6$ -izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozyl)adeninę (198) z wydajnością 25% ( $R_f$ , UV,  $^1\text{H}$  NMR identyczny ze związkiem otrzymanym w preparatyce 5.2.6.) oraz 0.039 g (0.099 mmol, wydajność 9.9%) 9-(2',3',5'-tri-O-benzoilo- $\beta$ -D-rybofuranozyl)adeniny (195).

### 5.2.10. Synteza $\text{N}^6$ -benzoilo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozyl)-adeniny (110) wobec 2,4-dinitrofenolu

Kilkukrotnie odparowaną z toluenem z 1,2,3,5-tetra-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozę (91) (0.082 g, 0.26 mmol), suchą  $\text{N}^6$ -benzoiloadeninę (109) (0.062 g, 0.26 mmol) oraz suchy 2,4-dinitrofenol (0.239 g, 1.3 mmol) ogrzewano na łaźni olejowej o temperaturze  $140^\circ\text{C}$  przez 100 minut. Analiza TLC prowadzona w układzie toluen-etanol 6:1 oraz chloroform-metanol 9:1 wykazała powstawanie tylko jednego produktu o współczynniku  $R_f$  identycznym z pochodną 110.

THE UNIVERSITY OF CHICAGO  
THE DIVISION OF THE PHYSICAL SCIENCES  
DEPARTMENT OF CHEMISTRY

PH.D. THESIS  
SUBMITTED TO THE FACULTY OF THE DIVISION OF THE PHYSICAL SCIENCES  
IN CANDIDACY FOR THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY

BY  
[Name]

CHICAGO, ILLINOIS  
[Date]

DEPARTMENT OF CHEMISTRY  
THE UNIVERSITY OF CHICAGO

PH.D. THESIS

PH.D. THESIS

PH.D. THESIS

### 5.2.11. Próba kondensacji 1,2,3,5-tetra-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozy (91) z adeniną (194) wobec 2,4-dinitrofenolu

Wysuszoną w pistolecie próżniowym 1,2,3,5-tetra-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozę (91) (0.235 g, 0.74 mmol), suchą adeninę (194) (0.10 g, 0.74 mmol) oraz suchy 2,4-dinitrofenol (0.240 g, 1.3 mmol) ogrzewano na łaźni olejowej o temperaturze 135°C przez 2 godziny, w wyniku czego otrzymano zawiesinę. Analiza TLC prowadzona w układzie chloroform-metanol 6:1 wykazała, że reakcja kondensacji nie zachodziła. W mieszaninie reakcyjnej widoczne są tylko substraty 91 i 194.

### 5.2.12. Próba kondensacji adeniny (194) z 1,2,3,5-tetra-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozą (91) wobec *p*-TsOH

Do wysuszonej w pistolecie próżniowym (78°C, 2 godziny, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) adeniny (194) (0.03 g, 0.22 mmol) i 1,2,3,5-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozy (91) (0.106 g, 0.33 mmol) dodano 3 mL bezwodnego chlorobenzenu i intensywnie mieszano. Reakcję prowadzono pod chłodnicą zwrotną w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 24 godziny. Analiza TLC prowadzona w układzie chloroform-metanol (4:1) oraz toluen-etanol (9:1) wykazała niewielkie przereagowanie substratu i powstanie z ok. 2% wydajnością produktu o współczynniku R<sub>f</sub> identycznym z pochodną 195.

### 5.2.13. N<sup>6</sup>-Benzoilo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozylu)adenina (110)

Do wysuszonej w pistolecie próżniowym (78°C, 5 godzin, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) N<sup>6</sup>-benzoiloadeniny (109) (0.5 g, 2.1 mmol) i odparowanej kilkakrotnie z toluenem 1,2,3,5-tetra-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozy (91) (0.987 g, 3.1 mmol) dodano kwas *p*-toluenosulfonowy (0.036 g, 0.19 mmol) oraz 30 mL suchego chlorobenzenu otrzymując zawiesinę, którą intensywnie mieszano. Reakcję prowadzono pod chłodnicą zwrotną w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 22 godziny. Po tym czasie rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując ciemnobrązowy, gęsty olej, który poddano rozdzielaniu na kolumnie chromatograficznej (10 cm x 4.5 cm) jako eluent stosując toluen-etanol w gradiencie stężenie 95:5 → 4:1. W wyniku przeprowadzonego rozdzielania otrzymano N<sup>6</sup>-benzoilo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylu)-



adeninę (**110**) (0.253 g, 0.51 mmol) z wydajnością 24.3% oraz nieprzereagowany substrat N<sup>6</sup>-benzoiloadeninę (**109**) (0.255 g, 0.51 mmol). Produkt **110** krystalizowano z gorącego 40% wodnego roztworu etanolu otrzymując biały, drobnokrystaliczny osad.

### Związek 110

R<sub>f</sub>: 0.80 (A3), 0.50 (B3)

UV (MeOH): λ<sub>max</sub> 279.8 nm, λ<sub>min</sub> 247.0 nm, λ<sub>max</sub> 231.8 nm

<sup>1</sup>H NMR (DMSO): 2.02, 2.06, 2.14 (3s, 3x3, OCOCH<sub>3</sub>), 4.25-4.31 (m, 1, 5'<sup>b</sup>-H), 4.40-4.47 (m, 2, 5'<sup>a</sup>-H, 4'-H), 5.67 (t, 1, 3'-H), 6.10 (t, J=5.4, 1, 2'-H), 6.36 (d, J=5.4, 1, 1'-H), 7.56 (t, 2, Ph), 4.66 (t, 1, Ph), 8.05 (d, 1, Ph), 8.71, 8.80 (2s, 2x1, 2-H, 8-H), 11.30 (s, 1, N<sup>6</sup>-H)

<sup>13</sup>C NMR (DMSO): 20.12, 20.28, 20.39 (3 x OCOCH<sub>3</sub>), 62.63 (C-5'), 69.92 (C-3'), 71.81 (C-2'), 79.48 (C-4'), 85.68 (C-1'), 125.80 (C-5), 128.40, 132.43 133,14 (C-Ph), 143.50 (C-8), 150.62 (C-4), 151.76, 151.84 (C-2, C-6), 165.57 (NCOPh), 169.22, 169.38, 169.96 (3 x OCOCH<sub>3</sub>)

### 5.2.14. 9-Rybofuranozyloadenina (**1**)

Suchą N<sup>6</sup>-benzoilo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeninę (**110**) (0.02 g, 0.04 mmol) rozpuszczono w 20 mL metanolu, a następnie dodano 20 mL 25% wodnego roztworu amoniaku. Całość intensywnie mieszano, prowadząc reakcję w temperaturze pokojowej przez 12 godzin. Po tym czasie rozpuszczalnik odparowano, a otrzymany osad rozpuszczono na gorąco w wodzie, w wyniku czego otrzymano białą, drobnokrystaliczną 9-rybofuranozyloadeninę (**1**) (0.005 g 0.017 mmol) z wydajnością 31.6%.

R<sub>f</sub>: 0.65 (D1), 0.56 (E1)

t.t.: 227-228°C

UV (MeOH): λ<sub>max</sub> 260.0 nm, λ<sub>min</sub> 228.0 nm

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): 3.51 (m, 2, 5'<sup>a,b</sup>-H), 3.96 (q, 1, 4'-H), 4.14 (q, 1, 3'-H), 4.61 (q, 1, 2'-H), 5.20 (d, 1, 3'-OH), 5.46 (d, 2, 2'-OH, 5'-OH), 5.88 (d, J=6.3, 1, 1'-H). 7.37 (s, 2, NH<sub>2</sub>), 8.14 (s, 1, 8-H), 8.35 (s, 1, 2-H)



**5.2.15. Synteza N<sup>6</sup>-izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)-adeniny (198) wobec *p*-TsOH**

Suchą N<sup>6</sup>-izobutyryloadeninę (**197**) (0.10 g, 0.49 mmol), wysuszoną 1,2,3,5-tetra-O-acetylo-β-D-rybofuranozę (**91**) (0.312 g, 0.98 mmol) oraz kwas *p*-toluenosulfonowy (0.093 g, 0.05 mmol) rozpuszczono w 5 mL suchego chlorobenzenu otrzymując zawiesinę, która po kilku minutach intensywnego mieszania rozpuściła się całkowicie. Reakcję prowadzono pod chłodnicą zwrotną w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 20 godzin. Po tym czasie rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując ciemnobrązowy, gęsty olej, który poddano rozdzielowi na kolumnie chromatograficznej (8 cm x 3.5 cm) jako eluent stosując w gradiencie stężenie chloroform-metanol 98:2 → 9:1. W wyniku rozdziału otrzymano produkt (0.142 g, 0.31 mmol) posiadający identyczny R<sub>f</sub>, UV i <sup>1</sup>H NMR z N<sup>6</sup>-izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozyl)adeniną (**198**), powstający z wydajnością 62%.

**5.2.16. Synteza N<sup>6</sup>-acetylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)-adeniny (207) wobec *p*-TsOH**

Do suchej N<sup>6</sup>-acetyloadeniny (**206**) (0.177 g, 1.0 mmol), wysuszonej 1,2,3,5-tetra-O-acetylo-β-D-rybofuranozy (**91**) (0.41 g, 1.23 mmol) oraz kwasu *p*-toluenosulfonowego (0.19 g, 0.1 mmol) dodano 12 mL suchego chlorobenzenu otrzymując zawiesinę, którą intensywnie mieszano. Reakcję prowadzono pod chłodnicą zwrotną w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 52 godziny. Po tym czasie rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując ciemnobrązowy, gęsty olej. Analiza TLC wykonana w układzie chloroform-metanol 9:1 oraz toluen-etanol 4:1 wykazała powstanie produktu posiadającego identyczny współczynnik R<sub>f</sub> jak N<sup>6</sup>-acetylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozyl)adenina (**207**) (rozdział 5.2.31.), która powstaje z wydajnością ok. 2-5%.

**5.2.17. Synteza N<sup>6</sup>-benzoilo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)-adeniny (110) wobec HgCl<sub>2</sub>**

Do intensywnie mieszanej zawiesiny suchej N<sup>6</sup>-benzoiloadeniny (**109**) (0.052 g, 0.22 mmol) w 5 mL bezwodnego chlorobenzenu dodano kilkakrotnie odparowanej z toluenem





1,2,3,5-tetra-O-acetyloribofuranozy (**91**) (0.10 g, 0.33 mmol) oraz chlorku rtęci (II) (0.027 g, 0.1 mmol). Reakcję prowadzono w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 20 godzin. Analiza TLC wykazała powstawanie z niewielką wydajnością związku o identycznym  $R_f$  jak N<sup>6</sup>-benzoilo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozyl)adenina (**110**).

### 5.2.18. Synteza 9-(2',3',5'-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozyl)adeniny (**195**) wobec SnCl<sub>4</sub>

#### Metoda A

Do suchej adeniny (**194**) (0.033 g, 0.24 mmol) oraz kilkakrotnie odparowanej z toluenem 1,2,3,5-tetra-O-acetyloribofuranozy (**91**) (0.099 g, 0.31 mmol) dodano 3.7 mL suchego chlorobenzenu. Otrzymaną zawiesinę intensywnie mieszano, a następnie dodano tetrachlorku cyny (0.117 g, 0.45 mmol), w wyniku czego substraty po kilku minutach rozpuściły się. Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 96 godzin. Analiza TLC prowadzona w układzie chloroform-metanol 4:1, wykazała powstawanie z około 30-40% wydajnością produktu o współczynniku  $R_f$  identycznym jak 9-(2',3',5'-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozyl)adenina (**195**).

#### Metoda B

Analogiczna reakcja do przedstawionej w metodzie A, prowadzona przez 3 godziny w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika doprowadziła do otrzymania z ok. 60% wydajnością związku o  $R_f$  identycznym jak pochodna **195**.

### 5.2.19. Synteza N<sup>6</sup>-izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozyl)-adeniny (**198**) wobec SnCl<sub>4</sub>

Do suchej N<sup>6</sup>-izobutyryloadeniny (**197**) (0.06 g, 0.44 mmol) oraz kilkakrotnie odparowanej z toluenem 1,2,3,5-tetra-O-acetyloribofuranozy (**91**) (0.140 g, 0.44 mmol) dodano 5.5 mL suchego chlorobenzenu, a następnie tetrachlorku cyny (0.132 g, 0.51 mmol) uzyskując klarowny roztwór. Reakcję prowadzono w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 3 godziny. Analiza TLC, prowadzona w układzie chloroform-metanol 9:1, wykazała



powstawanie z około 60% wydajnością produktu o identycznym  $R_f$  jak  $N^6$ -izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranosylo)adenina (**198**).

### 5.2.20. Synteza 9-[(2-acetoksyetoksy)metylo]adeniny (**211**) i 1,1'-metyleno-bis- $N^6, N^6$ -{9-[(2-acetoksyetoksy)metylo]adeniny} (**212**)

Do intensywnie mieszanej zawiesiny suchej adeniny (**194**) (0.97 g, 14.1 mmol) w 25 mL bezwodnego chlorobenzenu dodano kwas *p*-TsOH (0.136 g, 0.72 mmol) oraz eter (2-acetoksyetylo)acetoksymetylowy (**208**) (2.485 g, 14.1 mmol). Reakcję prowadzono w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika, pod chłodnicą zwrotną, przez 24 godziny. Po tym czasie rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując biały osad, który umieszczono na lejku piankowym i przemyto roztworem chloroform-metanol 9:1, otrzymując 0.529 g nieprzereagowanej adeniny (**194**). Następnie przesącz odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem i poddano rozdzielaniu na kolumnie chromatograficznej (14.5 cm x 3.5 cm) jako eluent stosując fazę chloroform-metanol 9:1, otrzymując w jego wyniku: 1,1'-metyleno-bis- $N^6, N^6$ -{9-[(2-acetoksyetoksy)metylo]adeninę} (**212**) (0.068 g, 13 mmol) z wydajnością 1.25% oraz 9-[(2-acetoksyetoksy)metylo]adeninę (**211**) (0.410 g, 1.63 mmol) powstającą z wydajnością 22.7%. Oba związki krystalizowano na gorąco z etanolu otrzymując drobnokrystaliczny, biały osad.

#### Związek 212

$R_f$ : 0.49 (A3), 0.18 (B3)

t.t.: 152-154°C

UV (MeOH):  $\lambda_{max}$  271.8 nm,  $\lambda_{min}$  229.2 nm

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ): 2.04 (s, 6,  $OCOCH_3$ ), 3.78, 4.20 (2bs, 2x4, 4'-H, 5'-H), 5.62 (bs, 6, 1'-H,  $CH_2$ ), 7.30 (bs, 2,  $N^6$ -H), 8.02, 8.48 (2bs, 2x2, 2-H, 8-H)

$^1H$  NMR (DMSO): 1.91 (s, 6,  $OCOCH_3$ ), 3.71, 4.06 (2bs, 2x4, 4'-H, 5'-H), 5.34 (bs, 2,  $CH_2$ ), 5.60 (s, 4, 1'-H), 8.11 (bs, 2, 8-H), 8.36 (bs, 2, 2-H)

anal.: obliczono dla  $C_{21}H_{26}N_{10}O_6$  (514.50): C: 49.02%, H: 5.09%, N: 27.22% znaleziono: C: 49.26%, H: 5.14%, N: 26.97%

MS: Widmo LSIMS POS w NBA dla:  $(ES^-) C_{21}H_{25}N_{10}O_6$  obliczono: 513.5; znaleziono 513

$(M^+Na) C_{21}H_{26}N_{10}O_6Na$  obliczono: 537.5; znaleziono 537



**Związek 211****R<sub>f</sub>**: 0.44 (A3), 0.17 (B3)**t.t.**: 144-146°C**UV (MeOH)**:  $\lambda_{\max}$  259.6 nm,  $\lambda_{\min}$  226.2 nm**<sup>1</sup>H NMR (DMSO)**: 1.94 (s, 3, OCOCH<sub>3</sub>), 3.71, 4.07 (2t, 2x2, 4'-H, 5'-H), 5.62 (s, 2, 1'-H), 7.31 (s, 2, NH<sub>2</sub>), 8.17, 8.29 (2bs, 2x1, 2-H, 8-H)**<sup>13</sup>C NMR (DMSO)**: 21.2 (OCOCH<sub>3</sub>), 63.46 (C-5'), 67.60 (C-4'), 72.71 (C-1'), 119.19 (C-5), 141.83 (C-8), 150.45 (C-4), 153.63 (C-2), 156.45 (C-6), 170.01 (OCOCH<sub>3</sub>)**<sup>15</sup>N NMR (DMSO)**: 81.36 (N-6), 168.66 (N-9), 224.60 (N-3), 236.93 (N-1), 242.44 (N-7)**5.2.21. Synteza N<sup>6</sup>-benzoilo-9-[(2-acetoksyetoksy)metylo]adeniny (220)**

Do zawiesiny suchej N<sup>6</sup>-benzoiloadeniny (**109**) (0.50 g, 2.09 mmol) w eterze (2-acetoksyetylo)acetoksymetylowy (**208**) (0.736 g, 4.18 mmol) dodano kwas *p*-TsOH (0.039 g, 0.20 mmol) oraz 20 mL suchego chlorobenzenu. Reakcję prowadzono w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika pod chłodnicą zwrotną przez 2.5 godziny uzyskując klarowny roztwór. Po tym czasie rozpuszczalnik odparowano do sucha pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie mieszaninę poddano rozdzielowi na kolumnie chromatograficznej (10.5 cm x 4.5 cm) jako eluent stosując chloroform-metanol w gradiencie stężenia 98:2→6:1. W wyniku rozdzielu otrzymano N<sup>6</sup>-benzoilo-9-[(2-acetoksyetoksy)metylo]adeninę (**220**) (0.440 g, 1.30 mmol) powstającą z wydajnością 62%. Związek **220** krystalizowano na gorąco z 40% wodnego roztworu etanolu, otrzymując białe, drobne kryształy.

**R<sub>f</sub>**: 0.62 (A3), 0.38 (B3)**t.t.**: 139-141°C**UV (MeOH)**:  $\lambda_{\max}$  280.0 nm,  $\lambda_{\min}$  247.2 nm,  $\lambda_{\max}$  231.8 nm**<sup>1</sup>H NMR (DMSO)**: 1.93 (s, 3, OCOCH<sub>3</sub>), 3.77, 4.09 (2t, 2x2, 4'-H, 5'-H), 5.71 (s, 2, 1'-H), 7.55 (t, 2, Ph), 7.64 (t, 1, Ph), 8.05 (d, 1, Ph), 8.64, 8.79 (2bs, 2x1, 2-H, 8-H), 11.23 (s, 1, N<sup>6</sup>-H)**<sup>13</sup>C NMR (DMSO)**: 20.42 (OCOCH<sub>3</sub>), 62.67 (C-5'), 67.10 (C-4'), 72.34 (C-1'), 125.08 (C-5), 128.36, 132.38, 133.26 (Ph), 144.76 (C-8), 150.23 (C-4), 151.88 (C-2), 165.57 (C-6), 170.20 (OCOCH<sub>3</sub>)



### 5.2.22. Synteza N<sup>6</sup>-izobutyrylo-9-[(2-acetoksyetoksy)metylo]adeniny (221) oraz N<sup>6</sup>-izobutyrylo-9,N<sup>6</sup>-bis-[(2-acetoksyetoksy)metylo]adeniny (222)

Do intensywnie mieszanej zawiesiny suchej N<sup>6</sup>-izobutyryloadeniny (**197**) (0.30 g, 1.46 mmol) w 15 mL suchego chlorobenzenu dodano eter (2-acetoksyetylo)acetoksymetylowy (**208**) (0.507 g, 2.87 mmol) oraz kwas *p*-TsOH (0.027 g, 0.14 mmol). Reakcję prowadzono w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika pod chłodnicą zwrotną przez 3 godziny uzyskując klarowny roztwór o jasnobrązowym kolorze. Następnie rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem i poddano rozdzielaniu na kolumnie chromatograficznej (9.5 cm x 3.5 cm) jako eluent stosując chlorek metylenu-metanol w gradiencie stężenia 98:2→9:1. W wyniku rozdzielania otrzymano: N<sup>6</sup>-izobutyrylo-9,N<sup>6</sup>-bis-[(2-acetoksy-etoksy)metylo]adeninę (**222**); (0.005 g, 0.11 mmol) powstającą z wydajnością 0.8% oraz N<sup>6</sup>-izobutyrylo-9-[(2-acetoksyetoksy)-metylo]adeninę (**221**) (0.315 g, 0.98 mmol, wydajność 67%).

#### Związek 221

R<sub>f</sub>: 0.70 (A3), 0.41 (B3)

UV (MeOH): λ<sub>max</sub> 272.6 nm, λ<sub>min</sub> 234.8 nm

<sup>1</sup>H NMR (DMSO): 1.03 (d, 6, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.89, 1.91 (2s, 2x3, OCOCH<sub>3</sub>), 2.94 (septet, 1, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3.69, 3.79, 3.99, 4.09 (4t, 4x2, 4'-H, 5'-H, 4''-H, 5''-H), 5.53, 5.73 (2s, 2x2, 1'-H, 1''-H), 8.17, 8.29 (2s, 2x1, 2-H, 8-H)

<sup>13</sup>C NMR (DMSO): 21.2 (OCOCH<sub>3</sub>), 63.46 (C-5'), 67.60 (C-4'), 72.71 (C-1'), 119.19 (C-5), 141.83 (C-8), 150.45 (C-4), 153.63 (C-2), 156.45 (C-6), 170.01 (OCOCH<sub>3</sub>)

<sup>15</sup>N NMR (DMSO): 147.05 (N-6), 170.30 (N-9), 240.66 (N-7), 249.27 (N-3), 267.25 (N-1)

#### Związek 222

R<sub>f</sub>: 0.60 (A3), 0.34 (B3)

UV (MeOH): λ<sub>max</sub> 272.6 nm, λ<sub>min</sub> 230.8 nm

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): 1.13 (d, 2x3, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.92 (s, 3, COCH<sub>3</sub>), 2.95 (septet, 1, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3.74, 4.07 (2t, 2x2, 4'-H, 5'-H), 5.68 (s, 1, 1'-H), 8.61, 8.68 (2s, 2x1, 2-H i 8-H), 10.67 (s, 1, N<sup>6</sup>-H)





**5.2.23. Synteza 9-(2',3',5'-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozyl)adeniny (195) w warunkach sililujących z zastosowaniem BSA**

Przez intensywnie mieszaną zawiesinę suchej adeniny (**194**) (0.10 g, 0.74 mmol) w acetonitrylu (2 mL) przepuszczano przez 30 minut argon, a następnie dodano BSA (0.376 g, 1.85 mmol) i ogrzewano w temperaturze 70°C przez 30 minut. Do otrzymanego klarownego roztworu dodano 1,2,3,5-tetra-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozę (**91**) oraz TMSOTf (0.082 g, 0.360 mmol). Komponent cukrowy rozpuścił się całkowicie. Reakcję kontrolowano chromatograficznie i prowadzono w temperaturze 70°C przez 20 godzin. Po tym czasie rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem, a mieszaninę poddano rozdziałowi na kolumnie chromatograficznej (11 cm x 3.5 cm) jako eluent stosując mieszaninę chloroform-metanol w gradiencie 95:5  $\rightarrow$  9:1, co pozwoliło na uzyskanie 0.054 g (0.14 mmol, wydajność 18.6%) 9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozyl)adeniny (**195**). Związek ten był identyczny (TLC, UV,  $^1\text{H}$  NMR) z próbką otrzymaną w preparatyce **5.2.4**.

**5.2.24. Synteza 9-(2',3',5'-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozyl)adeniny (195) oraz 7-(2',3',5'-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozyl)adeniny (224) w warunkach sililujących z zastosowaniem HMDS**

Do intensywnie mieszanej zawiesiny suchej adeniny (**194**) (0.20 g, 1.48 mmol) w HMDS (6 mL) dodano siarczanu (VI) amonu (0.01 g, 0.087 mmol) i w atmosferze argonu ogrzewano pod chłodnicą zwrotną przez 2.5 godziny. Po tym czasie rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem do uzyskania gęstego oleju, który odparowano do sucha przy pomocy pompy olejowej otrzymując biały, gęsty olej. Następnie w atmosferze argonu olej rozpuszczono w 6 mL bezwodnego acetonitrylu i dodano suchej 1,2,3,5-tetra-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozę (**91**) (0.470 g, 1.47 mmol) oraz katalizatora TMSOTf (0.328 g, 1.47 mmol). Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 80 minut, a następnie rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując białą pianę. Mieszaninę reakcyjną poddano wstępnemu oczyszczeniu za pomocą chromatografii kolumnowej (12 cm x 3.5 cm) jako eluent stosując fazę chloroform-metanol 5:1. Następnie frakcje zawierające produkty odparowano i poddano rozdziałowi na kolumnie chromatograficznej (12 cm x 3.5 cm) stosując fazę chloroform-metanol w gradiencie stężenie 95:5  $\rightarrow$  9:1, co pozwoliło na otrzymanie: 0.031 g (0.078 mmol, 5.3%) triacetyloadenozyny (**195**), która była identyczna (TLC, UV,  $^1\text{H}$  NMR) z próbką otrzymaną



w preparatyce **5.2.4.**; 0.208 g (0.530 mmol) 7-izomeru triacetyloadenozyny (**224**) powstającej z wydajnością 35.7%.

### Związek 224

**R<sub>f</sub>**: 0.37 (A3), 0.1 (B3)

**UV (MeOH)**:  $\lambda_{\max}$  274.4 nm,  $\lambda_{\min}$  232.2 nm

**<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)**: 2.02, 2.04, 2.11 (3s, 3x3, OCOCH<sub>3</sub>), 4.32 (d, 2, 5'a,b-H), 4.48 (q, 1, 4'-H), 5.38 (t, 1, 3'-H), 5.55 (t, J=6.4, 1, 2'-H), 6.35 (d, J=6.3, 1, 1'-H), 6.94 (s, 2, NH<sub>2</sub>), 8.32 (s, 1, 2-H), 8.63 (s, 1, 8-H)

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>)**: 2.04, 2.10, 2.16 (3s, 3x3, OCOCH<sub>3</sub>), 4.36 (m, 3, 5'a,b-H, 4'-H), 4.48 (dd, 1, 3'-H), 5.59 (t, J=6.3, 1, 2'-H), 5.70 (bs, 2, NH<sub>2</sub>), 6.02 (d, J<sub>1</sub>=6.6, 1, 1'-H), 8.14 (s, 1, 2-H), 8.54 (s, 1, 8-H)

**<sup>13</sup>C NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)**: 20.11, 20.32, 20.39 (3 x OCOCH<sub>3</sub>), 62.43 (C-5'), 68.74 (C-3'), 72.49 (C-2'), 79.65 (C-4'), 86.41 (C-1'), 110.19 (C-5), 143.94 (C-8), 151.30 (C-6), 152.89 (C-2), 160.43 (C-4), 169.10, 169.48, 169.99 (3 x OCOCH<sub>3</sub>)

### 5.2.25. 7-Rybofuranozyloadenina (4)

Do roztworu 7-(2',3',5'-tri-O-acetylorybofuranozylo)adeniny (**224**) (0.122 g, 0.310 mmol) w metanolu (4 mL) dodano 2 mL 25% roztworu amoniaku w wodzie. Reakcję prowadzono przez 30 minut w temperaturze pokojowej. Po tym czasie rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując biały osad, który mieszano w roztworze chloroform-metanol 95:5 przez 1 godzinę. Następnie biały osad odsączono i przemyto roztworem chloroform-metanol 95:5, uzyskując 0.060 g (0.22 mmol) 7-rybofuranozyloadeniny (**4**) z wydajnością 72.4%. Związek krystalizowano z metanolu uzyskując biały, drobnokrystaliczny osad.

**R<sub>f</sub>**: 0.57 (D1), 0.45 (E1)

**t.t.**: 207-210°C (200°C brązowienie)

**UV (MeOH)**:  $\lambda_{\max}$  270.0 nm,  $\lambda_{\min}$  233.0 nm

**<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)**: 3.68 (q, 2, 5'a,b-H), 3.99 (q, 1, 4'-H), 4.07 (bq, 1, 2'-H), 4.12 (bs, 1, 3'-H), 5.31 (d, 1, 3'-OH), 5.36 (t, 1, 5'-OH), 5.62 (d, 1, 2'-OH), 5.82 (d, J=7.2, 1, 1'-H), 6.99 (s, 2, NH<sub>2</sub>), 8.22 (s, 1, 2-H), 8.52 (s, 1, 8-H)

**<sup>13</sup>C NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)**: 60.34 (C-5'), 68.79 (C-3'), 74.83 (C-2'), 86.19 (C-4'), 89.21 (C-1'), 110.07 (C-5), 144.42 (C-8), 151.51 (C-6), 152.6 (C-2), 160.68 (C-4)



$^{15}\text{N}$  NMR (DMSO- $d_6$ ): 82.25 (N-6), 160.73 (N-7), 238.24 (N-1), 244.41 (N-3), 245.65 (N-9)

anal.: obliczono dla  $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_4$  (267.25): C: 44.94%, H: 4.90%, N: 26.21% znaleziono: C: 44.86%, H: 4.79%, N: 26.17%

dane kryst.: grupa przestrzenna  $P 2_1 2_1 2$

$a = 8.2006(7) \text{ \AA}$ ,  $b = 17.8347(14) \text{ \AA}$ ,  $c = 7.7064(7) \text{ \AA}$

$\alpha = 90.00^\circ$ ,  $\beta = 90.00^\circ$ ,  $\gamma = 90.00^\circ$

objętość komórki:  $1127.1 \text{ \AA}^3$

#### Długości wiązań w $\text{Å}$ :

O4'-C1' 1.408	C4'-O4' 1.475	C8-N9 1.327	N1-C6 1.538
C1'-C2' 1.528	C4'-C5' 1.506	N9-C4 1.379	C6-C5 1.400
C2'-C3' 1.523	C5'-O5' 1.427	C4-C5 1.400	C6-N <sup>6</sup> 1.342
C2'-O2' 1.414	C1'-N7 1.452	C4-N3 1.352	
C3'-O3' 1.428	N7-C8 1.350	N3-C2 1.317	
C3'-C4' 1.536	N7-C5 1.399	C2-N1 1.346	

#### Kąty torsyjne:

( $v_0$ ) C4'-O4'-C1'-C2' ( $-41.22^\circ$ )

( $v_3$ ) C2'-C3'-C4'-O4' ( $14.94^\circ$ )

( $v_1$ ) O4'-C1'-C2'-C3' ( $49.52^\circ$ )

( $v_4$ ) C3'-C4'-O4'-C1' ( $16.32^\circ$ )

( $v_2$ ) C1'-C2'-C3'-C4' ( $-37.42^\circ$ )

### 5.2.26. Izomeryzacja 7-(2',3',5'-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozyl)adeniny (224) wobec kwasu *p*-TsOH

Do zawiesiny 7-(2',3',5'-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozyl)adeniny (**224**) (0.0042 g, 0.0107 mmol) w chlorobenzenie (0.4 mL) dodano kwas *p*-TsOH (0.0004 g, 0.0021 mmol) i mieszaninę reakcyjną ogrzewano pod chłodnicą zwrotną w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika. Reakcję w tych warunkach prowadzono przez 2.5 godziny.  $R_f$  otrzymanego produktu w fazie chloroform-metanol 9:1 był identyczny z triacetyloadenozyną (**195**), a wydajność tego procesu według TLC wynosiła około 90%.



**5.2.27. Synteza N<sup>6</sup>-izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)-adeniny (198), N<sup>6</sup>-izobutyrylo-1-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)-adeniny (231) oraz N<sup>6</sup>-izobutyrylo-1,9-bis-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)adeniny (232) z zastosowaniem czynnika sililującego BSA****Metoda A**

Przez zawiesinę N<sup>6</sup>-izobutyryloadeniny (**197**) (0.9 g, 4.38 mmol) wysuszonej w pistolecie próżniowym (78°C, 8 godzin, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) i kilkakrotnie odparowanej z toluenem 1,2,3,5-tetra-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl (**91**) (1.79 g, 5.63 mmol) w 20 mL bezwodnym acetonitrylu przepuszczano argon (30 minut). Następnie do intensywnie mieszanego roztworu dodano BSA (1.646 g, 8.09 mmol) i całość ogrzewano w temperaturze 75°C przez 30 minut. Do uzyskanego klarownego roztworu dodano TMSOTf (0.484 g, 2.17 mmol). Reakcję prowadzono przez 3 godziny w temperaturze 75°C, w wyniku czego otrzymano jasnożółty roztwór. Mieszaninę reakcyjną ochłodzono do temperatury pokojowej i dodano 180 mL chlorku metylenu, a następnie wytrząsano ze 150 mL nasyconego roztworu kwaśnego węgla sodu. Fazę organiczną suszono nad bezwodnym siarczanem sodu przez 40 minut, po czym rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując jasnożółtą pianę (2.36 g). Rozdział mieszaniny poreakcyjnej przeprowadzono na kolumnie chromatograficznej (12 cm x 4.5 cm), stosując jako eluent układ chloroform-acetonitryl w gradiencie stężenia 2:1 → 1:1. W wyniku rozdziału otrzymano (w kolejności elucji): N<sup>6</sup>-izobutyrylo-1,9-bis-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozyl)-adeninę (**232**) (0.16 g, 0.2 mmol) z wydajnością 5%, w formie bezbarwnego, gęstego oleju; N<sup>6</sup>-izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozyl)adeninę (**198**) (0.21 g, 0.46 mmol) z wydajnością 10% jako bezbarwny, gęsty olej (związek identyczny R<sub>f</sub>, UV oraz <sup>1</sup>H NMR z otrzymanym w 5.2.6.); N<sup>6</sup>-izobutyrylo-1-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozyl)adeninę (**231**) (0.66 g, 1.42 mmol) w formie białego osadu, z wydajnością 32.5%. Związek **231** krystalizowano z gorącego 40% roztworu etanolu, otrzymując białe, drobne kryształy w formie igieł, które odsączono i przemyto zimnym 40% etanolem otrzymując po wysuszeniu 0.59 g kryształów (89.4% wydajność krystalizacji).

**Metoda B**

W wyniku przeprowadzenia analogicznej reakcji przedstawionej w metodzie A, jednak z zastosowaniem dłuższego czasu reakcji (4 godziny) oraz niższej temperatury (70°C), po





rozdziela mieszaniny reakcyjnej na kolumnie chromatograficznej (13 cm x 4.5 cm) w gradiencie stężenia chloroform-metanol 2:1 → 1:1, otrzymano związek **232** (0.242 g, 0.34 mmol) z wydajnością 7.6%, **198** (0.474 g, 1.02 mmol) z wydajnością 23.1% oraz produkt **231** (0.335 g, 0.72 mmol) z wydajnością 16.3%.

### Związek 232

$R_f$ : 0.80 (A3), 0.50 (B3)

UV (MeOH):  $\lambda_{max}$  293.8 nm,  $\lambda_{min}$  240.4 nm

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 1.22, 1.24 (2d, 2x3,  $\text{CH}(\underline{\text{CH}}_3)_2$ ), 2.08, 2.09, 2.10, 2.12, 2.14, 2.20 (6s, 6x3,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2.75 (septet, 1,  $\underline{\text{CH}}(\text{CH}_3)_2$ ), 4.41-4.45 (m, 6, 5'a,b-H, 5''a,b-H, 4'-H, 4''-H), 5.33 (q, 1, 3''-H), 5.69 (d, 1, 3'-H), 5.60 (dd, 1,  $J=2.4$ , 2''-H), 5.88 (t,  $J=5.4$ , 1, 2'-H), 6.03 (d,  $J=5.4$ , 1'-H), 6.28 (d,  $J=2.4$ , 1, 1''-H), 7.81 (s, 1, 8-H), 8.35 (s, 1, 2-H)

$^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 18.97, 19.06 (2 x  $\text{CH}(\underline{\text{CH}}_3)_2$ ), 20.21, 20.31, 20.44 ( $\text{OCOCH}_3$ ), 37.41 ( $\underline{\text{CH}}(\text{CH}_3)_2$ ), 62.43 (C-5'), 62.76 (C-5''), 68.96 (C-3''), 69.88 (C-3'), 72.23 (C-2'), 72.42 (C-2''), 78.76 (C-4''), 79.54 (C-4'), 85.83 (C-1'), 90.04 (C-1''), 120.84 (C-5), 139.87 (C-8), 141.73 (C-6), 143.35 (C-4), 146.22 (C-2), 169.24, 169.28, 2 x 169.39, 2 x 170.01 (6 x  $\text{OCOCH}_3$ ), 187.60 ( $\text{NCOCH}$ )

Wartości dotyczące części cukrowej przyłączonej w pozycję N1 oznaczono jako „bis”.

$^{15}\text{N NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ): 164.18 (N-1), 171.59 (N-9), 212.49 (N-3), 251.25 (N-7), dla atomu N-6 nie obserwowano korelacji z protonem

### Związek 231

$R_f$ : 0.54 (A3), 0.47 (B3)

t.t.: 159-161°C

UV (MeOH):  $\lambda_{max}$  313.2 nm,  $\lambda_{min}$  255.2 nm

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ): 1.20 (d, 6,  $\text{CH}(\underline{\text{CH}}_3)_2$ ), 2.05, 2.07, 2.10 (3s, 3x3,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2.64 (septet, 1,  $\underline{\text{CH}}(\text{CH}_3)_2$ ), 4.28-4.43 (m, 3, 5'b,a-H, 4'-H), 5.40 (t, 1, 3'-H), 5.69 (dd, 1, 2'-H), 6.33 (bs, 1, 1'-H), 8.12, 8.48 (2bs, 2x1, 8-H, 2-H), 12.67 (b, 1, N9-H lub/i N7-H)

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 1.18 (dd, 6,  $\text{CH}(\underline{\text{CH}}_3)_2$ ), 2.06, 2.18, 2.24 (3s, 3x3,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2.65 (septet, 1,  $\underline{\text{CH}}(\text{CH}_3)_2$ ), 4.41 (d, 1, 5'b-H), 4.51-4.55 (m, 2, 5'a-H, 4'-H), 5.34 (t, 1, 3'-H), 5.63 (d,  $J=4.8$ , 1, 2'-H), 6.65 (s, 1, 1'-H), 8.13 (s, 1, 8-H), 8.82 (s, 1, 2-H), 12.49 (s, 1, N7-H)

$^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 19.55, 19.84 (2 x  $\text{CH}(\underline{\text{CH}}_3)_2$ ), 20.26, 20.30, 20.72 (3 x  $\text{OCOCH}_3$ ), 39.51 ( $\underline{\text{CH}}(\text{CH}_3)_2$ ), 61.05 (C-5'), 67.67 (C-3'), 74.51 (C-2'), 78.86 (C-4'), 90.31 (C-1'), 114.27 (C-5), 141.53 (C-8), 142.17 (C-2), 148.02 (C-6), 157.05 (C-4), 168.93, 169.20, 170.23 (3 x  $\text{OCOCH}_3$ ), 188.87 ( $\text{NCOCH}$ )



$^{15}\text{N}$  NMR (DMSO- $d_6$ ): 161.65 (N-9), 170.66 (N-1), 209.50 (N-6), 241.06 (N-3), 249.30 (N-7)

MS: Widmo LSIMS POS w NBA dla: ( $\text{M}^+\text{H}$ )  $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_8$  obliczono: 464.4 znaleziono 464.3

( $\text{M}^+\text{Na}$ )  $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_8\text{Na}$  obliczono: 486.4; znaleziono 486.2

anal.: obliczono dla  $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_8$  (463.447): C: 51.83%, H: 5.44%, N: 15.11% znaleziono: C: 51.74%, H: 5.23%, N: 15.01%

### 5.2.28. Synteza $\text{N}^6$ -izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozyl)-adeniny (198) oraz $\text{N}^6$ -izobutyrylo-1,9-bis-(2',3',5'-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozyl)adeniny (232) z zastosowaniem czynnika siliującego HMDS

Do zawiesiny suchej  $\text{N}^6$ -izobutyryloadeniny (197) (0.302 g, 1.47 mmol) w HMDS (10 mL) dodano siarczanu (VI) amonu (0.010 g, 0.087 mmol). Całość umieszczono w łaźni olejowej i ogrzewano w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika pod chłodnicą zwrotną (temperatura łaźni  $135^\circ\text{C}$ ), w atmosferze argonu przez 2.5 godziny. Uzyskany klarowny roztwór odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem do uzyskania gęstego oleju, który odparowano do sucha przy pomocy pompy olejowej otrzymując biały, gęsty olej, który następnie w atmosferze argonu rozpuszczono w 6 mL bezwodnego acetonitrylu. Do otrzymanej zawiesiny dodano suchej 1,2,3,5-tetraacetyloribofuranozy (91) (0.500 g, 1.57 mmol) oraz katalizatora TMSOTf (0.278 g, 1.25 mmol), w wyniku czego oba komponenty rozpuściły się całkowicie. Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 2 godziny. Po tym czasie rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując białą, suchą pianę. Następnie mieszaninę reakcyjną poddano rozdzielaniu na kolumnie chromatograficznej (7.5 cm x 3.5 cm) stosując fazę chloroform-acetonitryl w gradiencie stężenia 2:1  $\rightarrow$  1:1, co pozwoliło na otrzymanie 0.148 g (0.32 mmol, wydajność 21%)  $\text{N}^6$ -izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozyl)adeniny (198) identycznej ( $R_f$ , UV,  $^1\text{H}$  NMR) z próbką otrzymaną w preparatyce 5.2.6. oraz 0.044 g (0.06 mmol)  $\text{N}^6$ -izobutyrylo-1,9-bis-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozyl)adeniny (232) powstającej z wydajnością 4.3% o identycznym  $R_f$ , UV i  $^1\text{H}$  NMR z próbką otrzymaną w preparatyce 5.2.27.



### 5.2.29. Synteza N<sup>6</sup>-benzoilo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)-adeniny (110) i N<sup>6</sup>-benzoilo-1-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranozyl)-adeniny (236) z zastosowaniem BSA

#### Metoda A

Do N<sup>6</sup>-benzoiloadeniny (**109**) (0.600 g, 2.50 mmol) wysuszonej w pistolecie próżniowym (78°C, 5 godzin, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) oraz kilkakrotnie odparowanej z toluenem 1,2,3,5-tetra-O-acetylo-β-D-rybofuranozy (**91**) (0.955 g, 3.00 mmol) dodano 24 mL suchego acetonitrylu otrzymując zawiesinę, przez którą przepuszczano argon (30 minut). Następnie do intensywnie mieszanego roztworu dodano BSA (1.006 g, 4.90 mmol) i całość ogrzewano w temperaturze 60°C przez 30 minut uzyskując klarowny roztwór, do którego dodano TMSOTf (0.280 g, 1.30 mmol). Reakcję prowadzono przez 3.5 godziny w temperaturze 60°C. Mieszaninę reakcyjną ochłodzono do temperatury pokojowej i dodano 40 mL chlorku metylenu, a następnie wytrząsano z 80 mL nasyconego roztworu kwaśnego węgla sodu. Fazę organiczną suszono nad bezwodnym siarczanem (VI) sodu przez 40 minut, po czym rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując białą pianę. Rozdział mieszaniny reakcyjnej przeprowadzono na kolumnie chromatograficznej (16 cm x 4.5 cm), stosując jako eluent układ chloroform-metanol w gradiencie stężenia 98:2 → 9:1. W wyniku rozdzielania otrzymano (w kolejności elucji): N<sup>6</sup>-benzoilo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozyl)adeninę (**110**) (0.99 g, 0.20 mmol) z wydajnością 7.9% w postaci bezbarwnego, gęstego oleju, identyczną ze związkiem otrzymanym w 5.2.13.; N<sup>6</sup>-benzoilo-1-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozyl)adeninę (**236**) (0.377 g, 0.76 mmol) w formie bezbarwnego oleju, z wydajnością 30.2% oraz 0.373 g nieprzereagowanej N<sup>6</sup>-benzoiloadeniny (**109**) (1.56 mmol, 62.2%). Związek **236** krystalizowano z gorącego etanolu, otrzymując białe, drobne kryształy, które odsączono i przemyto zimnym etanolem otrzymując po wysuszeniu 0.312 g kryształów.

#### Metoda B

Suchą N<sup>6</sup>-benzoiloadenię (**109**) (0.040 g, 0.16 mmol) i suchą 1,2,3,5-tetra-O-acetylo-β-D-rybofuranozę (**91**) (0.064 g, 0.20 mmol) rozpuszczono w 2 mL suchego acetonitrylu otrzymując zawiesinę, przez którą w czasie 30 minut przepuszczano argon. Następnie do intensywnie mieszanego roztworu dodano BSA (0.067 g, 0.3 mmol) i całość ogrzewano w temperaturze 60°C przez 30 minut. Do uzyskanego klarownego roztworu dodano TMSOTf (0.019 g, 0.08 mmol).



Reakcję prowadzono przez 66 godzin w temperaturze 60°C. W wyniku przeprowadzonej reakcji uzyskano z ok. 95% (TLC) wydajnością produkt posiadający identyczny współczynnik  $R_f$  do pochodnej **110** (5.2.13.).

### Związek 236

$R_f$ : 0.62 (A3), 0.49 (B3)

t.t.: 202-205°C (200°C mięknięcie)

UV (MeOH):  $\lambda_{\max}$  331.5 nm,  $\lambda_{\min}$  280.0 nm,  $\lambda_{\max}$  227.5 nm

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 2.07, 2.08, 2.25 (3s, 3x3,  $\text{OCOCH}_3$ ), 4.41-4.60 (m, 3, 5'a,b-H, 4'-H), 5.38 (dd, 1, 3'-H), 5.64 (d,  $J=2.1$ , 1, 2'-H), 6.70 (d,  $J=2.1$ , 1, 1'-H), 7.42 (t, 2, Ph), 7.52 (t, 1, Ph), 8.17 (s, 1, 8-H), 8.22 (d, 2, Ph), 8.90 (s, 1, 2-H), 12.65 (s, 1, N7-H)

$^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 20.31, 20.41, 20.80 (3 x  $\text{OCOCH}_3$ ), 61.26 (C-5'), 68.09 (C-3'), 74.90 (C-2'), 79.29 (C-4'), 89.93 (C-1'), 114.61 (C-5), 128.03, 128.17, 129.75, 137.25 (C-Ph), 141.95 (C-8), 142.20 (C-2), 148.81 (C-6), 157.60 (C-4), 168.88, 169.21, 170.24 (3 x  $\text{OCOCH}_3$ ), 175.18 ( $\text{NCOPh}$ )

### 5.2.31. Synteza $\text{N}^6$ -acetylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozyl)-adeniny (207) i $\text{N}^6$ -acetylo-1-(2',3',5'-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozyl)-adeniny (235) z zastosowaniem czynnika sililującego BSA

Do wysuszonej w pistolecie próżniowym (78°C, 8 godzin,  $\text{P}_2\text{O}_5$ )  $\text{N}^6$ -acetyloadeniny (**206**) (0.160 g, 0.90 mmol) i 1,2,3,5-tetra-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozy (**91**) (0.465 g, 1.46 mmol) dodano 4 mL suchego acetonitrylu otrzymując zawiesinę, przez którą w czasie 30 minut przepuszczano argon. Do intensywnie mieszanego roztworu dodano BSA (0.517 g, 2.53 mmol) i całość ogrzewano w temperaturze 80°C do uzyskanego klarownego roztworu, a następnie dodano TMSOTf (0.108 g, 0.48 mmol). Reakcję prowadzono w temperaturze 80°C przez 90 minut. Po tym czasie mieszaninę reakcyjną ochłodzono do temperatury pokojowej i dodano 10 mL chlorku metylenu i kilkakrotnie wytrząsano z 10 mL nasyconego roztworu kwaśnego węgla sodu. Fazę organiczną suszono nad bezwodnym siarczanem (VI) sodu przez 60 minut, po czym rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując jasnożółtą pianę (0.620 g). Rozdział mieszaniny reakcyjnej przeprowadzono na kolumnie chromatograficznej (5 cm x 3.5 cm), stosując jako eluent układ chloroform-acetonitryl w gradiencie stężenia 2:1  $\rightarrow$  1:1. W wyniku rozdzielania otrzymano:  $\text{N}^6$ -acetylo-9-(2',3',5'-tri-O-





acetyloribofuranozylo)adeninę (**207**) (0.062 g, 0.14 mmol) z wydajnością 15.7%, w formie jasnożółtego, gęstego oleju; N<sup>6</sup>-acetylo-1-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeninę (**235**) (0.089 g, 0.20 mmol) z wydajnością 22.6% jako bezbarwny, gęsty olej.

### Związek 207

R<sub>f</sub>: 0.50 (A3)

UV (MeOH): λ<sub>max</sub> 271.2 nm, λ<sub>min</sub> 233.0 nm, λ<sub>max</sub> 214.6 nm

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): 2.02, 2.08, 2.12, 2.16 (4s, 4x3, COCH<sub>3</sub>), 4.35-4.49 (m, 3, 5'a,b-H, 4'-H), 5.67 (t, 1, 3'-H), 5.95 (d, J=5.4, 1, 2'-H), 6.21 (d, J=5.4, 1, 1'-H), 8.13 (s, 1, 8-H), 8.61 (s, 1, N<sup>6</sup>-H), 8.69 (s, 1, 2-H)

<sup>1</sup>H NMR (DMSO): 2.01, 2.04, 2.13 (3s, 3x3, OCOCH<sub>3</sub>), 2.25 (s, 3, NCOCH<sub>3</sub>), 4.22-4.29 (m, 1, 5'b-H), 4.38-4.45 (m, 2, 5'a-H, 4'-H), 5.65 (t, 1, 3'-H), 6.06 (d, J=5.6, 1, 2'-H), 6.32 (d, J=5.1, 1, 1'-H), 8.68, 8.69 (2s, 1, 2-H, 8-H), 10.78 (s, 1, N<sup>6</sup>-H)

### Związek 235

R<sub>f</sub>: 0.46 (A3), 0.36 (B3)

UV (MeOH): λ<sub>max</sub> 312.6 nm, λ<sub>min</sub> 252.6 nm, λ<sub>max</sub> 212.4 nm

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): 2.07, 2.20, 2.21 (3s, 3x3, OCOCH<sub>3</sub>), 2.24 (s, 3, NCOCH<sub>3</sub>), 4.38 (dd, 1, 5'b-H), 4.51 (dt, 2, 5'a-H, 4'-H), 5.35 (dd, 1, 3'-H), 5.71 (d, J=1.8, 1, 2'-H), 6.44 (d, J=1.8, 1, 1'-H), 8.11 (s, 1, 8-H), 8.74 (s, 1, 2-H), 12.38 (s, 1, N7-H)

## 5.2.32. 1-Rybofuranozyloadenina (**2**)

Suchą N<sup>6</sup>-izobutyrylo-1-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeninę (**231**) (0.222 g, 0.48 mmol) rozpuszczono w metanolu nasyconym amoniakiem (10 mL) otrzymując klarowny roztwór. Reakcję prowadzono przez 23 godziny w temperaturze 25°C. Po tym czasie rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując osad, który mieszano w roztworze chloroform-metanol 1:1 przez 2 godziny. Następnie biały osad odsączono i przemyto roztworem chloroform-metanol 1:1, uzyskując 0.10 g (0.45 mmol) 1-rybofuranozyloadeniny (**2**) z wydajnością 93%. Związek krystalizowano z wody uzyskując bezbarwne kryształy.

R<sub>f</sub>: 0.53 (D1), 0.42 (E1)

t.t.: 169°C brązowienie, 178-195°C czernienie



UV (MeOH):  $\lambda_{\max}$  274.8 nm,  $\lambda_{\min}$  247.6 nm,  $\lambda_{\max}$  228.4 nm

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ): 3.38 (bs, 3, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 3.72 (q, 2, 5'a,b-H), 4.07 (d, 1, 4'-H), 4.12 (d, 1, 3'-H), 4.12 (t,  $J=5.4$ , 1, 2'-H), 5.95 (d,  $J=6.0$ , 1, 1'-H), 6.80 (b, 2, NH<sub>2</sub>), 7.83 (s, 1, 8-H), 8.39 (s, 1, 2-H)

$^1\text{H}$  NMR (D<sub>2</sub>O): 4.05 (q, 2, 5'a,b-H), 4.46 (d, 1, 4'-H), 4.49 (d, 1, 3'-H), 4.79 (t,  $J=6.0$ , 1, 2'-H), 6.15 (d,  $J=6.0$ , 1, 1'-H), 8.21 (s, 1, 8-H), 8.60 (s, 1, 2-H)

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ): 60.55 (C-5'), 69.90 (C-3'), 72.74 (C-2'), 86.27 (C-4'), 92.23 (C-1'), 118.99 (C-5), 140.54 (C-2), 148.68 (C-6), 150.73 (C-8), 154.70 (C-4)

$^{15}\text{N}$  NMR (DMSO- $d_6$ ): 164.72 (N-1), 232.51 (N-3), dla pozostałych atomów azotu nie obserwowano sygnałów korelacyjnych ( $^{15}\text{N}$ - $^1\text{H}$ )

anal.: obliczono dla C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> (267.25): C: 44.94%, H: 4.90%, N: 26.21% znaleziono: C: 44.47%, H: 4.69%, N: 26.15%

Dane kryst.: grupa przestrzenna P 2<sub>1</sub>

$a = 6.7737(4)$  Å,  $b = 16.7201(8)$  Å,  $c = 9.7134(4)$  Å

$\alpha = 90.00^\circ$ ,  $\beta = 90.895^\circ$ ,  $\gamma = 90.00^\circ$

objętość komórki: 1099.98 Å<sup>3</sup>

Długości wiązań w Å (dla dwóch cząsteczek w komórce elementarnej):

O4'-C1' 1.415, 1.411	C4'-C5' 1.514, 1.512	C4-C5 1.391, 1.396
C1'-C2' 1.529, 1.532	C5'-O5' 1.429, 1.435	C4-N9 1.356, 1.355
C2'-C3' 1.529, 1.535	C1'-N1 1.478, 1.473	N9-C8 1.368, 1.353
C2'-O2' 1.417, 1.413	N1-C6 1.377, 1.379	C8-N7 1.339, 1.348
C3'-O3' 1.420, 1.417	N1-C2 1.393, 1.396	N7-C5 1.375, 1.380
C3'-C4' 1.534, 1.534	C2-N3 1.288, 1.288	C5-C6 1.401, 1.401
C4'-O4' 1.473, 1.466	N3-C4 1.367, 1.368	C6-N <sup>6</sup> 1.322, 1.324.

Kąty torsyjne:

( $\nu_0$ ) C4'-O4'-C1'-C2' (-28.85° i -28.18°)	( $\nu_3$ ) C2'-C3'-C4'-O4' (23.42° i 23.86°)
( $\nu_1$ ) O4'-C1'-C2'-C3' (42.16° i 42.13°)	( $\nu_4$ ) C3'-C4'-O4'-C1' (3.10° i 2.46°)
( $\nu_2$ ) C1'-C2'-C3'-C4' (-38.52° i -38.93°)	



### 5.2.33. Próba odblokowania N<sup>6</sup>-izobutyrylo-1-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranosylo)adeniny (231)

N<sup>6</sup>-izobutyrylo-1-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranosylo)adeninę (**231**) (0.065 g, 0.14 mmol) rozpuszczono w 9 mL metanolanu sodu. Reakcję prowadzono przez 58 godzin w temperaturze pokojowej. Analiza TLC wykazała powstawanie kilku produktów reakcji o podobnych stężeniach.

### 5.2.34. Próba odblokowania N<sup>6</sup>-benzoilo-1-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranosylo)adeniny (236)

#### Metoda A

N<sup>6</sup>-Benzoilo-1-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranosylo)adeninę (**236**) (0.200 g, 0.40 mmol) rozpuszczono w 25 mL metanolu. Następnie dodano 25 mL 25% wodnego roztworu amoniaku i intensywnie mieszano przez 4 godziny w temperaturze pokojowej. Po tym czasie rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując osad, który krystalizowano z wody, otrzymując drobnokrystaliczny, biały osad; N<sup>6</sup>-benzoilo-1-(β-D-rybofuranosylo)adeninę (**237**) (0.066 g, 0.18 mmol, wydajność 44%).

#### Metoda B

N<sup>6</sup>-Benzoilo-1-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranosylo)adeninę (**236**) (0.048 g, 0.1 mmol) rozpuszczono w 9 mL metanolu nasyconego amoniakiem. Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 48 godzin. Jednak związek **236** nie uległ całkowitemu rozpuszczeniu i odblokowaniu, otrzymano mieszaninę kilku produktów o podobnych stężeniach.

#### Związek 237

t.t.: 134-137°C

R<sub>f</sub>: 0.18 (A4)

UV (MeOH): λ<sub>max</sub> 332.5 nm, λ<sub>min</sub> 281.5 nm, λ<sub>max</sub> 231.0 nm



$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ): 3.80 (bq, 2, 5'a,b-H), 4.04 (d, 1, 4'-H), 4.17 (d, 1, 3'-H), 4.25 (bq, 1, 2'-H), 5.20, 5.39, 5.55 (2d i s, 3, 3'-OH, 5'-OH, 2'-OH), 6.01 (bs, 1, 1'-H), 7.45-7.60 (m, 3, Ph), 8.12 (d, ~2, Ph), 8.31 (bs, ~1, 8-H), 9.15 (bs, 1, 2-H), 12.52 (s, 1, N7-H)

### 5.2.35. Reakcje $\text{N}^6$ -izobutyrylo-1-(2',3',5'-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozylo)-adeniny (231) w warunkach transglikozylacji

#### Metoda A (temperatura wrzenia rozpuszczalnika)

$\text{N}^6$ -Izobutyrylo-1-(2',3',5'-tri-O-acetylo-rybofuranozylo)adeninę (231) (0.042 g, 0.09 mmol) oraz kwas *p*-toluenosulfonowy (0.0017 g, 0.009 mmol) rozpuszczono w 2 mL suchego chlorobenzenu. Reakcję prowadzono pod chłodnicą zwrotną (temperatura łaźni 160°C) przez 8 minut. Po tym czasie mieszaninę reakcyjną odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie rozdzielono na kolumnie chromatograficznej (4 cm x 2 cm) w gradiencie stężenia chloroform-metanol 98:2  $\rightarrow$  95:5. W wyniku rozdzielania otrzymano:  $\text{N}^6$ -izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-rybofuranozylo)adeninę (198) (0.019 g, 0.041 mmol), powstającą z wydajnością 45.6%, o  $R_f$  i UV identycznym ze związkem otrzymanym w wyniku reakcji opisanej w rozdziale 5.2.6. oraz  $\text{N}^6$ -izobutyryloadeninę (197) (0.008 g, 0.004 mmol), identyczną ze związkem otrzymanym w rozdziale 5.2.3., a powstającą z 45.1% wydajnością.

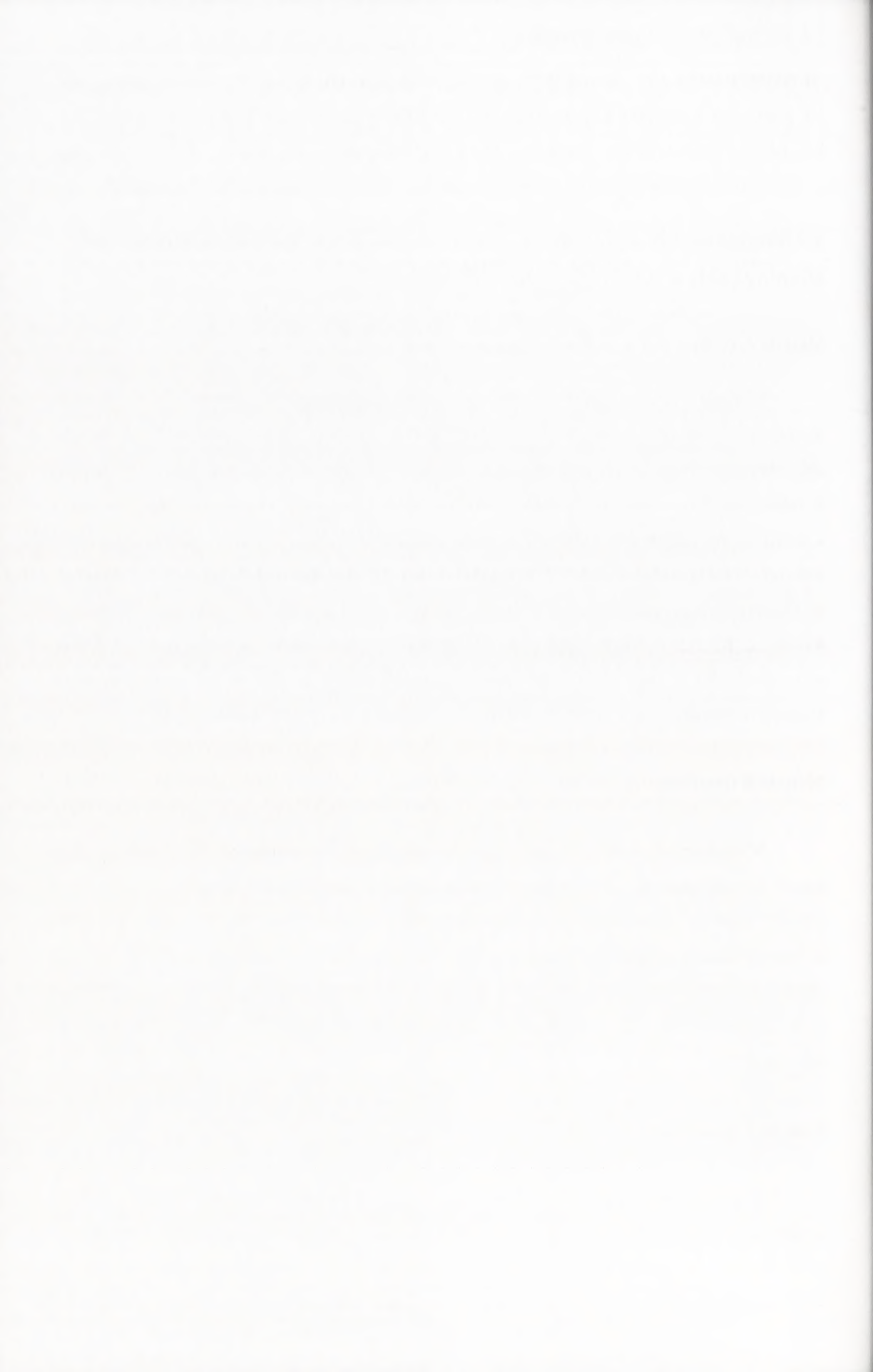
#### Metoda B (temperatura 112°C)

$\text{N}^6$ -Izobutyrylo-1-(2',3',5'-tri-O-acetylo-rybofuranozylo)adeninę (231) (0.010 g, 0.02 mmol) rozpuszczono w 1 mL suchego chlorobenzenu i dodano kwasu *p*-TsOH (0.0004 g, 0.002 mmol). Reakcję prowadzono na łaźni olejowej o temperaturze 112°C przez 30 minut z intensywnym mieszaniem. Analiza TLC wykonywana w trakcie reakcji, w układzie chloroform-metanol 95:5, pokazała tworzenie się dwóch głównych produktów o  $R_f$  identycznym z  $\text{N}^6$ -izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetylo-rybofuranozylo)adeniną (198) oraz  $\text{N}^6$ -izobutyryloadeniną (197).

#### Metoda C (temperatura 60°C)

$\text{N}^6$ -Izobutyrylo-1-(2',3',5'-tri-O-acetylo-rybofuranozylo)adeninę (231) (0.006 g, 0.013 mmol) rozpuszczono w 1 mL suchego chlorobenzenu i dodano kwasu *p*-TsOH 0.00025 g,





0.0013 mmol). Reakcję prowadzono na łaźni olejowej o temperaturze 60°C przez 120 minut z intensywnym mieszaniem. Analiza TLC wykonana w trakcie reakcji, w układzie chloroform-metanol 95:5, pokazała tworzenie się z dużą wydajnością, około 80-90% produktu o  $R_f$  identycznym z  $N^6$ -izobutyryloadeniną (**197**).

### Metoda D (stapianie 220°C)

$N^6$ -Izobutyrylo-1-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeninę (0.005 g, 0.01 mmol) (**231**) ogrzewano w temperaturze 220°C przez 3 minuty. Analiza TLC wykonana w układzie chloroform-metanol 95:5 wykazała powstanie z wydajnością około 60% produktu o współczynniku  $R_f$  identycznym z  $N^6$ -izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)-adeniną (**198**).

### 5.2.36. Reakcje $N^6$ -benzoilo-1-(2',3',5'-tri-O-acetylo- $\beta$ -D-rybofuranozylo)-adeniny (**236**) w warunkach transglukozylacji

#### Metoda A (temperatura wrzenia rozpuszczalnika)

$N^6$ -Benzoilo-1-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeninę (**236**) (0.0015 g, 0.003 mmol) oraz kwas *p*-toluenosulfonowy (0.0001 g, 0.0005 mmol) rozpuszczono w 0.5 mL suchego chlorobenzenu. Reakcję prowadzono w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 15 minut z intensywnym mieszaniem. Analiza TLC reakcji prowadzona w układzie chloroform-metanol 95:5 wykazała, że z wydajnością około 70% powstaje produkt o współczynniku  $R_f$  identycznym z  $R_f$   $N^6$ -benzoilo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeniny (**110**).

#### Metoda B (stapianie 220°C)

$N^6$ -Benzoilo-1-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeninę (**236**) (0.001 g, 0.002 mmol) ogrzewano przez 5 minut w temperaturze 220°C. Analiza TLC prowadzona w układzie chloroform-metanol 95:5 wykazała, że z wydajnością około 50% nastąpiła konwersja związku **236** do produktu o współczynniku  $R_f$  identycznym z  $R_f$   $N^6$ -benzoilo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranozylo)adeniny (**110**).



**5.2.37. Dekompozycji N<sup>6</sup>-izobutyrylo-1,9-bis-(2',3',5'-tri-O-acetylo-β-D-rybofuranosylo)adeniny (232) w warunkach transglikozylacji**

N<sup>6</sup>-Izobutyrylo-1,9-bis-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranosylo)adeninę (**231**) (0.090 g, 0.12 mmol) rozpuszczono w 5 mL suchego chlorobenzenu, a następnie dodano kwasu *p*-TsOH (0.0022 g, 0.012 mmol). Reakcję prowadzono pod chłodnicą zwrotną w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 10 minut z intensywnym mieszaniem. Analiza TLC wykonywana w trakcie reakcji, w układzie chloroform-acetonitryl (2:1, 1:1), toluen-etanol 9:1 oraz chloroform-metanol 9:1, pokazała tworzenie się dwóch produktów o współczynnikach R<sub>f</sub> identycznych z R<sub>f</sub> N<sup>6</sup>-izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranosylo)adeniny (**198**) oraz N<sup>6</sup>-izobutyrylo-1-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranosylo)adeniny (**236**) powstających odpowiednio z wydajnościami około: 60% i 10%. Następnie rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując jasnożółtą pianę, którą poddano rozdzielowi przy pomocy kolumny chromatograficznej (5.5 cm x 2 cm) jako eluent stosując chloroform-acetonitryl w gradiencie stężenia 2:1 → 1:1, co pozwoliło na otrzymanie 0.030 g (0.065 mmol) N<sup>6</sup>-izobutyrylo-9-(2',3',5'-tri-O-acetyloribofuranosylo)adeniny z wydajnością 51.3%. Produkt ten posiadał identyczny współczynnik R<sub>f</sub> oraz widma UV i <sup>1</sup>H NMR z pochodną **198**.



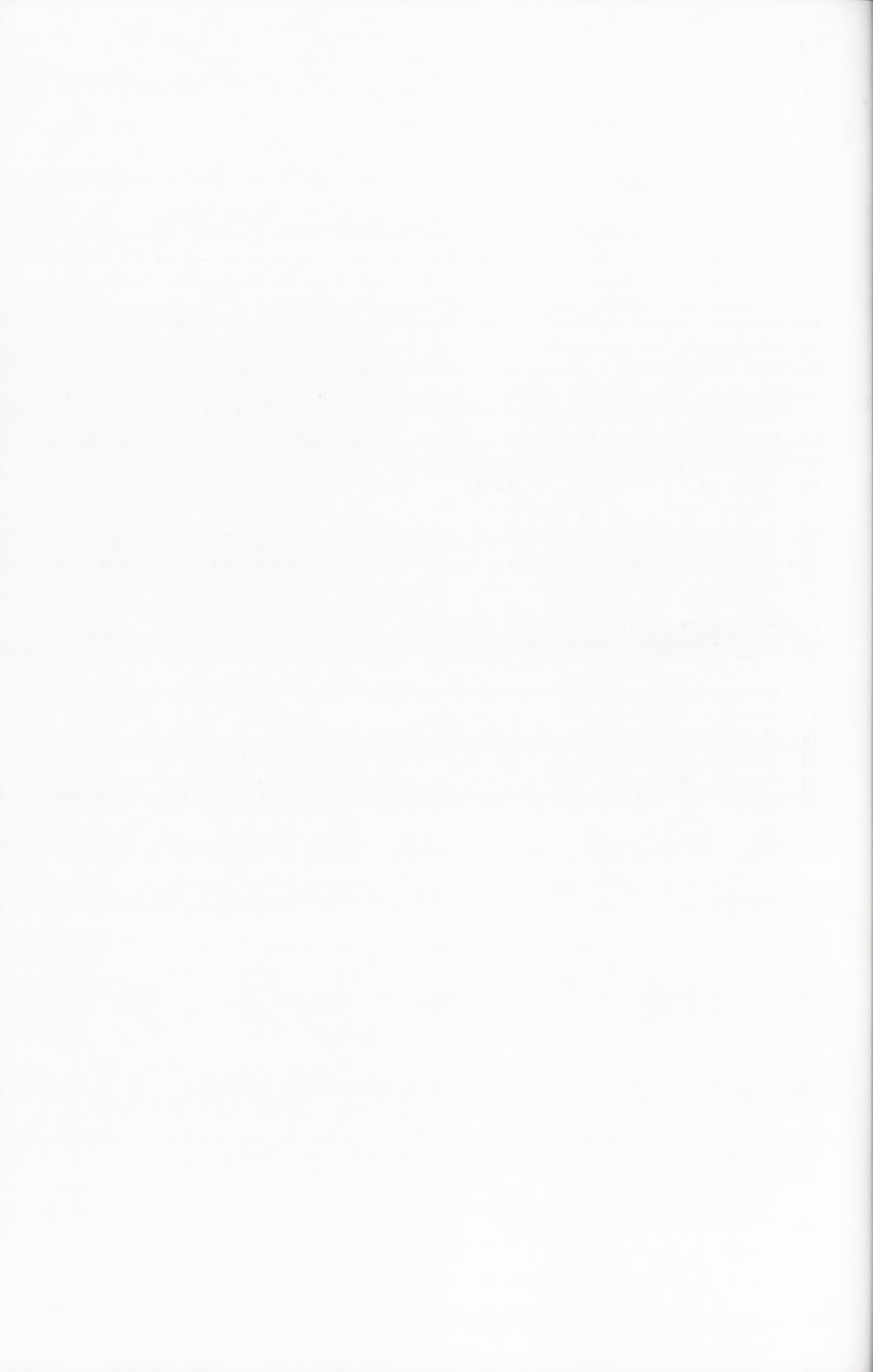
## 6. Literatura

1. Fischer, E.; Helferich, B. *Chem. Ber.*, **47**, 210 (1914).
2. Ulbricht, T.L.V. *Angew. Chem.*, **74**, 767 (1962).
3. Hilbert, G.E.; Johnson, T.B. *J. Am. Chem. Soc.*, **52**, 4489 (1930).
4. Knorr, E. *Ber.*, **30**, 937 (1897).
5. Davoll, J.; Lowy, B.A. *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 1650 (1951).
6. Fox, J.J.; Young, N.; Davoll, J.; Brown, G.B. *J. Chem. Soc.*, **78**, 2117 (1956).
7. Helferich, B.; Weis, K. *Chem. Ber.*, **89**, 314 (1956).
8. Sato, T., Shimadate, T.; Ishido, Y. *Nippon Kagaku Zashi*, **81**, 1440 (1960).
9. Ishido, Y.; Sato, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **34**, 1347 (1961).
10. Shimidate, T.; Ishido, Y.; Sato, T. *Nippon Kagaku Zashi*, **82**, 938, (1961).
11. Ishido, Y.; Matsuba, T.; Hosono, A.; Fujii, K.; Sato, T.; Isome, S.; Maruyama, A.; Kikuchi, Y. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **40**, 1007 (1967).
12. Robins, M.J.; Robins, R.K. *J. Am. Chem. Soc.*, **37**, 4935 (1965).
13. Robins, M.J.; Robins, R.K. *J. Org. Chem.*, **34**, 2160 (1969).
14. Shimizu, B.; Miyaki, M. *Chem. Ind.*, 664 (1966).
15. Montgomey, J.A.; Thomas, H.J. *J. Org. Chem.*, **31**, 1411 (1966).
16. Shimizu, B.; Miyaki, M. *Chem. Pharm. Bull.*, **18**, 732 (1970).
17. Watanabe, K.; Hollenberg, D.H.; Fox, J.J. *Carbohydr. Nucleosides & Nucleotides*, **1**, 1 (1974).
18. Miyaki, M.; Shimizu, B. *Chem. Pharm. Bull.*, **18**, 1446 (1970).
19. Boryski, J.; Golankiewicz, B. *Nucleosides & Nucleotides*, **8**, 529 (1989).
20. Jenkins, S.R.; Holy, F.W.; Walton, E. *J. Org. Chem.*, **30**, 2851 (1965).
21. Wright, G.E.; Dudycz, L.W. *J. Med. Chem.*, **27**, 175 (1984).
22. Rogers, G.T.; Ulbricht, T.L.V. *J. Chem. Soc.* 1929 (1968).
23. Boryski, J. *Nucleosides & Nucleotides*, **15**, 771 (1996).
24. Ukita, T.; Hayatsu, H.; Tomita, Y. *Chem. Pharm. Bull.*, **11**, 1068 (1963).
25. Hoffer, M. *Chem. Ber.*, **93**, 2777 (1960).
26. Hoffer, M.; Duschinsky, R.; Fox, J.J.; Yung, N. *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 4112 (1959).
27. Fox, J.J.; Young, N.C.; Wempen, I.; Hoffer, M. *J. Am. Chem. Soc.*, **83**, 4066 (1961).
28. Ulbricht, T.L.V.; Rogers, G.T. *J. Chem. Soc.*, 6125 (1965).
29. Rogers, G.T.; Shadbolt, R.S.; Ulbricht, T.L.V. *J. Chem. Soc. (C)*, 203, (1969).
30. Schmidt, G.; Farkaš, J. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **31**, 417 (1975).
31. Ulbricht, T.L.V. *Proc. Chem. Soc.*, 298 (1962).
32. Schmidt, G.; Farkaš, J. *Tetrahedron Lett.*, **34**, 4251 (1967).
33. Ulbricht, T.L.V.; Rogers, G.T. *J. Chem. Soc.*, 6130 (1965).
34. Pryštas, M.; Šorm, F. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **29**, 2809 (1964).
35. Rabinowitz, J.L.; Gurin, S. *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 5785 (1953).
36. Ueda, T.; Nishino, H. *J. Am. Chem. Soc.*, **90**, 1678 (1968).
37. Yamaoka, N.; Aso, K.; Matsuda, K. *J. Org. Chem.*, **30**, 149 (1965).
38. Pryštas, M.; Šorm, F. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **33**, 210 (1968).
39. Pryštas, M.; Šorm, F. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **29**, 1813 (1968).
40. Vorbrüggen, H.; Höfle, G. *Chem. Ber.*, **114**, 1256 (1981).
41. Vorbrüggen, H.; Bennua, B. *Chem. Ber.*, **114**, 2757 (1981).
42. Hilbert, G.E.; Johnson, T.B. *J. Am. Chem. Soc.*, **52**, 2001 (1930).
43. Rabinowitz J.L.; Gurin, S. *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 5758 (1953).
44. Farkaš, J.; Kaplan, L.; Fox, J.J. *J. Org. Chem.*, **29**, 1469 (1964).
45. Pryštas, M.; Šorm, F. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **31**, 1053 (1966).
46. Pryštas, M.; Šorm, F. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **30**, 2960 (1965).
47. Pryštas, M.; Šorm, F. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **33**, 131 (1964).



48. Pryštas, M.; Farkaš, J.; Šorm, F. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **30**, 3123 (1965).
49. Pryštas, M.; Šorm, F. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **31**, 3990 (1966).
50. Pryštas, M.; Šorm, F. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **31**, 1035 (1966).
51. Fox, J.J.; Goodman, I. *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 3256 (1964).
52. Roberts, M.; Visser, D.H. *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 668 (1952).
53. Walton, E.; Holly, F.; Boxer, G.E.; Nutt, R.F. *J. Org. Chem.*, **31**, 1163 (1966).
54. Nito, T.; Kawakami, T. *Chem. Pharm. Bull.*, **10**, 627 (1962).
55. Hilbert, G.E.; Rist, C.E. *J. Biol. Chem.*, **117**, 371 (1937).
56. Visser, D.W.; Goodman, I.; Dittmer, K. *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 1926 (1948).
57. Lemieux, R.U.; Morgan, A.R.; *Can. J. Chem.*, **43**, 2214 (1965).
58. Smejkal, J.; Farkaš, J.; Šorm, F. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **31**, 291 (1966).
59. Glaudemans, C.P.J.; Fletcher, H.C. *J. Org. Chem.*, **28**, 3004 (1963).
60. Pryštas, M.; Šorm, F. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **34**, 331 i 2316 (1969).
61. Newmark, P.; Goodman, I. *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 6446 (1957).
62. Nishimura, T.; Shimizu, B.; Iwai, I. *Chem. Pharm. Bull.*, **11**, 1470 (1963).
63. Nishimura, T.; Iwai, I. *Chem. Pharm. Bull.*, **12**, 1471 (1964).
64. Wittenburg, E. *Chem. Ber.*, **101**, 1095 (1968).
65. Wittenburg, E. *Chem. Ber.*, **101**, 1614 (1968).
66. Wittenburg, E.; Etzold, G.; Langen, P. *Chem. Ber.*, **101**, 494 (1968).
67. Bardos, T.J.; Kotick, M.P.; Szantay, C. *Tetrahedron Letters*, 1759 (1966).
68. Kotick, M.P.; Szantay, C.; Bardos, T.J. *J. Org. Chem.*, **34**, 3806 (1969).
69. Birkofer, L.; Ritter, A.; Kuhlthau, H.P. *Chem. Ber.*, **79**, 934 (1964).
70. Covill, M.J.; Garg, H.G.; Ulbricht, T.L.V. *Tetrahedron Letters*, 1033 (1968).
71. Vorbrüggen, H.; Królikiewicz, K.; Bennua, B. *Chem. Ber.*, **114**, 1234 (1981).
72. Itoh, T.; Mizuno, Y. *Heterocycles*, **5**, 285, (1976).
73. Shimizu, B.; Miyaki, M. *Tetrahedron*, **7**, 855 (1967).
74. Ryan, K.J.; Acton, E.M.; Goodman, L. *J. Org. Chem.*, **38**, 2646 (1971).
75. Helferich, B.; Gootz, R.; *Ber.*, **62**, 2788 (1929).
76. Helferich, B.; Lampert, U. *Ber.*, **67**, 1167, (1934).
77. Helferich, B.; Forstoff, L. *Ber.*, **94**, 158, (1961).
78. Ishido, Y.; Kikuchi, Y.; Sato, T. *Nippon Kagaku Zasshi*, **86**, 240 (1965).
79. Hosono, A.; Fujii, K.; Tada, T.; Tanaka, H.; Ohgo, Y.; Ishido, Y.; Sato. *Bull. Chem. Soc., Japan*, **64**, 2818 (1973).
80. Ishido, Y.; Matsuba, T.; Hosono, A.; Fujii, K.; Tanaka, H.; Iwabuchi, S.; Isome, S.; Maruyama, A.; Kikuchi, Y.; Sato, T. *Bull. Chem. Soc., Japan*, **38**, 2019 (1965).
81. Kazimierzczuk, Z.; Cottam, H.W.; Revankar, G.R.; Robins, R. *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, 6379 (1984).
82. Baker, R.B.; Schaub, R.E.; Kissman, H.M. *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 5911 (1955).
83. Goldman, L.; Marsico, J.W.; Angier, R.B. *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 4173 (1956).
84. Leonard, N. J.; Laursen, R.A. *Biochemistry*, **4**, 354 (1965).
85. Lemieux, R.U. *Adv. Carbohyd. Chem.*, **9**, 1 (1955).
86. Pfleiderer, W.; Robins, R.K. *Chem. Ber.*, **98**, 1511 (1965).
87. Imazawa, M.; Eckstein, F. *J. Org. Chem.*, **43**, 3043 (1978).
88. Dudycz, L.W.; Wright, G.E. *Nucleosides & Nucleotides*, **3**, 33 (1984).
89. McGee, D.P.C.; Martin, J.C.; Verheyden, J.P.H. *Synthetic Commun.*, **18**, 1651 (1988).
90. Boryski, J. *J. Chem. Perkin Trans.*, **2**, 649 (1997).
91. Boryski, J.; Manikowski, A. *Nucleosides & Nucleotides*, **18**, 1057 (1999).
92. Lichtenthaler, F.W.; Kitahara, K. *Angew. Chem. Inter. Edit.*, **14**, 815 (1975).
93. Boryski, J.; Golankiewicz, B. *Nucleosides & Nucleotides*, **6**, 385 (1987).
94. Boryski, J.; Golankiewicz, B. *Nucleic Acids Res. Symp. Series*, **18**, 45 (1987).
95. Boryski, J.; Ostrowski, T.; Golankiewicz, B. *Nucleosides & Nucleotides*, **8**, 1271 (1989).





96. Glemarec, C.; Wu, J.C.; Remaud, G.; Bazin, H.; Oivanen, M.; Lönnberg, H.; Chattopadhyaya, J. *Tetrahedron*, **44**, 1273 (1988).
97. Robins, M.J.; Zou, R.; Hansske, F.; Madej, D.; Tyrrell, L.J. *Nucleosides & Nucleotides*, **8**, 725 (1989).
98. Kamimura, T.; Tsuchiya, M.; Koura, K.; Sekine, M.; Hata, T. *Tetrahedron Lett.*, **27**, 2775 (1983).
99. Azuma, T.; Isono, K. *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, 3347 (1977).
100. Kalckar C. *J. Biol. Chem.*, **167**, 477 (1947).
101. Utegawa, T.; Morisawa, H.; Miyoshi, T.; Yoshinaga, F.; Yamazaki, A.; Mitsugi, K. *FEBS Lett.*, **109**, 261 (1980).
102. Utagawa, T.; Morisawa, H.; Nakamtsu, T.; Yamazaki, A.; Yamanaka, S.; *FEBS Letters*, **119**, 101 (1980).
103. Holy, A.; Votruba, I. *Nucl. Acids. Res. Symp. Ser.*, **18**, 69 (1987).
104. Holy, A.; Votruba, I.; Dworakova, H.; Günter, J.; Hockova, D.; Hrabecky, H.; Cihlar, T.; Masojidkova, M. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **10**, 2303 (1994).
105. Zinchenko, A.I.; Eroshevskaya, L.A.; Barai, V.N.; Mikhailopulo, I.A. *Nucleosides & Nucleotides*, **14**, 477 (1995).
106. Morisawa, H.; Utagawa, T.; Miyoshi, T.; Yoshinaga, F.; T.; Yamazaki, A.; Mitsugi, K. *Tetrahedron Letters*, **21**, 479 (1980).
107. Bristow, N.W.; Lythgoe, B. *J. Chem. Soc.*, 2306 (1949).
108. Baker, B.R.; Joseph, J.P.; Schaub, R.E.; Williams, J.H. *J. Org. Chem.*, **19**, 1786 (1954).
109. Nakazaki, N.; Tekeda, T.; Yoshino, T.; Sekiya, M.; Ishido, Y. *Carbohydr. Res.*, **44**, 215 (1975).
110. Kissman, H.M.; Pidacks, C.; Baker, B.R. *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 18, (1955).
111. Wagner, G. *Z. Chem.*, **6**, 367 (1966).
112. Boryski, J. Wykład: „Synteza nukleozydów – metody wytwarzania wiązania glikozydowego”, styczeń 2005.
113. Boryski, J. *Polish J. Chem.*, **73**, 1019 (1999).
114. Boryski., J. *Nucleoside & Nucleotides*, **14**, 77 (1995).
115. Boryski., J.; Manikowski, A. *Nucleosides & Nucleotides*, **14**, 287 (1995).
116. Nakazaki, N.; Sekiya, M.; Yoshino, T.; Ishido, Y. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **46**, 3858 (1973).