

**NUKLEOZYDY 8-AZAPURYNOWE  
– SYNTEZA I AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA**

**NUCLEOSIDES OF 8-AZAPURINES  
– SYNTHESIS AND THE BIOLOGICAL ACTIVITY**

**Iwona E. Głowacka\*, Anna Zdzienicka**

*Zakład Chemii Bioorganicznej, Wydział Farmaceutyczny,  
Uniwersytet Medyczny w Łodzi,  
ul. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź  
\*e-mail: iwona.glowacka@umed.lodz.pl*

---

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wstęp

1. Nukleozydy 8-azapurynowe
  - 1.1. 8-Azanebularyna
  - 1.2. 8-Azaadenozyna
  - 1.3. 8-Azainozyna i 8-azatioinozyna
  - 1.4. 2-Amino-8-azaadenozyna
  - 1.5. 8-Azaguanozyna
  - 1.6. 8-Azaksantozyna
2. Nukleozydy 8-aza-2'-deoksyapurynowe
  - 2.1. 8-Aza-2'-deoksyadenozyna
  - 2.2. 8-Aza-2'-deoksyinozyna
  - 2.3. 2-Amino-8-aza-2'-deoksyadenozyna
  - 2.4. 8-Aza-2'-deoksyguanozyna i 8-aza-2'-deoksyizoguanozyna
3. Nukleozydy 8-aza-2,3'-dideoksyapurynowe
  - 3.1. 8-Aza-2,3'-dideoksyadenozyna
  - 3.2. 8-Aza-2,3'-dideoksyguanozyna
4. Enzymatyczne syntezy nukleozydów 8-azapurynowych
5. Aktywność biologiczna
  - 5.1. Przeciwnowotworowa
  - 5.2. Przeciwvirusowa
  - 5.3. Przeciwbakteryjna
  - 5.4. Przeciwpierwotniakowa

Podsumowanie

Podziękowanie

Piśmiennictwo cytowane

---

**dr hab. Iwona E. Głowacka** studiowała chemię (1991–1996) na Wydziale Matematyki, Fizyki i Chemii Uniwersytetu Łódzkiego, w 2006 roku uzyskała stopień doktora nauk farmaceutycznych na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, a w roku 2015 – stopień doktora habilitowanego nauk farmaceutycznych na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach. Jej zainteresowania naukowe dotyczą, m.in. syntezy i stereochemii nowych pochodnych heterocyklicznych, jako fosfoniowych mimetyków nukleozydów i nukleotydydów o potencjalnych właściwościach przeciwnowotworowych i przeciwwirusowych oraz zastosowania spektroskopii NMR w analizie konfiguracyjnej i konformacyjnej.

**mgr Anna Zdzienicka** ukończyła studia magisterskie na Wydziale Chemii Uniwersytetu Łódzkiego w 2011 r. Po studiach rozpoczęła pracę na stanowisku asystenta w Zakładzie Chemii Bioorganicznej na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. W swojej pracy naukowej zajmuje się między innymi syntezą podstawionych pochodnych 8-azapuryn i benzimidazoli o potencjalnej aktywności biologicznej.

### ABSTRACT

The synthetic approaches to 8-azapurine nucleosides and their biological activities have been reviewed. This class of compounds could serve as antimetabolites of purine nucleoside with potential clinical applications [1–6]. They were primarily synthesized by glycosylation of 8-azapurines, which could be easily prepared from appropriately substituted 4,5-diaminopyrimidines when reacted with nitric(III) acid [1]. Since in 8-azapurines at least three nitrogen atoms could serve as nucleophilic centers the regiochemistry of glycosylation was discussed in details. Generally, mixtures of N9, N8 and N7-substituted 8-azapurine nucleosides were formed when reactions were carried out at room temperature (kinetic control), while N9-substituted analogs were produced at elevated temperatures (thermodynamic control). On the other hand, no differences in the stereochemical outcome of glycosylation were noticed for canonical purine nucleobases and their 8-aza analogues since ratios of  $\alpha$  and  $\beta$  anomers appeared to be closely related to the structure of a sugar component.

Multidirectional biological activities of 8-azapurines and their nucleosides, including antitumor, antiviral and antibacterial, were presented for the most acclaimed examples. However, none of these compounds was approved as a drug. The current interest in 8-azapurines and their nucleosides takes advantage of a significant fluorescence (opposite to purines), which was found to be a pH-dependent thus providing an excellent tool for advanced studies in nucleic acid chemistry.

**Keywords:** nucleoside analogues, 8-azanucleosides, 8-azapurines, biological activity  
**Słowa kluczowe:** analogi nukleozydów, 8-azanukleozydy, 8-azapuryny, aktywność biologiczna

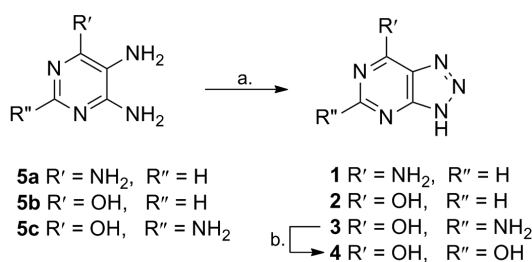
---

**WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW**

CC <sub>50</sub>	- stężenie związku powodujące zmniejszenie ilości żywych komórek o 50%
CEM	- linia komórkowa ludzkiej białaczki z limfocytów T
D <sub>37</sub>	- wymagana dawka do zmniejszenia przeżywalności komórek nowotworowych o 37%
DBU	- 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undek-7-en
DMF	- <i>N,N</i> -dimetyloformamid
ED <sub>50</sub>	- stężenie związku powodujące zmniejszenie efektu cytotatycznego o 50%
HIV-1	- ludzki wirus niedoboru odporności typu 1
HMDS	- heksametylodisilazan
HSV-1, 2	- wirus opryszczki typu 1, 2
IC <sub>50</sub>	- stężenie wymagane do zahamowania proliferacji komórek o 50%
MCPBA	- kwas <i>m</i> -chloronadbenzoesowy
MW	- promieniowanie mikrofalowe
PNP	- fosforylaza nukleozydów purynowych
RNA	- kwas rybonukleinowy
SI	- indeks selektywności
TDA-1	- tris[2-(2-metoksyetoksy)etylo]amina
THF	- tetrahydrofuran
TMSBr	- bromek trimetylosililu
Tol	- <i>p</i> -metylobenzoil
TsCl	- chlorek tosyłu

## WSTĘP

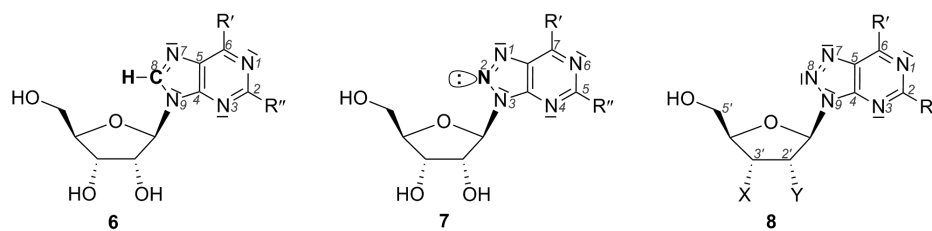
W 1945 r. w poszukiwaniu antagonistów zasad purynowych zsyntetyzowano ich analogi strukturalne zastępując atom węgla znajdujący się w pozycji 8 atomem azotu. Odpowiednio podstawione pochodne 4,5-diaminopirymidyny **5a-5c** zostały przekształcone w 8-azaadeninę **1**, 8-azahypoksantynę **2** i 8-azaguaninę **3** (Schemat 1) [1]. Związki **1** i **3** hamowały wzrost bakterii, odpowiednio *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus*, a aktywność ta znacznie się zmniejszała po dodaniu w pierwszym przypadku adeniny i hypoksantyny, a w drugim – guaniny [1]. Po wykazaniu, że 8-azaguanina **3** hamuje wzrost komórek nowotworowych [2, 3], w tym gruczolakoraka (ang. *adenocarcinoma*) EO 771 u myszy, oraz rozwój pierwotniaków *Tetrahymena geleii* [4] zainteresowanie 8-azapurynami jako antymetabolitami zasad purynowych znacznie wzrosło. Warto dodać, że 8-azaguanina jest również związkiem występującym w naturze (patocydyna, ang. *pathocidin*); została wyodrębniona jako produkt fermentacji *Streptomyces albus* [5].



Schemat 1. Synteza 8-azapuryn; odczynniki i warunki: a. NaNO<sub>2</sub>; b. NaNO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

Scheme 1. Synthesis of 8-azapurines; reagents and conditions: a. NaNO<sub>2</sub>; b. NaNO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

Porównanie struktur nukleozydów purynowych **6** i nukleozydów zawierających pierścień 8-azapurynowy **7** (Rys. 1) prowadzi do wniosku, że są to układy izoelektronowe i niemalże izosteryczne. Należy, zatem oczekiwać, że analogi będą mogły zastępować naturalne nukleozydy w procesach biochemicznych, a tym samym stanowić dogodne narzędzie do badań mechanistycznych. Jednocześnie w miejscu atomu węgla pojawił się elektroujemny atom azotu, którego obecność będzie wpływać na zasadowość atomów azotu i reaktywność podstawionych 8-azapuryn, w tym ważnego w procesach biochemicznych centrum przy C6, trwałość wiązania glikozydowego i nukleofilowość atomów azotu. Ponadto w wyniku wprowadzenia dodatkowego atomu azotu zwiększa się liczba możliwych miejsc przyłączenia heteroaromatycznego aglikonu do części cukrowej, co z pewnością wpłynie na regioselektywność, a być może także na stereoselektywność tworzenia modyfikowanych nukleozydów. Zastąpienie wiązania C8–H przez atom azotu z wolną parą elektronową zmniejsza także oddziaływania odpychające pomiędzy fragmentem triazolowym 8-azapuryn w porównaniu z oddziaływaniami pierścienia imidazolowego naturalnych puryn z fragmentem cukrowym, a tym samym może zmienić preferencje konformacyjne wokół wiązania glikozydowego.



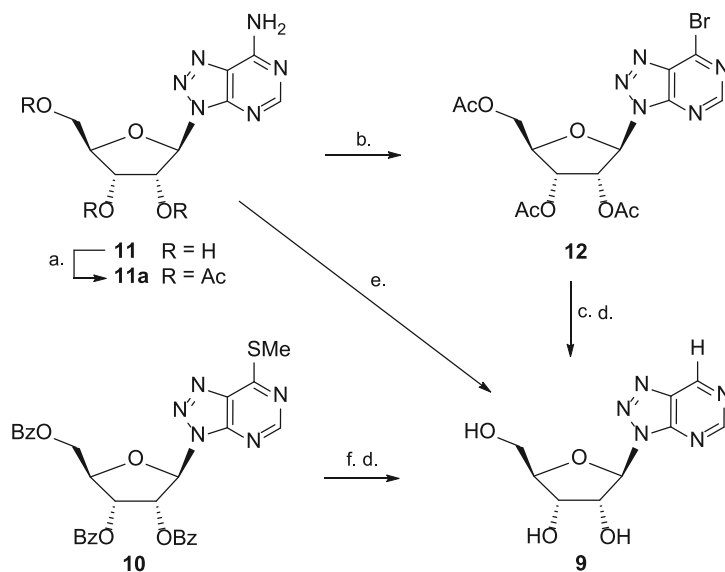
Rysunek 1. Wzory ogólne nukleozydów purynowych  
 Figure 1. General structures of purine nucleosides

Ponieważ aktywność biologiczna 8-azapuryn wymaga ich wewnątrzkomórkowego przekształcenia w modyfikowane nukleozydy i dalej w mono- i trifosforany, co zostało wielokrotnie potwierdzone [6], w niniejszym opracowaniu przedstawione zostaną przede wszystkim sposoby syntezy nukleozydów (**8** X = Y = OH), 2'-deoksynukleozydów (**8** X = OH, Y = H) i 2',3'-dideoksynukleozydów (**8** X = Y = H) zawierających podstawione 8-azapuryny jako aglikony. W pierścieniu 8-azapuryn zostanie zachowana numeracja atomów powszechnie stosowana dla naturalnych puryn (struktura **8**, Rys. 1).

## 1. NUKLEOZYDY 8-AZAPURYNOWE

### 1.1. 8-AZANEBULARYNA

Znane syntezy 8-azanebularyny **9** zostały zestawione na Schemacie 2 i polegają one na zastąpieniu podstawników przy C6 przez atom wodoru. W pierwszej syntezie [7] w głównym produkcie **10** otrzymanym w reakcji 8-aza-6-metylotiopuryny z octanem 2,3,5-tri-O-benzoilo-D-rybofuranozydu (*vide infra*) grupę metylotiolową zredukowano w obecności niklu Raneya, a następnie usunięto grupy ochronne. 8-Azanebularynę **9** można również łatwo otrzymać z trioctanu 8-azaadenozyny **11a** poddając go reakcji z azotynami organicznymi (reduktywne deaminowanie) [8, 9], a także w wyniku katalitycznej redukcji pochodnej 6-bromo-8-azapuryny **12** [10].

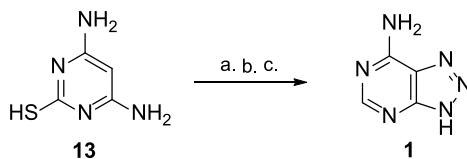


Schemat 2. Synteza 8-azanebularyny **9**; odczynniki i warunki: a.  $\text{Ac}_2\text{O}$ , pirydyna; b. *t*-BuONO, TMSBr; c.  $\text{H}_2$ , Pd-C; d.  $\text{NH}_3$ , MeOH/EtOH; e.  $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{ONO}$ , THF albo *t*-BuONO, DMF; f. Ni-Raney

Scheme 2. Synthesis of 8-azanebularyne **9**; reagents and conditions: a.  $\text{Ac}_2\text{O}$ , pyridine; b. *t*-BuONO, TMSBr; c.  $\text{H}_2$ , Pd-C; d.  $\text{NH}_3$ , MeOH/EtOH; e.  $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{ONO}$ , THF or *t*-BuONO, DMF; f. Ni-Raney

### 1.2. 8-AZAADENOZYNA

W strategiach syntezy 8-azaadenozyny **11** i jej pochodnych polegających na utworzeniu wiązania glikozydowego substratem jest 8-azaadenina **1**, którą można przykładowo otrzymać z 4,6-diamino-2-merkaptopirymidyny w trójetapowym procesie obejmującym nitrozowanie przy C5, redukcję grup nitrozowej i tiolowej oraz utworzenie pierścienia 1,2,3-triazolowego (Schemat 3) [11].

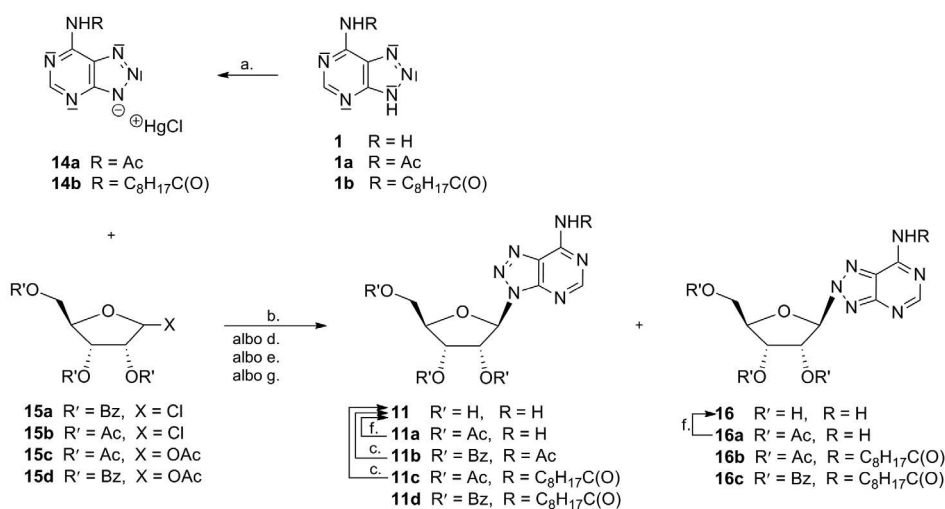


Schemat 3. Synteza 8-azaadeniny **1**; odczynniki i warunki: a.  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{H}^+$ ; b. Ni-Raney; c.  $\text{NaNO}_2$ , AcOH

Scheme 3. Synthesis of 8-azaadenine **1**; reagents and conditions: a.  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{H}^+$ ; b. Ni-Raney; c.  $\text{NaNO}_2$ , AcOH

W pierwszej syntezy związku **11** wykorzystano kondensację soli chlorortęciowej *N*-acetylo-8-azaadeniny **14a** z chlorkiem 2,3,5-tri-*O*-benzoilo-*D*-rybofuranozylu **15a** wyodrębniając końcowy produkt po usunięciu grup ochronnych z **11b**

z niską (16%) wydajnością (Schemat 4) [11]. Modyfikacje substratów polegające na użyciu soli rtęciowej *N*-nonanoilo-8-azaadeniny **14b** i chlorku 2,3,5-tri-*O*-acetylo-*D*-rybofuranozylu **15b** doprowadziły do utworzenia, jako produktu głównego, izomeru podstawionego przy atomie N8 (związek **16b**) ponownie z niską (13%) wydajnością (Schemat 4) [12]. Dopiero w reakcji *N*-nonanoilo-8-azaadeniny **1b** z chlorkiem 2,3,5-tri-*O*-acetylo-*D*-rybofuranozylu **15b** prowadzonej w obecności sit molekularnych we wrzącym benzenie udało się otrzymać 8-azaadenozynę **11**, którą wyodrębniono z wydajnością 48% po usunięciu grup ochronnych stwierdzając jednocześnie, że w tych warunkach utworzył się tylko jeden regioizomer (Schemat 4) [12]. W katalizowanej chlorkiem cyny(IV) reakcji 8-azaadeniny **1** z 1,2,3,5-tetra-*O*-acetylo- $\beta$ -*D*-rybofuranozą **15c** powstała mieszanina produktów glikozylowania przy N9 (**11a**) i N8 (**16a**) o składzie 3:4, gdy reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej i o składzie 4:3 – gdy w temperaturze wrzenia. Monitorowanie przebiegu glikozylowania pozwoliło ustalić, że reakcja przy N8 przebiega szybciej (kontrola kinetyczna), zaś bardziej stabilny produkt podstawienia przy N9 tworzy się wraz z postępem reakcji (kontrola termodynamiczna). Po chromatograficznym rozdzielaniu regioizomerów i usunięciu grup ochronnych otrzymano 8-azaadenozynę **11** i jej regioizomer **16** z dobrymi wydajnościami (Schemat 4) [13]. Natomiast reakcja związku **1b** z octanem 2,3,5-tri-*O*-benzoilo- $\beta$ -*D*-rybofuranozylu **15d** prowadzona w warunkach Vorbrüggena wspomagana promieniowaniem mikrofalowym doprowadziła do powstania mieszaniny trzech regioizomerów, w której przeważał produkt glikozylowania przy N8 (**16c**), a regioizomeryczne produkty podstawienia przy N9 (**11d**) i N7 utworzyły się w jednakowych, ale niewielkich ilościach [14].



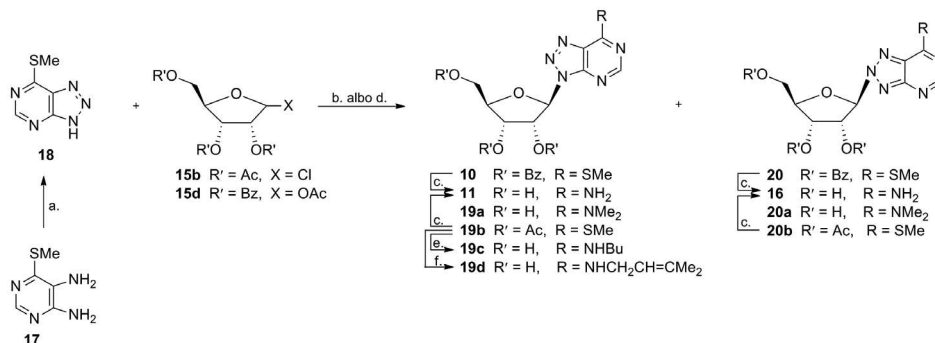
Schemat 4. Synteza 8-azaadenozyny **11** i jej regioizomeru **16**; odczynniki i warunki: a. HgCl<sub>2</sub>; b. temp. pok.; c. MeONa, MeOH; d. sita molekularne, 80°C; e. SnCl<sub>4</sub>, MeCN; f. NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O; g. BSA, TMSOTf, MW

Scheme 4. Synthesis of 8-azaadenosine **11** and its regioisomer **16**; reagents and conditions: a. HgCl<sub>2</sub>; b. r. t.; c. MeONa, MeOH; d. molecular sieves, 80°C; e. SnCl<sub>4</sub>, MeCN; f. NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O; g. BSA, TMSOTf, MW



Dogodnym substratem w syntezie 8-azaadenozyny **11**, ale także jej pochodnych podstawionych przy C6 jest 8-aza-6-metylotiopuryna **18**, którą łatwo pozyskuje się z 4,5-diamino-6-metylotiopirymidyny **17** [15]. W katalizowanej kwasami reakcji 8-azapuryny **18** z octanem 2,3,5-tri-*O*-benzoilo-*D*-rybofuranozylu **15d** powstały produkty glikozylowania przy N9 (**10**) i N8 (**20**) w proporcji 2:1, które rozdzielono chromatograficznie, a następnie przekształcono z dobrymi wydajnościami w odpowiednio: 8-azaadenozynę **11** i jej regioizomer **16** wykorzystując amoniak do usunięcia grup ochronnych a jednocześnie do wprowadzenia grupy aminowej na C6 (Schemat 5) [7]. Zamiana amoniaku na dimetyloaminę prowadzi do powstania pochodnych **19a** i **20a**. W innej syntezie związku **19a** wykorzystano 6-dimetyloamino-2-metylotio-8-azapurynę jako materiał wyjściowy [16].

Gdy 8-aza-6-metylotiopurynę **18** poddano reakcji z chlorkiem rybofuranozylu **15b** w obecności sit molekularnych w temperaturze 80°C, utworzyła się mieszanina produktów podstawienia przy N9 (**19b**) i przy N8 (**20b**) w proporcji również 2:1 (Schemat 5) [17]. W wyniku ogrzewania tej mieszaniny w temperaturze 111°C w obecności sit molekularnych zwiększyła się ilość izomeru **19b** (trwalszy termodynamicznie) kosztem izomeru **20b** (produkt kontroli kinetycznej) osiągając w stanie równowagi stosunek 6:1 [18]. Związki **19b** i **20b** przekształcono w 8-azaadenozynę **11** i jej regioizomer **16** działaniem amoniaku. *N*-Alkilowe pochodne 8-azaadenozyny **19c** i **19d** powstały w reakcji wymiany grupy metyloliowej przy C6 z wybranymi aminami (Schemat 5) [17].

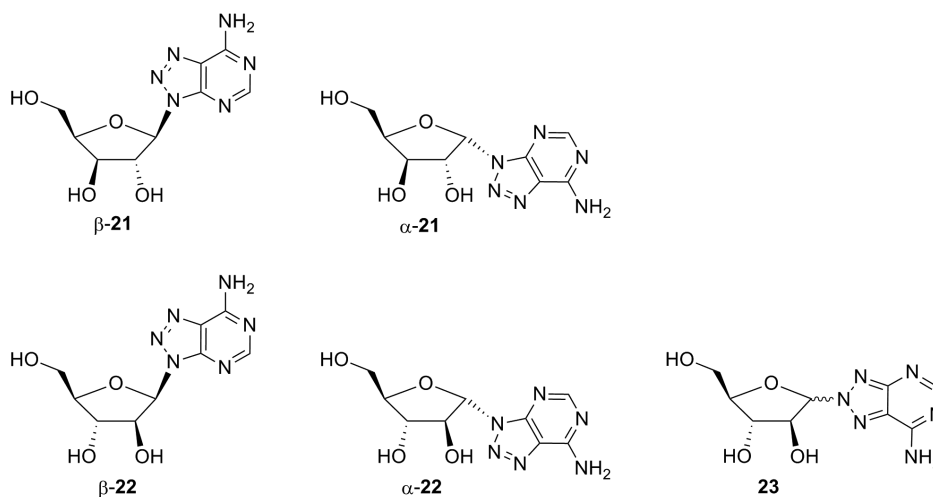


Schemat 5. Synteza 8-azaadenozyny **11** i jej regioizomeru **16** z 8-aza-6-metylotiopuryny **18**; odczynniki i warunki: a. NaNO<sub>2</sub>, H<sup>+</sup>; b. H<sup>+</sup>, 190°C; c. NH<sub>3</sub>, MeOH; d. sita molekularne, 80°C; e. BuNH<sub>2</sub>, MeOH; f. Me<sub>2</sub>C=CHCH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, MeOH

Scheme 5. Synthesis of 8-azaadenosine **11** and its regioisomer **16** from 8-aza-6-methylthiopurine **18**; reagents and conditions: a. NaNO<sub>2</sub>, H<sup>+</sup>; b. H<sup>+</sup>, 190°C; c. NH<sub>3</sub>, MeOH; d. molecular sieves, 80°C; e. BuNH<sub>2</sub>, MeOH; f. Me<sub>2</sub>C=CHCH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, MeOH

Inspiracją do zainteresowania się syntezą strukturalnych analogów 8-azaadenozyny zawierających reszty cukrowe o konfiguracjach arabinozy i ksylozy była udokumentowana aktywność biologiczna 9-(β-*D*-arabinofuranozyl)adeniny (Widarabina, ara-A). Analog β-**21** (Rys. 2) zawierający szkielet 8-azapuryny otrzymano z wydajnością 63% z ochronionej 8-azaadeniny **1b** w reakcji z chlorkiem

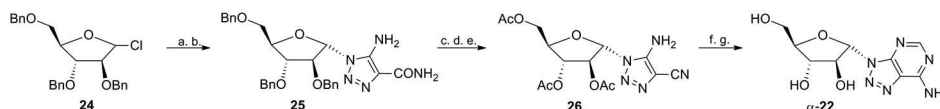
2,3,5-tri-*O*-acetylo-*D*-ksylofuranozylu w obecności sit molekularnych [19]. Natomiast związek  $\alpha$ -**22** powstał, jako jedyny produkt, w analogicznej reakcji **1b** z chlorkiem 2,3,5-tri-*O*-acetylo-*D*-arabinofuranozylu [19], a także ze związku **18** w reakcji z bromkiem 2,3,5-tri-*O*-benzoilo-*D*-arabinofuranozylu w takich samych warunkach [20]. Użycie chlorku 2,3,5-tri-*O*-benzylo-*D*-arabinofuranozylu w reakcji z **1b** doprowadziło, po usunięciu grup ochronnych, do powstania mieszaniny anomerów  $\alpha$ -**22** i  $\beta$ -**22** (Rys. 2) [19]. Natomiast z mieszaniny poreakcyjnej otrzymanej w wyniku ogrzewania siliłowej pochodnej 8-aza-6-metylotiopuryny **18** i chlorku 2,3,5-tri-*O*-benzylo-*D*-arabinofuranozylu **24** wyodrębniono dwa produkty podstawienia przy N9 (związki  $\alpha$ -**22** i  $\beta$ -**22**) oraz związek **23**, również jako mieszaninę anomerów  $\alpha$  i  $\beta$  (Rys. 2) [21].



Rysunek 2. Analogi 8-azaadenozyny zawierające pierścienie arabino- i ksylofuranozydowe  
Figure 2. Analogues of 8-azaadenosine with arabino- and xylofuranoside rings

Alternatywna metoda konstruowania układu 8-azapuryn polega na zamknięciu pierścienia pirymidynowego skondensowanego z odpowiednio podstawionym 1,2,3-triazolem. W tej metodzie może tworzyć się jedynie pochodna 8-azapuryny zawierająca ugrupowanie cukrowe przy N9. Przykładem takiego podejścia jest synteza związku  $\alpha$ -**22** wychodząc z chlorku 2,3,5-tri-*O*-benzylo-*D*-arabinofuranozylu **24** (Schemat 6) [21, 22] oraz synteza 8-azaadenozyny **11** wykorzystująca ochroniony azydek  $\beta$ -*D*-rybofuranozylu [23]. W reakcji chlorku furanozylu **24** z azydkiem sodu tworzy się mieszanina anomerycznych azydków ( $\alpha$ : $\beta$  = 1:3), które rozdzielono chromatograficznie, a następnie poddano reakcji z 2-cyjanoacetamidem otrzymując z azydku o konfiguracji  $\alpha$  czysty związek **25**, zaś z azydku o konfiguracji  $\beta$  związek **25** z domieszką anomeru  $\beta$  (10:1). Ustalono, że na tym etapie najdogodniej jest zmienić grupy ochronne. Po dehydratacji funkcji karbamoilowej powstaje nitryl **26**, który został przekształcony w analog 8-azaadenozyny  $\alpha$ -**22** w znany sposób

[24]. Jeżeli zamiast octanu dietoksymetylu [21] albo mrówczanu etylu [23] zostanie użyty mieszaný bezwodnik mrówkowo-octowy otrzymany z mrówczanu sodu znakowanego izotopem  $^{14}\text{C}$ , to można zsyntetyzować  $[2-^{14}\text{C}]$ -8-azaadenozynę **11** [25] i  $[2-^{14}\text{C}]$ - $\alpha$ -22 [26].

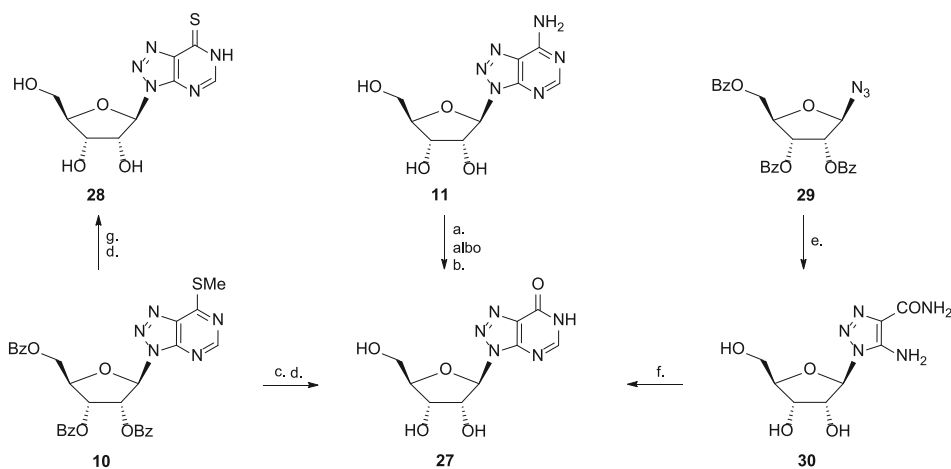


Schemat 6. Synteza 8-azaadenozyn **11** i  $\alpha$ -22 z azydków furanozylu; odczynniki i warunki: a.  $\text{NaN}_3$ , MeCN; b.  $\text{NCCH}_2\text{CONH}_2$ , KOH; c. Na,  $\text{NH}_3$  ciekły; d.  $\text{Ac}_2\text{O}$ , pirydyna; e. TsCl, pirydyna; f.  $(\text{EtO})_2\text{CHOAc}$ ,  $\Delta$ ; g.  $\text{NH}_3$ , MeOH

Scheme 6. Synthesis of 8-azaadenosines **11** and  $\alpha$ -22 from furanosyl azides; reagents and conditions: a.  $\text{NaN}_3$ , MeCN; b.  $\text{NCCH}_2\text{CONH}_2$ , KOH; c. Na, liquid  $\text{NH}_3$ ; d.  $\text{Ac}_2\text{O}$ , pyridine; e. TsCl, pyridine; f.  $(\text{EtO})_2\text{CHOAc}$ ,  $\Delta$ ; g.  $\text{NH}_3$ , MeOH

### 1.3. 8-AZAINOZYNA I 8-AZATIOINOZYNA

8-Azainozynę **27** można najprościej otrzymać na drodze zamiany grupy aminowej w 8-azaadenozynie **11** na hydroksylową. Taki proces w komórkach odbywa się w obecności deaminazy adenozynej, ale wykazano, że 8-azaadenozyna **11** może być również substratem tej reakcji [9, 25]. Ten sam wynik można osiągnąć poprzez rozpad soli diazoniowej 8-azaadenozyny **11** (Schemat 7) [11]. Opisano metodę syntezy 8-azainozyny **27** ze związku **10** [7]. O ile analog 8-azaadenozyny zawierający pierścień furanozydowy o konfiguracji ksylozy (związek  $\beta$ -21) można w podobnych warunkach przekształcić w odpowiednią pochodną 8-azainozyny, to nie udało się tego dokonać ze związkiem  $\beta$ -22, z powodu rozpadu wiązania glikozydowego w środowisku reakcji [19]. Związek **10** okazał się także dogodnym substratem w syntezie 8-azatioinozyny **28** (Schemat 7) [7, 17].

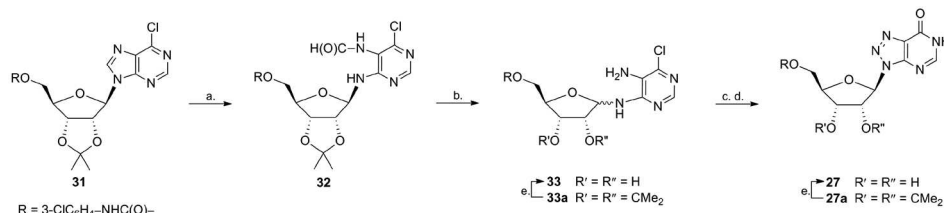


Schemat 7. Synteza 8-azainozyny **27** i 8-azatioinozyny **28**; odczynniki i warunki: a.  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\Delta$ ; b. deaminaza adenozy; c. 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{AcOH}$ ; d.  $\text{MeONa}$ ,  $\text{MeOH}$ ; e.  $\text{NCCH}_2\text{CONH}_2$ ,  $\text{KOH}$ ; f.  $(\text{EtO})_2\text{CHOAc}$ ; g.  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{MeONa}$ ,  $\text{EtOH}$

Scheme 7. Synthesis of 8-azainosine **27** and 8-azathioinosine **28**; reagents and conditions: a.  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\Delta$ ; b. adenosine deaminase; c. 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{AcOH}$ ; d.  $\text{MeONa}$ ,  $\text{MeOH}$ ; e.  $\text{NCCH}_2\text{CONH}_2$ ,  $\text{KOH}$ ; f.  $(\text{EtO})_2\text{CHOAc}$ ; g.  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{MeONa}$ ,  $\text{EtOH}$

Sekwencję reakcji przedstawioną na Schemacie 6 można również wykorzystać w syntezie 8-azainozyny **27** i jej pochodnych, o ile zostanie pominięty etap dehydratacji amidu. Przykładowo azydek 2,3,5-tri-*O*-benzoilo- $\beta$ -*D*-rybofuranozylu **29** został przekształcany w pochodną 1,2,3-triazolu **30**, z której powstała 8-azainozyna **27** (Schemat 7) [7, 27]. W podobny sposób otrzymano również pochodne 8-azainozyny o konfiguracji arabinozy [21].

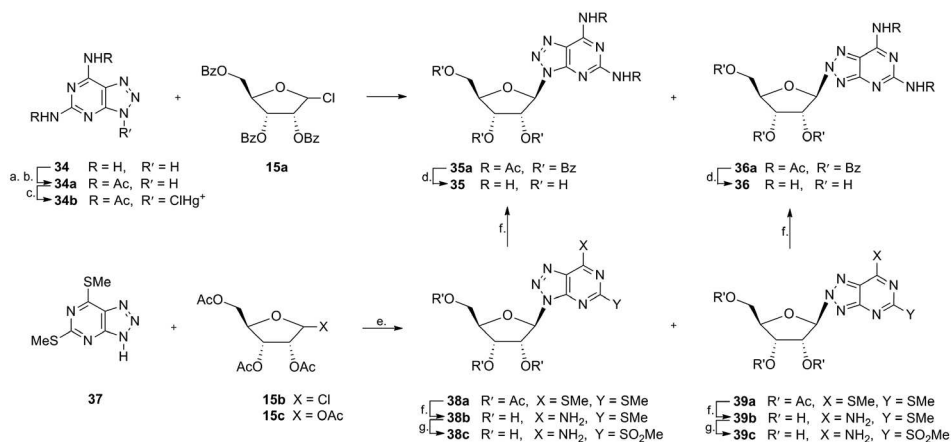
Przy odpowiednim stężeniu zasady można dokonać selektywnego otwarcia pierścienia imidazolowego w nukleozydach purynowych, a najlepiej proces ten przebiega dla układów zawierających 6-chloropurynę. Odpowiednio ochroniony rybofuranozyd **31** w środowisku zasadowym daje produkt otwarcia **32**, który w obecności kwasu przechodzi w dwuaminy **33** tworzące się jako mieszaniny  $\alpha$  i  $\beta$  anomerów (Schemat 8) [28]. 8-Azainozynę **27** i jej anomer  $\alpha$  otrzymuje się w znany sposób. Warto dodać, że aby zachować pierścień pięcioczłonowy, konieczna jest ochrona grupy HO-C5', ponieważ w przeciwnym przypadku następowała cyklizacja do układu piranozyłowego.



Schemat 8. Synteza 8-azainozyny **27** z  $\beta$ -D-rybofuranozydu 9-chloropuryny; odczynniki i warunki: a. 1M NaOH, dioksan; b. HCl, MeOH,  $\Delta$ ; c. NaNO<sub>2</sub>, AcOH; d. MeONa, MeOH; e. H<sub>2</sub>O, H<sup>+</sup>

Scheme 8. Synthesis of 8-azinosine **27** from 9-chloropurine  $\beta$ -D-ribofuranoside; reagents and conditions: a. 1M NaOH, dioxane; b. HCl, MeOH,  $\Delta$ ; c. NaNO<sub>2</sub>, AcOH; d. MeONa, MeOH; e. H<sub>2</sub>O, H<sup>+</sup>

#### 1.4. 2-AMINO-8-AZAADENOZYNA



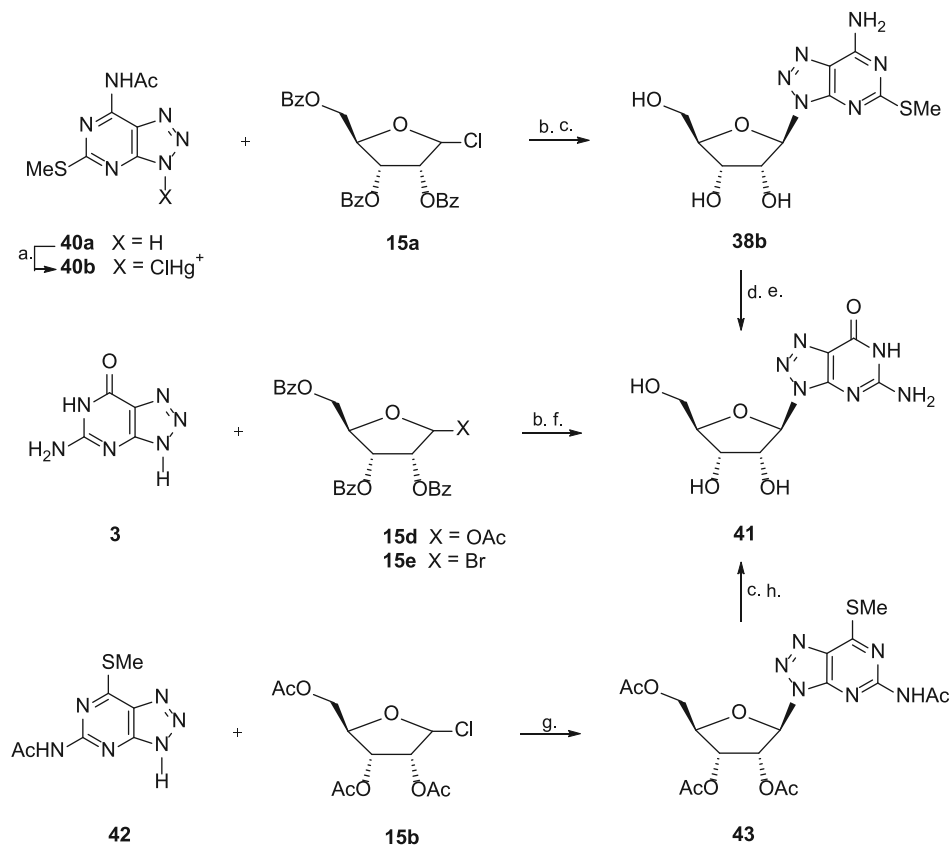
Schemat 9. Synteza 2-amino-8-azaadenozyn **35** i **36**; odczynniki i warunki: a. Ac<sub>2</sub>O,  $\Delta$ ; b. H<sub>2</sub>O, EtOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH,  $\Delta$ ; c. HgCl<sub>2</sub>; d. MeONa, MeOH; e. sito molekularne, toluen,  $\Delta$ ; f. NH<sub>3</sub>, EtOH; g. MCPBA

Scheme 9. Synthesis of 2-amino-8-azaadenosines **35** and **36**; reagents and conditions: a. Ac<sub>2</sub>O,  $\Delta$ ; b. H<sub>2</sub>O, EtOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH,  $\Delta$ ; c. HgCl<sub>2</sub>; d. MeONa, MeOH; e. molecular sieve, toluene,  $\Delta$ ; f. NH<sub>3</sub>, EtOH; g. MCPBA

Reakcja soli chlorortęciowej ochronionej 2,6-diamino-8-azapuryny **34b** z chlorem 2,3,5-tri-*O*-benzoilo-D-rybofuranozydu **15a** prowadzi, po usunięciu grup ochronnych, do utworzenia modyfikowanych nukleozydów (**35** albo **36**), jednakże nie udało się jednoznacznie udowodnić, czy powstał produkt podstawienia przy N9, czy przy N8 (Schemat 9) [11]. Glikozylowanie 8-aza-2,6-di(metylotio)puryny **37** chlorkiem 2,3,5-tri-*O*-acetylo-D-rybofuranozydu **15b** w obecności sit molekularnych doprowadziło do utworzenia mieszaniny produktów podstawienia przy N9 (**38a**) i N8 (**39a**) powstających w stosunku 6–8:1, z których działaniem amoniaku otrzymano pochodne 8-azaadenozyny **38b** i **39b** podstawione przy C2. Efektywne wprowadzenie grupy aminowej na C2 w **38b** i **39b** wymagało wcześniejszego utlenienia do mesylanów (odpowiednio **38c** i **39c**), a następnie reakcji z amoniakiem

(Schemat 9) [29]. Wydzielanie regioizomeru **36** stało się łatwiejsze, gdy okazało się, że glikozylowanie azapuryny **37** za pomocą 1,2,3,5-tetra-*O*-acetylo-*D*-rybofuranozy **15c** prowadzi do powstania mieszaniny związków **38a** i **39a** w proporcji 3:2 [29].

### 1.5. 8-AZAGUANOZYNA



Schemat 10. Synteza 8-azaguanidyny **41**; odczynniki i warunki: a.  $\text{HgCl}_2$ ; b. temp. pok.; c.  $\text{MeONa}$ ,  $\text{MeOH}$ ; d.  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{H}^+$ , e.  $\text{NH}_3$ ,  $\text{EtOH}$ ,  $\Delta$ ; f.  $\text{NH}_3$ ,  $\text{MeOH}$ ; g. sito molekularne,  $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ ,  $\Delta$ ; h. 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{AcOH}$

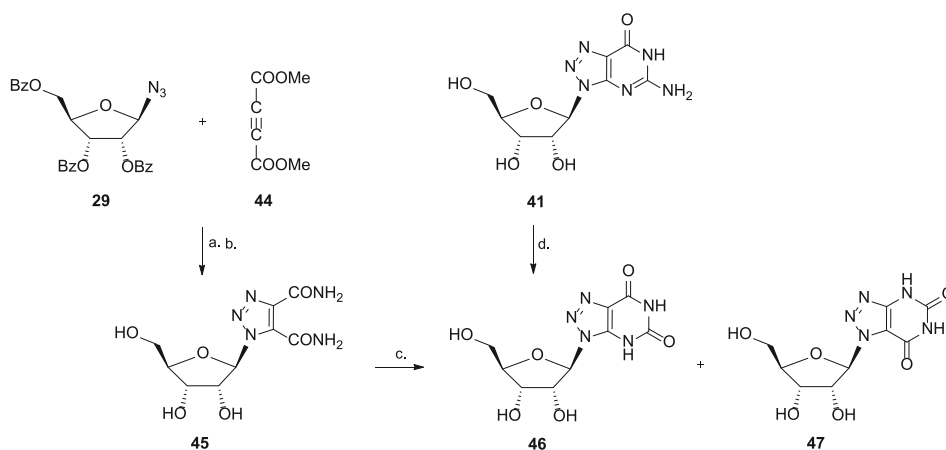
Scheme 10. Synthesis of 8-azaguanidine **41**; reagents and conditions: a.  $\text{HgCl}_2$ ; b. r.t.; c.  $\text{MeONa}$ ,  $\text{MeOH}$ ; d.  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{H}^+$ , e.  $\text{NH}_3$ ,  $\text{EtOH}$ ,  $\Delta$ ; f.  $\text{NH}_3$ ,  $\text{MeOH}$ ; g. molecular sieve,  $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ ,  $\Delta$ ; h. 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{AcOH}$

W pierwszej chemicznej syntezie 8-azaguanozyny **41** sól chlorortęciową **40b** poddano kondensacji z chlorkiem 2,3,5-tri-*O*-benzoilo-*D*-rybofuranozy **15a** otrzymując modyfikowany nukleozyd **38b** i jego niezidentyfikowany (N7/N8) regioizomer (Schemat 10) [11]. W wyniku deaminowania związku **38b**, a następnie nukleofilowego podstawienia z udziałem amoniaku utworzył się oczekiwany pro-

dukt **41**. W reakcji sililowej pochodnej 8-azaguaniny z bromkiem 2,3,5-tri-*O*-benzylilo-*D*-rybofuranozylu **15e** otrzymano, po amonolizie grup ochronnych, 8-azaguanozynę **41** z zadowalającą (35%) wydajnością. Związek ten utworzył się jako jedyny produkt reakcji azapuryny **3** z octanem 2,3,5-tri-*O*-benzoilo- $\beta$ -*D*-rybofuranozylu **15d** w warunkach reakcji Vorbrüggena wspomaganą promieniowaniem mikrofalowym, choć ostatecznie związek **41** został wyodrębniony z wydajnością 12% [14]. Glikozyłowanie pochodnej 8-azapuryny **42** za pomocą chlorku 2,3,5-tri-*O*-acetylo-*D*-rybofuranozylu **15b** w obecności sit molekularnych doprowadziło do powstania mieszaniny produktów podstawienia przy N9 (**43**), N8 i N7, które po częściowym rozdzieleniu udało się przekształcić w 8-azaguanozynę **41** i jej regioizomery, aczkolwiek z niskimi ogólnymi wydajnościami (Schemat 10) [30].

### 1.6. 8-AZAKSANTOZYNA

8-Azaksantozynę **46** najprościej otrzymuje się w wyniku deaminowania 8-azaguanozyny **41** (Schemat 11) [7, 11], ale można ją uzyskać także wraz z regioizomerem **47** wykorzystując 1,3-dipolarną cykloaddycję (reakcja Huisgena) azydku 2,3,5-tri-*O*-benzoilo- $\beta$ -*D*-ribofuranozylu **29** i acetylenodikarboksyłanu metylu **44**. Produkt cykloaddycji przekształcono w dwuamid **45**, z którego w warunkach przegrupowania Hoffmanna powstały związki **46** i **47** [31]. Jednocześnie wykazano, że wcześniej niezidentyfikowany produkt kondensacji soli chlorortęciowej **40b** z chlorkiem 2,3,5-tri-*O*-benzoilo-*D*-rybofuranozylu **15a** [10] był produktem glikozyłowania przy N7.

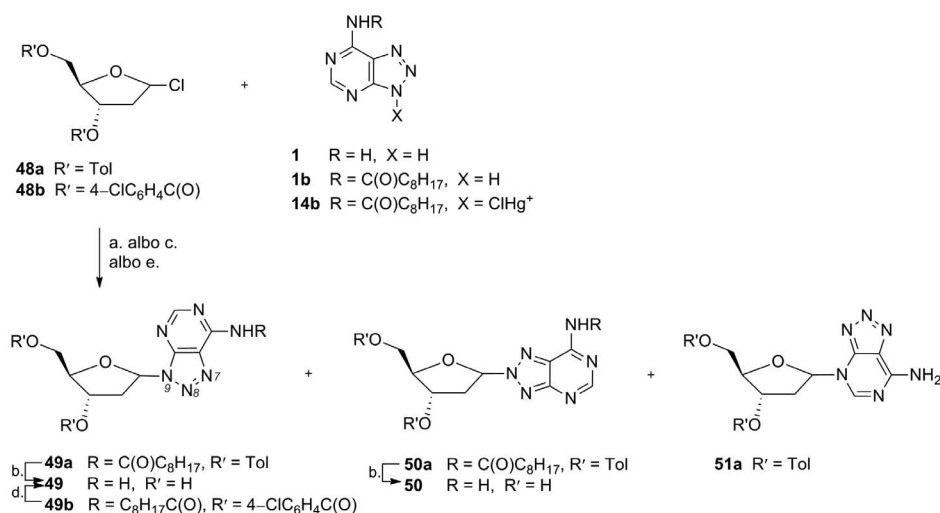


Schemat 11. Synteza 8-azaksantozyn **46** i **47**; odczynniki i warunki: a. benzen, 80°C; b.  $\text{NH}_3$ ,  $\text{MeOH}$ ; c.  $\text{KBrO}$ ; d.  $\text{Ba}(\text{NO}_2)_2$ ,  $\text{AcOH}$

Scheme 11. Synthesis of 8-azaxanthosines **46** i **47**; reagents and conditions: a. benzene, 80°C; b.  $\text{NH}_3$ ,  $\text{MeOH}$ ; c.  $\text{KBrO}$ ; d.  $\text{Ba}(\text{NO}_2)_2$ ,  $\text{AcOH}$

## 2. NUKLEOZYDY 8-AZA-2'-DEOKSYPURYNOWE

## 2.1. 8-AZA-2'-DEOKSYADENOZYNA



Schemat 12. Synteza 8-aza-2'-deoksyadenozyny **49** i jej regioizomerów; odczynniki i warunki: a. DBU, MeCN; b. NH<sub>3</sub>, EtOH; c. NEt<sub>3</sub>, benzen, Δ; d. NH<sub>3</sub>, MeOH; e. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, TDA-1, DMF

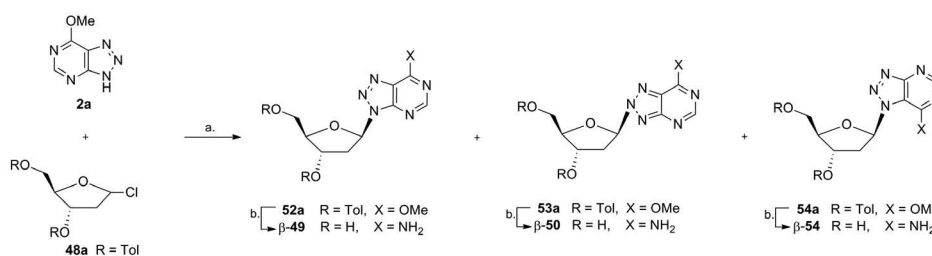
Scheme 12. Synthesis of 8-aza-2'-deoxyadenosine **49** and its regioisomers; reagents and conditions: a. DBU, MeCN; b. NH<sub>3</sub>, EtOH; c. NEt<sub>3</sub>, benzene, Δ; d. NH<sub>3</sub>, MeOH; e. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, TDA-1, DMF

Glikozyłowanie 8-azaadeniny **1** i jej *N*-podstawionych pochodnych za pomocą ochronionych 2'-deoksyfuranoz jest procesem znacznie bardziej złożonym w porównaniu do analogicznych reakcji z furanozami, ponieważ obok produktów podstawienia przy N9 i N8, powstawać mogą także pochodne podstawione przy innych atomach azotu, wszystkie jako mieszaniny  $\alpha$  i  $\beta$  anomerów. Pierwsza synteza 8-aza-2'-deoksyadenozyny  $\beta$ -**49** polegająca na kondensacji soli chlorortęciowej ochronionej 8-azaadeniny **14b** z 2'-deoksyfuranozą **48a** [32] została uproszczona, gdy reakcję pomiędzy związkami **14b** i **48a** prowadzono generując anion za pomocą DBU (Schemat 12) [33]. Wprawdzie w jej wyniku utworzyła się mieszanina czterech związków ( $\alpha$ - i  $\beta$ -**49a** oraz  $\alpha$ - i  $\beta$ -**50a**), to końcowe produkty wydzielono chromatograficznie z akceptowalnymi wydajnościami. We wcześniejszej syntezie poddano kondensacji ochronioną 8-azaadeninę **1b** z 2'-deoksyfuranozą **48b** w obecności trietyloaminy we wrzącym benzenie i wyodrębnilo tylko mieszaninę  $\alpha$  i  $\beta$  anomerów podstawionych przy N9 (związki **49b**), którą rozdzielono chromatograficznie i po usunięciu grup ochronnych otrzymano czyste 8-aza-2'-deoksyadenozyny  $\alpha$ -**49** i  $\beta$ -**49** (Schemat 12) [19]. Wśród produktów glikozyłowania 8-azaadeniny **1** za pomocą 2'-deoksyfuranozy **48a** prowadzonego w obecności węgla potasu i TDA-1 w DMF w temperaturze pokojowej zidentyfikowano związki  $\alpha$ - i  $\beta$ -**49a**,



$\alpha$ - i  $\beta$ -**50a** oraz niewielkie ilości nieoczekiwanych produktów podstawienia przy N3, związku  $\alpha$ - i  $\beta$ -**51a**, które rozdzielono chromatograficznie (Schemat 12) [34].

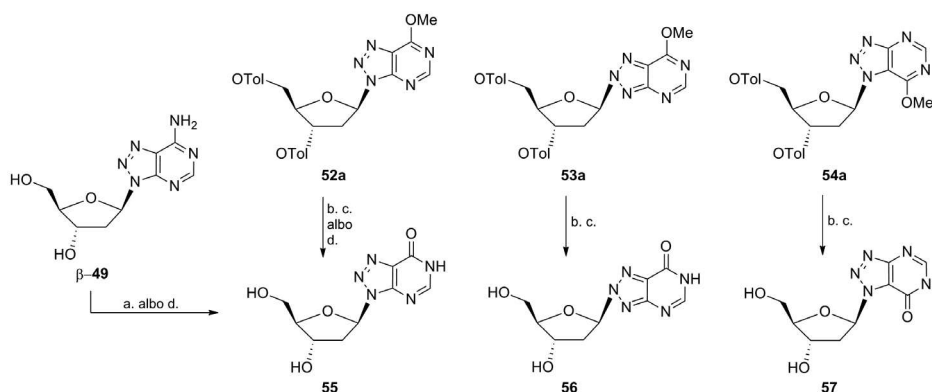
W poszukiwaniu warunków glikozyłowania, w których powstawałoby mniej izomerów, zbadano przebieg reakcji 8-aza-6-metoksy puryny **2a** z 2'-deoksyfuranozą **48a** i ustalono, że tworzą się produkty podstawienia przy N9, N8 i N7 w proporcji 3:4:3, ale są to tylko anomery  $\beta$ , związki odpowiednio: **52a**, **53a** i **54a**. W obecności amoniaku usunięto grupy ochronne i jednocześnie wprowadzono do pierścienia grupę aminową uzyskując z dobrymi wydajnościami związki  $\beta$ -**49**,  $\beta$ -**50** i  $\beta$ -**54** (Schemat 13) [34].



Schemat 13. Synteza 8-aza-2'-deoksyadenozyny **49** i jej regioizomerów z 8-aza-6-metoksy puryny; odczynniki i warunki: a. NaH, MeCN; b.  $\text{NH}_3$ , MeOH

Scheme 13. Synthesis of 8-aza-2'-deoxyadenosine **49** and its regioisomers from 8-aza-6-methoxypurine; reagents and conditions: a. NaH, MeCN; b.  $\text{NH}_3$ , MeOH

## 2.2. 8-AZA-2'-DEOKSYINOZYNA



Schemat 14. Synteza 8-aza-2'-deoksyinozyny **55** i jej regioizomerów **56** i **57**; odczynniki i warunki: a.  $\text{NaNO}_2$ , AcOH; b. MeONa, MeOH; c. NaOH; d. deaminaza adenozynej

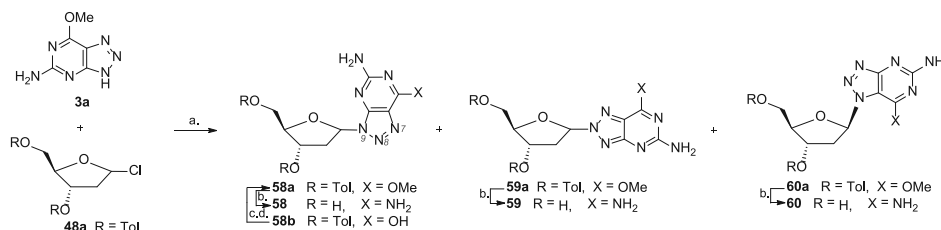
Scheme 14. Synthesis of 8-aza-2'-deoxyinosine **55** and its regioisomers **56** and **57**; reagents and conditions: a.  $\text{NaNO}_2$ , AcOH; b. MeONa, MeOH; c. NaOH; d. adenosine deaminase

8-Aza-2'-deoksyinozynę **55** zsyntetyzowano w wyniku deaminowania 8-aza-2'-deoksyadenozyny  $\beta$ -**49** (Schemat 14) [19]. W podobnych warunkach z  $\alpha$ -**49**

otrzymano 8-aza-2'-deoksyinozynę o konfiguracji  $\alpha$ . Produkty glikozylowania 8-aza-6-metoksyperyony **52a**, **53a** i **54a** można w dwóch etapach przekształcić z dobrymi wydajnościami w odpowiednio: 8-aza-2'-deoksyinozynę **55** i związki **56** i **57** – regioizomery przy N8 i N7 (Schemat 14) [35]. Znane są metody syntezy 8-aza-2'-deoksyinozyny **55** w wyniku działania deaminazy adenozyony na 8-aza-2'-deoksyadenozyne  $\beta$ -**49** [36], ale także na związek **52a** [35].

### 2.3. 2-AMINO-8-AZA-2'-DEOKSYADENOZYNA

W reakcji 2-amino-8-aza-6-metoksyperyony **3a** z 2'-deoksyfuranozą **48a** (Schemat 15) utworzyła się mieszanina produktów podstawienia przy N9 ( $\alpha$ - i  $\beta$ -**58a**), N8 ( $\alpha$ - i  $\beta$ -**59a**) i przy N7 (**60a**) w proporcji 2:2:1, a w mieszaninach anomerów przeważały izomery o konfiguracji  $\beta$  (ca 4:1) [37]. Główne produkty glikozylowania  $\beta$ -**58a**,  $\beta$ -**59a** i **60a** poddano amonolizie wydzielając odpowiednio 2-amino-8-aza-2'-deoksyadenozyne  $\beta$ -**58** oraz jej analogi strukturalne  $\beta$ -**59** i **60**. Zastąpienie grupy aminowej przy C6 przez grupę hydroksylową jest często wykorzystywanym przekształceniem niezależnie od tego, czy jest to realizowane na drodze chemicznej czy enzymatycznej. Interesująca jest zatem, możliwość wykonania procesu odwrotnego, którą ilustruje alternatywna metoda syntezy 2-amino-8-aza-2'-deoksyadenozyny  $\beta$ -**58**. Z pochodnej **58b** 8-aza-2'-deoksyguanozyny w dwóch etapach powstał znany związek  $\beta$ -**58a**, prekursor  $\beta$ -**58** [38].



Schemat 15. Synteza 2-amino-8-aza-2'-deoksyadenozyny  $\beta$ -**58** oraz jej regioizomerów  $\beta$ -**59** i **60**; odczynniki i warunki: a. KOH, TDA-1. MeCN; b. NH<sub>3</sub>, MeOH; c. (CF<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>O, pirydyna; d. MeONa, MeOH

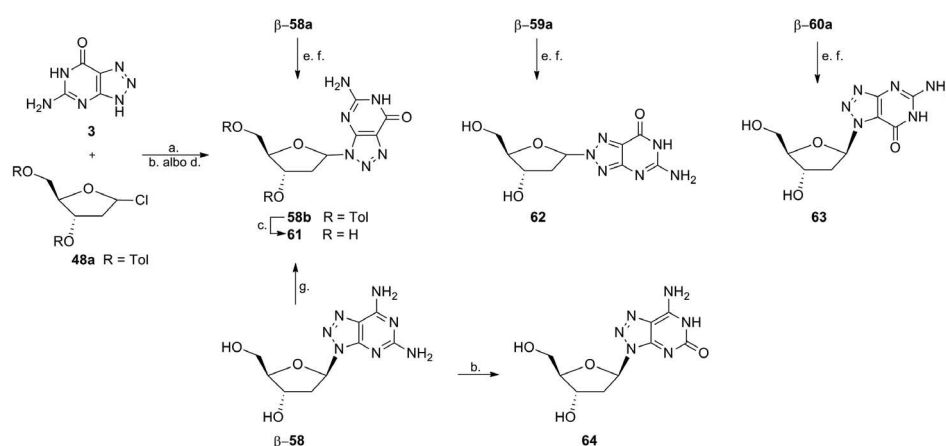
Scheme 15. Synthesis of 2-amino-8-aza-2'-deoxyadenosine  $\beta$ -**58** and its regioisomers  $\beta$ -**59** and **60**; reagents and conditions: a. KOH, TDA-1. MeCN; b. NH<sub>3</sub>, MeOH; c. (CF<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>O, pyridine; d. MeONa, MeOH

### 2.4. 8-AZA-2'-DEOKSYGUANOZYNA I 8-AZA-2'-DEOKSYIZOGUANOZYNA

W wyniku ogrzewania siliowej pochodnej 8-azaguaniny **3** z 2'-deoksyfuranozą **48a** powstała mieszanina anomerów  $\alpha$  i  $\beta$  produktów podstawienia przy N9, związki  $\alpha$ - i  $\beta$ -**58b** (Schemat 16), z których po usunięciu grup ochronnych uzyskano 8-aza-2'-deoksyguanozyne  $\beta$ -**61** i jej anomer  $\alpha$ -**61** [7]. W zoptymalizowanej wersji tej syntezy [39] ustalono, że anomery  $\alpha$ -**58b** i  $\beta$ -**58b** powstają w jednakowych ilościach.

Ponadto wykazano, że nie tworzą się produkty podstawienia przy N7 i N8, ponieważ glikozylowanie przebiega w warunkach kontroli termodynamicznej. Alternatywnym substratem w syntezie 8-aza-2'-deoksyguanozyny  $\beta$ -**61** jest związek  $\beta$ -**58a** (Schemat 15); w podobny sposób można otrzymać jej izomery podstawione przy N8 (**62**) i N7 (**63**) [37]. 8-Aza-2'-deoksyguanozyna  $\beta$ -**61** powstaje z doskonałą wydajnością ze związku  $\beta$ -**58** w obecności deaminazy adenozy (Schemat 16), podczas gdy izomery  $\beta$ -**59** i **60** nie są substratami dla tego enzymu [37].

8-Aza-2'-deoksyizoguanozynę **64** uzyskano w wyniku selektywnego deaminowania 2-amino-8-aza-2'-deoksyadenozyny  $\beta$ -**58** (Schemat 16) [38].



Schemat 16. Synteza 8-aza-2'-deoksyguanozyn **61**, **62** i **63** oraz 8-aza-2'-deoksyizoguanozyny **64**; odczynniki i warunki: a. HMDS; b. 100°C; c. NH<sub>3</sub>, MeOH; d. 130°C; e. MeONa, MeOH; f. NaOH; g. deaminaza adenozy; h. NaNO<sub>2</sub>, AcOH

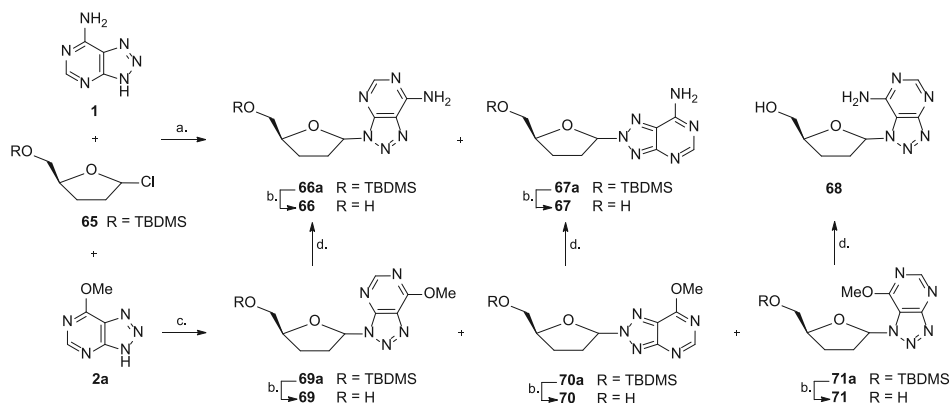
Scheme 16. Synthesis of 8-aza-2'-deoxyguanosines **61**, **62** and **63** as well as 8-aza-2'-deoxyisoguanosine **64**; reagents and conditions: a. HMDS; b. 100°C; c. NH<sub>3</sub>, MeOH; d. 130°C; e. MeONa, MeOH; f. NaOH; g. adenosine deaminase; h. NaNO<sub>2</sub>, AcOH

### 3. NUKLEOZYDY 8-AZA-2',3'-DIDEOKSYPURYNOWE

#### 3.1. 8-AZA-2',3'-DIDEOKSYADENOZYNA

Analogi 8-azapurynowe nukleozydów zawierających fragment 2',3'-dideoksyfuranozy zostały otrzymane w wyniku glikozylowania z udziałem chronionego chlorku furanozylu **65**. W reakcji z 8-azaadeniną **1** utworzyły się produkty podstawienia przy N9 i N8 jako mieszaniny  $\alpha$  i  $\beta$  anomerów, odpowiednio związki  $\alpha$ -**66a** i  $\beta$ -**66a** oraz  $\alpha$ -**67a** i  $\beta$ -**67a**, z których po chromatografii i desililowaniu wydzielono czyste izomery  $\alpha$ -**66**,  $\beta$ -**66**,  $\alpha$ -**67** i  $\beta$ -**67** (Schemat 17) [40]. Alternatywną, choć mniej dogodną metodą, jest glikozylowanie 8-aza-6-metoksypuryny **2a**. W jego wyniku utworzyła się mieszanina (1:1:1) produktów podstawienia przy N9, N8 i N7, przy czym

w każdym przypadku była to mieszanina (1:1) anomerów  $\alpha$  i  $\beta$ , którą udało się rozdzielić chromatograficznie na poszczególne składniki (Schemat 17). Po usunięciu grupy ochronnej i reakcji z amoniakiem otrzymano sześć izomerycznych 8-aza-2,3'-dideoksyadenozyn  $\alpha$ - i  $\beta$ -**66**,  $\alpha$ - i  $\beta$ -**67** oraz  $\alpha$ - i  $\beta$ -**68** (Schemat 17) [40].

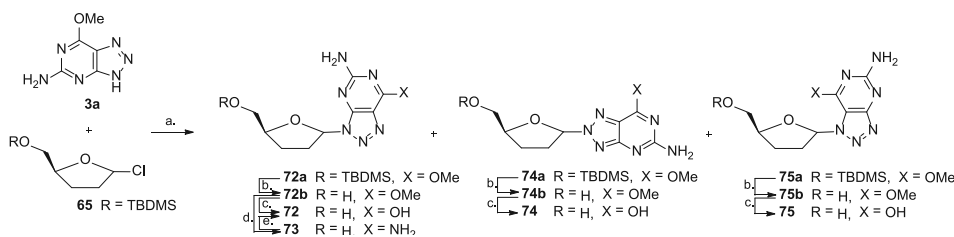


Schemat 17. Synteza 8-aza-2,3'-dideoksyadenozyn  $\alpha$ - i  $\beta$ -**66** oraz ich regioizomerów  $\alpha$ - i  $\beta$ -**67** i  $\alpha$ - i  $\beta$ -**68**; odczynniki i warunki: a.  $K_2CO_3$ , TDA-1, DMF, 20°C; b.  $Bu_4NE$ , THF; c. KOH, TDA-1, MeCN, 20°C; d.  $NH_3$ , MeOH

Scheme 17. Synthesis of 8-aza-2,3'-dideoxyadenosines  $\alpha$ - and  $\beta$ -**66** as well as their regioisomers  $\alpha$ - and  $\beta$ -**67** and  $\alpha$ - and  $\beta$ -**68**; reagents and conditions: a.  $K_2CO_3$ , TDA-1, DMF, 20°C; b.  $Bu_4NE$ , THF; c. KOH, TDA-1, MeCN, 20°C; d.  $NH_3$ , MeOH

### 3.2. 8-AZA-2,3'-DIDEOKSYGUANOZYNA

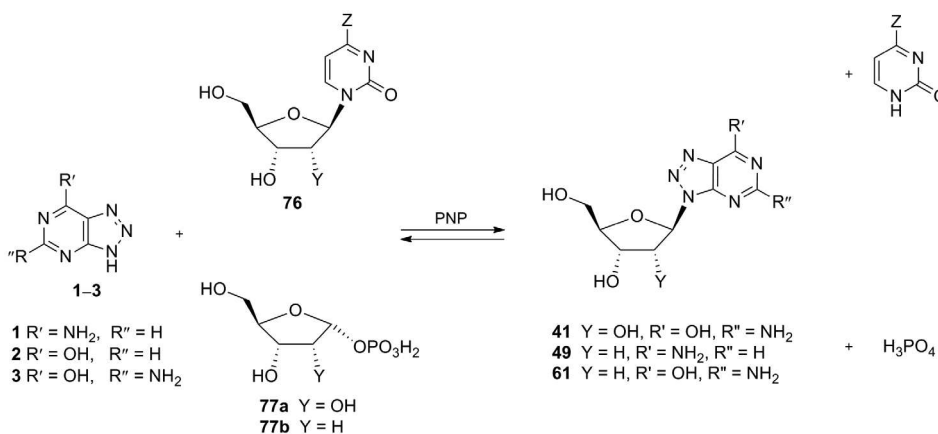
Podobnie jak podczas glikozylowania 8-aza-6-metoksypuryny **2a** za pomocą ochronionego chlorku furanozyli **65** (Schemat 17) w reakcji prowadzonej w identycznych warunkach z 2-amino-8-aza-6-metoksypuryną **3a** tworzy się mieszanina produktów podstawienia przy N9, N8 i N7, tym razem w proporcji 2:2:1 i tak, jak było to poprzednio, są to mieszaniny anomerów  $\alpha$  i  $\beta$ , które rozdzielono chromatograficznie. Po usunięciu ochrony sililowej i ostatecznym oczyszczeniu wydzielono 6 związków, które przekształcono w izomeryczne 8-aza-2,3'-dideoksyguanozyny  $\alpha$ - i  $\beta$ -**72**,  $\alpha$ - i  $\beta$ -**74** oraz  $\alpha$ - i  $\beta$ -**75** (Schemat 18) [41]. Amonoliza pochodnej  $\beta$ -**72b** prowadzi do powstania analogu  $\beta$ -**73**, z którego pod wpływem deaminazy adenozyny otrzymano 8-aza-2,3'-dideoksyguanozynę  $\beta$ -**72**, a jednocześnie wykazano, że reszta cukrowa jest przyłączona do N9 [41].



Schemat 18. Synteza 8-aza-2,3'-dideoksyguanozyn  $\alpha$ - i  $\beta$ -72 oraz ich regioizomerów  $\alpha$ - i  $\beta$ -74 i  $\alpha$ - i  $\beta$ -75; odzynniki i warunki: a. KOH, TDA-1, MeCN, 20°C; b. Bu<sub>4</sub>NF, THF; c. NaOH, H<sub>2</sub>O; d. NH<sub>3</sub>, MeOH; e. deaminaza adenozyyny

Scheme 18. Synthesis of 8-aza-2,3'-dideoxyguanosines  $\alpha$ - and  $\beta$ -72 as well as their regioisomers  $\alpha$ - and  $\beta$ -74 and  $\alpha$ - and  $\beta$ -75; reagents and conditions: a. KOH, TDA-1, MeCN, 20°C; b. Bu<sub>4</sub>NF, THF; c. NaOH, H<sub>2</sub>O; d. NH<sub>3</sub>, MeOH; e. adenosine deaminase

#### 4. ENZYMATYCZNE SYNTEZY NUKLEOZYDÓW 8-AZAPURYNOWYCH



Schemat 19. Biosynteza nukleozydów 8-azapurynowych

Scheme 19. Biosynthesis of 8-azapurine nucleosides

Aktywność biologiczna 8-azapuryn może być zaobserwowana po uprzednim ich przekształceniu w nukleozydy [42], a następnie w 5'-O-fosforany. Ten pierwszy proces może być również zrealizowany w reakcjach katalizowanych przez fosforylasy nukleozydowe (PNP) albo, jako reakcja transglikozylowania i wtedy źródłem reszty cukrowej jest odpowiedni nukleozyd pirymidynowy **76**, ewentualnie, jako reakcja glikozylowania z udziałem 1-O-fosforanu  $\alpha$ -D-rybozy **77a** (Schemat 19). Jeżeli w reakcji katalizowanej przez enzym 8-azapuryny mają zastąpić w miejscu aktywnym enzymu kanoniczne zasady purynowe, to należy oczekiwać, że zostaną utworzone wyłącznie produkty podstawienia przy N9 i będą to anomery  $\beta$ . Użyteczność preparatywna takich procesów zależeć będzie, zatem od efektywności wybranego enzymu. Chemiczne metody syntezy nukleozydów 8-azapurynowych wyczerpująco

przedstawiono w poprzednich rozdziałach. W tym rozdziale omówione zostaną najważniejsze osiągnięcia w syntezie enzymatycznej.

Już w roku 1954 opisano syntezę 8-azaguanozyny **41** i 8-aza-2'-deoksyguanozyny **61** z wydajnościami odpowiednio 28 i 73% wykorzystując PNP z wątroby konia [42]. Po fermentacji prowadzonej w obecności 8-azaguaniny **3** z udziałem *Bacillus cereus* wydzielono 8-azaguanozynę **41** z wydajnością 51%, ale w reakcji utworzyły się również pewne ilości 8-azaksantozyny **46** [43]. W reakcji transglikozylowania 8-azaguaniny **3** urydyną prowadzonej w obecności *Aeromonas hydrophila* wydzielono 8-azaguanozynę **41** z wydajnością 13% [44].

8-Azaguanozynę znakowaną izotopem  $^{14}\text{C}$  w szkielecie D-rybozy zsyntetyzowano w reakcji katalizowanej przez PNP wychodząc z 8-azaguaniny **3** i 1-O-fosforanu  $[\text{U-}^{14}\text{C}]$ -D-rybozy, który otrzymano z  $[\text{U-}^{14}\text{C}]$ -inozyny [45].

8-Aza-2'-deoksyadenozynę  $\beta$ -**49** otrzymano z wydajnością 85% w reakcji 8-azaadeniny **1** z tymidyną katalizowanej deoksyrybotransferazą z *Lactobacillus helveticus* [36].

W obszernym studium sprawdzono efektywność katalityczną wyselekcjonowanego szczepu z *Escherichia coli* w syntezie nukleozydów 8-aza-2'-deoksyipurynowych z 8-azapuryn i 2'-deoksyurydyny. 8-Aza-2'-deoksyadenozynę  $\beta$ -**49** wydzielono z wydajnością 26% i konieczna była wcześniejsza ochrona grupy aminowej w 8-azaadeninie, ponieważ w przypadku użycia wolnej 8-azaadeniny **1** tworzyła się dodatkowo 8-aza-2'-deoksyinozyna **55**. Podobnie postąpiono w syntezie 8-aza-2'-deoksyguanozyny  $\beta$ -**61**, którą wyodrębniono z wydajnością 15%. Ważną obserwacją było ustalenie, że z 2-amino-8-azaadeniny **34** tworzy się produkt podstawienia przy N8 (związek **36**) [46].

W obecności *Bacillus stearothermophilus* z 2'-deoksyinozyny **55** i 8-azaadeniny **1** powstała z dobrą (52%) wydajnością 8-aza-2'-deoksyadenozyna  $\beta$ -**49** [47]. Wysokie wydajności 8-aza-2'-deoksyadenozyny  $\beta$ -**49** (66%) i 8-aza-2'-deoksyguanozyny  $\beta$ -**61** (60%) uzyskano w reakcji, odpowiednio, 8-azaadeniny **1** i 8-azaguaniny **3** z 2'-deoksyguanozyną, katalizowanej przez PNP z *E. coli* [48].

Jednakże w niektórych przypadkach reakcji enzymatycznych obserwowano tworzenie się również produktów glikozylowania przy N8 i N7 w 8-azaguaninie **3** i 2-amino-8-azaadeninie **34** [49, 50].

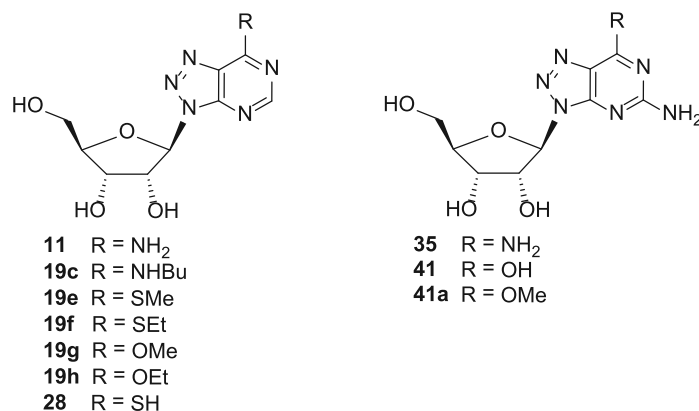
## 5. AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA

### 5.1. PRZECIWNOWOTWOROWA

Początkowo badania aktywności przeciwnowotworowej pochodnych 8-azapuryny i ich nukleozydów były prowadzone na zwierzętach. Udowodniono aktywność 8-azaguaniny **3** wobec nowotworów wszczepialnych gruczolakomięśnaka (ang. *adenosarcoma* 755) i chłoniaka (ang. *Lymphoma* 2), a także białaczki P1534.

Jednocześnie wykazano brak aktywności wobec innych nowotworów [51]. Co ważne, hamowanie wzrostu nowotworu przez 8-azaguaninę **3** zanikało w obecności guaniny [52]. Aktywność 8-azainozyny **27** wobec komórek mysiej białaczki limfatycznej L1210 i gruczolakomięśaka oceniono jako bardzo wysoką, *N,N*-dimetylo-8-azaadenozyny **19a** wobec L1210 – jako nieznaczną, zaś 8-azaadenozyna **11** i izomery podstawione przy N8 (np. **16** i **20b**) okazały się nieaktywne [7].

Badania na liniach komórkowych pozwoliły na dokładniejszą ocenę aktywności wobec wybranych nowotworów. Efektywne hamowanie wzrostu komórek nowotworowych naskórka (ang. *human epidermoid carcinoma No. 2*; H.Ep.2) obserwowano dla 8-azaadenozyny **11** ( $ED_{50} = 1,0 \mu\text{M}$ ), która była bardziej aktywna niż 8-aza-2'-deoksyadenozyna  $\beta$ -**49** ( $ED_{50} = 11,0 \mu\text{M}$ ) i dwudziestokrotnie bardziej aktywna w porównaniu z 8-azaadeniną **1**. Wysoką aktywność wykazywały również analogi 8-azaadenozyny  $\alpha$ -**22** i  $\beta$ -**21** zawierające w części cukrowej reszty o konfiguracji arabinozy i ksylozy ( $ED_{50} = 2,6$  i  $5,0 \mu\text{M}$ ). Potwierdzono wysoką aktywność 8-azainozyny **27** ( $ED_{50} = 3,5 \mu\text{M}$ ) i stwierdzono niewielką efektywność 8-aza-2'-deoksyinozyny **55** ( $ED_{50} = 80 \mu\text{M}$ ) [19]. Jednak najaktywniejszym okazał się rybonukleozyd 8-aza-6-(metylotio)puryny **19e** ( $ED_{50} = 0,02 \mu\text{M}$ ), podczas gdy 8-aza-6-(metylotio)puryna **18** była nietoksyczna ( $ED_{50} > 300 \mu\text{M}$ ). W grupie bardzo aktywnych cząsteczek ( $ED_{50} = 0,1$ – $1,0 \mu\text{M}$ ) znalazły się 8-azaadenozyna **11**, kilka innych podstawionych przy C6 pochodnych 8-azapuryny (**19c**, **19f**–**19h**) oraz związek **19b** (trioctan **19e**) i 8-azatioinozyna **28** [17], a także 2-amino-8-azaadenozyna **35** ( $IC_{50} = 0,7 \mu\text{M}$ ) (Rys. 3) [29]. Należy odnotować fakt znacznego zwiększenia cytotoksyczności 8-azaadenozyny **11** w stosunku do komórek nowotworowych naskórka H.Ep.2 ( $IC_{50} = < 0,02 \mu\text{M}$ ) w obecności pentostatyny [29]. 8-Azaguanozyna **41**, jak i jej 6-*O*-metylowa pochodna **41a** okazały się również cytotoksyczne wobec tych komórek ( $ED_{50} = 2 \mu\text{M}$ ) [30].



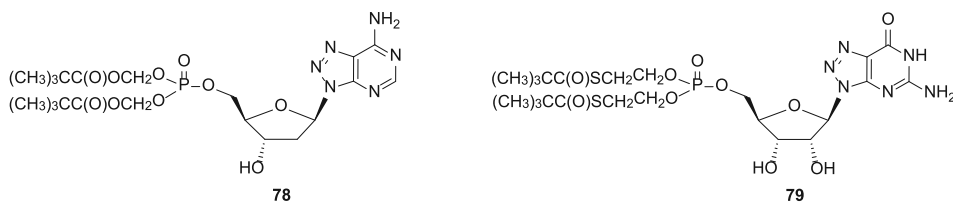
Rysunek 3. Przykłady nukleozydów 8-azapurynowych o aktywności przeciwnowotworowej  
Figure 3. Examples of anti-tumor 8-azapurine nucleosides

Aktywność 8-azaadenozyny **11** jak również związków **19e** i **19g** [17] oraz 8-azaguanozyny **41** i jej 6-O-metylowej pochodnej **41a** [30] w hamowaniu rozwoju komórek nowotworowych białaczki mysiej L1210 oceniono przez uśredniony wzrost czasu przeżycia myszy, który określono odpowiednio na 39, 23 i 29% [17] oraz 32 i 29% [30] i była mniejsza niż w przypadku 8-azainozyny **27** (42–60%) [52].

2-Amino-8-aza-2'-deoksyadenozyna  $\beta$ -**58** jest silnie cytotoksyczna w stosunku do linii komórkowych czerniaka MM96L ( $D_{37} = 0,30 \mu\text{M}$ ) i MM127 ( $D_{37} = 0,65 \mu\text{M}$ ) oraz umiarkowanie wobec MM253c1 ( $D_{37} = 5,2 \mu\text{M}$ ). Dla porównania, cytotoksyczność 2'-deoksyadenozyny dla tych samych linii jest co najmniej dwa rzędy wielkości mniejsza i wynosi odpowiednio:  $D_{37} = 95, 61$  i  $2100 \mu\text{M}$  [53].

8-Azanebularyna **9** jest inhibitorem wzrostu komórek nowotworowych limfoblastów T MOLT-4 T ( $IC_{50} = 7 \mu\text{M}$ ), natomiast 8-aza-2'-deoksynebularyna jest mało aktywna ( $IC_{50} = 600 \mu\text{M}$ ). Przy stężeniu 8-azanebularyny wynoszącym  $5 \mu\text{M}$  zdolność hamowania wzrostu tych komórek przez 2'-deoksyadenozynę bardzo wzrosła ( $IC_{50} = 1,5 \mu\text{M}$ ), jeżeli weźmie się pod uwagę fakt, że sama 2'-deoksyadenozyna wykazuje marginalną aktywność ( $IC_{50} = 200 \mu\text{M}$ ) [54].

8-Aza-2'-deoksyadenozyna  $\beta$ -**49** jest bardzo słabym inhibitorem komórek CEM i wykazuje cytotoksyczność ( $IC_{50} = 190 \mu\text{M}$ ) dopiero w obecności deoksykoformycyny, która jest silnym inhibitorem deaminazy adenozy. Po przekształceniu 8-aza-2'-deoksyadenozyny  $\beta$ -**49** w 5'-monofosforan **78** (Rys. 4) zawierający ugrupowania nadające cząsteczce charakter proleku okazało się, że jego aktywność (również w obecności deoksykoformycyny) znacznie wzrosła ( $IC_{50} = 15 \mu\text{M}$ ), co wskazało potencjalny kierunek modyfikacji innych nukleozydów 8-azapurynowych [33].



Rysunek 4. Proleki zawierające szkielet nukleozydów 8-azapurynowych  
Figure 4. 8-Azapurine nucleosides as prodrugs

8-Azaguanozyna **41** wykazuje zróżnicowaną cytotoksyczność ( $IC_{50} = 1 - >50 \mu\text{M}$ ) wobec wielu linii komórkowych [55]. Jednakowoż i fosforan **79** (Rys. 4) okazał się mniej aktywny od wyjściowego nukleozydu nawet o jeden rząd wielkości [55].



## 5.2. PRZECIWWIRUSOWA

Już w początkowej fazie badań zauważono, że 8-azaadenina **1** i 8-azaguanina **3** hamują rozwój mozaiki tytoniowej na roślinach [56].

Aktywnością przeciwwirusową analogów strukturalnych 8-azaadenozyny zawierających resztę cukrową o konfiguracji arabinozy zainteresowano się dlatego, że 9-( $\beta$ -D-arabinofuranozylo)adenina wykazywała wysoką zdolność do hamowania rozwoju wielu wirusów. Rzeczywiście związek  $\alpha$ -**22** wykazywał aktywność w badaniach *in vitro* wobec wirusów opryszczki typu 1 i 2 (HSV-1, HSV-2) i krowianki (*Vaccinia Virus*) na poziomie zbliżonym do efektywności 9-( $\beta$ -D-arabinofuranozylo)adeniny użytej jako wzorzec, podczas gdy oba związki miały niewielką i porównywalną cytotoksyczność wobec komórek gospodarza [21]. Wkrótce potwierdzono wysoką aktywność *in vitro*  $\alpha$ -**22** wobec wirusa HSV, a jednocześnie jego cytotoksyczność okazała się na tyle niska, aby uznać ten związek za interesujący. Równolegle wykazano, że 8-azaadenozyna **11** i 8-azainozyna **27** nie wykazują aktywności przeciwwirusowej [57].

Jednakże w badaniach *in vivo* na myszach związek  $\alpha$ -**22** nie wykazywał żadnej aktywności wobec HSV-1 w przeciwieństwie do 9-( $\beta$ -D-arabinofuranozylo)adeniny [58].

Wysoka aktywność trifosforanu 2',3'-dideoksyadenozyny wobec odwrotnej transkryptazy wirusa ludzkiego niedoboru odporności HIV stanowiła inspirację do zsyntetyzowania i zbadania aktywności trifosforanów 8-azadenozyny ( $IC_{50} = 42 \mu M$ ), 2-amino-8-azaadenozyny ( $IC_{50} = 27 \mu M$ ), i 8-azaguanozyny ( $IC_{50} = 93 \mu M$ ). Okazało się jednak, że są one około 100 razy mniej aktywne w porównaniu z trifosforanem 2',3'-dideoksyadenozyny, a ponadto wykazano, że trifosforany izomerów podstawionych przy N8 ( $\beta$ -**67** i  $\beta$ -**74**) są nieaktywne [40, 41]. 8-Azaadenozyna wykazuje znaczną aktywność wobec HIV-1 ( $EC_{50} = 3,8 \mu M$ ) i ma dobry indeks selektywności ( $SI = 37$ ) [59].

8-Azaadenozyna **11** przy niskiej cytotoksyczności ( $CC_{50} > 50 \mu M$ ) okazała się aktywna przeciw wirusom Lassa ( $EC_{50} = 0,38 \mu M$ ) i Ebola ( $EC_{50} = 0,68 \mu M$ ) w badaniach wykorzystujących odpowiednie minigenomy [60].

## 5.3. PRZECIWBAKTERYJNA

Hamowanie wzrostu bakterii *Escherichia coli* przez 8-azaadeninę **1**, 8-azahypoksantynę **2** i 8-azaguaninę **3** jest dobrze udokumentowane [1, 56], podobnie jak aktywność 8-azaguaniny **3** i 8-azaksantyny **4** wobec *Bacillus cereus*. W przypadku *B. cereus* udowodniono, że znaczne ilości 8-azaguaniny (do 40%) są włączane do łańcucha kwasu rybonukleinowego (RNA) zastępując wyłącznie guaninę, a jednocześnie silnie hamowany był ich wzrost. Jeżeli jednak do szczepu, który wzrastał w obecności 8-azaguaniny dodana zostanie guanina, to szybko zastępuje 8-azaguaninę w strukturze bakteryjnego RNA [6, 56, 61].

#### 5.4. PRZECIWPIERWOTNIAKOWA

W obecności 8-azaguaniny **3** wzrost pierwotniaków *Tetrahymena geleii* jest praktycznie zahamowany, a dodanie guaniny natychmiast odwraca inhibicję. 2-Amino-8-azaadenina **34** wykazuje cechy słabego inhibitora, a 8-azahypoksantyna **2** nie jest aktywna [4].

Wśród analogów strukturalnych puryn 8-azainozyna **27** okazała się niewystarczająco aktywna wobec *Leishmania donovani*, *Trypanosoma cruzi* i *Trypanosoma gambiense*, aby mogła być wykorzystana terapeutycznie, a dodatkowo stwierdzono, że jest cytotoksyczna ( $ED_{50} = 2 \mu\text{M}$ ) [62, 63].

8-Azaadenozyna **11** jest silnym inhibitorem wzrostu innego pierwotniaka *Giardia lamblia*, podczas gdy 8-azaadenina **1** jest nieaktywna [64].

#### PODSUMOWANIE

Układ 8-azapuryny można łatwo skonstruować z odpowiednio podstawionych 4,5-diaminopirymidyn w wyniku zamknięcia pierścienia 1,2,3-triazolu w reakcji z kwasem azotowym(III). Alternatywna droga syntezy tego układu wykorzystuje reakcję podstawionych 1,2,3-triazoli z 2-cyjanoacetamidem i była zastosowana również do otrzymywania modyfikowanych nukleozydów.

Najczęściej wykorzystywana metoda syntezy nukleozydów 8-azapurynowych polega na glikozyłowaniu analogów kanonicznych nukleozasad zawierających pierścień 8-azapuryny za pomocą pochodnych D-rybozy, ale także D-arabinozy i D-ksylozy oraz 2'-deoksy- lub 2',3'-dideoksy-D-rybozy. W zależności od warunków prowadzenia reakcji glikozyłowania podstawionych 8-azapuryn podstawienie może mieć miejsce przy N9, N8 i N7. W podwyższonych temperaturach, w warunkach kontroli termodynamicznej reakcji, w przewodzie tworzą się produkty podstawienia przy N9, które jako jedyne były wyodrębniane początkowo. W warunkach kontroli kinetycznej często obserwowano powstawanie nawet równomolowych mieszanin produktów podstawienia przy N9, N8 i N7. Stereochemiczny przebieg glikozyłowania podstawionych 8-azapuryn i kanonicznych nukleozasad purynowych jest taki sam. O ile w przypadku reakcji z pochodnymi rybozy zagwarantowane jest tworzenie się anomerów o konfiguracji  $\beta$ , to dla pochodnych arabinozy, ksylozy, 2'-deoksy- lub 2',3'-dideoksy-D-rybozy obserwuje się powstawanie mieszanin  $\alpha$  i  $\beta$  anomerów. Wpływa to w oczywisty sposób na wydajność, z jaką pozyskuje się poszczególne związki, ale współczesne techniki rozdzielcze pozwalają na wydzielenie ich w stanie czystym. Z drugiej strony posiadanie wielu modyfikowanych nukleozydów bardzo zbliżonych strukturalnie powiększa pulę związków w badaniach zależności struktura-aktywność biologiczna.

Pierwsze obserwacje aktywności przeciwnowotworowej i przeciwbakteryjnej 8-azapuryn wzbudziły ogromne zainteresowanie tą klasą związków, jako antymetabolitów z potencjalnymi aplikacjami klinicznymi. Biorąc pod uwagę dzisiaj-

sze wymagania aktywności w badaniach *in vitro* jedynie efektywność inhibująca rybonukleozydu 8-aza-6-(metylotio)puryny **19e** wobec komórek nowotworowych naskórka H.Ep.2 ( $ED_{50} = 0,02 \mu\text{M}$ ) stanowiłaby podstawę do dalszych prac.

Jednakże w przeciwieństwie do nukleozydów purynowych i 8-azapuryn (za wyjątkiem 8-azaguaniny) nukleozydy 8-azapurynowe wykazują bardzo ważną właściwość, jaką jest fluorescencja. Później wykazano, że, jej efektywność zależy od pH środowiska. W ten sposób uzyskano nowe narzędzie badawcze coraz efektywniej wykorzystywane w chemii kwasów nukleinowych [65].

Podsumowując, analogi 8-azapurynowe nukleozydów stanowią interesującą klasę związków o dość szerokim spektrum aktywności biologicznej, co potwierdzają dotychczasowe wyniki badań przedstawione w powyższym opracowaniu zawężonym do analogów z pierścieniem tetrahydrofuranowym. Poszukiwanie aktywnych cząsteczek w tej klasie analogów nukleozydów jest ukierunkowane na modyfikacje pierścienia cukrowego zastępując go przez inny układ cykliczny, a ostatnio także przez ugrupowania zawierające sfunkcjonalizowane łańcuchy alifatyczne. Drugi kierunek modyfikacji, który można zrealizować zarówno dla cząsteczek zawierających pierścienie cukrowe, ale również inne fragmenty cykliczne i acykliczne, polega na zastąpieniu grupy fosforanowej  $[(\text{HO})_2\text{P}(\text{O})-\text{O}-\text{C}(5')]$  przez bioizosteryczną grupą fosfonianową  $[(\text{HO})_2\text{P}(\text{O})-\text{CH}_2-]$ . Takie modyfikacje są uzasadnione tym, że proces wewnątrzkomórkowej fosforylacji nukleozydów, jak również ich strukturalnych analogów jest mało wydajny, a jednocześnie jest to jeden z istotniejszych etapów wpływający na aktywność związku. W ten sposób omija się pierwszy etap fosforylacji, a utworzone fosfoniany są trwałe w warunkach hydrolizy enzymatycznej.

## PODZIĘKOWANIE

Autorzy pragną serdecznie podziękować Panu prof. dr. hab. Andrzejowi E. Wróblewskiemu za bezcenną pomoc i udzielone wskazówki. Praca realizowana w ramach badań statutowych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (503/3-014-1/503-06-300 i 502-03-/3-014-01/502-34-076).

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] R.O. Roblin Jr., J.O. Lampen, J.P. English, Q.P. Cole, J.R. Vaughan Jr., J. Am. Chem.Soc., 1945, **67**, 290.
- [2] G.W. Kidder, V.C. Dewey, R.E. Parks Jr., G.L. Woodside, Science, 1949, **109**, 511.
- [3] K.S. Sugiura, G.H. Hitchings, L.F. Cavalieri, C.Ch. Stock, Cancer Res., 1950, **10** (3), 178.
- [4] G.W. Kidder, V.C. Dewey, J. Biol. Chem., 1949, **179**, 181.
- [5] K. Anzai, J. Nagatsu, S. Suzuki, J. Antibiot. Ser. A, 1961, **14**, 340.
- [6] G.H. Mandel, R. Markham, Biochem. J., 1958, **69**, 297.
- [7] W. Hutzenlaub, R.L. Tolman, R.K. Robins, J. Med. Chem., 1972, **15**, 879.

- [8] V. Nair, S.D. Chamberlain, *Synthesis*, 1984, 401.
- [9] E.A. Véliz, LaHoma M. Easterwood, P.A. Beal, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 10867.
- [10] B.L. Haudenschild, O. Maydanovych, E.A. Véliz, M.R. Macbeth, B.L. Bass, P.A. Beal, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 11213.
- [11] J. Davoll, *J. Chem. Soc.*, 1958, 1593.
- [12] J.A. Montgomery, H.J. Thomas, S.J. Clayton, *J. Heterocycl. Chem.*, 1970, **7**, 215.
- [13] F. Seela, I. Münster, U. Löchner, H. Rosemeyer, *Helv. Chim. Acta*, 1998, **81**, 1139.
- [14] B.C. Bookser, N.B. Raffaele, *J. Org. Chem.*, 2007, **72**, 173.
- [15] J.B. Miller, *J. Org. Chem.*, 1960, **25**, 1279.
- [16] K.J.M. Andrews, W.E. Barber, *J. Chem. Soc.*, 1958, 2768.
- [17] R.D. Elliott, J.A. Montgomery, *J. Med. Chem.*, 1977, **20**, 116.
- [18] J.A. Montgomery, R.D. Elliott, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1972, 1279.
- [19] J.A. Montgomery, H.J. Thomas, *J. Med. Chem.*, 1972, **15**, 305.
- [20] J.A. Montgomery, A.T. Shortnacy, G. Arnett, W.M. Shannon, *J. Med. Chem.*, 1977, **20**, 401.
- [21] C.W. Smith, R.W. Sidwell, R.K. Robins, R.L. Tolman, *J. Med. Chem.*, 1972, **15**, 883.
- [22] R.L. Tolman, C.W. Smith, R.K. Robins *J. Am. Chem. Soc.*, 1972, **94**, 2530.
- [23] G. Biagi, I. Giorgi, O. Livi, V. Scartoni, A. Lucacchini, *Farmaco*, 1992, **47**, 1457.
- [24] R.J. Rousseau, R.K. Robins, L.B. Townsend, *J. Am. Chem. Soc.*, 1968, **90**, 2661.
- [25] L.L. Bennett Jr., P.W. Allan, *Cancer Res.*, 1976, **36**, 3917.
- [26] J.A. Montgomery, H.J. Thomas, *J. Label. Comp. Radiopharm.*, 1978, **15**, 727.
- [27] F. Chretien, B. Gross, *Tetrahedron*, 1982, **38**, 103.
- [28] J.A. Montgomery, H.J. Thomas, *J. Org. Chem.*, 1971, **36**, 1962.
- [29] J.A. Montgomery, A.T. Shortnacy, J.A. Secrist III, *J. Med. Chem.*, 1983, **26**, 1483.
- [30] R.D. Eliot, J.A. Montgomery, *J. Med. Chem.*, 1976, **19**, 1186.
- [31] J. Baddiley, J.G. Buchanan, G.O. Osborne, *J. Chem. Soc.*, 1958, 3606.
- [32] G.L. Tong, W.W. Lee, L. Goodman, S. Frederiksen, *Arch. Biochem. Biophys.*, 1965, **112**, 76.
- [33] J.D. Rose, W.B. Parker, H. Someya, S.C. Shaddix, J.A. Montgomery, J.A. Secrist III, *J. Med. Chem.*, 2002, **45**, 4505.
- [34] Z. Kazimierzczuk, U. Binding, F. Seela, *Helv. Chim. Acta*, 1989, **72**, 1527.
- [35] F. Seela, A.M. Jawalekar, I. Münster, *Helv. Chim. Acta*, 2005, **88**, 751.
- [36] S. Frederiksen, *Biochim. Biophys. Acta, Special. Sec. Nucl. Acids Relat. Subj.*, 1964, **87**, 574.
- [37] F. Seela, S. Lampe, *Helv. Chim. Acta*, 1993, **76**, 2388.
- [38] D. Jiang, F. Seela, *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, **132**, 4016.
- [39] F. Seela, D. Jiang, K. Xu, *Org. Biomol. Chem.*, 2009, **7**, 3463.
- [40] F. Seela, K. Mersmann, *Helv. Chim. Acta*, 1992, **75**, 1885.
- [41] F. Seela, K. Mersmann, *Helv. Chim. Acta*, 1993, **76**, 2184.
- [42] M. Friedkin, *J. Biol. Chem.*, 1954, **209**, 295.
- [43] J. Kára, J. Škoda, F. Šorm, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 1961, **26**, 1386.
- [44] M. Nobile, M. Terreni, E. Lewkowicz, A.M. Iribarren, *Biocatal. Biotransform.*, 2010, **28**, 395.
- [45] M.G. Tozzi, M. Camici, A. Del Corso, P.L. Ipata, *J. Label. Comp. Radiopharm.*, 1989, **27**, 533.
- [46] I. Votruba, A. Holy, H. Dvorakova, J. Gunter, D. Hockova, H. Hrebabecky, T. Cihlar, M. Masojidkova, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 1994, **59**, 2303.
- [47] S. Pal, V. Nair, *Biotechnol. Lett.*, 1997, **19**, 349.
- [48] V.A. Stepchenko, F. Seela, R.S. Esipov, A.I. Miroshnikov, Y.A. Sokolov, I.A. Mikhailopulo, *Synlett*, 2012, **23**, 1541.
- [49] A. Stachelska-Wierzchowska, J. Wierzchowski, A. Bzowska, B. Wielgus-Kutrowska, *Molecules*, 2016, **21**, 44, doi:10.3390/molecules21010044.