

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

Zveřejněná podle §31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2016-465

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.:

C07H 19/23 (2006.01)

C07H 19/24 (2006.01)

A61K 31/7064 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

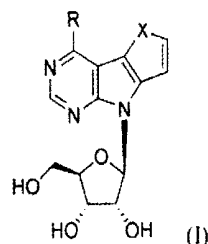
(22) Přihlášeno: **02.08.2016**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **14.02.2018**
(Věstník č. 7/2018)

(71) Přihlašovatel:
Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i.,
Praha 6, CZ
Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc, CZ

(72) Původce:
prof. Ing. Michal Hocek, DSc., Praha 6, CZ
Mgr. Anna Tokarenko, Ivano-Frankivsk, UA
Sabina Smoleň, Ph.D., Pawonków, PL
doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D., Moravský
Beroun, CZ
MUDr. Petr Džubák, Ph.D., Brodek u Přerova, CZ

(74) Zástupce:
Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i.,
RNDr. Ladislava Součková, CSc., Flemingovo
náměstí 2/542, 166 10 Praha 6



(54) Název přihlášky vynálezu:

**Substituované heteropentadieno-
pyrrolopyrimidinové ribonukleosidy pro
terapeutické použití**

(57) Anotace:

Substituované heteropentadieno-
pyrrolopyrimidinové ribonukleosidy obecného
vzorce I, kde R je furan-2-yl, furan-3-yl,
benzofuran-2-yl, methylyl, methylsulfanylyl, methoxy-,
amino- nebo dimethylamino- skupina, nebo
farmaceuticky přijatelné soli takových sloučenin,
jejich optické isomery či směs takových optických
isomerů. Sloučeniny podle tohoto vynálezu
vykazují silné cytostatické a cytotoxické účinky na
buněčných liniích preferenčně nádorového původu
a to u širokého spektra nemocí, zahrnujících nádory
různého histogenetického původu.

Substituované heteropentadieno-pyrrolopyrimidinové ribonukleosidy pro terapeutické použití

Oblast techniky

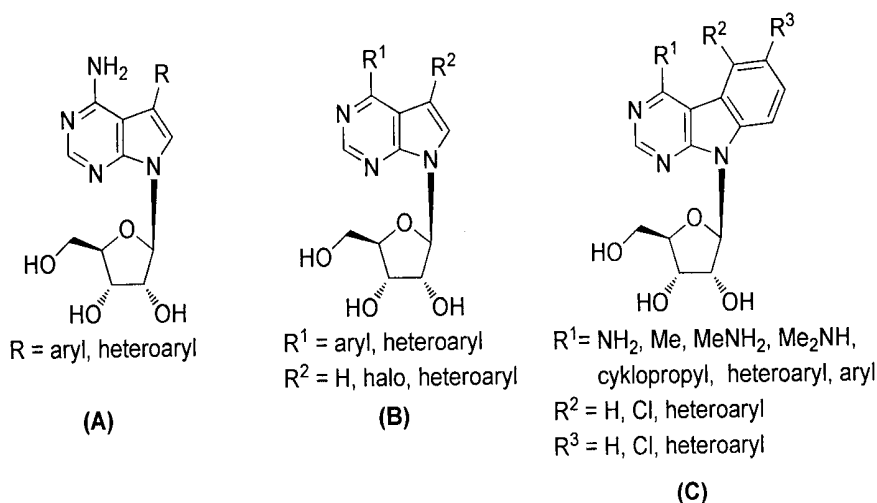
Vynález se týká nového typu látek s protinádorovou aktivitou a jejich terapeutického použití.

Dosavadní stav techniky

Přestože existují desítky schválených antiproliferačních léčiv, léčba řady typů leukémií a nádorových onemocnění má stále nízkou úspěšnost. Současná léčiva mají navíc často výrazné nežádoucí účinky. Proto je třeba vyvíjet další nové typy protinádorových látek pro terapeutické použití.

V nedávné době byly námi objeveny, patentovány a publikovány dvě třídy silných cytostatik, jedná se o 7-(het)aryl-7-deazaadenosiny (viz níže obecný vzorec A, PCT/CZ2010/000050; Bourderioux, A. a kol., *J. Med. Chem.* **2011**, 54, 5498-5507) a také 6-hetaryl-7-deazapurinové ribonukleosidy nesoucí v poloze 7 vodík nebo fluor (viz níže obecný vzorec B) (PCT/CZ2009/000004; Nauš, P. a kol. *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 460–470).

Jediným známým typem anelovaných deazapurinovaných ribonukleosidů jsou námi připravené pyrimidoindolové ribonukleosidy, které však jsou cytotoxické jen velmi málo, nebo vůbec (viz níže obecný vzorec C) (Tichý, M. a kol. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, 20, 6123-6133; Tichý, M. a kol. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, 21, 5362-5372).



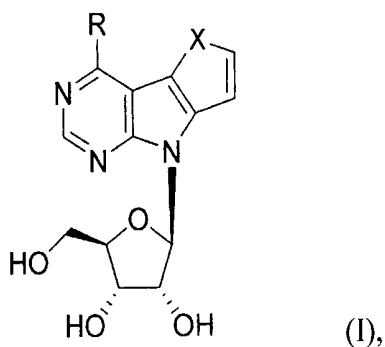
Podstata vynálezu

Tento vynález popisuje nové 4-substituované heteropentadieno-pyrrolopyrimidinové ribonukleosidy obecného vzorce I, které na buněčných liniích preferenčně nádorového původu vykazují silné cytostatické a cytotoxické účinky, a to vůči širokému spektru nemocí, zahrnujících nádory různého histogenetického původu.

Od všech předchozích typů 7-deazapurinových derivátů obecných vzorců **A** a **B** a také od pyrimidoindolových ribonukleosidů obecného vzorce **C** se zásadně liší přítomností kondenzované heterocyklické struktury vázané v polohách 7 a 8 deazapurinového skeletu, nesoucí heteroatomy ve specifických polohách kruhu.

Předkládané heteropentadieno-pyrrolopyrimidinové baze tohoto typu jsou dosud nepopsanými sloučeninami, které se nevyskytují v přírodě a ani nebyly nikdy syntetizovány, tudíž nebyla studována jejich biologická aktivita. Zmíněné nukleosidy jsou zcela unikátním a novým typem nukleosidů s rigidní tricyklickou bází, což vede k odlišnému typu interakce s cílovými biologickými systémy a pravděpodobně i k jinému mechanismu účinku, než jaký vykazují jiné 7--substituované 7-deazapurinové nukleosidy.

Předmětem vynálezu jsou substituované heteropentadieno-pyrrolopyrimidinové ribonukleosidy obecného vzorce I



kde

R je zvolen ze skupiny, zahrnující

- C1-C5 alkyl, volitelně substitutovaný alespoň jedním substituentem vybraným z hydroxyskupiny, sulfanylu, aminoskupiny, C1-C5 alkoxykupiny, C1-C5 sulfanylu, C1-C5 alkylaminoskupiny, di(C1-C5 alkyl)aminoskupiny;
- C2-C6 alkenyl, volitelně substitutovaný alespoň jedním substituentem vybraným z hydroxyskupiny, sulfanylu, aminoskupiny, C1-C5 alkoxykupiny, C1-C5 sulfanylu, C1-C5 alkylaminoskupiny, di(C1-C5 alkyl)aminoskupiny;
- C6-C12 aryl, volitelně substitutovaný alespoň jedním substituentem vybraným z hydroxyskupiny, sulfanylu, aminoskupiny, C1-C5 alkoxykupiny, C1-C5 sulfanylu, C1-C5 alkylaminoskupiny, di(C1-C5 alkyl)aminoskupiny;
- C4-12 heteroaryl, dále obsahující alespoň jeden heteroatom zvolený z O a S; volitelně substitutovaný alespoň jedním substituentem vybraným z hydroxyskupiny, sulfanylu, aminoskupiny, C1-C5 alkoxykupiny, C1-C5 sulfanylu, C1-C5 alkylaminoskupiny, di(C1-C5 alkyl)aminoskupiny;
- aminoskupinu;
- C1-C5 alkylaminoskupinu;
- di(C1-C5 alkyl)aminoskupinu;
- C1-C5 alkoxykupinu;
- C1-C5 alkylsulfanyl; a

X je zvolen z atomu kyslíku, dusíku, nebo C1-C5 alkylaminoskupiny;

a farmaceuticky přijatelné soli takových sloučenin, jejich optické izomery a směsi takových optických izomerů, včetně racemických směsí.



Ve výhodném provedení je R zvolen ze skupiny, sestávající z C1-C5 alkylu, fenylu, naftylu, 2-furylu, 3-furylu, 2-thienylu, 3-thienylu, benzofurylu, dibenzofurylu, C1-C5 alkylsulfanylu, aminoskupiny, C1-C5 alkylaminoskupiny, di(C1-C5 alkyl)aminoskupiny, C1-C5 alkoxykupiny.

Ještě výhodněji je R zvolen ze skupiny, sestávající z furan-2-ylu, furan-3-ylu, benzofuran-2-ylu, methylsulfanylu, methylu, methoxykupiny, aminoskupiny, dimethylaminoskupiny.

Tak, jak jsou zde popsány a pokud není uvedeno jinak, mají jednotlivé substituenty následující významy:

- „alkyl“ je rovný nebo rozvětvený uhlovodíkový řetězec, obsahující počet uhlíků, uvedený v místě použití tohoto termínu;
- „alkenyl“ je rovný nebo rozvětvený uhlovodíkový řetězec obsahující jednu nebo více dvojných vazeb a obsahující počet uhlíků, uvedený v místě použití tohoto termínu;
- „aryl“ je uhlovodíkový řetězec zahrnující nejméně jeden aromatický kruh a obsahující počet uhlíků, uvedený v místě použití tohoto termínu. Aryl také může obsahovat více než jeden aromatický kruh, potom mohou být tyto kruhy kondenzované nebo nekondenzované;
- „heteroaryl“ je uhlovodíková skupina obsahující alespoň jeden heteroatom a alespoň jeden aromatický kruh; přičemž počet uhlíků a počet a typ heteroatomu jsou uvedeny v místě použití tohoto termínu. Heteroaryl může rovněž obsahovat více než jeden aromatický kruh, potom mohou být tyto kruhy kondenzované nebo nekondenzované;
- „hydroxy“ označuje skupinu -OH;
- „sulfanyl“ označuje skupinu -SH;
- „amino“ označuje skupinu -NH₂;
- „alkylamino“ je skupina, vytvořená substituováním jednoho nebo dvou vodíkových atomů aminoskupiny výše definovaným alkylem;
- „dialkylamino“ je skupina, vytvořená substituováním obou vodíkových atomů aminoskupiny dvěma výše definovanými alkyly, stejnými nebo rozdílnými;
- „alkoxy“ označuje skupinu -OR', kde R' odpovídá definici alkylu;
- „alkylsulfanyl“ označuje skupinu -SR', kde R' odpovídá definici alkylu.



Tak, jak je zde použito, zahrnuje výraz „farmaceuticky přijatelná sůl“ takové soli, které vykazují srovnatelnou biologickou účinnost a srovnatelné vlastnosti jako nárokováná sloučenina obecného vzorce I, jsou v rámci rozumného lékařského úsudku vhodné pro použití v kontaktu s tkáněmi lidí a nižších živočichů bez nežádoucí toxicity, podráždění, alergické reakce a podobně a vykazují přijatelný poměr prospěchu a rizika. V mnoha případech jsou sloučeniny podle předkládaného vynálezu schopné vytvářet kyselé a/nebo bazické soli na základě přítomnosti aminových a/nebo karboxylových skupin či skupin jim podobných (příkladem jsou fenol nebo hydroxamová kyselina). Farmaceuticky přijatelné kyselé adiční soli mohou být vytvářeny s anorganickými i organickými kyselinami. Anorganické kyseliny, od nichž mohou být soli odvozeny, zahrnují například kyselinu chlorovodíkovou, bromovodíkovou, sírovou, dusičnou, fosforečnou a podobně. Organické kyseliny, od nichž mohou být soli odvozeny, zahrnují například kyselinu octovou, propionovou, glykolovou, pyrohroznovou, šťavelovou, maleinovou, malonovou, jantarovou, fumarovou, vinnou, citrónovou, benzoovou, skořicovou, mandlovou, methanesulfonovou, ethanesulfonovou, *p*-toluenesulfonovou, salicylovou a podobně. Farmaceuticky přijatelné bazické adiční soli mohou být vytvářeny s anorganickými i organickými bazemi. Anorganické baze, od nichž mohou být soli odvozeny, zahrnují například sodík, draslík, lithium, amonium, vápník, hořčík, železo, zinek, měď, mangan, hliník a podobně; zvláště upřednostňovány jsou amonné, draselné, sodné, vápenaté a hořečnaté soli. Organické baze, od nichž mohou být soli odvozeny, zahrnují například primární, sekundární a terciární aminy, substitutované aminy včetně přírodně se vyskytujících substitutovaných aminů, cyklické aminy, bazické iontové výměnné pryskyřice a podobně, konkrétními příklady jsou isopropylamin, trimethylamin, diethylamin, triethylamin, tripropylamin a ethanolamin. Farmaceuticky přijatelné soli podle předkládaného vynálezu mohou být syntetizovány z mateřské bazické nebo kyselé sloučeniny běžnými chemickými metodami. Obecně mohou být takové soli připraveny reakcí volných kyselých forem těchto sloučenin se stechiometrickým množstvím příslušné baze (jako jsou hydroxid sodný, vápenatý, hořečnatý nebo draselný, uhličitán, hydrogenuhlíčitán a podobně), nebo reakcí volných bazických forem takových sloučenin se stechiometrickým množstvím vhodné kyseliny. Takové reakce se typicky provádějí v organickém rozpouštědle, ve vodě, nebo v jejich směsi. Pokud jsou použitelná, obecně se upřednostňují nevodná media, jako jsou ether, ethylacetát, ethanol, isopropanol, nebo acetonitril. Seznam vhodných adičních solí lze nalézt např. v publikaci Remington's Pharmaceutical



Sciences, 20. vydání, Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985), která je zde uvedena jako odkaz.

Ve výhodném provedení předkládaný vynález poskytuje 4-substituované heteropentadieno-pyrrolopyrimidinové ribonukleosidy obecného vzorce I, kterými jsou:

4-methyl-8-(β -D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin,
4-methoxy-8-(β -D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin,
4-(methylsulfanyl)-8-(β -D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin,
4-amino-8-(β -D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin,
4-(furan-2-yl)-8-(β -D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin,
4-(furan-3-yl)-8-(β -D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin,
4-(benzofuran-2-yl)-8-(β -D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin,
4-(*N,N*-dimethylamino)-8-(β -D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin,
4,5-dimethyl-8-(β -D-ribofuranosyl)-5,8-dihydropyrrolo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin,
4-methoxy-5-methyl-8-(β -D-ribofuranosyl)-5,8-dihydropyrrolo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin,
5-methyl-4-(methylsulfanyl)-8-(β -D-ribofuranosyl)-5,8-dihydropyrrolo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin,
4-amino-5-methyl-8-(β -D-ribofuranosyl)-5,8-dihydropyrrolo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin.

Kromě toho předkládaný vynález poskytuje také 4-substituované heteropentadieno-pyrrolopyrimidinové ribonukleosidy obecného vzorce I pro použití jako léčiva.

Dále tento vynález předkládá 4-substituované heteropentadieno-pyrrolopyrimidinové ribonukleosidy obecného vzorce I pro použití k inhibici patologické buněčné proliferace nádorového i nenádorového původu a/nebo k léčbě nádorového nebo nenádorového onemocnění spojeného s buněčnou hyperproliferací.



Vynález předkládá i 4-substituované heteropentadieno-pyrrolopyrimidinové ribonukleosidy obecného vzorce I pro použití k léčení nádorových onemocnění, zahrnujících nádory epitelálního, mesenchymálního i neuroektodermálního původu.

Tento vynález předkládá také 4-substituované heteropentadieno-pyrrolopyrimidinové ribonukleosidy obecného vzorce I pro výrobu léčiva k léčbě nádorových onemocnění, zahrnujících nádory epitelálního, mesenchymálního i neuroektodermálního původu.

Předmětem předkládaného vynálezu je rovněž farmaceutický prostředek, který obsahuje terapeuticky účinné množství alespoň jedné sloučeniny obecného vzorce I a případně alespoň jeden farmaceuticky přijatelný nosič, plnivo a/nebo ředidlo.

Předmětem tohoto vynálezu je také farmaceutický prostředek pro použití k inhibici patologické buněčné proliferace nádorového i nenádorového původu a/nebo k léčbě nádorového nebo nenádorového onemocnění spojeného s buněčnou hyperproliferací.

Termín "terapeuticky účinné množství", jak se zde používá, se týká takového množství sloučeniny nebo léčiva, které je účinné při "léčení" onemocnění nebo poruchy u člověka, popřípadě savce. V případě léčby rakoviny může terapeuticky účinné množství léčiva snížit počet rakovinných buněk; snížit velikost nádoru; inhibovat (tj. do určité míry zpomalit a s výhodou zastavit) infiltraci rakovinných buněk do periferních orgánů; inhibovat (tj. zpomalit do určité míry a s výhodou zastavit) tvorbu metastáz nádoru, inhibovat, do určité míry, růst nádoru a/nebo zmírnit do určité míry jeden nebo více symptomů spojených s rakovinou. Vzhledem k tomu, že léčivo může zabránit růstu a/nebo zabít existující rakovinné buňky, může být cytostatické a/nebo cytotoxické.

Výraz "farmaceutický prostředek" označuje formulaci sloučeniny a média, obecně uznávanou v oboru, pro dodání biologicky účinné látky savci, např. člověku. Takové médium zahrnuje všechny farmaceuticky přijatelné nosiče, ředidla nebo pomocné látky.

Výraz "farmaceuticky přijatelný nosič, ředidlo nebo plnivo", jak se zde používá, zahrnuje bez



omezení jakoukoliv pomocnou látku, nosič, kluznou látku, sladidlo, konzervant, barvivo, látku zvýrazňující chuť, povrchově aktivní činidlo, dispergační činidlo, suspenzační činidlo, stabilizátor, izotonický prostředek, rozpouštědlo, nebo emulgátor, které byly schválené pro použití u lidí nebo domácích zvířat.

Vynález se dále týká sloučenin obecného vzorce I pro použití ve formě účinné látky ve farmakologicky přijatelném prostředku, který může být připraven běžnými postupy známými v oboru, např. účinná látka může být ve směsi s farmaceuticky přijatelnými inertními organickými a/nebo anorganickými nosiči a/nebo pomocnými látkami, popřípadě je na ně navázána.

Vynález se také týká sloučenin obecného vzorce I pro použití jako druhých nebo dalších účinných látek, majících synergický účinek s jinými účinnými látkami ve známých léčivech, nebo podávání sloučenin obecného vzorce I spolu s těmito léčivy.

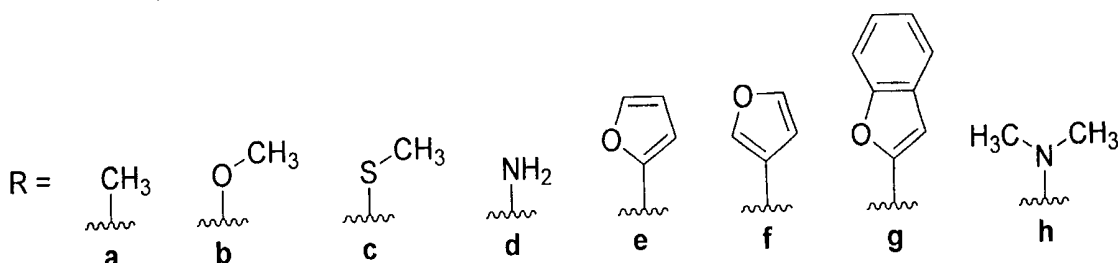
V jednom provedení se předkládaný vynález týká také použití sloučenin obecného vzorce I jako proléčiva nebo v jiné vhodné formě, která uvolňuje aktivní látku *in vivo*.

Číslování sloučenin

V předkládané přihlášce vynálezu je použito následujícího číslování sloučenin, kde

ribonukleosidy, mající $X = O$ jsou označeny jako sloučeniny 1 a-h,

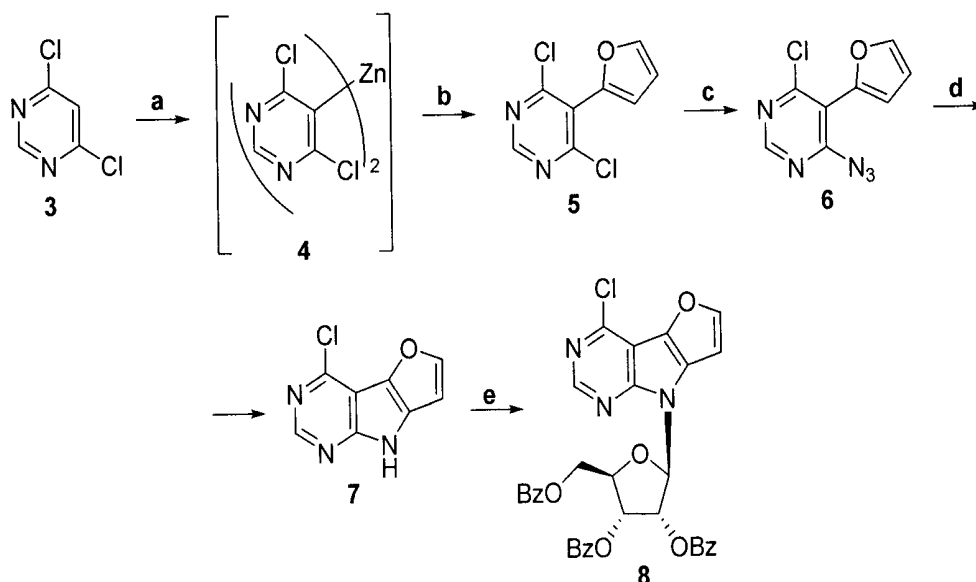
ribonukleosidy, mající $X = N$ nebo alkylaminoskupina, jsou označeny jako 2 a-d, přičemž



Syntetický postup

Klíčový benzoyleovaný 4-chlorfuropyrrlopyrimidinový ribonukleosid byl připraven pětikrokovým syntetickým postupem (Schéma 1), vycházejícím z 4,6-dichlorpyrimidinu (**3**), který byl nejprve zinkován (sloučenina 4 nebyla izolována) (Mosrin, M.; Knochel, P. *Chem.*

Eur. J. **2009**, *15*, 1468–1477) a poté spojen s 2-jodfuranem za vzniku 4,6-dichlor-5-(furan-2-yl)pyrimidinu (**5**) v dobrém (46%) výtěžku. 2-Jodfuran byl připraven podle dříve popsánoho postupu (L. Brandsma, H. Verkruijsse, *Preparative Polar Organometallic Chemistry*, Springer, Berlín **1987**, díl 1, str. 135-136). V dalším kroku byla nukleofilní substitucí za použití NaN_3 zavedena azidová skupina do polohy 4 sloučeniny **5**. Fotocyklizací získaného 4-azido-6-chlor-5-(furan-2-yl)pyrimidinu (**6**) byl vytvořen furopyrrolopyrimidin **7**. Tricyklická nukleobaze **7** pak byla převedena na nukleosid **8** Vorbrüggenovou glykosylací.



a: $(\text{TMP})_2\text{Zn} \cdot \text{MgCl}_2 \cdot 2\text{LiCl}$, THF, 0 °C, 1 h, pak t.m., 1 h; b: 2-jodfuran, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, THF, 65 °C, 16 h; c: NaN_3 , LiCl, DMF, t.m.; d: TFA, UV, t.m., 2 dny; e: BSA, MeCN, 60 °C, 30 min; pak 1-O-acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosa, TMSOTf, 60 °C, 4 h.

Schéma 1: Syntéza benzoylovaného furopyrrolopyrimidinového nukleosidu

Požadované 4-substituované furopyrrolopyrimidinové ribonukleosidy byly připraveny palladiem katalyzovanými reakcemi a/nebo nukleofilními substitucemi (Schéma 2). 4-Methyl-derivát **9a** byl syntetizován palladiem katalyzovanou reakcí 4-halogenovaného nukleosidu **8** s trimethylhliníkem; následné Zemplénovo ochrání poskytl volný 4-methyl-furopyrrolopyrimidinový ribonukleosid **1a**. Sloučeniny **1b-d** byly získány nukleofilní substitucí v poloze 4 methoxidem sodným, thiomethoxidem sodným nebo amoniakem. Ve všech případech bylo dosaženo simultánní debenzylace za reakčních podmínek poskytujících volné nukleosidy. 4-(Het)arylfuropyrrolopyrimidinové ribonukleosidy **9e-g** byly připraveny Stilleho reakcí nebo

Suzuki–Miyauraovými reakcemi typu "cross-coupling". Dimethylaminoderivát **9h** byl syntetizován nukleofilní substitucí s dimethylaminem. Cílové nukleosidy **1e–h** byly připraveny ze sloučenin **9e–h** po odstranění chránících skupin methoxidem sodným v methanolu.

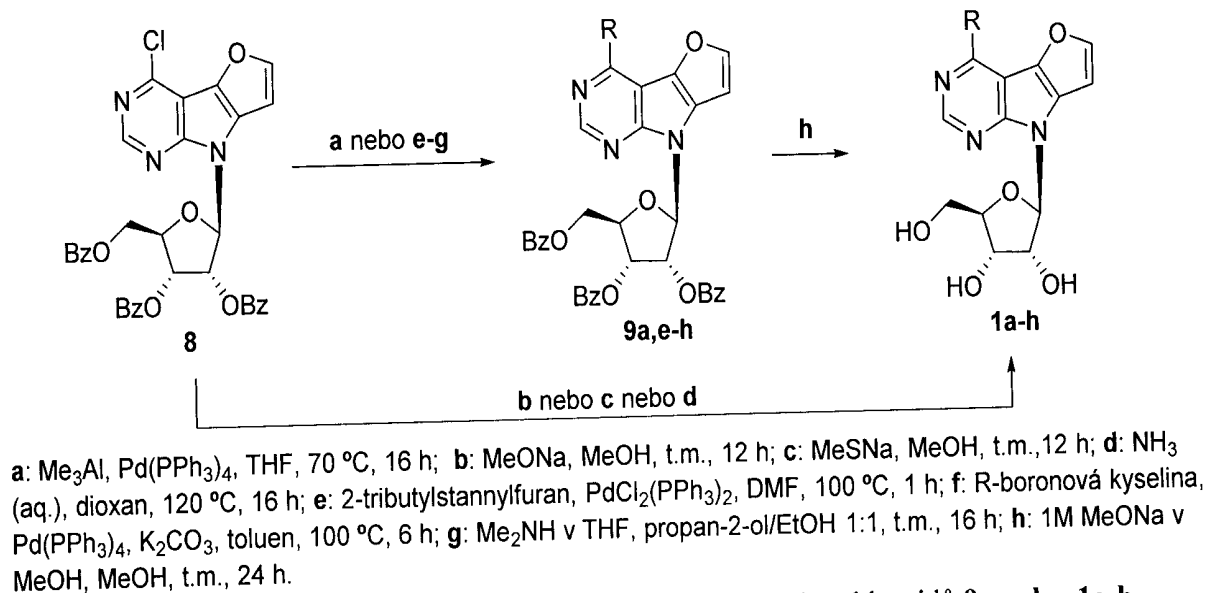


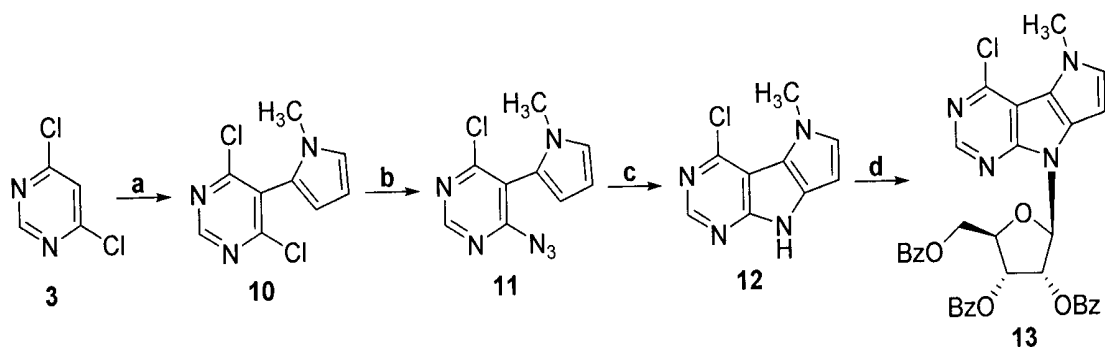
Schéma 2: Syntéza 4-substituovaných furopyrrrolopyrimidinových nukleosidů **9a, e–h** a **1a–h**

Výsledky jsou uvedeny v Tabulce 1.

Tabulka 1: Syntéza 4-substituovaných furopyrrrolopyrimidinových nukleosidů **9a, e–h** a **1a–h**

Krok	Podmínky	R	Chráněný nukleosid	Výtěžek [% hm.]	Volný nukleosid	Výtěžek [% hm.]
1	a	Me	9a	-	1a	50
2	b	OMe	-	-	1b	77
3	c	SMe	-	-	1c	50
4	d	NH ₂	-	-	1d	64
5	e	2-furyl	9e	81	1e	77
6	f	3-furyl	9f	92	1f	81
7	f	2-benzofuryl	9g	81	1g	69
8	g	NMe ₂	9h	61	1h	67

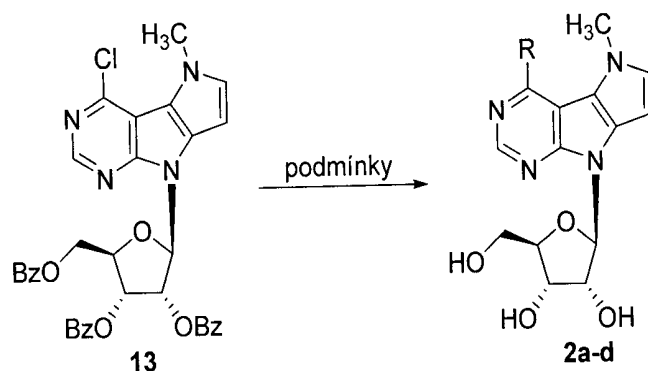
Klíčový meziprodukt, benzoylovaný 4-chlor-5-methylpyrrolopyrrolopyrimidinový ribonukleosid, byl syntetizován z 4,6-dichlorpyrimidinu (**3**), který byl nejprve zinkován a následně spojen s 2-jod-1-methylpyrrolem za vzniku 4,6-dichlor-5-(1-methylpyrrol-2-yl)pyrimidinu (**10**) (Schéma 3). 2-Jod-1-methylpyrrol byl připraven lithiací a následnou jodací 1-methylpyrrolu dříve zveřejněným postupem (viz Mal'kina, A. G. a spol., *Synthesis* **1996**, 5, 589-590). Sloučenina **10** byla následně podrobena nukleofilní substituci za použití jednoho ekvivalentu azidu sodného v dimethylformamidu (DMF) za vzniku odpovídajícího azidoderivátu **11**, který byl poté termálně cyklizován na požadovaný 5-methylpyrrolopyrrolopyrimidin **12**. Vorbrüggenova glykosylace sloučeniny **12** poskytla benzoylovaný 4-chlor-5-methylpyrrolopyrrolopyrimidinový nukleosid **13**.



a: 1) $(\text{TMP})_2\text{Zn} \cdot \text{MgCl}_2 \cdot 2\text{LiCl}$, THF, 1 h při 0 °C, pak 1 h při t.m.; 2) 2-jod-1-methylpyrrol, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, THF, 65 °C, 16h; b: NaN_3 , LiCl, DMF, t.m., 16 h; c: 1,4-dibrombenzen, 180 °C, 30 min; d: 1) BSA, MeCN, t.m., 30 min; 2) 1-O-acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosa, TMSOTf, 80 °C, 3 h.

Schéma 3: Syntéza benzoylovaného 4-chlor-5-methylpyrrolopyrrolopyrimidinového nukleosidu

Požadované 4-substituované nukleosidy byly připraveny za použití palladiem katalyzovaných reakcí a nukleofilních substitucí (Schéma 4). Methylderivát **2a** byl syntetizován palladiem katalyzovanou alkylací trimethylhlíníkem a následným odstraněním chránící skupiny za použití methoxidu sodného v methanolu. Methoxyskupiny, methylsulfanylové skupiny a aminoskupiny byly zavedeny nukleofilními substitucemi a odstranění benzoylové skupiny za reakčních podmínek poskytlo volné nukleosidy **2b-d**.



Podmínky: a) 1) Me_3Al , $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, THF, 70 °C, 3 h; 2) MeONa , MeOH, t.m., 3 h;
b: MeONa , MeOH, t.m., 12 h; c: MeSNa , MeOH, t.m., 12 h; d: NH_3 (aq.), dioxan, 120 °C, 12 h.

Schéma 4: Syntéza 4-substituovaných 5-methylpyrrolopyrrolopyrimidinových nukleosidů **2**

Výsledky jsou uvedeny v Tabulce 2.

Tabulka 2: Syntéza of 4-substituovaných 5-methylpyrrolopyrrolopyrimidinových nukleosidů **2**

Krok	Podmínky	R	Chráněný nukleosid	Výtěžek [% hm.]
1	a	Me	2a	89
2	b	OMe	2b	83
3	c	SMe	2c	77
4	d	NH_2	2d	75

Příklady provedení vynálezu

Seznam použitých zkratk a symbolů:

APCI	chemická ionizace za atmosférického tlaku
aq.	vodný
bd	široký dublet
bq	široký kvartet
bs	široký singlet
bt	široký triplet
btd	široký triplet dubletů



BSA	hovězí sérový albumin
Bz	benzoyl
d	dublet
dd	dublet dubletů
ddd	dublet dubletů dubletů
DCM	dichlormethan
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
dt	dublet tripletů
EI	elektronová ionizace
eq.	ekvivalent
EtOH	ethanol
ESI	elektrosprejová ionizace
h	hodina
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HR	vysoké rozlišení
iPr	isopropyl
m	multiplet
Me	methyl
MeCN	acetonitril
MeOH	methanol
MeONa	methoxid sodný
MeSNa	thiomethoxid sodný
m.p.	teplota tání
MS	hmotnostní spektrometrie
NMR	jaderná magnetická rezonance
Ph	fenyl
q	kvartet
s	singlet
SiO ₂	silikagel jako stacionární chromatografická fáze
t	triplet



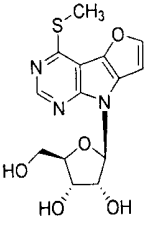
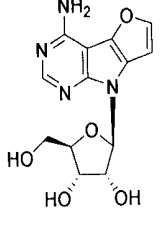
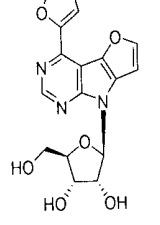
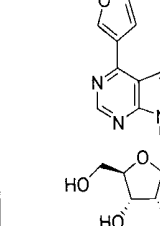
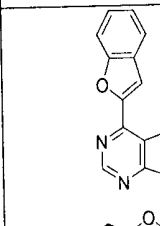
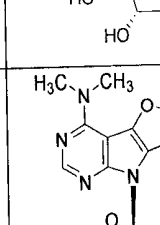
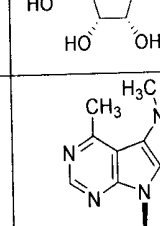
td	triplet dubletů
t.m.	teplota místnosti
TMSOTf	trimethylsilyl trifluormethansulfonát
TFA	kyselina trifluoroctová
THF	tetrahydrofuran
(TMP) ₂ Zn	bis(2,2,6,6-tetramethylpiperidiny)zinek

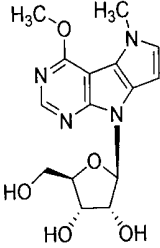
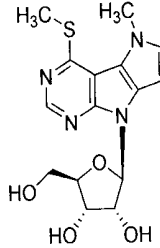
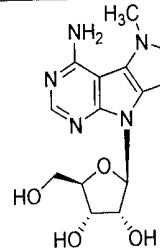
Obecná experimentální část

NMR spektra byla změřena na spektrometrech Bruker AVANCE o pracovních frekvencích 400 MHz (¹H při 400 MHz, ¹³C při 100,6 MHz), nebo 500 MHz (¹H při 500 MHz, ¹³C při 125,7 MHz). Teploty tání byly určeny za použití přístroje Stuart SMP40 a jsou nekorigované. Pro fotocyklizační reakce byla použita germicidní ultrafialová žárovka, model EUV-13B; 3,5W. Optické otáčivosti byly změřeny při 25 °C, hodnoty $[\alpha]_D^{20}$ jsou udány v 10⁻¹ deg cm² g⁻¹. Hmotnostní spektra s vysokým rozlišením (HR MS) byla získána pomocí elektrosprejové ionizace (ESI), elektronové ionizace (EI) nebo chemické ionizace za atmosférického tlaku (APCI). Čistota všech látek k biologickému testování byla ověřena pomocí HPLC a byla vyšší než 95 %.

Tabulka 3: Přehled sloučenin připravených v následujících příkladech

Příklad	Látka	Struktura	Systematický název
5	1a		4-methyl-8-(β-D-ribofuranosyl)-8H-furo[2,3':4,5]pyrrolo[2,3-d]pyrimidin
6	1b		4-methoxy-8-(β-D-ribofuranosyl)-8H-furo[2,3':4,5]pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

7	1c		4-(methylsulfanyl)-8-(β-D-ribofuranosyl)-8H-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-d]pyrimidin
8	1d		4-amino-8-(β-D-ribofuranosyl)-8H-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-d]pyrimidin
10	1e		4-(furan-2-yl)-8-(β-D-ribofuranosyl)-8H-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-d]pyrimidin
12	1f		4-(furan-3-yl)-8-(β-D-ribofuranosyl)-8H-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-d]pyrimidin
14	1g		4-(benzofuran-2-yl)-8-(β-D-ribofuranosyl)-8H-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-d]pyrimidin
16	1h		4-(N,N-dimethylamino)-8-(β-D-ribofuranosyl)-8H-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-d]pyrimidin
21	2a		4,5-dimethyl-8-(β-D-ribofuranosyl)-5,8-dihydropyrrolo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

22	2b		4-methoxy-5-methyl-8-(β-D-ribofuranosyl)-5,8-dihydropyrrolo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin
23	2c		5-methyl-4-(methylsulfanyl)-8-(β-D-ribofuranosyl)-5,8-dihydropyrrolo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin
24	2d		4-amino-5-methyl-8-(β-D-ribofuranosyl)-5,8-dihydropyrrolo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin

Obecný postup pro Suzukiho reakci (Postup A):

Chráněný nukleosid **8**, boronová kyselina (1,5 ekv.), K₂CO₃ (2 ekv.) a Pd(PPh₃)₄ (0,1 ekv.) byly rozpuštěny v toluenu a reakční směs byla zahřívána pod argonovou atmosférou na 100 °C po dobu 6 hodin. Po zreagování byla reakční směs naředěna vodou a extrahována chloroformem. Organické vrstvy byly promyty nasyceným roztokem NH₄Cl, znovu vodou a sušeny pomocí MgSO₄. Rozpouštědlo bylo odpařeno a surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií (SiO₂, 0 – 15% ethylacetát v petroletheru).

Obecný postup pro Stilleho reakci (Postup B)

Chráněný nukleosid **8**, tributylcín (1,2 ekv.) a PdCl₂(PPh₃)₂ (0,1 ekv.) byly rozpuštěny v DMF a reakční směs byla zahřívána na 100 °C po dobu 6-8 hodin. Rozpouštědlo bylo odpařeno ve vakuu a surová směs byla přečištěna sloupcovou chromatografií (SiO₂, 0 – 15% ethylacetát v petroletheru).

Obecný postup pro Zemplénovo odstranění benzoylových skupin (Postup C):

Chráněný nukleosid (0,2 mmol) byl rozpuštěn v methanolu (10 ml), do roztoku byl přidán 1 mol.l⁻¹ roztok methoxidu sodného v methanolu (0,3 ekv.) a reakční směs byla míchána za teploty místnosti přes noc. Rozpouštědlo bylo odpařeno za sníženého tlaku a surový produkt byl přečištěn pomocí sloupcové chromatografie (0 – 40% ethylacetát v petroletheru).

Příklad 1

4,6-Dichlor-5-(furan-2-yl)pyrimidin (5)

Roztok 4,6-dichlorpyrimidinu (3,2 mg, 0,021 mol) v bezvodém THF (35 ml) byl po kapkách přidán k ledem vychlazenému roztoku (TMP)₂Zn·MgCl₂·LiCl (0,35 mol.l⁻¹ ve směsi THF/toluen 9:1, 30 ml, 10,6 mmol). Reakční směs byla míchána při 0 °C jednu hodinu, poté při teplotě místnosti další hodinu a následně byla přidána k předem míchanému (20 minut při teplotě místnosti) roztoku of 2-jodfuranu (4,44 g, 0,023 mol) a Pd(PPh₃)₄ (2,61 g, 2,25 mmol) ve vysušeném THF (10 ml). Reakční směs byla míchána 16 h při 65 °C, rozpouštědlo bylo odpařeno za sníženého tlaku a surová směs byla čištěna za použití sloupcové chromatografie (0 – 1% ethylacetát v petroletheru) k získání sloučeniny **5** (2,1 mg, 46% výtěžek) ve formě nažloutlého prášku, m.p. 257 – 265 °C (rozklad). ¹H NMR (401 MHz, DMSO) δ 6,73 (dd, 1H, *J*_{4,3} = 3,4, *J*_{4,5} = 1,8 Hz, H-4-furyl); 6,93 (dd, 1H, *J*_{3,4} = 3,4, *J*_{3,5} = 0,7 Hz, H-3-furyl); 7,97 (dd, 1H, *J*_{5,4} = 1,8, *J*_{5,3} = 0,7 Hz, H-5-furyl); 8,96 (s, 1H, H-2), ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 112,06, 114,90, 124,65, 143,51, 145,48, 158,15, 161,27. HR MS (EI) pro C₈H₄N₂OCl₂ [M⁺]: vypočteno 213,9701; nalezeno 213,9703.

Příklad 2

4-Azido-6-chlor-5-(furan-2-yl)pyrimidine (6)

Sloučenina **5** (860 mg, 4,03 mmol) byla rozpuštěna ve vysušeném DMF (20 ml); poté byly přidány LiCl (210 mg, 4,03 mmol) a NaN₃ (330 mg, 4,03 mmol). Reakční směs byla míchána 12 h při teplotě místnosti, poté byla vlita do ethylacetátu a dvakrát promyta vodou a solným roztokem. Organická vrstva byla vysušena nad Na₂SO₄, zfiltrována a zahuštěna. Surový produkt byl čištěn za použití sloupcové chromatografie (0 – 5% ethylacetát v petroletheru) k získání sloučeniny **16** (576 mg, 65% výtěžek) ve formě oranžového oleje. ¹H NMR (400 MHz, DMSO)



δ 6,90 (dd, 1H, $J_{4,3} = 3,6$, $J_{4,5} = 1,8$ Hz, H-4-furyl); 7,77 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3,6$, $J_{3,5} = 0,8$ Hz, H-3-furyl); 8,17 (dd, 1H, $J_{5,4} = 1,8$, $J_{5,3} = 0,8$ Hz, H-5-furyl); 10,12 (s, 1H, H-2). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 112,70 (C-5); 113,20 (C-4-furyl); 118,03 (C-3-furyl); 137,53 (C-5-furyl); 141,43 (C-6); 143,40 (C-2-furyl); 146,70 (C-2); 149,31 (C-4). HR MS (EI) pro $\text{C}_8\text{H}_4\text{N}_5\text{OCl}$ $[\text{M}^+]$: vypočteno 221,0104; nalezeno 221,0106.

Příklad 3

4-Chlor-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (7)

Roztok azidu **6** (540 mg, 2,44 mmol) v TFA (35 ml) byl míchán při teplotě místnosti za ozařování UV lampou (4W) po dobu 48 h. Poté bylo rozpouštědlo odpařeno a surová reakční směs byla čištěna pomocí sloupcové chromatografie (0 – 20% ethylacetát v petroletheru) k získání sloučeniny **7** (198 mg, 42% výtěžek) ve formě nažloutlého prášku, m.p. >300 °C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7,05 (d, 1H, $J_{7,6} = 2,1$ Hz, H-7); 8,11 (d, 1H, $J_{6,7} = 2,1$ Hz, H-6); 8,59 (s, 1H, H-2); 12,67 (s, 1H, NH-8). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 100,89 (C-4a); 104,32 (CH-7); 131,69 (C-7a); 145,80 (C-4); 149,77 (CH-6); 150,25 (CH-2); 153,88 (C-8a). HR MS (APCI) pro $\text{C}_8\text{H}_5\text{ON}_3\text{Cl}$ $[\text{M}+\text{H}]$: vypočteno 194,01157; nalezeno 194,01157.

Příklad 4

4-Chlor-8-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl- β -D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (8)

K roztoku baze **7** (440 mg; 2,3 mmol) v MeCN (60 ml) byl přidán BSA (565 μl , 2,3 mmol). Reakční směs byla zahřívána na 60 °C po dobu 30 minut, pak byly přidány TMSOTf (1 ml, 5,71 mmol) a 1-*O*-acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoyl- β -D-ribofuranosa (2,3 g, 4,6 mmol) a směs byla dále zahřívána na 60 °C po další 4 h. Po ochlazení na teplotu místnosti byla směs extrahována ethylacetátem, organická vrstva byla promyta NaHCO_3 a poté vodou, vysušena MgSO_4 a rozpouštědla byla odpařena za sníženého tlaku. Surová reakční směs byla čištěna pomocí sloupcové chromatografie (0 – 15% ethylacetát v petroletheru) k získání nukleosidu **8** (900 mg, 62% výtěžek) ve formě stéblovitě pěny. $[\alpha]_{\text{D}} -53,5$ (c 0,258). ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): 4,68 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 12,0$ Hz, $J_{5'a,4'} = 3,4$ Hz, H-5'a); 4,82 (dt, 1H, $J_{4',3'} = 4,7$ Hz, $J_{4',5'a} = J_{4',5'b} = 3,2$ Hz, H-4'); 4,85 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 12,0$ Hz, $J_{5'b,4'} = 3,0$ Hz, H-5'b); 6,11 (dd, 1H, $J_{3',2'} = 5,9$ Hz,



19

$J_{3',4'} = 4,6$ Hz, H-3'); 6,29 (t, 1H, $J_{2',3'} = J_{2',1'} = 5,8$ Hz, H-2'); 6,84 (d, 1H, $J_{7,6} = 2,2$ Hz, H-7); 6,92 (d, 1H, $J_{1',2'} = 5,7$ Hz, H-1'); 7,36, 7,42 a 7,44 (3×m, 3×2H, H-*m*-Bz); 7,54 (m, 1H, H-*p*-Bz); 7,57–7,62 (m, 2H, H-*p*-Bz); 7,60 (d, 1H, $J_{6,7} = 2,2$ Hz, H-6); 7,92, 8,01 and 8,02 (3×m, 3×2H, H-*o*-Bz); 8,62 (s, 1H, H-2). ^{13}C NMR (125,7 MHz, CDCl_3): 63,42 (CH_2 -5'); 71,06 (CH-3'); 72,82 (CH-2'); 79,87 (CH-4'); 85,41 (CH-1'); 100,15 (CH-7); 106,30 (C-4a); 128,35 (C-*i*-Bz); 128,50, 128,56 a 128,57 (CH-*m*-Bz); 128,63 a 129,26 (C-*i*-Bz); 129,66 a 129,82 (CH-*o*-Bz); 129,96 (C-7a); 133,49 a 133,79 (CH-*p*-Bz); 136,77 (C-4b); 147,67 (C-4); 148,57 (CH-6); 149,99 (CH-2); 153,79 (C-8a); 165,11, 165,56 a 166,08 (CO). HR MS (ESI) pro $\text{C}_{34}\text{H}_{24}\text{O}_8\text{N}_3\text{ClNa}$ [M+Na]: vypočteno 660,11441; nalezeno 660,11482.

Příklad 5

4-Methyl-8-(β-D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (1a)

(Me)₃Al (785 μl, 2 mol.l⁻¹ v toluenu) a Pd(PPh₃)₄ (213 mg, 0,2 mmol) byly přidány k roztoku nukleosidu **8** (590 mg, 0,96 mmol v THF (15 ml)); reakční směs byla poté míchána přes noc při 70 °C. Rozpouštědlo bylo následně odpařeno a surová reakční směs byla čištěna sloupcovou chromatografií (0 –15% MeOH v DCM). Benzoylovaný nukleosid **9a** byl ochráněn za použití obecného postupu C. Nukleosid **1a** (149 mg, 50% výtěžek) byl získán ve formě nažloutlých krystalů, m.p. 195 – 203 °C (rozklad). $[\alpha]_{\text{D}} -39,6$ (c 0,252). ^1H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): 2,81 (s, 3H, CH₃-4); 3,58 (ddd, 1H, $J_{\text{gem}} = 11,8$ Hz, $J_{5'a,\text{OH}} = 5,2$ Hz, $J_{5'a,4'} = 4,0$ Hz, H-5'a); 3,62 (ddd, 1H, $J_{\text{gem}} = 11,8$ Hz, $J_{5'b,\text{OH}} = 5,5$ Hz, $J_{5'b,4'} = 4,1$ Hz, H-5'b); 3,94 (td, 1H, $J_{4',5'a} = J_{4',5'b} = 4,1$ Hz, $J_{4',3'} = 2,4$ Hz, H-4'); 4,12 (td, 1H, $J_{3',2'} = J_{3',\text{OH}} = 4,9$ Hz, $J_{3',4'} = 2,4$ Hz, H-3'); 4,50 (td, 1H, $J_{2',1'} = J_{2',\text{OH}} = 7,0$ Hz, $J_{2',3'} = 5,3$ Hz, H-2'); 5,05 (t, 1H, $J_{\text{OH},5'a} = J_{\text{OH},5'b} = 5,3$ Hz, OH-5'); 5,21 (d, 1H, $J_{\text{OH},3'} = 4,5$ Hz, OH-3'); 5,32 (d, 1H, $J_{\text{OH},2'} = 6,7$ Hz, OH-2'); 6,37 (d, 1H, $J_{1',2'} = 7,4$ Hz, H-1'); 7,21 (d, 1H, $J_{7,6} = 2,1$ Hz, H-7); 8,04 (d, 1H, $J_{6,7} = 2,1$ Hz, H-6); 8,68 (s, 1H, H-2). ^{13}C NMR (125,7 MHz, DMSO-*d*₆): 22,60 (CH₃-4); 61,96 (CH₂-5'); 70,76 (CH-3'); 72,55 (CH-2'); 85,45 (CH-4'); 85,68 (CH-1'); 101,86 (CH-7); 105,47 (C-4a); 129,08 (C-7a); 137,57 (C-4b); 148,57 (CH-6); 150,48 (CH-2); 153,04 (C-8a); 154,46 (C-4). HR MS (ESI) pro $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{O}_5\text{N}_3\text{Na}$ [M+Na]: vypočteno 328,09039; nalezeno 328,09044.

Příklad 6

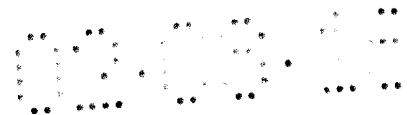
4-Methoxy-8-(β-D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (1b)

K suspenzi nukleosidu **8** (370 mg, 0,58 mmol) v MeOH (25 ml) byl přidán methoxid sodný (63 mg, 1,16 mmol). Reakční směs byla míchána přes noc při teplotě místnosti, poté bylo rozpouštědlo odpařeno a surová reakční směs byla čištěna sloupcovou chromatografií (0 – 5% MeOH v DCM) k získání nukleosidu **1b** (144 mg, 77% výtěžek) ve formě nažloutlého prášku, m.p. 216–219 °C. $[\alpha]_D -40,1$ (c 0,172). ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): 3,58 (bdt, 1H, $J_{gem} = 11,8$ Hz, $J_{5'a,4'} = J_{5'a,OH} = 4,5$ Hz, H-5'a); 3,61 (bdt, 1H, $J_{gem} = 11,8$ Hz, $J_{5'b,4'} = J_{5'b,OH} = 4,6$ Hz, H-5'b); 3,93 (td, 1H, $J_{4',5'a} = J_{4',5'b} = 4,0$ Hz, $J_{4',3'} = 2,4$ Hz, H-4'); 4,11 (m, 1H, H-3'); 4,12 (s, 3H, CH₃O); 4,49 (td, 1H, $J_{2',1'} = J_{2',OH} = 7,0$ Hz, $J_{2',3'} = 5,3$ Hz, H-2'); 5,05 (t, 1H, $J_{OH,5'a} = J_{OH,5'b} = 5,3$ Hz, OH-5'); 5,21 (d, 1H, $J_{OH,3'} = 4,5$ Hz, OH-3'); 5,32 (d, 1H, $J_{OH,2'} = 6,7$ Hz, OH-2'); 6,34 (d, 1H, $J_{1',2'} = 7,4$ Hz, H-1'); 7,16 (d, 1H, $J_{7,6} = 2,1$ Hz, H-7); 7,95 (d, 1H, $J_{6,7} = 2,1$ Hz, H-6); 8,45 (s, 1H, H-2). ^{13}C NMR (125,7 MHz, DMSO- d_6): 54,13 (CH₃O); 61,99 (CH₂-5'); 70,80 (CH-3'); 72,63 (CH-2'); 85,50 (CH-4'); 86,01 (CH-1'); 92,90 (C-4a); 101,78 (CH-7); 127,57 (C-7a); 136,80 (C-4b); 147,81 (CH-6); 150,09 (CH-2); 154,27 (C-8a); 159,92 (C-4). HR MS (ESI) pro C₁₄H₁₅O₆N₃Na [M+Na]: vypočteno 344,08531; nalezeno 344,08529.

Příklad 7

4-Methylsulfanyl-8-(β-D-ribofuranosyl)-8H-furo[3',2':4,5]pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (1c**)**

Nukleosid **8** (200 mg, 0,31 mmol) byl rozpuštěn v MeOH (12 ml) a poté byl jednorázově přidán thiomethoxid sodný (45 mg, 0,64 mmol). Reakční směs byla míchána přes noc při teplotě místnosti, poté bylo rozpouštědlo odpařeno a surová reakční směs byla čištěna sloupcovou chromatografií (SiO₂, 0 – 5% MeOH v DCM) k získání nukleosidu **1c** (52 mg, 50% výtěžek) ve formě nažloutlého prášku; m.p. 213 – 217 °C. $[\alpha]_D -35,5$ (c 0,135). ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): 2,73 (s, 3H, CH₃S); 3,58 (ddd, 1H, $J_{gem} = 11,8$ Hz, $J_{5'a,OH} = 5,2$ Hz, $J_{5'a,4'} = 4,0$ Hz, H-5'a); 3,61 (ddd, 1H, $J_{gem} = 11,8$ Hz, $J_{5'b,OH} = 5,4$ Hz, $J_{5'b,4'} = 4,0$ Hz, H-5'b); 3,93 (td, 1H, $J_{4',5'a} = J_{4',5'b} = 4,0$ Hz, $J_{4',3'} = 2,4$ Hz, H-4'); 4,12 (btd, 1H, $J_{3',2'} = J_{3',OH} = 4,9$ Hz, $J_{3',4'} = 2,4$ Hz, H-3'); 4,49 (btd, 1H, $J_{2',1'} = J_{2',OH} = 7,0$ Hz, $J_{2',3'} = 5,2$ Hz, H-2'); 5,05 (t, 1H, $J_{OH,5'a} = J_{OH,5'b} = 5,3$ Hz, OH-5'); 5,22 (d, 1H, $J_{OH,3'} = 4,5$ Hz, OH-3'); 5,33 (d, 1H, $J_{OH,2'} = 6,6$ Hz, OH-2'); 6,34 (d, 1H, $J_{1',2'} = 7,3$ Hz, H-1'); 7,20 (d, 1H, $J_{7,6} = 2,1$ Hz, H-7); 8,05 (d, 1H, $J_{6,7} = 2,1$ Hz, H-6); 8,65 (s, 1H, H-2). ^{13}C NMR (125,7 MHz, DMSO- d_6): 11,63 (CH₃S); 61,92 (CH₂-5'); 70,74 (CH-3'); 72,61 (CH-2'); 85,53 (CH-4'); 85,80 (CH-1'); 101,83 (CH-7); 103,19 (C-4a); 128,62 (C-7a); 136,92 (C-4b); 148,89 (CH-6); 150,02 (CH-2); 151,08 (C-8a); 156,42 (C-4). ESI MS m/z (rel



%) : 376 (100) [M+Na]. HR MS (ESI) pro $C_{14}H_{16}O_5N_3S$ [M+H]: vypočteno 338,08052; nalezeno 338,08061.

Příklad 8

4-Amino-8-(β -D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (1d)

K roztoku nukleosidu **8** (243 mg, 0,38 mmol) ve vysušeném 1,4-dioxanu (5 ml) byl přidán 30% vodný roztok amoniaku (15 ml). Poté byla reakční směs zahřívána v tlakové trubici 24 hodin na teplotu 100 °C a po následném odpaření rozpouštědel byla surová reakční směs čistěna sloupcovou chromatografií (0 – 5% MeOH v DCM). Nukleosid **1d** (75 mg, 64% výtěžek) byl získán ve formě nažloutlého prášku o m.p. 246-253 °C. $[\alpha]_D -40,8$ (c 0,147). 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): 3,55 (ddd, 1H, $J_{gem} = 11,8$ Hz, $J_{5'a,OH} = 5,5$ Hz, $J_{5'a,4'} = 4,1$ Hz, H-5'a); 3,60 (ddd, 1H, $J_{gem} = 11,8$ Hz, $J_{5'b,OH} = 5,4$ Hz, $J_{5'b,4'} = 4,1$ Hz, H-5'b); 3,89 (td, 1H, $J_{4',5'a} = J_{4',5'b} = 4,1$ Hz, $J_{4',3'} = 2,5$ Hz, H-4'); 4,09 (td, 1H, $J_{3',2'} = J_{3',OH} = 4,9$ Hz, $J_{3',4'} = 2,5$ Hz, H-3'); 4,48 (td, 1H, $J_{2',1'} = J_{2',OH} = 7,0$ Hz, $J_{2',3'} = 5,3$ Hz, H-2'); 5,08 (t, 1H, $J_{OH,5'a} = J_{OH,5'b} = 5,4$ Hz, OH-5'); 5,15 (d, 1H, $J_{OH,3'} = 4,6$ Hz, OH-3'); 5,25 (d, 1H, $J_{OH,2'} = 6,8$ Hz, OH-2'); 6,23 (d, 1H, $J_{1',2'} = 7,3$ Hz, H-1'); 7,05 (d, 1H, $J_{7,6} = 2,1$ Hz, H-7); 7,06 (bs, 2H, NH₂); 7,86 (d, 1H, $J_{6,7} = 2,1$ Hz, H-6); 8,09 (s, 1H, H-2). ^{13}C NMR (125,7 MHz, DMSO- d_6): 62,08 (CH₂-5'); 70,79 (CH-3'); 72,43 (CH-2'); 85,16 (CH-4'); 85,88 (CH-1'); 90,71 (C-4a); 101,51 (CH-7); 127,25 (C-7a); 138,20 (C-4b); 146,08 (CH-6); 151,41 (CH-2); 153,19 (C-8a); 154,64 (C-4). HR MS (ESI) pro $C_{13}H_{15}O_5N_4$ [M+H]: vypočteno 307,10370; nalezeno 307,10374.

Příklad 9

4-(Furan-2-yl)-8-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl- β -D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (9e)

Nukleosid **9e** byl připraven podle obecného postupu B z chráněného nukleosidu **8** (800 mg, 1,256 mmol) a 2-(tributylstannyl)furanu (475 μ l, 1,5 mmol). Požadovaný produkt **9e** (684 mg, 81% výtěžek) byl získán ve formě žlutého oleje. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 4,67 – 4,84 (m, 2H); 4,93 (dd, 1H); 6,16 (dd, 1H); 6,40 (dd, 1H); 6,86 (dd, 1H); 6,94 (d, 1H); 7,30 (d, 1H); 7,38 – 7,54 (m, 6H); 7,58 – 7,72 (m, 4H); 7,80 – 7,85 (m, 2H); 7,93 – 7,99 (m, 2H); 7,99 – 8,03



(m, 2H); 8,13 – 8,17 (m, 2H); 8,75 (s, 1H). HR MS (ESI) pro $C_{38}H_{28}O_9N_3$ [M+H]: vypočteno 670,18201; nalezeno 670,18215.

Příklad 10

4-(Furan-2-yl)-8-(β-D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (1e)

Sloučenina **9e** (630 mg, 0,94 mmol) byla zbavena chránicí skupiny podle obecného postupu C. Nukleosid **1e** (263 mg, 77% výtěžek) byl získán jako nažloutlý prášek o m.p. 128 – 151 °C (rozklad). $[\alpha]_D -24,1$ (c 0,345). 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): 3,61 (ddd, 1H, $J_{gem} = 11,8$ Hz, $J_{5'a,OH} = 5,2$ Hz, $J_{5'a,4'} = 4,0$ Hz, H-5'a); 3,64 (ddd, 1H, $J_{gem} = 11,8$ Hz, $J_{5'b,OH} = 5,3$ Hz, $J_{5'b,4'} = 4,0$ Hz, H-5'b); 3,96 (td, 1H, $J_{4',5'a} = J_{4',5'b} = 4,0$ Hz, $J_{4',3'} = 2,4$ Hz, H-4'); 4,14 (btd, 1H, $J_{3',2'} = 4,0$ Hz, H-5'b); 3,96 (td, 1H, $J_{4',5'a} = J_{4',5'b} = 4,0$ Hz, $J_{4',3'} = 2,4$ Hz, H-4'); 4,54 (btd, 1H, $J_{2',1'} = J_{2',OH} = 7,0$ Hz, $J_{2',3'} = 5,3$ Hz, H-2'); 5,08 (t, 1H, $J_{OH,5'a} = J_{OH,5'b} = 5,3$ Hz, OH-5'); 5,23 (d, 1H, $J_{OH,3'} = 4,5$ Hz, OH-3'); 5,36 (d, 1H, $J_{OH,2'} = 6,6$ Hz, OH-2'); 6,43 (d, 1H, $J_{1',2'} = 7,4$ Hz, H-1'); 6,86 (dd, 1H, $J_{4,3} = 3,5$ Hz, $J_{4,5} = 1,8$ Hz, H-4-furyl); 7,28 (d, 1H, $J_{7,6} = 2,1$ Hz, H-7); 7,62 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3,5$ Hz, $J_{3,5} = 0,9$ Hz, H-3-furyl); 8,13 (d, 1H, $J_{6,7} = 2,1$ Hz, H-6); 8,14 (bd, 1H, $J_{5,4} = 1,8$ Hz, H-5-furyl); 8,78 (s, 1H, H-2). ^{13}C NMR (125,7 MHz, DMSO- d_6): 61,93 (CH₂-5'); 70,75 (CH-3'); 72,50 (CH-2'); 85,54 (CH-4'); 85,69 (CH-1'); 99,90 (C-4a); 101,91 (CH-7); 113,17 (CH-4-furyl); 113,21 (CH-3-furyl); 130,59 (C-7a); 137,01 (C-4b); 142,61 (C-4); 146,57 (CH-5-furyl); 148,95 (CH-6); 150,37 (CH-2); 151,65 (C-2-furyl); 154,40 (C-8a). HR MS (ESI) pro $C_{17}H_{16}O_6N_3$ [M+H]: vypočteno 358,10336; nalezeno 358,10348.

Příklad 11

4-(Furan-3-yl)-8-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl-β-D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (9f)

Nukleosid **9f** byl připraven podle obecného postupu A z chráněného nukleosidu **8** (210 mg, 0,315 mmol) a furan-3-boronové kyseliny (53 mg, 0,473 mmol). Požadovaný produkt **9f** (193 mg, 92% výtěžek) byl získán ve formě žlutého oleje. 1H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4,70 (dd, 1H); 4,81 – 4,89 (m, 2H); 6,12 (dd, 1H); 6,29 (t, 1H); 6,89 (d, 1H); 7,03 (d, 1H); 7,34-7,46 (m, 7H); 7,51-7,64 (m, 6H); 7,91 (d, 1H); 7,93 (d, 1H); 8,01-8,06 (s, 4H); 8,88 (s, 1H). HR MS (ESI) pro $C_{38}H_{28}O_9N_3$ [M+H]: vypočteno 670,18201; nalezeno 670,18215.

Příklad 12**4-(Furan-3-yl)-8-(β -D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (1f)**

Sloučenina **9f** (170 mg, 0,25 mmol) byla zbavena chránicí skupiny podle obecného postupu C. Nukleosid **1f** (74 mg, 81% výtěžek) byl získán jako nažloutlý prášek o m.p. 216 – 220 °C. $[\alpha]_D - 23,7$ (c 0,135). ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): 3,60 (ddd, 1H, $J_{gem} = 11,8$ Hz, $J_{5'a,OH} = 5,2$ Hz, $J_{5'a,4'} = 4,0$ Hz, H-5'a); 3,63 (ddd, 1H, $J_{gem} = 11,8$ Hz, $J_{5'b,OH} = 5,4$ Hz, $J_{5'b,4'} = 4,0$ Hz, H-5'b); 3,96 (td, 1H, $J_{4',5'a} = J_{4',5'b} = 4,0$ Hz, $J_{4',3'} = 2,4$ Hz, H-4'); 4,14 (btd, 1H, $J_{3',2'} = J_{3',OH} = 4,9$ Hz, $J_{3',4'} = 2,4$ Hz, H-3'); 4,54 (td, 1H, $J_{2',1'} = J_{2',OH} = 7,0$ Hz, $J_{2',3'} = 5,2$ Hz, H-2'); 5,08 (t, 1H, $J_{OH,5'a} = J_{OH,5'b} = 5,3$ Hz, OH-5'); 5,23 (d, 1H, $J_{OH,3'} = 4,5$ Hz, OH-3'); 5,35 (d, 1H, $J_{OH,2'} = 6,7$ Hz, OH-2'); 6,43 (d, 1H, $J_{1',2'} = 7,4$ Hz, H-1'); 7,30 (d, 1H, $J_{7,6} = 2,1$ Hz, H-7); 7,43 (dd, 1H, $J_{4,5} = 1,9$ Hz, $J_{4,2} = 0,8$ Hz, H-4-furyl); 7,98 (t, 1H, $J_{5,2} = J_{5,4} = 1,7$ Hz, H-5-furyl); 8,15 (d, 1H, $J_{6,7} = 2,1$ Hz, H-6); 8,78 (dd, 1H, $J_{2,5} = 1,6$ Hz, $J_{2,4} = 0,8$ Hz, H-2-furyl); 8,80 (s, 1H, H-2). ^{13}C NMR (125,7 MHz, DMSO- d_6): 66,22 (CH₂-5'); 71,04 (CH-3'); 72,83 (CH-2'); 85,83 (CH-4'); 86,00 (CH-1'); 101,96 (C-4a); 102,35 (CH-7); 109,28 (CH-4-furyl); 125,67 (C-3-furyl); 130,26 (C-7a); 137,06 (C-4b); 144,72 (CH-2-furyl); 145,63 (CH-5-furyl); 146,38 (C-4); 149,23 (CH-6); 150,82 (CH-2); 154,46 (C-8a). HR MS (ESI) pro C₁₇H₁₆O₆N₃ [M+H]: vypočteno 358,10336; nalezeno 358,10332.

Příklad 13**4-(Benzofuran-2-yl)-8-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl- β -D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (9g)**

Nukleosid **9g** byl připraven podle obecného postupu A z chráněného nukleosidu **8** (360 mg, 0,56 mmol) a benzofuran-2-boronové kyseliny (136 mg, 0,84 mmol). Požadovaný produkt **9g** (330 mg, 81% výtěžek) byl získán ve formě žlutého oleje. ^1H NMR (401 MHz, DMSO- d_6): 4,56 – 4,68 (m, 1H); 4,77 – 4,84 (m, 2H); 6,18 – 6,46 (m, 2H); 6,98 (d, 1H); 7,34 – 7,54 (m, 8H); 7,59 – 7,70 (m, 3H); 7,72 – 8,01 (m, 10H); 8,24 (d, 1H); 8,90 (s, 1H). HR MS (ESI) pro C₄₂H₃₀O₉N₃ [M+H]: vypočteno 720,19766; nalezeno 720,19781.

Example 14**4-(Benzofuran-2-yl)-8-(β -D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (1g)**



24

Sloučenina **9g** (260 mg, 0,36 mmol) byla zbavena chránicí skupiny podle obecného postupu C. Nukleosid **1g** (101 mg, 69% výtěžek) byl získán ve formě citronově žlutého prášku o m.p. 223–240 °C (rozklad). $[\alpha]_D -21,6$ (c 0,241). ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): 3,59 – 3,68 (m, 2H, H-5'); 3,98 (td, 1H, $J_{4',5'a} = J_{4',5'b} = 4,0$ Hz, $J_{4',3'} = 2,4$ Hz, H-4'); 4,17 (bddd, 1H, $J_{3',2'} = 5,2$ Hz, $J_{3',OH} = 4,3$ Hz, $J_{3',4'} = 2,4$ Hz, H-3'); 4,56 (td, 1H, $J_{2',1'} = J_{2',OH} = 7,0$ Hz, $J_{2',3'} = 5,2$ Hz, H-2'); 5,12 (t, 1H, $J_{OH,5'a} = J_{OH,5'b} = 5,3$ Hz, OH-5'); 5,27 (d, 1H, $J_{OH,3'} = 4,3$ Hz, OH-3'); 5,39 (d, 1H, $J_{OH,2'} = 6,6$ Hz, OH-2'); 6,47 (d, 1H, $J_{1',2'} = 7,4$ Hz, H-1'); 7,34 (d, 1H, $J_{7,6} = 2,1$ Hz, H-7); 7,39 (ddd, 1H, $J_{5,4} = 7,8$ Hz, $J_{5,6} = 7,2$ Hz, $J_{5,7} = 1,0$ Hz, H-5-benzofuryl); 7,50 (ddd, 1H, $J_{6,7} = 8,3$ Hz, $J_{6,5} = 7,2$ Hz, $J_{6,4} = 1,3$ Hz, H-6-benzofuryl); 7,79 (dq, 1H, $J_{7,6} = 8,3$ Hz, $J_{7,5} = J_{7,4} = J_{7,3} = 0,9$ Hz, H-7-benzofuryl); 7,89 (ddd, 1H, $J_{4,5} = 7,8$ Hz, $J_{4,6} = 1,3$ Hz, $J_{4,7} = 0,7$ Hz, H-4-benzofuryl); 8,08 (d, 1H, $J_{3,7} = 1,0$ Hz, H-3-benzofuryl); 8,23 (d, 1H, $J_{6,7} = 2,1$ Hz, H-6); 8,89 (s, 1H, H-2). ^{13}C NMR (125,7 MHz, DMSO- d_6): 61,91 (CH_2 -5'); 70,76 (CH-3'); 72,58 (CH-2'); 85,63 (CH-4'); 85,79 (CH-1'); 101,12 (C-4a); 102,04 (CH-7); 108,81 (CH-3-benzofuryl); 111,91 (CH-7-benzofuryl); 122,70 (CH-4-benzofuryl); 124,02 (CH-5-benzofuryl); 126,83 (CH-6-benzofuryl); 128,22 (C-3a-benzofuryl); 131,34 (C-7a); 136,85 (C-4b); 142,32 (C-4); 149,57 (CH-6); 150,33 (CH-2); 153,19 (C-2-benzofuryl); 154,60 (C-8a); 155,36 (C-7a-benzofuryl). HR MS (ESI) pro $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_6\text{N}_3$ $[\text{M}+\text{H}]$: vypočteno 408,11901; nalezeno 408,11911.

Příklad 15

4-*N,N*-Dimethylamino-8-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl- β -D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo-[2,3-*d*]pyrimidin (9h)

K roztoku nukleosidu **8** (460 mg, 0,72 mmol) v isopropanolu (20 ml) byl jednorázově přidán dimethylamin (460 μl , 2 mol. l^{-1} v THF). Reakční směs byla míchána přes noc při teplotě místnosti, poté bylo rozpouštědlo odpařeno a surová reakční směs byla čištěna sloupcovou chromatografií (0 – 35% ethylacetát v petroletheru). Požadovaný nukleosid **9h** (280 mg, 61% výtěžek) byl získán ve formě žlutého oleje. ^1H NMR (401 MHz, DMSO- d_6) δ 3,39 (s, 6H); 4,64 – 4,80 (m, 2H); 4,86 (dd, 1H); 6,11 (dd, 1H); 6,32 (dd, 1H); 6,83 (d, 1H); 7,10 (d, 1H); 7,38 – 7,46 (m, 2H); 7,48 – 7,55 (m, 4H); 7,59 – 7,66 (m, 1H); 7,67 – 7,73 (m, 2H); 7,80 – 7,83 (m, 3H); 7,96 – 7,99 (m, 4H); 8,17 (s, 1H). HR MS (ESI) pro $\text{C}_{36}\text{H}_{31}\text{O}_8\text{N}_4$ $[\text{M}+\text{H}]$: vypočteno 647,21364; nalezeno 647,21374.



Příklad 16

4-(*N,N*-Dimethylamino)-8-(β-D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (1h)

Sloučenina **9h** (250 mg, 0,39 mmol) byla zbavena chránicí skupiny podle obecného postupu C. Nukleosid **1h** (129 mg, 67 %) byl získán ve formě žlutých krystalů o m.p. 212 – 255 °C (rozklad). $[\alpha]_D -40,0$ (c 0,065). ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): 3,40 (s, 6H, (CH₃)₂N); 3,56 (dd, 1H, $J_{gem} = 11,8$ Hz, $J_{5'a,4'} = 4,1$ Hz, H-5'a); 3,60 (dd, 1H, $J_{gem} = 11,8$ Hz, $J_{5'b,4'} = 4,1$ Hz, H-5'b); 3,89 (td, 1H, $J_{4',5'a} = J_{4',5'b} = 4,1$ Hz, $J_{4',3'} = 2,7$ Hz, H-4'); 4,10 (dd, 1H, $J_{3',2'} = 5,4$ Hz, $J_{3',4'} = 2,7$ Hz, H-3'); 4,46 (dd, 1H, $J_{2',1'} = 7,3$ Hz, $J_{2',3'} = 5,4$ Hz, H-2'); 4,97 – 5,69 (m, 3H, OH-2',3',5'); 6,29 (d, 1H, $J_{1',2'} = 7,3$ Hz, H-1'); 7,08 (d, 1H, $J_{7,6} = 2,1$ Hz, H-7); 7,82 (d, 1H, $J_{6,7} = 2,1$ Hz, H-6); 8,16 (s, 1H, H-2). ^{13}C NMR (125,7 MHz, DMSO- d_6): 38,14 ((CH₃)₂N); 62,04 (CH₂-5'); 70,72 (CH-3'); 72,42 (CH-2'); 85,15 (CH-4'); 85,94 (CH-1'); 90,78 (C-4a); 101,71 (CH-7); 124,75 (C-7a); 138,01 (C-4b); 145,87 (CH-6); 150,43 (CH-2); 153,31 (C-8a); 155,01 (C-4). HR MS (ESI) pro C₁₅H₁₉O₅N₄ [M+H]: vypočteno 335,13500; nalezeno 335,13512.

Příklad 17

4,6-Dichlor-5-(1-methyl-1*H*-pyrrol-2-yl)pyrimidin (10)

Roztok 4,6-dichlorpyrimidinu (**3**) (5,52 g, 37 mmol) ve vysušeném THF (15 ml) byl po kapkách přidán k TMP₂Zn·2MgCl₂·2LiCl (0,35 mol.l⁻¹ v roztoku THF/toluen 9:1, 59,5 ml, 21 mmol) při 0 °C a reakční směs byla při této teplotě míchána 1 h, poté byla zahřáta na teplotu místnosti a míchána další 1 h. Výsledný roztok byl přidán ke směsi 2-jod-1-methylpyrrolu (7,66 g, 37 mmol) a Pd(PPh₃)₄ (4,3 g, 3,7 mmol) ve vysušeném THF (20 ml) a míchán 16 h při 65 °C. Rozpouštědlo bylo následně odpařeno za sníženého tlaku a surová reakční směs byla čištěna bleskovou chromatografií na silikagelu (0 - 5% ethylacetát v petroletheru) k získání sloučeniny **10** jako nažloutlé pevné látky (6,4 g, 28 mmol, 75% výtěžek; m.p. 56-58 °C). ^1H NMR (400,0 MHz, DMSO- d_6): 3,43 (s, 3H); 6,15 (dd, 1H); 6,18 (dd, 1H); 6,97 (dd, 1H); 8,96 (s, 1H). HR MS (EI) pro C₉H₇Cl₂N₃: vypočteno 227,0017; nalezeno 227,0019.



Příklad 18

4-Azido-6-chlor-5-(1-methyl-1*H*-pyrrol-2-yl)pyrimidin (11)

Sloučenina **10** (1g, 4,4 mmol); NaN₃ (285 mg, 4,4 mmol) a LiCl (186 mg, 4,4 mmol) byly rozpuštěny ve vysušeném DMF (10 ml) a výsledný roztok byl míchán při teplotě místnosti 16 h. Poté byla reakční směs extrahována ethylacetátem a spojené organické vrstvy byly sušeny nad bezvodým MgSO₄ a zahuštěny za sníženého tlaku. Surový materiál byl čištěn bleskovou chromatografií na silikagelu (0 - 10% ethylacetát v petroletheru) k získání sloučeniny **11** ve formě žlutého oleje (1,01 g, 4,3 mmol, 98% výtěžek). ¹H NMR (400,0 MHz, CDCl₃): 3,46 (s, 3H); 6,21 (dd, 1H); 6,28 (dd, 1H); 6,81 (dd, 1H); 8,69 (s, 1H). HR MS (EI) pro C₉H₇ClN₆: vypočteno 234,0421; nalezeno 234,0420.

Příklad 19

4-Chlor-5-methyl-5,8-dihydropyrrolo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (12)

Směs azidu **11** (350 mg, 1,5 mmol) a 1,4-dibrombenzenu (3,54 g, 15 mmol) byla zahřívána 30 minut na 180 °C s přívodem argonu a výstupem plynu. Surová reakční směs byla čištěna bleskovou chromatografií na silikagelu (25 - 40% ethylacetát v petroletheru) k získání sloučeniny **12** jako bílé pevné látky (280 mg, 1,35 mmol, 90% výtěžek; m.p. 231-236 °C). ¹H NMR (400,0 MHz, DMSO-*d*₆): 4,07 (s, 3H); 6,17 (d, 1H); 7,18 (d, 1H); 8,45 (s, 1H); 12,18 (bs, 1H). HR MS (EI) pro C₉H₇ClN₄: vypočteno 206,0359; nalezeno 206,0357.

Příklad 20

4-Chlor-5-methyl-8-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl-β-*D*-ribofuranosyl)-5,8-dihydropyrrolo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (13)

K suspenzi sloučeniny **12** (496 mg, 2,4 mmol) ve vysušeném acetonitrilu (20 ml) byl přidán BSA (0,59 ml, 2,4 mmol) a výsledná směs byla míchána při teplotě místnosti 30 minut. Následně byly přidány 1-*O*-acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoyl-β-*D*-ribofuranosa (1,82 g, 3,6 mmol) and TMSOTf (0,43 ml, 2,4 mmol) a reakční směs byla míchána 3 h při 80 °C; po ochlazení na teplotu místnosti byla extrahována ethylacetátem. Spojené organické vrstvy byly sušeny nad bezvodým MgSO₄ a zahuštěny za sníženého tlaku. Surová reakční směs byla čištěna bleskovou chromatografií na



silikagelu (5 - 50% ethylacetát v petroletheru) k získání benzoylovaného nukleosidu **13** ve formě žluté pěny (1,19 g, 1,82 mmol, 76% výtěžek). ^1H NMR (400,0 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 4,08 (s, 3H); 4,67 (dd, 1H); 4,78 (dd, 1H); 4,90 (td, 1H); 6,12 (dd, 1H); 6,37 (t, 1H); 6,47 (d, 1H); 6,89 (d, 1H); 7,21 (d, 1H); 7,40 (m, 2H); 7,51 (m, 4H); 7,61 (m, 1H); 7,68 (m, 2H); 7,80 (m, 2H); 7,96 (m, 4H); 8,52 (s, 1H). HR MS (ESI) pro $\text{C}_{35}\text{H}_{28}\text{ClN}_4\text{O}_7$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: vypočteno 651,16410; nalezeno 651,16443.

Příklad 21

4,5-Dimethyl-8-(β -D-ribofuranosyl)-5,8-dihydropyrrolo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (2a)

Nukleosid **13** (150 mg, 0,23 mmol) a $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (13 mg, 0,012 mmol) byly rozpuštěny ve vysušeném THF (6 ml) a výsledná směs byla míchána 3 h při 70 °C. Po ochlazení na teplotu místnosti byla reakce potlačena přidavkem methanolu a zfiltrována přes Cellit (v acetonu rozpustná acetylcelulosa). Rozpouštědla byla odstraněna za sníženého tlaku a surová reakční směs byla rozpuštěna v methanolu (10 ml). Poté byl přidán methoxid sodný ($4,37 \text{ mol.l}^{-1}$ v methanolu; 16 μl , 0,07 mmol) a reakční směs byla míchána při teplotě místnosti 3 h. Rozpouštědlo bylo odstraněno za sníženého tlaku a surová reakční směs byla čištěna bleskovou chromatografií na silikagelu (0 - 10% methanol v dichlormethanu) k poskytnutí volného nukleosidu **2a** jako bílého prášku (64 mg, 0,2 mmol, 89% výtěžek; m.p. 237-241 °C). ^1H NMR (400,0 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 2,91 (s, 3H); 3,57 (m, 2H); 3,89 (td, 1H); 4,07 (s, 3H); 4,11 (m, 1H); 4,58 (td, 1H); 4,97 (t, 1H); 5,14 (d, 1H); 5,18 (d, 1H); 6,33 (d, 1H); 6,35 (d, 1H); 7,08 (d, 1H); 8,54 (s, 1H). HR MS (ESI) pro $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: vypočteno 319,14008; nalezeno 319,14014.

Příklad 22

4-Methoxy-5-methyl-8-(β -D-ribofuranosyl)-5,8-dihydropyrrolo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (2b)

K suspenzi nukleosidu **13** (150 mg, 0,23 mmol) v bezvodém methanolu (10 ml) byl přidán methoxid sodný ($4,37 \text{ mol.l}^{-1}$ v methanolu; 0,1 ml, 0,46 mmol) a reakční směs byla míchána při teplotě místnosti 12 h. Rozpouštědlo bylo odstraněno za sníženého tlaku a surová reakční směs byla čištěna bleskovou chromatografií na silikagelu (0 - 10% methanol v dichlormethanu) k



poskytnutí volného nukleosidu **2b** jako bílého prášku (63 mg, 0,19 mmol, 83% výtěžek; m.p. 231-234 °C). ^1H NMR (400,0 MHz, DMSO- d_6): 3,57 (m, 2H); 3,88 (td, 1H); 3,98 (s, 3H); 4,10 (m, 1H); 4,12 (s, 3H); 4,58 (td, 1H); 4,97 (t, 1H); 5,14 (d, 1H); 5,20 (d, 1H); 6,30 (d, 1H); 6,32 (d, 1H); 7,02 (d, 1H); 8,36 (s, 1H). HR MS (ESI) pro $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]$: vypočteno 335,13500; nalezeno 335,13519.

Příklad 23

5-Methyl-4-(methylsulfanyl)-8-(β -D-ribofuranosyl)-5,8-dihydropyrrolo[2',3':4,5]pyrrolo-[2,3-*d*]pyrimidin (2c)

K suspenzi nukleosidu **13** (150 mg, 0,23 mmol) v bezvodém methanolu (10 ml) byl přidán thiomethoxid sodný (32 mg, 0,46 mmol) a reakční směs byla míchána při teplotě místnosti 12 h. Rozpouštědlo bylo odstraněno za sníženého tlaku a surová reakční směs byla čištěna bleskovou chromatografií na silikagelu (0 - 10% methanol v dichlormethanu) k poskytnutí volného nukleosidu **2c** jako bílého prášku (62 mg, 0,18 mmol, 77% výtěžek; m.p. 212-214 °C). ^1H NMR (400,0 MHz, DMSO- d_6): 2,72 (s, 3H); 3,58 (m, 2H); 3,89 (td, 1H); 4,10 (m, 1H); 4,15 (s, 3H); 4,57 (td, 1H); 4,97 (t, 1H); 5,14 (d, 1H); 5,20 (d, 1H); 6,33 (d, 1H); 6,36 (d, 1H); 7,11 (d, 1H); 8,56 (s, 1H). HR MS (ESI) pro $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]$: vypočteno 351,11215; nalezeno 351,11236.

Příklad 24

4-Amino-5-methyl-8-(β -D-ribofuranosyl)-5,8-dihydropyrrolo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (2d)

Nukleosid **13** (150 mg, 0,23 mmol) byl rozpuštěn ve směsi 1,4-dioxanu (2 ml) a 30% vodného roztoku amoniaku (2 ml) v tlakové trubici. Reakční směs byla míchána po dobu 12 h při 120 °C, pak byla ochlazená na teplotu místnosti a zahuštěna za sníženého tlaku. Vyčištěním bleskovou chromatografií na silikagelu (0 - 30% methanol v dichloromethanu) byl získán volný nukleosid **2d** ve formě fialového prášku (54 mg, 0,17 mmol, 75% výtěžek; m.p. 240-245 °C (rozklad)). ^1H NMR (400,0 MHz, DMSO- d_6): 3,55 (m, 2H); 3,85 (td, 1H); 4,02 (s, 3H); 4,08 (m, 1H); 4,56 (td, 1H); 5,04 (t, 1H); 5,12 (d, 1H); 5,16 (d, 1H); 6,20 (d, 1H); 6,22 (d, 1H); 6,32 (bs, 2H); 6,88 (d,



1H); 8,08 (s, 1H). HR MS (ESI) pro $C_{14}H_{18}N_5O_4$ [M+H]: vypočteno 320,13533; nalezeno 320,13555.

Protinádorová aktivita *in vitro*

K hodnocení protinádorové účinnosti nově připravených látek v *in vitro* podmínkách jsme použili cytotoxický MTT test (Nosková V. et al., Neoplasma 2002, 49, 418-425) na buněčných liniích, derivovaných z normálních tkání i nádorů. Konkrétně testy zahrnuly linie K562 (lidská myeloidní leukémie), K562-Tax (lidská myeloidní leukémie rezistentní na taxol a overexprimující protein mnohočetné lékové rezistence PgP), CEM (T-lymfoblastická leukémie), CEM-DNR-bulk (T-lymfoblastická leukémie rezistentní na doxorubicin); linie A549 (lidský adenokarcinom plic), HCT116wt (lidská rakovina tlustého střeva, wild-type), HCT116p53-/- (lidská rakovina tlustého střeva, mutant p53) a U2OS (lidský kostní osteosarkom).

Expresní charakteristiky, profily vnímavosti na klasická protinádorová léčiva i metodologie cytotoxického MTT testu byly opakovaně publikovány (např. Denizot, F. a Lang, R., *J. Immunol. Meth.* **1986**, 89, 271-277; Šarek J. et al., *J. Med. Chem.*, **2003**; Nosková viz výše).

Výsledky biologických testů:

Pokud testované látky vykazaly v *in vitro* cytotoxickém testu aktivitu (Tabulka 4), byla selektivní vůči širokému spektru nádorových linií různého histogenetického původu (mesenchymální i epitelální nádory), s významně menší aktivitou vůči liniím normálních lidských fibroblastů (MRC-5 buň. linie). Hodnoty IC_{50} sloučenin **1d-g** ležely v oblasti mikromolární koncentrace, hodnoty IC_{50} sloučenin **1a-c** a **2a-c** byly sub-mikromolární až nanomolární. Cytotoxická aktivita vůči nádorovým buňkám nebyla závislá na statusu genu p53, jelikož podobné aktivity byly nalezeny jak u linií HCT116 (wild type), tak u mutantní linie s deletovaným genem HCT116 (p53 -/-).

Tabulka 4. Cytotoxické aktivity připravených sloučenin

Sloučenina	A549	CCRF-CEM	CEM-DNR	HCT116	HCT116p53	K562	K562-TAX	U2OS	MRC-5
1a	C	B	E	B	B	B	C	B	E
1b	C	A	C	B	B	B	B	B	D
1c	C	B	C	B	B	B	C	B	C
1d	E	E	E	E	E	C	E	C	E
1e	E	B	E	E	E	C	C	C	E
1f	E	B	E	D	D	B	C	B	E
1g	E	D	E	E	E	E	D	E	E
1h	E	E	E	E	E	E	E	E	E
2a	-	B	E	B	B	B	E	B	E
2b	E	B	E	B	B	B	E	C	E
2c	E	B	E	B	B	B	E	C	E
2d	E	E	E	E	E	E	E	E	E

IC₅₀: A = 10-200 nmol·l⁻¹;

B = 200-900 nmol·l⁻¹;

C = 0,9-10 μmol·l⁻¹;

D = 10-25 μmol·l⁻¹;

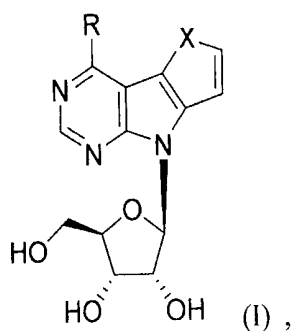
E = 25-50 μmol·l⁻¹.

Průmyslová využitelnost

Látky uvedené v tomto patentu jsou použitelné jako léčiva nebo složky léčiv účinných proti rakovině a leukemiím.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. 4-Substituované heteropentadieno-pyrrolopyrimidinové ribonukleosidy obecného vzorce I



kde

R je zvolen ze skupiny, zahrnující

- C1-C5 alkyl, volitelně substituovaný alespoň jedním substituentem vybraným z hydroxyskupiny, sulfanylu, aminoskupiny, C1-C5 alkoxyskupiny, C1-C5 sulfanylu, C1-C5 alkylaminoskupiny, di(C1-C5 alkyl)aminoskupiny;
- C2-C6 alkenyl, volitelně substituovaný alespoň jedním substituentem vybraným z hydroxyskupiny, sulfanylu, aminoskupiny, C1-C5 alkoxyskupiny, C1-C5 sulfanylu, C1-C5 alkylaminoskupiny, di(C1-C5 alkyl)aminoskupiny;
- C6-C12 aryl, volitelně substituovaný alespoň jedním substituentem vybraným z hydroxyskupiny, sulfanylu, aminoskupiny, C1-C5 alkoxyskupiny, C1-C5 sulfanylu, C1-C5 alkylaminoskupiny, di(C1-C5 alkyl)aminoskupiny;
- C4-12 heteroaryl, dále obsahující alespoň jeden heteroatom zvolený z O a S; volitelně substituovaný alespoň jedním substituentem vybraným z hydroxyskupiny, sulfanylu, aminoskupiny, C1-C5 alkoxyskupiny, C1-C5 sulfanylu, C1-C5 alkylaminoskupiny, di(C1-C5 alkyl)aminoskupiny;
- aminoskupinu;
- C1-C5 alkylaminoskupinu;
- di(C1-C5 alkyl)aminoskupinu;
- C1-C5 alkoxyskupinu;
- C1-C5 alkylsulfanyl;

X je zvolen z atomu kyslíku, dusíku, nebo C1-C5 alkylaminoskupiny;



a farmaceuticky přijatelné soli takových sloučenin, jejich optické izomery a směsi takových optických izomerů, včetně racemických směsí.

2. 4-Substituované heteropentadieno-pyrrolopyrimidinové ribonukleosidy obecného vzorce I podle nároku 1, kde R zvolen ze skupiny, sestávající z C1-C5 alkylu, fenylu, naftylu, 2-furylu, 3-furylu, 2-thienylu, 3-thienylu, benzofurylu, dibenzofurylu, C1-C5 alkylsulfanylu, aminoskupiny, C1-C5 alkylaminoskupiny, di(C1-C5 alkyl)aminoskupiny, C1-C5 alkoxykupiny.

3. 4-Substituované heteropentadieno-pyrrolopyrimidinové ribonukleosidy obecného vzorce I podle nároku 1, kde R zvolen ze skupiny, sestávající z furan-2-ylu, furan-3-ylu, benzofuran-2-ylu, methylsulfanylu, methylu, methoxykupiny, aminoskupiny, dimethylaminoskupiny.

4. 4-Substituované heteropentadieno-pyrrolopyrimidinové ribonukleosidy obecného vzorce I podle nároku 1, kterými jsou:

- 4-methyl-8-(β-D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin,
- 4-methoxy-8-(β-D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin,
- 4-(methylsulfanyl)-8-(β-D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin,
- 4-amino-8-(β-D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin,
- 4-(furan-2-yl)-8-(β-D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin,
- 4-(furan-3-yl)-8-(β-D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin,
- 4-(benzofuran-2-yl)-8-(β-D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin,
- 4-(*N,N*-dimethylamino)-8-(β-D-ribofuranosyl)-8*H*-furo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin,
- 4,5-dimethyl-8-(β-D-ribofuranosyl)-5,8-dihydropyrrolo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin,
- 4-methoxy-5-methyl-8-(β-D-ribofuranosyl)-5,8-dihydropyrrolo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin,
- 5-methyl-4-(methylsulfanyl)-8-(β-D-ribofuranosyl)-5,8-dihydropyrrolo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin,
- 4-amino-5-methyl-8-(β-D-ribofuranosyl)-5,8-dihydropyrrolo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin.



5. 4-Substituované heteropentadieno-pyrrolopyrimidinové ribonukleosidy obecného vzorce I podle nároků 1 až 4 pro použití jako léčiva.
6. 4-Substituované heteropentadieno-pyrrolopyrimidinové ribonukleosidy obecného vzorce I podle nároků 1 až 4 pro použití k inhibici patologické buněčné proliferace nádorového i nenádorového původu a/nebo k léčbě nádorového nebo nenádorového onemocnění spojeného s buněčnou hyperproliferačí.
7. 4-substituované heteropentadieno-pyrrolopyrimidinové ribonukleosidy obecného vzorce I podle nároků 1 až 4 pro použití k léčení nádorových onemocnění, zahrnujících nádory epiteliálního, mesenchymálního i neuroektodermálního původu.
8. 4-Substituované heteropentadieno-pyrrolopyrimidinové ribonukleosidy obecného vzorce I podle nároků 1 až 4 pro výrobu léčiva k léčbě nádorových onemocnění, zahrnujících nádory epiteliálního, mesenchymálního i neuroektodermálního původu.
9. Farmaceutický prostředek, vyznačující se tím, že obsahuje terapeuticky účinné množství alespoň jedné sloučeniny obecného vzorce I podle nároků 1 až 4 a případně alespoň jeden farmaceuticky přijatelný nosič, plnivo a/nebo ředidlo.
10. Farmaceutický prostředek podle nároku 8 pro použití k inhibici patologické buněčné proliferace nádorového i nenádorového původu a/nebo k léčbě nádorového nebo nenádorového onemocnění spojeného s buněčnou hyperproliferačí.