

**Sylwia Maria Musiał**

Rozprawa doktorska pt.:

**NOWE SILILOWE GRUPY OCHRONNE  
W CHEMII NUKLEOZYDÓW**

Praca doktorska przedstawiona

Radzie Naukowej Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu

celem uzyskania stopnia doktora nauk chemicznych

**Promotor: Prof. dr hab. Wojciech T. Markiewicz**

Poznań 2013

Serdecznie dziękuję mojemu Promotorowi,

**Profesorowi dr hab. Wojciechowi T. Markiewiczowi,**

za wskazanie fascynującego i aktualnego tematu rozprawy,

za wnikliwe konsultacje naukowe w trakcie prowadzenia badań eksperymentalnych,

za okazywaną życzliwość i wyrozumiałość

Serdecznie dziękuję

**Prof. IChB PAN Marcinowi K. Chmielewskiemu,**

za cenne wskazówki merytoryczne i metodyczne,

za okazywaną pomoc, życzliwość i wyrozumiałość

Serdecznie dziękuję całemu **Zespołowi**  
za okazaną pomoc, cenne rady, przyjazną atmosferę,  
życzliwość i wyrozumiałość

Serdecznie dziękuję mojemu **Narzeczonemu i Rodzinie**

za pomoc, życzliwość, wyrozumiałość,

a przede wszystkim za wsparcie w chwilach słabości

## SPIS TREŚCI

|                                                                                                       |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Abstract                                                                                              | 13        |
| Patenty, komunikaty, nagrody                                                                          | 14        |
| Stosowane skróty w pracy                                                                              | 16        |
| <b>I. CELE PRACY</b>                                                                                  | <b>20</b> |
| <b>II. WSTĘP TEORETYCZNY</b>                                                                          | <b>21</b> |
| 1. Kwasy rybonukleinowe                                                                               | 21        |
| 2. Budowa kwasów rybonukleinowych                                                                     | 22        |
| 2.1. Heterocykliczne zasady azotowe                                                                   | 22        |
| 2.2. Reszta rybozylowa                                                                                | 22        |
| 2.3. Nukleozydy                                                                                       | 23        |
| 2.4. Nukleotydy                                                                                       | 23        |
| 2.5. Synteza RNA                                                                                      | 24        |
| 3. Grupy ochronne w chemii nukleozydów                                                                | 26        |
| 3.1. Cechy charakterystyczne grup ochronnych                                                          | 26        |
| 3.2. Podział grup zabezpieczających funkcje nukleozydów                                               | 27        |
| 4. Natura i właściwości związków sililowych                                                           | 31        |
| 4.1. Opis ogólny                                                                                      | 31        |
| 4.2. Metody otrzymywania eterów sililowych                                                            | 32        |
| 4.3. Struktura a właściwości grup sililowych                                                          | 33        |
| 5. Sililowe grupy ochronne jednostek nukleozydowych                                                   | 36        |
| 5.1. Monofunkcyjne grupy sililowe                                                                     | 36        |
| 5.1.1. Metody otrzymywania monofunkcyjnych grup sililowych                                            | 37        |
| 5.1.2. Reaktywność monofunkcyjnych sililowych grup ochronnych                                         | 41        |
| 5.1.3. Właściwości monofunkcyjnych sililowych grup ochronnych i ich zastosowanie w chemii nukleozydów | 44        |
| 5.2. Bifunkcyjne grupy sililowe                                                                       | 51        |

|             |                                                                                                                      |           |
|-------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 5.2.1.      | Bifunkcyjne disililowe grupy ochronne                                                                                | 51        |
| 5.2.1.1.    | Sposoby otrzymywania bifunkcyjnych krzemoorganicznych ugrupowań                                                      | 52        |
| 5.2.1.2.    | Właściwości i reaktywność bifunkcyjnych disililowych grup ochronnych                                                 | 53        |
| 5.2.1.3.    | Stabilność bifunkcyjnych disililowych grup ochronnych                                                                | 55        |
| 5.2.2.      | Bifunkcyjne monosililowe grupy ochronne                                                                              | 59        |
| 5.2.2.1.    | Sposoby wprowadzania i właściwości monosililowych grup ochronnych                                                    | 60        |
| 5.2.2.2.    | Zastosowanie bifunkcyjnych grup ochronnych w chemii nukleozydów                                                      | 64        |
| <b>III.</b> | <b>BADANIA WŁASNE</b>                                                                                                | <b>68</b> |
| 1.          | Reakcje sililowania rybonukleozydów                                                                                  | 68        |
| 1.1.        | Reakcje 1,2,2,4,4,5-heksametylo-3-metyleno-1,5-diaza-2,4-disilanocykloheptanu (HMNSi) z urydyną                      | 68        |
| 1.2.        | Reakcje otrzymywania 1,2-dichloro-1,1,2,2-tetraizopropylodisilanu - DSiCl <sub>2</sub>                               | 72        |
| 1.3.        | Reakcje 1,2-dichloro-1,1,2,2-tetraizopropylodisilanu (DSiCl <sub>2</sub> ) z urydyną                                 | 74        |
| 1.4.        | Identyfikacja położenia wolnej grupy hydroksylowej w związku 21                                                      | 75        |
| 1.5.        | Reakcje DSiCl <sub>2</sub> z urydyną w obecności różnych zasad organicznych                                          | 77        |
| 1.6.        | Identyfikacja położenia wolnej grupy hydroksylowej w związku 25                                                      | 79        |
| 2.          | Badanie wpływu heterocyklicznych amin na przebieg reakcji sililowania urydyny związkiem DSiCl <sub>2</sub> (11)      | 80        |
| 3.          | Badanie wpływu rozpuszczalnika i aminy alifatycznej na reakcje sililowania urydyny związkiem DSiCl <sub>2</sub> (11) | 82        |
| 4.          | Badanie mechanizmu powstawania pochodnych sililowych urydyny 21 i 25                                                 | 86        |

|                                                                                                                                                |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5. Reakcje otrzymywania 1,2-dibromo-1,1,2,2-tetraizopropylodisilanu - $\text{DSiBr}_2$                                                         | 93  |
| 5.1. Reakcje 1,2-dibromo-1,1,2,2-tetraizopropylodisilanu ( $\text{DSiBr}_2$ ) z urydyną                                                        | 95  |
| 6. Reakcje silylowania rybonukleozydów z wykorzystaniem katalizatorów                                                                          | 95  |
| 7. Zastosowanie jodu - $\text{I}_2$ w metodach otrzymywania 2',3'-O-izomeru 21 i 3',5'-O-izomeru 25                                            | 97  |
| 8. Badanie stabilności pochodnych silylowych urydyny 21 i 25 w różnych warunkach reakcji wprowadzania grup ochronnych w pozycje 2' - lub 5'-OH | 101 |
| 8.1. Reakcje pochodnych silylowych urydyny 21 i 25 z chlorkiem fenoksyacetylu                                                                  | 101 |
| 8.2. Reakcje pochodnych silylowych urydyny 21 i 25 z bromkiem metoksykarbonylometylowym                                                        | 103 |
| 8.3. Reakcje pochodnych silylowych urydyny 21 i 25 z jodkiem metylu                                                                            | 105 |
| 9. Reakcje $\text{DSiCl}_2$ z innymi nukleozydami pirymidynowymi                                                                               | 109 |
| 9.1. Badanie reaktywności $\text{DSiCl}_2$ (11) względem tymidyny                                                                              | 109 |
| 9.2. Reakcje $\text{DSiCl}_2$ (11) z cytydyną                                                                                                  | 110 |
| 9.3. Reakcje $\text{DSiCl}_2$ (11) z 1-( $\beta$ -D-arabinofuranozylo)-uracylem (araurydyną)                                                   | 112 |
| 10. Reakcje $\text{DSiCl}_2$ (11) z nukleozydami purynowymi                                                                                    | 115 |
| 10.1. Reakcje $\text{DSiCl}_2$ (11) z 3'-amino-2',3'-dideoksyadenozyną                                                                         | 115 |
| 10.2. Reakcje $\text{DSiCl}_2$ (11) z adenozyzną                                                                                               | 116 |
| 10.3. Reakcje silylowania guanozyny $\text{DSiCl}_2$ (11)                                                                                      | 117 |
| 11. Badanie stabilności pochodnych silylowych urydyny 21 i 25 w warunkach hydrolizy kwasowej i zasadowej                                       | 118 |
| 12. Badanie stabilności pochodnych silylowych urydyny 21 i 25 wobec jonów fluorkowych                                                          | 120 |
| 13. Nowe bifunkcyjne reagenty silylenowe z podstawnikami alkoksylowymi                                                                         | 121 |
| 13.1. Otrzymywanie reagentów silylenowych                                                                                                      | 122 |
| 13.2. Reakcje bifunkcyjnych alkoksylowych reagentów                                                                                            |     |

|                                                                                                               |            |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| sililenowych z urydyną                                                                                        | 124        |
| <b>IV. PODSUMOWANIE</b>                                                                                       | <b>127</b> |
| <b>V. CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA</b>                                                                               | <b>130</b> |
| 1. Odczynniki chemiczne                                                                                       | 130        |
| 1.1. Rozpuszczalniki                                                                                          | 130        |
| 1.2. Reagenty                                                                                                 | 131        |
| 2. Metodyka badań identyfikacyjnych                                                                           | 133        |
| 3. Techniki ogólne                                                                                            | 134        |
| 3.1. Chromatografia cienkowarstwowa - TLC<br>(ang. Thin Layer Chromatography)                                 | 134        |
| 3.2. Kolumnowa chromatografia cieczowa                                                                        | 134        |
| 3.3. Powtarzalne procedury laboratoryjne                                                                      | 134        |
| 3.4. Procedura z TAI                                                                                          | 135        |
| 3.5. Procedura acetylowania                                                                                   | 135        |
| 3.6. Procedura usuwania grup sililowych                                                                       | 135        |
| 4. Synteza pochodnych reagenta disilanowego                                                                   | 136        |
| 4.1. 1,2-Diwodoro-1,1,2,2-tetraizopropylodisilan - $\text{DSiH}_2$ (20)                                       | 136        |
| 4.1.1. Chlorek izopropylomagnezowy (19)                                                                       | 136        |
| 4.1.2. Diizopropylchlorosilan (14)                                                                            | 136        |
| 4.1.3. 1,2-Diwodoro-1,1,2,2-tetraizopropylodisilan<br>- $\text{DSiH}_2$ (20)                                  | 137        |
| 4.2. 1,2-Dichloro-1,1,2,2-tetraizopropylodisilan - $\text{DSiCl}_2$ (11)                                      | 137        |
| 4.3. 1,2-Dibromo-1,1,2,2-tetraizopropylodisilan - $\text{DSiBr}_2$ (27)                                       | 137        |
| 4.4. 1,2-Di-(imidazol-1-ylo)-1,1,2,2-tetraizopropylodisilan (24)                                              | 138        |
| 5. 2',3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyna (21)                                                    | 138        |
| 5.1. 2',3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyna (21)<br>- reakcja z $\text{DSiCl}_2$ (11) w pirydynie | 138        |
| 5.2. 2',3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyna (21)<br>- reakcja z $\text{DSiBr}_2$ (27) w pirydynie | 139        |
| 6. 5'-O-Acetylo-2',3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)-<br>urydyna (22)                                  | 139        |

|       |                                                                                                                                                                                  |     |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 7.    | 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyna (25)                                                                                                                          | 140 |
| 7.1.  | 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyna (25)<br>- reakcja z pochodną disilanową 24                                                                                    | 140 |
| 7.2.  | 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyna (25)<br>- reakcja z DSiBr <sub>2</sub> (27), imidazolem i Et <sub>3</sub> N                                                   | 141 |
| 8.    | 2'-O-Acetylo-3',5'-O(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)-<br>-urydyna (26)                                                                                                        | 141 |
| 9.    | Synteza pochodnych 2',3' - i 3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-<br>1,2-diylo)urydyny                                                                                              | 142 |
| 9.1.  | Procedura z użyciem różnych amin heterocyklicznych                                                                                                                               | 142 |
| 9.2.  | Procedura z N-metyloimidazolem w obecności jodu                                                                                                                                  | 143 |
| 9.3.  | Procedura z pirydyną w obecności jodu                                                                                                                                            | 143 |
| 10.   | Reakcje izomeryzacji 3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-<br>1,2-diylo)urydyny (25) do 2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-<br>1,2-diylo)urydyny (21), w obecności chlorowodorku aminy | 144 |
| 10.1. | Reakcja izomeryzacji w obecności chlorowodorku<br>pirydyny                                                                                                                       | 144 |
| 10.2. | Reakcja izomeryzacji w obecności chlorowodorku<br>imidazolu                                                                                                                      | 144 |
| 10.3. | Reakcja izomeryzacji w obecności chlorowodorku<br>trietyloaminy                                                                                                                  | 145 |
| 11.   | 2'-O-Fenoksyacetylo-3',5'-O-(1,1,2,2-tetraizopropylodisilano-<br>-1,2-diylo)urydyna (30)                                                                                         | 145 |
| 12.   | 5'-O-Fenoksyacetylo-2',3'-O-(1,1,2,2-tetraizopropylodisilano-<br>-1,2-diylo)urydyna (31)                                                                                         | 146 |
| 13.   | N-metoksykarbonylometylo-3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-<br>-1,2-diylo)urydyna (32)                                                                                            | 147 |
| 14.   | N-metoksykarbonylometylo-2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-<br>-1,2-diylo)urydyna (33)                                                                                            | 147 |
| 15.   | N-metylo-3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyna (35)                                                                                                                 | 148 |
| 16.   | N-metylo-2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyna (36)                                                                                                                 | 148 |
| 17.   | N-metylo-2'-O-metylo-3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)-<br>-urydyna (38)                                                                                               | 149 |
| 18.   | 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)tymidyna (40)                                                                                                                         | 150 |

|                                                                                                                                        |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 18.1. 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)tymidyna (40)                                                                         |     |
| - warunki standardowe                                                                                                                  | 150 |
| 18.2. 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)tymidyna (40)                                                                         |     |
| - procedura z imidazolem i Et <sub>3</sub> N                                                                                           | 150 |
| 19. 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)cytydyna (43)                                                                           | 151 |
| 20. 2',3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)cytydyna (44)                                                                           | 151 |
| 21. N-acetylo-5'-O-acetylo-2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)cytydyna                                                         | 152 |
| 22. 2,2'-Anhydro-1-(β-D-arabinofuranozylo)uracyl (46)                                                                                  | 152 |
| 23. 1-(β-D-arabinofuranozylo)uracyl (45)                                                                                               | 153 |
| 24. 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)araurydyna (47)                                                                         | 153 |
| 24.1. 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)-araurydyna (47) - warunki standardowe                                                | 153 |
| 24.2. 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)-araurydyna (47) - procedura z imidazolem i Et <sub>3</sub> N                         | 154 |
| 25. 2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)araurydyna (48)                                                                         | 155 |
| 26. 3'-Amino-3'-N-5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)-2',3'-dideoksyadenozyna (50)                                                | 155 |
| 26.1. 3'-Amino-3'-N-5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)-2',3'-dideoksyadenozyna (50) - warunki standardowe                        | 155 |
| 26.2. 3'-Amino-3'-N-5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)-2',3'-dideoksyadenozyna (50) - procedura z imidazolem i Et <sub>3</sub> N | 156 |
| 27. 2',3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)adenozyna (52)                                                                          | 157 |
| 28. 5'-O-Acetylo-2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)-adenozyna                                                                 | 157 |
| 29. 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)adenozyna (53)                                                                          | 158 |
| 30. 2',3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)guanozyna (55)                                                                          | 158 |
| 31. 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)guanozyna (56)                                                                          | 159 |
| 32. 2'-O-Acetylo-3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)-guanozyna                                                                 | 159 |
| 33. 5'-O-(Tetraizopropylodisilano-2-hydroksy-1-ylo)urydyna (57)                                                                        | 160 |
| 34. 3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1-hydroksy-2-ylo)urydyna (58)                                                                        | 160 |

|                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------|-----|
| 35. Dichloro-di(2-metylo-2-butoksy)silan (59)                      | 161 |
| 36. Dichloro-di(3-pentoksy)silan (60)                              | 161 |
| 37. Dichloro-(3-metylo-3-pentoksy-tert-butoksy)silan (61)          | 162 |
| 38. 3',5'-O-di(2-metylo-2-butoksy)sililenourydyna (62)             | 162 |
| 39. 5'-O-tri(3-pentoksy)sililourydyna (64)                         | 163 |
| 39.1. 5'-O-tri(3-pentoksy)sililourydyna (64)                       |     |
| - synteza z dichloro-di(3-pentoksy)silanem (60)                    | 163 |
| 39.2. 5'-O-tri(3-pentoksy)sililourydyna (64)                       |     |
| - synteza z tri(3-pentoksy)chlorosilanem (65)                      | 164 |
| 40. 3',5'-O-(3-metylo-3-pentoksy-tert-butoksy)sililenourydyna (66) | 164 |

|                       |            |
|-----------------------|------------|
| <b>VI. LITERATURA</b> | <b>166</b> |
|-----------------------|------------|

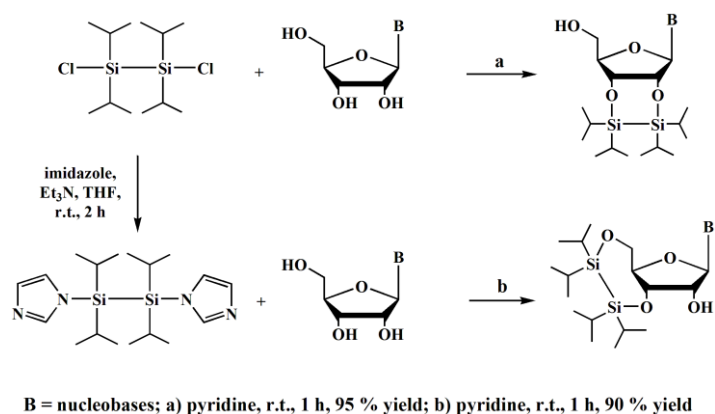
## ABSTRACT

The development and introduction into organic synthesis of tetraisopropylidisiloxane-1,3-diyl and other bifunctional silyl protecting groups substantially simplified and shortened many reaction procedures in nucleic acids chemistry and related fields. Functionalisation of ribonucleosides is still an exciting synthetic problem as there is a great interest in chemical synthesis of RNA and its analogues as well as in new nucleoside analogues.

Besides a wide scope of applications of tetraisopropylidisiloxane-1,3-diyl (TIPDSi) group there were numerous efforts to find its analogues that would be more stable under basic conditions or easier accessible and cheaper. The *carba* analogue of the disiloxane protection TIPDSi was described and patented as well.

The main objective of the presented research carried in the Institute of Bioorganic Chemistry of Polish Academy of Sciences in Poznan in order to fulfill the requirements of the degree of Doctor of Philosophy was devoted to studies of reactivity of disilane analogues of 1,3-dichlorotetraisopropylidisiloxane towards ribonucleosides.

Thus, 1,2-dichloro-1,1,2,2-tetraisopropylidisilane was obtained in high yield starting with trichlorosilane and appropriate Grignard reagent. Then homocoupling in the presence of lithium gave the corresponding dihydrodisilane, which in the chlorination reaction provided the desired new silylating reagent  $\text{DSiCl}_2$ .



A new bifunctional protecting group can be introduced into ribonucleosides in a one-step procedure to protect simultaneously either 2',3'- or 3',5'-OH functions selectively. Its properties including the stability under acidic and basic conditions as well as its pronounced tendency to undergo isomerization revealed new information helpful in understanding of properties of silyl protecting groups.

## PATENTY, KOMUNIKATY, NAGRODY

Wyniki przeprowadzonych badań, opisane w niniejszej rozprawie, zostały uzyskane przez autorkę w Instytucie Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu w latach 2009 - 2013.

**Patenty** obejmujące tematykę niniejszej rozprawy:

1. Markiewicz, W.T., Musiał, S., Hreczycho, G., Maciejewski, H., Chmielewski, M.K.; *Sposób ochrony funkcji hydroksylowych lub aminowych lub tiolowych, nowe związki do realizacji tego sposobu oraz sposób otrzymywania nowych związków*; Zgłoszenie patentowe PL399003; **2012**.
2. Markiewicz, W.T., Musiał, S., Hreczycho, G., Maciejewski, H., Chmielewski, M.K.; *Sposób ochrony funkcji hydroksylowych lub aminowych lub tiolowych, nowe związki do realizacji tego sposobu oraz sposób otrzymywania nowych związków*; Międzynarodowe zgłoszenie patentowe PCT / P-391468PL; **2013**.

**Komunikaty pisemne** obejmujące tematykę niniejszej rozprawy:

1. Musiał, S., Hreczycho, G., Chmielewski, M.K., Markiewicz, W.T.; *Poszukiwanie nowych blokad krzemoorganicznych nukleozydów*; IX Ogólnopolskie Sympozjum Chemii Organicznej; Warszawa; 6-9 kwietnia **2011**.
2. Musiał, S., Hreczycho, G., Maciejewski, H., Chmielewski, M.K., Markiewicz, W.T.; *Tetraizopropylodisilano-1,2-diyl - nowa bifunkcyjna grupa ochronna w chemii nukleozydów*; 55 Zjazd PTChem i SiTPChem; Białystok; 16-20 września **2012**.
3. Musiał, S., Hreczycho, G., Maciejewski, H., Chmielewski, M.K., Markiewicz, W.T.; *Tetraisopropyldisilane-1,2-diyl - a new bifunctional protecting group in nucleoside*

*chemistry*; XX International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids; Montreal; 5-9 sierpnia **2012**.

4. Musiał, S., Hreczycho, G., Maciejewski, H., Chmielewski, M.K., Markiewicz, W.T.; *Tetraisopropyldisilane-1,2-diyl - a new bifunctional protecting group in nucleoside chemistry*; VI. Nukleinsäure chemie - Treffen; Greifswald; 19-20 września **2013**.

**Komunikaty ustne** obejmujące tematykę niniejszej rozprawy:

1. Musiał, S., Hreczycho, G., Maciejewski, H., Chmielewski, M.K., Markiewicz, W.T.; *Tetraisopropyldisilane-1,2-diyl - a new bifunctional protecting group in nucleoside chemistry*; VI. Nukleinsäure chemie – Treffen; Greifswald; 19-20 września **2013**.

**Komunikaty** nie związane z tematyką niniejszej rozprawy:

1. Musiał, S., Chmielewski, M.K., Markiewicz, W.T., Maciejewski, H.; *Zastosowanie organofunkcyjnych silanów w otrzymywaniu mikromacierzy DNA*; Wiosenny Zjazd Sekcji Studenckiej PTChem; Góry Sowie; 7-11 kwietnia **2010**.

**Nagrody** za tematykę badań opisanych w niniejszej rozprawie:

1. Nagroda za wyniki badań opisanych w niniejszej rozprawie, na międzynarodowej konferencji - XX International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids, Montreal, 5-9 sierpnia **2012**.

## SKRÓTY NAZW I SYMBOLE

Ac - acetyl

ACE - bis(2-acetoksyetoksy)metyl

AcOH - kwas octowy

AlBN - azobisisobutyronitryl

Bu<sub>2</sub>SnCl<sub>2</sub> - dichlorek dibutylocynku

Bu<sub>3</sub>SnH - wodorek tributyllocyny

Bz - benzoil

BzCl - chlorek benzoilu

CF<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>OH - kwas trifluorometanosulfonowy

(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>SiOSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub> - trifluorosulfonian trimetylosililu

Cmpmp - 1-[(2-chloro-4-metylo)fenylo]-4-metoksypiperydyno-4-yl

d - dublet

dd - dublet dubletów

DABCO - 1,4-diazabicyklo[2.2.2]oktan

DBSi - di-tert-butoksylilen

DBSiCl<sub>2</sub> - dichloro-di-tert-butoksylilan

DBSi(OSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>)<sub>2</sub> - di(trifluorometanosulfonian)-di-tert-butoksylilanu

DBU - 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undek-7-en

DIPA - N,N-diizopropylamina

DMAP - 4-dimetyloaminopirydyna

DMBSiCl<sub>2</sub> - dichloro-di(2-metylo-2-butoksy)silan

DMF - N,N-dimetyloformamid

DMSO - dimetylosulfotlenek

DMTr - 4,4'-dimetoksytrytyl

DMTrCl - chlorek 4,4'-dimetoksytrytylu

DPSiCl<sub>2</sub> - dichloro-di(3-pentoksy)silan

DSi - 1,1,2,2-tetraizopropylodisilano-1,2-diyl

DSiBr<sub>2</sub> - 1,2-dibromo-1,1,2,2-tetraizopropylodisilan

DSiCl<sub>2</sub> - 1,2-dichloro-1,1,2,2-tetraizopropylodisilan

DSiH<sub>2</sub> - 1,2-diwodoro-1,1,2,2-tetraizopropylodisilan

DSi<U - 3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-dylo)urydyna

ekw. - równoważnik molowy

Et<sub>3</sub>N - trietyloamina

Et<sub>3</sub>N·HCl - chlorowodorek trietyloaminy

Et<sub>2</sub>O - eter dietylowy

2'-F-araA - 2'-fluoroarabinozyd adenozyne

Fpmp - 1-(2-fluorofenilo)-4-metoksypiperydyno-4-yl

GC - chromatografia gazowa

GC-MS - chromatografia gazowa połączona ze spektrometrią mas

HMDS - heksametylodysilazan

HMNSi - 1,2,2,4,4,5-heksametylo-3-metyleno-1,5-diaza-2,4-disilanocykloheptan

HSiCl<sub>3</sub> - trichlorosilan

iBu - izobutyryl

i-BuNH<sub>2</sub> - izobutyloamina

Im·HCl - chlorowodorek imidazolu

iPr - izopropyl

iPr<sub>2</sub>Net - N,N-diizopropylloetyloamina

m - multiplet

MDPSi - metyleno-bis(diizopropylsilil)

MDPSiCl<sub>2</sub> - metyleno-bis(diizopropylchlorosilil)

Me - metyl

MeCN - acetonitryl

MeI - jodek metylu

MMTr - monometoksytrytyl

MPTBSiCl<sub>2</sub> - dichloro-(3-metylo-3-pentoksy-tert-butoksy)silan

Mthp - 4-metoksytetrahydropirany

NBOM - 2-nitrobenzyl

NMI - N-metyloimidazol

NMR - magnetyczny rezonans jądrowy (ang. Nuclear Magnetic Resonance)

PhOac - fenoksyacetyl

PTC-Cl - chlorek fenoksytiokarbonylu

Pv - piwaloil

Py·HCl - chlorowodorek pirydyny

q - kwartet

Rf - współczynnik migracji (ang. Retardation factor)

s - singlet

$\text{Si}_2\text{Cl}_6$  - heksachlorodisilan  
 SIL (BzH) - bis(trimetylosililoksy)metoksydifenylsilil  
 SILCl - chlorek bis(trimetylosililoksy)metoksydifenylsililu  
 $\text{SO}_2\text{Cl}_2$  - chloreksulfurylu  
 t - tryplet  
 $t_{1/2}$  - czas połowicznego przereagowania  
 TAI - izocyjanian trichloroacetylu  
 TBAF - fluorek tetra-n-butyloamoniowy  
 TBDMS - tert-butyldimetylosilil  
 TBDMSCl - chlorek tert-butyldimetylosililu  
 TBDMSOTf - trifluorometanosulfonian tert-butyldimetylosililu  
 TBDPS - tert-butyldifenylsilil  
 TBDSi - 1,1,3,3-tetra-tert-butoksydisiloksano-1,3-diyl  
 TBDSiCl<sub>2</sub> - 1,3-dichloro-1,1,3,3-tetra-tert-butoksydisiloksan  
 TBDS - di-tert-butylosililen  
 TBDSiCl<sub>2</sub> - dichloro--di-tert-butylosilan  
 TBDS(OSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>)<sub>2</sub> - ditrifluorometanosulfoniano-di-tert-butylosilan  
 TES - trietylosilil  
 THF - tetrahydrofuran  
 Thp - tetrahydropiranyl  
 TIPDSi - 1,1,3,3-tetraizopropylodisiloksano-1,3-diyl  
 TIPDSiCl<sub>2</sub> - 1,3-dichloro-1,1,3,3-tetraizopropylodisiloksan  
 TIPDSi<U - 3',5'-O-(tetraizopropylodisiloksano-1,3-diyl)urydyna  
 TIPS - triizopropylsilil  
 TLC - cienkowarstwowa chromatografia cieczowa (ang. Thin Layer Chromatography)  
 TMS - trimetylosilil  
 TMSiCl - chlorek trimetylosililu  
 TMSiCN - cyjanek trimetylosililu  
 TMSOTf - trifluorometanosulfonian trimetylosililu (triflan trimetylosililu)  
 TOM - triizopropylsililoksymetyl  
 TOMCl - chlorek triizopropylsililoksymetylu  
 TPS - trifenylosilil  
 TsOH - kwas p-toluenosulfonowy  
 tt - tryplet trypletów

TTES - 1,1,3,3-tetraizopropyl-(3-(2-trifenyloktoksy)etoksy)disiloksano-1-yl

TTESCl - chlorek 1,1,3,3-tetraizopropyl-(3-(2-trifenyloktoksy)etoksy)disiloksano-1-ylu

TTPSiCl - tri(3-pentoksy)chlorosilan

U>DSi - 2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-dylo)urydyna

1° -OH - pierwszorzędowa grupa hydroksylowa

2° -OH - drugorzędowa grupa hydroksylowa

δ - przesunięcie chemiczne

W niniejszej rozprawie doktorskiej zastosowałam skróty: 2',3'-O-izomer i 3',5'-O-izomer z odpowiednim numerem związku, które przypisałam poszczególnym pochodnym silylowanych rybonukleozydów. Określenie anhydrourydyna zastosowałam dla 2,2'-anhydro-1-(β-D-arabinofuranozylo)uracylu i analogicznie 1-(β-D-arabinofuranozylo)uracyl określałam jako araurydynę.

## I. CELE PRACY

Sililowe grupy ochronne są stosowane w chemii organicznej od wielu lat. Znalazły one głównie zastosowanie w szeregu różnych podejść syntetycznych wykorzystywanych w chemii nukleozydów.

W ostatnich latach szczególnego znaczenia nabrały bifunkcyjne sililowe grupy ochronne, przede wszystkim przy funkcjonalizacji rybonukleozydów, w chemicznej syntezie RNA.

Powszechnie znanych i stosowanych jest wiele sililowych grup ochronnych, każda o innych właściwościach. Pomimo licznych doniesień literaturowych na ten temat, w dalszym ciągu poszukiwane są nowe ugrupowania, których zastosowanie w chemicznej syntezie DNA/RNA znacznie uprościłoby i skróciło wiele procedur w chemii kwasów nukleinowych i dziedzinach pokrewnych, np. wprowadzanie modyfikacji w pozycję 2'-nukleozydów.

Cele mojej pracy doktorskiej były następujące:

- zaprojektowanie i opracowanie metody syntezy bifunkcyjnych reagentów disililowych;
- sprawdzenie reaktywności nowych bifunkcyjnych reagentów disililowych względem nukleozydów;
- określenie stabilności sililowych pochodnych rybonukleozydowych w szerokim zakresie warunkach reakcyjnych;
- zaprojektowanie i opracowanie metody syntezy bifunkcyjnych reagentów sililenowych;
- sprawdzenie reaktywności nowych bifunkcyjnych reagentów sililenowych względem nukleozydów.

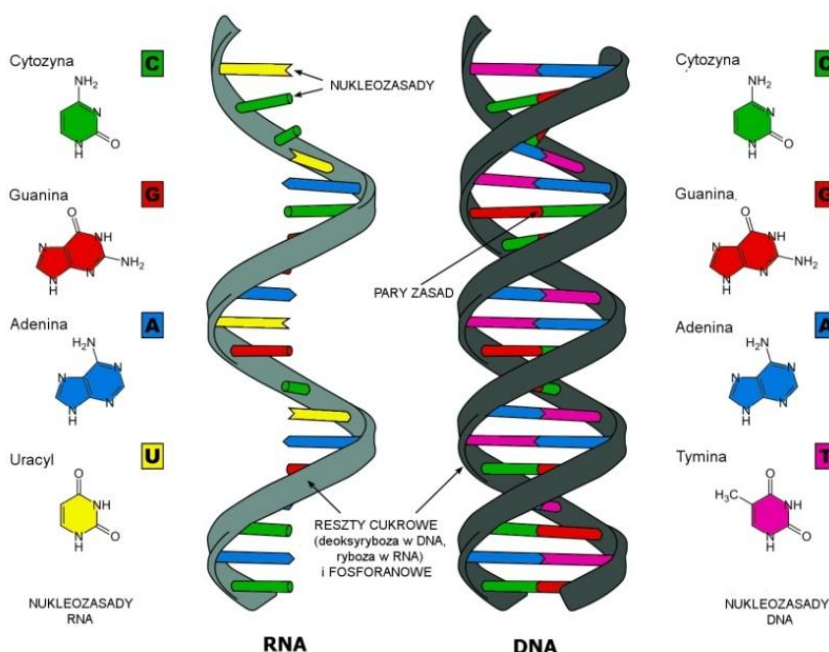
## II. WSTĘP TEORETYCZNY

### 1. Kwasy rybonukleinowe

Kwasy nukleinowe znane są od ponad 140 lat. Zostały odkryte przez szwajcarskiego lekarza J.F. Mieschera w 1869 roku. Miescher zajmował się badaniem leukocytów, pozyskiwanych z jąder komórek ropy. Wyizolował z nich nieznaną substancję zawierającą azot i fosfor, którą nazwał „nukleina” [1,2]. Dalsze badania tej nieznannej substancji prowadzone przez ucznia Mieschera, R. Altmanna, przyczyniły się do zmiany nazwy nukleiny na kwasy nukleinowe. Miało to miejsce w 1889 roku.

Kwasy nukleinowe to biopolimery występujące w komórkach wszystkich organizmów. Wyróżniamy kwas deoksyrybonukleinowy (DNA) i rybonukleinowy (RNA), które odgrywają istotną rolę w przekazywaniu informacji genetycznej i w produkcji białek.

Kwas deoksyrybonukleinowy różni się od kwasu rybonukleinowego nie tylko strukturą przestrzenną [3,4,5], ale również budową [6] i funkcjami, jakie spełnia w żywych organizmach (Rysunek 1) [7].

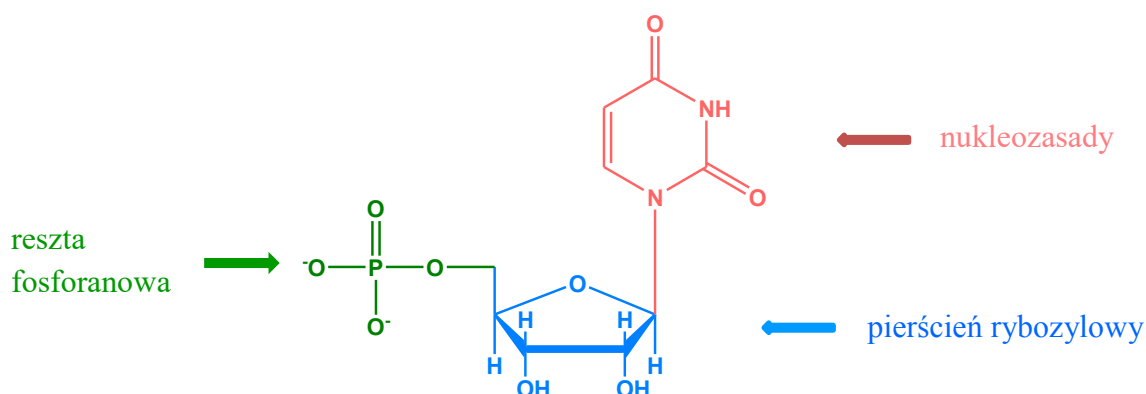


**Rysunek 1.** Porównanie struktur kwasów nukleinowych RNA i DNA.

Badania zapoczątkowane przez Mieschera stanowiły podstawę dla dalszych eksperymentów w interesującym i pełnym tajemnic świecie kwasów rybonukleinowych.

## 2. Budowa kwasów rybonukleinowych

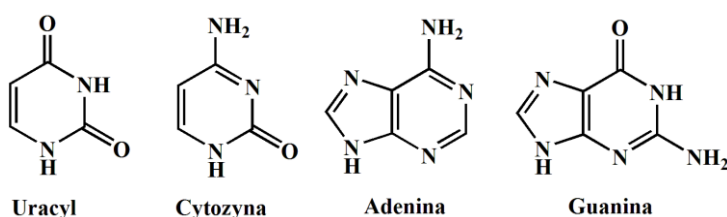
Kwas rybonukleinowy (RNA) jest liniowym biopolimerem, którego podstawowymi jednostkami strukturalnymi są nukleotydy. Każdy monomer nukleotydowy zbudowany jest z reszt heterocyklicznych zasad azotowych, reszty rybozylowej i reszty fosforanowej (Rysunek 2).



Rysunek 2. Przykładowy monomer nukleotydowy RNA.

### 2.1. Heterocykliczne zasady azotowe

Zasady azotowe to cykliczne związki organiczne typu pirymidyn - cytozyna, uracyl i puryn - adenina, guanina (Rysunek 3). Zasady pirymidynowe i purynowe występują w różnych formach tautomerycznych. Istnieją w formie laktymowej (-OH) lub laktamowej (=O).

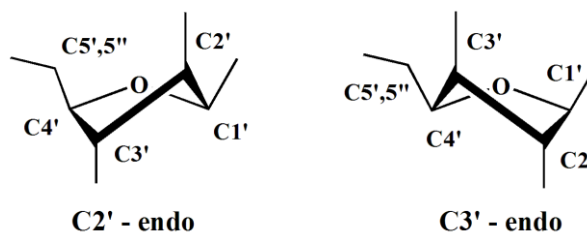


Rysunek 3. Zasady azotowe występujące w RNA.

### 2.2. Reszta rybozylowa

Resztę rybozylową stanowi  $\beta$ -D-ryboza, pięcioczłonowy pierścień furanozowy występujący w RNA. Różni się on od deoksyrybozy (DNA) obecnością grupy hydroksylowej w pozycji 2'. Pięcioczłonowe furanozy przyjmują konformację pofałdowaną, co objawia się

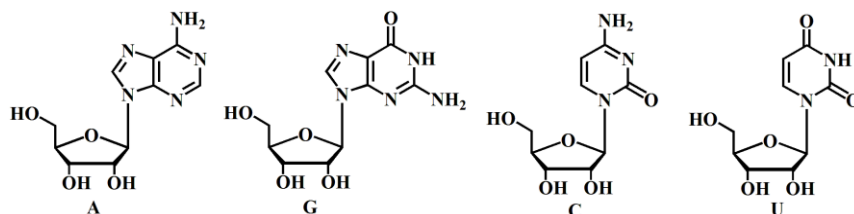
odchyleniami atomów węgla 2' lub 3' ponad płaszczyznę pierścienia. Konformacje te nazywamy: C2'-endo ( $\beta$ -D-deoksyryboza) i C3'-endo ( $\beta$ -D-ryboza) (Rysunek 4).



**Rysunek 4.** Przykłady dwóch konformerów D-rybozy w formie furanozyłowej.

### 2.3. Nukleozydy

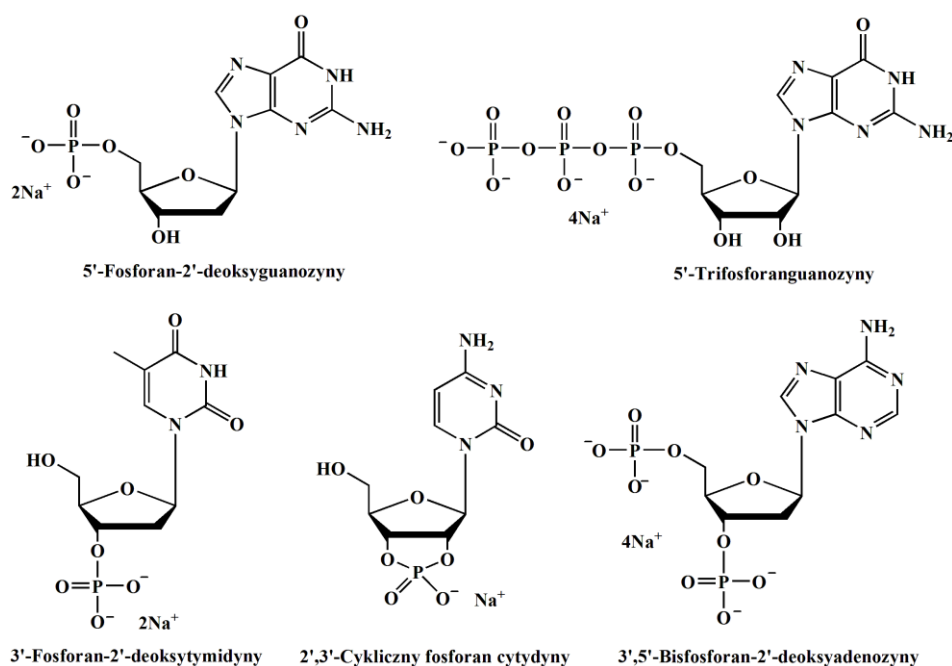
Nukleozydy to jednostki utworzone w wyniku połączenia atomu azotu N-1 w pirymidynach i N-9 w purynach z anomerycznym atomem węgla C-1' pierścienia  $\beta$ -D-rybofuranozowego. Utworzone wiązanie N-glikozydowe ma konfigurację  $\beta$ , co oznacza położenie heterocyklicznej zasady nad płaszczyznę pierścienia cukrowego. Nukleozydy występują w dwóch konformacjach *syn* i *anti*. Jednakże częściej przyjmują konformację *anti*, ponieważ jest ona korzystniejsza energetycznie. Nukleozasady typowe dla RNA to: adenozyina, guanozyina, cytydyna i urydyna (Rysunek 5).



**Rysunek 5.** Wzory strukturalne nukleozydów.

### 2.4. Nukleotydy

Jednostki nukleozasad połączone wiązaniem estrowym z jedną lub więcej grupami fosforanowymi, nazywamy nukleotydami. Reakcji estryfikacji ulegają grupy hydroksylowe pierścienia rybozy. Możemy wyróżnić nukleotydy zestryfikowane w pozycji 5'-OH lub 3'-OH pierścienia rybofuranozy. Obecność w rybozie grupy hydroksylowej w pozycji 2'-OH umożliwia otrzymanie nukleotydów cyklicznych. Poza monofosforanami nukleozydów istnieją także di- i tri-fosforany (Rysunek 6).



**Rysunek 6.** Przykłady nukleotydów [8,9,10,11].

## 2.5. Synteza RNA

Wielokierunkowe badania biochemiczne doprowadziły do poznania nie tylko struktury i funkcji DNA, ale również umożliwiły nam poznanie RNA. Kwasy rybonukleinowe wykazują nie tylko dużą różnorodność struktur przestrzennych, ale również pełnią szereg odmiennych funkcji biologicznych.

Badania eksperymentalne ostatnich lat dowiodły, że RNA stanowi podstawę nowoczesnych badań biologicznych i medycznych. Odgrywa istotną rolę w badaniach kryminalistycznych, a także w biotechnologii i przemyśle farmaceutycznym [12,13,14,15,16].

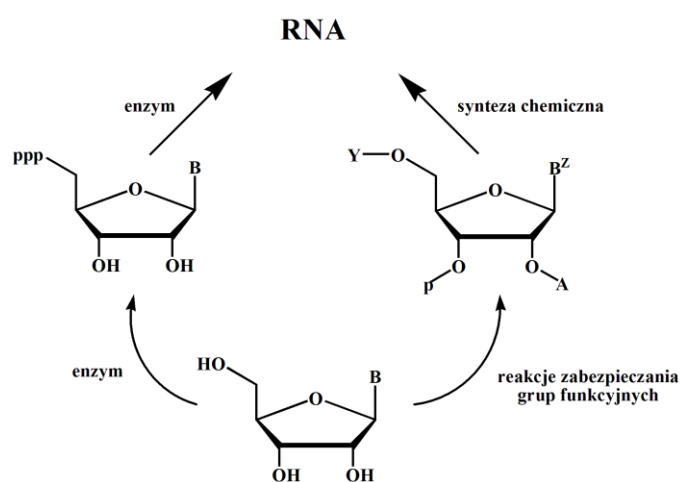
Powyższe czynniki spowodowały, że RNA stało się głównym obiektem zainteresowań badaczy różnych specjalności, od chemików poczynając.

Określone sekwencje RNA można otrzymać na drodze syntezy naturalnej i chemicznej.

Naturalna synteza RNA zachodzi z wykorzystaniem enzymu polimerazy RNA, będącej katalizatorem procesu transkrypcji. Jej zadaniem jest wyszukanie miejsc promotorowych, rozplecenie helisy DNA na pojedyncze nici, z których jedna jest nicią matrycową. Polimeraza RNA syntetyzuje nić RNA komplementarną do nici matrycowej DNA, wykorzystując do tego celu trifosforany rybonukleozydów. Zakończenie procesu zachodzi w momencie otrzymania transkryptu RNA [11].

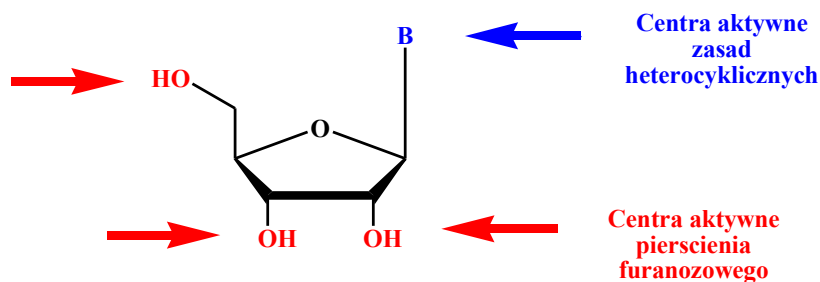
Naturalna synteza RNA wbrew pozorom, nie jest taka prosta, jak to przedstawia powyższy opis. Szereg dodatkowych komponentów niezbędnych do jej prawidłowego przebiegu, jest równocześnie wytwarzanych podczas jej trwania. Proces ten jest wieloetapowy i wymaga dużego nakładu energii. Perypetie naturalnej syntezy RNA w doskonały sposób odzwierciedla chemiczna synteza RNA. Proces również wieloetapowy i czasochłonny.

Stwierdza się jednakże, że chemiczna synteza RNA w przeciwieństwie do naturalnej syntezy jest bardziej zawiła. Każdy jej etap wymaga zastosowania przez chemików innego podejścia syntetycznego (Rysunek 7). Dopiero takie postępowanie w efekcie końcowym prowadzi do otrzymania krótkich fragmentów RNA.



**Rysunek 7.** Synteza fragmentów RNA: ppp - trifosforan, B - nukleozasada, z - grupy ochronne nukleozasad, A - grupy ochronne pozycji 2', np. -CH<sub>3</sub>, p - grupy fosforanowe, Y - grupy ochronne pozycji 5', np. DMTr.

Jednostki rybonukleozydowe, będące głównym substratem w chemicznej syntezie RNA mają wiele grup funkcyjnych o podobnej reaktywności (Rysunek 8).



**Rysunek 8.** Centra aktywne rybonukleozydów.

Każde z tych centrów musi zostać w odpowiedni sposób zabezpieczone, tak aby można było swobodnie sterować selektywnością poszczególnych reakcji. Podstawowymi elementami wykorzystywanymi do tego celu, są dodatkowe narzędzia syntetyczne. Użycie tych narzędzi przyczynia się do prawidłowego przebiegu chemicznej syntezy produktów z wysokimi wydajnościami.

Skutecznymi narzędziami, które od wielu lat są wykorzystywane do zabezpieczania centrów aktywnych jednostek nukleozydowych, są grupy ochronne.

### 3. Grupy ochronne w chemii nukleozydów

Grupy ochronne w chemii nukleozydów są stosowane do zabezpieczania zarówno reaktywnych centrów usytuowanych w pierścieniu zasady heterocyklicznej (głównie pozycji aminowej i iminowej), jak i w pierścieniu rybozy (grupy hydroksylowe).

RNA w porównaniu z DNA posiada w pięciocząłowym pierścieniu furanowym dodatkową grupę hydroksylową w pozycji 2'. Reaktywność trzech tych samych grup funkcyjnych w  $\beta$ -D-rybozie jest podobna, co czyni syntezę chemiczną bardziej skomplikowaną.

Zastosowanie dodatkowych narzędzi syntetycznych w postaci grup ochronnych znacznie upraszcza ten proces i zapewnia osiągnięcie podstawowych celów. Dzięki takiemu działaniu jesteśmy w stanie rozróżnić poszczególne grupy hydroksylowe pierścienia rybozy, umożliwiając w ten sposób, selektywne wykonywanie reakcji. Po drugie, umożliwia to poznanie nowych właściwości biologicznych grupy 2'-OH, które mogą okazać się bardzo korzystne i mogą bardzo dużo wnieść do syntezy oligorybonukleotydów.

#### 3.1. Cechy charakterystyczne grup ochronnych

Wartościowa grupa ochronna powinna wyróżniać się następującymi cechami:

- reagować selektywnie i z dobrą wydajnością;
- zapewnić stabilność chronionego substratu w szerokim zakresie warunków reakcyjnych;

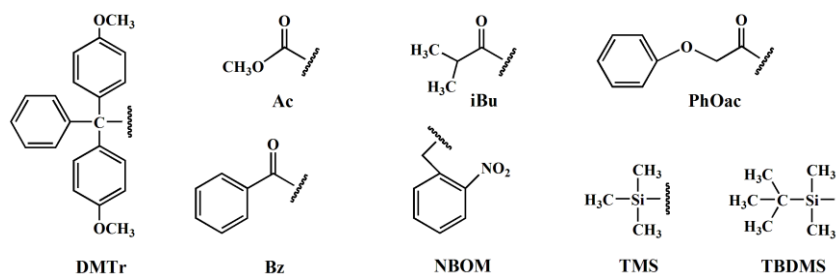
- tworzyć pochodne bez wytwarzania nowych centrów stereogenicznych, które można łatwo oddzielić od produktów ubocznych, związanych z jego tworzeniem lub rozpadem;
- być selektywnie i wydajnie usuwana poprzez łatwo dostępne i nietoksyczne odczynniki;
- współdziałać z innymi grupami ochronnymi w danej cząsteczce;
- posiadać strukturę, która byłaby pozbawiona dodatkowych grup funkcyjnych, które powodowałyby niekorzystne reakcje uboczne [17].

Wybór odpowiedniej grupy zabezpieczającej jest jednym z decydujących czynników mających wpływ na wydajność syntezy. Wybór ten zależy od obecności innych grup funkcyjnych w związku, a także od warunków i rodzaju przeprowadzanej reakcji chemicznej. Stosowane grupy zabezpieczające są odpowiedzialne za sukces, bądź niepowodzenie danego procesu.

### 3.2. Podział grup zabezpieczających funkcje nukleozydów

Zakres grup blokujących, obecnie dostępnych dla grup funkcyjnych jest bardzo szeroki. W zależności od warunków wykorzystywanych do usuwania poszczególnych grup ochronnych, najogólniej grupy ochronne możemy podzielić na:

- kwasolabilne - grupa dimetoksytrytylowa (DMTr);
- zasadolabilne - grupa acetylowa (Ac), benzoilowa (Bz), izobutyrylowa (iBu), fenoksyacetylowa (PhOAc);
- fotolabilne - grupa 2-nitrobenzylowa (NBOM);
- usuwane za pomocą jonów fluorkowych - grupa trimetylosililowa (TMS), tetr-butylodimetylosililowa (TBDMS) (Rysunek 9).



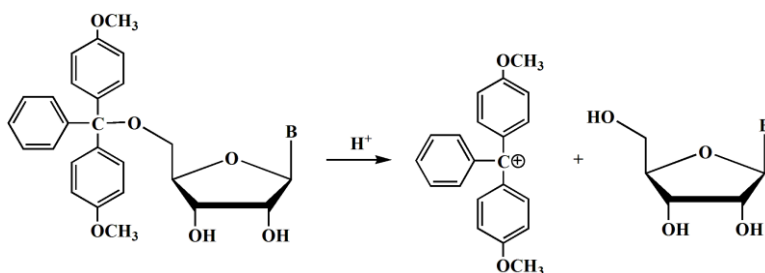
**Rysunek 9.** Przykłady grup ochronnych.

Wyżej wymienione grupy są przydatne w chemicznej syntezie DNA. Ze względu na bardzo zbliżoną budowę DNA i RNA, wiele z tych grup jest z powodzeniem wykorzystywanych w chemicznej syntezie RNA.

Grupy zasadolabilne znalazły powszechne zastosowanie do ochrony funkcji aminowych i iminowych umiejscowionych w nukleozasadach. Nukleofilowy atom azotu obecny w pierścieniu heterocyklicznej zasady musi zostać zablokowany, aby zapobiec reakcjom ubocznym. Grupy ochronne dla grup funkcyjnych nukleozasad powinny być stabilne podczas syntezy oligorybonukleotydu, gdyż są one zazwyczaj usuwane w jednym z końcowych etapów, w trakcie odcięcia oligorybonukleotydu od podłoża stałego.

Grupy kwasolabilne, w szczególności pochodne trifenylometylu (trytylu), ze względu na dużą zawadę steryczną i możliwość ich usuwania w łagodnych warunkach kwasowych, okazały się znakomitymi grupami ochronnymi dla funkcji 5'-hydroksylowej pierścienia furanozowego. Reakcja zabezpieczania funkcji 5'-OH reagentem DMTrCl jest wysoce selektywna. Nie są wymagane dla tej przemiany specyficzne warunki, co jest konsekwencją zastosowania dużej wielkości grupy zabezpieczającej. Z tego też względu, ugrupowanie to reaguje szybciej z pierwszorzędową grupą hydroksylową rybozy, niż z innymi miejscami reaktywnymi jednostek nukleozydowych.

Dodatkowym atutem wykorzystania DMTr w syntezie chemicznej jest możliwość szacowania wydajności wydłużania się łańcucha. Następuje to poprzez pomiar ilości wytworzonego karbokationu di-p-metoksytrytylowego, w momencie usuwania DMTr (Rysunek 10).



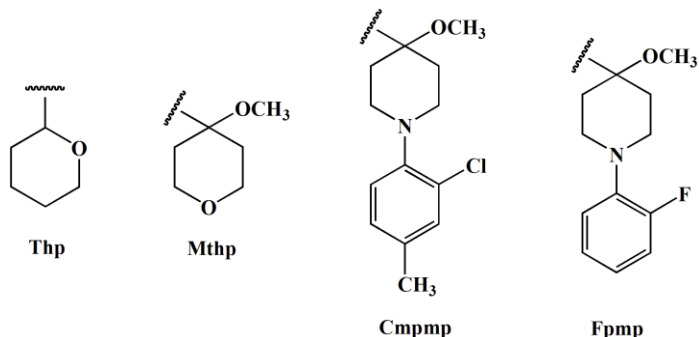
**Rysunek 10.** Reakcja usuwania DMTr.

Grupy kwasolabilne znalazły również zastosowanie do zabezpieczania innej pozycji hydroksylowej β-D-rybozy, a konkretnie pozycji 2'-OH. Początkowo używano do tego celu grup acetalowych, w postaci pochodnych tetrahydropirany (Thp) (Rysunek 11) [18,19].

Do tej kategorii zaliczyć możemy następujące grupy ochronne:

- tetrahydropiranylowa (Thp);

- 4-metoksytetrahydropiranylowa (Mthp);
- 1-[(2-chloro-4-metylo)fenylo]-4-metoksypiperydino-4-ylowa (Cmpmp);
- 1-(2-fluorofenylo)-4-metoksypiperydino-4-ylowa (Fpmp).



**Rysunek 11.** Grupy kwasolabilne stosowane do ochrony pozycji 2'-OH.

Wszystkie grupy ochronne, ze względu na swoje właściwości, mają pewien zakres przydatności i kompatybilności z innymi grupami ochronnymi.

Niekorzystną właściwością, która doprowadziła do dyskwalifikacji Thp jako grupy ochronnej w syntezie RNA, było powstawanie mieszaniny diastereoizomerów, w wyniku wprowadzania tej grupy do rybonukleozydów. Mieszanina ta była trudna do rozdzielania [20]. Kwestia ta została rozwiązana przez Reese'a i jego współpracowników. Wprowadzili oni do chemii rybonukleozydów grupę Mthp, która nie ma centrum chiralności [21].

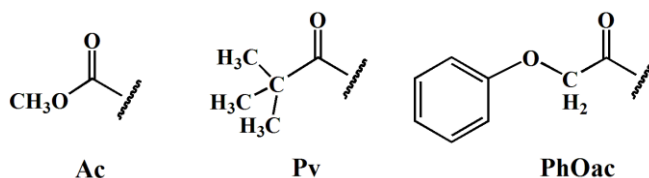
Problem kompatybilności grup ochronnych stosowanych do zabezpieczania centrów aktywnych rybonukleozydów, nie został jednak w ten sposób całkowicie rozwiązany. W momencie usuwania kwasolabilnych grup z pozycji 5'-OH, dochodziło jednocześnie do częściowego usuwania grup ochronnych z pozycji 2'-OH. Przedwczesna utrata grupy ochronnej 2' mogła być przyczyną izomeryzacji wiązania internukleotydowego podczas chemicznej syntezy RNA [22].

Dalsze badania zespołu Reese'a doprowadziły do ulepszenia Mthp. Wprowadzono grupę Cmpmp, która okazała się stabilna w warunkach usuwania DMTr [23]. Koszt otrzymywania Cmpmp był jednak wysoki, dlatego zastąpiono ją mniej kosztowną grupą Fpmp [24].

Cmpmp i Fpmp posiadają w swojej strukturze atom azotu we fragmencie piperydynowym, co wyróżnia te ugrupowania spośród grup acetalowych, przedstawionych na Rysunku 9. Protonowanie atomu azotu piperydiny spowalnia znacznie hydrolizę acetalu i sprawia, że jest on względnie stabilny w zakresie pH od 0,5 do 2,5. Z tych dwóch grup

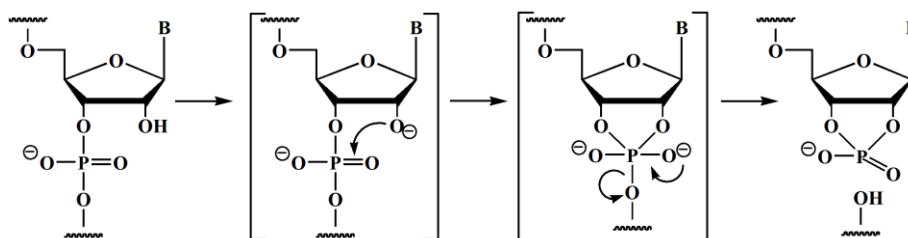
Fpmp jest 1,3 razy bardziej stabilna niż Cmpmp w zakresie pH od 0,5 do 1,5 [25]. Z kolei negatywną właściwością obydwu grup jest wnoszenie stosunkowo dużej zawady przestrzennej w reakcji tworzenia wiązania internukleotydowego. Rozbudowana struktura grupy ochronnej umiejscowionej w pozycji 2'-OH, powodowała otrzymanie oligomeru z niską wydajnością [26,27].

Do zabezpieczania funkcji hydroksylowej w pozycji 2' pierścienia furanozowego, również stosowane były grupy zasadolabilne. Jednakże użycie tego rodzaju ugrupowań nie było korzystnym rozwiązaniem. Proces odblokowywania poszczególnych grup funkcyjnych zachodzący w warunkach zasadowych, prowadził jednocześnie do usunięcia zasadolabilnej grupy ochraniającej pozycję 2' (Rysunek 12).



**Rysunek 12.** Przykłady grup zasadolabilnych: acetylowa, piwaloilowa, fenoksyacetylowa.

Konsekwencją odblokowania pozycji 2'-OH było wygenerowanie jonu alkoholowego i rozerwanie łańcucha oligomeru (Rysunek 13) [13].



**Rysunek 13.** Rozerwanie wiązania 3',5'-internukleotydowego.

Obecność dodatkowej funkcji hydroksylowej w rybonukleozydach wymagała zastosowania innych, nowszych grup zabezpieczających [28]. Ugrupowania te powinny charakteryzować się ortogonalnością względem kwaso- i zasadolabilnych grup ochronnych, używanych do zabezpieczania pozostałych reaktywnych centrów, a także możliwością ich usuwania w warunkach neutralnych [29].

Skutecznymi grupami do ochrony pozycji 2'-OH okazały się wówczas ugrupowania fotolabilne, których przedstawicielem jest grupa 2-nitrobenzylowa (NBOM). Po raz pierwszy została wprowadzona do chemii nukleozydów przez Ikehara i współpracowników [30]. Cechą

charakterystyczną pochodnej 2-nitrobenzylowej jest możliwość usunięcia jej fotochemicznie, przez napromieniowanie światłem ultrafioletowym ( $\lambda > 280$  nm). W związku z tym odznacza się trwałością w warunkach hydrolizy kwasowej i zasadowej.

Późniejsze badania wykazały, że fotochemiczne usunięcie grupy 2-nitrobenzylowej efektywniej zachodzi w słabo kwaśnym środowisku reakcji [31]. Inną poważną wadą stosowania fotolabilnej grupy zabezpieczającej było to, że reakcja fotochemicznego usuwania grupy 2-nitrobenzylowej nie zawsze postępowała ilościowo, zwłaszcza w odblokowaniu sekwencji RNA o stosunkowo wysokiej masie cząsteczkowej [32].

Opisane wyżej ugrupowania wykorzystywane do ochrony funkcji 2'-OH nie spełniły wcześniej założonych oczekiwań. Wymagania dotyczyły stabilności w kwasowych i zasadowych warunkach reakcji, a także braku trwałości w warunkach neutralnych.

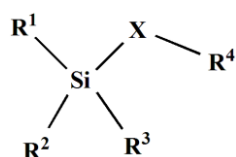
Najskuteczniejsze w tym przypadku okazały się grupy usuwane za pomocą jonów fluorkowych, do których zaliczane są ugrupowania siliłowe. Grupy siliłowe charakteryzują się różnymi właściwościami. Jedną z najcenniejszych cech jakie posiadają to możliwość ich usuwania w warunkach neutralnych (jony fluorkowe).

Siliłowe grupy ochronne ze względu na liczne właściwości i możliwość ich wszechstronnego zastosowania w syntezie chemicznej, stały się istotnym przedmiotem moich zainteresowań.

## 4. Natura i właściwości związków siliłowych

### 4.1. Opis ogólny

Siliłowe grupy ochronne to ugrupowania chemiczne zawierające w swej budowie atom krzemu, który może być połączony z trzema jednakowymi, bądź różnymi podstawnikami. Są one powszechnie stosowane do blokowania grup funkcyjnych, tj. hydroksylowych, niekiedy aminowych i tiolowych, z którymi tworzą wiązanie kowalencyjne (Schemat 1) [33].



R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> - jednakowe lub różne podstawniki

R<sup>4</sup> - reszta blokowanego związku

X - atom O, N, S

**Schemat. 1.** Ugrupowanie siliłowe.

Pochodne silylowe odgrywają ważną rolę podczas zabezpieczania funkcji hydroksylowych w związkach wielowodorotlenowych. Umożliwia to rozróżnienie reaktywności poszczególnych grup -OH. W ten sposób pewne centra reaktywne związku chemicznego ulegają zabezpieczeniu silylowymi grupami ochronnymi. Z kolei pozostałe centra są poddawane różnym reakcjom syntezy chemicznej [17,34]. Każdy pierwszorzędowy, drugorzędowy lub trzeciorzędowy alkohol może zostać przekształcony w eter silylowy [33].

Rozróżnienie reaktywności grup hydroksylowych, a także zdolność ich przekształcenia w etery silylowe zależą od zastosowania odpowiednich warunków reakcji i określonych reagentów silylowych.

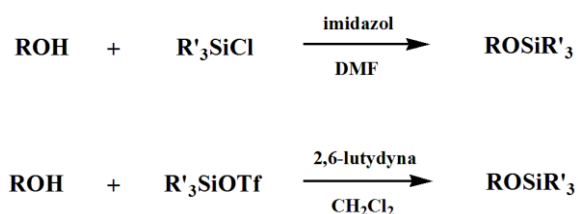
#### 4.2. Metody otrzymywania eterów silylowych

Etery silylowe otrzymuje się poprzez reakcje alkoholi z reagentami krzemooorganicznymi w obecności zasady. Chlorosilany czy pochodne triflanowe silanów są najczęściej używanymi reagentami silylującymi, ze względu na posiadanie dobrych grup opuszczających.

Triflany silylowe wykazują większą od chlorków reaktywność względem alkoholi. Natura zasady zastosowanej w środowisku reakcyjnym, korzystnie wpływa na efekt końcowy syntezy. W zależności od jej charakteru, produkty reakcji otrzymujemy z większą lub mniejszą wydajnością (Schemat 2). Najczęściej stosowanymi zasadami są:

- trietyloamina, 2,6-lutydyna, pirydyna lub imidazol.

Po raz pierwszy zależność ta została zauważona i opisana przez Corey'a [35,36].

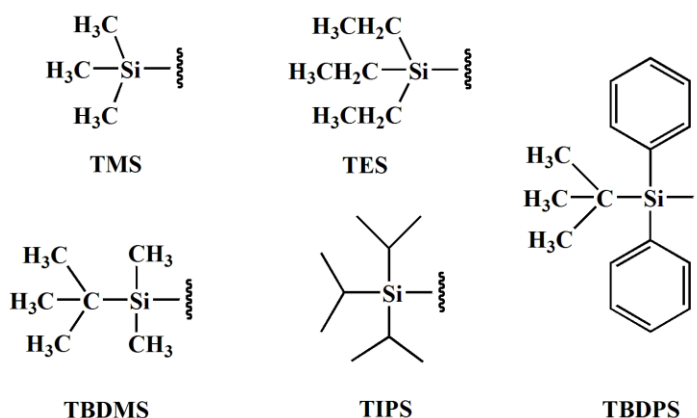


**Schemat 2.** Przykłady warunków silylowania.

### 4.3. Struktura a właściwości grup siliowych

Grupy krzemoorganiczne są wszechstronnie stosowane w różnych dziedzinach chemii. Najczęściej wykorzystywanymi spośród nich, to pochodne trialkilo(arylo)sililowe, do których zaliczane są:

- trimetylosilyl (TMS);
- trietylosilyl (TES);
- tert-butyldimetylosilyl (TBDMS);
- triizopropylsilyl (TIPS);
- tert-butyldifenylosilyl (TBDPS) (Schemat 3).



**Schemat 3.** Struktury pochodnych trialkilo(arylo)sililowych.

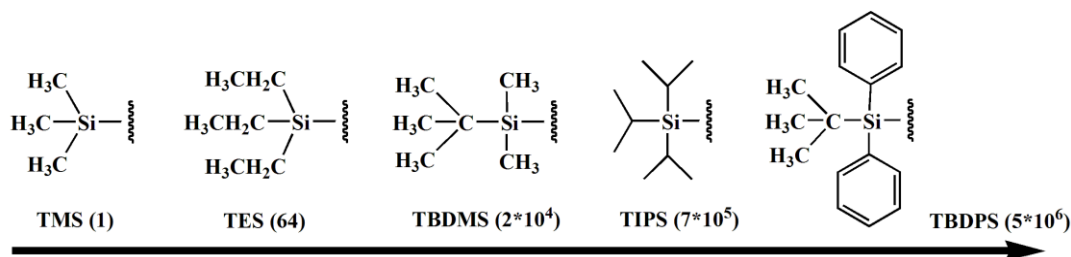
Wszystkie ugrupowania zobrazowane na Schemacie 3 różnią się między sobą dwoma elementami - rodzajem i charakterem podstawników umiejscowionych przy atomie krzemu. Elementy te są niezmiernie ważne, gdyż określają właściwości poszczególnych krzemoorganicznych ugrupowań. Jedną z podstawowych uwarunkowanych właściwości, jakimi cechują się pochodne sililowe, to ich odmienna stabilność w różnych warunkach hydrolizy kwasowej i zasadowej.

Efekty steryczny i elektronowy podstawników połączonych z atomem krzemu mają inny wpływ na stabilność poszczególnych eterów sililowych.

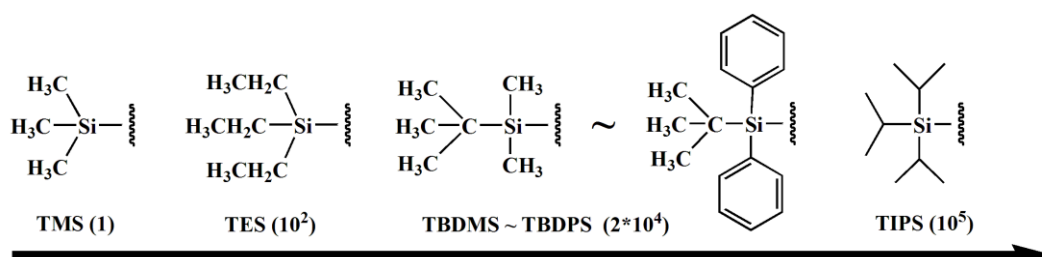
Większa zawada steryczna wokół atomu krzemu zwiększa stabilność eterów trialkilo(arylo)sililowych na hydrolizę kwasową i zasadową. Inaczej to wygląda w przypadku efektu elektronowego. Podstawniki przy atomie krzemu wyciągające elektrony zwiększają podatność eterów sililowych na hydrolizę zasadową, zmniejszając tym samym podatność na

hydrolizę kwasową. Zależność ta jest odwrotna w przypadku występowania podstawników dostarczających elektronów [37,38].

Dla pochodnych trialkilo(arylo)sililowych stabilność w warunkach kwasowych wzrasta w następującej kolejności:



Stabilność w warunkach zasadowych wzrasta zgodnie z poniższym zapisem [34]:

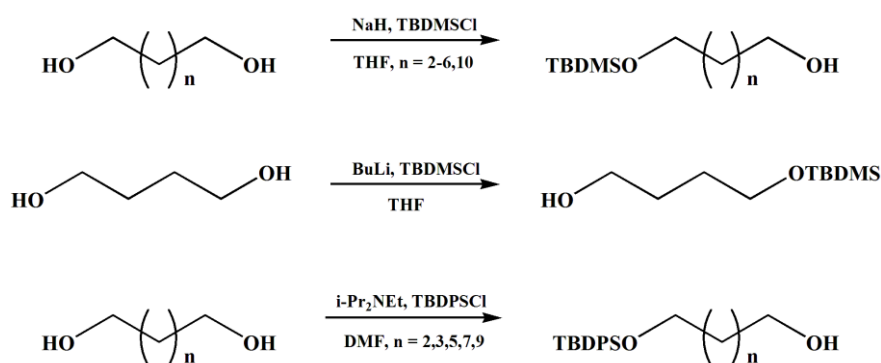


Kolejną wartościową cechą charakterystyczną i wyróżniającą grupy sililowe spośród wszystkich grup ochronnych, jest sposób ich usuwania za pomocą jonów fluorkowych. Efektywność rozszczepiania eterów sililowych wynika z dużego powinowactwa jonów fluorkowych do atomu krzemu. Energia wiązania Si-F jest o około 30 kcal/mol razy większa niż wiązania Si-O. Etery sililowe w zależności od zatłoczenia sterycznego wokół atomu krzemu mogą być usuwane w obecności jonów  $\text{F}^-$  z różną szybkością (Tabela 1).

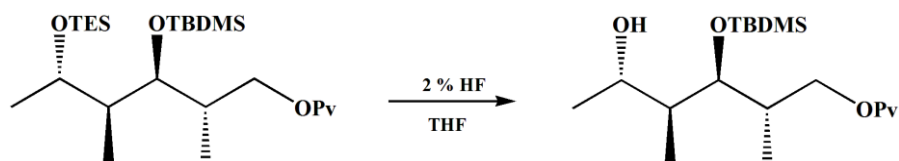
**Tabela 1.** Względna szybkość usuwania ugrupowań sililowych za pomocą jonów  $\text{F}^-$  [39].

| Grupa krzemoorganiczna | $t_{1/2}$ | Grupa krzemoorganiczna | $t_{1/2}$ |
|------------------------|-----------|------------------------|-----------|
| <b>TIPS</b>            | 15 min    | <b>TBDPS</b>           | 50 min    |
| <b>TBDMS</b>           | 20 min    | <b>TPS</b>             | 2,5 h     |

Zmiana podstawników przy atomie krzemu wywołuje zmianę efektu sterycznego i elektronowego. Zmiany te w połączeniu z zastosowaniem odpowiednich warunków reakcji, w dużym stopniu wpływają na selektywność wprowadzania (Schemat 4) [40,41,42] i usuwania grup krzemoorganicznych (Schemat 5) [43].

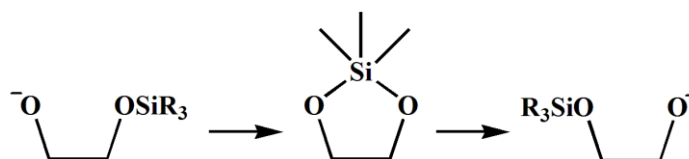


**Schemat 4.** Selektywne blokowanie układów diolowych.



**Schemat 5.** Selektywne usuwanie grup siliowych.

W zależności też od warunków prowadzenia poszczególnych reakcji, grupy krzemoorganiczne jako grupy ochronne funkcji hydroksylowych w związkach wielowodorotlenowych, wykazują zdolność do migracji [44]. Przemieszczanie się grup siliowych między różnymi grupami hydroksylowymi, najchętniej zachodzi w warunkach zasadowych. Proces ten odbywa się z udziałem pięciokoordynowanego atomu krzemu (Schemat 6) [45]. Najczęściej zachodzi w kierunku mniej rzędogo podstawnika, albo mniej zatłoczonej grupy hydroksylowej. W środowisku kwasowym, z kolei migracja nie jest obserwowana.



**Schemat 6.** Pięciokoordynowany atom krzemu.

Przykładem syntezy, w której wykorzystywana jest zdolność silili do migracji jest synteza Meyersa. Reakcja alkoholu z wodorkiem sodu powoduje migrację TBDMS i jednocześnie powstanie aldehydu, który następnie w reakcji z odczynnikami Hornera-Emmonsa prowadzi do otrzymania nienasyconego estru (Schemat7) [46].



**Schemat 7.** Synteza Meyersa.

Proces migracji jest zjawiskiem obserwowanym również w chemicznej syntezie oligorybonukleotydów, z uwagi na obecność wielu funkcji hydroksylowych zlokalizowanych w pierścieniu furanowym [47].

## 5. Sililowe grupy ochronne jednostek nukleozydowych

Ugrupowania krzemoorganiczne okazały się najlepszym zespołem grup ochronnych, powszechnie wykorzystywanym w chemii nukleozydów, nukleotydów i kwasów nukleinowych.

Sililowe grupy ochronne znalazły zastosowanie nie tylko do ochrony pozycji 2' hydroksylowej w  $\beta$ -D-rybozie, jak zostało to już wstępnie wspomniane w Rozdziale II.3.2., ale także doskonale sprawdziły się w zabezpieczaniu pozostałych reaktywnych funkcji nukleozydów.

Liczne właściwości, jakimi charakteryzują się reagenty sililowe umożliwiają przeprowadzenie szeregu różnorodnych reakcji chemicznych. Selektywność tych reakcji jest wysoka.

Zastosowanie grup krzemoorganicznych do ochrony miejsc funkcyjnych rybonukleozydów, przyczyniło się do rozwiązania wielu wcześniej pojawiających się trudności. Znacznie uprościło to procedurę chemicznej syntezy RNA.

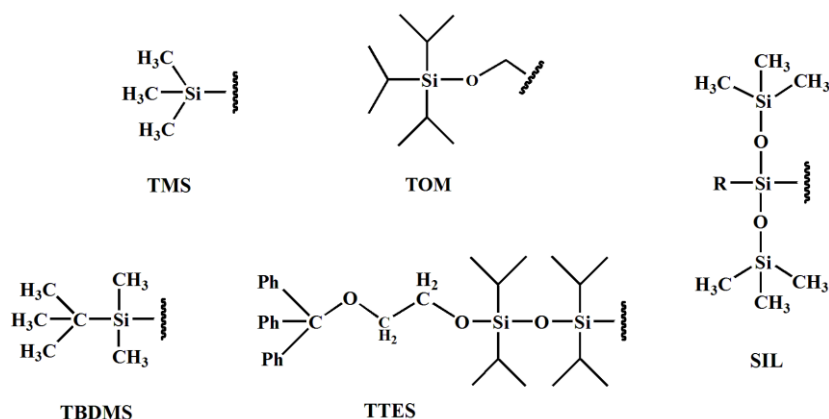
Sililowe grupy ochronne, w zależności od ilości miejsc jakie mogą jednocześnie ochraniać w rybonukleozydach, możemy podzielić na mono- i bifunkcyjne.

### 5.1. Monofunkcyjne grupy sililowe

Monofunkcyjne grupy ochronne to ugrupowania, które umożliwiają utworzenie tylko jednego wiązania z grupą funkcyjną. Od wielu lat są stosowane w chemicznej syntezie oligorybonukleotydów jako skuteczne narzędzia syntetyczne.

Z wszystkich monofunkcyjnych grup siliowych, pierwszymi z najpowszechniej wykorzystywanych były pochodne trialkilosililowe, jak grupa trimetylosililowa (TMS) [48] i tert-butyldimetylosililowa (TBDMS) [35].

Intensywny rozwój syntezy chemicznej, jednakże spowodował wyraźny wzrost zapotrzebowania na nowe ugrupowania siliowe, spośród których możemy wyróżnić grupę triizopropylsililoksymetylową (TOM) [49], a także grupę 1,1,3,3-tetraizopropyl-3-(2-trifenylometoksy)etoksy)disiloksano-1-ylową (TTES) [50] i pochodne bis(trimetylosililoksy)alkoksylilowe (SIL) (Schemat 8) [51].



**Schemat 8.** Przykłady monofunkcyjnych grup krzemoorganicznych: **R** - wyjaśnione na Schemacie 12.

Krzemoorganiczne monofunkcyjne ugrupowania można ogólnie podzielić na trzy kategorie grup:

- do ochrony przejściowej, określane jako „transient protection group” - TMS;
- do ochrony pozycji 2'-hydroksylowej pierścienia furanowego - TBDMS, TOM;
- do ochrony pierwszorzędowej grupy hydroksylowej rybozy - TTES, SIL.

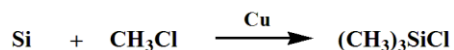
W każdej z tych trzech kategorii wykorzystanie znalazły reagenty siliowe różniące się nie tylko strukturą, ale i szeregiem właściwości.

### 5.1.1. Metody otrzymywania monofunkcyjnych grup siliowych

Związki krzemoorganiczne można otrzymać na wiele sposobów. Dobór metody uzależniony jest od struktury związku, jakiego chcemy użyć w danej reakcji.

TMS najwcześniej spośród monofunkcyjnych grup sililowych, znalazł wykorzystanie w chemii nukleozydów. Charakteryzuje się on małą zawadą przestrzenną.

TMSCl jest otrzymywany w syntezie bezpośredniej chlorku metylu z krzemem w obecności katalizatora miedziowego (Schemat 9). Metoda wytwarzania chlorku trimetylosililu została zaprojektowana i opisana przez Rochowa i Müllera w 1940 roku [52,53].



**Schemat 9.** Synteza bezpośrednia.

TMS występuje w postaci wielu pochodnych różniących się między sobą reaktywnością. Pochodne TMS otrzymywane są w reakcjach odpowiednich reagentów z chlorkiem trimetylosililu (Tabela 2).

**Tabela 2.** Metody otrzymywania pochodnych TMS [54,55].

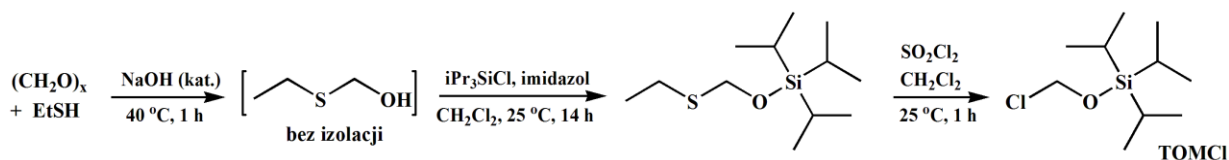
| Substraty                                                      | Produkty                                   |
|----------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|
| $(\text{CH}_3)_3\text{SiCl} + \text{CF}_3\text{SO}_2\text{OH}$ | $(\text{CH}_3)_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$ |
| $(\text{CH}_3)_3\text{SiCl} + \text{LiCN}$                     | $(\text{CH}_3)_3\text{SiCN}$               |

Inne związki krzemooorganiczne posiadające takie same bądź różne podstawniki przy atomie krzemu, są otrzymywane w podobny sposób, jak reagenty trimetylosililowe (Tabela 3). Przykład stanowi TBDMS, który przy atomie centralnym zawiera oprócz dwóch grup metylowych, także jedną grupę tert-butyłową. TBDMS występuje w postaci dwóch pochodnych: chlorkowej i trifluorometanosulfonowej [36,56]. Początkowo grupa ta została zaproponowana do ochrony enoli przez Storka i Hudrlika w 1968 roku [57]. Po raz pierwszy natomiast została opisana przez Corey'a na przełomie lat 70-tych i 80-tych jako grupa ochronna alkoholi [35].

**Tabela 3.** Metody otrzymywania pochodnych TBDMS.

| Substraty                                                                             | Produkty                                                          |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| $(\text{CH}_3)_2\text{SiCl}_2 + (\text{CH}_3)_3\text{CLi}$                            | $(\text{CH}_3)_3\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{SiCl}$               |
| $(\text{CH}_3)_3\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{SiCl} + \text{CF}_3\text{SO}_2\text{OH}$ | $(\text{CH}_3)_3\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$ |

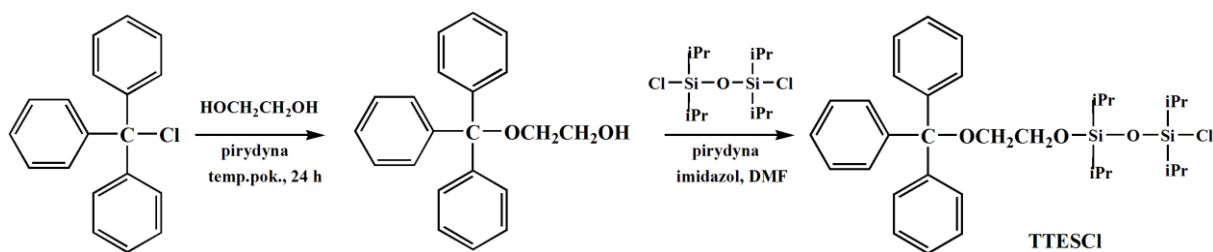
Kolejną grupą ochronną zaliczaną do monofunkcyjnych siliłowych grup jest TOM. Grupa ta posiada podstawnik triizopropylsiliłowy i strukturę acetalową. Odmienna budowa TOM powoduje, że nie można jej otrzymać tymi samymi metodami, co grupy TMS i TBDMS. TOM występuje tylko jako chlorek. TOMCl został zsyntetyzowany modyfikując ogólną procedurę otrzymywania chlorków trialkilsiloksymetylu wprowadzoną przez Benneche'a i współpracowników. W pierwszym etapie powstaje etylotiometaanol [58,59]. Następnie przeprowadza się siliłowanie etylotiometanolu z chlorkiem triizopropylsiliłu, co prowadzi po ekstrakcji i destylacji do pochodnej siliłowej z dobrą wydajnością. Ten pośredni produkt siliłowy poddany działaniu  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$  w chlorku metylenu ulega przekształceniu w TOMCl (Schemat 10) [49].



**Schemat 10.** Otrzymywanie TOMCl.

Reprezentantami monofunkcyjnych grup siliłowych, wykorzystywanymi do ochrony pierwszorzędowej grupy hydroksylowej rybozy są - ugrupowanie TTES i pochodne bis(trimetylosililoksy)alkoksylsiliłowe - SIL.

Odczynnik TTES występuje jako pochodna chlorkowa. TTESCl został otrzymany w dwuetapowym procesie. Pierwszy etap to reakcja chlorku trifenylometylowego z glikolem etylenowym w obecności pirydyny. Powstały produkt w drugim etapie ulega działaniu  $\text{TIPDSiCl}_2$  prowadząc do uzyskania chlorku 1,1,3,3-tetraizopropyl-3-(2-trifenylometoksy)-etoksy)disiloksanu (Schemat 11).



**Schemat 11.** Reakcja wytwarzania TTESCl.

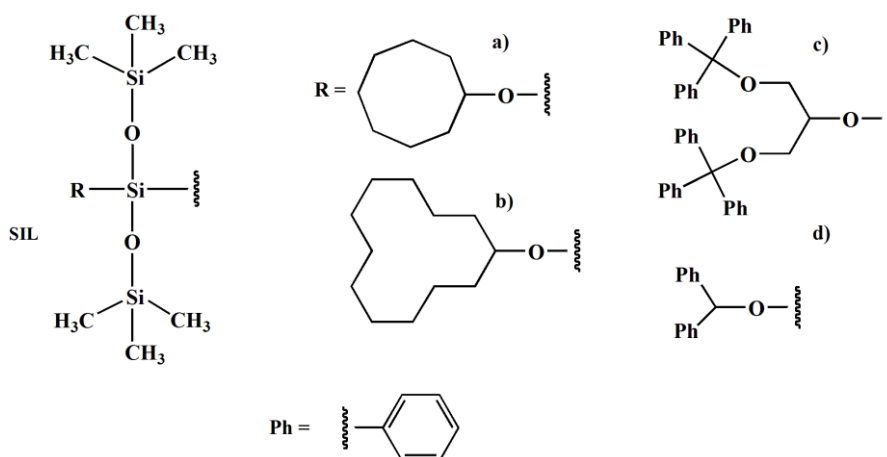
TTES jako grupa ochronna funkcji 5'-OH przedstawia wiele interesujących zalet, stąd też została sprawdzona jej skuteczność w syntezie chemicznej RNA, w której grupą ochronną

pozycji 2'-hydroksylowej było kwasolabilne ugrupowanie Thp. Cechowała ją zdolność selektywnego wprowadzania do rybonukleozydów i usuwania za pomocą jonów fluorkowych (0,1 M TBAF w THF w temperaturze pokojowej przez 1 min.) lub w łagodnych warunkach kwasowych (0,01 M HCl w temperaturze pokojowej przez 24 h), bez naruszenia grupy Thp. Stabilność w roztworze  $\text{NH}_3/\text{MeOH}$  w temperaturze pokojowej przez 24 h, a także możliwość spektrofotometrycznego monitorowania wydajności syntezy.

Pomimo wielu zalet ugrupowanie to nie znalazło powszechnego zastosowania w otrzymywaniu komponentów do chemicznej syntezy RNA metodą amidofosforynową. Główną przyczynę stanowiła wrażliwość grupy 2-cyjanoetylowej usytuowanej w pozycji 3'-OH rybozy na warunki, w których było usuwane TTES [50].

W przeciwieństwie do TTES zdecydowanie lepszymi grupami zabezpieczającymi dla pierwszorzędowej funkcji hydroksylowej okazały się reagenty chlorkowe bis(trimetylosililoksy)alkoksylsililowe (SILCl). Ugrupowania SIL posiadają w swej budowie dwa podstawniki trimetylosililoksyłowe i jeden różniący je podstawnik alkoksylowy, którym może być:

- cyklooktyloksyl (a);
- cyklododecyloksyl (b);
- 1,3-(ditrytyloksy)propylo-2-oksyl (c);
- 1,3-(difenylo)metoksyl (d) (Schemat 12).



**Schemat 12.** Pochodne SIL [13,28,51,60,61,62].

Analogi SIL znalazły zastosowanie w chemii nukleozydów jako grupy ochronne pozycji 5'-OH, co zostało opisane w licznych publikacjach. W każdym z tych czasopism, brak natomiast wzmianki na temat metod ich otrzymywania.

### 5.1.2. Reaktywność monofunkcyjnych siliowych grup ochronnych

Każda z krzemoorganicznych grup, opisana w Rozdziale II.5.1.1., występuje w postaci różnych pochodnych. Stosowano pochodne TMS: chlorek, triflan (trifluorometanosulfonian), cyjanek, a także wiele innych związków, np. HMDS [63,64].

Wybór właściwej pochodnej TMS do zabezpieczania funkcji hydroksylowych, jest zależny od warunków, w których dana reakcja jest prowadzona, a także od rzędowości grupy -OH, biorącej udział w niniejszej reakcji. Podobnie sytuacja przedstawia się w przypadku TBDMS, TOM, związków TTES i SIL, które są dostępne handlowo w postaci chlorków, a TBDMS dodatkowo w postaci pochodnej triflanowej.

Zdolność do reagowania poszczególnych pochodnych siliowych z alkoholami jest różna. Efektywność tych procesów jest uwarunkowana dwoma głównymi czynnikami:

- rzędowością związków wodorotlenowych;
- środowiskiem reakcji (Tabela 4).

**Tabela 4.** Różnice w reaktywności pochodnych siliowych względem alkoholi: Et<sub>3</sub>N, DMAP, DIPA.

| Reagent siliowy | Reaktywność wobec alkoholi                         | Obecność zasady                |
|-----------------|----------------------------------------------------|--------------------------------|
| <b>TMSCl</b>    | reaguje z 1°, 2°, 3° alkoholami z różną szybkością | imidazol lub Et <sub>3</sub> N |
| <b>TMSOTf</b>   | reaguje z wszystkimi alkoholami bardzo szybko      | 3° amina                       |
| <b>TMSCN</b>    | szybko reaguje z alkoholami                        | --                             |
| <b>TBDMSCl</b>  | reaguje z 1° i niektórymi 2° alkoholami            | imidazol i DMAP                |
| <b>TBDMSOTf</b> | reaguje z 1°, 2°, 3° alkoholami                    | 2,6-lutydyna                   |
| <b>TOMCl</b>    | łatwo reaguje z 1°, 2° alkoholami                  | DIPA                           |
| <b>SILCl</b>    | reaguje z 1°, 2° alkoholami                        | DIPA                           |

Wyżej wymienione czynniki mają ogromny wpływ nie tylko na reakcje selektywnego wprowadzania grup krzemoorganicznych, ale także na reakcje ich selektywnego usuwania. Ugrupowania siliowe można wybiórczo usunąć, prowadząc reakcję w odpowiednich warunkach, z zablokowanego związku wielowodorotlenowego bez usunięcia innych, obecnych siliowych grup (Tabela 5).

**Tabela 5.** Przykładowe metody selektywnego usuwania różnych grup sililowych.

| Grupy sililowe obecne w związku       | Warunki odblokowania                        | Rezultaty                  |
|---------------------------------------|---------------------------------------------|----------------------------|
| 1° TMS, 2° TBDMS, 1° TBDMS            | K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , MeOH, 0 °C | usunięcie TMS [65]         |
| 2° TES, 2° TBDMS                      | 2 % HF, MeCN                                | usunięcie TES [43]         |
| 1° TBDPS, 2° TES, 2° TBDMS            | TBAF, AcOH, DMF                             | usunięcie TBDPS [66]       |
| 1° TIPS, 1° TBDMS, 2° TBDPS, 1° TBDPS | 5 % NaOH, EtOH/THF                          | usunięcie TIPS, TBDMS [67] |
| 2° TIPS, 2° TBDMS                     | TsOH/MeOH                                   | usunięcie TIPS [68]        |

O różnicach w reaktywności i stabilności poszczególnych krzemooorganicznych ugrupowań decyduje ich budowa:

- rodzaj podstawników przy atomie krzemu;
- rodzaj grup opuszczających.

Stabilność i reaktywność związków zawierających w swej strukturze atom krzemu, można wytłumaczyć na podstawie:

- energii wiązania, utworzonego między atomem krzemu a grupą opuszczającą - Si-X (Tabela 6);
- polaryzacji wiązań, która z kolei wynika z różnicy elektroujemności pomiędzy atomem krzemu, a podstawnikami przyłączonymi do niego (Tabela 7) [37,38,69].

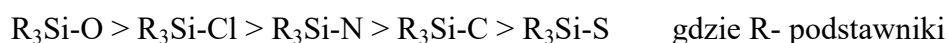
**Tabela 6.** Średnia energia wiązań Si-X.

| Wiązanie Si-X | Energia [Kcal/mol] | Wiązanie Si-X | Energia [Kcal/mol] |
|---------------|--------------------|---------------|--------------------|
| Si-F          | 142                | Si-H          | 70                 |
| Si-O          | 112                | Si-C          | 69                 |
| Si-Cl         | 93                 | Si-Si         | 68                 |
| Si-N          | 75-80              | Si-I          | 59                 |
| Si-Br         | 76                 | Si-S          | 54                 |

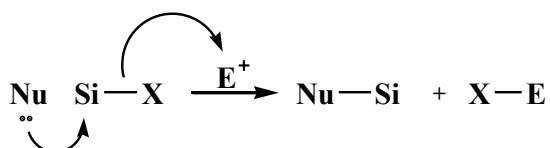
**Tabela 7.** Zestawienie elektroujemności wg Paulinga wybranych pierwiastków i różnic elektroujemności wiązań.

| Atom X | Elektroujemność | Wiązanie Si-X | Różnica elektroujemności |
|--------|-----------------|---------------|--------------------------|
| O      | 3,44            | Si-Si         | 0                        |
| Cl     | 3,16            | Si-S          | 0,62                     |
| N      | 3,04            | Si-C          | 0,65                     |
| C      | 2,55            | Si-N          | 1,14                     |
| S      | 2,52            | Si-Cl         | 1,26                     |
| Si     | 1,90            | Si-O          | 1,54                     |

Z danych zamieszczonych w Tabeli 6 wynika, że im mniejsza energia wiązania tym mniejsza stabilność związków krzemoorganicznych, a tym samym większa ich reaktywność. Stabilność spada w następującej kolejności [33]:



Wartości elektroujemności przedstawione w Tabeli 7 wskazują, że w wiązaniu Si-X atom krzemu jest pierwiastkiem bardziej elektrododatnim niż atom X. Elektrododatniość atomu Si w wiązaniu Si-X wskazuje na podatność tego pierwiastka na atak nukleofilowy, natomiast atak elektrofilowy następuje na atom X (Schemat 13) [70].

**Schemat 13.** Atak nukleofilowy i elektrofilowy na atomy Si i X.

Wszystkie opisane czynniki mają decydujący wpływ na prawidłowy przebieg reakcji zachodzących podczas chemicznej syntezy RNA. Umożliwiają przede wszystkim zrozumienie mechanizmów tych reakcji, szczególnie przy wprowadzaniu i usuwaniu siliłowych grup ochronnych.

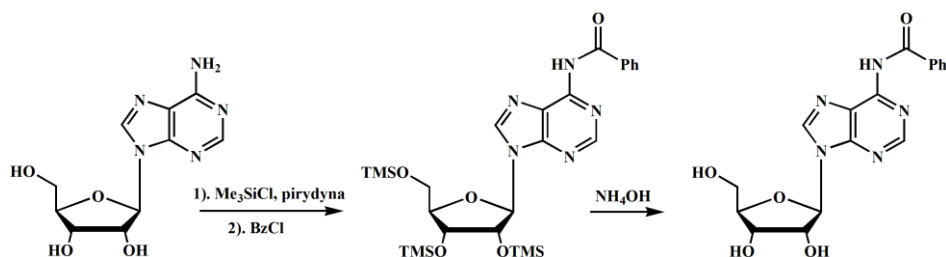
### 5.1.3. Właściwości monofunkcyjnych siliłowych grup ochronnych i ich zastosowanie w chemii nukleozydów

Monofunkcyjne grupy krzemoorganiczne są używane do otrzymywania syntetycznych oligorybonukleotydów, które okazały się cennymi środkami nowoczesnej biologii molekularnej [71]. Znalazły zastosowanie w procesach katalitycznych (rybozomy) [72], specyficznym wiązaniu białek (aptamery) [73] i kontrolowaniu ekspresji genów (ryboprzełączniki, ang. “riboswitches”) [74]. Nieefektywne wytwarzanie monomerów i odpowiadających im oligorybonukleotydów utrudniało rozwój nowych technologii wykorzystujących RNA. Działanie takie było spowodowane brakiem odpowiednich grup ochronnych, których celem było zabezpieczenie centrów aktywnych, nie biorących udziału w danym etapie syntezy.

W miarę upływu czasu udoskonalano proces otrzymywania jednostek rybonukleotydowych. Ogromny sukces został osiągnięty poprzez wprowadzenie do chemii nukleozydów siliłowych grup ochronnych.

Chemiczna synteza RNA składa się z kilku etapów. Pierwszym etapem jest zabezpieczenie pozycji egzoaminowej w nukleozasadzie. Ochrona grupy aminowej jest jednym z ważniejszych etapów w syntezie oligorybonukleotydów. Przeprowadzenie tego procesu nie jest możliwe, bez uprzedniego zabezpieczenia grup funkcyjnych rybozy.

Początkowo do ochrony tej grupy wykorzystywano strategię opracowaną przez Khoranę i współpracowników. Opierała się ona na pełnym acylowaniu, a następnie deacylowaniu reszty cukrowej, w celu otrzymania pożądanego produktu [75,76]. Metoda ta była z powodzeniem wykorzystywana do 1982 roku, gdy reakcja została uproszczona przez Jones’a i jego współpracowników [77]. Zastosowali oni siliłową grupę ochronną TMS do zabezpieczenia grup hydroksylowych rybozy. Etap ten, stał się etapem wstępnym przed blokowaniem nukleozasad, stąd też pojawiło się pojęcie „transient protection”, czyli ochrony przejściowej. TMS okazał się w tym przypadku idealną grupą. Reakcje zachodziły ilościowo i selektywnie. Był stabilny podczas reakcji N-blokowania w warunkach bezwodnej pirydyny. W obecności wodnego roztworu wodorotlenku amonu szybko hydrolizował, co umożliwiało jego usunięcie w łatwy i skuteczny sposób (Schemat 14) [48].

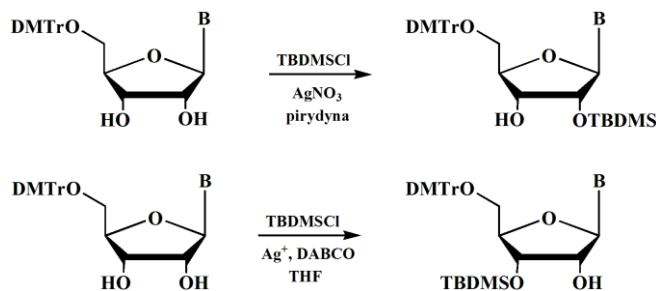


**Schemat 14.** Selektywne benzoilowanie adeniny.

TMS ze względu na ciekawe właściwości jest również powszechnie stosowany do kontrolowania stereochemii reakcji chemicznych. Grupa ta nie jest rozbudowana przestrzennie i dlatego nie powoduje dużych zmian w strukturze związku [78]. Jej użycie znacząco zmienia reaktywność chemiczną związku [79,80], właściwości fizyczne [81], a także ułatwia charakterystykę spektroskopową analizowanych związków [82].

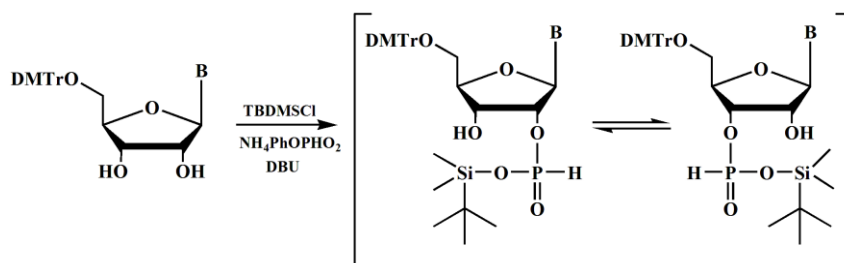
Po zabezpieczeniu grupy aminowej w nukleozasady, kolejne etapy chemicznej syntezy RNA skoncentrowane są na reakcjach przeprowadzanych w pierścieniu rybozy. Rozróżnienie trzech grup hydroksylowych rybozy wymagało zastosowania różnych grup ochronnych. Grupy ochronne dla funkcji 5' i 3' hydroksylowych zostały wcześniej opracowane dla syntezy DNA. Największym wyzwaniem stała się ochrona funkcji 2' hydroksylowej. Cel ten został osiągnięty poprzez zastosowanie siliowych grup ochronnych takich jak: tert-butyldimetylosililowej (TBDMS) i triizopropylsiliłoksymetylowej (TOM).

TBDMS po raz pierwszy został zastosowany w syntezie oligorybonukleotydów przez Ogilvie [83]. Opracował on procedury do selektywnego tworzenia siliowych 2',5'- i 3',5'-rybonukleozydów. Procedury te umożliwiały selektywne blokowanie pozycji 2'- albo 3'- w 5'-O-dimetoksytrytylowanych rybonukleozydach. W przypadku reakcji w pozycji 2' większą selektywność otrzymywano stosując katalizatory, jak: jony azotanowe lub jony kwasu nadchlorowego. Połączenie jonów srebra z DABCO lub z N-tlenkiem 4-nitropyridyny prowadziły do wytworzenia związków z chronioną pozycją 3' (Schemat 15) [84].



**Schemat 15.** Selektywne reakcje ochrony funkcji 2' - i 3' - hydroksylowych.

Ogilvie wraz z Entwistle dodatkowo wykazali, że grupa TBDMS może migrować pomiędzy pozycjami 2',3'-hydroksylowymi w rybonukleozydach. Proces migracji zachodzi szybko w uwodnionych rozpuszczalnikach (N,N-dimetyloformamid, pirydyna). Zauważyli również fakt, że w pochodnych urydyny i adenozyne migracja zachodzi łatwiej niż w pochodnych cytydyny i guanozyne [47]. Z procesem migracji TBDMS w syntezie RNA mamy do czynienia w momencie wytwarzania wiązania internukleotydowego [28,85]. Powstawanie niepożądanego 3'-O-izomeru w procesie migracji można zahamować stosując określone warunki reakcji. Zastosowanie bezwodnych rozpuszczalników i zasadowego, nukleofilowego reagenta uniemożliwia przemieszczanie się TBDMS z pozycji 2' do 3' (Schemat 16) [86].



**Schemat 16.** Izomeryzacja TBDMS.

Wykorzystanie grupy tert-butyldimetylosililowej w połączeniu z metodą amidofosforynową do syntezy oligorybonukleotydów, przyczyniło się do otrzymania 77 nukleotydowych fragmentów RNA, wykazujących interesujące właściwości biologiczne [87]. Oligorybonukleotydy z TBDMS w pozycji 2' znalazły zastosowanie w wielu dziedzinach nauki, zajmujących się przede wszystkim badaniem zjawiska interferencji RNA (iRNA) [88,89].

Zastosowanie TBDMS do ochrony funkcji 2' hydroksylowej spełnia wiele wymagań przypisywanych odpowiedniej grupie ochronnej. Zaletami TBDMS oprócz łatwego i skutecznego sposobu jej otrzymywania, a następnie wprowadzania do nukleozydów, są również metody jej łatwego i efektywnego odblokowywania z wykorzystaniem jonów fluorkowych.

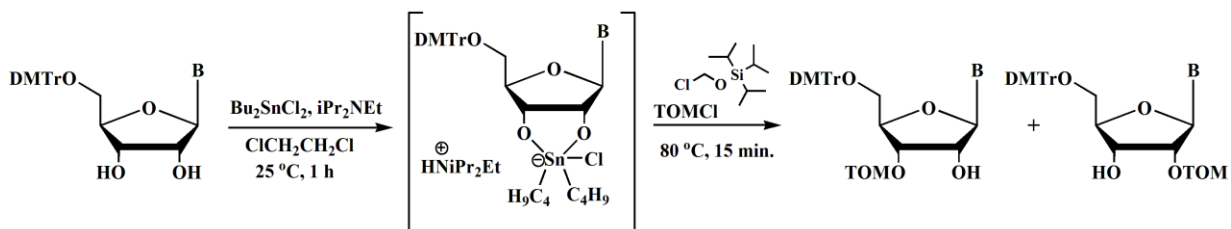
TBDMS jest ugrupowaniem wykazującym stabilność w warunkach usuwania kwasolabilnej grupy dimetoksytrytylowej z funkcji 5' i zasadolabilnej grupy z pozycji egzoaminowej. Jedynym elementem mającym niekorzystny wpływ na proces chemicznej syntezy RNA, to zdolność grupy do migracji pomiędzy grupami hydroksylowymi rybonukleozydów. Stanowi to główną przyczynę długiego czasu łączenia się jednostek

2'-O-TBDMS rybonukleotydowych i otrzymywanie fragmentów RNA z małą wydajnością [90].

Uzyskiwane wyniki były niesatysfakcjonujące, dlatego zastosowano inne pochodne sililowe do ochrony funkcji 2'-hydroksylowej. Przykładem jednej z takich grup jest ugrupowanie triizopropyllosililoksymetylowe (TOM).

Grupa TOM ze względu na budowę przestrzenną i obecność wiązania acetalowego jest podobnie jak TBDMS stabilna podczas usuwania DMTr (silne warunki kwasowe) i odblokowywania nukleozasad (silne warunki zasadowe). Czynniki te powodują, że grupa ta może być efektywnie wykorzystywana do ochrony pozycji 2' rybozy, w chemicznej syntezie RNA.

TOM jest wprowadzana do rybonukleozydów poprzez tworzenie pochodnych dibutylocynowych (dibutylostannylenowych). Reakcja ta prowadzona jest w warunkach zasadowych  $\text{Bu}_2\text{SnCl}_2/\text{iPr}_2\text{NEt}$  w dichloroetanie przez 1 h w 25 °C. Powstałe produkty pośrednie traktowano reagentem TOMCl, w wyniku którego otrzymywano mieszaninę izomerów 2'- i 3'-O-podstawionych rybonukleozydów. W przewadze jednakże zawsze powstaje 2'-O-izomer (Schemat 17) [90].



**Schemat 17.** Wprowadzanie grupy TOM do nukleozydów.

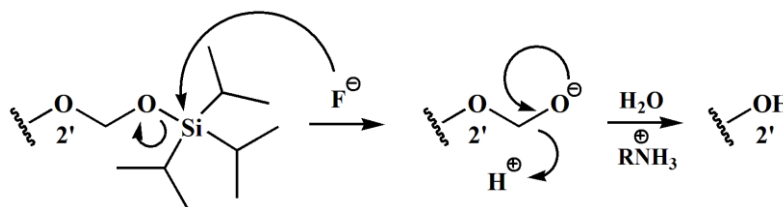
Grupa ochronna TOM charakteryzuje się lepszymi właściwościami w porównaniu do TBDMS. Mniejsza struktura przestrzenna TOM, stabilność w szerokim zakresie warunków reakcyjnych, brak zdolności do migracji pomiędzy grupami hydroksylowymi, dobre wydajności i krótki czas syntezy, pozwalają na przygotowanie stosunkowo długich sekwencji RNA [13].

Zastosowanie grupy krzemoorganicznej TOM jako grupy ochronnej w syntezie oligorybonukleotydów, spowodowało otrzymywanie szeregu modyfikowanych sekwencji RNA, takich jak: tRNA, rybozomy czy aptamery, które składają się z 60-80 jednostek nukleotydowych [90].

Cechą charakterystyczną grup TBDMS i TOM jak przystało na ugrupowania krzemoorganiczne, jest sposób ich usuwania za pomocą jonów fluorkowych. Najczęściej wykorzystywane związki fluorkowe to fluorek tetra-*n*-butyloamoniowy w THF, trihydrofluorek trietyloaminy lub fluorowodorek pirydyny. Poszczególne silylowe grupy ochronne, mogą być także usuwane w zależności od zastosowanych zasadowych bądź kwasowych warunków reakcji.

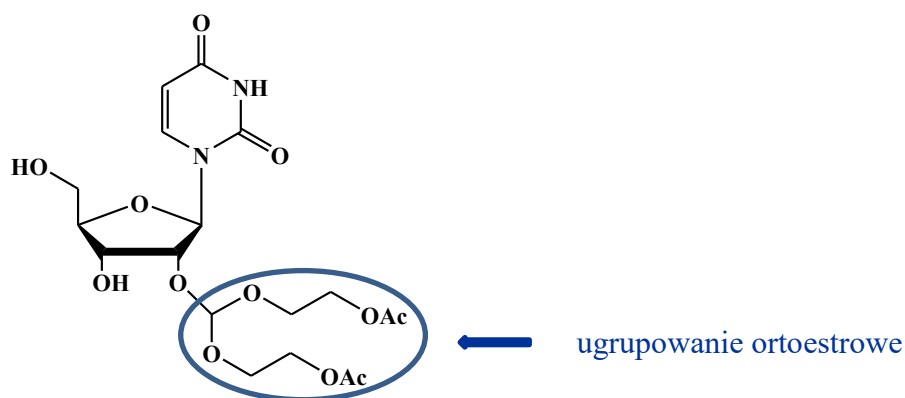
Ugrupowanie TBDMS wykazuje brak stabilności w łagodnych warunkach kwasowych jak AcOH/H<sub>2</sub>O/THF, 3:1:1 lub BF<sub>3</sub> Et<sub>2</sub>O/CHCl<sub>3</sub>, dlatego też w ich obecności może zostać usunięte [91]. W roztworach wodnych i w warunkach zasadowych z kolei wykazuje względną stabilność [35,92].

Mechanizm usuwania grupy TBDMS pod wpływem jonów fluorkowych trochę różni się od mechanizmu usuwania TOM, ze względu na inną strukturę tych ugrupowań. Proces ten polega na ataku nukleofilowym anionu fluorkowego na atom krzemu. Następuje oderwanie ugrupowania triizopropylsilylowego z pozostawieniem hemiacetalu formaldehydu w pozycji 2'-OH. Nietrwałość tego ugrupowania jest wykorzystywana podczas ekstrakcji mieszaniny poreakcyjnej, w wyniku której następuje jego hydroliza i odtworzenie grupy -OH (Schemat 18) [90].



**Schemat. 18.** Mechanizm usuwania TOM.

Grupa ochronna TOM, pomimo właściwości charakterystycznych dla niej, nie spełniła oczekiwań chemików syntetyków. Zainteresowanie chemiczną syntezą RNA wzrastało z roku na rok. Wynikało to z przeprowadzanych badań, które ujawniały coraz to nowsze funkcje biologiczne RNA. Większość podejść syntetycznych opierała się na wyborze odpowiedniej grupy ochronnej pozycji 2', która byłaby kompatybilna z grupą dimetoksytrytylową ochraniającą pozycje 5'. Bardzo szybko uległo to zmianie, gdy zostały wprowadzone do chemii nukleozydów ugrupowania ortoestrowe (Schemat 19). Nie wykazywały one stabilności podczas usuwania DMTr w łagodnych warunkach kwasowych, co było wcześniej wymagane.



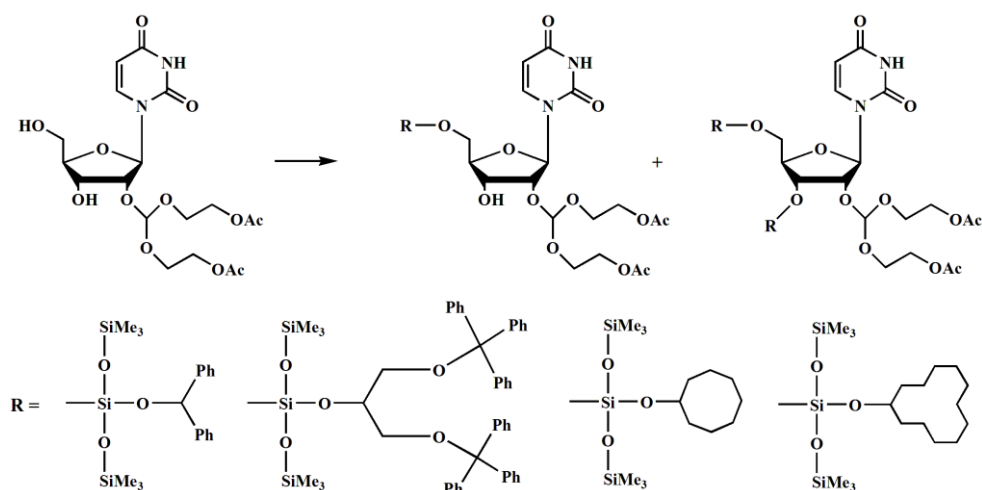
**Schemat 19.** Grupa bis-(2-acetoksyetoksy)metylowa (ACE) w pozycji 2'-urydyny.

Interesujące właściwości grup ortoestrowych przyczyniły się do zmiany kierunku zainteresowań. Nastąpił intensywny wzrost poszukiwań grup ochronnych dla funkcji 5'-hydroksylowej, które wykazywałyby z kolei kompatybilność względem grup zabezpieczających, obecnych w pozycji 2' rybozy. Najlepszym rozwiązaniem problemu ortogonalności okazało się wprowadzenie przez Scaringe'a, pochodnych sililowych o dużej zawadzie sterycznej typu bis(trimetylosililoksy)alkoksylililowych. Pochodne te różniły się między sobą obecnością jednego podstawnika (Rozdział II.5.1.1., Schemat 12) [51]. Zawada steryczna tych grup sililowych umożliwia to, że preferencyjnie reagują one z pierwszorzędową grupą hydroksylową.  $\text{SiCl}_4$  reaguje także z 3'-OH, ale powolne dodawanie reagentu i prowadzenie reakcji w niskiej temperaturze, zwiększają selektywność i wydajność wprowadzenia grupy w pozycję 5' [62].

Wszystkie pochodne SIL są w analogiczny sposób wprowadzane do rybonukleozydów.

Grupa 5'-hydroksylowa, 2'-O-ACE chronionego rybonukleozydu zostaje zablokowana w reakcji z chlorkiem bis(trimetylosililoksy)alkoksylililowym w obecności zasady (diizopropylaminy, imidazolu), w rozpuszczalniku ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , THF) i w temperaturze 0 °C. W reakcji tej oprócz 5'-O-SIL-2'-O-ACE rybonukleozydu otrzymujemy także niewielką ilość jego 3'-O-izomeru. Izomery te bardzo trudno rozdzielić podczas oczyszczania.

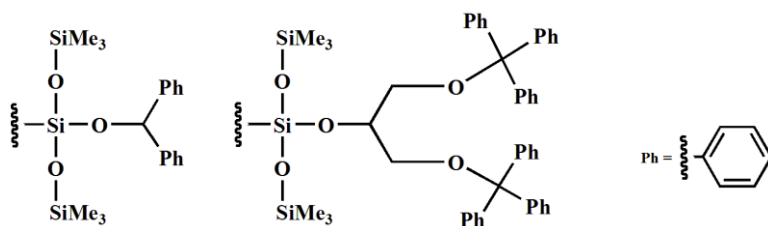
Użycie odpowiedniego nadmiaru reagenta krzemooorganicznego umożliwia rozdzielenie powstałych izomerów. Zapewnia to nie tylko całkowite przereagowanie substratu, ale także przekształcenie powstałego produktu ubocznego 3'-O-SIL-2'-O-ACE do 3',5'-O-di-SIL-2'-O-ACE rybonukleozydu, którego z kolei można w łatwy i efektywny sposób oddzielić od produktu głównego (Schemat 20) [60].



**Schemat 20.** Otrzymywanie 5'-O-SIL-2'-O-ACE urydyny.

Zastosowanie grup SIL do ochrony pozycji 5'-OH w 2'-O-ACE rybonukleozydach jest bardzo korzystne. Korzyść ta wynika z możliwości selektywnego usunięcia tej grupy za pomocą jonów fluorkowych, pozostawiając nienaruszone ugrupowanie 2'-O-ACE.

Wykorzystanie tego podejścia do chemicznej syntezy RNA, uniemożliwiało monitorowanie efektywności sprzęgania każdego syntetycznego cyklu. Było to uwarunkowane brakiem grup chromoforowych, takich jak DMTr. Niekorzyść ugrupowań SIL została jednak szybko i pomyślnie usunięta, poprzez przyłączenie do nich odpowiednich chromoforów (Schemat 21) [13,60,61,93].



**Schemat 21.** Przykłady chromoforowych ugrupowań SIL.

Wykorzystanie komponentów 5'-O-SIL-2'-O-ACE rybonukleotydów w chemicznej syntezie RNA pozwoliło otrzymać oligorybonukleotydy. Jest to jedyna metoda, dzięki której otrzymujemy długie dwuniciowe RNA (dsRNA) lub siRNA o długości powyżej 30 zasad. Zastosowanie tych komponentów umożliwia także syntezę oligomeru o długości do 80 rybonukleotydów niezależnie od sekwencji, czy drugorzędowej struktury [13].

Monofunkcyjne grupy ochronne przyczyniły się do rozwoju metod otrzymywania oligorybonukleotydów. Uzyskane efekty były zadawalające, ale nie na tyle, by zaprzestano

poszukiwań nowych, bardziej uniwersalnych grup ochronnych. W chemicznej syntezie RNA znalazły wówczas zastosowanie bifunkcyjne sililowe grupy ochronne.

## 5.2. Bifunkcyjne grupy sililowe

Bifunkcyjne sililowe grupy ochronne to ugrupowania, które prowadzą do zabezpieczenia jednocześnie dwóch grup funkcyjnych. W chemii rybonukleozydów odgrywają ogromną rolę. Gwarantują odpowiednie zablokowanie funkcji 3',5'-hydroksylowej pierścienia rybozy, z pozostawieniem niezablokowanej funkcji hydroksylowej w pozycji 2'.

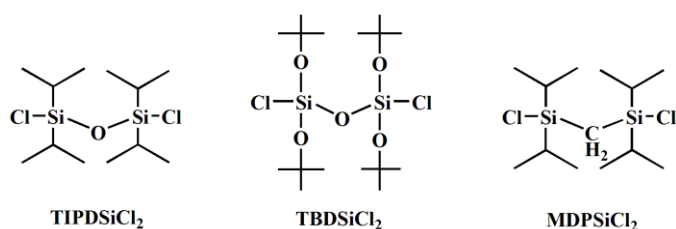
Ich zastosowanie jest źródłem otrzymywania różnych pochodnych i analogów rybonukleozydowych.

Bifunkcyjne grupy krzemoorganiczne możemy podzielić na ugrupowania, które posiadają w swej strukturze dwa, albo jeden atom krzemu.

### 5.2.1. Bifunkcyjne disililowe grupy ochronne

Do rodziny bifunkcyjnych disililowych grup ochronnych, które znalazły zastosowanie w chemii rybonukleozydów zaliczamy:

- 1,3-dichloro-1,1,3,3-tetraizopropylodisiloksan (TIPDSiCl<sub>2</sub>);
- 1,3-dichloro-1,1,3,3-tetra-tert-butoksydisiloksan (TBDSiCl<sub>2</sub>);
- metyleno-bis(diizopropylchlorosilil) (MDPSiCl<sub>2</sub>) (Schemat 22).



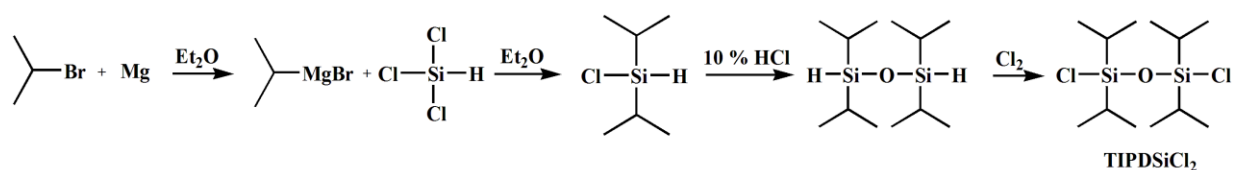
**Schemat 22.** Struktury bifunkcyjnych disililowych reagentów.

Dwa spośród trzech reagentów TIPDSiCl<sub>2</sub> i TBDSiCl<sub>2</sub> zostały zaprojektowane, a także opracowane przez Markiewicza i jego współpracowników, TIPDSiCl<sub>2</sub> w 1978 roku, TBDSiCl<sub>2</sub> w 1988 roku [94,95,96,97]. Trzeci reagent - MDPSiCl<sub>2</sub> został zsyntetyzowany i wprowadzony do chemii rybonukleozydów przez Sanghvi'ego 25 lat później [98].

### 5.2.1.1. Sposoby otrzymywania bifunkcyjnych krzemoorganicznych ugrupowań

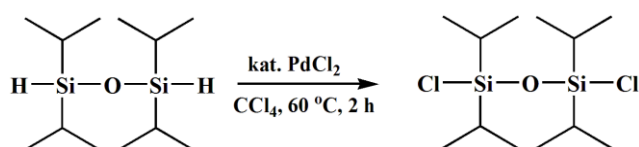
Z zespołu bifunkcyjnych grup siliowych, najdłużej i najpowszechniej stosowaną przy funkcjonalizacji rybonukleozydów jest grupa TIPDSiCl<sub>2</sub>.

TIPDSiCl<sub>2</sub> jest otrzymywany w czteroetapowej syntezie, zaczynając od reakcji Grignarda, w której to powstaje związek metaloorganiczny. Ten z kolei ulega reakcji podstawienia, kondensacji i chlorowania (Schemat 23) [94,95,96].



**Schemat 23.** Etapy otrzymywania TIPDSiCl<sub>2</sub>.

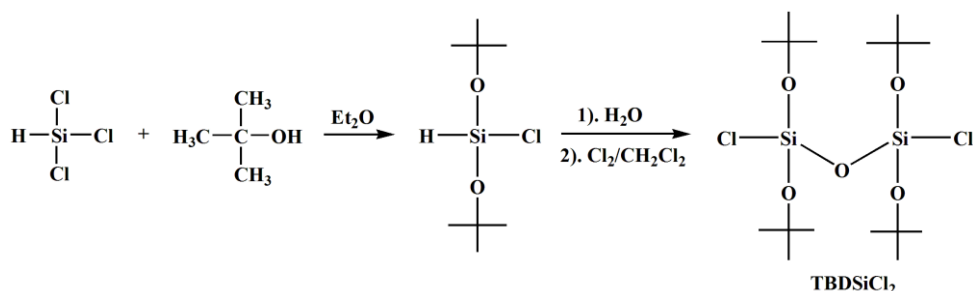
Koszt związany z wytwarzaniem TIPDSiCl<sub>2</sub> powyższą metodą jest dość wysoki, jednakże wykorzystując chlorek palladu(II) jako katalizator, można go otrzymać tańszym sposobem. Metoda ta opiera się na reakcji odpowiedniego wodorku siliowego z czterochlorkiem węgla w obecności katalizatora i w temperaturze 60 °C (Schemat 24).



**Schemat 24.** Sposób otrzymywania TIPDSiCl<sub>2</sub> w obecności katalizatora.

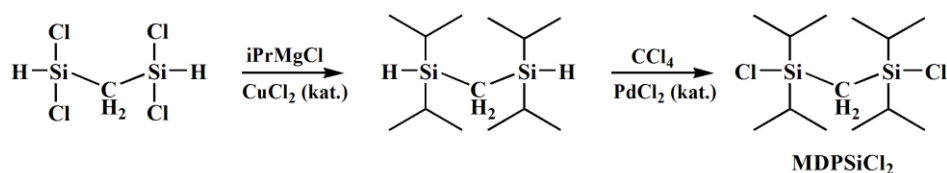
Korzystnymi właściwościami tego sposobu jest brak rozpuszczalnika, zastosowanie taniego źródła chloru - CCl<sub>4</sub>, wodorku krzemoorganicznego, gdzie wodorki siliowe są o wiele tańsze niż ich pochodne halogenowe, a także łagodnych warunków reakcji [99].

Innym przykładem reagenta do wprowadzenia bifunkcyjnej grupy siliowej jest 1,3-dichloro-1,1,3,3-tetra-tert-butoksydisiloksan (TBDSiCl<sub>2</sub>). Otrzymuje się go w podobny sposób co TIPDSiCl<sub>2</sub>. Synteza składa się z trzech etapów. Pierwszy etap obejmuje reakcję trichlorosilanu z alkoholem tert-butylovym. Następnie po hydrolizie chlorosilanu, prowadzi się kondensację do diwodorodisiloksanu, który po chlorowaniu daje TBDSiCl<sub>2</sub> (Schemat 25) [97].



**Schemat 25.** Otrzymywanie TBDSiCl<sub>2</sub>.

Kolejną pochodną TIPDSiCl<sub>2</sub> jest metyleno-bis(diizopropylchlorosilil) (MDPSiCl<sub>2</sub>). Synteza jego składa się z dwóch etapów, w których to wykorzystanie znalazły związki magnezoorganiczne i katalizatory. Handlowo dostępny metyleno-bis(dichlorowodorosilil) w wyniku reakcji z chlorkiem izopropylomagnezowym, w obecności chlorku miedzi(II) jako katalizatora, przekształcono w odpowiednią pochodną tetraalkilową disilanu. Ta z kolei poddana chlorowaniu z czterochlorkiem węgla w obecności katalizatora chlorku palladu(II) prowadzi do powstania MDPSiCl<sub>2</sub> (Schemat 26) [100].



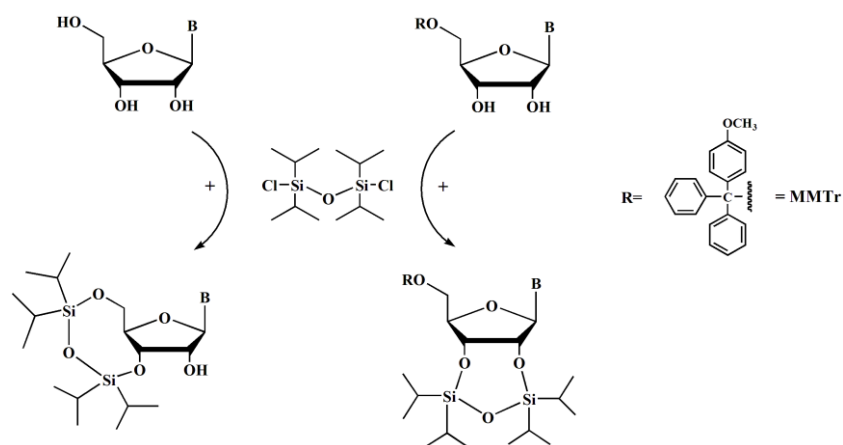
**Schemat 26.** Metoda wytwarzania MDPSiCl<sub>2</sub>.

Każda z powyżej przedstawionych grup ochronnych, ze względu na odmienne właściwości odgrywa istotną rolę w chemii nukleozydów, nukleotydów i kwasów nukleinowych.

### 5.2.1.2. Właściwości i reaktywność bifunkcyjnych disililowych grup ochronnych

Zważywszy na obecność w rybonukleozydach trzech grup hydroksylowych, bifunkcyjne krzemooorganiczne grupy ochronne mogą selektywnie zabezpieczać funkcje 3',5'-OH albo 2',3'-OH. Czynnikiem umożliwiającym takie działanie jest zastosowanie odpowiednich warunków reakcji. Wszystkie ugrupowania należące do tej grupy reagentów, selektywnie ochraniają pozycje 3',5'-O-rybonukleozydów. Utworzenie z kolei 2',3'-O-izomeru jest możliwe przez użycie do reakcji TIPDSiCl<sub>2</sub>, ale tylko wtedy, gdy funkcja 5'-OH jest wcześniej zabezpieczona przez pochodne trytylu (MMTr) (Schemat 27). TBDSiCl<sub>2</sub> nie

wykazuje właściwości tworzenia układu 2',3', a w przypadku MDPSiCl<sub>2</sub> brak jakichkolwiek danych na ten temat (Tabela 8).



**Schemat 27.** Reakcje TIPDSiCl<sub>2</sub> z rybonukleozydami.

**Tabela 8.** Warunki reakcji powstawania 3',5'- lub 2',3'-O-izomerów blokowanych rybonukleozydów.

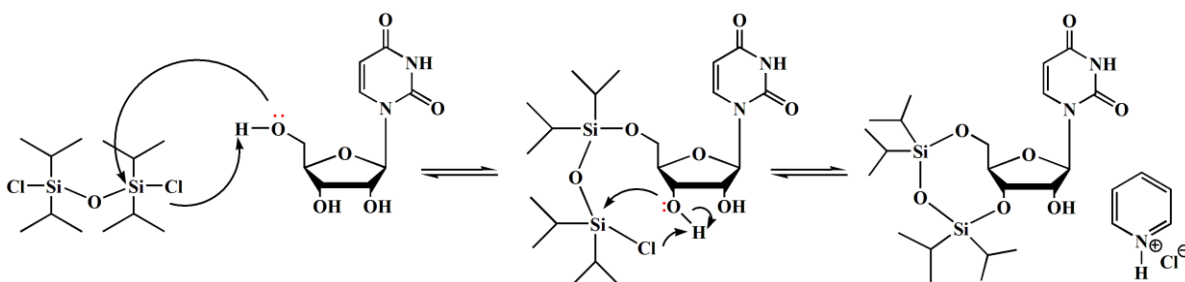
| Rodzaj układu   | TIPDSiCl <sub>2</sub> | TBDSiCl <sub>2</sub> (in situ) | MDPSiCl <sub>2</sub> |
|-----------------|-----------------------|--------------------------------|----------------------|
| 3',5'           | imidazol, DMF         | imidazol, DMF                  | imidazol, DMF        |
| 3',5'           | pirydyna              | pirydyna                       | -                    |
| 5'-O-MMTr-2',3' | imidazol, DMF         | -                              | -                    |

TIPDSiCl<sub>2</sub>, TBDSiCl<sub>2</sub>, MDPSiCl<sub>2</sub> różnią się między sobą strukturą. Związki te posiadają albo podstawniki izopropylowe albo tert-butoksylowe, a pomiędzy atomami krzemu mostek tlenowy lub metylenowy (Schemat 22). Budowa poszczególnych reagentów jest ważna, gdyż po części odpowiada za ich właściwości i reaktywność względem grup funkcyjnych, z którymi mają przereagować.

Zdolność odczynników sililowych do tworzenia 3',5'-O-blokowanych rybonukleozydów jest też uzależniona od obecności w nich trzech grup hydroksylowych, o różnej reaktywności. Najbardziej reaktywna jest pierwszorzędowa grupa OH w pozycji 5'. Grupy funkcyjne w pozycjach 2' i 3' są drugorzędowe, przy czym funkcja 2' jest nieco bardziej reaktywna niż 3' [28].

Badania prowadzone przez Allena i jego zespół dowiodły, że chlorek triizopropylsililowy 10000 razy szybciej reaguje z pierwszorzędowym alkoholem niż z drugorzędowym [101]. Wyniki tych badań przyczyniły się do wyjaśnienia mechanizmu reakcji wprowadzania łańcucha sililowego do rybonukleozydów. Reakcji z reagentem

sililowym w pierwszej kolejności ulega pierwszorzędowa grupa -OH usytuowana w pozycji 5'. Preferowana jest reakcja wewnątrzcząsteczkowa, dlatego drugi koniec łańcucha sililowego łatwo reaguje z bliżej znajdującą się drugorzędową pozycją 3'-hydroksylową, tworząc ośmioczłonowy pierścień. Reakcja z grupą 2'-hydroksylową jest wykluczona ze względów przestrzennych (Schemat 28).



**Schemat 28.** Mechanizm reakcji wprowadzania TIPDSiCl<sub>2</sub> do urydyny.

#### 5.2.1.3. Stabilność bifunkcyjnych disililowych grup ochronnych

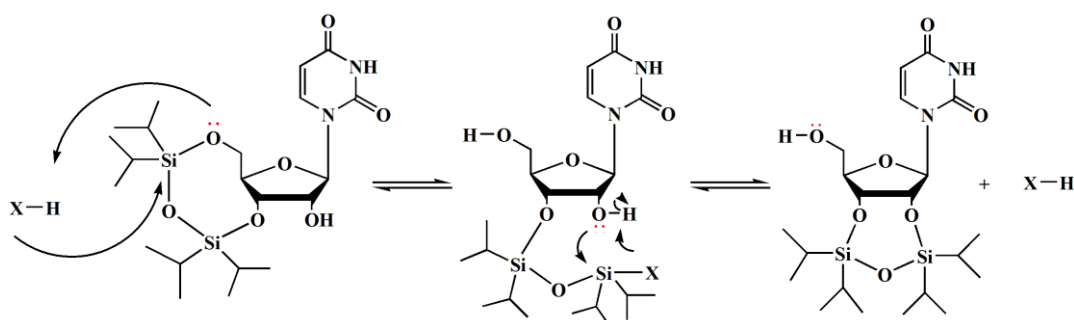
Struktura TIPDSi, TBDSi, MDPSi wpływa nie tylko na reaktywność poszczególnych grup, ale również na ich stabilność w różnych warunkach reakcyjnych i kompatybilność wobec innych grup funkcyjnych.

Stabilność TIPDSi jest różna, biorąc pod uwagę to jaki układ tworzy (3',5' czy 2',3') i to w jakim środowisku zachodzi reakcja.

Największą stabilność wykazują 3',5'-O-TIPDSi rybonukleozydy w następujących warunkach reakcji:

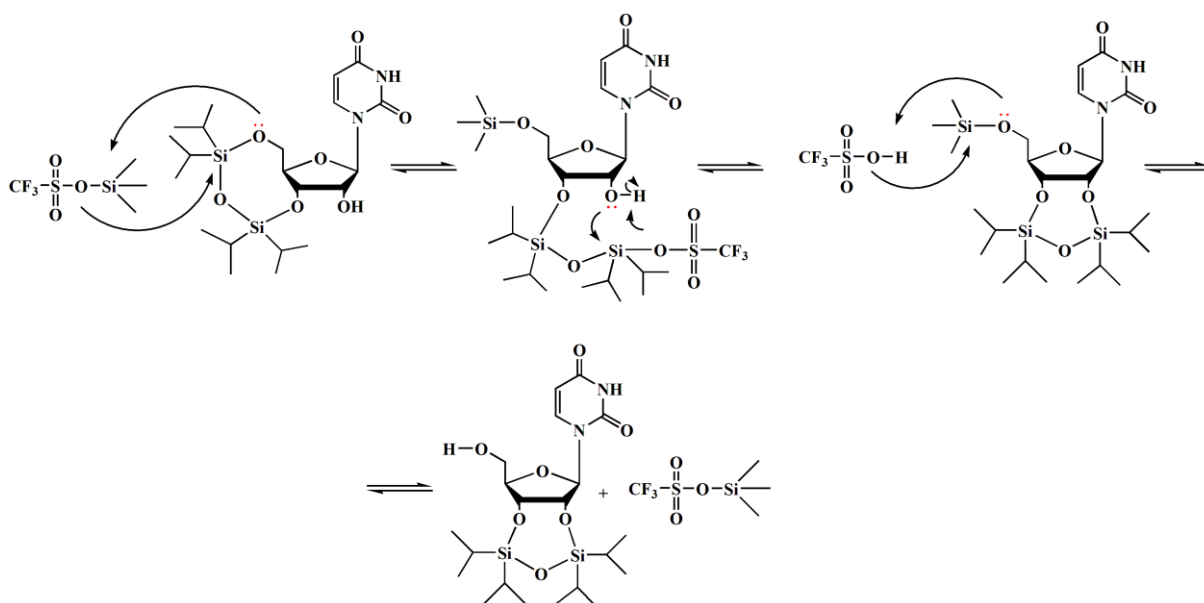
- woda, 0,3 M TsOH w dioksanie, 10 % F<sub>3</sub>CCOOH w CHCl<sub>3</sub>, 5 M NH<sub>3</sub> w mieszaninie dioksan-woda 4:1, i-BuNH<sub>2</sub>-MeOH 1:9, trzeciorzędowe aminy ((C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>N), pirydyna.

Trwałość tych układów jest nieco niższa podczas zastosowania bezwodnych kwasowych warunków reakcji, jak kwasu mezytylenosulfonowego lub chlorowodoru pirydyny. Następuje wówczas przekształcenie ośmioczłonowego pierścienia 3',5'-O-TIPDSi rybonukleozydu do 2',3'-O-TIPDSi rybonukleozydu, stanowiącego układ siedmioczłonowy (Schemat 29) [96,102,103]. Takie zachowanie wynika z tego, że pierścień siedmioczłonowy jest termodynamicznie bardziej stabilny niż ośmioczłonowy [104].



**Schemat 29.** Mechanizm izomeryzacji w bezwodnych warunkach kwasowych.

Mikhailov i wsp. wykazali, że trifluorometanosulfonian trimetylosililu jest również skutecznym promotorem procesu izomeryzacji, który przebiega w temperaturze 0 °C, z zastosowaniem 1,2-dichloroetanu jako rozpuszczalnika (Schemat 30) [105].

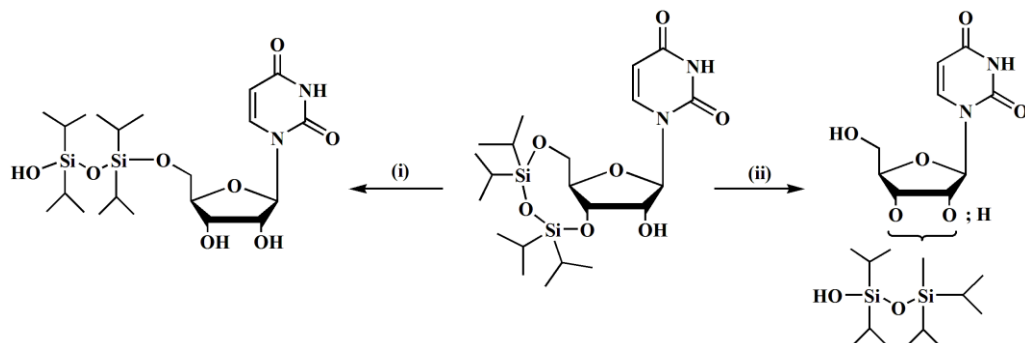


**Schemat 30.** Mechanizm izomeryzacji w obecności  $(\text{CH}_3)_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$ .

Z kolei umieszczenie układu 3',5'-O-TIPDSi rybonukleozydu w kwasowym bądź zasadowym środowisku reakcji - 0,2 M HCl/0,2 M NaOH w mieszaninie dioksan-woda 4:1, prowadzi do otrzymania związków częściowo zhydrolizowanych.

W wyniku hydrolizy kwasowej powstaje mieszanina produktów, z których każdy ma łańcuch sililowy w jednej z trzech pozycji 5'-, 3'- i 2'-, a stosunek ich wynosi odpowiednio 2:5:3. W tych warunkach został zaobserwowany również proces izomeryzacji do układu 2',3'-O-TIPDSi rybonukleozydu.

Hydroliza w warunkach zasadowych prowadzi natomiast do rozerwania wiązania eterowego pomiędzy atomem krzemu łańcucha siliłowego a atomem 3', pozostawiając nienaruszone wiązanie eterowe w pozycji 5' (Schemat 31) [94,95,96,106,107].



**Schemat 31.** Hydroliza 3',5'-O-(tetraizopropylodisiloksano-1,3-dylo)urydyny: (i) hydroliza zasadowa, (ii) hydroliza kwasowa.

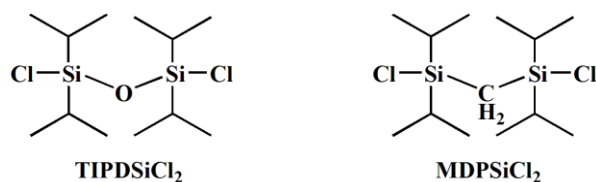
TBDSi w porównaniu do TIPDSi posiada podstawniki alkoksylowe zamiast alkilowych. Zwiększona zawada przestrzenna grupy ochronnej TBDSi jest czynnikiem zwiększającym jej odporność na hydrolizę kwasową i zasadową (Tabela 9) [97].

**Tabela 9.** Porównanie stabilności TBDSi i TIPDSi.

| Odczynnik | Hydroliza zasadowa [ $t_{1/2}$ ] | Hydroliza kwasowa [ $t_{1/2}$ ] |
|-----------|----------------------------------|---------------------------------|
| TIPDSi    | 8 min                            | 2,5 h                           |
| TBDSi     | 3,5 h                            | > 24 h                          |

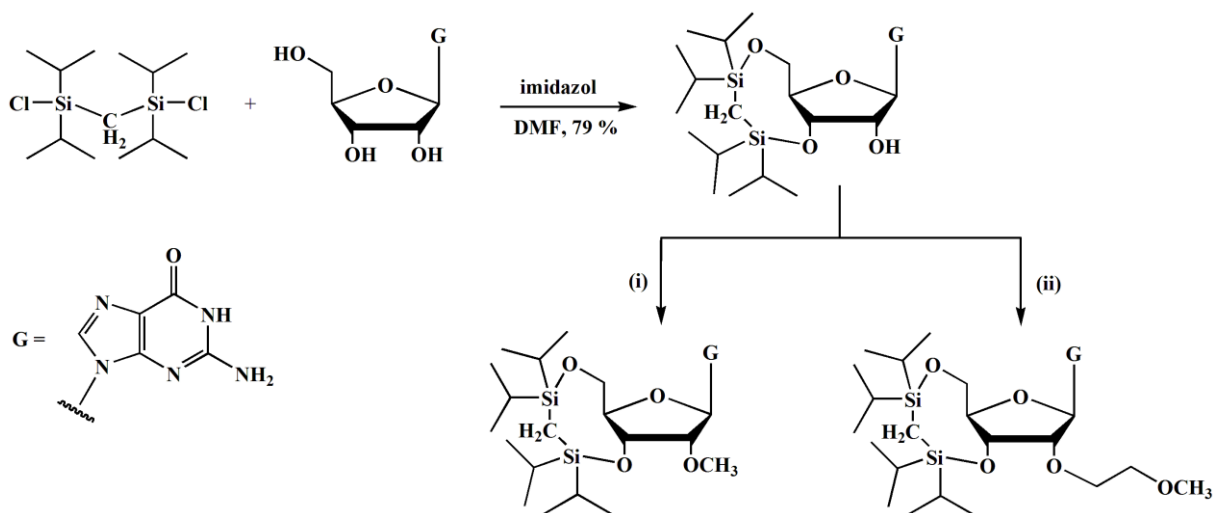
Znakomita stabilność TBDSi podczas hydrolizy w warunkach kwasowych powoduje, że grupa ta w przeciwieństwie do TIPDSi nie ulega reakcjom przekształcenia do 2',3'-O-izomeru [97].

Natomiast ugrupowanie MDPSi wyróżnia się spośród bifunkcyjnych grup disililowych tym, że pomiędzy dwoma atomami krzemu posiada ugrupowanie metylenowe  $-CH_2-$  zamiast atomu tlenu (Schemat 32) [100].



**Schemat 32.** Struktura TIPDSiCl<sub>2</sub> i MDPSiCl<sub>2</sub>.

Obecność mostka metylenowego powoduje, że MDPSi jest bardziej stabilna na hydrolizę w warunkach zasadowych niż jej analogi z mostkiem tlenowym. Zostało to potwierdzone licznymi reakcjami regioselektywnego alkirowania pozycji 2'-hydroksylowej rybozy, które wykonano z zastosowaniem zasad o różnej mocy (Schemat 33) [100,108].



**Schemat 33.** Reakcje alkirowania pochodnych guanozyny zabezpieczonej MDPSi: (i) NaHMDS,  $\text{CH}_3\text{Cl}$ , 83 %, (ii) NaHMDS,  $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Br}$ , 85 %.

Każda z bifunkcyjnych siliowych grup ochronnych może zostać łatwo i ilościowo usunięta w obecności jonów fluorkowych. Najczęściej wykorzystywanym odczynnikiem do tego celu, jak zostało to już wcześniej opisane, jest TBAF w THF (Rozdział II.5.1.3.). Czas w jakim następuje odblokowanie poszczególnych grup funkcyjnych zależy od struktury grupy siliowej i od miejsca, które jest przez nią chronione (Tabela 10).

**Tabela 10.** Stabilność grup siliowych w obecności jonów fluorkowych.

| Odczynnik    | TIPDSi                  | TBDSi                  | MDPSi        |
|--------------|-------------------------|------------------------|--------------|
| 1 M TBAF/THF | < 10 min,<br>temp. pok. | < 2 min,<br>temp. pok. | ~ 5 h, 35 °C |

Struktura bifunkcyjnych krzemoorganicznych związków ma zasadniczy wpływ na ich reaktywność i stabilność w różnych warunkach reakcji. Odmienne zachowanie się TIPDSi, TBDSi i MDPSi można próbować wyjaśnić, tak jak w przypadku monofunkcyjnych grup siliowych, odwołując się do energii poszczególnych wiązań i różnic w elektroujemności pomiędzy atomami znajdującymi się w otoczeniu atomu krzemu, a nim samym. Na podstawie

wartości zamieszczonych w Tabeli 6 i 7 (Rozdział II.5.1.2.), określono względną stabilność i reaktywność bifunkcyjnych ugrupowań. W ten sposób określono, że TIPDSiCl<sub>2</sub> jest bardziej reaktywnym bifunkcyjnym reagentem niż MDPSiCl<sub>2</sub>. Z kolei informacje o stabilności tych grup zostały zamieszczone w Tabeli 11.

**Tabela 11.** Stabilność grup ochronnych w zależności od warunków reakcji.

|               | Hydroliza kwasowa     | Hydroliza zasadowa    | Obecność jonów F <sup>-</sup> |
|---------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------------|
| <b>TIPDSi</b> | umiarkowanie stabilna | umiarkowanie stabilna | umiarkowanie stabilna         |
| <b>TBDSi</b>  | Stabilna              | stabilna              | niestabilna                   |
| <b>MDPSi</b>  | umiarkowanie stabilna | bardzo stabilna       | bardzo stabilna               |

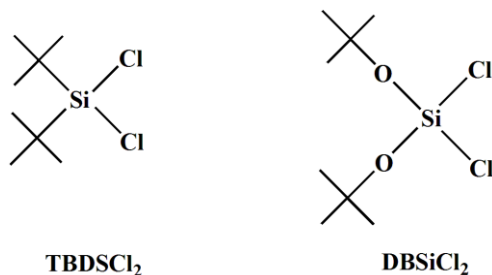
Wszystkie bifunkcyjne disililowe grupy ochronne znalazły stałe miejsce w preparatyce nukleozydów. Jednakże w zespole bifunkcyjnych ugrupowań obok związków disililowych, powszechnie wykorzystywane są także monosililowe grupy ochronne.

### 5.2.2. Bifunkcyjne monosililowe grupy ochronne

Przedstawicielami reagentów z jednym atomem krzemu są:

- dichloro-di-tert-butylosilan (TBDSCl<sub>2</sub>);
- dichloro-di-tert-butoksysilan (DBSiCl<sub>2</sub>).

Ugrupowania tej klasy związków różnią się między sobą naturą podstawników. W TBDSCl<sub>2</sub> występują dwie grupy alkilowe (tert-butyłowe), a w DBSiCl<sub>2</sub> dwie grupy alkoksylowe (tert-butoksyłowe) (Schemat 34).

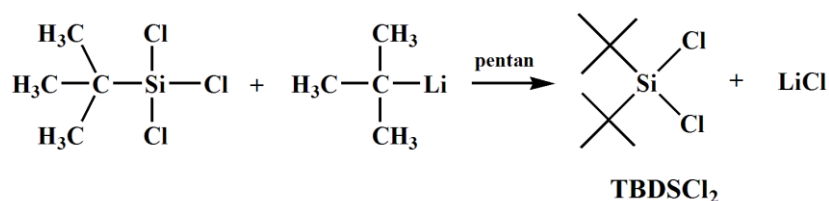


**Schemat 34.** Struktury bifunkcyjnych monosililowych grup ochronnych.

Niewielka zmiana obecna w strukturze odczynników monosililowych, wymusza wykorzystanie odmiennych metod ich wytwarzania.

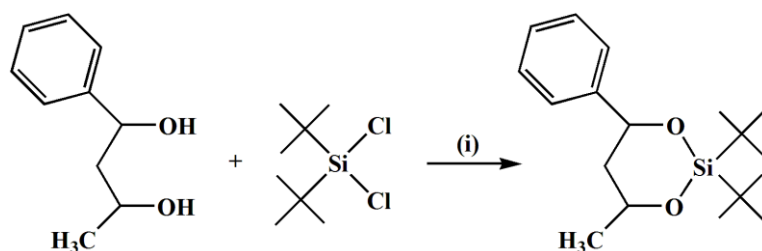
### 5.2.2.1. Sposoby wprowadzania i właściwości monosililowych grup ochronnych

Metoda otrzymywania  $\text{TBDSCl}_2$  została opracowana na podstawie procedury Tylera, Sommera i Whitmore'a. Polega ona na zmieszaniu tert-butylo-trichlorosilanu z tert-butylo-litem w pentanie (Schemat 35) [109].



**Schemat 35.** Metoda otrzymywania  $\text{TBDSCl}_2$ .

Zdolność do reagowania dichloro-di-tert-butylosilanu została po raz pierwszy sprawdzona wobec układów diolowych przez Trosta i Caldwell'a w 1981 roku. Wykazali oni, że  $\text{TBDSCl}_2$  nie reaguje z diolami w standardowych warunkach ( $\text{Et}_3\text{N}$  lub imidazol w DMF). Zastosowali wówczas nowe warunki reakcji, które przyczyniły się do otrzymania zabezpieczonego układu diolowego z wysoką wydajnością. Czynnikiem decydującym o efektywności tego procesu to katalizator 1-hydroksybenzotriazol, rozpuszczalnik acetonitryl lub dimetyloformamid, temperatura 65-95 °C (Tabela 12) (Schemat 36) [110].

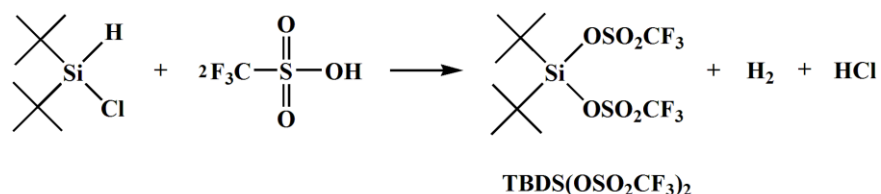


**Schemat 36.** Otrzymywanie chronionych układów diolowych: (i) warunki reakcji - 1, 2 lub 3 (Tabela 12).

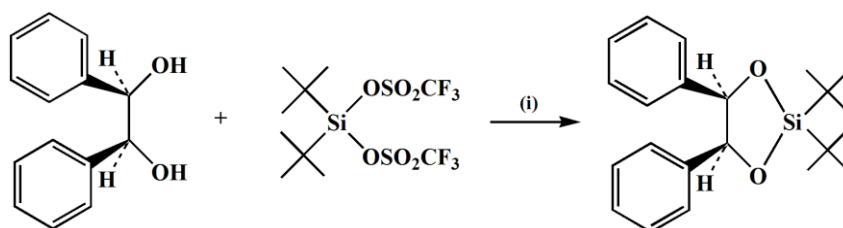
**Tabela 12.** Warunki reakcji układów diolowych z TBDS $\text{Cl}_2$ .

| Numer | Rozpuszczalnik     | Warunki reakcji                                                            | Wydajność [%] |
|-------|--------------------|----------------------------------------------------------------------------|---------------|
| 1     | DMF                | 5 ekw. imidazolu, 60 °C, 7 h                                               | 13            |
| 2     | CH <sub>3</sub> CN | 5 ekw. Et <sub>3</sub> N, 0,1 ekw.<br>1-hydroksybenzotriazolu, 60 °C, 40 h | 65            |
| 3     | CH <sub>3</sub> CN | 3 ekw. Et <sub>3</sub> N, 0,2 ekw.<br>1-hydroksybenzotriazolu, 95 °C, 5 h  | 85            |

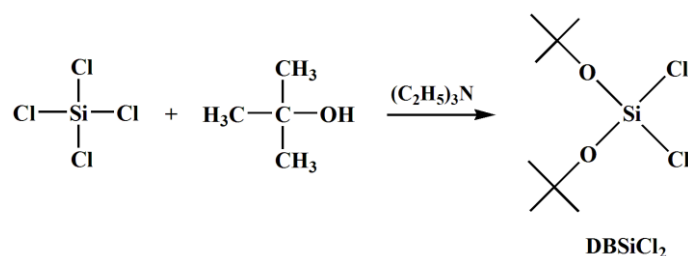
Corey i Hopkins z kolei wprowadzili pochodną triflanową TBDS, która wykazała większą reaktywność niż TBDS $\text{Cl}_2$ . Otrzymano ją w reakcji di-tert-butylochlorosilanu z kwasem trifluorometanosulfonowym (Schemat 37) [111].

**Schemat 37.** Reakcja otrzymywania TBDS(OSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

Tworzenie cyklicznych układów diolowych z pochodną triflanową prowadzono w łagodniejszych warunkach niż w przypadku pochodnej chlorkowej. Rozpuszczalnik stanowił deuterowany chloroform, katalizatorem była 2,6-lutydyna, a temperatura reakcji wynosiła nie więcej niż 25 °C. Proces syntezy był przyjemniejszy, a otrzymane rezultaty zadawalające, ze względu na osiągnięcie wysokich wydajności produktów (Schemat 38) [111].

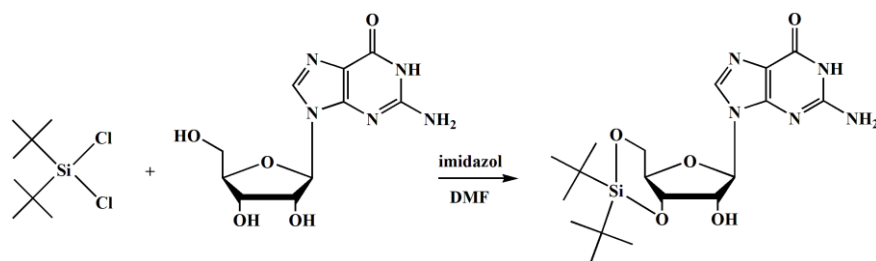
**Schemat 38.** Reakcja układu diolowego z pochodną triflanową TBDS: (i) 2,6-lutydyna (3 ekw.), temp. 0-25 °C, 83 %.

Drugim z bifunkcyjnych związków monosililowych jest DBSiCl<sub>2</sub>. Sposób jego wytwarzania polega na reakcji tetrachlorosilanu z alkoholem tert-butylovym w obecności aminy (Schemat 39) [112].



**Schemat 39.** Reakcja otrzymywania DBSiCl<sub>2</sub>.

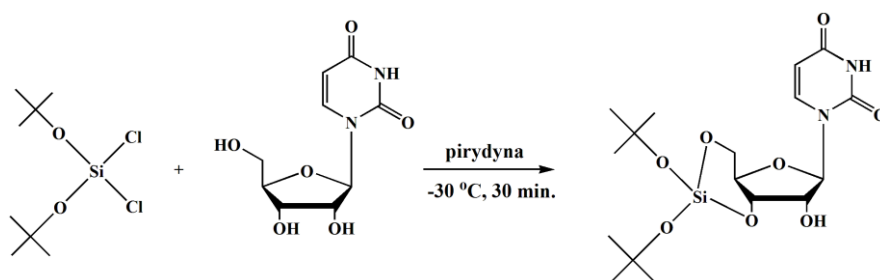
TBDSCl<sub>2</sub> i DBSiCl<sub>2</sub> są wykorzystywane w chemii nukleozydów do zabezpieczania jednocześnie dwóch grup hydroksylowych. Po raz pierwszy TBDSCl<sub>2</sub> został wprowadzony do chemii rybonukleozydów w 1985 roku, przez Furusawę i Katsurę (Schemat 40) [113]. W wyniku tej syntezy otrzymano cykliczny analog nukleozydowy, w postaci sześcioczłonowego układu pierścieniowego 3',5'-O-TBDS rybonukleozydu.



**Schemat 40.** Reakcja TBDSCl<sub>2</sub> z guanozyną.

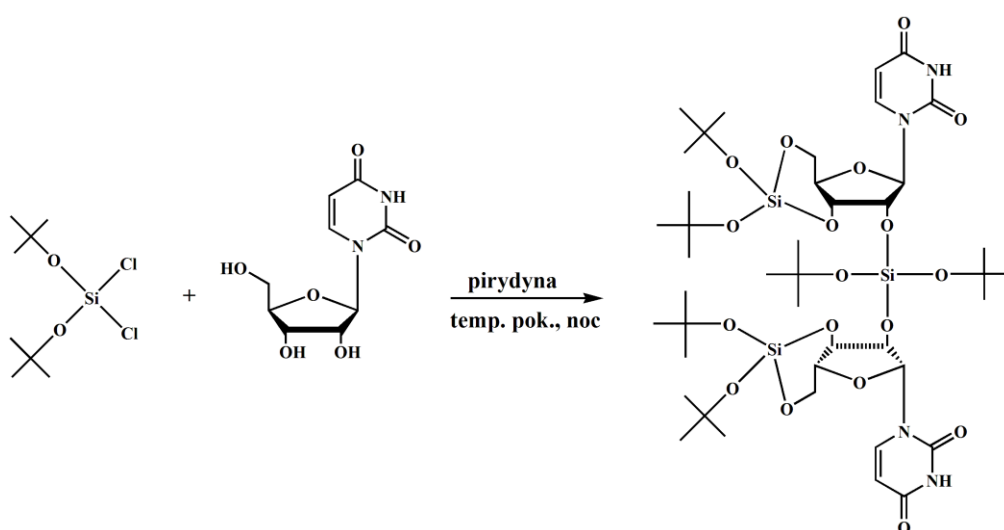
Inną dostępną metodą umożliwiającą utworzenie sześcioczłonowego pierścienia pomiędzy TBDS a nukleozydem jest wykorzystanie w środowisku reakcji azotanu srebra. Jest on czynnikiem katalizującym ten proces i w ten sposób znacznie skracającym jego czas trwania. Produkty uzyskiwano z 90 % wydajnością [114].

Z kolei DBSiCl<sub>2</sub> wprowadzono do chemii nukleozydów 3 lata później. Należy on do bifunkcyjnych ugrupowań, których reaktywność wobec związków wielowodorotlenowych została przebadana przez zespół Markiewicza. Cechą wyróżniającą DBSi spośród wszystkich bifunkcyjnych grup ochronnych jest to, że w zależności od ilości użytego do reakcji reagenta sililowego, jest otrzymywany inny produkt. Zastosowanie równomolowych ilości substratów prowadzi do 3',5'-O-DBSi rybonukleozydu (Schemat 41).



**Schemat 41.** Reakcja z zastosowaniem równomolowych ilości substratów.

Natomiast wykorzystanie dwukrotnego nadmiaru DBSiCl<sub>2</sub> w stosunku do rybonukleozydu prowadzi do uzyskania bis-podstawionych związków (Schemat 42).



**Schemat 42.** Zastosowanie nadmiaru sililenu względem urydyny [115].

TBDSCl<sub>2</sub> i DBSiCl<sub>2</sub> nie wykazują zdolności bezpośredniego reagowania z drugorzędowymi grupami hydroksylowymi rybonukleozydów, prowadząc tym samym do powstawania układów rybonukleozydowych 2',3'-O-TBDS lub 2',3'-O-DBSi.

Dichloro-di-tert-butoksylan w przeciwieństwie do dichloro-di-tert-butylosilanu nie jest popularnym odczynnikiem, ze względu na otrzymywane niskie wydajności reakcji.

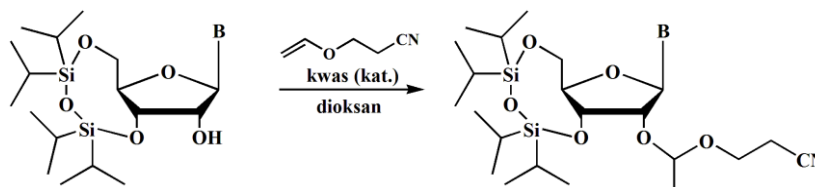
Ugrupowania monosililowe cechuje odmienna reaktywność i stabilność w różnych warunkach reakcji. Jest to związane z tym, że jeden posiada podstawniki alkilowe przy atomie krzemu, a drugi alkoksylowe. Grupy te, jak wszystkie inne grupy krzemoorganiczne są usuwane za pomocą jonów fluorkowych. Szybko ulegają hydrolizie kwasowej, natomiast w przypadku hydrolizy zasadowej TBDS wykazuje większą stabilność niż DBSi [115].

### 5.2.2.2. Zastosowanie bifunkcyjnych grup ochronnych w chemii nukleozydów

Bifunkcyjne grupy ochronne zarówno disililowe, jak i monosililowe są bardzo użytecznymi elementami w chemicznej syntezie podczas selektywnego zabezpieczania i odbezpieczania grup hydroksylowych.

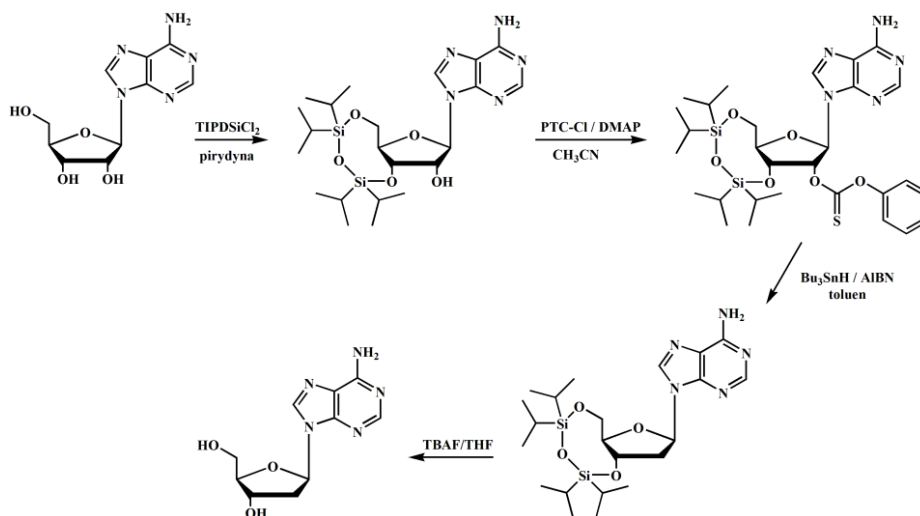
Właściwości jakimi charakteryzują się poszczególne grupy, decydują o możliwościach ich zastosowania. Najczęściej wykorzystywanym reagentem jest „odczynnik Markiewicza” - TIPDSiCl<sub>2</sub>. Jest on używany w reakcjach wprowadzania modyfikacji w pozycję 2'-hydroksylową, w których są wykorzystywane następujące grupy ochronne:

- tetrahydropiranylowa, metoksytetrahydropiranylowa, arylosulfonylowa, acylowa, trytylowa, acyloksymetylowa, 1-(2-cyanoetoksy)etylowa i inne (Schemat 43) [116-120].



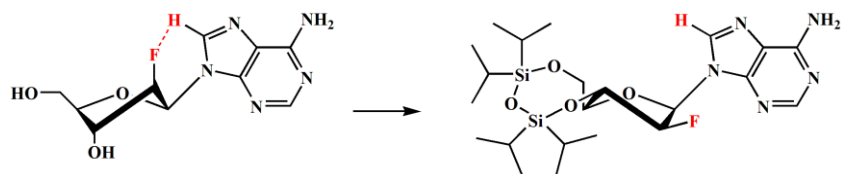
**Schemat 43.** Nukleozyd blokowany TIPDSi i grupą 1-(2-cyanoetoksy)etylową.

TIPDSiCl<sub>2</sub> znalazł również zastosowanie w reakcjach deoksygenacji (Schemat 44) [121,122], a ponadto w reakcjach utleniania [123], glikozylacji [124], a także w przygotowaniu 2'-amino-2'-deoksynukleozydów [125].



**Schemat 44.** Redukcja rybonukleozydów do deoksyrybonukleozydów [122].

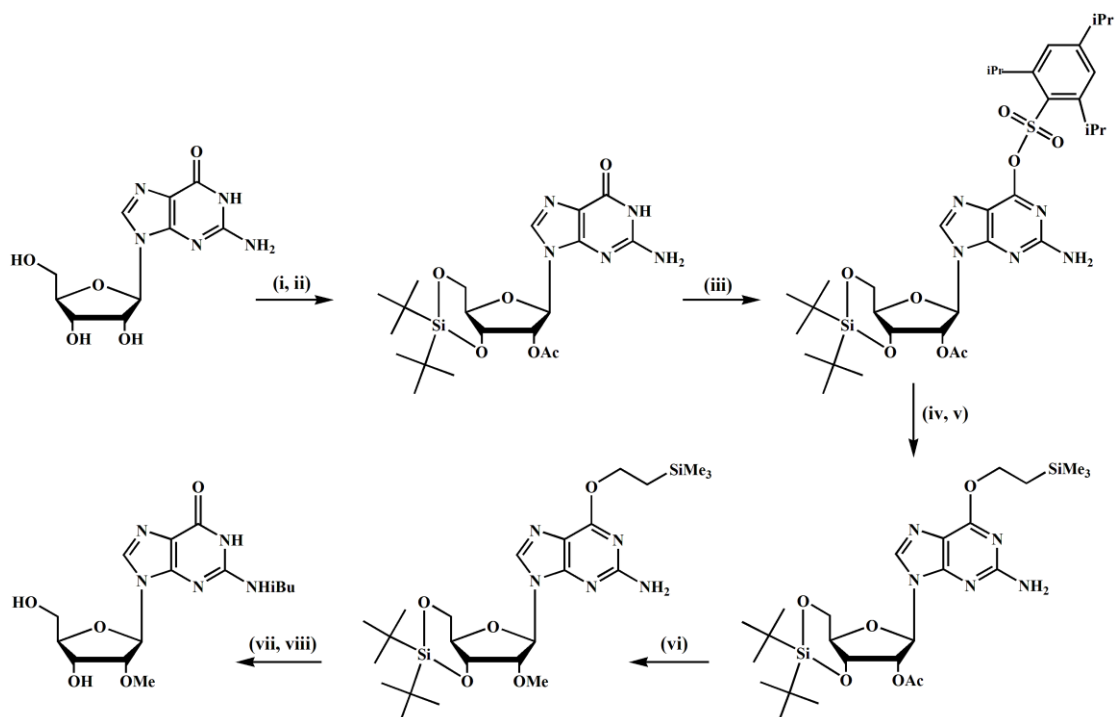
Damha wykorzystał TIPDSi do zmiany „zamrożenia” konformacji pierścienia cukrowego w 2'-F-araA, w celu potwierdzenia siły oddziaływań pomiędzy atomem fluoru w pozycji 2', a atomem wodoru pozycji H-8 adenozy (Schemat 45) [126].



**Schemat 45.** Porównanie struktur 2'-F-araA przed i po silylowaniu.

Ugrupowanie to ma jeszcze wiele innych ciekawych zastosowań, jednakże w przypadku reakcji wykonywanych w silnych warunkach zasadowych (alkilowania), TIPDSi został zastąpiony bardziej stabilnym ugrupowaniem MDPSi, co zostało przedstawione na Schemacie 33.

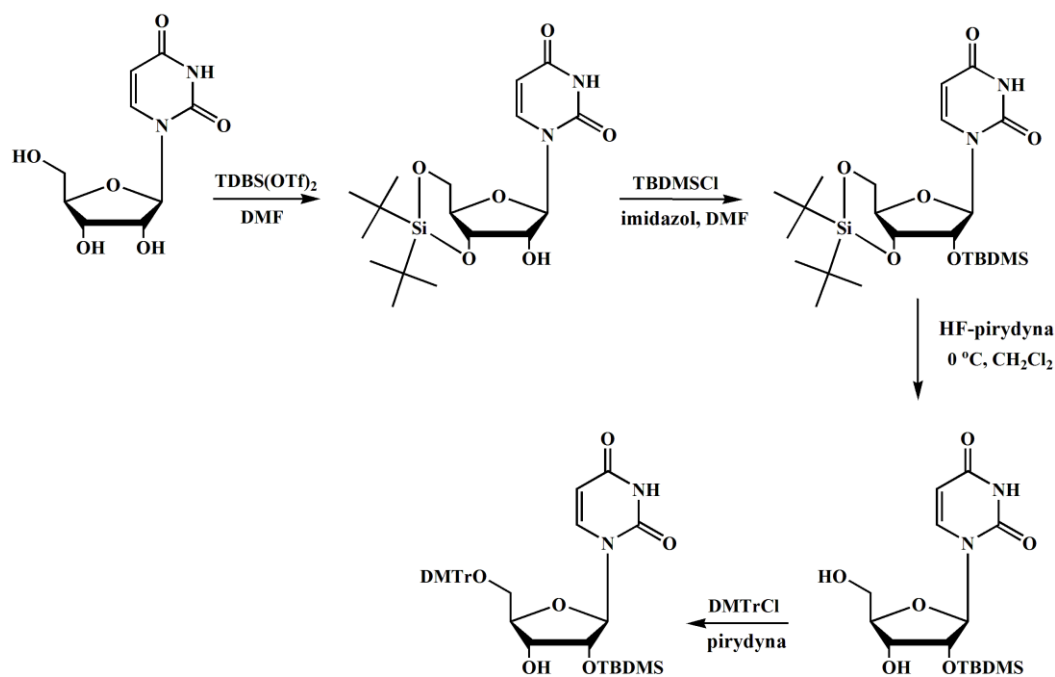
W reakcjach alkirowania funkcji 2'-hydroksylowej oprócz TIPDSiCl<sub>2</sub> jest używany również reagent monosilylowy TBDSCl<sub>2</sub>. Charakteryzuje się on większą stabilnością w warunkach zasadowych (NaH) i jest tańszy niż TIPDSiCl<sub>2</sub> (Schemat 46) [127].



**Schemat 46.** Otrzymywanie 2-N-izobutyrylo-2'-O-metyloguanozyny: (i) TBDSCl<sub>2</sub>, DMF, 0 °C - temp. pok., 1 h, (ii) Ac<sub>2</sub>O, DMAP, pirydyna, temp. pok., noc, (iii) chlorek 2,4,6-tri-izopropylsulfonylu, DMAP, Et<sub>3</sub>N, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, temp. pok., 2 h, (iv) DABCO,

2-trimetylosililoethanol, DBU, dioksan, temp. pok., noc, (v) 0,2 M NaOH w THF/MeOH/H<sub>2</sub>O 5:3:1 (v/v/v), 0 °C, 5 min, (vi) NaH 60 % w oleju mineralnym, MeI, DMF, 0 °C, 1 h, (vii) chlorek izobutyrylu, pirydyna, temp. pok., 0,5 h, (viii) 1 M TBAF w THF, temp. pok., 1 h, 90 %.

TBDSCl<sub>2</sub> został wykorzystany przez Beigelmana i Serebryany'ego w reakcji selektywnego wprowadzenia TBDMS w położenie 2'-OH rybonukleozydów. Właściwością wyróżniającą TBDS spośród innych bifunkcyjnych grup jest możliwość jego szybkiego i łatwego usunięcia. Zachodzi to w obecności kompleksu fluorowodoru pirydyny w pirydynie, acetonitrylu lub CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, w czasie 15 minut, w temperaturze od 0 °C do pokojowej (Schemat 47) [85,111].



**Schemat 47.** Otrzymywanie 5'-O-DMT-2'-O-TBDMS-U.

Pochodna triflanowa TDBS była wykorzystywana w analizie za pomocą chromatografii gazowej połączonej ze spektrometrią mas (GC-MS). Jej zastosowanie pozwala rozróżnić grupy hydroksylowe alkoholi wielowodorotlenowych, poprzez tworzenie z nimi cyklicznych układów diolowych [128].

Sililowe grupy ochronne znalazły powszechnie zastosowanie w różnych dziedzinach chemii. Właściwości jakimi charakteryzują się sililowe grupy ochronne tj. prosty sposób ich wprowadzania, a także łatwy i skuteczny sposób ich usuwania, umożliwiają przeprowadzanie licznych reakcji syntez, wcześniej nie możliwych do wykonania. Obecnie znanych

i stosowanych jest wiele sililowych grup ochronnych, zarówno mono- jak i bifunkcyjnych. Pomimo to nadal poszukuje się nowych grup funkcyjnych. Jest to spowodowane tym, że nawet niewielka zmiana w budowie reagenta sililowego przyczynia się do tego, że ma on zupełnie inne właściwości, co sprawia, że każda sililowa grupa ochronna jest inna.

### III. BADANIA WŁASNE

#### 1. Reakcje silylowania rybonukleozydów

Chemiczna synteza RNA wymaga przygotowania odpowiednich jednostek amidofosforynowych zawierających właściwy układ grup ochronnych, które zapewniają przeprowadzenie syntezy RNA z wysoką wydajnością.

Bifunkcyjne silylowe grupy ochronne są wykorzystywane przy funkcjonalizacji rybonukleozydów. Zadaniem ich jest odpowiednie zablokowanie funkcji 3'- i 5'-hydroksylowych reszty rybozylowej, z pozostawieniem wolnej funkcji hydroksylowej w pozycji 2'. Zastosowanie bifunkcyjnych silylowych grup ochronnych umożliwia otrzymanie różnych pochodnych i analogów nukleozydowych oraz upraszcza procedurę otrzymywania RNA.

Mimo, że obecnie istnieje dużo różnych silylowych grup ochronnych stosowanych w chemii rybonukleozydów, to w dalszym ciągu istnieje zapotrzebowanie na tego typu związki. Ugrupowania te powinny charakteryzować się innymi i lepszymi właściwościami, a także znacznie szerszym spektrum zastosowań, w porównaniu z obecnie stosowanymi grupami silylowymi.

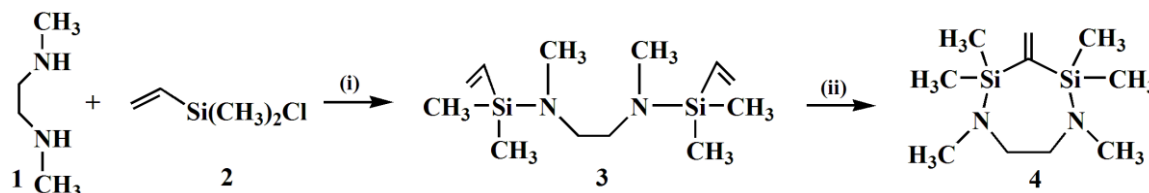
Dla chemików syntetyków znalezienie odpowiedniej bifunkcyjnej grupy ochronnej jest prawdziwym wyzwaniem. Wyzwanie to wzbudziło moje zainteresowanie, dlatego postanowiłam się go podjąć.

##### 1.1. Reakcje 1,2,2,4,4,5-heksametylo-3-metyleno-1,5-diaza-2,4-disilanocykloheptanu (HMNSi) z urydyną

Prace eksperymentalne rozpoczęłam od zastosowania przy funkcjonalizacji rybonukleozydów cyklicznego związku krzemoorganicznego. Był to 1,2,2,4,4,5-heksametylo-3-metyleno-1,5-diaza-2,4-disilanocykloheptan (HMNSi). HMNSi został otrzymany w 2005 roku przez zespół profesora Bogdana Marcińca i profesora Hieronima Maciejewskiego, na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu [129].

Synteza tego reagenta obejmuje dwa etapy. Najpierw z handlowo dostępnego chlorodimetylowinylosilanu (**1**) i N,N'-dimetyloetano-1,2-diaminy (**2**) uzyskano N,N'-dimetylo-N,N'-bis(dimetylowinylosilano)etano-1,2-diaminę (**3**), która jest prekursorem

cyklicznej blokady. Związek **3** w reakcji katalitycznej w obecności kompleksu rutenu  $[\text{RuHCl}(\text{CO})(\text{PCy}_3)_2]$  prowadzi do otrzymania 1,2,2,4,4,5-heksametylo-3-metyleno-1,5-diaza-2,4-disilanocykloheptanu (**4**) (Schemat 48).

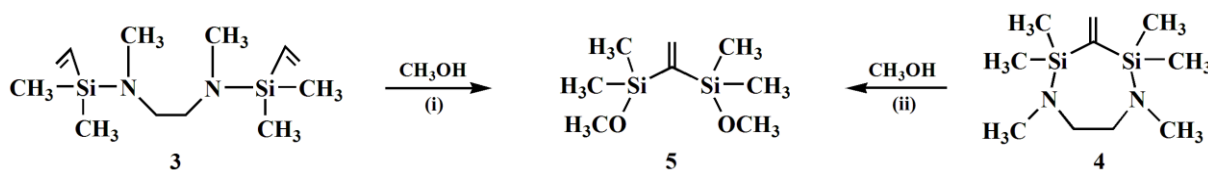


**Schemat 48.** Synteza HMNSi: (i)  $\text{Et}_3\text{N}$ , pentan, temp. pok., 2 h, (ii)  $\text{RuHCl}(\text{CO})(\text{PCy}_3)_2$ , toluen,  $110^\circ\text{C}$ , 24 h.

Wykazano, że reagent **4** można wykorzystać do zabezpieczania grup hydroksylowych na dwa sposoby:

1. przez wyizolowanie HMNSi i jego reakcję z alkoholami;
2. przez umieszczenie w jednym naczyniu związku **3**, katalizatora i alkoholu.

W jednym i drugim przypadku otrzymywano 1,1-bis(metoksydimetylosilano)eten (**5**) z wysokimi wydajnościami. Okazało się, że związek **4** łatwo reaguje z pierwszorzędowymi i drugorzędowymi monofunkcyjnymi alkoholami (Schemat 49) [129].



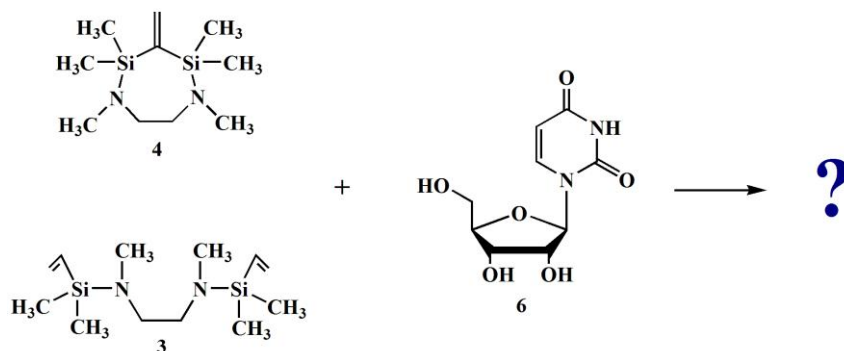
**Schemat 49.** Reakcja otrzymywania 1,1-bis(metoksydimetylosilano)etenu: (i)  $\text{RuHCl}(\text{CO})(\text{PCy}_3)_2$ ,  $120^\circ\text{C}$ , 24 h; (ii) THF, temp. pok., 15 minut.

Produkty tych reakcji uzyskiwano z wydajnościami ok. 90 %, a czas syntezy, w zależności od struktury użytego alkoholu, wynosił od 1 do 4 h. Brak natomiast jakichkolwiek informacji dotyczących reaktywności związku **4**, względem wielofunkcyjnych alkoholi. Postanowiłam to sprawdzić, wykorzystując w reakcjach z HMNSi, rybonukleozydy.

Współpraca między Zakładem Biologii Chemicznej IChB PAN, a Wydziałem Chemii UAM, umożliwiła mi pozyskanie związku **4**. HMNSi otrzymałam w postaci mieszaniny reagentów **3** i **4**. Za każdym razem stosunek reagenta cyklicznego **4** do jego monomeru **3** był

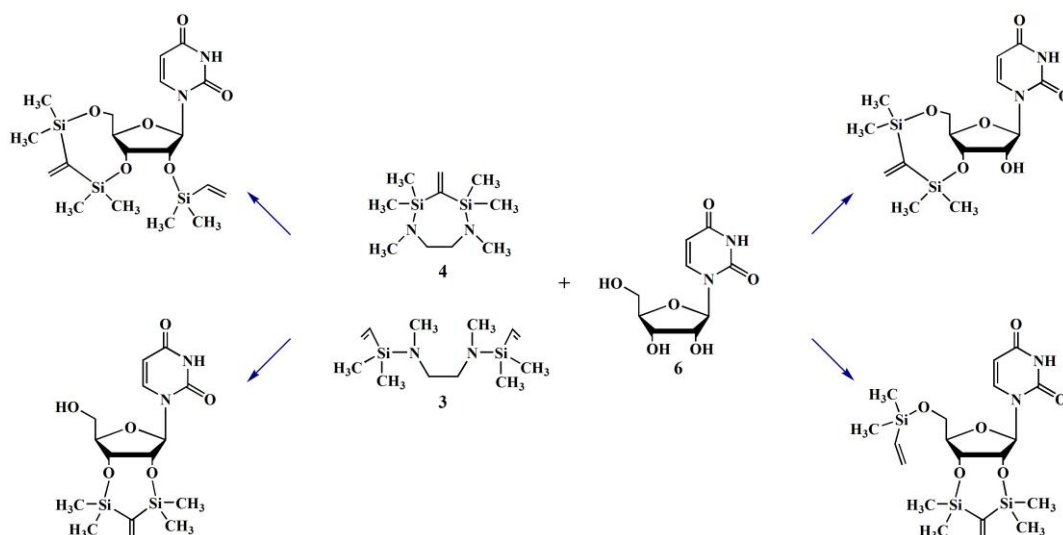
inny i wynosił kolejno 6:4, 8:2, 9:1. Zdecydowałam się na użycie w reakcjach z rybonukleozydami mieszaniny HMNSi, ponieważ w przypadku opisanych w literaturze syntez zabezpieczania monofunkcyjnych alkoholi tym odczynnikiem, nie stanowiło to przeszkody w otrzymaniu pożądanego produktu **5**.

Nukleozydem, którego poddałam reakcji z HMNSi była urydyna (Schemat 50). Reakcję prowadziłam w THF, a stosunek reagentów wynosił odpowiednio 1 ekw. urydyny do 1,3 ekw. silanu. Po dodaniu do urydyny rozpuszczalnika (THF) utworzyła się zawiesina, która w wyniku dodania silanu zmieniła swój kolor z białego na żółty. Kontrola reakcji za pomocą TLC po 1,5 h wykazała całkowity zanik substratu i utworzenie mieszaniny produktów. Postanowiłam więc zmienić warunki reakcji.



**Schemat 50.** Schemat syntezy 3',5'-O-(tetrametylo-3-metylenodisilano-2,4-dylo)urydyny.

Zmieniłam rozpuszczalnik z THF na pirydynę, ponieważ urydyna jest w niej dobrze rozpuszczalna. Została zmieniona również kolejność dodawania reagentów. W jednej próbie do cyklicznego silanu, dodawany był roztwór rybonukleozydu w rozpuszczalniku w jednej lub trzech porcjach, a w innej, kolejność była odwrotna. Ilość reagenta krzemooorganicznego została zwiększona do 2 ekw., w stosunku do urydyny. Wszystkie te zmiany nie przyczyniły się jednak do uzyskania pożądanego przebiegu reakcji, czyli wytworzenia jednego produktu. Za każdym razem otrzymywałam mieszaninę różnych produktów. Mieszaninę poreakcyjną poddałam oczyszczaniu metodą chromatografii kolumnowej. Zebrane frakcje z poszczególnymi związkami zatężyłam i wykonałam ich analizę  $^1\text{H-NMR}$ . Żaden z powstałych związków nie został dokładnie zidentyfikowany. Na podstawie otrzymanych wyników analizy, trudno było określić jednoznacznie, jaka jest prawdziwa struktura powstałych związków. Najbardziej prawdopodobne struktury związków, które mogły się tworzyć w wyniku tych reakcji przedstawiono na Schemacie 51.



**Schemat 51.** Przykładowe struktury związków, które mogą się tworzyć w wyniku reakcji HMNSi z urydyną.

Z przeprowadzonych eksperymentów wynika, że zastosowanie cyklicznego reagenta siliłowego **4** do zabezpieczania grup hydroksylowych w wielowodorotlenowych związkach, nie przyniosło spodziewanych efektów. Zachowanie takie można tłumaczyć na kilka sposobów. Po pierwsze może to być wynikiem użycia odczynnika siliłowego w postaci mieszaniny cyklicznego silanu **4** i jego monomeru **3**, z których każdy charakteryzuje się podobną reaktywnością względem alkoholi. W związkach krzemoorganicznych **3** i **4** podczas reakcji z urydyną rozerwaniu ulegają wiązania Si-N, a nie N-C. Atom azotu w związkach **3** i **4** jest najbardziej elektroujemnym pierwiastkiem, w związku z czym będzie najsilniej wyciągał elektrony od atomów sąsiednich. Spośród tych dwóch wiązań, bardziej spolaryzowane jest wiązanie Si-N, niż wiązanie N-C, gdyż różnica elektroujemności pomiędzy atomami Si i N wynosi 1,2, a N i C wynosi 0,7. Zatem lepszym centrum dla ataku nukleofilowego jest atom Si niż atom C. Po drugie może to wynikać z obecności w rybonukleozydach więcej niż jednej grupy hydroksylowej.

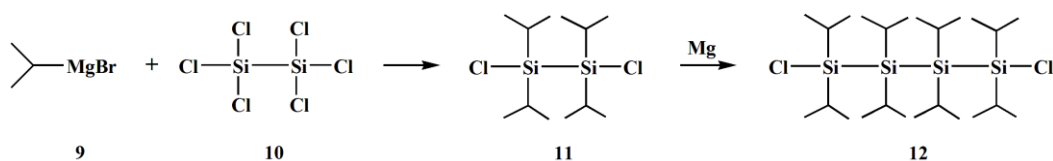
Wykorzystanie HMNSi w chemii rybonukleozydów nie sprawdziło się, tak więc kontynuowałam dalsze poszukiwania nowych siliłowych grup ochronnych. Porównując strukturę znanych bifunkcyjnych reagentów siliłujących, zaczęliśmy się zastanawiać nad zaprojektowaniem nowej blokady siliłowej. Skoro znane bifunkcyjne siliłowe grupy ochronne zawierają pomiędzy atomami krzemu mostek tlenowy albo metylenowy, to co byłoby, gdyby ten mostek usunąć. Tak rozpoczęłam pracę nad otrzymaniem disilanowej grupy ochronnej z wiązaniem -Si-Si-.

## 1.2. Reakcje otrzymywania 1,2-dichloro-1,1,2,2-tetraizopropylodisilanu - $\text{DSiCl}_2$

Próby otrzymania 1,2-dichloro-1,1,2,2-tetraizopropylodisilanu podejmowano w trzech wariantach. Za pierwszym razem do syntezy użyto bromek izopropylowy (**7**), magnez (**8**) i heksachlorodisilan (**10**). Reakcja składała się z dwóch etapów. Pierwszy etap stanowiła reakcja Grignarda, w wyniku której z bromku izopropylowego i magnezu pozyskano bromek izopropylomagnezowy (**9**). Stosunek substratów **7** i **8** wynosił odpowiednio 1 ekw. i 2,5 ekw.

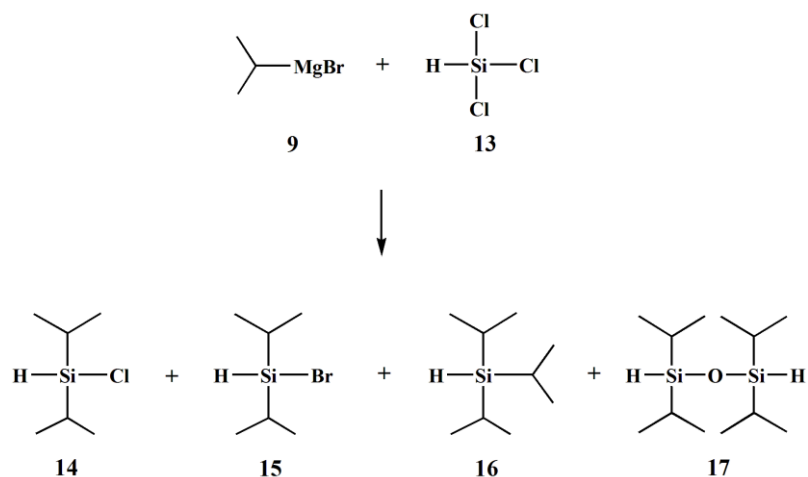
W drugim etapie mieszaninę reakcyjną zawierającą związek **9** (mętny roztwór, czarny osad) dodawano do roztworu heksachlorodisilanu w eterze dietylowym. Zastosowanie takiej kolejności łączenia substratów, miało na celu uniknięcie tworzenia się niepożądanych produktów reakcji chlorosilanów z nieprzereagowanym magnezem, obecnym w tej mieszaninie. Stosunek reagentów **9** i **10** w drugim etapie wynosił odpowiednio 4 ekw. i 1 ekw. Po 1,5 h wykonano analizę za pomocą GC-MS, aby określić skład mieszaniny, ale nie stwierdzono obecności pożądanego produktu.

Drugą próbę przeprowadzono z użyciem większego nadmiaru związku Grignarda. Użyto 5,5 molowy nadmiar **9** w stosunku do **10**. Mimo przereagowania substratów (powstanie osadu soli magnezu), analiza GC-MS nie wykazała powstania produktu **11**. Analiza  $^{29}\text{Si}$ -NMR wykazała obecność sygnału od  $\text{Si}_2\text{Cl}_6$ . Prawdopodobnie wytworzenie **11** było utrudnione, ponieważ mogły zachodzić następcze reakcje sprzęgania pod wpływem nieprzereagowanego magnezu, w wyniku których tworzyły się polisilany **12** (Schemat 52).



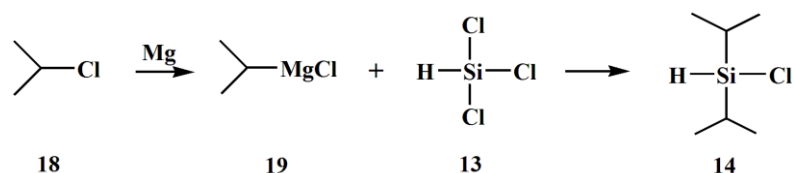
**Schemat 52.** Możliwość tworzenia się polisilanów.

Wzorując się na metodzie otrzymywania  $\text{TIPDSiCl}_2$  [94-96] postanowiono w kolejnej próbie zastąpić heksachlorodisilan (**10**), trichlorosilanem (**13**). W reakcji 2 ekw. bromku izopropylomagnezowego (**9**) z 1 ekw. trichlorosilanu (**13**) otrzymano diizopropylchlorosilan (**14**). Analiza mieszaniny poreakcyjnej wykazała powstanie produktów ubocznych: diizopropylbromosilanu (**15**), triizopropylsilanu (**16**) diwodorotetraizopropylodisiloksanu (**17**) (Schemat 53).



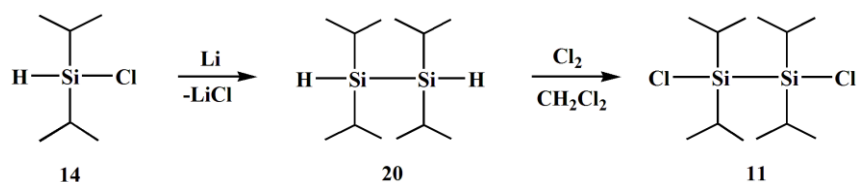
**Schemat 53.** Produkty uboczne reakcji substytucji.

W trzecim wariancie, aby uniknąć tworzenia się niepożądanego diizopropylobromosilanu (**15**), zamiast bromku (**7**) zastosowano chlorek izopropylowy (**18**) (Schemat 54).



**Schemat 54.** Synteza diizopropylochlorosilanu.

W wyniku destylacji mieszaniny poreakcyjnej otrzymano diizopropylochlorosilan (**14**) z wydajnością 95 %. Następnie przeprowadzono reakcję katalitycznego homosprzęgania za pomocą litu. Otrzymany diwodorotetraizopropylodisilan (**20**) został następnie poddany reakcji chlorowania, prowadząc do powstania 1,2-dichloro-1,1,2,2-tetraizopropylodisilanu (**11**) (Schemat 55).



**Schemat 55.** Metoda otrzymywania 1,2-dichloro-1,1,2,2-tetraizopropylodisilanu (**11**).

Związek **11** to bezbarwna, oleista ciecz o gęstości 0,980 g/mL, rozpuszczalna w pirydynie, dimetyloformamidzie, acetonitrylu, tetrahydrofuranie, chlorku metylenu, chloroformie, benzenie, pentanie i innych rozpuszczalnikach.

Kolejnym krokiem było zbadanie jaką reaktywność względem rybonukleozydów wykazuje nowy reagent siliłowy.

### 1.3. Reakcje 1,2-dichloro-1,1,2,2-tetraizopropylodisilanu ( $\text{DSiCl}_2$ ) z urydyną

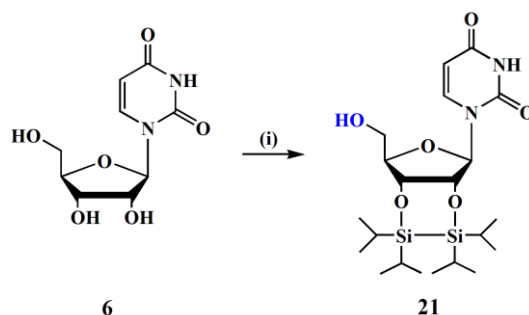
Postanowiłam pierwsze reakcje  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) z urydyną (**6**) przeprowadzić w warunkach standardowych, czyli w temperaturze pokojowej i w bezwodnej pirydynie. Stosunek substratów był równomolowy. Początkowo związek **11** dodawałam w trzech równych porcjach i równych odstępach czasowych bezpośrednio do roztworu urydyny w pirydynie. Na podstawie analizy TLC stwierdziłam obecność dwóch plam o różnych wartościach  $R_f$  i nieprzereagowanego rybonukleozydu **6**. Ich ilości ulegały zmianie po dodaniu każdej z porcji  $\text{DSiCl}_2$ . Po dodaniu całości  $\text{DSiCl}_2$  zaobserwowałam na płycie TLC, że z dwóch plam, jakie powstawały po dodaniu pierwszej porcji  $\text{DSiCl}_2$ , otrzymałam w efekcie, po 1,5 h, jedną plamę, o niższej wartości  $R_f$  oraz niewielką ilość nieprzereagowanej urydyny. Intrygujący był fakt, że wartość  $R_f$  uzyskanego związku, różniła się od wartości  $R_f$  wzorca, którym była urydyna siliłowana TIPDSi w pozycjach 3',5'. Nie spodziewałam się, aby tak 'niewielka' zmiana strukturalna grupy siliłowej mogła być przyczyną dużej różnicy w lipofilowości, podczas analizy TLC.

Postanowiłam przeprowadzić reakcję w inny sposób, aby się przekonać, czy otrzymam taki sam efekt końcowy. Przeprowadziłam serię doświadczeń stosując różny stosunek molowy reagentów, ilości rozpuszczalnika, kolejności dodawania substratów i czasu trwania syntezy.

Umożliwiło mi to opracowanie skutecznej, szybkiej i wygodnej procedury, w wyniku której otrzymywałam tylko jeden produkt. Najlepszy sposób polegał na zastosowaniu 1,3 molowego nadmiaru **11**, w stosunku do **6**. Kolejność dodawanych reagentów nie odgrywała znaczącej roli, ale  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) nie mógł być dodawany bezpośrednio, tylko w rozpuszczalniku. Czas reakcji uzależniony był od skali procesu. W każdym przypadku uzyskiwałam produkt o niższej wartości  $R_f$  niż  $R_f$  związku wzorcowego.

Po izolacji powstającego ilościowo produktu, wykonałam kompleksową analizę NMR. Na podstawie widm trudno było jednoznacznie określić, czy otrzymany związek jest pożądanym 3',5'-O-siliłowanym rybonukleozydem. Jedynym sygnałem nieprzemawiającym za uzyskaniem tego związku, był widoczny tryplet na widmie  $^1\text{H}$ -NMR, wykonanym w DMSO. Jest to sygnał odpowiadający wolnej grupie hydroksylowej przy metylenowym

atomie węgla (tryplet), co sugerowałoby, że otrzymałam 2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydynę (**21**) (Schemat 56).

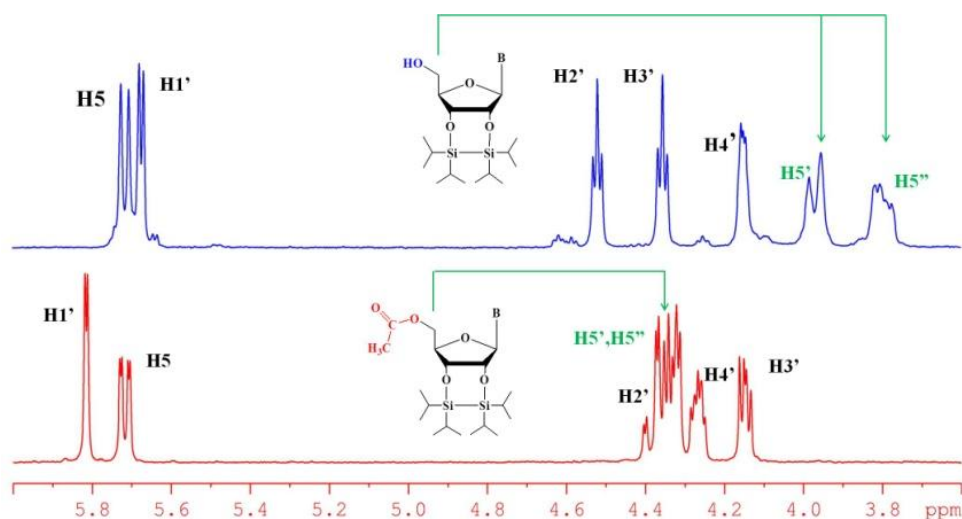


**Schemat 56.** Reakcja urydyny z  $\text{DSiCl}_2$  w standardowych warunkach:  $\text{DSiCl}_2$  (1,3 ekw.), pirydyna, temp. pok., 1 h.

Zdecydowałam się dodatkowo przeprowadzić reakcję acetylowania i szybki test oparty na acylowaniu izocyjanianem trichloroacetyl (TAI) [130,131], aby uzyskać niepodważalny dowód, potwierdzający strukturę powstałego związku **21**.

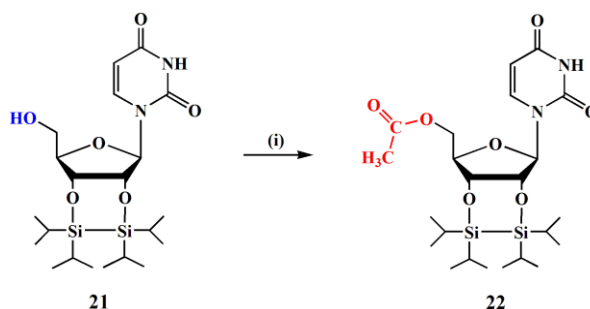
#### 1.4. Identyfikacja położenia wolnej grupy hydroksylowej w związku **21**

Acetylowanie **21** wykonałam z bezwodnikiem octowym w pirydynie. Otrzymany związek zidentyfikowałam na podstawie analizy widm NMR (Schemat 57).



**Schemat 57.** Porównanie fragmentu widm  $^1\text{H}$ -NMR związków **21** i **22** wykonanych w  $\text{CDCl}_3$ : B-uracyl.

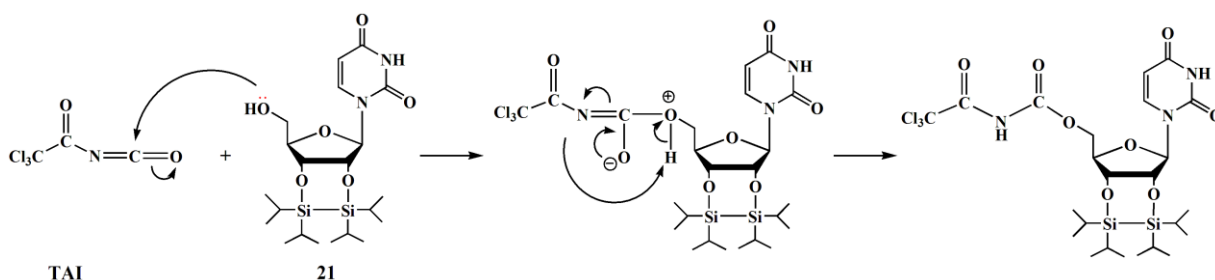
Widoczne na Schemacie 57 sygnały protonów 5' i 5'' rybozy uległy przesunięciu w kierunku wyższych wartości pola, z ok. 3,8-4,0 ppm do 4,35 ppm, co jest spowodowane wprowadzeniem grupy acetylowej w pozycję 5'-OH (**22**). Różnice w położeniu sygnałów na widmach potwierdzają wcześniejsze przypuszczenia, co do otrzymania produktu innego niż pochodna 3',5'-O-sililowa urydyny (Schemat 58).



**Schemat 58.** Acetylowanie 2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-dylo)urydyny (**21**): (i)  $(\text{CH}_3\text{O})_2\text{O}$ , pirydyna, temp. pok., 0,5 h.

Drugim dowodem na otrzymanie związku **21** była reakcja z izocyjanianem trichloroacetylou (TAI). Procedura została zaczerpnięta z pracy Z. Samka i M. Buděšinský'ego, którzy zastosowali TAI w celu określania struktury związków hydroksylowych, przy wykorzystaniu technik NMR [130]. TAI jest jednym z wielu związków, które bardzo szybko reagują z wolnymi grupami hydroksylowymi. Zastosowanie go w reakcjach z częściowo chronionymi związkami wielowodorotlenowymi, pozwala na zidentyfikowanie wolnych grup funkcyjnych, tak samo jak w przypadku reakcji acetylowania. Analizy dokonano biorąc pod uwagę zmiany przesunięć chemicznych sygnałów obserwowanych na widmach NMR [131].

Po wykonaniu reakcji TAI ze związkiem **21** otrzymałam widma, które jednoznacznie potwierdziły obecność grupy trichloroacetylouretanowej w pozycji 5' (Schemat 59). Na widmach obserwowałam przesunięcia tych samych sygnałów, co w reakcji acetylowania **21**.



**Schemat 59.** Mechanizm reakcji TAI z 2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-dylo)urydyną.

Wyniki syntez uzyskanych z połączenia  $\text{DSiCl}_2$  z urydyną, przeprowadzonych w warunkach standardowych, były dla mnie ogromnym zaskoczeniem.

Wszystkie bifunkcyjne reagenty siliłowe, dotychczas opisane w literaturze i powszechnie stosowane w chemii nukleozydów, w bezpośrednich reakcjach z rybonukleozydami prowadziły do otrzymania pochodnej 2',3'-O-siliłowej rybonukleozydu, tylko jako produktu ubocznego, powstałego w niewielkich ilościach. W żadnej z tych reakcji nie otrzymano tego układu z dużą wydajnością, co wynikało z wyższej reaktywności reagentów siliłowych, względem pierwszorzędowej grupy hydroksylowej.

### 1.5. Reakcje $\text{DSiCl}_2$ z urydyną w obecności różnych zasad organicznych

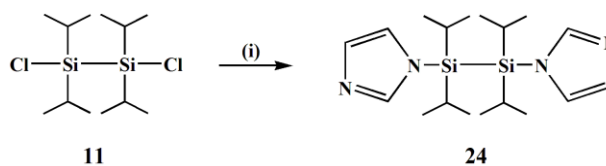
Celem wykonanych reakcji było pozyskanie związku **6** z zabezpieczonymi grupami hydroksylowymi, ale w pozycjach 3',5' rybozy. Nie osiągnęłam zamierzonych rezultatów, więc zaczęłam zastanawiać się, co zrobić, żeby to zmienić. Stwierdziłam, że  $\text{DSiCl}_2$  musi być zbyt reaktywny w stosunku do rybonukleozydów, dlatego żeby zmniejszyć jego reaktywność, postanowiłam dodać do reakcji imidazol (**23**).

Pierwsze reakcje wykonałam w pirydynie, a proporcje substratów jakie zastosowałam to 1 ekw. urydyny (**6**) : 1,3 ekw.  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) : 1,5 ekw. imidazolu (**23**). Na początku przygotowałam mieszaninę związków **11** i **23** w pirydynie i roztwór urydyny w tym samym rozpuszczalniku, które od razu połączyłam ze sobą. Po 0,5 h sprawdziłam przebieg reakcji za pomocą analizy TLC. Substraty tylko częściowo przereagowały, dlatego czas wydłużyłam do 1 h. Rezultatem syntezy były dwa produkty. Porównując wartości  $R_f$  związku **21**, związku wzorcowego w postaci 3',5'-O-(tetraizopropylodisiloksano-1,3-dylo)urydyny i powstałej w reakcji z imidazolem mieszaniny związków, mogłam stwierdzić, że jeden produkt ma  $R_f$  taki sam jak związek **21**, a drugi ma  $R_f$  równy wartości  $R_f$  wzorca TIPDSi<U. Na podstawie wyniku tej reakcji przypuszczałam, że drugim produktem może być pochodna 3',5'-O-siliłowa urydyny ( $\text{DSi}<\text{U}$ ).

Powstanie mieszaniny produktów mogło być przyczyną zastosowania zbyt małej ilości imidazolu w stosunku do  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) lub zbyt krótkiego czasu, wymaganego do wygenerowania pochodnej imidazolowej  $\text{DSi}$ . Zmieniłam procedurę reakcji w taki sposób, aby z większą selektywnością otrzymywać pożądaný produkt.

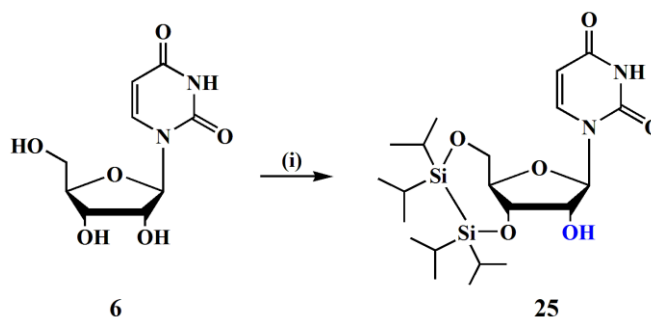
Na początku zwiększyłam nadmiar imidazolu (**23**) do 3 ekw., w stosunku do  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) i wydłużyłam czas reakcji do 2 h, przy czym zamiast pirydyny jako rozpuszczalnika użyłam THF. Dodatkowo zastosowałam trietyloaminę jako zasadę wiążącą chlorowodór. Tak

przygotowaną mieszaninę zanalizowałam za pomocą NMR, potwierdzając powstanie 1,2-di(imidazol-1-ylo)-1,1,2,2-tetraizopropylodisilanu (**24**) (Schemat 60).



**Schemat 60.** Wygenerowanie 1,2-di(imidazol-1-ylo)-1,1,2,2-tetraizopropylodisilanu (**24**):  
(i) imidazol (3 ekw.), Et<sub>3</sub>N (6 ekw.), THF, temp. pok., ok. 2 h.

Związek **24**, bez jego izolowania, dodawałam do chłodzonego w łaźni lodowej, roztworu urydyny w pirydynie, bądź odwrotnie. Kolejność dodawania substratów nie wpływała na ilości otrzymywanych produktów. Przebieg procesu monitorowałam metodą TLC i stwierdziłam, że po 1 h nastąpiło całkowite przereagowanie substratów. Konsekwencją wprowadzonych zmian było uzyskanie selektywnie jednego produktu, który miał wyższą wartość  $R_f$  niż poprzednio otrzymany 2',3'-O-izomer **21**. Po oczyszczeniu, wyizolowany związek zidentyfikowałam analizą NMR. Widmo powstałego związku, wykonane w DMSO różniło się od widma związku **21**, również brakiem trypletu. Natomiast widoczny był sygnał w postaci dubletu, charakterystyczny dla grupy 2'-OH, który zniknął po wymianie z ciężką wodą. Na podstawie przeanalizowanych widm przypuszczałam, że tym razem otrzymałam produkt w postaci 3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyny (**25**) (Schemat 61).

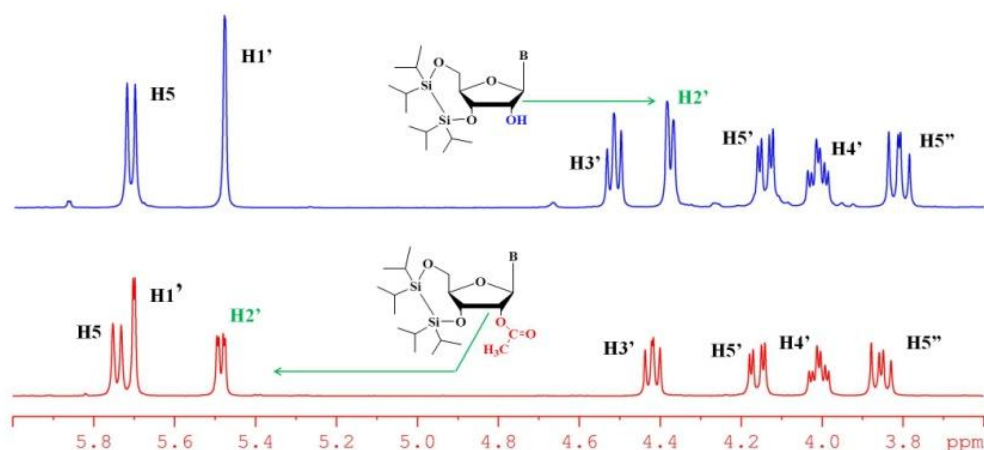


**Schemat 61.** Reakcja mieszaniny 1,2-di(imidazol-1-ylo)-1,1,2,2-tetraizopropylodisilanu z urydyną: związek **24** (1,3 ekw.), pirydyna, 1 h.

Nie był to dla mnie wystarczający dowód potwierdzający strukturę związku **25**. Zdecydowałam się i w tym przypadku dodatkowo przeprowadzić reakcję acetylowania, a także szybki test z TAI, w celu potwierdzenia struktury produktu **25**.

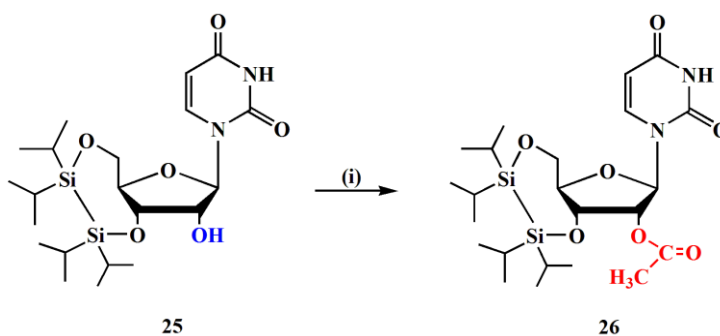
### 1.6. Identyfikacja położenia wolnej grupy hydroksylowej w związku 25

Acetylowanie **25** wykonałam tak samo jak acetylowanie związku **21** (Rozdział III.1.4.). Otrzymałam jeden produkt, który po oczyszczeniu na kolumnie chromatograficznej zidentyfikowałam, wykorzystując technikę NMR (Schemat 62).



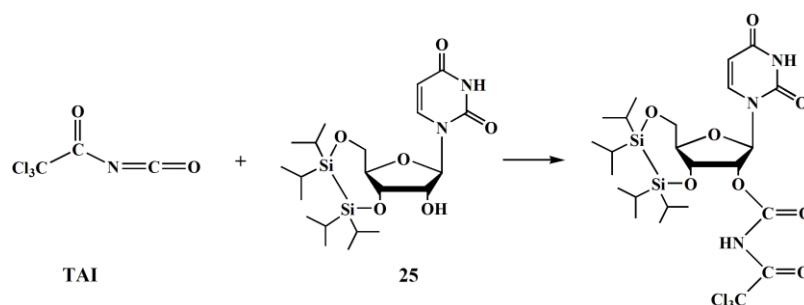
**Schemat 62.** Porównanie fragmentu widm  $^1\text{H}$ -NMR związków **25** i **26** wykonanych w  $\text{CDCl}_3$ : B-uracyl.

Na Schemacie 62 widoczne jest zupełnie inne położenie sygnałów od poszczególnych protonów pierścienia rybozy, niż na Schemacie 57. Sygnał pochodzący od protonu 2' rybozy uległ przesunięciu w kierunku wyższych wartości pola, z ok. 4,38 ppm do 5,48 ppm, co jest spowodowane wprowadzeniem grupy acetylowej w pozycję 2' (**26**). Zmiana położenia sygnału od H-2' stanowiła dla mnie niepodważalny dowód potwierdzający otrzymanie produktu 3',5'-O-izomeru **25** (Schemat 63).



**Schemat 63.** Acetylowanie 3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyny: (i)  $(\text{CH}_3\text{O})_2\text{O}$ , pirydyna, temp. pok., 0,5 h.

Dodatkowym potwierdzeniem otrzymania związku **25** był test z izocyjanianem trichloroacetylu (TAI). Wyniki uzyskane z analizy NMR jednoznacznie potwierdziły obecność grupy trichloroacetylouretanowej w pozycji 2' (Schemat 64), ponieważ na widmach było widoczne przesunięcie tego samego sygnału, co w przypadku reakcji acetylowania **25**.



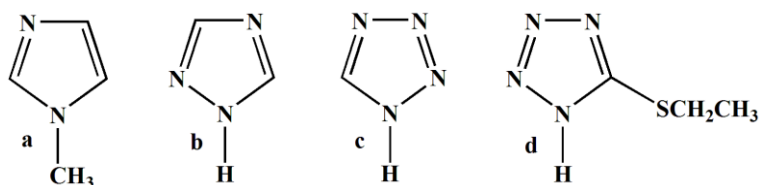
**Schemat 64.** Reakcja TAI z 3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-dylo)urydyną.

Wykonane eksperymenty potwierdziły otrzymanie 2',3'-O-izomeru **21** i 3',5'-O-izomeru **25**. Każdy z tych produktów uzyskałam z wydajnościami ok. 90 %.

Na podstawie przeprowadzonych reakcji określiłam pierwszą cechę charakterystyczną nowego bifunkcyjnego reagenta sililowego DSiCl<sub>2</sub> (**11**). Ugrupowanie DSi umożliwia selektywne zabezpieczanie grup hydroksylowych rybonukleozydów w układzie 2',3' lub 3',5'. Żadna z wcześniej stosowanych sililowych grup zabezpieczających, nie wykazywała takich właściwości.

## 2. Badanie wpływu heterocyklicznych amin na przebieg reakcji sililowania urydyny związkiem DSiCl<sub>2</sub> (**11**)

Selektywna ochrona funkcji hydroksylowych (2',3'-OH lub 3',5'-OH) za pomocą nowego bifunkcyjnego reagenta sililowego DSiCl<sub>2</sub> (**11**) została zauważona w chemii rybonukleozydów po raz pierwszy. Postanowiłam sprawdzić jakie czynniki mogą mieć wpływ na reakcje pomiędzy urydyną a związkiem **11**. Prace rozpocząłam od wykorzystania w reakcjach sililowania różnorodnych pięciocząłowych aromatycznych zasad. Sililowanie przeprowadziłam w obecności następujących związków: N-metyloimidazol (**a**), 1,2,4-triazol (**b**), 1H-tetrazol (**c**), 5-etylotio-1H-tetrazol (**d**) (Schemat 65).

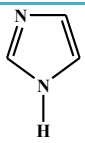
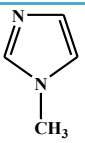
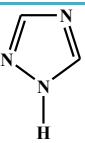
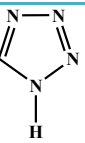
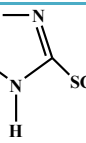


**Schemat 65.** Wzory pięciocłonowych heterocyklicznych zasad.

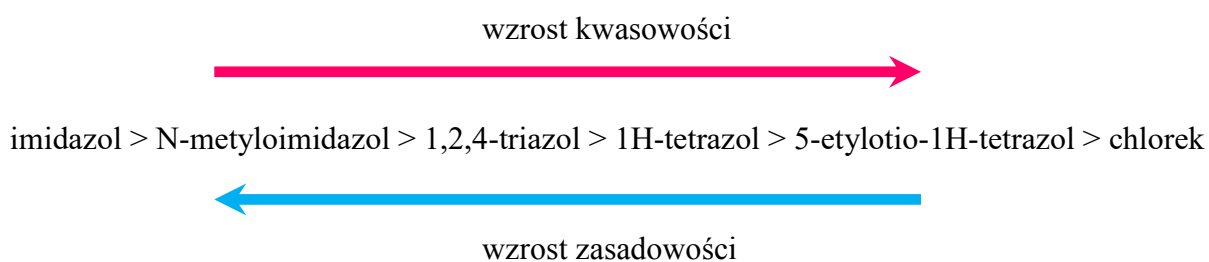
Procedura wykonywanych doświadczeń dla każdej z zastosowanych pierścieniowych amin, była taka sama. Stosunek użytych związków wynosił odpowiednio 1 ekw. urydyny : 1,3 ekw. reagenta siliowego **11** : 3 ekw. heterocyklicznej zasady : 6 ekw. aminy alifatycznej. Środowiskiem reakcji była mieszanina rozpuszczalników 3 mL THF i 2 mL pirydyny.

Przygotowałam dwa roztwory, z których pierwszy składał się z urydyny w pirydynie, a drugi z pozostałych reagentów w THF. W wyniku zmieszania roztworów otrzymałam produkty **21** i **25**. Wydajności poszczególnych reakcji siliowania urydyny  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) w różnych warunkach reakcji i z zastosowaniem różnych zasad heterocyklicznych, zestawiałam w Tabeli 13.

**Tabela 13.** Wydajności reakcji siliowania urydyny związkiem **11**, w różnych warunkach reakcji.

| Produkt reakcji siliowania |  |  |  |  |  | Bez zasady |
|----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>25</b>                  | 90 %                                                                                | 80 %                                                                                | 70 %                                                                                | 65 %                                                                                 | 30 %                                                                                  | 0 %        |
| <b>21</b>                  | 0 %                                                                                 | 10 %                                                                                | 15 %                                                                                | 30 %                                                                                 | 50 %                                                                                  | 90 %       |

Wyniki wykonanych eksperymentów wskazują na zależność ilości powstawania związku **21** lub **25** od użytej zasady. Wynika to z odmiennego charakteru zasadowego bądź kwasowego użytej zasady heterocyklicznej:



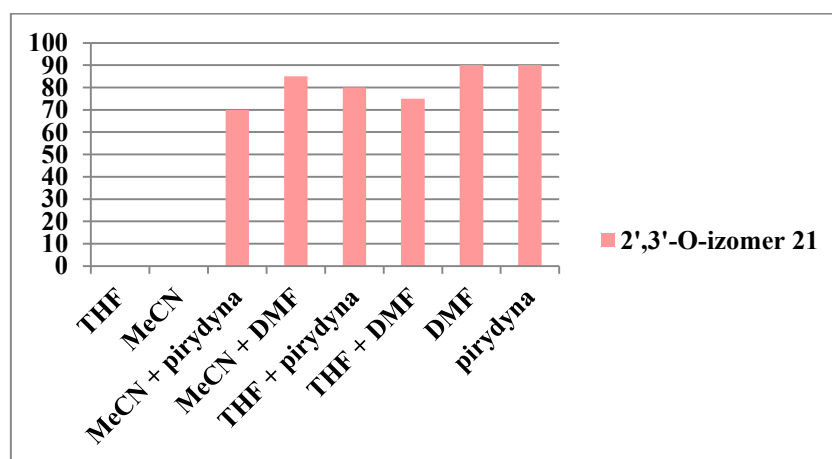
Na tej podstawie można sformułować wniosek, że im bardziej zasadowy jest związek heterocykliczny, tym więcej powstaje 3',5'-O-izomeru **25**, a mniej 2',3'-O-izomeru **21**.

### 3. Badanie wpływu rozpuszczalnika i aminy alifatycznej na reakcje siliłowania urydyny związkiem $\text{DSiCl}_2$ (**11**)

Uzyskane wyniki z przeprowadzonych doświadczeń spowodowały, że zdecydowałam się także sprawdzić, czy rodzaj rozpuszczalnika i obecność trietyloaminy w środowisku reakcji, wpływa na reakcje siliłowania urydyny za pomocą  $\text{DSiCl}_2$  (**11**). Do rozpuszczalników wykorzystanych w eksperymentach należą:

- DMF, pirydyna, THF, MeCN oraz mieszaniny równoobjętościowe: DMF-THF, DMF-MeCN, pirydyna-THF, pirydyna-MeCN.

W pierwszym kroku przetestowałam wpływ rozpuszczalnika na otrzymywanie 2',3'-O-izomeru **21**. Wszystkie eksperymenty wykonałam wykorzystując w reakcjach siliłowania urydynę. Eksperyment polegał na dodaniu do roztworu rybonukleozydu w odpowiednim rozpuszczalniku, rozcieńczonego reagenta siliłowego  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) (Wykres 1).



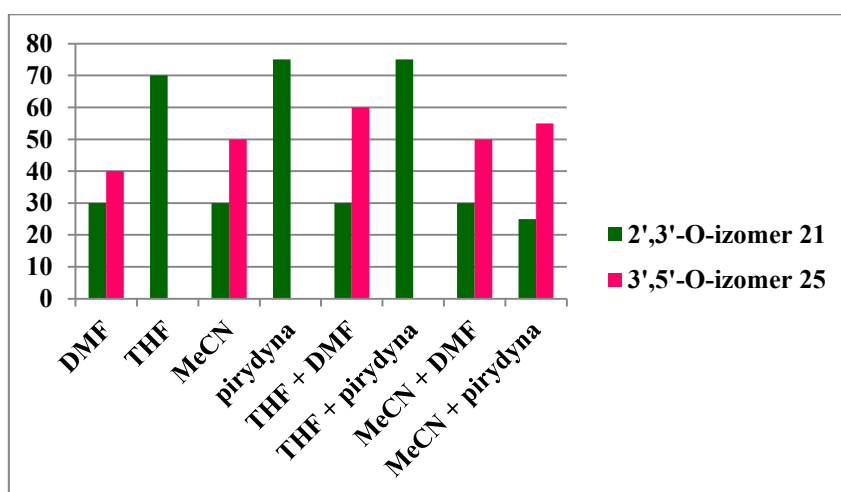
Wykres 1. Wydajność poszczególnych reakcji otrzymywania 2',3'-O-izomeru **21**.

Z uzyskanych rezultatów wynika, że reakcje prowadzone w samym THF i MeCN nie zachodzą, z kolei w samym DMF i pirydynie produkt **21** powstaje z wydajnością ok. 90 %.

Zastosowanie mieszanin DMF lub pirydyny z THF lub MeCN umożliwia otrzymanie produktu **21**, ale z wydajnością mniejszą niż w przypadku czystych rozpuszczalników DMF czy pirydyny. Spośród badanych mieszanin rozpuszczalników największą wydajność produktu **21** (85 %) uzyskałam w mieszninie DMF-MeCN.

Różne wydajności procesów świadczą jednoznacznie, że rodzaj zastosowanego rozpuszczalnika ma wpływ na ilość otrzymywanego związku **21** w danej syntezie.

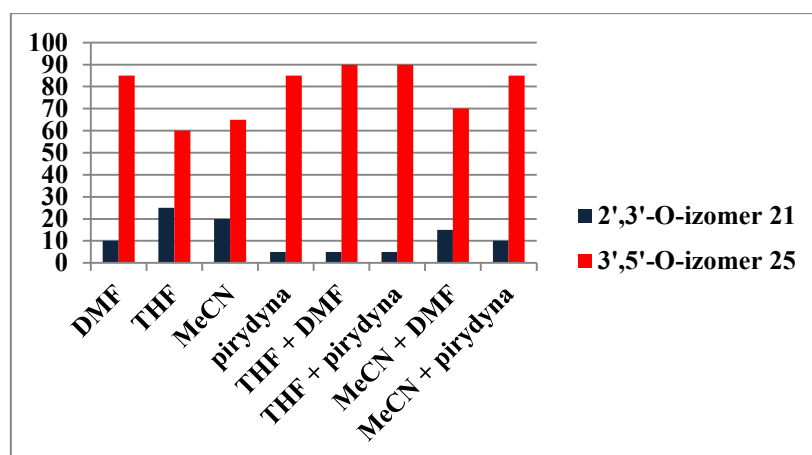
W kolejnym etapie badań sprawdziłam, jak rozpuszczalnik wpływa na wydajność powstawania 3',5'-O-izomeru **25**. Eksperymenty wykonałam w dwóch seriach. W pierwszej nie stosowałam dodatku trietyloaminy, w odróżnieniu od serii drugiej. Wszystkie reakcje prowadziłam z wykorzystaniem urydyny, imidazolu i  $\text{DSiCl}_2$  (**11**). Po rozpuszczeniu imidazolu w danym rozpuszczalniku, dodawałam odpowiednią ilość związku **11**. W serii drugiej, dodanie roztworu urydyny w odpowiednim rozpuszczalniku do wcześniej przygotowanej mieszaniny  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) i imidazolu, było poprzedzone wprowadzeniem trietylominy (Wykres 2).



**Wykres 2.** Wydajność produktów **21** i **25** uzyskanych w wyniku pierwszej serii reakcji silylowania urydyny za pomocą  $\text{DSiCl}_2$ , bez dodatku  $\text{Et}_3\text{N}$ .

W przypadku zastosowania THF, pirydyny lub ich mieszaniny z wysoką wydajnością powstawał tylko jeden produkt - 2',3'-O-izomer **21**. Natomiast w każdym innym przypadku otrzymałam mieszaninę związków **21** i **25**.

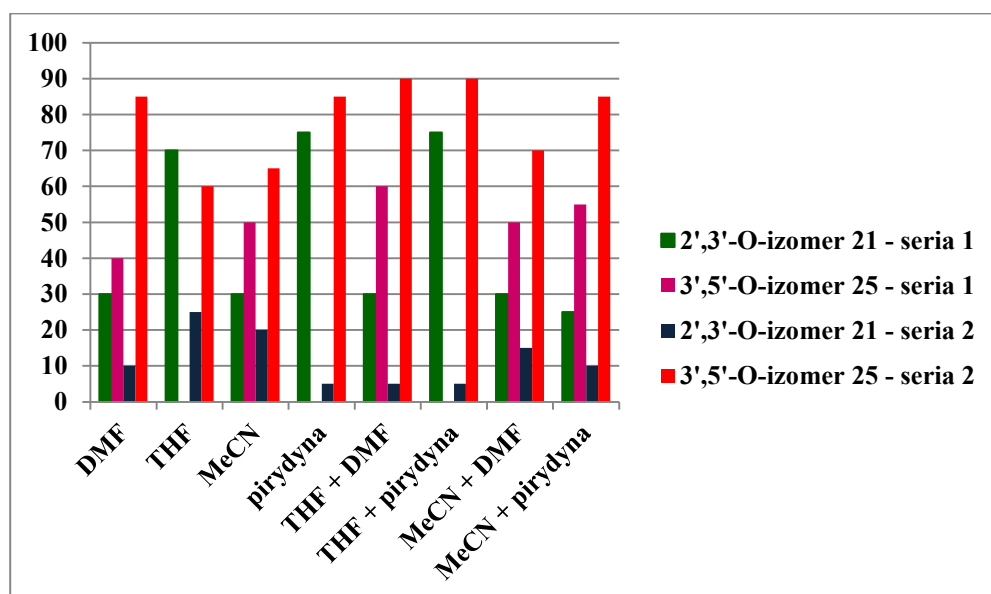
Zupełnie inne wyniki z reakcji silylowania urydyny związkiem **11** otrzymałam w drugiej serii eksperymentów (Wykres 3).



**Wykres 3.** Wydajność produktów **21** i **25** powstałych w drugiej serii reakcji silylowania urydyny za pomocą  $\text{DSiCl}_2$ , w obecności  $\text{Et}_3\text{N}$ .

Z Wykresu 3 wynika, że obecność trietyloaminy sprzyja powstawaniu pochodnej 3',5'-O-silylowej urydyny **25**. Spośród badanych układów rozpuszczalników największą ilość produktu **25** (90 %) otrzymałam w mieszaninie THF z DMF i THF z pirydyną.

W celu zobrazowania różnic pomiędzy pierwszą a drugą serią reakcji, wyniki obydwóch serii otrzymywania związków **21** i **25** zestawiałam na Wykresie 4.

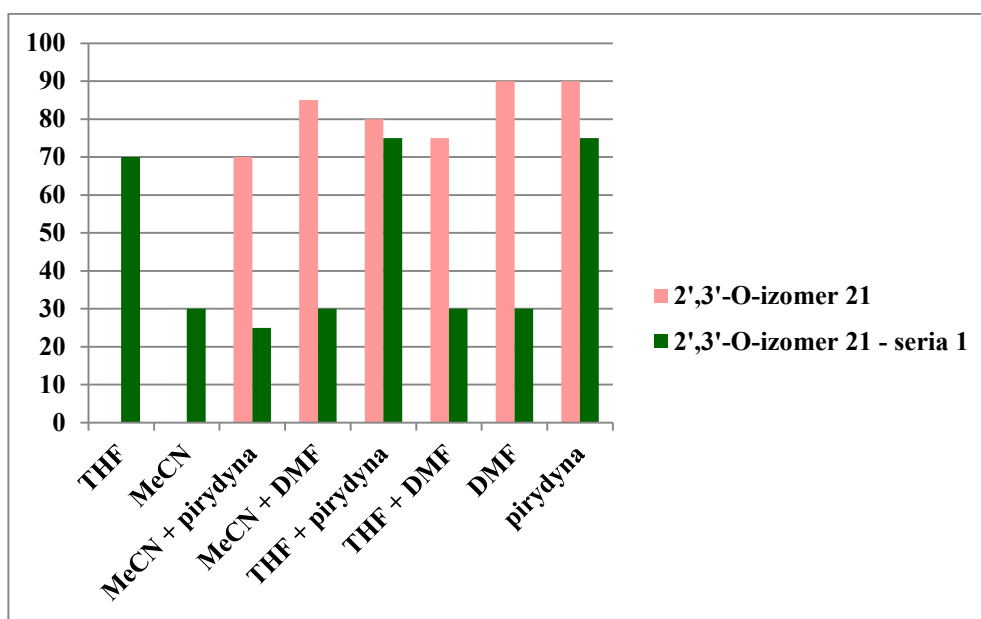


**Wykres 4.** Zestawienie wyników z pierwszej i drugiej serii reakcji silylowania urydyny za pomocą  $\text{DSiCl}_2$ .

Zastosowanie odmiennych rozpuszczalników w reakcjach otrzymywania 2',3'-O-izomeru **21** lub 3',5'-O-izomeru **25** powoduje uzyskanie w każdym przypadku innego efektu

końcowego. Zachowanie takie jest dowodem potwierdzającym założenie, że charakter rozpuszczalnika wpływa na przebieg poszczególnych reakcji silylowania urydyny  $\text{DSiCl}_2$  (**11**).

Na podstawie wykonanych eksperymentów zauważyłam także wpływ obecności imidazolu na ilość powstającego 2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-dylo)urydyny (**21**), porównując reakcje jego otrzymywania w różnych rozpuszczalnikach, z dodatkiem imidazolu (seria 1) i bez jego obecności (Wykres 5).



**Wykres 5.** Wydajność 2',3'-O-izomeru **21**, powstałego w reakcjach silylowania urydyny  $\text{DSiCl}_2$  (**11**): seria 1 - reakcje silylowania w obecności imidazolu.

Z danych zamieszczonych na Wykresie 5 wynika, że większe różnice w ilości otrzymywanego produktu **21** obserwowałam w reakcjach silylowania urydyny związkiem **11** w obecności imidazolu, niż w reakcjach bez jego udziału. Na podstawie uzyskanych wyników z wszystkich przeprowadzonych eksperymentów wywnioskowałam, że zastosowanie pirydyny, słabej zasady ( $\text{pK}_a=5,21$ ), jako środowiska reakcji, sprzyja powstawaniu pochodnej 2',3'-O-silylowej urydyny ( $\text{U}>\text{DSi}$ ). Dodatek do reakcji imidazolu ( $\text{pK}_a=7,05$ ), który jest około 100-krotnie silniejszą zasadą od pirydyny, ułatwia powstawanie pochodnej 3',5'-O-silylowej urydyny ( $\text{DSi}<\text{U}$ ). Dużą selektywność reakcji w kierunku otrzymywania 3',5'-O-izomeru **25** zaobserwowałam, gdy do mieszaniny reakcyjnej z imidazolem dodałam silniejszej od niego zasady, trietyloaminy ( $\text{pK}_a=10,75$ ).

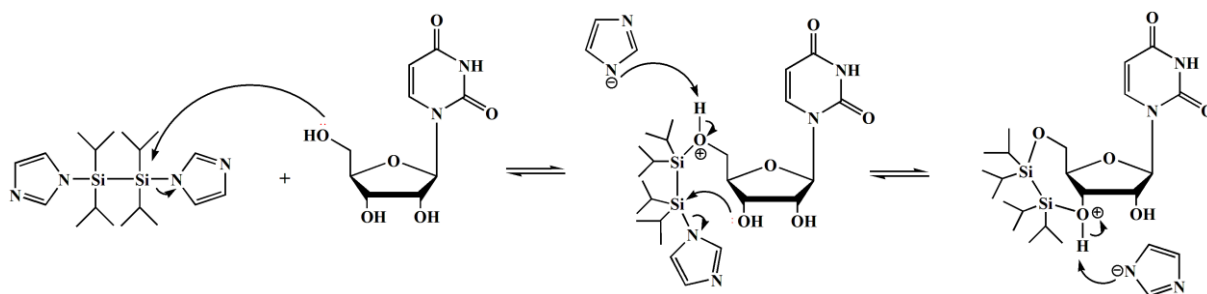
Wykorzystanie nowego bifunkcyjnego reagenta siliowego **11** w reakcjach zabezpieczania grup hydroksylowych w urydynie, umożliwia poprzez zastosowanie odpowiednich warunków syntezy, selektywne otrzymywanie związków **21** i **25**. Warunki zasadowe reakcji sprzyjają powstawaniu  $\text{DSi}<\text{U}$  (**25**), natomiast kwasowe warunki reakcji sprzyjają powstawaniu pochodnej  $\text{U}>\text{DSi}$  (**21**). Zastanawiałam się, jaka jest właściwie reaktywność  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) i skąd wynika jego zdolność do selektywnego tworzenia związków **21** i **25**? W jaki sposób następuje jego wprowadzanie do rybonukleozydów? Czy zachodzi to w sposób bezpośredni, czy też produkty powstają poprzez jakiś związek pośredni?

#### 4. Badanie mechanizmu powstawania pochodnych siliowych urydyny **21** i **25**

Wszystkie dotychczas stosowane bifunkcyjne reagenty siliowe wykazują dużą reaktywność względem pierwszorzędowej grupy 5'-hydroksylowej reszty rybozy. Ich bezpośrednia reakcja z drugorzędowymi grupami hydroksylowymi zachodzi w niewielkim stopniu lub nie jest obserwowana. Dochodzi do niej wtedy, kiedy zablokowana jest funkcja 5'-OH.

Początkowo sądziłam, że w momencie otrzymywania związku **21** reakcja  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) z urydyną następuje w pierwszej kolejności do drugorzędowej grupy hydroksylowej. Reaktywność funkcji 2'- i 3'-hydroksylowych jest bardzo podobna. Takie zachowanie tłumaczyłam wtedy inną reaktywnością nowego bifunkcyjnego reagenta siliowego **11**, niż  $\text{TIPDSiCl}_2$ .

Zmiana atomu chloru w  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) na atom azotu i wygenerowanie pochodnej imidazolowej **24**, umożliwiło wówczas otrzymanie pochodnej  $\text{DSi}<\text{U}$  (**25**) (Schemat 66).

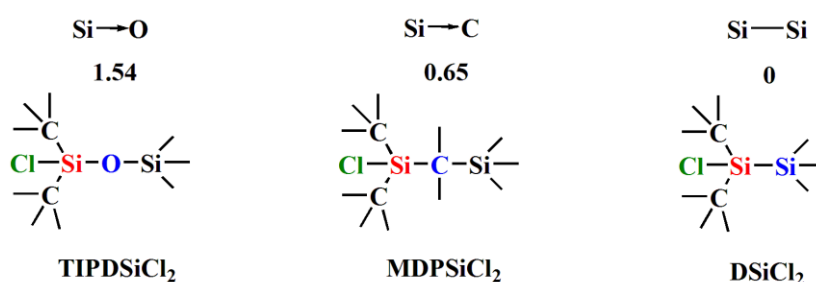


**Schemat 66.** Mechanizm reakcji związku **24** z urydyną.

Różnica elektroujemności pomiędzy atomami w wiązaniu Si-Cl wynosi 1,26, natomiast w wiązaniu Si-N odpowiada wartości 1,14. W związku z tym, bardziej

spolaryzowane jest wiązanie Si-Cl w związku **11** niż Si-N w jego pochodnej **24**, a więc wiązanie Si-Cl będzie szybciej rozrywane, ze względu na wytworzone silniejsze centrum elektrofilowe na atomie krzemu.

Postanowiłam porównać strukturę nowego bifunkcyjnego reagenta  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) ze znanymi  $\text{TIPDSiCl}_2$  i  $\text{MDPSiCl}_2$  (Rozdział II.5.2.1.). Skorzystałam z danych z Tabeli 6 i 7 zamieszczonych w Rozdziale II.5.1.2. Ugrupowania różnią się między sobą charakterem podstawników umiejscowionych przy atomie krzemu (Schemat 67).



**Schemat 67.** Porównanie struktur bifunkcyjnych reagentów sililowych.

Na podstawie różnic elektroujemności pomiędzy atomem krzemu a związanymi z nim atomami w różnych bifunkcyjnych reagentach sililujących (O, C, Si), sformułowałam wstępną hipotezę. Im bardziej elektroujemne są atomy w sąsiedztwie atomu krzemu, tym więcej energii potrzeba do rozerwania wiązania Si-Cl, ponieważ wiązanie to jest dodatkowo „wzmacniane” przez obecność dodatkowego elektroujemnego atomu przy atomie krzemu. W związku z tym, reaktywność takiego bifunkcyjnego reagenta sililowego powinna być mniejsza.

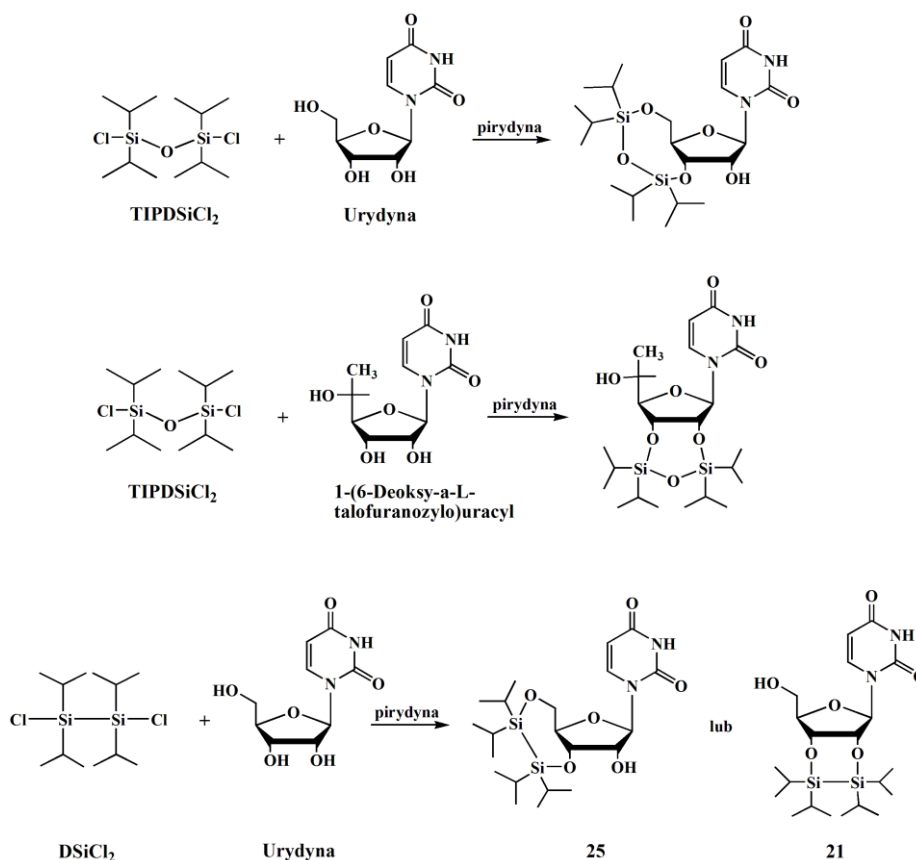
Ponadto została policzona, przez Pana prof. Michała Sobkowskiego, za pomocą programu HyperChem 7.0, geometria ab initio związków przedstawionych na Schemacie 67. Obliczeń dokonano z wykorzystaniem algorytmu „Steepest descent” i najwyższego poziomu dokładności 6-31G\*\*. Otrzymano różne długości wiązań Si-Cl, dla poszczególnych reagentów sililowych (Tabela 14).

**Tabela 14.** Wartość długości wiązań Si-Cl bifunkcyjnych reagentów sililujących (Schemat 67).

| Związek              | $\text{TIPDSiCl}_2$ | $\text{MDPSiCl}_2$ | $\text{DSiCl}_2$ |
|----------------------|---------------------|--------------------|------------------|
| Długość wiązania [Å] | 2,0528              | 2,0772             | 2,0840           |

Z danych zamieszczonych w Tabeli 14 wynika, że najdłuższe wiązanie Si-Cl jest w  $\text{DSiCl}_2$ , a najkrótsze jest w  $\text{TIPDSiCl}_2$ . Im dłuższe wiązanie, tym łatwiej je rozerwać, co wskazywałoby na to, że reagent  $\text{TIPDSiCl}_2$  jest związkiem mniej reaktywnym niż  $\text{DSiCl}_2$ .

Przeprowadzone eksperymenty, mające na celu wyjaśnienie zdolności nowego bifunkcyjnego reagenta **11** do tworzenia izomerów  $\text{U} > \text{DSi}$  (**21**) i  $\text{DSi} < \text{U}$  (**25**), nie potwierdziły postawionej hipotezy. W reakcjach silylowania ważną rolę odgrywa nie tylko budowa reagenta silylującego, ale również rzędowość grup hydroksylowych obecnych w związku, który jest poddawany reakcji silylowania. W przypadku reakcji  $\text{TIPDSiCl}_2$  z urydyną otrzymuje się selektywnie 3',5'-O-(tetraizopropylodisiloksano-1,3-dylo)urydynę, w której 1° grupa -OH i jedna z dwóch 2° grup -OH zostaje zablokowana [94-96]. Natomiast w momencie kiedy silylowaniu  $\text{TIPDSiCl}_2$  poddamy rybonukleozyd, w którym wolne są tylko 2° grupy -OH, otrzymujemy selektywnie izomer 2',3', [131]. Z kolei w przypadku silylowania urydyny  $\text{DSiCl}_2$ , pomimo obecności w niej jednej 1° grupy -OH i dwóch 2° grup -OH, otrzymywałam selektywnie albo 3',5'-O-izomer **25** albo 2',3'-O-izomer **21** (Schemat 68). Było to dla mnie wielką zagadką.



**Schemat 68.** Reakcje silylowania rybonukleozydów z grupami hydroksylowymi o różnej rzędowości.

Cały czas pojawiało się też pytanie: z czego wynika selektywność powstawania izomerów **21** i **25** i jak ją można wytłumaczyć? Zastanawiałam się czy w każdej reakcji silylowania rybonukleozydów  $\text{DSiCl}_2$  powstaje najpierw 3',5'-O-izomer **25**, który następnie ulega przekształceniu do 2',3'-O-izomeru **21**? Chciałam wyjaśnić na drodze eksperymentalnej czy  $\text{U>DSi}$  (**21**), jedyny produkt reakcji, powstaje wyłącznie na drodze izomeryzacji, czy wyłącznie na drodze bezpośredniego silylowania, czy też mamy do czynienia z obydwooma tymi procesami równocześnie?

Poszukując odpowiedzi na pytania postanowiłam wykonać serię doświadczeń, aby stwierdzić czy na przebieg poszczególnych reakcji silylowania urydyny związkiem **11**, nie wpływa generowany w środowisku reakcji chlorowodorek aminy, a konkretnie pirydyny, imidazolu i trietyloaminy. Prace badawcze rozpoczęłam od doświadczeń, w których wykorzystywałam różnomolowe ilości chlorowodoru pirydyny w stosunku do 3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)urydyny (**25**).

Eksperymenty, w pierwszej kolejności, opierały się na otrzymaniu chlorowodoru pirydyny, który rozpuściłam w pirydynie, będącej rozpuszczalnikiem reakcji i następnie dodałam roztwór związku **25** w pirydynie. Za pomocą analizy TLC badałam postęp reakcji po 1, 2, 3 i 24 h. W przypadku użycia w reakcji 4 ekw. nadmiaru chlorowodoru pirydyny względem 1 ekw. związku **25**, po 1 h zaobserwowałam na płytce TLC obecność w mieszaninie reakcyjnej zamiast jednej plamy dwóch, w stosunku ok. 1:1. Po wyizolowaniu poszczególnych plam i ich analizie NMR, okazało się, że plamy te odpowiadają 3',5'-O-izomerowi **25** i 2',3'-O-izomerowi **21**. Postanowiłam określić szybkość reakcji izomeryzacji związku **25** do **21**, ponieważ to powinno ułatwić zrozumienie procesów zachodzących podczas syntezy. W tym celu porównałam warunki syntezy z warunkami, w których prowadziłam reakcję izomeryzacji.

Reakcję izomeryzacji, w przeciwieństwie do syntezy, wykonałam w dużym rozcieńczeniu, aby łatwiej obserwować zmiany. Do obliczeń wykorzystywałam stężenia substratu nukleozydowego i chlorowodoru pirydyny. Obliczyłam ile razy ich stężenia są większe w reakcji syntezy, w porównaniu z reakcją izomeryzacji. Stężenie substratu nukleozydowego w warunkach syntezy jest około 12-krotnie większe, natomiast stężenie chlorowodoru pirydyny jest w przybliżeniu 8-krotnie większe.

$$250 \mu\text{M} / 20 \mu\text{M} = 12,5$$

$$650 \mu\text{M} / 85 \mu\text{M} \approx 8$$

W związku z tym, można obliczyć, że czas półtrwania przekształcenia izomeru 3',5' (**25**) w izomer 2',3' (**21**) w warunkach syntezy jest krótszy około  $12,5 \cdot 8 = 100$  razy i wynosi 0,6 minuty. Wartość ta została wyliczona biorąc pod uwagę czas półtrwania związku **25** w reakcji izomeryzacji - 60 minut (Tabela 15).

**Tabela 15.** Warunki reakcji syntezy i izomeryzacji prowadzonych w obecności Py·HCl.

| Reakcja      | Czas reakcji<br>[h] | Stężenie substratu<br>rybonukleozydowego | Stężenie Py·HCl | $t_{1/2}$<br>[min] |
|--------------|---------------------|------------------------------------------|-----------------|--------------------|
| Izomeryzacja | 24                  | 20 $\mu$ M                               | 85 $\mu$ M      | 60                 |
| Synteza      | 1                   | 250 $\mu$ M                              | 650 $\mu$ M     | 0,6                |

Na podstawie tych informacji można obliczyć, że czas pełnego przekształcenia 3',5'-O-izomeru **25** do 2',3'-O-izomeru **21**, wymagający 6-7 okresów półtrwania, wynosi około 4,5 minuty. Czas potrzebny na całkowitą reakcję izomeryzacji związku **25** do **21**, zachodzącą podczas reakcji syntezy, jest zatem zdecydowanie krótszy, niż czas całej procedury syntezy.

Wykonałam taki sam eksperyment, ale z zastosowaniem 4 ekw. nadmiaru chlorowodoru imidazolu względem 1 ekw. związku **25**. Zauważyłam, że również dochodzi do izomeryzacji pomimo, że chlorowodorek imidazolu jest ok. 100 razy słabszym kwasem niż chlorowodorek pirydyny. Izomeryzacja zachodzi wolniej, gdyż dopiero po 3 h zaobserwowałam na płycie TLC dwie plamy, w stosunku ok. 1:1. Do ustalenia szybkości reakcji izomeryzacji związku **25** w obecności chlorowodoru imidazolu, wykorzystałam takie same stężenia reagentów, jak w pierwszym eksperymencie. Tym razem czas półtrwania izomeru 3',5' (**25**) ulegającego izomeryzacji w warunkach syntezy, wynosi 1,8 minuty (180 minut / 100) (Tabela 16).

**Tabela 16.** Warunki syntezy i izomeryzacji prowadzonych w obecności Im·HCl.

| Reakcja      | Czas reakcji<br>[h] | Stężenie substratu<br>rybonukleozydowego | Stężenie<br>Im·HCl | $t_{1/2}$<br>[min] |
|--------------|---------------------|------------------------------------------|--------------------|--------------------|
| Izomeryzacja | 24                  | 20 $\mu$ M                               | 85 $\mu$ M         | 180                |
| Synteza      | 1                   | 250 $\mu$ M                              | 650 $\mu$ M        | 1,8                |

Uzyskane wyniki wskazują, że całkowity czas potrzebny do przekształcenia 3',5'-O-izomeru **25** do 2',3'-O-izomeru **21** wynosi w tych warunkach około 13 minut. Jest to czas 4 razy krótszy niż czas całej procedury syntezy.

Kolejną serię eksperymentów wykonałam z zastosowaniem 4 ekw. chlorowodoru trietyloaminy względem 1 ekw. związku **25**. Jednakże w tym przypadku badając postęp procesu za pomocą analizy TLC, nie zauważyłam żadnych zmian. Substrat **25** nie ulegał izomeryzacji do **21**, nawet po 24 h, zgodnie z oczekiwaniami.

We wszystkich doświadczeniach wykonanych w pirydynie w obecności różnych soli chlorowodoru aminy, zaobserwowałam tworzenie się w pierwszej kolejności 3',5'-O-izomeru **25**. To, z jaką szybkością związek **25** ulega przekształceniu do związku **21**, zależy od zastosowanych warunków reakcji (Tabela 17).

**Tabela 17.** Zestawienie obliczonych wartości otrzymanych z reakcji izomeryzacji związku **25** do **21**, w różnych warunkach syntezy.

| Warunki syntezy siliłowania<br>urydyny $\text{DSiCl}_2$ ( <b>11</b> ) | Czas półtrwania związku <b>25</b><br>[min] | Całkowity czas izomeryzacji<br>związku <b>25</b> do <b>21</b> [min] |
|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| <b>Py</b> ·HCl                                                        | 0,6                                        | 4,5                                                                 |
| <b>Im</b> ·HCl                                                        | 1,8                                        | 13                                                                  |
| <b>Et<sub>3</sub>N</b> ·HCl                                           | 0                                          | 0                                                                   |

Siliłowanie urydyny  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) w obecności chlorowodoru pirydyny prowadzi do otrzymania produktu **21**, w wyniku procesu izomeryzacji związku **25**, zachodzącego całkowicie w warunkach syntezy w ciągu 4,5 minuty. Natomiast w warunkach reakcji z imidazolem, proces izomeryzacji przebiega 3 razy wolniej niż w samej pirydynie. Z kolei w reakcjach z imidazolem i trietyloaminą, proces ten nie zachodzi.

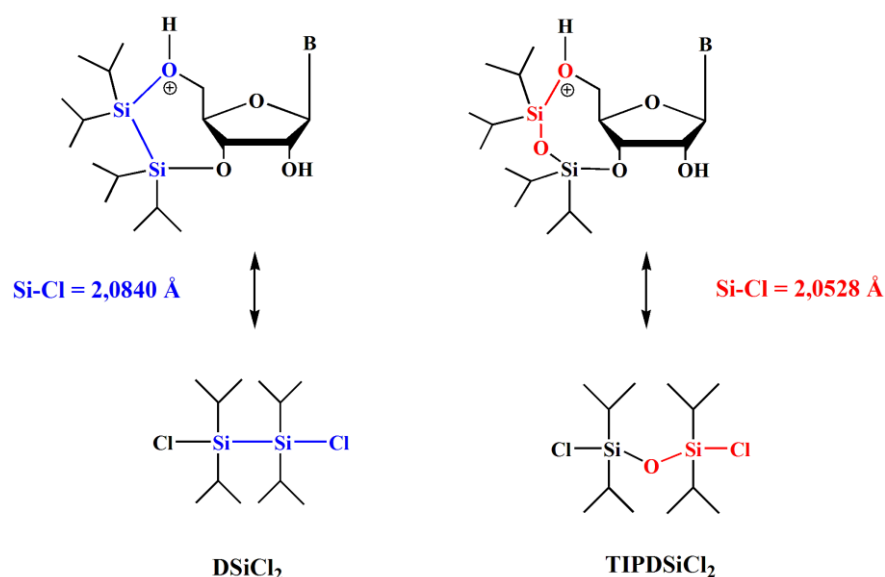
Doskonałym odzwierciedleniem tych doświadczeń jest pierwsza reakcja siliłowania urydyny  $\text{DSiCl}_2$  (**11**), w której reagenta siliłującego dodawałam stopniowo (Rozdział II.1.3.). Wraz ze wzrostem w mieszaninie reakcyjnej ilości  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) wzrastała również ilość chlorowodoru pirydyny, który był czynnikiem inicjującym proces przekształcania się 3',5'-O-izomeru **25** do 2',3'-O-izomeru **21**. Dzięki tym eksperymentom zrozumiałam różnice obserwowane na płytkach TLC i to, dlaczego w efekcie końcowym zamiast dwóch produktów otrzymałam tylko jeden.

Drugim przykładem potwierdzającym proces izomeryzacji jest reakcja, w której zastosowałam oprócz związku **11** i urydyny, 1,5 ekw. imidazolu. W rezultacie otrzymałam

dwa produkty w postaci związków **21** i **25** (Rozdział II.1.5.). Dodatek do mieszaniny z imidazolem trietyloaminy spowodował, że powstała tylko pochodna DSi<U (**25**).

Wnioski wynikające ze wstępnej hipotezy roboczej, obliczenia dotyczące długości wiązań Si-Cl w poszczególnych bifunkcyjnych reagentach siliłowych, a także wyniki przeprowadzonych eksperymentów dotyczących izomeryzacji, przyczyniły się do tego, że zrozumiałam wiele niejasnych dla mnie kwestii i dzięki temu znalazłam odpowiedzi na pojawiające się pytania.

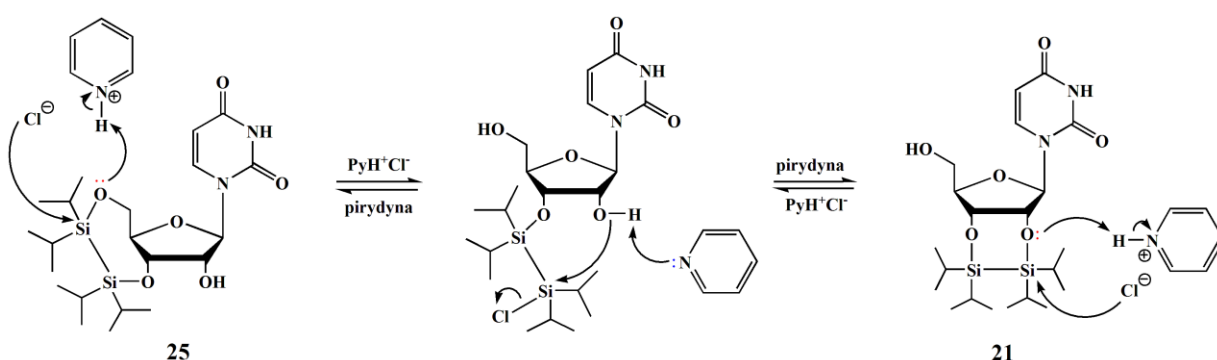
Selektywność otrzymywania poszczególnych produktów **21** i **25** wynika z procesu izomeryzacji, którego nie obserwowano w reakcjach z TIPDSiCl<sub>2</sub>. Najprawdopodobniej jest to uwarunkowane inną długością wiązań Si-Cl w DSiCl<sub>2</sub> i TIPDSiCl<sub>2</sub>, których wartości zostały zamieszczone w Tabeli 14. Wiązanie Si-Cl w TIPDSiCl<sub>2</sub> jest krótsze niż w DSiCl<sub>2</sub>. Im krótsze wiązanie, tym bardziej trwałe, tym więcej należy dostarczyć energii, aby je rozerwać. Przypuszczalnie długość wiązania Si-Cl w reagenście siliłującym TIPDSiCl<sub>2</sub> będzie odpowiadać długości wiązania Si-O, powstałego w wyniku reakcji siliłowania nukleozydu. Zatem wiązanie Si-O będzie również trudniej rozerwać, kiedy atom tlenu będzie ulegał reakcjom protonacji. To wskazywałoby, dlaczego nie obserwujemy procesu izomeryzacji w reakcjach siliłowania rybonukleozydów za pomocą TIPDSiCl<sub>2</sub>, w przeciwieństwie do reakcji z DSiCl<sub>2</sub> (Schemat 69). Można spodziewać się na tej podstawie, że długość wiązania Si-O w pochodnych DSi jest większa niż w pochodnych TIPDSi.



**Schemat 69.** Porównanie długości wiązań w DSiCl<sub>2</sub> i TIPDSiCl<sub>2</sub>.

Uzyskane wyniki, pozwoliły zrozumieć mi skąd wynika selektywność otrzymywania związków **21** i **25**. Przekonałam się, że bez względu na to, czy DSi występuje jako pochodna chlorkowa **11**, czy imidazolowa **24** to w reakcji z urydyną, w pierwszej kolejności reaguje z grupą hydroksylową w pozycji 5'.

Opisane doświadczenia potwierdziły również fakt, że duża reaktywność DSiCl<sub>2</sub> (**11**) jest przyczyną tego, że w środowisku pirydyny wobec kwasu jakim jest chlorowodorek pirydyny, 3',5'-O-izomer **25** ulega bardzo szybkiej izomeryzacji do 2',3'-O-izomeru **21**. W związku z tym tworzący się jako pierwszy izomer **25** jest produktem kinetycznym, a drugi izomer, **21**, jest produktem termodynamicznym (Schemat 70).



**Schemat 70.** Mechanizm izomeryzacji związku **25** do **21** w obecności chlorowodoru pirydyny.

## 5. Reakcje otrzymywania 1,2-dibromo-1,1,2,2-tetraizopropylodisilanu - DSiBr<sub>2</sub>

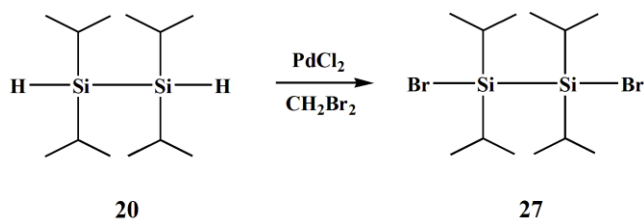
Po otrzymaniu pochodnej DSiCl<sub>2</sub> (**11**) i sprawdzeniu jej reaktywności względem rybonukleozydów postanowiłam zsyntetyzować 1,2-dibromo-1,1,2,2-tetraizopropylodisilan (**27**). Chciałam określić, czy DSiBr<sub>2</sub> (**27**) w reakcjach z rybonukleozydami będzie zachowywał się tak samo jak reagent **11**. Związek **27** otrzymałam wychodząc z 1,2-diwodoro-1,1,2,2-tetraizopropylodisilanu (DSiH<sub>2</sub>). Początkowo w reakcjach bromowania wykorzystywałam 3 % roztwór Br<sub>2</sub> w THF lub sam Br<sub>2</sub>. Do przygotowanej mieszaniny DSiH<sub>2</sub> (**20**) i trietyloaminy w THF dodawałam odpowiednią ilość bromu. Każda z tych reakcji jest egzotermiczna, dlatego była prowadzona w niskich temperaturach (-40 -0 °C). Pomimo zaobserwowanych wizualnych zmian (powstawanie osadu bromowodoru trietyloaminy, zmiana barwy roztworu), nie otrzymałam produktu **27**.

W celu przekształcenia wodorosilanów do ich pochodnych halogenowych powszechne zastosowanie znalazły różne katalizatory. Sommer i jego współpracownicy w reakcji pomiędzy trialkylsilanem a chlorkiem alkilowym, po raz pierwszy zastosowali jako

katalizator jodek glinu(III) [132]. Następnie wiele reakcji redukcyjnego dehalogenowania chlorków alkilowych prowadzonych było w obecności katalitycznych ilości chlorku glinu(III) [133]. Obecnie jednym z najpowszechniej stosowanych katalizatorów w reakcjach halogenowania wodorków siliowych jest  $\text{PdCl}_2$ . Halogenowanie to najczęściej prowadzi się z wykorzystaniem czterochlorku węgla [134], jodków alkilowych [135] i dibromometanu [99] jako źródeł halogenów.

Zastosowanie katalizatora  $\text{PdCl}_2$  w reakcjach przekształceń wodorków siliowych w ich halogenki, umożliwiało uzyskanie odpowiednich produktów z wysokimi wydajnościami, w łagodnych warunkach reakcji. Kolejne próby otrzymania  $\text{DSiBr}_2$  (**27**) wykonałam z użyciem reakcji katalitycznych.

Opierając się na doświadczeniach opisanych w pracach Chatgililoglu'a i jego współpracowników [99,136,137], opracowałam skuteczną metodę powstawania związku **27**. Eksperyment polegał na umieszczeniu w jednym naczyniu reakcyjnym 1 ekw.  $\text{DSiH}_2$  (**20**), 4,5 mol% chlorku palladu(II) i 1 mL dibromometanu. Następnie grzaniu w łaźni olejowej w temperaturze 60-70 °C przez 8 h. W mieszaninie reakcyjnej pojawił się czarny osad pochodzący od  $\text{Pd}(0)$ , a roztwór przyjął barwę żółtego (Schemat 71).



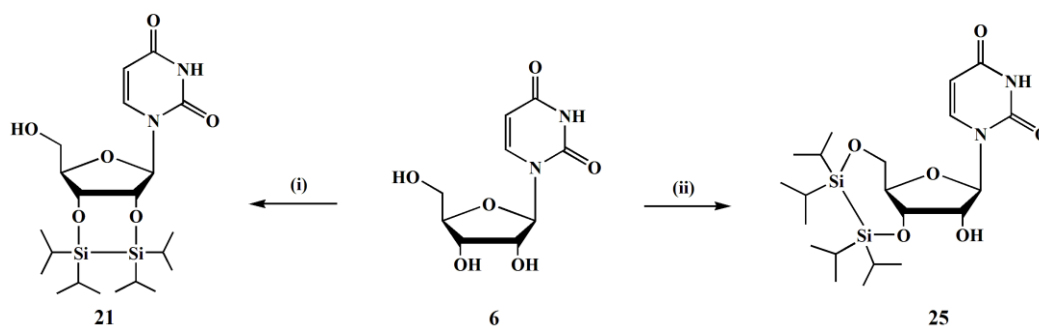
**Schemat 71.** Synteza  $\text{DSiBr}_2$  (**27**).

Reakcję kontrolowałam za pomocą  $^{29}\text{Si}$ -NMR i zakończyłam, gdy na widmie pojawił się jeden sygnał przy wartości 39,89 ppm pochodzący od atomu Si w  $\text{DSiBr}_2$ . Analiza widm  $^{29}\text{Si}$ -NMR próbek pobieranych w trakcie reakcji bromowania pozwoliła mi przepisać sygnały pochodzące od substratu i produktów pośrednich: substrat **20** (-14,27 ppm); produkt przejściowy, w którym stwierdzono obecność wiązania Si-Cl i Si-Br (32,12 ppm). W związku **11** przesunięcie chemiczne atomu Si wynosi 21,96 ppm.

Kolejnym etapem moich badań było określenie reaktywności siliłowej pochodnej bromowej **27** wobec rybonukleozydów.

### 5.1. Reakcje 1,2-dibromo-1,1,2,2-tetraizopropylodisilanu (DSiBr<sub>2</sub>) z urydyną

Po dokładnym zanalizowaniu i potwierdzeniu struktury powstałego DSiBr<sub>2</sub> (**27**), poddałam go reakcji z urydyną, pomijając etap jego oczyszczania. W pierwszej kolejności do mieszaniny reakcyjnej zawierającej 1,2-dibromo-1,1,2,2-tetraizopropylodisilan dodałam pirydynę, a następnie rybonukleozyd rozpuszczony w tym samym rozpuszczalniku. Reakcję zakończyłam po 1 h, gdyż na podstawie analizy TLC widoczne było całkowite przereagowanie substratów. Po wyizolowaniu produktu głównego i jego dokładnej analizie, okazało się, że produktem tym jest 2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-dylo)urydyna (**21**). 3',5'-O-izomer **25** otrzymałam poprzez zastąpienie podstawników bromowych -imidazolowymi (Schemat 72).



**Schemat 72.** Reakcje otrzymywania związków **21** i **25** z wykorzystaniem DSiBr<sub>2</sub> (**27**): (i) DSiBr<sub>2</sub> (1,3 ekw.), pirydyna, temp. pok., 1 h; (ii) DSiBr<sub>2</sub> (1,3 ekw.), imidazol (3 ekw.), Et<sub>3</sub>N (6 ekw.), THF, pirydyna, temp. pok., 3 h.

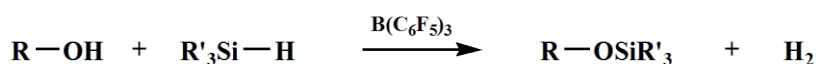
W analogiczny sposób jak bromową pochodną sililową **27** można otrzymać pochodne chlorkowe i jodkowe, poprzez zastosowanie odpowiedniego źródła halogenku [99,137].

Na podstawie wyników reakcji sililowania urydyny DSiBr<sub>2</sub> (**27**) stwierdziłam, że zmiana podstawników chlorkowych na bromkowe, nie wywołuje żadnej istotnej zmiany w reakcjach sililowania i nadal towarzyszy im proces izomeryzacji. Zachodzi on zarówno w reakcjach sililowania urydyny związkiem **11**, jak i **27**.

## 6. Reakcje sililowania rybonukleozydów z wykorzystaniem katalizatorów

Katalizatory znalazły zastosowanie nie tylko w reakcjach halogenowania wodorków krzemoorganicznych, ale również w reakcjach sililowania alkoholi. Do przedstawicieli pierwszej grupy zaliczamy AlCl<sub>3</sub>, PdCl<sub>2</sub>, które zostały już omówione.

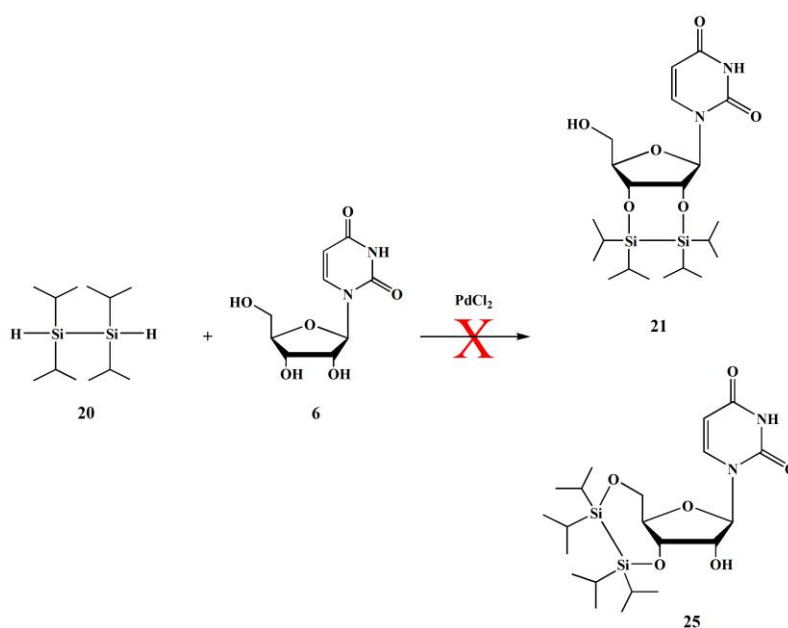
Reprezentantami katalizatorów stosowanych w siliłowaniu alkoholi są tris(trifluorometanosulfonian) skandu -  $\text{Sc}(\text{OTf})_3$  i tris(pentafluorofenylo)boran -  $\text{B}(\text{C}_6\text{F}_5)_3$  [138,139]. Otrzymywanie eterów siliłowych wymaga użycia do reakcji związków allilosililowych w przypadku zastosowania  $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ , a wodorosilanów dla  $\text{B}(\text{C}_6\text{F}_5)_3$  (Schemat 73).



**Schemat 73.** Ogólny przykład siliłowania alkoholu z wykorzystaniem  $\text{B}(\text{C}_6\text{F}_5)_3$  i  $\text{R}'_3\text{Si}-\text{H}$ .

Wykorzystanie innych pochodnych siliłowych, niż halogenki umożliwia przebieg syntezy bez wytworzenia trudnej do usunięcia soli chlorowodoru aminy. Upraszcza to znacznie procedurę wytworzenia eteru siliłowego o etap ekstrakcji, sączenia i suszenia. Reakcje zachodzą z wydajnościami ok. 80 %. Jedynymi produktami ubocznymi są związki lotne, np. wodór, propen, które w łatwy sposób można usunąć ze środowiska reakcji [138,139].

Przeprowadziłam reakcje siliłowania urydyny z użyciem  $\text{Sc}(\text{OTf})_3$  i acetonitrylu, jako rozpuszczalnika. Do przygotowanego roztworu urydyny w  $\text{CH}_3\text{CN}$ , dodałam 4 mol% katalizatora  $\text{Sc}(\text{OTf})_3$  i  $\text{DSiH}_2$  (**20**). Próby prowadziłam w temperaturze pokojowej przez 72 h. Okazało się, że reakcja nie zachodzi. To samo było w przypadku zastosowania innego rozpuszczalnika i katalizatora  $\text{PdCl}_2$  (Schemat 74).



**Schemat 74.** Próby siliłowania urydyny  $\text{DSiH}_2$  (**20**), z użyciem katalizatorów.

Wykorzystanie  $\text{PdCl}_2$  i  $\text{Sc}(\text{OTf})_3$  w reakcjach silylowania rybonukleozydów nie przyniosło oczekiwanych efektów. W związku z tym, zakończyłam prace wytwarzania eterów silylowych metodami katalitycznymi.

#### 7. Zastosowanie jodu - $\text{I}_2$ w metodach otrzymywania 2',3'-O-izomeru **21** i 3',5'-O-izomeru **25**

W dalszym ciągu jednak poszukiwałam prostego i wygodnego sposobu wprowadzania  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) do rybonukleozydów. Znalezienie efektywnej procedury umożliwiłoby uzyskanie pożądanego 3',5'-O-izomeru urydyny **25**, w krótkim czasie i z wysoką wydajnością. W reakcjach z bifunkcyjnymi reagentami silylowymi postanowiłam wykorzystać metodę opracowaną przez Stawińskiego i jego współp., dla monofunkcyjnych związków krzemu [140].

Sposób polegał na umieszczeniu w naczyniu reakcyjnym oprócz reagenta silylowego i alkoholu, również heterocyklicznej zasady i kryształków jodu, których obecność była niezbędna. Produkty otrzymywano w dużych ilościach i w krótkim czasie. W eksperymentach, w których zastosowano tylko jeden z dwóch czynników (albo heterocykliczną zasadę albo  $\text{I}_2$ ) nie obserwowano takich efektów jak w przypadku reakcji z dwoma reagentami. Najskuteczniejszymi zasadami heterocyklicznymi okazała się pirydyna i N-metyloimidazol (NMI) [140].

Wykonałam serię eksperymentów, w których wykorzystałam urydynę, reagent silylowy 1,2-dichloro-1,1,2,2-tetraizopropylodisilan (**11**), zasady heterocykliczne - N-metyloimidazol i pirydynę, DMF i THF jako rozpuszczalniki i różne ilości  $\text{I}_2$  (1, 2, 3, 6 ekw.). Kolejność dodawania reagentów była taka sama dla każdego doświadczenia. Do mieszaniny urydyny, zasady i jodu w odpowiednim rozpuszczalniku dodawałam bezpośrednio lub w rozcieńczeniu  $\text{DSiCl}_2$  (**11**). Wszystkie reakcje były prowadzone w temperaturze pokojowej, w atmosferze argonu i z dodatkiem takiej samej ilości sit molekularnych typu 3 Å firmy Merck, w celu zachowania warunków bezwodnych. Ilości urydyny,  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) i zasady były stałe i wynosiły odpowiednio 1 ekw. : 1,3 ekw. : 6 ekw.

W pierwszej kolejności przeprowadziłam eksperymenty z zastosowaniem N-metyloimidazolu (Tabela 18).

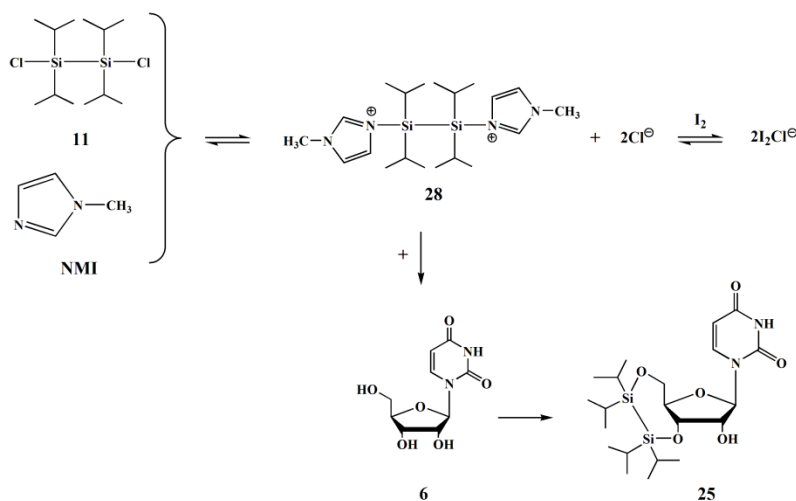
**Tabela 18.** Wyniki reakcji silylowania urydyny  $\text{DSiCl}_2$  (**11**), z wykorzystaniem NMI i  $\text{I}_2$ .

| Nr | $\text{I}_2$<br>[ekw] | Rozpuszczalnik<br>[mL] | t<br>[min] | $\text{DSiCl}_2$ ( <b>11</b> ) | Wydajności poszczególnych<br>produktów                             |
|----|-----------------------|------------------------|------------|--------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| 1  | -                     | DMF (1)                | 30         | rozcieńczony                   | 2',3'-O-izomer <b>21</b> (60 %)<br>3',5'-O-izomer <b>25</b> (25 %) |
| 2  | 6                     | DMF (1)                | 30         | rozcieńczony                   | pochodna rybozy (75 %)                                             |
| 3  | 2                     | DMF (2)                | 30         | rozcieńczony                   | 3',5'-O-izomer <b>25</b> (50 %)<br>2',3'-O-izomer <b>21</b> (40 %) |
| 4  | 3                     | DMF (3)                | 60         | rozcieńczony                   | pochodna rybozy (40 %)<br>3',5'-O-izomer <b>25</b> (35 %)          |
| 5  | 1                     | DMF (3)                | 15         | rozcieńczony                   | 3',5'-O-izomer <b>25</b> (60 %)<br>2',3'-O-izomer <b>21</b> (35 %) |
| 6  | 1                     | DMF (3)                | 15         | stężony                        | 3',5'-O-izomer <b>25</b> (81 %)<br>2',3'-O-izomer <b>21</b> (18 %) |
| 7  | 1                     | THF (3)                | 15         | stężony                        | 3',5'-O-izomer <b>25</b> (76 %)<br>2',3'-O-izomer <b>21</b> (7 %)  |

Zgodnie z danymi zamieszczonymi w Tabeli 18, w każdej z prób uzyskałam inny efekt końcowy.

Porównanie poszczególnych reakcji silylowania wskazuje, że można wydajnie, otrzymać 3',5'-O-izomer **25**, prowadząc reakcję w obecności jodu.

Spośród wszystkich metod z NMI, najlepszymi okazały się metody 6 i 7, ponieważ w krótkim czasie, otrzymywałam największe ilości pożądanego produktu **25** (Schemat 75).

**Schemat 75.** Synteza 3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)urydyny z  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) w obecności NMI i  $\text{I}_2$ .

Długi czas reakcji i duża ilość  $I_2$  (3-6 ekw.), które zostały zastosowane w metodzie 2 i 4, mają niekorzystny wpływ na efektywność reakcji silylowania, ponieważ prowadziły do rozszczepienia wiązania N-glikozydowego. Produktem głównym, była pochodna rybozy z ugrupowaniem tetraizopropylodisilano-1,2-diolowym (DSi) w pozycjach 3',5'. Zmniejszenie ilości jodu z 6 ekw. do 3 ekw., zwiększenie ilości DMF z 1 mL do 3 mL spowodowało, że powstał pożądaný produkt **25**, z wydajnością 35 %.

Porównując metody 3 i 5 oraz 5 i 6 doszłam do wniosku, że można skrócić czas reakcji do 15 minut, a także wyeliminować dodawanie reagenta silylowego **11** w rozcieńczeniu. Czynniki te stanowiły główną przyczynę powstawania w reakcjach 3 i 5, mieszaniny związków **21** i **25**, w porównywalnych ilościach.

W każdym przypadku pozostawała nieprzereagowana urydyna.

W kolejnej serii doświadczeń zastosowałam pirydynę zamiast N-metyloimidazolu. Zasadowość NMI ( $pK_a=6,97$ ) znacznie różni się od zasadowości pirydyny ( $pK_a=5,21$ ). W Rozdziale III.2., opisałam wpływ charakteru zasad heterocyklicznych na przebieg reakcji powstawania pochodnych  $U>DSi$  (**21**) i  $DSi<U$  (**25**). Zmiana zasady, miała pomóc odpowiedzieć na pytanie, czy różnica w zasadowości amin odgrywa znaczącą rolę w syntezach z jodem (Tabela 19)?

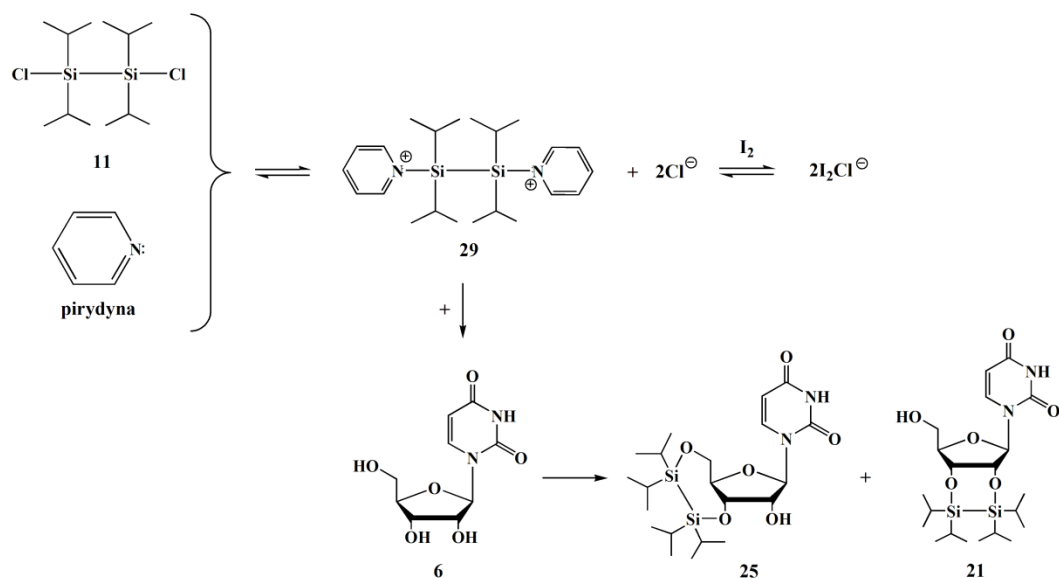
**Tabela 19.** Wyniki reakcji silylowania urydyny  $DSiCl_2$  (**11**), z wykorzystaniem pirydyny i  $I_2$ .

| Nr | $I_2$<br>[ekw] | Rozpuszczalnik<br>[mL] | t<br>[min] | $DSiCl_2$ ( <b>11</b> ) | Wydajności poszczególnych<br>produktów                                                        |
|----|----------------|------------------------|------------|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1  | -              | DMF (1)                | 30         | rozcieńczony            | 2',3'-O-izomer <b>21</b> (70 %)<br>3',5'-O-izomer <b>25</b> (15 %)                            |
| 2  | 6              | DMF (1)                | 30         | rozcieńczony            | pochodna rybozy (52 %)                                                                        |
| 3  | 3              | DMF (3)                | 60         | rozcieńczony            | pochodna rybozy (30 %),<br>3',5'-O-izomer <b>25</b> (25 %)<br>2',3'-O-izomer <b>21</b> (19 %) |
| 4  | 1              | THF (3)                | 15         | stężony                 | 3',5'-O-izomer <b>25</b> (40%)<br>2',3'-O-izomer <b>21</b> (10 %)                             |
|    |                |                        | 45         | stężony                 | 3',5'-O-izomer <b>25</b> (65 %)<br>2',3'-O-izomer <b>21</b> (17 %)                            |

Wyniki z drugiej serii eksperymentów prowadzą do podobnych wniosków, jak wyniki z pierwszej serii doświadczeń. Długi czas reakcji i duża ilość  $I_2$  (3-6 ekw.) wpływają niekorzystnie na przebieg syntezy, również prowadzą do rozszczepienia wiązania

N-glikozydowego, na co wskazują metody 2 i 3 z Tabeli 19. Zastosowanie mniejszej ilości jodu i większej ilości rozpuszczalnika, prowadzi do otrzymania, oprócz cyklicznego związku rybozy z DSi w pozycjach 3',5', także produktów **21** i **25**.

Najlepszą metodą otrzymywania DSi<U (**25**) okazała się metoda 4, ponieważ związek **25** otrzymałam z wydajnością 40 % i 65 % (Schemat 76).



**Schemat 76.** Synteza związków **21** i **25** w obecności pirydyny i I<sub>2</sub>.

Porównując metody przedstawione w Tabelach 18 i 19, można zauważyć wyraźne różnice w wynikach uzyskanych z poszczególnych reakcji obu serii. Zaznaczyłam je różnymi kolorami.

Analiza danych z Tabel 18 i 19, prowadzi do wniosku, że różna zasadowość amin heterocyklicznych użytych w reakcjach silylowania rybonukleozydów, w obecności I<sub>2</sub>, wpływa na jakość i wydajność tych procesów. Drugim czynnikiem oddziałującym na efektywność syntez, jest ilość zastosowanego jodu. Jod wykazuje zdolność do tworzenia polihalogenowych anionów (Schemat 75, 76), a więc w jego obecności stężenie anionów chlorkowych ulega zmniejszeniu poprzez tworzenie się mniej nukleofilowego anionu I<sub>2</sub>Cl<sup>-</sup>. Zgodnie z rozumowaniem przedstawionym przez Stawińskiego i współ., również w moim przypadku, reaktywnym związkiem w reakcjach silylowania jest najprawdopodobniej związek **28** lub **29**.

Podsumowując, w każdym z porównanych przykładów lepsze rezultaty otrzymywałam dla reakcji, w których zastosowałam N-metyloimidazol. Krótki czas reakcji, a także duża ilość rozpuszczalnika i dodawanie DSiCl<sub>2</sub> (**11**) bez rozcieńczenia, sprzyjają

powstawaniu 3',5'-O-izomerowi urydyny **25**. Natomiast biorąc pod uwagę obecność jodu, to im mniejsza jego ilość w środowisku reakcji, tym więcej powstaje pożądanego produktu **25**, bo w mniejszym stopniu zachodzi degradacja wiązania N-glikozydowego. Ponadto, czas prowadzenia reakcji i kwasowość sprzężonej zasady decydują o ostatecznej wydajności trwalszego izomeru 2',3', powstającego na drodze izomeryzacji produktu kinetycznego, czyli izomeru 3',5'.

## **8. Badanie stabilności pochodnych siliłowych urydyny **21** i **25** w różnych warunkach reakcji wprowadzania grup ochronnych w pozycje 2'- lub 5'-OH**

Rybonukleozydy z chronionymi grupami funkcyjnymi w pozycjach 3',5' lub 2',3' znalazły szerokie zastosowanie w chemii nukleozydów, nukleotydów i kwasów nukleinowych. Wykorzystanie bifunkcyjnych związków siliłowych do zabezpieczania określonych, reaktywnych funkcji rybonukleozydów, umożliwia selektywne przeprowadzanie reakcji chemicznych, na innych niezablokowanych centrach.

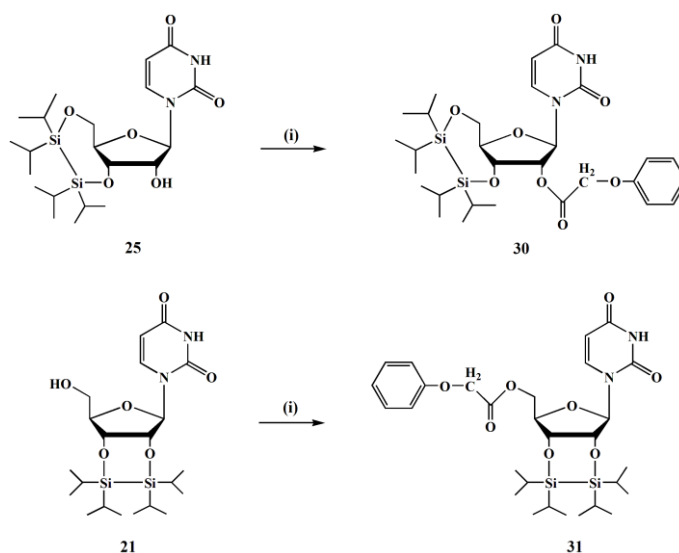
Opisując w niniejszej rozprawie nie tylko metodę syntezy 1,2-dichloro-1,1,2,2-tetraizopropylodisilanu ( $\text{DSiCl}_2$ ) jako nowego bifunkcyjnego reagenta siliłowego, ale również sposoby otrzymywania związków **21** i **25**, zbadalam również trwałość tych związków, w różnych warunkach.

### **8.1. Reakcje pochodnych siliłowych urydyny **21** i **25** z chlorkiem fenoksyacetylu**

Pierwszymi reakcjami, jakie wykonałam z wykorzystaniem  $\text{U}>\text{DSi}$  (**21**) i  $\text{DSi}<\text{U}$  (**25**) były reakcje acetylowania (Rozdział III.1.4., III.1.6.).

W kolejnym podejściu przeprowadziłam reakcje związków **21** i **25** z chlorkiem fenoksyacetylowym.

Procedura zabezpieczania wolnych grup hydroksylowych grupą fenoksyacetylową 2',3'-O-izomeru **21** lub 3',5'-O-izomeru **25**, prowadziłam w bezwodnym toluenie z chlorkiem fenoksyacetylu wobec pirydyny przez 3 h. W przypadku użycia w syntezie izomeru  $\text{U}>\text{DSi}$  (**21**), reakcję zakończyłam po 1,5 h. Otrzymałam produkty z wydajnością około 80 % (Schemat 77).



**Schemat 77.** Reakcja otrzymywania 2'-O-fenoksyacetylo-3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)urydyny (**30**) i 5'-O-fenoksyacetylo-2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)urydyny (**31**): (i)  $\text{PhOCH}_2\text{C}(\text{O})\text{Cl}$  (1,2 ekw.), pirydyna (2,5 ekw.), toluen, temp. pok., 1,5-3 h.

Pozycję grupy fenoksyacetylowej określiłam na podstawie analizy widm  $^1\text{H-NMR}$  (Tabela 20). W Tabeli 20 kolorami zaznaczyłam wartości sygnałów, które uległy przesunięciu w wyniku podstawienia odpowiedniej grupy funkcyjnej, grupą fenoksyacetylową.

**Tabela 20.** Zestawienie wybranych danych  $^1\text{H-NMR}$  dla 2',3'- i 3',5'-O-DSi pochodnych urydyny (**21** i **25**) i produktów ich acylowania chlorkiem fenoksyacetylu (odpowiednio, **31** i **30**).

| Nr związku | Przesunięcie chemiczne [ppm] i stałe sprzężenia, J [Hz] |                 |                        |                  |                            |                           |         |                            |                            |
|------------|---------------------------------------------------------|-----------------|------------------------|------------------|----------------------------|---------------------------|---------|----------------------------|----------------------------|
|            | H-3                                                     | H-6             | H-5                    | H-1'             | H-2'                       | H-3'                      | H-4'    | H-5'                       | H-5''                      |
| <b>21</b>  | s, 8,46                                                 | d, 7,62<br>J=8  | dd, 5,73<br>J=4<br>J=8 | d, 5,68<br>J=8   | t, 4,52<br>J=4,4<br>J=4,8  | t, 4,35<br>J=4,8<br>J=4,4 | m, 4,15 | dd, 3,98<br>J=2<br>J=12    | dd, 3,81<br>J=2,4<br>J=12  |
| <b>31</b>  | s, 9,64                                                 | d, 7,52<br>J=10 | d, 5,67<br>J=10        | d, 5,86<br>J=3,9 | t, 4,31<br>J=4,8           | q, 4,14<br>J=5,8<br>J=8,1 | m, 4,26 | m, 4,47                    | m, 4,46                    |
| <b>25</b>  | s, 9,34                                                 | d, 7,25<br>J=8  | d, 5,72<br>J=8         | s, 5,48          | d, 4,38<br>J=6             | t, 4,51<br>J=7<br>J=7,2   | m, 4,03 | q, 4,16<br>J=3,6<br>J=11,2 | q, 3,83<br>J=9,2<br>J=11,2 |
| <b>30</b>  | s, 9,67                                                 | d, 7,24<br>J=8  | d, 5,74<br>J=8         | d, 5,64<br>J=1,8 | dd, 5,61<br>J=1,8<br>J=6,2 | q, 4,49<br>J=6,2<br>J=8,4 | m, 4,00 | q, 4,15<br>J=3,6<br>J=12   | q, 3,89<br>J=7,4<br>J=12   |

## 8.2. Reakcje pochodnych sililowych urydyny **21** i **25** z bromkiem metoksykarbonylometylowym

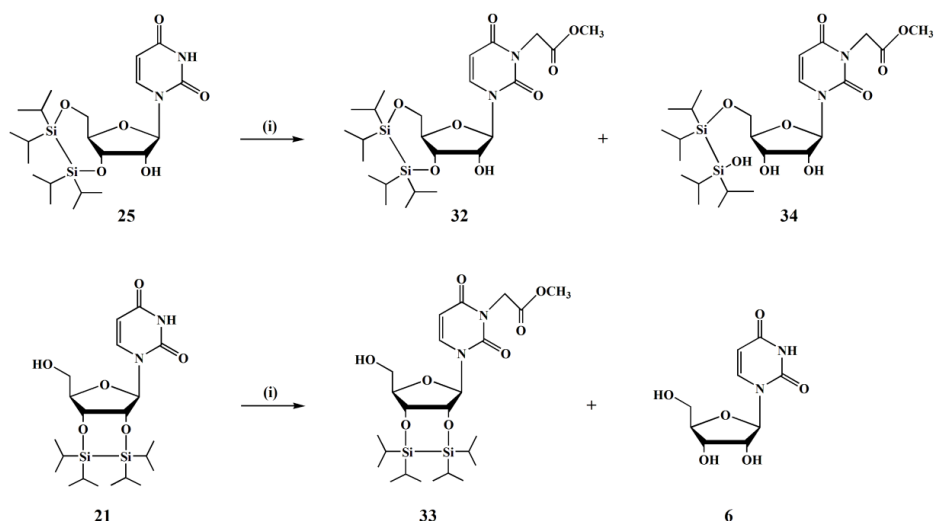
W dotychczas przeprowadzonych reakcjach pochodnych sililowych urydyny **21** i **25** z bezwodnikiem octowym (Rozdział III.1.4., III.1.6.) i chlorkiem fenoksyacetylowym (Rozdział III.8.1.) zostały zastosowane neutralne warunki procesów.

Postanowiłam przetestować stabilność ugrupowania sililowego w związkach **21** i **25** poprzez zastosowanie w reakcjach, warunków silnie zasadowych. Wykorzystałam do tego celu procedurę wprowadzania grupy metoksykarbonylometylowej. Rybonukleozydy z tym ugrupowaniem są prekursorami pochodnych aminoetylowych i guanidynoetylowych, które są używane w interferencji RNA [141,142].

W reakcji 2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyny (**21**) i 3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyny (**25**) z bromkiem metoksykarbonylometylowym zastosowałam te same warunki. Związek **25** i odpowiednio **21** rozpuściłam w DMF, schłodziłam do temperatury 0 °C, a następnie dodałam 1,1 ekw. NaH i w tej temperaturze mieszałam przez 1 h. Po tym czasie dodałam 3 ekw. bromku metoksykarbonylometylowego. Powstałą mieszaninę reakcyjną doprowadziłam do temperatury pokojowej, po czym mieszałam ją jeszcze przez 2 h, śledząc przebieg reakcji za pomocą analizy TLC. Po całkowitym przereagowaniu substratów, reakcję zakończyłam, a powstałe produkty zanalizowałam przy wykorzystaniu analizy NMR. Na podstawie uzyskanych widm określiłam, że powstałe związki to N-metoksykarbonylometylo-3',5'-O-(tetraizopropyl-1,2-diylo)urydyna (**32**) i N-metoksykarbonylometylo-2',3'-O-(tetraizopropyl-1,2-diylo)urydyna (**33**) (Schemat 78).

Na widmach nie obserwowałam charakterystycznych zmian przesunięć sygnałów pochodzących od protonów H-5', H-5'' lub H-2', tak jak to miało miejsce w poprzednich reakcjach (Rozdział III.1.4., III.1.6., III.8.1.). Odnotowałam natomiast zanik sygnału protonu iminowego H-3 zasady heterocyklicznej. Poza tym ilość zidentyfikowanych na widmie protonów grupy metoksykarbonylometylowej, odpowiadała tylko jednemu takiemu ugrupowaniu (Tabela 21).

W obu reakcjach pochodne N-metoksykarbonylometylowe **32** i **33** otrzymałam z wydajnością około 80 %.



**Schemat 78.** Reakcje powstawania związków **32** i **33**: (i) NaH (2 ekw.), CH<sub>3</sub>OC(O)CH<sub>2</sub>Br (3 ekw.), DMF, temp. 0 °C, 3 h.

**Tabela 21.** Zestawienie wybranych danych <sup>1</sup>H-NMR dla 2',3'- i 3',5'-O-DSi pochodnych urydyny (**21** i **25**) i produktów powstałych w wyniku reakcji z bromkiem metoksykarbonylometylowym (odpowiednio, **33** i **32**).

| Nr związku | Przesunięcie chemiczne [ppm] i stałe sprzężenia, J [Hz] |                            |                        |                |                           |                           |         |                            |                            |
|------------|---------------------------------------------------------|----------------------------|------------------------|----------------|---------------------------|---------------------------|---------|----------------------------|----------------------------|
|            | H-3                                                     | H-6                        | H-5                    | H-1'           | H-2'                      | H-3'                      | H-4'    | H-5'                       | H-5''                      |
| <b>21</b>  | s, 8,46                                                 | d, 7,62<br>J=8             | dd, 5,73<br>J=4<br>J=8 | d, 5,68<br>J=8 | t, 4,52<br>J=4,4<br>J=4,8 | t, 4,35<br>J=4,8<br>J=4,4 | m, 4,15 | dd, 3,98<br>J=2<br>J=12    | dd, 3,81<br>J=2,4<br>J=12  |
| <b>33</b>  | -                                                       | dd, 7,71<br>J=2,6<br>J=8,1 | d, 5,79<br>J=8         | d, 5,75<br>J=4 | t, 4,45<br>J=4,2          | t, 4,34<br>J=5            | m, 4,14 | m, 3,99                    | m, 3,81                    |
| <b>25</b>  | s, 9,34                                                 | d, 7,25<br>J=8             | d, 5,72<br>J=8         | s, 5,48        | d, 4,38<br>J=6            | t, 4,51<br>J=7<br>J=7,2   | m, 4,03 | q, 4,16<br>J=3,6<br>J=11,2 | q, 3,83<br>J=9,2<br>J=11,2 |
| <b>32</b>  | -                                                       | d, 7,26<br>J=8             | d, 5,79<br>J=8         | d, 5,53<br>J=1 | d, 4,33<br>J=6            | q, 4,46<br>J=6,3<br>J=7,5 | m, 4,06 | q, 4,17<br>J=3,7<br>J=11,4 | q, 3,83<br>J=8,7<br>J=11,4 |

Postanowiłam jeszcze raz przeprowadzić reakcje związków **21** i **25** z bromkiem metoksykarbonylometylowym, używając 2 ekw. NaH. Przy zastosowaniu 2 ekw. nadmiaru NaH oprócz związków **32** i **33**, zaobserwowałam także powstawanie produktów ubocznych. W przypadku reakcji ze związkiem **25** była to pochodna silylowa urydyny **25** z pierścieniem disilanowym otwartym w pozycji 3' (**34**) (ok. 10 %). Natomiast w reakcji z **21** powstawała niewielka ilość urydyny (**6**) (ok. 10 %, Schemat 78). W sytuacji, gdy do syntez

wykorzystałam 2 ekw. NaH, 5 ekw. bromku metoksykarbonylometylowego, a jednocześnie temperaturę reakcji obniżyłam poniżej 0 °C, otrzymałam mieszaninę wielu związków.

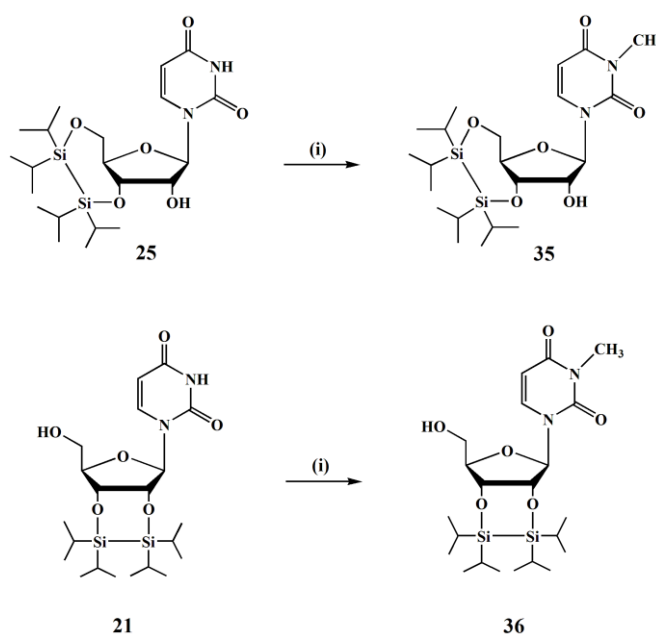
W żadnym z wykonanych doświadczeń, nie otrzymałam produktu z grupą metoksykarbonylometylową w pozycji 2'- lub 5'-hydroksylowej i z zachowaną blokadą DSi.

### 8.3. Reakcje pochodnych sililowych urydyny **21** i **25** z jodkiem metylu

Innym typem reakcji, w warunkach której sprawdziłam stabilność związków **21** i **25** były reakcje metylowania z użyciem jodku metylu. Celem eksperymentów było pozyskanie 2'-O-metylowanych rybonukleozydów, stanowiących atrakcyjną klasę analogów, powszechnie wykorzystywanych w m.in. strategii antysensowych oligonukleotydów.

Przeprowadziłam próby na dwa sposoby.

Pierwsza metoda polegała na rozpuszczeniu substratu nukleozydowego, 2',3'-O-izomeru **21** lub 3',5'-O-izomeru **25**, w DMF i ochłodzeniu roztworu do temperatury 0 °C, a następnie dodaniu 1,1 ekw. NaH. Całość mieszałam przez 50 minut, utrzymując temperaturę 0 °C. Po tym czasie dodałam CH<sub>3</sub>I. Po 30 minutach reakcję zakończyłam z uwagi na całkowite przereagowanie substratów. Wyizolowane produkty poddałam analizie NMR. Powstałe produkty zidentyfikowałam jako N-metylo-3',5'-O-(tetraizopropyl-1,2-dylo)urydynę (**35**) i N-metylo-2',3'-O-(tetraizopropyl-1,2-dylo)urydynę (**36**) (Schemat 79).



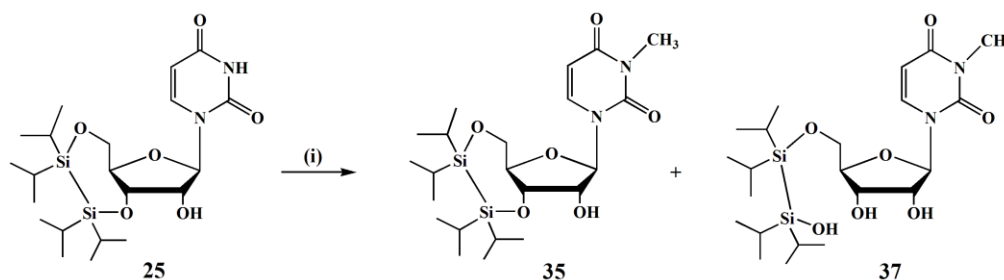
**Schemat 79.** Reakcje powstawania N-metylowanych pochodnych **35** i **36**: (i) NaH (1,1 ekw.), CH<sub>3</sub>I (3 ekw.), DMF, temp. 0 °C, 80 minut.

Sytuacja jest identyczna jak dla wcześniej opisanych prób wprowadzenia grupy metoksykarbonylometylowej (Rozdział III.8.2.). Brak na widmach sygnału od protonu grupy iminowej i brak jakichkolwiek zmian w położeniu sygnałów, odpowiadających protonom pierścienia rybofuranozowego. Liczba protonów grupy metylowej wskazuje na obecność tylko jednego tego typu ugrupowania (Tabela 22).

**Tabela 22.** Zestawienie wybranych danych  $^1\text{H-NMR}$  dla 2',3'- i 3',5'-O-DSi pochodnych urydyny (**21** i **25**) i produktów ich metylowania jodkiem metylu (odpowiednio, **36** i **35**).

| Nr związku | Przesunięcie chemiczne [ppm] i stałe sprzężenia, J [Hz] |                  |                           |                  |                           |                           |         |                                |                                |                  |
|------------|---------------------------------------------------------|------------------|---------------------------|------------------|---------------------------|---------------------------|---------|--------------------------------|--------------------------------|------------------|
|            | H-3                                                     | H-6              | H-5                       | H-1'             | H-2'                      | H-3'                      | H-4'    | H-5'                           | H-5''                          | -CH <sub>3</sub> |
| <b>21</b>  | s, 8,46                                                 | d, 7,62<br>J=8   | dd,<br>5,73<br>J=4<br>J=8 | d, 5,68<br>J=8   | t, 4,52<br>J=4,4<br>J=4,8 | t, 4,35<br>J=4,8<br>J=4,4 | m, 4,15 | dd,<br>3,98<br>J=2<br>J=12     | dd,<br>3,81<br>J=2,4<br>J=12   | -                |
| <b>36</b>  | -                                                       | d, 7,61<br>J=8,1 | d, 5,76<br>J=8,1          | d, 5,64<br>J=4,5 | t, 4,63<br>J=4,6          | t, 4,45<br>J=4,9          | m, 4,15 | m, 3,99                        | m, 3,81                        | s, 3,08          |
| <b>25</b>  | s, 9,34                                                 | d, 7,25<br>J=8   | d, 5,72<br>J=8            | s, 5,48          | d, 4,38<br>J=6            | t, 4,51<br>J=7<br>J=7,2   | m, 4,03 | q, 4,16<br>J=3,6<br>J=11,2     | q, 3,83<br>J=9,2<br>J=11,2     | -                |
| <b>35</b>  | -                                                       | d, 7,22<br>J=8,1 | d, 5,75<br>J=8,1          | d, 5,50<br>J=1,4 | d, 4,33<br>J=6,2          | q, 4,49<br>J=6,3<br>J=7,7 | m, 4,04 | dd,<br>4,16<br>J=3,7<br>J=11,4 | dd,<br>3,84<br>J=8,7<br>J=11,4 | s, 3,13          |

Druga metoda opierała się na jednoczesnym dodaniu do roztworu związku **21** lub **25** w DMF, schłodzonego do temperatury 0 °C, 3 ekw. CH<sub>3</sub>I i 1,1 ekw. NaH. Mieszaninę reakcyjną mieszałam, utrzymując temp. 0 °C, śledząc stopień przereagowania substratów za pomocą TLC. Po 1 h reakcja została zakończona. Na płytce TLC pojawiły się dwie plamy, przy czym jedna w znacznej przewadze. Po wyizolowaniu i zanalizowaniu uzyskanych związków, otrzymałam odpowiednio związek **35** i **36**. Produkt uboczny odpowiadał związkowi **35** z otwartym pierścieniem w pozycji 3' (**37**) (ok. 5 %, Schemat 80). Efektu otwarcia pierścienia nie obserwowałam w reakcji ze związkiem **21**.

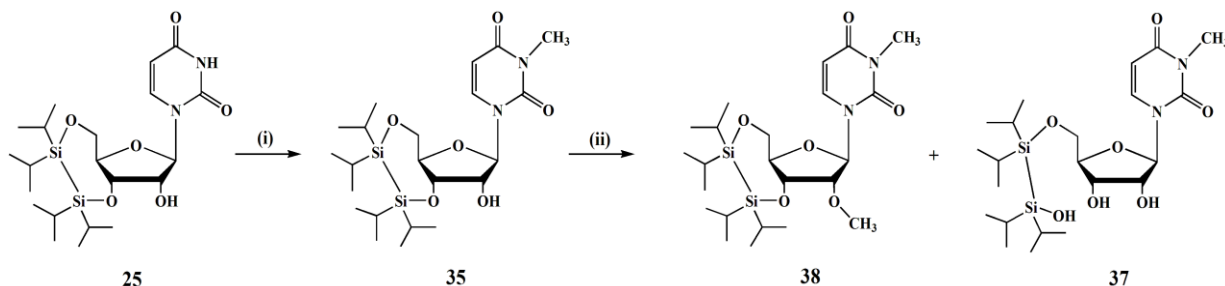


**Schemat 80.** Reakcja powstawania metylowanych pochodnych związku **25**: NaH (1,1 ekw.), CH<sub>3</sub>I (3 ekw.), DMF, temp. 0 °C, 1 h.

Reakcję metylowania 3',5'-O-izomeru **25** wykonałam z 2 ekw. nadmiaru NaH i z zastosowaniem 3 i 5 ekw. jodku metylu. Wynikiem reakcji przeprowadzonych w obecności 2 ekw. NaH i 3 ekw. CH<sub>3</sub>I były dwie plamy. Główną plamę stanowiła mieszanina dwóch produktów o bardzo małej różnicy R<sub>f</sub>. Po zanalizowaniu powstałych związków, doszłam do wniosku, że otrzymałam N-metylo-2'-O-metylo-3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydynę (**38**) z 30 % wydajnością.

Użycie 2-krotnego nadmiaru NaH i 5-krotny nadmiaru CH<sub>3</sub>I w stosunku do związku **21** lub **25**, spowodowało otrzymanie mieszaniny wielu produktów.

Podjęłam kolejną próbę otrzymania N-metylo-2'-O-metylo-3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyny (**38**). Syntezę podzieliłam na dwa etapy. W pierwszym otrzymałam N-metylo-3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydynę (**35**), którą w kolejnym etapie rozpuściłam w DMF, roztwór schłodziłam do temperatury 0 °C i dodałam 3 ekw. CH<sub>3</sub>I i 2 ekw. NaH. Stopień przereagowania substratów co 15 minut kontrolowałam za pomocą analizy TLC i po 1 h reakcję zakończyłam. Powstały dwa produkty. Pierwszy otrzymałam z wydajnością 80 %, a drugi z wydajnością 15 %. Po analizie NMR mogłam stwierdzić, że produkt główny to związek **38**, a produkt uboczny to związek **35** z otwartym pierścieniem w pozycji 3' (**37**) (Schemat 81).



**Schemat 81.** Reakcja powstawania bis-metylowanego związku **38**: (i) NaH (1,1 ekw.), CH<sub>3</sub>I (3 ekw.), DMF, temp. 0 °C, 1 h; (ii) NaH (2 ekw.), CH<sub>3</sub>I (3 ekw.), DMF, temp. 0 °C, 1 h.

Na widmach  $^1\text{H-NMR}$  substratu **25** i otrzymanych w reakcjach metylowania produktów **35** i **38**, były widoczne różnice pomiędzy położeniem sygnałów poszczególnych protonów (Tabela 23).

**Tabela 23.** Zestawienie wybranych danych  $^1\text{H-NMR}$  dla 3',5'-O-DSi pochodnej urydyny (**25**) i produktów jej metylowania jodkiem metylu (**35** i **38**).

| Nr związku | Wartości poszczególnych sygnałów protonowych |                  |                  |                  |                  |                           |         |                                |                                |                    |
|------------|----------------------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|---------------------------|---------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------|
|            | H-3                                          | H-6              | H-5              | H-1'             | H-2'             | H-3'                      | H-4'    | H-5'                           | H-5''                          | -CH <sub>3</sub>   |
| <b>25</b>  | s, 9,34                                      | d, 7,25<br>J=8   | d, 5,72<br>J=8   | s, 5,48          | d, 4,38<br>J=6   | t, 4,51<br>J=7<br>J=7,2   | m, 4,03 | q, 4,16<br>J=3,6<br>J=11,2     | q, 3,83<br>J=9,2<br>J=11,2     | -                  |
| <b>35</b>  | -                                            | d, 7,22<br>J=8,1 | d, 5,75<br>J=8,1 | d, 5,50<br>J=1,4 | d, 4,33<br>J=6,2 | q, 4,49<br>J=6,3<br>J=7,7 | m, 4,04 | dd,<br>4,16<br>J=3,7<br>J=11,4 | dd,<br>3,84<br>J=8,7<br>J=11,4 | s, 3,13            |
| <b>38</b>  | -                                            | d, 7,62<br>J=8   | d, 5,75<br>J=8   | s, 5,61          | d, 4,00<br>J=5,5 | q, 4,38<br>J=5,6<br>J=8   | m, 3,91 | dd,<br>4,04<br>J=2,2<br>J=11,2 | m, 3,86                        | s, 3,13<br>s, 3,49 |

Z danych z Tabeli 23 wynika, że zarówno w związku **35** i **38** grupa metylowa znajduje się w pozycji N-3 reszty uracylowej. Brak na widmie  $^1\text{H-NMR}$  sygnału od tego protonu. W przypadku produktu **38**, zmianie uległo również przesunięcie sygnału pochodzącego od protonu H-2', o około 0,38 ppm w kierunku niższych wartości pola. Wskazuje to na obecność grupy metylowej w pozycji 2' rybozy. Ponadto na widmie związku **35** zlokalizowany jest jeden singlet przy wartości 3,13 ppm, który odpowiada protonom grupy metylowej w pozycji N-3. Z kolei na widmie związku **38** występują dwa singlety (3,13 i 3,49 ppm). Dodatkowo na widmie związku **35** wykonanym w DMSO występuje dublet przy wartości 5,16 ppm, który ulega wymianie z ciężką wodą. Nie obserwowalam tego w przypadku widma związku **38**.

Analizując wszystkie widma dotychczas otrzymanych pochodnych siliowych urydyny **21** i **25**, zauważyłam diametralną różnicę w rozmieszczeniu sygnałów pochodzących od protonów pierścienia rybofuranozowego 3',5'-O-izomeru **25**, w porównaniu z 2',3'-O-izomerem **21**. W zakresie, w którym występują protony od pierścienia rybozy, czyli od około 3,5 do 4,5 ppm ułożenie sygnałów w przypadku związku **21** następuje w kolejności, zaczynając od H-1', dalej H-2', H-3', H-4', H-5', H-5''. Natomiast w przypadku 3',5'-O-izomeru **25** ułożenie tych sygnałów jest zamienne i rozpoczynając od H-1', po nim pojawiają

się sygnały od H-3', H-2', H-5', H-4', H-5''. Element ten stał się dodatkowym czynnikiem umożliwiającym rozróżnienie pochodnych, powstających z izomerów U>DSi (**21**) i DSi<U (**25**).

## 9. Reakcje DSiCl<sub>2</sub> z innymi nukleozydami pirymidynowymi

Wydajności syntezy związków **21** i **25**, otrzymanych w reakcjach silylowania urydyny za pomocą DSiCl<sub>2</sub> (**11**) były bardzo wysokie, zwykle około 90 %. Zaplanowałam więc eksperymenty, w których do reakcji z 1,2-dichloro-1,1,2,2-tetraizopropylodisilanem (**11**) lub jego imidazolową pochodną (**24**), wykorzystałam inne pirymidynowe nukleozydy, jak tymidynę, cytydynę, a także araurydynę.

### 9.1. Badanie reaktywności DSiCl<sub>2</sub> (**11**) względem tymidyny

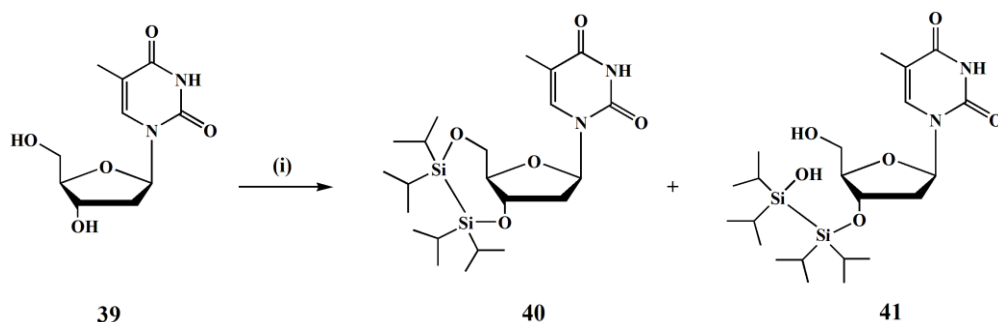
Metodykę przeprowadzania wszystkich reakcji silylowania zachowałam taką samą jak dla urydyny, celem określenia zdolności nowego bifunkcyjnego reagenta silylowego **11**, do reagowania z różnymi nukleozydami pirymidynowymi.

W pierwszej kolejności poddałam tymidynę (**39**) reakcji ze DSiCl<sub>2</sub> (**11**). Po rozpuszczeniu jej w pirydynie i ochłodzeniu powstałego roztworu do temperatury 0 °C, dodałam roztwór reagenta silylowego **11**, w tym samym rozpuszczalniku. Po doprowadzeniu mieszaniny do temperatury pokojowej, całość mieszałam przez 1 h, po której reakcję zakończyłam. Powstał jeden produkt w znacznej przewadze (73 %) i drugi w śladowych ilościach (ok. 15 %). Po przeprowadzonej analizie NMR otrzymałam 3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylotymidynę (**40**) jako produkt główny i tymidynę z łańcuchem silylowym w pozycji 3', a wolną grupą 5'-OH jako produkt uboczny (**41**) (Schemat 82).

Widmo związku **41** różniło się od związku **40** obecnością jednego dodatkowego sygnału. Był to tryplet przy wartości 5,09 ppm, który ulegał wymianie z ciężką wodą. Wskazywało to jednoznacznie na wolną grupę 5'-hydroksylową.

Wykonałam także reakcję silylowania tymidyny DSiCl<sub>2</sub> (**11**) drugim sposobem, z zastosowaniem imidazolu i trietyloaminy. Przygotowałam mieszaninę reakcyjną w THF składającą się z 4 ekw. imidazolu, 1,3 ekw. związku **11** i 7 ekw. Et<sub>3</sub>N, do której po 2 h mieszania, a następnie ochłodzeniu do temperatury 0 °C, dodałam roztwór 1 ekw. tymidyny w pirydynie. Po 1 h mieszania w temperaturze pokojowej reakcję zakończyłam, ze względu

na całkowite przereagowanie substratów. Otrzymałam tylko jeden produkt, związek **40**, z 70 % wydajnością (Schemat 82).



**Schemat 82.** Reakcja silylowania tymidyny  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) w warunkach standardowych: (i) reagent silylowy **11** (1,3 ekw.), pirydyna, temp. 0 °C i pok., 1 h.

Powstawanie dodatkowego produktu **41** w reakcji silylowania tymidyny  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) w środowisku pirydyny, jest wynikiem procesu izomeryzacji pod wpływem wytworzonego w warunkach reakcji chlorowodoru pirydyny. Zostało to dokładnie opisane na przykładzie reakcji z urydyną (Rozdział III.4.). Ze względu na brak w tymidynie grupy hydroksylowej w pozycji 2', łańcuch silylowy pozostaje przyłączony tylko w pozycji 3'.

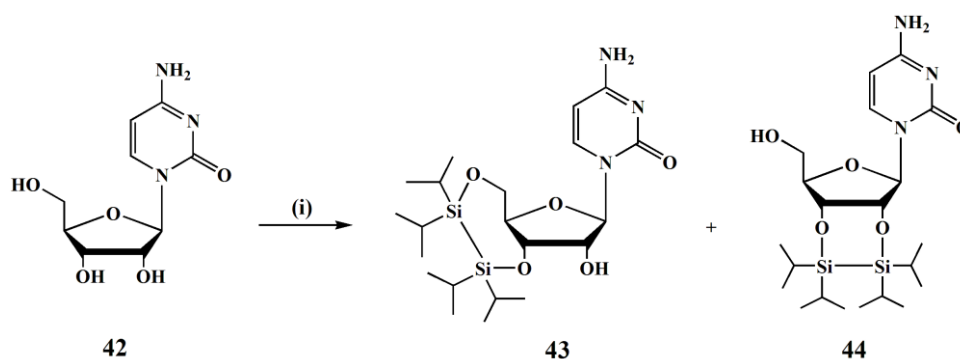
Na podstawie wykonanych badań eksperymentalnych, reakcje silylowania deoksyrybonukleozydów  $\text{DSiCl}_2$  (**11**), można wykonywać obydwoma sposobami. W jednym i drugim przypadku otrzymujemy pożądaną produkt **40** z wysoką wydajnością.

Syntezy 3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)tymidyny (**40**) były wykonane w warunkach różniących się stosunkiem molowym substratów, temperaturą, czasem. Na ich podstawie mogłam określić, że zastosowanie niższej temperatury ok. 0 °C pozwala otrzymać związek **40** z największą wydajnością. Optymalny czas reakcji wynosi 1 h. Skrócenie czasu syntezy ma niekorzystny wpływ na wydajność procesów syntezy.

## 9.2. Reakcje $\text{DSiCl}_2$ (**11**) z cytydyną

Kolejną nukleozydem pirymidynowym poddanym reakcji silylowania  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) była cytydyna (**42**). W standardowych warunków reakcji, przy czym przeprowadziłam je w temperaturze 0 °C i w temperaturze pokojowej, do roztworu cytydyny w pirydynie, dodałam roztwór  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) rozpuszczonego w tym samym rozpuszczalniku. Wykonałam w ten sposób trzy reakcje, wydłużając w każdej z nich czas reagowania substratów (0,5 h, 1 h, 24 h). W każdym przypadku otrzymałam inne produkty, w różnych ilościach. Analiza NMR

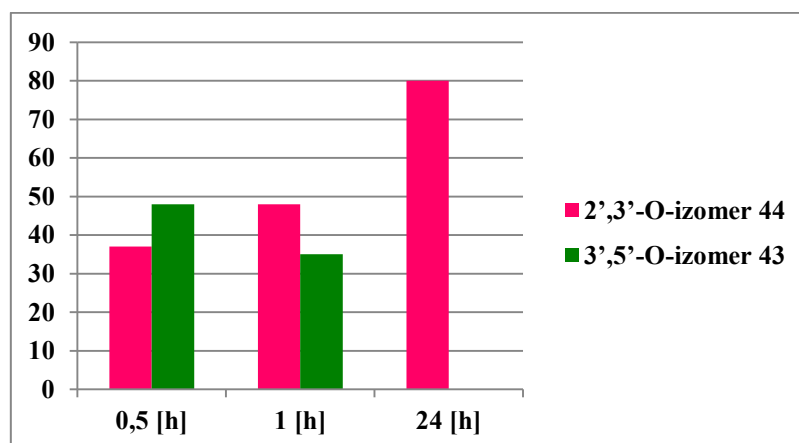
potwierdziła, że powstałe związki to pochodne siliłowe cytydyny, 3',5'-O-izomer **43** i 2',3'-O-izomer **44** (Schemat 83).



**Schemat 83.** Reakcja powstawania pochodnych siliłowych cytydyny **43** i **44**: (i)  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) (1,3 ekw.), pirydyna, temp. pok., 0,5 h.

Struktury otrzymanych związków **43** i **44** zostały potwierdzone poprzez wykonanie widm w DMSO, a następnie z  $\text{D}_2\text{O}$ . Ułożenie poszczególnych protonów rybozy w widmie  $^1\text{H-NMR}$  dla 3',5'-O-izomeru **43**, było inne niż dla 2',3'-O-izomeru **44**. Zostało to dokładnie opisane na przykładzie pochodnych siliłowych urydyny **21** i **25** (Rozdział III.8.3.). Wykonałam również reakcje acetylowania i z TAI, na podstawie otrzymanych widm, dokonałam analizy przesunięć sygnałów odpowiednich protonów.

Na efektywność wykonywanych syntez, oprócz czasu (Wykres 6), miała również wpływ temperatura. Ze względu na niskie wydajności siliłowania w temp.  $0^\circ\text{C}$ , dalsze próby prowadziłam w temp. pokojowej.



**Wykres 6.** Wydajność produktów **43** i **44** uzyskanego różnym czasie prowadzenia reakcji siliłowania cytydyny,  $\text{DSiCl}_2$  (**11**).

Reakcje siliłowania cytydyny  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) przeprowadziłam według drugiej metody, w której zastosowałam imidazol i  $\text{Et}_3\text{N}$ . Przygotowałam mieszaninę w THF: 1,3 ekw.  $\text{DSiCl}_2$ , 3 ekw. imidazolu i 6 ekw.  $\text{Et}_3\text{N}$ . Po 2 h mieszania w temp. pokojowej, dodawałam roztwór cytydyny w pirydynie. Po 24 h reakcję zakończyłam. Wyizolowałam jeden główny produkt z wydajnością 65 %, który zidentyfikowałam, po analizie metodami spektroskopowymi, jako 3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)cytydynę (**43**). Zmieniłam sposób dodawania rybonukleozydu, w celu uniknięcia strat podczas jego przenoszenia do mieszaniny związku **11**. Cytydynę dodawałam bezpośrednio do mieszaniny reakcyjnej bez wcześniejszego jej rozpuszczania w pirydynie. Ilość otrzymywanego produktu wzrosła o 10 %.

W reakcjach siliłowania cytydyny również zachodzi proces izomeryzacji. Analiza za pomocą TLC wskazuje przemianę produktu **43** do **44**. W przypadku reakcji siliłowania urydyny, proces izomeryzacji przebiegał bardzo szybko (Rozdział III.4.).

Różnice w przebiegu reakcji  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) z urydyną i cytydyną, wynikają najprawdopodobniej z różnic zasadowości reszt uracylowej i cytozynowej. Urydyna w pozycji 3 posiada ugrupowanie iminowe ( $\text{pK}_a=9,38$ ), natomiast cytydyna, zasadowy atom azotu ( $\text{pK}_a=4,17$ ). Azot endocykliczny uracylu wykazuje charakter kwasowy, a więc ulega deprotonacji w silnie zasadowych warunkach reakcji. Azot N-3 cytozyny z uwagi na to, że ma charakter zasadowy, w warunkach kwasowych ulega protonowaniu.

### 9.3. Reakcje $\text{DSiCl}_2$ (**11**) z 1-( $\beta$ -D-arabinofuranozylo)uracylem (araurydyną)

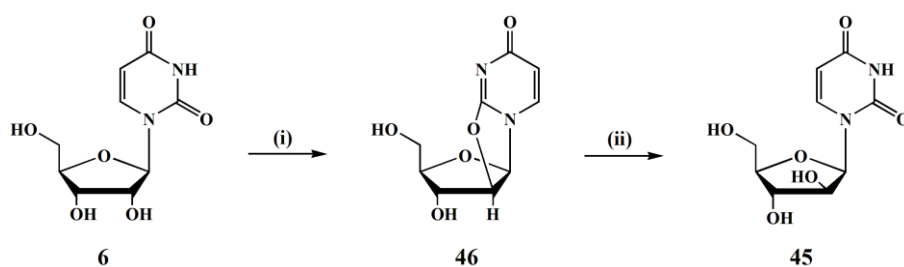
Kolejnym etapem moich badań eksperymentalnych było zbadanie reaktywności  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) w reakcjach z araurydyną (**45**). Eksperymenty rozpoczęłam od otrzymywania związku **45**, wychodząc z urydyny, poprzez przekształcenie jej w 2,2'-anhydro-1-( $\beta$ -D-arabinofuranozylo)uracyl (**46**), a następnie hydrolizę.

Anhydrourydynę (**46**) próbowałam otrzymać na kilka różnych sposobów. Każda z metod była prowadzona pod chłodnicą zwrotną i wymagała przygotowania mieszaniny urydyny, węglanu difenylowego i katalizatora zasadowego ( $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) w DMF. Procesy te różniły się temperaturą i czasem ich trwania, a wydajność reakcji nie przekraczała 50 % [143-145].

Po dokładnym przeanalizowaniu metod znanych z literatury, postanowiłam zastosować temperaturę 94 °C i czas ogrzewania w łaźni olejowej od 3-4 h. Po zakończeniu reakcji, kolbę ochłodziłam do temp. pokojowej i dodałam eteru dietylowego, którego

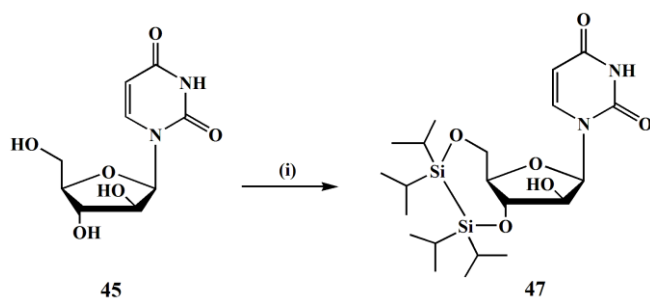
obecność miała zainicjować krystalizację. Powstał mleczny roztwór z brązowym oleistym osadem na dnie kolby. Mleczny roztwór zdekantowałam, a pozostałość w kolbie przemyłam trzykrotnie eterem dietylowym i poddałam dwukrotnej rekrytalizacji z metanolem. W wyniku reakcji otrzymałam związek **46** w postaci białego, krystalicznego proszku, z wydajnością 79 %.

Ostatnim etapem prowadzącym do powstania związku **45** była hydroliza kwasowa [145]. W tym celu przygotowałam 2 M wodny roztwór HCl, do którego dodałam anhydrydyne (**46**). Całość mieszałam i jednocześnie ogrzewałam pod chłodnicą zwrotną w łaźni olejowej, w temperaturze 80 °C przez 2 h. Po tym czasie reakcję zakończyłam, ochłodziłam do temp. pokojowej i zneutralizowałam za pomocą 1 M wodnego roztworu NaOH do pH=7. Po wyizolowaniu z mieszaniny powstałego produktu, poddałam go analizie NMR, na podstawie której potwierdziłam, że jest to araurydyna (**45**) (Schemat 84).



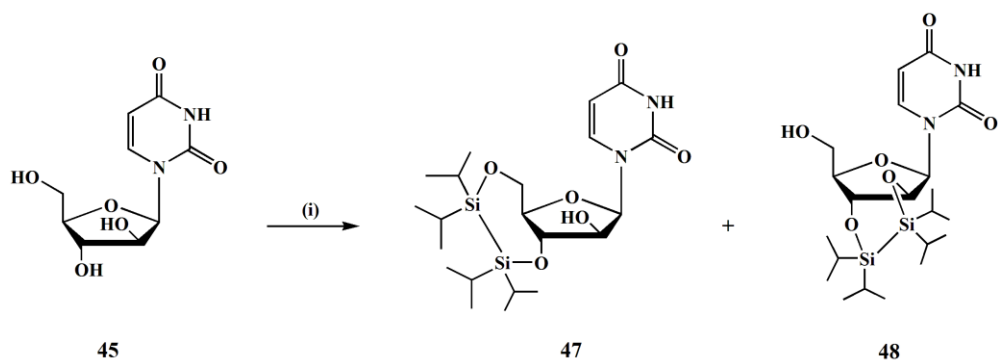
**Schemat 84.** Reakcja powstawania związku **45**: (i)  $(\text{PhO})_2\text{CO}$  (1,5 ekw.),  $\text{NaHCO}_3$ , DMF, 94 °C, 4 h; (ii) roztwór HCl (2 M), 80 °C, 2 h.

Reakcje  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) z araurydyną (**45**) przeprowadziłam w standardowych warunkach, a także z użyciem imidazolu i trietyloaminy. W reakcji związku **11** z rybonukleozydem **45** prowadzonej w pirydynie, po 1 h, zaobserwowałam na płycie TLC powstanie jednej plamy. Przy czym na starcie płytki była też widoczna mała ilość nieprzereagowanej araurydyny (**45**). Mimo to reakcję po tym czasie zakończyłam. Powstały produkt wyizolowałam i zanalizowałam za pomocą technik NMR. Okazało się, że jest to 3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)araurydyna (**47**), którą otrzymałam z 70 % wydajnością (Schemat 85).



**Schemat 85.** Reakcja siliłowania araurydyny  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) w standardowych warunkach: (i)  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) (1,3 ekw.), pirydyna, temp. 0 °C i pok., 1 h.

Było to dla mnie dużym zaskoczeniem, ponieważ we wcześniejszych reakcjach z rybonukleozydami pirymidynowymi (Rozdział III.1.3., III.9.2.) w standardowych warunkach otrzymywałam albo 2',3'-O-izomer **21** (Schemat 56), albo mieszaninę 2',3'-O-izomeru **44** i 3',5'-O-izomeru **43** (Schemat 83). Powtórzyłam reakcję, ale wydłużyłam czas jej trwania do 24 h. Po tym czasie wykonałam analizę TLC. Obraz płytki przedstawiał dwie plamy. Po wyizolowaniu i zanalizowaniu poszczególnych produktów, jeden z nich odpowiadał związkowi **47**, a drugi 2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)araurydynie (**48**) (Schemat 86).



**Schemat 86.** Reakcja siliłowania araurydyny  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) w standardowych warunkach: (i)  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) (1,3 ekw.), pirydyna, temp. 0 °C i pok., 24 h.

Przeprowadziłam również reakcję siliłowania araurydyny (**45**)  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) według drugiego sposobu, z zastosowaniem 3 ekw. imidazolu i 6 ekw.  $\text{Et}_3\text{N}$ . Procedura polegała na dodaniu rybonukleozydu **45** rozpuszczonego w pirydynie do wcześniej przygotowanej mieszaniny składającej się z  $\text{DSiCl}_2$ , imidazolu i  $\text{Et}_3\text{N}$  w THF. Po 1 h od momentu połączenia roztworów reakcję zakończyłam. Otrzymałam jedną główną plamę o wartości  $R_f$  odpowiadającej wartości  $R_f$  dla związku **47**. Po zanalizowaniu technikami NMR

wyzolowanego powstałego produktu okazało się, że jest to 3',5'-O-sililowana araurydyna. Pożądany produkt **47** otrzymałam z 85 % wydajnością.

Podsumowując, reaktywność  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) wobec nukleozydów pirymidynowych za każdym razem była inna. Zachowanie to może wynikać z:

- różnej zasadowości reszt nukleozasad (urydyna/cytydyna);
- obecnością grupy hydroksylowej w pozycji 2' pierścienia furanozowego (urydyna/tymidyna);
- od położenia *cis* lub *trans* 2° grup hydroksylowych (urydyna/arabinozyd urydyny).

Ponadto w każdej reakcji sililowania rybonukleozydów pirymidynowych  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) w środowisku pirydyny miał miejsce proces izomeryzacji. W zależności od użytego rybonukleozydu zachodził on szybko (urydyna) lub wolno (cytydyna, araurydyna).

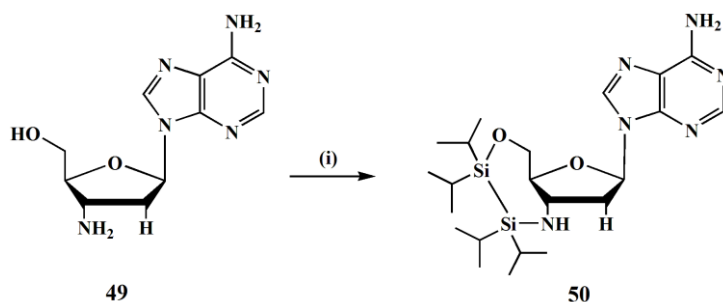
## 10. Reakcje $\text{DSiCl}_2$ (**11**) z nukleozydami purynowymi

Nukleozydy purynowe, które wykorzystałam w reakcjach z  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) to 3'-amino-2',3'-dideoksyadenozyna, adenozyne i guanozyne.

### 10.1. Reakcje $\text{DSiCl}_2$ (**11**) z 3'-amino-2',3'-dideoksyadenozyną

Reakcje sililowania 3'-amino-2',3'-dideoksyadenozynę (**49**)  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) przeprowadziłam w pirydynie, a także z dodatkiem imidazolu i  $\text{Et}_3\text{N}$ . Procedura była identyczna jak stosowana poprzednio, (temperatura pokojowa i czas reakcji do 24 h). W wyniku obu reakcji otrzymałam jeden główny produkt, który zidentyfikowałam jako 3'-amino-3'-N-5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)-2',3'-dideoksyadenozynę (**50**).

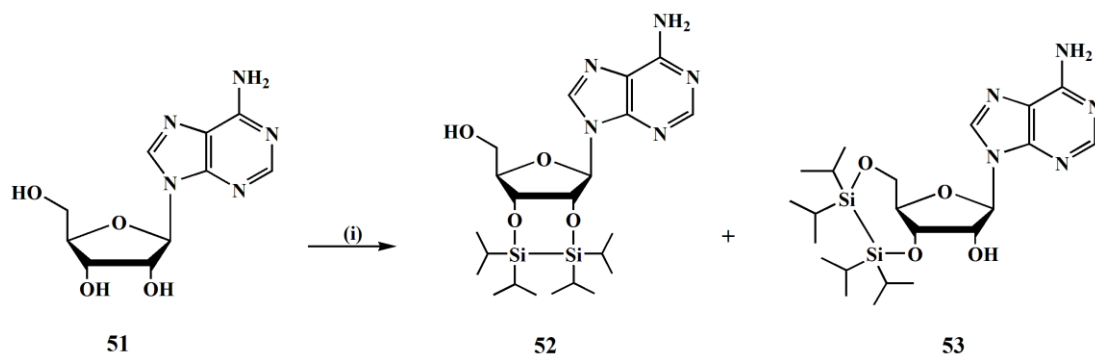
Wydajność reakcji w warunkach standardowych wynosiła 85 %, a w drugiej metodzie - 73 % (Schemat 87).



**Schemat 87.** Reakcja  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) z 3'-amino-2',3'-dideoksyadenozyną: (i)  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) (1,3 ekw.), pirydyna, temp. pok., 24 h, lub  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) (1,3 ekw.), imidazol (4 ekw.),  $\text{Et}_3\text{N}$  (6 ekw.), THF, pirydyna, temp. pok., 24 h.

## 10.2. Reakcje $\text{DSiCl}_2$ (**11**) z adenozyzną

Nukleozydem purynowym, który jako drugi w kolejności poddałam reakcji z  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) była adenozyzna (**51**). W pierwszej kolejności przeprowadziłam reakcję w warunkach standardowych, w temp. pokojowej przez 24 h. Z mieszaniny reakcyjnej wyizolowałam dwa produkty. Jeden w znacznej przewadze. Analiza widm NMR głównego produktu otrzymanego z wydajnością 65 % wykazała, że jest to 2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)adenozyna (**52**). Natomiast drugi produkt to 3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)adenozyna (**53**), otrzymana z wydajnością 20 % (Schemat 88).



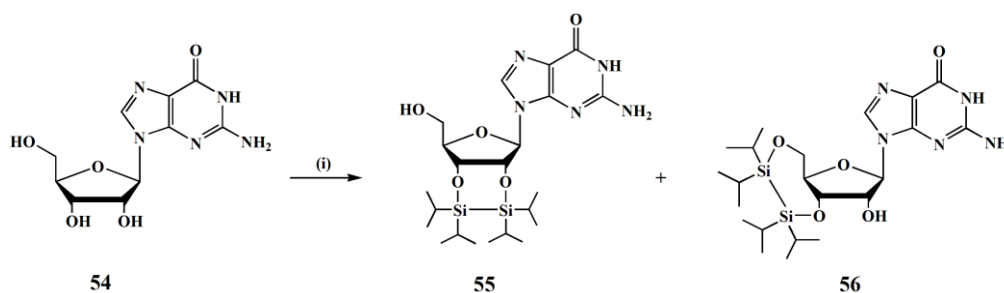
**Schemat 88.** Synteza  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) z adenozyzną w standardowych warunkach:  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) (1,3 ekw.), pirydyna, temp. pok., 24 h.

W wyniku reakcji adenozyzny z  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) w obecności 3 ekw. imidazolu i 6 ekw.  $\text{Et}_3\text{N}$ , prowadzonej w temp. pokojowej i przez 24 h, otrzymałam z wydajnością 75 % jeden produkt, którym był 3',5'-O-izomer **53**.

### 10.3. Reakcje silylowania guanozyny DSiCl<sub>2</sub> (11)

Guanozyna (**54**) była ostatnim z serii nukleozydów purynowych, którego silylowanie za pomocą DSiCl<sub>2</sub> (**11**) zbadalam. Zastosowalam takie same warunki prowadzenia reakcji jak poprzednio.

Najpierw zbadalam przebieg silylowania guanozyny w pirydynie, przy czym roztwór DSiCl<sub>2</sub> dodawalam w temp. pokojowej do zawiesiny nukleozydu w pirydynie. Po 24 h reakcję zakonczylam i wyizolowalam powstale dwa produkty. Produkt glowny stanowiła 2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)guanozyna (**55**) (wydajność 60 %). Drugi produkt, 3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)guanozynę (**56**), otrzymalam z wydajnością 25 % (Schemat 89).



**Schemat 89.** Reakcja DSiCl<sub>2</sub> (**11**) z guanozyną w warunkach standardowych: DSiCl<sub>2</sub> (**11**) (1,3 ekw.), pirydyna, temp. pok., 24 h.

Drugi sposób silylowania z wykorzystaniem pochodnej imidazolowej tetraizopropylodisilanu (**24**) otrzymanej in situ w THF (1,3 ekw. DSiCl<sub>2</sub> (**11**), 3 ekw. imidazolu i 6 ekw. Et<sub>3</sub>N) i dodanej do guanozyny w pirydynie, doprowadził po 24 h w temperaturze pokojowej do otrzymania 3',5'-O-izomeru **56**, z wydajnością 70 %.

Podsumowując, reakcje silylowania rybonukleozydów purynowych DSiCl<sub>2</sub> (**11**) w samej pirydynie, prowadzą za każdym razem do powstania dwóch pochodnych silylowych rybonukleozydu, co wynika z zachodzącego pod wpływem chlorowodoru pirydyny, procesu izomeryzacji. Z kolei w przypadku reakcji silylowania w obecności imidazolu i Et<sub>3</sub>N, selektywnie otrzymywany jest izomer 3',5'. Struktury związków zostały potwierdzone poprzez wykonanie widm <sup>1</sup>H-NMR w DMSO i z D<sub>2</sub>O, a także reakcje acetylowania.

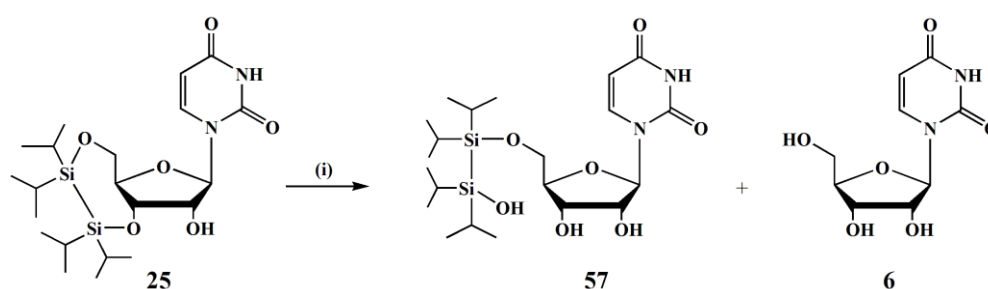
### 11. Badanie stabilności pochodnych siliłowych urydyny **21** i **25** w warunkach hydrolizy kwasowej i zasadowej

Poznanie właściwości chemicznych takich, jak trwałość w różnych warunkach chemicznych, jest bardzo przydatne dla określenia zakresu przydatności każdej grupy ochronnej. Dotychczasowe badania pozwoliły mi określić warunki wprowadzania grupy DSi do nukleozydów, jej podatność na izomeryzację, trwałość w warunkach zasadowych, trwałość w zależności od wielkości pierścienia, utworzonego z udziałem DSi oraz od jego struktury.

Reasumując, jedną z cech charakterystycznych pochodnych z grupą DSi jest zdolność do izomeryzacji w kwasowym środowisku (chlorowodorek pirydyny lub imidazolu). Najbardziej jest to zauważalne w przypadku reakcji siliłowania urydyny, gdzie w zależności od warunków reakcji, otrzymywałam z dużą selektywnością 2',3'-O-izomer **21**, albo 3',5'-O-izomer **25** (Schemat 56, 61, 70).

W celu poznania innych właściwości nowej bifunkcyjnej siliłowej grupy ochronnej, przeprowadziłam eksperymenty z wykorzystaniem pochodnych siliłowych urydyny **21** i **25**, badając ich stabilność w różnych warunkach wprowadzania grup ochronnych, odpowiednio w pozycji 5'-OH w związku **21** i 2'-OH w związku **25** (Rozdział III.8.).

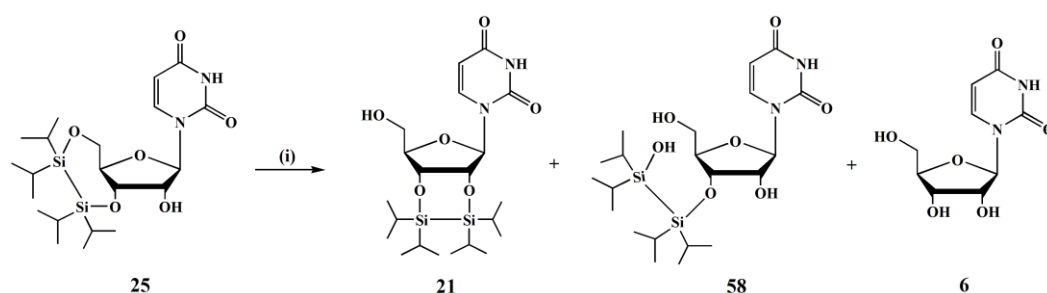
W warunkach zasadowych dochodzi do hydrolitycznego otwarcia pierścienia disilanowego **35** w pozycji 3' (Schemat 81). Hydroliza 3',5'-O-siliłowej pochodnej urydyny **25** w 0,2 M roztworze NaOH w mieszaninie dioksan/woda (4:1), po 0,5 h prowadzi do otrzymania oprócz urydyny (**6**), także produktu pośredniego **57** (Schemat 90).



**Schemat 90.** Reakcja 3',5'-O-izomeru **25** w warunkach hydrolizy zasadowej: (i) 0,2 M roztwór NaOH w mieszaninie dioksan/woda (4:1), temp. pok., 0,5 h.

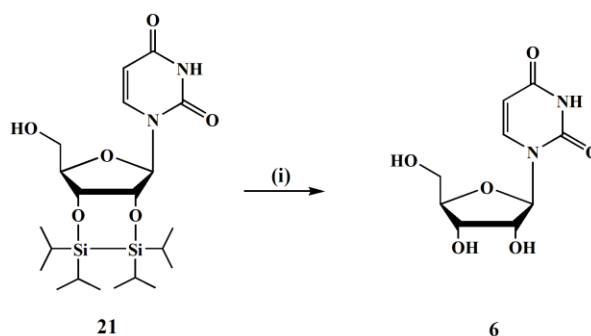
Postanowiłam też sprawdzić, jak związek **25** zachowuje się w warunkach hydrolizy kwasowej. Po 1 h stwierdziłam pełną hydrolizę substratu **25**. Analiza TLC oprócz obecności urydyny (**6**) wskazała powstanie dwóch produktów o różnych wartościach  $R_f$ , które

wyzolowałam, a następnie zanalizowałam technikami NMR. Widmo jednego produktu odpowiadało 2',3'-O-izomerowi **21**, natomiast drugie widmo wskazywało na pochodną, powstałą wskutek otwarcia pierścienia disilanowego od strony 5' i łańcuchem siliowym w pozycji 3' (**58**) (Schemat 91) lub 2'. Ważne jest podkreślenie, że w warunkach kwasowych, nawet w obecności dużego nadmiaru wody, obserwuje się powstanie produktu reakcji izomeryzacji. Jest to obserwacja odróżniająca zachowanie grupy tetraizopropylodisilanowej od tetraizopropylodisiloksanowej. Wewnątrzcząsteczkowa reakcja izomeryzacji jest szybsza, niż międzycząsteczkowa reakcja hydrolizy. Raz jeszcze wskazuje to na znacznie wyższą reaktywność pochodnych disilanu niż disiloksanu.



**Schemat 91.** Reakcja hydrolizy kwasowej 3',5'-O-sililowej pochodnej urydyny **25**: (i) 0,2 M roztwór HCl w mieszaninie dioksan/woda (4:1), temp. pok., 1 h.

Analiza TLC reakcji hydrolizy w warunkach kwasowych i zasadowych 2',3'-O-izomeru **21** nie wskazywała powstawania produktów pośrednich, otwartopierścieniowych. Potwierdza to podobną trwałość eterowych wiązań siliowych 2' i 3' (Schemat 92).



**Schemat 92.** Reakcja hydrolizy kwasowej 2',3'-O-sililowej pochodnej urydyny **21**: (i) 0,2 M roztwór HCl w mieszaninie dioksan/woda (4:1), temp. pok., 1 h.

Różne zachowanie się pochodnych siliowych urydyny **21** i **25** obserwowane w warunkach hydrolizy kwasowej i zasadowej, może wynikać z różnic wielkości pierścieni

(7-członowy vs. 6-członowy). Najprawdopodobniej jednak w głównej mierze wynika z właściwości siliłowanych grup hydroksylowych, ich rzędowości i reaktywności.

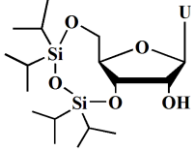
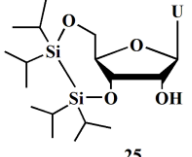
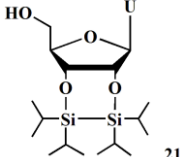
## 12. Badanie stabilności pochodnych siliłowych urydyny **21** i **25** wobec jonów fluorkowych

Wszystkie siliłowe grupy ochronne są usuwane za pomocą jonów fluorkowych. Szybkość procesu usuwania zależy od kilku czynników:

- stężenia zastosowanego roztworu, będącego źródłem jonów fluorkowych;
- struktury siliłowej grupy ochronnej;
- od miejsca, które ochrania siliłowa grupa ochronna.

Ze względu na różną strukturę pochodnych siliłowych urydyny **21** i **25** poddałam je reakcji z 1 M roztworem fluorku tetra-n-butyloamoniowego (TBAF), a także z 1 M roztworem fluorku trietyloamoniowego ( $\text{Et}_3\text{N}\cdot 3\text{HF}$ ) w THF, w celu określenia czasu, po jakim następuje całkowite usunięcie ugrupowania siliłowego (Tabela 24).

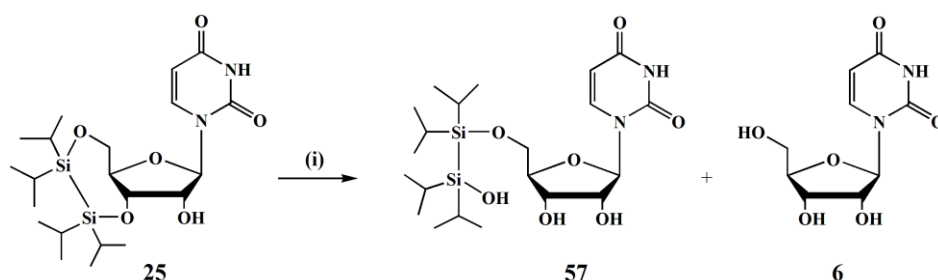
**Tabela 24.** Usuwanie grupy DSi z **21** i **25**, a także TIPDSi z TIPDSi<U za pomocą TBAF/THF i  $\text{Et}_3\text{N}\cdot 3\text{HF}$ /THF.

| Pochodna siliłowa urydyny                      |  |     |  |     |  |    |
|------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------|-----|---------------------------------------------------------------------------------------|----|
|                                                | A                                                                                   | B   | A                                                                                    | B   | A                                                                                     | B  |
| 1 M TBAF/THF                                   | 8                                                                                   | 60  | 2                                                                                    | 30  | 8                                                                                     | 8  |
| 1 M $\text{Et}_3\text{N}\cdot 3\text{HF}$ /THF | 120                                                                                 | 240 | 30                                                                                   | 180 | 16                                                                                    | 16 |

A - czas, po którym nie obserwowałam substratu [min]; B - czas, po którym nastąpiło całkowite usunięcie bifunkcyjnej siliłowej grupy ochronnej [min].

Z danych, z Tabeli 24 wynika, że usunięcie grupy DSi ze związku **21**, 1 M TBAF/THF, następuje w czasie ok. 4 razy krótszym, niż ze związku **25**. Natomiast czas, po którym nie obserwowałam już substratu **25** był 4 razy krótszy, niż substratu **21**. Rozkład 3',5'-O-izomeru **25**, przebiega z wytworzeniem produktu pośredniego, czego nie

obserwowałam w reakcji z 2',3'-O-izomerem **21**. Po wyizolowaniu i analizie NMR produktu pośredniego określiłam, że jest nim związek **57** (Schemat 93).



**Schemat 93.** Reakcja związku **25** w obecności jonów fluorkowych: (i) 1 M TBAF/THF, temp. pok., 2 minuty.

W przypadku usuwania grupy DSi ze związku **21**, 1 M Et<sub>3</sub>N·3HF/THF, następuje w czasie o połowę krótszym niż ze związku **25**.

Usunięcie różnych bifunkcyjnych siliowych grup ochronnych (TIPDSi i DSi) z pochodnych urydyny TIPDSi<U i DSi<U (**25**), zachodzi w różnym czasie. Za każdym razem grupa DSi w porównaniu z TIPDSi, jest usuwana szybciej. Jeśli siliowe wiązanie eterowe utworzone z udziałem disilanu jest słabsze od analogicznego utworzonego z udziałem disiloksanu, to łatwiej ulega ono rozszczepieniu po nukleofilowym ataku jonu fluorkowego. Odmienne zachowanie TIPDSi<U i DSi<U (**25**) wobec jonów fluorkowych, świadczy o większej reaktywności grupy tetraizopropylodisilanowej niż tetraizopropylodisiloksanowej. Mimo wszystko, na obecnym etapie badań grupy DSi, nie można wykluczyć całkowicie wpływu 7-członowego pierścienia z ugrupowaniem disilanowym na jego trwałość, szczególnie, że jest on częścią układu bicyklicznego. Podobne stwierdzenie dotyczy zresztą także izomeru 2',3', a także analogicznych pochodnych TIPDSi, czy nawet sililenowych.

Eksperymenty wykonane w obecności jonów fluorkowych z udziałem pochodnych siliowych urydyny **21** i **25**, stanowiły ostatni etap moich badań doświadczalnych. Badań, polegających na określeniu właściwości DSiCl<sub>2</sub> (**11**), jak i produktów otrzymanych z jego udziałem.

### 13. Nowe bifunkcyjne reagenty sililenowe z podstawnikami alkoksylowymi

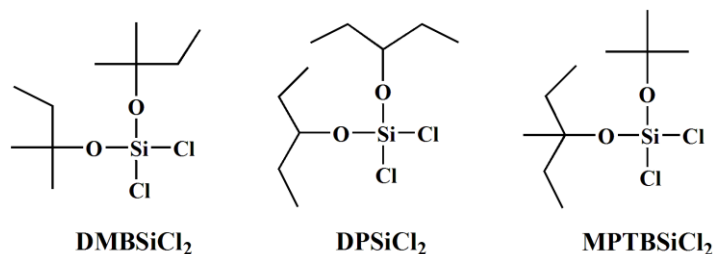
Bifunkcyjne siliowe grupy ochronne w zależności od swej budowy mogą wykazywać różnorodne właściwości. Charakter podstawników wokół atomu krzemu, decyduje przede

wszystkim o reaktywności tych grup i stabilności w różnych warunkach reakcji. Co dokładniej zostało przeze mnie opisane we wstępie teoretycznym.

Z opisu literaturowego wynika fakt, że w chemii nukleozydów zastosowanie znalazły dwa rodzaje bifunkcyjnych ugrupowań sililowych, z jednym lub dwoma atomami krzemu.

W trakcie realizowania prac eksperymentalnych związanych z  $\text{DSiCl}_2$  (**11**), postanowiłam także zbadać nowe alkoksylowe sililenowe grupy ochronne, w których zamiast podstawnika t-butoksylowego byłyby inne reszty alkoksylowe [115].

Zaprojektowałam struktury trzech analogów znanej grupy di-tert-butoksylsililenowej ( $\text{DBSi}$ ), zmieniając wielkość podstawników alkoksylowych przy atomie krzemu (Schemat 94).

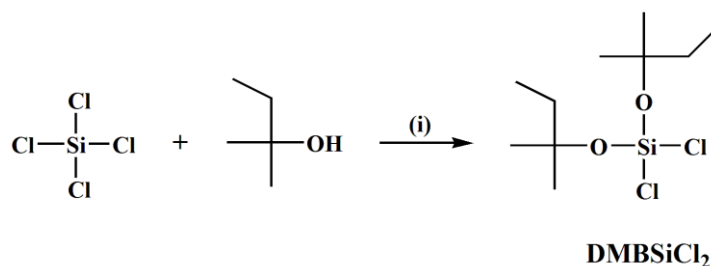


**Schemat 94.** Struktury nowych reagentów sililenowych.

### 13.1. Otrzymywanie reagentów sililenowych

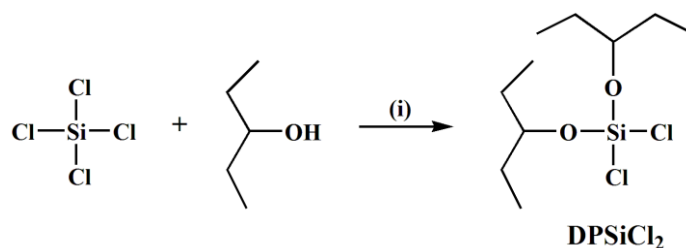
Jedną z najstarszych i najpowszechniej stosowanych metod otrzymywania alkoksylowych reagentów sililenowych jest reakcja pomiędzy tetrachlorosilanem i odpowiednim alkoholem, w obecności trietyloaminy [112]. Pierwszym bifunkcyjnym reagentem sililenowym zsyntetyzowanym według tej metody to dichloro-di-tert-butoksylsilan ( $\text{DBSiCl}_2$ ) [112].

Procedura otrzymywania  $\text{DMBSiCl}_2$  (**59**) polegała na przygotowaniu roztworu 2,5 ekw. trietyloaminy i 1 ekw. tetrachlorosilanu w pentanie. Całość intensywnie mieszano, a następnie wkraplano 2,25 ekw. 2-metylo-2-butanolu. Reakcja prowadzona była w temp. pokojowej, przez ok. 24 h. Produkt, dichloro-di(2-metylo-2-butoksy)silan (**59**), został wyizolowany z mieszaniny reakcyjnej poprzez destylację metodą „trap to trap” z 80 % wydajnością (Schemat 95).



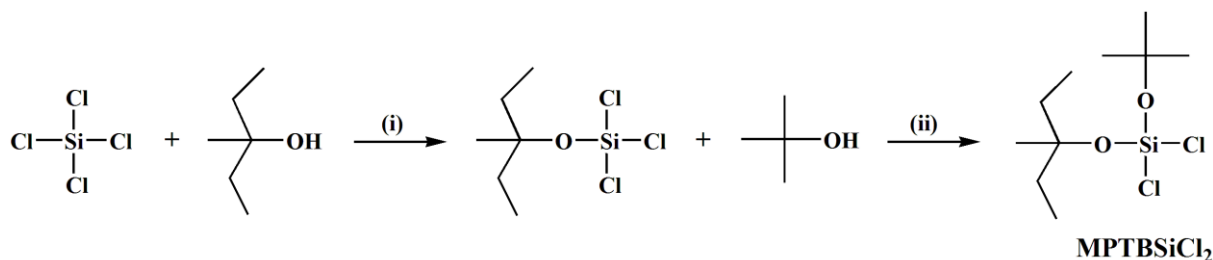
**Schemat 95.** Reakcja powstawania DMBSiCl<sub>2</sub> (**59**): (i) Et<sub>3</sub>N (2,5 ekw.), pentan, temp. pok., 2 h.

Drugi z reagentów alkoksylowych DPSiCl<sub>2</sub> (**60**) został otrzymany w reakcji 1 ekw. tetrachlorosilanu i 2,2 ekw. nadmiaru 3-pentanolu, bez zastosowania rozpuszczalnika i trietyloaminy. Produkt, dichloro-di(3-pentoksy)silan (**60**) wyizolowano z wydajnością 68 % (Schemat 96).



**Schemat 96.** Synteza DPSiCl<sub>2</sub> (**60**): (i) temp. pok., 2 h.

Natomiast trzeci bifunkcyjny reagent sililenowy MPTBSiCl<sub>2</sub> (**61**) otrzymano w reakcji składającej się z dwóch etapów. W pierwszym etapie powstał ze 100 % wydajnością trichloro-(3-metylo-3-pentoksy)silan, który następnie poddano reakcji z tert-butanolem. Dichloro-(3-metylo-3-pentoksy-tert-butoksy)silan (**61**) wyizolowano poprzez destylację metodą „trap to trap” z wydajnością 81 % (Schemat 97).



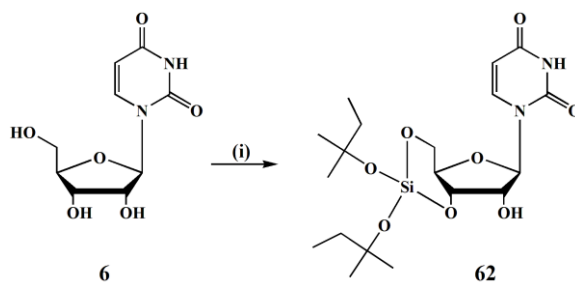
**Schemat 97.** Synteza MPTBSiCl<sub>2</sub> (**61**): (i) Et<sub>3</sub>N (2,5 ekw.), pentan, temp. pok., 24 h; (ii) Et<sub>3</sub>N (2,5 ekw.), tert-butanol (1,1 ekw.), heksan, temp. 60 °C, 24 h.

Każdy z alkoksylowych bifunkcyjnych reagentów sililenowych został otrzymany z wysoką wydajnością.

### 13.2. Reakcje bifunkcyjnych alkoksylowych reagentów sililenowych z urydyną

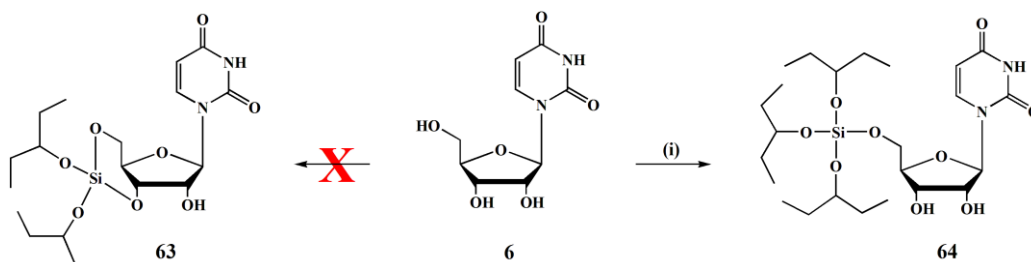
Kolejnym krokiem badań eksperymentalnych było sprawdzenie reaktywności reagentów sililenowych względem rybonukleozydów.

W pierwszej kolejności do reakcji sililowania urydyny wykorzystałam DMBSiCl<sub>2</sub> (**59**), z zastosowaniem warunków standardowych. Na podstawie zmian obserwowanych na płytkach TLC, po 1 h reakcję zakończyłam. Powstał jeden główny produkt, 3',5'-O-di(2-metylo-2-butoksy)silenuurydyna (**62**). Produkt **62** otrzymałam z 55 % wydajnością (Schemat 98).



**Schemat 98.** Reakcja sililowania urydyny DMBSiCl<sub>2</sub> (**59**): (i) DMBSiCl<sub>2</sub> (**59**) (1,5 ekw.), pirydyna, temp. 0 °C i pok., 1 h.

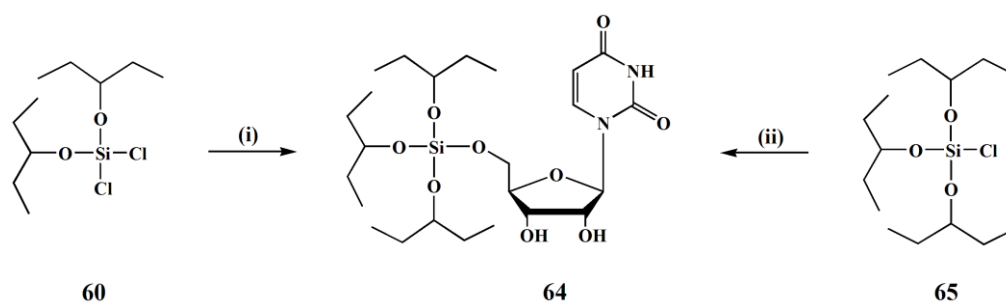
Reakcję sililowania urydyny DPSiCl<sub>2</sub> (**60**) przeprowadziłam w analogiczny sposób jak z DMBSiCl<sub>2</sub> (**59**). W wyniku reakcji prowadzonej przez 1 h w temp. pokojowej otrzymałam jeden produkt, którego wartość R<sub>f</sub> była zdecydowanie niższa, niż dla produktu sililowania **62**. Po analizie NMR, produkt nie był spodziewanym 3',5'-O-di(3-pentoksy)silenuurydyną (**63**), ale 5'-O-tri(3-pentoksy)silouurydyną (**64**), którą otrzymałam z 40 % wydajnością (Schemat 99).



**Schemat 99.** Reakcja sililowania urydyny DPSiCl<sub>2</sub> (**60**): (i) DPSiCl<sub>2</sub> (**60**) (1,5 ekw.), pirydyna, temp. 0 °C i pok., 1 h.

Reakcja sililowania urydyny  $\text{DPSiCl}_2$  (**60**) była wykonywana również z zastosowaniem innych warunków reakcji, np. z imidazolem i  $\text{Et}_3\text{N}$ , w różnych temperaturach i czasie. Jednakże w każdym przypadku otrzymywałam produkt **64**.

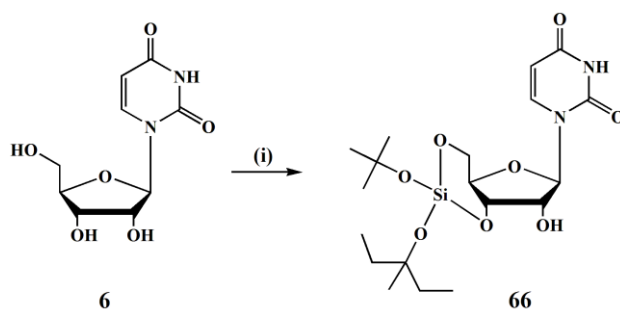
Produktem ubocznym syntezy powstawania  $\text{DPSiCl}_2$  (**60**) był tri(3-pentoksy)chlorosilan (**65**).  $\text{DPSiCl}_2$  (**60**) i  $\text{TTPSiCl}$  (**65**) poddałam reakcji z urydyną w pirydynie, w celu porównania syntez. W obu przypadkach powstał jednak produkt **64**, z różną wydajnością, z  $\text{DPSiCl}_2$  (**60**) otrzymałam 40 %, z  $\text{TTPSiCl}$  (**65**) - 55 % (Schemat 100).



**Schemat 100.** Reakcje otrzymywania związku **64**: (i) urydyna (1ekw.),  $\text{DPSiCl}_2$  (**60**) (1,5 ekw.), pirydyna, temp. 0 °C i pok., 1 h, (ii) urydyna (1ekw.),  $\text{TTPSiCl}$  (**65**) (1,5 ekw.), pirydyna, temp. 0 °C i pok., 1 h.

Najprawdopodobniej w trakcie reakcji sililowania urydyny  $\text{DPSiCl}_2$  (**60**) zachodzi proces wymiany podstawników alkoksylowych przy atomie krzemu, który może być katalizowany zarówno przez kwasy, jak i zasady. Łatwiej wymianie podstawników ulegają pochodne sililowe zawierające podstawniki alkoksyłowe mniej zawadzone przestrzennie, czyli alkoksyłowe reszty drugorzędowe.

Reakcję urydyny z  $\text{MPTBSiCl}_2$  (**61**) przeprowadziłam w analogiczny sposób, jak z poprzednimi reagentami sililenowymi. W wyniku reakcji powstała 3',5'-O-(3-metylo-3-pentoksy-tert-butoksy)sililenourydyna (**66**), którą otrzymałam z 50 % wydajnością (Schemat 101). Pochodna **66** utworzona z użyciem  $\text{MPTBSiCl}_2$  (**61**) zawiera nowe chiralne centrum, a zatem jest mieszaniną diastereoizomerów. Tego aspektu jednak dalej nie badałam.



**Schemat 101.** Reakcja otrzymywania 3',5'-O-(3-metylo-3-pentoksy-tert-butoksy)sililenourydyny (**66**): (i) MPTBSiCl<sub>2</sub> (**61**) (1,5 ekw.), pirydyna, temp. 0 °C i pok., 1 h.

Każdą strukturę, sililenowej pochodnej urydyny otrzymanej w reakcjach z bifunkcyjnymi reagentami alkoksylowymi, potwierdziłam wykonując reakcje z TAI.

Prace eksperymentalne z nowymi reagentami sililenowymi na tym etapie zakończyłam. Wydajności poszczególnych reakcji siliłowania urydyny były niskie, w przeciwieństwie do wydajności uzyskanych w reakcjach pomiędzy rybonukleozydami, a bifunkcyjnym reagentem DSiCl<sub>2</sub> (**11**). Zastosowanie reagentów sililenowych na większą skalę w syntezie chemicznej wymaga dalszych badań.

## IV. PODSUMOWANIE

Badania eksperymentalne opisane w niniejszej rozprawie doktorskiej, dotyczyły syntezy nowych bifunkcyjnych reagentów siliowych i ich zastosowania w chemii nukleozydów.

Jedną z powszechnie stosowanych bifunkcyjnych siliowych grup ochronnych jest „blokada Markiewicza” (TIPDSi) [94-96]. Metoda jej wprowadzania, a także reakcje z nukleozydami stanowiły wzorzec dla wszystkich prowadzonych przeze mnie badań.

Realizując niniejszą tematykę osiągnęłam następujące cele:

- Opracowałam syntezę czterech bifunkcyjnych reagentów siliowych przy współpracy z dr Grzegorzem Hreczycho, z zespołu prof. Bogdana Marcińca i prof. Hieronima Maciejewskiego, na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Jeden spośród zsyntetyzowanych bifunkcyjnych reagentów siliowych posiada w strukturze, bezpośrednio połączone dwa atomy krzemu -  $\text{DSiCl}_2$  (**11**), natomiast pozostałe ugrupowania zawierają jeden atom krzemu -  $\text{DMBSiCl}_2$  (**59**),  $\text{DPSiCl}_2$  (**60**),  $\text{MPTBSiCl}_2$  (**61**). Grupę  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) uzyskano z wysoką wydajnością, wychodząc z trichlorosilanu i odpowiedniego odczynnika Grignarda. Następnie odczynnik Grignarda został poddany katalitycznemu homosprzęganiu w obecności litu prowadząc do  $\text{DSiH}_2$  (**20**), który w reakcji chlorowania dał nowy odczynnik siliujący **11**. Opracowałam metodę otrzymywania pochodnych  $\text{DSi}$  - bromowej (**27**) i imidazolowej (**24**).  $\text{DSiBr}_2$  zsyntetyzowałam z użyciem  $\text{DSiH}_2$ ,  $\text{PdCl}_2$  i  $\text{CH}_2\text{Br}_2$ . Związek **24** powstał w reakcji  $\text{DSiCl}_2$  z imidazolem i  $\text{Et}_3\text{N}$  w THF, w temp. pok. i czasie 2 h.
- Zoptymalizowałam warunki otrzymywania pochodnych siliowych nukleozydów w reakcji z  $\text{DSiCl}_2$  (**11**), skupiając szczególną uwagę na urydynie. Wykonałam szereg reakcji siliowania, w których zmieniałam czas i temperaturę, a także ilości poszczególnych reagentów. Określiłam jaki wpływ na przebieg reakcji powstawania pochodnych 2',3'- i 3',5'-O-siliowych urydyny, ma obecność zasady, a także rodzaj zastosowanego rozpuszczalnika. Okazało się, że im bardziej zasadowa była użyta amina heterocykliczna, tym

więcej powstaje pochodnej 3',5'-O-sililowej urydyny (**25**), a mniej 2',3' (**21**). Wykazałam, że na przebieg reakcji sililowania ma wpływ również obecność aminy alifatycznej ( $\text{Et}_3\text{N}$ ). W reakcjach sililowania nukleozydów w pirydynie za pomocą  $\text{DSiCl}_2$  lub  $\text{DSiBr}_2$  powstaje pochodna 2',3'-O-sililowa urydyny (**21**), natomiast w reakcjach ze związkiem **24** - pochodna 3',5' (**25**).

- Opracowałam również szybką i skuteczną metodę otrzymywania, z wysoką wydajnością, 3',5'-O-DSi pochodnej urydyny (**25**), w obecności aminy i jodu. Korzystny wpływ na efektywność reakcji ma zastosowanie N-metyloimidazolu, dużych rozcieńczeń mieszaniny reakcyjnej, dodawanie  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) bez rozcieńczenia, a także użycie niewielkiego nadmiaru jodu w stosunku do substratu.
- Zsyntetyzowałam pochodne 2',3'- i 3',5'-O-DSi cytydyny, adenozy, guanozy i 1-( $\beta$ -D-arabinofuranozylo)uracylu (araurydyny). Sprawdziłam również reaktywność  $\text{DSiCl}_2$  (**11**) względem deoksyrybonukleozydów - tymidyny i 3'-amino-2',3'-dideoksyadenozy. W obydwu przypadkach powstają z wysoką wydajnością pochodne 3',5'-O-DSi (**40**, **50**).
- W reakcji tetrachlorosilanu z odpowiednimi alkoholami otrzymałam z wysokimi wydajnościami bifunkcyjne reagenty sililenowe  $\text{DMBSiCl}_2$  (**59**),  $\text{DPSiCl}_2$  (**60**),  $\text{MPTBSiCl}_2$  (**61**). Zastosowana temperatura i czas reakcji były uzależnione od budowy użytego alkoholu. Każdy z reagentów sililowych, ze względu na różną budowę i właściwości w reakcjach sililowania urydyny, prowadził do otrzymania różnych produktów: 3',5'-O-sililenowych (**62**, **66**) albo 5'-O-sililowych pochodnych urydyny (**64**).
- Określiłam stabilność pochodnych sililowych urydyny 2',3' i 3',5' w różnych warunkach reakcyjnych, wykonując szereg reakcji wprowadzania grup funkcyjnych w pozycje 2'- lub 5'-OH. Przeprowadziłam reakcje w środowisku silnie zasadowym, neutralnym i kwasowym. Stwierdziłam, że siedmioczłonowy pierścień w 3',5'-O-sililowej urydynie (**25**) w warunkach zasadowych, ulega otwarciu w pozycji 3'. W warunkach neutralnych jest stabilny, a w środowisku kwasowym następuje otwarcie pierścienia sililowego w pozycji 5' i zachodzi izomeryzacja do trwalszej pochodnej 2',3' (**21**), zawierającej pierścień sześcioczłonowy. Stabilność pochodnej 2',3'-O-DSi urydyny (**21**) jest inna, niż 3',5' (**25**) i jej rozkład następuje bezpośrednio do urydyny. Ponadto produkt izomeryzacji **21** powstaje w warunkach kwasowych,

nawet wobec dużego nadmiaru wody i ta właściwość bardzo różni grupę DSi od TIPDSi. Stwierdziłam, że układ 2',3'-O-DSi (**21**) jest stabilny w warunkach neutralnych, natomiast w środowisku kwasowym wykazuje większą trwałość niż 3',5' (**25**), a w zasadowym odwrotnie.

- Stwierdziłam, że dla pochodnych DSi urydyny czas po którym następuje całkowite usunięcie bifunkcyjnej grupy ochronnej za pomocą jonów fluorkowych, jest krótszy dla układu 2',3' (**21**), przy czym sam izomer 2',3' (**21**) ulega odblokowaniu cztery razy szybciej, niż 3',5' (**25**). Porównanie grup disililowych DSi i TIPDSi wskazuje, że wobec jonów fluorkowych DSi jest mniej trwała niż TIPDSi (Rozdział III.12., Tabela 24).
- Zaproponowałam mechanizm selektywnego powstawania pochodnych sililowych urydyny w reakcji  $\text{DSiCl}_2$ . Wykorzystałam obliczenia (program HyperChem 7.0, z pomocą prof. Michała Sobkowskiego) długości wiązań Si-Cl w bifunkcyjnych reagentach disililowych. Dzięki temu mogłam oszacować ich względną reaktywność. Określiłam, że proces izomeryzacji wynika z dużej reaktywności grupy disilanowej. W związku z tym pochodna 3',5'-O-DSi urydyny (**25**) jest produktem kinetycznym, a 2',3'-O-DSi (**21**) jest produktem termodynamicznym.

Wyniki badań nowego bifunkcyjnego reagenta sililowego  $\text{DSiCl}_2$ , przedstawione w niniejszej rozprawie doktorskiej, stanowią przedmiot zgłoszenia patentowego - krajowego (PL399003) i międzynarodowego (PCT/P-391468PL).

## V. CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA

### 1. Odczynniki chemiczne

#### 1.1. Rozpuszczalniki

Wszystkie wymienione rozpuszczalniki, zanim zostały wykorzystane w pracach eksperymentalnych, były oczyszczane i osuszane zgodnie z zamieszczonymi opisami. Rozpuszczalniki były przechowywane nad sitami molekularnymi o wielkości porów 3 Å firmy Merck.

| Nazwa rozpuszczalnika      | Producent      | Stopień czystości | Sposób oczyszczania                                                                                                                        |
|----------------------------|----------------|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| acetonitryl                | Acros Organics | $\geq 99,9\%$     | przechowywano nad sitami                                                                                                                   |
| benzen                     | Chempur        | cz.d.a. 99,7%     | ogrzewano z wodorkiem wapnia(II) - $\text{CaH}_2$ pod chłodnicą zwrotną ok. 8 h; destylowano; przechowywano nad sitami                     |
| bezwodnik octowy           |                |                   | destylowano; przechowywano nad sitami                                                                                                      |
| chlorek metylenu           | POCH           | cz.d.a.           | stabilizowany amylem; przechowywano nad sitami                                                                                             |
| chlorek metylenu           | POCH           | cz.               | sączono przez kolumnę wypełnioną tlenkiem glinu(III) - $\text{Al}_2\text{O}_3$                                                             |
| chlorek metylenu           | POCH           | cz.d.a.           | ogrzewano z tlenkiem fosforu(V) - $\text{P}_2\text{O}_5$ ; destylowano; ogrzewano z $\text{CaH}_2$ ; destylowano; przechowywano nad sitami |
| eter dietylowy             | POCH Basic     | cz.d.a. 99,5%     | stabilizowany BHT; destylowano znad $\text{CaH}_2$ ; przechowywano nad sitami                                                              |
| n,n-dimetyloformamid (dmf) | Sigma-Aldrich  | 99,8%             | przechowywano nad sitami                                                                                                                   |
| 1,4-dioksan                | POCH           | cz.d.a. 99%       | przechowywano nad sitami                                                                                                                   |

|                       |                 |                |                                                                                                                                       |
|-----------------------|-----------------|----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                       | Gliwice         |                |                                                                                                                                       |
| octan etylu           | POCH            | cz.d.a. 99,5%  | przechowywano nad sitami                                                                                                              |
| pirydyna              | POCH            | cz.d.a. 99,5 % | ogrzewano z tlenkiem fosforu(V) - $P_2O_5$ ; destylowano; ogrzewano z $CaH_2$ ; destylowano; przechowywano nad sitami                 |
| n-heksan              | POCH            | cz.d.a. 99 %   | przechowywano nad sitami                                                                                                              |
| tetrahydrofuran (thf) | POCH            | cz.d.a. 99,5 % | sączono przez kolumnę wypełnioną $Al_2O_3$ ; ogrzewano z $CaH_2$ pod chłodnicą zwrotną ok. 8 h; destylowano; przechowywano nad sitami |
| tetrahydrofuran (thf) | Sigma Aldrich   | $\geq 99.9 \%$ | przechowywano nad sitami                                                                                                              |
| toluen                | POCH            | cz.d.a.        | destylowano; przechowywano nad sitami                                                                                                 |
| 2-propanol            | Chempur         | cz.d.a.        | użyto bezpośrednio                                                                                                                    |
| chloroform            | POCH<br>Gliwice | cz.            | użyto bezpośrednio                                                                                                                    |
| trietyloamina         | Chempur         | cz.d.a.        | przechowywano nad sitami                                                                                                              |
| metanol               | Chempur         | cz.d.a.        | przechowywano nad sitami                                                                                                              |

## 1.2. Reagenty

Reagenty krzemoorganiczne były zsyntetyzowane w Zakładzie Chemii Metaloorganicznej, na Uniwersytecie im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.

| Nazwa reagenta                                                       | Sposób oczyszczania    |
|----------------------------------------------------------------------|------------------------|
| 1,2-diwodoro-1,1,2,2-tetraizopropylodisilan                          | destylacja pod próżnią |
| 1,2-dichloro-1,1,2,2- tetraizopropylodisilan                         | destylacja pod próżnią |
| 1,2,2,4,4,5-heksametylo-3-metyleno-1,5-diaza-2,4-disilanocykloheptan | destylacja pod próżnią |
| dichloro-di(2-metylo-2-butoksy)silan                                 | destylacja pod próżnią |
| dichloro-di(3-pentoksy)silan                                         | destylacja pod próżnią |
| dichloro-(3-metylo-3-pentoksy-tert-butoksy)silan                     | destylacja pod próżnią |

W pracach eksperymentalnych poniżej wymienione reagenty były stosowane w reakcjach bezpośrednio, bez ich wcześniejszego oczyszczania.

| Nazwa reagenta                                     | Producent           | Stopień czystości |
|----------------------------------------------------|---------------------|-------------------|
| urydyna                                            | Carbosynth          | -                 |
| cytydyna                                           | Carbosynth          | -                 |
| adenozyna                                          | Carbosynth          | -                 |
| guanozyna                                          | Carbosynth          | -                 |
| 2'-deoksytymidyna                                  | Pharma-Waldhof GmbH | -                 |
| 3'-amino-2',3'-<br>dideoksyadenozyna               | Carbosynth          | -                 |
| chlorek izopropylowy                               | Sigma Aldrich       | $\geq 99\%$       |
| bromek izopropylowy                                | Sigma Aldrich       | 99%               |
| metaliczny magnez                                  | Sigma Aldrich       | 99.99%            |
| heksachlorodisilan                                 | Sigma Aldrich       | 96%               |
| trichlorosilan                                     | Sigma Aldrich       | 99%               |
| lit zawieszony w oleju<br>mineralnym               | Sigma Aldrich       | 60%               |
| izocyjanian trichloroacetylu                       | Sigma Aldrich       | $\geq 97\%$       |
| imidazol                                           | Fluka Chemie AG     | $\geq 99\%$       |
| n-metyloimidazol                                   | Aldrich             | 99%               |
| 1,2,4-triazol                                      | Aldrich             | 98%               |
| 1h-tetrazol                                        | Fluka               | cz.               |
| 5-etylotiotetrazol                                 | Ifotam Co. Ltd.     | 99%               |
| wodorowęglan sodu                                  | Chempur             | cz.d.a.           |
| siarczan sodu                                      | Chempur             | cz.d.a.           |
| tiosiarczas sodu                                   | POCH Gliwice        | -                 |
| chlorek palladu(II)                                | Aldrich             | 60%               |
| dibromometan                                       | Aldrich             | 99%               |
| węglan difenylowy                                  | Aldrich             | 99%               |
| triflan scandu(III)                                | Aldrich             | 99%               |
| 1,3-dichloro-1,1,3,3-<br>tetraizopropylodisiloksan | Ifotam              | -                 |
| wodorek sodu                                       | Aldrich             | 95%               |
| chlorek fenoksyacetylu                             | Aldrich             | 98%               |

|                                 |              |         |
|---------------------------------|--------------|---------|
| jodometan stabilizowany srebrem | Merck        | > 99%   |
| bromek metoksykarbonylometylu   | Aldrich      | 97%     |
| jod                             | POCH Gliwice | cz.d.a. |

## 2. Metodyka badań identyfikacyjnych

Produkty otrzymywane w poszczególnych reakcjach syntezy, zostały poddane badaniom identyfikacyjnym, stosując różne techniki analityczne.

Chromatografię gazową z detekcją masową (GC-MS) wykonywano z wykorzystaniem aparatu Varian Saturn 2100T ze wzbudzeniem elektronowym i chemicznym. Widma MS rejestrowano komputerowo przy użyciu programu STAR Workstation 5.5, zaopatrzonego w bibliotekę widm MS NIST 98. Chromatograf wyposażono w szklaną kolumnę kapilarną o długości 30 m klasy DB-5 firmy Varian. Pomiary wykonywano stosując następujące parametry dla chromatografu gazowego:

- temperatura początkowa - 60 °C
- temperatura końcowa - 280 °C
- przyrost temperatury - 10 °C/min.
- czas w temperaturze początkowej - 3 min.
- czas w temperaturze końcowej - 10 min.
- temperatura dozownika - 220 °C.

Widma magnetycznego rezonansu jądrowego wykonywano na spektrometrach Bruker Avance II (400 MHz), gdzie widma rejestrowano z następującą częstotliwością pola magnetycznego dla  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz),  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz),  $^{29}\text{Si-NMR}$  (79,5 MHz). Bruker Avance III (500 MHz), na którym poszczególne widma rejestrowano z częstotliwością pola magnetycznego dla  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz),  $^{13}\text{C-NMR}$  (125,8 MHz),  $^{29}\text{Si-NMR}$  (99,4 MHz). Próbkę przygotowywano w rozpuszczalnikach deuterowanych. Najczęściej wykorzystywano DMSO- $d_6$ ,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ,  $\text{D}_2\text{O}$ .

Pomiaru zawartości wody w rozpuszczalnikach organicznych dokonywano poprzez miareczkowanie kulometryczne Karla-Fischera z wykorzystaniem kulometru TitroLine KF trace firmy SI Analytics GmbH.

### 3. Techniki ogólne

#### 3.1. Chromatografia cienkowarstwowa - TLC (ang. Thin Layer Chromatography)

Technika chromatografii cienkowarstwowej - TLC znalazła zastosowanie do chromatografowania metodą wstępującą mieszanin reakcyjnych i związków chemicznych. Przeprowadzana była w cylindrycznych komorach szklanych, których ścianki wyłożono bibułą zanurzoną w eluencie, w celu wysycenia atmosfery jego parami. Chromatogramy rozwijano i analizowano na płytkach analitycznych firmy Merck (Niemcy) pokrytych żelem krzemionkowym 60 HF<sub>254</sub>, posiadających czynnik fluoryzujący przy długości fali światła wzbudzającego 254 nm. Do najczęściej stosowanych eluentów należą:

1. chlorek metylenu / metanol (9:1, v/v);
2. chlorek metylenu / metanol (95:5, v/v);
3. chlorek metylenu / metanol (8:2, v/v);
4. heksan / octan etylu / metanol (9:8:1, v/v);
5. heksan / octan etylu / metanol (9:4:1, v/v);
6. chloroform / metanol (4:1, v/v).

#### 3.2. Kolumnowa chromatografia cieczowa

Kolumnową chromatografię cieczową zastosowano do oczyszczania modyfikowanych nukleozydów. Wypełnienie kolumn stanowił żel krzemionkowy Kieselgel 60 firmy Merck, o rozmiarach cząstek 230-400 mesh. Związki z kolumn wmywano, wykorzystując metodę gradientową, polegającą na zmianie składu procentowego eluentu, a tym samym zmianie siły jego eluowania. Do wmywania użyto takich samych eluentów, jak w przypadku chromatografii cienkowarstwowej.

#### 3.3. Powtarzalne procedury laboratoryjne

Wszystkie eksperymenty prowadzono w atmosferze gazu obojętnego, którym był argon.

W reakcjach silylowania nukleozydów stosowano dodatek sit molekularnych 3 Å firmy Merck, w celu lepszego odwodnienia środowiska reakcji.

Mieszaninę reakcyjną poddawano procesowi ekstrakcji, do którego używano wodnego nasyconego roztworu  $\text{NaHCO}_3$  i  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie porcjami  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

Ekstrakty organiczne zebrane po ekstrakcji suszono przez ok. 0,5h, wykorzystując do tego celu bezwodny  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , a następnie roztwór przesączało.

Uzyskane czyste produkty reakcji liofilizowano poprzez rozpuszczenie ich w bezwodnym benzenie, a następnie wymrożenie w ciekłym azocie i usunięcie przez sublimację rozpuszczalnika na linii próżniowej, w czasie od kilku do kilkunastu godzin.

### 3.4. Procedura z TAI

Reakcje z TAI polegały na przygotowaniu w probówce szklanej roztworu badanej substancji (0,010 g), w deuterowanym rozpuszczalniku  $\text{CDCl}_3$  (0,60 mL), do którego dodano TAI (1-2 krople). Po dokładnym wymieszaniu, próbkę poddawano analizie NMR.

### 3.5. Procedura acetylowania

W kolbie umieszczono silylowaną pochodną rybonukleozydu (0,025 g), bezwodnik octowy (0,200 mL) i pirydynę (1 mL). Całość mieszano nad mieszałem magnetycznym. Po 0,5 h reakcję zakończono przez odparowanie mieszaniny reakcyjnej z mieszaniną metanolu z toluenem. Mieszaninę reakcyjną oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje zawierające produkt połączono i poddano procesowi liofilizacji.

### 3.6. Procedura usuwania grup silylowych

W kolbie umieszczono silylowaną pochodną rybonukleozydu (0,010 g), THF (0,250 mL) i 1 M TBAF/THF lub 1 M  $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$ /THF (0,015 mL). Całość mieszano nad mieszałem magnetycznym, śledząc zmiany za pomocą analizy TLC. Po całkowitym przereagowaniu substratów, mieszaninę reakcyjną poddano ekstrakcji  $\text{NaHCO}_3$  i  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie porcjami  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Ekstrakty organiczne zebrane po ekstrakcji suszono przez ok. 0,5 h, wykorzystując do tego celu bezwodny  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , a następnie roztwór przesączało. Pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent

zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje zawierające produkt połączono i poddano procesowi liofilizacji.

#### 4. Synteza pochodnych reagenta disilanowego

##### 4.1. 1,2-Diwodoro-1,1,2,2-tetraizopropylodisilan - $\text{DSiH}_2$ (20)

###### 4.1.1. Chlorek izopropylomagnezowy (19)

W kolbie umieszczono magnez (960 mmoli, 23,04 g) i dodano eteru dietylowego (150 mL) oraz kroplę bromku etylenu. Po 0,5 h dodano kolejną porcję eteru dietylowego (100 mL) i mieszano nad mieszałem magnetycznym. Mieszaninę chłodzono, powoli wkraplając roztwór chlorku izopropylowego (**18**) (800 mmoli, 62,83 g, 73,2 mL) w eterze dietylowym (350 mL). Podczas dodawania **18** na powierzchni obserwowano pęcherzyki powietrza, a roztwór zrobił się mętny. Całość mieszano przez 1,5h. Przebieg reakcji kontrolowano za pomocą chromatografii gazowej. Otrzymany produkt **19** został poddany dalszym reakcjom bez jego izolacji.

###### 4.1.2. Diizopropylchlorosilan (14)

Do mieszaniny reakcyjnej ze związkiem **19** powoli wkraplano roztwór  $\text{HSiCl}_3$  (300 mmoli, 40,65 g, 30,3 mL) w eterze dietylowym (70 mL). Po dodaniu całości, mieszanie kontynuowano wraz z ogrzewaniem w łaźni olejowej w temperaturze  $80\text{ }^\circ\text{C}$  przez 6 h. Następnie z mieszaniny poreakcyjnej wyizolowano główny produkt, poprzez destylację metodą „trap to trap”. Analiza GC-MS potwierdziła otrzymanie związku **14**: 113,7 g, wydajność 95 %.

###### Diizopropylchlorosilan (14):

GC (min): 7,82 (95,1 %);

GC-MS (m/z): 63,1 (+SiCl), 73,2 (+SiHCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 88,2 (+CH<sub>3</sub>), 107,0 (+ClSiHCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 149,5 (+ClSi(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>).

#### 4.1.3. 1,2-Diwodoro-1,1,2,2-tetraizopropylodisilan - DSiH<sub>2</sub> (20)

Metaliczny lit (206 mmola, 1,43 g) w THF (50 mL) umieszczono w naczyniu Schlenka, schłodzone do temperatury 0 °C i powoli dodawano wcześniej otrzymany związek **14** (104 mmola, 15,5 g, 17,8 mL) rozpuszczony w THF (25 mL). Po dodaniu całości mieszano przez 1,5 h w temperaturze 0 °C, a następnie w temp. pokojowej przez 12 h. Mieszaninę reakcyjną przeniesiono do kolby, przesączono na kolumnie ze spiekem z niewielką ilością Cellitu. Nadmiar litu zobojętniono 2-propanolem, a nadmiar rozpuszczalnika odparowano. Przeprowadzono destylację pod próżnią 0,2 mm Hg, zbierając frakcje o temp. wrzenia 96 °C: **20**, 22,44 g, wydajność 95,2 %.

##### 1,2-Diwodoro-1,1,2,2-tetraizopropylodisilan - DSiH<sub>2</sub> (20):

GC (min): 11,09 (95,21 %);

<sup>29</sup>Si-NMR (79,5 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) δ (ppm): -14,45 (s, Si<sub>2</sub>(iPr)<sub>4</sub>H<sub>2</sub>);

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) δ (ppm): 1,18 (m, 30 H, (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>4</sub>);

<sup>13</sup>C-NMR (125,8 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) δ (ppm): 20,65 (-CH), 11,21 (-CH<sub>3</sub>).

#### 4.2. 1,2-Dichloro-1,1,2,2-tetraizopropylodisilan - DSiCl<sub>2</sub> (11)

W kolbie umieszczono 1,1,2,2-tetraizopropyl-1,2-diwodorodisilan (25 mmoli, 5,71 g) i powoli wkraplano nasycony roztwór Cl<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> intensywnie mieszając. Następnie przeprowadzono destylację pod próżnią 0,2 mm Hg, zbierając frakcje przy temp. wrzenia 122 °C: **11**, 6,47 g, wydajność 87,2 %.

##### 1,2-Dichloro-1,1,2,2-tetraizopropylodisilan - DSiCl<sub>2</sub> (11):

GC (min): 16,22 (87,14 %);

GC-MS (m/z): 221,30 (+Si<sub>2</sub>(iPr)<sub>3</sub>Cl), 263,00 (+Si<sub>2</sub>(iPr)<sub>4</sub>Cl);

<sup>29</sup>Si-NMR (79,5 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) δ (ppm): 24,67 (Si<sub>2</sub>(iPr)<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>);

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) δ (ppm): 1,35 (m, 4 H, -CH), 1,22 (m, 24 H, -CH<sub>3</sub>);

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) δ (ppm): 18,10 (-CH), 16,74(-CH<sub>3</sub>).

#### 4.3. 1,2-Dibromo-1,1,2,2-tetraizopropylodisilan - DSiBr<sub>2</sub> (27)

W kolbie umieszczono związek **20** (0,66 mmoli, 0,152 g, 0,180 mL), chlorek palladu(II) (0,03 mmola, 0,0053 g, 4,5 mol%) i CH<sub>2</sub>Br<sub>2</sub> (14,3 mmola, 2,48 g, 1 mL).

Następnie całość mieszano przez 8 h w temp. 60-70 °C. Przebieg reakcji kontrolowano za pomocą  $^{29}\text{Si}$ -NMR. Otrzymano związek **27**, który scharakteryzowano bez izolacji.

**1,2-Dibromo-1,1,2,2-tetraizopropylodisilan - DSiBr<sub>2</sub> (27):**

$^{29}\text{Si}$ -NMR (99,4 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 39,89 (Si<sub>2</sub>(iPr)<sub>4</sub>Br<sub>2</sub>).

**4.4. 1,2-Di-(imidazol-1-ylo)-1,1,2,2-tetraizopropylodisilan (24)**

W kolbie umieszczono imidazol (0,975 mmola, 0,066 g) i THF (1 mL). Do tego dodano związek **11** (0,325 mmola, 0,097 g) i na samym końcu (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>N (1,950 mmola, 0,197 g, 0,271 mL). Mieszaninę reakcyjną mieszano przez 2 h. Otrzymano związek **24**, który scharakteryzowano bez jego izolacji.

**1,2-Di-(imidazol-1-ylo)-1,1,2,2-tetraizopropylodisilan (24):**

$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 7,63 (s, 2H, H-2), 7,05 (s, 4H, H-4, H-5), 0,97-1,07 (m, 28H);

$^{13}\text{C}$ -NMR (125,8 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 139,65 (C-2), 129,75 (C-4), 120,62 (C-5), 18,11 (-CH), 16,74 (-CH<sub>3</sub>);

$^{29}\text{Si}$ -NMR (79,5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 15,47 (Si<sub>2</sub>(iPr)<sub>4</sub>(Im)<sub>2</sub>).

**5. 2',3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyna (21)**

**5.1. 2',3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyna (21) - reakcja z DSiCl<sub>2</sub> (11) w pirydynie**

W kolbie umieszczono urydynę (0,25 mmola, 0,060 g) i dodano pirydynę (0,5 mL). Następnie dodano roztwór DSiCl<sub>2</sub> (**11**) (0,325 mmoli, 0,0972 g, 0,099 mL) rozpuszczonego w pirydynie (0,5 mL). Kolbę z roztworem urydyny chłodzono w temp. 0 °C, podczas dodawania roztworu DSiCl<sub>2</sub>. Reakcję zakończono po 1 h przez dodanie nasyconego wodnego roztworu NaHCO<sub>3</sub> (6 mL) i taką samą ilość CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×6 mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **21**, 110 mg, wydajność 95 %. R<sub>f</sub>(1) = 0,54.

**2',3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyna (21):**

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 8,46 (s, 1H, N-H), 7,62 (d, J=8 Hz, 1H, H-6), 5,73 (dd, J=4 Hz, J=8 Hz, 1H, H-5), 5,68 (d, J=8 Hz, 1H, H-1'), 4,52 (t, J=4,4 Hz, J=4,8 Hz, 1H, H-2'), 4,35 (t, J=4,8 Hz, J=4,4 Hz, 1H, H-3'), 4,15 (m, 1H, H-4'), 3,98 (dd, J=2 Hz, J=12 Hz, 1H, H-5'), 3,81 (dd, J=2,4 Hz, J=12 Hz, 1H, H-5''), 1,35-1,03 (m, 28H, H-iPr);

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 163,05 (C-4), 150,06 (C-2), 141,76 (C-6), 102,15 (C-5), 93,29 (C-1'), 85,54 (C-4'), 75,20 (C-2'), 71,63 (C-3'), 61,69 (C-5',5''), 17,83-14,00 (C-iPr);

**<sup>29</sup>Si-NMR** (79,5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 14,02, 13,37 (sililowa grupa ochronna).

**5.2. 2',3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyna (21) - reakcja z DSiBr<sub>2</sub> (27) w pirydynie**

Do mieszaniny otrzymanej wg Rozdziału 4.3., zawierającej związek **27** (0,66 mmola, 0,255 g) dodano pirydynę (0,5 mL), a następnie roztwór urydyny (0,5 mmola, 0,122 g) w pirydynie (0,5 mL). Kolbę z DSiBr<sub>2</sub> (**27**) chłodzono w temp. 0 °C, podczas dodawania roztworu urydyny. Całość mieszano w temp. pokojowej. Po 1 h reakcję zakończono przez dodanie nasyconego wodnego roztworu NaHCO<sub>3</sub> (6 mL) i taką samą ilość CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×6 mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **21**, 188 mg, wydajność 80 %. R<sub>f</sub>(1) = 0,54.

**2',3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyna (21):**

Dane spektralne identyczne jak z Rozdziału 5.1.

**6. 5'-O-Acetylo-2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyna (22)**

Reakcja została wykonana wg procedury z Rozdziału 3.5. W wyniku reakcji otrzymano: **22**, 26,4 mg, wydajność 98 %. R<sub>f</sub>(1) = 0,64.

**5'-O-Acetylo-2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyna (22):**

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 8,22 (s, 1H, N-H), 7,56 (d, J=8,4 Hz, 1H, H-6), 5,81 (d, J=2,4 Hz, 1H, H-1'), 5,73 (dd, J=2 Hz, J=8 Hz, 1H, H-5), 4,37 (m, 1H, H-5'), 4,35 (m, 1H,

H-5''), 4,32 (m, 1H, H-2'), 4,26 (m, 1H, H-4'), 4,16 (m, 1H, H-3'), 3,13 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1,34-1,07 (m, 28H, H-iPr);

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 170,35 (C(O)), 162,65 (C-4), 149,69 (C-2), 139,56 (C-6), 102,02 (C-5), 91,61 (C-1'), 81,55 (C-4'), 75,76 (C-2'), 71,88 (C-3'), 63,25 (C-5',5''), 20,82 (C(O)CH<sub>3</sub>), 17,78-14,07 (C-iPr);

<sup>29</sup>Si-NMR (79,5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 16,03, 12,24 (sililowa grupa ochronna).

### 7. 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyna (25)

#### 7.1. 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyna (25) - reakcja z pochodną disilanową 24

Do mieszaniny otrzymanej wg Rozdziału 4.4., zawierającej związek **24** (0,325 mmola, 0,118 g) dodano roztwór urydyny (0,25 mmola, 0,060 g) w pirydynie (1 mL). Kolbę z roztworem związku **24** chłodzono w temp. 0 °C, podczas dodawania roztworu urydyny. Po dodaniu całości mieszaninę mieszano w temp. pokojowej. Po 1 h reakcję zakończono przez dodanie nasyconego wodnego roztworu NaHCO<sub>3</sub> (6 mL) i taką samą ilość CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×6 mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **25**, 104 mg, wydajność 90 %. R<sub>f</sub>(1) = 0,65.

#### 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyna (25):

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 9,34 (s, 1H, N-H), 7,25 (d, J=8 Hz, 1H, H-6), 5,72 (d, J=8 Hz, 1H, H-5), 5,48 (s, 1H, H-1'), 4,51 (t, J=7 Hz, J=7,2 Hz, 1H, H-3'), 4,38 (d, J=6 Hz, 1H, H-2'), 4,16 (q, J=3,6 Hz, J=11,2 Hz, 1H, H-5'), 4,03 (m, 1H, H-4'), 3,83 (q, J=9,2 Hz, J=11,2 Hz, 1H, H-5''), 1,41-1,02 (m, 28H, H-iPr);

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 163,51 (C-4), 149,66 (C-2), 142,20 (C-6), 102,21 (C-5), 94,85 (C-1'), 83,23 (C-4'), 75,76 (C-2'), 75,02 (C-3'), 64,96 (C-5',5''), 18,36-14,64 (C-iPr);

<sup>29</sup>Si-NMR (79,5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 18,29, 17,06 (sililowa grupa ochronna).

## 7.2. 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)urydyna (25) - reakcja z DSiBr<sub>2</sub> (27), imidazolem i Et<sub>3</sub>N

Do mieszaniny otrzymanej wg Rozdziału 4.3., zawierającej związek **27** (0,66 mmola, 0,255 g) dodano imidazol (1,98 mmola, 0,135 g), THF (1 mL) i na samym końcu (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>N (3,96 mmola, 0,400 g, 0,551 mL). Mieszaninę reakcyjną mieszano w temp. pokojowej przez 2 h, a następnie dodano roztwór urydyny (0,5 mmola, 0,122 g) w pirydynie (1 mL). Kolbę z roztworem związku **27** chłodzono w temp. 0 °C, podczas dodawania roztworu urydyny. Po dodaniu całości mieszaninę mieszano w temp. pokojowej. Po 1 h reakcję zakończono przez dodanie nasyconego wodnego roztworu NaHCO<sub>3</sub> (6 mL) i taką samą ilość CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×6 mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **25**, 204 mg, wydajność 87 %. R<sub>f</sub>(1) = 0,65.

### 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)urydyna (25):

Dane spektralne identyczne jak z Rozdziału 7.1.

## 8. 2'-O-Acetylo-3',5'-O(tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)urydyna (26)

Reakcja została wykonana wg procedury z Rozdziału 3.5. W wyniku reakcji otrzymano: **26**, 27 mg, wydajność 100 %. R<sub>f</sub>(1) = 0,72.

### 2'-O-Acetylo-3',5'-O(tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)urydyna (26):

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 8,57 (s, 1H, N-H), 7,25 (d, J=8 Hz, 1H, H-6), 5,75 (d, J=8,4 Hz, 1H, H-5), 5,70 (d, J=2 Hz, 1H, H-1'), 5,49 (dd, J=2 Hz, J=6,4 Hz, 1H, H-2'), 4,41 (q, J=6,8 Hz, J=8,4 Hz, 1H, H-3'), 4,17 (q, J=3,6 Hz, J=12 Hz, 1H, H-5'), 4,01 (m, 1H, H-4'), 3,87 (q, J=7,6 Hz, J=12 Hz, 1H, H-5''), 2,13 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1,36-1,04 (m, 28H, H-iPr);

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 169,26 (C(O)), 162,47 (C-4), 149,41 (C-2), 140,42 (C-6), 102,71 (C-5), 90,29 (C-1'), 83,03 (C-4'), 75,69 (C-2'), 74,63 (C-3'), 64,63 (C-5',5''), 20,67 (C(O)CH<sub>3</sub>), 18,41-14,83 (C-iPr);

<sup>29</sup>Si-NMR (79,5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 18,52, 17,03 (sililowa grupa ochronna).

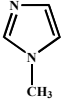
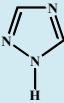
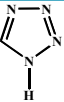
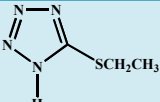
## 9. Synteza pochodnych 2',3'- i 3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyny

### 9.1. Procedura z użyciem różnych amin heterocyklicznych

Reakcje wykonywano według jednego, ogólnego schematu.

Przygotowano mieszaninę reakcyjną składającą się ze związku **X** (Tabela 25), THF (3 mL), 1,2-dichloro-1,1,2,2-tetraizopropylodisilanu (1,3 mmola, 0,389 g, 0,397 mL) i  $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N}$  (7,8 mmola, 0,790 g, 1,09 mL). Całość mieszano przez 2 h, a następnie dodano roztwór urydyny (1 mmola, 0,250 g) w pirydynie (2 mL). Kolbę z roztworem związku **X** chłodzono w temp. 0 °C, podczas dodawania roztworu urydyny. Po dodaniu całości mieszaninę mieszano w temp. pokojowej. Po 1 h reakcję zakończono przez dodanie nasyconego wodnego roztworu  $\text{NaHCO}_3$  (10 mL) i taką samą ilość  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3×6 mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **21** i **25**, wydajność - Tabela 25.  $\text{Rf}(1)_{21} = 0,54$ ,  $\text{Rf}(1)_{25} = 0,65$ .

**Tabela 25.** Ilości związku **X** użyte do reakcji i ich wydajność.

| Związek X                                                                           | Ilość związku X |       | Wydajność produktu |      |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-------|--------------------|------|
|                                                                                     | [mmol]          | [g]   | 21                 | 25   |
|  | 3,9             | 0,320 | 10 %               | 80 % |
|  | 3,9             | 0,269 | 15 %               | 70 % |
|  | 3,9             | 0,273 | 30 %               | 65 % |
|  | 3,9             | 0,507 | 50%                | 30 % |

#### 2',3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyna (**21**):

Dane spektralne identyczne jak z Rozdziału 5.1.

**3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)urydyna (25):**

Dane spektralne identyczne jak z Rozdziału 7.1.

**9.2. Procedura z N-metyloimidazolem w obecności jodu**

W kolbie umieszczono urydynę (0,41 mmola, 0,100 g), DMF (3 mL), N-metyloimidazol (3,2 mmola, 0,262 g, 0,255 mL), jod (0,53 mmola, 0,135 g). Do tak przygotowanej mieszaniny dodano  $\text{DSiCl}_2$  (0,53 mmola, 0,158 g, 0,162 mL). Całość mieszano w temp. pokojowej. Po 15 minutach reakcję zakończono przez dodanie nasyconego wodnego roztworu  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (10 mL) i taką samą ilość  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 10$  mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **21**, 35 mg, wydajność 18 % i **25**, 156 mg, wydajność 81 %.  $\text{Rf}(1)_{21} = 0,54$ ,  $\text{Rf}(1)_{25} = 0,65$ .

**2',3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)urydyna (21):**

Dane spektralne identyczne jak z Rozdziału 5.1.

**3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)urydyna (25):**

Dane spektralne identyczne jak z Rozdziału 7.1.

**9.3. Procedura z pirydyną w obecności jodu**

W kolbie umieszczono urydynę (0,41 mmola, 0,100 g), THF (3 mL), pirydynę (3,2 mmola, 0,253 g, 0,258 mL), jod (0,53 mmola, 0,135 g). Do tak przygotowanej mieszaniny dodano  $\text{DSiCl}_2$  (0,53 mmola, 0,158 g, 0,162 mL). Całość mieszano w temp. pokojowej. Po 45 minutach reakcję zakończono przez dodanie nasyconego wodnego roztworu  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (10 mL) i taką samą ilość  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 10$  mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **21**, 33 mg, wydajność 17 % i **25**, 125 mg, wydajność 65 %.  $\text{Rf}(1)_{21} = 0,54$ ,  $\text{Rf}(1)_{25} = 0,65$ .

**2',3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)urydyna (21):**

Dane spektralne identyczne jak z Rozdziału 5.1.

**3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)urydyna (25):**

Dane spektralne identyczne jak z Rozdziału 7.1.

**10. Reakcje izomeryzacji 3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)urydyny (25) do 2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)urydyny (21), w obecności chlorowodorku aminy****10.1. Reakcja izomeryzacji w obecności chlorowodorku pirydyny**

W kolbie umieszczono pirydynę (0,5 mL) i 36 % HCl (7  $\mu$ L). Przygotowany roztwór odparowano 3 razy z bezwodną pirydyną. Do powstałego osadu chlorowodorku pirydyny (85  $\mu$ moli, 0,010 g) dodano pirydynę (0,5 mL), a następnie roztwór związku **25** (20  $\mu$ moli, 0,010 g) w pirydynie (0,5 mL). Całość mieszano w temp. pokojowej. Po 24 h reakcję zakończono przez dodanie nasyconego wodnego roztworu NaHCO<sub>3</sub> (3 mL) i taką samą ilość CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 $\times$ 3mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **21**, 8 mg, wydajność 80 %. Rf(1) = 0,54.

**2',3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)urydyna (21):**

Dane spektralne identyczne jak z Rozdziału 5.1.

**10.2. Reakcja izomeryzacji w obecności chlorowodorku imidazolu**

W kolbie umieszczono CH<sub>3</sub>CN (0,5 mL), imidazol (85  $\mu$ moli, 0,006 g) i 36 % HCl (7  $\mu$ L). Przygotowany roztwór odparowano najpierw 5 razy z bezwodnym MeOH i potem 3 razy z bezwodną pirydyną. Do powstałego osadu chlorowodorku imidazolu (85  $\mu$ moli, 0,009 g) dodano pirydynę (0,5 mL), a następnie roztwór związku **25** (20  $\mu$ moli, 0,010 g) w pirydynie (0,5 mL). Całość mieszano w temp. pokojowej. Po 24 h reakcję zakończono przez dodanie nasyconego wodnego roztworu NaHCO<sub>3</sub> (3 mL) i taką samą ilość CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 $\times$ 3mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej.

Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **21**, 8,5 mg, wydajność 85 %.  $R_f(1) = 0,54$ .

**2',3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)urydyna (21):**

Dane spektralne identyczne jak z Rozdziału 5.1.

**10.3. Reakcja izomeryzacji w obecności chlorowodorku trietyloaminy**

W kolbie umieszczono pirydynę (0,5 mL),  $(C_2H_5)_3N$  (85  $\mu$ moli, 0,009 g) i 36 % HCl (7  $\mu$ L). Przygotowany roztwór odparowano 3 razy z bezwodną pirydyną. Do powstałego osadu chlorowodorku trietyloaminy (85  $\mu$ moli, 0,012 g) dodano pirydynę (0,5 mL), a następnie roztwór związku **25** (20  $\mu$ moli, 0,010 g) w pirydynie (0,5 mL). Całość mieszano w temp. pokojowej. Po 24 h reakcję zakończono przez dodanie nasyconego wodnego roztworu  $NaHCO_3$  (3 mL) i taką samą ilość  $CH_2Cl_2$ . Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie  $CH_2Cl_2$  (3 $\times$ 3mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym  $Na_2SO_4$  przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **25**, 9 mg, wydajność 90 %.  $R_f(1) = 0,65$ .

**3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)urydyna (25):**

Dane spektralne identyczne jak z Rozdziału 7.1.

**11. 2'-O-Fenoksyacetylo-3',5'-O-(1,1,2,2-tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)urydyna (30)**

W kolbie umieszczono związek **25** (0,21 mmola, 0,100 g) w suchym toluenie (1,5 mL) i dodano pirydynę (0,53 mmola, 0,047 mL). Następnie kroplami dodano chlorek fenoksyacetylu (0,25 mmoli, 0,035 mL). Całość mieszano w temp. pokojowej przez 3 h. Reakcję zakończono przez dodanie wody destylowanej (6 mL) i taką samą ilość  $CH_2Cl_2$ . Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie  $CH_2Cl_2$  (3 $\times$ 6 mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym  $Na_2SO_4$  przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **30**, 100 mg, 78 %.  $R_f(1) = 0,73$ .

**2'-O-Fenoksyacetylo-3',5'-O-(1,1,2,2-tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)urydyna****(30):**

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 9,67 (s, 1H, N-H), 7,29 (m, 2H, H-Ph), 7,24 (d, J=8 Hz, 1H, H-6), 6,99 (m, 1H, H-Ph), 6,93 (m, 2H, H-Ph), 5,74 (d, J=8 Hz, 1H, H-5), 5,64 (d, J=1,8 Hz, 1H, H-1'), 5,61 (dd, J=1,8 Hz, J=6,2 Hz, 1H, 2'), 4,76 (q, J=16,2 Hz, J=34,2 Hz, 2H, H-CH<sub>2</sub>), 4,49 (q, J=6,2 Hz, J=8,4 Hz, 1H, H-3'), 4,15 (q, J=3,6 Hz, J=12 Hz, 1H, H-5'), 4,00 (m, 1H, H-4'), 3,89 (q, J=7,4 Hz, J=12 Hz, 1H, H-5''), 1,16-1,04 (m, 28H, H-iPr);

**<sup>13</sup>C-NMR** (125,8 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 167,38 (C(O)), 163,35 (C-O), 157,78 (C-4), 149,66 (C-2), 140,49 (C-6), 129,70, 121,80, 114,84 (C-Ph), 102,67 (C-5), 90,33 (C-1'), 82,88 (C-4'), 76,75 (C-2'), 74,43 (C-3'), 65,16 (CH<sub>2</sub>), 64,35 (C-5',5''), 18,34-14,75 (C-iPr).

**12. 5'-O-Fenoksyacetylo-2',3'-O-(1,1,2,2-tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)urydyna (31)**

W kolbie umieszczono związek **21** (0,21 mmola, 0,100 g) w suchym toluenie (1,5 mL) i dodano pirydynę (0,53 mmola, 0,047 mL). Następnie kroplami dodano chlorek fenoksyacetylu (0,25 mmoli, 0,035 mL). Całość mieszano w temp. pokojowej przez 1,5 h. Reakcję zakończono przez dodanie wody destylowanej (6 mL) i taką samą ilość CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×6 mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **31**, 107 mg, 84 %. Rf(1) = 0,68.

**5'-O-Fenoksyacetylo-2',3'-O-(1,1,2,2-tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)urydyna****(31):**

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 9,64 (s, 1H, N-H), 7,52 (d, J=10 Hz, 1H, H-6), 7,29 (m, 2H, H-Ph), 7,00 (t, J=9,2 Hz, 1H, H-Ph), 6,87 (d, J=10 Hz, 2H, H-Ph), 5,86 (d, J=3,9 Hz, 1H, H-1'), 5,67 (d, J=10 Hz, 1H, H-5), 4,72 (q, J=20,1 Hz, J=25,9 Hz, 2H, H-CH<sub>2</sub>), 4,47 (m, 2H, H-5',5''), 4,31 (t, J=4,8 Hz, 1H, H-2'), 4,26 (m, 1H, H-4'), 4,14 (q, J=5,8 Hz, J=8,1 Hz, 1H, H-3'), 1,30-1,03 (m, 28H, H-iPr);

**<sup>13</sup>C-NMR** (125,8 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 168,67 (C(O)), 163,56 (C-O), 157,50 (C-4), 150,1 (C-2), 139,8 (C-6), 129,7, 122,06, 114,45 (C-Ph), 102,32 (C-5), 91,15 (C-1'), 81,28 (C-4'), 75,48 (C-2'), 71,68 (C-3'), 65,55 (CH<sub>2</sub>), 63,81 (C-5',5''), 17,69-13,96 (C-iPr).

**13. N-metoksykarbonylometylo-3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyna (32)**

W kolbie umieszczono związek **25** (0,21 mmola, 0,100 g) w DMF (1,5 mL). Całość wychłodzono do temp. 0 °C. Następnie dodano NaH (0,23 mmole, 0,006 g) i mieszano przez 1 h w 0 °C. Po tym czasie dodano chlorek metoksykarbonylometylowy (0,63 mmole, 0,087 mL). Mieszaninę reakcyjną ogrzano do temp. pokojowej i mieszano przez 2 h. Reakcję zakończono przez dodanie 5 % kwasu octowego (1 mL) i MeOH (3 mL). Nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **32**, 89 mg, wydajność 77 %. Rf(1) = 0,77.

**N-metoksykarbonylometylo-3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyna (32):**

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 7,26 (d, J=8 Hz, 1H, H-6), 5,79 (d, J=8 Hz, 1H, H-5), 5,53 (d, J=1 Hz, 1H, H-1'), 4,65 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4,46 (q, J=6,3 Hz, J=7,5 Hz, 1H, H-3'), 4,33 (d, J=6 Hz, 1H, H-2'), 4,17 (q, J=3,7 Hz, J=11,4 Hz, 1H, H-5'), 4,06 (m, 1H, H-4'), 3,83 (q, J=8,7 Hz, J=11,4 Hz, 1H, H-5''), 3,74 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,31-1,03 (m, 28H, H-iPr);

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 167,99 (C(O)), 161,92 (C-4), 150,09 (C-2), 139,84 (C-6), 101,57 (C-5), 94,79 (C-1'), 83,19 (C-4'), 75,79 (C-2'), 75, 23 (C-3'), 64,94 (C-5',5''), 52,42 (CH<sub>3</sub>), 41,58 (CH<sub>2</sub>), 18,37-14,68 (C-iPr).

**14. N-metoksykarbonylometylo-2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyna (33)**

W kolbie umieszczono związek **21** (0,21 mmola, 0,100 g) w DMF 1,5 mL). Całość wychłodzono do temp. 0 °C. Następnie dodano NaH (0,23 mmole, 0,006 g) i mieszano przez 1 h w 0 °C. Po tym czasie dodano chlorek metoksykarbonylometylowy (0,63 mmole, 0,087 mL). Mieszaninę reakcyjną ogrzano do temp. pokojowej i mieszano przez 2 h. Reakcję zakończono przez dodanie 5 % kwasu octowego (1 mL) i MeOH (3 mL). Nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **33**, 95 mg, wydajność 82 %. Rf(1) = 0,61.

**N-metoksykarbonylometylo-2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)urydyna (33):**

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 7,71 (dd, J=2,6 Hz, J=8,1 Hz, 1H, H-6), 5,79 (d, J=8 Hz, 1H, H-5), 5,75 (d, J=4 Hz, 1H, H-1'), 4,68 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4,45 (t, J=4,2 Hz, 1H, H-2'),

4,34 (t,  $J=5$  Hz, 1H, H-3'), 4,14 (m, 1H, H-4'), 3,99 (m, 1H, H-5'), 3,81 (m, 1H, H-5''), 3,73 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,32-1,02 (m, 28H, H-iPr);

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 168,07 (C(O)), 162,14 (C-4), 150,58 (C-2), 139,73 (C-6), 101,42 (C-5), 93,22 (C-1'), 85,18 (C-4'), 75,56 (C-2'), 71,49 (C-3'), 61,48 (C-5',5''), 52,39 (CH<sub>3</sub>), 41,67 (CH<sub>2</sub>), 17,71-14,02 (C-iPr).

### 15. N-metylo-3',5'-O-(tetraizopropylo-1,2-diylo)urydyna (35)

W kolbie umieszczono związek **25** (0,21 mmola, 0,100 g) w DMF (1,5 mL). Całość wychłodzono do temp. 0 °C. Do tego dodano NaH (0,23 mmole, 0,006 g), a następnie jodek metylu (0,63 mmole, 0,040 mL). Całość mieszano w temp. 0 °C przez 1 h. Reakcję zakończono przez dodanie nasyconego wodnego roztworu NH<sub>4</sub>Cl (10 mL) i taką samą ilość CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×10mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **35**, 91 mg, wydajność 88 %. R<sub>f</sub>(1) = 0,68, R<sub>f</sub>(5) = 0,26.

#### N-metylo-3',5'-O-(tetraizopropylo-1,2-diylo)urydyna (35):

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 7,22 (d,  $J=8,1$  Hz, 1H, H-6), 5,75 (d,  $J=8,1$  Hz, 1H, H-5), 5,50 (d,  $J=1,4$  Hz, 1H, H-1'), 4,49 (q,  $J=6,3$  Hz,  $J=7,7$  Hz, 1H, H-3'), 4,33 (d,  $J=6,2$  Hz, 1H, H-2'), 4,16 (dd,  $J=3,7$  Hz,  $J=11,4$  Hz, 1H, H-5'), 4,04 (m, 1H, H-4'), 3,84 (dd,  $J=8,7$  Hz,  $J=11,4$  Hz, 1H, H-5''), 3,29 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,27-1,06 (m, 28H, H-iPr);

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 162,87 (C-4), 150,49 (C-2), 139,40 (C-6), 101,59 (C-5), 95,04 (C-1'), 83,14 (C-4'), 75,71 (C-3'), 75,11 (C-2'), 64,92 (C-5',5''), 27,54 (CH<sub>3</sub>), 18,35-14,28 (C-iPr).

### 16. N-metylo-2',3'-O-(tetraizopropylo-1,2-diylo)urydyna (36)

W kolbie umieszczono związek **21** (0,21 mmola, 0,100 g) w DMF (1,5 mL). Całość wychłodzono do temp. 0 °C. Następnie dodano NaH (0,23 mmole, 0,006 g) i mieszano przez 50 minut w 0 °C. Po tym czasie dodano jodek metylu (0,63 mmole, 0,040 mL). Całość mieszano w temp. 0 °C przez 0,5 h. Reakcję zakończono przez dodanie nasyconego wodnego roztworu NH<sub>4</sub>Cl (10 mL) i taką samą ilość CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×10mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 0,5 h.

Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **36**, 85 mg, wydajność 82 %.  $R_f(1) = 0,64$ .

**N-metylo-2',3'-O-(tetraizopropyl-1,2-diylo)urydyna (36):**

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 7,61 (d,  $J=8,1$  Hz, 1H, H-6), 5,76 (d,  $J=8,1$  Hz, 1H, H-5), 5,64 (d,  $J=4,5$  Hz, 1H, H-1'), 4,63 (t,  $J=4,6$  Hz, 1H, H-2'), 4,45 (t,  $J=4,9$  Hz, 1H, H-3'), 4,15 (m, 1H, H-4'), 3,99 (m, 1H, H-5'), 3,81 (m, 1H, H-5''), 3,08 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,32-1,02 (m, 28H, H-iPr);

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 163,01 (C-4), 150,92 (C-2), 139,69 (C-6), 101,53 (C-5), 94,13 (C-1'), 85,35 (C-4'), 75,50 (C-2'), 72,05 (C-3'), 61,51 (C-5',5''), 27,62 ( $\text{CH}_3$ ), 17,45-12,60 (C-iPr).

**17. N-metylo-2'-O-metylo-3',5'-O-(tetraizopropyl-1,2-diylo)urydyna (38)**

W kolbie umieszczono związek **35** (0,15 mmola, 0,072 g) w DMF (1,5 mL). Całość wychłodzono do temp.  $0^\circ\text{C}$ . Do tego dodano NaH (0,3 mmola, 0,007 g), a następnie jodek metylu (0,45 mmola, 0,030 mL). Całość mieszano nad mieszadłem magnetycznym w temp.  $0^\circ\text{C}$  przez 1 h. Reakcję zakończono przez dodanie nasyconego wodnego roztworu  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (10 mL) i taką samą ilość  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 10\text{mL}$ ). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **38**, 59 mg, wydajność 80 %.  $R_f(1) = 0,72$ ,  $R_f(5) = 0,38$ .

**N-metylo-2'-O-metylo-3',5'-O-(tetraizopropyl-1,2-diylo)urydyna (38):**

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  (ppm): 7,62 (d,  $J=8$  Hz, 1H, H-6), 5,75 (d,  $J=8$  Hz, 1H, H-5), 5,61 (s, 1H, H-1'), 4,38 (q,  $J=5,6$  Hz,  $J=8$  Hz, 1H, H-3'), 4,04 (dd,  $J=2,2$  Hz,  $J=11,2$  Hz, 1H, H-5'), 4,00 (d,  $J=5,5$  Hz, 1H, H-2'), 3,91 (m, 1H, H-4'), 3,86 (m, 1H, H-5''), 3,49 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,13 (s, 3H,  $\text{N-CH}_3$ ), 1,35-0,99 (m, 28H, H-iPr);

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125,8 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  (ppm): 162,14 (C-4), 150,29 (C-2), 139,39 (C-6), 100,67 (C-5), 90,65 (C-1'), 83,13 (C-2'), 81,80 (C-4'), 75,85 (C-3'), 64,21 (C-5',5''), 58,87 ( $\text{OCH}_3$ ), 27,11 ( $\text{N-CH}_3$ ), 18,21-14,33 (C-iPr);

**$^{29}\text{Si-NMR}$**  (99,4 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  (ppm): 17,82, 15,95 (sililowa grupa ochronna).

**18. 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)tymidyna (40)****18.1. 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)tymidyna (40) - warunki standardowe**

W kolbie umieszczono tymidynę (0,41 mmoli, 0,100 g) i pirydynę (0,5 mL). Roztwór chłodzono w łaźni lodowej w 0 °C. Następnie dodano roztwór związku **11** (0,53 mmole, 0,158 g, 0,162 mL) w pirydynie (0,5 mL). Całość mieszano w temp. pokojowej. Reakcję zakończono po 1 h przez dodanie nasyconego wodnego roztworu NaHCO<sub>3</sub> (10 mL) i taką samą ilość CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×10mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **40**, 141 mg, wydajność 73 %. R<sub>f</sub>(1) = 0,68.

**3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)tymidyna (40):**

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 8,71 (s, 1H, N-H), 7,07 (d, J=1,2 Hz, 1H, H-6), 6,09 (q, J=3,6 Hz, J=7,6 Hz, 1H, H-1'), 4,46 (q, J=8 Hz, J=15,2 Hz, 1H, H-3'), 4,19 (dd, J=3,2 Hz, J=10,8 Hz, 1H, H-5'), 3,88 (m, 1H, H-4'), 3,83 (dd, J=3,2 Hz, J=12 Hz, 1H, H-5''), 2,53 (m, 1H, H-2'), 2,42 (m, 1H, H-2''), 1,92 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,32-1,02 (H-iPr);

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 163,55 (C-4), 149,95 (C-2), 135,46 (C-6), 111,00 (C-5), 85,25 (C-4'), 84,27 (C-1'), 75,61 (C-3'), 65,01 (C-5',5''), 41,01 (C-2',2''), 18,48-14,64 (C-iPr), 12,62 (CH<sub>3</sub>);

<sup>29</sup>Si-NMR (79,5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 17,52, 15,88 (sililowa grupa ochronna).

**18.2. 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)tymidyna (40) - procedura z imidazolem i Et<sub>3</sub>N**

Przygotowano mieszaninę reakcyjną zawierającą imidazol (2,1 mmola, 0,143 g), THF (1 mL), związek **11** (0,53 mmole, 0,158 g, 0,162 mL) i (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>N (3,7 mmoli, 0,375 g, 0,516 mL). Całość mieszano przez 2 h. Kolbę z mieszaniną reakcyjną chłodzono w temp. 0 °C, podczas dodawania roztworu tymidyny (0,41 mmoli, 0,100 g) w pirydynie (1mL). Po dodaniu całości mieszaninę reakcyjną mieszano w temp. pokojowej. Po 1 h reakcję zakończono przez dodanie nasyconego wodnego roztworu NaHCO<sub>3</sub> (10 mL) i taką samą ilość CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×10mL). Warstwy organiczne

zebrano i suszono bezwodnym  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **40**, 135 mg, wydajność 70 %.  $R_f(1) = 0,68$ .

**3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)tymidyna (40):**

Dane spektralne identyczne jak z Rozdziału 18.1.

**19. 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)cytydyna (43)**

W kolbie umieszczono imidazol (1,59 mmola, 0,108 g), THF (1 mL), związek **11** (0,53 mmole, 0,158 g, 0,162 mL) i  $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N}$  (3,2 mmoli, 0,324 g, 0,446 mL). Całość mieszano przez 2 h. Następnie dodano pirydynę (1 mL) i cytydynę (0,41 mmoli, 0,100 g). Całość mieszano w temp. pokojowej. Po 24 h reakcję zakończono przez dodanie nasyconego wodnego roztworu  $\text{NaHCO}_3$  (10 mL) i taką samą ilość  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 10$  mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **43**, 145 mg, wydajność 75 %.  $R_f(1) = 0,33$ .

**3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)cytydyna (43):**

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  (ppm): 7,53 (d,  $J=7,4$  Hz, 1H, H-6), 7,21 (d,  $J=39,6$  Hz, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 5,70 (d,  $J=7,4$  Hz, 1H, H-5), 5,54 (d,  $J=1,4$  Hz, 1H, H-1'), 5,04 (d,  $J=4,6$  Hz, 2'-OH), 4,27 (q,  $J=5,7$  Hz,  $J=8,1$  Hz, 1H, H-3'), 4,08 (dd,  $J=1,2$  Hz,  $J=5,6$  Hz, 1H, H-2'), 4,03 (q,  $J=3$  Hz,  $J=11,4$  Hz, 1H, H-5'), 3,92 (m, 1H, H-4'), 3,86 (q,  $J=7,9$  Hz,  $J=11,4$  Hz, 1H, H-5''), 1,24-1,02 (m, 28H, H-iPr);

$^{13}\text{C-NMR}$  (125,8 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  (ppm): 165,71 (C-4), 154,77 (C-2), 141,91 (C-6), 93,90 (C-5), 92,37 (C-1'), 81,67 (C-4'), 75,45 (C-3'), 74,76 (C-2'), 64,55 (C-5',5''), 18,17-14,36 (C-iPr).

**20. 2',3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)cytydyna (44)**

W kolbie umieszczono cytydynę (0,41 mmola, 0,100 g) i pirydynę (0,5 mL). Następnie dodano roztwór związku **11** (0,53 mmoli, 0,158 g, 0,162 mL) rozpuszczonego w pirydynie (0,5 mL). Całość mieszano w temp. pokojowej. Reakcję zakończono po 24 h

przez dodanie nasyconego wodnego roztworu  $\text{NaHCO}_3$  (10 mL) i taką samą ilość  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 10 \text{ mL}$ ). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **44**, 154 mg, wydajność 80 %.  $R_f(1) = 0,29$ .

**3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)cytydyna (44):**

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  (ppm): 7,89 (d,  $J=7,5$  Hz, 1H, H-6), 7,16 (d,  $J=32,1$  Hz, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 5,80 (d,  $J=3,8$  Hz, 1H, H-1'), 5,70 (d,  $J=7,5$  Hz, 1H, H-5), 5,15 (t,  $J=5,3$  Hz, 5'-OH), 4,29 (t,  $J=4,0$  Hz, 1H, H-2'), 4,25 (q,  $J=4,4$  Hz,  $J=5,8$  Hz, 1H, H-3'), 3,91 (m, 1H, H-4'), 3,72 (m, 1H, H-5'), 3,59 (m, 1H, H-5''), 1,31-1,03 (m, 28H, H-iPr);

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125,8 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  (ppm): 165,56 (C-4), 155,08 (C-2), 140,88 (C-6), 93,78 (C-5), 89,41 (C-1'), 84,12 (C-4'), 75,52 (C-2'), 70,95 (C-3'), 59,80 (C-5',5''), 17,58-13,48 (C-iPr).

**21. N-acetylo-5'-O-acetylo-2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)cytydyna**

Reakcja została wykonana wg procedury z Rozdziału 3.5. W wyniku reakcji otrzymano: 25,6 mg, wydajność 95%.  $R_f(1) = 0,65$ .

**N-acetylo-5'-O-acetylo-2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)cytydyna:**

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 9,54 (s, 1H, NH), 8,11 (d,  $J=8$  Hz, 1H, H-6), 7,42 (d,  $J=7$  Hz, H-5), 5,84 (s, 1H, H-1'), 4,47 (m, 1H, H-5'), 4,39 (m, 2H, H-2', H-5''), 4,34 (m, 1H, H-4'), 4,06 (q,  $J=3,5$  Hz,  $J=8,5$  Hz, 1H, H-3'), 2,25 (s, 3H, 2'-C(O)CH<sub>3</sub>), 2,14 (s, 3H, NH-C(O)CH<sub>3</sub>), 1,15-1,04 (m, 28H, H-iPr);

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125,8 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 170,77 (C(O)), 162,74 (C-4), 154,79 (C-2), 143,97 (C-6), 96,18 (C-5), 93,20 (C-1'), 81,07 (C-4'), 75,67 (C-2'), 71,45 (C-3'), 62,78 (C-5',5''), 24,94 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20,94 (C(O)CH<sub>3</sub>), 17,93-14,15 (C-iPr).

**22. 2,2'-Anhydro-1-( $\beta$ -D-arabinofuranozylo)uracyl (46)**

W kolbie umieszczono urydynę (5 mmoli, 1,22 g), węglan difenylowy (5,5 mmola, 1,178 g) i  $\text{NaHCO}_3$  (0,25 mmola, 0,021 g), a następnie dodano DMF (12,5 mL). Całość mieszano i ogrzewano w temp. 94 °C, pod chłodnicą zwrotną. Po 4 h reakcję zakończono i ostudzono do temp. pokojowej, a następnie dodano eteru dietylowego (25 mL). Mieszaninę

reakcyjną mieszano przez 15 minut, w wyniku czego powstał mleczny roztwór z brązowym oleistym osadem. Mleczny roztwór zdekantowano, a pozostałość w kolbie przemyto eterem dietylowym (3×10 mL) i poddano dwukrotnej rekrytalizacji z metanolem. W wyniku reakcji otrzymano: **46**, 888 mg, wydajność 79 %.  $R_f(6) = 0,12$ .

**2,2'-Anhydro-1-( $\beta$ -D-arabinofuranozylo)uracyl (**46**):**

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 7,82 (d,  $J=7,4$  Hz, 1H, H-6), 6,29 (d,  $J=5,7$  Hz, 1H, H-1'), 5,88 (s, 5'-OH), 5,83 (d,  $J=7,5$  Hz, 1H, H-5), 5,18 (d,  $J=5,7$  Hz, H-2'), 4,96 (s, 3'-OH), 4,36 (s, 1H, H-3'), 4,07 (m, 1H, H-4'), 3,28 (dd,  $J=4,9$  Hz,  $J=11,6$  Hz, 1H, H-5'), 3,19 (dd,  $J=5,8$  Hz,  $J=11,6$  Hz, 1H, H-5'');

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 171,66 (C-4), 160,22 (C-2), 137,26 (C-6), 109,02 (C-5), 90,43 (C-1'), 89,53 (C-4'), 89,12 (C-2'), 75,06 (C-3'), 61,13 (C-5', 5'').

**23. 1-( $\beta$ -D-arabinofuranozylo)uracyl (**45**)**

W kolbie umieszczono związek **46** (2,5 mmola, 0,565 g) i 2 M roztwór wodny HCl (4 mL). Mieszano i ogrzewano pod chłodnicą zwrotną w temp. 80 °C przez 2 h. Następnie mieszaninę reakcyjną ochłodzono do temp. pokojowej i zneutralizowano do pH=7 1 M roztworem wodnym NaOH. Roztwór odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **45**, 450 mg, wydajność 74 %.  $R_f(3) = 0,22$ .

**1-( $\beta$ -D-arabinofuranozylo)uracyl (**45**):**

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 10,93 (s, H-NH), 7,63 (d,  $J=8,1$  Hz, 1H, H-6), 5,97 (d,  $J=4,4$  Hz, 1H, H-1'), 5,58 (s, 5'-OH), 5,57 (d,  $J=8,1$  Hz, 1H, H-5), 5,46 (s, 2'-OH), 5,04 (s, 3'-OH), 3,98 (t,  $J=3,2$  Hz, 1H, H-2'), 3,87 (t,  $J=3,6$  Hz, 1H, H-3'), 3,72 (m, 1H, H-4'), 3,59 (m, 2H, H-5', 5'');

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 163,77 (C-4), 150,77 (C-2), 142,75 (C-6), 100,32 (C-5), 85,46 (C-1'), 84,96 (C-4'), 75,77 (C-3'), 75,40 (C-2'), 60,98 (C-5', 5'').

**24. 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)araurydyna (**47**)**

**24.1. 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)araurydyna (**47**) - warunki standardowe**

W kolbie umieszczono araurydynę (0,41 mmoli, 0,100 g) i pirydynę (0,5 mL). Roztwór chłodzono w temp. 0 °C. Następnie dodano roztwór związku **11** (0,53 mmole,

0,158 g, 0,162 mL) w pirydynie (0,5 mL). Całość mieszano w temp. pokojowej. Reakcję zakończono po 1 h przez dodanie nasyconego wodnego roztworu  $\text{NaHCO}_3$  (10 mL) i taką samą ilość  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 10 \text{ mL}$ ). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **47**, 135 mg, wydajność 70 %.  $\text{Rf}(1) = 0,61$ ,  $\text{Rf}(5) = 0,30$ .

**3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)araurydyna (47):**

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  (ppm): 10,25 (s, H-NH), 7,42 (d,  $J=8,1$  Hz, 1H, H-6), 6,02 (d,  $J=6,7$  Hz, 1H, H-1'), 5,77 (d,  $J=5,6$  Hz, 2'-OH), 5,57 (d,  $J=8,1$  Hz, 1H, H-5), 4,30 (q,  $J=6$  Hz,  $J=12,1$  Hz, 1H, H-2'), 4,11 (t,  $J=7,5$  Hz, 1H, H-3'), 4,01 (dd,  $J=3,5$  Hz,  $J=11,3$  Hz, 1H, H-5'), 3,86 (dd,  $J=9$  Hz,  $J=11,3$  Hz, 1H, H-5''), 3,69 (m, 1H, H-4'), 1,25-1,07 (H-iPr);  
 $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  (ppm): 163,10 (C-4), 150,48 (C-2), 143,19 (C-6), 100,48 (C-5), 83,01 (C-1'), 82,86 (C-3'), 79,71 (C-4'), 76,74 (C-2'), 64,93 (C-5',5''), 18,24-14,07 (C iPr).

**24.2. 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)araurydyna (47) - procedura z imidazolem i  $\text{Et}_3\text{N}$**

Przygotowano mieszaninę reakcyjną zawierającą imidazol (1,59 mmola, 0,108 g), THF (1 mL), związek **11** (0,53 mmole, 0,158 g, 0,162 mL) i  $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N}$  (3,2 mmole, 0,324 g, 0,446 mL). Całość mieszano przez 2 h. Kolbę z mieszaniną reakcyjną chłodzono w temp.  $0^\circ\text{C}$ , podczas dodawania roztworu araurydyny (0,41 mmoli, 0,100 g) w pirydynie (1 mL). Po dodaniu całości mieszaninę mieszano w temp. pokojowej. Po 1 h reakcję zakończono przez dodanie nasyconego wodnego roztworu  $\text{NaHCO}_3$  (10 mL) i taką samą ilość  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 10 \text{ mL}$ ). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **47**, 164 mg, wydajność 85 %.  $\text{Rf}(1) = 0,61$ ,  $\text{Rf}(5) = 0,30$ .

**3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)araurydyna (47):**

Dane spektralne identyczne jak z Rozdziału 24.1.

**25. 2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)araurydyna (48)**

W kolbie umieszczono araurydynę (0,41 mmoli, 0,100 g) i pirydynę (0,5 mL). Roztwór chłodzono w temp. 0 °C. Następnie dodano roztwór związku **11** (0,53 mmole, 0,158 g, 0,162 mL) w pirydynie (0,5 mL). Całość mieszanow temp. pokojowej. Reakcję zakończono po 24 h przez dodanie nasyconego wodnego roztworu NaHCO<sub>3</sub> (10 mL) i taką samą ilość CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×10mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **48**, 169 mg, wydajność 88 %. R<sub>f</sub>(1) = 0,5, R<sub>f</sub>(5) = 0,26.

**2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)araurydyna (48):**

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ (ppm): 10,46 (s, H-NH), 7,99 (d, J=8,1 Hz, 1H, H-6), 6,15 (d, J=6,9 Hz, 1H, H-1'), 5,60 (d, J=8,1 Hz, 1H, H-5), 5,31 (t, J=4,4 Hz, 5'-OH), 4,53 (q, J=7,1 Hz, J=8,7 Hz, 1H, H-2'), 4,17 (t, J=8,9 Hz, 1H, H-3'), 3,78 (m, 1H, H-5'), 3,65 (m, 1H, H-4'), 3,61 (m, 1H, H-5'), 1,27-0,92 (H-iPr);

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ (ppm): 163,07 (C-4), 150,48 (C-2), 140,68 (C-6), 100,61 (C-5), 82,85 (C-1'), 79,86 (C-4'), 78,23 (C-2'), 73,57 (C-3'), 58,13 (C-5',5''), 17,99-15,32 (C-iPr).

**26. 3'-Amino-3'-N-5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)-2',3'-dideoksyadenozyna (50)****26.1. 3'-Amino-3'-N-5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)-2',3'-dideoksyadenozyna (50) - warunki standardowe**

W kolbie umieszczono 3'-amino-2',3'-dideoksyadenozynę (0,40 mmola, 0,100 g) i pirydynę (0,5 mL). Następnie dodano rozpuszczony w pirydynie (0,5 mL) związek **11** (0,52 mmola, 0,156 g, 0,159 mL). Całość mieszano w temp. pokojowej. Po 1 h reakcję zakończono przez dodanie nasyconego wodnego roztworu NaHCO<sub>3</sub> (8 mL) i taką samą ilość CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×8mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej.

Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **50**, 163 mg, wydajność 85 %.  $R_f(1) = 0,27$ .

**3'-Amino-3'-N-5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)-2',3'-dideoksyadenozyna (50):**

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 8,23 (s, 1H, H-8), 8,12 (s, 1H, H-2), 7,23 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 6,30 (q, J=4,5 Hz, J=6,5 Hz, 1H, H-1'), 3,90 (dd, J=3 Hz, J=11 Hz, 1H, H-5'), 3,79 (dd, J=4 Hz, J=11 Hz, 1H, H-5''), 3,70 (m, 2H, H-3', H-4'), 2,65 (m, 1H, H-2'), 2,24 (m, 1H, H-2''), 1,09-0,92 (m, 28H, H-iPr);

**<sup>13</sup>C-NMR** (125,8 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 155,95 (C-6), 152,40 (C-2), 148,85 (C-4), 138,95 (C-8), 119,07 (C-5), 87,49 (C-4'), 82,97 (C-1'), 64,43 (C-5', 5''), 51,67 (C-3'), 39,65 (C-2', 2''), 18,00-14,50 (C-iPr);

**<sup>29</sup>Si-NMR** (79,5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 15,72, 10,92 (sililowa grupa ochronna).

**26.2. 3'-Amino-3'-N-5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)-2',3'-dideoksyadenozyna (50) - procedura z imidazolem i Et<sub>3</sub>N**

Przygotowano mieszaninę reakcyjną zawierającą imidazol (2,1 mmola, 0,143 g), THF (1 mL), związek **11** (0,52 mmole, 0,156 g, 0,159 mL) i (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>N (3,2 mmole, 0,324 g, 0,446 mL). Całość mieszano przez 2 h. Następnie dodano roztwór 3'-amino-2',3'-dideoksyadenozyny (0,40 mmoli, 0,100 g) w pirydynie (1mL). Całość mieszano w temp. pokojowej. Po 24 h reakcję zakończono przez dodanie nasyconego wodnego roztworu NaHCO<sub>3</sub> (8 mL) i taką samą ilość CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×8mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **50**, 140 mg, wydajność 73 %.  $R_f(1) = 0,27$ .

**3'-Amino-3'-N-5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)-2',3'-dideoksyadenozyna (50):**

Dane spektralne identyczne jak z Rozdziału 26.1.

**27. 2',3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)adenozyna (52)**

W kolbie umieszczono adenozyne (0,37 mmola, 0,100 g) i pirydynę (0,5 mL). Następnie dodano roztwór związku **11** (0,48 mmoli, 0,144 g, 0,147 mL) rozpuszczonego w pirydynie (0,5 mL). Całość mieszano w temp. pokojowej. Reakcję zakończono po 24 h przez dodanie nasyconego wodnego roztworu NaHCO<sub>3</sub> (10 mL) i taką samą ilość CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×10mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **52**, 120 mg, wydajność 65 %. R<sub>f</sub>(1) = 0,48.

**2',3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)adenozyna (52):**

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ (ppm): 8,38 (s, 1H, H-8), 8,12 (s, 1H, H-2), 7,33 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5,97 (d, J=6 Hz, 1H, H-1'), 5,38 (t, J=6,6 Hz, J=5,2 Hz, 5'-OH), 4,95 (t, J=4,6 Hz, J=5,8 Hz, 1H, H-2'), 4,54 (t, J=3,6 Hz, 1H, H-3'), 4,05 (m, 1H, H-4'), 3,70 (m, 1H, H-5'), 3,60 (m, 1H, H-5''), 1,37-0,97 (m, 28H, H-iPr);

<sup>13</sup>C-NMR (125,8 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ (ppm): 156,12 (C-6), 152,56 (C-2), 149,15 (C-4), 139,46 (C-8), 119,18 (C-5), 87,80 (C-1'), 86,13 (C-4'), 75,29 (C-2'), 72,06 (C-3'), 61,06 (C-5', 5''), 17,67-14,19 (C-iPr).

**28. 5'-O-Acetylo-2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)adenozyna**

Reakcja została wykonana wg procedury z Rozdziału 3.5. W wyniku reakcji otrzymano: 19 mg, wydajność 70 %. R<sub>f</sub>(1) = 0,51.

**5'-O-Acetylo-2',3'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)adenozyna:**

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 8,32 (s, 1H, H-8), 7,98 (s, 1H, H-2), 6,02 (d, J=3 Hz, 1H, H-1'), 4,89 (q, J=3,2 Hz, J=4,6 Hz, H-2'), 4,60 (q, J=4,6 Hz, J=6,5 Hz, 1H, H-3'), 4,49 (m, 1H, H-5'), 4,35 (m, 1H, H-4'), 4,31 (m, 1H, H-5''), 2,09 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1,25-1,02 (m, 28H, H-iPr);

<sup>13</sup>C-NMR (125,8 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 170,66 (C(O)), 155,35 (C-6), 153,01 (C-2), 149,60 (C-4), 139,24 (C-8), 120,31 (C-5), 90,58 (C-1'), 81,87 (C-4'), 75,51 (C-2'), 72,38 (C-3'), 63,77 (C-5', 5''), 29,71 (C(O)CH<sub>3</sub>), 17,78-14,13 (C-iPr).

**29. 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)adenozyna (53)**

W kolbie umieszczono imidazol (1,44 mmola, 0,098 g), THF (1 mL), związek **11** (0,48 mmoli, 0,144 g, 0,147 mL) i  $(C_2H_5)_3N$  (2,9 mmoli, 0,293 g, 0,404 mL). Całość mieszano przez 2 h. Następnie dodano pirydynę (1 mL) i adenozyne (0,37 mmoli, 0,100 g). Całość mieszanow temp. pokojowej. Po 24 h reakcję zakończono przez dodanie nasyconego wodnego roztworu  $NaHCO_3$  (10 mL) i taką samą ilość  $CH_2Cl_2$ . Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie  $CH_2Cl_2$  ( $3 \times 10$  mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym  $Na_2SO_4$  przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **53**, 138 mg, wydajność 75 %.  $R_f(1) = 0,57$ .

**3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)adenozyna (53):**

**$^1H$ -NMR** (500 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$  (ppm): 8,30 (s, 1H, H-8), 8,10 (s, 1H, H-2), 7,31 (s, 2H,  $NH_2$ ), 5,98 (d,  $J=5,3$  Hz, 1H, H-1'), 5,14 (s, 2'-OH), 5,01 (t,  $J=4,8$  Hz, 1H, H-2'), 4,62 (t,  $J=4,2$  Hz, 1H, H-3'), 4,07 (q,  $J=4,2$  Hz,  $J=8,6$  Hz, 1H, H-4'), 4,00 (dd,  $J=5,1$  Hz,  $J=11,2$  Hz, 1H, H-5'), 3,83 (dd,  $J=3,9$  Hz,  $J=11,2$  Hz, 1H, H-5''), 1,12-0,98 (m, 28H, H-iPr);

**$^{13}C$ -NMR** (125,8 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$  (ppm): 156,04 (C-6), 152,64 (C-2), 149,31 (C-4), 138,94 (C-8), 119,07 (C-5), 87,55 (C-1'), 84,89 (C-4'), 74,89 (C-2'), 71,39 (C-3'), 63,04 (C-5', 5''), 18,01-13,47 (C-iPr).

**30. 2',3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)guanozyna (55)**

W kolbie umieszczono guanozyne (0,35 mmola, 0,100 g) i pirydynę (0,5 mL). Następnie dodano roztwór związku **11** (0,46 mmoli, 0,138 g, 0,141 mL) rozpuszczonego w pirydynie (0,5 mL). Całość mieszano w temp. pokojowej. Reakcję zakończono po 24 h przez dodanie nasyconego wodnego roztworu  $NaHCO_3$  (10 mL) i taką samą ilość  $CH_2Cl_2$ . Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie  $CH_2Cl_2$  ( $3 \times 10$  mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym  $Na_2SO_4$  przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **55**, 108 mg, wydajność 60 %.  $R_f(1) = 0,27$ .

**2',3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)guanozyna (55):**

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ (ppm): 10,63 (s, NH), 7,86 (s, 1H, H-8), 6,41 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5,76 (d, J=5,5 Hz, 1H, H-1'), 5,16 (s, 5'-OH), 4,69 (t, J=4,8 Hz, J=5,2 Hz, 1H, H-2'), 4,51 (t, J=4,3 Hz, 1H, H-3'), 4,01 (q, J=4 Hz, J=8,2 Hz, 1H, H-4'), 3,90 (dd, J=4,6 Hz, J=11,4 Hz, 1H, H-5'), 3,82 (dd, J=3,9 Hz, J=11,4 Hz, 1H, H-5''), 1,23-1,01 (m, 28H, H-iPr);

**<sup>13</sup>C-NMR** (125,8 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ (ppm): 156,62 (C-6), 153,76 (C-2), 151,29 (C-4), 134,60 (C-8), 116,63 (C-5), 86,27 (C-1'), 84,75 (C-4'), 75,14 (C-2'), 71,22 (C-3'), 63,19 (C-5', 5''), 18,01-14,41 (C-iPr).

**31. 3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)guanozyna (56)**

W kolbie umieszczono imidazol (1,4 mmola, 0,095 g), THF (1 mL), związek **11** (0,46 mmoli, 0,138 g, 0,141 mL) i (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>N (2,8 mmoli, 0,283 g, 0,390 mL). Całość mieszano przez 2 h. Następnie dodano pirydynę (1 mL) i guanozynę (0,35 mmoli, 0,100 g). Całość mieszano w temp. pokojowej. Po 24 h reakcję zakończono przez dodanie nasyconego wodnego roztworu NaHCO<sub>3</sub> (10 mL) i taką samą ilość CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×10 mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **56**, 126 mg, wydajność 70 %. R<sub>f</sub>(1) = 0,39.

**3',5'-O-(Tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)guanozyna (56):**

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ (ppm): 10,64 (s, NH), 7,81 (s, 1H, H-8), 6,44 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5,68 (d, J=1,6 Hz, 1H, H-1'), 5,26 (d, J=4,4 Hz, 2'-OH), 4,41 (m, 2H, H-2', H-3'), 4,03 (dd, J=3,2 Hz, J=11,2 Hz, 1H, H-5'), 3,95 (m, 1H, H-4'), 3,79 (dd, J=8,8 Hz, J=11,2 Hz, 1H, H-5''), 1,44-1,09 (m, 28H, H-iPr);

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ (ppm): 157,21 (C-6), 153,94 (C-2), 151,18 (C-4), 135,75 (C-8), 116,87 (C-5), 88,31 (C-1'), 82,29 (C-4'), 76,38 (C-3'), 75,06 (C-2'), 65,25 (C-5', 5''), 18,57-14,78 (C-iPr).

**32. 2'-O-Acetylo-3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diylo)guanozyna**

Reakcja została wykonana wg procedury z Rozdziału 3.5. W wyniku reakcji otrzymano: 14,7 mg, wydajność 55 %. R<sub>f</sub>(1) = 0,43.

**2'-O-Acetylo-3',5'-O-(tetraizopropylodisilano-1,2-diyl)guanozyna:**

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 8,08 (s, 1H, H-8), 5,83 (m, 2H, H-1', H-2'), 4,76 (m, 1H, H-3'), 4,19 (dd, J=3,5 Hz, J=11,5 Hz, 1H, H-5'), 4,08 (m, 1H, H-4'), 3,81 (q, J=9,5 Hz, J=11,5 Hz, 1H, H-5''), 2,15 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1,25-1,05 (m, 28H, H-iPr);

**<sup>13</sup>C-NMR** (125,8 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 169,26 (C(O)), 159,02 (C-6), 153,62 (C-2), 151,13 (C-4), 136,10 (C-8), 117,94 (C-5), 87,11 (C-1'), 82,89 (C-4'), 76,12 (C-2'), 75,70 (C-3'), 65,58 (C-5', 5''), 29,70 (C(O)CH<sub>3</sub>), 18,43-14,72 (C-iPr).

**33. 5'-O-(Tetraizopropylodisilano-2-hydroksy-1-ylo)urydyna (57)**

W kolbie umieszczono związek **25** (0,13 mmola, 0,061 g) i dioksan (1 mL). Następnie dodano 1 M wodny roztwór NaOH (0,250 mL). Całość mieszano w temp. pokojowej. Reakcję przzerwano po 0,5 h przez dodanie nasyconego wodnego roztworu NaHCO<sub>3</sub> (6 mL) i taką samą ilość CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×6 mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **57**, 40 mg, wydajność 65 %. R<sub>f</sub>(1) = 0,33.

**5'-O-(Tetraizopropylodisilano-2-hydroksy-1-ylo)urydyna (57):**

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ (ppm): 11,32 (s, NH), 7,75 (d, J=8 Hz, 1H, H-6), 5,75 (s, 1H, H-1'), 5,59 (d, J=8 Hz, H-5), 5,16 (s, 2'-OH), 5,08 (s, 3'-OH), 4,64 (s, OH przy silylowej grupie ochronnej), 3,99 (m, 2H, H-2', H-3'), 3,88 (m, 3H, H-4', H-5', H-5''), 1,33-0,83 (m, 28H, H-iPr).

**34. 3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1-hydroksy-2-ylo)urydyna (58)**

W kolbie umieszczono związek **25** (0,13 mmola, 0,061 g) i dioksan (1 mL). Następnie dodano 1 M wodny roztwór HCl (0,250 mL). Całość mieszano w temp. pokojowej. Reakcję przzerwano po 1 h przez dodanie nasyconego wodnego roztworu NaHCO<sub>3</sub> (6 mL) i taką samą ilość CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×6 mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **58**, 31 mg, wydajność 50 %. R<sub>f</sub>(1) = 0,37.

**3'-O-(Tetraizopropylodisilano-1-hydroksy-2-ylo)urydyna (58):**

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ (ppm): 11,29 (s, NH), 7,91 (d, J=8,2 Hz, 1H, H-6), 5,80 (d, J=4,4 Hz, 1H, H-1'), 5,62 (d, J=8,1 Hz, H-5), 5,20 (t, J=4,8 Hz, 5'-OH), 4,70 (s, 2'-OH), 4,39 (t, J=4,3 Hz, 1H, H-2'), 4,28 (t, J=4,7 Hz, 1H, H-3'), 3,92 (m, 1H, H-4'), 3,81 (m, 2H, H-5', H-5''), 1,34-0,98 (m, 28H, H-iPr).

**35. Dichloro-di(2-metylo-2-butoksy)silan (59)**

W kolbie zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną umieszczono pentan (250 mL), (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>N (100 mmoli, 10,12 g, 13,94 mL) oraz SiCl<sub>4</sub> (40 mmoli, 6,80 g, 4,59 mL). Następnie do tak przygotowanej mieszaniny wkroplono 2-metylo-2-butanol (90 mmoli, 7,9 g, 9,59 mL). Po dodaniu całej ilości alkoholu, reakcję prowadzono w temp. pokojowej w atmosferze argonu przez 24 h. Powstały podczas reakcji chlorek trietyloamoniowy oddzielono poprzez przefiltrowanie mieszaniny poreakcyjnej na lejku ze spiekim porowatym w atmosferze argonu, a przesącz odparowano. Z mieszaniny poreakcyjnej wyizolowano poprzez destylację metodą „trap to trap” produkt: **59**, 8,74 g, wydajność 80 %.

**Dichloro-di(2-metylo-2-butoksy)silan (59):**

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) δ (ppm): 1,51 (q, J=7,5 Hz, J=15 Hz, 4H, -CH<sub>2</sub>), 1,26 (s, 12H, -CH<sub>3</sub>), 0,85 (t, J=7,5 Hz, 6H, -CH<sub>3</sub>);

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) δ (ppm): 80,51 (C-4°), 36,67 (-CH<sub>2</sub>), 28,37 (-CH<sub>3</sub>), 8,71 (-CH<sub>3</sub>);

**<sup>29</sup>Si-NMR** (79,5 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) δ (ppm): -72,77.

**36. Dichloro-di(3-pentoksy)silan (60)**

W kolbie zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną umieszczono SiCl<sub>4</sub> (40 mmoli, 6,80 g, 4,59 mL) i wkroplono 3-pentanol (85 mmoli, 7,5 g, 9,14 mL). Po dodaniu całej ilości alkoholu reakcję prowadzono w temp. pokojowej w atmosferze argonu przez 2 h. Z mieszaniny poreakcyjnej wyizolowano poprzez destylację produkt: **60**, 7,43 g, wydajność 68 %. Dodatkowo został wyizolowany produkt uboczny **65**, w ilości 0,8 g.

**Dichloro-di(3-pentoksy)silan (60):**

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) δ (ppm): 3,97 (m, 2H, -CH), 1,53 (m, 8H, -CH<sub>2</sub>), 0,86 (t, J=7,5 Hz, 12H, -CH<sub>3</sub>);

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) δ (ppm): 79,37 (-CH), 28,84 (-CH<sub>2</sub>), 9,66 (-CH<sub>3</sub>);

**<sup>29</sup>Si-NMR** (79,5 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) δ (ppm): -59,87.

**Tri(3-pentoksy)chlorosilan (65):**

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) δ (ppm): 4,04 (m, 3H, -CH), 1,68 (m, 12H, -CH<sub>2</sub>), 0,99 (tt, J=7,2 Hz, J=7,6 Hz, 18H, -CH<sub>3</sub>).

**37. Dichloro-(3-metylo-3-pentoksy-tert-butoksy)silan (61)**

W kolbie zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną umieszczono pentan (250 mL), (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>N (100 mmoli, 10,12 g, 13,94 mL) oraz SiCl<sub>4</sub> (40 mmoli, 6,80 g, 4,59 mL). Następnie do tak przygotowanej mieszaniny wkroplono 3-metylo-3-pentanol (45 mmoli, 4,6 g, 5,55 mL). Po dodaniu całej ilości alkoholu reakcję prowadzono w temp. pokojowej w atmosferze argonu przez 24 h. Po całkowitym przereagowaniu substratów, trichloro-3-metylo-3-pentoksylsilan wyizolowano z wydajnością 100 %, poprzez destylację metodą „trap to trap”. Następnie do trichloro-3-metylo-3-pentoksylsilanu dodano heksanu (250 mL) i (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>N 100 mmoli, 10,12 g, 13,94 mL). Intensywnie mieszając wkroplono tert-butanol (45 mmoli, 3,33 g, 4,21 mL) i reakcję kontynuowano przez kolejne 2 h w temp. 60 °C. Powstały podczas reakcji chlorek trietyloamoniowy oddzielono poprzez przefiltrowanie mieszaniny poreakcyjnej na lejku ze spiekim porowatym w atmosferze argonu, a przesącz odparowano. Z mieszaniny poreakcyjnej wyizolowano poprzez destylację metodą „trap to trap” produkt: **61**, 8,85 g, wydajność 81 %.

**Dichloro-(3-metylo-3-pentoksy-tert-butoksy)silan (61):**

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) δ (ppm): 1,56 (m, 4H, -CH<sub>2</sub>), 1,27 (s, 9H, -CH<sub>3</sub> podstawnik tert-butoksyłowy), 1,25 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 0,83 (t, J=7,5 Hz, 6H, -CH<sub>3</sub>);

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) δ (ppm): 83,42 (C-4° podstawnik 3-metylo-3-pentoksyłowy), 77,89 (C-4° podstawnik tert-butoksyłowy), 33,71 (-CH<sub>2</sub>), 31,00 (-CH<sub>3</sub>, podstawnik tert-butoksyłowy), 25,51 (-CH<sub>3</sub>), 8,48 (-CH<sub>3</sub>);

<sup>29</sup>Si-NMR (79,5 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) δ (ppm): -73,22.

**38. 3',5'-O-di(2-metylo-2-butoksy)sililenourydyna (62)**

W kolbie umieszczono urydynę (0,25 mmola, 0,060 g) i dodano pirydynę (0,5 mL). Następnie dodano roztwór związku **59** (0,375 mmoli, 0,102 g, 0,102 mL) rozpuszczonego w pirydynie (0,5 mL). Kolbę z roztworem urydyny chłodzono w temp. 0 °C podczas dodawania roztworu ze związkiem **59**. Po dodaniu całości mieszaninę mieszano w temp. pokojowej. Reakcję zakończono po 1 h przez dodanie nasyconego wodnego roztworu

NaHCO<sub>3</sub> (6 mL) i taką samą ilość CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×6 mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **62**, 60 mg, wydajność 55 %. R<sub>f</sub>(1)=0,67.

**3',5'-O-di(2-metylo-2-butoksy)sililenourydyna (62):**

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 10,48 (s, 1H, N-H), 7,23 (d, J=8 Hz, 1H, H-6), 5,76 (d, J=8 Hz, 1H, H-5), 5,65 (s, 1H, H-1'), 4,39 (m, 2H, H-3', H-5'), 4,24 (q, J=5,2 Hz, J=8,8 Hz, 1H, H-2'), 4,09 (m, 2H, H-4', H-5''), 1,57 (m, 4H, -CH<sub>2</sub>), 1,29 (s, 12H, -CH<sub>3</sub>), 0,93 (m, 6H, -CH<sub>3</sub>);

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 162,93 (C-4), 149,59 (C-2), 140,97 (C-6), 102,67 (C-5), 94,96 (C-1'), 76,13 (C-2'), 74,34 (C-4'), 73,12 (C-3'), 65,62 (C-5',5''), 36,56 (-CH<sub>2</sub>), 28,62 (-CH<sub>3</sub>), 8,74 (-CH<sub>3</sub>).

**39. 5'-O-tri(3-pentoksy)sililourydyna (64)**

**39.1. 5'-O-tri(3-pentoksy)sililourydyna (64) - synteza z dichloro-di(3-pentoksy)silanem (60)**

W kolbie umieszczono urydynę (0,41 mmola, 0,100 g) i dodano pirydynę (0,5 mL). Następnie dodano roztwór związku **60** (0,62 mmola, 0,169 g, 0,169 mL) rozpuszczonego w pirydynie (0,5 mL). Kolbę z roztworem urydyny chłodzono w temp. 0 °C podczas dodawania roztworu ze związkiem **60**. Po dodaniu całości mieszaninę mieszano w temp. pokojowej. Reakcję zakończono po 1 h przez dodanie nasyconego wodnego roztworu NaHCO<sub>3</sub> (10 mL) i taką samą ilość CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×10 mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **64**, 73 mg, wydajność 40 %. R<sub>f</sub>(1) = 0,45.

**5'-O-tri(3-pentoksy)sililourydyna (64):**

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 10,19 (s, 1H, N-H), 8,00 (d, J=8 Hz, 1H, H-6), 5,91 (d, J=3,6 Hz, 1H, H-1'), 5,71 (d, J=8 Hz, 1H, H-5), 4,27 (t, J=5,2 Hz, 1H, H-3'), 4,23 (q, J=3,6

Hz,  $J=5,2$  Hz, 1H, H-2'), 4,17 (m, 1H, H-4'), 4,14 (dd,  $J=2$  Hz,  $J=12$  Hz, 1H, H-5'), 4,02 (dd,  $J=2$  Hz,  $J=12$  Hz, 1H, H-5''), 3,84 (m, 3H, -CH), 1,58 (m, 12H, -CH<sub>2</sub>), 0,89 (m, 18H, -CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 163,90 (C-4), 151,32 (C-2), 140,47 (C-6), 102,14 (C-5), 90,37 (C-1'), 85,01 (C-4'), 76,00 (-CH), 75,79 (C-2'), 69,76 (C-3'), 62,11 (C-5',5''), 28,60 (-CH<sub>2</sub>), 9,42 (-CH<sub>3</sub>).

### 39.2. 5'-O-tri(3-pentoksy)sililourydyna (64) - synteza z tri(3-pentoksy)chlorosilanem (65)

W kolbie umieszczono urydynę (0,41 mmola, 0,100 g) i dodano pirydynę (0,5 mL). Następnie dodano roztwór związku **65** (0,62 mmola, 0,201 g, 0,219 mL) rozpuszczonego w pirydynie (0,5 mL). Kolbę z roztworem urydyny chłodzono w temp. 0 °C podczas dodawania roztworu ze związkiem **65**. Po dodaniu całości mieszaninę mieszano w temp. pokojowej. Reakcję zakończono po 1 h przez dodanie nasyconego wodnego roztworu NaHCO<sub>3</sub> (10 mL) i taką samą ilość CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×10 mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **64**, 119 mg, wydajność 55 %. R<sub>f</sub>(1) = 0,45.

#### 5'-O-tri(3-pentoksy)sililourydyna (64):

Dane spektralne identyczne jak z Rozdziału 39.1.

### 40. 3',5'-O-(3-metylo-3-pentoksy-tert-butoksy)sililenourydyna (66)

W kolbie umieszczono urydynę (0,25 mmola, 0,060 g) i dodano pirydynę (0,5 mL). Następnie dodano roztwór związku **61** (0,375 mmoli, 0,102 g, 0,102 mL) rozpuszczonego w pirydynie (0,5 mL). Kolbę z roztworem urydyny w temp. 0 °C podczas dodawania roztworu związku **61**. Po dodaniu całości mieszaninę mieszano w temp. pokojowej. Reakcję zakończono po 1 h przez dodanie nasyconego wodnego roztworu NaHCO<sub>3</sub> (6 mL) i taką samą ilość CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Warstwę wodną ekstrahowano trzykrotnie CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×6 mL). Warstwy organiczne zebrano i suszono bezwodnym Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 0,5 h. Następnie roztwór przesączono, nadmiar rozpuszczalników odparowano, a pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej. Jako eluent zastosowano chlorek metylenu/metanol. Wyizolowane frakcje połączono i poddano procesowi liofilizacji: **66**, 55 mg, wydajność 50 %. R<sub>f</sub>(1) = 0,65.

**3',5'-O-(3-metylo-3-pentoksy-tert-butoksy)sililenourydyna (66):**

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 8,22 (s, 1H, N-H), 7,22 (d, J=8 Hz, 1H, H-6), 5,75 (d, J=8 Hz, 1H, H-5), 5,65 (d, J=3,6 Hz, 1H, H-1'), 4,40 (m, 2H, H-3', H-5'), 4,26 (q, J=5,2 Hz, J=8,8 Hz, 1H, H-2'), 4,09 (m, 2H, H-4', H-5''), 1,59 (m, 4H, -CH<sub>2</sub>), 1,34 (s, 9H, -CH<sub>3</sub> podstawnik tert-butoksyłowy), 1,33 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 0,90 (m, 6H, -CH<sub>3</sub>);

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 162,37 (C-4), 149,33 (C-2), 141,06 (C-6), 102,69 (C-5), 94,98 (C-1'), 79,61 (C-4° podstawnik 3-metylo-3-pentoksyłowy), 78,99 (C-4° podstawnik tert-butoksyłowy), 76,13 (C-2'), 74,52 (C-4'), 73,09 (C-3'), 53,41 (C-5',5''), 33,55(-CH<sub>2</sub>), 31,28 (-CH<sub>3</sub>, podstawnik tert-butoksyłowy), 25,77 (-CH<sub>3</sub>), 8,42 (-CH<sub>3</sub>).

## VI. LITERATURA

- [1] Miescher, F., *Die histochemischen und physilogischen arbeiten*, Vogel, Lipsk, **1897**.
- [2] Dahm, R., *Friedrich Miescher and the discovery of DNA*, Dev. Biol., **2005**, 278, 274-288.
- [3] Watson, J., Crick, F., *A structure for deoxyribose nucleic acid*, Nature, Cambridge, **1953**, 171, 737.
- [4] Wilkins, M., Stokes, A., Wilson, H., *Molecular structure of deoxypentose nucleic acids*, Nature, Cambridge, **1953**, 171, 738.
- [5] Franklin, R., Gosling, R., *Molecular configuration in sodium thymonucleate*, Nature, Londyn, **1953**, 171, 740.
- [6] Van Slyke, D., Jacobs, W., *Biographical memoir of Phoebus Aaron Theodor Levene*, Biogr. Mem. Natl. Acad. Sci., **1945**, 23, 75-86.
- [7] Manchester, K.L., *Historical opinion: Erwin Chargaff and his 'rules' for the base composition of DNA: why did he fail to see the possibility of complementarity?*, Trends Biochem. Sci., **2008**, 33, 65-70.
- [8] Kączkowski, J., *Podstawy biochemii*, NT, Warszawa, **2002**.
- [9] Filipowicz, B., Więckowski, W., *Biochemia*, PWN, Warszawa-ŁÓDŹ, **1983**.
- [10] Blackburn, G.M., Gait, M.J., *Nucleic acids in chemistry and biology*, IRL PRESS, New York, **1990**.
- [11] Berg, J.M., Tymoczko, J.L., Stryer, L., *Biochemia*, PWN, Warszawa, **2005**.
- [12] Uprichard, S.L., *The therapeutic potential of RNA interference*, FEBS Lett., **2005**, 579, 5996-6007.
- [13] Beaucage, S.L., Reese, C.B., *Recent advances in the chemical synthesis of RNA*, Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry, **2009**, 38, 2.16.1-2.16.31.
- [14] Guerrier-Takada, C., Lumelsky, N., Altman, S., *Specific interactions in RNA enzyme-substrate complexes*, Science, **1989**, 246, 1578-1584.
- [15] Cech, T.R., *The chemistry of self-splicing RNA and RNA enzymes*, Science, **1987**, 236, 1532-1539.
- [16] Puglisi, J.D., Wyatt, J.R., Tinoco, Jr.I., *A pseudoknotted RNA oligonucleotide*, Nature, **1988**, 331, 283-286.
- [17] Kocieński, P.J., *In protecting groups*, Thieme, Stuttgart, **1994**.

- [18] Griffin, B.E., Jarman, M., Reese, C.B., *The synthesis of oligoribonucleotides. IV. Preparation of dinucleoside phosphates from 2',5'-protected ribonucleoside derivatives*, Tetrahedron, **1968**, 24, 639.
- [19] Griffin, B.E., Reese, C.B., *Oligoribonucleotide synthesis via 2',5'-protected ribonucleoside derivatives*, Tetrahedron Lett., **1964**, 2925.
- [20] Rao, T.S., Reese, C.B., Serafinowska, H.T., Takaku, H., Zappia, G., *Solid phase synthesis of the 3'-terminal nonadecaribonucleoside octadecaphosphate sequence of yeast alanine transfer ribonucleic acid*, Tetrahedron Lett., **1987**, 28, 4897-4900.
- [21] Reese, C.B., Saffhill, R., and Sulston, J.E., *A symmetrical alternative to the tetrahydropyranyl protecting group*, J. Am. Chem. Soc., **1967**, 89, 3366-3368.
- [22] Tanimura, H., Fuzukawa, T., Sekine, M., Hata, T., Efcavitch, J.W., Zon, G., *The practical synthesis of RNA fragments in the solid phase approach*, Tetrahedron Lett., **1988**, 29, 577-578.
- [23] Reese, C.B., Thompson, E.A., *A new synthesis of 1-arylpiperidin-4-ols*, J. Chem. Soc. Perkin Trans, 1988, 1, 2881-2885.
- [24] Beijer, B., Sulston, I., Sproat, B.S., Rider, P., Lamond, A.I., Neuner, P., *Synthesis and applications of oligoribonucleotides with selected 2'-O-methylation using the 2'-O-[1-(2-fluorophenyl)-4-methoxypiperidin-4-yl] protecting group*, Nucleic Acids Res., **1990**, 18, 5143-5151.
- [25] Rastogi, H. and Usher, D.A., *A new 2'-hydroxyl protecting group for the automated synthesis of oligoribonucleotides*, Nucleic Acids Res., **1995**, 23, 4872-4877.
- [26] Kierzek, R., Rożek, M., Markiewicz, W.T., *Some steric aspects of synthesis of oligoribonucleotides by phosphoramidite approach on solid support*, Bulletin of the Polish Academy of Science Chemistry, **1987**, 35, 507-516.
- [27] Kierzek, R., Rożek, M., Markiewicz, W.T., *Some steric aspects of synthesis of oligoribonucleotides by phosphoramidite approach on solid support*, Nucleic Acids Res., **1987**, 18, 201-204.
- [28] Somoza, A., *Protecting groups for RNA synthesis: an increasing need for selective preparative methods*, Chem. Soc. Rev., **2008**, 37, 2668-2675.
- [29] Merrifield, R. B., Barany, G., Cosand, W. L., Engelhard, M., Mojsos, S., *Some recent developments in solid phase peptide synthesis*, Pept.: Proc. Am. Pept. Symp. 5<sup>th</sup>, Goodman, M., Meienhofer, J., Wiley, New York, **1977**, 488-502.
- [30] Ohtsuka, E., Tanaka, S., Ikehara, M., *Synthesis of the heptanucleotide corresponding to a eukaryotic initiator tRNA loop sequence*, J. Am. Chem. Soc., **1978**, 100, 8210-8213.

- [31] Hayes, J.A., Brunden, M.J., Gilham, P.T., Gough, G.R., *High-yield synthesis of oligoribonucleotides using o-nitrobenzyl protection of 2'-hydroxyls*, Tetrahedron Lett., **1985**, 26, 2407-2410.
- [32] Iwai, S., Yamada, E., Asaka, M., Hayasa, Y., Inone, H., Ohtsuka, E., *A new solid phase synthesis of oligoribonucleotides by the phosphoro-p-anisidate method using tetrahydrofuranyl protection of 2'-hydroxyl groups*, Nucleic Acids Res., **1987**, 15, 3761-3772.
- [33] van Look, G., Simchen, G., Heberle, J., *Silylating agents*, Fluka Chemie AG, Buchs, **1995**.
- [34] Greene, T.W., Wuts, P.G.M., *In protective groups in organic synthesis*, 4th ed, Wiley-Interscience, New York, **2007**.
- [35] Corey, E.J., Venkateswarlu, A., *Protection of hydroxyl groups as tert-butyldimethylsilyl derivatives*, J. Am. Chem. Soc., **1972**, 94, 6190-6191.
- [36] Corey, E.J., Cho, H., Rücker, C., Hua, D.H., *Studies with trialkylsilyltriflates: new syntheses and applications*, Tetrahedron Lett., **1981**, 22, 3455-3458.
- [37] Sommer, L.H., *Stereochemistry, mechanism and silicon*, McGraw-Hill, New York, **1965**, 127.
- [38] Shirai, N., Moriya, K., Kawazoe, Y., *PH dependence of hydrolytic removal of silyl group from trialkylsilyl ethers*, Tetrahedron, **1986**, 42, 2211-2214.
- [39] Nelson, T.D., Crouch, R.D., *Selective deprotection of silyl ethers*, Synthesis, **1996**, 1031-1069.
- [40] McDougal, P.G., Rico, J.G., Oh, Y., Condon, B. D., *A convenient procedure for the monosilylation of symmetric 1,n-diols*, J. Org. Chem., **1986**, 51, 3388-3390.
- [41] Roush, W.R., Gillis, H.R., Essinfeld, A.P., *Hydrofluoric acid catalyzed intramolecular Diels-Alder reactions*, J. Org. Chem., **1983**, 49, 4674-4682.
- [42] Hu, L., Liu, B., Yu, C., *A convenient biphasic process for the monosilylation of symmetrical 1,n-primary diols*, Tetrahedron Lett., **2000**, 41, 4281-4285.
- [43] Masamune, S., Boschelli, D., Takemasa, T., Nishitani, Y., *Synthesis of amphotericin B. 2. Fragment C-D of the aglycone*, Tetrahedron Lett., **1985**, 26, 5239-5242.
- [44] Kwon, O., Danishefsky, S.J., *Synthesis of Asialo GM1. New insights in the application of sulfonamidoglycosidation in oligosaccharide assembly: subtle proximity effects in the stereochemical governance of glycosidation*, J. Am. Chem. Soc., **1998**, 120, 1588-1599.
- [45] Mulzer, J., Schöllhorn, B., *Multiple 1,2-O,O-shift of tert-butyldiphenylsilyl groups in polyols*, Angew. Chem. Int. Ed Engl., **1990**, 29, 431.

- [46] Hillier, M.C., Meyers, A.I., *Investigation of a novel sequential 1,5- O to O silyl migration/Horner–Wadsworth–Emmons reaction*, Tetrahedron Lett., **2001**, 42, 5145-5147.
- [47] Ogilvie, K.K., Entwistle, D.W., *Isomerization of tert-butyldimethylsilyl protecting groups in ribonucleosides*, Carbohydrate Research, **1981**, 89, 203-210.
- [48] Ti, G.S., Gaffney, B.L., Jones, R.A., *Transient protection: efficient one-flask synthesis of protected deoxynucleosides*, J. Am. Chem. Soc., **1982**, 104, 1316-1319.
- [49] Benneche, T., Strande, P., Undheim, K.A., *A new synthesis of chloromethyl benzyl ethers*, Synthesis, **1983**, 9, 762-763.
- [50] Hirao, I., Koizumi, M., Ishido, Y., Andrus, A., *1,1,3,3-Tetraisopropyl-3-(2-(triphenylmethoxy)ethoxy)disiloxane-1-yl group, a potential 5'-O-protecting group for solid-phase RNA synthesis*, Tetrahedron Lett., **1998**, 39, 2989-2992.
- [51] Scaringe, S.A., Wincott, F.E., Caruthers, M.H., *Novel RNA synthesis method using 5'-silyl-2'-orthoester protecting groups*, J. Am. Chem. Soc., **1998**, 120, 11820-11821.
- [52] Patent USA 2 380 995, **1941**.
- [53] Patent Ger 5 348, **1942**.
- [54] Vorbrüggen, H., *Silicon-mediated transformations of functional groups*, Wiley-VCH, Weinheim, **2004**.
- [55] Fuchs, P.L., *Handbook of reagents for organic synthesis, reagents for silicon-mediated organic synthesis*, Wiley, West Lafayette, **2011**.
- [56] Sommer, S.L.H., Tyler, L.J., *Steric effects of the t-butyl group in organosilicon compounds*, J. Am. Chem. Soc., **1954**, 76, 1030-1033.
- [57] Stork, G., Hudrlik, P.F., *Isolation of ketone enolates as trialkylsilyl ethers*, J. Am. Chem. Soc., **1968**, 90, 4462-4464.
- [58] Benneche, T., Gundersen, L.L., Undheim, K.A., *(tert-Butyldimethylsilyloxy)methyl chloride: synthesis and use as N-protecting group in pyrimidinones*, Acta Chem. Scand., **1988**, 42, 384-389.
- [59] Gundersen, L.L., Benneche, T., Undheim, K.A., *Chloromethoxysilanes as protecting reagents for sterically hindered alcohols*, Acta Chem. Scand., **1989**, 43, 706-709.
- [60] Scaringe, S.A., Kitchen, D., Kaiser, R.J., Marshall, W.S., *Preparation of 5'-silyl-2'-orthoester ribonucleosides for use in oligoribonucleotide synthesis*, Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry, **2004**, 16, 2.10.1-2.10.16.
- [61] Seliger, H., *Protection of 5'-hydroxy functions of nucleosides*, Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry, **2000**, 2.3.1-2.3.34.

- [62] Scaringe, S.A., *RNA Oligonucleotide synthesis via 5'-silyl-2'-orthoester chemistry*, Dharmacon Research, **2001**, 23, 206-217.
- [63] Vorbrüggen, H., Królikiewicz, K., Nieballa, U., *Synthesis of nucleosides with use of trimethylsilyl-heterocycles*, Ann. NY Acad. Sci., **1975**, 255, 82-90.
- [64] Vorbrüggen, H., Królikiewicz, K., Nieballa, U., *Nucleosidsynthesen. XIV. Aminierung von heterocyclen. I. Eine neue einfache synthese von cytidinen*, Liebigs Ann. Chem., **1975**, 988-1002.
- [65] Oka, T., Fujiwara, K., Murai, A., *Synthetic studies on ciguatoxin [2]; synthesis of the A,B,C-ring system*, Tetrahedron, **1998**, 54, 21-44.
- [66] Nakamura, R., Tanino, K., Miyashita, M., *Total synthesis of scytophycin C. 2. Coupling reaction of the C(1)-C(18) segment and the C(19)-C(31) segment, a key macrolactonization, and the crucial terminal amidation reaction*, Org. Lett., **2003**, 5, 3583-3586.
- [67] Uchiyama, M., Kimura, Y., Ohta, A., *Stereoselective total syntheses of (±)-arthrinone and related natural compounds*, Tetrahedron Lett., **2000**, 41, 10013-10017.
- [68] Masse, C.E., Yang, M., Solomon, J., Panek, J.S., *Total synthesis of (+)-mycotrienol and (+)-mycotrienin I: application of asymmetric crotylsilane bond constructions*, J. Am. Chem. Soc., **1998**, 120, 4123-4134.
- [69] Denmark, S.E. et al., *Diphenylmethylsilyl ether (DPMS): a protecting group for alcohols*, J. Org. Chem., **1987**, 52, 165-168.
- [70] Colvin, E.W., *Silicon reagents in organic synthesis*, Academic Press, **1988**.
- [71] Isaacs, F. J., Dwyer D. J., Collins, J. J., *RNA synthetic biology*, Nat. Biotechnol., **2006**, 24, 545-554.
- [72] Bevilacqua, P.C., Yajima, R., *Nucleobase catalysis in ribozyme mechanism*, Curr. Opin. Chem. Biol., **2006**, 10, 455-464.
- [73] Yan, A.C., Bell, K.M., Breeden, M.M., Ellington, A.D., *Aptamers: prospects in therapeutics and biomedicine*, Front. Biosci., **2005**, 10, 1802-1827.
- [74] Schwalbe, H., Buck, J., Fürting, B., Noeske, J., Wöhnert, J., *Time-resolved NMR methods resolving ligand-induced RNA folding at atomic resolution*, PNAS, **2007**, 104, 15699-15704.
- [75] Schaller, H., Weiman, G., Lerch, B., Khorana, H.G., *Studies on polynucleotides. XXIV. The stepwise synthesis of specific deoxyribopolynucleotides. Protected derivatives of deoxyribonucleosides and new syntheses of deoxyribonucleoside-3'-phosphates*, J. Am. Chem. Soc., **1963**, 85, 3821-3827.

- [76] Büchi, H., Khorana, H.G., *Total synthesis of the structural gene for an alanine transfer ribonucleic acid from yeast. Chemical synthesis of an icosadeoxyribonucleotide corresponding to the nucleotide sequence 31 to 50*, J. Mol. Biol., **1972**, 72, 251-288.
- [77] Sinha, N.D., Davis, P., Schultze, L.M., Upadhy, K., *A simple method for N-acylation of adenosine and cytidine nucleosides using carboxylic acids activated in-situ with carbonyldiimidazole*, Tetrahedron Lett., **1995**, 36, 9277-9280.
- [78] Hwu, J.R., Wang, N., *Steric influence of the trimethylsilyl group in organic reactions*, Chem. Rev., **1989**, 89, 1599-1615.
- [79] Sakurai, H., Nakadaira, Y., Tobita, H., *Generation, characterization and quenching of the dianion of tetrakis(trimethylsilyl)ethylene*, Chem. Lett., **1982**, 771-772.
- [80] Murray, B., Hvoslef, J., Hope, H., Power, P.P., *A compound with severely distorted geometry at ligated carbon: synthesis and X-ray crystal structure of  $\text{Bi}[\text{CH}(\text{SiMe}_3)_2]_3$ , a trialkylbismuth complex with high thermal stability*, Inorg. Chem., **1983**, 22, 3421-3424.
- [81] Li, B.L., Goodman, M. A., Neilson, R. H., *Synthesis and stereochemistry of some alkyl[bis(trimethylsilyl)amino]boranes*, Inorg. Chem., **1984**, 23, 1368-1371.
- [82] Schraml, J., Včelak, J., Chvalovsky, V., Engelhardt, G., Jancke, H., Vodička, L., Hlavaty, J.,  *$^{29}\text{Si}$  and  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra and steric effects in mono- and bis(trimethylsiloxy)adamantanes*, Collect. Czech. Chem. Commun., **1978**, 43, 3179.
- [83] Ogilvie K.K, Thompson, E.A., Quillam, M.A., Westmore, J.B., *The use of silyl groups in protecting the hydroxyl function of ribonucleosides*, Tetrahedron Lett., **1974**, 2861-2863.
- [84] Hakimelahi, G.H, Proba, Z.A., Ogilvie, K.K., *New catalysts and procedures for the dimethoxytritylation and selective silylation of ribonucleosides*, Can. J. Chem., **1982**, 60, 1106-1113.
- [85] Serebryany, V., Beigelman, L., *An efficient preparation of protected ribonucleosides for phosphoramidite RNA synthesis*, Tetrahedron Lett., **2002**, 43, 1983-1985.
- [86] Jones, S.S., Reese, C.B., *Migration of t-butyl dimethylsilyl protecting groups*, J. Chem. Soc. Perkin Trans., I, **1979**, 2762-.
- [87] Usman, N., Nicoghossian, K., Cedergren, R.L., Ogilvie, K.K., *Total chemical synthesis of a 77-nucleotide-long RNA sequence having methionine-acceptance activity*, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., **1988**, 85, 5764-5768.
- [88] Manoharan, M., *RNA interference and chemically modified small interfering RNAs*, Curr. Opin. Chem. Biol., **2004**, 8, 570-579.
- [89] Bumcrot, D., Manoharan, M., Koteliansky, V., Sah, D.W.Y., *RNAi therapeutics: A potential new class of pharmaceutical drugs*, Nat. Chem. Biol., **2006**, 2, 711-719.

- [90] Pitsch, S., Weiss, P.A., Jenny, L., Stutz, A., Wu, X., *Reliable chemical synthesis of oligoribonucleotides (RNA) with 2-O-[(triisopropylsilyl)oxy]methyl (2-O-tom)-protected phosphoramidites*, *Helv. Chim. Acta*, **2001**, 84, 3773-3795.
- [91] Kelly, D.R., Roberts, S.M., Newton, R.F., *The cleavage of t-butyldimethylsilyl ethers with boron trifluoride etherate*, *Synth. Commun.*, **1979**, 9, 295-299.
- [92] Crouch, R.D., *Selective monodeprotection of bis-silyl ethers*, *Tetrahedron*, **2004**, 60, 5833-5871.
- [93] Delaney, M.O., Thomas, A., Ricketts, C., Kitchen, D.E., Kaiser, R.J., *Chromophoric 5'-O-silyl protection of N-protected 2'-ACE ribonucleosides for solid-phase RNA synthesis*, *Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry*, **2008**, 2.14.1-2.14.26.
- [94] Markiewicz, W.T., Wiewiórowski, M., *Tetraisopropyldisiloxane-1,3-diyl, a group for simultaneous protection of 3'- and 5'-hydroxy functions of nucleosides*, *Nucleic Acids Res.*, **1978**, 1 (suppl 1), 185-190.
- [95] Markiewicz, W.T., *Tetraisopropyldisiloxane-1,3-diyl, a group for simultaneous protection of 3'- and 5'-hydroxy functions of nucleosides*, *J. Chem. Research (S)*, **1979**, 24-25.
- [96] Markiewicz, W.T., *Tetraisopropyldisiloxane-1,3-diyl, a Group for Simultaneous Protection of 3'- and 5'-Hydroxy Functions of Nucleosides*, *J. Chem. Research (M)*, **1979**, 19, 181-197.
- [97] Markiewicz, W.T., Nowakowska, B., Adrych, K., *Tetra-t-butoxydisilixane-1,3-diyl, a new type of bifunctional silyl protective group*, *Tetrahedron Lett.*, **1988**, 29, 1561-1564.
- [98] Patent US 6,800,751 B2, **2004**.
- [99] Ferreri, C., Costantino, C., Romeo, R., Chatgililoglu, C., *The PdCl<sub>2</sub>/R<sub>3</sub>SiH system for the silylation of nucleosides*, *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40, 1197-1200.
- [100] Wen, K., Chow, S., Sanghvi, Y.S., Theodorakis, E.A., *Synthesis of 2'-O-methoxyethylguanosine using a novel silicon-based protecting group*, *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 7887-7889.
- [101] Allen, A.D., Charlton, J.C., Eaborn, C., Modena, G., *Nucleophilic substitution reactions of organosilicon compounds. Part I. Reactions of triisopropylsilyl chloride*, *J. Chem. Soc.*, **1957**, 3668-3670.
- [102] Verdegaaal, C. H. M., Jansse, P. L., de Rooij, J. F. M., van Boom, J. H., *Acid-catalysed isomerization of the tetraisopropyldisiloxane-1,3-diyl group. Simultaneous protection of two secondary alcoholic functions*, *Tetrahedron Lett.*, **1980**, 21, 1571-1574.

- [103] Markiewicz, W.T., Wiewiórowski, M., *The general method of oligoribonucleotide synthesis based on the application of tetraisopropylidisiloxane-1,3-diyl group*, Nucleic Acids Res., **1982**, 11, 21-24.
- [104] Markiewicz, W. T., Bartoszek, A., *Transformation of rings containing tetraisopropylidisiloxane-1,3-diyl group - an equilibrium process enlarging the scope of applications of the group*, Bull. Pol. Acad. Sci., **1984**, 32, 453-461.
- [105] Kulikova, I.V., Muradova, D.A., Mikhailov, S.N., *Effective isomerization of 3',5'-O-(tetraisopropylidisiloxane-1,3-diyl)nucleosides in the presence of trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate*, ARKIVOC, **2009**, (iii), 158-170.
- [106] Markiewicz, W.T., *Studies on selective partial cleavage of the tetraisopropylidisiloxane-1,3-diyl group in furanosyl nucleosides*, Bull. Pol. Acad. Sci., **1984**, 32, 463-473.
- [107] Drenichev, M.S., Kulikova, I.V., Bobkov, G.V., Tararov, V.I., Mikhailov, S.N., *A new protocol for selective cleavage of acyl protecting groups in 2'-O-modified 3',5'-O-(tetraisopropylidisiloxane-1,3-diyl)ribonucleosides*, Synthesis, **2010**, No. 1, 0001-0008.
- [108] Chow, S., Wen, K., Sanghvi, Y.S., Theodorakis, E.A., *MDPSCl<sub>2</sub>: a new protecting group for chemiselective synthesis of 2'-O alkylated guanosines*, Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids, **2003**, 22, 583-587.
- [109] Tyler, L.J., Sommer, L.H., Whitmore, F.C., *t-Butylsilicon compounds*, J. Am. Chem. Soc., **1948**, 70, 2876.
- [110] Trost, B.M., Caldwell, Ch.G., *The di-t-butylsilylene protecting group for diols*, Tetrahedron Lett., **1981**, 22, 4999-5002.
- [111] Corey, E.J., Hopkins, P.B., *Diisopropylsilyl ditriflate and di-tert-butylsilyl ditriflate: New reagents for the protection of diols*, Tetrahedron Lett., 1982, 23, 4871-4874.
- [112] Gerrard, W., Woodhead, A.H., *Interaction of alcohols with silicon tetrachloride*, J. Chem. Soc., **1951**, 519-522.
- [113] Furusawa, K., Katsura, T., *New sila-analogues of cyclic nucleotides 3',5'-O-silanediylnucleosides*, Tetrahedron Lett., **1985**, 26, 887-890.
- [114] Wada, T., Tobe, M., Nagayama, T., Furusawa, K., Sekine, M., *Regioselective protection of the 2'-hydroxyl group of N-acyl-3',5'-O-di(t-butyl)silanediylnucleoside derivatives by use of t-BuMgCl and 2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl chloride*, Tetrahedron Lett., **1995**, 36, 1683-1684.
- [115] Markiewicz, W.T., Adrych, K., *Simultaneous protection of 3'- and 5'-hydroxyls of ribonucleosides with di-t-butoxydichlorosilane*, Nucleosides Nucleotides, **1988**, 7, 671-674.

- [116] Smith, M., Khorana, H.G., *Specific synthesis of the C5'-C3' inter-ribonucleotide linkage: the synthesis of uridylyl-(5'→3')-uridine*, J. Am. Chem. Soc., **1959**, 81, 2911-2912.
- [117] Reese, C.B., Saffhill, R., Sulston, J.E., *4-Methoxytetrahydropyran-4-yl. A symmetrical alternative to the tetrahydropyranyl protecting group*, Tetrahedron, **1970**, 26, 1023.
- [118] Smith, M., Rammler, D.H., Goldberg, I.H., Khorana, H.G., J. Chem. Am. Soc., **1962**, 84, 430.
- [119] Martin, A.R., Lavergne, T., Vasseur, J.J., Debart, F., *Assessment of new 2'-O-acetalester protecting groups for regular RNA synthesis and original 2'-modified proRNA*, Bioorganic & Medicinal Chem. Lett., **2009**, 19, 4046-4049.
- [120] Umemoto, T., Wada, T., *Oligoribonucleotide synthesis by the use of 1-(2-cyanoethoxy)ethyl (CEE) as a 2'-hydroxy protecting group*, Tetrahedron Lett., **2004**, 45, 9529-9531.
- [121] Robins, M.J., Wilson, J.S., Hansske, F., *Nucleic acid related compounds. 42. A general procedure for the efficient deoxygenation of secondary alcohols. Regiospecific and stereoselective conversion of ribonucleosides to 2'-deoxynucleosides*, J. Am. Chem. Soc., **1983**, 105, 4059-4065.
- [122] Robins, M.J., Wnuk, S.F., *Reduction of ribonucleosides to 2'-deoxyribonucleosides*, Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry, **2005**, 1.11.1-1.11.14.
- [123] Hansske, F., Madej, D., Robins, M.J., *2' and 3'-ketonucleosides and their arabinoside and xylo reduction products: convenient access via selective protection and oxidation of ribonucleosides*, Tetrahedron, **1984**, 40, 125-135.
- [124] Markiewicz, W.T., Niewczyk, A., Gdaniec, Z., Adamiak, D.A., Dauter, Z., Rypniewski, W., Chmielewski, M., *Studies on synthesis and structure of O-beta-D-ribofuranosyl(1'→2')ribonucleosides and oligonucleotides*, Nucleosides Nucleotides, **1998**, 17, 411-424.
- [125] Karpeisky, A., Sweedler, D., Haeberli, P., Read, J., Jarvis, K., Beigelman, L., *Scaleable and efficient synthesis of 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside phosphoramidites for oligonucleotide synthesis*, Bioorg. Med. Chem. Lett., **2002**, 12, 3345-3347.
- [126] Anzahaee, M.Y., Watts, J.K., Alla, N.R., Nicholson, A.W., Damha, M.J., *Energetically important C-H...F-C pseudohydrogen bonding in water: evidence and application to rational design of oligonucleotides with high binding affinity*, J. Am. Chem. Soc., **2011**, 133, 728-731.

- [127] Zlatev, I., Vasseur, J.J., Morvan, F., *Convenient synthesis of N<sup>2</sup>-isobutyryl-2'-O-methyl guanosine by efficient alkylation of O<sup>6</sup>-trimethylsilylethyl-3',5'-di-tertbutylsilanediyl guanosine*, Tetrahedron, **2007**, 63, 11174-11178.
- [128] Brooks, Ch.J.W., Cole, W.J., *Di-tert-butylsilylene derivatives for the characterisation of bifunctional compounds by gas chromatography – mass spectrometry*, The Analyst, **1985**, 110, 587-591.
- [129] Pawluć, P., Hreczycho, G., Marciniak, B., *Highly efficient and regioselective synthesis of 1,1-bis(alkoxydimethylsilyl)ethenes*, Synlett, **2005**, 7, 1105-1108.
- [130] Samek, Z., Buděšínský, M., *In situ reactions with trichloroacetyl isocyanate and their application to structural assignment of hydroxyl compounds by <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy. A general comment*, Czechoslov. Chem. Commun., **1979**, 44, 558-588.
- [131] Markiewicz, W.T., Padyukova, N.Sh., Samek, Z., Smrt, J., *The reaction of 1,3-dichloro-1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxane with cytosine arabinoside and 1-(6-deoxy-α-L-talofuranosyl)uracil*, Coll. Czechoslov. Chem. Commun., **1980**, 45, 1860-1865.
- [132] Whitemore, F.C., Pietrusza, E.W., Sommer, L.H., *Hydrogen-halogen exchange reactions of triethylsilane. A new rearrangement of neopentyl chloride*, J. Am. Chem. Soc., **1947**, 69, 2108-2110.
- [133] Doyle, M.P., McOske, C.C., West, C.T., *Hindered organosilicon compounds. Synthesis and properties of di-tert-butyl-, di-tert-butylmethyl-, and tri-tert-butylsilanes*, J. Org. Chem., **1976**, 41, 1393.
- [134] Seyferth, D., Prud'homme, C.C., Wang, W.L., *1,1,1,5,5,5-Hexamethyltrisiloxane: preparation and some reaction*, J. Organomet. Chem., **1984**, 277, 203.
- [135] Kunai, A., Sakurai, T., Toyoda, E., Ishikawa, M., Yamamoto, Y., *Versatile method for the synthesis of jodosilanes*, Organometallics, **1994**, 13, 3233-3236.
- [136] Boukherroub, R., Chatgililoglu, C., Manuel, G., *PdCl<sub>2</sub>-catalyzed reduction of organic halides by triethylsilane*, Organometallics, **1996**, 15, 1508-1510.
- [137] Ferreri, C., Costantino, C., Chatgililoglu, C., Boukherroub, R., Manuel, G., *The versatility of the PdCl<sub>2</sub>/Et<sub>3</sub>SiH system. Conversion of alcohols to the corresponding halides and alkanes*, J. Organomet. Chem., **1998**, 554, 135-137.
- [138] Suzuki, T., Watahiki, T., Oriyama, T., *A novel and efficient method for the silylation of alcohols with methallylsilanes catalyzed by Sc(OTf)<sub>3</sub>*, Tetrahedron Lett., **2000**, 41, 8903-8906.

- [139]. Blackwell, J.M., Foster, K.L., Beck, V.H., Piers, W.E., *B(C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>)<sub>3</sub>-catalyzed silylation of alcohols: a mild, general method for synthesis of silyl ethers*, J. Org. Chem., **1999**, 64, 4887-4892.
- [140] Bartoszewicz, A., Kalek, M., Nilsson, J., Hiresova, R., Stawiński, J., *A new reagent system for efficient silylation of alcohols: silyl chloride-N-methylimidazole-iodine*, Synlett, **2007**, X, 000A-000D.
- [141] Odadzic, D., Bramsen, J.B., Smicius, R., Bus, C., Kjems, J., Engels, J.W., *Synthesis of 2'-O-modified adenosine building blocks and application for RNA interference*, Bioorg. Med. Chem., **2008**, 16, 518-529.
- [142] Buchini, S., Leumann, C.J., *2'-O-aminoethyl oligoribonucleotides containing novel base analogues*, Eur. J. Org. Chem., **2006**, 3152-3168.
- [143] Hampton, A., Nichol, A.W., *Nucleotides. V. Purine ribonucleoside 2',3'-cyclic carbonates. Preparation and use for the synthesis of 5'-monosubstituted nucleosides*, Biochem., **1966**, 5, 2076.
- [144] Lin, K.I., Chiang, L.W., Wu, Ch.H., Chen, S.W., Yu, Ch.S., *Synthesis of 5-radioiodoarabinosyl uridine analog for probing the HSV-1 thymidine kinase gene*, J. Chinese Chem. Soc., **2007**, 54, 563-568.
- [145] Mehellou, Y., Valente, R., Mottram, H., Walsby, E., Mills, K.I., Balzarini, J., McGuigan, *Phosphoramidates of 2'-β-D-arabinouridine (AraU) as phosphate prodrugs; design, synthesis, in vitro activity and metabolism*, Ch., Bioorg. Med. Chem., **2010**, 18, 2439-2446.