



Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen

Academiejaar 2011 – 2012

Synthese van nieuwe guanine- β -lactamhybriden en thymine- β -lactamhybriden

Nympha De Neve

Promotoren: Prof. dr. ir. Matthias D'hooghe
Prof. dr. ir. Norbert De Kimpe

Tutor: ir. Rob De Vreese

Masterproef voorgedragen tot het behalen van de graad van
Master in de bio-ingenieurswetenschappen: Chemie en bioprocestechnologie

Dankwoord

Tijdens mijn opleiding tot bio-ingenieur werd ik ingeleid in een verscheidenheid aan disciplines. Mijn interesse in wetenschappen ging daarbij vooral uit naar milieu- en chemiegerelateerde vakken. Daarbij geraakte ik door de jaren heen meer en meer gefascineerd door de organische chemie en haar breed toepassingsdomein. De keuze van mijn thesisonderwerp vormt voornamelijk een uitbreiding van mijn praktische opleiding in organische chemie, en heeft gezorgd voor een leerrijke ervaring in het laatste onderdeel van mijn opleiding. Vooraleer ik verderga over het onderwerp van mijn thesis zou ik graag nog enkele mensen bedanken.

Als eerste wil ik graag Prof. dr. ir. Matthias D'hooghe en Prof. dr. ir. Norbert De Kimpe bedanken voor mij de gelegenheid te bieden deze thesis te schrijven onder uw begeleiding.

Verder wil ik graag alle doctoraatstudenten bedanken die steeds klaar stonden om te helpen. In het bijzonder wil ik Rob bedanken voor mij doorheen het hele jaar te begeleiden. Ik wil ook graag Pieter Mortier bedanken voor de goede raad, motiverende woorden en de introductie van het 'Partylab'!

Daarnaast wil ik graag alle thesisstudenten bedanken voor de gezellige ontspanning tussen het werken door. In het bijzonder wil ik graag de thesisstudenten van 'het kleine labo' bedanken, Lise, Thijs, Clarence, Britt en Ellen, ik wil jullie bedanken voor alle steun en enthousiasme. Ik ga de grappige momenten in ons labo missen.

Het grootste woord van dank gaat naar mijn ouders. Ik wil hen bedanken voor de kansen die ik gekregen heb, hun vertrouwen, geduld en onvoorwaardelijke steun die ik steeds mocht genieten. Jullie hebben altijd achter mij gestaan, de afgelopen 22 jaar, en daarvoor ben ik jullie zeer dankbaar. Ook mijn broer Jan wil ik bedanken voor mij altijd te blijven steunen.

Als laatste wil ik mijn grootste steun en toeverlaat bedanken. Nick, bedankt voor er steeds voor mij te zijn de afgelopen jaren. Jij hebt altijd in mij geloofd en mij onvoorwaardelijk gesteund. Bedankt ook voor het hele jaar samen met mij de trein te nemen, zo kon ik mijn dagen steeds beginnen met een goede start. Bedankt voor alle liefde en ontspanning. Ik weet niet wat ik zonder jou zou zijn!

INHOUD

| | |
|--|-----------|
| 1. SITUERING EN DOEL | 1 |
| 1.1. SITUERING | 1 |
| 1.2. DOEL | 4 |
| 2. LITERATUURSTUDIE..... | 6 |
| 2.1. INLEIDING | 6 |
| 2.2. SYNTHESE VAN <i>N</i> 9-GEFUNCTIONALISEERDE GUANINEN UITGAANDE VAN <i>O</i> ⁶ -BESCHERMDE GUANINEN VIA EEN <i>S</i> _N 2-TYPE SUBSTITUTIEREACTIE | 6 |
| 2.3. SYNTHESE VAN <i>N</i> 9-GEFUNCTIONALISEERDE GUANINEN UITGAANDE VAN <i>O</i> ⁶ -BESCHERMDE GUANINEN VIA DE MITSUNOBUREACTIE | 7 |
| 2.4. SYNTHESE VAN <i>N</i> 9-GEFUNCTIONALISEERDE GUANINEN UITGAANDE VAN <i>C</i> 6-HALOGEEENPURINEN VIA EEN <i>S</i> _N 2-TYPE ALKYLERING | 8 |
| 2.5. SYNTHESE VAN <i>N</i> 9-GEFUNCTIONALISEERDE GUANINEN UITGAANDE VAN <i>C</i> 6-HALOGEEENPURINEN VIA DE MITSUNOBUREACTIE | 8 |
| 2.6. SYNTHESE VAN <i>N</i> 9-GEFUNCTIONALISEERDE GUANINEN UITGAANDE VAN <i>N</i> 7-GEFUNCTIONALISEERDE GUANINEN VIA EEN <i>S</i> _N 2-TYPE ALKYLERING | 9 |
| 2.7. SYNTHESE VAN <i>N</i> 9-GEFUNCTIONALISEERDE GUANINEN UITGAANDE VAN PYRIMIDINEDERIVATEN VIA CYCLISATIE | 10 |
| 2.8. SYNTHESE VAN <i>N</i> 9-GEFUNCTIONALISEERDE GUANINEN UITGAANDE VAN 5-AMINOIMIDAZOOL-4-CARBOXAMIDE 30 VIA DE YAMAZAKI-RINGSLUITING..... | 10 |
| 3. BESPREKING VAN DE RESULTATEN..... | 12 |
| 3.1. SYNTHESE VAN 1-(ω -BROOMALKYL)-2-AZETIDINONEN..... | 12 |
| 3.2. SYNTHESE VAN 1-[ω -(<i>N</i> ² -ACETYLGUANIN-9-YL)ALKYL]-2-AZETIDINONEN..... | 17 |
| 3.2.1. SYNTHESE VAN <i>N</i> ² -ACETYLGUANINE | 17 |
| 3.2.2. SYNTHESE VAN 1-[ω -(<i>N</i> ² -ACETYLGUANIN-9-YL)ALKYL]-2-AZETIDINONEN..... | 18 |
| 3.3. SYNTHESE VAN 1-[ω -(THYMIN-1-YL)ALKYL]-2-AZETIDINONEN..... | 25 |
| 4. SAMENVATTING EN BESLUIT | 34 |
| 4.1. SAMENVATTING | 34 |
| 4.2. BESLUIT | 37 |

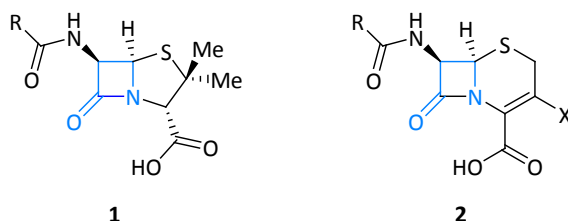
| | | |
|-----------|--|-----------|
| 5. | EXPERIMENTEEL DEEL | 38 |
| 5.1. | METHODOLOGIE | 38 |
| 5.1.1. | DUNNELAAGCHROMATOGRAFIE (TLC)..... | 38 |
| 5.1.2. | KOLOMCHROMATOGRAFIE..... | 38 |
| 5.1.3. | AUTOMATISCHE KOLOMCHROMATOGRAFIE | 38 |
| 5.1.4. | VLOEISTOFCHROMATOGRAFIE | 38 |
| 5.1.5. | NMR-SPECTROSCOPIE | 38 |
| 5.1.6. | MASSASPECTROMETRIE..... | 39 |
| 5.1.7. | INFRAROODSPECTROSCOPIE | 39 |
| 5.1.8. | DROGE SOLVENTEN | 39 |
| 5.1.9. | SMELTPUNTBEPALING | 39 |
| 5.2. | BESCHRIJVING VAN DE EXPERIMENTEN..... | 40 |
| 5.2.1. | SYNTHESE VAN 1-(ω -BROOMALKYL)-2-AZETIDINONEN..... | 40 |
| 5.2.2. | SYNTHESE VAN 1-[ω -(N^2 -ACETYLGUANIN-9-YL)ALKYL]-2-AZETIDINONEN..... | 43 |
| 5.2.3. | SYNTHESE VAN 1-[ω -(THYMIN-1-YL)ALKYL]-2-AZETIDINONEN..... | 47 |
| 6. | REFERENTIES..... | 54 |

1. Situering en doel

1.1. Situering

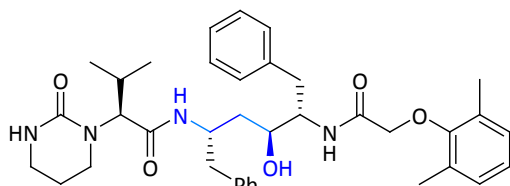
Het concept van hybride structuren wordt meer en meer aanvaard als een nieuwe strategie in de ontwikkeling van geneesmiddelen. Hybride structuren zijn chemische verbindingen waarin twee (of meer) farmacoforen met verschillende biologische functies samengevoegd worden.^{1,2} Deze strategie wordt reeds met succes toegepast bij onderzoek naar geneesmiddelen tegen cardiovasculaire aandoeningen,³ kanker,⁴ malaria^{1,5,6} en bacteriële infecties.⁶ Selectieve omzetting van één substructuur kan bovendien leiden tot gefunctionaliseerde doelverbindingen met biologische activiteit door het behoud van de tweede biologisch actieve eenheid.⁷ De synthese van een hybride molecule bestaande uit twee biologisch relevante verbindingen zoals de guanine- en β -lactamkern betreft een nieuwe richting in de zoektocht naar nieuwe geneesmiddelen.

Binnen de vakgroep Duurzame Organische Chemie en Technologie (Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen, UGent) is reeds uitgebreid onderzoek gebeurd rond de synthese en omzetting van β -lactamen. Door hun gespannen ringstructuur is deze klasse van verbindingen zeer geschikt voor verdere chemische omzettingen. Zo werden β -lactamen reeds aangewend voor de synthese van aziridinen,⁸⁻¹⁰ azetidinen,¹⁰ pyrrolidinen,¹⁰ piperidinen,^{10,11} imidazolen,¹² bicyclische β -lactamen,¹³ tricyclische β -lactamen¹⁴ en azocinonen.¹⁵ Daarnaast zijn β -lactamen gekend voor hun antimicrobiële eigenschappen. De β -lactamring is aanwezig in penicillinen **1** en cefalosporinen **2**, geneesmiddelen die succesvol gebruikt werden voor de bestrijding van bacteriële infecties.¹³ Ook is uit onderzoek gebleken dat gefunctionaliseerde β -lactamen geschikt zijn voor de bestrijding van onder andere tuberculose, diabetes, kanker, de ziekte van Parkinson en het cytomegalovirus. Tot op heden speelt de β -lactamring een belangrijke rol in de ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen.¹⁶

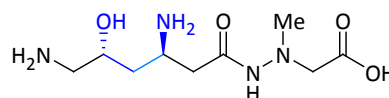


Via hydride-geïnduceerde ringopening van β -lactamen kunnen γ -aminoalcoholen, die vaak interessante farmacologische eigenschappen bezitten,¹⁷ bekomen worden. Deze structurele eenheid is terug te vinden in veel biologisch actieve verbindingen zoals HIV-protease inhibitoren,¹⁸ antibiotica^{19,20} en antiplasmodiale agentia.⁸ Voorbeelden hiervan zijn lopinavir **3**, een HIV-protease inhibitor, en (+)-negamycine **4**, een pseudopeptide antibiotica. Verder worden γ -aminoalcoholen

gebruikt als chirale liganden of chirale hulpgroepen voor het uitvoeren van enantioselectieve reacties.²¹

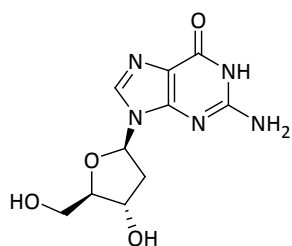


3

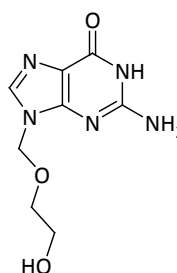


4

Als essentiële bouwsteen van RNA, DNA en de nucleotiden GTP (guanosinetrifosfaat) en cGMP (cyclisch guanosinemonofosfaat) is guanine onmisbaar in biologische systemen. cGMP speelt een belangrijke rol in het cellulair metabolisme als secundaire boodschappermolecule, terwijl GTP onder meer zorgt voor de activering van GTPasen en G-proteïnen. GTPasen zijn verantwoordelijk voor de regulering van een waaier aan celfuncties en worden gezien als de aan- en uitschakelaars van biochemische processen in de cel.²² G-proteïnen maken deel uit van GPCR's (G-proteïnegekoppelde receptoren) die ons de mogelijkheid geven om geuren, smaken en visuele stimuli uit onze omgeving waar te nemen.²³ Synthetische analogen van guanosine **5** bezitten de mogelijkheid om door deze eiwitten herkend te worden en kunnen zo interfereren met biologische systemen door inhibitie van bepaalde enzymen of door het antagoneren of agoneren van receptoren.²⁴ Bovendien worden guaninederivaten via nucleobasetransporterproteïnen eenvoudig opgenomen binnen de doelcel waar ze de gewenste activiteit kunnen uitvoeren.²⁵⁻²⁷ Zo werd aangetoond dat acyclovir **6**, werkzaam tegen het herpes simplex virus, na opname in de doelcel gefosforyleerd wordt en terminatie van virale DNA-replicatie veroorzaakt door incorporering in het viraal DNA.^{28,29}



5

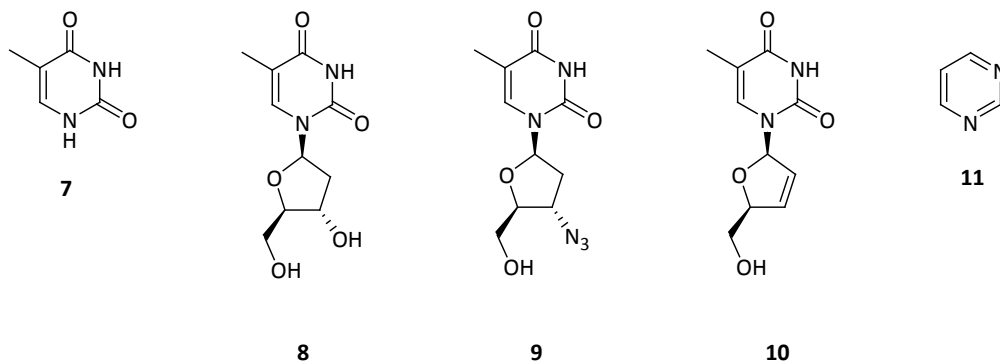


6

Door recent onderzoek aan de vakgroep Duurzame Organische Chemie en Technologie (Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen, UGent) werd de antivirale activiteit van enkele purine- β -lactamhybriden en purine- γ -aminoalcoholhybriden aangetoond.⁷ De kans wordt bijgevolg hoog ingeschat dat guanine- β -lactamhybriden **10** en **13** en hun omzettingsproducten **11** en **14** eveneens antivirale

activiteit zullen vertonen, gezien de structuur van deze verbindingen zelfs dichter aanleunt bij het natuurlijke nucleoside guanosine **5**.

Thymine **7** is net zoals guanine een essentiële bouwsteen van DNA, waar het een basepaar vormt met adenine. Thymine maakt onderdeel uit van het nucleoside thymidine **8** dat na fosforylering als nucleotide wordt ingebouwd in het DNA. Daarnaast is thymine **7** een belangrijke precursor van antivirale middelen zoals zidovudine **9** en stavudine **10**, beide *N1*-gefunctionaliseerde thyminen.^{30,31} Deze 2'3'-dideoxynucleosideanalogen werken op dezelfde wijze in op het HIV-virus, dat behoort tot de klasse van de retrovirussen. Dergelijke thymineanalogen worden na drie fosforyleringsstappen in het virale DNA geïncorporeerd waar ze ageren als terminator van het virale reverse-transcriptase. De omzetting van het virale RNA naar viraal DNA wordt bijgevolg vervroegd beëindigd waardoor de replicatiecyclus van het virus onderbroken wordt.²⁹



Thymine **7** behoort tot de klasse van de pyrimidinen. De pyrimidinekern **11** is aanwezig in tal van farmacoforen. Aldus zijn reeds pyrimidinederivaten ontwikkeld die een antitumor, antivirale en anticarcinogene activiteit vertonen.³²⁻³⁶ Daarnaast blijken verscheidene pyrimidinederivaten een antimalaria-activiteit te vertonen.³⁷ De vorming van nieuwe thymine- β -lactamhybriden door *N1*-alkylering van thymine **7** met 1-(ω -halo-geenalkyl)- β -lactamen biedt nieuwe perspectieven voor het farmacologisch onderzoek in verband met thyminederivaten.

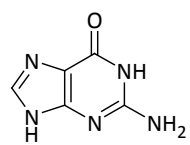
1.2. Doel

Het doel van deze thesis is tweeledig. Enerzijds wordt de vorming van een bibliotheek aan nieuwe *N*9-gefunctionaliseerde guaninen beoogd uitgaande van guanine- β -lactamhybriden, en anderzijds wordt gestreefd naar de vorming van nieuwe *N*1-gefunctionaliseerde thyminen uitgaande van thymine- β -lactamhybriden.

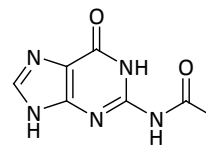
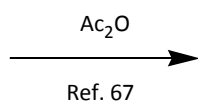
Het eerste deel van deze thesis zal handelen over de synthese van 1-(ω -halogeenalkyl)- β -lactamen **14** en hun verdere inzetting als substraat voor de alkyleringsreactie van guanine. De synthese van β -lactamen **14** zal uitgevoerd worden aan de hand van de Staudinger-reactie, een [2+2]-cyclocondensatiereactie tussen gefunctionaliseerde iminen en *in situ* gegenereerde ketenen.³⁸ Vervolgens zal eerst een acetylgroep ingevoerd worden op de *N*²-plaats van guanine **12**, waarna guanine- β -lactamhybriden **15** gegenereerd worden door middel van een *S*_N2-type substitutiereactie tussen *N*²-acetylguanidine **13** en de 1-(ω -halogeenalkyl)- β -lactamen **14**. Tenslotte zullen via een reductieve ringopening van de β -lactamring de overeenkomstige γ -aminoalcoholen **16** gevormd worden.

In het tweede luik van deze scriptie zullen de gesynthetiseerde 1-(ω -halogeenalkyl)- β -lactamen **14** ingezet worden als substraat voor de alkyleringsreactie van thymine **17** ter synthese van thymine- β -lactamhybriden **18**. De reductieve ringopening van deze hybride structuren zal tenslotte de overeenkomstige thymine- γ -aminoalcoholhybriden **19** leveren.

De hybride structuren **15**, **16**, **18** en **19** vormen structurele analogen van acyclovir **6** en zidovudine **9** en zullen dan ook in een later stadium geëvalueerd worden op hun antivirale activiteit.

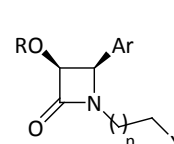


12

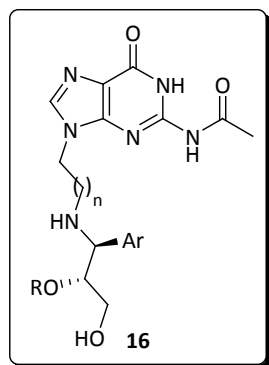


13

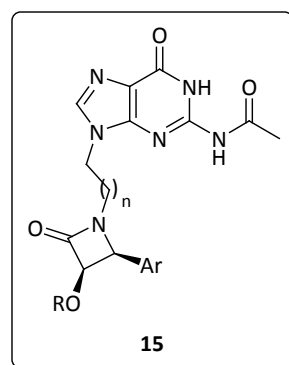
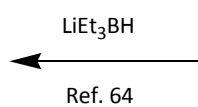
Ref. 39



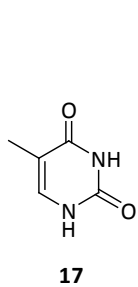
14



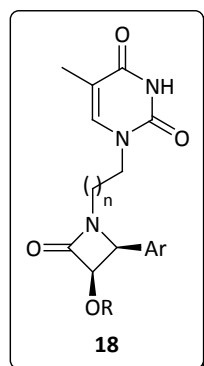
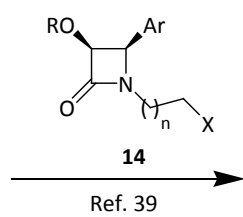
16



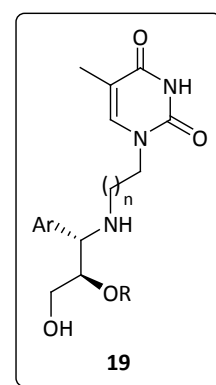
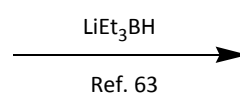
15



17



18

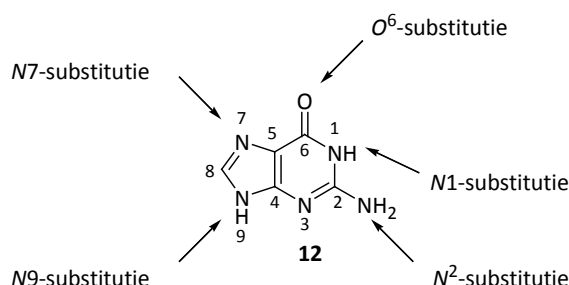


19

2. Literatuurstudie

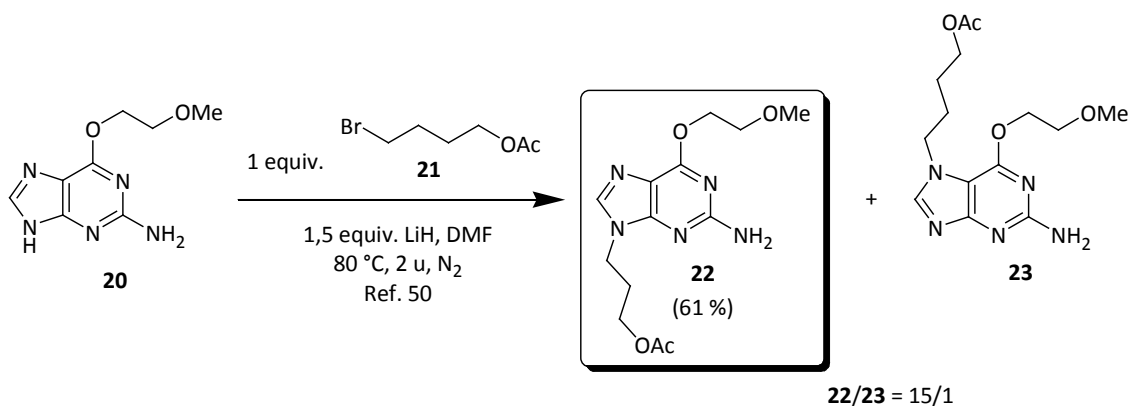
2.1. Inleiding

De vondst van verschillende antivirale guaninederivaten zoals acyclovir, ganciclovir en penciclovir heeft voor een grote interesse in de synthese van nieuwe *N9*-gesubstitueerde guaninederivaten gezorgd.⁴⁰⁻⁴² De grootste obstakels zijn de vorming van *N7*-regioisomeren naast de gewenste *N9*-regioisomeren en de lage oplosbaarheid van guanine. Regioselectieve alkylering van onbeschermd guanine is onmogelijk door de hoge reactiviteit van de guaninekern. Daarom wordt voor synthese van *N9*-gesubstitueerde guaninen steeds gestart van een beschermd guanine.⁴³⁻⁴⁵ In deze literatuurstudie zal dieper ingegaan worden op verschillende mogelijkheden om *N9*-gefunctionaliseerde guaninen te synthetiseren.



2.2. Synthese van *N9*-gefunctionaliseerde guaninen uitgaande van *O⁶*-beschermden guaninen via een S_N2-type substitutiereactie

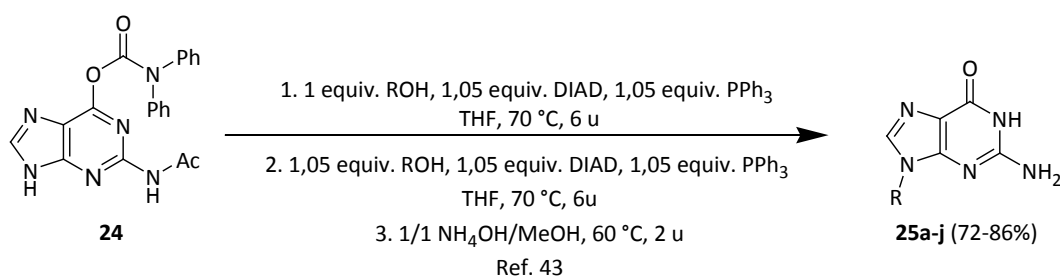
Het guanine vastleggen in zijn imidaatvorm met behulp van bulksubstituenten, zoals 2-(4-nitrofenyl)ethyl en *N,N*-difenylcarbamoyl, op het zuurstofatoom resulteert vaak in een hoge *N9/N7*-verhouding. Dit is in tegenstelling tot onbeschermden *O⁶*-guaninen, waar een lage regioselectiviteit verkregen wordt.⁴⁶⁻⁴⁹ De *N9/N7*-verhouding van de regioisomeren die na reactie bekomen wordt hangt sterk af van de substituent op de *O⁶*-plaats, de base en de reactietemperatuur. Alkylering van *N²*-isobutyryl-*O⁶*-(*N,N*-difenylcarbamoyl)guanine met *tert*-butylbroomacetaat (NaH, DMF, 0 °C) geeft bijvoorbeeld een 1/1-verhouding van de overeenkomstige *N9*- en *N7*-regioisomeren.⁴³ Terwijl de alkylering van *O⁶*-(2-methoxyethyl)guanine **20** met 4-broombutylacetaat **21** onder basische omstandigheden (LiH, 80 °C, DMF) een 15/1-verhouding van *N9/N7*-isomeren **22** en **23** levert.⁵⁰



2.3. Synthese van *N*9-gefunctionaliseerde guaninen uitgaande van *O*⁶-beschermden guaninen via de Mitsunobu-reactie

*N*9-gefunctionaliseerde guaninen worden selectief verkregen uitgaande van *O*⁶-beschermden guaninederivaten via de Mitsunobu-reactie.⁴³⁻⁴⁵ Koppeling van onbeschermd guanine met alcoholen onder Mitsunobu-omstandigheden bleek niet mogelijk door de lage oplosbaarheid van guanine in THF, het beste solvent voor de Mitsunobu-reactie, en de vorming van nevenproducten door de hoge reactiviteit van de guaninekern.^{45,51}

De regioselectieve vorming van *N*9-gefunctionaliseerde guaninen kan wel verkregen worden door reactie van *N*²-acetyl-*O*⁶-difenylcarbamoylguanine **24** onder gewijzigde Mitsunobu-omstandigheden. Een variëteit aan alcoholen blijkt geschikt als reagentia voor deze regioselectieve alkylering. Ook het meer gehinderde 2-indanol en (–)-menthol vertonen een goede reactiviteit. Tertiair butanol blijkt echter niet geschikt als substraat voor de Mitsunobu-reactie ten gevolge van sterische hinder van het tertiair koolstofatoom. Ontscherming op de *O*⁶-plaats van het *N*9-gefunctionaliseerd guanine gebeurt door het verwarmen van een 1/1-mengsel ammoniumhydroxide en methanol tot 60 °C en dit te laten roeren gedurende 2 uur. De eindproducten **25** worden bekomen in hoge rendementen (72-86%), maar hoge temperaturen en het toevoegen van een extra equivalent van het alcohol zijn hierbij nodig.^{43,51,52} Door het gebruik van een diastereomeer alcohol is volledige inversie van de stereochemie aangetoond. De koppeling verloopt aldus volgens een S_N2-type reactie waarbij Walden-inversie optreedt.^{43,45}



ROH = primaire, secundaire, benzylicche, allylicche en propargylicche alcoholen

2.4. Synthese van *N9*-gefunctionaliseerde guaninen uitgaande van *C6*-halogeenpurinen via een S_N2-type alkylering

2-Amino-6-chloor- en 2-amino-6-joodpurine worden regelmatig gebruikt als startproduct voor de synthese van *N9*-gefunctionaliseerde guaninen. Alkylering van 2-amino-6-chloorpurine kan tot hoge rendementen en een hoge *N9/N7*-verhouding leiden mits het gebruik van kaliumcarbonaat als base en *N,N*-dimethylformamide (DMF) of dimethylsulfoxide (DMSO) als solvent. Bij alkylering van 2-amino-6-chloorpurine met 5-(2-broomethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxaan in DMF bij kamertemperatuur en kaliumcarbonaat als base was het *N7*-regioisomeer zelfs bijna niet detecteerbaar. Het *N9*-regioisomeer kon na opzuivering over kolomchromatografie op silicagel zuiver bekomen worden aan een rendement van 70%.⁴⁴

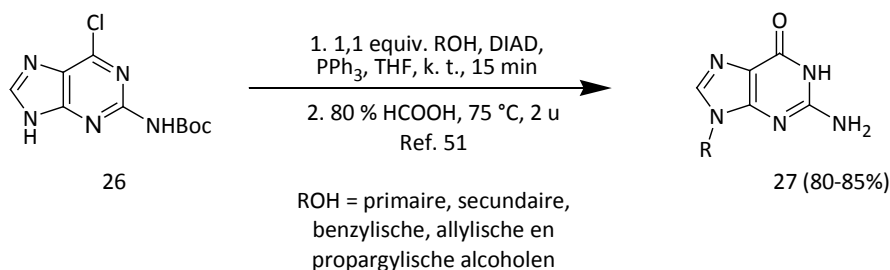
Het *N9*-gesubstitueerde 2-amino-6-chloorpurine kan eenvoudig omgezet worden naar het *N9*-gefunctionaliseerd guanine door middel van nucleofiele aromatische substitutie van het chlooratoom door een hydroxylgroep. Eén van de mildere methoden omvat het gebruik van water als nucleofiel reagens in een zuurkatalyseerde hydrolysereactie.⁴⁴

Als een goedkoper alternatief voor 2-amino-6-chloorpurine kan het 2,6-diaminopurine eveneens regioselectief omgezet worden tot 2-amino-6-(1,2,4-triazol-4-yl)purine, waarna volkomen selectieve alkylering kan uitgevoerd worden. Het overeenkomstig guaninederivaat wordt vervolgens eenvoudig verkregen via hydrolyse.⁴⁰

2.5. Synthese van *N9*-gefunctionaliseerde guaninen uitgaande van *C6*-halogeenpurinen via de Mitsunobureactie

6-Chloorpurin-2-yl-*tert*-butylcarbamaat **26** vormt een excellent substraat voor de Mitsunobureactie. Een hoge regioselectiviteit (5,3/1-11,5/1) wordt samen met hoge rendementen (80-88%) bekomen. De Mitsunobureactie gaat vlot door onder milde reactieomstandigheden waardoor na 15 minuten volledige conversie werd bekomen bij kamertemperatuur met slechts 1,1 equivalenten van het

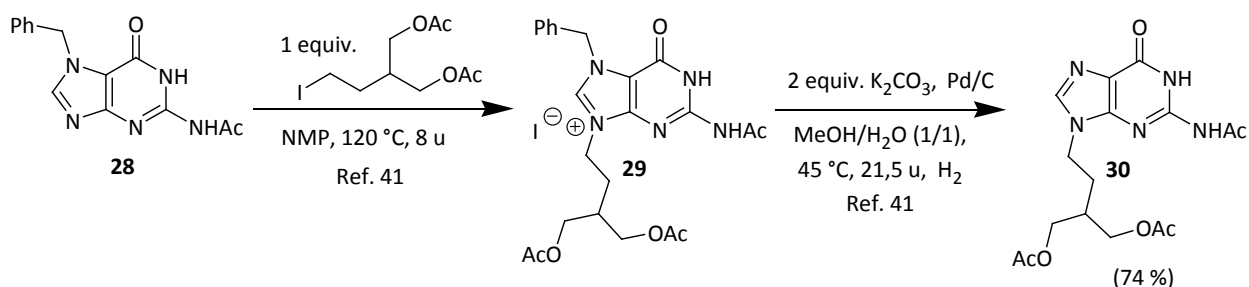
alcohol. Deze verhoging in efficiëntie ten opzichte van *N*²-acetyl-*O*⁶-difenylcarbamoylguanine **24** is wellicht te wijten aan de betere oplosbaarheid van het chloorpurinederivaat. De ontschermingsreactie van de *N*²-*tert*-butoxycarbonylgroep en de dechlorering werden bijna kwantitatief uitgevoerd (95-99%) in een 'one-pot' reactie.⁵¹



2-Amino-6-chloorpurine is bijgevolg een zeer geschikt reagens voor de Mitsunobu-reactie. Maar deze verbinding vertoont hoge mutagene eigenschappen, waardoor het gebruik hiervan op industriële schaal te vermijden is.⁴¹

2.6. Synthese van *N*9-gefunctionaliseerde guaninen uitgaande van *N*7-gefunctionaliseerde guaninen via een S_N2-type alkylering

Eén van de beste routes om *N*9-(aryl)alkylguaninen te bekomen is gebaseerd op de moeiteloze vorming van *N*7-(aryl)alkylguanosinen, die na hydrolyse van de suiker-purinebinding *N*7-(aryl)alkylguaninen leveren. Deze *N*7-beschermde guaninederivaten kunnen exclusief op de *N*9-plaats gefunctionaliseerd worden. Door ontscherming van de *N*7-substituent van het *N*7,*N*9-digesubstitueerde guaninederivaat kunnen selectief *N*9-gefunctionaliseerde guaninen bekomen worden. De benzylgroep en zijn derivaten zijn het meest voordelig als beschermgroep en worden door verschillende onderzoeksgroepen gebruikt.⁴³



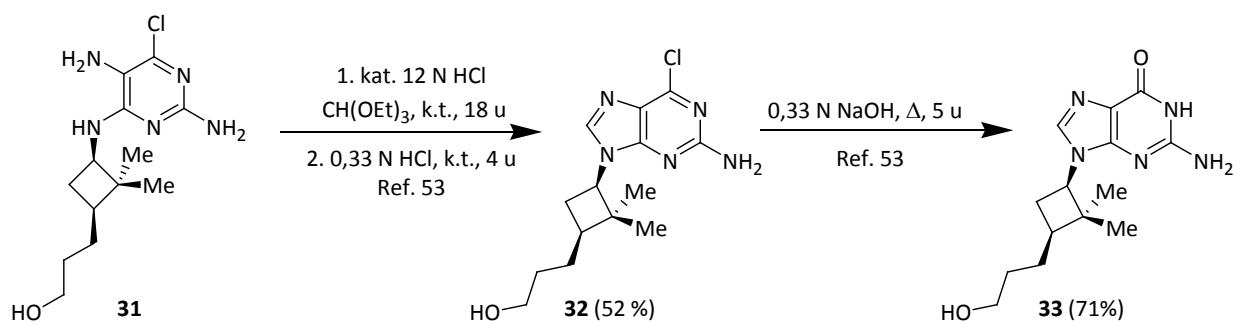
Het *N*²-beschermd benzylguanine **28** wordt via een S_N2-type alkyleringsreactie omgezet tot een *N*7/*N*9-digesubstitueerd guaninederivaat. Het gevormde imidazoliumion **29** is stabiel in neutrale omgeving, maar ontbinding treedt op in basische en zure omstandigheden. Het *N*7/*N*9-digesubstitueerd guaninederivaat **29** kan in dit geval niet geïsoleerd worden uit het reactiemengsel,

maar na hydrogenolyse van de benzylgroep en ontscherping van de N^2 -plaats wordt het eindproduct **30** zuiver bekomen via kristallisatie.⁴¹

2.7. Synthese van N^9 -gefunctionaliseerde guaninen uitgaande van pyrimidinederivaten via cyclisatie

Eén van de meest gebruikte methoden voor de synthese van N^9 -gesubstitueerde guaninen uit pyrimidinederivaten is de ringsluiting van N^4 -gesubstitueerde 6-chloor-2,4,5-triaminopyrimidinen **31**. Meestal wordt gebruik gemaakt van triëthylorthoformiaat in combinatie met een katalytische hoeveelheid zoutzuur.^{44,53-56} Het N^9 -gefunctionaliseerd guanine **33** wordt bekomen door middel van een aromatische nucleofiele substitutiereactie.

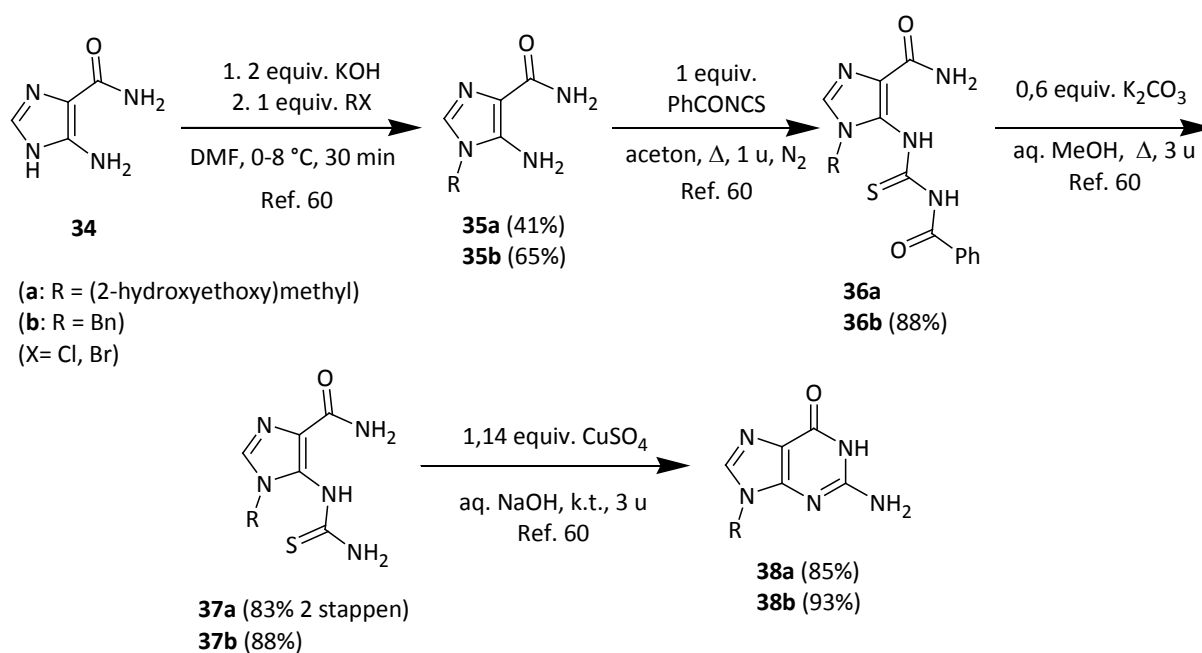
De cyclisatiestap kan ook in mildere omstandigheden uitgevoerd worden, bijvoorbeeld aan de hand van diëthoxymethylacetaat⁵⁷ of formamidineacetaat⁵⁸ ter vervanging van de katalytische hoeveelheid zoutzuur.



2.8. Synthese van N^9 -gefunctionaliseerde guaninen uitgaande van 5-aminoimidazool-4-carboxamide **30** via de Yamazaki-ringsluiting

De Yamazaki-ringsluiting werd voor het eerst gerapporteerd in 1967.⁵⁹ Daaropvolgend werden verschillende variaties van de Yamazaki-ringsluiting ontwikkeld.⁴³ In 1990 werd de Yamazaki-ringsluiting gezien als één van de klassieke routes voor de synthese van N^9 -gesubstitueerde guaninederivaten. Een voorbeeld van een variatie op de Yamazaki-ringsluiting voor de synthese van acyclovir **38a** wordt in onderstaand reactieschema weergegeven. De alkylering van 5-aminoimidazool-4-carboxamide **34** is de bepalende stap van de synthese. Door vorming van het ongewenste N^3 -regioisomeer is veelal een extra zuiveringsstap nodig. De $M1$ -regioisomeren **46** in dit voorbeeld waren echter kristallijn en konden uit het reactiemengsel geïsoleerd worden via filtratie. Hierbij werd zelfs een rendement van 65% bereikt voor het benzylgealkyleerd derivaat **46b**. De omzetting naar het 1-alkyl-5-[[N^4 -benzoyl(thiocarbamoyl)]amino]imidazool-4-carboxamide **36** en het overeenkomstig thioureum **37** verliep zonder problemen. Voor de cyclodesulfuryleringstap werden twee methodes onderzocht. In

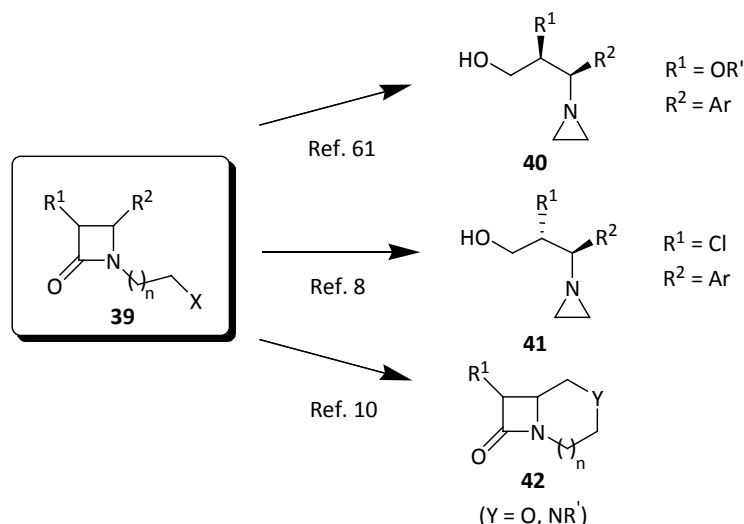
de eerste methode werden verschillende zouten van zware metalen getest waarbij de invloed van de concentratie en het aantal equivalenten van de hydroxylionen werd onderzocht. Daaruit bleek dat zouten van koper en zilver een beter resultaat gaven voor de desulfuryleringsreactie dan zouten van kwik, lood, zink, bismut of ijzer. Daarnaast bleek de molverhouding van de hydroxylionen essentieel voor de reactie terwijl de concentratie aan hydroxylionen slechts een klein effect bleek te hebben. In een tweede methode werd ringsluiting verkregen door oxidatie van zwavel (35 % H₂O₂, kat. Na₂WO₄, NaOH aq). Deze tweede methode gaf over het algemeen een lager rendement in vergelijking met de eerste methode.⁶⁰



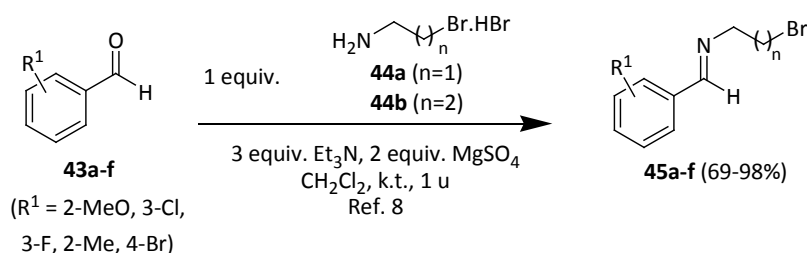
3. Bespreking van de resultaten

3.1. Synthese van 1-(ω -broomalkyl)-2-azetidionen

Binnen de vakgroep Duurzame Organische Chemie en Technologie (Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen, UGent) is reeds uitgebreid onderzoek gebeurd rond de synthese en omzetting van 1-(ω -halogeenalkyl)- β -lactamen **39**. Zo werd deze gespannen ringstructuur omgezet naar onder meer aziridinen^{8,61} **40** en **41** en bicyclische β -lactamen **42**.¹⁰



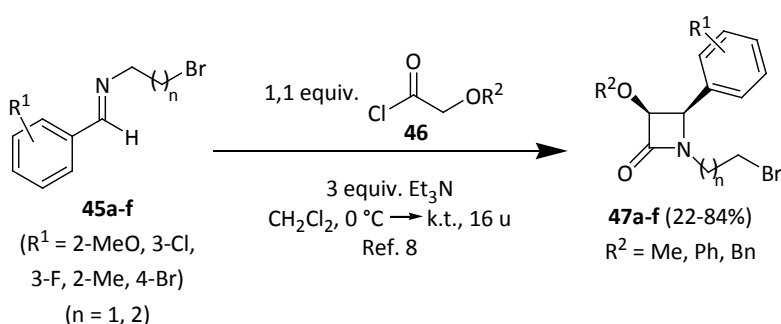
De synthese van 1-(ω -halogeenalkyl)- β -lactamen **39** verliep via de vorming van (*E*)-*N*-(arylmethylideen)-(ω -broomalkyl)aminen **45**. Deze iminen werden gevormd door reactie van verschillende benzaldehydederivaten **43** met één equivalent ω -broomalkylaminehydrobromide **44** in droge dichloormethaan in aanwezigheid van $MgSO_4$ (twee equivalenten) als droogmiddel en triëthylamine (drie equivalenten) als base, waarbij het mengsel gedurende één uur bij kamertemperatuur werd geroerd.⁸ In Tabel 1 wordt een overzicht gegeven van het substitutiepatroon en de verkregen rendementen van (*E*)-*N*-(arylmethylideen)-(ω -broomalkyl)aminen **45a-f**. De producten verkregen na iminering werden niet verder opgezuiverd omwille van hun hoge zuiverheidsgraad en hun instabiliteit en reactiviteit.



Tabel 1. Synthese van (*E*)-*N*-(arylmethylideen)-(ω-broomalkyl)aminen 45a-f

| Verbinding | n | R ¹ | Rendement (%) |
|------------|---|----------------|---------------|
| 45a | 1 | 2-MeO | 76 |
| 45b | 1 | 3-Cl | 69 |
| 45c | 2 | 3-F | 93 |
| 45d | 2 | 2-Me | 98 |
| 45e | 2 | 4-Br | 76 |
| 45f | 1 | 3-Cl | 72 |

Vervolgens werden de gesynthetiseerde iminen **45a-f** verder omgezet tot 1-(ω-broomalkyl)-2-azetidinonen **47a-f** aan de hand van de Staudingerreactie. 1,1 Equivalenten zuurchloriden **46** werden bij 0 °C langzaam toegedruppeld aan een oplossing van iminen **47a-f** in droge dichloormethaan in aanwezigheid van drie equivalenten triëthylamine als base. Na overnacht roeren bij kamertemperatuur werden *cis*-3-fenoxy-, *cis*-3-methoxy- en *cis*-3-benzyloxy-4 aryl-2-azetidinonen **47a-f** verkregen uit het reactiemengsel.⁸ In Tabel 2 wordt een overzicht gegeven van het substitutiepatroon en de verkregen rendementen van *cis*-3-fenoxy-, *cis*-3-methoxy- en *cis*-3-benzyloxy-4-aryl-2-azetidinonen **47a-f**.



Tabel 2. Synthese van 1-(ω-broomalkyl)-2-azetidinonen 47a-f

| Verbinding | n | R ¹ | R ² | Rendement ^{a,b} (%) |
|------------|---|----------------|----------------|------------------------------|
| 47a | 1 | 2-MeO | Me | 27 |
| 47b | 1 | 3-Cl | Ph | 23 |
| 47c | 2 | 3-F | Ph | 81 |
| 47d | 2 | 2-Me | Me | 84 |
| 47e | 2 | 4-Br | Bn | 75 |
| 47f | 1 | 3-Cl | Bn | 22 |

^aNa kolomchromatografie op silicagel

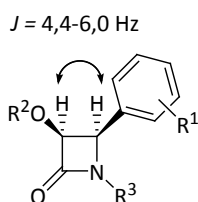
^bNa omkristallisatie uit absolute ethanol

In Tabel 3 worden enkele NMR-spectrale gegevens weergegeven van de gesynthetiseerde *cis*-3-fenoxy-, *cis*-3-methoxy- en *cis*-3-benzyloxy-4-aryl-2-azetidinonen **47a-f**.

Tabel 3. Karakteristieke NMR-spectrale gegevens van *cis*-3-fenoxy-, *cis*-3-methoxy- en *cis*-3-benzyloxy-4-aryl-2-azetidinonen **47a-f**

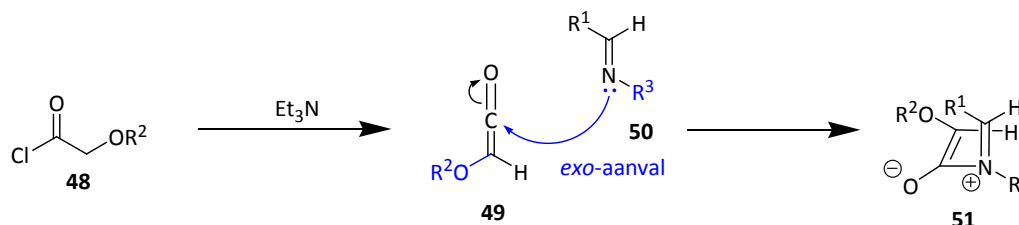
| R ² | ¹ H-NMR (ppm, CDCl ₃) | | ¹³ C-NMR (ppm, CDCl ₃) | |
|----------------|--|-----------|---|-----------|
| | CHO | CHN | CHO | CHN |
| Me | 4,75-4,78 | 5,03-5,37 | 85,4-85,9 | 56,6-59,0 |
| Ph | 5,46-5,53 | 4,95-5,11 | 82,0-82,2 | 62,3-62,5 |
| Bn | 4,88-4,96 | 4,68-4,85 | 83,6-84,0 | 62,3-62,5 |

De *cis*-stereochemie van de substituenten op de β-lactamring van de *cis*-3-fenoxy-, *cis*-3-methoxy- en *cis*-3-benzyloxy-4-aryl-2-azetidinonen **47a-f** werd bepaald aan de hand van de vicinale koppelingsconstante van de protonen op de C3- en C4-plaats van de ring. In de literatuur bedragen de waarden voor deze vicinale koppelingsconstanten 4,4-6,0 Hz voor de *cis*-isomeren en 0-2 Hz voor de *trans*-isomeren (CDCl₃).^{11,61,62} Voor gesynthetiseerde *cis*-3-fenoxy-, *cis*-3-methoxy- en *cis*-3-benzyloxy-4-aryl-2-azetidinonen **47a-f** bedroeg de waarde van de vicinale koppelingsconstanten steeds 4,4 of 4,7 Hz, hetgeen de *cis*-stereochemie bevestigt.



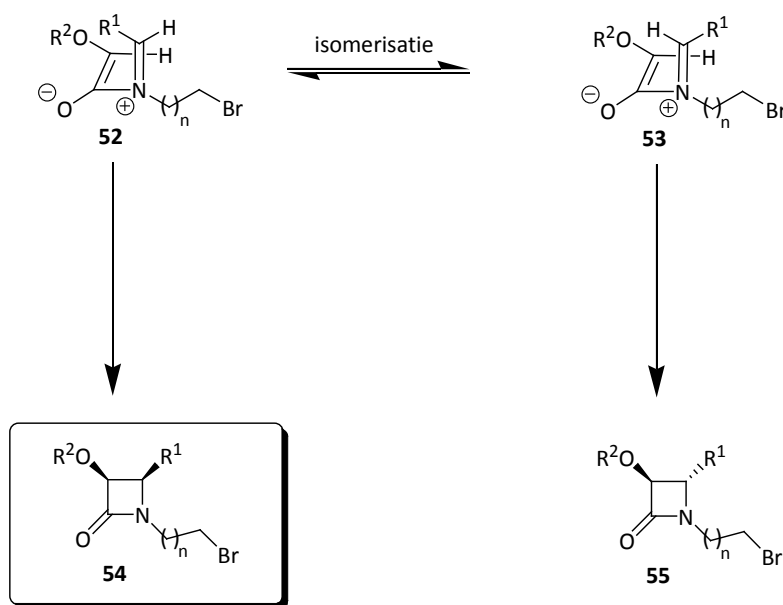
Ref 11,61,62

De verkregen *cis*-stereochemie kan verklaard worden aan de hand van het reactiemechanisme van de Staudingerreactie. In een eerste stap wordt zuurchloride **48** *in situ* omgezet tot keteen **49** aan de hand van deprotonering en eliminatie van het chlooratoom met triëthylamine als base. Vervolgens vindt een *exo*-aanval plaats van het vrije elektronenpaar van het stikstofatoom van imine **50** op het elektrofile koolstofatoom van het keteen, waardoor het zwitterion **51** gevormd wordt.



Vervolgens kan enerzijds directe conrotatorische ringsluiting optreden met de vorming van het *cis*-β-lactam **12** als gevolg, of anderzijds kan isomerisatie optreden rond de iminiumbinding van het zwitterion **52** alvorens conrotatorische ringsluiting plaatsvindt, leidend tot de vorming van het overeenkomstige *trans*-β-lactam **55**. Een snelle ringsluiting van het zwitterion **52** geeft dus aanleiding tot het thermodynamisch minder stabiele *cis*-β-lactam **54**, terwijl een trage ringsluiting de

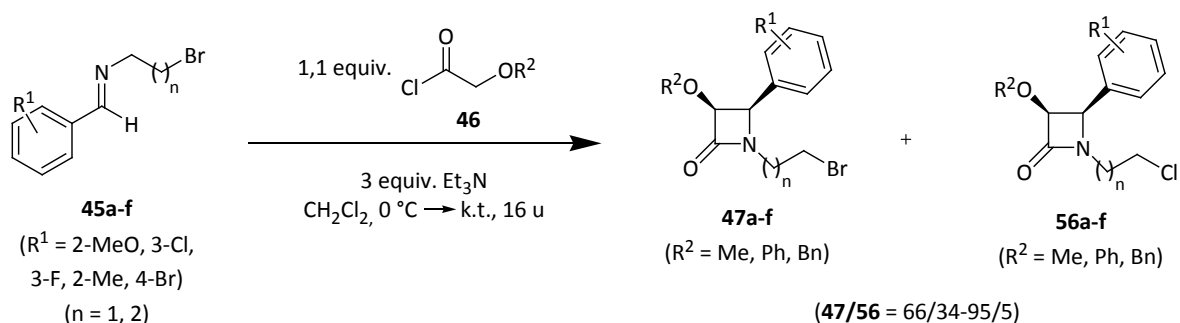
mogelijkheid geeft tot isomerisatie van het zwitterion **52** tot het intermediair **53** waaruit het thermodynamisch stabielere *trans*- β -lactam **55** wordt gevormd. De stereoselectiviteit van de reactie wordt dus bepaald door de competitie tussen directe ringsluiting en isomerisatie. De snelheid van ringsluiting van het zwitterion in de Staudinger-reactie wordt sterk beïnvloed door de natuur van de substituenten. Elektronengevende substituenten op keteen **49** en elektronenzuigende substituenten op imine **50** zullen de ringsluiting versnellen met vorming van *cis*- β -lactam **12** tot gevolg, terwijl een elektronenzuigende keteensubstituent en een elektronengevende iminesubstituent de ringsluiting zal vertragen.³⁸



In het geval van de gesynthetiseerde 1-(ω -broomalkyl)-2-azetidinonen **47a-f** draagt het keteenderivaat **49**, dat *in situ* gevormd wordt uit zuurchloride **46**, een elektronengevende methoxy-, fenoxy- of benzyloxygroep waardoor directe conrotatorische ringsluiting bevorderd wordt, met de synthese van *cis*-3-fenoxy-, *cis*-3-methoxy- en *cis*-3-benzyloxy-4-aryl-2-azetidinonen **47a-f** als resultaat.

In de 1H -NMR-spectra en ^{13}C -NMR-spectra van de gesynthetiseerde 1-(ω -broomalkyl)-2-azetidinonen **47a-f** werden echter ook verschillende onverwachte signalen waargenomen. In het geval van 1-(2-broomethyl)-2-azetidinonen **47a**, **47b** en **47f** lagen deze signalen in de 1H -NMR- en ^{13}C -NMR-spectra tussen 3-4 ppm en 40-65 ppm respectievelijk ($CDCl_3$). In het geval van 1-(3-broompropyl)-2-azetidinonen **47c-e** lagen de onverwachte signalen in de ^{13}C -NMR spectra tussen 25 en 45 ppm terwijl in de 1H -NMR-spectra multipletten te zien zijn tussen 1,92 en 4 ppm ($CDCl_3$). Uit de massaspectra van de 1-(ω -broomalkyl)-2-azetidinonen **47a-f** is gebleken dat deze signalen afkomstig zijn van 1-(ω -chloroalkyl)-2-azetidinonen **56a-f**. Dit valt te verklaren door het vrijkomen van een

chloraanion bij de *in situ* vorming van keteen **49**. Hierdoor is triëthylamine hydrochloride in het reactiemengsel aanwezig en kunnen de chloraanionen vervolgens optreden als nucleofiel reagens in een S_N2-type substitutiereactie waarbij het broomatoom in 1-(ω-broomalkyl)-2-azetidinonen **47a-f** vervangen wordt door een chlooratoom. De waargenomen verhoudingen tussen 1-(ω-broomalkyl)-2-azetidinonen **47a-f** en 1-(ω-chlooralkyl)-2-azetidinonen **56a-f** worden weergegeven in Tabel 4.

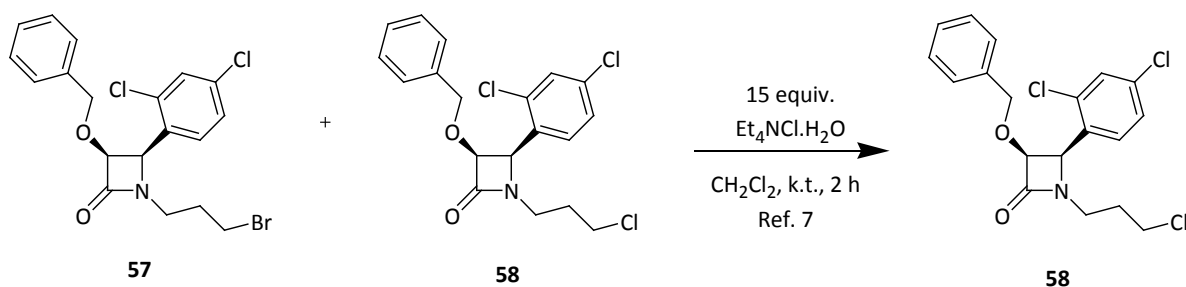


Tabel 4. Verhoudingen van gesynthetiseerde 1-(ω-broomalkyl)-2-azetidinonen **47a-f** en 1-(ω-chlooralkyl)-2-azetidinonen **56a-f**

| Verbinding | n | R ¹ | R ² | Verhouding 47/56 ^a |
|----------------|---|----------------|----------------|-------------------------------|
| 47a/56a | 1 | 2-MeO | Me | 70/30 |
| 47b/56b | 1 | 3-Cl | Ph | 95/5 |
| 47c/56c | 2 | 3-F | Ph | 66/34 |
| 47d/56d | 2 | 2-Me | Me | 66/34 |
| 47e/56e | 2 | 4-Br | Bn | 75/25 |
| 47f/56f | 1 | 3-Cl | Bn | 83/27 |

^aBepaald door vergelijking van de integraties in de ¹H-NMR-spectra (CDCl₃)

Deze hypothese werd eerder bewezen binnen de vakgroep Duurzame Organische Chemie en Technologie (Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen, UGent). Een mengsel van *cis*-3-benzyloxy-1-(3-broompropyl)-4-(2,4-dichloorfenyl)-2-azetidinon **57** en *cis*-3-benzyloxy-1-(3-chloorpropyl)-4-(2,4-dichloorfenyl)-2-azetidinon **58** werd gedurende twee uur geroerd bij kamertemperatuur in de aanwezigheid van 15 equivalenten tetraethylammoniumchloride in dichloormethaan, waarna exclusief *cis*-3-benzyloxy-1-(3-chloorpropyl)-4-(2,4-dichloorfenyl)-2-azetidinon **58** bekomen werd.



De gesynthetiseerde 1-(ω -broomalkyl)-2-azetidinonen **47a-f** behoren tot een belangrijke klasse van verbindingen. Door hun gespannen ringstructuur en de aanwezigheid van een gehalogeneerd koolstofatoom zijn deze β -lactamen uitermate geschikt voor verdere chemische omzettingen tot al dan niet azaheterocyclische verbindingen met mogelijke bioactiviteit.⁶⁴⁻⁶⁶

3.2. Synthese van 1-[ω -(*N*²-acetylguanin-9-yl)alkyl]-2-azetidinonen

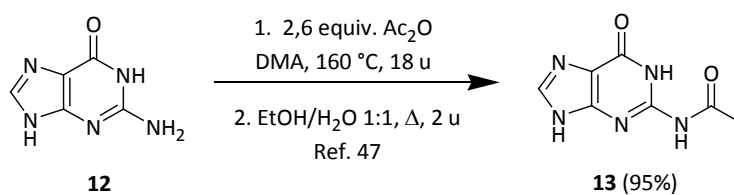
In de vorige paragraaf werd de synthese van 1-(ω -broomalkyl)-2-azetidinonen **47a-f** beschreven. In deze paragraaf zal de alkylering van *N*²-acetylguanine met deze gesynthetiseerde β -lactamen onderzocht worden, waarbij de synthese van *N*9-gefunctionaliseerde guaninederivaten beoogd wordt. Hierbij wordt verwacht dat de lage oplosbaarheid van guanine en de vorming van verschillende regioisomeren (*N*7- en *N*9-isomeren) de belangrijkste problemen zullen vormen. De synthese van nieuwe guaninederivaten is interessant door de hoge biologische relevantie van deze klasse van verbindingen. De ontdekking van acyclovir als antiviraal middel heeft geleid tot de ontwikkeling van verschillende *N*9-gefunctionaliseerde guaninen met antivirale activiteit, zoals ganciclovir en cyclopropavir. Bovendien werd aan de vakgroep Duurzame Organisch Chemie en Technologie (Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen, UGent) reeds onderzoek gedaan rond de synthese en bioactiviteit van purine- β -lactamhybriden, waarbij acht van de tien gesynthetiseerd purine- β -lactamhybriden antivirale activiteit vertoonden tegen vijf van de negen geteste virussen, waaronder het cytomegalovirus en het hepatitis-B virus.⁷ De structuur van de in deze Masterproef vooropgestelde guanine- β -lactamhybriden leunen dichter aan tegen de structuur van het natuurlijke nucleotide guanosine, waardoor de kans hoog wordt ingeschat dat deze guanine- β -lactamhybriden een betere bioactiviteit zullen vertonen.

3.2.1. Synthese van *N*²-acetylguanine

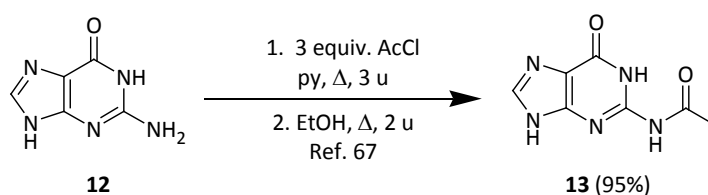
Om *N*9-alkylering van guanine **12** te verkrijgen dient eerst een beschermgroep op de guaninekern geplaatst te worden. Regioselectieve alkylering van onbeschermd guanine **12** is immers niet mogelijk gezien de hoge reactiviteit van de guaninekern en de lage oplosbaarheid van guanine. Door het plaatsen van een acetylgroep op de *N*²-plaats wordt de vorming van *N*1- en *N*²-regioisomeren vermeden.

De synthese van *N*²-acetylguanine **13** verliep volgens twee verschillende methoden, waarbij telkens uitgegaan werd van de synthese van *N*²,*N*9-diacetylguanine. In een eerste methode werden 2,6 equivalenten azijnzuuranhydride aan een suspensie van guanine **12** in *N,N*-dimethylacetamide (DMA) toegevoegd waarna het reactiemengsel gedurende 18 uur geroerd werd bij 160 °C. In een tweede stap werd een suspensie van het gevormde *N*²,*N*9-diacetylguanine **13** in ethanol/water (1/1)

verwarmd tot refluxtemperatuur gedurende twee uur. Aan de hand van karakteristieke NMR-spectrale gegevens en LC-MS-analyse kon de structuur van het bekomen product bevestigd worden. Het beoogde *N*²-acetylguanine **13** werd bekomen in een rendement van 95%.⁴⁷



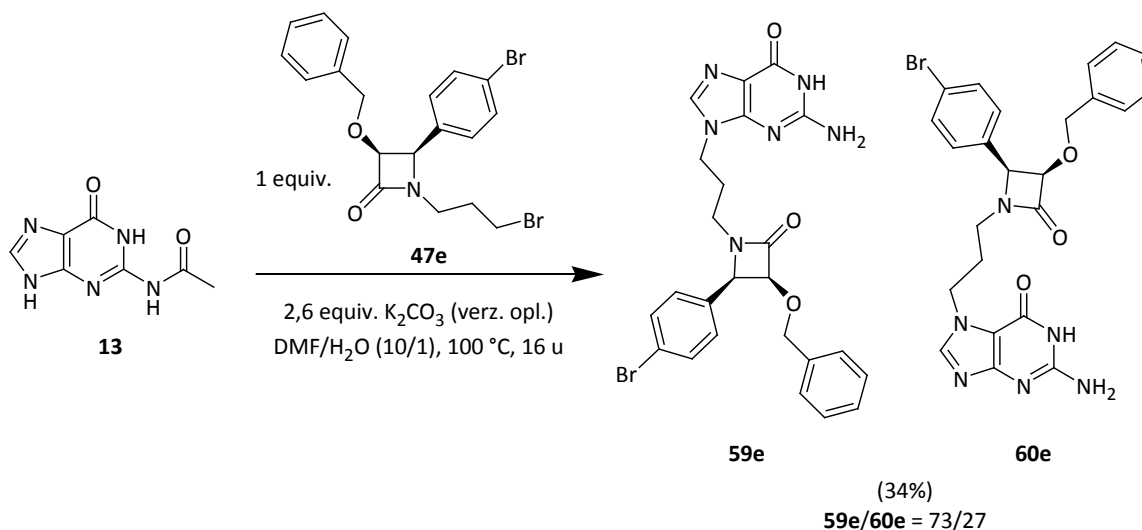
Wegens de beperkte beschikbaarheid van azijnzuuranhydride werd vervolgens naar een andere methode overgegaan ter synthese van *N*²,*N*⁹-acetylguanine **13**, gebaseerd op een procedure voor de synthese van *N*²-pivaloylguanine.⁶⁷ Hierbij werden drie equivalenten acetylchloride toegevoegd aan een suspensie van één equivalent guanine **12** in pyridine en gedurende drie uur geroerd bij refluxtemperatuur. Vervolgens werd het solvent ingedampt en vervangen door ethanol, waarna het reactiemengsel gedurende twee uur werd geroerd bij refluxtemperatuur. Via deze procedure werd *N*²-acetylguanine **13** eveneens bekomen in een rendement van 95%.



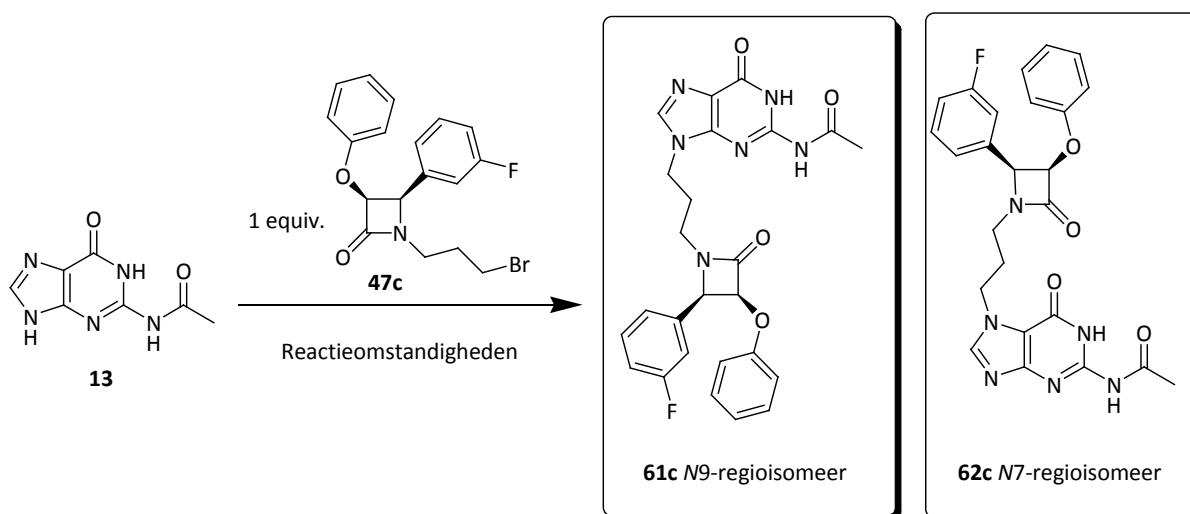
3.2.2. Synthese van 1-[ω-(*N*²-acetylguanin-9-yl)alkyl]-2-azetidinonen

Voor de synthese van de vooropgestelde *N*⁹-gefunctionaliseerde guaninederivaten **59** werden verschillende reactieomstandigheden onderzocht. In een eerste experiment werd één equivalent 3-benzyloxy-4-(4-broomfenyl)-1-broompropyl-2-azetidinon **47e** met *N*²-acetylguanine **13** in *N,N*-dimethylformamide geroerd gedurende 16 u bij 100 °C in aanwezigheid van 2,6 equivalenten kaliumcarbonaat (aq) als base. Uit het reactiemengsel werden vervolgens de *N*⁷- en *N*⁹-regioisomeren *cis*-1-[3-(2-aminopurin-6-on-9-yl)propyl]-4-(4-broomfenyl)-3-benzyloxy-2-azetidinon **59e** en *cis*-1-[3-(2-aminopurin-6-on-7-yl)propyl]-4-(4-broomfenyl)-3-benzyloxy-2-azetidinon **60e** in een *N*⁹/*N*⁷-verhouding van 73/23 verkregen in een rendement van 34%. Zoals kon verwacht worden had ontscherming van de acetylgroep op de *N*²-plaats plaatsgevonden. Ondanks verschillende ondernomen pogingen kon de scheiding van deze regioisomeren niet gerealiseerd worden ten gevolge van de lage oplosbaarheid van deze derivaten. Zo werd getracht deze regioisomeren te scheiden aan de hand van omkristallisatie in acetonitril, methanol/water (1/1) en dimethylsulfoxide. Daarnaast werd gepoogd deze derivaten te scheiden aan de hand van graduele kolomchromatografie met een solventmengsel

van chloroform, methanol en ammoniumhydroxide. Daarbij werd telkens 0,2% (v/v) ammoniumhydroxide gebruikt en een stijgende hoeveelheid methanol gaande van 4,8% tot 9,8% (v/v). De derivaten bleken echter dusdanig slecht oplosbaar dat geen scheiding mogelijk was. Tenslotte werd nagegaan of een omkristallisatie in ethyleenglycol, *tert*-butylmethylether, 1,2-methoxyethaan, diglyme of tetrahydrofuran kon zorgen voor een scheiding van *N*7-en *N*9-regio-isomeren **59e** en **60e**. Dat bleek echter niet het geval te zijn waardoor werd geopteerd het mengsel in zijn geheel te karakteriseren.



Toepassing van dezelfde reactieomstandigheden werd bestudeerd voor de overige 1-(ω -broomalkyl)-2-azetidinonen **47a-c** en **47f**. Hierbij werd echter een mengsel van gedeacetyleerde en geacetyleerde producten verkregen, waardoor overgegaan werd op de evaluatie van andere reactieomstandigheden. In Tabel 5 staan de verschillende reactieomstandigheden en hun resultaat weergegeven.



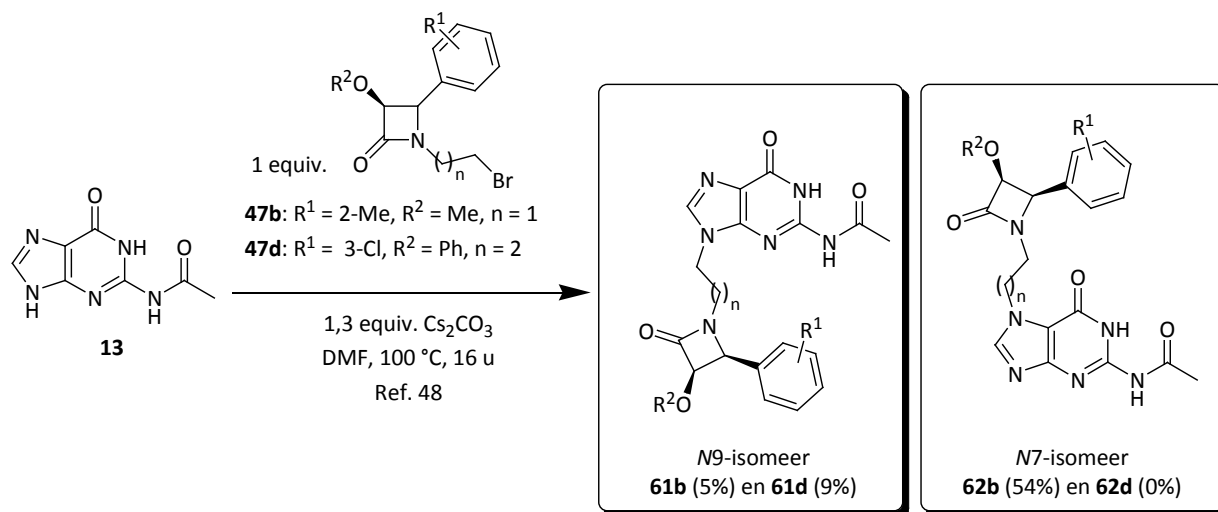
Tabel 5. Synthese van *cis*-1-[3-(2-acetylamino-purin-6-on-9-yl)propyl]-3-fenoxy-4-(3-fluorfenyl)-2-azetidinon **61c** onder verschillende reactieomstandigheden

| Base | Reactieomstandigheden | | | Resultaat ^a |
|---|--|-------------|------|--|
| | Solvent | Temperatuur | Duur | |
| 2,6 equiv. K ₂ CO ₃ (verz. opl.) | DMF | 100 °C | 16 u | Onvolledige omzetting van 47c (85%) |
| 5 equiv. K ₂ CO ₃ | DMF | 100 °C | 16 u | Onvolledige omzetting van 47c (89%) |
| 2 equiv. Cs ₂ CO ₃ | DMF | 100 °C | 16 u | Onvolledige omzetting van 47c (84%) |
| 1,3 equiv. Cs ₂ CO ₃ | DMSO onder N ₂ - atmosfeer | 80 °C | 16 u | Volledige omzetting van 47c tot hybriden 61c en 62c |

^aDe resultaten werden bepaald door vergelijking van de integraties in de ¹H-NMR-spectra van de ruwe reactiemengsels (DMSO)

Volledige omzetting van het 1-broompropyl-3-fenoxy-4-(3-fluorfenyl)-2-azetidinon **47c** werd enkel verkregen bij het toevoegen van één equivalent 1-broompropyl-3-fenoxy-4-(3-fluorfenyl)-2-azetidinon **47c** in een oplossing van één equivalent *N*²-acetylguanine **13** en 1,3 equivalenten cesiumcarbonaat als base in dimethylsulfoxide (DMSO) onder stikstofatmosfeer, waarna het reactiemengsel gedurende 16 u geroerd werd bij 80 °C. Hierbij werd vastgesteld dat een mengsel van *N*7- en *N*9-gealkyleerd guanine **61c** en **62c** gevormd was, waarin het *N*9-gefunctionaliseerd guanine **61c** als minorproduct aanwezig was (**61c/62c** = 47/53). Dit is in tegenstelling tot wat vastgesteld werd bij eerder onderzoek aan de vakgroep Duurzame Organische Chemie en Technologie (Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen, UGent) waar de *N*9-alkylering van 6-benzylaminopurine en 6-benzyloxypurine met 1-(ω-halogeenaalkyl)-β-lactamen bestudeerd werd resulterend in overwegend *N*9-alkylering.⁸ Dit resultaat correspondeert echter wel met hetgeen teruggevonden wordt in de literatuur voor de alkylering van *N*²-beschermd guanine via een S_N2-type substitutiereactie, waarbij dikwijls overwegend *N*7-alkylering wordt vastgesteld.⁴⁶⁻⁴⁹

Vervolgens werd de alkylering van *N*²-acetylguanine **13** met 1-(ω-halogeenaalkyl)-β-lactamen **47b** en **47d** volgens dezelfde reactieomstandigheden uitgevoerd. De scheiding van de *N*9- en *N*7-regioisomeren gebeurde aan de hand kolomchromatografie op silicagel. Daarbij werd ook gebruik gemaakt van automatische kolomchromatografie gezien het handmatig uitvoeren van kolomchromatografie veel tijd vergt. In Tabel 6 wordt een overzicht gegeven van het substitutiepatroon, verhoudingen en bekomen rendementen van *N*7- en *N*9-regioisomeren **61** en **62**.



(61/62 = 27/73-58/42)

Tabel 6. Rendementen en *N9/N7*-verhoudingen van gesynthetiseerde *N9*- en *N7*-gefunctionaliseerde guaninen 61b-d, 62b-d, 59e en 60e

| Verbinding | n | R ¹ | R ² | Verhouding <i>N9/N7</i> ^a | Rendement <i>N9</i> -isomeer 61b-d ^b | Rendement <i>N7</i> -isomeer 62b-d ^b |
|----------------|---|----------------|----------------|---|---|---|
| 61b/62b | 1 | 3-Cl | Ph | 61/38 | 3% | 28% |
| 61c/62c | 2 | 3-F | Ph | 47/53 | 9% | 39% |
| 61d/62d | 2 | 2-Me | Me | - | 9% | 0% |
| 59e/60e | 2 | 4-Br | Bn | 27/73 | - | - |

^aDe verhoudingen werden bepaald door vergelijking van de integraties in het ¹H-NMR-spectra van de ruwe reactiemengsels (DMSO)

^bNa kolomchromatografie op silicagel

Over het algemeen werden lage rendementen bekomen na kolomchromatografie. De scheiding verliep moeizaam door de lage oplosbaarheid van guaninederivaten in chloroform/methanol (95/5) of dichloormethaan/methanol (95/5).

De *N7*-Gefunctionaliseerde guaninederivaten **62** vormen een uitbreiding van het vooropgestelde doel. Slechts weinig is geweten omtrent de bioactiviteit van *N7*-gefunctionaliseerde derivaten. *N7*-Gealkyleerde guaninen worden vooral in verband gebracht met mutagenesis en carcinogenesis.⁴³ Recent werd ook de inhibitie van het enzym NTPase NS3 uit het hepatitis C-virus door enkele *N7*-gefunctionaliseerde guaninen aangetoond.⁶⁸ Het is dus niet uitgesloten dat gesynthetiseerde *N7*-gefunctionaliseerde guaninen **62** geen antivirale activiteit vertonen. Deze derivaten zullen dan ook in dat verband op hun antivirale activiteit getest worden.

Aan de hand van [¹H-¹³C]-HMBC-NMR-spectra kon het verschil tussen de regio-isomeren bepaald worden. In het [¹H-¹³C]-HMBC-NMR-spectrum is de koppeling tussen de protonen op de CH₂N-

koolstof het dichtst bij de purinekern en het C4- of C5-koolstofatoom van de purinekern duidelijk te zien (zie Figuur 1 en Figuur 2). Aan de hand van het koppelingspatroon tussen het proton op de C8-plaats van de purinekern (de chemische verschuiving is weergegeven in Tabel 7) zijn de koolstofatomen van de purinekern duidelijk te onderscheiden van de aromatische koolstofatomen van de (gesubstitueerde) fenylgroepen. Het C5-koolstofatoom van de purinekern kan gemakkelijk herkend worden door een beduidend lagere chemische verschuiving in vergelijking met de andere koolstofatomen van de purinekern (zie Figuur 2).

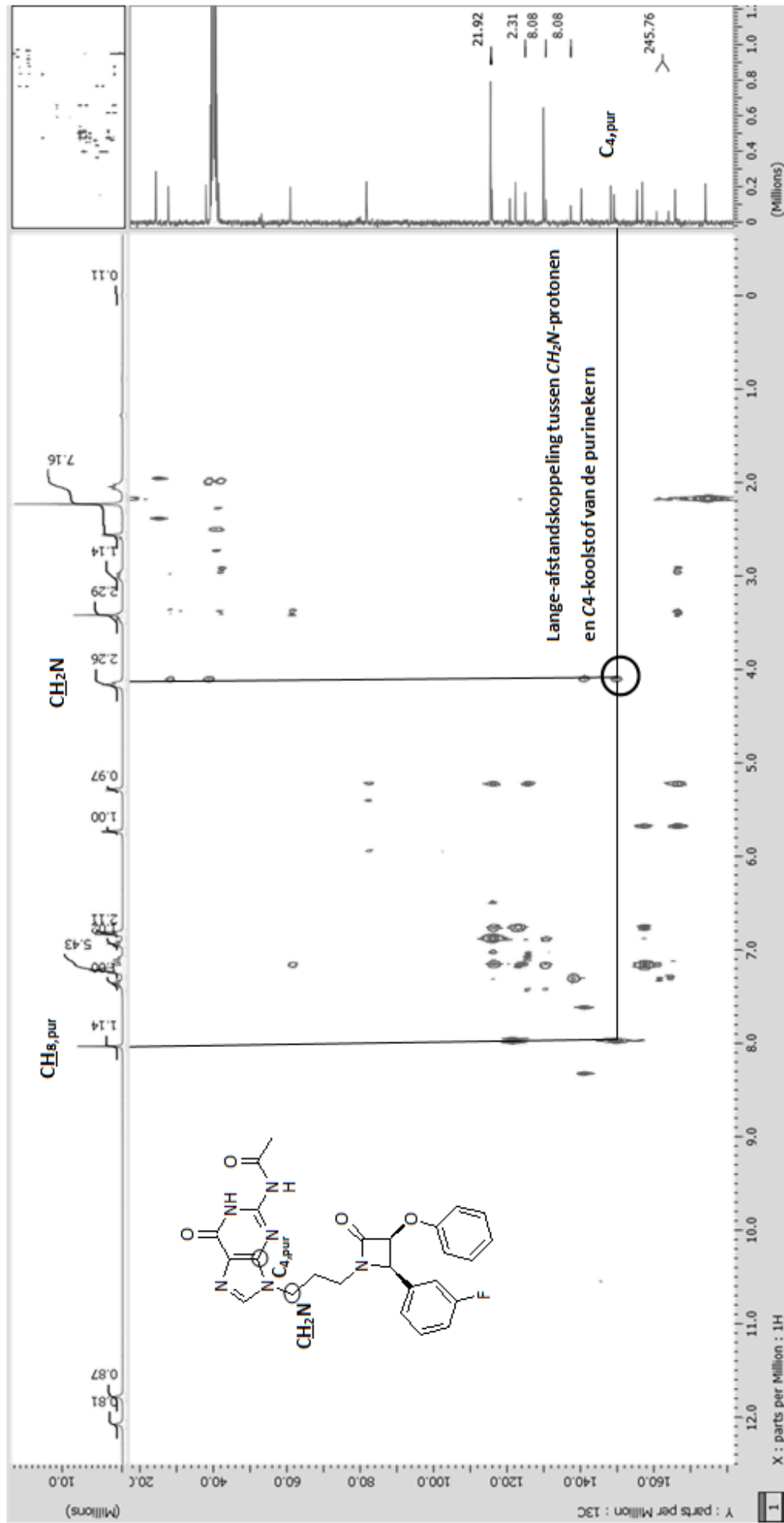
Naast de lange-afstandskoppeling blijken ook de chemische verschuivingen voor het H8-proton en het C8-koolstofatoom in de ¹H-NMR- en ¹³C-NMR-spectra karakteristiek te zijn voor de verschillende regioisomeren. In Tabel 7 worden deze NMR-spectrale gegevens weergegeven. De chemische verschuiving van zowel het proton als het koolstofatoom blijkt telkens lager te liggen voor het N9-isomeer **61** dan voor het N7-isomeer **62**. Dit stemt overeen met hetgeen reeds beschreven staat in de literatuur.⁴⁶⁻⁴⁹

Tabel 7. Karakteristieke NMR-spectrale gegevens van N9- en N7-gefunctionaliseerde guaninen 61b-d, 62b-d, 59e en 60e

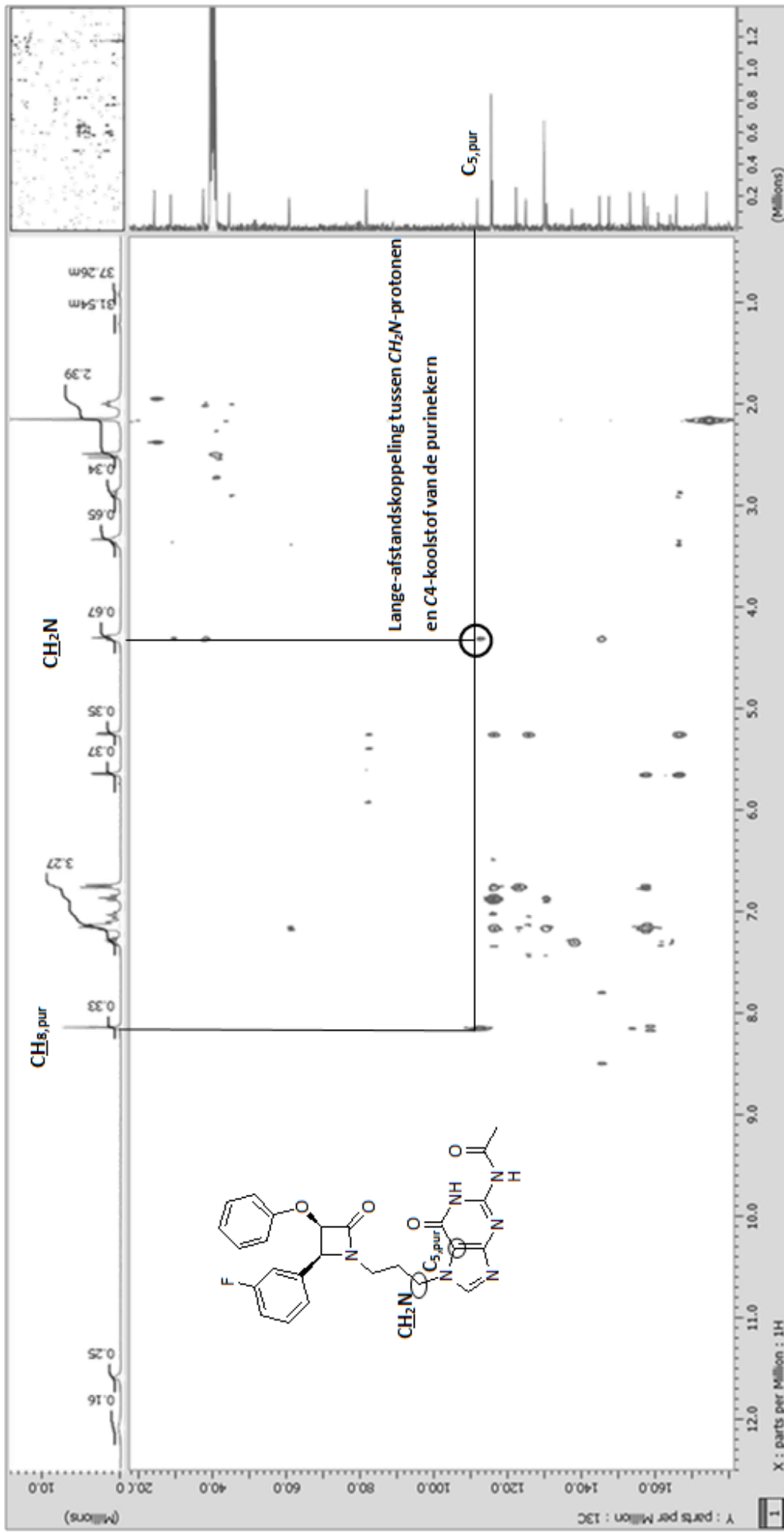
| Verbinding | n | R ¹ | R ² | ¹ H-NMR (ppm, DMSO) | | ¹³ C-NMR (ppm, DMSO) | |
|----------------|---|----------------|----------------|--------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| | | | | <u>CH</u> _{pur,N9} | <u>CH</u> _{pur,N7} | <u>CH</u> _{pur,N9} | <u>CH</u> _{pur,N7} |
| 61b/62b | 1 | 3-Cl | Ph | 8,03 | 8,23 | 140,2 | 145,2 |
| 61c/62c | 2 | 3-F | Ph | 7,96 | 8,13 | 140,3 | 144,9 |
| 61d/62d | 2 | 2-Me | Me | 7,95 | - | 140,3 | - |
| 59e/60e | 2 | 4-Br | Bn | 7,57 | 7,81 | 138,0 | 143,7 |

Naast de synthese van [ω-(N²-acetylguanin-9-yl)alkyl]-2-azetidinonen **62** werd in een tweede fase de focus van deze thesis verlegd naar de synthese van N1-gefunctionaliseerde thyminederivaten. Uit onderzoek aan de vakgroep Duurzame Organische Chemie en Technologie (Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen, UGent) is reeds gebleken dat purine-β-lactamhybriden een beduidend betere bioactiviteit vertonen dan de overeenkomstige γ-aminoalcoholen, bijgevolg werd besloten om in het kader van deze scriptie geen aandacht te besteden aan de reductieve ringopening van de bekomen guanine-β-lactamhybriden.

In het tweede deel van deze scriptie wordt de synthese van thymine-β-lactamhybriden aan de hand van N1-alkylering van thymine **17** met 1-(ω-broomalkyl)-2-azetidinonen **47a-f** beoogd. De synthese van N1-gefunctionaliseerde thyminederivaten biedt immers toegang tot een nieuwe klasse van verbindingen met mogelijke bioactiviteit, namelijk thymine-β-lactamhybriden.



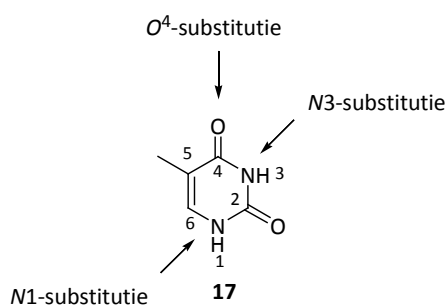
Figuur 1. HMBC-[¹H-¹³C]-NMR-spectrum van *cis*-1-[3-(2-acetylamino-6-on-9-yl)propyl]-3-fenoxy-4-(3-fluorfenyl)-2-azetidinon 61c



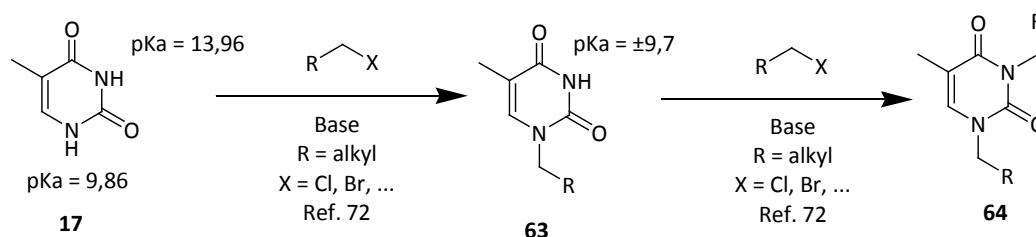
Figuur 2. HMBC-¹H-¹³C-NMR-spectrum van *cis*-1-[3-(2-acetylamino-6-on-7-yl)propyl]-3-fenoxy-4-(3-fluorofenyl)-2-azetidinon 62c

3.3. Synthese van 1-[ω-(thymine-1-yl)alkyl]-2-azetidinonen

Naast de in de medische wereld alombekende anti-HIV-middelen zidovudine en stavudine zijn er slechts weinig of geen *N*1-gefunctionaliseerde thymine ontwikkeld met een antivirale activiteit. In de literatuur wordt de synthese en biotesting van thymine-pyrrolidinehybriden^{69,70} en thymine-ribofuranhybriden⁷¹ beschreven. Geen van de geteste componenten blijkt echter een significante antivirale activiteit te vertonen. De vorming van thymine-β-lactamhybriden door *N*1-alkylering van thymine **17** met 1-(ω-halogeenalkyl)-β-lactamen **47** omvat een nieuwe benadering in dat verband en zal mogelijk kunnen leiden tot een nieuwe klasse van antivirale verbindingen.

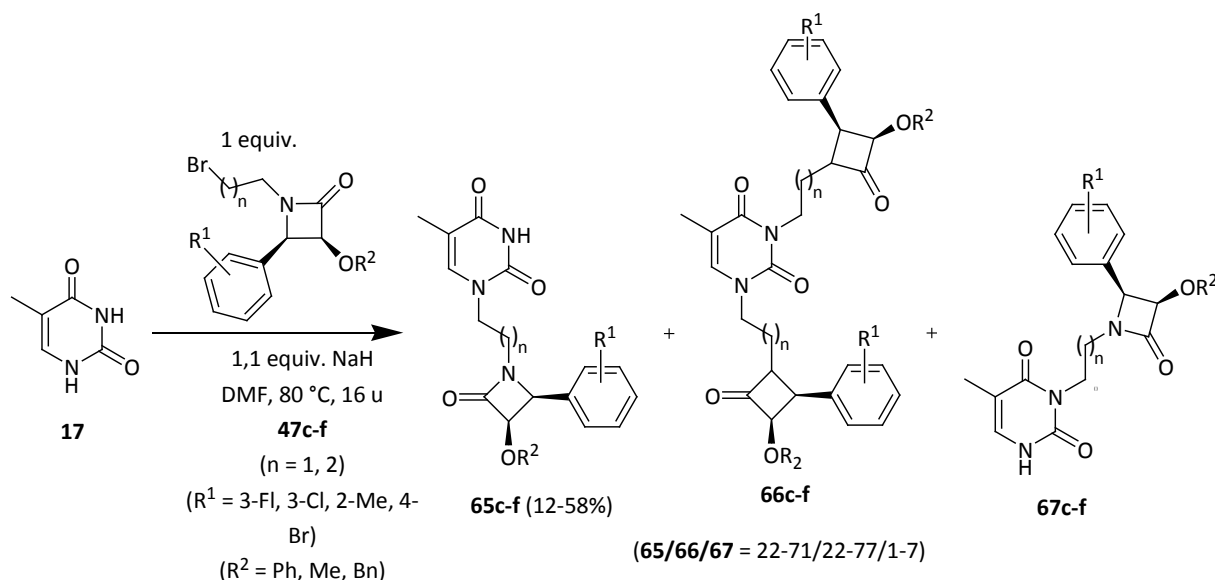


Net als bij de alkylering van *N*²-acetylguanine **13** komt bij de alkylering van thymine **17** het probleem van de vorming van regioisomeren voor, met dit verschil dat naast *N*1-gefunctionaliseerd thymine **62** hoofdzakelijk *N*1,*N*3-digesubstitueerd thymine **63** wordt gevormd. Dit wordt veroorzaakt door het verhogen van de zuurtegraad van het proton op het *N*3-stikstofatoom van de pyrimidinekern na *N*1-alkylering. Initiëel bedragen de zuurconstanten van het proton op het *N*1- en *N*3-stikstofatoom respectievelijk 9,86 en 13,96, waardoor *N*1-alkylering bevorderd wordt. Na *N*1-alkylering van de pyrimidinekern verhoogt de zuurtegraad van het proton op het *N*3-stikstofatoom (voor uracil bedraagt deze 9,71), waardoor competitie optreedt tussen *N*1-alkylering van thymine **17** en *N*3-alkylering van *N*1-alkylthymine **63** met vorming van *N*1,*N*3-digefunctionaliseerd thymine als resultaat. Daarnaast kunnen *N*3- en *O*⁴-gealkyleerd thymine voorkomen als minorcomponenten in het reactiemengsel.⁷²



Voor de synthese van 1-[ω-(thymine-1-yl)alkyl]-2-azetidinonen **65c-f** werd één equivalent thymine **17** tezamen met 1,1 equivalent natriumhydride opgelost in *N,N*-dimethylformamide en gedurende één

uur geroerd bij kamertemperatuur. Vervolgens werden één equivalent van de reeds gesynthetiseerde 1-(ω -broomalkyl)-2-azetidinonen **47c-f** toegevoegd en werd het reactiemengsel overnacht (16 uur) geroerd bij 80 °C. Tijdens de reactie met 1-(3-broompropyl)-2-azetidinonen **47c-f** werden zoals verwacht drie producten gevormd namelijk *N*1-gefunctionaliseerde thyminen **65c-e**, *N*1,*N*3-digefunctionaliseerde thyminen **66c-e** en *N*3-gefunctionaliseerde thyminen **67c-e** (**65/66/67** = 22-71/22-77/1-7). In het geval van 1-(2-broomethyl)-2-azetidinon **47f** werd een complex reactiemengsel gevormd, waarbij de gevormde reactieproducten niet verder werden geanalyseerd. In Tabel 8 wordt een overzicht gegeven van het substitutiepatroon, de verkregen rendementen en de verhouding van de gesynthetiseerde *N*1-gefunctionaliseerde thyminen **65c-e**, *N*1,*N*3-digefunctionaliseerde thyminen **66c-e** en *N*3-gefunctionaliseerde thyminen **67c-e**.



Tabel 8. Verhouding van major- en minorcomponenten bij de synthese van 1-[(ω -thymin-1-yl)alkyl]-2-azetidinonen **65c-f**

| Verbinding | n | R^1 | R^2 | Verhouding 65/66/67 ^a | Rendement 65 (%) |
|--------------------|---|-------|-------|--|----------------------------|
| 65c/66c/67c | 2 | 3-F | Ph | 71/22/7 | 17 |
| 65e/66e/67e | 2 | 4-Br | Bn | 22/77/1 | 12 |
| 65d/66d/67d | 2 | 2-Me | Me | 58/41/1 | 14 |
| 65f/66f/67f | 1 | 4-Br | Bn | - | 58 |

^aVerhoudingen werden berekend op basis van de integraties in ¹H-NMR-spectra

De zuivering van 1-[(ω -thymin-1-yl)alkyl]-2-azetidinonen **65c** en **65e** verliep aan de hand van een combinatie van kolomchromatografie en omkristallisatie. Na kolomchromatografie op silicagel werd digesubstitueerd thymine **66** gescheiden van de *N*1- en *N*3-regioisomeren **65** en **67**. De R_f -waarden

van deze regioisomeren lagen dicht bij elkaar, waardoor de 'spots' via dunnelaagchromatografie niet te onderscheiden waren. Het *N1*-gefunctionaliseerd thymine werd vervolgens gescheiden van het *N3*-gefunctionaliseerd thymine **67** met behulp van omkristallisatie. Het mengsel werd hiertoe opgelost in warme dichloormethaan en na afkoelen tot kamertemperatuur werden de kristallen uit de oplossing gedreven door toedruppelen van diëthylether. Bij de synthese van 3-benzyloxy-4-(4-broomfenyl)-1-[2-(thymine-1-yl)-ethyl]-2-azetidinon **47e** werd via deze stappen enkel *N1*-gefunctionaliseerd thymine **65e** zuiver verkregen.

In het geval van de synthese van 1-[ω -(thymine-1-yl)alkyl]-2-azetidinon **65d** waren de R_f -waarden wel voldoende verschillend ($R_f = 0,10$ (*N1*-regioisomeer) en $0,13$ (*N3*-regioisomeer) om deze *N1*- en *N3*-regioisomeren **65d** en **67d** van elkaar te scheiden. Thymine- β -lactamhybriden 1,3-bis-{3-[*cis*-(3-methoxy-4-(2-methylfenyl)-2-azetidinon-1-yl)]propyl}thymine **66d**, *cis*-3-methoxy-4-(2-methylfenyl)-1-[3-(thymine-3-yl)propyl]-2-azetidinon **67d** en *cis*-3-methoxy-4-(2-methylfenyl)-1-[3-(thymine-1-yl)propyl]-2-azetidinon **65d** werden na één zuiveringsstap via kolomchromatografie op silicagel van elkaar gescheiden.

1-[ω -(Thymine-1-yl)alkyl]-2-azetidinon **65f** tenslotte, kristalliseerde door de lage oplosbaarheid in dichloormethaan uit bij opwerking van de reactie. De zuivere kristallen konden eenvoudig afgefilterd en gewassen worden met dichloormethaan en water. Daarnaast werd kolomchromatografie op silicagel uitgevoerd met het overgebleven reactiemengsel teneinde *N1,N3*-digefunctioniseerd thymine **66f** zuiver te bekomen. Het bekomen reactieproduct bleek echter niet *N1,N3*-digefunctioniseerd thymine **66f** te zijn. De structuur van dit onverwachts reactieproduct kon niet opgehelderd worden wegens gebrek aan tijd.

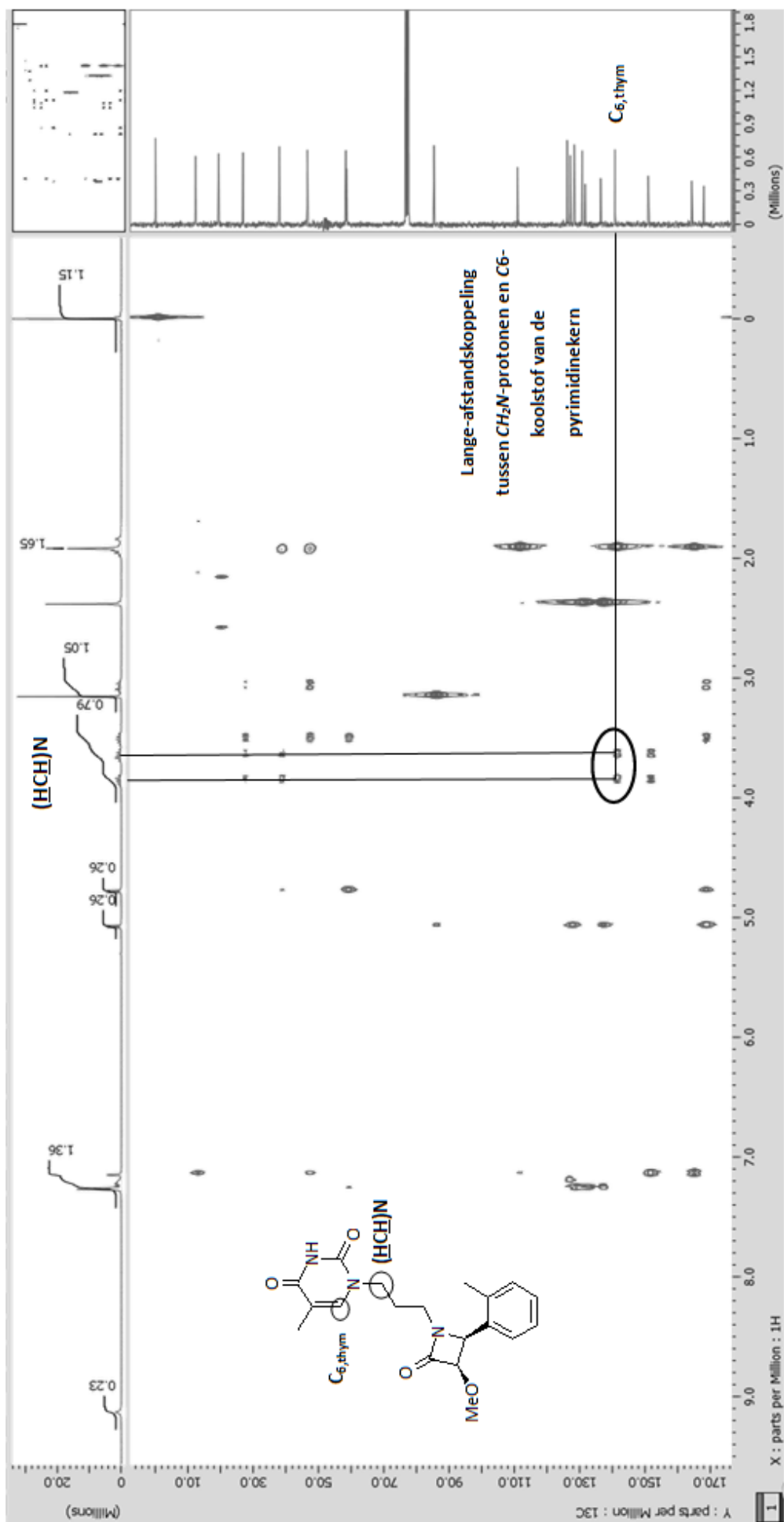
Enkele spectrale gegevens van gesynthetiseerde 1-[ω -(thymine-1-yl)alkyl]-2-azetidinonen **65c-f** worden samen met spectrale gegevens van *cis*-3-methoxy-4-(2-methylfenyl)-1-[3-(thymine-3-yl)propyl]-2-azetidinon **67d** in Tabel 9 weergegeven. Uit dit overzicht blijkt dat de chemische verschuiving van het C6-koolstofatoom voor het *N3*-gefunctionaliseerd thymine **67d** een beduidend lagere waarde heeft in vergelijking met de *N3*-gefunctionaliseerd thyminen **65**.

Tabel 9. Karakteristieke spectrale gegevens van 1-[(ω -(thymine-1-yl)alkyl]-2-azetidinonen **65c-f** en *cis*-3-methoxy-4-(2-methylfenyl)-1-[3-(thymine-3-yl)propyl]-2-azetidinon **67d**

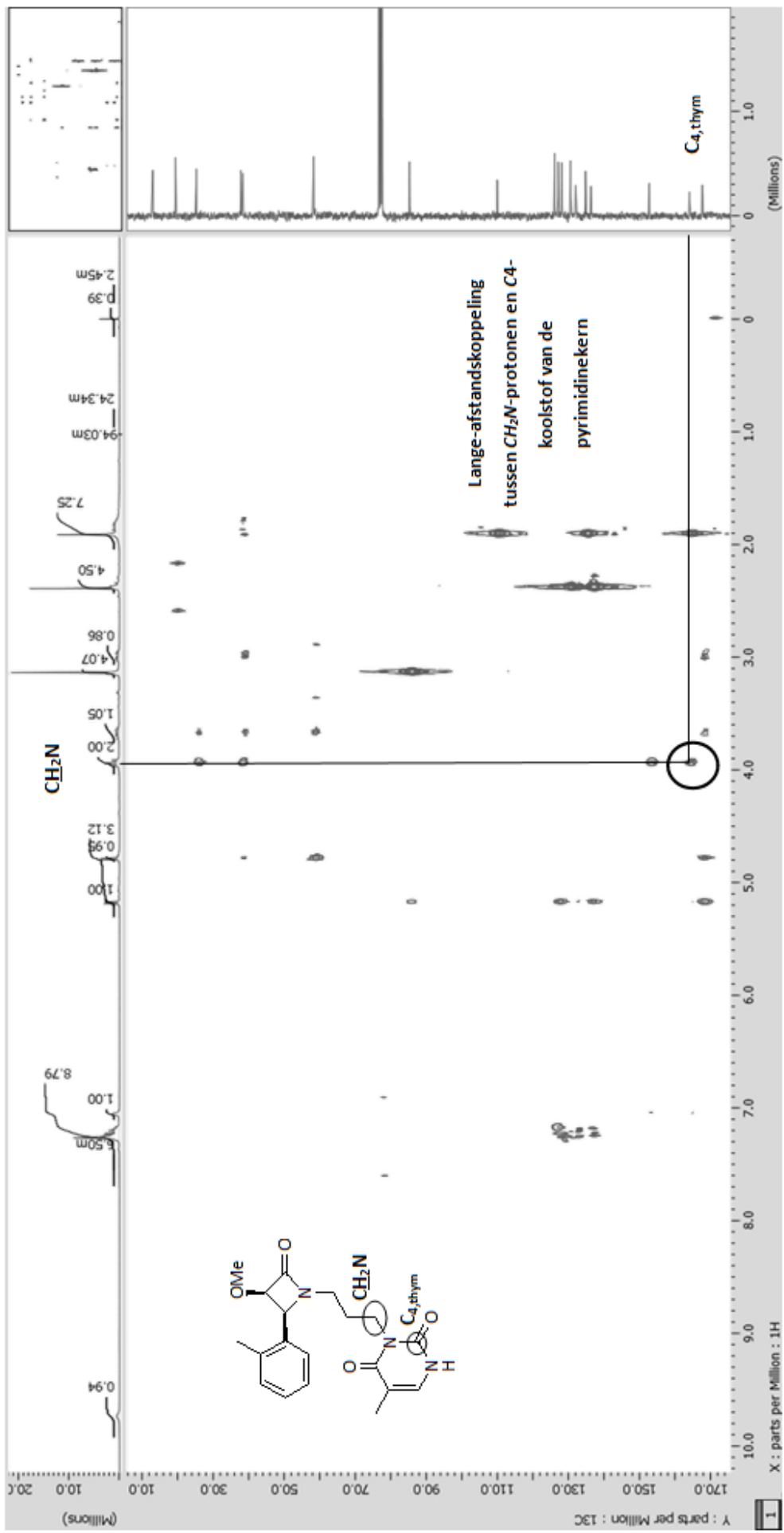
| Verbinding | n | R ¹ | R ² | CH _{thym} | | Gedeutereerd solvent |
|------------|---|----------------|----------------|--------------------------|---------------------------|----------------------|
| | | | | ¹ H-NMR (ppm) | ¹³ C-NMR (ppm) | |
| 65c | 2 | 3-F | Ph | 7,15 | 140,6 | CDCl ₃ |
| 65d | 2 | 2-Me | Me | 7,15 | 140,8 | CDCl ₃ |
| 65e | 2 | 4-Br | Bn | 7,12 | 140,7 | CDCl ₃ |
| 65f | 1 | 3-Cl | Bn | 7,50 | 141,6 | DMSO |
| 67d | 2 | 2-Me | Me | 7,07 | 135,1 | CDCl ₃ |

*N*1- en *N*3-regioisomeren **65** en **67** konden van elkaar onderscheiden worden aan de hand van de [¹H-¹³C]-HMBC-NMR-spectra. In het geval van de *N*1-gefunctionaliseerde thyminen **65** kan namelijk een lange-afstandskoppeling waargenomen worden tussen de CH₂*N*-protonen dichtst bij de thyminering en het C6-koolstofatoom van de pyrimidinekern (zie Figuur 3). Bij de *N*3-gefunctionaliseerde thyminen **67** wordt de koppeling tussen de CH₂*N*-protonen en de carbonyl op de C4-plaats in de pyrimidinekern duidelijk weergegeven in het [¹H-¹³C]-HMBC-NMR-spectrum (zie Figuur 4).

De alkylering van thymine met 1,1 equivalenten 1-(ω -broomalkyl)-2-azetidinonen **47c-f** heeft uiteindelijk de vorming van zeven nieuwe thymine- β -lactamhybriden opgeleverd. Deze *N*1-gefunctionaliseerde thyminen konden telkens bekomen worden in analytisch zuivere vorm geschikt voor biotesting. Daarnaast werden de *N*1,*N*3-gefunctionaliseerde thyminen **66c**, **66d** en **66f** en het *N*3-gefunctionaliseerd thymine **67d** eveneens zuiver bekomen.

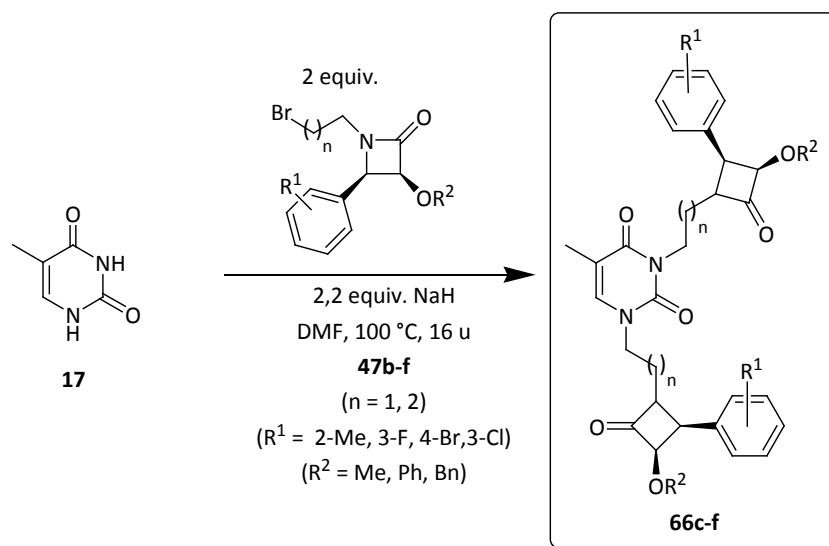


Figuur 3. [1H-13C]-HMBC-NMR-spectrum van cis-3-methoxy-4-(2-methylfenyl)-1-[3-(thymine-1-yl)propyl]-2-azetidinon 65d



Figuur 4: [¹H-¹³C]-HMBC-NMR-spectrum van *cis*-3-methoxy-4-(2-methylfenvyl)-1-[3-(thymine-3-yl)propyl]-2-azetidinon 67d

Tenslotte werd de selectieve synthese van *N1,N3*-digefunctionaliseerde thyminen **66c-f** nagestreefd. Twee equivalenten 1-(ω -broomalkyl)-2-azetidinonen **47c-f** werden toegevoegd aan een oplossing van thymine **17** in *N,N*-dimethylformamide onder stikstofatmosfeer, met 2,2 equivalenten natriumhydride als base. Deze oplossing werd overnacht geroerd bij een temperatuur van 100 °C. De verkregen resultaten en het substitutiepatroon worden weergegeven in Tabel 10.



Tabel 10. Synthese van *N1,N3*-digefunctionaliseerde thyminen **66c-f**

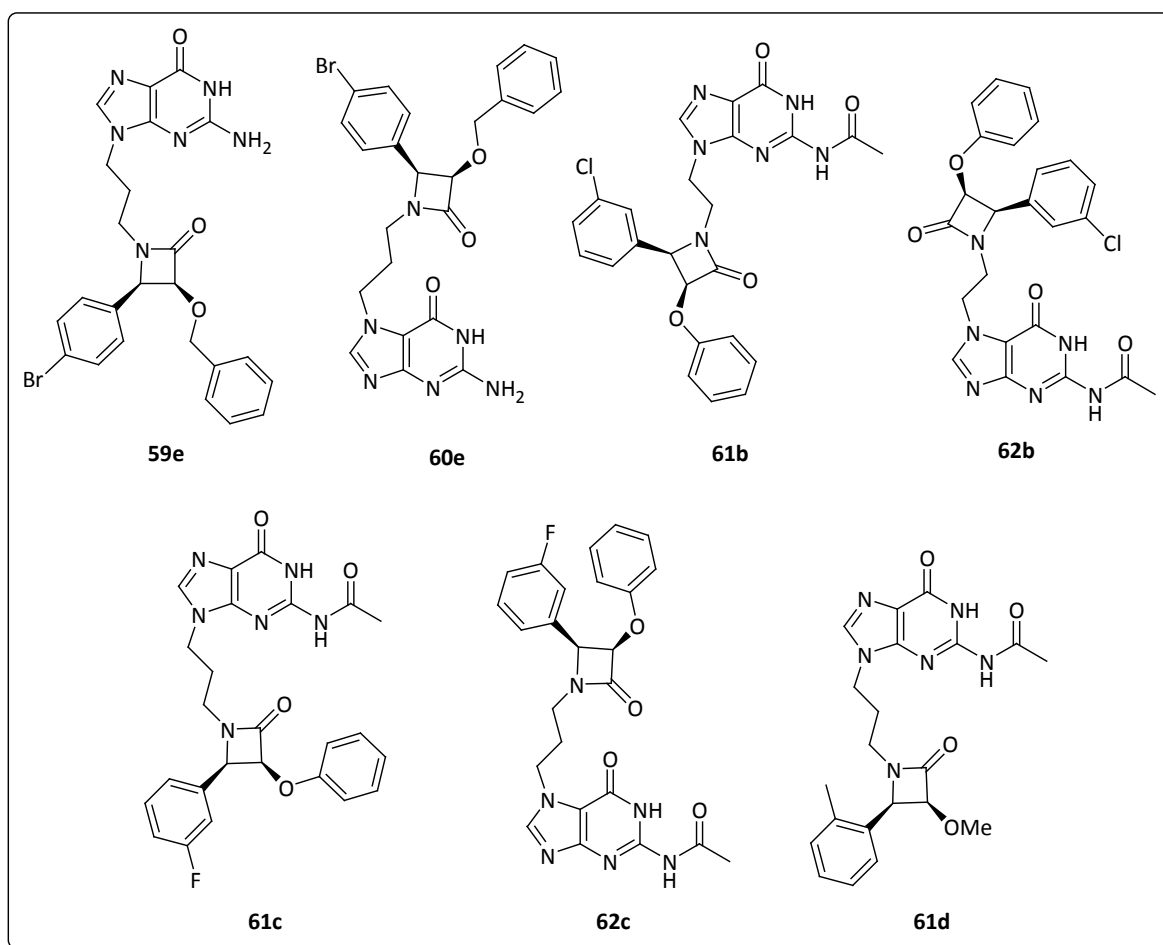
| Verbinding | n | R ¹ | R ² | Rendement ^a |
|------------|---|----------------|----------------|------------------------|
| 66c | 2 | 3-F | Ph | 82% |
| 66d | 2 | 2-Me | Me | 77% |
| 66e | 2 | 4-Br | Bn | 95% |
| 66f | 1 | 3-Cl | Bn | 0% |

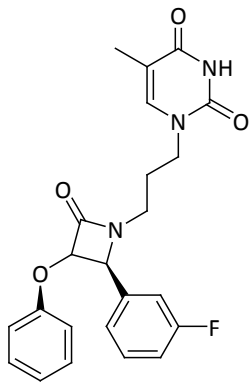
^a Op basis van de integraties in de ¹H-NMR-spectra

Na zuivering kon ook het *N1,N3*-digefunctionaliseerde thymine **66e** gekarakteriseerd worden. Het *N1,N3*-digefunctionaliseerde thymine **66f** daarentegen werd echter niet gevormd. Hetzelfde ongeïdentificeerd bijproduct als in de voorgaande reactie, waar de synthese van het *N1*-gefunctionaliseerd thymine **65f** nagestreefd werd, werd opnieuw gevormd. Hieruit kan geconcludeerd worden dat 1-(2-broomethyl)-2-azetidinonen een verschillende reactiviteit vertonen ten opzichte van thymine in vergelijking met 1-(3-broompropyl)-2-azetidinonen. Dit valt te verklaren door het verschil in polariteit tussen 1-(ω -broomalkyl)-2-azetidinonen ten gevolge van de verschillende lengte van de halogeenalkylketen. Daarnaast zou sterische hindering hierin ook een belangrijke rol kunnen spelen. Zonder de identificatie van het gevormde bijproduct is het echter onmogelijk een sluitende conclusie te vormen.

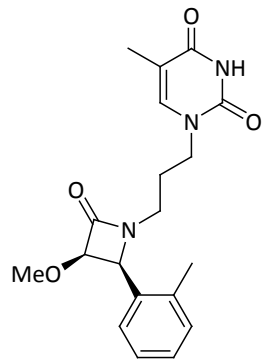
Wegens een gebrek aan tijd werd niet meer geïnvesteerd in de vorming van γ -aminoalcoholhybriden door middel van reductieve ringopening van de β -lactamring. Het dient echter ook vermeld te worden dat intracellulaire ringopening van de β -lactameenheid kan optreden door hydrolyse aan de hand van een viraal of cellulair enzym. In de literatuur werd eerder aangetoond dat β -lactamderivaten het cytomegalovirus (HCMV) protease inhiberen door competitie met het substraat.⁷³ Aldus zou het mogelijk zijn dat na intracellulaire ringopening van een thymine- β -lactamhybride, het gevormde γ -aminocarbonsuur gefosforyleerd wordt en alsnog geïncorporeerd wordt in het viraal DNA.

Tot slot kan gesteld worden dat een brede waaier aan nieuwe guanine- en thymine- β -lactamhybriden aangemaakt werd tijdens deze Masterproef. In onderstaande figuren wordt een overzicht gegeven van de nieuwe hybride structuren die aldus gesynthetiseerd en geïdentificeerd werden. Deze verbindingen werden bovendien onderworpen aan één of meerdere zuiveringsprocedures teneinde analytisch zuivere stalen te bekomen geschikt voor biotesting. Gezien de biologische relevantie van deze structuren zullen deze verbindingen in de nabije toekomst geëvalueerd worden op hun antivirale activiteit in samenwerking met een gespecialiseerde partner.

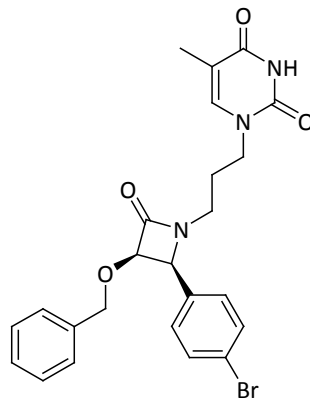




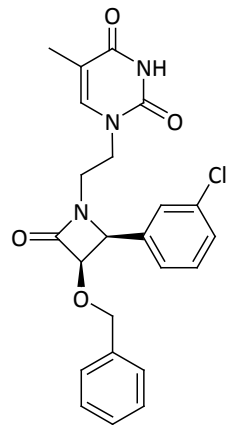
65c



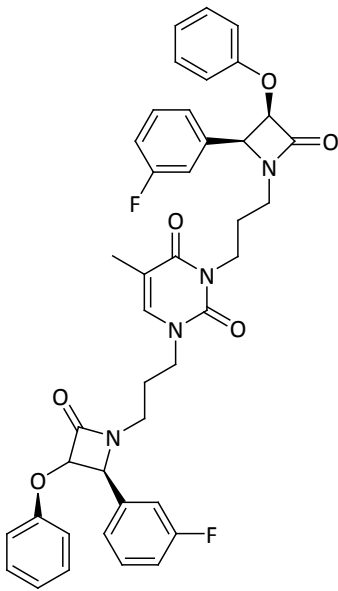
65d



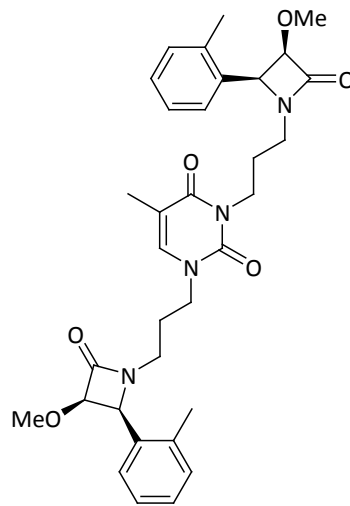
65e



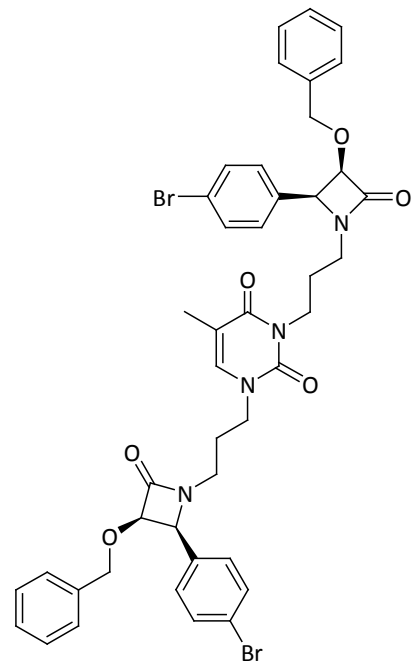
65f



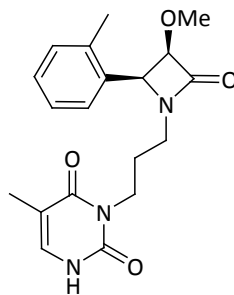
66c



66d



66e



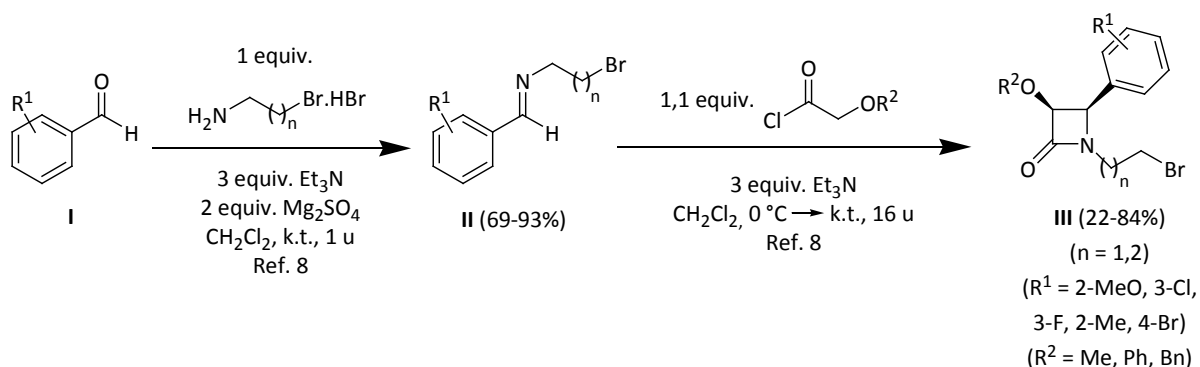
67d

4. Samenvatting en besluit

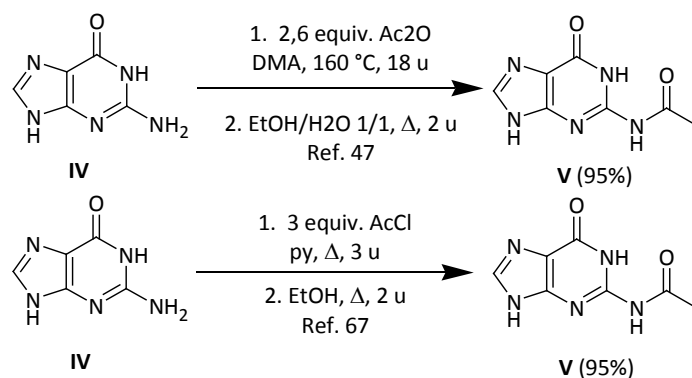
In eerste instantie werd de synthese van nieuwe guanine- β -lactamhybriden uitgaande van 1-(ω -broomalkyl)- β -lactamen beoogd. De verder reductieve ringopening ter vorming van de overeenkomstige γ -aminoalcoholen werd hierbij niet vooropgesteld daar uit eerder onderzoek reeds is gebleken dat purine- β -lactamhybriden goede antivirale activiteit vertonen, terwijl voor de overeenkomstige γ -aminoalcohol- β -lactamhybriden een minder goed resultaat werd bekomen. In een tweede luik werd de synthese van nieuwe thymine- β -lactamhybriden beoogd uitgaande van 1-(ω -broomalkyl)- β -lactamen. Deze twee nieuwe klassen van hybride structuren werden in het verleden nog niet bestudeerd. Door de koppeling van twee biologisch relevante entiteiten werden nieuwe verbindingen met potentiële bioactiviteit gevormd. Daarnaast kunnen deze hybride structuren als bouwsteen gebruikt worden voor de synthese van een verscheidenheid aan nieuwe structuren dankzij de aanwezigheid van de β -lactamring. De reductieve ringopening van de thymine- β -lactamhybriden werd niet meer onderzocht wegens een gebrek aan tijd.

4.1. Samenvatting

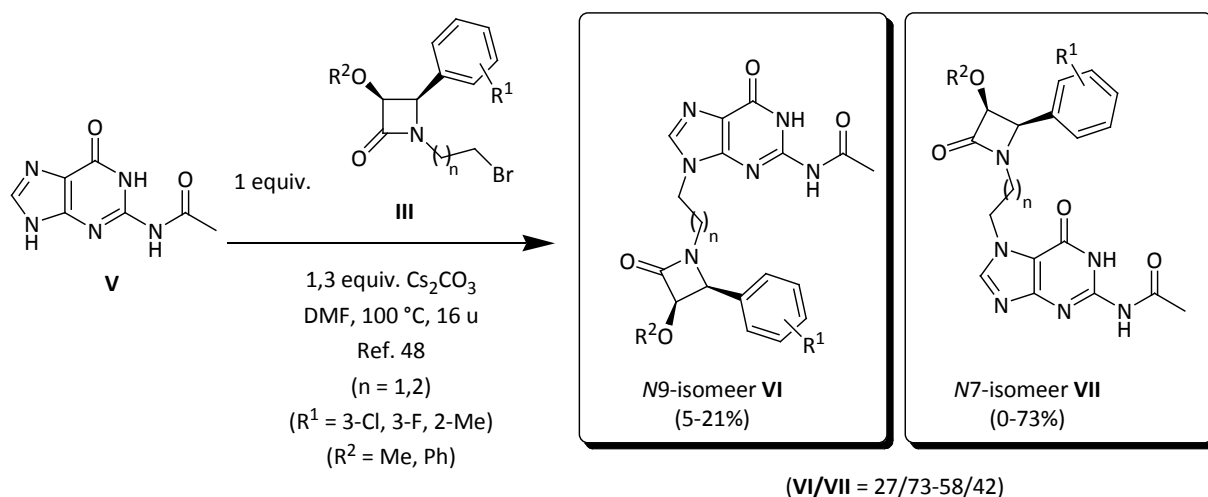
In het eerste deel van deze thesis werd gestart met de synthese van 1-(ω -broomalkyl)- β -lactamen **III**. Hiervoor werd uitgegaan van iminen **II**, die gevormd werden via iminering van benzaldehydederivaten **I** met 2-broomethylaminehydrobromide of 3-broompropylaminehydrobromide. Deze iminen **I** werden vervolgens omgezet tot *cis*- β -lactamen **III** via een stereoselectieve Staudinger-reactie met metoxy-, fenoxo- en benzyloxyacteylchloride en triëthylamine als base.



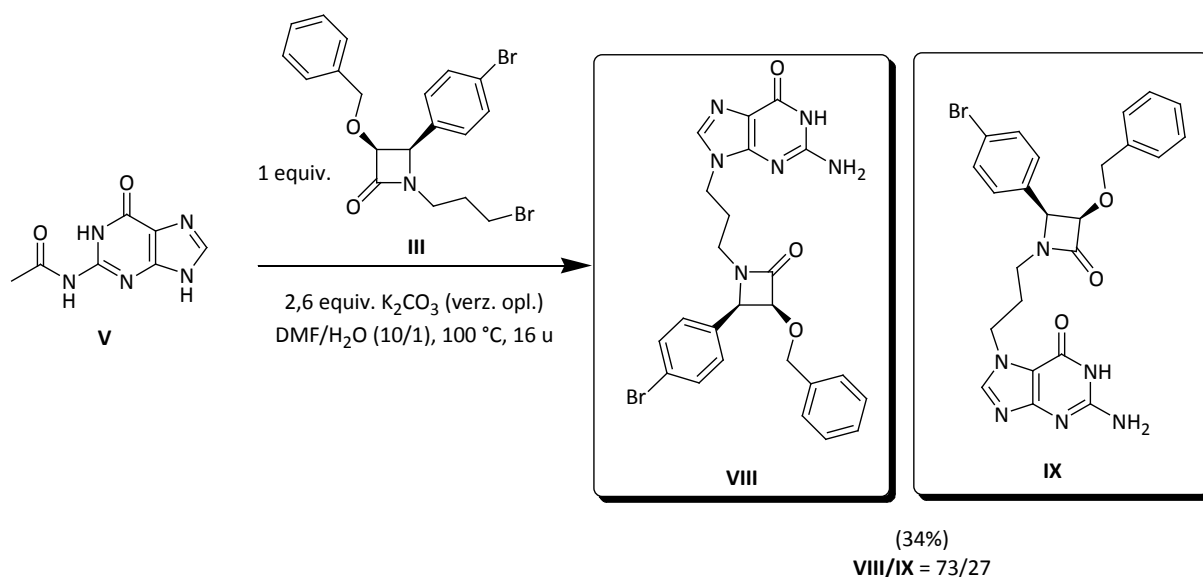
Vervolgens werden de gesynthetiseerde *cis*-1-(ω -broomalkyl)- β -lactamen **III** ingezet in de synthese van guanine- β -lactamhybriden **IV** en **VII**. Daarbij werd gebruik gemaakt van een beschermgroep op de N^2 -plaats van guanine gezien regioselectieve alkylering van onbeschermd guanine niet mogelijk is. Via twee verschillende methoden werd de vrije aminogroep van guanine geacetyleerd enerzijds met behulp van azijnzuuranhydride en anderzijds met behulp van acetylchloride. De eerste methode werd finaal vervangen door de tweede wegens de beperkte beschikbaarheid van azijnzuuranhydride.



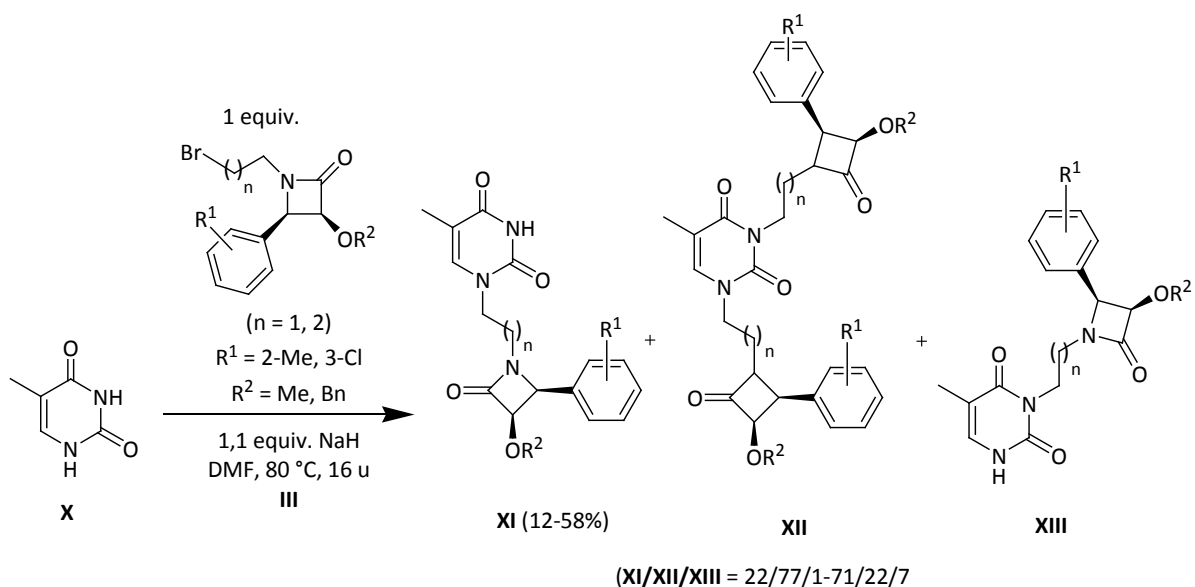
Vervolgens werd het *N*²-acetylguanine **V** gealkyleerd met *cis*-1-(ω -broomalkyl)- β -lactamen **III** via een *S_N2*-type substitutiereactie met behulp van cesiumcarbonaat in *N,N*-dimethylformamide waarbij de synthese van *N*₉-gefunctionaliseerde guaninen **VI** beoogd werd. De alkylering van *N*²-acetylguanine **V** verliep echter weinig regioselectief waardoor een mengsel van *N*₉- en *N*₇-regioisomeren **VI** en **VII** werd gevormd in lage *N*₉/*N*₇-verhoudingen. De *N*₉-isomeren en *N*₇-regioisomeren konden bekomen worden aan de hand van kolomchromatografie op silicagel.



Bij alkylering van *N*²-acetylguanine met *cis*-3-benzyloxy-4-(4-broomfenyl)-1-(3-broompropyl)-2-azetidinon **III** werd gebruik gemaakt van kaliumcarbonaat (aq) als base waarna de gedeacetylerde guanine- β -lactamhybriden **VIII** en **IX** verkregen werden. Hierbij kon geen scheiding van de regioisomeren bekomen worden, daar geen geschikt solvent kon gevonden worden voor het oplossen van deze guaninederivaten.

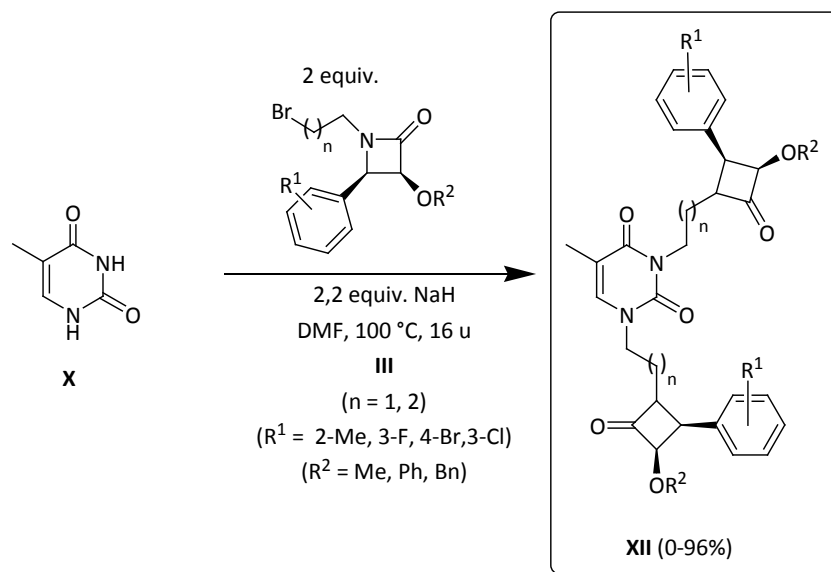


In een laatste deel van deze thesis werd de synthese van thymine- β -lactamhybriden **XI** nagestreefd. Ook de alkylering van thymine **X** met 1-(ω -broomalkyl)- β -lactamen **III** verliep niet regioselectief. Naast de gewenste *N1*-alkylering vond ook *N3*-alkylering plaats waardoor niet alleen het vooropgestelde *N1*-gefunctionaliseerde thymine **XI** werd gevormd, maar ook het *N1,N3*-digefunctionaliseerde thymine **XIII** en het *N3*-gefunctionaliseerde thymine **XII** gevormd werden tijdens de reactie, respectievelijk als majorcomponent en minorcomponent.



De zuivering van de *N1*-gefunctionaliseerde thymine- β -lactam hybriden verliep enerzijds via kolomchromatografie op silicagel en anderzijds via omkristallisatie.

Tenslotte werd ook nagegaan of de alkyleringsreactie kon worden doorgedreven tot volledige omzetting naar het *N1,N3*-digefunctionaliseerd thymine **XII**.



Aan de hand van $^1\text{H-NMR}$ kon een hoge omzetting naar het *N1,N3*-digefunctionaliseerd thymine **XII** vastgesteld worden. Een uitzondering hierop is de alkyleringsreactie van thymine met *cis*-3-benzyloxy-1-(3-broomethyl)-4-(3-chloorfenyl)-2-azetidinon **III**, waarbij een complex reactiemengsel gevormd werd. 1-(2-Broomethyl)-2-azetidinonen vertonen dus een verschillende reactiviteit tegenover thymine ten op zichte van 1-(3-broompropyl)-2-azetidinonen. Wegens een gebrek aan tijd konden de gevormde producten niet geïdentificeerd worden, waardoor dit verschil in reactie moeilijk te verklaren valt.

4.2. Besluit

cis-1-(ω -Broomalkyl)- β -lactamen werden aangewend voor de synthese van enerzijds *N9*-gefunctionaliseerde guaninen en anderzijds *N1*-gefunctionaliseerde en *N1,N3*-digefunctionaliseerde thyminen.

Gedurende de uitvoering van de experimenten in deze Masterproef werd duidelijk dat de resultaten van deze reacties moeilijk te voorspellen zijn. Zowel de lage oplosbaarheid van deze DNA-basen als de hoge reactiviteit van de purine- en pyrimidinekern liggen aan de basis van dit probleem.

Ondanks deze beperkingen werd er in het kader van deze Masterproef toch een belangrijke stap gezet inzake de synthese van nieuwe guanine- en thyminehybriden waarbij uiteindelijk zeven nieuwe guanine- β -lactamhybriden en acht nieuwe thymine- β -lactamhybriden werden bekomen, geschikt voor verder onderzoek met betrekking tot hun potentieel als antivirale verbindingen. De gesynthetiseerde guanine- en thymine- β -lactamhybriden vormen analogen van de bestaande antivirale middelen acyclovir en zidovudine en genieten veel aandacht gezien hun biologische relevantie.

5. Experimenteel deel

5.1. Methodologie

5.1.1. DUNNELAAGCHROMATOGRAPHIE (TLC)

Voor de analyse van ruwe reactiemengsels en voor de bepaling van het eluens voor kolomchromatografie werd dunnelaagchromatografie toegepast. Aan de hand van deze methode konden R_f -waarden ('ratio to front') van chemische verbindingen nagegaan worden. Hierbij werd gebruik gemaakt van silicaplaatjes (Merck Silicagel 60 F₂₅₄, precoated, dikte 0,25 cm) met een experimenteel bepaald eluens. De detectie van de verbindingen gebeurde door belichting met ultraviolet licht en/of met behulp van een kaliumpermanganaatoplossing.

5.1.2. Kolomchromatografie

Bij de preparatieve zuivering door middel van kolomchromatografie werd silicagel als stationaire fase gebruikt (Silicagel 60 (Fluka), deeltjesgrootteverdeling: 70-230 mesh). De diameter van de gebruikte glazen kolommen was afhankelijk van de hoeveelheid op te zuiveren product. Het eluens werd vooraf bepaald aan de hand van dunnelaagchromatografie. Bij het elueren van de te zuiveren component bedroeg de elutiesnelheid van het solventfront ongeveer 5 cm per minuut.

5.1.3. Automatische kolomchromatografie

Automatische kolomchromatografie werd uitgevoerd door middel van een Grace Reveleris™ Flash Chromatografie System. Als vaste fase werden herbruikbare silicakolommen gebruikt (korreldiameter = 0,040 - 0,063 mm). De uitloopsnelheid van het solventfront hangt af van het type kolom. Detectie van de verbindingen gebeurde aan de hand van twee UV-detectoren (254 en 280 nm) en een ELSD (Evaporative Light Scattering Detector).

5.1.4. Vloeistofchromatografie

Vloeistofchromatografie werd uitgevoerd aan de hand van een Agilent Technologies 1200 Series toestel met UV-DAD-detector. De kolom is een Zorbax 18 RP kolom en het gebruikte solventmengsel was methanol en water.

5.1.5. NMR-spectroscopie

Voor het opnemen van ¹H-, ¹³C- en ¹⁹F-NMR-spectra werd gebruik gemaakt van een JEOL Eclipse FT Nuclear Magnetic Resonance spectrometer (respectievelijk 300 MHz, 75MHz en 282MHz). De gesynthetiseerde verbindingen werden opgelost in een gedeutereerd solvent (CDCl₃ of DMSO) met

tetramethylsilaan (TMS) als inwendige standaard. De toewijzing van de signalen gebeurde aan de hand van een combinatie van [^1H - ^{13}C]-HSQC- en [^1H - ^{13}C]-HMBC- spectra.

5.1.6. Massaspectrometrie

De massaspectra werden aan de hand van een Agilent 1100 series VL detector (ES, 4000V) massaspectrometer opgenomen.

5.1.7. Infraroodspectroscopie

Infraroodspectra werden met behulp van een Perkin-Elmer Spectrum BX FT-IR spectrometer opgenomen. Hiervoor werd telkens een kleine hoeveelheid van de te analyseren verbinding aangebracht op een ZnSe kristal in ATR (Attenuated Total Reflectance) mode.

5.1.8. Droge solventen

Droge diëthylether werd bekomen via destillatie over natriumdraad in aanwezigheid van benzofenon als waterindicator voor het droogproces. Dichloormethaan werd gedroogd door destillatie in aanwezigheid van calciumhydride.

5.1.9. Smeltpuntbepaling

Het smeltpunt van vaste verbindingen werd aan de hand van een Büchi Melting Point B-540 toestel bepaald. Hiertoe werden enkele kristallen in glazen capillairtjes gebracht waarna deze in een temperatuurgeregelde oven werden opgewarmd tot het smeltpunt.

5.2. Beschrijving van de experimenten

5.2.1. Synthese van 1-(ω -broomalkyl)-2-azetidinonen

5.2.1.1. Synthese van (*E*)-*N*-(arylmethylideen)-(ω -broomalkyl)aminen **45**

De synthese van (*E*)-*N*-(2-broomethyl)-[(3-chloorfenyl)methylideen]amine **45b** wordt hieronder beschreven als voorbeeld van de synthese van (*E*)-*N*-(arylmethylideen)-(ω -broomalkyl)aminen **45**.

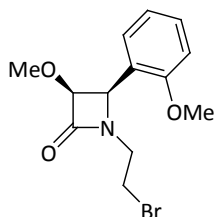
In een kolf van 250 mL werd 50 mmol (10,25 g; 1 equiv.) 2-broomethylaminehydrobromide **44** opgelost in droge dichloormethaan (125 mL). Hieraan werd 100 mmol (12,03 g; 2 equiv.) MgSO₄ toegevoegd, gevolgd door 50 mmol (7,00 g; 1 equiv.) 3-chloorbenzaldehyde **43b** en 150 mmol (15,18 g; 3 equiv.) triëthylamine. Dit mengsel werd geroerd bij kamertemperatuur gedurende één uur, waarna het MgSO₄ afgefiltreerd werd.⁸ Na indampen van het solvent aan de rotavapor werd het residu heropgelost in droge diëthylether (125 mL). Het hydrobromidezout werd afgefiltreerd en de filter werd tweemaal gewassen met diëthylether (30 mL). Na indampen van het solvent aan de rotavapor en het hoogvacuum werd 8,46 g (*E*)-*N*-(2-broomethyl)-[(3-chloorfenyl)methylideen]amine **45b** bekomen (69% rendement). Gezien hun hoge zuiverheidsgraad en hun hoge intrinsieke reactiviteit werden (*E*)-*N*-(arylmethylideen)-(ω -broomalkyl)aminen **45** onmiddellijk ingezet in de volgende reactiestap zonder voorafgaande zuivering.

5.2.1.2. Synthese van *cis*-4-aryl-1-(ω -broomalkyl)-2-azetidinonen **47**

Als voorbeeld voor de synthese van *cis*-4-aryl-1-(ω -broomalkyl)-2-azetidinonen **47** wordt in onderstaande paragraaf de synthese van *cis*-1-(2-broomethyl)-4-(3-chloorfenyl)-3-fenoxy-2-azetidinon **47b** beschreven.

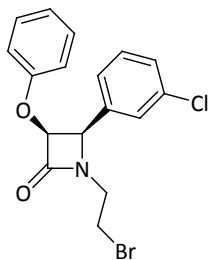
In een kolf van 250 mL werd 34 mmol (8,46 g, 1 equiv.) (*E*)-*N*-(2-broomethyl)-[(3-chloorfenyl)methylideen]amine **45b** opgelost in droge dichloormethaan (100 mL). Hieraan werd 102,9 mmol (10,42 g; 3 equiv.) triëthylamine toegevoegd. De kolf werd voorzien van een toevloei-scheitrechter met 38 mmol (6,44 g; 1,1 equiv.) fenoxyacetylchloride **46** opgelost in droge dichloormethaan (30 mL). Het reactiemengsel werd gekoeld in een ijsbad tot 0 °C waarna fenoxyacetylchloride **46** traag werd toegedruppeld. Vervolgens werd het reactiemengsel opgewarmd tot kamertemperatuur en overnacht (16 uur) geroerd bij kamertemperatuur.⁸ Het reactiemengsel werd gewassen met water (125 mL) waarna de waterfase tweemaal geëxtraheerd werd met dichloormethaan (50 mL). De gecombineerde organische fracties werden samengevoegd en gedroogd over MgSO₄. Na affiltreren van het MgSO₄, indampen van het solvent aan de rotavapor en zuivering door middel van omkristallisatie in absolute ethanol (80 mL) werd 4,33 g *cis*-1-(2-broomethyl)-4-(3-chloorfenyl)-3-fenoxy-2-azetidinon **47b** bekomen (23% rendement).

cis-1-(2-Broomethyl)-3-methoxy-4-(2-methoxyfenyl) -2-azetidinon 47a



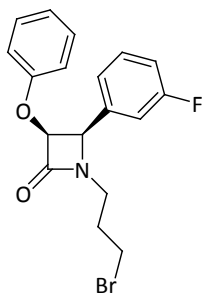
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 3,15 (3H, s, CH_3OCH); 3,29-3,54 (2H en 1H, m, CH_2Br en (HCH)N); 3,87 (3H, s, $\text{CH}_3\text{OC}_{\text{quat}}$); 3,91-4,02 (1H, s, (HCH)N); 4,78 (1H, d, $J = 4,7$ Hz, CHO); 5,37 (1H, d, $J = 4,7$ Hz, CHN); 6,91-7,03 en 7,25-7,36 (2H en 2H, $2 \times$ m, CH_{arom}). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, ref = CDCl_3): δ 28,5 (CH_2Br); 42,1 (CH_2N); 55,6 ($\text{CH}_3\text{OC}_{\text{quat}}$); 56,6 (CHN); 58,4 (CH_3OCH); 85,9 (CHO); 110,6 en 120,6 ($2 \times \text{HC}_{\text{arom}}$); 122,0 (C_{quat}); 128,2 en 129,5 ($2 \times \text{HC}_{\text{arom}}$); 157,7 (C_{quat}); 167,7 (C=O). IR (ATR, cm^{-1}): $\nu_{\text{C=O}} = 1749$; $\nu_{\text{max}} = 3006, 2925, 2851, 1600, 1491, 1460, 1448, 1397, 1362, 1308, 1287, 1247, 1210, 1160, 1074, 1058, 1047, 1028, 1004, 898$ en 761. MS (70 eV) : m/z (%) 314/6 ($\text{M}^+ + 1$, 100). HRMS (ESI) berekend voor $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{BrNO}_3^+$ 314,0392 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$, gevonden 314,0390. $R_f = 0,18$ (PE/EtOac 4/1). Lichtgele kristallen. Rendement na kolomchromatografie: 27%. Smeltpunt = 68,5 °C.

cis-1-(2-Broomethyl)-4-(3-chloorfenyl)-3-fenoxy-2-azetidinon 47b



$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 3,32-3,43 (2H, m, (HCH)N en (HCH)Br); 3,49-3,57 (1H, m, (HCH)Br); 3,99-4,08 (1H, m, (HCH)N); 5,11 (1H, d, $J = 4,4$ Hz, CHN); 5,53 (1H, d, $J = 4,4$ Hz, CHO); 6,73-6,77, 6,89-6,94, 7,13-7,19 en 7,24-7,35 (2H, 1H, 2H en 4H, $4 \times$ m, CH_{arom}). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, ref = CDCl_3): δ 28,7 (CH_2Br); 42,3 (CH_2N); 62,5 (CHN); 82,2 (CHO); 115,6, 122,4, 126,9, 128,8, 129,3, 129,4 en 129,8 ($9 \times \text{HC}_{\text{arom}}$); 134,5 en 135,1 ($2 \times \text{C}_{\text{quat}}$); 156,7 ($\text{C}_{\text{quat}}\text{O}$); 166,0 (C=O). IR (ATR, cm^{-1}): $\nu_{\text{C=O}} = 1758$; $\nu_{\text{max}} = 3046, 2964, 1596, 1494, 1410, 1237, 1230, 1080, 751$ en 688. MS (70eV): m/z (%) 380/2/4 ($\text{M}^+ + 1$, 92). Zuivering: Omkristallisatie in absolute ethanol. Witte kristallen. Rendement: 31%. Rendement na omkristallisatie: 23%. Smeltpunt = 152,1°C.

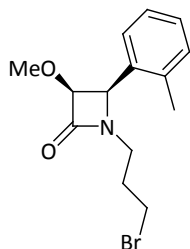
cis-1-(3-Broompropyl)-3-fenoxy-4-(3-fluorfenyl) -2-azetidinon 47c



$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 1,93-2,22 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 3,18 (1H, d \times t, $J = 14,0, 6,9$ Hz, (HCH)N); 3,40 (2H, t, $J = 6,4$ Hz, CH_2Br); 3,54-3,68 (1H, m, (HCH)N); 4,95 (1H, d, $J = 4,4$ Hz, CHN); 5,46 (1H, d, $J = 4,4$ Hz, CHO); 6,72-6,75, 6,87-7,16 en 7,24-7,79 (2H, 6H en 1H, $3 \times$ m, CH_{arom}). $^{19}\text{F-NMR}$ (282 MHz, CDCl_3): δ -112,49-(-112,38) (m, $\text{FC}_{\text{quat,arom}}$). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, ref = CDCl_3): δ 30,2 en 30,45 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$); 39,8 (CH_2N); 62,3 (CHN); 82,0 (CHO); 115,56 ($2 \times \text{HC}_{\text{arom}}$); 115,57 (d, $J = 22,0$ Hz, $\text{F}(\text{HC})_{\text{ortho}}$); 116,0 (d, $J = 21,9$ Hz, $\text{F}(\text{HC})_{\text{ortho}}$); 122,3 (HC_{arom}); 124,4 (d, $J = 3,5$ Hz, $\text{F}(\text{HC})_{\text{para}}$); 129,4 ($2 \times \text{HC}_{\text{arom}}$); 130,1 (d, $J = 8,1$ Hz, $\text{F}(\text{HC})_{\text{meta}}$); 135,8 (d, $J = 7,0$ Hz, $\text{F}(\text{C}_{\text{quat,arom}})_{\text{meta}}$); 156,8 ($\text{C}_{\text{quat}}\text{O}$); 162,8 (d, $J = 246,9$ Hz, $\text{FC}_{\text{quat,arom}}$);

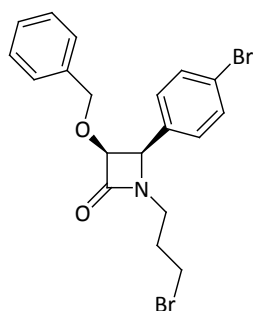
166,0 (C=O). **IR** (ATR, cm^{-1}): $\nu_{\text{C=O}} = 1750$; $\nu_{\text{max}} = 3054, 2947, 1590, 1484, 1408, 1359, 1267, 1234, 1220, 1144, 1072, 800, 753, 691$. **MS** (70eV): m/z (%) 378/80 ($M^+ + 1$, 25). Witte kristallen. Rendement: 84%. Smeltpunt = 116,2 °C.

***cis*-1-(3-Broompropyl)-3-methoxy-4-(2-methylfenyl)-2-azetidinon 47d**



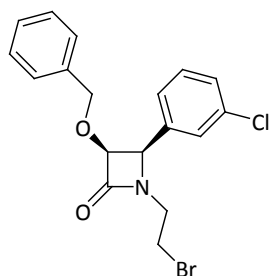
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 1,94-2,23 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 2,38 (3H, s, $\text{CH}_3\text{C}_{\text{quat}}$); 3,08-3,17 (1H, m, (HCH)N); 3,15 (3H, s, CH_3O); 3,40 (2H, t, $J = 6,6$ Hz, CH_2Br); 3,61-3,72 (1H, m, (HCH)N); 4,75 (1H, d, $J = 4,7$ Hz, CHO); 5,03 (1H, d, $J = 4,7$ Hz, CHN); 7,20-7,27 (4H, m, CH_{arom}). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, ref = CDCl_3): δ 19,4 (CH_3Ar); 30,3 en 30,5 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$); 39,7 (CH_2N); 58,3 (CH_3O); 59,0 (CHN); 85,4 (CHO); 126,2, 127,1, 128,2 en 130,7 ($4 \times \text{HC}_{\text{arom}}$); 131,9 en 136,3 ($2 \times \text{C}_{\text{quat}}$); 167,6 (C=O). **IR** (ATR, cm^{-1}): $\nu_{\text{C=O}} = 1748$; $\nu_{\text{max}} = 2930, 2833, 1353, 1210, 1051, 771, 740, 728$. **MS** (70eV): m/z (%) 312/4 ($M^+ + 1$, 90). $R_f = 0,10$ (PE/EtOAc 3/1). Donkergele vloeistof. Rendement na kolomchromatografie: 63%.

***cis*-3-Benzoyloxy-4-(4-broomfenyl)-1-(3-broompropyl)-2-azetidinon 47e**



$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 1,87-2,14 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 3,04-3,13 (1H, d \times t, $J = 14,3, 7,0$ Hz, (HCH)N); 3,35 (2H, t, $J = 6,3$ Hz, CH_2Br); 3,46-3,57 (1H, m, (HCH)N); 4,20 (1H, d, $J = 11,6$ Hz, (HCH)Ph); 4,36 (1H, d, $J = 11,6$ Hz, (HCH)Ph); 4,68 (1H, d, $J = 4,4$ Hz, CHN); 4,88 (1H, d, $J = 4,4$ Hz, CHO); 6,94-6,97, 7,20-7,25 en 7,50-7,54 (2H, 5H en 2H, $3 \times$ m, CH_{arom}). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, ref = CDCl_3): δ 30,2 en 30,5 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$); 39,5 (CH_2N); 62,3 (CHN); 72,7 (CH_2Ph); 83,6 (CHO); 123,0 (C_{quat}); 128,15 en 128,22 ($2 \times \text{HC}_{\text{arom}}$); 128,4 ($3 \times \text{HC}_{\text{arom}}$); 130,4 en 131,8 ($4 \times \text{HC}_{\text{arom}}$); 133,1 en 136,2 ($2 \times \text{C}_{\text{quat}}$); 167,3 (C=O). **IR** (ATR, cm^{-1}): $\nu_{\text{C=O}} = 1742$; $\nu_{\text{max}} = 3063, 2914, 2870, 1405, 1132, 1067, 1009, 999, 749$ en 701. **MS** (70eV): m/z (%) 452/4/6 ($M^+ + 1$, 100). **HRMS** (ESI) berekend voor $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{Br}_2\text{NO}_2^+$ 451,9861 [$M+H$] $^+$, gevonden 451,9853. Witte kristallen. Rendement: 75%. Smeltpunt = 147,7°C.

***cis*-3-Benzoyloxy-1-(2-broomethyl)-4-(3-chloorfenyl)-2-azetidinon 47f**



$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 3,25-3,35 (2H, m, (HCH)N en (HCH)Br); 3,39-3,45 (1H, m, (HCH)Br); 3,86-3,93 (1H, m, (HCH)N); 4,21 en 4,38 ($2 \times$ 1H, $2 \times$ d, $J = 11,0$ Hz, CH_2Ph); 4,84 (1H, d, $J = 4,4$ Hz, CHN); 4,95 (1H, d, $J = 4,4$ Hz, CHO); 6,95-6,98, 7,20-7,25 en 7,29-7,35 (2H, 4H en 3H, $3 \times$ m, CH_{arom}). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, ref = CDCl_3): δ 28,7 (CH_2Br); 42,1 (CH_2N);

62,5 (CHN); 72,8 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$); 84,0 (CHO); 126,8 en 128,15 ($2 \times \text{HC}_{\text{arom}}$); 128,20 ($3 \times \text{HC}_{\text{arom}}$); 128,4 ($2 \times \text{HC}_{\text{arom}}$); 129,1, 129,9 ($2 \times \text{HC}_{\text{arom}}$); 134,7, 136,0 en 136,2 ($3 \times \text{C}_{\text{quat}}$); 167,2 (C=O). IR (ATR, cm^{-1}): $\nu_{\text{C=O}} = 1749$; $\nu_{\text{max}} = 3032, 2906, 2871, 1439, 1413, 1397, 1328, 1304, 11668, 1142, 1076, 1058, 1013, 919, 782, 751, 736, 718, 700$ en 685. MS (70 eV) m/z (%) 394/6/8 ($\text{M}^+ + 1, 100$). HRMS (ESI) berekend voor $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{BrClNO}_2^+ 394,0209$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$, gevonden 394,0204. Oranje kristallen. Zuivering: Omkristallisatie in absolute ethanol. Rendement: 45%. Rendement na omkristallisatie: 22%. Smeltpunt = 109 °C.

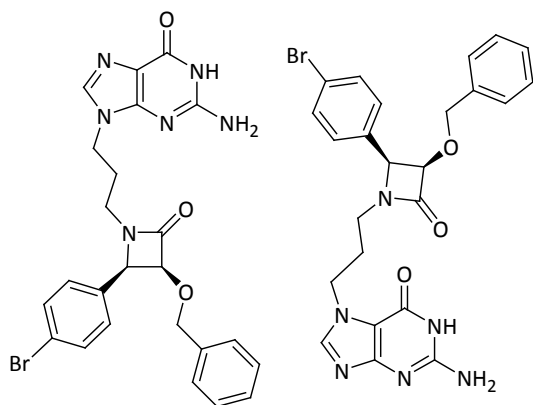
5.2.2. Synthese van 1- $[\omega$ -(N^2 -acetylguanin-9-yl)alkyl]-2-azetidinonen

5.2.2.1. Synthese van *cis*-1-[3-(2-aminopurin-6-on-9-yl)propyl]-4-(4-broomfenyl)-3-benzyloxy-2-azetidinon **60e** en *cis*-1-[3-(2-aminopurin-6-on-7-yl)propyl]-4-(4-broomfenyl)-3-benzyloxy-2-azetidinon **61e**

In een kolf van 250 mL werd 20 mmol (9,06 g; 1 equiv.) *cis*-3-benzyloxy-4-(4-broomfenyl)-1-(3-broompropyl)-2-azetidinon **47d** opgelost in *N,N*-dimethylformamide (125 mL), waarna 52 mmol (11,7 mL; 2,6 equiv) kaliumcarbonaat als een verzadigde waterige oplossing werd toegevoegd, samen met 20 mmol (3,86 g; 1 equiv.) N^2 -acetylguanine **59**. Het reactiemengsel werd overnacht (16 uur) geroerd bij 100 °C, afgekoeld tot kamertemperatuur en geëxtraheerd met water (125 mL) en dichloormethaan (125 mL). De waterfase werd drie maal met dichloormethaan (50 mL) geëxtraheerd, waarna de gecombineerde organische fracties werden samengevoegd, zes maal gewassen met pekkel (125 mL) en gedroogd over MgSO_4 . Na affiltreren van het MgSO_4 en indampen van het solvent aan de rotavapor werd het resterende *N,N*-dimethylformamide verwijderd aan het hoogvacuüm bij 80 °C. Vervolgens werd 0,6 g van de bekomen kristallen gesuspenderd in 15 mL methanol en al roerend aan een erlenmeyer met 15 mL water toegevoegd. Na filtratie werd een mengsel van 0,36 g *cis*-1-[3-(2-aminopurin-6-on-9-yl)propyl]-4-(4-broomfenyl)-3-benzyloxy-2-azetidinon **60e** en *cis*-1-[3-(2-aminopurin-6-on-7-yl)propyl]-4-(4-broomfenyl)-3-benzyloxy-2-azetidinon **61e** bekomen (34 % rendement) met een *N9/N7*-verhouding van 73/27. Pogingen om beide componenten te scheiden waren niet succesvol.

***cis*-1-[3-(2-Aminopurin-6-on-9-yl)propyl]-4-(4-broomfenyl)-3-benzyloxy-2-azetidinon 60e en *cis*-1-[3-(2-aminopurin-6-on-7-yl)propyl]-4-(4-broomfenyl)-3-benzyloxy-2-azetidinon 61e**

Spectrale gegevens afgeleid uit het mengsel van *N*9- en *N*7-regioisomeren **60e** en **61e**.



¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 1,75-1,98 (2 × 2H, m, CH₂CH₂N_{N7+N9}); 2,71-2,83 (2 × 1H, m, CH₂(HCH)N_{N7+N9}); 3,15-3,27 (2 × 1H, m, CH₂(HCH)N_{N7+N9}); 3,86 (2H, t, *J* = 6,9 Hz, CH₂N_{N7}); 3,96 (2 × 1H, 2 × d, *J* = 11,3 Hz, (HCH)Ph_{N7+N9}); 4,10 (2H, t, *J* = 6,6 Hz, CH₂N_{N9}); 4,20 (2 × 1H, 2 × d, *J* = 11,3 Hz, (HCH)Ph_{N7+N9}); 4,83-4,97 (2 × 2H, CH_{Ar}_{N7+N9} en CHO_{N7+N9}); 6,16 en 6,46 (2 × 2H, 2 × s (breed), 2 × NH_{2,N7+N9}); 6,80-6,82, 7,15-7,17, 7,23-

7,26 en 7,51-7,54 (2 × 2H, 2 × 3H, 2 × 2H en 2 × 2H, 4 × m, CH_{arom,N7+N9}); 7,58 (1H, d, *J* = 1,7 Hz, CH_{pur,N9}); 7,81 (1H, d, *J* = 2,2 Hz, CH_{pur,N7}); 10,79 (2 × 1H, s (breed), NH_{N7+N9}). ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO): δ 27,8 en 28,9 (CH₂CH₂N_{N7+N9}); 37,3 en 37,8 (CH₂CH₂N_{N7+N9}); 40,9 (CH₂N_{N7}); 44,3 (CH₂N_{N9}); 60,8 en 61,0 (CH_{Ar}_{N7+N9}); 71,8 (CH₂Ph_{N7+N9}); 84,0 (CHO_{N7+N9}); 108,5, 117,2 en 122,0, 128,4, 128,70, 131,1 en 131,8, 134,8 en 137,2 (9 × CH_{arom,N7+N9} en 4 × C_{quat,N7+N9}); 138,0 (HC_{pur,N9}); 143,7 (HC_{pur,N7}); 151,7, 151,8, 153,4, 153,5, 154,1 en 155,2 (2 × C_{quat,N7+N9} en C=O_{pur,N7+N9}); 167,0 (C=O). IR (ATR, cm⁻¹): ν_{NH} = 3313, 3126; ν_{C=O} = 1751, 1670; ν_{max} = 2900, 2710, 1476, 1386, 1219, 1009, 779, 698. MS (70eV): m/z (%) 523/5 (M⁺+1, 10). Zuivering: Kristallisatie in MeOH/H₂O (1/1). Witte kristallen. Rendement: 52%. Rendement na Kristallistatie: 34%.

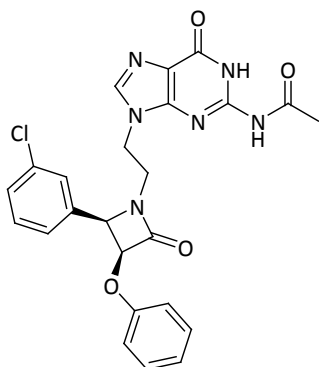
5.2.2.2. Synthese van 1-[ω-(*N*²-acetylguanin-9-yl)alkyl]-2-azetidinonen **62 en 1-[ω-(*N*²-acetylguanin-7-yl)alkyl]-2-azetidinonen **63****

De synthese van *cis*-1-[2-(2-acetylaminopurin-6-on-9-yl)ethyl]-3-fenoxy-4-(3-chloorfenyl)-2-azetidinon **62b** en *cis*-1-[2-(2-acetylaminopurin-6-on-7-yl)ethyl]-3-fenoxy-4-(3-chloorfenyl)-2-azetidinon **63b** geldt als voorbeeld voor de synthese van 1-[ω-(*N*²-acetylguanin-9-yl)alkyl]-2-azetidinonen **62** en 1-[ω-(*N*²-acetylguanin-7-yl)alkyl]-2-azetidinonen **63**.

In een kolf van 50 mL werd 5 mmol (0,965 g; 1 equiv) *N*²-acetylguanine **59** opgelost in 25 mL dimethylsulfoxide waarna 6,5 mmol (2,11 g; 1,3 equiv.) cesiumcarbonaat werd toegevoegd. Het reactiemengsel werd onder stikstofatmosfeer gebracht en gedurende een half uur geroerd. Hieraan werd 5 mmol *cis*-1-(2-broomethyl)-4-(3-chloorfenyl)-3-fenoxy-2-azetidinon **47b** toegevoegd waarna het reactiemengsel gedurende 16 uur geroerd werd bij 80 °C.⁴⁸ Na indampen van het solvent werd

het residue gesuspenseerd in 25 mL chloform/methanol (4/1) en gefiltreerd. Het filtraat werd vervolgens ingedampt aan de rotavapor waarna via opzuivering door middel van graduele kolomchromatografie op silicagel met als eluens chloroform/methanol (95-100/0-5) 0,12 g *cis*-1-[2-(2-acetylaminopurin-6-on-9-yl)ethyl]-3-fenoxy-4-(3-chloorfenyl)-2-azetidion **62b** (3% rendement) en 1,33 g *cis*-1-[2-(2-acetylaminopurin-6-on-7-yl)ethyl]-4-(3-chloorfenyl)-3-fenoxy-2-azetidion **63b** (28% rendement) zuiver bekomen werd.

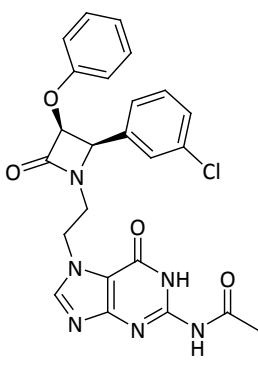
***cis*-1-[2-(2-Acetylaminopurin-6-on-9-yl)ethyl]-4-(3-chloorfenyl)-3-fenoxy-2-azetidion 62b**



¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 2,18 (3H, s, CH₃C=O); 3,37-3,40 (1H, m, (HCH)N); 3,87-3,96 (1H, m, (HCH)N); 4,21-4,24 (2H, m, CH₂N); 5,19 (1H, d, *J* = 4,4 Hz, CHAr); 5,49 (1H, d, *J* = 4,4 Hz, CHO); 6,70-6,75, 6,84-6,89 en 7,08-7,28 (2H, 1H en 6H, 3 × m, CH_{arom}); 8,03 (1H, s, CH_{pur}); 11,70 (1H, s, NH); 12,00 (1H, s (breed), NH). ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO): δ 24,4 (CH₃C=O); 40,5 en 42,0 (2 × CH₂N); 61,0 (CHAr); 81,9 (CHO); 115,5 (2 × HC_{arom}); 120,8 (C_{quat}); 122,4, 127,3, 128,6 en 128,7 (4 × HC_{arom}); 129,8 (2 × HC_{arom}); 130,4 (HC_{arom}); 133,3 en 136,6

(2 × C_{quat}); 140,2 (CH_{pur}); 148,3 en 149,3 (2 × C_{quat}); 155,5 en 156,7 (C_{quat} en C=O_{pur}); 165,8 en 174,0 (2 × C=O). IR (ATR, cm⁻¹): ν_{NH} = 3178 en 3226; ν_{C=O} = 1731, 1686 en 1609; ν_{max} = 1557, 1407, 1233, 782, 756, 686, 647 en 637. MS (70eV): m/z (%) 491/3 (M⁻¹, 75). HRMS (ESI) berekend voor C₂₄H₂₂ClN₆O₄⁺ 493,1391 [M+H]⁺, gevonden 493,1384. R_f = 0,15 (CH₂Cl₂/MeOH 93/7). Gele kristallen. Rendement na kolomchromatografie: 3%. Smeltpunt = 264 °C.

***cis*-1-[2-(2-Acetylaminopurin-6-on-7-yl)ethyl]-4-(3-chloorfenyl)-3-fenoxy-2-azetidion 63b**

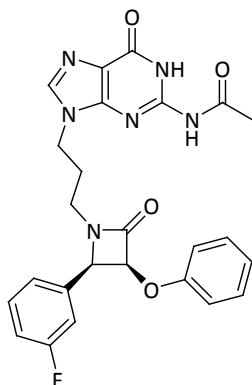


¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 2,16 (3H, s, CH₃C=O); 3,33-3,45 (1H, m, (HCH)N); 3,93-4,02 (1H, m, (HCH)N); 4,32-4,48 (2H, m, CH₂N); 4,99 (1H, d, *J* = 4,4 Hz, CHAr); 5,55 (1H, d, *J* = 4,4 Hz, CHO); 6,69-6,72, 6,82-6,87, 7,06-7,17 en 7,20-7,22 (2H, 1H, 5H en 1H, 4 × m, CH_{arom}); 8,23 (1H, s, CH_{pur}); 11,61 en 12,04 (2 × 1H, 2 × s (breed), 2 × NH). ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO): δ 24,3 (CH₃C=O); 41,1 en 45,2 (2 × CH₂N); 61,2 (CHAr); 81,8 (CHO); 111,9 (C_{quat}); 115,5 (2 × HC_{arom}); 122,3, 127,3, 128,6 en 128,7 (4 × HC_{arom}); 129,9 (2 × HC_{arom}); 130,3 (HC_{arom}); 133,2 en 136,4 (2 × C_{quat}); 145,2 (CH_{pur});

147,5, 153,1, 156,6 en 158,2 (3 × C_{quat} en C=O_{pur}); 165,7 en 174,0 (2 × C=O). IR (ATR, cm⁻¹): ν_{NH} = 3241; ν_{C=O} = 1745, 1676 en 1607; ν_{max} = 1409, 1380, 1253, 1237, 1222, 1051, 861, 780, 752, 688 en 662. MS: (70eV): m/z (%) 491/3 (M⁻¹,100). HRMS (ESI) berekend voor C₂₄H₂₂ClN₆O₄⁺ 493,1391

[M+H]⁺, gevonden 493,1388. R_f = 0,25 (CH₂Cl₂/MeOH 93/7). Gele kristallen. Rendement na kolomchromatografie: 28%. Smeltpunt = > 264 °C.

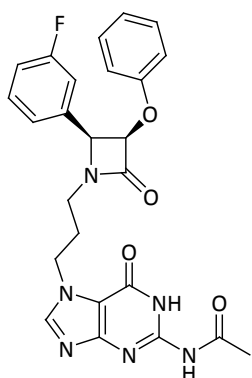
cis-1-[3-(2-Acetylamino-purin-6-on-9-yl)propyl]-3-fenoxy-4-(3-fluorfenyl)-2-azetidinon 62c



¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 1,97 (2H, quint, *J* = 7,0 Hz, CH₂CH₂N); 2,16 (3H, s, CH₃C=O); 2,92 en 3,37 (2 × 1H, 2 × d × t, *J* = 13,9, 7,0 Hz, CH₂(HCH)N); 4,09 (2H, t, *J* = 7,0 Hz, CH₂(CH₂)N); 5,21 (1H, d, *J* = 4,4 Hz, CH_{Ar}); 5,67 (1H, d, *J* = 4,4 Hz, CHO); 6,74-6,76 (2H, m, CH_{arom}); 6,85-6,89 (1H, m, CH_{arom}); 7,01-7,18 en 7,28-7,33 (5H en 1H, 2 × m, CH_{arom}); 7,96 (1H, s, CH_{pur}); 11,70 en 12,00 (2 × 1H, 2 × s (breed), 2 × NH); ¹⁹F-NMR (282 MHz, DMSO): δ (-113,93)-(-113,25) (m, FC_{quat,arom}). ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO): δ 24,3 (CH₃C=O); 27,7 (CH₂CH₂N); 38,0 en 41,4 (2 × CH₂N);

61,0 (CH_{Ar}); 81,7 (CHOPh); 115,5 (2 × HC_{arom}); 115,66 (d, *J* = 21,9 Hz, (HC)_{meta}); 115,69 (d, *J* = 21,9 Hz, (HC)_{meta}); 120,7 (C_{quat}); 122,3 (HC_{arom}); 124,9 (d, *J* = 2,3 Hz, F(HC)_{para}); 129,9 (2 × HC_{arom}); 130,6 en 137,4 (2 × d, *J* = 8,1 Hz, 2 × F(HC)_{meta}); 140,3 (CH_{pur}); 148,2 en 149,1 (2 × C_{quat}); 155,5 en 156,8 (C_{quat,pur} en C=O_{pur}); 162,3 (d, *J* = 245,7 Hz, FC_{quat}); 165,8 en 174,0 (2 × C=O). IR (ATR, cm⁻¹): ν_{C=O} = 1753, 1692 en 1656; ν_{max} = 3070, 2618, 2210, 2065, 1606, 1538, 1490, 1407, 1227, 1012, 815 en 751. MS (70eV): m/z (%) 489 (M⁻¹, 100). HRMS (ESI) berekend voor C₂₅H₂₂FN₆O₄⁻ 489,1687 [M-H]⁻, gevonden 489,1696. R_f = 0,07 (CHCl₃/MeOH 95/5). Witte kristallen. Rendement na kolomchromatografie: 9%. Smeltpunt = 242 °C.

cis-1-[3-(2-Acetylamino-purin-6-on-7-yl)propyl]-3-fenoxy-4-(3-fluorfenyl)-2-azetidinon 63c

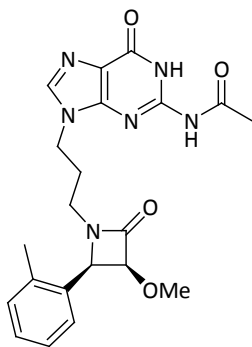


¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 1,97-2,03 (2H, m, CH₂CH₂N); 2,15 (3H, s, CH₃C=O); 2,83-2,92 (1H, d × t, 14,3, 6,7 Hz, (HCH)N); 3,27-3,39 (1H, m, (HCH)CH₂N); 4,30 (2H, t, *J* = 4,4 Hz, CH₂N); 5,24 (1H, d, *J* = 4,4 Hz, CH_{Ar}); 5,63 (1H, d, *J* = 4,4 Hz, CHO); 6,73-6,76, 6,84-6,89, 7,00-7,17 en 7,25-7,32 (2H, 1H, 5H en 1H, 4 × m, CH_{arom}); 8,13 (1H, s, CH_{pur}); 11,58 en 12,09 (2 × 1H, 2 × s (breed), 2 × NH). ¹⁹F-NMR (282 MHz, DMSO): δ (-113,33)-(-113,23) (m, FC_{quat,arom}). ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO): δ 24,3 (CH₃C=O); 28,7 (CH₂CH₂N); 37,5 en 44,5 (2 × CH₂N); 60,8 (CH_{Ar}); 81,7 (CHO); 111,8

(C_{quat}); 115,5 (2 × HC_{arom}); 115,7 (2 × d, 2 × *J* = 24,2 Hz, 2 × F(HC)_{ortho}); 122,3 (HC_{arom}); 125,0 (d, *J* = 2,3 Hz, F(HC)_{para}); 129,9 (2 × HC_{arom}); 130,6 (d, *J* = 8,1 Hz, F(HC)_{meta}); 137,4 (d, *J* = 7,0 Hz, F(C_{quat})_{meta}); 144,9 (CH_{pur}); 147,5 en 153,1 (2 × C_{quat}); 156,9 en 157,9 (C_{quat} en C=O_{pur}); 162,4 (d, *J* = 243,4 Hz, FC_{quat}); 165,7 en 173,9 (2 × C=O). IR (ATR, cm⁻¹): ν_{NH} = 3256 en 3088; ν_{C=O} = 1746, 1669 en 1604; ν_{max} = 1412, 1380, 1248, 1224, 755, 741, 691 en 655. MS (70eV): m/z (%) 489 (M⁻¹, 75). HRMS (ESI)

berekend voor $C_{25}H_{24}FN_6O_4^+$ 491,1843 $[M+H]^+$, gevonden 491,1840. $R_f = 0,15$ ($CHCl_3/MeOH$ 95/5). Witte kristallen. Rendement na kolomchromatografie: 39%. Smeltpunt = 242 °C.

cis-1-[3-(2-Acetylaminopurin-6-on-9-yl)propyl]-3-methoxy-4-(2-methylfenyl)-2-azetidinon **62d**



1H -NMR (300 MHz, DMSO): δ 1,93-2,00 (2H, m, CH_2CH_2N); 2,16 (3H, s, $CH_3C=O$); 2,28 (3H, s, CH_3Ar); 2,90 (1H, d \times t, $J = 14,0, 6,9$ Hz, (HCH)N); 3,00 (3H, s, CH_3O); 3,30-3,44 (1H, m, (HCH)N); 4,06 (2H, t, $J = 6,8$ Hz, CH_2N); 4,81 (1H, d, $J = 4,7$ Hz, CHO); 5,03 (1H, d, $J = 4,7$ Hz, $CHAR$); 7,11-7,19 (4H, m, CH_{arom}); 7,95 (1H, s, CH_{pur}); 11,70 en 11,99 (2 \times 1H, 2 \times s (breed), 2 \times NH). ^{13}C -NMR (75 MHz, ref = DMSO): δ 19,3 (CH_3Ar); 24,3 ($CH_3C=O$); 27,6 (CH_2CH_2N); 37,9 en 41,6 (2 \times CH_2N); 58,0 (CH_3O); 58,3 ($CHAR$); 85,5 (CHO); 120,7 (C_{quat}); 126,2, 127,0, 128,1 en 130,8 (4 \times HC_{arom});

133,4 en 136,7 (2 \times C_{quat}); 140,3 (CH_{pur}); 148,2 en 149,1 (2 \times C_{quat}); 155,4, 167,5 en 174,0 (3 \times C=O). IR (ATR, cm^{-1}): $\nu_{NH} = 3416$ en 3164 ; $\nu_{C=O} = 1743, 1676$ en 1610 ; $\nu_{max} = 2930, 1560, 1555, 1405, 1374, 1254, 1215, 1140, 782, 767, 740$ en 638 . MS (70 eV): m/z (%) 423 ($M^{-1}, 100$). HRMS (ESI) berekend voor $C_{21}H_{25}N_6O_4^+$ 425,1937 $[M+H]^+$, gevonden 425,1935. $R_f = 0,09$ ($CHCl_3/MeOH$ 95/5). Gele kristallen. Rendement na kolomchromatografie: 9%. Smeltpunt = 114 °C.

5.2.3. Synthese van 1-[ω -(thymine-1-yl)alkyl]-2-azetidinonen

5.2.3.1. Synthese van 1-[ω -(thymine-1-yl)alkyl]-2-azetidinonen **66**

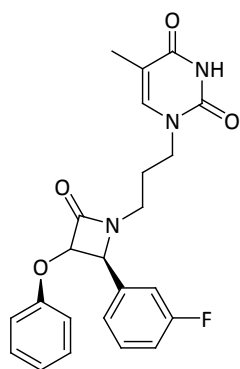
De synthese van *cis*-3-fenoxy-4-(3-fluorfenyl)-1-[3-(thymine-1-yl)propyl]-2-azetidinon **66c** en 1,3-bis-{3-[*cis*-(3-fenoxy-4-(3-fluorfenyl)-2-azetidinon-1-yl)]propyl}thymine **67c** geldt als voorbeeld voor de synthese van 1-[ω -(thymine-1-yl)alkyl]-2-azetidinonen **66** en 1,3-bis-[ω -(4-aryl-2-azetidinon-1-yl)alkyl]-thyminen **67**.

In een 50 mL kolf werd 5 mmol (0,63 g; 1 equiv.) thymine **7** opgelost in 25 mL *N,N*-dimethylformamide. Na het toevoegen van 5 mmol (0,22 g; 1,1 equiv) natriumhydride (60% dispersie in minerale olie) werd het reactiemengsel gedurende een half uur geroerd, waarna 5 mmol *cis*-1-(3-broompropyl)-4-(3-fluorfenyl)-3-fenoxy-2-azetidinon **47b** werd toegevoegd. Het reactiemengsel werd gedurende 16 uur geroerd bij 80 °C. Vervolgens werd het reactiemengsel afgekoeld tot kamertemperatuur en werd het solvent zoveel mogelijk ingedampt. Het reactiemengsel werd geëxtraheerd met water (25 mL) en dichloormethaan (25 mL). De waterfase werd drie maal geëxtraheerd met dichloormethaan (10 mL) waarna de gecombineerde organische fracties werden samengevoegd, zes maal gewassen met pekkel (25 mL) en gedroogd over $MgSO_4$. Na affiltreren van het $MgSO_4$ en indampen van het solvent aan de rotavapor werd het resterende *N,N*-

dimethylformamide verwijderd aan het hoogvacuüm bij 80 °C. Na een eerste zuiveringstap via graduele kolomchromatografie op silicagel met een solventmengsel van dichloormethaan/methanol (95-100/0-5) als eluens werd 0,79 g 1,3-bis-{3-[*cis*-(3-fenoxy-4-(3-fluorfenyl)-2-azetidinon-1-yl)]propyl}thymine **67c** bekomen (21% rendement). Tenslotte werd via omkristallisatie in dichloormethaan met toedruppelen van diëthylether 0,35 g *cis*-3-fenoxy-4-(3-fluorfenyl)-1-[3-(thymine-1-yl)propyl]-2-azetidinon **66** bekomen (17% rendement).

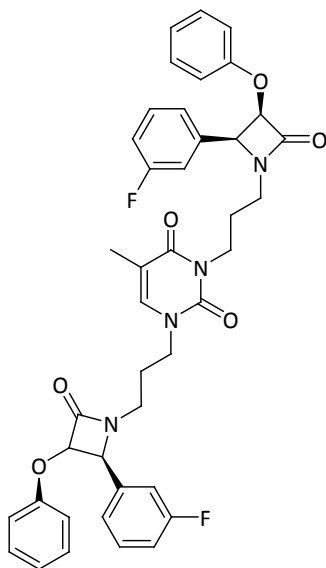
1,3-Bis-{3-[*cis*-(3-methoxy-4-(2-methylfenyl)-2-azetidinon-1-yl)]propyl}thymine **67d**, *cis*-3-methoxy-4-(2-methylfenyl)-1-[3-(thymine-1-yl)propyl]-2-azetidinon **66d** en *cis*-3-methoxy-4-(2-methylfenyl)-1-[3-(thymine-3-yl)propyl]-2-azetidinon **68d** konden reeds zuiver bekomen worden na graduele kolomchromatografie op silicagel met een solventmengsel van dichloormethaan/methanol (95-100/0-5) als eluens aan een rendement van respectievelijk 5%, 14% en 1%.

***cis*-3-Fenoxy-4-(3-fluorfenyl)-1-[3-(thymine-1-yl)propyl]-2-azetidinon 66d**



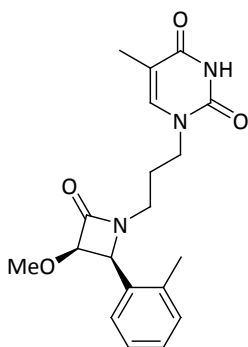
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ 1,89-1,98 (3H, m, CH₂CH₂N); 1,93 (3H, d, J = 1,1 Hz, CH_{3,thym}); 3,11 (1H, d × t, J = 14,4, 6,1 Hz, (HCH)N); 3,49 (1H, d × t, J = 14,4, 7,0 Hz, (HCH)N); 3,66 (1H, d × t, J = 14,1, 7,0 Hz, (HCH)N); 3,89 (1H, d × t, J = 14,1, 7,0 Hz, (HCH)N); 5,03 (1H, d, J = 4,4 Hz, CH_{Ar}); 5,49 (1H, d, J = 4,4 Hz, CHO); 6,73-6,77, 6,87-7,17 en 7,24-7,31 (2H, 7H en 1H, 3 × m, CH_{arom}, CH_{thym}); 8,92 (1H, s (breed), NH). ¹⁹F-NMR (282 MHz, CDCl₃): δ (-112,29)-(-112,20) (m, FC_{quat}). ¹³C-NMR (75 MHz, ref = CDCl₃): δ 12,4 (CH_{3,thym}); 27,0 (CH₂CH₂N); 38,3 en 46,5 (2 × CH₂N); 62,1 (CH_{Ar}); 81,9 (CHO); 111,1 (C_{quat,thym}); 115,5 (2 × HC_{arom}); 115,6 (d, J = 21,9 Hz, F(HC)_{ortho}); 116,1 (d, J = 20,8 Hz, F(HC)_{ortho}); 122,4 (HC_{arom}); 124,5 (d, J = 2,3 Hz, F(HC)_{para}); 129,4 (2 × HC_{arom}); 130,1 (d, J = 8,1 Hz, F(HC)_{meta}); 135,7 (d, J = 6,9 Hz, F(C_{quat})_{meta}); 140,6 (HC_{thym}); 150,9 (C_{quat}); 156,7 (C=O); 162,8 (d, J = 246,9 Hz, FC_{quat}); 164,1 en 166,4 (2 × C=O). IR (ATR, cm⁻¹): ν_{NH} = 3154; ν_{C=O} = 1760, 1688 en 1673; ν_{max} = 2933, 1652, 1456, 1232, 752, 740 en 724. MS (70 eV): m/z (%) 424 (M⁺+1, 100). HRMS (ESI) berekend voor C₂₃H₂₃FN₃O₄+ 424,1673 [M+H]⁺, gevonden 424,1673. Zuivering: Omkristallisatie in dichloormethaan met toedruppelen van diëthylether. Witte kristallen. Rendement: 58%. Rendement na omkristallisatie: 17%. Smeltpunt = 78 °C.

1,3-Bis-{3-[*cis*-(3-fenoxy-4-(3-fluorfenyl)-2-azetidinon-1-yl)]propyl}thymine 67d



$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) : δ 1,75-2,03 (2 \times 2H, m, 2 \times $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 1,94 (3H, s, $\text{CH}_{3,\text{thym}}$); 2,92-3,01, 3,09-3,16, 3,43-3,52, 3,59-3,74 en 3,82-4,05 (1H, 1H, 1H, 2H en 3H, 5 \times m, 4 \times CH_2N); 5,01 en 5,14 (2 \times 1H, 2 \times d, $J = 4,4$ Hz, CHAr); 5,48 (2H, d, $J = 4,4$ Hz, 2 \times CHO); 6,72-6,75, 6,85-7,17 en 7,21-7,31 (4H, 13H en 2H, 3 \times m, CH_{arom} en CH_{thym}). $^{19}\text{F-NMR}$ (282 MHz, CDCl_3): δ (-112,73)-(-112,64) en (-112,26)-(-112,16) (2 \times m, 2 \times FC_{quat}). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, ref = CDCl_3): δ 13,1 ($\text{CH}_{3,\text{thym}}$); 25,2 en 27,0 (2 \times $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 37,8, 38,3, 39,0 en 47,4 (4 \times CH_2N); 61,3 en 62,1 (2 \times CHAr); 81,8 en 81,9 (2 \times CHO); 110,2 ($\text{C}_{\text{quat,thym}}$); 115,54 en 115,57 (4 \times HC_{arom}); 115,58 (d, $J = 21,9$ Hz, 2 \times $\text{F}(\text{HC})_{\text{ortho}}$); 115,8 (d, $J = 21,9$ Hz, $\text{F}(\text{HC})_{\text{ortho}}$); 116,1 (d, $J = 20,8$ Hz, $\text{F}(\text{HC})_{\text{ortho}}$); 122,2 en 122,4 (2 \times HC_{arom}); 124,4 en 124,5 (2 \times d, 2 \times $J = 2,3$ Hz, 2 \times $\text{F}(\text{HC})_{\text{para}}$); 129,3 en 129,4 (4 \times HC_{arom}); 129,9 (d, $J = 9,3$ Hz, $\text{F}(\text{HC})_{\text{meta}}$); 130,1 (d, $J = 8,1$ Hz, $\text{F}(\text{HC})_{\text{meta}}$); 135,7 en 136,0 (2 \times d, $J = 6,9$ Hz, 2 \times $\text{F}(\text{C}_{\text{quat}})_{\text{meta}}$); 138,9 (HC_{thym}); 151,4 ($\text{C}=\text{O}$); 156,7 en 156,8 (2 \times $\text{C}_{\text{quat}}\text{O}$); 162,3 (d, $J = 245,7$, FC_{quat}); 162,8 (d, $J = 246,9$, FC_{quat}); 163,7, 166,0 en 166,4 (3 \times $\text{C}=\text{O}$). **IR** (ATR, cm^{-1}): $\nu_{\text{C}=\text{O}} = 1755, 1697, 1664, 1637$; $\nu_{\text{max}} = 2921, 1591, 1489, 1454, 1352, 1232, 1056, 768, 754, 701$ en 692. **MS** (70 eV): m/z (%) 721 ($\text{M}^+ + 1$, 100). **HRMS** (ESI) berekend voor $\text{C}_{41}\text{H}_{39}\text{F}_2\text{N}_4\text{O}_6^+$ 721,2838 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$, gevonden 721,2833. $R_f = 0,25$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 98/2). Witte kristallen. Rendement na kolomchromatografie: 21%. Smeltpunt = 78 $^\circ\text{C}$.

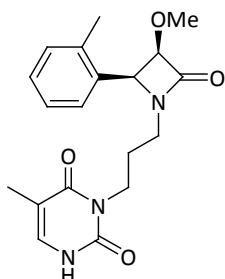
cis-3-Methoxy-4-(2-methylfenyl)-1-[3-(thymine-1-yl)propyl]-2-azetidinon 66d



$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 1,89-1,98 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 1,92 (3H, d, $J = 1,3$ Hz, $\text{CH}_{3,\text{thym}}$); 2,38 (3H, s, CH_3Ar); 3,07 (1H, d \times t, $J = 14,3, 6,6$ Hz, (HCH)N); 3,16 (3H, s, CH_3O); 3,51 (1H, d \times t, $J = 14,3, 6,6$ Hz, (HCH)N); 3,64 (1H, d \times t, $J = 14,0, 7,1$ Hz, (HCH)N); 3,86 (1H, d \times t, $J = 14,0, 7,1$ Hz, (HCH)N); 4,78 (1H, d, $J = 4,7$ Hz, CHO); 5,08 (1H, d, $J = 4,7$ Hz, CHAr); 7,15 (1H, q, $J = 1,3$ Hz, CH_{thym}); 7,19-7,27 (4H, m, CH_{arom}); 9,13 (1H, s (breed), NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, ref = CDCl_3): δ 12,4 ($\text{CH}_{3,\text{thym}}$); 19,4 (CH_3Ar); 26,9 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 38,0 en 46,6, (2 \times CH_2N); 58,4 (CH_3O); 58,6 (CHAr); 85,4 (CHO); 111,0 ($\text{C}_{\text{quat,thym}}$); 126,2, 127,1, 128,4 en 130,8 (4 \times HC_{arom}); 131,7 en 136,4 (2 \times C_{quat}); 140,8 (HC_{thym}); 151,0, 164,3 en 168,0 (3 \times $\text{C}=\text{O}$). **IR** (ATR, cm^{-1}): $\nu_{\text{NH}} = 3163$; $\nu_{\text{C}=\text{O}} = 1745, 1668$ en 1672; $\nu_{\text{max}} = 3052, 2932, 1463, 1354, 1215, 1063, 1014, 766$ en 743. **MS** (70 eV): m/z (%) 358 ($\text{M}^+ + 1$, 100). **HRMS**

(ESI) berekend voor $C_{19}H_{24}N_3O_4^+$ 358,1767 $[M+H]^+$, gevonden 358,1770. $R_f = 0,13$ ($CH_2Cl_2/MeOH$ 97/3). Gele kristallen. Rendement na kolomchromatografie: 14%. Smeltpunt = 76 °C.

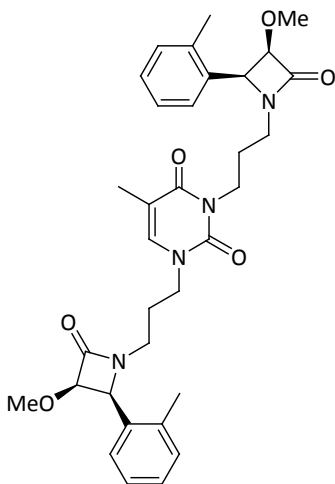
cis-3-Methoxy-4-(2-methylfenyl)-1-[3-(thymine-3-yl)propyl]-2-azetidinon 68d



1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 1,76-1,96 (2H, m, $\underline{CH_2CH_2N}$); 1,91 (3H, s, $CH_{3,thym}$); 2,39 (3H, s, $\underline{CH_3Ar}$); 2,99 (1H, d \times t, $J = 14,4, 6,8$ Hz, (\underline{HCH})N); 3,13 (3H, s, CH_3O); 3,68 (1H, d \times t, $J = 14,4, 6,8$ Hz, (\underline{HCH})N); 3,94 (2H, t, $J = 7,4$ Hz, CH_2N); 4,79 (1H, d, $J = 4,7$ Hz, CHO); 5,18 (1H, d, $J = 4,7$ Hz, \underline{CHAr}); 7,07 (1H, s (breed), CH_{thym}); 7,17-7,28 (4H, m, CH_{arom}); 10,02 (1H, s (breed), NH).

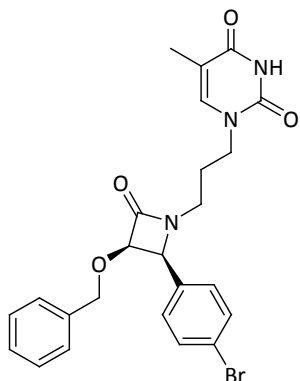
^{13}C -NMR (75 MHz, ref = $CDCl_3$): δ 13,0 ($CH_{3,thym}$); 19,4 ($\underline{CH_3Ar}$); 25,3 ($\underline{CH_2CH_2N}$); 37,8 en 38,3 (2 \times CH_2N); 58,2 (\underline{CHAr}); 58,3 (CH_3O); 85,3 (CHO); 109,8 ($C_{quat,thym}$); 126,1, 127,1, 128,1 en 130,6 (4 \times HC_{arom}); 132,0 (C_{quat}); 135,1 (HC_{thym}); 136,4 (C_{quat}); 152,8, 164,2 en 167,7 (3 \times C=O). **IR** (ATR, cm^{-1}): $\nu_{NH} = 3284$; $\nu_{C=O} = 1746, 1643$ en 1634 ; $\nu_{max} = 2965, 2929, 2355, 2085, 1446, 1357, 1210, 1052, 1015, 951, 769, 742, 729$. **MS** (70 eV): m/z (%) 358 ($M^++1, 100$). **HRMS** (ESI) berekend voor $C_{19}H_{24}N_3O_4^+$ 358,1767 $[M+H]^+$, gevonden 358,1770. $R_f = 0,10$. ($CH_2Cl_2/MeOH$ 97/3). Gele kristallen. Rendement na kolomchromatografie: 1%. Smeltpunt = 71 °C.

1,3-Bis-[3-*cis*-(3-methoxy-4-(2-methylfenyl)-2-azetidinon-1-yl)]propyl]thymine 67d



1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 1,69-1,95 (2 \times 2H, m, 2 \times $\underline{CH_2CH_2N}$); 1,91 (3H, s, $CH_{3,thym}$); 2,38 (2 \times 3H, s, 2 \times CH_3Ar); 2,91-3,11 (2 \times 1H, m, 2 \times (\underline{HCH})N); 3,14 en 3,16 (2 \times 3H, 2 \times s, 2 \times CH_3O); 3,42-3,55 (1H, m, (\underline{HCH})N); 3,58-3,71 (2 \times 1H, m, (\underline{HCH})N en (\underline{HCH})N); 3,79-3,89 (1H, m, (\underline{HCH})N); 3,93 (2H, t, $J = 7,4$ Hz, CH_2N); 4,77 en 4,78 (2 \times 1H, 2 \times d, $J = 4,5$ Hz, CHO); 5,07 (1H, d \times d, $J = 4,5, 1,4$, \underline{CHAr}); 5,19 (1H, d, $J = 4,5$ Hz, \underline{CHAr}); 7,10 (1H, s, CH_{thym}); 7,16-7,27 (8H, m, CH_{arom}). **^{13}C -NMR** (75 MHz, ref = $CDCl_3$): δ 13,0 ($CH_{3,thym}$); 19,4 (2 \times $\underline{CH_3Ar}$); 25,2 en 26,8 (2 \times $\underline{CH_2CH_2N}$); 37,8, 38,0, 39,0 en 47,4 (4 \times CH_2N); 58,0, 58,2, 58,3 en 58,6 (2 \times \underline{CHAr} en 2 \times CH_3O); 85,3 en 85,4 (2 \times CHO); 109,9 ($C_{quat,thym}$); 126,07 en 126,12 (2 \times HC_{arom}); 127,1 (2 \times HC_{arom}); 128,0, 128,3, 130,6 en 130,8 (4 \times HC_{arom}); 131,7, 132,1 136,38 en 136,41 (4 \times C_{quat}); 139,1 (HC_{thym}); 151,3, 163,7, 167,5 en 167,9 (4 \times C=O). (ATR, cm^{-1}): $\nu_{C=O} = 1745, 1695, 1663$ en 1637 ; $\nu_{max} = 2928, 1463, 1355, 1211, 1066, 769, 741$ en 728 . **MS** (70 eV): m/z (%) 589 ($M^++1, 100$). **HRMS** (ESI) berekend voor $C_{33}H_{41}N_4O_6^+$ 589,3026 $[M+H]^+$, gevonden 589,3025. $R_f = 0,10$. ($CH_2Cl_2/MeOH$ 97/3). Viskeuze gele olie. Rendement na kolomchromatografie: 5%.

cis-3-Benzoyloxy-4-(4-broomfenyl)-1-[3-(thymine-1-yl)propyl]-2-azetidinon 66e

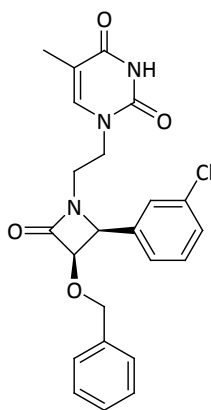


¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) 1,81-1,92 (2H, m, CH₂CH₂N); 1,92 (3H, s, CH_{3,thym}); 3,02 (1H, d × t, J = 14,5, 5,9 Hz, (HCH)N); 3,37 (1H, d × t, J = 14,5, 7,0 Hz, (HCH)N); 3,60 (1H, d × t, J = 14,1, 7,0 Hz, (HCH)N); 3,79 (1H, d × t, J = 14,1, 7,0 Hz, (HCH)N); 4,20 en 4,36 (2 × 1H, 2 × d, J = 11,6 Hz, (HCH)Ph); 4,73 (1H, d, J = 4,4 Hz, CHAr); 4,91 (1H, d, J = 4,4 Hz, CHO); 6,95-6,98 (2H, m, CH_{arom}); 7,12 (1H, q, 1,1 Hz, CH_{thym}); 7,21-7,26 en 7,51-7,54 (5H en 2H, 2 × m, CH_{arom}); 8,34 (1H, s (breed), NH).

¹³C-NMR (75 MHz, ref = CDCl₃): δ 12,3 (CH_{3,thym}); 27,0 (CH₂CH₂N);

38,0 en 46,5 (2 × CH₂N); 62,0 (CHAr); 72,8 (CH₂Ph); 83,5 (CHO); 111,0 (C_{quat,thym}); 123,1 (C_{quat}); 128,2 (3 × HC_{arom}); 128,5, 130,4 en 131,9 (6 × HC_{arom}); 132,9 en 136,1 (2 × C_{quat}); 140,7 (HC_{thym}); 150,7, 163,9 en 167,7 (3 × C=O). IR (ATR, cm⁻¹): ν_{NH} = 3178; ν_{C=O} = 1749, 1685 en 1676; ν_{max} = 2946, 1466, 1408, 1219, 1072, 1008, 748 en 699. MS (70 eV): m/z (%) 498/500 (M⁺+1, 100). HRMS (ESI) berekend voor C₂₄H₂₅BrN₃O₄⁺ 498,1028 [M+H]⁺, gevonden 498,1025. Zuivering: Omkristallisatie in dichloormethaan met toedruppelen van diëthylether. Witte kristallen. Rendement: 27%. Rendement na omkristallisatie: 12%. Smeltpunt = 214 °C.

cis-3-Benzoyloxy-4-(3-chloorfenyl)-1-[2(thymine-1-yl)ethyl]-2-azetidinon 66f



¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 1,73 (3H, d, J = 1,1 Hz, CH_{3,thym}); 2,96-3,04 (1H, m, (HCH)N); 3,62-3,84 (3H, m, (HCH)N en CH₂N); 4,03 en 4,28 (2 × 1H, 2 × d, J = 11,0 Hz, (HCH)Ph); 4,84 (1H, d, J = 4,4 Hz, CHO); 5,02 (1H, d, J = 4,4 Hz, CHAr); 6,84-6,88, 7,19-7,24, 7,27-7,33 en 7,38-7,43 (2H, 3H, 2H en 2H, 4 × m, CH_{arom}); 7,48 (1H, d, J = 1,1 Hz, CH_{thym}); 11,20 (1H, s (breed), NH). ¹³C-

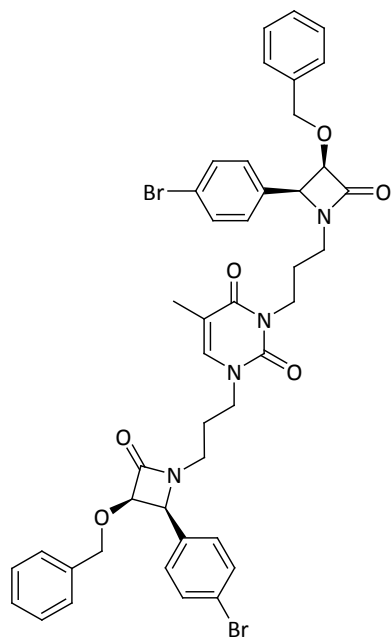
NMR (75 MHz, DMSO): δ 12,5 (CH_{3,thym}); 39,3 en 45,8 (2 × CH₂N); 61,1 (CHAr); 71,9 (CH₂Ph); 84,3 (CHO); 109,4 (C_{quat,thym}); 127,5 (HC_{arom}); 128,4 (3 × HC_{arom}); 128,6 (HC_{arom}); 128,7 (3 × HC_{arom}); 130,7 (HC_{arom}); 133,7, 137,1 en 137,8 (3 × C_{quat}); 141,6 (HC_{thym}); 151,7, 164,8 en 167,2 (3 × C=O). IR (ATR,

cm⁻¹): ν_{NH} = 3246; ν_{C=O} = 1738, 1688 en 1673; ν_{max} = 2938, 1651, 1602, 1455, 1409, 1380, 1371, 1231, 1062, 756, 738 en 697. MS (70 eV): m/z (%) 440/2 (M⁺+1, 55). HRMS (ESI) berekend voor C₂₃H₂₃ClN₃O₄⁺ 440,1377 [M+H]⁺, gevonden 440,1371. Zuivering: Kristallisatie in dichloormethaan. Witte kristallen. Rendement: 58%. Smeltpunt = 252 °C.

5.2.3.2. Synthese van 1,3-bis-{3-[cis-(3-benzyloxy-4-(4-broomfenyl)-2-azetidinon-1-yl)]propyl}thymine **67**

In een 25 mL kolf werd 1 mmol (0,126 g; 1 equiv.) thymine opgelost in *N,N*-dimethylformamide (10 mL), en na het toevoegen van 2,2 mmol (0,088 g; 2,2 equiv) natriumhydride (60% dispersie in minerale olie) werd het reactiemengsel gedurende een half uur geroerd. Vervolgens werd 2 mmol (0,906 g; 2 equiv.) *cis*-3-benzyloxy-4-(4-broomfenyl)-1-(3-broompropyl)-2-azetidinon **47e** toegevoegd waarna het reactiemengsel overnacht (16 uur) geroerd werd bij 100 °C. Na afkoelen van het reactiemengsel tot kamertemperatuur werd het solvent zoveel mogelijk ingedampt en werd het reactiemengsel geëxtraheerd met water (25 mL) en dichloormethaan (25 mL). De waterfase werd drie maal met dichloormethaan (10 mL) geëxtraheerd waarna de gecombineerde organische fracties werden samengevoegd, zes maal gewassen met pekkel (25 mL) en gedroogd over MgSO₄. Na affiltreren van het MgSO₄ en indampen van het solvent aan de rotavapor werd het resterende *N,N*-dimethylformamide verwijderd aan het hoogvacuüm bij 80 °C. Na omkristallisatie in dichloormethaan met toedruppelen van diëthylether werd 0,68 g 1,3-bis-{3-[*cis*-(3-benzyloxy-4-(4-broomfenyl)-2-azetidinon-1-yl)]propyl}thymine **67e** bekomen (78% rendement).

1,3-Bis-{3-[*cis*-(3-benzyloxy-4-(4-broomfenyl)-2-azetidinon-1-yl)]propyl}thymine **67e**



¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1,70-1,87 (2 × 2H, m, 2 × CH₂CH₂N); 1,90 (3H, s, CH_{3,thym}); 2,83-2,92, 2,96-3,05, 3,31-3,40, 3,44-3,65 en 3,72-3,97 (1H, 1H, 1H, 2H en 3H, 5 × m, 4 × CH₂N); 4,17, 4,20, 4,34 en 4,36 (4 × 1H, 4 × d, *J* = 11,4 Hz, 2 × CH₂Ph); 4,73 (1H, d, *J* = 4,1 Hz, CHAr); 4,85 (1H, d, *J* = 4,4 Hz, CHAr); 4,87 (1H, d, *J* = 4,1 Hz, CHO); 4,90 (1H, d, *J* = 4,4 Hz, CHO); 6,92-6,98 (4H, m, CH_{arom}); 7,08 (1H, q, *J* = 1,1 Hz, CH_{thym}); 7,21-7,25 en 7,48-7,54 (10H en 4H, 2 × m, CH_{arom}). ¹³C-NMR (75 MHz, ref = CDCl₃): δ 13,1 (CH_{3,thym}); 25,2 en 27,0 (2 × CH₂CH₂N); 37,6, 38,0, 39,1 en 47,4 (4 × CH₂N); 61,2 en 62,0 (2 × CHAr); 72,6 en 72,8 (2 × CH₂Ph); 83,5 en 83,6 (2 × CHO); 110,0 (C_{quat,thym}); 122,7 en 123,1 (2 × C_{quat}); 128,0 (HC_{arom}); 128,16 (2 × HC_{arom}); 128,21 (3 × HC_{arom}); 128,4 en 128,5 (4 × HC_{arom}); 130,4 (4 × HC_{arom}); 131,7 en 131,9 (4 × HC_{arom}); 132,9, 133,2, 136,1 en 136,4 (4 × C_{quat}); 139,0 (HC_{thym}); 151,3, 163,7, 167,1 en 167,6 (4 × C=O). IR (ATR, cm⁻¹): ν_{C=O} = 1743, 1690, 1660 en 1635; ν_{max} = 2921, 1466, 1455, 1446, 1402, 1338, 1165, 1072, 1008, 749 en 698. MS (70 eV): *m/z* (%) 869/71/73 (M⁺+1, 20). HRMS (ESI) berekend voor C₄₃H₄₃Br₂N₄O₆⁺ 869,1549 [M+H]⁺, gevonden 869,1536.

Zuivering: Omkristallisatie in dichloormethaan met toedruppelen van diëthylether. Witte kristallen.

Rendement: 98%. Rendement na omkristallisatie: 78%. Smeltpunt = 149 °C.

6. Referenties

- ¹ Meunier, B. *Acc. Chem. Res.* **2008**, 41, 69.
- ² Starsvic, K.; Pesic, D.; Toplak, A.; Landek, G.; Alhodzic, S.; Hererros, E.; Ferrer, S.; Spaventi, R.; Peric, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 49, 365.
- ³ Bisi, A.; Rampa, A.; Budreisi, R.; Gobbi, S.; Belluti, P.I.; Volati, E.; Chiarini, A.; Valenti, P. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 1353.
- ⁴ Decker, M. *Curr. Med. Chem.* **2011**, 18, 1464.
- ⁵ Saadeh, A.H.; Mosleh, I.M.; Mubarak, M.S. *Molecules* **2009**, 14, 1483.
- ⁶ Meunier, B. *C. R. Chim.* **2011**, 14, 400.
- ⁷ D'hooghe, M.; Mollet, K.; De Vreese, R.; Jonckers, T.; Dams, G.; De Kimpe, N. *J. Med. Chem.* **2012**, In druk.
- ⁸ D'hooghe, M.; Dekeukeleire, S.; De Kimpe, N. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, 6, 1190.
- ⁹ D'hooghe, M.; Vandekerckhove, S.; Mollet, K.; Vervisch, K.; Dekeukeleire, S.; Lehoucq, L.; Lategan, C.; Smith, P.J.; Chibale, K.; De Kimpe, N. *Beilstein J. Org. Chem.* **2011**, 7, 1745.
- ¹⁰ D'hooghe, M.; Dekeukeleire, S.; Leemans, E.; De Kimpe, N. *Pure Appl. Chem.* **2010**, 82, 1749.
- ¹¹ D'hooghe, M.; De Jaegher, Y.; De Kimpe, N. *Tetrahedron.* **2008**, 64, 4575.
- ¹² Singh, P.; Mehra, V.; Kumar, V.; Mahajan, M.P. *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 5060.
- ¹³ Van Branbandt, W.; De Jaegher, Y.; De Kimpe, N. *Pure Appl. Chem.* **2005**, 77, 2061.
- ¹⁴ Penfold, D.J.; Pike, K.; Genge, A.; Anson, M.; Kitteringham, J.; Kilburn, J.D. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 10347.
- ¹⁵ Alcaide, B.; Rodríguez-Ranera, C.; Rodríguez-Vicente, A. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 3081.
- ¹⁶ Mehta, P.D.; Sengar, N.P.S.; Pathak, A.K. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, 5541.
- ¹⁷ Cimarelli, C.; Giuli, S.; Palmieri, G. *Tetrahedron Assymetr.* **2006**, 17, 1308.
- ¹⁸ Sham, H.L.; Betebenner, D.A.; Herrin, T.; Kumar, G.; Saldivar, A.; Vasavanonda, S.; Molla, A.; Kempf, D.J.; Plattner, J.J.; Norbeck, D.W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, 11, 1351.
- ¹⁹ Zhao, C.; Huang, T.; Chen, W.; Deng, Z. *Appl. Environ. Microb.* **2010**, 76, 7343.
- ²⁰ Davies, G.; Ichihara, O.; Roberts, P.M.; Thomson, J.E. *Tetrahedron* **2011**, 67, 216.
- ²¹ Patil, M.N.; Gonnade, R.G.; Joshi, N.N. *Tetrahedron* **2010**, 66, 5036.
- ²² Csépanyi-Kömi, R.; Lévy, M. Ligeti, E. *Mol. Cell. Endocrinol.* **2012**, 10.
- ²³ Kimple, A.J.; Bosch, D.E.; Giguère, P.M.; Siderovski, D.P. *Pharmacol. Rev.* **2011**, 63, 728.
- ²⁴ Legraverend, M.; Grierson, D. S. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 3987.
- ²⁵ de Koning, H.; Diallinas, G. *Mol. Membr. Biol.* **2000**, 75, 75.
- ²⁶ de Koning, H.P.; Bridges, D.J.; Burchmore, R.J.S. *Microbiol. Rev.* **2005**, 29, 987.
- ²⁷ Majumdar, S.; Macha, S.; Pal, D.; Mitra, K.A. *Curr. Eye Res.* **2004**, 29, 127.
- ²⁸ Kern, E.R.; Kushner, N.L.; Harttline, B.C.; Williams-Aziz, S.L.; Harden, E.A.; Zhou, S.; Zemlicka, J.; Prichard, M.N. *Antimicrob. Agents Ch.* **2005**, 49, 1039.
- ²⁹ De Clercq, E. *Int. J. Antimicrob Ag.* **2001**, 18, 309.
- ³⁰ Macchi, B.; Mastino, A. *Pharmacol. Res.* **2002**, 46, 473.
- ³¹ Lee, H.C.; Kim, J.H.; Jang, W.; Kim, S.Y. *Appl. Environ. Microb.* **2009**, 75, 2423.
- ³² Dabholkar, V.V.; Ansari, F.Y. *Green Chem. Let. Rev.* **2010**, 3, 245.

- ³³ Hocková, D.; Hulý, A.; Masojídková, M.; Andrei, G.; Snoeck, R.; De Clercq, E.; Balzarini, J. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 3197.
- ³⁴ Nasr, M.N.; Gineinah, M.M.; *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **2002**, *6*, 289.
- ³⁵ Kifli, N.; De Clercq, E.; Balzarini, J.; Simons, C. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 4245.
- ³⁶ Ragno, R.; Mai, A.; Sbardella, G.; Artico, M.; Massa, S.; Musiu, C.; Mura, M.; Marturana, M.; Cadeddu, A.; La Colla, P. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 928.
- ³⁷ Sirichaiwat, C.; Intaraudom, C.; Kamchonwongpaisan, S.; Vanichthanankul, J.; Thebtaranonth, Y.; Yuthavong, Y. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 345.
- ³⁸ Jiao, L.; Liang, Y.; Xu, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 6060.
- ³⁹ D'hooghe, M.; Kenis, S.; Vervisch, K.; Lategan, C.; Smith, P.J.; Chibale, K.; De Kimpe, N. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, 579.
- ⁴⁰ Alarcon, K.; Martelli, A.; Demeunynck, M.; Lhomme, J. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 7211.
- ⁴¹ Torii, T.; Shiragami, H.; Yamashita, K.; Suzuki, Y.; Hijiya, T.; Kashiwagi, T.; Izawa, K. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 5709.
- ⁴² Izawa, K.; Shiragami, H. *Pure Appl. Chem.* **1998**, *70*, 313.
- ⁴³ Ferenc, G.; Pádár P.; Szolomájer, J.; Kovács, L. *Curr. Org. Chem.* **2009**, *13*, 1085.
- ⁴⁴ Clausen, F.P.; Juhl-Christensen, J. *Org. Prep. Proced. Int.* **1993**, *25*, 375.
- ⁴⁵ Legraverend, M. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 8585.
- ⁴⁶ Komissarov, V.V.; Kritzyn, M.A. *Russ. J. Bioorg. Chem.* **2010**, *36*, 477.
- ⁴⁷ Pulido, D.; Sánchez, A.; Robles, J.; Pedroso, E.; Grandas, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 1398.
- ⁴⁸ Abu Sheikha, G.; La Colla, P.; Loi, A.G. *Nucleos. Nucleot. Nucl.* **2002**, *21*, 619.
- ⁴⁹ Lazrek, H.B.; Taourirte, M.; Oulih, T.; Barascut, J.L.; Imbach, J.L.; Pannecouque, C.; Witrouw, M.; De Clercq, E. *Nucleos. Nucleot. Nucl.* **2001**, *20*, 1949.
- ⁵⁰ Kjellberg, J.; Liljenberg, M.; Johansson, N.G. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 877.
- ⁵¹ Fletcher, S.; Shahani, V.M.; Lough, A.J.; Gunning, P.T. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 4621.
- ⁵² Lu, W.; Sengupta, S.; Petersen, J.L.; Ahkmedov, N.G.; Shi, X. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5012.
- ⁵³ Figueira, J.M.; Blanco, J.M.; Caamaño, O.; Fernández, F.; Garcia-Mera, X.; López, C.; Andrei, G.; Snoeck, R.; Padalko, E.; Neyts, J.; Balzarini, J.; De Clercq, E. *Arch. Pharm.* **1999**, *332*, 348.
- ⁵⁴ Fernández, F.; Hergueta, A.R.; López, C.; De Clercq, E.; Balzarini, J. *Nucleos. Nucleot. & Nucl.* **2001**, *20*, 1129.
- ⁵⁵ Tardibono, L.P.; Miller, M.J.; Balzarini, J. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 825.
- ⁵⁶ Sharma, P.K.; Nair, V. *Arkivoc* **2000**, *1*, 19.
- ⁵⁷ Rejman, D.; Pohl, R.; Dracínsky, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 2172.
- ⁵⁸ Onishi, T.; Tsuji, T. *Nucleos., Nucleot. & Nucl.* **2001**, *20*, 1941.
- ⁵⁹ Yamazaki, A.; Kumashiro, I.; Takenishi, T. *J. Org. Chem.* **1967**, *32*, 1825.
- ⁶⁰ Alhede, B.; Clausen, F.; P.; Juhl-Christensen, J.; McCluskey, K.K.; Preikschat, H.F. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 2139.
- ⁶¹ Mollet, K.; D'hooghe, M.; De Kimpe, N. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 264.
- ⁶² D'hooghe, M.; Mollet, K.; Dekeukeleire, S.; De Kimpe, N. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 607.
- ⁶³ De Vreese, R. Ingenieursthesis, Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen, Universiteit Gent **2007**.
- ⁶⁴ Van Brabandt, W.; Van Wallegem, M.; D'hooghe, M.; De Kimpe, N. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 7083.

-
- ⁶⁵ Sutton, J.C.; Bolton, S.A.; Hartl, K.S.; Huang, M-H.; Jacobs, G.; Meng, W.; Ogletree, M.L.; Pi, Z.; Schumacher, W.A.; Seiler, S.M.; Slusarvhyk, W.A.; Treuner, U.; Zahler, R. Zhao, G.; Bissacchi, G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, 3229.
- ⁶⁶ Desai, M.C.; Lefkowitz, S.L.; Thadeio, P.F.; Longo, K.P.; Snider, R.M. *J. Med. Chem.* **1992**, 35,4911.
- ⁶⁷ Taylor, E.C.; Kuhnt, D.; Chang, Z. *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 6937.
- ⁶⁸ Mukovnya, A.V.; Kommissarov, V.V.; Kritsyn, A.M.; Mitkevich, V.A.; Tunitskaya, V.L.; Kochetkov, S.N. *Mol. Biol.* **2010**, 6, 931.
- ⁶⁹ Kočalka, P.; Pohl, R.; Rejman, D.; Rosenberg, I. *Nucleos. Nucleot. & Nucl.* **2005**, 24, 805.
- ⁷⁰ Rejman, D.; Kočalka, P.; Buděšínský, M.; Pohl, R.; Rosenberg, I. *Tetrahedron* **2007**, 63, 1243.
- ⁷¹ Roy, V.; Zerrouki, R.; Krausz, P.; Schmidt, S.; Aubertin, A.M. *Nucleot. Nucleos. & Nucl.* **2004**, 23, 1625.
- ⁷² Nawrot, B.; Michalak, O.; Olejniczak, S.; Wicrozek, W.; Lis, T.; Stec, W.J. *Tetrahedron.* **2001**, 57, 3979.
- ⁷³ Bonneau, P.R.; Hasani, F.; Plouffe, C.; Malenfant, E.; Laplante, S.R.; Guse, I.; Ogilvie, W.W.; Plante, R.; Davidson, W.C.; Hopkins, J.L.; Morelock, M.M.; Cordingsley, M.G.; Déziel, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 121, 2965.