

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
ΝΙΚΗ ΤΖΙΟΥΜΑΚΗ

**«ΣΥΝΘΕΣΗ ΝΕΩΝ ΚΕΤΟ ΚΑΙ ΕΞΩΜΕΘΥΛΕΝΙΚΩΝ
ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΩΝ
ΜΕ ΑΝΤΙΙΚΗ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ»**

2010

**“ ΣΥΝΘΕΣΗ ΝΕΩΝ ΚΕΤΟ ΚΑΙ ΕΞΩΜΕΘΥΛΕΝΙΚΩΝ
ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΩΝ
ΜΕ ΑΝΤΙΙΚΗ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ”**

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Δ. ΚΟΜΙΩΤΗΣ (ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ): Αναπληρωτής Καθηγητής Οργανικής Χημείας, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Α. ΤΣΟΤΙΝΗΣ: Καθηγητής Φαρμακευτικής Χημείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Κ. ΛΙΤΙΝΑΣ: Αναπληρωτής Καθηγητής Οργανικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Δ. ΚΟΜΙΩΤΗΣ : Αναπληρωτής Καθηγητής Οργανικής Χημείας, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Α. ΤΣΟΤΙΝΗΣ: Καθηγητής Φαρμακευτικής Χημείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Κ. ΛΙΤΙΝΑΣ: Αναπληρωτής Καθηγητής Οργανικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Ο. ΜΑΡΚΟΠΟΥΛΟΥ-ΙΓΓΛΕΣΗ: Καθηγήτρια Οργανικής Χημείας, Τομέας Χημικών Επιστημών, Σχολή Χημικών Μηχανικών, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο

Β. ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ-ΚΟΚΟΤΟΥ: Καθηγήτρια Οργανικής Χημείας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Γ. ΚΟΚΟΤΟΣ: Καθηγητής Οργανικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ι. ΓΑΛΛΟΣ: Καθηγητής Οργανικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

ΝΙΚΗ ΤΖΙΟΥΜΑΚΗ

**“ ΣΥΝΘΕΣΗ ΝΕΩΝ ΚΕΤΟ ΚΑΙ ΕΞΩΜΕΘΥΛΕΝΙΚΩΝ
ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΩΝ
ΜΕ ΑΝΤΙΙΚΗ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ”**

ΝΙΚΗ ΤΖΙΟΥΜΑΚΗ

ΛΑΡΙΣΑ 2010

“ ΣΥΝΘΕΣΗ ΝΕΩΝ ΚΕΤΟ ΚΑΙ ΕΞΩΜΕΘΥΛΕΝΙΚΩΝ
ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΩΝ
ΜΕ ΑΝΤΙΙΚΗ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ”

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ, ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

*Αριθμός προκαταρτικών σελίδων: 15
Συνολικός αριθμός σελίδων: 214
Συνολικός αριθμός εικόνων: 2
Συνολικός αριθμός πινάκων: 12
Συνολικός αριθμός παραρτημάτων: 1
Συνολικός αριθμός βιβλιογραφικών παραπομπών: 113*

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα διατριβή εστιάστηκε στη σύνθεση νέων κετο και εξωμεθυλενικών νουκλεοζιτών με τροποποιημένους εξαμελείς υδατανθρακικούς δακτυλίους, καθώς και στη βιολογική αποτίμηση της αντιικής και κυτταροτοξικής τους δράσης τους.

Στηριζόμενοι αφενός στην ισχυρή αντικαρκινική και αντιική δράση που έχουν επιδείξει φουρανονουκλεοζιτικά ανάλογα, τα οποία φέρουν εξωμεθυλένιο και αφετέρου στη σημαντική βιολογική δράση των κετοπυρανονουκλεοζιτικών, στην παρούσα εργασία περιγράφεται η σύνθεση νέων κορεσμένων και ακόρεστων πυρανονουκλεοζιτών, οι οποίοι φέρουν κετονομάδα ή εξωμεθυλένιο στις θέσεις 2', 3' ή 4' του σακχάρου.

Πιο συγκεκριμένα, σχεδιάστηκαν κορεσμένοι και ακόρεστοι εξωπυρανονουκλεοζίτες που φέρουν κετονομάδα ή εξωμεθυλενική ομάδα στη 2' και στη 4'-θέση του σακχάρου, καθώς επίσης και πεντο-πυρανονουκλεοζίτες με κετονομάδα ή εξωμεθυλενική ομάδα στη 2'- και 4'-θέση του υδατανθρακικού τμήματος. Τέλος, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση των πυρανονουκλεοζιτών που φέρουν κετονομάδα στη 2'-θέση και εξωμεθυλενική ομάδα στη 3'-θέση του σακχάρου.

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή παρατίθενται επίσης τα αποτελέσματα, τα οποία ελήφθησαν από μελέτες επί της κυτταροτοξικής, αντιικής και αντιοξειδωτικής δράσης των νέων κετο και εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων.

Für meine Familie

Στην οικογένειά μου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η διατριβή αυτή εκπονήθηκε στο εργαστήριο Βιο-οργανικής Χημείας του Παν/μίου Θεσσαλίας υπό την επιστημονική καθοδήγηση του Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Δ. Κομιώτη. Τον ευχαριστώ θερμά, τόσο για την υπόδειξη του θέματος της διατριβής, όσο και για την ολόπλευρη βοήθεια και συμπαράσταση που μου παρείχε κατά τη διάρκεια εκπόνησής της. Νομίζω ότι η επίδρασή του, δεν περιορίστηκε μόνο στη διαμόρφωση των επιστημονικών μου αντιλήψεων, αλλά ήταν ευρύτερη και ήταν καλή τύχη που υπήρξα μαθήτριά του.

Ευχαριστώ τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Κ. Λίτινα που μου παραστάθηκε σαν δάσκαλος και ταυτόχρονα σαν καλός συμβουλάτορας. Υπήρξε πάντα πρόθυμος στην παροχή βοήθειας και συνεργάτης στις επίμονες προσπάθειες αποτελεσμάτων κατά τη λήψη των φασμάτων πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού και των φασμάτων μάζας.

Ευχαριστώ τον Καθηγητή κ. Α. Τσοτίνη για τη βοήθειά του και τις χρήσιμες υποδείξεις στη μορφή του τελικού κειμένου.

Ευχαριστώ την Καθηγήτρια κ. Β. Κωνσταντίνου-Κόκοτου, την Καθηγήτρια κ. Ο. Μαρκοπούλου-Ιγγλέση, τον Καθηγητή κ. Ι. Γάλλο και τον Καθηγητή κ. Γ. Κόκοτο, οι οποίοι με τίμησαν με την συμμετοχή τους στην επταμελή εξεταστική επιτροπή.

Στον κ. Μ. Παπαδόπουλο, την κ. Α. Παναγιωτοπούλου και τον κ. Γ. Αγγελή οφείλω θερμές ευχαριστίες για τη βοήθεια στην λήψη των φασμάτων πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού και των φασμάτων μάζας, για τη συμπαράστασή τους και τις διευκολύνσεις που μου παρείχαν σε όλο το διάστημα της διατριβής.

Την κ. Σ. Μαντά ευχαριστώ για τη βοήθειά της και τις χρήσιμες υποδείξεις στη μορφή του τελικού κειμένου.

Συνεργάστηκα με φοιτητές από το Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, την κ. Λ. Ζήνγκου, στα πλαίσια της πτυχιακής της εργασίας, καθώς και με τον κ. Θ. Βαβίλη, τον κ. Δ. Φουνταρλή, τον κ. Π. Μάργαρη και τον κ. Ν. Πορτέση, στα πλαίσια της μεταπτυχιακής τους διατριβής, οι οποίοι συνέβαλαν ουσιαστικά στην εργασία μου και τους ευχαριστώ θερμά.

Επίσης θα ήθελα να αναφερθώ στα μέλη του εργαστηρίου μας την κ. Ε. Τσουκαλά και τον κ. Χ. Κυρίτση, τους οποίους ευχαριστώ για την αλληλοβοήθεια, το άριστο κλίμα στο εργαστήριο και την ψυχολογική υποστήριξη.

Τέλος, ευχαριστώ την οικογένειά μου για την ολόπλευρη και ανεκτίμητη στήριξη που μου παρείχε σε όλη τη διάρκεια της διατριβής και όσους μου συμπαραστάθηκαν ώστε να ολοκληρώσω αυτή την εργασία.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε κατά τα έτη 2006-2010 στο Εργαστήριο Βιο-οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, υπό την επίβλεψη του Αναπληρωτή Καθηγητή Οργανικής Χημείας, κ. Δημήτρη Κομιώτη.

Η ραγδαία ανάπτυξη της φαρμακολογίας και της φαρμακευτικής χημείας σε συνδυασμό με τις ανακαλύψεις που έγιναν σχετικά με τη δομή και τη λειτουργία του γενετικού υλικού των οργανισμών, επέτρεψαν τη σύνθεση, μελέτη, εφαρμογή και προώθηση στην αγορά πολλών φαρμάκων που ως δραστική ουσία περιέχουν κάποιο νουκλεοζιτικό ανάλογο. Οι νουκλεοζίτες μαζί με τα ανάλογά τους αποτελούν το θεμελιώδη λίθο για την ανάπτυξη αποτελεσματικών, εκλεκτικών και μη τοξικών αντιικών και αντικαρκινικών παραγόντων. Εκτεταμένη έρευνα έχει διεξαχθεί για την εύρεση νέων νουκλεοζιτών με αυξημένη βιολογική δράση, ελαττωμένη τοξικότητα και λιγότερες ανοσοκατασταλτικές παρενέργειες σε σχέση με τα έως τώρα κλινικά χρησιμοποιούμενα. Ο σκοπός της παρούσης διδακτορικής διατριβής ήταν ο σχεδιασμός και η σύνθεση νέων τροποποιημένων νουκλεοζιτικών αναλόγων με αντιική και κυτταροτοξική δράση.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

Οι δημοσιεύσεις που προέκυψαν από την παρούσα διδακτορική διατριβή είναι οι ακόλουθες:

- Agelis, G.; Tzioumaki, N.; Botić, T.; Cencič, A.; Komiotis, D. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 5448.
- Agelis, G.; Tzioumaki, N.; Tselios, T.; Botić, T.; Cencič, A.; Komiotis, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 1366.
- Komiotis, D.; Manta, S.; Tsoukala, E.; Tzioumaki, N. *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry* **2008**, *7*, 219.
- Tzioumaki, N.; Tsoukala, E.; Manta, S.; Agelis, G.; Balzarini, J.; Komiotis, D. *Archiv der Pharmazie* **2009**, *342*, 353.
- Tzioumaki, N.; Tsoukala, E.; Manta, S.; Kiritsis, C.; Balzarini, J.; Komiotis, D. *Carbohydr. Res.* **2010**, doi: 10.1016/j.carres.2010.10.019.
- Tzioumaki, N.; Manta, S.; Tsoukala, E.; Voorde, J. V.; Liekens, S.; Komiotis, D.; Balzarini, J. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, doi:10.1016/j.ejmech.2011.01.005.
- Spanou, C.; Tzioumaki, N.; Margaritis, P.; Dimitrios Kouretas, D.; Komiotis, D.; Liadaki, K. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2011**, submitted.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	V
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	VII
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	IX
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	XI
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	XIII
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	XIII
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ.....	XIV
I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1. ΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ.....	1
Νουκλεοζίτες ως αντικαρκινικοί παράγοντες	1
Νουκλεοζίτες ως αντιικοί παράγοντες.....	3
Νουκλεοζίτες ως αντιβιοτικοί και αντιοξειδωτικοί παράγοντες.....	5
2. ΤΡΟΠΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΩΝ.....	7
3. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΩΝ.....	10
Φουρανονουκλεοζίτες- Εξωμεθυλενικοί φουρανονουκλεοζίτες.....	10
Πυρανονουκλεοζίτες	11
Κετοπυρανονουκλεοζίτες.....	12
Ακόρεστοι κετοπυρανονουκλεοζίτες	13
Δεσοξυ-πυρανονουκλεοζίτες	14
4. ΣΤΟΧΟΙ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ	15
II. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ - ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ.....	18
4'-ΚΕΤΟ ΚΑΙ 4'-ΕΞΩΜΕΘΥΛΕΝΙΚΑ ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΙΚΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΤΗΣ ΜΑΝΝΟΖΗΣ	18
Μοριακή μοντελοποίηση των 4'-κετο και 4'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της μαννόζης.....	32
Αντιική και αντικαρκινική δράση των 4'-κετο και 4'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της μαννόζης	35
Αντιοξειδωτική δράση των 4'-κετο και 4'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της μαννόζης.....	39
2'-ΚΕΤΟ ΚΑΙ 2'-ΕΞΩΜΕΘΥΛΕΝΙΚΑ ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΙΚΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΤΗΣ ΓΑΛΑΚΤΟΖΗΣ	41
Αντιική και αντικαρκινική δράση των 2'-κετο και 2'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της γαλακτόζης	47
Αντιοξειδωτική δράση των 2'-κετο και 2'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της γαλακτόζης	51
4'-ΚΕΤΟ ΚΑΙ 4'-ΕΞΩΜΕΘΥΛΕΝΙΚΑ ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΙΚΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΤΗΣ ΛΥΞΟΖΗΣ.....	53
Αντιική και αντικαρκινική δράση των 4'-κετο και 4'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της λυξόζης.....	59
Αντιοξειδωτική δράση των 4'-κετο και 4'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της λυξόζης	61
2'-ΚΕΤΟ ΚΑΙ 2'-ΕΞΩΜΕΘΥΛΕΝΙΚΑ ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΙΚΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΤΗΣ ΑΡΑΒΙΝΟΖΗΣ	63
Αντιική και αντικαρκινική δράση των 2'-κετο και 2'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της αραβινόζης	68
Αντιοξειδωτική δράση των 2'-κετο και 2'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της αραβινόζης.....	71
2'-ΚΕΤΟ-3'-ΕΞΩΜΕΘΥΛΕΝΙΚΑ ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΙΚΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΤΗΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ	73

Αντιική και αντικαρκινική δράση των 2'-κετο-3'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της γλυκόζης	80
---	----

III. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ	82
------------------------------	-----------

IV. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	84
------------------------------------	-----------

ΓΕΝΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ	84
------------------------------	-----------

Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC: Thin Layer Chromatography)	84
Χρωματογραφία στήλης	84
Μέτρηση της οπτικής ενεργότητας	85
Φάσματα υπεριώδους ακτινοβολίας	85
Φάσματα NMR	85
Φάσματα μάζας (Electron Spray Ionisation Mass Spectra, ESIMS)	85
Προσδιορισμός των σημείων τήξεως	85
Ξήρανση διαλυτών	86
Στοιχειακή ανάλυση	86

ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ 4'-ΚΕΤΟ ΚΑΙ 4'-ΕΞΩΜΕΘΥΛΕΝΙΚΩΝ ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΤΗΣ ΜΑΝΝΟΖΗΣ	87
--	-----------

Σύνθεση των παραγώγων της ουρακίλης	87
---	----

ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ 2'-ΚΕΤΟ ΚΑΙ 2'-ΕΞΩΜΕΘΥΛΕΝΙΚΩΝ ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΤΗΣ ΓΑΛΑΚΤΟΖΗΣ	102
--	------------

Σύνθεση των παραγώγων της θυμίνης	102
---	-----

ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ 4'-ΚΕΤΟ ΚΑΙ 4'-ΕΞΩΜΕΘΥΛΕΝΙΚΩΝ ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΤΗΣ ΛΥΞΟΖΗΣ	112
---	------------

Σύνθεση των παραγώγων της θυμίνης	112
---	-----

Σύνθεση των παραγώγων της ουρακίλης	122
---	-----

ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ 2'-ΚΕΤΟ ΚΑΙ 2'-ΕΞΩΜΕΘΥΛΕΝΙΚΩΝ ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΤΗΣ ΑΡΑΒΙΝΟΖΗΣ	132
--	------------

Σύνθεση των παραγώγων της θυμίνης	132
---	-----

Σύνθεση των παραγώγων της ουρακίλης	142
---	-----

Σύνθεση των παραγώγων της 5-φθοροουρακίλης	151
--	-----

Σύνθεση των παραγώγων της N ⁴ -βενζοϋλοκυτοσίνης	160
---	-----

Σύνθεση του παραγώγου της κυτοσίνης	169
---	-----

Σύνθεση των παραγώγων της 5-τριφθορομεθυλοουρακίλης	170
---	-----

ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ 2'-ΚΕΤΟ-3'-ΕΞΩΜΕΘΥΛΕΝΙΚΩΝ ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΤΗΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ	177
--	------------

Σύνθεση της 3-εξωμεθυλενικής πυρανόζης	177
--	-----

Σύνθεση των παραγώγων της θυμίνης	179
---	-----

Σύνθεση των παραγώγων της ουρακίλης	183
---	-----

BIBLIOΓΡΑΦΙΑ	193
---------------------------	------------

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1:	Γωνίες στροφής και σταθερές σύζευξης (<i>J</i>) των ενώσεων 9, 11, 18, 19 , οι οποίες λήφθηκαν από τις τρισδιάστατες δομές τους (3D) και τα φάσματα ¹ H-NMR τους, αντίστοιχα.	34
Πίνακας 2:	IC ₅₀ των προϊόντων 9, 11, 18, 19 και του AZT για την αντιική δράση έναντι του εντεροϊού στελέχους RF στα κύτταρα Caco-2.	36
Πίνακας 3:	Κυτταροτοξική δράση (CC ₅₀ , μM) των ενώσεων 9, 11, 18, 19 και της 5-φθοροουρακίλης (5 FU) έναντι των κυττάρων H4, Caco-2, μελανώματος του δέρματος και των κυττάρων MCF-7, και αναστολή του πολλαπλασιασμού (IC ₅₀ , μM) των κυττάρων Caco-2.	37
Πίνακας 4:	Αντιοξειδωτική δράση των προϊόντων 9, 11, 18 και 19 έναντι της επαγόμενης από ρίζες ROO [•] πρόκληση θραυσμάτων στο DNA.	40
Πίνακας 5:	IC ₅₀ των προϊόντων 27, 29, 31, 32 και του AZT για την αντιική δράση έναντι του εντεροϊού στελέχους RF στα κύτταρα Caco-2 και στα κύτταρα MA 104.	47
Πίνακας 6:	Κυτταροτοξική δράση (CC ₅₀ , μM) των ενώσεων 27, 29, 31, 32 και της 5 FU έναντι των κυττάρων H4, Caco-2 και MA 104 και αναστολή του πολλαπλασιασμού (IC ₅₀ , μM) των κυττάρων Caco-2.	49
Πίνακας 7:	Αντιοξειδωτική δράση των προϊόντων 27, 29, 31 και 32 έναντι της επαγόμενης από ρίζες ROO [•] πρόκληση μονόκλωνων θραυσμάτων στο DNA.	51
Πίνακας 8:	Ανασταλτική δράση (IC ₅₀ , μM) των ενώσεων 42α,β, 43α,β και 48α,β έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων L1210, των ανθρώπινων T-λεμφοκυττάρων Molt4/C8 και CEM, των κυττάρων MCF-7 και των κυττάρων Caco-2.	60
Πίνακας 9:	Αντιοξειδωτική δράση των προϊόντων 42α,β, 43α,β και 48α,β έναντι στην επαγόμενη από ρίζες ROO [•] πρόκληση μονόκλωνων θραυσμάτων στο DNA.	61
Πίνακας 10:	Ανασταλτική δράση (IC ₅₀ , μM) των ενώσεων 56α-γ, 57α-ε και 62α-δ,στ έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων L1210, των κυττάρων FM3A, των T-λεμφοκυττάρων CEM και των κυττάρων HeLa.	69
Πίνακας 11:	Αντιοξειδωτική δράση των προϊόντων 56α-γ, 57α-δ και 62α-δ έναντι της επαγόμενης από ρίζες ROO [•] πρόκληση μονόκλωνων θραυσμάτων στο DNA.	72
Πίνακας 12:	Ανασταλτική δράση (IC ₅₀ , μM) των ενώσεων 69α-γ και 72α-γ έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων L1210, των T-λεμφοκυττάρων CEM και των κυττάρων HeLa.	80

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1:	Οι χαμηλότερες (αριστερά) και οι υψηλότερες (δεξιά) ενεργειακές διαμορφώσεις των μορίων 9, 11, 18 και 19 μετά από Grid Scan.	33
Εικόνα 2:	Οι ενεργειακές διαμορφώσεις των ενώσεων 71α-γ (αριστερά) και 72α-γ (δεξιά).	79

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

AZT	<i>Azidothymidine (Zidovudine)</i>
DANN	<i>Δεσοξυριβονουκλεϊκό οξύ</i>
RNA	<i>Ριβονουκλεϊκό οξύ</i>
DMDC	<i>1-(2'-Δεσοξυ-2'-μεθυλενο-β-D-ερυθρο-πενταφουρανοζυλο)κυτοσίνη</i>
FDMDC	<i>1-(2'-Δεσοξυ-2'-μεθυλενο-β-D-ερυθρο-πεντοφουρανοζυλο)5-φθοροκυτοσίνη</i>
araC	<i>1-β-D-Αραβινοφουρανοζυλοκυτοσίνη (Cytarabine)</i>
CIdA	<i>2-Χλωρο-2'-δεσοξαδενοσίνη</i>
AIDS	<i>Σύνδρομο της Επίκτητης Ανοσολογικής Ανεπάρκειας (Acquired Immune Deficiency Syndrome)</i>
HIV	<i>Ιός της Ανθρώπινης Ανοσοποιητικής Ανεπάρκειας (Human Immunodeficiency Virus)</i>
VZV	<i>Ιός του Έρπητα Ζωστήρα (Varicella Zoster Virus)</i>
HBV	<i>Ιός της Ιπατίτιδας Β (Hepatitis B virus)</i>
HSV	<i>Ιός του Απλού Έρπητα (Herpes Simplex Virus)</i>
ddC	<i>2',3'-Διδεσοξυκυτιδίνη (Zalcitabine)</i>
ddl	<i>2',3'-Διδεσοξυϊνόςίνη (Didanosine)</i>
d4T	<i>2',3'-Διδεϋδρο-3'-δεσοξυθυμιδίνη (Stavudine)</i>
abacavir	<i>2-Αμινο-6-κυκλοπροπυλάμινο-9-(2,3-διδεσοξυ-1β-D-ριβοφουρανοζυλο)πουρίνη</i>
3TC	<i>(-)-2',3'-Διδεσοξυ-3'-θειακυτιδίνη (Lamivudine)</i>
CMV	<i>Κυτταρομεγαλοϊός (cytomegalovirus)</i>
araA	<i>9-(1β-D-Αραβινοφουρανοζυλ)αδενίνη (Vidarabine)</i>
ACV	<i>9-Γουανινομεθοξυαιθανόλη (Acyclovir)</i>
Idu	<i>5-Ιωδο-2'-δεσοξουριδίνη (Idoxuridine)</i>
TFT	<i>2'-Δεσοξυ-5-τριφθορομεθυλουριδίνη (Trifluridine)</i>
EdU	<i>5-Εθανυλο-2'-δεσοξουριδίνη (Acedurid)</i>
DHPG	<i>2-(9-Γουανινομεθοξυμεθυλο)-1,3-προπανοδιόλη (Ganciclovir)</i>
val-ACV	<i>Εστέρας του Acyclovir με L-βαλίνη (Valaciclovir)</i>
Cordycepin	<i>3'-Δεσοξυ-αδενοσίνη</i>
Angustmycin C	<i>9-β-D-Ψυχοφουρανοζυλαδενίνη (Psychofuranine)</i>
Angustmycin A	<i>9-β-D-5,6-Διδεϋδροψυχοφουρανοζυλαδενίνη (Decoyinine)</i>
ROO*	<i>Ρίζες υπεροξειδίου</i>
PARN	<i>Πολυ(A)-εξειδικευμένη ριβονουκλεάση</i>
πολύ(A) ουρά	<i>Πολυαδενυλική ουρά</i>
RDRP	<i>Διφωσφορική ρεδοουκτάση του ριβονουκλεοζίτη</i>
B	<i>Βάση</i>
Thy	<i>Θυμίνη</i>
U	<i>Ουρακίλη</i>
5-FU	<i>5-Φθοροουρακίλη</i>
N ⁴ -BzCyt	<i>N⁴-Βενζοϋλοκυτοσίνη</i>
5-CF ₃ U	<i>5-Τριφθορομεθυλοουρακίλη</i>
Tr	<i>Τριτύλιο, τριφαινυλομεθυλομάδα</i>
Ac	<i>Ακετύλιο</i>
Ac ₂ O	<i>Οξικός ανυδρίτης</i>
HMDS	<i>Εξαμεθυλοδισιλαζάνιο</i>

<i>p</i> -TsOH	<i>π</i> -Τολουολοσουλφονικό οξύ
DMAP	4,4-Διμεθυλαμινοπυριδίνη
PDC	Διχρωμική πυριδίνη
THF	Τετραϋδροφουράνιο
Ph ₃ PCH ₃ Br	Μεθυλοτριφαινυλοφωσφωνιακό βρωμίδιο
TFA	Τριφθοροξικό οξύ
MeOH	Μεθανόλη
Ph ₃ P	Τριφαινυλοφωσφίνη
Tol	Τολουόλιο
DMF	<i>N,N</i> -Διμεθυλοφορμαμίδιο
Caco-2	Κύτταρα ανθρώπινου αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου
EtOH	Αιθανόλη
MCF-7	Κύτταρα ανθρώπινου καρκινώματος του στήθους
H4	Φυσιολογικά ανθρώπινα εντερικά κύτταρα, control
IC ₅₀	Μέση μέγιστη συγκέντρωση αναστολής (για 50% αναστολή)
TSI	Δείκτης εκλεκτικότητας
DPPH [•]	1,1 Διφαινυλ-2-πικρυλυδραζύλιο
DPPH-H	1,1 Διφαινυλ-2-πικρυλυδραζίνη
TBDMSCI	<i>t</i> -Βουτυλοδιμεθυλοσιλυλοχλωρίδιο
MA 104	Εμβρυικά κύτταρα νεφρών πιθήκου
L1210	Καρκινικά κύτταρα λευχαιμίας
Molt4/C8 και CEM	Ανθρώπινα T-λεμφοκύτταρα
PPTS	<i>π</i> -Τολουολοσουλφονική πυριδίνη
FM3A	Καρκινικά κύτταρα μαστού ποντικού
HeLa	Ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα τραχήλου
DAG	1,2:5,6-Δις-Ο-ισοπροπυλιδενό-α- <i>D</i> -γλυκοφουρανόζη
DMSO	Διμεθυλοσουλφοξείδιο
DCC	Δικυκλοεξυλοκαρβοδιίμιδιο

I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Νουκλεοζίτες

Ανάλογα φυσικών νουκλεοζιτών έχουν παρουσιάσει ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια, κυρίως λόγω των αντικαρκινικών, αντιικών, αντιβακτηριακών, καθώς και αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων τους (Zhou *et al.* 2004, Perigaud *et al.* 1992, Robins *et al.* 1990, MacCoss *et al.* 1990). Ως εκ τούτου έχουν πραγματοποιηθεί πολλές τροποποιήσεις τόσο στο τμήμα της βάσης όσο και του σακχάρου των φυσικών νουκλεοζιτών με απώτερο σκοπό να διευρυνθεί ενδελεχώς το φάσμα των θεραπευτικών τους ιδιοτήτων.

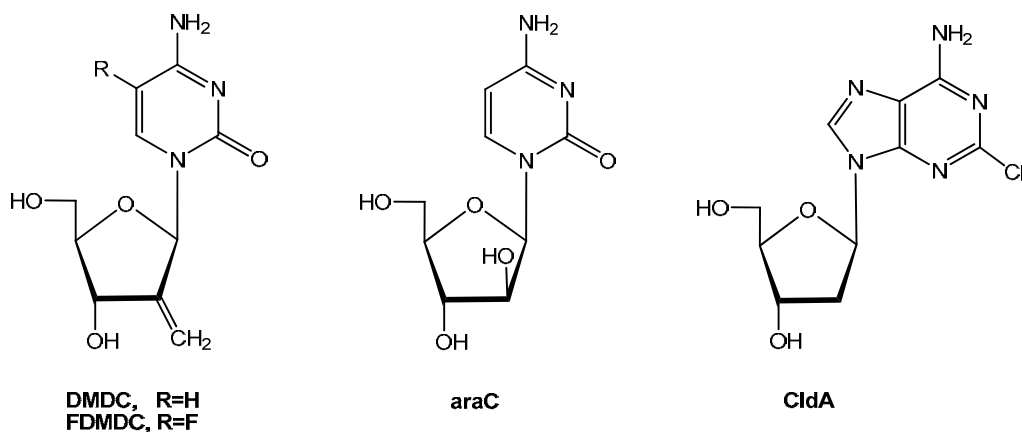
Οι έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα με στόχο τη δημιουργία φαρμάκων με αντιική και αντικαρκινική δράση, αφορούσαν κυρίως στη χρήση αναλόγων νουκλεοζιτών που έχουν ως σάκχαρο μία πεντόζη με β-απεικόνιση. Τα νουκλεοτίδια, δηλαδή οι φωσφορυλιωμένες αλδοπεντόζες, ενώνονται μεταξύ τους σχηματίζοντας μακρές αλυσίδες, οι οποίες απαρτίζουν τα νουκλεϊνικά οξέα, δηλαδή το δεσοξυριβονουκλεϊκό οξύ (DNA) και το ριβονουκλεϊκό οξύ (RNA). Τα νουκλεϊνικά οξέα ανακαλύφθηκαν στα μέσα του 19^{ου} αιώνα από τον Friedrich Miescher. Εντούτοις, μεσολάβησαν σχεδόν εκατό χρόνια μέχρι να γίνει γνωστό ότι στα μόρια του DNA βρίσκονται κωδικοποιημένες όλες οι πληροφορίες, οι οποίες προσδιορίζουν τη φύση του κυττάρου, ελέγχουν την ανάπτυξη και την διαίρεσή του και κατευθύνουν τη βιοσύνθεση των ενζύμων και των πρωτεϊνών που είναι απαραίτητες για τις φυσιολογικές λειτουργίες του.

Νουκλεοζίτες ως αντικαρκινικοί παράγοντες

Ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων σ' έναν υγιή οργανισμό υπόκειται πάντα σε αυστηρές ρυθμίσεις, που επιτρέπουν στα κύτταρα να αυξηθούν, να διαφοροποιηθούν και να λειτουργήσουν αρμονικά μέσα στον οργανισμό. Οι μηχανισμοί που ελέγχουν τις ρυθμίσεις αυτές, αν και οι περισσότεροι παραμένουν ακατανόητοι, περιλαμβάνουν ένα σύστημα χημικών μηνυμάτων με τη διαμεσολάβηση, για παράδειγμα, ορμονών και συγκεκριμένων μεμβρανικών υποδοχέων. Τα κύτταρα σε καλλιέργεια, σταματούν την διαίρεσή τους όταν

έρθουν σ' επαφή το ένα με το άλλο. Σε ορισμένες όμως περιπτώσεις, η ισορροπία αυτή διαταράσσεται και η μιτωτική διαίρεση ορισμένων κυττάρων συνεχίζεται άναρχα, χωρίς να υπακούει σε περιοριστικούς κανόνες. Το αποτέλεσμα είναι η δημιουργία όγκων ή καρκινωμάτων. Τα κύτταρα χάνουν τη διαφοροποιημένη μορφή τους και περνούν σε μια αδιαφοροποίητη κατάσταση. Ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων μπορεί να είναι περιορισμένος (καλοήθεις όγκοι), ή έντονος με μεταστάσεις σε άλλους ιστούς (κακοήθεις όγκοι), οι οποίοι θεραπεύονται κυρίως με χημειοθεραπεία.

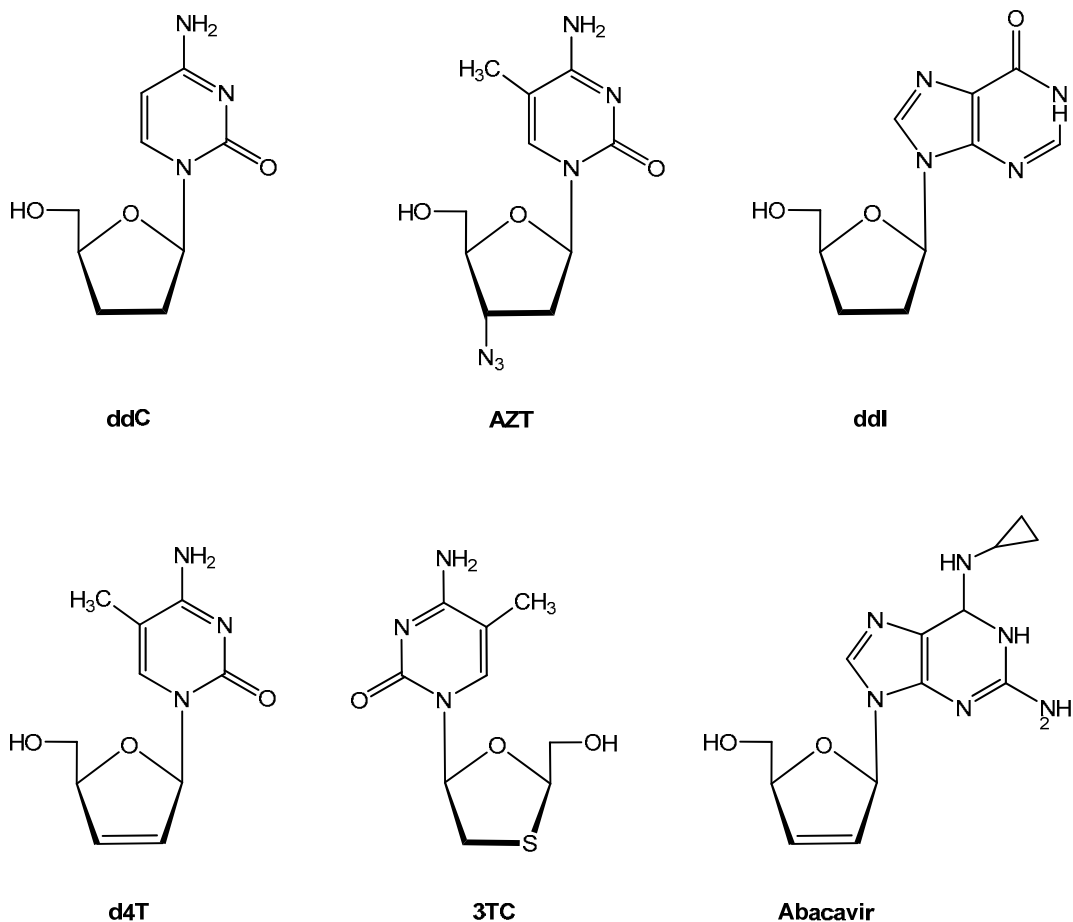
Τα τελευταία χρόνια πλήθος ερευνητικών προγραμμάτων εστιάζεται στη μελέτη νέων φαρμάκων χημειοθεραπείας, τα οποία διαθέτουν αυξημένη δραστηριότητα, μειωμένη τοξικότητα, βελτιωμένο θεραπευτικό δείκτη και το σημαντικότερο όλων, ευρύ φάσμα δράσης. Νουκλεοζιτικοί αντιμεταβολίτες χρησιμοποιούνται εκτεταμένα στην φαρμακευτική αντιμετώπιση κατά μίας πλειάδας μορφών νεοπλασιών που στοχεύει στην παρεμπόδιση της σύνθεσης νουκλεϊνικών οξέων των καρκινικών κυττάρων. Συγκεκριμένα, οι 1-(2'-δεσοξυ-2'-μεθυλενο-β-D-ερυθρο-πενταφουρανοζυλο)κυτοσίνη (DMDC), 1-(2'-δεσοξυ-2'-μεθυλενο-β-D-ερυθρο-πεντοφουρανοζυλο)5-φθοροκυτοσίνη (FDMDC), 1-β-D-αραβινοφουρανοζυλοκυτοσίνη (araC) και 2-χλωρο-2'-δεσοξυαδενοσίνη (CIdA) (Σχήμα 1) έχουν επιδείξει άριστες κυτταροστατικές ιδιότητες έναντι κακοηθειών, όπως διάφοροι τύποι λεμφωμάτων και λευχαιμίας (Cory *et al.* 1994, Pontikis *et al.* 1995, Yamagami *et al.* 1991, Lin *et al.* 1991, Baker *et al.* 1991, Matsuda and Sasaki 2004). Πιο πρόσφατες μελέτες έχουν αποδείξει επίσης την ικανότητα αναλόγων των νουκλεοζιτών να ενεργοποιούν αποπτωτικούς μηχανισμούς σε ένα εύρος καρκινικών κυτταρικών σειρών, αποδεικνύοντας περαιτέρω την χρησιμότητά τους ως αντικαρκινικοί παράγοντες (Lui *et al.* 2010, Bhat *et al.* 2010).



Σχήμα 1.

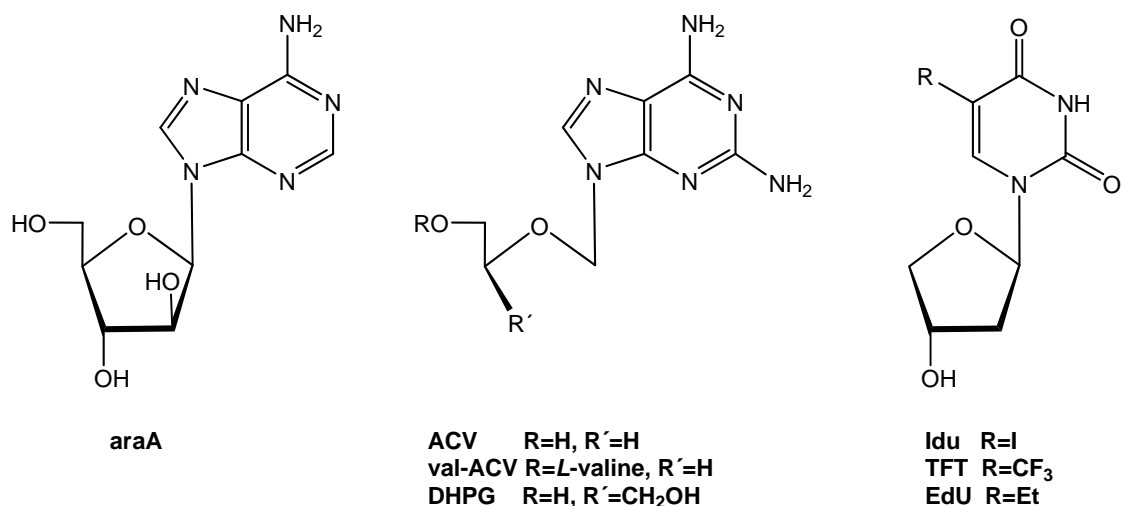
Νουκλεοζίτες ως αντιικοί παράγοντες

Οι νουκλεοζίτες και τα ανάλογά τους, παρεμβαλλόμενοι στη σύνθεση του DNA και του RNA, μπορούν να επηρεάσουν εκτός από τη σύνθεση νουκλεϊνικών οξέων των καρκινικών κυττάρων, τους αντιγραφικούς και μεταγραφικούς μηχανισμούς πολλαπλασιασμού των ιών. Παρέχουν έτσι ένα αρκετά ενδιαφέρον σημείο εκκίνησης για την ανάπτυξη αντιικών φαρμάκων (Zhou *et al.* 2004; Perigaund *et al.* 1992). Ιδίως τις τελευταίες δύο δεκαετίες η σύνθεση και η μελέτη των νουκλεοζιτών έχει ανέλθει κατακόρυφα με στόχο τη θεραπεία του AIDS (HIV) (Verheggen *et al.* 1993), του ιού έρπητα ζωστήρα (VZV) (Zhou *et al.* 2004; De Clercq *et al.* 2002a) και της ηπατίτιδας Β (HBV) (Brady *et al.* 2001). Στην περίπτωση του HIV, έξι από τα δεκαπέντε θεραπευτικά φάρμακα που χρησιμοποιούνται σήμερα είναι νουκλεοζιτικά ανάλογα, όπως τα Zalcitabine (ddC), Zidovudine (AZT), Didanosine (ddl), Stavudine (d4T), Abacavir και Lamivudine (3TC) (Σχήμα 2). Τα συγκεκριμένα ανάλογα δρουν ως αναστολείς της αντίστροφης μεταγραφάσης του ιού. Στην Αμερική, για τη θεραπεία του ιού HBV, έχει ήδη εγκριθεί και χρησιμοποιείται το 3TC σε συνδυασμό με το Interferone-α.



Σχήμα 2.

Για τη θεραπεία του CMV, του HSV 1 και 2 και του VZV χρησιμοποιείται πλήθος νουκλεοζιτικών αναλόγων, όπως Vidarabine (araA), Acyclovir (ACV), Idoxuridine (Idu), Trifluridine (TFT), Acedurid (EdU), Ganciclovir (DHPG) και Valaciclovir (val-ACV) (Gumina *et al.* 2001) (Σχήμα 3), τα οποία δρουν ως αναστολείς της DNA πολυμεράσης.



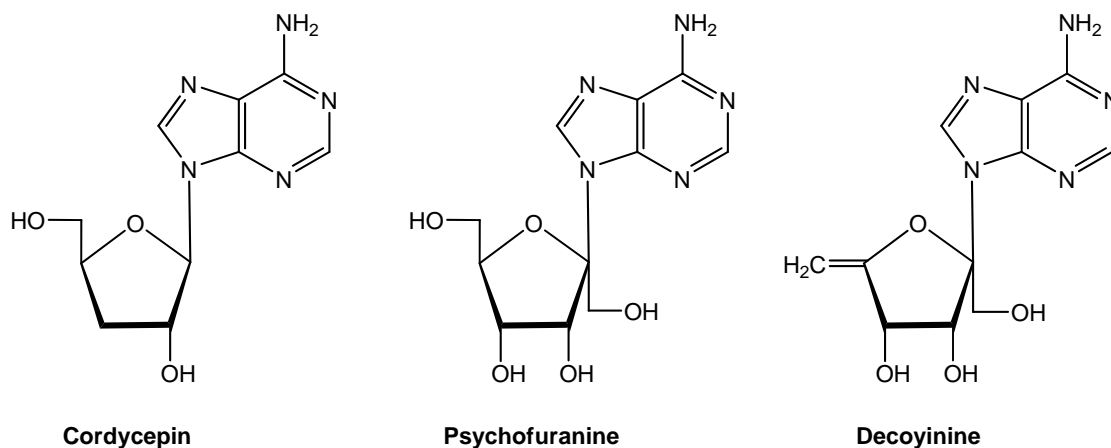
Σχήμα 3.

Νουκλεοζίτες ως αντιβιοτικοί και αντιοξειδωτικοί παράγοντες

Ως αντιβιοτικό χαρακτηρίζεται οποιαδήποτε χημική ένωση που εμποδίζει ή αναστέλει την αύξηση των μικροοργανισμών, όπως τα βακτήρια, οι μύκητες ή τα πρωτόζωα. Ο όρος αναφέρθηκε αρχικά σε οποιοδήποτε μέσο με βιολογική δράση ενάντια στους μικροοργανισμούς, εντούτοις σήμερα χρησιμοποιείται για την περιγραφή ουσιών με αντιβακτηριακή, αντιμυκητική ή αντιπαρασιτική δράση. Μερικά αντιβιοτικά είναι επίσης επιβλαβή σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα και για αυτό το λόγο χρησιμοποιούνται επιπλέον ως αντικαρκινικά φάρμακα.

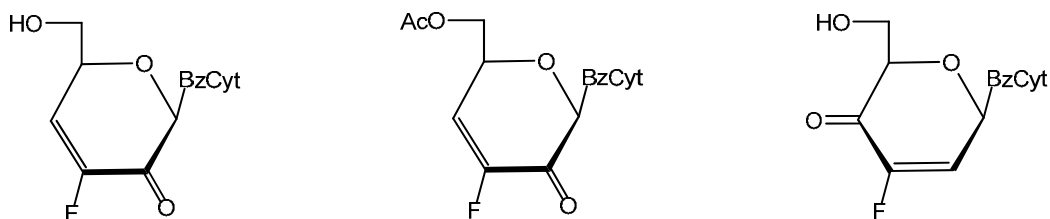
Πολλά φυσικά αντιβιοτικά με σημαντική αντιική και αντικαρκινική δράση περιέχουν στη δομή τους νουκλεοζίτες συνδεδεμένους με ολιγοσακχαρίτες. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι πολλά φυσικά αντιβιοτικά φέρουν στη δομή τους την κυτοσίνη ή την αδενίνη ως ετεροκυκλική βάση. Οι συγκεκριμένες βάσεις εμπλέκονται σε ένα μεγάλο αριθμό βιολογικών διεργασιών, συμμετέχοντας σε όλα τα στάδια του μεταβολισμού, τόσο ως υποστρώματα, συμπαράγοντες, όσο και ως ρυθμιστικά μόρια. Μεταξύ αυτών των αντιβιοτικών, το Cordycepin (3'-δεσοξυ-αδενοσίνη) (Σχήμα 4) μπορεί να συμμετέχει σε ορισμένες βιοχημικές αντιδράσεις, όπως να ενσωματωθεί σε ένα μόριο RNA, προκαλώντας κατά συνέπεια την πρόωρη λήξη της σύνθεσής του (Siev *et al.* 1969). Παρουσιάζει επίσης ενδιαφέρουσες αντικαρκινικές, αντιβακτηριακές και αντιικές ιδιότητες, δεδομένου ότι έχει τη δυνατότητα να εμποδίσει μερικές

πρωτεϊνικές κινάσες (Ahn *et al.* 2000). Ομοίως, οι τροποποιημένες αδενοσίνες Angustmycin C (Psychofuranine) (Haraguchi *et al.* 2002) και Angustmycin A (Decoyinine) (Beppu *et al.* 1968a, Prisbe *et al.* 1976) (Σχήμα 4) δρουν ως αντικαρκινικοί και αντιβακτηριακοί παράγοντες.



Σχήμα 4.

Τα ανάλογα των νουκλεοζιτών έχουν επιδείξει επιπλέον και αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Ως αντιοξειδωτικό ορίζεται οποιαδήποτε ουσία, η οποία όταν βρίσκεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις συγκριτικά με εκείνες του προς οξείδωση υποστρώματος δύναται να επιβραδύνει ή να αποτρέψει πλήρως την οξείδωση αυτού του υποστρώματος (Halliwell 2001). Ένα παράδειγμα νουκλεοζιτικής σειράς αναλόγων που παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση είναι οι πυρανονουκλεοζίτες της φθορογλυκόζης (Spanou *et al.* 2007). Ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός, ότι τα συγκεκριμένα νουκλεοζιτικά ανάλογα όταν φέρουν α,β-κετοακόρεστο σύστημα στο σάκχαρό τους (Σχήμα 5) είναι αποτελεσματικά έναντι των ελεύθερων υπερόξυ ριζών ROO[·]. Οι ελεύθερες ρίζες προσβάλλουν διάφορα βιομόρια (λιπίδια, πρωτεΐνες, σάκχαρα, DNA κ.ά.), προκαλώντας οξειδωτική καταστροφή των κυττάρων, δυσλειτουργία των μεμβρανών, τροποποίηση πρωτεϊνών, απενεργοποίηση ενζύμων και σχάση ή τροποποίηση των βάσεων του DNA. Επίσης, έχει αποδειχθεί ότι οι ελεύθερες ρίζες παίζουν ρόλο στη μείωση των τελομερών των κυττάρων, τα οποία στα καρκινικά κύτταρα συμβάλλουν στη διατήρηση του καρκινικού κυτταρικού φαινότυπου (Das 2002).



α,β -κετοακόμεστοι πυρανονουκλεοζίτες της φθορογλυκόζης (Spanou *et al.* 2007)

Σχήμα 5.

2. Τρόπος δράσης νουκλεοζιτών

Όπως είναι γνωστό, η σύνθεση των φυσικών νουκλεοζιτών πραγματοποιείται ενδοκυτταρικά, αλλά έχουν και τη δυνατότητα να εισέλθουν στα κύτταρα με παθητική διάχυση. Επιπλέον, πραγματοποιείται ενδοκυτταρική τροποποίησή τους με σκοπό την παραγωγή των νουκλεοτιδίων και οι πολυμεράσες χρησιμοποιούν τα νουκλεοτίδια ως βασικές δομικές μονάδες του γενετικού υλικού DNA και RNA.

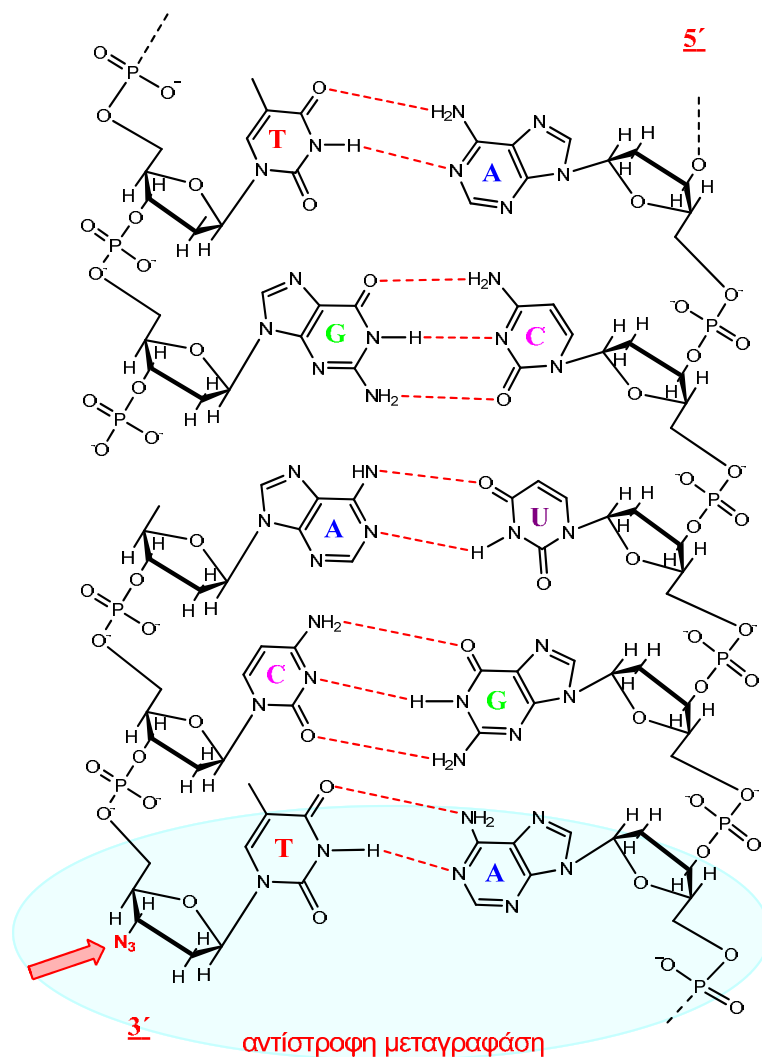
Βασιζόμενοι στην παθητική διάχυση, τα νουκλεοζιτικά ανάλογα, μόρια που αποτελούν χημικά τροποποιημένες εκδόσεις των φυσικών νουκλεοζιτών, χρησιμοποιήθηκαν ως αντιικοί και αντικαρκινικοί παράγοντες για τη θεραπεία πληθώρας ασθενειών (Zhou *et al.* 2004).

Τα ανάλογα των νουκλεοζιτών, συνήθως δρουν ως προφάρμακα, δηλαδή είναι ανενεργά στην μορφή που χορηγούνται και πρέπει, για να ασκήσουν την θεραπευτική τους δράση, να μεταβολιστούν προς τις ενεργές τριφωσφορικές δομές τους (Arner and Eriksson 1995). Οι φωσφορικές μορφές των νουκλεοζιτών δεν μπορούν να διαπεράσουν με ευκολία την κυτταρική μεμβράνη λόγω φορτίου, όπως επίσης και όταν δημιουργηθούν μέσα στο κύτταρο η μετακίνησή τους προς γειτονικά κύτταρα είναι δύσκολη λόγω του διαφορετικού pH που υπάρχει στα διάφορα κυτταρικά διαμερίσματα.

Η φωσφορυλίωση αρχίζει με την προσθήκη μιας φωσφορικής ομάδας στην 5'-θέση του σακχάρου, η οποία καταλύεται από ειδικές ιικές νουκλεοζιτικές κινάσες, προς τη δημιουργία ενός μονοφωσφορικού νουκλεοζιτή (Wagner *et al.* 2000, Balzarini 1993). Οι μετέπειτα φωσφορυλιώσεις προς τις διφωσφορικές και τριφωσφορικές μορφές των νουκλεοζιτών καταλύονται από νουκλεοζιτικές

κινάσες και νουκλεοζιτικές διφωσφορικές κινάσες, αντιστοίχως. Η φωσφορυλίωση από ιικές νουκλεοζιτικές κινάσες όπως επίσης και η χαμηλή ικανότητα διαπερατότητας των φωσφορυλιωμένων νουκλεοζιτών οδηγούν στην συσσώρευση των φαρμακολογικά ενεργών μορφών τους, στα κύτταρα που έχουν προσβληθεί από τον ιό. Η δράση των νουκλεοζιτικών αναλόγων έναντι των ιών, εντοπίζεται στην ικανότητά τους να αλληλεπιδρούν με τις ιικές πολυμεράσες. Μιμούμενα τους φυσικούς νουκλεοζίτες, τα αντιικά ανάλογά τους μπορούν να αποτελέσουν υπόστρωμα για τις πολυμεράσες και να ενσωματωθούν στο ιικό γονιδίωμα. Η ενσωμάτωσή τους στο ιικό γονιδίωμα μπορεί να προκαλέσει διακοπή της αντιγραφής του ιικού γονιδιώματος, να το καταστήσει μη λειτουργικό και κατά συνέπεια να καταστείλει την αντιγραφή του ιού και την περαιτέρω παραγωγή ιοσωματιδίων. Δεδομένου ότι ο μηχανισμός αντιγραφής του ιικού γονιδιώματος είναι συντηρημένος σε πολλά είδη ιών, τα νουκλεοζιτικά ανάλογα μπορούν να παρουσιάσουν δράση έναντι μεγάλου φάσματος ιών (Chong *et al.* 2003). Αξίζει να σημειωθεί πως μέρος της εκλεκτικότητας των νουκλεοζιτικών αναλόγων έναντι των κυττάρων που είναι μολυσμένα με τον ιό, οφείλεται στην συγγένεια του νουκλεοζιτικού αναλόγου με την ιική πολυμεράση, οπότε όσο μεγαλύτερη η συγγένεια τόσο μεγαλύτερη η εκλεκτικότητα τους ως θεραπευτικοί παράγοντες.

Ένας κοινός μηχανισμός αντιικής και αντικαρκινικής δράσης των αναλόγων των νουκλεοζιτών είναι η ενσωμάτωση των νουκλεοζιτών στην επιμηκυνόμενη αλυσίδα του DNA, προκαλώντας την διακοπή της επιμήκυνσής της (Σχήμα 6). Η ένωση των νουκλεοτιδίων καταλύεται από κυτταρικές πολυμεράσες οι οποίες συνδέουν το 5' άκρο του ενός νουκλεοτιδίου με την υδροξυλική 3' ομάδα του επόμενου νουκλεοτιδίου με απελευθέρωση μιας πυροφωσφορικής ομάδας και δημιουργίας φωσφοδιεστερικού δεσμού μεταξύ των σακχάρων (Lewin 2003, Burns *et al.* 2005).



Σχήμα 6.

Εκτός του παραπάνω μηχανισμού, τα νουκλεοζιτικά ανάλογα δρουν και μέσω άλλων μηχανισμών. Μπορούν να ενεργοποιήσουν την διαδικασία της απόπτωσης στα καρκινικά κύτταρα είτε άμεσα είτε έμμεσα μέσω της καταστολής αντιαποπτωτικών γονιδίων (Lui *et al.* 2010, Bhat *et al.* 2010).

Το σάκχαρο, είναι το τμήμα του νουκλεοζίτη που χρησιμεύει ως υπόστρωμα για τις κινάσες και τις πολυμεράσες που απαιτούνται για τη βιοσύνθεση των νουκλεοτιδίων και την επιμήκυνση των αλυσίδων. Εάν ένα ανάλογο νουκλεοτιδίων δεν έχει μια ομάδα 3'-υδροξυλίου, δεν μπορεί να ενωθεί με τη 5'-φωσφορική ομάδα του επόμενου νουκλεοτιδίου, και αυτό παρεμποδίζει αποτελεσματικά την επιμήκυνση της αλυσίδας. Ο μηχανισμός δράσης των νουκλεοζιτών, οι οποίοι δρουν ως αντιβιοτικά βασίζεται είτε στο ότι καταστρέφουν

συγκεκριμένα τμήματα των βακτηρίων, όπως τη μεμβράνη και το κυτταρικό τοίχωμά τους, είτε στο ότι επιδρούν στην σύνθεση των πρωτεϊνών (Siev *et al.* 1969) και στη μεταφορά ιόντων μέσω της πλασματικής μεμβράνης (Ahn *et al.* 2000).

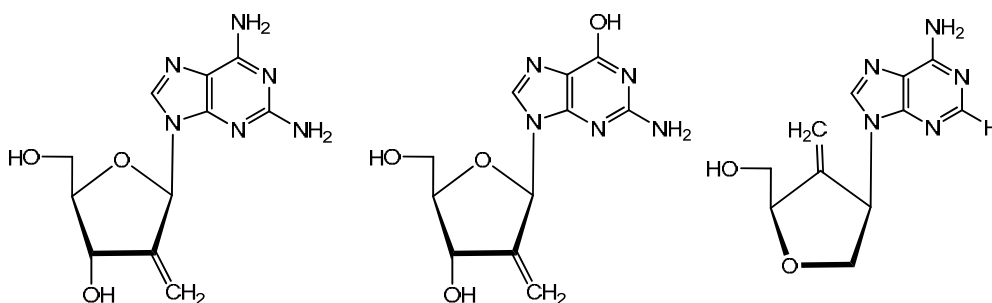
3. Κατηγορίες νουκλεοζιτών

Φουρανονουκλεοζίτες- Εξωμεθυλενικοί φουρανονουκλεοζίτες

Μεγάλο μέρος της ερευνητικής προσπάθειας για την ανάπτυξη αντικαρκινικών και αντιικών νουκλεοζιτών επικεντρώθηκε στη σύνθεση και μελέτη νουκλεοζιτικών αναλόγων που έφεραν ως σάκχαρο μια πεντόζη, γεγονός που επιβεβαιώνεται και από τις σχετικές δομές στα σχήματα 1 και 2 (Bonate *et al.* 2006, De Clercq 2002b, Zhou *et al.* 2004, Matsuda and Sasaki 2004). Η σπουδαιότητα των πεντοζών αναγνωρίστηκε από τη στιγμή που η ριβόζη και η δεσοξυριβόζη ταυτοποιήθηκαν ως συστατικά των νουκλεϊνικών οξέων. Όλοι οι νουκλεοζίτες στο DNA και RNA αποτελούνται από ένα *D*-πεντοφουρανοζικό σάκχαρο συνδεδεμένο με μία ετεροκυκλική νουκλεοβάση (Bloomfield *et al.* 1999, Blackburn and Gait 1996).

Μια σημαντική κατηγορία φουρανονουκλεοζιτών είναι και οι εξωμεθυλενικοί νουκλεοζίτες. Σύμφωνα με μελέτες έχει αποδειχθεί ότι αυτού του είδους οι νουκλεοζίτες έχουν αυξημένη αντιική και αντικαρκινική δράση (Gunaga *et al.* 2004, Yoo *et al.* 2002). Η δράση τους έγκειται στην ικανότητά τους να αδρανοποιούν αμετάκλητα τη φωσφορική ρεδοκτάση (ή αναγωγή) του ριβονουκλεοτιδίου (Gupta and Vankar, 2000, Jeong *et al.* 1998), η οποία συμμετέχει στην καρκινογενετική διαδικασία. Έπειτα από μελέτες του μηχανισμού της ανασταλτικής δράσης των αντιμεταβολιτών DMDC (Takenuki *et al.* 1988, Matsuda *et al.* 1991a, Yamagami *et al.* 1991, Lin *et al.* 1991, Baker *et al.* 1991, Cory *et al.* 1994) και FDMDC (Σχήμα 1) (Pontikis *et al.* 1995) έναντι της διφωσφορικής ρεδοκτάσης του ριβονουκλεοζίτη (RDRP), διαπιστώθηκε ότι υπεύθυνη για τις αντικαρκινικές τους ιδιότητες είναι η εξωμεθυλενική ομάδα στο τμήμα του σακχάρου (Hassan *et al.* 1994). Τέλος, ενδιαφέρον προκαλεί η αυξημένη αντιική δράση των εξωμεθυλενικών φουρανονουκλεοζιτικών αναλόγων

του σχήματος 7 έναντι του HSV-1, του HSV-2, του ιού της δαμαλίτιδας και του ιού της ηπατίτιδας B (Robins *et al.* 1992, Jeong and Yoo 1998).



Σχήμα 7.

Πυρανονουκλεοζίτες

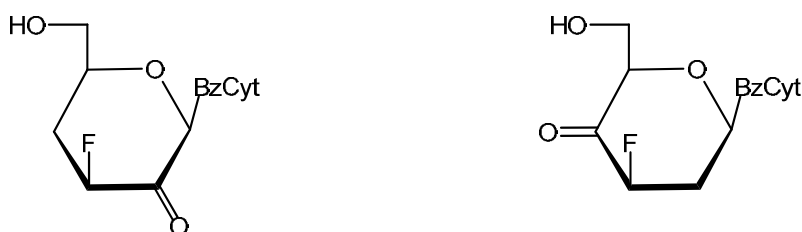
Παρά το μεγάλο ενδιαφέρον προς τα φουρανουκλεοζιτικά ανάλογα, οι συγκεκριμένοι νουκλεοζίτες παρουσιάζουν περιορισμένη δράση διότι υφίστανται, σχετικά εύκολα, χημική ή ενζυματική απενεργοποίηση, δεν μεταβολίζονται επαρκώς προς τις ενεργές τριφωσφορικές δομές τους, έχουν μικρό χρόνο ημιζωής, αυξημένη τοξικότητα και τέλος ευθύνονται για την εμφάνιση νέων ανθεκτικών ιών και κακοηθών όγκων. Έτσι, το ερευνητικό ενδιαφέρον στράφηκε προς μια άλλη κατηγορία νουκλεοζιτών αυτή των πυρανονουκλεοζιτών.

Τα τελευταία χρόνια, νουκλεοζίτες με τροποποιημένους εξαμελείς υδατανθρακικούς δακτυλίους έχουν αξιολογηθεί για τις πιθανές αντιικές (Verheggen *et al.* 1995, Maurinsh *et al.* 1997, Ostrowski *et al.* 1998), αντικαρκινικές (Malsen *et al.* 2004, Antonakis 1989), αντιοξειδωτικές (Spanou *et al.* 2007) και αντιβιοτικές τους ιδιότητες (Haouz *et al.* 2003); καθώς και ως δομικές μονάδες στη σύνθεση νουκλεϊνικών οξέων (Vastmans *et al.* 2001). Εκτός των άλλων, ενδιαφέρον παρουσιάζει η επίδραση ορισμένων πυρανονουκλεοζιτών της N^4 -βενζουλοκυτοσίνης και της N^6 -βενζουλοαδενίνης στην αποικοδόμηση ενζύμων. Οι ανωτέρω νουκλεοζίτες βρέθηκαν να αναστέλουν το ένζυμο πολυ(A)-εξειδικευμένη ριβονουκλεάση, PARN (Balatsos *et al.* 2008), ένα ένζυμο-κλειδί στην διεργασία της βράχυνσης της πολύ(A) ουράς και επιπλέον

αποδείχθηκαν ανταγωνιστικοί αναστολείς της φωσφορυλάσης του μυϊκού γλυκογόνου (Tsirkone *et al.* 2010).

Κετοπυρανονουκλεοζίτες

Οι κετοπυρανονουκλεοζίτες είχαν διερευνηθεί στο παρελθόν για πιθανή αντιική και αντικαρκινική δράση, αλλά αποδείχθηκαν ιδιαίτερα ασταθείς, έτσι το ενδιαφέρον στράφηκε προς την μελέτη των κετοπυρανονουκλεοζιτών (Egroun *et al.* 2005, Antonakis and Leclercq 1971, Antonakis and Leclercq 1970). Οι κετοπυρανονουκλεοζίτες αποτελούν μια κατηγορία νουκλεοζιτών με ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες, αφού παρουσιάζουν αξιόλογη αντικαρκινική και αντιική δράση (Komiotis *et al.* 2008, Manta *et al.* 2009a, σχήμα 8). Η διαθεσιμότητα αυτών των μορίων ήταν καθοριστική για τη βιολογική έρευνα, αφού άνοιξε νέους ορίζοντες προς τη διερεύνηση του μηχανισμού δράσης των αντιβιοτικών, δεδομένου ότι οι κετοπυρανονουκλεοζίτες αποτελούν απαραίτητα ενδιάμεσα στη βιοσύνθεση πολλών φυσικών νουκλεοζιτικών αντιβιοτικών προϊόντων (Antonakis 1989). Οι κετοπυρανονουκλεοζίτες παρουσιάζουν και συνθετικό ενδιαφέρον, διότι με πυρηνόφιλη προσθήκη αμινομάδων ή διακλαδισμένων αλυσίδων, οδηγούν σε αμινονουκλεοζίτες και σύνθετους νουκλεοζίτες, μεγάλης βιολογικής σημασίας (Egroun *et al.* 2005). Τέλος, θα πρέπει να τονιστεί ότι οι κετοπυρανονουκλεοζίτες αποτελούν συνθόνες σε συνθετικές και βιοσυνθετικές διαδικασίες με αντιογκογόνο δράση (Komiotis *et al.* 1991, Khan *et al.* 2002).



κετο-πυρανονουκλεοζίτες (Manta *et al.* 2009a)

Σχήμα 8.

Ακόρεστοι κετοπυρανονουκλεοζίτες

Μια ενδιαφέρουσα τροποποίηση των κετοπυρανονουκλεοζιτών είναι η εισαγωγή διπλού δεσμού άνθρακα-άνθρακα στον δακτύλιο του σακχάρου σε θέση α,β ως προς την κετονομάδα με αποτέλεσμα τη σύνθεση των ακόρεστων κετοπυρανονουκλεοζιτών. Η δημιουργία διπλού δεσμού έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, διότι καθιστά το δακτύλιο του σακχάρου πιο άκαμπτο, όμοια με ενός φουρανονουκλεοζίτη, διατηρώντας όμως τη βιολογική σταθερότητα του πυρανικού δακτυλίου. Με βάση το χαρακτηριστικό αυτό γνώρισμα, οι ακόρεστοι κετοπυρανονουκλεοζίτες μπορούν να θεωρηθούν ως βιοϊσοστερή των φυσικών νουκλεοζιτών (Egron *et al.* 2005, Herdewijn and De Clercq 2001).

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι οι ακόρεστοι κετοπυρανονουκλεοζίτες παρουσιάζουν ενδιαφέρουσα αντιική και αντινεοπλασματική δράση [Manta *et al.* 2010 (Σχήμα 9), Manta *et al.* 2009a] (Σχήμα 5). Αποδείχθηκε ότι όχι μόνο παρουσιάζουν ανασταλτική δράση έναντι της ανάπτυξης διαφόρων καρκινικών κυτταρικών σειρών *in vitro* [Manta *et al.* 2008 (Σχήμα 9), Halmos *et al.* 1983] και της λευχαιμίας L1210 *in vivo* (Komiotis *et al.* 1991, Manta *et al.* 2009a, Manta *et al.* 2010), αλλά επίσης ότι αποτελούν και σημαντικά συνθετικά ενδιάμεσα στο πεδίο των νουκλεοζιτών, λόγω της χημικής τους σταθερότητας στα διάφορα μέσα (Antonakis 1975). Ο μηχανισμός δράσης τους δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως, αλλά έρευνες έχουν δείξει πως οι κυτταροστατικές και αντιικές ιδιότητές τους ίσως να οφείλονται στην παρεμπόδιση σύνθεσης του DNA, του RNA και των πρωτεϊνών (Antonakis 1975), όπως επίσης και στην αλληλεπίδρασή τους με πρωτεϊνικές ομάδες σουλφυδρυλίου (Halmos *et al.* 1983). Μελέτες δομής-δράσης έχουν αποδείξει πως για τις παραπάνω ιδιότητες των ακόρεστων κετοπυρανονουκλεοζιτών απαραίτητη προϋπόθεση αποτελεί η ύπαρξη του ηλεκτρονιόφιλου συστήματος $C=C-C=O$ στο τμήμα του σακχάρου, ενώ η δραστηριότητα δεν φαίνεται να επηρεάζεται από την *L*- ή *D*- διάταξη του σακχάρου καθώς και την ανωμερική θέση της βάσης (Alaoui *et al.* 1986). Ενδιαφέρον προκαλεί η διαπίστωση ότι η παρουσία ελεύθερου υδροξυλίου στη 6'-θέση του σακχάρου δεν αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την εμφάνιση αντικαρκινικής και αντιικής δράσης. Αντίθετα η ύπαρξη πρωτοταγούς προστατευτικής ομάδας φαίνεται να ενισχύει την βιολογική δράση των ανωτέρω νουκλεοζιτών.

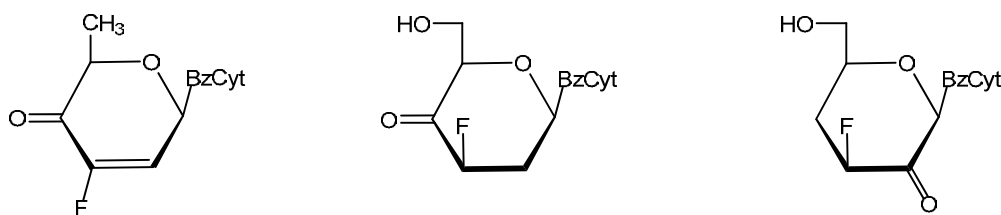


ακόρεστοι κετο-πυρανονουκλεοζίτες (Manta *et al.* 2010, Manta *et al.* 2008)

Σχήμα 9.

Δεσοξυ-πυρανονουκλεοζίτες

Άλλη μία σημαντική κατηγορία νουκλεοζιτών με τροποποιημένο εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο είναι οι δεσοξυ-πυρανονουκλεοζίτες, οι οποίοι παρουσιάζουν ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες (Manta *et al.* 2009a, Manta *et al.* 2010) (Σχήμα 10). Με τον όρο δεσοξυνουκλεοζίτες υποδηλώνεται η αντικατάσταση ενός υδροξυλίου από ένα υδρογόνο σε οποιαδήποτε θέση του σακχάρου, το οποίο ενώνεται απευθείας με την αζωτούχο βάση. Ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε σε αυτήν την τάξη των νουκλεοζιτών από τη στιγμή που οι 6'-δεσοξυ-κετονουκλεοζίτες παρουσίασαν αξιοσημείωτη αντικαρκινική δράση, και επιπλέον από την εμφάνιση αντιβιοτικών, τα οποία περιέχουν 6'-δεσοξυπυρανόζες (Suhadolnik 1970, Antonakis and Chouroulinkov 1974, Suhadolnik 1979). Αξιοσημείωτη όμως, είναι και η αντιική, καθώς και η αντιλευχαιμική δράση που εμφάνισαν ορισμένοι πουρινικοί και πυριμιδινικοί 2'-δεσοξυ-πυρανονουκλεοζίτες (Langen and Etzold 1966, Nord *et al.* 1987). Επιπλέον, θα πρέπει να αναφερθεί και η αντιική δράση των 1,5-ανυδροεξιτολουκλεοζιτών έναντι του ιού του απλού έρπητα τύπου 1 και τύπου 2, του κυτταρομεγαλοϊού καθώς και του ιού έρπητα ζωστήρα (Verheggen *et al.* 1993, Verheggen *et al.* 1995). Πρόσφατες μελέτες έδειξαν επίσης ότι οι 2',3'-διδεσοξυ καθώς και οι 3',4'-διδεσοξυ νουκλεοζίτες εμφάνισαν αυξημένη αντιική δράση έναντι του εντεροϊού καθώς επίσης και αντικαρκινική δράση έναντι του ανθρώπινου αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου, του καρκινώματος του στομάχου και του καρκινώματος του στήθους (Manta *et al.* 2009b).



δεσοξυ-πυριανονουκλεοζίτες (Manta *et al.* 2009a, Manta *et al.* 2009b)

Σχήμα 10.

4. Στόχοι της παρούσης διατριβής

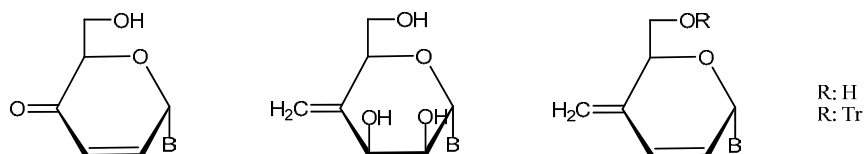
Η ραγδαία ανάπτυξη της φαρμακολογίας και της φαρμακευτικής χημείας σε συνδυασμό με τις ανακαλύψεις που έγιναν σχετικά με τη δομή και τη λειτουργία του γενετικού υλικού των οργανισμών, επέτρεψαν τη σύνθεση, μελέτη, εφαρμογή και προώθηση στην αγορά πολλών φαρμάκων που ως δραστική ουσία περιέχουν κάποιο νουκλεοζιτικό ανάλογο. Τα αντικαρκινικά και αντιικά νουκλεοζιτικά ανάλογα περιλαμβάνονται μεταξύ των πιο σημαντικών θεραπευτικών ανακαλύψεων του εικοστού αιώνα και έχουν αλλάξει τη θεραπευτική αγωγή πολλών ασθενειών.

Λαμβάνοντας υπόψη ότι:

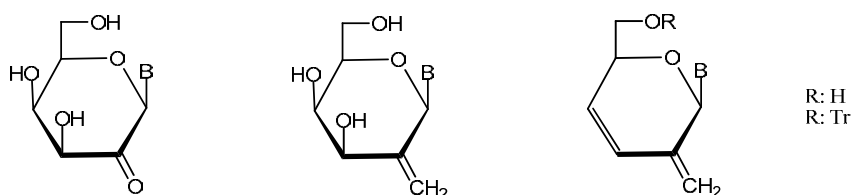
- [1] τα τροποποιημένα νουκλεοζιτικά ανάλογα με εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο έχουν επιδείξει σημαντική αντικαρκινική, αντιική, αντιβιοτική και αντιοξειδωτική δράση
- [2] η παρουσία προστατευτικής ομάδας στη 6'-θέση του σακχάρου ενισχύει την παρατηρούμενη βιολογική δράση
- [3] οι κορεσμένοι και ακόρεστοι κετοπυριανονουκλεοζίτες εμφανίζουν αξιοσημείωτες βιολογικές ιδιότητες
- [4] οι φουρανονουκλεοζίτες που φέρουν εξωμεθυλενική ομάδα, επιδεικνύουν αξιοσημείωτη αντικαρκινική και αντιική δράση,

θεωρήθηκε ενδιαφέρουσα η σύνθεση και η βιολογική αποτίμηση νέων κορεσμένων και ακόρεστων κετο και εξωμεθυλενικών πυριανονουκλεοζιτών, οι οποίοι θα φέρουν:

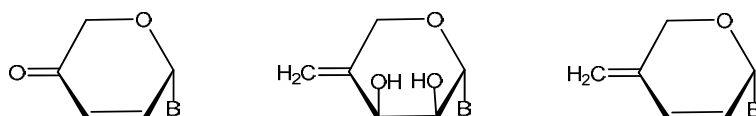
1) κετο- ή εξωμεθυλενική ομάδα στη 4'-θέση του σακχάρου:



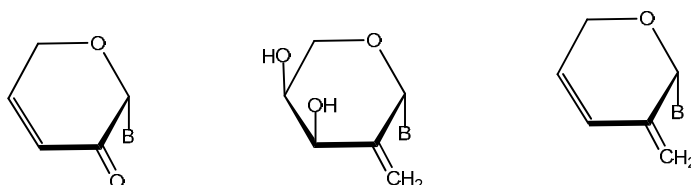
2) κετο- ή εξωμεθυλενική ομάδα στη 2'-θέση του σακχάρου:



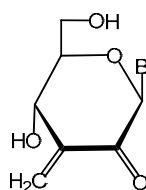
3) κετο- ή εξωμεθυλενική ομάδα στη 4'-θέση και ταυτόχρονη έλλειψη της υδροξυμεθυλο-ομάδας στη 5'-θέση του σακχάρου:



4) κετο- ή εξωμεθυλενική ομάδα στη 2'-θέση και ταυτόχρονη έλλειψη της υδροξυμεθυλο-ομάδας στη 5'-θέση του σακχάρου:



5) εξωμεθυλενική ομάδα στη 3'-θέση και κετονομάδα στη 2'-θέση του σακχάρου:



Σε όλα τα ανωτέρω τροποποιημένα πυρανοουκλεοζιτικά ανάλογα πραγματοποιήθηκαν αντικαρκινικές, αντιικές και αντιοξειδωτικές μελέτες, ούτως ώστε να γίνει η σύγκριση των βιολογικών τους ιδιοτήτων και να αναδειχθεί η βιολογική σπουδαιότητα της κάθε δομής.

II. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ - ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

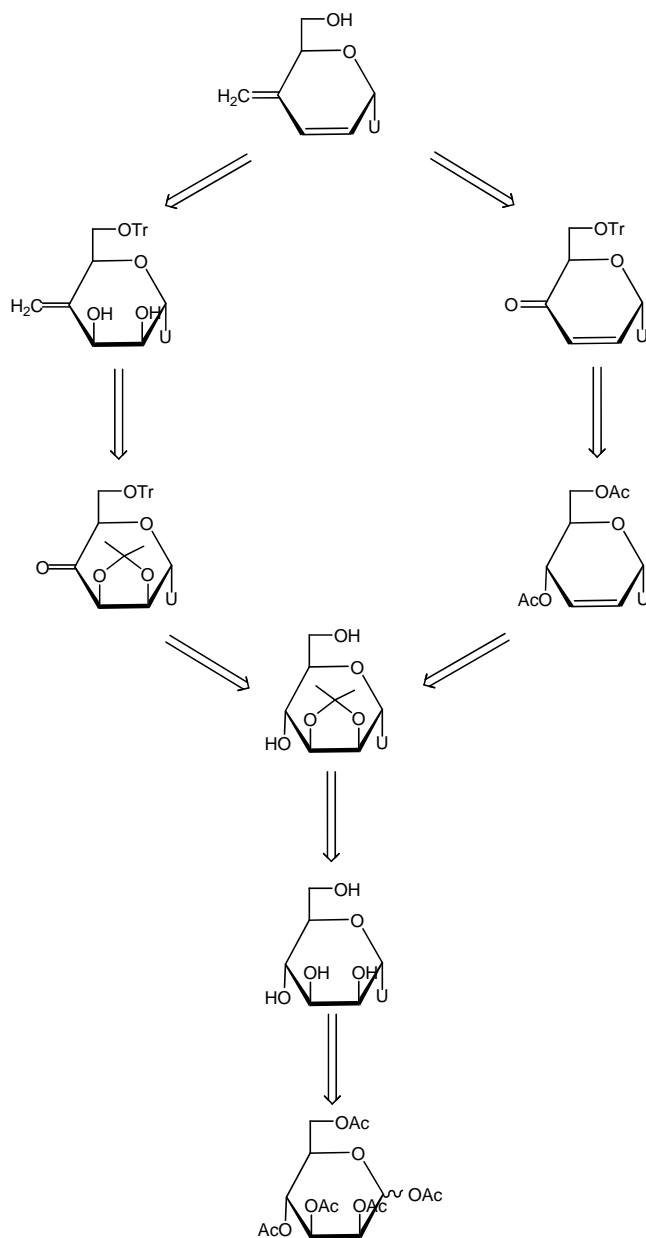
4'-ΚΕΤΟ ΚΑΙ 4'-ΕΞΩΜΕΘΥΛΕΝΙΚΑ ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΙΚΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΤΗΣ ΜΑΝΝΟΖΗΣ

Όπως προαναφέρθηκε εκτενέστερα, η ύπαρξη κετονομάδας στο τμήμα του σακχάρου ενός πυρανονουκλεοζίτη, είναι σημαντική για την εκδήλωση αντικαρκινικής ή αντιικής δράσης. Οι κετονουκλεοζίτες επιδεικνύουν αξιόλογη αντικαρκινική δράση αναστέλλοντας την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων και επιπλέον αποτελούν το κλειδί που μεσολαβεί σε συνθετικές και βιοσυνθετικές διαδικασίες, πολλές από τις οποίες έχουν ως αποτέλεσμα αντιογκογονική δράση.

Από την άλλη, έχει αποδειχθεί, ότι η εισαγωγή της ακορεστότητας στους νουκλεοζίτες με εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο προκαλεί ευκαμψία στο δακτύλιο, όμοια με αυτή ενός φουρανονουκλεοζίτη, με αποτέλεσμα να μπορούν να θεωρηθούν ως βιοϊσοστερή των φυσικών νουκλεοζιτών και να έχουν καθιερωθεί για την αντineοπλασματική δραστηριότητά και τα ανοσοκατασταλτικά αποτελέσματά τους. Στην κατηγορία των ακόρεστων νουκλεοζιτών ανήκουν και τα φουρανονουκλεοζιτικά ανάλογα που φέρουν εξωμεθυλένιο στη δομή τους, τα οποία επέδειξαν εξαιρετική αντικαρκινική και αντιική δράση.

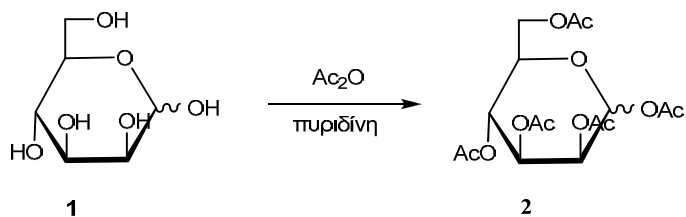
Με βάση τα ανωτέρω συντέθηκε και αξιολογήθηκε η βιολογική δράση νέων κορεσμένων και ακόρεστων πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της μαννόζης, τα οποία φέρουν ουρακίλη ως ετεροκυκλική βάση και κετονομάδα ή εξωμεθυλένιο στη θέση 4' του σακχάρου.

Η ρετροσυνθετική προσέγγιση για την παρασκευή των επιθυμητών 4'-κετο και 4'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της μαννόζης, η οποία διακλαδίζεται σε δύο πορείες, περιγράφεται στο σχήμα 11.



Σχήμα 11.

Στη μία πορεία λαμβάνεται ο κορεσμένος και ο ακόρεστος εξωμεθυλενικός πυρανονουκλεοζίτης, ενώ στην άλλη πορεία επιτυγχάνεται επιπλέον και η παρασκευή του ακόρεστου κετοπυρανονουκλεοζίτη.

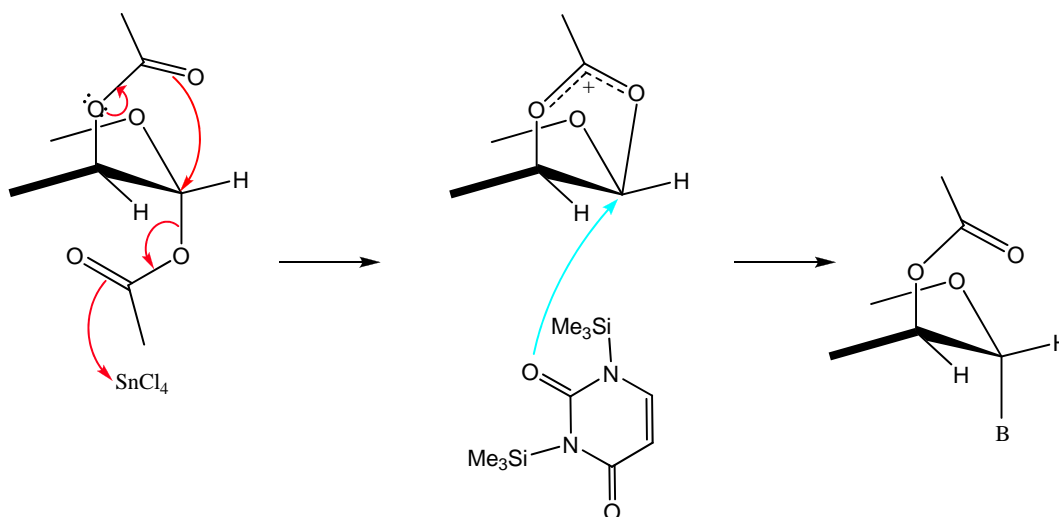


Σχήμα 12.

Αφετηρία για τη σύνθεση των νέων 4'-κετο και 4'-εξωμεθυλενικών πυρανοουκλεοζιτικών παραγώγων της μαννόζης, αποτελεί η ακετυλιωμένη μαννόζη **2**, η οποία λαμβάνεται έπειτα από αντίδραση της εμπορικά διαθέσιμης *D*-μαννόζης (**1**) με οξικό ανυδρίτη (Ac_2O) σε πυριδίνη (Σχήμα 12).

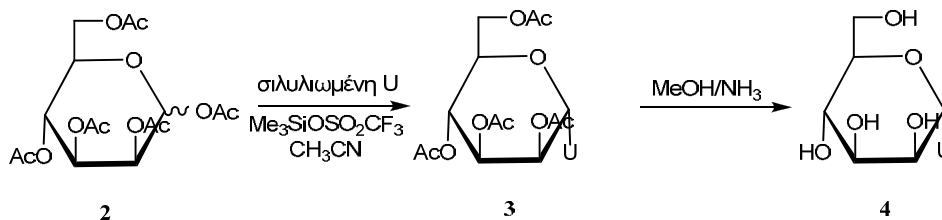
Για να επιτευχθεί η σύνθεση των νουκλεοζιτών, το γλυκοζιτικό μέρος πρέπει να χρησιμοποιείται πάντα υπό τη μορφή του ακετυλιωμένου σακχάρου, γεγονός που ισχύει και στην προκειμένη περίπτωση. Από την άλλη πλευρά, η βάση, υπό συγκεκριμένες συνθήκες, πρέπει να ενεργοποιηθεί υπό τη μορφή άλατος ή συμπλόκου, όπου τα δραστικά υδρογόνα της ίδιας της βάσης αντικαθίστανται από τριμεθυλοσιλυλομάδες. Συνεπώς, αφού εξασφαλιστεί η διαθεσιμότητα του επιθυμητού ακετυλιωμένου σακχάρου **2**, ακολουθεί σιλυλίωση της ουρακίλης. Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν το 1974 από τους Niedballa και Vorbrüggen (Niedballa and Vorbrüggen 1974), απέδειξαν ότι οι σιλυλιωμένες ουρακίλες αντιδρούν εύκολα με τα ακυλιωμένα σάκχαρα, καθώς ενισχύεται ο πυρηνόφιλος χαρακτήρας τους, για να σχηματίσουν τους αντίστοιχους ακυλιωμένους νουκλεοζίτες σε πολύ καλές αποδόσεις. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, για να επιτευχθεί η συμπύκνωση της εμπορικά διαθέσιμης ουρακίλης με την ακετυλιωμένη μαννόζη, χρησιμοποιείται η σιλυλιωμένη ουρακίλη, η οποία προκύπτει μετά από αντίδραση με εξαμεθυλοδισιλαζάνιο (HMDS) σε διαλύτη ακετονιτρίλιο (CH_3CN). Η αντίδραση καταλύεται από τη σακχαρίνη και λαμβάνεται το παράγωγο δις-τριμεθυλοσιλυλοουρακίλη. Η επίδραση ενός όξινου καταλύτη Lewis στην ακετυλιωμένη μαννόζη οδηγεί στον σχηματισμό ενός κατιονικού ενδιάμεσου στον ανωμερικό άνθρακα του σακχάρου, το οποίο στη συνέχεια προσβάλεται από την ενεργή πλέον σιλυλιωμένη ουρακίλη (Σχήμα 13).

Η διαμεσολάβηση του συγκεκριμένου καρβωνιόντος υποχρεώνει την βάση να προσβάλλει το κατιόν από την αντίθετη πλευρά, με αποτέλεσμα τον αποκλειστικό σχηματισμό ενός από τα δύο ανωμερή. Τέλος, πολύ σημαντικός είναι και ο ρόλος του υποκαταστάτη στον άνθρακα C-2', ο οποίος προσανατολίζει την πορεία προσβολής της βάσης σε θέση *trans* ως προς το 2'-OAc.



Σχήμα 13

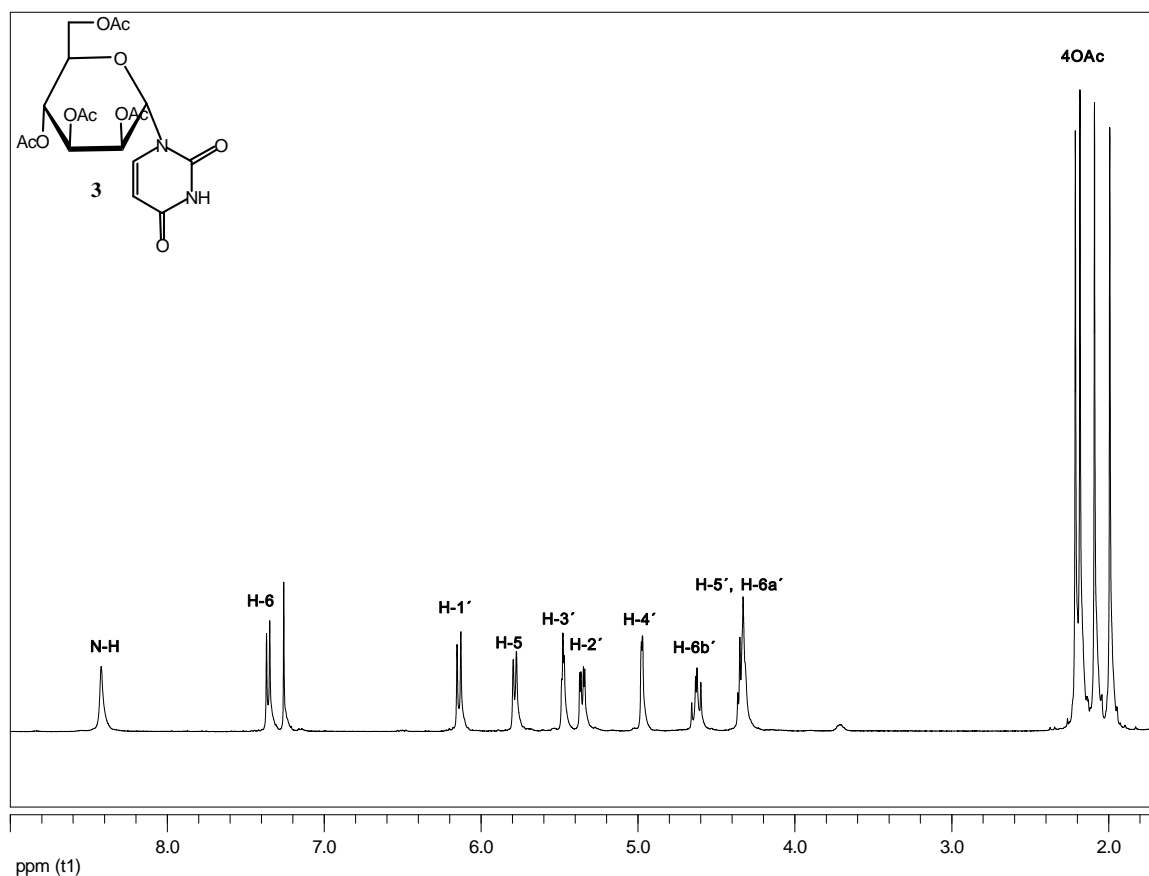
Όπως λοιπόν είναι εμφανές, η σιλυλιωμένη ουρακίλη αντιδρά με την ακετυλιωμένη μαννόζη παρουσία του καταλύτη τριφθορομεθανοσουλφονικού τριμεθυλοσιλυλεστέρα ($\text{Me}_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$) με αποτέλεσμα τη σύνθεση του α -ανωμερικού νουκλεοζίτη **3**, (Niedballa and Vorbrüggen 1974), ο οποίος λαμβάνεται με εξαιρετική απόδοση (90%) (Σχήμα 14).



Σχήμα 14.

Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του νουκλεοζίτη **3** που απεικονίζεται στο σχήμα 15, εμφανίζεται μία διπλή κορυφή με υψηλή τιμή σταθεράς σύζευξης $J_{1',2'} = 9.6$ Hz στα 6.14 ppm, η οποία αντιστοιχεί στο πρωτόνιο $\text{H-1}'$ του σακχάρου. Επίσης, από τη μελέτη του συγκεκριμένου φάσματος προκύπτουν δύο διπλές κορυφές στα 7.36 και 5.78 ppm, με σταθερά σύζευξης $J_{5,6} = 8.2$ ppm, οι οποίες αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-5 και H-6 της ουρακίλης. Στα 5.48 ppm διακρίνεται μία τριπλή, στα 5.35 ppm μία διπλή-διπλών και στα 4.97 ppm μία διπλή κορυφή, οι οποίες αντιστοιχούν στα πρωτόνια $\text{H-3}'$, $\text{H-2}'$ και $\text{H-4}'$ του σακχάρου, αντίστοιχα, με κοινή σταθερά σύζευξης $J = 3.2$ Hz. Στο ίδιο φάσμα διακρίνονται το σήμα του πρωτονίου $\text{H-6b}'$ ως μία κορυφή

διπλή-διπλών στα 4.63 ppm με σταθερές σύζευξης $J_{5',6b'} = 9.8$ και $J_{6a',6b'} = 13.5$ Hz, καθώς και το σήμα των πρωτονίων H-5' και H-6a' ως μία πολλαπλή κορυφή γύρω στα 4.36-4.31 ppm.

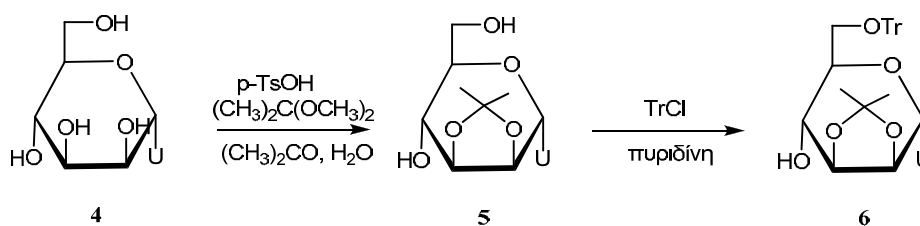


Σχήμα 15.

Στη συνέχεια, η ένωση **3**, μέσω μίας εύκολης πειραματικής διαδικασίας, κατεργάζεται με μεθανολική αμμωνία (Neilson and Werstiuk 1971) για μία νύχτα, με αποτέλεσμα τη λήψη του πλήρως αποπροστατευμένου νουκλεοζίτη **4** (Σχήμα 14).

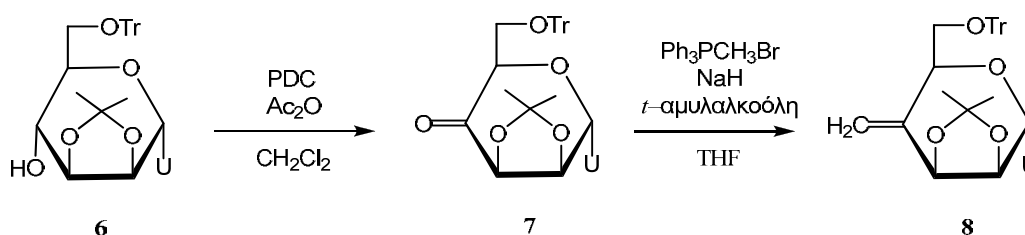
Ακολουθεί η εκλεκτική προστασία των γειτονικών υδροξυλίων στις 2' και 3' θέσεις του σακχάρου (Σχήμα 16), η οποία οδηγεί στη λήψη της ένωσης **5**, που αποτελεί αφετηρία για τις δύο διαφορετικές συνθετικές πορείες που αναφερθήκανε παραπάνω (Σχήμα 11). Η συγκεκριμένη αντίδραση πραγματοποιείται με επίδραση του 2,2-διμεθοξυπροπανίου $[(CH_3)_2C(OCH_3)_2]$ επί της ένωσης **4** καθώς και του π-τολουολοσουλφονικού οξέος (*p*-TsOH) ως καταλύτη, οπότε αρχικά προστατεύονται τα υδροξύλια στις 2',3' και 4',6' θέσεις του σακχάρου (Vanheusden *et al.* 2004) και έπειτα από πολύωρη υδρόλυση διασπάται το ένα ακετονίδιο, με αποτέλεσμα τη λήψη της επιθυμητής ένωσης **5** σε απόδοση 81%. Από τη μελέτη του φάσματος 1H -NMR της ένωσης **5**, διακρίνεται μία διπλή κορυφή στα 5.69 ppm με σταθερά σύζευξης $J_{1',2'}$

= 6.8 Hz, η οποία αντιστοιχεί στο σήμα του πρωτονίου H-1' του υδατανθρακικού δακτυλίου. Στο ίδιο φάσμα διακρίνονται επίσης τα σήματα των πρωτονίων H-2' και H-3' που εμφανίζονται ως μία πολλαπλή κορυφή, το σήμα του πρωτονίου H-4' ως τριπλή κορυφή και τα σήματα των πρωτονίων H-5', H-6a' και H-6b' ως πολλαπλές κορυφές, αντίστοιχα. Τέλος, οι δύο απλές κορυφές που εμφανίζονται στα 1.52 ppm και 1.39 ppm αντιστοιχούν στο σήμα της ισοπροπυλιδενικής ομάδας.



Σχήμα 16.

Στην πρώτη λοιπόν πορεία για την παρασκευή του κορεσμένου 4'-κετοπυρανονουκλεοζίτη το πρώτο βήμα της σύνθεσης περιλαμβάνει την εκλεκτική τριτυλίωση του πρωτοταγούς υδροξυλίου του προϊόντος **5** (Σχήμα 16), η οποία λαμβάνει χώρα μέσω κατεργασίας με τριφαινυλομεθυλοχλωρίδιο (TrCl) σε πυριδίνη, παρουσία καταλυτικής ποσότητας 4,4-διμεθυλαμινοπυριδίνης (DMAP), οπότε το μερικώς προστατευμένο νουκλεοζιτικό ανάλογο **6** λαμβάνεται σε πολύ καλή απόδοση (82%).

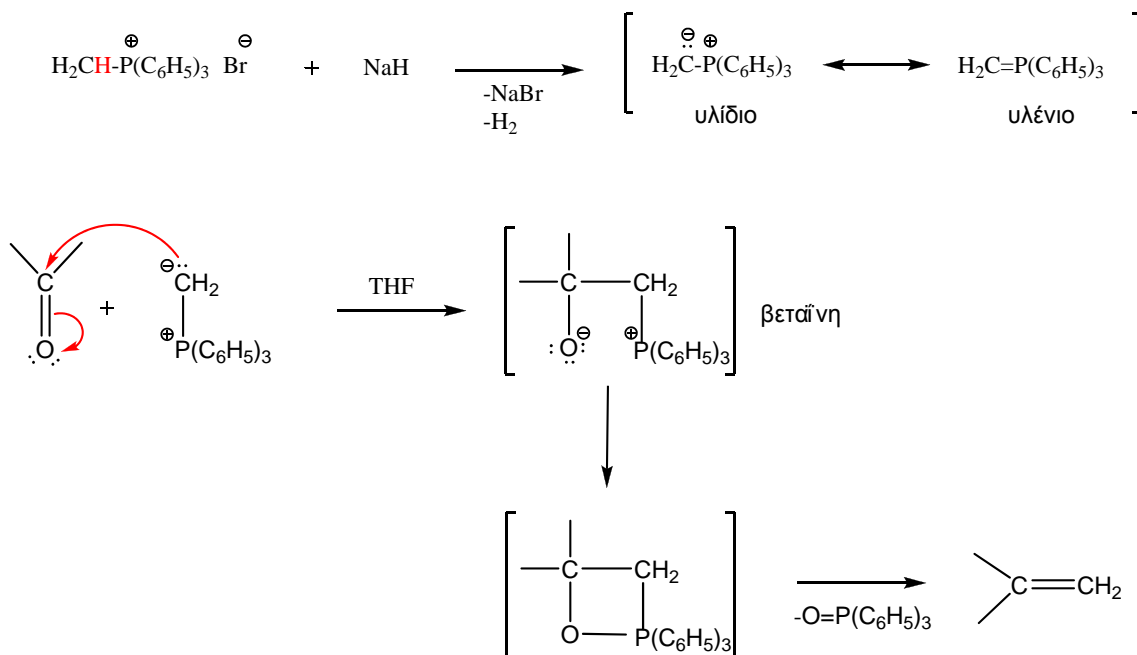


Σχήμα 17.

Στη συνέχεια, ακολουθεί η οξείδωση του ελεύθερου υδροξυλίου στην 4' θέση του σακχάρου της τριτυλιωμένης ένωσης **6** (Σχήμα 17), με επίδραση διχρωμικής πυριδίνης (PDC) και Ac₂O (Herscovici and Antonakis 1980) σε διχλωρομεθάνιο, με αποτέλεσμα τη λήψη του κετονουκλεοζίτη **7**, σε απόδοση 70%. Από τη μελέτη του φάσματος ¹H-NMR της ένωσης **7**, είναι χαρακτηριστικό το σήμα του πρωτονίου H-3' που εμφανίζεται ως διπλή κορυφή στα 4.65 ppm με σταθερά σύζευξης $J_{2',3'} = 7.4$ Hz,

ενώ αξιοσημείωτη είναι η έλλειψη του σήματος του πρωτονίου H-4' του υδατανθρακικού δακτυλίου.

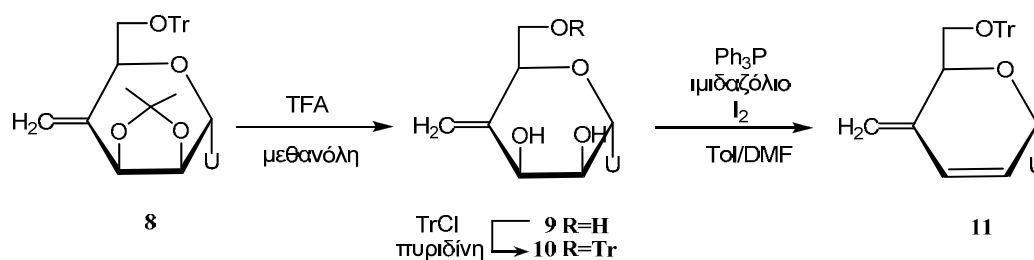
Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι το καθοριστικό βήμα της συνθετικής πορείας αποτελεί η εισαγωγή της εξωμεθυλενικής ομάδας στην 4'-θέση του σακχάρου του νουκλεοζίτη **7**, η οποία πραγματοποιείται με αντίδραση Wittig. Ο μηχανισμός της συγκεκριμένης αντίδρασης απεικονίζεται στο σχήμα 18 που ακολουθεί.



Σχήμα 18.

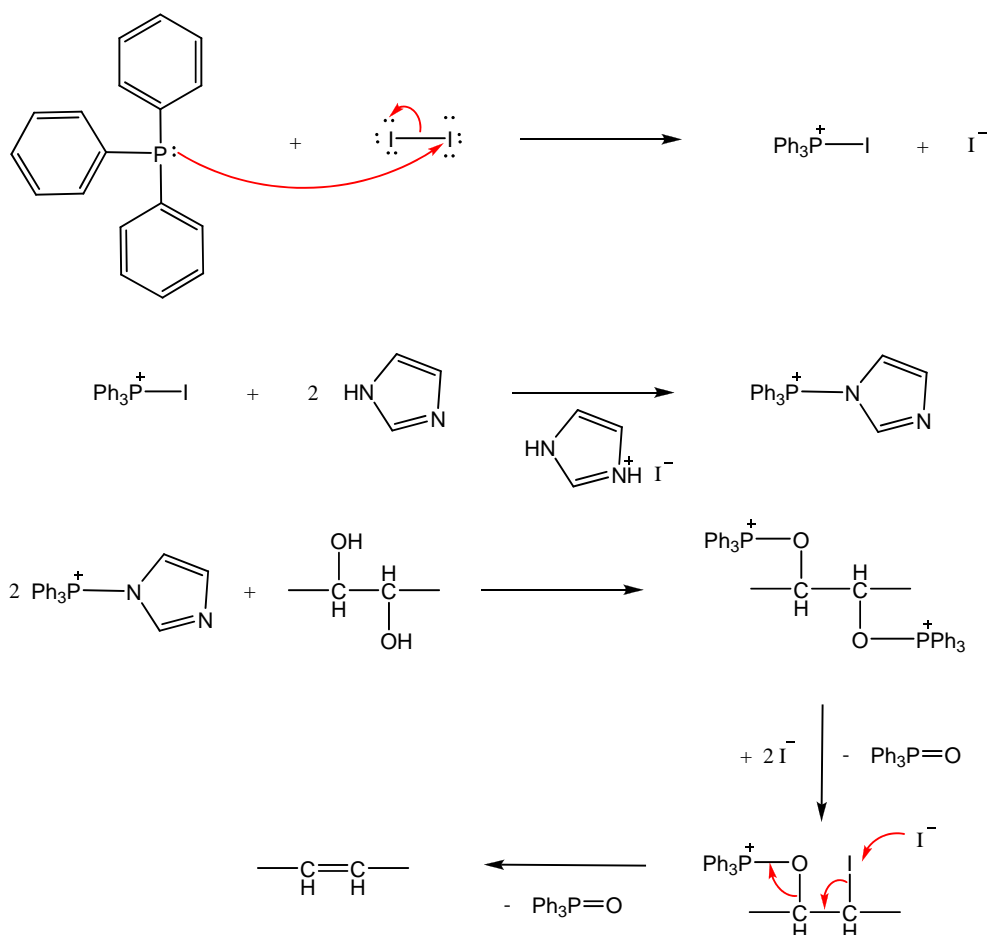
Το εμπορικά διαθέσιμο μεθυλοτριφαινυλοφωσφωνιακό βρωμίδιο ($\text{Ph}_3\text{PCH}_3\text{Br}$) αντιδρά με το υδρίδιο του νατρίου σχηματίζοντας ένα υλίδιο του φωσφόρου, γνωστό και ως φωσφοράνιο. Το υδρογόνο στον άνθρακα που βρίσκεται δίπλα στον θετικά φορτισμένο φώσφορο είναι ασθενώς όξινο και μπορεί να αποσπαστεί κατά την επίδραση ισχυρών βάσεων, όπως π.χ. NaH , βουτυλολίθιο, φαινυλολίθιο, λιθιοδιίσοπροπυλαμίδιο, σχηματίζοντας ένα υλίδιο χαρακτηριστικού έντονου κίτρινου χρώματος (Yoo *et al.* 2002, Enhalabi and Rice 2004). Στην κετόνη **7** προστίθεται το συγκεκριμένο υλίδιο σχηματίζοντας ένα διπολικό ενδιάμεσο, τη βεταΐνη, η οποία δεν απομονώνεται, αλλά αποσυντίθεται αμέσως, οδηγώντας έτσι προς τον επιθυμητό εξωμεθυλενικό νουκλεοζίτη **8**. Από την εξέταση του φάσματος $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **8** διακρίνονται δύο απλές κορυφές στα 5.40 και 5.26 ppm, οι οποίες αντιστοιχούν στα σήματα των δύο πρωτονίων της μεθυλενικής ομάδας.

Το επόμενο στάδιο της συνθετικής διαδικασίας περιλαμβάνει την πλήρη αποπροστασία του προϊόντος **8** (Σχήμα 19), η οποία πραγματοποιείται με την προσθήκη μεθανολικού διαλύματος τριφθοροξικού οξέος (TFA), δίνοντας την ένωση **9**. Ακολουθεί κατεργασία με TrCl σε πυριδίνη παρουσία καταλυτικής ποσότητας DMAP, οδηγώντας στην ένωση **10**, η οποία παράγεται σε καλή απόδοση (78%).



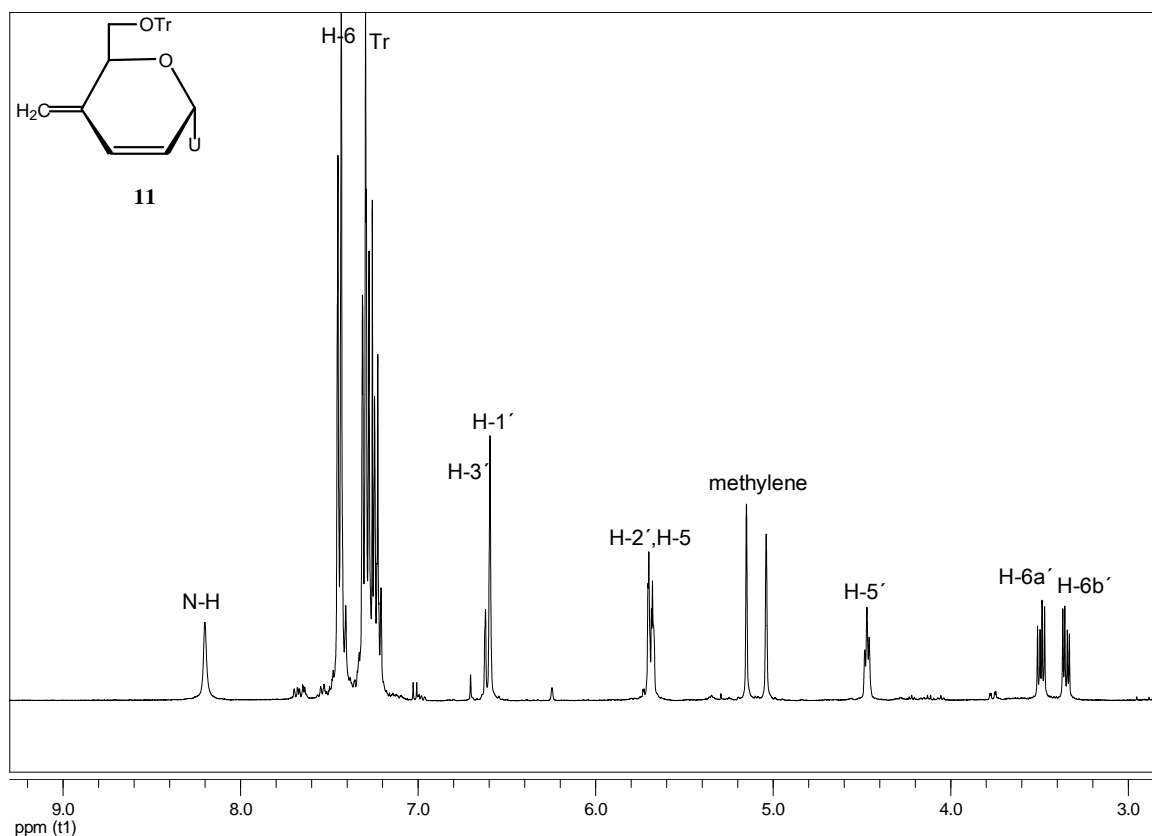
Σχήμα 19.

Η εισαγωγή του διπλού δεσμού στις 2',3'-θέσεις του σακχάρου της ένωσης **10** αποτελεί ένα ακόμη κρίσιμο βήμα της συγκεκριμένης συνθετικής πορείας. Για τη λήψη του επιθυμητού ακόρεστου εξωμεθυlenικού νουκλεοζίτη **11** πραγματοποιήθηκαν διάφορες αντιδράσεις. Η κατεργασία της ένωσης **10** με θειοκαρβονυλοδιϊμιδαζόλη και τριμεθυλοφωσφίνη (Corey and Winter 1963, Corey and Hopkins 1982), η απαξυγόνωση μέσω ξανθογονικού εστέρα (Barret *et al.* 1979), και τέλος η μέθοδος Hanessian (Hanessian *et al.* 1978) με προσθήκη *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιου (DMF) και διμεθυλοακετάλης/ιωδοφορμίου οδήγησαν μόνο σε προϊόντα αποικοδόμησης. Παρόλ' αυτά, η κατεργασία της ένωσης **10** με ιώδιο, τριφαινυλοφωσφίνη (Ph_3P) και ιμιδαζόλιο (Σχήμα 20) σε μίγμα τολουολίου (Tol) και DMF (Garegg and Samuelsson 1979, Liu *et al.* 1990, Luzzio and Menes 1994), οδήγησε στη λήψη του επιθυμητού νουκλεοζίτη **11**, σε απόδοση 54%. Ο μηχανισμός της συγκεκριμένης αντίδρασης απεικονίζεται στο σχήμα 20.



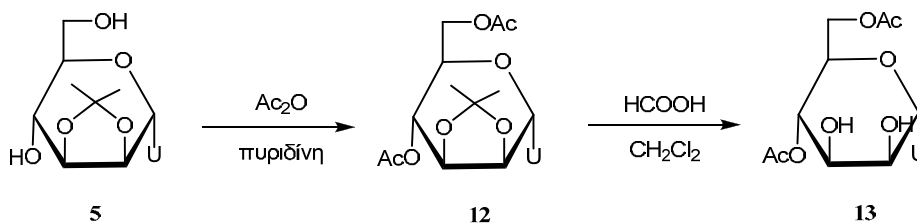
Σχήμα 20.

Από τη μελέτη του φάσματος $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **11** αποδεικνύεται η ύπαρξη του διπλού δεσμού στις 2',3'-θέσεις του σακχάρου από τα σήματα των πρωτονίων H-3' και H-2' που εμφανίζονται ως δύο διπλές κορυφές στα 6.62 και 5.69, ppm με σταθερά σύζευξης $J_{2',3'} = 9.1 \text{ Hz}$ (Σχήμα 21).



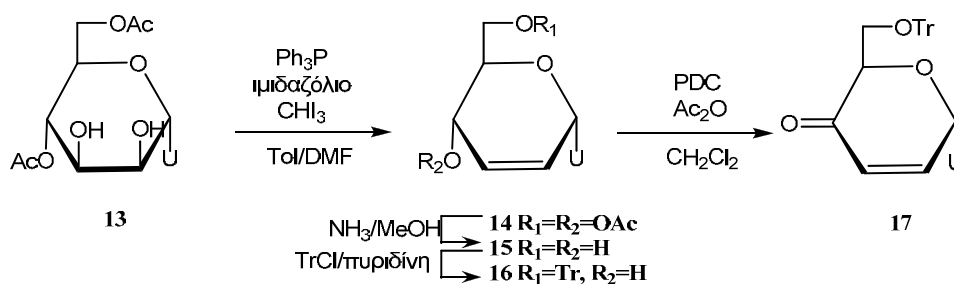
Σχήμα 21.

Όπως προαναφέρθηκε, κατά τη δεύτερη συνθετική διαδικασία παρασκευάζεται αρχικά ο ακόρεστος κετονουκλεοζίτης και στη συνέχεια εισάγεται η εξωμεθυλενική ομάδα. Συνεπώς, αφετηρία της δεύτερης πορείας αποτελεί η αντίδραση της ακετυλίωσης των ελεύθερων υδροξυλίων του ισοπροτυλιδενικού νουκλεοζίτη **5**, μέσω κατεργασίας του με Ac_2O και πυριδίνη (Σχήμα 22). Ακολουθεί η εκλεκτική αποπροστασία της πλήρους προστατευμένης ένωσης **12**, η οποία πραγματοποιείται με προσθήκη μυρμηκικού οξέος σε διχλωρομεθάνιο με αποτέλεσμα τη διάνοιξη του ακετονιδίου και τη λήψη του προϊόντος **13**, με πολύ καλή απόδοση (88%).



Σχήμα 22.

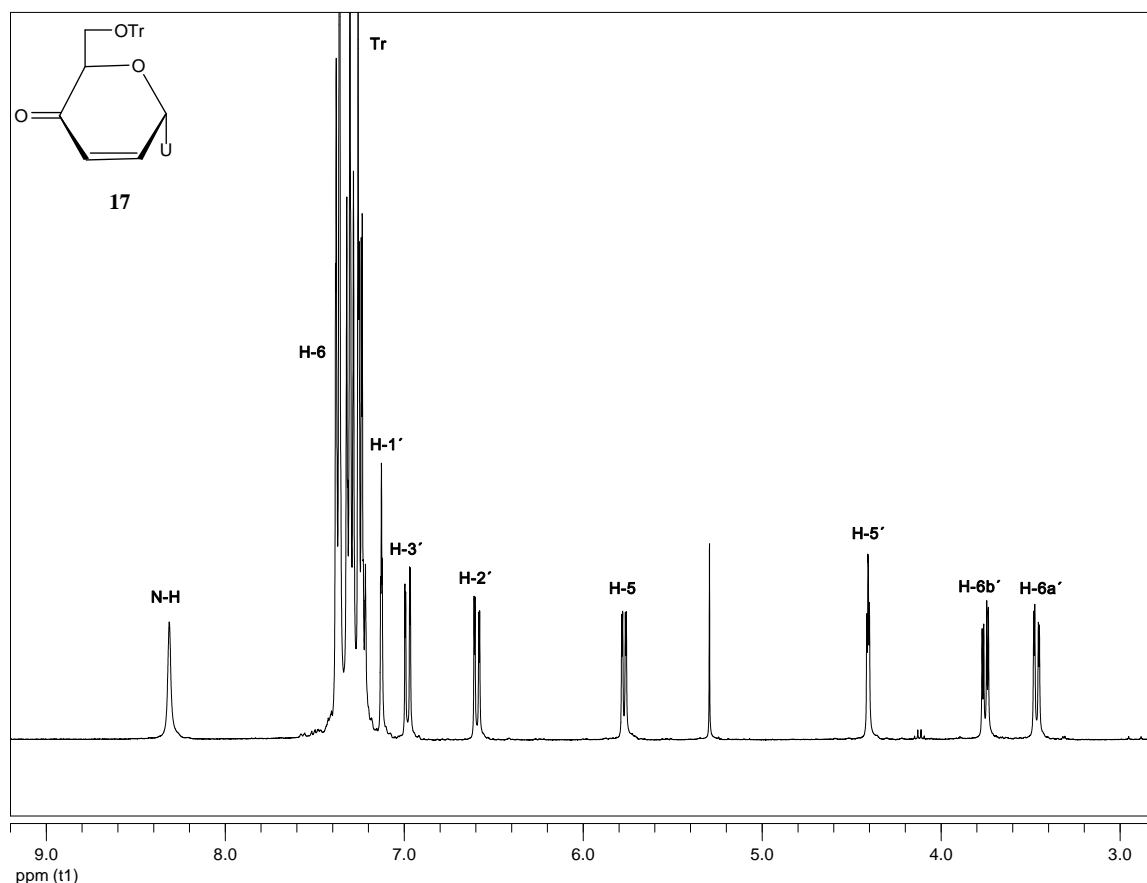
Η σύνθεση συνεχίζεται με τη δημιουργία του διπλού δεσμού στην ένωση **13** (Σχήμα 23), μέσω κατεργασίας της με Ph_3P , ιμιδαζόλιο και ιωδοφόρμιο (Zhang and Clive 1999, Bessodes *et al.* 1981, Chun *et al.* 2001), λαμβάνοντας την ένωση 1-(4',6'-δισ-O-ακετυλο-2',3'-διδεσοξυ- α -D-ερυθρο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλ)ουρακίλη (**14**), με απόδοση 76%. Από την εξέταση του φάσματος $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **14** διακρίνεται το σήμα του πρωτονίου H-2' ως μία κορυφή διπλή-διπλών στα 5.91 ppm ($J_{1',2'} = 1.5 \text{ Hz}$ και $J_{2',3'} = 10.1 \text{ Hz}$) καθώς και το σήμα του πρωτονίου H-3' ως μία διπλή κορυφή στην περιοχή των 6.34 ppm.



Σχήμα 23.

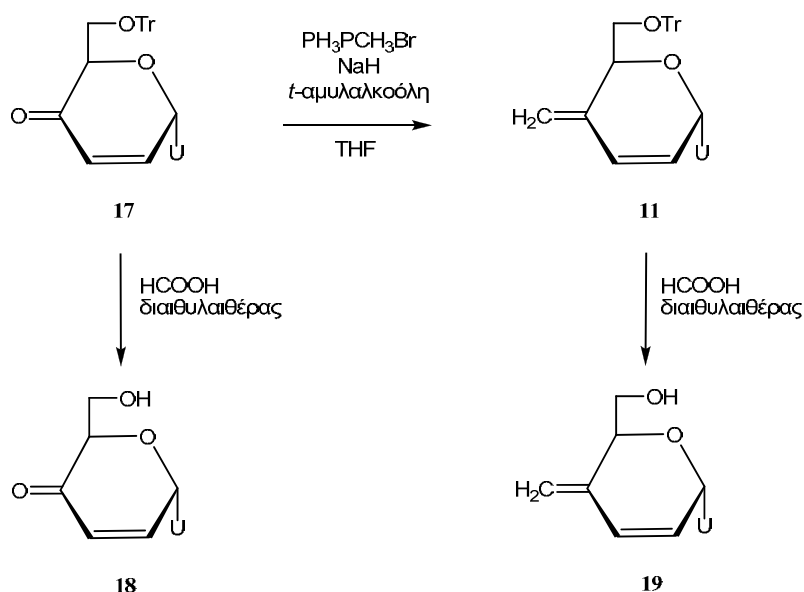
Για να ληφθεί το 4'-κετοακόρεστο νουκλεοζιτικό ανάλογο, η πρόδρομη ένωση θα πρέπει να φέρει μόνο ένα ελεύθερο υδροξύλιο στη θέση 4' του σακχάρου, το οποίο και θα οξειδωθεί. Συνεπώς, το επόμενο βήμα είναι αρχικά η αποπροστασία των υδροξυλίων στις 4'- και 6'-θέσεις του σακχάρου, η οποία πραγματοποιείται με προσθήκη μεθανολικής αμμωνίας και έπειτα ακολουθεί η εκλεκτική τριτυλίωση του πρωτοταγούς υδροξυλίου του σακχάρου της ένωσης **15**, δίνοντας έτσι το επιθυμητό μερικώς προστατευμένο προϊόν **16**, σε απόδοση 75% (Σχήμα 23).

Η οξείδωση της τριτυλιωμένης ένωσης **16**, η οποία αποτελεί το καθοριστικό βήμα της συγκεκριμένης συνθετικής διαδικασίας, λαμβάνει χώρα παρουσία PDC και Ac_2O σε διχλωρομεθάνιο (Herscovici and Antonakis 1980), οδηγώντας έτσι στον επιθυμητό κετοακόρεστο νουκλεοζίτη **17**, ο οποίος λαμβάνεται με πολύ καλή απόδοση (83%).



Σχήμα 24.

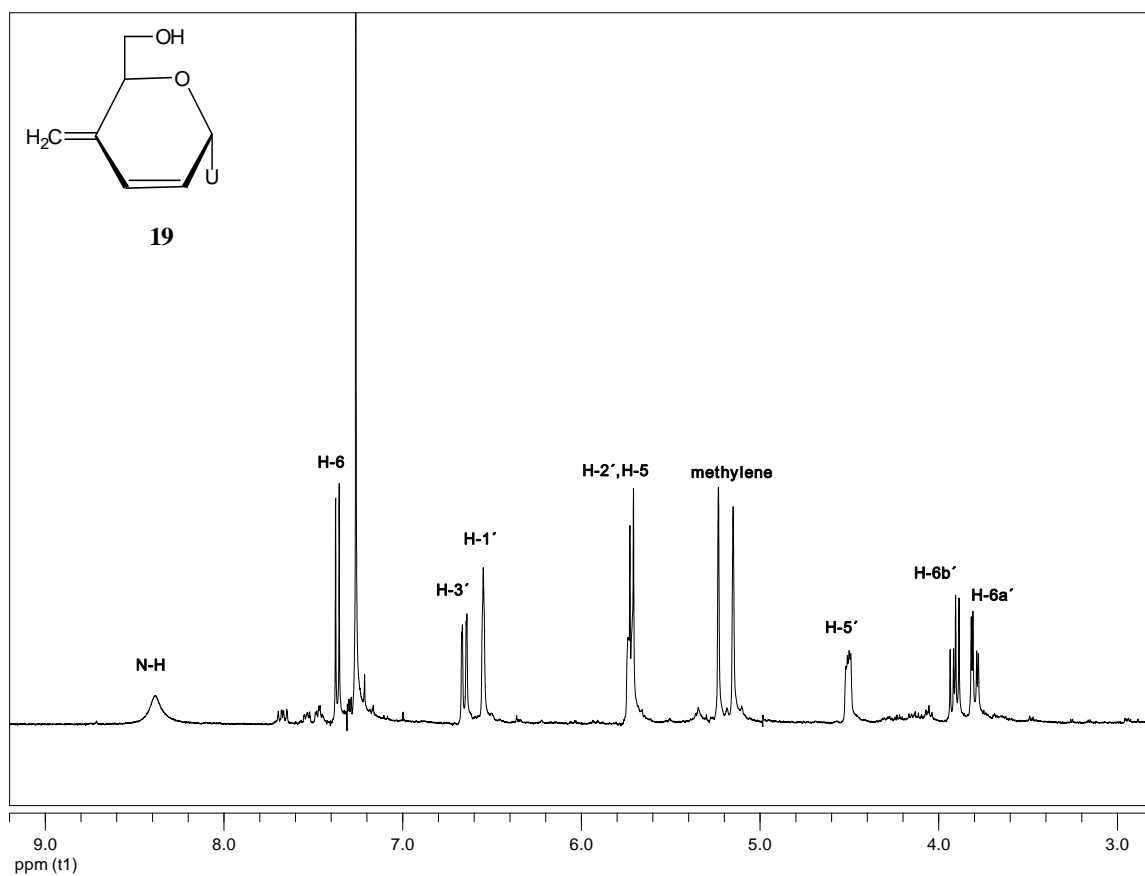
Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του νουκλεοζίτη **17** που απεικονίζεται στο σχήμα 24, εμφανίζονται τα σήματα των πρωτονίων της βάσης γύρω στα 7.37 και 5.77 ppm. Στην περιοχή των 7.30-7.21 ppm εμφανίζονται τα 15 πρωτόνια της τριτυλομάδας γειτονικά με το σήμα του πρωτονίου H-1', το οποίο εμφανίζεται ως τριπλή κορυφή στα 7.10 ppm με σταθερές σύζευξης $J_{1',2'} = J_{1',3'} = 1.5$ Hz. Στα 6.98 ppm διακρίνεται μία διπλή-διπλών κορυφή με σταθερά σύζευξης $J_{2',3'} = 10.5$ Hz, η οποία αντιστοιχεί στο σήμα του πρωτονίου H-3'. Σημαντικό είναι να τονιστεί ότι απουσιάζει το σήμα του πρωτονίου H-4' του υδατανθρακικού δακτυλίου, όπως εξάλλου αναμενόταν, ενώ το σήμα του πρωτονίου H-2' παρουσιάζεται ως μία διπλή-διπλών κορυφή στην περιοχή των 6.59 ppm. Το σήμα που ακολουθεί και διακρίνεται ως διπλή-διπλών κορυφή στα 4.41 ppm με σταθερές σύζευξης $J_{5',6a'} = 2.5$ και $J_{5',6\beta'} = 3.6$ Hz, αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-5'. Οι επόμενες διπλές διπλών κορυφές στις περιοχές των 3.75 και 3.47 ppm με σταθερά σύζευξης $J_{6a',6b'} = 10.4$ Hz, αντιστοιχούν στα σήματα των πρωτονίων H-6b' και H-6a' του σακχάρου, αντίστοιχα.



Σχήμα 25.

Στη συνέχεια, η αντίδραση Wittig επί της ένωσης **17**, οδηγεί στον επιθυμητό τελικό ακόρεστο εξωμεθυλενικό νουκλεοζίτη **11**, ο οποίος λαμβάνεται με απόδοση 65% (Σχήμα 25). Τέλος, η αποτριτυλίωση των προϊόντων **17** και **11** πραγματοποιείται μέσω κατεργασίας τους με μίγμα HCOOH και διαιθυλαιθέρα (Bessodes *et al.* 1986), με αποτέλεσμα τη λήψη των αποπροστατευμένων κετοακόρεστων και εξωμεθυλενικών ακόρεστων νουκλεοζιτών 1-(2',3'-διδεσοξυ-α-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζ)ουρακίλη (**18**) και 1-(2',3',4'-τριδεσοξυ-4'-μεθυλενο-α-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο)ουρακίλη (**19**), αντίστοιχα.

Από τη μελέτη του φάσματος $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **19** που απεικονίζεται στο σχήμα 26, διακρίνονται ξεκάθαρα οι δύο απλές κορυφές στα 5.23 και 5.15 ppm που αντιστοιχούν στο σήμα των πρωτονίων της εξωμεθυλενικής ομάδας. Λογικό είναι να απουσιάζει το σήμα του πρωτονίου H-4', ενώ τα σήματα των πρωτονίων του διπλού δεσμού H-2' και H-3' εμφανίζονται στη περιοχή των 6.65 ppm και 5.23 ppm, αντίστοιχα.



Σχήμα 26.

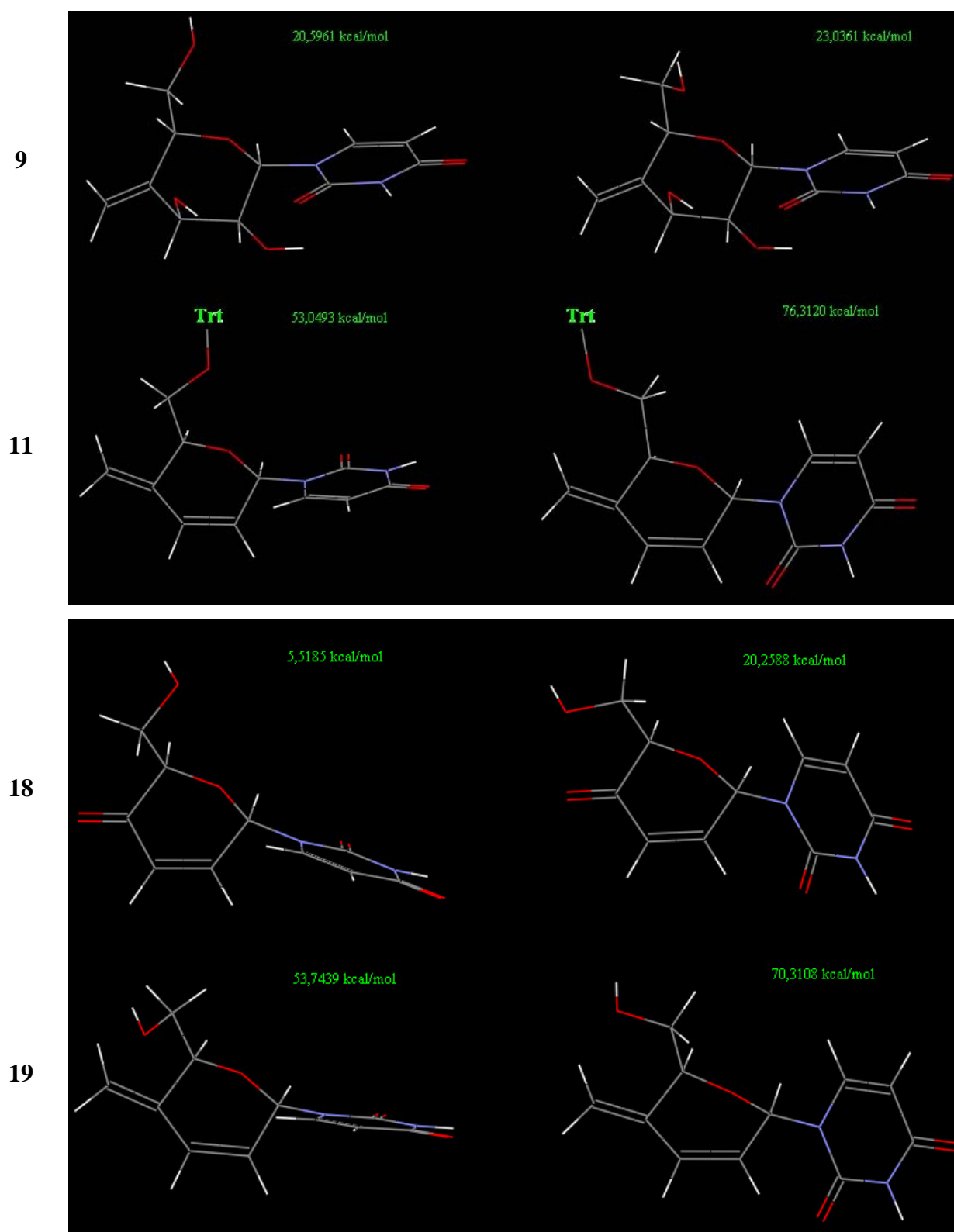
Μοριακή μοντελοποίηση των 4'-κετο και 4'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της μαννόζης

Σε μία προσπάθεια να αποκρυπτογραφηθούν οι ευνοϊκότερες, ενεργειακά χαμηλές, διαμορφώσεις στους νέους κορεσμένους και ακόρεστους εξωμεθυλενικούς πυρανονουκλεοζίτες **9**, **11** και **19**, και στον κετοακόρεστο πυρανονουκλεοζίτη **18**, πραγματοποιήθηκαν τρισδιάστατες αναλύσεις της διαμόρφωσής τους, μέσω ηλεκτρονικού υπολογιστή (μοριακή μοντελοποίηση) (Εργαστήριο Οργανικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών).

Η μοριακή μοντελοποίηση είναι μία τεχνική, η οποία μπορεί να βοηθήσει στην τρισδιάστατη αναπαράσταση μοριακών συστημάτων καθώς και στον υπολογισμό της ενέργειας τους με τη χρήση ηλεκτρονικού υπολογιστή. Λαμβάνοντας υπόψη τις βάσεις των δεδομένων από κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ και συνδυάζοντας τμήματα μορίων με καθορισμένη γεωμετρία στο χώρο από ηλεκτρονικές βιβλιοθήκες, σχεδιάζεται ένα μόριο σε δυσδιάστατο χώρο και προσαρμόζεται αυτόματα στον τρισδιάστατο χώρο, με λογισμικά σχεδιασμού μοντέλων όπως ChemDraw, HyperChem, Quanta, Sybyl και Felix. Μέσω αυτής της διαμορφωτικής ανάλυσης μπορεί να υπολογιστεί η ελάχιστη ενέργεια του μορίου.

Δουλεύοντας λοιπόν με το λογισμικό Quanta 2005 και συσχετίζοντας τις τρισδιάστατες δομές με τα φάσματα ¹H-NMR, μελετήθηκε η διαμόρφωση της νουκλεοβάσης (ουρακίλη) σε σχέση με το σάκχαρο, χρησιμοποιώντας μεθόδους ελαχιστοποίησης της ενέργειας και συστηματική ανάλυση (Grid Scan). Στην εικόνα 1 παρουσιάζονται οι χαμηλότερες (αριστερά) και οι υψηλότερες (δεξιά) ενεργειακές διαμορφώσεις των μορίων **9**, **11**, **18** και **19** μετά από Grid Scan.

Στην ένωση **9** και σε συμφωνία με τα αποτελέσματα του φάσματος ¹H-NMR (Πίνακας 1) φαίνεται ότι η βάση καταλαμβάνει την ισημερινή θέση, η οποία ευνοείται ενεργειακά. Τα H-1' και H-2' πρωτόνια του σακχάρου της ένωσης **9** καταλαμβάνουν μία αξονική-αξονική διάταξη με διεδρη γωνία H2'-C2'-C1'-H1':178° και σταθερά σύζευξης $J_{1',2'} = 9.5$ Hz, υιοθετώντας έτσι μία διαμόρφωση ανακλίντρου.

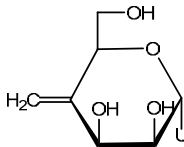
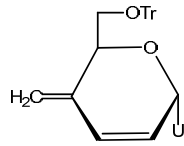
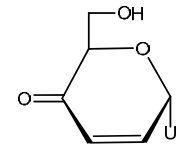
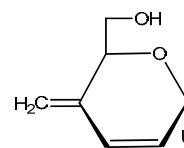


Εικόνα 1. Οι χαμηλότερες (αριστερά) και οι υψηλότερες (δεξιά) ενεργειακές διαμορφώσεις των μορίων **9**, **11**, **18** και **19** μετά από Grid Scan.

Αντίθετα, η ένωση **11** με δίεδρη γωνία $H2'-C2'-C1'-H1'$: 102° και $J_{1',2'} \sim 0$ Hz, η ένωση **18** με δίεδρη γωνία $H2'-C2'-C1'-H1'$: 87° και $J_{1',2'} \sim 0$ Hz και η ένωση **19** με δίεδρη γωνία $H2'-C2'-C1'-H1'$: 103° και $J_{1',2'} \sim 0$ Hz, υιοθετούν τη

διαμόρφωση λουτήρα, με το πρωτόνιο H-1' να είναι κάθετο στο δακτύλιο του σακχάρου. Η συγκεκριμένη διαμόρφωση ευνοείται λόγω της εισαγωγής του διπλού δεσμού στις 2',3'-θέσεις του σακχάρου.

Πίνακας 1. Γωνίες στρέψης και σταθερές σύζευξης (*J*) των ενώσεων **9**, **11**, **18**, **19**, οι οποίες λήφθηκαν από τις τρισδιάστατες δομές τους (3D) και τα φάσματα ¹H-NMR τους, αντίστοιχα.

Προϊόν	Γωνία Στρέψης	Σταθερά Σύζευξης
 <p>9</p>	C _{4'} -C _{5'} -C _{6'} -O _{6'} : 177.7°	-
	H _{3'} -C _{3'} -C _{2'} -H _{2'} : 52.0°	-
	H _{2'} -C _{2'} -C _{1'} -H _{1'} : 178.1°	9.5 Hz
	C _{2'} -C _{1'} -N ₁ -C ₆ : -112.9°	-
 <p>11</p>	C _{4'} -C _{5'} -C _{6'} -O _{6'} : 163.7°	-
	H _{3'} -C _{3'} -C _{2'} -H _{2'} : -6.3°	9.1 Hz
	H _{2'} -C _{2'} -C _{1'} -H _{1'} : 102.0°	0 Hz
	C _{2'} -C _{1'} -N ₁ -C ₆ : 120.0°	-
 <p>18</p>	C _{4'} -C _{5'} -C _{6'} -O _{6'} : -179.5°	-
	H _{3'} -C _{3'} -C _{2'} -H _{2'} : -20.0°	8.9 Hz
	H _{2'} -C _{2'} -C _{1'} -H _{1'} : 86.7°	0 Hz
	C _{2'} -C _{1'} -N ₁ -C ₆ : 90.0°	-
 <p>19</p>	C _{4'} -C _{5'} -C _{6'} -O _{6'} : 44.9°	-
	H _{3'} -C _{3'} -C _{2'} -H _{2'} : -7.6°	10.1 Hz
	H _{2'} -C _{2'} -C _{1'} -H _{1'} : 103.1°	0 Hz
	C _{2'} -C _{1'} -N ₁ -C ₆ : 100.0°	-

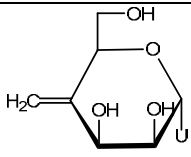
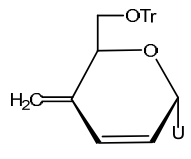
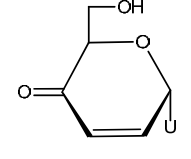
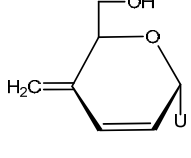
Αντιική και αντικαρκινική δράση των 4'-κετο και 4'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της μαννόζης

Τα νέα πυρανονουκλεοζιτικά παράγωγα της μαννόζης μελετήθηκαν ως προς την αντιική και αντικαρκινική τους δράση. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο Τμήμα Μικροβιολογίας, Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου του Μάριμπορ, στη Σλοβενία.

Τα μόρια **9**, **11**, **18** και **19** μελετήθηκαν ως προς την αντιική τους δράση έναντι του εντεροϊού, χρησιμοποιώντας μολυσμένα κύτταρα ανθρώπινου αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου (κυτταρική σειρά Caco-2) και συγκρίθηκαν με το φάρμακο AZT (Πίνακας 2). Η μελέτη της αντιικής δράσης εξετάστηκε μέσω δύο διαφορετικών πειραματικών διαδικασιών. Αρχικά πραγματοποιήθηκε η προεπάση τριών διαδοχικών αραιώσεων των προϊόντων, με ένα τροποποιημένο μέσο (DMEM, Aldrich) όπου θα μπορούσαν να αναπτυχθούν οι αποικίες, σε τρυψίνη για δώδεκα ώρες σε 37°C, σε περιβάλλον με ποσοστό υγρασίας 5% CO₂. Μετά το πέρας αυτής της προεπάσης τα προϊόντα μολύνθηκαν με τον εντεροϊό. Αντίθετα, στην άλλη πειραματική διαδικασία πραγματοποιήθηκε η εξέταση της αναστολής της μολυσματικότητας μετά την πρόσδεση του ιού, όπου τα Caco-2 κύτταρα αρχικά επώαστηκαν με τον εντεροϊό για μία ώρα σε 37°C σε περιβάλλον με ποσοστό υγρασίας 5% CO₂. Στη συνέχεια, η περίσσεια του ιού απομακρύνθηκε από τα κύτταρα και τρεις διαδοχικές αραιώσεις των προϊόντων πραγματοποιήθηκαν σε θρεπτικό υλικό χωρίς ορό. Και στις δύο διαφορετικές πειραματικές διαδικασίες, η επώαση διήρκεσε τρεις ημέρες, τα δοχεία χρωματίστηκαν με χρωστική (Crystal violet) σε EtOH, ξεπλύθηκαν με νερό και αποχρωματίστηκαν με 10% (v/v) οξικό οξύ. Έπειτα μετρήθηκε η τιμή A₅₉₀ και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν, για κάθε διάλυση, με τη μέση τιμή (%±SD) των απορροφήσεων στις μολυσμένες κυψελίδες (*n* = 6) σε σύγκριση με τις κυψελίδες control (*n* = 6).

Αν και οι εξεταζόμενες ενώσεις δεν παρουσίασαν αντιική δράση κατά τη διαδικασία της εξουδετέρωσης του ιού στο διάλυμα πριν την πρόσδεσή του, παρουσιάστηκαν ικανές να αναστείλουν την μολυσματικότητα του εντεροϊού μετά την πρόσδεσή του. Σε σύγκριση με το AZT (22.45 μM), απαιτήθηκαν υψηλότερες συγκεντρώσεις για τα συγκεκριμένα μόρια (740-1044 μM) προκειμένου να επιτευχθεί το ίδιο αποτέλεσμα έναντι του ιού.

Πίνακας 2. IC₅₀ των προϊόντων **9**, **11**, **18**, **19** και του **AZT** για την αντιική δράση έναντι του εντεροϊού στελέχους RF στα κύτταρα Caco-2

Προϊόν	Κατεργασία A ^a			Κατεργασία B ^b		
	IC ₅₀		CC ₅₀ /IC ₅₀	IC ₅₀		CC ₅₀ /IC ₅₀
	mg/mL	μM		mg/mL	μM	
	A	A	-	0.2	740.00	0.1
9						
	A	A	-	0.5	1044.8	0.04
11						
	A	A	-	0.2	839.60	0.1
18						
	A	A	-	0.2	846.60	0.1
19						
AZT	0.02	74.84	0.75 ^c	0.006	22.45	2.5 ^c

A = αδρανές

^a Κατεργασία A: Εξουδετέρωση του ιού στο διάλυμα πριν την πρόσδεσή του.

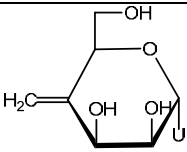
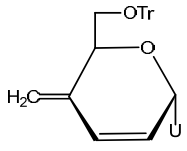
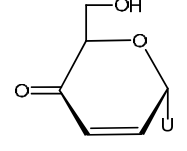
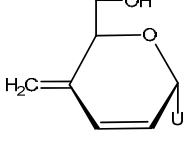
^b Κατεργασία B: Αναστολή της μολυσματικότητας μετά την πρόσδεση του ιού.

^c CC₅₀ για τοAZT στα κύτταρα Caco-2 = 56,1 μM.

Οι ίδιοι νουκλεοζίτες (**9**, **11**, **18** και **19**) εξετάστηκαν επίσης ως προς την κυτταροτοξική τους δράση σε φυσιολογικά ανθρώπινα εντερικά κύτταρα (H4, control κυτταρική σειρά), σε κύτταρα αδenoκαρκινώματος του παχέος εντέρου (Caco-2), μελανώματος του δέρματος και καρκινώματος του στήθους (MCF-7). Οι κυτταρικές σειρές και τρεις διαδοχικές αραιώσεις των προϊόντων τοποθετήθηκαν σε επωαστήρα στους 37°C για 3 ημέρες. Στη συνέχεια χρωματίστηκαν τα δοχεία με χρωστική (Crystal violet) σε EtOH, ξεπλύθηκαν με νερό και αποχρωματίστηκαν με 10% (v/v) οξικό οξύ. Έπειτα μετρήθηκε η τιμή A₅₉₀ και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν, για κάθε διάλυση, με τη μέση τιμή (%±SD) των απορροφήσεων στις μολυσμένες κυψελίδες (n = 2) σε σύγκριση με τις κυψελίδες control (n = 24). Τα

αποτελέσματα που προέκυψαν για τα εξεταζόμενα μόρια παρουσιάζονται στον πίνακα 3 και συγκρίνονται με αυτά της ένωσης 5-φθοροουρακίλη (5 FU).

Πίνακας 3. Κυτταροτοξική δράση (CC_{50} , μM) των ενώσεων **9**, **11**, **18**, **19** και της 5-φθοροουρακίλης (5 FU) έναντι των κυττάρων H4, Caco-2, μελανώματος του δέρματος και MCF-7, και αναστολή του πολλαπλασιασμού (IC_{50} , μM) των κυττάρων Caco-2.

Προϊόν	Κυτταροτοξική δράση (CC_{50} , μM)				TSI ^a		Αναστολή πολλαπλασιασμού (IC_{50} , μM)	
	H4	Caco-2	Μελάνωμα	MCF-7	Caco-2	Μελάνωμα	MCF-7	Caco-2
 9	1850.2	74.0	74.0	74.0	25.0	25.0	25.0	7.4
 11	1044.8	41.7	12.5	12.5	25.0	83.6	83.6	4.1
 18	2099.0	83.9	83.9	83.9	25.0	25.0	25.0	8.3
 19	2116.6	84.6	84.6	84.6	25.0	25.0	25.0	8.4
5 FU	3843.8	384.4	46.1	768.8	10.0	83.4	5.0	1.5

TSI^a: Εκλεκτικότητα (CC_{50} στα κύτταρα H4/ CC_{50} σε συγκεκριμένα κύτταρα ξενιστές)

Γενικά όλες οι εξεταζόμενες ενώσεις παρουσίασαν καλύτερη κυτταροτοξική δράση στα καρκινικά κύτταρα από ότι στα φυσιολογικά ανθρώπινα εντερικά κύτταρα H4 (Πίνακας 3). Ο ακόρεστος εξωμεθυλενικός νουκλεοζίτης **11** εμφανίστηκε τρεις φορές πιο κυτταροτοξικός έναντι των κυττάρων μελανώματος του δέρματος (CC_{50} = 12.5 μM) και των κυττάρων MCF-7 (CC_{50} = 12.5 μM) σε σύγκριση με τα κύτταρα Caco-2 (CC_{50} = 41.7 μM). Σε σύγκριση με την 5 FU, η ένωση **11** εμφανίστηκε 16 φορές πιο εκλεκτική έναντι των κυττάρων MCF-7, 2.5 φορές πιο εκλεκτική έναντι των

κυττάρων Caco-2 και ισότιμα εκλεκτική έναντι των κυττάρων μελανώματος του δέρματος (βλ. τιμές TSI, Πίνακας 3). Οι ενώσεις **9**, **18** και **19** συγκρινόμενες με την 5 FU, παρουσίασαν μεγαλύτερη εκλεκτικότητα έναντι όλων των κυτταρικών σειρών και αυξημένη κυτταροτοξικότητα έναντι των κυττάρων Caco-2 και MCF-7.

Τέλος, μετρήθηκε η αναστολή του πολλαπλασιασμού των κυττάρων Caco-2 που προκαλούν τα νέα μόρια, προσδιορίζοντας την ελάχιστη συγκέντρωση αναστολής, IC₅₀. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στην τελευταία στήλη του πίνακα 3 και είναι εμφανές ότι οι εξεταζόμενες ενώσεις παρουσίασαν ελαττωμένη ανασταλτική δράση ανάπτυξης, σε σύγκριση με την 5 FU.

Συμπερασματικά, τα νέα μόρια παρουσιάστηκαν ικανά να αναστείλουν την μολυσματικότητα του εντεροϊού μετά την πρόσδεσή του. Η ακόρεστη εξωμεθυlenική τριτυλιωμένη ένωση **11** παρουσίασε υψηλή κυτταροτοξική δράση, έναντι όλων των καρκινογενών κυττάρων και ιδιαίτερα αυτών του μαστού και του μελανώματος του δέρματος. Γενικότερα τα προϊόντα **9**, **18** και **19** εμφάνισαν αυξημένη εκλεκτικότητα έναντι όλων των κυτταρικών σειρών και υψηλή κυτταροτοξικότητα έναντι των κυττάρων Caco-2 και MCF-7.

Γενικά, όλες οι εξεταζόμενες ενώσεις παρουσίασαν καλύτερη κυτταροτοξική δράση στα καρκινικά κύτταρα από ότι στη φυσιολογική κυτταρική σειρά H4, ενώ σε σύγκριση με την 5 FU, όλα τα εξεταζόμενα μόρια αποδείχθηκαν πιο κυτταροτοξικά έναντι όλων των καρκινογενών κυττάρων. Από τα παραπάνω αποτελέσματα παρατηρήθηκε ότι ορισμένα προϊόντα παρουσιάζουν εκλεκτική δράση έναντι συγκεκριμένων καρκινικών κυτταρικών σειρών. Πρόσφατα έχει αναφερθεί (Matsuda and Sasaki 2004), ότι ο μηχανισμός της ανασταλτικής δράσης, ιδιαίτερα στα ένζυμα των καρκινογενών κυττάρων, δεν είναι πάντα ο ίδιος ακόμη και μεταξύ νουκλεοζιτικών αντιμεταβολιτών που έχουν την ίδια νουκλεοβάση.

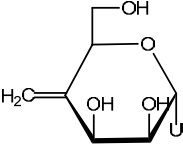
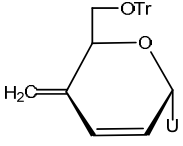
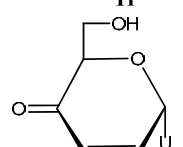
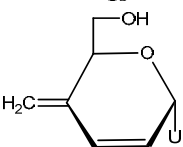
Αντιοξειδωτική δράση των 4'-κετο και 4'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της μαννόζης

Τα νέα πυρανονουκλεοζιτικά παράγωγα της μαννόζης μελετήθηκαν ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση μέσω της ικανότητάς τους να αλληλεπιδρούν με μία σταθερή ρίζα [1,1διφαινυλ-2-πικρυλυδραζύλιο (DPPH[•])] και μέσω αναστολής της τοξικής δράσης ελευθέρων ριζών και συγκεκριμένα των υπερόξυ ριζών (ROO[•]) στο DNA. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών του Τμήματος Βιοχημείας-Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Η πρώτη μέθοδος εστιάστηκε στην αλληλεπίδραση των μορίων με μία σταθερή ρίζα DPPH[•], η οποία είναι μία ουσία που φέρει μωβ χρώμα και απορροφά στα 517 nm. Όταν στο διάλυμα προστεθεί μία ουσία με αντιοξειδωτική δράση, τότε η ρίζα DPPH[•] ανάγεται με την προσθήκη ενός ατόμου υδρογόνου και μετατρέπεται σε 1,1διφαινυλ-2-πικρυλυδραζίνη (DPPH-H), η οποία είναι κόκκινου χρώματος με αποτέλεσμα η οπτική απορρόφηση να ελαττώνεται. Η άλλη μέθοδος, με την οποία μελετάται η προστατευτική δράση των εξεταζόμενων ενώσεων έναντι της δράσης των ROO[•], βασίζεται στην αναστολή της μετατροπής της υπερελικωμένης διαμόρφωσης του πλασμιδίου στην ανοιχτή κυκλική διαμόρφωση και χρησιμοποιεί ως μοντέλο πλασμιδιακό DNA. Τα προϊόντα **9**, **11**, **18** και **19** που εξετάστηκαν, δεν είχαν καμία αλληλεπίδραση με τη σταθερή ρίζα DPPH[•].

Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν (Πίνακας 4) και αφορούν την αντιοξειδωτική δράση των νέων προϊόντων έναντι της επαγόμενης από ρίζες ROO[•] πρόκληση θραυσμάτων στο DNA, είναι εμφανές ότι οι ακόρεστοι εξωμεθυλενικοί νουκλεοζίτες **11** και **19** δεν παρουσίασαν αντιοξειδωτική δράση, ενώ οι ενώσεις **9** και **18** παρουσίασαν αντιοξειδωτική δράση μόνο σε υψηλές συγκεντρώσεις (50 και 100 μM). Συγκεκριμένα, το προϊόν **9** παρουσίασε στατιστικά σημαντική αναστολή κατά 15 % στην υψηλότερη συγκέντρωση (100 μM), ενώ ο ακόρεστος κετονουκλεοζίτης **18** ήταν ο πιο δραστήσιμος με ποσοστά κατά 13 % και 20 % στις υψηλές συγκεντρώσεις (50 και 100 μM, αντίστοιχα).

Πίνακας 4. Αντιοξειδωτική δράση των προϊόντων **9**, **11**, **18** και **19** έναντι της επαγόμενης από ρίζες ROO[•] πρόκληση θραυσμάτων στο DNA

Προϊόν	Αναστολή (%)				
	Συγκεντρώσεις (μM)				
	5	10	20	50	100
 <p>9</p>	A	A	A	7±2	15±1*
 <p>11</p>	A	A	A	A	A
 <p>18</p>	A	A	A	13±1*	20±2*
 <p>19</p>	A	A	A	A	A

A: μη αξιοσημείωτη αναστολή (μικρότερη από 7%)

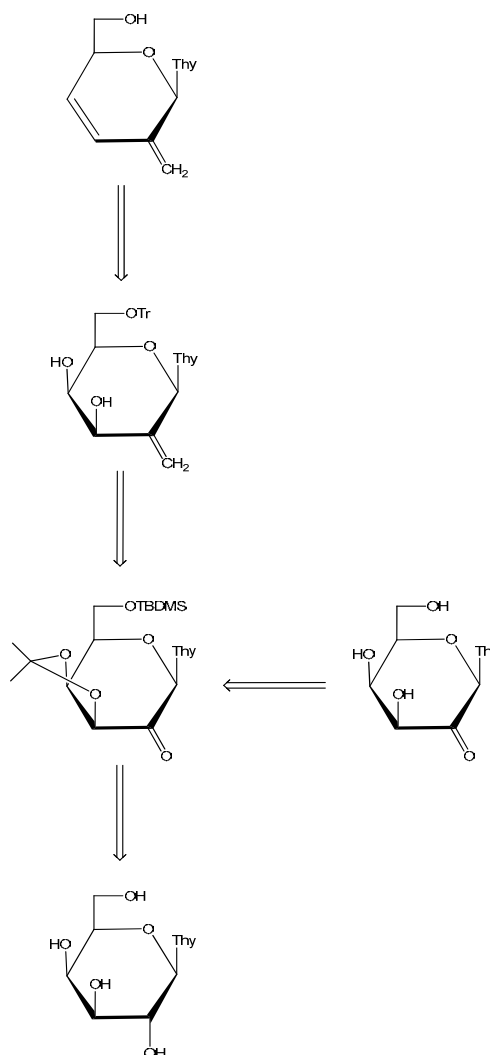
* π < 0,05 στατιστικά σημαντικό συγκρινόμενο με το control (πλασμιδιακό DNA + ROO[•])

Συμπερασματικά από τις παραπάνω ενώσεις που εξετάστηκαν, το προϊόν **18**, το οποίο φέρει το α,β-κετοακόρεστο σύστημα στο τμήμα του σακχάρου, εμφανίστηκε να είναι το πιο ισχυρό. Επιβεβαιώνεται, ότι η παρουσία του ακόρεστου συστήματος στο τμήμα του σακχάρου είναι υπεύθυνη για την παρατηρούμενη αντιοξειδωτική δράση, γεγονός που συμφωνεί με προηγούμενες μελέτες αντιοξειδωτικής δράσης νουκλεοζιτικών αναλόγων (Spanou *et al.* 2007).

2'-ΚΕΤΟ ΚΑΙ 2'-ΕΞΩΜΕΘΥΛΕΝΙΚΑ ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΙΚΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΤΗΣ ΓΑΛΑΚΤΟΖΗΣ

Από τις βιολογικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν, αποδείχθηκε ότι οι νέοι 4'-κετο και 4'-εξωμεθυλενικοί πυρανονουκλεοζίτες αποτελούν εν δυνάμει αντι-εντεροϊικούς παράγοντες, ενώ ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι όλα τα εξεταζόμενα προϊόντα έχουν καλύτερη κυτταροτοξική δράση από την 5 FU. Με στόχο την περαιτέρω διερεύνηση της σχέσης δομής-δράσης, θεωρήθηκε ενδιαφέρουσα η μεταφορά της κετονομάδας και της εξωμεθυλενικής ομάδας από τη 4'-θέση στη 2'-θέση του γλυκοζιτικού τμήματος.

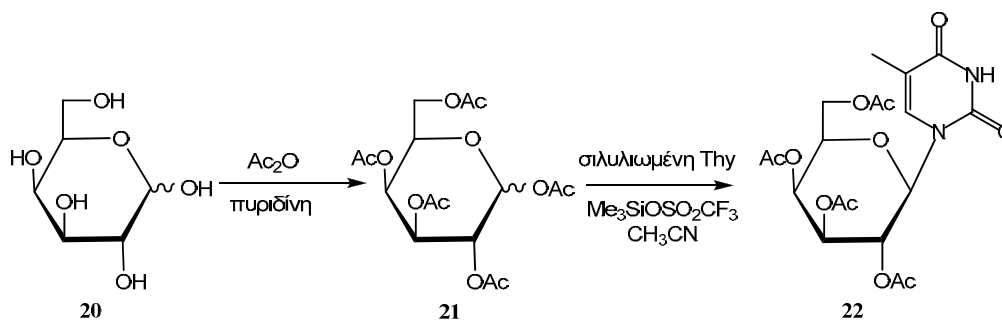
Με βάση τα ανωτέρω, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση και η βιολογική αποτίμηση νέων κορεσμένων και ακόρεστων πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων που φέρουν κετονομάδα ή εξωμεθυλένιο στην 2'-θέση του σακχάρου και θυμίνη ως ετεροκυκλική βάση.



Σχήμα 27.

Η ρετροσυνθετική προσέγγιση για την παρασκευή των επιθυμητών 2'-κετο και 2'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της γαλακτόζης, απεικονίζεται στο σχήμα 27. Όπως φαίνεται, για τη λήψη του κορεσμένου και του ακόρεστου εξωμεθυλενικού νουκλεοζίτη, καθώς και του κορεσμένου κετοπυρανονουκλεοζίτη, αφετηρία αποτελεί το αποπροστατευμένο νουκλεοζιτικό παράγωγο της γαλακτόζης.

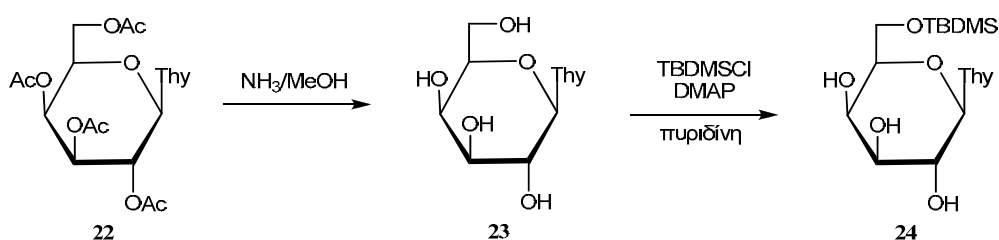
Αρχικά πραγματοποιείται ακετυλίωση της εμπορικά διαθέσιμης D-γαλακτόζης, μέσω κατεργασίας της με Ac_2O σε πυριδίνη. Ακολουθεί η σύνθεση του β -ανωμερικού νουκλεοζίτη **22**, η οποία πραγματοποιείται έπειτα από ενεργοποίηση/σιλυλίωση της θυμίνης και συμπύκνωσής της με το ακετυλιωμένο σάκχαρο **21**, με αποτέλεσμα ο επιθυμητός νουκλεοζίτης **22**, να λαμβάνεται με απόδοση 70% (Σχήμα 28).



Σχήμα 28.

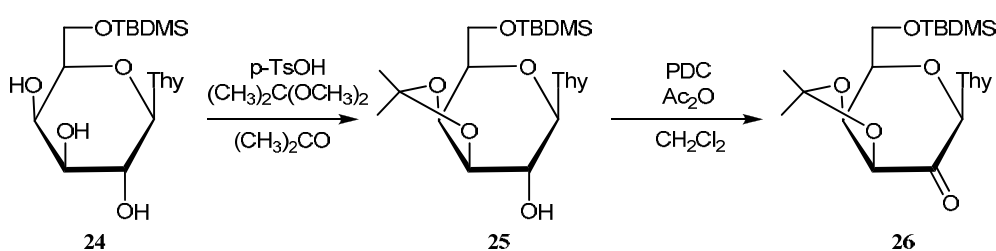
Η απακετυλίωση της ένωσης **22** (Σχήμα 29) πραγματοποιείται με προσθήκη μεθανολικής αμμωνίας, με αποτέλεσμα τη λήψη του πλήρως αποπροστατευμένου παραγώγου **23**. Η ένωση **24** λαμβάνεται, σε άριστη απόδοση (92%), μετά από εκλεκτική προστασία του πρωτοταγούς υδροξυλίου του προϊόντος **23**, μέσω κατεργασίας του με *t*-βουτυλοδιμεθυλοσιλυλοχλωρίδιο (TBDMSCl) σε πυριδίνη, παρουσία καταλυτικής ποσότητας DMAP. Από τη μελέτη του φάσματος $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **24**, εμφανίζεται στην περιοχή των 5.50 ppm μία διπλή κορυφή με σταθερά σύζευξης $J_{1',2'} = 9.2$ Hz, η οποία αντιστοιχεί στο σήμα του πρωτονίου H-1'. Ακολουθεί το σήμα του πρωτονίου H-4' στα 3.95 ppm, το οποίο εμφανίζεται ως μία κορυφή διπλή-διπλών με σταθερές σύζευξης $J_{3',4'} = 3.2$ Hz και $J_{4',5'} = 0.9$ Hz. Τα σήματα των τριών πρωτονίων H-2', H-6a' και H-6b' εμφανίζονται στα 3.88-3.78 ppm ως πολλαπλές κορυφές, ενώ διακρίνεται μία διπλή τριπλών κορυφή στα 3.71 ppm με σταθερά σύζευξης $J_{5',6a'} = J_{5',6b'} = 6.2$ Hz, η οποία αντιστοιχεί στο σήμα του

πρωτονίου H-5' και μια διπλή-διπλών κορυφή στην περιοχή των 3.63 ppm με σταθερά σύζευξης $J_{2',3'} = 9.4$ Hz που αντιστοιχεί στο σήμα του πρωτονίου H-3'.



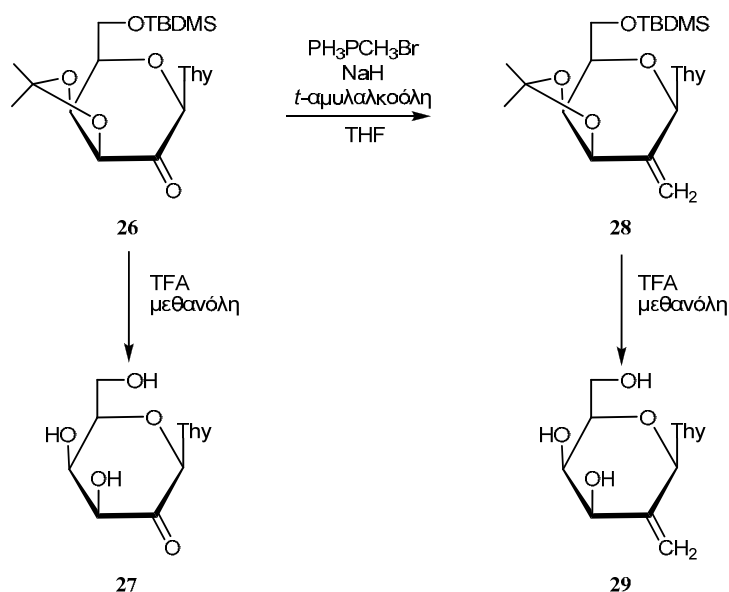
Σχήμα 29.

Η συνθετική διαδικασία συνεχίζεται με την εκλεκτική προστασία των *cis*-υδροξυλίων στις 3',4'-θέσεις του σακχάρου της ένωσης **24** με μία ισοπροπυλιδενική ομάδα (Σχήμα 30). Η συγκεκριμένη αντίδραση πραγματοποιείται με προσθήκη 2,2-διμεθοξυπροπανίου και καταλυτικής ποσότητας *p*-TsOH επί της ένωσης **24** (Vanheusden *et al.* 2004). Ακολουθεί οξείδωση του ελεύθερου υδροξυλίου στη θέση 2' του σακχάρου της ένωσης **25**, με αποτέλεσμα τη λήψη του ισοπροπυλιδενικού κετονουκλεοζίτη **26** (Herscovici and Antonakis 1979). Από την εξέταση του φάσματος ¹H-NMR της ένωσης **26**, φαίνεται ξεκάθαρα μία απλή κορυφή στα 6.18 ppm, η οποία αντιστοιχεί στο σήμα του πρωτονίου H-1' καθώς και το σήμα του πρωτονίου H-3', το οποίο εμφανίζεται ως διπλή κορυφή με σταθερά σύζευξης $J_{3',4'} = 5.4$ Hz. Τα ανωτέρω στοιχεία επιβεβαιώνουν την έλλειψη του πρωτονίου στη θέση 2' του σακχάρου.



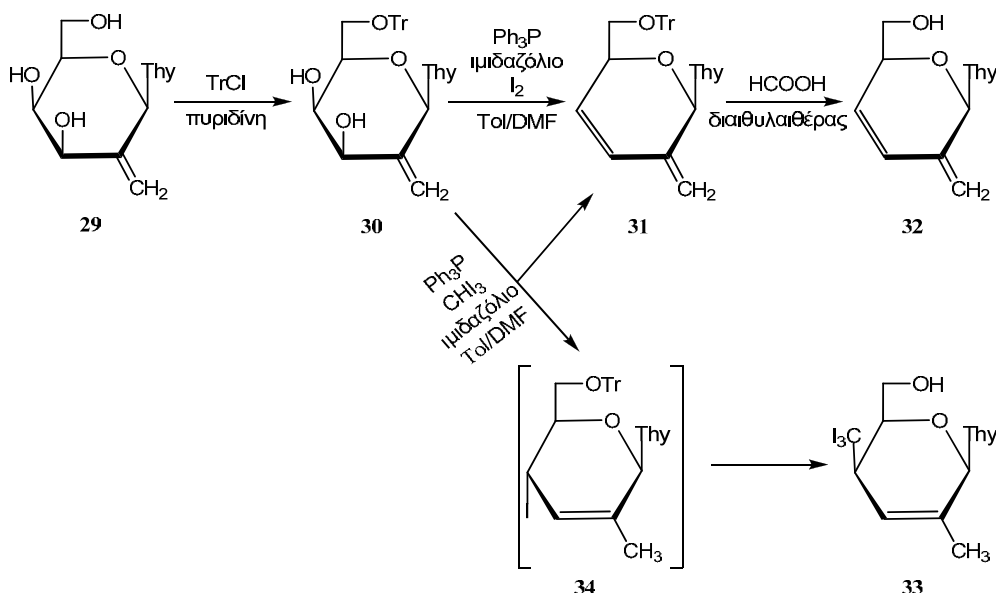
Σχήμα 30.

Η αντίδραση Wittig επί της ένωσης **26**, με προσθήκη $\text{Ph}_3\text{PCH}_3\text{Br}$, NaH σε THF και *t*-αμυλαλκοόλης, οδηγεί στο προϊόν **28**, το οποίο λαμβάνεται σε πολύ καλή απόδοση (92%). Τόσο η κετόνη **26**, όσο και ο νουκλεοζίτης **28** που ελήφθησαν, κατεργάστηκαν με TFA σε μεθανόλη (Σχήμα 31), με στόχο την πλήρη αποπροστασία τους και τη λήψη των ενώσεων **27** και **29**, αντίστοιχα.



Σχήμα 31.

Έπειτα από την αποπροστασία των ενώσεων **27** και **29** ακολουθεί η εκλεκτική προστασία του πρωτοταγούς ελεύθερου υδροξυλίου του μορίου **29**, ως τριφαινυλομεθυλεστέρας, κατόπιν αντίδρασης του με TrCl σε πυριδίνη, παρουσία καταλυτικής ποσότητας DMAP λαμβάνοντας το επιθυμητό προϊόν **30** σε απόδοση 85% (Σχήμα 32).



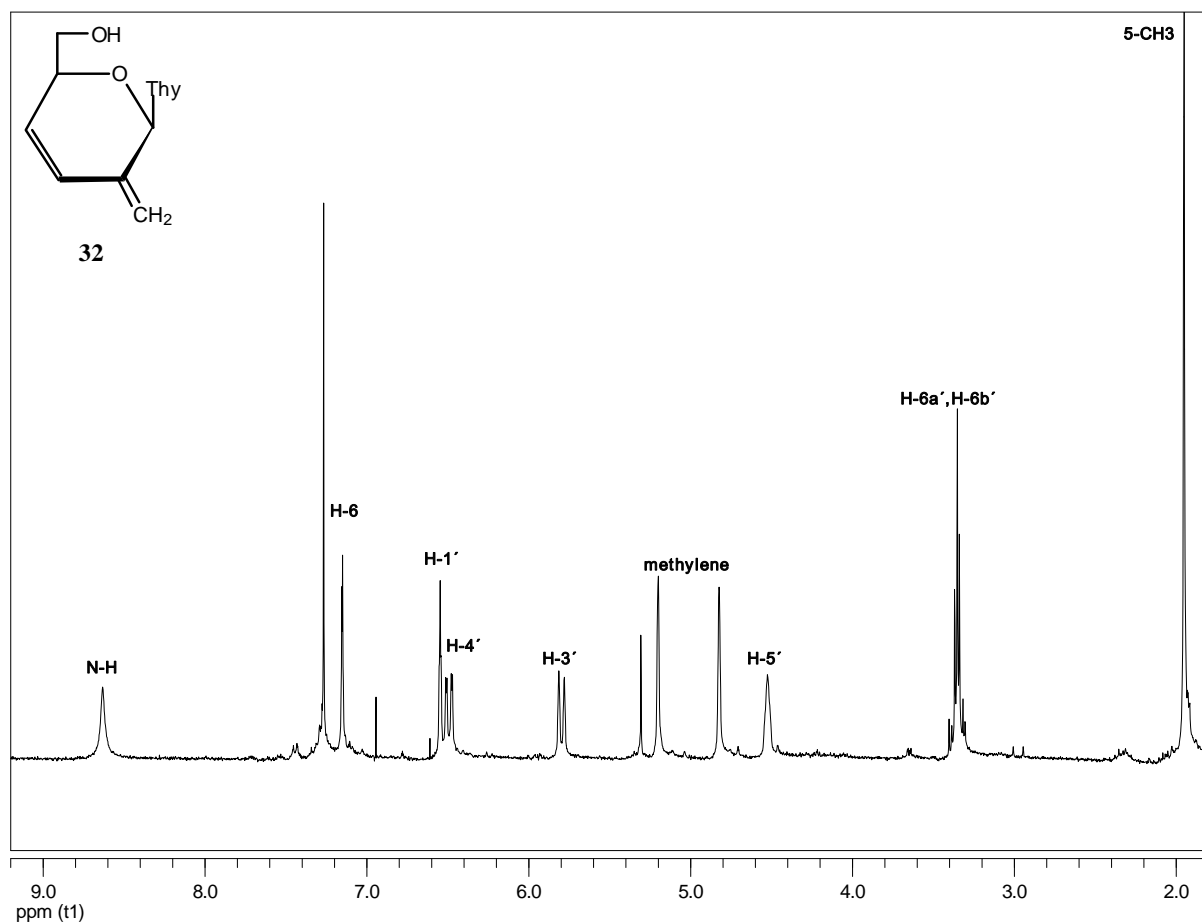
Σχήμα 32.

Η εισαγωγή του διπλού δεσμού στις 3',4'-θέσεις του σακχάρου της ένωσης **30** αποτελεί ένα κρίσιμο βήμα της συγκεκριμένης συνθετικής πορείας. Για τη λήψη του

επιθυμητού ακόρεστου νουκλεοζίτη **31** πραγματοποιήθηκαν διάφορες αντιδράσεις και μόνο η αντίδραση της ένωσης **30** με ιώδιο, Ph_3P και ιμιδαζόλιο (Σχήμα 32) σε μίγμα ToI και DMF (Garegg and Samuelsson 1979, Liu *et al.* 1990, Luzzio and Menes 1994), οδήγησε στον σχηματισμό του ακόρεστου εξωμεθυλενικού νουκλεοζίτη **31**, με απόδοση 56%. Τροποποίηση της ανωτέρω μεθόδου και αντικατάσταση του ιωδίου με ιωδοφόρμιο, οδήγησε στη λήψη του επιθυμητού νουκλεοζίτη **31**, αλλά σε πολύ χαμηλή απόδοση (26%). Αυτό οφείλεται, όπως επιβεβαιώθηκε από τη μελέτη των φασμάτων $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ και μάζας, στον ταυτόχρονο σχηματισμό του παραπροϊόντος **33** κατά τη διάρκεια της αντίδρασης. Τελος, η κατεργασία της ένωσης **30** με θειοκαρβονυλοδιιμιδαζόλιο και τριμεθυλοφωσφίνη (Corey and Winter 1963, Corey and Hopkins 1982), η απαξυγόνωση μέσω ξανθογονικού εστέρα (Barret *et al.* 1979), και τέλος η μέθοδος Hanessian (Hanessian *et al.* 1978) με προσθήκη DMF, διμεθυλοακετάλης και ιωδοφορμίου οδήγησαν μόνο σε προϊόντα αποικοδόμησης.

Ακολουθεί η αποπροστασία του πρωτοταγούς υδροξυλίου της ένωσης **31** (Σχήμα 32), η οποία λαμβάνει χώρα με προσθήκη μυρμηκικού οξέος σε διαιθυλαιθέρα (Bessodes *et al.* 1986), οδηγώντας στο 2'-μεθυλενο παράγωγο, 1-(2',3',4'-τριδεσοξυ-2'-μεθυλενο-β-D-γλυκερο-εξ-3'-ενοπυρανοζυλο)θυμίνη (**32**), το οποίο λαμβάνεται με καλή απόδοση (82%).

Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του νουκλεοζίτη **32** (Σχήμα 33) εμφανίζεται το σήμα του πρωτονίου H-6 της βάσης γύρω στα 7.26 ppm ως μία απλή κορυφή. Στην περιοχή των 6.55 ppm διακρίνεται μία απλή κορυφή, η οποία αντιστοιχεί στο σήμα του πρωτονίου H-1', επιβεβαιώνοντας την έλλειψη του πρωτονίου στη θέση 2' του σακχάρου. Από τη μελέτη του συγκεκριμένου φάσματος προκύπτουν μία διπλή-διπλών και μία διπλή κορυφή στα 6.49 και 5.80 ppm, με σταθερές σύζευξης $J_{4',5'} = 2.1$ Hz και $J_{3',4'} = 10.1$, οι οποίες αντιστοιχούν στα σήματα των πρωτονίων H-4' και H-3'. Στα 5.20 και 4.82 ppm διακρίνονται δύο απλές κορυφές, οι οποίες αντιστοιχούν στα σήματα των δύο πρωτονίων της εξωμεθυλενικής ομάδας, ενώ η επόμενη πολλαπλή κορυφή που εμφανίζεται στα 4.52 ppm, αντιστοιχεί στο σήμα του πρωτονίου H-5'. Στο ίδιο φάσμα διακρίνονται το σήμα του πρωτονίου H-6' γύρω στα 3.40-3.30 ppm, καθώς και το σήμα των τριών πρωτονίων της μεθυλομάδας της θυμίνης στα 1.91 ppm.

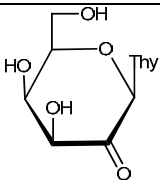
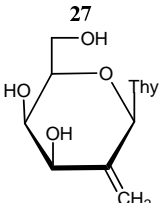
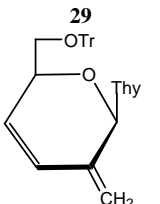
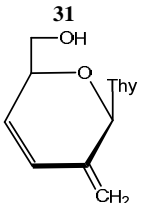
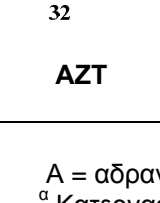


Σχήμα 33.

Αντιική και αντικαρκινική δράση των 2'-κετο και 2'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της γαλακτόζης

Οι νέοι πυρανονουκλεοζίτες μελετήθηκαν ως προς την αντιική και αντικαρκινική τους δράση. Και για την συγκεκριμένη τάξη νουκλεοζιτών τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο Τμήμα Μικροβιολογίας, Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου του Μάριμπορ, στη Σλοβενία.

Πίνακας 5. IC₅₀ των προϊόντων **27**, **29**, **31**, **32** και του **AZT** για την αντιική δράση έναντι του εντεροϊού στελέχους RF στα κύτταρα Caco-2 και στα κύτταρα MA 104

Προϊόν	Κατεργασία A ^a						Κατεργασία B ^b						
	Caco-2			MA 104			Caco-2			MA 104			
	IC ₅₀		CC ₅₀ /IC ₅₀	IC ₅₀		CC ₅₀ /IC ₅₀	IC ₅₀		CC ₅₀ /IC ₅₀	IC ₅₀		CC ₅₀ /IC ₅₀	
	mg/mL	μM	mg/mL	μM	mg/mL	μM	mg/mL	μM	mg/mL	μM	mg/mL	μM	CC ₅₀ /IC ₅₀
	0.0007	2.44	28.65	0.0007	2.44	85.90	A	A	A	0.002	6.98	30.03	
27 	0.0007	2.46	28.61	0.0007	2.46	85.80	A	A	A	0.002	7.03	30.03	
29 	A	A	A	A	A	A	A	A	A	0.002	4.06	60.00	
31 	A	A	A	A	A	A	A	A	A	0.02	79.92	5.99	
32 													
AZT	0.02	74.62	0.75 ^c	0.02	74.62	3.01 ^c	0.006	22.39	2.5 ^c	0.006	22.39	10.03 ^c	

A = αδρανές

^a Κατεργασία A: Εξουδετέρωση του ιού στο διάλυμα πριν την πρόσδεσή του.

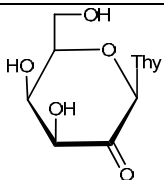
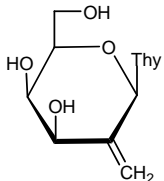
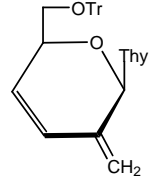
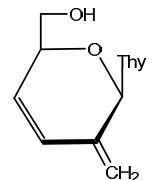
^b Κατεργασία B: Αναστολή της μολυσματικότητας μετά την πρόσδεση του ιού.

^c CC₅₀ για το AZT στα κύτταρα Caco-2 = 56,1μM και MA 104 = 224,5μM

Τα μόρια **27**, **29**, **31** και **32** εξετάστηκαν ως προς την αντιική τους δράση έναντι του εντεροϊού χρησιμοποιώντας κύτταρα αδenoκαρκινώματος Caco-2 και εμβρυικά κύτταρα νεφρών πιθήκου (MA 104) και συγκρίθηκαν με το φάρμακο AZT (Πίνακας 5).

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 5, σε σύγκριση με το AZT (74.62 μM), μόνο ο κορεσμένος κετονουκλεοζίτης **27** (2.44 μM) και ο κορεσμένος εξωμεθυλενικός νουκλεοζίτης **29** (2.46 μM) παρουσίασαν αξιοσημείωτη αντιική δράση έναντι του εντεροϊού και στις δύο κυτταρικές σειρές, πριν την πρόσδεσή του. Τα προϊόντα **27**, **29** και **31** παρουσίασαν αυξημένη αντιική δράση έναντι του εντεροϊού μετά την πρόσδεσή του στα κύτταρα MA 104 και σε σχέση με το AZT απαιτήθηκαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις, ούτως ώστε να επιτευχθεί το ίδιο αποτέλεσμα έναντι του εντεροϊού. Αντίθετα, συγκρινόμενο με το AZT, το ακόρεστο εξωμεθυλενικό παράγωγο **32** εμφάνισε μειωμένη αντιική δράση.

Πίνακας 6. Κυτταροτοξική δράση (CC_{50} , μM) των ενώσεων **27**, **29**, **31**, **32** και της 5 FU έναντι των κυττάρων H4, Caco-2 και MA 104 και αναστολή του πολλαπλασιασμού (IC_{50} , μM) των κυττάρων Caco-2.

Προϊόν	Κυτταροτοξική δράση (CC_{50} , μM)			TSI ^a		Αναστολή πολλαπλασιασμού (IC_{50} , μM)
	H4	Caco-2	MA 104	Caco-2	MA 104	Caco-2
 <p>27</p>	1746.8	69.9	209.6	25.0	8.3	0.70
 <p>29</p>	1758.9	70.4	211.1	24.9	8.3	21.1
 <p>31</p>	40.6	1015.1	243.6	0.04	0.160	0.4
 <p>32</p>	2.8	1998.0	479.5	0.0014	0.0058	79.92
5 FU	3843.8	384.4	230.6	10.0	16.67	1.5

TSI^a: Εκλεκτικότητα (CC_{50} στα κύτταρα H4/ CC_{50} σε συγκεκριμένα κύτταρα ξενιστές)

Οι ίδιοι νουκλεοζίτες (**27**, **29**, **31** και **32**) εξετάστηκαν επίσης ως προς την κυτταροτοξική τους δράση σε φυσιολογικά ανθρώπινα εντερικά κύτταρα H4, κύτταρα αδενοκαρκινώματος Caco-2 και εμβρυικά κύτταρα νεφρών πιθήκου (MA 104). Τα αποτελέσματα που προέκυψαν για τα εξεταζόμενα μόρια παρουσιάζονται στον πίνακα 6 και συγκρίνονται με αυτά της 5 FU. Όλες οι εξεταζόμενες ενώσεις παρουσίασαν μεγαλύτερη κυτταροτοξική δράση στα καρκινικά κύτταρα από ότι στα φυσιολογικά ανθρώπινα εντερικά κύτταρα H4 (Πίνακας 6). Σε σύγκριση με την 5 FU ($CC_{50} = 384.4 \mu M$) ο κορεσμένος κετονουκλεοζίτης **27** ($CC_{50} = 69.9 \mu M$) και ο

εξωμεθυλενικός νουκλεοζίτης **29** ($CC_{50} = 70.4 \mu\text{M}$) παρουσίασαν αυξημένη κυτταροτοξική δράση έναντι των κυττάρων Caco-2.

Επιπλέον, μελετήθηκε η αναστολή του πολλαπλασιασμού των κυττάρων Caco-2 που προκαλούν τα νέα μόρια. Οι ενώσεις **27** και **31** μείωσαν την αύξηση των Caco-2 κυττάρων, όπως φάνηκε από το μέγεθος των αποικιών των κυττάρων μετά από δέκα μέρες επώασης σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις (0.7 και 0.4 μM , αντίστοιχα) σε σχέση με την 5 FU (1.5 μM).

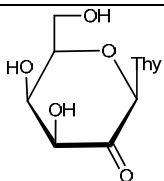
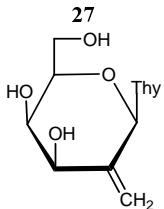
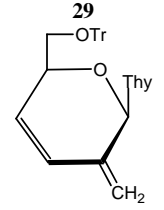
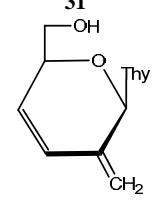
Συμπερασματικά, οι κορεσμένοι κετο και εξωμεθυλενικοί νουκλεοζίτες **27** και **29**, αντίστοιχα παρουσίασαν αυξημένη αντιική δράση έναντι του εντεροϊού, ενώ σε σύγκριση με την 5 FU, αποδείχθηκαν ότι είναι πιο κυτταροτοξικές έναντι όλων των καρκινογενών κυττάρων.

Αντιοξειδωτική δράση των 2'-κετο και 2'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της γαλακτόζης

Οι νέοι 2'-κετο και 2'-εξωμεθυλενικοί πυρανονουκλεοζίτες **27**, **29**, **31** και **32** μελετήθηκαν ως προς την αντιοξειδωτική της δράση. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών του Τμήματος Βιοχημείας-Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Η πιθανή αντιοξειδωτική δράση των νέων προϊόντων, εστιάστηκε στην ικανότητά τους να προστατεύουν το DNA από την επαγόμενη από ελεύθερες ρίζες υπεροξειδίου (ROO[•]) πρόκληση θραυσμάτων.

Πίνακας 7. Αντιοξειδωτική δράση των προϊόντων **27**, **29**, **31** και **32** έναντι της επαγόμενης από ρίζες ROO[•] πρόκληση μονόκλωνων θραυσμάτων στο DNA

Προϊόν	Αναστολή (%)				
	Συγκεντρώσεις (μM)				
	5	10	20	50	100
	A	A	A	A	A
27 	A	A	A	10±3	14±4
29 	A	A	8±2	11±3	17±2*
31 	A	A	A	9±2	19±2*
32					

A: μη αξιοσημείωτη αναστολή (μικρότερη από 7%)

* π < 0,05 στατιστικά σημαντικό συγκρινόμενο με το control (πλασμιδιακό DNA + ROO[•])

Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν (Πίνακας 7), είναι προφανές ότι μόνο οι ακόρεστοι εξωμεθυλενικοί νουκλεοζίτες **31** και **32** παρουσίασαν στατιστικά σημαντική αναστολή κατά 17% και 19% αντίστοιχα, στην υψηλότερη εξεταζόμενη συγκέντρωση (100 μM). Επιβεβαιώνεται, ότι η παρουσία του ακόρεστου συστήματος στο τμήμα του σακχάρου είναι υπεύθυνη για την παρατηρούμενη αντιοξειδωτική δράση.

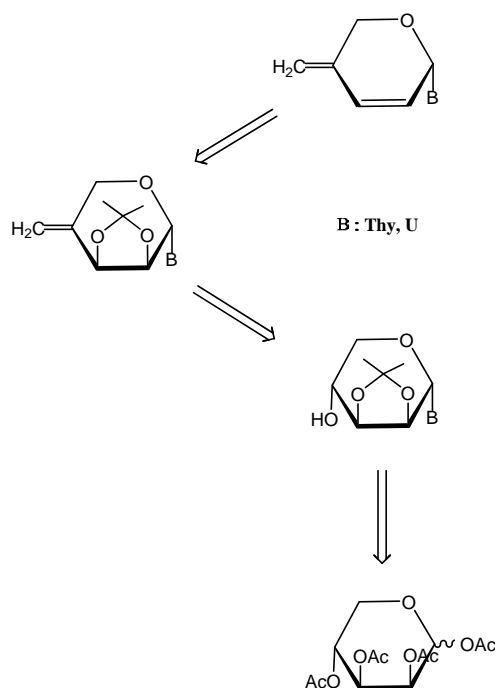
4'-ΚΕΤΟ ΚΑΙ 4'-ΕΞΩΜΕΘΥΛΕΝΙΚΑ ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΙΚΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΤΗΣ ΛΥΞΟΖΗΣ

Βασιζόμενοι στη βιολογική αποτίμηση των νεοσυντιθεμένων κετο και εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτών, προκύπτει ότι η ύπαρξη ενός πρωτοταγούς ελεύθερου υδροξυλίου στο υδατανθρακικό τους τμήμα, δεν αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την εμφάνιση των βιολογικών τους ιδιοτήτων. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες του Εργαστηρίου Βιο-οργανικής χημείας, οι οποίες έχουν αποδείξει ότι, οι νουκλεοζίτες που φέρουν δέσοξυ ομάδα ή προστατευτική ομάδα στην 6'-θέση του σακχάρου εμφανίζονται να είναι πιο αποτελεσματικοί αντικαρκινικοί και αντιικοί παράγοντες.

Το γεγονός αυτό αποτέλεσε το έναυσμα για τη σύνθεση και τη βιολογική αποτίμηση μίας νέας σειράς πυρανονουκλεοζιτών, αυτή των 4'-κετο ή 4'-εξωμεθυλενικών πεντο-πυρανονουκλεοζιτών, οι οποίοι δεν φέρουν υδροξυμεθυλο-ομάδα στη 5'-θέση του σακχάρου. Τα ανωτέρω νουκλεοζιτικά παράγωγα φέρουν θυμίνη και ουρακίλη ως ετεροκυκλικές βάσεις.

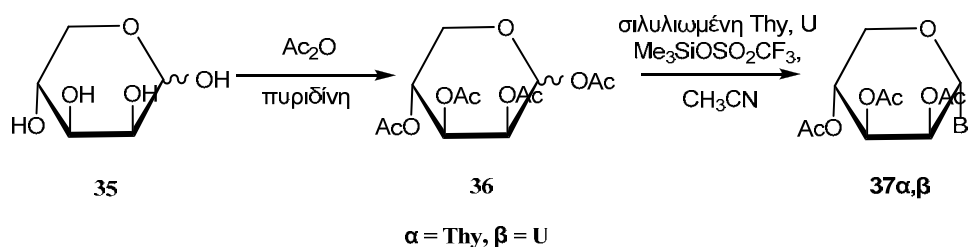
Η ρετροσυνθετική προσέγγιση για την παρασκευή των επιθυμητών 4'-εξωμεθυλενικών και 4'-κετο πεντο-πυρανονουκλεοζιτών, η οποία διακλαδίζεται σε δύο πορείες, περιγράφεται στο σχήμα 34.

Στη μία πορεία λαμβάνεται ο κορεσμένος και ο ακόρεστος εξωμεθυλενικός πυρανονουκλεοζίτης, ενώ στην άλλη πορεία επιτυγχάνεται επιπλέον και η παρασκευή του ακόρεστου κετοπυρανονουκλεοζίτη.



Σχήμα 34.

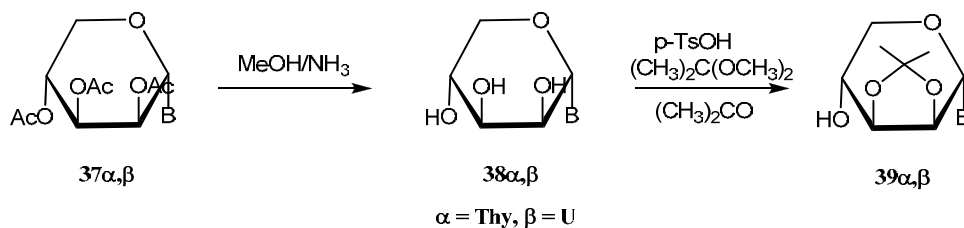
Για να επιτευχθεί η σύνθεση των νέων 4'-εξωμεθυλενικών και 4'-κετο πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της λυξόζης, αφετηρία αποτελεί η ακετυλιωμένη λυξόζη **36**, η οποία λαμβάνεται έπειτα από αντίδραση της εμπορικά διαθέσιμης *D*-λυξόζης (**35**) με οξικό ανυδρίτη σε πυριδίνη (Σχήμα 35). Οι σιλυλιωμένες βάσεις, θυμίνη και ουρακίλη, αντιδρούν με την ακετυλιωμένη λυξόζη για την σύνθεση των 1-(2',3',4'-τρις-*O*-ακετυλο- α -*D*-λυξοπυρανοζυλο)νουκλεοζιτών της θυμίνης (**37α**) και της ουρακίλης (**37β**), οι οποίοι λαμβάνονται με αποδόσεις 72% και 65%, αντίστοιχα.



Σχήμα 35.

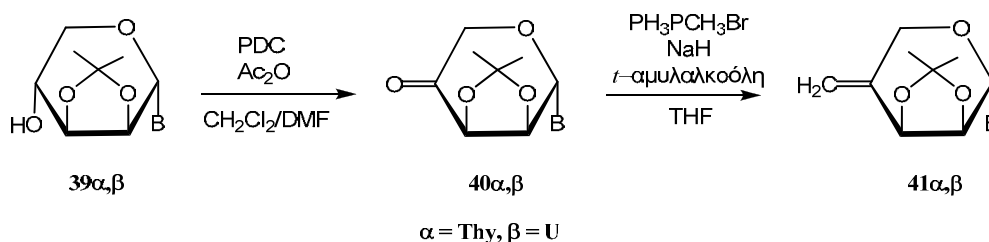
Ακολουθεί η απακετυλίωση των νουκλεοζιτών με προσθήκη μεθανολικής αμμωνίας (Neilson and Werstiuk 1971) (Σχήμα 36). Στη συνέχεια, λαμβάνει χώρα η εκλεκτική προστασία των υδροξυλίων στις 2',3'-θέσεις του σακχάρου των

νουκλεοζιτών **38α,β**, με μία ισοπροπυλιδενική ομάδα. Η συγκεκριμένη αντίδραση επιτυγχάνεται με προσθήκη $(\text{CH}_3)_2\text{C}(\text{OCH}_3)_2$ και καταλυτικής ποσότητας *p*-TsOH με αποτέλεσμα τη λήψη των ενώσεων **39α,β**, σε αποδόσεις 81% και 78%, αντίστοιχα (Σχήμα 36). Τα ισοπροπυλιδενικά παράγωγα αποτελούν την αφετηρία των δύο διαφορετικών συνθετικών πορειών που απεικονίζονται στη ρετροσυνθετική διαδικασία του σχήματος 34.



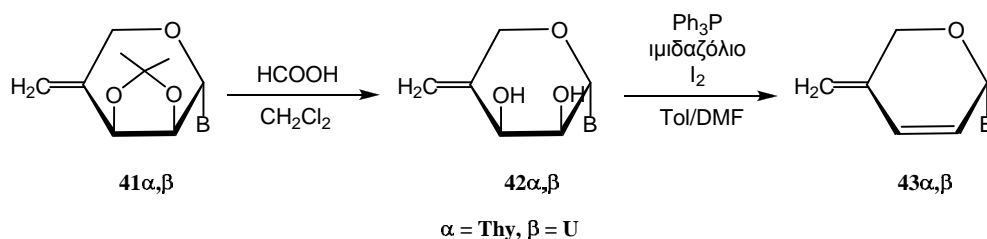
Σχήμα 36.

Στην πρώτη πορεία, για τη λήψη των κορεσμένων εξωμεθυλενικών πυρανοουκλεοζιτών, το πρώτο βήμα της σύνθεσης περιλαμβάνει την οξειδωση των υδροξυλίων στη θέση 4' του σακχάρου των προϊόντων **39α,β** (Σχήμα 37), η οποία λαμβάνει χώρα μέσω κατεργασίας τους με PDC και Ac_2O (Herscovici and Antonakis 1980). Ακολουθεί η εισαγωγή της εξωμεθυλενικής ομάδας στους νουκλεοζίτες **40α,β**, η οποία πραγματοποιείται με αντίδραση Wittig, λαμβάνοντας τις ενώσεις **41α,β**.



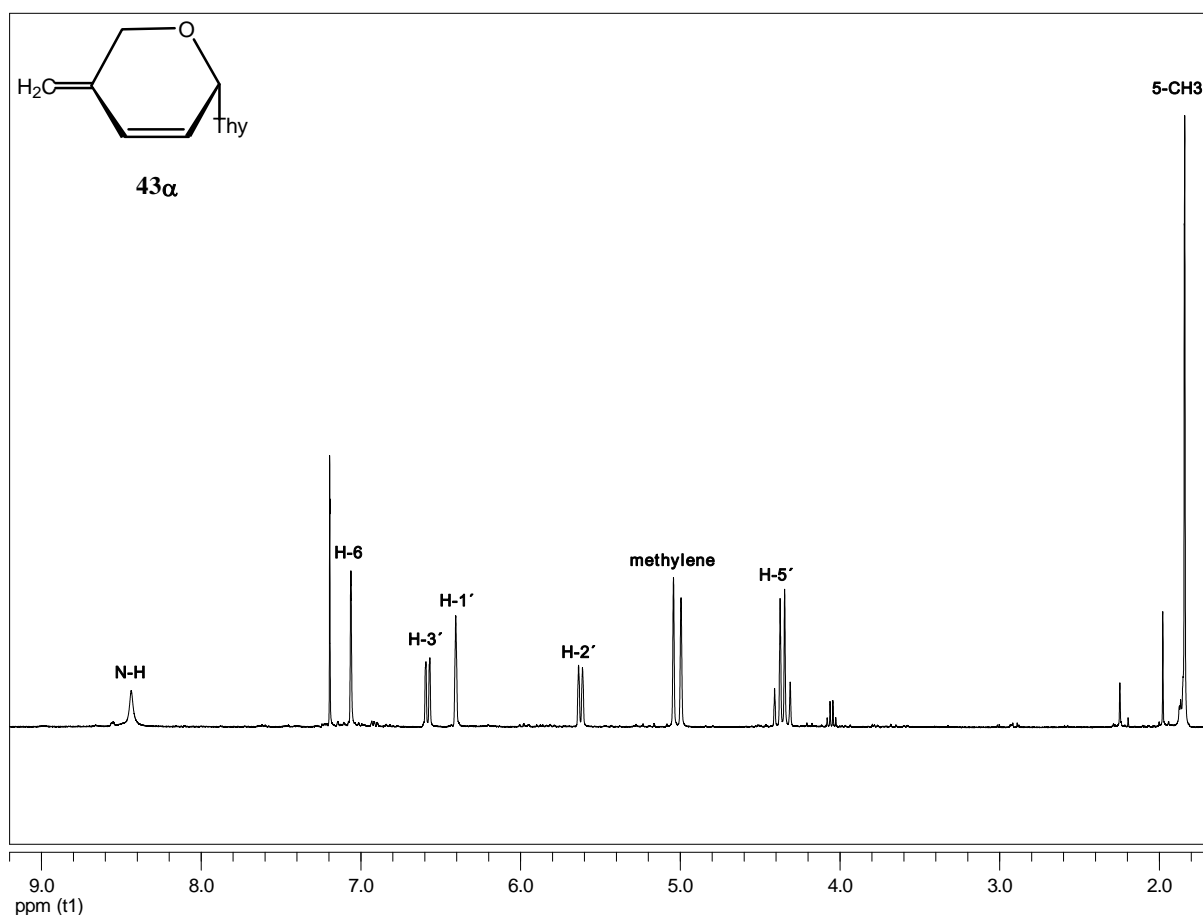
Σχήμα 37.

Η σύνθεση συνεχίζεται με την διάνοιξη του ακετονιδίου των νουκλεοζιτών **41α,β**, η οποία επιτυγχάνεται με προσθήκη μυρμηκικού οξέος σε διχλωρομεθάνιο (Σχήμα 38). Ακολουθεί η δημιουργία του διπλού δεσμού στις 2',3'-θέσεις του σακχάρου των ενώσεων **42α,β**, η οποία πραγματοποιείται μέσω κατεργασίας τους με Ph_3P , ιμιδαζόλιο και ιώδιο, λαμβάνοντας τους ακόρεστους εξωμεθυλενικούς νουκλεοζίτες **43α,β**, με αποδόσεις 55% και 52%, αντίστοιχα.



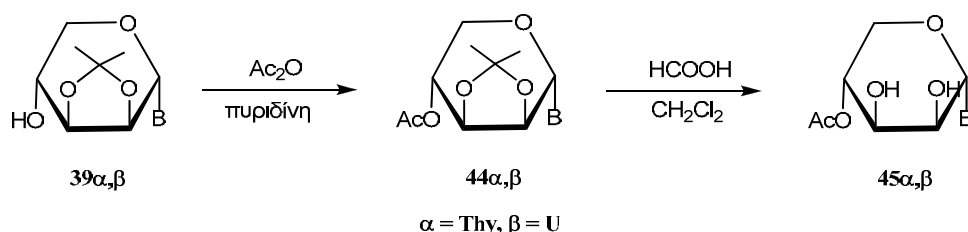
Σχήμα 38.

Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του τελικού νουκλεοζίτη της θυμίνης **43α** που απεικονίζεται στο σχήμα 39, διακρίνεται στα 6.58 ppm μία διπλή-διπλών κορυφή με σταθερές σύζευξης $J_{1',3'} = 1.5 \text{ Hz}$ και $J_{2',3'} = 10.0 \text{ Hz}$, η οποία αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-3', ενώ στα 6.41 ppm εμφανίζεται το σήμα του πρωτονίου H-1' ως μία ευρεία απλή κορυφή. Επιπλέον, διαφαινόνται τα σήματα των δύο πρωτονίων της εξωμεθυλενικής ομάδας ως δύο απλές κορυφές, στα 5.04 και 4.99 ppm, ενώ η επόμενη τετραπλή κορυφή (AB σύστημα) γύρω στα 4.32 και 4.33 ppm, αντιστοιχεί στο σήμα του πρωτονίου H-5'.



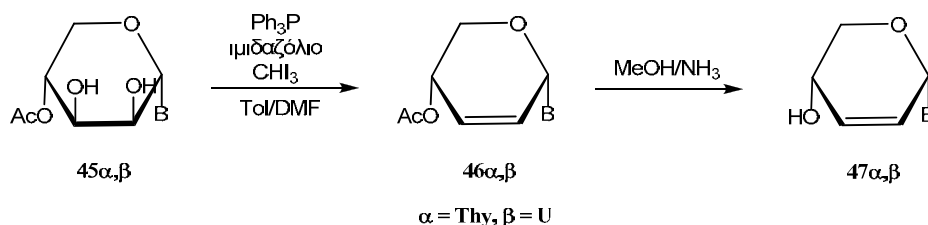
Σχήμα 39.

Αφετηρία της δεύτερης συνθετικής πορείας για τη λήψη των κετοακόρεστων νουκλεοζιτών αποτελεί η ακετυλίωση του ελεύθερου υδροξυλίου στη 4'-θέση του σακχάρου των ενώσεων **39** (Σχήμα 40). Ακολουθεί η διάνοιξη του ακετονιδίου των ενώσεων **44α,β**, η οποία πραγματοποιείται με προσθήκη μυρμηκικού οξέος σε διχλωρομεθάνιο, οδηγώντας στους νουκλεοζίτες **45α,β**.



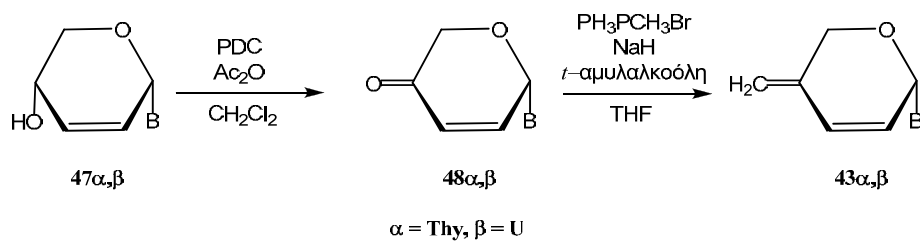
Σχήμα 40.

Η σύνθεση συνεχίζεται με τη δημιουργία του διπλού δεσμού στις 2',3'-θέσεις του σακχάρου των ενώσεων **45α,β**, (Σχήμα 41), μέσω κατεργασίας τους για ακόμη μία φορά με Ph_3P , ιμιδαζόλιο και ιωδοφόρμιο (Zhang and Clive 1999, Bessodes *et al.* 1981, Chun *et al.* 2001), με αποτέλεσμα τη λήψη των ενώσεων **46α,β**.



Σχήμα 41.

Για να ληφθούν τα 4'-κετοακόρεστα νουκλεοζιτικά παράγωγα **48α,β**, οι πρόδρομες ενώσεις θα πρέπει να φέρουν μόνο ένα ελεύθερο υδροξύλιο στην 4'-θέση του σακχάρου, το οποίο και θα οξειδωθεί. Αρχικά, η αποπροστασία του υδροξυλίου στη 4'-θέση του σακχάρου των ενώσεων **46α,β** πραγματοποιείται με προσθήκη διαλύματος κορεσμένης μεθανολικής αμμωνίας και ακολουθεί οξείδωση του ελεύθερου υδροξυλίου των νουκλεοζιτών **47α,β**, με αντίδρασή τους με PDC και Ac_2O (Herscovici and Antonakis 1980) (Σχήμα 42). Τέλος, η αντίδραση Wittig επί των ενώσεων **48α,β** οδηγεί στη σύνθεση των επιθυμητών ακόρεστων εξωμεθυλενικών νουκλεοζιτών, **43α,β** σε αποδόσεις 61% και 52%, αντίστοιχα.



Σχήμα 42.

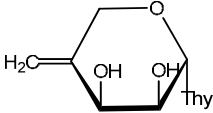
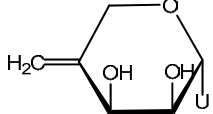
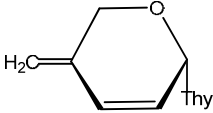
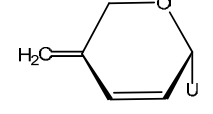
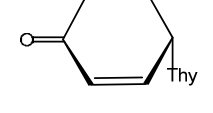
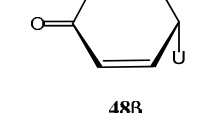
Αντιική και αντικαρκινική δράση των 4'-κετο και 4'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της λυξόζης

Οι νέοι πυρανονουκλεοζίτες μελετήθηκαν ως προς την αντιική και αντικαρκινική τους δράση. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Ιολογίας και Χημειοθεραπείας, του Τμήματος Μικροβιολογίας και Ανοσολογίας του Ινστιτούτου Rega, στο Καθολικό Πανεπιστήμιο της Λουβένης, στο Βέλγιο.

Τα νέα μόρια μελετήθηκαν ως προς την ανασταλτική τους δράση έναντι του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων λευχαιμίας (L1210), των ανθρώπινων T-λεμφοκυττάρων Molt4/C8 και CEM, των καρκινικών κυττάρων του μαστού (MCF-7) και των κυττάρων του αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου (Caco-2).

Από τις τιμές IC_{50} του πίνακα 8, προκύπτει το συμπέρασμα ότι τα νέα 4'-κετοακόρεστα νουκλεοζιτικά ανάλογα **48α,β** παρουσιάζουν αυξημένη κυτταροστατική δράση, γεγονός που αποδεικνύει την σπουδαιότητα της παρουσίας της κετονομάδας στο τμήμα του σακχάρου. Τα κορεσμένα εξωμεθυλενικά παράγωγα **42α,β** παρουσιάζουν μειωμένη ανασταλτική δράση έναντι των εξεταζόμενων κυττάρων, ενώ η ύπαρξη του διπλού δεσμού στις 2',3'-θέσεις του σακχάρου (παράγωγα **43α,β**), ενισχύει ελάχιστα την δράση τους. Έχοντας ως δεδομένο ότι ο τρόπος δράσης αυτών των αναλόγων είναι ακόμα ασαφής, το α,β -κετοακόρεστο σύστημα θα μπορούσε να λειτουργήσει ως δέκτης μιας αντίδρασης συζυγούς προσθήκης κατά Michael, όπου ένα πυρηνόφιλο ενολικό ιόν δρά ως δότης στον β άνθρακα του α,β -ακόρεστου καρβόνυλο δέκτη. Οι νέοι πυρανονουκλεοζίτες **42α,β**, **43α,β** και **48α,β** δεν παρουσίασαν αντιική δράση έναντι μίας σειράς DNA και RNA ιών.

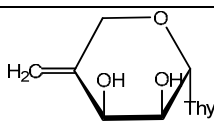
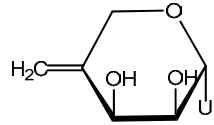
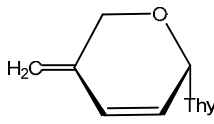
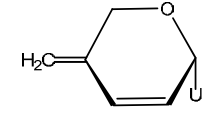
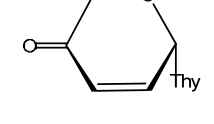
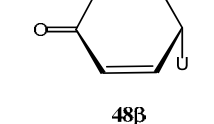
Πίνακας 8. Ανασταλτική δράση (IC_{50} , μM) των ενώσεων **42α,β**, **43α,β** και **48α,β** έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων λευχαιμίας (L1210), των ανθρώπινων T-λεμφοκυττάρων Molt4/C8 και CEM, των καρκινικών κυττάρων του ανθρώπινου μαστού (MCF-7) και των κυττάρων του ανθρώπινου αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου (Caco-2).

Προϊόν	IC_{50} (μM)				
	L1210	Molt4/C8	CEM	MCF7	Caco-2
 42α	>500	>500	>500	220±20	>500
 42β	>500	>500	>500	209±8.0	488±16
 43α	147±0	213±15	220±55	176±11	320±27
 43β	210±15	210±15	256±64	172±25	230±9.0
 48α	7.0±0.4	11±5.0	11±5.0	23±7.0	77±7.0
 48β	26±4.0	38±3.0	36±9.0	35±9.0	134±13

Αντιοξειδωτική δράση των 4'-κετο και 4'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της λυξόζης

Τα νέα πυρανονουκλεοζιτικά παράγωγα της λυξόζης **42α,β**, **43α,β** και **48α,β** μελετήθηκαν ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών του Τμήματος Βιοχημείας-Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Πίνακας 9. Αντιοξειδωτική δράση των προϊόντων **42α,β**, **43α,β** και **48α,β** έναντι στην επαγόμενη από ρίζες ROO[•] πρόκληση μονόκλωνων θραυσμάτων στο DNA

Προϊόν	Αναστολή (%)				
	Συγκεντρώσεις (μΜ)				
	5	10	20	50	100
	A	A	A	A	A
42α					
	A	A	15±3	14±4	23±5*
42β					
	A	A	A	A	A
43α					
	A	A	A	A	A
43β					
	A	A	A	A	A
48α					
	A	A	A	16±4	22±3*
48β					

A: μη αξιοσημείωτη αναστολή (μικρότερη από 7%)

* π < 0,05 στατιστικά σημαντικό συγκρινόμενο με το control (πλασμιδιακό DNA + ROO[•])

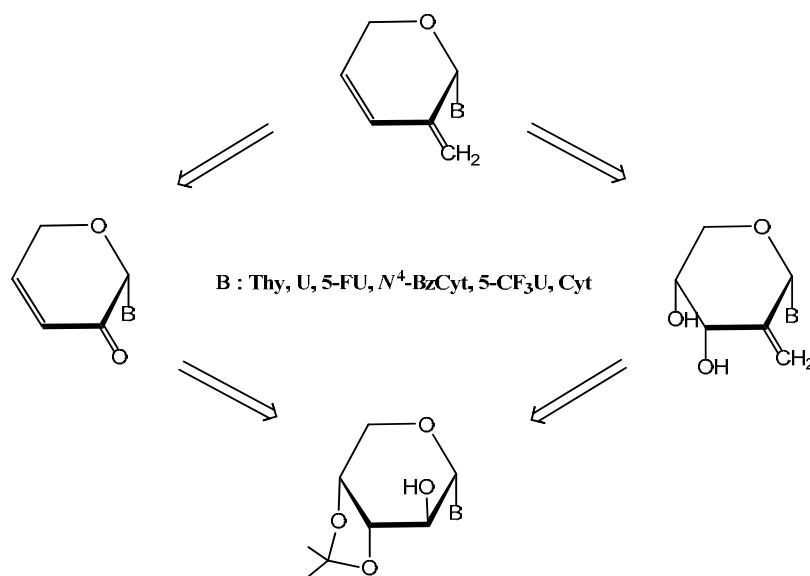
Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν (Πίνακας 9), παρατηρήθηκε ότι η ετεροκυκλική βάση (ουρακίλη), σε συνδυασμό με το κετοακόρεστο σύστημα (προϊόν **48β**) ή σε συνδυασμό με εξωμεθυλένιο στη θέση 4' (προϊόν **42β**), είναι σημαντική για την προστατευτική δράση των μορίων.

2'-ΚΕΤΟ ΚΑΙ 2'-ΕΞΩΜΕΘΥΛΕΝΙΚΑ ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΙΚΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΤΗΣ ΑΡΑΒΙΝΟΖΗΣ

Σύμφωνα με τα προηγούμενα ερευνητικά αποτελέσματα, αποδείχθηκε ότι τόσο η εξωμεθυλενική ομάδα όσο και η κετονομάδα σε συνδυασμό με την ύπαρξη ακορεστότητας στο υδατανθρακικό τμήμα ενός νουκλεοζίτη, δρουν καταλυτικά στην εμφάνιση βιολογικής δραστηριότητας. Επιπλέον, επιβεβαιώθηκε ότι η ύπαρξη πρωτοταγούς υδροξυλο-ομάδας και υδροξυμεθυλο-ομάδας στη 5'-θέση του σακχάρου, δεν αποτελούν απαραίτητες προϋποθέσεις για την εμφάνιση αντιικής και αντικαρκινικής δράσης. Βασιζόμενοι στα ανωτέρω και ως συνέχεια της διερεύνησης της σχέσης δομής-δράσης, θεωρήθηκε ενδιαφέρουσα η σύνθεση νέων 2'-κετο και 2'-εξωμεθυλενικών πεντοπυρανονουκλεοζιτών, που δεν φέρουν υδροξυμεθυλο-ομάδα στη 5'-θέση του σακχάρου. Τα νέα νουκλεοζιτικά ανάλογα φέρουν ως ετεροκυκλικές βάσεις θυμίνη, ουρακίλη, 5-φθοροουρακίλη, N^4 -βενζουλοκυτοσίνη, κυτοσίνη και τέλος τριφθορομεθυλοουρακίλη.

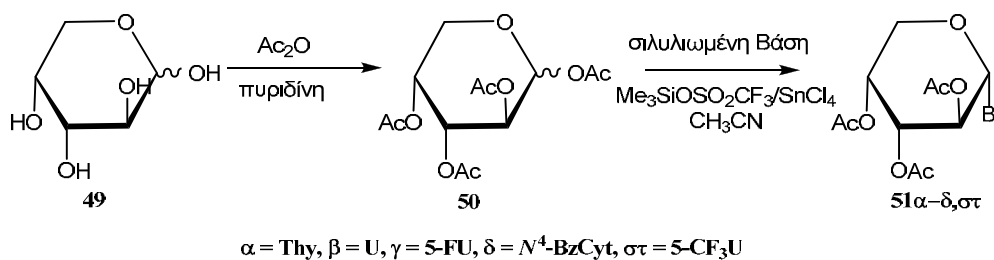
Η ρετροσυνθετική προσέγγιση για την παρασκευή των επιθυμητών 2'-κετο και 2'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της αραβινόζης, η οποία διακλαδίζεται σε δύο πορείες, περιγράφεται στο σχήμα 43.

Στη μία πορεία λαμβάνεται ο κορεσμένος και ο ακόρεστος εξωμεθυλενικός πυρανονουκλεοζίτης, ενώ στην άλλη πορεία επιτυγχάνεται επιπλέον και η παρασκευή του ακόρεστου κετοπυρανονουκλεοζίτη.



Σχήμα 43.

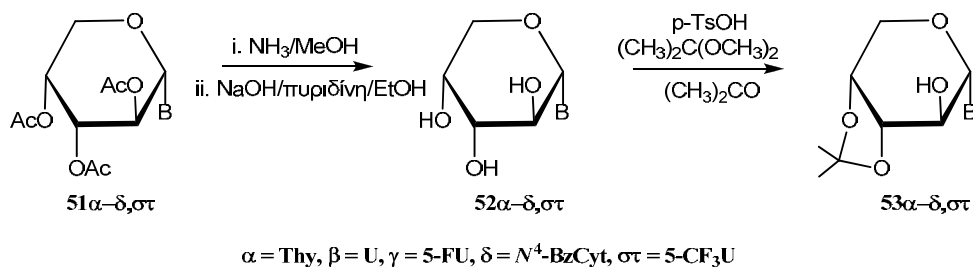
Με αφητηρία την ακετυλιωμένη αραβινόζη **50**, η οποία λαμβάνεται έπειτα από αντίδραση της εμπορικά διαθέσιμης *D*-αραβινόζης (**49**) με οξικό ανυδρίτη σε πυριδίνη (Σχήμα 44), συντέθηκαν οι επιθυμητοί 1-(2',3',4'-τρις-*O*-ακετυλο- α -*D*-αραβινοπυρανοζυλο)νουκλεοζίτες της θυμίνης (**51α**), της ουρακίλης (**51β**), της 5-φθοροουρακίλης (**51γ**), της *N*⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης (**51δ**) και τέλος της 5-τριφθορομεθυλοουρακίλης (**51στ**), με αποδόσεις 75-88%.



Σχήμα 44.

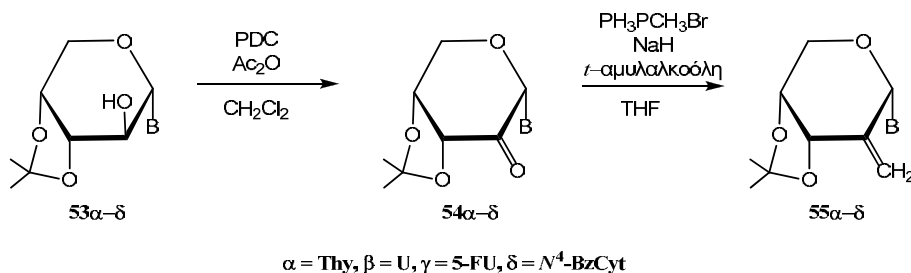
Στη συνέχεια, η απακετυλίωση των νουκλεοζιτών **51α-γ,στ** (Σχήμα 45) πραγματοποιείται με κατεργασία τους με μεθανολική αμμωνία (Neilson and Werstiuk 1971), οπότε τα πλήρως αποπροστατευμένα παράγωγα **52α-γ,στ** λαμβάνονται σε άριστη απόδοση. Η εκλεκτική αποπροστασία του νουκλεοζιτικού αναλόγου της *N*⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης **51δ** πραγματοποιείται με τη χρήση υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) σε EtOH-πυριδίνη (Milecki *et al.* 2001), οπότε το βενζοϋλιωμένο παράγωγο **52δ** λαμβάνεται σε πολύ καλή απόδοση (97%). Η απακετυλίωση του νουκλεοζιτή **51δ** λαμβάνει χώρα υπό ήπιες συνθήκες, στους 0 °C για 30 λεπτά, ενώ αμέσως ακολουθεί εξουδετέρωση με όξινη ρητίνη Amberlite IR-120 (H⁺), έτσι ώστε να διακοπεί η αντίδραση, και να μείνει ανεπηρέαστο το αμίδιο της βάσης. Ειδικότερα, η εκλεκτική αποπροστασία της ένωσης **51δ** έχει περιγραφεί αναλυτικά (Manta *et al.* 2007, Manta *et al.* 2008).

Έπειτα από την απακετυλίωση των νουκλεοζιτών **51α-γ,στ**, ακολουθεί η εκλεκτική προστασία των υδροξυλίων στις 3',4'-θέσεις του σακχάρου των ενώσεων **52α-δ,στ** και λαμβάνονται οι επιθυμητές ενώσεις **53α-δ,στ** (Σχήμα 45), οι οποίες αποτελούν τις ενώσεις-κλειδιά και για τις δύο διαφορετικές συνθετικές πορείες που απεικονίζονται στη ρετροσυνθετική διαδικασία του σχήματος 43.



Σχήμα 45.

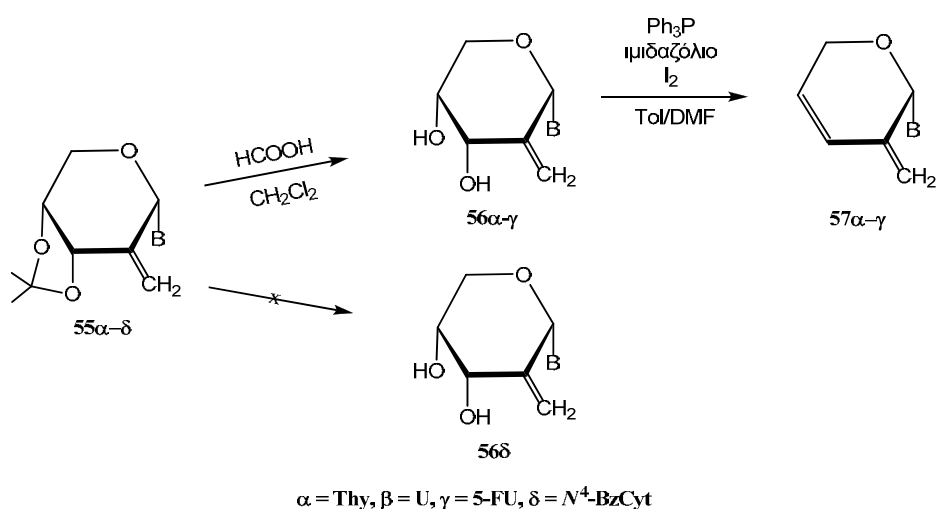
Η πρώτη πειραματική διαδικασία αρχίζει με την οξειδωση του ελεύθερου υδροξυλίου στη θέση 2' του σακχάρου των ενώσεων **53α-δ** και έπειτα ακολουθεί η εισαγωγή της εξωμεθυλενικής ομάδας μέσω της αντίδρασης Wittig (Σχήμα 46), με αποτέλεσμα τη λήψη των νουκλεοζιτών **55α-δ**.



Σχήμα 46.

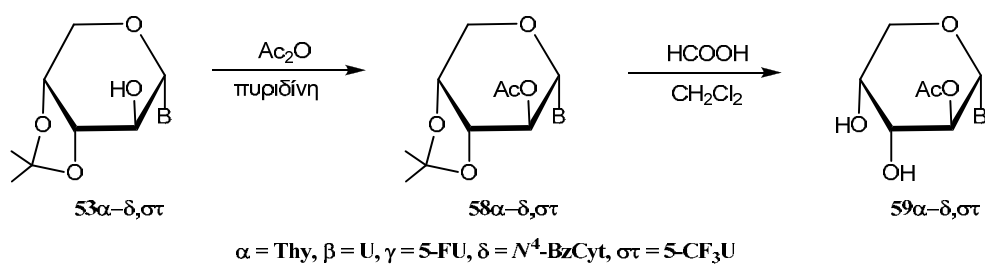
Στη συνέχεια, ακολουθεί η διάνοιξη του ακετονιδίου στις 3',4'-θέσεις του σακχάρου, η οποία πραγματοποιείται με προσθήκη μυρμηκικού οξέος σε διχλωρομεθάνιο, με αποτέλεσμα τη λήψη των αποπροστατευμένων εξωμεθυλενικών νουκλεοζιτών **56α-γ** (Σχήμα 47). Ο αποπροστατευμένος εξωμεθυλενικός νουκλεοζίτης της N^4 -βενζουλοκυτοσίνης **56δ** δεν κατέστη δυνατόν να ληφθεί, διότι η κατεργασία της ένωσης **55δ** με μυρμηκικό οξύ σε διχλωρομεθάνιο, με τριφθοροοξικό οξύ (TFA) σε μεθανόλη, με π-τολουολοσουλφονική πυριδίνη (PPTS) σε μεθανόλη (Van Rijsbergen *et al.* 1983), με όξινη ρητίνη IR-120 H^+ σε μεθανόλη (Kim *et al.* 2004) και τέλος με υδατικό διάλυμα οξικού οξέος (Vanheusden *et al.* 2004), οδήγησε μόνο σε προϊόντα αποικοδόμησης.

Ακολουθεί η δημιουργία του διπλού δεσμού στις 3',4'-θέσεις του σακχάρου των ενώσεων **56α-γ**, η οποία πραγματοποιείται μέσω κατεργασίας τους με Ph_3P , ιμιδαζόλιο και ιώδιο, λαμβάνοντας τους επιθυμητούς ακόρεστους εξωμεθυλενικούς νουκλεοζίτες **57α-γ**, με αποδόσεις 57%, 53% και 53%, αντίστοιχα.



Σχήμα 47.

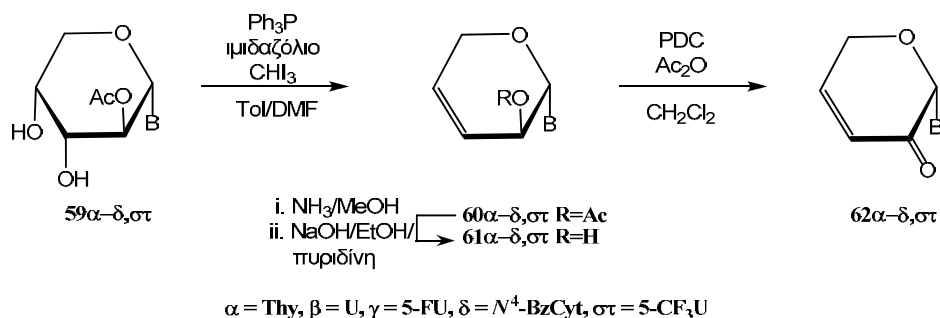
Με την αλοκλήρωση της πρώτης συνθετικής πορείας και τη λήψη των επιθυμητών κορεσμένων και ακόρεστων εξωμεθυλενικών νουκλεοζιτών, επόμενο στόχο αποτέλεσε η σύνθεση των κετοακόρεστων νουκλεοζιτών. Η δεύτερη συνθετική πορεία περιλαμβάνει την ακετυλίωση του ελεύθερου υδροξυλίου των ενώσεων **53α-δ,στ** (Σχήμα 48), ενώ ακολουθεί η διάνοιξη του ακετονιδίου στις 3',4'-θέσεις του σακχάρου, οδηγώντας στα μερικώς προστατευμένα ανάλογα **59α-δ,στ**.



Σχήμα 48.

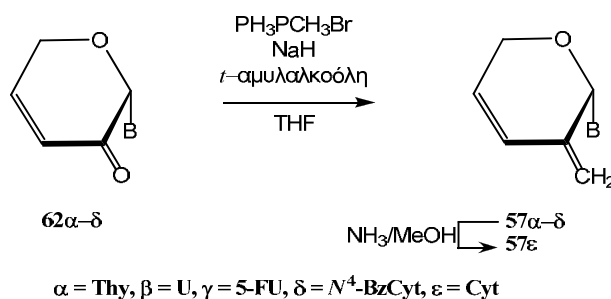
Η εισαγωγή του διπλού δεσμού στις 3',4'-θέσεις του σακχάρου, των ενώσεων **59α-δ,στ** λαμβάνει χώρα για ακόμη μία φορά με προσθήκη Ph_3P , ιμιδαζολίου και ιωδοφορμίου (Zhang and Clive 1999, Bessodes *et al.* 1981, Chun *et al.* 2001) και λαμβάνονται οι ακόρεστοι νουκλεοζίτες **60α-δ,στ** (Σχήμα 49). Ακολουθεί η απακετυλίωση του υδροξυλίου στη 2'-θέση του σακχάρου, η οποία πραγματοποιείται για τα ανάλογα **60α-γ,στ** με προσθήκη μεθανολικής αμμωνίας, ενώ για το ανάλογο της N^4 -βενζοϋλοκυτοσίνης **60δ** με προσθήκη υδροξειδίου του νατρίου σε EtOH -

πυριδίνη (Milecki *et al.* 2001). Η οξείδωση του ελεύθερου υδροξυλίου των ενώσεων **61α-δ,στ** οδηγεί στους επιθυμητούς ακόρεστους κετονουκλεοζίτες **62α-δ,στ**.



Σχήμα 49.

Τέλος, με κατεργασία των ενώσεων **62α-δ** με $\text{Ph}_3\text{PCH}_2\text{Br}$, *t*-αμυλαλκοόλη και NaH σε THF, λαμβάνονται οι εξωμεθυλениκοί ακόρεστοι νουκλεοζίτες **57α-δ** με απόδοση 60% 62%, 56% και 53%, αντίστοιχα (Σχήμα 50). Στο βενζουλιωμένο παράγωγο **57δ** προστίθεται μεθανολική αμμωνία, με αποτέλεσμα την αποπροστασία της βάσης (Egroun *et al.* 1993) και τη λήψη του εξωμεθυλениκού ακόρεστου παραγώγου της κυτοσίνης **57ε**.



Σχήμα 50.

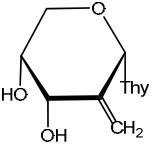
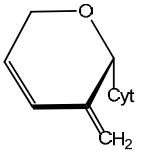
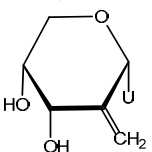
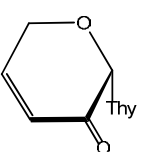
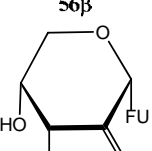
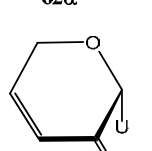
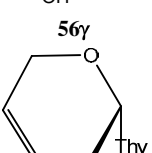
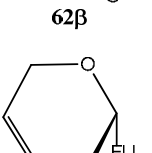
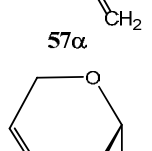
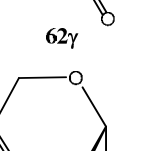
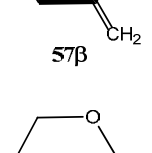
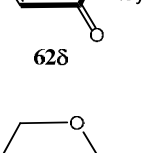
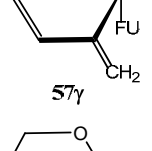
Αντιική και αντικαρκινική δράση των 2'-κετο και 2'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της αραβινόζης

Τα νέα πυρανονουκλεοζιτικά παράγωγα της αραβινόζης μελετήθηκαν ως προς την αντιική και αντικαρκινική τους δράση. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Ιολογίας και Χημειοθεραπείας, του Τμήματος Μικροβιολογίας και Ανοσολογίας του Ινστιτούτου Rega, στο Καθολικό Πανεπιστήμιο της Λουβένης, στο Βέλγιο.

Οι νέες ενώσεις μελετήθηκαν για την πιθανή ανασταλτική τους δράση έναντι του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων λευχαιμίας (L1210), των καρκινικών κυττάρων μαστού του ποντικού (FM3A), των ανθρώπινων Τ-λεμφοκυττάρων CEM, καθώς επίσης και των ανθρώπινων τραχηλικών καρκινικών κυττάρων (HeLa).

Από τις τιμές IC₅₀ του πίνακα 10, προκύπτει το συμπέρασμα ότι οι νέοι κετοακόρεστοι νουκλεοζίτες **62α-δ,στ** εμφάνισαν αυξημένη κυτταροτοξική δράση σε σύγκριση με τα κορεσμένα εξωμεθυλενικά παράγωγα **56α-γ**, αλλά και τους ακόρεστους εξωμεθυλενικούς νουκλεοζίτες **57α-ε**. Χαρακτηριστική επίσης είναι η αυξημένη ανασταλτική δράση που παρουσίασαν όλοι οι νουκλεοζίτες της 5-φθοροουρακίλης (0.23-21 μM) έναντι όλων των καρκινικών κυτταρικών σειρών με εξαίρεση την κυτταρική σειρά των ανθρώπινων Τ-λεμφοκυττάρων CEM. Οι νέοι πυρανονουκλεοζίτες **56α-γ**, **57α-ε** και **62α-δ** δεν παρουσίασαν αντιική δράση έναντι μίας σειράς DNA και RNA ιών.

Πίνακας 10. Ανασταλτική δράση (IC₅₀, μM) των ενώσεων **56α-γ**, **57α-ε** και **62α-δ,στ** έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων λευχαιμίας (L1210), των καρκινικών κυττάρων μαστού του ποντικού (FM3A), των ανθρώπινων T-λεμφοκυττάρων CEM και των ανθρώπινων τραχηλικών καρκινικών κυττάρων (HeLa).

Προϊόν	IC ₅₀ (μM)				Προϊόν	IC ₅₀ (μM)			
	L1210	FM3A	CEM	HeLa		L1210	FM3A	CEM	HeLa
 56α	610±251	775±161	≥800	≥800	 57ε	1.386±594	≥1.800	1.550±351	990±117
 56β	>800	>800	>800	≥800	 62α	34±23	77±32	104±104	34±37
 56γ	21±4	1.9±0.4	97±4	18±4	 62β	92±5	121±44	82±14	42±29
 57α	486±60	≥900	504±5	339±46	 62γ	1.3±1.2	0.23±0.07	17±2	1.4±0.6
 57β	549±83	>1.000	450±39	760±122	 62δ	26±20	62±34	46±41	72±5
 57γ	8.6±3.1	2.4±0.1	85±4	3.5±0.7	 62στ	23±12	46±2	39±6	34±3
 57δ	386±68	379±5	432±0	296±58	5-FU	0.56±0.31	0.18±0.02	14±2	0.57±0.23

Όσον αφορά τα νουκλεοζιτικά ανάλογα της 5-φθοροουρακίλης (5-FU) **56γ**, **57γ** και **62γ**, αποδείχθηκε ότι κύριος στόχος της κυτταροστατικής τους δράσης αποτελεί η συνθάση του θυμιδυλικού και ότι πιθανότατα δρουν ως νέοι τύποι προφαρμάκων της 5-FU. Για να διαπιστωθεί λοιπόν, αν για την παρατηρούμενη κυτταροστατική/κυτταροτοξική δράση είναι υπεύθυνη ολόκληρη η ένωση ή η

αποσπώμενη ετεροκυκλική βάση, θεωρήθηκε ενδιαφέρουσα η σύγκριση του κετοακόρεστου νουκλεοζιτικού αναλόγου της 5-τριφθορομεθυλοουρακίλης (**62στ**) με το αντίστοιχο της 5-FU (**62γ**).

Η 5-FU, είναι γνωστό ενεργό προφάρμακο που δεσμεύει και αναστέλλει το ένζυμο-στόχο συνθάση του θυμιδυλικού. Η τριφθοροθυμιδίνη -φουρανουκλεοζίτης με ετεροκυκλική βάση την 5-τριφθορομεθυλοουρακίλη- είναι ισχυρός αναστολέας της συνθάσης του θυμιδυλικού και θα ήταν αναμενόμενο και ο αντίστοιχος κετοακόρεστος νουκλεοζίτης της να αποτελεί ισοδύναμο αναστολέα. Στην περίπτωση όμως που μόνο η ελεύθερη βάση αποτελεί ενεργό μεταβολίτη, τότε ο κετοακόρεστος νουκλεοζίτης της 5-τριφθορομεθυλοουρακίλης θα εμφανιστεί πολύ λιγότερο δραστικός από τον αντίστοιχο της 5-FU, διότι η 5-τριφθορομεθυλοουρακίλη είναι πολύ πιο δύσκολα μετατρέψιμη στον ενεργό της μεταβολίτη από ότι η 5-FU.

Τα βιολογικά πειράματα απέδειξαν, ότι η 5-FU και ο κετοακόρεστος νουκλεοζίτης της εμφανίζουν την ίδια κυτταροστατική δράση, η οποία είναι μεγαλύτερη από αυτή που εμφανίζει ο κετοακόρεστος νουκλεοζίτης της 5-τριφθορομεθυλοουρακίλης. Η παρατήρηση αυτή αποτελεί μια επιπλέον ένδειξη ότι για την εμφάνιση της παρατηρούμενης βιολογικής δράσης είναι υπεύθυνη η αποσπώμενη ετεροκυκλική βάση.

Επιπλέον, για να ενισχυθεί η υπόθεση ότι η κυτταροστατική δράση οφείλεται στην απόσπαση της ετεροκυκλικής βάσης, η 5-FU και ο κετοακόρεστος νουκλεοζίτης της **62γ** αντέδρασαν με τον εκλεκτικό αναστολέα OPRT (orotic acid phosphoribosyl transferase), ο οποίος απαιτείται για τη μεταβολική ενεργοποίηση της ελεύθερης 5-FU. Αποδείχθηκε ότι ο αναστολέας OPRT μείωσε τη δράση της 5-FU και του προφαρμάκου της (κετοακόρεστος νουκλεοζίτης **62γ**). Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν την υποχρεωτική απελευθέρωση της 5-FU από τον νουκλεοζίτη **62γ** για την εμφάνιση κυτταροστατικής δράσης και επομένως αποδεικνύουν ότι ο κετοακόρεστος νουκλεοζίτης **62γ** δρα ως προφάρμακο της 5-FU.

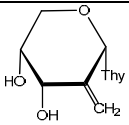
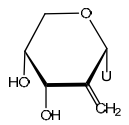
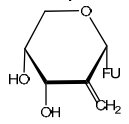
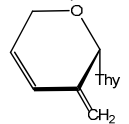
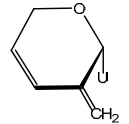
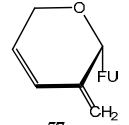
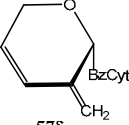
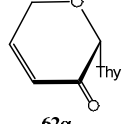
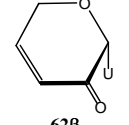
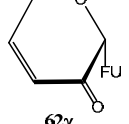
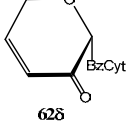
Αντιοξειδωτική δράση των 2'-κετο και 2'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της αραβινόζης

Οι πυρανονουκλεοζίτες **56α-γ**, **57α-δ** και **62α-δ** μελετήθηκαν ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Φυσιολογίας Ζωϊκών Οργανισμών του Τμήματος Βιοχημείας-Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν (Πίνακας 11), οι κορεσμένοι εξωμεθυλενικοί νουκλεοζίτες **56α-γ** παρουσίασαν πολύ μικρή ή καθόλου προστατευτική δράση έναντι των υπερόξυ ριζών. Οι ακόρεστοι εξωμεθυλενικοί νουκλεοζίτες **57α-δ** εμφάνισαν αντιοξειδωτική δράση στις μεγαλύτερες εξεταζόμενες συγκεντρώσεις (50 και 100μM). Ιδιαίτερα το προϊόν **57β**, το οποίο φέρει την ουρακίλη ως ετεροκυκλική βάση, εξωμεθυλένιο στη θέση 2' και διπλό δεσμό στις 3',4' θέσεις του σακχάρου, ήταν το πιο δραστικό από όλα καθώς ήταν το μόνο που παρουσίασε ανασταλτική δράση κατά 22% στα 20 μM. Τέλος, ανάμεσα στα κετοακόρεστα ανάλογα **62α-δ**, μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση είχαν οι νουκλεοζίτες την 5-φθοροουρακίλης **62γ** και της *N*⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης **62δ**.

Συμπερασματικά από τις ενώσεις που εξετάστηκαν, παρατηρείται ότι τόσο η κετονομάδα όσο και η εξωμεθυλενική ομάδα σε συνδυασμό με την ύπαρξη διπλού δεσμού είναι υπεύθυνες για την εμφάνιση αντιοξειδωτικής δράσης. Φαίνεται ότι σε κάθε περίπτωση η παρουσία του ακόρεστου συστήματος σε α,β θέση ως προς την κετόνη ή το εξωμεθυλένιο καθιστά το μόριο πιο σταθερό και αυξάνει την παρατηρούμενη αντιοξειδωτική δράση.

Πίνακας 11. Αντιοξειδωτική δράση των προϊόντων **56α-γ**, **57α-δ** και **62α-δ** έναντι της επαγόμενης από ρίζες ROO[•] πρόκληση μονόκλωνων θραυσμάτων στο DNA

Προϊόν	Αναστολή (%)				
	Συγκεντρώσεις (μM)				
	5	10	20	50	100
 56α	A	A	A	9±2	13±1*
 56β	A	A	A	12±2	12±1
 56γ	A	A	A	A	9±2
 57α	A	A	A	16±1*	36±3*
 57β	A	10±2	22±1*	21±3*	25±2*
 57γ	A	A	13±2	19±1*	30±1*
 57δ	A	A	A	17±1*	19±1*
 62α	A	A	A	A	9±1*
 62β	A	A	A	13±4	19±2*
 62γ	A	13±2	11±4	19±4*	36±3*
 62δ	A	12±2	10±1	17±2*	32±2*

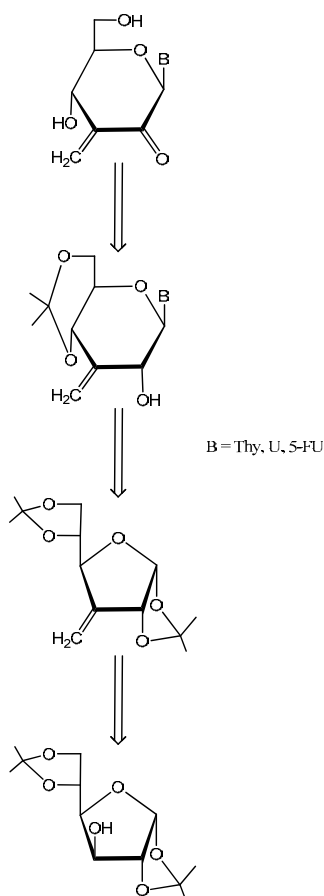
A: μη αξιοσημείωτη αναστολή (μικρότερη από 7%)

* π < 0,05 στατιστικά σημαντικό συγκρινόμενο με το control (πλασμιδιακό DNA + ROO[•])

2'-ΚΕΤΟ-3'-ΕΞΩΜΕΘΥΛΕΝΙΚΑ ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΙΚΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΤΗΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ

Σύμφωνα με τα προαναφερθέντα ερευνητικά αποτελέσματα και τις μελέτες που αφορούν τις σχέσεις δομής-δράσης των ακόρεστων κετο και εξωμεθυλενικών νουκλεοζιτών, μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι δομική απαίτηση για την εμφάνιση βιολογικής δράσης αποτελεί η ύπαρξη τόσο της κετονομάδας όσο και της εξωμεθυλενικής ομάδας στο υδατανθρακικό τμήμα των νουκλεοζιτών. Το ερώτημα που τίθεται για την περαιτέρω μελέτη και κατανόηση του μηχανισμού δράσης αυτών των νουκλεοζιτών είναι αν η ύπαρξη του διπλού δεσμού εσωτερικά ή εξωτερικά του δακτυλίου του σακχάρου, επηρεάζει τη βιολογική δράση της εξεταζόμενης ένωσης.

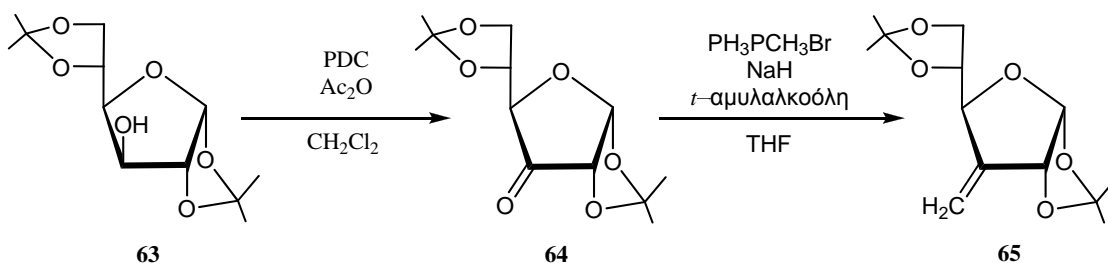
Με βάση τα ανωτέρω σχεδιάστηκε, συντέθηκε και αξιολογήθηκε η βιολογική δράση νέων τροποποιημένων νουκλεοζιτών που φέρουν κετονομάδα στην 2'-θέση του σακχάρου, εξωμεθυλένιο στην 3'-θέση του σακχάρου και θυμίνη, ουρακίλη και 5-φθορουρακίλη ως ετεροκυκλικές βάσεις.



Σχήμα 51.

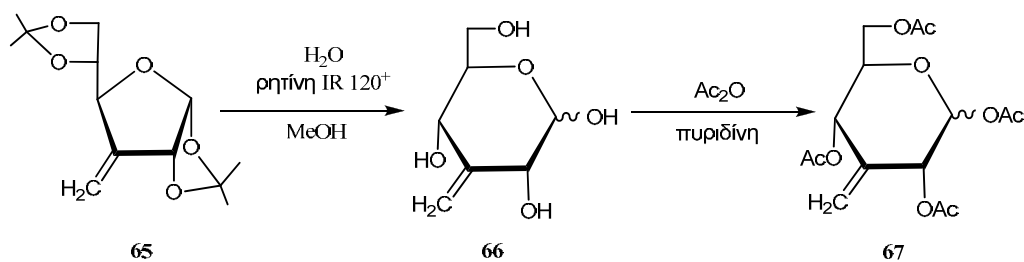
Η ρετροσυνθετική προσέγγιση για την παρασκευή των επιθυμητών 2'-κετο-3'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της γλυκόζης, περιγράφεται στο σχήμα 51. Όπως φαίνεται, για τη λήψη του τελικού κετο-εξωμεθυλενικού πυρανονουκλεοζίτη κομβικό ενδιάμεσο αποτελεί ο μερικώς προστατευμένος 3'-εξωμεθυλενικός πυρανονουκλεοζίτης. Για τη σύνθεση αυτού δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πρόδρομη ένωση το αντίστοιχο 3'-κετοπυρανονουκλεοζιτικό ανάλογο, διότι είναι ασταθές και οδηγεί σε προϊόντα αποκοδόμησης (Chirakul and Sigurdsson 2003, Liu *et al.* 2007). Το γεγονός αυτό επιβάλλει αρχικά τη σύνθεση της 3-εξωμεθυλενικής φουρανόζης και την μετέπειτα μετατροπή της στον 3'-εξωμεθυλενικό πυρανονουκλεοζίτη.

Το πρώτο στάδιο της συνθετικής διαδικασίας απεικονίζεται στο σχήμα 52 και περιλαμβάνει την οξείδωση της εμπορικά διαθέσιμης, 1,2:5,6-δισ-*O*-ισοπροπυλιδενο- α -*D*-γλυκοφουρανόζης (DAG) παρουσία PDC και Ac_2O σε διχλωρομεθάνιο (Elhalabi and Rice 2004), με την οποία λαμβάνεται η ένωση 1,2:5,6-δισ-*O*-ισοπροπυλιδενο- α -*D*-ριβοεξοφουρανοζο-3-ουλόζη (**64**). Ακολουθεί η αντίδραση Wittig επί της ένωσης **64** που περιλαμβάνει την εισαγωγή της εξωμεθυλενικής ομάδας στη 3-θέση του σακχάρου, η οποία πραγματοποιείται με προσθήκη $\text{Ph}_3\text{PCH}_2\text{Br}$, NaH σε THF και *t*-αμυλαλκοόλης (Elhalabi and Rice 2004).



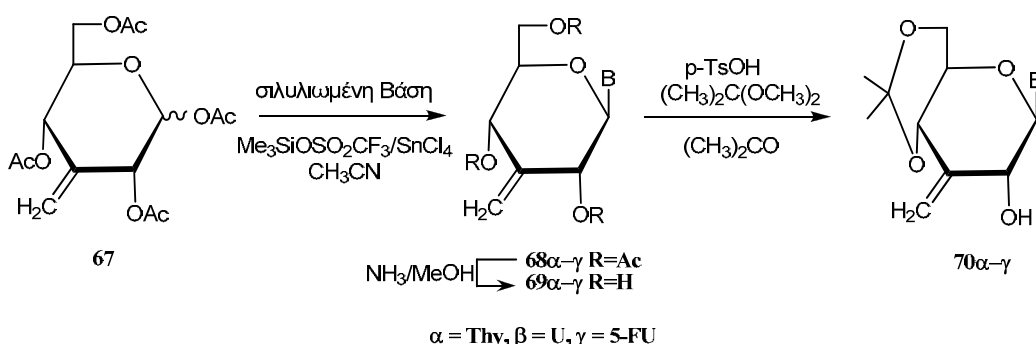
Σχήμα 52.

Η συνθετική πορεία συνεχίζεται με την υδρόλυση της φουρανόζης **65** με ένα θερμό υδατικό διάλυμα όξινης ρητίνης IR-120 H^+ , η οποία οδηγεί στο σάκχαρο **66**, το οποίο λαμβάνεται με καλή απόδοση (85%). Τέλος, με ακετυλίωση του προϊόντος **66** παρουσία Ac_2O και πυριδίνης, λαμβάνεται το επιθυμητό σάκχαρο 1,2,4,6-τετρα-*O*-ακετυλο-3-δεσοξυ-3-μεθυλενο-*D*-γλυκοπυρανόζη (**67**) (Σχήμα 53).



Σχήμα 53.

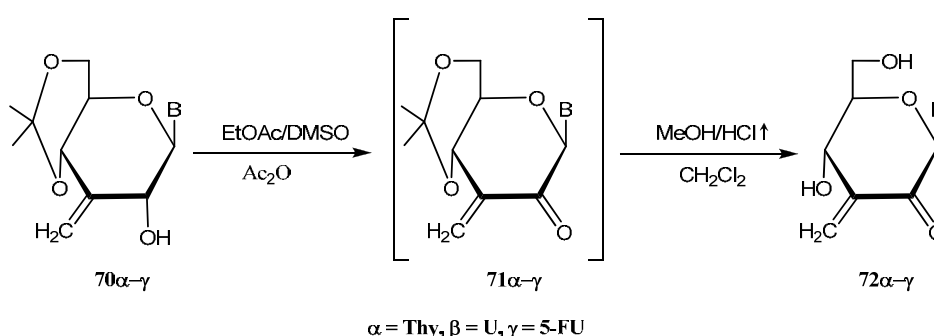
Ακολουθεί η αντίδραση σύζευξης του σακχάρου **67** με τις σιλυλιωμένες ετεροκυκλικές βάσεις θυμίνη, ουρακίλη και 5-φθοροουρακίλη, με αποτέλεσμα τη λήψη των επιθυμητών 1-(2',4',6'-τρις-*O*-ακετυλο-3'-δεσοξυ-3'-μεθυλενο- β -*D*-γλυκοπυρανοζυλο)νουκλεοζιτών της θυμίνης (**68α**), της ουρακίλης (**68β**) και της 5-φθοροουρακίλης (**68γ**) (Σχήμα 54). Στη συνέχεια, πραγματοποιείται απακετυλίωση των ενώσεων **69α-γ** με κατεργασία με μεθανολική αμμωνία, λαμβάνοντας τα πλήρως αποπροστατευμένα παράγωγα **69α-γ**, σε πολύ καλές αποδόσεις. Η εκλεκτική προστασία των υδροξυλίων στις 4',6'-θέσεις του σακχάρου των νουκλεοζιτών **69α-γ** με μία ισοπροπυλιδενική ομάδα, πραγματοποιείται με κατεργασία τους με 2,2-διμεθοξυπροπάνιο σε ακετόνη, οδηγώντας στα παράγωγα **70α-γ** με αποδόσεις, 72%, 75% και 68%, αντίστοιχα. Στο φάσμα ^1H NMR των νουκλεοζιτών **70α-γ** διακρίνονται στις περιοχές των 5.50-5.34 ppm και των 5.35-5.32 ppm δύο απλές κορυφές, οι οποίες αντιστοιχούν στα σήματα των πρωτονίων της εξωμεθυλενικής ομάδας.



Σχήμα 54.

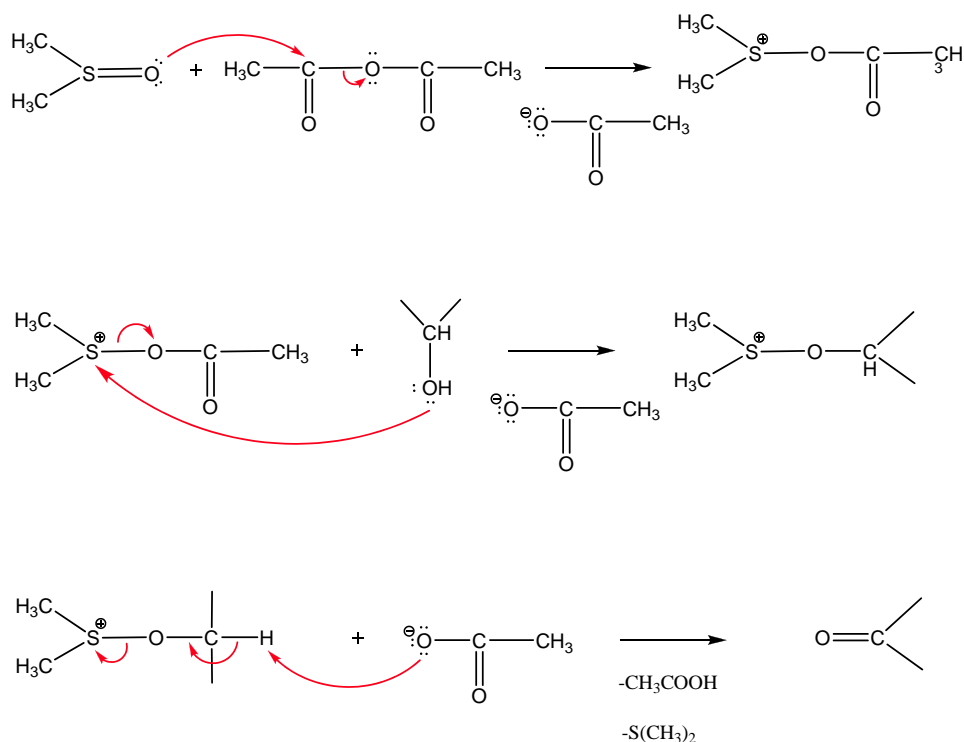
Οι επιθυμητοί 2'-κετο-3'-εξωμεθυλενικοί νουκλεοζίτες **71α-γ** λαμβάνονται με οξείδωση των παραγώγων **70α-γ** (Σχήμα 55) με επίδραση DMSO, Ac_2O και οξικού αιθυλεστέρα (Albright and Goldman 1965). Είναι σημαντικό να τονιστεί, ότι η συγκεκριμένη αντίδραση οξείδωσης αποτελεί ένα κρίσιμο στάδιο της συνθετικής

πορείας. Αυτό που παρατηρήθηκε είναι ότι η αντίδραση των ενώσεων **70α-γ** με 12-I-5-periodinane (Dess and Martin 1983) οδήγησε μεν στις επιθυμητές ενώσεις **71α-γ**, αλλά ο διαχωρισμός τους από το ιώδο-παραπροϊόν δεν κατέστη δυνατός. Επίσης, η κατεργασία των ενώσεων **70α-γ** με DMSO και δικυκλοεξυλοκαρβοδιιμίδιο (DCC) (Pfitzner and Moffatt 1965, Cheng *et al.* 1989, Cook and Moffatt 1967), με τριοξείδιο του χρωμίου, πυριδίνη και Ac₂O (Garegg and Samuelsson 1978, Hansske *et al.* 1984), με DMSO και οξαλυλοχλωρίδιο (Omura and Swern 1978, Perlman 1993, Ueda *et al.* 1985), και τέλος με PDC και 3E μοριακά κόσκινα (Serafinowski and Barnes 1996) οδήγησαν σε μίγματα αδιαχώριστων παραπροϊόντων.



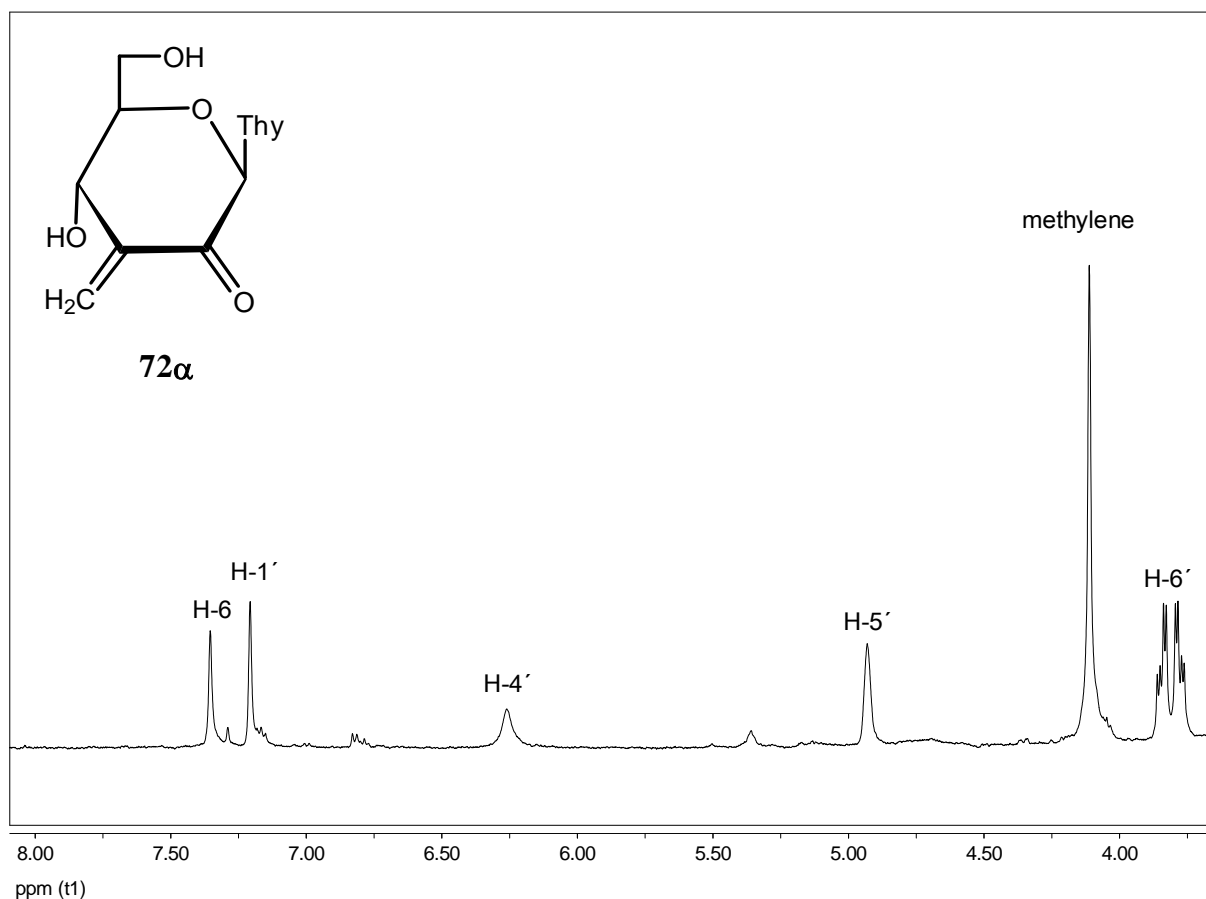
Σχήμα 55.

Ο μηχανισμός της επιτυχημένης οξειδωσης των ενώσεων **70α-γ** με DMSO, Ac₂O και EtOAc απεικονίζεται στο σχήμα 56. Σύμφωνα με τους Albright και Goldman (Albright and Goldman 1965), αρχικά πραγματοποιείται πυρηνόφιλη προσβολή του οξυγόνου του DMSO στον καρβοξυλικό άνθρακα του Ac₂O. Το ακυλοσουλφονιακό άλας που σχηματίζεται, προσβάλλεται πυρηνόφιλα από την αλκοόλη σε υψηλή θερμοκρασία, όπου μετά από απομάκρυνση του α-πρωτονίου από το οξικό ανιόν προκύπτει η επιθυμητή κετόνη, καθώς και το πολύ χαρακτηριστικό για την δυσάρεστη μυρωδιά του, διμεθυλοσουλφίδιο.



Σχήμα 56.

Ακολουθεί η κατεργασία των ενώσεων **71α-γ**, με αέριο υδροχλώριο σε μεθανόλη (Egroun *et al.* 1993), η οποία οδηγεί στις ενώσεις **72α-γ** σε αποδόσεις 63%, 60% και 55%, αντίστοιχα. Αξιοσημείωτο είναι τέλος, ότι η κατεργασία των ενώσεων **71α-γ** με μίγμα μυρμηκικού οξέος και διχλωρομεθανίου, με τριφθοροοξικό οξύ σε μεθανόλη, με PPTS σε μεθανόλη (Van Rijsbergen *et al.* 1983), με όξινη ρητίνη IR-120 H⁺ (Kim *et al.* 2004), και τέλος με π-τολουολοσουλφονικό οξύ σε μεθανόλη, δεν οδήγησαν στις επιθυμητές ενώσεις **72α-γ**, παρά μόνο σε ανεπιθύμητα παραπροϊόντα.

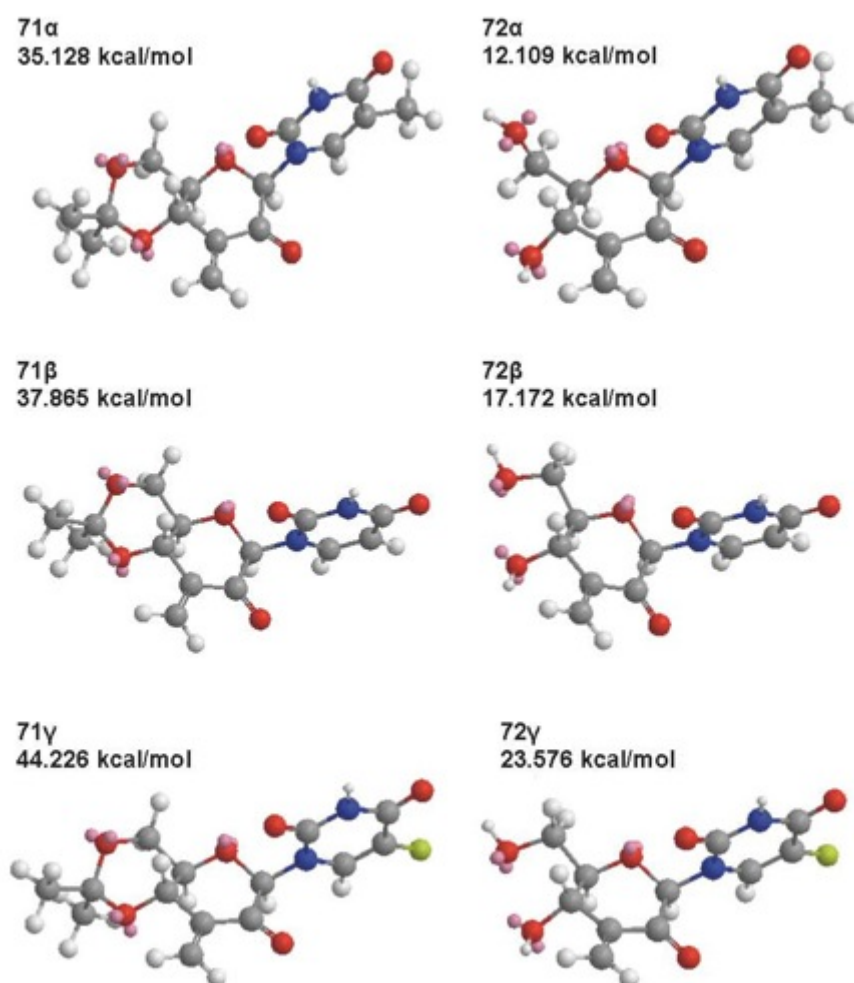


Σχήμα 57.

Από τη μελέτη του φάσματος ¹H-NMR του κετο-εξωμεθυλενικού νουκλεοζίτη **72α** σε δευτεριωμένη ακετόνη (Σχήμα 57), εμφανίζεται το σήμα του πρωτονίου H-1' γύρω στα 7.21 ppm ως απλή κορυφή, επιβεβαιώνοντας την έλλειψη του πρωτονίου στη θέση 2' του σακχάρου. Η ευρεία απλή κορυφή γύρω στην περιοχή των 6.22 ppm, αντιστοιχεί στο σήμα του πρωτονίου H-4' του σακχάρου, ενώ η επόμενη ευρεία απλή κορυφή που διακρίνεται γύρω στην περιοχή των 4.98 ppm, αντιστοιχεί στο σήμα του πρωτονίου H-5' του σακχάρου. Τα δύο πρωτόνια της εξωμεθυλενικής ομάδας εμφανίζονται ως μία απλή κορυφή γύρω στην περιοχή των 4.12 ppm. Τέλος, διακρίνεται το σήμα των δύο πρωτονίων H-6' του υδατανθρακικού δακτυλίου, γύρω στα 3.88-3.76 ppm ως πολλαπλή κορυφή.

Αυτό που παρατηρήθηκε κατά τη συνθετική διαδικασία ήταν η αστάθεια κατά την αποθήκευσή των ισοπροπυλιδενικών κετο-εξωμεθυλενικών νουκλεοζιτών **71α-γ**. Συνέπεια αυτού ήταν η άμεση μετατροπή τους στους αποπροστατευμένους κετο-εξωμεθυλενικούς νουκλεοζίτες **72α-γ**, οι οποίοι αποδείχθηκαν πιο σταθεροί. Για να υπολογιστεί η δομή και η τιμή της ελάχιστης ενέργειας των νέων ενώσεων **71α-γ** και **72α-γ**, σχεδιάστηκαν και προσαρμόστηκαν αυτόματα στον τρισδιάστατο χώρο, με το

λογισμικό σχεδιασμού ChemBio 3D Ultra 11.0.2. Στην εικόνα 2, απεικονίζονται αριστερά οι ενώσεις **71α-γ** και δεξιά οι ενώσεις **72α-γ**. Με αυτή τη μέθοδο υπολογίστηκαν οι ελάχιστες ενέργειες των μορίων **71α** (35.128 kcal/mol), **71β** (37.865 kcal/mol) και **71γ** (44.226 kcal/mol), καθώς και των ενώσεων **72α** (12.109 kcal/mol), **72β** (17.172 kcal/mol) και **72γ** (23.576 kcal/mol). Στα ανωτέρω δεδομένα μπορεί να οφείλεται ένα μέρος της αστάθειας που χαρακτηρίζει τους νέους νουκλεοζίτες **71**.



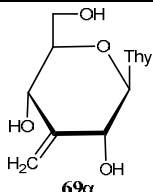
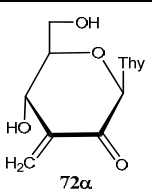
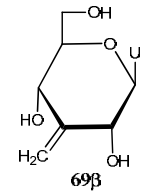
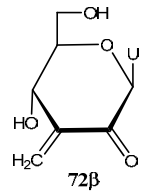
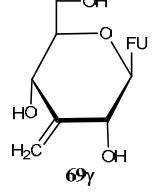
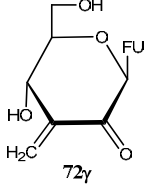
Εικόνα 2. Οι ενεργειακές διαμορφώσεις των ενώσεων **71α-γ** (αριστερά) και **72α-γ** (δεξιά).

Αντιική και αντικαρκινική δράση των 2'-κετο-3'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της γλυκόζης

Τα νεοσυντιθέμενα πυρανονουκλεοζιτικά παράγωγα της γλυκόζης μελετήθηκαν ως προς την αντιική και αντικαρκινική τους δράση. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Ιολογίας και Χημειοθεραπείας, στο Βέγγιο.

Οι νέες ενώσεις εξετάστηκαν για την πιθανή ανασταλτική τους δράση έναντι του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων λευχαιμίας (L1210), των ανθρώπινων Τ-λεμφοκυττάρων CEM, καθώς επίσης και των ανθρώπινων τραχηλικών καρκινικών κυττάρων (HeLa).

Πίνακας 12. Ανασταλτική δράση (IC₅₀, μΜ) των ενώσεων **69α-γ** και **72α-γ** έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων λευχαιμίας (L1210), των ανθρώπινων Τ-λεμφοκυττάρων CEM και των ανθρώπινων τραχηλικών καρκινικών κυττάρων (HeLa).

Προϊόν	IC ₅₀ (μΜ)						
	L1210	CEM	HeLa	Προϊόν	L1210	CEM	HeLa
 69α	>200	>200	>200	 72α	77±24	126±34	73
 69β	>200	>200	>200	 72β	84±10	101±14	92
 69γ	>200	>200	>200	 72γ	0.56±0.21	9.4±3.0	1.5±0.0
5-FU	0.49±0.13	18±5	0.54±0.12				

Από τις τιμές IC₅₀ του πίνακα 12, προκύπτει το συμπέρασμα ότι οι κετο εξωμεθυλενικοί νουκλεοζίτες **72α-γ** παρουσίασαν αυξημένη κυτταροστατική δράση σε σχέση με τους κορεσμένους εξωμεθυλενικούς νουκλεοζίτες **69α-γ**, γεγονός που αποδεικνύει ότι η παρουσία της κετονομάδας στο τμήμα του σακχάρου είναι απολύτως αναγκαία. Χαρακτηριστική είναι η αυξημένη κυτταροτοξική δράση που εμφάνισε ο κετο-εξωμεθυλενικός νουκλεοζίτης της 5-φθοροουρακίλης **72γ**. Οι νέοι

πυρανονουκλεοζίτες **69α-γ** και **72α-γ** δεν παρουσίασαν αντιική δράση έναντι μίας σειράς DNA και RNA ιών.

Από τα αποτελέσματα που ελήφθησαν, διαπιστώθηκε ότι απαραίτητη δομική προϋπόθεση για την εμφάνιση βιολογικής δράσης, αποτελεί η ύπαρξη του εξωμεθυλενικού-κετο συστήματος, στο τμήμα του σακχάρου των νουκλεοζιτών. Εκτιμώντας ότι ο τρόπος δράσης αυτών των αναλόγων είναι ακόμα ασαφής, το εξωμεθυλενικό-κετο σύστημα θα μπορούσε να λειτουργήσει ως δέκτης μιας αντίδρασης συζυγούς προσθήκης κατά Michael.

III. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Βασιζόμενοι στην αντικαρκινική, αντιική και αντιβιοτική δράση των τροποποιημένων νουκλεοζιτών με εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο, στις ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες των ακόρεστων και κορεσμένων κετοπυρανονουκλεοζιτών καθώς και στην αξιοσημείωτη δράση των φουρανονουκλεοζιτών που φέρουν εξωμεθυλένιο θεωρήθηκε ενδιαφέρουσα η σύνθεση και βιολογική αποτίμηση νέων:

- κορεσμένων και ακόρεστων εξωμεθυλενικών και κετο πυρανονουκλεοζιτών
- κορεσμένων και ακόρεστων εξωμεθυλενικών και κετο πυρανονουκλεοζιτών που δεν φέρουν υδροξυμεθυλο-ομάδα στη 5'-θέση του σακχάρου
- κετο-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτών

Η συνθετική διαδικασία άρχισε με την παρασκευή των κορεσμένων και ακόρεστων 4'-κετο και 4'-κετο εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτών. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε η μεταφορά της κετονομάδας και της εξωμεθυλενικής ομάδας στη 2'-θέση του σακχάρου των νουκλεοζιτών, με στόχο την περαιτέρω διερεύνηση της σχέσης δομής-δράσης τους. Οι βιολογικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στις νέες ενώσεις αποτέλεσαν το έναυσμα για τη σύνθεση και τη βιολογική αποτίμηση μίας νέας σειράς 4'-κετο ή 4'-εξωμεθυλενικών πεντοπυρανονουκλεοζιτών, που δεν φέρουν υδροξυμεθυλο-ομάδα στη 5'-θέση του υδατανθρακικού τμήματος. Για ακόμη μία φορά μεταφέρθηκε η κετονομάδα και η εξωμεθυλενική ομάδα στη 2'-θέση του σακχάρου και συνδυάστηκε με την έλλειψη της υδροξυμεθυλο-ομάδας στη 5'-θέση του υδατανθρακικού τμήματος. Τέλος, πραγματοποιήθηκε και η σύνθεση νέων πυρανονουκλεοζιτών που φέρουν κετονομάδα στη 2'-θέση σε συνδυασμό με εξωμεθυλένιο στη 3'-θέση του σακχάρου.

Οι βιολογικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν, απέδειξαν ότι οι νέοι κετο και εξωμεθυλενικοί νουκλεοζίτες διαθέτουν ενδιαφέρουσες αντιικές και αντικαρκινικές ιδιότητες. Ειδικότερα, αποδείχθηκε ότι τα παραπάνω νουκλεοζιτικά ανάλογα μπορούν να θεωρηθούν ελπιδοφόρα για την ανάπτυξη αντι-εντεροϊικών φαρμάκων καθώς και ότι αποτελούν εν δυνάμει αντι-αδενοκαρκινικούς παράγοντες. Επιπλέον τα νέα μόρια παρουσίασαν αξιοσημείωτη κυτταροτοξική δράση έναντι διαφόρων καρκινικών κυτταρικών σειρών και πιο συγκεκριμένα έναντι των κυττάρων

καρκινώματος του στήθους (MCF-7), αδenoκαρκινώματος του παχέος εντέρου (Caco-2), εμβρυικών κυττάρων νεφρών πιθήκου (MA 104) και μελανώματος του δέρματος. Από τα παραπάνω αποτελέσματα παρατηρήθηκε ότι ορισμένα προϊόντα παρουσιάζουν εκλεκτική δράση έναντι συγκεκριμένων καρκινικών κυτταρικών σειρών, γεγονός που εξηγείται με το ότι ο μηχανισμός της ανασταλτικής δράσης, ιδιαίτερα στα ένζυμα των καρκινογενών κυττάρων, δεν είναι πάντα ο ίδιος. Επιπλέον αποδείχθηκε, ότι η ύπαρξη ενός πρωτοταγούς ελεύθερου υδροξυλίου στο σάκχαρο του νουκλεοζίτη δεν αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την εμφάνιση των βιολογικών τους ιδιοτήτων. Το γεγονός αυτό συντέλεσε στη σύνθεση και τη βιολογική αποτίμηση πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων που δε φέρουν υδροξυμεθυλο-ομάδα στο τμήμα του σακχάρου. Οι νέοι πυρανονουκλεοζίτες εμφάνισαν αυξημένη ανασταλτική δράση έναντι του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων λευχαιμίας (L1210), των ανθρώπινων T-λεμφοκυττάρων Molt4/C8 και CEM, των καρκινικών κυττάρων MCF7 και των κυττάρων Caco-2. Ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα είναι η αυξημένη κυτταροτοξική δράση όλων των νουκλεοζιτών της 5-φθοροουρακίλης και η διαπίστωση ότι τα συγκεκριμένα νουκλεοζιτικά ανάλογα δρουν ως προφάρμακα της 5-φθοροουρακίλης.

Τέλος, από τις αντοξειδωτικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν επί των νέων ενώσεων προέκυψε το συμπέρασμα ότι η παρουσία του διπλού δεσμού σε α,β -θέση ως προς την εξωμεθυλενική ομάδα ή την κετονομάδα αυξάνει την παρατηρούμενη αντιοξειδωτική δράση.

IV. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΓΕΝΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC: Thin Layer Chromatography)

Ο έλεγχος της καθαρότητας των ενώσεων και η παρακολούθηση της πορείας των αντιδράσεων έγινε με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC) σε πλάκες αλουμινίου επιστρωμένες με silica gel F₂₅₄ (0.2 mm) της εταιρίας E. Merck. Οι κηλίδες των χρωματογραφημάτων (TLC) είναι ορατές υπό λυχνία υπεριώδους (UV) και με ψεκασμό με διάλυμα θειικού οξέος 30% και θέρμανση στους 120 °C.

Εξαίρεση αποτελούν οι κετονουκλεοζίτες, τα TLC χρωματογραφήματα των οποίων, ψεκάζονται με διάλυμα 2,4-δινιτροφαινυλδραζίνης (0.1%).

Χρωματογραφία στήλης

Η χρωματογραφία στήλης υπό πίεση (flash column chromatography), επιτεύχθηκε με την εισαγωγή αέρα υπό πίεση (Still *et al.* 1978) εντός στήλης πακτωμένης με silica gel 60 (230-400 mesh) της εταιρίας E. Merck. Τα συστήματα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκαν είναι τα παρακάτω:

Σύστημα	A	οξικός αιθυλεστέρας	
Σύστημα	B	οξικός αιθυλεστέρας/ <i>n</i> -εξάνιο	90/10
Σύστημα	Γ	οξικός αιθυλεστέρας/ <i>n</i> -εξάνιο	80/20
Σύστημα	Δ	οξικός αιθυλεστέρας/ <i>n</i> -εξάνιο	70/30
Σύστημα	E	οξικός αιθυλεστέρας/ <i>n</i> -εξάνιο	60/40
Σύστημα	ΣΤ	οξικός αιθυλεστέρας/ <i>n</i> -εξάνιο	50/50
Σύστημα	Z	οξικός αιθυλεστέρας/ <i>n</i> -εξάνιο	40/60
Σύστημα	H	οξικός αιθυλεστέρας/ <i>n</i> -εξάνιο	30/70
Σύστημα	Θ	οξικός αιθυλεστέρας/ <i>n</i> -εξάνιο	10/90
Σύστημα	I	οξικός αιθυλεστέρας/μεθανόλη	80/20
Σύστημα	K	οξικός αιθυλεστέρας/μεθανόλη	90/10
Σύστημα	Λ	οξικός αιθυλεστέρας/μεθανόλη	95/5
Σύστημα	M	οξικός αιθυλεστέρας/μεθανόλη	98/2
Σύστημα	N	διχλωρομεθάνιο/μεθανόλη	90/10
Σύστημα	Ξ	διχλωρομεθάνιο/μεθανόλη	95/5

Μέτρηση της οπτικής ενεργότητας

Οι μετρήσεις της γωνίας στροφής πραγματοποιήθηκαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος με τη βοήθεια του πολωσιμέτρου, τύπου Autorol I.

Φάσματα υπεριώδους ακτινοβολίας

Τα φάσματα υπεριώδους ακτινοβολίας ελήφθησαν σε φασματοφωτόμετρο τύπου PG Instruments Ltd. Ο μοριακός συντελεστής απόσβεσης ϵ , προσδιορίστηκε από την εξίσωση

$$\epsilon = \log (I_0 / I) / (C \times d)$$

όπου $\log (I_0 / I)$ = οπτική πυκνότητα μετρημένη στο μέγιστο της απορρόφησης (λ_{\max})

C = η συγκέντρωση της ουσίας σε mol/L

d = το μήκος της κυψελίδας σε cm

Φάσματα NMR

Τα φάσματα πρωτονίου NMR ($^1\text{H-NMR}$) καταγράφηκαν στα 500 MHz, ενώ τα φάσματα άνθρακα ($^{13}\text{C-NMR}$) καταγράφηκαν στα 125 MHz, σε φασματογράφο Bruker DRX 500. Ως διαλύτης χρησιμοποιήθηκε το δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3) ή η δευτεριωμένη μεθανόλη (CD_3OD) ή η δευτεριωμένη ακετόνη [$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$]. Οι χημικές μετατοπίσεις δ αναφέρονται ως προς το τετραμεθυλοσιλάνιο (TMS), οι δε τιμές των σταθερών σύζευξης J εκφράζονται σε Hz.

Φάσματα μάζας (Electron Spray Ionisation Mass Spectra, ESIMS)

Οι μετρήσεις μάζας έγιναν σε φασματόμετρο τύπου Finnigan-MAT TSQ 7000, με μέθοδο ιονισμού τον ψεκασμό (electron spray ionization ESI). Η ακίδα διατηρήθηκε σε τάση 4.5 V, η ταχύτητα ροής του αζώτου στα 50 psi, η ταχύτητα ροής της αντλίας 3 $\mu\text{L}/\text{min}$ και η θερμοκρασία του τριχοειδούς ήταν 200 $^\circ\text{C}$. Ο χρησιμοποιούμενος διαλύτης ήταν νερό και το εύρος των μαζών ήταν μεταξύ 0-1600.

Προσδιορισμός των σημείων τήξεως

Τα σημεία τήξης των μη υγροσκοπικών στερεών καταγράφηκαν σε όργανο Mel-Temp Apparatus και δεν είναι διορθωμένα.

Ξήρανση διαλυτών

Οι αντιδράσεις που περιελάμβαναν άνυδρους διαλύτες ή ουσίες ευαίσθητες στην ατμόσφαιρα έλαβαν χώρα κάτω από αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου.

Το διχλωρομεθάνιο αποστάχθηκε παρουσία πεντοξειδίου του φωσφόρου και το απόσταγμα συλλέχθηκε σε φιάλη που περιείχε μοριακά κόσκινα 4Å, όπου και αποθηκεύτηκε. Το ακετονιτρίλιο, το τολουόλιο και το *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο αποστάχθηκαν υπεράνω υδριδίου του ασβεστίου και το απόσταγμα συλλέχθηκε σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 3Å, όπου και αποθηκεύτηκε. Η πυριδίνη αποστάχθηκε παρουσία υδροξειδίου του καλίου και το απόσταγμα συλλέχθηκε σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 4Å, όπου και αποθηκεύτηκε. Το THF αποστάχθηκε από νάτριο/βενζοφαινόνη, αμέσως πριν από τη χρήση του. Τέλος, το DMSO αποθηκεύτηκε σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 3Å.

Στοιχειακή ανάλυση

Οι στοιχειακές αναλύσεις των ουσιών έγιναν με τη χρήση αυτοματοποιημένων αναλυτών της εταιρίας Perkin-Elmer 2400 (% προσδιορισμός C, H και N) και οι τιμές κυμαίνονται σε εύρος $\pm 0.5\%$ των θεωρητικών.

Σύνθεση των 4'-κετο και 4'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της μαννόζης

1,2,3,4,6-Πεντα-Ο-ακετυλο-D-μαννοπυρανόζη (2) (Foster *et al.* 1967, Tewson, Welsh 1978)

Σε διάλυμα της D-μαννόζης (1) (5.60 g, 31.1 mmol) σε πυριδίνη (136 mL) προστίθεται Ac₂O (67.78 mL, 40.2 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 1h. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC) το διάλυμα ψύχεται στους 0 °C, και προστίθεται μεθανόλη (30 mL). Στη συνέχεια, οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό, το υπόλειμμα διαλύεται σε διχλωρομεθάνιο και εκχυλίζεται αρχικά με κορεσμένο διάλυμα NaHSO₄ και στη συνέχεια με κορεσμένο διάλυμα NaHCO₃. Η οργανική φάση ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το επιθυμητό προϊόν **2** (12.32 g, 98%) παραλαμβάνεται ως παχύρρευστο υποκίτρινο έλαιο και χρησιμοποιείται στο επόμενο στάδιο χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

ESI-MS (m/z): 391.384 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₆H₂₂O₁₁) C. H

Υπολ. (%)	C : 49.23	H : 5.68
Ευρ. (%)	C : 49.41	H : 5.31

Σύνθεση των παραγώγων της ουρακίλης

1-(2',3',4',6'-Τετρα-Ο-ακετυλο-α-D-μαννοπυρανοζυλ)ουρακίλη (3)

Διάλυμα αποτελούμενο από ουρακίλη (4.96 g, 44.2 mmol), HMDS (11 mL, 52.8 mmol) και σακχαρίνη (0.37 g, 2.03 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (152 mL) θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 20 λεπτά στους 120 °C και στη συνέχεια προστίθεται η 1,2,3,4,6-πεντα-Ο-ακετυλο-D-μαννοπυρανόζη (**2**) (12.32 g, 31.6 mmol) καθώς και ο Me₃SiOSO₂CF₃ (8 mL, 44.2 mmol). Ακολουθεί θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα στους 80 °C για περίπου 2h (TLC), ψύξη του μίγματος σε θερμοκρασία δωματίου, προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με EtOAc (1000 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (20 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το

προκύπτουν έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Δ. Το επιθυμητό προϊόν **3** (12.56 g, 90%) παραλαμβάνεται ως παχύρρευστο άχρωμο έλαιο.

$$[\alpha]_D^{22} = + 45.5^\circ \text{ (c = 0.230 χλωροφόρμιο)}$$

$$\lambda_{\max} 261 \text{ nm (}\epsilon 7874\text{)}$$

ESI-MS (m/z): 443.45 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₈H₂₂N₂O₁₁) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 48.87	H : 5.01	N : 6.33
Ευρ. (%)	C : 48.95	H : 5.32	N : 6.21

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.42 (br s, 1H, NH), 7.36 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.2$ Hz, H-6), 6.14 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.6$ Hz, H-1'), 5.78 (d, 1H, H-5), 5.48 (t, 1H, $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 3.2$ Hz, H-3'), 5.35 (dd, 1H, H-2'), 4.97 (d, 1H, H-4'), 4.63 (dd, 1H, $J_{5',6b} = 9.8$, $J_{6b',6a'} = 13.5$ Hz, H-6b'), 4.36-4.31 (m, 2H, $J_{5',6a'} = 5.3$ Hz, H-5', H-6a'), 2.21, 2.18, 2.10, 1.99 (4s, 12H, 4OAc).

1-(α-D-Μαννοπυρανοζυλ)ουρακίλη (**4**)

Διάλυμα της ένωσης **3** (12.56 g, 28.42 mmol) σε μεθανολική αμμωνία αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 12 h. Ο διαλύτης στη συνέχεια απομακρύνεται υπό κενό και το προκύπτουν έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Ι, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **4** (6.80 g, 88%) με λευκή αφρώδη υφή.

$$[\alpha]_D^{22} = + 34.7^\circ \text{ (c = 0.150 μεθανόλη)}$$

$$\lambda_{\max} 260 \text{ nm (}\epsilon 6984\text{)}$$

ESI-MS (m/z): . 275.38 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₀H₁₄N₂O₇) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 43.80	H : 5.15	N : 10.22
Ευρ. (%)	C : 43.96	H : 5.32	N : 10.01

1-(2',3'-O-Ισοπροπυλιδανο-α-D-μαννοπυρανοζυλ)ουρακίλη (5)

Σε διάλυμα του προϊόντος **4** (6.80 g, 25.0 mmol) με άνυδρη ακετόνη (50 mL) προστίθεται (CH₃)₂C(OCH₃)₂ (50 mL) και *p*-TsOH (0.98 g, 5.15 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά. Στη συνέχεια προστίθεται νερό (100 mL) και το μίγμα αναδεύεται για περίπου 16h (TLC). Στη συνέχεια προστίθεται τριαιθυλαμίνη μέχρι ουδέτερου pH (pH ≤ 7) και οι διαλύτες απομακρύνονται υπό υψηλό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα A, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **5** (6.30 g, 81%) με λευκή αφρώδη υφή.

$$[\alpha]_D^{22} = + 25.8^\circ \text{ (c = 0.280 μεθανόλη)}$$

$$\lambda_{\max} 260 \text{ nm (}\epsilon 6755\text{)}$$

ESI-MS (m/z): . 315.34 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₃H₁₈N₂O₇) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 49.68	H : 5.77	N : 8.91
Ευρ. (%)	C : 49.45	H : 5.34	N : 8.63

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.40 (br s, 1H, NH), 7.35 (d, 1H, *J*_{5,6} = 8.1 Hz, H-6), 5.79 (d, 1H, H-5), 5.69 (d, 1H, *J*_{1',2'} = 6.8 Hz, H-1'), 4.55-4.47 (m, 2H, H-2', H-3'), 4.22 (t, 1H, *J*_{3',4'} = *J*_{4',5'} = 7.1 Hz, H-4'), 3.87-3.76 (m, 3H, H-5', H-6a', H-6b'), 1.52, 1.39 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(2',3'-Ο-Ισοπροπυλιδενο-6'-Ο-τριτυλο-α-D-μαννοπυρανοζυλ)ουρακίλη (6)

Σε διάλυμα της ένωσης **5** (1.0 g, 3.2 mmol) σε άνυδρη πυριδίνη (16 mL), προστίθεται TrCl (1.15 g, 4.1 mmol) και καταλυτική ποσότητα DMAP (7.8 mg, 0.06 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 4h. Ακολουθεί προσθήκη μεθανόλης (0.5 mL) και στη συνέχεια οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Δ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **6** (1.44 g, 82%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 143-146 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = + 18.2^{\circ}$ (c = 0.1 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ϵ 8432)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 557.81 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₃₂H₃₂N₂O₇) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 69.05	H : 5.79	N : 5.03
Ευρ. (%)	C : 69.21	H : 5.52	N : 5.21

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.71 (br s, 1H, NH), 7.40 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.2$ Hz, H-6), 7.32-7.21 (m, 15H, 3C₆H₅), 5.75 (d, 1H, H-5), 5.70 (d, 1H, $J_{1',2'} = 6.5$ Hz, H-1'), 4.46-4.34 (m, 2H, H-2', H-3'), 4.09 (m, 1H, H-4'), 3.84-3.77 (m, 1H, H-5'), 3.46-3.32 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 1.44, 1.31 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(2',3'-Ο-Ισοπροπυλιδενο-6'-Ο-τριτυλο-α-D-λυξο-εξωπυρανοζυλο-4'-ουλοζ)ουρακίλη (7)

Σε διάλυμα της ένωσης **6** (1.44 g, 2.6 mmol) σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (26 mL) προστίθεται PDC (1.17 g, 3.1 mmol) και Ac₂O (0.73 mL, 7.74 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 4h. Στη συνέχεια

προστίθεται EtOAc (3 mL) και το προκύπτον παχύρρευστο έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία σήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Γ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **7** (0.99 g; 70%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 115-118 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = + 4.5^0$ (c = 0.15 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ϵ 7858)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 555.43 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₃₂H₃₀N₂O₇) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 69.30	H : 5.45	N : 5.05
Ευρ. (%)	C : 69.17	H : 5.21	N : 5.28

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.70 (br s, 1H, NH), 7.36 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.2$ Hz, H-6), 7.24-7.15 (m, 15H, 3C₆H₅), 5.72 (d, 1H, H-5), 5.56 (d, 1H, $J_{1',2'} = 3.6$ Hz, H-1'), 4.88 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 7.4$ Hz, H-2'), 4.65 (d, 1H, H-3'), 4.09 (dd, 1H, $J_{5',6a'} = 2.6$, $J_{5',6b'} = 5.6$ Hz, H-5'), 3.64 (dd, 1H, $J_{6a',6b'} = 10.5$ Hz, H-6a'), 3.38 (dd, 1H, H-6b'), 1.48, 1.33 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(4'-Δεσοξυ-2',3'-Ο-ισοπροπυλιδενο-4'-μεθυλενο-6'-Ο-τριτυλο-α-D-λυξο-εξω-πυρανοζυλ)ουρακίλη (8)

Διάλυμα αποτελούμενο από μεθυλοτριφαίνυλο βρωμιούχο φωσφόριο (2.11 g, 5.9 mmol) και *t*-αμυλαλκοόλη (0.71 mL, 6.4 mmol) σε άνυδρο THF (17 mL) προστίθεται NaH (0.15 g, 60% σε λάδι, 6.4 mmol) στους 0 °C υπό άζωτο, και το εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για περίπου 2h. Στο προκύπτον χαρακτηριστικού κίτρινου χρώματος μίγμα προστίθεται στάγδην διάλυμα της ένωσης **7** (0.99 g, 1.8 mmol) σε άνυδρο THF (2.8 mL) στους 0 °C και αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος NaHCO₃ και εκχύλιση με EtOAc (600 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (40

mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα ΣΤ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **8** (0.72 g, 73%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 107-112 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = + 29.8^0$ (c = 0.15 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ϵ 12469)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 553.72 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₃₃H₃₂N₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 71.72	H : 5.84	N : 5.07
Ευρ. (%)	C : 71.38	H : 5.65	N : 5.30

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.74 (br s, 1H, NH), 7.40 (d, 1H, $J_{6,5} = 8.1$ Hz, H-6), 7.31-7.19 (m, 15H, 3C₆H₅), 5.80 (d, 1H, $J_{1',2'} = 6.7$ Hz, H-1'), 5.73 (d, 1H, H-5), 5.40, 5.26 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.72 (d, 1H, $J_{2',3'} = 5.8$ Hz, H-3'), 4.56 (dd, 1H, H-2'), 4.21 (dd, 1H, $J_{5',6a'} = 5.5$, $J_{5',6b'} = 8.1$ Hz, H-5'), 3.62 (dd, 1H, $J_{6a',6b'} = 10.2$ Hz, H-6a'), 3.32 (dd, 1H, H-6b'), 1.36, 1.33 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(4'-Δεσοξυ-4'-μεθυλενο- α -D-λυξο-εξωπυρανοζυλ)ουρακίλη (**9**)

Η ένωση **8** (0.72 g, 1.30 mmol), η οποία λαμβάνεται από την προηγούμενη αντίδραση, διαλύεται σε 5.58 mL (90%) TFA σε μεθανόλη. Το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και ακολουθεί η απομάκρυνση της μεθανόλης στους 40 °C υπό υψηλό κενό, ώστε να απομακρυνθούν και τα ίχνη του TFA. Το επιθυμητό προϊόν **9** (0.30 g, 85%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 178-180 °C (δισουλφαιθέρα)

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -72.7^{\circ} \quad (c = 0.1 \text{ μεθανόλη})$$

λ_{max} 261 nm (ϵ 5418)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 271.32 ($M+H^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($C_{11}H_{14}N_2O_6$) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 48.89	H : 5.22	N : 10.37
Ευρ. (%)	C : 48.57	H : 5.43	N : 10.21

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD)

δ 7.67 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 6.15 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.5$ Hz, H-1'), 5.72 (d, 1H, H-5), 5.23, 5.15 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.47-4.43 (m, 2H, H-2', H-3'), 4.25 (dd, 1H, $J_{5',6'b} = 8.9$, $J_{6a',6b'} = 12.2$ Hz, H-6b'), 3.73 (dd, 1H, $J_{5',6a'} = 3.6$ Hz, H-5'), 3.53 (dd, 1H, H-6a').

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD)

δ 156.2, 143.2, 140.3, 137.1, 114.3, 92.6, 90.8, 72.6, 67.1, 64.5, 57.6.

1-(4'-Δεσοξυ-4'-μεθυλενο-6'-Ο-τριτυλο-α-D-λυξο-εξωπυρανοζυλ)ουρακίλη (10)

Σε διάλυμα της ένωσης **9** (0.30 g, 1.1 mmol) σε άνυδρη πυριδίνη (5 mL), προστίθεται TiCl_4 (0.40 g, 1.4 mmol) και καταλυτική ποσότητα της DMAP (2.7 mg, 0.02 mmol). Το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για μία νύχτα. Ακολουθεί προσθήκη μεθανόλης (0.5 mL) και στη συνέχεια οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Γ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **10** (0.43 g, 78%) με λευκή αφρώδη υφή.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +13.4^{\circ} \quad (c = 0.2 \text{ χλωροφόρμιο})$$

λ_{max} 261 nm (ϵ 8658)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 513.68 ($M+H^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₃₀H₂₈N₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 70.30	H 5.51	N : 5.47
Ευρ. (%)	C : 70.12	H : 5.70	N : 5.63

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.75 (br s, 1H, NH), 7.44 (d, 1H, *J*_{5,6} = 8.1 Hz, H-6), 7.31-7.21 (m, 15H, 3C₆H₅), 6.21 (d, 1H, *J*_{1',2'} = 9.1 Hz, H-1'), 5.75 (d, 1H, H-5), 5.22, 5.04 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.54 (d, 1H, H-2'), 4.38 (br s, 1H, H-3'), 3.59-3.51 (m, 3H, H-5', H-6a', H-6b').

1-(2',3',4'-Τριδεσοξυ-4'-μεθυλενο-6'-Ο-τριτυλο-α-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανο-ζυλ)ουρακίλη (11)

Σε ένα μίγμα αποτελούμενο από ιμιδαζόλιο (0.09 g, 1.3 mmol), τριφαινυλοφωσφίνη (0.68 g, 2.6 mmol) και ιώδιο (0.33 g, 1.3 mmol) προστίθεται διάλυμα του **10** (0.43 g, 0.9 mmol) σε 20 mL μίγματος τολουολίου/DMF (4:1) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται στους 80 °C για 10 λεπτά. Στη συνέχεια οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό, το υπόλειμα διαλύεται σε EtOAc (700 mL) και εκχυλίζεται αρχικά με κορεσμένο διάλυμα NaHCO₃ (20 mL), στη συνέχεια με θειοθειικό νάτριο (20 mL) και έπειτα με νερό (20 mL). Η οργανική φάση ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα ΣΤ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **11** (0.22 g, 54%) ως παχύρρευστο κίτρινο έλαιο.

[α]_D²² = + 10.3° (c = 0.125 χλωροφόρμιο)

λ_{max} 260 nm (ε 6030)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 479.31 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₃₀H₂₆N₂O₄) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 75.30	H : 5.48	N : 5.85
Ευρ. (%)	C : 75.58	H : 5.63	N : 5.58

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.20 (br s, 1H, NH), 7.44 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 7.32-7.21 (m, 15H, 3C₆H₅), 6.62 (d, 1H, $J_{2',3'} = 9.1$ Hz, H-3'), 6.58 (s, 1H, H-1'), 5.69 (m, 2H, H-2', H-5), 5.15, 5.04 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.47 (t, 1H, $J_{5',6a'} = J_{5',6b'} = 5.1$ Hz, H-5'), 3.49 (dd, 1H, $J_{6a',6b'} = 10.2$ Hz, H-6a'), 3.35 (dd, 1H, H-6b').

1-(4',6'-Δι-Ο-ακετυλο-2',3'-Ο-ισοπροπυλιδενο-α-D-μαννοπυρανοζυλ)ουρακίλη (12)

Σε διάλυμα της ένωσης (5) (1.20 g, 3.8 mmol) σε πυριδίνη (14 mL) προστίθεται Ac₂O (2 mL, 21.2 mmol). και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 2h. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC) το διάλυμα ψύχεται στους °C, προστίθεται μεθανόλη και οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Δ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν 12 (1.26 g, 83%) ως παχύρρευστο άχρωμο έλαιο.

$[\alpha]_D^{22} = + 14.7^0$ (c = 0.140 χλωροφόρμιο)

λ_{max} 261 nm (ε 4326)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 399.51 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₇H₂₂N₂O₉) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 51.26	H : 5.57	N : 7.03
Ευρ. (%)	C : 51.39	H : 5.38	N : 7.22

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 9.05 (br s, 1H, NH), 7.30 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 5.78 (d, 1H, H-5), 5.72 (d, 1H, $J_{1',2'} = 5.5$ Hz, H-1'), 5.23 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 6.5$ Hz, H-2'), 4.55-4.49 (m, 2H, H-3', H-4'), 4.46-4.41 (m, 1H, H-5'), 4.18-4.10 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 2.12, 2.08 (2s, 6H, 2OAc), 1.58, 1.36 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(4',6'-Δι-Ο-ακετυλο-2',3'-α-D-μαννοπυρανοζυλ)ουρακίλη (13)

Διάλυμα της ένωσης **12** (1.26 g, 3.2 mmol) σε μίγμα διχλωρομεθανίου (11 mL) και HCOOH (11 mL, 90%) αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για μια νύχτα. Στη συνέχεια οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό, ώστε να απομακρυνθούν τα ίχνη του οξέος. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα A, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **13** (1.0 g, 88%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 118-121 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = + 24.2^{\circ}$ (c = 0.250 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 261 nm (ϵ 4884)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 359.42 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₄H₁₈N₂O₉) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 46.93	H : 5.06	N : 7.82
Ευρ. (%)	C : 46.72	H : 5.28	N : 7.69

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 10.60 (br s, 1H, NH), 7.46 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 6.73 (d, 1H, H-5), 6.15 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.5$ Hz, H-1'), 5.04 (d, 1H, $J_{3',4'} = 3.4$ Hz, H-4'), 4.98 (t, 1H, $J_{2',3'} = 9.5$ Hz, H-2'), 4.28-4.14 (m, 3H, H-5', H-6a', H-6b'), 3.91 (dd, 1H, H-3'), 2.14, 2.05 (2s, 6H, 2OAc).

1-(4',6'-Δι-Ο-ακετυλο-2',3'-διδεσοξυ-α-D-ερυθρο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλ)ουρακίλη (14)

Σε ένα μίγμα ιμιδαζολίου (0.40 g, 5.9 mmol), τριφαινυλοφωσφίνης (3.08 g, 11.8 mmol) και ιωδοφορμίου (2.31 g, 5.9 mmol) προστίθεται διάλυμα του προϊόντος **13** (1 g, 2.8 mmol) σε 40 mL μίγματος τολουολίου/DMF (4:1) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται στους 120 °C για 2.5h. Στη συνέχεια οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό, το υπόλειμα διαλύεται σε EtOAc (700 mL) και εκχυλίζεται

αρχικά με κορεσμένο διάλυμα NaHCO₃ (20 mL), στη συνέχεια με θειοθειικό νάτριο (20 mL) και έπειτα με νερό (20 mL). Η οργανική φάση ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα E, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **14** (0.69 g, 76%) ως παχύρρευστο άχρωμο έλαιο.

$$[\alpha]_D^{22} = + 23.46^0 \quad (c = 0.115 \text{ χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 261 \text{ nm } (\epsilon 5754)$$

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 325.17 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₄H₁₆N₂O₇) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 51.85	H : 4.97	N : 8.64
Ευρ. (%)	C : 51.98	H : 4.72	N : 8.78

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.43 (br s, 1H, NH), 7.70 (d, 1H, $J_{5,6} = 7.9$ Hz, H-6), 6.45 (d, 1H, $J_{1',2'} = 1.5$ Hz, H-1'), 6.34 (d, 1H, $J_{2',3'} = 10.1$ Hz, H-3'), 5.91 (dd, 1H, H-2'), 5.75 (d, 1H, $J_{5,6} = 7.9$ Hz, H-5), 5.29-5.26 (m, 1H, H-4'), 4.31 (dd, 1H, $J_{5',6b'} = 5.8$, $J_{6a',6b'} = 12.2$ Hz, H-6b'), 4.21 (dd, 1H, $J_{5',6a'} = 3.4$ Hz, H-6a'), 4.10 (dd, 1H, H-5'), 2.15, 2.10 (2s, 6H, 2 OAc).

1-(2',3'-Διδεσοξυ-α-D-ερυθρο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλ)ουρακίλη (**15**)

Το παράγωγο της ουρακίλης **15** συντέθηκε από την ένωση **14** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **4**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα K, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **15** (0.33 g, 64%) ως παχύρρευστο άχρωμο έλαιο.

$$[\alpha]_D^{22} = + 16.6^0 \quad (c = 0.130 \text{ μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 261 \text{ nm } (\epsilon 6302)$$

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 241.35 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₀H₁₂N₂O₅) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 50.00	H : 5.04	N : 11.66
Ευρ. (%)	C : 50.32	H : 5.17	N : 11.52

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 7.69 (d, 1H, *J*_{5,6} = 8.1 Hz, H-6), 6.38 (d, 1H, *J*_{2',3'} = 10.1 Hz, H-3'), 6.30 (s, 1H, H-1'), 5.73 (d, 1H, H-2'), 5.68 (d, 1H, H-5), 4.19-4.16 (m, 1H, H-4'), 3.81 (dd, 1H, *J*_{5',6a'} = 1.8, *J*_{6a',6b'} = 12.1 Hz, H-6a'), 3.71 (dd, 1H, *J*_{5',6b'} = 5.1 Hz, H-6b'), 3.43 (dd, 1H, H-5').

1-(2',3'-Διδεσοξυ-6'-Ο-τριτυλο-α-D-ερυθρο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλ)ουρακίλη (16)

Το παράγωγο της ουρακίλης **16** συντέθηκε από την ένωση **15** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **6**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Δ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **16** (0.49 g, 75%) υπό τη μορφή υποκίτρινων κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 185-187 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

[α]_D²² = + 10.8⁰ (c = 0.15 χλωροφόρμιο)

λ_{max} 260 nm (ε 7244)

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 483.69 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₉H₂₆N₂O₅) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 72.18	H : 5.43	N : 5.81
Ευρ. (%)	C : 72.37	H : 5.32	N : 5.97

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.32 (br s, 1H, NH), 7.48 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 7.41-7.25 (m, 15H, 3C₆H₅), 6.31 (dt, 1H, $J_{2',3'} = 10.2$, $J_{3',4'} = 1.8$ Hz, H-3'), 6.26 (d, 1H, $J_{1',2'} = 2.1$ Hz, H-1'), 5.71-5.67 (m, 2H, H-2', H-5), 4.21 (dd, 1H, $J_{4',5'} = 8.1$ Hz, H-4'), 3.56 (dd, 1H, $J_{5',6a'} = 4.5$, $J_{6a',6b'} = 9.5$ Hz, H-6a'), 3.47-3.42 (m, 1H, $J_{5',6b'} = 7.2$ Hz, H-5'), 3.36 (dd, 1H, H-6b').

1-(2',3'-Διδεσοξυ-6'-Ο-τριτυλο-α-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζ)ου-ρακίλη (17)

Το παράγωγο της ουρακίλης **17** συντέθηκε από την ένωση **16** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **7**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα E, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **17** (0.41 g, 83%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 110-113 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = + 17.4^0$ (c = 0.25 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ϵ 9580)

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 481.64 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₉H₂₄N₂O₅) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 72.49	H : 5.03	N : 5.85
Ευρ. (%)	C : 72.62	H : 5.28	N : 5.61

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.31 (br s, 1H, NH), 7.37 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 7.30-7.21 (m, 15H, 3C₆H₅), 7.10 (t, 1H, $J_{1',2'} = J_{1',3'} = 1.5$ Hz, H-1'), 6.98 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 10.5$ Hz, H-3'), 6.59 (dd, 1H, H-2'), 5.77 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-5), 4.41 (dd, 1H, $J_{5',6a'} = 2.5$, $J_{5',6b'} = 3.6$ Hz, H-5'), 3.75 (dd, 1H, $J_{6a',6b'} = 10.4$ Hz, H-6b'), 3.47 (dd, 1H, H-6a').

1-(2',3',4'-Τριδεσοξυ-4'-μεθυλενο-6'-Ο-τριτυλο-α-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο)ουρακίλη (11)

Το παράγωγο της ουρακίλης **11** συντέθηκε από την κετόνη **17** (0.20 g, 0.4 mmol) με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **8**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα ΣΤ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **11** (0.13 g, 65%) ως υποκίτρινο παχύρρευστο έλαιο.

1-(2',3'-Διδεσοξυ-α-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζ)ουρακίλη (18)

Διάλυμα της ένωσης **17** (0.20 g, 0.4 mmol) σε μίγμα HCOOH και διαιθυλαιθέρα (11 mL, 1:1) αναδεύεται για 7 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια, διαλύεται σε τολουόλιο και με απόσταξη εξατμίζεται μέχρις ξηρού ούτως ώστε να αποφευχθεί ο σχηματισμός εστέρα (Komiotis *et al.* 2006). Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα ΣΤ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **18** (0.08 g, 80%) ως παχύρρευστο άχρωμο έλαιο.

$$[\alpha]_D^{22} = -4.4^0 (c = 0.24 \text{ χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 260 \text{ nm } (\epsilon 9162)$$

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 239.44 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₀H₁₀N₂O₅) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 50.42	H : 4.23	N : 11.76
Ευρ. (%)	C : 50.74	H : 4.38	N : 11.42

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.40 (br s, 1H, NH), 7.32 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 6.91 (d, 1H, $J_{2',3'} = 8.9$ Hz, H-3'), 6.88 (s, 1H, H-1'), 6.47 (d, 1H, H-2'), 5.78 (d, 1H, H-5), 4.37 (dd, 1H, $J_{5',6a'} = 2.9$, $J_{5',6b'} = 4.6$ Hz, H-5'), 4.03 (dd, 1H, $J_{6a',6b'} = 12.1$ Hz, H-6b'), 3.97 (dd, 1H, H-6a').

³¹C NMR (125 MHz, CDCl₃)

δ 180.3, 157.1, 142.7, 135.2, 132.8, 126.1, 97.6, 89.6, 82.8, 59.2.

**1-(2',3',4'-Τριδεσοξυ-4'-μεθυλενο-α-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπιρανοζυλ)ουρακίλη
(19)**

Το παράγωγο της ουρακίλης **19** συντέθηκε από την ένωση **11** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **18**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα ΣΤ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **19** (0.12 g, 81%) ως παχύρρευστο άχρωμο έλαιο.

$[\alpha]_D^{22} = -7.3^0$ (c = 0.14 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ε 5246)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 237.31 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₁H₁₂N₂O₄) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 55.93	H : 5.12	N : 11.86
Ευρ. (%)	C : 55.69	H : 5.28	N : 11.72

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.40 (br s, 1H, NH), 7.36 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 6.65 (d, 1H, $J_{2',3'} = 10.1$ Hz, H-3'), 6.55 (s, 1H, H-1'), 5.74-5.71 (m, 2H, H-2', H-5), 5.23, 5.15 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.50 (dd, 1H, $J_{5',6a'} = 3.6$, $J_{5',6b'} = 7.5$ Hz, H-5'), 3.91 (dd, 1H, $J_{6a',6b'} = 12.1$ Hz, H-6b'), 3.80 (dd, 1H, H-6a').

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃)

δ 158.2, 143.6, 137.1, 122.6, 118.3, 115.6, 104.6, 98.4, 90.2, 89.1, 71.8.

Σύνθεση των 2'-κετο και 2'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της γαλακτόζης

1,2,3,4,6-Πεντα-Ο-ακετυλο-D-γαλακτοπυρανόζη (21) (Foster *et al.* 1967, Tewson, Welsh 1978)

Η ακετυλιωμένη γαλακτόζη **21** συντέθηκε από την εμπορικά διαθέσιμη D-γαλακτόζη (**20**) με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για την ένωση **2**. Το επιθυμητό προϊόν **21** (7.76 g, 97%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή υποκίτρινου παχύρρευστου ελαίου και χρησιμοποιείται στο επόμενο στάδιο χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

Σύνθεση των παραγώγων της θυμίνης

1-(2',3',4',6'-Τετρα-Ο-ακετυλο-β-D-γαλακτοπυρανοζυλο)θυμίνη (22)

Διάλυμα αποτελούμενο από θυμίνη (4.75g, 37.7 mmol), HMDS (9.80 mL, 46.7 mmol) και σακχαρίνη (0.32 g, 1.7 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (123 mL) θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 λεπτά και στη συνέχεια προστίθεται η πεντακετυλιωμένη γαλακτοπυρανόζη (**21**) (7.76 g, 26.9 mmol) καθώς και το SnCl₄ (4.42 mL, 37.7 mmol). Ακολουθεί θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα στους 80 °C για περίπου 4h (TLC), ψύξη του μίγματος σε θερμοκρασία δωματίου, προσθήκη κορεσμένου διαλύματος NaHCO₃ και εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο (1000 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (20 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα E, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **22** (8.62 g, 70%) με λευκή αφρώδη υφή.

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 457.43 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₉H₂₄N₂O₁₁) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 50.00	H : 5.30	N : 6.14
Ευρ. (%)	C : 50.12	H : 5.38	N : 6.08

1-(β-D-Γαλακτοπυρανοζυλο)θυμίνη (23)

Το παράγωγο της θυμίνης **23** συντέθηκε από την ένωση **22** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για την σύνθεση του **4**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα I, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **23** (4.97 g, 91%) με λευκή αφρώδη υφή.

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 289.30 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₁H₁₆N₂O₇) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 45.83	H : 5.59	N : 9.72
Ευρ. (%)	C : 45.91	H : 5.62	N : 9.78

1-(6'-O-Τετρα-βουτυλοδιμεθυλοσιλυλο-β-D-γαλακτοπυρανοζυλο)θυμίνη (24)

Σε ένα υπό ανάδευση διάλυμα της 1-(β-D-γαλακτοπυρανοζυλο)θυμίνης (**23**) (4.97 g, 17.2 mmol) σε πυριδίνη (86 mL) προστίθεται TBDMSCI (3.40 g, 22.6 mmol) και καταλυτική ποσότητα της DMAP (42.0 mg, 0.34 mmol). Το προκύπτον εναιώρημα αρχικά τοποθετήθηκε για 30 λεπτά στους 0 °C και για 5h (TLC) σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια προστίθεται μεθανόλη και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα N, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **24** (6.38 g, 92%) υπό την μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 140-142 °C (μεθανόλη / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = + 25.5^0$ (c = 0.1 μεθανόλη)

λ_{\max} 260 nm (ε 3911)

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 403.32 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₇H₃₀N₂O₇Si) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 50.73	H : 7.51	N : 6.96
Ευρ. (%)	C : 50.42	H : 7.74	N : 6.83

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 8.53 (br s, 1H, NH), 7.65 (s, 1H, H-6), 5.50 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.2$ Hz, H-1'), 3.95 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 3.2$ Hz, $J_{4',5'} = 0.9$ Hz, H-4'), 3.88-3.78 (m, 3H, H-2', H-6a', H-6b'), 3.71 (dt, 1H, $J_{5',6a'} = J_{5',6b'} = 6.2$ Hz, H-5'), 3.63 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 9.4$ Hz, H-3'), 1.94 (s, 3H, 5-CH₃).

1-(6'-O-Τετρα-βουτυλοδιμεθυλοσιλυλο-3',4'-O-ισοπροπυλιδενο-β-D-γαλακτο-πυρανοζυλο)θυμίνη (25)

Σε ένα υπό ανάδευση διάλυμα του προϊόντος **24** (6.38 g, 15.9 mmol) σε άνυδρη ακετόνη (280 mL) και (CH₃)₂C(OCH₃)₂ (15.74 mL) προστίθεται *p*-TsOH (0.58 g, 3.1 mmol). Μετά από 3h ανάδευσης η αντίδραση ολοκληρώνεται (TLC) και το μίγμα εξουδετερώνεται με τριαιθυλαμίνη μέχρι ουδέτερου pH (pH ≤ 7). Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα E οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **25** (5.26 g, 75%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = + 32.2^0$ (c = 0.1 χλωροφόρμιο)

λ_{max} 260 nm (ε 4332)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 443.42 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₀H₃₄N₂O₇Si) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 54.28	H : 7.74	N : 6.33
Ευρ. (%)	C : 54.46	H : 7.48	N : 6.51

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 7.43 (s, 1H, H-6), 5.48 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.4$ Hz, H-1'), 4.33 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 5.5$ Hz, $J_{4',5'} = 2.2$ Hz, H-4'), 4.20 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 7.1$ Hz, H-3'), 4.10 (dt, 1H, $J_{5',6a'} = J_{5',6b'} = 6.7$ Hz, H-5'), 3.91-3.82 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 3.78 (dd, 1H, H-2'), 1.90 (s, 3H, 5-CH₃), 1.56, 1.36 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(6'-O-Τετρα-βουτυλοδιμεθυλοσιλυλο-3',4'-O-ισοπροπυλιδανο-β-D-λυξο-εξωπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)θυμίνη (26)

Ένα μίγμα αποτελούμενο από την ένωση **25** (5.26 g, 11.9 mmol), PDC (5.36 g, 14.2 mmol) και Ac₂O (3.36 mL, 35.6 mmol) σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (42 mL) αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 4h. Μετά το πέρας της αντίδρασης προστίθεται οξικός αιθυλεστέρας (15 mL) και το προκύπτον παχύρρευστο διάλυμα μεταφέρεται σε χρωματογραφία στήλης υπό πίεση. Πραγματοποιείται έκλουση με EtOAc (200 mL) και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το υπόλειμμα που περιέχει Ac₂O αραιώνεται με τολουόλιο και στη συνέχεια με απόσταξη εξατμίζεται μέχρι ξηρού. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα ΣΤ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **26** (4.39 g, 84%) με λευκή αφρώδη υφή.

$$[\alpha]_D^{22} = -26.3^0 \quad (c = 0.1 \text{ χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 260 \text{ nm } (\epsilon 8304)$$

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 441.43 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₀H₃₂N₂O₇Si) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 54.52	H : 7.32	N : 6.36
Ευρ. (%)	C : 54.68	H : 7.21	N : 6.52

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.46 (br s, 1H, NH), 7.26 (s, 1H, H-6), 6.18 (s, 1H, H-1'), 4.71 (dd, 1H, J_{3',4'} = 5.4 Hz, J_{4',5'} = 1.4 Hz, H-4'), 4.65 (d, 1H, H-3'), 4.32-4.29 (m, 1H, H-5'), 3.94-3.86 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 1.92 (s, 3H, 5-CH₃), 1.48, 1.41 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(β-D-Λυξο-εξωπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)θυμίνης (27)

Η κετόνη **26** (50 mg, 0.1 mmol), η οποία παραλαμβάνεται από την προηγούμενη αντίδραση, διαλύεται σε 0.5 mL 90% TFA σε μεθανόλη. Το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και έπειτα ακολουθεί η απομάκρυνση της μεθανόλης στους 40 °C υπό υψηλό κενό ώστε να

απομακρυνθούν και τα ίχνη του TFA. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα K, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **27** (25 mg, 79%) με λευκή αφρώδη υφή.

$$[\alpha]_D^{22} = + 26.0^0 \quad (c = 0.1 \text{ μεθανόλη})$$

λ_{\max} 260 nm (ϵ 6041)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 287.21 ($M+H^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($C_{11}H_{14}N_2O_7$) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 46.16	H : 4.93	N : 9.79
Ευρ. (%)	C : 46.27	H : 4.70	N : 9.63

1H -NMR (500 MHz, CD_3OD)

δ 7.33 (s, 1H, H-6), 6.31 (s, 1H, H-1'), 4.69 (d, 1H, $J_{3',4'} = 3.5$ Hz, H-4'), 4.37 (d, 1H, H-3'), 4.27 (m, 1H, H-5') 3.83-3.78 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 1.87 (s, 3H, 5- CH_3).

^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD)

δ 196.3, 148.6, 141.6, 135.6, 102.3, 98.3, 70.6, 69.8, 65.6, 60.3, 11.2.

1-(6'-O-Τετρα-βουτυλοδιμεθυλοσιλυλο-2'-δεσοξυ-3',4'-O-ισοπροπυλιδενο-2'-μεθυλενο-β-D-λυξο-εξωπυρανοζυλο)θυμίνη (28)

Η εξωπυρανόζη **28** συντέθηκε από την **27** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για την σύνθεση του **8**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα H, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **28** (4.02 g, 92%) με λευκή αφρώδη υφή.

$$[\alpha]_D^{22} = - 6.32^0 \quad (c = 0.1 \text{ χλωροφόρμιο})$$

λ_{\max} 260 nm (ϵ 6016)

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 439.31 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₁H₃₄N₂O₆Si) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 57.51	H : 7.81	N : 6.39
Ευρ. (%)	C : 57.38	H : 7.65	N : 6.24

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.91 (br s, 1H, NH), 7.28 (s, 1H, H-6), 6.53 (s, 1H, H-1'), 5.62, 5.49 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.85 (d, 1H, J_{3',4'} = 7.4 Hz, H-3'), 4.38 (dd, 1H, J_{4',5'} = 1.8 Hz, H-4'), 3.85-3.74 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 3.57-3.53 (m, 1H, H-5'), 1.90 (s, 3H, 5-CH₃), 1.56, 1.41 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(2'-Δεσοξυ-2'-μεθυλενο-β-D-λυξο-εξωπυρανοζυλο)θυμίνη (29)

Η εξωπυρανόζη **29** συντέθηκε από την **28** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για την σύνθεση της κετόνης **27**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα K, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **29** (2.19 g, 85%) με λευκή αφρώδη υφή.

[α]_D²² = - 12.4⁰ (c = 0.1 μεθανόλη)

λ_{max} 260 nm (ε 5893)

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 285.28 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₂H₁₆N₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 50.70	H : 5.67	N : 9.85
Ευρ. (%)	C : 50.57	H : 5.45	N : 9.71

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 7.68 (s, 1H, H-6), 6.22 (s, 1H, H-1'), 5.46, 4.83 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.37 (br s, 1H, H-3'), 3.93 (m, 1H, H-4'), 3.88-3.84 (m, 1H, H-5'), 3.79-3.70 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 1.89 (s, 3H, 5-CH₃).

¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD)

δ 150.3, 147.3, 140.5, 136.0, 116.5, 104.1, 92.6, 77.3, 76.1, 70.8, 66.3, 11.8.

1-(2'-Δεσοξυ-2'-μεθυλενο-6'-Ο-τριτυλο-β-D-λυξο-εξωπυρανοζυλο)θυμίνη (30)

Σε διάλυμα της ένωσης **29** (2.19 g, 7.7 mmol) σε άνυδρη πυριδίνη (80 mL), προστίθεται TrCl (2.58 g, 9.2 mmol) και καταλυτική ποσότητα της DMAP (18.8 mg, 0.15 mmol). Το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 4h. Στη συνέχεια προστίθεται μεθανόλη και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Δ οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **30** (3.45 g, 85%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -15.7^0$ (c = 0.1 χλωροφόρμιο)

λ_{max} 260 nm (ϵ 7712)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 527.31 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₃₁H₃₀N₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 70.71	H : 5.74	N : 5.32
Ευρ. (%)	C : 70.58	H : 5.43	N : 5.47

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 7.43-7.20 (m, 16H, 3C₆H₅, H-6), 6.18 (s, 1H, H-1'), 5.52, 4.89 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.78 (br s, 1H, H-3'), 4.11 (m, 1H, H-4'), 3.85-3.83 (m, 1H, H-5'), 3.46-3.39 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 1.93 (s, 3H, 5-CH₃).

1-(2',3',4'-Τριδεσοξυ-2'-μεθυλενο-6'-Ο-τριτυλο-β-D-γλυκερο-εξ-3'-ενοπυρανοζυλο)θυμίνη (31)

Μέθοδος A: Σε ένα μίγμα ιμιδαζολίου (0.89 g, 13.1 mmol), τριφαινολοφωσφίνης (6.87 g, 26.2 mmol) και ιωδίου (3.33 g, 13.1 mmol) προστίθεται διάλυμα του **30** (3.45 g, 6.6 mmol) σε 50 mL μίγματος τολουολίου/DMF (4:1) και το

προκύπτουν εναιώρημα αναδεύεται στους 100 °C για 1h. Στη συνέχεια οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό, το υπόλειμα διαλύεται σε EtOAc (800 mL) και εκχυλίζεται αρχικά με κορεσμένο διάλυμα NaHCO₃ (20 mL), στη συνέχεια με θειοθειικό νάτριο (20 mL) και έπειτα με νερό (20 mL). Η οργανική φάση ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Z, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **31** (1.81 g, 56%) υπό τη μορφή άχρωμου παχύρρευστου ελαίου.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -21.1^{\circ} \quad (c = 0.1 \text{ χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\text{max}} 260 \text{ nm } (\epsilon 5282)$$

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 493.23 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₃₁H₂₈N₂O₄) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 75.59	H : 5.73	N : 5.69
Ευρ. (%)	C : 75.39	H : 5.58	N : 5.82

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.31 (br s, 1H, NH), 7.41-7.18 (m, 16H, 3C₆H₅, H-6), 6.41 (s, 1H, H-1'), 6.31 (dd, 1H, J_{3',4'} = 10.0 Hz, J_{4',5'} = 1.8 Hz, H-4'), 5.91 (d, 1H, H-3'), 5.04, 4.68 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.63 (m, 1H, H-5'), 3.28-3.03 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 1.85 (s, 3H, 5-CH₃).

Μέθοδος B: Σε ένα μίγμα ιμιδαζολίου (26 mg, 0.38 mmol), τριφαινυλοφωσφίνης (200 mg, 0.76 mmol) και ιωδοφορμίου (150 mg, 0.38 mmol) προστίθεται διάλυμα του **30** (100 mg, 0.19 mmol) σε 2 mL μίγματος τολουολίου/DMF (4:1) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται στους 100 °C για 1h. Στη συνέχεια οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό, το υπόλειμα διαλύεται σε EtOAc (60 mL) και εκχυλίζεται αρχικά με κορεσμένο διάλυμα NaHCO₃ (8 mL), στη συνέχεια με θειοθειικό νάτριο (8 mL) και έπειτα με νερό (8 mL). Η οργανική φάση ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη

έκλουσης το σύστημα Z από όπου παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **31** (24 mg, 26%) και το παραπροϊόν **33** (35 mg, 21%).

Ανάλυση του παραπροϊόντος **33**:

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 887.10 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₃₂H₂₉I₃N₂O₄) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 43.36	H : 3.30	N : 3.16
Ευρ. (%)	C : 43.47	H : 3.18	N : 3.28

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.71 (br s, 1H, NH), 7.69-7.21 (m, 16H, 3C₆H₅, H-6), 7.10 (d, 1H, *J*_{3',4'}=1.3 Hz, H-3'), 6.69 (s, 1H, H-1'), 4.40-4.38 (m, 1H, H-5'), 3.62-3.53 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 2.85 (t, 1H, H-4'), 1.90 (s, 3H, 2'-CH₃), 1.84 (s, 3H, 5-CH₃).

¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD)

δ 195.8, 142.6, 145.6, 134.3, 122.6, 100.7, 93.1, 71.2, 69.1, 50.3, 12.2, 11.5.

1-(2',3',4'-Τριδεσοξυ-2'-μεθυλενο-β-D-γλυκερο-εξ-3'-ενοπυρανοζυλο)θυμίνης (32)

Η ένωση **31** (1.81 g, 3.7 mmol) που λήφθηκε από την προηγούμενη διαδικασία, διαλύεται σε ένα μίγμα HCOOH και διαιθυλαιθέρα (93 mL, 1:2). Το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται για 7 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, διαλύεται σε τολουόλιο και στη συνέχεια με απόσταξη εξατμίζεται μέχρις ξηρού, ούτως ώστε να αποφευχθεί ο σχηματισμός εστέρα (Komiotis *et al.* 2006). Στη συνέχεια, το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Z, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **32** (0.75 g, 82%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -18.4^0$ (c = 0.1 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ε 4421)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 251.22 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₂H₁₄N₂O₄) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 57.59	H : 5.64	N : 11.19
Ευρ. (%)	C : 57.74	H : 5.46	N : 11.28

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.63 (br s, 1H, NH), 7.27 (s, 1H, H-6), 6.55 (s, 1H, H-1'), 6.49 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 10.1$ Hz, $J_{4',5'} = 2.1$ Hz, H-4'), 5.80 (d, 1H, H-3'), 5.20, 4.82 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.52 (m, 1H, H-5'), 3.40-3.30 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 1.91 (s, 3H, 5-CH₃).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃)

δ 150.6, 149.8, 149.2, 143.7, 139.9, 136.2, 111.2, 104.3, 92.5, 67.3, 55.1, 11.9.

Σύνθεση των 4'-κετο και 4'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της λυξόζης

1,2,3,4-Τετρα-Ο-ακετυλο-*D*-λυξοπυρανόζη (36) (Foster *et al.* 1967, Tewson , Welsh 1978)

Η ακετυλιωμένη λυξόζη **36** συντέθηκε από την εμπορικά διαθέσιμη *D*-λυξόζη (**35**) με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για την **2**. Το επιθυμητό προϊόν **36** (10.16 g, 98%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή υποκίτρινου παχύρρευστου ελαίου και χρησιμοποιείται στο επόμενο στάδιο χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 319.28 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₃H₁₈O₉) C, H

Υπολ. (%)	C : 49.29	H : 5.76
Ευρ. (%)	C : 49.06	H : 5.70

Σύνθεση των παραγώγων της θυμίνης

1-(2',3',4'-Τρι-Ο-ακετυλο- α -*D*-λυξοπυρανοζυλο)θυμίνη (37α)

Διάλυμα αποτελούμενο από θυμίνη (2.87 g, 22.7 mmol), HMDS (5.94 mL, 28.2 mmol) και σακχαρίνη (191.45 mg, 1.1 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (85 mL) θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 λεπτά στους 120 °C και στη συνέχεια προστίθεται η 1,2,3,4-τετρα-Ο-ακετυλο-*D*-λυξοπυρανόζη (**36**) (5.16g, 16.2 mmol) καθώς και το SnCl₄ (2.7 mL, 22.7 mmol). Ακολουθεί θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα για περίπου 1h (TLC), ψύξη του μίγματος σε θερμοκρασία δωματίου, προσθήκη κορεσμένου διαλύματος NaHCO₃, και εκχύλιση με EtOAc (600 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (20 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Δ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **37α** (4.49 g, 72%) ως παχύρρευστο άχρωμο έλαιο.

$[\alpha]_D^{22} = + 16.6^\circ$ ($c = 0.130$ χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ϵ 6926)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 385.04 ($M+H^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($C_{16}H_{20}N_2O_9$) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 50.00	H : 5.25	N : 7.29
Ευρ. (%)	C : 49.75	H : 5.32	N : 7.51

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$)

δ 8.79 (br s, 1H, NH), 7.15 (s, 1H, H-6), 6.03 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.9$ Hz, H-1'), 5.49 (t, 1H, $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 3.2$ Hz, H-3'), 5.26 (dd, 1H, H-2'), 4.89 (m, 1H, H-4'), 4.09 (m, 2H, H-5a', H-5b'), 2.22, 2.21, 1.99 (3s, 9H, 3OAc), 1.95 (s, 3H, 5- CH_3).

1-(α -D-Λυξοπυρανοζυλο)θυμίνη (38a)

Το παράγωγο της θυμίνης **38a** συντέθηκε από την ένωση **37a** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **4**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα I, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **38a** (2.95 g, 98%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -10.0$ (c 0.500 μεθανόλη)

λ_{\max} 261 nm (ϵ 6302)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 259.38 ($M+H^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($C_{10}H_{14}N_2O_6$) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 46.51	H : 5.46	N : 10.85
Ευρ. (%)	C : 46.96	H : 5.32	N : 10.41

1-(2',3'-O-Ισοπροπυλιδενο-α-D-λυξοπυρανοζυλο)θυμίνη (39α)

Το παράγωγο της θυμίνης **39α** συντέθηκε από την ένωση **38α** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **5**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης EtOAc, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **39α** (2.77 g, 81%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = + 22.0^\circ$ (c = 0.505 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ϵ 1625)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 299.35 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₃H₁₈N₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 52.34	H : 6.08	N : 9.39
Ευρ. (%)	C : 52.65	H : 5.84	N : 9.63

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 7.35 (s, 1H, H-6), 5.49 (d, 1H, $J_{1',2'} = 8.6$ Hz, H-1'), 4.30 (m, 1H, H-3'), 4.23 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 4.9$ Hz, H-2'), 3.93-3.89 (m, 3H, H-4', H-5a', H-5b'), 1.84 (s, 3H, 5-CH₃), 1.51, 1.31 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(2',3'-O-Ισοπροπυλιδενο-α-D-ερυθρο-πεντοπυρανοζυλο-4-ουλοζο)θυμίνη (40α)

Ένα μίγμα αποτελούμενο από την ένωση **39α** (1.97, 6.60 mmol), από PDC (2.98 g, 7.93 mmol) και από Ac₂O (1.87 mL, 19.80 mmol) σε 80 mL μίγματος διχλωρομεθανίου/DMF (5:3), αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 1h. Στη συνέχεια, οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό, και το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Γ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **40α** (1.64 g, 84%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = + 8.0^\circ$ (c = 0.533 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ϵ 3879)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 297.32 ($M+H^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($C_{13}H_{16}N_2O_6$) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 52.70	H : 5.44	N : 9.46
Ευρ. (%)	C : 52.92	H : 5.78	N : 9.61

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$)

δ 8.43 (br s, 1H, NH), 7.11 (s, 1H, H-6), 5.51 (d, 1H, $J_{1,2'} = 5.2$ Hz, H-1'), 4.81 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 7.2$ Hz, H-2'), 4.70 (d, 1H, H-3'), 4.36, 4.27 (q, AB-σύστημα, 2H, $J = 17.9$ Hz, H-5'), 1.97 (s, 3H, 5- CH_3), 1.55, 1.41 (2s, 6H, 2 CH_3).

1-(4'-Δεσοξυ-2',3'-Ο-ισοπροπυλιδενο-4'-μεθυλενο- α -L-ερυθρο-πεντοπυρανοζυλο)θυμίνη (41α)

Το παράγωγο της θυμίνης **41α** συντέθηκε από την ένωση **40α** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **8**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα ΣΤ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **41α** (0.99 g, 61%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -6.0^\circ$ ($c = 0.433$ χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 265 nm (ϵ 6874)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 295.26 ($M+H^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($C_{14}H_{18}N_2O_5$) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 57.13	H : 6.16	N : 9.52
Ευρ. (%)	C : 57.40	H : 6.42	N : 9.43

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.55 (br s, 1H, NH), 7.10 (s, 1H, H-6), 5.74 (d, 1H, $J_{1',2'} = 5.0$ Hz, H-1'), 5.43, 5.36 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.77 (d, 1H, $J_{2',3'} = 8.9$ Hz, H-3'), 4.48, 4.32 (q, AB-σύστημα, 2H, $J = 13.2$ Hz, H-5'), 4.18-4.15 (m, 1H, H-2'), 1.93 (s, 3H, 5-CH₃), 1.64, 1.43 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(4'-Δεσοξυ-4'-μεθυλενο-α-L-ερυθρο-πεντοπυρανοζυλο)θυμίνη (42α)

Η ένωση **41α** (0.99 g, 3.38 mmol) που λήφθηκε από την προηγούμενη διαδικασία, διαλύεται σε ένα μίγμα διχλωρομεθανίου (12 mL) και HCOOH (12 mL, 90%). Το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται για 3h σε θερμοκρασία δωματίου, και στη συνέχεια εξατμίζεται με απόσταξη μέχρις ξηρού. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα B, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **42α** (0.72 g, 84%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -14.0^\circ$ (c = 0.605 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ε 6538)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 255.28 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₁H₁₄N₂O₅) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 51.97	H : 5.55	N : 11.02
Ευρ. (%)	C : 52.23	H : 5.76	N : 10.88

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 10.36 (br s, 1H, NH), 7.19 (s, 1H, H-6), 6.03 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.3$ Hz, H-1'), 5.22, 5.12 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.61 (d, 1H, $J_{2',3'} = 1.9$ Hz, H-3'), 4.57, 4.14 (q, AB-σύστημα, 2H, $J = 12.6$ Hz, H-5'), 3.69 (d, 1H, H-2'), 1.85 (s, 3H, 5-CH₃).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃)

δ 150.1, 140.3, 138.7, 132.1, 103.8, 115.6, 98.1, 70.2, 68.3, 59.6, 11.4.

1-(2',3',4'-Τριδεσοξυ-4'-μεθυλενο-α-πεντ-2'-ενοπυρανοζυλο)θυμίνη (43α)

Σε ένα μίγμα ιμιδαζολίου (0.29 g, 4.3 mmol), τριφαινυλοφωσφίνης (2.22 g, 8.5 mmol) και ιωδίου (1.08 g, 4.3 mmol) προστίθεται διάλυμα του προϊόντος **42α** (0.72 g, 2.8 mmol) σε 78 mL μίγματος τολουολίου/DMF (4:1) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται στους 80 °C για 15 λεπτά. Στη συνέχεια, οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό και το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα B, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **43α** (0.34 g, 55%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -8.0^\circ$ (c = 0.500 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ϵ 6389)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 221.34 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₁H₁₂N₂O₃) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 59.99	H : 5.49	N : 12.72
Ευρ. (%)	C : 59.82	H : 5.68	N : 12.93

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.44 (br s, 1H, NH), 7.06 (s, 1H, H-6), 6.58 (dd, 1H, $J_{1',3'} = 1.5$ Hz, $J_{2',3'} = 10.0$ Hz, H-3'), 6.41 (br s, 1H, H-1'), 5.62 (d, 1H, H-2'), 5.04, 4.99 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.39, 4.33 (q, AB-σύστημα, 2H, $J = 13.9$ Hz, H-5'), 1.85 (s, 3H, 5-CH₃).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃)

δ 149.8, 149.7, 137.2, 130.9, 129.8, 125.6, 107.8, 102.1, 88.5, 63.2, 11.6.

1-(4'-Ο-Ακετυλο-2',3'-Ο-ισοπροπυλιδενο-α-D-λυξοπυρανοζυλο)θυμίνη (44α)

Σε διάλυμα της ένωση **39α** (0.80 g, 2.7 mmol) σε πυριδίνη (2.3 mL) προστίθεται Ac₂O (1.2 mL, 12.7 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για περίπου 2h. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC) το διάλυμα ψύχεται στους 0 °C και προστίθεται μεθανόλη (0.5 mL). Στη συνέχεια, οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό, το υπόλειμμα διαλύεται σε διχλωρομεθάνιο και

εκχυλίζεται αρχικά με κορεσμένο διάλυμα NaHSO₄ και στη συνέχεια με κορεσμένο διάλυμα NaHCO₃. Η οργανική φάση ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Γ και το επιθυμητό προϊόν **44a** (0.87 g, 95%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 158-160 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = 12.0^\circ$ (c = 0.583 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 265 nm (ϵ 7065)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 341.13 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₅H₂₀N₂O₇) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 52.94	H : 5.92	N : 8.23
Ευρ. (%)	C : 53.30	H : 5.38	N : 8.52

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.89 (br s, 1H, NH), 7.13 (s, 1H, H-6), 5.65 (d, 1H, $J_{1',2'} = 8.6$ Hz, H-1'), 5.17 (d, 1H, $J_{3',4'} = 1.3$ Hz, H-4'), 4.34 (m, 1H, H-3'), 4.23 (m, 1H, H-2'), 4.04-3.99 (m, 2H, H-5a', H-5b'), 2.18 (s, 3H, OAc), 1.95 (s, 3H, 5-CH₃), 1.62, 1.39 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(4'-O-Ακετυλο- α -D-λυξοπυρανοζυλο)θυμίνη (45a)

Η ένωση **44a** (0.87 g, 2.6 mmol) που λήφθηκε από την προηγούμενη διαδικασία, διαλύεται σε ένα μίγμα διχλωρομεθανίου (8.6 mL) και HCOOH (8.6 mL, 90%). Το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται για μια νύχτα σε θερμοκρασία δωματίου, και στη συνέχεια εξατμίζεται με απόσταξη μέχρις ξηρού. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα A, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **45a** (0.67 g, 88%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων

Σημείο Τήξεως 229-231 °C (μεθανόλη / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = -20.0^\circ$ (c = 0.780 μεθανόλη)

λ_{\max} 260 nm (ϵ 5073)

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 301.12 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₂H₁₆N₂O₇) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 48.00	H : 5.37	N : 9.33
Ευρ. (%)	C : 47.72	H : 5.78	N : 9.79

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 7.45 (d, 1H, $J_{5b',6} = 1.1$ Hz, H-6), 5.84 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.7$ Hz, H-1'), 4.85 (d, 1H, $J_{2',3'} = 3.1$ Hz, H-3'), 4.12 (m, 2H, H-4', H-5a'), 3.95 (dd, 1H, H-2'), 3.87 (dd, 1H, $J_{4',5b'} = 1.1$ Hz, $J_{5a',5b'} = 13.0$ Hz, H-5b'), 2.14 (s, 3H, OAc), 1.91 (s, 3H, 5-CH₃).

1-(4'-*O*-Ακετυλο-2',3'-διδεσοξυ- α -*D*-γλυκερο-πεντ-2-ενοπυρανοζυλο)θυμίνη (46α)

Σε ένα μίγμα ιμιδαζολίου (0.32 g, 4.7 mmol), τριφαινυλοφωσφίνης (2.46 g, 9.4 mmol) και ιωδοφορμίου (1.85 g, 4.7 mmol) προστίθεται διάλυμα του προϊόντος **45α** (0.67 g, 2.2 mmol) σε 19 mL μίγματος τολουολίου/DMF (4:1) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται στους 100 °C για 2h. Στη συνέχεια, οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό, το υπόλειμμα διαλύεται σε EtOAc (200 mL) και εκχυλίζεται αρχικά με κορεσμένο διάλυμα NaHCO₃ (20 mL), στη συνέχεια με θειοθειικό νάτριο (20 mL) και έπειτα με νερό (20 mL). Η οργανική φάση ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα E και το επιθυμητό προϊόν **46α** (0.33 g, 56%) παραλαμβάνεται ως παχύρρευστο άχρωμο έλαιο.

$[\alpha]_D^{22} = 46.0^\circ$ (c = 0.330 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ϵ 4622)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 267.29 ($M+H^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($C_{12}H_{14}N_2O_5$) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 54.13	H : 5.30	N : 10.52
Ευρ. (%)	C : 54.58	H : 4.72	N : 10.68

1H -NMR (500 MHz, CD_3OD)

δ 8.20 (br s, 1H, NH), 7.15 (s, 1H, H-6), 6.35 (m, 2H, H-1', H-3'), 5.92 (dd, 1H, $J_{1',2'} = 1.3$ Hz, $J_{2',3'} = 10.0$ Hz, H-2'), 5.11 (m, 1H, H-4'), 4.09-3.99 (m, 2H, $J = 13.0$ Hz, H-5'), 2.15 (s, 3H, OAc), 1.94 (s, 3H, 5- CH_3).

1-(2',3'-Διδεσοξυ- α -D-γλυκερο-πεντ-2-ενοπυρανοζυλο)θυμίνη (47α)

Το παράγωγο της θυμίνης **47α** συντέθηκε από την ένωση **46α** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **4**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα A, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **47α** (0.19 g, 68%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 186-188 $^{\circ}C$ (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = 4.0$ (c 0.230 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ϵ 8584)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 225.25 ($M+H^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($C_{10}H_{12}N_2O_4$) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 53.57	H : 5.39	N : 12.49
Ευρ. (%)	C : 53.42	H : 5.47	N : 12.58

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.56 (br s, 1H, NH), 7.21 (s, 1H, H-6), 6.40 (m, 1H, H-3'), 6.29 (br s, 1H, H-1'), 5.79 (dd, 1H, $J_{1,2'} = 1.2$ Hz, $J_{2',3'} = 10.1$ Hz, H-2'), 4.15-4.13 (m, 1H, H-4'), 4.0 (m, 2H, H-5a', H-5b'), 1.92 (s, 3H, 5-CH₃).

1-(2',3'-Διδεσοξυ-α-πεντ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)θυμίνη (48α)

Σε διάλυμα της ένωσης **47α** (0.19 g, 0.84 mmol) σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (14 mL) προστίθεται PDC (0.38 g, 1.01 mmol) και Ac₂O (0.24 mL, 2.52 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 2h. Στη συνέχεια προστίθεται EtOAc (3 mL) και το προκύπτον παχύρρευστο έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Γ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **48α** (0.16 g, 87%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 169-171 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = -6.0^{\circ}$ (c = 0.305 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 258 nm (ε 6466)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 223.24 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₀H₁₀N₂O₄) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 54.05	H : 4.54	N : 12.61
Ευρ. (%)	C : 54.22	H : 4.38	N : 12.71

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 10.12 (br s, 1H, NH), 7.36 (s, 1H, H-6), 7.15-7.12 (m, 1H, H-3'), 6.59 (br s, 1H, H-1'), 6.34-6.31 (m, 1H, H-2'), 4.37, 4.22 (q, AB-σύστημα, 2H, $J = 16.3$ Hz, H-5'), 1.98 (s, 3H, 5-CH₃).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃)

δ 190.6, 150.4, 136.3, 140.1, 132.5, 120.8, 108.7, 82.6, 63.1, 11.1.

1-(2',3',4'-Τριδεσοξυ-4'-μεθυλενο-α-πεντ-2'-ενοπυρανοζυλο)θυμίνη (43α)

Το παράγωγο της θυμίνης **43α** συντέθηκε από την ένωση **48α** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **8**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Β, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **43α** (0.98 g, 61%) με λευκή αφρώδη υφή.

Σύνθεση των παραγώγων της ουρακίλης

1-(2',3',4'-Τρι-Ο-ακετυλο-α-D-λυξοπυρανοζυλ)ουρακίλη (37β)

Διάλυμα αποτελούμενο από ουρακίλη (2.46 g, 22.0 mmol), HMDS (5.75 mL, 27.3 mmol) και σακχαρίνη (185.29 mg, 1.0 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (68 mL) θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 λεπτά στους 120 °C και στη συνέχεια προστίθεται η 1,2,3,4-τετρα-Ο-ακετυλο-D-λυξοπυρανόζη (**36**) (5.0 g, 15.7 mmol) καθώς και το SnCl₄ (2.6 mL, 22.0 mmol). Ακολουθεί θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα για περίπου 2h (TLC), ψύξη του μίγματος σε θερμοκρασία δωματίου, προσθήκη κορεσμένου διαλύματος NaHCO₃, και εκχύλιση με EtOAc (600 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (20 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Δ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **37β** (3.79 g, 65%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -32.0^\circ$ (c = 0,500 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 258 nm (ε 9344)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 371.36 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₅H₁₈N₂O₉) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 48.65	H : 4.90	N : 7.56
Ευρ. (%)	C : 49.14	H : 5.24	N : 7.41

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.86 (br s, 1H, NH), 7.30 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.2$ Hz, H-6), 5.96 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.9$ Hz, H-1'), 5.75 (d, 1H, H-5), 5.41 (t, 1H, $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 3.2$ Hz, H-3'), 5.18 (dd, 1H, H-2'), 4.82 (d, 1H, H-4'), 4.05, 3.98 (q, AB-σύστημα, 2H, $J = 13.3$ Hz, H-5'), 2.15, 2.13, 1.92 (3s, 9H, 3OAc).

1-(α -D-Λυξοπυρανοζυλ)ουρακίλη (38β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **38β** συντέθηκε από την ένωση **37β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **4**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα I, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **38β** (2.47 g, 99%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -12.0^0$ (c = 0.500 μεθανόλη)

λ_{\max} 258 nm (ϵ 6869)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 245.26 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₉H₁₂N₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 44.27	H : 4.95	N : 11.47
Ευρ. (%)	C : 44.56	H : 5.12	N : 11,78

1-(2',3'-O-Ισοπροπυλιδενο- α -D-λυξοπυρανοζυλ)ουρακίλη (39β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **39β** συντέθηκε από την ένωση **38β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **5**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα A, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **39β** (2.24 g, 78%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = 6.0^0$ (c = 0.485 μεθανόλη)

λ_{\max} 258 nm (ϵ 4457)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 285.31 ($M+H^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($C_{12}H_{16}N_2O_6$) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 50.70	H : 5.67	N : 9.85
Ευρ. (%)	C : 50.85	H : 5.80	N : 9.98

1H -NMR (500 MHz, CD_3OD)

δ 10.05 (br s, 1H, NH), 7.63 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 5.61 (d, 1H, H-5), 4.52 (d, 1H, $J_{1',2'} = 6.4$ Hz, H-1'), 4.34-4.29 (m, 2H, H-2', H-3'), 3.90-3.82 (m, 3H, H-4', H-5a', H-5b'), 1.44, 1.26 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(2',3'-O-Ισοπροπυλιδενο- α -D-ερυθρο-πεντοπυρανοζυλο-4-ουλοζ)ουρακίλη (40β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **40β** συντέθηκε από την ένωση **51** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **40α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Γ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **40β** (0.85 g, 69%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = 4.0^0$ ($c = 0.500$ χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 258 nm (ϵ 2444)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 283.22 ($M+H^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($C_{12}H_{14}N_2O_6$) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 51.06	H : 5.00	N : 9.93
Ευρ. (%)	C : 51.38	H : 5.11	N : 9.68

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.02 (br s, 1H, NH), 7.31 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.0$ Hz, H-6), 5.85 (d, 1H, H-5), 5.52 (d, 1H, $J_{1,2'} = 5.3$ Hz, H-1'), 4.77 (m, 1H, H-2'), 4.69 (d, 1H, $J_{2',3'} = 7.2$ Hz, H-3'), 4.37, 4.30 (q, AB-σύστημα, 2H, $J = 17.9$ Hz, H-5'), 1.56 (s, 6H, 2CH₃).

1-(4'-Δεσοξυ-2',3'-Ο-ισοπροπυλιδενό-4'-μεθυλενο-α-L-ερυθρο-πεντοπυρανοζυλ)ουρακίλη (41β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **41β** συντέθηκε από την ένωση **40β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **8**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Δ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **41β** (0.46 g, 54%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -10.0^0$ (c = 0.500 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 258 nm (ϵ 8024)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 281.29 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₃H₁₆N₂O₅) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 55.71	H : 5.75	N : 9.99
Ευρ. (%)	C : 56.12	H : 5.93	N : 9.85

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.26 (br s, 1H, NH), 7.26 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.4$ Hz, H-6), 5.77 (d, 1H, $J_{2',3'} = 7.3$ Hz, H-3'), 5.73 (d, 1H, H-5), 5.53, 5.43 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.76 (br s, 1H, H-1'), 4.47, 4.32 (q, AB-σύστημα, 2H, $J = 12.7$ Hz, H-5'), 4.11 (m, 1H, H-2'), 1.63, 1.48 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(4'-Δεσοξυ-4'-μεθυλενο-α-L-ερυθρο-πεντοπυρανοζυλ)ουρακίλη (42β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **42β** συντέθηκε από την ένωση **41β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **42α**. Το προκύπτον

έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Β, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **42β** (0.32 g, 82%) με λευκή αφρώδη υφή.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -12.0^{\circ} \text{ (c = 0.480 μεθανόλη)}$$

λ_{max} 258 nm (ϵ 5825)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 241.25 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₀H₁₂N₂O₅) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 50.00	H : 5.04	N : 11.66
Ευρ. (%)	C : 50.41	H : 5.22	N : 11.43

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 7.36 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.2$ Hz, H-6), 5.94 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.3$ Hz, H-1'), 5.76 (d, 1H, H-5), 5.23, 5.15 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.58 (d, 1H, $J_{2',3'} = 2.9$ Hz, H-3'), 4.54, 4.17 (q, AB-σύστημα, 2H, $J = 12.6$ Hz, H-5'), 4.60-4.54 (m, 2H, H-5a', H-5b'), 3.62 (dd, 1H, H-2').

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃)

δ 152.8, 141.9, 139.3, 137.3, 110.6, 90.9, 88.6, 71.4, 69.3, 58.2.

1-(2',3',4'-Τριδεσοξυ-4'-μεθυλενο-α-πεντ-2'-ενοπυρανοζυλ)ουρακίλη (43β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **43β** συντέθηκε από την ένωση **42β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **43α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Γ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **43β** (0.14 g, 52%) με λευκή αφρώδη υφή.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = 8.0^{\circ} \text{ (c = 0.425, χλωροφόρμιο)}$$

λ_{max} 258 nm (ϵ 6249)

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 207.29 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₀H₁₀N₂O₃) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 58.25	H : 4.89	N : 13.59
Ευρ. (%)	C : 58.42	H : 4.63	N : 13.51

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.24 (br s, 1H, NH), 7.35 (d, 1H, *J*_{5,6} = 8.1 Hz, H-6), 6.66 (d, 1H, *J*_{2',3'} = 10.0 Hz, H-3'), 6.47 (br s, 1H, H-1'), 5.72-5.68 (m, 2H, H-2', H-5), 5.11, 5.07 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.45, 4.38 (q, AB-σύστημα, 2H, *J* = 14.0 Hz, H-5').

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃)

δ 151.4, 142.6, 141.9, 138.8, 126.3, 121.5, 99.1, 92.6, 90.7, 70.5.

1-(4'-*O*-Ακετυλο-2',3'-*O*-ισοπροπυλιδενο- α -*D*-λυξοπυρανοζυλ)ουρακίλη (**44β**)

Το παράγωγο της ουρακίλης **44β** συντέθηκε από την ένωση **39β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **44α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα ΣΤ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **44β** (0.99 g, 86%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 185-186 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = 36.0^0$ (c = 0.505 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 258 nm (ϵ 8015)

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 327.33 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₄H₁₈N₂O₇) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 51.53	H : 5.56	N : 8.59
Ευρ. (%)	C : 51.79	H : 5.38	N : 8.82

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.29 (br s, 1H, NH), 7.32 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.01$ Hz, H-6), 5.80 (d, 1H, H-5), 5.64 (d, 1H, $J_{1',2'} = 8.6$ Hz, H-1'), 5.16 (br s, 1H, H-4'), 4.33 (br s, 1H, H-3'), 4.17 (m, 1H, H-2'), 4.06, 4.01 (q, AB-σύστημα, 2H, $J = 13.2$ Hz, H-5'), 2.16 (s, 3H, OAc), 1.62, 1.39 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(4'-O-Ακετυλο-α-D-λυξοπυρανοζυλ)ουρακίλη (45β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **45β** συντέθηκε από την ένωση **44β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **45α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα A, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **45β** (0.77 g, 89%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 196-197 °C (μεθανόλη / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = -18.0^0$ (c = 0.500 μεθανόλη)

λ_{\max} 258 nm (ε 9495)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 287.71 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₁H₁₄N₂O₇) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 46.16	H : 4.93	N : 9.79
Ευρ. (%)	C : 46.32	H : 4.75	N : 9.83

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 10.60 (br s, 1H, NH), 8.07 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 5.86 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.1$ Hz, H-1'), 5.77 (d, 1H, H-5), 4.97 (br s, 1H, H-3'), 4.25 (br s, 1H, H-4'), 4.14, 3.94 (q, AB-σύστημα, 2H, $J = 13.0$ Hz, H-5'), 3.83 (m, 1H, H-2'), 1.90 (s, 3H, OAc).

1-(4'-O-Ακετυλο-2',3'-διδεσοξυ-α-D-γλυκερο-πεντ-2-ενοπιυρανοζυλ)ουρακίλη (46β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **46β** συντέθηκε από την ένωση **45β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **46α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα A, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **46β** (0.40 g, 59%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 150-151 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = 48.0^0$ (c = 0.500 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 258 nm (ϵ 10696)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 253.29 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₁H₁₂N₂O₅) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 52.38	H : 4.80	N : 11.11
Ευρ. (%)	C : 52.51	H : 5.02	N : 11.48

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.72 (br s, 1H, NH), 7.36 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 6.36 (m, 2H, H-1', H-3'), 5.90 (d, 1H, $J_{2',3'} = 10.1$ Hz, H-2'), 5.78 (d, 1H, H-5), 5.11 (m, 1H, H-4'), 4.06-3.99 (m, 2H, H-5a', H-5b'), 2.13 (s, 3H, OAc).

1-(2',3'-Διδεσοξυ-α-D-γλυκερο-πεντ-2-ενοπιυρανοζυλ)ουρακίλη (47β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **47β** συντέθηκε από την ένωση **46β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **4**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα A, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **47β** (0.23 g, 70%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = 14.0^0$ (c = 0.454 μεθανόλη)

λ_{\max} 260 nm (ϵ 2117)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 211.38 ($M+H^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($C_9H_{10}N_2O_4$) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 51.43	H : 4.80	N : 13.33
Ευρ. (%)	C : 51.52	H : 4.67	N : 13.57

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$)

δ 8.20 (br s, 1H, NH), 7.41 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 6.40 (m, 1H, H-3'), 6.29 (d, 1H, $J_{1,2'} = 1.7$ Hz, H-1'), 5.79 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 10.1$ Hz, H-2'), 5.75 (d, 1H, H-5), 4.15 (br s, 1H, H-4'), 3.98-3.95 (m, 2H, H-5a', H-5b').

1-(2',3'-Διδεσοξυ- α -πεντ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζ)ουρακίλη (48 β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **48 β** συντέθηκε από την ένωση **47 β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **48 α** . Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα A, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **48 β** (0.20 g, 89%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 158-160 $^{\circ}C$ (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = -10.0^{\circ}$ (c = 0.486 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 258 nm (ϵ 3613)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 209.21 ($M+H^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($C_9H_8N_2O_4$) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 51.93	H : 3.87	N : 13.46
Ευρ. (%)	C : 52.24	H : 3.68	N : 13.61

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 9.03 (br s, 1H, NH), 7.29 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 6.89 (dd, 1H, $J_{1',3'} = 1.5$ Hz, $J_{2',3'} = 10.5$ Hz, H-3'), 6.67 (br s, 1H, H-1'), 6.46 (dd, 1H, $J_{1',2'} = 1.8$ Hz, H-2'), 5.82 (d, 1H, H-5), 4.43-4.34 (m, 2H, H-5a', H-5b').

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃)

δ 189.2, 153.3, 149.1, 138.6, 133.6, 126.1, 98.8, 81.2, 60.1.

1-(2',3',4'-Τριδεσοξυ-4'-μεθυλενο-α-πεντ-2'-ενοπυρανοζυλ)ουρακίλη (43β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **43β** συντέθηκε από την ένωση **48β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **43α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Γ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **43β** (0.11 g, 57%) με λευκή αφρώδη υφή.

Σύνθεση των 2'-κετο και 2'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της αραβινόζης

1,2,3,4-Τετρα-Ο-ακετυλο-*D*-αραβινοπυρανόζη (50) (Foster *et al.* 1967, Tewson, Welsh 1978)

Η ακετυλιωμένη αραβινόζη **50** συντέθηκε από την εμπορικά διαθέσιμη *D*-αραβινόζη (**49**) με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για την **2**. Το επιθυμητό προϊόν **50** (26.11 g, 95%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή υποκίτρινου παχύρρευστου ελαίου και χρησιμοποιείται στο επόμενο στάδιο χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 319.27 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₃H₁₈O₉) C, H

Υπολ. (%)	C : 49.29	H : 5.76
Ευρ. (%)	C : 49.13	H : 5.81

Σύνθεση των παραγώγων της θυμίνης

1-(2',3',4'-Τρι-Ο-ακετυλο- α -*D*-αραβινοπυρανοζυλο)θυμίνη (51 α)

Διάλυμα αποτελούμενο από θυμίνη (2.77 g, 22.0 mmol), HMDS (5.75 mL, 27.3 mmol) και σακχαρίνη (185.29 mg, 1.0 mmol) σε άνυδρο 1,2-διχλωροαιθάνιο (65 mL) θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 λεπτά στους 120 °C και στη συνέχεια προστίθεται η 1,2,3,4-τετρα-Ο-ακετυλο-*D*-αραβινοπυρανόζη (**50**) (5.0 g, 15.7 mmol) καθώς και το SnCl₄ (2.6 mL, 22.0 mmol). Ακολουθεί θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα για περίπου 3h (TLC), ψύξη του μίγματος σε θερμοκρασία δωματίου, προσθήκη κορεσμένου διαλύματος NaHCO₃, και εκχύλιση με EtOAc (600 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (20 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα E, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **51 α** (4.53 g, 75%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 122-124 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = -12.0^\circ$ (c = 0.500 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 262 nm (ε 6557)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 385.34 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₆H₂₀N₂O₉) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 50.00	H : 5.25	N : 7.29
Ευρ. (%)	C : 50.11	H : 5.49	N : 7.51

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.25 (br s, 1H, NH), 7.19 (s, 1H, H-6), 5.72 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.3$ Hz, H-1'), 5.40-5.33 (m, 2H, H-2', H-4'), 5.20 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 10.1$ Hz, $J_{3',4'} = 3.5$ Hz, H-3'), 4.10 (dd, 1H, $J_{4',5b'} = 3.9$ Hz, $J_{5a',5b'} = 13.5$ Hz, H-5b'), 3.87 (d, 1H, H-5a'), 2.22, 2.02, 2.01 (3s, 9H, 3OAc), 1.97 (s, 3H, 5-CH₃).

1-(α-D-Αραβινοπυρανοζυλο)θυμίνη (52α)

Το παράγωγο της θυμίνης **52α** συντέθηκε από την ένωση **51α** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **4**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα I, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **52α** (2.95 g, 97%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 249-251 °C (μεθανόλη / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = -18.0$ (c 0.570 μεθανόλη)

λ_{\max} 262 nm (ε 7201)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 259.29 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₀H₁₄N₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 46.51	H : 5.46	N : 10.85
Ευρ. (%)	C : 46.83	H : 5.32	N : 10.46

1-(3',4'-Ο-Ισοπροπυλιδανο-α-D-αραβινοπυρανοζυλο)θυμίνη (53α)

Το παράγωγο της θυμίνης **53α** συντέθηκε από την ένωση **52α** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **5**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα A, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **53α** (2.86 g, 84%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -48.0^\circ$ (c = 0.500 μεθανόλη)

λ_{\max} 262 nm (ε 11760)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 299.29 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₃H₁₈N₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 52.34	H : 6.08	N : 9.39
Ευρ. (%)	C : 52.65	H : 5.97	N : 9.63

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 7.26 (s, 1H, H-6), 5.51 (d, 1H, $J_{1',2'} = 8.8$ Hz, H-1'), 4.37-4.28 (m, 3H, H-3', H-4', H-5a'), 4.02 (dd, 1H, $J_{4',5b'} = 1.7$ Hz, $J_{5a',5b'} = 13.9$ Hz, H-5b'), 3.77 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 8.5$ Hz, H-2'), 1.89 (s, 3H, 5-CH₃), 1.62, 1.42 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(3',4'-Ο-Ισοπροπυλιδανο-α-D-ερυθρο-πεντοπυρανοζυλο-4-ουλοζο)θυμίνη (54α)

Το παράγωγο της θυμίνης **54α** συντέθηκε από την ένωση **53α** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **40α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως

διαλύτη έκλουσης το σύστημα Γ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **54α** (0.99 g, 83%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -12.0^\circ$ (c = 0.500 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 262 nm (ε 4948)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 297.26 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₃H₁₆N₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 52.70	H : 5.44	N : 9.46
Ευρ. (%)	C : 52.92	H : 5.78	N : 9.61

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.62 (br s, 1H, NH), 6.97 (s, 1H, H-6), 6.15 (s, 1H, H-1'), 4.73-4.67 (m, 2H, $J_{3',4'} = 5.5$ Hz, H-3', H-4'), 4.49 (d, 1H, $J_{5a',5b'} = 13.6$ Hz, H-5a'), 4.25 (dd, 1H, $J_{4',5b'} = 1.7$ Hz, H-5b'), 1.94 (s, 3H, 5-CH₃), 1.53, 1.45 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(2'-Δεσοξυ-3',4'-Ο-ισοπροπυλιδενο-2'-μεθυλενο-α-D-ερυθρο-πεντοπυρανο-ζυλο)θυμίνη (55α)

Το παράγωγο της θυμίνης **55α** συντέθηκε από την ένωση **54α** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **8**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα ΣΤ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **55α** (0.57 g, 58%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 110-112 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = -20.0^\circ$ (c = 0.500 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 264 nm (ε 9276)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 295.32 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₄H₁₈N₂O₅) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 57.13	H : 6.16	N : 9.52
Ευρ. (%)	C : 57.40	H : 6.42	N : 9.43

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.27 (br s, 1H, NH), 7.81 (s, 1H, H-6), 6.47 (s, 1H, H-1'), 5.66, 5.50 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.86 (d, 1H, J_{3',4'} = 7.4 Hz, H-3'), 4.35 (dd, 1H, J_{4',5b'} = 1.7 Hz, H-4'), 3.98 (d, 1H, J_{5a',5b'} = 13.5 Hz, H-5a'), 3.58 (dd, 1H, H-5b'), 1.92 (s, 3H, 5-CH₃) 1.61, 1.44 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(2'-Δεσοξυ-2'-μεθυλενο-α-D-ερυθρο-πεντοπυρανοζυλο)θυμίνη (56α)

Το παράγωγο της θυμίνης **56α** συντέθηκε από την ένωση **55α** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **42α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα B, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **56α** (0.43 g, 87%) με λευκή αφρώδη υφή.

[α]_D²² = - 2.0° (c = 0.500 μεθανόλη)

λ_{max} 262 nm (ε 8524)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 255.26 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₁H₁₄N₂O₅) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 51.97	H : 5.55	N : 11.02
Ευρ. (%)	C : 52.23	H : 5.76	N : 10.88

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 7.69 (s, 1H, H-6), 6.16 (s, 1H, H-1'), 5.47, 4.83 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.41 (m, 1H, H-4'), 4.06-4.04 (m, 2H, J_{5a',5b'} = 12.5 Hz, H-5a', H-5b'), 3.92 (d, 1H, J_{2',3'} = 5.1 Hz, H-3'), 1.91 (s, 3H, 5-CH₃).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃)

δ 161.94, 154.01, 153.12, 139.43, 113.42, 112.11, 83.16, 76.38, 67.82, 65.78, 13.23.

1-(2',3',4'-Τριδεσοξυ-2'-μεθυλενο-α-πεντ-3'-ενοπυρανοζυλο)θυμίνη (57α)

Το παράγωγο της θυμίνης **57α** συντέθηκε από την ένωση **56α** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **43α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα B, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **57α** (0.21 g, 57%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = 12.0^\circ$ (c = 0.500 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 263 nm (ε 8478)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 221.21 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₁H₁₂N₂O₃) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 59.99	H : 5.49	N : 12.72
Ευρ. (%)	C : 59.82	H : 5.68	N : 12.93

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.74 (br s, 1H, NH), 7.09 (s, 1H, H-6), 6.46 (s, 1H, H-1'), 6.42 (d, 1H, $J_{3',4'} = 10.0$ Hz, H-4'), 6.03 (d, 1H, H-3'), 5.17, 4.87 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.51, 4.35 (q, AB-σύστημα, 2H, $J = 17.4$ Hz, H-5') 1.94 (s, 3H, 5-CH₃).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃)

δ 161.33, 154.92, 154.11, 140.32, 138.92, 125.34, 112.23, 108.25, 92.36, 63.79, 13.24.

1-(2'-O-Ακετυλο-3',4'-O-ισοπροπυλιδενο-α-D-αραβινοπυρανοζυλο)θυμίνη (58α)

Το παράγωγο της θυμίνης **58α** συντέθηκε από την ένωση **53α** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **44α**. Το προκύπτον

έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα B, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **58α** (1.78 g, 94%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 227-229 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = -52.0^\circ$ (c = 0.500 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 262 nm (ϵ 8160)

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 341.34 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₅H₂₀N₂O₇) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 52.94	H : 5.92	N : 8.23
Ευρ. (%)	C : 53.10	H : 5.78	N : 8.52

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.40 (br s, 1H, NH), 7.23 (br s, 1H, H-6), 5.55 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.3$ Hz, H-1'), 5.12 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 7.0$ Hz, H-2'), 4.41-4.28 (m, 3H, H-3', H-4', H-5a'), 3.97 (dd, 1H, $J_{4',5b'} = 2.3$ Hz, $J_{5a',5b'} = 13.8$ Hz, H-5b'), 2.05 (s, 3H, OAc), 1.94 (s, 3H, 5-CH₃), 1.62, 1.40 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(2'-O-Ακετυλο- α -D-αραβινοπυρανοζυλο)θυμίνη (59α)

Το παράγωγο της θυμίνης **59α** συντέθηκε από την ένωση **58α** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **45α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα A, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **59α** (1.41 g, 90%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 232-234 °C (μεθανόλη / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = -38.0^\circ$ (c = 0.500 μεθανόλη)

λ_{\max} 262 nm (ϵ 14420)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 301.24 ($M+H^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($C_{12}H_{16}N_2O_7$) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 48.00	H : 5.37	N : 9.33
Ευρ. (%)	C : 47.72	H : 5.77	N : 9.64

1H -NMR (500 MHz, CD_3OD)

δ 7.67 (br s, 1H, NH), 5.59 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.2$ Hz, H-1'), 5.23 (t, 1H, $J_{2',3'} = 9.4$ Hz, H-2'), 4.03, 3.82 (q, AB-σύστημα, 2H, $J = 12.6$ Hz, H-5'), 3.97 (m, 1H, H-4'), 3.90 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 3.0$ Hz, H-3'), 2.02 (s, 3H, OAc), 1.90 (s, 3H, 5- CH_3).

1-(2'-O-Ακετυλο-3',4'-διδεσοξυ- α -D-γλυκερο-πεντ-3-ενοπυρανοζυλο)θυμίνη (60α)

Το παράγωγο της θυμίνης **60α** συντέθηκε από την ένωση **59α** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **46α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα E, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **60α** (0.86 g, 65%) ως παχύρρευστο άχρωμο έλαιο.

$[\alpha]_D^{22} = 4.0^\circ$ ($c = 0.500$ χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 264 nm (ϵ 8684)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 267.26 ($M+H^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($C_{12}H_{14}N_2O_5$) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 54.13	H : 5.30	N : 10.52
Ευρ. (%)	C : 54.35	H : 5.41	N : 10.68

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.44 (br s, 1H, NH), 7.19 (s, 1H, H-6), 6.00-5.97 (m, 1H, $J_{3',4'} = 10.3$ Hz, H-3'), 5.79-5.75 (m, 2H, $J_{4',5b'} = 2.4$ Hz, H-1', H-4'), 5.51 (m, 1H, $J_{2',3'} = 7.9$ Hz, H-2'), 4.48-4.37 (m, 2H, $J_{5a',5b'} = 17.0$ Hz, H-5a', H-5b'), 2.05 (s, 3H, OAc), 1.94 (s, 3H, 5-CH₃).

1-(3',4'-Διδεσοξυ-α-D-γλυκερο-πεντ-3-ενοπυρανοζυλο)θυμίνη (61α)

Το παράγωγο της θυμίνης **61α** συντέθηκε από την ένωση **60α** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **4**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα A, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **61α** (0.50 g, 73%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = 22.0$ (c 0.500 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ϵ 7769)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 225.23 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₀H₁₂N₂O₄) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 53.57	H : 5.39	N : 12.49
Ευρ. (%)	C : 53.42	H : 5.47	N : 12.58

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 7.76 (br s, 1H, NH), 7.53 (s, 1H, H-6), 5.92-5.81 (m, 2H, $J_{3',4'} = 10.3$ Hz, $J_{4',5b'} = 3.0$ Hz, H-3', H-4'), 5.52 (d, 1H, $J_{1',2'} = 8.2$ Hz, H-1'), 4.44-4.29 (m, 3H, $J_{5a',5b'} = 17.5$ Hz, H-2', H-5a', H-5b'), 1.91 (s, 3H, 5-CH₃).

1-(3',4'-Διδεσοξυ-α-πεντ-3'-ενοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)θυμίνη (62α)

Το παράγωγο της θυμίνης **62α** συντέθηκε από την ένωση **61α** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **48α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Γ. Το υπόλειμμα που περιέχει Ac₂O αραιώνεται με

τολουόλιο και με απόσταξη εξατμίζεται μέχρις ξηρού, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **62α** (0.40 g, 80%). υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 186-188 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = 6.0^0$ (c = 0.500 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ϵ 9409)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 223.18 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₀H₁₀N₂O₄) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 54.05	H : 4.54	N : 12.61
Ευρ. (%)	C : 54.22	H : 4.38	N : 12.71

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.67 (br s, 1H, NH), 7.23-7.19 (m, 1H, $J_{3',4'} = 10.3$ Hz, $J_{4',5b'} = 2.1$ Hz, H-4'), 6.93 (s, 1H, H-6), 6.36-6.32 (m, 1H, H-3'), 6.18 (br s, 1H, H-1'), 4.78-4.63 (m, 2H, $J_{5a',5b'} = 18.9$ Hz, H-5a', H-5b'), 1.93 (s, 3H, 5-CH₃).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃)

δ 198.39, 160.92, 154.32, 151.21, 139.01, 130.21, 112.30, 96.39, 63.12, 13.27.

1-(2',3',4'-Τριδεσοξυ-2'-μεθυλενο-α-πεντ-3'-ενοπυρανοζυλο)θυμίνη (57α)

Το παράγωγο της θυμίνης **57α** συντέθηκε από την ένωση **62α** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **8**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα B, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **62α** (0.24 g, 60%) με λευκή αφρώδη υφή.

Σύνθεση των παραγώγων της ουρακίλης

1-(2',3',4'-Τρι-Ο-ακετυλο-α-D-αραβινοπυρανοζυλ)ουρακίλη (51β)

Διάλυμα αποτελούμενο από ουρακίλη (2.46 g, 22.0 mmol), HMDS (5.75 mL, 27.3 mmol) και σακχαρίνη (185.29 mg, 1.0 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (68 mL) θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 λεπτά στους 120 °C και στη συνέχεια προστίθεται η 1,2,3,4-τετρα-Ο-ακετυλο-D-αραβινοπυρανόζη (**50**) (5.0 g, 15.7 mmol) καθώς και το SnCl₄ (2.6 mL, 22.0 mmol). Ακολουθεί θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα για περίπου 2h (TLC), ψύξη του μίγματος σε θερμοκρασία δωματίου, προσθήκη κορεσμένου διαλύματος NaHCO₃, και εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο (500 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (20 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Δ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **51β** (4.42 g, 76%) με λευκή αφρώδη υφή.

$$[\alpha]_D^{22} = -24.0^\circ \text{ (c = 0.500 χλωροφόρμιο)}$$

$$\lambda_{\max} 256 \text{ nm (}\epsilon \text{ 7632)}$$

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 371.33 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₅H₁₈N₂O₉) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 48.65	H : 4.90	N : 7.56
Ευρ. (%)	C : 49.04	H : 5.24	N : 7.41

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.29 (br s, 1H, NH), 7.40 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.2$ Hz, H-6), 5.82 (dd, 1H, $J_{1',5} = 1.3$ Hz, H-5), 5.73 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.2$ Hz, H-1'), 5.40 (m, 1H, $J_{4',5b'} = 2.0$ Hz, H-4'), 5.33 (m, 1H, H-2'), 5.20 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 3,4$ Hz, H-3'), 4.11 (dd, 1H, $J_{5a',5b'} = 13.5$ Hz, H-5b'), 3.86 (d, 1H, H-5a'), 2.20, 2.03, 2.02 (3s, 9H, 3OAc).

1-(α -D-Αραβινοπυρανοζυλ)ουρακίλη (52β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **52β** συντέθηκε από την ένωση **51β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **4**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα I, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **52β** (2.86 g, 98%) με λευκή αφρώδη υφή.

$$[\alpha]_D^{22} = -12.0 \text{ (c 0.500 μεθανόλη)}$$

$$\lambda_{\max} 258 \text{ nm (}\epsilon \text{ 6869)}$$

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 245.22 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₉H₁₂N₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 44.27	H : 4.95	N : 11.47
Ευρ. (%)	C : 44.56	H : 5.12	N : 11.78

1-(3',4'-O-Ισοπροπυλιδενο- α -D-αραβινοπυρανοζυλ)ουρακίλη (53β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **53β** συντέθηκε από την ένωση **52β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **5**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα A, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **53β** (2.76 g, 83%) με λευκή αφρώδη υφή.

$$[\alpha]_D^{22} = 6.0^0 \text{ (c = 0.485 μεθανόλη)}$$

$$\lambda_{\max} 259 \text{ nm (}\epsilon \text{ 6836)}$$

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 285.25 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₂H₁₆N₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 50.70	H : 5.67	N : 9.85
Ευρ. (%)	C : 50.85	H : 5.80	N : 9.98

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 7.61 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 5.72 (d, 1H, H-5), 5.37 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.5$ Hz, H-1'), 4.24-4.28 (m, 2H, H-4', H-5a'), 4.16 (t, 1H, $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 6.0$ Hz, H-3'), 3.99 (dd, 1H, $J_{4',5b'} = 2.3$ Hz, $J_{5a',5b'} = 13.6$ Hz, H-5b'), 3.76 (dd, 1H, H-2'), 1.54, 1.36 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(3',4'-O-ισοπροπυλιδενο-α-D-ερυθρο-πεντοπυρανοζυλο-4-ουλοζ)ουρακίλη (54β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **54β** συντέθηκε από την ένωση **53β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **40α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Γ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **54β** (0.99 g, 79%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -4.0^0$ (c = 0.298 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 257 nm (ϵ 8850)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 283.22 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₂H₁₄N₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 51.06	H : 5.00	N : 9.93
Ευρ. (%)	C : 51.38	H : 5.11	N : 9.68

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 9.02 (br s, 1H, NH), 7.15 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 6.16 (s, 1H, H-1'), 5.79 (d, 1H, H-5), 4.74 (d, 1H, $J_{3',4'} = 5.6$ Hz, H-3'), 4.67 (d, 1H, H-4'), 4.49 (d, 1H, $J_{5a',5b'} = 13.7$ Hz, H-5a'), 4.26 (dd, 1H, $J_{4',5b'} = 1.0$ Hz, H-5b'), 1.49, 1.44 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(2'-Δεσοξυ-3',4'-Ο-ισοπροπυλιδενο-2'-μεθυλενο-α-D-ερυθρο-πεντοπυρανοζυλ)ουρακίλη (55β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **55β** συντέθηκε από την ένωση **54β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **8**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Δ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **55β** (0.64 g, 65%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 213-215 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = -28.0^0$ (c = 0.600 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 259 nm (ε 5157)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 281.29 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₃H₁₆N₂O₅) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 55.71	H : 5.75	N : 9.99
Ευρ. (%)	C : 56.02	H : 5.93	N : 9.85

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.51 (br s, 1H, NH), 7.92 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.2$ Hz, H-6), 6.46 (s, 1H, H-1'), 5.72 (d, 1H, H-5), 5.67, 5.49 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.85 (d, 1H, $J_{3',4'} = 7.3$ Hz, H-3'), 4.35 (dd, 1H, $J_{4',5b'} = 2.3$ Hz, H-4'), 3.97 (d, 1H, $J_{5a',5b'} = 13.4$ Hz, H-5a'), 3.58 (dd, 1H, H-5b'), 1.56, 1.42 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(2'-Δεσοξυ-2'-μεθυλενο-α-D-ερυθρο-πεντοπυρανοζυλ)ουρακίλη (56β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **56β** συντέθηκε από την ένωση **55β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **42α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Α, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **56β** (0.46 g, 85%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = - 8.0^0$ (c = 0.300 μεθανόλη)

λ_{\max} 259 nm (ϵ 8241)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 241.22 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₀H₁₂N₂O₅) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 50.00	H : 5.04	N : 11.66
Ευρ. (%)	C : 50.36	H : 5.22	N : 11.43

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 7.75 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 6.14 (s, 1H, H-1'), 5.73 (d, 1H, H-5), 5.43, 4.81 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.38 (m, 1H, H-4'), 4.02 (dd, 1H, $J_{4',5b'} = 2.3$ Hz, $J_{5a',5b'} = 12.6$ Hz, H-5b'), 3.91 (d, 1H, H-5a'), 3.88 (br s, 1H, H-3').

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃)

δ 162.90, 152.02, 151.27, 139.98, 117.29, 103.59, 86.22, 75.37, 70.29, 62.85.

1-(2',3',4'-Τριδεσοξυ-2'-μεθυλενο-α-πεντ-3'-ενοπυρανοζυλ)ουρακίλη (57β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **57β** συντέθηκε από την ένωση **56β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **43α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Γ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **57β** (0.21 g, 53%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = - 4.0^0$ (c = 0.550 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 258 nm (ϵ 7559)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 207.19 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₀H₁₀N₂O₃) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 58.25	H : 4.89	N : 13.59
Ευρ. (%)	C : 58.03	H : 5.08	N : 13.89

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.43 (br s, 1H, NH), 7.17 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 6.38 (s, 1H, H-1'), 6.33 (d, 1H, $J_{3',4'} = 10.1$ Hz, H-4'), 5.95 (d, 1H, H-3'), 5.66 (d, 1H, H-5), 5.11, 4.81 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.41, 4.24 (q, AB-σύστημα, 2H, $J = 17.6$ Hz, H-5').

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃)

δ 162.61, 151.92, 150.07, 142.07, 136.90, 125.36, 114.56, 103.27, 87.93, 65.57.

1-(2'-O-Ακετυλο-3',4'-O-ισοπροπυλιδενο-α-D-αραβινοπυρανοζυλ)ουρακίλη (58β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **58β** συντέθηκε από την ένωση **53β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **44α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα ΣΤ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **58β** (1.53 g, 89%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 232-234 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = -10.0^0$ (c = 0.205 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 257 nm (ϵ 5838)

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 327.32 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₄H₁₈N₂O₇) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 51.53	H : 5.56	N : 8.59
Ευρ. (%)	C : 51.79	H : 5.38	N : 8.82

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.52 (br s, 1H, NH), 7.44 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.2$ Hz, H-6), 5.78 (d, 1H, H-5), 5.56 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.4$ Hz, H-1'), 5.11 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 6.8$ Hz, H-2'), 4.40 (d, 1H, $J_{5a',5b'} = 13.7$ Hz, H-5a'), 4.32 (m, 2H, H-3', H-4'), 3.98 (dd, 1H, $J_{4',5b'} = 2.1$ Hz, H-5b'), 2.06 (s, 3H, OAc), 1.60, 1.39 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(2'-O-Ακετυλο-α-D-αραβινοπυρανοζυλ)ουρακίλη (59β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **59β** συντέθηκε από την ένωση **58β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **45α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα A, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **59β** (1.13 g, 84%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 115-117 °C (μεθανόλη / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = -40.0^0$ (c = 0.500 μεθανόλη)

λ_{\max} 259 nm (ε 6471)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 287.25 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₁H₁₄N₂O₇) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 46.16	H : 4.93	N : 9.79
Ευρ. (%)	C : 46.32	H : 4.75	N : 9.83

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 7.76 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 5.70 (d, 1H, H-5), 5.57 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.3$ Hz, H-1'), 5.18 (t, 1H, $J_{2',3'} = 9.3$ Hz, H-2'), 4.61 (dd, 1H, $J_{4',5b'} = 1.9$ Hz, $J_{5a',5b'} = 12.7$ Hz, H-5b'), 3.93 (m, 1H, H-4'), 3.86 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 3.3$ Hz, H-3'), 3.79 (d, 1H, H-5a'), 1.99 (s, 3H, OAc).

1-(2'-*O*-Ακετυλο-3',4'-διδεσοξυ- α -*D*-γλυκερο-πεντ-3-ενοπυρανοζυλ)ουρακίλη (60β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **60β** συντέθηκε από την ένωση **59β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **46α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Δ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **60β** (0.66 g, 66%) με λευκή αφρώδη υφή.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -4.0^{\circ} (c = 0.500 \text{ χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\text{max}} 258 \text{ nm } (\epsilon 7583)$$

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 253.21 ($M+H^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($C_{11}H_{12}N_2O_5$) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 52.38	H : 4.80	N : 11.11
Ευρ. (%)	C : 52.51	H : 5.02	N : 11.48

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3)

δ 8.41 (br s, 1H, NH), 7.38 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.2$ Hz, H-6), 5.99 (m, 1H, H-1'), 5.78 (m, 3H, H-2', H-3', H-4'), 5.50 (d, 1H, H-5), 4.48-4.37 (m, 2H, H-5a', H-5b'), 2.06 (s, 3H, OAc).

1-(3',4'-Διδεσοξυ- α -*D*-γλυκερο-πεντ-3-ενοπυρανοζυλ)ουρακίλη (61β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **61β** συντέθηκε από την ένωση **60β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **4**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Α, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **61β** (0.40 g, 74%) με λευκή αφρώδη υφή.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = 4.0^{\circ} (c = 0.454 \text{ μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\text{max}} 260 \text{ nm } (\epsilon 3985)$$

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 211.17 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₉H₁₀N₂O₄) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 51.43	H : 4.80	N : 13.33
Ευρ. (%)	C : 51.52	H : 4.67	N : 13.57

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 7.66 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 5.89-5.87 (m, 1H, $J_{3',4'} = 10.2$ Hz, H-3'), 5.81-5.79 (m, 1H, $J_{4',5b'} = 3.8$ Hz, H-4'), 5.72 (d, 1H, H-5), 5.50 (d, 1H, $J_{1',2'} = 8.1$ Hz, H-1'), 4.40-4.36 (m, 2H, H-2', H-5a'), 4.32-4.28 (m, 1H, H-5b').

1-(3',4'-Διδεσοξυ-α-πεντ-3'-ενοπυρανοζυλο-2'-ουλοζ)ουρακίλη (62β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **62β** συντέθηκε από την ένωση **61β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **48α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Γ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **62β** (0.31 g, 78%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -2.0^0$ (c = 0.500 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 254 nm (ε 8902)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 209.19 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₉H₈N₂O₄) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 51.93	H : 3.87	N : 13.46
Ευρ. (%)	C : 52.24	H : 3.68	N : 13.61

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.30 (br s, 1H, NH), 7.23-7.18 (m, 1H, $J_{3',4'} = 10.5$ Hz, $J_{4',5b'} = 2.3$ Hz, H-4'), 7.08 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz H-6), 6.36-6.31 (m, 1H, H-3'), 6.16 (s, 1H, H-1'), 5.76 (d, 1H, H-5), 4.80-4.61 (m, 2H, H-5a', H-5b').

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃)

δ 198.02, 161.99, 151.01, 148.10, 143.09, 127.93, 104.01, 93.56, 63.11.

1-(2',3',4'-Τριδεσοξυ-2'-μεθυλενο-α-πεντ-3'-ενοπυρανοζυλ)ουρακίλη (57β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **57β** συντέθηκε από την ένωση **62β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **43α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Γ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **57β** (0.19 g, 62%) με λευκή αφρώδη υφή.

Σύνθεση των παραγώγων της 5-φθοροουρακίλης**1-(2',3',4'-Τρι-Ο-ακετυλο-α-D-αραβινοπυρανοζυλο)5-φθοροουρακίλη (51γ)**

Διάλυμα αποτελούμενο από 5-φθοροουρακίλη (2.54 g, 19.5 mmol), HMDS (5.75 mL, 27.3 mmol) και σακχαρίνη (164.73 mg, 0.9 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (80 mL) θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 λεπτά στους 120 °C και στη συνέχεια προστίθεται η 1,2,3,4-τετρα-Ο-ακετυλο-D-αραβινοπυρανόζη (**50**) (4.8 g, 15.0 mmol) καθώς και ο Me₃SiOSO₂CF₃ (3.8 mL, 21.1 mmol). Ακολουθεί θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα για περίπου 2h (TLC), ψύξη του μίγματος σε θερμοκρασία δωματίου, προσθήκη κορεσμένου διαλύματος NaHCO₃, και εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο (600 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (20 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Ε, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **51γ** (5.00 g, 85%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -24.0^\circ$ (c = 0.500 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 263 nm (ε 7878)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 389.32 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₅H₁₇FN₂O₉) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 46.40	H : 4.41	N : 7.21
Ευρ. (%)	C : 46.14	H : 4.64	N : 7.49

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.99 (br s, 1H, NH), 7.48 (d, 1H, $J_{F5,6} = 5.6$ Hz, H-6), 5.75 (d, 1H, $J_{1',2'} = 8.5$ Hz, H-1'), 5.45-5.23 (m, 3H, H-2', H-3', H-4'), 4.13, 3.91 (q, AB-σύστημα, 2H, $J = 13.3$ Hz, H-5'), 2.24, 2.05, 2.04 (3s, 9H, 3OAc).

1-(α -D-Αραβινοπυρανοζυλο)5-φθοροουρακίλη (52γ)

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **52γ** συντέθηκε από την ένωση **51γ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **4**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα I, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **52γ** (3.1 g, 92%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 257-259 °C (μεθανόλη / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = -48.0$ (c 0.500 μεθανόλη)

λ_{\max} 266 nm (ϵ 7158)

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 263.17 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₉H₁₁FN₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 41.23	H : 4.23	N : 10.68
Ευρ. (%)	C : 41.65	H : 4.09	N : 10.71

1-(3',4'-O-Ισοπρυλιδενο- α -D-αραβινοπυρανοζυλο)5-φθοροουρακίλη (53γ)

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **53γ** συντέθηκε από την ένωση **52γ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **5**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση,

χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα A, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **53γ** (2.83 g, 79%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 183-185 °C (μεθανόλη / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = -60.0^0$ (c = 0.500 μεθανόλη)

λ_{\max} 266 nm (ϵ 4650)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 303.27 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₂H₁₅FN₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 47.68	H : 5.00	N : 9.27
Ευρ. (%)	C : 47.81	H : 4.79	N : 9.46

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 7.83 (d, 1H, $J_{F5,6} = 6.5$ Hz, H-6), 5.38 (dd, 1H, $J_{1',2'} = 9.3$ Hz, $J_{1',F5} = 1.5$ Hz, H-1'), 4.30-4.16 (m, 3H, H-3', H-4', H-5a'), 4.01 (dd, 1H, $J_{4',5b'} = 2.5$ Hz, $J_{5a',5b'} = 13.6$ Hz, H-5b'), 3.76 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 7.0$ Hz, H-2'), 1.56, 1.37 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(3',4'-O-Ισοπροπυλιδενο-α-D-ερυθρο-πεντοπυρανοζυλο-4-ουλοζο)5-φθορο-ουρακίλη (**54γ**)

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **54γ** συντέθηκε από την ένωση **53γ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **40α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Γ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **54γ** (1.12 g, 85%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 146-148 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = 16.0^0$ (c = 0.500 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 265 nm (ϵ 2354)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 301.25 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₂H₁₃FN₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 48.00	H : 4.36	N : 9.33
Ευρ. (%)	C : 48.38	H : 4.08	N : 9.12

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.47 (br s, 1H, H-6), 6.11 (s, 1H, H-1'), 4.73-4.69 (m, 2H, $J_{3',4'} = 5.6$ Hz, H-3', H-4'), 4.52 (d, 1H, $J_{5a',5b'} = 13.7$ Hz, H-5a'), 4.26 (dd, 1H, $J_{4',5b'} = 1.2$ Hz, H-5b'), 1.53, 1.46 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(2'-Δεσοξυ-3',4'-Ο-ισοπροπυλιδενο-2'-μεθυλενο-α-D-ερυθρο-πεντοπυρανο-ζυλο)5-φθοροουρακίλη (55γ)

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **55γ** συντέθηκε από την ένωση **54γ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **8**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Δ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **55γ** (0.65 g, 58%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -20.0^0$ (c = 0.500 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 265 nm (ε 8347)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 299.25 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₃H₁₅FN₂O₅) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 52.35	H : 5.07	N : 9.39
Ευρ. (%)	C : 52.11	H : 5.21	N : 9.55

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.81 (br s, 1H, NH), 8.18 (d, 1H, $J_{F5,6} = 6.5$ Hz, H-6), 6.49 (s, 1H, H-1'), 5.71, 5.58 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.87 (d, 1H, $J_{3',4'} = 7.4$ Hz, H-3'), 4.37 (dd, 1H, $J_{4',5b'} = 1.9$ Hz,

H-4'), 3.98 (d, 1H, $J_{5a',5b'} = 13.4$ Hz, H-5a'), 3.56 (dd, 1H, H-5b'), 1.64, 1.45 (2s, 6H, 2CH₃).

**1-(2'-Δεσοξυ-2'-μεθυλενο-α-D-ερυθρο-πεντοπυρανοζυλο)5-φθοροουρακίλη
(56γ)**

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **56γ** συντέθηκε από την ένωση **55γ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **42α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα B, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **56γ** (0.5 g, 89%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -8.0^0$ (c = 0.500, μεθανόλη)

λ_{\max} 265 nm (ϵ 1407)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 259.22 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₀H₁₁FN₂O₅) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 46.52	H : 4.29	N : 10.85
Ευρ. (%)	C : 46.43	H : 4.20	N : 10.78

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.04 (d, 1H, $J_{F5,6} = 6.7$ Hz, H-6), 6.16 (s, 1H, H-1'), 5.49, 4.92 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.41 (m, 1H, H-4'), 4.05 (dd, 1H, $J_{4',5b'} = 2.0$ Hz, $J_{5a',5b'} = 12.6$ Hz, H-5b'), 3.95 (d, 1H, H-5a'), 3.91 (br s, 1H, H-3').

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃)

δ 160.07, 153.97, 153.12, 141.39, 132.93, 113.58, 84.02, 75.89, 67.98, 66.03.

1-(2',3',4'-Τριδεσοξυ-2'-μεθυλενο-α-πεντ-3'-ενοπυρανοζυλο)5-φθοροουρακίλη (57γ)

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **57γ** συντέθηκε από την ένωση **56γ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **43α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα E, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **57γ** (0.23 g, 53%) με λευκή αφρώδη υφή.

$$[\alpha]_D^{22} = -4.0^0 (c = 0.100 \text{ χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 266 \text{ nm } (\epsilon 4790)$$

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 225.20 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₀H₉FN₂O₃) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 53.57	H : 4.05	N : 12.50
Ευρ. (%)	C : 53.88	H : 4.28	N : 12.71

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.76 (br s, 1H, NH), 5.91 (d, 1H, $J_{F5,6} = 5.9$ Hz, H-6), 6.43 (s, 1H, H-1'), 6.39 (m, 1H, H-4'), 6.03 (d, 1H, $J_{3',4'} = 9.4$ Hz, H-3'), 5.21, 4.91 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.48, 4.32 (q, AB-σύστημα, 2H, $J = 17.7$ Hz, H-5').

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃)

δ 162.02, 153.01, 152.76, 143.76, 141.99, 130.14, 123.36, 108.98, 93.72, 64.52.

1-(2'-O-Ακετυλο-3',4'-O-ισοπροπυλιδενο-α-D-αραβινοπυρανοζυλο)5-φθοροουρακίλη (58γ)

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **58γ** συντέθηκε από την ένωση **53γ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **44α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα ΣΤ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **58γ** (1.6 g, 93%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 210-212 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = -56.0^0$ ($c = 0.505$ χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 265 nm (ϵ 8074)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 345.31 ($M+H^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₄H₁₇FN₂O₇) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 48.84	H : 4.98	N : 8.14
Ευρ. (%)	C : 48.70	H : 5.09	N : 8.45

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.56 (br s, 1H, NH), 7.54 (d, 1H, $J_{F5,6} = 5.9$ Hz, H-6), 5.55 (dd, 1H, $J_{1',2'} = 8.8$ Hz, $J_{1',F5} = 1.4$ Hz, H-1'), 5.03 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 6.8$ Hz, H-2'), 4.40-4.28 (m, 3H, H-3', H-4', H-5a'), 3.97 (dd, 1H, $J_{4',5b'} = 2.3$ Hz, $J_{5a',5b'} = 13.8$ Hz, H-5b'), 2.07 (s, 3H, OAc), 1.59, 1.39 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(2'-O-Ακετυλο- α -D-αραβινοπυρανοζυλο)5-φθοροουρακίλη (59γ)

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **59γ** συντέθηκε από την ένωση **58γ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **45α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα A, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **59γ** (1.26 g, 89%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -52.0^0$ ($c = 0.505$ μεθανόλη)

λ_{\max} 264 nm (ϵ 8416)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 305.21 ($M+H^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₁H₁₃FN₂O₇) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 43.43	H : 4.31	N : 9.21
Ευρ. (%)	C : 43.51	H : 4.66	N : 9.43

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 8.05 (d, 1H, $J_{F5,6} = 6.3$ Hz, H-6), 5.60 (d, 1H, $J_{1',2'} = 8.8$ Hz, H-1'), 5.15 (t, 1H, $J_{2',3'} = 8.8$ Hz, H-2'), 4.04, 3.84 (q, AB-σύστημα, 2H, $J = 12.5$ Hz, H-5'), 3.96 (m, 1H, H-4'), 3.91 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 2.6$ Hz, H-3'), 2.03 (s, 3H, OAc).

1-(2'-O-Ακετυλο-3',4'-διδεσοξυ-α-D-γλυκερο-πεντ-3-ενοπυρανοζυλο)5-φθοροουρακίλη (60γ)

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **60γ** συντέθηκε από την ένωση **59γ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **46α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα ΣΤ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **60γ** (0.65 g, 56%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -10.0^0$ (c = 0.460 χλωροφόρμιο)

λ_{max} 266 nm (ϵ 7726)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 271.22 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₁H₁₁FN₂O₅) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 48.89	H : 4.10	N : 10.37
Ευρ. (%)	C : 48.72	H : 4.43	N : 10.44

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.71 (br s, 1H, NH), 7.46 (d, 1H, $J_{F5,6} = 5.6$ Hz, H-6), 6.02 (d, 1H, $J_{2',3'} = 9.9$ Hz, H-3'), 5.77 (m, 2H, H-1', H-4'), 5.47 (d, 1H, $J_{1',2'} = 6.8$ Hz, H-2'), 4.51, 4.42 (q, AB-σύστημα, 2H, $J = 17.0$ Hz, H-5'), 2.09 (s, 3H, OAc).

1-(3',4'-Διδεσοξυ-α-D-γλυκερο-πεντ-3-ενοπυρανοζυλο)5-φθοροουρακίλη (61γ)

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **61γ** συντέθηκε από την ένωση **60γ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **4**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Δ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **61γ** (0.40 g, 75%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 222-224 °C (μεθανόλη / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = 18.0^0$ (c = 0.500 μεθανόλη)

λ_{\max} 269 nm (ϵ 6732)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 229.16 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₉H₉FN₂O₄) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 47.37	H : 3.98	N : 12.28
Ευρ. (%)	C : 47.59	H : 4.08	N : 12.57

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 7.93 (d, 1H, $J_{F5,6} = 6.5$ Hz, H-6), 5.91 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 10.9$ Hz, $J_{4',5b'} = 1.9$ Hz, H-4'), 5.81 (m, 1H, H-3'), 5.52 (d, 1H, $J_{1',2'} = 7.9$ Hz, H-1'), 4.45-4.33 (m, 3H, H-2', H-5a', H-5b').

1-(3',4'-Διδεσοξυ-α-πεντ-3'-ενοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)5-φθοροουρακίλη (62γ)

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **62γ** συντέθηκε από την ένωση **61γ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **48α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης Δ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **62γ** (0.34 g, 84%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 182-184 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = -8.0^0$ ($c = 0.385$ χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 266 nm (ϵ 5501)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 227.17 ($M+H^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($C_9H_7FN_2O_4$) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 47.80	H : 3.12	N : 12.39
Ευρ. (%)	C : 47.46	H : 3.43	N : 12.22

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$)

δ 8.66 (br s, 1H, NH), 7.24-7.22 (m, 1H, $J_{3',4'} = 10.2$ Hz, $J_{4',5b'} = 1.4$ Hz, H-4'), 7.18 (d, 1H, $J_{F5,6} = 5.5$ Hz, H-6), 6.36 (d, 1H, H-3'), 6.20 (s, 1H, H-1'), 4.81-4.67 (m, 2H, $J_{5a',5b'} = 18.8$ Hz, H-5a', H-5b').

^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$)

δ 197.96, 163.77, 152.73, 151.52, 142.77, 130.97, 130.12, 96.11, 62.91.

1-(2',3',4'-Τριδεσοξυ-2'-μεθυλενο- α -πεντ-3'-ενοπυρανοζυλο)5-φθοροουρακίλη (57γ)

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **57γ** συντέθηκε από την ένωση **62γ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **43α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Γ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **57γ** (0.19 g, 56%) με λευκή αφρώδη υφή.

Σύνθεση των παραγώγων της N^4 -βενζοϋλοκυτοσίνης

1-(2',3',4'-Τρι-*O*-ακετυλο- α -*D*-αραβινοπυρανοζυλο)- N^4 -βενζοϋλοκυτοσίνη (51δ)

Διάλυμα αποτελούμενο από N^4 -βενζοϋλοκυτοσίνη (4.40 g, 20.4 mmol), HMDS (5.34 mL, 25.3 mmol) και σακχαρίνη (172.09 mg, 0.9 mmol) σε άνυδρο CH_3CN (80 mL) θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 λεπτά στους $120^\circ C$ και στη συνέχεια προστίθεται η 1,2,3,4-τετρα-*O*-ακετυλο-*D*-αραβινοπυρανόζη (**50**) (5.0 g, 15.7 mmol)

καθώς και ο $\text{Me}_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$ (4.0 mL, 22.0 mmol). Ακολουθεί θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα για περίπου 1h (TLC), ψύξη του μίγματος σε θερμοκρασία δωματίου, προσθήκη κορεσμένου διαλύματος NaHCO_3 , και εκχύλιση με EtOAc (1000 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (20 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Δ, οπότε το επιθυμητό προϊόν **51δ** (5.8 g, 78%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 159-161 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -22.0^\circ$ ($c = 0.500$ χλωροφόρμιο)

λ_{max} 262 nm (ϵ 17413)

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 474.44 ($\text{M}+\text{H}^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_9$) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 55.81	H : 4.90	N : 8.88
Ευρ. (%)	C : 55.44	H : 4.64	N : 8.61

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3)

δ 7.62 (d, 1H, $J_{5,6} = 7.3$ Hz, H-6), 7.90-7.50 (m, 6H, Bz, H-5), 6.01 (d, 1H, $J_{1',2'} = 8.9$ Hz, H-1'), 5.43 (m, 1H, $J_{4',5b'} = 1.9$ Hz, H-4'), 5.35 (m, 1H, H-2'), 5.24 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 10.1$ Hz, $J_{3',4'} = 3.4$ Hz, H-3'), 4.15 (dd, 1H, $J_{5a',5b'} = 13.2$ Hz, H-5b'), 3.90 (d, 1H, H-5a'), 2.22, 2.03, 2.00 (3s, 9H, 3OAc).

1-(α -D-Αραβινοπυρανοζυλο)- N^4 -βενζοϋλοκυτοσίνη (52δ)

Το προϊόν **51δ** (5.8 g, 12.3 mmol) διαλύεται σε EtOH-πυριδίνη (122.5 mL + 36.7 mL), προστίθεται NaOH 2M (12.2 mL) και το μίγμα αναδεύεται για 11 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια προστίθεται ρητίνη IR-120 (H^+) μέχρι ουδετέρου pH ($\text{pH} \leq 7$). Στη συνέχεια το εναιώρημα διηθείται, η ρητίνη πλένεται με EtOH και πυριδίνη (100 mL + 100 mL) και από το διήθημα απομακρύνονται οι

διαλύτες υπό κενό. Το στερεό υπόλειμμα κατεργάζεται με διαιθυλαιθέρα (2 x 30 mL) και με διχλωρομεθάνιο (2 x 30 mL) και διηθείται. Το επιθυμητό προϊόν **52δ** (3.36 g, 79%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή άσπρου αφρώδους στερεού και χρησιμοποιείται στο επόμενο στάδιο χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

$$[\alpha]_D^{22} = -12.0^\circ \quad (c = 0.500 \text{ χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 261 \text{ nm} \quad (\epsilon 15313)$$

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 348.33 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₆H₁₇N₃O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 55.33	H : 4.93	N : 12.10
Ευρ. (%)	C : 55.56	H : 5.02	N : 12.57

1-(3',4'-O-Ισοπροπυλιδενο-α-D-αραβινοπυρανοζυλο)-N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (53δ)

Το παράγωγο της N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης **53δ** συντέθηκε από την ένωση **52δ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **5**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα A, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **53δ** (3.15 g, 84%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 211-213 °C (μεθανόλη / n-εξάνιο)

$$[\alpha]_D^{22} = -22.0^\circ \quad (c = 0.317 \text{ μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 262 \text{ nm} \quad (\epsilon 8737)$$

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 388.36 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₉H₂₁N₃O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 58.91	H : 5.46	N : 10.85
Ευρ. (%)	C : 58.75	H : 5.70	N : 10.78

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 8.12 (d, 1H, $J_{5,6} = 7.4$ Hz, H-6), 7.99-7.52 (m, 6H, Bz, H-5), 5.62 (d, 1H, $J_{1',2'} = 8.9$ Hz, H-1'), 4.34-4.22 (m, 3H, H-3', H-4', H-5a'), 4.08 (dd, 1H, $J_{4',5b'} = 2.4$ Hz, $J_{5a',5b'} = 13.6$ Hz, H-5b'), 3.86 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 8.8$ Hz, $J_{3',4'} = 6.9$ Hz, H-2'), 1.57, 1.38 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(3',4'-Ο-Ισοπροπυλιδενο-α-D-ερυθρο-πεντοπυρανοζυλο-4-ουλοζο)-N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (54δ)

Το παράγωγο της N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης **54δ** συντέθηκε από την ένωση **53δ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **40α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα K, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **54δ** (1.3 g, 83%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -36.0^0$ (c = 0.250 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max} 261$ nm (ϵ 17661)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 386.39 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₉H₁₉N₃O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 59.22	H : 4.97	N : 10.90
Ευρ. (%)	C : 59.38	H : 5.05	N : 10.88

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 7.97 (d, 1H, $J_{5,6} = 7.3$ Hz, H-6), 7.72-7.50 (m, 6H, Bz, H-5), 6.40 (s, 1H, H-1'), 4.88 (d, 1H, $J_{3',4'} = 4.7$ Hz, H-3'), 4.70 (d, 1H, H-4'), 4.51, 4.38 (q, AB-σύστημα, 2H, $J = 13.4$ Hz, H-5'), 1.47, 1.43 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(2'-Δεσοξυ-3',4'-Ο-ισοπροπυλιδενο-2'-μεθυλενο-α-D-ερυθρο-πεντοπυρανοζυλο)-N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (55δ)

Το παράγωγο της N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης **55δ** συντέθηκε από την ένωση **54δ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **8**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Γ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **55δ** (0.63 g, 49%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -34.0^0$ (c = 0.500 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 261 nm (ϵ 21256)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 384.41 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₀H₂₁N₃O₅) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 62.65	H : 5.52	N : 10.96
Ευρ. (%)	C : 62.72	H : 5.63	N : 10.89

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 7.92 (d, 1H, $J_{5,6} = 7.9$ Hz, H-6), 7.91-7.63 (m, 6H, Bz, H-5), 6.67 (s, 1H, H-1'), 5.64, 5.58 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.85 (d, 1H, $J_{3',4'} = 7.2$ Hz, H-3'), 4.37 (dd, 1H, $J_{4',5b'} = 2.3$ Hz, H-4'), 4.03 (d, 1H, $J_{5a',5b'} = 13.4$ Hz, H-5a'), 3.66 (dd, 1H, H-5b'), 1.59, 1.43 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(2'-Ο-Ακετυλο-3',4'-Ο-ισοπροπυλιδενο-α-D-αραβινοπυρανοζυλο)-N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (58δ)

Το παράγωγο της N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης **58δ** συντέθηκε από την ένωση **53δ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **44α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Α, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **58δ** (1.45 g, 83%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 133-135 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = -42.0^0$ (c = 0.500 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 261 nm (ϵ 18443)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 430.41 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₁H₂₃N₃O₇) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 58.74	H : 5.40	N : 9.79
Ευρ. (%)	C : 58.89	H : 5.38	N : 9.85

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 7.65 (d, 1H, $J_{5,6} = 7.3$ Hz, H-6), 7.98-7.54 (m, 6H, Bz, H-5), 5.83 (d, 1H, $J_{1',2'} = 8.7$ Hz, H-1'), 5.15-5.12 (m, 1H, $J_{2',3'} = 7.4$ Hz, H-2'), 4.43-4.34 (m, 3H, H-3', H-4', H-5a'), 4.04 (dd, 1H, $J_{4',5b'} = 1.3$ Hz, $J_{5a',5b'} = 13.7$ Hz, H-5b'), 2.07 (s, 3H, OAc), 1.63, 1.43 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(2'-O-Ακετυλο- α -D-αραβινοπυρανοζυλο)-N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (59δ)

Το παράγωγο της N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης **59δ** συντέθηκε από την ένωση **58δ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **45α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα I, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **59δ** (1.04 g, 79%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 213-215 °C (μεθανόλη / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = -50.0^0$ (c = 0.500 μεθανόλη)

λ_{\max} 263 nm (ϵ 11313)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 390.38 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₈H₁₉N₃O₇) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 55.53	H : 4.92	N : 10.79
Ευρ. (%)	C : 55.32	H : 4.75	N : 10.83

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 8.25 (d, 1H, $J_{5,6} = 7.5$ Hz, H-6), 7.98-7.51 (m, 6H, Bz, H-5), 5.80 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.2$ Hz, H-1'), 5.21 (t, 1H, $J_{2',3'} = 9.2$ Hz, H-2'), 4.06 (dd, 1H, $J_{4',5b'} = 1.8$ Hz, $J_{5a',5b'} = 12.7$ Hz, H-5b'), 3.97 (m, 1H, H-4'), 3.92 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 3.3$ Hz, H-3'), 3.86 (d, 1H, H-5a'), 1.96 (s, 3H, OAc).

**1-(2'-O-Ακετυλο-3',4'-διδεσοξυ-α-D-γλυκερο-πεντ-3-ενοπυρανοζυλο)-N⁴-βενζο-
ϋλοκυτοσίνη (60δ)**

Το παράγωγο της N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης **60δ** συντέθηκε από την ένωση **59δ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **46α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα A, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **60δ** (0.58 g, 61%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -12.0^0$ (c = 0.300 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 262 nm (ϵ 28770)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 356.32 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₈H₁₇N₃O₅) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 60.84	H : 4.82	N : 11.83
Ευρ. (%)	C : 60.51	H : 4.42	N : 11.48

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 7.82 (d, 1H, $J_{5,6} = 7.4$ Hz, H-6), 7.92-7.49 (m, 6H, Bz, H-5), 6.06-5.99 (m, 2H, H-1', H-3'), 5.78 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 10.1$ Hz, $J_{4',5b'} = 1.8$ Hz, H-4'), 5.55-5.51 (m, 1H, H-2'), 4.52-4.41 (m, 2H, $J_{5a',5b'} = 17.3$ Hz, H-5a', H-5b'), 2.05 (s, 3H, OAc).

1-(3',4'-Διδεσοξυ-α-D-γλυκερο-πεντ-3-ενοπυρανοζυλο)-N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (61δ)

Το παράγωγο της N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης **61δ** συντέθηκε από την ένωση **60δ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **4**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα M, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **61δ** (0.33 g, 66%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 108-110 °C (μεθανόλη / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = -44.0^0$ (c = 0.500 μεθανόλη)

λ_{\max} 262 nm (ϵ 19310)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 314.28 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₆H₁₅N₃O₄) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 61.43	H : 4.83	N : 13.41
Ευρ. (%)	C : 61.56	H : 4.67	N : 13.57

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 7.91 (d, 1H, $J_{5,6} = 7.6$ Hz, H-6), 7.97-7.50 (m, 6H, Bz, H-5), 5.93-5.85 (m, 2H, H-3', H-4'), 5.75 (d, 1H, $J_{1',2'} = 7.6$ Hz, H-1'), 4.52-4.38 (m, 2H, H-5a', H-5b'), 4.31-4.28 (m, 1H, H-2').

1-(3',4'-Διδεσοξυ-α-πεντ-3'-ενοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)-N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (62δ)

Το παράγωγο της N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης **62δ** συντέθηκε από την ένωση **61δ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **48α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης Δ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **62δ** (0.21 g, 63%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -12.0^0$ (c = 0.500 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 262 nm (ε 24840)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 312.31 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₆H₁₃N₃O₄) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 61.73	H : 4.21	N : 13.50
Ευρ. (%)	C : 61.44	H : 4.28	N : 13.71

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 7.62 (d, 1H, $J_{5,6} = 7.1$ Hz, H-6), 7.94-7.44 (m, 6H, Bz, H-5), 7.20 (d, 1H, $J_{3',4'} = 10.6$ Hz, H-4'), 6.37-6.34 (m, 2H, H-1', H-3'), 4.81-4.66 (m, 2H, H-5a', H-5b').

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃)

δ 198.31, 174.16, 152.17, 151.71, 133.98, 132.27, 132.11, 130.18, 129.92, 128.36, 109.37, 96.97, 62.97, 61.72.

1-(2',3',4'-Τριδεσοξυ-2'-μεθυλενο-α-πεντ-3'-ενοπυρανοζυλο)-N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (57δ)

Το παράγωγο της N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης **57δ** συντέθηκε από την ένωση **62δ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **43α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Γ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **57δ** (0.11 g, 53%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = 96.0^0$ (c = 0.250 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 266 nm (ε 3988)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 310.33 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₇H₁₅N₃O₃) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 66.01	H: 4.89	N : 13.58
Ευρ. (%)	C : 66.24	H : 4.68	N : 13.61

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 7.92 (d, 1H, $J_{5,6} = 7.2$ Hz, H-6), 7.69-7.45 (m, 6H, Bz, H-5), 6.66 (s, 1H, H-1'), 6.43 (m, 1H, $J_{3',4'} = 10.2$ Hz, H-4'), 6.03 (d, 1H, H-3'), 5.17, 4.83 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.50, 4.32 (q, AB-σύστημα, 2H, $J = 17.7$ Hz, H-5').

¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD)

δ 173.48, 153.77, 152.11, 142.15, 134.23, 132.16, 130.99, 130.01, 129.39, 127.72, 113.22, 111.16, 92.17, 63.08, 61.27.

Σύνθεση του παραγώγου της κυτοσίνης

1-(2',3',4'-Τριδεσοξυ-2'-μεθυλενο-α-πεντ-3'-ενοπυρανοζυλο)κυτοσίνη (57ε)

Το παράγωγο της κυτοσίνης **57ε** συντέθηκε από την ένωση **57δ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **4**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα K, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **57ε** (0.44 g, 61%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = 2.0^0$ (c = 0.289 μεθανόλη)

λ_{\max} 277 nm (ϵ 1689)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 206.22 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₀H₁₁N₃O₂), H, N

Υπολ. (%)	C : 58.53	H : 5.40	N : 20.48
Ευρ. (%)	C : 58.71	H : 5.59	N : 20.59

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 7.53 (d, 1H, $J_{5,6} = 7.3$ Hz, H-6), 7.29 (d, 1H, H-5), 6.44 (d, 1H, $J_{3',4'} = 10.3$ Hz, H-4'), 6.33 (s, 1H, H-1'), 6.06 (d, 1H, H-3'), 5.10, 4.67 (br s, 2H, μεθυλένια), 4.35, 4.18 (q, AB-σύστημα, 2H, $J = 17.7$ Hz, H-5').

¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD)

δ 153.96, 152.32, 140.15, 130.31, 128.10, 112.74, 110.31, 93.18, 63.99, 63.71.

Σύνθεση των παραγώγων της 5-τριφθορομεθυλοουρακίλης

1-(2',3',4'-Τρι-Ο-ακετυλο-α-D-αραβινοπυρανοζυλο)5-τριφθορομεθυλοουρακίλη (51στ)

Διάλυμα αποτελούμενο από τριφθορομεθυλοουρακίλη (990.49 mg, 5.5 mmol), HMDS (1.45 mL, 6.8 mmol) και σακχαρίνη (46.3 mg, 0.2 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (21.1 mL) θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 λεπτά στους 120 °C και στη συνέχεια, προστέθηκαν η 1,2,3,4-τετρα-Ο-ακετυλο-D-αραβινοπυρανόζη (**50**) (1.59 g, 5 mmol) και Me₃SiOSO₂CF₃ (7 mmol, 1.3 mL). Ακολουθεί θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα στους 55 °C για περίπου 1h (TLC), ψύξη του μίγματος σε θερμοκρασία δωματίου, προσθήκη κορεσμένου διαλύματος NaHCO₃, και εκχύλιση με EtOAc (500 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (20 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Z, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **51στ** (2.33 g, 88%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -12.0^0$ (c = 0.500 χλωροφόρμιο)

λ_{max} 260 nm (ε 6689)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 439.31 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₆H₁₇F₃N₂O₉) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 43.84	H : 3.91	N : 6.39
Ευρ. (%)	C : 43.92	H : 3.98	N : 6.42

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.32 (br s, 1H, NH), 7.86 (brs, 1H, H-6), 5.73 (d, 1H, $J_{1,2'} = 8.9$ Hz, H-1'), 5.43-5.21 (m, 3H, H-2', H-3', H-4'), 4.17-3.86 (m, 2H, H-5'), 2.19, 2.14, 2.10 (3s, 9H, 3OAc).

1-(α -D-Αραβινοπυρανοζυλο)5-τριφθορομεθυλοουρακίλη (52στ)

Το παράγωγο της 5-τριφθορομεθυλοουρακίλης **52στ** συντέθηκε από την ένωση **51στ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **4**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Α, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **52στ** (1.33 g, 97%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -34.0^0$ (c = 0.605 μεθανόλη)

λ_{max} 260 nm (ϵ 6156)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 313.20 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₀H₁₁F₃N₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 38.47	H : 3.55	N : 8.97
Ευρ. (%)	C : 38.57	H : 3.71	N : 8.86

1-(3',4'-O-Ισοπυροπυλιδενο- α -D-αραβινοπυρανοζυλο)5-τριφθορομεθυλοουρακίλη (53στ)

Το παράγωγο της 5-τριφθορομεθυλοουρακίλης **53στ** συντέθηκε από την ένωση **52στ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **6**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Γ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **53στ** (1.17 g, 78%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 105-107 °C (μεθανόλη / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = -36.0^0$ (c = 0.500 μεθανόλη)

λ_{\max} 259 nm (ϵ 8070)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 353.26 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₃H₁₅F₃N₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 44.32	H : 4.29	N : 7.95
Ευρ. (%)	C : 44.51	H : 4.31	N : 7.98

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 9.79 (br s, 1H, NH), 7.96 (s, 1H, H-6), 5.56 (d, 1H, $J_{1',2'} = 7.5$ Hz, H-1'), 4.36-4.28 (m, 3H, H-3', H-4', H-5a'), 4.04 (dd, 1H, $J_{4',5b'} = 2.5$ Hz, $J_{5a',5b'} = 13.6$ Hz, H-5b'), 3.80 (t, 1H, $J_{2',3'} = 6.5$ Hz, H-2'), 1.58, 1.40 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(2'-O-Ακετυλο-3',4'-O-ισοπροπυλιδενο- α -D-αραβινοπυρανοζυλο)5-τριφθορομεθυλοουρακίλη (58στ)

Το παράγωγο της 5-τριφθορομεθυλοουρακίλης **58στ** συντέθηκε από την ένωση **53στ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **44α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Z, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **58στ** (1.18 g, 90%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -28.0^0$ (c = 0.389 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 257 nm (ϵ 8163)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 395.30 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: : (C₁₅H₁₇F₃N₂O₇) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 45.69	H : 4.35	N : 7.10
Ευρ. (%)	C : 45.81	H : 4.49	N : 7.41

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.56 (br s, 1H, NH), 8.05 (d, 1H, H-6), 5.64 (d, 1H, $J_{1',2'} = 7.7$ Hz, H-1'), 5.06 (m, 1H, $J_{2',3'} = 6.6$ Hz, H-2'), 4.43-4.32 (m, 3H, H-3', H-4', H-5a'), 3.97 (dd, 1H, $J_{4',5b'} = 2.31$ Hz, $J_{5a',5b'} = 13.6$ Hz, H-5b'), 2.10 (s, 3H, OAc), 1.61, 1.42 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(2'-O-Ακετυλο-α-D-αραβινοπυρανοζυλο)5-τριφθορομεθυλοουρακίλη (59στ)

Το παράγωγο της 5-τριφθορομεθυλοουρακίλης **59στ** συντέθηκε από την ένωση **58στ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **42α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Α, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **59στ** (1.00 g, 95%) υπό τη μορφή παχύρρευστου ελαίου.

$[\alpha]_D^{22} = -28.0^0$ (c = 0.483 μεθανόλη)

λ_{\max} 260 nm (ε 7913)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 355.41 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₂H₁₃F₃N₂O₇) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 40.69	H : 3.70	N : 7.91
Ευρ. (%)	C : 40.82	H : 3.78	N : 7.99

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 8.37 (s, 1H, H-6), 5.57 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.3$ Hz, H-1'), 5.06 (t, 1H, $J_{2',3'} = 9.4$ Hz, H-2'), 3.99-3.75 (m, 4H, H-5', H-4', H-3'), 1.94 (s, 3H, OAc).

1-(2'-O-Ακετυλο-3',4'-διδεσοξυ-α-D-γλυκερο-πεντ-3-ενοπυρανοζυλο)5-τριφθορομεθυλοουρακίλη (60στ)

Σε μίγμα που αποτελείται από την ένωση **59στ** (1g, 2.85 mmol) σε 22.9 mL άνυδρου διαλύματος τολουόλης/DMF (4:1), προστέθηκαν ιμιδαζόλιο (0.406 g, 5.98 mmol), τριφαινυλοφωσφίνη (3.14 g, 11.96 mmol) και ιωδοφόρμιο (2.35 g, 5.98 mmol). Το μίγμα θερμαίνεται στους 120 °C για 2.5h, απομακρύνονται οι διαλύτες και το υπόλειμμα διαλύεται σε EtOAc, εκχυλίζεται αρχικά με κορεσμένο διάλυμα NaHCO₃, στη συνέχεια με θειοθειικό νάτριο και έπειτα με νερό. Η οργανική φάση ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Δ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **60στ** (0.59 g, 65%) με λευκή αφρώδη υφή.

$$[\alpha]_D^{22} = -16.0^0 \quad (c = 0.633 \text{ χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 258 \text{ nm } (\epsilon 8627)$$

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 321.34 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₂H₁₁F₃N₂O₅) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 45.01	H : 3.46	N : 8.75
Ευρ. (%)	C : 45.17	H : 3.52	N : 8.84

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.25 (br s, 1H, NH), 7.79 (s, 1H, H-6), 5.98-5.92 (m, 1H, H-3'), 5.72-5.68 (m, 2H, H-1', H-4'), 5.40-5.35 (m, 1H, H-2'), 4.47-4.31 (m, 2H, H-5') 1.99 (s, 3H, OAc).

1-(3',4'-Διδεσοξυ-α-D-γλυκερο-πεντ-3-ενοπυρανοζυλο)5-τριφθορομεθυλοουρακίλη (61στ)

Η ένωση **60στ** (0.592 g, 1.85 mmol) που παραλαμβάνεται από την προηγούμενη διαδικασία, προστίθεται στους 0 °C σε 25.77 mL κορεσμένου διαλύματος αμμωνίας σε MeOH. Το διάλυμα αναδεύεται ολόκληρη τη νύχτα σε θερμοκρασία δωματίου και συμπυκνώνεται υπό μειωμένη πίεση. Το προκύπτον

έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα ΣΤ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **61στ** (0.489 g, 95%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 119-121 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = -2.0^0$ (c = 0.500 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ϵ 9787)

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 279.24 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₀H₉F₃N₂O₄) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 43.18	H : 3.26	N : 10.07
Ευρ. (%)	C : 43.51	H : 3.34	N : 10.26

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 9.31 (br s, 1H, NH), 7.85 (d, 1H, H-6), 5.89 (m, 2H, H-4', H-3'), 5.63 (d, 1H, $J_{1',2'} = 7.9$ Hz, H-1'), 4.52-4.26 (m, 3H, H-2', H-5a', H-5b').

1-(3',4'-Διδεσοξυ-α-πεντ-3'-ενοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)5-τριφθορομεθυλοουρακίλη (**62στ**)

Ένα μίγμα αποτελούμενο από την ένωση **61στ** (0.489 g, 1.76 mmol), από PDC (0.79 g, 2.11 mmol) και από Ac₂O (0.5 mL, 5.28 mmol) σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (29 mL) αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 40 λεπτά. Μετά το πέρας της αντίδρασης το προκύπτον παχύρρευστο εναιώρημα μεταφέρεται σε χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, όπου το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Δ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **62στ** (0.289 g, 58%). υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 189-191 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = -4.0^0$ (c = 0.350 διχλωρομεθάνιο)

λ_{\max} 260 nm (ϵ 9981)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 277.28 ($M+H^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($C_{10}H_7F_3N_2O_4$) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 43.49	H : 2.55	N : 10.14
Ευρ. (%)	C : 43.62	H : 2.71	N : 10.33

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$)

δ 8.58 (br s, 1H, NH), 7.57 (s, 1H, H-6), 7.24-7.19 (m, 1H, $J_{3',4'} = 10.2$ Hz, H-4'), 6.36 (d, 1H, H-3'), 6.19 (s, 1H, H-1'), 4.82-4.65 (m, 2H, $J_{5a',5b'} = 19.0$ Hz, H-5a', H-5b').

^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$)

δ 192.67, 165.76, 149.0, 148.85, 142.41, 127.24, 126.63, 110.23, 104.5, 66.06.

Σύνθεση των 2'-κετο-3'-εξωμεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της γλυκόζης

Σύνθεση της 3-εξωμεθυλενικής πυρανόζης

1,2:5,6-Δι-Ο-ισοπροπυλιδενο- α -D-ριβοεξοφουρανοζο-3-ουλόζη (64) (Elhalabi and Rice 2004)

Η εμπορικά διαθέσιμη ένωση, 1,2:5,6-δι-Ο-ισοπροπυλιδενο- α -D-γλυκοφουρανόζη (DAG) (**63**) (5.0 g, 19.20 mmol) διαλύεται σε διχλωρομεθάνιο (57 mL) και στη συνέχεια προστίθεται Ac_2O (5.43 mL, 57.60 mmol). Στο προκύπτον εναιώρημα προστίθεται PDC (8.67 g, 23.05 mmol) και ακολουθεί θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα για 2h. Μετά το πέρας της αντίδρασης το προκύπτον παχύρρευστο διάλυμα μεταφέρεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, όπου πραγματοποιείται έκλουση με EtOAc και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το υπόλειμμα, που περιέχει Ac_2O αραιώνεται με τολουόλιο και στη συνέχεια με απόσταξη εξατμίζεται μέχρις ξηρού. Το επιθυμητό προϊόν **64** (4.26 g, 86%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή παχύρρευστου ελαίου και χρησιμοποιείται στο επόμενο στάδιο χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3)

δ 6.15 (d, 1H, $J_{1,2} = 4.5$ Hz, H-1), 4.34-4.42 (m, 3H, H-2, H-4 και H-5), 4.02-4.06 (m, 2H, H-6a,6b), 1.46 (s, 3H, CH_3), 1.42 (s, 3H, CH_3), 1.34 (s, 6H, 2 x CH_3).

1,2:5,6-Δι-Ο-ισοπροπυλιδενο-3-δεσοξυ-3-μεθυλενο-D-γλυκοφουρανόζη (65)

Το παράγωγο της θυμίνης **65** συντέθηκε από την ένωση **64** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **8**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης *n*-εξάνιο, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **65** (3.17 g, 75%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 85-87 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = 2.0^0$ ($c = 0.285$ χλωροφόρμιο)

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 257.29 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₃H₂₀O₅) C, H

Υπολ. (%)	C : 60.92	H : 7.87
Ευρ. (%)	C : 60.98	H : 7.83

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) (Szarek *et al.* 1969, Rosenthal and Sprinzl 1969)

δ 5.80 (d, 1H, *J*_{1,2} = 4.5 Hz, H-1), 5.45-5.32 (m, 2H, μεθυλένια), 4.90 (d, 1H, H-2), 4.34-4.06 (m, 4H, H-4, H-5, H-6), 1.46 (s, 3H, CH₃), 1.42 (s, 3H, CH₃), 1.34 (s, 6H, 2 x CH₃).

3-Δεσοξυ-3-μεθυλενο-D-γλουκοπυρανόζη (66) (Foster *et al.* 1967, Tewson and Welsh 1978)

Ένα διάλυμα της ένωσης **65** (3.17 g, 12.38 mmol) σε MeOH (19.5 mL) και νερό (110.6 mL) αναδεύεται στους 60-70 °C με ρητίνη Amberlite IR-120 (H⁺) (6.64 g). Μετά από 10h το προκύπτον εναιώρημα διηθείται και από το διήθημα απομακρύνονται οι διαλύτες υπό κενό. Το επιθυμητό προϊόν **66** (1.85 g, 85%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή παχύρρευστου ελαίου και χρησιμοποιείται στο επόμενο στάδιο χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

[α]_D²² = - 8.0 (c = 0.500 μεθανόλη)

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 177.20 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₇H₁₂O₅) C, H

Υπολ. (%)	C : 47.72	H : 6.87
Ευρ. (%)	C : 47.86	H : 6.82

1,2,4,6-Τετρα-Ο-ακετυλο-3-δεσοξυ-3-μεθυλενο-D-γλυκοπυρανόζη (67)

Το παράγωγο της θυμίνης **67** συντέθηκε από την ένωση **66** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **2**. Το επιθυμητό προϊόν **67** (3.55 g, 98%) παραλαμβάνεται με λευκή αφρώδη υφή.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = 10.0^{\circ} \text{ (c = 0.500 χλωροφόρμιο)}$$

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 345.32 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₅H₂₀O₉) C, H

Υπολ. (%) C : 52.32 H : 5.85

Ευρ. (%) C : 52.36 H : 5.92

Σύνθεση των παραγώγων της θυμίνης**1-(2',4',6'-Τρι-Ο-ακετυλο-3'-δεσοξυ-3'-μεθυλενο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)θυμίνη (68α)**

Διάλυμα αποτελούμενο από θυμίνη (1.82 g, 14.5 mmol), HMDS (3.78 mL, 17.9 mmol) και σακχαρίνη (121.76 mg, 0.7 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (47 mL) θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 λεπτά στους 120 °C και στη συνέχεια προστίθεται η 1,2:4,6-τετρα-Ο-ακετυλο-3-δεσοξυ-3-μεθυλενο-D-γλυκοπυρανόζη (**67**) (3.55 g, 10.3 mmol) καθώς και το SnCl₄ (1.7 mL, 14.5 mmol). Ακολουθεί θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα για περίπου 1h (TLC), ψύξη του μίγματος σε θερμοκρασία δωματίου, προσθήκη κορεσμένου διαλύματος NaHCO₃, και εκχύλιση με διχλωροεθάνιο (700 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (20 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα E. Το επιθυμητό προϊόν **68α** (2.33 g, 55%) παραλαμβάνεται υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 102-104 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = - 2.0^{\circ} \text{ (c = 0.500 χλωροφόρμιο)}$$

λ_{\max} 263 nm (ϵ 8502)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 411.36 ($M+H^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($C_{18}H_{22}N_2O_9$) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 52.68	H : 5.40	N : 6.83
Ευρ. (%)	C : 52.73	H : 5.34	N : 6.82

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$)

δ 8.17 (br s, 1H, NH), 7.19 (s, 1H, H-6), 5.67 (d, 1H, $J_{1,2'} = 9.3$ Hz, H-1'), 5.50 (d, 1H, H-2'), 5.37 (d, 1H, $J_{4',5'} = 9.6$ Hz, H-4'), 5.21, 5.12 (2s, 2H, μεθυλένια), 4.34-4.15 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 3.80-3.75 (m, 1H, H-5'), 2.19, 2.11, 2.10 (3s, 9H, 3OAc), 1.96 (s, 3H, 5- CH_3).

1-(3'-Δεσοξυ-3'-μεθυλενο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)θυμίνη (69a)

Το παράγωγο της θυμίνης **69a** συντέθηκε από την ένωση **68a** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **4**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα I, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **69a** (1.55 g, 96%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -2.0^0$ ($c = 0.283$ μεθανόλη)

λ_{\max} 263 nm (ϵ 6322)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 285.32 ($M+H^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($C_{12}H_{16}N_2O_6$) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 57.70	H : 5.67	N : 9.85
Ευρ. (%)	C : 50.91	H : 5.59	N : 9.73

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 7.65 (s, 1H, H-6), 5.39 (s, 2H, μεθυλένια), 5.36 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.2$ Hz, H-1'), 4.26 (d, 1H, H-2'), 4.12 (d, 1H, $J_{4',5'} = 9.6$ Hz, H-4'), 3.92-3.79 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 3.43-3.29 (m, 1H, H-5'), 1.93 (s, 3H, 5-CH₃).

¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD)

δ 152.0, 150.5, 149.0, 137.2, 110.5, 104.8, 85.1, 82.5, 69.5, 67.2, 61.3, 10.9.

1-(3'-Δεσοξυ-4',6'-Ο-ισοπροπυλιδενιο-3'-μεθυλενο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)θυμίνη (70α)

Το παράγωγο της θυμίνης **70α** συντέθηκε από την ένωση **69α** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **6**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα E, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **70α** (1.27 g, 72%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 167-169 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = 8.0^0$ (c = 0.500 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 265 nm (ϵ 9477)

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 325.35 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₅H₂₀N₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 55.55	H : 6.22	N : 8.64
Ευρ. (%)	C : 55.61	H : 6.34	N : 8.58

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 8.31 (br s, 1H, NH), 7.16 (s, 1H, H-6), 5.51 (d, 1H, $J_{1',2'} = 8.9$ Hz, H-1'), 5.40, 5.33 (2s, 2H, μεθυλένια), 4.10-4.04 (m, 2H, H-2', H-4'), 3.97-3.76 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 3.44-3.36 (m, 1H, H-5'), 1.91 (s, 3H, 5-CH₃), 1.56, 1.50 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(3'-Δεσοξυ-4',6'-Ο-ισοπροπυλιδενιο-3'-μεθυλενο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)θυμίνη (71α)

Ένα μίγμα αποτελούμενο από την ένωση **70α** (1.27 g, 3.92 mmol) και από Ac₂O (9.58 mL, 101.53 mmol) σε 15 mL άνυδρους DMSO/EtOAc (4:1) αναδεύεται στους 98 °C για 8 λεπτά. Μετά το πέρας της αντίδρασης απομακρύνεται το μίγμα των διαλυτών υπό κενό, και αφού αραιώνεται με EtOAc (500 mL) εκχυλίζεται μία φορά με νερό (20 mL). Κατόπιν, η οργανική φάση ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα ΣΤ. Το επιθυμητό προϊόν **71α** (0.61 g, 48%) παραλαμβάνεται με λευκή αφρώδη υφή.

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 323.35 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₅H₁₈N₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 55.90	H : 5.63	N : 8.69
Ευρ. (%)	C : 55.69	H : 5.37	N : 8.58

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.53 (br s, 1H, NH), 6.97 (s, 1H, H-6), 6.32, 5.83 (2s, 2H, μεθυλένια), 5.37 (s, 1H, H-1'), 4.69 (d, 1H, J_{4',5'} = 10.0 Hz, H-4'), 4.00-3.64 (m, 3H, H-5', H-6a', H-6b'), 1.93 (s, 3H, 5-CH₃), 1.58, 1.49 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(3'-Δεσοξυ-3'-μεθυλενο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)θυμίνη (72α)

Σε ένα υπό ανάδευση διάλυμα της 1-(3'-δεσοξυ-4',6'-Ο-ισοπροπυλιδενιο-3'-μεθυλενο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)θυμίνη (**71α**) (0.61 g, 1.88 mmol) σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (3.7 mL) προστίθεται μεθανολικό υδροχλώριο (3.7 mL), το οποίο παρασκευάστηκε από ακετυλοχλωρίδιο (0.37 mL) και μεθανόλη (9.4 mL) στους 0 °C. Η αντίδραση αναδεύεται για μια νύχτα και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης EtOAc. Το επιθυμητό προϊόν **72α** (0.34 g, 63%) παραλαμβάνεται υπό την μορφή λευκού αφρώδους στερεού.

$[\alpha]_D^{22} = -26.0^0$ (c = 0.500, χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ϵ 7004)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 283.28 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₂H₁₄N₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 51.06	H : 5.00	N : 9.93
Ευρ. (%)	C : 51.34	H : 4.92	N : 9.99

¹H-NMR (500 MHz, (CD₃)₂CO)

δ 8.51 (br s, 1H, NH), 7.35 (s, 1H, H-6), 7.21 (br s, 1H, H-1'), 6.22 (br s, 1H, H-4'), 4.93 (br s, 1H, H-5'), 4.11 (s, 2H, μεθυλένια), 3.86-3.76 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 1.92 (s, 3H, 5-CH₃).

¹³C-NMR (125 MHz, (CD₃)₂CO)

δ 189.1, 145.3, 141.6, 135.6, 102.3, 101.5, 82.5, 76.2, 67.6, 63.7, 57.9, 10.9.

Σύνθεση των παραγώγων της ουρακίλης

1-(2',4',6'-Τρι-Ο-ακετυλο-3'-δεσοξυ-3'-μεθυλενο-β-D-γλυκοπυρανοζυλ)ουρακίλη (**68β**)

Διάλυμα αποτελούμενο από ουρακίλη (1.57 g, 14.0 mmol), HMDS (3.67 mL, 17.4 mmol) και σακχαρίνη (117.97 mg, 0.6 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (44 mL) θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 λεπτά στους 120 °C και στη συνέχεια προστίθεται η 1,2:4,6-τετρα-Ο-ακετυλο-3-δεσοξυ-3-μεθυλενο-D-γλυκοπυρανόζη (**67**) (3.44 g, 10.0 mmol) καθώς και το SnCl₄ (1.6 mL, 14.0 mmol). Ακολουθεί θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα για περίπου 1h (TLC), ψύξη του μίγματος σε θερμοκρασία δωματίου, προσθήκη κορεσμένου διαλύματος NaHCO₃, και εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο (700 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (20 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα E. Το επιθυμητό προϊόν **68β** (2.1 g, 53%) παραλαμβάνεται με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = -2.0^\circ$ (c = 0.500 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 257 nm (ε 6139)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 397.39 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₇H₂₀N₂O₉) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 51.52	H : 5.09	N : 7.07
Ευρ. (%)	C : 51.59	H : 5.27	N : 7.01

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.08 (br s, 1H, NH), 7.38 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.2$ Hz, H-6), 5.82 (d, 1H, H-5), 5.67 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.2$ Hz, H-1'), 5.48 (d, 1H, H-2'), 5.36 (d, 1H, $J_{4',5'} = 9.8$ Hz, H-4'), 5.23, 5.12 (2s, 2H, μεθυλένια), 4.34-4.15 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 3.79-3.77 (m, 1H, H-5'), 2.19, 2.12, 2.10 (3s, 9H, 3OAc).

1-(3'-Δεσοξυ-3'-μεθυλενο-β-D-γλυκοπυρανοζυλ)ουρακίλη (69β)

Το παράγωγο της θυμίνης **69β** συντέθηκε από την ένωση **68β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **4**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα A, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **69β** (1.29 g, 90%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = +2.0^\circ$ (c = 0.142 μεθανόλη)

λ_{\max} 261 nm (ε 7795)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 271.26 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₁H₁₄N₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 48.89	H : 5.22	N : 10.37
Ευρ. (%)	C : 48.85	H : 5.29	N : 10.43

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 7.81 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 5.76 (d, 1H, H-5), 5.39 (s, 2H, μεθυλένια), 5.36 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.2$ Hz, H-1'), 4.23 (d, 1H, H-2'), 4.10 (d, 1H, $J_{4',5'} = 9.6$ Hz, H-4'), 3.92-3.78 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 3.33-3.31 (m, 1H, H-5').

¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD)

δ 153.1, 151.2, 150.0, 142.7, 106.3, 103.1, 86.6, 84.1, 71.2, 68.6, 62.7.

1-(3'-Δεσοξυ-4',6'-Ο-ισοπροπυλιδενιο-3'-μεθυλενο-β-D-γλυκοπυρανοζυλ)ουρακίλη (70β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **70β** συντέθηκε από την ένωση **69β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **6**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα A, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **70β** (1.11 g, 75%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 179-181 °C (EtOAc / *n*-εξάνιο)

$[\alpha]_D^{22} = 4.0^0$ (c = 0.472 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 261 nm (ϵ 7314)

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 311.30 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₄H₁₈N₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 54.19	H : 5.85	N : 9.03
Ευρ. (%)	C : 54.35	H : 5.89	N : 9.39

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 8.46 (br s, 1H, NH), 7.37 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 5.76 (d, 1H, H-5), 5.46 (d, 1H, $J_{1',2'} = 8.9$ Hz, H-1'), 5.34, 5.32 (2s, 2H, μεθυλένια), 4.14 (d, 1H, H-2'), 4.04 (d, 1H, $J_{4',5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.96-3.76 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 3.39-3.34 (m, 1H, H-5'), 1.55, 1.50 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(3'-Δεσοξυ-4',6'-Ο-ισοπροπυλιδενιο-3'-μεθυλενο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο-2'-ουλοζ)ουρακίλη (71β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **71β** συντέθηκε από την ένωση **70β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **71α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα ΣΤ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **71β** (0.61 g, 55%) υπό τη μορφή λευκού αφρώδεςστερεού.

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 309.27 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₄H₁₆N₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 54.54	H : 5.23	N : 9.09
Ευρ. (%)	C : 54.63	H : 5.30	N : 9.17

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 8.33 (br s, 1H, NH), 7.15 (d, 1H, *J*_{5,6} = 7.9 Hz, H-6), 6.32, 5.84 (2s, 2H, μεθυλένια), 5.76 (d, 1H, H-5), 5.36 (s, 1H, H-1'), 4.69 (d, 1H, *J*_{4',5'} = 10.0 Hz, H-4'), 4.30-3.64 (m, 3H, H-5', H-6a', H-6b'), 1.59, 1.49 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(3'-Δεσοξυ-3'-μεθυλενο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο-2'-ουλοζ)ουρακίλη (72β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **72β** συντέθηκε από την ένωση **71β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **72α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Α, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **72β** (0.32 g, 60%) υπό τη μορφή λευκού αφρώδουςστερεού.

[α]_D²² = + 2.0⁰ (c = 0.111, μεθανόλη)

λ_{max} 259 nm (ε 7220)

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 269.24 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₁H₁₂N₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 49.26	H : 4.51	N : 10.44
Ευρ. (%)	C : 49.33	H : 4.82	N : 10.68

¹H-NMR (500 MHz, (CD₃)₂CO)

δ 8.51 (br s, 1H, NH), 7.46 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.0$ Hz, H-6), 7.21 (br s, 1H, H-1'), 6.29 (br s, 1H, H-4'), 5.65 (d, 1H, H-5), 4.97-4.91 (m, 1H, H-5'), 4.12 (br s, 2H, μεθυλένια), 3.85-3.81 (m, 2H, H-6a', H-6b').

¹³C-NMR (125 MHz, (CD₃)₂CO)

δ 189.4, 144.8, 142.1, 135.1, 102.2, 100.5, 82.4, 76.4, 67.4, 63.6, 57.8.

Σύνθεση των παραγώγων της 5-φθοροουρακίλης**1-(2',4',6'-Τρι-Ο-ακετυλο-3'-δεσοξυ-3'-μεθυλενο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)5-φθοροουρακίλη (68γ)**

Διάλυμα αποτελούμενο από 5-φθοροουρακίλη (1.81 g, 13.9 mmol), HMDS (3.64 mL, 17.3 mmol) και σακχαρίνη (117.29 mg, 0.6 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (68 mL) θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 λεπτά στους 120 °C και στη συνέχεια προστίθεται η 1,2,4,6-τετρα-Ο-ακετυλο-3-δεσοξυ-3-μεθυλενο-D-γλυκοπυρανόζη (**67**) (3.7 g, 10.71 mmol) καθώς και ο Me₃SiOSO₂CF₃ (2.7 mL, 14.99 mmol). Ακολουθεί θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα στους 65 °C για περίπου 1.5h (TLC), ψύξη του μίγματος σε θερμοκρασία δωματίου, προσθήκη κορεσμένου διαλύματος NaHCO₃, και εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο (600 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (20 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα E. Το επιθυμητό προϊόν **68γ** (2.57 g, 58%) παραλαμβάνεται με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = 2.0^\circ$ (c = 0.283 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 261 nm (ε 7446)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 415.32 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₇H₁₉FN₂O₉) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 49.28	H : 4.62	N : 6.76
Ευρ. (%)	C : 49.41	H : 4.32	N : 6.83

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.43 (br s, 1H, NH), 7.46 (d, 1H, $J_{F5,6} = 5.5$ Hz, H-6), 5.64 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.0$ Hz, H-1'), 5.44 (d, 1H, H-2'), 5.36 (d, 1H, $J_{4',5'} = 9.8$ Hz, H-4'), 5.25, 5.14 (2s, 2H, μεθυλένια), 4.34-4.15 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 3.80-3.78 (m, 1H, H-5'), 2.19, 2.13, 2.11 (3s, 9H, 3OAc).

1-(3'-Δεσοξυ-3'-μεθυλενο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)5-φθοροουρακίλη (69γ)

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **69γ** συντέθηκε από την ένωση **68γ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **4**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης EtOAc, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **69γ** (1.65 g, 92%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = + 10.0^0$ (c = 0.660 μεθανόλη)

λ_{max} 269 nm (ϵ 6019)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 289.32 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₁H₁₃FN₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 45.84	H : 4.55	N : 9.72
Ευρ. (%)	C : 45.11	H : 4.27	N : 9.38

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 8.02 (d, 1H, $J_{F5,6} = 6.7$ Hz, H-6), 5.39 (s, 2H, μεθυλένια), 5.35 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.1$ Hz, H-1'), 4.20 (d, 1H, H-2'), 4.11 (d, 1H, $J_{4',5'} = 11.5$ Hz, H-4'), 3.92-3.77 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 3.31-3.28 (m, 1H, H-5').

¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD)

δ 150.2, 149.0, 132.3, 131.7, 128.6, 105.2, 85.7, 82.5, 69.6, 67.2, 61.2.

1-(3'-Δεσοξυ-4',6'-Ο-ισοπροπυλιδενιο-3'-μεθυλενο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)5-φθοροουρακίλη (70γ)

Το παράγωγο της 5-φθόροουρακίλης **70γ** συντέθηκε από την ένωση **69γ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **6**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Z, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **70γ** (1.27 g, 68%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = 8.0^0$ (c = 0.428 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 267 nm (ε 6018)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 329.31 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₄H₁₇FN₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 51.22	H : 5.22	N : 8.53
Ευρ. (%)	C : 51.29	H : 5.41	N : 8.47

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 9.64 (br s, 1H, NH), 7.44 (d, 1H, $J_{F5,6} = 5.3$ Hz, H-6), 5.48 (d, 1H, $J_{1',2'} = 8.8$ Hz, H-1'), 5.37, 5.35 (2s, 2H, μεθυλένια), 4.11 (d, 1H, H-2'), 4.04 (d, 1H, $J_{4',5'} = 9.4$ Hz, H-4'), 3.96-3.77 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 3.42-3.37 (m, 1H, H-5'), 1.55, 1.49 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(3'-Δεσοξυ-4',6'-Ο-ισοπροπυλιδενιο-3'-μεθυλενο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)5-φθοροουρακίλη (71γ)

Το παράγωγο της ουρακίλης **71γ** συντέθηκε από την ένωση **70γ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **71α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως

διαλύτη έκλουσης το σύστημα ΣΤ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **71γ** (0.58 g, 46%) υπό τη μορφή λευκού αφρώδουςστερεού.

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 327.30 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₄H₁₅FN₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 51.54	H : 4.63	N : 8.59
Ευρ. (%)	C : 51.69	H : 4.74	N : 8.89

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 9.18 (br s, 1H, NH), 7.37 (d, 1H, *J*_{F5,6} = 5.3 Hz, H-6), 6.32, 5.83 (2s, 2H, μεθυλένια), 5.32 (m, 1H, H-1'), 4.67 (d, 1H, *J*_{4',5'} = 10.0 Hz, H-4'), 4.24-3.66 (m, 3H, H-5', H-6a', H-6b'), 1.59, 1.51 (2s, 6H, 2CH₃).

1-(3'-Δεσοξυ-3'-μεθυλενο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)5-φθοροουρακίλη (72γ)

Το παράγωγο της ουρακίλης **72γ** συντέθηκε από την ένωση **71γ** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **72α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα Ξ, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **72γ** (0.28 g, 55%) υπό τη μορφή λευκού αφρώδουςστερεού.

[α]_D²² = - 26.0⁰ (c = 0.367, μεθανόλη)

λ_{max} 262 nm (ε 9525)

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 287.23 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₁H₁₁FN₂O₆) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 46.16	H : 3.87	N : 9.79
Ευρ. (%)	C : 46.25	H : 3.89	N : 9.86

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$)

δ 7.73 (d, 1H, $J_{F5,6} = 6.6$ Hz, H-6), 7.21 (br s, 1H, H-1'), 6.31 (br s, 1H, H-4'), 4.98 (br s, 1H, H-5'), 4.12 (s, 2H, μεθυλένια), 3.88-3.84 (m, 2H, H-6a', H-6b').

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$)

δ 189.2, 145.1, 134.6, 127.1, 108.1, 103.3, 82.1, 76.6, 67.9, 63.7, 58.0.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ahn, Y. J.; Park, S. J.; Lee, S. G.; Shin, S. C.; Choi D. H. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 2744.
- Alaoui, M.; Lasnes, C.; Antonakis, K.; Chouroulinkov, I. *Mutagenesis* **1986**, *1*, 411.
- Albright, J. D.; Goldman, L. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 1107.
- Antonakis, K. *Chimia* **1975**, *29*, 59.
- Antonakis, K. "Hexopyranose nucleosides". In *Studies in Natural Products Chemistry, Stereoselective Synthesis (Part C)*; Elsevier, Amsterdam, **1989**, *4*, p. 241.
- Antonakis, K.; Leclercq, F. *C. R. Acad. Sci., Ser. C* **1970**, *271*, 1197.
- Antonakis, K.; Leclercq, F. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1971**, 2142.
- Antonakis, K.; Chouroulinkov, I. *Biochem. Pharmacol.* **1974**, *23*, 2095.
- Arner, E. S. J.; Eriksson, S. *Pharmacol. Ther.* **1995**, *67*, 155.
- Baker, C. H.; Banzon, J.; Bollinger, J. M.; Stubbe, J.; Samano, V.; Robins, M. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 1879.
- Balatsos, N. A.; Vlachakis, D.; Maragozidis, P.; Manta, S.; Anastasakis, D.; Kyritsis, A.; Vlassi, M.; Komiotis D.; Stathopoulos, C. *Biochemistry* **2009**, *48*, 6044.
- Balzarini, J. *Pharmacy World Sci.* **1993**, *16*, 113.
- Barret, A. G. M.; Barton, D. H. R.; Bielski, R. *J. Chem. Soc., Perkins Trans. I* **1979**, 2379.
- Beppu, T. M.; Nose, K.; Arima, K. *Agr. Biol. Chem. (Tokyo)* **1968a**, *32*, 197.
- Bessodes, M.; Abushanab, E.; Panzica, R. P. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1981**, 26.
- Bessodes, M.; Komiotis, D.; Antonakis, K. *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27579.
- Bhat, U. G.; Pandit, B.; Gartel, A. L. *Molecular cancer therapeutics* **2010**.
- Blackburn, G. M.; Gait, M. J. "Nucleic Acids in Chemistry and Biology", Oxford University Press, New York, **1996**.
- Bloomfield, V. A.; Crothers, D. M.; Tinoco, I. "Nucleic Acids: Structure, Properties and Functions", University Science Books, Sausalito, California, **1999**.

- Bonate, P. L.; Arthaud, L.; Cantrell, Jr. W. R.; Stephenson, K.; Secrist, J. A.; Weitman, S. *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2006**, *5*, 855
- Brady, R. C.; Bernstein, D. I. *Antiviral Res.* **2001**, *61*, 73.
- Breitmaier, E.; Jung, G. „Organische Chemie“. Georg Thieme Verlag. Stuttgart, **2001**, *4*, 326.
- Burns, C. J. *Curr. Med. Chem.- Anti-Infective Agents*, **2005**, *4*, 4.
- Cheng, X.; Zhang, J. -D.; Zhang, L. -H. *Synthesis* **1989**, 383.
- Chirakul, P.; Sigurdsson, S.T. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 917.
- Chong, Y.; Choo, H.; Lee, S.; Choi, Y.; Shcinazi, R. F.; Chu, C. K. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 4888.
- Chun, B. K.; Song, G. Y.; Chu, C. K. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 4852.
- Cook, A. F.; Moffatt, J. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 2697.
- Corey, E. J.; Hopkins, P. B. *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 1979.
- Corey, E. J.; Winter, R. A. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2677.
- Cory, A. H.; Samano, V.; Robins, M. J.; Cory, J. G. *Biochem. Pharmacol.* **1994**, *47*, 365.
- Das U. N., *Med Sci Monit*, **2002**, *8*, 79.
- De Clercq, E. *Biochim Biophys Acta.* **2002a**, *1587*, 258.
- De Clercq, E. *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2002b**, *1*, 13.
- Dess, D. B.; Martin, J. C. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4155.
- Egron, M. J. J.; Komiotis D.; Dorange, I.; Herscovici, J.; Ollapally, A. P.; Antonakis, K. *Nucleosides, nucleotides & nucleic acids* **2005**, *24*, 243.
- Egron, M. J.; Leclercq, F.; Antonakis, K.; Bennani-Baiti, I.; Frayssinet, C. *Carbohydr. Res.* **1993**, *248*, 143.
- Elhalabi, J.; Rice, K. G. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids* **2004**, *23*, 195.
- Elion, G. B. *Science* **1989**, *244*, 41.
- Foster, A. B.; Hems, R.; Webber, J. M. *Carbohydr. Res.* **1967**, *5*, 292.
- Garegg, P. J.; Samuelsson, B. *Carbohydr. Res.* **1978**, *67*, 267.
- Garegg, P. J.; Samuelsson, B. *Synthesis* **1979**, 469.
- Garegg, P. J.; Samuelsson, B. *Synthesis* **1979**, 813.
- Gumina, G.; Song, G. Y.; Chu, C. K. *FEMS Microbiology Letters* **2001**, *202*, 9.

- Gunaga, P.; Moon, H. R.; Choi, W. J.; Shin, D. H.; Park, J. G.; Jeong, L. S. *Curr. Med. Chem.*, **2004**, *11*, 2585.
- Gupta, A.; Vankar, Y. D. *Tetrahedron*, **2000**, *56*, 8525.
- Halliwell, B. Free Radicals and other reactive species in disease. *Encyclopaedia of life sciences* **2001**.
- Halmos, T.; Cardon, A.; Antonakis, K. *Chem. -Biol. Interactions* **1983**, *46*, 11.
- Hanessian, S.; Bargiotti, A.; LaRue, M. *Tetrahedron Lett.* **1978**, *19*, 737.
- Hansske, F.; Madej, D.; Robins, M. J. *Tetrahedron* **1984**, *40*, 125.
- Haraguchi, K.; Takahashi, H.; Tanaka, H. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 5657.
- Hassan, A. E. A.; Shuto, S.; Matsuda, A. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 689.
- Haouz, A.; Vanheusden, V.; Munier-Lechman, H.; Froeyen, M.; Herdewijn, P.; Van Galenbergh, S.; Delarue, M. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 4963.
- Herdewijn, P.; De Clercq, E. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1591.
- Herscovici, J.; Antonakis, K. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1980**, *12*, 561.
- Jeong, L. S.; Yoo, S. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 847.
- Khan, A. R.; Mulligan, K. X.; Redda, K. K.; Ollapally, A. P. *Synth. Commun.* **2002**, *32*, 1023.
- Kim, M. J.; Jeong, L. S.; Kim, J. H.; Shin, J. H.; Chung, S. Y.; Lee, S. K.; Chun, M. W. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* **2004**, *23*, 715.
- Komiotis, D.; Agelis, G.; Manta, S.; Tzioumaki, N.; Tsoukala, E. *J. Carbohydr. Chem.* **2006**, *25*, 441.
- Komiotis, D.; Delatre, S.; Holt, L.; Ollapally, A.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Ligo, M. *Nucleosides Nucleotides* **1991**, *10*, 431.
- Komiotis, D.; Manta, S.; Tsoukala, E.; Tzioumaki, N. *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry* **2008**, *7*, 219.
- Langen, P.; Etzold, G. *Mol. Pharmacol.* **1966**, *2*, 89.
- Lewin, B. *Genes* **2003**, *VIII*, 6.
- Lin, T. S.; Luo, M. Z.; Liu, M. C.; Clarkatzenburg, R. H.; Cheng, Y. C.; Prusoff, W. H.; Mancini, W. R.; Birnbaum, G. I.; Gabe, E.; Giziewicz, J. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2607.
- Liu, X.; Guo, X.; Wang, F.; Lei, G.; Luo, D. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* **2007**, *26*, 45.
- Liu, Z.; Classon, B.; Samuelsson, B. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4273.

- Lui, V. W. Y. W.; Lau, C. P. Y. P.; Cheung, C. S. F. S.; Ho, K.; Ng, M. H. L. H.; Cheng, S. H. H.; Hong, B.; Tsao, S.-W. W.; Tsang, C. M. M.; Lei, K. I. K. I.; Yamasaki, Y.; Mita, A.; Chan, A. T. *Biochemical pharmacology* **2010**, *79*, 1772.
- Luzzio, A. F.; Menes, E. M.; *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 7267.
- MacCoss, M.; Robins, M. J. "Anticancer Pyrimidines, Pyrimidine Nucleosides and Prodrugs". In the chemistry of Antitumor Agents; Wilman, D. E. V. Ed.; Chapman and Hall: New York, **1990**, p. 261.
- Malsen, H. J.; Hughes, D.; Hursthouse, M.; De Clercq, E.; Balzarini, J.; Simons, C. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 5482.
- Manta, S.; Agelis, G.; Botić, T.; Cencič, A.; Komiotis, D. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 980.
- Manta, S.; Agelis, G.; Botić, T.; Cencič, A.; Komiotis, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 420.
- Manta, S.; Tsoukala, E.; Tzioumaki, N.; Kiritsis, C.; Balzarini, J.; Komiotis, D. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *38*, 48.
- Manta, S.; Tzioumaki, N.; Tsoukala, E.; Panagiotopoulou, A.; Pelecanou, M.; Balzarini, J.; Komiotis, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2009a**, *44*, 4764.
- Manta, S.; Tsoukala, E.; Tzioumaki, N.; Goropevšek, A.; Pamulapati, R. T.; Cencič, A.; Balzarini, J.; Komiotis, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2009b**, *44*, 2696.
- Matsuda, A.; Sasaki, T. *Cancer Sci.* **2004**, *95*, 105.
- Matsuda, A.; Nakajima, Y.; Azuma, A.; Tanaka, M.; Sasaki, T. *J. Med. Chem.* **1991b**, *34*, 2917.
- Maurinsh, Y.; Schraml, J.; De Winter, H.; Blaton, N.; Peeters, O.; Lescrinier, E.; Rozenski, J.; Van Aerschot, A.; De Clercq, E.; Busson, R.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 2861.
- Milecki, J.; Foldesi, A.; Fischer, A.; Adamiak, R. W.; Chattopadhyaya, J. *J Labelled Cpd Radiopharm.* **2001**, *44*, 763.
- Neilson, T.; Werstiuk, E. S. *Can. J. Chem.* **1971**, *49*, 493.
- Niedballa, U.; Vorbrüggen, H. *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 3654.
- Nord, D. L.; Dalley, N. K.; Mc Kernan, P. A.; Robins, R. K. *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 1044.
- Omura, K.; Swern, D. *Tetrahedron* **1978**, *34*, 1651.

- Ostrowski, T.; Wroblowski, B.; Busson, R.; Rozenski, J.; De Clercq, E.; Bennet, M. S.; Champness, J. N.; Summers, W. C.; Sanderson, M. R.; Herdewijn, P. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 4343.
- Perigaud, C.; Gosselin, G.; Imbach, J. L. *Nucleosides Nucleotides* **1992**, *11*, 903.
- Perlman, M. E. *Nucleosides Nucleotides* **1993**, *12*, 73.
- Pfitzner, K. E.; Moffatt, J. G. *J. Am. Chem. Soc.*, **1965**, *87*, 5661.
- Pontikis, R.; Wolf, J.; Monneret, C.; Florent, J. –C. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 3523.
- Prisbe, E. J.; Smejkal, J.; Verheyden, J. P.; Moffatt J. G. *J. Org. Chem.* **1976**, *10*, 1836. Robins, M. J.; Samano, V.; Zhang, W.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Borchardt, R. T.; Lee, Y.; Yuan, C. S. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 2283.
- Robins, R. K.; Kini, G. D. “Purines and Purine Nucleoside Analogues as Antitumor Agents”. In *The Chemistry of Antitumor Agents*; Wilman, D. E. V. Ed.; Chapman and Hall: New York, **1990**, p.299.
- Robins, M. J.; Samano, V.; Zhang, W.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Borchardt, R. T.; Lee, Y.; Yuan, C. -S. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 2283.
- Rosenthal. A.; Sprinzl. M. *Can. J. Chem.* **1969**, *47*, 3941.
- Scalbert, A.; Manach, C.; Morand, C.; Ramsey, C. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **2005**, *45*, 287.
- Serafinowski, P. J.; Barnes, C. L. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 7929.
- Siev, M.; Weinberg, R.; Penman, S. *J. Cell Biol.* **1969**, *41*, 510.
- Spanou, C.; Manta, S.; Komiotis D.; Dervishi, A.; Kouretas, D. *Int. J. Mol. Sci.* **2007**, *8*, 695.
- Suhadolnik, R. J. *Nucleoside Antibiotics*, Wiley-Interscience, New York, **1970**.
- Suhadolnik, R. J. *Nucleosides as biological Probes*, Wiley and Sons, New York, **1979**.
- Szarek, W. A.; Jewell, J. S.; Szczerek, I.; Jones, J. K. N. *Can. J. Chem.* **1969**, *47*, 4473.
- Takenuki, K.; Matsuda, A.; Ueda, T.; Sasaki, T.; Fujii, A.; Yamagami, K. *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 1063.
- Tewson, T. J.; Welsh, M. J. *J. Org. Chem.*, **1978**, *43*, 1090.
- Vastmans, K.; Froeyen, M.; Kerremans, L.; Pochet, S.; Herdewijn, P. *Nucleic Acids Res.* **2001**, *29*, 3154.

- Verheggen, I.; Van Aerschot, A.; Van Meervelt, L.; Rozenski, J.; Wiebe, L.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Balzarini, J.; Claes, P.; De Clercq, E.; Herdewijn, P. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 826.
- Tsirkone, V. G.; Tsoukala, E.; Lamprakis, C.; Manta, S.; Hayes, J. M.; Skamnaki, V. T.; Drakou, C.; Zographos, S. E.; Komiotis D.; Leonidas, D. D. *Bioorganic & medicinal chemistry* **2010**, *18*, 3413.
- Ueda, T.; Shuto, S.; Satoh, M.; Inoue, H. *Nucleosides Nucleotides* **1985**, *4*, 401.
- Van Rijsbergen, R.; Anteunis, M. J. O.; De Bruyn A. *J. Carbohydr. Chem.* **1983**, *2* 395.
- Vanheusden, V.; Busson, R.; Herdewijn, P.; Van Calenbergh, S. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 4446.
- Verheggen, I.; Van Aerschot, A.; Toppet, S.; Snoeck, R.; Janssen, G.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Herdewijn, P. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 2033.
- Yamagami, K.; Fujii, A.; Arita, M.; Okumoto, T.; Sakata, S.; Matsuda, A.; Ueda, T.; Sasaki, T. *Cancer Res.* **1991**, *51*, 2319.
- Yoo, S. J.; Kim, H. O.; Lim, Y.; Kim, J.; Jeong, L. S.; *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 215.
- Wagner, C. R.; Iyer, V. V.; McIntee, E. J. *Med. Res. Rev.* **2000**, *20*, 417.
- Zhang, J.; Clive, D. L. J. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 1754.
- Zhou, W.; Gumina, G.; Chong, Y.; Wang, J.; Schinazi, R. F.; Chu, C. K. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 3399.

ABSTRACT

The present thesis was focused in the synthesis of new series of modified exomethylene nucleosides with six-membered carbohydrate moieties as well as their biological evaluation as a new class of antiviral and anticancer agents.

Based on the interesting biological properties of unsaturated ketonucleosides and deoxy-pyranonucleosides and considering that the furanonucleosides containing exomethylene group in the sugar moiety increases the anticancer and the antiviral activity, in the present work, the synthesis of new series of saturated and unsaturated 2' or 3' or 4' exomethylene pyranonucleoside analogues, was described.

Therefore, the synthesis of a new class of nucleoside analogues possessing exomethylene group in the 4'-position, a double bond in the 2',3'-position of the mannose sugar moiety and uracil as heterocyclic base, followed the synthesis of another new class of nucleosides possessing exomethylene group in the 2'-position, a double bond in the 3',4'-position of the galactose sugar moiety and thymine as heterocyclic base. Afterwards was described the process for the synthesis of a novel class of lyxopyranose nucleoside analogues, possessing exomethylene group in the 4'-position, deoxy in the 5'-position, a double bond in the 2',3'-position of the sugar moiety, and thymine or uracil as heterocyclic bases. Followed the description of synthesis of another new class of arabinopyranose nucleoside analogues possessing exomethylene group in the 2'-position, deoxy in the 5'-position, a double bond in the 3',4'-positions of the sugar moiety and thymine or uracil or 5-fluorouracil or *N*⁴-benzoylcytosine or a cytosine as heterocyclic bases. Finally, a new class of nucleosides, possessing a keto group in the 2'-position, exomethylene group in the 3'-position of the sugar moiety and thymine or uracil or 5-fluorouracil as heterocyclic bases.

In the present thesis are mentioned also the antiviral, anticancer and antioxidant studies that were realized on the new compounds and they elect their important biological properties.