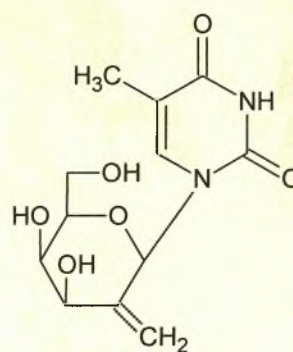
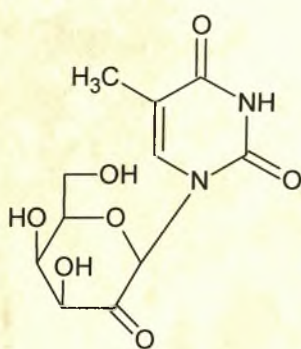


ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ-ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ 2'-ΚΕΤΟ
ΚΑΙ 2'-ΕΞΩΜΕΘΥΛΕΝΙΚΩΝ ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΣΙΔΙΩΝ
ΤΗΣ ΘΥΜΙΝΗΣ**



ΤΣΙΓΓΙΑΒΟΥΡΙΔΟΥ ΔΕΣΠΟΙΝΑ
ΛΑΡΙΣΑ 2007



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»

Αριθ. Εισ.: 5422/1
Ημερ. Εισ.: 01-06-2009
Δωρεά: Π.Θ.
Ταξιθετικός Κωδικός: ΠΤ - ΒΒ
2007
ΤΣΙ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

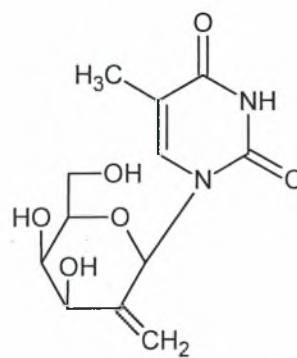
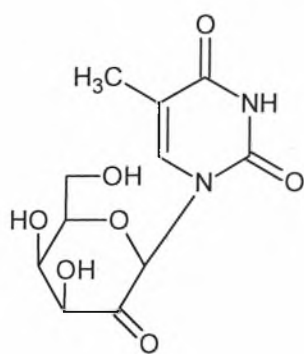


004000087227

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ-ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ 2'-ΚΕΤΟ
ΚΑΙ 2'-ΕΞΩΜΕΘΥΛΕΝΙΚΩΝ ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΣΙΔΙΩΝ
ΤΗΣ ΘΥΜΙΝΗΣ**



ΤΣΙΓΓΙΑΒΟΥΡΙΔΟΥ ΔΕΣΠΟΙΝΑ
ΛΑΡΙΣΑ 2007

Στην οικογένειά μου

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Κομιώτης Δημήτρης - Επίκουρος Καθηγητής Οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Αγγελής Γιώργος - Διδάσκων ΠΔ 407 του Τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Κουρέτας Δημήτρης – Αναπληρωτής Καθηγητής του Τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας – Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, υπό την επίβλεψη του Επίκουρου Καθηγητή Οργανικής Χημείας κ. Κομιώτη Δημήτρη.

Θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον κ. Κομιώτη που μου έδειξε εμπιστοσύνη προσφέροντάς μου τη δυνατότητα να ασχοληθώ με το συγκεκριμένο θέμα. Η επιστημονική και συνάμα εύστοχη κριτική του, οι πολύτιμες συμβουλές του, η υπομονή του, η ενθάρρυνση και η καθοδήγησή του συνέβαλαν στη σωστή διεκπεραίωση των πειραματικών διαδικασιών αλλά και στη διαμόρφωση των σκέψεών μου.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον διδάσκων Π.Δ. 407 Αγγελή Γιώργο για την άψογη συνεργασία, τις πολύτιμες συμβουλές του και την εύστοχη κριτική του. Ωφελήθηκα αρκετά από τις χρήσιμες συμβουλές και τη σωστή καθοδήγησή του κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας. Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στην Υποψήφια Διδάκτωρ Μαντά Στέλλα για την πολύτιμη βοήθειά της και την ηθική υποστήριξη. Τέλος, ευχαριστώ ιδιαίτερα όλα τα άτομα που εργάζονται στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας – Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για τη φιλία με την οποία με περιέβαλαν.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Οι υδατάνθρακες αποτελούν μια από τις τέσσερις κύριες κατηγορίες βιομορίων και απαντούν σε κάθε ζωντανό οργανισμό. Χωρίζονται σε τρεις βασικές κατηγορίες τους μονοσακχαρίτες, τους δισακχαρίτες και τους πολυσακχαρίτες. Τα σάκχαρα ριβόζη και δεοξυριβόζη αποτελούν μέρος του δομικού πλαισίου των RNA και DNA αντίστοιχα. Ακόμη, οι πολυσακχαρίτες συνιστούν μέρος του περιβλήματος των κυττάρων.

Τα νουκλεοσιδικά ανάλογα είναι ιδιαίτερος σημαντικά στην αντικαρκινική και αντική θεραπεία. Έχει διαπιστωθεί ότι πολλά φυσικά αντιβιοτικά με σημαντική αντική και αντικαρκινική δράση περιέχουν στη δομή τους νουκλεοσίδια συνδεδεμένα με ολιγοσακχαρίτες. Ιδίως τα τελευταία χρόνια εντείνεται η σύνθεση και η μελέτη των νουκλεοσιδίων με στόχο τη θεραπεία ασθενειών όπως ηπατίτιδα, έρπητας και το σύνδρομο της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (AIDS). Γι' αυτό το λόγο πραγματοποιούνται πολλές τροποποιήσεις στα φυσικά νουκλεοσίδια με σκοπό τη βελτίωση της θεραπευτικής τους ικανότητας.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον δόθηκε στη μελέτη και στη σύνθεση κετονουκλεοσιδίων καθώς και νουκλεοσιδίων με εξωκυκλικό μεθυλένιο. Οι ενώσεις αυτές βρέθηκε ότι διαθέτουν αντινεοπλασματική δραστηριότητα εξαιτίας της αναστολής που προκαλούν στην ανάπτυξη όγκων σε καρκινικά κύτταρα. Επιπλέον, διαθέτουν αντική δράση ιδίως αν χρησιμοποιηθούν ως φάρμακα κατά του ιού της ανθρώπινης επίκτητης ανοσοανεπάρκειας (αντι-HIV) ή ως φάρμακα κατά του ιού της ηπατίτιδας Β (αντι-HBV).

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

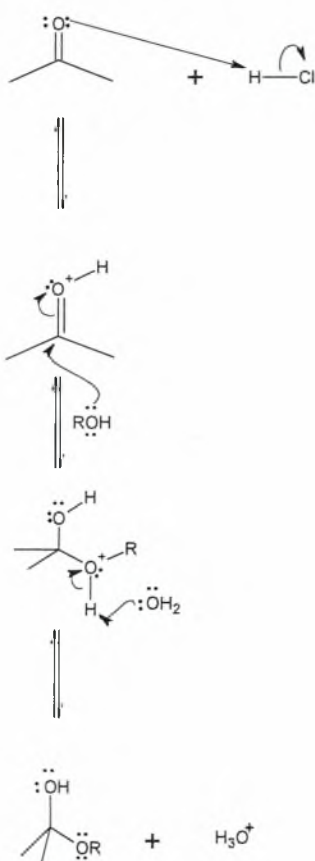
1	Εισαγωγή.....	8
1.1	Υδατάνθρακες.....	8
1.2	Νουκλεοσίδια.....	11
1.3	Τρόπος δράσης νουκλεοσιδίων.....	11
1.4	Νουκλεοσιδικά ανάλογα με σάκχαρο μία πεντόζη.....	14
1.4.1	Zidovudine ή azidothymidine.....	14
1.4.2	Lamivudine ή 3TC.....	16
1.4.3	DDI ή didanosine	17
1.4.4	DDC ή zalcitabine	17
1.4.5	Τριφθοριοθυμιδίνη.....	17
1.5	Νουκλεοσιδικά ανάλογα με σάκχαρο μία εξόζη.....	18
1.5.1	Αμινονουκλεοσίδια.....	18
1.5.2	Κετονουκλεοσίδια.....	19
1.6	Νουκλεοσίδια με εξωκυκλικό μεθυλένιο.....	19
1.6.1	Entecavir.....	20
1.6.2	2-deoxy-2-methylidenecytidine (DMDC).....	20
2	Ειδικό μέρος	22
2.1	Σκοπός – Στόχος.....	22
2.2	Μεθοδολογία σύνθεσης.....	24
3	Σύνθεση εξωμεθυλενικού παραγώγου και κετονουκλεοσιδίου.....	26
3.1	Γενικές μέθοδοι.....	26
3.1.1	Χρωματογραφία χάρτου.....	26
3.1.2	Χρωματογραφία στήλης.....	26
3.1.3	Ξήρανση διαλυτών.....	26
3.1.4	Ταυτοποίηση ενώσεων.....	27
4	Πειραματική διαδικασία.....	28
4.1	Σύνθεση της 1,2,3,4,6- penta-O-acetyl-galactopyranose.....	28
4.2	Σύνθεση της 1-[(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-β-D- galactopyranosyl]thymine.....	28
4.3	Σύνθεση της 1-(β-D-galactopyranosyl)thymine.....	29
4.4	Σύνθεση της 1-(6-O-TBDMS-β-D-galactopyranosyl)thymine.....	30
4.5	Σύνθεση της 1-(6-O-TBDMS-3,4-O-isopropylidene-β-D-galactopyranosyl)thymine.....	30

4.6	Σύνθεση της 1-(6-O-t-Butyldimethylsilyl-3, 4-O-isopropylidene-β-D-lyxo-hexopyranosyl-2-ulose) thymine.....	31
4.7	Σύνθεση της 1-(6-O-t-Butyldimethylsilyl-2-deoxy-3,4-O-isopropylidene-2-methylene-β-D-lyxo-hexopyranosyl)thymine.....	32
4.8	Σύνθεση της 1-(2-Deoxy-2-methylene-β-D-lyxo-hexopyranosyl)thymine.....	33
4.9	Σύνθεση της 1-(β-D-Lyxo-hexopyranosyl-2-ulose)thymine.....	33
5	Ταυτοποίηση με NMR.....	35
6	Αποτελέσματα – Συζήτηση.....	36
7	Βιβλιογραφία.....	39

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Υδατάνθρακες

Οι υδατάνθρακες είναι ενώσεις που έχουν το υδρογόνο και το οξυγόνο στην αναλογία του ύδατος, ενώ η διάσπαση τους προσφέρει την ενέργεια που απαιτείται για τις βασικές λειτουργίες του οργανισμού. Τα σάκχαρα που αποτελούνται από πέντε άτομα άνθρακα ονομάζονται πεντόζες και αυτά που αποτελούνται από έξι άτομα άνθρακα ονομάζονται εξόζες. Είναι γεγονός ότι ο επικρατέστερος τύπος γλυκόζης και φρουκτόζης σε διάλυμα δεν είναι η ανοικτή αλυσίδα, επειδή οι ανοικτές αλυσίδες των ενώσεων αυτών κυκλοποιούνται σε δακτύλιους. Συγκεκριμένα, η γλυκόζη σε υδατικό διάλυμα έχει κυρίως τη μορφή της πυρανόζης. Ο εξαμελής δακτύλιος της πυρανόζης δε βρίσκεται σε ένα επίπεδο αλλά έχει στο χώρο τη μορφή του ανάκλιντρου. Επίσης, η φρουκτόζη έχει τη μορφή της φουρανόζης και στο χώρο ο δακτύλιος έχει τη μορφή φακέλου. Γενικά, μια καρβονυλική ένωση αντιδρά με μια αλκοόλη για να σχηματίσει μια ημιακετάλη (εικόνα 1).



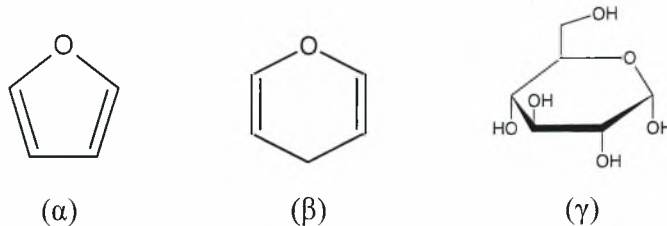
Η πρωτονίωση του καρβονυλικού οξυγόνου πολώνει έντονα το καρβονύλιο.

Ενεργοποιεί την καρβονυλική ομάδα για πυρηνόφιλη προσβολή από το μονήρες ζεύγος ηλεκτρονίων του οξυγόνου της αλκοόλης.

Απόσπαση ενός πρωτονίου οδηγεί σε ένα τετραεδρικό ενδιάμεσο, μια ουδέτερη ημιακετάλη.

Εικόνα 1. Μηχανισμός σχηματισμού ημιακετάλης⁽¹⁰⁾

Στην περίπτωση της γλυκόζης, η C-1 αλδεϋδική ομάδα του τύπου ανοικτής αλυσίδας αντιδρά με το υδροξύλιο του C-5 και σχηματίζει μια ενδομοριακή ημιακετάλη. Απόρροια της παραπάνω αντίδρασης αποτελεί η παραγωγή του εξαμελούς δακτυλίου του σακχάρου, που ονομάζεται πυρανόζη, λόγω της ομοιότητάς του με το πυράνιο (εικόνα 2β).



Εικόνα 2. (α) Φουράνιο, (β) Πυράνιο (γ) γλυκόζη⁽⁹⁾

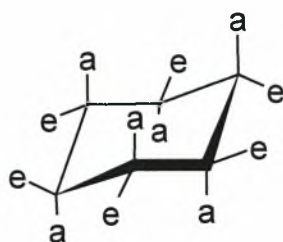
Στην περίπτωση της φρουκτόζης, η κετονική ομάδα στον C-2 του τύπου της ανοικτής αλυσίδας αντιδρά με την υδροξυλική ομάδα του C-5 και σχηματίζει μία ενδομοριακή ημιακετάλη. Ως αποτέλεσμα επέρχεται ο σχηματισμός πενταμελούς δακτυλίου, που ονομάζεται φουρανόζη, λόγω της ομοιότητας του με το φουράνιο (εικόνα 2α).

Αξίζει να τονιστεί ότι κατά την κυκλοποίηση της γλυκόζης δημιουργείται ένα πρόσθετο ασύμμετρο κέντρο. Συγκεκριμένα, Ο άνθρακας C-1, ο καρβονυλικός άνθρακας στην ανοικτή αλυσίδα, μετατρέπεται σε ένα ασύμμετρο κέντρο στο δακτύλιο. Υπάρχει το ενδεχόμενο να προκύψουν δύο δομές, η α -D-γλυκοπυρανόζη και η β -D-γλυκοπυρανόζη. Στην περίπτωση της α -D-γλυκοπυρανόζης, ο χαρακτηρισμός « α » υποδηλώνει ότι το υδροξύλιο που συνδέεται στον C-1 βρίσκεται σε θέση trans ως προς τον υποκαταστάτη –CH₂OH του C-5 (δηλαδή βρίσκεται κάτω από το επίπεδο του δακτυλίου). Στην περίπτωση της β -D-γλυκοπυρανόζης, ο χαρακτηρισμός « β » υποδηλώνει ότι το υδροξύλιο που συνδέεται στον C-1 βρίσκεται σε θέση cis ως προς τον υποκαταστάτη –CH₂OH του C-5 (δηλαδή βρίσκεται πάνω από το επίπεδο του δακτυλίου). Ο άνθρακας C-1 καλείται ανωμερής και έτσι οι μορφές α και β καλούνται ανωμερείς.

Όσον αφορά τον φουρανοζικό δακτύλιο της φρουκτόζης, ο άνθρακας C-2 είναι ανωμερής και η ονοματολογία εφαρμόζεται με τον ίδιο τρόπο δεδομένου ότι οι μορφές α και β αναφέρονται στο υδροξύλιο που είναι ενωμένο στον άνθρακα C-2.

Ο εξαμελής δακτύλιος της πυρανόζης δεν είναι επίπεδος εξαιτίας της τετραεδρικής γεωμετρίας των κορεσμένων ατόμων άνθρακα. Υιοθετεί μία κατάλληλα πτυχωμένη διαμόρφωση στο χώρο, με αποτέλεσμα να εξουδετερώνονται όλες οι τάσεις. Οι γωνίες C-C-C μπορούν να προσεγγίσουν την απαλλαγμένη από τάσεις τιμή της κανονικής τετραεδρικής γωνίας, εφόσον ο δακτύλιος υιοθετήσει τη διαμόρφωση ανάκλιντρου, που ονομάστηκε έτσι λόγω της ομοιότητάς του με αναπαυτικό κάθισμα. Επιπροσθέτως,

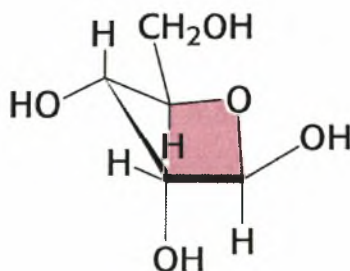
γίνεται φανερό ότι στη διαμόρφωση ανάκλιντρου εξουδετερώνονται όλες οι τάσεις, εφόσον όλοι οι γειτονικοί δεσμοί C-H έχουν διαβαθμισμένη διαμόρφωση.⁽¹⁰⁾



Εικόνα 3. Μορφή ανάκλιντρου μιας πυρανόζης (e= ισημερινός υποκαταστάτης, a= αξονικός υποκαταστάτης)⁽¹⁰⁾

Υπάρχουν δύο ειδών υποκαταστάτες των ατόμων άνθρακα του δακτυλίου: οι αξονικοί και οι ισημερινοί. Οι αξονικοί δεσμοί είναι διατεταγμένοι κάθετα στο δακτύλιο δηλαδή παράλληλα προς τον άξονα του δακτυλίου. Οι ισημερινοί δεσμοί διατάσσονται περίπου στο ίδιο επίπεδο του δακτυλίου δηλαδή γύρω από τον ισημερινό του. Οι αξονικοί υποκαταστάτες, πλην του υδρογόνου, παρεμποδίζουν στερεοχημικά ο ένας τον άλλο, εάν ξεπροβάλουν από την ίδια πλευρά του δακτυλίου. Αντίθετα, υπάρχει πολύ περισσότερος χώρος για τους ισημερινούς υποκαταστάτες, γι' αυτό ένας υποκαταστάτης είναι σταθερότερος στην ισημερινή απ' ότι στην αξονική θέση. Η ενεργειακή διαφορά ανάμεσα στα αξονικά και στα ισημερινά διαμορφομερή οφείλεται στη στερεοχημική τάση που προκαλείται από τις λεγόμενες 1,3-διαξονικές αλληλεπιδράσεις. Το ακριβές μέγεθος της 1,3-διαξονικής στερεοχημικής τάσης σε μία συγκεκριμένη ένωση εξαρτάται από τη φύση και το μέγεθος του αξονικού υποκαταστάτη.

Ο πενταμελής δακτύλιος της φουρανόζης δεν είναι επίπεδος. Μπορεί να έχει πτυχωμένη μορφή έτσι ώστε τα τέσσερα άτομα να είναι στο ίδιο επίπεδο και το πέμπτο εκτός του επιπέδου αυτού. Η διαμόρφωση αυτή καλείται «μορφή φακέλου» επειδή η δομή αυτή μοιάζει με ανοιχτό φάκελο με το πίσω μέρος ανασηκωμένο (εικόνα 4). Οι δακτύλιοι της φουρανόζης αλληλομετατρέπονται ταχύτατα σε διαφορετικές στερεοδιατάξεις και είναι πολύ πιο ευέλικτοι από τους δακτυλίους της πυρανόζης. Η παρατήρηση αυτή εξηγεί την επιλογή τους ως συστατικών του RNA και DNA.⁽¹⁰⁾



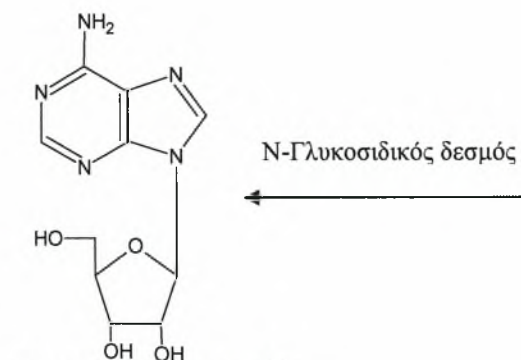
Εικόνα 4. Μορφή φακέλου της β-D-ριβόζης⁽⁴⁰⁾

1.2 Νουκλεοσίδια

Τα τελευταία χρόνια πληθώρα ερευνητικών προγραμμάτων εστιάζεται στη μελέτη, στη σύνθεση και στη βιολογική ταυτοποίηση νουκλεοσιδίων και νουκλεοσιδικών αναλόγων. Έχει βρεθεί ότι τα νουκλεοσίδια επιδεικνύουν σημαντική αντικαρκινική, αντιβακτηριακή και αντική δράση.^(3,13,21,22) Συνεπώς έχουν γίνει πολλές τροποποιήσεις στο τμήμα της βάσης και του σακχάρου των φυσικών νουκλεοσιδίων με απώτερο σκοπό να διευρυνθεί το φάσμα των θεραπευτικών δραστηριοτήτων τους.⁽²³⁾ Ιδίως τις τελευταίες δύο δεκαετίες η σύνθεση και η μελέτη των νουκλεοσιδίων έχει ανέλθει κατακόρυφα με στόχο τη θεραπεία του AIDS,⁽²⁴⁾ του έρπητα⁽²⁵⁾ και της ηπατίτιδας.⁽²⁶⁾

Πολλά φυσικά αντιβιοτικά με σημαντική αντική και αντικαρκινική δράση περιέχουν στη δομή τους νουκλεοσίδια συνδεδεμένα με ολιγοσακχαρίτες.

Το νουκλεοσίδιο αποτελείται από μια βάση πουρίνης ή πυριμιδίνης ενωμένη στη θέση 1' μιας πεντόζης με β-N-γλυκοσιδικό δεσμό.⁽²⁾ Ο ανωμερής άνθρακας ενός σακχάρου είναι σε θέση να ενωθεί με το άζωτο μιας αμίνης με ένα N-γλυκοσιδικό δεσμό. Ο συγκεκριμένος τρόπος γλυκοσιδικής σύνδεσης είναι συνήθης σε πολλά βασικά μακρομόρια, όπως νουκλεοτίδια, RNA και DNA. Οι N-γλυκοσιδικοί δεσμοί σε όλα τα φυσικά μακρομόρια έχουν στερεοδιάταξη β, δηλαδή η βάση βρίσκεται πάνω από το επίπεδο του δακτυλίου του σακχάρου⁽⁹⁾ (εικόνα 5).



Εικόνα 5. Αδενοσίνη⁽⁹⁾

1.3 Τρόπος δράσης νουκλεοσιδίων

Είναι γεγονός ότι τα φυσικά νουκλεοσίδια συντίθενται εντός των κυττάρων αλλά είναι δυνατών βέβαια, να εισέλθουν στα κύτταρα με παθητική διάχυση. Επίσης πραγματοποιείται ενδοκυτταρική τροποποίησή τους με σκοπό την παραγωγή των νουκλεοτιδίων. Οι πολυμεράσες χρησιμοποιούν τα νουκλεοτίδια ως βασικές δομικές μονάδες γενετικού υλικού DNA και RNA.

Βάση της παραπάνω αναφοράς για παθητική διάχυση, χρησιμοποιήθηκε η παρούσα ιδιότητα για την εφαρμογή των νουκλεοσιδικών αναλόγων, μορίων που αποτελούν χημικά τροποποιημένες εκδόσεις των φυσικών νουκλεοσιδίων, ως αντικούς και αντικαρκινικούς παράγοντες για τη θεραπεία πληθώρας ασθενειών. ⁽³⁾

Τα φάρμακα που ως δραστική ουσία έχουν κάποιο νουκλεοσιδικό ανάλογο, επιβάλλεται να αλληλεπιδράσουν με κάποιο μοριακό στόχο προκειμένου να είναι δραστικά. Στην κατηγορία των μοριακών στόχων των νουκλεοσιδικών αναλόγων υπάγονται οι πρωτεΐνες και τα νουκλεϊκά οξέα. ⁽¹⁾

Οι πιο κοινοί τύποι πρωτεϊνών με τους οποίους αλληλεπιδρούν τα φάρμακα είναι οι υποδοχείς, οι διάλυτοι ιόντων, τα ένζυμα και τα μόρια μεταφορείς.

Τα νουκλεοσιδικά ανάλογα αλληλεπιδρούν με τις ικές πολυμεράσες. Οι ικές πολυμεράσες, συχνά είναι ειδικά διαμορφωμένες έτσι ώστε να αποτελούν στόχο για έναν ειδικό αντικό παράγοντα. Η συγκεκριμένη μέθοδος ενίσχυσε την παραγωγή των ειδικών αντικών φαρμάκων. ^(5,6,7) Μιμούμενα το ρόλο των φυσικών νουκλεοσιδίων, τα αντικά φάρμακα νουκλεοσιδίων, ενσωματώνονται στο ικό γονιδίωμα από τις ικές πολυμεράσες, κατά τη διαδικασία της αντιγραφής του γενετικού υλικού. Αυτό το γεγονός εξασθενίζει τη σύνθεση ή τη λειτουργία του ικού γονιδιώματος που προκύπτει και επομένως καταστέλλει την αντιγραφή του ιού. ⁽⁶⁾

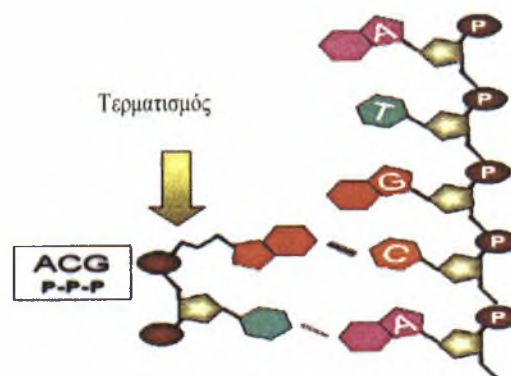
Τα νουκλεοσιδικά ανάλογα είναι κατάλληλα για τη θεραπεία χρόνιων ικών ασθενειών. Το συμπέρασμα αυτό προκύπτει από το γεγονός ότι τα νουκλεοσιδικά ανάλογα ως φάρμακα έχουν γενικά υψηλή επιλεκτικότητα, εξαιρετική δραστική ικανότητα και μεγάλη διάρκεια δράσης.

Τα ανάλογα νουκλεοσιδίων στην πραγματικότητα είναι προφάρμακα, δεδομένου ότι πρέπει να φωσφορυλιωθούν στην 5'- θέση του υδατάνθρακα από τις κυτταρικές κινάσες για να μπορέσουν να δράσουν κι αυτό είναι το 'κλειδί' στην επιλεκτικότητά τους. ⁽⁸⁾ Η φωσφορυλίωση των αναλόγων νουκλεοσιδίων στο κύτταρο, τα ενεργοποιεί και ανταγωνίζονται με τα φυσικά νουκλεοτιδία για τη σύνθεση νουκλεϊκών οξέων. Επειδή η αντιγραφή των νουκλεϊκών οξέων είναι κοινή για όλες τις μορφές ιών, τα ανάλογα νουκλεοσιδίων ενδεχομένως έχουν ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών στην αντική θεραπεία.

Είναι δύσκολη η μεταφορά των φωσφορυλιωμένων ενώσεων διαμέσω των κυτταρικών μεμβρανών επειδή ιονίζονται συνήθως στο σώμα λόγω του διαφορετικού pH στα διάφορα διαμερίσματα. Οι ενεργές μορφές των νουκλεοτιδίων αποτελούν τριφωσφορικά άλατα, με όλες τις αντικαταστάσεις φωσφορικών στην 5'- θέση από

ειδικές ικές-κινάσες που συχνά καταλύουν την πρώτη 5'- φωσφορυλίωση των ανάλογων νουκλεοσιδίων, με την επόμενη φωσφορυλίωση από τις κυτταρικές κινάσες. Το γεγονός αυτό έχει ως απόρροια τη συσσώρευση των ανάλογων φωσφορυλιωμένων νουκλεοτιδίων κυρίως στα κύτταρα που έχουν μολυνθεί από ιό. Τα τμήματα των νουκλεϊκών οξέων διαμορφώνονται από τις κυτταρικές πολυμεράσες, οι οποίες συνδέουν το 5'-νουκλεοτίδιο στην ομάδα 3'-υδροξυλίου ενός άλλου νουκλεοτιδίου. Σε αυτή τη διαδικασία, απελευθερώνεται πυροφωσφορική ομάδα (PPi), και οι δύο ζάχαρες συνδέονται με φωσφοδιεστερική γέφυρα. ^(9,10,11)

Το τμήμα του νουκλεοσιδίου που χρησιμεύει ως υπόστρωμα για τις κινάσες και τις πολυμεράσες που απαιτούνται για τη βιοσύνθεση των νουκλεοτιδίων και την επιμήκυνση των αλυσίδων είναι το σάκχαρο. Εάν απουσιάζει μία ομάδα 3'-υδροξυλίου από το σάκχαρο δεν πραγματοποιείται η σύνδεση με την 5'- φωσφορική ομάδα του επόμενου νουκλεοτιδίου. Το αποτέλεσμα είναι η λήξη της επιμήκυνση της αλυσίδας (εικόνα 6).



Εικόνα 6. Τερματισμός αλυσίδας

Η δράση των νουκλεοσιδικών αναλόγων είναι αποτελεσματική ενάντια στις περισσότερες εάν όχι σε όλες τις μορφές ιών. ⁽¹⁰⁾ Η ειδικότητά τους έγκειται στο ότι ο ιός μπορεί με το ένζυμό του να ενεργοποιήσει τη δράση του φαρμάκου ή/ και στο ότι οι ικές πολυμεράσες μπορεί να είναι πολύ πιο ευαίσθητες στη δράση του φαρμάκου από ότι στα αντίστοιχα ένζυμα του κυττάρου ξενιστή. ⁽¹²⁾

Προχωρώντας πιο πέρα διαπιστώνεται ότι το ένζυμο του ιού δεν συνδέεται ειδικά με το υπάρχον υπόστρωμα, σε αντίθεση με το ένζυμο του κυττάρου ξενιστή. Το αποτέλεσμα είναι ότι το ένζυμο του ιού μπορεί να δρα και σε φάρμακα ανάλογων νουκλεοσιδίων, δηλαδή σε διαφορετικό υπόστρωμα, και να τα φωσφορυλιώνει, ενώ το κύτταρο ξενιστή θα τα αφήνει ανεπηρέαστα εφόσον δεν είναι εφικτή η σύνδεση ενζύμου – υποστρώματος. ^(12,13)

Είναι εφικτό να πραγματοποιηθεί αναχαίτιση της δράσης των ιών με φάρμακα νουκλεοσιδίων και ανάλογων νουκλεοσιδίων και η εκλεκτική αναστολή τους γίνεται: (α) με την αναστολή ειδικών σταδίων της πορείας αναπαραγωγής του ιού, όπως η προσκόλληση του ιού σε κάποιον κυτταρικό υποδοχέα, η διείσδυση του στο κύτταρο, η αποβολή του περιβλήματος και η απελευθέρωση και (β) με την κατά προτίμηση αναστολή κάποιων σταδίων τα οποία είναι κοινά με το κύτταρο του ξενιστή και περιλαμβάνουν τη μεταγραφή και τη μετάφραση.⁽¹⁾

Η δράση των νουκλεοσιδίων μπορεί να γίνει με διαφορετικούς μηχανισμούς: (α) παρατηρείται η ικανότητα αναστολής της δράσης βασικών ενζύμων στο μεταβολισμό των νουκλεϊκών οξέων (β) είναι σε θέση να ενσωματωθούν στα πρόσφατα συντεθειμένα νουκλεϊκά οξέα προκαλώντας την πρόωρη λήξη της βιοσύνθεσής τους ή την παραγωγή μη λειτουργικών βιομορίων.

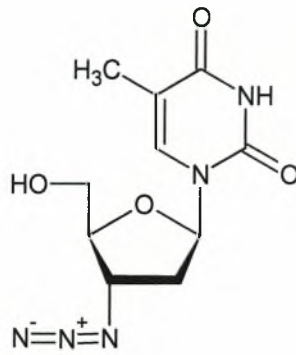
Ως απότοκο επέρχεται ο κυτταρικός θάνατος, ο οποίος μπορεί να είναι επιθυμητός όσον αφορά τη θεραπεία του καρκίνου και των αυτοάνοσων ασθενειών. Επιπλέον, οι ενώσεις που μπορούν να στοχεύσουν επιλεκτικά στα βακτηριακά ή στα προερχόμενα από ιό ένζυμα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αντιβακτηριακοί ή αντικοί παράγοντες.⁽¹⁾

1.4 Νουκλεοσιδικά ανάλογα με σάκχαρο μία πεντόζη

Πληθώρα ερευνητικών προγραμμάτων με σκοπό την παραγωγή φαρμάκων με αντική και αντικαρκινική δράση, επικεντρώθηκαν στη χρήση **νουκλεοσιδικών αναλόγων με σάκχαρο μία πεντόζη**. Παρατίθενται παρακάτω μερικά από τα αντικά φάρμακα που συντέθηκαν και των οποίων έχει μελετηθεί η δράση.

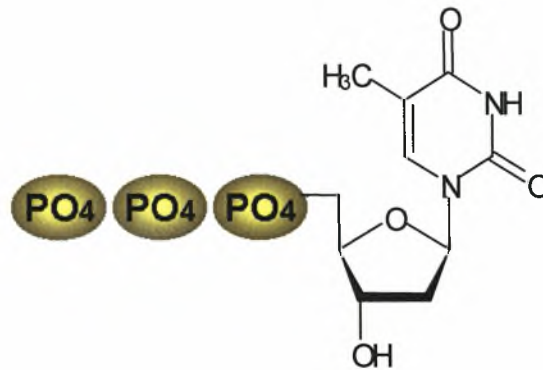
1.4.1 Zidovudine ή azidothymidine (AZT: 3'-Azido-2'-deoxythymidine)

Το Zidovudine (εικόνα 7), αποτελεί ένα στοματικό και ενέσιμο φάρμακο που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία των μολύνσεων με τον ιό της ανθρώπινης επίκτητης ανοσοανεπάρκειας τύπου 1 (HIV-1). Πρωτοσυντέθηκε από τον Jerome Horowitz το 1964. Ανήκει σε μια κατηγορία φαρμάκων που αποκαλείται αντίστροφοι ανασταλτικοί παράγοντες της τρανσκριπτάσης, που περιλαμβάνει επίσης τα zalcitabine (Hivid), stavudine (Zerit), didanosine (Videx), και lamivudine (Epivir).⁽¹⁴⁾



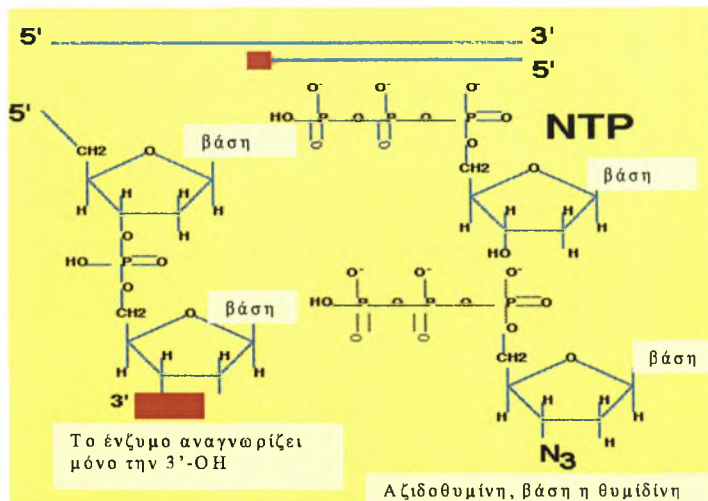
Εικόνα 7. AZT, 3'-Azido-2'-deoxythymidine⁽¹⁴⁾

Η αντίστροφη τρανσκριπτάση, είναι το ένζυμο που χρησιμοποιεί ο ιός για να συνθέσει το νέο DNA. Το Zidovudine εμποδίζει τη δράση της αντίστροφης τρανσκριπτάσης, την παραγωγή του DNA και κατά συνέπεια και των νέων ιών. Τα κυτταρικά ένζυμα μετατρέπουν το zidovudine στην ενεργή του μορφή, 5'-τριφωσφορικού άλατος (εικόνα 8).



Εικόνα 8. Στη θυμιδίνη προστίθενται τρία φωσφορικά οξέα. Το ένα προστίθεται από το ιικό ένζυμο και τα υπόλοιπα δύο από τα κυτταρικά ένζυμα.⁽¹⁵⁾

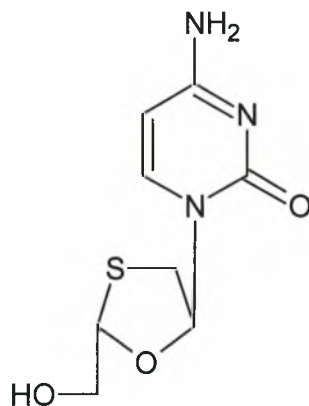
Ο τερματισμός της αλυσίδας του DNA, είναι αποτέλεσμα της απουσίας της ομάδας του 3'-υδροξυλίου στο zidovudine, το οποίο καθιστά αδύνατη τη σύνδεση άλλων νουκλεοτιδίων. Μελέτες έδειξαν ότι ο τερματισμός των αλυσίδων αποτελεί τον παράγοντα της ανασταλτικής επίδρασης^(15,16) (εικόνα 9).



Εικόνα 9. Ανάλογα νουκλεοσιδίων στο τερματισμό αλυσίδων ⁽¹⁶⁾

1.4.2 Lamivudine ή 3TC (2'-3'-dideoxy-3'-thiacytidine)

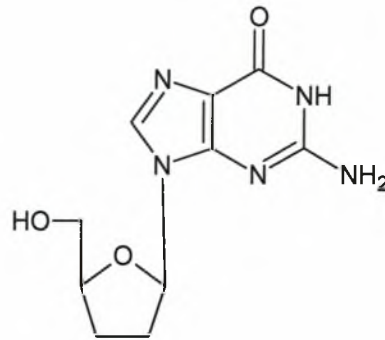
Το 3TC (εικόνα 10) είναι επίσης γνωστό ως lamivudine. Είναι ένα νουκλεοσιδικό παράγωγο και είναι ανασταλτικός παράγοντας του ενζύμου της αντίστροφης τρανσκριπτάσης, με την ίδια δράση όπως και το AZT.



Εικόνα 10. 3TC, 2'-3'-dideoxy-3'-thiacytidine ⁽¹⁷⁾

Στην αναζήτηση νέων και αποτελεσματικών φαρμάκων στην κατηγορία των νουκλεοσιδίων, πρόσφατα οι έρευνες εστίασαν στα L-ανάλογα, που χαρακτηρίζονται από αντίθετη διαμόρφωση σε σχέση με τα φυσικά D-νουκλεοσίδια. Το ενδιαφέρον για τα L-νουκλεοσίδια αυξήθηκε από την ανακάλυψη του 3TC. Το 3TC χρησιμοποιείται στη θεραπεία του AIDS και της ηπατίτιδας Β. ⁽¹⁷⁾

1.4.3 DDI ή didanosine

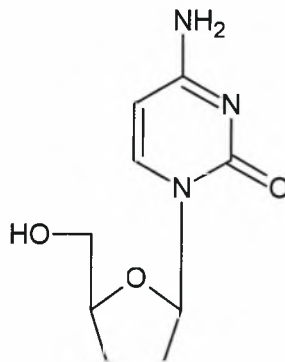


Εικόνα 11. DDI ⁽¹⁸⁾

Το DDI (εικόνα 11), αποτελεί ένα νουκλεοσιδικό ανάλογο με αντική δράση, αναστέλλοντας την αντιγραφή των ρετροϊών όπως του HIV, παρεμποδίζοντας τη δράση του ενζύμου της αντίστροφης τρανσκριπτάσης. ⁽¹⁸⁾

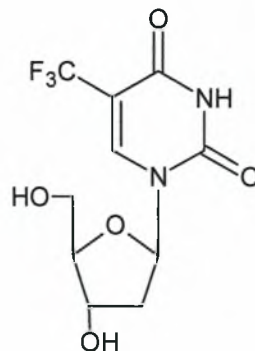
1.4.4 DDC ή zalcitabine

Το DDC ή διδεοξυκυτιδίνη (εικόνα 12), έχει παρόμοια δράση με το AZT και αποτελεί νουκλεοσιδικό ανάλογο που δρα ενάντια στον HIV. ⁽¹⁹⁾



Εικόνα 12. DDC ⁽¹⁹⁾

1.4.5 Τριφθοριοθυμιδίνη



Εικόνα 13. Τριφθοριοθυμιδίνη ⁽³⁹⁾

Η τριφθοριοθυμιδίνη (εικόνα 13), ενσωματώνεται στο ιικό και το κυτταρικό DNA, σχηματίζοντας ένα παραποιημένο DNA. Η τριφθοριοθυμιδίνη, είναι ένα φθοριωμένο

ανάλογο θυμιδίνης. Ενεργοποιείται με φωσφορυλίωση από κυτταρικά ένζυμα, σχηματίζοντας ένα τριφωσφορυλιωμένο παράγωγο. Το ενεργοποιημένο παράγωγο αναστέλλει τον ιό απλού έρπητα (HSV: Herpes Simplex Virus). Προκαλεί αναστολή της θυμιδικής συνθετάσης και της ιικής (και κυτταρικής) DNA πολυμεράσης και ενσωματώνεται στο DNA του ιού και του κυττάρου, προκαλώντας διαταραχή στη δομή του DNA. Προκλινικές μελέτες δείχνουν πως είναι μεταλλαξιογόνος και τερατογόνος.⁽³⁹⁾

1.5 Νουκλεοσιδικά ανάλογα με σάκχαρο μία εξόζη

Η χρήση των νουκλεοσιδικών ανάλογων με σάκχαρο μια πεντόζη έδειξε ότι έχουν μικρό χρόνο ημιζωής και ότι η δράση τους είναι λιγότερο αποτελεσματική απ' ότι τα νουκλεοσιδικά ανάλογα με σάκχαρο μια εξόζη. Έτσι λοιπόν άρχισαν να γίνονται έρευνες και μελέτες για την αντιαϊκή δράση των νουκλεοσιδίων που έχουν για σάκχαρο μια εξόζη.

Έρευνες έδειξαν ότι το μόριο του εξαμελούς δακτυλίου έχει μεγαλύτερη σταθερότητα λόγω της απουσίας τάσεων όπως εξηγείται και παραπάνω (διαμόρφωση ανάκλιντρου), έχει μεγαλύτερο χρόνο ημιζωής και κατά συνέπεια και χρόνο δράσης. Αφενός η ικανότητά ενός τέτοιου μορίου να διαμορφώνεται με τέτοιο τρόπο ώστε τα τέσσερα άτομα άνθρακα να βρίσκονται στο ίδιο επίπεδο και αφετέρου κατάλληλη τροποποίηση του σακχάρου (δεοξυ-, αμινοδεοξυ-, ακόρεστο-, κετο-), προσομοιάζει τα παραπάνω μόρια με τις πεντόζες και τα μετατρέπει σε ευέλικτα μόρια ώστε να είναι εφικτή η χρήση τους ως συστατικά των RNA και DNA. Ο συνδυασμός των τροποποιήσεων στο μόριο του σακχάρου, έχει ως αποτέλεσμα τη σύνθεση αποτελεσματικών φαρμάκων ανάλογων νουκλεοσιδίων με αντιαϊκή δράση.⁽²⁰⁾

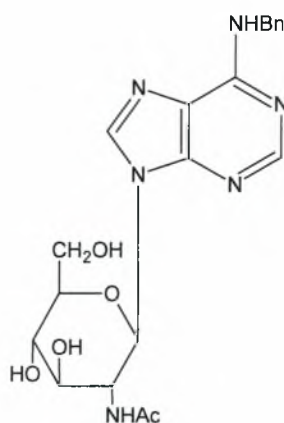
1.5.1 Αμινονουκλεοσίδια

Τα αμινονουκλεοσίδια αποτελούν μια τάξη νουκλεοσιδίων που περιέχει μια αμινοομάδα στο τμήμα του σακχάρου, η οποία αντικαθιστά μια υδροξυλική ομάδα. Είτε φυσικά είτε συνθετικά νουκλεοσίδια αμινο-εξοπυρανοζών παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της χημείας και βιοχημείας των νουκλεοσιδίων, για το λόγο ότι αναγνωρίζονται ως δομικά συστατικά πολλών υποστρωμάτων.

Χρησιμοποιούνται αποτελεσματικά στην αντιμετώπιση μυκητοβακτηριακών μολύνσεων καθώς και λοιμώξεων από Gram(+) και Gram(-) βακτήρια. Τα θετικώς φορτισμένα αμινονουκλεοσίδια έλκονται από τον αρνητικά φορτισμένο σκελετό του RNA. Οι αλληλεπιδράσεις αμινονουκλεοσιδίων-RNA μπορούν να χρησιμοποιηθούν για

την τροποποίηση της γονιδιακής έκφρασης. Επομένως, τα αμινονουκλεοσίδια αναμένεται να έχουν υψηλότερο θεραπευτικό δείκτη, λιγότερες παρενέργειες και τοξικότητα.⁽²⁰⁾

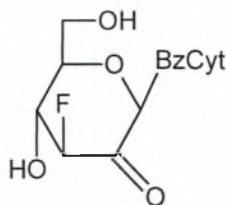
Στην εικόνα 15 φαίνεται το μόριο της 6-βενζυλαμινο-9-(2-ακεταμιδο-2-δεοξυ-β-D-γλυκοπυρανοσυλ)-πουρίνης, το οποίο αποτελεί ανάλογο πουρινικών νουκλεοσιδίων και περιέχει 2-ακεταμιδο- ομάδα στο μόριο της εξοπυρανόζης.



Εικόνα 15. 6-βενζυλαμινο-9-(2-ακεταμιδο-2-δεοξυ-β D-γλυκοπυρανοσυλ)πουρίνη.⁽²⁰⁾

1.5.2 Κετονουκλεοσίδια

Μια άλλη ομάδα ανάλογων νουκλεοσιδίων είναι τα κετονουκλεοσίδια (εικόνα 16). Τα κετονουκλεοσίδια αποτελούν μια τάξη νουκλεοσιδίων που περιλαμβάνουν μια κετο-ομάδα στο μόριο του σακχάρου, ως αποτέλεσμα της οξείδωσης του ασύμμετρου ατόμου του άνθρακα. Τα κετονουκλεοσίδια, αποτελούν το κλειδί που μεσολαβεί σε συνθετικές και βιοσυνθετικές διαδικασίες, πολλές από τις οποίες έχουν ως αποτέλεσμα αντιογκογονική δράση. Έχει βρεθεί ότι τα κετονουκλεοσίδια επιδεικνύουν αξιόλογη αντικαρκινική δράση αναστέλλοντας την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων.⁽²⁰⁾



Εικόνα 16. 1-(3-deoxy-3-fluoro-2-ulose-glycopyranose)-N⁴-benzoylcytosine⁽⁴¹⁾

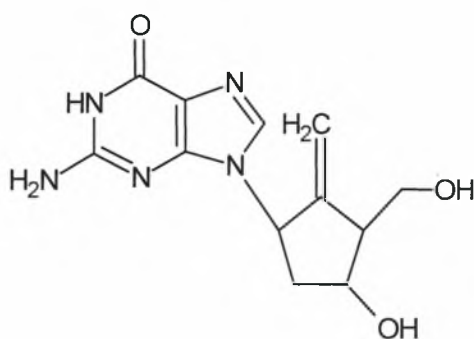
1.6 Νουκλεοσίδια με εξωκυκλικό μεθυλένιο

Τα νουκλεοσίδια με εξωκυκλικό μεθυλένιο είναι μία ομάδα ανάλογων νουκλεοσιδίων που προκύπτουν από την αντικατάσταση μίας καρβονυλικής ομάδας από ένα εξωκυκλικό μεθυλένιο. Η αντικατάσταση αυτή δεν επηρεάζει σημαντικά το μέγεθος ή το σχήμα του

μορίου, ενώ το καθιστά πιο σταθερό και αποτελεσματικό στη δράση του. Βάσει μελετών, έχει αποδειχθεί ότι αυτού του είδους τα νουκλεοσιδία επιδεικνύουν ισχυρή αντική δραστηριότητα καθώς επίσης και αντικαρκινική. Ακόμη είναι σημαντική η ύπαρξη του εξωμεθυλενίου για την εκδήλωση της συγκεκριμένης αντικής δράσης. ⁽²⁷⁻³¹⁾

1.6.1 Entecavir

Η δραστική ουσία entecavir είναι ένα αντικό νουκλεοσιδικό ανάλογο. Εμποδίζει τη δράση της DNA πολυμεράσης του ιού της ηπατίτιδας Β, που εμπλέκεται στο σχηματισμό του ιικού DNA. Η entecavir διακόπτει την παραγωγή DNA του ιού εμποδίζοντας τον πολλαπλασιασμό και την εξάπλωσή του.



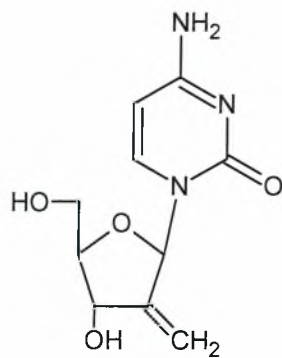
Εικόνα 17. Entecavir ⁽³⁴⁾

Η παρουσία του εξωκυκλικού μεθυλενίου κρίνεται αναγκαία για την επίδειξη της ισχυρής αντικής δράσης που παρουσιάζει η ουσία entecavir.

Η Entecavir ήταν πιο αποτελεσματική από το χρησιμοποιούμενο φάρμακο Lamivudine σε ασθενείς χωρίς προηγούμενη θεραπεία. Παρατηρήθηκε εντονότερη βελτίωση της κατάστασης του ήπατος των ασθενών που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με Entecavir συγκριτικά με τους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με Lamivudine. ^(32,33)

1.6.2 2-deoxy-2-methylidenecytidine (DMDC)

Το νουκλεοσιδικό ανάλογο DMDC επιδεικνύει ισχυρή αντικαρκινική δράση. Είναι ανθεκτικό στην απαμινάση της κυτιδίνης, η οποία απενεργοποιεί νουκλεοσιδικά ανάλογα που ως ετεροκυκλική βάση έχουν κυτοσίνη, ενώ είναι αποτελεσματικό σε όγκους με υψηλή δράση της απαμινάσης. ⁽³¹⁾



Εικόνα 18. DMDC ⁽³¹⁾

Αφού η ουσία φωσφορυλιώνεται από κινάση του κυττάρου, ενεργοποιείται και αναστέλλει τη δράση της DNA πολυμεράσης. Η ύπαρξη του εξωμεθυλενίου είναι σημαντική και απαραίτητη για τη δράση της ουσίας.

2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Στόχος – σκοπός μελέτης

Η ραγδαία ανάπτυξη 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 πληθώρας φαρμάκων που ως δραστική ουσία περιέχουν κάποιο νουκλεοσιδικό ανάλογο. Τα αντιβακτηριακά, αντικά και αντιογκογονικά φάρμακα περιλαμβάνονται μεταξύ των πιο σημαντικών θεραπευτικών ανακαλύψεων του εικοστού αιώνα και έχουν αλλάξει δραστικά τη θεραπευτική αγωγή πολλών ασθενειών, μειώνοντας τη θνησιμότητα.

Στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η σύνθεση και μελέτη τροποποιημένων νουκλεοσιδίων και συγκεκριμένα κετονουκλεοσιδίων καθώς επίσης και νουκλεοσιδίων με εξωκυκλικό μεθυλένιο για την εύρεση νέων αντικαρκινικών και αντικών φαρμάκων με μεγαλύτερη εκλεκτικότητα και λιγότερα ανοσοκατασταλτικά αποτελέσματα από τα μέχρι τώρα κλινικά χρησιμοποιούμενα.

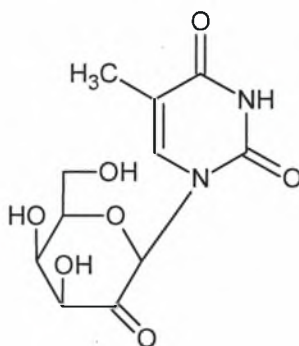
Έρευνες των τελευταίων ετών έδειξαν ότι:

- ✓ Νουκλεοσιδικά ανάλογα με εξαμελή δακτύλιο σακχάρου έχουν επιδείξει σημαντική αντική και αντιβιοτική δράση. Αυτό συμβαίνει επειδή έχουν μεγαλύτερη σταθερότητα λόγω της απουσίας τάσεων, βάσει της διαμόρφωσης ανάκλιντρου, καθώς επίσης έχουν μεγαλύτερο χρόνο ημιζωής και κατά συνέπεια και χρόνο δράσης. Το γεγονός αυτό έκανε ιδιαίτερα ελκυστική την παραγωγή πυρανονουκλεοσιδίων.
- ✓ Η ύπαρξη κετο- ομάδας στο τμήμα σακχάρου ενός τροποποιημένου νουκλεοσιδίου, ως αποτέλεσμα της οξειδωσης του ασύμμετρου ατόμου του άνθρακα, είναι σημαντική για την εκδήλωση αντικαρκινικής ή αντικής δράσης. Ουσιαστικά λόγω της οξειδωσης δημιουργείται θέση δεκτική σε πυρηνόφιλη προσβολή. Τα κετονουκλεοσίδια επιδεικνύουν αξιόλογη αντικαρκινική δράση αναστέλλοντας την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων ⁽⁴²⁻⁴⁵⁾ καθώς επίσης αποτελούν το κλειδί που μεσολαβεί σε συνθετικές και βιοσυνθετικές διαδικασίες, πολλές από τις οποίες έχουν ως αποτέλεσμα αντιογκογονική δράση.
- ✓ Νουκλεοσιδικά ανάλογα που περιέχουν εξωκυκλικό μεθυλένιο, επέδειξαν εξαιρετική αντικαρκινική και αντική δράση. Η αντικατάσταση μίας

κετονομάδας από ένα εξωμεθυλένιο δε μεταβάλλει σημαντικά το μέγεθος ή το σχήμα του μορίου, αλλά ενισχύει τη δράση του. ⁽²⁷⁻³¹⁾

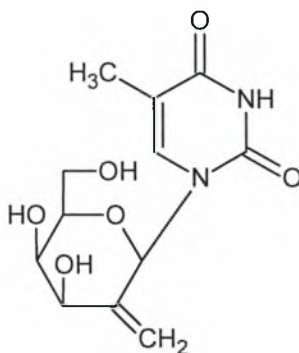
- ✓ Επιλέχθηκε η θυμίνη ως ετεροκυκλική βάση καθώς η θυμιδίνη, το νουκλεοσίδιο που περιέχει ως ετεροκυκλική βάση θυμίνη, φωσφορυλιώνεται από τη θυμιδίνη κινάση και το φωσφορυλιωμένο παράγωγο εισάγεται από τη DNA πολυμεράση, κατά το στάδιο της αντιγραφής, σε έναν αναπτυσσόμενο κλώνο του DNA (ή του RNA κατά την περίπτωση της αντίστροφης μεταγραφής στους ρετροϊούς). Η παρουσία της φωσφορυλιωμένης μορφής της θυμιδίνης κρίνεται αναγκαία για την ολοκλήρωση της αντιγραφής. ⁽³⁵⁾

Βασιζόμενοι στα ανωτέρω στοιχεία, θεωρήθηκε πολύ σημαντική: **α)** η σύνθεση ενός κετονουκλεοσιδίου που έχει θυμίνη ως ετεροκυκλική βάση και κετο- ομάδα στη θέση 2' του σακχάρου (εικόνα 19)



Εικόνα 19. 1-(β-D-Lyxohexopyranosyl-2-ulose)thymine

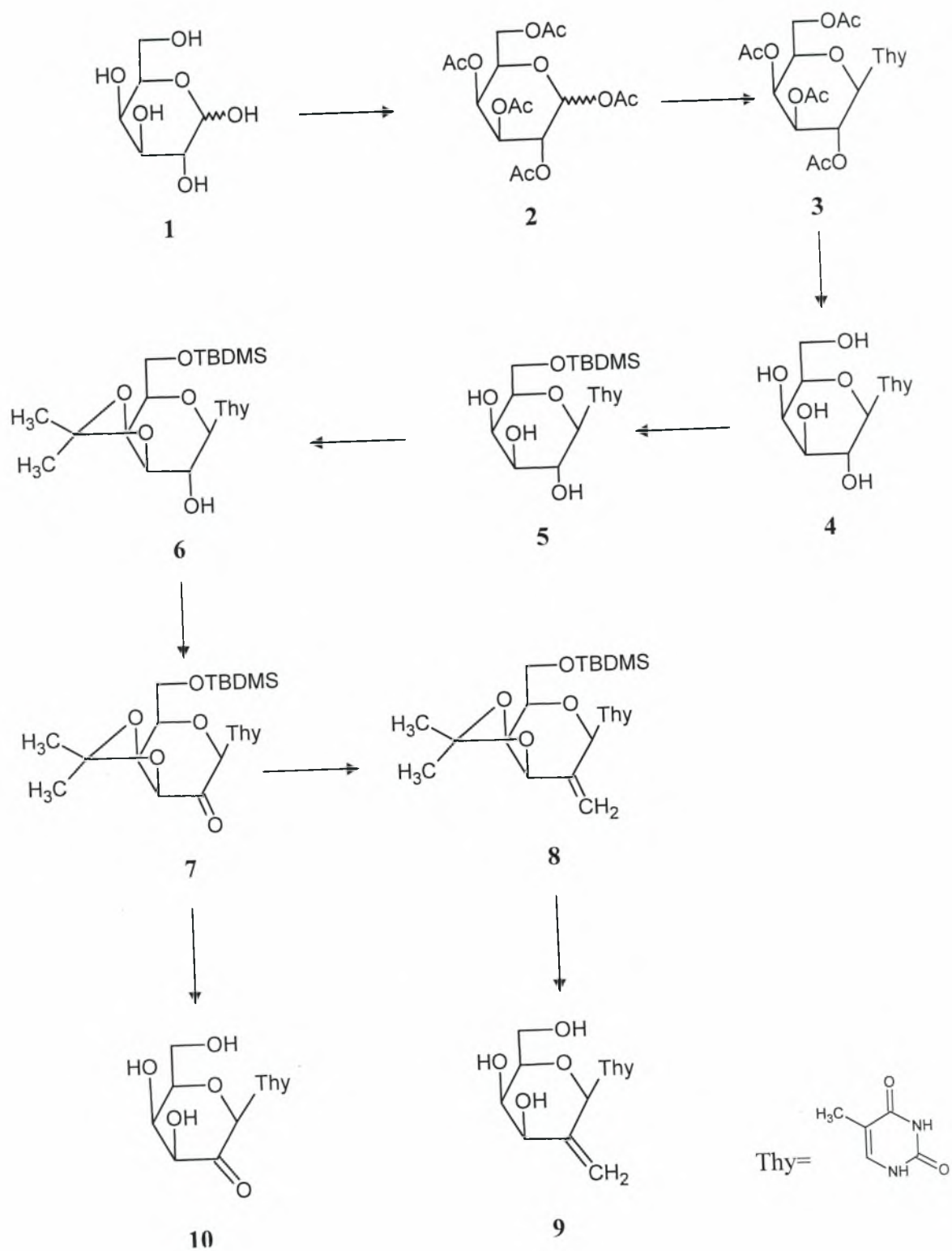
και **β)** η σύνθεση μιας νέας τάξης πυρανονουκλεοσιδίων αυτών με θυμίνη ως ετεροκυκλική βάση και εξωμεθυλένιο στη θέση 2' του σακχάρου (εικόνα 20).



Εικόνα 20. 1-(2-Deoxy-2-methylene-β-D-lyxohexopyranosyl)thymine

2.2 Μεθοδολογία σύνθεσης

Ξεκινώντας από την εμπορικά διαθέσιμη ένωση D-galactose **1** πραγματοποιώντας ακετυλίωση προκύπτει η ένωση 1,2,3,4,6-penta-O-acetyl-galactopyranose **2**. Ακολουθεί η σύνθεση του νουκλεοσιδίου της θυμίνης 1-[(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-β-D-galactopyranosyl]thymine **3** και μετά την απομάκρυνση όλων των ακετυλίων (Ac) από το νουκλεοσίδιο **3** με κορεσμένο μεθανολικό διάλυμα αμμωνίας προκύπτει η ένωση 1-(β-D-galactopyranosyl)thymine **4**, στην οποία το πρωτοταγές υδροξύλιο εκλεκτικά προστατεύτηκε με την ομάδα *t*-butyldimethylsilyl και προέκυψε η ένωση 1-(6-O-TBDMS-β-D-galactopyranosyl)thymine **5**. Στη συνέχεια με την προσθήκη 2,2-dimethoxypropane και *p*-TsOH σε ακετόνη παράγεται η ένωση 1-(6-O-TBDMS-3,4-O-isopropylidene-β-D-galactopyranosyl)thymine **6**. Ακολουθεί οξείδωση του ελεύθερου υδροξυλίου στη θέση 2' με pyridinium dichromate (PDC)/acetic anhydride (Ac₂O) που δίνει το 2'-κετονουκλεοσίδιο **7** και στη συνέχεια η αντίδραση Wittig οδηγεί στο σχηματισμό του εξωμεθυλενικού παραγώγου **8**. Στο τελικό στάδιο οι ενώσεις **7** και **8** μετατρέπονται στα τελικά αποπροστατευμένα προϊόντα **10** και **9** αντιστοίχως, μετά από κατεργασία με trifluoroacetic acid (TFA) 90% σε methanol (MeOH) για 10 min. Η μεθοδολογία παρατίθεται στο σχήμα 1.



Σχήμα 1

3. Σύνθεση εξωμεθυλενικού παραγώγου και κετονουκλεοσιδίου

3.1 ΓΕΝΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1.1 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΧΑΡΤΟΥ (TLC: Thin Layer Chromatography)

Οι αντιδράσεις ελέγχονται με χρωματογραφία χάρτου, με πλάκες Silica gel (Merck Kieselgel 60F₂₅₄). Τα χρωματογραφήματα εμφανίζονται με ψεκάσμο με διάλυμα θειικού οξέος 30% ή με ανίχνευση από ακτινοβολία UV (254 nm). Τα συστήματα που χρησιμοποιούνται είναι τα εξής:

Διάλυμα Α: οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 5/5

Διάλυμα Β: οξικός αιθυλεστέρας

Διάλυμα Γ: διχλωρομεθάνιο/μεθανόλη 9/1

Διάλυμα Δ: οξικός αιθυλεστέρας/μεθανόλη 9/1

Διάλυμα Ε: οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 8/2

Διάλυμα ΣΤ: οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 6/4

Διάλυμα Ζ: οξικός αιθυλεστέρας/μεθανόλη 8/2

3.1.2 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΣΤΗΛΗΣ

Η χρωματογραφία στήλης, επιτεύχθηκε με την εισαγωγή αέρα υπό πίεση σε silica gel (Merck grade) (flash chromatography) και οι διαλύτες έκλουσης που χρησιμοποιήθηκαν είναι οι παρακάτω:

Διάλυμα Η: οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 6/4

Διάλυμα Θ: οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 5/5

Διάλυμα Ι: οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 3/7

Διάλυμα Κ: οξικός αιθυλεστέρας/μεθανόλη 9/1

Διάλυμα Λ: οξικός αιθυλεστέρας

Διάλυμα Μ: διχλωρομεθάνιο/μεθανόλη 9/1

3.1.3 ΞΗΡΑΝΣΗ ΔΙΑΛΥΤΩΝ

Κατά την πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκαν άνυδροι διαλύτες. Συγκεκριμένα, το διχλωρομεθάνιο (CH₂Cl₂) παρήχθη από απόσταξη του phosphorous pentoxide (P₂O₅) και συλλέχθηκε σε φιάλη με 4Ε μοριακά κόσκινα (molecular sieves). Ακετονιτρίλιο (CH₃CN), Toluene (Tol), dimethylformamide (DMF) παρήχθησαν με απόσταξη από calcium hydride και τα αποστάγματα αποθηκεύτηκαν σε φιάλες με 3Ε molecular sieves. Το Tetrahydrofuran (THF) απεστάχθη υπό άζωτο από

sodium/benzophenone πριν τη χρήση. Τέλος, η πυριδίνη αποθηκεύτηκε σε φιάλη με σφαιρίδια KOH (pellets).

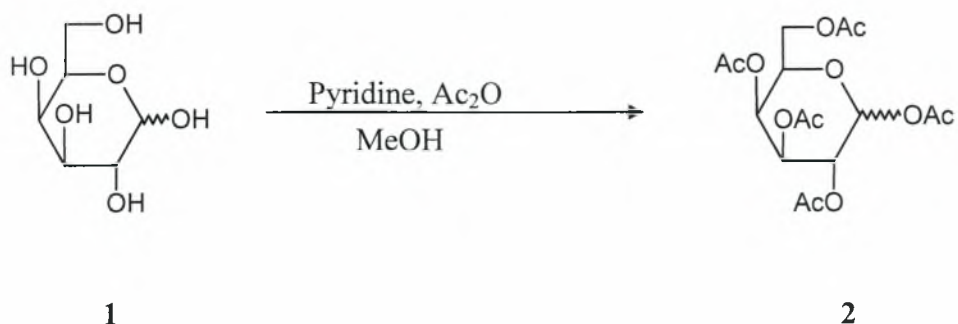
3.1.4 ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΕΝΩΣΕΩΝ

Η ταυτοποίηση των ενώσεων που συντέθηκαν έγινε με τη χρήση φάσματος πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR (Nuclear Magnetic Resonance). Τα φάσματα ^1H NMR μετρήθηκαν με Bruker 250 MHz. Το tetramethylsilan (TMS) χρησιμοποιήθηκε ως σημείο αναφοράς και η πολλαπλότητα των καμπύλων φαίνεται με s (singlet), d (doublet), t (triplet), q (quartet), m (multiplet). Οι σταθερές σύζευξης J μετρήθηκαν σε Hz.

Επίσης χρησιμοποιήθηκε φασματομετρία μάζας (Mass spectra). Τα φάσματα μετρήθηκαν με Micromass Platform LC (ESI-MS).

4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

4.1 Σύνθεση της 1,2,3,4,6- penta-O-acetyl-galactopyranose (2).

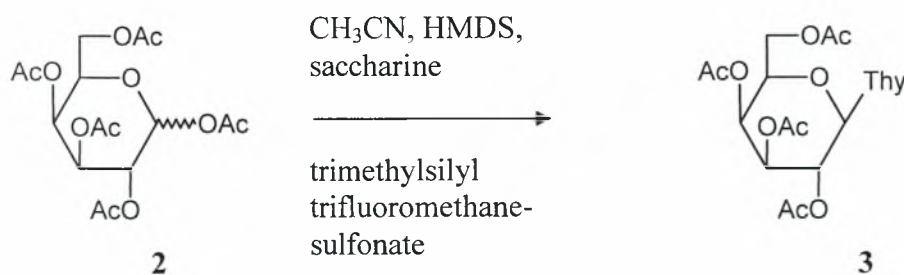


Διάλυμα της D-galactose **1** (6.64 g, 36.83 mmol) σε pyridine (160 ml) και Ac₂O (80,7 ml) αναδεύεται ολόκληρη τη νύχτα σε θερμοκρασία δωματίου. Η αντίδραση ελέγχεται με TLC (πίνακας 1). Η αντίδραση σταματά με προσθήκη MeOH (40 ml). Ακολουθεί συμπύκνωση, διάλυση σε CH₂Cl₂ και πλύσιμο της οργανικής φάσης με NaHSO₄, NaHCO₃ και H₂O. Γίνεται ξήρανση της οργανικής φάσης με άνυδρο Na₂SO₄. Έπειτα διηθείται, συμπυκνώνεται και λαμβάνεται η ένωση **2** (12.93g, 90%).

TLC (Διάλυμα ΣΤ)	R _f =0.7
Απόδοση	90%

Πίνακας 1. Αποτελέσματα σύνθεσης της 1,2,3,4,6- penta-O-acetyl-galactopyranose(2).

4.2 Σύνθεση της 1-[(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-β-D- galactopyranosyl]thymine (3)⁽³⁶⁾



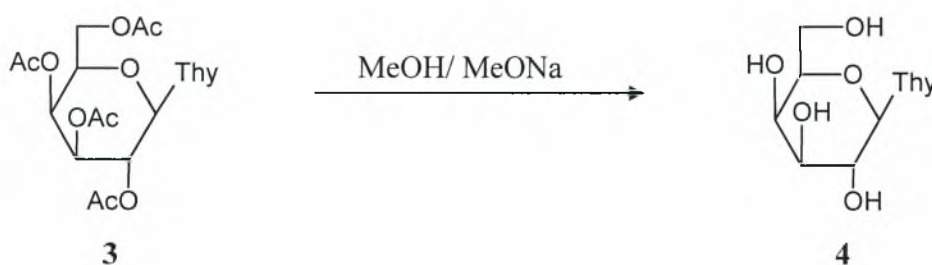
Μείγμα της θυμίνης (5.9 g, 46.38 mmol), του hexamethyldisilazane (12.93 ml, 61.43 mmol) και της saccharine (0.3879 g, 1.52 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (167.33 ml) υποβάλλεται σε reflux στους 120 °C υπό άζωτο. Αφότου γίνει διαυγές προστίθεται η 1,2,3,4,6- penta-O-acetyl-galactopyranose **2** (12.93 g, 33.15 mmol) και το trimethylsilyl trifluoromethane-sulfonate (8.52 ml, 47.31 mmol). Η αντίδραση ολοκληρώνεται στις 3 ώρες στους 80 °C (reflux) υπό άζωτο. Ο έλεγχος της αντίδρασης γίνεται με TLC

(πίνακας 2). Το μείγμα εξουδετερώνεται με υδατικό διάλυμα NaHCO₃ και εκχυλίζεται με διχλωρομεθάνιο. Η οργανική φάση πλένεται με νερό και πραγματοποιείται ξήρανσή της με άνυδρο Na₂SO₄, διήθηση και συμπύκνωση. Πραγματοποιείται χρωματογραφία στήλης με το Διάλυμα ΣΤ, συμπύκνωση, δίνοντας καθαρή την ένωση **3** (9.84 g, 65%).

TLC (Διάλυμα E)	R _f =0.5
Απόδοση	65%

Πίνακας 2. Αποτελέσματα σύνθεσης της 1-[(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-β-D-galactopyranosyl]thymine(**3**).

4.3 Σύνθεση της 1-(β-D-galactopyranosyl)thymine (**4**).⁽³⁶⁾

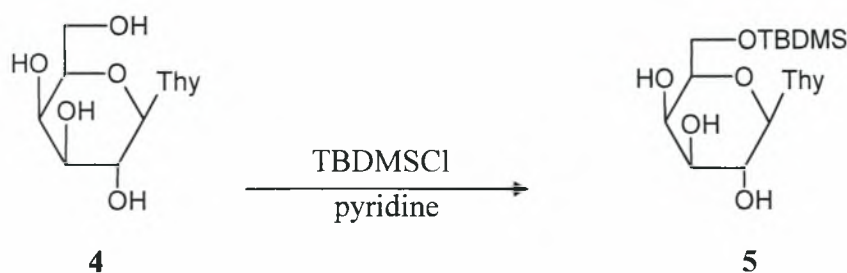


Διάλυμα της 1-[(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-β-D-galactopyranosyl]thymine **3** (9.84 g, 21.55 mmol), με MeOH (1213 ml) και MeONa 1.6M (88ml) αναδεύεται ολόκληρη τη νύχτα σε θερμοκρασία δωματίου. Ο έλεγχος της αντίδρασης γίνεται με TLC (πίνακας 3). Ακολουθεί εξουδετέρωση με όξινη ρητίνη έως ότου το pH να αποκτήσει τιμή 6 με 7. Ακολουθεί διήθηση, συμπύκνωση και λαμβάνεται η ένωση **4** (4.97 g, 80%).

TLC (Διάλυμα Z)	R _f =0.35
Απόδοση	80%

Πίνακας 3. Αποτελέσματα σύνθεσης της 1-(β-D-galactopyranosyl)thymine(**4**).

4.4 Σύνθεση της 1-(6-O-TBDMS-β-D-galactopyranosyl)thymine (5).

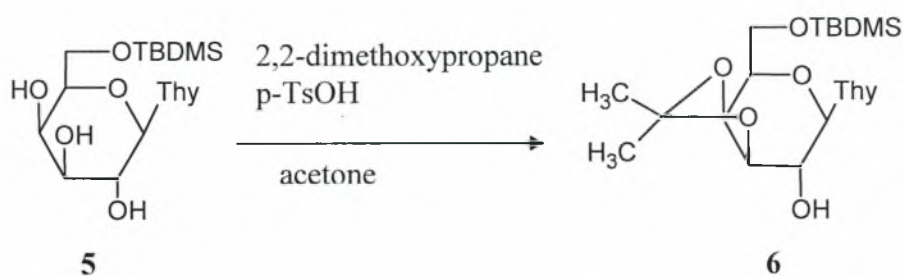


Σε ένα υπό ανάδευση διάλυμα της 1-(β-D-galactopyranosyl)thymine **4** (4.97 g, 17.24 mmol) σε πυριδίνη (86 mL) προστίθεται TBDMSCl (3.40 g, 22.56 mmol) και καταλυτική ποσότητα 4-dimethylaminopyridine. Το μείγμα αρχικά τοποθετείται για 30 min στους 0 °C και έπειτα αναδεύεται υπό άζωτο σε θερμοκρασία δωματίου για 5 h. Ο έλεγχος πραγματοποιήθηκε με TLC (πίνακας 4). Το μείγμα της αντίδρασης συμπυκνώνεται και ακολουθεί χρωματογραφία στήλης με το Διάλυμα M, συμπύκνωση, δίνοντας καθαρή την ένωση **5** (6.38 g, 92%).

TLC (Διάλυμα Γ)	R _f =0.25
Απόδοση	92%

Πίνακας 4. Αποτελέσματα σύνθεσης της 1-(6-O-TBDMS-β-D-galactopyranosyl)thymine(5).

4.5 Σύνθεση της 1-(6-O-TBDMS-3,4-O-isopropylidene-β-D-galactopyranosyl)thymine (6).⁽³⁷⁾

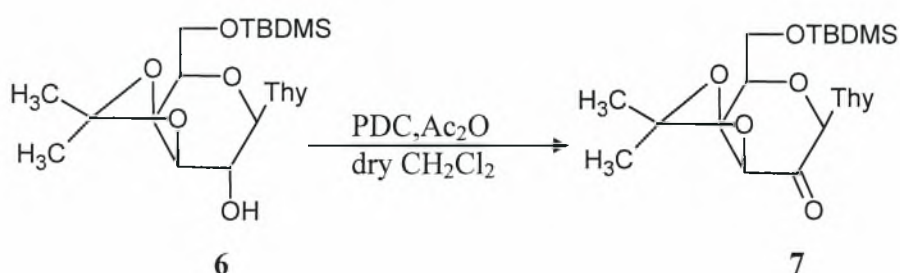


Σε ένα υπό ανάδευση διάλυμα της ένωσης 1-(6-O-TBDMS-β-D-galactopyranosyl)thymine **5** (6.38 g, 15.85 mmol) με άνυδρη ακετόνη (anhydrous acetone 280 mL) και 2,2-dimethoxypropane (15.74 mL) προστίθεται p-toluenesulfonic acid monohydrate (0.58 g, 3.05 mmol). Μετά από 3 h προστέθηκε στο μείγμα triethylamine χωρίς το pH να ξεπεράσει την τιμή 7. Η αντίδραση ελέγχεται με TLC (πίνακας 5). Ακολουθεί χρωματογραφία στήλης με το Διάλυμα H, συμπύκνωση, δίνοντας καθαρή την ένωση **6** (5.26 g, 75%).

TLC (Διάλυμα Β)	R _f =0.35
Απόδοση	75%

Πίνακας 5. Αποτελέσματα σύνθεσης της 1-(6-O-TBDMS-3,4-O-isopropylidene-β-D-galactopyranosyl)thymine(6).

4.6 Σύνθεση της 1-(6-O-t-Butyldimethylsilyl-3, 4-O-isopropylidene-β-D-lyxo-hexopyranosyl-2-ulose) thymine (7).⁽³⁸⁾

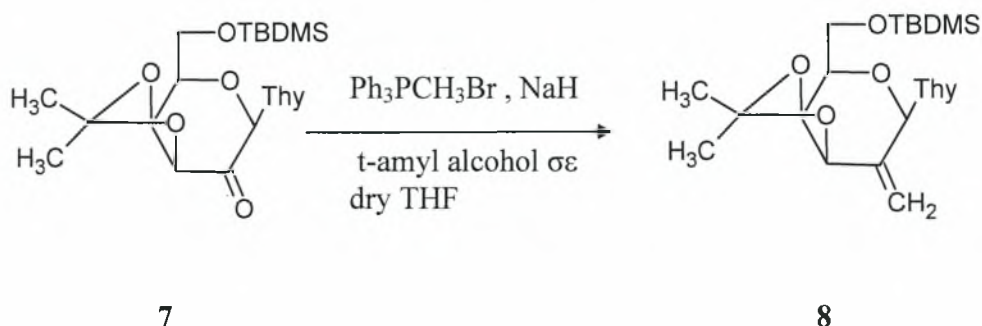


Σε μείγμα που αποτελείται από την ένωση 1-(6-O-TBDMS-3,4-O-isopropylidene-β-D-galactopyranosyl)thymine **6** (5.26 g, 11.88 mmol), που ξηράνθηκε μετά από συμπύκνωση με Tol, PDC (5.36 g, 14.25 mmol) και Ac₂O (3.36 mL, 35.64 mmol), προστίθεται dry CH₂Cl₂ (42 mL) και ακολουθεί ανάδευση υπό άζωτο σε θερμοκρασία δωματίου για 4 h. Μετά το τέλος της αντίδρασης γίνεται έλεγχος με TLC (πίνακας 6), ακολουθεί προσθήκη Ethyl acetate (15 mL) και χρωματογραφία στήλης με το Διάλυμα Λ. Ακολουθεί συμπύκνωση και η ουσία απαλλάσσεται από Ac₂O και pyridine μέσω συμπύκνωσης με dry Tol (3x). Ακολουθεί χρωματογραφία στήλης με το Διάλυμα Θ, συμπύκνωση, δίνοντας καθαρή την ένωση **7** (4.39 g, 84%).

TLC (Διάλυμα Α)	R _f =0.4
Απόδοση	84%

Πίνακας 6. Αποτελέσματα σύνθεσης της 1-(6-O-t-Butyldimethylsilyl-3,4-O-isopropylidene-β-D-lyxo-hexopyranosyl-2-ulose)thymine(7).

4.7 Σύνθεση της 1-(6-O-t-Butyldimethylsilyl-2-deoxy-3,4-O-isopropylidene-2-methylene-β-D-lyxo-hexopyranosyl)thymine (8).⁽²⁹⁾

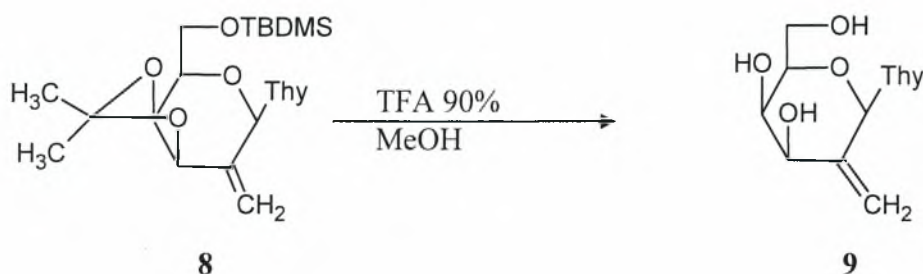


Σε ένα υπό ανάδευση μείγμα αποτελούμενο από methyl triphenyl-phosphonium bromide (8.89 g, 24.90 mmol) και t-amyl alcohol (2.96 mL, 27.13 mmol) σε dry THF (73 mL) προστίθεται NaH (0.65 g, 60% in oil, 27.13 mmol) στους 0 °C υπό άζωτο, και το μείγμα αναδεύεται για 2 h σε θερμοκρασία δωματίου υπό άζωτο. Προκύπτει μείγμα με κίτρινο χρώμα στο οποίο προστίθεται στάγδην διάλυμα της ένωσης 7 (4.39 g, 9.96 mmol) σε dry THF (16 mL) στους 0°C υπό άζωτο. Έπειτα το μείγμα αναδεύεται για 30 min υπό άζωτο σε θερμοκρασία δωματίου. Γίνεται έλεγχος της αντίδρασης με TLC (πίνακας 7). Η αντίδραση σταματά με προσθήκη κορεσμένου sodium bicarbonate (NaHCO₃) και ακολουθεί εκχύλιση με ethyl acetate. Η οργανική φάση πλένεται με H₂O, ξηραίνεται με anhydrous magnesium sulphate (MgSO₄) και τέλος γίνεται συμπύκνωση. Ακολουθεί χρωματογραφία στήλης με το Διάλυμα I, συμπύκνωση, δίνοντας καθαρή την ένωση 8 (4.02 g, 92%) ως ελαιώδες προϊόν.

TLC (Διάλυμα A)	R _f =0.25
Απόδοση	92%

Πίνακας 7. Αποτελέσματα σύνθεσης της 1-(6-O-t-Butyldimethylsilyl-2-deoxy-3,4-O-isopropylidene-2-methylene-β-D-lyxo-hexopyranosyl)thymine(8).

4.8 Σύνθεση της 1-(2-Deoxy-2-methylene-β-D-lyxo-hexopyranosyl)thymine (9).

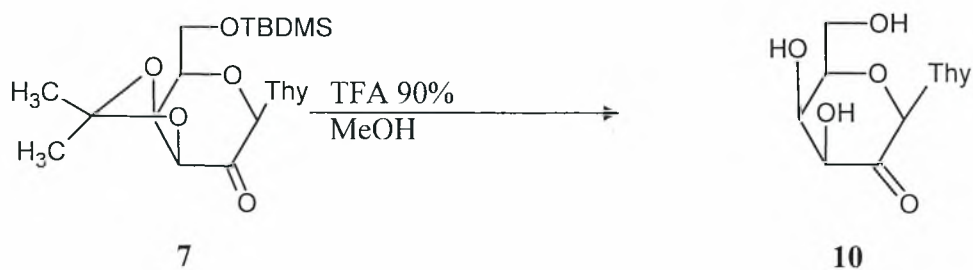


Η ένωση **8** (3.97 g, 9.05 mmol) διαλύθηκε σε 40 mL 90% TFA in MeOH και το διάλυμα αναδεύτηκε για 10 min σε θερμοκρασία δωματίου. Το μείγμα συμπυκνώθηκε στους 40 °C υπό πίεση με σκοπό να απομακρυνθούν εντελώς υπολείμματα TFA. Ο έλεγχος της αντίδρασης έγινε με TLC (πίνακας 8). Ακολουθεί χρωματογραφία στήλης με το Διάλυμα Κ, συμπύκνωση, δίνοντας καθαρή την ένωση **9** (2.19 g, 85%).

TLC (Διάλυμα Δ)	R _f =0.3
Απόδοση	85%

Πίνακας 8. Αποτελέσματα σύνθεσης της 1-(2-Deoxy-2-methylene-β-D-lyxo-hexopyranosyl)thymine(9).

4.9 Σύνθεση της 1-(β-D-Lyxo-hexopyranosyl-2-ulose)thymine (10).

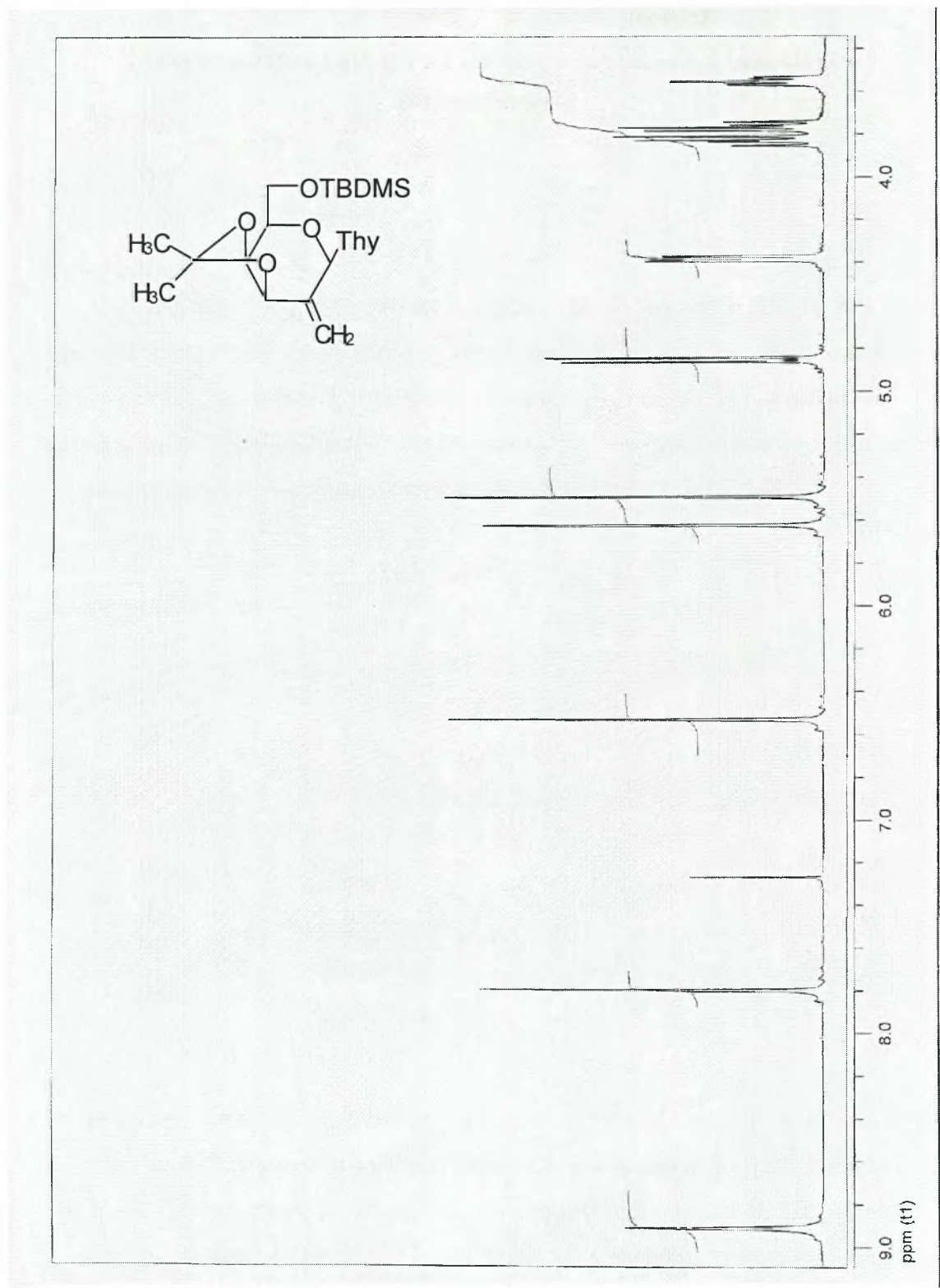


Η ένωση **7** (50 mg, 0.11 mmol) διαλύθηκε σε 40 mL 90% TFA in MeOH και το διάλυμα αναδεύτηκε για 10 min σε θερμοκρασία δωματίου. Το μείγμα συμπυκνώθηκε στους 40 °C υπό πίεση με σκοπό να απομακρυνθούν εντελώς υπολείμματα TFA. Ο έλεγχος της αντίδρασης έγινε με TLC (πίνακας 9). Ακολουθεί χρωματογραφία στήλης με το Διάλυμα Κ, συμπύκνωση, δίνοντας καθαρή την ένωση **10** (25 mg, 79%).

TLC (Διάλυμα Δ)	$R_f=0.2$
Απόδοση	79%

Πίνακας 9. Αποτελέσματα σύνθεσης της 1-(β-D-Lyxο-hexορυγανοσυλ-2-υλοσε)θυμινε(10).

5. ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ NMR



6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ- ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε η σύνθεση μίας νέας τάξης νουκλεοσιδίων, των κετονουκλεοσιδίων καθώς επίσης και αυτών με θυμίνη ως ετεροκυκλική βάση και εξωμεθυλένιο στη θέση 2' του σακχάρου με πιθανή αντικαρκινική δράση. Παρατηρήθηκε ότι με μια σχετικά εύκολη πειραματική διαδικασία με μικρά και σύντομα βήματα, είναι δυνατή η σύνθεση τους. Η εμπορικά διαθέσιμη D-galactose μετατρέπεται σε τρία στάδια στο νουκλεοσίδιο 1-(β-D-galactopyranosyl)thymine **4** με ολική απόδοση 46.8%. Είναι αξιοσημείωτο ότι το προϊόν που προκύπτει από την αντίδραση ακετυλίωσης της D-galactose είναι μίγμα α- και β- ανωμερών. Τελικά, μετά την αντίδραση συμπύκνωσης με τη βάση θυμίνη επικρατεί το β- ανωμερές 1-[(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-β-D- galactopyranosyl]thymine **3** με απόδοση 65%. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι ο ογκώδης υποκαταστάτης -OAc στη θέση 2' του δακτυλίου του σακχάρου παρεμποδίζει το σχηματισμό του α- ανωμερούς του νουκλεοσιδίου.

Η σύνθεση του 2'- κετονουκλεοσιδίου 1-(6-O-t-Butyldimethylsilyl-3,4-O-isopropylidene-β-D-lyxo-hexopyranosyl-2-ulose)thymine **7** που προέκυψε από την οξείδωση του **6** με PDC/Ac₂O είχε απόδοση 84%, ενώ η σύνθεση του εξωμεθυλενικού παραγώγου 1-(6-O-t-Butyldimethylsilyl-2-deoxy-3,4-O-isopropylidene-2-methylene-β-D-lyxo-hexopyranosyl)thymine **8** που προέκυψε από την αντίδραση Wittig με Ph₃PCH₃Br, NaH και *t*-amyl alcohol σε THF είχε απόδοση 92%.

Τέλος, η σύνθεση των τελικών προϊόντων 1-(2-Deoxy-2-methylene-β-D-lyxo-hexopyranosyl)thymine **9** και 1-(β-D-Lyxo-hexopyranosyl-2-ulose)thymine **10** με TFA/MeOH 90% είχε απόδοση 85% και 79% αντίστοιχα.

Η ταυτοποίηση των παραπάνω ενώσεων έγινε μέσω του φάσματος πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού ¹H-NMR καθώς επίσης και μέσω του Mass spectra.

Η σύνθεση και η βιολογική δράση α) των πυρανονουκλεοσιδίων που έχουν θυμίνη ως ετεροκυκλική βάση και εξωμεθυλένιο στη θέση 2' του σακχάρου καθώς επίσης και β) των κετονουκλεοσιδίων, αυτών με θυμίνη ως ετεροκυκλική βάση και κετο-ομάδα στη θέση 2' του σακχάρου αποκτά ιδιαίτερο ενδιαφέρον αφού τα τροποποιημένα νουκλεοσίδια συντελούν στην αντιμετώπιση και στη θεραπεία ασθενειών, δρώντας ως αντικαρκινικοί και αντικαρκινικοί παράγοντες.

Τα κετονουκλεοσίδια παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον δεδομένου ότι αποτελούν το «κλειδί» που μεσολαβεί σε συνθετικές και βιοσυνθετικές διαδικασίες, πολλές από τις

οποίες έχουν ως αποτέλεσμα αντιογκογονική δράση. Έχει βρεθεί ότι τα κετονουκλεοσίδια επιδεικνύουν αξιόλογη αντικαρκινική δράση αναστέλλοντας την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων.

Επίσης, νουκλεοσιδικά ανάλογα με εξωμεθυλένιο χρησιμοποιούνται ως αποτελεσματικά φάρμακα για την αντιμετώπιση ασθενειών ή βρίσκονται υπό κλινικές μελέτες με σκοπό μακροπρόθεσμα να εφαρμοστεί η δράση τους. Τα νουκλεοσιδικά ανάλογα που περιέχουν εξωμεθυλένιο φωσφορυλιώνονται από κινάση του κυττάρου-ξενιστή και ενεργοποιούνται. Αυτή η ενεργός τους μορφή αναστέλλει τη δράση της ικτής DNA πολυμεράσης, επειδή δεσμεύονται στην ενεργό περιοχή του ενζύμου. Με αυτόν τον τρόπο δεν ολοκληρώνεται η αντιγραφή του γενετικού υλικού του ιού και έτσι ο ιός δεν καταφέρνει να επιβιώσει, να πολλαπλασιαστεί και να εξελιχθεί έτσι ώστε να δυσχεραίνει την υγεία του ασθενούς.

Η βιολογική αποτίμηση των προϊόντων **9** και **10** μελετήθηκε σε συνεργασία με Σλοβένικη ομάδα επιστημόνων στα πλαίσια ερευνητικού προγράμματος. Συγκεκριμένα, η βιολογική δράση των προϊόντων προσδιορίστηκε σε καλλιέργειες επιθηλιακών καρκινικών κυττάρων του ανθρώπινου εντέρου (Caco-2) και σε εμβρυϊκά κύτταρα ήπατος πιθήκου (MA 104). Η αντικτική δράση των προϊόντων προσδιορίστηκε κατά της μόλυνσης των Caco-2 και MA 104 από τον ιό οξείας γαστρεντερίτιδας (rotavirus). Η αντικαρκινική δράση υπολογίζεται ως αντιπολλαπλασιαστική και κυτταροτοξική δράση σε καρκινικά κύτταρα Caco-2.

Παρατηρήθηκε ότι τα προϊόντα **9** και **10** είναι ισχυροί αντικικοί και αντικαρκινικοί παράγοντες. Επιδεικνύουν υψηλή αντικαρκινική δράση, η οποία είναι επιλεκτική σε καρκινικά κύτταρα όπου απαιτείται μικρότερη συγκέντρωση για να επιδειχθεί κυτταροτοξικό και αντιπολλαπλασιαστικό αποτέλεσμα, εάν γίνει σύγκριση με φυσιολογικά μη καρκινογόνα κύτταρα. Επίσης, έχουν αντι- rotavirus δραστηριότητα σε συγκεντρώσεις μικρότερες από αυτές που παρατηρείται κυτταροτοξική επίδραση. Το προϊόν **9** παρουσιάζει μεγαλύτερο ενδιαφέρον από το **10** επειδή είναι χημικά σταθερότερο. Τέλος, τα συγκεκριμένα προϊόντα αποδείχθηκε ότι είναι πιο αποτελεσματικά συγκριτικά με το νουκλεοσιδικό ανάλογο AZT που χρησιμοποιείται ευρέως κατά της μόλυνσης από τον ιό της οξείας γαστρεντερίτιδας καθώς επίσης και στη θεραπεία του καρκίνου του παχέως εντέρου.

Η ραγδαία ανάπτυξη της φαρμακολογίας και της φαρμακευτικής χημείας συνετέλεσε στην ανέλιξη του βιοτικού επιπέδου, στη διεύρυνση των ορίων ηλικίας και στην αντιμετώπιση ασθενειών που δυσχεραίνουν τη ζωή του ατόμου. Φάρμακα που ως

δραστική ουσία έχουν νουκλεοσιδικά ανάλογα χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία θανατηφόρων ασθενειών όπως η ηπατίτιδα Β (HBV), AIDS και καρκίνος. Στον αντίποδα των θετικών ένα πλήθος αρνητικών συνεπειών κάνει την εμφάνισή του. Φαρμακευτικά σκευάσματα που περιέχουν νουκλεοσιδικά ανάλογα, ως φάρμακα, είναι λογικό να έχουν παρενέργειες. Ένα μεγάλο μέρος της τοξικότητας τωνanáλογων νουκλεοσιδίων, συσχετίζεται άμεσα με το βαθμό στον οποίο οι ενώσεις αυτές χρησιμοποιούνται ως υποστρώματα για τις ανθρώπινες κινάσες και πολυμεράσες. Τα περισσότερα νουκλεοσίδια που χρησιμοποιούνται, παρουσιάζουν ήπια συμπτώματα όπως ναυτία, διάρροια, ίλιγγο, υπνηλία. Για το λόγο αυτό, οι έρευνες εντείνονται προκειμένου να βελτιωθεί η δράση τέτοιου τύπου φαρμακευτικών σκευασμάτων, να μειωθούν οι παρενέργειες και τα αποτελέσματα είναι ενθαρρυντικά.

Στα πλαίσια αυτού του ερευνητικού ενδιαφέροντος έγινε η σύνθεση και η αξιολόγηση της δράσης μίας νέας τάξης νουκλεοσιδικών αναλόγων, των κετονουκλεοσιδίων καθώς επίσης και αυτών που περιέχουν εξωμεθυλένιο, που είναι πιθανόν να οδηγήσει στην ανακάλυψη νέων εξειδικευμένων θεραπευτικών ενώσεων, ικανών να αντιμετωπίσουν οριστικά σοβαρές ασθένειες.

7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Vander, M. D. Sherman, Ph. D. Luciano, Ph. D. M. Tsakoulos, Φυσιολογία του ανθρώπου, μηχανισμοί λειτουργίας του οργανισμού.
2. Page, Curtis, Sutter, Walker, Hoffman, Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, **1997** : 4,26.
3. Zhou, W.; Gumina, G.; Chong, Y.; Wang, J.; Shinazi R. F.; Chu, C. K. *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 3399.
4. Antonakis, K. ; Egron, M. J. *Carbohydr. Res.* **1973**, 27, 468.
5. <http://www.hafreeclinics.org/drugs/index.html>
6. http://www.idenix.com/science/sci_nucleosides.html
7. http://www.mpcfaculty.net/ron_rinehart/30B/NA24/basetabl.html
8. Chong, Y.; Gumina, G.; Mathew, J. S.; Schinazi R. F.; Chu, C. K. *Med Chem.* **2003** Jul 17;46(15):3245.
9. Lubert Stryer, Βιοχημεία, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, **1997**: 347-354.
10. John McMurry, Οργανική Χημεία, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, **2000** :151-152, 905.
11. John M. Clark, Jr and Robert L. Switzer, Πειραματική βιοχημεία, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, **1992**.
12. Benjamin Lewin, Genes VIII: 6-8.
13. Perigaud, C.; Gosselin, G.; Imbach, J. L. *Nucleosides Nucleotides* **1992**, 11, 903.
14. <http://www.answers.com/topic/zidovudine-1>
15. <http://www.answers.com/topic/zidovudine?h1=zidovudine>
16. <http://www.pathmicro.med.sc.edu/lecture/chemo.html>
17. <http://www.answers.com/topic/lamivudine>
18. <http://www.answers.com/topic/ddi>
19. <http://www.answers.com/topic/ddc>
20. K. Antonakis, Hexopyranose nucleosides, Elsevier, Studies in Natural Products Chemistry, Volume 4, Stereoselective Synthesis (Part C), 221, 249
21. 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**; pp.299-321.
22. 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; pp. 261-298.

23. Len C.; Violeau B. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 4835.
24. Verheggen, I.; Van Aerschot, A.; Toppet, S.; Snoeck, R.; Janssen, G.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Herdewijn, P. J. *Med. Chem.* **1993**, 36, 2033.
25. De Clercq, E. *Biochim. Biophys. Acta* **2002**, 1587, 258.
26. Brady, R. C.; Bernstein, D. I. *Antiviral Res.* **2004**, 61, 73.
27. Bisacchi, G. S.; Chao, S. T.; Bachard, C.; Daris, J. P.; Innaimo, S.; Jacobs, G. A.; Kocy, O.; Lapointe, P.; Martel, A.; Merchant, Z.; Slusarchyk, W. A.; Sundeen, J. E.; Young, M. G.; Colonno, R.; Zahler, R. *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1997**, 7, 127.
28. Jeong, L. S.; Yoo, S. J. *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 847.
29. Yoo, S. J.; Kim, H. O.; Lim, Y.; Kim, J.; Jeong, L. S. *Bioorg. & Med. Chem.* **2002**, 10, 215.
30. Gunaga, P.; Baba, M.; Jeong, L. S. *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 3208.
31. Hassan, A. E. A.; Shuto, S.; Matsuda, A. *Tetrahedron* **1994**, 50, No. 3, 689.
32. Lai, C. L.; Rosmawati, M.; Lao, J.; Van Vlierberghe, H.; Anderson, F. H.; Thomas, N.; DeHertogh, D. *Gastroenterol.* **2002**, 123, 1831.
33. <http://www.emea.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/baraclude/BaracludeEPARsummary-el.pdf>
34. <http://www.uspharmacist.com/index.asp?page=ce/105130/default.htm>
35. <http://www.answers.com/topic/thymidine-kinase>
36. Brevnov, G. M.; Gritsenko M. O.; Mikhailov N. S.; Efimtseva V. E.; Ermolinsky, S. B.; Van Aerschot, A.; Herdewijn, P.; Repyk, V. A.; Gromova, S. E. *Nucleic Acids Res.* **1997**, 25, No. 16, 3302.
37. Vanheusden, V.; Busson, R.; Herdewijn, P.; Van Calenbergh, S. *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 4446.
38. Herscovici, J.; Antonakis, K. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, 12, 561.
39. http://www.medscape.com/viewarticle/417479_8
40. <http://oregonstate.edu/instruction/bb450/stryer/ch11/Slide29.jpg>
41. Manta, S.; Agelis, G.; Botic, T.; Cencic, A.; Komiotis, D. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 980.
42. Antonakis, K.; Chouroulinkov, I. *Biochem. Pharmacol.* **1974**, 23, 2095.
43. Halmos, T.; Cardon, A.; Antonakis, K. *Chem. Biol. Interact.* **1983**, 46, 11.
44. Antonakis, K.; Halmos, T.; Bach, J.; Chouroulinkov, I. *Eur. J. Med. Chem.* **1980**, 15, 237.

45. Chouroulinkov, I.; Antonakis, K. *C. R. Acad. Sci. Hebd Seances Acad. Sci. D.* 2085, 1977, 1021.

