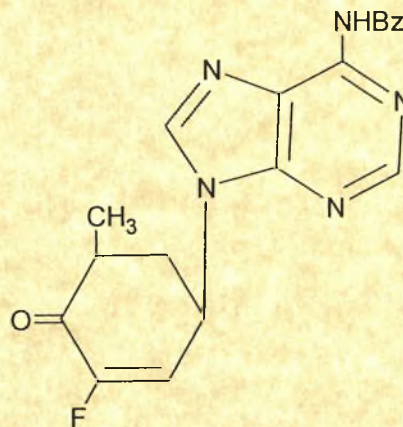
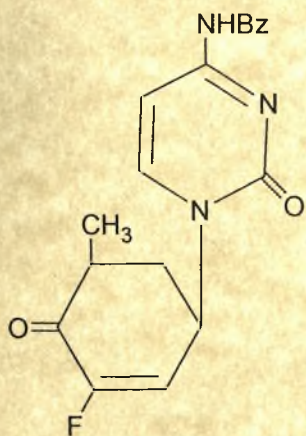


ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ-ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΑΚΟΡΕΣΤΩΝ ΔΙΔΕΟΞΥ ΦΘΟΡΟ-
ΚΕΤΟΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΩΝ ΤΗΣ ΚΥΤΟΣΙΝΗΣ ΚΑΙ
ΤΗΣ ΑΔΕΝΙΝΗΣ ΩΣ ΝΕΟΙ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ



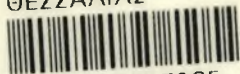
ΠΕΤΡΑΚΗΣ ΤΣΑΜΠΙΚΟΣ
ΛΑΡΙΣΑ 2010



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

Αριθ. Εισ.: 8231/1
Ημερ. Εισ.: 28-04-2010
Δωρεά:
Ταξιθετικός Κωδικός: ΠΤ - ΒΒ
2010
ΠΕΤ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

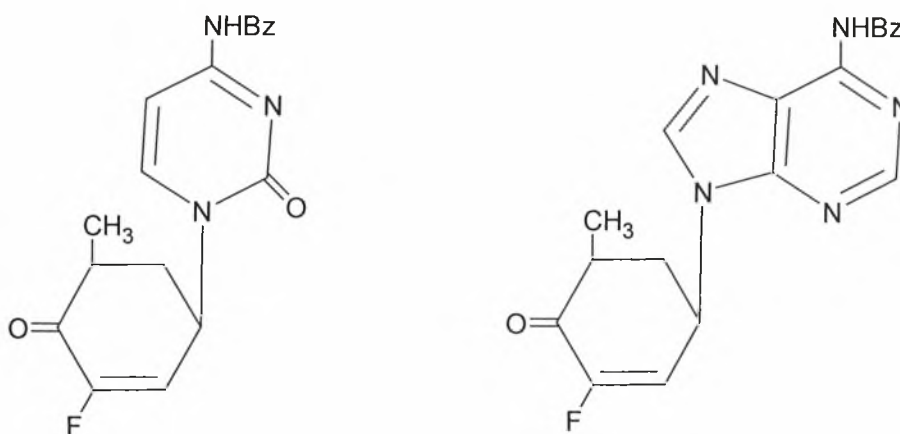


004000087085

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ-ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

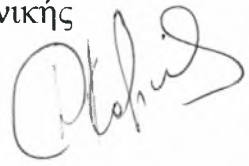
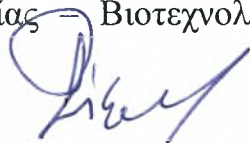

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΑΚΟΡΕΣΤΩΝ ΔΙΔΕΟΞΥ ΦΘΟΡΟ-
ΚΕΤΟΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΩΝ ΤΗΣ ΚΥΤΟΣΙΝΗΣ ΚΑΙ
ΤΗΣ ΑΔΕΝΙΝΗΣ ΩΣ ΝΕΟΙ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ



ΠΕΤΡΑΚΗΣ ΤΣΑΜΠΙΚΟΣ
ΛΑΡΙΣΑ 2010

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

- **Κομιώτης Δημήτριος** – Αναπληρωτής Καθηγητής Οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας – Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας 
- **Ζίφα Αιμιλία** – Λέκτορας Καθηγήτρια Διακυτταρικής Επικοινωνίας του Τμήματος Βιοχημείας – Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας 
- **Κοντού Μαρία** – Λέκτορας Καθηγήτρια Κλινικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας – Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας 

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, υπό την επίβλεψη του Αναπληρωτή Καθηγητή Οργανικής Χημείας κ. Κομιώτη Δημητρίου.

Αισθάνομαι την ανάγκη να εκφράσω την αμέριστη ευγνωμοσύνη μου στον κ. Κομιώτη, για την εμπιστοσύνη που διέκρινε στο πρόσωπό μου αναθέτοντάς μου το συγκεκριμένο θέμα. Στη σωστή διεκπεραίωση των πειραματικών διαδικασιών, καθώς στη διεύρυνση της σκέψης μου και στην επιλογή της σωστής κατεύθυνσης, συνετέλεσαν η επιστημονική του κατάρτιση, η εύστοχη κριτική του, οι πολύτιμες συμβουλές του, η υπομονή του, η ενθάρρυνσή του και η πετυχημένη καθοδήγησή του.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλη την ομάδα του εργαστηρίου για την ένθερμη υποδοχή τους, τη συμπαράστασή τους και τη βοήθεια τους, ώστε να καταφέρω να προσαρμοστώ στο χώρο του εργαστηρίου. Ιδιαίτερα, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Διδάσκουσα ΠΔ 407/80 του Τμήματος Βιοχημείας –Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Μαντά Στυλιανή, όχι μόνο για την άψογη συνεργασία, αλλά για τη φιλική σχέση που αποκόμισα. Οι συμβουλές και η εμπιστοσύνη της να μου αναθέσει τμήμα του διδακτορικού της αποδείχθηκαν ωφέλιμες και με εφοδίασαν με τρόπο σκέψης για την εκπόνηση της εργασίας μου.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Οι υδατάνθρακες αποτελούν μια από τις τέσσερις κύριες κατηγορίες βιομορίων και απαντούν σε κάθε ζωντανό οργανισμό. Οι υδατάνθρακες είναι αλδεϋδικές ή κετονικές ενώσεις με πολλαπλές υδροξυλικές ομάδες. Αποτελούν το μεγαλύτερο ποσοστό της οργανικής ύλης επάνω στη γη λόγω των πολλαπλών ρόλων τους σε κάθε μορφή ζωής. Τροποποιημένοι υδατάνθρακες απαντούν στα μόρια του DNA που μεταφέρουν γενετικές πληροφορίες, άλλοι συνιστούν μέρος του περιβλήματος των κυττάρων, ενώ άλλοι χρησιμοποιούνται ως φάρμακα.

Οι τροποποιημένοι νουκλεοζίτες διαδραματίζουν αξιοσημείωτο ρόλο στην αντική και αντικαρκινική χημειοθεραπεία. Έχει διαπιστωθεί ότι πολλά φυσικά αντιβιοτικά με σημαντική αντική και αντικαρκινική δράση περιέχουν στη δομή τους νουκλεοζίτες συνδεδεμένα με ολιγοσακχαρίτες, όπως είναι οι αμινονουκλεοζίτες και οι κετονουκλεοζίτες.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον δόθηκε στη μελέτη φθορονουκλεοζιτών προκειμένου να βρεθούν νέα αντικαρκινικά, αντικά, ή αντι-HIV φάρμακα με μεγαλύτερη εκλεκτικότητα και λιγότερα ανοσοκατασταλτικά αποτελέσματα έναντι των έως τώρα χρησιμοποιούμενων ενώσεων. Η προσθήκη φθορίου στο μόριο του σακχάρου αποδείχθηκε να είναι μια καλή μέθοδος ενίσχυσης της βιολογικής δράσης.

Περιεχόμενα

1 Εισαγωγή.....	6
1.1 Υδατάνθρακες.....	6
1.2 Κυκλικές δομές μονοσακχαριτών: σχηματισμός ημιακετάλης.....	7
1.2.1 Κυκλικές δομές της γλυκόζης και της φρουκτόζης	
1.3 Νουκλεοζίτες.....	10
1.4 Τρόπος δράσης νουκλεοζιτών	11
1.5 Νουκλεοζιτικά ανάλογα με σάκχαρο μία πεντόζη.....	14
1.5.1 Zidovudine (AZT: 3' -Azido- 2' -deoxythymidine	
1.5.2 Didanosine (DDI)	
1.5.3 Τριφθοριοθυμιδίνη	
1.6 Νουκλεοζιτικά ανάλογα με σάκχαρο μία εξόζη.....	17
1.6.1 Κετο-πυρανονουκλεοζίτες	
1.6.2 Ακόρεστοι κετονουκλεοζίτες	
1.6.3 Δεοξυ-πυρανονουκλεοζίτες	
1.6.4 Φθοριωμένοι νουκλεοζίτες	
2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	22
2.1 Στόχος-σκοπός μελέτης.....	22
2.2 Μεθοδολογία σύνθεσης.....	24
Σύνθεση της 1-(2',6'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'- ουλοζο)-N ⁴ -βενζοϋλοκυτοσίνη	
Σύνθεση της 9-(2',6'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'- ουλοζο)-N ⁶ -βενζοϋλοαδενίνης	
3. ΓΕΝΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	28
Χρωματογραφία χάρτου (TLC: Thin Layer Chromatography)	
Χρωματογραφία στήλης	
Φασματα NMR	
Ξήρανση διαλυτών	
Εξάτμιση διαλυτών	
4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ.....	30
4.1 Σύνθεση της ένωσης 1-(2',6'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'- ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης	

4.2 Σύνθεση της ένωσης 9-(2',6'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'- ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N ⁶ -βενζοϋλοαδενίνης	
5. ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ¹ H NMR.....	43
6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	45
6.1 Χημικά χαρακτηριστικά.....	45
6.2 Αντικαρκινική δράση.....	46
7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	48

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Υδατάνθρακες

Οι υδατάνθρακες αποτελούν μια ξεχωριστή κατηγορία ενώσεων με μοριακά βάρη που κυμαίνονται από μικρότερα του 100 μέχρι εκατοντάδες χιλιάδες. Οι περισσότεροι υδατάνθρακες ανταποκρίνονται στο γενικό τύπο $C_n(H_2O)_n$. Υπάρχουν τέσσερις κατηγορίες υδατανθράκων βιολογικού ενδιαφέροντος:

- **Μονοσακχαρίτες** ή απλά σάκχαρα τα οποία είναι μονομερείς ενώσεις, που αποτελούνται από 3-6 άτομα άνθρακα. Χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι η γλυκόζη και η φρουκτόζη, που αποτελούν τα μονομερή για τη σύνθεση πολυπλοκότερων δομών.
- **Δισακχαρίτες** που αποτελούνται από δύο μονοσακχαρίτες συνδεδεμένους με ομοιοπολικό δεσμό. Ο ομοιοπολικός δεσμός μεταξύ των μονοσακχαριτών ονομάζεται γλυκοζιτικός δεσμός. Οι κυριότεροι δισακχαρίτες είναι: η μαλτόζη που προκύπτει από τη συμπύκνωση δύο μορίων γλυκόζης, η σακχαρόζη που προκύπτει από την ομοιοπολική σύνδεση ενός μορίου γλυκόζης και ενός μορίου φρουκτόζης και η λακτόζη που προκύπτει από τη συμπύκνωση ενός μορίου γλυκόζης και ενός μορίου γαλακτόζης.

Η μαλτόζη αποτελεί προϊόν της διάσπασης του αμύλου. Η σακχαρόζη είναι συστατικό των φρούτων και πηγή γλυκόζης για ζωικούς οργανισμούς. Η λακτόζη είναι το σάκχαρο του γάλακτος.

- **Ολιγοσακχαρίτες**, οι οποίοι παρασκευάζονται με σύνδεση μερικών μονοσακχαριτών, συνήθως αποτελούνται από 20-30 μονοσακχαρίτες.
- **Πολυσακχαρίτες**, οι οποίοι προκύπτουν από τον πολυμερισμό πολλών μορίων μονοσακχαριτών, όπως το άμυλο, το γλυκογόνο, η κυτταρίνη, και πολλά άλλα σημαντικά βιολογικά μόρια.

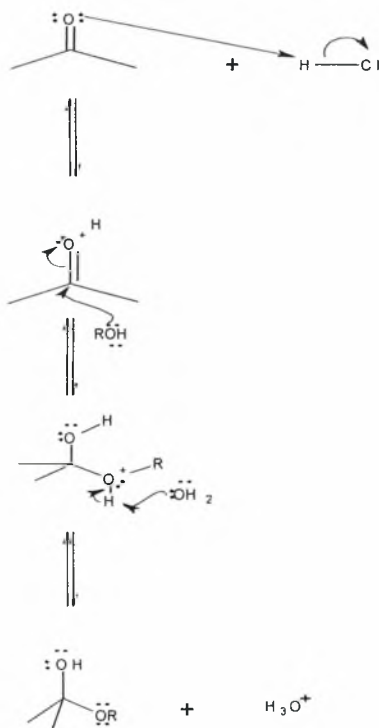
Δεν υπάρχει σαφής διαχωρισμός μεταξύ ενός μεγάλου ολιγοσακχαρίτη και ενός μικρού πολυσακχαρίτη, αφού αυτοί οι όροι στην πραγματικότητα χρησιμοποιούνται απλά για να περιγράψουν ενώσεις οι οποίες έχουν μοριακό βάρος μέσα σε ένα ευρύ πεδίο τιμών. Ο γενικός τύπος $C_n(H_2O)_n$ ανταποκρίνεται ακριβώς στο μοριακό τύπο μόνο των μονοσακχαριτών οι οποίοι έχουν ίδιο αριθμό ατόμων άνθρακα και οξυγόνου και

διπλάσιο αριθμό ατόμων υδρογόνου στο μόριό τους. Οι ολιγοσακχαρίτες και οι πολυσακχαρίτες διαφέρουν ελαφρά από τον τύπο αυτό.

1.2 Κυκλικές δομές μονοσακχαριτών : σχηματισμός ημιακετάλης

Οι υδατάνθρακες είναι αλδεϋδικές ή κετονικές ενώσεις με πολλαπλές υδροξυλικές ομάδες. Τα σάκχαρα που αποτελούνται από πέντε άτομα άνθρακα ονομάζονται πεντόζες και αυτά που αποτελούνται από έξι άτομα άνθρακα ονομάζονται εξόζες. Τα υδροξύλια, -OH, συντελούν στην υδατοδιαλυτότητά τους, ενώ το καρβονύλιο τους προσδίδει αναγωγικές ιδιότητες. Οι ανοιχτές αλυσίδες των πεντοζών και των εξοζών τείνουν να κυκλοποιούνται όταν βρεθούν εντός διαλύματος, δηλαδή η επικρατέστερη μορφή τους είναι η μορφή δακτυλίου⁽¹⁾ (εικόνα 1). Οι πενταμελείς και εξαμελείς κυκλικές ημιακετάλες είναι ιδιαίτερα σταθερά μόρια, γι'αυτό αρκετοί υδατάνθρακες απαντούν σε κατάσταση ισορροπίας ανάμεσα στις δομές ανοικτής και κλειστής αλυσίδας.

Τα στάδια του μηχανισμού του σχηματισμού της ημιακετάλης είναι τα εξής:



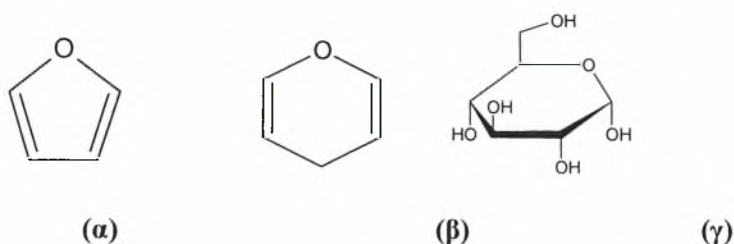
- Πρωτονίωση του καρβονυλικού οξυγόνου, η οποία πολώνει έντονα το καρβονύλιο.
- Ενεργοποίηση της καρβονυλικής ομάδας για πυρηνόφιλη προσβολή από το μονήρες ζεύγος ηλεκτρονίων του οξυγόνου της αλκοόλης
- Απόσπαση ενός πρωτονίου που οδηγεί σε ένα τετραεδρικό ενδιάμεσο, μια ουδέτερη ημιακετάλη.

Εικόνα 1. Μηχανισμός σχηματισμού ημιακετάλης⁽¹⁾

1.2.1 Κυκλική δομή της γλυκόζης και της φρουκτόζης

Στη γλυκόζη η C-1 αλδεϋδική ομάδα του τύπου ανοικτής αλυσίδας της γλυκόζης αντιδρά με το υδροξύλιο του C-5 για να σχηματίσει μια ενδομοριακή ημιακετάλη. Ο εξαμελής δακτύλιος του σακχάρου που παράγεται, καλείται πυρανόζη, λόγω της ομοιότητάς του με το πυράνιο⁽²⁾ (εικόνα 2β).

Η κετονική ομάδα στον C-2 του τύπου της ανοικτής αλυσίδας της φρουκτόζης είναι σε θέση να αντιδράσει με την υδροξυλική ομάδα του C-5 για να σχηματίσει μια ενδομοριακή ημιακετάλη. Ο πενταμελής δακτύλιος του σακχάρου καλείται φουρανόζη, λόγω της ομοιότητας του με το φουράνιο⁽²⁾ (εικόνα 2α).



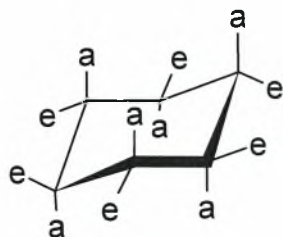
Εικόνα 2. (α) Φουράνιο, (β) Πυράνιο, (γ) γλυκόζη⁽²⁾

Κατά την κυκλοποίηση της γλυκόζης δημιουργείται ένα πρόσθετο ασύμμετρο κέντρο. Ο άνθρακας C-1, ο καρβονυλικός άνθρακας στην ανοικτή αλυσίδα, μετατρέπεται σε ένα ασύμμετρο κέντρο στο δακτύλιο. Μπορεί να προκύψουν δύο δομές. Η α -D-γλυκοπυρανόζη και η β -D-γλυκοπυρανόζη. Ο χαρακτηρισμός α σημαίνει ότι το υδροξύλιο που συνδέεται στον C-1 βρίσκεται κάτω από το επίπεδο του δακτυλίου, ενώ β σημαίνει ότι βρίσκεται πάνω από το επίπεδο του δακτυλίου. Ο άνθρακας C-1 καλείται ανωμερής και έτσι οι μορφές α και β καλούνται ανωμερείς.

Η ίδια ονοματολογία εφαρμόζεται και στον φουρανοζικό δακτύλιο της φρουκτόζης, με τη διαφορά ότι τα α και β αναφέρονται στο υδροξύλιο που είναι ενωμένο στον άνθρακα C-2, που είναι ανωμερής. Η φρουκτόζη είναι δυνατόν να δημιουργήσει και δακτυλίους πυρανόζης.

Ο εξαμελής δακτύλιος της πυρανόζης δεν είναι δυνατόν να είναι επίπεδος, λόγω της τετραεδρικής γεωμετρίας των κορεσμένων ατόμων άνθρακα. Αντίθετα, οι δακτύλιοι της πυρανόζης μπορούν να υιοθετήσουν στερεοδιατάξεις ανάκλιντρου, με αποτέλεσμα να εξουδετερώνονται όλες οι τάσεις, εφόσον όλοι οι γειτονικοί δεσμοί C-

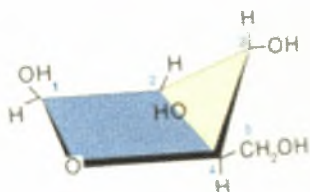
Η έχουν διαβαθμισμένη διαμόρφωση και οι γωνίες C-C-C μπορούν να προσεγγίσουν την απαλλαγμένη από τάσεις τιμή της κανονικής τετραεδρικής γωνιάς.⁽¹⁾



Εικόνα 3. Μορφή ανάκλιντρου μιας πυρανόζης
(e= ισημερινός υποκαταστάτης, a= αξονικός υποκαταστάτης)⁽¹⁾

Οι υποκαταστάτες των ατόμων άνθρακα του δακτυλίου είναι δύο ειδών: οι αξονικοί και οι ισημερινοί (εικόνα 3). Οι αξονικοί δεσμοί είναι σχεδόν κάθετοι προς το μέσο επίπεδο του δακτυλίου, ενώ οι ισημερινοί δεσμοί είναι σχεδόν παράλληλοι προς το επίπεδο αυτό. Οι αξονικοί υποκαταστάτες προβάλλουν πάνω και κάτω από το μέσο επίπεδο του δακτυλίου, ενώ οι ισημερινοί υποκαταστάτες διατάσσονται στην περιφέρεια. Οι αξονικοί υποκαταστάτες, εκτός του υδρογόνου, παρεμποδίζουν στερεοχημικά ο ένας τον άλλο, αν ξεπροβάλλουν από την ίδια πλευρά του δακτυλίου. Αντίθετα, υπάρχει πολύ περισσότερος χώρος για τους ισημερινούς υποκαταστάτες. Έτσι, ένας υποκαταστάτης είναι σταθερότερος στην ισημερινή απ' ότι στην αξονική θέση. Η ενεργειακή διαφορά ανάμεσα στα αξονικά και ισημερινά διαμορφομερή, οφείλεται στη στερεοχημική τάση που προκαλείται από τις λεγόμενες 1,3-διαξονικές αλληλεπιδράσεις.

Οι δακτύλιοι φουρανόζης, όπως και της πυρανόζης, δεν είναι επίπεδοι. Μπορούν να είναι πτυχωμένοι έτσι ώστε τα τέσσερα άτομα να είναι στο ίδιο επίπεδο και το πέμπτο εκτός του επιπέδου αυτού (εικόνα 4).



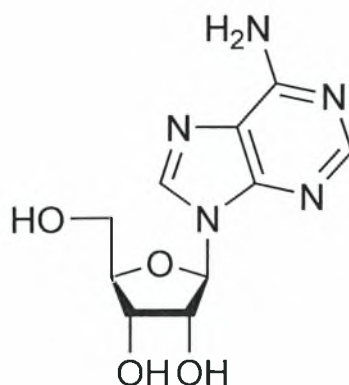
Εικόνα 4. Μορφή φακέλου της β-D-ριβόζης⁽²⁾

Αυτή η διαμόρφωση καλείται μορφή φακέλου γιατί η δομή αυτή μοιάζει με ανοιχτό φάκελο με το πίσω μέρος ανασηκωμένο. Οι δακτύλιοι της φουρανόζης είναι σε θέση να αλληλομετατρέπονται ταχύτατα σε διαφορετικές στερεοδιατάξεις. Είναι πολύ πιο ευέλικτοι από τους δακτυλίους της πυρανόζης, γεγονός που εξηγεί την επιλογή τους ως συστατικών του RNA και DNA.^(1,2)

1.3 Νουκλεοζίτες

Τα τελευταία χρόνια πληθώρα ερευνητικών προγραμμάτων εστιάζεται στη μελέτη, σύνθεση και βιολογική ταυτοποίηση νουκλεοζιτών και νουκλεοζιτικών αναλόγων. Έχει βρεθεί ότι οι νουκλεοζίτες επιδεικνύουν σημαντική αντικαρκινική, αντιβακτηριακή και αντιαίμα δράση.⁽³⁾ Συνεπώς έχουν γίνει πολλές τροποποιήσεις στο τμήμα της βάσης και του σακχάρου των φυσικών νουκλεοζιτών με απώτερο σκοπό να διευρυνθεί το φάσμα των θεραπευτικών δραστηριοτήτων τους. Έχει διαπιστωθεί ότι πολλά φυσικά αντιβιοτικά με σημαντική αντιαίμα και αντικαρκινική δράση περιέχουν στη δομή τους νουκλεοζίτες συνδεδεμένους με ολιγοσακχαρίτες.

Οι νουκλεοζίτες είναι γλυκοσυλαμίνες που προέρχονται από την ένωση μιας νουκλεοβάσης (αδενίνη, γουανίνη, κυτοσίνη, θυμίνη, ουρακίλη) και της ριβόζης (ριβονουκλεοσίδια) ή της δεοξυριβόζης (δεοξυριβονουκλεοσίδια). Η πουρίνη ή πυριμιδίνη ενώνεται στη θέση 1' της πεντόζης με β -N-γλυκοζιτικό δεσμό, κατά τον οποίο η βάση βρίσκεται πάνω από το επίπεδο του σακχάρου.⁽⁴⁾ Ο αποφασιστικής σημασίας παρόμοιος τρόπος γλυκοζιτικής σύνδεσης είναι προφανής σε πολλά βασικά μακρομόρια, όπως νουκλεοτίδια, RNA και DNA. Οι N-γλυκοζιτικοί δεσμοί σε όλα τα φυσικά μακρομόρια έχουν στερεοδιάταξη $\beta^{(2)}$ (εικόνα 5).



Εικόνα 5. Αδενοσίνη

1.4 Τρόπος δράσης νουκλεοζιτών

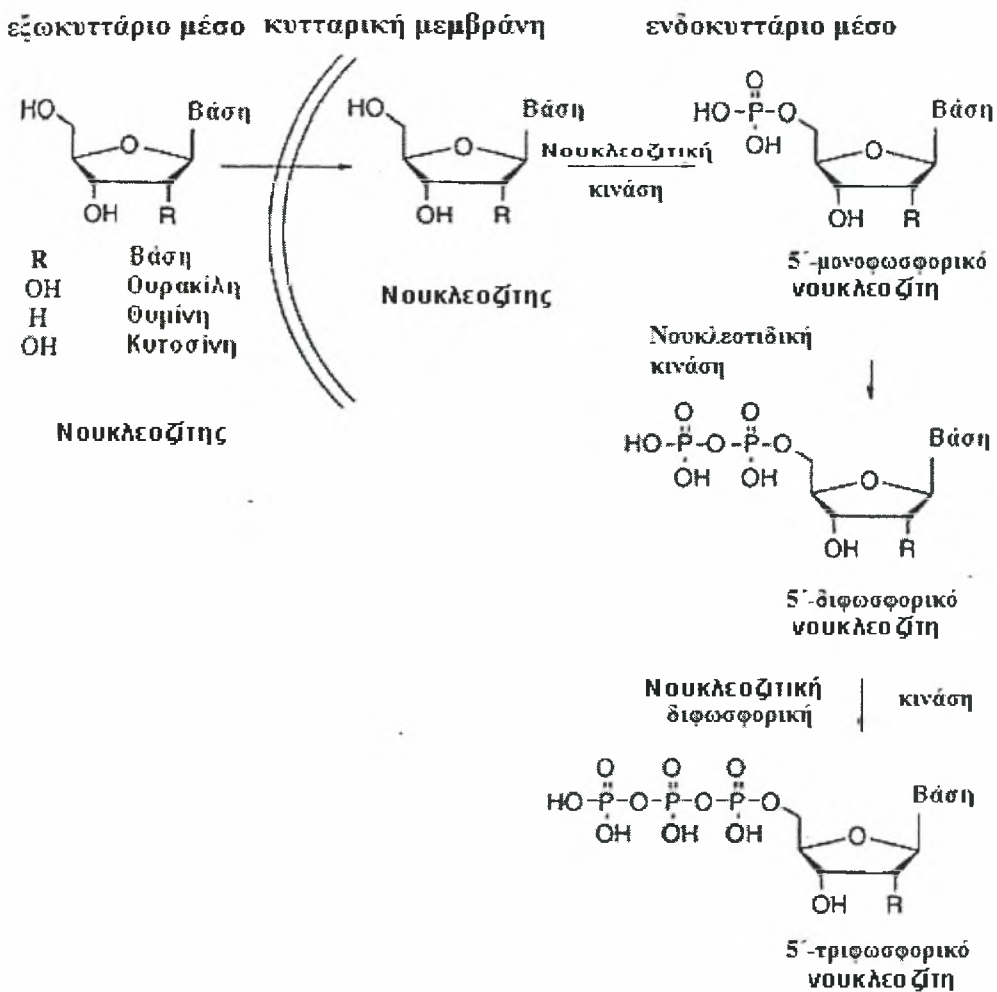
Η σύνθεση των νουκλεοζιτών συνήθως πραγματοποιείται ενδοκυτταρικά. Μπορούν επίσης να εισέλθουν στα κύτταρα με παθητική διάχυση. Αυτό επιτρέπει στα ανάλογα νουκλεοζιτών με αντική ή/και αντικαρκινική δράση να χρησιμοποιηθούν για τη θεραπεία πολλών ασθενειών.⁽⁵⁾

Το φάρμακο αρχικά πρέπει να αλληλεπιδράσει με ένα μοριακό στόχο ώστε να προκαλέσει κάποια δράση. Οι πρωτεΐνες ή τα νουκλεϊκά οξέα αποτελούν τους κύριους μοριακούς στόχους για τα περισσότερα φάρμακα.⁽⁶⁾ Οι πιο κοινοί τύποι πρωτεϊνών-μοριακών στόχων των φαρμάκων είναι οι υποδοχείς, οι διάλυτοι ιόντων, τα ένζυμα και τα μόρια μεταφορείς.

Τα νουκλεοζιτικά ανάλογα είναι χημικά τροποποιημένες ενώσεις των φυσικών νουκλεοζιτών και στοχεύουν αποτελεσματικά τις ικές πολυμεράσες. Οι φυσικοί νουκλεοζίτες τροποποιούνται στα κύτταρα για να παράγουν τα νουκλεοτίδια, τα οποία χρησιμοποιούνται από τις πολυμεράσες ως βασικές δομικές μονάδες γενετικού υλικού DNA και RNA. Τα αντικαρκινικά φάρμακα νουκλεοζιτών μιμούνται τα φυσικά νουκλεοτίδια και ανταγωνίζονται τη θέση τους. Έτσι κατά την αντιγραφή του ιικού γονιδιώματος από τις RNA πολυμεράσες τα ανάλογα νουκλεοζιτών καταλαμβάνουν τη θέση των φυσικών νουκλεοζιτών και επέρχεται καταστολή της μεταγραφής του ιού. Η καταστολή αυτή επιτυγχάνεται είτε μέσω αντιπολλαπλασιαστικών λειτουργιών είτε μέσω καταστολής της αντιγραφής του ιού στα μολυσμένα κύτταρα.⁽⁷⁾

Ο βασικός λόγος που τα νουκλεοζιτικά ανάλογα χρησιμοποιούνται ως αντικαρκινικά και ως αντικαρκινικά είναι ότι μπορούν να τροποποιηθούν δομικά, έτσι ώστε να παράγουν φαρμακολογικά ενεργά παράγωγα. Παρόλο που αυτά τα θεραπευτικά ανάλογα είναι ανενεργά προφάρμακα, η ενδοκυτταρική φωσφορυλίωσή τους τα καθιστά ενεργα.⁽⁸⁾ Αν και τα φωσφορυλιωμένα ανάλογα δεν μπορούν να διαπεράσουν την κυτταρική μεμβράνη, τα μη φωσφορυλιωμένα εισάγονται στο κύτταρο από πρωτεΐνες-μεταφορείς νουκλεοζιτών. Στη συνέχεια φωσφορυλιώνονται προς τις τριφωσφορικές τους μορφές από κυτταρικά ή ιικά ένζυμα, και καθώς είναι ενεργά, εμποδίζουν είτε άμεσα είτε έμμεσα τον κυτταρικό ή ιικό διπλασιασμό, ή προκαλούν διαταραχές στις δεξαμενές νουκλεοτιδίων, που με τη σειρά τους παρεμποδίζουν τον αναδιπλασιασμό του DNA.

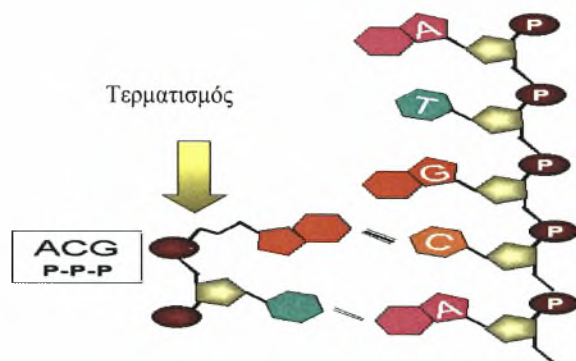
Η πρώτη φωσφορυλίωση που οδηγεί στο σχηματισμό του 5'-μονοφωσφορικού νουκλεοζίτη συνήθως καταλύεται από μία νουκλεοζιτική κινάση που κωδικοποιείται από το κύτταρο-ξενιστή ή τον ιό που μολύνει το κύτταρο-ξενιστή. Η μετατροπή του 5'-μονοφωσφορικού νουκλεοζίτη προς τις αντίστοιχες 5'-διφωσφορικές και τριφωσφορικές δομές πραγματοποιείται από νουκλεοτιδικές κινάσες και νουκλεοζιτικές διφωσφορικές κινάσες, αντίστοιχα (εικόνα 6). Συνεπώς, τόσο οι κυτταρικές όσο και οι ιικές κινάσες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό και την αντιγραφή των κυττάρων και των ιών. Συνέπεια αυτού είναι η συσσώρευση των αναλόγων φωσφορυλιωμένων νουκλεοτιδίων κυρίως στα κύτταρα που έχουν μολυνθεί από ιό.



Εικόνα 6. Τροποποίηση των νουκλεοζιτικών αναλόγων προς την ενεργή τους μορφή μέσω ενδοκυτταρικής φωσφορυλίωσης.

Τα τμήματα των νουκλεϊνικών οξέων διαμορφώνονται από τις κυτταρικές πολυμεράσες, οι οποίες συνδέουν το 5'-νουκλεοτίδιο στην ομάδα 3'-υδροξυλίου ενός άλλου νουκλεοτιδίου. Σε αυτή την διαδικασία, απελευθερώνεται πυροφωσφορική ομάδα (PPi), και οι δύο ζάχαρες συνδέονται με φωσφοδιεστερική γέφυρα.^(1,2,9)

Το σάκχαρο, είναι το τμήμα του νουκλεοζίτη που χρησιμεύει ως υπόστρωμα για τις κινάσες και τις πολυμεράσες 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 (εικόνα 7).



Εικόνα 7. Τερματισμός αλυσίδας⁽¹⁰⁾

Τα ανάλογα νουκλεοζιτών αναμένονται να είναι αποτελεσματικά ενάντια στις περισσότερες, εάν όχι σε όλες τις μορφές ιών. Η ειδικότητά τους έγκειται στο ότι ο ιός μπορεί με το ένζυμο του να ενεργοποιήσει τη δράση του φαρμάκου ή/και στο ότι οι ιικές πολυμεράσες μπορεί να είναι πολύ πιο ευαίσθητες στη δράση του φαρμάκου απ' ό,τι στα αντίστοιχα ένζυμα του κυττάρου ξενιστή.⁽¹¹⁾

Το ένζυμο του ιού δεν απαιτεί ειδική σύνδεση με το υπάρχον υπόστρωμα, σε αντίθεση με το ένζυμο του κυττάρου ξενιστή. Αυτό σημαίνει ότι το ένζυμο του ιού μπορεί να δρα και σε φάρμακα ανάλογων νουκλεοζιτών (διαφορετικό υπόστρωμα) και να τα φωσφορυλιώνει, ενώ το κύτταρο ξενιστή θα τα αφήνει ανεπηρέαστα εφόσον δεν είναι εφικτή η σύνδεση ενζύμου-υποστρώματος.^(11, 12)

Οι ιοί μπορούν να αντιμετωπιστούν εκλεκτικά με φάρμακα νουκλεοζιτών και ανάλογων νουκλεοζιτών. Η εκλεκτική αναστολή τους μπορεί να επιτευχθεί: (α) με την αναστολή ειδικών σταδίων της πορείας αναπαραγωγής του ιού, όπως η προσκόλληση του ιού σε κάποιο κυτταρικό υποδοχέα, η διείσδυση του στο κύτταρο, η αποβολή του περιβλήματος, 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.⁽⁶⁾

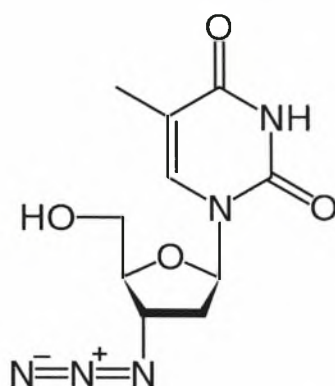
Οι νουκλεοζίτες μπορούν να ενεργήσουν με διαφορετικούς μηχανισμούς: μπορούν να αναστείλουν τη δράση των βασικών ενζύμων στο μεταβολισμό των νουκλεϊνικών οξέων ή/και μπορούν να ενσωματωθούν στα πρόσφατα συνθεθειμένα νουκλεϊνικά οξέα προκαλώντας τον τερματισμό των αλυσίδων ή την παραγωγή μη λειτουργικών βιομορίων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τον κυτταρικό θάνατο, ο οποίος είναι επιθυμητός όσον αφορά τη θεραπεία του καρκίνου και των αυτοάνοσων ασθενειών. Επιπλέον, οι ενώσεις που μπορούν να στοχεύσουν εκλεκτικά στα βακτηριακά ή στα προερχόμενα από ιό ένζυμα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αντιβακτηριακοί ή αντικοί παράγοντες.⁽⁶⁾

1.5 Νουκλεοζιτικά ανάλογα με σάκχαρο μία πεντόζη

Πολλά ερευνητικά προγράμματα που είχαν ως στόχο την παραγωγή φαρμάκων με αντική και αντικαρκινική δράση, επικεντρώθηκαν στη χρήση νουκλεοζιτικών αναλόγων με σάκχαρο μία πεντόζη που φέρουν τη β-απεικόνιση. Η σπουδαιότητα των νουκλεοζιτικών αναλόγων με σάκχαρο μία πεντόζη πηγάζει από το γεγονός ότι όλοι οι φυσικοί νουκλεοζίτες στο DNA και RNA αποτελούνται από ένα D-πεντοφουρανοζικό σάκχαρο συνδεδεμένο με μία ετεροκυκλική νουκλεοβάση (πουρίνη ή πυριμιδίνη), μέσω ενός β-N-γλυκοζιτικού δεσμού.⁽¹³⁾ Μερικά από τα νουκλεοζιτικά ανάλογα που διαθέτουν για σάκχαρο μία πεντόζη είναι: το Zidovudine (AZT), το Didanosine (DDI) και η τριφθοριοθυμιδίνη.

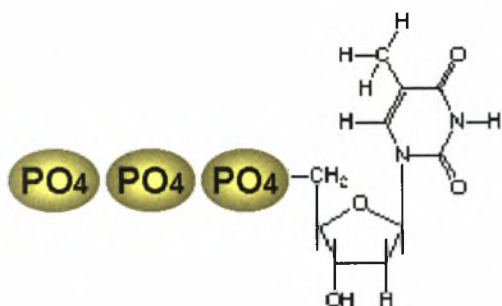
1.5.1 Zidovudine (AZT: 3' -Azido-2' -deoxythymidine)

Το Zidovudine ή AZT (εικόνα 8) είναι ένα νουκλεοζιτικό ανάλογο αναστολέας της αντίστροφης μεταγραφάσης, δηλαδή του ενζύμου που χρησιμοποιούν οι ρετροϊοί για να συνθέσουν DNA. Είναι ανάλογο της θυμιδίνης και χορηγείται για την αντιμετώπιση του ιού της ανθρώπινης επίκτητης ανοσοανεπάρκειας τύπου I, επομένως για τη θεραπεία του AIDS.



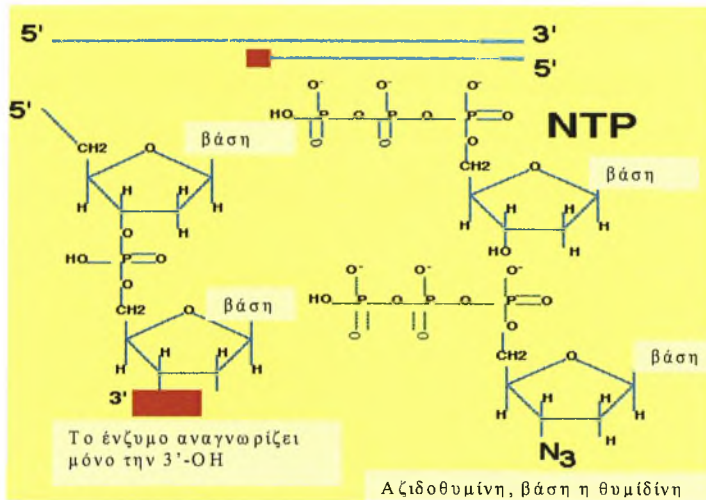
Εικόνα 8. Η χημική δομή του AZT⁽¹⁴⁾

Η αντίστροφη μεταγραφάση, είναι το ένζυμο που χρησιμοποιεί ο ιός για να συνθέσει το νέο DNA. Το Zidovudine αναστέλλοντας τη δράση της αντίστροφης μεταγραφάσης, εμποδίζει 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 9).



Εικόνα 9. Ενεργή μορφή του AZT. Στη θυμιδίνη προστίθενται τρία φωσφορικά οξέα. Το ένα προστίθεται από το ικό ένζυμο και τα υπόλοιπα δύο από τα κυτταρικά ένζυμα.⁽¹⁵⁾

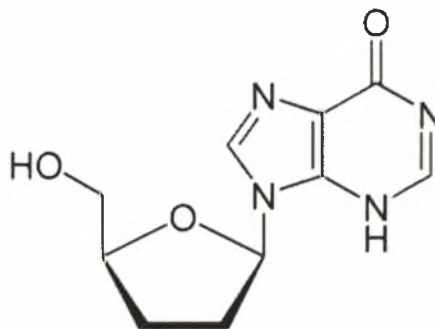
Ο τερματισμός της αλυσίδας του DNA, είναι αποτέλεσμα της απουσίας της ομάδας του 3'-υδροξυλίου στο zidovudine, το οποίο καθιστά αδύνατη τη σύνδεση άλλων νουκλεοτιδίων. Μελέτες έδειξαν ότι ο τερματισμός των αλυσίδων αποτελεί τον παράγοντα της ανασταλτικής επίδρασης^(15, 16) (εικόνα 10).



Εικόνα 10. Ανάλογα νουκλεοζιτών στον τερματισμό αλυσίδων⁽¹⁶⁾

1.5.2 Didanosine ή DDI

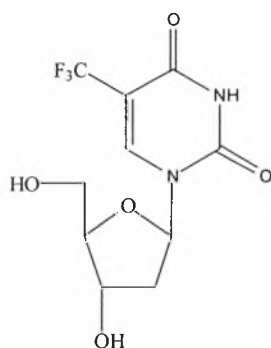
Το DDI (εικόνα 11) αποτελεί ένα νουκλεοζιτικό ανάλογο με αντική δράση, αναστέλλοντας την αντιγραφή των ρετροϊών όπως του HIV. Η δράση του είναι ανάλογη του AZT, δηλαδή παρεμποδίζει τη δράση της αντίστροφης μεταγραφάσης.⁽¹⁷⁾



Εικόνα 11. Η χημική δομή του DDI

1.5.3 Τριφθοριοθυμιδίνη

Η τριφθοριοθυμιδίνη, είναι ένα φθοριωμένο ανάλογο θυμιδίνης (εικόνα 12). 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 προβλέπουν πως η τριφθοριοθυμιδίνη έχει μεταλλαξιογόνο και τερατογόνο δράση.⁽¹⁸⁾



Εικόνα 12. Η χημική δομή της τριφθοριοθυμιδίνης

1.6 Νουκλεοζιτικά ανάλογα με σάκχαρο μια εξόζη

Λόγω των μειονεκτημάτων που εμφάνισε η χρήση των φουρανονουκλεοζιτικών αναλόγων, όπως ανεπαρκή μεταβολισμό προς τις ενεργές τριφωσφορικές δομές τους, χημική ή ενζυμική απενεργοποίησή τους, τοξικότητα, εμφάνιση νέων ανθεκτικών ιών και όγκων και τέλος μικρό χρόνο ημιζωής και κατά συνέπεια μικρό χρόνο δράσης, οι έρευνες στράφηκαν στη μελέτη της αντικαρκινικής και αντικής δράσης νέων νουκλεοζιτικών αναλόγων που φέρουν ως σάκχαρο μια εξόζη (πυρανονουκλεοζίτες).⁽¹⁹⁾ Το ενδιαφέρον των επιστημόνων στράφηκε προς τους πυρανονουκλεοζίτες επειδή μελέτες έδειξαν ότι το μόριο του εξαμελούς δακτυλίου έχει μεγαλύτερη σταθερότητα λόγω της απουσίας τάσεων και έχει μεγαλύτερο χρόνο ημιζωής δηλαδή μεγαλύτερο χρόνο δράσης. Θα πρέπει να τονιστεί ότι η έρευνα για την ανακάλυψη αντικών και αντικαρκινικών νουκλεοζιτικών αναλόγων με εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο είχε μείνει αρκετά βήματα πίσω σε σχέση με αυτή των

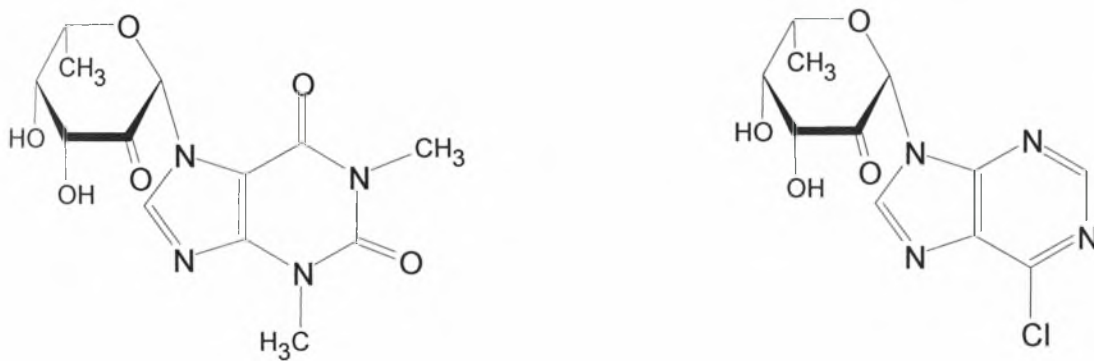
βιολογικώς ενεργών νουκλεοσιδίων με τροποποιημένους πενταμελείς δακτυλίους. Παρόλα αυτά, νουκλεοζίτες με τροποποιημένους εξαμελείς υδατανθρακικούς δακτυλίους έχουν αξιολογηθεί για τις πιθανές αντικές, αντικαρκινικές και αντιβιοτικές τους ιδιότητες, καθώς και ως δομικές μονάδες στη σύνθεση νουκλεϊκών οξέων.⁽²⁰⁾

1.6.1 Κετο- πυρανονουκλεοζίτες

Μία σημαντική τάξη πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων αποτελούν οι κετο-πυρανονουκλεοζίτες, οι οποίοι περιλαμβάνουν μία κετονομάδα στο τμήμα του σακχάρου, ως αποτέλεσμα της οξειδωσης ενός ασύμμετρου ατόμου άνθρακα και επιπλέον αποτελούν απαραίτητα ενδιάμεσα στη βιοσύνθεση πολλών φυσικών νουκλεοσιδικών αντιβιοτικών προϊόντων.

Παρόλο που οι κετο-φουρανονουκλεοζίτες, στις περισσότερες περιπτώσεις αποδείχθηκαν ασταθείς, οι κετο-πυρανονουκλεοζίτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διερεύνηση του μηχανισμού δράσης των αντιβιοτικών καθώς αποτελούν απαραίτητα ενδιάμεσα στη βιοσύνθεση πολλών από αυτά.

Ένας σημαντικός αριθμός κετο-πυρανονουκλεοζιτών εμφανίζουν ενδιαφέρουσα αντικαρκινική και αντική δράση.⁽²¹⁾ Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν οι παρακάτω ενώσεις (εικόνα 13).



Εικόνα 13 . Κετο- πυρανονουκλεοζίτες

1.6.2 Ακόρεστοι κετο- πυρανονουκλεοζίτες

Μία ακόμη κατηγορία πυρανονουκλεοζιτών αποτελούν οι ακόρεστοι κετονουκλεοζίτες, οι οποίοι διαθέτουν ένα ευρύ φάσμα αντικαρκινικών και αντικών ιδιοτήτων. Στους συγκεκριμένους νουκλεοζίτες ο δακτύλιος του σακχάρου περιλαμβάνει ένα διπλό δεσμό άνθρακα-άνθρακα σε α,β -θέση ως προς την κετονομάδα. Οι ακόρεστοι κετονουκλεοζίτες είναι σημαντικοί για την αντινεοπλασματική δραστηριότητα και τα ανοσοκατασταλτικά τους χαρακτηριστικά.⁽²²⁾

Αποδείχθηκε ότι παρουσιάζουν ανασταλτική δράση έναντι της ανάπτυξης διαφόρων καρκινικών κυτταρικών σειρών *in vitro* και της λευχαιμίας L1210 *in vivo* αλλά επιπλέον αποτελούν και σημαντικά συνθετικά ενδιάμεσα στο πεδίο των νουκλεοζιτών, λόγω της χημικής τους σταθερότητας στα διάφορα μέσα.

Χαρακτηριστικά παραδείγματα αυτών των νουκλεοζιτών, αποτελούν οι παρακάτω ενώσεις (εικόνα 14).



Εικόνα 14. Ακόρεστοι κετο -πυρανονουκλεοζίτες

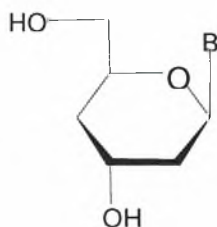
Οι έρευνες που πραγματοποιήθηκαν για να προσδιοριστεί η σχέση δομής-δράσης των ακόρεστων κετο-νουκλεοζιτών, απέδειξαν ότι μοναδική δομική απαίτηση για την εμφάνιση της αντικαρκινικής τους δράσης αποτελεί η ύπαρξη του ηλεκτρονιόφιλου $C=C-C=O$ συστήματος στο τμήμα του σακχάρου. Μία άλλη σημαντική παράμετρος που συνεισφέρει στη βιολογική σπουδαιότητα των παραπάνω μορίων αποτελεί η ύπαρξη του διπλού δεσμού στο τμήμα του σακχάρου, ο οποίος προκαλεί ακαμψία στο δακτύλιο, όμοια με αυτή ενός φουρανονουκλεοζίτη, με αποτέλεσμα να μπορούν να θεωρηθούν ως (βιο)ισοστερή των φυσικών νουκλεοζιτών και νουκλεοτιδίων.⁽²³⁾

1.6.3 Δεοξυ- πυρανονουκλεοζίτες

Μια άλλη κατηγορία πυρανονουκλεοζιτών είναι οι δεοξυ-πυρανονουκλεοζίτες. Στους δεοξυνουκλεοζίτες ένα υδροξύλιο έχει αντικατασταθεί από ένα υδρογόνο σε οποιαδήποτε θέση του σακχάρου, το οποίο ενώνεται απευθείας με την αζωτούχο βάση.

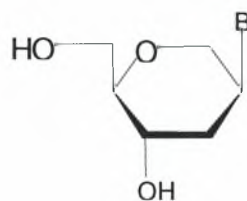
Αξιοσημείωτη είναι η αντική, αντικαρκινική καθώς και η αντιλευχαιμική δράση που εμφάνισαν ορισμένοι πουρινικοί και πυριμιδινικοί 2'-δεοξυπυρανονουκλεοζίτες⁽²⁷⁾ Μία ακόμη διαπίστωση που αυξάνει το ενδιαφέρον για τους συγκεκριμένους νουκλεοζίτες, αποτελεί το γεγονός ότι ολιγονουκλεοτίδια, τα οποία περιέχουν διάφοροι Διδεοξυ-β-D-ερυθρο-εξοπυρανονουκλεοζίτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αντινοσηματικά ολιγονουκλεοτίδια.⁽²⁴⁾

Οι 2',4'-Διδεοξυ-β-D-ερυθρο-εξοπυρανονουκλεοζίτες αποδείχθηκαν χρήσιμες δομικές μονάδες για τη σύνθεση νουκλεϊκών οξέων (ενώσεις α, εικόνα 15).⁽²⁵⁾ Επιπλέον, οι 1,5-ανυδροεξιτολο-νουκλεοζίτες εμφάνισαν αντική δράση έναντι του ιού του απλού έρπητα τύπου 1 και τύπου 2, του κυτταρομεγαλοϊού καθώς και του ιού έρπητα ζωστήρα (ενώσεις β, εικόνα 15).⁽²⁶⁾



(α)

- I: B = κυτοσίνη
- II: B = γουανίνη
- III: B = αδερίνη



(β)

- I: B = αδερίνη
- II: B = κυτοσίνη
- III: B = θυμίνη
- IV: B = γουανίνη

Εικόνα 15. Δεοξυ- πυρανονουκλεοζίτες

1.6.4 Φθοριωμένοι νουκλεοζίτες

Για να βρεθούν νέα αντικαρκινικά και αντιικά φάρμακα με μεγαλύτερη εκλεκτικότητα και λιγότερες ανοσοκατασταλτικές παρενέργειες σε σχέση με τα έως τώρα χρησιμοποιούμενα σε κλινικό επίπεδο, τα τελευταία χρόνια μελετώνται οι φθορονουκλεοζίτες.⁽²⁷⁻³¹⁾ Η εισαγωγή ενός φθορίου είτε στο τμήμα του σακχάρου είτε στη νουκλεοβάση των φουρανονουκλεοζιτών, οδηγεί σε ενώσεις, οι οποίες διαθέτουν ένα ευρύ φάσμα αντιικών και αντικαρκινικών ιδιοτήτων.⁽²⁷⁻³¹⁾

Η εισαγωγή ενός ατόμου φθορίου στο σάκχαρο των νουκλεοζιτών μεταβάλλει με διάφορους τρόπους τη βιολογική δραστηριότητα των διάφορων κυττάρων και ενζύμων, συμπεριλαμβανομένου των κινασών, DNA πολυμερασών, ριβονουκλεοτιδίων, αναγωγασών.⁽³²⁾ Η αντικατάσταση του υδρογόνου με φθόριο έχει ερευνηθεί εκτενώς στη βιοχημεία φαρμάκων και έχει διαπιστωθεί ότι ενισχύει τη βιολογική δραστηριότητα και αυξάνει την χημική ή μεταβολική σταθερότητα καθότι:

- Έχει μικρή Wan der Waals ακτίνα (1.35 Å) που μοιάζει πολύ με την ακτίνα του υδρογόνου (1.20 Å).
- Η μεγάλη ηλεκτραρνητικότητά του ενισχύει τις ιδιότητες του μορίου.
- Η αυξημένη σταθερότητα και η μεγαλύτερη ισχύς του δεσμού άνθρακα-φθορίου αναστέλλει τον μεταβολισμό με αποτέλεσμα την αύξηση του χρόνου ημιζωής του μορίου.

Αυξάνει το λιπόφιλο χαρακτήρα του μορίου διευκολύνοντας έτσι τη διαπερατότητα της διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης.

2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

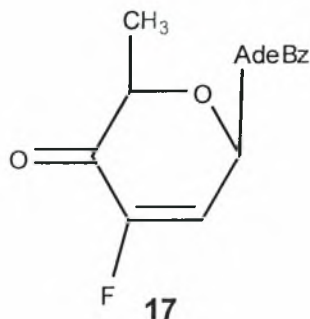
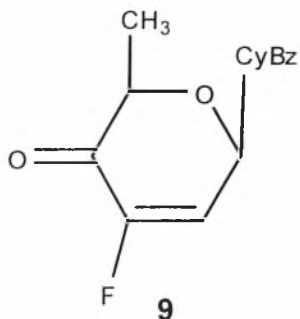
2.1 Στόχος –σκοπός μελέτης

Στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η σύνθεση και μελέτη τροποποιημένων νουκλεοζιτών 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 έχουν δείξει ότι:

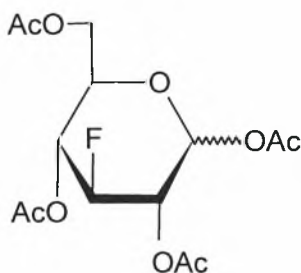
- α) η κυτοσίνη και η αδερίνη συμμετέχουν σε ένα μεγάλο αριθμό βιολογικών διεργασιών
- β) η εισαγωγή φθορίου στο σάκχαρο ενός νουκλεοζίτη έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της βιολογικής του δράσης και τέλος
- γ) τα κετοακόρεστα-πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα παρουσιάζουν ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες. Ειδικότερα από τις βιολογικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στα κετοακόρεστους νουκλεοζίτες, οι οποίοι συντέθηκαν στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, προέκυψε το συμπέρασμα ότι η ύπαρξη ενός πρωτοταγούς ελεύθερου υδροξυλίου στο σάκχαρο του νουκλεοζίτη δεν αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την εμφάνιση αντικαρκινικής και αντικής δράσης. Αντίθετα, τα νουκλεοζιτικά ανάλογα που φέρουν μία προστατευτική ομάδα στην 6'-θέση του σακχάρου, εμφανίστηκαν να είναι πιο αποτελεσματικοί αντικαρκινικοί και αντικοί παράγοντες (ref 2-8).

Λαμβάνοντας υπόψη όλα τα παραπάνω στοιχεία, θεωρήθηκε πολύ σημαντική η σύνθεση και η βιολογική αποτίμηση μιας νέας τάξης φθοριωμένων ακόρεστων κετο-πυρανονουκλεοζιτών που θα φέρουν την N^6 -βενζοϋλοαδερίνη ή την N^4 -βενζοϋλοκυτοσίνη ως ετεροκυκλική βάση, δεοξυ στη θέση 6', φθόριο στη θέση 3', κετονομάδα στη θέση 4' και διπλό δεσμό στις θέσεις 2',3' του σακχάρου, ενώσεις 9 και 17 (σχήμα 1).



Σχήμα 1 Ενώσεις 1-(2',6'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζύλο-4'-ουλοζο)-N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (**9**) και 9-(2',6'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζύλο-4'-ουλοζο)-N⁶-βενζοϋλοαδενίνη (**17**)

Για να επιτευχθεί η σύνθεση των επιθυμητών δεοξυφθοροκετονουκλεοζιτικών αναλόγων, απαραίτητη προϋπόθεση αποτελεί η σύνθεση του σακχάρου, 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2,4,6-τετρα-O-ακετυλογλυκοπυρανόζη. Το σάκχαρο αυτό αποτελεί το σύνθονο, το οποίο μετά από μία σειρά διαδοχικών αντιδράσεων, θα οδηγήσει στα επιθυμητά νουκλεοζιτικά παράγωγα.

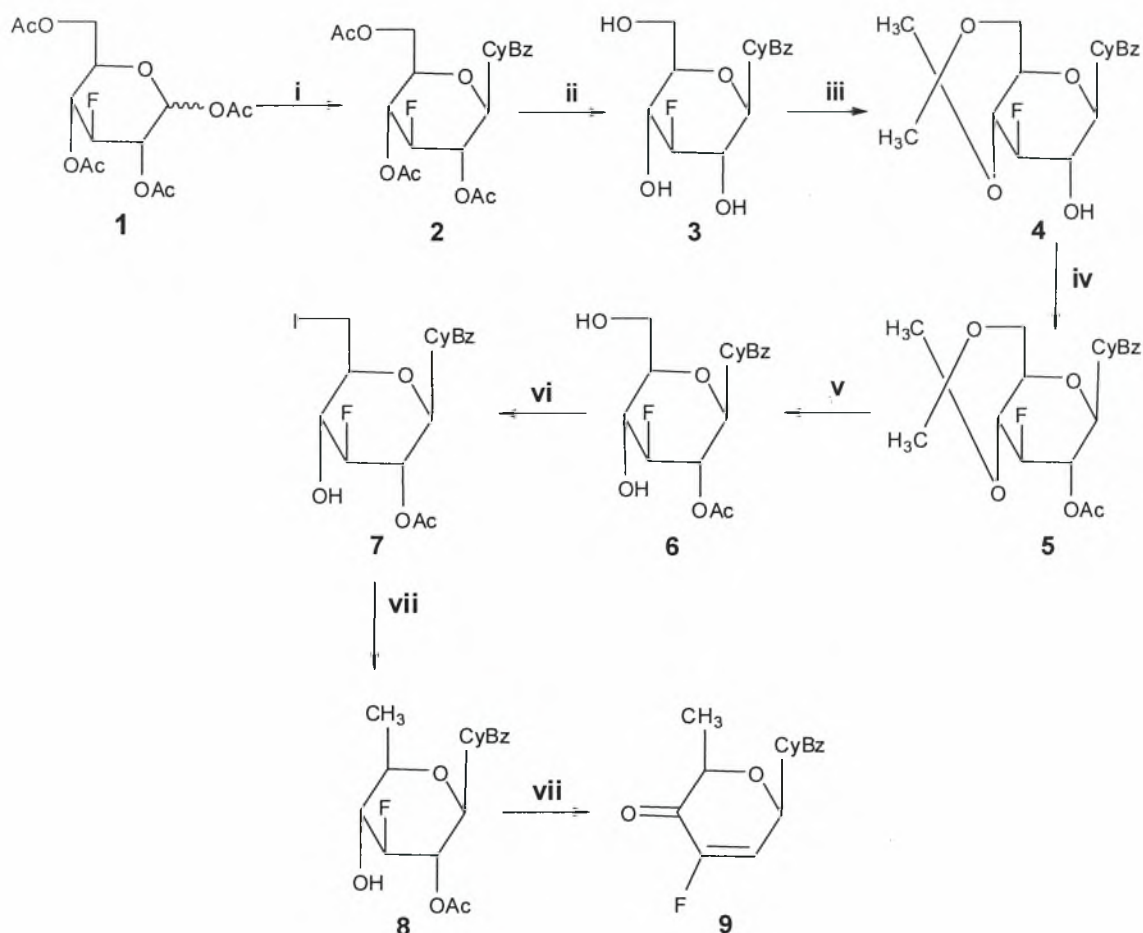


Ac = Ακετύλιο

Θα πρέπει να τονιστεί ότι στην περίπτωση των κετονουκλεοζιτών που θα συντεθούν στην παρούσα εργασία, η εισαγωγή της κετόνης ως λειτουργικής ομάδας στο γλυκοζιτικό τμήμα δεν μπορεί να γίνει παρά μόνο μετά το σχηματισμό των κατάλληλων νουκλεοζιτών. Αυτό συμβαίνει διότι η συμπύκνωση ενός σακχάρου, που διαθέτει μια κετονομάδα, με μια ετεροκυκλική βάση έχει αποδειχθεί αδύνατη, καθώς προκαλούνται αμετάβλητα αντιδράσεις β-απόσπασης που οδηγούν σε ακόρεστες δομές. Η ένωση **1** παρασκευάστηκε στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας από τη διδάσκουσα Π.Δ. 407/80 κ. Μαντά Στυλιανή.

2.2 Μεθοδολογία σύνθεσης

Σύνθεση της 1-(2',6'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης



Εικόνα 16. Μεθοδολογία σύνθεσης της 1-(2',6'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης: (i) N⁴-CyBz/HMDS/CH₃CN/Me₃SiOSO₂CF₃ (ii) EtOH/pyridine, NaOH, Amberlite IR-120 (H⁺) (iii) (CH₃)₂C(OCH₃)₂ DMF, p-TSOH (iv) Ac₂O, pyridine (v) 90% TFA σε μεθανόλη (vi) μιδαζόλιο, Ph₃P, THF, I₂ (vii) 10% PDC, H₂, EtOH, AcOEt, Et₃N (viii) Ac₂O, DMSO

Την πρώτη ύλη για τη συνθετική μας πορεία αποτελεί το σάκχαρο 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2,4,6-τετρα-O-ακετυλογλυκοπυρανόζη (**1**). Ακολουθεί σύζευξη της **1** με τη βάση N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη παρουσία του διαλύτη ακετονιτρίλιο (CH₃CN), του hexamethyldisilazane (HMDS) καθώς και της σακχαρίνης, η δράση των οποίων έγκειται στη σιλιλίωση της βάσης, και του τριφθορομεθανοσουλφονικού τριμεθυλοσιλυλεστρα

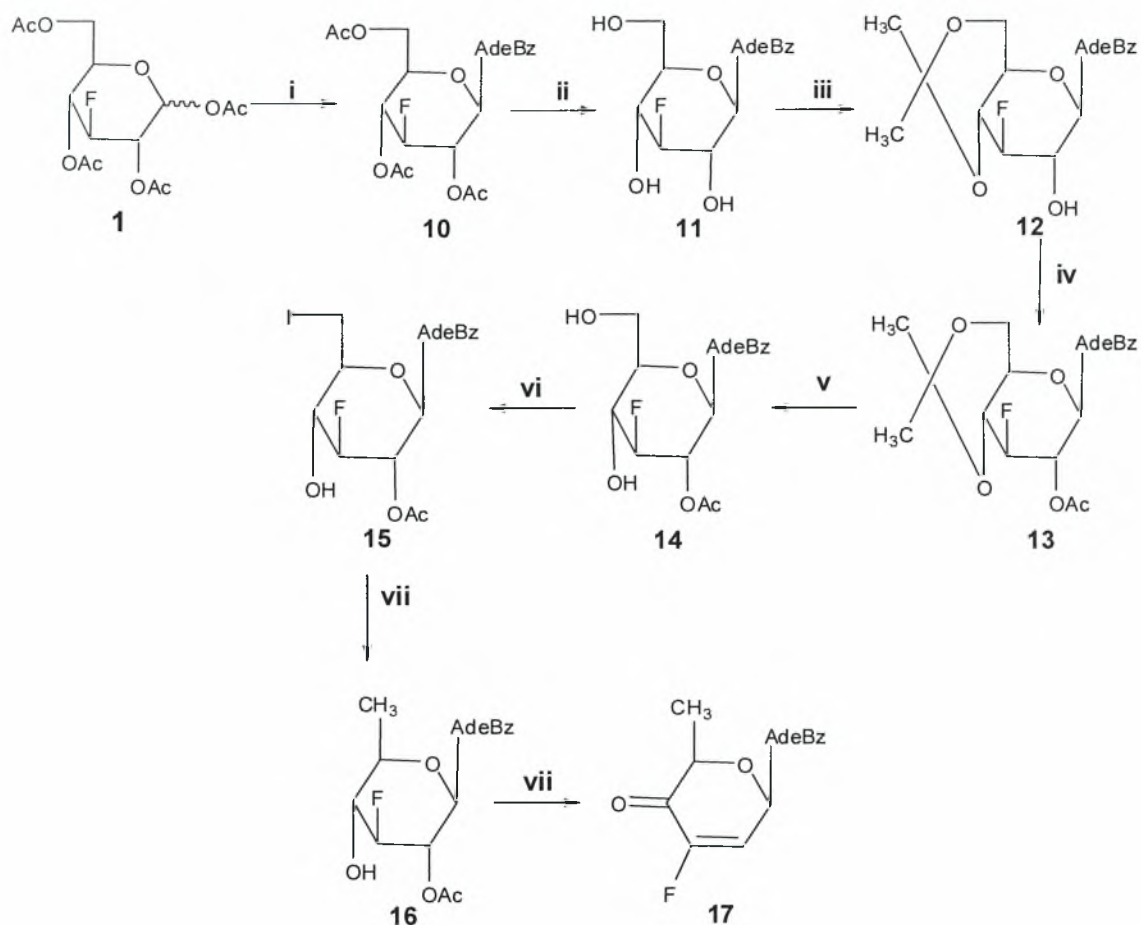
(Me₃SiOSO₂CF₃), δίνοντας τελικά το πλήρως προστατευμένο φθορονουκλεοζίτη 1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4',6'-τρις-*O*-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-*N*⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (2). Ακολουθεί απακετυλίωση του νουκλεοζίτη 2 και παραγωγή της 1-(3',4'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-*N*⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης (3).

Η επόμενη αντίδραση αυτής της πορείας περιλαμβάνει την εκλεκτική προστασία των υδροξυλίων στις 4'- και 6'-θέσεις του σακχάρου του φθοριωμένου νουκλεοζίτη 3 με μία ισοπροπυλιδενική ομάδα. Η αντίδραση πραγματοποιείται με τη χρήση του 2,2-διμεθοξυπροπανίου [(CH₃)₂C(OCH₃)₂] και του *p*-τολουολοσουλφονικού οξέος (*p*-TsOH) ως καταλύτη, σε διαλύτη DMF, οπότε παράγεται η 1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-4',6'-*O*-ισοπροπυλιδενο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-*N*⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (4).

Ακολουθεί ακετυλίωση του ελεύθερου υδροξυλίου στη 2'-θέση της ένωσης 4, η οποία πραγματοποιείται παρουσία Ac₂O σε πυριδίνη, οδηγώντας έτσι στην 1-(2'-*O*-Ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-4',6'-*O*-ισοπροπυλιδενο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-*N*⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (5). Στη συνέχεια το προϊόν 5 κατεργάζεται με διάλυμα 90% τριφθοροξικού οξέος (TFA) σε μεθανόλη (CH₃OH) με αποτέλεσμα τη διάνοιξη της ισοπροπυλιδενικής ομάδας και τη δημιουργία του μερικώς ακετυλιωμένου νουκλεοζίτη 6. Ακολουθεί εκλεκτική ιωδίωση της ένωσης 6 με χρήση ιμιδαζολίου, Ph₃P και I₂ σε THF, με αποτέλεσμα τη σύνθεση του ίωδο-παραγώγου 7. Υδρογόνωση της ένωσης 7, με τη βοήθεια παλλαδίου σε άνθρακα 10% έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία του μερικώς ακετυλιωμένου δεοξυ νουκλεοζίτη 1-(2'-*O*-Ακετυλο-3',6'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-*N*⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (8).

Το τελικό στάδιο της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την οξειδωση του ελεύθερου υδροξυλίου στη 4'-θέση του σακχάρου της ένωσης 8, η οποία πραγματοποιείται μέσω αντίδρασης με ένα μίγμα Ac₂O-DMSO στους 100 °C, οπότε παράγεται, μετά από μια αντίδραση β-απόσπασης, η επιθυμητή τελική ένωση, 1-(2',6'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-*N*⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (9).

Σύνθεση της 9-(2',6'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N⁶-βενζοϋλοαδενίνης



Εικόνα 17. Μεθοδολογία σύνθεσης της 9-(2',6'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N⁶-βενζοϋλοαδενίνης: **(i)** N⁶-AdeBz/HMDS/CH₃CN, SnCl₄ **(ii)** EtOH/pyridine, NaOH, Amberlite IR-120 (H⁺) **(iii)** (CH₃)₂C(OCH₃)₂ DMF, p-TSOH **(iv)** Ac₂O, pyridine **(v)** 90% TFA σε μεθανόλη **(vi)** ιμιδαζόλιο, Ph₃P, THF, I₂ **(vii)** 10% PDC, H₂, EtOH, AcOEt, Et₃N **(viii)** Ac₂O, DMSO

Την πρώτη ύλη για τη συνθετική μας πορεία αποτελεί το σάκχαρο 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2,4,6-τετρα-Ο-ακετυλογλυκοπυρανόζη (**1**). Ακολουθεί σύζευξη της **1** με τη βάση N⁶-βενζοϋλοαδενίνη παρουσία του διαλύτη ακετονιτρίλιο (CH₃CN), του hexamethyldisilazane (HMDS) καθώς και της σακχαρίνης, η δράση των οποίων έγκειται στη σιλιλίωση της βάσης, και του χλωριούχου κασσίτερου (SnCl₄), δίνοντας τελικά τον πλήρως προστατευμένο φθορονουκλεοζίτη 9-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4',6'-τρις-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N⁶-βενζοϋλοαδενίνη (**10**).

Ακολουθεί εκλεκτική αποπροστασία του νουκλεοζίτη **10** και παραγωγή του βενζοϋλιωμένου νουκλεοζίτη 9-(3',4'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N⁶-βενζοϋλοαδενίνη (**11**).

Η επόμενη αντίδραση αυτής της πορείας περιλαμβάνει την εκλεκτική προστασία των υδροξυλίων στις 4'- και 6'-θέσεις του σακχάρου του φθοριωμένου νουκλεοζίτη **11** με μία ισοπροπυλιδενική ομάδα. Η αντίδραση πραγματοποιείται με τη χρήση του 2,2-διμεθοξυπροπανίου [(CH₃)₂C(OCH₃)₂] και του *p*-τολουολοσουλφονικού οξέος (*p*-TsOH) ως καταλύτη, σε διαλύτη DMF, οπότε παράγεται η 9-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-4',6'-*O*-ισοπροπυλιδενο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-*N*⁶-βενζοϋλοαδενίνη **12**.

Ακολουθεί ακετυλίωση του ελεύθερου υδροξυλίου στη 2'-θέση της ένωσης **12**, η οποία πραγματοποιείται παρουσία Ac₂O σε πυριδίνη, οδηγώντας έτσι στην 9-(2'-*O*-Ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-4',6'-*O*-ισοπροπυλιδενο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-*N*⁶-βενζοϋλοαδενίνη (**13**). Στη συνέχεια το προϊόν **13** κατεργάζεται με διάλυμα 90% τριφθοροξικού οξέος (TFA) σε μεθανόλη (CH₃OH) με αποτέλεσμα τη διάνοιξη της ισοπροπυλιδενικής ομάδας και τη δημιουργία του μερικώς ακετυλιωμένου νουκλεοζίτη **14**.

Ακολουθεί εκλεκτική ιωδίωση της ένωσης **14** με χρήση ιμιδαζολίου, Ph₃P και I₂ σε THF, με αποτέλεσμα τη σύνθεση του ίωδο-παραγώγου **15**. Υδρογόνωση της ένωσης **15**, με τη βοήθεια παλλαδίου σε άνθρακα 10% έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία του μερικώς ακετυλιωμένου δεοξυ νουκλεοζίτη 9-(2'-*O*-Ακετυλο-3',6'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-*N*⁶-βενζοϋλοαδενίνη (**16**).

Το τελικό στάδιο της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την οξείδωση του ελεύθερου υδροξυλίου στη 4'-θέση του σακχάρου της ένωσης **16**, η οποία πραγματοποιείται μέσω αντίδρασης με ένα μίγμα Ac₂O-DMSO στους 100 °C, οπότε παράγεται, μετά από μια αντίδραση β-απόσπασης, η επιθυμητή τελική ένωση, 9-(2',6'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-*N*⁶-βενζοϋλοαδενίνη (**17**).

3. Γενικές μέθοδοι

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 θειϊκού οξέος 30% και θέρμανση στους 120 °C.

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

Τα συστήματα που χρησιμοποιούνται είναι τα εξής:

- Διάλυμα Α : οξικός αιθυλεστέρας
- Διάλυμα Β : οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 80/20
- Διάλυμα Γ : οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 90/10
- Διάλυμα Δ : οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 70/30
- Διάλυμα Ε : οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 60/40

Χρωματογραφία στήλης

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

- Διάλυμα Α : οξικός αιθυλεστέρας
- Διάλυμα Β : οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 80/20
- Διάλυμα Γ : οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 90/10
- Διάλυμα Δ : οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 70/30
- Διάλυμα Ε : οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 60/40

Φάσματα NMR

Τα φάσματα NMR καταγράφηκαν στα 500 MHz σε φασματογράφο Bruker DRX 500 ως διαλύματα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3) ή σε δευτεριωμένη μεθανόλη (CD_3OD). Οι χημικές μετατοπίσεις αναφέρονται ως προς το τετραμεθυλοσιλάνιο (TMS) για το ^1H , ενώ οι σταθερές J στρογγυλοποιήθηκαν στην πλησιέστερη ημιακέραιη τιμή.

Ξήρανση διαλυτών

Οι αντιδράσεις που περιλάμβαναν 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 4\AA , όπου και αποθηκεύτηκε. Το CH_3CN , το τολουόλιο και το DMF αποστάχθηκαν παρουσία υδριδίου του ασβεστίου και το απόσταγμα συλλέχθηκε σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 3\AA , όπου και αποθηκεύτηκε. Η πυριδίνη αποστάχθηκε παρουσία υδροξειδίου του καλίου και το απόσταγμα συλλέχθηκε σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 4\AA , όπου και αποθηκεύτηκε. Το THF αποστάχθηκε από νάτριο/βενζοφαινόνη, αμέσως πριν από τη χρήση. Τέλος, το DMSO αποθηκεύτηκε σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 3\AA .

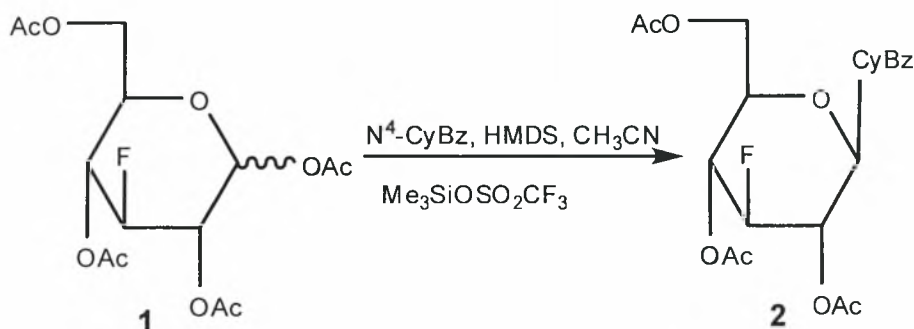
Εξάτμιση διαλυτών

Οι εξατμίσεις των διαλυτών πραγματοποιήθηκαν υπό κενό (20 mm) με τη βοήθεια περιστροφικής συσκευής εξάτμισης.

4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

4.1 Σύνθεση της ένωσης 1-(2',6'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης (9)

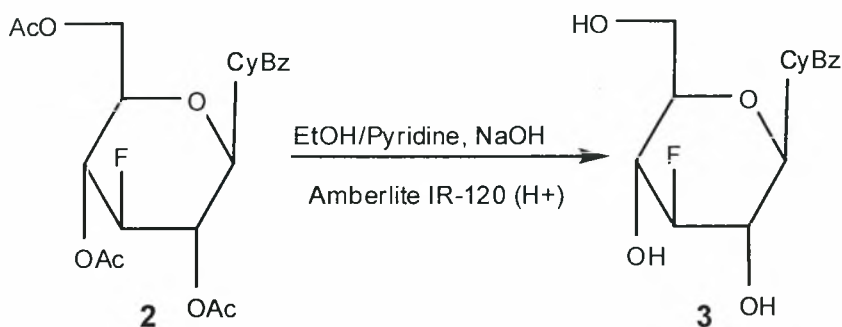
1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4',6'-τρις-O-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (2)



Ένα διάλυμα της N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης (3.99 g, 18.55 mmol), του HMDS (4.8 mL, 23 mmol) και της σακχαρίνης (0.16 g, 0.85 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (69 mL), θερμάνθηκε με κάθετο ψυκτήρα για 30 λεπτά και αφότου το μίγμα έγινε διαυγές προστέθηκε η τετρακετυλιωμένη 3-δεοξυ-3-φθορογλυκοπυρανόζη (1) (5.00 g, 14.27 mmol) καθώς και ο Me₃SiOSO₂CF₃ (1.65 mL, 9.13 mmol). Η ένωση 1 παρασκευάστηκε στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας. Η αντίδραση ολοκληρώθηκε στις 5 ώρες (TLC) με θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα στους 120 °C. Στη συνέχεια το μίγμα της αντίδρασης αφέθηκε να κρυώσει, εξουδετερώθηκε με κορεσμένο διάλυμα NaHCO₃, αραιώθηκε με διχλωρομεθάνιο (1000 mL) και εκχυλίστηκε μία φορά με νερό (1 x 20 mL). Κατόπιν, η οργανική φάση ξηράθηκε με άνυδρο Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό κενό. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλυσης το διάλυμα B. Το επιθυμητό προϊόν 2 (4.90 g) ελήφθη υπό τη μορφή λευκού αφρού.

TLC (Διάλυμα B)	R _f = 0.35
Απόδοση	68%

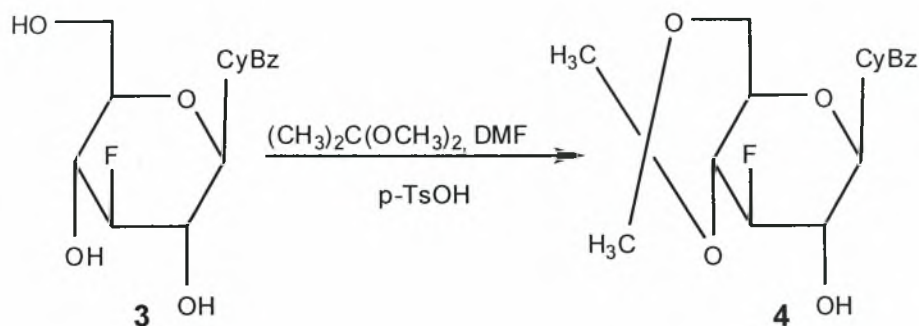
1-(3',4'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (3)



Η εκλεκτική αποπροστασία της ένωσης **2** πραγματοποιείται με τη χρήση υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) σε αιθανόλη (EtOH)-πυριδίνη. Η απακετυλίωση του νουκλεοζίτη **2** λαμβάνει χώρα υπό ήπιες συνθήκες και συγκεκριμένα 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. Το προϊόν **2** (4.90 g, 9.7 mmol) διαλύθηκε σε EtOH-πυριδίνη (97 + 29.1 mL), NaOH 2M (19.4 mL) προστέθηκε και το μίγμα αναδεύτηκε για 30 λεπτά στους 0 °C. Στη συνέχεια προστέθηκε ρητίνη Amberlite IR-120 (H⁺) για να εξουδετερώσει τη βάση. Το διάλυμα διηθήθηκε, η ρητίνη πλύθηκε με EtOH και πυριδίνη (100 + 100 mL) και από το διήθημα απομακρύνθηκαν οι διαλύτες υπό κενό. Το στερεό υπόλειμμα κατεργάστηκε με (CH₃CH₂)₂O (2 x 30 mL) και με διχλωρομεθάνιο (2 x 30 mL) και διηθήθηκε. Το επιθυμητό προϊόν **3** (3.31 g) ελήφθη υπό τη μορφή υποκίτρινου αφρώδους στερεού και χρησιμοποιήθηκε στο επόμενο στάδιο χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

TLC (Διάλυμα Δ)	R _f = 0.28
Απόδοση	90%

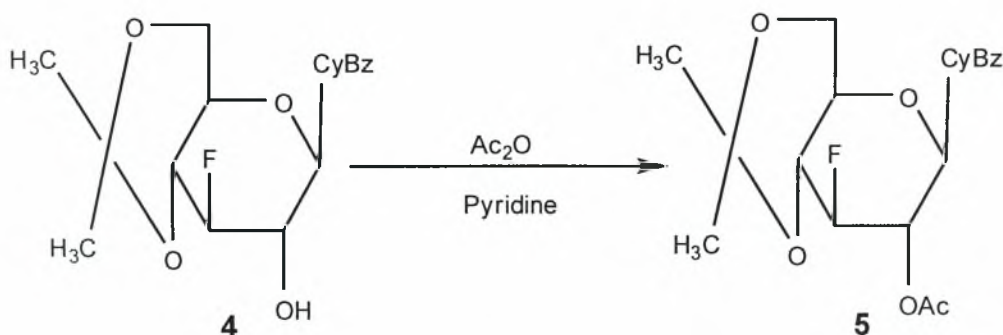
1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-4',6'-*O*-ισοπροπυλιδενο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-*N*⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (4)



Έπειτα από την απακετυλίωση του νουκλεοζίτη **2** ακολουθεί η εκλεκτική προστασία των δύο από τα τρία ελεύθερα υδροξύλια του μορίου **3**. Συγκεκριμένα, τα υδροξύλια στις 4'- και 6'-θέσεις του σακχάρου προστατεύονται με μία ισοπροπυλιδενική ομάδα. 3.31 g του προϊόντος **3** (8.73 mmol) διαλύθηκαν σε ένα μίγμα αποτελούμενο από 34.92 mL $(\text{CH}_3)_2\text{C}(\text{OCH}_3)_2$ και 110.4 mL άνυδρο DMF. Σε αυτό το διάλυμα προστέθηκε *p*-TsOH (33 mg, 1.75 mmol) και το μίγμα αναδεύτηκε στους 60 °C για 1 ώρα. Το μίγμα της αντίδρασης εξουδετερώθηκε με τριαιθυλαμίνη έτσι ώστε το pH να μην υπερβεί το 7. Στη συνέχεια από το μίγμα απομακρύνθηκαν οι διαλύτες υπό υψηλό κενό. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Γ και το επιθυμητό προϊόν **4** (2.93 g) ελήφθη υπό τη μορφή υποκίτρινου παχύρευστου ελαίου.

TLC (Διάλυμα Γ)	$R_f = 0.33$
Απόδοση	80%

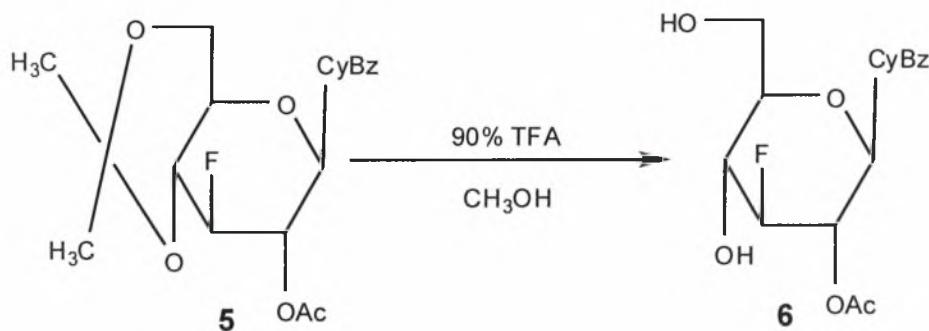
1-(2'-*O*-Ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-4',6'-*O*-ισοπροπυλιδενο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-*N*⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (5)



Ακετυλίωση του ελεύθερου υδροξυλίου στη 2'-θέση του σακχάρου του νουκλεοσιδικού αναλόγου **4** παρουσίας Ac_2O σε πυριδίνη, οδηγεί στο επιθυμητό ακετυλιωμένο παράγωγο **5**. Σε διάλυμα της ένωσης **4** (2.93 g, 6.99 mmol) σε άνυδρη πυριδίνη (35 mL) προστέθηκε Ac_2O (0.59 mL, 6.29 mmol) και το προκύπτον μίγμα αφέθηκε υπό συνεχή ανάδευση για μία νύχτα στους 4°C . Στη συνέχεια προστέθηκε μεθανόλη (0.3 mL) για να ανακόψει την αντίδραση και οι διαλύτες απομακρύνθηκαν υπό κενό. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Δ και το επιθυμητό προϊόν **5** (2.87 g) ελήφθη υπό τη μορφή κίτρινου παχύρευστου ελαίου.

TLC (Διάλυμα Δ)	$R_f = 0.36$
Απόδοση	89%

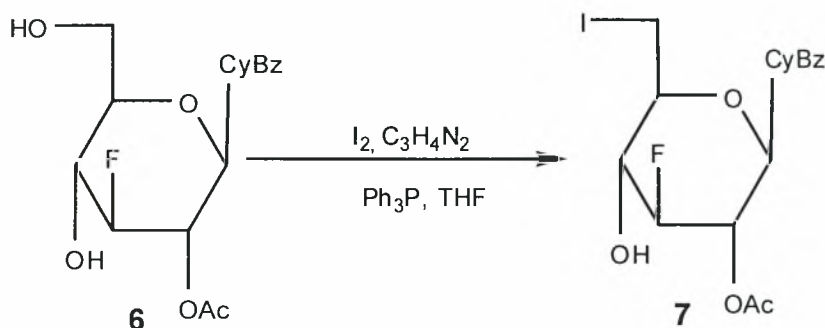
1-(2'-O-Ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη
(6)



Η απομάκρυνση της ισοπροπυλιδενικής ομάδας από το παράγωγο **5**, επιτυγχάνεται με κατεργασία με διάλυμα 90% TFA σε μεθανόλη, οπότε προκύπτει το νουκλεοσιδικό ανάλογο **6**. Το προϊόν **5** (2.87 g, 6.22 mmol), που λήφθηκε από την προηγούμενη αντίδραση, διαλύθηκε σε 31.1 mL 90% TFA σε μεθανόλη. Το διάλυμα αναδεύτηκε για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και στη συνέχεια απομακρύνθηκε η μεθανόλη υπό υψηλό κενό ώστε να απομακρυνθούν και τα ίχνη του TFA. Έπειτα ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Α και το επιθυμητό προϊόν **6** (2.36 g) ελήφθη υπό τη μορφή άχρωμου παχύρευστου ελαίου.

TLC (Διάλυμα Α)	R _f = 0.30
Απόδοση	90%

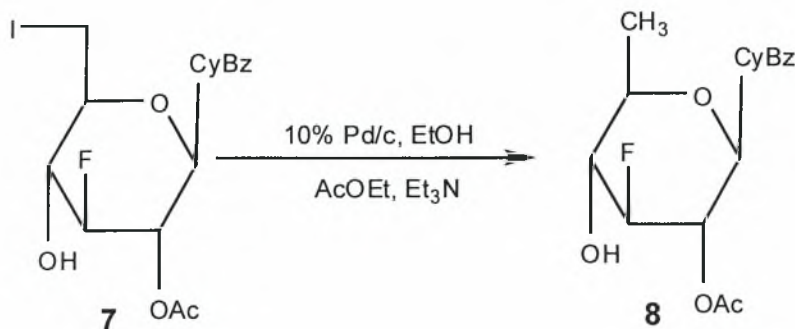
1-(2'-*O*-Ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-6'-ιωδο-β-*D*-γλυκοπυρανοζύλο)-*N*⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (7)



Η συνθετική πορεία περιλαμβάνει την αντίδραση του μερικώς προστατευμένου νουκλεοζιτικού αναλόγου **6** με ιμιδαζόλιο (C₃H₄N₂), τριφαινυλοφωσφίνη (Ph₃P) και ιώδιο σε τετραϋδροφουράνιο (THF), οδηγώντας στο 6'-ιωδιωμένο νουκλεοζιτικό παράγωγο της κυτοσίνης **7**. Σε διάλυμα της ένωσης **6** (1.0 g, 2.37 mmol) σε άνυδρο THF (18.5 mL), προστέθηκε ιμιδαζόλιο (0.32 g, 4.74 mmol), Ph₃P (0.93 g, 3.56 mmol) και ιώδιο (0.90 g, 3.56 mmol). Το διάλυμα θερμάνθηκε με κάθετο ψυκτήρα στους 80 °C για μία ώρα. Μετά το πέρας της αντίδρασης το μίγμα διηθήθηκε ούτως ώστε να ελλατωθεί η ποσότητα του σχηματιζόμενου οξειδίου της Ph₃P και από το διήθημα απομακρύνθηκε ο διαλύτης υπό κενό. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Δ και το επιθυμητό προϊόν **7** (0.78 g) ελήφθη υπό τη μορφή άχρωμου παχύρευστου ελαίου.

TLC (Διάλυμα Δ)	R _f = 0.28
Απόδοση	62%

1-(2'-*O*-Ακετυλο-3',6'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-*N*⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (8)



Στη συνέχεια πραγματοποιείται υδρογόνωση του **7**, με τη βοήθεια παλλαδίου σε άνθρακα 10%, με αποτέλεσμα να ληφθεί ο 6'-δεοξυ νουκλεοζίτης της *N*⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης **8**.

Σε διάλυμα της ένωσης **7** (0.78 g, 1.47 mmol) σε EtOH (45.2 mL) και οξικό αιθυλεστέρα (45.2 mL) προστέθηκε τριαιθυλαμίνη (0.41 mL, 2.94 mmol) και παλλάδιο σε άνθρακα 10% (0.20 g). Το διάλυμα υδρογονώθηκε για μία νύχτα. Την επόμενη μέρα το μίγμα διηθήθηκε και από το διήθημα απομακρύνθηκαν οι διαλύτες υπό κενό. Πραγματοποιήθηκε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Δ και το επιθυμητό προϊόν **8** (0.33 g) ελήφθη υπό τη μορφή υποκίτρινου αφρώδους στερεού.

TLC (Διάλυμα Δ)	R _f = 0.32
Απόδοση	55%

1-(2',6'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (9)

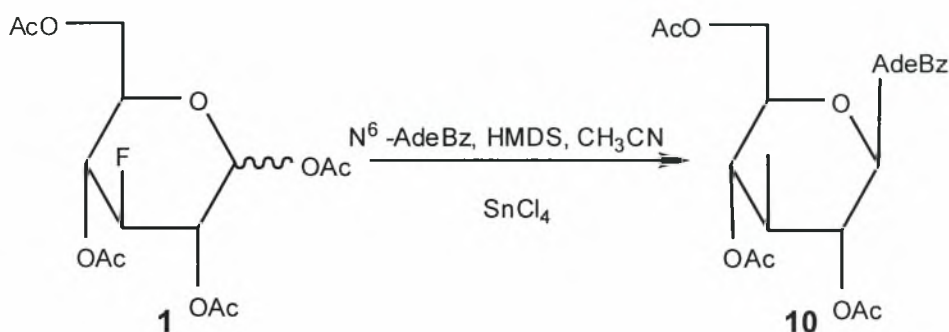


Το τελευταίο στάδιο της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την οξείδωση της 6'-δεοξυ-φθοριωμένης ακετυλιωμένης πρόδρομης ενώσης **8**, η οποία πραγματοποιείται με αντίδραση ενός μίγματος Ac₂O-διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO) στους 100 °C, οπότε παράγεται, μετά από μια αντίδραση β-απόσπασης, η επιθυμητή ακόρεστη καρβονυλική ένωση, 1-(2',6'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (**9**). Σε διάλυμα της ένωσης **8** (0.33 g, 0.81 mmol) σε άνυδρο DMSO (3.96 mL) προστέθηκε Ac₂O (1.99 mL, 21.06 mmol). Το μίγμα θερμάνθηκε στους 100 °C για 10 λεπτά και στη συνέχεια αραιώθηκε με οξικό αιθυλεστέρα και εκχυλίστηκε μία φορά με νερό. Κατόπιν, η οργανική φάση ξηράθηκε με άνυδρο Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό κενό. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα B και το επιθυμητό προϊόν **9** (0.14 g) ελήφθη υπό τη μορφή κίτρινου παχύρευστου ελαίου.

TLC (Διάλυμα B)	R _f = 0.36
Απόδοση	50%

4.2 Σύνθεση της ένωσης 9-(2',6'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N⁶-βενζοϋλοαδενίνης (17)

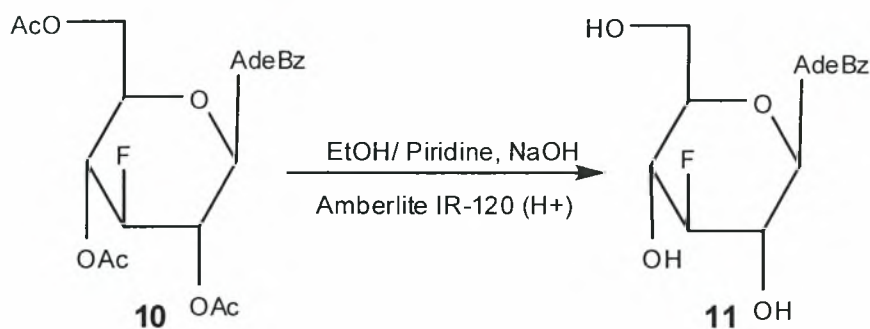
9-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4',6'-τρις-O-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N⁶-βενζοϋλοαδενίνη (10)



Ένα διάλυμα της N⁶-βενζοϋλοαδενίνης (4.44 g, 18.55 mmol), του HMDS (4.8 mL, 23 mmol) και της σακχαρίνης (0.16 g, 0.85 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (69 mL), θερμάνθηκε με κάθετο ψυκτήρα για 30 λεπτά και αφότου το μίγμα έγινε διαυγές προστέθηκε η τετρακετυλιωμένη 3-δεοξυ-3-φθορογλυκόζη (**1**) (5.00 g, 14.27 mmol) καθώς και ο SnCl₄ (1.65 mL, 9.13 mmol). Η αντίδραση ολοκληρώθηκε στις 5 ώρες (TLC), με θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα στους 100 °C. Στη συνέχεια το μίγμα της αντίδρασης αφέθηκε να κρυώσει, εξουδετερώθηκε με κορεσμένο διάλυμα NaHCO₃, αραιώθηκε με διχλωρομεθάνιο (1000 mL) και εκχυλίστηκε μία φορά με νερό (1 x 20 mL). Κατόπιν, η οργανική φάση ξηράθηκε με άνυδρο Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό κενό. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Β. Το επιθυμητό προϊόν **10** (4.53 g) ελήφθη υπό τη μορφή κίτρινου αφρού.

TLC (Διάλυμα Β)	R _f = 0.33
Απόδοση	60%

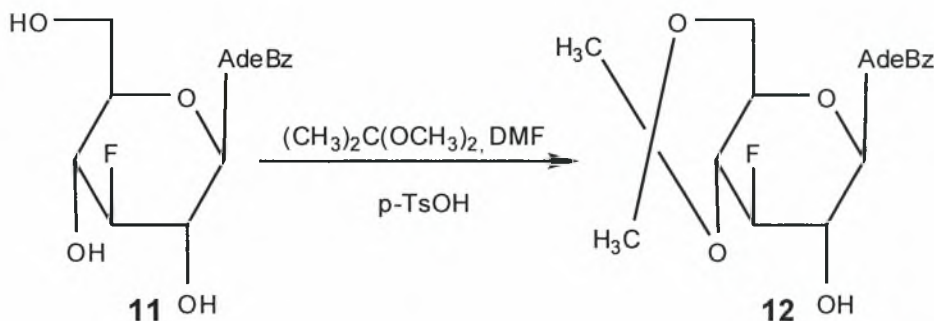
9-(3',4'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-N⁶-βενζοϋλοαδενίνη (11)



Το παράγωγο της αδενίνης **11** συντέθηκε από το **10** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για το **3**. Το επιθυμητό προϊόν **11** (3.04 g) ελήφθη υπό τη μορφή υποκίτρινου αφρώδους στερεού και χρησιμοποιήθηκε στο επόμενο στάδιο χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

TLC (Διάλυμα Β)	R _f = 0.30
Απόδοση	88%

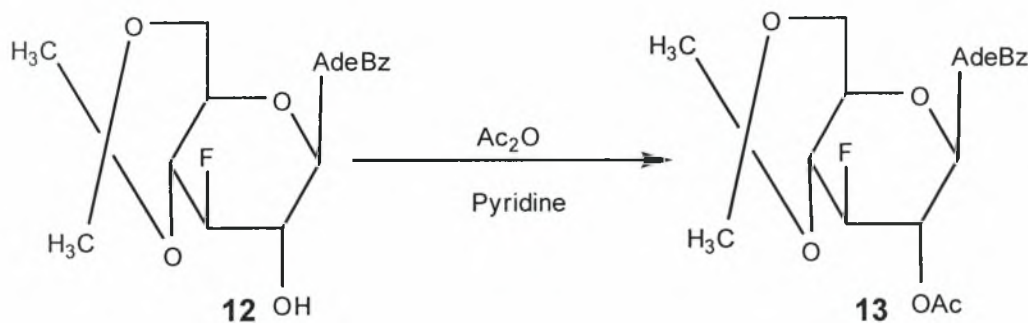
9-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-4',6'-O-ισοπροπυλιδενο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-N⁶-βενζοϋλοαδενίνη (12)



Το παράγωγο της αδενίνης **12** συντέθηκε από το **11** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **4**. Ο καθαρισμός του υπολείμματος πραγματοποιήθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Α και το επιθυμητό προϊόν **12** (2.54 g) ελήφθη υπό τη μορφή υποκίτρινου παχύρευστου ελαίου.

TLC (Διάλυμα Α)	R _f = 0.29
Απόδοση	76%

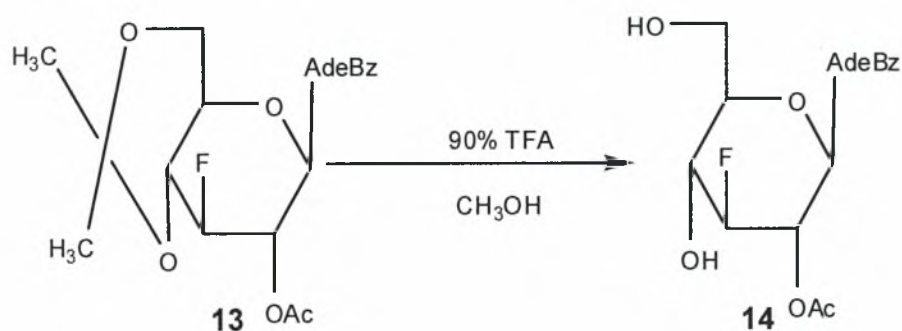
9-(2'-*O*-Ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-4',6'-*O*-ισοπροπυλιδενο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-*N*⁶-βενζοϋλοαδενίνη (13)



Το παράγωγο της αδενίνης **13** συντέθηκε από το **12** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **5**. Ο καθαρισμός του υπολείμματος πραγματοποιήθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα E και το επιθυμητό προϊόν **13** (2.22 g) ελήφθη υπό τη μορφή υποκίτρινου αφρώδους στερεού.

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

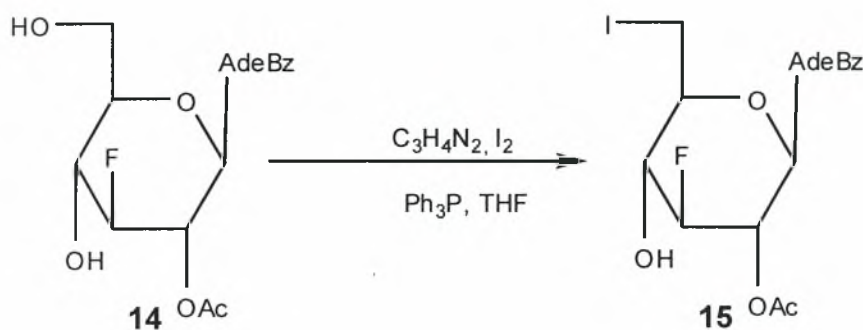
9-(2'-*O*-Ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-*N*⁶-βενζοϋλοαδενίνη (14)



Το παράγωγο της αδενίνης **14** συντέθηκε από το **13** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **6**. Ο καθαρισμός του υπολείμματος πραγματοποιήθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα A και το επιθυμητό προϊόν **14** (1.83 g) ελήφθη υπό τη μορφή άχρωμου παχύρευστου ελαίου.

TLC (Διάλυμα Α)	R _f = 0.33
Απόδοση	90%

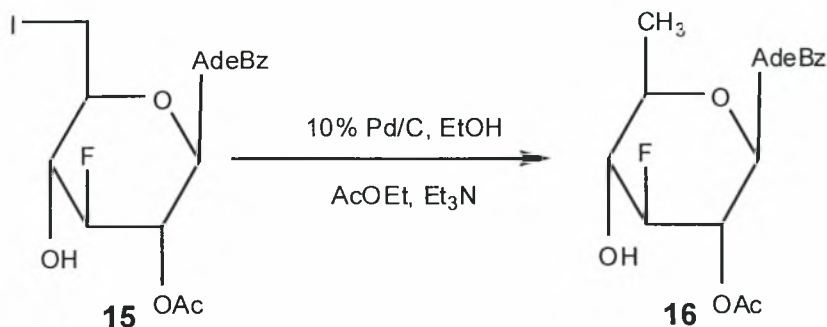
9-(2'-*O*-Ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-6'-ιωδο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N⁶-βενζοϋλοαδενίνη (15)



Το παράγωγο της αδενίνης **15** συντέθηκε από την ένωση **14** (1.0 g, 2.25 mmol) με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **7**. Ο καθαρισμός του υπολείμματος πραγματοποιήθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Δ και το επιθυμητό προϊόν **15** (0.81 g) ελήφθη υπό τη μορφή λευκής σκόνης.

TLC (Διάλυμα Δ)	R _f = 0.28
Απόδοση	65%

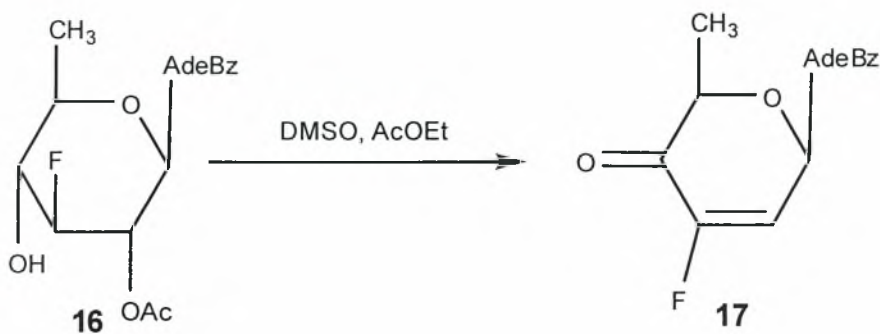
9-(2'-*O*-Ακετυλο-3',6'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-*N*⁶-βενζοϋλοαδενίνη (16)



Το παράγωγο της αδενίνης **16** συντέθηκε από την ένωση **15** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **8**. Ο καθαρισμός του υπολείμματος πραγματοποιήθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Δ και το επιθυμητό προϊόν **16** (0.44 g) ελήφθη υπό τη μορφή άχρωμου παχύρευστου ελαίου.

TLC (Διάλυμα Δ)	R _f = 0.34
Απόδοση	70%

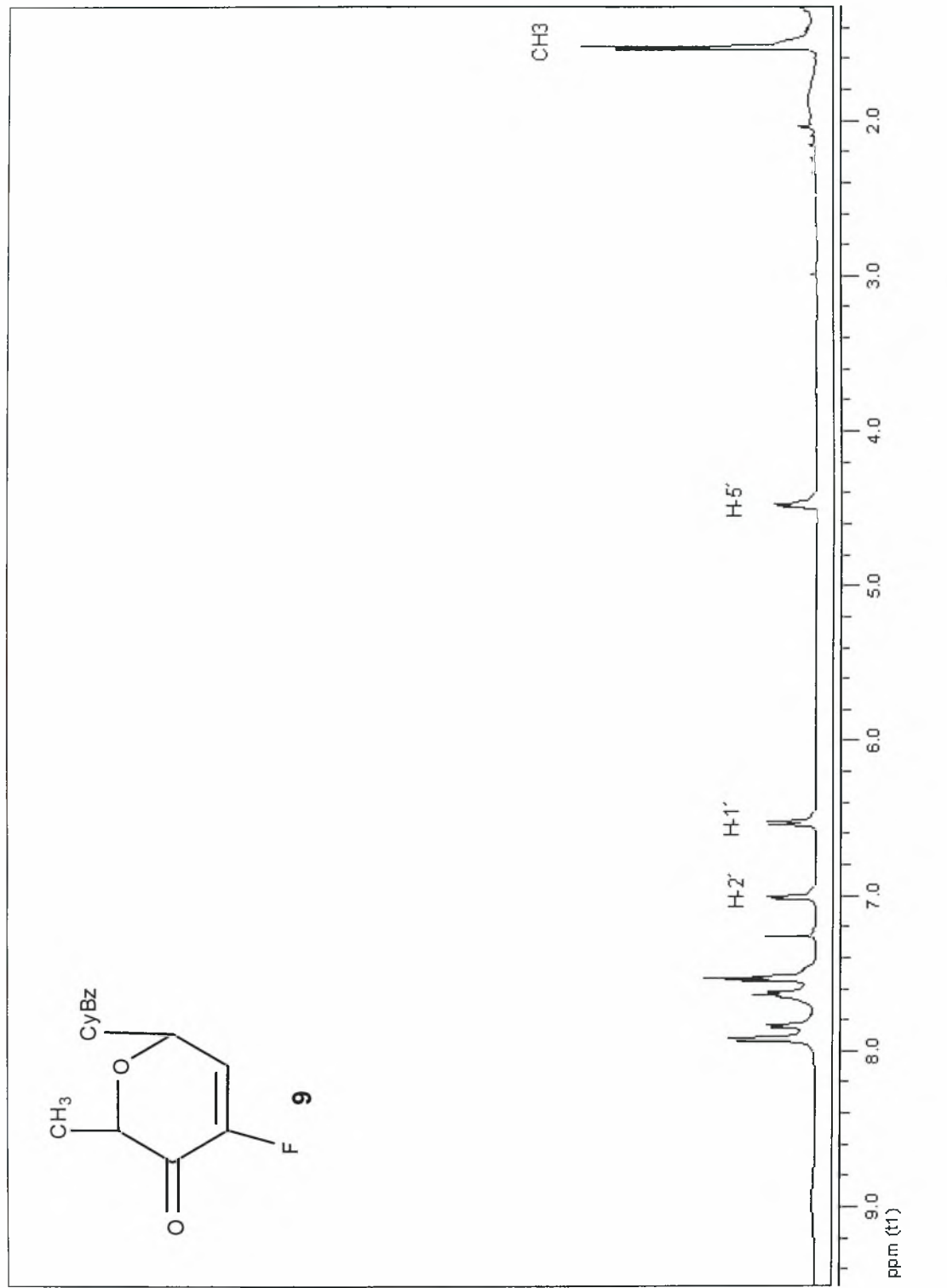
9-(2',6'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N⁶-βενζοϋλοαδενίνη (17)



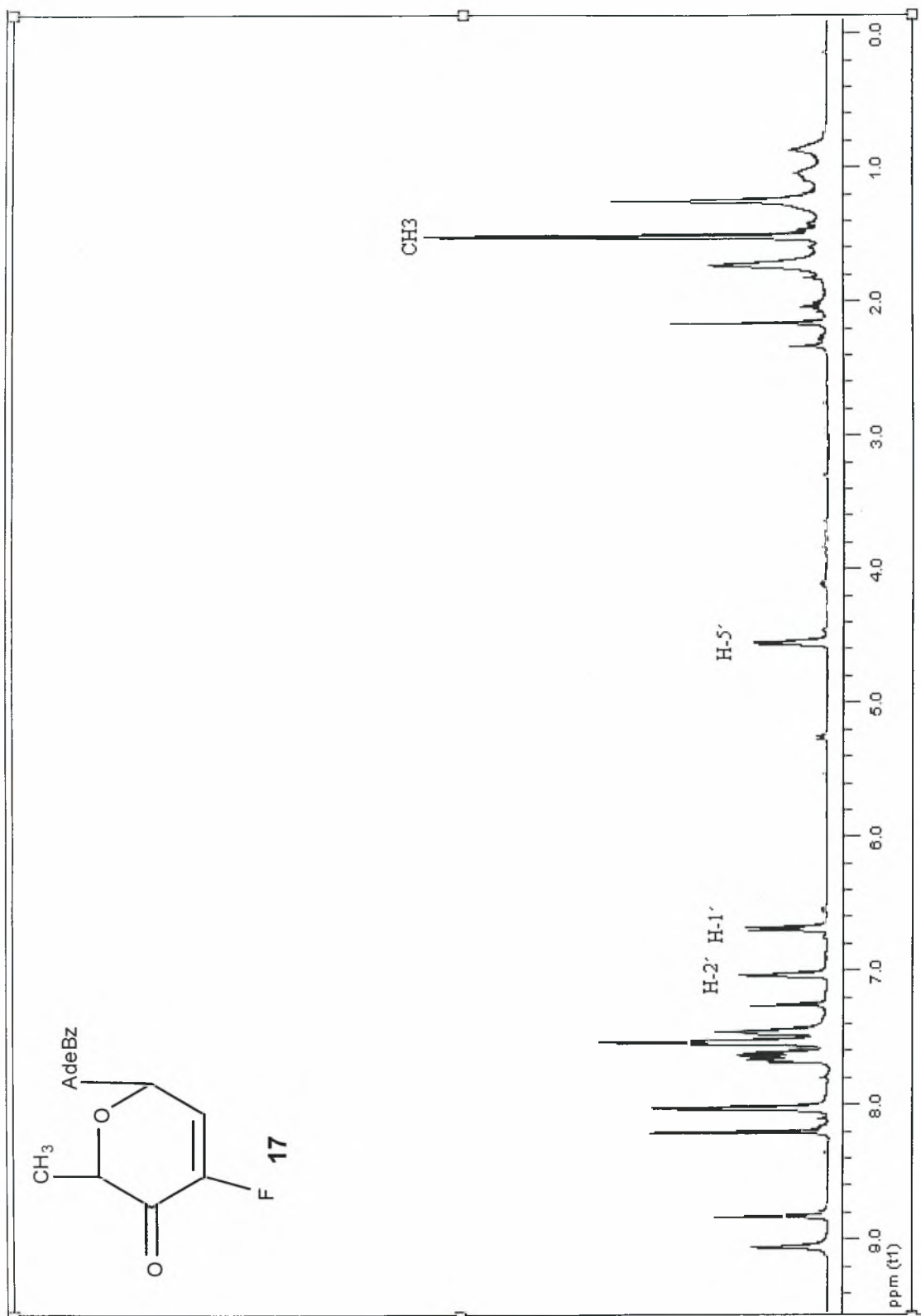
Ο ακόρεστος κετο-νουκλεοζίτης της αδενίνης **17** συντέθηκε από την ένωση **16** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **9**. Ο καθαρισμός του υπολείμματος πραγματοποιήθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα B και το επιθυμητό προϊόν **17** (0.21 g) ελήφθη υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού.

TLC (Διάλυμα B)	R _f = 0.30
Απόδοση	55%

5. ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ^1H NMR



Σχήμα 2: Φάσμα ^1H NMR του τελικού προϊόντος, 1-(2',6'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)- N^4 -βενζοϋλοκυτοσίνης (**9**)



Σχήμα 3: Φάσμα ¹H NMR του τελικού προϊόντος 9-(2',6'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπιρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N⁶-βενζοϋλοαδενίνης (17)

6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

6.1 Χημικά χαρακτηριστικά

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε η σύνθεση μιας νέας τάξης νουκλεοζιτών με πιθανή αντική και αντικαρκινική δράση. Συγκεκριμένα λαμβάνοντας υπόψη τις ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες των κετοακόρεστων και δεοξυ-πυρανονουκλεοσιδίων, την αύξηση της βιολογικής δράσης που επιφέρει η εισαγωγή φθορίου και το γεγονός ότι διάφορα φυσικά αντιβιοτικά φέρουν την αδενίνη και την κυτοσίνη ως ετεροκυκλικές βάσεις πραγματοποιήθηκε η σύνθεση και η βιολογική αποτίμηση των διδεοξυ-κετοακόρεστων-φθορονουκλεοζιτών που φέρουν την N^6 -βενζοϋλοαδενίνη και την N^4 -βενζοϋλοκυτοσίνη ως ετεροκυκλικές βάσεις.

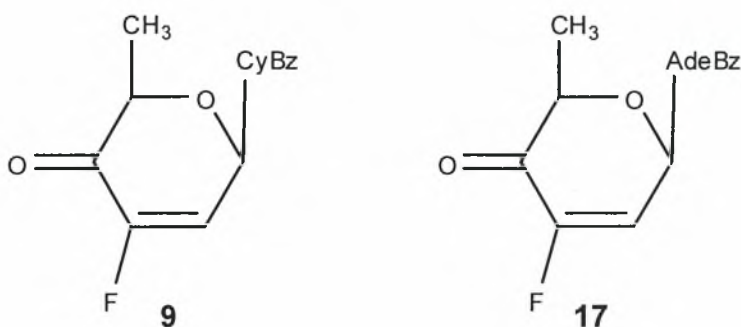
Παρατηρήθηκε ότι με μια σχετικά εύκολη πειραματική διαδικασία με μικρά και σύντομα βήματα, είναι δυνατή η σύνθεση τους. Συγκεκριμένα κατά την πρώτη συνθετική πορεία του νουκλεοζίτη που φέρει την N^4 -βενζοϋλοκυτοσίνη ως ετεροκυκλική βάση, η σύνθεση της 1-(2'-*O*-Ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)- N^4 -βενζοϋλοκυτοσίνης (**6**) είχε απόδοση 90%, 1-(2'-*O*-Ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-6'-ιωδο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)- N^4 -βενζοϋλοκυτοσίνης (**7**) είχε απόδοση 62% και τέλος η σύνθεσης της 1-(2',6'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-*D*-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)- N^4 -βενζοϋλοκυτοσίνη (**9**) είχε απόδοση 50%.

Κατά τη δεύτερη συνθετική πορεία δηλαδή του νουκλεοζίτη που φέρει την N^6 -βενζοϋλοαδενίνη ως ετεροκυκλική βάση, η σύνθεση της 9-(2'-*O*-Ακετυλο-3',6'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)- N^6 -βενζοϋλοαδενίνη (**16**) είχε απόδοση 70% 9-(2',6'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-*D*-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)- N^6 -βενζοϋλοαδενίνη (**17**) είχε απόδοση 50% .

Οι τελικές ενώσεις **9** και **17** χαρακτηρίζονται από αναλύσεις φάσματος πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού ^1H NMR. Στο φάσμα ^1H NMR του επιθυμητού (Σχήμα 2) νουκλεοζίτη **9** εμφανίζεται το σήμα του ολεφινικού πρωτονίου H-2' στα 7.00 ppm με σταθερά σύζευξης $J_{2',F} = 7.0$ Hz. Ακολουθεί το σήμα του πρωτονίου H-1' στα 6.53 ppm με σταθερά σύζευξης $J_{1',F} = 10.5$ Hz, ενώ στη συνέχεια παρουσιάζεται το σήμα του πρωτονίου H-5' στα 4.48 ppm. Η διπλή κορυφή που εμφανίζεται στα 1.53 ppm με σταθερά σύζευξης $J_{5',6'} = 6.5$ Hz, αντιστοιχεί στα τρία πρωτόνια του CH_3 του σακχάρου.

Στο φάσμα ^1H NMR του επιθυμητού (Σχήμα 3) νουκλεοζίτη **17** εμφανίζεται το σήμα του ολεφινικού πρωτονίου H-2' στα 7.04 ppm με σταθερά σύζευξης $J_{2',F} = 6.7$ Hz. Ακολουθεί το σήμα του πρωτονίου H-1' στα 6.69 ppm με σταθερά σύζευξης $J_{1',F} = 10.2$ Hz, ενώ στη συνέχεια παρουσιάζεται το σήμα του πρωτονίου H-5' στα 4.56 ppm. Η διπλή κορυφή που εμφανίζεται στα 1.52 ppm με σταθερά σύζευξης $J_{5',6'} = 6.5$ Hz, αντιστοιχεί στα τρία πρωτόνια του CH_3 του σακχάρου.

Εξαιτίας του αποδεδειγμένου γεγονότος ότι οι τροποποιημένοι νουκλεοζίτες παίρνουν μέρος στην αντιμετώπιση και θεραπεία πολλών ασθενειών δρώντας ως αντικαρκινικά και αντικαρκινικά φάρμακα, θεωρήθηκε σημαντική η αποτίμηση της βιολογικής δράσης των νεοσυντιθέμενων νουκλεοζιτών **9** και **17** (σχήμα 4).



Σχήμα 4 Ενώσεις 1-(2',6'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (**9**) και 9-(2',6'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N⁶-βενζοϋλοαδενίνη (**17**)

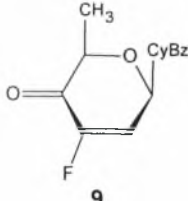
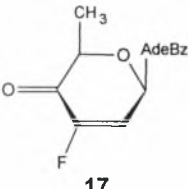
6.2 Αντικαρκινική δράση των 6'-δεοξυ-4'-κετοακόρεστων νουκλεοζιτών της N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης και της N⁶-βενζοϋλοαδενίνης

Με βάση τις ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες των κετοακόρεστων και δεοξυ-πυρανονουκλεοζιτών σε συνδυασμό με το ότι διάφορα φυσικά αντιβιοτικά φέρουν την κυτοσίνη και την αδενίνη ως ετεροκυκλικές βάσεις και τέλος με την αύξηση της βιολογικής δράσης που επιφέρει η εισαγωγή φθορίου στο σάκχαρο ενός φουρανονουκλεοσιδίου στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε η σύνθεση και η βιολογική αποτίμηση των 6'-δεοξυ-4'-κετοακόρεστων νουκλεοσιδικών αναλόγων της N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης και της N⁶-βενζοϋλοαδενίνης (ενώσεις **9** και **17**).

Οι βιολογικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν, απέδειξαν ότι τα νέα νουκλεοζιτικά ανάλογα διαθέτουν ενδιαφέρουσες αντικαρκινικές ιδιότητες.

Τα νέα 6'-δεοξυ-4'-κετοακόρεστα νουκλεοζιτικά ανάλογα της N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης και της N⁶-βενζοϋλοαδενίνης (ενώσεις **9** και **17**) μελετήθηκαν ως προς την ανασταλτική τους δράση έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων λευχαιμίας L1210/0, καθώς και των ανθρώπινων T-λεμφοκυττάρων, Molt4/C8 και CEM/0. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο Rega Institute for Medical Research στο Βέλγιο και τα αποτελέσματα που προέκυψαν, απεικονίζονται στον πίνακα.

Πίνακας. Ανασταλτική δράση των ενώσεων **9** και **17** έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων λευχαιμίας L1210/0 (murine leukemia cells) και των ανθρώπινων T-λεμφοκυττάρων, Molt4/C8 και CEM/0.

Προϊόν	IC ₅₀ (μM)		
	L1210/0	Molt4/C8	CEM/0
 <p>9</p>	1.4 ± 0.0	1.6 ± 0.2	1.7 ± 0.5
 <p>17</p>	2.4 ± 0.7	5.0 ± 3.9	4.3 ± 3.4

*Η τιμή IC₅₀ αντιπροσωπεύει τη συγκέντρωση του προϊόντος που προκαλεί αναστολή του πολλαπλασιασμού των κυττάρων κατά 50%

Όπως φαίνεται από τον πίνακα, οι νέες ενώσεις **9** και **17** παρουσιάστηκαν ικανές να αναστείλλουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων σε τιμές IC₅₀ που κυμαίνονται σε κλίμακα μεταξύ 1.4 και 5.0 μM, ενώ δεν υπήρξαν αξιοσημείωτες διαφορές μεταξύ των δύο προϊόντων **9** και **17** ως προς την ισχύ της ανασταλτικής τους δράσης.

Από τις τιμές IC₅₀ του πίνακα, προκύπτει το συμπέρασμα ότι οι νέες ενώσεις **9** και **17** αποτελούν πολλαπλά υποσχόμενους αντικαρκινικούς παράγοντες και θα πρέπει να διερευνηθούν περαιτέρω για την αντιογκογονική, καθώς και αντικαρκινική τους δράση.

7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. John McMurry, Οργανική Χημεία, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 2000 : 151-152, 905
2. Lubert Stryer, Βιοχημεία, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 1997 : 347-354.
3. M. C. T. Hartman, J. K. Coward, J. Am. Chem. Soc., **2001**, 124, 10036
4. Page, Curtis, Sutter, Walker, Hoffman, Ιατρικές Εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης, 1997 : 4, 26
5. Wen Zhou, Giuseppe Gumina, Youhoon Chong, Jianing Wang, Raymond F. Schinazi, and Chung K. Chu, J. Med. Chem., **2004**, 47 (13), 3399 –3408.
6. Vander, M.D.Sherman, Ph.D.Luciano, Ph.D.M.Tsakoulos, Φυσιολογία του ανθρώπου, μηχανισμοί λειτουργίας του οργανισμού
7. http://www.idenix.com/science/sci_nucleosides.html
8. Chong Y, Gumina G, Mathew JS, Schinazi RF, Chu CK, 1-2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxy-3'-fluoronucleosides: synthesis, anti-HIV activity, chemical and enzymatic stability, and mechanism of resistance, Med Chem. **2003** Jul 17;46(15):3245-56.
9. John M.Clark, Jr and Robert L. Switzer, Πειραματική βιοχημεία, Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, 1992
10. <http://pathmicro.med.sc.edu/lecture/chemo.htm>
11. Benjamin Lewin, Genes VIII : 6-8.
12. Christopher J. Burns, Current Medicinal Chemistry - Anti-Infective Agents, Vol. 4, No. 2, **2005**
13. Bloomfield, V. A.; Crothers, D. M.; Tinoco, I. University Science Books, Sausalito, California, **1999**.
14. <http://www.answers.com/topic/zidovudine-1>
15. <http://www.answers.com/topic/zidovudine?hl=zidovudine>
16. <http://pathmicro.med.sc.edu/lecture/chemo.htm>
17. <http://www.answers.com/topic/ddi>
18. <http://www.answers.com/topic/ddc>
19. www.cf.ac.uk/phrmy/ChemEd/presentations.html
20. Vastmans, K.; Froeyen, M.; Kerremans, L.; Pochet, S.; Herdewijn, P. *Nucleic Acids Res.* **2001**, 29, 3154.
21. Komiotis, D.; Delatre, S.; Holt, L.; Ollapally, A.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Ligo, M. *Nucleosides Nucleotides* **1991**, 10, 431.

22. Paterson, J.; Uriel, C.; Egron, M. J.; Herscovici, J.; Antonakis, K.; Alaoui, M. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1998**, *42*, 779.
23. Herdewijn, P.; De Clercq, E. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1591.
24. Augustyns, K.; Rozenski, J.; Van Aerschot, A.; Busson, R.; Claes, P.; Herdewijn, P. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 1189.
25. Augustyns, K.; Rozenski, J.; Van Aerschot, A.; Janssen, G.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2977.
26. 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.
27. Manta, G. Agelis, T. Botić, A. Cencič, D. Komiotis, *Bioorg. Med. Chem.* **15** (2007) 980-987.
28. S. Manta, G. Agelis, T. Botić, A. Cencič, D. Komiotis, *Eur. J. Med. Chem.* **43** (2008) 420-428.
29. S. Manta, N. Tzioumaki, E. Tsoukala, A. Panagiotopoulou, M. Pelecanou, J. Balzarini, D. Komiotis, *Eur. J. Med. Chem.* 2009, in press, doi:10.1016/j.ejmech.2009.06.013
30. Komiotis, D.; Manta, S.; Tsoukala, E.; Tzioumaki, N. *Curr. Med. Chem.: Anti-Infect. Agents* **2008**, *7*, 219.
31. N. Tzioumaki, E. Tsoukala, S. Manta, G. Agelis, J. Balzarini, D. Komiotis, *Archiv der Pharmazie*, **342** (2009) 353-360.
32. Kyeong Lee, Yongseok Choi, Elizabeth Gullen, Susan Schlueter-Wirtz, Raymond F. Schinazi, Yung-Chi Cheng, and Chung K. Chu, *J. Med. Chem.*, **1999**, *42* (7), 1320 -1328.
33. D. Komiotis, S. Manta, E. Tsoukala, N. Tzioumaki, *Curr. Med. Chem.: Anti-Infect. Agents* **7** (2008) 219-244 (antiika).
34. S. Manta, E. Tsoukala, N. Tzioumaki, A. Goropevšek, R.T. Pamulapati, A. Cencič, D. Komiotis, *Eur. J. Med. Chem.* **44** (2009) 2696-2704.
35. G. Agelis, N. Tzioumaki, T. Botić, A. Cencič, D. Komiotis, *Bioorg. Med. Chem.* **15** (2007) 5448-5456.
36. S. Manta, G. Agelis, T. Botić, A. Cencič, D. Komiotis, *Bioorg. Med. Chem.* **15** (2007) 980-987.
37. S. Manta, G. Agelis, T. Botić, A. Cencič, D. Komiotis, *Eur. J. Med. Chem.* **43** (2008) 420-428.

38. S. Manta, N. Tzioumaki, E. Tsoukala, A. Panagiotopoulou, M. Pelecanou, J. Balzarini, D. Komiotis, *Eur. J. Med. Chem.* 44 (2009) 4764-4771.
39. G. Agelis, N. Tzioumaki, T. Tselios, T. Botić, A. Cencič, D. Komiotis, *Eur. J. Med. Chem.* 43 (2008) 1366-1375.
40. N. Tzioumaki, E. Tsoukala, S. Manta, G. Agelis, J. Balzarini, D. Komiotis, *Archiv der Pharmazie* 342 (2009) 353-360.

