

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΣΤΥΛΙΑΝΗ ΜΑΝΤΑ**

**ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΟΙ ΑΚΟΡΕΣΤΟΙ ΚΕΤΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ. ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ  
ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ ΦΘΟΡΟ-ΚΕΤΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΩΝ ΤΗΣ ΑΔΕΝΙΝΗΣ  
ΚΑΙ ΤΗΣ ΚΥΤΟΣΙΝΗΣ**

**ΛΑΡΙΣΑ 2008**

## **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

### **Δ. ΚΟΜΙΩΤΗΣ (ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ)**

Επίκουρος Καθηγητής Οργανικής Χημείας  
Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

### **Κ. ΛΙΤΙΝΑΣ**

Αναπληρωτής Καθηγητής Οργανικής Χημείας  
Τμήμα Χημείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

### **Α. ΤΣΟΤΙΝΗΣ**

Αναπληρωτής Καθηγητής Φαρμακευτικής Χημείας  
Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας  
Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Αθηνών

## **ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

### **Ι. ΣΤΕΦΑΝΙΔΟΥ-ΣΤΕΦΑΝΑΤΟΥ**

Καθηγήτρια Οργανικής Χημείας  
Τμήμα Χημείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

### **Ο. ΜΑΡΚΟΠΟΥΛΟΥ-ΙΓΓΛΕΣΗ**

Καθηγήτρια Οργανικής Χημείας  
Τομέας Χημικών Επιστημών  
Σχολή Χημικών Μηχανικών, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο

### **Ι. ΓΑΛΛΟΣ**

Καθηγητής Οργανικής Χημείας  
Τμήμα Χημείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

### **Κ. ΛΙΤΙΝΑΣ**

Αναπληρωτής Καθηγητής Οργανικής Χημείας  
Τμήμα Χημείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

### **Α. ΤΣΟΤΙΝΗΣ**

Αναπληρωτής Καθηγητής Φαρμακευτικής Χημείας  
Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας  
Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Αθηνών

### **Κ. ΣΤΑΘΟΠΟΥΛΟΣ**

Επίκουρος Καθηγητής Βιοχημείας  
Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

### **Δ. ΚΟΜΙΩΤΗΣ**

Επίκουρος Καθηγητής Οργανικής Χημείας  
Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

ΣΤΥΛΙΑΝΗ ΜΑΝΤΑ

ΧΗΜΙΚΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΟΙ ΑΚΟΡΕΣΤΟΙ ΚΕΤΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ. ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ  
ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ ΦΘΟΡΟ-ΚΕΤΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΩΝ ΤΗΣ ΑΔΕΝΙΝΗΣ ΚΑΙ  
ΤΗΣ ΚΥΤΟΣΙΝΗΣ

ΛΑΡΙΣΑ 2008

*Στους γονείς μου και στην αδελφή μου*

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας-Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, υπό την επίβλεψη του Επίκουρου Καθηγητή Οργανικής Χημείας, κ. Δημήτριου Κομιώτη.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή Φαρμακευτικής Χημείας του Τμήματος Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, κ. Ανδρέα Τσοτίνη καθώς και τον Αναπληρωτή Καθηγητή Οργανικής Χημείας του Τμήματος Χημείας του Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, κ. Κωνσταντίνο Λίτινα, οι οποίοι με τίμησαν δεχόμενοι να συμμετάσχουν στην τριμελή συμβουλευτική επιτροπή αυτής της διατριβής. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Καθηγήτρια Οργανικής Χημείας του Τμήματος Χημείας του Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, κ. Ιουλία Στεφανίδου-Στεφανάτου, την Καθηγήτρια Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, κ. Όλγα Μαρκοπούλου-Ιγγλέση, τον Καθηγητή Οργανικής Χημείας του Τμήματος Χημείας του Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, κ. Ιωάννη Γάλλο και τον Επίκουρο Καθηγητή Βιοχημείας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, κ. Κωνσταντίνο Σταθόπουλο, για τη συμμετοχή τους στην επταμελή εξεταστική επιτροπή.

Ένα ευχαριστώ θα ήταν πολύ λίγο για τους Γιώργο Αγγελή, Ευαγγελία Τσουκαλά και Νίκη Τζιουμάκη για την άψογη συνεργασία μας, τη φιλία με την οποία με περιέβαλαν και τη βοήθειά τους καθόλο το διάστημα της εκπόνησης αυτής της διατριβής.

Τις πιο θερμές μου ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στον καθηγητή μου κ. Δημήτριο Κομιώτη τόσο για την υπόδειξη του θέματος όσο και για την αδιάκοπη καθοδήγηση και επιστημονική συμπαράστασή του σε όλη τη διάρκεια της εκπόνησης αυτής της διατριβής. Θα ήθελα επίσης να τον ευχαριστήσω για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, την κατανόηση που επέδειξε στις δύσκολες στιγμές μου και για το ότι με έμαθε να αγωνίζομαι.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω από τα βάθη της καρδιάς μου την οικογένειά μου για την οικονομική και την ηθική στήριξη που μου παρείχαν όλα αυτά τα χρόνια, καθώς και για την υπομονή τους. Χωρίς αυτούς δεν θα ήταν δυνατό να πραγματοποιηθεί αυτή η διδακτορική διατριβή.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσης διδακτορικής διατριβής ήταν η σύνθεση και η βιολογική αποτίμηση νέων τάξεων φθοριωμένων νουκλεοζιτών με τροποποιημένους εξαμελείς υδατανθρακικούς δακτυλίου, που φέρουν την  $N^4$ -βενζοϋλοκυτοσίνη και την  $N^6$ -βενζοϋλοαδενίνη ως ετεροκυκλικές βάσεις. Με βάση τις ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες των κετοακόρεστων νουκλεοζιτών και των δεοξυ-πυρανονουκλεοζιτών, σε συνδυασμό με τη βελτίωση της βιολογικής δράσης που επιφέρει η εισαγωγή φθορίου στο σάκχαρο ενός νουκλεοζίτη, στην παρούσα εργασία περιγράφηκε η σύνθεση νέων τάξεων φθοριωμένων κετοακόρεστων και δεοξυκετο-πυρανονουκλεοζιτών της  $N^4$ -βενζοϋλοκυτοσίνης και της  $N^6$ -βενζοϋλοαδενίνης.

Έτσι, αρχικά μελετήθηκε η σύνθεση μιας νέας τάξης νουκλεοζιτών που φέρουν φθόριο στη θέση 3', κετονομάδα στη θέση 4' ή 2' και δεοξυ στη θέση 2' ή 4' του σακχάρου, αντίστοιχα. Στη συνέχεια περιγράφηκε η διαδικασία που ακολουθήθηκε για τη σύνθεση μιας νέας τάξης φθοριωμένων ακόρεστων κετονουκλεοζιτών που φέρουν φθόριο στη θέση 3', κετονομάδα στη θέση 2' ή 4' και διπλό δεσμό στις θέσεις 3',4' ή 2',3' του σακχάρου, αντίστοιχα. Τέλος, ακολούθησε η σύνθεση ακόμη μιας νέας σειράς φθοριωμένων δεοξυ κετοακόρεστων νουκλεοζιτών που φέρουν φθόριο στη θέση 3', δεοξυ στη θέση 6', κετονομάδα στη θέση 4' ή 2' και διπλό δεσμό στις θέσεις 2',3' ή 3',4' του σακχάρου, αντίστοιχα. Όλα τα παραπάνω νουκλεοζιτικά ανάλογα φέρουν στη δομή τους την  $N^4$ -βενζοϋλοκυτοσίνη ή την  $N^6$ -βενζοϋλοαδενίνη ως ετεροκυκλικές βάσεις.

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή παρατίθενται και οι βιολογικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν επί των νέων ενώσεων, οι οποίες αφορούσαν τις αντιικές, αντικαρκινικές καθώς και αντιοξειδωτικές τους δράσεις.

## **ABSTRACT**

The aim of the present thesis was the synthesis and the biological evaluation of new series of fluorinated nucleoside analogues with six-membered carbohydrate moieties of  $N^4$ -benzoylcytosine and  $N^6$ -benzoyladenine. Based on the interesting biological properties of unsaturated ketonucleosides and deoxypyranonucleosides and considering that the introduction of fluorine into the sugar moiety of a nucleoside increases its biological activity, in the present work, the synthesis of new series of fluorinated keto unsaturated and deoxyketopyranonucleoside analogues of  $N^4$ -benzoylcytosine and  $N^6$ -benzoyladenine respectively, was described.

Initially, the synthesis of a new class of nucleoside analogues possessing a fluoro group in the 3'-position, a keto group in the 4'- or 2'-position and deoxy in the 2'- or 4'-position of the sugar moiety respectively, was studied. Then, the synthesis of a new class of fluorinated unsaturated ketonucleosides possessing a fluoro group in the 3'-position, a keto group in the 2'- or 4'-position and a double bond in the 3',4'- or 2',3'-positions of the sugar moiety respectively, was described. Finally, a new class of fluorinated deoxy keto unsaturated nucleosides, possessing a fluoro group in the 3'-position, deoxy in the 6'-position, a keto group in the 4'- or 2'-position and a double bond in the 2',3'- or 3',4'-positions of the sugar moiety respectively, was synthesized. The above nucleoside analogues contained  $N^4$ -benzoylcytosine or  $N^6$ -benzoyladenine respectively, as heterocyclic bases.

In the present thesis, the biological studies of the newly synthesized compounds were also accomplished, concerning their antiviral, anticancer and antioxidant activity.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	10
Αντικαρκινικοί νουκλεοζίτες	10
Αντιικοί νουκλεοζίτες	13
Αντιβιοτικοί νουκλεοζίτες	15
Τρόπος δράσης νουκλεοζιτών	18
Πυρανονουκλεοζίτες	19
Κετο-πυρανονουκλεοζίτες	20
Ακόρεστοι κετονουκλεοζίτες	22
Δεοξυ-πυρανονουκλεοζίτες	23
Φθοριωμένοι νουκλεοζίτες	24
Στόχοι της παρούσης διατριβής	25
II. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ – ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ	28
ΔΕΟΞΥΚΕΤΟΦΘΟΡΟ-ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ	28
3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2,4,6-τετρα-Ο-ακετυλογλυκοπυρανόζη (7)	31
Σύνθεση νουκλεοζιτών	33
Σιλυλίωση των βάσεων	34
Μηχανισμός συμπίκνωσης	36
2',3'-Διδεοξυ-4'-κετο-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικά παράγωγα της N <sup>4</sup> -βενζοϋλοκυτοσίνης	37
3',4'-Διδεοξυ-2'-κετο-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικά παράγωγα της N <sup>4</sup> -βενζοϋλοκυτοσίνης	50
ΚΕΤΟΑΚΟΡΕΣΤΟΙ ΦΘΟΡΟ-ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ	58
2'-Κετοακόρεστα-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικά παράγωγα της N <sup>4</sup> -βενζοϋλοκυτοσίνης	60
4'-Κετοακόρεστα-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικά παράγωγα της N <sup>4</sup> -βενζοϋλοκυτοσίνης και της N <sup>6</sup> -βενζοϋλοαδενίνης	66
Αντιική και αντικαρκινική δράση των φθοριωμένων κετοακόρεστων και δεοξυ-κετοπυρανονουκλεοζιτών της N <sup>4</sup> -βενζοϋλοκυτοσίνης και της N <sup>6</sup> -βενζοϋλοαδενίνης	77
Αντιοξειδωτική δράση σειράς φθορο-πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της N <sup>4</sup> -βενζοϋλοκυτοσίνης και της N <sup>6</sup> -βενζοϋλοαδενίνης	88



6'-ΔΕΟΞΥ ΚΕΤΟΑΚΟΡΕΣΤΟΙ ΦΘΟΡΟ-ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ	91
2',6'-Διδεοξυ-4'-κετοακόρεστα-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικά παράγωγα της N <sup>4</sup> -βενζοϋλοκυτοσίνης και της N <sup>6</sup> -βενζοϋλοαδενίνης	93
4',6'-Διδεοξυ-2'-κετοακόρεστα-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικά παράγωγα της N <sup>6</sup> -βενζοϋλοαδενίνης	98
Οξείδωση με το σύστημα διμεθυλοσουλφοξείδιο / οξικός ανυδρίτης	104
Αντικαρκινική δράση των 2',6'-διδεοξυ-4'-κετοακόρεστων νουκλεοζιτών της N <sup>4</sup> -βενζοϋλοκυτοσίνης και της N <sup>6</sup> -βενζοϋλοαδενίνης	107
III. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	109
IV. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ	145
V. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	148

## **I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

### **Αντικαρκινικοί νουκλεοζίτες**

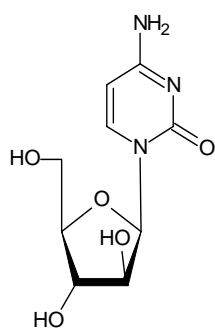
Με το γενικό όρο <<καρκίνο>> είναι γνωστή μια κατηγορία ασθενειών ή διαταραχών που χαρακτηρίζονται από ανεξέλεγκτη διαίρεση κυττάρων, τα οποία έχουν τη δυνατότητα να εισέρχονται σε άλλους ιστούς είτε λόγω της άμεσης αύξησης στον παρακείμενο ιστό μέσω εισβολής, είτε από την εμφύτευση σε απόμακρες περιοχές μέσω μετάστασης. Εναντίον του καρκίνου εφαρμόζονται γενικά τρεις θεραπευτικές μέθοδοι: η χειρουργική επέμβαση, η ακτινοθεραπεία και η χημειοθεραπεία. Αυτές οι θεραπείες εφαρμόζονται είτε συνδυαστικά είτε αποκλειστικά και αποτελούν μία αδιαμφισβήτητη πρόοδο στη θεραπεία του ανθρώπινου καρκίνου.

Εν τούτοις, η χημειοθεραπεία θεωρείται ως η πλέον κατάλληλη μέθοδος για τη θεραπεία των όγκων σε προχωρημένο στάδιο, στην περίπτωση που τα κακοήγη κύτταρα συρρέουν κατά κόρον στον οργανισμό. Ένας τρόπος ενίσχυσης της αποτελεσματικότητας της χημειοθεραπείας συνίσταται στην εύρεση νέων αντικαρκινικών ουσιών, οι οποίες διαθέτουν αυξημένη δραστικότητα, μειωμένη τοξικότητα, βελτιωμένο θεραπευτικό δείκτη και το σημαντικότερο όλων, ευρύ φάσμα δράσης.

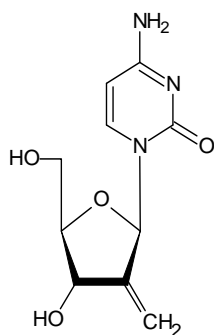
Οι νουκλεοζίτες και τα ανάλογά τους έχουν μελετηθεί πολύ εντατικά ως δυνητικοί αντικαρκινικοί παράγοντες (Elion 1989, Robins and Kini 1990, MacCoss and Robins 1990). Ένας μεγάλος αριθμός αναλόγων φυσικών νουκλεοζιτών χρησιμοποιείται επί πολλά έτη στην ιατρική για τη θεραπεία καρκινικών ασθενειών. Μια εκτενής μελέτη των αντικαρκινικών φαρμάκων που έχουν ήδη εγκριθεί από την Διεύθυνση Ελέγχου Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (Food and Drug Administration, FDA), έδειξε ότι οι νουκλεοζίτες απαρτίζουν μια σημαντική κατηγορία αντικαρκινικών μέσων. Θα πρέπει να τονιστεί ότι από τα εξήντα αντικαρκινικά μόρια που έχουν εγκριθεί μέχρι σήμερα από τον FDA, έντεκα είναι αντιμεταβολίτες και επιπλέον, δέκα από τα έντεκα είναι νουκλεοζίτες ή συγγενικά μόρια, τα οποία επηρεάζουν τη σύνθεση του DNA με διάφορους τρόπους. Για αυτό και δεν είναι τυχαίο το γεγονός, ότι το 2005 στη Μεγάλη Βρετανία το 15% των αντικαρκινικών φαρμάκων σχετίζονταν με νουκλεοζιτικά ανάλογα. Νουκλεοζιτικοί αντιμεταβολίτες, όπως οι 1-β-D-

αραβινοφουρανοζυλοκυτοσίνη (araC, Σχήμα 1) (Matsuda and Sasaki 2004), 1-(2'-δεοξυ-2'-μεθυλενο-β-D-ερυθρο-πεντοφουρανοζυλο)κυτοσίνη (DMDC) (Takenuki *et al.* 1988, Matsuda *et al.* 1991a, Yamagami *et al.* 1991, Lin *et al.* 1991, Baker *et al.* 1991, Cory *et al.* 1994), 2'-δεοξυ-2',2'-διφθοροκυτιδίνη [gemcitabine (γεμισιταμπίνη), dFdC] (Plunkett *et al.* 1995), 1-(2'-C-κυανο-2'-δεοξυ-β-D-αραβινο-πεντοφουρανοζυλο)κυτοσίνη (CNDAC) (Matsuda *et al.* 1991b, Azuma *et al.* 1993, Tanaka *et al.* 1992, Azuma *et al.* 1995, Matsuda and Azuma 1995), 2-χλωρο-2'-δεοξυαδενοσίνη (CldA) και 5'-μονοφωσφορική 9-β-D-αραβινοφουρανοζυλο-2-φθοροαδενίνη [fludarabine (φλουδαραβίνη), FaraAMP] (Matsuda and Sasaki 2004), έχουν μελετηθεί ως προς τις αντικαρκινικές τους ιδιότητες και είναι αποτελεσματικές ενώσεις όχι μόνο κατά της λευχαιμίας και των λεμφωμάτων, αλλά και κατά κακοήθων όγκων.

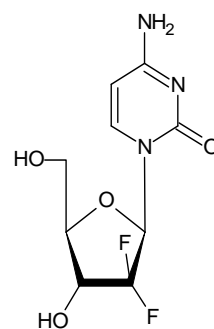
Στα τέλη του 2004, ο FDA ενέκρινε ακόμη ένα νουκλεοζιτικό ανάλογο ως αντικαρκινικό μέσο, το clofarabine (χλωφαραβίνη) (Faderl *et al.* 2002, Parker *et al.* 2004, Faderl *et al.* 2005, Pui *et al.* 2005, Secrist 2005). Το συγκεκριμένο φάρμακο αρχικά εγκρίθηκε για τη θεραπεία της οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας, ενώ στην παρούσα φάση μελετάται για τη δραστηριότητά του έναντι άλλων μορφών καρκίνου. Τέλος, η ένωση 1-(4'-θείο-β-D-αραβινοφουρανοζυλο)κυτοσίνη (4'-thio-araC) (Tiwari *et al.* 2000, Waud *et al.* 2003, Someya *et al.* 2003, Secrist 2005), είναι στην παρούσα φάση σε στάδιο κλινικών μελετών.



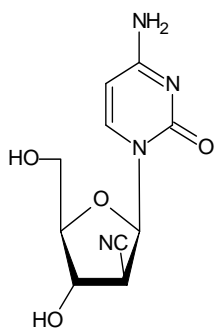
araC



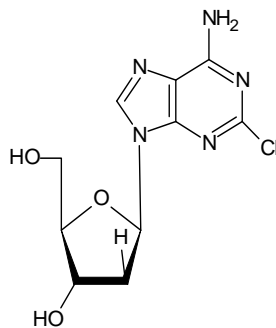
DMDC



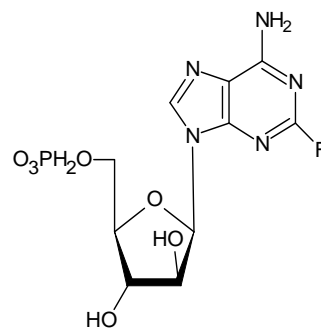
dFdC



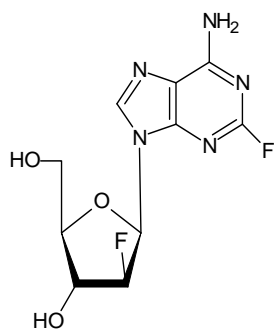
CNDAC



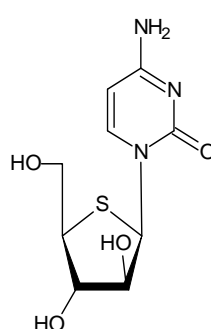
CldA



FaraAMP



Clofarabine

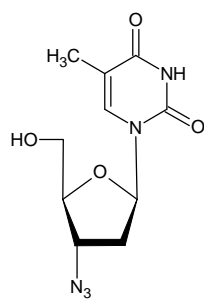


4'-thio-araC

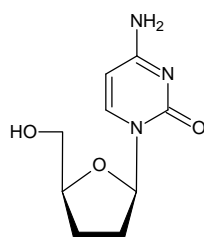
Σχήμα 1.

## Αντιικοί νουκλεοζίτες

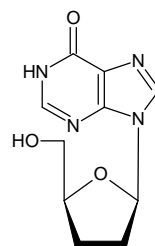
Τα νουκλεοζιτικά ανάλογα αποτελούν το θεμελιώδη λίθο και για την ανάπτυξη αντιικών παραγόντων (Perigaud *et al.* 1992, Zhou *et al.* 2004, Komiotis *et al.* 2008). Το 2005 στη Μεγάλη Βρετανία, το 55% των αντιικών φαρμάκων σχετίζονταν με νουκλεοζιτικά ανάλογα. Μεγάλο ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός, ότι έξι από τα δεκαπέντε φάρμακα, τα οποία διατίθενται για τη θεραπεία του AIDS [AZT, ddC, ddI, d4T, 3TC και abacavir (αμπακαβίρη), Σχήμα 2], είναι νουκλεοζιτικά ανάλογα (νουκλεοζίτες, αναστολείς της αντίστροφης τρανσκριπτάσης, NRTIs), μαζί με τρία μη-NRTIs [nevirapine (νεβιραπίνη), delavirdine (ντελαβιρδίνη) και efavirenz (εφαβιρένζη)], καθώς και έξι αναστολείς της πρωτεάσης [saquinavir (σακιναβίρη), indinavir (ινδιναβίρη), ritonavir (ριτοναβίρη), nelfinavir (νελφίναβίρη), amprenavir (αμπρεναβίρη) και lopinavir (λοπιναβίρη)]. Μεταξύ των NRTIs, η 3TC [lamivudine (λαμιβουδίνη), Epiriv® (IAF Biochem Int./Glaxo Wellcome)] είναι το φάρμακο, το οποίο χρησιμοποιείται επίσης και για τη θεραπεία της μόλυνσης από τον ιό της ηπατίτιδας Β (HBV) και είναι το μόνο που έχει εγκριθεί από τον FDA, εκτός από την interferon- $\alpha$  (ιντερφερόνη- $\alpha$ ). Εννέα ακόμη νουκλεοζίτες, οι idoxuridine (ιδοξουριδίνη, IdU), trifluridine (τριφλουριδίνη, TFT), acedurid (ασεδουρίδη, EdU), vidarabine (βιδαραβίνη, araA), acyclovir (ακυκλοβίρη, ACV), valaciclovir (βαλακυκλοβίρη, val-ACV), ganciclovir (γανσικλοβίρη, DHPG), famciclovir (φαμσικλοβίρη, FCV) και cidofovir (σιντοφοβίρη, HPMPC), χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία ασθενειών που προκαλούνται από ερπετοϊούς, όπως από τον ιό απλού έρπητα τύπου 1 (Herpes Simplex Virus, HSV-1) και τύπου 2 (HSV-2), τον κυτταρομεγαλοϊό (cytomegalovirus, HCMV) και τον ιό έρπητα ζωστήρα (varicella-zoster virus, VZV) (Gumina *et al.* 2001). Μεταξύ αυτών συγκαταλέγονται μόρια, όπως το acyclovir (ακυκλοβίρη), το οποίο χρησιμοποιείται επί δεκαετίες και ακόμη εξακολουθεί να κατατάσσεται μεταξύ των πιο αποτελεσματικών φαρμάκων ενάντια στους ερπετοϊούς. Τέλος, το ribavirin (ριμπαβιρίνη), ένα νουκλεοζιτικό ανάλογο που περιέχει μία μη φυσική βάση, έχει εγκριθεί για τη θεραπεία του αναπνευστικού συγκυτιακού ιού και επιπλέον είναι το μόνο εγκεκριμένο φάρμακο για τη θεραπεία της μόλυνσης από τον ιό της ηπατίτιδας C (HCV), σε συνδυασμό με την interferon- $\alpha$  (ιντερφερόνη- $\alpha$ ).



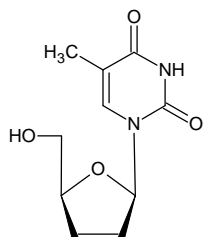
AZT



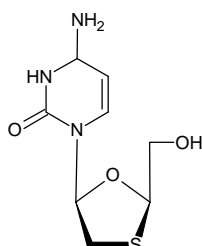
ddC



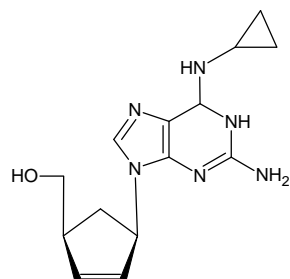
ddl



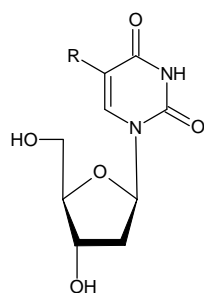
d4T



3TC



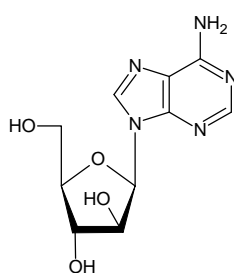
abacavir



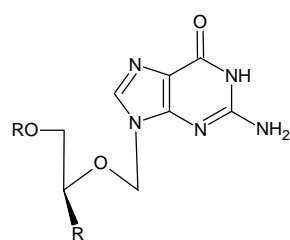
IdU, R = I

TFT, R = CF<sub>3</sub>

EdU, R = Et



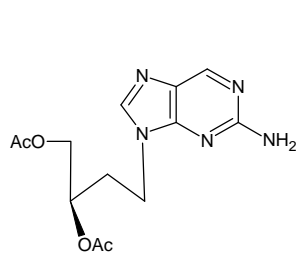
araA



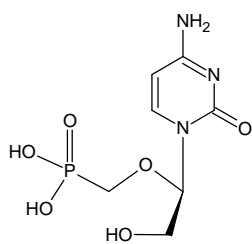
ACV, R = H, R' = H

val-ACV, R = L-valine, R' = H

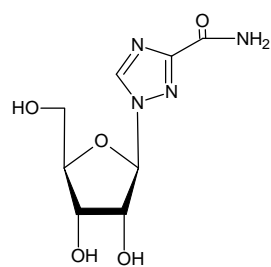
DHPG, R = H, R' = CH<sub>2</sub>OH



FCV



HPMPC

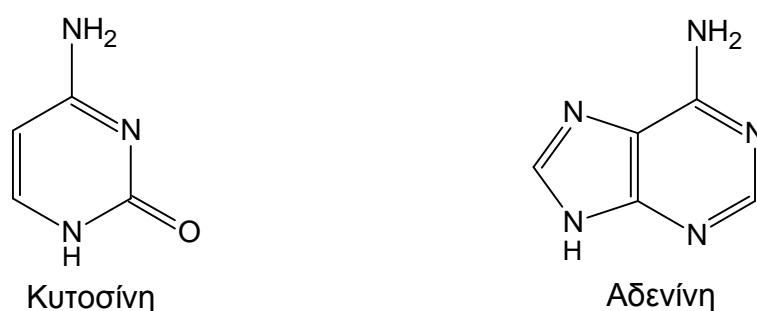


ribavirin

Σχήμα 2.

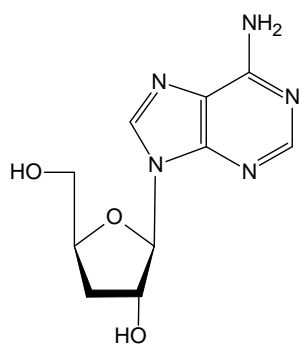
## Αντιβιοτικοί νουκλεοζίτες

Πολλά φυσικά αντιβιοτικά με σημαντική αντιική και αντικαρκινική δράση περιέχουν στη δομή τους νουκλεοζίτες συνδεδεμένους με ολιγοσακχαρίτες. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι πολλά φυσικά αντιβιοτικά φέρουν στη δομή τους την κυτοσίνη ή την αδείνη ως ετεροκυκλική βάση (Σχήμα 3). Οι συγκεκριμένες βάσεις εμπλέκονται σε ένα μεγάλο αριθμό βιολογικών διεργασιών, συμμετέχοντας σε όλα τα στάδια του μεταβολισμού, τόσο ως υποστρώματα, συμπαράγοντες, όσο και ως ρυθμιστικά μόρια.

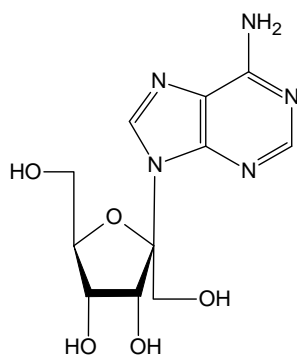


Σχήμα 3.

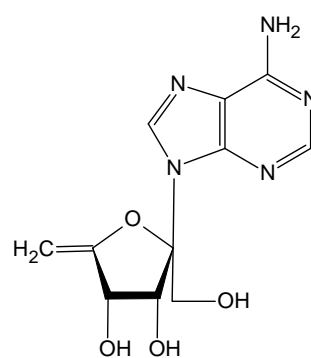
Μεταξύ αυτών των αντιβιοτικών, το cordycepin (κορδυσεπίνη, 3'-δεοξυ-αδενοσίνη) (Bloch and Nichol 1964) (Σχήμα 4) αναστέλλει την ανάπτυξη των καλλιιεργειών των κυττάρων KB, του βακίλου της φυματίωσης και των καρκινικών κυττάρων του γένους Ehrlich. Ομοίως, το psicofuranin (ψυχοφουρανίνη, Angustmycin C) (Suhadolnik 1970) και το decoyinin (ντεκοϋινίνη, Angustmycin A) (Berpu *et al.* 1968a) που δρουν ως αναστολείς του αδενοκαρκινώματος του Walker σε ποντικούς, είναι τροποποιημένες αδενοσίνες. Επιπλέον, ένας μεγάλος αριθμός πυριμιδινικών νουκλεοζιτικών αναλόγων έχει απομονωθεί από φυσικές πηγές. Πολύ σημαντική είναι η ανακάλυψη αντιβιοτικών μορίων, τα οποία αποτελούνται από νουκλεοζίτες που φέρουν τροποποιημένες δομές στο γλυκοζιτικό τμήμα τους, καθώς και την κυτοσίνη ως ετεροκυκλική βάση. Μεταξύ αυτών, συγκαταλέγονται το blasticidin-S (βλαστισιδίνη-S), το gougerotin (γουγεροτίνη) και το amicetin (αμισετίνη) (Antonakis 1989), των οποίων οι δομές απεικονίζονται στο σχήμα 4.



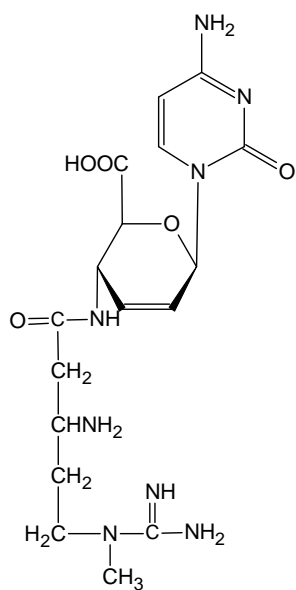
Cordycepin



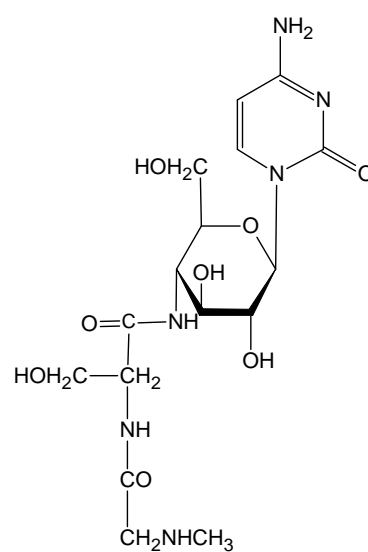
Psicofuranin



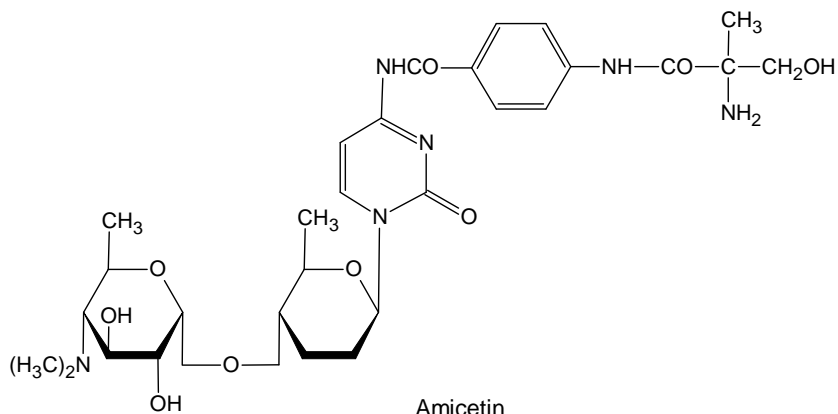
Decoyinin



Blasticidin S



Gougerotin



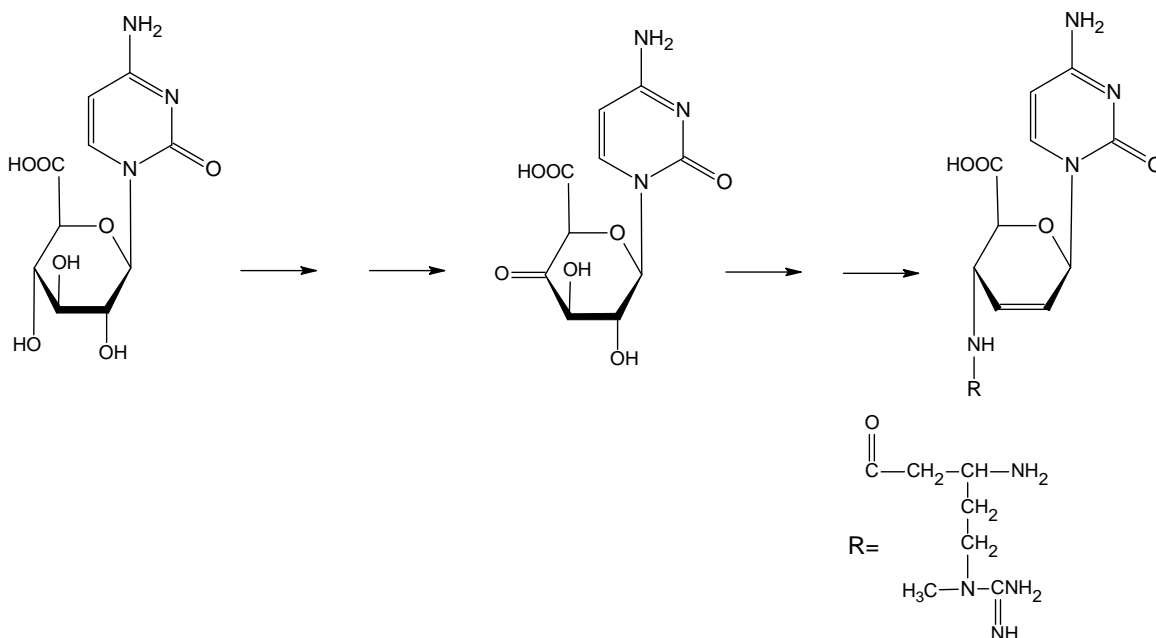
Amicetin

**Σχήμα 4.**



Ο τρόπος δράσης των παραπάνω αντιβιοτικών έχει μελετηθεί εκτενώς και ειδικότερα έχει ερευνηθεί η επίδραση των διαφόρων τροποποιήσεων των δομών τους, στην εκδήλωση των αντιβιοτικών τους ιδιοτήτων (Coutsogeorgopoulos *et al.* 1985).

Όπως φαίνεται από το σχήμα 4, η δομή των νουκλεοζιτών blasticidin-S (μπλαστισιδίνη-S), gougerotin (γουγεροτίνη) και amicetin (αμισετίνη) περιλαμβάνει ένα αμινοσάκχαρο με μία διακλαδισμένη αλυσίδα στη θέση 4' (Fox *et al.* 1972, Watanabe *et al.* 1982). Για να επιτευχθεί η σύνθεση νουκλεοζιτών που διαθέτουν μία αμινομάδα ή μία διακλαδισμένη αλυσίδα, όπως για παράδειγμα στην 4'-θέση του γλυκοζιτικού τμήματος του νουκλεοζίτη, απαιτείται η εισαγωγή κετονικής λειτουργικής ομάδας στη συγκεκριμένη θέση και στη συνέχεια η απευθείας προσθήκη πυρηνόφιλων στην κετονομάδα. Ενδεικτικά, αναφέρεται η βιοσύνθεση του αντιβιοτικού blasticidin-S (μπλαστισιδίνη-S) (Σχήμα 5). Στη συγκεκριμένη σύνθεση, απαραίτητο ενδιάμεσο αποτελεί ένας 4'-κετονουκλεοζίτης, το οξύ 1-( $\alpha$ -D-γλυκοπυρανοζυλο-ουρονική) κυτοσίνη (Sato *et al.* 1976), το οποίο απομονώθηκε από την καλλιέργεια ενός μικροοργανισμού που παράγει το blasticidin-S (βλαστισιδίνη-S), το οποίο αναστέλλει τη σύνθεση των πρωτεϊνών (Peska 1970c).



**Σχήμα 5.**

Η ανακάλυψη των παραπάνω αντιβιοτικών αποτέλεσε το έναυσμα για τη μελέτη της σχέσης δομής-δράσης, μια απαραίτητη προϋπόθεση για τη σύνθεση ενός μεγάλου αριθμού αναλόγων φυσικών νουκλεοζιτών, καθώς και για τη μελέτη της σύνθεσης τροποποιημένων νουκλεοζιτών, η οποία πραγματοποιείται με την εισαγωγή νέων χημικών λειτουργικών ομάδων.

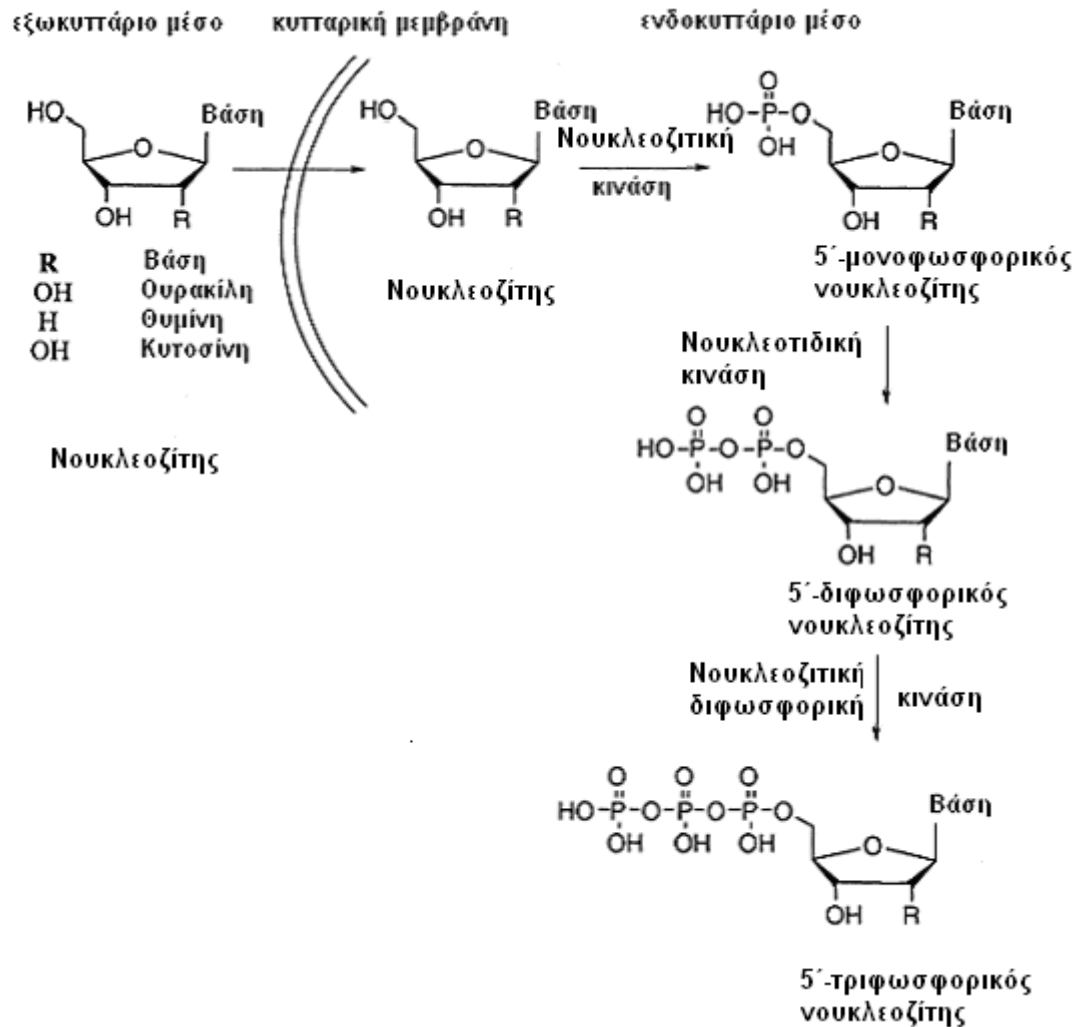
### **Τρόπος δράσης νουκλεοζιτών**

Ο βασικός λόγος που τα νουκλεοζιτικά ανάλογα χρησιμοποιούνται στη θεραπεία του καρκίνου και του AIDS, είναι ότι μπορούν να τροποποιηθούν δομικά, έτσι ώστε να παράγουν φαρμακολογικώς ενεργά παράγωγα, τα οποία διατηρώντας περισσότερες από τις μεταβολικές ιδιότητες των μητρικών ενώσεων, μπορούν να μεταφερθούν μέσα στο κύτταρο και να μεταβολιστούν. Στη συνέχεια, μπορούν να παρέμβουν στη σύνθεση των νουκλεϊκών οξέων, έτσι ώστε να προωθήσουν είτε αντιπολλαπλασιαστικές λειτουργίες, είτε την αντίσταση στην αντιγραφή του ιού στα μολυσμένα κύτταρα (Pastor-Anglada *et al.* 1998).

Τα αντικαρκινικά και τα αντιικά ανάλογα εμποδίζουν τον αναδιπλασιασμό και την επισκευή του κυτταρικού DNA και τον αναδιπλασιασμό του ιικού γενώματος. Αυτά τα θεραπευτικά ανάλογα είναι ανενεργά προφάρμακα, που εξαρτώνται από την ενδοκυττάρια φωσφορυλίωση για τη φαρμακολογική τους δράση (Arner and Eriksson 1995). Αν και τα φωσφορυλιωμένα ανάλογα δεν μπορούν να διαπεράσουν την κυτταρική μεμβράνη, τα μη φωσφορυλιωμένα εισάγονται στο κύτταρο από πρωτεΐνες-μεταφορείς νουκλεοζιτών. Φωσφορυλιώνονται κατόπιν προς τις τριφωσφορικές τους μορφές από κυτταρικά ή ιικά ένζυμα, και όντας 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 (MP) συνήθως καταλύεται από μία νουκλεοζιτική κινάση που κωδικοποιείται από το κύτταρο-ξενιστή ή τον ιό που μολύνει το κύτταρο-ξενιστή (Balzarini 1993, Wagner *et al.* 2000). Η μετατροπή των νουκλεοζιτών-MP προς τις αντίστοιχες 5'-διφωσφορικές και τριφωσφορικές δομές πραγματοποιείται από νουκλεοτιδικές κινάσες, καθώς και νουκλεοζιτικές

διφωσφορικές κινάσες, αντίστοιχα (Σχήμα 6). Συνεπώς, τόσο οι κυτταρικές όσο και οι ιικές κινάσες διαδραματίζουν ζωτικό ρόλο στο μεταβολισμό και την αντιγραφή των κυττάρων και των ιών.



Σχήμα 6.

### Πυρανονουκλεοζίτες

Οι έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα με στόχο τη δημιουργία φαρμάκων με αντιική και αντικαρκινική δράση, αφορούσαν κυρίως στη χρήση αναλόγων νουκλεοζιτών που έχουν ως σάκχαρο μία πεντόζη και φέρουν τη  $\beta$ -απεικόνιση, γεγονός που επιβεβαιώνεται και από τις σχετικές δομές στα σχήματα 1 και 2. Η σπουδαιότητα των πεντοζών αναγνωρίστηκε από τη στιγμή που η ριβόζη και η δεοξυριβόζη ταυτοποιήθηκαν ως συστατικά των

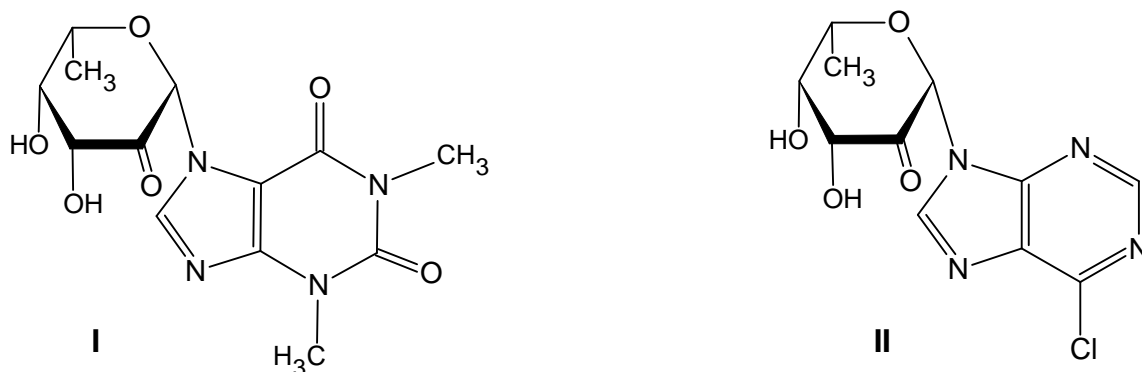
νουκλεϊκών οξέων. Όλοι οι νουκλεοζίτες στο DNA και RNA αποτελούνται από ένα D-πεντοφουρανοζικό σάκχαρο συνδεδεμένο με μία ετεροκυκλική νουκλεοβάση (πουρίνη ή πυριμιδίνη), μέσω ενός  $\beta$ -N-γλυκοσιδικού δεσμού (Saenger 1984, Blackburn and Gait 1996, Bloomfield *et al.* 1999). Όμως, ορισμένα προβλήματα που προέκυψαν από τη χρήση των φουρανονουκλεοζιτικών αναλόγων, όπως ο ανεπαρκής μεταβολισμός προς τις ενεργές τριφωσφορικές δομές τους, η χημική ή ενζυματική απενεργοποίησή τους, η τοξικότητα, η εμφάνιση νέων ανθεκτικών ιών και όγκων και τέλος ο μικρός χρόνος ημιζωής και κατά συνέπεια χρόνος δράσης τους, έστρεψαν το ενδιαφέρον των επιστημόνων στη μελέτη της αντικαρκινικής και αντιικής δράσης νέων νουκλεοζιτικών αναλόγων και ειδικότερα αυτών που φέρουν ως σάκχαρο μια εξόζη ([www.cf.ac.uk/phrmy/ChemEd/presentations.html](http://www.cf.ac.uk/phrmy/ChemEd/presentations.html)).

Θα πρέπει να τονιστεί ότι η έρευνα για την ανακάλυψη αντιικών και αντικαρκινικών νουκλεοζιτών με εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο είχε μείνει αρκετά βήματα πίσω σε σχέση με αυτή των βιολογικώς ενεργών νουκλεοζιτών με τροποποιημένους πενταμελείς δακτυλίους. Παρόλα αυτά, νουκλεοζίτες με τροποποιημένους εξαμελείς υδατανθρακικούς δακτυλίους έχουν αξιολογηθεί για τις πιθανές αντιικές (Verheggen *et al.* 1993, Verheggen *et al.* 1995, Maurinsh *et al.* 1997, Ostrowski *et al.* 1998), αντικαρκινικές (Antonakis 1989) και αντιβιοτικές τους ιδιότητες (Haouz *et al.* 2003), καθώς και ως δομικές μονάδες στη σύνθεση νουκλεϊκών οξέων (Vastmans *et al.* 2000, Vastmans *et al.* 2001).

### Κετο-πυρανονουκλεοζίτες

Μία ενδιαφέρουσα τάξη πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων αποτελούν οι κετο-πυρανονουκλεοζίτες, οι οποίοι περιλαμβάνουν μία κετονομάδα στο τμήμα του σακχάρου, ως αποτέλεσμα της οξειδωσης ενός ασύμμετρου ατόμου άνθρακα. Παρόλο που τα κετο-παράγωγα των πεντονουκλεοζιτών, στις περισσότερες των περιπτώσεων, αποδείχθηκαν ασταθή, τα κετο-παράγωγα των νουκλεοζιτών με εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο έδωσαν το έναυσμα για τη μελέτη μιας νέας και ενδιαφέρουσας χημείας (Antonakis and Leclercq 1970, Antonakis and Leclercq 1971). Η διαθεσιμότητα αυτών των μορίων ήταν καθοριστική για τη βιολογική έρευνα, αφού άνοιξε νέους ορίζοντες προς τη διερεύνηση του μηχανισμού δράσης των αντιβιοτικών, δεδομένου ότι όπως

προαναφέρθηκε, οι κετο-πυρανονουκλεοζίτες αποτελούν απαραίτητα ενδιάμεσα στη βιοσύνθεση πολλών φυσικών νουκλεοζιτικών αντιβιοτικών προϊόντων (Antonakis 1989). Επιπλέον, τα συγκεκριμένα μόρια εμφανίζουν το πλεονέκτημα ότι οδηγούν σε σύνθετους νουκλεοζίτες μεγάλου βιολογικού ενδιαφέροντος. Ειδικότερα, νουκλεοζίτες με διακλαδισμένη αλυσίδα στο τμήμα του σακχάρου, καθώς και νουκλεοζίτες που φέρουν αμινοσάκχαρα, λήφθηκαν από τους κετονουκλεοζίτες με απευθείας πυρηνόφιλη προσθήκη (Antonakis and Egron 1973, Halmos and Antonakis 1975, Herscovici *et al.* 1983, Antonakis 1989). Τέλος, θα πρέπει να τονιστεί ότι οι κετο-πυρανονουκλεοζίτες αποτελούν συνθόνες σε συνθετικές και βιοσυνθετικές διαδικασίες και επιπλέον ένας σημαντικός αριθμός αυτών εμφανίζει ενδιαφέρουσα αντικαρκινική και αντιική δράση (Cook and Moffatt 1967, Antonakis 1975, Antonakis 1984, Komiotis *et al.* 1991, Khan *et al.* 2002). Χαρακτηριστικά παραδείγματα αυτής της τάξης των νουκλεοζιτών, αποτελούν οι ενώσεις, 7-(6'-δεοξυ-β-D-λυξο-εξοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)θεοφυλλίνη (I, Σχήμα 7) (Antonakis and Arvor 1971, Antonakis 1972) και 9-(6'-δεοξυ-β-L-λυξο-εξοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)-6-χλωροπουρίνη (II) (Antonakis and Bessodes 1973), οι οποίες βρέθηκε ότι αναστέλλουν την ανάπτυξη των κυττάρων KB, όπως επίσης και την ανάπτυξη της λευχαιμίας L1210 στα ποντίκια.



Σχήμα 7.

## Ακόρεστοι κετονουκλεοζίτες

Μία ασυνήθιστη κατηγορία νουκλεοζιτών με τροποποιημένο εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο αποτελούν οι ακόρεστοι κετονουκλεοζίτες, οι οποίοι διαθέτουν ένα ευρύ φάσμα αντικαρκινικών και αντιικών ιδιοτήτων (Antonakis and Chouroulinkon 1974, Chouroulinkon and Antonakis 1977, Antonakis *et al.* 1980, Komiotis *et al.* 1991, Ollapaly *et al.* 1999). Στα συγκεκριμένα νουκλεοζιτικά ανάλογα ο δακτύλιος του σακχάρου περιλαμβάνει ένα διπλό δεσμό άνθρακα-άνθρακα σε  $\alpha,\beta$ -θέση ως προς την κετονομάδα. Οι ακόρεστοι κετονουκλεοζίτες έχουν καθιερωθεί για την αντινεοπλασματική δραστηριότητα και τα ανοσοκατασταλτικά τους χαρακτηριστικά (Alaoui *et al.* 1986, Chouroulinkon and Antonakis 1977, Paterson *et al.* 1998). Αποδείχθηκε ότι όχι μόνο παρουσιάζουν ανασταλτική δράση έναντι της ανάπτυξης διαφόρων καρκινικών κυτταρικών σειρών *in vitro* (Antonakis and Chouroulinkon 1974, Halmos *et al.* 1983) και της λευχαιμίας L1210 *in vivo* (Chouroulinkon and Antonakis 1977, Antonakis *et al.* 1980), αλλά επίσης ότι αποτελούν και σημαντικά συνθετικά ενδιάμεσα στο πεδίο των νουκλεοζιτών, λόγω της χημικής τους σταθερότητας στα διάφορα μέσα (Antonakis 1975). Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα αυτών των νουκλεοζιτών, αποτελούν οι ενώσεις **III** και **IV** (Σχήμα 8) (Antonakis and Chouroulinkon 1974, Chouroulinkon and Antonakis 1977, Antonakis *et al.* 1980).



B = Θεοφυλλίνη, Ac = Ακετύλιο, Bz = Βενζοϋλομάδα

**Σχήμα 8.**

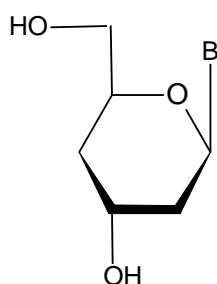
Οι έρευνες που πραγματοποιήθηκαν για να προσδιοριστεί η σχέση δομής-δράσης των ακόρεστων κετονουκλεοζιτών, απέδειξαν ότι μοναδική δομική

απαίτηση για την εμφάνιση της αντικαρκινικής τους δράσης αποτελεί η ύπαρξη του ηλεκτρονιόφιλου C=C-C=O συστήματος στο τμήμα του σακχάρου (Alaoui *et al.* 1986). Επιπλέον, η δράση αυτή εμφανίστηκε να είναι ανεξάρτητη από την ανωμερική απεικόνιση, την αξονική ή ισημερινή θέση της βάσης και τέλος την L- ή D-διάταξη του σακχάρου. Παρόλο που ο μηχανισμός δράσης αυτών των ενώσεων δεν είναι σαφής, φαίνεται ότι παρεμποδίζουν τη σύνθεση του DNA, του RNA και των πρωτεϊνών (Antonakis 1975) και ότι αντιδρούν με τις πρωτεϊνικές ομάδες σουλφυδρυλίου (Halmos *et al.* 1983). Μία άλλη σημαντική παράμετρος που συνεισφέρει στη βιολογική σπουδαιότητα των ανωτέρω 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 (Herdewijn and De Clercq 2001).

#### Δεοξυ-πυρανονουκλεοζίτες

Άλλη μία σημαντική κατηγορία νουκλεοζιτών με τροποποιημένο εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο είναι οι δεοξυ-πυρανονουκλεοζίτες, οι οποίοι παρουσιάζουν ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες (Antonakis 1989). Με τον όρο δεοξυνουκλεοζίτες υποδηλώνεται η αντικατάσταση ενός υδροξυλίου από ένα υδρογόνο σε οποιαδήποτε θέση του σακχάρου, το οποίο ενώνεται απευθείας με την αζωτούχο βάση. Ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε σε αυτήν την τάξη των νουκλεοζιτών από τη στιγμή που αντιβιοτικά, τα οποία περιέχουν 6'-δεοξυπυρανόζες έχουν απομονωθεί από διάφορες φυσικές πηγές και επιπλέον λόγω της εμφάνισης της αντικαρκινικής δράσης των 6'-δεοξυ-κετονουκλεοζιτών (Suhadolnik 1970, Antonakis and Chouroulou 1974, Suhadolnik 1979). Αξιοσημείωτη, όμως, είναι και η αντιική, καθώς και η αντιλευχαιμική δράση που εμφάνισαν ορισμένοι πουρινικοί και πυριμιδινικοί 2'-δεοξυπυρανονουκλεοζίτες (Langen and Etzold 1966, Nord *et al.* 1987). Μία ακόμη διαπίστωση που αυξάνει το ενδιαφέρον για τους συγκεκριμένους νουκλεοζίτες, αποτελεί το γεγονός ότι ολιγονουκλεοτίδια, τα οποία περιέχουν διάφορους διδεοξυ-β-D-ερυθρο-εξοπυρανονουκλεοζίτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αντινοσηματικά ολιγονουκλεοτίδια (Augustyns *et al.* 1994) και επιπλέον ότι, οι 2',4'-διδεοξυ-β-D-ερυθρο-εξοπυρανονουκλεοζίτες (ενώσεις **V**, Σχήμα 9) αποδείχθηκαν χρήσιμες

δομικές μονάδες για τη σύνθεση νουκλεϊκών οξέων (Augustyns *et al.* 1992, Augustyns *et al.* 1993). Επιπλέον, θα πρέπει να αναφερθεί και η αντιική δράση των 1,5-ανυδροεξιτολο-νουκλεοζιτών έναντι του ιού του απλού έρπητα τύπου 1 και τύπου 2, του κυτταρομεγαλοϊού καθώς και του ιού έρπητα ζωστήρα (ενώσεις **VI**, Σχήμα 9) (Verheggen *et al.* 1993, Verheggen *et al.* 1995).

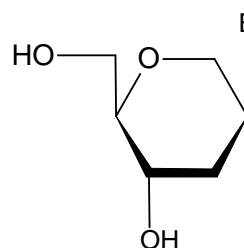


**V**

α: B = κυτοσίνη

β: B = γουανίνη

γ: B = αδερίνη



**VI**

α: B = αδερίνη

β: B = 5-ιοδοουρακίλη

γ: B = κυτοσίνη

δ: B = θυμίνη

ε: B = γουανίνη

**Σχήμα 9.**

### Φθοριωμένοι νουκλεοζίτες

Τέλος, την τελευταία δεκαετία έχει δοθεί ιδιαίτερο ενδιαφέρον στη μελέτη φθορονουκλεοζιτών προκειμένου να βρεθούν νέα αντικαρκινικά, αντιικά, ή αντι-HIV φάρμακα με μεγαλύτερη εκλεκτικότητα και λιγότερες ανοσοκατασταλτικές παρενέργειες σε σχέση με τα έως τώρα χρησιμοποιούμενα σε κλινικό επίπεδο (Lee *et al.* 1999, Lee *et al.* 2002, Chong *et al.* 2002, Kumar *et al.* 2004, Clark *et al.* 2006). 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 (Herdewijn *et al.* 1989, Tsuchiya 1990, Ternansky *et al.* 1993, Pankiewicz 2000). Ειδικότερα, η παρουσία ενός φθορίου στο μόριο του σακχάρου των νουκλεοζιτών με πενταμελή



υδατανθρακικό δακτύλιο, αποδείχθηκε ότι είναι μια αποτελεσματική μέθοδος αύξησης της δράσης τους (Van Aerschot 1989, Matthes *et al.* 1990, Daluge *et al.* 1994, Fuentes *et al.* 2002). Φαίνεται ότι η παρουσία φθορίου αυξάνει το λιπόφιλο χαρακτήρα του μορίου διευκολύνοντας με αυτόν τον τρόπο τη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης (Morton *et al.* 1969, Blandin *et al.* 1974, Lipnick and Fissekis 1980, Van Aerschot *et al.* 1989). Η αντικατάσταση ενός υδρογόνου από ένα φθόριο σε ένα βιολογικά ενεργό μόριο δεν αναμένεται να προκαλέσει στερεοχημικές μεταβολές όσον αφορά στον τρόπο σύνδεσης του μορίου έναντι διαφόρων υποδοχέων και ενζύμων. Αντίθετα, η μεγάλη ισχύς του δεσμού C-F, σε σχέση με αυτή του δεσμού C-H, παρεμποδίζει το μεταβολισμό με αποτέλεσμα την αύξηση του χρόνου ημιζωής του μορίου. Επιπλέον, η ικανότητα έλξης ηλεκτρονίων από το φθόριο, δεδομένου ότι είναι το πιο ηλεκτραρνητικό όλων των στοιχείων, μπορεί να έχει σημαντικές επιπτώσεις στη χημική δραστικότητα.

### Στόχοι της παρούσης διατριβής

Τα φάρμακα, τα οποία ως δραστική ουσία περιέχουν κάποιο νουκλεοζιτικό ανάλογο αποτελούν ελπιδοφόρα προϋπόθεση για την αντιμετώπιση ακόμα και θανατηφόρων ασθενειών που ταλανίζουν την ανθρωπότητα. Συνεπώς, με επιτακτική την ανάγκη για την εύρεση νέων αντιικών και αντικαρκινικών μέσων και με βάση τις σημαντικές φαρμακευτικές ιδιότητες των πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων, στόχο της παρούσας εργασίας αποτελεί η σύνθεση και η βιολογική αποτίμηση νέων τάξεων φθορονουκλεοζιτών, με τροποποιημένους εξαμελείς υδατανθρακικούς δακτυλίους.

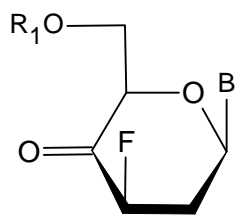
Ειδικότερα, λαμβάνοντας υπόψη ότι:

- α) η κυτοσίνη και η αδερίνη συμμετέχουν σε ένα μεγάλο αριθμό βιολογικών διεργασιών
- β) η εισαγωγή φθορίου στο σάκχαρο ενός φουρανονουκλεοζίτη έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της βιολογικής του δράσης και
- γ) τα κετο και δεοξυ-πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα παρουσιάζουν ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες,

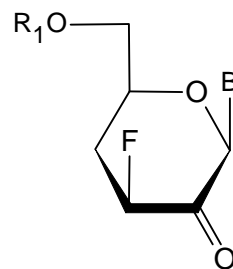
τα αποτελέσματα που θα παρουσιαστούν στην παρούσα διατριβή αφορούν στην περιγραφή μιας σειράς αντιδράσεων, οι οποίες οδηγούν στη σύνθεση τριών νέων τάξεων φθοριωμένων κετο-πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων που θα φέρουν:

- 1) την  $N^4$ -βενζοϋλοκυτοσίνη ως ετεροκυκλική βάση, δεοξυ στη θέση 2', φθόριο στη θέση 3' και κετονομάδα στη θέση 4' του σακχάρου (δομή **VII**, Σχήμα 10).
- 2) την  $N^4$ -βενζοϋλοκυτοσίνη ως ετεροκυκλική βάση, δεοξυ στη θέση 4', φθόριο στη θέση 3' και κετονομάδα στη θέση 2' του σακχάρου (δομή **VIII**).
- 3) την  $N^4$ -βενζοϋλοκυτοσίνη ως ετεροκυκλική βάση, φθόριο στη θέση 3', κετονομάδα στη θέση 2' και διπλό δεσμό στις θέσεις 3',4' του σακχάρου (δομή **IX**).
- 4) την  $N^4$ -βενζοϋλοκυτοσίνη και την  $N^6$ -βενζοϋλοαδερίνη ως ετεροκυκλικές βάσεις, φθόριο στη θέση 3', κετονομάδα στη θέση 4' και διπλό δεσμό στις θέσεις 2',3' του σακχάρου (δομή **X**).
- 5) την  $N^4$ -βενζοϋλοκυτοσίνη και την  $N^6$ -βενζοϋλοαδερίνη ως ετεροκυκλικές βάσεις, δεοξυ στη θέση 6', φθόριο στη θέση 3', κετονομάδα στη θέση 4' και διπλό δεσμό στις θέσεις 2',3' του σακχάρου (δομή **XI**).
- 6) την  $N^6$ -βενζοϋλοαδερίνη ως ετεροκυκλική βάση, δεοξυ στη θέση 6', φθόριο στη θέση 3', κετονομάδα στη θέση 2' και διπλό δεσμό στις θέσεις 3',4' του σακχάρου (δομή **XII**).

Αξίζει να τονιστεί ότι παρατίθενται και οι βιολογικές μελέτες, οι οποίες πραγματοποιήθηκαν στα συγκεκριμένα νουκλεοζιτικά ανάλογα και αποτελούν αδιάψευστους μάρτυρες της μεγάλης βιολογικής σπουδαιότητας αυτών των δομών.



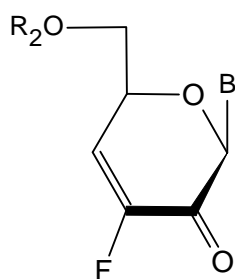
**VII**



**VIII**

B = *N*<sup>4</sup>-Βενζοϋλοκυτοσίνη ή

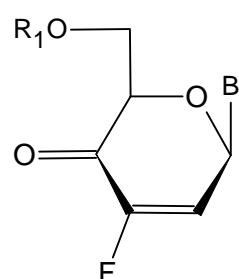
B = *N*<sup>6</sup>-Βενζοϋλοαδερίνη



**IX**

R<sub>1</sub> = Tr ή H

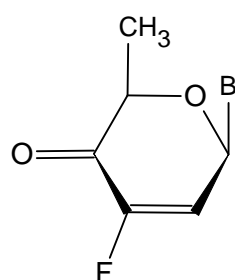
R<sub>2</sub> = Ac ή H



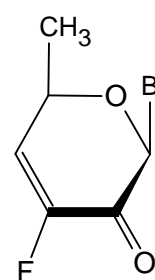
**X**

Ac = Ακετύλιο

Tr = Τριτύλιο



**XI**



**XII**

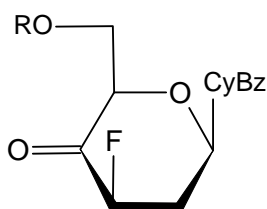
**Σχήμα 10.**

## II. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ – ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

### ΔΕΟΞΥΚΕΤΟΦΘΟΡΟ-ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ

Όπως προαναφέρθηκε, οι κετονουκλεοζίτες αποτελούν σημαντικά ενδιάμεσα σε συνθετικές και βιοσυνθετικές διαδικασίες, πολλές από τις οποίες έχουν ως αποτέλεσμα την αντιογκογονική δράση. Από την άλλη πλευρά, οι δεοξυ-πυρανονουκλεοζίτες αποδείχθηκε ότι διαθέτουν αξιοσημείωτες βιολογικές ιδιότητες και ότι αποτελούν χρήσιμες δομικές μονάδες για τη σύνθεση νουκλεϊκών οξέων. Τέλος, η εκλεκτική φθορίωση στη 2'- ή/και τη 3'-θέση του δακτυλίου του σακχάρου των φουρανονουκλεοζιτικών αναλόγων έχει μελετηθεί εκτενώς για την εύρεση ακίνδυνων, αποτελεσματικών και χημικά σταθερών αντιικών και αντικαρκινικών μέσων.

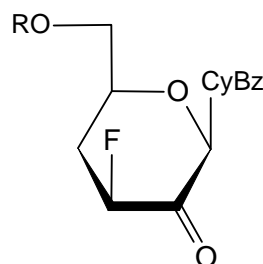
Με βάση αυτές τις παρατηρήσεις, σε συνδυασμό με το ότι διάφορα φυσικά αντιβιοτικά φέρουν στο σκελετό τους την κυτοσίνη ως ετεροκυκλική βάση, θεωρήθηκε ενδιαφέρουσα η σύνθεση μιας νέας τάξης δεοξυφθορο-κετονουκλεοζιτών και ειδικότερα των 2',3'-διδεοξυ-4'-κετο- και 3',4'-διδεοξυ-2'-κετο-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της *N*<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνης (δομές **VII** και **VIII** αντίστοιχα, ενώσεις **15**, **16** και **23**, **24**, Σχήμα 11).



**VII**

**15** R = Tr

**16** R = H



**VIII**

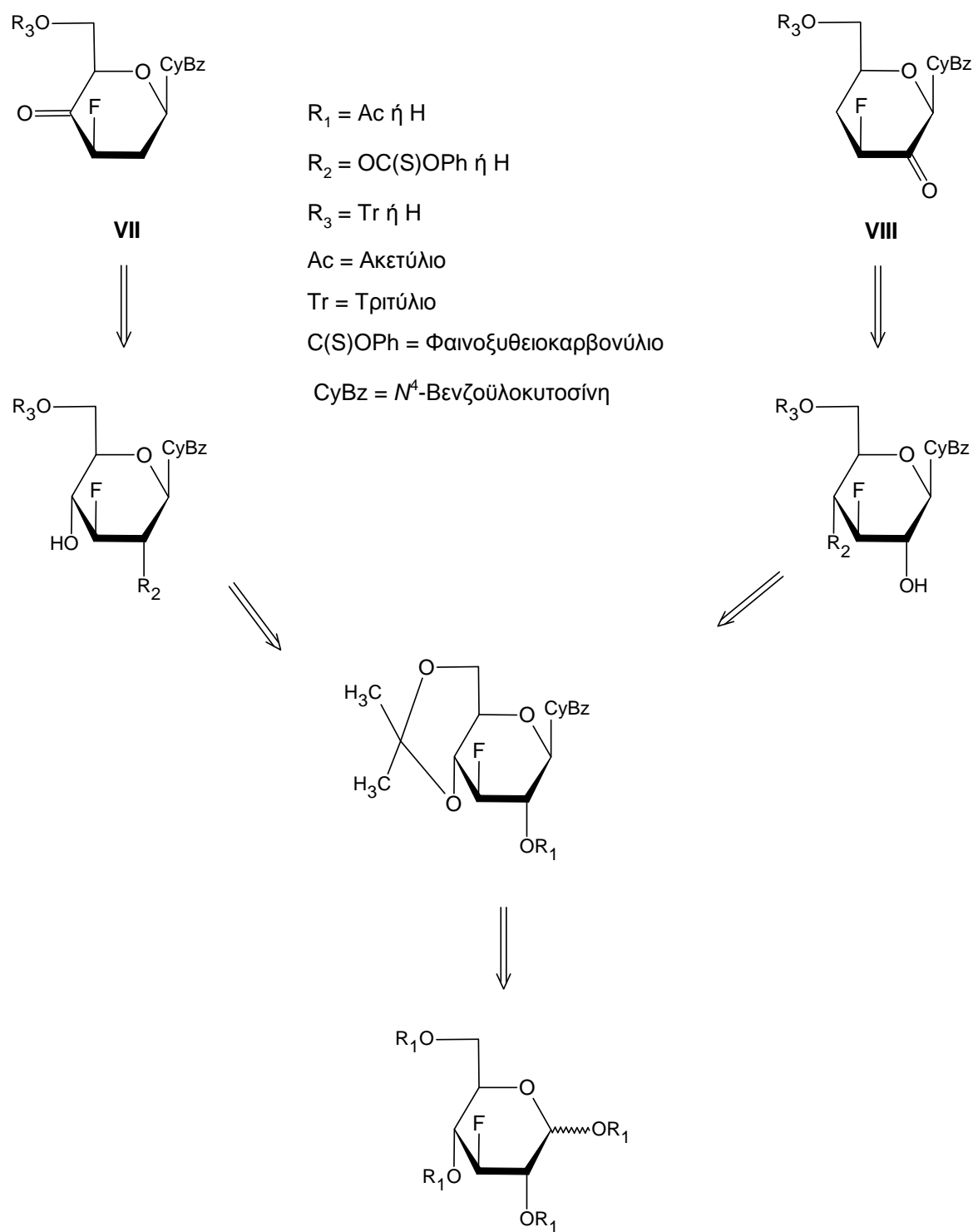
**23** R = Tr

**24** R = H

CyBz = *N*<sup>4</sup>-Βενζοϋλοκυτοσίνη, Tr = Τριπύλιο

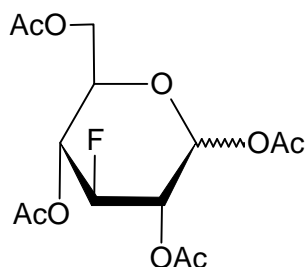
**Σχήμα 11.**

Η ρετροσυνθετική προσέγγιση για την παρασκευή τόσο των 2',3'-διδεοξυ-4'-κετο- όσο και των 3',4'-διδεοξυ-2'-κετο-3'-φθορονουκλεοζιτών (δομές **VII** και **VIII**, αντίστοιχα), περιγράφεται στο σχήμα 12 που ακολουθεί:



**Σχήμα 12.**

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-Ο-ακετυλογλυκοπυρανόζη (**7**), (Σχήμα 13). Το σάκχαρο **7** αποτελεί τη συνθόνη, η οποία μετά από μία σειρά διαδοχικών αντιδράσεων, θα οδηγήσει στα επιθυμητά νουκλεοζιτικά παράγωγα.



**7**

Ac = Ακετύλιο

**Σχήμα 13.**

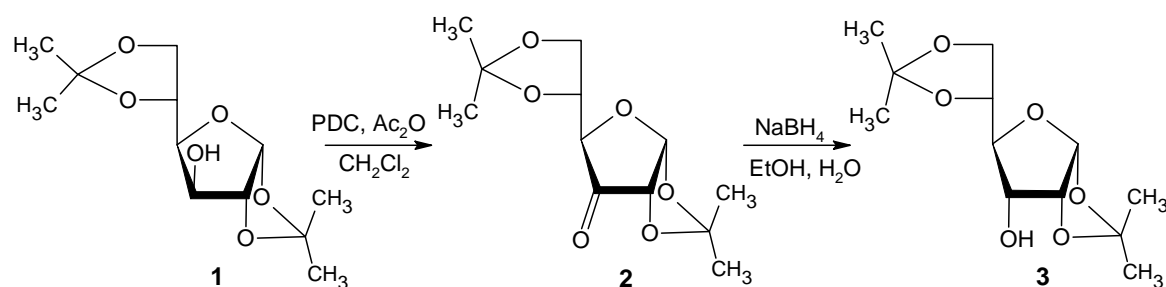
Θα πρέπει να τονιστεί ότι στην περίπτωση των κετονουκλεοζιτών που θα συντεθούν στην παρούσα εργασία, η εισαγωγή της κετόνης ως λειτουργικής ομάδας στο γλυκοζιτικό τμήμα δεν μπορεί να γίνει παρά μόνο μετά το σχηματισμό των κατάλληλων νουκλεοζιτών, οι οποίοι θα φέρουν ως σάκχαρο την ένωση **7**. Αυτό συμβαίνει διότι η συμπύκνωση ενός σακχάρου, που διαθέτει μια κετονομάδα, με μια ετεροκυκλική βάση έχει αποδειχθεί αδύνατη (Lakaf 1987), καθώς προκαλούνται μη αντιστρεπτές αντιδράσεις β-απόσπασης που οδηγούν σε ακόρεστες δομές.

Ένα γεγονός που συμβάλλει στη σπουδαιότητα των νουκλεοζιτών που θα συντεθούν στην παρούσα εργασία, είναι ότι η σύζευξη του σακχάρου **7** με τις ετεροκυκλικές βάσεις οδηγεί σε νουκλεοζίτες που φέρουν τη β-απεικόνιση, όπως φαίνεται και από τη ρετροσύνθεση του σχήματος 12. Αυτό οφείλεται αποκλειστικά και μόνο στην ύπαρξη του υποκαταστάτη στη 2'-θέση του σακχάρου, ο οποίος οδηγεί στη λήψη του ενός από τα δύο ανωμερή. Η απουσία υποκαταστάτη στη συγκεκριμένη θέση του σακχάρου θα οδηγούσε στη λήψη μίγματος ανωμερών

του νουκλεοζίτη, γεγονός που θα δυσχέραινε τη συνέχιση και κατά συνέπεια την ολοκλήρωση της συνθετικής πορείας.

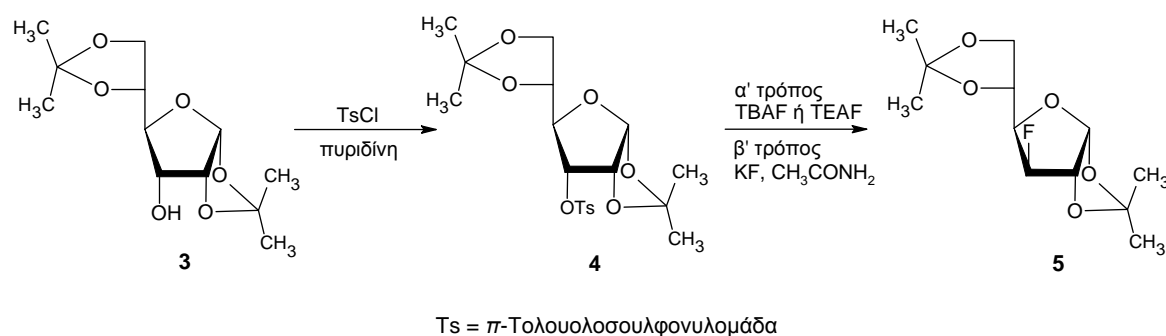
### 3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2,4,6-τετρα-Ο-ακετυλογλυκοπυρανόζη (7)

Το πρώτο στάδιο της συνθετικής διαδικασίας για τη λήψη του επιθυμητού σακχάρου **7**, απεικονίζεται στο σχήμα 14 και περιλαμβάνει την οξείδωση της εμπορικά διαθέσιμης, 1,2:5,6-δισ-Ο-ισοπροπυλιδενο-α-D-γλυκοφουρανόζης (DAG) (**1**) παρουσία διχρωμικής πυριδίνης (PDC) και οξικού ανυδρίτη ( $\text{Ac}_2\text{O}$ ) σε διχλωρομεθάνιο (Elhalabi and Rice 2004), με την οποία λαμβάνεται η ένωση, 1,2:5,6-δισ-Ο-ισοπροπυλιδενο-α-D-ριβοεξοφουρανοζο-3-ουλόζη (**2**). Στη συνέχεια, η αναγωγή της κετόνης **2** πραγματοποιείται στερεοεκλεκτικά χρησιμοποιώντας νατριοβοροϋδρίδιο ( $\text{NaBH}_4$ ) (Baker *et al.* 1972), οπότε παράγεται η 1,2:5,6-δισ-Ο-ισοπροπυλιδενο-α-D-αλλοφουρανόζη (**3**) σε πολύ ικανοποιητική απόδοση (80% από την ένωση **1**). Παρόλα αυτά έχει αναφερθεί ότι η αναγωγή της κετόνης **2** με το λιθιοαργιλιοϋδρίδιο ( $\text{LiAlH}_4$ ) δίνει ένα μίγμα του αλλο-παραγώγου και γλυκο-παραγώγου 7:3, αντίστοιχα (Collins 1965), ενώ χρησιμοποιώντας κυανοϋδρίνη λαμβάνεται η επιθυμητή D-αλλόζη σε απόδοση μόνο 30% (Humoller 1962).



Σχήμα 14.

Η επόμενη αντίδραση της συνθετικής πορείας είναι η σουλφονυλίωση του παραγώγου της αλλόζης (**3**) (Σχήμα 15), η οποία πραγματοποιείται εύκολα με κατεργασία του με π-τολουολοσουλφονυλοχλωρίδιο ( $\text{TsCl}$ ) σε πυριδίνη, σε θερμοκρασία δωματίου (Foster *et al.* 1967).



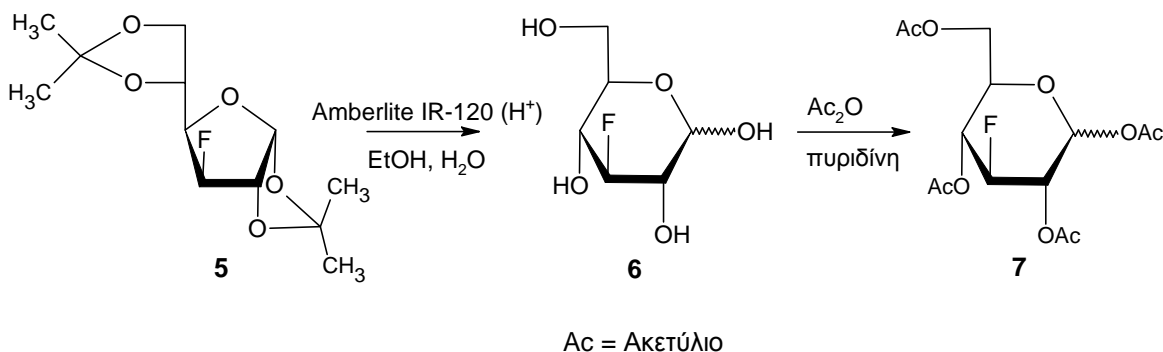
**Σχήμα 15.**

Ακολουθεί η αντικατάσταση της τοσυλομάδας στον άνθρακα C-3 του προϊόντος **4** από ένα άτομο φθορίου. Σε αυτό το σημείο θα πρέπει να αναφερθούν μελέτες, οι οποίες απέδειξαν ότι το τοσυλο-παράγωγο της αρχικής ένωσης DAG δίνει κατά κύριο λόγο προϊόντα απόσπασσης (Wolfrom *et al.* 1962, Zinner *et al.* 1964, Nayak and Whistler 1969, Whistler and Doner 1970). Αντίθετα, η πυρηνόφιλη υποκατάσταση στην 1,2:5,6-δισ-*O*-ισοπροπυλιδενο-3-*O*-τολουολοσουλφονυλο- $\alpha$ -*D*-αλλοφουρανόζη (**4**) είναι μία λογική και εύκολη διαδικασία, η οποία δίνει προϊόν με αναστροφή κατά Walden στη θέση 3 του σακχάρου (Foster *et al.* 1967). Αρχικά, η συγκεκριμένη αντίδραση υποκατάστασης πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο του φθοριούχου τετρα-*n*-βουτυλαμμωνίου (TBAF) (Foster *et al.* 1967), η οποία όμως έχει πολλά μειονεκτήματα, όπως η απαιτούμενη μεγάλη περίσσεια του αντιδραστήριου (5.6 eq), οι αυστηρά άνυδρες συνθήκες, καθώς επίσης και ο μεγάλος χρόνος αντίδρασης (3.5 ημέρες). Παρόμοια προβλήματα αντιμετωπίστηκαν και με τη χρήση του εμπορικά διαθέσιμου φθοριούχου τετρααιθυλαμμωνίου (TEAF). Για τους λόγους αυτούς η εισαγωγή του φθορίου στον άνθρακα C-3 της ένωσης **4** πραγματοποιείται, όταν η ένωση αυτή κατεργάζεται με φθοριούχο κάλιο (KF) σε ακεταμίδιο ( $\text{CH}_3\text{CONH}_2$ ) στους  $\sim 210^\circ\text{C}$  (εσωτερική θερμοκρασία) (Reichman *et al.* 1975). Το καθαρό φθοριωμένο ανάλογο, 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2:5,6-δισ-*O*-ισοπροπυλιδενο- $\alpha$ -*D*-γλυκοφουρανόζη (**5**), απομονώνεται εύκολα και σε απόδοση 62%.

Η συνθετική πορεία συνεχίζεται με την υδρόλυση του προϊόντος **5** με ένα θερμό υδατικό διάλυμα της ρητίνης Amberlite IR-120 ( $\text{H}^+$ ), η οποία οδηγεί στην ένωση, 3-δεοξυ-3-φθορογλυκόζη (**6**) (Σχήμα 16) σε άριστη απόδοση (97%)



(Foster *et al.* 1967). Τέλος, με ακετυλίωση του προϊόντος **6** παρουσία  $\text{Ac}_2\text{O}$  σε πυριδίνη, λαμβάνεται το επιθυμητό σάκχαρο, 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2,4,6-τετρα-Ο-ακετυλογλυκοπυρανόζη (**7**), σε κρυσταλλική μορφή και σε αρκετά καλή απόδοση (79%).



**Σχήμα 16.**

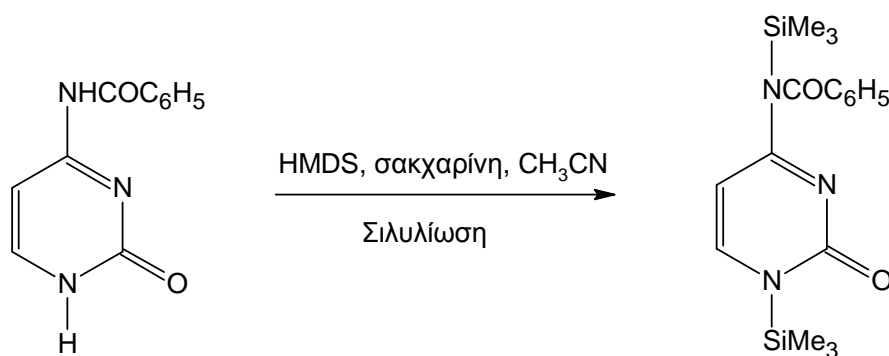
### Σύνθεση νουκλεοζιτών

Μετά τη σύνθεση του επιθυμητού σακχάρου **7**, που αποτελεί το προϊόν αφετηρία για τη λήψη των επιθυμητών δεοξυ-φθοροκετονουκλεοζιτικών παραγώγων, το επόμενο βήμα της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει τη σύνθεση των κατάλληλων νουκλεοζιτών, οι οποίοι φέρουν ως σάκχαρο την ένωση **7** και ως ετεροκυκλικές βάσεις την  $N^4$ -βενζοϋλοκυτοσίνη και την  $N^6$ -βενζοϋλοαδενίνη.

Για να επιτευχθεί η σύνθεση των νουκλεοζιτών, το γλυκοζιτικό μέρος πρέπει να χρησιμοποιείται πάντα υπό τη μορφή του ακετυλιωμένου σακχάρου, γεγονός που ισχύει και στην προκειμένη περίπτωση. Από την άλλη πλευρά, η βάση, υπό συγκεκριμένες συνθήκες, πρέπει να ενεργοποιηθεί υπό τη μορφή άλατος ή συμπλόκου, όπου τα δραστικά υδρογόνα της ίδιας της βάσης αντικαθίστανται από τριμεθυλοσιλυλομάδες. Συνεπώς αφού εξασφαλιστεί η διαθεσιμότητα του επιθυμητού ακετυλιωμένου σακχάρου **7**, ακολουθεί σιλυλίωση της κυτοσίνης και της αδενίνης.

## Σιλυλίωση των βάσεων

Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν το 1974 από τους Niedballa και Vorbruggen (Niedballa and Vorbruggen 1974), απέδειξαν ότι οι σιλυλιωμένες ουρακίλες και κυτοσίνες, αντιδρούν εύκολα με τα ακυλιωμένα σάκχαρα για να σχηματίσουν τους αντίστοιχους ακυλιωμένους νουκλεοζίτες σε πολύ καλές αποδόσεις. Έτσι και στη συγκεκριμένη περίπτωση, για να επιτευχθεί η συμπύκνωση της εμπορικά διαθέσιμης  $N^4$ -βενζοϋλοκυτοσίνης με το σάκχαρο, 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2,4,6-τετρα-Ο-ακετυλογλυκοπυρανόζη (**7**) χρησιμοποιείται η σιλυλιωμένη κυτοσίνη, η οποία προκύπτει από αντίδραση με εξαμεθυλοδισιλαζάνιο (HMDS) σε διαλύτη ακετονιτρίλιο ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ). Η συγκεκριμένη αντίδραση καταλύεται από τη σακχαρίνη και έτσι λαμβάνεται το παράγωγο δις-τριμεθυλοσιλυλο- $N^4$ -βενζοϋλοκυτοσίνη (Σχήμα 17).

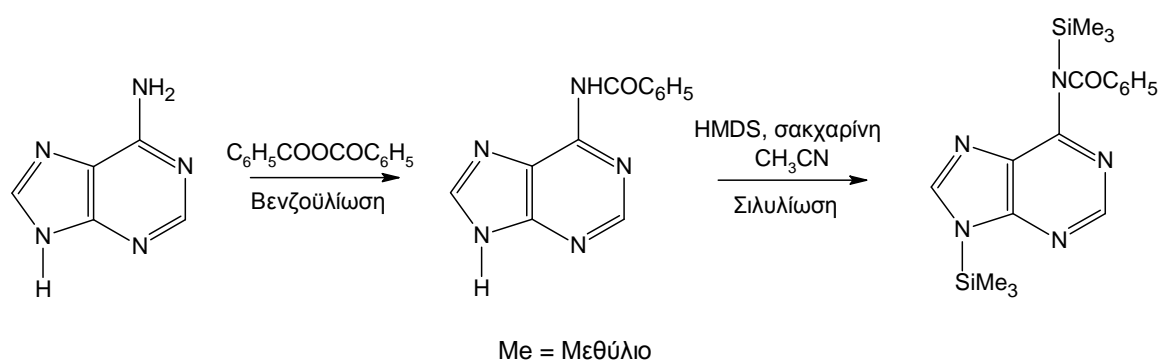


Σχήμα 17.

Το 1960 ο Sato και οι συνεργάτες του (Sato *et al.* 1960), χρησιμοποίησαν με επιτυχία τις πουρίνες σε αντιδράσεις συμπύκνωσης με σάκχαρα. Τα κυριότερα συμπεράσματα της μελέτης αυτών των αντιδράσεων είναι ότι οι πουρίνες, ως βάσεις, συμπεριφέρονται κατά κανόνα, όπως οι φαινόλες, παρουσιάζοντας μεγάλη θερμοανθεκτικότητα και κατά συνέπεια εμφανίζουν την τάση να αντιδρούν σύμφωνα με τη διαδικασία της συμπύκνωσης. Παρόλα αυτά η μέθοδος της συμπύκνωσης δεν είναι εφαρμόσιμη σε όλες τις πουρίνες. Κατά γενική ομολογία, οι πουρίνες που φέρουν πυρηνόφιλες ομάδες, όπως στην περίπτωση μας ( $-\text{NH}_2$  αδερίνη), δε δίνουν εύκολα αυτόν τον τύπο της αντίδρασης. Αντίθετα, αν ο

πυρήνας της πουρίνης φέρει ηλεκτρονιόφιλους υποκαταστάτες (ακυλο: -CO-R, αλογόνο: Cl, Br), στη θέση 6 ή 2, τότε σε αυτές τις περιπτώσεις το πιο ευκίνητο υδρογόνο εντοπίζεται στη θέση 9. Με αυτόν τον τρόπο ενεργοποιείται η πουρίνη και μπορεί να συμμετάσχει επιτυχώς στην αντίδραση της συμπύκνωσης.

Με βάση αυτές τις παρατηρήσεις, στην παρούσα εργασία πραγματοποιείται η εισαγωγή μιας ακυλομάδας στο άζωτο *N*-6 της αδεΐνης για να ενεργοποιηθεί το υδρογόνο του αζώτου *N*-9 και έτσι να επιτευχθεί η σύνθεση των *N*-9 νουκλεοζιτών. Οι δοκιμές της συμπύκνωσης με απροστάτευτη αδεΐνη δεν έχουν οδηγήσει παρά μόνο σε *N*-6 νουκλεοζίτες σε πολύ μικρές αποδόσεις. Για τους λόγους αυτούς, αρχικά πραγματοποιείται η βενζοϋλίωση της αδεΐνης κατόπιν κατεργασίας της με το βενζοϊκό ανυδρίτη ( $C_6H_5COOCOC_6H_5$ ) (Ness 1968). Στη συνέχεια, για να επιτευχθεί η συμπύκνωση της βάσης με το φθορο-τετρακετυλιωμένο σάκχαρο **7**, χρησιμοποιείται η σιλυλιωμένη αδεΐνη, η οποία παράγεται με τρόπο όμοιο όπως και στην περίπτωση της κυτοσίνης. Η συγκεκριμένη αντίδραση καταλύεται από τη σακχαρίνη και έτσι λαμβάνεται το παράγωγο δις-τριμεθυλοσιλυλο-*N*<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδεΐνη (Σχήμα 18).



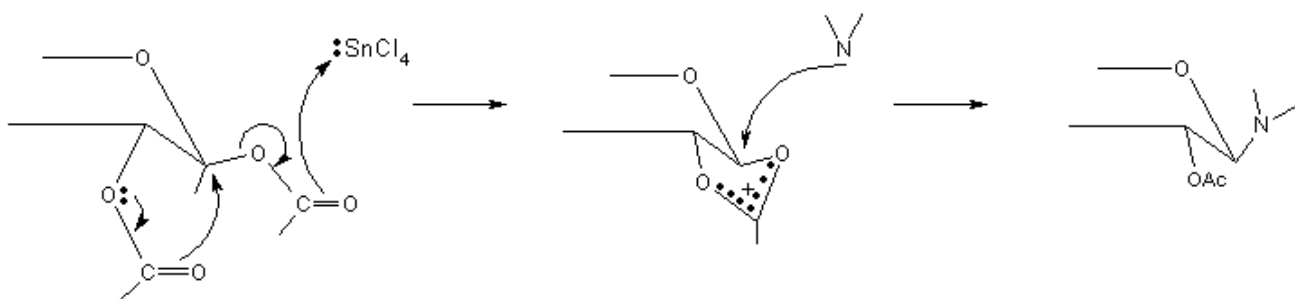
**Σχήμα 18.**

## Μηχανισμός συμπύκνωσης

Ο μηχανισμός της αντίδρασης της συμπύκνωσης με διαφορετικές μεθόδους, όπως συγχώνευση (Sato *et al.* 1960, Sato *et al.* 1961), σιλυλίωση (Ishido 1964, Hosono *et al.* 1973, Watanabe *et al.* 1974) κ.λ.π., αποτέλεσε το θέμα αρκετών δημοσιεύσεων.

Έτσι στην περίπτωση των νουκλεοζιτών που θα συντεθούν στην παρούσα εργασία και με βάση τις μελέτες, οι οποίες σχετίζονται με τους μηχανισμούς αυτής της συμπύκνωσης (κυρίως εκείνες που αφορούν στην επιρροή του όξινου καταλύτη Lewis για τα ληφθέντα ανωμερή προϊόντα), έχει υιοθετηθεί η υπόθεση των Vorbruggen και Hofle (Vorbruggen and Hofle 1981).

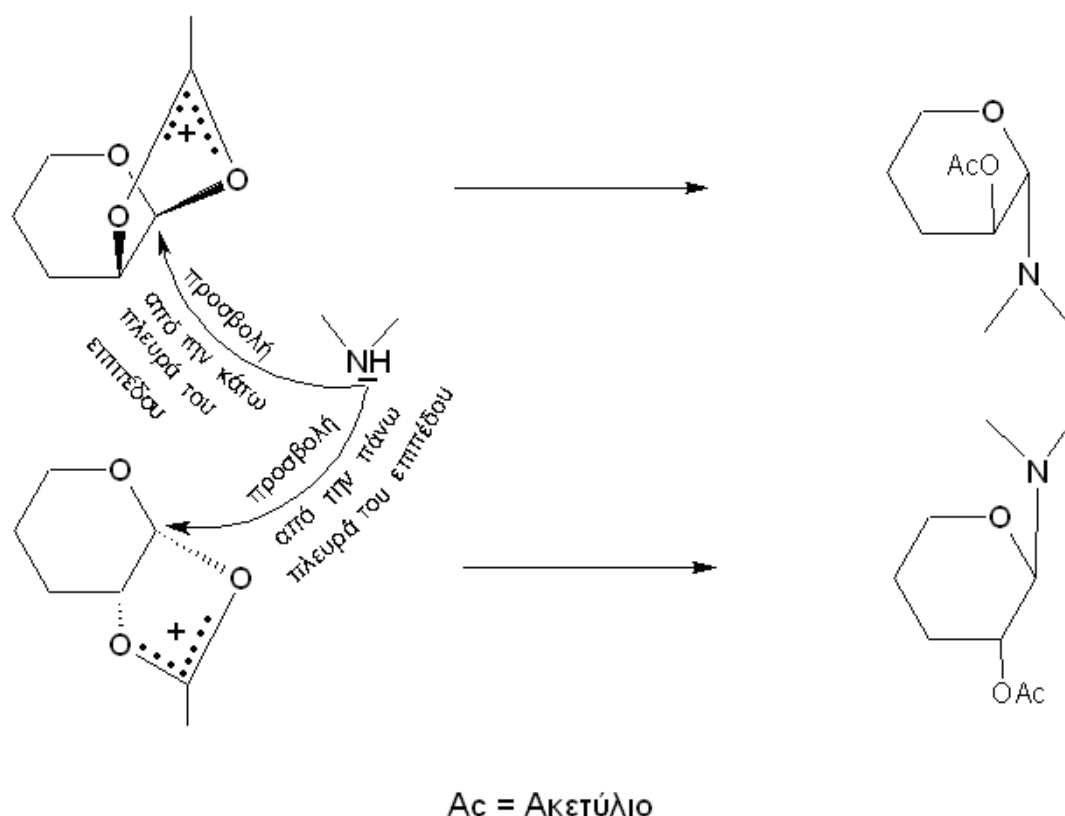
Πράγματι, σύμφωνα με αυτούς τους ερευνητές, η συγκεκριμένη αντίδραση θα άρχιζε από το σχηματισμό ενός κατιονικού ενδιάμεσου στον ανωμερικό άνθρακα του σακχάρου. Αυτό το ενδιάμεσο προκύπτει από την προσβολή του όξινου καταλύτη Lewis στα ηλεκτρόνια του οξυγόνου του ακετυλίου που βρίσκεται στον άνθρακα C-1. Αυτό το καρβοκατιόν δέχεται έπειτα προσβολή από το πιο πυρηνόφιλο άζωτο της βάσης (Σχήμα 19).



Σχήμα 19.

Η διαμεσολάβηση του συγκεκριμένου καρβωνιόντος υποχρεώνει τη βάση να προσβάλλει το κατιόν από την αντίθετη πλευρά με αποτέλεσμα τον αποκλειστικό σχηματισμό ενός από τα δύο ανωμερή. Είναι επίσης πιθανόν η βάση να βρίσκεται σε θέση *trans* ως προς το 2'-OAc.

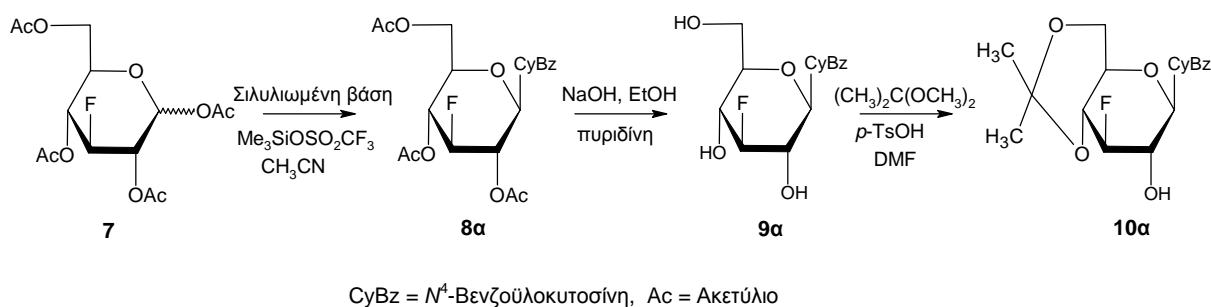
Τέλος, όπως προαναφέρθηκε, πολύ σημαντικός είναι ο ρόλος του υποκαταστάτη στον άνθρακα C-2', ο οποίος προσανατολίζει την πορεία προσβολής της βάσης (Σχήμα 20).



Σχήμα 20.

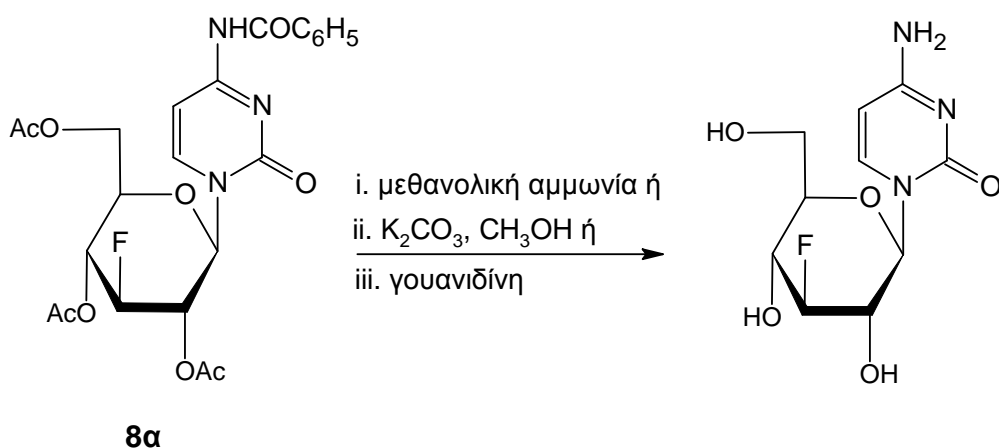
### 2',3'-Διδεοξυ-4'-κετο-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικά παράγωγα της N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνης

Το πρώτο στάδιο της συνθετικής πορείας για την παρασκευή των επιθυμητών 2',3'-διδεοξυ-3'-φθορο-4'-κετονουκλεοζιτικών αναλόγων της N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνης (δομή VII, ενώσεις 15 και 16, Σχήμα 11), είναι όπως προαναφέρθηκε, η σύνθεση του κατάλληλου νουκλεοζίτη 8α (Σχήμα 21). Συνεπώς, η σύζευξη της σιλυλιωμένης N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνης με το σάκχαρο 7 σε διαλύτη CH<sub>3</sub>CN, παρουσία του τριφθορομεθανοσουλφονικού τριμεθυλοσιλυλεστέρα (Me<sub>3</sub>SiOSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>) ως καταλύτη (Niedballa and Vorbruggen 1974, Milecki 1999), οδηγεί στον β-ανωμερή νουκλεοζίτη, 1-(3'-δεοξυ-3'-φθορο-2',4',6'-τρις-O-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (8α), ο οποίος λαμβάνεται σε απόδοση 68%.



**Σχήμα 21.**

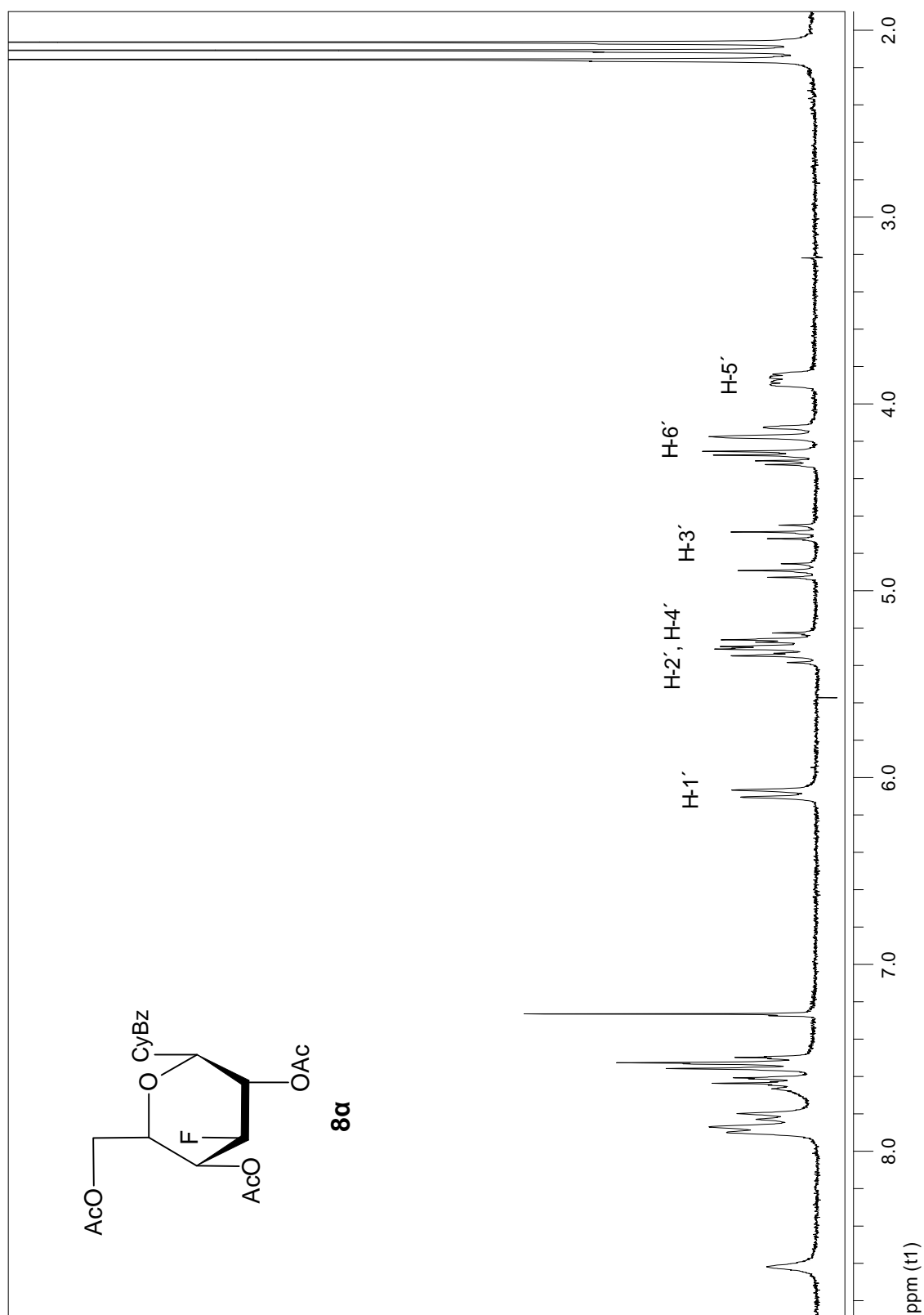
Στη συνέχεια, η εκλεκτική αποπροστασία της ένωσης **8a** πραγματοποιείται με τη χρήση υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) σε EtOH-πυριδίνη (Milecki *et al.* 2001), οπότε το βενζοϋλιωμένο παράγωγο **9a** λαμβάνεται σε άριστη απόδοση (90%). Η απακετυλίωση του νουκλεοζίτη **8a** λαμβάνει χώρα υπό ήπιες συνθήκες και συγκεκριμένα στους 0 °C για 30 λεπτά, ενώ αμέσως ακολουθεί εξουδετέρωση με όξινη ρητίνη Amberlite IR-120 (H<sup>+</sup>), έτσι ώστε να διακοπεί η αντίδραση και να μείνει ανεπηρέαστο το αμίδιο της βάσης. Αυτό που παρατηρείται όμως στη συγκεκριμένη αντίδραση, είναι ότι όταν η ένωση **8a** κατεργάζεται με μεθανολική αμμωνία (Neilson and Werstiuk 1971), ή ανθρακικό κάλιο (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) σε μεθανόλη (Plattner *et al.* 1972), ή γουανιδίνη (Kunesch *et al.* 1987) λαμβάνεται ο πλήρως αποπροστατευμένος νουκλεοζίτης (Σχήμα 22). Δηλαδή, εκτός από την απομάκρυνση των ακετυλίων πραγματοποιείται και ταυτόχρονη αποπροστασία της *N*<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνης. Η ύπαρξη της ελεύθερης αμινομάδας της κυτοσίνης στον νουκλεοζίτη, καθιστά αδύνατη την πραγματοποίηση των μετέπειτα αντιδράσεων και κατά συνέπεια την επιτυχή ολοκλήρωση της συνθετικής πορείας.



Ac = Ακετύλιο

### Σχήμα 22.

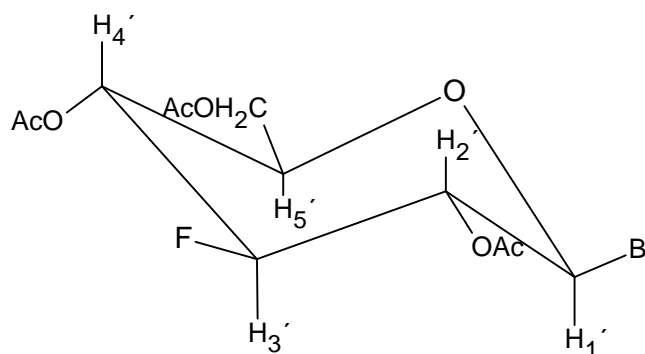
Το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του νουκλεοζίτη, 1-(3'-δεοξυ-3'-φθορο-2',4',6'-τρεις-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (**8α**), απεικονίζεται στο σχήμα 23. Από τη μελέτη του συγκεκριμένου φάσματος προκύπτει ότι μία διπλή κορυφή στα 6.10 ppm, αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-1' του δακτυλίου του σακχάρου με σταθερά σύζευξης  $J_{1',2'} = 9.4$  Hz, ενώ η πολλαπλή κορυφή που εμφανίζεται στα 5.39-5.22 ppm αντιστοιχεί στα πρωτόνια H-2' και H-4'. Χαρακτηριστική είναι η κορυφή που προσδιορίζει το πρωτόνιο H-3', η οποία εμφανίζεται στα 4.80 ppm ως διπλή τριπλών με σταθερές σύζευξης  $J_{2',3'} = 9.1$  Hz,  $J_{3',4'} = 9.0$  Hz και  $J_{3',\text{F}} = 51.7$  Hz. Τέλος, τα δύο σήματα που παρουσιάζονται ως δύο πολλαπλές κορυφές γύρω στα 4.34-4.11 ppm και 3.90-3.84 ppm αναφέρονται στα πρωτόνια H-6' και H-5' αντίστοιχα, του υδατανθρακικού δακτυλίου.



Σχήμα 23.



Από την υψηλή τιμή των σταθερών σύζευξης  $J_{1',2'}$ ,  $J_{2',3'}$ , καθώς και της  $J_{3',4'}$  προκύπτει το συμπέρασμα ότι ο συγκεκριμένος νουκλεοζίτης φέρει τη  $\beta$ -απεικόνιση, όπως εξάλλου αναμενόταν, και επίσης ότι υιοθετεί τη δομή  ${}^4C_1$  (Σχήμα 24) (Halmos and Antonakis 1979).



B =  $N^4$ -Βενζοϋλοκυτοσίνη, Ac = Ακετύλιο

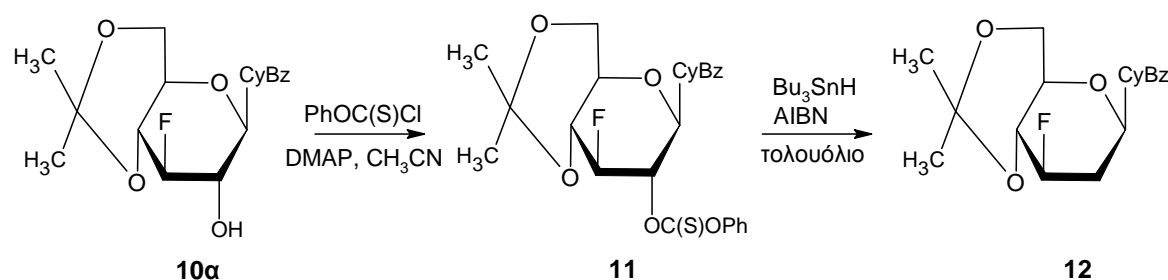
**Σχήμα 24.**

Έπειτα από την απακετυλίωση του νουκλεοζίτη **8a**, ακολουθεί η εκλεκτική προστασία των δύο από τα τρία ελεύθερα υδροξύλια του μορίου **9a** (Σχήμα 21). Συγκεκριμένα, τα υδροξύλια στις 4'- και 6'-θέσεις του σακχάρου προστατεύονται με μία ισοπροπυλιδενική ομάδα. Αυτή η αντίδραση πραγματοποιείται με επίδραση 2,2-διμεθοξυπροπανίου  $[(CH_3)_2C(OCH_3)_2]$  επί της ένωσης **9a** και του  $\pi$ -τολουολοσουλφονικού οξέος ( $p$ -TsOH) ως καταλύτη σε DMF (Leclercq and Antonakis 1989), οπότε το 4',6'-ισοπροπυλιδενικό παράγωγο **10a** λαμβάνεται σε απόδοση 80%.

Στο φάσμα  ${}^1H$  NMR του ισοπροπυλιδενικού παραγώγου **10a**, εμφανίζεται η κορυφή του πρωτονίου H-1' του σακχάρου (διπλή κορυφή στα 5.86 ppm με σταθερά σύζευξης  $J_{1',2'} = 9.2$  Hz), το χαρακτηριστικό σήμα του πρωτονίου H-3' στα 4.68 ppm που παρουσιάζεται ως μία κορυφή διπλή τριπλών με σταθερές σύζευξης  $J_{3',F} = 53.2$  Hz,  $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 8.7$  Hz και τα σήματα των πρωτονίων H-2', H-4', H-6' και H-5' αντίστοιχα, ως πολλαπλές κορυφές.

Η επόμενη αντίδραση της συνθετικής πορείας είναι η φαινοξυθειοκαρβονυλίωση του ισοπροπυλιδενικού παραγώγου **10a** (Σχήμα 25),

η οποία πραγματοποιείται με επίδραση φαινοξυθειοκαρβονυλοχλωριδίου ( $\text{PhOC(S)Cl}$ ), καθώς και περίσσειας της 4-διμεθυλαμινοπυριδίνης (DMAP) σε  $\text{CH}_3\text{CN}$  (Robins and Wilson 1981, Robins *et al.* 1983, Dunkel *et al.* 1992, Chien *et al.* 2005). Με αυτόν τον τρόπο λαμβάνεται το 2'-Ο-φαινοξυθειοκαρβονυλο παράγωγο **11**, σε 70% απόδοση. Από τη μελέτη του φάσματος  $^1\text{H}$  NMR του προϊόντος, 1-(3'-δεοξυ-3'-φθορο-4',6'-Ο-ισοπροπυλιδενο-2'-Ο-φαινοξυθειοκαρβονυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (**11**), προκύπτει ότι το σήμα των πρωτονίων της φαινυλομάδας



CyBz = N<sup>4</sup>-Βενζοϋλοκυτοσίνη, C(S)OPh = Φαινοξυθειοκαρβονύλιο

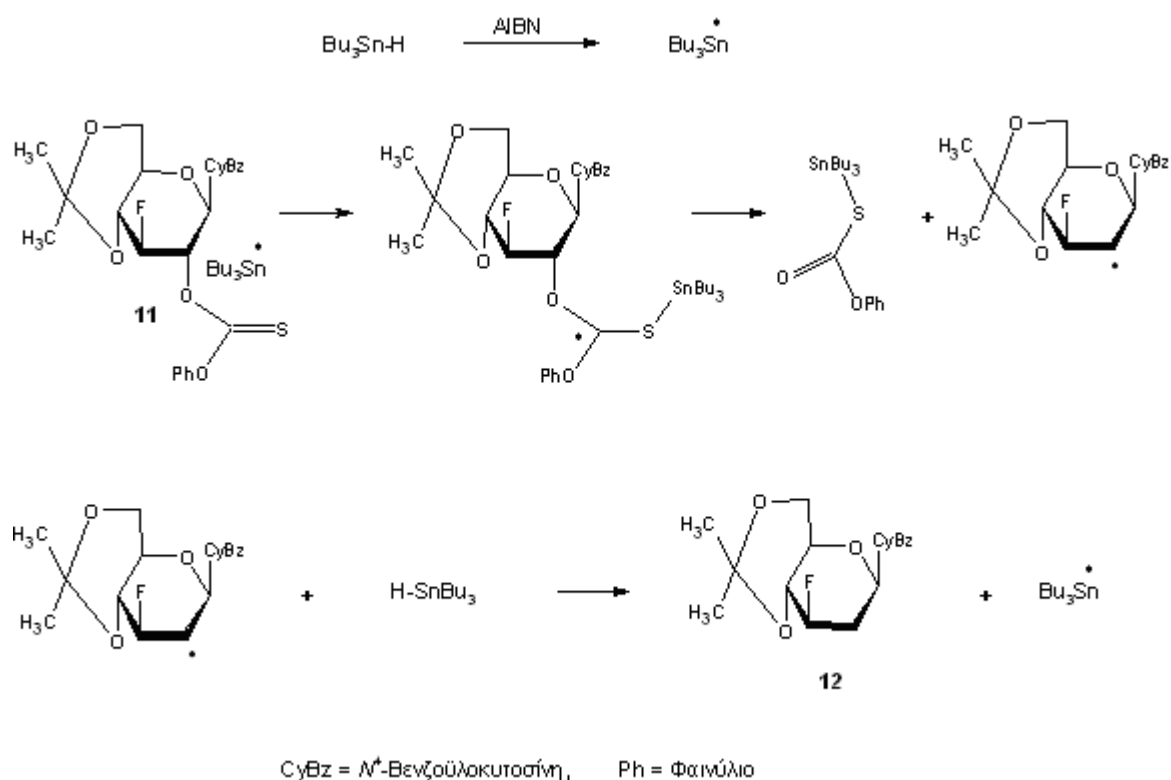
### Σχήμα 25.

του  $\text{PhOC(S)Cl}$  εμφανίζεται στην περιοχή των 7.44-7.06 ppm, ενώ η χαρακτηριστική κορυφή διπλή τριπλών που παρουσιάζεται στα 4.95 ppm με σταθερές σύζευξης  $J_{3',\text{F}} = 53.0$  Hz και  $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 8.8$  Hz, αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-3' του υδατανθρακικού δακτυλίου.

Στη συνέχεια, η αναγωγή του προϊόντος **11** λαμβάνει χώρα παρουσία του υδριδίου του τριβουτυλοκασσιτέρου ( $\text{Bu}_3\text{SnH}$ ), καθώς και του αζωδισ-ισοβουτυρονιτριλίου (AIBN) σε διαλύτη τολουόλιο στους 80 °C (Chien *et al.* 2005), με αποτέλεσμα ο 2'-δεοξυνουκλεοζίτης **12** (Σχήμα 25) να λαμβάνεται σε 60% απόδοση, ύστερα από τη σχάση του δεσμού  $\text{C}^{2'}-\text{O}^{2'}$ , η οποία συνοδεύεται από τη μετάθεση ενός υδρογόνου σε μία αλυσιδωτή αντίδραση ελευθέρων ριζών.

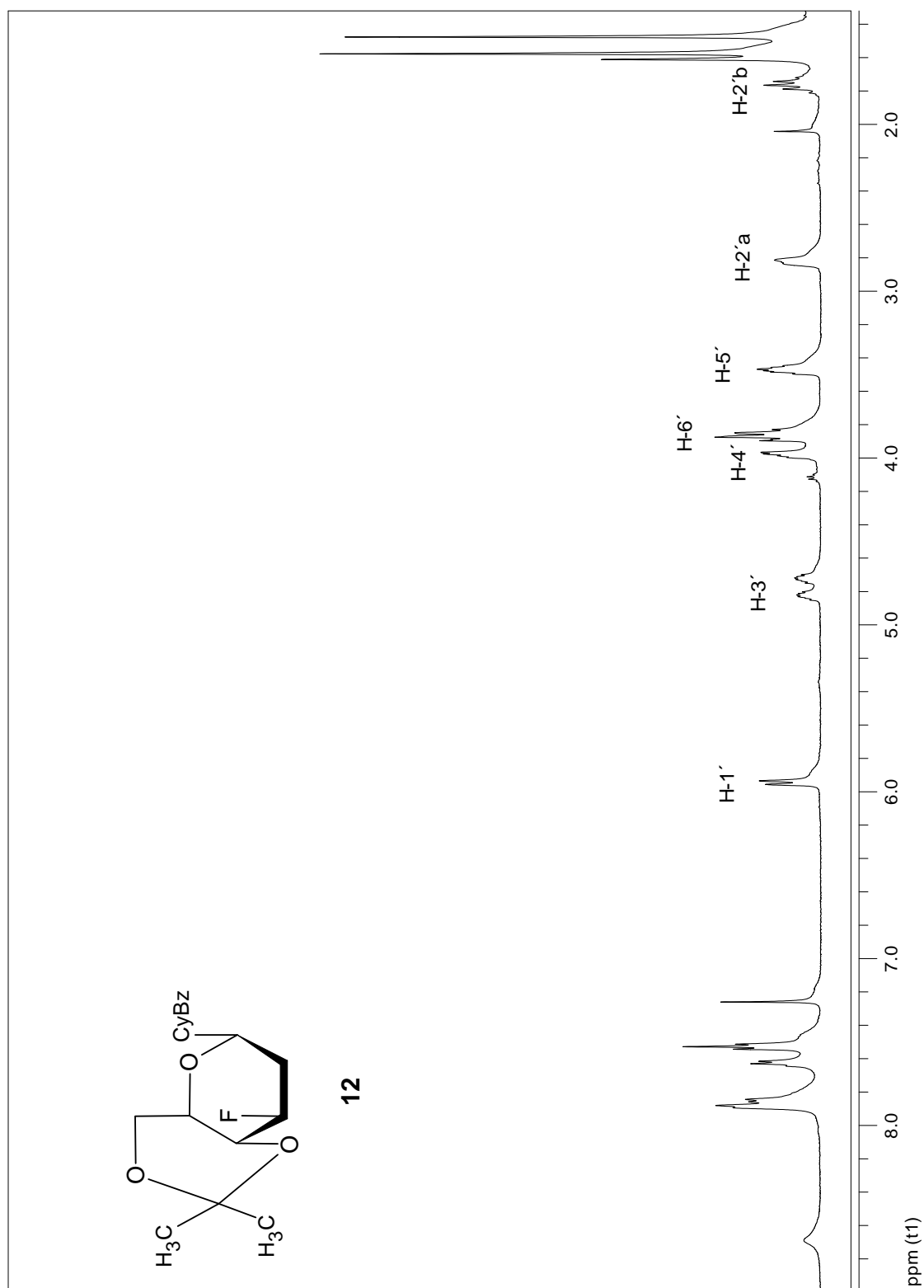
Στο σχήμα 26 που ακολουθεί, απεικονίζεται ο προτεινόμενος μηχανισμός της σύνθεσης του 2'-δεοξυνουκλεοζίτη **12**. Σύμφωνα με τους Barton και McCombie (Barton and McCombie 1975), ο μηχανισμός περιλαμβάνει την προσβολή της ρίζας του τριβουτυλοκασσιτέρου στο θείο της

θειοκαρβονυλομάδας του παραγώγου **11**. Είναι προτιμητέο η προσθήκη του  $\text{Bu}_3\text{SnH}$  να γίνεται βραδέως στο μίγμα της αντίδρασης, ούτως ώστε να επιτυγχάνεται η διάσπαση του προκύπτοντος ενδιαμέσου σε μία ρίζα, παρά να πραγματοποιείται η απευθείας απόσπαση του υδριδίου.



**Σχήμα 26.**

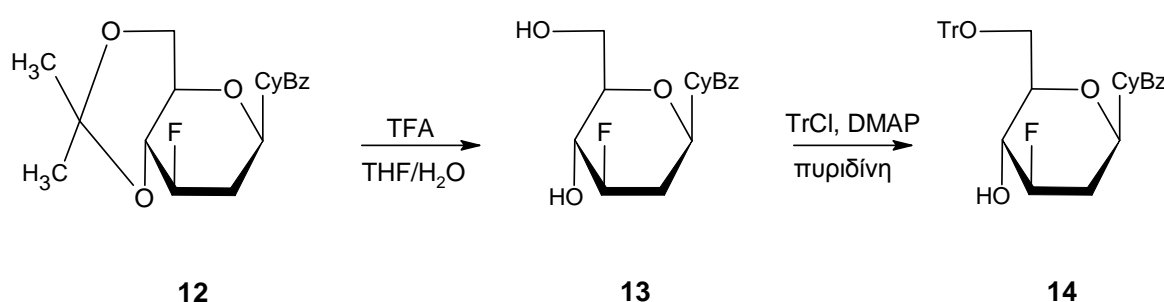
Από την εξέταση του φάσματος  $^1\text{H}$  NMR του προϊόντος, 1-(2',3'-διιδεοξυ-3'-φθορο-4',6'-Ο-ισοπροπυλιδενο-β-D-γλυκερο-εξοπυρανοζυλο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (**12**) (Σχήμα 27), διακρίνεται μία διπλή κορυφή στα 5.95 ppm που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-1' του σακχάρου, με σταθερά σύζευξης  $J_{1',2'} = 10.6$  Hz. Ακολουθεί το σήμα του πρωτονίου H-3' που εμφανίζεται τώρα, σε αντίθεση με το φαινοξυθειοκαρβονυλο-παραγώγο **11**, ως δύο πολλαπλές κορυφές στην περιοχή των 4.80 ppm. Στη συνέχεια, εμφανίζονται τα σήματα των πρωτονίων H-4', H-6' και H-5' του υδατανθρακικού δακτυλίου, στα 3.98, 3.86 και



Σχήμα 27.

3.47 ppm αντίστοιχα, ενώ τα σήματα των πρωτονίων H-2', εμφανίζονται ως δύο πολλαπλές κορυφές στα 2.85 και 1.77 ppm, αντίστοιχα.

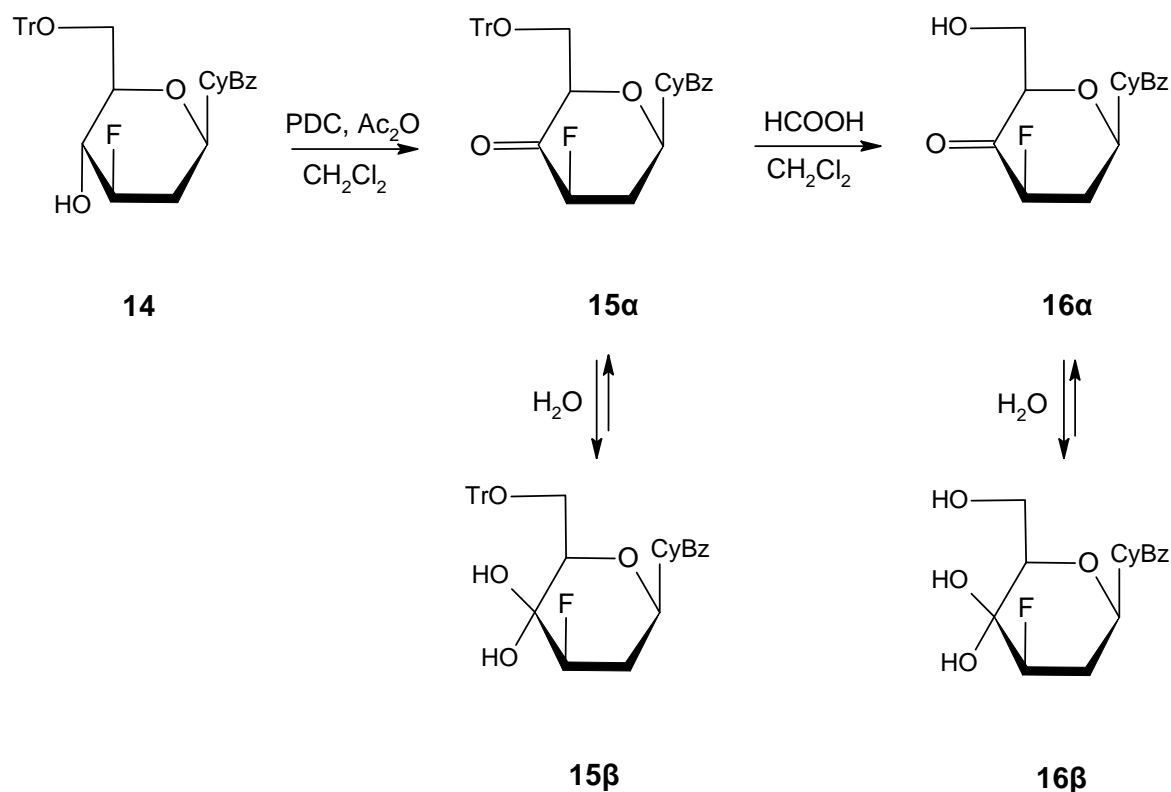
Το επόμενο βήμα της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει τη διάνοιξη του ακετονιδίου του προϊόντος **12** (Σχήμα 28), η οποία πραγματοποιείται με την προσθήκη υδατικού διαλύματος τριφθοροξικού οξέος (TFA) δίνοντας την ένωση **13**. Ακολουθεί η εκλεκτική τριτυλίωση του πρωτοταγούς υδροξυλίου του προϊόντος **13**, μέσω κατεργασίας με τριφαινυλομεθυλοχλωρίδιο (TrCl) σε πυριδίνη, παρουσία καταλυτικής ποσότητας DMAP, οπότε το μερικώς προστατευμένο νουκλεοζιτικό ανάλογο **14** παράγεται σε απόδοση 65%.



CyBz = *N*<sup>4</sup>-Βενζοϋλοκυτοσίνη, Ac = Ακετύλιο, Tr = Τριτύλιο

**Σχήμα 28.**

Στη συνέχεια, ακολουθεί η οξείδωση της φθοριωμένης τριτυλιωμένης πρόδρομης ένωσης **14**, με επίδραση PDC και Ac<sub>2</sub>O (Herscovici and Antonakis 1979) σε διχλωρομεθάνιο, με αποτέλεσμα τη λήψη του προϊόντος **15** (Σχήμα 29). Είναι σημαντικό να τονιστεί, ότι η συγκεκριμένη αντίδραση οξείδωσης αποτελεί ένα κρίσιμο στάδιο της συνθετικής πορείας, λόγω της αστάθειας του κετο-φθορο συστήματος. Η παρουσία του ηλεκτραρνητικού ατόμου του φθορίου σε θέση  $\alpha$  ως προς το καρβονύλιο προκαλεί την ενυδάτωση του μορίου και το σχηματισμό της gem-διόλης (Goldstein *et al.* 1978, Murray-Rust *et al.* 1983). Δηλαδή, αυτό που παρατηρείται είναι ότι η παραγόμενη 4'-κετο δομή, 1-(2',3'-διδεοξυ-3'-φθορο-6'-Ο-τριτυλο-β-D-γλυκερο-εξοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-*N*<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (**15α**), βρίσκεται σε ισορροπία με τη gem-διόλη **15β**, γεγονός που εξακριβώθηκε από την εξέταση του φάσματος μάζας καθώς και του φάσματος <sup>1</sup>H NMR του προϊόντος **15**.



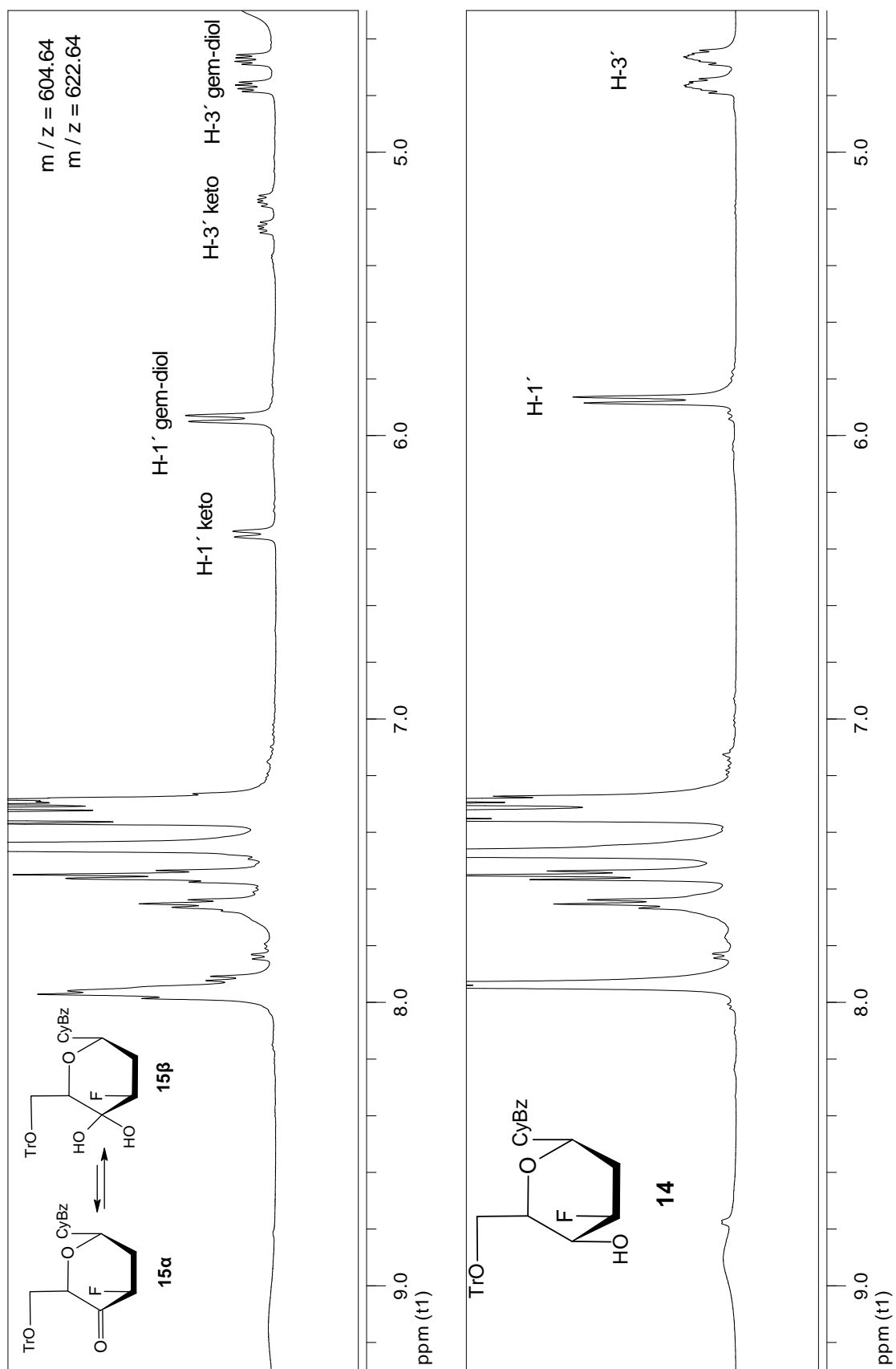
CyBz = *N*<sup>4</sup>-Βενζοϋλο κυτοσίνη, Tr = Τριτύλιο

### Σχήμα 29.

Τα φάσματα <sup>1</sup>H NMR των ενώσεων **14** και **15** απεικονίζονται στο σχήμα 30 που ακολουθεί. Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR της ένωσης **14**, εμφανίζεται μία διπλή κορυφή στα 5.86 ppm με σταθερά σύζευξης  $J_{1',2'} = 10.5$  Hz και δύο πολλαπλές κορυφές στην περιοχή των 4.71 ppm, οι οποίες αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-1' και H-3' του υδατανθρακικού δακτυλίου, αντίστοιχα. Από τη μελέτη όμως του φάσματος <sup>1</sup>H NMR της ένωσης **15**, εκτός από τη διπλή κορυφή στα 6.35 ppm με σταθερά σύζευξης  $J_{1',2'} = 10.1$  Hz και τη διπλή, διπλή διπλών στα 5.22 ppm με σταθερές σύζευξης  $J_{3',F} = 47.0$  Hz,  $J_{2'a,3'} = J_{2'b,3'} = 6.9$  Hz, που προσδιορίζουν τα πρωτόνια H-1' και H-3', αντίστοιχα της κετόνης **15α**, διακρίνεται επιπλέον ακόμα μία διπλή κορυφή στα 5.94 ppm με σταθερά σύζευξης  $J_{1',2'} = 10.6$  Hz, καθώς και μία διπλή, διπλή διπλών στα 4.72 ppm με σταθερές σύζευξης  $J_{3',F} = 48.1$  Hz,  $J_{2'a,3'} = 5.0$  Hz,  $J_{2'b,3'} = 5.1$  Hz, οι οποίες αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-1' και H-3', αντίστοιχα της gem-διόλης **15β**. Έτσι, τόσο το φάσμα <sup>1</sup>H NMR όσο και το φάσμα μάζας του προϊόντος **15**, αποτελούν αδιαμφισβήτητη απόδειξη της ύπαρξης

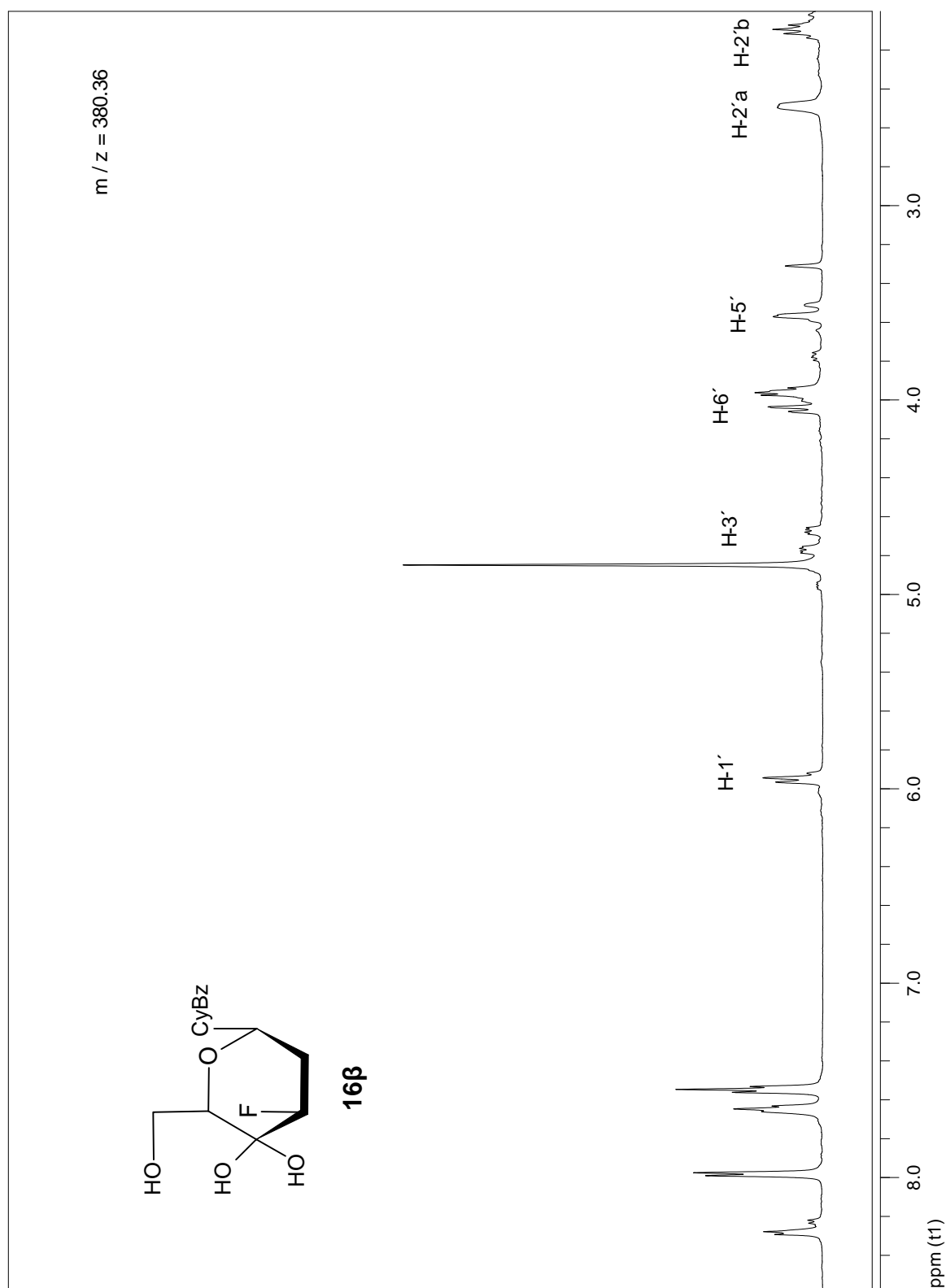
ισορροπίας μεταξύ της κετόνης **15α**, καθώς και της gem-διόλης **15β**. Αξιοσημείωτο επίσης είναι το γεγονός, ότι σε αντίθεση με το φάσμα της ένωσης **14**, στο φάσμα της ένωσης **15** το σήμα του H-3' έχει τώρα μεταβληθεί και εμφανίζεται ως μία κορυφή διπλή, διπλή διπλών.

Τέλος, η αποπροστασία του πρωτοταγούς υδροξυλίου της ένωσης **15** (Σχήμα 29) πραγματοποιείται με μυρμηκικό οξύ (HCOOH) σε διχλωρομεθάνιο, οδηγώντας έτσι στο διδεοξυ-καρβονυλο παράγωγο, 1-(2',3'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξοπιρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (**16α**), το οποίο βρίσκεται επίσης σε ισορροπία με τη gem-διόλη **16β**. Θα πρέπει να τονιστεί, ότι από τη μελέτη του φάσματος <sup>1</sup>H NMR σε διάλυμα ακετόνης-d<sub>6</sub> ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO), η ένωση **16** εμφανίζεται να είναι παρούσα ως μίγμα των ενώσεων **16α** και **16β**, σε αναλογία 1:1. Όμως, σε διάλυμα μεθανόλης-d<sub>4</sub> (CD<sub>3</sub>OD), η ισορροπία μετατοπίζεται πλήρως προς τη δομή της gem-διόλης **16β**, με αποτέλεσμα στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Σχήμα 31) να διακρίνεται μόνο μία διπλή κορυφή στα 5.95 ppm με σταθερά σύζευξης  $J_{1',2'} = 11.0$  Hz, που αναφέρεται στο πρωτόνιο H-1' και μόνο μία διπλή, διπλή διπλών στα 4.70 ppm με σταθερές σύζευξης  $J_{3',F} = 48.4$  Hz,  $J_{2'a,3'} = 4.8$  Hz και  $J_{2'b,3'} = 4.9$  Hz, που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-3' του σακχάρου της gem-διόλης, γεγονός που επιβεβαιώνει την ύπαρξη αποκλειστικά και μόνο ενός προϊόντος. Στο ίδιο φάσμα διακρίνονται τα σήματα των πρωτονίων H-6', H-5' και H-2' του υδατανθρακικού δακτυλίου. Σημαντικό είναι επίσης ότι στα φάσματα <sup>1</sup>H NMR των τελικών μορίων **15** και **16** απουσιάζουν τα σήματα των H-4' πρωτονίων, όπως εξάλλου αναμενόταν.



Σχήμα 30.



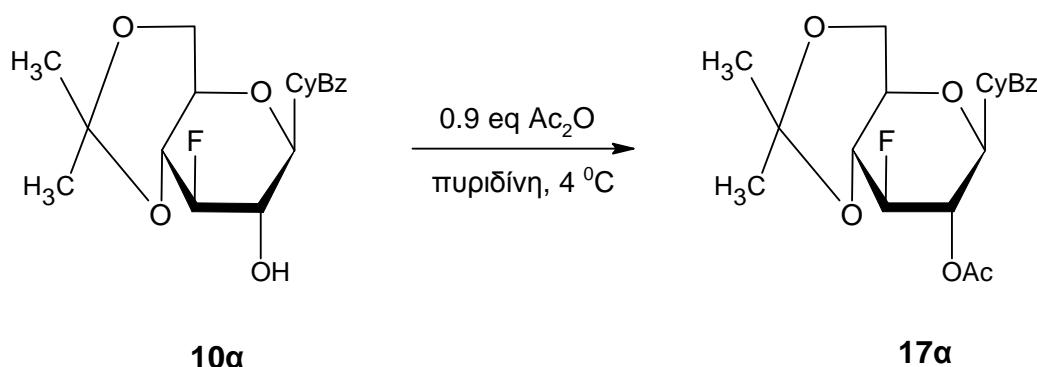


**Σχήμα 31.**

### 3',4'-Διδεοξυ-2'-κετο-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικά παράγωγα της N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνης

Όπως φαίνεται από τη ρετροσυνθετική πορεία του σχήματος 12, η αρχική ένωση για την παρασκευή των επιθυμητών 3',4'-διδεοξυ-2'-κετο-3'-φθορονουκλεοζιτικών παραγώγων της κυτοσίνης (δομή **VIII**, ενώσεις **23** και **24**, Σχήμα 11) είναι και σε αυτήν την περίπτωση το σάκχαρο **7**, ενώ κομβική ένωση αποτελεί το ισοπροπυλιδενικό παράγωγο **10α**, του οποίου η σύνθεση έχει ήδη περιγραφεί αναλυτικά.

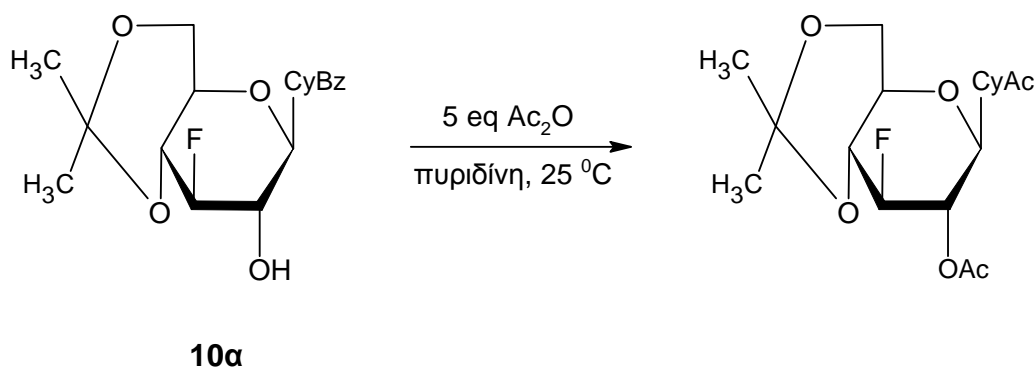
Ακετυλίωση του ελεύθερου υδροξυλίου στη 2'-θέση του σακχάρου του νουκλεοζιτικού αναλόγου της κυτοσίνης **10α**, παρουσία Ac<sub>2</sub>O σε πυριδίνη, οδηγεί στο επιθυμητό ακετυλιωμένο παράγωγο **17α**, το οποίο παράγεται σε πολύ καλή απόδοση (89%) (Σχήμα 32).



CyBz = N<sup>4</sup>-Βενζοϋλοκυτοσίνη, Ac = Ακετύλιο

**Σχήμα 32.**

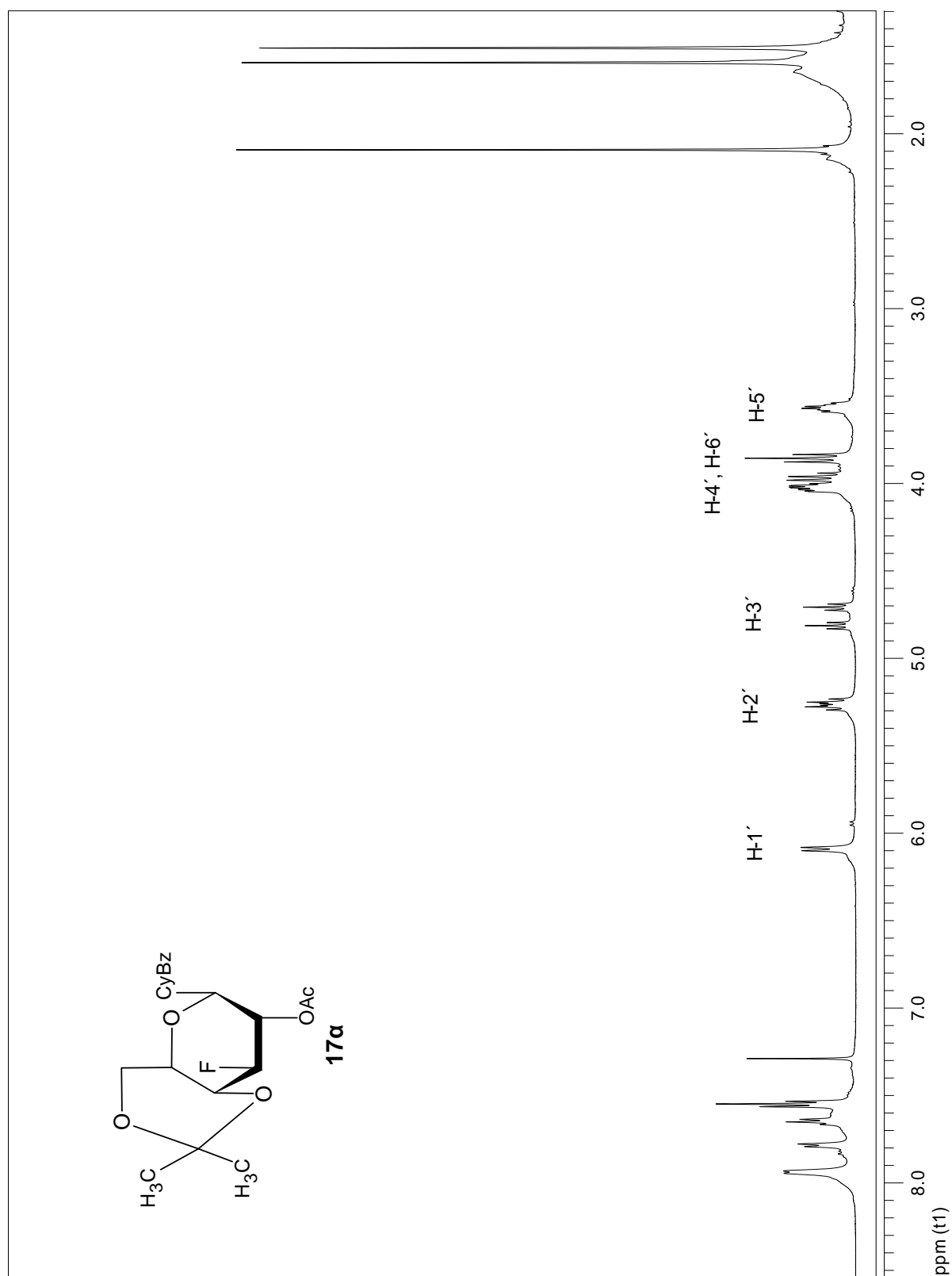
Αυτό όμως που θα πρέπει να τονιστεί, είναι ότι η αντίδραση της ακετυλίωσης του προϊόντος **10α** πρέπει να πραγματοποιείται σε πολύ ήπιες συνθήκες, χρησιμοποιώντας 0.9 eq Ac<sub>2</sub>O στους 4 °C. Κι αυτό γιατί στη συγκεκριμένη αντίδραση παρατηρήθηκε, ότι χρησιμοποιώντας περίσσεια Ac<sub>2</sub>O (5 eq Ac<sub>2</sub>O) στους 25 °C, εκτός από το επιθυμητό νουκλεοζιτικό ανάλογο **17α** παράγεται επίσης και ο νουκλεοζίτης, στον οποίον η βενζοϋλομάδα της κυτοσίνης έχει αντικατασταθεί από ακετύλιο (Σχήμα 33).



CyBz = *N*<sup>4</sup>-Βενζοϋλοκυτοσίνη, Ac = Ακετύλιο, CyAc = *N*<sup>4</sup>-Ακετυλοκυτοσίνη

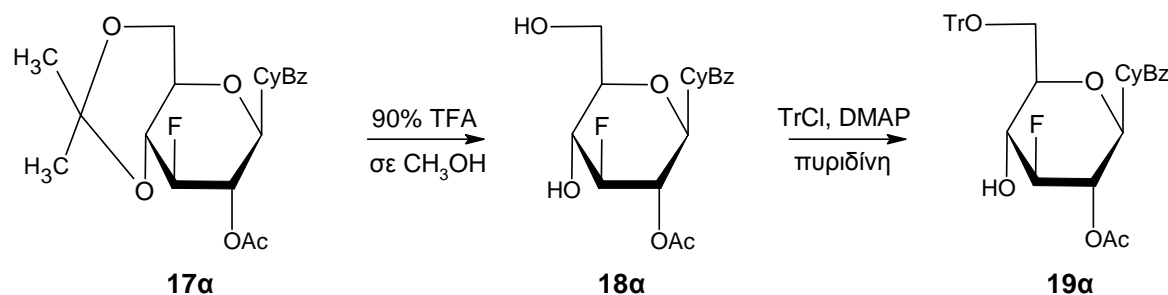
### Σχήμα 33.

Το φάσμα <sup>1</sup>H NMR της ένωσης, 1-(2'-*O*-ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-4',6'-*O*-ισοπροπυλιδενο-β-*D*-γλυκοκυρανοζυλο)-*N*<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (**17α**), απεικονίζεται στο σχήμα 34. Όπως φαίνεται, το σήμα του πρωτονίου H-1' του σακχάρου εμφανίζεται ως μία διπλή κορυφή στα 6.09 ppm με σταθερά σύζευξης  $J_{1',2'} = 9.3$  Hz. Ακολουθεί το σήμα του πρωτονίου H-2' που παρουσιάζεται ως πολλαπλή κορυφή στην περιοχή των 5.26 ppm και στη συνέχεια το χαρακτηριστικό σήμα του πρωτονίου H-3', το οποίο εμφανίζεται στα 4.76 ppm, με σταθερές σύζευξης  $J_{3',F} = 53.0$  Hz,  $J_{2',3'} = 8.9$  Hz και  $J_{3',4'} = 8.8$  Hz. Ακολουθούν τα σήματα των πρωτονίων H-4', H-6' και H-5' του σακχάρου, ενώ τα σήματα των πρωτονίων του ακετυλίου και της ισοπροπυλιδενικής ομάδας εμφανίζονται στα 2.09, 1.59 και 1.51 ppm, αντίστοιχα.



Σχήμα 34.

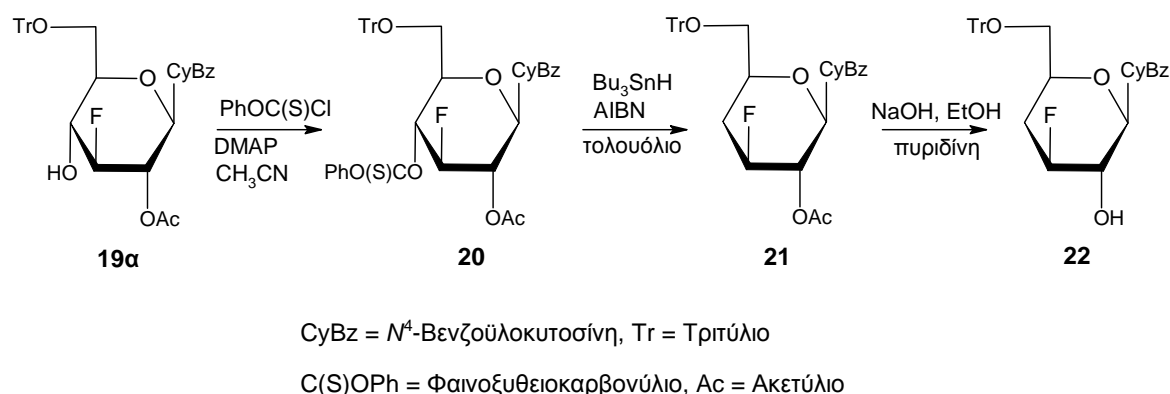
Η απομάκρυνση της ισοπροπυλιδενικής ομάδας από το παράγωγο **17α**, επιτυγχάνεται με κατεργασία με διάλυμα 90% TFA σε μεθανόλη, οπότε προκύπτει το νουκλεοζιτικό ανάλογο **18α**, το οποίο λαμβάνεται σε άριστη απόδοση (90%) (Σχήμα 35). Έπειτα, το πρωτοταγές υδροξύλιο του **18α** τριτυλιώνεται εκλεκτικά, με προσθήκη TrCl και καταλυτικής ποσότητας DMAP σε πυριδίνη και το τριτυλιωμένο παράγωγο **19α** λαμβάνεται σε απόδοση 60%.



CyBz = *N*<sup>4</sup>-Βενζοϋλοκυτοσίνη, Ac = Ακετύλιο, Tr = Τριτύλιο

**Σχήμα 35.**

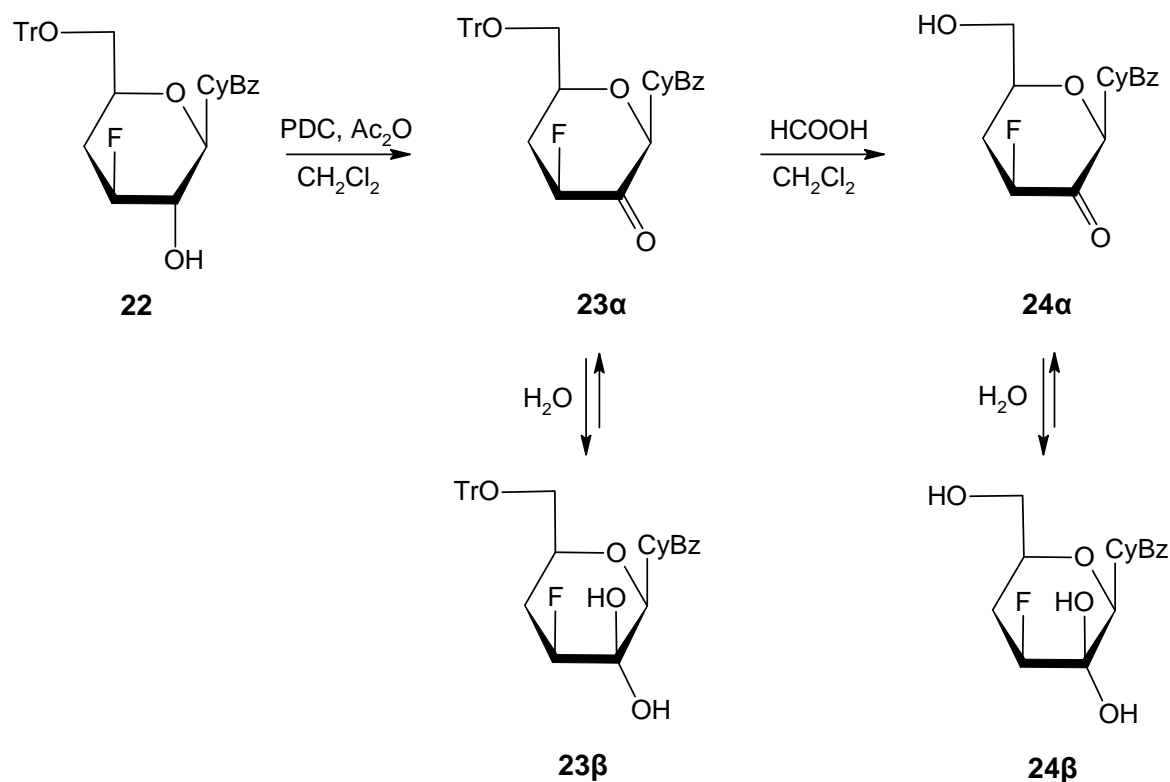
Ακολουθεί η μετατροπή του μερικώς προστατευμένου νουκλεοζιτικού παραγώγου της *N*<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνης **19α** (Σχήμα 36) προς το 4'-δεοξυ νουκλεοζιτικό ανάλογο **21**, το οποίο λαμβάνεται σε απόδοση 68% μέσω του προϊόντος **20**, με την ίδια διαδικασία, η οποία περιγράφηκε για τη σύνθεση του 2'-δεοξυ νουκλεοζιτικού αναλόγου **12**. Στη συνέχεια, η απακετυλίωση της ένωσης **21** πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας NaOH σε EtOH-πυριδίνη (Milecki *et al.* 2001) οδηγώντας έτσι στην ένωση **22**, που αποτελεί την πρόδρομη ένωση για τη λήψη των επιθυμητών δεοξυ-κετονουκλεοζιτών.



### Σχήμα 36.

Το καθοριστικό στάδιο στη συνθετική διαδικασία, είναι η οξείδωση του ελεύθερου υδροξυλίου του δακτυλίου του σακχάρου του νουκλεοζίτη **22** (Σχήμα 37), με επίδραση PDC και Ac<sub>2</sub>O σε διχλωρομεθάνιο (Herscovici and Antonakis 1979), που οδηγεί στο επιθυμητό 2'-κετο-προϊόν, 1-(3',4'-διδεοξυ-3'-φθορο-6'-Ο-τριπυλο-β-D-γλυκερο-εξοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)-*N*<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (**23α**), το οποίο βρίσκεται σε ισοροπία με τη δομή **23β** (Goldstein *et al.* 1978, Murray-Rust *et al.* 1983). Όπως και στην περίπτωση του νουκλεοζιτικού αναλόγου **15**, έτσι και τώρα τόσο το φάσμα <sup>1</sup>H NMR όσο και το φάσμα μάζας της ένωσης **23**, αποτελούν αδιάψευστα στοιχεία της ύπαρξης ισορροπίας μεταξύ της κετο-δομής και της gem-διόλης.

Από τη μελέτη των φασμάτων <sup>1</sup>H NMR των ενώσεων **22** και **23** (Σχήμα 38), καθίσταται εμφανές ότι τα σήματα που προσδιορίζουν τα πρωτόνια H-1', τόσο της κετο-δομής **23α**, όσο και της gem-διόλης **23β**, αντιστοιχούν στις δύο οξείες απλές κορυφές στα 6.41 και στα 5.86 ppm. Επιπλέον, τα σήματα που αναφέρονται στα πρωτόνια H-3' του κετο-προϊόντος **23α** και της gem-διόλης **23β**, εμφανίζονται ως δύο κορυφές διπλές, διπλές διπλών στα 5.41 ppm με σταθερές σύζευξης  $J_{3',F} = 47.5$  Hz,  $J_{3',4'a} = J_{3',4'b} = 7.4$  Hz για την κετο-δομή και στα 4.82 ppm με σταθερές σύζευξης  $J_{3',F} = 48.0$  Hz,  $J_{3',4'a} = 5.4$  Hz,  $J_{3',4'b} = 5.3$  Hz για τη gem-διόλη, αντίστοιχα. Επιπλέον, θα πρέπει να τονιστεί ότι, παρόλο που το σήμα του H-3', στο φάσμα της ένωσης **22**, εμφανιζόταν ως δύο πολλαπλές κορυφές, στο φάσμα της ένωσης **23** παρουσιάζεται ως κορυφή διπλή, διπλή διπλών.



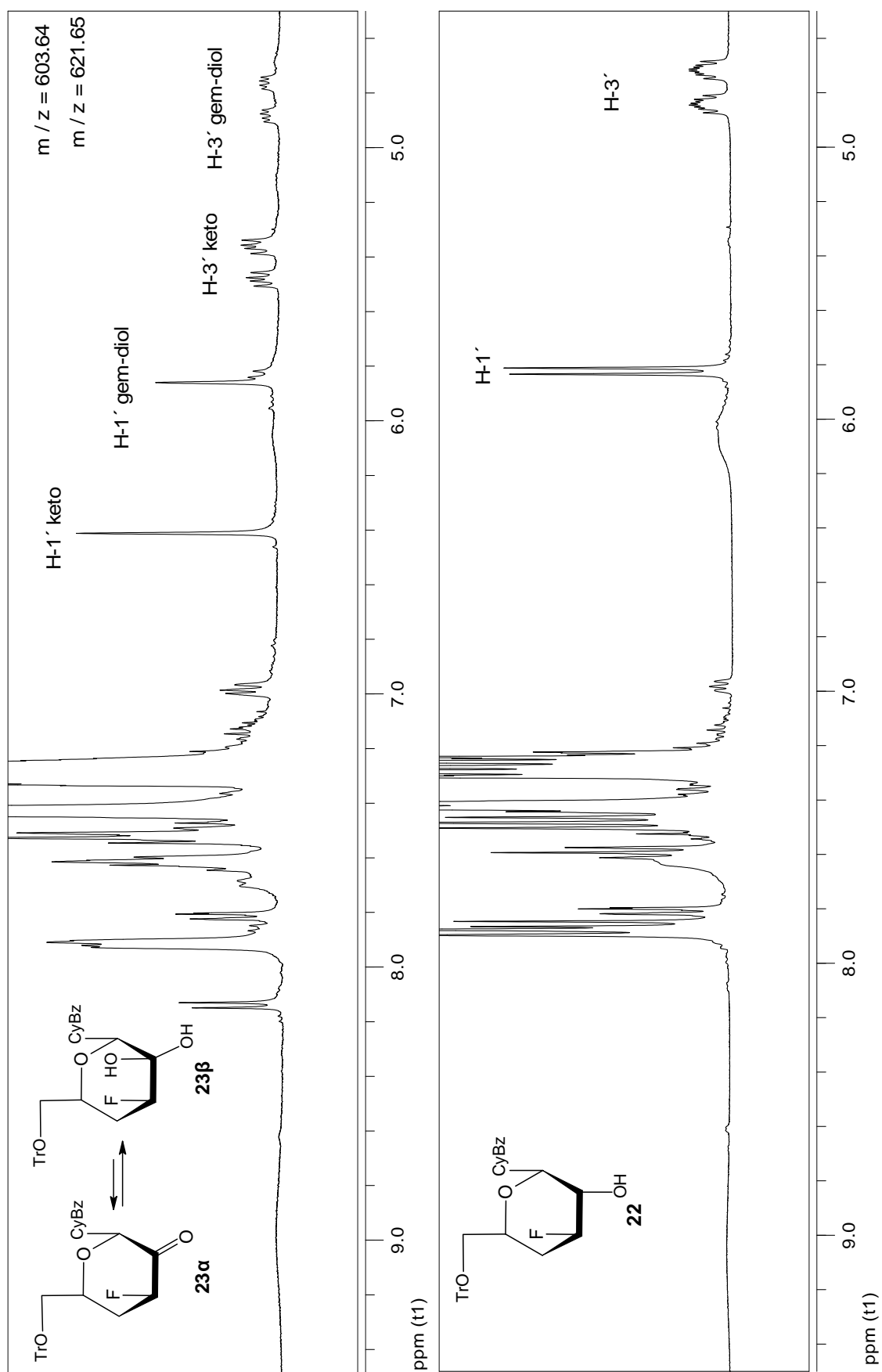
CyBz = *N*<sup>4</sup>-Βενζοϋλοκυτοσίνη, Tr = Τριτύλιο

**Σχήμα 37.**

Στο τελευταίο στάδιο (Σχήμα 37), η αποπροστασία του πρωτοταγούς υδροξυλίου της ένωσης **23** πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας HCOOH σε διχλωρομεθάνιο, δίνοντας την τελική ένωση, 1-(3',4'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)-*N*<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (**24**). Το φάσμα <sup>1</sup>H NMR της ένωσης **24** σε διάλυμα (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, καθιστά εμφανή την ύπαρξη μίγματος αποτελούμενου από την κετόνη **24α** και τη gem-διόλη **24β**, σε αναλογία 1:1. Όμως, όπως και στην περίπτωση της ένωσης **16**, το φάσμα <sup>1</sup>H NMR σε CD<sub>3</sub>OD, έδειξε ότι η ισορροπία μετατοπίστηκε πλήρως προς τη δομή **24β**. Συνεπώς, μόνο μία οξεία απλή κορυφή, η οποία χαρακτηρίζει το πρωτόνιο H-1' της gem-διόλης, εμφανίστηκε στα 5.85 ppm, ενώ μόνο μία κορυφή διπλή, διπλή διπλών με σταθερές σύζευξης *J*<sub>3',F</sub> = 48.5 Hz, *J*<sub>3',4'a</sub> = 5.5 Hz και *J*<sub>3',4'b</sub> = 5.6 Hz εμφανίστηκε στα 4.94 ppm, που αντιστοιχεί στο σήμα του πρωτονίου H-3' της gem-διόλης **24β**.

Τέλος, αυτό που θα πρέπει να αναφερθεί και στη συγκεκριμένη περίπτωση, είναι ότι τα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR των τελικών προϊόντων **23** και **24** χαρακτηρίζονται από την απουσία των σημάτων που αντιστοιχούν στα H-2' πρωτόνια του υδατανθρακικού δακτυλίου.

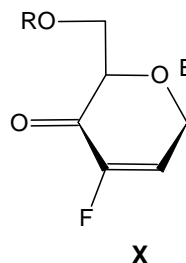
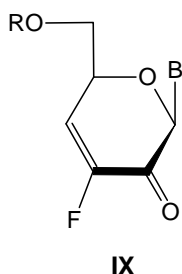




Σχήμα 38.

## ΚΕΤΟΑΚΟΡΕΣΤΟΙ ΦΘΟΡΟ-ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ

Με βάση την αντιογκογονική δράση που παρουσιάζουν οι ακόρεστοι κετονουκλεοζίτες, σε συνδυασμό με την αύξηση της βιολογικής δραστηριότητας που επιφέρει η εισαγωγή φθορίου στο σάκχαρο ενός φουρανονουκλεοζίτη και τέλος με το γεγονός ότι διάφορα φυσικά αντιβιοτικά φέρουν την κυτοσίνη ή την αδενίνη ως ετεροκυκλική βάση, θεωρήθηκε ενδιαφέρουσα η σύνθεση και η βιολογική αποτίμηση μιας νέας σειράς ακόρεστων νουκλεοζιτών, οι οποίοι φέρουν: α) *N*<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη ή *N*<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη ως ετεροκυκλική βάση β) κετονομάδα στη θέση 2' ή 4' και γ) φθόριο στη θέση 3' του σακχάρου (δομές **IX** και **X**, ενώσεις **27**, **28**, **29α**, **30α**, **29β** και **30β**, Σχήμα 39).



**27** B = *N*<sup>4</sup>-Βενζοϋλοκυτοσίνη, R = Ac

**28** B = *N*<sup>4</sup>-Βενζοϋλοκυτοσίνη, R = H

Ac = Ακετύλιο

Tr = Τριτύλιο

**29α** B = *N*<sup>4</sup>-Βενζοϋλοκυτοσίνη, R = Tr

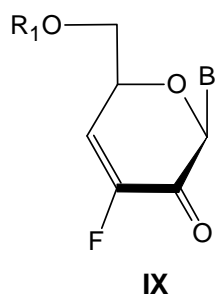
**30α** B = *N*<sup>4</sup>-Βενζοϋλοκυτοσίνη, R = H

**29β** B = *N*<sup>6</sup>-Βενζοϋλοαδενίνη, R = Tr

**30β** B = *N*<sup>6</sup>-Βενζοϋλοαδενίνη, R = H

**Σχήμα 39.**

Η ρετροσυνθετική πορεία που σχεδιάστηκε για την παρασκευή τόσο των 2'-κετο όσο και των 4'-κετοακόρεστων-3'-φθορονουκλεοζιτών (δομές **IX** και **X**, αντίστοιχα), περιγράφεται στο σχήμα 40 που ακολουθεί:



$R_1 = \text{Ac ή H}$

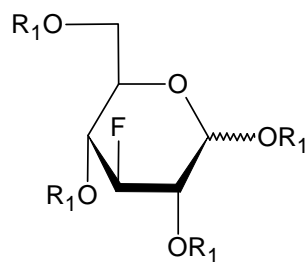
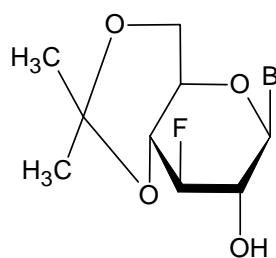
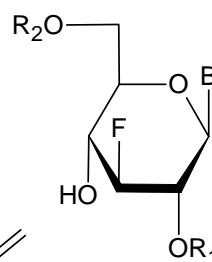
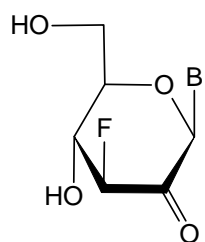
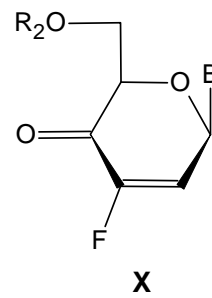
$R_2 = \text{Tr ή H}$

Ac = Ακετύλιο

Tr = Τριτύλιο

B =  $N^4$ -Βενζοϋλοκυτοσίνη ή

B =  $N^6$ -Βενζοϋλοαδενίνη

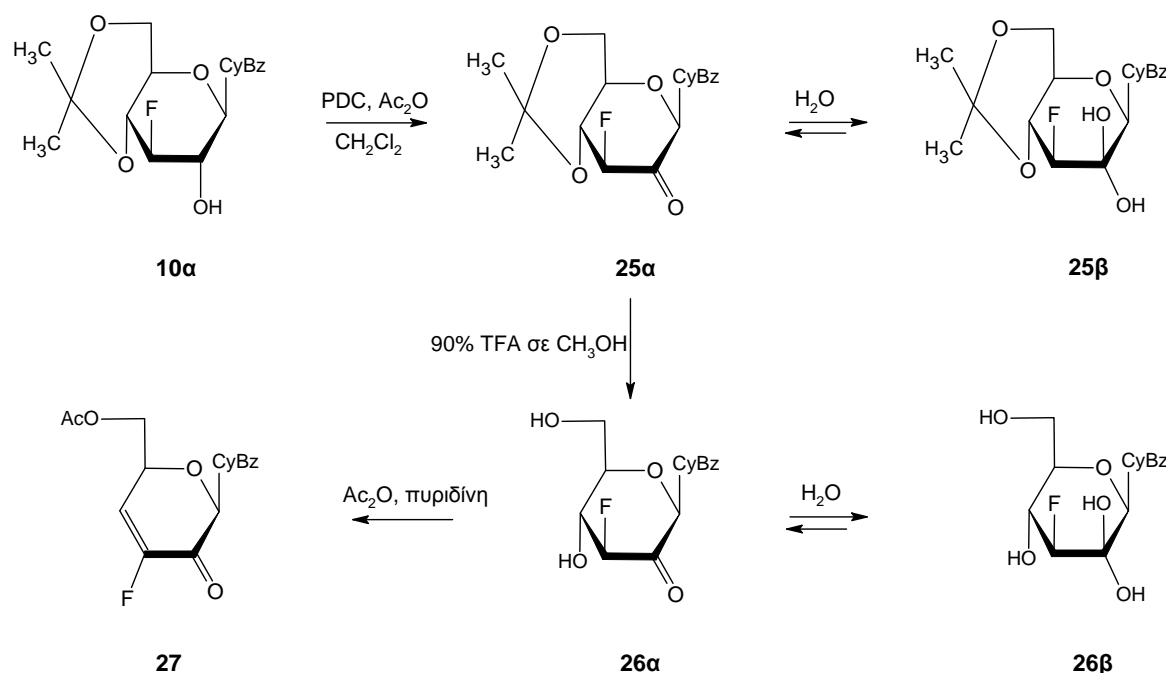


**Σχήμα 40.**

## 2'-Κετοακόρεστα-3'-φθορο-β-D-γλυκοκυρανονουκλεοζιτικά παράγωγα της N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνης

Σύμφωνα με τη ρετροσύνθεση του σχήματος 40, κομβικό ενδιάμεσο για τη σύνθεση των επιθυμητών 2'-κετοακόρεστων φθοριωμένων νουκλεοζιτικών αναλόγων (δομή **IX**), αποτελεί η ένωση, 1-(3'-δεοξυ-3'-φθορο-4',6'-O-ισοπροπυλιδενο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (**10α**).

Συνεπώς, το πρώτο στάδιο της συνθετικής διαδικασίας περιλαμβάνει την οξείδωση του νουκλεοζίτη **10α** παρουσία PDC-Ac<sub>2</sub>O (Herscovici and Antonakis 1979), ούτως ώστε να ληφθεί ο επιθυμητός κετονουκλεοζίτης **25** (Σχήμα 41). Όπως και στην περίπτωση των νουκλεοζιτικών αναλόγων **15**, **16**, **23** και **24**, φαίνεται ότι η παρουσία του ηλεκτραρνητικού ατόμου φθορίου σε θέση α ως προς το καρβονύλιο, προκαλεί την εύκολη προσθήκη νερού στην ένωση **25** και κατ' επέκταση το σχηματισμό της gem-διόλης **25β** (Goldstein *et al.* 1978, Murray-Rust *et al.* 1983).



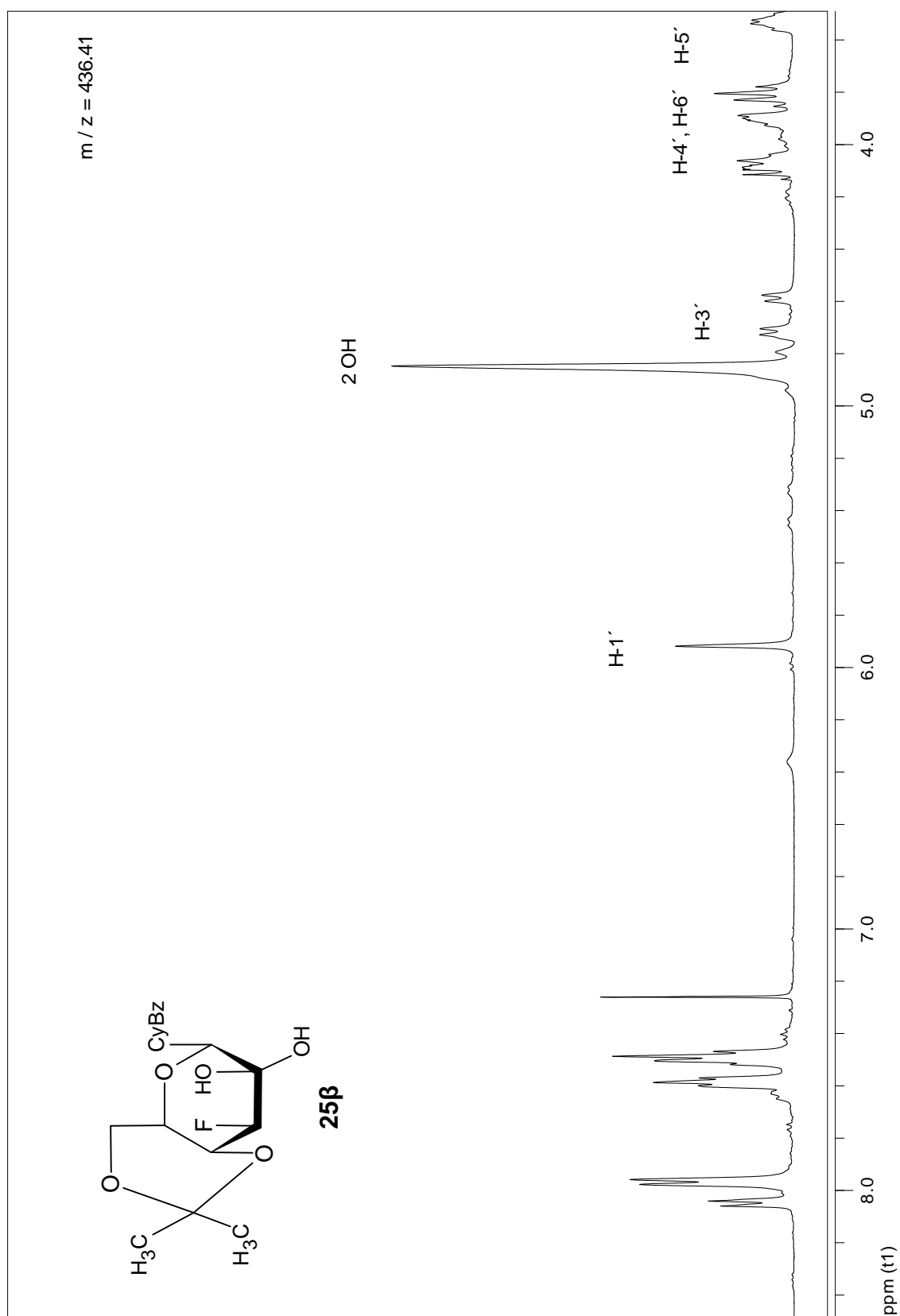
CyBz = N<sup>4</sup>-Βενζοϋλοκυτοσίνη, Ac = Ακετύλιο

Σχήμα 41.

Με χρωματογραφικό διαχωρισμό επιτεύχθηκε η απομόνωση της gem-διόλης **25β**, σε πολύ χαμηλή όμως απόδοση (22%). Από την εξέταση του φάσματος  $^1\text{H}$  NMR και MS της gem-διόλης **25β** (Σχήμα 42) προκύπτει μία απλή κορυφή στα 5.92 ppm που χαρακτηρίζει το πρωτόνιο H-1', ενώ είναι λογικό το σήμα του πρωτονίου H-2' να έχει εξαφανιστεί. Η έντονη κορυφή που παρουσιάζεται στα 4.85 ppm, αντιστοιχεί στα δύο πρωτόνια των υδροξυλίων της gem-διόλης. Ακολουθεί το χαρακτηριστικό σήμα του πρωτονίου H-3' του σακχάρου στα 4.65 ppm, το οποίο εμφανίζεται ως μία κορυφή διπλή διπλών με σταθερές σύζευξης  $J_{3',F} = 51.4$  Hz και  $J_{3',4'} = 9.2$  Hz, ενώ τα σήματα των πρωτονίων H-4', H-6' και H-5' παρουσιάζονται ως πολλαπλές κορυφές στα 4.13-4.04, 3.93-3.77 και 3.53 ppm, αντίστοιχα.

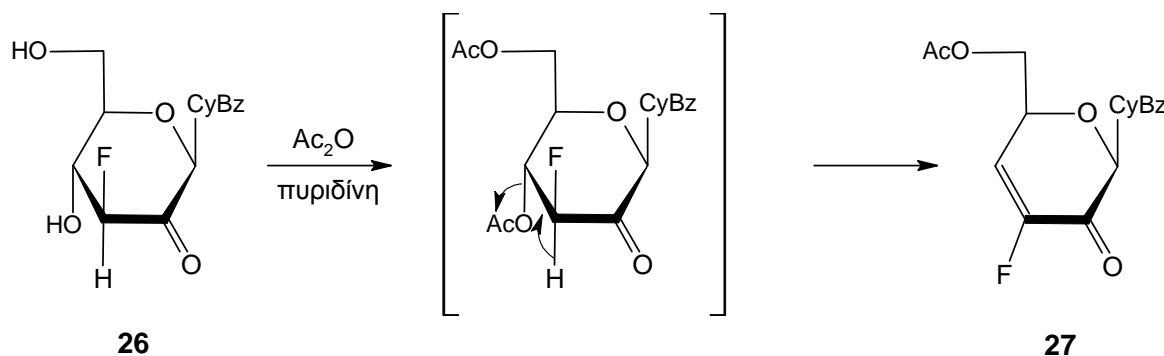
Στη συνέχεια, ακολουθεί η απομάκρυνση της ισοπροπυλιδενικής ομάδας της ένωσης **25** (Σχήμα 41), με κατεργασία της με διάλυμα TFA σε μεθανόλη (9/1), οπότε προκύπτει ο αποπροστατευμένος κετονουκλεοζίτης **26**. Λογικό είναι ότι και εδώ παρατηρείται η ισορροπία μεταξύ της κετο- και της gem-διόλης. Παρόλα αυτά, με απευθείας κατεργασία της ένωσης **26** με  $\text{Ac}_2\text{O}$ -πυριδίνη λαμβάνεται ο ακόρεστος κετονουκλεοζίτης **27**, μετά από μια αντίδραση  $\beta$ -απόσπασης.

Το πρόβλημα με αυτήν την αλληλουχία των αντιδράσεων είναι οι πολύ χαμηλές αποδόσεις με τις οποίες λαμβάνονται τα επιθυμητά νουκλεοζιτικά ανάλογα. Το γεγονός αυτό δυσχεραίνει την ολοκλήρωση της συνθετικής διαδικασίας. Αυτό όμως που παρατηρείται στη συγκεκριμένη περίπτωση, είναι ότι η ένωση **27** παράγεται σε συνολική απόδοση 66%, όταν το ισοπροπυλιδενικό παράγωγο **10α** οξειδωθεί με PDC- $\text{Ac}_2\text{O}$  (Herscovici and Antonakis 1979), το ακατέργαστο μίγμα της αντίδρασης αποπροστατεύει, και στη συνέχεια χωρίς να πραγματοποιηθεί καθαρισμός, κατεργαστεί απευθείας με  $\text{Ac}_2\text{O}$ -πυριδίνη.



Σχήμα 42.

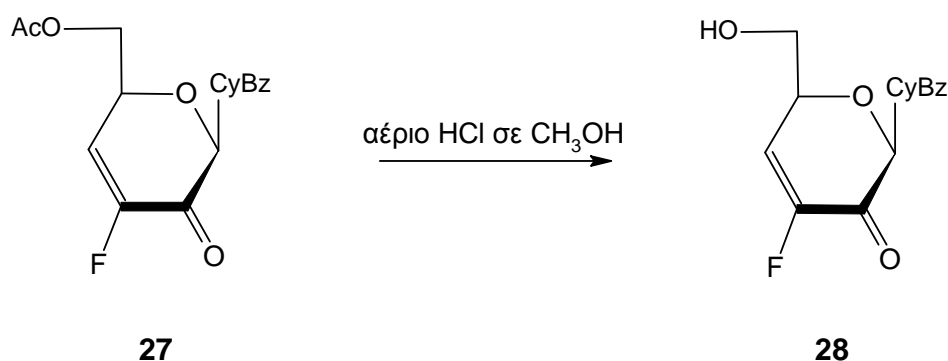
Ο μηχανισμός της αντίδρασης β-απόσπασης που λαμβάνει χώρα κατά την ακετυλίωση του αποπροστατευμένου κετονουκλεοζίτη **26** και οδηγεί στον επιθυμητό ακόρεστο κετονουκλεοζίτη **27**, απεικονίζεται στο σχήμα 43:



CyBz = *N*<sup>4</sup>-Βενζοϋλοκυτοσίνη, Ac = Ακετύλιο

**Σχήμα 43.**

Το τελικό στάδιο της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την απακετυλίωση της ένωσης **27** (Σχήμα 44), η οποία είναι πολύ ασταθής σε βασικές συνθήκες. Η συγκεκριμένη αντίδραση που οδηγεί στην επιθυμητή ένωση, 1-(3',4'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-*D*-γλυκερο-εξ-3'-ενοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)-*N*<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (**28**), γίνεται με αέριο HCl σε μεθανόλη (Byramova *et al.* 1983).

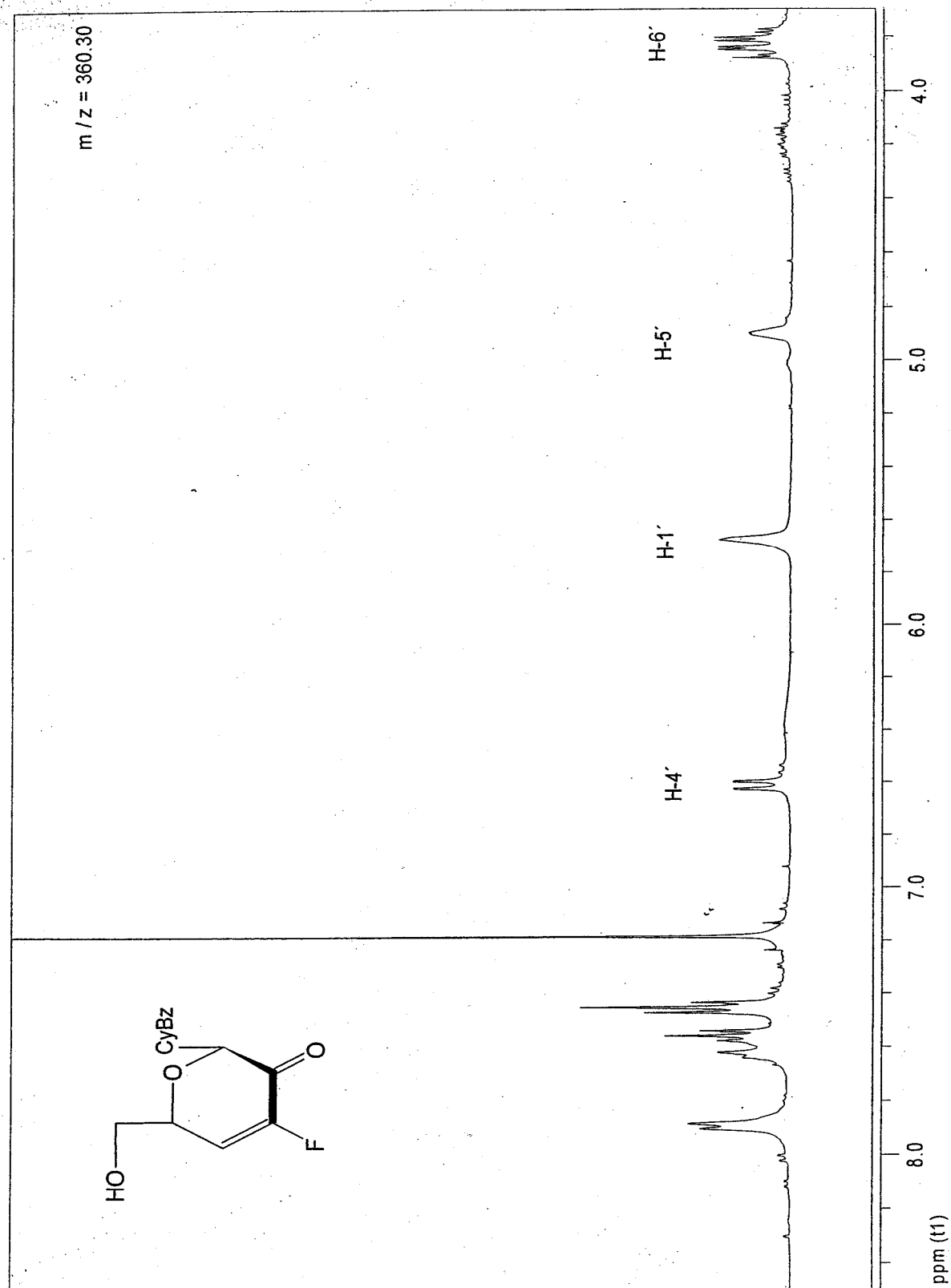


CyBz = *N*<sup>4</sup>-Βενζοϋλοκυτοσίνη, Ac = Ακετύλιο

**Σχήμα 44.**

Από τη μελέτη του φάσματος  $^1\text{H}$  NMR του επιθυμητού 2'-κετοακόρεστου νουκλεοζίτη **28** (Σχήμα 45), προκύπτει ότι το σήμα του πρωτονίου H-4' εμφανίζεται ως μία κορυφή διπλή διπλών στα 6.61 ppm με σταθερές σύζευξης  $J_{4',\text{F}} = 11.4$  Hz και  $J_{4',5'} = 1.1$  Hz. Η απλή κορυφή στα 5.70 ppm αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-1', ενώ τα σήματα των πρωτονίων H-5' και H-6' εμφανίζονται ως πολλαπλές κορυφές στην περιοχή των 4.89 και 3.88-3.77 ppm, αντίστοιχα. Λογικό είναι το χαρακτηριστικό σήμα του πρωτονίου H-3' να έχει τώρα εξαφανιστεί.





Σχήμα 45.

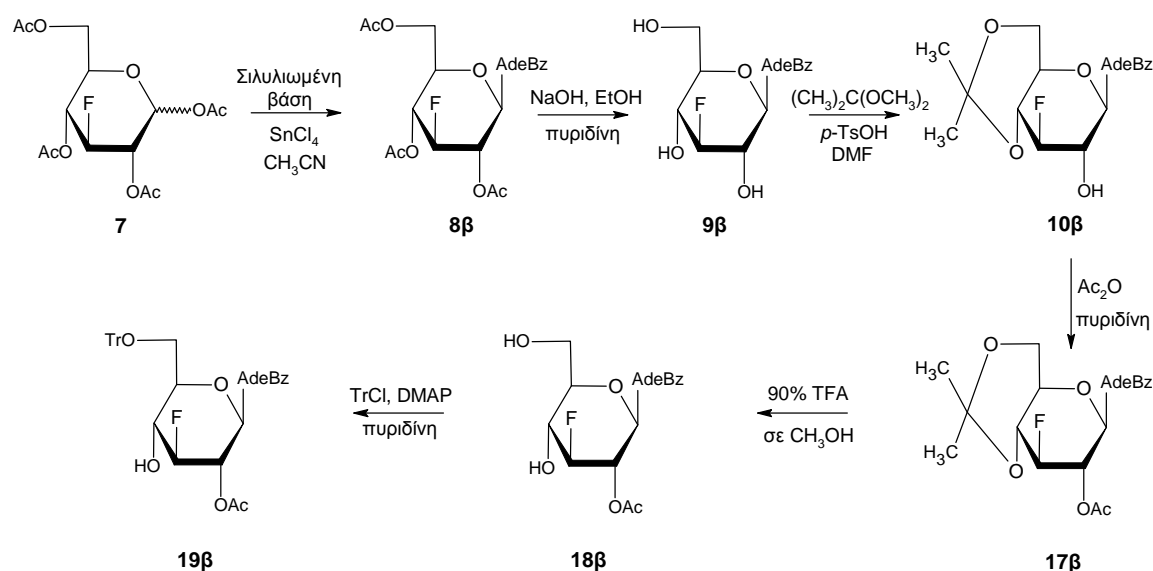
#### 4'-Κετοακόρεστα-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικά παράγωγα της N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνης και της N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνης

Η προαναφερθείσα επιτυχής συνθετική πορεία, αποτέλεσε το έναυσμα για τη σύνθεση μιας άλλης νέας τάξης ακόρεστων φθορο- κετονουκλεοζιτών, η οποία φέρει N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη και N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη ως ετεροκυκλικές βάσεις, καρβονύλιο στη 4'-θέση και φθόριο στη 3'-θέση του σακχάρου (δομή **X**, ενώσεις **29α**, **30α** και **29β**, **30β**, Σχήμα 39).

Όπως φαίνεται από τη ρετροσύνθεση του σχήματος 40, για να επιτευχθεί η σύνθεση και αυτής της νέας τάξης των ακόρεστων κετονουκλεοζιτών αρχικά απαιτείται η σύνθεση των κατάλληλων νουκλεοζιτικών αναλόγων που φέρουν ως σάκχαρο την ένωση, 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2,4,6-τετρα-O-ακετυλο-D-γλυκοπυρανόζη (**7**) και ως ετεροκυκλικές βάσεις την N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη και την N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη, αντίστοιχα. Στη συνέχεια, για να ληφθούν τα 4'-κετοακόρεστα φθοριωμένα νουκλεοζιτικά ανάλογα της αδενίνης και της κυτοσίνης, οι πρόδρομες ενώσεις πρέπει να φέρουν μόνο ένα ελεύθερο υδροξύλιο στη 4'-θέση του σακχάρου, το οποίο και θα οξειδωθεί στη συνέχεια. Συνεπώς, οι καταλληλότερες ενώσεις για αυτόν το σκοπό είναι οι, 1-(2'-O-ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-6'-O-τριτυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (**19α**) και 9-(2'-O-ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-6'-O-τριτυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (**19β**). Η σύνθεση του νουκλεοζιτικού παραγώγου της κυτοσίνης **19α** έχει ήδη περιγραφεί αναλυτικά. Με παρόμοια συνθετική διαδικασία λαμβάνεται και το επιθυμητό νουκλεοζιτικό ανάλογο της αδενίνης **19β**.

Συνεπώς, ο αρχικός νουκλεοζίτης, 9-(3'-δεοξυ-3'-φθορο-2',4',6'-τρις-O-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (**8β**) (Σχήμα 46), λαμβάνεται από τη σύζευξη του σακχάρου **7** με τη σιλυλιωμένη βάση N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη, παρουσία του χλωριούχου κασσιτέρου (SnCl<sub>4</sub>) ως καταλύτη (Vorbruggen and Hofle 1981), σε διαλύτη CH<sub>3</sub>CN. Με τη σύζευξη αυτή παράγεται μόνο το β-ανωμερές νουκλεοζιτικό παράγωγο **8β**, σε αποδόση 60%.

Η εκλεκτική αποπροστασία της ένωσης **8β**, πραγματοποιείται, όπως προαναφέρθηκε, χρησιμοποιώντας NaOH σε EtOH-πυριδίνη (Milecki *et al.* 2001), οπότε λαμβάνεται το βενζοϋλιωμένο παράγωγο **9β** σε άριστη απόδοση (88%).



AdeBz = *N*<sup>6</sup>-Βενζοϋλοαδενίνη, Ac = Ακετύλιο, Tr = Τριτύλιο

**Σχήμα 46.**

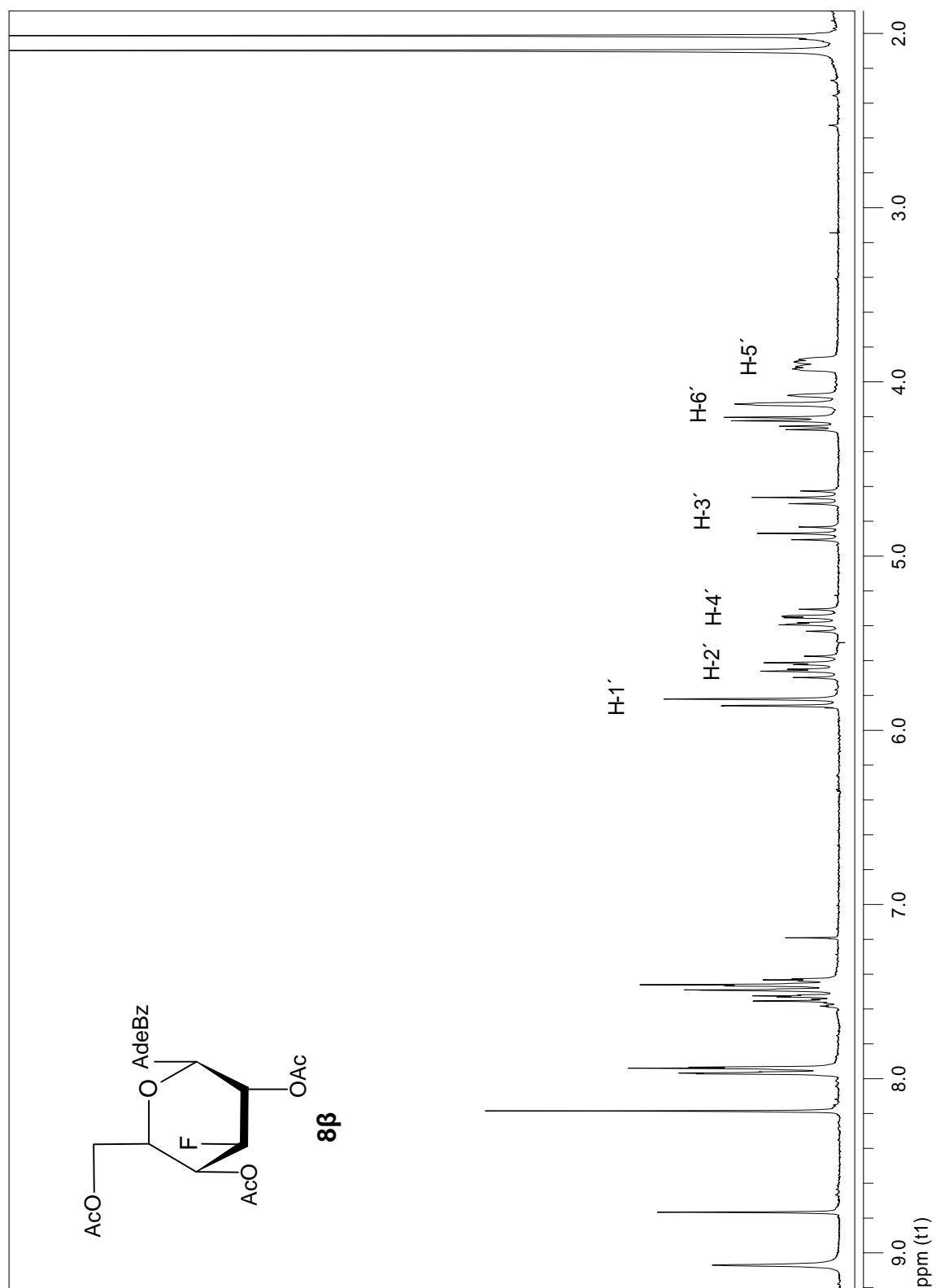
Στη συνέχεια, η επίδραση του  $[(\text{CH}_3)_2\text{C}(\text{OCH}_3)_2]$  επί της ένωσης **9β** και του *p*-TsOH ως καταλύτη σε DMF (Leclercq and Antonakis 1989), οδηγεί στο ισοπροπυλιδενικό παράγωγο **10β**, σε αρκετά καλή απόδοση (76%).

Στο συγκεκριμένο σημείο θα πρέπει να τονιστεί, ότι κατά την αντίδραση της απακετυλίωσης, όταν ο νουκλεοζίτης της αδενίνης **8β** κατεργάζεται με μεθανολική αμμωνία (Neilson and Werstiuk 1971), ή με  $\text{K}_2\text{CO}_3$  σε μεθανόλη (Plattner *et al.* 1972), ή με γουανιδίνη (Kunesch *et al.* 1987), λαμβάνεται το πλήρως αποπροστατευμένο νουκλεοζιτικό παράγωγο.

Το επόμενο βήμα για την εκλεκτική αποπροστασία του υδροξυλίου στη 4'-θέση του σακχάρου, περιλαμβάνει την ακετυλίωση του ελεύθερου υδροξυλίου στη 2'-θέση του σακχάρου του αναλόγου **10β** υπό ήπιες συνθήκες και συγκεκριμένα χρησιμοποιώντας 0.9 eq  $\text{Ac}_2\text{O}$  στους 4 °C, ούτως ώστε να αποφευχθεί η αντικατάσταση της βενζοϋλομάδας της αδενίνης από το ακετύλιο. Ακολουθεί η απομάκρυνση της ισοπροπυλιδενικής ομάδας της ένωσης **17β** μέσω κατεργασίας της με διάλυμα 90% TFA σε μεθανόλη, ενώ στη συνέχεια το πρωτοταγές υδροξύλιο της ένωσης **18β** προστατεύεται εκλεκτικά με τριτύλιο και έτσι λαμβάνεται το επιθυμητό μερικώς προστατευμένο νουκλεοζιτικό παράγωγο της αδενίνης **19β**, σε απόδοση 62% (Σχήμα 46).

Στο φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης, 9-(3'-δεοξυ-3'-φθορο-2',4',6'-τρεις-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (**8β**) (Σχήμα 47), το σήμα του πρωτονίου H-1' του δακτυλίου του σακχάρου εμφανίζεται ως μία διπλή κορυφή στα 5.84 ppm με σταθερά σύζευξης  $J_{1',2'} = 9.6$  Hz. Ακολουθούν δύο πολλαπλές κορυφές στην περιοχή των 5.70-5.58 ppm και των 5.43-5.30 ppm, οι οποίες αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-2' και H-4', αντίστοιχα. Και στο συγκεκριμένο φάσμα επίσης εμφανίζεται η χαρακτηριστική κορυφή διπλή τριπλών στα 4.80 ppm που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-3' του υδατανθρακικού δακτυλίου, με σταθερές σύζευξης  $J_{3',F} = 51.6$  Hz,  $J_{2',3'} = 9.1$  Hz και  $J_{3',4'} = 9.0$  Hz. Τέλος, τα σήματα των πρωτονίων H-6' και H-5' του σακχάρου εμφανίζονται ως πολλαπλές κορυφές στα 4.29-4.08 ppm και 3.93-3.87 ppm, αντίστοιχα.

Όπως και στην περίπτωση του νουκλεοζίτη της κυτοσίνης **8α**, το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του νουκλεοζιτικού αναλόγου της αδενίνης **8β**, επιβεβαιώνει τη β-απεικόνιση του συγκεκριμένου μορίου. Αυτό το συμπέρασμα προκύπτει από τις υψηλές τιμές των σταθερών σύζευξης  $J_{1',2'}$ ,  $J_{2',3'}$ , καθώς και της  $J_{3',4'}$ . Πρέπει να τονιστεί ότι και το νουκλεοζιτικό ανάλογο της αδενίνης υιοθετεί τη δομή  $^4\text{C}_1$  (Halmos and Antonakis, 1979).

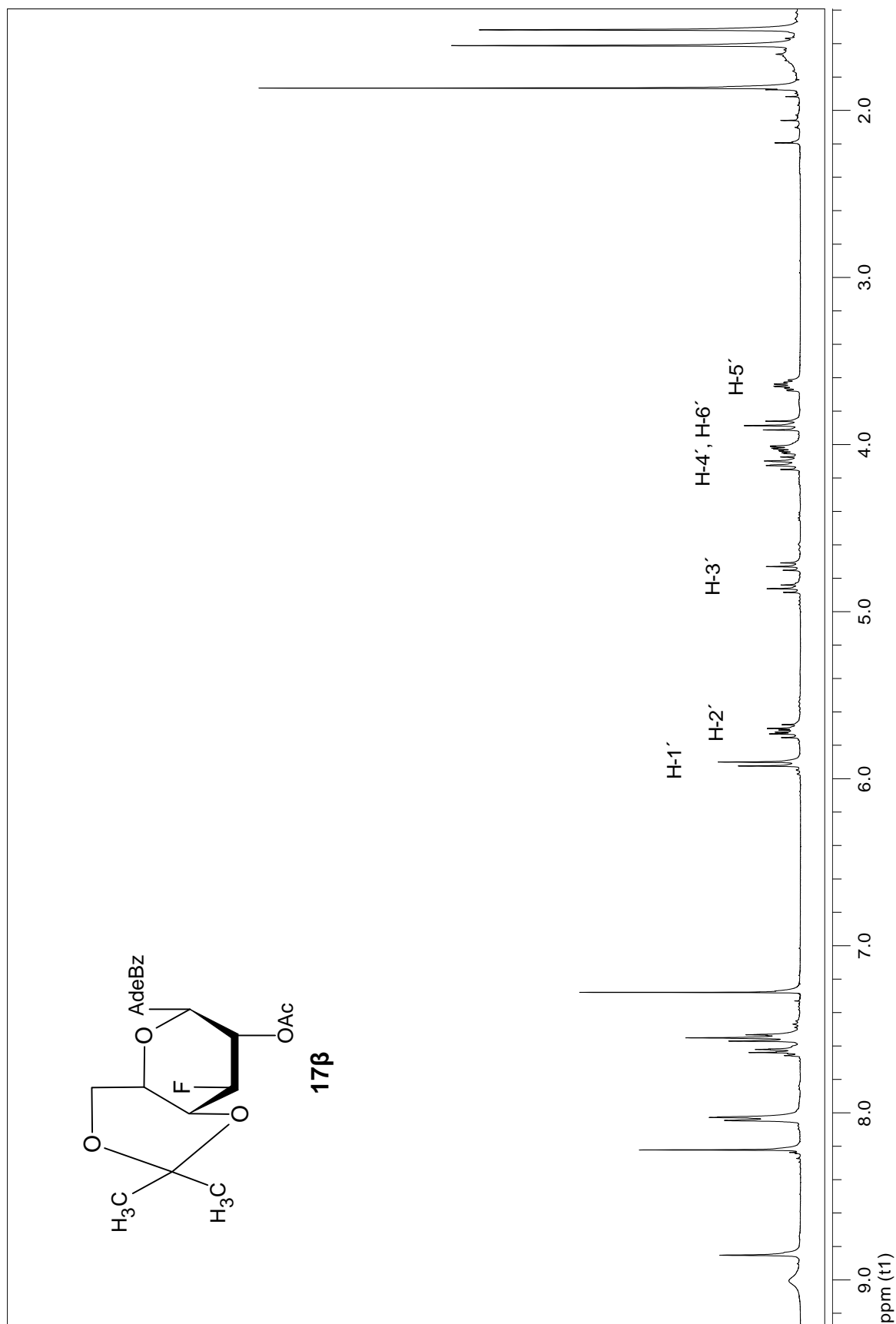


Σχήμα 47.

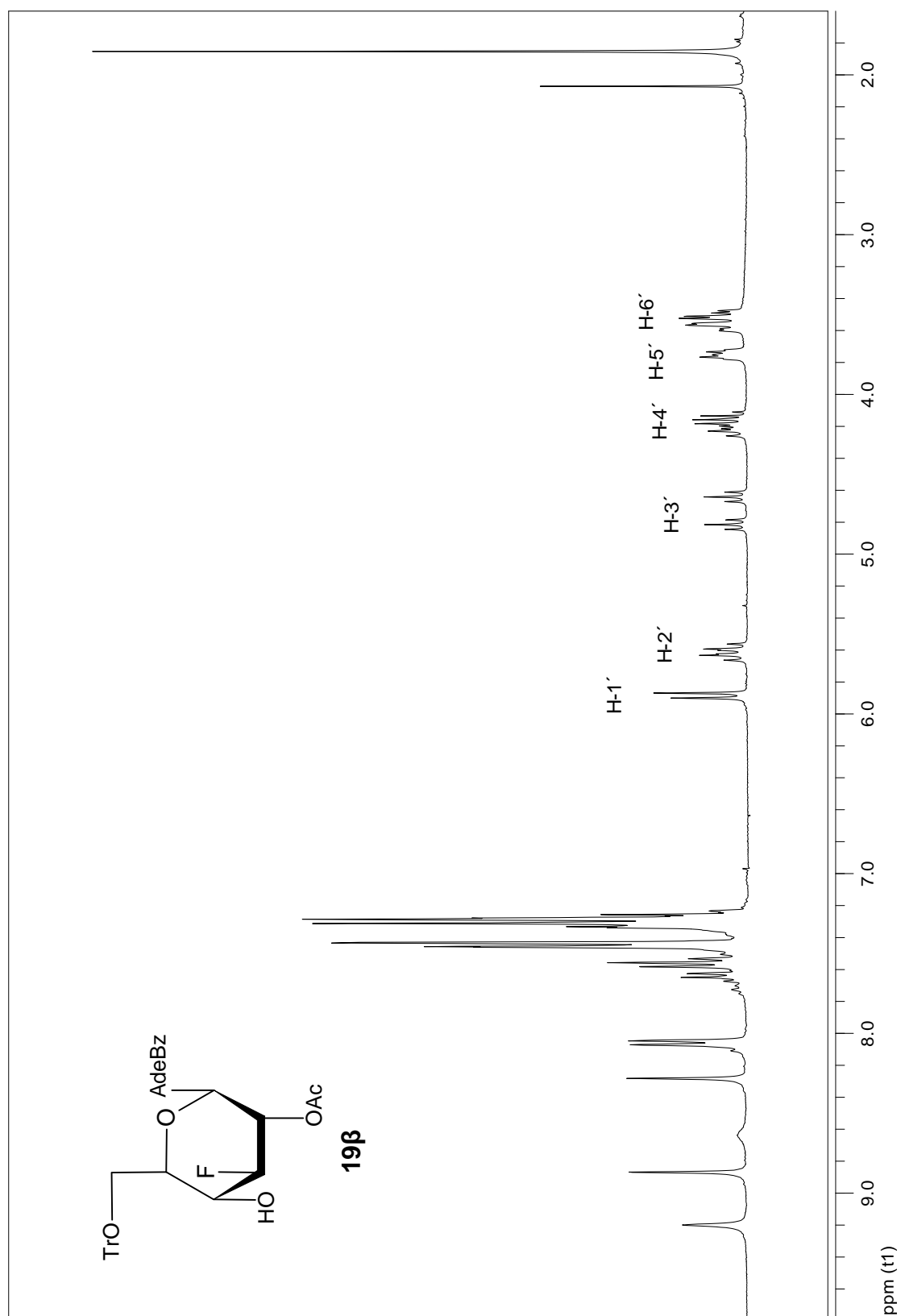
Στα σχήματα 48 και 49 που ακολουθούν, απεικονίζονται τα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR των αναλόγων της αδενίνης, 9-(2'-Ο-ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-4',6'-Ο-ισοπροπυλιδενο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (**17β**) και 9-(2'-Ο-ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-6'-Ο-τριτυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (**19β**).

Όσον αφορά στην ένωση **17β** (Σχήμα 48), το σήμα του πρωτονίου H-1', εμφανίζεται ως μία διπλή κορυφή στα 5.91 ppm με σταθερά σύζευξης  $J_{1',2'} = 9.5$  Hz. Ακολουθεί το σήμα του πρωτονίου H-2' στα 5.72 ppm, ενώ το χαρακτηριστικό σήμα του πρωτονίου H-3' εμφανίζεται στα 4.80 ppm ως μία κορυφή διπλή τριπλών, με σταθερές σύζευξης  $J_{3',F} = 52.9$  Hz,  $J_{2',3'} = 8.8$  Hz και  $J_{3',4'} = 8.9$  Hz. Τέλος, εμφανίζονται τα σήματα των πρωτονίων H-4', H-6' και H-5' του σακχάρου, ενώ τα σήματα των πρωτονίων της ακετυλο και της ισοπροπυλιδενικής ομάδας παρουσιάζονται στα 1.87, 1.61 και 1.52 ppm, αντίστοιχα.

Από τη μελέτη του φάσματος  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης **19β** (Σχήμα 49), προκύπτει ότι η διπλή κορυφή στα 5.88 ppm με σταθερά σύζευξης  $J_{1',2'} = 9.5$  Hz, αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-1' του σακχάρου. Ακολουθεί το σήμα του πρωτονίου H-2' ως μία πολλαπλή κορυφή στην περιοχή των 5.61 ppm, ενώ το χαρακτηριστικό σήμα του πρωτονίου H-3' εμφανίζεται ξανά ως κορυφή διπλή τριπλών στα 4.73 ppm, με σταθερές σύζευξης  $J_{3',F} = 52.1$  Hz,  $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 8.9$  Hz. Τέλος, διακρίνονται τα σήματα των πρωτονίων H-4', H-5' και H-6' του υδατανθρακικού δακτυλίου ως πολλαπλές κορυφές περίπου στα 4.21, 3.75 και 3.60-3.48 ppm αντίστοιχα, ενώ το σήμα των πρωτονίων του ακετυλίου εμφανίζεται στα 1.85 ppm.



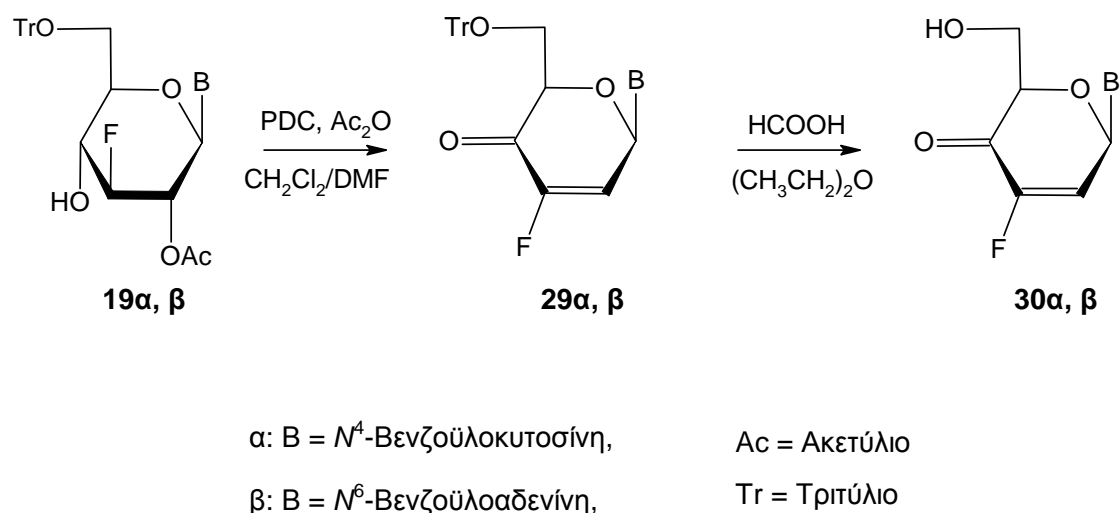
Σχήμα 48.



Σχήμα 49.



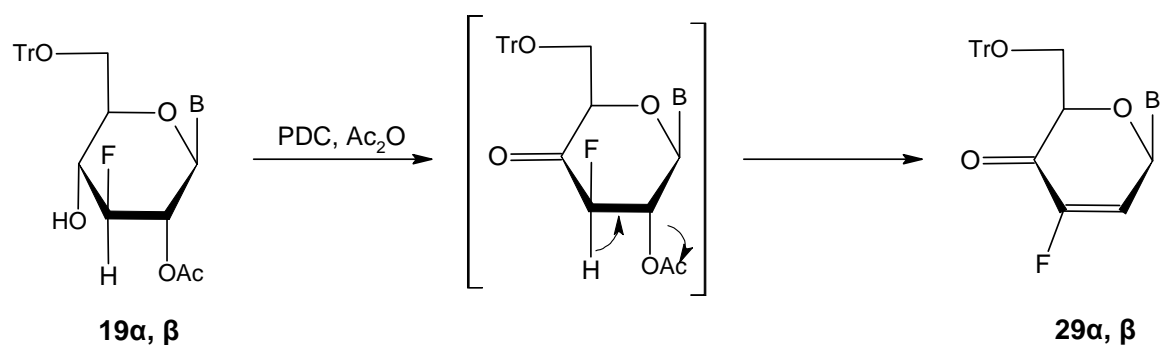
Η οξείδωση των φθοριωμένων ακετυλιωμένων πρόδρομων ενώσεων **19α** και **19β**, που αποτελεί και το καθοριστικό βήμα της συνθετικής διαδικασίας, πραγματοποιείται παρουσία PDC και Ac<sub>2</sub>O (Herscovici and Antonakis 1979), οπότε παράγονται, μετά από μια αντίδραση β-απόσπασσης, οι επιθυμητές ακόρεστες καρβονυλικές ενώσεις, 1-(3'-δεοξυ-3'-φθορο-6'-Ο-τριτυλο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (**29α**) και 9-(3'-δεοξυ-3'-φθορο-6'-Ο-τριτυλο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (**29β**), σε αποδόσεις 75% και 50% αντίστοιχα (Σχήμα 50). Η χαμηλή απόδοση με την οποία λήφθηκε το παράγωγο της αδενίνης οφείλεται στην υδρόλυση της βενζοϋλομάδας της αδενίνης κατά τη διάρκεια της αντίδρασης, με αποτέλεσμα τη λήψη του βενζοϊκού οξέος.



**Σχήμα 50.**

Τέλος, η αποτριτυλίωση του προϊόντος **29α** πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας ένα μίγμα HCOOH και διαιθυλαιθέρα ((CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>O) (Bessodes *et al.* 1986) και με αυτόν τον τρόπο λαμβάνεται ο μη προστατευμένος ακόρεστος 3'-φθορο-4'-κετονουκλεοζίτης της N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνης **30α** (Σχήμα 50).

Ο μηχανισμός της αντίδρασης β-απόσπασσης, ο οποίος λαμβάνει χώρα κατά την οξείδωση των φθοριωμένων ακετυλιωμένων πρόδρομων ενώσεων **19α** και **19β** και που οδηγεί στους επιθυμητούς φθοριωμένους 4'-κετο-2',3'-ακόρεστους νουκλεοζίτες της κυτοσίνης και της αδενίνης **29α** και **29β** αντίστοιχα, απεικονίζεται στο σχήμα 51:

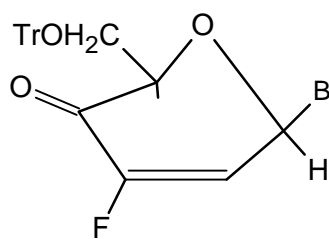


$\alpha$ : B =  $N^4$ -Βενζοϋλοκυτοσίνη,      Ac = Ακετύλιο  
 $\beta$ : B =  $N^6$ -Βενζοϋλοαδενίνη,      Tr = Τριτύλιο

**Σχήμα 51.**

Για τη λήψη του επιθυμητού αποτριτυλιωμένου παραγώγου της  $N^6$ -βενζοϋλοαδενίνης **30β** χρησιμοποιήθηκαν διάφορες μέθοδοι. Όμως, η κατεργασία της ένωσης **29β** με: α) μίγμα  $\text{HCOOH}$  και  $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{O}$  (Bessodes *et al.* 1986), β) αέριο  $\text{HCl}$  σε μεθανόλη (Byramova *et al.* 1983), γ) 70% οξικό οξύ στους  $60^\circ\text{C}$  (Blinckenstaff 1960), δ) νάτριο-αμμωνία (Komiotis *et al.* 1992) και τέλος ε) βρωμιούχο ψευδάργυρο σε διχλωρομεθάνιο (Kohli *et al.* 1980), δεν οδήγησαν στο επιθυμητό μη προστατευμένο παράγωγο της αδενίνης **30β** και μόνο η αδενίνη απομονώθηκε από το μίγμα της αντίδρασης.

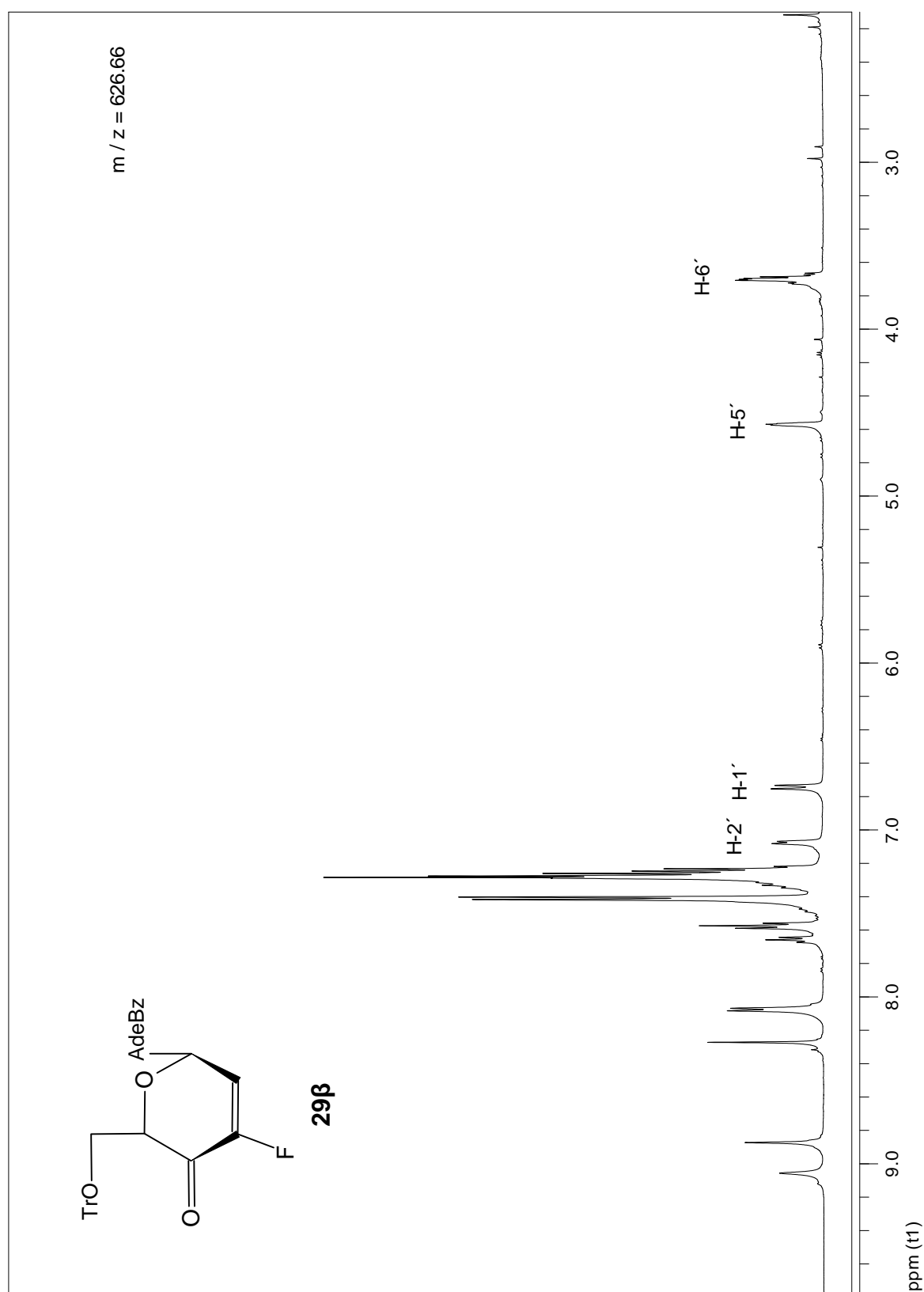
Στα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR των ενώσεων **29α**, **29β** και **30α**, η παρουσία του  $\text{C}=\text{O}$ , εξακριβώθηκε από την εξαφάνιση των σημάτων που αντιστοιχούν στο πρωτόνιο  $\text{H}-4'$ , όπως επίσης και από την παραμαγνητική αποπροστασία των άλλων πρωτονίων τους, ιδιαίτερα του ολεφινικού πρωτονίου  $\text{H}-2'$ , όπως εξάλλου έχει αναφερθεί και παλαιότερα για άλλους νουκλεοζίτες της 2'-δεοξυ-β-D-εξ-2'-ενοπιρανοζυλο-4'-ουλόζης (Halmos and Antonakis 1979, Bessodes *et al.* 1986, Leclercq and Antonakis 1988). Επιπλέον, η χαμηλή τιμή της σταθεράς σύζευξης  $J_{1',2'}$  (1.6 Hz για την ένωση **29α** και 1.4 Hz για την ένωση **29β**) υποδηλώνει ότι τα συγκεκριμένα μόρια υιοθετούν τη διαμόρφωση "sofa" (Halmos and Antonakis 1979), με το πρωτόνιο  $\text{H}-1'$  να είναι κάθετο στο δακτύλιο (Σχήμα 52). Είναι αναμενόμενο ότι μια τέτοια διαμόρφωση θα ευνοείτο, καθώς οι ογκώδεις υποκαταστάτες στον άνθρακα  $\text{C}-1'$  και στον άνθρακα  $\text{C}-5'$  κατέχουν την ισημερινή θέση.



Tr = Τριτύλιο

### Σχήμα 52.

Ενδεικτικά, στο σχήμα 53 παρατίθεται το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της επιθυμητής ακόρεστης καρβονυλικής ένωσης, 9-(3'-δεοξυ-3'-φθορο-6'-Ο-τριτυλο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N<sup>δ</sup>-βενζοϋλοαδερίνη (**29β**). Από τη μελέτη του συγκεκριμένου φάσματος προκύπτει ότι το σήμα του ολεφινικού πρωτονίου H-2' εμφανίζεται στα 7.07 ppm με σταθερές σύζευξης  $J_{1',2'} = 1.4$  Hz και  $J_{2',F} = 6.7$  Hz. Ακολουθεί το σήμα του πρωτονίου H-1' στα 6.74 ppm με σταθερές σύζευξης  $J_{1',2'} = 1.4$  Hz και  $J_{1',F} = 10.2$  Hz, ενώ στα 4.57 και 3.73-3.66 ppm εμφανίζονται τα σήματα των πρωτονίων H-5' και H-6', αντίστοιχα.



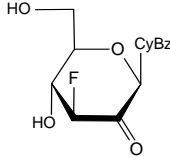
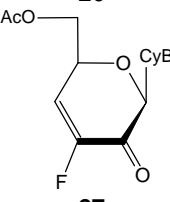
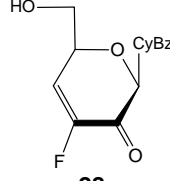
Σχήμα 53.

## Αντιική και αντικαρκινική δράση των φθοριωμένων κετοακόρεστων και δεοξυ-κετοπυρανονουκλεοζιτών της *N*<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνης και της *N*<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνης

Οι νέοι φθοριωμένοι κετονουκλεοζίτες μελετήθηκαν ως προς την αντιική και αντικαρκινική τους δράση. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο Τμήμα Μικροβιολογίας, Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου του Μάριμπορ, στη Σλοβενία.

Αρχικά, διερευνήθηκε η δράση των νέων νουκλεοζιτών **26**, **27** και **28** (Πίνακας 1) έναντι ενός DNA ιού και συγκεκριμένα του ιού Pseudorabies. Για αυτόν το σκοπό ως κύτταρο-ξενιστής χρησιμοποιήθηκε κυτταρική σειρά επιθηλιακών κυττάρων νεφρού χοίρου (PK-15).

**Πίνακας 1.** Μείωση του ιικού φορτίου.

Προϊόν	MOI 10* + προϊόν σε t=0h (U/mL)	μείωση του ιικού φορτίου	MOI 10* + προϊόν σε t=24h (U/mL)	μείωση του ιικού φορτίου
Μόνο μολυσμένα κύτταρα	1 x 10 <sup>4</sup>	0	3.16 x 10 <sup>8</sup>	0
 <b>26</b>	1 x 10 <sup>4</sup>	0	3.16 x 10 <sup>7</sup>	1 x 10 <sup>1</sup>
 <b>27</b>	3.16 x 10 <sup>3</sup>	3.16	1 x 10 <sup>7</sup>	3.16 x 10 <sup>1</sup>
 <b>28</b>	1 x 10 <sup>4</sup>	0	1 x 10 <sup>9</sup>	0
<b>Ganciclovir</b>	3.16 x 10 <sup>3</sup>	3.16	3.16 x 10 <sup>7</sup>	1 x 10 <sup>1</sup>

MOI10\* = πολλαπλότητα της μόλυνσης

Τα κύτταρα PK-15 μολύνθηκαν με τον ιό Pseudorabies με πολλαπλότητα μόλυνσης της τάξεως του 10 (MOI 10) και κατεργάστηκαν με τους φθοριωμένους κετοπυρανονουκλεοζίτες, καθώς και το φάρμακο Ganciclovir (Γκανσικλοβίρη) (0.1

mg/mL), έναν ισχυρό αναστολέα των ερπετοϊών συμπεριλαμβανομένου και του κυτταρομεγαλοϊού (CMV), για 0 ώρες, 8 ώρες και 24 ώρες. Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν διαπιστώθηκε ότι η ένωση **27** σε συγκέντρωση 0.1 mg/mL, ήταν αποτελεσματική στο να μειώσει τον πολλαπλασιασμό του ιού στα κύτταρα PK-15, καθώς μετά από 24 ώρες επώασης παρατηρήθηκε μείωση του ιικού φορτίου (κατά 32 φορές) (Πίνακας 1).

Για να μελετηθεί αν ο μηχανισμός της αντιικής δράσης των κετονουκλεοζιτών περιλαμβάνει την αναστολή της σύνθεσης του DNA του ιού, πραγματοποιήθηκε ποσοτικός προσδιορισμός της εκ νέου σύνθεσης του DNA του ιού στα μολυσμένα κύτταρα (Πίνακας 2). Παρατηρήθηκε ότι η παρουσία της ένωσης **27** (0.1 mg/mL), μετά από 24 ώρες, μείωσε το ποσοστό του DNA του ιού, σε σύγκριση τόσο με τα control (μόνο μολυσμένα κύτταρα) όσο και με το Ganciclovir. Η διαπίστωση αυτή υποδηλώνει ότι ένας πιθανός μηχανισμός της αντιικής δράσης της ένωσης **27** είναι η παρέμβασή της στη σύνθεση του DNA του ιού.

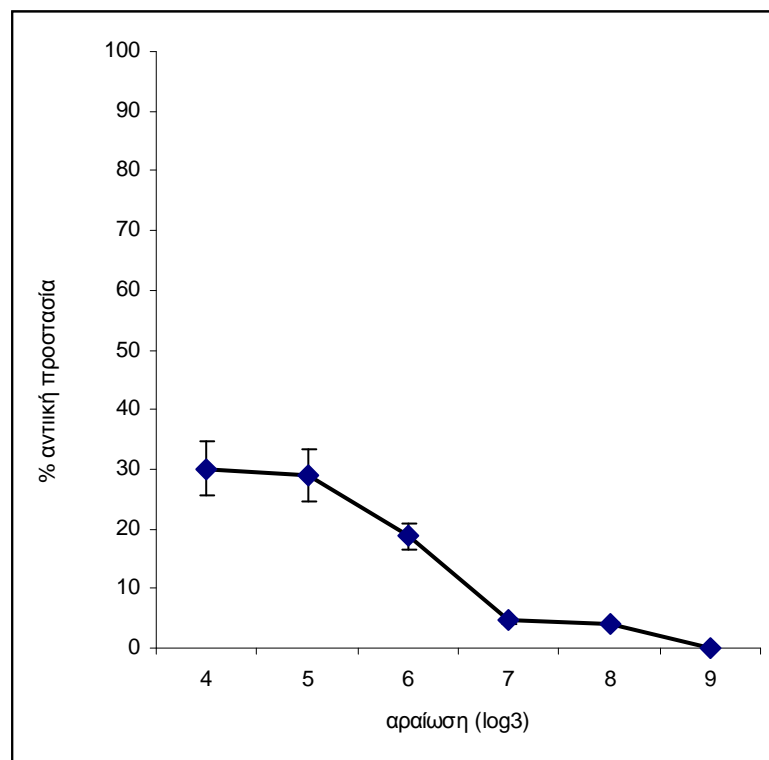
**Πίνακας 2.** Το ποσοστό της εκ νέου σύνθεσης του DNA του ιού στα μολυσμένα κύτταρα PK-15 μετά την προσθήκη των κετοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων σε σύγκριση με το Ganciclovir και με τα control (μόνο μολυσμένα κύτταρα).

Δείγμα	Αριθμός αντιγράφων του DNA του ιού
μολυσμένα κύτταρα στο μέσο με DMSO t=0h	$7.65 \times 10^2$
μολυσμένα κύτταρα στο μέσο με DMSO t=8h	$4.42 \times 10^5$
μολυσμένα κύτταρα στο μέσο με DMSO t=24h	$4.64 \times 10^6$
μολυσμένα κύτταρα στο μέσο με Ganciclovir t=0h	$6.22 \times 10^2$
μολυσμένα κύτταρα στο μέσο με Ganciclovir t=8h	$4.19 \times 10^6$
μολυσμένα κύτταρα στο μέσο με Ganciclovir t=24h	$6.51 \times 10^6$
μολυσμένα κύτταρα στο μέσο με ένωση <b>27</b> t=0h	$5.57 \times 10^2$
μολυσμένα κύτταρα στο μέσο με ένωση <b>27</b> t=8h	$4.26 \times 10^5$
μολυσμένα κύτταρα στο μέσο με ένωση <b>27</b> t=24h	$2.73 \times 10^6$

Στη συνέχεια, διερευνήθηκε η δράση των νέων νουκλεοζιτών **26**, **27** και **28** έναντι των RNA ιών. Για να εξεταστούν οι αντιικές ιδιότητες των συγκεκριμένων μορίων χρησιμοποιήθηκαν δύο κυτταρικά μοντέλα. Πρώτον, η κυτταρική σειρά

IPEC-J2, κύτταρα από το λεπτό έντερο χοίρου, η οποία μολύνθηκε με τον ιό της στοματίτιδας (VSV, Vesicular Stomatitis Virus) και δεύτερον, η κυτταρική σειρά MA 104, εμβρυϊκά νεφρικά κύτταρα μαϊμούς, η οποία μολύνθηκε με εντεροϊό.

Τα πειράματα τα οποία πραγματοποιήθηκαν έδειξαν ότι όλα τα εξεταζόμενα μόρια μπορεί να έχουν αντιική δράση, ωστόσο αυτή η δράση εξαρτάται κάθε φορά από τον ιό. Συγκεκριμένα, οι ενώσεις **26** και **27** δεν εμφάνισαν αξιοσημείωτη προστατευτική δράση έναντι του ιού της στοματίτιδας όταν προστέθηκαν πριν, κατά τη διάρκεια και μετά από τη μόλυνση των IPEC-J2 κυττάρων. Όμως, η ένωση **28** σε συγκέντρωση 7  $\mu\text{g/mL}$ , προκάλεσε αναστολή της μολυσματικότητας του ιού (Σχήμα 54).



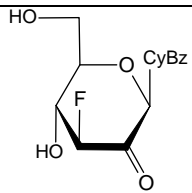
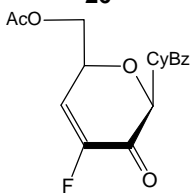
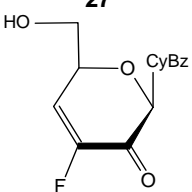
**Σχήμα 54.**

Στο σχήμα 54 απεικονίζεται η αναστολή της μολυσματικότητας του VSV που εμφανίζεται μετά από προσθήκη του προϊόντος **28** σε IPEC-J2 κύτταρα. Το στρώμα των κυττάρων αρχικά επώαστηκε με τον VSV για 1 ώρα, στη συνέχεια η περίσσεια του ιού απομακρύνθηκε από τα κύτταρα και τρεις διαδοχικές αραιώσεις του προϊόντος **28** πραγματοποιήθηκαν σε θρεπτικό υλικό χωρίς ορό. Ακολούθησε επώαση για 24 ώρες στους 37 °C σε περιβάλλον με ποσοστό υγρασίας 5% CO<sub>2</sub>, τα δοχεία χρωματίστηκαν με χρωστική (Crystal violet) σε

EtOH, ξεπλύθηκαν με νερό και αποχρωματίστηκαν με 10% (v/v) οξικό οξύ. Η τιμή  $A_{590}$  μετρήθηκε και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν, για κάθε διάλυση, με τη μέση τιμή (% $\pm$ SD) των απορροφήσεων στις μολυσμένες κυψελίδες ( $n = 6$ ) σε σύγκριση με τις κυψελίδες control ( $n = 6$ ).

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν ως προς την αντιική δράση των εξεταζόμενων μορίων **26**, **27** και **28** έναντι του εντεροϊού, απεικονίζονται στον πίνακα 3 και συγκρίνονται με το AZT.

**Πίνακας 3.** IC<sub>50</sub> των προϊόντων **26**, **27**, **28** και του **AZT** για την αντιική δράση έναντι του εντεροϊού στελέχους RF.

Προϊόν	Κατεργασία A*		Κατεργασία B*		Αντιική Έκφραση
	IC <sub>50</sub> mg/mL	IC <sub>50</sub> μM	IC <sub>50</sub> mg/mL	IC <sub>50</sub> μM	
 <b>26</b>	0.07	185.52	0.07	185.52	0
 <b>27</b>	A	-	0.02	49.83	0
 <b>28</b>	0.0008	2.23	0.02	55.66	0
<b>AZT</b>	0.02	74.84	0.006	22.45	0.004

A = αδρανές

\*Κατεργασία A: Εξουδετέρωση του ιού στο διάλυμα πριν την πρόσδεσή του.

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

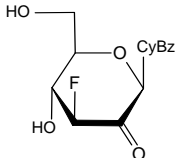
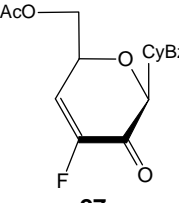
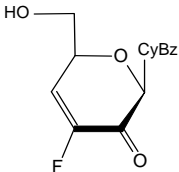
Όπως φαίνεται από τον πίνακα 3, η καλύτερη τιμή IC<sub>50</sub> κατά τη διαδικασία της εξουδετέρωσης του ιού πριν την πρόσδεσή του στην επιφάνεια των κυττάρων, παρατηρήθηκε για την ένωση **28** (IC<sub>50</sub> = 0.0008 mg/mL), σε αντίθεση με το AZT, το οποίο εμφανίστηκε να εξουδετερώνει τον ιό σε συγκέντρωση 0.02



mg/mL. Η τιμή  $IC_{50}$  του προϊόντος **26**, τόσο όσον αφορά στην εξουδετέρωση του ιού πριν την πρόσδεσή του όσο και μετά ( $IC_{50} = 0.07$  mg/mL), ήταν υψηλότερη από αυτή των ενώσεων **27** και **28**, ενώ τα συγκεκριμένα μόρια εμφανίστηκαν αποτελεσματικά στο να αναστέλλουν τη μόλυνση του ιού μετά την πρόσδεσή του, παρουσιάζοντας την ίδια τιμή  $IC_{50}$  ( $IC_{50} = 0.02$  mg/mL). Παρόλα αυτά σε σύγκριση με το AZT, απαιτήθηκαν υψηλότερες συγκεντρώσεις για τα νέα μόρια έτσι ώστε να επιτευχθεί το ίδιο αποτέλεσμα έναντι του ιού. Τέλος, σημαντικό είναι το γεγονός ότι κανένα από τα εξεταζόμενα μόρια δεν ήταν δραστικά αντιικό έναντι των κυττάρων MA 104, σε αντίθεση με το AZT, το οποίο παρουσίασε θετικά αποτελέσματα σε συγκέντρωση 0.004 mg/mL.

Εκτός, όμως, από τις αντιικές ιδιότητες των νέων μορίων **26**, **27** και **28**, μελετήθηκε επίσης η αντιπολλαπλασιαστική και κυτταροτοξική τους δράση σε κύτταρα ανθρώπινου αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου (κυτταρική σειρά Caco-2) (Πίνακας 4).

**Πίνακας 4.**  $IC_{50}$  των προϊόντων **26**, **27**, **28** και του **AZT** για την αναστολή του πολλαπλασιασμού και την κυτταροτοξική δράση στα κύτταρα Caco-2.

Προϊόν	Αναστολή πολλαπλασιασμού		Κυτταροτοξικότητα	
	$IC_{50}$ mg/mL	$IC_{50}$ μM	$IC_{50}$ mg/mL	$IC_{50}$ μM
 <b>26</b>	2.5	6625.7	1.5	3975.4
 <b>27</b>	1.0	2491.6	0.2	498.3
 <b>28</b>	0.2	556.6	0.2	556.6
<b>AZT</b>	0.02	74.84	0.02	74.84

Όλες οι ενώσεις που εξετάστηκαν μείωσαν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων Caco-2, όπως φάνηκε από τον αριθμό των αποικιών μετά από 10 ημέρες επώασης. Όπως παρουσιάζεται στον πίνακα 4, η τιμή του IC<sub>50</sub> που παρατηρήθηκε για την ένωση **26** ήταν 2.5 mg/mL, για την ένωση **27** 1.0 mg/mL και για την ένωση **28** 0.2 mg/mL, αντίστοιχα. Σε σύγκριση με το AZT, το προϊόν **28** εμφάνισε παρόμοια αντιπολλαπλασιαστική δράση, ενώ τα προϊόντα **26** και **27** ήταν δραστικά μόνο σε υψηλότερες συγκεντρώσεις (2.5 mg/mL και 1.0 mg/mL, αντίστοιχα).

Επιπλέον, οι ενώσεις **27** και **28** εμφάνισαν την υψηλότερη κυτταροτοξική δράση με την τιμή IC<sub>50</sub> να είναι 0.2 mg/mL για την κάθε μία, σε αντίθεση με το προϊόν **26**, το οποίο εμφάνισε κυτταροτοξική δράση στα κύτταρα Caco-2 σε υψηλότερη συγκέντρωση (1.5 mg/mL), έπειτα από 72 ώρες επώασης (Πίνακας 4).

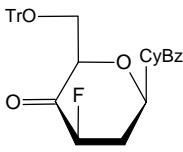
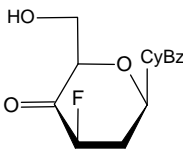
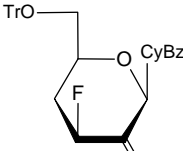
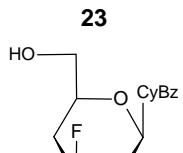
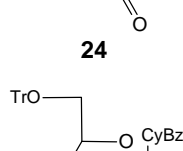
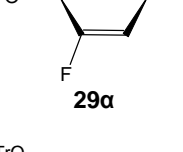
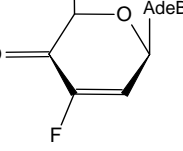
Τα παραπάνω αποτελέσματα επιβεβαιώνουν δημοσιευμένες μελέτες (Robins *et al.* 1992, Paterson *et al.* 1998), στις οποίες αναφέρεται ότι οι κετο-C-γλυκοζίτες, καθώς και τα μεθυλενικά νουκλεοζιδικά ανάλογα αναστέλλουν την αύξηση ορισμένων καρκινικών κυτταρικών σειρών.

Βιολογικές μελέτες πραγματοποιήθηκαν επίσης στα 4'- και 2'-δεοξυκετονουκλεοζιδικά παράγωγα της N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνης (ενώσεις **15**, **16** και **23**, **24**), καθώς και στα 4'-κετοακόρεστα φθορονουκλεοζιδικά ανάλογα της N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνης και της N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνης (ενώσεις **29α**, **29β** και **30α**).

Τα νέα μόρια **15**, **16**, **23**, **24**, **29α**, **29β** και **30α** μελετήθηκαν ως προς την αντιική τους δράση έναντι του εντεροϊού χρησιμοποιώντας μολυσμένα κύτταρα αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου (κυτταρική σειρά Caco-2). Τα αποτελέσματα που προέκυψαν για τις νέες ενώσεις παρουσιάζονται στον πίνακα 5 και συγκρίνονται με αυτά του AZT.

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 5, όσον αφορά στην εξουδετέρωση του ιού πριν την πρόσδεση του στην επιφάνεια των κυττάρων, κανένα από τα εξεταζόμενα μόρια δεν εμφάνισε αντιική δράση. Εξαίρεση αποτελεί η ένωση **16**, η οποία εμφανίστηκε ικανή να εξουδετερώνει τον ιό πριν την πρόσδεση του στην επιφάνεια των κυττάρων Caco-2 σε συγκέντρωση 2.06 μM, ενώ για το AZT απαιτήθηκε αρκετά υψηλότερη συγκέντρωση (74.84 μM). Παρόλο που τα μόρια **29α**, **29β** και **30α** δεν εμφάνισαν αντιική δράση κατά τη διαδικασία της εξουδετέρωσης, παρουσίασαν την ικανότητα να αναστέλλουν τη μολυσματικό-

**Πίνακας 5.** Αντιική δράση των νουκλεοζιτών **15**, **16**, **23**, **24**, **29α**, **29β**, **30α** και του **AZT** έναντι του εντεροϊού στελέχους RF στα κύτταρα Caco-2.

Προϊόν	Κατεργασία Α*			Κατεργασία Β*		
	IC <sub>50</sub> mg/mL	IC <sub>50</sub> μM	CC <sub>50</sub> /IC <sub>50</sub> **	IC <sub>50</sub> mg/mL	IC <sub>50</sub> μM	CC <sub>50</sub> /IC <sub>50</sub>
 <b>15</b>	A	A	-	0.0004	0.63	32
 <b>16</b>	0.0008	2.06	320	A	A	-
 <b>23</b>	A	A	-	A	A	-
 <b>24</b>	A	A	-	A	A	-
 <b>29α</b>	A	A	-	0.2	332.43	0.10
 <b>29β</b>	A	A	-	0.5	799.17	0.04
 <b>30α</b>	A	A	-	0.5	1391.56	0.04
<b>AZT</b>	0.02	74.84	0.75***	0.006	22.45	2.50

A = αδρανές

\*Κατεργασία Α: Εξουδετέρωση του ιού στο διάλυμα πριν την πρόσδεσή του.

Κατεργασία Β: Αναστολή της μολυσματικότητας μετά την πρόσδεση του ιού.

\*\*Οι τιμές CC<sub>50</sub>/IC<sub>50</sub> υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας τις τιμές CC<sub>50</sub> στον πίνακα 6.

\*\*\*CC<sub>50</sub> για το AZT στα Caco-2 κύτταρα = 56.1 μM.

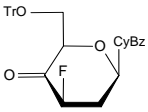
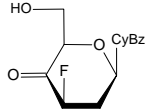
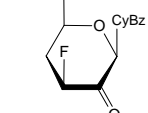
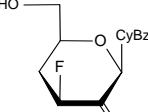
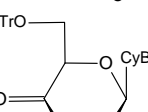
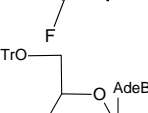
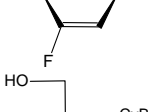
τητα από εντεροϊό μετά την πρόσδεσή του, ενώ σε σύγκριση με το AZT απαιτήθηκαν υψηλότερες συγκεντρώσεις για τα συγκεκριμένα μόρια έτσι ώστε να επιτευχθεί το ίδιο αποτέλεσμα έναντι του ιού. Αντίθετα, η ένωση **15** παρουσίασε αυξημένη αντιική δράση έναντι του εντεροϊού μετά την πρόσδεσή του παρουσιάζοντας την καλύτερη τιμή  $IC_{50}$  ( $IC_{50} = 0.63 \mu M$ ). Οι ενώσεις **16**, **23** και **24** δεν ήταν αποτελεσματικές στο να αναστείλουν τη μόλυνση από εντεροϊό μετά την πρόσδεσή του στην επιφάνεια των κυττάρων.

Οι φθοριωμένοι κετονουκλεοζίτες **15**, **16**, **23** και **24** εξετάστηκαν ως προς την κυτταροτοξική τους δράση σε φυσιολογικά ανθρώπινα εντερικά κύτταρα (H4, control κυτταρική σειρά), σε ανθρώπινα γαστρικά καρκινικά κύτταρα (AGS), σε κύτταρα αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου (Caco-2) και καρκινώματος του στήθους (MCF-7), ενώ οι ενώσεις **29α**, **29β** και **30α** εξετάστηκαν ως προς την κυτταροτοξική τους δράση σε κύτταρα H4, Caco-2, MCF-7 και μελανώματος του δέρματος. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν για τα εξεταζόμενα μόρια παρουσιάζονται στον πίνακα 6 και συγκρίνονται με αυτά της ένωσης 5-φθοροουρακίλη (5 FU).

Μεταξύ των εξεταζόμενων φθοριωμένων κετοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων, τα δεοξυ-προστατευμένα ανάλογα **15** και **23** παρουσίασαν την καλύτερη κυτταροτοξική δράση έναντι των κυττάρων AGS και Caco-2 ( $CC_{50} = 10.0 \mu M$  και  $CC_{50} = 20.1 \mu M$ , αντίστοιχα). Από την άλλη πλευρά, η ένωση **29α** παρουσίασε την καλύτερη κυτταροτοξική δράση έναντι των κυττάρων μελανώματος του δέρματος ( $CC_{50} = 3.3 \mu M$ ). Το ίδιο ανάλογο της αδερίνης **29β**, εμφάνισε περίπου τρεις φορές χαμηλότερη κυτταροτοξική δράση έναντι των κυττάρων μελανώματος του δέρματος σε σύγκριση με το **29α**. Παρόλα αυτά, έναντι των υπόλοιπων καρκινικών σειρών, τόσο η δραστηριότητα όσο και η εκλεκτικότητα αυτών των δύο μορίων ήταν συγκρίσιμες. Σε σύγκριση με την 5 FU, η ένωση **29α** εμφανίστηκε 2.5 φορές πιο εκλεκτική στα κύτταρα Caco-2, 3 φορές πιο εκλεκτική στα κύτταρα μελανώματος του δέρματος και 16 φορές πιο εκλεκτική στα κύτταρα MCF-7 (βλ. τιμές TSI).

Γενικά όλες οι εξεταζόμενες ενώσεις παρουσίασαν καλύτερη κυτταροτοξική δράση στα καρκινικά κύτταρα από ότι στη φυσιολογική κυτταρική σειρά H4, ενώ σε σύγκριση με την ένωση 5 FU, όλα τα εξεταζόμενα μόρια αποδείχθηκε ότι είναι πιο κυτταροτοξικά έναντι όλων των καρκινογενών κυττάρων. Από τα παραπάνω αποτελέσματα παρατηρήθηκε ότι ορισμένα προϊόντα παρουσιάζουν εκλεκτική

**Πίνακας 6.** Κυτταροτοξική δράση (CC<sub>50</sub>, μM) των ενώσεων **15**, **16**, **23**, **24**, **29α**, **29β**, **30α** και της 5-φθοροουρακίλης (5 FU) έναντι των κυττάρων H4, AGS, Caco-2, μελανώματος του δέρματος και MCF-7, και αναστολή του πολλαπλασιασμού (IC<sub>50</sub>, μM) των κυττάρων Caco-2.

Προϊόν	Κυτταροτοξική δράση (CC <sub>50</sub> , μM)					TSI*			Αναστολή πολλαπλασιασμού (IC <sub>50</sub> , μM)	
	H4	AGS	Caco-2	Μελά-νωμα	MCF-7	AGS	Caco-2	Μελά-νωμα	MCF-7	Caco-2
<b>15</b> 	100.6	10.0	20.1	-	40.2	10.0	5.0	-	2.5	5.1
<b>16</b> 	659.0	131.8	659.0	-	659.0	5.0	1.0	-	1.0	236.6
<b>23</b> 	50.3	10.0	20.1	-	20.1	5.0	2.5	-	2.5	5.1
<b>24</b> 	659.0	131.8	263.6	-	263.6	5.0	2.5	-	2.5	32.9
<b>29α</b> 	831.1	-	33.2	3.3	9.9	-	25.0	251.8	83.9	1.1
<b>29β</b> 	799.1	-	31.9	9.5	9.5	-	25.0	84.1	84.1	1.1
<b>30α</b> 	1391.5	-	55.6	16.6	55.6	-	25.0	83.8	25.0	16.6
<b>5 FU</b>	3843.8	768.8	384.4	46.1	768.8	5.0	10.0	83.4	5.0	1.5

\*TSI: Εκλεκτικότητα (CC<sub>50</sub> στα κύτταρα H4/CC<sub>50</sub> σε συγκεκριμένα κύτταρα-ξενιστές)

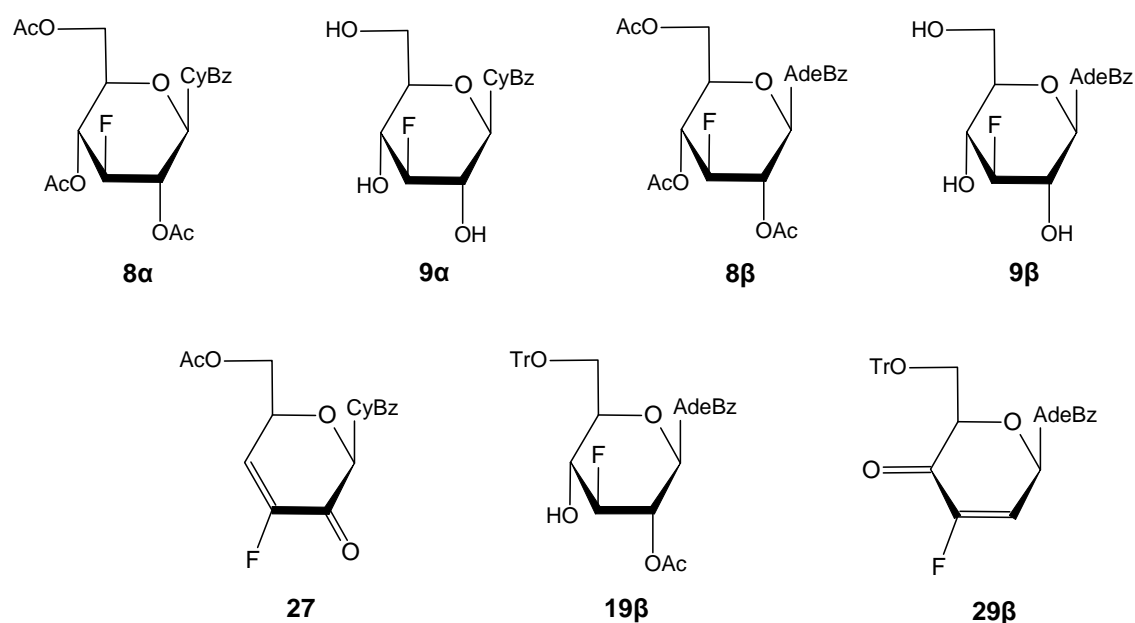
δράση έναντι συγκεκριμένων καρκινικών κυτταρικών σειρών. Έχει πρόσφατα αναφερθεί (Matsuda and Sasaki 2004) ότι ο μηχανισμός της ανασταλτικής δράσης, ιδιαίτερα στα ένζυμα των καρκινογενών κυττάρων, δεν είναι πάντα ο ίδιος ακόμη και μεταξύ νουκλεοζιτικών αντιμεταβολιτών που έχουν την ίδια νουκλεοβάση.

Τέλος, μετρήθηκε η αναστολή του πολλαπλασιασμού των κυττάρων Caco-2 που προκαλούν τα νέα μόρια, προσδιορίζοντας την ελάχιστη συγκέντρωση αναστολής,  $IC_{50}$ . Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στην τελευταία στήλη του πίνακα 6 και συγκρίνονται με αυτά της 5 FU. Είναι εμφανές ότι οι ενώσεις **29α** και **29β** ( $IC_{50} = 1.1 \mu M$ ) παρουσίασαν λίγο καλύτερη ανασταλτική δράση ανάπτυξης από την 5 FU ( $IC_{50} = 1.5 \mu M$ ), αλλά με πιο αυξημένη εκλεκτικότητα (βλ. τιμές TSI). Σημαντική όμως ήταν και η ανασταλτική δράση που εμφάνισαν τα δεοξυ-φθοροκετοπυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα **15** και **23** ( $IC_{50} = 5.1 \mu M$ ). Από την άλλη πλευρά, η ένωση **30α** παρουσιάστηκε ικανή να αναστέλλει την ανάπτυξη των κυττάρων παρόλο που το αποτέλεσμα ήταν λιγότερο άμεσο από αυτό της 5 FU, εμφάνισε, όμως, υψηλότερη εκλεκτικότητα για τα κύτταρα Caco-2.

Συμπερασματικά, μεταξύ των νέων φθοροκετονουκλεοζιτών **26**, **27** και **28**, η ένωση **27** εμφανίστηκε να είναι ισχυρός αναστολέας του ιού Pseudorabies με ισχυρότερη αντιική δράση από το Ganciclovir. Φαίνεται ότι η παρουσία του διπλού δεσμού σε  $\alpha,\beta$ -θέση ως προς την κετονομάδα στο σάκχαρο της ένωσης **27** αυξάνει τη δράση και επιπλέον η ύπαρξη της προστατευτικής ομάδας στην 6'-θέση του σακχάρου την καθιστά πιο δραστική στην αναστολή της σύνθεσης του DNA του ιού σε σχέση με την ένωση **28** που φέρει ελεύθερο πρωτοταγές υδροξύλιο. Παρόλα αυτά, η ένωση **28** μπορεί να θεωρηθεί οδηγός για την ανάπτυξη αντι-εντεροϊικών φαρμάκων α) δρώντας ως αναστολέας της μολυσματικότητας μετά από την πρόσδεση του ιού και β) εξουδετερώνοντας τον ιό στο διάλυμα, πριν από την πρόσδεσή του στην επιφάνεια των κυττάρων, ενώ σε σύγκριση με το AZT, η ένωση **28**, αποδείχθηκε ότι είναι πιο αποτελεσματική στην εξουδετέρωση του εντεροϊού πριν την πρόσδεσή του. Από την άλλη πλευρά, μεταξύ των δεοξυ-φθοροκετοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων, η ένωση **15**, που φέρει πρωτοταγή προστατευτική ομάδα παρουσίασε την καλύτερη αντιική δράση, ενώ οι ενώσεις **29α**, **29β** και **30α** αποδείχθηκε ότι παρουσίασαν μάλλον μέτρια, αλλά άμεση δραστηριότητα έναντι του εντεροϊού. Θα πρέπει να

τονιστεί ότι τα νέα μόρια **26**, **27** και **28** αποδείχθηκε ότι αποτελούν εν δυνάμει αντι-αδενοκαρκινικούς παράγοντες, ενώ η ένωση **29α** εμφάνισε την καλύτερη κυτταροτοξική δράση έναντι των κυττάρων μελανώματος του δέρματος ( $CC_{50} = 3.3 \mu M$ ). Επιπλέον, οι προστατευμένες ενώσεις **15** και **23** παρουσίασαν την καλύτερη κυτταροτοξική δράση έναντι των κυττάρων AGS και Caco-2. Τέλος, αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι όλα τα εξεταζόμενα προϊόντα είχαν καλύτερη κυτταροτοξική δράση από την 5 FU.

Όπως φαίνεται από τα παραπάνω βιολογικά αποτελέσματα, η δράση των νέων νουκλεοζιτικών αναλόγων αποδείχθηκε πολύ ενδιαφέρουσα σε *in vitro* επίπεδο. Αξιοσημείωτη, όμως, αποδείχθηκε να είναι η δράση τους και σε μοριακό επίπεδο. Οι μελέτες, που πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Λειτουργικής Βιοχημείας του Τμήματος Βιοχημείας-Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, εστιάστηκαν στην επίδραση μιας σειράς φθοριωμένων πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της  $N^4$ -βενζοϋλοκυτοσίνης και της  $N^6$ -βενζοϋλοαδενίνης στην αποικοδόμηση της πολυαδενυλικής ουράς (πολύ(Α) ουρά).



CyBz =  $N^4$ -Βενζοϋλοκυτοσίνη,

Ac = Ακετύλιο

AdeBz =  $N^6$ -Βενζοϋλοαδενίνη,

Tr = Τριτύλιο

**Σχήμα 55.**

Ένα ένζυμο-κλειδί σε αυτήν τη διεργασία της βράχυνσης είναι η πολυ(Α)-εξειδικευμένη ριβονουκλεάση, PARN. Έχει αναφερθεί πρόσφατα (Balatsos *et al.* 2008), ότι τα νουκλεοτίδια πουρινών αναστέλλουν το συγκεκριμένο ένζυμο. Με βάση αυτές τις μελέτες θεωρήθηκε ενδιαφέρον να ελεγχθεί αν τα τροποποιημένα νουκλεοζιτικά ανάλογα της  $N^4$ -βενζοϋλοκυτοσίνης και της  $N^6$ -βενζοϋλοαδενίνης μπορούν να ρυθμίσουν την PARN. Οι ενώσεις οι οποίες εξετάστηκαν απεικονίζονται στο σχήμα 55.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν απέδειξαν ότι δύο από αυτές τις ενώσεις και συγκεκριμένα οι **9α** και **9β**, που φέρουν τρία ελεύθερα υδροξύλια, φθόριο στο τμήμα του σακχάρου και την  $N^4$ -βενζοϋλοκυτοσίνη και  $N^6$ -βενζοϋλοαδενίνη, αντίστοιχα ως ετεροκυκλικές βάσεις, μείωσαν αποτελεσματικά τη δραστηριότητα της PARN. Αντίθετα, οι υπόλοιπες ενώσεις είχαν ασθενέστερη ή και καμία επίδραση στο ένζυμο. Τα αποτελέσματά αυτά δείχνουν ότι η δραστηριότητα της PARN μπορεί να ελεγχθεί από φυσικά νουκλεοτίδια *in vitro*, πιθανόν μέσω ενός απλού μηχανισμού ρύθμισης της αποικοδόμησης της πολυ(Α) ουράς. Επιπλέον, τα ανάλογα νουκλεοζιτών που εξετάστηκαν μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πρότυπες ενώσεις για την ανάπτυξη νέων ενώσεων που θα μπορούν να ρυθμίζουν την PARN.

### **Αντιοξειδωτική δράση σειράς φθορο-πυρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της $N^4$ -βενζοϋλοκυτοσίνης και της $N^6$ -βενζοϋλοαδενίνης**

Μια σειρά φθοριωμένων πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της  $N^4$ -βενζοϋλοκυτοσίνης και της  $N^6$ -βενζοϋλοαδενίνης μελετήθηκε ως προς την αντιοξειδωτική της δράση. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Φυσιολογίας Ζωϊκών Οργανισμών του Τμήματος Βιοχημείας-Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Η πιθανή αντιοξειδωτική δράση των νέων προϊόντων, εστιάστηκε στην ικανότητά τους να προστατεύουν το DNA από την επαγόμενη από ελεύθερες ρίζες υπεροξειδίου ( $ROO^{\bullet}$ ) πρόκληση θραυσμάτων.

Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν (Πίνακας 7), είναι προφανές ότι ο ρόλος της νουκλεοβάσης στη χημική δομή των εξεταζόμενων μορίων είναι καθοριστικός για την εμφάνιση αντιοξειδωτικής δράσης, δεδομένου ότι οι ενώσεις **6** και **7** δεν παρουσίασαν ανασταλτική δράση. Από την άλλη πλευρά, παρατηρή-



**Πίνακας 7.** % Αναστολή 13 εξεταζόμενων ενώσεων έναντι της επαγόμενης από ελεύθερες ρίζες ROO<sup>•</sup> πρόκληση θραυσμάτων στο DNA.

	Προϊόντα μM	% Αναστολή						Προϊόντα μM	% Αναστολή				
		5	10	20	50	100			5	10	20	50	100
<b>7</b>		NI	NI	NI	NI	NI	<b>6</b>		NI	NI	NI	NI	NI
<b>8α</b>		NI	NI	NI	11±1 <sup>A*</sup>	24±1 <sup>*</sup>	<b>9α</b>		NI <sup>B</sup>	NI	10±5	11±1 <sup>*</sup>	27±4 <sup>*</sup>
<b>26</b>		NI	NI	NI	NI	NI	<b>8β</b>		NI	NI	NI	NI	NI
<b>9β</b>		NI	NI	7±2	7±3	11±3	<b>19β</b>		NI	NI	NI	16±4	20±2 <sup>*</sup>
<b>28</b>		NI	NI	NI	16±5	27±3 <sup>*</sup>	<b>30α</b>		9±3	18±1 <sup>*</sup>	19±1 <sup>*</sup>	25±3 <sup>*</sup>	26±2 <sup>*</sup>
<b>27</b>		NI	NI	8±3	20±2 <sup>*</sup>	37±1 <sup>*</sup>	<b>29α</b>		NI	NI	NI	NI	NI
<b>29β</b>		NI	NI	NI	NI	NI							

<sup>A</sup> Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± SE της % αναστολής τριών ανεξάρτητων πειραμάτων.

<sup>B</sup> NI: μη αξιοσημείωτη αναστολή (μικρότερη από 7%).

\*p < 0.05 στατιστικά σημαντικό συγκρινόμενο με το control (πλασμιδιακό DNA + ROO<sup>•</sup>).

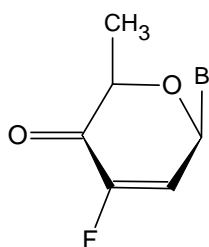
θηκε ότι τα νουκλεοζιτικά ανάλογα που δεν φέρουν το  $\alpha,\beta$ -κετοακόρεστο σύστημα στη δομή τους, ενώσεις **8α**, **9α**, **26**, **8β**, **9β** και **19β**, εμφάνισαν μηδενική ή μικρή ανασταλτική δράση και μόνο σε υψηλές συγκεντρώσεις (50 και 100  $\mu\text{M}$ ). Αντίθετα, τα νουκλεοζιτικά ανάλογα που φέρουν το  $\alpha,\beta$ -κετοακόρεστο σύστημα στο τμήμα του σακχάρου, ενώσεις **28**, **30α** και **27**, εμφανίστηκαν να είναι αποτελεσματικά έναντι των  $\text{ROO}^\bullet$  ριζών. Φαίνεται ότι η παρουσία του διπλού δεσμού σε  $\alpha,\beta$ -θέση ως προς την κετονομάδα προκαλεί σημαντική σταθεροποίηση και αυξάνει την παρατηρούμενη αντιοξειδωτική δράση. Ιδιαίτερα το προϊόν **30α** εμφανίστηκε να είναι το πλέον ισχυρό, παρουσιάζοντας αναστολή 18%, 19%, 25% και 26% στα 10, 20, 50 και 100  $\mu\text{M}$ , αντίστοιχα.

Τέλος, παρά το ότι οι ενώσεις **29α** και **29β** φέρουν το  $\alpha,\beta$ -κετοακόρεστο σύστημα στο σάκχαρο, δεν παρουσίασαν ανασταλτική δράση. Πιθανότατα αυτή η συμπεριφορά να οφείλεται σε μηχανιστικές διεργασίες που προκαλούνται λόγω του μεγάλου μεγέθους και της υδροφοβικής φύσης της τριτυλομάδας.

## 6'-ΔΕΟΞΥ ΚΕΤΟΑΚΟΡΕΣΤΟΙ ΦΘΟΡΟ-ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ

Από τις βιολογικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στους νέους κετοακόρεστους φθορονουκλεοζίτες, προέκυψε το συμπέρασμα ότι η ύπαρξη ενός πρωτοταγούς ελεύθερου υδροξυλίου στο σάκχαρο του νουκλεοζίτη δεν αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την εμφάνιση αντικαρκινικής και αντιϊκής δράσης. Αντίθετα, οι ενώσεις που φέρουν μία προστατευτική ομάδα στην 6'-θέση του σακχάρου, εμφανίστηκαν να είναι πιο αποτελεσματικοί αντικαρκινικοί και αντιϊκοί παράγοντες. Η διαπίστωση αυτή υποδηλώνει ότι τα συγκεκριμένα μόρια, πιθανότατα δρουν μέσω ενός διαφορετικού μηχανισμού από αυτόν που σχετίζεται με τα ήδη υπάρχοντα αντικαρκινικά και αντιϊκά φάρμακα.

Το γεγονός αυτό αποτέλεσε το έναυσμα για τη σύνθεση μιας νέας σειράς 6'-δεοξυ κετοακόρεστων νουκλεοζιτών, οι οποίοι φέρουν: α)  $N^4$ -βενζοϋλοκυτοσίνη ή  $N^6$ -βενζοϋλοαδενίνη ως ετεροκυκλική βάση β) κετονομάδα στη θέση 4' ή 2' και γ) φθόριο στη θέση 3' του σακχάρου (δομές **XI** και **XII**, ενώσεις **33α**, **33β** και **38**, Σχήμα 56).

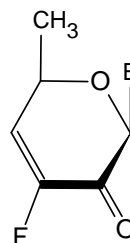


**XI**

**33α, β**

α: B =  $N^4$ -Βενζοϋλοκυτοσίνη

β: B =  $N^6$ -Βενζοϋλοαδενίνη



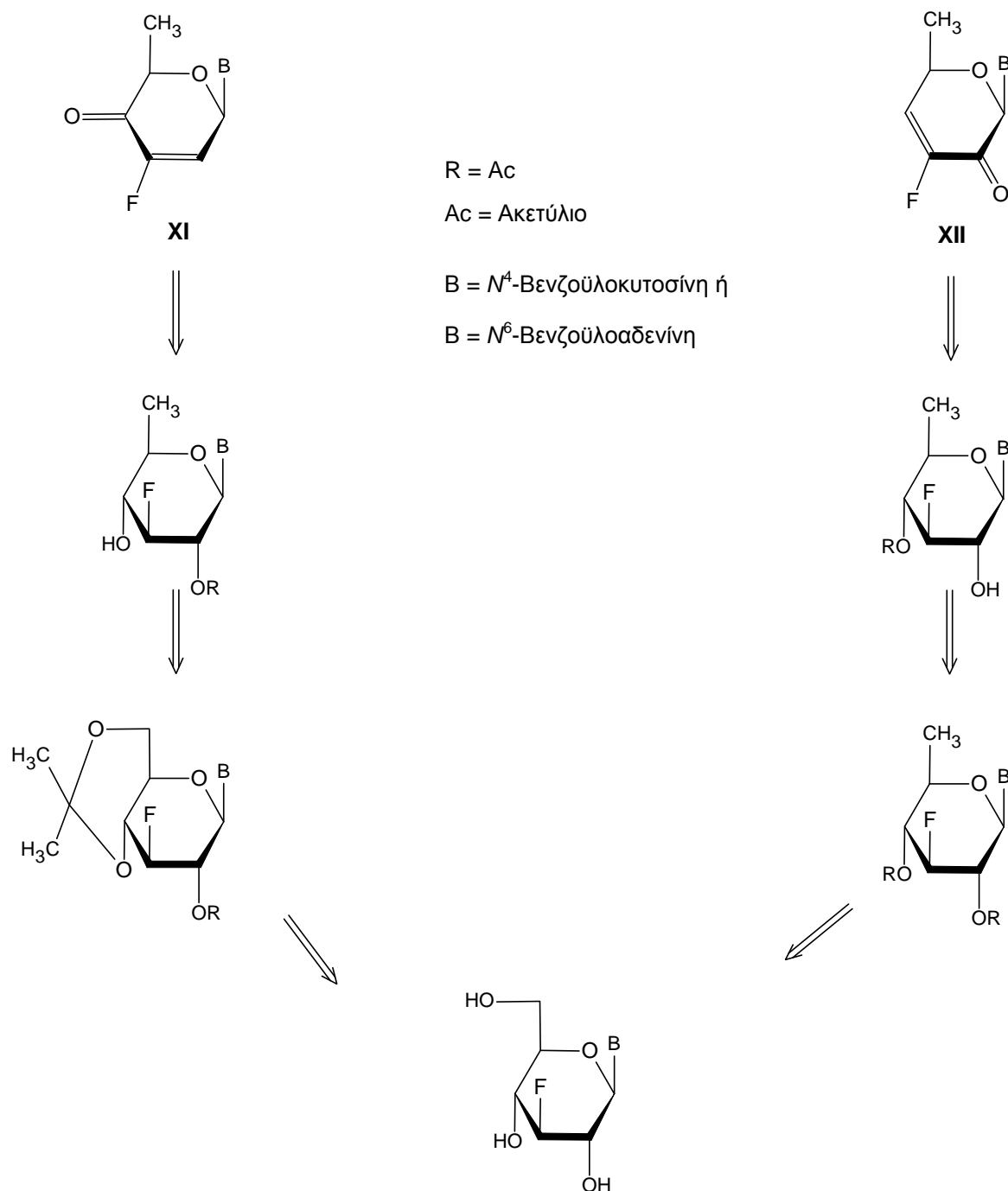
**XII**

**38**

B =  $N^6$ -Βενζοϋλοαδενίνη

**Σχήμα 56.**

Η ρετροσυνθετική πορεία που σχεδιάστηκε για την παρασκευή τόσο των 4'-κετο όσο και των 2'-κετοακόρεστων 3'-φθορονουκλεοζιτών (δομές **XI** και **XII**, αντίστοιχα), περιγράφεται στο σχήμα 57 που ακολουθεί:



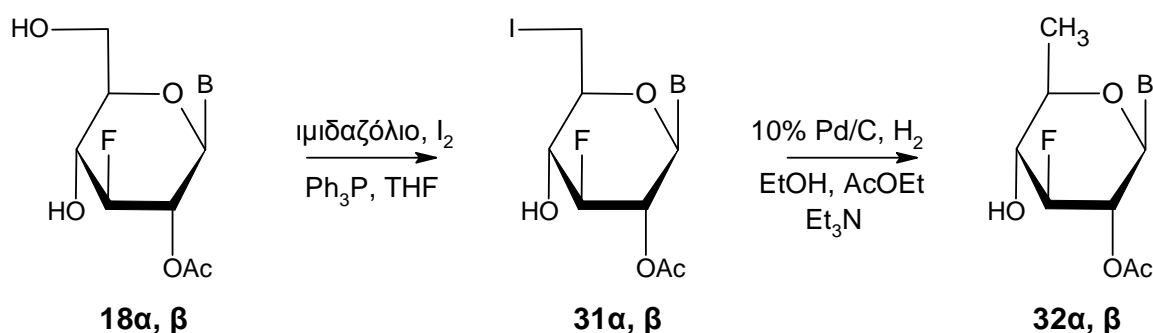
**Σχήμα 57.**

Όπως φαίνεται από τη ρετροσύνθεση του σχήματος 57, οι κομβικές ενώσεις που οδηγούν στα επιθυμητά 6'-δεοξυ-4'-κετο και 6'-δεοξυ-2'-κετοακόρεστα φθορονουκλεοζιτικά παράγωγα, είναι αυτές που φέρουν ελεύθερα υδροξύλια στη 4'- και 2'-θέση του σακχάρου, αντίστοιχα, τα οποία μετά από οξείδωση θα οδηγήσουν στα επιθυμητά νουκλεοζιτικά ανάλογα.

## 2',6'-Διδεοξυ-4'-κετοακόρεστα-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικά παράγωγα της N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνης και της N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνης

Η συνθετική διαδικασία που ακολουθήθηκε για την παρασκευή των επιθυμητών 2',6'-διδεοξυ-4'-κετοακόρεστων φθοριωμένων νουκλεοζιτών της κυτοσίνης και της αδενίνης (δομή **XI**, ενώσεις **33α** και **33β**, Σχήμα 56), περιλαμβάνει ως πρώτες ύλες τις ενώσεις, 1-(2'-Ο-ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (**18α**) και 9-(2'-Ο-ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (**18β**), αντίστοιχα. Η σύνθεση των ενώσεων **18α** και **18β** έχει ήδη περιγραφεί.

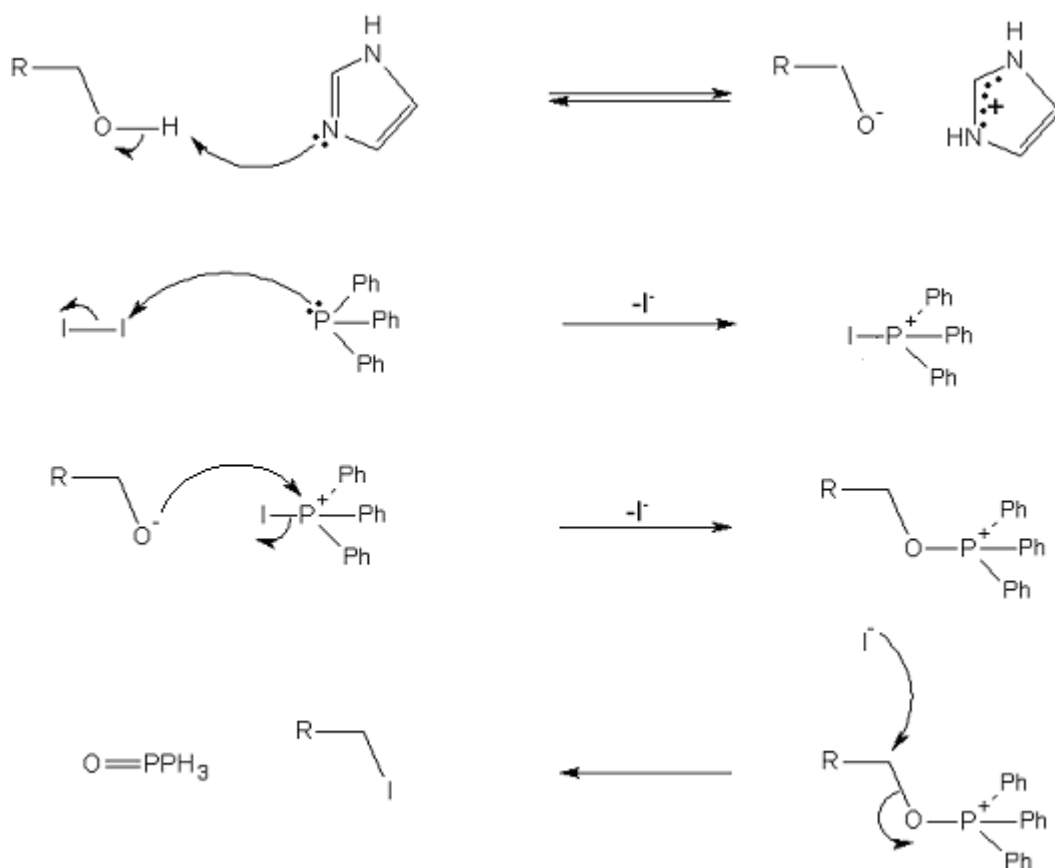
Συνεπώς, το πρώτο βήμα της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την αντίδραση των μερικώς προστατευμένων νουκλεοζιτικών αναλόγων **18α** και **18β** με ιμιδαζόλιο, τριφαινυλοφωσφίνη (Ph<sub>3</sub>P) και ιώδιο σε τετραϋδροφουράνιο (THF) (Garregg and Samuelsson 1979, Garregg and Samuelsson 1980, Classon *et al.* 1981, Garregg *et al.* 1982), οδηγώντας στα 6'-ιωδιωμένα νουκλεοζιτικά παράγωγα της κυτοσίνης **31α** και της αδενίνης **31β**, τα οποία λαμβάνονται σε αποδόσεις 62% και 65%, αντίστοιχα (Σχήμα 58).



α: B = N<sup>4</sup>-Βενζοϋλοκυτοσίνη,      Ac = Ακετύλιο  
 β: B = N<sup>6</sup>-Βενζοϋλοαδενίνη,

**Σχήμα 58.**

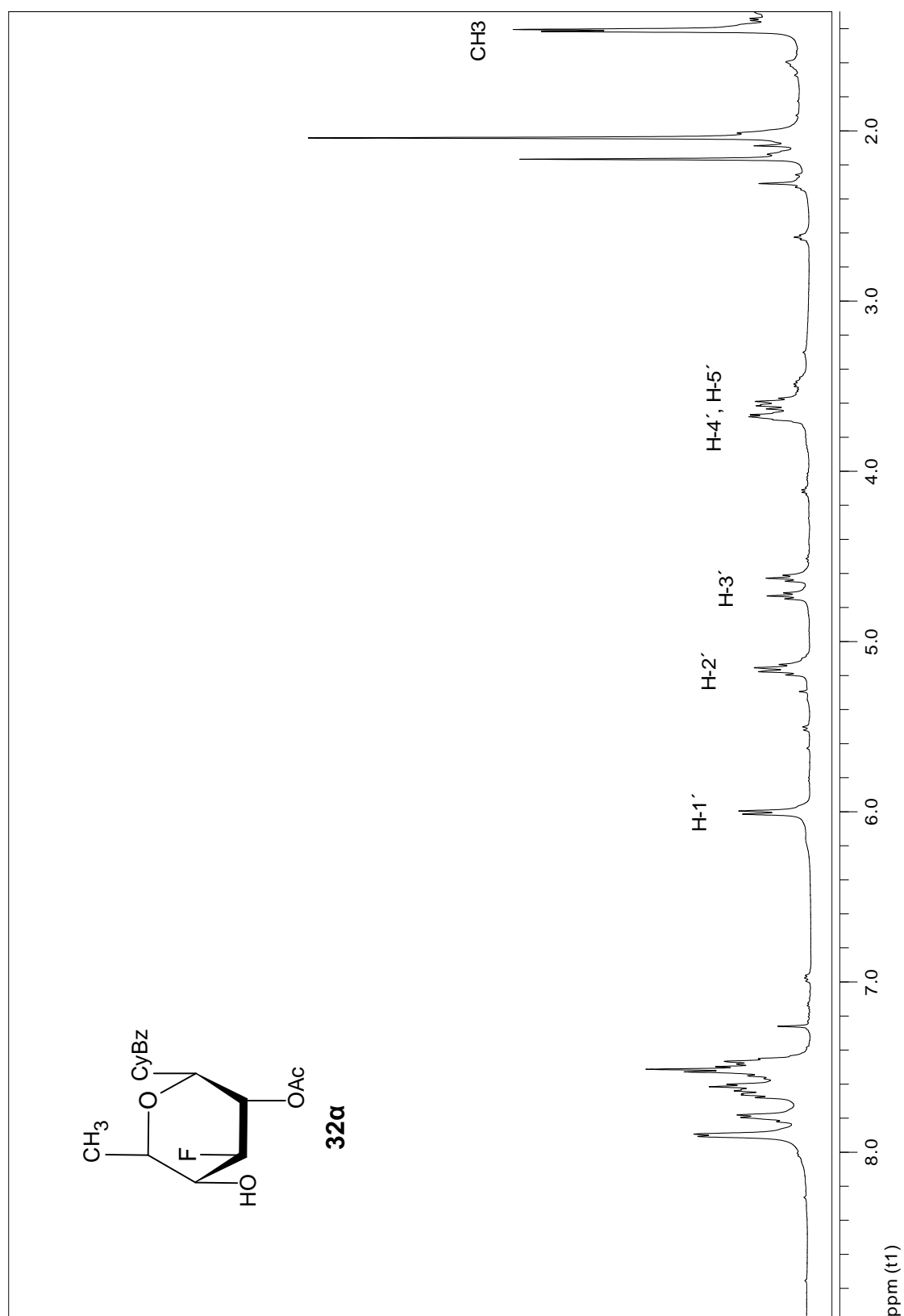
Ο προτεινόμενος μηχανισμός της ιωδίωσης των αλκοολών με τη συγκεκριμένη μέθοδο απεικονίζεται στο σχήμα 59 που ακολουθεί:



Σχήμα 59.

Στη συνέχεια πραγματοποιείται υδρογόνωση των ενώσεων **31α** και **31β**, με τη βοήθεια παλλαδίου σε άνθρακα 10%, με αποτέλεσμα να ληφθούν οι 6'-δεοξυ νουκλεοζίτες της *N*<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνης **32α** και της *N*<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνης **32β**, αντίστοιχα (Σχήμα 58).

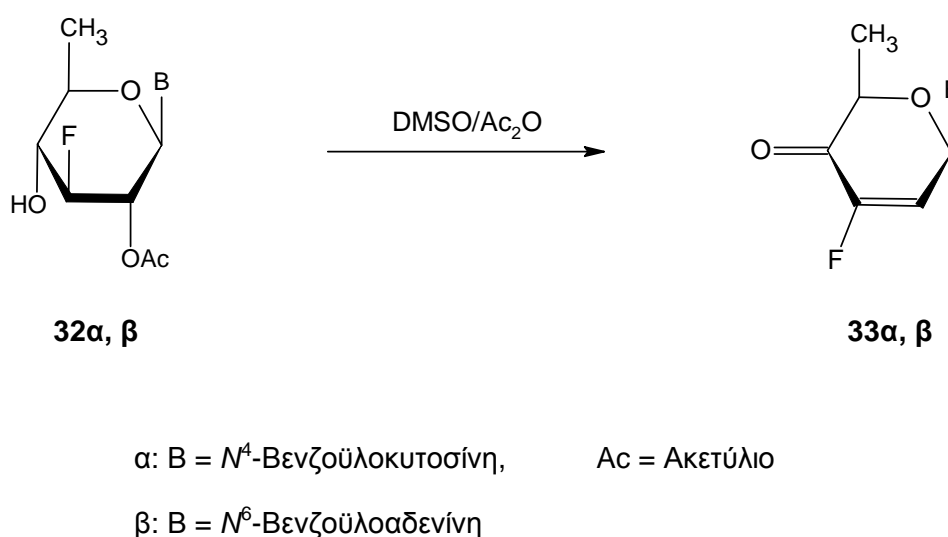
Στο σχήμα 60 που ακολουθεί, απεικονίζεται ενδεικτικά το φάσμα <sup>1</sup>H NMR της ένωσης, 1-(2'-Ο-ακετυλο-3',6'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-*N*<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (**32α**). Από τη μελέτη του συγκεκριμένου φάσματος, διακρίνεται μία διπλή κορυφή στα 6.00 ppm με σταθερά σύζευξης  $J_{1',2'} = 9.3$  Hz, η οποία προσδιορίζει το πρωτόνιο H-1' του σακχάρου, ενώ το χαρακτηριστικό σήμα του πρωτονίου H-3' εμφανίζεται ως μία κορυφή διπλή τριπλών στα 4.68 ppm με σταθερές σύζευξης  $J_{3',F} = 52.2$  Hz,  $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 8.7$  Hz. Στο ίδιο φάσμα διακρίνονται τα σήματα των πρωτονίων H-2', H-4' και H-5', ως πολλαπλές



Σχήμα 60.

κορυφές περίπου στα 5.18 ppm και στα 3.70-3.57 ppm, αντίστοιχα. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι το σήμα των τριών πρωτονίων του CH<sub>3</sub> παρουσιάζεται ως μία διπλή κορυφή στα 1.41 ppm με σταθερά σύζευξης  $J_{5',6'} = 5.8$  Hz.

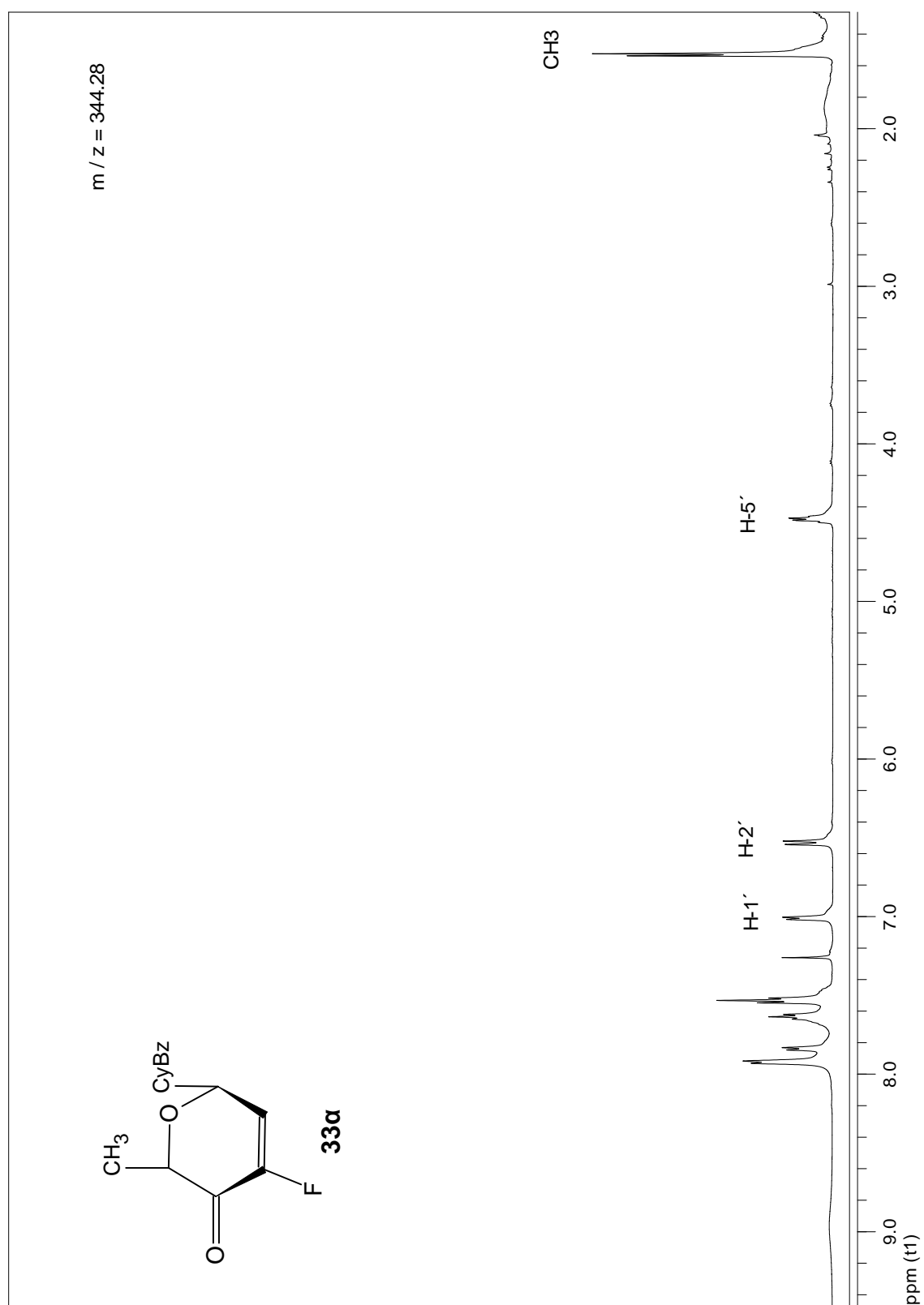
Το τελευταίο στάδιο της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την οξείδωση των 6'-δεοξυ-φθοριωμένων ακετυλιωμένων πρόδρομων ενώσεων **32α** και **32β** (Σχήμα 61), η οποία πραγματοποιείται με αντίδραση ενός μίγματος Ac<sub>2</sub>O-διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO) (Albright and Goldman 1965) στους 100 °C, οπότε παράγονται, μετά από μια αντίδραση β-απόσπασης, οι επιθυμητές ακόρεστες καρβονυλικές ενώσεις, 1-(2',6'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (**33α**) και 9-(2',6'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (**33β**), σε αποδόσεις 50% και 55%, αντίστοιχα (Σχήμα 61).



**Σχήμα 61.**

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR της ένωσης **33α** (Σχήμα 62) 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<sub>3</sub> του σακχάρου.





**Σχήμα 62.**

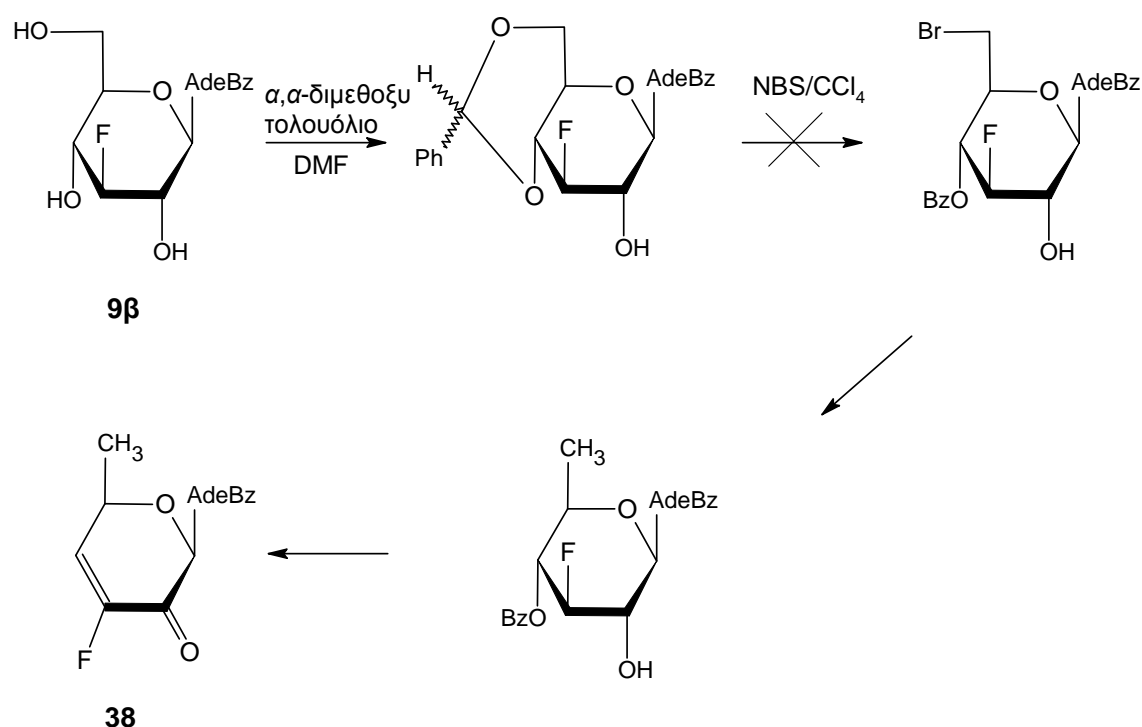
Τέλος, θα πρέπει να τονιστεί ότι όπως και στην περίπτωση των 4'-κετο ακόρεστων νουκλεοζιτικών αναλόγων **19α**, **19β** και **20α**, έτσι και τώρα, στα φάσματα <sup>1</sup>H NMR των ενώσεων **33α** και **33β**, η παρουσία του 4-C=O, εξακριβώθηκε από την εξαφάνιση των σημάτων που αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-4', όπως επίσης και από την παραμαγνητική αποπροστασία των άλλων πρωτονίων τους και ιδιαίτερα του ολεφινικού πρωτονίου H-2' (Halmos and Antonakis 1979, Bessodes *et al.* 1986, Leclercq and Antonakis 1988).

#### **4',6'-Διδεοξυ-2'-κετοακόρεστα-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικά παράγωγα της N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνης**

Είναι λογικό ότι για να ολοκληρωθεί η σύνθεση της νέας τάξης των 6'-δεοξυ-κετοακόρεστων νουκλεοζιτικών αναλόγων, το επόμενο βήμα περιελάμβανε την παρασκευή των 4',6'-διδεοξυ-2'-κετοακόρεστων-3'-φθορο-πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων. Αυτή η νέα σειρά φέρει τώρα την N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη ως ετεροκυκλική βάση (δομή **XII**, ένωση **38**, Σχήμα 56).

Η επιθυμητή ένωση περιέχει δεοξυ στην 6'-θέση, κετονομάδα στη 2'-θέση και διπλό δεσμό στις 3' και 4'-θέσεις του σακχάρου. Συνεπώς, βάσει των προαναφερθεισών συνθετικών πορειών είναι λογικό ότι η πρόδρομη ένωση που θα οδηγήσει στη λήψη του προϊόντος **38**, πρέπει να περιλαμβάνει δεοξυ στην 6'-θέση, ένα ελεύθερο υδροξύλιο στη 2'-θέση και τέλος μία βενζοϋλο ή μία ακετυλομάδα στη 4'-θέση του σακχάρου, ούτως ώστε κατά την οξείδωση του ελεύθερου υδροξυλίου να πραγματοποιηθεί ταυτόχρονα και μία αντίδραση β-απόσπασης.

Σύμφωνα με αυτήν τη λογική, η πρώτη προσπάθεια περιλαμβάνει την ακόλουθη συνθετική πορεία του σχήματος 63:



AdeBz = *N*<sup>6</sup>-Βενζοϋλοαδερίνη, Bz = Βενζοϋλομάδα

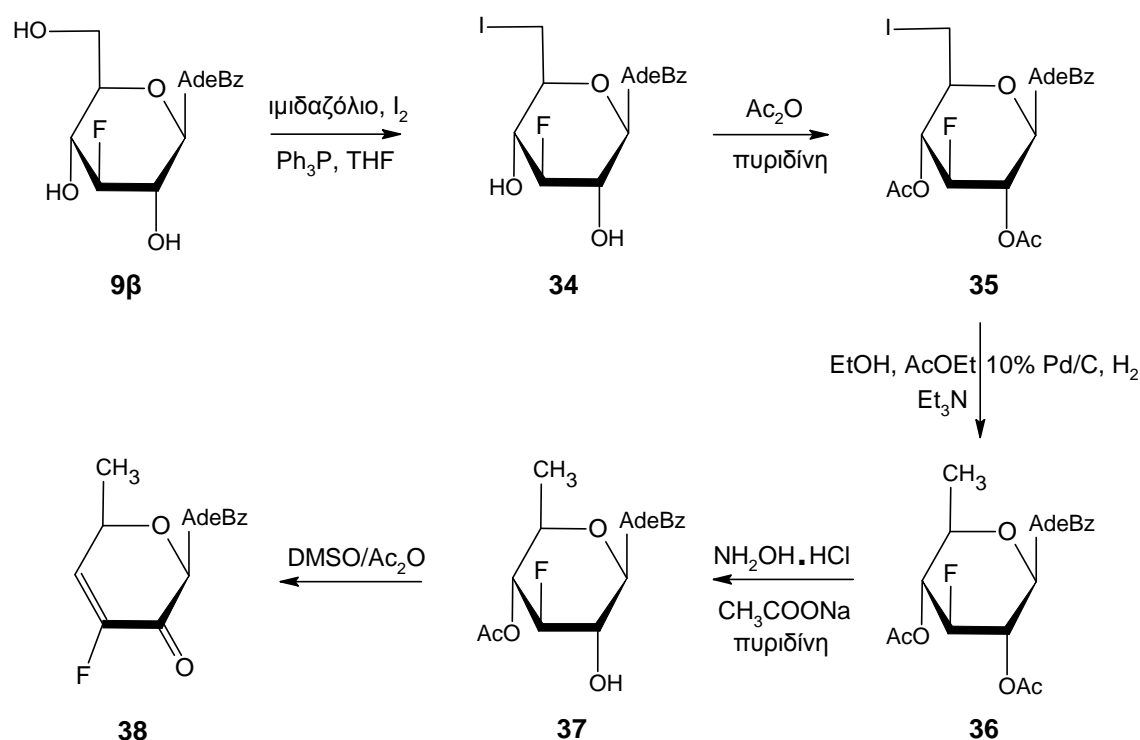
Ph = Φαινύλιο

**Σχήμα 63.**

Όπως φαίνεται, η αρχική ένωση **9β** αντιδρά, σύμφωνα με τη μέθοδο του Evans (Evans 1972), με  $\alpha,\alpha$ -διμεθοξυτολουόλιο σε DMF και έτσι λαμβάνεται το επιθυμητό 4',6'-Ο-βενζυλιδενικό παράγωγο.

Το επόμενο στάδιο της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την αντίδραση Hanessian-Hular (Hanessian 1966, Failla *et al.* 1966, Hanessian and Plessas 1969) στο βενζυλιδενικό παράγωγο της αδερίνης για να ληφθεί το επιθυμητό 4'-Ο-βενζοϋλο-6'-βρωμο-φθοροπυρανονουκλεοζιτικό ανάλογο. Τα αποτελέσματα, όμως, αυτής της αντίδρασης ήταν ιδιαίτερα απογοητευτικά. Κι αυτό γιατί η αντίδραση του βενζυλιδενικού παραγώγου της αδερίνης με *N*-βρωμοσουλκινιμίδιο (NBS) σε τετραχλωράνθρακα (CCl<sub>4</sub>), οδήγησε σε προϊόντα αποικοδόμησης. Έτσι, δεν κατέστη δυνατόν να ολοκληρωθεί η συγκεκριμένη συνθετική πορεία.

Η παραπάνω μη επιτυχής αντίδραση οδήγησε αναγκαστικά σε μια δεύτερη προσπάθεια για τη λήψη του επιθυμητού, 6'-δεοξυ-3'-φθορο-2'-κετοακόρεστου πυρανονουκλεοζιτικού αναλόγου **38** (Σχήμα 64).

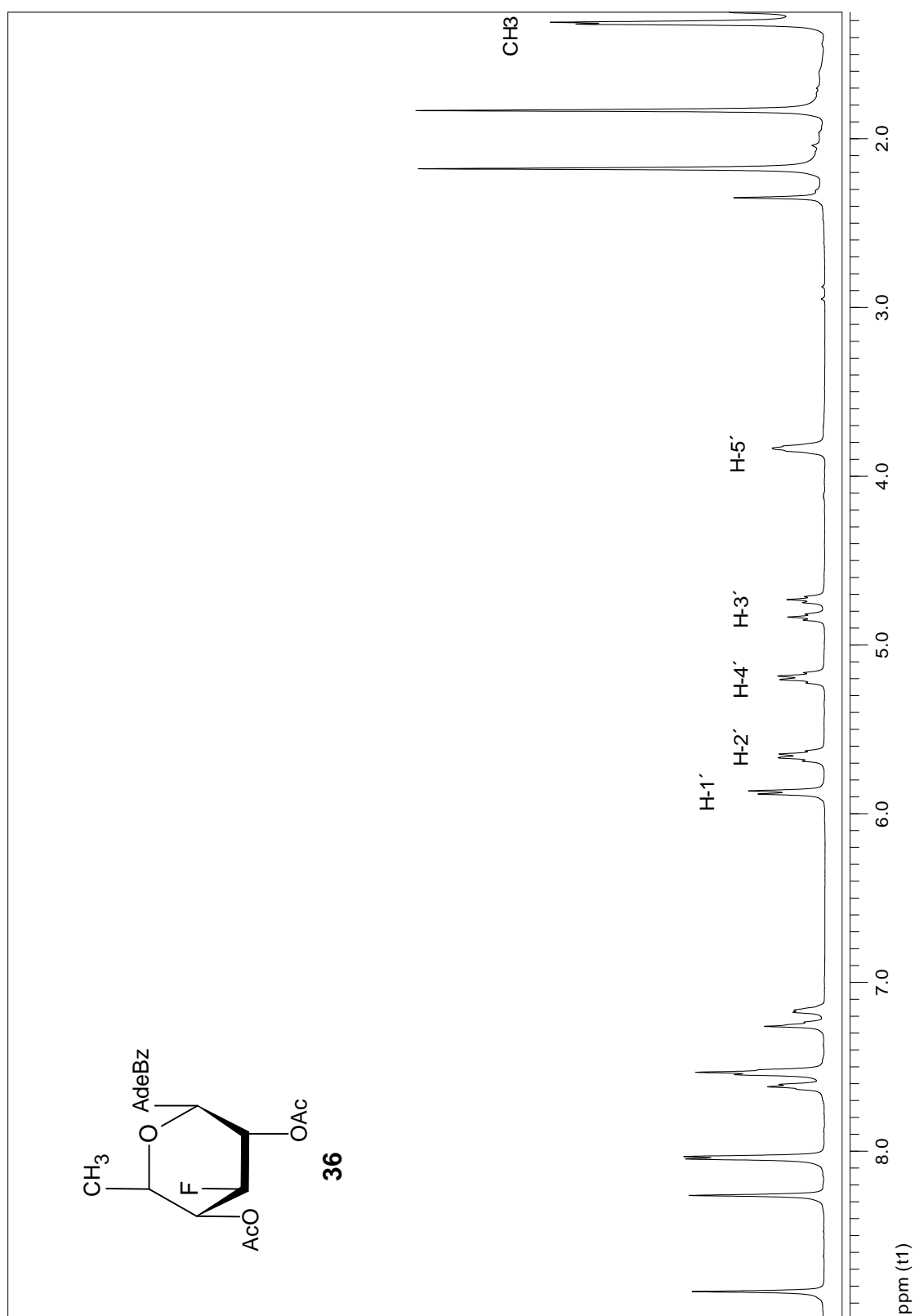


AdeBz = *N*<sup>6</sup>-Βενζοϋλοαδενίνη, Ac = Ακετύλιο

### Σχήμα 64.

Το πρώτο στάδιο της δεύτερης συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την εκλεκτική ιωδίωση του μη προστατευμένου νουκλεοζίτη της αδενίνης **9β** μέσω αντίδρασής του με ιμιδαζόλιο, Ph<sub>3</sub>P και ιώδιο σε THF (Garregg and Samuelsson 1979, Garregg and Samuelsson 1980, Classon *et al.* 1981, Garregg *et al.* 1982), οδηγώντας έτσι στο 6'-ιωδο-νουκλεοζιτικό παράγωγο **34**. Ακολουθεί η ακετυλίωση του προϊόντος **34** υπό ήπιες συνθήκες και συγκεκριμένα χρησιμοποιώντας 1.8 eq Ac<sub>2</sub>O στους 4 °C, ούτως ώστε να μην αντικατασταθεί η βενζοϋλομάδα της αδενίνης από ακετύλιο. Το ακετυλιωμένο παράγωγο της αδενίνης **35** παράγεται σε πολύ ικανοποιητική απόδοση (89%).

Στη συνέχεια, πραγματοποιείται υδρογόνωση της ένωσης **35** με τη βοήθεια παλλαδίου σε άνθρακα 10%, με αποτέλεσμα να ληφθεί το 6'-δεοξυ-παράγωγο της αδενίνης **36**.



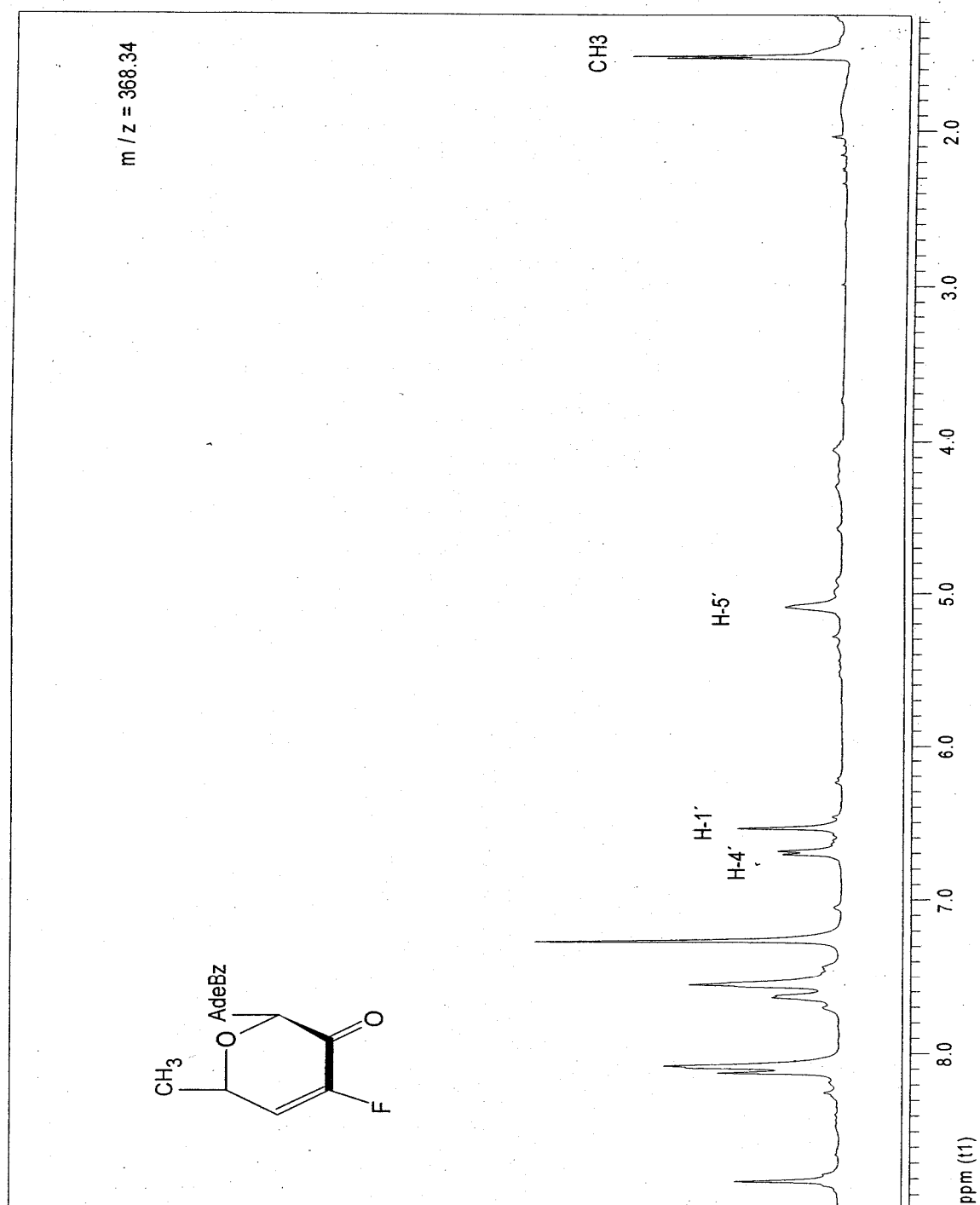
Σχήμα 65.

Από την εξέταση του φάσματος  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης **36** (Σχήμα 65) προκύπτει ότι η διπλή κορυφή στα 5.88 ppm, αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-1' του δακτυλίου του σακχάρου με σταθερά σύζευξης  $J_{1',2'} = 9.4$  Hz, ενώ ακολουθούν τα σήματα των πρωτονίων H-2' και H-4' που εμφανίζονται ως πολλαπλές κορυφές στην περιοχή των 5.67 και 5.21 ppm, αντίστοιχα. Χαρακτηριστική είναι η κορυφή που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-3' του σακχάρου, η οποία εμφανίζεται στα 4.79 ppm ως διπλή τριπλών με σταθερές σύζευξης  $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 8.9$  Hz και  $J_{3',F} = 51.8$  Hz. Το σήμα του πρωτονίου H-5' παρουσιάζεται ως μία πολλαπλή κορυφή στα 3.86 ppm, ενώ η διπλή κορυφή στα 1.31 ppm με σταθερά σύζευξης  $J_{5',6'} = 5.5$  Hz, αντιστοιχεί στα τρία πρωτόνια του  $\text{CH}_3$  του σακχάρου.

Για να ληφθεί η πρόδρομη ένωση **37** που θα οδηγήσει στο επιθυμητό 6'-δεοξυ-2'-κετοακόρεστο νουκλεοζιτικό ανάλογο, απαιτείται η μερική απακετυλίωση της ένωσης **36**. Έτσι, η κατεργασία του προϊόντος **36** (Σχήμα 64) με υδροχλωρική υδροξυλαμίνη ( $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ ) και οξικό νάτριο ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ) σε πυριδίνη (Gosselin *et al.* 1984), οδηγεί στο μερικώς προστατευμένο ανάλογο **37**, το οποίο λαμβάνεται σε απόδοση της τάξεως του 50%. Αυτή η χαμηλή απόδοση οφείλεται στην ταυτόχρονη απομάκρυνση τόσο της ακετυλομάδας στη 4'-θέση του σακχάρου, όσο και της βενζοϋλομάδας της ετεροκυκλικής βάσης, κατά τη διάρκεια της αντίδρασης.

Το τελικό και καθοριστικό στάδιο της παρασκευαστικής πορείας περιλαμβάνει την οξείδωση του ελεύθερου υδροξυλίου στη 2'-θέση του σακχάρου της 6'-δεοξυ φθοριωμένης ακετυλιωμένης πρόδρομης ένωσης **37** (Σχήμα 64), η οποία πραγματοποιείται μέσω αντίδρασης με ένα μίγμα  $\text{Ac}_2\text{O}$ -DMSO (Albright and Goldman 1965) στους 100 °C, οπότε παράγεται, μετά από μια αντίδραση  $\beta$ -απόσπασης, η επιθυμητή ακόρεστη καρβονυλική ένωση, 9-(4',6'-διδεοξυ-3'-φθορο- $\beta$ -D-γλυκερο-εξ-3'-ενοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (**38**).

Στο φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του επιθυμητού 2'-κετοακόρεστου νουκλεοζίτη **38** (Σχήμα 66) εμφανίζεται το σήμα του πρωτονίου H-4' στα 6.70 ppm με σταθερά σύζευξης  $J_{4',F} = 10.7$  Hz, ενώ στη συνέχεια παρουσιάζεται η απλή κορυφή που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-1' στα 6.53 ppm, καθώς και το σήμα του πρωτονίου H-5' στα 5.08 ppm, αντίστοιχα. Λογικό είναι, ότι το χαρακτηριστικό σήμα του πρωτονίου H-3' έχει τώρα εξαφανιστεί, ενώ η διπλή κορυφή που εμφανίζεται στα 1.53 ppm με σταθερά σύζευξης  $J_{5',6'} = 5.3$  Hz, αντιστοιχεί στα τρία πρωτόνια του  $\text{CH}_3$  του σακχάρου.



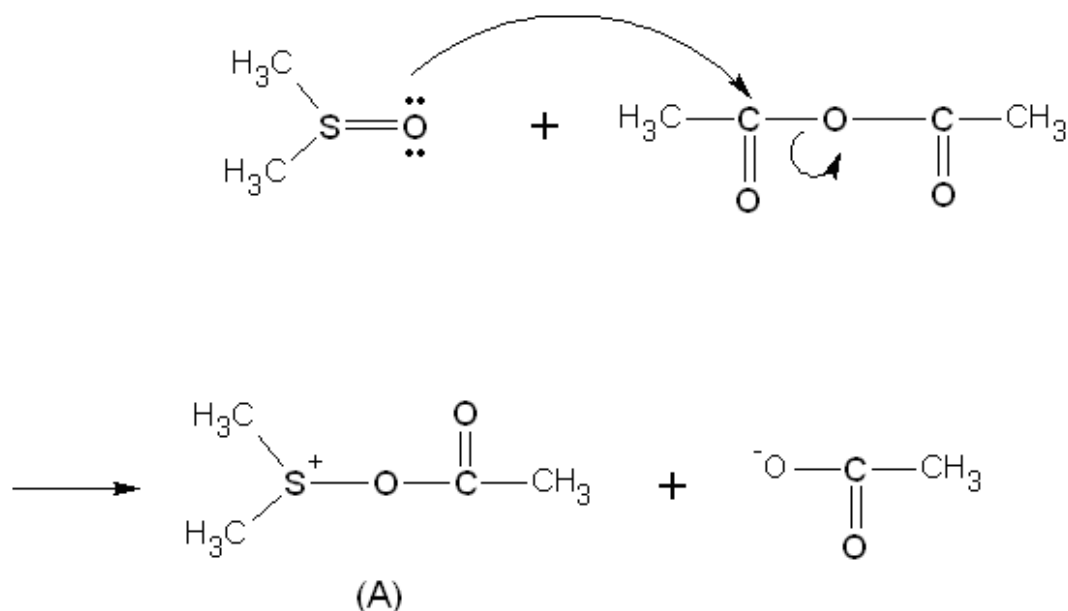
Σχήμα 66.

## Οξείδωση με το σύστημα διμεθυλοσουλφοξείδιο / οξικός ανυδρίτης

Η εκλεκτική οξείδωση, σε αλδεΐδη ή κετόνη, ενός υδροξυλίου που εντοπίζεται στο γλυκοζιτικό τμήμα ενός νουκλεοζίτη, το οποίο περιέχει πολλές λειτουργικές ομάδες επιτυγχάνεται δύσκολα και αποτελεί σημαντικό αντικείμενο μελέτης. Το συγκεκριμένο πρόβλημα οφείλεται κατά κύριο λόγο στις συνθήκες της αντίδρασης, καθώς και στα εμπλεκόμενα οξειδωτικά μέσα.

Στη χημική βιβλιογραφία παρουσιάζονται πολλά οξειδωτικά συστήματα. Δυστυχώς καμία από αυτές τις μεθόδους οξείδωσης δεν είναι αρκετά εκλεκτική και η καθεμία τους παρουσιάζει σημαντικούς περιορισμούς κατά την εφαρμογή της (Augustine and Trecker 1971, Chinn 1971, Butterworth and Hanessian 1971). Για να ληφθούν τα επιθυμητά 6'-δεοξυ-4'-κετο και 6'-δεοξυ-2'-κετοακόρεστα φθορονουκλεοζιτικά ανάλογα (ενώσεις **33α**, **33β** και **38**), το οξειδωτικό σύστημα που χρησιμοποιήθηκε ήταν το DMSO / Ac<sub>2</sub>O.

Σύμφωνα με τους Albright και Goldman (Albright and Goldman 1965), αρχικά πραγματοποιείται πυρηνόφιλη προσβολή του οξυγόνου του DMSO στον καρβοξυλικό άνθρακα του Ac<sub>2</sub>O που οδηγεί στο σχηματισμό του ακυλοξυσουλφονιακού άλατος (A), απαραίτητου για την αντίδραση της οξείδωσης (Σχήμα 67).

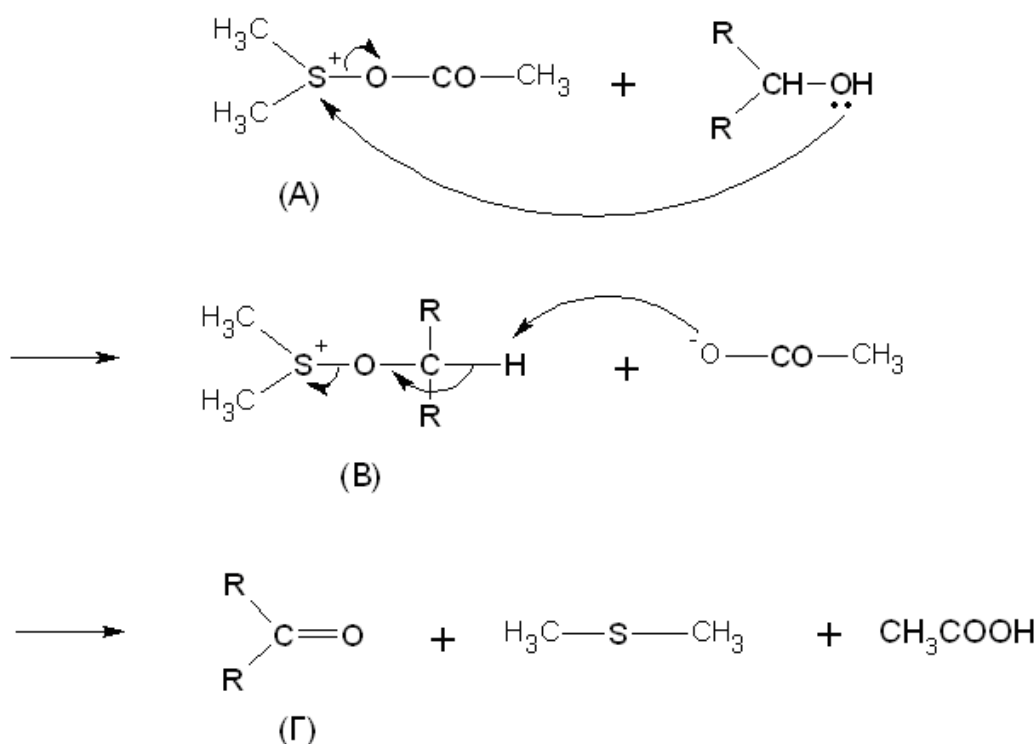


Σχήμα 67.



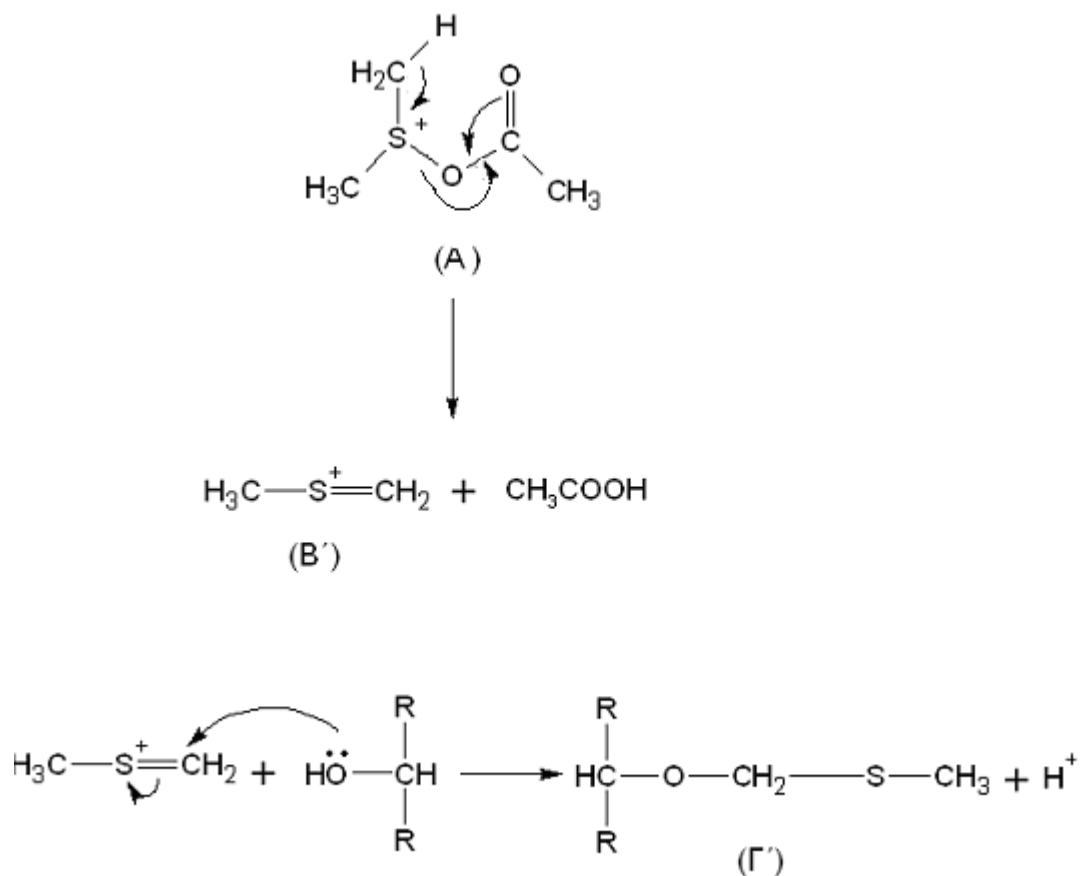
Το συγκεκριμένο ενδιάμεσο (A) μπορεί να συμμετάσχει σε τρεις πιθανές αντιδράσεις:

Η πρώτη περίπτωση περιλαμβάνει την πυρηνόφιλη προσβολή της αλκοόλης στο θετικά φορτισμένο άτομο θείου του ενδιαμέσου (A) με ταυτόχρονη απομάκρυνση του οξικού ιόντος που οδηγεί στο σουλφονιακό άλας (B). Στη συνέχεια, μετά την απομάκρυνση του  $\alpha$ -πρωτονίου από το οξικό ανιόν προκύπτει η κετόνη (Γ) καθώς και το διμεθυλοσουλφίδιο (Σχήμα 68).



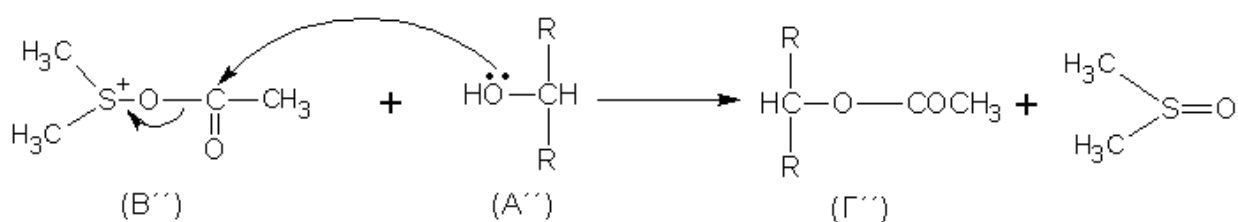
**Σχήμα 68.**

Η δεύτερη περίπτωση περιλαμβάνει την απόσπαση του οξικού οξέος από το ακυλοξυθειώδες ενδιάμεσο (A), οδηγώντας έτσι στο υλίδιο (B'). Το μεθυλοθειομεθυλαιθερικό παράγωγο (Γ') προκύπτει από την αντίδραση του υλιδίου (B') με την αλκοόλη (Σχήμα 69).



**Σχήμα 69.**

Τέλος, η τρίτη περίπτωση περιλαμβάνει την προσβολή της αλκοόλης (Α'') επί του καρβοξυλίου του ενδιαμέσου (Β''), οδηγώντας έτσι στο ακετυλιωμένο παράγωγο (Γ'') (Σχήμα 70).



**Σχήμα 70.**

Επομένως, υπάρχει μεγάλος ανταγωνισμός ανάμεσα σε αυτές τις τρεις διαφορετικές περιπτώσεις

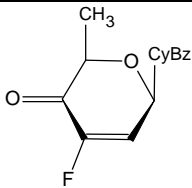
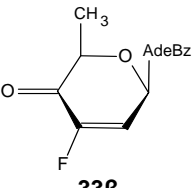
Έχει αποδειχθεί ότι όταν η αντίδραση μεταξύ της αλκοόλης και του ακυλοξυθειώδους ιόντος πραγματοποιείται σε χαμηλή θερμοκρασία ή σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, τότε λαμβάνεται ένας μεγάλος αριθμός μεθυλοθειομεθυλικών νουκλεοζιτών, που αντιστοιχούν στο σχήμα της αντίδρασης της δεύτερης περίπτωσης (Lakaf 1987). Πιθανότατα, επειδή σε χαμηλή θερμοκρασία η αντίδραση είναι υπερβολικά αργή, το ιόν μπορεί να απομονωθεί, κι έτσι επικρατεί ο συγκεκριμένος μηχανισμός.

Παρόλα αυτά κατέστη δυνατόν να ληφθούν τα 6'-δεοξυ-4'-κετο και 6'-δεοξυ-2'-κετοακόρεστα νουκλεοζιτικά ανάλογα (ενώσεις **33α**, **β** και **38**), όταν η οξείδωση πραγματοποιήθηκε με το σύστημα DMSO / Ac<sub>2</sub>O, στους 100 °C, δηλαδή σε υψηλή θερμοκρασία όπου υπερίσχυσε η πρώτη πορεία.

#### **Αντικαρκινική δράση των 2',6'-διδεοξυ-4'-κετοακόρεστων νουκλεοζιτών της N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνης και της N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνης**

Τα νέα 2',6'-διδεοξυ-4'-κετοακόρεστα νουκλεοζιτικά ανάλογα της N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνης και της N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνης (ενώσεις **33α** και **33β**) 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 Βέλγιο, στο Rega Institute for Medical Research και τα αποτελέσματα που προέκυψαν, απεικονίζονται στον πίνακα 8.

**Πίνακας 8.** Ανασταλτική δράση των ενώσεων **33α** και **33β** έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων λευχαιμίας L1210/0 (murine leukemia cells) και των ανθρώπινων T-λεμφοκυττάρων, Molt4/C8 και CEM/0.

Προϊόν	IC <sub>50</sub> (μM)		
	L1210/0	Molt4/C8	CEM/0
 <b>33α</b>	1.4 ± 0.0	1.6 ± 0.2	1.7 ± 0.5
 <b>33β</b>	2.4 ± 0.7	5.0 ± 3.9	4.3 ± 3.4

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 8, οι νέες ενώσεις **33α** και **33β** παρουσιάστηκαν ικανές να αναστείλλουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων σε τιμές IC<sub>50</sub> που κυμαίνονται σε κλίμακα μεταξύ 1.4 και 5.0 μM, ενώ δεν υπήρξαν αξιοσημείωτες διαφορές μεταξύ των δύο προϊόντων **33α** και **33β** ως προς την ισχύ της ανασταλτικής τους δράσης.

Από τις τιμές IC<sub>50</sub> του πίνακα 8, προκύπτει το συμπέρασμα ότι οι νέες ενώσεις **33α** και **33β** αποτελούν πολλαπλά υποσχόμενους αντικαρκινικούς παράγοντες και θα πρέπει να διερευνηθούν περαιτέρω για την αντιπολλαπλασιαστική, καθώς και αντικαρκινική τους δράση.

### **III. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

#### **ΓΕΝΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ**

##### **Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC: Thin Layer Chromatography)**

Ο έλεγχος της καθαρότητας των ενώσεων και η παρακολούθηση της πορείας των αντιδράσεων έγινε με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC) σε πλάκες αλουμινίου επιστρωμένες με silica gel F<sub>254</sub> (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%).

##### **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 10/90
- Διάλυμα Γ : οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 80/20
- Διάλυμα Δ : οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 90/10
- Διάλυμα Ε : οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 70/30
- Διάλυμα ΣΤ : οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 60/40
- Διάλυμα Ζ : οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 40/60
- Διάλυμα Η : οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 50/50
- Διάλυμα Θ : οξικός αιθυλεστέρας/μεθανόλη 98/2
- Διάλυμα Ι : διχλωρομεθάνιο/μεθανόλη 90/10

### Μέτρηση της οπτικής ενεργότητας

Οι μετρήσεις της γωνίας στροφής πραγματοποιήθηκαν με τη βοήθεια του πολωσίμετρου Autopol I. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (22 °C).

### Φάσματα υπεριώδους

Τα φάσματα υπεριώδους ακτινοβολίας καταγράφηκαν με φασματοφωτόμετρο τύπου PG Instruments Ltd. Ο μοριακός συντελεστής απόσβεσης  $\epsilon$ , ορίστηκε από την εξίσωση

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

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

C = συγκέντρωση της ουσίας σε mol/L

d = μήκος κυψελίδας σε cm

### Φάσματα NMR

Τα φάσματα NMR καταγράφηκαν στα 500 MHz σε φασματογράφο Bruker DRX 500 ως διαλύματα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο ( $\text{CDCl}_3$ ) ή σε δευτεριωμένη μεθανόλη ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ). Οι χημικές μετατοπίσεις αναφέρονται ως προς το τετραμεθυλοσιλάνιο (TMS) για το  $^1\text{H}$  και ως προς το τριφθοροτολουόλιο (TFT) για το  $^{19}\text{F}$ , ενώ οι σταθερές  $J$  στρογγυλοποιήθηκαν στην πλησιέστερη ημιακέραιη τιμή.

### Φάσματα μάζας (Electron spray mass spectrometry, ES-MS)

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

### **Προσδιορισμός των σημείων τήξεως**

Τα σημεία τήξης καταγράφηκαν χωρίς διόρθωση σε όργανο Mel-Temp Apparatus και μόνο για τα μη υγροσκοπικά στερεά.

### **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 4Å, όπου και αποθηκεύτηκε. Το CH<sub>3</sub>CN, το τολουόλιο και το DMF αποστάχθηκαν παρουσία υδριδίου του ασβεστίου και το απόσταγμα συλλέχθηκε σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 3Å, όπου και αποθηκεύτηκε. Η πυριδίνη αποστάχθηκε παρουσία υδροξειδίου του καλίου και το απόσταγμα συλλέχθηκε σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 4Å, όπου και αποθηκεύτηκε. Το THF αποστάχθηκε από νάτριο/βενζοφαινόνη, αμέσως πριν από τη χρήση. Τέλος, το DMSO αποθηκεύτηκε σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 3Å.

### **Εξάτμιση διαλυτών**

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

### **Στοιχειακή ανάλυση**

Οι στοιχειακές αναλύσεις των ουσιών έγιναν σε αυτόματους αναλυτές της εταιρίας Perkin-Elmer 2400, μέτρηση C, H και N και οι τιμές κυμαίνονται σε εύρος  $\pm 0.4\%$  των θεωρητικών.

**Σύνθεση της ένωσης 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2,4,6-τετρα-Ο-ακετυλογλυκοπυρανόζης (7)**

**1,2:5,6-Δις-Ο-ισοπροπυλιδενο-α-D-ριβοεξοφουρανοζο-3-ουλόζη (2)** (Elhalabi and Rice 2004)

Η εμπορικά διαθέσιμη ένωση, 1,2:5,6-δις-Ο-ισοπροπυλιδενο-α-D-γλυκοφουρανόζη (DAG) (**1**) (20.00 g, 76.84 mmol) διαλύθηκε σε διχλωρομεθάνιο (200 mL) και στη συνέχεια προστέθηκε Ac<sub>2</sub>O (21.75 mL, 230.52 mmol). Στο προκύπτον μίγμα προστέθηκε PDC (34.69 g, 92.21 mmol) και ακολούθησε θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα για 2 ώρες. Μετά το πέρας της αντίδρασης στο μίγμα προστέθηκε οξικός αιθυλεστέρας (300 mL) και το προκύπτον παχύρρευστο διάλυμα μεταφέρθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel). Πραγματοποιήθηκε έκλουση με οξικό αιθυλεστέρα και ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό κενό. Το υπόλειμμα, που περιείχε Ac<sub>2</sub>O αραιώθηκε με τολουόλιο και στη συνέχεια με απόσταξη εξατμίστηκε μέχρις ξηρού. Το επιθυμητό προϊόν **2** (17.05 g) ελήφθη υπό τη μορφή παχύρρευστου ελαίου και χρησιμοποιήθηκε στο επόμενο στάδιο χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

Απόδοση = 86%

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 6.15 (d, 1H,  $J_{1,2} = 4.5$  Hz, H-1), 4.34-4.42 (m, 3H, H-2, H-4 και H-5), 4.02-4.06 (m, 2H, H-6a,6b), 1.46 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.42 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.34 (s, 6H, 2 x CH<sub>3</sub>).

**1,2:5,6-Δις-Ο-ισοπροπυλιδενο-α-D-αλλοφουρανόζη (3)** (Baker *et al.* 1972)

Η κετόνη **2** (17.05 g, 66.09 mmol), η οποία ελήφθη από την προηγούμενη αντίδραση, διαλύθηκε σε διάλυμα 104.7 mL αποτελούμενο από EtOH-νερό 3:7 και έπειτα NaBH<sub>4</sub> (3.25 g, 85.92 mmol) προστέθηκε βραδέως υπό συνεχή ανάδευση και σε πάγο ούτως ώστε να περιοριστεί η εξώθερμη αντίδραση. Μετά από μία ώρα το μίγμα εκχυλίστηκε 4 φορές με 20 mL διχλωρομεθάνιο την κάθε φορά. Η οργανική φάση ξηράθηκε με άνυδροθειϊκό νάτριο (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) και ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό κενό. Το επιθυμητό προϊόν **3** (16 g) ελήφθη υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων (εξάνιο). Σημείο Τήξεως 73-75 °C (βιβλ.: Σημείο Τήξεως 75-76 °C).

Απόδοση = 80% από την **1**



$$[\alpha]_D^{22} = + 37.8^\circ \quad (c = 1.0 \text{ χλωροφόρμιο})$$

**1,2:5,6-Δις-Ο-ισοπροπυλιδενο-3-Ο-π-τολουολοσουλφονυλο-α-D-αλλοφουρανόζη (4)** (Foster *et al.* 1967)

Σε ένα διάλυμα της ένωσης **3** (16.0 g, 61.47 mmol) σε άνυδρη πυριδίνη (157.8 mL) προστέθηκε TsCl (15.63 g, 81.96 mmol) και το μίγμα αναδεύτηκε για 2 ημέρες σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC) μέσα στο μίγμα προστέθηκε κρύο νερό (20 mL) και μετά από μερικά λεπτά προστέθηκε άφθονα επιπλέον κρύο νερό (2.5 L) και καταβυθίστηκε ίζημα που διαχωρίστηκε με διήθηση. Το επιθυμητό προϊόν **4** (18.35 g) ελήφθη υπό τη μορφή λευκής σκόνης. Σημείο Τήξεως 118-120 °C (βιβλ.: Σημείο Τήξεως 120-121 °C).

Απόδοση = 72%

$$[\alpha]_D^{22} = + 87.0^\circ \quad (c = 1.0 \text{ χλωροφόρμιο})$$

Στοιχειακή Ανάλυση: C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>O<sub>8</sub>S

Μετρήθηκε: C 55.1

H 6.3

Βρέθηκε: C 54.75

H 6.48

**3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2:5,6-δις-Ο-ισοπροπυλιδενο-α-D-γλυκοφουρανόζη (5)**  
(α' τρόπος) (Foster *et al.* 1967)

Ένα μίγμα της ένωσης **4** (18.35 g, 44.27 mmol), του TBAF (64.83 g, 247.91 mmol) και του CH<sub>3</sub>CN (91.8 mL) θερμάνθηκε με κάθετο ψυκτήρα στους 80 °C. Μετά από 3.5 ημέρες η αντίδραση ολοκληρώθηκε (TLC). Στη συνέχεια το μίγμα της αντίδρασης αφέθηκε να κρυώσει, αραιώθηκε με οξικό αιθυλεστέρα (1000 mL) και εκχυλίστηκε μία φορά με νερό (1 x 20 mL). Κατόπιν, η οργανική φάση ξηράθηκε με άνυδρο Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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 **5** (6.97 g) ελήφθη υπό τη μορφή παχύρευστου ελαίου.

Απόδοση = 60%

**3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2:5,6-δισ-Ο-ισοπροπυλιδενο-α-D-γλυκοφουρανόζη (5)**  
(β' τρόπος) (Reichman *et al.* 1975)

Ένα μίγμα της ένωσης **4** (18.35 g, 44.27 mmol), του KF (32.11 g, 552.71 mmol) και του CH<sub>3</sub>CONH<sub>2</sub> (160.56 g, 2718.2 mmol) θερμάνθηκε στους 210 °C. Μετά από 45 λεπτά το σκούρο μίγμα της αντίδρασης αφέθηκε να κρυώσει στους 90 °C και σε αυτό προστέθηκε κορεσμένο διάλυμα όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO<sub>3</sub>) (276 mL). Πραγματοποιήθηκε διήθηση του μίγματος για να απομακρυνθεί το αδιάλυτο μαύρο ίζημα. Στη συνέχεια, τόσο το διήθημα όσο και η αδιάλυτη μαύρη ουσία εκχυλίστηκαν με οξικό αιθυλεστέρα (4 x 300 mL και 2 x 100 mL αντίστοιχα). Οι οργανικές φάσεις εκχυλίστηκαν με νερό, ξηράθηκαν με άνυδρο Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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 **5** (7.2 g) ελήφθη υπό τη μορφή παχύρευστου ελαίου.

Απόδοση = 62%

$[\alpha]_D^{22} = -21.0^\circ$  (c = 1.0 χλωροφόρμιο)

Στοιχειακή Ανάλυση: C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>FO<sub>5</sub>

Μετρήθηκε: C 55.0

H 7.3

Βρέθηκε: C 55.3

H 7.19

**3-Δεοξυ-3-φθορογλυκόζη (6)** (Foster *et al.* 1967, Tewson and Welsh 1978)

Ένα διάλυμα της ένωσης **5** (7.2 g, 27.45 mmol) σε EtOH (43.34 mL) και νερό (245.4 mL) αναδεύτηκε στους 60-70 °C με ρητίνη Amberlite IR-120 (H<sup>+</sup>) (14.27 g). Μετά από 10 ώρες το μίγμα διηθήθηκε και από το διήθημα απομακρύνθηκαν οι διαλύτες υπό κενό. Το επιθυμητό προϊόν **6** (4.85 g) ελήφθη υπό τη μορφή παχύρευστου ελαίου και χρησιμοποιήθηκε στο επόμενο στάδιο χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

Απόδοση = 97%

**3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2,4,6-τετρα-Ο-ακετυλογλυκοπυρανόζη (7)** (Foster *et al.* 1967, Tewson and Welsh 1978)

Σε ένα διάλυμα της ένωσης **6** (4.85 g, 26.65 mmol) σε πυριδίνη (116.8 mL) προστέθηκε Ac<sub>2</sub>O (58.4 mL). Το μίγμα αναδεύτηκε σε θερμοκρασία δωματίου για

1 ώρα. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC) το διάλυμα κρύωσε στους 0 °C και προστέθηκε μεθανόλη (29.2 mL) για να καταστείλει την αντίδραση. Οι διαλύτες απομακρύνθηκαν υπό κενό, το υπόλειμμα διαλύθηκε σε διχλωρομεθάνιο και εκχυλίστηκε αρχικά με κορεσμένο διάλυμα όξινου θειϊκού νατρίου (NaHSO<sub>4</sub>) και στη συνέχεια με κορεσμένο διάλυμα NaHCO<sub>3</sub>. Η οργανική φάση ξηράθηκε με άνυδρο Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό κενό. Το επιθυμητό προϊόν **7** (7.38 g) ελήφθη υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων (οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο). Σημείο Τήξεως 114-117 °C (βιβλ.: Σημείο Τήξεως 119-120 °C, Σημείο Τήξεως 116-120 °C).

Απόδοση = 79%

**Σύνθεση της ένωσης 1-(2',3'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξοπιρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνης (16)**

**1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4',6'-τρεις-O-ακετυλο-β-D-γλυκοπιρανοζυλο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (8a)**

Ένα διάλυμα της N<sup>4</sup>-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 CH<sub>3</sub>CN (69 mL), θερμάνθηκε με κάθετο ψυκτήρα για 30 λεπτά και αφότου το μίγμα έγινε διαυγές προστέθηκε η τετρακετυλιωμένη 3-δεοξυ-3-φθορογλυκοπιρανόζη (**7**) (5.00 g, 14.27 mmol) καθώς και ο Me<sub>3</sub>SiOSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub> (1.65 mL, 9.13 mmol). 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 NaHCO<sub>3</sub>, αραιώθηκε με διχλωρομεθάνιο (1000 mL) και εκχυλίστηκε μία φορά με νερό (1 x 20 mL). Κατόπιν, η οργανική φάση ξηράθηκε με άνυδρο Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό κενό. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Γ. Το επιθυμητό προϊόν **8a** (4.90 g) ελήφθη υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων (οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο). Σημείο Τήξεως 277-279 °C.

Απόδοση = 68%

$[\alpha]_D^{22} = + 22.0^\circ$  (c = 0.5 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  260 nm ( $\epsilon$  24575)

ESI-MS ( $m/z$ ): Βρέθηκε 506.43 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση:  $C_{23}H_{24}FN_3O_9$

Μετρήθηκε: C 54.65

Βρέθηκε: C 54.70

H 4.79

H 4.80

N 8.31

N 8.42

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

$\delta$  8.62 (br s, 1H, NH), 7.89-7.48 (m, 7H, Bz, H-5 και H-6), 6.10 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 5.39-5.22 (m, 2H, H-2' και H-4'), 4.80 (dtr, 1H,  $J_{3',F} = 51.7$  Hz,  $J_{2',3'} = 9.1$  Hz,  $J_{3',4'} = 9.0$  Hz, H-3'), 4.34-4.11 (m, 2H, H-6a', 6b'), 3.90-3.84 (m, 1H, H-5'), 2.16 και 2.11 και 2.07 (3s, 9H, 3OAc).

$^{19}F$  NMR:  $\delta - 65.0$ .

### **1-(3',4'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (9a)**

Το προϊόν **8a** (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  $(CH_3CH_2)_2O$  (2 x 30 mL) και με διχλωρομεθάνιο (2 x 30 mL) και διηθήθηκε. Το επιθυμητό προϊόν **9a** (3.31 g) ελήφθη υπό τη μορφή υποκίτρινου αφρώδους στερεού και χρησιμοποιήθηκε στο επόμενο στάδιο χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

Απόδοση = 90%

$[\alpha]_D^{22} = + 16.0^\circ$  (c = 0.5 μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  260 nm ( $\epsilon$  16336)

ESI-MS ( $m/z$ ): Βρέθηκε 380.37 ( $M+H^+$ )

### **1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-4',6'-O-ισοπροπυλιδενο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (10a)**

3.31 g του προϊόντος **9a** (8.73 mmol) διαλύθηκαν σε ένα μίγμα αποτελούμενο από 34.92 mL  $(CH_3)_2C(OCH_3)_2$  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 Δ και το επιθυμητό προϊόν **10a** (2.93 g) ελήφθη υπό τη μορφή υποκίτρινου παχύρευστου ελαίου.

Απόδοση = 80%

$[\alpha]_D^{22} = + 25.0^\circ$  (c = 0.5 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  260 nm ( $\epsilon$  21100)

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 420.41 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>6</sub>

Μετρήθηκε: C 57.28

Βρέθηκε: C 57.16

H 5.29

H 5.31

N 10.02

N 10.03

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  8.00 (br s, 1H, NH), 7.88-7.43 (m, 7H, Bz, H-5 και H-6), 5.86 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.2$  Hz, H-1'), 4.68 (dtr, 1H,  $J_{3',F} = 53.2$  Hz,  $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 8.7$  Hz, H-3'), 4.05-3.87 (m, 2H, H-2' και H-4'), 3.86-3.73 (m, 2H, H-6a', 6b'), 3.51 (m, 1H, H-5'), 1.53 και 1.45 (2s, 6H, 2 x CH<sub>3</sub>).

<sup>19</sup>F NMR:  $\delta$  – 65.0.

**1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-4',6'-Ο-ισοπροπυλιδενο-2'-Ο-φαινοξυθειοκαρβονυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (11)**

Η ένωση **10a** (2.93 g, 6.99 mmol) διαλύθηκε σε άνυδρο CH<sub>3</sub>CN (46 mL), προστέθηκε DMAP (1.71 g, 13.98 mmol) και το μίγμα αναδεύτηκε για 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια, το PhOC(S)Cl (1.04 mL, 7.69 mmol) προστέθηκε στάγδην και το προκύπτον διάλυμα αναδεύτηκε για 90 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Η αντίδραση ανακόπηκε με την προσθήκη νερού (1.1 mL). Ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό κενό, το υπόλειμμα αραιώθηκε με οξικό αιθυλεστέρα (500 mL) και εκχυλίστηκε μία φορά με νερό (1 x 30 mL). Κατόπιν η οργανική φάση ξηράθηκε με άνυδρο Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό κενό. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας

(silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Z και το επιθυμητό προϊόν **11** (2.72 g) ελήφθη υπό τη μορφή παχύρευστου ελαίου.

Απόδοση = 70%

$[\alpha]_D^{22} = + 76.0^\circ$  (c = 0.5 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  260 nm ( $\epsilon$  29207)

ESI-MS ( $m/z$ ): Βρέθηκε 556.59 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση:  $C_{27}H_{26}FN_3O_7S$

Μετρήθηκε: C 58.37

Βρέθηκε: C 58.19

H 4.72

H 4.97

N 7.56

N 7.45

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

$\delta$  8.73 (br s, 1H, NH), 7.95-7.52 (m, 7H, Bz, H-5 και H-6), 7.44-7.06 (m, 5H,  $C_6H_5$ ), 6.26 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.0$  Hz, H-1'), 5.90 (m, 1H, H-2'), 4.95 (dtr, 1H,  $J_{3',F} = 53.0$  Hz,  $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 8.8$  Hz, H-3'), 4.06 (m, 2H, H-6a', 6b'), 3.89 (m, 1H, H-4'), 3.62 (m, 1H, H-5'), 1.61 και 1.52 (2s, 6H, 2 x  $CH_3$ ).

**1-(2',3'-Διδεοξυ-3'-φθορο-4',6'-Ο-ισοπροπυλιδενο-β-D-γλυκερο-εξοπυρανοζυλο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (12)**

Η ένωση **11** (2.72 g, 4.9 mmol) διαλύθηκε σε τολουόλιο και το μίγμα απαερώθηκε με άζωτο για 30 λεπτά. Σε αυτό το διάλυμα προστέθηκε  $Bu_3SnH$  (3.95 mL, 14.7 mmol) καθώς και AIBN (0.24 g, 1.47 mmol). Το προκύπτον μίγμα θερμάνθηκε στους 80 °C για 3 ώρες. Στη συνέχεια αφέθηκε να κρυώσει, ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό κενό και ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα ΣΤ. Το επιθυμητό προϊόν **12** (1.19 g) ελήφθη υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων (διχλωρομεθάνιο/εξάνιο). Σημείο Τήξεως 188-190 °C.

Απόδοση = 60%

$[\alpha]_D^{22} = + 43.0^\circ$  (c = 0.5 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  260 nm ( $\epsilon$  19352)

ESI-MS ( $m/z$ ): Βρέθηκε 404.41 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση:  $C_{20}H_{22}FN_3O_5$

Μετρήθηκε: C 59.55

Βρέθηκε: C 59.33

H 5.50  
N 10.42

H 5.61  
N 10.56

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.68 (br s, 1H, NH), 7.91-7.50 (m, 7H, Bz, H-5 και H-6), 5.95 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 10.6$  Hz, H-1'), 4.80 (2m, 1H, H-3'), 3.98 (m, 1H, H-4'), 3.86 (m, 2H, H-6a',6b'), 3.47 (m, 1H, H-5'), 2.85 και 1.77 (2m, 2H,  $J_{gem} = 11.6$  Hz, H-2'), 1.58 και 1.48 (2s, 6H, 2 x CH<sub>3</sub>).

<sup>19</sup>F NMR: δ – 64.3.

**1-(2',3'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξοπυρανοζυλο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (13)**

Σε ένα υπό ανάδευση διάλυμα της ένωσης **12** (1.19 g, 2.94 mmol) σε 4:1 THF/νερό (13.6 mL) στους 0 °C προστέθηκε TFA (1.1 mL). Το προκύπτον διάλυμα αφέθηκε να επανέλθει σε θερμοκρασία δωματίου, αναδεύτηκε για 90 λεπτά και στη συνέχεια ακολούθησε η απομάκρυνση των διαλυτών υπό υψηλό κενό ώστε να απομακρυνθούν και τα ίχνη του TFA. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Θ και το επιθυμητό προϊόν **13** (0.77 g) ελήφθη υπό τη μορφή υποκίτρινου αφρώδους στερεού.

Απόδοση = 72%

$[\alpha]_D^{22} = + 30.0^\circ$  (c = 0.5 μεθανόλη)

$\lambda_{max}$  258 nm (ε 17223)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 364.32 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>5</sub>

Μετρήθηκε: C 56.20

H 4.99

N 11.56

Βρέθηκε: C 56.38

H 4.86

N 11.67

**1-(2',3'-Διδεοξυ-3'-φθορο-6'-Ο-τριτυλο-β-D-γλυκερο-εξοπυρανοζυλο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (14)**

Σε ένα διάλυμα του προϊόντος **13** (0.77 g, 2.12 mmol) σε άνυδρη πυριδίνη (10.6 mL) προστέθηκε TrCl (0.89 g, 3.18 mmol) και καταλυτική ποσότητα της DMAP (0.039 g, 0.32 mmol). Το μίγμα αναδεύτηκε στους 100 °C για μία ώρα κι

έπειτα απομακρύνθηκε ο διαλύτης υπό κενό. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Ε και το επιθυμητό προϊόν **14** (0.83 g) ελήφθη υπό τη μορφή λευκής σκόνης. Σημείο Τήξεως 150-153 °C.

Απόδοση = 65%

$[\alpha]_D^{22} = + 63.0^\circ$  (c = 0.5 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  258 nm ( $\epsilon$  16111)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 606.67 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: C<sub>36</sub>H<sub>32</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>5</sub>

Μετρήθηκε: C 71.39

Βρέθηκε: C 71.11

H 5.33

H 5.17

N 6.94

N 6.55

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  8.91 (br s, 1H, NH), 7.98-7.26 (m, 22H, 3C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, Bz, H-5 και H-6), 5.86 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 10.5$  Hz, H-1'), 4.71 (2m, 1H, H-3'), 3.90 (m, 1H, H-4'), 3.62 (m, 1H, H-5'), 3.53 (m, 2H, H-6a', 6b'), 2.80 και 1.74 (2m, 2H,  $J_{\text{gem}} = 11.0$  Hz, H-2').

<sup>19</sup>F NMR:  $\delta$  – 65.5.

### **1-(2',3'-Διδεοξυ-3'-φθορο-6'-Ο-τριτυλο-β-D-γλυκερο-εξοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (15)**

Ένα μίγμα αποτελούμενο από την ένωση **14** (0.83 g, 1.38 mmol), από PDC (0.78 g, 2.07 mmol) και από Ac<sub>2</sub>O (0.65 mL, 6.9 mmol) σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο θερμάνθηκε με κάθετο ψυκτήρα στους 55 °C για 90 λεπτά. Μετά το πέρας της αντίδρασης στο μίγμα προστέθηκε οξικός αιθυλεστέρας (1.6 mL) και το προκύπτον παχύρρευστο διάλυμα μεταφέρθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel). Πραγματοποιήθηκε έκλουση με οξικό αιθυλεστέρα και ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό κενό. Το υπόλειμμα που περιείχε Ac<sub>2</sub>O αραιώθηκε με τολουόλιο και στη συνέχεια με απόσταξη εξατμίστηκε μέχρις ξηρού. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα ΣΤ και το επιθυμητό προϊόν **15** (0.42 g) ελήφθη υπό τη μορφή υποκίτρινου αφρώδους στερεού.

Απόδοση = 50%



$[\alpha]_D^{22} = + 58.0^\circ$  (c = 0.5 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  260 nm ( $\epsilon$  24338)

ESI-MS ( $m/z$ ): Βρέθηκε 604.64 ( $M+H^+$ ) για **15α**

ESI-MS ( $m/z$ ): Βρέθηκε 622.64 ( $M+H^+$ ) για **15β**

Στοιχειακή Ανάλυση:  $C_{36}H_{30}FN_3O_5 \cdot 0.5H_2O$

Μετρήθηκε: C 70.59

Βρέθηκε: C 70.71

H 5.07

H 4.93

N 6.86

N 7.04

$^1H$  NMR για **15α** (500 MHz,  $CDCl_3$ )

$\delta$  9.18 (br s, 1H, NH), 8.00-7.27 (m, 22H,  $3C_6H_5$ , Bz, H-5 και H-6), 6.35 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 10.1$  Hz, H-1'), 5.22 (ddd, 1H,  $J_{3',F} = 47.0$  Hz,  $J_{2'a,3'} = J_{2'b,3'} = 6.9$  Hz, H-3'), 3.82-3.72 (m, 3H, H-5' και H-6a',6b'), 3.20 και 2.25 (2m, 2H,  $J_{gem} = 11.7$  Hz, H-2').

$^1H$  NMR για **15β** (500 MHz,  $CDCl_3$ )

$\delta$  9.18 (br s, 1H, NH), 8.00-7.27 (m, 22H,  $3C_6H_5$ , Bz, H-5 και H-6), 5.94 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 10.6$  Hz, H-1'), 4.72 (ddd, 1H,  $J_{3',F} = 48.1$  Hz,  $J_{2'a,3'} = 5.0$  Hz,  $J_{2'b,3'} = 5.1$  Hz, H-3'), 3.71-3.57 (m, 3H, H-5' και H-6a',6b'), 2.60 και 2.08 (2m, 2H,  $J_{gem} = 11.3$  Hz, H-2').

### **1-(2',3'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (16)**

Η ένωση **15** (0.42 g, 0.69 mmol) που λήφθηκε από την προηγούμενη διαδικασία, διαλύθηκε σε ένα μίγμα διχλωρομεθανίου (2.45 mL) και  $HCOOH$  (2.45 mL, 90%). Το διάλυμα αφέθηκε υπό ανάδευση για 20 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, διαλύθηκε σε τολουόλιο και στη συνέχεια με απόσταξη εξατμίστηκε μέχρις ξηρού ούτως ώστε να αποφευχθεί ο σχηματισμός εστέρα (Komiotis *et al.* 2006). Στη συνέχεια, ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Θ και το επιθυμητό προϊόν **16** (0.14 g) ελήφθη υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού.

Απόδοση = 52%

$[\alpha]_D^{22} = + 48.0^\circ$  (c = 0.5 μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  258 nm ( $\epsilon$  16169)

ESI-MS ( $m/z$ ): Βρέθηκε 380.36 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση:  $C_{17}H_{18}FN_3O_6$

Μετρήθηκε: C 53.83

Βρέθηκε: C 53.98

H 4.78

H 4.66

N 11.08

N 11.19

$^1H$  NMR (500 MHz,  $CD_3OD$ )

$\delta$  8.29-7.52 (m, 7H, Bz, H-5 και H-6), 5.95 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 11.0$  Hz, H-1'), 4.70 (ddd, 1H,  $J_{3',F} = 48.4$  Hz,  $J_{2'a,3'} = 4.8$  Hz,  $J_{2'b,3'} = 4.9$  Hz, H-3'), 4.07-3.94 (m, 2H, H-6a',6b'), 3.57 (m, 1H, H-5'), 2.50 και 2.10 (2m, 2H,  $J_{gem} = 11.0$  Hz, H-2').

$^{19}F$  NMR:  $\delta - 63.2$ .

**Σύνθεση της ένωσης 1-(3',4'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνης (24)**

**1-(2'-O-Ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-4',6'-O-ισοπροπυλιδενο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (17α)**

Σε διάλυμα της ένωσης **10α** (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 E και το επιθυμητό προϊόν **17α** (2.87 g) ελήφθη υπό τη μορφή κίτρινου παχύρευστου ελαίου.

Απόδοση = 89%

$[\alpha]_D^{22} = + 33.0^\circ$  (c = 0.5 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  260 nm ( $\epsilon$  22346)

ESI-MS ( $m/z$ ): Βρέθηκε 462.42 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση:  $C_{22}H_{24}FN_3O_7$

Μετρήθηκε: C 57.26

Βρέθηκε: C 57.14

H 5.24

H 5.37

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$  8.94 (br s, 1H, NH), 7.94-7.50 (m, 7H, Bz, H-5 και H-6), 6.09 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.3$  Hz, H-1'), 5.26 (m, 1H, H-2'), 4.76 (dtr, 1H,  $J_{3',F} = 53.0$  Hz,  $J_{2',3'} = 8.9$  Hz,  $J_{3',4'} = 8.8$  Hz, H-3'), 4.03 (m, 1H, H-4'), 3.99-3.83 (m, 2H, H-6a',6b'), 3.57 (m, 1H, H-5'), 2.09 (1s, 3H, OAc), 1.59 και 1.51 (2s, 6H, 2 x  $\text{CH}_3$ ).

 $^{19}\text{F}$  NMR:  $\delta - 65.5$ .

**1-(2'-O-Aκετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (18α)**

Το προϊόν **17α** (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 **18α** (2.36 g) ελήφθη υπό τη μορφή άχρωμου παχύρευστου ελαίου.

Απόδοση = 90%

$[\alpha]_D^{22} = + 20.0^\circ$  (c = 0.5 μεθανόλη)

$\lambda_{\text{max}}$  260 nm ( $\epsilon$  19367)

ESI-MS ( $m/z$ ): Βρέθηκε 422.39 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση:  $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{FN}_3\text{O}_7$

Μετρήθηκε: C 54.16

H 4.78

N 9.97

Βρέθηκε: C 54.41

H 4.66

N 9.82

**1-(2'-O-Aκετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-6'-O-τριτυλο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (19α)**

Σε διάλυμα της ένωσης **18α** (2.36 g, 5.6 mmol) σε άνυδρη πυριδίνη (28 mL), προστέθηκε  $\text{TrCl}$  (1.87 g, 6.72 mmol) και καταλυτική ποσότητα της DMAP (0.1 g, 0.84 mmol). Το μίγμα αφέθηκε υπό συνεχή ανάδευση για μία νύχτα στους  $60^\circ\text{C}$  και στη συνέχεια απομακρύνθηκε ο διαλύτης υπό κενό. Ο καθαρισμός του υπολείμματος που ακολούθησε, πραγματοποιήθηκε σε στήλη χρωματογραφίας

(silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα E και το επιθυμητό προϊόν **19a** (2.23 g) ελήφθη υπό τη μορφή λευκής σκόνης. Σημείο Τήξεως 184-186 °C.

Απόδοση = 60%

$[\alpha]_D^{22} = + 36.0^\circ$  (c = 0.5 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  260 nm ( $\epsilon$  22481)

ESI-MS ( $m/z$ ): Βρέθηκε 664.67 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: C<sub>38</sub>H<sub>34</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>7</sub>

Μετρήθηκε: C 68.77

Βρέθηκε: C 68.56

H 5.16

H 5.27

N 6.33

N 6.40

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  8.93 (br s, 1H, NH), 7.90-7.26 (m, 22H, 3C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, Bz, H-5 και H-6), 6.03 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 5.20 (m, 1H, H-2'), 4.70 (dtr, 1H,  $J_{3',F} = 52.0$  Hz,  $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 8.9$  Hz, H-3'), 4.13 (m, 1H, H-4'), 4.09-3.64 (m, 2H, H-6a',6b'), 3.48 (m, 1H, H-5'), 2.05 (1s, 3H, OAc).

<sup>19</sup>F NMR:  $\delta$  -65.0.

**1-(2'-O-Ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-4'-O-φαινοξυθειοκαρβονυλο-6'-O-τριτυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (20)**

Το παράγωγο της κυτοσίνης **20** συντέθηκε από το **19a** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **11**. Ο καθαρισμός του υπολείμματος, πραγματοποιήθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα H και το επιθυμητό προϊόν **20** (1.51 g) ελήφθη υπό τη μορφή λευκής σκόνης. Σημείο Τήξεως 153-156 °C.

Απόδοση = 55%

$[\alpha]_D^{22} = + 21.0^\circ$  (c = 0.5 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  260 nm ( $\epsilon$  21501)

ESI-MS ( $m/z$ ): Βρέθηκε 800.88 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: C<sub>45</sub>H<sub>38</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>8</sub>S

Μετρήθηκε: C 67.57

Βρέθηκε: C 67.69

H 4.79

H 4.64

N 5.25

N 5.53

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.66 (br s, 1H, NH), 7.90-6.80 (m, 27H, 4C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, Bz, H-5 και H-6), 6.15 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.2$  Hz, H-1'), 5.98 (m, 1H, H-4'), 5.32 (m, 1H, H-2'), 4.97 (dtr, 1H,  $J_{3',F} = 51.9$  Hz,  $J_{2',3'} = 9.0$  Hz,  $J_{3',4'} = 9.1$  Hz, H-3'), 4.00 (m, 1H, H-5'), 3.42-3.30 (m, 2H, H-6a',6b'), 2.09 (1s, 3H, OAc).

**1-(2'-O-Aκετυλο-3',4'-διδεοξυ-3'-φθορο-6'-O-τριτυλο-β-D-γλυκερο-εξοπυρανοζυλο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (21)**

Το παράγωγο της κυτοσίνης **21** συντέθηκε από το **20** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **12**. Ο καθαρισμός του υπολείμματος, πραγματοποιήθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα H και το επιθυμητό προϊόν **21** (0.83 g) ελήφθη υπό τη μορφή λευκής σκόνης. Σημείο Τήξεως 138-140 °C.

Απόδοση = 68%

$[\alpha]_D^{22} = + 19.0^\circ$  (c = 0.5 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  260 nm ( $\epsilon$  20723)

ESI-MS ( $m/z$ ): Βρέθηκε 648.70 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: C<sub>38</sub>H<sub>34</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>6</sub>

Μετρήθηκε: C 70.47

Βρέθηκε: C 70.59

H 5.29

H 5.11

N 6.49

N 6.74

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.65 (br s, 1H, NH), 7.90-7.21 (m, 22H, 3C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, Bz, H-5 και H-6), 5.95 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.1$  Hz, H-1'), 5.04 (m, 1H, H-2'), 4.85 (2m, 1H, H-3'), 3.85 (m, 1H, H-5'), 3.26 (dq, 2H,  $J_{6'a,6'b} = 10.0$  Hz, H-6a',6b'), 2.40 και 1.90 (2m, 2H,  $J_{\text{gem}} = 11.5$  Hz, H-4'), 2.06 (1s, 3H, OAc).

<sup>19</sup>F NMR: δ – 64.3.

**1-(3',4'-Διδεοξυ-3'-φθορο-6'-O-τριτυλο-β-D-γλυκερο-εξοπυρανοζυλο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (22)**

Το προϊόν **21** (0.83 g, 1.28 mmol) διαλύθηκε σε EtOH-πυριδίνη (12.8 + 3.85 mL), προστέθηκε NaOH 2M (0.86 mL) και το μίγμα αναδεύτηκε για 1 ώρα στους 0 °C. Στη συνέχεια προστέθηκε ρητίνη Amberlite IR-120 (H<sup>+</sup>) για να

εξουδετερώσει τη βάση. Το διάλυμα διηθήθηκε, η ρητίνη πλύθηκε με EtOH και πυριδίνη (10 + 10 mL) και από το διήθημα απομακρύνθηκαν οι διαλύτες υπό κενό. Ακολούθησε ο καθαρισμός του στερεού υπολείμματος, σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα A και το επιθυμητό προϊόν **22** (0.682 g) ελήφθη υπό τη μορφή παχύρευστου υποκίτρινου ελαίου.

Απόδοση = 88%

$[\alpha]_D^{22} = + 14.0^\circ$  (c = 0.5 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  260 nm ( $\epsilon$  21804)

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 606.64 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: C<sub>36</sub>H<sub>32</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>5</sub>

Μετρήθηκε: C 71.39

Βρέθηκε: C 71.64

H 5.33

H 4.97

N 6.94

N 6.72

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  9.01 (br s, 1H, NH), 7.91-7.22 (m, 22H, 3C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, Bz, H-5 και H-6), 5.82 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.1$  Hz, H-1'), 4.78 (2m, 1H, H-3'), 3.89 (m, 1H, H-5'), 3.70 (m, 1H, H-2'), 3.25 (dq, 2H,  $J_{6'a,6'b} = 9.9$  Hz, H-6a', 6b'), 2.33 και 1.82 (2m, 2H,  $J_{\text{gem}} = 11.9$  Hz, H-4').

<sup>19</sup>F NMR:  $\delta$  -63.2.

**1-(3',4'-Διδεοξυ-3'-φθορο-6'-Ο-τριτυλο-β-D-γλυκερο-εξοπιρανοζυλο-2'-ουλοζο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (23)**

Το παράγωγο της κυτοσίνης **23** συντέθηκε από το **22** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **15**. Ο καθαρισμός του υπολείμματος που ακολούθησε, πραγματοποιήθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα A και το επιθυμητό προϊόν **23** (0.35 g) ελήφθη υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού.

Απόδοση = 52%

$[\alpha]_D^{22} = + 12.0^\circ$  (c = 0.5 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  260 nm ( $\epsilon$  14991)

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 604.64 (M+H<sup>+</sup>) για **23a**

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 622.66 (*M*+*H*<sup>+</sup>) για **23β**

Στοιχειακή Ανάλυση: C<sub>36</sub>H<sub>30</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>5</sub>•0.5H<sub>2</sub>O

Μετρήθηκε: C 70.59

Βρέθηκε: C 70.33

H 5.07

H 5.18

N 6.86

N 7.07

<sup>1</sup>H NMR για **23α** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.97 (br s, 1H, NH), 8.12-7.20 (m, 22H, 3C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, Bz, H-5 και H-6), 6.41 (s, 1H, H-1'), 5.41 (ddd, 1H, *J*<sub>3',F</sub> = 47.5 Hz, *J*<sub>3',4'a</sub> = *J*<sub>3',4'b</sub> = 7.4 Hz, H-3'), 4.30 (m, 1H, H-5'), 3.43 (dq, 2H, *J*<sub>6'a,6'b</sub> = 10.0 Hz, H-6a',6b'), 2.82 και 2.29 (2m, 2H, *J*<sub>gem</sub> = 12.5 Hz, H-2').

<sup>1</sup>H NMR για **23β** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.97 (br s, 1H, NH), 8.12-7.20 (m, 22H, 3C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, Bz, H-5 και H-6), 5.86 (s, 1H, H-1'), 4.82 (ddd, 1H, *J*<sub>3',F</sub> = 48.0 Hz, *J*<sub>3',4'a</sub> = 5.4 Hz, *J*<sub>3',4'b</sub> = 5.3 Hz, H-3'), 3.89 (m, 1H, H-5'), 3.23 (dq, 2H, *J*<sub>6'a,6'b</sub> = 10.0 Hz, H-6a',6b'), 2.05 (m, 2H, *J*<sub>gem</sub> = 11.9 Hz, H-2').

**1-(3',4'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (24)**

Το παράγωγο της κυτοσίνης **24** συντέθηκε από το **23** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **16**. Ο καθαρισμός του υπολείμματος πραγματοποιήθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Θ και το επιθυμητό προϊόν **24** (0.11 g) ελήφθη υπό τη μορφή υποκίτρινου ελαίου.

Απόδοση = 50%

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = + 52.0° (c = 0.5 μεθανόλη)

λ<sub>max</sub> 258 nm (ε 21395)

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 380.34 (*M*+*H*<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>6</sub>

Μετρήθηκε: C 53.83

Βρέθηκε: C 54.03

H 4.78

H 4.89

N 11.08

N 10.87

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 8.39-7.50 (m, 7H, Bz, H-5 και H-6), 5.85 (s, 1H, H-1'), 4.94 (ddd, 1H,  $J_{3',F} = 48.5$  Hz,  $J_{3',4'a} = 5.5$  Hz,  $J_{3',4'b} = 5.6$  Hz, H-3'), 3.89 (m, 1H, H-5'), 3.67 (m, 2H, H-6a', 6b'), 2.03 (m, 2H,  $J_{gem} = 11.7$  Hz, H-2').

<sup>19</sup>F NMR: δ – 63.2.

**Σύνθεση της ένωσης 1-(3',4'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-3'-ενοπιρανοζυλο-2'-ουλοζο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνης (28)**

**1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-4',6'-Ο-ισοπροπυλιδενο-β-D-γλυκοπιρανοζυλο-2'-ουλοζο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (25)**

Ένα μίγμα της ένωσης **10a** (2.93 g, 6.98 mmol), του PDC (3.15 g, 8.38 mmol) και του Ac<sub>2</sub>O (1.98 mL, 20.94 mmol) αναδεύτηκε σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (58.1 mL) για 3 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά το πέρας της αντίδρασης στο μίγμα προστέθηκε οξικός αιθυλεστέρας (10 mL) και το προκύπτον παχύρρευστο διάλυμα μεταφέρθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel). Πραγματοποιήθηκε έκλουση με οξικό αιθυλεστέρα και ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό κενό. Το υπόλειμμα που περιείχε Ac<sub>2</sub>O αραιώθηκε με τολουόλιο και στη συνέχεια με απόσταξη εξατμίστηκε μέχρις ξηρού. Με αυτήν τη διαδικασία λήφθηκαν 2.45 g του ακατέργαστου προϊόντος **25**. Στη συνέχεια, ακολούθησε καθαρισμός αυτού του προϊόντος σε χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Γ και ελήφθη η gem-διόλη **25β** (0.67 g) υπό τη μορφή άχρωμου παχύρευστου ελαίου.

Απόδοση = 22%

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 436.41 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>7</sub>

Μετρήθηκε: C 55.17

H 5.09

N 9.65

Βρέθηκε: C 54.99

H 5.20

N 9.47



<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.05-7.44 (m, 7H, Bz, H-5 και H-6), 5.92 (s, 1H, H-1'), 4.85 (s, 2H, 2OH), 4.65 (dd, 1H,  $J_{3',4'} = 9.2$  Hz,  $J_{3',F} = 51.4$  Hz, H-3'), 4.13-4.04 (m, 1H, H-4'), 3.93-3.77 (m, 2H, H-6a',6b'), 3.53 (m, 1H, H-5'), 1.54 και 1.44 (2s, 6H, 2 x CH<sub>3</sub>).

**1-(6'-O-Ακετυλο-3',4'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-3'-ενοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (27)**

Το ακατέργαστο προϊόν **25** (2.0 g, 4.79 mmol) που λήφθηκε από την προηγούμενη διαδικασία, διαλύθηκε σε 23.95 mL 90% TFA σε μεθανόλη. Το διάλυμα αναδεύτηκε για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και έπειτα ακολούθησε η απομάκρυνση της μεθανόλης υπό υψηλό κενό ώστε να απομακρυνθούν και τα ίχνη του TFA. Έπειτα από αυτήν την αντίδραση, το ακατέργαστο προϊόν **26** (1.79 g, 99%) διαλύθηκε σε άνυδρη πυριδίνη (9.5 mL), προστέθηκε Ac<sub>2</sub>O (1.79 mL) και το μίγμα αναδεύτηκε στους 0 °C για μία ώρα, κάτω υπό αυστηρά άνυδρες συνθήκες. Ακολούθησε η προσθήκη της μεθανόλης (1.0 mL) για να καταστείλλει την αντίδραση. Κατόπιν απομακρύνθηκαν οι διαλύτες υπό κενό και ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Ε και το επιθυμητό προϊόν **27** (1.85 g) ελήφθη υπό τη μορφή κίτρινης σκόνης. Σημείο Τήξεως 102-105 °C.

Απόδοση = 66% από το προϊόν **10α**

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 402.36 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>6</sub>

Μετρήθηκε: C 56.86

H 4.02

N 10.47

Βρέθηκε: C 57.03

H 4.00

N 10.45

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 7.89-7.43 (m, 7H, Bz, H-5 και H-6), 6.56 (dd, 1H,  $J_{4',F} = 11.0$  Hz,  $J_{4',5'} = 1.5$  Hz, H-4'), 5.88 (s, 1H, H-1'), 5.03 (m, 1H, H-5'), 4.35-4.20 (m, 2H, H-6a',6b'), 2.05 (s, 3H, OAc).

**1-(3',4'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-3'-ενοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (28)**

Σε διάλυμα της ένωσης **27** (1.85 g, 4.61 mmol) σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (9.2 mL) προστέθηκαν, σε θερμοκρασία δωματίου, 9.2 mL αερίου HCl σε μεθανόλη, το οποίο παρασκευάστηκε με προσθήκη του ακετυλοχλωριδίου (0.4 mL) σε άνυδρη μεθανόλη (10 mL), στους 0 °C. Μετά από 24 ώρες η αντίδραση ολοκληρώθηκε (TLC), το μίγμα διαλύθηκε σε διχλωρομεθάνιο και κατεργάστηκε με περίσσεια NaHCO<sub>3</sub>. Η οργανική φάση εκχυλίστηκε με νερό, ξηράθηκε με την προσθήκη άνυδρου θειικού μαγνησίου και ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό κενό. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα A και το επιθυμητό προϊόν **28** (0.83 g) ελήφθη υπό τη μορφή άχρωμου παχύρευστου ελαίου.

Απόδοση = 50%

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 360.30 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>5</sub>

Μετρήθηκε: C 56.83

H 3.93

N 11.69

Βρέθηκε: C 56.72

H 3.91

N 11.73

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 7.89-7.43 (m, 7H, Bz, H-5 και H-6), 6.61 (dd, 1H, *J*<sub>4',F</sub> = 11.4 Hz, *J*<sub>4',5'</sub> = 1.1 Hz, H-4'), 5.70 (s, 1H, H-1'), 4.89 (m, 1H, H-5'), 3.88-3.77 (m, 2H, H-6a', 6b').

**Σύνθεση της ένωσης 1-(3'-δεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνης (30α)**

**1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-6'-Ο-τριτυλο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (29α)**

Ένα μίγμα αποτελούμενο από την ένωση **19α** (2.23 g, 3.36 mmol), από PDC (1.9 g, 5.04 mmol) και από Ac<sub>2</sub>O (3.17 mL, 33.60 mmol) σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (32 mL) και άνυδρο DMF (10 mL), θερμάνθηκε με κάθετο ψυκτήρα στους 90 °C για 100 λεπτά. Μετά το πέρας της αντίδρασης οι διαλύτες

απομακρύνθηκαν υπό υψηλό κενό. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Ε και το επιθυμητό προϊόν **29α** (1.51 g) ελήφθη υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού.

Απόδοση = 75%

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 602.63 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση:  $C_{36}H_{28}FN_3O_5$

Μετρήθηκε: C 71.87

H 4.69

N 6.98

Βρέθηκε: C 71.75

H 4.88

N 7.07

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

$\delta$  7.95-7.24 (m, 22H,  $3C_6H_5$ , Bz, H-5 και H-6), 7.00 (dd, 1H,  $J_{1',2'} = 1.6$  Hz,  $J_{2',F} = 7.3$  Hz, H-2'), 6.58 (dd, 1H,  $J_{1',2'} = 1.6$  Hz,  $J_{1',F} = 10.5$  Hz, H-1'), 4.50 (m, 1H, H-5'), 3.76-3.62 (m, 2H, H-6a', 6b').

$^{19}F$  NMR:  $\delta$  – 63.2.

### **1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (30α)**

Το προϊόν **29α** (1.51 g, 2.51 mmol) διαλύθηκε σε ένα μίγμα  $HCOOH$  και  $(CH_3CH_2)_2O$  (10 mL + 10 mL). Το διάλυμα αφέθηκε υπό ανάδευση για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, διαλύθηκε σε τολουόλιο και στη συνέχεια με απόσταξη εξατμίστηκε μέχρις ξηρού ούτως ώστε να αποφευχθεί ο σχηματισμός εστέρα (Komiotis *et al.* 2006). Στη συνέχεια, ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Α και το επιθυμητό προϊόν **30α** (0.45 g) ελήφθη υπό τη μορφή υποκίτρινου αφρώδους στερεού.

Απόδοση = 50%

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 360.29 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση:  $C_{17}H_{14}FN_3O_5$

Μετρήθηκε: C 56.83

H 3.93

N 11.69

Βρέθηκε: C 56.74

H 4.05

N 11.89

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

$\delta$  8.23-7.38 (m, 7H, Bz, H-5 και H-6), 7.08 (dd, 1H,  $J_{1',2'} = 1.4$ ,  $J_{2',F} = 7.0$  Hz, H-2'), 6.85 (dd, 1H,  $J_{1',2'} = 1.4$  Hz,  $J_{1',F} = 11.7$  Hz, H-1'), 4.64 (m, 1H, H-5'), 4.14-3.97 (m, 2H, H-6a', 6b').

$^{19}\text{F}$  NMR:  $\delta - 65.0$ .

**Σύνθεση της ένωσης 9-(3'-δεοξυ-3'-φθορο-6'-Ο-τριτυλο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνης (29β)**

**Σύνθεση της N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνης (Ness 1968)**

18.75 g (138.76 mmol) αδενίνης και 75 g (331.52 mmol)  $\text{C}_6\text{H}_5\text{COOCOC}_6\text{H}_5$  κονιορτοποιήθηκαν μέσα σε ένα γουδί. Στη συνέχεια το προκύπτον μίγμα θερμάνθηκε στους  $140^\circ\text{C}$  για μία ώρα. Το μίγμα διαλύθηκε και σχηματίστηκε ένα ακατέργαστο άμορφο προϊόν. Έπειτα, σε αυτήν τη μάζα, προστέθηκαν 240 mL EtOH για να καταβυθιστεί το επιθυμητό προϊόν και ακολούθησε διήθηση υπό κενό. Με αυτήν τη διαδικασία το επιθυμητό προϊόν N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (26.55 g) ελήφθη υπό τη μορφή υποκίτρινων κρυστάλλων. Σημείο Τήξεως  $238-241^\circ\text{C}$  (βιβλ.: Σημείο Τήξεως  $242-244^\circ\text{C}$ ).

Απόδοση = 80%

**9-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4',6'-τρις-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (8β)**

Ένα διάλυμα της N<sup>6</sup>-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  $\text{CH}_3\text{CN}$  (69 mL), θερμάνθηκε με κάθετο ψυκτήρα για 30 λεπτά και αφότου το μίγμα έγινε διαυγές προστέθηκε η τετρακετυλιωμένη 3-δεοξυ-3-φθορογλυκόζη (**7**) (5.00 g, 14.27 mmol) καθώς και ο  $\text{SnCl}_4$  (1.65 mL, 9.13 mmol). Η αντίδραση ολοκληρώθηκε στις 5 ώρες (TLC), με θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα στους  $100^\circ\text{C}$ . Στη συνέχεια το μίγμα της αντίδρασης αφέθηκε να κρυώσει, εξουδετερώθηκε με κορεσμένο διάλυμα  $\text{NaHCO}_3$ , αραιώθηκε με διχλωρομεθάνιο (1000 mL) και εκχυλίστηκε μία φορά με νερό (1 x 20 mL). Κατόπιν, η οργανική φάση ξηράθηκε με άνυδρο  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  και ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό κενό. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel)

χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Γ. Το επιθυμητό προϊόν **8β** (4.53 g) ελήφθη υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων (οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο). Σημείο Τήξεως 118-120 °C.

Απόδοση = 60%

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 530.46 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: C<sub>24</sub>H<sub>24</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>8</sub>

Μετρήθηκε: C 54.44

H 4.57

N 13.23

Βρέθηκε: C 54.58

H 4.38

N 13.39

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 9.07 (br s, 1H, NH), 8.77 και 8.19 (2s, 2H, H-2,8), 7.98-7.93 (m, 2H, Bz), 7.58-7.42 (m, 3H, Bz), 5.84 (d, 1H, *J*<sub>1',2'</sub> = 9.6 Hz, H-1'), 5.70-5.58 (m, 1H, H-2'), 5.43-5.30 (m, 1H, H-4'), 4.80 (dtr, 1H, *J*<sub>3',F</sub> = 51.6 Hz, *J*<sub>2',3'</sub> = 9.1 Hz, *J*<sub>3',4'</sub> = 9.0 Hz), 4.29-4.08 (m, 2H, H-6a',6b'), 3.93-3.87 (m, 1H, H-5'), 2.11 και 2.01 και 1.78 (3s, 9H, 3OAc).

<sup>19</sup>F NMR: δ – 65.0.

### **9-(3',4'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (9β)**

Το παράγωγο της αδενίνης **9β** συντέθηκε από το **8β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για το **9α**. Το επιθυμητό προϊόν **9β** (3.04 g) ελήφθη υπό τη μορφή υποκίτρινου αφρώδους στερεού και χρησιμοποιήθηκε στο επόμενο στάδιο χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

Απόδοση = 88%

ESI-MS (*m/z*): Βρέθηκε 404.38 (M+H<sup>+</sup>)

### **9-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-4',6'-Ο-ισοπροπυλιδενο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (10β)**

Το παράγωγο της αδενίνης **10β** συντέθηκε από το **9β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **10α**. Ο καθαρισμός του υπολείμματος πραγματοποιήθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Α και το επιθυμητό προϊόν **10β** (2.54 g) ελήφθη υπό τη μορφή υποκίτρινου παχύρευστου ελαίου.

Απόδοση = 76%

ESI-MS ( $m/z$ ): Βρέθηκε 444.41 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση:  $C_{21}H_{22}FN_5O_5$

Μετρήθηκε: C 56.88

H 5.00

N 15.79

Βρέθηκε: C 56.76

H 4.82

N 15.90

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

$\delta$  9.04 (br s, 1H, NH), 8.39 και 8.00 (2s, 2H, H-2,8), 7.92-7.89 (m, 2H, Bz), 7.58-7.42 (m, 3H, Bz), 5.65 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.9$  Hz, H-1'), 4.70 (dtr, 1H,  $J_{3',F} = 39.5$  Hz,  $J_{2',3'} = 8.9$  Hz,  $J_{3',4'} = 8.7$  Hz, H-3'), 4.56 (m, 1H, H-2'), 4.10-3.94 (m, 1H, H-4'), 3.93-3.70 (m, 2H, H-6a',6b'), 3.51 (m, 1H, H-5'), 1.52 και 1.43 (2s, 6H, 2 x  $CH_3$ ).

$^{19}F$  NMR:  $\delta - 64.9$ .

**9-(2'-O-Aκετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-4',6'-O-ισοπροπυλιδενο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (17β)**

Το παράγωγο της αδενίνης **17β** συντέθηκε από το **10β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **17α**. Ο καθαρισμός του υπολείμματος πραγματοποιήθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα ΣΤ και το επιθυμητό προϊόν **17β** (2.22 g) ελήφθη υπό τη μορφή υποκίτρινου αφρώδους στερεού.

Απόδοση = 80%

ESI-MS ( $m/z$ ): Βρέθηκε 486.47 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση:  $C_{23}H_{24}FN_5O_6$

Μετρήθηκε: C 56.90

H 4.98

N 14.43

Βρέθηκε: C 57.03

H 4.86

N 14.22

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

$\delta$  9.00 (br s, 1H, NH), 8.85 και 8.22 (2s, 2H, H-2,8), 8.05-8.02 (m, 2H, Bz), 7.66-7.53 (m, 3H, Bz), 5.91 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.5$  Hz, H-1'), 5.72 (m, 1H, H-2'), 4.80 (dtr, 1H,  $J_{3',F} = 52.9$  Hz,  $J_{2',3'} = 8.8$  Hz,  $J_{3',4'} = 8.9$  Hz, H-3'), 4.12 (m, 1H, H-4'), 4.06-3.84 (m, 2H, H-6a',6b'), 3.64 (m, 1H, H-5'), 1.87 (1s, 3H, OAc), 1.61 και 1.52 (2s, 6H, 2 x  $CH_3$ ).

$^{19}F$  NMR:  $\delta - 65.5$ .

**9-(2'-O-Ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (18β)**

Το παράγωγο της αδενίνης **18β** συντέθηκε από το **17β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **18α**. Ο καθαρισμός του υπολείμματος πραγματοποιήθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Α και το επιθυμητό προϊόν **18β** (1.83 g) ελήφθη υπό τη μορφή άχρωμου παχύρευστου ελαίου.

Απόδοση = 90%

$[\alpha]_D^{22} = -4.0^\circ$  (c = 0.5 μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  278 nm ( $\epsilon$  14962)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 446.38 (M+H<sup>+</sup>).

Στοιχειακή Ανάλυση: C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>

Μετρήθηκε: C 53.93

H 4.53

N 15.72

Βρέθηκε: C 53.74

H 4.75

N 15.57

**9-(2'-O-Ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-6'-O-τριτυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (19β)**

Το παράγωγο της αδενίνης **19β** συντέθηκε από το **18β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **19α**. Ο καθαρισμός του υπολείμματος πραγματοποιήθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Ε και το επιθυμητό προϊόν **19β** (1.75 g) ελήφθη υπό τη μορφή λευκής σκόνης. Σημείο Τήξεως 147-149 °C.

Απόδοση = 62%

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 688.74 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: C<sub>39</sub>H<sub>34</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>

Μετρήθηκε: C 68.11

H 4.98

N 10.18

Βρέθηκε: C 67.99

H 4.74

N 10.08

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 9.20 (br s, 1H, NH), 8.87 και 8.28 (2s, 2H, H-2,8), 8.10-7.22 (m, 20H, 3C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> και Bz), 5.88 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.5$  Hz, H-1'), 5.61 (m, 1H, H-2'), 4.73 (dtr, 1H,  $J_{3',F} =$

52.1 Hz,  $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 8.9$  Hz, H-3'), 4.21 (m, 1H, H-4'), 3.75 (m, 1H, H-5'), 3.60-3.48 (m, 2H, H-6a',6b'), 1.85 (1s, 3H, OAc).

$^{19}\text{F}$  NMR:  $\delta$  – 65.5.

**9-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-6'-Ο-τριτυλο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (29β)**

Το παράγωγο της αδενίνης **29β** συντέθηκε από το **19β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **29α**. Ο καθαρισμός του υπολείμματος πραγματοποιήθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Ε και το επιθυμητό προϊόν **29β** (0.8 g) ελήφθη υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού.

Απόδοση = 50%

ESI-MS ( $m/z$ ): Βρέθηκε 626.66 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση:  $\text{C}_{37}\text{H}_{28}\text{FN}_5\text{O}_4$

Μετρήθηκε: C 71.03

H 4.51

N 11.19

Βρέθηκε: C 71.19

H 4.34

N 10.98

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$  9.05 (br s, 1H, NH), 8.88 και 8.27 (2s, 2H, H-2,8), 8.10-7.22 (m, 20H,  $3\text{C}_6\text{H}_5$  και Bz), 7.07 (dd, 1H,  $J_{1',2'} = 1.4$  Hz,  $J_{2',F} = 6.7$  Hz, H-2'), 6.74 (dd, 1H,  $J_{1',2'} = 1.4$  Hz,  $J_{1',F} = 10.2$  Hz, H-1'), 4.57 (m, 1H, H-5'), 3.73-3.66 (m, 2H, H-6a',6b').

$^{19}\text{F}$  NMR:  $\delta$  – 64.3.

**Σύνθεση της ένωσης 1-(2',6'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνης (33α)**

**1-(2'-Ο-Ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-6'-ιωδο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (31α)**

Σε διάλυμα της ένωσης **18α** (1.0 g, 2.37 mmol) σε άνυδρο THF (18.5 mL), προστέθηκε ιμιδαζόλιο (0.32 g, 4.74 mmol),  $\text{Ph}_3\text{P}$  (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  $\text{Ph}_3\text{PO}$  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 Ε και το επιθυμητό προϊόν **31α** (0.78 g) ελήφθη υπό τη μορφή άχρωμου παχύρευστου ελαίου.

Απόδοση = 62%

$[\alpha]_D^{22} = + 6.0^\circ$  (c = 0.5 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\text{max}}$  260 nm ( $\epsilon$  18038)

ESI-MS ( $m/z$ ): Βρέθηκε 532.29 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση:  $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{FIN}_3\text{O}_6$

Μετρήθηκε: C 42.95

Βρέθηκε: C 43.15

H 3.60

H 3.47

N 7.91

N 8.23

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$  8.77 (br s, 1H, NH), 7.96-7.50 (m, 7H, Bz, H-5 και H-6), 6.14 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.2$  Hz, H-1'), 5.18 (m, 1H, H-2'), 4.80 (dtr, 1H,  $J_{3',F} = 52.2$  Hz,  $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 8.9$  Hz, H-3'), 3.91 (m, 1H, H-4') 3.62-3.55 (m, 2H, H-6a', 6b'), 3.26 (m, 1H, H-5'), 2.06 (s, 3H, OAc).

### **1-(2'-Ο-Ακετυλο-3',6'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (32α)**

Σε διάλυμα της ένωσης **31α** (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 Ε και το επιθυμητό προϊόν **32α** (0.33 g) ελήφθη υπό τη μορφή υποκίτρινου αφρώδους στερεού.

Απόδοση = 55%

$[\alpha]_D^{22} = + 26.0^\circ$  (c = 0.5 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  260 nm ( $\epsilon$  18151)

ESI-MS ( $m/z$ ): Βρέθηκε 406.36 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση:  $C_{19}H_{20}FN_3O_6$

Μετρήθηκε: C 56.29

Βρέθηκε: C 56.61

H 4.97

H 4.85

N 10.37

N 10.63

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

$\delta$  7.91-7.44 (m, 7H, Bz, H-5 και H-6), 6.00 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.3$  Hz, H-1'), 5.18 (m, 1H, H-2'), 4.68 (dtr, 1H,  $J_{3',F} = 52.2$  Hz,  $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 8.7$  Hz, H-3'), 3.70-3.57 (m, 2H, H-4' και H-5'), 2.04 (s, 3H, OAc), 1.41 (d, 3H,  $J_{5',6'} = 5.8$  Hz, H-6').

**1-(2',6'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N<sup>4</sup>-βενζοϋλοκυτοσίνη (33α)**

Σε διάλυμα της ένωσης **32α** (0.33 g, 0.81 mmol) σε άνυδρο DMSO (3.96 mL) προστέθηκε  $Ac_2O$  (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  $Na_2SO_4$  και ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό κενό. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Γ και το επιθυμητό προϊόν **33α** (0.14 g) ελήφθη υπό τη μορφή κίτρινου παχύρευστου ελαίου.

Απόδοση = 50%

$[\alpha]_D^{22} = +61.0^\circ$  (c = 0.5 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  260 nm ( $\epsilon$  16474)

ESI-MS ( $m/z$ ): Βρέθηκε 344.28 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση:  $C_{17}H_{14}FN_3O_4$

Μετρήθηκε: C 59.47

Βρέθηκε: C 59.63

H 4.11

H 3.94

N 12.24

N 12.56

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

$\delta$  8.98 (br s, 1H, NH), 7.96-7.49 (m, 7H, Bz, H-5 και H-6), 7.00 (d, 1H,  $J_{1',F} = 10.5$  Hz, H-1'), 6.53 (d, 1H,  $J_{2',F} = 7.0$  Hz, H-2'), 4.48 (m, 1H, H-5'), 1.53 (d, 3H,  $J_{5',6'} = 6.5$  Hz, H-6').

$^{19}\text{F}$  NMR:  $\delta - 64.3$ .

**Σύνθεση της ένωσης 9-(2',6'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνης (33β)**

**9-(2'-O-Ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-6'-ιωδο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (31β)**

Το παράγωγο της αδενίνης **31β** συντέθηκε από την ένωση **18β** (1.0 g, 2.25 mmol) με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **31α**. Ο καθαρισμός του υπολείμματος πραγματοποιήθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Ε και το επιθυμητό προϊόν **31β** (0.81 g) ελήφθη υπό τη μορφή λευκής σκόνης. Σημείο Τήξεως 95-98 °C.

Απόδοση = 65%

$[\alpha]_D^{22} = -6.0^\circ$  (c = 0.5 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\text{max}}$  278 nm ( $\epsilon$  19163)

ESI-MS ( $m/z$ ): Βρέθηκε 556.27 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση:  $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{FIN}_5\text{O}_5$

Μετρήθηκε: C 43.26

Βρέθηκε: C 43.38

H 3.45

H 3.67

N 12.61

N 12.42

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$  9.25 (br s, 1H, NH), 8.84 και 8.26 (2s, 2H, H-2,8), 8.05-8.03 (m, 2H, Bz), 7.69-7.50 (m, 3H, Bz), 5.98 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.3$  Hz, H-1'), 5.58 (m, 1H, H-2'), 4.73 (dtr, 1H,  $J_{3',F} = 52.1$  Hz,  $J_{2',3'} = 8.4$  Hz,  $J_{3',4'} = 8.9$  Hz, H-3'), 4.02 (m, 1H, H-4') 3.57 (m, 2H, H-6a',6b'), 3.37 (m, 1H, H-5'), 1.84 (s, 3H, OAc).

**9-(2'-O-Ακετυλο-3',6'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (32β)**

Το παράγωγο της αδενίνης **32β** συντέθηκε από την ένωση **31β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **32α**. Ο καθαρισμός

του υπολείμματος πραγματοποιήθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Ε και το επιθυμητό προϊόν **32β** (0.44 g) ελήφθη υπό τη μορφή άχρωμου παχύρευστου ελαίου.

Απόδοση = 70%

$[\alpha]_D^{22} = + 4.0^\circ$  (c = 0.5 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  272 nm ( $\epsilon$  9742)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 430.42 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>5</sub>

Μετρήθηκε: C 55.94

Βρέθηκε: C 56.19

H 4.69

H 4.81

N 16.31

N 16.16

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  9.08 (br s, 1H, NH), 8.84 και 8.22 (2s, 2H, H-2,8), 8.03-8.01 (m, 2H, Bz), 7.49-7.45 (m, 3H, Bz), 5.85 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.5$  Hz, H-1'), 5.59 (m, 1H, H-2'), 4.68 (dtr, 1H,  $J_{3',F} = 52.1$  Hz,  $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 8.4$  Hz, H-3'), 3.75 (m, 2H, H-4' και H-5'), 1.83 (s, 3H, OAc), 1.43 (d, 3H,  $J_{5',6'} = 5.0$  Hz, H-6').

**9-(2',6'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-2'-ενοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (33β)**

Ο ακόρεστος κετονουκλεοζίτης της αδενίνης **33β** συντέθηκε από την ένωση **32β** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **33α**. Ο καθαρισμός του υπολείμματος πραγματοποιήθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Γ και το επιθυμητό προϊόν **33β** (0.21 g) ελήφθη υπό τη μορφή λευκής σκόνης. Σημείο Τήξεως 205-207 °C.

Απόδοση = 55%

$[\alpha]_D^{22} = + 9.0^\circ$  (c = 0.5 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  279 nm ( $\epsilon$  9048)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 368.35 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>

Μετρήθηκε: C 58.85

Βρέθηκε: C 58.98

H 3.84

H 3.62

N 19.07

N 19.18

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 9.06 (br s, 1H, NH), 8.83 και 8.21 (2s, 2H, H-2,8), 8.04-8.02 (m, 2H, Bz), 7.68-7.61 (m, 3H, Bz), (d, 1H,  $J_{2',F} = 6.7$  Hz, H-2'), 6.69 (d, 1H,  $J_{1',F} = 10.2$  Hz, H-1'), 4.56 (m, 1H, H-5'), 1.52 (d, 3H,  $J_{5',6'} = 6.5$  Hz, H-6').

<sup>19</sup>F NMR: δ – 65.5.

**Σύνθεση της ένωσης 9-(4',6'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-3'-ενοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνης (38)**

**9-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-6'-ιωδο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (34)**

Το παράγωγο της αδενίνης **34** συντέθηκε από την ένωση **9β** (1.0 g, 2.48 mmol) με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **31α**. Ο καθαρισμός του υπολείμματος πραγματοποιήθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα I και το επιθυμητό προϊόν **34** (0.87 g) ελήφθη υπό τη μορφή υποκίτρινου παχύρευστου ελαίου.

Απόδοση = 68%

$[\alpha]_D^{22} = -4.0^\circ$  (c = 0.5 μεθανόλη)

$\lambda_{\max}$  279 nm (ε 6448)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 514.25 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>FIN<sub>5</sub>O<sub>4</sub>

Μετρήθηκε: C 42.12

H 3.34

N 13.64

Βρέθηκε: C 42.30

H 3.53

N 13.52

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ 8.77 και 8.63 (2s, 2H, H-2,8), 8.12-8.10 (m, 2H, Bz), 7.70-7.58 (m, 3H, Bz), 5.86 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.8$  Hz, H-1'), 4.64-4.50 (m, 2H, H-2' και H-3'), 3.77 (m, 1H, H-4'), 3.65-3.45 (m, 3H, H-5' και H-6').

**9-(2',4'-Δις-Ο-ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-6'-ιωδο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (35)**

Σε διάλυμα της ένωσης **34** (0.87 g, 1.69 mmol) σε άνυδρη πυριδίνη (8.6 mL) προστέθηκε Ac<sub>2</sub>O (0.29 mL, 3.04 mmol) και το προκύπτον μίγμα αφέθηκε υπό συνεχή ανάδευση για μία νύχτα στους 4 °C. Στη συνέχεια προστέθηκε μεθανόλη (0.15 mL) για να ανακόψει την αντίδραση και οι διαλύτες απομακρύνθηκαν υπό κενό. Ακολούθησε ο καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Γ και το επιθυμητό προϊόν **35** (0.9 g) ελήφθη υπό τη μορφή λευκής σκόνης. Σημείο Τήξεως 140-143 °C.

Απόδοση = 89%

$[\alpha]_D^{22} = -2.0^\circ$  (c = 0.5 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  280 nm (ε 12921)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 598.35 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: C<sub>22</sub>H<sub>21</sub>FIN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>

Μετρήθηκε: C 44.24

H 3.54

N 11.72

Βρέθηκε: C 44.09

H 3.65

N 11.54

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.86 και 8.32 (2s, 2H, H-2,8), 8.08-8.06 (m, 2H, Bz), 7.67-7.55 (m, 3H, Bz), 5.98 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.3$  Hz, H-1'), 5.72 (m, 1H, H-2'), 5.34 (m, 1H, H-4'), 4.85 (dtr, 1H,  $J_{3',F} = 51.6$  Hz,  $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 8.9$  Hz, H-3'), 3.71 (m, 1H, H-5'), 3.42-3.23 (m, 2H, H-6a',6b'), 2.23 και 1.87 (2s, 6H, 2OAc).

**9-(2',4'-Δις-Ο-ακετυλο-3',6'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (36)**

Το παράγωγο της αδενίνης **36** συντέθηκε από την ένωση **35** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **32α**. Ο καθαρισμός του υπολείμματος πραγματοποιήθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Γ και το επιθυμητό προϊόν **36** (0.55 g) ελήφθη υπό τη μορφή υποκίτρινου παχύρευστου ελαίου.

Απόδοση = 78%

$[\alpha]_D^{22} = -3.0^\circ$  (c = 0.5 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  280 nm ( $\epsilon$  17712)

ESI-MS ( $m/z$ ): Βρέθηκε 472.42 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση:  $C_{22}H_{22}FN_5O_6$

Μετρήθηκε: C 56.05

H 4.70

N 14.86

Βρέθηκε: C 56.30

H 4.55

N 15.09

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

$\delta$  8.83 και 8.26 (2s, 2H, H-2,8), 8.05-8.03 (m, 2H, Bz), 7.62-7.16 (m, 3H, Bz), 5.88 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 9.4$  Hz, H-1'), 5.67 (m, 1H, H-2'), 5.21 (m, 1H, H-4'), 4.79 (dtr, 1H,  $J_{3',F} = 51.8$  Hz,  $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 8.9$  Hz, H-3'), 3.86 (m, 1H, H-5'), 2.18 και 1.83 (2s, 6H, 2OAc), 1.31 (d, 3H,  $J_{5',6'} = 5.5$  Hz, H-6').

**9-(4'-O-Ακετυλο-3',6'-διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (37)**

Σε διάλυμα της ένωσης **36** (0.55 g, 1.17 mmol) σε άνυδρη πυριδίνη (6.7 mL) προστέθηκαν  $NH_2OH \cdot HCl$  (0.33 g, 4.7 mmol) και  $CH_3COONa$  (0.39 g, 4.7 mmol), υπό έντονη ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά από τρεις ώρες προστέθηκε ακετόνη (0.33 mL) και οι περισσότεροι διαλύτες απομακρύνθηκαν υπό κενό. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Α και το επιθυμητό προϊόν **37** (0.25 g) ελήφθη υπό τη μορφή άχρωμου παχύρευστου ελαίου.

Απόδοση = 50%

$[\alpha]_D^{22} = +16.0^\circ$  ( $c = 0.5$  χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  280 nm ( $\epsilon$  14468)

ESI-MS ( $m/z$ ): Βρέθηκε 430.42 ( $M+H^+$ )

Στοιχειακή Ανάλυση:  $C_{20}H_{20}FN_5O_5$

Μετρήθηκε: C 55.94

H 4.69

N 16.31

Βρέθηκε: C 56.09

H 4.46

N 16.03

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.52 και 8.24 (2s, 2H, H-2,8), 7.99-7.94 (m, 2H, Bz), 7.69-7.50 (m, 3H, Bz), 5.72 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 8.2$  Hz, H-1'), 5.18 (m, 1H, H-4'), 4.80-4.66 (m, 2H, H-2' και H-3'), 3.79 (m, 1H, H-5'), 2.19 (1s, 3H, OAc), 1.28 (d, 3H,  $J_{5',6'} = 5.4$  Hz, H-6').

**9-(4',6'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκερο-εξ-3'-ενοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)-N<sup>6</sup>-βενζοϋλοαδενίνη (38)**

Το παράγωγο της αδενίνης **38** συντέθηκε από την ένωση **37** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του **33α**. Ο καθαρισμός του υπολείμματος πραγματοποιήθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Α και το επιθυμητό προϊόν **38** (0.13 g) ελήφθη υπό τη μορφή υποκίτρινου παχύρευστου ελαίου.

Απόδοση = 61%

$[\alpha]_D^{22} = -12.0^\circ$  (c = 0.5 χλωροφόρμιο)

$\lambda_{\max}$  280 nm (ε 10152)

ESI-MS (m/z): Βρέθηκε 368.34 (M+H<sup>+</sup>)

Στοιχειακή Ανάλυση: C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>

Μετρήθηκε: C 58.85

H 3.84

N 19.07

Βρέθηκε: C 58.97

H 3.73

N 19.25

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8.81 και 8.15 (2s, 2H, H-2,8), 8.08-7.43 (m, 5H, Bz), 6.70 (d, 1H,  $J_{4',F} = 10.7$  Hz, H-4'), 6.53 (s, 1H, H-1'), 5.08 (m, 1H, H-5'), 1.53 (d, 3H,  $J_{5',6'} = 5.3$  Hz, H-6').



#### IV. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Με επιτακτική την ανάγκη για την εύρεση νέων αντιικών και αντικαρκινικών παραγόντων, στην παρούσα διδακτορική διατριβή παρουσιάστηκαν οι έρευνες, οι οποίες σχετίζονται με τη σύνθεση και τη βιολογική αποτίμηση νέων τάξεων τροποποιημένων πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων.

Ειδικότερα, με βάση τις ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες των κετοακόρεστων και δεοξυ-πυρανονουκλεοζιτών σε συνδυασμό με το ότι διάφορα φυσικά αντιβιοτικά φέρουν την κυτοσίνη και την αδερίνη ως ετεροκυκλικές βάσεις και τέλος με την αύξηση της βιολογικής δράσης που επιφέρει η εισαγωγή φθορίου στο σάκχαρο ενός φουρανονουκλεοζίτη, στην παρούσα διατριβή πραγματοποιήθηκε η σύνθεση και η βιολογική αποτίμηση νέων:

- φθοριωμένων δεοξυκετο-πυρανονουκλεοζιτών που φέρουν την  $N^4$ -βενζοϋλοκυτοσίνη ως ετεροκυκλική βάση

- φθοριωμένων κετοακόρεστων νουκλεοζιτών που φέρουν την  $N^4$ -βενζοϋλοκυτοσίνη και την  $N^6$ -βενζοϋλοαδερίνη ως ετεροκυκλικές βάσεις

- φθοριωμένων δεοξυ κετοακόρεστων νουκλεοζιτών που φέρουν την  $N^4$ -βενζοϋλοκυτοσίνη και την  $N^6$ -βενζοϋλοαδερίνη ως ετεροκυκλικές βάσεις.

Για τη σύνθεση των παραπάνω νουκλεοζιτών πραγματοποιήθηκαν για πρώτη φορά οι αντιδράσεις σύζευξης φθοριωμένου ακετυλιωμένου σακχάρου με τις ετεροκυκλικές βάσεις  $N^4$ -βενζοϋλοκυτοσίνη και  $N^6$ -βενζοϋλοαδερίνη και επιτεύχθηκε η μερική αποπροστασία αυτών των νουκλεοζιτών έτσι ώστε να παραμείνουν προστατευμένες οι ετεροκυκλικές βάσεις. Για να ληφθούν τα φθοριωμένα 2'-δεοξυ-4'-κετο και 4'-δεοξυ-2'-κετοπυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα πραγματοποιήθηκε η οξείδωση πρόδρομων ενώσεων που φέρουν ελεύθερα υδροξύλια στις 4'- και 2'- θέσεις του σακχάρου και δεοξυ στις 2'- και 4'-θέσεις του σακχάρου, αντίστοιχα. Από την άλλη, για να ληφθούν τα νουκλεοζιτικά ανάλογα που φέρουν το  $\alpha,\beta$ -κετοακόρεστο σύστημα στο γλυκοζιτικό τους τμήμα, πραγματοποιήθηκε η οξείδωση μερικώς ακετυλιωμένων νουκλεοζιτικών αναλόγων, ούτως ώστε η αντίδραση οξείδωσης να λαμβάνει χώρα ταυτόχρονα με μία αντίδραση  $\beta$ -απόσπασης.

Οι βιολογικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν, απέδειξαν ότι τα νέα νουκλεοζιτικά ανάλογα διαθέτουν ενδιαφέρουσες αντιικές και αντικαρκινικές ιδιότητες. Ειδικότερα, αποδείχθηκε ότι οι παραπάνω νουκλεοζίτες μπορούν να

θεωρηθούν ελπιδοφόρα για την ανάπτυξη αντι-εντεροϊικών φαρμάκων καθώς και ότι αποτελούν εν δυνάμει αντι-αδενοκαρκινικούς παράγοντες. Επιπλέον τα νέα μόρια παρουσίασαν αξιοσημείωτη κυτταροτοξική δράση έναντι διαφόρων καρκινικών κυτταρικών σειρών και πιο συγκεκριμένα έναντι των ανθρώπινων γαστρικών καρκινικών κυττάρων (AGS), των κυττάρων καρκινώματος του στήθους (MCF-7), των κυττάρων αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου (Caco-2) και των κυττάρων μελανώματος του δέρματος. Από τις βιολογικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στους νέους κετοφθορονουκλεοζίτες, προέκυψε το συμπέρασμα ότι η ύπαρξη ενός πρωτοταγούς ελεύθερου υδροξυλίου στο σάκχαρο του νουκλεοζίτη δεν αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την εμφάνιση των βιολογικών τους ιδιοτήτων. Αντίθετα, οι ενώσεις που φέρουν μία προστατευτική ομάδα στην 6'-θέση του σακχάρου, εμφανίστηκαν να είναι πιο αποτελεσματικοί αντικαρκινικοί καθώς και αντιικοί παράγοντες. Η διαπίστωση αυτή αποτέλεσε το έναυσμα για τη σύνθεση μιας νέας τάξης ακόρεστων κετονουκλεοζιτών της  $N^4$ -βενζοϋλοκυτοσίνης και της  $N^6$ -βενζοϋλοαδενίνης που φέρουν μεθύλιο στη 5'-θέση του σακχάρου. Πράγματι τα συγκεκριμένα νουκλεοζιτικά ανάλογα εμφάνισαν αξιοσημείωτη ανασταλτική δράση έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων λευχαιμίας L1210/0 καθώς και των ανθρώπινων T-λεμφοκυττάρων Molt4/C8 και CEM/0.

Επιπλέον, οι έρευνες που πραγματοποιήθηκαν απέδειξαν ότι δύο ενώσεις που φέρουν τρία ελεύθερα υδροξύλια, φθόριο στο τμήμα του σακχάρου καθώς και την  $N^4$ -βενζοϋλοκυτοσίνη και την  $N^6$ -βενζοϋλοαδενίνη, αντίστοιχα ως ετεροκυκλικές βάσεις, μείωσαν αποτελεσματικά τη δραστηριότητα της πολυ(Α)-εξειδικευμένης ριβονουκλεάσης (PARN), που αποτελεί ένα ένζυμο-κλειδί στη διεργασία της αποικοδόμησης της πολύ(Α) ουράς.

Τέλος, τα νέα μόρια μελετήθηκαν για την αντιοξειδωτική τους δράση και αποδείχθηκε ότι η παρουσία του διπλού δεσμού σε  $\alpha,\beta$ -θέση ως προς την κετονομάδα αυξάνει την παρατηρούμενη αντιοξειδωτική δράση.

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

-Manta, S.; Agelis, G.; Botić, T.; Cencič, A.; Komiotis, D. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 980.

-Spanou, C.; Manta, S.; Komiotis, D.; Dervishi, A.; Kouretas, D. *Int. J. Mol. Sci.* **2007**, *8*, 695.

-Manta, S.; Agelis, G.; Botić, T.; Cencič, A.; Komiotis, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 420.

-Komiotis, D.; Manta, S.; Tsoukala, E.; Tzioumaki, N. *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry* **2008**, in press.

-Manta, S.; Tzioumaki, N.; Tsoukala, E.; Panagiotopoulou, A.; Pelecanou, M.; Balzarini, J.; Komiotis, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, submitted.

-Manta, S.; Tsoukala, E.; Goropevšek, A.; Pamulapati, R. T.; Cencič, A.; Komiotis, D. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, submitted.

## V. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Alaoui, M.; Lasnes, C.; Antonakis, K.; Chouroulinkov, I. *Mutagenesis* **1986**, 1, 411.
- Albright J. D.; Goldman, L. *J. Org. Chem.* **1965**, 30, 1107.
- Antonakis, K. "Hexopyranose nucleosides". In *Studies in Natural Products Chemistry, Stereoselective Synthesis (Part C)*; Elsevier, Amsterdam, **1989**, 4, p. 241.
- Antonakis, K. "Ketonucleosides". In *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, Tipson, R. S. and Horton, D. (Eds), Academic Press, New York, **1984**, 42, p. 227.
- Antonakis, K. *Carbohydr. Res.* **1972**, 24, 229.
- Antonakis, K. *Chimia* **1975**, 29, 59.
- Antonakis, K.; Arvor, M. J. *C.R. Acad. Sci.* **1971**, 272-c, 1982.
- Antonakis, K.; Bessodes, M. *Carbohydr. Res.* **1973**, 30, 192.
- Antonakis, K.; Chouroulinkov, I. *Biochem. Pharmacol.* **1974**, 23, 2095.
- Antonakis, K.; Egron, M. J. *Carbohydr. Res.* **1973**, 27, 468.
- Antonakis, K.; Leclercq, F. *C. R. Acad. Sci., Ser. C* **1970**, 271, 1197.
- Antonakis, K.; Leclercq, F. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1971**, 2142.
- Antonakis, K.; Halmos, T.; Bach, J.; Chouroulinkov, I. *Eur. J. Med. Chem.* **1980**, 15, 237.
- Arner, E. S. J.; Eriksson, S. *Pharmacol. Ther.* **1995**, 67, 155.
- Augustine, R. J.; Trecker D. J. *Oxidation*, Marcel Dekker, New York, **1971**.
- Augustyns, K.; Rozenski, J.; Van Aerschot, A.; Janssen, G.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 2977.
- Augustyns, K.; Rozenski, J.; Van Aerschot, A.; Busson, R.; Claes, P.; Herdewijn, P. *Tetrahedron* **1994**, 50, 1189.
- Augustyns, K.; Vandendriessche, F.; Van Aerschot, A.; Busson, R.; Urbanke, C.; Herdewijn, P. *Nucleic Acids Res.* **1992**, 20, 4711.
- Azuma, A.; Hanaoka, K.; Kurihara, A.; Kobayashi, T.; Miyaushi, S.; Kamo, N.; Tanaka, M.; Sasaki, T.; Matsuda, A. *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 3391.
- Azuma, A.; Nakajima, Y.; Nishizono, N.; Minakawa, N.; Suzuki, M.; Hanaoka, K.; Kobayashi, T.; Tanaka, M.; Sasaki, T.; Matsuda, A. *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 4183.

- Baker, C. D.; Horton, D.; Tindall, C. G. *Carbohydr. Res.* **1972**, *24*, 192.
- Baker, C. H.; Banzon, J.; Bollinger, J. M.; Stubbe, J.; Samano, V.; Robins, M. J. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 1879.
- Balatsos, N. A. A.; Anastasakis, D.; Stathopoulos, C. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2008**, in press.
- Balzarini, J. *Pharmacy World Sci.* **1993**, *16*, 113.
- Barton, D. H. R.; McCombie, S. W. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1975**, *1*, 1574.
- Beppu, T. M.; Nose, K.; Arima, K. *Agr. Biol. Chem. (Tokyo)* **1968a**, *32*, 197.
- Bessodes, M.; Komiotis, D.; Antonakis, K. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 579.
- Bessodes, M.; Lakaf, R.; Antonakis, K. *Carbohydr. Res.* **1986**, *148*, 148.
- Blackburn, G. M.; Gait, M. J. "Nucleic Acids in Chemistry and Biology", Oxford University Press, New York, **1996**.
- Blandin, M.; Son, T. D.; Catlin, J. C.; Guschlbauer, W. *Biochim. Biophys. Acta* **1974**, *361*, 249.
- Blinckenstaff, R. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 3673.
- Bloch, A.; Nichol, C. A. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1964**, 530.
- Bloomfield, V. A.; Crothers, D. M.; Tinoco, I. "Nucleic Acids: Structure, Properties and Functions", University Science Books, Sausalito, California, **1999**.
- Butterworth R. F.; Hanessian, S. *Synthesis*, **1971**, 70.
- Byramova, N. E.; Ovchinnikov, M. V.; Bachinowsky, L. V.; Kotchetkov, N. K. *Carbohydr. Res.* **1983**, *124*, c8-c11.
- Chien, T. C.; Chen, C. S.; Chern, J. W. *J. Chin. Chem. Soc.* **2005**, *52*, 1236.
- Chinn L. J. "Selection of Oxidants in Synthesis", Marcel Dekker, **1971**, New York.
- Chong, Y.; Choo, H.; Lee, S.; Choi, Y.; Shcinazi, R. F.; Chu, C. K. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 4888.
- Chouroulinkov, I.; Antonakis, K. *C. R. Acad. Sci. Hebd Seances Acad. Sci. D.* **1977**, *285*, 1021.
- Clark, J. L.; Mason, J. C.; Hollecker, L.; Stuyver, L. J.; Tharnish, P. M.; McBrayer, T. R.; Otto, M. J.; Furman, A. P.; Schinazi, R. F.; Watanabe, K. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 1712.
- Classon, B.; Garegg, P. J.; Samuelsson, B. *Can. J. Chem.* **1981**, *59*, 339.
- Collins, P. M. *Tetrahedron* **1965**, *21*, 1809.
- Cook, A. F.; Moffatt, J. G. *J. Amer. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 2697.

- Cory, A. H.; Samano, V.; Robins, M. J.; Cory, J. G. *Biochem. Pharmacol.* **1994**, *47*, 365.
- Coutsogeorgopoulos, C.; Block, A.; Watanabe, K. A.; Fox, J. J. *J. Med. Chem.* **1985**, *18*, 771.
- Daluge, S. M.; Purifoy, D. J.; Savina, P. M.; St. Clair, M. H.; Parry, N. R.; Dev, I. K.; Novak, P.; Ayers, K. M.; Reardon, J. E.; Roberts, G. B.; Fyfe, J. A.; Blum, M. R.; Averett, D. R.; Dornsife, R. E.; Domin, B. A.; Ferone, R.; Lewis, D. A.; Krenitsky, T. A. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1994**, *38*, 1590.
- Dunkel, M.; Pfeleiderer, W. *Nucleosides Nucleotides* **1992**, *11*, 787.
- Elhalabi, J.; Rice, K. G. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids* **2004**, *23*, 195.
- Elion, G. B. *Science* **1989**, *244*, 41.
- Evans, M. E. *Carbohydr. Res.* **1972**, *21*, 473.
- Faderl, S.; Gandhi, V.; Kantarjian, H.; Plunkett, W. *Cancer Chemother. Biol. Response Modif.* **2002**, *2002*, 37.
- Faderl, S.; Gandhi, V.; Keating, M. J.; Jeha, S.; Plunkett, W.; Kantarjian, H. *Cancer* **2005**, *103*, 1001.
- Failla, D. L.; Hullar, T. L.; Siskin, S. B. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1966**, 716.
- Foster, A. B.; Hems, R.; Webber, J. M. *Carbohydr. Res.* **1967**, *5*, 292.
- Fox, J. J.; Kuwada, Y.; Watanabe, K. A. *Tetrahedron Lett.* **1972**, *94*, 3272.
- Fuentes, J.; Angulo, M.; Pradera, M. A. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 2577.
- Garegg, P. J.; Samuelsson, B. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1980**, 2866.
- Garegg, P. J.; Johansson, R.; Orhega, C.; Samuelsson, B. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1982**, 681.
- Garegg, P. J.; Samuelsson, B. *Synthesis* **1979**, 469.
- Goldstein, Y.; Cheung, Y.; Marletta, M. A.; Walsh, C. *Biochemistry* **1978**, *17*, 5567.
- Gosselin, G.; Bergogne, M. C.; Imbach, J. L. *Nucleosides Nucleotides* **1984**, *3*, 265.
- Gumina, G.; Song, G. Y.; Chu, C. K. *FEMS Microbiology Letters* **2001**, *202*, 9.
- Halmos, T.; Antonakis, K. *Carbohydr. Res.* **1975**, *43*, 208.
- Halmos, T.; Antonakis, K. *Carbohydr. Res.* **1979**, *68*, 61.
- Halmos, T.; Cardon, A.; Antonakis, K. *Chem. -Biol. Interactions* **1983**, *46*, 11.
- Hanessian, S. *Carbohydr. Res.* **1966**, *2*, 86.

- Hanessian, S.; Plessas, N. R. *J. Org. Chem.* **1969**, 34, 1035.
- Haouz, A.; Vanheusden, V.; Munier-Lechman, H.; Froeyen, M.; Herdewijn, P.; Van Galenbergh, S.; Delarue, M. *J. Biol. Chem.* **2003**, 278, 4963.
- Herdewijn, P.; De Clercq, E. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, 11, 1591.
- Herdewijn, P.; Van Aerschot, A.; Kerremans, L. *Nucleosides Nucleotides* **1989**, 8, 65.
- Herscovici, J.; Antonakis, K. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1979**, 12, 561.
- Herscovici, J.; Antonakis, K. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1974**, 1, 979.
- Herscovici, J.; Argouillon, J. M.; Egron, M. J.; Antonakis, K. *Carbohydr. Res.* **1983**, 112, 301.
- Hosono, A.; Fujii, K.; Tada, T.; Ohyo, Y.; Ishido, Y.; Sato, T. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **1973**, 46, 2818.
- Humoller, F. L. *Methods Carbohydr. Chem.* **1962**, 1, 102.
- Ishido, Y. *Bull. Inst. Technology, Tokyo*, **1964**, 57, 109.
- Khan, A. R.; Mulligan, K. X.; Redda, K. K.; Ollapally, A. P. *Synth. Commun.* **2002**, 32, 1023.
- Kohli, V.; Blocker, H.; Koster, H. *Tetrahedron Lett.* **1980**, 21, 2683.
- Komiotis, D.; Agelis, G.; Manta, S.; Tzioumaki, N.; Tsoukala, E. *J. Carb. Chem.* **2006**, 25, 441.
- Komiotis, D.; Delatre, S.; Holt, L.; Ollapally, A.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Ligo, M. *Nucleosides Nucleotides* **1991**, 10, 431.
- Komiotis, D.; Lim, C. T.; Dieter, J. P.; Le Breton, G. C.; Venton, D. L. *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 3033.
- Komiotis, D.; Manta, S.; Tsoukala, E.; Tzioumaki, N. *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry* **2008** (in press).
- Kumar, P.; Ohkura, K.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Seki, K.; Wiebe, L. I. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids* **2004**, 23, 7.
- Kunesch, N.; Meit, C.; Poisson, J. *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 3569.
- Lakaf, R. Doctorat de chimie organique, L' universite de Paris VII **1987**.
- Langen, P.; Etzold, G. *Mol. Pharmacol.* **1966**, 2, 89.
- Leclercq, F.; Antonakis, K. *Carbohydr. Res.* **1988**, 181, 217 and references cited therein.
- Leclercq, F.; Antonakis, K. *Carbohydr. Res.* **1989**, 193, 307.

- Lee, K.; Choi, Y.; Gullen, E.; Schlueter-Wirtz, S.; Shcinazi, R. F.; Cheng, Y. C.; Chu, C. K. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1320.
- Lee, K.; Choi, Y.; Gumina, G.; Zhou, W.; Shcinazi, R. F.; Chu, C. K. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1313.
- Lin, T. S.; Luo, M. Z.; Liu, M. C.; Clarkatzenburg, R. H.; Cheng, Y. C.; Prusoff, W. H.; Mancini, W. R.; Birnbaum, G. I.; Gabe, E.; Giziewicz, J. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2607.
- Lipnick, R. L.; Fissekis, J. D. *Biochim. Biophys. Acta* **1980**, *608*, 96.
- MacCoss, M.; Robins, M. J. "Anticancer Pyrimidines, Pyrimidine Nucleosides and Prodrugs". In the chemistry of Antitumor Agents; Wilman, D. E. V. Ed.; Chapman and Hall: New York, **1990**, p. 261.
- Matsuda, A.; Azuma, A. *Nucleosides Nucleotides* **1995**, *14*, 461.
- Matsuda, A.; Nakajima, Y.; Azuma, A.; Tanaka, M.; Sasaki, T. *J. Med. Chem.* **1991b**, *34*, 2917.
- Matsuda, A.; Sasaki, T. *Cancer Sci.* **2004**, *95*, 105.
- Matsuda, A.; Takenuki, K.; Sasaki, T.; Ueda, T. *J. Med. Chem.* **1991a**, *34*, 812.
- Matthes, E.; Scholz, D.; Sydow, G.; Von Janta-Lipinski, M.; Rosenthal, H. A.; Langen, P. Z. *Klin. Med.* **1990**, *45*, 1255.
- Maurinsh, Y.; Schraml, J.; De Winter, H.; Blaton, N.; Peeters, O.; Lescrinier, E.; Rozenski, J.; Van Aerschot, A.; De Clercq, E.; Busson, R.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 2861.
- Milecki, J.; Foldesi, A.; Fischer, A.; Adamiak, R. W.; Chattopadhyaya, J. *J. Labelled Cpd Radiopharm.* **2001**, *44*, 763.
- Milecki, J.; Zamaratski, E.; Maltseva, T. V.; Földesi, A.; Adamiak, R. W.; Chattopadhyaya, J. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 6603.
- Morton, G. O.; Lancaster, J. E.; Van Lear, G. E.; Fulmor, W.; Meyer, W. E. *J. Amer. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 1535.
- Murray-Rust, P.; Stallings, W. C.; Monti, C. T.; Preston, R. K.; Glusker, J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 3206.
- Nayak, V. G.; Whistler, R. L. *J. Org. Chem.* **1969**, *34*, 3819.
- Neilson, T.; Werstiuk, E. S. *Can. J. Chem.* **1971**, *49*, 493.
- Ness, R. K. "Synthetic procedures in nucleic acid chemistry" In Zorbach, W. W.; Tipson, R. S. Eds.; Interscience, New York, **1968**, *1*, p. 185.
- Niedballa, U.; Vorbruggen, H. *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 3654.



- Nord, D. L.; Dalley, N. K.; Mc Kernan, P. A.; Robins, R. K. *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 1044.
- Ollapally, A. P.; Dorange, I. B.; Whitaker, T. L. *Nucleosides & Nucleotides* **1999**, *18*, 703.
- Ostrowski, T.; Wroblowski, B.; Busson, R.; Rozenski, J.; De Clercq, E.; Bennet, M. S.; Champness, J. N.; Summers, W. C.; Sanderson, M. R.; Herdewijn, P. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 4343.
- Pankiewicz, K.W. *Carbohydr. Res.* **2000**, *327*, 87.
- Parker, W. B.; Secrist, J. A. III.; Waud, W. R. *Curr. Opin. Investig. Drugs* **2004**, *5*, 592.
- Pastor-Anglada, M.; Felipe, A.; Casado, J. *TiPS* **1998**, *19*, 424.
- Paterson, J.; Uriel, C.; Egron, M. J.; Herscovici, J.; Antonakis, K.; Alaoui, M. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1998**, *42*, 779.
- Perigaud, C.; Gosselin, G.; Imbach, J. L. *Nucleosides Nucleotides* **1992**, *11*, 903.
- Peska, S. *Cold Spring Harbor Symp.* **1970c**, *34*, 395.
- Plattner, J. J.; Gless, R. D.; Rapoport, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 8613.
- Plunkett, W.; Huang, P.; Xu, Y. Z.; Heinemann, V.; Grunewald, R.; Gandhi, V. *Semin. Oncol.* **1995**, *22*, 3-10 (suppl 11) and references cited therein.
- Pui, C. H.; Jeha, S.; Kirkpatrick, P. *Nat. Rev. Drug Disc.* **2005**, *4*, 369.
- Reichman, U.; Watanabe, K. A.; Fox, J. J. *Carbohydr. Res.* **1975**, *42*, 233.
- Robins, M. J.; Samano, V.; Zhang, W.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Borechardt, R. T.; Lee, Y.; Yuan, C. S. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 2283.
- Robins, M. J.; Wilson, J. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 932.
- Robins, M. J.; Wilson, J. S.; Hansske, F. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *153*, 4059.
- Robins, R. K.; Kini, G. D. "Purines and Purine Nucleoside Analogues as Antitumor Agents". In *The Chemistry of Antitumor Agents*; Wilman, D. E. V. Ed.; Chapman and Hall: New York, **1990**, p.299.
- Saenger, W. "Principles of Nucleic Acid Chemistry", Springer-Verlag, New York, **1984**.
- Sato, H.; Furimata, K.; Yonehaka, H. *J. Antibiot.* **1976**, *29*, 595.
- Sato, T.; Shimadatte, T.; Ishido, Y. *Nippon Kagaku Zasshi* **1960**, *81*, 1440.
- Sato, T.; Shimadatte, T.; Ishido, Y. *Nippon Kagaku Zasshi* **1961**, *82*, 938.
- Secrist, J. A. *Nucleic Acids Symposium Series* **2005**, *49*, 15.

- Someya, H.; Shaddix, S. C.; Tiwari, K. N.; Secrist, J. A. III. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2003**, *304*, 1314.
- Still, W. C.; Khan, M.; Mitra, A. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923.
- Suhadolnik, R. J. *Nucleoside Antibiotics*, Wiley-Interscience, New York, **1970**.
- Suhadolnik, R. J. *Nucleosides as biological Probes*, Wiley and Sons, New York, **1979**.
- Takenuki, K.; Matsuda, A.; Ueda, T.; Sasaki, T.; Fujii, A.; Yamagami, K. *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 1063.
- Tanaka, M.; Matsuda, A.; Terao, T.; Sasaki, T. *Cancer Lett.* **1992**, *64*, 67.
- Ternansky, R. J.; Hertel, L. W. "Organofluorine Compounds in Medicinal Chemistry and Biomedical Applications". Filler, R.; Kobayashi, Y.; Yagupolski, L.M. (Eds), Elsevier, Amsterdam, **1993**, p. 23.
- Tewson, T. J.; Welsh, M. J. *J. Org. Chem.*, **1978**, *43*, 1090.
- Tiwari, K. N.; Shortnacy-Fowler, A. T.; Cappellacci, L.; Parker, W. B.; Waud, W. R.; Montgomery, J. A.; Secrist, J. A. III. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids* **2000**, *19*, 2005.
- Tsuchiya, T. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1990**, *48*, 91.
- Van Aerschot, A.; Herdewijn, P.; Balzarini, J.; Pawels, R.; De Clercq, E. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 1743.
- Vastmans, K.; Froeyen, M.; Kerremans, L.; Pochet, S.; Herdewijn, P. *Nucleic Acids Res.* **2001**, *29*, 3154.
- Vastmans, K.; Pochet, S.; Peys, A.; Kerremans, L.; Van Aerschot, A.; Hendrix, C.; Marliere, P.; Herdewijn, P. *Biochemistry* **2000**, *39*, 12757.
- Verheggen, I.; Van Aerschot, A.; Toppet, S.; Snoeck, R.; Janssen, G.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Herdewijn, P. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 2033.
- 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.
- Vorbruggen, H.; Hofle, G. *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 1256.
- Wagner, C. R.; Iyer, V. V.; McIntee, E. J. *Med. Res. Rev.* **2000**, *20*, 417.
- Watanabe, K. A.; Falco, E. A.; Fox, J. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *94*, 3272.
- Watanabe, K. A.; Hollenberg, D. H.; Fox, J. J. *J. Carb. Nucleos. Nucleot.* **1974**, *1*, 1.

- Waud, W. R.; Gilbert, K. S.; Shepherd, R. V.; Montgomery, J. A.; Secrist, J. A. III. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2003**, *5*, 422.
- Whistler, R. L.; Doner, L. W. *J. Org. Chem.* **1970**, *35*, 3562.
- Wolfrom, M. L.; Bernsmann, J.; Horton, D. *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 4505.
- [www.cf.ac.uk/phrmy/ChemEd/presentations.html](http://www.cf.ac.uk/phrmy/ChemEd/presentations.html)
- Yamagami, K.; Fujii, A.; Arita, M.; Okumoto, T.; Sakata, S.; Matsuda, A.; Ueda, T.; Sasaki, T. *Cancer Res.* **1991**, *51*, 2319.
- Zhou, W.; Gumina, G.; Chong, Y.; Wang, J.; Schinazi, R. F.; Chu, C. K. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 3399.
- Zinner, H.; Wulf, G.; Heinatz, R. *Chem. Ber.* **1964**, *97*, 3536.