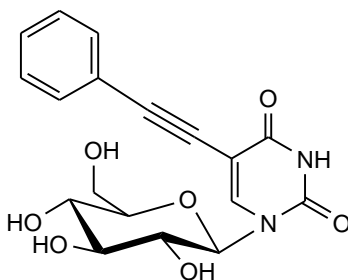




ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

**Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών του Τμήματος Βιοχημείας και
Βιοτεχνολογίας
ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ-ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

ΓΚΑΡΑΓΚΟΥΝΗ ΔΗΜΗΤΡΑ-ΝΙΚΗ



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

“Σύνθεση και βιολογική αποτίμηση C5-υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτών”

ΛΑΡΙΣΑ 2013

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

“Σύνθεση και βιολογική αποτίμηση C5-υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτών”

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

- **Κομιώτης Δημήτριος** – Καθηγητής Οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
- **Μαρκουλάτος Παναγιώτης**– Καθηγητής Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
- **Μπαλατσός Νικόλαος**— Επίκουρος Καθηγητής Βιοχημείας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Οργανικής Χημείας κ. Κομιώτη Δημήτριο τον οποίο θα ήθελα να ευχαριστήσω για τις εποικοδομητικές του υποδείξεις.

Επίσης θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στη μεταδιδακτορική ερευνήτρια κ. Μαντά Στυλιανή για την πολύτιμη βοήθεια της, καθώς επίσης την υποψήφια διδάκτορα κ. Δημοπούλου Αθηνά και τον υποψήφιο διδάκτορα κ. Κυρίτση Χρήστο.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλο το προσωπικό και τα μέλη εργαστηρίου για την υποδοχή και το ευχάριστο κλίμα συνεργασίας που φρόντισαν να επικρατεί καθ'όλη τη διάρκεια.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. Εισαγωγή	9
1.1. Νουκλεοζίτες και ανάλογά τους	9
1.2. Θεραπευτικός τρόπος δράσης των νουκλεοζιτών	10
1.2.1. Αντιϊικά νουκλεοζιτικά ανάλογα	12
1.2.2. Αντικαρκινικά νουκλεοζιτικά ανάλογα	15
1.2.3. Νουκλεοζιτικά ανάλογα με σάκχαρο μια εξόζη	21
2. Ειδικό μέρος	26
2.1. Στόχος-σκοπός μελέτης	26
3. Υλικά και μέθοδοι	29
3.1. Υλικά σύνθεσης των νουκλεοζιτικών αναλόγων	29
3.2. Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας	29
3.3. Χρωματογραφία στήλης	29
3.4. Ξήρανση διαλυτών	30
3.5. Ταυτοποίηση ενώσεων	31
4. Μέθοδοι	31
4.1. Επισκόπηση της συνθετικής οδού	31
4.2. Μεθοδολογία της σύνθεσης	32
4.2.1. Σύνθεση των 1-(2',3',4',6'-τετρα-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο) νουκλεοζιτών της 5-ιωδοουρακίλης 2a και της 5-ιωδοκυτοσίνης 2b	33
4.2.2. Σύνθεση των 1-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο) νουκλεοζιτών της 5-ιωδοουρακίλης 3a και της 5-ιωδοκυτοσίνης 3b	34
4.2.3. Σύνθεση 1-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-φαινυλοαιθυνοουρακίλης 4a	35

4.2.4. Σύνθεση 1-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(p-πεντυλοφαινυλο)αιθυνο] ουρακίλης 5a	36
4.2.5. Σύνθεση 1-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(4-τετρα-βουτυλοφαινυλο)αιθυνο] ουρακίλης 6a	37
4.2.6. Σύνθεση 1-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-φαινυλοαιθυνοκυτοσίνης 4b	38
4.2.7. Σύνθεση 1-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(p-πεντυλοφαινυλο)αιθυνο]κυτοσίνης 5b	39
4.2.8. Σύνθεση 1-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(4-τετρα-βουτυλοφαινυλο)αιθυνο]κυτοσίνης 6b	40
4.2.9. Σύνθεση 1-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-πεντυνοκυτοσίνης 7b	41
4.2.10. Σύνθεση 1-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-επτυνοκυτοσίνης 8b	42
4.2.11. Σύνθεσης 1-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-(τριμεθυλοσιλ)αιθυνοκυτοσίνης 9b	43
4.2.12. Σύνθεση 1-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-αιθυνοκυτοσίνης 10b	44
4.2.13. Σύνθεση 1-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-φαινυλοαιθυνοουρακίλης 11	45
5. Ταυτοποίηση ενώσεων με ¹ HNMR.....	47
6. Αποτελέσματα – Συζήτηση.....	49
7. Βιβλιογραφία.....	52

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι υδατάνθρακες απαντούν σε κάθε ζωντανό οργανισμό και αναφέρονται σε μια ευρεία κατηγορία πολυυδροξυλιωμένων αλδεϋδών και κετονών, που ονομάζονται κοινώς σάκχαρα. Τροποποιημένοι υδατάνθρακες συνιστούν μέρος του περιβλήματος των κυττάρων, άλλοι απαντούν στα μόρια του DNA που μεταφέρουν γενετικές πληροφορίες, ενώ άλλοι χρησιμοποιούνται ως φάρμακα.

Οι τροποποιημένοι νουκλεοζίτες αποτελούν ένα σημαντικό ερευνητικό πεδίο καθώς εμφανίζουν σημαντική αντικαρκινική, αντιϊκή και αντιβιοτική δράση. Μια πολύ ενδιαφέρουσα κατηγορία αυτών είναι οι νουκλεοζίτες που φέρουν δομικές τροποποιήσεις στο τμήμα της βάσης. Πολλές τέτοιες ενώσεις έχουν συντεθεί και έχουν αξιολογηθεί για τις πιθανές βιολογικές τους ιδιότητες .

Στην παρούσα διπλωματική εργασία περιγράφεται η σύνθεση C5-υποκατεστημένων πυρανονουκλεοζιτών. Αναλύονται οι συνθετικές οδοί που ακολουθηθήκαν για την παρασκευή τους, η μέθοδος ταυτοποίησης τους καθώς και η βιολογική τους αποτίμηση.

ABSTRACT

Carbohydrates are found in every living organism and refer to a broad class of polyhydroxylated aldehydes and ketones, commonly called sugars. Modified carbohydrates constitute part of the enclosure of the cells occurring in other DNA molecules that carry genetic information, while others are used as medicines.

The modified nucleosides are an important area of research as showing significant antitumor, antiviral and antibiotic action. A very interesting class of these nucleosides bear structural modifications to the base portion. Many compounds have been synthesized and assessed for their possible biological properties. This dissertation describes the synthesis of a novel series of C5-substituted pyranonucleosides of uracil and cytosine.

Analyzing the synthetic routes used for their preparation, the method of their identification and their biological evaluation.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

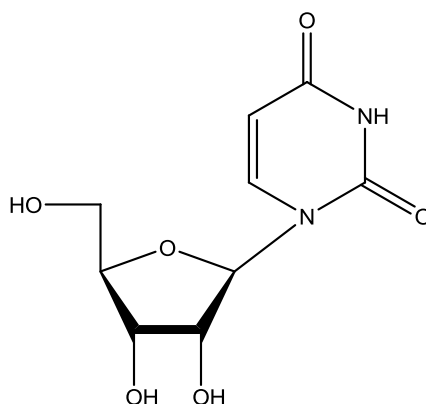
1.1 Νουκλεοζίτες και ανάλογά τους

Οι νουκλεοζίτες αποτελούν θεμελιώδη συστατικά των διαφόρων βιολογικών συστημάτων. Απαντώνται σε όλους τους οργανισμούς στη φύση διότι αποτελούν πρόδρομες ενώσεις των νουκλεοτιδίων, των βασικών δομικών μονάδων του γενετικού υλικού, καθώς επίσης και το υπόστρωμα των πολυμερασών για τη σύνθεση DNA και RNA. Έχει βρεθεί ότι οι νουκλεοζίτες επιδεικνύουν σημαντική αντικαρκινική, αντιβακτηριδιακή και αντιϊκή δράση (Zhou W. et al, 2004; Perigaud C. et al, 1992). Ιδίως τις τελευταίες δυο δεκαετίες η σύνθεση και η μελέτη των νουκλεοζιτών έχει ανέλθει κατακόρυφα με στόχο τη θεραπεία του ιού HIV (Verheggen I. et al, 1993), του έρπητα (Zhou W. et al, 2004; De Clercq E, 2002) και της ηπατίτιδας (Brady RC, et al, 2004).

Ο νουκλεοζίτης αποτελείται από μια πουρινική (αδείνη, γουανίνη) ή πυριμιδινική (θυμίνη, ουρακίλη, κυτοσίνη) βάση ενωμένη με μια πεντόζη. Αναλόγως αν η πεντόζη είναι η ριβόζη ή η δεοξυριβόζη, ο νουκλεοζίτης καλείται ριβονουκλεοζίτης ή δεοξυριβονουκλεοζίτης. Η ένωση νουκλεοζίτη με φωσφορικό οξύ ονομάζεται νουκλεοτίδιο (ή εστέρας του νουκλεοζίτη) το οποίο πάλι αναλόγως τη φύση της πεντόζης καλείται ριβονουκλεοτίδιο ή δεοξυριβονουκλεοτίδιο. Πολλά νουκλεοτίδια που ενώνονται μεταξύ τους με φωσφοδιεστερικούς δεσμούς αποτελούν τις δομικές μονάδες των νουκλεϊκών οξέων. Η φωσφορική ομάδα στην 5' θέση ενός νουκλεοτιδίου εστερεοποιείται με την ελεύθερη υδροξυλομάδα στην 3' θέση του επόμενου νουκλεοτιδίου, κ.ο.κ. Μ'αυτόν τον τρόπο δημιουργούνται δινουκλεοτίδια, τρινουκλεοτίδια, τετρανουκλεοτίδια, ολιγονουκλεοτίδια και τέλος, πολυνουκλεοτίδια. Δημιουργείται στα νουκλεϊνικά οξέα ένα μόρφωμα που έχει ως ραχοκοκαλιά μια αλληλουχία από φωσφορικά και ριβόζες που επάνω τους είναι αγκιστρωμένες οι βάσεις πουρίνης και πυριμιδίνης. Ανάλογα αν το νουκλεϊκό οξύ περιέχει D-ριβόζη ως υδατάνθρακα, ονομάζεται ριβονουκλεϊνικό οξύ, ενώ αν περιέχει D-2-δεοξυριβόζη ονομάζεται δεοξυριβονουκλεονικό οξύ, τα γνωστά RNA και DNA, αντίστοιχα (Γεωργάτσου, 1993).

Στους νουκλεοζίτες η ετεροκυκλική βάση ενώνεται στη θέση 1' της πεντόζης με β-N-γλυκοζιτικό δεσμό, κατά τον οποίο η βάση βρίσκεται πάνω από το

επίπεδο του σακχάρου. Οι *N*-γλυκοζιτικοί δεσμοί σε όλα τα φυσικά μακρομόρια έχουν στερεοδιάταξη β (σχήμα 1).



Σχήμα 1. Ουριδίνη (U)

Η χημεία των νουκλεοζιτών αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά αντικείμενα στην οργανική σύνθεση . Μεγάλος αριθμός ερευνητικών προγραμμάτων εστιάζεται στη μελέτη, σύνθεση και βιολογική ταυτοποίηση νουκλεοζιτών και νουκλεοζιτικών αναλόγων. Επίσης, βασιζόμενοι στο γεγονός ότι πολλά φυσικά αντιβιοτικά με σημαντική αντιϊκή και αντικαρκινική δράση περιέχουν στη δομή τους νουκλεοζίτες συνδεδεμένους με ολιγοσακχαρίτες, έχουν γίνει τροποποιήσεις δομής τόσο στο τμήμα της βάσης όσο και του σακχάρου των φυσικών νουκλεοζιτών με απώτερο σκοπό να διευρυνθεί το φάσμα των θεραπευτικών δραστηριοτήτων τους.

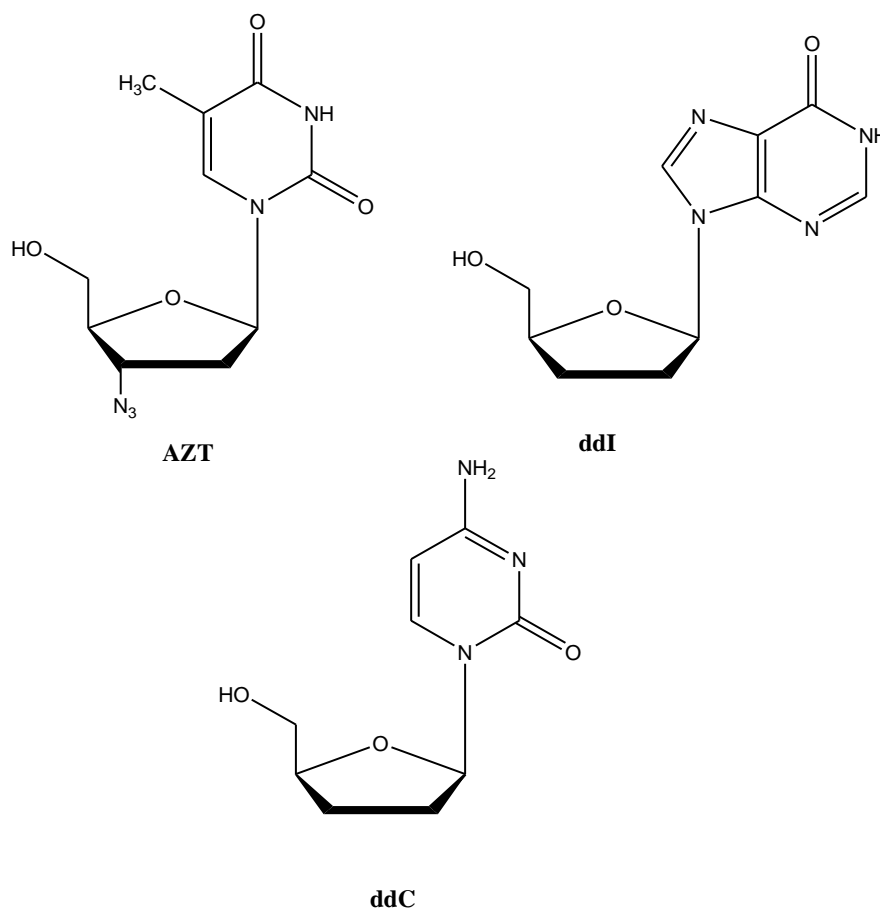
1.2 Θεραπευτικός τρόπος δράσης των νουκλεοζιτών

Τα αντιϊκά φάρμακα σχεδιάζονται με βάση τις διαδικασίες κύκλου ζωής ενός ιού (Clercq et al. 2002). Οι διαδικασίες αυτές περιλαμβάνουν την προσρόφηση του ιού στο κύτταρο, την συγχώνευσή του σε αυτό, την σύνθεσή του ιϊκού DNA και RNA και τέλος τις λειτουργίες των ενζύμων του ιού. Σκοπός των αντιϊκών φαρμάκων είναι η ανασταλτική τους δράση σε μία ή και περισσότερες από τις παραπάνω διαδικασίες του κύκλου ζωής του ιού, συνήθως στη σύνθεση του ιϊκού DNA και RNA.

Ο κύριος λόγος που τα νουκλεοζιτικά ανάλογα χρησιμοποιούνται ευρέως στην αντιμετώπιση του καρκίνου και του AIDS, είναι η δυνατότητα τους να τροποποιούνται δομικά, ώστε να προκύπτουν φαρμακολογικά ενεργά παράγωγα, τα οποία διατηρώντας περισσότερες από τις μεταβολικές ιδιότητες των μητρικών ενώσεων, μπορούν να μεταφερθούν μέσα στο κύτταρο και να μεταβολιστούν. Παρεμβαίνουν στη σύνθεση των νουκλεϊκών οξέων και προωθούν είτε αντιπλλασιαστικές λειτουργίες, είτε την αντίσταση στην αντιγραφή του ιού στα μολυσμένα κύτταρα (Pastor-Anglada et al. 1998)

Τα αντικαρκινικά και αντιικά νουκλεοζιτικά ανάλογα είναι ανενεργά προφάρμακα, που εξαρτώνται από την ενδοκυττάρια φωσφορυλίωση για τη φαρμακολογική τους δράση (Arner and Eriksson, 1995). Τα μη φωσφορυλιωμένα νουκλεοζιτικά ανάλογα εισάγονται στο κύτταρο από πρωτεΐνες-μεταφορείς νουκλεοζιτών, διαπερνώντας την κυτταρική μεμβράνη. Φωσφορυλιώνονται στη συνέχεια 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

Για να επιτευχθεί η πρώτη φωσφορυλίωση που οδηγεί στο σχηματισμό του 5'-μονοφωσφορικού νουκλεοζίτη (MP) συνήθως καταλύεται από μία νουκλεοζιτική κινάση. Η συγκεκριμένη κινάση κωδικοποιείται από το κύτταρο-ξενιστή ή τον ιό που μολύνει το κύτταρο-ξενιστή (Balzarini 1993, Wagner et al. 2000). Οι μονοφωσφορικοί νουκλεοζίτες (MP) μετατρέπονται προς τις αντίστοιχες 5'-διφωσφορικές και τριφωσφορικές δομές τους καταλυόμενοι από νουκλεοτιδικές κινάσες, καθώς και νουκλεοζιτικές διφωσφορικές κινάσες, αντίστοιχα (Σχήμα 2). Συνεπώς, τόσο οι κυτταρικές όσο και οι ιικές κινάσες διαδραματίζουν ζωτικό ρόλο στο μεταβολισμό και την αντιγραφή των κυττάρων και των ιών.

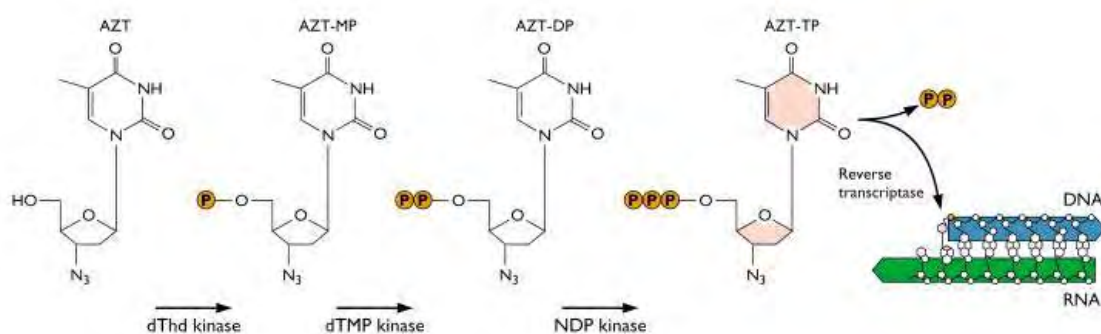


Σχήμα 3. Χημικές δομές των **AZT**, **ddI**, **ddC**

Πρόκειται για 2',3'-διδεοξυνουκλεοζίτες που προκύπτουν από την απομάκρυνση των υδροξυλομάδων από τις 2',3' - θέσεις του δακτυλίου της ριβόζης. Δρουν σαν αναστολείς της αντίστροφης μεταγραφάσης (Hiroguki et al. 2004). Η αντίστροφη μεταγραφάση είναι το ένζυμο που χρησιμοποιεί ο ιός για να συνθέσει το νέο DNA με μήτρα το ιϊκό RNA. Το ένζυμο αυτό συνθέτει μια αλυσίδα DNA συμπληρωματική με το RNA. Τα συγκεκριμένα ανάλογα νουκλεοζιτών αναστέλλουν τη δράση της αντίστροφης μεταγραφάσης, εμποδίζοντας έτσι την παραγωγή του ιϊκού DNA.

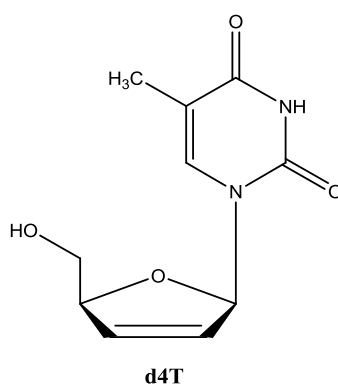
Το AZT (3'-αζιδο-2'-δεοξυθυμιδίνη) ήταν το πρώτο εγκεκριμένο φάρμακο για τη θεραπεία του AIDS (www.virology.ws/2009/12/08/azt-inhibits-xmrv/). Φωσφορυλιώνεται από τα κυτταρικά ένζυμα στην ενεργή του μορφή και δρα ως αναστολέας της αντίστροφης τρανσκριπτάσης τερματίζοντας την αλυσίδα μόλις συνδεθεί στο DNA (σχήμα 4). Επειδή έχει την αζιδο ομάδα αντί για την

υδροξυλομάδα, η επόμενη βάση δεν μπορεί να ενωθεί και η σύνθεση της αλυσίδας τερματίζεται.



Σχήμα 4. Τερματισμός της αλυσίδας του ιικού DNA από το φωσφορυλιωμένο AZT

Το συνθετικό ενδιαφέρον στράφηκε επίσης στους 2',3'-ακόρεστους νουκλεοζίτες, όπου η 3'-δεοξυ-2',3'-διδεϋδροθυμιδίνη (d4T) δρα επίσης σαν αναστολέας της αντίστροφης τρανσκριπτάσης στην θεραπεία κατά του AIDS (Brossette et al. 2001). Η χημική δομή του d4T απεικονίζεται στο σχήμα 5 της επόμενης σελίδας :

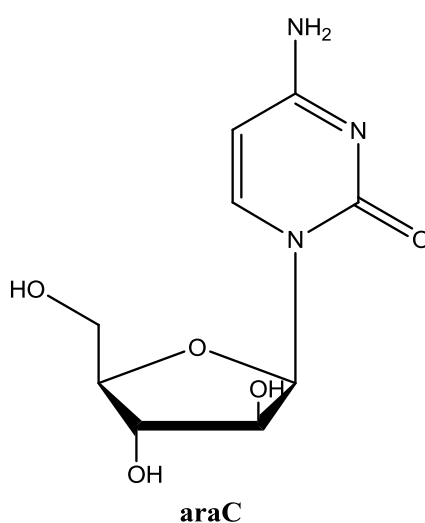


Σχήμα 5. Χημική δομή της **D4T**

1.2.2 Αντικαρκινικά νουκλεοζιτικά ανάλογα

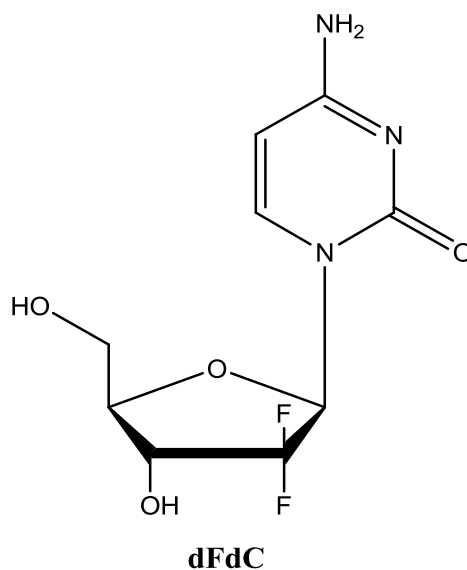
Πυριμιδινικά αλλά και πουρινικά νουκλεοζιτικά ανάλογα χρησιμοποιούνται ήδη σαν αντιμεταβολίτες έναντι του καρκίνου. Οι αντιμεταβολίτες είναι μια οικογένεια φαρμάκων που επηρεάζουν την ανάπτυξη του DNA και του RNA των καρκινικών κυττάρων.

Ένα από τα πρώτα πυριμιδινικά νουκλεοζιτικά ανάλογα που χρησιμοποιήθηκε ως αντικαρκινικός παράγοντας ήταν το cytarabine (araC ή 1-β-D-αραβινοφουρανοζυλοκυτοσίνη) (σχήμα 6) (Ellison et al. 1967).



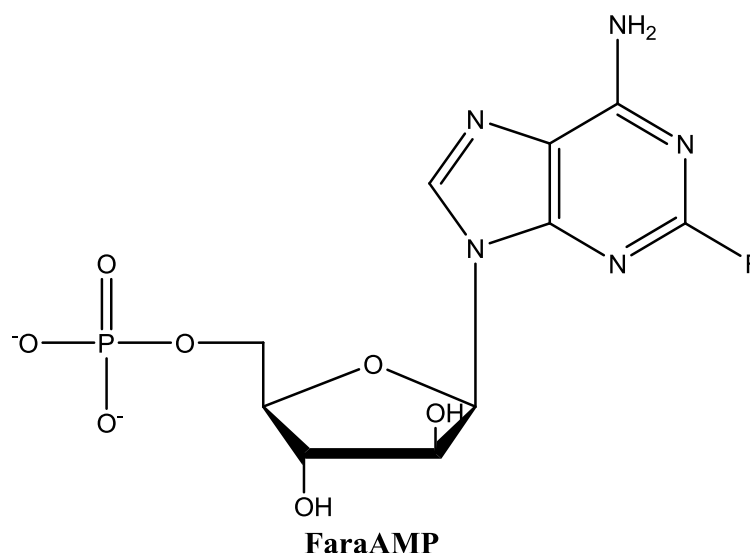
Σχήμα 6. Χημική δομή του **araC**

Η γεμισιταμπίνη (gemcitabine ή dFdC) είναι ένα ακόμη πυριμιδινικό ανάλογο που παρουσιάζει αντικαρκινική δράση (Plunkett et al. 1995). Είναι ανάλογο του cytarabine, το οποίο έχει τροποποιηθεί στην 2' θέση του δακτυλίου της ριβόζης με υποκατάσταση από 2 άτομα φθορίου (Σχήμα 7).



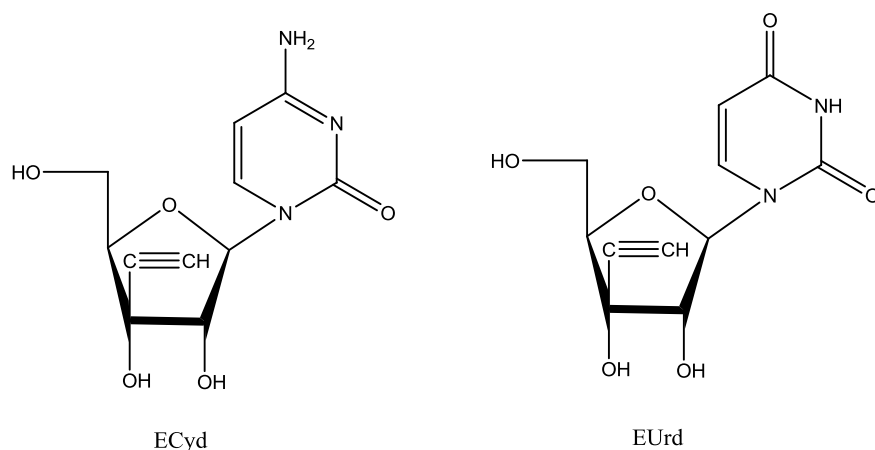
Σχήμα 7. Χημική δομή του **gemcitabine (dFdC)**

Ένα από τα πρώτα πουρινικά νουκλεοζιδικά ανάλογα η 9-β-*D*-αραβινοφουρανοζυλαδερίνη (araA) απορρίφθηκε ως αντικαρκινικός παράγοντας λόγω της χαμηλής διαλυτότητας και της γρήγορης απαμίνωσής της από την απαμινάση της αδενοσίνης. Η προσθήκη ενός ατόμου φθορίου στο τμήμα της αδερίνης αύξησε την αντίσταση στην απαμινάση της αδενοσίνης και η προσθήκη μιας φωσφορικής ομάδας βελτίωσε τη διαλυτότητα του αναλόγου, συνθέτοντας την 5'-μονοφωσφορική 9-β-*D*-αραβινοφουρανοζυλο-2-φθοροαδερίνη (fludarabine), (FaraAMP) (Matsuda et al. 2004). Το fludarabine είναι ένας αποτελεσματικός παράγοντας κατά της λευχαιμίας και των λεμφωμάτων (σχήμα 8).



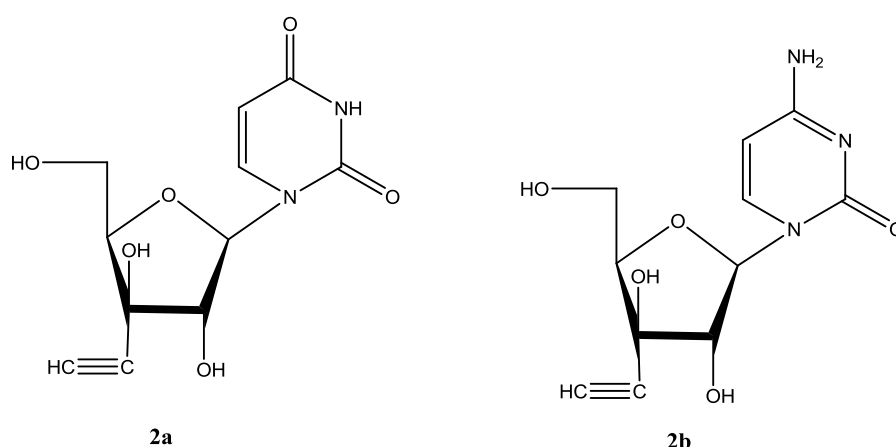
Σχήμα 8. Χημική δομή του **fludarabine**

Σε μια μελέτη το 1996 του Hideshi Hattori διαπιστώθηκε ότι οι νουκλεοζίτες της ουρακίλης και της κυτοσίνης (σχήμα 9) που φέρουν αιθυνυλο ομάδα ως διακλαδισμένη αλυσίδα στο τμήμα του σακχάρου εμφανίζουν εξαιρετικές αντικαρκινικές ιδιότητες. Οι ECyd και EUrd δοκιμάστηκαν *in vitro* σε 36 ανθρώπινες καρκινικές κυτταρικές σειρές. Η ECyd ήταν αποτελεσματική σε 22 κυτταρικές σειρές, ενώ αντίστοιχα η EUrd σε 12. Και οι δύο νουκλεοζίτες είχαν παρόμοιο φάσμα παρεμποδιστικής λειτουργίας και συνεπώς παρόμοιο μηχανισμό αντικαρκινικής δράσης. Είναι ενδιαφέρον ότι οι ECyd και EUrd έχουν πιο ισχυρή αντικαρκινική λειτουργία ενάντια σε καρκινικούς όγκους απ' ότι κάποιες άλλες ουσίες που συχνά χρησιμοποιούνται κλινικά (Matsuda et al. 1996). Μάλιστα η EUrd παρουσίασε επίσης σημαντική αντικαρκινική λειτουργία ενάντια σε ανθρώπινους όγκους, που εισήχθησαν σε ποντίκια σαν ξενομοσχεύματα.



Σχήμα 9. Χημικές δομές της **ECyd** και **EUrd**

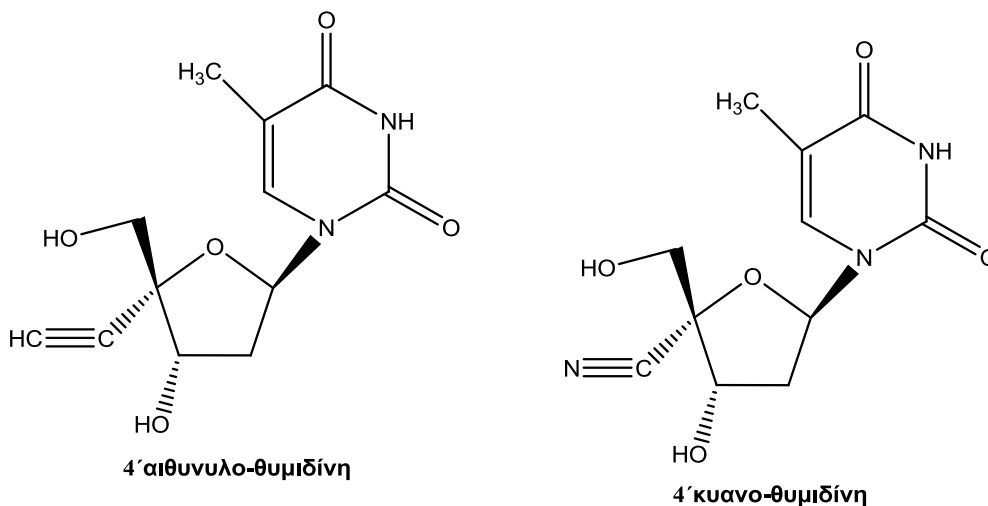
Μελετήθηκε επιπλέον η σχέση μεταξύ δομής και λειτουργίας των ECyd και EUrd (Hideshi et al. 1998). Συντέθηκαν οι 1-(3'-C-αιθυνο-β-D-ξυλο-πεντοφουρανοζυλο)κυτοσίνη και ουρακίλη, οι οποίες είναι 3' επιμερή των ECyd και EUrd (Σχήμα 10). Η βιολογική δράση αυτών των ξυλο παραγώγων ήταν σημαντικά μικρότερη, παρόλο που είχαν τόσο την αιθυνο ομάδα όσο και το υδροξύλιο στην 3'-θέση του σακχάρου. Αποδεικνύεται δηλαδή ότι η παρουσία μιας 2',3'- cis διόλης στην ECyd και EUrd με μια ριβο-διαμόρφωση ήταν απαραίτητη για την κυτταροτοξικότητά τους.



Σχήμα 10. 3' επιμερή των **ECyd** και **EUrd**

Όσον αφορά το μεταβολισμό της, η ECyd φωσφορυλιώνεται στα κύτταρα προς το μονοφωσφορικό, διφωσφορικό και τελικά τριφωσφορικό της παράγωγο (Makoto et al. 2003). Το πρώτο βήμα από την ECyd στην ECMP καταλύεται από την ουριδινική/κυτιδινική κινάση. Το τριφωσφορικό παράγωγο της κυτιδίνης (ECTP) είναι ένας ενεργός μεταβολίτης της ECyd και παρεμποδίζει την RNA πολυμεράση I, II και III χωρίς εκλεκτικότητα προκαλώντας παρεμπόδιση της σύνθεσης του RNA. Η ECyd κατανέμεται σε μεγάλο ποσοστό σε καρκινικούς ιστούς (*in vivo*), στους οποίους η ενεργοποίηση της ουριδινικής/κυτιδινικής κινάσης είναι υψηλότερη από τους κανονικούς ιστούς. Αυτά τα δεδομένα θα μπορούσαν να εξηγήσουν την υψηλή ενεργοποίηση και τη χαμηλή τοξικότητα της ECyd ενάντια σε διάφορους τύπους καρκίνου.

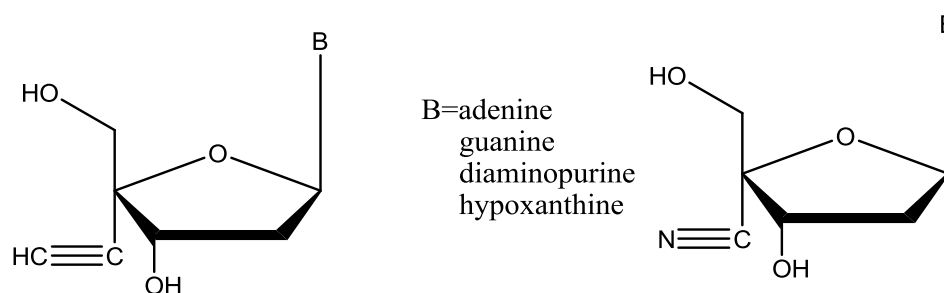
Τα τελευταία χρόνια μεγάλο ενδιαφέρον προέκυψε και από την ανακάλυψη της ισχυρής αντι- HIV δράσης των 4'-κυανο και 4'-αιθυνολο αναλόγων της θυμιδίνης (Σχήμα 11) (O-Yang et al. 1992 και Kodama et al. 2001).



Σχήμα 11. Δομή 4' - υποκατεστημένων νουκλεοζιτών της θυμίνης

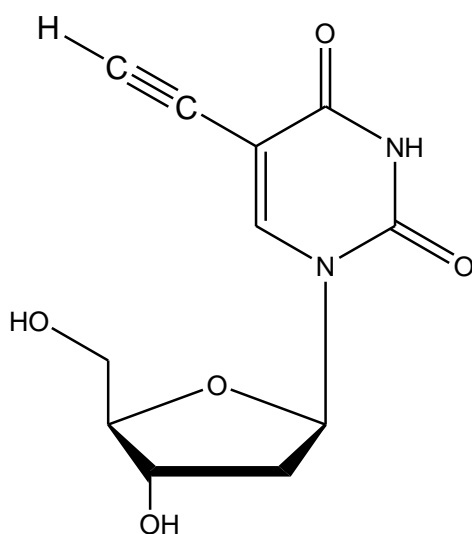
Οι πουρανο 2'-δεοξυ νουκλεοζίτες που διαθέτουν μια αιθυνολο ή κυανο ομάδα στον 4' άνθρακα του σακχάρου, εμφανίζουν επίσης πολύ ισχυρή αντι- HIV δράση, παραμένοντας ενεργοί απέναντι σε ανθεκτικά στελέχη του HIV (Satoru et al.

2003). Μάλιστα, επειδή τα 4-C-κυανο σάκχαρα έχουν χαμηλή δραστηριότητα στις αντιδράσεις τους με τις βάσεις, προτιμάται να παρασκευάζονται τροποποιώντας ήδη τους αντίστοιχους νουκλεοζίτες στην 4' θέση. Η δομή των νουκλεοζιτών απεικονίζεται στο σχήμα 12.



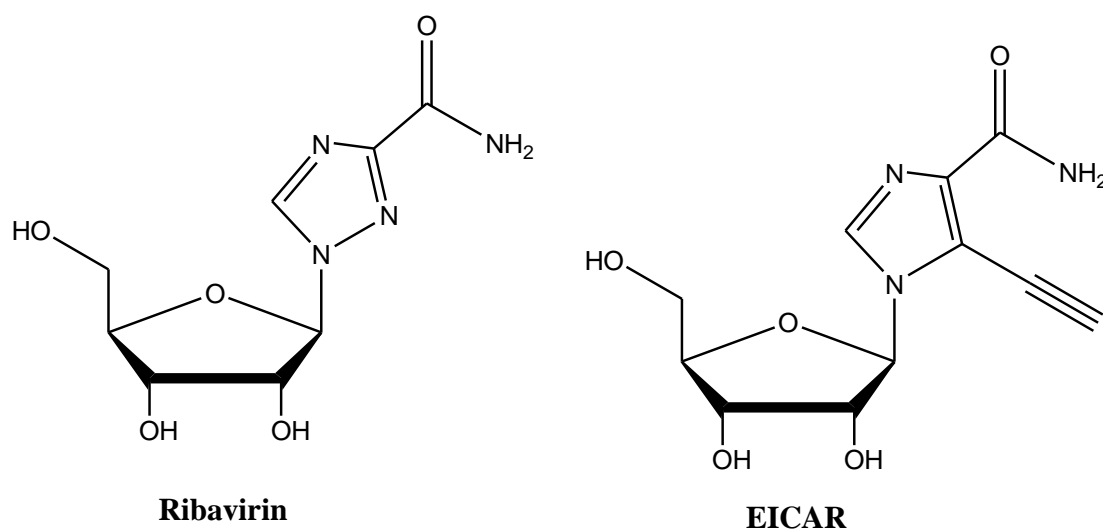
Σχήμα 12. Δομές των αιθυνυλο και κυανο πουρανο 2'-δεοξυ νουκλεοζιτών

Η παρουσία της αιθυνυλο ομάδας στην ετεροκυκλική βάση οδήγησε επίσης σε νουκλεοζίτες με έντονο φαρμακολογικό ενδιαφέρον. Η 5-αιθυνυλο-2'-δεοξυ ουριδίνη (σχήμα 13), παρουσίασε αυξημένη δράση έναντι των καρκινικών κυτταρικών σειρών του ανθρώπινου μαστού MCF-7 και MDA-MB-231, ξεπερνώντας την αντίστοιχη της 5-φθορο ουρακίλης (Srinivasarao et al. 2007).



Σχήμα 13. Χημική δομή της 5-αιθυνυλο-2'-δεοξυ ουριδίνη

Επιπλέον, το 5 - αιθυνυλο - 1 - β - D - ριβοφουρανοζυλο - 1^H - ιμιδαζολο - 4 καρβοξαμίδιο (EICAR) που επίσης φέρει την αιθυνυλο ομάδα στην ετεροκυκλική βάση παρουσιάζει εξαιρετικές αντιϊκές ιδιότητες. Συγκεκριμένα η αντιϊκή του λειτουργία είναι από 10 έως 100 φορές μεγαλύτερη από αυτή του ribavirin (Minakawa et al. 1999), του μόνου διαθέσιμου φαρμάκου που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της ηπατίτιδας C σε συνδυασμό με το interferon- α (De Clercq et al. 2002). Επιπλέον της αντιϊκής του δράσης, το EICAR επιδεικνύει αντικαρκινική λειτουργία και εμποδίζει την ανάπτυξη διαφόρων καρκινικών κυττάρων in vitro (Minakawa et al. 1991). Στο παρακάτω σχήμα 14 απεικονίζονται οι δομές των Ribavirin και EICAR.



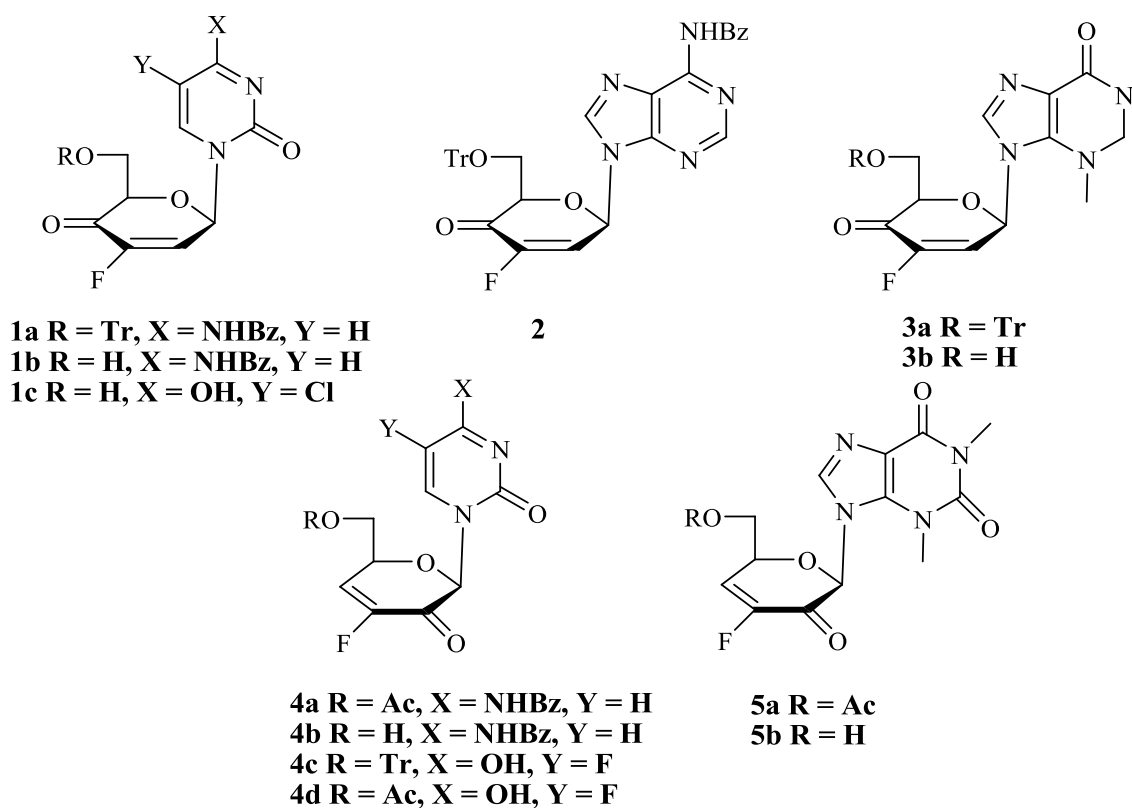
Σχήμα 14. Χημικές δομές του **Ribavirin** και **EICAR**

1.2.3 Νουκλεοζιτικά ανάλογα με σάκχαρο μια εξόζη

Παρ' όλες τις επιτυχίες στην έρευνα για καινούργια αντιϊκά και αντικαρκινικά φάρμακα, υπάρχει διαρκής ανάγκη για τη σύνθεση νέων νουκλεοζιτικών αναλόγων με μειωμένη τοξικότητα αλλά και αυξημένη αποτελεσματικότητα σε νέα ανθεκτικά ιικά στελέχη. Τα τελευταία χρόνια, νουκλεοζιτικά ανάλογα με εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο έχουν αξιολογηθεί για τις πιθανές αντιϊκές (Verheggen et al. 1993, Verheggen et al. 1995, Maurinsh et al. 1997, Ostrowski et al. 1998),

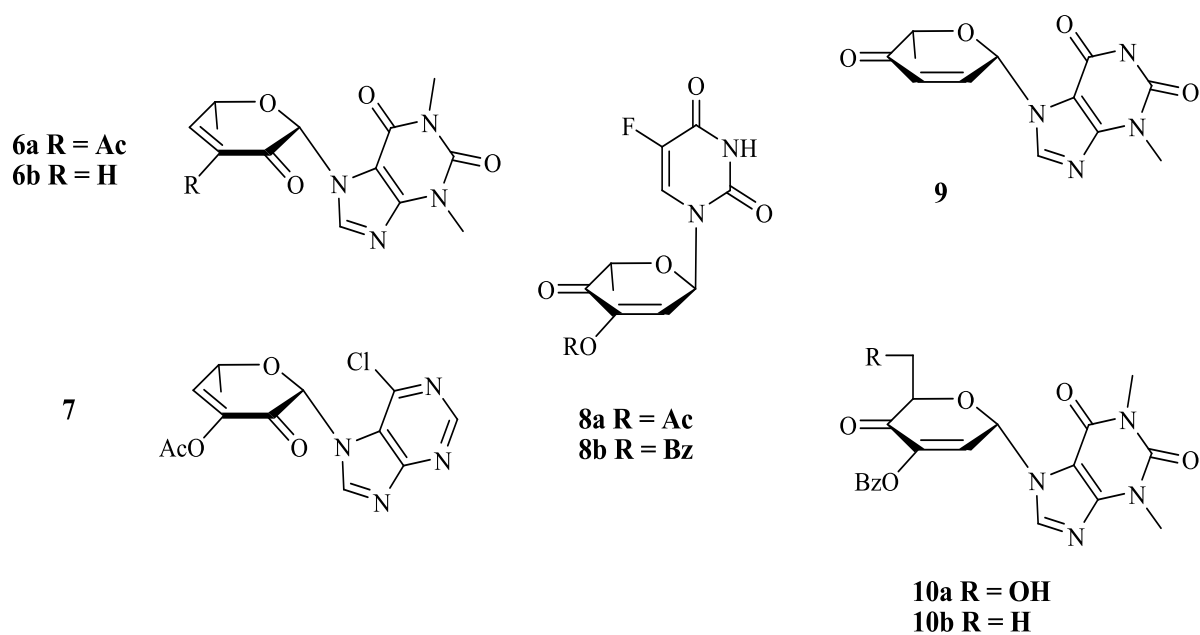
αντικαρκινικές (Antonakis et al. 1989) και αντιβιοτικές τους ιδιότητες (Haouz et al. 2003), καθώς και ως δομικές μονάδες στη σύνθεση νουκλεϊκών οξέων (Vastmans et al. 2000, Vastmans et al. 2001). Μάλιστα νουκλεοζιτικά ανάλογα με σάκχαρο μια εξόζη έδειξαν αντίσταση στην υδρόλυση, καθώς το σπάσιμο του γλυκοζιτικού δεσμού είναι ένα συνηθισμένο μονοπάτι αποικοδόμησης των αντιικών νουκλεοζιτών, ιδιαίτερα των 2',3'-διδεοξυνουκλεοζιτών (Nair et al. 1990). Τα πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα διαθέτουν λοιπόν αυξημένη σταθερότητα, μεγαλύτερο χρόνο ημιζωής, άρα και εν δυνάμει περισσότερο χρόνο δράσης.

Θα πρέπει να τονιστεί ότι η έρευνα για την ανακάλυψη αντιικών και αντικαρκινικών νουκλεοζιτικών αναλόγων με εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο βρίσκεται αρκετά πίσω σε σχέση με αυτή των νουκλεοζιτών με τροποποιημένους πενταμελείς δακτυλίους. Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια έχουν ανακαλυφτεί νέες σειρές βιολογικά ενεργών ακόρεστων νουκλεοζιτών με εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο. Οι ακόρεστοι φθορο κετοπυρανονουκλεοζίτες, οι οποίοι συντέθηκαν στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (Manta et al. 2007) καθώς και άλλοι ανάλογοι πυρανονουκλεοζίτες (Leclercq et al. 1992, Khan et al. 2001, Ollapally et al 1999, Egron et al. 2002) έχουν αξιολογηθεί για τις αντιϊκές και τις αντικαρκινικές τους ιδιότητες (ενώσεις **1-5**, σχήμα 15). Αξιοσημείωτη είναι η αντιϊκή δράση εναντι του εντεροϊού (rotavirus), που επέδειξαν οι ενώσεις **1a,b**, **2** και **4a,b**



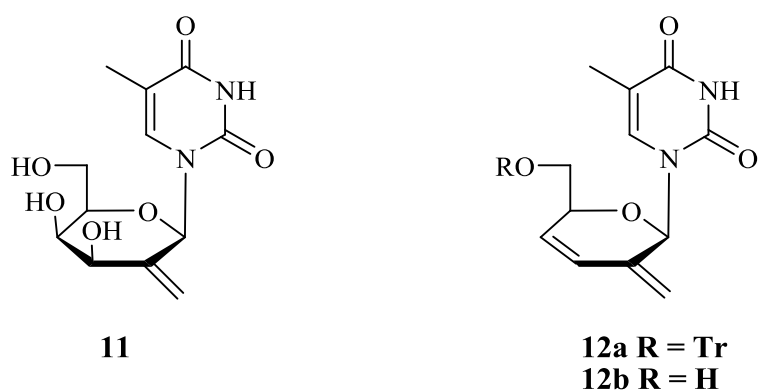
Σχήμα 15.

Επιπρόσθετα, ακόρεστα κετοπυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα παρουσίασαν, σε προηγούμενες μελέτες, σημαντική ανασταλτική δράση έναντι διαφόρων καρκινικών κυττάρων *in vitro* αλλά και *in vivo* (Komiotis et al. 1991, Patterson et al. 1998, Komiotis et al. 2008). Η χημική δομή των συγκεκριμένων ενώσεων **6-10** φαίνεται στο σχήμα 16.



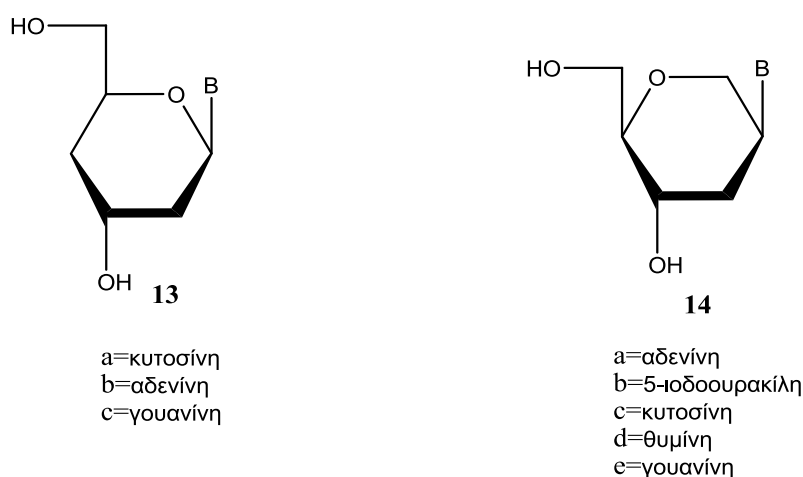
Σχήμα 16.

Στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας συντέθηκε μια νέα ενδιαφέρουσα σειρά εξομεθυλενικών και ακόρεστων εξομεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτών (Agelis et al. 2007), οι οποίοι επίσης παρουσίασαν σημαντική αντιϊκή δράση έναντι του εντεροϊού (ενώσεις **11** και **12a**, σχήμα 17).



Σχήμα 17.

Μεγάλο συνθετικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν και οι δεοξυ-πυρανονουκλεοζίτες. Πρόκειται για νουκλεοζίτες στους οποίους τη θέση ενός υδροξυλίου έχει πάρει ένα άτομο υδρογόνου. Η συγκεκριμένη τάξη νουκλεοζιτών καθιερώθηκε ως ιδιαίτερα σημαντική μετά την απομόνωση αντιβιοτικών από διάφορες φυσικές πηγές, τα οποία περιέχουν 6'-δεοξυπυρανόζες και επιπλέον λόγω της αντικαρκινικής δράσης που παρουσιάζουν οι 6'-δεοξυ-κετονουκλεοζίτες (Suhadolnik 1970, Antonakis and Chouroulou 1974, Suhadolnik 1979). Ορισμένοι μάλιστα πουρινικοί καθώς και πυριμιδινικοί 2'-δεοξυπυρανονουκλεοζίτες εμφάνισαν σημαντική αντική, καθώς και αντιλευχαιμική δράση (Langen and Etzold 1966, Nord et al. 1987). Έρευνες έδειξαν επίσης ότι οι διδεοξυ-β-D-ερυθρο-εξοπυρανονουκλεοζίτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αντικα-ολιγονουκλεοτίδια (Augustyns et al. 1994) και ότι, οι 2',4'-διδεοξυ-β-D-ερυθρο-εξοπυρανονουκλεοζίτες (ενώσεις **13**, Σχήμα 18 μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δομικές μονάδες στη σύνθεση νουκλεϊκών οξέων (Augustyns et al. 1992, Augustyns et al. 1993). Επιπρόσθετα, σημαντική είναι η αντιϊκή 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 **14**, Σχήμα 18 (Verheggen et al. 1993, Verheggen et al. 1995).



Σχήμα 18. Δεοξυ - πυρανονουκλεοζίτες

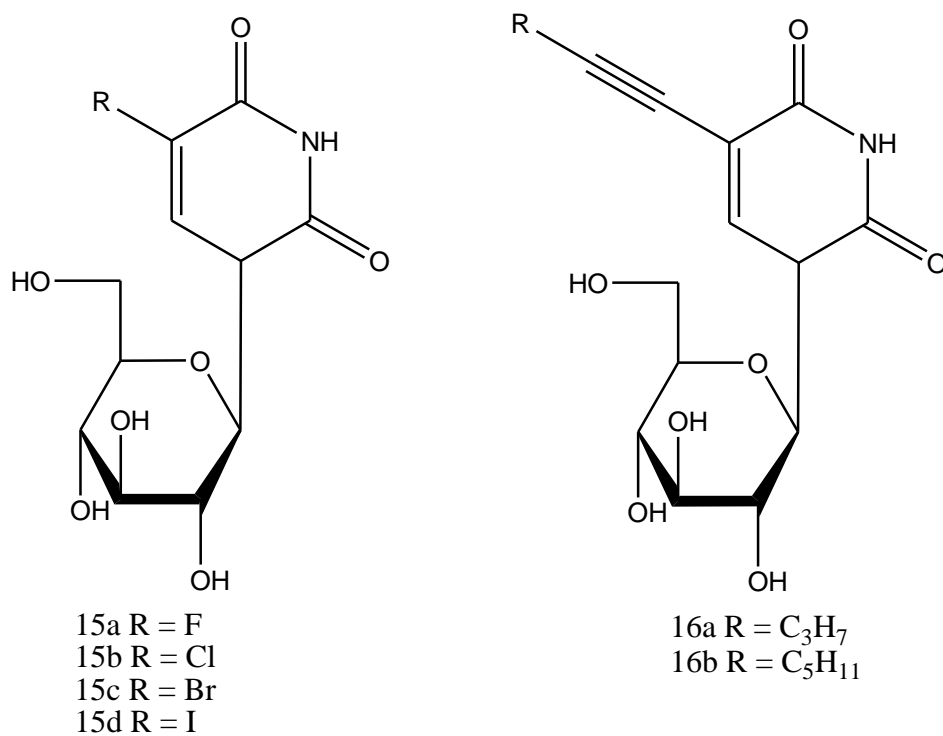
2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Σκοπός μελέτης

Αντικείμενο της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας είναι η σύνθεση τροποποιημένων νουκλεοζιτών στο τμήμα της ετεροκυκλικής βάσης, με σκοπό την εύρεση νέων αντικαρκινικών και αντιϊκών παραγόντων. Οι νέοι νουκλεοζίτες στοχεύουν στο να καλύψουν την όλο και αυξανόμενη ανάγκη για φάρμακα με αυξημένη αποτελεσματικότητα, αυξημένη σταθερότητα, αυξημένη βιοδιαθεσιμότητα και μειωμένες παρενέργειες.

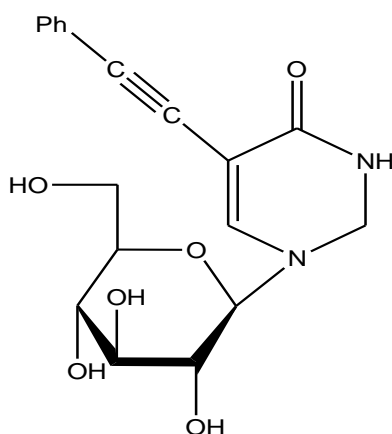
Νουκλεοζιτικά ανάλογα, ως πιθανοί αναστολείς μεταβολισμού νουκλεϊνικών οξέων, παίζουν ένα σημαντικό ρόλο στη θεραπεία των ασθενών με καρκίνο και καταστροφικές ιογενείς λοιμώξεις. Εκτεταμένες μετατροπές έχουν γίνει τόσο στην ετεροκυκλική βάση όσο και στο τμήμα του σακχάρου για την αναζήτηση αποτελεσματικών και επιλεκτικών παραγώγων με βελτιωμένη βιολογική δράση.

Τα τελευταία χρόνια, το ενδιαφέρον μας για τους τροποποιημένους νουκλεοζίτες, μας οδήγησε στη σύνθεση πυρανονουκλεοζιτών με τροποποιημένο σάκχαρο, των οποίων η δράση αποδείχτηκε αντιοξειδωτική και κυτταροτοξική έναντι διαφόρων καρκινικών κυττάρων. Σχεδόν ταυτόχρονα, δώσαμε ιδιαίτερη προσοχή στους νουκλεοζίτες με τροποποιημένη βάση, καθώς ήταν γνωστό ότι οι C5-υποκατεστημένοι νουκλεοζίτες πυριμιδίνης έχουν ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες, όπως αντιικές και αντικαρκινικές (9-11). Έτσι, πραγματοποιήσαμε τη σύνθεση των C5-αλογονο- και C5-αλκυνο-γλυκοπυρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης (ένωση 15 και 16, αντίστοιχα, σχήμα 19), οι οποίοι έχουν εμφανίσει αξιοσημείωτες κυτταροτοξικές ιδιότητες και επιπλέον έχουν αποδειχθεί ισχυροί αναστολείς της φωσφορυλάσης του γλυκογόνου (12,13).



Σχήμα 19.

Το πιο αποτελεσματικό ανάλογο έναντι της ανάπτυξης τριών καρκινικών κυτταρικών σειρών (L1210, CEM, HeLa) αποδείχθηκε ο νουκλεοζίτης που φέρει φαινολικό δακτύλιο στην 5-θέση της ουρακίλης, παρουσιάζοντας IC₅₀ ~ 5μM (σχήμα 20).



Σχήμα 20.

Βασιζόμενοι στην αξιοσημείωτη δράση του ανωτέρω νουκλεοζίτη και ως συνέχεια του μακροπρόθεσμου ενδιαφέροντός μας στους τροποποιημένους στην ετεροκυκλική βάση πυρανονουκλεοζίτες, θεωρήσαμε ενδιαφέρουσα την εισαγωγή διαφόρων υποκαταστατών στο φαινολικό δακτύλιο, με στόχο τη δημιουργία νέων αποτελεσματικότερων παραγόντων. Στην παρούσα εργασία αναφέρουμε τη σύζευξη διαφόρων υποκαταστατών με το φαινολικό δακτύλιο των πυρανονουκλεοζιτών της κυτοσίνης και της ουρακίλης. Η σύζευξη αυτή, γνωστή ως αντίδραση Sonogashira, επιτεύχθηκε με μια αποτελεσματική και εξαιρετικά ταχεία και υψηλής απόδοσης μεθοδολογία υποβοηθούμενη από μικροκύματα. Επιπλέον μελετήθηκε η κυτταροτοξική δράση των νεοσυντιθέμενων ενώσεων.

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 Υλικά σύνθεσης των νουκλεοζιτικών αναλόγων

Για την σύνθεση των νουκλεοζιτικών αναλόγων χρησιμοποιήθηκαν αντιδραστήρια των παρακάτω εταιριών, των οποίων η καθαρότητα ήταν αναλυτικού βαθμού:

- Οξικός ανυδρίτης (Ac_2O) (Aldrich, Γερμανία)
- Πυριδίνη (Panreac, Ισπανία)
- Διάλυμα Μεθανόλης (MeOH) (Merck, Γερμανία)
- Hexamethyldisilazane (HMDS) (Aldrich, Γερμανία)
- Trimethylsilyltrifluoromethane ($\text{Me}_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$) (Alfa Aesar, Γερμανία)
- Υδρίδιο του ασβεστίου (CaH) (Fluca, Γερμανία)
- Ακετονιτρίλιο (CH_3CN) (Merck, Γερμανία)
- Πεντοξείδιο του φωσφόρου (P_2O_5) (Alfa Aesar, Γερμανία)
- Κορεσμένο sodium bicarbonate (NaHCO_3) (Merck, Γερμανία)
- Κορεσμένο sodium bisulfate (NaHSO_4) (Merck, Γερμανία)
- Άνυδροθειικό νάτριο (Na_2SO_4) (Merck, Γερμανία)

3.2 Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC: Thin layer chromatography)

Ο έλεγχος των αντιδράσεων έγινε με τη χρήση της χρωματογραφικής μεθόδου TLC. Πρόκειται, για πλάκες αλουμινίου επιστρωμένες με Silicagel (Merck Kieselgel 60F₂₄). Τα προϊόντα στα χρωματογραφήματα ανιχνεύονται είτε ψεκάζοντας με διάλυμα H_2SO_4 (θειικού οξέος) 30%, είτε μέσω UV ακτινοβολίας (254nm).

3.3 Χρωματογραφία στήλης

Όταν μια χημική ένωση απομονώνεται, η ένωση στόχος θα πρέπει να καθαριστεί από διαλύτες και παραπροϊόντα. Η πλειοψηφία των καθαρισμών οργανικών ουσιών πραγματοποιούνται μέσω της χρωματογραφίας μιας τεχνικής κατά την οποία το επιθυμητό προϊόν διαλύεται σε έναν οργανικό διαλύτη ή σύστημα διαλυτών σε συγκεκριμένη κάθε φορά αναλογία και στη συνέχεια

αφήνεται να διαρρεύσει μέσω ενός κατακόρυφου γυάλινου σωλήνα ο οποίος είναι γεμάτος με προσροφητικό υλικό. Το προς διαχωρισμό μείγμα ονομάζεται κινητή φάση ενώ το προσροφητικό υλικό εντός του σωλήνα στατική. Επειδή οι διαφορετικές ενώσεις προσροφώνται στη στατική φάση σε διαφορετική έκταση, μετακινούνται διαμέσου αυτής με διαφορετικές ταχύτητες και για το λόγο αυτό, εξέρχονται από τη στήλη –εκκλύονται- από το άκρο της. Ο χρόνος έκλουσης μιας ουσίας επηρεάζεται άμεσα από την πολικότητά της. Μόρια με πολικές λειτουργικές ομάδες προσροφώνται κατά κανόνα, εντονότερα και άρα μετακινούνται βραδύτερα μέσω της στατικής φάσης σε σχέση με τα περισσότερα άπολα.

Η χρωματογραφία στήλης πραγματοποιείται για τον καθαρισμό των προϊόντων και επιτυγχάνεται με την εισαγωγή αέρα υπό πίεση (flashchromatography) σε silicagel (240-400, Merckgrade).

Η χρωματογραφία διεκπεραιώθηκε χρησιμοποιώντας τα παρακάτω συστήματα διαλυτών :

- Διάλυμα Α : οξικός αιθυλεστέρας/ εξάνιο 50/50
- Διάλυμα Β : οξικός αιθυλεστέρας/ μεθανόλη 80/20
- Διάλυμα Γ : οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 90/10
- Διάλυμα Δ : οξικός αιθυλεστέρας / μεθανόλη 95/5

3.4 Ξήρανση διαλυτών

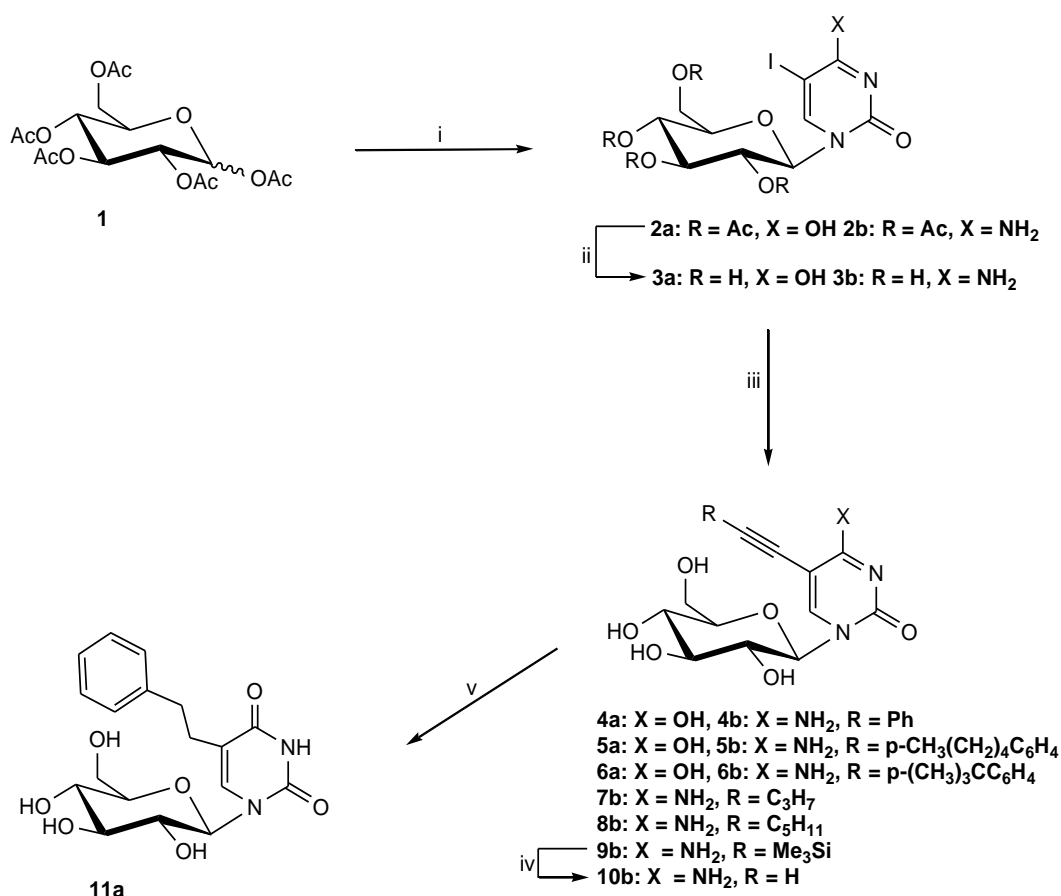
Ορισμένες από τις αντιδράσεις που περιγράφονται, επιβάλλουν την χρήση άνυδρων διαλυτών όπως ακετονιτρίλιο CH_3CN και N,N-διμέθυλοφορμαμίδιο DMF. Η ξήρανση του CH_3CN γίνεται παρουσία υδριδίου του ασβεστίου με θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα υπό αναβρασμό κατά τη διάρκεια μιας νύχτας. Στη συνέχεια πραγματοποιείται απόσταξη υπό άζωτο και το απόσταγμα συλλέγεται σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 3\AA (molecular sieves). Το DMF φυλάσσεται σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 3\AA .

3.5 Ταυτοποίηση ενώσεων

Η ταυτοποίηση των ενώσεων που συντέθηκαν έγινε με τη χρήση του φάσματος πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR (Nuclear Magnetic Resonance). Τα φάσματα ^1H NMR μετρήθηκαν με το φωτόμετρο Bruker 300 MHz χρησιμοποιώντας δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3) και δευτεριωμένη μεθανόλη (MEOD). Το τετραμεθυλοσιλάνιο (TMS) χρησιμοποιήθηκε ως σημείο αναφοράς για ^1H . Η πολλαπλότητα των καμπύλων φαίνεται με s (single), d (doublet), dd (doublet doublet), dtr (doublet triplet), m (multiplet). Οι σταθερές σύζευξης J μετρήθηκαν σε Hz

4. Μέθοδοι

4.1 Επισκόπηση της συνθετικής οδού



Σχήμα 21. Επισκόπηση της σύνθεσης των C5- αλκύνυλο-πυρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης και της κυτοσίνης.

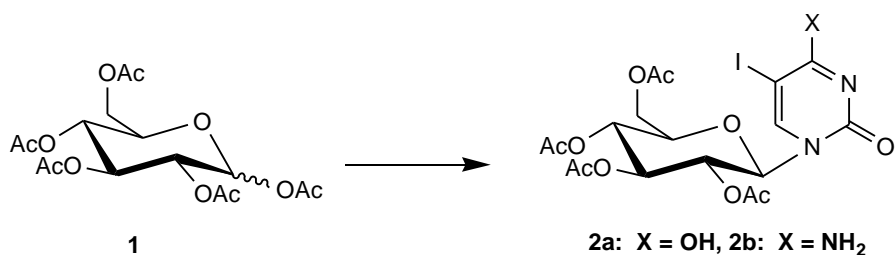
4.2 Μεθοδολογία της σύνθεσης

Η πορεία της σύνθεσης ξεκίνησε με την σύζευξη της εμπορικά διαθέσιμης 1',2',3',4',6'-πεντε-*O*-ακετυλο-*D*-γλυκοκυρανόζης (**1**), με τις ετεροκυκλικές βάσεις 5-ιωδοουρακίλη και 5-ιωδοκυτοσίνη παρουσία του άνυδρου διαλύτη ακετονιτριλίου (CH_3CN), εξαμεθυλοδισιλαζάνιο (HMDS) καθώς και καταλυτικής ποσότητας σακχαρίνης και με την προσθήκη του τριφθορομεθανοσουλφονικού τριμεθυλοσιλυλεστέρα ($\text{Me}_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$) υπό την ακτινοβολία μικροκυμάτων σε συνθήκες 120 W για 5 λεπτά λαμβάνοντας τους προστατευμένους νουκλεοζίτες 1-(2',3',4',6'-τετρα-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοκυρανοζυλο)-5-ιωδοουρακίλη **2a** και 1-(2',3',4',6'-τετρα-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοκυρανοζυλο)-5-ιωδοκυτοσίνη **2b** με ικανοποιητικές αποδόσεις 83% και 82% αντίστοιχα. Στη συνέχεια, ακολούθησε η αποπροστασία αυτών των νουκλεοζιτών με τη χρήση κορεσμένου διαλύματος μεθανολικής αμμωνίας, η οποία οδήγησε στην σύνθεση των αποπροστατευμένων ενώσεων 1-(β-*D*-γλυκοκυρανοζυλο) νουκλεοζιτών της 5-ιωδοουρακίλης **3a** και 5-ιωδοκυτοσίνης **3b** με ικανοποιητικές αποδόσεις 87% και 80%, αντίστοιχα.

Κατά τη συνέχεια της πειραματικής πορείας, οι αποπροστατευμένοι γλυκοκυρανονουκλεοζίτες της 5-ιωδοουρακίλης **3a** και της 5-ιωδοκυτοσίνης **3b** διαλύθηκαν σε άνυδρο διαλύτη *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF) και με την προσθήκη του κατάλληλου αλκυνίου, της τριαιθυλαμίνης (Et_3N), του ιωδιούχου χαλκού (CuI) (συγκαταλύτης) και του τετράκισ τριφαινυλοφωσφορικού παλλαδίου [$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$] (καταλύτης). πραγματοποιήθηκε η σύζευξη τους υπό την ακτινοβολία μικροκυμάτων με ισχύ 120 W για 5 λεπτά, λαμβάνοντας έτσι τους αποπροστατευμένους νουκλεοζίτες 1-(β-*D*-γλυκοκυρανοζυλο) της ουρακίλης και κυτοσίνης **4-9** με αρκετά καλές αποδόσεις 70-82%. Στη συνέχεια, ακολούθησε η αποσιλιλίωση των παραγόντων **9a** και **9b** κατά την οποία, οι συγκεκριμένες ενώσεις διαλύθηκαν σε άνυδρο διαλύτη ακετονιτριλίου (CH_3CN) με την προσθήκη του *n*-Bu₄NF λαμβάνοντας έτσι, τους 1-(β-*D*-γλυκοκυρανοζυλο) νουκλεοζίτες της ουρακίλης **10a** και της κυτοσίνης **10b**. Ταυτόχρονα, πραγματοποιήσαμε και την υδρογόνωση της ένωσης **4a**. Μετά την απομάκρυνση των διαλυτών υπό κενό, το στερεό που λάβαμε καθαρίστηκε με flash χρωματογραφία. Μ' αυτόν τον τρόπο, καταφέραμε να απομονώσουμε τους C5-αλκυνυλο-κυρανονουκλεοζίτες (προϊόντα

4-9, σχήμα 21), ως καθαρές ενώσεις σε υψηλές αποδόσεις 72-83%. Τέλος, όλες οι τελικές ενώσεις προσδιορίστηκαν με NMR και φασματοσκοπία UV.

4.2.1 Σύνθεση των 1-(2',3',4',6'-τετρα-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοκυρανοζυλο) νουκλεοζιτών της 5-ιωδοουρακίλης **2a** και της 5-ιωδοκυτοσίνης **2b**



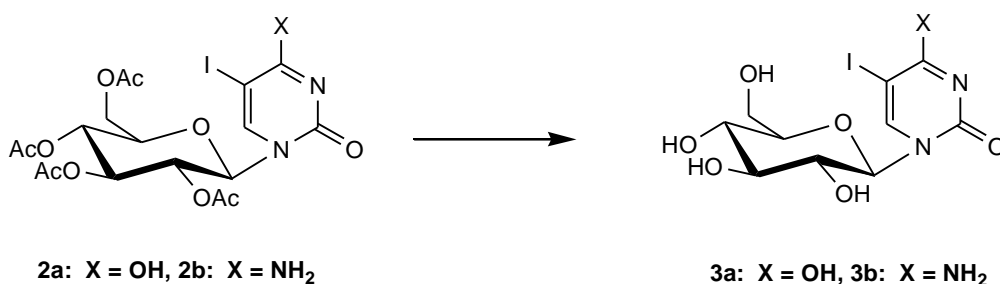
Η σύνθεση του **2** επιτεύχθηκε με τη μέθοδο των μικροκυμάτων ως εξής:

Σε σφαιρική φιάλη των 50 ml διαλύονται σε 12.8 mL άνυδρου διαλύτη ακετονιτριλίου (CH₃CN), η 1',2',3',4',6'-πεντε-*O*-ακετυλο-*D*-γλυκοκυρανόζη (**1**, 1 g, 2.6 mmol), η 5-ιωδοουρακίλη ή η 5-ιωδοκυτοσίνη (3.6 mmol), το εξαμεθυλοδισιλαζάνιο (HMDS 4.5 mmol), η σακχαρίνη (0.2 mmol) και μετά την προσθήκη του τριφθορομεθανοσουλφονικού τριμεθυλοσιλυλεστέρα (Me₃SiOSO₂CF₃, 3.6 mmol) ακτινοβολούνται σε συνθήκες 120 W για 5 λεπτά. Η αντίδραση ελέγχθηκε με TLC (πίνακας 1). Στη συνέχεια, το μίγμα της αντίδρασης αφέθηκε να κρυώσει, εξουδετερώθηκε με κορεσμένο διάλυμα NaHCO₃, αραιώθηκε με CH₂Cl₂ (200ml). Κατόπιν, η οργανική φάση ξηράθηκε με άνυδρο Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό κενό. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Α. Τα επιθυμητά προϊόντα ελήφθησαν υπό τη μορφή αφρώδους στερεού λευκού χρώματος με ικανοποιητική απόδοση 83% για την **2a** και 82% για την **2b**.

Πίνακας 1. Αποτελέσματα σύνθεσης των 1-(2',3',4',6'-τετρα-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο) νουκλεοζιτών της 5-ιωδοουρακίλης **2a** και της 5-ιωδοκυτοσίνης **2b**

	Προϊόν 2a	Προϊόν 2b
TLC	R _f = 0.18	R _f = 0.22
Απόδοση	80%	82%
[α] _D ²²	-3.0 c = 0.17	-4.0 c = 0.20
λ _{max}	270 nm	264 nm

4.2.2 Σύνθεση των 1-(β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο) νουκλεοζιτών της 5-ιωδοουρακίλης **3a** και της 5-ιωδοκυτοσίνης **3b**



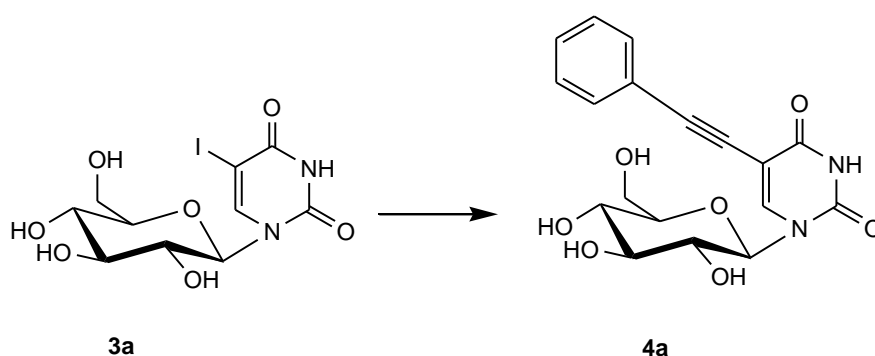
Η αποπροστασία των νουκλεοζιτών **2a,2b** έγινε με τη χρήση κορεσμένου διαλύματος μεθανολικής αμμωνίας (56 mL). Το μίγμα της αντίδρασης αφέθηκε με έντονη ανάδευση για 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Η αντίδραση ελέγχθηκε με TLC (πίνακας 2). Έτσι, επιτεύχθηκε η σύνθεση των αποπροστατευμένων ενώσεων 1-(β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο) νουκλεοζιτών της 5-ιωδοουρακίλης **3a** και 5-ιωδοκυτοσίνης **3b**. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη

χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Β. Τα επιθυμητά προϊόντα ελήφθησαν υπό τη μορφή αφρώδους στερεού λευκού χρώματος με ικανοποιητική απόδοση 87% για την **3a** και 80% για την **3b**.

Πίνακας 2. Αποτελέσματα σύνθεσης 1-(β-D-γλυκοκυρανοζυλο) ουρακίλης **3a** και κυτοσίνης **3b**

	Προϊόν 3a	Προϊόν 3b
TLC	R _f = 0.35	R _f = 0.27
Απόδοση	87%	80%
[α] _D ²²	+2.0 c = 0.50	-2.0 c = 0.19
λ _{max}	269 nm	262 nm

4.2.3 Σύνθεση 1-(β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-5-φαινυλοαιθυνυλοουρακίλης **4a**



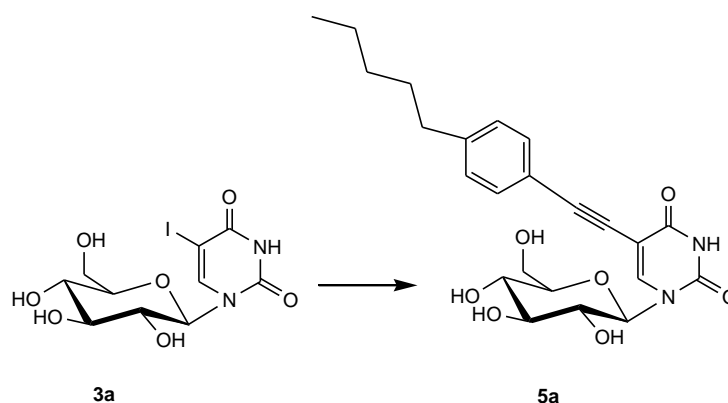
Σε σφαιρική φιάλη των 50 ml, διαλύεται η 1-β-D-γλυκοκυρανοζυλ- 5-ιωδοουρακίλη (1.6mmol) σε 3mL άνυδρου διαλύτη DMF και με την προσθήκη του φαινυλίου (Ph) (3equiv), του τριφαινυλοφωσφορικού παλλάδιου [Pd(PPh₃)₄] (0.1equiv), του ιωδιούχου χαλκού (0.1equiv) και της τριαιθυλαμίνης (2equiv),

ακτινοβολούνται σε συνθήκες 120 W για 3 λεπτά. Η αντίδραση ελέγχθηκε με TLC (πίνακας 3). Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Γ. Το επιθυμητό προϊόν ελήφθη υπό τη μορφή αφρώδους στερεού λευκού χρώματος με ικανοποιητική απόδοση 82% για την **4a**.

Πίνακας 3. Αποτελέσματα σύνθεσης της 1 - (β-D-γλυκοκυρανοζυλο) - 5 - φαινυλοαιθυνοουρακίλης **4a**

TLC(Διάλυμα Γ)	R _f = 0.26
Απόδοση	82%
[α] _D ²²	+2.0 c = 0.17
λ _{max}	262 nm

4.2.4 Σύνθεση 1 - (β-D-γλυκοκυρανοζυλο) - 5 - [(p- πεντυλφαινυλο)αιθυνο] ουρακίλης **5a**



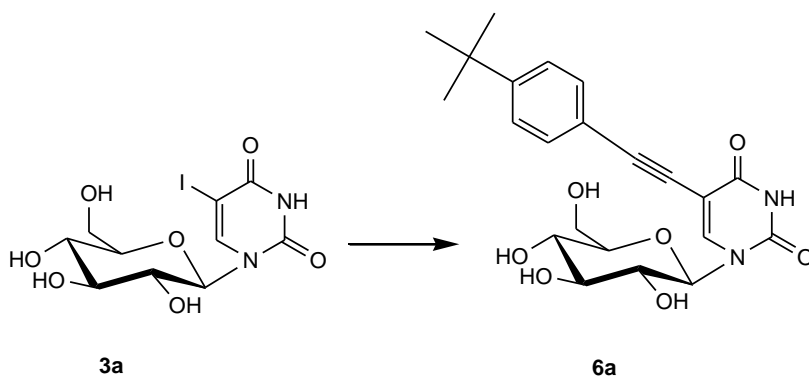
Το προϊόν **5a** συντέθηκε από το προϊόν **3a** με την ίδια διαδικασία που περιγράψαμε παραπάνω με το προϊόν **4a**. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το

διάλυμα Γ. Το επιθυμητό προϊόν **5a** ελήφθη υπό τη μορφή λευκού στερεού σε ικανοποιητική απόδοση 77%.

Πίνακας 4 Αποτελέσματα σύνθεσης 1 - (*β*-D-γλυκοπυρανοζυλο) - 5 - [(*p*-πεντυλοφαινυλο) αιθυνυλο]ουρακίλης **5a**.

TLC(Διάλυμα Γ)	R _f = 0.50
Απόδοση	77%
[α] _D ²²	-2.0 c = 0.56
λ _{max}	262 nm

4.2.5 Σύνθεση 1 - (*β*-D-γλυκοπυρανοζυλο) - 5 - [(4-τετρα-βουτυλοφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλης **6a**

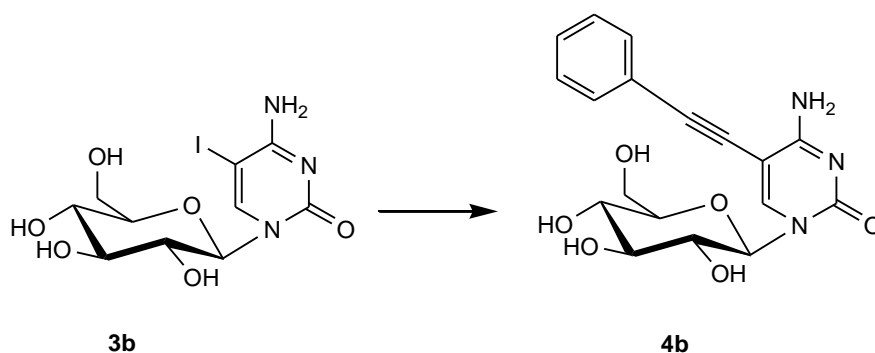


Το προϊόν **6a** συντέθηκε από το προϊόν **3a** με την ίδια διαδικασία που περιγράψαμε παραπάνω με το προϊόν **4a**. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Γ. Το επιθυμητό προϊόν **6a** ελήφθη υπό τη μορφή λευκού στερεού σε ικανοποιητική απόδοση 78%.

Πίνακας 5. Αποτελέσματα σύνθεσης 1 - (β -D-γλυκοκυρανοζυλο) - 5 - [(4-τετρα-βουτυλοφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλης **6a**.

TLC(Διάλυμα Γ)	$R_f = 0.50$
Απόδοση	78%
$[\alpha]_D^{22}$	+2.0 $c = 0.22$
λ_{max}	262 nm

4.2.6 Σύνθεση 1-(β -D-γλυκοκυρανοζυλο)-5-φαινυλοαιθυνυλοκυτοσίνης **4b**

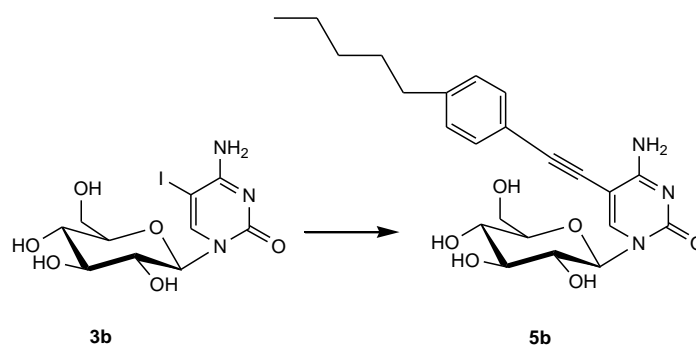


Σε σφαιρική φιάλη των 50 ml, διαλύονται σε 3mL άνυδρου διαλύτη DMF, η 1- β -D-γλυκοκυρανοζυλ-5-ιωδοκυτοσίνη (1.4mmol) και με την προσθήκη του φαινυλίου (Ph) (3equiv), του τριφαινυλοφωσφορικού παλλαδίου $[Pd(PPh_3)_4]$ (0.1equiv), του ιωδιούχου χαλκού (0.1equiv), της τριαιθυλαμίνης (2equiv), ακτινοβολούνται σε συνθήκες 120 W για 3 λεπτά. Η αντίδραση ελέγχθηκε με TLC (πίνακας 5). Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Β. Το επιθυμητό προϊόν ελήφθη υπό τη μορφή αφρώδους στερεού λευκού χρώματος με ικανοποιητική απόδοση 80%

Πίνακας 6. Αποτελέσματα σύνθεσης 1 - (*β*-D-γλυκοπυρανοζυλο) - 5 - φαινυλοαιθυνοκυτοσίνης **4b**

TLC(Διάλυμα Β)	$R_f = 0.42$
Απόδοση	80%
$[\alpha]_D^{22}$	+4.0 $c = 0.16$
λ_{max}	270 nm

4.2.7. Σύνθεση 1 - (*β*-D-γλυκοπυρανοζυλο) - 5 - [(*p*-πεντυλοφαινυλο)αιθυνο]κυτοσίνης **5b.**

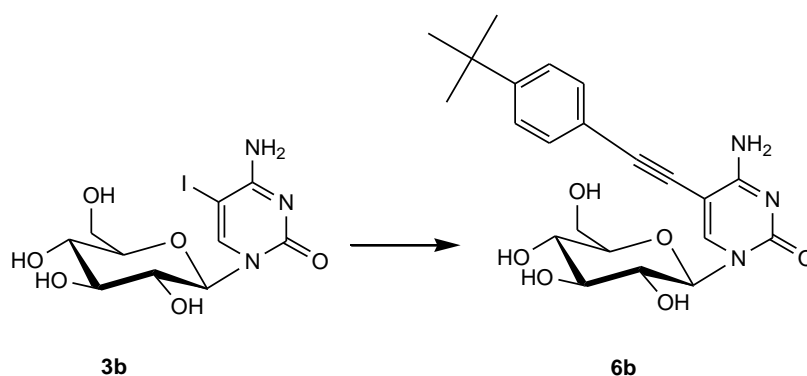


Το προϊόν **5b** συντέθηκε από το προϊόν **3b** με την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράψαμε παραπάνω με το προϊόν **4b**. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Γ. Το επιθυμητό προϊόν **5b** ελήφθη υπό τη μορφή λευκού στερεού σε ικανοποιητική απόδοση 76%.

Πίνακας 7. Αποτελέσματα σύνθεσης 1 - (β -D-γλυκοπυρανοζυλο) – 5 - [(*p*-πεντυλοφαινυλο)αιθυνυλο] κυτοσίνης **5b**

TLC(Διάλυμα Γ)	$R_f = 0.14$
Απόδοση	76%
$[\alpha]_D^{22}$	+5.0 $c = 0.50$
λ_{max}	262 nm

4.2.8. Σύνθεση 1-(β -D-γλυκοπυρανοζυλο)-5[(4-τετρα-βουτυλοφαινυλο)αιθυνυλο] κυτοσίνης **6b**

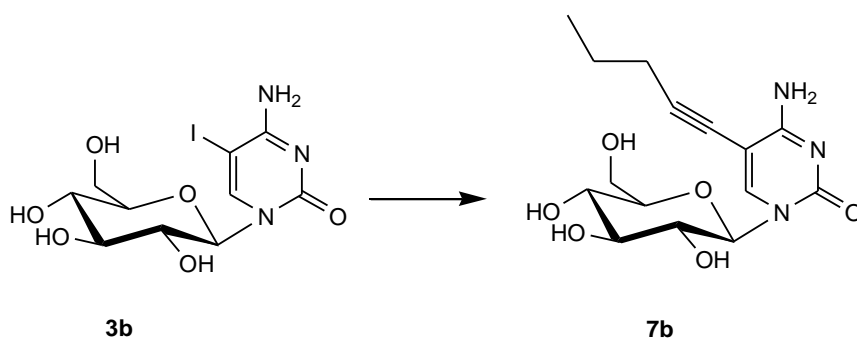


Το προϊόν **6b** συντέθηκε από το προϊόν **3b** με την ίδια διαδικασία που περιγράψαμε παραπάνω με το προϊόν **4b**. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Β. Το επιθυμητό προϊόν **6b** ελήφθη υπό τη μορφή λευκού στερεού σε ικανοποιητική απόδοση 75%.

Πίνακας 8. Αποτελέσματα σύνθεσης 1 - (β -D-γλυκοκυρανοζυλο) - 5 - [(4-τετρα-βουτυλοφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλης **6b**

TLC(Διάλυμα Β)	$R_f = 0.36$
Απόδοση	75%
$[\alpha]_D^{22}$	+4.0 $c = 0.50$
max	262 nm

4.2.9. Σύνθεση 1-(β -D-γλυκοκυρανοζυλο)-5-πεντυνυλοκυτοσίνης **7b**

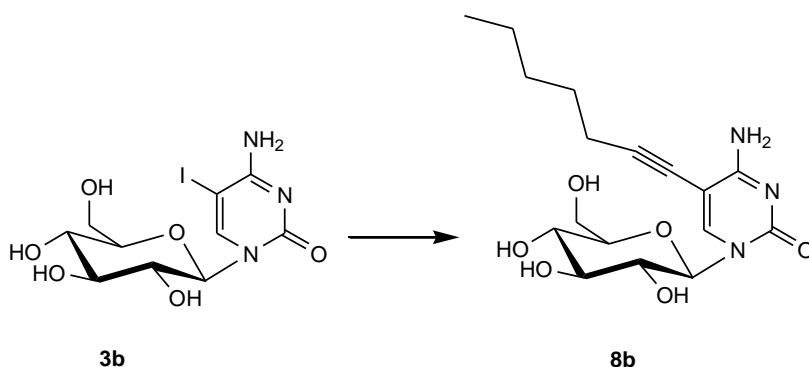


Το προϊόν **7b** συντέθηκε από το προϊόν **3b** με την ίδια διαδικασία που περιγράψαμε παραπάνω με το προϊόν **4b**. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Β. Το επιθυμητό προϊόν **7b** ελήφθη υπό τη μορφή λευκού στερεού σε ικανοποιητική απόδοση 72%.

Πίνακας 9. Αποτελέσματα σύνθεσης 1 - (β -D-γλυκοπυρανοζυλο) - 5 - πεντυνυλοκυτοσίνης **7b**

TLC(Διάλυμα Β)	$R_f = 0.48$
Απόδοση	72%
$[\alpha]_D^{22}$	-3.0 c = 0.21
max	297 nm

4.2.10. Σύνθεση 1-(β -D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-επτυνυλοκυτοσίνης **8b**

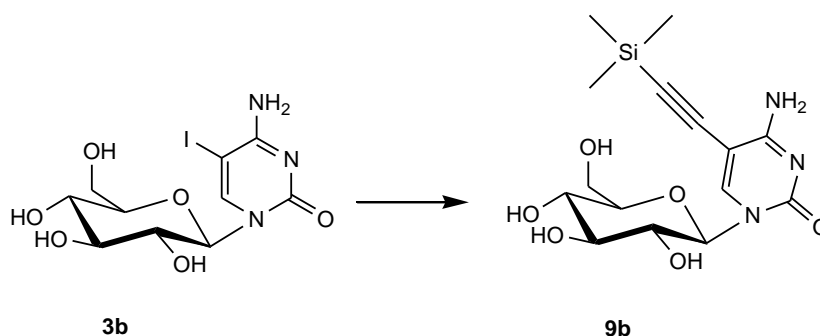


Το προϊόν **8b** συντέθηκε από το προϊόν **3b** με την ίδια διαδικασία που περιγράψαμε παραπάνω με το προϊόν **4b**. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Β. Το επιθυμητό προϊόν **8b** ελήφθη υπό τη μορφή λευκού στερεού σε ικανοποιητική απόδοση 73%.

Πίνακας 10. Αποτελέσματα σύνθεσης 1 - (β-D-γλυκοκυρανοζυλο) - 5 - επτυνυλκυτοσίνης **8b**

TLC(Διάλυμα Β)	R _f = 0.42
Απόδοση	73%
[α] _D ²²	+2.0 c = 0.22
max	298 nm

4.2.11. Σύνθεση της 1 - (β-D-γλυκοκυρανοζυλο) - 5 - (τριμεθυλοσιλilo) αιθυνυλοκυτοσίνης **9b**

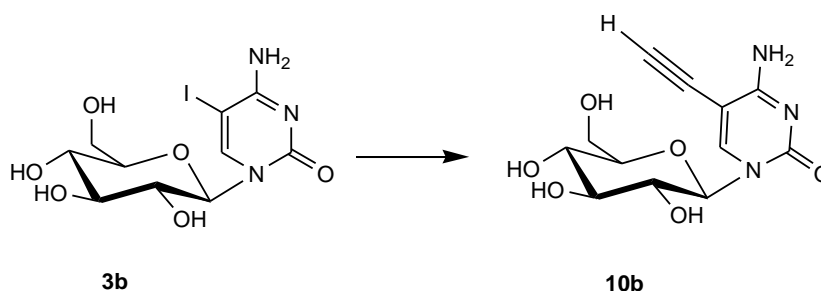


Το προϊόν **9b** συντέθηκε από το προϊόν **3b** με την ίδια διαδικασία που περιγράψαμε παραπάνω με το προϊόν **4b**. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Β. Το επιθυμητό προϊόν **9b** ελήφθη υπό τη μορφή λευκού στερεού σε ικανοποιητική απόδοση 79%.

Πίνακας 11. Αποτελέσματα σύνθεσης 1 - (β-D-γλυκοκυρανοζυλο) - 5 - (τριμεθυλοσιλιλο)αιθυνυλοκυτοσίνης **9b**

TLC(Διάλυμα Β)	$R_f = 0.32$
Απόδοση	79%
$[\alpha]_D^{22}$	-2.0 c = 0.25
max	263 nm

4.2.12. Σύνθεση 1-(β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-5-αιθυνυλοκυτοσίνης **10b**

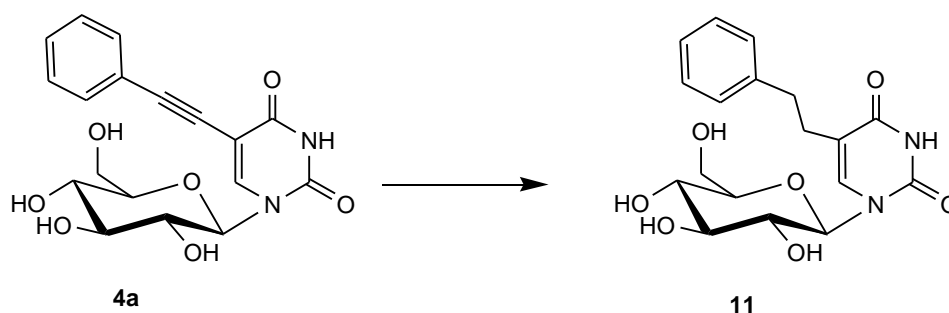


Σε σφαιρική φιάλη των 10ml, διαλύεται ο σιλιωμένος νουκλεοζίτης **9b** (1.2 mmol) σε 1.7 mL άνυδρου διαλύτη ακετονιτρίλιου (CH_3CN) και με την προσθήκη του $n\text{-Bu}_4\text{NF} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (1.3 mmol). Το μίγμα της αντίδρασης αφέθηκε με έντονη ανάδευση για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Η αντίδραση ελέγχθηκε με TLC (πίνακας 12). Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Β. Το επιθυμητό προϊόν ελήφθη υπό τη μορφή αφρώδους στερεού λευκού χρώματος με ικανοποιητική απόδοση 80%.

Πίνακας 12. Αποτελέσματα σύνθεσης 1 - (β-D-γλυκοπυρανοζυλο) - 5 - αιθυλοκυτοσίνης **10b**

TLC(Διάλυμα Β)	R _f = 0.26
Απόδοση	80%
[α] _D ²²	+2.0 c = 0.25
λ _{max}	293 nm

4.2.13. Σύνθεση 1-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-φαινυλοαιθυλοουρακίλης **11**

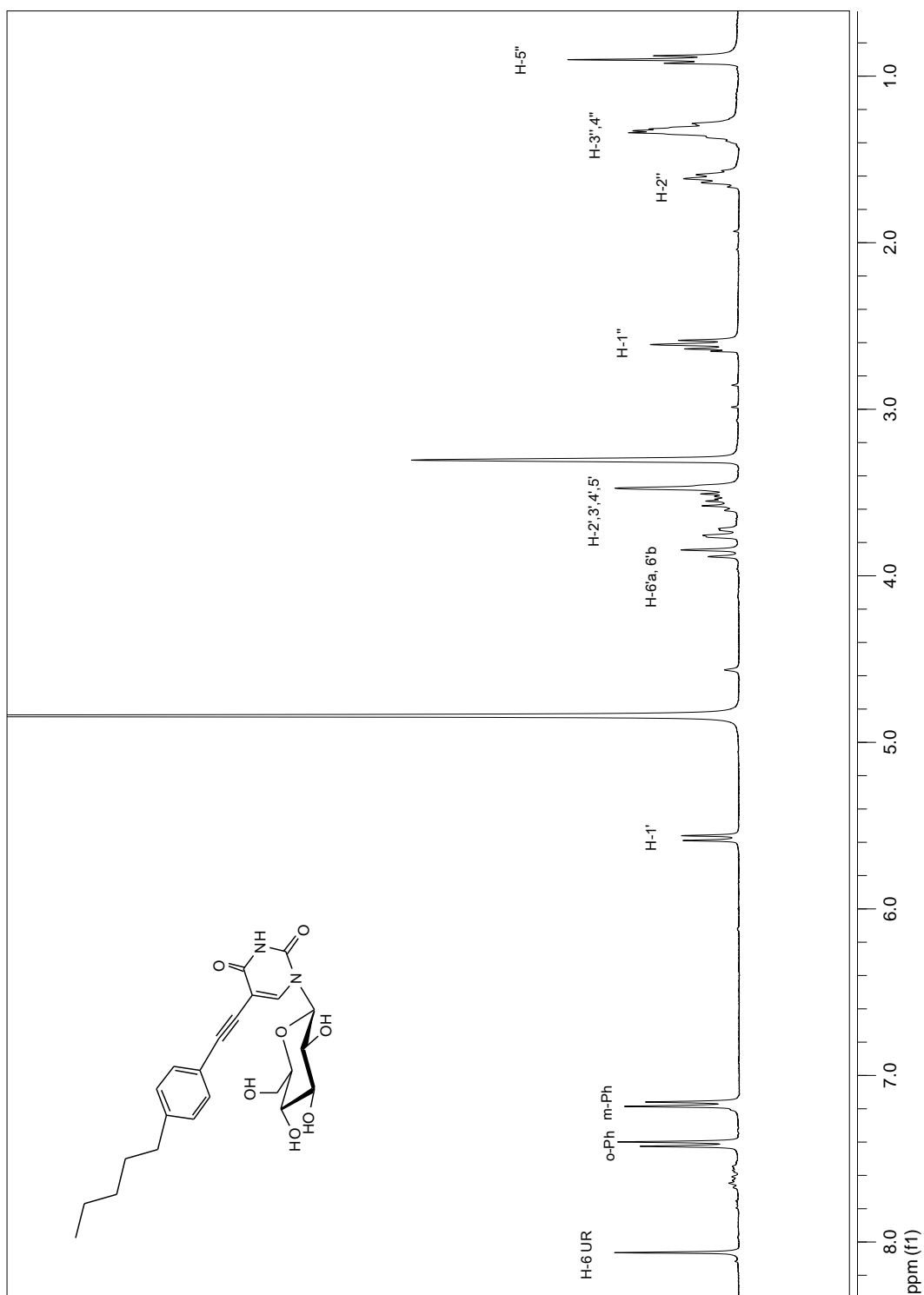


Το προϊόν **4a** (0.3 mmol) διαλυτοποιείται σε 40.9 mL μεθανόλης (MeOH), και προστίθενται 102 mg Pd/C και το μίγμα της αντίδρασης ξηραίνεται υπό κενό. Στη συνέχεια, το διάλυμα της αντίδρασης αφέθηκε με έντονη ανάδευση για 48 ώρες σε θερμοκρασία 20 °C υπο αέριο H₂. Η αντίδραση ελέγχθηκε με TLC (πίνακας 13). Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Δ. Το επιθυμητό προϊόν **11** ελήφθη υπό τη μορφή αφρώδους στερεού λευκού χρώματος με ικανοποιητική απόδοση 70%.

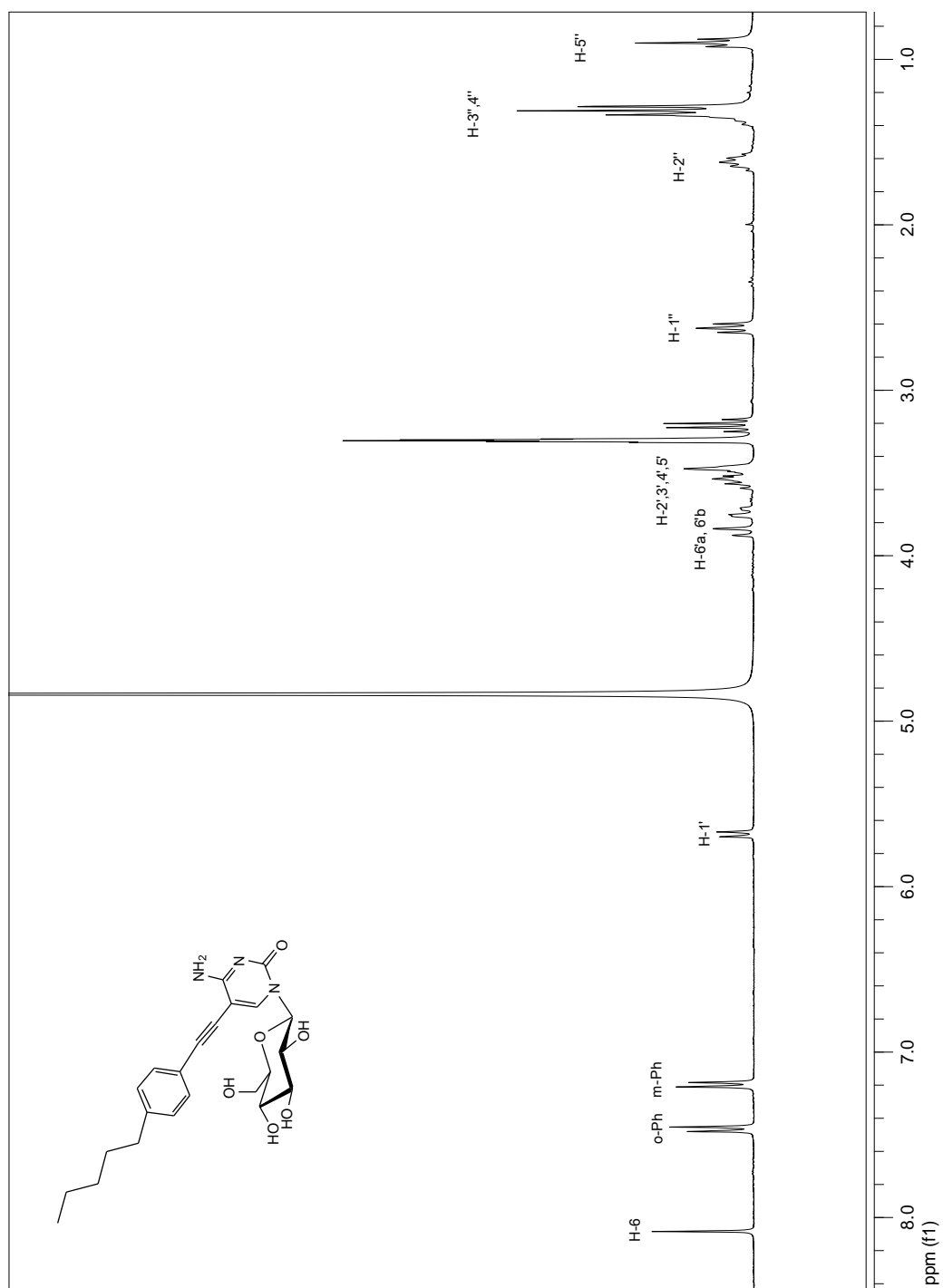
Πίνακας 13. Αποτελέσματα σύνθεσης 1 - (β-D-γλυκοκυρανοζυλο) - 5 - φαινυλοαιθυλοουρακίλης **11**

TLC(Διάλυμα Β)	$R_f = 0.17$
Απόδοση	70%
$[\alpha]_D^{22}$	+2.0 c = 0.11
λ_{max}	265 nm

5. Ταυτοποίηση ενώσεων με ^1H NMR



Εικόνα 1. Φάσμα ^1H NMR του τελικού προϊόντος **5a**



Εικόνα 2. Φάσμα ^1H NMR του τελικού προϊόντος **5b**

6. Αποτελέσματα- Συζήτηση

Η ανάπτυξη νουκλεοζιτικών αναλόγων ως πιθανά φάρμακα προέκυψε από τις προσπάθειες των ερευνητών για την καταπολέμηση χρόνιων νόσων όπως κακοήθειες νεοπλασίες και υϊκές μολύνσεις. Βασικός σκοπός όλων των ερευνητικών μελετών και προσπαθειών είναι η ανάπτυξη νουκλεοζιτικών αναλόγων, τα οποία να παρουσιάζουν χαμηλή τοξικότητα σε υγιή κύτταρα όπως κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και εκλεκτικότητα όσον αφορά στην δράση τους.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε η σύνθεση μιας νέας τάξης γλυκοπυρανονουκλεοζιτών με τροποποίηση στο τμήμα της βάσης με πιθανή αντικαρκινική και αντιϊκή δράση. Η πειραματική διαδικασία ήταν σχετικά απλή, ταχεία, έχοντας πραγματοποιήσει σύντομα βήματα. Η αντίδραση Sonogashira επιτεύχθηκε με την χρήση μικροκυμάτων, η οποία αποτελεί “πράσινη” τεχνική και υπερέχει σε σχέση με τη συμβατική θέρμανση στα εξής βασικά σημεία:

- I. Προσφέρει ομοιόμορφη θέρμανση σε όλο το μίγμα της αντίδρασης
- II. Αυξάνει σημαντικά την ταχύτητα της αντίδρασης
- III. Ελαττώνει τον σχηματισμό παραπροϊόντων
- IV. Παρέχει αυξημένες αποδόσεις

Οι τελικές αποδόσεις που πήραμε από τη σύνθεση των τελικών γλυκοπυρανονουκλεοζιτών είναι αρκετά καλές. Πιο συγκεκριμένα, η σύνθεση 1-(2',3',4',6'-τετρα-*O*-ακετυλο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)5-ιωδοουρακίλης **2a** και 5-ιωδοκυτοσίνης **2b** είχαν απόδοση 83% και 82%, αντίστοιχα. Η σύνθεση των 1-(β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)πυριμιδίνης νουκλεοζιτών **3a,b** είχαν απόδοση 87% και 80% αντίστοιχα, των 1-(β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-5-φαινυλοαιθυνοπυριμιδίνης νουκλεοζιτών **4a,b** είχαν απόδοση 82% και 80% αντίστοιχα και των 1-(β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο) 5-[(*p*- πεντυλοφαινυλο)αιθυνο]πυριμιδίνης νουκλεοζιτών **5a,b** είχαν απόδοση 77% και 76% αντίστοιχα. Επιπλέον, η σύνθεση των 1-(β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-5-[(4-τετρα- βουτυλοφαινυλο)αιθυνο]πυριμιδίνης των νουκλεοζιτών **6a,b** είχαν απόδοση 78% και 75% αντίστοιχα, της 1-(β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-5-πεντυνοκυτοσίνης **7b** είχε απόδοση 72%, της 1-(β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-5-επτυνοκυτοσίνης **8b** είχε απόδοση 73%, της 1-(β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-5-(τριμεθυλοσιλilo)αιθυνοκυτοσίνης **9b** είχε απόδοση 79%,

της 1-(β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-5-αιθυνοκυτοσίνης **10b** είχε απόδοση 80% και τέλος, η σύνθεση της 1-(β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-5-φαινολαιοκυτοσίνης **11** είχε απόδοση 70%.

Όλες οι νέες ενώσεις χαρακτηρίζονται από στοιχειώδεις αναλύσεις και αναλύσεις φάσματος πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού ¹H NMR.

Για την εκτίμηση της κυτταροτοξικής δράσης χρησιμοποιήθηκε η παράμετρος IC₅₀, η οποία αντιπροσωπεύει τη συγκέντρωση του φάρμακου που απαιτείται για την αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης κατά 50%.

Compound	IC ₅₀ * (μM)		
	L1210	CEM	HeLa
4a	6.2±0.4	5.2±2.6	5.4±0.0
5a	70 ± 23	81 ± 30	31 ± 12
6a	185 ± 91	> 250	37 ± 5
4b	≥ 250	> 250	201 ± 68
5b	132 ± 2	115 ± 15	43 ± 9
6b	> 250	> 250	140 ± 63
7b	≥ 250	> 250	191 ± 25
8b	≥ 250	> 250	≥ 250
10b	≥ 250	> 250	≥ 250
11	300 ± 0	244 ± 0	43 ± 7

Όπως προκύπτει από τον παραπάνω πίνακα η 1-(β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-5-φαινολαιοκυτοσίνη **4a** είχε εξαιρετική ανασταλτική δράση έναντι κυττάρων λευχαιμίας ποντικού (L1210), ανθρώπινου λεμφώματος (CEM) καθώς και των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του τραχήλου της μήτρας (HeLa) της τάξεως ~ 5.0 μM. Επίσης, παρατηρούμε ότι μέτρια ανασταλτική δράση εμφάνισε η 1-(β-D-γλυκοκυρανοζυλο) 5-[(p- πεντολοφαινολ)αιθυνο]ουρακίλη **5a** έναντι της ανάπτυξης των καρκινικών κυτταρικών σειρών L1210, CEM και HeLa της τάξεως ~ 60.6 μM. Επιπλέον, παρατηρούμε ότι αυξημένη ανασταλτική δράση στα καρκινικά κύτταρα HeLa εμφανίζουν οι ενώσεις : 1 - (β-D-γλυκοκυρανοζυλο) - 5 - [(4-τετρα-

βουτυλοφαινυλο)αιθυνυλο]ουρακίλη **6a**, 1 - (β-D-γλυκοπυρανοζυλο) - 5 -
φαινυλοαιθυλοουρακίλη **11** και 1 - (β-D-γλυκοπυρανοζυλο) - 5[(p-πεντυλοφαινυλο)
αιθυνυλο]κυτοσίνη **5b** της τάξεως 37 ~ 43 μM.

7. Βιβλιογραφία

1. Zhou, W.; Gumina, G.; Chong, Y.; Wang, J.; Schinazi, R. F.; Chu, C. K. J. Med. Chem. 2004, 47, 3399
2. Perigaud, C.; Gosselin, G.; Imbach, J. L. Nucleosides Nucleotides 1992, 11, 903
3. Verheggen, I.; Van Aerschot, A.; Toppet, S.; Snoeck, R.; Janssen, G.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Herdewijn, P. J. Med. Chem. 1993, 36, 2033
4. De Clercq, E. Mini-Rev. Med. Chem. 2002, 2, 163
5. Γεωργάτσου, Βιοχημεία, Εκδόσεις Γιαχούδη Γιαπούλη, 1993
6. Pastor-Anglada, M.; Felipe, A.; Casado, J. TiPS 1998, 19, 424
7. Arner, E. S. J.; Eriksson, S. Pharmacol. Ther. 1995, 67, 155
8. Wagner, C. R.; Iyer, V. V.; McIntee, E. J. Med. Res. Rev. 2000, 20, 417
9. Hiroyuki Hayakawa, Satoru Kohgo, Kenji Kitano, Noriyuki Ashida, Eiichi Kodama, Hiroaki Mitsuya and Hiroshi Ohrai Antiviral chemistry & chemotherapy 2004;15(4):169-87
10. www.virology.ws/2009/12/08/azt-inhibits-xmr/
11. Brossette T., Emmanuel Klein, Christophe Creminon, Jacques Grassi, Charles Mioskowski and Lyk Lebeau; Tetrahedron, 2001, 57, 8129-8143
12. Ellison RR, Carey RW and Holland JF. Clin. Pharmacol. Ther. , 1967 8, 800–809
13. 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
14. Matsuda A, Hattori H, Tanaka M, Sasaki T. Biomed Chem Lett, 1996, 6: 1887
15. Hideshi Hattori, Eisuke Nozawa, Tomoharu Iino, Yuichi Yoshimura, Satoshi Shuto, Yuji Shimamoto, Makoto Nomura,, Masakazu Fukushima, Motohiro Tanaka, Takuma Sasaki, and Akira Matsuda. J. Med. Chem. 1998, 41, 2892
16. Makoto Nomura, Satoshi Shutoa and Akira Matsudaa, Bioorganic & Medicinal Chemistry 11 (2003) 2453–2461
17. O-Yang, C.; Wu, H.Y.; Fraser-Smith, E.B.; Walker, K.A.M., Tetrahedron Lett. 1992, 33, 37
18. Kodama, E.; Kohgo, S.; Kitano, K.; Machida, H.; Gatanda, H.; Shigeta, S.; Matsuoka, M.; Ohrai, H.; Mitsuya, H., Antimicrob. Agents Chemother. 2001, 45, 1539
19. Satoru Kohgo, Kohei Yamada, Kenji Kitano, Shinji Sakata, Hiroyuki Hayakawa, Daisuke Nameki, Eiichi Kodama, Masao Matsuoka, Hiroaki Mitsuya, and Hiroshi

Ohruj, NUCLEOSIDES, NUCLEOTIDES & NUCLEIC ACIDS, Vol. 22, Nos. 5–8, pp. 887–889, 2003

20. Srinivasarao Meneni, Ingo Ott, Craig D. Sergeant, Adam Sniady, Ronald Gustb, and Roman Dembinski. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 15 (2007) 3082–3088

21. Minakawa, N.; Takeda, T.; Sasaki, T.; Matsuda, A.; Ueda, T. Nucleosides and nucleotides 96: synthesis and antitumor activity of 5-Ethynyl-1-β-D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (EICAR) and its derivatives. *J. Med. Chem.* 1991, 34(2), 778 – 786

22. 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

23. 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

24. 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

25. Antonakis, K. “Hexopyranose nucleosides”. In *Studies in Natural Products Chemistry, Stereoselective Synthesis (Part C)*; Elsevier, Amsterdam, 1989, 4, p. 241

26. Haouz, A.; Vanheusden, V.; Munier-Lechman, H.; Froeyen, M.; Herdewijn, P.; Van Galenbergh, S.; Delarue, M. *J. Biol. Chem.* 2003, 278, 4963

27. Komiotis, D.; Delatre, S.; Holt, L.; Ollapally, A.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Ligo, M. *Nucleosides Nucleotides* 1991, 10, 431

28. Patterson, J.; Uriel, C.; Egron, M.J.; Herscovici, J.; Antonakis, K.; Alaoui-Jamali, M.A. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1998, 42, 779 and references cited therein

29. Komiotis, D.; Manta, S.; Tsoukala, E.; Tzioumaki, N. *Curr. Med. Chem.: Anti-Infect. Agents* 2008, 7, 219

30. Agelis, G.; Tzioumaki, N.; Botić, T.; Cencič, A.; Komiotis, D. *Bioorg. Med. Chem.* 2007, 15, 5548

31. Suhadolnik, R. J. *Nucleoside Antibiotics*, Wiley-Interscience, New York, 1970

32. Antonakis, K.; Chouroulinkov, I. *Biochem. Pharmacol.* 1974, 23, 2095

33. Suhadolnik, R. J. Nucleosides as biological Probes, Wiley and Sons, New York, 1979
34. Augustyns, K.; Vandendriessche, F.; Van Aerschot, A.; Busson, R.; Urbanke, C.; Herdewijn, P. Nucleic Acids Res. 1992, 20, 4711
35. Augustyns, K.; Rozenski, J.; Van Aerschot, A.; Janssen, G.; Herdewijn, P. J. Org. Chem. 1993, 58, 2977