



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών Τμήματος Βιοχημείας και  
Βιοτεχνολογίας

**ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ**

Κύρκου Γεωργία

Διπλωματική εργασία

**“3´C- ΤΡΙΦΘΟΡΟΜΕΘΥΛΟ ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ ΩΣ  
ΑΝΤΙΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ: ΣΥΝΘΕΣΗ,  
ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΗ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ”**

ΛΑΡΙΣΑ

Ιανουάριος 2018

Διπλωματική εργασία

**“3’C- ΤΡΙΦΘΟΡΟΜΕΘΥΛΟ ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ ΩΣ  
ΑΝΤΙΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ: ΣΥΝΘΕΣΗ, ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΗ ΚΑΙ  
ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ”**

**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.

**Αμούτζιας Γρηγόριος** — Επίκουρος Καθηγητής Βιοπληροφορικής του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε στο εργαστήριο Βιο-Οργανικής Χημείας του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, με επιβλέποντα καθηγητή τον κ. Κομιώτη Δημήτριο, τον οποίο θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα για τη σωστή καθοδήγηση και τις εποικοδομητικές του υποδείξεις.

Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες μου στον υποψήφιο διδάκτορα κ. Κολλάτο Νικόλαο για την άριστη συνεργασία, υπομονή, βοήθεια και τις χρήσιμες συμβουλές του κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων στο εργαστήριο Βιο-Οργανικής Χημείας.

Τέλος, ευχαριστώ πολύ όλα τα μέλη του εργαστηρίου Βιο-Οργανικής Χημείας του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας για το άψογο κλίμα καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b> .....	<b>5</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>6</b>
<b>1.ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b> .....	<b>7</b>
1.1 Υδατάνθρακες .....	7
1.2 Κυκλικές δομές μονοσακχαριτών. Σχηματισμός ημιακετάλης - ενδομοριακή πυρηνόφιλη προσθήκη.....	8
1.3 Χημεία των νουκλεοζιτών .....	13
1.4 Μηχανισμός δράσης νουκλεοζιτών.....	13
1.5 Αντινεοπλασματικά ανάλογα νουκλεοζιτών .....	16
1.6 Αντικά ανάλογα νουκλεοζιτών .....	18
1.7 Πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα .....	21
<b>2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b> .....	<b>25</b>
2.1 Σκοπός .....	25
<b>3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ</b> .....	<b>26</b>
3.1 Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC:Thin layer chromatography) .....	26
3.2 Χρωματογραφία στήλης (Column chromatography) .....	26
3.3 Ξήρανση διαλυτών .....	28
3.4 Ταυτοποίηση ενώσεων .....	29
<b>4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b> .....	<b>30</b>
4.1.Επισκόπηση συνθετικής οδού.....	30
4.1.1 Σύνθεση της 3-C-τριφθορομέθυλο-1,2:5,6-δισ-O-ισοπροπυλιδενο-α-D- αλλοφουρανόζης .....	32
4.1.2 Σύνθεση του σακχάρου 3-C-τριφθορομέθυλο-3-υδροξυ-1,2,4,6-τετρακίς-O- ακετυλογλυκοπυρανόζη.....	32
4.1.3 Σύνθεση της 1-(3'-C- τριφθορομέθυλο -3'-υδροξυ-2',4',6'-τρις-O-ακετυλο-β-D- γλυκοπυρανοζυλο)5-ιωδοουρακίλης.....	33
4.1.4 Συνθετική πορεία της (5) .....	34
4.1.5 Συνθετική πορεία των τελικών πυρανονουκλεοζιτών (6).....	35
<b>5. ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ <sup>1</sup>H NMR</b> .....	<b>37</b>
<b>6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ- ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b> .....	<b>39</b>
<b>7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b> .....	<b>41</b>

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι υδατάνθρακες είναι αλδεϋδικές ή κετονικές ενώσεις με πολλαπλές υδροξυλικές ομάδες. Αποτελούν το μεγαλύτερο ποσοστό της οργανικής ύλης, λόγω των πολλαπλών ρόλων τους σε κάθε μορφή ζωής. Τροποποιημένοι υδατάνθρακες συνιστούν μέρος του περιβλήματος των κυττάρων, άλλοι απαντούν στα μόρια του DNA που μεταφέρουν γενετικές πληροφορίες, ενώ άλλοι χρησιμοποιούνται ως φάρμακα.

Τα τροποποιημένα ανάλογα νουκλεοζιτών κατέχουν σημαντική θέση στη φαρμακευτική χημεία ως δομική βάση για την ανάπτυξη θεραπευτικών παραγόντων. Συγκεκριμένα, αποτελούν ένα αξιοσημείωτο ερευνητικό πεδίο καθώς εμφανίζουν αντικαρκινική, αντιϊκή και αντιβιοτική δράση. Από τις σπουδαιότερες κατηγορίες αυτών είναι οι νουκλεοζίτες που φέρουν δομικές τροποποιήσεις στο τμήμα του σακχάρου. Διάφορες τέτοιες ενώσεις έχουν συντεθεί και έχουν αξιολογηθεί για τις πιθανές βιολογικές τους ιδιότητες.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία περιγράφεται η σύνθεση των 3'-τριφθορομεθυλο πυρανονουκλεοζιτών της 5'-ιωδοουρακίλης ως πιθανοί αντινεοπλασματικοί παράγοντες. Αναλύονται οι συνθετικές οδοί που ακολουθήθηκαν για την παρασκευή τους, η μέθοδος ταυτοποίησής τους καθώς και η βιολογική τους αποτίμηση.

## **ABSTRACT**

Carbohydrates are aldehyde or ketone compounds with multiple hydroxyl groups. It is the largest percentage of organic matter because of their multiple roles in every form of life. Modified carbohydrates are part of the cell envelope, others are found in DNA molecules carrying genetic information and others are used as drugs.

Modified nucleoside analogues occupy an important position in pharmaceutical chemistry as a structural basis for the development of therapeutic agents. In particular, they are a remarkable research field as they exhibit anticancer, antiviral and antibiotic activity. Among the most important categories of these are nucleosides that carry structural modifications to the sugar moiety. Several compounds have been synthesized and evaluated for their potential biological properties.

This diploma thesis describes the synthesis of 3'-C-trifluoromethyl pyranonucleosides of 5'-C-iodouracil as potential antineoplastic agents. Within, the synthetic route, structure identification and biological evaluation of the novel compounds are detailed.

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## 1.1 Υδατάνθρακες

Οι υδατάνθρακες είναι πολυ-υδροξυλιωμένα παράγωγα αλδευδών ή κετονών, ή ουσιών που αποδίδουν τέτοιες ενώσεις με υδρόλυση. Αποτελούν το μεγαλύτερο ποσοστό της οργανικής ύλης, λόγω των πολλαπλών ρόλων τους σε κάθε μορφή ζωής. Ως προς το χημικό τύπο, φέρουν ενυδατωμένο άνθρακα,  $C_n(H_2O)_n$ , ενώ ορισμένοι περιέχουν επίσης άζωτο, φωσφόρο ή θείο. Υπάρχουν τρεις κύριες κατηγορίες υδατανθράκων που διακρίνονται με βάση το μέγεθος: μονοσακχαρίτες, ολιγοσακχαρίτες και πολυσακχαρίτες.

Οι μονοσακχαρίτες αποτελούνται από μία πολύ-υδροξυλιωμένη αλδευδική ή κετονική ομάδα. Στη μορφή της ανοιχτής αλυσίδας, ένα από τα άτομα άνθρακα συνδέεται με διπλό δεσμό μ' ένα άτομο οξυγόνου, σχηματίζοντας μια καρβονυλομάδα και κάθε ένα από τα υπόλοιπα άτομα άνθρακα έχει μια υδροξυλομάδα. Αν η καρβονυλομάδα βρίσκεται στο άκρο της αλυσίδας, ο μονοσακχαρίτης είναι μια αλδόζη, ενώ αν βρίσκεται σε οποιαδήποτε άλλη θέση είναι μια κετόζη. Στη φύση, ο πιο άφθονος μονοσακχαρίτης είναι η D-γλυκόζη, ένα σάκχαρο με έξι άτομα άνθρακα, το οποίο αναφέρεται και ως δεξτρόζη.

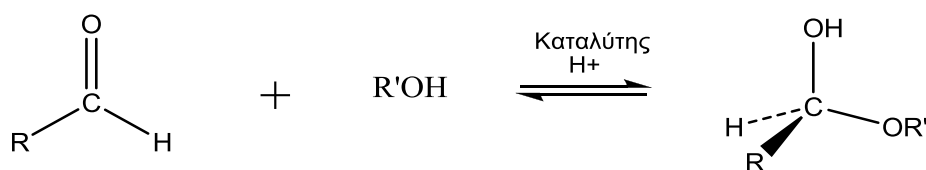
Οι ολιγοσακχαρίτες αποτελούνται από βραχείες αλυσίδες μονοσακχαριτικών ομάδων, ή αλλιώς καταλοίπων, που συνδέονται με γλυκοζιτικούς δεσμούς. Από την άλλη οι πολυσακχαρίτες είναι υδατανθρακικά πολυμερή που περιέχουν πάνω από είκοσι μονοσακχαριτικές μονάδες.

Θα πρέπει να τονιστεί ότι δεν υπάρχει σαφής διαχωρισμός μεταξύ ενός μεγάλου ολιγοσακχαρίτη και ενός μικρού μοριακού βάρους πολυσακχαρίτη, αφού αυτοί οι όροι στην πραγματικότητα χρησιμοποιούνται απλά για να περιγράψουν ενώσεις, των οποίων το μοριακό βάρος παρουσιάζει ένα ευρύ πεδίο τιμών.

Η βιολογική σημασία των υδατανθράκων είναι τεράστια αφού χρησιμεύουν ως αποθήκες ενέργειας, καύσιμα, μεταβολικά ενδιάμεσα καθώς και δομικά στοιχεία μακρομορίων όπως τα νουκλεϊκά οξέα (ανάγοντες μονοσακχαρίτες, ριβόζη και δεοξυριβόζη). [1]

## 1.2 Κυκλικές δομές μονοσακχαριτών. Σχηματισμός ημιακετάλης-ενδομοριακή πυρηνόφιλη προσθήκη.

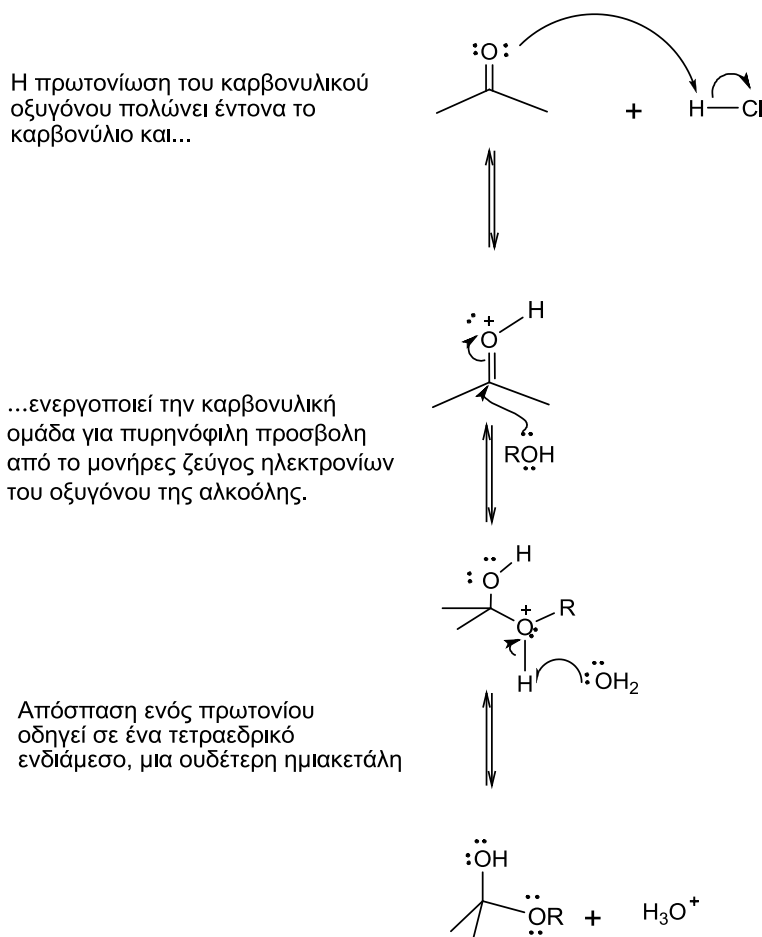
Σε υδατικό διάλυμα, οι αλδοτετρόζες κι όλοι οι μονοσακχαρίτες με πέντε ή έξι άτομα άνθρακα υφίστανται κυρίως υπό μορφή κυκλικών δομών, στις οποίες η καρβονυλομάδα έχει σχηματίσει ομοιοπολικό δεσμό με το άτομο οξυγόνου μιας υδροξυλομάδας κατά μήκος της αλυσίδας. Ο σχηματισμός αυτών των δακτυλιοειδών δομών είναι αποτέλεσμα μιας γενικής αντίδρασης μεταξύ αλκοολών και αλδευδών ή κετονών για το σχηματισμό παραγώγων που αποκαλούνται ημιακετάλες. [1]



Σχήμα 1 : Σχηματισμός ημιακετάλης

Ο μηχανισμός της αντίδρασης αυτής καλείται ενδομοριακή πυρηνόφιλη προσθήκη και λαμβάνει χώρα όταν η υδροξυλομάδα και το καρβονύλιο βρίσκονται στο ίδιο μόριο. (Σχήμα 2)



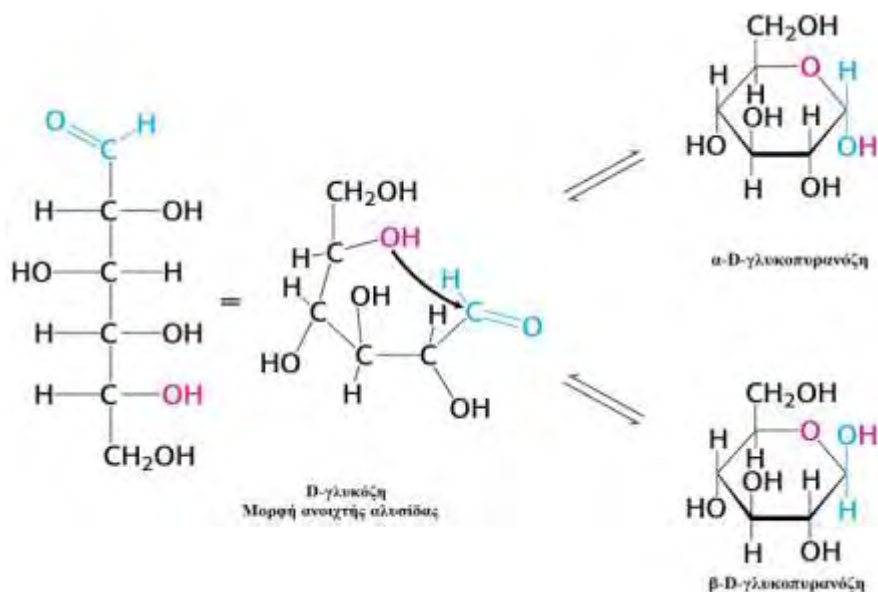


Σχήμα 2.

Επειδή όλα τα στάδια του σχηματισμού ακεταλών είναι αντιστρεπτά, η αντίδραση μπορεί να κατευθυνθεί ανάλογα με τις συνθήκες είτε προς τα δεξιά (από την καρβονυλική ένωση προς την ακετάλη) είτε προς τα αριστερά (από την ακετάλη προς την καρβονυλική ένωση). Η αντίδραση προς τα δεξιά ευνοείται υπό συνθήκες που απομακρύνουν το νερό.

Τα κυκλικά παράγωγα αυτά περιέχουν ένα επιπρόσθετο ασύμμετρο άτομο άνθρακα και, συνεπώς, υφίστανται σε δύο στερεοϊσομερείς μορφές, οι οποίες αποκαλούνται ανωμερή. Παραδείγματος χάριν, η *D*-γλυκόζη υφίσταται σε διάλυμα ως ενδομοριακή ημιακετάλη, στην οποία η ελεύθερη υδροξυλομάδα στο άτομο *C*-5 έχει αντιδράσει με το αλδευδικό άτομο *C*-1, καθιστώντας το ασύμμετρο και παράγοντας δύο στερεοϊσομερή που ορίζονται ως α και β.

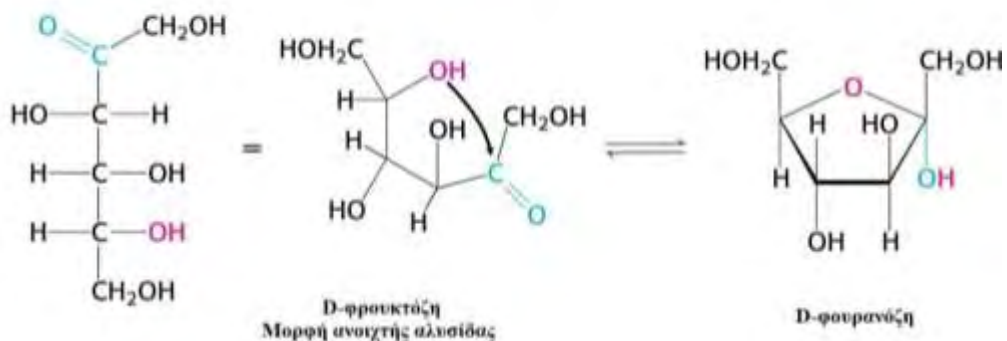
Αυτές οι ενώσεις με εξαμελείς δακτυλίους αποκαλούνται πυρανόζες, επειδή μοιάζουν με το πυράνιο, μια ένωση με εξαμελή δακτύλιο. Έτσι οι δύο δακτυλιοειδείς μορφές της *D*-γλυκόζης είναι η *α*-*D*-γλυκοπυρανόζη και *β*-*D*-γλυκοπυρανόζη (Σχήμα 3).[1]



Σχήμα 3

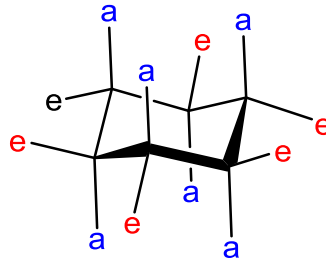
Στην περίπτωση της *α*-*D*-γλυκοπυρανόζης, ο χαρακτηρισμός «α» υποδηλώνει ότι το υδροξύλιο που συνδέεται στον *C*-1 βρίσκεται σε θέση *trans* ως προς τον υποκαταστάτη  $-\text{CH}_2\text{OH}$  του *C*-5 (δηλαδή βρίσκεται κάτω από το επίπεδο του δακτυλίου). Στην περίπτωση της *β*-*D*-γλυκοπυρανόζης, ο χαρακτηρισμός «β» υποδηλώνει ότι το υδροξύλιο που συνδέεται στον *C*-1 βρίσκεται σε θέση *cis* ως προς τον υποκαταστάτη  $-\text{CH}_2\text{OH}$  του *C*-5 (δηλαδή βρίσκεται πάνω από το επίπεδο του δακτυλίου).

Αντίστοιχα η *D*-φρουκτόζη σχηματίζει κυκλική μορφή πενταμελούς δακτυλίου που καλείται φουρανόζη. Στη φρουκτόζη μπορεί να χρησιμοποιηθεί η ίδια ονοματολογία για τα δυο της ανωμερή α και β (Σχήμα 4). Η μόνη διαφορά είναι ότι αναφέρονται στο υδροξύλιο που είναι ενωμένο στον άνθρακα *C*-2, που είναι και ανωμερής.



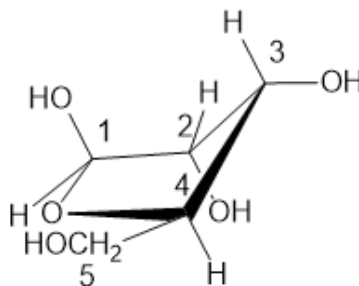
**Σχήμα 4**

Οι προηγούμενες δομές (Haworth) αν και εύχρηστες δεν μας παρέχουν ακριβή εικόνα του εξαμελή δακτυλίου της πυρανόζης. Ο συγκεκριμένος δακτύλιος δεν είναι δυνατόν να είναι επίπεδος, λόγω της τετραεδρικής γεωμετρίας των κορεσμένων ατόμων άνθρακα. Αντίθετα, οι δακτύλιοι της πυρανόζης μπορούν να υιοθετήσουν στερεοδιατάξεις ανάκλιντρου, με αποτέλεσμα να εξουδετερώνονται όλες οι τάσεις, εφόσον όλοι οι γειτονικοί δεσμοί C-H έχουν διαβαθμισμένη διαμόρφωση και οι γωνίες C-C-C μπορούν να προσεγγίσουν την απαλλαγμένη από τάσεις τιμή της κανονικής τετραεδρικής γωνιάς (McMurry, 2000, p. 151). Οι υποκαταστάτες των ατόμων άνθρακα του δακτυλίου είναι δύο ειδών: οι αξονικοί και οι ισημερινοί. Οι αξονικοί δεσμοί είναι σχεδόν κάθετοι προς το μέσο επίπεδο του δακτυλίου, ενώ οι ισημερινοί δεσμοί είναι σχεδόν παράλληλοι προς το επίπεδο αυτό. Οι αξονικοί υποκαταστάτες προβάλλουν πάνω και κάτω από το μέσο επίπεδο του δακτυλίου, ενώ οι ισημερινοί υποκαταστάτες διατάσσονται στην περιφέρεια. Οι αξονικοί υποκαταστάτες, εκτός του υδρογόνου, παρεμποδίζουν στερεοχημικά ο ένας τον άλλο, αν ξεπροβάλλουν από την ίδια πλευρά του δακτυλίου. Αντίθετα, υπάρχει πολύ περισσότερος χώρος για τους ισημερινούς υποκαταστάτες. Έτσι, ένας υποκαταστάτης είναι σταθερότερος στην ισημερινή απ' ότι στην αξονική θέση.



**Σχήμα 5:** Μορφή ανακλίντρου πυρανόζης.

Κατά αναλογία ο δακτύλιος της φουρανόζης μπορεί να είναι πτυχωμένος, έτσι ώστε τα τέσσερα άτομα να είναι στο ίδιο επίπεδο και το πέμπτο εκτός του επιπέδου αυτού (Σχήμα 6). Αυτή η διαμόρφωση καλείται μορφή φακέλου. Οι δακτύλιοι της φουρανόζης είναι σε θέση να αλληλομετατρέπονται ταχύτατα σε διαφορετικές στερεοδιατάξεις. Είναι πολύ πιο ευέλικτοι από τους δακτυλίους της πυρανόζης, γεγονός που εξηγεί την επιλογή τους ως συστατικών του RNA και DNA (Stryer, 1995).



**Σχήμα 6:** Μορφή φακέλου της β-D-ριβόζης

### 1.3 Χημεία των νουκλεοζιτών

Οι νουκλεοζίτες απαντώνται σε όλους τους οργανισμούς της φύσης, καθώς αποτελούν δομικά στοιχεία του DNA και του RNA. Συγκεκριμένα, οι νουκλεοζίτες είναι γλυκοσυλαμίνες που αποτελούνται από μία βάση πουρίνης ή πυριμιδίνης δεσμευμένης με τον άνθρακα C-1 μιας πεντόζης μέσω β-N-γλυκοζιτικού δεσμού (Berg J. M. *et al.*, 2001). Ανάλογα με τη βάση που φέρουν οι νουκλεοζιτικές μονάδες καλούνται δεοξυαδενοσίνη, δεοξυγουανοσίνη, δεοξυθυμιδίνη και δεοξυκυτιδίνη. Ο β-N-γλυκοζιτικός δεσμός σχηματίζεται με αφαίρεση ενός μορίου ύδατος, μιας υδροξυλομάδας από την πεντόζη και ενός ατόμου υδρογόνου από τη βάση. Αν η πεντόζη είναι ριβόζη ή δεοξυριβόζη, τότε γίνεται λόγος για ριβονουκλεοζίτη και δεοξυριβονουκλεοζίτη αντίστοιχα.

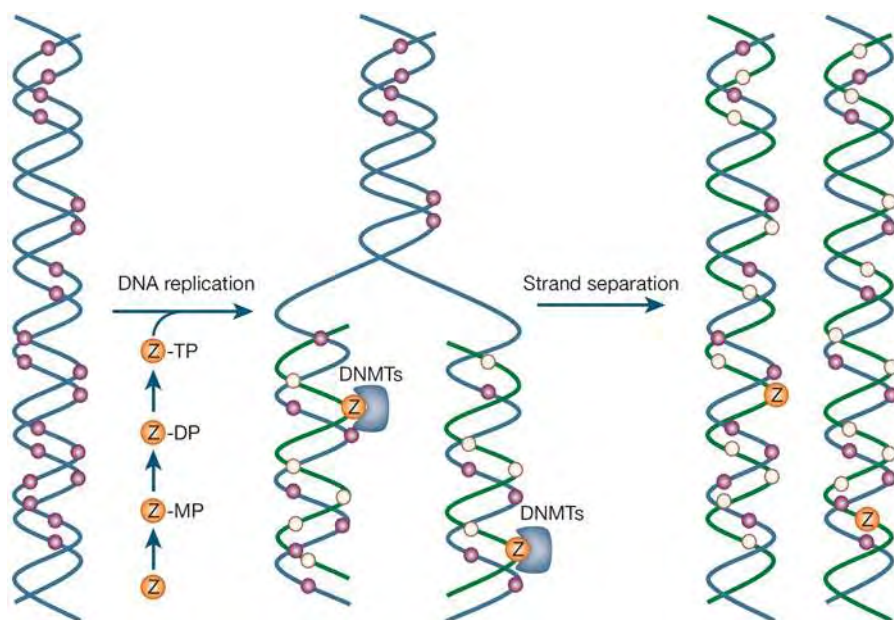
Ανάλογα φυσικών νουκλεοζιτών έχουν παρουσιάσει ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια, κυρίως λόγω των ποικίλων φαρμακολογικών ιδιοτήτων τους (Zhou *et al.* 2004, Perigaud *et al.* 1992, Robins *et al.* 1990, MacCoss *et al.* 1990). Οι ενώσεις αυτές δύνανται να τροποποιηθούν δομικά για να παραχθούν δραστικά παράγωγα τα οποία, διατηρώντας τις περισσότερες μεταβολικές ιδιότητες των μητρικών ενώσεων, μπορούν να μεταφερθούν στο κύτταρο και να μεταβολιστούν (Pastor-Anglada *et al.* 1998). Τα τελευταία χρόνια το ενδιαφέρον για τη σύνθεση των νουκλεοζιτών που περιέχουν πυρανοσυλικούς δακτυλίους ανανεώθηκε, με σκοπό την ανάπτυξη πιθανών αντικαρκινικών, αντικών, αντιοξειδωτικών και αντιμικροβιακών παραγόντων. Η βιολογική δραστηριότητα αυτών διαμορφώνεται από τη συστηματική μεταβολή του δακτυλίου του σακχάρου ή/και της νουκλεϊνικής βάσης. (Tsoukala *et al.* 2012)

### 1.4 Μηχανισμός δράσης νουκλεοζιτών

Γενικά, ο μηχανισμός δράσης των φαρμάκων βασίζεται στην αλληλεπίδρασή τους με ένα μοριακό στόχο, ο οποίος μπορεί να είναι είτε κάποια πρωτεΐνη, όπως ένας υποδοχέας, ένας διάυλος ιόντων, ένα ένζυμο, ένα μόριο μεταφορέας, είτε τα νουκλεϊνικά οξέα. Κάτι παρόμοιο ισχύει και για τα νουκλεοζιτικά ανάλογα αφού μιμούνται φυσιολογικούς μεταβολίτες σε ότι αφορά την πρόσληψη και το μεταβολισμό και ενσωματώνονται στο νεοσυντιθέμενο DNA αναστέλλοντας τη σύνθεση και οδηγώντας στον τερματισμό της νέας αλυσίδας.

Ορισμένες από αυτές τις ενώσεις αναστέλλουν επίσης βασικά ένζυμα που εμπλέκονται σε σημαντικά μεταβολικά μονοπάτια, καταλήγοντας έτσι σε κυτταρικό θάνατο. (Galmarini C. M. *et al.* 2001)

Τα νουκλεοζιτικά ανάλογα πρέπει να τροποποιηθούν ενδοκυτταρικά προκειμένου να δράσουν, λειτουργώντας έτσι ως προφάρμακα. Για τα δεοξυνουκλεοτιδικά η τροποποίηση αυτή συνίσταται στη φωσφορυλίωση προς τις τριφωσφορικές δομές τους, στην S φάση του κυτταρικού κύκλου, και στη συνέχεια στην ενσωμάτωσή τους στην αντίστοιχη θέση βάσης του DNA. Από την άλλη, τα ριβονουκλεοτιδικά ανάλογα ανάγονται στις διφωσφορικές δομές τους από τη ριβονουκλεοτιδική αναγωγή ώστε να ενσωματωθούν. Έτσι, όταν οι ψευδείς βάσεις δημιουργήσουν ομοιοπολικούς δεσμούς με τις DNA μεθυλοτρανσφεράσες, το DNA οδηγείται σε απομεθυλίωση. (Egger *et al.* 2004)



**Σχήμα 7:** Μηχανισμός δράσης νουκλεοζιτικών αναστολέων. Το δεοξυνουκλεοζιτικό ανάλογο 5-αζα-2-δεοξυκυτιδίνη (Z) μετατρέπεται στην τριφωσφορική δομή του εντός του κυττάρου και ενσωματώνεται στη θέση της κυτοσίνης στο DNA.

Αν και η μεταβολική ενεργοποίηση μπορεί να είναι ένα βασικό βήμα για τη φαρμακολογική δράση των νουκλεοζιτικών αναλόγων, αυτή δεν εμφανίζεται μέχρι να μεταφερθούν στη μεμβράνη του πλάσματος από ποικίλα συστήματα μεταφοράς. Αυτά τα συστήματα διαφέρουν στο σχετικό υπόστρωμά τους (μπορεί να είναι πουρίνη ή πυριμιδίνη, οι οποίες παρουσιάζουν διαφορετικές φαρμακολογικές ιδιότητες), στις θερμοδυναμικές τους ιδιότητες (μπορούν να είναι είτε εξισορροπητικές είτε συγκεντρωτικές) και στο πρότυπο ιστού έκφρασής τους. (Pastor-Anglada *et al.* 1998).

Ένας κοινός μηχανισμός αντιυικής και αντικαρκινικής δράσης των αναλόγων των νουκλεοζιτών είναι η ενσωμάτωσή τους στην επιμηκυνόμενη αλυσίδα του DNA, προκαλώντας την διακοπή της επιμήκυνσής της. Οι κυτταρικές πολυμεράσες συνδέουν το 5' άκρο του ενός νουκλεοτιδίου με την υδροξυλική 3' ομάδα του επόμενου νουκλεοτιδίου με ταυτόχρονη απελευθέρωση μιας πυροφωσφορικής ομάδας και δημιουργίας φωσφοδιεστερικού δεσμού μεταξύ των νουκλεοτιδίων (Lewin 2003, Burns *et al.* 2005). Εάν ένα ανάλογο νουκλεοτιδίων δεν έχει μια ομάδα 3'-υδροξυλίου, δεν μπορεί να ενωθεί με τη 5'-φωσφορική ομάδα του επόμενου νουκλεοτιδίου, και αυτό παρεμποδίζει αποτελεσματικά την επιμήκυνση της αλυσίδας.

Εκτός αυτού του μηχανισμού, στην περίπτωση ιικού DNA, τα ανάλογα νουκλεοζιτών αναστέλλουν τη διαδικασία της αντίστροφης μεταγραφής. Μέρος της εκλεκτικότητας των αναλόγων έναντι των κυττάρων που είναι μολυσμένα με τον ιό, οφείλεται στην συγγένεια του νουκλεοζιτικού αναλόγου με την ιική πολυμεράση, οπότε όσο μεγαλύτερη η συγγένεια τόσο μεγαλύτερη η εκλεκτικότητά τους ως θεραπευτικοί παράγοντες.

Επιπρόσθετα, σε θεραπείες καρκίνου αυτές οι ενώσεις μπορεί να είναι κυτταροτοξικές από μόνες τους, αν και μπορούν επίσης να ευαισθητοποιούν τα καρκινικά κύτταρα απέναντι στην ακτινοβολία μεταβάλλοντας το νουκλεοζιτικό μεταβολισμό. (Pastor-Anglada *et al.* 1998).

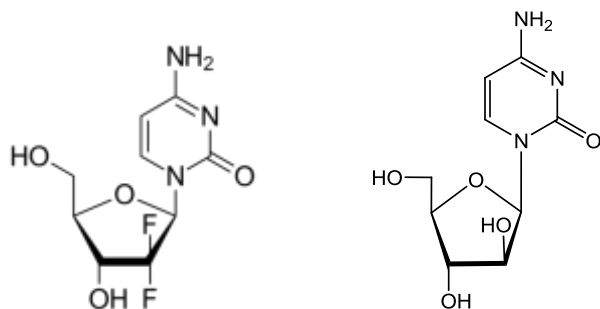
## 1.5 Αντινεοπλασματικά ανάλογα νουκλεοζιτών

Τα ανθρώπινα κύτταρα αναπτύσσονται και διαιρούνται για να σχηματίσουν νέα κύτταρα. Ο πολλαπλασιασμός αυτός των κυττάρων σ' έναν υγιή οργανισμό υπόκειται πάντα σε αυστηρές ρυθμίσεις, όπως τα συστήματα χημικών μηνυμάτων με τη διαμεσολάβηση ορμονών και συγκεκριμένων μεμβρανικών υποδοχέων που επιτρέπουν στα κύτταρα να αυξηθούν, να διαφοροποιηθούν και να λειτουργήσουν αρμονικά μέσα στον οργανισμό. Σε ορισμένες περιπτώσεις, μερικά από τα κύτταρα του σώματος αρχίζουν να διαιρούνται χωρίς να σταματούν και εξαπλώνονται άναρχα στους περιβάλλοντες ιστούς δημιουργώντας συσσωματώματα που καλούνται νεοπλασίες. Καθώς τα κύτταρα αυτά γίνονται ολοένα και πιο ανώμαλα, επιβιώνουν και αυξάνονται με περιορισμένο ρυθμό (καλοήθεις όγκοι), ή έντονο με μεταστάσεις σε άλλους ιστούς σχηματίζοντας καρκινώματα (κακοήθεις όγκοι), τα οποία θεραπεύονται κυρίως με χημειοθεραπεία. [15]

Τα τελευταία χρόνια, πραγματοποιήθηκαν πολλές έρευνες με στόχο την ανάπτυξη φαρμάκων για τη θεραπεία του καρκίνου. Η μεγάλη πλειοψηφία των εγκεκριμένων φαρμάκων είναι οι τροποποιημένοι νουκλεοζίτες, οι οποίοι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη χημειοθεραπεία του καρκίνου και των ιογενών ασθενειών. Το γεγονός ότι οι νουκλεοζίτες και τα ανάλογά τους έχουν επιτύχει ιδιαίτερη προσοχή για τις αντικαρκινικές τους ιδιότητες, δικαιολογεί τη σημασία της συνέχισης της έρευνας για αυτούς τους βιοενεργούς παράγοντες.

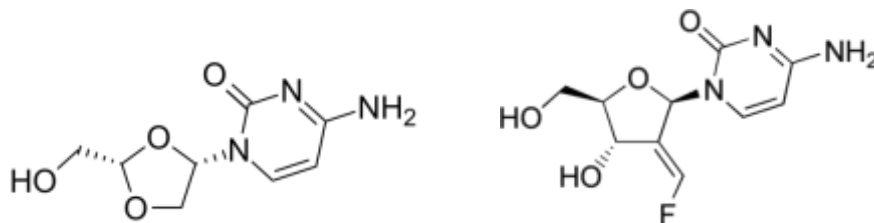
Τα αντικαρκινικά νουκλεοζιτικά ανάλογα περιλαμβάνουν διάφορες πυριμιδινικές και πουρινικές ενώσεις. Οι αντιμεταβολίτες αυτοί παρεμβαίνουν στη σύνθεση των DNA και RNA. Από τα πιο διαδεδομένα ανάλογα είναι η 1-β-D-αραβινοφουρανοζυλοκυτοσίνη (araC) [cytarabine (κυταραβίνη)] για τη θεραπεία της οξείας λευχαιμίας και η 2'-δεοξυ-2',2'-διφθοροκυτοσίνη [gemcitabine (γεμισιταμπίνη), dFdC] (Σχήμα 8) που έχει παρουσιάσει σημαντική δραστικότητα έναντι κακοήθων όγκων και δρα αναστέλλοντας τη σύνθεση του DNA μέσω ανταγωνιστικής ενσωμάτωσης στη νεοσυντιθέμενη κάθε φορά αλυσίδα. (Matsuda A. and Sasaki T., 2004)





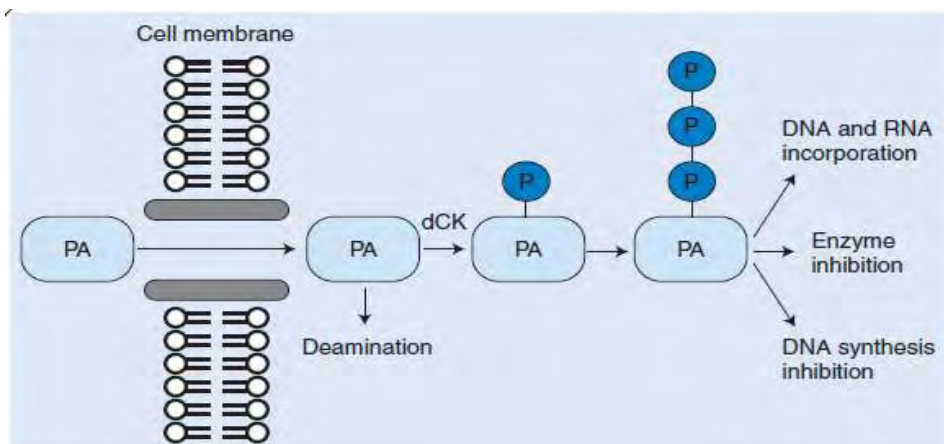
**Σχήμα 8**

Νεότερες έρευνες έχουν καταλήξει στη δημιουργία και άλλων νουκλεοζιτικών αναλόγων με αντινεοπλασματική δράση όπως η troxacitabine (τροξακυταβίνη), η οποία ενσωματώνεται στην αλυσίδα του DNA και οδηγεί στον τερματισμό της σύνθεσής της. Η τροξακυταβίνη (Σχήμα 9) χρησιμοποιείται στη θεραπεία επιθηλιακών κακοήθειων (Seley KL. 2000). Ακόμα η 2'-φθορομεθυλενο-2'-δεοξυκυτοσίνη [tezacitabine (τεζακυταβίνη)] (Σχήμα 9) λειτουργεί σαν ανασταλτικός παράγοντας της ριβονουκλεοτιδικής ρεδουκτάσης αφού φωσφορυλιωθεί στον ενεργό μεταβολίτη της από την dCK και απαμινωθεί από την απαμινάση της κυτοσίνης. (Tsimberidou *et al.*, 2002)



**Σχήμα 9:** Troxacitabine και Tezacitabine

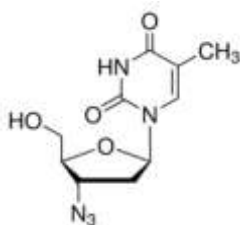
Τα αντινεοπλασματικά ανάλογα μοιράζονται κοινά χαρακτηριστικά μηχανισμού δράσης αφού λειτουργούν σαν αντιμεταβολίτες, ενσωματώνονται και μεταβάλλουν τα DNA και RNA μακρομόρια. Προκειμένου όμως να δράσουν οι ενώσεις αυτές μεταφέρονται από μεμβρανικούς υποδοχείς και ενεργοποιούνται από ενδοκυτταρικά μεταβολικά μονοπάτια στα αντίστοιχα φωσφορικά ανάλογά τους. (Galmarini *et al.* 2003)



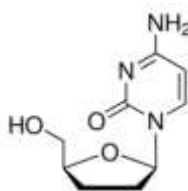
**Σχήμα 10:** Κοινά χαρακτηριστικά στο μεταβολισμό και στις αλληλεπιδράσεις φαρμακευτικών στόχων των πυριμιδινικών νουκλεοζιτικών αναλόγων (PA).

### 1.6 Αντικατάστατα ανάλογα νουκλεοζιτών

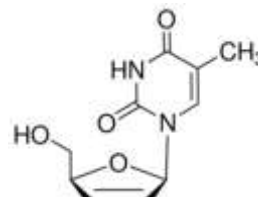
Τα νουκλεοζιτικά ανάλογα αποτελούν τον ακρογωνιαίο λίθο των αντικατάστατων θεραπειών με πολύ χαρακτηριστικά παραδείγματα αυτά που χρησιμοποιούνται κλινικά έναντι του HIV όπως zidovudine (AZT), zalcitabine (DDC) και το didanosine (DDI) (Σχήμα 11), τα οποία ανήκουν στην κατηγορία αναστολέων της αντίστροφης μεταγραφάσης.



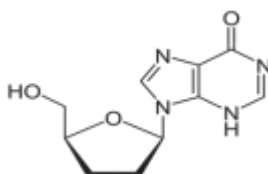
Zidovudine



Zalcitabine



Stavudine

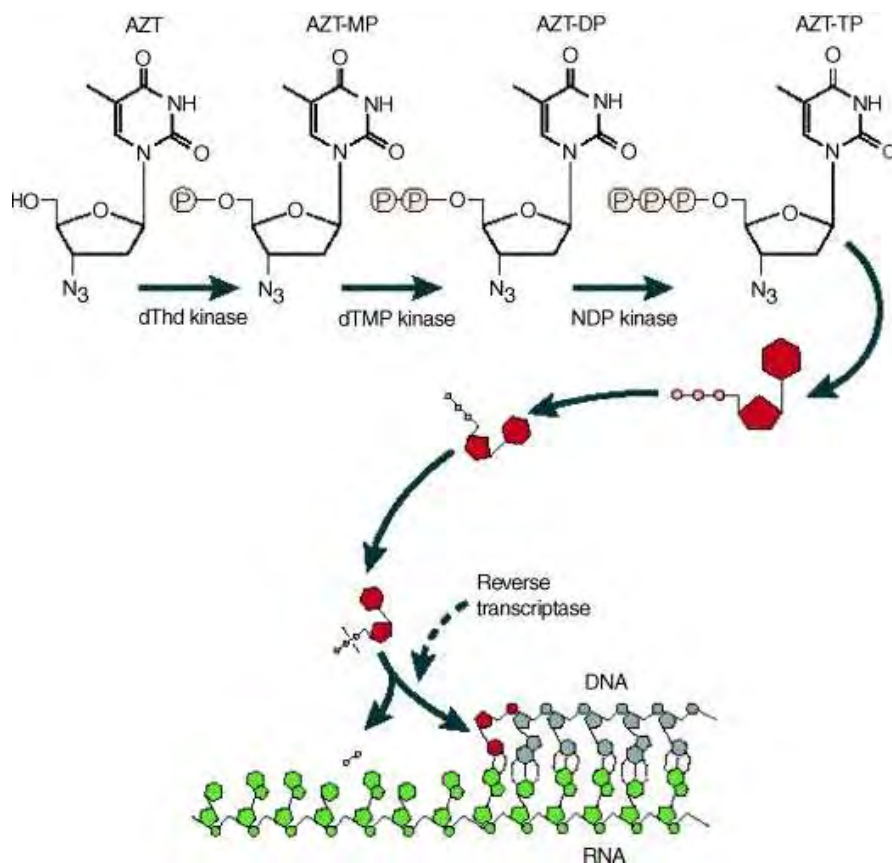


Didanosine

**Σχήμα 11**

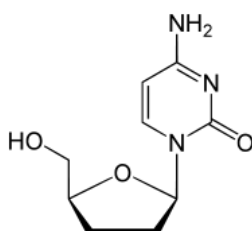
Η αντίστροφη μεταγραφάση είναι το ένζυμο που χρησιμοποιεί ο ιός για να συνθέσει DNA με μήτρα το ιικό RNA. Το ένζυμο αυτό συνθέτει μια αλυσίδα DNA συμπληρωματική με το RNA, δημιουργώντας ένα υβρίδιο DNA-RNA. Κατόπιν συντίθεται και η δεύτερη αλυσίδα DNA. Η δίκλωνη μορφή που αποκτά ο ιός, έχει τη δυνατότητα πρόσδεσης στο χρωμοσωμικό DNA του ξενιστή, γεγονός που συχνά οδηγεί σε έκφραση καρκίνου. Τα συγκεκριμένα ανάλογα νουκλεοζιτών αναστέλλουν τη δράση της αντίστροφης μεταγραφάσης, εμποδίζοντας έτσι την παραγωγή του ιικού DNA.

Το AZT (3'-αζιδο-2'-δεοξυθυμιδίνη) ήταν το πρώτο εγκεκριμένο φάρμακο για τη θεραπεία του AIDS. [20] Φωσφορυλιώνεται από τα κυτταρικά ένζυμα στην ενεργή του μορφή και δρα ως αναστολέας της αντίστροφης τρανσκριπτάσης τερματίζοντας την αλυσίδα μόλις συνδεθεί στο DNA. Επειδή έχει την αζιδο- ομάδα αντί για την υδροξυλομάδα, η επόμενη βάση δεν μπορεί να ενωθεί και η σύνθεση της αλυσίδας σταματά.



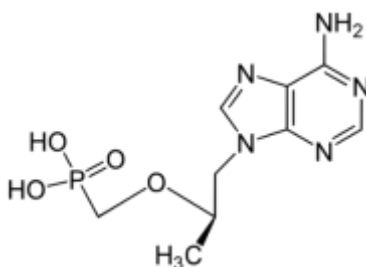
**Σχήμα 12:** Τερματισμός της αλυσίδας του ιικού DNA από το φωσφορυλιωμένο AZT.

Γενικά, η αποτελεσματικότητα των νουκλεοζιτικών αναλόγων εξαρτάται από την ικανότητά τους να μιμούνται φυσικούς νουκλεοζίτες, αλληλεπιδρώντας έτσι με ιικά ή/και κυτταρικά ένζυμα και αναστέλλοντας κρίσιμες διεργασίες στον μεταβολισμό των νουκλεϊνικών οξέων. Για το λόγο αυτό, επικράτησε η άποψη ότι μόνο τα D-ανάλογα, τα οποία κατέχουν την ίδια στερεοχημεία με τους φυσικούς νουκλεοζίτες μπορούν να αλληλεπιδρούν αποτελεσματικά και να αναστέλλουν τα μεταβολικά ένζυμα. Η άποψη αυτή αποδείχθηκε αναληθής με την ανακάλυψη της αντικής δραστηριότητας των νουκλεοζιτών της L-οξαθειολάνης, που τελικά οδήγησαν στην αποδοχή του Lamivudine (3TC) ως θεραπευτικό παράγοντα. (Gumina *et al.* 2002)



**Σχήμα 13:** Lamivudine

Νεότερες μελέτες οδήγησαν στη δημιουργία του Tenofovir (PMPA) που αναστέλλει την αντίστροφη μεταγραφή, ένα κρίσιμο ένζυμο των ρετροϊών, όπως ο ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV) και ο ιός της ηπατίτιδας Β, ενώ παρουσιάζει περιορισμένη αναστολή ανθρώπινων ενζύμων, όπως οι DNA πολυμεράσες  $\alpha$ ,  $\beta$ . Το tenofovir στερείται μιας ομάδας υδροξυλίου στον 3' άνθρακα του σακχάρου της δεοξυριβόζης, αποτρέποντας το σχηματισμό 5'-3' φωσφοδιεστερικού δεσμού που είναι απαραίτητος για την επιμήκυνση της αλυσίδας του DNA. Συνεπώς μόλις ενσωματωθεί σε μια αναπτυσσόμενη αλυσίδα DNA προκαλεί πρόωρο τερματισμό της μεταγραφής του DNA, εμποδίζοντας την αντιγραφή του ιού. [22]

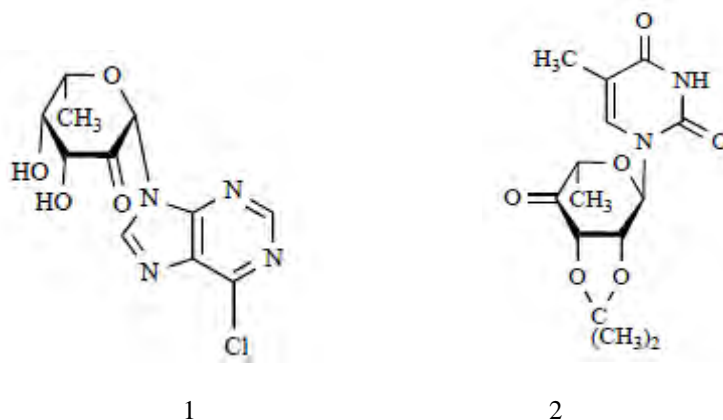


**Σχήμα 14:** Tenofovir

## 1.6 Πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα

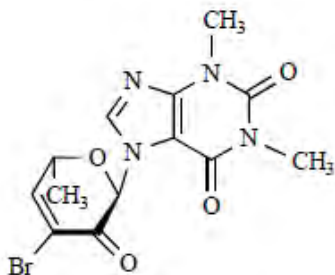
Οι έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα με στόχο τη δημιουργία φαρμάκων με αντική και αντικαρκινική δράση, αφορούσαν κυρίως στη χρήση αναλόγων νουκλεοζιτών που έχουν ως σάκχαρο μία πεντόζη και φέρουν τη β-απεικόνιση. Η σπουδαιότητα των πεντοζών αναγνωρίστηκε από τη στιγμή που η ριβόζη και η 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 β-*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 αντικής δράσης νέων νουκλεοζιτικών αναλόγων που φέρουν ως σάκχαρο μια εξόζη.

Με δεδομένο αυτό έχουν συντεθεί πολλά ανάλογα πυρανονουκλεοζιτών, όπως οι κετονουκλεοζίτες **1** και **2** (Σχήμα 15) που βρέθηκε ότι αναστέλλουν την ανάπτυξη KB καρκινικών κυττάρων ανθρώπινου επιδερμοειδούς *in vitro*.



Σχήμα 15

Επίσης, κυτταροτοξικά αποτελέσματα παρουσίασε η ένωση **3** (Σχήμα 16). Η προσθήκη του ηλεκτρόφιλου παράγοντα (Br<sup>-</sup>) οδήγησε σε αύξηση της κυτταροτοξικής δραστηριότητας του φαρμάκου. (Tsoukala *et al.* 2012)

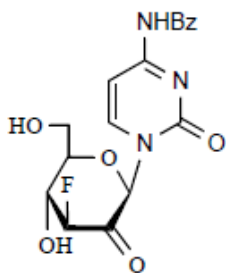


3

Σχήμα 16

Τα τελευταία χρόνια έχει δοθεί ιδιαίτερη προσοχή στη μελέτη φθορονουκλεοζιτών προκειμένου να βρεθούν νέα αντικαρκινικά, αντικά, 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). 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). 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 συνεισφέρει σημαντικά στη χημική δραστηριότητα.

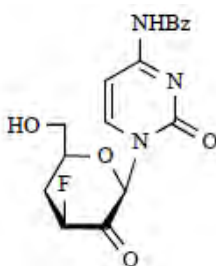
Έτσι, διάφορες βιολογικές δοκιμασίες έδειξαν ότι ο φθορονουκλεοζίτης **4** (Σχήμα 17) είναι δυνητικός θεραπευτικός παράγοντας έναντι αδενοκαρκινωμάτων και ροταϊών. (Manta *et al.* 2007)



4

**Σχήμα 17**

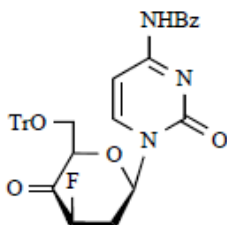
Επίσης, η ένωση **5** (Σχήμα 18) παρουσίασε αντικαρκινική δραστικότητα έναντι κυττάρων AGS που προέρχονται από καρκίνο του γαστρικού συστήματος, ακόμα μεγαλύτερη και από την 5-φθοροουρακίλη (5-FU). (Manta *et al.* 2009)



5

**Σχήμα 18**

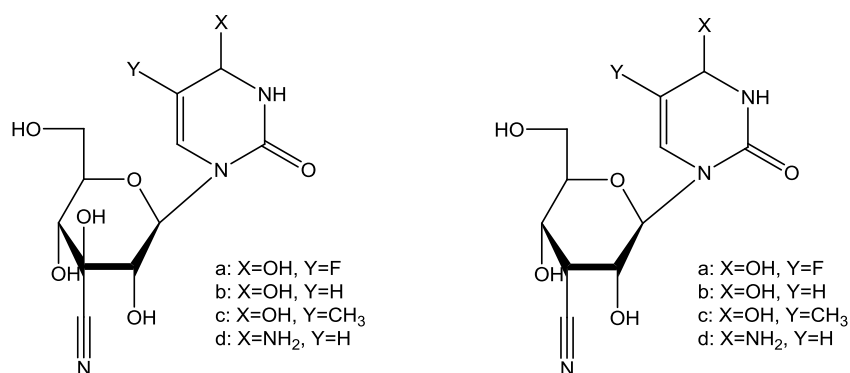
Ακόμα, η ένωση **6** (Σχήμα 19) με προστατευτική ομάδα στην 6' θέση αποδείχθηκε περισσότερο κυτταροτοξική από την 5-φθοροουρακίλη σε όλες τις καρκινικές κυτταρικές σειρές που δοκιμάστηκε, αποδεικνύοντας ότι η παρουσία πρωτοταγούς υδροξυλίου δεν είναι κρίσιμη για τη βιολογική δραστικότητα της ένωσης. (Manta *et al.* 2009)



6

**Σχήμα 19**

Πιο πρόσφατες μελέτες οδήγησαν στη σύνθεση μιας νέας τάξης πυρανονουκλεοζιτών, των 3'-κυανιδρινών και 3'-δεοξυ-κυανο πυρανονουκλεοζιτών (Kiritsis *et al.*, 2011). Οι συγκεκριμένοι νουκλεοζίτες αξιολογήθηκαν για την αντιική τους δράση έναντι μιας πληθώρας DNA και RNA ιών, ενώ ταυτόχρονα παρουσίασαν σημαντική κυτταροστατική δράση έναντι του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων λευχαιμίας (L1210), των ανθρώπινων T-λεμφοκυττάρων (CEM), καθώς επίσης και κατά του πολλαπλασιασμού των ανθρώπινων τραχηλικών καρκινικών κυττάρων (HeLa) ( Σχήμα 20 ).



Σχήμα 20



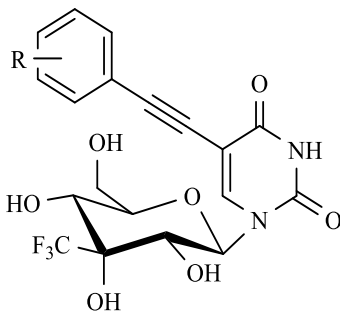
## 2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 2.1 Σκοπός

Τα τελευταία χρόνια, έχουν γίνει πολλές έρευνες με στόχο την ανάπτυξη φαρμάκων για τη θεραπεία του καρκίνου και των ιογενών λοιμώξεων. Η μεγαλύτερη πλειοψηφία των εγκεκριμένων φαρμάκων είναι τροποποιημένοι νουκλεοζίτες, οι οποίοι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο ως αντικαρκινικά και αντικά. Το γεγονός ότι οι νουκλεοζίτες και τα ανάλογα νουκλεοζιτών έχουν επιτύχει ιδιαίτερη προσοχή για τις αντικαρκινικές τους ιδιότητες, δικαιολογεί τη σημασία της συνέχισης της έρευνας για αυτούς τους βιοενεργούς παράγοντες. Αντικείμενο της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας είναι η σύνθεση 3' τροποποιημένων νουκλεοζιτών με αντινεοπλασματική δράση.

Πρόσφατα, οι νουκλεοζίτες που φέρουν έναν εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο αξιολογήθηκαν για το δυνητικό αντικό και αντιβιοτικό προφίλ τους, καθώς και ως δομικά στοιχεία στη σύνθεση νουκλεϊκών οξέων. Έτσι διαπιστώθηκε ότι έχουν αντοχή στην υδρόλυση, αφού η διάσπαση γλυκοζιτικού δεσμού είναι μια συχνά εξελισσόμενη πορεία αποικοδόμησης νουκλεοζιτικών φαρμάκων. Ακόμα πολλές μελέτες έδειξαν ότι η παρουσία  $CF_3$  ομάδας στο δακτύλιο του σακχάρου προσφέρει μεγαλύτερη λιποφιλικότητα και αυξημένη ενζυματική σταθερότητα.

Βάσει αυτών κρίθηκε σημαντική η σύνθεση μιας νέας τάξης πυρανονουκλεοζιτών στους οποίους η ηλεκτραρνητική τριφθορομεθυλο- ομάδα θα αντικαταστήσει το άτομο του φθορίου. Οι νέοι νουκλεοζίτες (Σχήμα 21) που φέρουν την τριφθορομεθυλο ομάδα στη 3'-θέση του σακχάρου και ως ετεροκυκλική βάση την ιωδοουρακίλη αξιολογήθηκαν ως αντινεοπλασματικοί παράγοντες.



Σχήμα 21

### 3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

#### 3.1 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 Silica gel (MerckKieseilel 60F24). Όταν πρόκειται να διαχωριστούν σχετικώς μη πολικά μόρια όπως, υδρογονάνθρακες, αιθέρες, αλδεΐδες, κετόνες ως υλικό επίστρωσης προτιμάται η Alumina, ενώ για τον διαχωρισμό περισσότερο πολικών μορίων όπως, αλκοολών, καρβοξυλικών οξέων, αμινών, η Silica gel.

Ως κινητή φάση (διαλύτης ανάπτυξης) χρησιμοποιείται εύρος διαλυτών (διχλωρομεθάνιο, εξάνιο, τολουόλιο, οξικός αιθυλεστέρας, πετρελαϊκός αιθέρας, ακετόνη, μεθανόλη κ.ά.) ή και μίγματα αυτών. Όταν ο διαλύτης ανάπτυξης είναι οργανικός ή μίγμα οργανικών τότε ο διαχωρισμός των συστατικών του δείγματος γίνεται κυρίως βάσει του μηχανισμού προσρόφησης, ενώ στην περίπτωση όπου ο διαλύτης περιέχει και νερό τότε ταυτόχρονα με τα φαινόμενα προσρόφησης παρατηρούνται και φαινόμενα κατανομής σε μεγάλο βαθμό. Ο διαλύτης ανάπτυξης ανεβαίνει στο πλακίδιο αργά-αργά λόγω τριχοειδών φαινομένων συμπαρασύροντας και τα συστατικά του δείγματος σε διαφορετικές αποστάσεις (ανάπτυξη χρωματογραφήματος). Τα προϊόντα στα χρωματογραφήματα ανιχνεύονται είτε ψεκάζοντας με διάλυμα  $H_2SO_4$  (θειϊκού οξέος) 30%, είτε μέσω UV ακτινοβολίας (254nm).

#### 3.2 Χρωματογραφία στήλης (Column chromatography)

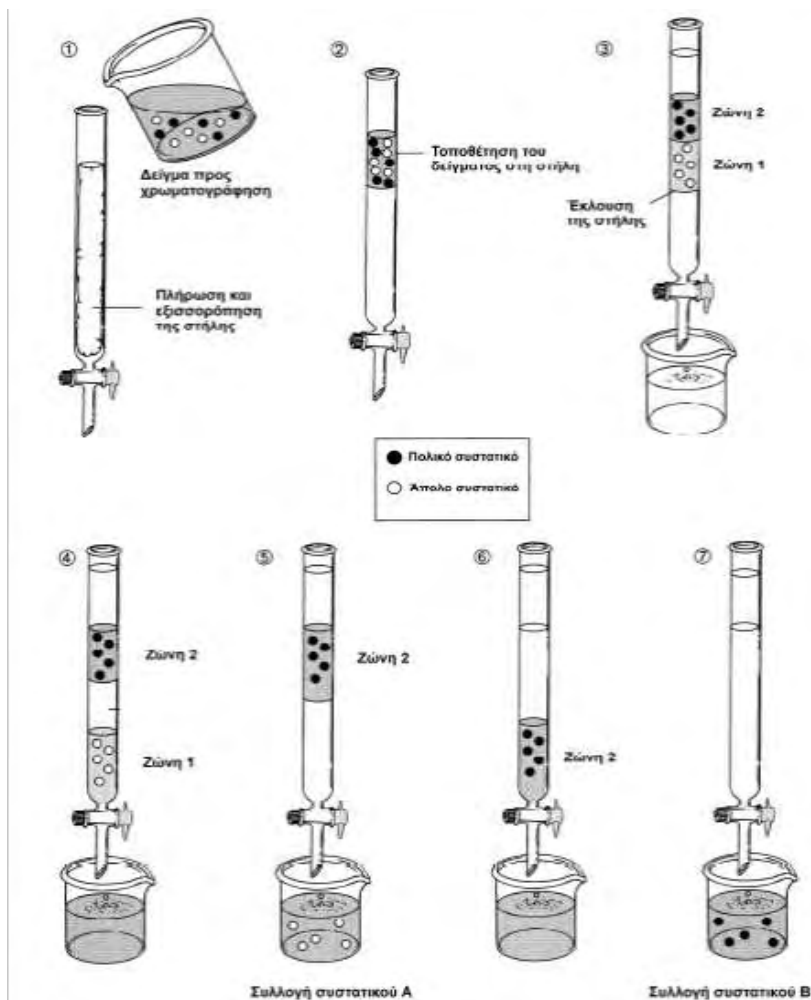
Για την απομόνωση μιας χημικής ένωσης είναι απαραίτητος ο καθαρισμός της από τους διαλύτες και τυχόν παραπροϊόντα της αντίδρασης. Οι περισσότερες χημικές ενώσεις καθαρίζονται με τη μέθοδο της χρωματογραφίας. Κατά την τεχνική αυτή το προς διαχωρισμό μείγμα διαλύεται σε έναν οργανικό διαλύτη ή σύστημα διαλυτών σε συγκεκριμένες κάθε φορά αναλογίες και αφήνεται να εκλούσει μέσα από κατακόρυφο γυάλινο σωλήνα, ο οποίος έχει προηγουμένως πληρωθεί με προσροφητικό υλικό. Το προσροφητικό υλικό (Silica ή Alumina gel) αποτελεί τη στατική φάση του διαχωρισμού, ενώ το μείγμα με το σύστημα την κινητή φάση.

Η ροή της κινητής φάσεως μέσα από τη στήλη επιτυγχάνεται συνήθως με σιφωνισμό του διαλύτη από μια δεξαμενή, η οποία βρίσκεται υψηλότερα από τη στήλη.

Επειδή οι διάφορες ενώσεις του μείγματος προσροφώνται στη στατική φάση σε διαφορετικό βαθμό μετακινούνται με διαφορετικές ταχύτητες μέσω αυτής, γεγονός που καθορίζει τη σειρά με την οποία θα εξέλθουν από τη διαχωριστική στήλη. Ο χρόνος έκλουσης μιας ουσίας καθορίζεται άμεσα από την πολικότητά της. Μόρια με πολικές λειτουργικές ομάδες προσροφώνται κατά κανόνα, εντονότερα και μετακινούνται βραδύτερα μέσω της στατικής φάσης σε σχέση με τα περισσότερα άπολα.

Όταν οι ενώσεις του δείγματος είναι έγχρωμες, τότε είναι δυνατή η παρακολούθηση του διαχωρισμού με γυμνό μάτι και η συλλογή των κατάλληλων κλασμάτων. Στην περίπτωση όπου οι ουσίες είναι άχρωμες συλλέγονται κλάσματα συγκεκριμένου όγκου, τα οποία μετά τη συλλογή τους αναλύονται ώστε να προσδιοριστεί σε ποια από αυτά υπάρχει η επιθυμητή ουσία.

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



Σχήμα 22: Πλήρωση και ανάπτυξη χρωματογραφικής στήλης.

### 3.3 Ξήρανση διαλυτών

Προκειμένου να πραγματοποιηθούν ορισμένες αντιδράσεις απαιτείται η χρήση άνυδρων διαλυτών, όπως ακετονιτρίλιο, N,N-διμέθυλοφορμαμίδιο, ακετόνη, πυριδίνη, διχλωρομεθάνιο και μεθανόλη.

Η ξήρανση του ακετονιτριλίου πραγματοποιήθηκε παρουσία υδριδίου του ασβεστίου με θέρμανση σε κάθετο ψυκτήρα υπό αναβρασμό κατά τη διάρκεια μιας νύχτας. Κατόπιν αποστάχθηκε υπό αέριο άζωτο και το απόσταγμα συλλέχθηκε σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 3Å (molecular sieves).

Το διχλωρομεθάνιο αποστάχθηκε, επίσης, παρουσία πεντοξειδίου του φωσφόρου και το απόσταγμα συλλέχθηκε σε φιάλη που περιείχε μοριακά κόσκινα 4Å, όπου και αποθηκεύτηκε. Η δε πυριδίνη αποστάχθηκε παρουσία υδροξειδίου του καλίου και το απόσταγμα συλλέχθηκε σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 4Å.

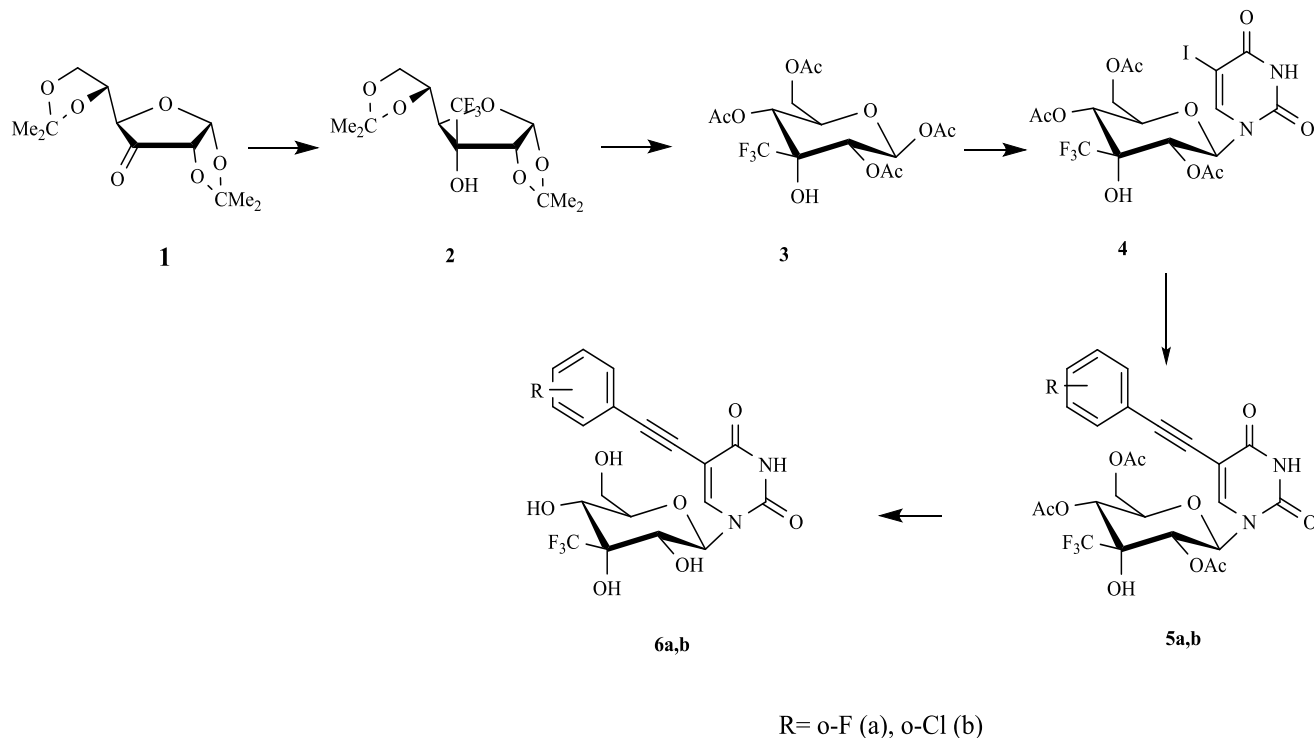
### 3.4 Ταυτοποίηση ενώσεων

Η φασματοσκοπία NMR είναι μία από τις κύριες τεχνικές που χρησιμοποιούνται για τη λήψη φυσικών, χημικών, ηλεκτρονικών και δομικών πληροφοριών για τα μόρια που οφείλονται είτε στη χημική μετατόπιση, το φαινόμενο Ζέεμαν (Zeeman effect), ή στο φαινόμενο της μετατόπισης Νάιτ (Knight shift), είτε σε συνδυασμό και των δύο, στις συχνότητες συντονισμού των πυρήνων που είναι παρόντες στο δείγμα. Είναι μια ισχυρή τεχνική που μπορεί να δώσει λεπτομερείς πληροφορίες στην τοπολογία, τη δυναμική και την τρισδιάστατη δομή των μορίων σε διάλυμα και σε στερεή κατάσταση.

Η ταυτοποίηση των ενώσεων που συντέθηκαν έγινε με τη χρήση του φάσματος πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR (Nuclear Magnetic Resonance). Τα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR μετρήθηκαν με το φωτόμετρο Bruker 300 MHz χρησιμοποιώντας δευτεριωμένο χλωροφόρμιο ( $\text{CDCl}_3$ ) και δευτεριωμένη μεθανόλη (MEOD). Το τετραμεθυλοσιλάνιο (TMS) χρησιμοποιήθηκε ως σημείο αναφοράς για  $^1\text{H}$ . Η πολλαπλότητα των καμπύλων φαίνεται με s (single), d (doublet), dd (doublet doublet), dt (doublet triplet), m (multiplet). Οι σταθερές σύζευξης J μετρήθηκαν σε Hz. [35], [36]

## 4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 4.1 Επισκόπηση συνθετικής οδού.



Η πρώτη ύλη της συνθετικής πορείας είναι η εμπορικά διαθέσιμη ένωση, 1,2:5,6-δισ-*O*-ισοπροπυλιδενο- $\alpha$ -*D*-γλυκοφουρανόζη (DAG), η οποία οξειδώνεται προς 1,2:5,6-Δισ-*O*-ισοπροπυλιδενο- $\alpha$ -*D*-ριβοεξοφουρανοζο-3-ουλόζη (**1**) χρησιμοποιώντας PDC παρουσία  $\text{Ac}_2\text{O}$  σε διαλύτη  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Η αντίδραση προχωράει ποσοτικά με απόδοση 89%.

Η πρώτη αντίδραση της συνθετικής πορείας είναι μία πυρηνόφιλη προσθήκη της τριφθορομέθυλο ομάδας στην κετονομάδα του αντιδραστήριου (**1**). Λαμβάνεται με αυτό τον τρόπο με υψηλή στερεοεκλεκτικότητα η 3-*C*-τριφθορομέθυλο-1,2:5,6-δισ-*O*-ισοπροπυλιδενο- $\alpha$ -*D*-αλλοφουρανόζη (**2**) με αντιδραστήριο τριφθορομέθυλο τριμέθυλο πυρίτιο (TFMTS), παρουσία τετραβουτυλο-αμμώνιο φθοριδίου (TBAF) σε διαλύτη τετραϋδροφουράνιο (THF), με απόδοση 90%.

Ο στερεοχημικός έλεγχος αυτής της αντίδρασης προκύπτει από την παρουσία της γειτονικής ισοπροπυλιδενο- ομάδας, η οποία εμποδίζει την τριφθορομεθυλο- ομάδα να προσεγγίσει τον δακτύλιο του σακχάρου.

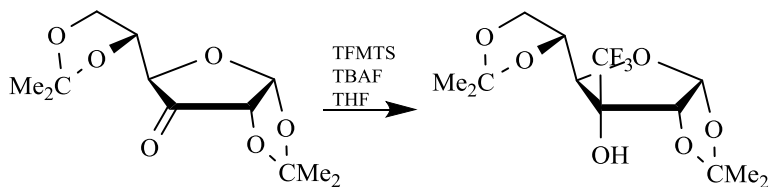
Η σύνθεση συνεχίζεται με την υδρόλυση του προϊόντος **2** με ένα θερμό υδατικό διάλυμα της ρητίνης Amberlite IR-120 ( $H^+$ ) σε μεθανόλη (MeOH), ακολουθούμενη από ακετυλίωση παρουσία οξεικού ανυδρίτη ( $Ac_2O$ ) σε πυριδίνη που οδηγεί στο επιθυμητό σάκχαρο 3-C-τριφθορομέθυλο-3-υδροξυ-1,2,4,6-τετρακίς-*O*-ακετυλογλυκοκυρανόζη **3**, με απόδοση 81%.

Ακολουθεί η σύζευξη του σακχάρου **3** με τη βάση 5-ιωδοουρακίλη. Αρχικά, σιλυλιώνεται η βάση παρουσία του διαλύτη ακετονιτριλίου (MeCN), εξαμεθυλοδισιλαζανίου (HMDS) καθώς και καταλυτικής ποσότητας σακχαρίνης. Στη συνέχεια, προστίθεται στο σάκχαρο **3** και η σύζευξη επιτυγχάνεται υπό συνθήκες Vorbrüggen γλυκοζυλίωσης, με την προσθήκη του τριφθορομεθανοσουλφονικού τριμεθυλοσιλυλεστέρα ( $Me_3SiOSO_2CF_3$ ) και θέρμανση της αντίδρασης, λαμβάνοντας την 1-(3'-C-τριφθορομέθυλο-3'-υδροξυ-2',4',6'-τρις-*O*-ακετυλο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)5-ιωδοουρακίλη **4**, σε απόδοση 82%.

Έπειτα, λαμβάνει χώρα η αντίδραση Sonogashira. Το προϊόν **4** διαλύεται σε άνυδρο διαλύτη *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF) και με την προσθήκη του κατάλληλου αλκινίου, της τριαιθυλαμίνης ( $Et_3N$ ), του ιωδιούχου χαλκού (CuI) (συγκαταλύτης) και του τετράκις τριφαινυλοφωσφορικού παλλαδίου [ $Pd(PPh_3)_4$ ] (καταλύτης), πραγματοποιείται η σύζευξή τους υπό την ακτινοβολία μικροκυμάτων ισχύος 200W για 10 λεπτά στους 50°C, σε αποδόσεις 69% και 74% για τα τις ενώσεις **5a** και **5b**, αντίστοιχα.

Τέλος, η σύνθεση ολοκληρώνεται με την απακετυλίωση των προϊόντων **5a** και **5b** σε διάλυμα κορεσμένης μεθανόλης με αμμωνία, παίρνοντας τα τελικά προϊόντα **6a** και **6b**, με απόδοση 90% και 92%, αντίστοιχα.

#### 4.1.1 Σύνθεση της 3-C-τριφθορομέθυλο-1,2:5,6-δισ-O-ισοπροπυλιδενο-α-D-αλλοφουρανόζης

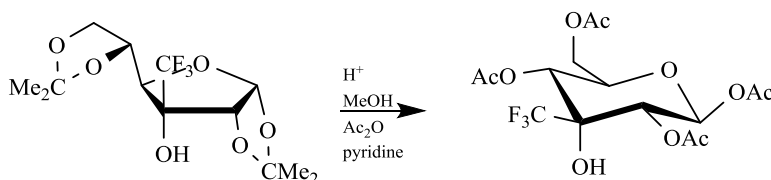


Σε διάλυμα που περιέχει το **1** (1g, 3.9 mmol) και τριφθορομέθυλ-τριμεθυλ πυρίτιο (0.8 ml, 8 mmol) σε THF (10 ml) προστέθηκε στάγδην διάλυμα 1M TBAF σε THF (1.1 g, 8 mmol). Το διάλυμα αναδεύτηκε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 2 ώρες. Έπειτα συμπυκνώθηκε και το προϊόν μεταφέρθηκε σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel). Πραγματοποιήθηκε έκλουση με 20% οξικό αιθυλεστέρα σε εξάνιο. Το επιθυμητό προϊόν **2** ( 1.15 g ) ελήφθη υπό τη μορφή λευκού κρυστάλλου.

TLC	R <sub>f</sub> =0.52
Απόδοση	90%

**Πίνακας 1.** Αποτελέσματα σύνθεσης της 3-C- τριφθορομέθυλο -1,2:5,6-δι-O-ισοπροπυλιδενο-α-D-αλλοφουρανόζης (**2**)

#### 4.1.2 Σύνθεση του σακχάρου 3-C-τριφθορομέθυλο-3-υδροξυ-1,2,4,6-τετρακис-O-ακετυλογλυκοκυρανόζης



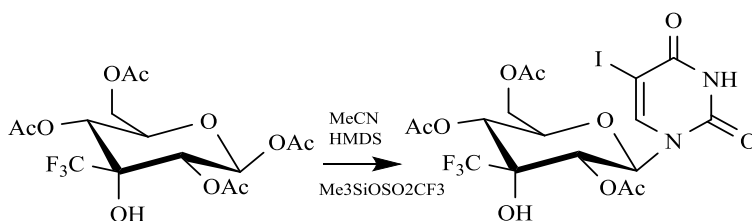


Διάλυμα της ένωσης **2** (700mg, 2.13mmol) σε MeOH (3.31 ml) και νερό (19 ml) αναδεύτηκε στους 60-70 °C με ρητίνη AmberliteIR-120 (H<sup>+</sup>) (1.10mg). Μετά από 10 ώρες η αντίδραση ελέγχθηκε με TLC, το μείγμα διηθήθηκε και απομακρύνθηκαν οι διαλύτες από το διήθημα υπό κενό. Το προϊόν **3** (427mg) ελήφθη ύστερα από ακετυλίωση παρουσία οξικού ανυδρίτη (Ac<sub>2</sub>O) σε πυριδίνη. Συγκεκριμένα, το μείγμα αναδεύτηκε σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα. Μετά το πέρας της αντίδρασης το διάλυμα κρύωσε στους 0 °C και προστέθηκε μεθανόλη (0.7 ml) ώστε να καταστείλει την αντίδραση. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε συμπύκνωση υπό κενό πολλές φορές με MeOH για την απομάκρυνση της πυριδίνης. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλυσης διάλυμα 50% οξικός αιθυλεστέρας σε εξάνιο και το επιθυμητό προϊόν **3** (429 mg) ελήφθη υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

TLC	R <sub>f</sub> =0.44
Απόδοση	81%

**Πίνακας 2:** Αποτελέσματα σύνθεσης της 3-C-τριφθορομέθυλο-3-υδροξυ-1,2,4,6-τετρακίς-O-ακετυλογλυκοκυρανόζης (**3**)

#### 4.1.3 Σύνθεση της 1-(3'-C- τριφθορομέθυλο -3'-υδροξυ-2',4',6'-τρις-O-ακετυλο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)5-ιωδοουρακίλης

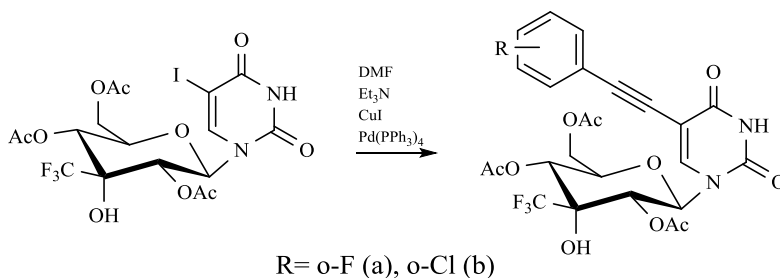


Διάλυμα της ιωδοουρακίλης (200mg, 1.44 mmol), του HMDS (380  $\mu$ l, 1.79mmol) και της σακχαρίνης (12.15mg, 0.066mmol) σε άνυδρο  $\text{CH}_3\text{CN}$  (10ml), θερμάνθηκε με κάθετο ψυκτήρα για 1 ώρα στους  $120^\circ\text{C}$  και αφότου το μείγμα έγινε διαυγές προστέθηκε η 3-τριφθορομέθυλο-3-υδροξυ-1,2,4,6-τετρα-*O*-ακετυλογλυκοκυρανόζη **3** (429mg, 1.03mmol) καθώς και ο  $\text{Me}_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$  (0.26ml, 1.44mmol). Η αντίδραση ολοκληρώθηκε στις 3 ώρες με θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα στους  $90^\circ\text{C}$ . Στη συνέχεια το μείγμα της αντίδρασης αφέθηκε να κρυώσει, εξουδετερώθηκε με κορεσμένο διάλυμα  $\text{NaHCO}_3$ , αραιώθηκε με οξικό αιθυλεστέρα (90 ml) και εκχυλίστηκε μία φορά με νερό. 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 διάλυμα 40% εξάνιο σε οξικό αιθυλεστέρα. Το επιθυμητό προϊόν **4** (352mg) ελήφθη υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

TLC	$R_f=0.46$
Απόδοση	82%

**Πίνακας 3:** Αποτελέσματα σύνθεσης της 1-(3'-*C*- τριφθορομέθυλο -3'-υδροξυ-2',4',6'-τρις-*O*-ακετυλο- $\beta$ -D-γλυκοκυρανοζυλο)5-φθοροουρακίλης

#### 4.1.4 Συνθετική πορεία των 5.



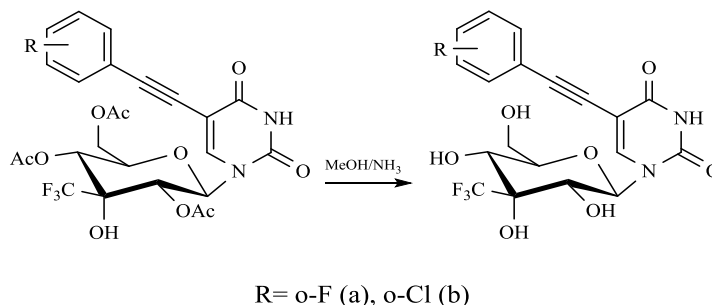
Η σύνθεση της ένωσης **5** επιτεύχθηκε με τη μέθοδο Sonogashira με χρήση μικροκυμάτων:

Το *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιου (DMF) και η 1-(3'-C- τριφθορομέθυλο -3'-υδροξύ-2',4',6'-τρις-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)5-ιωδοουρακίλη διαλύθηκαν σε 5 mL άνυδρου διαλύτη (0,41mmol, 206mg), 2 eq του κατάλληλου τελικού αλκινίου, τριφαινυλοφωσφορικό παλλάδιο [Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>] (0,1 eq, 323,6 mg, 0,28mmol), ιωδιούχο χαλκό (0,1 eq, 53,7 mg, 0,28 mmol), τριαιθυλαμίνη (3 eq, 1,2ml). Η αντίδραση συνεχίστηκε με χρήση μικροκυμάτων σε συνθήκες 200 Watt, για 10 λεπτά στους 50°C και ακολουθήθηκε επεξεργασία για την παραλαβή του προϊόντος. Κατά την επεξεργασία πραγματοποιήθηκε εκχύλιση του μίγματος της αντίδρασης με οξικό αιθυλεστέρα και NaHCO<sub>3</sub>, παραλαβή της οργανικής φάσης, ξήρανση με άνυδρο Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και απομάκρυνση του διαλύτη υπό κενό. Ακολούθησε καθαρισμός του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης διάλυμα 40% οξικού αιθυλεστέρα σε εξάνιο.

	<b>5a</b>	<b>5b</b>
TLC	R <sub>f</sub> =0.46	R <sub>f</sub> =0.48
Απόδοση	69%	74%

**Πίνακας 4:** Αποτελέσματα σύνθεσης των ενώσεων **5a** και **5b**.

#### 4.1.5 Συνθετική πορεία των τελικών πυρανονουκλεοζιτών **6**.



Οι προστατευμένοι νουκλεοζίτες 5a και 5b διαλύθηκαν σε κορεσμένη μεθανολική αμμωνία (262,5 ml) και αναδεύτηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 12 ώρες. Ο διαλύτης στη συνέχεια απομακρύνθηκε υπό κενό και οι αποπροστατευμένοι νουκλεοζίτες καθαρίστηκαν με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης διάλυμα 10% μεθανόλης σε CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, οπότε παραλήφθηκαν τα επιθυμητά προϊόντα **6a** και **6b**.

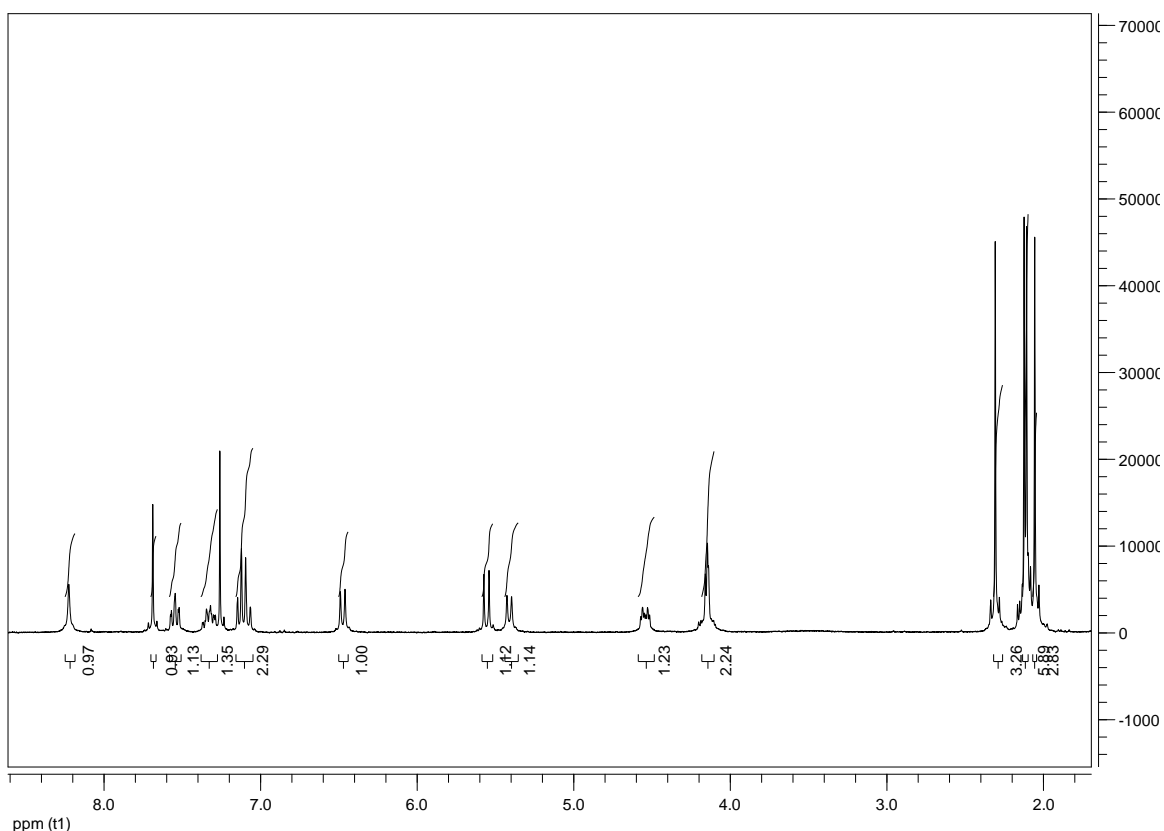
	<b>6a</b>	<b>6b</b>
TLC	R <sub>f</sub> =0.38	R <sub>f</sub> =0.35
Απόδοση	90%	92%

**Πίνακας 5:** Αποτελέσματα σύνθεσης των τελικών προϊόντων **6a** και **6b**.

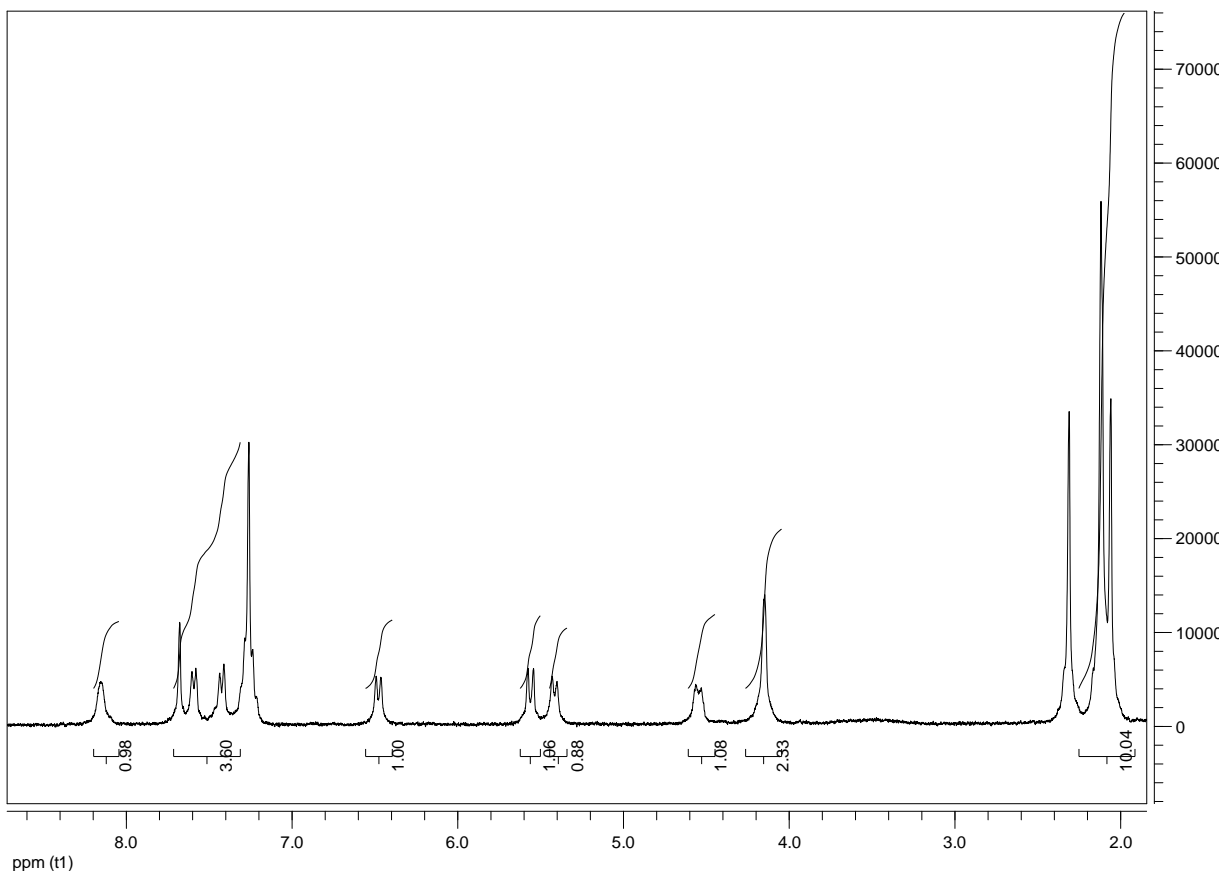
## 5. ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ

### $^1\text{H}$ NMR

Η ταυτοποίηση των ενώσεων πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού. Οι χαρακτηριστικές χημικές μετατοπίσεις των υδρογόνων αποδεικνύουν τόσο τη σύζευξη της βάσης στο σάκχαρο όσο και του υποκατεστημένου βενζολίου στις ενώσεις **5a** και **5b**.



$^1\text{H}$ NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.23 (brs, 1H, NH), 7.69 (s, 1H, H-6), 7.58-7.52 (m, 1H, ArH), 7.37-7.29 (m, 1H, ArH), 7.13 (dd, 2H,  $J = 7.2$  Hz,  $J = 15.3$  Hz, ArH), 6.48 (d, 1H,  $J_{1'-2'} = 8.9$  Hz, H-1'), 5.56 (d, 1H,  $J_{4'-5'} = 9.9$  Hz, H-4'), 5.41 (d, 1H, H-2'), 4.57- 4.52 (m, 1H, H-5'), 4.20-4.10 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 2.12, 2.11, 2.06 (3s, 9H, 3OAc);



<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.19 (br s, 1H, NH), 7.71 (s, 1H, H-6), 7.62 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz, ArH), 7.45 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz, ArH), 7.34-7.24 (m, 2H, ArH), 6.51 (d, 1H, *J*<sub>1'-2'</sub> = 8.6 Hz, H-1'), 5.59 (d, 1H, *J*<sub>4'-5'</sub> = 9.6 Hz, H-4'), 5.44 (d, 1H, H-2'), 4.60-4.56 (m, 1H, H-5'), 4.23-4.17 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 2.34, 2.15, 2.09 (3s, 9H, 3OAc);

## 6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι νουκλεοζίτες διαθέτουν ένα ευρύ φάσμα βιολογικών λειτουργιών εκτός από το βασικό ρόλο τους ως δομικά στοιχεία του γενετικού κώδικα. Εξαιτίας αυτού, τα νουκλεοζιτικά συνθετικά ανάλογα έχουν κεντρίσει το επιστημονικό ενδιαφέρον για την χρήση τους ως πιθανά φάρμακα σε ιικές μολύνσεις αλλά και κακοήθεις νεοπλασίες. Συνεπώς, βασικός σκοπός όλων των ερευνητικών μελετών και προσπαθειών έγινε η ανάπτυξη νουκλεοζιτικών αναλόγων, τα οποία να παρουσιάζουν χαμηλή τοξικότητα σε υγιή κύτταρα όπως κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και υψηλή εκλεκτικότητα στη δράση τους.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε η σύνθεση μιας νέας τάξης πυρανονουκλεοζιτών με πιθανή αντινεοπλασματική δράση. Η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν εύκολη και σύντομη. Επίσης, η αντίδραση Sonogashira επιτεύχθηκε με την χρήση μικροκυμάτων, η οποία αποτελεί “πράσινη” τεχνική και υπερέχει σε σχέση με τη συμβατική θέρμανση αφού αυξάνει σημαντικά την ταχύτητα της αντίδρασης και μειώνει το σχηματισμό παραπροϊόντων. Ακόμα οι αποδόσεις των ενδιάμεσων και τελικών προϊόντων ήταν αρκετά ικανοποιητικές. Ειδικότερα, σύνθεση 1,2:5,6-Δις-Ο-ισοπροπυλιδενο-α-D-ριβοεξοφουρανοζο-3-ουλόζης (**1**) με απόδοση 89%, 3-C-τριφθορομέθυλο-1,2:5,6-δι-Ο-ισοπροπυλιδενο-α-D-αλλοφουρανόζης (**2**) με απόδοση 90%, 3-C-τριφθορομέθυλο-3-υδροξυ-1,2,4,6-τετρακίς-Ο-ακετυλογλυκοπυρανόζης με απόδοση 81% (**3**), 1-(3'-C-τριφθορομέθυλο-3'-υδροξυ-2',4',6'-τρις-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)5-ιωδοουρακίλης (**4**) με απόδοση 82%, οι ενώσεις 5a-b με ανάλογα της (**5**) όπου R=o-F(**a**), o-Cl (**b**) με αποδόσεις 69% και 74% αντίστοιχα και τέλος, οι ενώσεις 6a-b με ανάλογα της (**6**) όπου R=o-F(**a**), o-Cl (**b**) με αποδόσεις 90% και 92%, αντίστοιχα. Όλες οι νεοσυντιθέμενες ενώσεις προσδιορίστηκαν από στοιχειώδεις αναλύσεις και αναλύσεις φάσματος πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού  $^1\text{H NMR}$ .

Τα νέα πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα που συντέθηκαν μελετήθηκαν ως προς την ικανότητα αναστολής του πολλαπλασιασμού καρκινικών κυτταρικών σειρών όπως λευχαιμικών κυττάρων ποντικού (L1210), ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων τραχήλου (HeLa), και T-λεμφοκυττάρων (CEM). Για την εκτίμηση της κυτταροτοξικής δράσης τους χρησιμοποιήθηκε η παράμετρος  $\text{IC}_{50}$ , η οποία αντιπροσωπεύει τη συγκέντρωση του φάρμακου που απαιτείται για την αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης κατά 50%.

Τα αποτελέσματα του πίνακα αποδεικνύουν ότι τα νέα πυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα παρουσιάζουν μέτρια αντινεοπλασματική δράση με τα προστατευμένα ανάλογα **5a-b** να υπερέχουν σε δράση έναντι των αποπροστατευμένων **6a-b**. Το γεγονός αυτό οφείλεται ενδεχομένως στο ότι οι προστατευμένοι νουκλεοζίτες εμφανίζουν αυξημένη λιποφιλικότητα και έτσι διαχέονται πιο εύκολα και γρήγορα διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης.

Compounds	IC <sub>50</sub> (μM)		
	L1210	CEM	HeLa
<b>5a</b>	118 ± 6	64 ± 3	76 ± 3
<b>6a</b>	> 250	> 250	> 250
<b>5b</b>	91 ± 13	100 ± 8	≥ 250
<b>6b</b>	> 250	> 250	> 250
<b>5-Fluorouracil</b>	0.33 ± 0.17	18 ± 5	0.54 ± 0.12



## 7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Βασικές Αρχές Βιοχημείας Lehninger, Τόμος I, p. 311-312, 314-316, 356
- [2] McMurry J. Οργανική Χημεία, τόμος I, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, σελ. 1245, 905
- [3] Stryer, Βιοχημεία, τόμος I, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης 1995
- [4] Berg, J. M., Tymoczko J. L., Stryer L, Βιοχημεία Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 2001 (p) 329-351
- [5] Zhou, W., Gumina, G.; Chong, Y.; Wang, J., Schinazi, R. F., Chu, C. K. J. Med. Chem. 2004; 47; 3399
- [6] Perigaud C., Gosselin, G., Imbach, J. L., Nucleosides Nucleotides 1992; 11; 903
- [7] Robins, R. K., Kini, G. D. "Wilman, D. E. V. Ed.; Chapman and Hall: New York, 1990, p.299
- [8] MacCoss, M., Robins, M. J. Wilman, D. E. V. Ed.; Chapman and Hall: New York, 1990, p. 261
- [9] Pastor-Anglada M., Felipe A., Casado F. J., TiPS, 1998; 19; 424
- [10] Tsoukala E., Manta S., Kiritsis C., Komiotis D., Mini-Reviews in Medicinal Chemistry, 2012; 12; 255-275
- [11] Galmarini C. M., Mackey J. R., Dumontet C., Leukemia, 2001; 15;875–890
- [12] Egger G., et al., Nature, 2004; 429; 460
- [13] Lewin B., Genes, 2003; VIII;6
- [14] Burns C. J., Curr. Med. Chem.- Anti-Infective Agents, 2005;4 ;4.
- [15] "Defining Cancer". National Cancer Institute, 2014
- [16] Matsuda A., Sasaki T., Cancer Sci., 2004; 95; 105
- [17] Tsimberidou A. M., Alvarado Y., Giles F. J., Exp. Rev. Antic. Ther., 2002; 4; 437–448.
- [18] Seley K. L., Curr. Opin. Invest. Drugs, 2000; 1; 135-140.
- [19] Galmarini C. M., Jordheim L., Dumontet C., Expert Rev. Anticancer Ther., 2003; 5; 3

- [20] [www.virology.ws/2009/12/08/azt-inhibits-xmrv/](http://www.virology.ws/2009/12/08/azt-inhibits-xmrv/)
- [21] Gumina G., Chong Y., Choo H., Song G-Y., Chu C. K., *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2002; 2; 1065-1086
- [22] Drugbank: Tenofovir, 2015
- [23] Saenger W., "Principles of Nucleic Acid Chemistry", Springer-Verlag, 1984.
- [24] Blackburn G. M., Gait M. J., "Nucleic Acids in Chemistry and Biology", Oxford University Press, 1996.
- [25] Bloomfield V. A., Crothers D. M., Tinoco I., University Science Books, 1999
- [26] [www.cf.ac.uk/phrmy/ChemEd/presentations.html](http://www.cf.ac.uk/phrmy/ChemEd/presentations.html)
- [27] Lee K., Choi Y., Gullen E., Schlueter-Wirtz S., Shcinazi R. F., Cheng Y. C., Chu C. K. J. *Med. Chem.* 1999; 42; 1320.
- [28] Lee K., Choi Y., Gumina G., Zhou W., Shcinazi R. F., Chu C. K., *J. Med. Chem.* 2002; 45;1313
- [29] Chong Y., Choo H., Lee S., Choi Y., Shcinazi R. F., Chu C. K., *J. Med. Chem.* 2002; 45;4888
- [30] Kumar P., Ohkura K., Balzarini J., De Clerq E., Seki K., Wiebe L. I., *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, 2004; 23; 7.
- [31] Morton G. O., Lancaster J. E., Van Lear G. E., Fulmor W., Meyer W. E., *J. Amer. Chem. Soc.*, 1969; 91; 1535.
- [32] Blandin M., Son T. D., Catlin J. C., Guschlbauer W., *Biochim. Biophys. Acta*, 1974; 361; 249.
- [33] Lipnick R. L., Fissekis J. D., *Biochim. Biophys. Acta*, 1980; 608; 96.
- [34] Manta S., Agelis G. Botic T., Cencic A., Komiotis D., *Bioorg. Med. Chem.*, 2007; 15; 980-987.

- [35] Manta S., Tsoukala E., Tzioumaki N., Goropevsek A., Pamulapati R. T., Cencic A., Balzarini J., Komiotis D., Eur. Jour. of Med. Chem., 2009; 44; 2696-2704.
- [36] Kiritsis C., Manta S., Parmenopoulou V., Balzarini J., Komiotis D., Eur J Med Chem., 2011; 11; 5668-74.
- [37] Jeannot F. et al., Bioorg. Med. Chem., 2002; 10; 3153-3161
- [38] Daniel C. Harris, Ποσοτική Χημική Ανάλυση, Τόμος Α, Β, 2009, Μεταφράσεις: Χανιωτάκης Ν., Φουσκάκη Μ., Περδικάκη Κ., Βαμβακάκη Β., Χατζημαρινάκη Μ.,
- [39] Κ. Ξένος, Αναλυτική Χημεία, 2002, Μακεδονικές Εκδόσεις
- [40] Kollatos N., Manta S., Dimopoulou A., Parmenopoulou V., Triantakonstanti V. V., Kellici T., Mavromoustakos T., Schols D., Komiotis D., Carb. Res., 2015; 407; 170-178