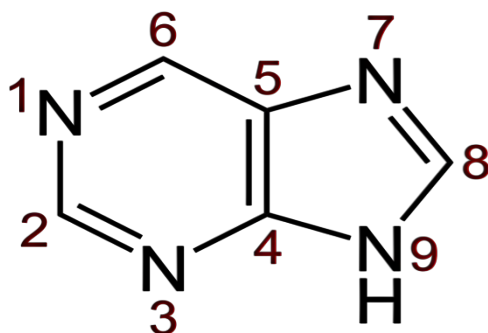




ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ &  
ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕΣΩ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ,  
ΝΕΩΝ ΤΡΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΣΤΗ ΘΕΣΗ 6 ΤΡΙΑΖΟΛΟ-ΑΛΚΥΝΥΛΟ-  
ΥΠΟΚΑΤΕΣΤΗΜΕΝΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΠΟΥΡΙΝΗΣ ΩΣ ΕΝ ΔΥΝΑΜΕΙ  
ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ**



ΚΟΥΤΣΟΠΕΤΡΑ ΟΛΓΑ

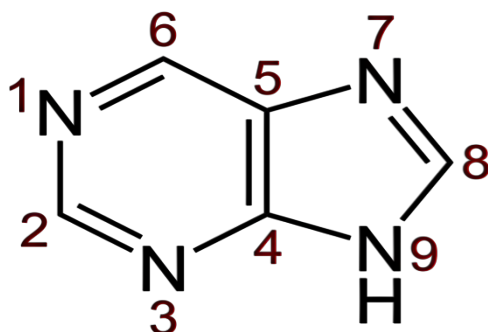
ΛΑΡΙΣΑ 2020



UNIVERSITY OF THESSALY  
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES  
DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY &  
BIOTECHNOLOGY

**DIPLOMA THESIS**

***SYNTHESIS AND IDENTIFICATION THROUGH  
PHASMATOSCOPIC TECHNIQUES, OF NEW C-6 TRIAZOL-  
ALKYNYL-SUBSTITUTED PURINES DERIVATIVES AS  
POTENTIAL ANTICANCER AGENTS***



KOUTSOPETRA OLGA

LARISSA 2020

*Τριμελής επιτροπή:*

Δρ. Κομιώτης Δημήτριος (επιβλέπων) - Καθηγητής Οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Δρ. Τζιουμάκη Νίκη – Πανεπιστημιακός Υπότροφος του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Δρ. Μήτσος Χρήστος - Μέλος ΕΔΙΠ του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

## **Ευχαριστίες:**

Η παρούσα πτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε στο εργαστήριο Βιο-Οργανικής Χημείας του τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Οργανικής Χημείας κ. Κομιώτη Δημήτρη.

Στο σημείο αυτό αισθάνομαι την ανάγκη να εκφράσω τις ειλικρινείς και θερμές ευχαριστίες μου σε όσους συνέβαλλαν στην ολοκλήρωση αυτής της προσπάθειας:

Και πρώτα απ' όλα, στον επιβλέποντα καθηγητή της διπλωματικής μου εργασίας, κ. Κομιώτη Δημήτρη για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αναθέτοντάς μου το ιδιαίτερα ενδιαφέρον αυτό θέμα και για τις εποικοδομητικές του υποδείξεις.

Ιδιαίτερα, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την κυρία Τζιουμάκη Νίκη εκφράζοντας ευγνωμοσύνη για την βοήθεια, την υπομονή και την αδιάκοπη συμπαράσταση και ενθάρρυνση που μου παρείχε σε όλο αυτό το χρονικό διάστημα.

Επιπλέον, θα επιθυμούσα να ευχαριστήσω τον κύριο Μήτσο Χρήστο για τις πολύτιμες υποδείξεις και τη βοήθεια που προσέφερε όποτε τη χρειαζόμουν.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένειά μου για την υποστήριξη και τη συμπαράστασή της καθ' όλη τη διάρκεια ολοκλήρωσης των σπουδών μου.

Κουτσόπετρα Όλγα,

Λάρισα 2020

## Περιεχόμενα:

<b>Περίληψη</b> .....	7
<b>Abstract</b> .....	8
<b>1.Εισαγωγή</b>	
1.1 Πουρίνες .....	9
1.2 Υποδοχείς αδενosίνης .....	12
1.3 Σύνθεση πουρινών .....	14
1.3.1. N-μεθυλιωμένες πουρίνες.....	14
1.3.2. N-αλκυλιωμένες πουρίνες .....	15
1.3.3. C-αμινιωμένες και C-αλκυλιωμένες πουρίνες ως δραστικά φυσικά προϊόντα .....	17
1.3.4. Συνθετικά παράγωγα πουρινών με βιολογική δράση .....	18
1.4 Χημικές αντιδράσεις .....	24
1.4.1 Cu-καταλυόμενη κυκλοπροσθήκη αζιδίου/αλκυνίου (CuAAC) .....	24
1.5 Καταλύτες αντιδράσεων .....	27
<b>2. Ειδικό Μέρος</b>	
2.1 Σκοπός πειράματος και στόχος.....	28
<b>3. Γενικές μέθοδοι</b>	
3.1 Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας.....	30
3.2 χρωματογραφία στήλης.....	31
3.3 Ξήρανση διαλυτών.....	32
3.4 Ταυτοποίηση ενώσεων.....	32
<b>4. Πειραματικό μέρος</b>	
4.1 Επισκόπηση της συνθετικής οδού .....	33
4.2 Μεθοδολογία της σύνθεσης .....	34
4.3 Σύνθεση της 2αμινο-6χλωρο- 9βενζυλοπουρίνη (2) .....	35
4.4 Σύνθεση της 2ιωδο-6χλωρο- 9βενζυλοπουρίνη (3) .....	36
4.5 Σύνθεση της 2ιωδο-6αζιδο- 9βενζυλοπουρίνη (4) .....	37
4.6 Σύνθεση των τριαζολοαλκυνο-παραγώγων πουρίνης .....	38
4.6.1 Σύνθεση της 2ιωδο-6βενζυλοαιθυνο-9βενζυλοπουρίνη (5) .....	38
4.6.2 Σύνθεση της 2ιωδο-6(2-πυριδινοαιθυνο)-9βενζυλοπουρίνη (6) .....	39
4.6.3 Σύνθεση της 2ιωδο-6(1,2,3 τριαζολο-εθανολο)-9βενζυλοπουρίνη (7) .....	40
<b>5. Ταυτοποίηση ενώσεων</b>	
5.1 Ταυτοποίηση της 9-βενζυλο-2-ιωδο-6-(1H-1,2,3-τριάζολ-1-υλο-4-φαίνυλο)-9H-πουρίνη (5) σε διαλύτη CDCl <sub>3</sub> .....	41
<b>6. Αποτελέσματα – Συζήτηση</b>	
6.1 Η ανάγκη για την σύνθεση παραγώγων πουρίνης .....	42

6.2	Σύνθεση παραγώγων πουρίνης .....	42
6.2.1	Σύνθεση της 2-αμινο-9-βενζυλο-6-χλωροπουρίνης .....	43
6.2.2	Σύνθεση της 2-ιωδο-6-χλωρο- 9-βενζυλοπουρίνης .....	43
6.2.3	Σύνθεση της 6αζιδο-2ιωδο-9-βενζυλοπουρίνης .....	43
6.2.4	Σύνθεση της 9-βενζυλο-2-ιωδο-6-(1H-1,2,3-τριάζολ-1-υλο-4-φαίνυλο)-9H-πουρίνης...	44
6.2.5	Σύνθεση της 9-βενζυλο-2-ιωδο-6-(4-(πυριδιν-2-υλο)-1H-1,2,3-τριάζολ-1-υλο-4-φαίνυλο)-9H-πουρίνης .....	44
6.2.6	Σύνθεση της 9-βενζυλο-2-ιωδο-6-(1H-1,2,3-τριάζολ-4-υδροξυμεθυλ-1-υλο-)-9H-πουρίνης .....	44
6.3	Σύγκριση αντιδράσεων που πραγματοποιήθηκαν με συμβατή θέρμανση και σε microwave .....	45
6.4	Τριαζολοπαράγωγα πουρίνης .....	45
	<b>Κατάλογος επεξήγησης εικόνων, σχημάτων, πινάκων .....</b>	<b>47</b>
<b>7.</b>	<b>Βιβλιογραφία .....</b>	<b>48</b>

## Περίληψη:

Η πουρίνη είναι μία ετεροκυκλική αρωματική οργανική ένωση που αποτελείται από έναν δακτύλιο πυριμιδίνης και έναν δακτύλιο ιμιδαζολίου. Οι πουρίνες αποτελούν τον έναν από τους δύο τύπους βάσεων των νουκλεϊκών οξέων με δομή διπλού δακτυλίου, όπως είναι οι αδενίνες και οι γουανίνες. Ο δακτύλιος της πουρίνης είναι αναμφίβολα ένας από τους πιο συχνούς στις ετεροκυκλικές ενώσεις. Ένας μεγάλος αριθμός ενζύμων χρησιμοποιούν βάσεις πουρίνης.

Η τροποποίηση σε αδενίνες και σε γουανίνες δεν είναι τυχαία αλλά παίζει καθοριστικό ρόλο στην έκφραση βιολογικών ιδιοτήτων των νουκλεϊκών οξέων. Αρκετές τροποποιημένες πουρίνες συμμετέχουν σε διάφορες βιολογικές διεργασίες. Οι βάσεις πουρίνης και οι νουκλεοζίτες τους αποτελούν μία σημαντική ομάδα για αντινεοπλασματικούς, αντιβιοτικούς, και αντιφυματικούς παράγοντες. Επιπρόσθετα, αυτοί οι συνδυασμοί έχουν ευρεία εφαρμογή ως προσδέτες υποδοχέων αδενοσίνης, αντιπαρασιτικοί παράγοντες, αναστολείς κυκλινο-εξαρτώμενων κινασών, αντικαρκινικές και αντιϊικές ενώσεις. Οι τροποποιημένες πουρίνες, επίσης, έχουν βρει εφαρμογή ως εργαλεία απεικόνισης κυττάρων, βιοαισθητήρες και αισθητήρες για την ανίχνευση βαρέων μετάλλων. Επομένως, είναι αναγκαίο να συντεθούν και να αξιολογηθούν νέα παράγωγα πουρίνης που να είναι εκλεκτικά και αποτελεσματικά έναντι ενός συγκεκριμένου μορίου-στόχου.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία περιγράφεται η συνθετική πορεία νέων τροποποιημένων στη θέση 6 τριαζολοαλκυλοϋποκατεστημένων παραγώγων πουρίνης ως πιθανοί αντικαρκινικοί παράγοντες. Η πρώτη ύλη της συνθετικής πορείας που έλαβε χώρα ήταν η 2αμινο-6χλωρο-πουρίνη η οποία έδωσε με συνεχείς αντιδράσεις την βαζιδο-2ιωδο-9βενζυλοπουρίνη. Η τελευταία έδωσε με τη σειρά μέσω τριών αντιδράσεων τα τρία τριαζολοπαράγωγα πουρίνης: 6-τριάζολοφαινυλοπουρίνη, 6-(2-πυριδινυλο)-τριαζολοπουρίνη και 6-τριάζολοϋδροξυ-μεθυλοπουρίνη. Στη συνέχεια αυτές οι ενώσεις ταυτοποιήθηκαν μέσω  $^1\text{H}$  NMR για να πιστοποιηθούν. Οι συνθετικές οδοί που ακολουθήθηκαν, οι μέθοδοι που πραγματοποιήθηκαν και τα αποτελέσματα ταυτοποίησής των ενώσεων παρουσιάζονται αναλυτικά.

## Abstract:

Purine is a heterocyclic aromatic organic compound that consists of a pyrimidine ring fused to an imidazole ring. Purines are one of the two types of nucleic acid bases with a double ring structure, such as adenines and guanines. The purine ring system is undoubtedly among the most ubiquitous of all heterocyclic compounds. A great number of enzymes use purine bases.

The modification to adenines and guanines is not accidental but plays a key role in expressing the biological properties of nucleic acids. Several modified purines are involved in various biological processes. Purine bases and their nucleosides constitute an important group of antineoplastic, antibiotic, and antitubercular agents. Moreover, these compounds have found a wide application as adenosine receptor ligands, antiparasitic agents, cyclin-dependent kinase inhibitors, antitumour, and antiviral compounds. Modified purines have found also applications as cell imaging tools, biosensors and sensors for detection of heavy metals. Therefore, it is necessary to compose and evaluate new synthetic purine derivatives that are selective and effective against a specific target molecule.

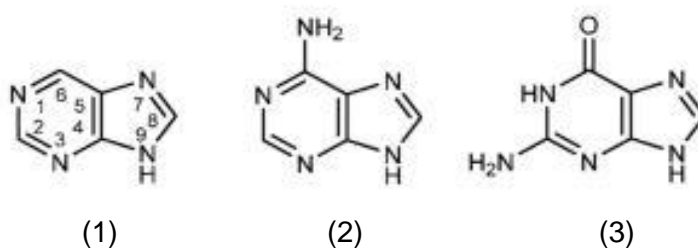
In this diploma thesis, is described the synthesis of new C-6 triazolalkynylsubstituted purines derivatives as potential anticancer agents. The starting material of the synthetic course, that was followed, was 2-amino-6-chloro-purine which gave with continuous reactions the 6-azide-2-thio-9-benzylpurine. The latter gave three triazole derivatives of purine in three reactions: 6-triazolophenylpurine, 6-(2-pyridinyl)-triazolopurine and 6-triazolohydroxy-methylpurine. These compounds were then identified by  $^1\text{H}$  NMR to be certified. The synthetic paths that were followed, the methods that were performed and the compounds' results of the identification are presented in detail.



# 1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ:

## 1.1 Πουρίνες

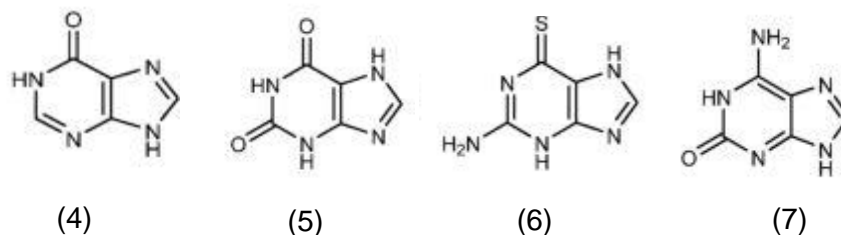
Η πουρίνη (1) είναι ο ένας από τους δύο τύπους βάσεων, ετεροκυκλική αρωματική οργανική ένωση, που βρίσκεται στα νουκλεϊκά οξέα και έχει δομή διπλού δακτυλίου, όπως είναι η αδενίνη (2) και η γουανίνη (3) (Σχήμα 1). Οι πουρίνες σχηματίζουν πάντα ζεύγη με τις πυριμιδίνες στους δύο κλώνους του DNA, σχηματίζοντας δεσμούς υδρογόνου με τις συμπληρωματικές τους πυριμιδίνες (θυμίνη και κυτοσίνη) εξασφαλίζοντας έτσι ένα μόριο με παράλληλες πλευρές. Ο δακτύλιος της πουρίνης είναι το αποτέλεσμα της σύντηξης ενός δακτυλίου πυριμιδίνης και ενός δακτυλίου ιμιδαζολίου.



Σχήμα 1.

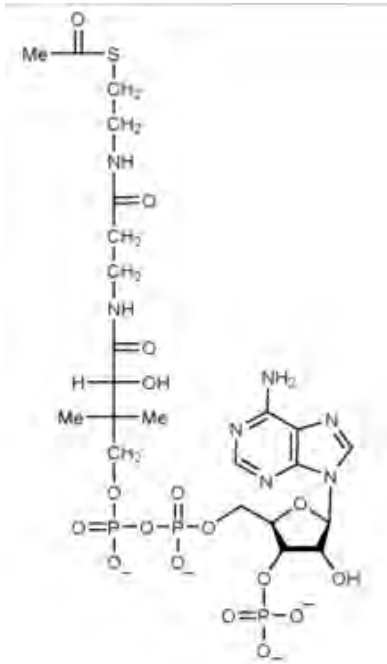
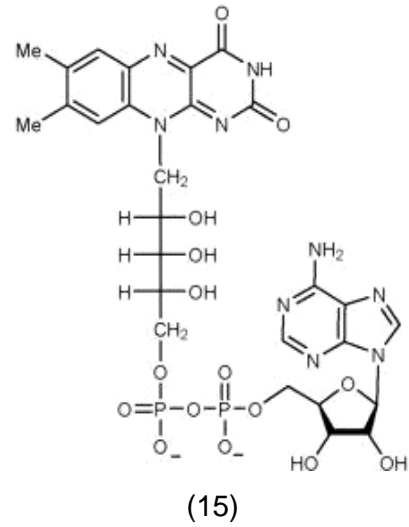
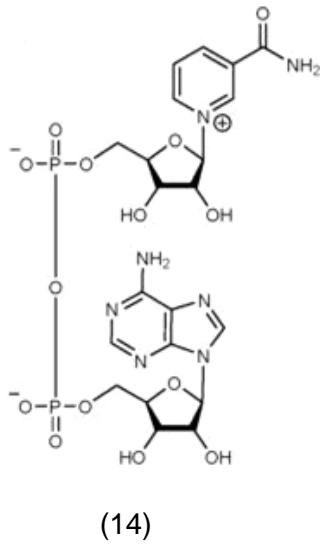
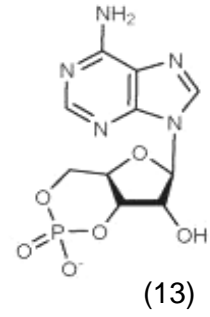
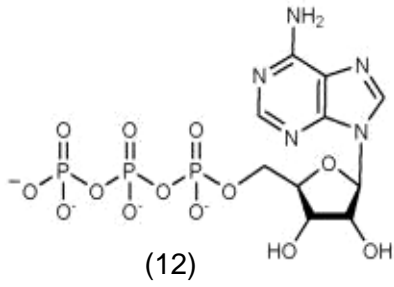
Συμπεριλαμβανομένων των υποκατεστημένων πουρινών και των ταυτομερών τους, οι πουρίνες είναι αναμφίβολα ένας από τους πανταχού παρόντες από όλες τις ετεροκυκλικές ενώσεις που περιέχουν άζωτο στη φύση. Αυτό συμβαίνει όχι μόνο από την εμφάνιση αδενίνης και γουανίνης σε DNA και RNA και από πρόσθετα τροποποιημένα παράγωγα στα διάφορα tRNA, αλλά και από τον μεγάλο βαθμό χρήσης αυτών σε βιοχημικά συστήματα. [1]

Η τροποποίηση σε αδενίνες, όπως η υποξανθίνη (4) και ξανθίνη (5), και σε γουανίνες, όπως θειογουανίνη (6) και ισογουανίνη (7), δεν είναι τυχαία αλλά παίζει καθοριστικό ρόλο στην έκφραση βιολογικών ιδιοτήτων των νουκλεϊκών οξέων. [2] (Σχήμα 2)



Σχήμα 2.





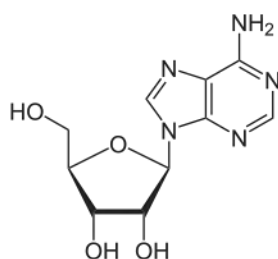
(16)

Σχήμα 4.

## 1.2 Υποδοχείς Αδενοσίνης

Τα τελευταία χρόνια, τροποποιημένες δομές φυσικής και συνθετικής προέλευσης αποτελούν σημαντική πηγή βιολογικά ενεργών ουσιών. Η μελέτη των πουρινικών βάσεων, νουκλεοτιδίων και νουκλεοσιδίων, αποτελεί αντικείμενο εκτεταμένων ερευνών και οι τροποποιημένες δομές τους οδήγησαν στην ανακάλυψη χιλιάδων βιολογικά ενεργών ενώσεων, περιλαμβάνοντας την κλινική χρήση φαρμάκων. Για παράδειγμα, οι πουρινικές βάσεις και τα νουκλεοσίδιά τους αποτελούν μία σημαντική ομάδα για αντινεοπλασματικούς, αντιβιοτικούς, και αντιφυματικούς παράγοντες. Επιπρόσθετα έχουν ευρεία εφαρμογή ως προσδέτες υποδοχέων αδενοσίνης, αντιπαρασιτικοί παράγοντες, αναστολείς κυκλινο-εξαρτώμενων κινασών, αντικαρκινικές και αντιϊικές ενώσεις. <sup>[1]</sup>

Η αδενοσίνη (17) (Σχήμα 5) είναι σημαντικός ρυθμιστής για την ομοιόσταση του εγκεφάλου, της καρδιάς, των νεφρών και άλλων οργάνων. Αυτός ο φυσικός νουκλεοζίτης πουρίνης αλληλεπιδρά με τέσσερις διαφορετικούς υποδοχείς G-πρωτεΐνες (GPCRs) που είναι γνωστοί ως υποδοχείς A<sub>1</sub>, A<sub>2A</sub>, A<sub>2B</sub> και A<sub>3</sub>.<sup>[9]</sup> Οι υποδοχείς αδενοσίνης υπάρχουν σχεδόν σε κάθε κύτταρο. Ωστόσο, η κατανομή και οι πυκνότητες του υποτύπου υποδοχέα ποικίλλουν πολύ. Η αδενοσίνη παίζει σημαντικό ρόλο σε πολλές παθοφυσιολογικές καταστάσεις στο κεντρικό νευρικό σύστημα, καθώς και σε περιφερειακά όργανα και ιστούς. Οι πολλαπλές επιδράσεις της εξωκυτταρικής αδενοσίνης που παρατηρούνται σε πολλούς ιστούς εξαρτώνται από την ικανότητά της να δεσμεύει και να ενεργοποιεί GPCR. Η αδενοσίνη μπορεί να μεσολαβεί σε ποικίλες φυσιολογικές επιδράσεις, όπως βρογχοσυστολή, αναστολή συσώρευσης αιμοπεταλίων, αναστολή λιπόλυσης, πρόκληση καταστολής, αγγειοδιαστολή, καταστολή του καρδιακού ρυθμού και συσταλτικότητα, και διέγερση γλυκονογένεσης. <sup>[10]</sup>



(17)

Σχήμα 5.

Η ενεργοποίηση του υποδοχέα αδενοσίνης  $A_1$  αναστέλλει τη φλεγμονή, τη νέκρωση και την απόπτωση μετά από τραυματισμό νεφρικής ισχαιμικής έγχυσης σε ποντίκια. Η ενεργοποίησή του στο κεντρικό νευρικό σύστημα οδηγεί σε νευροπροστατευτικά αποτελέσματα μέσω του αποκλεισμού της απελευθέρωσης του νευροδιαβιβαστή, ενώ, στην καρδιά, είναι πιθανός στόχος για καρδιοπροστατευτικούς παράγοντες και παράγοντες αντι-εμφράγματος. Ορισμένοι ανταγωνιστές  $A_1$  υποβάλλονται σε κλινικές δοκιμές ως νεφρικοί προστατευτικοί παράγοντες. Συγκεκριμένοι αγωνιστές  $A_{2A}$  προάγουν τόσο σε υγιή όσο και σε εξασθενημένα ζώα την επούλωση τραυμάτων. Οι ανταγωνιστές  $A_{2A}$  αναπτύσσονται ως νέοι θεραπευτικοί παράγοντες για τη νόσο του Πάρκινσον με βάση την ικανότητά τους να ενισχύουν την κινητική λειτουργία. Ο υποδοχέας  $A_{2B}$  έχει βρεθεί ότι προκαλεί αγγειοδιαστολή σε ορισμένα αγγειακά στρώματα, αναστολή στην ανάπτυξη των αγγείων των λείων μυών και στην έκφραση της κολλαγενάσης, διέγερση της σύνθεσης κυτοκινών, ρύθμιση των εντερικών λειτουργιών και των νευροεκκρίσεων. Η παρουσία υποδοχέων αδενοσίνης  $A_{2B}$  σε ανθρώπινα κύτταρα ιστού πνεύμονα προκαλεί βρογχοσυστολή εξαιτίας της παρουσίας αδενοσίνης στους ασθματικούς. Η ενεργοποίηση των αγωνιστών  $A_3$  προκαλεί επίσης διέγερση της φωσφολιπάσης D και την απελευθέρωση φλεγμονωδών μεσολαβητών, όπως η ισταμίνη από ιστιοκύτταρα, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για φλεγμονή και υπόταση. Επιπλέον, ο υποδοχέας αδενοσίνης  $A_3$  εμποδίζει την απόπτωση που προκαλείται από υπεριώδη ακτινοβολία (UV) στα κύτταρα των ιστών.<sup>[10]</sup> Πολλά παράγωγα πουρίνης έχουν φανερώσει μια ανασταλτική δράση έναντι κυρίως των  $A_3$  υποδοχέων. Μια σειρά 1,2,4-τριαζολοπαραγώγων πουρίνης έδειξε δομική ομοιότητα με τον ανταγωνιστή του ανθρώπινου υποδοχέα αδενοσίνης  $A_3$ . Η συγγένεια μετρήθηκε σε προσδιορισμούς σύνδεσης ραδιοσυνδέτη για τους κλωνοποιημένους υποδοχείς ανθρώπινης αδενοσίνης  $A_1$ ,  $A_{2A}$ ,  $A_{2B}$  και  $A_3$ . Μετά την ανάλυση της σχέσης δομής-δραστικότητας, προσδιορίστηκε ότι υπήρχε μια ήπια παραβολική σχέση μεταξύ του μήκους των αλκυλομάδων στη θέση 5 και των συγγενειών στον υποδοχέα  $A_3$  και θετικής συσχέτισης μεταξύ του μήκους των υποκαταστατών στις ομάδες φαινυλίου στην 8-θέση και συγγένεια στον υποδοχέα  $A_{2A}$ .<sup>[9]</sup>

## 1.3 Σύνθεση πουρινών

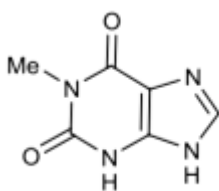
### 1.3.1. N-μεθυλιωμένες πουρίνες

Όπως προ ειπώθηκε αρκετά συχνά στην φαρμακευτική χημεία, ουσίες απομονωμένες από φυσικές πηγές χρησιμοποιούνται ως νέες βιολογικές δραστικές ενώσεις έναντι πολλών ασθενειών.

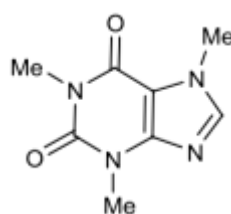
Οι αντιδράσεις μεθυλίωσης αποτελούν ιδιαίτερα σημαντικές μεταβολικές οδούς και σχεδόν όλες οι κοινές πουρίνες και οι νουκλεοζίτες τους υπάρχουν στη φύση ως μονο- ή πολυμεθυλιωμένα παράγωγα. Το πιο συχνά εμφανιζόμενο μεθυλιωμένο παράγωγο πουρίνης είναι ένα παράγωγο της ξανθίνης, η 1-μεθυλοξανθίνη (18) (Σχήμα 6), η οποία είναι ένα από τα συστατικά πουρινών υψηλής συγκέντρωσης στα ανθρώπινα ούρα, εκτός από το ουρικό οξύ.

Η καφεΐνη (19) είναι μία 1,3,7-τριμεθυλοξανθίνη και ανήκει στα αλκαλοειδή πουρίνης στους κόκκους του καφέ (2,5% κ.β.) και στα φύλλα τσαγιού (5% κ.β.). Αυτό το αλκαλοειδές είναι θερμοσταθερό, και διεγείρει το κεντρικό νευρικό σύστημα ως ανταγωνιστής ενός υποδοχέα της αδενοσίνης.<sup>[11]</sup> Η διέγερση της καφεΐνης αρχίζει 15 λεπτά μετά την κατανάλωση και διαρκεί περίπου 5-6 ώρες. Η βελτίωση της κυκλοφορίας του αίματος στον εγκέφαλο είναι αποτελεσματική κατά της υπνηλίας.<sup>[12]</sup>

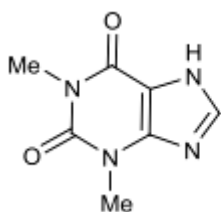
Στα φυτά τσαγιού, η καφεΐνη (19) βρίσκεται μαζί με τη θεοφυλλίνη (1,3-διμεθυλοξανθίνη) (20). Και οι δύο ουσίες είναι αποτελεσματικές, ως διουρητικά.<sup>[13]</sup> Στους καρπούς του κακάο, η θεοφυλλίνη αντικαθίσταται από τη θεοβρωμίνη (3,7-διμεθυλοξανθίνη) (21) ως το κύριο συστατικό ξανθίνης. Ακόμη και αν έχουν μελετηθεί για αρκετό καιρό αυτές οι ενώσεις, μπορούν να χρησιμεύσουν ως πρωτοπόρες δομές στη σύγχρονη φαρμακευτική χημεία.<sup>[14]</sup>



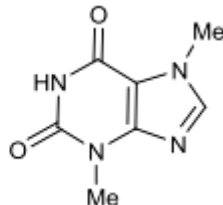
(18)



(19)



(20)



(21)

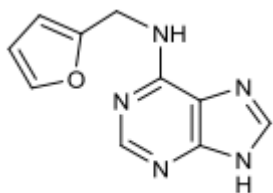
Σχήμα 6.

### 1.3.2. N-αλκυλιωμένες πουρίνες

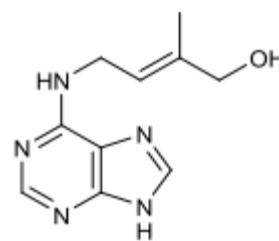
Εκτός από τις μεθυλιωμένες πουρίνες, υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός αλκυλιωμένων ενώσεων πουρινών με μεγαλύτερα αλκύλια. Οι κυτοκινίνες αποτελούν μια ομάδα φυτικών ορμονών και συναφών συνθετικών βιορυθμιστών που ασκούν πολύμορφα αποτελέσματα στην ανάπτυξη των φυτών. Οι ενδογενείς κυτοκινίνες διεγείρουν την κυτταρική διαίρεση, τη φωτομορφογένεση, την ανάπτυξη χλωροπλαστών και τη χρωστική βιοσύνθεση, ρυθμίζουν την ανάπτυξη των φυτών και τη συνολική αρχιτεκτονική των φυτών, και εξουδετερώνουν τη γήρανση των φύλλων και την κορυφαία κυριαρχία. Η φωτόλυση του θειαζιδοομάδας δημιουργεί ένα εξαιρετικά αντιδραστικό είδος αζώτου που μπορεί ομοιοπολικά να συνδέεται με πρωτεΐνες με εισαγωγή στους πλησιέστερους δεσμούς OH, NH και SH. Αυτή η ιδιότητα χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της δομής των δραστικών πρωτεϊνικών θέσεων που δεσμεύουν την κυτοκινίνη. Σύγχρονη τάση είναι η εφαρμογή φυσικών ενώσεων τροποποιημένων με αζιδοειδή που χρησιμοποιούνται ευρέως στην τροποποίηση νουκλεϊκών οξέων, υλικών της επιστήμης των υλικών και της ανακάλυψης φαρμάκων. Αρκετές ευαίσθητες μέθοδοι για την ανίχνευση και τον εντοπισμό των βιομορίων σε ζωντανά κύτταρα έχουν αναπτυχθεί χρησιμοποιώντας την “κλικ χημεία”. [17]

Το 1955, επιστήμονες από τα τμήματα Βοτανικής και Βιοχημείας στο Πανεπιστήμιο του Ουισκόνσιν ανακοίνωσε την απομόνωση, την κρυστάλλωση, το χαρακτηρισμό και τη σύνθεση της 6-φουρφουριλαμινοπουρίνης, μια φυτική ορμόνη που τώρα αναφέρεται ως κυτοκινίνη. Αυτοί πρότειναν την ονομασία κινετίνη (22) (Σχήμα 7) για αυτήν την ουσία, και περιέγραψαν την ικανότητά της να προάγει την κυτταρική διαίρεση σε ιστούς δοκιμής από καπνό (*Nicotiana tabacum*). [18] Η πρώτη φυσική κυτοκινίνη που απομονώθηκε από το καλαμπόκι (φυτό *Zea mays*)

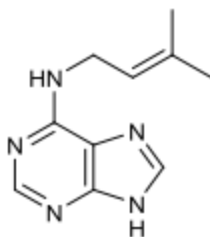
είναι η Ζεατίνη (Zeatin) (23).<sup>[19]</sup> Η ζεατίνη, που είναι μια δραστική κυτοκίνη, μπορεί να παρεμποδίσει τη δράση της αυξίνης και συνεπώς παρεμποδίζει το σχηματισμό μιας λειτουργικής περιοχής τροφοδότησης. Η ζεατίνη είναι μια αδενίνη, ή ένα παράγωγο της αμινοπουρίνης, με τη μια πλευρική αλυσίδα κοντά στο Ν<sup>6</sup> άζωτο. Επειδή αυτή η πλευρική αλυσίδα της ζεατίνης έχει ένα διπλό δεσμό, μπορεί να υφίσταται σε *cis* ή *trans* μορφή. Μόνο η ένωση με την (E)-διαμόρφωση παρουσιάζει αξιοσημείωτη φυτοορμονική δράση. Η ζεατίνη είναι η πιο διαδεδομένη κυτοκίνη στα ανώτερα φυτά.<sup>[20]</sup> Η Ν<sup>6</sup>-(Δ-ισοπεντενυλ)αδενίνη (24) απομονώθηκε ως ελεύθερη βάση από το φυτό *Corynebacterium fasciens*. Εκτός από την κυτοκινινική δράση της, η ισοπεντενυλοαδενοσίνη διαθέτει ισχυρή αντιμεταβολική και αντικαρκινική δράση και αναστέλλει τις κινάσες νουκλεοζιτών πουρίνης σε διάφορους όγκους.<sup>[21]</sup> Οι τρεις αυτές σημαντικότερες κυτοκινίνες φαίνονται στο σχήμα 7.



Κινετίνη (22)



Ζεατίνη (23)



Ισοπεντενυλοαδενοσίνη (24)

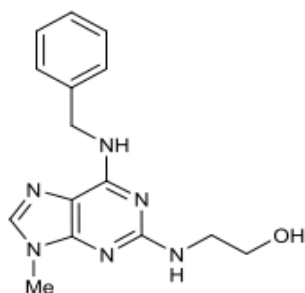
Σχήμα 7.



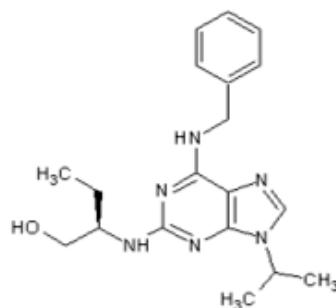
### 1.3.3. C- αμινιωμένες και C- αλκυλιωμένες πουρίνες ως δραστικά φυσικά προϊόντα

Οι κυκλινοεξαρτώμενες κινάσες (CDK), ιδιαίτερα τα CDK1, CDK2, CDK4, και CDK6, παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου. Η διαδοχική ενεργοποίησή τους διασφαλίζει τον σωστό χρόνο και τη σειρά των συμβάντων που απαιτούνται για την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου. Λαμβάνοντας υπόψη ότι η κακή ρύθμιση CDK ευθύνεται σε ορισμένες καταστάσεις ασθένειας, και ιδίως σε καρκίνο, υπάρχει τεράστια εφαρμογή για τους αναστολείς μικρών μορίων εξαρτώμενων από κυκλίνη (CKI) ως χημειοθεραπευτικοί παράγοντες. Η ανάπτυξη επιλεκτικών αναστολέων για τη θέση σύνδεσης ATP καθίσταται, σε μεγάλο βαθμό, δύσκολη εξαιτίας του υψηλού επιπέδου ομολογίας αλληλουχίας που υπάρχει για αυτήν την περιοχή μεταξύ πρωτεϊνικών κινασών. Ωστόσο, η εξέταση των ενώσεων που συλλέχθηκαν αποκάλυψε ότι τα μικρά μόρια είναι πράγματι ικανά να αναστέλλουν επιλεκτικά την οικογένεια CDK. Για παράδειγμα, οι 2,6,9-τρι-υποκατεστημένες πουρίνες ολομουκίνη (25) και ροσκοβιτίνη (26) (Σχήμα 8) (C-αμινιωμένες πουρίνες στους άνθρακες C-2 και C-6) αναστέλλουν επιλεκτικά τις CDK1-κυκλίνη B, CDK2-κυκλίνη E / A και CDK5-p35. <sup>[22]</sup> Η ισχύς της ολομουκίνης και της ροσκοβιτίνης είναι συνέπεια της αλληλεπίδρασης του υποκαταστάτη 6-αμινοβενζυλίου τους με μια περιοχή της κινάσης CDK. <sup>[25]</sup>

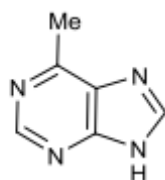
Οι πρώτες C-αλκυλιωμένες πουρίνες, η 6-μεθυλοπουρίνη (27) και ο ριβονουκλεοζίτης της (28) (Σχήμα 8), απομονώθηκαν από το μανιτάρι *Collybia maculate*.<sup>[23]</sup> Από τότε, έχει διαπιστωθεί ότι οι ενώσεις αυτές παρουσιάζουν σημαντική αντιϊική δράση αλλά καθόλου αντιβακτηριακή. Η 6-μεθυλοπουρίνη είχε ήδη βρεθεί από τους Martin και Taylor πριν από την απομόνωσή της από τα μανιτάρια. <sup>[24]</sup>



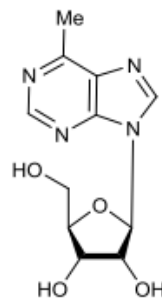
Ολομουκίνη (25)



Ροσκοβιτίνη (26)



(27)



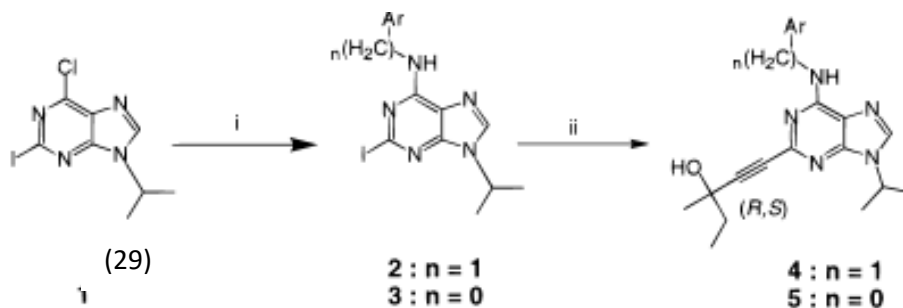
(28)

Σχήμα 8.

### 1.3.4. Συνθετικά παράγωγα πουρινών με βιολογική δράση

Πολλά μικρά μόρια (όπως και η ρισκοβιτίνη) που είναι τρι-υποκατεστημένες πουρίνες παρουσιάζουν έντονη εξειδίκευση για την αναστολή CDK1, CDK2, CDK5, CDK8, CDK9. Τα CKIs χαρακτηρίζονται από την παρουσία υδροξυαλκυλουποκατεστημένου ακετυλενίου στη θέση C-2 του δακτυλίου της πουρίνης.<sup>[22]</sup>

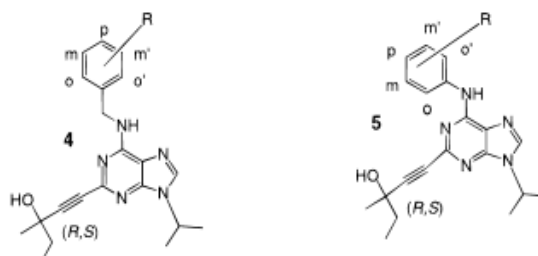
Σε μια μελέτη, για παρασκευή των ενώσεων C-2 αλκυνολυωμένης πουρίνης 4b-h και 5a-e (Πίνακας 1), η 6-χλωρο-2-ιωδο-9-ισοπυροπυλο- (9H) –πουρίνη (29) αντέδρασε με τις κατάλληλα μετα- και / ή παρα- υποκατεστημένες ανιλίνες ή βενζυλαμίνες. Με αυτόν τον τρόπο τα C-6 υποκατεστημένα παράγωγα πουρίνης 2 και 3 ελήφθησαν σε υψηλές αποδόσεις (60-95%). Η μετατροπή αυτών των ενδιάμεσων 2-ιωδοπουρίνης στους στόχους 2-αιθυνολυωμένες 4 και 5 επιτεύχθηκε με αντίδραση με 3-μεθυλοπεντ-1-υν-3-όλη υπό παλλάδιο-CuI καταλυόμενες συνθήκες διασύνδεσης.<sup>[22]</sup> (Σχήμα 9)



Σχήμα 9.

[(i) Ανιλίνη ή βενζυλαμίνη (1,5 eq.), N(Et) 3 (4 eq.), αιθανόλη, 50 ° C, 3-4 ώρες. (ii) (R, S) -3-μεθυλ-1-πεντυν-3-όλη (1,5 eq.), CuI (0,05 eq), διχλωροδισ (τριφαινυλοφωσφίνη) παλλάδιο (II) (0,01 eq.), η-βουτυλαμίνη (1,5 eq. , dry DMF (25 mL), 80 ° C.]

Πίνακας 1. Τιμές IC<sub>50</sub> έναντι CDK1-Cyclin B για μέλη των Σειρών 4 και 5

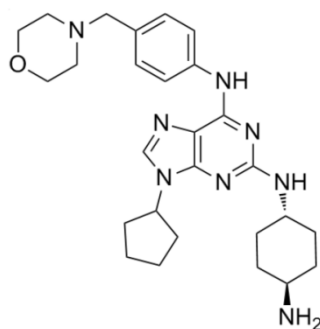


compd <sup>a</sup>	R	IC <sub>50</sub> (nM)
4a	H	200
4b (OL567)	<i>p</i> -OCH <sub>3</sub>	230
4c	<i>p</i> -OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	180
4d	<i>m,p</i> -di-Cl	430
4e	<i>p</i> -Cl	60
4f	<i>m,p</i> -OCH <sub>2</sub> O	200
4g	<i>m,p</i> -di-OCH <sub>3</sub>	300
4h	<i>p</i> -N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	150
5a	H	400
5b	<i>p</i> -OCH <sub>3</sub>	200
5c	<i>p</i> -OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	200
5d	<i>m,p</i> -di-Cl	200
5e	<i>m</i> -Cl	60
olomoucine		7000
( <i>R,S</i> )-roscovitine		650

<sup>a</sup> m= meta, p=para υποκαταστάτες της φαινυλομάδας

Τα αποτελέσματα με υποκαταστάτες *m*- ή *p*-χλώρο στις ομάδες αμινοφαινυλίου (ανίλινο) και βενζυλάμινο, αντίστοιχα ήταν τα καλύτερα. Αυτά τα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν ότι η ικανότητα των C-2 αλκυνο-υποκατεστημένων πουρινών να αναστέλλουν την CDK1-κυκλίνη B μπορεί να τροποποιηθεί μέσω αλλαγής των υποκαταστατών αρωματικού δακτυλίου της θέσης C-6. Επίσης, μετά από μοριακή ανάλυση, βρέθηκε ότι οι αρωματικοί δακτύλιοι των C-6 βενζυλάμινο- και ανίλινο – ομάδων στα σύμπλοκα 4 και 5 καταλαμβάνουν διαφορετικές περιοχές στη θέση σύνδεσης του ATP της ανθρώπινης CDK2. Επομένως, υπάρχει ξεχωριστό σύνολο αλληλεπιδράσεων για τους αρυλο-δακτυλίους με τα κατάλοιπα αμινοξέων στην περιοχή τους. [22]

Επιπρόσθετα, PDGFRa και PDGFRb, μαζί με τα KIT, FLT3 και CSF1R, είναι μέλη της οικογένειας υποδοχέων κινασών τυροσίνης κατηγορίας III που συχνά απορρυθμίζονται σε διάφορα νεοπλάσματα και για τα οποία έχουν αναπτυχθεί πολλά μικρά μόρια αναστολέων ως θεραπευτικά. Εκτός από άλλους καρκίνους, η εφαρμογή αναστολέων τυροσίνης κινάσης άλλαξε δραματικά την επιβίωση ασθενών με PDGFRA- και PDGFRB-μεταλλαγμένα νεοπλάσματα, συμπεριλαμβανομένης της κλωνικής υπερεωσινοφιλίας και της χρόνιας ηωσινοφιλικής λευχαιμίας. Τα αποτελέσματα μιας άλλης έρευνας έδειξαν ότι οι υποκατεστημένες πουρίνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ειδικοί ρυθμιστές της ηωσινοφιλικής λευχαιμίας. Πράγματι, οι 2,6,9 τρι-υποκατεστημένες πουρίνες φάνηκε ότι προκαλούν αναστολή στο PDGFRa και θεωρήθηκαν εκλεκτικές για την θετική κυτταρική σειρά Eo1-1 της FIP1L1- PDGFRa στην λευχαιμία. Συγκεκριμένα, τροποποιήσεις στην θέση 6 και 9 της πουρίνης δημιουργούν ενώσεις με αυξημένη συγγένεια για PDGFRa. Η ένωση N<sup>2</sup>-(4-αμινο-κυκλοεξυλ)-9-κυκλοπεντυλο-N<sup>6</sup>-(4-μορφολιν-4-υλμεθυλ-φαινυλο)-9H-πουρίνη-2,6-διαμίνη (30) (Σχήμα 10), ακόμη και για μικρό χρονικό διάστημα, είναι αρκετή για να προκαλέσει την αναστολή της σηματοδότησης PDGFRa, η οποία παραμένει ακόμη και απουσία αυτής της ένωσης. [26]

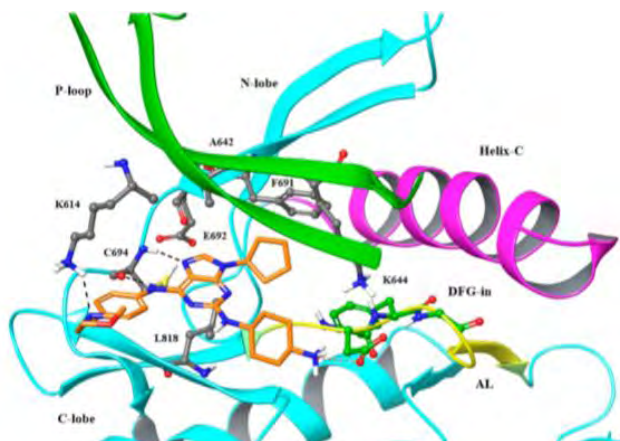


(30)

Σχήμα 10.

Επίσης αποδείχθηκε ότι τα κύτταρα MV4-11 που υποβλήθηκαν σε αγωγή με την πουρίνη αυτή (30) καταστέλλουν τη φωσφορυλίωση της FLT3 κινάσης και των αρνητικών μονοπατιών σηματοδότησής της, με επακόλουθη διακοπή και απόπτωση κυττάρων στη φάση G1 του κυτταρικού κύκλου. Άλλα μετασχηματισμένα και φυσιολογικά ανθρώπινα κύτταρα είναι λιγότερο ευαίσθητα στην ένωση αυτή. Ακόμα, παρατηρήθηκε ότι στη θέση 6 μπορούν να γίνουν διαφορετικές υποκαταστάσεις χωρίς σημαντική απώλεια της in-vitro δραστηριότητας. Ο

δακτύλιος κυκλοπεντυλίου της παραπάνω ένωσης (30) δημιουργεί υδρόφobους δεσμούς με διάφορα υδρόφοβα κατάλοιπα αμινοξέων της κινάσης FLT3 (Εικόνα 1). Μόνο μία δόση αυτής της ένωσης είναι αρκετή για να προκαλέσει παρατεταμένη αναστολή.<sup>[27]</sup>



Εικόνα 1.

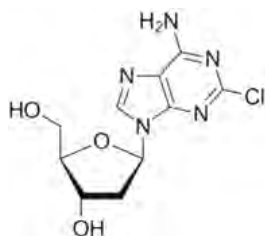
[Σύνδεση της ένωσης 30 (πορτοκαλί sticks) στην FLT3. Η κινάση (κυανό) διαμορφώνεται σε ενεργή διαμόρφωση και επισημαίνονται το P-loop (πράσινο), η έλικα-C (ροζ) και ο βρόχος ενεργοποίησης (κίτρινο). Τα κατάλοιπα που αλληλεπιδρούν με την FLT3 παρουσιάζονται ως γκρι sticks για τον άνθρακα, μπλε για το άζωτο, κόκκινο για το οξυγόνο, κίτρινο για το θείο και λευκό για το υδρογόνο. Το σχήμα ετοιμάστηκε με τους Maestro, Schrodinger, LLC.]

Κατά την αναζήτηση αναστολέων του MAPK μονοπατιού, αναγνωρίστηκαν πουρίνες ως πολύ ισχυροί αναστολείς της MAPK κινάσης. Στο Σχήμα 12 φαίνονται ότι οι αλογονομένες ενώσεις έχουν αξιοποιηθεί ευρέως στην ανακάλυψη φαρμάκων υποδεικνύοντας τη σημασία των αλογόνων σε βιολογική δραστικότητα. Στηρίζοντας αυτή την ανακάλυψη, αποδείχθηκε ότι ο σχηματισμός δεσμών αλογόνου έχει αναγνωριστεί ότι συμβάλλει στη σταθερότητα των σχηματισμένων συμπλόκων πρωτεΐνης-προσδέτη.<sup>[32]</sup>



Σχήμα 12.

Ορισμένα ανάλογα αδενοσίνης με υποκατάσταση στη θέση 2 δείχουν ιδιαίτερο βιολογικό ενδιαφέρον. Για παράδειγμα, τα παράγωγα της 2-χλωροαδενοσίνης εμφανίζουν ισχυρές αντικαρκινικές και αντιιικές δραστηριότητες όπως καταδεικνύεται με την 2-χλωρο-2'-δεοξυαδενοσίνη (Κλαδριβίνη) (31) (Σχήμα 11). Άλλα ανάλογα πουρινών όπως παράγωγα της 2-αζιδοαδενίνης και της 6-αζιδοπουρίνης έχουν δοκιμαστεί για την in-vitro αναστολή τους κατά του HIV και HBV αλλά δεν έδειξαν κάποιο αποτέλεσμα.<sup>[28]</sup>



Κλαδριβίνη (31)

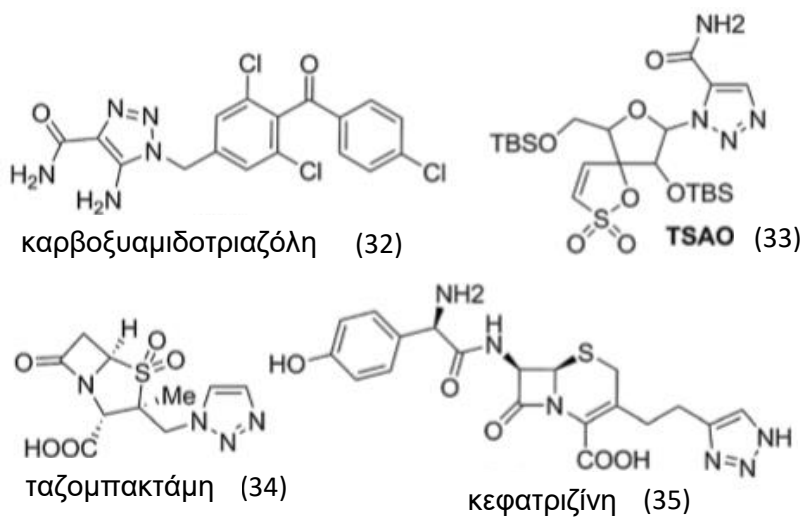
Σχήμα 11.

Στην οργανική σύνθεση οι νουκλεοζίτες των C-6 αζιδοπουρινών και οι καταλυόμενες από Cu αντιδράσεις τους, εμφανίζουν χαμηλή κυτταροστατική δραστηριότητα έναντι των κυτταρικών σειρών καρκινώματος των ωοθηκών.<sup>[29]</sup> Τα αζίδια αποτελούν επίσης χρήσιμες πρόδρομες ενώσεις για τις αμίνες. Χρησιμοποιούνται ευρέως ως αμινοπροστατευτικές ομάδες λόγω της χαμηλής στερικής παρεμπόδισης, της αυξημένης διαλυτότητας και του γεγονότος ότι δεν πλέκουν τα φάσματα NMR. Επιπλέον η πυκνότητα των ηλεκτρονίων του αζιδίου είναι κρίσιμος παράγοντας για τον προσδιορισμό της εκλεκτικότητας.<sup>[31]</sup>

Ωστόσο αξίζει να σημειωθεί ότι τα C-2 τροποποιημένα αζίδια δεν εμφανίζουν σημαντική ισορροπία του αζιδίου,<sup>[29]</sup> σε αντίθεση με τα C-6 τροποποιημένα αζίδια τα οποία είναι σε ισορροπία μεταξύ της αζιδοπουρίνης και της τετραζολοπουρίνης.<sup>[30]</sup>

Τέλος τα 1,2,3 – τριάζολο παράγωγα πουρινών αποτελούν ελκυστικές συνδετικές μονάδες επειδή είναι σταθερά στη μεταβολική αποικοδόμηση και έχουν ικανότητα δέσμησης με το υδρογόνο, η οποία μπορεί να είναι ευνοϊκή στη σύνδεση μοριακών στόχων βελτιώνοντας τη διαλυτότητα. Υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός από συνθετικά μόρια που περιλαμβάνουν 1,2,3- τριάζολο παράγωγα με ποικιλία βιολογικών δράσεων. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 13, η καρβοξυαμιδοτριαζόλη (CAI) (32) εμφανίζει αντικαρκινική δράση, το τετραβουτυλοδιμεθυλοσιλυλοσπειροαμινοοξαθειοοξείδιο (TSAO) (33) έχει αποδειχθεί ότι είναι ένας αναστολέας της αντίστροφης μεταγραφάσης, η ταζομπακτάμη (34) έχει αναγνωριστεί ως

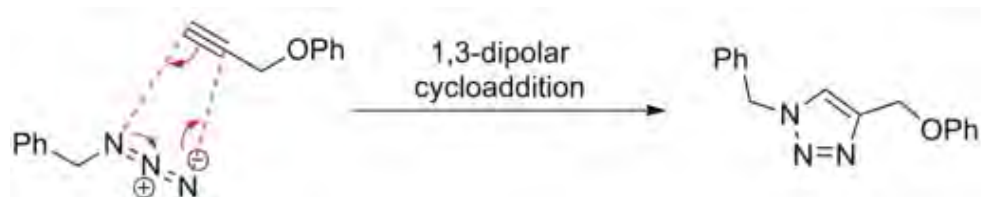
αντιβιοτικό β-λακτάμης και η κεφατριζίνη (35) είναι αντιβιοτικό ημισυνθετικής κεφαλοσπορίνης δεύτερης γενιάς. [33]



Σχήμα 13.

## 1.4 Αντιδράσεις 1,3-διπολικής κυκλοπροσθήκης

Η 1,3-διπολική κυκλοπροσθήκη είναι μια χημική αντίδραση μεταξύ ενός 1,3-διπόλου και ενός διπολοφιλίου για να σχηματιστεί ένας πενταμελής δακτύλιος. Οι πρώτες 1,3-διπολικές κυκλοπροσθήκες περιγράφηκαν στα τέλη του 19ου αιώνα έως τις αρχές του 20ου αιώνα, μετά την ανακάλυψη 1,3-διπόλων. Η μηχανική ανακάλυψη και η συνθετική εφαρμογή διερευνήθηκαν τη δεκαετία του 1960, κυρίως μέσω του έργου του Rolf Huisgen. Ως εκ τούτου, η αντίδραση αναφέρεται μερικές φορές ως η κυκλοπροσθήκη Huisgen (αυτός ο όρος χρησιμοποιείται συχνά για να περιγράψει συγκεκριμένα την 1,3-διπολική κυκλοπροσθήκη μεταξύ ενός οργανικού αζιδίου και αλκινίου για την παραγωγή 1,2,3-τριαζολίου). (Σχήμα 14) Το διπολόφιλο είναι συνήθως αλκένιο ή αλκύνιο, αλλά μπορεί να είναι και άλλα συστήματα πi. Όταν το διπολόφιλο είναι αλκύνιο, γενικά παράγονται αρωματικοί δακτύλιοι. Η κυκλοπροσθήκη με διπλό ή τριπλό δεσμό, οδηγεί σε πενταμελείς ετεροκυκλικούς δακτυλίους ενώ είναι θερμικά επιτρεπτή κατά τη supra-supra πορεία (cis-προσθήκη).



Σχήμα 14.

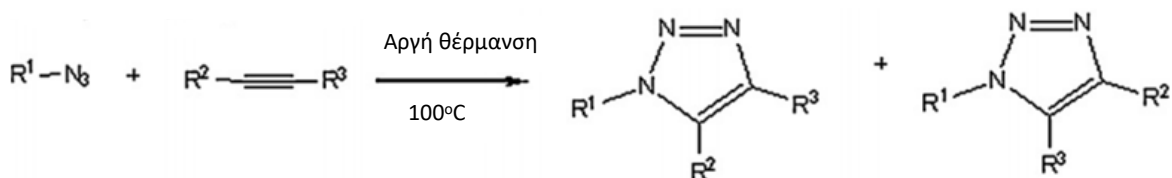
### 1.4.1 Cu-καταλυόμενη κυκλοπροσθήκη αζιδίου-αλκινίου (CuAAC)

Η κυκλοπροσθήκη αζιδίου/αλκινίου είναι μία 1,3-διπολική κυκλοπροσθήκη μεταξύ ενός αζιδίου και ενός τερματικού ή εσωτερικού αλκινίου για να δώσει μια 1,2,3-τριαζόλη. Ο Rolf Huisgen<sup>[34]</sup> ήταν ο πρώτος που κατάλαβε το εύρος αυτής της οργανικής αντίδρασης. Η κυκλοπροσθήκη αζιδίου-αλκινίου είναι μια εξαιρετικά ατομική και οικονομική αντίδραση, που συχνά απαιτεί ήπιες συνθήκες. Και οι δύο παράγοντες καθιστούν την αντίδραση CuAAC εξαιρετικά ελκυστική για την τροποποίηση σύνθετων και ευαίσθητων μορίων όπως νουκλεοσιδίων.<sup>[29]</sup> Η μη καταλυόμενη αντίδραση αζιδίου / αλκινίου είναι γνωστή από το 1893 όταν ο A. Michael ανέφερε την πρώτη σύνθεση 1,2,3-τριαζολίων από ακετυλενοδικαρβοξυλικό διαιθύλιο και φαινυλαζίδιο. Είναι γνωστή ως η αντίδραση Huisgen μετά από τις μελέτες του

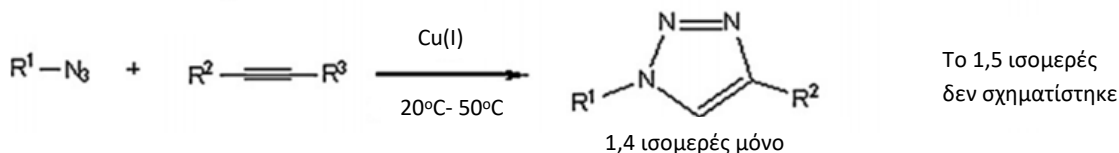


Huisgen σχετικά με την οικογένεια της αντίδρασης 1,3-διπολικής κυκλοπροσθήκης στα μέσα του 20ού αιώνα. Η αντίδραση Huisgen παράγει ένα μείγμα προϊόντων, 1,4 και 1,5-υποκατεστημένων προϊόντων, ενώ η αντίδραση CuAAC των τερματικών αλκυνών είναι απολύτως επιλεκτική στο σχηματισμό των 1,4-υποκατεστημένων τριαζολών (Σχήμα 15) με μια ποικιλία καταλυτών CuI ή προδρόμων καταλυτών CuI. [34]

### 1,3 διπολική κυκλοπροσθήκη Huisgen



### Αντίδραση CuAAC

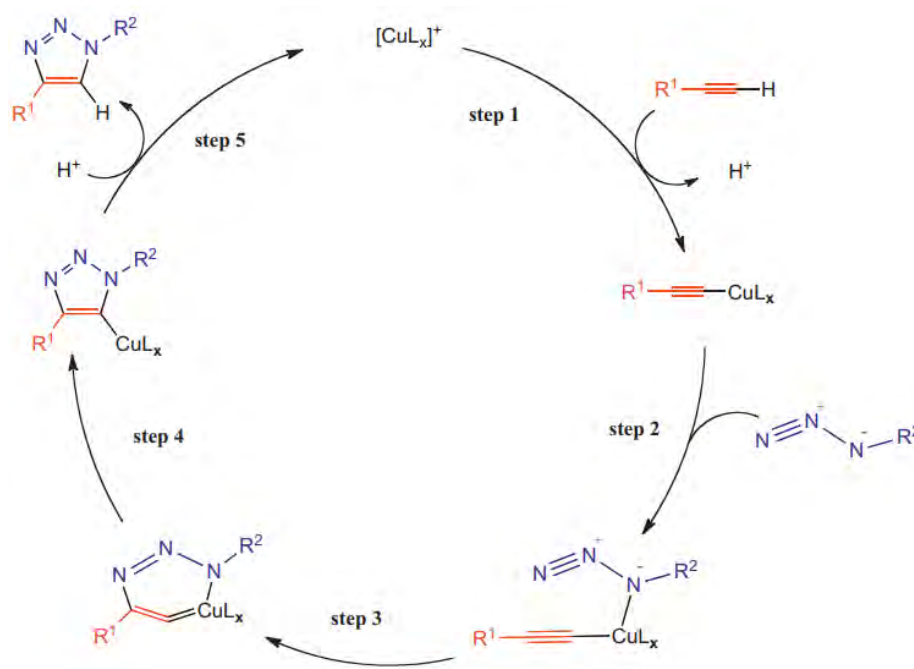


Σχήμα 15.

Έτσι, η αντίδραση CuAAC έγινε πολύ δημοφιλής ως «κλικ» αντίδραση και περισσότερα από 1000 ερευνητικά άρθρα, συμπεριλαμβανομένων πολλών αναφορών, έχουν δημοσιευτεί από τις εκδόσεις Meldal και Fokin – Sharpless του 2002. Οι λόγοι για την επιτυχία της είναι ότι αυτή η αντίδραση «κλικ» είναι τόσο εύκολο να πραγματοποιηθεί και είναι ευρέως εφαρμοσμένη. Πράγματι, δεν επηρεάζεται από μια ποικιλία λειτουργικών ομάδων και μπορεί να επιτευχθεί με πολλές πηγές CuI καταλυτών και διαλυτών, συμπεριλαμβανομένων υδατικών. Με την πλήρη αλλαγή του μηχανισμού, οι καταλύτες CuI ξεπερνούν εύκολα το φράγμα ενεργοποίησης που είναι υψηλό στη μη καταλυόμενη αντίδραση Huisgen (για παράδειγμα  $105 \text{ kJ Mol}^{-1}$  για την αντίδραση μεταξύ μεθυλαζιδίου και προπίνης). Άλλοι λιγότερο αποδοτικοί καταλύτες είναι οι  $Ni^{+2}$ ,  $Pd^{+2}$ ,  $Pt^{+2}$  και Au. Μέχρι στιγμής, οι εφαρμογές σε οργανικές και μεταλλικές συνθέσεις αφορούν ουσιαστικά την αντίδραση CuAAC που εξετάζεται εν συντομία. [34]

Η ομάδα Script διερεύνησε τον μηχανισμό της αντίδρασης CuAAC χρησιμοποιώντας κινητικές μελέτες και υπολογισμούς DFT. Ο συντονισμός των αλκυνίων εκτιμάται ότι μειώνει το  $pK_a$  του κατά 9,8 μονάδες pH, γεγονός που εξήγησε την αποπροστασία του ενδιάμεσου αλκυνίου-CuI από

το ίδιο το νερό σε υδατικό μέσο, ακόμη και απουσία επιπρόσθετης βάσης για το σχηματισμό των παραγώγων αλκυνυλ-CuI. Μελέτες κινητικής έδειξαν ότι ο ρυθμός της αντίδρασης ήταν δεύτερης τάξης σε CuI σε χαμηλή συγκέντρωση CuI (ακόμη και με τον προσδότη TBTA) και σχηματίστηκαν λιγότερο δραστικά σώματα χαλκού σε υψηλότερες συγκεντρώσεις. Ένας από τους μηχανισμούς που προτάθηκε έδειξε το αζίδιο να προστίθεται στο ίδιο κέντρο Cu που φέρει τον αλκύνυλο προσδότη (Σχήμα 16). [34]



Σχήμα 16.

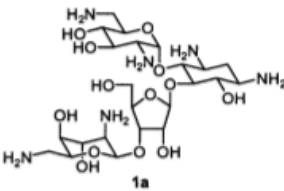
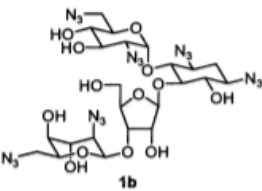
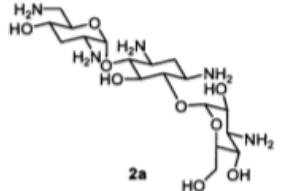
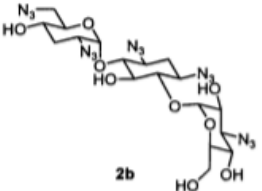
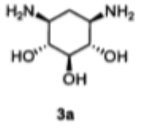
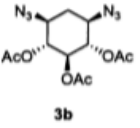
Πρόσφατα αναφέρθηκε μια ευέλικτη και γενική σύνθεση των νουκλεοσιδίων αζιδοπουρίνης C-6 και τη χρήση τους σε αντιδράσεις CuAAC, όπου μερικές από αυτές τις νέες ενώσεις έδειξαν χαμηλή κυτταροστατική δράση έναντι κυτταρικών σειρών καρκινώματος των ωοθηκών. Οι αντιδράσεις κυκλοπροσθήκης αζιδο-αλκινίου ήταν ένας εξαιρετικά σημαντικός μετασχηματισμός στη χημεία των νουκλεοσιδίων και του DNA. Από όσα είναι γνωστά, μια μελέτη σχετικά με τις αντιδράσεις CuAAC των νουκλεοσιδίων 6-αζιδοπουρίνης ήταν η πρώτη που περιγράφει τέτοιες αντιδράσεις στη θέση C-6 των νουκλεοζιτών πουρίνης. Από την άλλη πλευρά, έχει αναφερθεί χημεία CuAAC που περιλαμβάνει νουκλεοζίτες αζιδοπουρίνης C-2 στο πλαίσιο της έρευνας υποδοχέα αδενοσίνης A<sub>3</sub> καθώς και στην ανάπτυξη παραγόντων κατά της φυματίωσης. Και οι δύο περιπτώσεις περιγράφουν αντιδράσεις αναλόγων 2-αζιδαδενοσίνης. [29]

## 1.5 Καταλύτες αντιδράσεων

Στη “χημεία κλικ” χρησιμοποιούνται ευρέως τα ιόντα του χαλκού ( $\text{Cu}^+ / \text{Cu}^{2+}$ ) λόγω της ικανότητας διάσπασης του DNA. Ο χαλκός σαν καταλύτης εμφανίζει κυτταροτοξική δράση και γι’ αυτό οι ενώσεις που προκύπτουν μετά από παρατεταμένους χρόνους αντίδρασης που έχουν αυτόν ως καταλύτη είναι ακατάλληλες για βιολογικά. <sup>[34]</sup> Ο χαλκός είναι σημαντικός καταλύτης της αντίδρασης της κυκλοπροσθήκης αζιδίων και αλκυνών. <sup>[33]</sup>

Άλλοι καταλύτες που χρησιμοποιούνται για την βελτίωση της αντίδρασης της αζιδομεταφοράς είναι οι καταλύτες μετάλλων μετάπτωσης. Ο χλωριούχος ψευδάργυρος ( $\text{ZnCl}_2$ ) και ο θειϊκός χαλκός ( $\text{CuSO}_4$ ) είναι αποτελεσματικοί καταλύτες στην αζιδομεταφορά ανάλογα με το υπόστρωμα. Για παράδειγμα κάποια πειράματα έδειξαν ότι, αν και ορισμένα μέταλλα ήταν ικανά για αύξηση της ταχύτητας, οι αποδόσεις και οι χρόνοι αντίδρασης εξαρτώνται από τον καταλύτη (Πίνακας 2). Οι αντιδράσεις που χρησιμοποιούν χλωριούχο ψευδάργυρο ως καταλύτη γενικά προχωρούν όχι περισσότερο από 2,5 ώρες, ενώ οι αντιδράσεις που χρησιμοποιούν θειϊκό χαλκό απαιτούν 18 ώρες για να ολοκληρωθεί η αντίδραση. <sup>[31]</sup>

Πίνακας 2. Αντίδραση διαζιδομεταφοράς<sup>a</sup>

Substrate	Product	Catalyst	Time	% Yield (per amine)
 1a	 1b	$\text{CuSO}_4$	2.5	64 (93)
			18 h	82 (97)
		$\text{ZnCl}_2$	2.5 h	27 (80) <sup>b</sup>
				40 (86) <sup>c</sup>
			18 h	37 (85)
 2a	 2b	$\text{CuSO}_4$	2.5 h	78 (95)
			18 h	95 (99)
		$\text{ZnCl}_2$	3 h	95 (99)
			18 h	95 (99)
			18 h	80 (96)
 3a	 3b	$\text{CuSO}_4$	2.5 h	79 (89)
			18 h	87 (94)
		$\text{ZnCl}_2$	3 h	90 (95)
			18 h	79 (89)

[<sup>a</sup> Αντιδραστήρια και συνθήκες:  $\text{TfN}_3$  (1,25-1,5 eq.), TEA (3 eq.),  $\text{H}_2\text{O} / \text{MeOH} / \text{CH}_2\text{Cl}_2$  3: 10: 3. <sup>b</sup> Η αντίδραση ήταν πολύ ασταθής, δίνοντας αποδόσεις από 19 έως 74%. <sup>c</sup> Το υπόστρωμα ήταν άλας  $\text{HCl}$ . <sup>d</sup> Το προϊόν ακετυλιώθηκε:  $\text{Ac}_2\text{O}$ , πυριδίνη, DMAP.]

## 2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 2.1 Σκοπός πειράματος και στόχος

Οι πουρίνες είναι βιοσυμβατές ενώσεις που διαπερνούν τα κύτταρα χωρίς κυτταροτοξική δράση και χωρίς να επηρεάζουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Τα φθορίζοντα νουκλεοσιδικά ανάλογα πουρίνης αναγνωρίστηκαν ως πολύτιμοι ανιχνευτές φθορισμού για DNA και RNA. Από την άλλη πλευρά, οι τροποποιημένες πουρίνες έχουν βρει εφαρμογή ως εργαλεία απεικόνισης κυττάρων, βιοαισθητήρες και χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση βαρέων μετάλλων. Η τάση αυτών των δομών να σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου, να αποκρίνονται σε επιδράσεις όπως ο solvatochromism και να εμπλέκονται στον σχηματισμό μη-καθαρών προϊόντων (π.χ. σύμπλοκα συντονισμού με μεταλλικά ιόντα) καθιστούν αυτές τις ενώσεις επιθυμητές για τον σχεδιασμό αισθητήρων.<sup>[31]</sup> Ακόμα, πολλά είναι και τα παράγωγα πουρινών (π.χ. ralimetinib, binimetinib) που έχουν χρησιμοποιηθεί ως αντικαρκινικά φάρμακα.

Επιπρόσθετα, έχουν βρεθεί 2,6,9 τρι-υποκατεστημένες πουρίνες, όπως η ολομουκίνη (25) και ροσκοβιτίνη (26) (Σχήμα 8) οι οποίες αναστέλλουν επιλεκτικά τις κυκλινο-εξαρτώμενες κινάσες (CDKs) που αποτελούν σημαντικούς ρυθμιστές του κυτταρικού κύκλου.<sup>[21]</sup>

Ακόμα, οι αλογονομένες ενώσεις έχουν αξιοποιηθεί ευρέως στην ανακάλυψη νέων φαρμάκων υποδεικνύοντας τη σημασία των αλογόνων στη βιολογική δραστηριότητα. Υποστηρίζοντας αυτή την άποψη, αποδείχτηκε ότι ο σχηματισμός δεσμού με τα αλογόνα συμβάλλει στη σταθερότητα των συμπλόκων πρωτεΐνης – προσδέτη.<sup>[32]</sup> Αξίζει να σημειωθεί ότι η 2-ιωδο-6χλωρο-πουρίνη έχει προταθεί ως αναστολέας των κυκλινοεξαρτώμενων κινασών.<sup>[1, 42]</sup>

Σε μία άλλη εργασία, αναφέρθηκε η σύνθεση νέων 9- (4-υποκατεστημένων βενζυλ) παραγώγων πουρινών και αξιολογήθηκε η κυτταροτοξική τους δράση κατά των κυτταρικών σειρών του ήπατος, του παχέος εντέρου και του καρκίνου του μαστού. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι αυτές οι ενώσεις μπορούν να θεωρηθούν ως πολλά υποσχόμενα μόρια για την ανάπτυξη πιθανών αντικαρκινικών παραγόντων.<sup>[15]</sup>

Με βάση αυτές τις παρατηρήσεις πάρθηκε η απόφαση για τη σύνθεση νέων πουρινικών αναλόγων, τα οποία στη συνέχεια θα ελεγχθούν για πιθανή ανασταλτική δράση ως αντικαρκινικοί παράγοντες. Η ανάπτυξη παραγώγων πουρίνης που να παρουσιάζουν χαμηλή τοξικότητα σε υγιή κύτταρα και εκλεκτικότητα όσον αφορά στην δράση τους είναι αναγκαία. Επομένως, σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η σύνθεση νέων τροποποιημένων στη θέση 6

τριαζολοαλκυνολοϋποκατεστημένων παραγώγων πουρίνης, τα οποία θα ταυτοποιηθούν με κατάλληλες φασματοσκοπικές τεχνικές.

Έχοντας ως πρώτη ύλη του συνθετικού μονοπατιού την 2-αμινο-6-χλωρο-πουρίνη παρασκευάστηκε με διαδοχικά βήματα η 6-αζιδο-9-βενζυλο-2-ιωδο-πουρίνη η οποία με τη σειρά της έδωσε τα C-6 τριαζολοαλκυνολοπαράγωγα πουρίνης που θα εξεταστούν στη συνέχεια πιο αναλυτικά. Τα παράγωγα φέρουν ένα ιώδιο και έναν τριάζολο υποκαταστάτη στις θέσεις 2 και 6 αντίστοιχα του πυριμιδινικού δακτυλίου, ενώ ως υποκαταστάτης του ιμιδαζολικού δακτυλίου επιλέχθηκε μία βενζυλοομάδα. Οι αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν είτε με συμβατική θέρμανση είτε στα μικροκύματα ανάλογα με τα υποστρώματα και τους καταλύτες.

### 3. ΓΕΝΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

#### 3.1 Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας

Ο έλεγχος για την πορεία των αντιδράσεων γίνεται μέσω της χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC: Thinlayerchromatography). Πρόκειται για μια τεχνική που χρησιμοποιείται στον διαχωρισμό μη πτητικών μειγμάτων και εκτελείται σε πλάκες αλουμινίου επιστρωμένες με Silicagel (MerckKieseilel 60F24) πάχους 0,2mm. Αυτή η στρώση προσροφητή είναι γνωστή ως στατική φάση (stationary phase). Αφού εφαρμοστεί το δείγμα στην πλάκα, ένας διαλύτης ή μείγμα διαλυτών (γνωστό ως η κινητή φάση (mobile phase)) ανέρχεται στην πλάκα μέσω τριχοειδούς κίνησης. Επειδή διαφορετικές αναλυόμενες ουσίες ανεβαίνουν τον δίσκο TLC με διαφορετικούς ρυθμούς, επιτυγχάνεται διαχωρισμός.

Τα συστήματα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκαν στη χρωματογραφία είναι τα εξής και όπου οι αναλογίες που αναφέρονται είναι σε mL:

- \* Διάλυμα Α: οξικός αιθυλεστέρας (AcOEt) / εξάνιο (Hex) → 5/5
- \* Διάλυμα Β: οξικός αιθυλεστέρας (AcOEt) / εξάνιο (Hex) → 6/4
- \* Διάλυμα Γ: οξικός αιθυλεστέρας (AcOEt) / εξάνιο (Hex) → 7/3

Για ενώσεις που απορροφούν στην περιοχή του υπεριώδους, τα προϊόντα τους ανιχνεύονται στα χρωματογραφήματα με τη χρήση λάμπας UV (254nm), ωστόσο όσες δεν απορροφούν, η εμφάνιση γίνεται με ψεκασμό με διάλυμα θειϊκού οξέος 30% και θέρμανση. (Εικόνα 2)

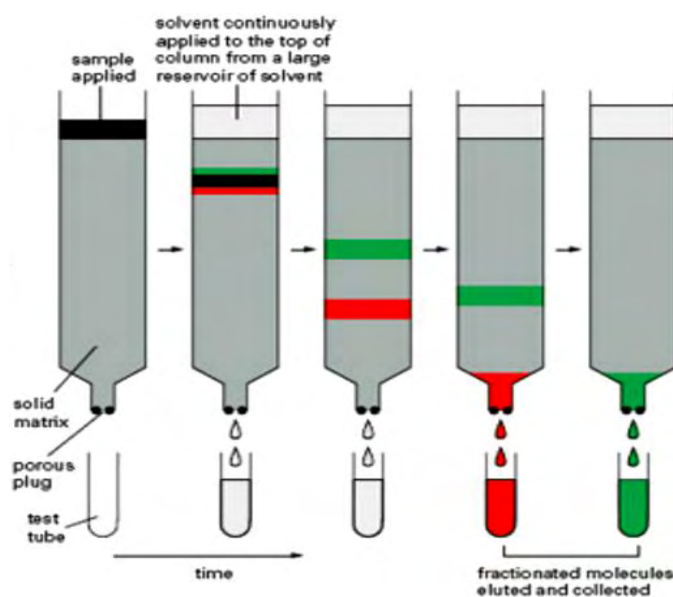


*Εικόνα 2.*

[Διαχωρισμός μαύρου μελανιού σε μια πλάκα TLC]

## 3.2 Χρωματογραφία στήλης

Όταν μια χημική ένωση απομονώνεται, η ένωση στόχος θα πρέπει να καθαριστεί από διαλύτες και παραπροϊόντα. Η τεχνική που χρησιμοποιείται για αυτό τον λόγο είναι η χρωματογραφία στήλης, μια τεχνική 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, πολλές φορές με τη βοήθεια εισαγωγής αέρα υπό πίεση (flash chromatography). Το μείγμα που είναι προς διαχωρισμό αποτελεί την κινητή φάση και τοποθετείται στην αρχή (κορυφή) της στήλης ενώ το προσροφητικό υλικό, συνήθως silica gel (240-400, Merck grade), εντός του σωλήνα είναι η στατική φάση. Το μείγμα διέρχεται εξαναγκασμένα μέσω της στατικής φάσης με την εφαρμογή πίεσης σε αυτήν ή λόγω της βαρύτητας. 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 – εκκλούνται- από το άκρο της. Ο χρόνος έκλουσης μιας ουσίας επηρεάζεται άμεσα από την πολικότητά της. Οι πολικές ουσίες προσροφούνται και κολλούν στην αφετηρία, κορυφή, της στήλης και χρειάζονται πιο πολικό διαλύτη για να προχωρήσουν. Οι άπολες ουσίες συνήθως προχωρούν ή κατεβαίνουν πιο εύκολα ακόμη και με διαλύτες χαμηλής πολικότητας. Για την έκλουση των ουσιών από το silica gel χρειάζεται να γίνει έκλουση της στήλης με διάφορους διαλύτες αρχίζοντας από τους λιγότερο πολικούς και καταλήγοντας στους περισσότερο πολικούς. (Εικόνα 3)



Εικόνα 3.

[Χρωματογραφία στήλης]

### 3.3 Ξήρανση διαλυτών

Σε ορισμένες αντιδράσεις, προκειμένου να πραγματοποιηθούν, είναι απαραίτητη η παρουσία άνυδρων διαλυτών όπως το τετραϋδροφουράνιο (THF) και το διμεθυλομεθαναμίδιο (DMF), διότι είναι ευαίσθητες στην παρουσία οξυγόνου. Παρόλο που παραδοσιακά το THF ξηραίνεται με απόσταξη διαμέσου ισχυρού ξηραντικού μέσου, η χρήση μοριακών φίλτρων είναι κατά πολύ ανώτερη σε αποτελεσματικότητα. <sup>[36]</sup> Στο THF είχε προηγηθεί απόσταξη από νάτριο / βενζοφαινόνη αρκετές μέρες πριν από τη χρήση και αποθήκευση αυτού σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 4Å, ανάλογα το DMF ήταν αποθηκευμένο σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 3Å μετά την απόσταξή του. Θα ήταν χρήσιμη η κατάταξη μερικών κοινών διαλυτών με σειρά αυξανόμενης πολικότητας θεωρώντας το νερό σαν το πρότυπο πολικού διαλύτη (Πίνακας 3) :

Πίνακας 3. Σειρά πολικότητας διαλυτών

Εξάνιο	< Διχλωρομεθάνιο	< Οξικός αιθυλεστέρας	< μεθανόλη	< νερό
--------	------------------	--------------------------	------------	--------

### 3.4 Ταυτοποίηση ενώσεων

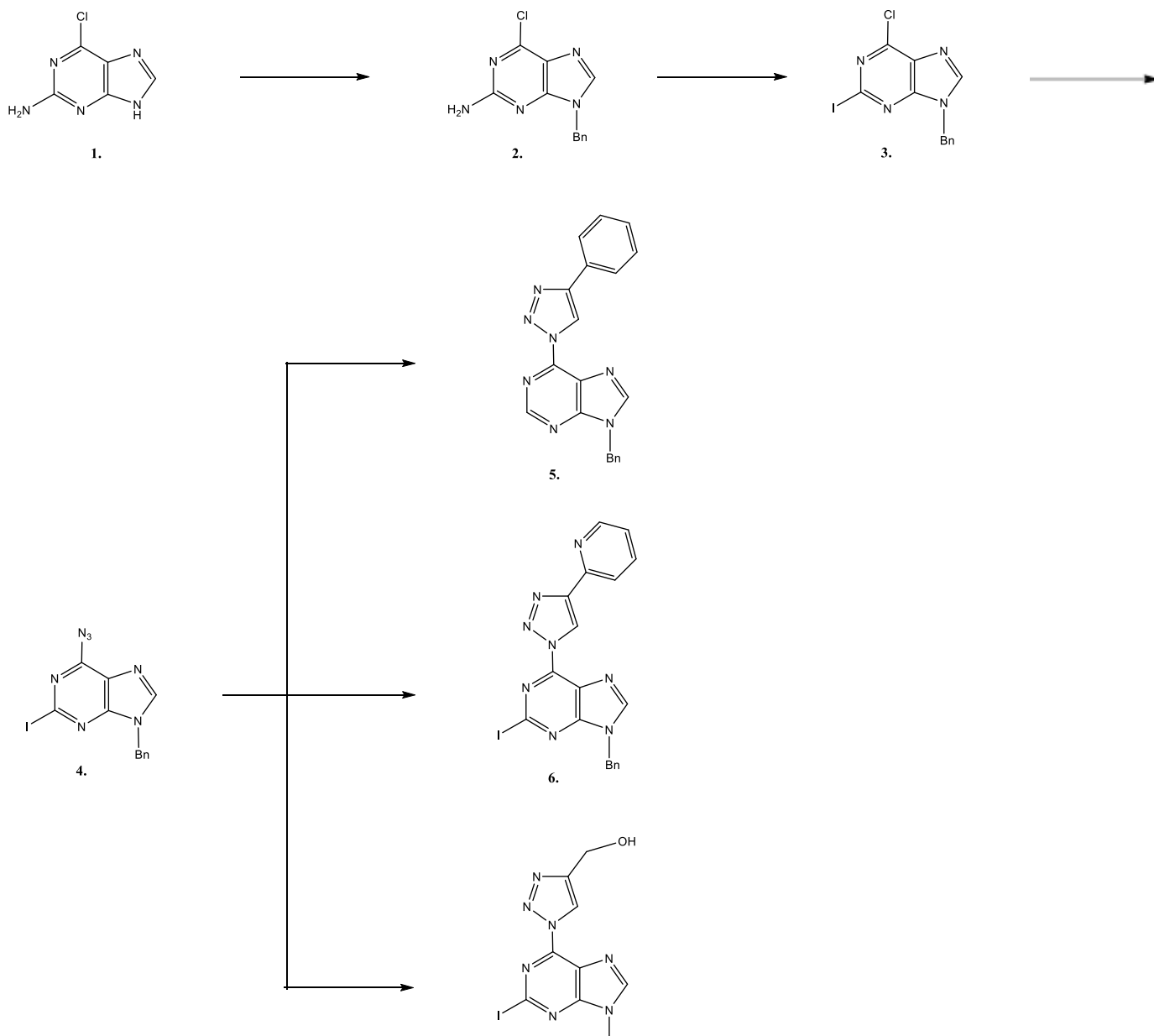
Η ταυτοποίηση των ενώσεων που συντέθηκαν έγινε με τη χρήση του φάσματος πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR (Nuclear Magnetic Resonance). Η φασματοσκοπία NMR είναι μία από τις κύριες τεχνικές που χρησιμοποιούνται για τη λήψη φυσικών, χημικών, ηλεκτρονικών και δομικών πληροφοριών για τα μόρια που οφείλονται είτε στη χημική μετατόπιση, το φαινόμενο Ζέεμαν (Zeeman effect), ή το 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.

Τα φάσματα <sup>1</sup>H NMR μετρήθηκαν με το φωτόμετρο Bruker Avance III 250 MHz χρησιμοποιώντας δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl<sub>3</sub>). Το τετραμέθυλοσιλάνιο (TMS) χρησιμοποιήθηκε ως σημείο αναφοράς για <sup>1</sup>H. Η πολλαπλότητα των καμπύλων φαίνεται ως s (single), d (doublet), dd (doublet doublet), dtr (doublet triplet), m (multiplet). Οι σταθερές σύζευξης J μετρήθηκαν σε Hz. Τα φάσματα <sup>13</sup>C-NMR καταγράφηκαν όλη τη νύχτα στα 75.5MHz στο ίδιο φωτόμετρο, χρησιμοποιώντας ως διαλύτες CDCl<sub>3</sub> ή (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO ή CD<sub>3</sub>OD.



## 4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 4.1 Επισκόπηση της συνθετικής οδού



## 4.2 Μεθοδολογία της σύνθεσης

Η εμπορικά διαθέσιμη 2-αμινο-6-χλωρο-πουρίνη (1) αποτέλεσε την πρώτη ύλη του συνθετικού μονοπατιού στην οποία προσθέτοντας βενζυλοχλωρίδιο (BnCl) παρουσία ανθρακικού καλίου ( $K_2CO_3$ ) σε διαλύτη διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF) λαμβάνεται η 2-αμινο-9-βενζυλο-6-χλωροπουρίνη (2).

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε ιωδίωση της 2-αμινο-9-βενζυλο-6-χλωροπουρίνης (2) στη θέση 2 χρησιμοποιώντας ως αντιδραστήρια τα: ιώδιο ( $I_2$ ), διϊωδομεθάνιο ( $CH_2I_2$ ), με καταλύτη ιωδιούχο χαλκό (CuI) και νιτρώδες ισοπεντύλιο σε άνυδρο διαλύτη τετραϋδροφουράνιο (THF). Έτσι προέκυψε η ένωση 2-ιωδο-9-βενζυλο-6-χλωροπουρίνη (3).

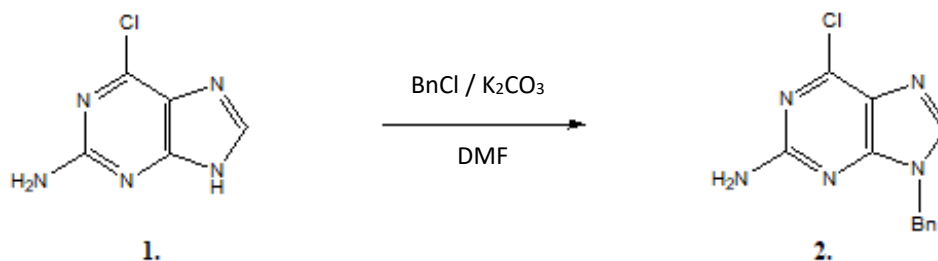
Από την ένωση 2-ιωδο-9-βενζυλο-6-χλωροπουρίνη (3) παρασκευάστηκε η 6-αζιδο-9-βενζυλο-2-ιωδοπουρίνη (4). Η αντίδραση αυτή διεξήχθη προσθέτοντας στην ένωση (3) το αζίδιο του νατρίου ( $NaN_3$ ) σε άνυδρο διαλύτη διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF).

Ακολούθως, η ένωση 6-αζιδο-9-βενζυλο-2-ιωδοπουρίνη (4) αντέδρασε προς τα παρακάτω τρία τριαζολοπαράγωγα πουρινών: την 9-βενζυλο-6-(1*H*-1,2,3-τριάζολ-1-υλο-4-φαίνυλο)-9*H*-πουρίνη (5), την 9-βενζυλο-2-ιωδο-6-(4-(πυριδιν-2-υλο)-1*H*-1,2,3-τριάζολ-1-υλο-4-φαίνυλο)-9*H*-πουρίνη (6) και την 9-βενζυλο-2-ιωδο-6-(1*H*-1,2,3-τριάζολ-4-υδροξυμεθυλ-1-υλο-)-9*H*-πουρίνη (7).

Συγκεκριμένα, στην 6-αζιδο-9-βενζυλο-2-ιωδοπουρίνη (4) προστέθηκε το αλκίνιο αιθυνυλοβενζόλιο και προέκυψε η 6-τριάζολοφαινυλοπουρίνη (5), με προσθήκη του αλκινίου αιθύνυλο-2-πυριδίνης δημιουργήθηκε η 6-(2-πυριδινυλο)-τριαζολοπουρίνη (6) και σε μία τρίτη αντίδραση προστέθηκε η προπαργυλική αλκοόλη και προέκυψε η 6-τριάζολοϋδροξυμεθυλοπουρίνη (7). Και οι τρεις αντιδράσεις έγιναν με παρουσία καταλυτών το ασκορβικό νάτριο (NaAscorbat) και τον θειικό χαλκό ( $CuSO_4$ ) και σε σύστημα διαλυτών τετραϋδροφουρανίου (THF)/οξικού οξέος (AcOH).

Τα προϊόντα (5), (6) και (7) αυτών των της αντιδράσεων αποτελούν και τα τελικά προϊόντα του συνθετικού μονοπατιού.

### 4.3 Σύνθεση της 2-αμινο-9-βενζυλο-6-χλωροπουρίνης (2)

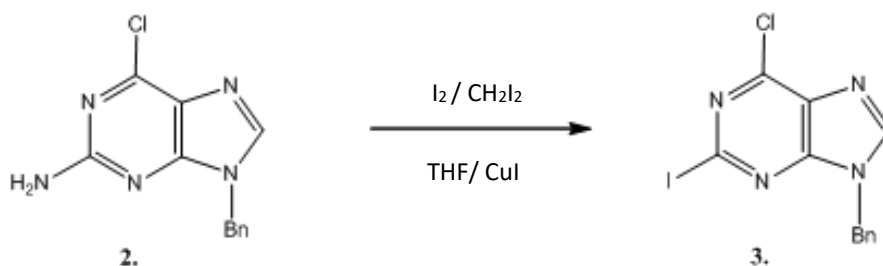


Σε διάλυμα της εμπορικά διαθέσιμης ένωσης 2-αμινο-6χλωρο πουρίνης (170mg, 1mmol) σε άνυδρο DMF (16,7mL) προστίθεται  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (415mg, 3mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται αρχικά σε θερμοκρασία δωματίου για 20 λεπτά. Στο μίγμα προστίθεται BnCl (230μL, 2mmol) και μεταφέρεται στη συσκευή microwave. Η αντίδραση πραγματοποιείται στους 120 °C, για 5 λεπτά και με Power ρυθμισμένο στα 200 Watt. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC) απομακρύνεται ο διαλύτης υπό κενό και ακολουθεί εκχύλιση με AcOEt. Η οργανική φάση πλένεται τρεις φορές με υπέρκορο διάλυμα χλωριούχου νατρίου (brine), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου θειϊκού νατρίου ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό μέχρι ξηρού. Το προκύπτον στερεό καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης οξικό αιθυλεστέρα/εξάνιο 7/3. Στη συνέχεια εξατμίζεται ο διαλύτης στον περιστροφικό συμπυκνωτή μέχρι ξηρού. Το επιθυμητό προϊόν (2) λαμβάνεται με τη μορφή λευκού στερεού (153mg, 0,6mmol), με σημείο τήξης στους 213-214°C.

Πίνακας 4. Αποτελέσματα της σύνθεσης της 2-αμινο-9-βενζυλο-6-χλωροπουρίνης

<u>TLC σε διάλυμα</u> <u>οξικού αιθυλεστέρα/εξάνιο 7/3</u>	<u>Απόδοση</u>
Rf= 0,71	60%

#### 4.4 Σύνθεση της 2-ιωδο-6-χλωρο-9-βενζυλοπουρίνης (3)

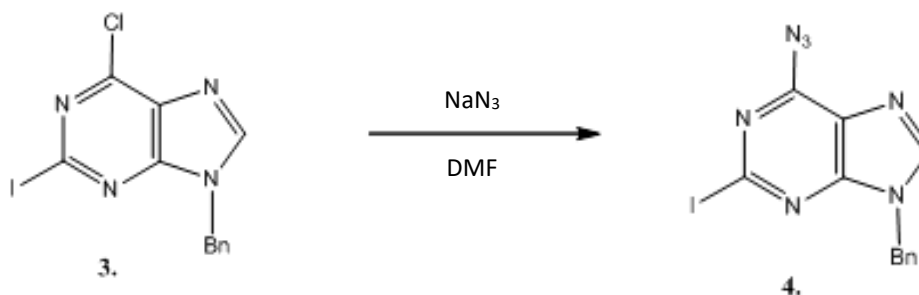


Το προϊόν (2) (153mg, 0,6mmol) της προηγούμενης αντίδρασης διαλύθηκε σε σφαιρική φιάλη με 18ml άνυδρου προσφάτως απεσταγμένου THF. Σε αυτό το διάλυμα προστίθενται επίσης I<sub>2</sub> (152mg, 0,6mmol), CuI (114,3mg, 0,6mmol), CH<sub>2</sub>I<sub>2</sub> (0,48ml, 6mmol) και νιτρώδες ισοπεντύλιο (0,23ml, 1,8mmol). Το προκύπτον μίγμα μεταφέρεται στη συσκευή μικροκυμάτων. Η αντίδραση πραγματοποιείται στους 90 °C για 13 λεπτά και με Power ρυθμισμένο στα 300 Watt. Μετά το πέρας της αντίδρασης (TLC) απομακρύνεται ο διαλύτης υπό κενό μέχρι ξηρού. Το προκύπτον στερεό καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα οξικού αιθυλεστέρα/εξάνιο 6/4. Η χρωματογραφία στήλης πραγματοποιείται δύο φορές για να καθαρίσουμε το προϊόν από το ιώδιο. Έπειτα πραγματοποιείται η εξάτμιση του διαλύτη στον περιστροφικό συμπυκνωτή μέχρι ξηρού, από όπου λαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν (3) με τη μορφή υποκίτρινων κρυστάλλων (130mg, 0,35mmol).

Πίνακας 5. Αποτελέσματα της σύνθεσης της 2-ιωδο-6-χλωρο-9-βενζυλοπουρίνης

<u>TLC σε διάλυμα οξικού αιθυλεστέρα/εξάνιο 6/4</u>	<u>Απόδοση</u>
Rf = 0,59	59%

#### 4.5 Σύνθεση της 2-ιωδο-6-αζιδο-9-βενζυλοπουρίνης (4)



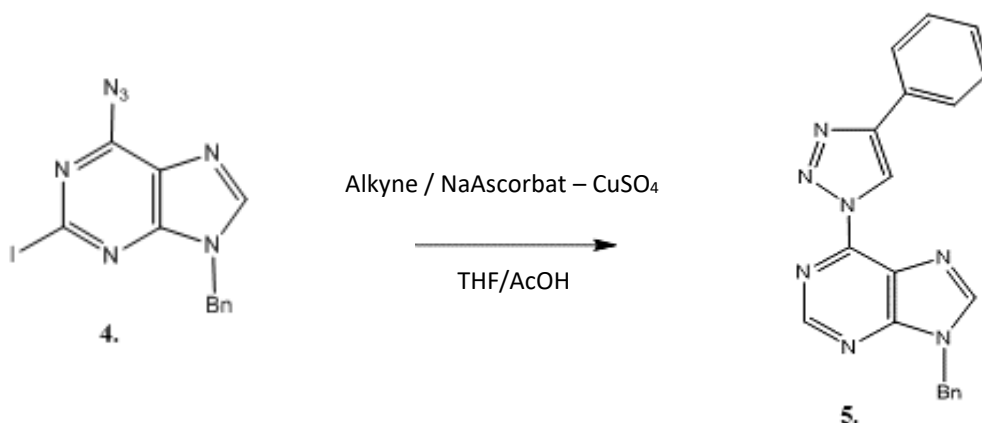
Σε διάλυμα του προϊόντος της προηγούμενης αντίδρασης της 2-ιωδο-6-χλώρο-9-βενζυλοπουρίνης (130mg, 0,35mmol) προστέθηκε NaN<sub>3</sub> (68mg, 1,05mmol) με παρουσία άνυδρου DMF (3,4ml). Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία δωματίου, ενώ διοχετευόταν αέριο άζωτο καθ' όλη τη διάρκεια της αντίδρασης προκειμένου να διατηρηθούν οι αδρανείς συνθήκες. Ύστερα από το πέρας της αντίδρασης (έλεγχος με TLC) ακολουθεί διήθηση με χωνί Buchner και το επιθυμητό προϊόν (4) λαμβάνεται με τη μορφή λευκού στερεού (92mg, 0,25mmol). Το NaN<sub>3</sub> είναι επίσης φωτοευαίσθητο και θερμοευαίσθητο [17] οπότε το τελικό προϊόν φυλάσσεται στο ψυγείο τυλιγμένο με αλουμινόχαρτο.

Πίνακας 6. Αποτελέσματα της σύνθεσης της 2-ιωδο-6-αζιδο-9-βενζυλοπουρίνης

<u>TLC σε διάλυμα οξικού αιθυλεστέρα/εξάνιο 5/5</u>	<u>Απόδοση</u>
R <sub>f</sub> = 0,45	70%

## 4.6 Σύνθεση των τριαζολο-παραγώγων της πουρίνης

### 4.6.1 Σύνθεση της 9-βενζυλο-6-(1H-1,2,3-τριάζολ-1-υλο-4-φαίνυλο)-9H-πουρίνης (5)

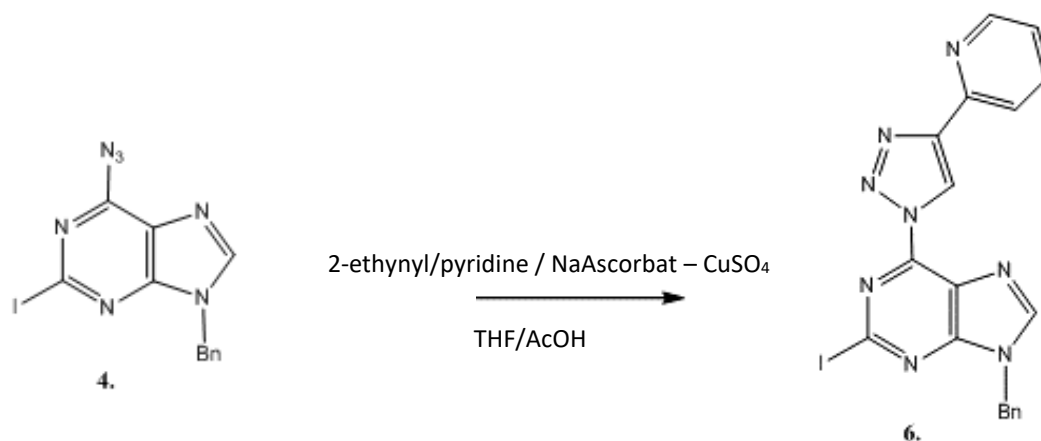


Το προϊόν (4) (35 mg, 0,093mmol) της προηγούμενης αντίδρασης διαλύθηκε σε μίγμα διαλυτών THF/AcOH: 9/1 (0,5ml). Στη συνέχεια προστέθηκαν οι καταλύτες NaAscorbat (4mg, 0,02mmol) και CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (2mg, 0,008mmol) και στο τέλος το αλκίνιο αιθυλοβενζόλιο (20,4μl, 0,186mmol). Η αντίδραση λαμβάνει χώρα σε θερμοκρασία δωματίου για μία νύχτα. Έπειτα από το πέρας της αντίδρασης (έλεγχος με TLC) απομακρύνεται ο διαλύτης υπό κενό μέχρι ξηρού και ακολουθεί εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα και τρεις φορές με brine, ξηραίνεται υπεράνω Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό μέχρι ξηρού. Το προϊόν καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα διαλυτών οξικού αιθυλεστέρα/εξάνιο 5/5. Μετά από συμπύκνωση του προϊόντος για απομάκρυνση του διαλύτη υπό κενό μέχρι ξηρού, το επιθυμητό προϊόν (5), λαμβάνεται με τη μορφή λευκού στερεού (18 mg, 0,051mmol).

Πίνακας 7. Αποτελέσματα της σύνθεσης της 9-βενζυλο-6-(1H-1,2,3-τριάζολ-1-υλο-4-φαίνυλο)-9H-πουρίνης

<u>TLC σε διάλυμα οξικού αιθυλεστέρα/εξάνιο 5/5</u>	<u>Απόδοση</u>
Rf = 0,56	55%

#### 4.6.2 Σύνθεση της 9-βενζυλο-2-ιωδο-6-(4-(πυριδιν-2-υλο)-1H-1,2,3-τριάζολ-1-υλο-4-φαίνυλο)-9H-πουρίνης (6)

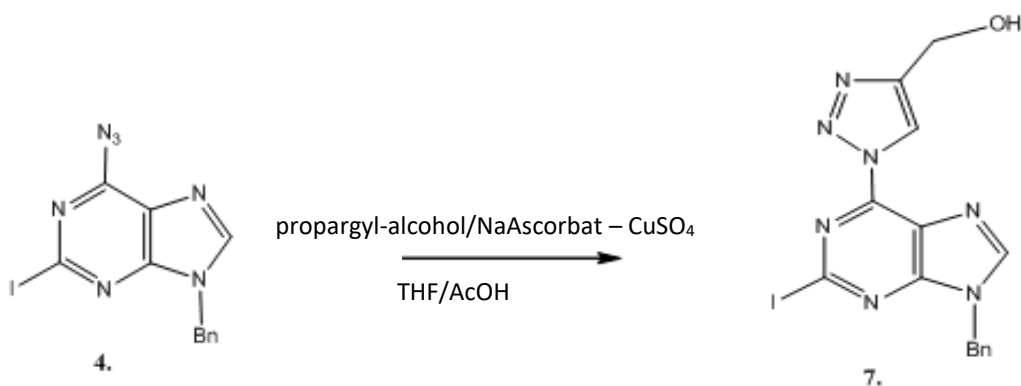


Άλλη ποσότητα από το προϊόν (4) (25 mg, 0,066mmol) διαλύθηκε σε μίγμα διαλυτών THF/AcOH: 9/1 (1 ml). Στη συνέχεια προσθέτονται οι καταλύτες NaAscorbat (5 mg, 0,025mmol) και CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (2 mg, 0,008mmol) και στο τέλος το αλκίνιο: αιθυνυλο-2-πυριδίνη (13,34 μl, 0,132mmol). Η αντίδραση λαμβάνει χώρα σε θερμοκρασία δωματίου και αφήνεται για 2 ώρες και 15 λεπτά. Μόλις ολοκληρωθεί η αντίδραση (έλεγχος με TLC) απομακρύνεται ο διαλύτης υπό κενό μέχρι ξηρού. Ακολούθως, πραγματοποιείται εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα και τρεις φορές με brine, ξηραίνεται υπεράνω Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό μέχρι ξηρού. Το προϊόν καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικού αιθυλεστέρα/εξάνιο 5/5. Το επιθυμητό προϊόν (6), μετά από συμπύκνωση του προϊόντος για απομάκρυνση του διαλύτη υπό κενό μέχρι ξηρού, λαμβάνεται με τη μορφή λευκού στερεού (5 mg, 0,010mmol).

Πίνακας 8. Αποτελέσματα σύνθεσης της 9-βενζυλο-2-ιωδο-6-(4-(πυριδιν-2-υλο)-1H-1,2,3-τριάζολ-1-υλο-4-φαίνυλο)-9H-πουρίνης

<u>TLC σε διάλυμα οξικού αιθυλεστέρα/εξάνιο 5/5</u>	<u>Απόδοση</u>
R <sub>f</sub> = 0,67	16%

#### 4.6.3 Σύνθεση της 9-βενζυλο-2-ιωδο-6-(1H-1,2,3-τριάζολ-4-υδροξυμεθυλ-1-υλο-)-9H-πουρίνης (7)



Άλλη ποσότητα από το προϊόν (4) (30 mg, 0,079mmol) διαλύεται σε μίγμα διαλυτών THF/AcOH: 9/1 (0,5 ml). Στη συνέχεια προσθέτονται οι καταλύτες NaAscorbat (6 mg, 0,03mmol) και CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (4 mg, 0,016mmol) και στο τέλος η προπαργυλική αλκοόλη (9,3 μl, 0,194mmol). Στη συνέχεια στο διάλυμα προστίθεται αέριο άζωτο και τοποθετείται στα μικροκύματα στους 60°C για 1 ώρα. Μετά το πέρας της αντίδρασης (έλεγχος με TLC) πραγματοποιείται εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα και τρεις φορές με brine, ξηραίνεται υπεράνω Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό μέχρι ξηρού. Το προκύπτον στερεό καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικού αιθυλεστέρα/εξάνιο 6/4. Το επιθυμητό προϊόν (6), με συμπύκνωση του προϊόντος για απομάκρυνση του διαλύτη υπό κενό μέχρι ξηρού, λαμβάνεται με τη μορφή λευκού στερεού (4 mg, 0,009mmol).

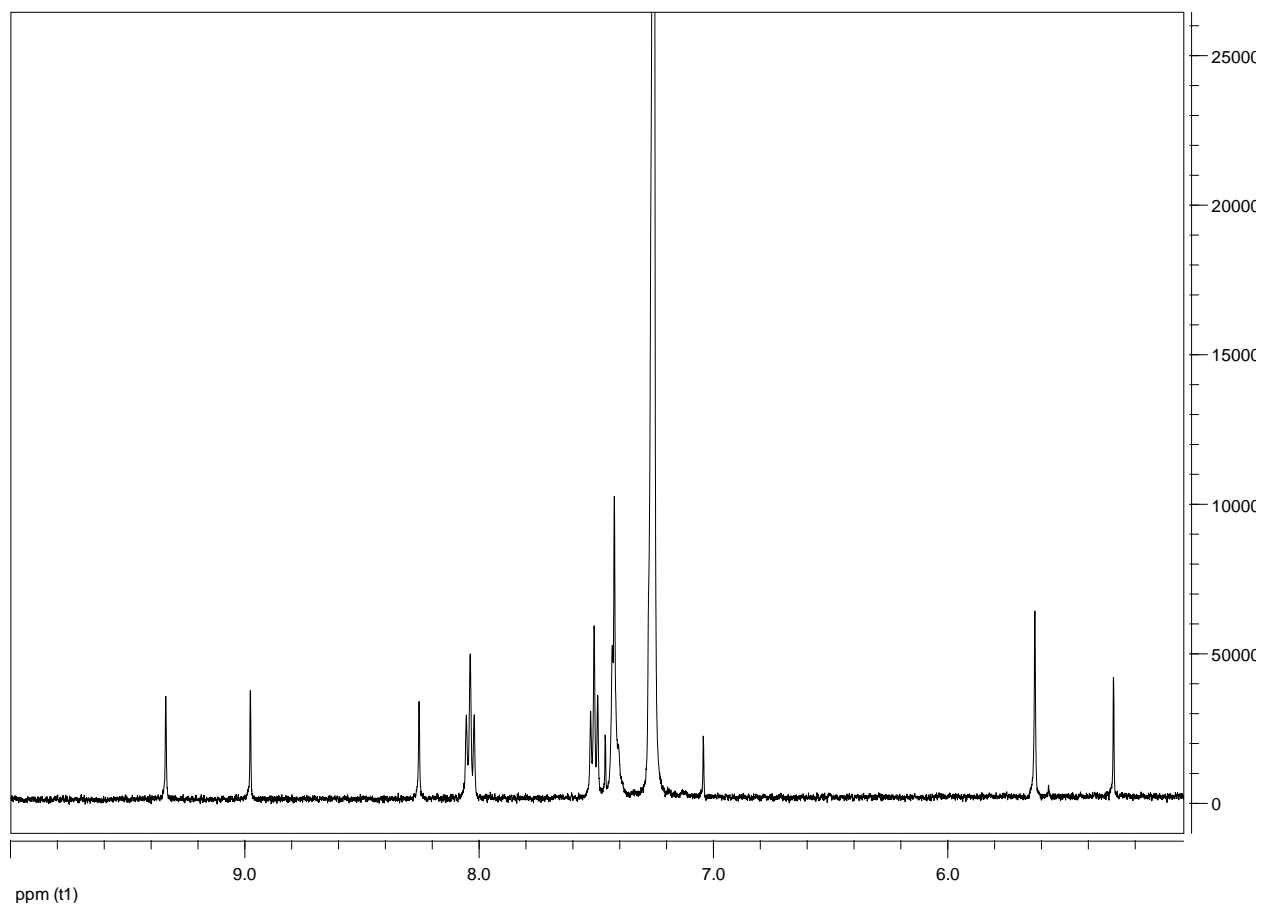
Πίνακας 9. Αποτελέσματα σύνθεσης της 9-βενζυλο-2-ιωδο-6-(1H-1,2,3-τριάζολ-4-υδροξυμεθυλ-1-υλο-)-9H-πουρίνης

<u>TLC σε διάλυμα οξικού αιθυλεστέρα/εξάνιο 5/5</u>	<u>Απόδοση</u>
R <sub>f</sub> = 0,25	12%



## 5. ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΕΝΩΣΕΩΝ

### 5.1 Ταυτοποίηση της 9-βενζυλο-6-(1H-1,2,3-τριαζολ-1-υλο-4-φαινυλο)-9H-πουρίνης (5) σε διαλύτη CDCl<sub>3</sub>



## 6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### 6.1 Η ανάγκη για την σύνθεση παραγώγων πουρίνης

Ο δακτύλιος της πουρίνης είναι ένα βασικό δομικό στοιχείο υποστρωμάτων και συνδετών πολλών βιοσυνθετικών, ρυθμιστικών και μεταγωγικών πρωτεϊνών σήματος συμπεριλαμβανομένων κυτταρικών κινασών, πρωτεϊνών G και πολυμερασών. <sup>[1]</sup> Η ανάπτυξη πουρινικών αναλόγων ως πιθανά φάρμακα προήλθε από τις αέναιες προσπάθειες των ερευνητών για να καταπολεμήσουν χρόνιες νόσους όπως κακοήθεις νεοπλασίες και οι ιικές μολύνσεις. Ο βασικότερος σκοπός όλων των ερευνητικών μελετών και προσπαθειών είναι η ανάπτυξη παραγώγων πουρίνης που να παρουσιάζουν χαμηλή τοξικότητα σε υγιή κύτταρα όπως κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και εκλεκτικότητα όσον αφορά στην δράση τους. Συγκεκριμένα, υπάρχουν τουλάχιστον τρεις διαφορετικοί τομείς εφαρμογής πουρινών, πρώτον οι αντιμεταβολικοί νουκλεοζίτες πουρίνης στην αντικαρκινική θεραπεία, δεύτερον τα αντιϊικά παράγωγα πουρίνης και τρίτον οι αγωνιστές και ανταγωνιστές των υποδοχέων αδενοσίνης.<sup>[38]</sup>

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε η σύνθεση μιας νέας τάξης τριάζολο-παραγώγων πουρίνης με πιθανή αντικαρκινική δράση. Παρατηρήθηκε ότι με μια πειραματική διαδικασία τεσσάρων βημάτων με σχετικά σύντομα βήματα, είναι δυνατή η σύνθεση των τριάζολο-παραγώγων πουρίνης. Η ταυτοποίηση των παραπάνω ενώσεων έγινε μέσω του φάσματος πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (<sup>1</sup>H NMR).

### 6.2 Σύνθεση παραγώγων πουρίνης

Είναι γνωστό πως 2,6,9-τριύποκατεστημένες πουρίνες που χαρακτηρίζονται από την παρουσία μιας αλκυλοομάδας στη θέση C2 και ένα εύρος διαφορετικών βενζυλαμινοομάδων στη θέση C6 έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν την κυκλινεξαρτώμενη κινάση CDK1- cyclin B in vitro. <sup>[1]</sup> Επομένως, αν και οι αποδόσεις της σύνθεσης των τροποποιημένων πουρινών, 6-τριάζολοφαινολοπουρίνη (5), 6-(2-πυριδινυλο)-τριάζολοπουρίνη (6) και 6-τριάζολοϋδροξυμεθυλοπουρίνη (7) κυμάνθηκαν μεταξύ 12 και 55%, η σύνθεση και η αξιολόγηση της βιολογικής δράσης αυτών αλλά και νέων 2,6,9-τριύποκατεστημένων παραγώγων πουρίνης είναι σημαντική.

### 6.2.1 Σύνθεση της 2-αμινο-9-βενζυλο-6-χλωροπουρίνης

Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε τόσο με θέρμανση με συμβατικά μέσα, όσο και με τη χρήση μικροκυμάτων. Στην αρχή το προκύπτον εναιώρημα αναδεύτηκε σε θερμοκρασία δωματίου για 20 λεπτά και μετά την προσθήκη του BnCl μεταφέρθηκε στη συσκευή microwave στους 120 °C, για 5 λεπτά και με Power ρυθμισμένο στα 200 Watt. Το επιθυμητό προϊόν λήφθηκε με τη μορφή λευκού στερεού, με σημείο τήξης στους 213-214°C και απόδοση 60%.

### 6.2.2 Σύνθεση της 2-ιωδο-6-χλωρο-9-βενζυλοπουρίνης

Η αντίδραση της ιωδίωσης πραγματοποιείται στη συσκευή μικροκυμάτων στους 90 °C για 13 λεπτά και με Power ρυθμισμένο στα 300 Watt. Το επιθυμητό προϊόν λήφθηκε με τη μορφή υποκίτρινων κρυστάλλων και η απόδοση της αντίδρασης ανέρχεται στο 59% .

### 6.2.3 Σύνθεση της 2-ιωδο-6-αζιδο-9-βενζυλοπουρίνης

Η συγκεκριμένη αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία δωματίου, ενώ διοχετευόταν αέριο άζωτο καθ' όλη τη διάρκεια αυτής προκειμένου να διατηρηθούν οι αδρανείς συνθήκες καθώς το DMF είναι ευαίσθητο στο οξυγόνο. Η αντίδραση έλαβε χώρα για 1 ώρα και για να λήξει προστέθηκε πάγος. Το επιθυμητό προϊόν λήφθηκε με τη μορφή λευκού στερεού και η απόδοση της αντίδρασης ανέρχεται στο 70%. Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δοθεί ωστόσο στο αζίδιο το οποίο, επειδή είναι θερμοευαίσθητο και φωτοευαίσθητο, είναι πολύ εύκολο να αποδομηθεί μετά από ορισμένο χρονικό διάστημα έκθεσής του στο φως. <sup>[17]</sup>

### 6.2.4 Σύνθεση της 9-βενζυλο-6-(1H-1,2,3-τριάζολ-1-υλο-4-φαίνυλο)-9H-πουρίνης

Η αντίδραση λαμβάνει χώρα σε θερμοκρασία δωματίου για μία νύχτα. Το τελικό προϊόν λαμβάνεται με τη μορφή λευκού στερεού σε απόδοση 55%. Από την ταυτοποίηση της ένωσης μέσω του <sup>1</sup>H NMR παρατηρήθηκε μια επιπλέον απλή κορυφή μετά τα δppm πιθανόν να αφορά το υδρογόνο που βρίσκονται πλέον στη θέση 2 αντί του ιωδίου. Αυτό δικαιολογείται με το γεγονός ότι το ιώδιο στη θέση 2 της πουρίνης είναι αρκετά δραστικό και με τη παρουσία χαλκού λόγω του

καταλύτη (θειικό χαλκό) της αντίδρασης να αποσπάται. Αυτό όπως είναι ευνόητο οδηγεί στο ίδιο προϊόν που θα λαμβάναμε αν η πρώτη ύλη της συνθετικής οδού ήταν η 6-χλωροπουρίνη αντί για την 2-άμινο-6-χλωροπουρίνη.

### **6.2.5 Σύνθεση της 9-βενζυλο-2-ιωδο-6-(4-(πυριδιν-2-υλο)-1*H*-1,2,3-τριάζολ-1-υλο-4-φαίνυλο)-9*H*-πουρίνης**

Η συγκεκριμένη αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία δωματίου για μικρότερο χρόνο (2 ώρες και 15 λεπτά) προκειμένου να αποφευχθεί η παράπλευρη αντίδραση απομάκρυνσης του ιωδίου στη θέση 2. Σύμφωνα με το TLC υπήρξε σχηματισμός παραπροϊόντων, ωστόσο το τελικό προϊόν λήφθηκε με τη μορφή λευκού στερεού και σε απόδοση 16%.

### **6.2.6 Σύνθεση της 9-βενζυλο-2-ιωδο-6-(1*H*-1,2,3-τριάζολ-4-υδροξυμεθυλ-1-υλο-)-9*H*-πουρίνης**

Για την παραγωγή του επιθυμητού προϊόντος χρειάστηκε το διάλυμα, αφού του είχε προστεθεί αέριο άζωτο, να τοποθετηθεί στα μικροκύματα στους 60°C για 1 ώρα. Η συγκεκριμένη αντίδραση είχε πραγματοποιηθεί και με συμβατική θέρμανση αλλά λαμβάνονταν πολλά παραπροϊόντα και δεν ήταν εύκολος ο καθαρισμός του επιθυμητού προϊόντος. Τελικά, το επιθυμητό προϊόν απομονώθηκε και λήφθηκε με τη μορφή λευκού στερεού σε απόδοση 12%.

### **6.3 Σύγκριση αντιδράσεων που πραγματοποιήθηκαν με συμβατή θέρμανση και σε microwave**

Οι αντιδράσεις που πραγματοποιήθηκαν με συμβατή θέρμανση εμφάνιζαν περισσότερα παραπροϊόντα σε σχέση με αυτές που έγιναν στη συσκευή microwave. Αυτό συμβαίνει διότι με την κατάλληλη θερμοκρασία και τα κατάλληλα Watt στα μικροκύματα μόνο ένα από τα πιθανά ισομερή λαμβάνεται σε καλύτερη απόδοση από τα αντίστοιχα που θα παράγονταν με συμβατή θέρμανση, επομένως ο καθαρισμός που ακολουθεί θα είναι και πιο εύκολος. <sup>[1]</sup>

Είναι εμφανές πως ο τρόπος θέρμανσης ο οποίος χρησιμοποιείται για την εκτέλεση μιας αντίδρασης, επηρεάζει σημαντικά την ταχύτητα και την απόδοση αυτής. Φυσικά ανάλογα με το υπόστρωμα και τους καταλύτες επιλέχθηκε αν το κάθε μίγμα θα τοποθετηθεί στη συσκευή μικροκυμάτων ή αν θα θερμανθεί με συμβατή θέρμανση.

### **6.4 Τριαζολοπαράγωγα πουρίνης**

Φυσιολογικά, τα φθορίζοντα νουκλεοσιδικά ανάλογα πουρίνης έχουν αναγνωριστεί ως πολύτιμοι ανιχνευτές φθορισμού για το DNA και το RNA. Αυτό άνοιξε έναν δρόμο για την ανάπτυξη διαφόρων αναλόγων αδενοσίνης και γουανοσίνης που φέρουν τριαζόλια στη θέση C2 και C6. Τα τριαζολοπαράγωγα είναι ευαίσθητα στο φως αλλά μπορούν να διατηρηθούν στους -20°C. Τα αζίδια στη θέση 6 είναι σε ισορροπία μεταξύ της αζιδοπουρίνης και της τετραζολοπουρίνης. Μόνο το διαζίδιο παρατηρείται σε διάλυμα χλωροφορμίου. Επίσης, οι αλκυλο-αλυσίδες και οι τριτοταγείς αμίνες δεν επηρεάζουν σημαντικά τις ιδιότητες του φθορισμού. Έχουν αναφερθεί ενώσεις 2,6-διαζιδοπουρινών με μια αλκυλοομάδα στη θέση N<sup>9</sup> με χαμηλή κυτταροτοξικότητα σε πολλές κυτταρικές σειρές. Συγκεκριμένα, οι αλυσίδες αλκυλίου στη N<sup>9</sup> επιλέχθηκαν διότι πρώτον βοηθούν στην διαλυτοποίηση των ενώσεων- στόχων και δεύτερον ωθούν την δημιουργία του συνδυασμού 'μεμβράνης-υποστρώματος' που βοηθά στην διαπερατότητα των κυτταρικών μεμβρανών και στην επαρκή διαλυτότητα στα υδατικά μέσα.<sup>[30]</sup>

Σε άλλη μελέτη έχει αποδειχθεί ότι η εισαγωγή ενός 1,2,3-τριαζολο-τμήματος στη θέση 5 της m<sup>7</sup>GMP έδωσε σημαντικά βιολογικά αποτελέσματα σε ανθρώπινα cNIIIB κύτταρα προκαλώντας αναστολή και εμφανίζοντας εκλεκτικότητα. Επομένως, αναστολείς της cNIIIB από υποστρώματα που έχουν ένα ενζυμικά σταθερό – μη υδρολύσιμο τμήμα αποτελούν μία πιο απλή χημική προσέγγιση. <sup>[40]</sup>

Η παρασκευή αλκυλοαζιδίων είναι σχετικά απλή και μπορεί να επιτευχθεί με απλή υποκατάσταση χρησιμοποιώντας ιόν αζιδίου και διάφορα ηλεκτρόφιλα. Τα αρωματικά αζίδια μπορούν να προκύψουν από αμίνες, <sup>[39]</sup> αλλά στην συγκεκριμένη μελέτη προέκυψαν από αντικατάσταση του χλωρίου στη θέση C6. Τα 1,2,3 τριαζόλια αποτελούν καλές ομάδες αποχώρησης στην μελέτη της πουρίνης. <sup>[41]</sup> Επομένως, η ανάγκη για την σύνθεση και την αξιολόγηση νέων τριαζολοπαραγώγων είναι αναγκαία και σημαντική.

## Κατάλογος επεξήγησης εικόνων, σχημάτων, πινάκων

Εικόνα 1: Υδρόφοβοι δεσμοί αμινοξέων μεταξύ κυκλοπεντυλίου της ένωσης (30) και της κινάσης FLT3.....	20
Εικόνα 2: Παράδειγμα χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας.....	29
Εικόνα 3: Χρωματογραφία στήλης .....	30
Σχήμα 1: Δομή πουρινών .....	9
Σχήμα 2: Τροποποιημένες αδενίνες και γουανίνες .....	9
Σχήμα 3: Σύνθεση πουρίνης κατά Fischer .....	10
Σχήμα 4: Τροποποιημένες πουρίνες που συμμετέχουν σε βιολογικές διεργασίες .....	10
Σχήμα 5: Δομή αδενοσίνης .....	12
Σχήμα 6: Δομή N-μεθυλιωμένες πουρίνες .....	15
Σχήμα 7: Δομή N-αλκυλιωμένες πουρίνες .....	16
Σχήμα 8: Δομή C- αμινωμένες και C- αλκυλιωμένες πουρίνες .....	17
Σχήμα 9: Αντίδραση της 6-χλωρο-2-ιωδο-9-ισοπυροπυλο-(9H) –πουρίνης .....	18
Σχήμα 10: Δομή της N <sup>2</sup> - (4-αμινο-κυκλοεξυλ) -9-κυκλοπεντυλο- N <sup>6</sup> - (4-μορφολιν-4-υλμεθυλ-φαινυλ) - 9H - πουρίνη-2,6-διαμίνη .....	19
Σχήμα 11: Δομή αλογονωμένων ενώσεων με βιολογικό ενδιαφέρον .....	20
Σχήμα 12: Δομή 2-χλωρο-2'-δεοξαδενοσίνης .....	21
Σχήμα 13: Δομή συνθετικών 1,2,3- τριάζολο παραγώγων με βιολογικές δράσεις .....	21
Σχήμα 14: 1,3 διπολική κυκλοπροσθήκη .....	22
Σχήμα 15: Αντίδραση Huisgen και αντίδραση CuAAC .....	23
Σχήμα 16: Μηχανισμός αντίδρασης CuAAC .....	24
Σχήμα 17: Αποσταθεροποίηση κυκλοοκτυνίου .....	25
Σχήμα 18: Διαφορά μεταξύ των αντιδράσεων SPAAC και CuAAC .....	25
Πίνακας 1: Τιμές IC <sub>50</sub> έναντι CDK1-Cyclin B για μέλη των 2-αιθυλυπουρινών .....	18
Πίνακας 2: Αντίδραση διαζιδομεταφοράς σε διάφορες συνθήκες και αντιδραστήρια .....	27
Πίνακας 3: Σειρά πολικότητας διαλυτών .....	31
Πίνακας 4: Αποτελέσματα της σύνθεσης της 2-αμινο-9-βενζυλο-6-χλωροπουρίνης .....	34
Πίνακας 5: Αποτελέσματα της σύνθεσης της 2-ιωδο-6-χλωρο-9-βενζυλοπουρίνης .....	35
Πίνακας 6: Αποτελέσματα της σύνθεσης της 2-ιωδο-6-αζιδο-9-βενζυλοπουρίνης .....	36
Πίνακας 7: Αποτελέσματα της σύνθεσης της 9-βενζυλο-2-ιωδο-6-(1H-1,2,3-τριάζολ-1-υλο-4-φαινυλο)-9H- πουρίνης .....	37
Πίνακας 8: Αποτελέσματα σύνθεσης της 9-βενζυλο-2-ιωδο-6-(4-(πυριδιν-2-υλο)-1H-1,2,3-τριάζολ-1-υλο-4-φαινυλο)-9H-πουρίνης .....	38
Πίνακας 9: Αποτελέσματα σύνθεσης της 9-βενζυλο-2-ιωδο-6-(1H-1,2,3-τριάζολ-4-υδροξυμεθυλ-1-υλο-)-9H-πουρίνης .....	39

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) Conejo-Garcia, A., et al. "Synthesis of Purine Derivatives as Scaffolds for a Diversity of Biological Activities." *Current Organic Chemistry*, vol. 14, no. 20, **2010**.
- 2) Littlefield, J. W., and D. B. Dunn. "Natural Occurrence of Thymine and Three Methylated Adenine Bases in Several Ribonucleic Acids." *Nature*, vol. 181, no. 4604, **1958**.
- 3) Rosemeyer, Helmut. "The Chemodiversity of Purine as a Constituent of Natural Products." *Wiley Online Library*, John Wiley & Sons, Ltd, 25 Mar. **2004**.
- 4) Rajendran, Megha, et al. "Imaging Adenosine Triphosphate (ATP)." *The Biological Bulletin*, U.S. National Library of Medicine, Aug. **2016**.
- 5) Steer, Michael L. "Cyclic AMP." *Annals of Surgery*, vol. 184, no. 1, **1976**, pp. 107–115.
- 6) Visser, J., et al. "The Role of NAD<sup>+</sup> in the Catalytic Mechanism of Lipoamide Dehydrogenase." *SpringerLink*, Springer, Berlin, Heidelberg, **1970**.
- 7) Lodish, Harvey. "Electron Transport and Oxidative Phosphorylation." *Molecular Cell Biology. 4th Edition.*, U.S. National Library of Medicine, 1 Jan. **1970**.
- 8) J.T.Wiskich. "Control of the Krebs Cycle." *Metabolism and Respiration*, by D.D ed. DAVIES, Academic Press, **1980**, pp. 243–278.
- 9) Okamura, Takashi, et al. "1,2,4-Triazolo[5,1-i]Purine Derivatives as Highly Potent and Selective Human Adenosine A<sub>3</sub>Receptor Ligands." *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 45, no. 17, **2002**, pp. 3703–3708.
- 10) Roy, Kunal, et al. "QSAR of Adenosine Receptor Antagonists. Part 3: Exploring Physicochemical Requirements for Selective Binding of 1,2,4-Triazolo[5,1- i ]Purine Derivatives with Human Adenosine A<sub>3</sub> Receptor Subtype." *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, vol. 14, no. 14, **2004**, pp. 3705–3709.
- 11) S. Review, "Green Coffee Extract Improves Human Health : a," vol. 5, no. 12, pp. 295–321, **2016**.
- 12) Müller, Christa E., et al. "Synthesis of Paraxanthine and Isoparaxanthine Analogs (1,7- and 1,9-Substituted Xanthine Derivatives)." *Synthesis*, vol. 1998, no. 10, **1998**, pp. 1428–1436.
- 13) Weinberger, Miles. "Theophylline in Asthma: NEJM." *New England Journal of Medicine*, **1996**.
- 14) Brunetto María del Rosario, et al. "Determination of Theobromine, Theophylline and Caffeine in Cocoa Samples by a High-Performance Liquid Chromatographic Method with on-Line Sample Cleanup in a Switching-Column System." *Food Chemistry*, Elsevier, 28 Nov. **2005**.
- 15) Kucukdumlu, Asligul, et al. "Design, Synthesis and In Vitro Cytotoxic Activity of New 6,9-Disubstituted Purine Analogues." *Acta Chimica Slovenica*, vol. 67, no. 1, **2020**, pp. 70–82.
- 16) Morelli, Micaela, et al. "Pathophysiological Roles for Purines." *Progress in Brain Research Recent Advances in Parkinson's Disease: Basic Research*, **2010**, pp. 183–208.
- 17) Steklov, Mikhail Yu., et al. "Facile Synthesis of 8-Azido-6-Benzylaminopurine." *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, vol. 30, no. 7-8, **2011**, pp. 503–511, 2011.
- 18) Amasino, Richard. "1955: Kinetin Arrives. The 50th Anniversary of a New Plant Hormone." *Plant Physiology*, American Society of Plant Biologists, 1 July **2005**.
- 19) Letham, David Stuart. "Cytokinins from Zea Mays." *Phytochemistry*, Pergamon, 4 June **2001**.
- 20) Davies, J.P.. (**1995**). *Plant Hormones - Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. 2nd Edition, Academic Publisher, The Netherlands.
- 21) Laloue, Michel, et al. "Cytokinins: Metabolism and Biological Activity of N<sub>6</sub>-( $\Delta^2$ -Isopentenyl)Adenosine and N<sub>6</sub>-( $\Delta^2$ -Isopentenyl)Adenine in Tobacco Cells and Callus." *Plant Physiology*, vol. 59, no. 3, **1977**, pp. 478–483.
- 22) Legraverend, Michel, et al. "Cyclin-Dependent Kinase Inhibition by New C-2 Alkynylated Purine Derivatives and Molecular Structure of a CDK2–Inhibitor Complex." *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 43, no. 7, **2000**, pp. 1282–1292.



- 23) Leonhardt, Klaus, et al. "6-Methylpurine, 6-Methyl-9- $\beta$ -D-Ribofuranosylpurine, and 6-Hydroxymethyl-9- $\beta$ -D-Ribofuranosylpurine as Antiviral Metabolites of *Collybia Maculata* (Basidiomycetes)." *Zeitschrift Für Naturforschung C*, vol. 42, no. 4, **1987**, pp. 420–424
- 24) Taylor, E. C.; Martin, S. F. A General Method for Alkylation and Alkenylation of Heterocycles. *J. Amer. Chem. Soc.*, **1974**, 96, 8095-8102.
- 25) Sonogashira, K.; Tohda, Y.; Hagihara, N. A convenient synthesis of acetylenes: Catalytic substitutions of acetylenic hydrogen with bromoalkenes, iodoarenes, and bromopyridines. *Tetrahedron Lett.* **1975**, 4467-4470
- 26) Řezníčková, Eva, et al. "Activity of 2,6,9-Trisubstituted Purines as Potent PDGFR $\alpha$  Kinase Inhibitors with Antileukaemic Activity." *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2019**, vol. 182, 2019, p. 111663.
- 27) Vladimír Kryštof Tomáš Gucký. "Discovery of N2-(4-Amino-Cyclohexyl)-9-Cyclopentyl-N6-(4-Morpholin-4-ylmethyl-Phenyl)-9H-Purine-2,6-Diamine as a Potent FLT3 Kinase Inhibitor for Acute Myeloid Leukemia with FLT3 Mutations." *Journal of Medicinal Chemistry*, **2018**.
- 28) Mathé, Christophe, et al. "Synthesis and Biological Evaluation of  $\beta$ -D-Pentofuranonucleoside Derivatives of 2-Azidoadenine and 6-Azidopurines." *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, vol. 22, no. 5-8, **2003**, pp. 605–609.
- 29) Lakshman, Mahesh K., et al. "Synthesis and Biological Properties of C-2 Triazolylinosine Derivatives." *The Journal of Organic Chemistry*, vol. 77, no. 14, **2012**, pp. 5870–5883.
- 30) Šišuljins, Andrejs, et al. "Synthesis and Fluorescent Properties of N(9)-Alkylated 2-Amino-6-Triazolympurines and 7-Deazapurines." *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, vol. 15, **2019**, pp. 474–489.
- 31) Nyffeler, Paul T., et al. "The Chemistry of Amine–Azide Interconversion: Catalytic Diazotransfer and Regioselective Azide Reduction." *Journal of the American Chemical Society*, vol. 124, no. 36, **2002**, pp. 10773–10778.
- 32) Bistović, Andrea, et al. "Small Molecule Purine and Pseudopurine Derivatives: Synthesis, Cytostatic Evaluations and Investigation of Growth Inhibitory Effect in Non-Small Cell Lung Cancer A549." *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, vol. 33, no. 1, **2017**, pp. 271–285.
- 33) Li, Wenjun, et al. "Direct Access to Triazole-Olefins through Catalytic Cycloaddition of Azides to Unsaturated Aldehydes." *Chemical Communications*, vol. 49, no. 86, **2013**, p. 10187
- 34) Liang, Liyuan, and Didier Astruc. "The Copper(I)-Catalyzed Alkyne-Azide Cycloaddition (CuAAC) 'Click' Reaction and Its Applications. An Overview." *Coordination Chemistry Reviews*, Elsevier, 6 July **2011**
- 35) Zayas, Jessica, et al. "Strain Promoted Click Chemistry of 2- or 8-Azidopurine and 5-Azidopyrimidine Nucleosides and 8-Azidoadenosine Triphosphate with Cyclooctynes. Application to Living Cell Fluorescent Imaging." *Bioconjugate Chemistry*, vol. 26, no. 8, **2015**, pp. 1519–1532.
- 36) Nicholas, J. "A Strain-Promoted [3 + 2] Azide-Alkyne Cycloaddition for Covalent Modification of Biomolecules in Living Systems." **2004**
- 37) Williams, D. B. G., Lawton, M., "Drying of Organic Solvents: Quantitative Evaluation of the Efficiency of Several Desiccants", *The Journal of Organic Chemistry* **2010**, vol. 75, 8351.
- 38) Kovaļovs, Armands, et al. "1,2,3-Triazoles as Leaving Groups in Purine Chemistry: a Three-Step Synthesis of N6-Substituted-2-Triazolyl-Adenine Nucleosides and Photophysical Properties Thereof." *Tetrahedron Letters*, vol. 54, no. 8, **2013**, pp. 850–853.
- 39) Barral Karine, et al. "Efficient Conversion of Aromatic Amines into Azides: A One-Pot Synthesis of Triazole Linkages" *Organic Letters*, vol. 9, no.9, **2007**, pp.1809-1811.
- 40) Kozarski, Mateusz, et al. "7-Methylguanosine Monophosphate Analogues with 5'-(1,2,3-Triazolyl) Moiety: Synthesis and Evaluation as the Inhibitors of CNIIB Nucleotidase." *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Pergamon, 22 Nov. **2017**.

- 41) Kovaļovs, Armands, et al. "1,2,3-Triazoles as Leaving Groups in Purine Chemistry: a Three-Step Synthesis of N6-Substituted-2-Triazolyl-Adenine Nucleosides and Photophysical Properties Thereof." *Tetrahedron Letters*, vol. 54, no. 8, **2013**, pp. 850–853.
- 42) Taddei, D.; Kilian, P.; Slawin, A.M.Z.; Woollins, J.D. Synthesis and full characterisation of 6-chloro-2-iodopurine, a template for the functionalisation of purines. *Org. Biomol. Chem.*, **2004**, 2, 665-670.