

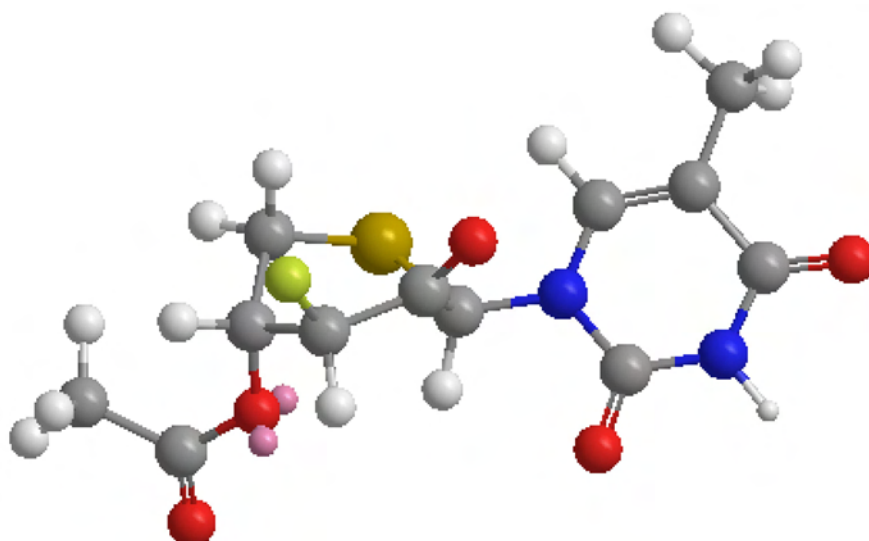
**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΣΥΝΘΕΣΗ ΜΙΑΣ ΝΕΑΣ ΤΑΞΗΣ ΦΘΟΡΟ-ΘΕΙΟ-ΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΩΝ
ΜΕ ΠΙΘΑΝΗ ΑΝΤΙΙΚΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ Β. ΤΣΟΥΚΑΛΑ

ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ – ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ



ΛΑΡΙΣΑ 2010

**ΣΥΝΘΕΣΗ ΜΙΑΣ ΝΕΑΣ ΤΑΞΗΣ ΦΘΟΡΟ-ΘΕΙΟ-ΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΩΝ
ΜΕ ΠΙΘΑΝΗ ΑΝΤΙΙΚΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ**

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Δ. ΚΟΜΙΩΤΗΣ (ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ)

Αναπληρωτής Καθηγητής Οργανικής Χημείας με έμφαση στη σύνθεση βιοδραστικών μορίων, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Γ. ΚΟΚΟΤΟΣ

Καθηγητής Οργανικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Β. ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ-ΚΟΚΟΤΟΥ

Καθηγήτρια Οργανικής Χημείας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Δ. ΚΟΜΙΩΤΗΣ (ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ)

Αναπληρωτής Καθηγητής Οργανικής Χημείας με έμφαση στη σύνθεση βιοδραστικών μορίων
Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Γ. ΚΟΚΟΤΟΣ

Καθηγητής Οργανικής Χημείας
Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Β. ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ-ΚΟΚΟΤΟΥ

Καθηγήτρια Οργανικής Χημείας
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ο. ΜΑΡΚΟΠΟΥΛΟΥ-ΙΓΓΛΕΣΗ

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

Ι. ΓΑΛΛΟΣ

Καθηγητής Οργανικής Χημείας
Τμήμα Χημείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Κ. ΛΙΤΙΝΑΣ

Αναπληρωτής Καθηγητής Οργανικής Χημείας
Τμήμα Χημείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Α. ΤΣΟΤΙΝΗΣ

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

Ευαγγελία Β. Τσουκαλά

**ΣΥΝΘΕΣΗ ΜΙΑΣ ΝΕΑΣ ΤΑΞΗΣ ΦΘΟΡΟ-ΘΕΙΟ-ΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΩΝ
ΜΕ ΠΙΘΑΝΗ ΑΝΤΙΪΚΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ**

I have little patience with scientists,
who take a board of wood,
look for its thinnest part
and drill a great number of holes,
where drilling is easy.

[Albert Einstein]

*Στους γονείς μου,
Βασίλη και Μαρία,
και την αδελφή μου,
Μαρίνα*

Ευαγγελία Β. Τσουκαλά

ΛΑΡΙΣΑ 2010

**ΣΥΝΘΕΣΗ ΜΙΑΣ ΝΕΑΣ ΤΑΞΗΣ ΦΘΟΡΟ-ΘΕΙΟ-ΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΩΝ
ΜΕ ΠΙΘΑΝΗ ΑΝΤΙΙΚΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ**

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

***Αριθμός προκαταρτικών σελίδων: 14
Συνολικός αριθμός σελίδων: 210
Συνολικός αριθμός σχημάτων: 101
Συνολικός αριθμός πινάκων: 16
Συνολικός αριθμός εικόνων: 2
Συνολικός αριθμός βιβλιογραφικών παραπομπών: 131***

Περίληψη

Τα τελευταία χρόνια, ένας μεγάλος αριθμός ερευνών έχει προσανατολιστεί στην ανάπτυξη φαρμάκων για την θεραπεία ιογενών λοιμώξεων και του καρκίνου, η συντριπτική πλειοψηφία των οποίων είναι ανάλογα φυσικών νουκλεοζιτών. Οι τροποποιημένοι νουκλεοζίτες διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην χημειοθεραπεία ιικών μολύνσεων καθώς και κάποιων μορφών καρκίνου. Το γεγονός ότι πολλά νουκλεοζιτικά ανάλογα διαθέτουν αξιοσημείωτη αντική και αντικαρκινική δράση, καθιστά σημαντική την διεξαγωγή ερευνών πάνω στις βιοδραστικούς αυτούς παράγοντες καθώς και τις βιολογικές τους ιδιότητες. Συνεπώς, με επιτακτική την ανάγκη για την εύρεση νέων χημειοθεραπευτικών παραγόντων και με βάση τις σημαντικές φαρμακευτικές ιδιότητες των τροποποιημένων νουκλεοζιτικών αναλόγων, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση νέων τάξεων φθοροθειονουκλεοζιτών, με τροποποιημένους πενταμελείς καθώς και εξαμελείς υδατανθρακικούς δακτυλίους.

Με βάση τις ιδιαίτερες χημικές ιδιότητες και την αυξημένη βιολογική δράση ενός φουρανο- ή πυρανονουκλεοζιτη, ως αποτέλεσμα τόσο της εισαγωγής του φθορίου στο σάκχαρο όσο και του θείου, εντός ή εκτός του δακτυλίου του σακχάρου, καθώς και τις ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες που παρουσιάζουν τα φθοριωμένα ακόρεστα κετοπυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα, στην παρούσα εργασία περιγράφηκε η σύνθεση νέων τάξεων φθοριωμένων θειονουκλεοζιτών.

Έτσι, αρχικά μελετήθηκε η σύνθεση μιας νέας τάξης νουκλεοζιτών, των φθορο-5'-θειοφουρανονουκλεοζιτών, οι οποίοι συνδυάζουν την παρουσία του φθορίου και του θείου, ως υποκαταστατών του σακχάρου. Στη συνέχεια περιγράφηκε η διαδικασία που ακολουθήθηκε για τη σύνθεση των φθοριωμένων 6'-θειοπυρανονουκλεοζιτών, στους οποίους, η παρουσία εξαμελούς δακτυλίου στη θέση του σακχάρου συνδυάζεται με τη δράση των ατόμων φθορίου και θείου, ενώ ακολούθησε η σύνθεση των ακόρεστων φθορο-6'-θειο-κετονουκλεοζιτών, στους οποίους η παρουσία του φθορίου, του θείου και του εξαμελούς δακτυλίου συνοδεύεται από την ταυτόχρονη παρουσία

ενός διπλού δεσμού και μιας κετονομάδας. Τέλος, ακολούθησε η σύνθεση δύο ακόμη νέων τάξεων φθοριωμένων θειονουκλεοζιτών, των φθοριωμένων 5'-θειοπυρανονουκλεοζιτών, οι οποίοι συνδυάζουν την εισαγωγή του θείου εντός του εξαμελούς δακτυλίου του σακχάρου με την ταυτόχρονη παρουσία του φθορίου, ως υποκαταστάτη, και των αντίστοιχων 5'-θειοκετοπυρανονουκλεοζιτών, στα μόρια των οποίων, το άτομο του φθορίου, ως υποκαταστάτη του εξαμελούς δακτυλίου, και το άτομο του θείου, εντός του δακτυλίου, συνυπάρχουν με μια κετονομάδα.

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή παρουσιάζονται και τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις βιολογικές μελέτες, οι οποίες πραγματοποιήθηκαν επί των νέων ενώσεων και αφορούσαν τις αντικές και αντικαρκινικές τους δράσεις.

Ευχαριστίες

Η ζωή είναι ένα συνεχές, άγνωστο ταξίδι για το οποίο κανείς δεν μπορεί να προβλέψει τη ρότα του, τις στάσεις και τους προορισμούς του. Θεωρώ ότι υπήρξα πολύ τυχερή, ως βιοχημικός και ως άνθρωπος, που στα πλαίσια του δικού μου ταξιδιού βρέθηκα να εργάζομαι στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Απ' αυτή τη θέση θα ήθελα να ευχαριστήσω τους ανθρώπους, οι οποίοι συνέβαλλαν ουσιαστικά, άμεσα ή έμμεσα, στην ολοκλήρωση της διατριβής μου.

Θα ήθελα να εκφράσω την βαθειά μου ευγνωμοσύνη στον κ. Δημήτριο Κομιώτη για την υπόδειξη του θέματος, για την αμέριστη υποστήριξή του, καθώς και για την πολύτιμη και εγκάρδια καθοδήγησή του κατά την εκπόνηση της διατριβής αυτής. Η εμπιστοσύνη που μου έδειξε, καθώς και το συνεχές ενδιαφέρον για την πρόοδό μου συνετέλεσαν στο να αποτελέσουν τα χρόνια αυτά μια πολύ σημαντική εμπειρία.

Εκφράζω ακόμα τις ευχαριστίες μου στα μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, τον καθηγητή κ. Γεώργιο Κόκοτο και την καθηγήτρια κ. Βιολέττα Κωνσταντίνου-Κόκοτου για την υποστήριξη της παρούσας διατριβής. Ευχαριστώ την καθηγήτρια κ. Μαρκοπούλου-Ιγγλέση, τον καθηγητή κ. Γάλλο, τον αναπληρωτή καθηγητή κ. Λίτινα και τον καθηγητή κ. Τσοτίνη, οι οποίοι δέχτηκαν να διαβάσουν και να κρίνουν την παρούσα διδακτορική διατριβή με τη συμμετοχή τους στην επιταμελή εξεταστική επιτροπή.

Ευχαριστώ θερμά την κ. Αγγελική Παναγιωτοπούλου, από το ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», καθώς και τον αναπληρωτή καθηγητή κ. Λίτινα για την λήψη των φασμάτων πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού και των φασμάτων μάζας που παρουσιάζονται στην παρούσα διατριβή.

Θερμότατα ευχαριστώ τον Δρ. Γ. Αγγελή, ο οποίος με εμπιστεύτηκε και με συνόδευσε στα πρώτα βήματα της διατριβής, με τις υποδείξεις και τις συμβουλές του.

Και πως θα ήταν άραγε οι μέρες (και οι νύχτες) μου στο εργαστήριο χωρίς την φιλία και την πολύπλευρη συμπαράσταση νεώτερων -πρώην και

νυν- "συνταξιδιωτών", Χ. Κυρίτση, Ε. Πατίστα, Α. Ρήγα, Ι. Ελευθεριάδου, Δ. Σημεωνίδη, αλλά και "γηραιότερων"-λεοντόκαρδων μεν, σοφών δε, συναδέλφων, .Στέλλας Μαντά και Νίκης Τζιουμάκη.

Ως πράξη φιλίας, θα ήθελα να ευχαριστήσω τις επιστήθιες φίλες μου, Κωνσταντίνα Τσουμάνη και Βάσω Αντωνάκη, για όλες εκείνες τις φορές που στάθηκαν δίπλα μου, και συνεχίζουν να το κάνουν. Φρόντιζαν τακτικά να αλλάζω παραστάσεις, ώστε να είμαι πιο δημιουργική. Γι' αυτό κι εγώ υπόσχομαι ότι θα τους εξηγήσω τι ακριβώς είναι οι νουκλεοζίτες που μελετούσα τόσον καιρό!

Το πιο μεγάλο ευχαριστώ απ' όλα δικαιωματικά το αφιερώνω στην οικογένεια μου, η οποία ήταν η «δύναμή» μου όλο αυτό το χρονικό διάστημα...

Το πιο βαθύ από καρδιάς αυτό ευχαριστώ οφείλω στους γονείς μου, Βασιλή και Μαρία, και την αδελφή μου, Μαρίνα, οι οποίοι στήριξαν και εμπύχωσαν την προσπάθειά μου με κάθε δυνατό τρόπο και άντεξαν τις 'ιδιαιτερότητές' μου αβίαστα όλο αυτό το διάστημα. Το λιγότερο που μπορώ να κάνω είναι να τους αφιερώσω τη διατριβή αυτή. Τέλος, ευχαριστώ το σύντροφο της ζωής μου, Αποστόλη, ο οποίος μου παρείχε την ανιδιοτελή και ανυπολόγιστη υποστήριξη του κατά τη διάρκεια της διατριβής.

Πρόλογος

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε κατά τα έτη 2006-2010 στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, υπό την επίβλεψη του Αναπληρωτή Καθηγητή Οργανικής Χημείας, κ. Δημήτριου Κομιώτη.

Γενικά στοιχεία, σκοπός και σημασία της μελέτης

Τα τελευταία χρόνια ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει αποκτήσει η χρήση φαρμάκων για την θεραπεία ιογενών λοιμώξεων και του καρκίνου, η συντριπτική πλειοψηφία των οποίων είναι ανάλογα φυσικών νουκλεοζιτών. Το γεγονός αυτό έδωσε ώθηση στην σύνθεση τροποποιημένων νουκλεοζιτών, οι οποίοι αναμένονταν να διαδραματίσουν καθοριστικό ρόλο στην χημειοθεραπεία. Οι κλινικές έρευνες πιστοποίησαν την υποψία αυτή και έτσι άνοιξαν νέοι ορίζοντες προς την κατεύθυνση της χρήσης τροποποιημένων νουκλεοζιτών για την καταπολέμηση ιικών μολύνσεων καθώς και κάποιων μορφών καρκίνου. Ο σκοπός της έρευνας ήταν η σύνθεση νέων τροποποιημένων νουκλεοζιτικών αναλόγων, ως πιθανοί βιολογικά δραστικοί παράγοντες. Περισσότερη έμφαση δόθηκε στην πιθανή αντιική και κυτταροτοξική δράση των νουκλεοζιτών, οι οποίες αντικατοπτρίζουν την σημαντικότητα της βιολογικής τους δραστηριότητας. Τα νέα αυτά νουκλεοζιτικά ανάλογα μπορούν να θεωρηθούν ελπιδοφόρα για την ανάπτυξη αντιικών φαρμάκων.

Επεξήγηση όρων

Νουκλεοζίτες: Είναι γλυκοζυλαμίνες που προέρχονται από την ανυδριτική ένωση μιας νουκλεοβάσης και μιας πεντόζης, με τη βοήθεια β -N-γλυκοζιδικού δεσμού.

Καρκίνος: Δεν ορίζεται ως μία και μόνη ασθένεια, αλλά ως μία ομάδα ασθενειών που χαρακτηρίζονται από τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των κυττάρων.

Ιοί: Είναι ατελείς μικροοργανισμοί που αποτελούνται από DNA ή RNA, πολλαπλασιάζονται εις βάρος των κυττάρων του ξενιστή τους, στα οποία

προκαλούν διάφορες λειτουργικές βλάβες ή πλήρη καταστροφή κι έτσι χαρακτηρίζονται ως ενδοκυττάρια παράσιτα.

Χημειοθεραπεία: Είναι η χρήση φαρμάκων (κυρίως αντιικών ή αντικαρκινικών) στα πλαίσια της αντιμετώπισης (θεραπείας) μιας ασθένειας.

Δημοσιεύσεις

Από την παρούσα διδακτορική διατριβή προέκυψαν οι εξής δημοσιεύσεις:

- **E. Tsoukala**, G. Agelis, J. Dolinšek, T. Botić, A. Cencič, D. Komiotis **2007**
An efficient synthesis of 3-fluoro-5-thio-xylofuranosyl nucleosides of thymine, uracil, and 5-fluorouracil as potential antitumor or/and antiviral agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 15: 3241-3247.

- **E. Tsoukala**, S. Manta, N. Tzioumaki, G. Agelis, D. Komiotis **2008** A concise synthesis of 3-fluoro-5-thio-xylo- and glucopyranoses, useful precursors towards their corresponding pyranonucleoside derivatives. *Carbohydrate Research* 343: 1099-1103.

- D. Komiotis, S. Manta, **E. Tsoukala**, N. Tzioumaki **2008** Antiviral Unsaturated Nucleosides. *Current Medicinal Chemistry: Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry* 7: 219-244.

- **E. Tsoukala**, N. Tzioumaki, S. Manta, A. Riga, J. Balzarini, D. Komiotis **2010**
Synthesis of 3-fluoro-6-S-(2-S-pyridyl) nucleosides as potential lead cytostatic agents. *Bioorganic Chemistry* 38 (6): 285-293.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη.....	vii
Ευχαριστίες.....	ix
Πρόλογος.....	xi
I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
Αντιικοί νουκλεοζίτες.....	2
Αντικαρκινικοί νουκλεοζίτες.....	5
Τρόπος δράσης των νουκλεοζιτών.....	7
Τροποποιημένοι νουκλεοζίτες.....	9
Φουρανονουκλεοζίτες.....	9
Φθορο-φουρανονουκλεοζίτες.....	10
Θειο-φουρανονουκλεοζίτες.....	11
Πυρανονουκλεοζίτες.....	15
Φθοριωμένοι πυρανονουκλεοζίτες.....	17
Φθοριωμένοι ακόρεστοι κετοπυρανονουκλεοζίτες.....	18
Στόχοι της παρούσης διατριβής.....	22
II. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ.....	25
ΦΘΟΡΟ-5΄-ΘΕΙΟΦΟΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ.....	25
3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2-δισ-Ο-ακετυλο-5-S-ακετυλο-5-θειο-D-ξυλοφουρανόζη (6).....	27
Σύνθεση νουκλεοζιτών.....	30
Σιλυλίωση των βάσεων.....	30
Μηχανισμός συμπύκνωσης.....	31
3΄-Δεοξυ-3΄-φθορο-5΄-S-ακετυλο-5΄-θειο-β-D-ξυλοφουρανονουκλεοζιτικά ανάλογα της θυμίνης, της ουρακίλης και της 5-φθοροουρακίλης.....	33
Αντιική και αντικαρκινική δράση των φθοριωμένων θειο-ξυλοφουρανο- νουκλεοζιτών της θυμίνης, της ουρακίλης και της 5-φθοροουρακίλης.....	36
ΦΘΟΡΟ-6΄-ΘΕΙΟ-ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ.....	41
2΄,4΄-Δισ-Ο-ακετυλο-6΄-S-ακετυλο-6΄-θειο-3΄-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονου- κλεοζιτικά ανάλογα πυριμιδινών και πουρινών.....	44
6΄-S-(2-S-πυριδινυλο)-6΄-θειο-3΄-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα της θυμίνης, της ουρακίλης, της 5-φθοροουρακίλης, της κυτοσίνης και της αδενίνης.....	52
Αντιική και αντικαρκινική δράση των φθοριωμένων 6΄-S-ακετυλο- και 6΄-S-(2- S-πυριδινυλο)-6΄-θειο-3΄-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων.....	65

ΑΚΟΡΕΣΤΟΙ ΦΘΟΡΟ-6΄-ΘΕΙΟ-ΚΕΤΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ.....	74
3΄,4΄-Διδεοξυ-6΄- <i>S</i> -(2- <i>S</i> -πυριδινυλο)- 6΄-θειο-2΄-κετοακόρεστα-3΄-φθορο-β- <i>D</i> -γλυκοπυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα της θυμίνης, της ουρακίλης και της 5-φθοροουρακίλης.....	78
ΦΘΟΡΟ-5΄-ΘΕΙΟΠΥΡΑΝΟΖΕΣ–ΦΘΟΡΟ-5΄-ΘΕΙΟΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ	87
1,2,4-Τρις- <i>O</i> -ακετυλο-3-φθορο-5-θειο- <i>D</i> -ξυλοπυρανόζη και 1-(2΄,4΄-δισ- <i>O</i> -ακετυλο-3΄-φθορο-5΄-θειο-β- <i>D</i> -ξυλοπυρανοζυλο)θυμίνη.....	89
1,2,4,6-Τετρακίς- <i>O</i> -ακετυλο-5-θειο-3-φθορο-α- <i>D</i> -γλυκοπυρανόζη και 1-(2΄,4΄,6΄-τρις- <i>O</i> -ακετυλο-5΄-θειο-3΄-φθορο-β- <i>D</i> -γλυκοπυρανοζυλο)θυμίνη.....	93
Αντιική και αντικαρκινική δράση των φθοριωμένων 5΄-θειο-ξυλο- και γλυκοπυρανονουκλεοζιτών της θυμίνης.....	97
ΦΘΟΡΟ-5΄-ΘΕΙΟ-ΚΕΤΟΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ.....	100
2΄- <i>O</i> -Ακετυλο-4΄-κετο-3΄-φθορο-5΄-θειο-β- <i>D</i> -ξυλοπυρανονουκλεοζιτικό ανάλογο της θυμίνης.....	105
4΄- <i>O</i> -Ακετυλο-2΄-κετο-3΄-φθορο-5΄-θειο-β- <i>D</i> -ξυλοπυρανονουκλεοζιτικό ανάλογο της θυμίνης.....	112
Μελέτη και σύγκριση φθορο-θειο-κετονουκλεοζιτών και φθορο-κετονουκλεοζιτών μέσω μοριακών γραφημάτων και υπολογιστικών μεθόδων...	119
III. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	121
IV. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ.....	200
V. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	202
ABSTRACT.....	211
ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ.....	213

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Ac	Acetyl	Ακετύλιο
Bz	Benzoyl	Βενζοϋλομάδα
Me	Methyl	Μεθύλιο
Ms	Mesyl	Μεθανοσουλφονυλομάδα
Pv	Pivaloyl	Τριμεθυλοακετυλομάδα
THP	Tetrahydropyranyl	Τετραϋδροπυράνιο
Tr	Trityl	Τριτύλιο
Ts	Tosyl	Τοζύλιο

I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

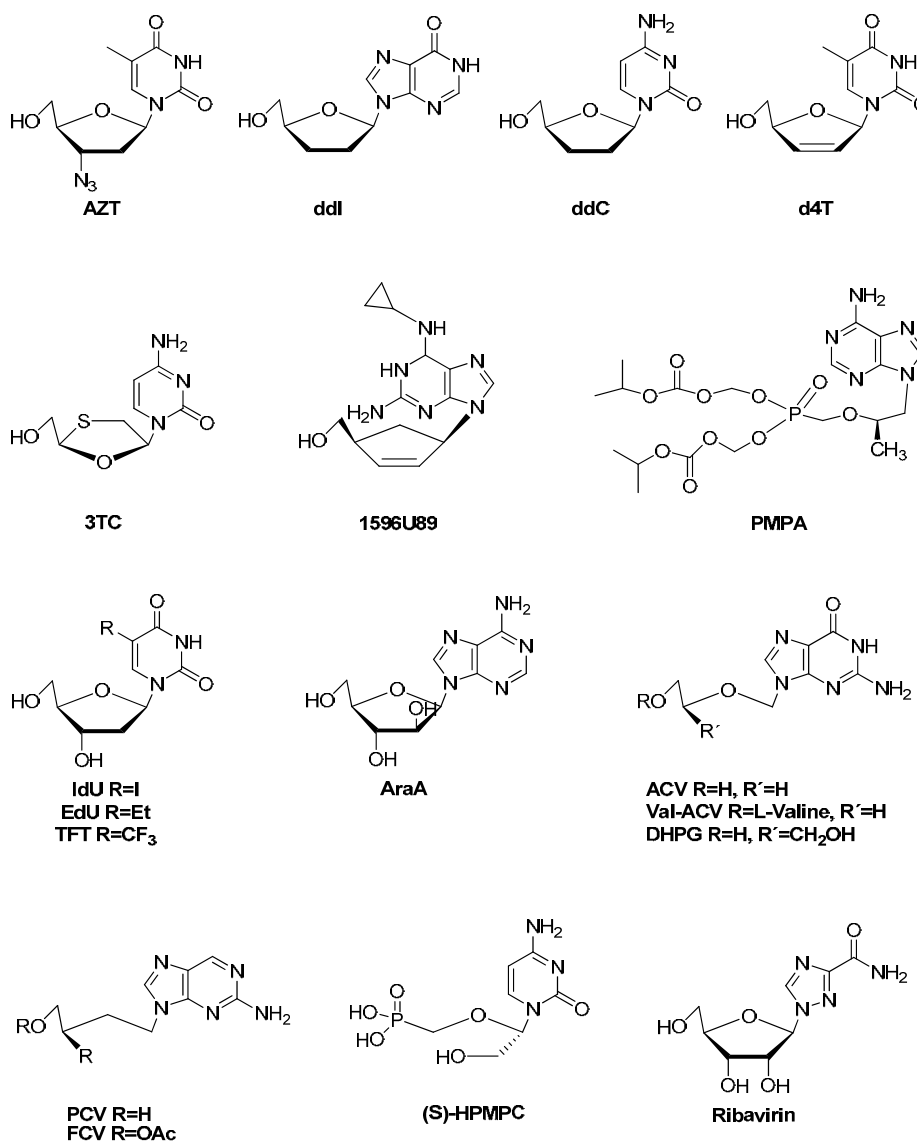
Νουκλεοζιτικά ανάλογα, μόρια τα οποία προκύπτουν από δομικές τροποποιήσεις των φυσικών νουκλεοζιτών που ανήκουν στη γενικότερη κατηγορία των β-N-γλυκοζιτών, έχουν διαδραματίσει καθοριστικό ρόλο στη θεραπεία των ιογενών λοιμώξεων και του καρκίνου. Η συντριπτική πλειοψηφία των εγκεκριμένων φαρμάκων, από την Διεύθυνση Ελέγχου Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (Food and Drug Administration, FDA), για τη θεραπεία των ιογενών λοιμώξεων είναι νουκλεοζιτικά ανάλογα, συμπεριλαμβανομένων των Zidovudine, Didanosine, Zalcitabine, Lamivudine και Acyclovir (Σχήμα 1). Επί του παρόντος, μία σειρά φαρμάκων, που βρίσκονται στο στάδιο των κλινικών δοκιμών, για την θεραπεία λοιμώξεων από τον ιό της ηπατίτιδας C (HCV), είναι νουκλεοζιτικά ανάλογα και εμπίπτουν στην κατηγορία των αναστολέων της πολυμεράσης. Όσον αφορά στη χημειοθεραπεία, οι νουκλεοζίτες ή ανάλογα νουκλεοβάσεων, ήταν οι πρώτοι που θεσπίστηκαν για τη θεραπεία του καρκίνου. Μερικά παραδείγματα εγκεκριμένων από την FDA αντικαρκινικών νουκλεοζιτών είναι η Cytarabine (λευχαιμία), η 5-φθοροουρακίλη (5-FU, καρκίνος δέρματος), και η Gemcitabine (dFdC, καρκίνος μαστού, παγκρέατος, πνευμόνων και ωθηκών). Μεγάλος αριθμός των νουκλεοζιτικών αναλόγων δρουν ως αντιμεταβολίτες, ανταγωνίζονται τους φυσικούς νουκλεοζίτες και αλληλεπιδρούν με έναν μεγάλο αριθμό των ενδοκυττάρων στόχων με σκοπό την πρόκληση κυτταροτοξικότητας. Πολλοί από αυτούς είναι αναστολείς ενζύμων και στοχεύουν την αντίστροφη μεταγραφάση και άλλες πολυμεράσες, κινάσες και υδρολάσες, και χρησιμοποιούνται έναντι πολυάριθμων και διαφορετικών βακτηριακών λοιμώξεων, όπως η ελονοσία και η φυματίωση. Άλλοι ενσωματώνονται κατά την αντιγραφή ή την επιδιόρθωση του DNA, οδηγώντας έτσι στον τερματισμό της διαδικασίας σύνθεσής του. Τέλος, έρευνες βρίσκονται σε εξέλιξη με σκοπό την ταυτοποίηση και τον χαρακτηρισμό των μορίων-μεταφορέων των νουκλεοζιτών και των ενζύμων που είναι υπεύθυνα για τον μεταβολισμό τους.

Αντιικοί νουκλεοζίτες

Κατά την τελευταία δεκαετία, η θεραπεία των ιικών μολύνσεων προοδεύει σημαντικά, λόγω των προσπαθειών των χημικών και των φαρμακολόγων, της ραγδαίας ανάπτυξης της μοριακής ιολογίας, καθώς και της συσσωρευμένης γνώσης επί λεπτομερειακών μηχανισμών δράσης των αντιικών ενώσεων (Kinchington 1999, Painsil and Cheng 2009, Field and Hodge 2008, Komiotis *et al.* 2008). Τελευταία, εμφανίζεται μία έκρηξη νέων και αναδυόμενων ιικών ασθενειών, όπως αυτές που προκαλούνται από νέα στελέχη του ιού της ηπατίτιδας και του απλού έρπητα, του ιού του Έμπολα και του δυτικού Νείλου, ιοί, οι οποίοι είναι ικανοί να προκαλέσουν πανδημία. Ωστόσο, αν και ο εμβολιασμός αποτελεί ένα πολύτιμο εργαλείο για την αντιμετώπιση των ιικών λοιμώξεων, η δυσκολία οργάνωσης συναφών προγραμμάτων εμβολιασμού καθιστά την αντιική χημειοθεραπεία μία πιο πρακτική προσέγγιση για την αντιμετώπιση επιδημικών ιογενών λοιμώξεων.

Μεταξύ των πιο επιτυχημένων αντιικών παραγόντων, τα νουκλεοζιτικά ανάλογα αποτελούν θεμελιώδη λίθο στη θεραπεία λοιμώξεων που προκαλούνται από τον ιό του απλού έρπητα (Herpes Simplex Virus), γνωστό από τα αρχικά του ξενόγλωσσου ονόματός του ως HSV και περιλαμβάνει τα υποείδη HSV₁ και HSV₂, τον ανθρώπινο κυτταρομεγαλοϊό (Human Cytomegalovirus) ή HCMV, τον ιό ερπηζωστήρα (varicella-zoster virus) ή VZV, τον ιό της ανθρώπινης ανοσοποιητικής ανεπάρκειας τύπου 1 (HIV₁) και τον ιό της ηπατίτιδας Β (HBV) και C (HCV). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός ότι έχει ανακαλυφθεί μεγάλος αριθμός βιοδραστικών νουκλεοζιτών, πολλοί από τους οποίους χρησιμοποιούνται κλινικά για τη θεραπεία των μολύνσεων από τους HIV₁, HSV, αναπνευστικό συγκυτιακό ιό (RSV), HBV και HCV, ως συναγωνιστικοί αναστολείς των ιικών πολυμερασών, είτε της αντίστροφης μεταγραφάσης (NRTIs) ή της DNA πολυμεράσης.

Ειδικότερα, μεταξύ των NRTIs, το Lamivudine [3TC, (-)-2',3'-διδεσοξυ-3'-θειακυτιδίνη] είναι το φάρμακο, το οποίο χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της μόλυνσης από τον ιό HBV και είναι ένα από αυτά που έχουν εγκριθεί από τον FDA, ενώ το Zidovudine [AZT, (Retrovir), 3'-αζιδο-3'-δεσοξυθυμιδίνη] αποτελεί φάρμακο, το οποίο χορηγείται για τη θεραπεία των μολύνσεων από τον ιό HIV₁ (Σχήμα 1).



Σχήμα 1

Ακόμη, νουκλεοζιτικοί αναστολείς που αποτελούν εν χρήσει αντιικά φάρμακα είναι οι Idoxuridine (IdU, 5-ιωδο-2'-δεσοξουριδίνη), Trifluridine (TFT, 2'-δεσοξυ-5-τριφθορομεθυλουριδίνη), acedurid (ασεδουρίδη, EdU), Vidarabine [Ara-A, 9-(1 β -D-αραβινοφουρανοζυλ)αδενίνη] κ.α., που χρησιμοποιούνται κατά των ερπητοϊών, τα φάρμακα Didanosine (ddl, 2',3'-διδεσοξυϊνোসίνη), Stavudine (d4T) κ.α. που χρησιμοποιούνται κατά του ιού του AIDS, καθώς και το φάρμακο Ribavirine [(Virazol), 1-(1 β -D-ριβοφουρανοζυλο)-1H-1,2,4-τριαζολο-3-καρβοξαμίδιο] που χρησιμοποιείται κατά των ιών της ηπατίτιδας, της γρίππης και του AIDS (Πίνακας 1, Σχήμα 1).

Πίνακας 1. Αντιικοί νουκλεοζίτες που χρησιμοποιούνται κλινικά

Γενική Ονομασία	Ακρώνυμο	Ιοί-Στόχοι	Μηχανισμός Δράσης
Αντι-HIV παράγοντες			
Zidovudine	AZT	HIV-1	Αναστολείς της αντίστροφης Μεταγραφάσης Τερματισμός αλυσίδας
Didanosine	ddI	HIV-1	
Zalcitabine	ddC	HIV-1	
Stavudine	d4T	HIV-1	
Lamivudine	3TC	HIV-1	
Abacavir	1596U89	HIV-1	
Tenofovir disoproxil	PMPA	HIV-1	
Αντι-HBV παράγοντες			
Lamivudine	3TC	HBV	Αναστολέας της αντίστροφης μεταγραφάσης/Τερματισμός αλυσίδας
Αντι-Ερπητικοί παράγοντες			
Idoxuridine	IdU	HSV-1/2	Αναστολείς DNA πολυμεράσης
Trifluridine	TFT	HSV-1/2	
Acedurid	EdU	HSV-1/2	
Vidarabine	AraA	HSV-1/2	
Acyclovir	ACV	HSV-1/2, VZV	Εκλεκτικός αναστολέας ιικής DNA πολυμεράσης
Valaciclovir	val-ACV	HSV-1/2, VZV	Προφάρμακο του acyclovir
Penciclovir	PCV	HSV-1/2, VZV	Εκλεκτικός αναστολέας ιικής DNA πολυμεράσης
Famciclovir	FCV	HSV-1/2, VZV	Προφάρμακο του PCV
Ganciclovir	DHPG	HCMV	Εκλεκτικοί αναστολείς ιικής DNA πολυμεράσης
Cidofovir	(S)-HPMPC	HCMV	
Virazole	Ribavirin	RSV,HCV	Αναστολέας ιικής RNA πολυμεράσης

Στην κατηγορία των συναγωνιστικών αναστολέων ανήκουν και ενώσεις που δεν είναι χημικώς νουκλεοζίτες και χαρακτηρίζονται ως συναγωνιστικοί μη νουκλεοζιτικοί αναστολείς. Πρόκειται κυρίως για παράγωγα της πουρίνης ή της πυριμιδίνης που, αν και δεν είναι γλυκοζίτες (δεν περιέχουν σάκχαρο),

παρουσιάζουν δομική αναλογία με τους νουκλεοζίτες, όπως είναι π.χ. το φάρμακο Acyclovir [(zovirax), ACV, 9-γουανινομεθοξυαιθανόλη], το προφάρμακο Valaciclovir [(valtrex), Val-ACV] που είναι ο εστέρας του acyclovir με την L-βαλίνη, Ganciclovir [(Cymever), 2-(9-Γουανινομεθοξυμεθυλο)-1,3-προπανοδιολη, DHPG], Famciclovir [FCV, διοξικός εστέρας της 2-[2-(2-αμινο-9-πουριν)αιθυλο]-1,3-προπανοδιόλης], penciclovir κ.α., τα οποία χρησιμοποιούνται κατά των ερπητοϊών. Ακόμη, νουκλεοζίτες, όπως οι και Cidofovir [(S)-HPMPC], (Gumina *et al.* 2001).

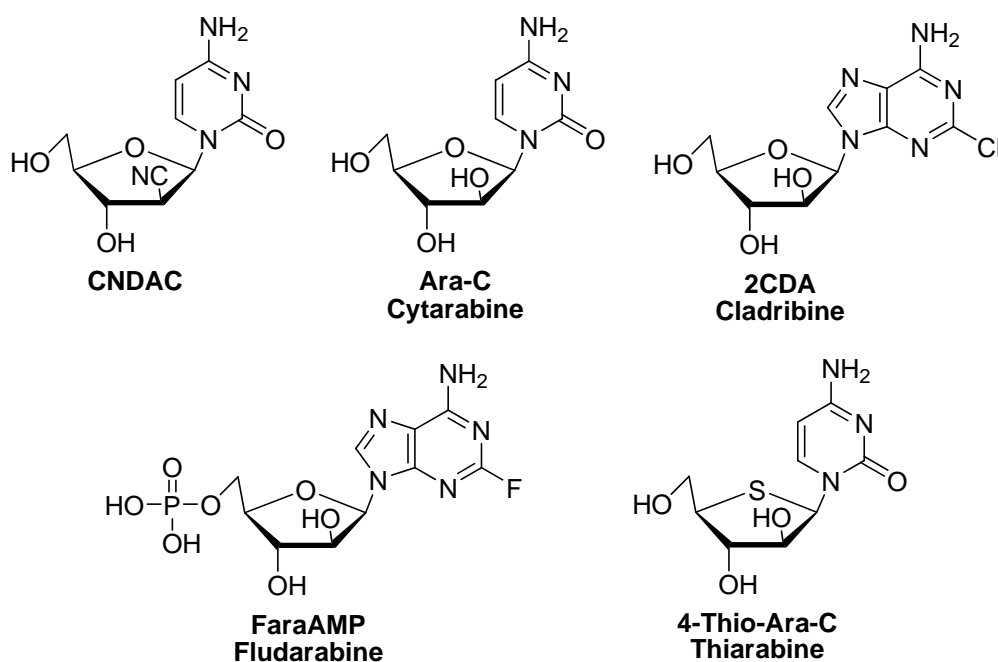
Παρά τα επιτεύγματα αυτά, είναι συνεχής η ανάγκη ανακάλυψης νέων νουκλεοζιτικών αναλόγων, προκειμένου να αντιμετωπιστούν προβλήματα, όπως η τοξικότητα, η μη μεταβολική σταθερότητα, και μεταξύ άλλων η εμφάνιση ανθεκτικών ιικών στελεχών και κατ' επέκταση νεοεμφανιζόμενων ιικών ασθενειών. Πολλές είναι οι μελέτες που έχουν δημοσιευθεί και αναφέρονται σε ιδιαίτερες τάξεις νουκλεοζιτών, σε θέματα που αφορούν τη χημεία τους, καθώς και στο φάσμα της αντιικής τους δράσης και των βιολογικών τους στόχων.

Αντικαρκινικοί νουκλεοζίτες

Αν και, η χημειοθεραπεία θεωρείται ως η πλέον κατάλληλη μέθοδος για τη θεραπεία των ιικών λοιμώξεων, στην περίπτωση αντιμετώπισης του καρκίνου συνιστάται ενίσχυση της αποτελεσματικότητάς της μέσω της εύρεσης νέων αντικαρκινικών ουσιών, οι οποίες διαθέτουν αυξημένη δραστηριότητα, μειωμένη τοξικότητα, βελτιωμένο θεραπευτικό δείκτη και το σημαντικότερο όλων, ευρύ φάσμα δράσης. Χαρακτηριστικό παράδειγμα νέων αντικαρκινικών ουσιών, οι οποίες έχουν μελετηθεί εντατικά, είναι οι νουκλεοζίτες και τα ανάλογά τους.

Τα νουκλεοζιτικά ανάλογα έχουν μελετηθεί ως δυνητικοί αντικαρκινικοί παράγοντες (Plunkett and Gandhi 2001, Elion 1989, Robins and Kini 1990), ενώ ένας μεγάλος αριθμός αναλόγων φυσικών νουκλεοζιτών χρησιμοποιείται για τη θεραπεία διαφόρων καρκίνων. Μελέτες έδειξαν ότι οι νουκλεοζίτες απαρτίζουν μια σημαντική κατηγορία αντικαρκινικών μέσων, τα οποία επηρεάζουν τη σύνθεση του DNA με διάφορους τρόπους. Για αυτό και δεν είναι τυχαίο το γεγονός ότι, νουκλεοζιτικά ανάλογα, όπως η Cytarabine

(Matsuda and Sasaki 2004) (Σχήμα 2), 1-(2'-C-κυανο-2'-δεοξυ-β-D-αραβινο-πεντοφουρανοζυλο)κυτοσίνη (CNDAC) (Matsuda *et al.* 1991b, Azuma *et al.* 1993, Tanaka *et al.* 1992, Azuma *et al.* 1995, Matsuda and Azuma 1995), Cladribine (2-χλωρο-2'-δεοξαδενοσίνη, 2CDA) και Fludarabine (5'-μονοφωσφορική 9-β-D-αραβινοφουρανοζυλο-2-φθοροαδενίνη, FaraAMP) (Matsuda and Sasaki 2004) (Σχήμα 2), έχουν μελετηθεί ως προς τις αντικαρκινικές τους ιδιότητες και είναι αποτελεσματικές ενώσεις όχι μόνο κατά της λευχαιμίας και των λεμφωμάτων, αλλά και κατά κακοήθων όγκων.



Σχήμα 2

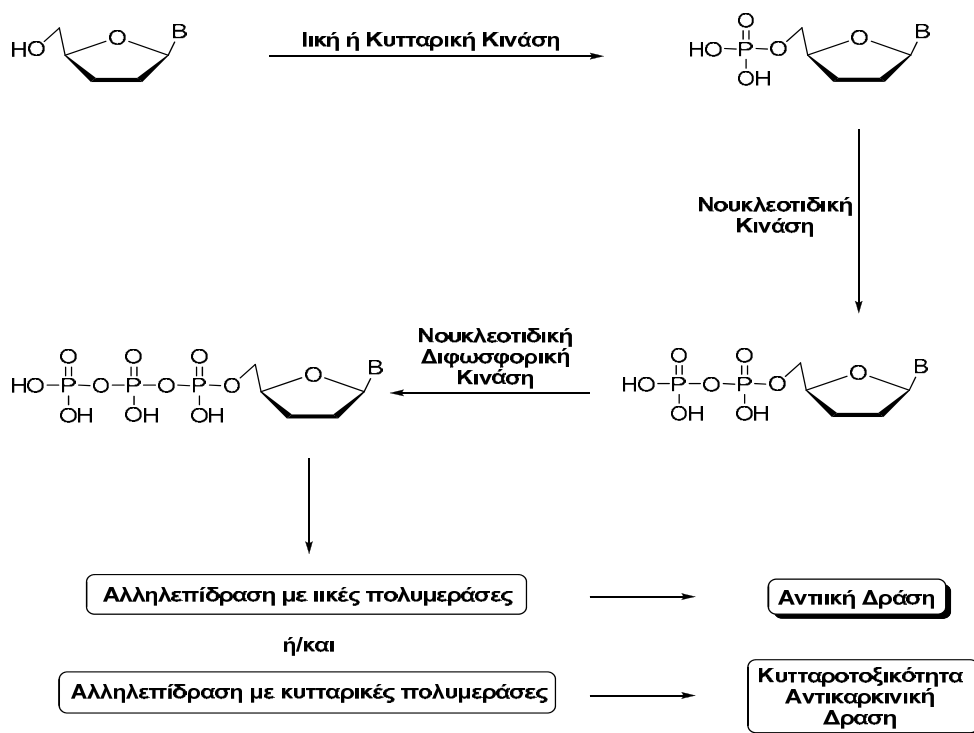
Ακόμη ένα νουκλεοζιτικό ανάλογο, που έχει εγκριθεί για την θεραπεία της αιματολογικής κακοήθειας, της οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας και πιθανόν και άλλων μορφών καρκίνου, όπως η οξεία μυελογενής λευχαιμία είναι το Clofarabine [2-χλωρο-(2'-δεοξυ-φθορο-β-D-αραβινοφουρανοζυλο)αδενίνη, Σχήμα 5] (Faderl *et al.* 2002, Parker *et al.* 2004, Faderl *et al.* 2005, Pui *et al.* 2005, Secrist 2005). Τέλος, η ένωση 1-(4'-θείο-β-D-αραβινοφουρανοζυλο)κυτοσίνη (Thiarabine, 4'-thio-araC) (Tiwari *et al.* 2000, Waud *et al.* 2003, Someya *et al.* 2003, Secrist 2005), μετά το πρώτο στάδιο μελετών, βρέθηκε ότι είναι δραστική έναντι κακοήθων όγκων,

συμπεριλαμβανομένων του παχέος εντέρου, των πνευμόνων, του παγκρέατος, του νεφρού, του προστάτη καθώς και του μαστού.

Τρόπος δράσης των νουκλεοζιτών

Γενικότερα, ο τρόπος δράσης των φαρμάκων έγκειται στην αλληλεπίδρασή τους με ένα μοριακό 'στόχο', ο οποίος μπορεί να είναι είτε κάποια πρωτεΐνη, όπως ένας υποδοχέας, ένας δίαυλος ιόντων, ένα ένζυμο, ένα μόριο μεταφοράς, είτε τα νουκλεϊκά οξέα. Το ίδιο ισχύει και στην περίπτωση των νουκλεοζιτικών αναλόγων που διαθέτουν αντιική ή/και αντικαρκινική δράση, τα οποία λόγω της δυνατότητας μεταφοράς τους εντός των κυττάρων με παθητική διάχυση είναι ικανά να χρησιμοποιηθούν για τη θεραπεία πολλών ασθενειών.

Τα ανάλογα των νουκλεοζιτών αποτελούν στην πραγματικότητα ανενεργά προφάρμακα, τα οποία ενδοκυτταρικά πρέπει να τροποποιηθούν ώστε να μπορέσουν να δράσουν. Η διαδικασία αυτή συνίσταται στη φωσφορυλίωσή τους από τις κυτταρικές ή ιικές κινάσες, που αποτελούν αρχικά το 'κλειδί' για την εκλεκτικότητά τους (Arner and Eriksson 1995). Αφού φωσφορυλιωθούν προς τις τριφωσφορικές τους δομές (NTPs) από κυτταρικά ή ιικά ένζυμα, και όντας ενεργά, εμποδίζουν είτε άμεσα είτε έμμεσα τον κυτταρικό ή ιικό διπλασιασμό, ή παρεμποδίζουν τον αναδιπλασιασμό του DNA. Ειδικότερα, οι νουκλεοζίτες μπορούν να αναστείλουν τη δράση βασικών ενζύμων στο μεταβολισμό των νουκλεϊκών οξέων ή/και μπορούν να ενσωματωθούν στα πρόσφατα συντεθειμένα νουκλεϊνικά οξέα προκαλώντας τον τερματισμό των διαδικασιών σύνθεσής τους ή την παραγωγή μη λειτουργικών βιομορίων.



Σχήμα 3

Θα πρέπει να αναφερθεί ότι η εκλεκτικότητα ανάμεσα στην αντιική και την κυτταροτοξική δράση των νουκλεοζιτών εξαρτάται από την εξειδίκευση του υποστρώματος των NTPs ως προς τις ιικές και κυτταρικές πολυμεράσες (Challand and Young 1997). Αντίθετα, η αποτελεσματικότητα των νουκλεοζιτικών αναλόγων έναντι των ιών εξαρτάται από την ενεργοποίηση της δράσης του φαρμάκου από το ιικό ένζυμο ή/και από το γεγονός ότι οι ιικές πολυμεράσες μπορεί να είναι πολύ πιο ευαίσθητες στη δράση του φαρμάκου από ότι τα αντίστοιχα ένζυμα του κυττάρου ξενιστή. Επιπλέον, το ιικό ένζυμο δεν διαθέτει κάποια εξειδίκευση στη σύνδεσή του με το υπάρχον υπόστρωμα, εν αντιθέσει με το ένζυμο του κυττάρου ξενιστή. Οπότε, το ιικό ένζυμο μπορεί να δρα και σε φάρμακα της τάξης των νουκλεοζιτικών αναλόγων (διαφορετικό υπόστρωμα) και να τα φωσφορυλιώνει, ενώ το ένζυμο του κυττάρου ξενιστή θα τα αφήνει ανεπηρέαστα, εφόσον δεν είναι εφικτή η σύνδεση ενζύμου-υποστρώματος. Ωστόσο, ένας μεγάλος αριθμός νουκλεοζιτών έχει ανακαλυφθεί, οι οποίοι ασκούν την αντιική τους δράση μέσω αναστολής και άλλων ενζύμων, όπως είναι η αφυδρογονάση της μονοφωσφορικής ινοσίνης (Margolis *et al.* 1999).

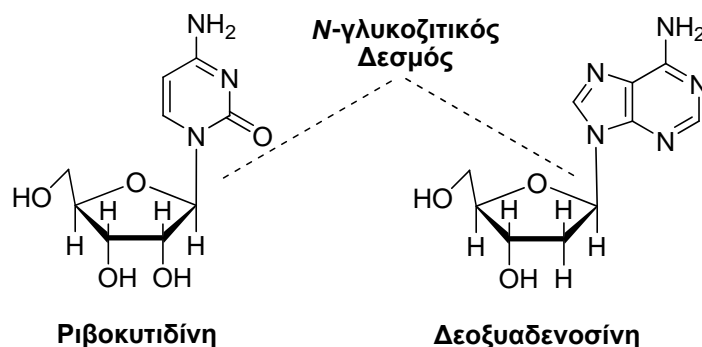
Τροποποιημένοι νουκλεοζίτες

Η τροποποίηση του τμήματος του σακχάρου στη δομή ενός νουκλεοζίτη έχει οδηγήσει στην παρασκευή αναλόγων νουκλεοζιτών με σημαντική αντιική και αντικαρκινική δράση. Αν και, η φωσφορυλίωση των συνθετικών αυτών νουκλεοζιτών αποτελεί κοινό σημείο στον τρόπο δράσης τους (Verheggen *et al.* 1995), οι τροποποιήσεις που πραγματοποιούνται στοχεύουν στην καλύτερη λειτουργία τους ως υποστρώματα των DNA πολυμερασών, όπως προκύπτει από μελέτες σχέσεων δομής-δράσης (Vastmans *et al.* 2000). Το γεγονός αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι ο κύριος παράγων για την αναγνώρισή τους από τις πολυμεράσες και την ενσωμάτωσή τους στην νεοσυντιθέμενη αλυσίδα είναι το τμήμα του σακχάρου.

Δύο από τις σημαντικότερες κατηγορίες τροποποιημένων νουκλεοζιτών, ως προς το τμήμα του σακχάρου, που έχουν μελετηθεί κυρίως για τη βιολογική τους δραστηριότητα, είναι οι φουρανο- και οι πυρανονουκλεοζίτες.

Φουρανονουκλεοζίτες

Οι έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα με στόχο τη δημιουργία φαρμάκων με αντιική και αντικαρκινική δράση, αφορούν κυρίως στη χρήση αναλόγων νουκλεοζιτών που έχουν ως σάκχαρο μία πεντόζη με β -απεικόνιση, γεγονός που επιβεβαιώνεται και από τις σχετικές δομές που παρατίθενται στα σχήματα 1 και 2. Έτσι, ένας μεγάλος αριθμός φουρανονουκλεοζιτών και παραγώγων τους έχουν συντεθεί λόγω του ενδιαφέροντος που παρουσιάζουν ως βιολογικά δραστικά μόρια. Η σπουδαιότητα των πεντοζών αναγνωρίστηκε από τη στιγμή που η ριβόζη και η δεοξυριβόζη ταυτοποιήθηκαν ως συστατικά των νουκλεϊνικών 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*-γλυκοζιτικού δεσμού (Saenger 1984, Blackburn and Gait 1996, Bloomfield *et al.* 1999)(Σχήμα 4).



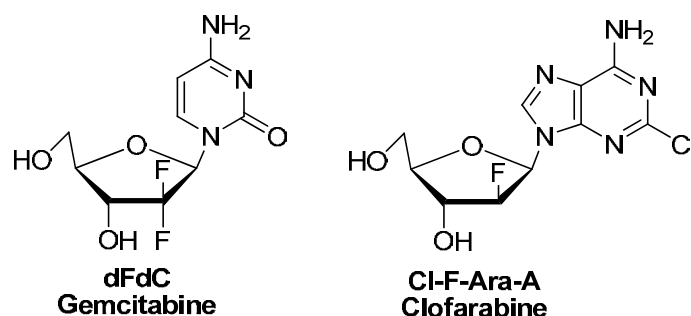
Σχήμα 4

Φθορο-φουρανονουκλεοζίτες

Την τελευταία δεκαετία έχει δοθεί ιδιαίτερο ενδιαφέρον σε μελέτες επί φθορονουκλεοζιτών, προκειμένου να βρεθούν νέα αντικαρκινικά, αντιικά, ή αντι-HIV φάρμακα με μεγαλύτερη εκλεκτικότητα και λιγότερες ανοσοκατασταλτικές παρενέργειες σε σχέση με τα έως τώρα χρησιμοποιούμενα σε κλινικό επίπεδο (Lee *et al.* 1999, Lee *et al.* 2002, Chong *et al.* 2002, Kumar *et al.* 2004, Clark *et al.* 2006). Η εισαγωγή ενός φθορίου είτε στο τμήμα του σακχάρου είτε στη νουκλεοβάση των φουρανονουκλεοζιτών, οδηγεί σε ενώσεις, οι οποίες διαθέτουν ένα ευρύ φάσμα αντιικών και αντικαρκινικών ιδιοτήτων (Herdewijn *et al.* 1989, Tsuchiya 1990, Ternansky *et al.* 1993, Pankiewicz 2000). Ειδικότερα, η παρουσία ενός φθορίου στο μόριο του σακχάρου των νουκλεοζιτών με πενταμελή υδατανθρακικό δακτύλιο, αποδείχθηκε ότι είναι μια αποτελεσματική μέθοδος αύξησης της δράσης τους (Van Aerschot 1989, Matthes *et al.* 1990, Daluge *et al.* 1994, Fuentes *et al.* 2002). Φαίνεται ότι η παρουσία του φθορίου αυξάνει το λιπόφιλο χαρακτήρα του μορίου διευκολύνοντας με αυτόν τον τρόπο τη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης (Morton *et al.* 1969, Blandin *et al.* 1974, Lipnick and Fissekis 1980, Van Aerschot *et al.* 1989). Η αντικατάσταση ενός υδρογόνου από ένα φθόριο σε ένα βιολογικά ενεργό μόριο δεν αναμένεται να προκαλέσει στερεοχημικές μεταβολές όσον αφορά στον τρόπο σύνδεσης του μορίου με υποδοχείς ή ένζυμα. Αντίθετα, η μεγάλη ισχύς του δεσμού C-F, σε σχέση με αυτή του δεσμού C-H, παρεμποδίζει το μεταβολισμό με αποτέλεσμα την αύξηση του χρόνου ημιζωής του μορίου. Επιπλέον, η ικανότητα έλξης ηλεκτρονίων από το φθόριο, δεδομένου ότι είναι το πιο

ηλεκτραρνητικό όλων των στοιχείων, μπορεί να έχει σημαντικές επιπτώσεις στη χημική δραστηριότητα.

Ορόσημο στη μελέτη των φθορονουκλεοζιτών αποτελεί η ανακάλυψη της 2'-δεοξυ-2',2'-διφθοροκυτιδίνης [gemcitabine (γεμισιταμπίνη), dFdC] (Plunkett *et al.* 1995) (Σχήμα 5), η οποία αποτελεί σημαντικό αντικαρκινικό παράγοντα έναντι μεγάλου φάσματος κακοήθων όγκων, όπως αυτού του παγκρέατος. Η γεμισιταμπίνη δρα αναστέλλοντας τη σύνθεση του DNA μέσω ανταγωνιστικής ενσωμάτωσης στη νεοσυντιθέμενη κάθε φορά αλυσίδα.



Σχήμα 5

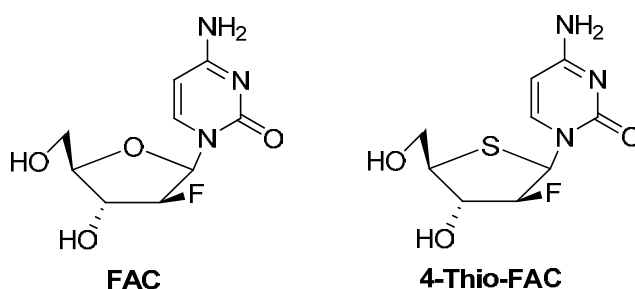
Επιπλέον, πρόσφατες έρευνες απέδειξαν τη σημαντικότητα ενός ακόμη φθορονουκλεοζίτη, της 2-χλωρο-(2'-δεοξυ-φθορο-β-D-αραβινοφουρανοζυλο)αδενίνης (clofarabine) (Σχήμα 5) (Faderl *et al.* 2002, Parker *et al.* 2004, Faderl *et al.* 2005, Pui *et al.* 2005, Secrist 2005), η οποία έχει χαρακτηριστεί ως νέας γενιάς νουκλεοζίτης έναντι της οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας.

Θειο-φουρανονουκλεοζίτες

Στο πεδίο έρευνας των νουκλεοζιτών, η χημεία του θείου εμφανίζεται σημαντική σε ό,τι αφορά την ανάπτυξη θεραπευτικών παραγόντων (Wnuk 1993, Yokoyama 2000, Chambert and Décout 2002, Décout and Wnuk 2004). Το μεγάλο ενδιαφέρον για τους θειονουκλεοζίτες, οι οποίοι περιλαμβάνουν ένα άτομο θείου είτε εντός του δακτυλίου του σακχάρου είτε ως υποκαταστάτη κάποιου άνθρακα του δακτυλίου, ξεκίνησε από την ανακάλυψη της 2'-δεοξυ-3'-θειοκυτιδίνης (Lamivudine, 3TC, Σχήμα 1), έναν από τους πιο ισχυρούς

αναστολείς των ιών HIV και HBV (Willson et al. 1995, Fernandez-Bolanos et al. 2001, Gumina et al. 2002). Η εισαγωγή ενός ατόμου θείου, τόσο στο δακτύλιο του σακχάρου ενός νουκλεοζίτη όσο και ως υποκαταστάτη μεταβάλλει σημαντικά τη διαμόρφωση του μορίου, τη χημική του δραστηριότητα, τον εντοπισμό του από πρωτεΐνες σε μοριακό επίπεδο, καθώς και τη μεταβολική σταθερότητα (Witczak 1999, Robina et al. 2001, Robina and Vogel 2002).

Όπως τα θειοσάκχαρα έτσι και οι θειονουκλεοζίτες, έχοντας το άτομο του θείου εντός ή εκτός του δακτυλίου, παρουσιάζουν ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες (Choo et al. 2003, Malsen et al. 2004, Gunaga et al. 2004), τόσο αντιικές όσο και αντινεοπλασματικές (Zhu et al. 2004, Jeong et al. 2003, Paquette and Dong 2005, Gunaga et al. 2004). Η αντικατάσταση του οξυγόνου από θείο έχει διαπιστωθεί ότι προσδίδει ιδιαίτερες χημικές ιδιότητες στο μόριο και αλλάζει τη βιολογική του δραστηριότητα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η 1-(2'-δεοξυ-2'-φθορο-β-D-αραβινοφουρανοζυλο)κυτοσίνη (FAC, σχήμα 6), της οποίας η δράση έναντι των καρκινικών κυττάρων αυξάνεται σημαντικά με την αντικατάσταση του ατόμου του οξυγόνου του δακτυλίου από ένα άτομο θείου, προκύπτοντας έτσι ένα νέο πιο δραστικό ανάλογο, η 1-(2'-δεοξυ-2'-φθορο-4'-θειο-β-D-αραβινοφουρανοζυλο)κυτοσίνη (4'-thio-FAC, Σχήμα 6) (Yoshimura et al. 1997, Miura et al. 1998).

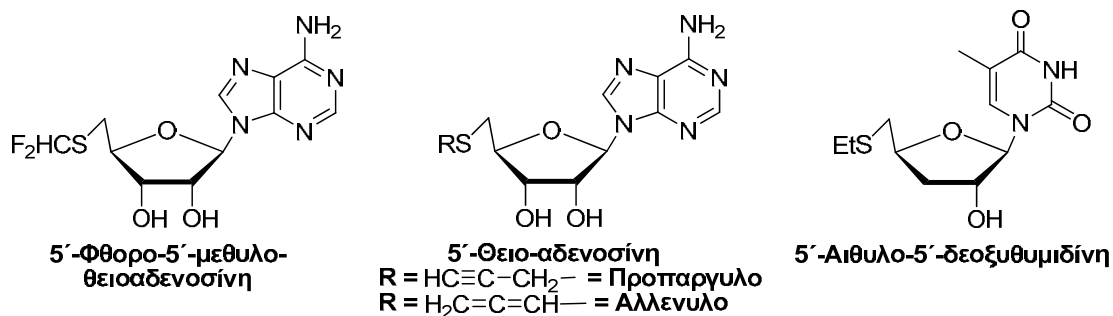


Σχήμα 6

Επιπλέον, νουκλεοζίτες, των οποίων το ελεύθερο πρωτοταγές υδροξύλιο έχει αντικατασταθεί από μία μερκαπτο- ή αλκυλοθειο-ομάδα, είναι συχνά ισχυροί αναστολείς της υδρολάσης της S-αδενοσυλ-L-ομοκυστεΐνης (AdoHcy) και παρουσιάζουν σημαντική αντιική δράση, διακόπτοντας

καθοριστικής σημασίας μεθυλιώσεις των ιικών μακρομορίων, οι οποίες είναι απαραίτητες για τον πολλαπλασιασμό των ιών. Ως εκ τούτου, η υδρολάση της AdoHcy έχει καταστεί ένα ελκυστικό μόριο-στόχος για το μοριακό σχεδιασμό αντιικών ενώσεων.

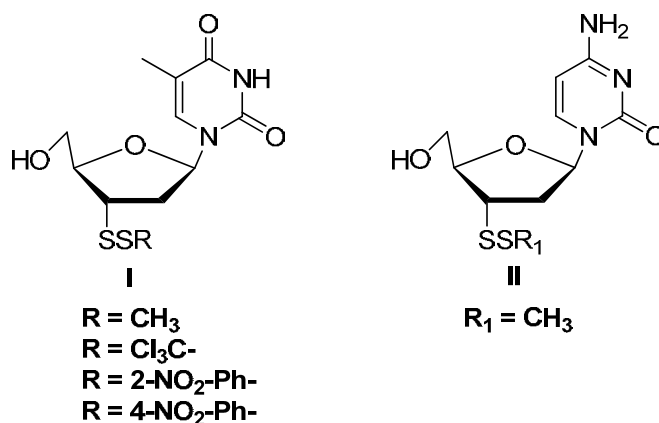
Την τελευταία δεκαετία, ο σχεδιασμός και η σύνθεση αναστολέων αυτού του ενζύμου έχουν προσελκύσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον και έχουν οδηγήσει σε πολλά βιοδραστικά νουκλεοζιτικά παράγωγα. Πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι ανάλογα της 5'-μεθυλοθειοαδενοσίνης (Σχήμα 7) αποτελούν ισχυρούς απενεργοποιητές της υδρολάσης της AdoHcy (Muzard *et al.* 1997). Η αλληλεπίδραση των παραγώγων αυτών με τα διάφορα καταλυτικά στάδια του ενζύμου, οδήγησε στη μελέτη και επί άλλων 5'-θειονουκλεοζιτών, όπως η 5'-S-προπαργυλο- και 5'-S-αλλενυλο-θειοαδενοσίνη (Σχήμα 7), οι οποίοι θα μπορούσαν να λειτουργήσουν ως εναλλακτικά υποστρώματα του ενζύμου και ως ιδιαίτεροι παράγοντες-αναστολείς (Guillerm *et al.* 2001).



Σχήμα 7

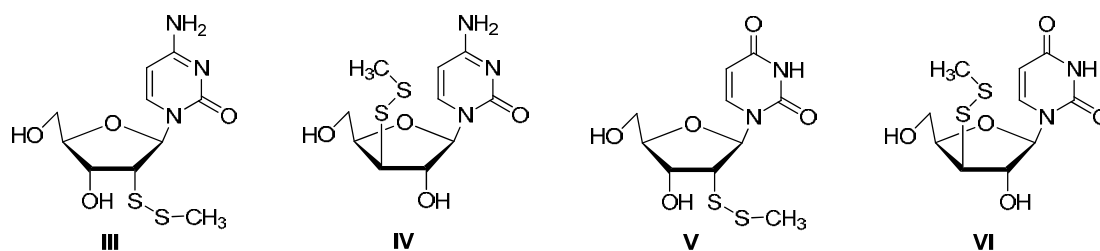
Προηγούμενες έρευνες έδειξαν ότι μεταξύ διαφόρων 5'-αλκυλοθειονουκλεοζιτικών αναλόγων (Lesnikowski *et al.* 1999, Rao *et al.* 1994), η 5'-S-αιθυλο-5'-δεοξυθυμιδίνη (σχήμα 7) αποτελεί μία ιδιαίτερη περίπτωση, διότι δρα ως μη ανταγωνιστικός αναστολέας της κυτταροπλασματικής κινάσης της θυμιδίνης (C-TK), η οποία εμπλέκεται άμεσα στην επιβίωση και την αναπαραγωγή των καρκινικών κυττάρων (Najim, A. Al-Masoudi 1999). Ενδιαφέρουσα, όμως, είναι και η δράση της 5'-S-αιθυλο-5'-δεοξυθυμιδίνης έναντι των L1210 λευχαιμικών κυττάρων.

Αρκετό ενδιαφέρον, όμως, παρουσιάζει τελευταία και μία νέα τάξη θειονουκλεοζιτών, τα νουκλεοζιτικά δισουλφίδια. Ειδικότερα, στην αναζήτηση νέων αντιικών παραγόντων, που δρουν ως αναστολείς της επιμήκνωσης της ιικής DNA αλυσίδας, έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες ως προς την αντιική δράση νουκλεοζιτικών δισουλφιδίων που φέρουν στην 3'-θέση του σακχάρου ένα άτομο θείου, ενωμένο με μία θειο-ομάδα, όπως θειο-2- ή την 4-νιτροφαινυλομάδα (ενώσεις I και II, Σχήμα 8) (Gerland *et al.* 2008). Τα περισσότερα από τα νέα αυτά δισουλφίδια εμφάνισαν ενδιαφέρουσα αντι-HIV δράση και αξιολογήθηκαν ως προφάρμακα, ικανά να παρεμβαίνουν στη διαδικασία της αντίστροφης μεταγραφής του ιού.



Σχήμα 8

Επιπλέον, έρευνες έχουν αποδείξει ότι προπυλενικά και μεθυλικά δισουλφίδια πυριμιδινικών ριβο- και ξυλονουκλεοζιτών, αποτελούν σταθερές πρόδρομες ενώσεις των μερκαπτονουκλεοζιτών (ενώσεις III-VI, Σχήμα 9). Οι μερκαπτονουκλεοζίτες εμφανίζουν ανασταλτική δράση έναντι της ριβονουκλεοτιδικής αναγωγάσης, ενζύμου απαραίτητου για τη σύνθεση του DNA (Conès *et al.* 1996). Από τις μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί ως προς τη σύνθεση και βιολογική αποτίμηση νέων μεθυλικών δισουλφιδίων, αποδείχθηκε ότι τα νέα αυτά μόρια μπορούν να θεωρηθούν ως ενδιαφέροντα προφάρμακα βιοδραστικών μερκαπτονουκλεοτιδίων (Roy *et al.* 2003, Roy *et al.* 2003).

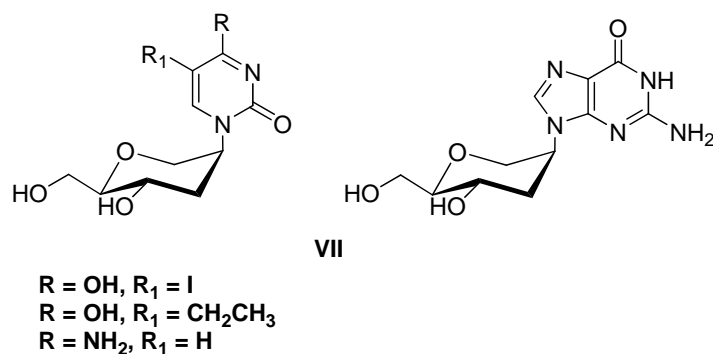


Σχήμα 9

Πυρανονουκλεοζίτες

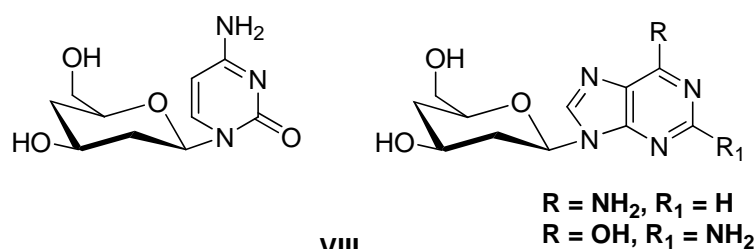
Παρόλο το μεγάλο αριθμό φουρανονουκλεοζιτών και παραγώγων αυτών που έχουν συντεθεί λόγω του ενδιαφέροντος που παρουσιάζουν ως βιολογικά δραστικά μόρια, ορισμένα προβλήματα προέκυψαν από τη χρήση τους. Ο ανεπαρκής μεταβολισμός προς τις ενεργές τριφωσφορικές δομές τους, η χημική ή ενζυματική απενεργοποίησή 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 αντιϊκής δράσης νέων νουκλεοζιτικών αναλόγων, που φέρουν ως σάκχαρο μια εξόζη. Τις τελευταίες δεκαετίες, νουκλεοζίτες με τροποποιημένους εξαμελείς υδατανθρακικούς δακτυλίους έχουν αξιολογηθεί για τις πιθανές αντιϊκές (Verheggen *et al.* 1993, Verheggen *et al.* 1995, Maurinsh *et al.* 1997, Ostrowski *et al.* 1998), αντικαρκινικές (Antonakis 1989) και αντιβιοτικές τους ιδιότητες (Haouz *et al.* 2003), καθώς και ως δομικές μονάδες στη σύνθεση νουκλεϊκών οξέων (Vastmans *et al.* 2000, Vastmans *et al.* 2001).

Από μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε ανάλογα πυρανονουκλεοζιτών, τους 1,5-ανυδροεξιτολο-νουκλεοζίτες (ενώσεις **VII**, Σχήμα 10), διαπιστώθηκε ότι, τα ανάλογα της 5-ιωδοουρακίλης και 5-αιθυλοουρακίλης εμφανίζουν υψηλή εκλεκτικότητα για το ένζυμο της κινάσης της θυμιδίνης και αποτελούν αναστολείς του ιού HSV-1 και HSV-2, ενώ τα ανάλογα της κυτοσίνης και της γουανίνης είναι δραστικά έναντι και άλλων ερπητοϊών, όπως του ιού VZV και του ιού HCMV (Verheggen *et al.* 1993, Verheggen *et al.* 1995).



Σχήμα 10

Αξιοσημείωτη είναι όμως και η αντιική, αντικαρκινική καθώς και η αντιλευχαιμική δράση που εμφάνισαν ορισμένοι πουργινικοί και πυριμιδινικοί 2'-δεοξυπυρανονουκλεοζίτες (Langen and Etzold 1966, Nord *et al.* 1987). Μία ακόμη διαπίστωση που αυξάνει το ενδιαφέρον για τους συγκεκριμένους νουκλεοζίτες, αποτελεί το γεγονός ότι ολιγονουκλεοτίδια, τα οποία περιέχουν διδεοξυ-β-D-ερυθρο-εξοπυρανονουκλεοζίτες, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αντινοσηματικά ολιγονουκλεοτίδια (Augustyns *et al.* 1994), ενώ οι 2',4'-διδεοξυ-β-D-ερυθρο-εξοπυρανονουκλεοζίτες (ενώσεις **VIII**, Σχήμα 11) αποδείχθηκαν χρήσιμες δομικές μονάδες για τη σύνθεση νουκλεϊκών οξέων (Augustyns *et al.* 1992, Augustyns *et al.* 1993).



Σχήμα 11

Λαμβάνοντας υπόψη τις βιολογικές ιδιότητες νουκλεοζιτών με τροποποιημένους εξαμελείς υδατανθρακικούς δακτυλίους, καθώς και τη σημαντική αύξηση της δράσης τους εξαιτίας της παρουσίας υποκαταστατών, όπως το φθόριο, σημαντικές έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί στα πλαίσια της σύνθεσης νέων τροποποιημένων νουκλεοζιτών, ως θεραπευτικών παραγόντων, που φέρουν ως σάκχαρο μία εξόζη. Η αναζήτηση αυτή οδήγησε στην σύνθεση νέων γενεών πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων. Δύο

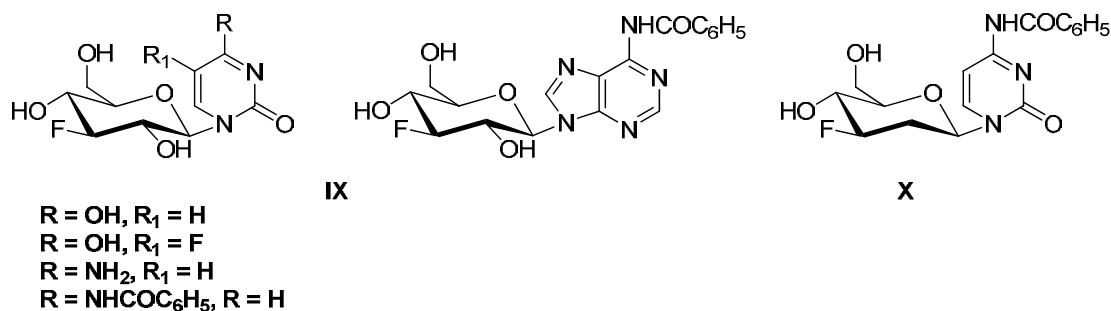
πρωτότυπες τάξεις της νέας αυτής γενιάς πυρανονουκλεοζιτών είναι οι φθοριωμένοι πυρανονουκλεοζίτες καθώς και οι κετοακόρεστοι φθοροπυρανονουκλεοζίτες.

Φθοριωμένοι πυρανονουκλεοζίτες

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η εισαγωγή ενός φθορίου είτε στο τμήμα του σακχάρου είτε στη νουκλεοβάση των φουρανονουκλεοζιτών, οδηγεί σε ενώσεις, οι οποίες διαθέτουν ένα ευρύ φάσμα αντιικών και αντικαρκινικών ιδιοτήτων (Herdewijn *et al.* 1989, Tsuchiya 1990, Ternansky *et al.* 1993, Pankiewicz 2000). Ωστόσο, νέοι φθοριωμένοι πυρανονουκλεοζίτες έχουν συντεθεί και μελετηθεί τόσο για τις βιολογικές τους ιδιότητες ως αντιικοί και αντικαρκινικοί παράγοντες όσο και για τη δράση τους σε μοριακό επίπεδο.

Από μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε μια νέα σειρά φθοριωμένων πυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της N^4 -βενζοϋλοκυτοσίνης και της N^6 -βενζοϋλοαδενίνης (ενώσεις **IX**, Σχήμα 12), αξιολογήθηκε να είναι η δράση τους σε μοριακό επίπεδο. Οι συγκεκριμένες μελέτες εστίαστηκαν στην επίδραση, της νέας αυτής σειράς πυρανονουκλεοζιτών, στην αποικοδόμηση της πολυαδενυλικής ουράς (πολύ(A) ουρά). Ένα ένζυμο-κλειδί σε αυτήν τη διεργασία της βράχυνσης είναι η πολυ(A)-εξειδικευμένη ριβονουκλεάση, PARN. Μετά από πρόσφατες αναφορές (Balatsos *et al.* 2008), ότι τα νουκλεοτίδια πουρινών αναστέλλουν το συγκεκριμένο ένζυμο, πραγματοποιήθηκαν μελέτες με τις οποίες εξετάστηκε αν τα τροποποιημένα νουκλεοζιτικά ανάλογα της N^4 -βενζοϋλοκυτοσίνης και της N^6 -βενζοϋλοαδενίνης μπορούν να ρυθμίσουν την PARN.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν απέδειξαν ότι οι φθοριωμένοι νουκλεοζίτες της N^4 -βενζοϋλοκυτοσίνης και N^6 -βενζοϋλοαδενίνης (ενώσεις **IX**, Σχήμα 12), μείωσαν αποτελεσματικά τη δραστηριότητα της PARN, δείχνοντας έτσι ότι αυτή μπορεί να ελεγχθεί από φυσικά νουκλεοτίδια *in vitro*, πιθανόν μέσω ενός απλού μηχανισμού ρύθμισης της αποικοδόμησης της πολυ(A) ουράς. Επιπλέον, τα ανάλογα νουκλεοζιτών που εξετάστηκαν μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πρότυπες ενώσεις για την ανάπτυξη νέων ενώσεων που θα μπορούν να ρυθμίζουν την PARN (Balatsos *et al.* 2009).



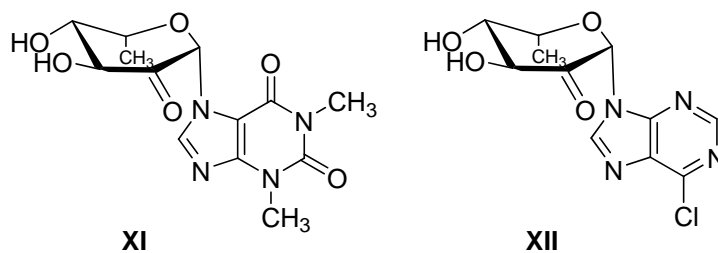
Σχήμα 12

Ακόμη, φθοριωμένοι πυρανονουκλεοζίτες έχουν αξιολογηθεί και ως αναστολείς της φωσφορυλάσης του γλυκογόνου (GP), ένζυμο με κεντρικό ρόλο στον καταβολισμό του γλυκογόνου και υπεύθυνο για την παραγωγή γλυκόζης στο αίμα (γλυκογενόλυση). Η λεπτομερής ανάλυση των παραγόντων που καθορίζουν τη σύνδεση μικρομοριακών ενώσεων (αναστολέων) στη GP σε μοριακό επίπεδο, παρέχει τη δυνατότητα ελέγχου της ενζυμικής τους δράσης ή και της ανεπιθύμητης αποικοδόμησης γλυκογόνου, στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, όπου η υπεργλυκαιμία αποτελεί σοβαρό ιατρικό πρόβλημα. Συγκεκριμένα, φθοριωμένοι πυριμιδινικοί γλυκοπυρανονουκλεοζίτες (ένωσεις **IX**, Σχήμα 12) καθώς και ένα φθοριωμένο δεοξυ-πυρανονουκλεοζιτικό ανάλογο της N^4 -βενζοϋλοκυτοσίνης (ένωση **X**, Σχήμα 12) αποδείχθηκαν ανταγωνιστικοί αναστολείς της φωσφορυλάσης του μυϊκού γλυκογόνου (GPb) (Tsirkone *et al.* 2010).

Φθοριωμένοι ακόρεστοι κετοπυρανονουκλεοζίτες

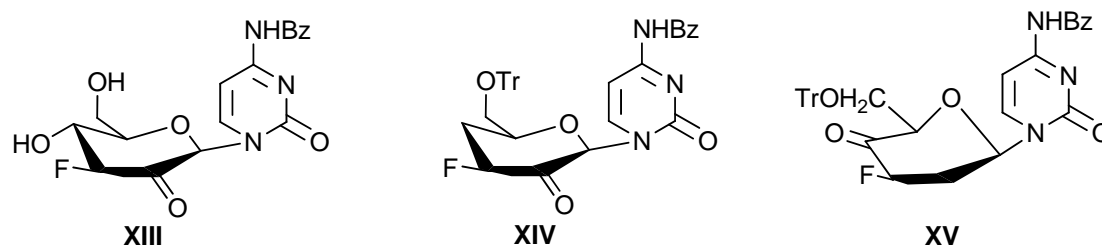
Παρόλο που τα κετο-παράγωγα των πεντονουκλεοζιτών, στις περισσότερες των περιπτώσεων, αποδείχθηκαν ασταθή, τα κετο-παράγωγα των νουκλεοζιτών με εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο έδωσαν το έναυσμα για τη μελέτη μιας νέας και ενδιαφέρουσας χημείας (Antonakis and Leclercq 1970, Antonakis and Leclercq 1971). Θα πρέπει να τονιστεί ότι οι κετο-πυρανονουκλεοζίτες αποτελούν συνθόνες σε συνθετικές και βιοσυνθετικές διαδικασίες και επιπλέον ένας σημαντικός αριθμός αυτών εμφανίζει ενδιαφέρουσα αντικαρκινική και αντιική δράση (Cook and Moffatt 1967, Antonakis 1975, Antonakis 1984, Komiotis *et al.* 1991, Khan *et al.* 2002). Χαρακτηριστικά παραδείγματα αυτής της τάξης των νουκλεοζιτών, αποτελούν

οι ενώσεις, 7-(6'-δεοξυ-β-D-λυξο-εξοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)θεοφυλλίνη (**XI**, Σχήμα 13) (Antonakis and Arvor 1971, Antonakis 1972) και 9-(6'-δεοξυ-β-L-λυξο-εξοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)-6-χλωροπυρίνη (**XII**) (Antonakis and Bessodes 1973), οι οποίες βρέθηκε ότι αναστέλλουν την ανάπτυξη των κυττάρων KB, όπως επίσης και την ανάπτυξη της λευχαιμίας L1210 στα ποντίκια.



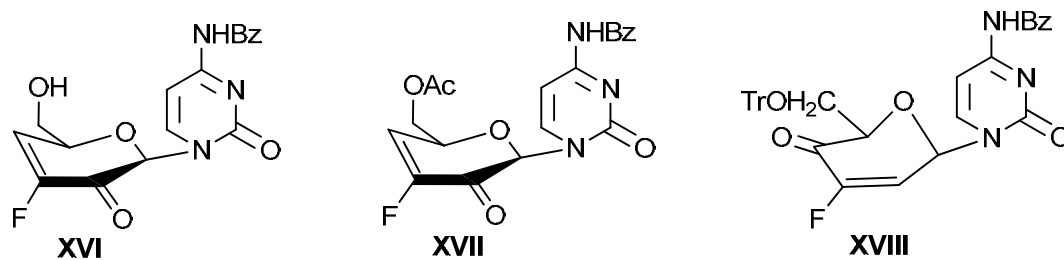
Σχήμα 13

Τελευταία, αξιοποιώντας τη διαθεσιμότητα αυτών των μορίων, η οποία αποδείχθηκε καθοριστική για τη βιολογική έρευνα, έχει πραγματοποιηθεί η σύνθεση μιας νέας ιδιαίτερης τάξης τροποποιημένων κετονουκλεοζιτικών αναλόγων που φέρουν ως σάκχαρο μία εξόζη, των φθοριωμένων κετονουκλεοζιτών. Από τις βιολογικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στα νέα μόρια, αποδείχθηκε ότι τα 2'-κετο και 4'-κετονουκλεοζιτικά ανάλογα (ενώσεις **XIII-XV**, Σχήμα 14) (Manta *et al.* 2007, Manta *et al.* 2009) διαθέτουν ενδιαφέρουσες, αντιικές και αντικαρκινικές ιδιότητες. Συγκεκριμένα, αποδείχθηκε ότι οι φθοριωμένοι 2'- και 4'-κετονουκλεοζίτες της N^4 -βενζοϋλοκυτοσίνης μπορούν να θεωρηθούν ελπιδοφόροι για την ανάπτυξη αντι-εντεροϊικών φαρμάκων. Ακόμη, τόσο οι φθοριωμένοι 2'-κετονουκλεοζίτες της N^4 -βενζοϋλοκυτοσίνης (ενώσεις **XIII**, **XIV**), όσο και ο 4'-κετονουκλεοζίτης της ίδιας νουκλεοβάσης (ένωση **XV**), αποδείχθηκαν ότι αποτελούν εν δυνάμει αντι-αδενοκαρκινικούς παράγοντες, ενώ παρουσίασαν αξιοσημείωτη κυτταροτοξική δράση έναντι διαφόρων καρκινικών κυτταρικών σειρών και ειδικότερα έναντι των ανθρώπινων γαστρικών καρκινικών κυττάρων (AGS).



Σχήμα 14

Μία ακόμη ασυνήθιστη κατηγορία νουκλεοζιτών με τροποποιημένο εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο, που αυξάνει το ενδιαφέρον για τους συγκεκριμένους νουκλεοζίτες, είναι οι ακόρεστοι κετονουκλεοζίτες, οι οποίοι διαθέτουν ένα ευρύ φάσμα αντικαρκινικών και αντιικών ιδιοτήτων (Komiotis *et al.* 1991, Ollapaly *et al.* 1999). Τα συγκεκριμένα νουκλεοζιτικά ανάλογα, στα οποία ο δακτύλιος του σακχάρου περιλαμβάνει ένα διπλό δεσμό άνθρακα-άνθρακα σε α,β -θέση ως προς την κετονομάδα, έχουν αξιολογηθεί για την αντινεοπλασματική δραστηριότητα και τα ανοσοκατασταλτικά τους χαρακτηριστικά (Paterson *et al.* 1998). Λαμβάνοντας υπόψη τις ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες των κετοακόρεστων νουκλεοζιτών, καθώς και των φθοριωμένων κετονουκλεοζιτών, μία ακόμη ιδιαίτερη σειρά φθοριωμένων αναλόγων ακόρεστων κετονουκλεοζιτών έχει μελετηθεί. Ειδικότερα, έχει αποδειχθεί ότι τα νέα φθοριωμένα ακόρεστα 2'-κετο- και 4'-κετονουκλεοζιτικά ανάλογα (Manta *et al.* 2007, Manta *et al.* 2008) παρουσιάζουν ανασταλτική δράση έναντι της ανάπτυξης εντεροϊού και αξιοσημείωτη κυτταροτοξική δράση έναντι διαφόρων καρκινικών κυτταρικών σειρών, όπως των κυττάρων μελανώματος του δέρματος. Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα των νουκλεοζιτικών αυτών αναλόγων, είναι οι φθοριωμένοι ακόρεστοι 2'-κετονουκλεοζίτες της N^4 -βενζοϋλοκυτοσίνης **XVI**, **XVII** και ο φθοριωμένος ακόρεστος 4'-κετονουκλεοζίτης της ίδιας βάσης **XVIII** (Σχήμα 15).



Σχήμα 15

Παρόλο που ο μηχανισμός δράσης αυτών των ενώσεων δεν είναι σαφής, φαίνεται ότι παρεμποδίζουν τη σύνθεση του DNA, του RNA και των πρωτεϊνών (Antonakis 1975) και ότι αντιδρούν με τις πρωτεϊνικές ομάδες σουλφυδρυλίου (Halmos *et al.* 1983). Μία άλλη σημαντική παράμετρος που συνεισφέρει στη βιολογική σπουδαιότητα των ανωτέρω μορίων αποτελεί η ύπαρξη του διπλού δεσμού στο τμήμα του σακχάρου, ο οποίος προκαλεί ακαμψία στο δακτύλιο, όμοια με αυτή ενός φουρανονουκλεοζίτη, με αποτέλεσμα να μπορούν να θεωρηθούν ως (βιο)ισοστερή των φυσικών νουκλεοζιτών και νουκλεοτιδίων (Herdewijn and De Clercq 2001).

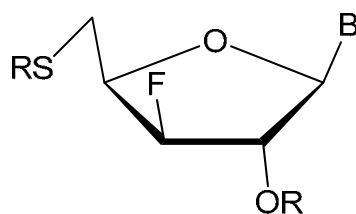
Στόχοι της παρούσης διατριβής

Η σπουδαιότητα των νουκλεοζιτών, ως αντιικών και αντικαρκινικών μέσων, αυξάνεται όλο και περισσότερο τόσο ως αποτέλεσμα της εισαγωγής ολοένα και πιο νέων μορίων στην κλινική θεραπεία, όσο και εξαιτίας της μεγάλης προόδου όσον αφορά στην κατανόηση των μηχανισμών δράσης τους. Συνεπώς, με επιτακτική την ανάγκη για την εύρεση νέων χημειοθεραπευτικών παραγόντων και με βάση τις σημαντικές φαρμακευτικές ιδιότητες των τροποποιημένων νουκλεοζιτικών αναλόγων, στόχο της παρούσας εργασίας αποτελεί η σύνθεση και η βιολογική αποτίμηση νέων τάξεων φθοροθειονουκλεοζιτών, με τροποποιημένους πενταμελείς καθώς και εξαμελείς υδατανθρακικούς δακτυλίους.

Ειδικότερα, λαμβάνοντας υπόψη τις ιδιαίτερες χημικές ιδιότητες και την αυξημένη βιολογική δράση ενός φουρανο- ή πυρανονουκλεοζίτη, ως αποτέλεσμα τόσο της εισαγωγής του φθορίου στο σάκχαρο όσο και του θείου, εντός ή εκτός του δακτυλίου του σακχάρου, καθώς και τις ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες που παρουσιάζουν τα φθοριωμένα ακόρεστα κετοπυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα, θεωρήθηκε σημαντική η σύνθεση και η βιολογική αποτίμηση νέων τροποποιημένων νουκλεοζιτών. Σκοπός της πραγματοποίησης της σύνθεσης των νέων αυτών νουκλεοζιτών είναι ο συνδυασμός της δράσης των δύο ατόμων του φθορίου και του θείου, καθώς και της ιδιαιτερότητας που προσδίδει στα μόρια η παρουσία του διπλού δεσμού, καθώς και της κετονομάδας.

Οι νέες σειρές φθοριωμένων θειονουκλεοζιτικών αναλόγων είναι:

- οι φθορο-5'-θειοφουρανονουκλεοζίτες,



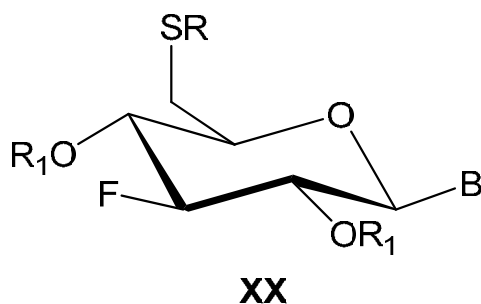
XIX

B = Θυμίνη
 Ουρακίλη
 5-Φθοροουρακίλη
 R = Ac

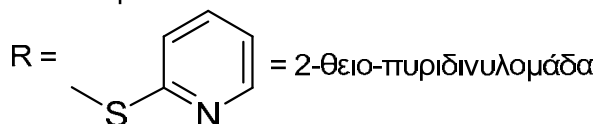
Σχήμα 16

οι οποίοι συνδυάζουν την παρουσία του φθορίου και του θείου, ως υποκαταστατών του σακχάρου (δομή **XIX**), λαμβάνοντας υπόψη τις ιδιαίτερες χημικές ιδιότητες και την αυξημένη βιολογική δράση που προσδίδει η εισαγωγή τους σε σειρές νουκλεοζιτών.

- οι φθορο-6'-θειοπυρανονουκλεοζίτες,



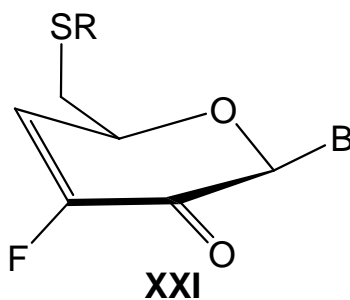
B = Πυριμιδίνη ή Πουρίνη, R₁ = Ac ή H
R = Ac ή



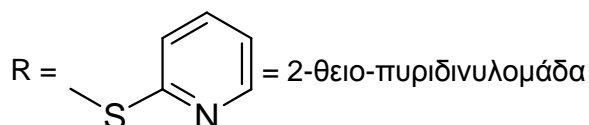
Σχήμα 17

στους οποίους, η παρουσία εξαμελούς δακτυλίου στη θέση του σακχάρου συνδυάζεται με τη δράση των ατόμων φθορίου και θείου (δομή **XX**).

- οι ακόρεστοι φθορο-6'-θειο-κετονουκλεοζίτες,



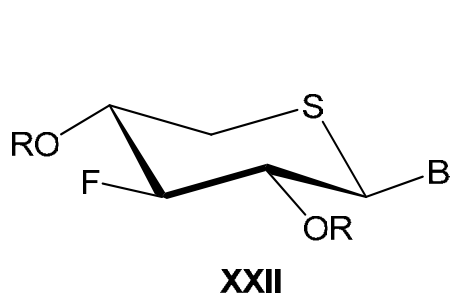
B = Θυμίνη, Ουρακίλη, 5-Φθοροουρακίλη



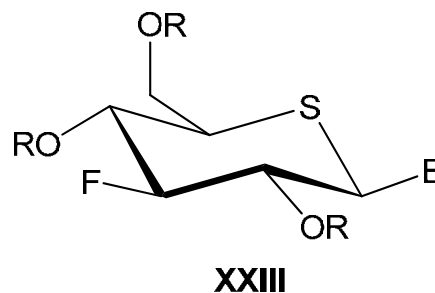
Σχήμα 18

στους οποίους η παρουσία του φθορίου, του θείου και του εξαμελούς δακτυλίου συνοδεύεται από την ταυτόχρονη παρουσία ενός διπλού δεσμού και μιας κετονομάδας (δομή **XXI**)

- οι φθορο-5'-θειοπυρανονουκλεοζίτες,



B = Θυμίνη
R = Ac

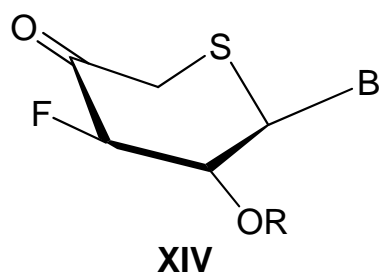


B = Θυμίνη
R = Ac

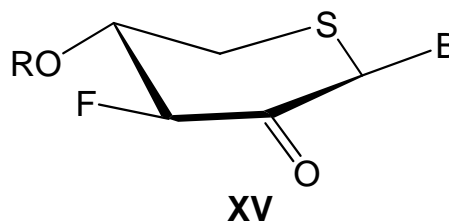
Σχήμα 19

στους οποίους συνοδεύεται η εισαγωγή του θείου εντός του εξαμελούς δακτυλίου του σακχάρου από την ταυτόχρονη παρουσία του φθορίου, ως υποκαταστάτη (δομές **XXII** και **XXIII**)

- οι φθορο-5'-θειο-κετοπυρανονουκλεοζίτες,



B = Θυμίνη
R = Ac



B = Θυμίνη
R = Ac

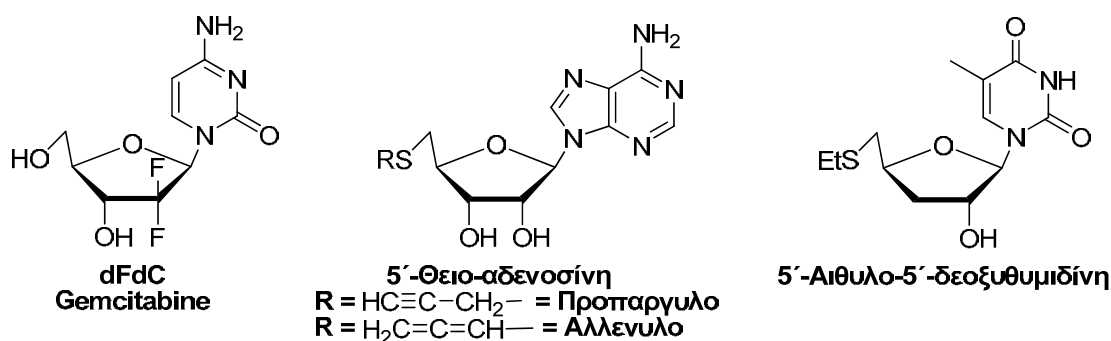
Σχήμα 20

στα μόρια των οποίων, το άτομο του φθορίου, ως υποκαταστάτης του εξαμελούς δακτυλίου, και το άτομο του θείου, εντός του δακτυλίου, συνυπάρχουν με μια κετονομάδα (δομές **XIV** και **XV**).

II. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

ΦΘΟΡΟ-5΄-ΘΕΙΟΦΟΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ

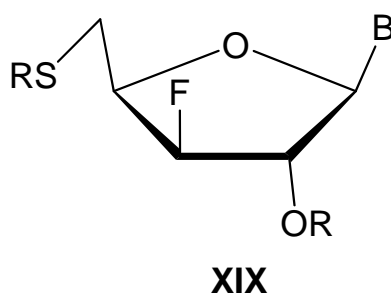
Όπως προαναφέρθηκε, οι φθοριωμένοι νουκλεοζίτες και τα ανάλογά τους έχουν προσελκύσει το ιδιαίτερο ενδιαφέρον των ερευνητών, εξαιτίας των μοναδικών βιολογικών ιδιοτήτων που παρουσιάζουν ως αντιικοί και αντιογκογονικοί παράγοντες. Η εισαγωγή του ατόμου του φθορίου, είτε ως αντικατάσταση του υδρογόνου είτε ως μιμητού του υδροξυλίου, συχνά οδηγεί σε σημαντική αλλαγή στη βιολογική δράση. Πολλοί φθορονουκλεοζίτες, με ιδιαίτερα υψηλή δραστηριότητα, έχουν συντεθεί και χρησιμοποιηθεί στην θεραπεία του καρκίνου και ιογενών λοιμώξεων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η 2΄-δεοξυ-2΄,2΄-διφθοροκυτιδίνη [gemcitabine (γεμισιταμπίνη), dFdC], ανάλογο της δεοξυκυτιδίνης, το οποίο έχει εγκριθεί ως φάρμακο έναντι κακοηθών όγκων.



Σχήμα 21

Από την άλλη πλευρά, οι θειονουκλεοζίτες, και ειδικότερα αυτοί που φέρουν άτομο θείου στην 5΄-θέση του σακχάρου, αποτελούν μία ιδιαίτερη κατηγορία νουκλεοζιτικών αναλόγων με ενδιαφέρουσες αντιβιοτικές, αντιικές και αντινεοπλασματικές ιδιότητες (Σχήμα 21).

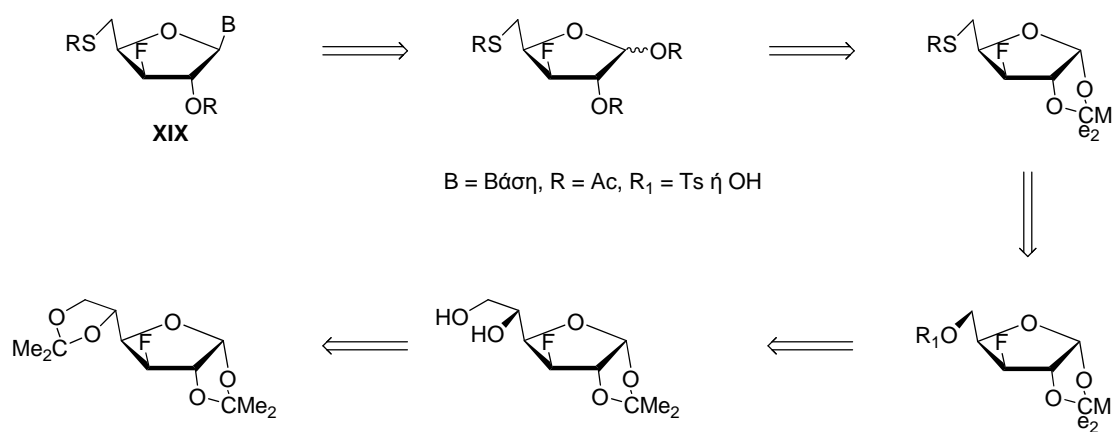
Με βάση τις παραπάνω παρατηρήσεις, σε συνδυασμό με το ότι διάφορα φυσικά αντιβιοτικά φέρουν στο σκελετό τους πυριμιδίνη ως ετεροκυκλική βάση, θεωρήθηκε ενδιαφέρουσα η σύνθεση μιας νέας τάξης φθορο-θειοφουρανονουκλεοζιτών και ειδικότερα των 3΄-δεοξυ-3΄-φθορο-5΄-S-ακέτυλο-5΄-θειο-β-D-ξυλοφουρανονουκλεοζιτικών παραγώγων της θυμίνης, ουρακίλης και 5-φθοροουρακίλης (δομές XIX, ενώσεις 7, 8 και 9, Σχήμα 22).



7 B = Θυμίνη
 8 B = Ουρακίλη
 9 B = 5-Φθοροουρακίλη
 R = Ac

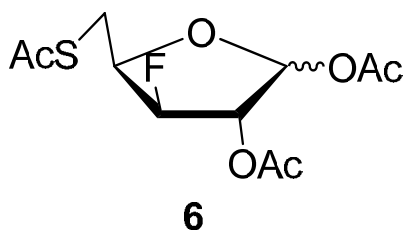
Σχήμα 22

Η ρετροσυνθετική προσέγγιση που ακολουθήθηκε για την παρασκευή των 3'-δεοξυ-3'-φθορο-5'-S-ακετυλο-5'-θειο-β-D-ξυλοφουρανουκλεοζιτών (δομές **XIX**), περιγράφεται στο σχήμα 23 που ακολουθεί.



Σχήμα 23

Για να επιτευχθεί η σύνθεση των επιθυμητών φθοροθειονουκλεοζιτικών αναλόγων, απαραίτητη προϋπόθεση αποτελεί η σύνθεση του σακχάρου, 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2-δισ-O-ακετυλο-5-S-ακετυλο-5-θειο-α-D-ξυλοφουρανόζη (**6**), (Σχήμα 24). Το σάκχαρο **6** αποτελεί η κατάλληλη συνθόνη (synthon), το οποίο αφού συντεθεί μετά από μια σειρά διαδοχικών αντιδράσεων, αναμένεται να οδηγήσει στα επιθυμητά νουκλεοζιτικά παράγωγα.



Σχήμα 24

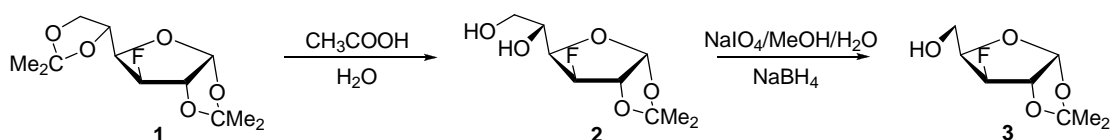
Θα πρέπει να τονιστεί ότι στην περίπτωση των θειονουκλεοζιτών, η εισαγωγή του θείου στο γλυκοζιτικό τμήμα γίνεται πριν το σχηματισμό των επιθυμητών νουκλεοζιτών, έτσι ώστε να είναι δυνατή η σύνθεση νουκλεοζιτών με διαφορετικές ετεροκυκλικές βάσεις.

Ένα γεγονός που συμβάλλει στη σπουδαιότητα των νουκλεοζιτών που παρουσιάζονται παραπάνω, είναι ότι η σύζευξη του σακχάρου **6** με τις ετεροκυκλικές βάσεις οδηγεί σε νουκλεοζίτες που φέρουν τη β-απεικόνιση, όπως φαίνεται και από τη ρετροσύνθεση του σχήματος 23. Αυτό οφείλεται αποκλειστικά και μόνο στην ύπαρξη του υποκαταστάτη στη 2'-θέση του σακχάρου, ο οποίος οδηγεί στη λήψη του ενός από τα δύο ανωμερή. Η απουσία υποκαταστάτη στη συγκεκριμένη θέση του σακχάρου θα οδηγούσε, αντίθετα, στη λήψη μίγματος ανωμερών του νουκλεοζίτη, γεγονός που θα δυσχέραινε την ολοκλήρωση της συνθετικής πορείας.

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2-δισ-Ο-ακετυλο-5-S-ακετυλο-5-θειο-D-ξυλοφουρανόζη (6)

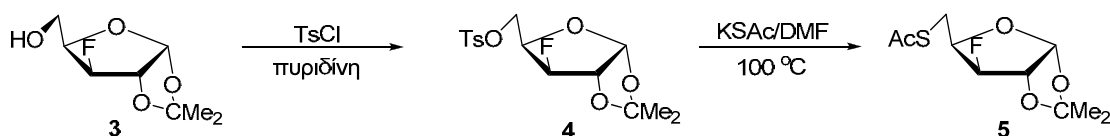
Το πρώτο στάδιο της συνθετικής διαδικασίας για τη λήψη του επιθυμητού σακχάρου **6**, απεικονίζεται στο σχήμα 25 και περιλαμβάνει την διάνοιξη του ακετονιδίου στις 5',6'-θέσεις της ήδη συντεθειμένης στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και διαθέσιμης, 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2:5,6-δισ-Ο-ισοπροπυλιδενο-α-D-γλυκοφουρανόζης (**1**) (Foster *et al.* 1967) με την προσθήκη υδατικού διαλύματος οξικού οξέος (CH₃COOH) (Reichman *et al.* 1975), από την οποία λαμβάνεται η ένωση, 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2-Ο-ισοπροπυλιδενο-α-D-γλυκοφουρανόζη (**2**). Στη συνέχεια, η ένωση **2**

οξειδώνεται, παρουσία μεθανόλης και υπεριωδικού νατρίου (NaIO_4), ενώ η αναγωγή της αλδεΐδης που προκύπτει πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας νατριοβοροϋδρίδιο (NaBH_4) (Reichman *et al.* 1975), οπότε παράγεται η 1,2-Ο-ισοπροπυλιδανο- α -D-ξυλοφουρανόζη (**3**), σε πολύ ικανοποιητική απόδοση (92% από την ένωση **2**).



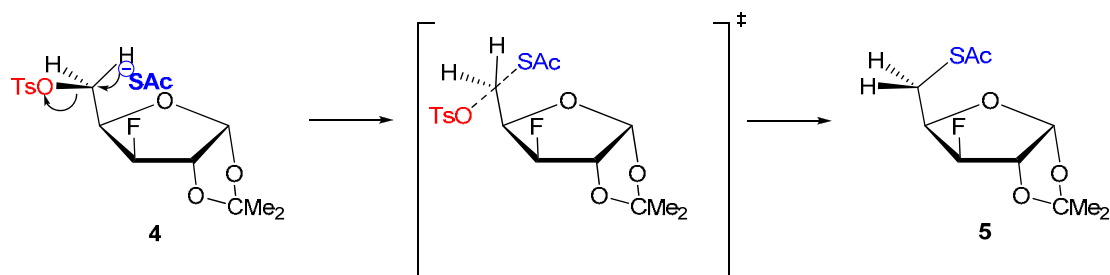
Σχήμα 25

Η επόμενη αντίδραση αφορά στη σουλφονλίωση του παραγώγου της ξυλόζης (**3**) (Σχήμα 25), η οποία πραγματοποιείται εύκολα με κατεργασία με *p*-τολουολοσουλφονυλοχλωρίδιο (P-TsCl) σε πυριδίνη, σε θερμοκρασία δωματίου (Foster *et al.* 1967) και οδηγεί στην προστατευμένη ξυλοφουρανόζη **4**, η οποία λαμβάνεται υπό τη μορφή λευκού στερεού.



Σχήμα 26

Ακολουθεί η αντικατάσταση της τοσυλομάδας στον άνθρακα C-5 του προϊόντος **4** από το θειακετύλιο (Σχήμα 26). Σε αυτό το σημείο θα πρέπει να αναφερθεί ότι η πυρηνόφιλη αντικατάσταση στην 6-Ο-τολουολοσουλφονυλο-1,2-Ο-ισοπροπυλιδανο- α -D-ξυλοφουρανόζη (**4**) αποτελεί μία εύχρηστη διαδικασία, η οποία δίνει το επιθυμητό θειοπαραγώγο (**5**) (Σχήμα 27).

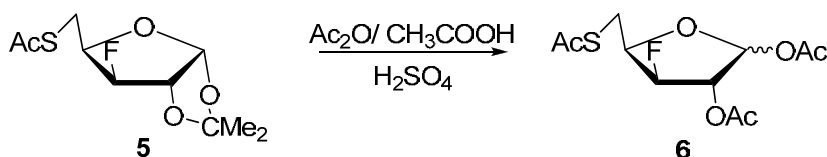


Σχήμα 27

Έτσι η εισαγωγή του θειακετυλίου στον άνθρακα C-5 της ένωσης **4** πραγματοποιείται, όταν η ένωση αυτή κατεργάζεται με θειοξικό κάλιο (KSAc) σε διαλύτη *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF) στους 100 °C (Hughes and Munkombwe 1985). Το καθαρό θειακετυλιωμένο παράγωγο, 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2-*O*-ισοπροπυλιδανο-5-*S*-ακετυλο-5-θειο-*D*-ξυλοφουρανόζη (**5**), απομονώνεται εύκολα και λαμβάνεται σε απόδοση 87%. Χαρακτηριστική είναι η κορυφή απορρόφησης στα 1697 cm⁻¹, στο φάσμα υπερύθρου ακτινοβολίας, η οποία αντιστοιχεί στο θειακετύλιο. Η χαρακτηριστική αυτή κορυφή αποδεικνύει τόσο την επιτυχή αντικατάσταση, όσο και την ύπαρξη δακτυλίου πεντόζης και όχι εξόζης.

Στη συνέχεια, ακετόλυση της ένωσης **5** παρουσία μίγματος οξικού ανυδρίτη (Ac₂O)/CH₃COOH/θειϊκού οξέος (70:30:1, v/v) (Chiu and Whistler 1973) οδηγεί στο επιθυμητό σάκχαρο, 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2-δισ-*O*-ακετυλο-5-*S*-ακετυλο-5-θειο-*D*-ξυλοφουρανόζη (**6**) (Σχήμα 28), σε πολύ καλή απόδοση (82%).

Στο φάσμα υπερύθρου της ένωσης **6** εμφανίζονται χαρακτηριστικές κορυφές απορρόφησης στα 1750 cm⁻¹ και 1697 cm⁻¹, οι οποίες αντιστοιχούν στο ακετύλιο και το θειακετύλιο, αντίστοιχα. Από τη μελέτη του φάσματος ¹H-NMR του σακχάρου **6** προκύπτει ότι μία απλή κορυφή στα 2.36 ppm (α ανωμερές) και στα 2.37 ppm (β ανωμερές), αντιστοιχεί στα πρωτόνια του μεθυλίου του θειακετυλίου, ενώ οι δύο απλές κορυφές στα 2.06 ppm και 2.16 ppm αντιστοιχούν στα πρωτόνια των μεθυλίων των ακετυλομάδων.



Σχήμα 28

Σύνθεση νουκλεοζιτών

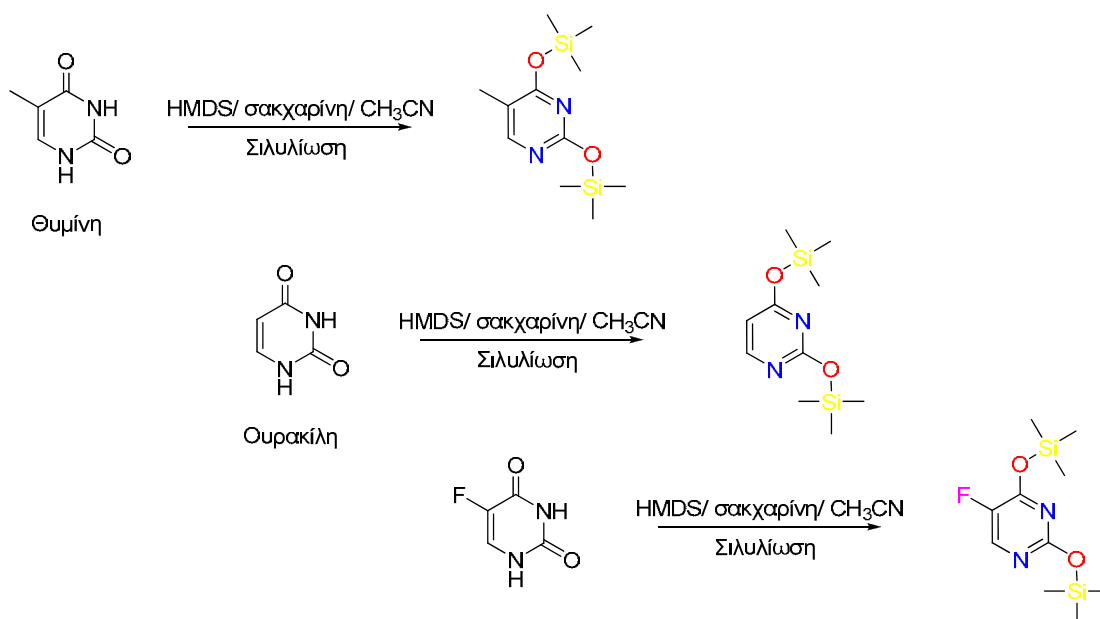
Μετά τη σύνθεση του σακχάρου **6**, που αποτελεί την ένωση-κλειδί για το σχηματισμό των επιθυμητών φθορο-θειο-ξυλοφουρανονουκλεοζιτικών παραγώγων, το κρίσιμο βήμα της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει τη

σύνθεση των νουκλεοζιτών, οι οποίοι φέρουν ως σάκχαρο την ένωση **6** και ως ετεροκυκλικές βάσεις τη θυμίνη, την ουρακίλη και την 5-φθοροουρακίλη.

Για να επιτευχθεί η σύνθεση των νουκλεοζιτών, το γλυκοζιτικό μέρος πρέπει να χρησιμοποιείται πάντα υπό τη μορφή του ακετυλιωμένου σακχάρου, γεγονός που ισχύει και στην προκειμένη περίπτωση. Από την άλλη πλευρά, η βάση, υπό συγκεκριμένες συνθήκες, πρέπει να ενεργοποιηθεί υπό τη μορφή άλατος ή συμπλόκου. Συνεπώς αφού εξασφαλιστεί η διαθεσιμότητα του επιθυμητού ακετυλιωμένου σακχάρου **6**, ακολουθεί σιλυλίωση της θυμίνης, της ουρακίλης και της 5-φθοροουρακίλης.

Σιλυλίωση των βάσεων

Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν το 1974 από τους Niedballa και Vorbruggen (Niedballa and Vorbruggen 1974), απέδειξαν ότι οι σιλυλιωμένες ουρακίλες, αντιδρούν εύκολα με τα ακυλιωμένα σάκχαρα για να σχηματίσουν τους αντίστοιχους ακυλιωμένους νουκλεοζίτες σε πολύ καλές αποδόσεις. Έτσι και στη συγκεκριμένη περίπτωση, για να επιτευχθεί η συμπύκνωση των εμπορικά διαθέσιμων βάσεων, της θυμίνης, της ουρακίλης και της 5-φθοροουρακίλης, με τη 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2-δισ-Ο-ακετυλο-5-S-ακετυλο-5-θειο-D-ξυλοφουρανόζη (**6**) χρησιμοποιούνται οι σιλυλιωμένες βάσεις, οι οποίες προκύπτουν από αντίδραση με εξαμεθυλοδισιλαζάνιο (HMDS) σε διαλύτη ακετονιτρίλιο (CH_3CN). Η συγκεκριμένη αντίδραση καταλύεται από τη σακχαρίνη και έτσι λαμβάνονται τα παράγωγα της δισ(τριμεθυλοσιλυλο)θυμίνης, της δισ(τριμεθυλοσιλυλο)ουρακίλης και της δισ(τριμεθυλοσιλυλο)-5-φθοροουρακίλης (Σχήμα 29).



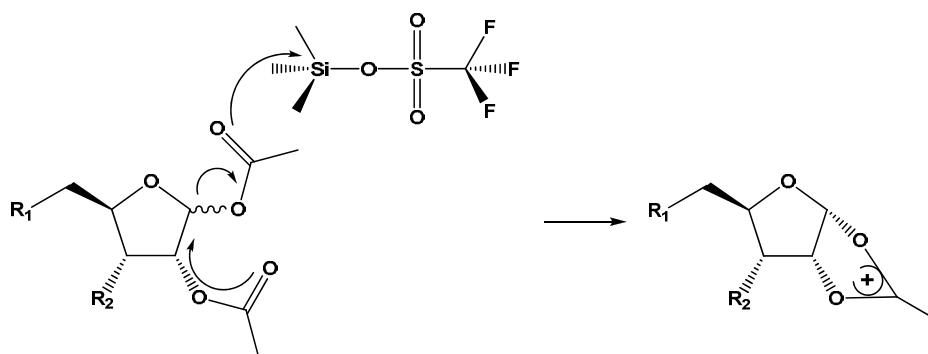
Σχήμα 29

Η σιλυλίωση των βάσεων κρίνεται απαραίτητη γιατί μετατρέπει αυτές τις πολικές ετεροκυκλικές ενώσεις σε περισσότερο λιπόφιλα μόρια, με αποτέλεσμα να είναι διαλυτές σε οργανικούς διαλύτες. Επίσης, με τη συγκεκριμένη προστασία ενισχύεται και ο πυρηνόφιλος χαρακτήρας τους.

Μηχανισμός συμπύκνωσης

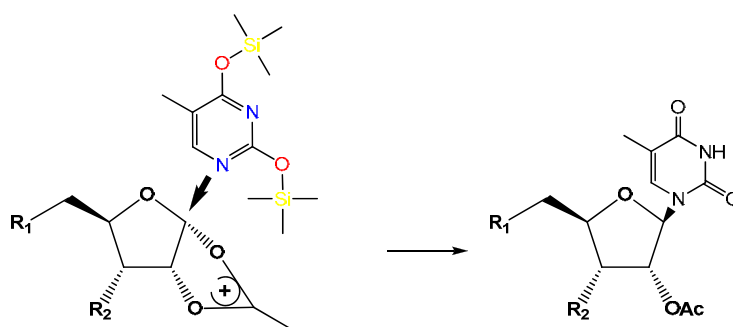
Ο μηχανισμός της αντίδρασης της συμπύκνωσης με διαφορετικές μεθόδους, όπως συγχώνευση (Sato *et al.* 1960, Sato *et al.* 1961), σιλυλίωση (Ishido 1964, Hosono *et al.* 1973, Watanabe *et al.* 1974) κ.λ.π., αποτέλεσε το θέμα αρκετών δημοσιεύσεων.

Έτσι στην περίπτωση των νουκλεοζιτών που θα συντεθούν στην παρούσα ενότητα και με βάση τις μελέτες, οι οποίες σχετίζονται με τους μηχανισμούς αυτής της συμπύκνωσης [κυρίως εκείνες που αφορούν στην επιρροή του καταλύτη (οξύ κατά Lewis) για τα ληφθέντα ανωμερή προϊόντα], έχει υιοθετηθεί η υπόθεση των Vorbruggen και Hofle (Vorbruggen and Hofle 1981). Πράγματι, σύμφωνα με αυτούς τους ερευνητές, η συγκεκριμένη αντίδραση περιλαμβάνει αρχικά το σχηματισμό ενός κατιονικού ενδιάμεσου στον ανωμερικό άνθρακα του σακχάρου (Σχήμα 30).



Σχήμα 30

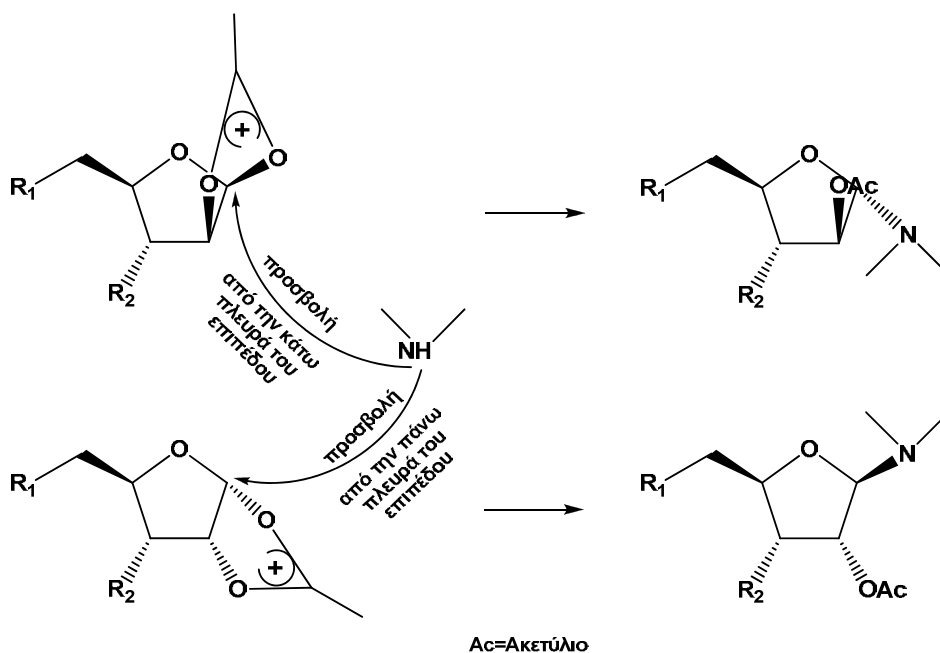
Το καρβοκατιόν δέχεται έπειτα προσβολή από το πιο πυρηνόφιλο άζωτο της βάσης (Σχήμα 31). Η διαμεσολάβηση του συγκεκριμένου ενδιάμεσου καρβοκατιόντος υποχρεώνει τη βάση να προσβάλλει το κατιόν από την αντίθετη πλευρά με αποτέλεσμα τον αποκλειστικό σχηματισμό του β-ανωμερούς.



Ac=Ακετύλιο

Σχήμα 31

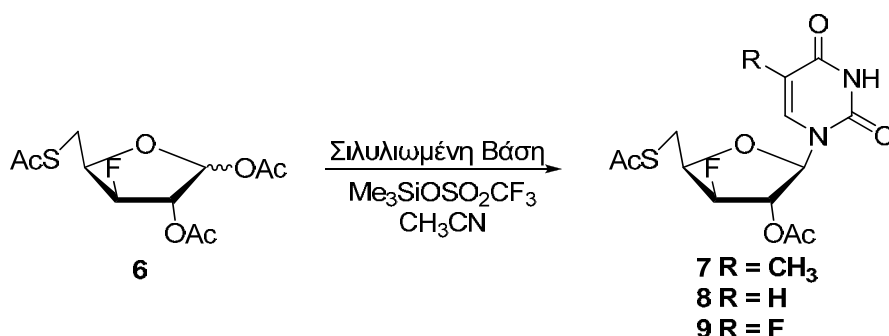
Τέλος, πολύ σημαντικός είναι και ο ρόλος του υποκαταστάτη στον άνθρακα C-2', ο οποίος προσανατολίζει την πορεία προσβολής της βάσης (Σχήμα 32) σε θέση *trans* ως προς το 2'-OAc.



Σχήμα 32

3'-Δεοξυ-3'-φθορο-5'-S-ακετυλο-5'-θειο-β-D-ξυλοφουρανουκλεοζιτικά ανάλογα της θυμίνης, της ουρακίλης και της 5-φθοροουρακίλης

Το τελικό στάδιο της συνθετικής πορείας για την παρασκευή των επιθυμητών 3'-φθορο-5'-S-ακετυλο-5'-θειο-β-D-ξυλοφουρανουκλεοζιτικών αναλόγων της θυμίνης, της ουρακίλης και της 5-φθοροουρακίλης, είναι όπως προαναφέρθηκε, η σύζευξη των βάσεων με το κατάλληλο σάκχαρο **6**. Συνεπώς, η σύζευξη της σιλυλιωμένης θυμίνης με το σάκχαρο **6** σε διαλύτη CH₃CN, παρουσία του τριφθορομεθανοσουλφονικού τριμεθυλοσιλυλεστέρα (Me₃SiOSO₂CF₃), ως καταλύτου, (Niedballa and Vorbruggen 1974, Milecki 1999), οδηγεί στον β-ανωμερικό νουκλεοζίτη, 1-(3'-δεοξυ-3'-φθορο-5'-S-ακετυλο-5'-θειο-β-D-ξυλοφουρανοζυλο)θυμίνη (**7**) (Σχήμα 33), ο οποίος λαμβάνεται σε απόδοση 56%. Με παρόμοια συνθετική διαδικασία προκύπτουν και τα επιθυμητά νουκλεοζιτικά ανάλογα της ουρακίλης (**8**) και της 5-φθοροουρακίλης (**9**) (Σχήμα 33), τα οποία λαμβάνονται σε απόδοση 51% και 55%, αντίστοιχα.

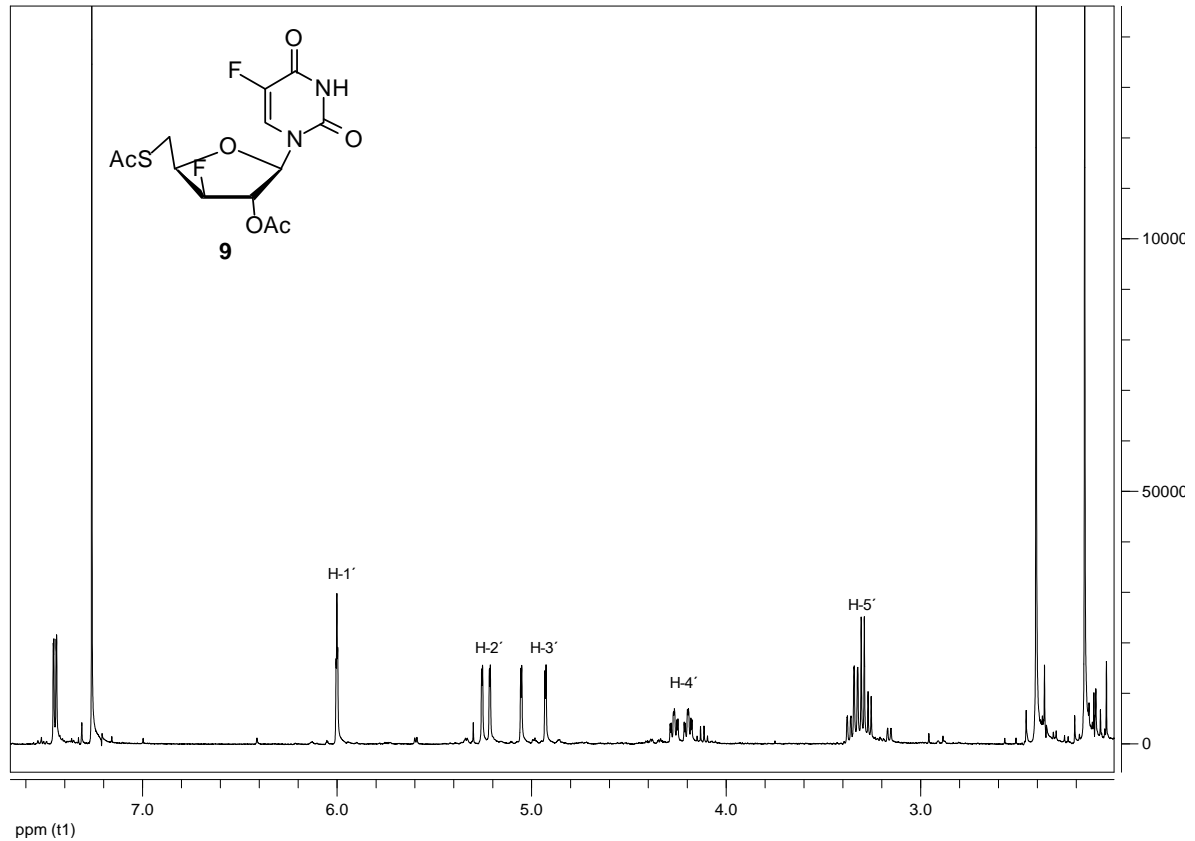


Σχήμα 33

Εξετάζοντας τα φάσματα $^1\text{H-NMR}$ των 3'-δεοξυ-3'-φθορο-5'-S-ακετυλο-5'-θειο-β-D-ξυλοφουρανονουκλεοζιτικών αναλόγων, της θυμίνης (**7**) και της ουρακίλης (**8**), προκύπτει ότι οι διπλές κορυφές που εμφανίζονται στα 6.06 ppm και 6.03 ppm αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-1' των δακτυλίων των σακχάρων των αναλόγων **7** και **8** με σταθερά σύζευξης $J_{1',2'} = 2.2$ Hz και $J_{1',2'} = 2.0$ Hz, αντίστοιχα. Ακολουθούν οι κορυφές των πρωτονίων H-2' στα 5.23 ppm και 5.24 ppm, για κάθε ανάλογο αντίστοιχα, ενώ τα χαρακτηριστικά σήματα των πρωτονίων H-3' εμφανίζονται στα 4.99 ppm και 4.97 ppm ως κορυφές διπλές-διπλών, με σταθερές σύζευξης $J_{3',F} = 50.2$ Hz και $J_{3',4'} = 2.3$ Hz για την ένωση **7**, και $J_{3',F} = 50.0$ Hz και $J_{3',4'} = 2.2$ Hz, για την ένωση **8**. Τέλος, εμφανίζονται οι κορυφές των πρωτονίων H-4', H-5'α και H-5'β του σακχάρου, στο φάσμα του κάθε αναλόγου. Χαρακτηριστικά είναι τα σήματα των πρωτονίων των μεθυλίων των θειακετυλίων, τα οποία παρουσιάζονται στα 2.40 ppm και για τις δύο ενώσεις, **7** και **8**, καθώς και οι κορυφές των πρωτονίων των μεθυλίων των ακετυλίων, τα οποία εμφανίζονται στα 2.14 ppm για την ένωση **7** και στα 2.15 ppm για την ένωση **8**.

Το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του νουκλεοζίτη, 1-(3'-δεοξυ-3'-φθορο-5'-S-ακετυλο-5'-θειο-β-D-ξυλοφουρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλη (**9**), απεικονίζεται στο σχήμα 34. Από τη μελέτη του συγκεκριμένου φάσματος προκύπτει ότι μία κορυφή διπλή-διπλών στα 6.01 ppm, αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-1' του δακτυλίου του σακχάρου με σταθερά σύζευξης $J_{1',2'} = 1.9$ Hz και $J_{1',F5} = 1.7$ Hz, ενώ η κορυφή που εμφανίζεται στα 5.23 ppm αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-2'. Χαρακτηριστική είναι η κορυφή που αναφέρεται στο πρωτόνιο H-3', η οποία εμφανίζεται στα 4.98 ppm ως διπλή-διπλών με σταθερές σύζευξης $J_{3',4'} = 2.2$ Hz και $J_{3',F} = 50.0$ Hz. Τέλος, τα δύο σήματα που παρουσιάζονται ως

δύο πολλαπλές κορυφές στην περιοχή των 4.16-4.28 ppm και 3.25–3.37 ppm αναφέρονται στα πρωτόνια H-4', H-5'α και H-5'β αντίστοιχα, του υδατανθρακικού δακτυλίου. Τα σήματα των πρωτονίων της ακετυλο- και της θειακετυλομάδας παρουσιάζονται στα 2.15 και 2.40 ppm, αντίστοιχα.



Σχήμα 34

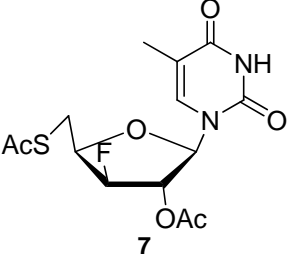
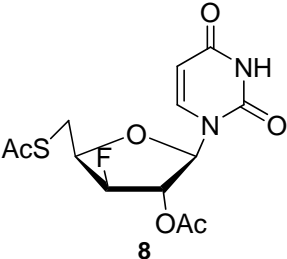
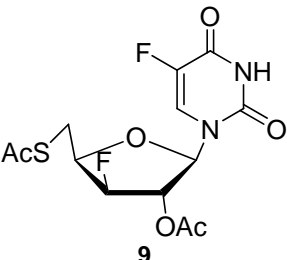
Αντιική και αντικαρκινική δράση των φθοριωμένων θειο-ξυλοφουρανονουκλεοζιτών της θυμίνης, της ουρακίλης και της 5-φθοροουρακίλης

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

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν ως προς την αντιική δράση των εξεταζόμενων μορίων **7**, **8** και **9** έναντι του εντεροϊού, απεικονίζονται στον πίνακα 2 και συγκρίνονται ως προς τη 1-(3-αζιδο-2,3-διδεσοξυ-1β-D-ριβοφουρανοζυλο)θυμίνη ή 3'-αζιδο-3'-δεσοξυθυμιδίνη (AZT).

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 2, και οι τρεις παραπάνω ενώσεις παρουσίασαν σαφώς καλύτερες τιμές IC_{50} , σε σύγκριση με το AZT, κατά τη διαδικασία της εξουδετέρωσης του ιού. Την υψηλότερη τιμή IC_{50} , κατά τη διαδικασία της εξουδετέρωσης του ιού πριν την πρόσδεσή του στην επιφάνεια των κυττάρων, εμφάνισε η ένωση **7** ($IC_{50} = 0.002$ mg/mL έναντι 0.02 mg/mL του AZT). Η τιμή IC_{50} του προϊόντος **7**, όσον αφορά στην εξουδετέρωση του ιού πριν την πρόσδεσή του, ήταν κατά τρεις φορές μικρότερη από αυτή των ενώσεων **8** και **9** ($IC_{50} \sim 0.006$ mg/mL). Επιπλέον, το προϊόν **7** παρουσίασε την καλύτερη εκλεκτική δράση έναντι του ιού, καθώς η αντίστοιχη τιμή CC_{50}/IC_{50} πλησιάζει τη βέλτιστη που απαιτείται για το επιθυμητό αποτέλεσμα. Σημαντικό είναι επίσης το γεγονός ότι όλα τα εξετασθέντα μόρια αναστέλλουν, σε συγκρίσιμο με το AZT βαθμό, τη μολυσματικότητα από εντεροϊό, καθώς παρατηρήθηκε αυξημένη αναστολή της μολυσματικότητας του ιού μετά την πρόσδεσή του στην επιφάνεια των κυττάρων Caco-2.

Πίνακας 2. Αντιική δράση των προϊόντων **7**, **8**, **9** και του **AZT** έναντι του εντεροϊού στελέχους RF (IC₅₀).

Προϊόν	Κατεργασία A*			Κατεργασία B*		
	IC ₅₀ mg/mL	IC ₅₀ μM	CC ₅₀ /IC ₅₀ **	IC ₅₀ mg/mL	IC ₅₀ μM	CC ₅₀ /IC ₅₀
 7	0.002	5.55	10	0.006	16.65	3.33
 8	0.006	17.32	3.33	0.006	17.32	3.33
 9	0.006	16.47	3.33	0.006	16.47	3.33
AZT	0.020	74.84	0.75***	0.006	22.45	2.5

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

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

**Οι τιμές CC₅₀/IC₅₀ υπολογίστηκαν σύμφωνα με τις τιμές CC₅₀ του πίνακα 2

***Η τιμή CC₅₀ για το AZT στα κύτταρα Caco-2 = 56,1 μM

Εκτός, όμως, από τις αντιικές ιδιότητες των νέων μορίων, **7**, **8** και **9**, μελετήθηκε επίσης και η αντιπολλαπλασιαστική και κυτταροτοξική τους δράση σε διαφορετικές κυτταρικές σειρές (Πίνακας 3). Οι φθοριωμένοι θειοξυλοφουρανονουκλεοζίτες **7**, **8** και **9** εξετάστηκαν ως προς την κυτταροτοξική τους δράση σε φυσιολογικά ανθρώπινα εντερικά κύτταρα (H4, control κυτταρική σειρά), σε κύτταρα αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου (Caco-2), του μελανώματος του δέρματος και του καρκινώματος του στήθους (MCF-7). Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τους παραπάνω ελέγχους

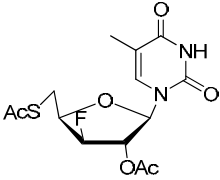
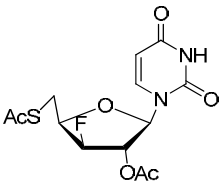
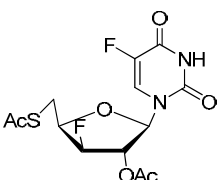
παρουσιάζονται στον πίνακα 3 και συγκρίνονται με αυτά, τα οποία ελήφθησαν για την ένωση 5-φθοροουρακίλη (5-FU).

Όλες οι εξετασθείσες ενώσεις παρουσίασαν καλύτερη κυτταροτοξική δράση έναντι των παραπάνω καρκινικών σειρών από ότι στη φυσιολογική κυτταρική σειρά H4, με εξαίρεση την ένωση **7**, η οποία αποδείχθηκε 2 φορές πιο τοξική στα κύτταρα μελανώματος του δέρματος και καρκινώματος του στήθους (MCF-7) σε σχέση με τη φυσιολογική κυτταρική σειρά H4. Οι ενώσεις **8** και **9** παρουσίασαν υψηλή εκλεκτικότητα έναντι συγκεκριμένων καρκινικών κυτταρικών σειρών. Σε σύγκριση με την 5-FU, οι νέες ενώσεις εμφανίστηκαν 2.5 φορές πιο εκλεκτικές στα κύτταρα Caco-2, ενώ παρουσίασαν τον ίδιο βαθμό εκλεκτικότητας με την 5-FU στα κύτταρα μελανώματος του δέρματος και στα κύτταρα MCF-7 (βλ. τιμές TSI). Ωστόσο, το προϊόν **9** δεν παρουσίασε ιδιαίτερη εκλεκτική δράση έναντι των κυττάρων MCF-7.

Γενικά όλες οι νέες ενώσεις παρουσίασαν καλύτερη κυτταροτοξική δράση στα καρκινικά κύτταρα από ότι στη φυσιολογική κυτταρική σειρά H4, ενώ σε σύγκριση με την ένωση 5-FU, όλα τα ανάλογα αποδείχθηκε ότι είναι πιο κυτταροτοξικά έναντι όλων των καρκινικών κυττάρων. Επίσης, ορισμένα προϊόντα παρουσιάζουν εκλεκτική δράση έναντι συγκεκριμένων καρκινικών κυτταρικών σειρών. Έχει πρόσφατα αναφερθεί (Matsuda and Sasaki 2004) ότι ο μηχανισμός της ανασταλτικής δράσης, ιδιαίτερα στα ένζυμα των καρκινικών κυττάρων, δεν είναι πάντα ο ίδιος, ακόμη και μεταξύ νουκλεοζιτικών αντιμεταβολιτών που έχουν την ίδια νουκλεοβάση.

Τέλος, μετρήθηκε η αναστολή του πολλαπλασιασμού των κυττάρων Caco-2 που προκαλούν τα νέα μόρια, προσδιορίζοντας την ελάχιστη συγκέντρωση αναστολής, IC_{50} . Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στην τελευταία στήλη του πίνακα 3 και συγκρίνονται με αυτά της 5-FU. Είναι εμφανές ότι η ένωση **7** ($IC_{50} = 1.9 \mu M$) παρουσίασε παρόμοια ανασταλτική δράση ανάπτυξης με την 5-FU ($IC_{50} = 1.5 \mu M$), αλλά 4 φορές χαμηλότερη εκλεκτικότητα έναντι των συγκεκριμένων καρκινικών κυτταρικών σειρών (βλ. τιμές TSI). Σημαντική, όμως, ήταν και η ανασταλτική δράση που εμφάνισαν τα ανάλογα **8** και **9** ($IC_{50} = 5.8 \mu M$, $IC_{50} = 16.5 \mu M$).

Πίνακας 3. Κυτταροτοξική δράση (CC_{50} , μM) των ενώσεων **7**, **8**, **9** και της 5-φθοροουρακίλης (5 FU) έναντι των κυττάρων H4, Caco-2, μελανώματος του δέρματος και MCF-7, και αναστολή του πολλαπλασιασμού (IC_{50} , μM) των κυττάρων Caco-2.

Προϊόν	Κυτταροτοξική δράση (CC_{50} , μM)				TSI*			Αναστολή πολλαπλασιασμού (IC_{50} , μM)
	H4	Caco-2	Μελά-Νωμα	MCF-7	Caco-2	Μελά-νωμα	MCF-7	Caco-2
 7	138.7	55.5	277.5	277.5	2.5	0.5	0.5	1.9
 8	1443.7	57.8	17.3	288.7	25	83.5	5	5.8
 9	1372.4	54.9	16.5	1372.4	25	83.2	1	16.5
5FU	3843.8	384.4	46.1	768.8	10	83.4	5	1.5

*TSI: Εκλεκτικότητα (CC_{50} στα κύτταρα H4/ CC_{50} σε συγκεκριμένα κύτταρα-ξενιστές)

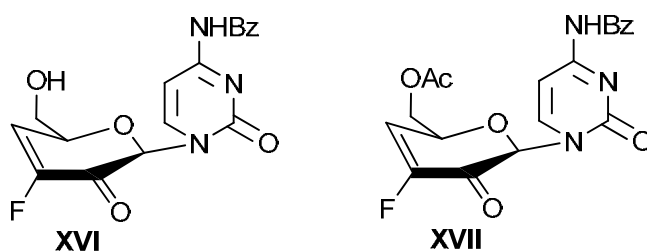
Από την άλλη πλευρά, αν και οι ενώσεις **8** και **9** παρουσιάστηκαν ικανές να αναστέλλουν την ανάπτυξη των κυττάρων, παρόλο που το αποτέλεσμα ήταν λιγότερο άμεσο από αυτό της 5-FU, εμφάνισαν υψηλότερη εκλεκτικότητα για τα καρκινικά κύτταρα, καθώς οι αντίστοιχες τιμές TSI είναι 2.5 φορές υψηλότερες από αυτές της 5-FU.

Συμπερασματικά, μεταξύ των νέων φθοροθειονουκλεοζιτών **7**, **8** και **9**, η ένωση **7** εμφανίστηκε να είναι ισχυρός αναστολέας του εντεροϊού με ισχυρότερη αντιική δράση από το AZT. Φαίνεται ότι η παρουσία της θυμίνης στην ένωση **7** αυξάνει τη δράση του μορίου και επιπλέον η ύπαρξη της προστατευτικής ομάδας στην 5'-θέση του σακχάρου την καθιστά ακόμη πιο ισχυρό αναστολέα της σύνθεσης του DNA του ιού. Επίσης, το ανάλογο **7** μπορεί να θεωρηθεί ένωση-οδηγός για την ανάπτυξη αντι-εντεροϊικών φαρμάκων, α) δρώντας ως αναστολέας της μολυσματικότητας μετά από την πρόσδεση του ιού και β) εξουδετερώνοντας τον ιό στο διάλυμα, πριν από την πρόσδεσή του στην επιφάνεια των κυττάρων, ενώ σε σύγκριση με το AZT, αποδείχθηκε ότι παρουσιάζει την καλύτερη εκλεκτική δράση έναντι του ιού, καθώς η αντίστοιχη τιμή CC_{50}/IC_{50} προσεγγίζει τη βέλτιστη που απαιτείται για το καλύτερο δυνατό αποτέλεσμα. Θα πρέπει να τονιστεί ότι τα νέα μόρια **7**, **8** και **9** αποδείχθηκε ότι αποτελούν εν δυνάμει αντι-αδενοκαρκινικούς παράγοντες, ενώ οι ενώσεις **8** και **9** εμφάνισαν την υψηλότερη εκλεκτικότητα έναντι των συγκεκριμένων καρκινικών κυτταρικών σειρών. Τέλος, αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι όλα τα εξεταζόμενα προϊόντα είχαν καλύτερη κυτταροτοξική δράση από την 5-FU.

ΦΘΟΡΟ-6΄-ΘΕΙΟ-ΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ

Από τις βιολογικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στους νέους 5΄-θειο-φθορονουκλεοζίτες, αποδείχθηκε ότι ο νέος νουκλεοζίτης της θυμίνης **7**, εμφανίζεται ως ισχυρός αναστολέας του εντεροϊού με ισχυρότερη αντιική δράση από το AZT, ενώ, όπως προαναφέρθηκε, αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι όλα τα νέα προϊόντα αποτελούν εν δυνάμει αντι-αδενοκαρκινικούς παράγοντες και έχουν καλύτερη κυτταροτοξική δράση από την 5-FU. Επιπλέον, από τις μελέτες επί των νέων 5΄-θειο-φθορονουκλεοζιτών, προκύπτει ότι σημαντικό ρόλο θα πρέπει να παίζει και η παρουσία της νουκλεοβάσης, η οποία είναι διαφορετική σε κάθε νέο μόριο, με αποτέλεσμα την εκδήλωση διαφορετικής βιολογικής δραστηριότητας.

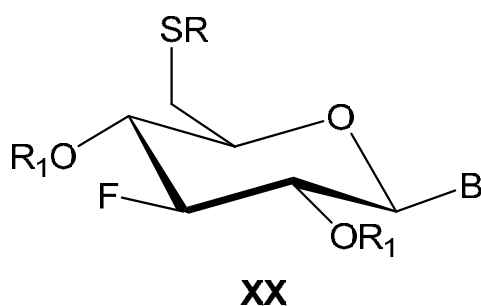
Τις τελευταίες δεκαετίες, νουκλεοζίτες με τροποποιημένους εξαμελείς υδατανθρακικούς δακτυλίους έχουν αξιολογηθεί για τις πιθανές αντιικές, αντικαρκινικές και αντιβιοτικές τους ιδιότητες. Ειδικότερα, από βιολογικές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε πυρανονουκλεοζίτες, οι οποίοι συντέθηκαν στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας&Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (Manta *et al.* 2007, Manta *et al.* 2009, Manta *et al.* 2008), προκύπτει το συμπέρασμα ότι οι κετο-φθοροπυρανονουκλεοζίτες που φέρουν μία προστατευτική ομάδα στην 6΄-θέση του σακχάρου, εμφανίστηκαν να είναι πιο αποτελεσματικοί αντικαρκινικοί και αντιικοί παράγοντες. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η ένωση **XVII**, την οποία, η ύπαρξη της προστατευτικής ομάδας στην 6΄-θέση του σακχάρου, την καθιστά πιο δραστικό αναστολέα της σύνθεσης του DNA του ιού Pseudorabies σε σχέση με την ένωση **XVI** που φέρει ελεύθερο πρωτοταγές υδροξύλιο.



Σχήμα 35

Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι νουκλεοζίτες, των οποίων το ελεύθερο πρωτοταγές υδροξύλιο έχει αντικατασταθεί από μία μερκαπτομάδα, είναι συχνά ισχυροί αναστολείς της υδρολάσης της S-αδενοσυλ-L-ομοκυστεΐνης (AdoHcy) και παρουσιάζουν αξιόλογη αντιική δράση, διακόπτοντας βασικές μεθυλιώσεις των ιικών μακρομορίων (De Clercq 2002, Liu *et al.* 1992). Η αναστολή τέτοιων βιοχημικών διεργασιών, σε συνδυασμό με την ενδιαφέρουσα αντιική δράση, που παρουσιάζουν νουκλεοζιτικά δισουλφίδια, έχει οδηγήσει σε πολλούς βιοδραστικούς παράγοντες, βασισμένους στα νουκλεοζιτικά παράγωγα, με ιδιαίτερο ενδιαφέρον στη σύνθεση θειονουκλεοζιτικών αναλόγων και νουκλεοζιτικών δισουλφιδίων.

Οι ενδιαφέρουσες αυτές παρατηρήσεις, σε συνδυασμό με το γεγονός ότι νουκλεοζίτες με τροποποιημένους εξαμελείς υδατανθρακικούς δακτυλίους έχουν αξιολογηθεί για τις πιθανές αντιικές, αντικαρκινικές και αντιβιοτικές τους ιδιότητες, αποτέλεσαν το έναυσμα για τη σύνθεση μιας νέας σειράς 6'-θειο-φθοροπυρανονουκλεοζιτών και ειδικότερα των 6'-S-ακετυλο-6'-θειο- και 6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων (δομές **XX**, ενώσεις **14α-ε,η-λ** και **16α-γ,στ,ζ**, Σχήμα 36).



14α-ε, 14η-λ

B = Πυριμιδίνη ή Πουρίνη,
R = R₁ = Ac = Ακετύλιο

16α-γ,στ,ζ

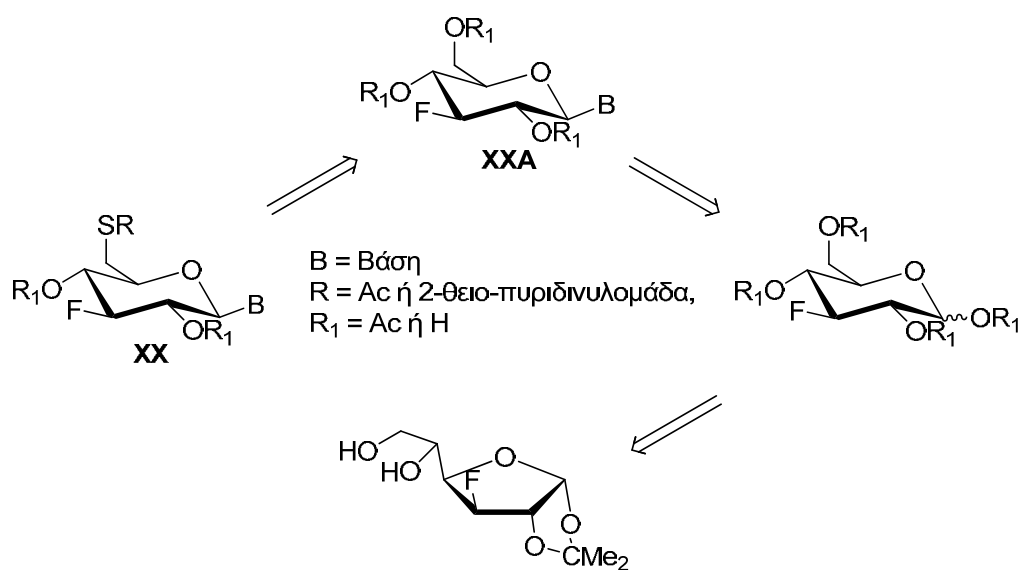
B = Πυριμιδίνη ή Πουρίνη,
R₁ = H
R = 2-θειο-πυριδινυλομάδα

Σχήμα 36

Από τις δύο νέες σειρές των 6'-θειο-φθοροπυρανονουκλεοζιτών, οι 6'-S-ακετυλο-6'-θειο-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζίτες διαθέτουν: α) φθόριο στη 3'-θέση του σακχάρου β) θείο στη 6'-θέση του σακχάρου και γ) πυριμιδίνη [θυμίνη (**14α**), ουρακίλη (**14β**), 5-φθοροουρακίλη (**14γ**), N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (**14δ**), 5-ιωδοουρακίλη (**14η**)] ή πουρίνη [N⁶-

βενζοϋλοαδενίνη (**14ε**), θεοφυλλίνη (**14θ**), 6-χλωροπουρίνη (**14ι**), 6-μερκαπτοπουρίνη (**14κ**), υποξανθίνη (**14λ**)] ως ετεροκυκλική βάση, ενώ οι 6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζίτες: α) φθόριο στη 3'-θέση του σακχάρου β) θειοπυριδυνλική ομάδα στη 6'-θέση του σακχάρου και γ) πυριμιδίνη [θυμίνη (**16α**), ουρακίλη (**16β**), 5-φθοροουρακίλη (**16γ**), κυτοσίνη (**16στ**)] ή πουρίνη [αδενίνη (**16ζ**)] ως ετεροκυκλική βάση.

Οι ρετροσυνθετικές προσεγγίσεις που ακολουθήθηκαν για την παρασκευή τόσο των 6'-S-ακετυλο-6'-θειο- όσο και των 6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων, περιγράφονται στο σχήμα 37. Όπως φαίνεται από τη ρετροσύνθεση του σχήματος 37, οι κομβικές ενώσεις που οδηγούν στα επιθυμητά 6'-S-ακετυλο-6'-θειο-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα, είναι οι φθοριωμένοι γλυκοπυρανονουκλεοζίτες των αντίστοιχων ετεροκυκλικών βάσεων (δομές **XXA**).

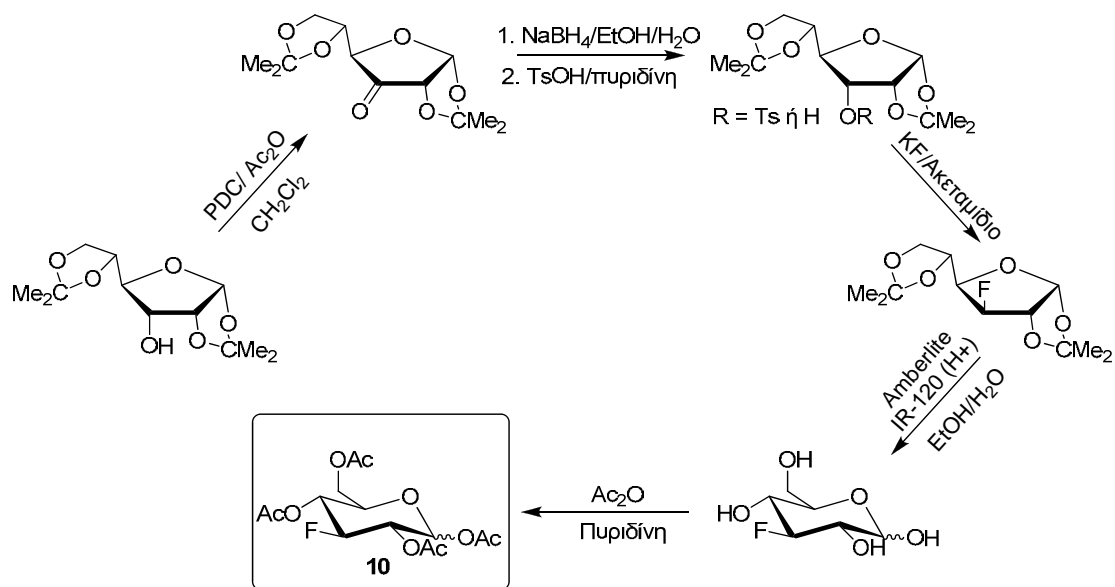


Σχήμα 37

Όσον αφορά στη σύνθεση των 6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων, κομβικές ενώσεις αποτελούν οι νέοι 6'-S-ακετυλο-6'-θειο-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζίτες (δομές **XX**, ενώσεις **14α-ε**).

2',4'-Δις-Ο-ακετυλο-6'-S-ακετυλο-6'-θειο-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονου-κλεοζιτικά ανάλογα πυριμιδινών και πουρινών

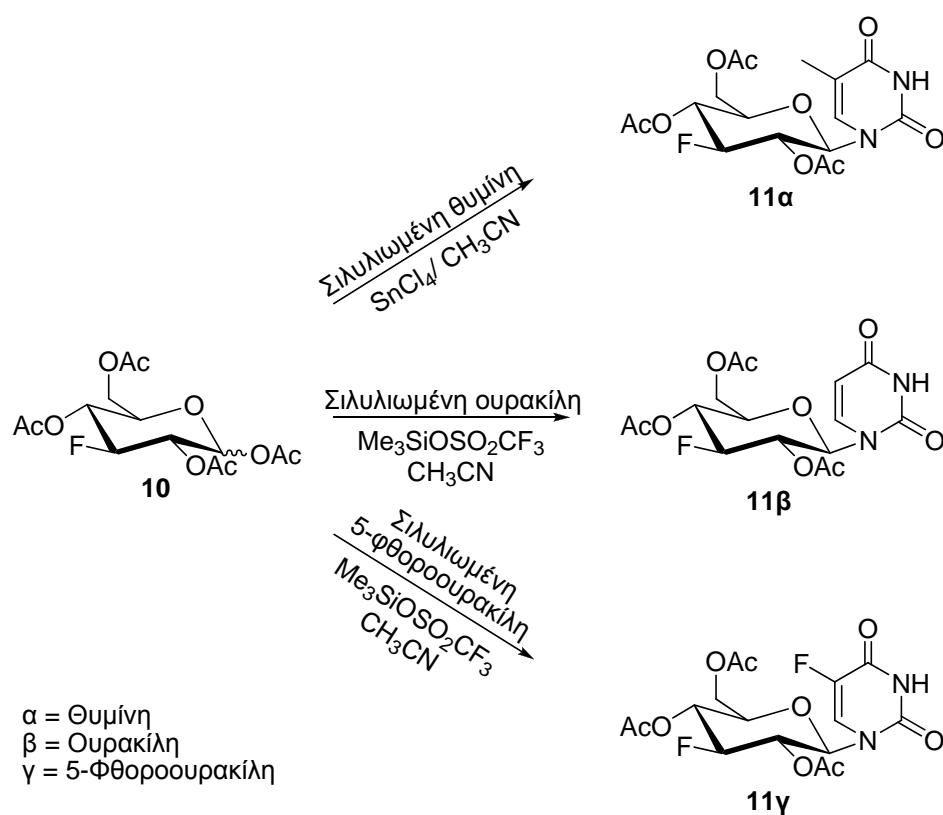
Αξιοποιώντας την διαθεσιμότητα του σακχάρου 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2,4,6-τετρακίς-Ο-ακετυλογλυκοπυρανόζη (**10**) (Σχήμα 38), το οποίο έχει συντεθεί στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, η συνθετική διαδικασία που ακολουθήθηκε για την παρασκευή των επιθυμητών φθοριωμένων 2',4'-δις-Ο-ακετυλο-6'-S-ακετυλο-6'-θειονουκλεοζιτών των πυριμιδινών (θυμίνη, ουρακίλη, 5-φθοροουρακίλη, N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη) και της πουρίνης (N⁶-βενζοϋλοαδενίνη) (δομή **XX**, ενώσεις **14α-ε**, Σχήμα 36), περιλαμβάνει ως πρώτη ύλη το συγκεκριμένο σάκχαρο. Η σύνθεση της ένωσης **10** έχει ήδη περιγραφεί, και παρακάτω φαίνεται ένα συνοπτικό σχήμα της συνθετικής πορείας που ακολουθήθηκε (Σχήμα 38).



Σχήμα 38

Συνεπώς, το πρώτο βήμα της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει τη σύζευξη κάθε σιλυλιωμένης ετεροκυκλικής βάσης, θυμίνης, ουρακίλης και 5-φθοροουρακίλης, με το σάκχαρο **10** σε διαλύτη CH₃CN, παρουσία του χλωριούχου κασσιτέρου (SnCl₄) ως καταλύτη (Vorbruggen and Hofle 1981) στην περίπτωση της θυμίνης και του τριφθορομεθανοσουλφονικού τριμεθυλοσιλυλεστέρα (Me₃SiOSO₂CF₃) ως καταλύτη (Niedballa and

Vorbruggen 1974, Milecki 1999) στις περιπτώσεις της ουρακίλης και της 5-φθοροουρακίλης. Οι αντιδράσεις συμπύκνωσης οδηγούν στους β-ανωμερικούς νουκλεοζίτες (Σχήμα 39), 1-(3'-δεοξυ-3'-φθορο-2',4',6'-τρις-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)θυμίνη (**11α**), ο οποίος λαμβάνεται σε απόδοση 72%, 1-(3'-δεοξυ-3'-φθορο-2',4',6'-τρις-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)ουρακίλη (**11β**), ο οποίος παραλαμβάνεται σε απόδοση 74%, και 1-(3'-δεοξυ-3'-φθορο-2',4',6'-τρις-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλη (**11γ**), ο οποίος λαμβάνεται σε απόδοση 70%.



Σχήμα 39

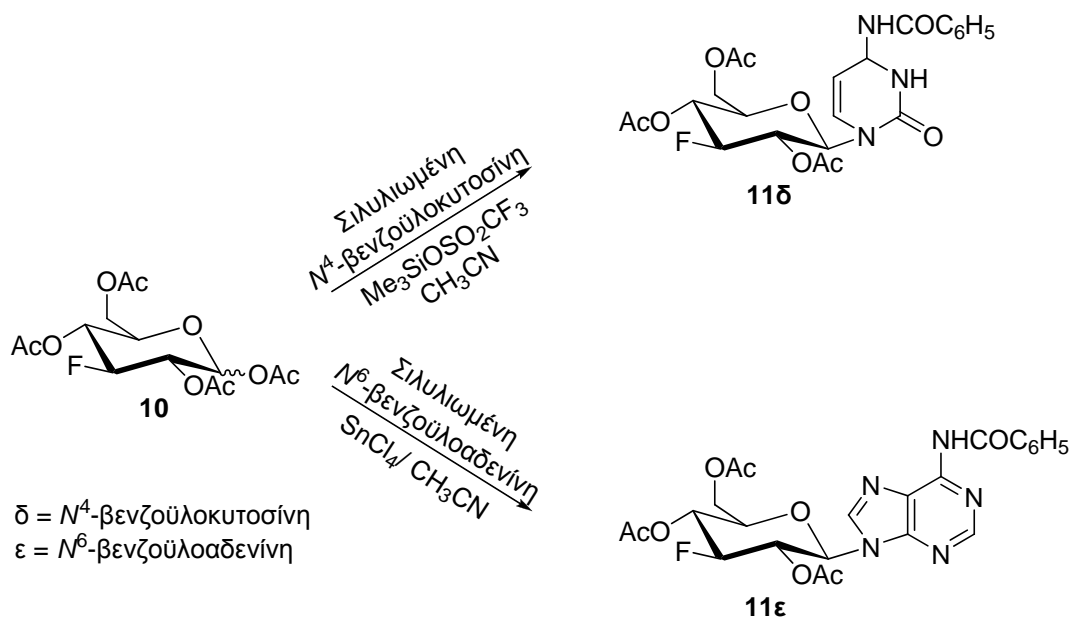
Από την μελέτη των φασμάτων $^1\text{H-NMR}$ των ενώσεων **11α-γ**, προκύπτει το συμπέρασμα ότι οι συγκεκριμένοι νουκλεοζίτες φέρουν τη β-απεικόνιση. Αυτό επιβεβαιώνεται από τις υψηλές τιμές των σταθερών σύζευξης $J_{1',2'}$, $J_{2',3'}$, καθώς και των $J_{3',4'}$, όπως εξάλλου αναμενόταν. Τα αποτελέσματα από την εξέταση των φασμάτων φαίνονται στον πίνακα 4.

Πίνακας 4. Ανάλυση φασμάτων ^1H NMR των ενώσεων **11α-γ**

Προϊόν	H-1'	H-2'- H-4'	H-3'	H-6'α, 6'β	H-5'	Άλλα Σήματα
11α^α	5.78 (d), $J_{1',2'}=9.6$ Hz	5.33-5.22 (m)	4.73 (dtr), $J_{3',2'}=9.1$ Hz, $J_{3',4'}=9.0$ Hz, $J_{F,3'}=51.8$ Hz	4.30-4.12 (m)	3.85-3.80 (m)	8.20 (br s, NH), 7.26 (s, 1H, H-6), 2.15, 2.10 και 2.08 (3s, 9H, 3OAc), 1.97 (s, 5-CH ₃)
11β^α	5.79 (d), $J_{1',2'}=9.6$ Hz	5.30-5.22 (m)	4.74 (dtr), $J_{3',2'}=9.1$ Hz, $J_{3',4'}=9.0$ Hz, $J_{F,3'}=51.7$ Hz	4.30-4.11 (m)	3.83-3.78 (m)	8.50 (br s, NH), 7.35 (d, $J_{6,5}=8.2$ Hz, H-6), 5.84 (d, H-5) , 2.14, 2.10 και 2.08 (3s, 9H, 3OAc)
11γ^α	5.78 (d), $J_{1',2'}=9.5$ Hz	5.33-5.19 (m)	4.75 (dtr), $J_{3',2'}=9.1$ Hz, $J_{3',4'}=9.0$ Hz, $J_{F,3'}=51.7$ Hz	4.29-4.13 (m)	3.85-3.79 (m)	8.20 (br s, NH), 7.46 (d, $J_{6,5F}=5.6$ Hz, H-6), 2.15, 2.11 και 2.09 (3s, 9H, 3OAc)

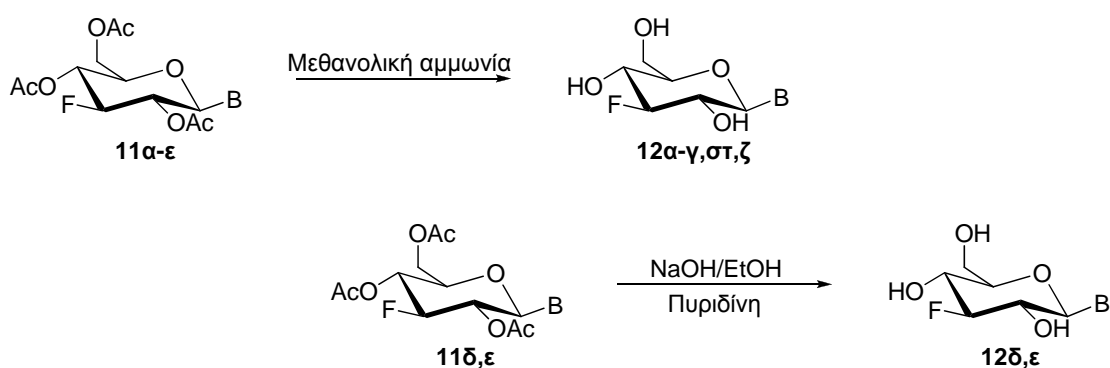
^α CDCl₃

Οι αρχικοί νουκλεοζίτες, 1-(3'-δεοξυ-3'-φθορο-2',4',6'-τρις-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (**11δ**) (Σχήμα 40) και 9-(3'-δεοξυ-3'-φθορο-2',4',6'-τρις-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N⁶-βενζοϋλοαδενίνη (**11ε**) (Σχήμα 40) λαμβάνονται από τη σύζευξη του σακχάρου **10** σε διαλύτη CH₃CN, με τις σιλυλιωμένες βάσεις, N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη και N⁶-βενζοϋλοαδενίνη, παρουσία του Me₃SiOSO₂CF₃ (Niedballa and Vorbruggen 1974, Milecki 1999) και παρουσία του SnCl₄ (Vorbruggen and Hofle 1981) ως καταλύτες, αντίστοιχα. Η συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία έχει ήδη περιγραφεί λεπτομερώς (Manta *et al.* 2007, Manta *et al.* 2008).



Σχήμα 40

Στη συνέχεια, η απακετυλίωση των ενώσεων **11α-ε** (Σχήμα 41) πραγματοποιείται με κατεργασία με μεθανολική αμμωνία (Neilson and Werstiuk 1971), οπότε τα πλήρως αποπροστατευμένα παράγωγα **12α-γ,στ,ζ** λαμβάνονται σε άριστη απόδοση. Η εκλεκτική αποπροστασία των ενώσεων **11δ,ε** πραγματοποιείται με τη χρήση υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) σε EtOH-πυριδίνη (Milecki *et al.* 2001), οπότε τα βενζοϋλιωμένα παράγωγα **12δ,ε** λαμβάνονται επίσης σε άριστη απόδοση (90%).



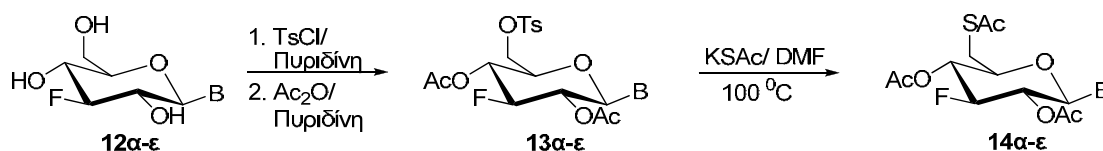
B = Βάση, α = Θυμίνη, β = Ουρακίλη, γ = 5-Φθοροουρακίλη, δ = N^4 -βενζοϋλοκυτοσίνη,
 ε = N^6 -βενζοϋλοαδερίνη, στ = Κυτοσίνη, ζ = Αδερίνη

Σχήμα 41

Η απακετυλίωση των νουκλεοζιτών **11δ,ε** λαμβάνει χώρα υπό ήπιες συνθήκες, στους 0 °C για 30 λεπτά, ενώ αμέσως ακολουθεί εξουδετέρωση με

όξινη ρητίνη Amberlite IR-120 (H⁺), έτσι ώστε να διακοπεί η αντίδραση, και να μείνει ανεπηρέαστο το αμίδιο της βάσης. Ειδικότερα, η εκλεκτική αποπροστασία των ενώσεων **11δ,ε** έχει περιγραφεί αναλυτικά (Manta *et al.* 2007, Manta *et al.* 2008).

Έπειτα από την απακετυλίωση των νουκλεοζιτών **11α-ε**, ακολουθεί η εκλεκτική προστασία του πρωτοταγούς ελεύθερου υδροξυλίου των μορίων **12α-ε** (Σχήμα 42). Συγκεκριμένα, το υδροξύλιο στην 6'-θέση του σακχάρου προστατεύεται ως τοζυλεστέρας, κατόπιν αντίδρασης με *p*-TsCl παρουσία πυριδίνης (Foster *et al.* 1967). Στη συνέχεια, με κατευθυνόμενη ακετυλίωση των ελεύθερων υδροξυλίων στις θέσεις C-2' και C-4' παρουσία Ac₂O σε πυριδίνη, προκύπτουν τα επιθυμητά ακετυλιωμένα 6'-Ο-τολουολοσουλφονυλο-παράγωγα **13α-ε**, τα οποία λαμβάνονται σε απόδοση περίπου 60%.



B = Βάση, α = Θυμίνη, β = Ουρακίλη, γ = 5-Φθοροουρακίλη, δ = N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη, ε = N⁶-βενζοϋλοαδερίνη

Σχήμα 42

Τέλος, η αντικατάσταση του τοζυλίου των ενώσεων **13α-ε** (Σχήμα 42) από το θειοακετύλιο πραγματοποιείται με επίδραση KSAc σε διαλύτη DMF στους 100 °C (Hughes and Munkombwe 1985), οπότε λαμβάνονται οι 3'-δεοξυ-3'-φθορο-2',4'-δισ-Ο-ακετυλο-6'-S-ακετυλο-6'-θειο-β-D-γλυκοπυρανο-νουκλεοζίτες της θυμίνης (**14α**), της ουρακίλης (**14β**), της 5-φθοροουρακίλης (**14γ**), της N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης (**14δ**) και της N⁶-βενζοϋλοαδερίνης (**14ε**), με μέση απόδοση 72%, υπό τη μορφή λευκών στερεών.

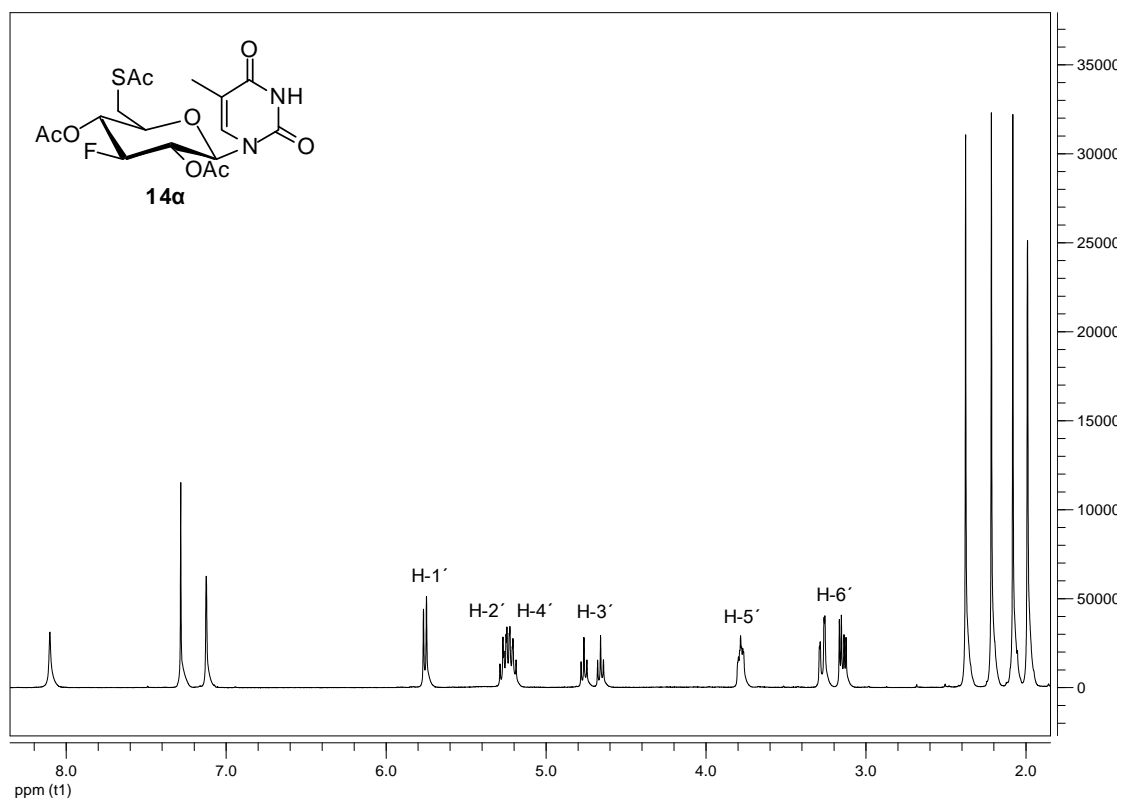
Τα αποτελέσματα της μελέτης των φασμάτων ¹H-NMR των τελικών γλυκοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων **14α-ε** φαίνονται στον πίνακα 5. Από την εξέταση των αποτελεσμάτων επιβεβαιώνεται η ύπαρξη της θειοακετυλίου, τα πρωτόνια του οποίου εμφανίζουν κορυφές στα 2.35, 2.36 και 2.37 ppm.

Πίνακας 5. Ανάλυση φασμάτων ^1H NMR των ενώσεων **14α-ε**

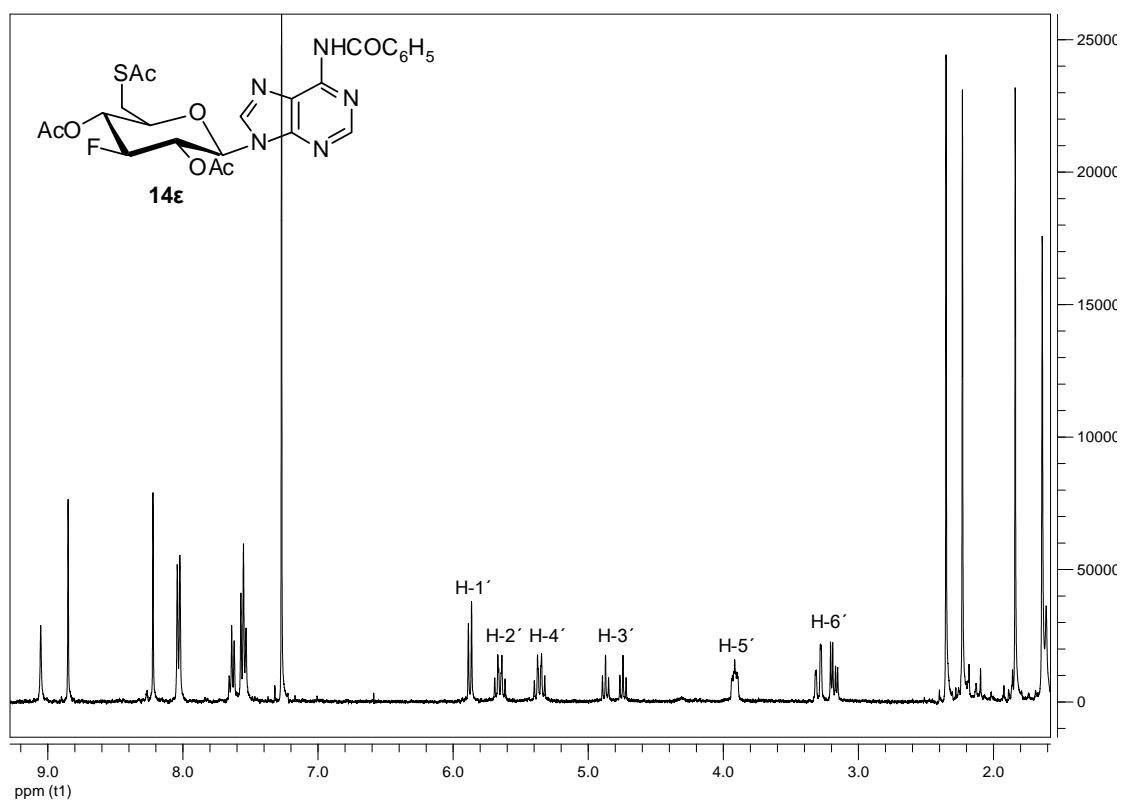
Προϊόν	H-1'	H-2'- H-4'	H-3'	H-5'	H-6'α, 6'β	Άλλα Σήματα
14α^α	5.75 (d), $J_{1',2'}=9.5$ Hz	5.29-5.18 (m)	4.71 (dtr), $J_{3',2'}=9.1$ Hz, $J_{3',4'}=9.0$ Hz, $J_{F,3'}=51.8$ Hz	3.85-3.78 (m)	3.30-3.11 (m)	8.10 (br s, NH), 7.12 (s, 1H, H-6), 2.37 (s, 3H, SAc), 2.21 & 2.08 (2s, 6H, 3OAc), 1.98 (s, 5-CH ₃)
14β^α	5.75 (d), $J_{1',2'}=9.5$ Hz	5.26-5.15 (m)	4.69 (dtr), $J_{3',2'}=9.0$ Hz, $J_{3',4'}=9.0$ Hz, $J_{F,3'}=51.8$ Hz	3,80 (m)	3.27-3.11 (m)	8.30 (br s, NH), 7.30 (d, $J_{6,5}=8.3$ Hz, H-6), 5.82 (d, 1H, H-5) , 2,35 (s, 3H, SAc), 2,19 & 2,07 (2s, 6H, 3OAc)
14γ^α	5.71 (d), $J_{1',2'}=9.3$ Hz	5.23-5.11 (m)	4.70 (dtr), $J_{3',2'}=9.2$ Hz, $J_{3',4'}=9.0$ Hz, $J_{F,3'}=51.5$ Hz	3.80 (m)	3.29-3.11 (m)	8,28 (br s, NH), 7.36 (d, $J_{6,5F}=5.3$ Hz, H-6), 2.36 (s, 3H, SAc), 2.19 & 2.08 (2s, 6H, 3OAc)
14δ^α	6.03 (d), $J_{1',2'}=9.4$ Hz	5.27-5.17 (m)	4.75 (dtr), $J_{3',2'}=9.1$ Hz, $J_{3',4'}=9.0$ Hz, $J_{F,3'}=51.8$ Hz	3.83-3.77 (m)	3.29-3.11 (m)	7.88 (d, $J_{5,6}=7.2$ Hz, H-6), 7.84–7.48 (m, 6H, Bz,H- 5), 2.35 (s, 3H, SAc), 2.20 & 2.05 (2s, 6H, 3OAc)
14ε^α	5.88 (d), $J_{1',2'}=9,5$ Hz	5.70-5.61 (m, H-2') 5.40-5.31 (m, H-4')	4.81 (dtr), $J_{3',2'}=9.3$ Hz, $J_{3',4'}=8.9$ Hz, $J_{F,3'}=51.7$ Hz	3.95-3.89 (m)	3.23-3.11 (m)	9.07 (br s, NH), 8.77&8.19 (2s, 2H, H-2,8), 7.98-7.42 (m, 5H, Bz) 2.35 (s, 3H, SAc), 2.23 & 1.84 (2s, 6H, 3OAc)

^α CDCl₃

Από τις υψηλές τιμές των σταθερών σύζευξης $J_{1',2'}$, $J_{2',3'}$, καθώς και των $J_{3',4'}$ επιβεβαιώνεται ότι οι συγκεκριμένοι νουκλεοζίτες φέρουν τη β-απεικόνιση, όπως εξάλλου ήταν αναμενόμενο. Θα πρέπει, ακόμα, να τονιστεί ότι στα φάσματα υπέρυθρου των ενώσεων **14α-ε** εμφανίζονται χαρακτηριστικές κορυφές απορρόφησης στα 1750 cm^{-1} και 1697 cm^{-1} , οι οποίες αντιστοιχούν στο ακετύλιο και την θειοακετυλο-ομάδα, αντίστοιχα. Ενδεικτικά, στα σχήματα 43 και 44 που ακολουθούν, απεικονίζονται τα φάσματα ^1H -NMR των ενώσεων **14α** και **14ε**, αντίστοιχα.



Σχήμα 43

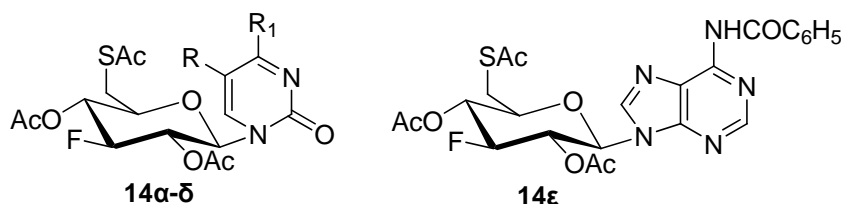


Σχήμα 44

**6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικά
ανάλογα της θυμίνης, της ουρακίλης, της 5-φθοροουρακίλης, της
κυτοσίνης και της αδενίνης**

Λαμβάνοντας υπόψη τα σημαντικά ερευνητικά αποτελέσματα που έχουν προαναφερθεί, και το γεγονός ότι το ενδιαφέρον προς τη σύνθεση νέων θειονουκλεοζιτικών αναλόγων ενισχύεται ολοένα και περισσότερο, θεωρήθηκε ενδιαφέρουσα η σύνθεση μια νέας σειράς θειο-φθοροπυρανονουκλεοζιτών, η οποία διαθέτει μία θειοπυριδινυλική ομάδα στη 6'-θέση του σακχάρου και έχει ελεύθερα τα υδροξύλια στις 2'- και 4'-θέσεις του σακχάρου.

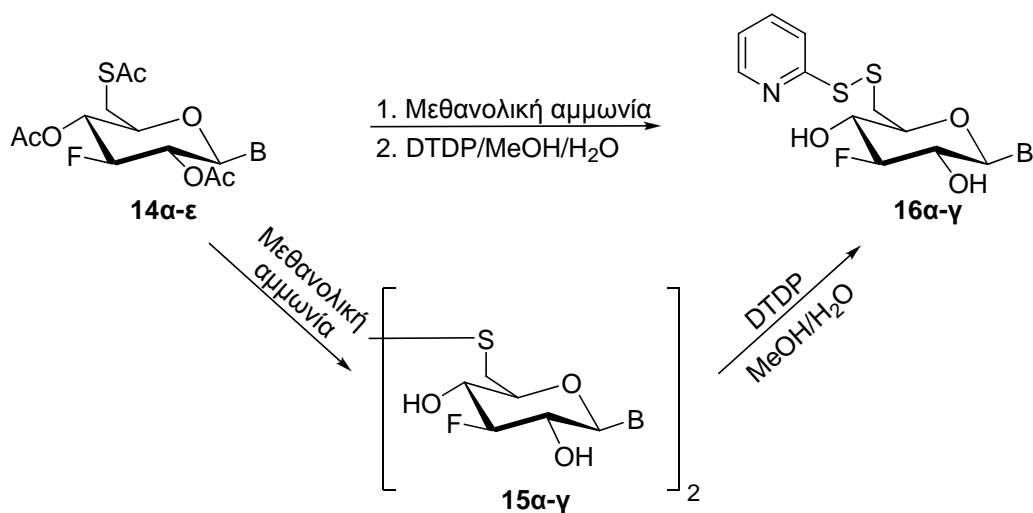
Οι απαραίτητες ενώσεις-κλειδιά, οι οποίες απαιτούνται για την παρασκευή των επιθυμητών 6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων (δομή **XX**, ενώσεις **16α-γ,στ,ζ**, Σχήμα 36), όπως προαναφέρθηκε και φάνηκε και από τη ρετροσυνθετική πορεία του σχήματος 37, είναι οι νέοι 6'-S-ακετυλο-6'-θειο-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζίτες **14α-ε** (Σχήμα 45).



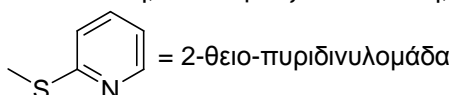
α = Θυμίνη (R = CH₃, R₁ = OH), β = Ουρακίλη (R = H, R₁ = OH),
γ = 5-Φθοροουρακίλη (R = F, R₁ = OH),
δ = N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (R = H, R₁ = NHCOC₆H₅),
ε = N⁶-βενζοϋλοαδενίνη

Σχήμα 45

Έτσι, πραγματοποιήθηκε αποπροστασία των β-προστατευμένων θειονουκλεοζιτικών ενώσεων **14α-ε** παρουσία μεθανολικής αμμωνίας και στη συνέχεια θειοπυριδινυλίωση με την επίδραση 2,2-διπυριδινυλικού δισουλφιδίου (DTDP) σε σύστημα διαλυτών νερό/μεθανόλη, σε θερμοκρασία δωματίου (Gerland *et al.* 2008) (σχήμα 46).



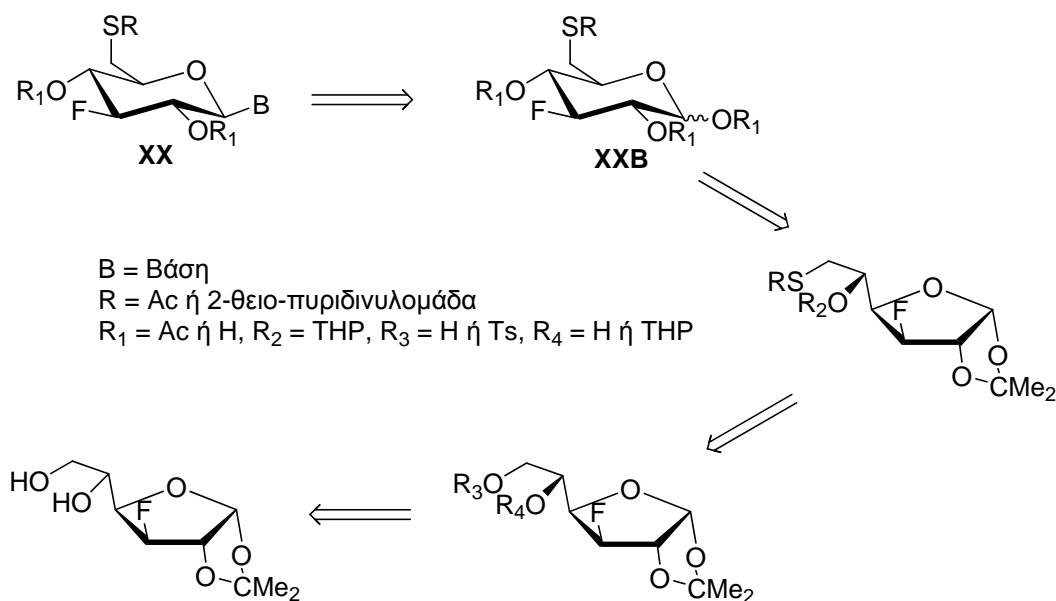
B = Βάση, α = Θυμίνη, β = Ουρακίλη, γ = 5-Φθοροουρακίλη,
 δ = N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη, ε = N⁶-βενζοϋλοαδεΐνη, Ac = Ακετύλιο



Σχήμα 46

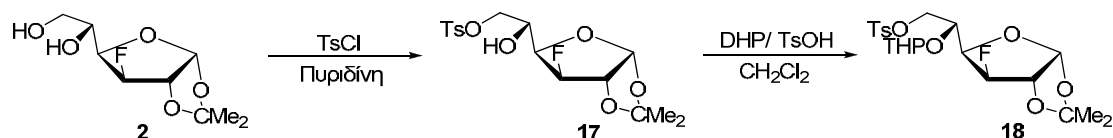
Οι αντιδράσεις ολοκληρώνονται σε 20 h και τα επιθυμητά 6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα της θυμίνης **16α**, της ουρακίλης **16β** και της 5-φθοροουρακίλης **16γ** λαμβάνονται σε αποδόσεις μεγαλύτερες του 65%. Οι προσπάθειες για απομόνωση των πλήρως αποπροστατευμένων νουκλεοζιτών οδηγούν στο σχηματισμό των αντίστοιχων συμμετρικών δισουλφιδίων **15α-γ**, τα οποία μετά από θειοπυριδινυλίωση, παρουσία DTDP σε μεθανόλη, μετατρέπονται προς τα φθοριωμένα θειοπυριδινυλικά νουκλεοζιτικά ανάλογα **16α-γ**. Τα αποπροστατευμένα προϊόντα των 6'-S-ακετυλο-6'-θειο-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτών της N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης (**14δ**) και της N⁶-βενζοϋλοαδεΐνης (**14ε**), δεν απομονώθηκαν με αντίστοιχη διαδικασία, λόγω του ότι από την κατεργασία των αντιδράσεων προέκυψαν προϊόντα αποικοδόμησης.

Η ανάγκη να ξεπεραστεί αυτή η δυσκολία οδήγησε στο σχεδιασμό μίας εναλλακτικής συνθετικής πορείας, τέτοιας ώστε οι θειονουκλεοζίτες να παράγονται από ένα κατάλληλα προστατευμένο σάκχαρο (δομή **XXB**), το οποίο φέρει μία διθειοπυριδινυλομάδα στην 6'-θέση. Η εναλλακτική αυτή ρετροσυνθετική πορεία απεικονίζεται στο παρακάτω σχήμα (Σχήμα 47).



Σχήμα 47

Συνεπώς, το πρώτο στάδιο της δεύτερης συνθετικής διαδικασίας περιλαμβάνει την εκλεκτική προστασία του ελεύθερου υδροξυλίου στη 6'-θέση του σακχάρου της 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2-Ο-ισοπροπυλιδανο- α -D-γλυκοφουρανόζης (**2**). Συγκεκριμένα, κατεργασία της ένωσης **2** με *p*-TsCl σε πυριδίνη, σε θερμοκρασία δωματίου (Foster *et al.* 1967) οδηγεί στο παράγωγο **17**, το οποίο λαμβάνεται σε απόδοση 74% υπό τη μορφή άχρωμου ελαίου (Σχήμα 48).

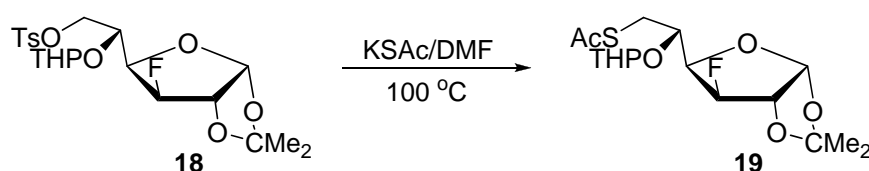


Σχήμα 48

Στη συνέχεια, με επίδραση του 3,4-διυδρο-2*H*-πυρανίου (DHP) επί της ένωσης **17** και *p*-τολουολοσουλφονικού οξέος (*p*-TsOH) ως καταλύτη σε άνυδρο CH₂Cl₂ (Lakanen *et al.* 1995) στους 0 °C, λαμβάνεται το πλήρως προστατευμένο παράγωγο **18** (Σχήμα 48), σε αρκετά καλή απόδοση (78%).

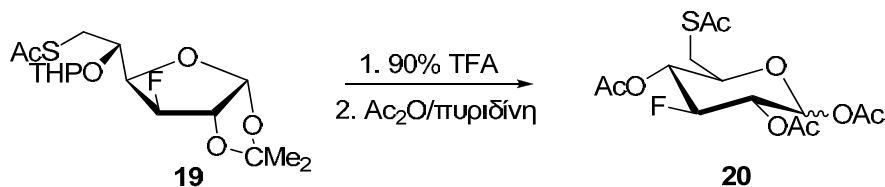
Το επόμενο βήμα για τη σύνθεση του κατάλληλου θειοσακχάρου, περιλαμβάνει την αντικατάσταση του τοσυλεστέρα στον άνθρακα C-6 του προϊόντος **18** από μία θειοακετυλομάδα. Έτσι, η εισαγωγή του θειοακετυλίου στον άνθρακα C-6 του αναλόγου **18** πραγματοποιείται, όταν η ένωση αυτή

κατεργάζεται με KSAc σε διαλύτη DMF στους 100 °C (Hughes and Munkombwe 1985). Το καθαρό θειοακετυλιωμένο παράγωγο, 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2-*O*-ισοπροπυλιδανο-5-*O*-τετραϋδροπυρανολο-6-*S*-ακετυλο-6-θειο- α -*D*-γλυκοφουρανοζη (**19**) (Σχήμα 49), απομονώνεται εύκολα και λαμβάνεται σε απόδοση 76%.



Σχήμα 49

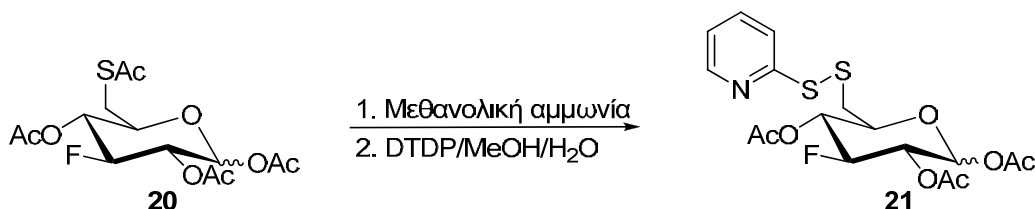
Ακολουθεί υδρόλυση της ένωσης **19** μέσω κατεργασίας της με υδατικό διάλυμα 90% TFA για 20 λεπτά (Tsuda *et al.* 1996), ενώ στη συνέχεια πραγματοποιείται ακετυλίωση παρουσία Ac_2O σε πυριδίνη, οπότε προκύπτει το θειοακετυλιωμένο σάκχαρο, 1,2,4-τρις-*O*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-*S*-ακετυλο-6-θειο-*D*-γλυκοπυρανόζη (**20**), σε απόδοση 70% (Σχήμα 50).



Σχήμα 50

Το επόμενο βήμα της συνθετικής διαδικασίας, που οδηγεί στο κατάλληλο θειοπυριδινυλιωμένο σάκχαρο, περιλαμβάνει την αποπροστασία της ένωσης **20** με μεθανολική αμμωνία, θειοπυριδινυλίωση παρουσία DTDP σε μεθανόλη/νερό (Gerland *et al.* 2008) και στη συνέχεια ακετυλίωση, παρουσία Ac_2O σε πυριδίνη, με αποτέλεσμα τη λήψη της ένωσης 1,2,4-τρις-*O*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-*S*-(2-*S*-πυριδινυλο)-6-θειο-*D*-γλυκοπυρανόζης (**21**) (Σχήμα 51). Το νέο προϊόν **21** διαθέτει τα χαρακτηριστικά που απαιτούνται ώστε να χρησιμοποιηθεί ως πρόδρομη ένωση για τη σύνθεση των επιθυμητών νουκλεοζιτών. Από τη μελέτη του φάσματος $^1\text{H-NMR}$ της συγκεκριμένης ένωσης επιβεβαιώνεται η ύπαρξη της θειοπυριδινυλομάδας,

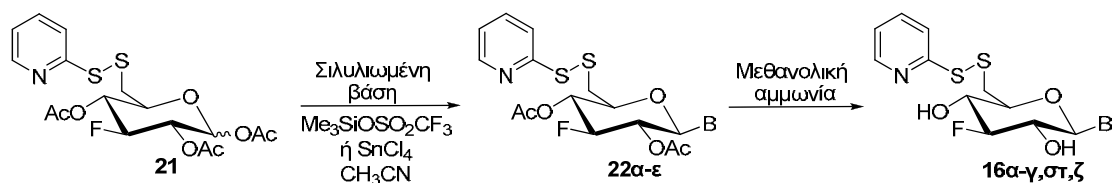
από την εμφάνιση της διπλής κορυφής στα 8.41 ppm, η οποία αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-6, των πολλαπλών κορυφών στα 7.83-7.58 ppm (πρωτόνια H-4 και H-5), καθώς και του πρωτονίου H-3 στα 7.29-7.12 ppm.



Σχήμα 51

Για τη σύνθεση των νουκλεοζιτών **16α-γ**, **στ** και **ζ** ακολουθούν αντιδράσεις γλυκοζυλίωσης της ένωσης **21** με τις αντίστοιχες αζωτούχες βάσεις. Ειδικότερα, πραγματοποιείται η σύζευξη της 1,2,4-τρिस-O-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-S-(2-S-πυριδινυλο)-6-θειο-D-γλυκοπυρανόζης (**21**), καθοριστικό στάδιο της συνθετικής διαδικασίας, με τις αντίστοιχες σιλυλιωμένες βάσεις, παρουσία καταλύτη ($\text{Me}_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$ ή SnCl_4) και σε διαλύτη CH_3CN (Σχήμα 52). Συγκεκριμένα, η σύζευξη του θειοπυριδινυλικού σακχάρου **21** με τις σιλυλιωμένες βάσεις, θυμίνη και N^6 -βενζοϋλοαδενίνη, λαμβάνει χώρα παρουσία του SnCl_4 (Vorbruggen and Hofle 1981), ως καταλύτη, οπότε παράγονται τα επιθυμητά προϊόντα 1-(2',4'-δισ-O-ακετυλο-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)θυμίνη (**22α**) και 9-(2',4'-δισ-O-ακετυλο-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)- N^6 -βενζοϋλοαδενίνη (**22ε**), σε απόδοση 64%, υπό τη μορφή λευκών αφρωδών στερεών.

Με την ίδια πειραματική διαδικασία προκύπτουν και οι θειονουκλεοζίτες της ουρακίλης **22β**, της 5-φθοροουρακίλης **22γ** και της N^4 -βενζοϋλοκυτοσίνης **22δ**, μετά από τη σύζευξη των αντίστοιχων σιλυλιωμένων βάσεων με το σάκχαρο **21**, παρουσία του $\text{Me}_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$ ως καταλύτη σε διαλύτη CH_3CN . Οι νέοι θειοπυριδινυλικοί νουκλεοζίτες **22β-δ** λαμβάνονται σε αποδόσεις μεταξύ 60-70%.



B = Βάση, α = Θυμίνη, β = Ουρακίλη, γ = 5-Φθοροουρακίλη, δ = *N*⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη,
 ε = *N*⁶-βενζοϋλοαδενίνη, στ = Κυτοσίνη, ζ = Αδενίνη

Σχήμα 52

Το τελευταίο βήμα της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την απακετυλίωση των θειοπυριδινυλικών νουκλεοζιτών **22α-ε**, παρουσία μεθανολικής αμμωνίας, με αποτέλεσμα τη λήψη των τελικών 6'-*S*-(2-*S*-πυριδινυλο)-6'-θειο-3'-φθορο-β-*D*-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της θυμίνης **16α**, της ουρακίλης **16β**, της 5-φθοροουρακίλης **16γ**, της κυτοσίνης **16στ**, και της αδενίνης **16ζ** (Σχήμα 52).

Τα αποτελέσματα από τις μελέτες των φασμάτων ¹H-NMR των τελικών 6'-*S*-(2-*S*-πυριδινυλο)-6'-θειο-3'-φθορο-β-*D*-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων **16α-γ,στ,ζ** παρουσιάζονται στον πίνακα 6. Από την εξέταση των αποτελεσμάτων επιβεβαιώνεται η ύπαρξη της θειοπυριδινυλικής ομάδας, τα πρωτόνια της οποίας συντονίζονται μεταξύ 8.40 και 7.10 ppm. Επιπλέον, παρατηρείται απουσία των κορυφών των έξι πρωτονίων των μεθυλίων των ακετυλομάδων, γεγονός το οποίο αποδεικνύει την επιτυχή αποπροστασία των υδροξυλίων στις 2'- και 4'-θέσεις του σακχάρου.

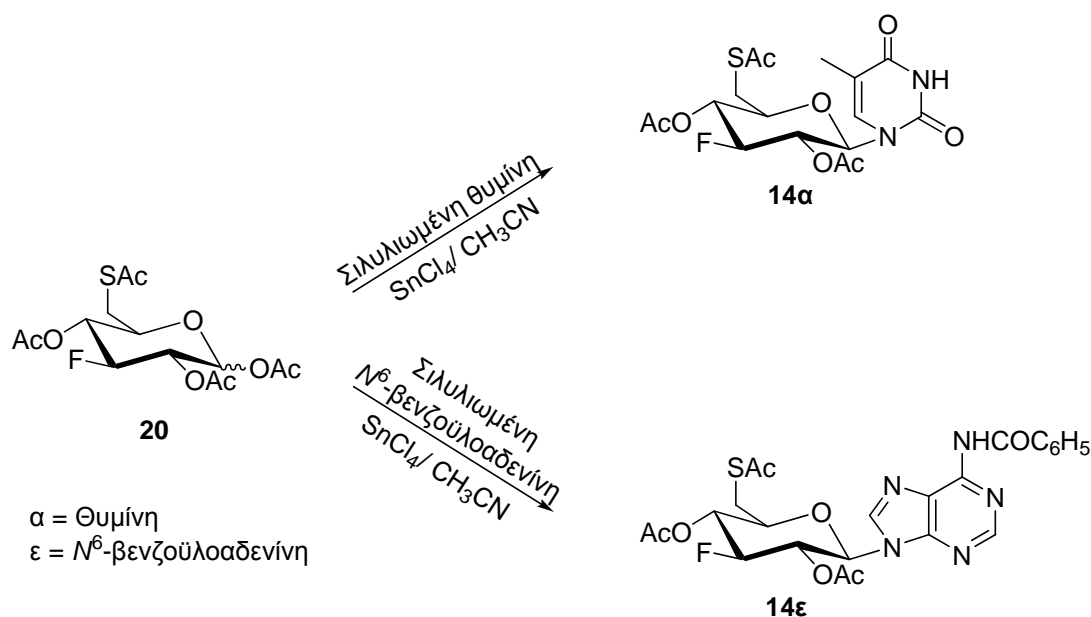
Πίνακας 6. Ανάλυση φασμάτων ¹H NMR των ενώσεων 16α-γ,στ,ζ

Προϊόν	H-1'	H-3'	H-2'	H-6α'	H-4'	H-6β'	H-5'	Άλλα σήματα
16α^α	5.40 (d), $J_{1',2'}=9.4$ Hz	4.29 (dtr), $J_{3',2'}=8.5$ Hz, $J_{3',4'}=8.4$ Hz, $J_{F,3'}=51.3$ Hz	3.92-3.79 (m)	3.56-3.45 (m)		3.44-3.35 (m)	2.98-2.89 (m)	8.09 (br s, NH), 8.41 (d, H-6, πυριδίνη), 7.83-7.58 (m, H-4 και H-5, πυριδίνη), 7.29-7.12 (m, H-3, πυριδίνη), 1.97 (s, 5-CH ₃)
16β^α	5.46 (d), $J_{1',2'}=9.4$ Hz	4.29 (dtr), $J_{3',2'}=8.7$ Hz, $J_{3',4'}=8.6$ Hz, $J_{F,3'}=52.3$ Hz	3.83-3.77 (m)	3.64-3.60 (m)	3.52 (m)	3.42-3.39 (m)	3.01-2.96 (m)	8.53 (br s, NH), 8.32 (d, H-6, πυριδίνη), 7.76-7.73 (m, H-4 και H-5, πυριδίνη), 7.66 (m, H-3, πυριδίνη), 7.57 (d, $J_{6,5}=8.1$ Hz, H-6), 5.68 (d, H-5)
16γ^α	5.44 (d), $J_{1',2'}=9.0$ Hz	4.28 (dtr), $J_{3',2'}=8.7$ Hz, $J_{3',4'}=8.6$ Hz, $J_{F,3'}=52.3$ Hz	3.82-3.76 (m)	3.64-3.61 (m)	3.56-3.51 (m)	3.43-3.39 (m)	3.01-2.96 (m)	8.34-8.32 (m, H-6, πυριδίνη), 8.28 (br s, NH), 7.83-7.78 (m, H-4 και H-5, πυριδίνη), 7.17-7.13 (m, H-3, πυριδίνη)
16στ^α	5.52 (d), $J_{1',2'}=9.4$ Hz	4.22 (dtr), $J_{3',2'}=9.0$ Hz, $J_{3',4'}=8.9$ Hz, $J_{F,3'}=52.5$ Hz	3.73-3.66 (m)	3.53-3.42 (m)		3.34-3.30 (m)	2.92-2.87 (m)	8.23 (m, H-6, πυριδίνη), 7.78-7.69 (m, H-4 και H-5, πυριδίνη), 7.51 (d, H-5), 7.46 (d, $J_{6,5}=7,3$ Hz, H-6) 7.08-7.03 (m, H-3, πυριδίνη)
16ζ^α	5.88 (d), $J_{1',2'}=9.1$ Hz	4.01 (dtr), $J_{3',2'}=8.7$ Hz, $J_{3',4'}=8.6$ Hz, $J_{F,3'}=52.3$ Hz	3.79-3.67 (m)	3.59-3.53 (m)	3.51-3.47 (m)	3.42-3.37 (m)	2.92-2.81 (m)	8.58 και 8.35 (2s, H-2,8) 8.33-8.25 (m, H-6, πυριδίνη), 7.63-7.18 (m, H-4, H-5, H-3, πυριδίνη), 6.96 (br s, NH ₂)

^αCD₃OD

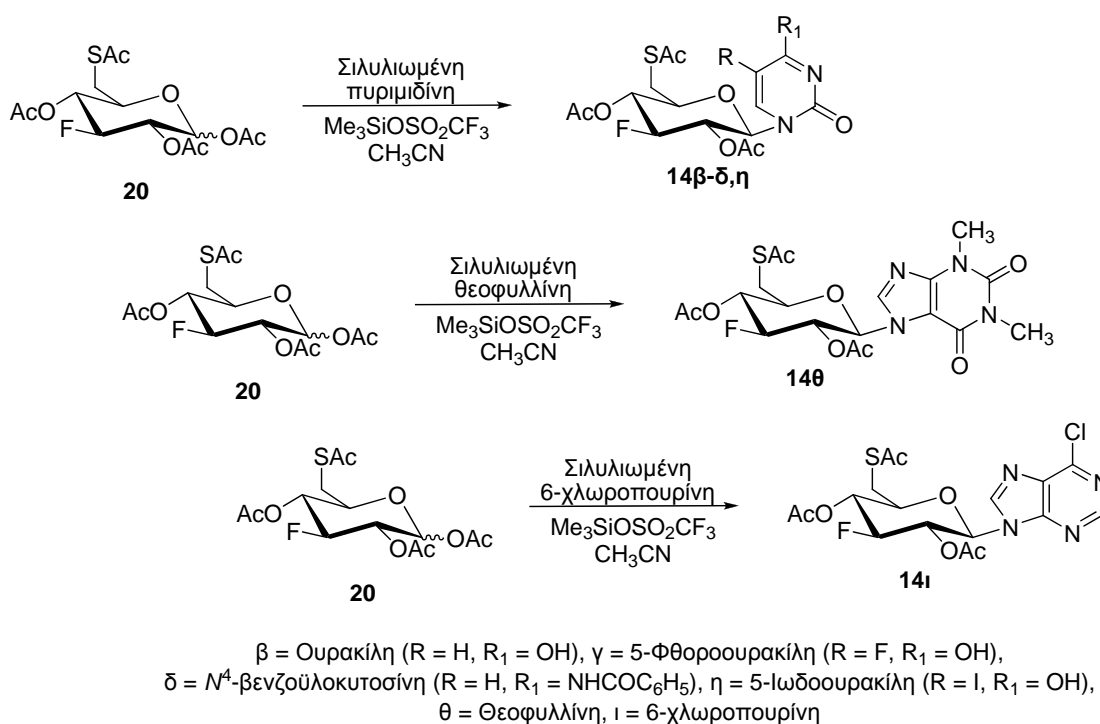
Θα πρέπει να τονιστεί ότι η διαθεσιμότητα του θειοακετυλιωμένου σακχάρου, 1,2,4-τρις-*O*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-*S*-ακετυλο-6-θειο-*D*-γλυκοπυρανόζη (**20**), αποτέλεσε το έναυσμα για την εύρεση μίας νέας και πιο σύντομης συνθετικής οδού που θα οδηγεί στη σύνθεση των νέων φθορο-θειονουκλεοζιτικών αναλόγων της 5-ιωδοουρακίλης **14η**, θεοφυλλίνης **14θ**, 6-χλωροπουρίνης **14ι** και 6-μερκαπτοπουρίνης **14κ**, καθώς και των ήδη συντεθειμένων θειονουκλεοζιτών **14α-ε**, περιλαμβάνοντας ένα και μόνο βήμα, τη σύζευξή του νεοσυντιθέμενου σακχάρου με τις αντίστοιχες ετεροκυκλικές βάσεις.

Συνεπώς, η σύζευξη του φθοριωμένου θειοακετυλιωμένου πρόδρομου σακχάρου **20**, που αποτελεί και το καθοριστικό βήμα της συνθετικής πορείας, με τις αντίστοιχες σιλυλιωμένες βάσεις, πραγματοποιείται παρουσία καταλύτη (οξέος Lewis, $\text{Me}_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$ ή SnCl_4) και σε διαλύτη CH_3CN (Σχήμα 53). Ειδικότερα, η σύζευξη της 1,2,4-τρις-*O*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-*S*-ακετυλο-6-θειο-*D*-γλυκοπυρανόζης (**20**) με τις σιλυλιωμένες βάσεις, θυμίνη και *N*⁶-βενζοϋλοαδενίνη, πραγματοποιείται παρουσία του SnCl_4 (Vorbruggen and Hofle 1981) ως καταλύτη, οπότε παράγονται τα επιθυμητά τελικά προϊόντα 1-(2',4'-*O*-ακετυλο-6'-*S*-ακετυλο-6'-θειο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)θυμίνη (**14α**) και 9-(2',4'-*O*-ακετυλο-6'-*S*-ακετυλο-6'-θειο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-*N*⁶-βενζοϋλοαδενίνη (**14ε**), σε απόδοση 77%.



Σχήμα 53

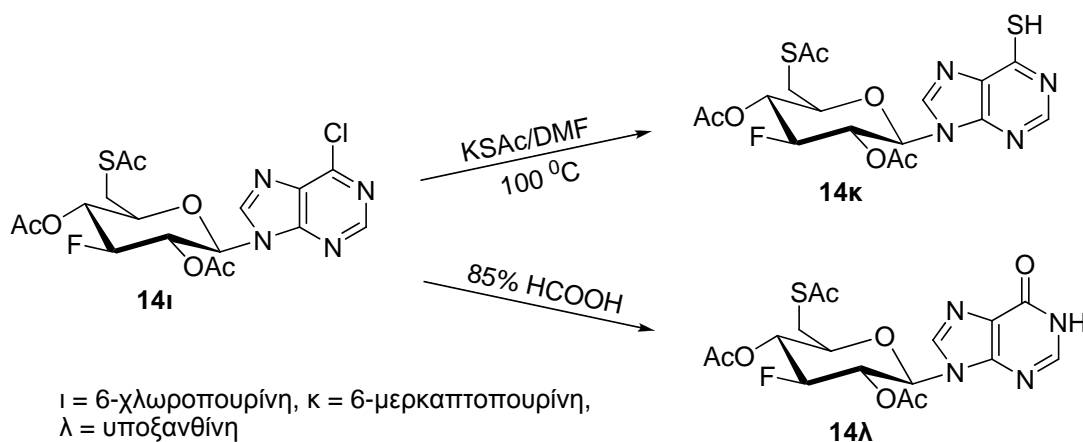
Ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία προκύπτουν και οι θειονουκλεοζίτες της ουρακίλης **14β**, της 5-φθοροουρακίλης **14γ**, της N^4 -βενζοϋλοκυτοσίνης **14δ**, της 5-ιωδοουρακίλης **14η**, της θεοφυλλίνης **14θ** και της 6-χλωροπουρίνης **14ι**. Συγκεκριμένα, η σύζευξη των αντίστοιχων σιλυλιωμένων βάσεων με το σάκχαρο **20** λαμβάνει χώρα παρουσία του $\text{Me}_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$ ως καταλύτη σε διαλύτη CH_3CN . Τα θειονουκλεοζιτικά παράγωγα **14β-δ** και **14η-ι** (Σχήμα 54) λαμβάνονται σε αποδόσεις μεταξύ 65-75%.



Σχήμα 54

Είναι αξιοσημείωτο ότι η προσπάθεια σύζευξης της 6-μερκαπτοπουρίνης με την θειοακετυλιωμένη γλυκοπυρανόζη **20**, δεν οδηγεί στο επιθυμητό θειονουκλεοζιτικό παράγωγο. Το γεγονός αυτό οδήγησε στο σχεδιασμό μίας εναλλακτικής προσέγγισης, που θα είχε ως αποτέλεσμα την παρασκευή του θειονουκλεοζιτικού αναλόγου της 6-μερκαπτοπουρίνης. Συγκεκριμένα, η κατεργασία του θειοπαραγώγου της 6-χλωροπουρίνης **14ι**, η οποία πραγματοποιείται με KSAc σε διαλύτη DMF στους 100°C (Hughes and Munkombwe 1985), οδηγεί στη λήψη του επιθυμητού νουκλεοζίτη **14κ** (Σχήμα 55). Ο εναλλακτικός αυτός τρόπος παρασκευής του αναλόγου **14κ** από το

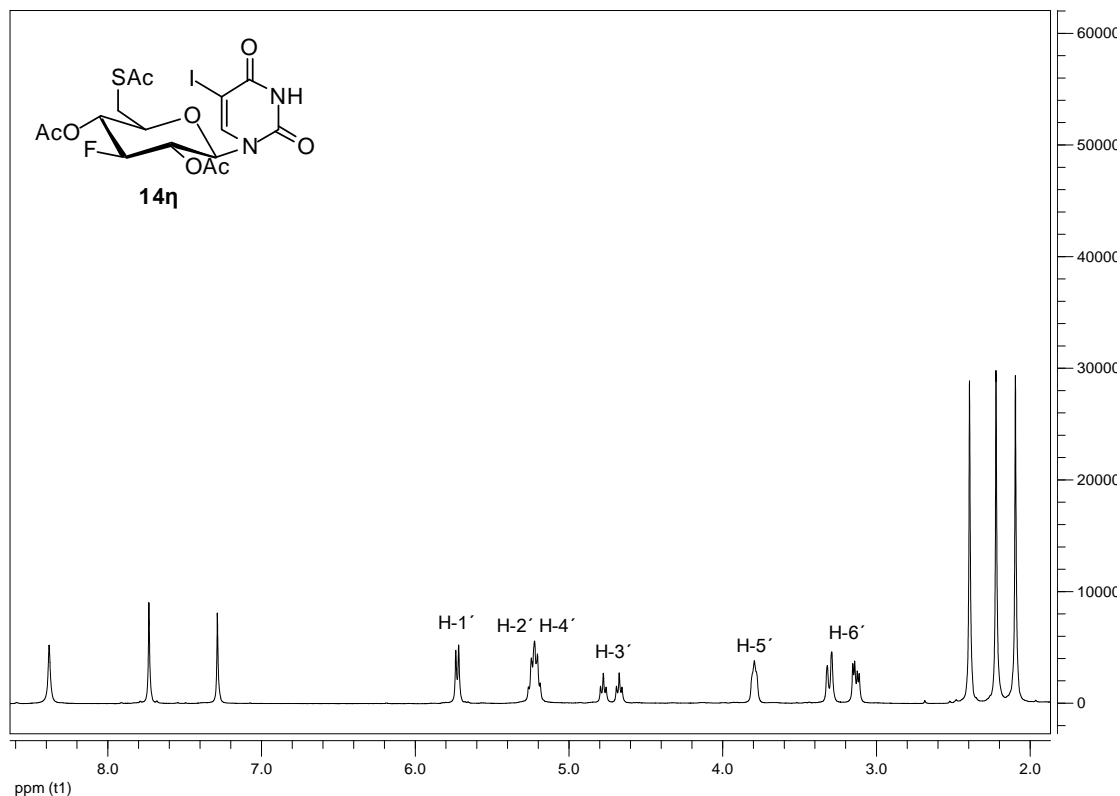
ανάλογο **14i**, οδήγησε στην σύνθεση ενός ακόμη τελευταίου θειοακετυλιωμένου αναλόγου, αυτού της υποξανθίνης, από το ίδιο ανάλογο της 6-χλωροπουρίνης. Ειδικότερα, με επίδραση διαλύματος 85% μυρμηκικού οξέος (HCOOH) σε μεθανόλη (Wang *et al.* 2007) επί της ένωσης **14i**, λαμβάνεται η 1-(2',4'-Ο-ακετυλο-6'-S-ακετυλο-6'-θειο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρα-νοζυλο)υποξανθίνη (**14λ**) (Σχήμα 55).



Σχήμα 55

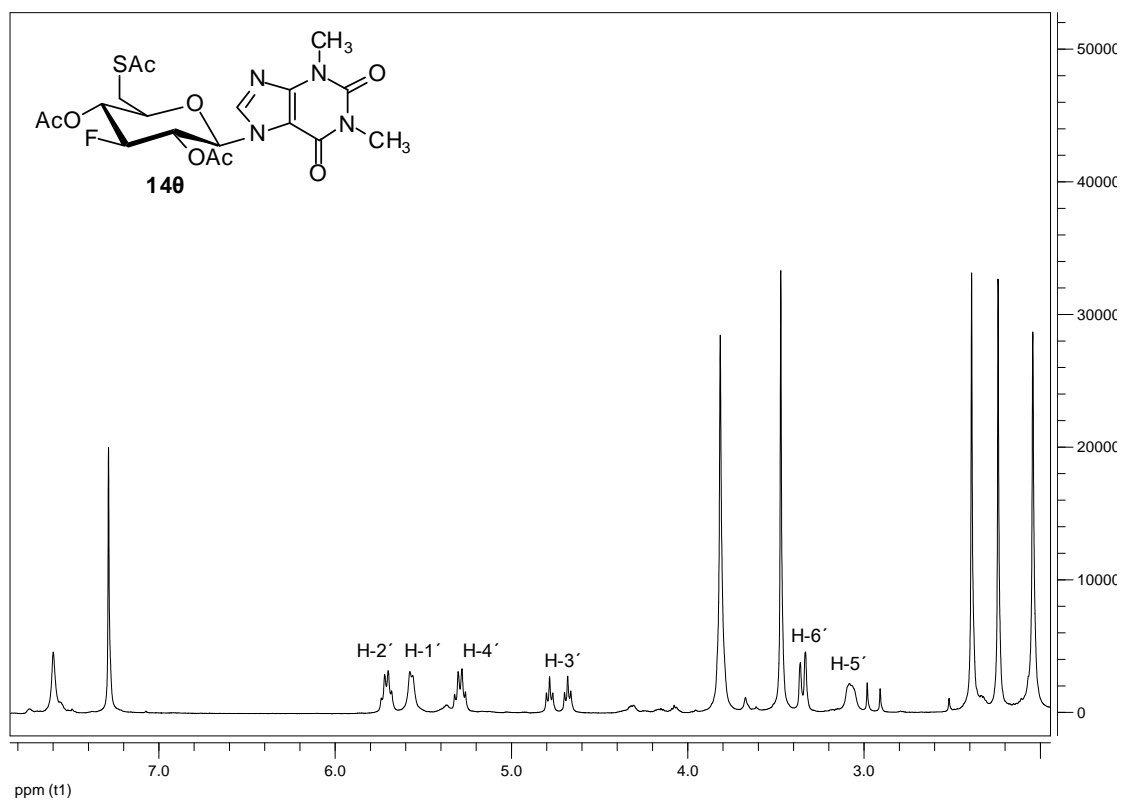
Τα φάσματα $^1\text{H-NMR}$ των ενώσεων **14α-ε** αναλύονται στον πίνακα 5 που προηγήθηκε κατά την περιγραφή της πρώτης συνθετικής διαδικασίας. Ωστόσο, τα φάσματα $^1\text{H-NMR}$ των ενώσεων **14η-ι** φαίνονται στα παρακάτω σχήματα, αντίστοιχα. Από τη μελέτη του φάσματος $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **14η**, το οποίο απεικονίζεται στο σχήμα 56, προκύπτει ότι η διπλή κορυφή που εμφανίζεται στα 5.72 ppm, αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-1' του δακτυλίου του σακχάρου με σταθερά σύζευξης $J_{1',2'} = 9.3 \text{ Hz}$, ενώ η πολλαπλή κορυφή που εμφανίζεται στα 5.26-5.19 ppm αντιστοιχεί στα πρωτόνια H-2' και H-4'. Χαρακτηριστική είναι η κορυφή που αναφέρεται στο πρωτόνιο H-3', η οποία εμφανίζεται στα 4.72 ppm ως διπλή-τριπλών με σταθερές σύζευξης $J_{2',3'} = 9.0 \text{ Hz}$, $J_{3',4'} = 8.9 \text{ Hz}$ και $J_{3',\text{F}} = 51.7 \text{ Hz}$. Τέλος, τα δύο σήματα που παρουσιάζονται ως δύο πολλαπλές κορυφές γύρω στα 3.78 ppm και 3.34-3.11 ppm αναφέρονται στα πρωτόνια H-5' και H-6' αντίστοιχα, του υδατανθρακικού δακτυλίου. Χαρακτηριστικό είναι το σήμα των πρωτονίων του μεθυλίου της θειοακετυλομάδας, το οποίο παρουσιάζεται στα 2.39 ppm, καθώς και τα σήματα των πρωτονίων των μεθυλίων των δύο ακετυλομάδων, τα

οποία εμφανίζονται στα 2.22 και 2.10 ppm. Χαρακτηριστικά είναι και τα σήματα που αντιστοιχούν στα πρωτόνια της βάσης (8.38, br s, NH και 7.29, s, H-6).

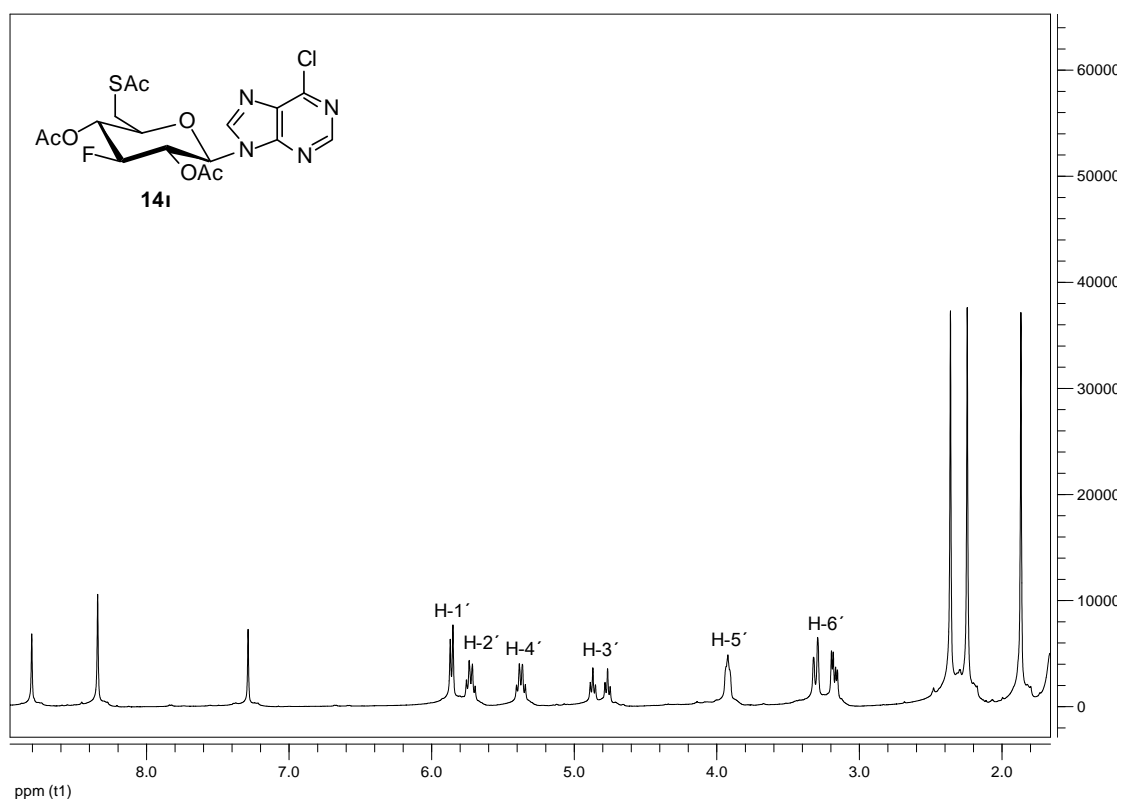


Σχήμα 56

Όσον αφορά στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **14θ** (Σχήμα 57), διαπιστώνεται ότι η πολλαπλή κορυφή που εμφανίζεται στα 5.74-5.68 ppm, αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-2' του δακτυλίου του σακχάρου και η διπλή κορυφή που εμφανίζεται στα 5.57 ppm αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-1' με σταθερά σύζευξης $J_{1,2'} = 9.5$ Hz. Μία επιπλέον πολλαπλή κορυφή παρουσιάζεται στα 5.32–5.26 ppm και αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-4', ενώ η κορυφή διπλή-τριπλών, η οποία εμφανίζεται στα 4.73 ppm με σταθερές σύζευξης $J_{2',3'} = 8.8$, $J_{3',4'} = 8.0$ Hz και $J_{3',F} = 51.3$, αναφέρεται στο πρωτόνιο H-3'. Ακολουθούν τα σήματα των πρωτονίων H-6' και H-5' του υδατανθρακικού δακτυλίου ως πολλαπλές κορυφές στα 3.63-3.33 ppm και 3.08-2.91 ppm, αντίστοιχα. Τέλος, παρουσιάζεται το σήμα των πρωτονίων της θειακετυλομάδας στα 2.39 ppm, καθώς και τα σήματα των πρωτονίων των δυο ακετυλομάδων, τα οποία εμφανίζονται στα 2.24 και 2.04 ppm.



Σχήμα 57



Σχήμα 58

Τέλος, από τη μελέτη του φάσματος $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **14i**, το οποίο απεικονίζεται στο σχήμα 58, εκτός από τη διπλή κορυφή στα 5.86 ppm με σταθερά σύζευξης $J_{1',2'} = 9.5$ Hz και τις πολλαπλές κορυφές στα 5.76-5.70 ppm και 5.40-5.34 ppm που αναφέρονται στα πρωτόνια H-2' και H-4', αντίστοιχα, διακρίνεται επιπλέον μία κορυφή διπλή-τριπλών στα 4.82 ppm με σταθερές σύζευξης $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 9.0$ Hz και $J_{3',F} = 51.6$ Hz, η οποία αναφέρεται στο πρωτόνιο H-3'. Στη συνέχεια, εμφανίζονται τα σήματα των πρωτονίων H-5' και H-6' του υδατανθρακικού δακτυλίου ως πολλαπλές κορυφές στα 3.93-3.90 ppm και 3.32-3.15 ppm, αντίστοιχα. Τέλος, παρουσιάζεται το σήμα των πρωτονίων της θειακετυλομάδας στα 2.36 ppm, καθώς και τα σήματα των πρωτονίων των δυο ακετυλομάδων, τα οποία εμφανίζονται στα 2.24 και 1.87 ppm.

Εξετάζοντας τα φάσματα $^1\text{H-NMR}$ των ενώσεων **14κ,λ**, προκύπτει ότι οι διπλές κορυφές που εμφανίζονται στα 5.38 ppm και 5.77 ppm αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-1' των δακτυλίων των σακχάρων των αναλόγων **14κ** και **14λ** με σταθερά σύζευξης $J_{1',2'} = 9.9$ Hz και $J_{1',2'} = 9.4$ Hz, αντίστοιχα. Πολλαπλές κορυφές παρουσιάζονται στα 4.86-4.75 ppm και 5.43-5.28 ppm, οι οποίες αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-2' και H-4', για κάθε ανάλογο αντίστοιχα. Χαρακτηριστικές είναι οι κορυφές που αναφέρονται στα πρωτόνια H-3', οι οποίες εμφανίζονται στα 4.80 ppm ως διπλές-τριπλών με σταθερές σύζευξης $J_{2',3'} = 9.1$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz και $J_{3',F} = 51.7$ Hz για την ένωση **14κ** και $J_{2',3'} = 9.1$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz και $J_{3',F} = 51.8$ Hz για την ένωση **14λ**. Τέλος, τα δύο σήματα που παρουσιάζονται ως δύο πολλαπλές κορυφές, στο φάσμα της ένωσης **14κ**, στα 3.93 ppm και 3.34-3.19 ppm αναφέρονται στα πρωτόνια H-5' και H-6' αντίστοιχα, του υδατανθρακικού δακτυλίου, ενώ οι δύο πολλαπλές κορυφές που εμφανίζονται στο φάσμα της ένωσης **14λ**, στα 3.92-3.84 ppm και 3.33-3.17 ppm αναφέρονται στα πρωτόνια H-5' και H-6', αντίστοιχα. Χαρακτηριστικά είναι τα σήματα των πρωτονίων των θειακετυλομάδων, τα οποία παρουσιάζονται στα 2.37 ppm και για τις δύο ενώσεις **14κ,λ**, καθώς και τα σήματα των πρωτονίων των ακετυλομάδων, τα οποία εμφανίζονται στα 2.24 και 1.93 ppm για την ένωση **14κ** και στα 2.30 και 1.94 ppm για την ένωση **14λ**.

Αντιική και αντικαρκινική δράση των φθοριωμένων 6'-S-ακετυλο- και 6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων

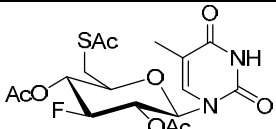
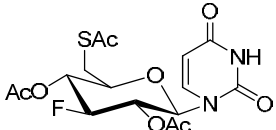
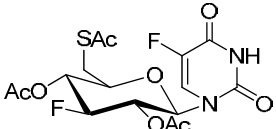
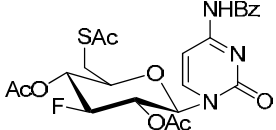
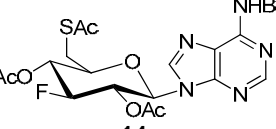
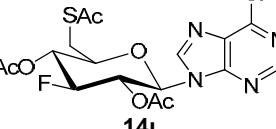
Μετά την επιτυχημένη συνθετική διαδικασία των νέων φθοριωμένων θειοπυρανονουκλεοζιτών, θεωρήθηκε σκόπιμη η μελέτη της βιολογικής δραστηριότητας των νεοσυντιθέμενων ενώσεων, αντιικής και αντικαρκινικής. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο Βέλγιο, στο Εργαστήριο Ιολογίας και Χημειοθεραπείας του Rega Institute for Medical Research.

Τόσο τα νεοσυντιθέμενα θειοπυρανονουκλεοζιτά ανάλογα **14α-ε** και **14η-λ**, όσο και οι νέοι θειοπυριδινυλικοί νουκλεοζίτες **16α-γ,στ,ζ**, μελετήθηκαν ως προς την αντιική τους δράση έναντι DNA και RNA ιών, συμπεριλαμβανομένων του ιού απλού έρπητα τύπου 1 (Herpes Simplex Virus, HSV-1, στέλεχος KOS) και τύπου 2 (HSV-2, στέλεχος G), του ιού της στοματίτιδας (VSV), του ιού ερπηζωστήρα (VZV) και του κυτταρομεγαλοϊού (HCMV) σε καλλιέργειες ανθρώπινων T-λεμφοκυττάρων κυττάρων (CEM). Ακόμη, θα πρέπει να αναφερθεί ότι μαζί με τα τελικά προϊόντα, εξετάστηκαν και τα ενδιάμεσα μόρια **12α-ζ** καθώς και τα συμμετρικά δισουλφίδια **15α-γ**.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν ως προς την αντιική δράση και τις κυτταροστατικές ιδιότητες των εξεταζόμενων μορίων έναντι του HSV-1 και HSV-2 σε καλλιέργειες ανθρώπινων T-λεμφοκυττάρων κυττάρων (CEM), απεικονίζονται στους πίνακες 7, 8 και 9.

Όπως φαίνεται από τους παρακάτω πίνακες, οι νέες ενώσεις δεν παρουσιάστηκαν ικανές να αναστείλλουν την κυτταροπαθογένεια του HSV-1 και HSV-2 στα CEM κύτταρα. Οι τιμές EC_{50} (μM) κυμαίνονται $>10 \mu\text{M}$ για το προϊόν **16β**, $50-100 \mu\text{M}$ για το προϊόν **16γ** και $>100 \mu\text{M}$ για τα υπόλοιπα προϊόντα.

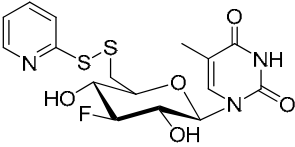
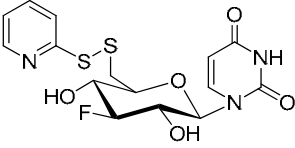
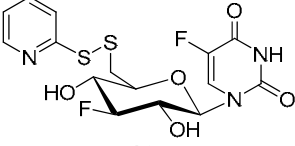
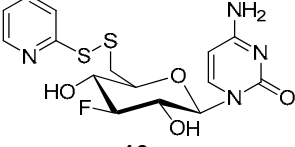
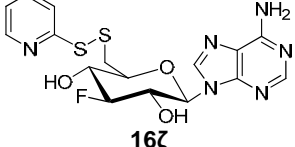
Πίνακας 7. Αντιική δράση έναντι των ιών HSV-1 και HSV-2 και κυτταροστατική ικανότητα των ενώσεων **14α-ε,ι**

Προϊόν	EC ₅₀ (μM)		CC ₅₀ (μM)
	HSV-1	HSV-2	
 14α	>250	>250	>250
 14β	>250	≥250	>250
 14γ	>250	118 ± 84	>250
 14δ	>250	>250	>250
 14ε	>250	≥250	>250
 14ι	>250	>50	108 ± 2.1

EC₅₀ = Συγκέντρωση ικανή να προστατεύει τα κύτταρα CEM έναντι της κυτταροπαθογένειας του HSV κατά 50 %

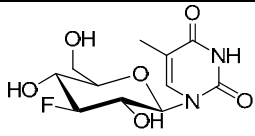
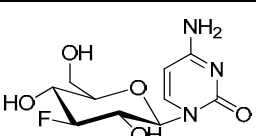
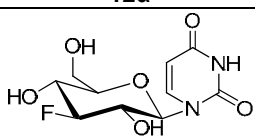
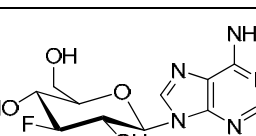
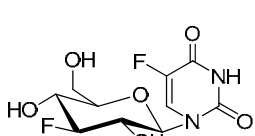
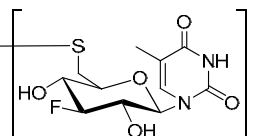
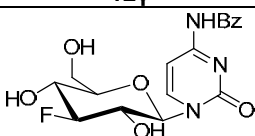
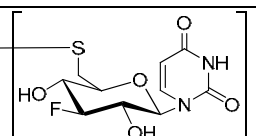
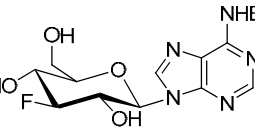
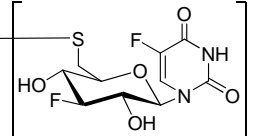
CC₅₀ = Συγκέντρωση ικανή να μειώσει τη βιωσιμότητα των κυττάρων CEM κατά 50 %

Πίνακας 8. Αντιική δράση έναντι των ιών HSV-1 και HSV-2 των ενώσεων **16α-γ,στ,ζ**

Προϊόν	EC ₅₀ (μM)	
	HSV-1	HSV-2
 <p>16α</p>	71 ± 42	32 ± 1,4
 <p>16β</p>	>10	>10
 <p>16γ</p>	>50	>50
 <p>16στ</p>	>250	≥250
 <p>16ζ</p>	>250	≥250

EC₅₀ = Συγκέντρωση ικανή να προστατεύει τα κύτταρα CEM έναντι της κυτταροπαθογένειας του HSV κατά 50 %

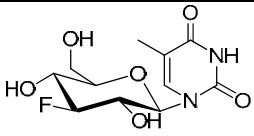
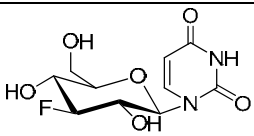
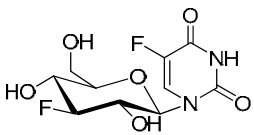
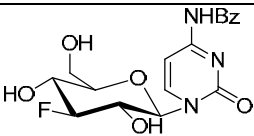
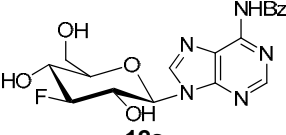
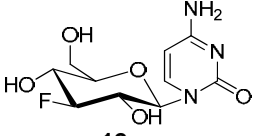
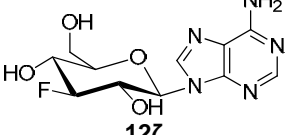
Πίνακας 9. Αντιική δράση έναντι των ιών HSV-1 και HSV-2 και κυτταροστατική ικανότητα των ενώσεων **12α-ζ** και **15α-γ**

Προϊόν	EC ₅₀ (μM)		EC ₅₀ (μM)		
	HSV-1	HSV-2	HSV-1	HSV-2	
 12α	>100	>100	 12στ	>100	>100
 12β	>100	>100	 12ζ	>20	>20
 12γ	>100	>100	 15α	>50	>50
 12δ	>100	>100	 15β	>250	>250
 12ε	>20	>20	 15γ	>250	>250

EC₅₀ = Συγκέντρωση ικανή να προστατεύει τα κύτταρα CEM έναντι της κυτταροπαθογένειας του HSV κατά 50 %

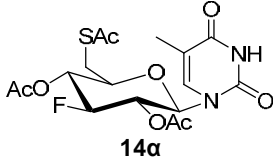
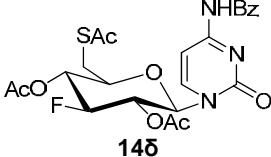
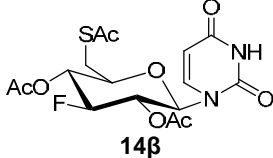
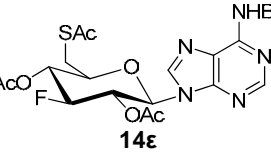
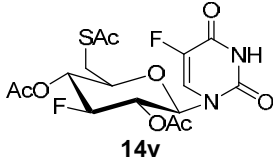
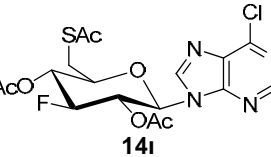
Εκτός, όμως, από τις αντιικές ιδιότητες των νέων μορίων, μελετήθηκε επίσης και η κυτταροτοξική τους δράση σε διαφορετικές κυτταρικές σειρές. Οι φθοριωμένοι θειογλυκοκυπυρανονουκλεοζίτες εξετάστηκαν ως προς την ανασταλτική τους δράση έναντι του πολλαπλασιασμού λευχαιμικών κυττάρων (L1210), καρκινικών κυττάρων του μαστού (FM3A), καθώς και των ανθρώπινων T-λεμφοκυττάρων (Molt4/C8, CEM), και των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του τραχήλου (HeLa). Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τους παραπάνω ελέγχους παρουσιάζονται στους πίνακες 10, 11 και 12.

Πίνακας 10. Ανασταλτική δράση των ενώσεων **12α-ζ** έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων L1210, FM3A, Molt4/C8, CEM

Προϊόν	IC ₅₀ (μM)			
	L1210	FM3A	Molt4/C8	CEM
 12α	> 200	> 200	> 200	> 200
 12β	> 200	> 200	> 200	> 200
 12γ	> 200	> 200	> 200	> 200
 12δ	> 200	> 200	> 200	> 200
 12ε	≥ 200	> 200	81 ± 7	120 ± 15
 12σ	159 ± 58	> 200	163 ± 21	155 ± 64
 12ζ	166 ± 47	> 200	183 ± 24	124 ± 47

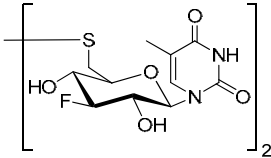
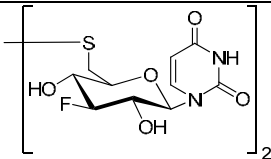
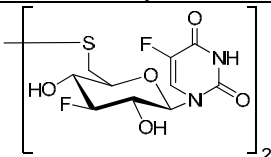
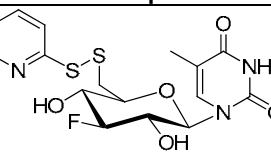
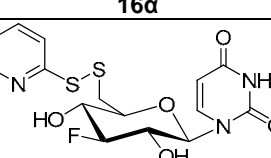
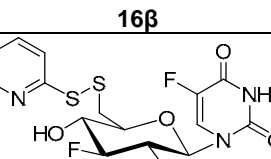
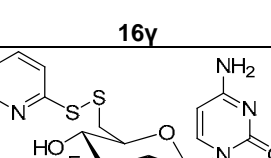
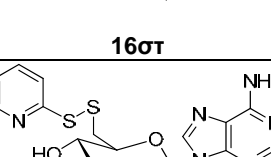
Οι εξετασθείσες ενώσεις **12α-ζ** (Πίνακας 10) καθώς και τα θειοακετυλιωμένα παράγωγα **14α-ε** (Πίνακας 11) δεν παρουσίασαν αξιοσημείωτη αντιπολλαπλασιαστική δράση έναντι των παραπάνω καρκινικών σειρών, εφόσον οι τιμές των IC₅₀ ήταν μεγαλύτερες από 200 μM για τις περισσότερες, αν όχι για όλες, τις παραπάνω ενώσεις. Εξαίρεση αποτελεί ο νουκλεοζίτης της 6-χλωροπουρίνης **14ι**, ο οποίος βρέθηκε να αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων L1210, Molt4/C8 και CEM με ελάχιστη συγκέντρωση αναστολής (IC₅₀) της τάξης των 200 ± 60, 152 ± 90 and 126 ± 24 μM, αντίστοιχα.

Πίνακας 11. Ανασταλτική δράση των ενώσεων **14α-ε,ι** έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων L1210, Molt4/C8, CEM

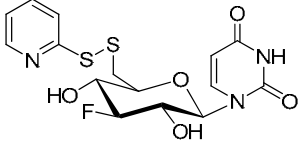
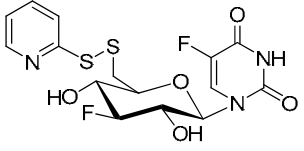
Προϊόν	IC ₅₀ (μM)			Προϊόν	IC ₅₀ (μM)		
	L1210	Molt4/C8	CEM		L1210	Molt4/C8	CEM
 14α	> 250	> 250	> 250	 14δ	> 250	> 250	> 250
 14β	> 250	> 250	> 250	 14ε	> 250	> 250	> 250
 14γ	> 250	> 250	> 250	 14ι	200 ± 60	152 ± 90	126 ± 24

Παρόμοια ήταν τα αποτελέσματα και για τα συμμετρικά δισουλφίδια **15α-γ**, τα οποία δεν εμφάνισαν αισθητή κυτταροστατική δράση έναντι των καρκινικών κυτταρικών σειρών που μελετήθηκαν ($IC_{50} = 71$ με > 500 μM) (Πίνακας 12). Ωστόσο, οι αντίστοιχοι 2-S-πυριδινυλο-6'-διθειογλυκοπυρανοζυλονουκλεοζίτες **16** παρουσίασαν πιο σαφή κυτταροστατική δράση έναντι των λευχαιμικών κυττάρων ποντικού (L1210) και των ανθρώπινων Molt4/C8, CEM και HeLa κυττάρων. Ειδικότερα, ο φθοριωμένος θειοπυριδινυλονουκλεοζίτης της 5-φθοροουρακίλης **16γ** και ιδιαίτερα αυτός της ουρακίλης **16β** παρουσίασαν σημαντική κυτταροστατική δραστηριότητα έναντι των συγκεκριμένων. Αντίθετα, τα παράγωγα της αδερίνης **16ζ** και της κυτοσίνης **16στ**, δεν παρουσιάστηκαν ικανά να αναστείλουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων (192->500 μM) (Πίνακας 12). Επιπλέον, οι ενώσεις **16γ** και **16β** εμφάνισαν κυτταροστατική δράση έναντι του πολλαπλασιασμού ανθρώπινων εμβρυικών πνευμονικών ινοβλαστών, παρουσιάζοντας τιμές $IC_{50} = 36$ μM και 9,2 μM , αντίστοιχα, καθώς και νεφρικών κυττάρων γάτας (CRFK) ($IC_{50} = 6,2$ και 39 μM , αντίστοιχα) και σκύλου (MDCK) ($IC_{50} = 50$ και 11 μM , αντίστοιχα) (Πίνακας 13).

Πίνακας 12. Ανασταλτική δράση των ενώσεων **15α-γ** και **16α-γ,στ,ζ** έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων L1210, Molt4/C8, CEM και HeLa

Προϊόν	IC ₅₀ [*] (μM)			
	L1210	FM3A	CEM	HeLa
 <p>15α</p>	> 500	> 500	> 500	> 500
 <p>15β</p>	302 ± 36	123 ± 39	> 500	320 ± 40
 <p>15γ</p>	231 ± 34	71 ± 18	> 500	280 ± 0
 <p>16α</p>	120 ± 56	> 200	106 ± 21	---
 <p>16β</p>	9.5 ± 0.0	17 ± 4	9.2 ± 1.1	8.8 ± 0.7
 <p>16γ</p>	54 ± 19	35 ± 2	43 ± 3	35 ± 3
 <p>16σ</p>	> 500	> 500	> 500	369 ± 7
 <p>16ζ</p>	238 ± 41	≥ 500	228 ± 36	192 ± 9

Πίνακας 13. Ανασταλτική δράση των ενώσεων **16β,γ** έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων HEL, CRFK και MDCK

Προϊόν	IC ₅₀ [*] (μM)		
	HEL	CRFK	MDCK
 <p>16β</p>	9.21	39.3	10.9
 <p>16γ</p>	36.6	61.8	50.5

Ενδιαφέρον θεωρείται το γεγονός ότι μεταξύ των 2-*S*-πυριδινυλο-6'-θειογλυκοπυρανοζυλονουκλεοζιτών **16**, τα ανάλογα που φέρουν ουρακίλη και 5-φθοροουρακίλη εμφάνισαν καλύτερη κυτταροστατική δράση από εκείνα που φέρουν θυμίνη, κυτοσίνη ή αδενίνη.

Τα παράγωγα της φθοροουρακίλης ήταν εξίσου κυτταροστατικά έναντι ανθρώπινων κυττάρων και κυττάρων ποντικού, καθώς και ενάντια λευχαιμικών κυττάρων, καρκινικών κυττάρων του μαστού, κυττάρων καρκινώματος του τραχήλου της μήτρας και κυττάρων λεμφώματος. Η μοριακή βάση της αντιπολλαπλασιαστικής δράσης των παραγώγων της φθοροουρακίλης είναι ακόμη άγνωστη.

Ωστόσο, όταν οι ενώσεις **16β** και **16γ** εκτέθηκαν σε καθαρή ανασυνδυασμένη φωσφορυλάση της θυμιδίνης (ΤΡάση) ή σε φωσφορυλάση της ουριδίνης τύπου I (ΥΡάση), δεν πραγματοποιήθηκε υδρόλυσή τους, με αποτέλεσμα να μην δώσουν την αντίστοιχη ελεύθερη πυριμιδινική βάση. Θα πρέπει να τονιστεί ότι κάτω από τις ίδιες συνθήκες, η θυμιδίνη και η ουριδίνη, εκτεθειμένες στις φωσφορυλάση της θυμιδίνης (ΤΡάση) και φωσφορυλάση της ουριδίνης (ΥΡάση) καθεμία αντίστοιχα, μετατρέπονται εύκολα σε θυμίνη και ουρακίλη. Τα παραπάνω αποτελέσματα οδηγούν στο συμπέρασμα ότι τα συγκεκριμένα μόρια οφείλουν την δραστηρότητά τους στην ανέπαφη νουκλεοζιτική δομή τους (ή σε αναβολικά τους παράγωγα), παρά σε έναν

καταβολικό μεταβολίτη, που στην συγκεκριμένη περίπτωση θα ήταν η ελεύθερη 2-S-πυριδινυλο-6-θειογλυκοπυρανόζη.

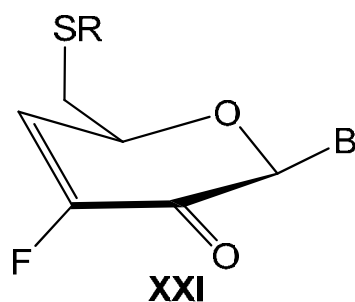
Επιπλέον, λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι οι ενώσεις **12α-ζ** δεν εμφάνισαν αξιοσημείωτη δραστικότητα, είναι ξεκάθαρο ότι η 2-S-πυριδινυλομάδα παίζει σημαντικό ρόλο, σε συνδυασμό με την βάση ουρακίλη, στην εμφάνιση κυτταροστατικής δραστικότητας. Πρόσφατες έρευνες, που αφορούν διδεδοξυριβονουκλεοζιτικά δισουλφίδια (Decout), έδειξαν ότι παράγωγά τους, τα οποία φέρουν μεγάλου όγκου προστατευτικές ομάδες στο δισουλφιδικό τμήμα του μορίου τους, όπως νιτροφαινύλιο, βουτύλιο, εμφάνισαν καλύτερη κυτταροστατική δραστικότητα σε σχέση με άλλα. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με την παρουσία της θειοπυριδινυλικής ομάδας στα μόρια **16β** και **16γ** σε συνδυασμό με την εμφάνιση της κυτταροστατικής τους δραστικότητας. Ωστόσο, ο μοριακός μηχανισμός της συγκεκριμένης δράσης των μορίων υπόκειται σε περαιτέρω μελέτες. Έτσι, από τις παραπάνω παρατηρήσεις και αποτελέσματα, προκύπτει το συμπέρασμα ότι οι νέες ενώσεις **16β** και **16γ** αποτελούν εν δυνάμει υποσχόμενα μόρια, τα οποία μπορούν να οδηγήσουν σε τροποποιημένους παράγοντες με μεγαλύτερη κυτταροστατική δραστικότητα.

ΑΚΟΡΕΣΤΟΙ ΦΘΟΡΟ-6'-ΘΕΙΟ-ΚΕΤΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ

Από τις βιολογικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στους νέους 6'-θειο-φθορονουκλεοζίτες, μόνο οι 6'-θειοπυριδινυλικοί φθορονουκλεοζίτες εμφάνισαν κυτταροστατική δράση. Λαμβάνοντας υπόψη ότι οι πλήρως αποπροστατευμένοι νουκλεοζίτες (ενώσεις **12**) δεν εμφάνισαν αξιοσημείωτη δραστηριότητα, είναι ξεκάθαρο ότι η 2-S-πυριδινυλομάδα παίζει σημαντικό ρόλο, σε συνδυασμό με την παρουσία των βάσεων, στην εμφάνιση κυτταροστατικής δραστηριότητας.

Όπως ήδη προαναφέρθηκε, μία ακόμη ασυνήθιστη κατηγορία βιολογικά δραστηκών νουκλεοζιτών, οι ακόρεστοι κετονουκλεοζίτες, και ειδικότερα οι νεοσυντιθέμενοι φθοριωμένοι ακόρεστοι 2'-κετονουκλεοζίτες (Manta *et al.* 2007), έχουν καθιερωθεί για την ανασταλτική αντιική και αντικαρκινική τους δράση.

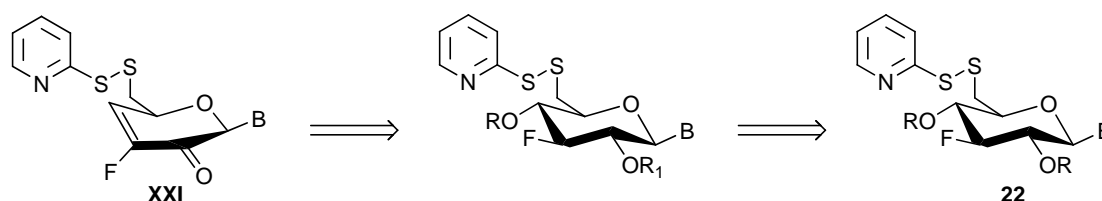
Σύμφωνα λοιπόν με τις ενδιαφέρουσες αυτές παρατηρήσεις και λαμβάνοντας υπόψη τις σημαντικές αντινεοπλασματικές ιδιότητες πολλών φθορονουκλεοζιτών καθώς και το ευρύ φάσμα των αντικαρκινικών και αντιικών ιδιοτήτων που διαθέτουν οι ακόρεστοι κετονουκλεοζίτες, πραγματοποιήθηκαν προσπάθειες να συντεθεί μια νέα τάξη φθορο-θειονουκλεοζιτών και ειδικότερα των 3',4'-διδεοξυ-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-2'-κετοακόρεστων-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της θυμίνης, ουρακίλης και 5-φθοροουρακίλης. (δομές **XXI**, ενώσεις **33α-γ**, Σχήμα 59). Η νέα σειρά των 6'-θειοπυριδινυλικών φθορονουκλεοζιτών διαθέτει: α) θυμίνη, ουρακίλη ή 5-φθοροουρακίλη ως ετεροκυκλική βάση β) θειοπυριδινυλική ομάδα στη 6'-θέση γ) φθόριο στη 3'-θέση και δ) κετονομάδα στη 2'-θέση και διπλό δεσμό στις 3',4'-θέσεις του σακχάρου.



B = Θυμίνη, Ουρακίλη, 5-Φθοροουρακίλη
R = 2-θειο-πυριδινυλομάδα

Σχήμα 59

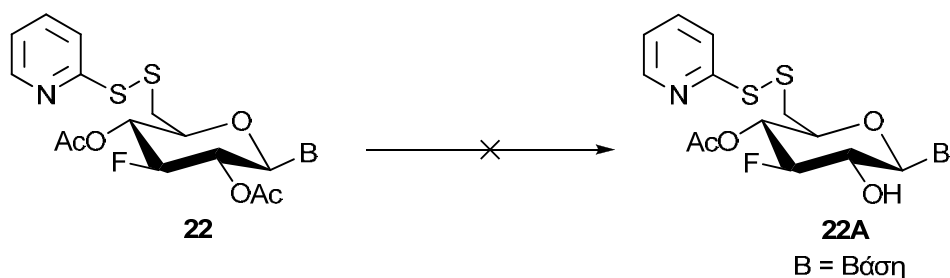
Η προσπάθεια σύνθεσης των νέων κετοακόρεστων 6'-θειοπυριδινυλικών φθορονουκλεοζιτών, ξεκινάει θεωρώντας ως αρχικές ενώσεις τα νεοσυντιθέμενα θειοπυριδινυλικά ανάλογα **22α-γ**. Η ρετροσυνθετική πορεία φαίνεται στο παρακάτω σχήμα (Σχήμα 60).



B = Βάση, R = Ac, R₁ = H

Σχήμα 60

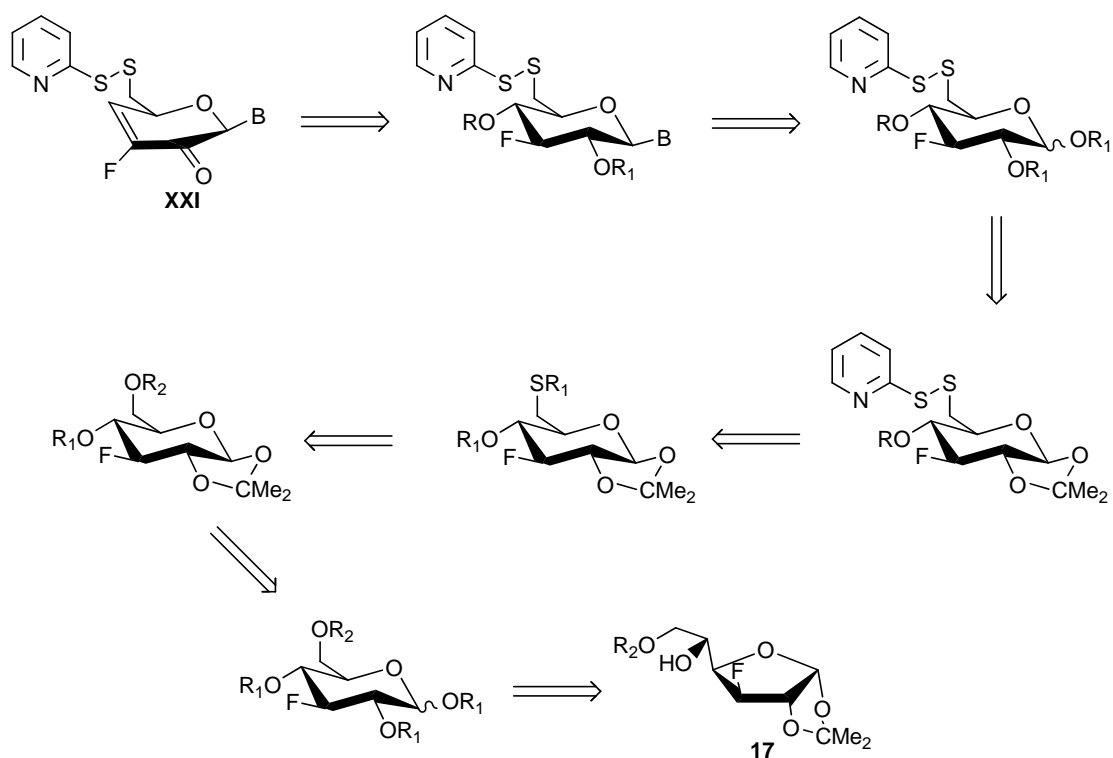
Αρχικά, επιχειρείται εκλεκτική απακετυλίωση του υδροξυλίου στη 2'-θέση των αναλόγων **22α-γ** (Σχήμα 61) μετά από κατεργασία των προϊόντων με τη χρήση NaOH σε EtOH-πυριδίνη (Milecki *et al.* 2001). Η εκλεκτική απακετυλίωση των νουκλεοζιτών **22α-γ** λαμβάνει χώρα υπό ήπιες συνθήκες, στους 0 °C για 30 λεπτά. Ωστόσο, η συγκεκριμένη αντίδραση οδηγεί στην καταστροφή των αντιδρώντων με αποτέλεσμα τη λήψη προϊόντων αποικοδόμησης. Μετά από επιπλέον προσπάθειες εκλεκτικής απακετυλίωσης παρουσία *p*-TsOH σε μεθανόλη ή ακετυλοχλωριδίου σε διχλωρομεθάνιο/μεθανόλη, το αποτέλεσμα παραμένει το ίδιο.



Σχήμα 61

Η ανάγκη να ξεπεραστεί αυτή η δυσκολία, οδήγησε στον σχεδιασμό μιας νέας ρετροσυνθετικής πορείας, κατά την οποία ξεκινώντας από μία πεντόζη, και μετά από αντιδράσεις προστασίας και αποπροστασίας, λαμβάνονται οι επιθυμητές μερικώς προστατευμένες πρόδρομες ενώσεις. Θα πρέπει να τονιστεί ότι μία από τις πιο ιδιαίτερες αντιδράσεις προστασίας που λαμβάνει χώρα κατά το συνθετικό αυτό μονοπάτι, είναι αυτή της εκλεκτικής προστασίας των ελεύθερων υδροξυλίων στις 1'- και 2'-θέσεις του σακχάρου με εξαμελή δακτύλιο που προκύπτει μετά από την υδρόλυση της αρχικής πεντόζης.

Συνεπώς, η ρετροσυνθετική πορεία για την παρασκευή των 3',4'-διδεοξυ-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-2'-κετοακόρεστων-3'-φθορο-β-D-γλυκοκυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων περιγράφεται στο σχήμα 62 που ακολουθεί. Όπως φαίνεται από τη ρετροσύνθεση του σχήματος, κομβικές ενώσεις του νέου συνθετικού μονοπατιού είναι οι εκλεκτικά προστατευμένοι νουκλεοζίτες, οι οποίοι φέρουν ελεύθερο υδροξύλιο στη 2'-θέση του σακχάρου, ενώ πρώτη ύλη αποτελεί η νεοσυντιθέμενη ένωση **17**.



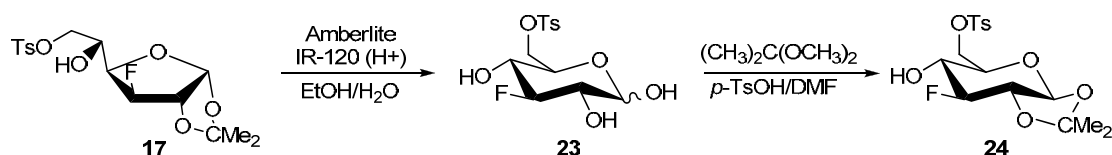
B = Βάση, R = Bz ή OH, R₁ = Ac ή OH, R₂ = Ts

Σχήμα 62

3',4'-Διδεοξυ-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)- 6'-θειο-2'-κετοακόρεστα-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα της θυμίνης, της ουρακίλης και της 5-φθορουρακίλης

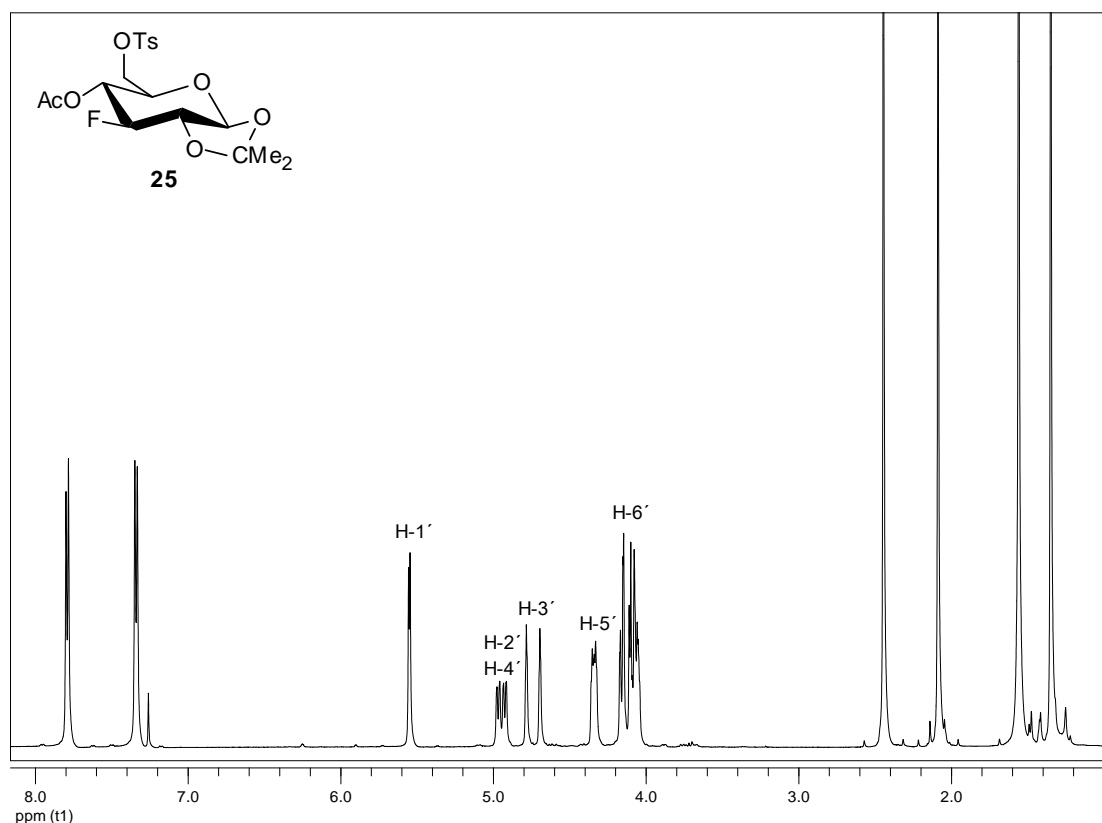
Η συνθετική διαδικασία που ακολουθήθηκε για την παρασκευή των επιθυμητών φθοριωμένων κετοακόρεστων 6'-S-(2-S-πυριδινυλο)- 6'-θειονουκλεοζιτών (δομή **XXI**, ενώσεις **33α-γ**, Σχήμα 59), περιλαμβάνει ως πρώτη ύλη το σάκχαρο, 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2-O-ισοπροπυλιδενο-6-O-τολουολοσουλφονυλο-α-D-γλυκοφουρανόζη (**17**). Η σύνθεση της ένωσης **17** έχει ήδη περιγραφεί (σχήμα 48).

Συνεπώς, το πρώτο στάδιο της συνθετικής διαδικασίας περιλαμβάνει υδρόλυση την ένωσης **17** με ένα θερμό υδατικό διάλυμα της ρητίνης Amberlite IR-120 (H⁺) (Foster *et al.* 1967), η οποία οδηγεί στην ένωση, 6-O-π-τολουολοσουλφονυλο-3-δεοξυ-3-φθορογλυκόζη (**23**). Στη συνέχεια ακολουθεί εκλεκτική προστασία των δύο από τα τρία ελεύθερα υδροξύλια του μορίου **23**. Συγκεκριμένα, τα υδροξύλια στις 1'- και 2'-θέσεις του σακχάρου προστατεύονται με μία ισοπροπυλιδενική ομάδα, με επίδραση 2,2-διμεθοξυπροπανίου [(CH₃)₂C(OCH₃)₂] επί της ένωσης **23** και του *p*-TsOH ως καταλύτη σε DMF (Leclercq and Antonakis 1989), οπότε και λαμβάνεται το παράγωγο **24**, το οποίο απομονώνεται εύκολα σε απόδοση 70% (σχήμα 63).



Σχήμα 63

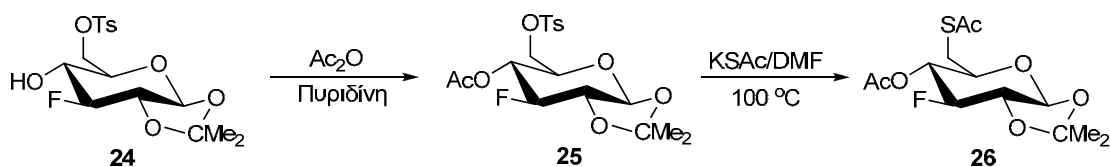
Πραγματοποιείται ακετυλίωση της ένωσης **24**, παρουσία Ac₂O και πυριδίνης, που οδηγεί στο ακετυλιωμένο 6-O-π-τολουολοσουλφονυλο-παράγωγο **25**, το οποίο λαμβάνεται σε απόδοση 89%. Στο σχήμα 64 απεικονίζεται το φάσμα ¹H-NMR της ένωσης **25**.



Σχήμα 64

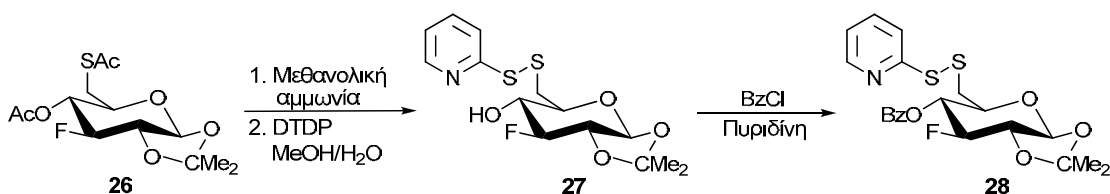
Από τη μελέτη του φάσματος $^1\text{H-NMR}$ της συγκεκριμένης ένωσης, το οποίο φαίνεται στο παραπάνω σχήμα, επιβεβαιώνεται η ύπαρξη της ισοπροπυλιδενικής ομάδας, από την εμφάνιση των σημάτων των πρωτονίων της στα 1.56 και 1.35 ppm ως απλές κορυφές. Η παρουσία των σημάτων στα 7.79 και 7.34 ppm ως διπλών κορυφών, καθώς και η απλή κορυφή στα 2.45 ppm δηλώνουν την ύπαρξη της τοζυλομάδας. Ακόμη, οι υψηλές τιμές των σταθερών σύζευξης $J_{2',3'} = 9.1 \text{ Hz}$ και $J_{3',4'} = 8.0 \text{ Hz}$ δηλώνουν την ύπαρξη του εξαμελούς δακτυλίου.

Ακολουθεί αντικατάσταση του τοζυλίου της ένωσης **25** (Σχήμα 65) από το θειοακετύλιο, με επίδραση KSAc σε διαλύτη DMF (Hughes and Munkombwe 1985), οπότε λαμβάνεται το θειοπαράγωγο, 1,2-Ο-ισοπροπυλιδενο-4-Ο-ακετυλο-6-*S*-ακετυλο-6-θειο-3-δεοξυ-3-φθορο- α -*D*-γλυκοπυρανόζη (**26**).



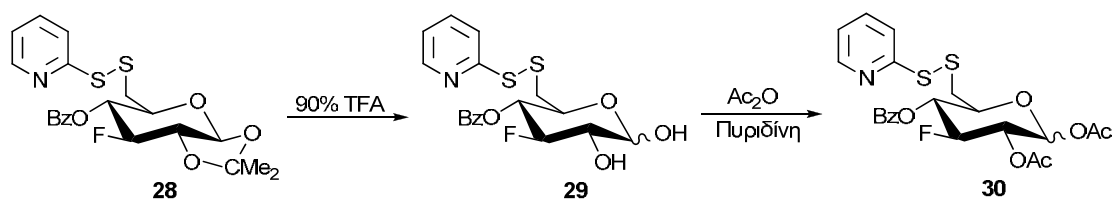
Σχήμα 65

Στη συνέχεια η απακετυλίωση της ένωσης **26** σε διάλυμα μεθανολικής αμμωνίας και απευθείας διθειοπυριδινυλίωση παρουσία DTDP σε νερό και μεθανόλη σε θερμοκρασία δωματίου (Gerland *et al.* 2008) οδηγεί στην παραγωγή του θειοπυριδινυλικού παραγώγου **27**. Ακολουθεί προστασία του ελεύθερου υδροξυλίου στην 4'-θέση του σακχάρου της ένωσης 1,2-Ο-ισοπροπυλιδενο-6-*S*-(2-*S*-πυριδινυλο)-6-θειο-3-δεοξυ-3-φθορο- α -*D*-γλυκοπυρανόζη (**27**) (Σχήμα 66), με BzCl σε πυριδίνη, οπότε το βενζοϋλιωμένο παράγωγο **28** λαμβάνεται σε άριστη απόδοση 82%. Από τη μελέτη του φάσματος $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **28**, επιβεβαιώνεται η παρουσία της θειοπυριδινυλικής ομάδας από τα σήματα που εμφανίζονται στα 8.48 ppm (H-6, πυριδίνη), 7.66-7.59 ppm (m, H-4 και H-5, πυριδίνη), και 7.14-7.11 (m, H-3, πυριδίνη).



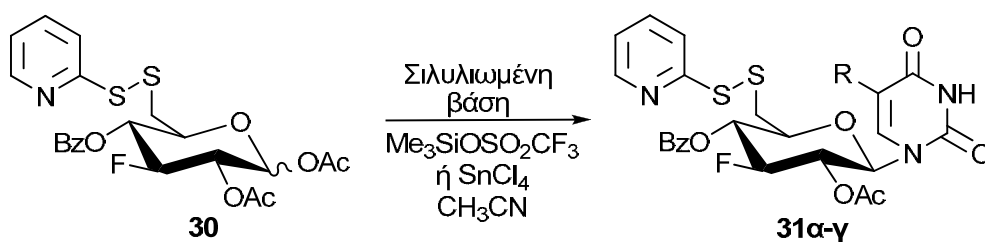
Σχήμα 66

Το επόμενο βήμα της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει τη διάνοιξη του ακετονιδίου του προϊόντος **28**, η οποία πραγματοποιείται με την προσθήκη υδατικού διαλύματος TFA (Tsuda *et al.* 1996), δίνοντας την ένωση **29**, της οποίας η ακετυλίωση, με Ac_2O και πυριδίνη, οδηγεί στην ένωση **30**. Η ένωση 1,2-δισ-*O*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-*S*-(2-*S*-πυριδινυλο)-6-θειο-*D*-γλυκοπυρανόζη (**30**) (Σχήμα 67) αποτελεί την ένωση-κλειδί για την παραγωγή των κομβικών μορίων της σύνθεσης των τελικών επιθυμητών νουκλεοζιτών.



Σχήμα 67

Για τη σύνθεση, συνεπώς, των νουκλεοζιτών **31α-γ** ακολουθούν αντιδράσεις συμπύκνωσης της ένωσης **30** με τις αντίστοιχες αζωτούχες βάσεις (Σχήμα 68). Συγκεκριμένα, η σύζευξη του θειοπυριδινυλικού σακχάρου **30** με τη σιλυλιωμένη βάση, θυμίνη, λαμβάνει χώρα παρουσία του SnCl_4 (Vorbruggen and Hofle 1981) ως καταλύτη, οπότε παράγεται το επιθυμητό προϊόν 1-(2'-O-ακετυλο-4'-O-βενζοϋλο-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανο-ζυλο)θυμίνη (**31α**), σε απόδοση 66% υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού.



α = Θυμίνη (R = CH_3), β = Ουρακίλη (R = H), γ = 5-Φθοροουρακίλη (R = F)

Σχήμα 68

Ακολουθώντας, την ίδια πειραματική διαδικασία παράγονται και οι θειοπυριδινυλονουκλεοζίτες της ουρακίλης **31β**, και της 5-φθοροουρακίλης **31γ**, μετά δηλαδή από τη σύζευξη των αντίστοιχων σιλυλιωμένων βάσεων με το σάκχαρο **30**, η οποία λαμβάνει χώρα παρουσία του $\text{Me}_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$ ως καταλύτη σε διαλύτη CH_3CN , και οδηγεί στη σύνθεση των θειοπυριδινυλικών νουκλεοζιτικών παραγώγων **31β,γ**, σε αποδόσεις μεταξύ 64 και 67%.

Τα αποτελέσματα από τις μελέτες των φασμάτων $^1\text{H-NMR}$ των τελικών γλυκοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων **31α-γ** παρουσιάζονται στον πίνακα 14. Από την εξέταση των αποτελεσμάτων επιβεβαιώνεται η ύπαρξη της θειοπυριδινυλομάδας, τα πρωτόνια της οποίας συντονίζονται μεταξύ 8.43-

7.03 ppm. Επιπλέον, παρατηρείται η παρουσία των κορυφών των τριων πρωτονίων των μεθυλιών των ακετυλομάδων, καθώς και των πρωτονίων των βενζοϋλομάδων, γεγονός το οποίο αποδεικνύει την προστασία των υδροξυλίων στις 2'- και 4'-θέσεις του σακχάρου.

Πίνακας 14. Ανάλυση φασμάτων ^1H NMR των ενώσεων **31α-γ**

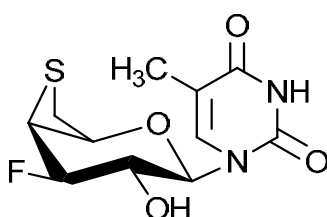
Προϊόν	H-1'	H-2' - H-4'	H-3'	H-5'	H-6'α, 6'β	Άλλα Σήματα
14α^α	5.75 (d), $J_{1',2'}=9.5$ Hz	5.47-5.34 (m, H-4') 5.35-5.18 (m, H-2')	5.09 (dtr), $J_{3',2'}=9.1$ Hz, $J_{3',4'}=9.5$ Hz, $J_{F,3'}=50.0$ Hz	3.98-3.86 (m)	3.40-3.33 (m) 3.15-3.10 (m)	8.11-8.05 και 7.70-7.45 (9H, Bz και πυριδίνη), 8.23 (br s, NH), 7.12 (s, 1H, H-6), 2.00 (s, 3H, OAc), 1.93 (s, 5-CH ₃)
31β^α	5.79 (d), $J_{1',2'}=9.2$ Hz	5.49-5.37 (m, H-4') 5.32-5.21 (m, H-2')	4.86 (dtr), $J_{3',2'}=9.2$ Hz, $J_{3',4'}=9.5$ Hz, $J_{F,3'}=51.8$ Hz	4.17-4.07 (m)	3.20-2.92 (m)	8.43-7.03 (9H, Bz και πυριδίνη), 8.30 (br s, NH), 7.32 (d, $J_{6,5}=8.3$ Hz, H-6), 5.84 (d, 1H, H-5), 2.07 (s, 3H, OAc)
31γ^α	5.78 (d), $J_{1',2'}=9.0$ Hz	5.49-5.39 (m, H-4') 5.26-5.15 (m, H-2')	4.87 (dtr), $J_{3',2'}=9.1$ Hz, $J_{3',4'}=8.9$ Hz, $J_{F,3'}=51.4$ Hz	4.18-4.09 (m)	3.18-2.95 (m)	8.44-7.01 (9H, Bz και πυριδίνη), 8.16 (br s, NH), 7.38 (d, $J_{6,5F}=5.6$ Hz, H-6), 2.08 (s, 3H, OAc)

^αCD₃OD

Για να ληφθούν οι πρόδρομες ενώσεις **32α-γ** που θα οδηγήσουν στα επιθυμητά 6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-2'-κετοακόρεστα νουκλεοζιτικά ανάλογα, απαιτείται η μερική αποπροστασία των ενώσεων **31α-γ**. Έτσι, πραγματοποιείται κατεργασία των προϊόντων **31α-γ** με NaOH σε EtOH-πυριδίνη (Milecki *et al.* 2001). Η εκλεκτική απακετυλίωση των νουκλεοζιτών **31α-γ** λαμβάνει χώρα υπό ήπιες συνθήκες και συγκεκριμένα στους 0 °C για 30 λεπτά. Ωστόσο, η συγκεκριμένη αντίδραση οδηγεί στην καταστροφή των νουκλεοζιτών με αποτέλεσμα τη λήψη προϊόντων αποικοδόμησης. Μετά από επιπλέον προσπάθειες εκλεκτικής απακετυλίωσης παρουσία *p*-TsOH σε μεθανόλη ή ακετυλοχλωριδίου σε διχλωρομεθάνιο/μεθανόλη, το αποτέλεσμα

παραμένει το ίδιο. Παρόμοια προβλήματα αντιμετωπίζονται και με τη χρήση υδροχλωρικής υδροξυλαμίνης και οξικού νατρίου.

Θα πρέπει να αναφερθεί ότι κατά την πρώτη προσπάθεια μερικής αποπροστασίας του θειονουκλεοζίτη **31α** με NaOH σε EtOH-πυριδίνη, απομονώθηκε ένα από τα παραπροϊόντα, το οποίο ήταν και το περισσότερο από τα υπόλοιπα. Μετά από ταυτοποίηση του απομονωμένου αυτού προϊόντος, σύμφωνα τόσο με το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ όσο και με το φάσμα μάζας, βρέθηκε ότι την ένωση αποτελεί το θειοάνυδρο παράγωγο της θυμίνης, που φαίνεται στο σχήμα 69.

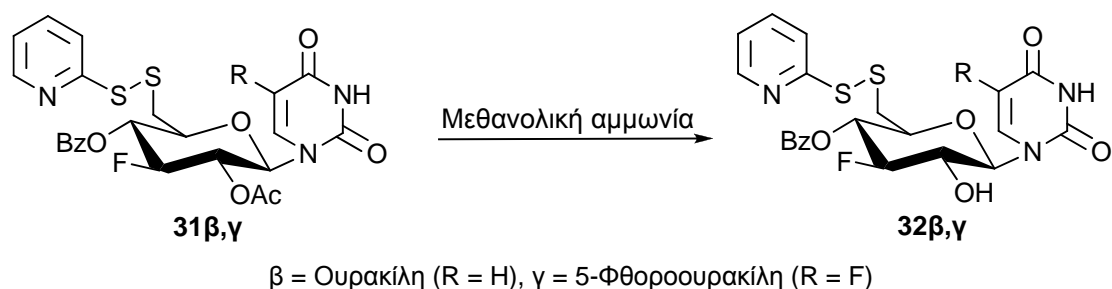


Σχήμα 69

Από τη μελέτη του φάσματος $^1\text{H-NMR}$ του θειοάνυδρο παραγώγου είναι εμφανής η απουσία των σημάτων των πρωτονίων της θειοπυριδινυλικής ομάδας, της βενζοϋλομάδας καθώς και του σήματος των τριών πρωτονίων της ακετυλομάδας. Ακόμη, μία κορυφή διπλή-διπλών στα 6.14 ppm, αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-1' του δακτυλίου του σακχάρου, ενώ χαρακτηριστική είναι η κορυφή που αναφέρεται στο πρωτόνιο H-3', η οποία εμφανίζεται στα 4.74 ppm ως διπλή-τριπλών με σταθερά σύζευξης $J_{3',F} = 49.8$ Hz. Τέλος, τα δύο σήματα που παρουσιάζονται ως δύο πολλαπλές κορυφές γύρω στα 4.44-4.39 ppm και 4.08-3.98 ppm αναφέρονται στα πρωτόνια H-4' και H-2'. Ακολουθεί το σήμα του πρωτονίου H-5' στην περιοχή των 3.39-3.32 ppm και τα σήματα των πρωτονίων H-6'α και H-6'β του υδατανθρακικού δακτυλίου.

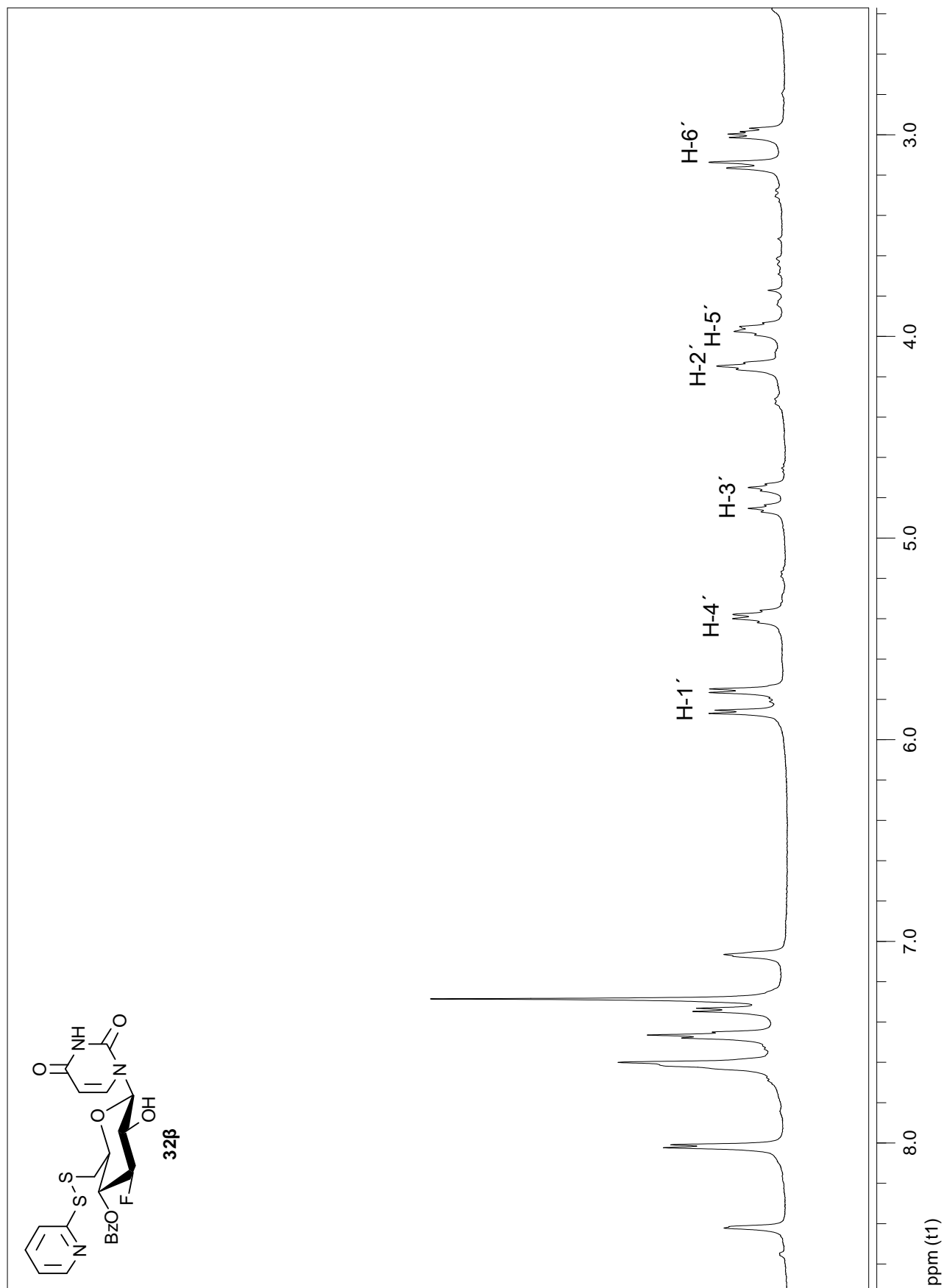
Παρόλα αυτά όμως, όταν η αντίδραση απακετυλίωσης πραγματοποιείται παρουσία 30% διαλύματος μεθανολικής αμμωνίας με ταυτόχρονο έλεγχο της πορείας της αντίδρασης (ανά 10 λεπτά), οδηγεί στα μερικώς προστατευμένα ανάλογα **32β,γ** (Σχήμα 70), τα οποία λαμβάνονται σε

απόδοση της τάξεως του 50%. Η χαμηλή απόδοση οφείλεται στην ταυτόχρονη απομάκρυνση της βενζοϋλομάδας στη 4'-θέση του σακχάρου.



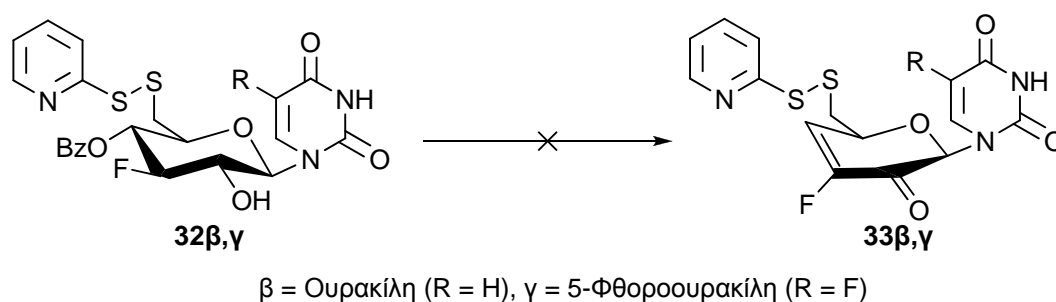
Σχήμα 70

Από τις μελέτες των φασμάτων $^1\text{H-NMR}$ των ενώσεων **32β,γ** διαπιστώνεται η απουσία της κορυφής των πρωτονίων της ακετυλομάδας, ενώ επιβεβαιώνεται η ύπαρξη της θειοπυριδινυλομάδας, από την εμφάνιση των σημάτων των πρωτονίων της ως πολλαπλές κορυφές στα 8.30-7.11 ppm. Ενδεικτικά, στο σχήμα 71 φαίνεται το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **32β**.



Σχήμα 71

Το τελευταίο βήμα της σύνθεσης των επιθυμητών 6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-2'-κετοακόρεστων-3'-φθορο-β-D-γλυκοκυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων **33β,γ** (Σχήμα 72), είναι η οξείδωση του ελεύθερου υδροξυλίου της 4'-θέσης του σακχάρου των αντίστοιχων μερικώς προστατευμένων νουκλεοζιτών **32β,γ**. Είναι σημαντικό να τονιστεί, ότι η συγκεκριμένη αντίδραση οξείδωσης αποτελεί ένα κρίσιμο στάδιο της συνθετικής πορείας, λόγω της ύπαρξης της θειοπυριδινυλομάδας. Τα αποτελέσματα, ωστόσο, αυτής της αντίδρασης είναι ιδιαίτερα απογοητευτικά.



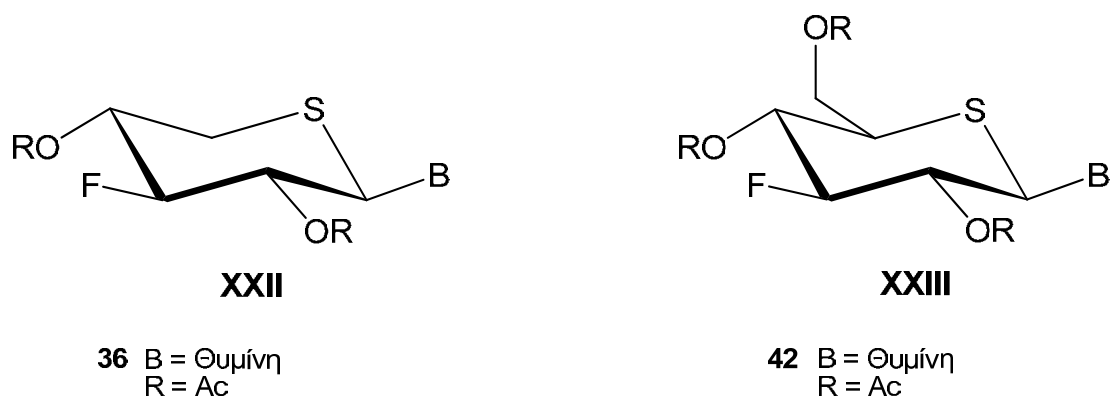
Σχήμα 72

Αρχικά η οξείδωση λαμβάνει χώρα παρουσία διχρωμικής πυριδίνης (PDC) και Ac_2O σε διχλωρομεθάνιο στους 60°C (Herscovici and Antonakis 1979), και οδηγεί στην καταστροφή των αρχικών προϊόντων με αποτέλεσμα τη λήψη προϊόντων αποικοδόμησης. Μετά από αντιδράσεις οξείδωσης υπό ήπιες συνθήκες, όπως παρουσία του ιωδιούχου παραγωγού Dess-Martin periodinane (DMP) σε διχλωρομεθάνιο (Dess and Martin 1983) ή με οξείδωση Swern (Komiotis *et al.* 1995), παρουσία οξαλικού διχλωριδίου $[(\text{COCl})_2]$, διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO) και τριαιθυλαμίνης, το αποτέλεσμα παραμένει το ίδιο. Τέλος, χωρίς αποτέλεσμα καταλήγει και η αντίδραση οξείδωσης, η οποία πραγματοποιείται με το σύστημα DMSO / Ac_2O , στους 100°C . Δυστυχώς καμία από αυτές τις μεθόδους οξείδωσης δεν είναι ικανή να οδηγήσει στα επιθυμητά τελικά 6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-2'-κετοακόρεστα φθορονουκλεοζιτικά ανάλογα. Έτσι, δεν κατέστη δυνατόν να ολοκληρωθεί η συγκεκριμένη συνθετική πορεία.

ΦΘΟΡΟ-5'-ΘΕΙΟΠΥΡΑΝΟΖΕΣ-ΦΘΟΡΟ-5'-ΘΕΙΟΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ

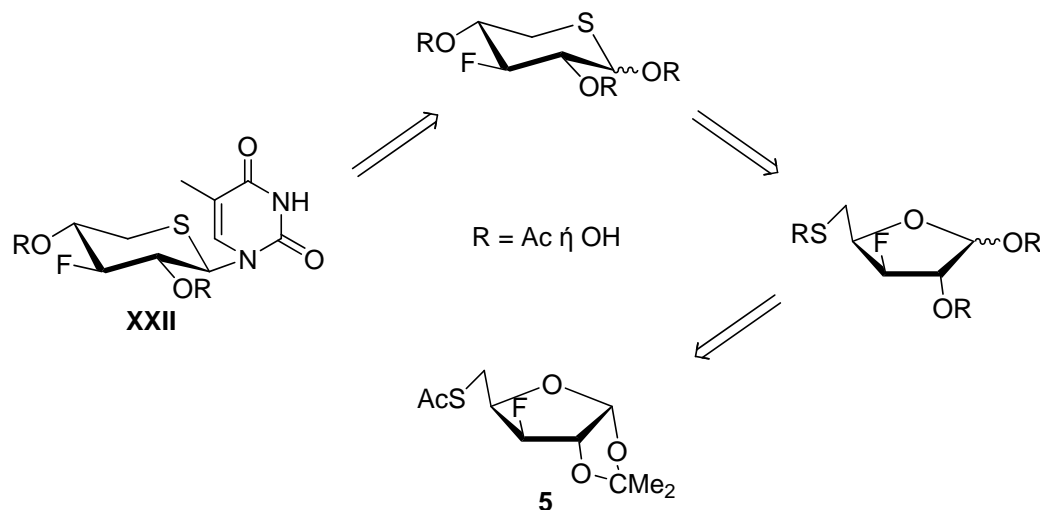
Όπως προαναφέρθηκε, τόσο τα θειοσάκχαρα όσο και οι θειονουκλεοζίτες, έχοντας το θείο εντός του δακτυλίου του σακχάρου, παρουσιάζουν ενδιαφέρουσες αντιβιοτικές, αντιικές και αντνεοπλασματικές ιδιότητες. Πολλοί 4'-θειοπυριμιδινικοί νουκλεοζίτες, παρουσιάζουν αντικαρκινικές ιδιότητες, ενώ ο 3'-θειονουκλεοζίτης, 3TC (*Lamivudine*) χρησιμοποιείται ως αντί-HIV φάρμακο.

Μετά τη βιολογική αποτίμηση και την εκτίμηση των αποτελεσμάτων των νεοσυντιθέμενων φθοριωμένων θειονουκλεοζιτών και λαμβάνοντας υπόψη ότι νουκλεοζίτες, που φέρουν ως σάκχαρο μία εξόζη, έχουν αξιολογηθεί για τις πιθανές αντιικές, αντικαρκινικές και αντιβιοτικές τους ιδιότητες, θεωρήθηκε ενδιαφέρουσα η σύνθεση μιας νέας τάξης φθοριωμένων θειονουκλεοζιτών και ειδικότερα των 3'-φθορο-5'-θειο-β-D-ξυλοπυρανο και γλυκοπυρανο-νουκλεοζιτικών αναλόγων της θυμίνης (δομές **XXII** και **XXIII**, ενώσεις **36** και **42**, Σχήμα 73), αφού πρώτα πραγματοποιηθεί η σύνθεση των πρόδρομων ενώσεων, φθορο-θειοξυλο- και γλυκοπυρανοζών. Η νέα σειρά των φθοριωμένων θειοπυρανοζών και των αντίστοιχων νουκλεοζιτών διαθέτει: α) θυμίνη ως ετεροκυκλική βάση β) θείο στη 5'-θέση εντός του δακτυλίου του σακχάρου και γ) φθόριο στη 3'-θέση του σακχάρου.



Σχήμα 73

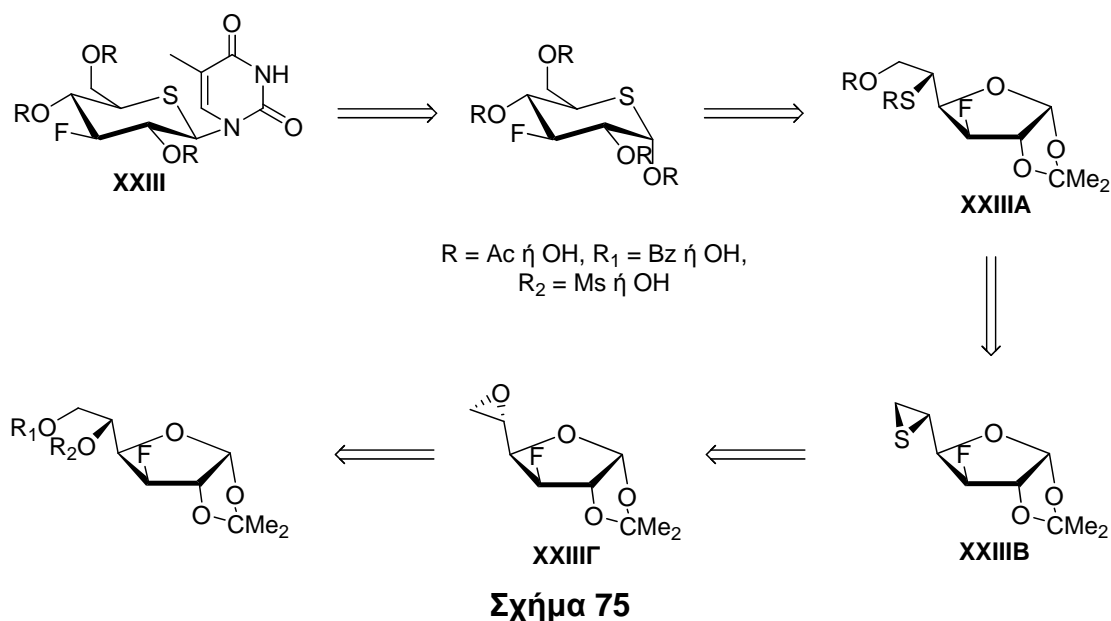
Οι ρετροσυνθετικές προσεγγίσεις για την παρασκευή τόσο των φθορο-θειοξυλο- και γλυκο-πυρανοζών όσο και των αντίστοιχων νουκλεοζιτικών αναλόγων της θυμίνης περιγράφονται στα σχήματα που ακολουθούν:



Σχήμα 74

Από τη ρετροσύνθεση του σχήματος 74, φαίνεται ότι κομβική ένωση για τη σύνθεση της νέας θειοξυλοπυρανόζης είναι το σάκχαρο της 5-θειοξυλοφουρανόζης, ενώ το ρόλο της πρώτης ύλης παίζει το νεοσυντιθέμενο πλήρως προστατευμένο σάκχαρο **5**, του οποίου η σύνθεση έχει περιγραφεί σε προηγούμενη ενότητα.

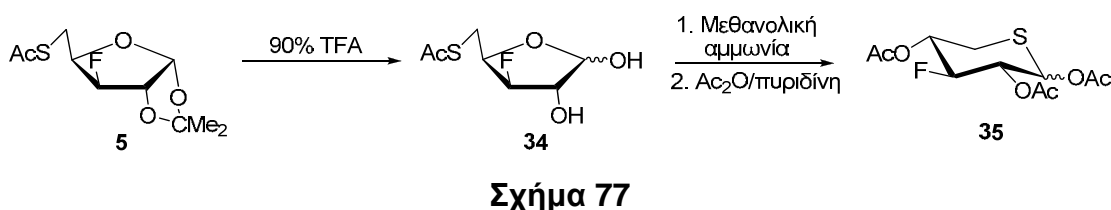
Παράλληλα, όπως απεικονίζεται στο σχήμα 75, κομβική ένωση για την παρασκευή της νέας θειογλυκοπυρανόζης είναι η 5-θειοακετυλιωμένη γλυκοφουρανόζη (δομή **XXIII A**). Θα πρέπει να αναφερθεί ότι απαραίτητο ενδιάμεσο προϊόν είναι το 5,6-επιθειο-παράγωγο (δομή **XXIII B**), το οποίο προέρχεται από το 5,6-εποξειδίο (δομή **XXIII Γ**), με ταυτόχρονη αναστροφή της στερεοχημείας. Για την πραγματοποίηση της σύνθεσης της 5-θειοακετυλιωμένης γλυκοφουρανόζης (δομή **XXIII A**), απαιτείται η προσβολή του 5,6-επιθειο-δακτυλίου, κατά την οποία επιτρέπεται η διατήρηση της διαμόρφωσης της γλυκοφουρανόζης, καθώς και η σύνδεση της θειομάδας στον C-5 του σακχάρου.



1,2,4-Τρις-Ο-ακετυλο-3-φθορο-5-θειο-*D*-ξυλοπυρανόζη και 1-(2',4'-δισ-Ο-ακετυλο-3'-φθορο-5'-θειο-*β*-*D*-ξυλοπυρανοζυλο)θυμίνη

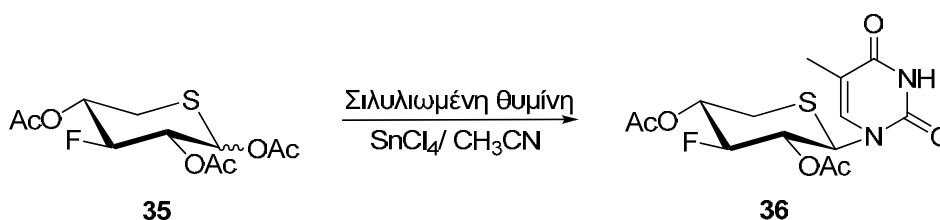
Όπως προαναφέρθηκε, η συνθετική διαδικασία που ακολουθήθηκε για την παρασκευή της επιθυμητής 5-θειοξυλοπυρανόζης και του αντίστοιχου αναλόγου της θυμίνης, περιλαμβάνει ως πρώτη ύλη το θειοακετυλιωμένο παράγωγο, 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2-*O*-ισοπροπυλιδενο-5-*S*-ακετυλο-5-θειο-*α*-*D*-ξυλοφουρανόζη (**5**).

Το πρώτο βήμα της συνθετικής πορείας πραγματοποιείται με τη διάνοιξη του ακετονιδίου της ένωσης **5** με την προσθήκη υδατικού διαλύματος TFA (Tsuda *et al.* 1996), δίνοντας το σάκχαρο **34** (Σχήμα 77). Από την μελέτη του φάσματος ¹H-NMR της ένωσης **34**, διαπιστώνεται η απουσία της κορυφής των πρωτονίων της ισοπροπυλιδενικής ομάδας, ενώ χαρακτηριστική είναι η κορυφή των πρωτονίων της θειοακετυλομάδας.



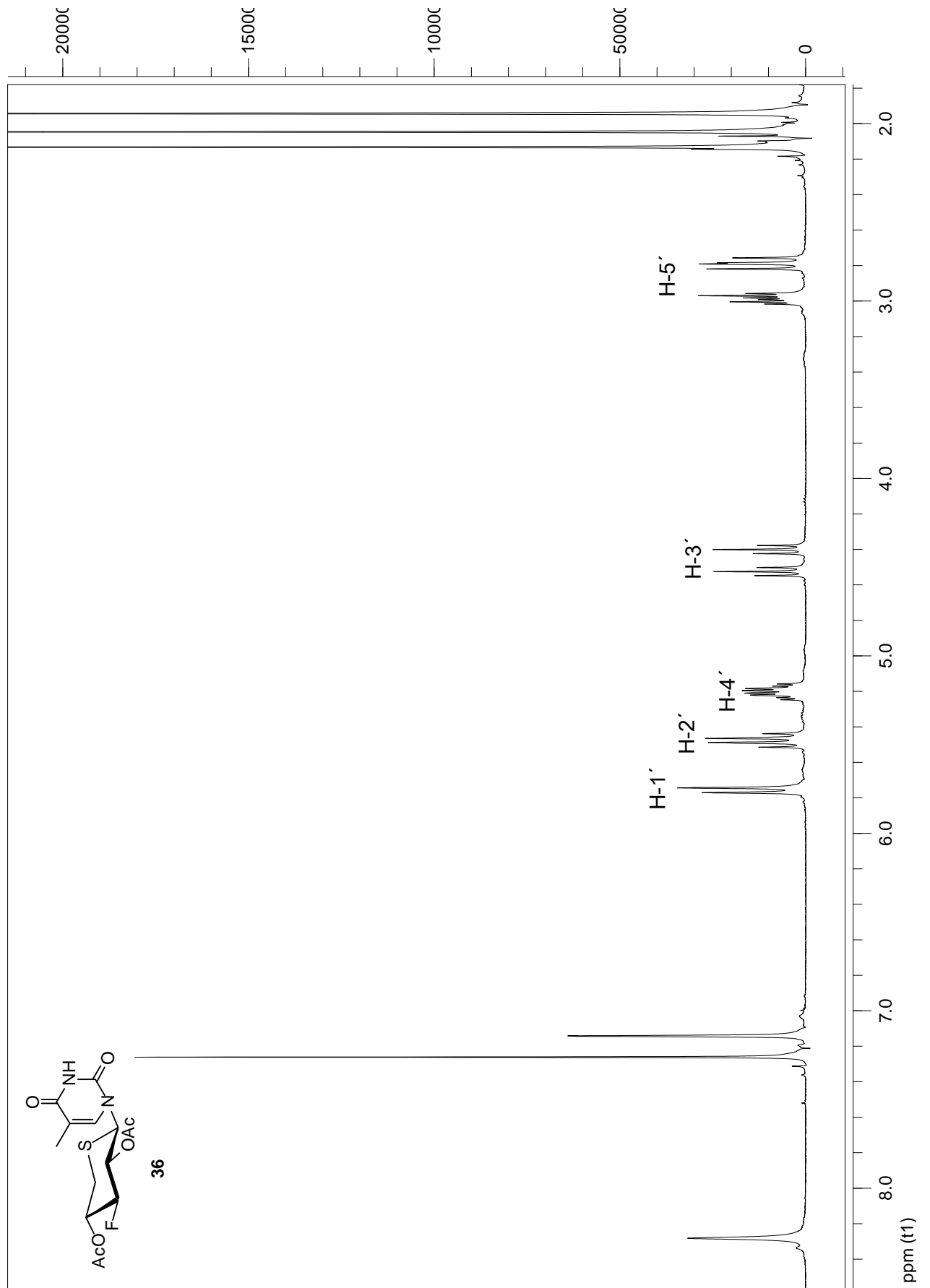
Η αντίδραση που ακολουθεί αποτελεί και το καθοριστικό βήμα για την παρασκευή της επιθυμητής θειοξυλοπυρανόζης. Συνεπώς, πραγματοποιείται αποπροστασία του σακχάρου **34** με μεθανολική αμμωνία και απευθείας ακετυλίωση, παρουσία Ac_2O και πυριδίνης (Vanheusden *et al.* 2004), που οδηγεί στην 5-θειοξυλοπυρανόζη **35** (Σχήμα 77), η οποία λαμβάνεται σε απόδοση 65%. Θα πρέπει να τονιστεί ότι γίνεται λήψη ανωμερικού μίγματος του τριακετυλιωμένου σακχάρου σε αναλογία 4:1 (α/β ανωμερή). Η παρατήρηση αυτή επιβεβαιώνεται, μετά τη μελέτη του φάσματος $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **35**, από τις τιμές των σταθερών σύζευξης, οι οποίες για το α ανωμερές είναι $J_{1',2'} = 2.5 \text{ Hz}$, $J_{2',3'} = 9.5 \text{ Hz}$ και $J_{3',4'} = 9.5 \text{ Hz}$, ενώ για το β ανωμερές είναι $J_{1',2'} = 8.8 \text{ Hz}$, $J_{2',3'} = 8.6 \text{ Hz}$ και $J_{3',4'} = 8.6 \text{ Hz}$. Ακόμη, το γεγονός ότι το τριακετυλιωμένο παράγωγο δεν εμφάνισε χαρακτηριστική απορρόφηση της θειοακετυλομάδας, στο φάσμα υπερύθρου, στα 1697 cm^{-1} αποδεικνύει ότι το προϊόν **35** έχει την επιθυμητή δομή θειοπυρανόζης.

Μετά τη σύνθεση του ακετυλιωμένου θειοσακχάρου **35**, που αποτελεί την ένωση-κλειδί για τη λήψη του επιθυμητού φθορο-θειοξυλοπυρανονουκλεοζιτικού αναλόγου, το τελευταίο βήμα της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει τη σύζευξη του αντίστοιχου θειοσακχάρου με την ετεροκυκλική βάση, θυμίνη. Συγκεκριμένα, η σύζευξη της θειοξυλοπυρανόζης **35** με τη σιλυλιωμένη θυμίνη, λαμβάνει χώρα παρουσία του SnCl_4 (Vorbruggen and Hofle 1981) ως καταλύτη, οπότε παράγεται το επιθυμητό προϊόν 1-(2',4'-δισ-*O*-ακετυλο-5'-θειο-3'-δεοξυ-3'-φθορο- β -*D*-ξυλοπυρανοζυλο)θυμίνη (**36**) (Σχήμα 78), σε απόδοση 68% υπό τη μορφή λευκού στερεού.



Σχήμα 78

Από τη μελέτη του φάσματος $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **36** (Σχήμα 79), προκύπτει ότι η διπλή κορυφή στα 5.75 ppm με σταθερά σύζευξης $J_{1',2'} = 10.7$ Hz, αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-1' του σακχάρου. Ακολουθεί το σήμα του πρωτονίου H-2' στην περιοχή των 5.47 ppm με σταθερά σύζευξης $J_{2',3'} = 9.1$ Hz, ενώ στη συνέχεια διακρίνεται το σήμα του πρωτονίου H-4', ως κορυφή διπλή-διπλών στα 5.21 ppm, και με σταθερές σύζευξης $J_{4',5'\alpha} = 11.2$ Hz και $J_{4',5'\beta} = 4.9$ Hz. Χαρακτηριστικό είναι το σήμα του πρωτονίου H-3', το οποίο εμφανίζεται ως κορυφή διπλή-τριπλών στα 4.46 ppm, με σταθερές σύζευξης $J_{3',F} = 49.6$ Hz και $J_{3',4'} = 9.2$ Hz. Τέλος, διακρίνονται τα σήματα των πρωτονίων H-5'β και H-5'α του υδατανθρακικού δακτυλίου ως πολλαπλές κορυφές περίπου στα 3.01-2.93 και 2.82-2.74 ppm αντίστοιχα, ενώ τα σήματα των πρωτονίων των ακετυλομάδων παρουσιάζονται στα 2.13 και 2.05 ppm.

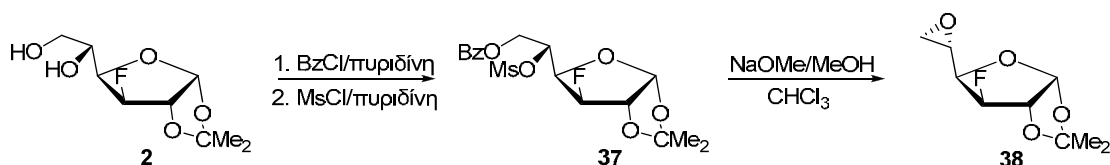


Σχήμα 79

1,2,4,6-Τετρακίς-Ο-ακετυλο-5-θειο-3-φθορο-α-D-γλυκοπυρανόζη και 1-(2',4',6'-τρις-Ο-ακετυλο-5'-θειο-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)θυμίνη

Όπως φαίνεται στη ρετροσυνθετική πορεία του σχήματος 76, για την παρασκευή της επιθυμητής 5-θειογλυκοπυρανόζης και του αντίστοιχου αναλόγου της θυμίνης, ως πρώτη ύλη χρησιμοποιείται η γλυκοφουρανόζη **2**.

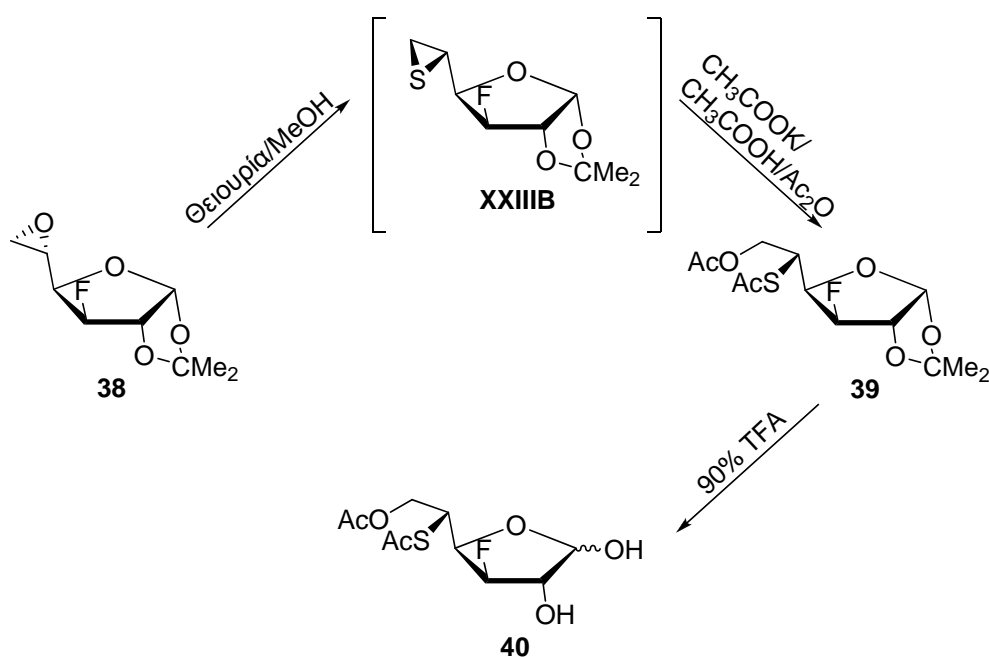
Το πρώτο στάδιο της συνθετικής διαδικασίας περιλαμβάνει την εκλεκτική βενζοϋλίωση της πρωτοταγούς υδροξυλομάδας στον άνθρακα C-6 της ένωσης **2**, με BzCl σε πυριδίνη στους -25 °C, η οποία καταλήγει στο αντίστοιχο 6-βενζοϋλιωμένο προϊόν (Yuasa *et al.* 1990). Ακολουθεί απευθείας προστασία της υδροξυλομάδας στην 5'-θέση του σακχάρου του βενζοϋλιωμένου προϊόντος, με μία μεθανοσουλφονυλομάδα, παρουσία μεθανοσουλφονυλοχλωριδίου (MsCl) σε πυριδίνη σε θερμοκρασία δωματίου, δίνοντας το 6-Ο-βενζοϋλο-5-Ο-μεθανοσουλφονυλο παραγώγο **37** (Σχήμα 80). Στη συνέχεια με επίδραση μεθανολικού νατρίου στον διεστέρα **37** σε άνυδρο χλωροφόρμιο (Hasegawa *et al.* 1978) παράγεται το 5,6-εποξειδίο **38** (Σχήμα 80), με απόδοση 71%.



Σχήμα 80

Κατεργασία του εποξειδίου **38** με θειουρία και απευθείας ακετόλυση του ενδιάμεσου 5,6-επιθειο-παραγώγου **XXIII B**, παρουσία οξικού καλίου (CH₃COOK) σε διάλυμα CH₃COOH / Ac₂O (Yuasa *et al.* 1990) έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή του θειακετυλιωμένου αναλόγου, 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2-Ο-ισοπροπυλιδενό-5-Ο-ακετυλο-6-Ο-ακετυλο-6-θειο-α-D-γλυκοφουρανόζη (**39**) (Σχήμα 81), το οποίο λαμβάνεται σε απόδοση 69% υπό τη μορφή άχρωμων κρυστάλλων. Θα πρέπει να τονιστεί ότι στο φάσμα υπερύθρου της ένωσης **39** παρουσιάζονται χαρακτηριστικές απορροφήσεις στα 1730 cm⁻¹ και 1685 cm⁻¹, οι οποίες προσδιορίζουν την ακετυλομάδα και την θειακετυλομάδα, αντίστοιχα.

Το επόμενο στάδιο της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει τη διάνοιξη του ακετονιδίου του προϊόντος **39**, η οποία πραγματοποιείται με την προσθήκη υδατικού διαλύματος TFA (Tsuda *et al.* 1990), δίνοντας την ένωση **40** (Σχήμα 81), η οποία αποτελεί και την κομβική ένωση για την παρασκευή της επιθυμητής 5-θειογλυκοπυρανόζης.

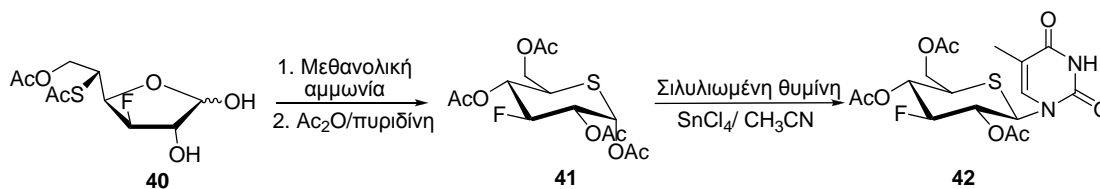


Σχήμα 81

Από την μελέτη του φάσματος $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **40**, επιβεβαιώνεται η απουσία της κορυφής των πρωτονίων του μεθυλίου της ισοπροπυλιδενικής ομάδας, ενώ χαρακτηριστικές είναι οι κορυφές των πρωτονίων των μεθυλίων της θειοακετυλομάδας και της ακετυλομάδας, αντίστοιχα.

Ακολουθεί το καθοριστικό βήμα για την παρασκευή της επιθυμητής θειογλυκοπυρανόζης, το οποίο περιλαμβάνει αποπροστασία του σακχάρου **40** με μεθανολική αμμωνία και απευθείας ακετυλίωση (Vanheusden *et al.* 2004), παρουσία Ac_2O και πυριδίνης, με αποτέλεσμα την παραγωγή της 5-θειογλυκοπυρανόζης **41** (Σχήμα 82), η οποία λαμβάνεται σε απόδοση 69%. Θα πρέπει να επισημάνουμε ότι λαμβάνεται κατά κύριο μέρος το α -ανωμερές της θειογλυκοπυρανόζης **41**, γεγονός που επιβεβαιώνεται εξετάζοντας το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης, από τις τιμές των σταθερών σύζευξης, οι οποίες είναι $J_{1',2'} = 3.2 \text{ Hz}$, $J_{2',3'} = 10.0 \text{ Hz}$ και $J_{3',4'} = 9.5 \text{ Hz}$. Χαρακτηριστική είναι,

ωστόσο, και η απουσία της απορρόφησης της θειοακετυλομάδας, στο φάσμα υπερέθρου, στα 1697 cm^{-1} , γεγονός που αποδεικνύει ότι το τετρακετυλιωμένο παράγωγο **41** έχει την επιθυμητή δομή θειοπυρανόζης.

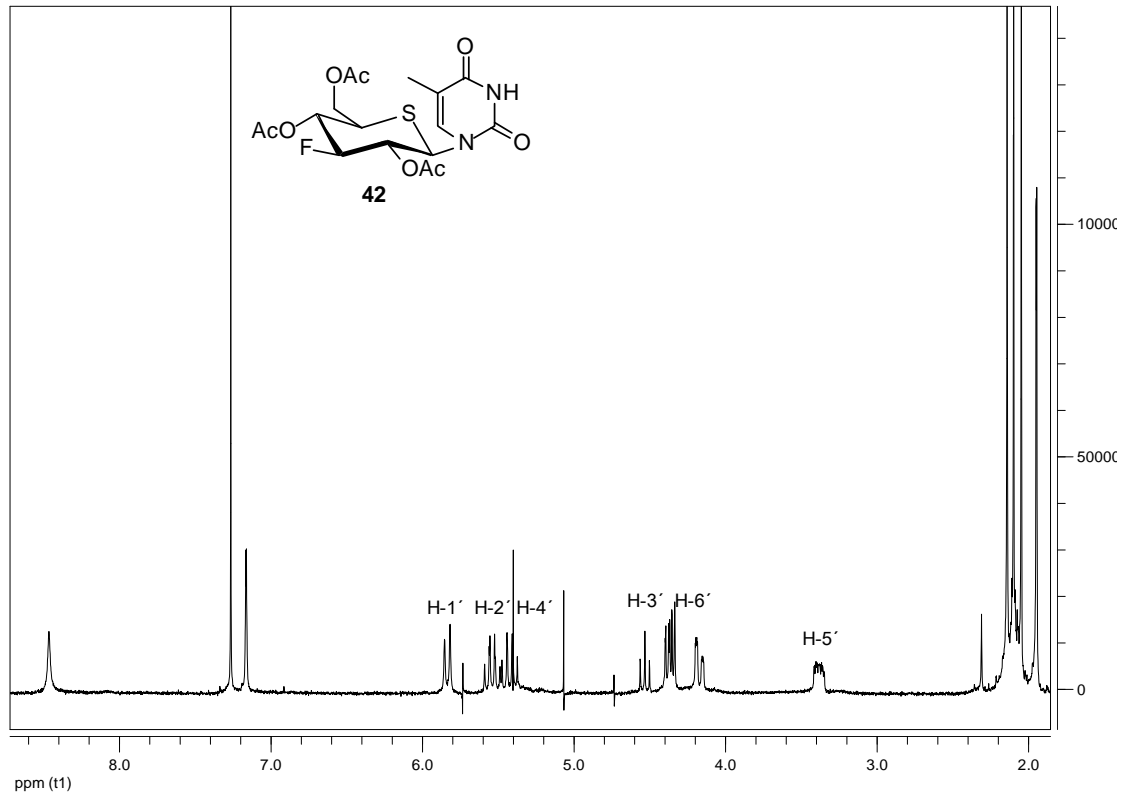


Σχήμα 82

Μετά την επίτευξη της σύνθεσης του ακετυλιωμένου θειοσακχάρου **41**, που αποτελεί το κομβικό προϊόν για τη λήψη του επιθυμητού φθορο-θειο-γλυκοπυρανονουκλεοζίτη, ακολουθεί το τελευταίο βήμα της συνθετικής διαδικασίας, το οποίο περιλαμβάνει τη σύζευξη του αντίστοιχου θειοσακχάρου με την νουκλεοβάση, θυμίνη. Συγκεκριμένα, η σύζευξη της θειογλυκοπυρανόζης **41** με τη σιλυλιωμένη θυμίνη, πραγματοποιείται παρουσία του SnCl_4 (Vorbruggen and Hofle 1981) ως καταλύτη, και παράγεται ο επιθυμητός νουκλεοζίτης, 1-(2',4',6'-τρις-Ο-ακετυλο-5'-θειο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)θυμίνη (**42**), ο οποίος λαμβάνεται σε απόδοση 68% υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Μελετώντας το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **42** (Σχήμα 83), προκύπτει ότι η διπλή κορυφή στα 5.84 ppm με σταθερά σύζευξης $J_{1',2'} = 10.7\text{ Hz}$, αντιστοιχεί στο πρωτόνιο $\text{H-1}'$ του σακχάρου. Ακολουθεί το σήμα του πρωτονίου $\text{H-2}'$ στην περιοχή των 5.57 ppm με σταθερά σύζευξης $J_{2',3'} = 9.0\text{ Hz}$, ενώ στη συνέχεια διακρίνεται το σήμα του πρωτονίου $\text{H-4}'$, ως κορυφή διπλή-διπλών στα 5.41 ppm, και με σταθερά σύζευξης $J_{4',5'} = 10,0\text{ Hz}$. Χαρακτηριστικό είναι το σήμα του πρωτονίου $\text{H-3}'$, το οποίο εμφανίζεται ως κορυφή διπλή-τριπλών στα 4.45 ppm, με σταθερές σύζευξης $J_{3',\text{F}} = 49.3\text{ Hz}$ και $J_{3',4'} = 9.7\text{ Hz}$. Στη συνέχεια, διακρίνεται το σήμα του πρωτονίου $\text{H-6}'\alpha$ ως κορυφή διπλή-διπλών στα 4.34 ppm, και με σταθερές σύζευξης $J_{6',a,6'b} = 12.2\text{ Hz}$ και $J_{5',6'a} = 5.6\text{ Hz}$, ενώ μία κορυφή διπλή-διπλών εμφανίζεται και στα 4.16 ppm, η οποία αντιστοιχεί στο πρωτόνιο $\text{H-6}'\beta$ του υδατανθρακικού δακτυλίου με σταθερά σύζευξης $J_{5',6'\beta} = 2.8\text{ Hz}$. Τέλος, ως πολλαπλή κορυφή περίπου στα 3.43-3.35 ppm εμφανίζεται το πρωτόνιο $\text{H-5}'$, ενώ τα σήματα των

πρωτονίων των μεθυλιών των ακετυλομάδων παρουσιάζονται στα 2.14, 2.10 και 2.05 ppm.



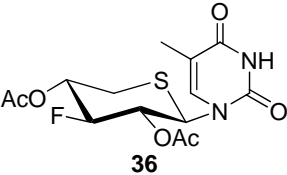
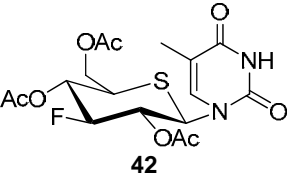
Σχήμα 83

Αντιική και αντικαρκινική δράση των φθοριωμένων 5'-θειο-ξυλο- και γλυκοπυρανονουκλεοζιτών της θυμίνης

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

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν ως προς την αντιική δράση των εξεταζόμενων μορίων **36** και **42** έναντι του εντεροϊού, απεικονίζονται στον πίνακα 15 και συγκρίνονται με το AZT.

Πίνακας 15. Αντιική δράση των προϊόντων **36**, **42** και του **AZT** έναντι του εντεροϊού στελέχους RF (IC₅₀).

Προϊόν	Κατεργασία A*			Κατεργασία B*		
	IC ₅₀ mg/mL	IC ₅₀ μM	CC ₅₀ /IC ₅₀ **	IC ₅₀ mg/mL	IC ₅₀ μM	CC ₅₀ /IC ₅₀
 36	A	A	-	0.05	138.7	2
 42	0.003	7.226	32,02	0.003	7.226	32,02
AZT	0.020	74.84	0.75***	0.006	22.45	2.5

A: Αδρανές

*Κατεργασία A: Εξουδετέρωση του ιού στο διάλυμα πριν την πρόσδεσή του.
Κατεργασία B: Αναστολή της μολυσματικότητας μετά την πρόσδεση του ιού.

**Οι τιμές CC₅₀/IC₅₀ υπολογίστηκαν σύμφωνα με τις τιμές CC₅₀ του πίνακα 12

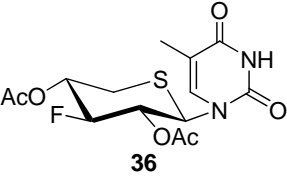
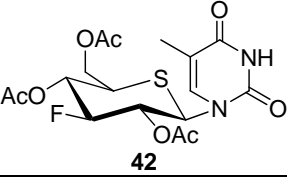
***Η τιμή CC₅₀ για το AZT στα κύτταρα Caco-2 = 56,1 μM

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 15, η ένωση **36** δεν παρουσίασε αντιική δράση κατά τη διαδικασία της εξουδετέρωσης του ιού, παρά παρέμεινε αδρανής. Αντίθετα, η ένωση **42**, παρουσίασε καλύτερη τιμή IC₅₀ κατά τη διαδικασία της εξουδετέρωσης του ιού πριν την πρόσδεσή του στην επιφάνεια των κυττάρων (IC₅₀ = 0.003 mg/mL), σε αντίθεση με το AZT, το οποίο

εμφανίστηκε να εξουδετερώνει τον ιό σε συγκέντρωση 0.02 mg/mL. Σημαντικό είναι το γεγονός ότι τα δύο εξεταζόμενα μόρια παρουσίασαν την ικανότητα να αναστέλλουν τη μολυσματικότητα από εντεροϊό, καθώς παρατηρήθηκε αναστολή της μολυσματικότητας του ιού μετά την πρόσδεσή του στην επιφάνεια των κυττάρων Caco-2. Παρόλα αυτά, σε σύγκριση με το AZT, απαιτήθηκαν υψηλότερες συγκεντρώσεις για τα νέα μόρια έτσι ώστε να επιτευχθεί το ίδιο αποτέλεσμα έναντι του ιού.

Εκτός, όμως, από τις αντιικές ιδιότητες των νέων μορίων **36** και **42**, μελετήθηκε επίσης η κυτταροτοξική και ανασταλτική τους δράση σε διαφορετικές κυτταρικές σειρές (Πίνακας 16). Οι νέοι φθοροθειονουκλεοζίτες **36** και **42** εξετάστηκαν ως προς την κυτταροτοξική τους δράση σε φυσιολογικά ανθρώπινα εντερικά κύτταρα (H4, control κυτταρική σειρά), σε ανθρώπινα γαστρικά καρκινικά κύτταρα (AGS), σε κύτταρα αδenoκαρκινώματος του παχέως εντέρου (Caco-2), καρκινώματος του στήθους (MCF-7) και μελανώματος του δέρματος. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν για τα εξεταζόμενα μόρια παρουσιάζονται στον πίνακα 16 και συγκρίνονται με αυτά της ένωσης 5-φθοροουρακίλη (5 FU).

Πίνακας 16. Κυτταροτοξική δράση (CC₅₀, μM) των ενώσεων **36**, **42** και της 5-φθοροουρακίλης (5 FU) έναντι των κυττάρων H4, AGS, Caco-2, μελανώματος του δέρματος και MCF-7, και αναστολή του πολλαπλασιασμού (IC₅₀, μM) των κυττάρων Caco-2.

Προϊόν	Κυτταροτοξική δράση (CC ₅₀ , μM)					Αναστολή πολλαπλασιασμού (IC ₅₀ , μM)
	H4	AGS	Caco-2	Μελά-νωμα	MCF-7	Caco-2
 36	100.6	138.7	277.5	277.5	A	34.6
 42	659.0	115.6	231.2	231.2	A	28.9
5FU	3843.8	768.8	384.4	46.1	768.8	1.5

Γενικότερα και οι δύο εξεταζόμενες ενώσεις δεν παρουσίασαν καλύτερη κυτταροτοξική δράση στα καρκινικά κύτταρα από ότι στα φυσιολογικά H4, ενώ σε σύγκριση με την 5 FU, δεν αποδείχθηκε κάποια πιο κυτταροτοξική έναντι των καρκινογενών κυττάρων. Τέλος, μετρήθηκε η αναστολή του πολλαπλασιασμού των κυττάρων Caco-2 που προκαλούν τα νέα μόρια, προσδιορίζοντας την ελάχιστη συγκέντρωση αναστολής, IC₅₀. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στην τελευταία στήλη του πίνακα 16 και συγκρίνονται με αυτά της 5 FU. Είναι εμφανές ότι οι ενώσεις **36** και **42** δεν παρουσιάζουν καλύτερη ανασταλτική δράση ανάπτυξης από την 5 FU, εφόσον οι τιμές IC₅₀ είναι αρκετά υψηλότερες από αυτή της 5 FU.

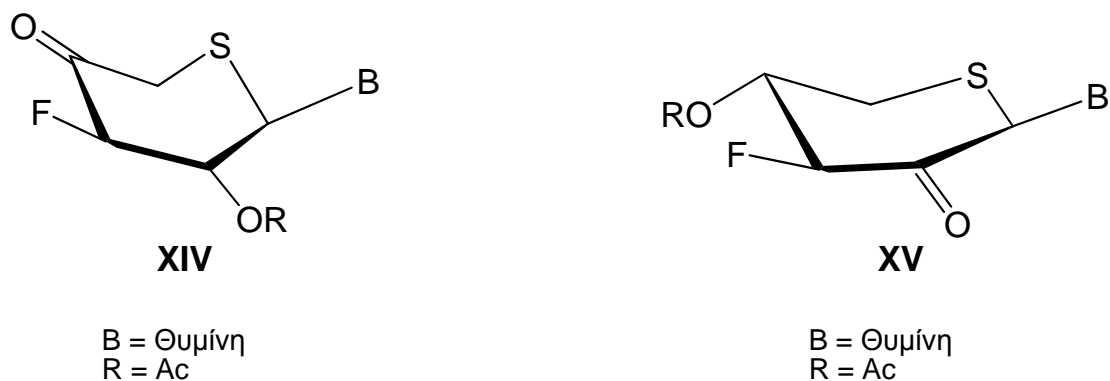
ΦΘΟΡΟ-5΄-ΘΕΙΟ-ΚΕΤΟΠΥΡΑΝΟΝΟΥΚΛΕΟΖΙΤΕΣ

Όπως έχει αναφερθεί παραπάνω, οι κετονουκλεοζίτες, που φέρουν ως σάκχαρο μία πυρανόζη, αποτελούν σημαντικά ενδιάμεσα σε συνθετικές και βιοσυνθετικές διαδικασίες, πολλές από τις οποίες έχουν αποτέλεσμα την αντιογκογονική δράση. Από τις βιολογικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε μία ιδιαίτερη τάξη τροποποιημένων κετονουκλεοζιτικών αναλόγων, των φθοριωμένων κετονουκλεοζιτών, αποδείχθηκε ότι διαθέτουν ενδιαφέρουσες, αντιικές και αντικαρκινικές ιδιότητες (Manta *et al.* 2007, Manta *et al.* 2009).

Ακόμη, η βιολογική αποτίμηση ακόρεστων κετο-λυξοπυρανονουκλεοζιτών (Tzioumaki *et al.* 2009) απέδειξε ότι διαθέτουν ιδιαίτερη κυτταροστατική δράση, ενώ η σύγκρισή τους με τα αντίστοιχα νουκλεοζιτικά ανάλογα της μαννόζης (Aggelis *et al.* 2008), ενισχύουν την υπόθεση ότι η παρουσία της υδροξυμεθυλομάδας δεν αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την εμφάνιση των βιολογικών τους ιδιοτήτων.

Από την άλλη πλευρά, οι θειονουκλεοζίτες, που φέρουν το άτομο του θείου εντός του δακτυλίου του σακχάρου, δεν παύουν να παρουσιάζουν ενδιαφέρουσες αντιβιοτικές, αντιικές και αντινεοπλασματικές ιδιότητες. Ωστόσο, τα αποτελέσματα των βιολογικών ερευνών στα νεοσυντιθέμενα θειοπυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα **36** και **42** δεν ήταν ιδιαίτερα ικανοποιητικά.

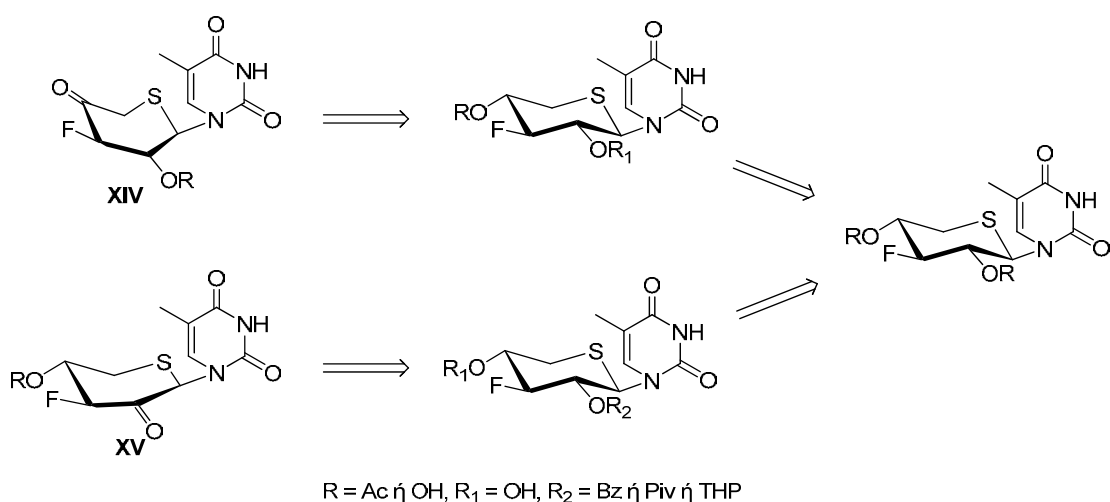
Μετά τη βιολογική αποτίμηση και την εκτίμηση των αποτελεσμάτων των νεοσυντιθέμενων φθοριωμένων θειοξυλο και γλυκοπυρανονουκλεοζιτών και λαμβάνοντας υπόψη ότι νουκλεοζίτες, που φέρουν στο σάκχαρο τους μία κετονομάδα, έχουν αξιολογηθεί για τις βιολογικές τους ιδιότητες, θεωρήθηκε ενδιαφέρουσα η σύνθεση μιας νέας τάξης φθοριωμένων θειονουκλεοζιτών και ειδικότερα των 3΄-φθορο-4΄-κετο- και 2΄-κετο-5΄-θειο-β-D-ξυλοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της θυμίνης (δομές **XIV** και **XV**, ενώσεις **50** και **56**, σχήμα 84).



Σχήμα 84

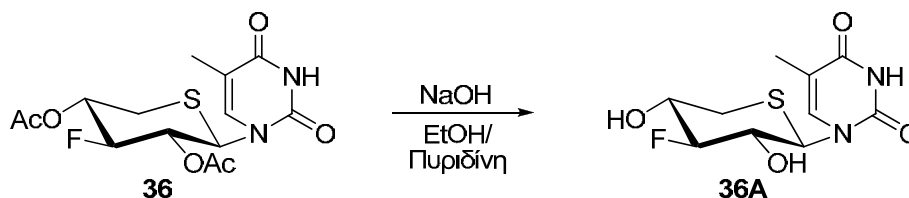
Η νέα σειρά των φθοριωμένων θειοπυρανονουκλεοζιτών διαθέτει: α) θυμίνη ως ετεροκυκλική βάση β) θείο στη 5'-θέση εντός του δακτυλίου του σακχάρου γ) κετονομάδα στη 4'-θέση ή στη 2'-θέση του σακχάρου και δ) φθόριο στη 3'-θέση του σακχάρου.

Αξιοποιώντας τη διαθεσιμότητα του θειοξυλοπυρανονουκλεοζιτικού αναλόγου της θυμίνης **36**, ο συγκεκριμένος νουκλεοζίτης καθώς και το πλήρως αποπροστατευμένο ανάλογό του, θεωρήθηκαν ως οι καταλληλότερες πρόδρομες ενώσεις για την σύνθεση των 2'-κετο- και των 4'-κετο-3'-φθορο-5'-θειο-β-D-ξυλοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της θυμίνης, αντίστοιχα. Η ρετροσυνθετική πορεία απεικονίζεται στο παρακάτω σχήμα (Σχήμα 85).



Σχήμα 85

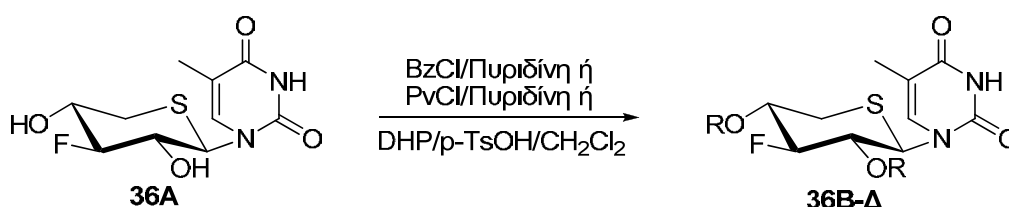
Έτσι, ξεκινώντας από την ένωση **36**, επιχειρείται εκλεκτική απακετυλίωση του υδροξυλίου στη 2'-θέση του σακχάρου, μετά από κατεργασία του προϊόντος με NaOH σε EtOH-πυριδίνη (Milecki *et al.* 2001).



Σχήμα 86

Η συγκεκριμένη, όμως, αντίδραση δεν καταλήγει στο επιθυμητό μερικώς αποπροστατευμένο ανάλογο, παρά μόνο στο αντίστοιχο πλήρως αποπροστατευμένο **36A** (Σχήμα 86). Προσπάθεια εκλεκτικής απακετυλίωσης, παρόλα αυτά, πραγματοποιείται και με υδροχλωρική υδροξυλαμίνη ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$) και οξικό νάτριο (CH_3COONa) σε πυριδίνη (Gosselin *et al.* 1984), με το αποτέλεσμα να παραμένει το ίδιο.

Παρόμοιο πρόβλημα αντιμετωπίστηκε και στην προσπάθεια σύνθεσης του 4'-κετονουκλεοζίτη της θυμίνης (δομή **XIV**), χρησιμοποιώντας ως αρχική ένωση το αποπροστατευμένο νουκλεοζιτικό ανάλογο **36A**. Αρχικά, επιχειρείται εκλεκτική βενζοϋλίωση, παρουσία της ελάχιστης ισοδύναμης ποσότητας BzCl σε πυριδίνη. Το αποτέλεσμα της αντίδρασης βενζοϋλίωσης δεν είναι το επιθυμητό, καθώς λαμβάνεται το 2',4'-δισ-βενζοϋλιωμένο προϊόν **36B** (Σχήμα 87).



B: R = Bz, **Γ:** R = Piv, **Δ:** R = THP

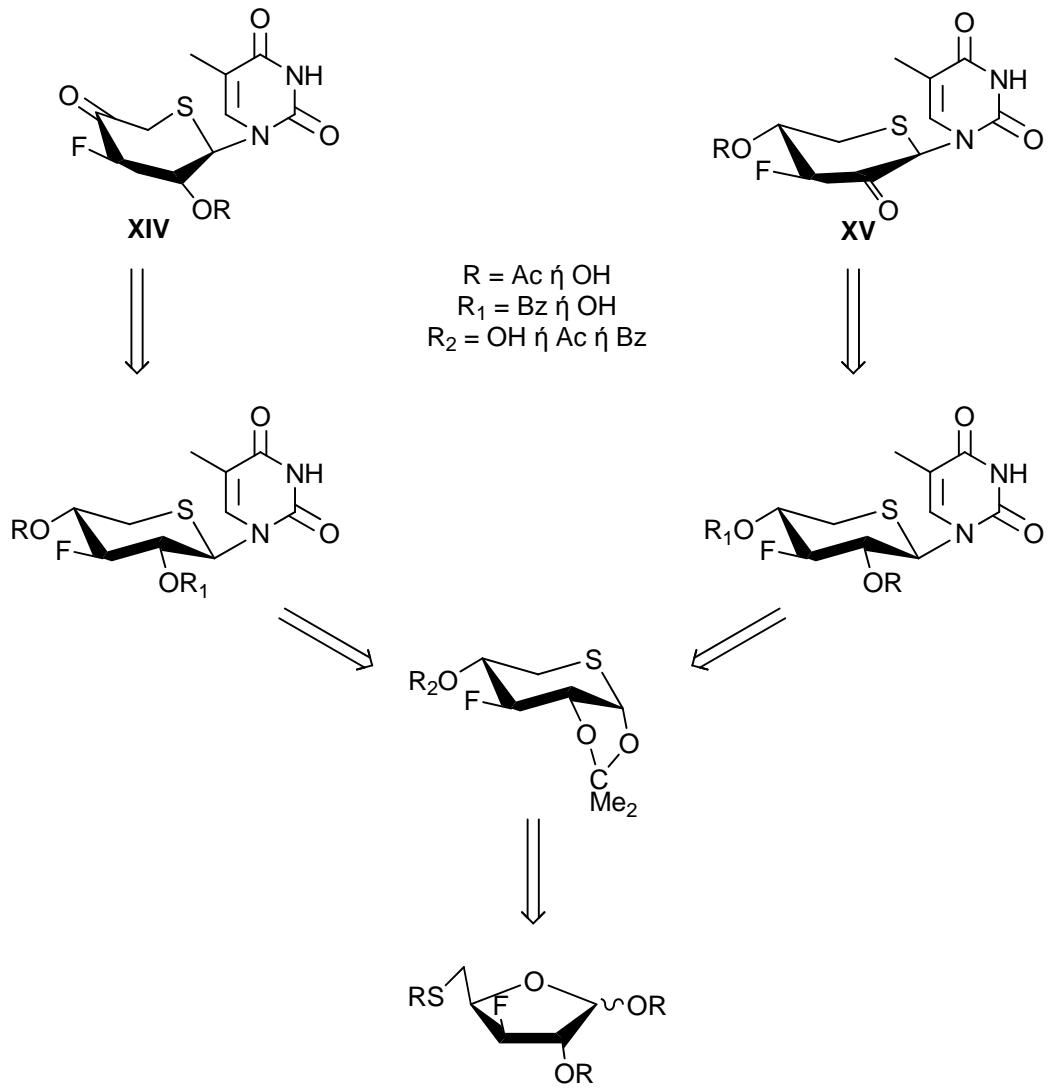
Σχήμα 87

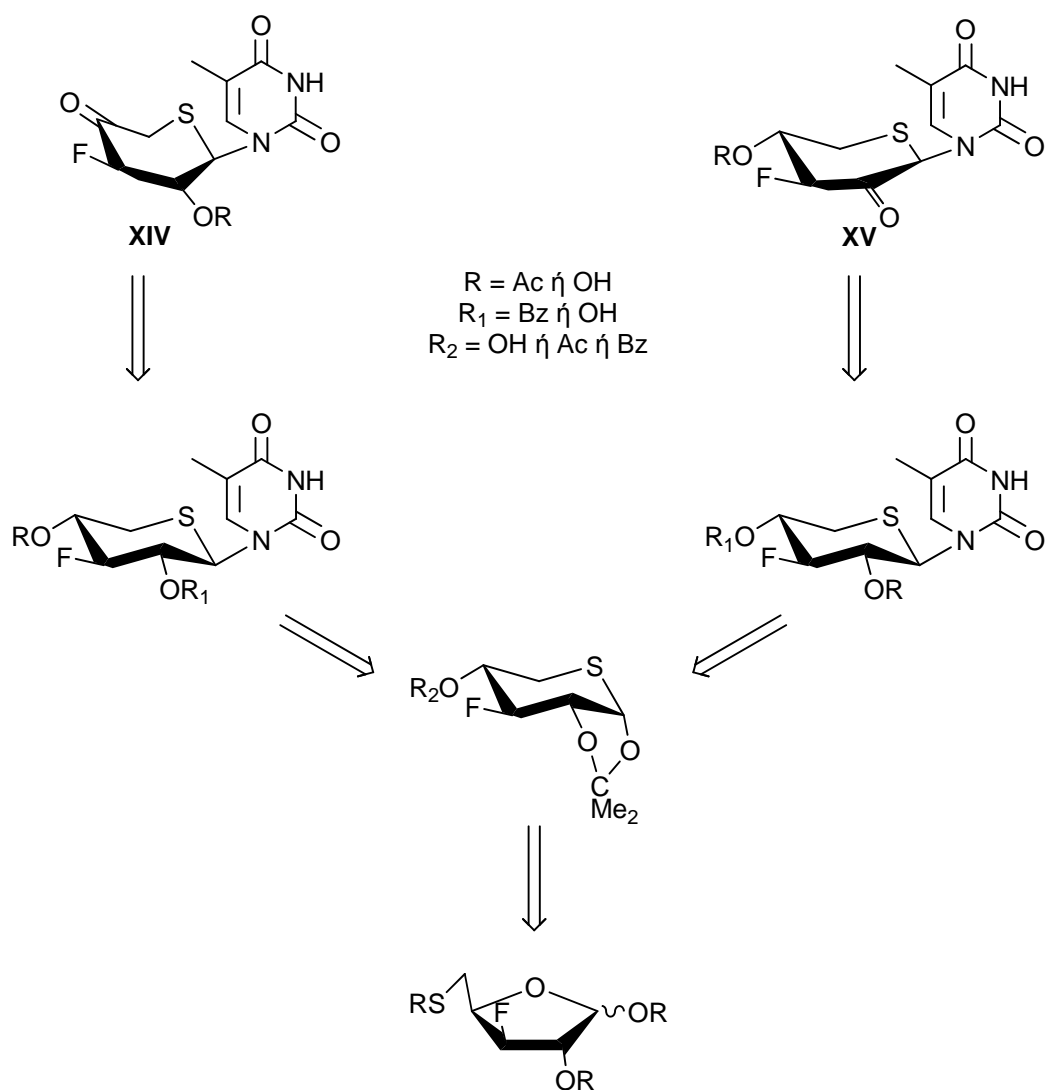
Η προσπάθεια εκλεκτικής προστασίας πραγματοποιείται, επίσης, τόσο παρουσία τριμεθυλοακετυλοχλωριδίου (PvCl) σε πυριδίνη (Karakawa and

Nakatsubo, 2002), όσο και με επίδραση του DHP επί του αποπροστατευμένου αναλόγου και του π-τολουολοσουλφονυλικού οξέος (*p*-TsOH) ως καταλύτη σε άνυδρο CH₂Cl₂ (Lakanen *et al.* 1995) στους 0 °C. Ωστόσο, και οι δύο περιπτώσεις αντιδράσεων, με σκοπό την εκλεκτική προστασία, έφερε τα ίδια αποτελέσματα, δηλαδή τη λήψη των πλήρως προστατευμένων προϊόντων **36Γ** και **36Δ** (Σχήμα 87).

Η παραπάνω μη επιτυχής συνθετική διαδικασία οδήγησε αναγκαστικά σε μια δεύτερη προσπάθεια για τη λήψη των επιθυμητών, 2'-κετο- και 4'-κετο-3'-φθορο-5'-θειοξυλοπυρανονουκλεοζιτών της θυμίνης.

Η δεύτερη ρετροσυνθετική προσέγγιση για την παρασκευή των 3'-φθορο-4'-κετο- και 2'-κετο-5'-θειο-β-D-ξυλοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της θυμίνης περιγράφεται στο παρακάτω σχήμα:





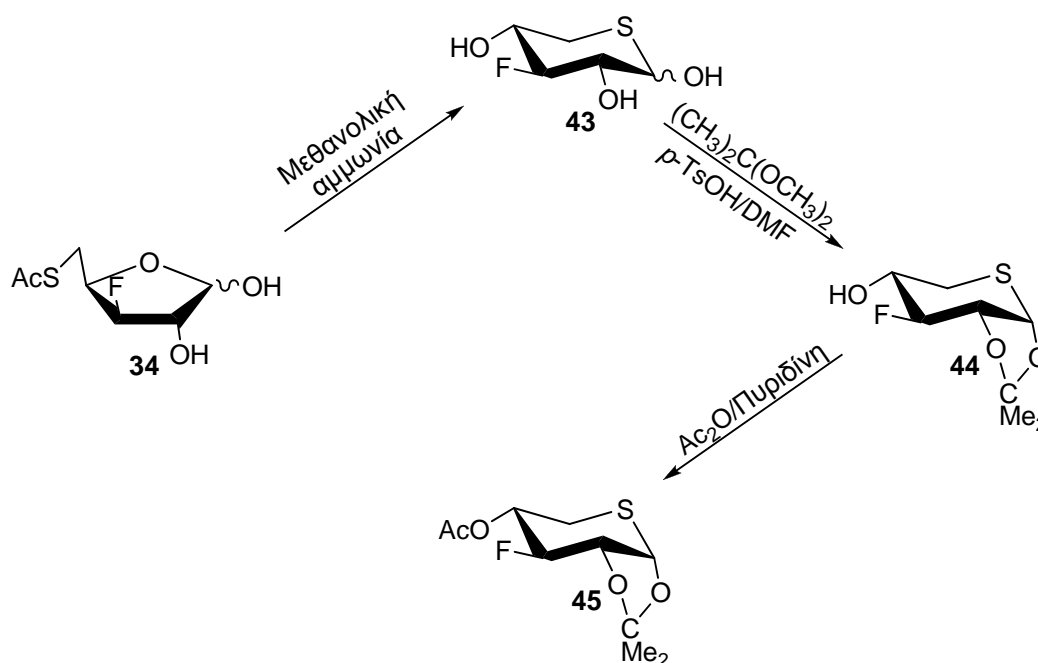
Σχήμα 88

Από τη ρετροσύνθεση που απεικονίζεται στο σχήμα 88, φαίνεται ότι αρχική ένωση για τη σύνθεση τόσο των 4'-κετο- όσο και των 2'-κετο-3'-φθορο-5'-θειο-β-D-ξυλοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της θυμίνης, είναι το σάκχαρο της 5-θειοξυλοφουρανόζης **34**, ενώ κομβική ένωση αποτελεί το νεοσυντιθέμενο ισοπροπυλιδενικό παράγωγο της 5-θειοξυλοπυρανόζης.

2'-O-Ακετυλο-4'-κετο-3'-φθορο-5'-θειο-β-D-ξυλοπυρανονουκλεοζιτικό ανάλογο της θυμίνης

Η συνθετική διαδικασία που ακολουθήθηκε για την παρασκευή του 4'-κετο-3'-φθορο-5'-θειο-β-D-ξυλοπυρανονουκλεοζιτικού αναλόγου της θυμίνης περιλαμβάνει ως πρώτη ύλη την ένωση 3-δεοξυ-3-φθορο-5-S-ακετυλο-5-θειο-D-ξυλοφουρανόζη (**34**). Η σύνθεση της ένωσης **34** έχει ήδη περιγραφεί (Σχήμα 77).

Συνεπώς, το πρώτο βήμα της συνθετικής πορείας περιλαμβάνει την αντίδραση της θειοξυλοφουρανόζης **34** (Σχήμα 89) με μεθανολική αμμωνία (Vanheusden *et al.* 2004), οδηγώντας στο σάκχαρο 5-θειοξυλοπυρανόζη **43**, το οποίο λαμβάνεται σε απόδοση 72%.

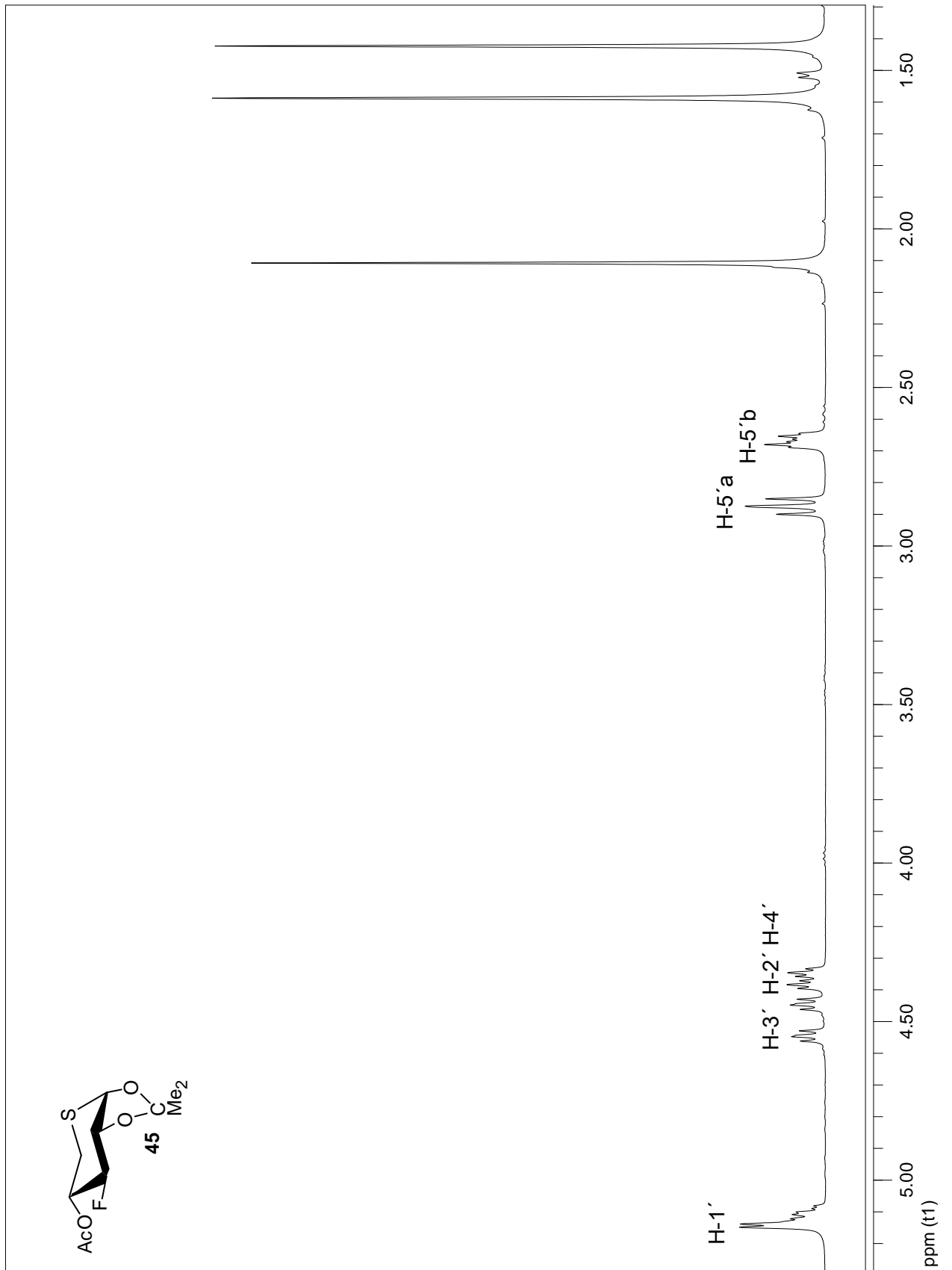


Σχήμα 89

Ακολουθεί εκλεκτική προστασία των υδροξυλίων στις 1',2'-θέσεις του θειοσακχάρου με μία ισοπροπυλιδενική ομάδα. Συγκεκριμένα, με επίδραση του (CH₃)₂C(OCH₃)₂ επί της ένωσης **43** και του *p*-TsOH ως καταλύτη (Leclercq and Antonakis 1989) λαμβάνεται το παράγωγο **44**, το οποίο απομονώνεται εύκολα σε απόδοση 70%. Ακετυλίωση του ελεύθερου υδροξυλίου στη 4'-θέση του σακχάρου **44**, παρουσία Ac₂O σε πυριδίνη,

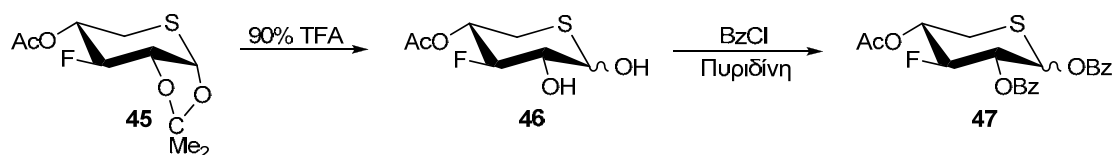
οδηγεί στο επιθυμητό ακετυλιωμένο παράγωγο **45** (Σχήμα 89), το οποίο παράγεται σε πολύ καλή απόδοση (89%).

Το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης, 1,2-Ο-ισοπροπυλιδενο-4-Ο-ακετυλο-5-θειο-3-δεοξυ-3-φθορο- α -D-ξυλοπυρανόζη (**45**), απεικονίζεται στο σχήμα 90. Όπως φαίνεται, το σήμα του πρωτονίου H-1' εμφανίζεται ως μία διπλή κορυφή στα 5.14 ppm με σταθερά σύζευξης $J_{1',2'} = 5.0$ Hz. Ακολουθεί το χαρακτηριστικό σήμα του πρωτονίου H-3' στα 4.49 ppm που παρουσιάζεται ως μία κορυφή διπλή-τριπλών με σταθερές σύζευξης $J_{3',F} = 49.8$ Hz και $J_{3',4'} = 9.0$ Hz. Ακολουθούν τα σήματα των πρωτονίων H-2', H-4' H-5' α και H-5' β , ενώ τα σήματα των πρωτονίων του ακετυλίου και της ισοπροπυλιδενικής ομάδας εμφανίζονται στα 2.10, 1.58 και 1.42 ppm, αντίστοιχα.



Σχήμα 90

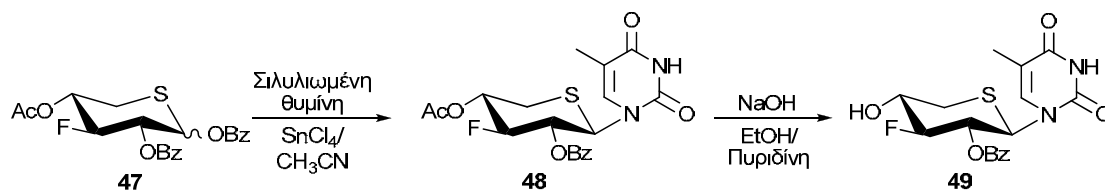
Η απομάκρυνση της ισοπροπυλιδενικής ομάδας από το παράγωγο **45**, επιτυγχάνεται με κατεργασία με διάλυμα 90% TFA σε μεθανόλη, οπότε προκύπτει το ανάλογο **46**, το οποίο λαμβάνεται σε άριστη απόδοση (90%). Έπειτα τα υδροξύλια του **46** βενζοϋλιώνονται, με προσθήκη BzCl σε πυριδίνη και το βενζοϋλιωμένο παράγωγο **47** (Σχήμα 91) λαμβάνεται σε απόδοση 83%. Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης παρουσιάζονται το πρωτόνιο H-1' στα 5.93 ppm, ενώ ακολουθούν τα πρωτόνια H-2' και H-4' ως πολλαπλές κορυφές στα 5.75-5.70 και στα 5.46-5.39 ppm, αντίστοιχα. Στη συνέχεια παρουσιάζεται η χαρακτηριστική κορυφή διπλή-τριπλών που προσδιορίζει το πρωτόνιο H-3' στα 5.09 ppm με σταθερές σύζευξης $J_{3',F} = 50.9$ Hz και $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 9.4$ Hz και ακολουθούν τα σήματα των πρωτονίων H-5'β και H-5'α ως πολλαπλές κορυφές στα 3.22-3.02 και στα 2.95-2.84 ppm, αντίστοιχα, καθώς και το σήμα των πρωτονίων του ακετυλίου στα 2.19 ppm.



Σχήμα 91

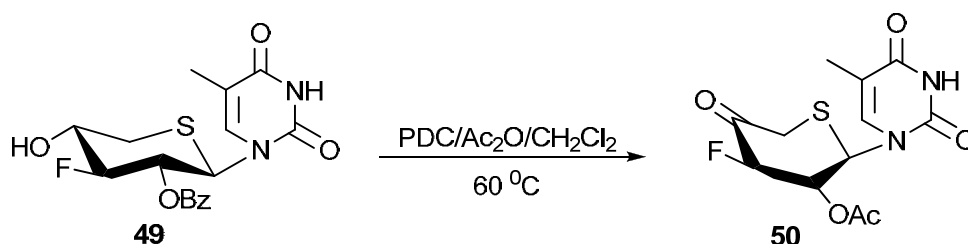
Ακολουθεί η σύζευξη του βενζοϋλιωμένου θειοσακχάρου **47** με την ετεροκυκλική βάση θυμίνη, παρουσία του SnCl_4 (Vorbruggen and Hofle 1981) ως καταλύτη, και παράγεται ο επιθυμητός νουκλεοζίτης, 1-(2'-O-βενζοϋλο-4'-O-ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-5'-θειο-β-D-ξυλοπυρανοζυλο)θυμίνη (**48**), ο οποίος λαμβάνεται σε απόδοση 68% υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού. Στη συνέχεια, η εκλεκτική απακετυλίωση του νουκλεοζίτη **48** πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας NaOH σε EtOH-πυριδίνη (Milecki *et al.* 2001) οδηγώντας έτσι στην ένωση **49** (Σχήμα 92), που αποτελεί την πρόδρομη ένωση για τη λήψη του επιθυμητού κετο-θειονουκλεοζίτη. Από το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης διαπιστώνεται η απουσία του σήματος της ακετυλομάδας ενώ εμφανής είναι η μετατόπιση του πρωτονίου H-4', το οποίο παρουσιάζεται στα 4.24-4.17 ως πολλαπλή κορυφή. Ακόμη, παρουσιάζονται το πρωτόνιο H-1' στα 5.93 ppm ως διπλή κορυφή με σταθερά σύζευξης $J_{1',2'} = 10.5$ Hz, το πρωτόνιο H-2' ως πολλαπλή κορυφή στα 5.74-5.65, καθώς και

το πρωτόνιο H-3', το οποίο προσδιορίζεται από τη χαρακτηριστική κορυφή διπλή-τριπλών στα 4.45 ppm με σταθερές σύζευξης $J_{3',F} = 50.0$ Hz και $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 8.9$ Hz.



Σχήμα 92

Το καθοριστικό στάδιο στη συνθετική διαδικασία, είναι η οξειδωση του ελεύθερου υδροξυλίου του δακτυλίου του σακχάρου του νουκλεοζίτη **49** με επίδραση PDC και Ac₂O σε διχλωρομεθάνιο στους 60 °C (Herscovici and Antonakis 1979), που οδηγεί στο επιθυμητό 4'-κετο-προϊόν, 1-(2'-Ο-ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-β-D-ξυλοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)θυμίνη (**50**) (Σχήμα 93).

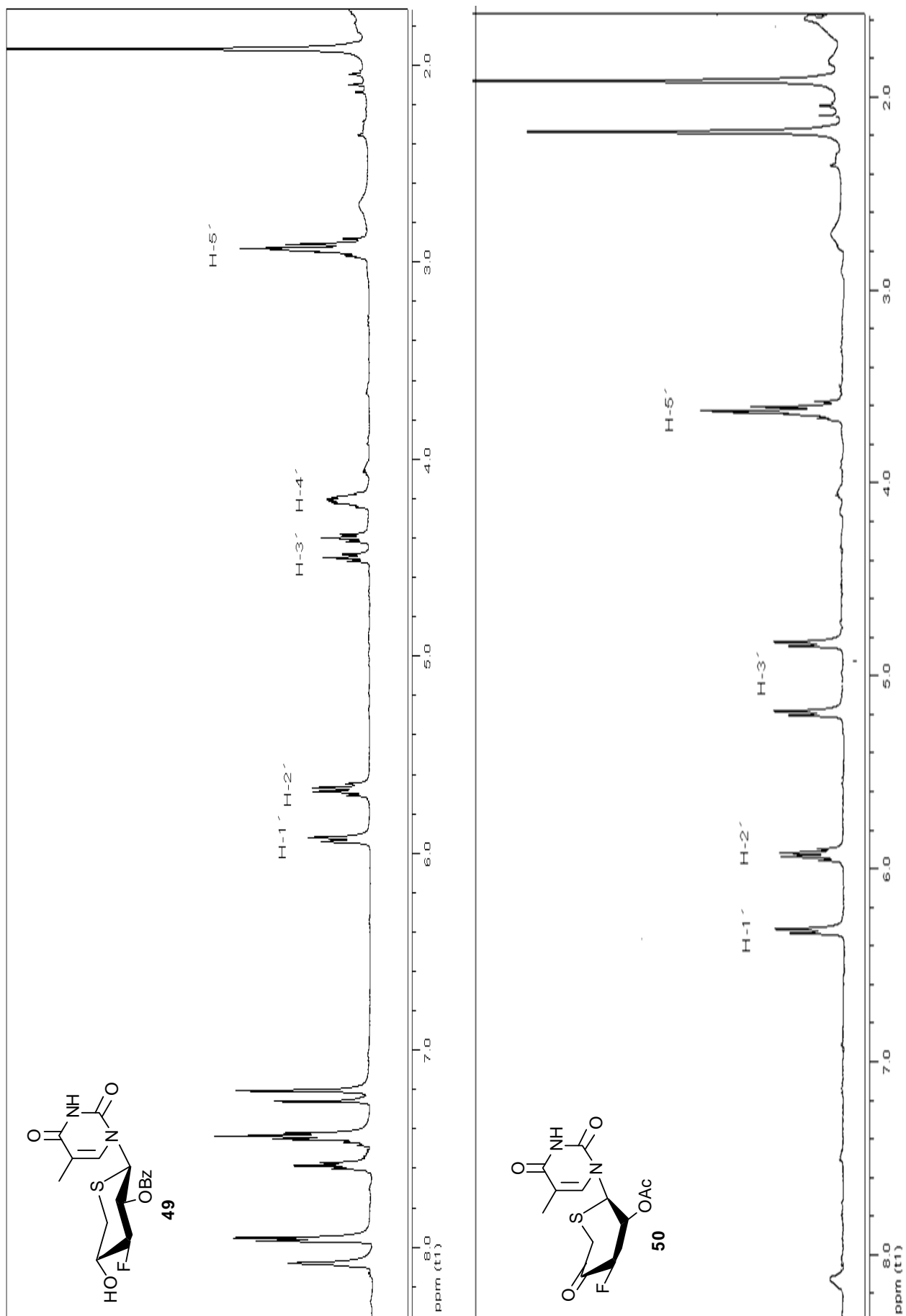


Σχήμα 93

Εξετάζοντας το φάσματος ¹H NMR της ένωσης **50**, διαπιστώνεται ότι η βενζοϋλομάδα της 2'-θέσης του σακχάρου έχει αντικατασταθεί από μία ακετυλομάδα. Ωστόσο, στην προσπάθεια σύνθεσης του 4'-κετονουκλεοζίτη της θυμίνης **50**, χρησιμοποιώντας την ελάχιστη ισοδύναμη ποσότητα Ac₂O, το αποτέλεσμα δεν είναι το επιθυμητό, καθώς δεν πραγματοποιείται η αντίδραση της οξειδωσης.

Του φάσμα ¹H-NMR της ένωσης **50** φαίνεται στο σχήμα 94, από τη μελέτη του οποίου προκύπτει ότι η διπλή κορυφή στα 6.37 ppm με σταθερά σύζευξης $J_{1',2'} = 10.7$ Hz, αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-1' του σακχάρου. Ακολουθεί το σήμα του πρωτονίου H-2' στην περιοχή των 5.97 ppm με σταθερά σύζευξης $J_{2',3'} = 9.2$ Hz. Χαρακτηριστικό είναι το σήμα του

πρωτονίου H-3', το οποίο εμφανίζεται ως κορυφή διπλή-διπλών στα 5.03 ppm, με σταθερά σύζευξης $J_{3',F} = 48.1$ Hz. Τέλος, διακρίνονται τα σήματα των πρωτονίων H-5'β και H-5'α του υδατανθρακικού δακτυλίου ως πολλαπλές κορυφές περίπου στα 3.69-3.58 ppm και το σήμα των πρωτονίων της ακετυλομάδας στα 2,18 ppm.

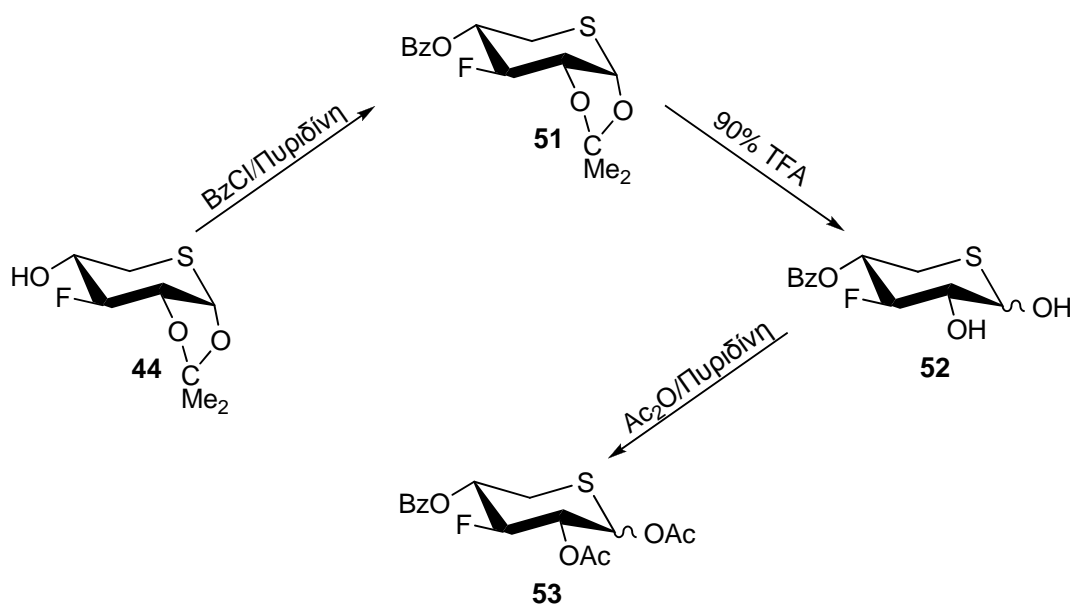


Σχήμα 94

4'-Ο-Ακετυλο-2'-κετο-3'-φθορο-5'-θειο-β-D-ξυλοπυρανονουκλεοζιτικό ανάλογο της θυμίνης

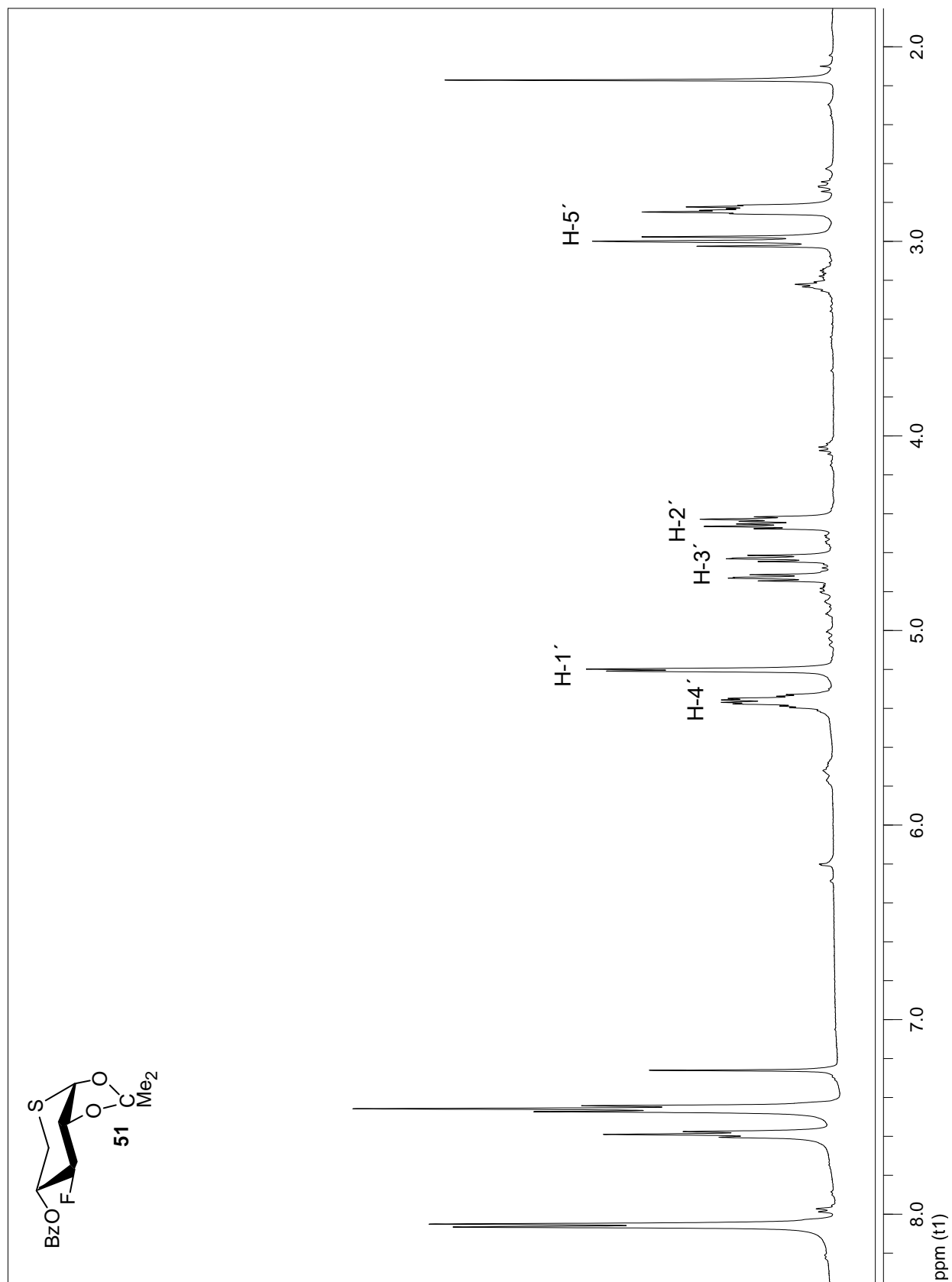
Από την ρετροσυνθετική πορεία του σχήματος 87, φαίνεται ότι η αρχική ένωση για την παρασκευή του επιθυμητού 4'-Ο-ακετυλο-2'-κετο-3'-φθορο-5'-θειο-β-D-ξυλοπυρανονουκλεοζιτικού αναλόγου της θυμίνης είναι και σε αυτή την περίπτωση το σάκχαρο **34**, ενώ κομβική ένωση αποτελεί το ισοπροπυλιδενικό παράγωγο **44**, του οποίου η σύνθεση έχει ήδη περιγραφεί αναλυτικά.

Βενζοϋλίωση του ελεύθερου υδροξυλίου στη 4'-θέση του σακχάρου **44**, παρουσία BzCl σε πυριδίνη, οδηγεί στο επιθυμητό βενζοϋλιωμένο παράγωγο **51** (Σχήμα 95), το οποίο παράγεται σε πολύ καλή απόδοση (87%). Η διάνοιξη του ακετονιδίου από το παράγωγο **51**, επιτυγχάνεται με κατεργασία με διάλυμα 90% TFA σε μεθανόλη, οπότε προκύπτει το ανάλογο **52**, το οποίο λαμβάνεται σε άριστη απόδοση (89%). Έπειτα τα υδροξύλια του **52** ακετυλιώνονται, παρουσία Ac₂O σε πυριδίνη και το ακετυλιωμένο παράγωγο **53** λαμβάνεται σε απόδοση 86%.

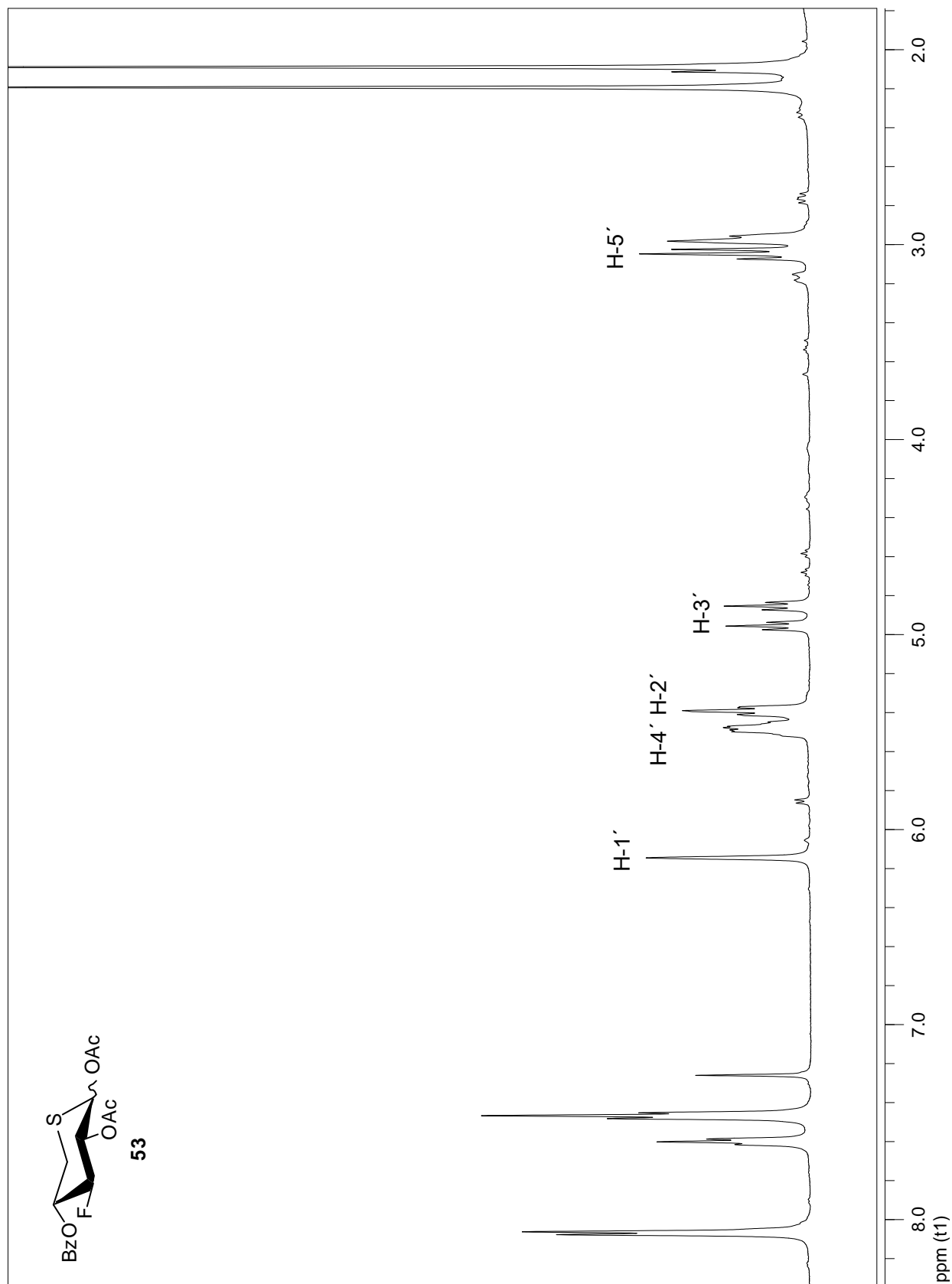


Σχήμα 95

Τα φάσματα ¹H-NMR των ενώσεων **51** και **53** απεικονίζονται στα σχήματα 96 και 97 που ακολουθούν.



Σχήμα 96



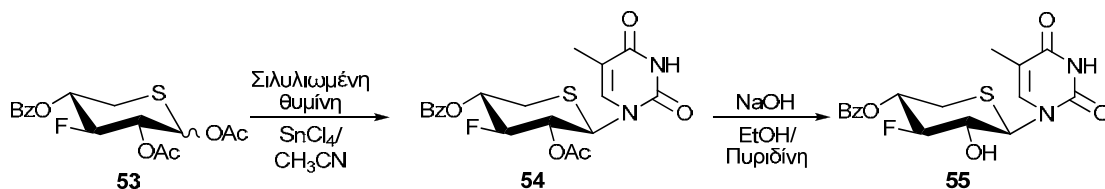
Σχήμα 97

Το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης, 1,2-Ο-ισοπροπυλιδενό-4-Ο-βενζοϋλο-5-θειο-3-δεοξυ-3-φθορο- α -D-ξυλοπυρανόζη (**51**), απεικονίζεται στο σχήμα 96. Όπως φαίνεται, τα σήματα των πρωτονίων της βενζοϋλομάδας παρουσιάζονται ως διπλή κορυφή στα 8.07 ppm και ως τριπλές κορυφές στα 7.58 και 7.45 ppm, αντίστοιχα. Το σήμα του πρωτονίου H-4' εμφανίζεται ως μία πολλαπλή κορυφή στα 5.43-5.33 ppm, ενώ ακολουθεί το σήμα του πρωτονίου H-1', το οποίο εμφανίζεται ως μία διπλή κορυφή στα 5.20 ppm με σταθερά σύζευξης $J_{1',2'} = 5.1$ Hz. Ακολουθεί το χαρακτηριστικό σήμα του πρωτονίου H-3' στα 4.68 ppm που παρουσιάζεται ως μία κορυφή διπλή-τριπλών με σταθερές σύζευξης $J_{3',F} = 49.8$ Hz και $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 8.8$ Hz. Ακολουθούν τα σήματα των πρωτονίων H-2', H-5'α και H-5'β, ενώ τα σήματα των πρωτονίων της ισοπροπυλιδενικής ομάδας εμφανίζονται στα 1.63 και 1,45 ppm.

Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **53** (Σχήμα 97) παρουσιάζονται το πρωτόνιο H-1' στα 6.14 ppm, ενώ ακολουθούν τα πρωτόνια H-4' και H-2' ως πολλαπλές κορυφές στα 5.49-5.45 και στα 5.41-5.37 ppm, αντίστοιχα. Στη συνέχεια παρουσιάζεται η χαρακτηριστική κορυφή διπλή-τριπλών που αναφέρεται στο πρωτόνιο H-3' στα 4.90 ppm με σταθερές σύζευξης $J_{3',F} = 51.1$ Hz και $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 9.4$ Hz και ακολουθούν τα σήματα των πρωτονίων H-5'α και H-5'β ως πολλαπλή κορυφή στα 3.07-2.95, καθώς και τα σήματα των πρωτονίων των ακετυλομάδων στα 2.19 και 2.09 ppm.

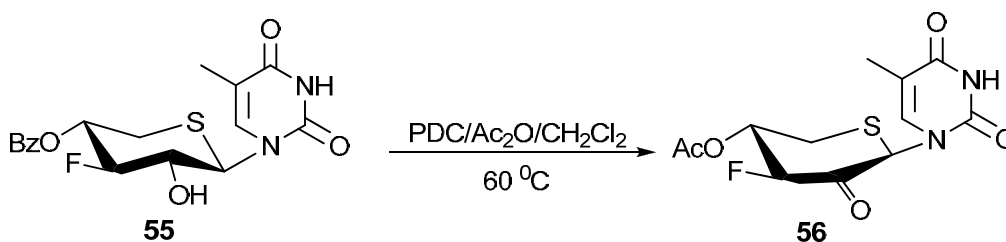
Το επόμενο στάδιο της συνθετικής πορείας είναι η σύζευξη του ακετυλιωμένου θειοσακχάρου **53** με την ετεροκυκλική βάση θυμίνη, παρουσία του SnCl_4 (Vorbruggen and Hofle 1981) ως καταλύτη, και παράγεται ο επιθυμητός νουκλεοζίτης, 1-(2'-Ο-ακετυλο- 4'-Ο-βενζοϋλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-5'-θειο-β-D-ξυλοπυρανοζυλο)θυμίνη (**54**), ο οποίος λαμβάνεται σε απόδοση 66% υπό τη μορφή λευκού αφρώδους στερεού. Στη συνέχεια, η εκλεκτική απακετυλίωση του νουκλεοζίτη **54** πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας NaOH σε EtOH-πυριδίνη (Milecki *et al.* 2001) οδηγώντας έτσι στην ένωση **55** (Σχήμα 98), που αποτελεί την πρόδρομη ένωση για τη λήψη του επιθυμητού κετο-θειονουκλεοζίτη. Από το φάσμα $^1\text{H NMR}$ της ένωσης διαπιστώνεται η απουσία του σήματος της ακετυλομάδας ενώ εμφανής είναι η μετατόπιση του πρωτονίου H-2', το οποίο παρουσιάζεται στα 4.19-4.11 ως πολλαπλή κορυφή. Ακόμη, παρουσιάζονται το πρωτόνιο H-1' στα 5.98 ppm ως διπλή

κορυφή με σταθερά σύζευξης $J_{1',2'} = 10.6$ Hz, το πρωτόνιο H-4' ως πολλαπλή κορυφή στα 5.75-5.62, καθώς και το πρωτόνιο H-3', το οποίο προσδιορίζεται από τη χαρακτηριστική κορυφή διπλή-τριπλών στα 4.41 ppm με σταθερές σύζευξης $J_{3',F} = 49.8$ Hz και $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 9.0$ Hz.



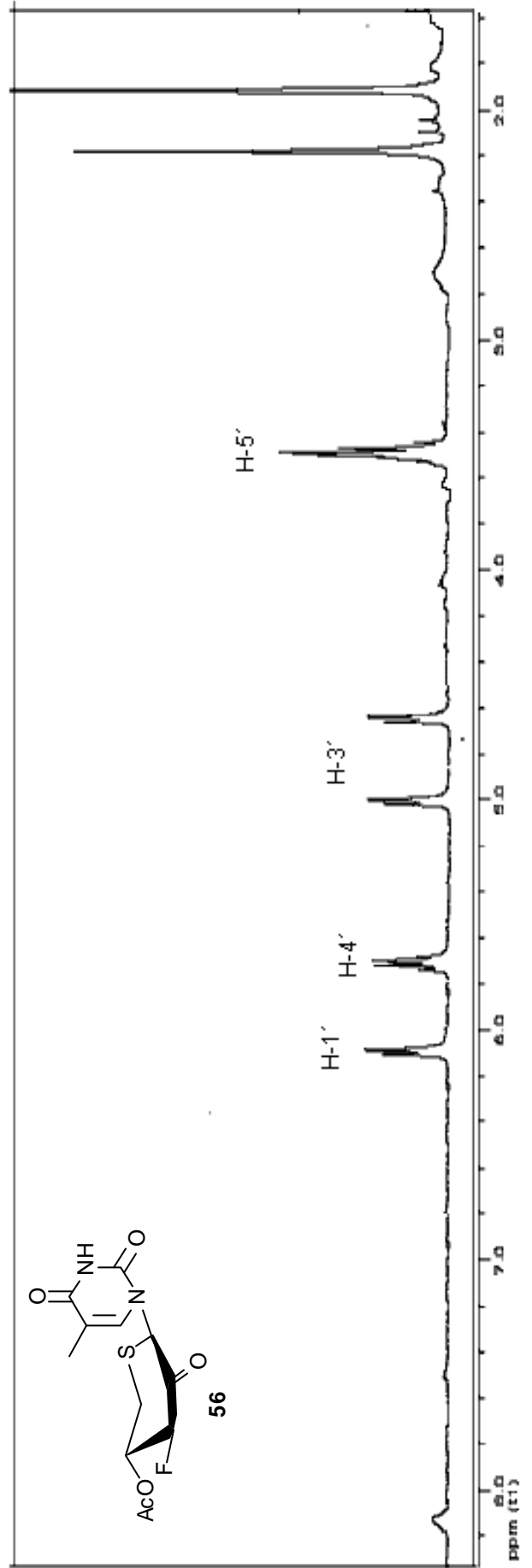
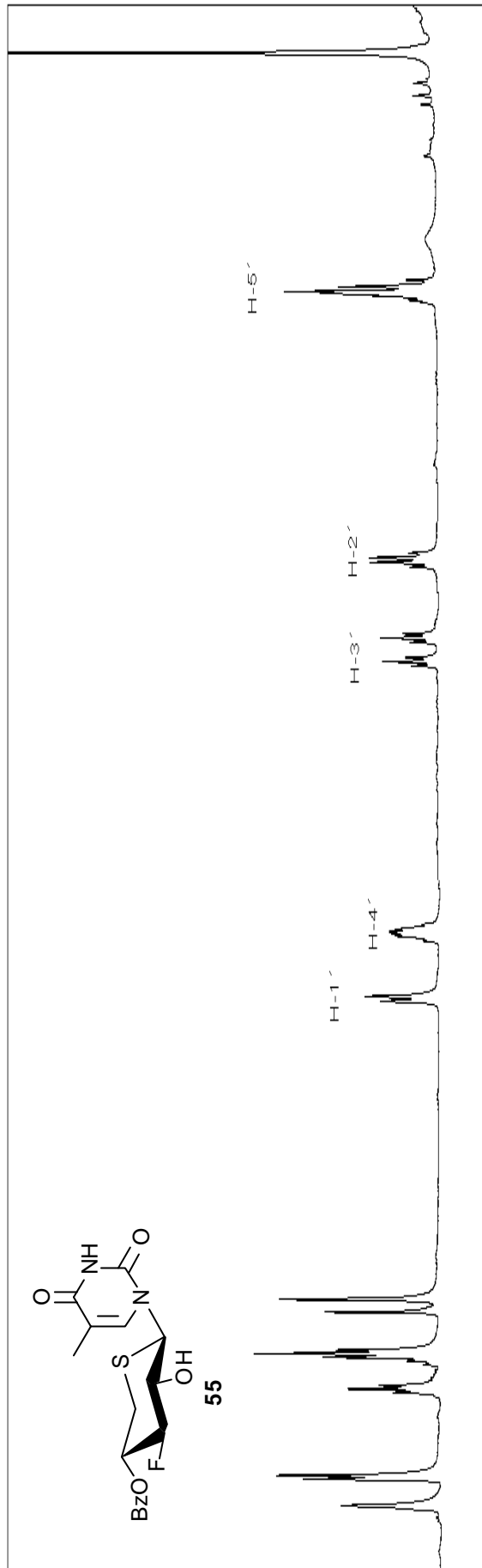
Σχήμα 98

Το καθοριστικό βήμα της συνθετικής διαδικασίας, είναι η οξειδωση του ελεύθερου υδροξυλίου του δακτυλίου του σακχάρου του νουκλεοζίτη **55** με επίδραση PDC και Ac_2O σε διχλωρομεθάνιο στους 60 °C, που οδηγεί στο επιθυμητό 2'-κετο-προϊόν, 1-(4'-O-ακετυλο-3'-δεοξυ-3'-φθορο-β-D-ξυλοπυρανοζυλο-2'-ουλοζο)θυμίνη (**56**) (Σχήμα 99).



Σχήμα 99

Το φάσμα 1H -NMR της ένωσης **56** καθώς και της ένωσης **55** απεικονίζονται στο παρακάτω σχήμα (Σχήμα 100).



Σχήμα 100

Από τη μελέτη του φάσματος $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **56** (Σχήμα 100), προκύπτει ότι η διπλή κορυφή στα 6.07 ppm με σταθερά σύζευξης $J_{1',F} = 10.6$ Hz, αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-1' του σακχάρου. Ακολουθεί το σήμα του πρωτονίου H-4' στην περιοχή των 5.75 ppm με σταθερά σύζευξης $J_{3',4'} = 9.1$ Hz, ενώ στη συνέχεια διακρίνεται το σήμα του πρωτονίου H-3', ως κορυφή διπλή-διπλών στα 4.83 ppm, και με σταθερές σύζευξης $J_{3',F} = 48.0$ Hz. Τέλος, διακρίνονται τα σήματα των πρωτονίων H-5'α και H-5'β του υδατανθρακικού δακτυλίου ως πολλαπλές κορυφές περίπου στα 3.58-3.43 ppm, ενώ το σήματα των πρωτονίων του μεθυλίου της ακετυλομάδας παρουσιάζεται στα 2.17 ppm.

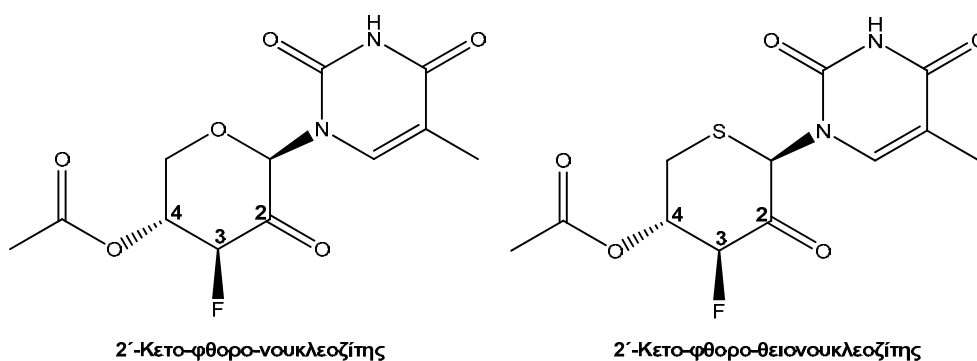
Μελέτη και σύγκριση φθορο-θειο-κετονουκλεοζιτών και φθορο-κετονουκλεοζιτών μέσω μοριακών γραφημάτων και υπολογιστικών μεθόδων

Είναι γνωστό ότι οι αντιδράσεις απόσπασης απαιτούν αντι-ομοεπίπεδη στερεοχημεία. Απαραίτητη προϋπόθεση για την πραγματοποίηση μιας αντίδρασης απόσπασης είναι η αποχωρούσα ομάδα και το H που αποσπάται να βρίσκονται σε θέση *anti* (*trans*) και διαξονική (*diaxial*).

Στην περίπτωση, των ακόρεστων 2'-κετονουκλεοζιτών (Manta *et al.* 2007), η αντίδραση β-απόσπασης πραγματοποιείται αν και η αποχωρούσα ομάδα και το H δεν βρίσκονται σε διαμόρφωση *anti*. Ωστόσο, αυτό δεν συμβαίνει στην περίπτωση του νεοσυντιθέμενου 2'-κετο-φθορο-θειονουκλεοζίτη της θυμίνης, όπου η αντίδραση απόσπασης δεν λαμβάνει χώρα.

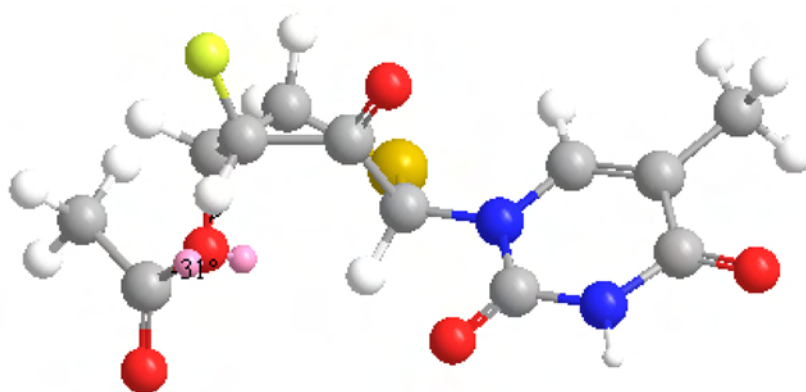
Στην προσπάθεια εξερεύνησης της αλλαγής της διαμόρφωσης των νέων μορίων, μελετήθηκε η δομή των νεοσυντιθέμενων φθορο-θειο-κετονουκλεοζιτών και συγκρίθηκε με αυτή των φθορο-κετονουκλεοζιτών, με τη βοήθεια του προγράμματος ChemBio3D Ultra 12.0. Το συγκεκριμένο πρόγραμμα δίνει τη δυνατότητα εξερεύνησης της δομής χημικών και βιολογικών μοντέλων, μέσω μοριακών γραφημάτων και υπολογιστικών μεθόδων.

Έτσι, μελετήθηκε η δομή του νέου 2'-κετο-φθορο-θειονουκλεοζίτη της θυμίνης **56**, παρατηρώντας την αλλαγή στη διαμόρφωση του μορίου, μέσω του υπολογισμού της δίεδρης γωνίας O₄-C₄-C₃-H₃.



Σχήμα 101

Μετά τον υπολογισμό της διέδρης γωνίας $O_4-C_4-C_3-H_3$, μέσω της απεικόνισης των τρισδιάστατων δομών των μορίων (Εικόνες 1 και 2), βρέθηκε ότι, η διέδρη γωνία $O_4-C_4-C_3-H_3$ (ίση με 31°) του νεοσυντιθέμενου φθορο-θειονουκλεοζίτη είναι μικρότερη από αυτή του φθορονουκλεοζίτη (ίση με 53°). Η διαπίστωση αυτή ενισχύει την υπόθεση ότι, εξαιτίας της ύπαρξης μικρής διέδρης γωνίας σε συνδυασμό με την διαμόρφωση της αποχωρούσας ομάδας και του H, είναι αδύνατη η αντίδραση της β -απόσπασης. Έτσι δεν πραγματοποιείται ο σχηματισμός του διπλού δεσμού στις 3',4'-θέσεις του σακχάρου του κετοθειονουκλεοζίτη. Στις εικόνες, 1 και 2, απεικονίζονται οι τρισδιάστατες δομές των 2'-κετο-φθορο-θειο- και 2'-κετο-φθορονουκλεοζιτών της θυμίνης, αντίστοιχα.



Εικόνα 1. Τρισδιάστατη δομή του 2'-κετο-φθορο-θειο-νουκλεοζίτη της θυμίνης



Εικόνα 2. Τρισδιάστατη δομή του 2'-κετο-φθορονουκλεοζίτη της θυμίνης

III. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΓΕΝΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC: Thin Layer Chromatography)

Ο έλεγχος της καθαρότητας των ενώσεων και η παρακολούθηση της πορείας των αντιδράσεων έγινε με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC) σε πλάκες αλουμινίου επιστρωμένες με silica gel F₂₅₄ (0.2 mm) της εταιρίας E. Merck. Οι κηλίδες των χρωματογραφημάτων (TLC) είναι ορατές υπό λυχνία υπεριώδους (UV, 254 nm) και με ψεκασμό με διάλυμα θειϊκού οξέος 30% και θέρμανση στους 120 °C.

Εξαίρεση αποτελούν οι κετονουκλεοζίδες, τα TLC χρωματογραφήματα των οποίων, ψεκάζονται με διάλυμα 2,4-δινιτροφαινυλυδραζίνης (0.1%).

Χρωματογραφία στήλης

Η χρωματογραφία στήλης υπό πίεση (flash column chromatography), επιτεύχθηκε με την εισαγωγή αέρα υπό πίεση (Still *et al.* 1978) εντός στήλης πακτωμένης με silica gel 60 (230-400 mesh) της εταιρίας E. Merck.

Μέτρηση της οπτικής ενεργότητας

Οι μετρήσεις της γωνίας στροφής πραγματοποιήθηκαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος με τη βοήθεια πολωσιμέτρου, τύπου Autopol I.

Φάσματα υπεριώδους ακτινοβολίας

Τα φάσματα υπεριώδους ακτινοβολίας ελήφθησαν σε φασματοφωτόμετρο, τύπου PG Instruments Ltd. Ο μοριακός συντελεστής απόσβεσης ϵ , προσδιορίστηκε από την εξίσωση

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

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

C = συγκέντρωση της ουσίας σε mol/L

d = μήκος κυψελίδας σε cm

Φάσματα NMR

Τα φάσματα πρωτονίου NMR ($^1\text{H-NMR}$) καταγράφηκαν στα 500 MHz σε φασματογράφο Bruker DRX 500, ενώ τα φάσματα άνθρακα NMR ($^{13}\text{C-NMR}$) καταγράφηκαν στα 100 MHz σε φασματογράφο Bruker DRX 400. Ως διαλύτης χρησιμοποιήθηκε το δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3) ή η δευτεριωμένη μεθανόλη (CD_3OD). Οι χημικές μετατοπίσεις δ αναφέρονται ως προς το τετραμεθυλοσιλάνιο (TMS) για το ^1H , οι δε τιμές των σταθερών σύζευξης J εκφράζονται σε Hz.

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

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

Προσδιορισμός των σημείων τήξεως

Τα σημεία τήξης των μη υγροσκοπικών στερεών καταγράφηκαν σε όργανο Mel-Temp Apparatus και δεν είναι διορθωμένα.

Ξήρανση διαλυτών

Οι αντιδράσεις που περιελάμβαναν άνυδρους διαλύτες ή ουσίες ευαίσθητες στην ατμόσφαιρα έλαβαν χώρα κάτω από αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου.

Το διχλωρομεθάνιο αποστάχθηκε παρουσία πεντοξειδίου του φωσφόρου και το απόσταγμα συλλέχθηκε σε φιάλη που περιείχε μοριακά κόσκινα 4 \AA , όπου και αποθηκεύτηκε. Το ακετονιτρίλιο, το τολουόλιο και το *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο αποστάχθηκαν υπεράνω υδριδίου του ασβεστίου και το απόσταγμα συλλέχθηκε σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 3 \AA , όπου και αποθηκεύτηκε. Η πυριδίνη αποστάχθηκε παρουσία υδροξειδίου του καλίου και το απόσταγμα συλλέχθηκε σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 4 \AA , όπου και αποθηκεύτηκε. Το THF αποστάχθηκε από νάτριο/βενζοφαινόνη, αμέσως πριν

από τη χρήση του. Τέλος, το DMSO αποθηκεύτηκε σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 3Å.

Στοιχειακή ανάλυση

Οι στοιχειακές αναλύσεις των ουσιών έγιναν με τη χρήση αυτοματοποιημένων αναλυτών της εταιρίας Perkin-Elmer 2400 (% προσδιορισμός C, H και N) και οι τιμές κυμαίνονται σε εύρος $\pm 0.4\%$ των θεωρητικών.

Σύνθεση της 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2-δισ-Ο-ακετυλο-5-S-ακετυλο-5-θειο-α-D-ξυλοφουρανόζης (6)

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2-Ο-ισοπροπυλιδενο-α-D-ξυλοφουρανόζη (3)

(Elhalabi and Rice 2004)

Σε διάλυμα της 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2-Ο-ισοπροπυλιδενο-α-D-γλυκοφουρανόζης (**2**) (5.00 g, 22.5 mmol) σε μεθανόλη (79 mL) και απιονισμένο νερό (79 mL) προστίθεται NaIO₄ (5.09 g, 23.8 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 1 h. Στη συνέχεια προστίθεται μία σταγόνα αιθυλενογλυκόλης και NaBH₄ (2.00 g, 52.3 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για μία επιπλέον ώρα. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με EtOAc (4 x 500 mL). Η οργανική φάση πλένεται με κορεσμένο διάλυμα όξινου θειικού νατρίου (NaHSO₄), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (20/80), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **3** (4.00 g, 92%) ως παχύρευστο άχρωμο έλαιο.

ESI-MS (*m/z*): 193.3 (M+H⁺)

Στοιχειακή ανάλυση: (C₈H₁₃FO₄) C, H

Υπολ. (%) C : 50.00 H : 6.82

Ευρ. (%) C : 49.67 H : 7.00

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 5.91 (d, *J*_{1,2} = 3.8 Hz, 1H, H-1), 4.92 (dd, *J*_{3,F} = 50.4 Hz, *J*_{3,4} = 2.3 Hz, 1H, H-3), 4.62 (dd, *J*_{2,F} = 11.1 Hz, *J*_{2,1} = 3.8 Hz, 1H, H-2), 4.28 (m, 1H, H-4), 3.82 (m, 2H, H-5a and H-5b), 1.41 (s, 3H, CH₃), 1.25 (s, 3H, CH₃).

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2-O-ισοπροπυλιδενο-5-O-τολουολοσουλφονυλο-α-D-ξυλοφουρανόζη (4)

Σε διάλυμα της 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2-O-ισοπροπυλιδενο-α-D-ξυλοφουρανόζης (3) (4.00 g, 20.7 mmol) σε πυριδίνη (53 mL) προστίθεται P-TsCl (5.20 g, 27.6 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για μία νύχτα. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με EtOAc (4 x 500 mL). Η οργανική φάση ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (10/90), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν 4 (6.50 g, 91%) υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 61-63 °C (οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο).

ESI-MS (*m/z*): 347.4 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₅H₁₉FO₆S) C, H

Υπολ. (%) C : 52.01 H : 5.53

Ευρ. (%) C : 52.23 H : 5.69

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 7.40-7.80 (m, 4H, H_{arom} τοσυλομάδας), 5.93 (d, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, 1H, H-1), 4.96 (dd, $J_{3,F} = 50.1$ Hz, $J_{3,4} = 1.8$ Hz, 1H, H-3), 4.67 (dd, $J_{2,F} = 10.5$ Hz, $J_{2,1} = 3.7$ Hz, 1H, H-2), 4.35-4.49 (m, $J_{4,F} = 28.1$ Hz, $J_{4,3} = 1.8$ Hz, 1H, H-4), 4.18-4.29 (m, 2H, H-5a and H-5b), 2.47 (s, 3H, ArCH₃), 1.48 (s, 3H, CH₃), 1.33 (s, 3H, CH₃).

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2-Ο-ισοπροπυλιδενό-5-S-ακετυλο-5-θειο-α-D-ξυλοφουρανόζη (5)

Σε διάλυμα της τοσυλιωμένης ένωσης **4** (6.5 g, 18.8 mmol) σε DMF (71 mL) προστίθεται KSAc (2.9 g, 25 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται στους 100 °C για 1h. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με EtOAc (2 x 350 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (20 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (10/90), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **5** (4.10 g, 87%) ως παχύρευστο κίτρινο έλαιο.

ESI-MS (*m/z*): 251.4 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₀H₁₅FO₄S) C, H

Υπολ. (%)	C : 47.99	H : 6.04
Ευρ. (%)	C : 48.27	H : 5.89

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 5.96 (d, $J_{1,2} = 3.8$ Hz, 1H, H-1), 4.88 (dd, $J_{3,F} = 50.1$ Hz, $J_{3,4} = 2.1$ Hz, 1H, H-3), 4.68 (dd, $J_{2,F} = 10.8$ Hz, $J_{2,1} = 3.8$ Hz 1H, H-2), 4.19-4.34 (m, $J_{4,F} = 28.4$ Hz, $J_{4,3} = 2.1$ Hz, 1H, H-4), 3.12-3.26 (m, 2H, H-5a and H-5b), 2.36 (s, 3H, SAc), 1.47 (s, 3H, CH₃), 1.31 (s, 3H, CH₃).

IR (Nujol): 1697 cm⁻¹(Sac).

**3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2-δισ-Ο-ακετυλο-5-S-ακετυλο-5-θειο-D-ξυλοφουρανό-
ζη (6)**

Διάλυμα της ένωσης **5** (4.1 g, 16.5 mmol) σε Ac₂O/ CH₃COOH/ θειικό οξύ (350 mL, 70:30:1, v/v) αναδεύεται για τρεις ημέρες. Στη συνέχεια προστίθεται άνυδρος αιθέρας (600 mL) και οξικό νάτριο. Το διάλυμα διηθείται και οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό, αφού πρώτα προστίθεται τολουόλιο. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (20/80), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **6** (4.00 g, 82%) ως παχύρευστο κίτρινο έλαιο.

ESI-MS (*m/z*): 295.4 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₁H₁₅FO₆S) C, H

Υπολ. (%)	C : 44.89	H : 5.14
Ευρ. (%)	C : 45.08	H : 5.29

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 6.45 and 6.11 (α: d, J_{1,2} = 4.8 Hz, 0.3H, H-1 ; β: s, J_{1,2} = 0.7 Hz, 0.7H, H-1), 5.29-5.33 (m, 1H, H-2), 4.97 (dd, J_{3,F} = 50.3 Hz, J_{3,4} = 3.7 Hz 1H, H-3), 4.31-4.48 (m, J_{4,F} = 25.8 Hz, J_{4,3} = 3.7 Hz, 1H, H-4), 3.14-3.34 (m, 2H, H-5a and H-5b), 2.36 και 2.37 (β and α, s, 3H, SAc), 2.06-2.16 (m, 6H, OAc).

IR (Nujol): 1697 cm⁻¹ (SAc), 1750 cm⁻¹ (OAc).

Σύνθεση των 3'-δεοξυ-3'-φθορο-5'-S-ακετυλο-5'-θειο-β-D-ξυλοφουρανονουκλεοζιτικών αναλόγων της θυμίνης (7), της ουρακίλης (8) και της 5-φθοροουρακίλης (9)

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-5'-S-ακετυλο-5'-θειο-β-D-ξυλοφουρανοζυλο)θυμίνη (7)

Σε διάλυμα της θυμίνης (2.4 g, 18.9 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (65 mL) προστίθεται HMDS (4.9 mL, 23.3 mmol) και σακχαρίνη (0.12 g, 0.63 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η θειοακετυλιωμένη 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2-δισ-O-ακετυλο-D-ξυλοφουρανόζη (6) (4.00 g, 13.5 mmol) και Me₃SiOSO₂CF₃ (3.4 mL, 19 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για δύο επιπλέον ώρες με κάθετο ψυκτήρα στους 80 °C. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με EtOAc (4 x 250 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (20 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / n-εξάνιο (80/20), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν 7 (2.7 g, 56%) ως υποκίτρινο έλαιο.

$$[\alpha]_D^{22} = + 28.9^\circ \quad (c = 0.25 \text{ χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS (m/z): 361.4 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₄H₁₇FN₂O₆S) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 46.66	H : 4.14	N : 7.77
Ευρ. (%)	C : 46.91	H : 4.33	N : 7.52

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.67 (br s, NH), 7.26 (s, 1H, H-6), 6.06 (d, J_{1',2'} = 2.2 Hz, 1H, H-1'), 5.23 (d, J_{2',F} = 16.9 Hz, 1H, H-2'), 4.99 (dd, J_{3',F} = 50.2 Hz, J_{3',4'} = 2.3 Hz, 1H, H-3'),

4.11-4.26 (m, $J_{4',F} = 28.7$ Hz, 1H, H-4'), 3.29-3.33 (m, 2H, H-5'a and H-5'b), 2.40 (s, 3H, SAc), 2.14 (s, 3H, OAc), 1.94 (s, 3H, 5-CH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ 194.91, 170.24, 163.73, 150.82, 136.05, 110.92, 96.08, 90.68, 76.19, 72.06, 30.32, 30.59, 21.03, 12.41.

IR (Nujol): 1697 cm⁻¹ (SAc), 1750 cm⁻¹ (OAc).

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-5'-S-ακετυλο-5'-θειο-β-D-ξυλοφουρανοζυλο)ουρακίλη (8)

Το παράγωγο της ουρακίλης **8** συντίθεται από το σάκχαρο **6** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **7**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (80/20), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **8** (2.4 g, 51%) ως υποκίτρινο έλαιο.

$[\alpha]_D^{22} = + 27.6^\circ$ (c = 0.25 χλωροφόρμιο)

ESI-MS (*m/z*): 347.5 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₃H₁₅FN₂O₆S) C, H, N

Υπολ. (%) C : 45.08 H : 4.37 N : 8.09

Ευρ. (%) C : 45.33 H : 4.63 N : 7.82

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 7.37 (d, $J_{6,5} = 8.2$ Hz, 1H, H-6), 6.03 (d, $J_{1',2'} = 2.0$ Hz, 1H, H-1'), 5.79 (d, 1H, H-5), 5.24 (dd, $J_{2',F} = 16.0$ Hz, 1H, H-2'), 4.97 (dd, $J_{3',F} = 50.0$ Hz, $J_{3',4'} = 2.2$ Hz, 1H, H-3'), 4.16-4.27 (m, $J_{4',F} = 28.9$ Hz, 1H, H-4'), 3.24-3.36 (m, 2H, H-5'a and H-5'b), 2.40 (s, 3H, SAc), 2.15 (s, 3H, OAc).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

δ 195.02, 170.19, 163.56, 150.97, 141.18, 102.47, 95.70, 90.59, 76.21, 72.13, 30.28, 30.49, 20.98.

IR (Nujol): 1697 cm^{-1} (SAC), 1750 cm^{-1} (OAc).

1-(3'-Δέοξυ-3'-φθορο-5'-S-ακέτυλο-5'-θειο-β-D-ξυλοφουρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλη (9)

Σε διάλυμα της 5-φθοροουρακίλης (2.5 g, 18.9 mmol) σε άνυδρο CH_3CN (59 mL) προστίθεται HMDS (5.0 mL, 23.4 mmol) και σακχαρίνη (0.16 g, 0.87 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η θειοακετυλιωμένη 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2-δισ-O-ακετυλο-D-ξυλοφουρανόζη (6) (4.00 g, 13.5 mmol) και $\text{Me}_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$ (3.4 mL, 19 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για έξι επιπλέον ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO_3) και εκχύλιση με EtOAc (4 x 250 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (20 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (50/50), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν 9 (2.7 g, 55%) ως υποκίτρινο έλαιο.

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +36.8^\circ$ (c = 0.25 χλωροφόρμιο)

ESI-MS (*m/z*): 365.5 ($\text{M}+\text{H}^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 42.86	H : 3.87	N : 7.69
Ευρ. (%)	C : 43.11	H : 3.63	N : 7.42

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 7.74 (d, $J_{6,F5} = 5.8$ Hz, 1H, H-6), 6.01 (dd, $J_{1',2'} = 1.9$ Hz, $J_{1',F5} = 1.7$ Hz, 1H, H-1'), 5.23 (dd, $J_{2',F} = 16.0$ Hz, 1H, H-2'), 4.98 (dd, $J_{3',F} = 50.0$ Hz, $J_{3',4'} = 2.2$ Hz, 1H, H-3'), 4.16-4.28 (m, $J_{4',F} = 28.8$ Hz, 1H, H-4'), 3.25-3.37 (m, 2H, H-5'a and H-5'b), 2.40 (s, 3H, SAc), 2.15 (s, 3H, OAc).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ 194.89, 170.20, 158.23, 150.79, 140.25, 128.42, 95.78, 90.62, 76.24, 72.08, 30.29, 30.48, 21.15.

IR (Nujol): 1697 cm⁻¹ (SAc), 1750 cm⁻¹ (OAc).

Σύνθεση των 3'-φθορο-2',4'-δισ-Ο-ακετυλο-6'-S-ακετυλο-6'-θειο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων 14α-ε (α' συνθετική πορεία)

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4',6'-τρις-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)θυμίνη (11α)

Σε διάλυμα της θυμίνης (2.02 g, 15.99 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (56 mL) προστίθεται HMDS (4.2 mL, 19.83 mmol) και σακχαρίνη (0.13 g, 0.74 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η τετρακετυλιωμένη 3-δεοξυ-3-φθορογλυκοπυρανόζη (**10**) (4.00 g, 11.42 mmol) και SnCl₄ (1.87 mL, 15.99 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για δύο επιπλέον ώρες με κάθετο ψυκτήρα στους 110 °C. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με CH₂Cl₂ (500 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (3 x 10 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (80/20), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **11α** (3.42 g, 72%), υπό τη μορφή λευκού στερεού.

Σημείο Τήξεως 180-182 °C (οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο).

$[\alpha]_D^{22} = -10.5^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ϵ 7894)

ESI-MS (m/z): 417.35 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₇H₂₁FN₂O₉) C, H, N

Υπολ. (%) C : 49.04 H : 5.08 N : 6.73

Ευρ. (%) C : 49.17 H : 4.92 N : 6.58

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.20 (br s, NH), 7.16 (s, 1H, H-6), 5.78 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.6$ Hz, H-1'), 5.30-5.22 (m, 2H, H-2' και H-4'), 4.73 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 51.8$ Hz, $J_{2',3'} = 9.1$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 4.30-4.12 (m, 2H, H-6'a and H-6'b), 3.85-3.80 (m, 1H, H-5'), 2.15 και 2.10 και 2.08 (3s, 9H, 3OAc), 1.97 (s, 1H, 5-CH₃)

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4',6'-τρις-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)ου-ρακίλης (11β)

Σε διάλυμα της ουρακίλης (1.79 g, 15.99 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (56 mL) προστίθεται HMDS (4.2 mL, 19.83 mmol) και σακχαρίνη (0.14 g, 0.74 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η τετρακετυλιωμένη 3-δεοξυ-3-φθορογλυκοπυρανόζη (**10**) (4.00 g, 11.42 mmol) και Me₃SiOSO₂CF₃ (2.89 mL, 15.99 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για τρεις επιπλέον ώρες με κάθετο ψυκτήρα στους 105 °C. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με CH₂Cl₂ (500 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (3 x 10 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-

εξάνιο (70/30), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **11β** (3.4 g, 74%), υπό τη μορφή λευκού στερεού.

Σημείο Τήξεως 115-117 °C (οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο).

$[\alpha]_D^{22} = -5.30^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ϵ 7068)

ESI-MS (m/z): 403.34 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₆H₁₉FN₂O₉) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 47.76	H : 4.76	N : 6.96
Ευρ. (%)	C : 47.65	H : 4.87	N : 6.84

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.50 (br s, NH), 7.35 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.2$ Hz, H-6), 5.84 (d, 1H, H-5), 5.79 (d, 1H, $J_{1,2'} = 9.6$ Hz, H-1'), 5.30-5.22 (m, 2H, H-2' και H-4'), 4.74 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 51.7$ Hz, $J_{2',3'} = 9.1$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 4.30-4.11 (m, 2H, H-6'a and H-6'b), 3.83 (m, 1H, H-5'), 2.14 και 2.10 και 2.08 (3s, 9H, 3OAc)

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4',6'-τρις-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλης (11γ)

Σε διάλυμα της 5-φθοροουρακίλης (1.00 g, 7.98 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (28 mL) προστίθεται HMDS (2.0 mL, 9.90 mmol) και σακχαρίνη (0.07 g, 0.37 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η τετρακετυλιωμένη 3-δεοξυ-3-φθορογλυκοκυρανόζη (**10**) (2.00 g, 5.7 mmol) και Me₃SiOSO₂CF₃ (1.44 mL, 7.98 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για τρεις επιπλέον ώρες με κάθετο ψυκτήρα στους 80 °C. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με CH₂Cl₂ (500 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (20 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το

προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (50/50), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **11γ** (1.7 g, 70%), υπό τη μορφή λευκού στερεού.

Σημείο Τήξεως 123-125 °C (οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο).

$[\alpha]_D^{22} = - 5.26^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ϵ 8436)

ESI-MS (*m/z*): 421.31 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₆H₁₈F₂N₂O₉) C, H, N

Υπολ. (%) C : 45.65 H : 4.27 N : 6.73

Ευρ. (%) C : 45.72 H : 4.32 N : 6.66

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.20 (br s, NH), 7.46 (d, 1H, $J_{6,F5} = 5.6$ Hz, H-6), 5.78 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.5$ Hz, H-1'), 5.33-5.19 (m, 2H, H-2' και H-4'), 4.75 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 51.7$ Hz, $J_{3',2'} = 9.1$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 4.29-4.13 (m, 2H, H-6'a and H-6'b), 3.85 (m, 1H, H-5'), 2.15 και 2.11 και 2.09 (3s, 9H, 3OAc)

1-(3',4'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)θυμίνη (12α)

Διάλυμα της ένωσης 1-(3'-δεοξυ-3'-φθορο-2',4',6'-τρις-O-ακετυλο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)θυμίνη (**11α**) (1.7 g, 4.1 mmol) σε μεθανολική αμμωνία αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 4 h. Από το τελικό μίγμα παραλαμβάνεται η ένωση **12α** (1.1 g, 90%) ως άχρωμο έλαιο και χρησιμοποιείται στο επόμενο στάδιο χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

$[\alpha]_D^{22} = + 5.26^\circ$ (c = 0.10 μεθανόλη)

λ_{\max} 260 nm (ϵ 6794)

ESI-MS (*m/z*): 291.26 (M+H⁺)

1-(3',4'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)ουρακίλη (12β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **12β** συντίθεται από την ένωση **11β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **12α**. Η ένωση **12β** παραλαμβάνεται (1.00 g, 88%) ως άχρωμο έλαιο και χρησιμοποιείται στο επόμενο στάδιο χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

$[\alpha]_D^{22} = + 5.30^\circ$ (c = 0.10 μεθανόλη)

$\lambda_{\max} 260 \text{ nm}$ (ϵ 6235)

ESI-MS (*m/z*): 277.23 (M+H⁺)

1-(3',4'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλη (12γ)

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **12γ** συντίθεται από την ένωση **11γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **12α**. Η ένωση **12γ** παραλαμβάνεται (1.01 g, 86%) ως άχρωμο έλαιο και χρησιμοποιείται στο επόμενο στάδιο χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

$[\alpha]_D^{22} = + 5.26^\circ$ (c = 0.10 μεθανόλη)

$\lambda_{\max} 260 \text{ nm}$ (ϵ 6785)

ESI-MS (*m/z*): 295.21 (M+H⁺)

1-(3',4'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)κυτοσίνη (12στ)

Το παράγωγο της κυτοσίνης **12στ** συντίθεται από την ένωση **11δ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **12α**. Η ένωση **12στ** παραλαμβάνεται (0.83 g, 90%) ως άχρωμο έλαιο και χρησιμοποιείται στο επόμενο στάδιο χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

$$[\alpha]_D^{22} = + 5.00^\circ \quad (c = 0.10 \text{ μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 268 \text{ nm } (\epsilon 7162)$$

ESI-MS (*m/z*): 276.26 (M+H⁺)

1-(3',4'-Διδεοξυ-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)αδενίνη (12ζ)

Το παράγωγο της αδενίνης **12ζ** συντίθεται από την ένωση **11ε** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **12α**. Η ένωση **12ζ** παραλαμβάνεται (0.85 g, 88%) ως άχρωμο έλαιο και χρησιμοποιείται στο επόμενο στάδιο χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

$$[\alpha]_D^{22} = + 4.00^\circ \quad (c = 0.10 \text{ μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 259 \text{ nm } (\epsilon 4930)$$

ESI-MS (*m/z*): 300.27 (M+H⁺)

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4'-δισ-O-ακετυλο-6'-O-p-τολουολοσουλφονυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)θυμίνη (13α)

Σε διάλυμα του προϊόντος **12α** (1.1 g, 3.7 mmol) σε πυριδίνη (4.5 mL) προστίθεται στάγδην *p*-TsCl στους 0 °C, και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για μία νύχτα. Στη συνέχεια ο διαλύτης

απομακρύνεται, το προκύπτον έλαιο επαναδιαλύεται σε πυριδίνη (49 mL) και προστίθεται Ac_2O (25 mL) και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για τρεις επιπλέον ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί προσθήκη μεθανόλης (0.4 mL) για να κατασταλεί η αντίδραση. Οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό και το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (60/40), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **13α** (1.2 g, 62%), υπό τη μορφή λευκού στερεού.

Σημείο Τήξεως 145-147 °C (οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο).

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = + 10.52^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)
 λ_{max} 260 nm (ϵ 8836)

ESI-MS (*m/z*): 529.51 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₂H₂₅FN₂O₁₀S) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 50.00	H : 4.77	N : 5.30
Ευρ. (%)	C : 50.26	H : 4.92	N : 5.47

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.60 (br s, NH), 7.37-7.20 (m, 4H, H_{arom} τοσυλομάδας), 7.19 (s, 1H, H-6), 5.75 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.5$ Hz, H-1'), 5.29-5.20 (m, 2H, H-2' και H-4'), 4.70 (dtr, 1H, $J_{\text{F},3'} = 51.7$ Hz, $J_{2',3'} = 9.1$, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 4.21-4.07 (m, 2H, H-6'a and H-6'b), 3.84 (m, 1H, H-5'), 2.45 (s, 3H, ArCH₃), 2.10 και 2.05 (2s, 6H, 2OAc), 1.96 (s, 3H, 5-CH₃)

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4'-δισ-Ο-ακετυλο-6'-Ο-ρ-τολουολοσουλφονυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)ουρακίλη (13β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **13β** συντίθεται από την ένωση **12β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **13α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με

χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (70/30), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **13β** (1.1 g, 58%), υπό τη μορφή λευκού στερεού.

Σημείο Τήξεως 175-177 °C (οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο).

$[\alpha]_D^{22} = + 5.26^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ε 6760)

ESI-MS (*m/z*): 515.49 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₁H₂₃FN₂O₁₀S) C, H, N

Υπολ. (%) C : 49.03 H : 4.51 N : 5.45

Ευρ. (%) C : 49.19 H : 4.65 N : 5.62

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.20 (br s, NH), 7.76 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.2$ Hz, H-6), 7.38-7.22 (m, 4H, H_{arom} τοουλομάδας), 5.79 (d, 1H, H-5), 5.73 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.6$ Hz, H-1'), 5.26-5.15 (m, 2H, H-2' και H-4'), 4.70 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 51.7$ Hz, $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 4.22-4.06 (m, 2H, H-6'a and H-6'b), 3.85 (m, 1H, H-5'), 2.45 (s, 3H, ArCH₃), 2.10 και 2.06 (2s, 6H, 2OAc).

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4'-δισ-Ο-ακετυλο-6'-Ο-ρ-τολουολοσουλφονυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλη (**13γ**)

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **13γ** συντίθεται από την ένωση **12γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **13α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (60/40), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **13γ** (1.18 g, 60%) υπό τη μορφή λευκού στερεού.

Σημείο Τήξεως 198-200 °C (οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο).

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = + 5.32^{\circ}$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)

λ_{max} 260 nm (ϵ 7486)

ESI-MS (m/z): 533.48 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₁H₂₂F₂N₂O₁₀S) C, H, N

Υπολ. (%) C : 47.37 H : 4.16 N : 5.26

Ευρ. (%) C : 47.54 H : 4.29 N : 5.42

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.28 (br s, NH), 7.50 (d, 1H, $J_{6,F5} = 5.85$ Hz, H-6), 7.37-7.20 (m, 4H, H_{arom} τοσυλομάδας), 5.74 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.4$ Hz, H-1'), 5.27-5.15 (m, 2H, H-2' και H-4'), 4.75 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 51.5$ Hz, $J_{2',3'} = 9.2$, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 4.21-4.06 (m, 2H, H-6'a and H-6'b), 3.90 (m, 1H, H-5'), 2.45 (s, 3H, ArCH₃), 2.11 και 2.07 (2s, 6H, 2OAc).

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4'-δισ-Ο-ακετυλο-6'-Ο-ρ-τολουολοσουλφονυλο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)-N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (13δ)

Το παράγωγο της N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης **13δ** συντίθεται από την ένωση **12δ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **13α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (60/40), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **13δ** (1.41 g, 62%) με αφρώδη υφή.

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = + 12.00^{\circ}$ (c = 0.5 χλωροφόρμιο)

λ_{max} 263 nm (ϵ 21906)

ESI-MS (m/z): 618.62 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₈H₂₈FN₃O₁₀S) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 54.45	H : 4.57	N : 6.80
Ευρ. (%)	C : 54.84	H : 4.29	N : 6.62

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.66 (br s, NH), 7.88-7.31 (m, 11H, Bz, H-6, H-5 και H_{arom} τοσυλομάδας), 6.01 (d, 1H, $J_{1',2'}$ = 9.4 Hz, H-1'), 5.30-5.14 (m, 2H, H-2' και H-4'), 4.74 (dtr, 1H, $J_{F,3'}$ = 51.6 Hz, $J_{2',3'}$ = 9.1 Hz, $J_{3',4'}$ = 9.0 Hz, H-3'), 4.24-4.08 (m, 2H, H-6'a and H-6'b), 3.86 (m, 1H, H-5'), 2.45 (s, 3H, ArCH₃), 2.12 και 2.04 (2s, 6H, 2OAc).

9-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4'-δισ-Ο-ακετυλο-6'-Ο-ρ-τολουολοσουλφονυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-N⁶-βενζοϋλοαδενίνη (13ε)

Το παράγωγο της N⁶-βενζοϋλοαδενίνης **13ε** συντίθεται από την ένωση **12ε** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **13α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (70/30), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **13ε** (1.52 g, 64%) με αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = + 2.00^\circ$ (c = 0.20 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 278 nm (ε 17393)

ESI-MS (m/z): 642.64 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₉H₂₈FN₅O₉S) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 54.29	H : 4.40	N : 10.92
Ευρ. (%)	C : 54.34	H : 4.59	N : 10.78

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 9.05 (br s, NH), 8.84 και 8.15 (2s, 2H, H-2,8), 8.14-7.51 (m, 9H, Bz και H_{arom} τοσυλομάδας), 5.84 (d, 1H, $J_{1',2'}$ = 9.5 Hz, H-1'), 5.64 (m, 1H, H-2'), 5.35 (m, 1H, H-4'), 4.81 (dtr, 1H, $J_{F,3'}$ = 51.5 Hz, $J_{2',3'}$ = $J_{3',4'}$ = 9.1 Hz, H-3'), 4.23-4.11

(m, 2H, H-6'a and H-6'b), 4.01 (m, 1H, H-5'), 2.42 (s, 3H, ArCH₃), 2.16 και 1.84 (2s, 6H, 2OAc).

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4'-δισ-Ο-ακετυλο-6'-S-ακετυλο-6'-θειο-β-D-γλυκο-πυρανοζυλο)θυμίνη (14α)

Σε διάλυμα του τοσυλιωμένου προϊόντος **13α** (1.2 g, 2.30 mmol) σε DMF (8.7 mL) προστίθεται KSAc (0.36 g, 3.1 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται στους 100 °C για 2h. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με EtOAc (500 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (1 x 20 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (60/40), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **14α** (0.75 g, 78%), υπό τη μορφή λευκού στερεού.

Σημείο Τήξεως 204-206 °C (οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο).

$[\alpha]_D^{22} = + 5.21^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ε 9219)

ESI-MS (m/z): 433.44 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₇H₂₁FN₂O₈S) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 47.22	H : 4.89	N : 6.48
Ευρ. (%)	C : 47.39	H : 4.78	N : 6.54

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.10 (br s, NH), 7.12 (s, 1H, H-6), 5.75 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.5$ Hz, H-1'), 5.29-5.18 (m, 2H, H-2' και H-4'), 4.71 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 51.8$ Hz, $J_{2',3'} = 9.1$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 3.78 (m, 1H, H-5'), 3.30-3.11 (m, 2H, H-6'a and H-6'b), 2.37 (s, 3H, SAc), 2.21 και 2.08 (2s, 6H, 2OAc), 1.98 (s, 3H, 5-CH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ 194.90, 170.21, 163.70, 150.79, 136.00, 110.87, 92.21, 86.00, 76.40, 71.20, 71.61, 31.40, 30.51, 21.01, 12.40.

IR (Nujol): 1697 cm⁻¹ (SAc).

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4'-δισ-Ο-ακετυλο-6'-S-ακετυλο-6'-θειο-β-D-γλυκο-πυρανοζυλο)ουρακίλη (14β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **14β** συντίθεται από την ένωση **13β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **14α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (70/30), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **14β** (0.64 g, 76%), υπό τη μορφή λευκού στερεού.

Σημείο Τήξεως 158-160 °C (οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο).

$[\alpha]_D^{22} = + 5.18^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ε 6283)

ESI-MS (*m/z*): 419.41 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₆H₁₉FN₂O₈S) C, H, N

Υπολ. (%) C : 45.93 H : 4.58 N : 6.70

Ευρ. (%) C : 45.89 H : 4.64 N : 6.82

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.30 (br s, NH), 7.30 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.3$ Hz, H-6), 5.82 (d, 1H, H-5), 5.75 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.5$ Hz, H-1'), 5.26-5.15 (m, 2H, H-2' και H-4'), 4.69 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 51.8$ Hz, $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 9.1$ Hz, H-3'), 3.80 (m, 1H, H-5'), 3.27-3.11 (m, 2H, H-6'a and H-6'b), 2.35 (s, 3H, SAc), 2.19 και 2.07 (2s, 6H, 2OAc).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

δ 194.88, 170.19, 163.50, 150.81, 141.22, 102.43, 91.91, 86.09, 76.38, 71.60, 71.18, 31.12, 30.50, 21.04.

IR (Nujol): 1697 cm^{-1} (SAC).

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4'-δισ-Ο-ακετυλο-6'-S-ακετυλο-6'-θειο-β-D-γλυκο-πυρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλη (14γ)

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **14γ** συντίθεται από την ένωση **13γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **14α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (60/40), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **14γ** (0.65 g, 75%), υπό τη μορφή λευκού στερεού.

Σημείο Τήξεως 200-202 °C (οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο).

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = + 5.26^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)

λ_{max} 260 nm (ϵ 8232)

ESI-MS (*m/z*): 437.41 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₆H₁₈F₂N₂O₈S) C, H, N

Υπολ. (%) C : 44.04 H : 4.16 N : 6.42

Ευρ. (%) C : 44.28 H : 4.29 N : 6.34

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3)

δ 8.28 (br s, NH), 7.36 (d, 1H, $J_{6,\text{F}5} = 5.3$ Hz, H-6), 5.71 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.3$ Hz, H-1'), 5.23-5.11 (m, 2H, H-2' και H-4'), 4.70 (dtr, 1H, $J_{\text{F},3'} = 51.5$ Hz, $J_{2',3'} = 9.2$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 3.80 (m, 1H, H-5'), 3.29-3.10 (m, 2H, H-6'a and H-6'b), 2.36 (s, 3H, SAC), 2.19 και 2.08 (2s, 6H, 2OAc).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ 194.91, 170.24, 158.20, 150.80, 140.22, 128.41, 91.90, 86.01, 76.42, 71.61, 71.21, 31.18, 30.47, 21.00.

IR (Nujol): 1697 cm⁻¹ (SAc).

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4'-δισ-Ο-ακετυλο-6'-S-ακετυλο-6'-θειο-β-D-γλυκο-πυρανοζυλο)-N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (14δ)

Το παράγωγο της N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης **14δ** συντίθεται από την ένωση **13δ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **14α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (80/20), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **14δ** (0.82 g, 68%), υπό τη μορφή λευκού στερεού.

Σημείο Τήξεως 277-279 °C (οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο).

[α]_D²² = + 16.00° (c = 0.10 χλωροφόρμιο)

λ_{max} 263 nm (ε 20626)

ESI-MS (*m/z*): 618.62 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₃H₂₄FN₃O₈S) C, H, N

Υπολ. (%) C : 52.97 H : 4.64 N : 8.06

Ευρ. (%) C : 52.70 H : 4.80 N : 8.22

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 7.88 (d, 1H, J_{5,6} = 7.2 Hz, H-6), 7.84–7.48 (m, 6H, Bz και H-5), 6.03 (d, 1H, J_{1',2'} = 9.4 Hz, H-1'), 5.27–5.17 (m, 2H, H-2' και H-4'), 4.75 (dtr, 1H, J_{F,3'} = 51.8 Hz, J_{2',3'} = 9.1 Hz, J_{3',4'} = 9.0 Hz, H-3'), 3.83–3.77 (m, 1H, H-5'), 3.29–3.11 (m, 2H, H-6'a and H-6'b), 2.35 (s, 3H, SAc), 2.20 και 2.05 (2s, 6H, 2OAc).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ 194.92, 170.21, 167.00, 162.89, 155.10, 143.80, 133.21, 132.10, 128.81, 127.50, 95.71, 92.20, 85.98, 76.42, 71.64, 71.22, 31.48, 30.51, 21.04.

IR (Nujol): 1697 cm⁻¹ (SAC).

9-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4'-δισ-Ο-ακετυλο-6'-S-ακετυλο-6'-θειο-β-D-γλυκο-πυρανοζυλο)-N⁶-βενζοϋλοαδενίνη (14ε)

Το παράγωγο της N⁶-βενζοϋλοαδενίνης **14ε** συντίθεται από την ένωση **13ε** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **14α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (80/20), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **14ε** (0.61 g, 60%), υπό τη μορφή λευκού στερεού.

Σημείο Τήξεως 118-120 °C (οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο).

[α]_D²² = + 4.00° (c = 0.10 χλωροφόρμιο)

λ_{max} 279 nm (ε 12567)

ESI-MS (*m/z*): 546.56 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₄H₂₄FN₅O₇S) C, H, N

Υπολ. (%) C : 52.84 H : 4.43 N : 12.84

Ευρ. (%) C : 52.68 H : 4.38 N : 13.09

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 9.07 (br s, NH), 8.77 και 8.19 (2s, 2H, H-2,8), 7.98-7.42 (m, 5H, Bz), 5.88 (d, 1H, *J*_{1',2'} = 9.5 Hz, H-1'), 5.70-5.61 (m, 1H, H-2'), 5.40-5.31 (m, 1H, H-4'), 4.81 (dtr, 1H, *J*_{F,3'} = 51.7 Hz, *J*_{2',3'} = 9.3 Hz, *J*_{3',4'} = 8.9 Hz), 3.95-3.89 (m, 1H,

H-5'), 3.32-3.15 (m, 2H, H-6'a and H-6'b), 2.35 (s, 3H, SAc), 2.23 και 1.84 (2s, 6H, 2OAc).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ 194.90, 170.20, 164.70, 152.40, 151.80, 149.80, 140.31, 134.20, 132.10, 128.80, 127.51, 123.50, 100.50, 86.30, 76.40, 71.90, 71.52, 31.42, 30.53, 21.00.

IR (Nujol): 1697 cm⁻¹ (SAc).

Σύνθεση των 3'-φθορο-2',4'-δισ-O-ακετυλο-6'-S-ακετυλο-6'-θειο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων 14α-ε και 14η-ι (β' συνθετική πορεία)

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4'-δισ-O-ακετυλο-6'-S-ακετυλο-6'-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)θυμίνη (14α)

Σε διάλυμα της θυμίνης (1.00 g, 7.98 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (28 mL) προστίθεται HMDS (2.0 mL, 9.90 mmol) και σακχαρίνη (0.07 g, 0.37 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η θειακετυλιωμένη 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2,4-τρις-O-ακετυλο-6-θειο-D-γλυκοπυρανόζη (**20**) (2.09 g, 5.07 mmol) και SnCl₄ (0.90 mL, 7.98 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για δύο επιπλέον ώρες με κάθετο ψυκτήρα στους 110 °C. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με CH₂Cl₂ (500 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (3 x 10 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (60/40), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **14α** (1.9 g, 77%), υπό τη μορφή λευκού στερεού.

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4'-δισ-Ο-ακετυλο-6'-S-ακετυλο-6'-θειο-β-D-γλυκο-πυρανοζυλο)ουρακίλη (14β)

Σε διάλυμα της ουρακίλης (0.89 g, 7.98 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (28 mL) προστίθεται HMDS (2.0 mL, 9.9 mmol) και σακχαρίνη (0.07 g, 0.37 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η θειακετυλιωμένη 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2,4-τρις-Ο-ακετυλο-6-θειο-D-γλυκοπυρανόζη (**20**) (2.09 g, 5.07 mmol) και Me₃SiOSO₂CF₃ (1.44 mL, 7.98 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για τρεις επιπλέον ώρες με κάθετο ψυκτήρα στους 105 °C. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με CH₂Cl₂ (500 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (3 x 10 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (70/30), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **14β** (1.81 g, 76%), υπό τη μορφή λευκού στερεού.

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4'-δισ-Ο-ακετυλο-6'-S-ακετυλο-6'-θειο-β-D-γλυκο-πυρανοζυλο)-5-φθοροουρακίλη (14γ)

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **14γ** συντίθεται από το σάκχαρο **20** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **14β**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (60/40), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **14γ** (2.02 g, 68%), υπό τη μορφή λευκού στερεού.

**1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4'-δισ-Ο-ακετυλο-6'-S-ακετυλο-6'-θειο-β-D-γλυκο-
πυρανοζυλο)-N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνη (14δ)**

Σε διάλυμα της N⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης (1.71 g, 7.98 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (28 mL) προστίθεται HMDS (2.0 mL, 9.90 mmol) και σακχαρίνη (0.07 g, 0.37 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η θειακετυλιωμένη 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2,4-τρις-Ο-ακετυλο-6-θειο-D-γλυκοπυρανόζη (**20**) (2.09 g, 5.07 mmol) καθώς και Me₃SiOSO₂CF₃ (1,44 mL, 7,98 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για δύο επιπλέον ώρες με κάθετο ψυκτήρα στους 120 °C. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με CH₂Cl₂ (4 x 250 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (20 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (80/20), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **14δ** (2.02 g, 68%), υπό τη μορφή λευκού στερεού.

**9-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4'-δισ-Ο-ακετυλο-6'-S-ακετυλο-6'-θειο-β-D-γλυκο-
πυρανοζυλο)-N⁶-βενζοϋλοαδενίνη (14ε)**

Ένα διάλυμα της N⁶-βενζοϋλοαδενίνης (1.90 g, 7.98 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (28 mL) προστίθεται HMDS (2.0 mL, 9.90 mmol) και σακχαρίνη (0.07 g, 0.37 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2,4-τρις-Ο-ακετυλο-6-θειο-D-γλυκοπυρανόζη (**20**) (2.09 g, 5.07 mmol) καθώς και SnCl₄ (0.9 mL, 7.98 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για δύο επιπλέον ώρες με κάθετο ψυκτήρα στους 100 °C. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με CH₂Cl₂ (500 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (20 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-

εξάνιο (80/20), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **14ε** (1.9 g, 77%), υπό τη μορφή λευκού στερεού.

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4'-δισ-Ο-ακετυλο-6'-S-ακετυλο-6'-θειο-β-D-γλυκο-πυρανοζυλο)-5-ιωδοουρακίλη (14η)

Σε διάλυμα της 5-ιωδοουρακίλης (4.38 g, 18.55 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (69 mL) προστίθεται HMDS (4.8 mL, 23.0 mmol) και σακχαρίνη (0.16 g, 0.85 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η θειακετυλιωμένη 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2,4-τρις-Ο-ακετυλο-6-θειο-D-γλυκοπυρανόζη (**20**) (5.00 g, 14.27 mmol) καθώς και Me₃SiOSO₂CF₃ (3.6 mL, 19.98 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για τέσσερις επιπλέον ώρες με κάθετο ψυκτήρα στους 100 °C. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με CH₂Cl₂ (500 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (3 x 10 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (80/20), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **14η** (4.9 g, 68%) με αφρώδη υφή.

$$[\alpha]_D^{22} = + 6.00^\circ \quad (c = 0.10 \text{ χλωροφόρμιο})$$

$$\lambda_{\max} 280 \text{ nm } (\epsilon 6832)$$

ESI-MS (*m/z*): 367.38 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₆H₁₈FIN₂O₈S) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 35.31	H : 3.33	N : 5.15
Ευρ. (%)	C : 35.49	H : 3.51	N : 5.22

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.38 (br s, NH), 7.29 (s, 1H, H-6), 5.72 (d, 1H, *J*_{1',2'} = 9.3 Hz, H-1'), 5.26–5.19 (m, 2H, H-2' και H-4'), 4.72 (dtr, 1H, *J*_{F,3'} = 51.7 Hz, *J*_{3',2'} = 9.0 Hz,

$J_{3',4'} = 8.9$ Hz, H-3'), 3.79 (m, 1H, H-5'), 4.34–4.11 (m, 2H, H-6'a and H-6'b), 2.39 (s, 3H, SAc), 2.22 και 2.10 (2s, 6H, 2OAc).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

δ 194.91, 170.22, 161.00, 150.80, 144.01, 91.05, 86.03, 76.40, 71.60, 71.22, 68.21, 31.42, 30.53, 21.00.

IR (Nujol): 1697 cm^{-1} (SAc).

9-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4'-δισ-O-ακετυλο-6'-S-ακετυλο-6'-θειο-β-D-γλυκο-πυρανοζυλο)θεοφυλλίνη (14θ)

Σε διάλυμα της θεοφυλλίνης (3.23 g, 18.55 mmol) σε άνυδρο CH_3CN (69 mL) προστίθεται HMDS (4.8 mL, 23 mmol) και σακχαρίνη (0.16 g, 0.85 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η θειακετυλιωμένη 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2,4-τρις-O-ακετυλο-6-θειο-D-γλυκοπυρανόζη (**20**) (5.00 g, 14.27 mmol) καθώς και $\text{Me}_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$ (3.6 mL, 19.98 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για τρεις επιπλέον ώρες με κάθετο ψυκτήρα στους 80 °C. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO_3) και εκχύλιση με CH_2Cl_2 (500 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (3 x 10 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (80/20), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **14θ** (4.78 g, 67%) με αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = + 9.00^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)

ESI-MS (*m/z*): 487.47 ($\text{M}+\text{H}^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₉H₂₃FN₄O₈S) C, H, N

Υπολ. (%) C : 46.91 H : 4.77 N : 11.52

Ευρ. (%) C : 47.13 H : 4.61 N : 11.36

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 5.74-5.68 (m, H, H-2'), 5.57 (d, 1H, $J_{1',2'} = 8.0$ Hz, H-1'), 5.32-5.26 (m, H, H-4'), 4.73 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 51.3$ Hz, $J_{3',2'} = 8.8$ Hz, $J_{3',4'} = 8.0$ Hz, H-3'), 3.36-3.33 και 3.08-2.91 (2m, 3H, H-6'a and H-6'b, H-5'), 2.39 (s, 3H, SAc), 2.24 και 2.04 (2s, 6H, 2OAc).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ 194.92, 170.20, 154.80, 151.30, 149.11, 141.10, 106.30, 94.90, 86.43, 76.42, 72.00, 71.62, 31.40, 30.70, 30.50, 29.00, 21.01.

IR (Nujol): 1697 cm⁻¹ (SAc).

9-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4'-δισ-Ο-ακετυλο-6'-S-ακετυλο-6'-θειο-β-D-γλυκο-πυρανοζυλο)-6-χλωροπουρίνη (14i)

Σε διάλυμα της 6-χλωροπουρίνης (2.78 g, 18.55 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (69 mL) προστίθεται HMDS (4.8 mL, 23 mmol) και σακχαρίνη (0.16 g, 0.85 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η θειακετυλιωμένη 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2,4-τρις-Ο-ακετυλο-6-θειο-D-γλυκοπυρανόζη (**20**) (5.00 g, 14.27 mmol) καθώς και Me₃SiOSO₂CF₃ (3.6 mL, 19.98 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για τέσσερις επιπλέον ώρες με κάθετο ψυκτήρα στους 110 °C. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με CH₂Cl₂ (4 x 250 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (3 x 10 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως

διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (80/20), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **14θ** (4.47 g, 68%) με αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = + 7.00^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ϵ 5975)

ESI-MS (m/z): 461.86 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₇H₁₈ClFN₄O₆S) C, H, N

Υπολ. (%) C : 44.30 H : 3.94 N : 12.16

Ευρ. (%) C : 44.51 H : 4.11 N : 12.32

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 5.86 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.5$ Hz, H-1'), 5.76–5.70 (m, H, H-2'), 5.40-5.34 (m, H, H-4') 4.82 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 51.6$ Hz, $J_{3',2'} = 9.0$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 3.93-3.90 (m, 1H, H-5'), 3.32–3.15 (m, 2H, H-6'a and H-6'b), 2.36 (s, 3H, SAc), 2.24 και 1.87 (2s, 6H, 2OAc).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ 194.90, 170.20, 152.40, 151.80, 151.30, 145.81, 145.10, 100.50, 86.30, 76.42, 71.90, 71.52, 31.40, 30.50, 21.00.

IR (Nujol): 1697 cm⁻¹ (SAc).

9-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4'-δισ-Ο-ακετυλο-6'-S-ακετυλο-6'-θειο-β-D-γλυκο-πυρανοζυλο)-6-μερκαπτοπουρίνη (14κ)

Σε διάλυμα του προϊόντος **14ι** (4.5 g, 9.8 mmol) σε DMF (39.2 mL) προστίθεται KSAc (1.50 g, 13.50 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται στους 100 °C για 1h. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με EtOAc (4 x 250 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (3 x 10 mL), ξηραίνεται υπεράνω

άνυδρου Na_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (80/20), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **14κ** (2.83 g, 63%) ως παχύρευστο κίτρινο έλαιο.

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = + 11.00^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)
 λ_{max} 322 nm (ε 7125)

ESI-MS (*m/z*): 459.48 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₇H₁₉FN₄O₆S₂) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 44.53	H : 4.18	N : 12.22
Ευρ. (%)	C : 44.70	H : 4.31	N : 12.42

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 5.38 (d, 1H, $J_{1,2'} = 9.9$ Hz, H-1'), 4.86–4.75 (m, 2H, H-2' και H-4'), 4.80 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 51.7$ Hz, $J_{3',2'} = 9.1$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 3.93 (m, 1H, H-5'), 3.34–3.19 (m, 2H, H-6'a and H-6'b), 2.37 (s, 3H, SAc), 2.24 και 1.93 (2s, 6H, 2OAc).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ 194.91, 171.30, 170.21, 148.00, 143.10, 142.50, 131.30, 100.52, 86.28, 76.40, 71.91, 71.48, 31.43, 30.52, 21.03.

IR (Nujol): 1697 cm⁻¹ (SAc).

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4'-δισ-Ο-ακετυλο-6'-S-ακετυλο-6'-θειο-β-D-γλυκο-πυρανοζυλο)υποξανθίνη (14λ)

Διάλυμα του νουκλεοζίτη **14i** (4.5 g, 9.8 mmol) σε μεθανολικό διάλυμα 85% HCOOH (53,4 mL) αναδεύεται για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό, ώστε να απομακρυνθούν

τα ίχνη του οξέος. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (80/20), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **14λ** (4.9 g, 67%) ως άχρωμο έλαιο.

$[\alpha]_D^{22} = + 14.00^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 245 nm (ϵ 7562)

ESI-MS (*m/z*): 443.42 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₇H₁₉FN₄O₇S) C, H, N

Υπολ. (%) C : 46.15 H : 4.33 N : 12.66

Ευρ. (%) C : 46.34 H : 4.52 N : 12.72

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 5.77 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.4$ Hz, H-1'), 5.43–5.28 (m, 2H, H-2' και H-4'), 4.80 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 51.8$ Hz, $J_{3',2'} = 9.1$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 3.92–3.84 (m, 1H, H-5'), 3.33–3.17 (m, 2H, H-6'a and H-6'b), 2.37 (s, 3H, SAc), 2.30 και 1.94 (2s, 6H, 2OAc).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ 194.90, 170.20, 157.10, 148.80, 145.70, 137.01, 124.60, 93.11, 86.40, 76.40, 72.00, 31.42, 30.50, 21.04.

IR (Nujol): 1697 cm⁻¹ (SAc).

Σύνθεση των 3'-δεοξυ-3'-φθορο-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-β-D-γλυκοκυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων (16α-γ) (α' συνθετική πορεία)

1-[3'-Δεοξυ-3'-φθορο-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο]θυμίνη (16α)

Σε διάλυμα της ένωσης **14α** (1.1 g, 2.5 mmol) σε μεθανολική αμμωνία (104 mL) προστίθεται στάγδην διάλυμα DTDP (2.6 g, 12 mmol) σε μεθανόλη:H₂O (1:1, 22 mL), και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται για 20 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό και το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης οξικό αιθυλεστέρα, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **16α** (0.71 g, 68%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = + 16.00^\circ$ (c = 0.50 μεθανόλη)

λ_{\max} 266 nm (ε 9093)

ESI-MS (m/z): 416.47 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₆H₁₈FN₃O₅S₂) C, H, N

Υπολ. (%) C : 46.26 H : 4.37 N : 10.11

Ευρ. (%) C : 46.41 H : 4.51 N : 10.32

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 8.09 (br s, NH), 8.41 (d, H-6, H_{arom} πυριδίνης), 7.83-7.58 (m, H-4 και H-5, H_{arom} πυριδίνης), 7.29-7.12 (m, H-3, H_{arom} πυριδίνης και H-6), 5.40 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.4$ Hz, H-1'), 4.29 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 52.3$ Hz, $J_{2',3'} = 8.5$ Hz, $J_{3',4'} = 8.4$ Hz, H-3'), 3.92-3.79 (m, 1H, H-2'), 3.56-3.45 (m, 2H, H-6'a και H-4'), 3.44-3.35 (m, 1H, H-6'b), 2.98-2.89 (m, 1H, H-5').

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ 163.73, 160.52, 150.11, 148.90, 136.95, 132.92, 121.11, 119.18, 110.23, 92.18, 85.49, 72.36, 70.12, 67.95, 33.63, 12.41.

1-[3'-Δεοξυ-3'-φθορο-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυ-λο]ουρακίλη (16β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **16β** συντίθεται από την ένωση **14β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **16α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης οξικό αιθυλεστέρα, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **16β** (0.7 g, 70%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = + 6.00^\circ$ (c = 0.10 μεθανόλη)
 λ_{\max} 262 nm (ϵ 6478)

ESI-MS (m/z): 402.46 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₅H₁₆FN₃O₅S₂) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 44.88	H : 4.02	N : 10.47
Ευρ. (%)	C : 44.71	H : 4.22	N : 10.52

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 8.53 (br s, NH), 8.32 (dd, H-6, H_{arom} πυριδίνης), 7.76-7.73 (m, H-4 και H-5, H_{arom} πυριδίνης), 7.66 (m, H-3, H_{arom} πυριδίνης), 7.57 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 5.68 (d, 1H, H-5), 5.46 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.4$ Hz, H-1'), 4.29 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 52.3$ Hz, $J_{2',3'} = 8.7$ Hz, $J_{3',4'} = 8.6$ Hz, H-3'), 3.83-3.77 (m, 1H, H-2'), 3.64-3.60 (m, 1H, H-6'a), 3.57-3.52 (m, 1H, H-4'), 3.42-3.39 (m, 1H, H-6'b), 3.01-2.96 (m, 1H, H-5').

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ 163.34, 160.43, 150.19, 147.96, 142.56, 132.74, 120.95, 119.26, 101.76, 91.98, 84.77, 71.83, 70.31, 67.62, 33.64

1-[3'-Δεοξυ-3'-φθορο-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο]-5-φθοροουρακίλη (16γ)

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **16γ** συντίθεται από την ένωση **14γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **16α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης οξικό αιθυλεστέρα, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **16γ** (0.72 g, 69%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = + 2.00^\circ$ (c = 0.50 μεθανόλη)
 λ_{\max} 263 nm (ε 5885)

ESI-MS (m/z): 420.44 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₅H₁₅F₂N₃O₅S₂) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 42.95	H : 3.60	N : 10.02
Ευρ. (%)	C : 42.81	H : 3.48	N : 10.28

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 8.34-8.32 (m, H-6, H_{arom} πυριδίνης), 8.28 (br s, NH), 7.83-7.78 (m, H-4 και H-5, H_{arom} πυριδίνης), 7.17-7.13 (m, H-3, H_{arom} πυριδίνης), 5.44 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.0$ Hz, H-1'), 4.28 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 52.3$ Hz, $J_{2',3'} = 8.7$ Hz, $J_{3',4'} = 8.6$ Hz, H-3'), 3.82-3.76 (m, 1H, H-2'), 3.64-3.60 (m, 1H, H-6'a), 3.56-3.51 (m, 1H, H-4'), 3.43-3.39 (m, 1H, H-6'b), 3.01-2.96 (m, 1H, H-5').

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ 162.34, 157.89, 150.41, 148.76, 138.11, 132.91, 127.45, , 120.32, 119.07, 94.41, 85.29, 72.37, 70.11, 68.65, 33.47.

6'-6'-Δισουλφιδική-[1-(3'-δεοξυ-3'-φθορο-6'-θειο-β-D-γλυκοκυρανοζυ-λο)]θυμίνη (15α)

Διάλυμα του θειονουκλεοζίτη **14α** (0.75 g, 1.73 mmol) σε μεθανολική αμμωνία (72.3mL) αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 4 h. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης οξικό αιθυλεστέρα, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό δισουλφίδιο **15α** (0.95 g, 90%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = + 2.00^\circ$ (c = 0.50 μεθανόλη)
 λ_{\max} 262 nm (ϵ 19126)

ESI-MS (m/z): 611.64 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₂H₂₈F₂N₄O₁₀S₂) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 43.27	H : 4.62	N : 9.18
Ευρ. (%)	C : 43.18	H : 4.84	N : 9.07

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 7.88 (br s, NH), 7.49 (s, 1H, H-6), 5.55 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.4$ Hz, H-1'), 4.37 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 52.3$ Hz, $J_{2',3'} = 8.5$ Hz, $J_{3',4'} = 8.3$ Hz, H-3'), 4.14-4.04 (m, 1H, H-2'), 3.72-3.55 (m, 1H, H-4'), 3.35-3.23 (m, 2H, H-6'a and H-6'b), 2.92-2.80 (m, 1H, H-5'), 1.89 (s, 3H, 5-CH₃)

6'-6'-Δισουλφιδική-[1-(3'-δεοξυ-3'-φθορο-6'-θειο-β-D-γλυκοκυρανοζυ-λο)]ουρακίλη (15β)

Το παράγωγο της ουρακίλης **15β** συντίθεται από την ένωση **14β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **15α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης

οξικό αιθυλεστέρα, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **15β** (0.89 g, 88%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = + 3.00^\circ$ (c = 0.10 μεθανόλη)

λ_{\max} 258 nm (ϵ 14339)

ESI-MS (m/z): 583.57 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₀H₂₄F₂N₄O₁₀S₂) C, H, N

Υπολ. (%) C : 41.23 H : 4.15 N : 9.62

Ευρ. (%) C : 41.38 H : 4.34 N : 9.78

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 7.66 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.2$ Hz, H-6), 7.24 (br s, NH), 5.64 (d, 1H, H-5), 5.56 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.5$ Hz, H-1'), 4.38 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 52.0$ Hz, $J_{2',3'} = 8.6$ Hz, $J_{3',4'} = 8.1$ Hz, H-3'), 3.95-3.81 (m, 1H, H-2'), 3.74-3.53 (m, 1H, H-4'), 3.34-3.22 (m, 2H, H-6'a and H-6'b), 2.92-2.81 (m, 1H, H-5').

6'-6'-Δισουλφιδική-[1-(3'-δεοξυ-3'-φθορο-6'-θειο-β-D-γλυκοκυρανοζυ-λο)]-5-φθοροουρακίλη (15γ)

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **15γ** συντίθεται από την ένωση **14γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **15α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης οξικό αιθυλεστέρα, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **15γ** (0.95 g, 89%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = + 2.00^\circ$ (c = 0.50 μεθανόλη)

λ_{\max} 263 nm (ϵ 15056)

ESI-MS (m/z): 619.56 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₀H₂₂F₄N₄O₁₀S₂) C, H, N

Υπολ. (%) C : 38.84 H : 3.59 N : 9.06

Ευρ. (%) C : 38.72 H : 3.47 N : 9.12

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 7.89 (d, 1H, $J_{6,F5} = 6.4$ Hz, H-6), 7.35 (br s, NH), 5.56 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.3$ Hz, H-1'), 4.38 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 52.5$ Hz, $J_{2',3'} = 8.7$ Hz, $J_{3',4'} = 8.6$ Hz, H-3'), 3.90-3.84 (m, 1H, H-2'), 3.70-3.66 (m, 1H, H-6'a), 3.61-3.56 (m, 1H, H-4'), 3.29-3.26 (m, 1H, H-6'b), 2.88-2.83 (m, 1H, H-5').

1-[3'-Δεοξυ-3'-φθορο-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο]θυμίνη (16α) από 15α

Σε διάλυμα του προϊόντος **15α** (1.83 g, 3.0 mmol) σε μεθανόλη (26 mL) προστίθεται στάγδην διάλυμα DTDP (3.16 g, 14.46 mmol) σε μεθανόλη:H₂O (1:1, 26 mL) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για περίπου 12h. Στη συνέχεια απομακρύνονται οι διαλύτες υπό κενό και το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης οξικό αιθυλεστέρα, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **16α** (0.88 g, 71%) με λευκή αφρώδη υφή.

1-[3'-δεοξυ-3'-φθορο-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο]ουρακίλη (16β) από 15β

Το παράγωγο της ουρακίλης **16β** συντίθεται από την ένωση **15β** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **16α** από την ένωση **15α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης οξικό αιθυλεστέρα, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **16β** (0.83 g, 69%) με λευκή αφρώδη υφή.

1-[3'-Δεοξυ-3'-φθορο-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο]-5-φθοροουρακίλη (16γ) από 15γ

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **16γ** συντίθεται από την ένωση **15γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **16α** από την ένωση **15α**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης οξικό αιθυλεστέρα, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **16γ** (0.86 g, 68%) με λευκή αφρώδη υφή.

Σύνθεση των 3'-δεοξυ-3'-φθορο-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων (16α-γ,στ,ζ) (β' συνθετική πορεία)

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2-O-ισοπροπυλιδενο-6-O-p-τολουολοσουλφονυλο-α-D-γλυκοφουρανόζη (17)

Σε διάλυμα της διόλης **2** (4.0 g, 18 mmol) σε άνυδρη πυριδίνη (46.2 mL) προστίθεται *p*-TsCl (4.6 g, 24 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 2h. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με EtOAc (4 x 500 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (10 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (50/50), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **17** (5.08 g, 74%) ως άχρωμο έλαιο.

$$[\alpha]_D^{22} = - 8.00^\circ \quad (c = 0.50 \text{ χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS (m/z): 377.42 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₆H₂₁FO₇S) C, H

Υπολ. (%) C : 51.06 H : 5.62

Ευρ. (%) C : 51.14 H : 5.46

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 7.38 και 7.82 (dd, 4H, H_{arom} τοσυλομάδας), 5.92 (d, 1H, $J_{1',2'} = 3.2$ Hz, H-1'), 5.09 (dd, 1H, $J_{3',F} = 49.3$ Hz, H-3'), 4.70 (dd, 1H, $J_{2',F} = 10.3$ Hz, H-2'), 4.34 (d, 1H, H-4'), 4.13–4.06 (m, 2H, H-5'a and H-5'b), 2.47 (s, 3H, ArCH₃), 1.48 (s, 3H, CH₃), 1.33 (s, 3H, CH₃)

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2-Ο-ισοπροπυλιδενο-5-Ο-τετραϋδροπυραυλο-6-Ο-ρ-τολουολοσουλφονυλο-α-D-γλυκοφουρανόζη (18)

Σε διάλυμα της ένωσης **17** (5.0 g, 13.3 mmol) σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (26.6 mL) προστίθεται *p*-TsOH (0.25 g, 1.33 mmol) στους 0 °C και DHP (1.8 mL, 19.9 mmol), και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 2 h. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με CH₂Cl₂ (2 x 500 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (3 x 10 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (70/30), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **18** (4.78 g, 78%) ως παχύρευστο υπόλευκο έλαιο.

$[\alpha]_D^{22} = -6.00^\circ$ (c = 0.50 χλωροφόρμιο)

ESI-MS (m/z): 461.53 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₁H₂₉FO₈S) C, H

Υπολ. (%) C : 54.77 H : 6.35

Ευρ. (%) C : 54.64 H : 6.42

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 7.84-7.80 (4 s, 2H, HC₈ + HC₂), 7.35-7.28 (m, 5H, Ph), 5.98 (d, 1/2H, $J_{1',2'} = 2.8$ Hz, H-1'), 5.89 (d, 1/2H, $J_{1',2'} = 2.9$ Hz, H-1'), 2.47 (s, 3H, ArCH₃), 1.50 (s, 3H, CH₃), 1.33 (s, 3H, CH₃)

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2-Ο-ισοπροπυλιδενο-5-Ο-τετραϋδροπυρανολο-6-S-ακετυλο-6-θειο-α-D-γλυκοφουρανοζη (19)

Σε διάλυμα του τοσυλιωμένου προϊόντος **18** (4.5 g, 9.8 mmol) σε DMF (39,2 mL) προστίθεται KSAc (1.5 g, 13.5 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται στους 100 °C για 2h. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με EtOAc (500 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (20 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (60/40), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **19** (2.71 g, 76%) ως παχύρευστο κίτρινο έλαιο.

$[\alpha]_D^{22} = - 8.00^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)

ESI-MS (m/z): 365.47 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₆H₂₅FO₆S) C, H

Υπολ. (%) C : 52.73 H : 6.91

Ευρ. (%) C : 52.84 H : 6.72

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 7.84-7.80 (4 s, 2H, HC₈ + HC₂), 5.96 (d, 1H, $J_{1',2'} = 3.7$ Hz, H-1'), 2.37 (s, 3H, SAc), 1.52 (s, 3H, CH₃), 1.34 (s, 3H, CH₃)

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2,4-τρις-Ο-ακετυλο-6-S-ακετυλο-6-θειο-D-γλυκοπυρανόζη (20)

Διάλυμα του προϊόντος **19** (2.5 g, 6.9 mmol) σε 90% TFA (172.5 mL) αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 20 min. Στη συνέχεια οι διαλύτες απομακρύνθηκαν υπό υψηλό κενό, ώστε να απομακρυνθούν και τα ίχνη του TFA, και το προκύπτον έλαιο επαναδιαλύθηκε σε Ac₂O -πυριδίνη (1:2, 36.5 mL). Ακολουθεί καθαρισμός με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (60/40), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **20** (1.77 g, 70%) ως άχρωμο έλαιο.

$$[\alpha]_D^{22} = + 12.00^\circ \quad (c = 0.10 \text{ χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS (*m/z*): 367.38 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₄H₁₉FO₈S) C, H

Υπολ. (%)	C : 45.90	H : 5.23
Ευρ. (%)	C : 46.04	H : 5.16

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 6.30 (br s, 1H, H-1'), 5.62 (d, 1H, H-4'), 5.33-5.04 (m, 1H, H-2'), 4.80 (dtr, 1/2H, *J*_{3',F} = 53.3 Hz, *J*_{3',4'} = 9.2 Hz, H-3'), 4.58 (dtr, 1/2H, *J*_{3',F} = 51.9 Hz, *J*_{3',4'} = 9.0 Hz, H-3'), 4.03–3.98 (m, 1/2H, H-5'), 3.70-3.64 (m, 1/2H, H-5'), 3.28-3.21 και 3.15-3.08 (2m, 2H, H-6'a and H-6'b), 2.36 (s, 3H, SAc), 2.17, 2.14, 2.12, 2.10 (4s, 12H, 4OAc).

IR (Nujol): 1697 cm⁻¹ (SAc).

3'-Δεοξυ-3'-φθορο-1',2',4'-τρις-Ο-ακετυλο-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-D-γλυκοπυρανόζη (21)

Σε διάλυμα του προϊόντος **20** (2.0 g, 5.46 mmol) σε μεθανολική αμμωνία (228 mL) προστίθεται στάγδην διάλυμα DTDP (9.55 g, 43.7 mmol) σε μεθανόλη:H₂O (1:1, 47 mL) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 20h. Στη συνέχεια απομακρύνονται οι διαλύτες υπό κενό και το προκύπτον έλαιο επαναδιαλύεται σε Ac₂O-πυριδίνη (1:2, 109 mL). Ακολουθεί καθαρισμός με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (60/40), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **21** (1.67 g, 70%) ως άχρωμο έλαιο.

$[\alpha]_D^{22} = + 4.00^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 283 nm (ε 5510)

ESI-MS (m/z): 434.49 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₇H₂₀FNO₇S₂) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 47.10	H : 4.65	N : 3.23
Ευρ. (%)	C : 47.24	H : 4.46	N : 3.35

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 5.62 (d, 1/2H, H-1'), 5.26-5.03 (m, 2H, H-2' και H-4'), 4.79 (dtr, 1/2H, $J_{3',F} = 51.9$ Hz, $J_{3',4'} = 9.2$ Hz, H-3'), 4.53 (dtr, 1/2H, $J_{3',F} = 51.7$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 4.19-4.14 (m, 1/2H, H-5'), 3.75-3.70 (m, 1/2H, H-5'), 3.42-3.35 (m, 2H, H-6'a and H-6'b), 2.14, 2.12, 2.10, 2.08, 2.07, 2.05 (6s, 18H, 6OAc)

1-[3'-Δεοξυ-3'-φθορο-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο]θυμίνη (16α) από 21

Σε διάλυμα θυμίνης (2.33 g, 18.55 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (69 mL) προστίθεται HMDS (4.8 mL, 23 mmol) και σακχαρίνη (0.16 g, 0.85 mmol) και

το προκύπτον εναιώρημα θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η ένωση **21** (5.74 g, 13.25 mmol) και SnCl₄ (3.1 mL, 17.22 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για πέντε επιπλέον ώρες. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με CH₂Cl₂ (2 x 500 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (3 x 10 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Διάλυμα του ενδιάμεσου προϊόντος **22α**, που προέκυψε, σε μεθανολική αμμωνία (550 mL) αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 4h. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης οξικό αιθυλεστέρα, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **16α** (3.53 g, 64%) με λευκή αφρώδη υφή.

1-[3'-Δεοξυ-3'-φθορο-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο]ουρακίλη (16β) από 21

Σε διάλυμα ουρακίλης (2.08 g, 18.55 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (69 mL) προστίθεται HMDS (4.8 mL, 23 mmol) και σακχαρίνη (0.16 g, 0.85 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η ένωση **21** (5.74 g, 13.25 mmol) και Me₃SiOSO₂CF₃ (3.1 mL, 17.22 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για τέσσερις επιπλέον ώρες. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με CH₂Cl₂ (2 x 250 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (3 x 10 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Διάλυμα του ενδιάμεσου προϊόντος **22β**, που προέκυψε, σε μεθανολική αμμωνία (550 mL) αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 4h. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης οξικό αιθυλεστέρα, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **16β** (3.39 g, 62%) με λευκή αφρώδη υφή.

1-[3'-Δεοξυ-3'-φθορο-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο]-5-φθοροουρακίλη (16γ) από 21

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **16γ** συντίθεται από το σάκχαρο **21** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **16β** από την ένωση **21**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης οξικό αιθυλεστέρα, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **16γ** (3.89 g, 70%) με λευκή αφρώδη υφή.

1-[3'-Δεοξυ-3'-φθορο-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο]κυτοσίνη (16στ)

Σε διάλυμα *N*⁴-βενζοϋλοκυτοσίνης (3.99 g, 18.55 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (69 mL) προστίθεται HMDS (4.8 mL, 23 mmol) και σακχαρίνη (0.16 g, 0.85 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η ένωση **21** (5.74 g, 13.25 mmol) και Me₃SiOSO₂CF₃ (3.1 mL, 17.22 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για πέντε επιπλέον ώρες. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με CH₂Cl₂ (2 x 250 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (3 x 10 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Διάλυμα του ενδιάμεσου προϊόντος **22δ**, που προέκυψε, σε μεθανολική αμμωνία (550 mL) αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 4h. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης οξικό αιθυλεστέρα, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **16στ** (3.6 g, 68%) με λευκή αφρώδη υφή.

$$[\alpha]_D^{22} = + 2.00^\circ \quad (c = 0.50 \text{ μεθανόλη})$$

$$\lambda_{\max} 269 \text{ nm } (\epsilon 7400)$$

ESI-MS (m/z): 401.48 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₅H₁₇FN₄O₄S₂) C, H, N

Υπολ. (%) C : 44.99 H : 4.28 N : 13.99

Ευρ. (%) C : 44.82 H : 4.42 N : 13.52

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 8.23 (m, H-6, H_{arom} πυριδίνης), 7.78-7.69 (m, H-4 και H-5, H_{arom} πυριδίνης), 7.51 (d, 1H, H-5), 7.46 (d, 1H, J_{5,6} = 7.3 Hz, H-6), 7.08-7.03 (m, H-3, H_{arom} πυριδίνης), 5.52 (d, 1H, J_{1',2'} = 9.4 Hz, H-1'), 4.22 (dtr, 1H, J_{F,3'} = 52.5 Hz, J_{2',3'} = 9.0 Hz, J_{3',4'} = 8.9 Hz, H-3'), 3.73-3.66 (m, 1H, H-2'), 3.53-3.42 (m, 2H, H-4' και H-6'a), 3.34-3.30 (m, 1H, H-6'b), 2.92-2.87 (m, 1H, H-5').

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ 165.54, 160.32, 154.28, 148.46, 137.56, 132.91, 122.03, 120.12, 99.36, 92.38, 85.62, 72.39, 70.64, 70.22, 33.63

1-[3'-Δεοξυ-3'-φθορο-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυ-λο]αδενίνη (16ζ)

Ένα διάλυμα της N⁶-βενζοϋλοαδενίνης (2.93 g, 12.25 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (46 mL) προστίθεται HMDS (3.1 mL, 15.19 mmol) και σακχαρίνη (0.1 g, 0.56 mmol), και το προκύπτον εναιώρημα θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η 3-δεοξυ-3-φθορο-6-S-(2-S-πυριδινυλο)-6-θειο-D-γλυκοπυρανόζη (**21**) (3.8 g, 8.75 mmol) καθώς και SnCl₄ (1.38 mL, 12.25 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για πέντε επιπλέον ώρες στους 100 °C. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με CH₂Cl₂ (2 x 250 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (20 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Διάλυμα του ενδιάμεσου προϊόντος **22ε** σε μεθανολική αμμωνία (512 mL) αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 4h. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης οξικό αιθυλεστέρα, οπότε

παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **16ζ** (3.32 g, 64%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = + 4.00^\circ$ (c = 0.50 μεθανόλη)

λ_{\max} 263 nm (ϵ 9860)

ESI-MS (m/z): 425.51 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₆H₁₇FN₆O₃S₂) C, H, N

Υπολ. (%) C : 45.27 H : 4.04 N : 19.80

Ευρ. (%) C : 45.31 H : 4.12 N : 19.62

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD)

δ 8.58 και 8.35 (2s, 2H, H-2,8), 8.33-8.25 (m, H-6, H_{arom} πυριδίνης), 7.63-7.18 (m, H-4, H-5, H-3, H_{arom} πυριδίνης), 6.96 (br s, NH₂), 5.88 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.1$ Hz, H-1'), 4.01 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 52.3$ Hz, $J_{2',3'} = 8.7$ Hz, $J_{3',4'} = 8.6$ Hz, H-3'), 3.79-3.67 (m, 1H, H-2'), 3.59-3.53 (m, 1H, H-6'a), 3.51-3.47 (m, 1H, H-4'), 3.42-3.37 (m, 1H, H-6'b), 2.96-2.81 (m, 1H, H-5').

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ 160.54, 155.75, 152.31, 149.86, 147.75, 145.76, 136.71, 120.37, 120.23, 116.98, 91.76, 89.64, 72.19, 69.70, 66.64, 33.87

Σύνθεση των 3',4'-διοξει-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-2'-κετοακόμεστα-3'-φθορο-β-D-γλυκοπυρανονουκλεοζιτικών αναλόγων 33α-γ

6-O-p-Τολουολοσουλφονυλο-3-δείο-3-φθορογλυκόζη (23)

Σε διάλυμα της ένωσης **15** (2.2 g, 5.84 mmol) σε EtOH (9.22 mL) και νερό (52.2 mL) προστίθεται ρητίνη Amberlite IR-120 (H⁺) (3.04 g) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται στους 60-70 °C για 10h. Στη συνέχεια το μίγμα διηθείται και οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό. Το επιθυμητό

προϊόν **23** (1.9 g, 97%) παραλαμβάνεται ως παχύρευστο έλαιο και χρησιμοποιείται στο επόμενο στάδιο χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2-Ο-ισοπροπυλιδενο-6-Ο-ρ-τολουολοσουλφονυλο-γλυκοπυρανόζη (24)

Σε διάλυμα του προϊόντος **23** (1.9 g, 5.65 mmol) σε άνυδρο DMF (71.4 mL) προστίθεται $(\text{CH}_3)_2\text{C}(\text{OCH}_3)_2$ (22.6 mL) και *p*-TsOH (21 mg, 1.13 mmol), και προκύπτουν εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για μία νύχτα. Στη συνέχεια στο μίγμα της αντίδρασης προστίθεται τριαιθυλαμίνη έτσι ώστε το pH να μην υπερβεί το 7 και οι διαλύτες απομακρύνονται υπό υψηλό κενό. Το προκύπτουν έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (60/40), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **24** (1.48 g, 70%) ως παχύρευστο κίτρινο έλαιο.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +3.00^\circ \quad (c = 0.50 \text{ χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS (*m/z*): 377.4 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₆H₂₁FO₇S) C, H

Υπολ. (%) C : 51.06 H : 5.62

Ευρ. (%) C : 51.18 H : 5.38

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2-Ο-ισοπροπυλιδενο-4-Ο-ακέτυλο-6-Ο-ρ-τολουολοσουλφονυλο-γλυκοπυρανόζη (25)

Σε διάλυμα της ένωσης **24** (1.4 g, 3.72 mmol) σε πυριδίνη (16.3 mL) προστίθεται Ac₂O (8.2 mL), και το προκύπτουν εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 1 h. Στη συνέχεια το διάλυμα ψύχεται στους 0 °C, προστίθεται μεθανόλη (4.1 mL) και οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου

(NaHCO₃) και εκχύλιση με CH₂Cl₂ (2 x 250 mL). Η οργανική φάση πλένεται με κορεσμένο διάλυμα όξινου θειικού νατρίου (NaHSO₄), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (50/50), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **25** (1.35 g, 89%) ως άχρωμο έλαιο.

$$[\alpha]_D^{22} = +7.00^\circ \quad (c = 0.50 \text{ χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS (*m/z*): 419.43 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₈H₂₃FO₈S) C, H

Υπολ. (%) C : 51.67 H : 5.54

Ευρ. (%) C : 51.24 H : 5.66

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 7.79 και 7.34 (dd, 4H, H_{arom} τοσυλομάδας), 5.55 (d, 1H, J_{1',2'} = 4.8 Hz, H-1), 4.98–4.90 (m, 2H, H-2), 4.74 (dd, 1H, J_{3',F} = 44.3 Hz, H-3), 4.36–4.31 (m, 1H, H-4), 4.17–4.04 (m, 3H, H-5, H-6a and H-6b), 2.44 (s, 3H, ArCH₃), 2.09 (s, 3H, OAc), 1.56 (s, 3H, CH₃), 1.35 (s, 3H, CH₃)

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2-Ο-ισοπροπυλιδενο-4-Ο-ακέτυλο-6-S-ακετυλο-α-D-γλυκοπυρανόζη (26)

Σε διάλυμα της τοσυλιωμένης ένωσης **25** (1.2 g, 2.87 mmol) σε DMF (10.8 mL) προστίθεται KSAc (0.44 g, 3.8 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται στους 100 °C για 1h. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με EtOAc (2 x 350 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (20 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (40/60), οπότε

παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **26** (0.68 g, 73%) ως παχύρευστο κίτρινο έλαιο.

$$[\alpha]_D^{22} = + 5.00^\circ \quad (c = 0.50 \text{ χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS (*m/z*): 323.35 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₃H₁₉FO₆S) C, H

Υπολ. (%) C : 48.44 H : 5.94

Ευρ. (%) C : 48.19 H : 5.69

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 5.60 (d, 1H, $J_{1,2} = 4.8$ Hz, H-1), 4.97–4.91 (m, 2H, H-2), 4.74 (dd, 1H, $J_{3,F} = 45.0$ Hz, H-3), 4.37–4.33 (m, 1H, H-4), 4.00–3.97 (m, 1H, H-5), 3.28–3.23 και 3.09–3.04 (m, 2H, H-6a and H-6b), 2.35 (s, 3H, SAc), 2.16 (s, 3H, OAc), 1.56 (s, 3H, CH₃), 1.36 (s, 3H, CH₃).

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2-O-ισοπροπυλιδενο-6-S-(2-S-πυριδινυλο)-6-θειο-α-D-γλυκοπυρανόζη (27)

Σε διάλυμα του προϊόντος **26** (0.6 g, 1.86 mmol) σε μεθανόλη (16 mL) προστίθεται στάγδην DTDP (1.96 g, 8.97 mmol) σε μεθανόλη:H₂O (1:1, 16 mL), και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για περίπου 12h. Οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό και το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (60/40), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **27** (0.45 g, 70%) ως άχρωμο έλαιο.

$$[\alpha]_D^{22} = + 4.00^\circ \quad (c = 0.10 \text{ χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS (*m/z*): 348.43 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₄H₁₈FNO₄S₂) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 48.40	H : 5.22	N : 4.03
Ευρ. (%)	C : 48.24	H : 5.40	N : 4.33

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2-Ο-ισοπροπυλιδενό-4-Ο-βενζοϋλο-6-S-(2-S-πυριδινυλο)-6-θειο-α-D-γλυκοπυρανόζη (28)

Σε διάλυμα της ένωσης **27** (0.45 g, 1.3 mmol) σε άνυδρη πυριδίνη (6.4 mL) προστίθεται BzCl (0.3 mL, 2.6 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 1h. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (50/50), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **28** (0.48 g, 82%) ως παχύρευστο κίτρινο έλαιο.

$$[\alpha]_D^{22} = + 26.00^\circ \quad (c = 0.50 \text{ χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS (*m/z*): 452.53 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₁H₂₂FNO₅S₂) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 55.86	H : 4.91	N : 3.10
Ευρ. (%)	C : 55.67	H : 5.17	N : 2.93

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.48 (d, H-6, H_{arom} πυριδίνης), 8.11 (d, 1H, H_{arom} βενζοϋλομάδας), 7.47 και 7.44 (2 tr, 4H, H_{arom} βενζοϋλομάδας), 7.66-7.59 (m, H-4, H-5, H_{arom} πυριδίνης), 7.14-7.11 (m, H-3, H_{arom} πυριδίνης), 5.67 (d, 1H, J_{1,2} = 5.0 Hz, H-1), 5.27-5.16 (m, 1H, H-4), 4.89 (dtr, 1H, J_{F,3'} = 45.0 Hz, H-3), 4.46-4.40 (m, 1H, H-5), 4.37-4.31 (m, 1H, H-2), 3.18-3.11 (m, 1H, H-6a), 3.07-3.01 (m, 1H, H-6b), 1.67 (s, 3H, CH₃), 1.38 (s, 3H, CH₃)

3-Δεοξυ-3-φθορο-4-Ο-βενζοϋλο-6-S-(2-S-πυριδινυλο)-6-θειο-α-D-γλυκοκυρανόζη (29)

Διάλυμα του προϊόντος **28** (0.45 g, 1.0 mmol) σε 90% TFA (5.0 mL) αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 10 min και στη συνέχεια ο διαλύτης απομακρύνεται υπό υψηλό κενό ώστε να απομακρυνθούν και τα ίχνη του TFA. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (70/30), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **29** (0.37 g, 90%) ως παχύρευστο κίτρινο έλαιο.

ESI-MS (*m/z*): 412.47 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₈H₁₈FNO₅S₂) C, H, N

Υπολ. (%) C : 52.54 H : 4.41 N : 3.40

Ευρ. (%) C : 52.38 H : 4.22 N : 3.13

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2-Ο-ακετυλο-4-Ο-βενζοϋλο-6-S-(2-S-πυριδινυλο)-6-θειο-α-D-γλυκοκυρανόζη (30)

Σε διάλυμα της ένωσης **29** (0.37 g, 0.9 mmol) σε άνυδρη πυριδίνη (4.46 mL) προστίθεται Ac₂O (0.08 mL, 0.8 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 1h. Στη συνέχεια προστίθεται μεθανόλη (0.1 mL) και οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (40/60), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **30** (0.40 g, 89%) ως παχύρευστο κίτρινο έλαιο.

$[\alpha]_D^{22} = + 22.00^\circ$ (c = 0.50 χλωροφόρμιο)

ESI-MS (*m/z*): 496.54 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₂H₂₂FNO₇S₂) C, H, N

Υπολ. (%) C : 53.32 H : 4.47 N : 2.83

Ευρ. (%) C : 53.47 H : 4.19 N : 2.71

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.41-7.00 (9H, H_{arom} πυριδίνης και H_{arom} βενζοϋλομάδας), 5.69 (d, 1H, J_{1,2} = 8.3 Hz, H-1), 5.46-5.15 (m, 2H, H-4, H-2), 4.94 (dtr, 1H, J_{F,3'} = 53.2 Hz, H-3), 4.40-4.31 (m, 1H, H-5), 3.18-3.09 (m, 2H, H-6'a and H-6'b), 2.16 (s, 3H, OAc), 2.08 (s, 3H, OAc)

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2'-Ο-ακετυλο-4'-Ο-βενζοϋλο-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-β-D-γλυκοκυρανόζυλο)θυμίνη (31α)

Σε διάλυμα θυμίνης (0.15 g, 1.13 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (4 mL) προστίθεται HMDS (0.9 mL, 4.12 mmol) και σακχαρίνη (0.02 g, 0.07 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η θειοπυριδινυλική γλυκοκυρανόζη **30** (0.40 g, 0.81 mmol) και SnCl₄ (0.13 mL, 1.13 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για δύο επιπλέον ώρες στους 110 °C. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με CH₂Cl₂ (200 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (10 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (50/50), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **31α** (0.3 g, 66%) με λευκή αφρώδη υφή.

[α]_D²² = - 16.00° (c = 0.50 χλωροφόρμιο)

λ_{max} 266 nm (ε 11213)

ESI-MS (m/z): 562.6 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₅H₂₄FN₃O₇S₂) C, H, N

Υπολ. (%) C : 53.47 H : 4.31 N : 7.48

Ευρ. (%) C : 53.18 H : 4.52 N : 7.33

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.23 (br s, 1H, NH), 8.11-8.05 και 7.70-7.45 (9H, H_{arom} πυριδίνης και H_{arom} βενζοϋλομάδας), 5.75 (d, 1H, J_{1,2} = 9.5 Hz, H-1'), 5.47-5.34 (m, 1H, H-4'), 5.35-5.18 (m, 1H, H-2'), 5.09 (dtr, 1H, J_{F,3'} = 50.0 Hz, J_{3',2'} = 9.1 Hz, J_{3',4'} = 9.5 Hz, H-3), 3.98-3.86 (m, 1H, H-5), 3.40-3.33 (m, 1H, H-6'a), 3.15-3.10 (m, 1H, H-6'b), 2.00 (s, 3H, OAc), 1.93 (s, 3H, 5-CH₃).

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2'-Ο-ακετυλο-4'-Ο-βενζοϋλο-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-β-D-γλυκοπυρανόζυλο)ουρακίλη (31β)

Σε διάλυμα ουρακίλης (0.13 g, 1.13 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (4 mL) προστίθεται HMDS (0.9 mL, 4.12 mmol) και σακχαρίνη (0.02 g, 0.07 mmol), και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται για 30 min υπό αναβρασμό. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η ένωση **30** (0.4 g, 0.81 mmol) και Me₃SiOSO₂CF₃ (0.68 mL, 1.13 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για τρεις επιπλέον ώρες με ταυτόχρονο βρασμό υπό επαναροή. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με CH₂Cl₂ (2 x 250 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (3 x 10 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (50/50), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **31β** (0.28 g, 64%) με λευκή αφρώδη υφή.

[α]_D²² = + 14.00° (c = 0.50 χλωροφόρμιο)

λ_{max} 258 nm (ε 16535)

ESI-MS (m/z): 548.58 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₄H₂₂FN₃O₇S₂) C, H, N

Υπολ. (%) C : 52.64 H : 4.05 N : 7.67

Ευρ. (%) C : 52.38 H : 4.22 N : 7.38

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.30 (br s, 1H, NH), 8.43-7.03 (9H, H_{arom} πυριδίνης και H_{arom} βενζοϋλομάδας), 7.32 (d, J_{6,5}=8.3 Hz, H-6), 5.84 (d, 1H, H-5), 5.79 (d, 1H, J_{1,2} = 9.2 Hz, H-1'), 5.49-5.37 (m, 1H, H-4'), 5.32-5.21 (m, 1H, H-2'), 4.86 (dtr, 1H, J_{F,3'} = 51.8 Hz, J_{3',2'}=9.2 Hz, J_{3',4'}=9.5 Hz, H-3'), 4.17-4.07 (m, 1H, H-5'), 3.20-2.92 (m, 2H, H-6'a and H-6'b), 2.07 (s, 3H, OAc).

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2'-Ο-ακετυλο-4'-Ο-βενζοϋλο-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-β-D-γλυκοπυρανόζυλο)-5-φθοροουρακίλη (31γ)

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **31γ** συντίθεται από την ένωση **30** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **31β**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (50/50), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **31γ** (0.31 g, 67%) με λευκή αφρώδη υφή.

[α]_D²² = + 12.00° (c = 0.50 χλωροφόρμιο)

λ_{max} 263 nm (ε 24049)

ESI-MS (*m/z*): 566.57 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₄H₂₁F₂N₃O₇S₂) C, H, N

Υπολ. (%) C : 50.97 H : 3.74 N : 7.43

Ευρ. (%) C : 50.88 H : 3.52 N : 7.61

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.44-7.01 (9H, H_{arom} πυριδίνης και H_{arom} βενζοϋλομάδας), 8.16 (br s, 1H, NH), 7.38 (d, J_{6,5F}=5.6 Hz, H-6), 5.78 (d, 1H, J_{1,2} = 9.0 Hz, H-1'), 5.49-5.39 (m,

1H, H-4'), 5.26-5.15 (m, 1H, H-2'), 4.87 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 51.4$ Hz, $J_{3',2'} = 9.1$ Hz, $J_{3',4'} = 8.9$ Hz, H-3'), 4.18-4.09 (m, 1H, H-5'), 3.18-2.95 (m, 2H, H-6'a and H-6'b), 2.08 (s, 3H, OAc).

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-4'-Ο-βενζοϋλο-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-β-D-γλυκοπυρανόζυλο)ουρακίλη (32β)

Διάλυμα της ένωσης **31β** (0.28 g, 0.51 mmol) σε μεθανολική αμμωνία (19.8 mL) αναδεύεται για 2 h σε θερμοκρασία δωματίου. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (60/40), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **32β** (0.15 g, 52%) ως άχρωμο έλαιο.

$[\alpha]_D^{22} = + 11.00^\circ$ (c = 0.50 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 258 nm (ϵ 13445)

ESI-MS (*m/z*): 506.54 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₂H₂₀FN₃O₆S₂) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 52.27	H : 3.99	N : 8.31
Ευρ. (%)	C : 52.38	H : 3.72	N : 8.16

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.42-7.07 (9H, H_{arom} πυριδίνης και H_{arom} βενζοϋλομάδας), 8.26 (br s, 1H, NH), 7.32 (d, $J_{6,5} = 8.2$ Hz, H-6), 5.86 (d, 1H, H-5), 5.76 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.9$ Hz, H-1'), 5.42-5.36 (m, 1H, H-4'), 4.80 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 51.9$ Hz, $J_{3',2'} = J_{3',4'} = 8.5$ Hz, H-3'), 4.16-4.13 (m, 1H, H-2'), 4.02-3.93 (m, 1H, H-5'), 3.21-2.91 (m, 2H, H-6'a and H-6'b)

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-4'-Ο-βενζοϋλο-6'-S-(2-S-πυριδινυλο)-6'-θειο-β-D-γλυκοπυρανόζυλο)-5-φθοροουρακίλη (32γ)

Το παράγωγο της 5-φθοροουρακίλης **32γ** συντίθεται από την ένωση **31γ** ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία που περιγράφεται για τη σύνθεση του προϊόντος **32β**. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (60/40), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **32γ** (0.14 g, 50%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = + 9.00^\circ$ (c = 0.50 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 263 nm (ϵ 21608)

ESI-MS (m/z): 524.53 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₄H₂₁F₂N₃O₇S₂) C, H, N

Υπολ. (%) C : 50.47 H : 3.66 N : 8.03

Ευρ. (%) C : 50.65 H : 3.59 N : 8.21

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.41-7.09 (9H, H_{arom} πυριδίνης και H_{arom} βενζοϋλομάδας), 8.14 (br s, 1H, NH), 7.36 (d, $J_{6,5F} = 5.4$ Hz, H-6), 5.78 (d, 1H, $J_{1,2} = 9.1$ Hz, H-1'), 5.45-5.34 (m, 1H, H-4'), 4.86 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 51.2$ Hz, $J_{3',2'} = J_{3',4'} = 8.9$ Hz, H-3'), 4.18-4.15 (m, 1H, H-2'), 4.08-3.99 (m, 1H, H-5'), 3.18-2.94 (m, 2H, H-6'a and H-6'b).

Σύνθεση της 1,2,4-τρिस-Ο-ακετυλο-3-φθορο-5-θειο-D-ξυλοπυρανόζης (35)
και της 1-(2',4'-δισ-Ο-ακετυλο-3'-φθορο-5'-θειο-β-D-ξυλοπυρανοζυλο)θυμίνης (36)

3-Δεοξυ-3-φθορο-5-S-ακετυλο-5-θειο-D-ξυλοφουρανόζη (34)

Διάλυμα του θειοπαραγώγου **5** (1.05 g, 4.2 mmol) σε υδατικό διάλυμα 90% TFA (105 mL) αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 20 min. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με EtOAc (2 x 250 mL). Η οργανική φάση πλένεται με διάλυμα χλωριούχου νατρίου (NaCl), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (50/50), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **34** (0.64 g, 72%) ως άχρωμο έλαιο.

$$[\alpha]_D^{22} = + 8.00^\circ \quad (c = 0.10 \text{ μεθανόλη})$$

ESI-MS (*m/z*): 211.3 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₇H₁₁FO₄S) C, H

Υπολ. (%) C : 39.99 H : 5.27

Ευρ. (%) C : 40.14 H : 5.32

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ 5.41 (d, 0.3H, *J*_{1',2'} = 3.6 Hz, H-1(α)), 5.13 (s, 0.7H, H-1(β)), 4.41-4.08 (m, 5H, H-2, H-3, H-4 και H-5a and H-5b (α,β)), 2.37 (s, 2.1H, SAc (β)), 2.36 (s, 0.9H, SAc (α))

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2,4-τρिस-Ο-ακετυλο-5-θειο-D-ξυλοπυρανόζη (35)

Διάλυμα της ένωσης **34** (0.64 g, 3.02 mmol) σε μεθανολική αμμωνία (67 mL) αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 2h. Ο διαλύτης

απομακρύνεται και το προκύπτον έλαιο επαναδιαλύεται σε Ac₂O-πυριδίνη (1:2, 60,4 mL). Ακολουθεί καθαρισμός με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (40/60), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **35** (0.58 g, 65%) ως άχρωμο έλαιο.

$$[\alpha]_D^{22} = + 121.00^\circ \quad (c = 0.10 \text{ χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS (*m/z*): 295.4 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₁H₁₅FO₆S) C, H

Υπολ. (%)	C : 44.89	H : 5.14
Ευρ. (%)	C : 44.74	H : 5.27

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ 6.09 (d, 0.8H, $J_{1',2'}$ = 2.5 Hz, H-1(α)), 5.81 (d, 0.2H, $J_{1',2'}$ = 8.8 Hz, H-1(β)), 5.47-5.15 (m, 2H, H-2, H-4 (α,β)), 4.72 (dtr, 0.8H, $J_{3',4'}$ = 9.5 Hz, $J_{3',F}$ = 50.9 Hz, H-3(α)), 4.42 (dtr, 0.2H, $J_{3',4'}$ = 8.6 Hz, $J_{3',F}$ = 49.1 Hz, H-3(β)), 2.99-2.61 (m, 2H, H-5a and H-5b (α,β)), 2.16, 2.12, 2.07 (3s, 7.2H, 3OAc (α)), 2.11, 2.10, 2.09 (3s, 1.8H, 3OAc (β)).

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4'-δισ-Ο-ακετυλο-5'-θειο-β-D-ξυλοπυρανοζυλο)θυμίνη (36)

Σε διάλυμα θυμίνης (0.42 g, 3.33 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (10.4 mL) προστίθεται HMDS (0.9 mL, 4.12 mmol) και σακχαρίνη (0.03 g, 0.15 mmol), και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η ακετυλιωμένη θειοξυλοπυρανόζη **35** (0.58 g, 1.96 mmol) και SnCl₄ (0.39 mL, 3.34 mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για δύο επιπλέον ώρες με κάθετο ψυκτήρα στους 110 °C. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με CH₂Cl₂ (2 x 250 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (3 x 10 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης

απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (30/70), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **36** (0.48 g, 68%), υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 239-241 °C (οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο).

$[\alpha]_D^{22} = + 42.00^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)
 λ_{\max} 260 nm (ϵ 8400)

ESI-MS (m/z): 361.4 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₄H₁₇FN₂O₆S) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 46.66	H : 4.75	N : 7.77
Ευρ. (%)	C : 46.74	H : 4.57	N : 7.53

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ 8.28 (br s, 1H, NH), 7.26 (s, 1H, H-6), 5.75 (d, 1H, $J_{1',2'} = 10.7$ Hz, H-1'), 5.47 (q, 1H, $J_{2',3'} = 9.1$ Hz, H-2'), 5.21 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 9.2$ Hz, $J_{4',5'a} = 11.2$ Hz, $J_{4',5'b} = 4.9$ Hz, H-4'), 4.46 (dtr, 1H, $J_{3',F} = 49.6$ Hz, H-3'), 3.01-2.93 (m, 1H, H-5'b), 2.82-2.74 (m, 1H, H-5'a), 2.13 και 2.05 (2s, 6H, 2OAc), 1.94 (s, 3H, 5-CH₃)

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ 170.20, 163.70, 150.80, 137.50, 110.90, 88.51, 71.40, 70.25, 60.20, 25.60, 21.05, 12.40.

Σύνθεση της 1,2,4,6-τετρα-Ο-ακετυλο-5-θειο-3-φθορο-α-D-γλυκοκυρανόζης (41) και 1-(2',4',6'-τρις-Ο-ακετυλο-5'-θειο-3'-φθορο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)θυμίνης (42)

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2-Ο-ισοπροπυλιδενό-5-Ο-μεθανοσουλφονυλο-6-Ο-βενζοϋλο-α-D-γλυκοφουρανόζη (37)

Σε διάλυμα του προϊόντος **2** σε πυριδίνη (2.05 g, 9.2 mmol) και διχλωρομεθάνιο (18 mL) σε θερμοκρασία μεταξύ -30 °C και -20 °C προστίθεται διάλυμα BzCl (1.3 mL) σε διχλωρομεθάνιο (12 mL) σε διάρκεια μίας ώρας ενώ ακολουθεί προσθήκη MsCl (0.9 mL). Το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για μία νύχτα. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με EtOAc (1000 mL). Η οργανική φάση ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (20/80), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **37** (2.9 g, 78%) ως άχρωμο έλαιο.

$$[\alpha]_D^{22} = -21.00^\circ \quad (c = 0.10 \text{ χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS (*m/z*): 405.6 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₇H₂₁FO₈S) C, H

Υπολ. (%) C : 50.49 H : 5.23

Ευρ. (%) C : 50.54 H : 5.37

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ 8.10-8.05 και 7.61-7.42 (m, 5H, H_{arom} βενζοϋλομάδας), 6.01 (d, 1H, *J*_{1,2} = 3.6 Hz, H-1), 5.25-5.18 (m, 1H, H-5), 5.12 (dd, 1H, *J*_{3,F} = 49.5 Hz, *J*_{3,4} = 2.1 Hz, H-3), 4.89 (dd, 1H, *J*_{6a,6b} = 12,9 Hz, *J*_{5,6a} = 2,1 Hz, H-6a), 4,74 (dd, 1H, *J*_{2,F} = 10.1 Hz, H-2), 4.52 (dd, 1H, *J*_{5,6b} = 6.1 Hz, H-6b), 4.42 (dd, 1H, *J*_{4,5} = 8.2 Hz, H-4), 3.06 (s, 3H, SO₂Me), 1.49 (s, 3H, CH₃), 1.34 (s, 3H, CH₃).

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2-Ο-ισοπροπυλιδενό-5,6-Ο-ανυδρο-α-D-φουρανοζη (38)

Σε διάλυμα του προϊόντος **37** (2.9 g, 7.17 mmol) σε άνυδρο CHCl₃ (29 mL) στους -15 °C προστίθεται άμεσα παρασκευασμένο παγωμένο διάλυμα μεθανολικού νατρίου σε μεθανόλη (0.14 g νάτριο σε 9 mL μεθανόλης) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται στους 0 °C για μία νύχτα. Ακολουθεί εκχύλιση με EtOAc (500 mL), η οργανική φάση πλένεται με διάλυμα χλωριούχου νατρίου (NaCl), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (20/80), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **38** (1.04 g, 71%) ως έλαιο.

$$[\alpha]_D^{22} = -37.00^\circ \quad (c = 0.10 \text{ χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS (*m/z*): 205.2 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₉H₁₃FO₄) C, H

Υπολ. (%)	C : 52.94	H : 6.42
Ευρ. (%)	C : 52.73	H : 6.37

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ 6.05 (d, 1H, *J*_{1,2} = 3.7 Hz, H-1), 4.97 (dd, 1H, *J*_{3,F} = 50.1 Hz, *J*_{3,4} = 2,4 Hz, H-3) 4.72 (dd, 1H, *J*_{2,F} = 11.1 Hz, H-2), 3.93 (dd, 1H, *J*_{4,5} = 6.0 Hz, H-4), 3.28-3.21 (m, 1H, H-5), 2.90-2.87 and 2.74-2.70 (m, 2H, H-6a and H-6b), 1.47 (s, 3H, CH₃), 1.33 (s, 3H, CH₃).

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2-Ο-ισοπροπυλιδενό-5S-ακέτυλο-6-Ο-ακέτυλο-α-D-γλυκοφουρανοζη (39)

Σε διάλυμα του εποξειδίου **38** (5.09 mmol, 1.04 g) σε μεθανόλη (26.5 mL) προστίθεται θειουρία (5.09 mmol, 0.39 g) και το προκύπτον εναιώρημα

αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για μία νύχτα και κατόπιν ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Έπειτα προστίθεται διχλωρομεθάνιο στο προκύπτον έλαιο, ακολουθεί απομάκρυνση του αδιάλυτου στερεού μέσω διήθησης και ξήρανση του διηθήματος. Στη συνέχεια σε διάλυμα του προκύπτοντος ελαίου σε CH₃COOH (1.8 mL)- Ac₂O (9.1 mL) προστίθεται CH₃COOK (8.2 mmol, 0.8 g) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται στους 140 °C για 19h. Στη συνέχεια προστίθεται παγωμένο νερό και το μίγμα αναδεύεται για 1 h. Ακολουθεί εκχύλιση με EtOAc (2 x 250 mL), η οργανική φάση ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (20/80), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **39** (1.13 g, 69%) ως άχρωμα κρυσταλλικά φύλλα.

Σημείο Τήξεως 101-103 °C (οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο).

$$[\alpha]_D^{22} = -10.00^\circ \quad (c = 0.10 \text{ χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS (*m/z*): 323.4 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₃H₁₉FO₆S) C, H

Υπολ. (%) C : 48.44 H : 5.94

Ευρ. (%) C : 48.57 H : 5.77

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ 5.98 (d, 1H, *J*_{1,2} = 3.7 Hz, H-1), 4.96 (dd, 1H, *J*_{3,F} = 49.7 Hz, *J*_{3,4} = 2.1 Hz, H-3), 4.68 (dd, 1H, *J*_{2,F} = 10.3 Hz, H-2), 4.46-4.31 (m, 3H, H-4 και H-6a and H-6b), 4.15-4.08 (m, 1H, H-5), 2.36 (s, 3H, SAc), 2.06 (s, 3H, OAc), 1.49 (s, 3H, CH₃), 1.33 (s, 3H, CH₃).

3-Δεοξυ-3-φθορο-5S-ακέτυλο-6-O-ακέτυλο-α-D-γλυκοφουρανοζη (40)

Διάλυμα του θειοπαραγώγου **39** (1.13 g, 3.5 mmol) σε υδατικό διάλυμα 90% TFA (87 mL) αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 30 min.

Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO_3) και εκχύλιση με EtOAc (2 x 250 mL). Η οργανική φάση πλένεται με διάλυμα χλωριούχου νατρίου (NaCl), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (70/30), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **40** (0.65 g, 66%), υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 83-86 °C (οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο).

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = + 5.00^\circ \quad (c = 0.10 \text{ μεθανόλη})$$

ESI-MS (*m/z*): 283.4 ($\text{M}+\text{H}^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{FO}_6\text{S}$)

Υπολ. (%)	C : 42.55	H : 5.36
Ευρ. (%)	C : 42.67	H : 5.47

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD)

δ 5.45 (d, 0.3H, $J_{1,2} = 3.9$ Hz, H-1(α)), 5.17 (s, 0.7H, H-1(β)), 4.51-4.01 (m, 6H, H-2, H-3, H-4, H-5 και H-6a and H-6b), 2.36 (s, 2.1H, SAc (β)), 2.35 (s, 0.9H, SAc (α)), 2.05 (s, 2.1H, OAc (β)), 2.04 (s, 0.9H, OAc (α))

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2,4,6-τετρα-Ο-ακετυλο-5-θειο- α -D-γλυκοπυρανόζη (41)

Διάλυμα της ένωσης **40** (0.65 g, 2.31 mmol) σε μεθανολική αμμωνία (51 mL) αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 2h. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, ενώ διάλυμα του προκύπτοντος ελαίου σε Ac_2O -πυριδίνη (1:2, 46 mL) αναδεύεται για 2h σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί προσθήκη μεθανόλης (0.4 mL) για να κατασταλλεί η αντίδραση. Οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό και το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το

σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (50/50), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **41** (0.59 g, 69%) ως άχρωμο έλαιο.

$$[\alpha]_D^{22} = + 230.00^\circ \quad (c = 0.10 \text{ χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS (*m/z*): 367.6 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₄H₁₉FO₈S) C, H

Υπολ. (%) C : 45.90 H : 5.23

Ευρ. (%) C : 45.77 H : 5.37

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ 6.15 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.2$ Hz, H-1), 5.45 (dd, 1H, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $J_{4,5} = 9.4$ Hz, H-4), 5.34 (dd, 1H, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, H-2), 4.71 (dtr, 1H, $J_{3,F} = 50.6$ Hz, H-3), 4.35 (dd, 1H, $J_{6a,6b} = 12.1$ Hz, $J_{5,6a} = 5.1$ Hz, H-6a), 4.10 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 2.8$ Hz, H-6b), 3.55-3.49 (m, 1H, H-5), 2.17, 2.13, 2.09, 2.07 (4s, 12H, 4OAc).

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2',4',6'-τρις-Ο-ακετυλο-5'-θειο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο)θυμίνη (42)

Σε διάλυμα της θυμίνης (0.28 g, 2.23 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (7.4 mL) προστίθεται HMDS (0.6 mL, 2.76 mmol) και σακχαρίνη (0.02 g, 0.1 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές, προστίθεται η ακετυλιωμένη θειογλυκοκυρανόζη **41** (0.59 g, 1.59 mmol) και SnCl₄ (0.26 mL, 2.23 mmol) και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για δύο επιπλέον ώρες με κάθετο ψυκτήρα στους 110 °C. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με CH₂Cl₂ (2 x 250 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (20 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (30/70), οπότε

παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **42** (0.47 g, 68%), υπό τη μορφή λευκών κρυστάλλων.

Σημείο Τήξεως 194-196 °C (οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο).

$[\alpha]_D^{22} = + 42.00^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 260 nm (ϵ 10100)

ESI-MS (m/z): 433.5 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₇H₂₁FN₂O₈S) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 47.22	H : 4.89	N : 6.48
Ευρ. (%)	C : 47.44	H : 4.67	N : 6.22

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ 8.51 (br s, 1H, NH), 7.26 (s, 1H, H-6), 5.84 (d, 1H, $J_{1',2'} = 10.7$ Hz, H-1'), 5.57 (t, 1H, $J_{2',3'} = 9.0$ Hz, H-2'), 5.41 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 9.7$ Hz, $J_{4',5'} = 10.0$ Hz, H-4'), 4.45 (dtr, 1H, $J_{3',F} = 49.3$ Hz, H-3'), 4.34 (dd, 1H, $J_{6'a,6'b} = 12.2$ Hz, $J_{5',6'a} = 5.6$ Hz, H-6'a), 4.16 (dd, 1H, $J_{5',6'b} = 2.8$ Hz, H-6'b), 3.43-3.35 (m, 1H, H-5'), 2.14, 2.10, 2.05 (3s, 9H, 3OAc), 1.95 (s, 3H, 5-CH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ 170.21, 163.70, 150.79, 137.55, 110.90, 86.00, 71.70, 68.81, 61.90, 57.70, 39.01, 21.01, 20.70, 12.40.

Σύνθεση της 2'-Ο-ακετυλο-4'-κετο-3'-φθορο-5'-θειο-β-D-ξυλοπυρανονουκλεοζιτικό ανάλογο της θυμίνης (50)

3-Δεοξυ-3-φθορο-5-θειο-ξυλοπυρανόζη (43)

Διάλυμα της ένωσης **34** (1.95 g, 9.2 mmol) σε μεθανολική αμμωνία (382 mL) αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 2h. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και λαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **43** (1.4 g, 72%) ως άχρωμο έλαιο και χρησιμοποιείται στο επόμενο στάδιο χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2-Ο-ισοπυριδινό-5-θειο-D-ξυλοπυρανόζη (44)

Σε διάλυμα του προϊόντος **43** (1.31 g, 7.79 mmol) σε άνυδρο DMF (98.5 mL) προστίθεται $(\text{CH}_3)_2\text{C}(\text{OCH}_3)_2$ (31.15 mL) και *p*-TsOH (29 mg, 1.56 mmol), και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για μία νύχτα. Στη συνέχεια στο μίγμα της αντίδρασης προστίθεται τριαιθυλαμίνη έτσι ώστε το pH να μην υπερβεί το 7 και οι διαλύτες απομακρύνονται υπό υψηλό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (60/40), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **44** (1.13 g, 70%) ως παχύρευστο κίτρινο έλαιο.

ESI-MS (*m/z*): 209.3 ($\text{M}+\text{H}^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($\text{C}_8\text{H}_{13}\text{FO}_3\text{S}$) C, H

Υπολ. (%) C : 46.14 H : 6.29

Ευρ. (%) C : 46.32 H : 6.37

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2-Ο-ισοπροπυλιδενό-4-Ο-ακετυλο-5-θειο-D-ξυλοπυρανόζη (45)

Σε διάλυμα της ένωσης **44** (1.13 g, 5.45 mmol) σε άνυδρη πυριδίνη (27 mL) προστίθεται Ac₂O (0.46 mL, 4.9 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 1h. Στη συνέχεια προστίθεται μεθανόλη (0.2 mL) για να κατασταλλεί η αντίδραση και οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (40/60), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **45** (1.21 g, 89%) ως παχύρευστο κίτρινο έλαιο.

$$[\alpha]_D^{22} = + 26.00^\circ \quad (c = 0.10 \text{ χλωροφόρμιο})$$

ESI-MS (*m/z*): 251.3 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₀H₁₅FO₄S) C, H

Υπολ. (%) C : 47.99 H : 6.04

Ευρ. (%) C : 48.07 H : 6.17

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 5.24 (d, 1H, *J*_{1,2} = 5.0 Hz, H-1), 4.49 (dtr, 1H, *J*_{3,F} = 49.8 Hz, *J*_{3,4} = 9.0 Hz, H-3), 4.40-4.31 (m, 2H, H-2 και H-4), 2.91-2.85 (m, 1H, H-5*b*), 2.68-2.64 (m, 1H, H-5*a*), 2.10 (s, 3H, OAc), 1.58 (s, 3H, CH₃), 1.42 (s, 3H, CH₃).

3-Δεοξυ-3-φθορο-4-Ο-ακετυλο-5-θειο-D-ξυλοπυρανόζη (46)

Διάλυμα του προϊόντος **45** (1.21 g, 4.85 mmol) σε 90% TFA (24.2 mL) σε μεθανόλη αναδεύεται για 10 min σε θερμοκρασία δωματίου και στη συνέχεια απομακρύνεται ο διαλύτης υπό υψηλό κενό ώστε να απομακρυνθούν και τα ίχνη του TFA. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το

σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (70/30), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **46** (0.92 g, 90%) ως παχύρευστο κίτρινο έλαιο.

ESI-MS (*m/z*): 211.2 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₇H₁₁FO₄S) C, H

Υπολ. (%) C : 39.99 H : 5.27

Ευρ. (%) C : 40.08 H : 5.12

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2-Ο-βενζοϋλο-4-Ο-ακετυλο-5-θειο-D-ξυλοπυρανόζη (47)

Σε διάλυμα της ένωσης **46** (0.92 g, 4.36 mmol) σε άνυδρη πυριδίνη (16 mL) προστίθεται BzCl (1.27 mL, 10.9 mmol), το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 1 h και στη συνέχεια ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (40/60), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **47** (1.51 g, 83%) ως παχύρευστο κίτρινο έλαιο.

$[\alpha]_D^{22} = + 21.00^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)

ESI-MS (*m/z*): 419.4 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₂₁H₁₉FO₆S) C, H

Υπολ. (%) C : 60.28 H : 4.58

Ευρ. (%) C : 60.17 H : 4.37

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.20-7.96 και 7.72-7.34 (m, 5H, H_{arom} βενζοϋλομάδας), 5.93 (brs, 1H, H-1), 5.75-5.70 (m, 1H, H-2), 5.46-5.39 (m, 1H, H-4), 5.09 (dtr, 1H, J_{3,F} = 50.9 Hz, J_{3,4} = J_{2,3} = 9.4 Hz, H-3), 3.22-3.02 (m, 1H, H-5a), 2.95-2.84 (m, 1H, H-5b), 2.19 (s, 3H, OAc).

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2'-Ο-βενζοϋλο-4'-Ο-ακετυλο-5'-θειο-D-ξυλοπυρανόζυλο)θυμίνη (48)

Σε διάλυμα της θυμίνης (0.63 g, 5.05 mmol) σε άνυδρο CH₃CN (18 mL) προστίθεται HMDS (1.3 mL, 6.26 mmol) και σακχαρίνη (0.04 g, 0.23 mmol), και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές προστίθεται η 1,2-Ο-βενζοϋλο-4-Ο-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-5-θειο-D-ξυλοπυρανόζη (**47**) (1.51 g, 3.61 mmol) καθώς και SnCl₄ (0.59 mL, 5.05 mmol) και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για τρεις επιπλέον ώρες με κάθετο ψυκτήρα στους 110 °C. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) και εκχύλιση με EtOAc (2 x 250 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (10 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (60/40), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **48** (1.04 g, 68%) με λευκή αφρώδη υφή.

$$[\alpha]_D^{22} = + 38.00^\circ \quad (c = 0.10 \text{ χλωροφόρμιο})$$

λ_{\max} 260 nm (ϵ 9700)

ESI-MS (*m/z*): 423.4 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₉H₁₉FN₂O₆S) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 54.02	H : 4.53	N : 6.63
Ευρ. (%)	C : 54.27	H : 4.73	N : 6.38

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.05-7.15 (m, 5H, H_{arom} βενζοϋλομάδας), 5.92 (d, 1H, $J_{1',2'} = 10.6$ Hz H-1'), 5.73 (m, 1H, H-2'), 5.31-5.24 (m, 1H, H-4'), 4.62 (dtr, 1H, $J_{3',F} = 49.8$ Hz, $J_{3',4'} = J_{2',3'} = 9.1$ Hz, H-3'), 3.11-3.02 (m, 1H, H-5'*b*), 2.92-2.83 (m, 1H, H-5'*a*), 2.13 (s, 3H, OAc), 1.95 (s, 3H, 5-CH₃).

**1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2'-Ο-βενζοϋλο-5'-θειο-D-ξυλοπυρανόζυλο)θυμίνη
(49)**

Σε διάλυμα του προϊόντος **48** (1.04 g, 2.46 mmol) σε EtOH-πυριδίνη (25 + 7.4 mL) προστίθεται διάλυμα NaOH 2M (4.9 mL) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται στους 0 °C για 30 min. Στη συνέχεια προστίθεται ρητίνη Amberlite IR-120 (H⁺), το διάλυμα διηθείται, η ρητίνη πλένεται με EtOH και πυριδίνη (50 + 50 mL) και οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (70/30), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **49** (0.54 g, 58%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = + 29.00^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)
 λ_{\max} 260 nm (ε 9137)

ESI-MS (m/z): 381.4 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₇H₁₇FN₂O₅S) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 53.68	H : 4.50	N : 7.36
Ευρ. (%)	C : 53.47	H : 4.33	N : 7.08

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.13-7.21 (m, 5H, H_{arom} βενζοϋλομάδας), 5.93 (d, 1H, $J_{1',2'} = 10.5$ Hz H-1'), 5.74-5.65 (m, 1H, H-2'), 4.45 (dtr, 1H, $J_{3',F} = 50.0$ Hz, $J_{3',4'} = J_{2',3'} = 8.9$ Hz, H-3'), 4.24-4.17 (m, 1H, H-4') 2.96-2.88 (m, 2H, H-5'a and H-5'b), 1.92 (s, 3H, 5-CH₃).

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2'-Ο-ακετυλο-β-D-ξυλοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)θυμίνη (50)

Σε διάλυμα της ένωσης **49** (0.54 g, 1.42 mmol) σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (7.3 mL) προστίθεται PDC (0.8 g, 2.13 mmol) και Ac₂O (0.67 mL, 7.1 mmol), και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα στους 60 °C για 30 min. Στη συνέχεια στο μίγμα της αντίδρασης προστίθεται EtOAc (1.6 mL) και το προκύπτον παχύρρευστο έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (60/40), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **50** (0.22 g, 50%) με αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = + 20.00^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)
 λ_{\max} 260 nm (ϵ 14548)

ESI-MS (m/z): 317.4 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₂H₁₃FN₂O₅S) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 45.57	H : 4.14	N : 8.86
Ευρ. (%)	C : 45.74	H : 4.38	N : 8.78

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 6.37 (d, 1H, $J_{1',2'} = 10.7$ Hz H-1'), 5.97 (m, 1H, $J_{2',3'} = 9.2$ Hz, H-2'), 5.03 (dtr, 1H, $J_{3',F} = 48.1$ Hz, H-3'), 3.69-3.58 (m, 2H, H-5'a and H-5'b), 2.18 (s, 3H, OAc), 1.97 (s, 3H, 5-CH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ 193.4, 166.33, 163.01, 147.45, 139.17, 109.22, 95.32, 67.50, 62.55, 40.85, 20.66, 12.36.

Σύνθεση της 3-δεοξυ-3'-φθορο-4'-Ο-ακετυλο-2'-κετο-5'-θειο-β-D-ξυλοπυρανονουκλεοζιτικού ανάλογο της θυμίνης (56)

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2-Ο-ισοπυροπυλιδενο-4-Ο-βενζοΰλο-5-θειο-D-ξυλοπυρανόζη (51)

Σε διάλυμα της ένωσης **44** (1.3 g, 6.24 mmol) σε άνυδρη πυριδίνη (30.8 mL) προστίθεται BzCl (1.46 mL, 12.48 mmol) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 1h. Στη συνέχεια ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (40/60), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **51** (1.7 g, 87%) ως παχύρευστο κίτρινο έλαιο.

$[\alpha]_D^{22} = + 8.00^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 242 nm (ϵ 8757)

ESI-MS (*m/z*): 313.3 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₅H₁₇FO₄S) C, H

Υπολ. (%) C : 57.68 H : 5.49

Ευρ. (%) C : 57.47 H : 5.27

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.07 (d, 1H, H_{arom} βενζοΰλομάδας), 7.58 και 7.45 (2 tr, 4H, H_{arom} βενζοΰλομάδας), 5.43-5.33 (m, 1H, H-4), 5.20 (d, 1H, $J_{1,2} = 5.0$ Hz, H-1), 4.68 (dtr, 1H, $J_{3,F} = 49.8$ Hz, $J_{3,4} = 8.8$ Hz, H-3), 4.47-4.40 (m, 1H, H-2), 3.02-2.97 (m, 1H, H-5a), 2.86-2.81 (m, 1H, H-5b), 1.63 (s, 3H, CH₃), 1.45 (s, 3H, CH₃).

3-Δεοξυ-3-φθορο-4-Ο-βενζοΰλο-5-θειο-D-ξυλοπυρανόζη (52)

Διάλυμα του προϊόντος **51** (1.7 g, 5.44 mmol), σε 90% TFA (27.1 mL) σε μεθανόλη αναδεύεται για 10 min σε θερμοκρασία δωματίου και στη

συνέχεια απομακρύνεται ο διαλύτης υπό υψηλό κενό ώστε να απομακρυνθούν και τα ίχνη του TFA. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (70/30), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **52** (1.32 g, 89%) ως παχύρευστο κίτρινο έλαιο.

ESI-MS (*m/z*): 273.3 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₂H₁₃FO₄S) C, H

Υπολ. (%) C : 52.93 H : 4.81

Ευρ. (%) C : 52.82 H : 4.62

3-Δεοξυ-3-φθορο-1,2-Ο-ακετυλο-4-Ο-βενζοϋλο-5-θειο-D-ξυλοπυρανόζη (53)

Σε διάλυμα της ένωσης **52** (1.3 g, 4.77 mmol) σε άνυδρη πυριδίνη (23 mL) προστίθεται Ac₂O (0.4 mL, 4.3 mmol), το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 1h και στη συνέχεια ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (40/60), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **53** (1.46 g, 86%) ως παχύρευστο κίτρινο έλαιο.

$[\alpha]_D^{22} = + 5.00^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)

λ_{\max} 244 nm (ε 9147)

ESI-MS (*m/z*): 357.4 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₆H₁₇FO₆S) C, H

Υπολ. (%) C : 53.93 H : 4.81

Ευρ. (%) C : 53.87 H : 4.67

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3)

δ 8.20-7.96 και 7.72-7.34 (m, 5H, H_{arom} βενζοϋλομάδας), 6.14 (brs, 1H, H-1), 5.49-5.45 (m, 1H, H-4), 5.41-5.37 (m, 1H, H-2), 4.90 (dtr, 1H, $J_{3,\text{F}} = 51.1$ Hz, $J_{3,4} = J_{2,3} = 9.4$ Hz, H-3), 3.07-2.95 (m, 2H, H-5'a and H-5'b), 2.19 (s, 3H, OAc), 2.09 (s, 3H, OAc).

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2'-Ο-ακετυλο-4'-Ο-βενζοϋλο-5'-θειο-D-ξυλοπυρανόζυλο)θυμίνη (54)

Σε διάλυμα της θυμίνης (0.72 g, 5.72 mmol) σε άνυδρο CH_3CN (19 mL) προστίθεται HMDS (1.3 mL, 6.26 mmol) και σακχαρίνη (0.05 g, 0.26 mmol), και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min. Αφότου το μίγμα γίνει διαυγές προστίθεται η 3-φθορο-1,2-Ο-ακετυλο-4-Ο-βενζοϋλο-5-θειο-D-ξυλοπυρανόζη (**53**) (1.46 g, 4.09 mmol) καθώς και SnCl_4 (1.02 mL, 5.73 mmol) και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για τρεις επιπλέον ώρες με κάθετο ψυκτήρα στους 110 °C. Ακολουθεί προσθήκη κορεσμένου διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO_3) και εκχύλιση με EtOAc (2 x 250 mL). Η οργανική φάση πλένεται με νερό (10 mL), ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (60/40), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **54** (1.59 g, 66%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = + 18.00^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)

λ_{max} 260 nm (ϵ 10087)

ESI-MS (*m/z*): 423.4 ($\text{M}+\text{H}^+$)

Στοιχειακή Ανάλυση: ($\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{FN}_2\text{O}_6\text{S}$) C, H, N

Υπολ. (%) C : 54.02 H : 4.53 N : 6.63

Ευρ. (%) C : 54.31 H : 4.27 N : 6.82

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.13-8.04 και 7.62-7.19 (m, 5H, H_{arom} βενζοϋλομάδας), 5.82 (d, 1H, $J_{1',2'} = 10.6$ Hz H-1'), 5.55 (m, 1H, H-2'), 5.48-5.41 (m, 1H, H-4'), 4.67 (dtr, 1H, $J_{3',F} = 49.8$ Hz, $J_{3',4'} = J_{2',3'} = 9.1$ Hz, H-3'), 3.18-3.13 (m, 1H, H-5'*b*), 2.94-2.89 (m, 1H, H-5'*a*), 2.06 (s, 3H, OAc), 1.96 (s, 3H, 5-CH₃).

**1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-4'-Ο-βενζοϋλο-5'-θειο-D-ξυλοπυρανόζυλο)θυμίνη
(55)**

Σε διάλυμα του προϊόντος **54** (1.4 g, 3.31 mmol) σε EtOH-πυριδίνη (33 + 9.9 mL) προστίθεται διάλυμα NaOH 2M (6.7 mL) και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται στους 0 °C για 30 min. Στη συνέχεια προστίθεται ρητίνη Amberlite IR-120 (H⁺), το διάλυμα διηθείται, η ρητίνη πλένεται με EtOH και πυριδίνη (65 + 65 mL) και οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό. Το προκύπτον έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (70/30), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **55** (0.72 g, 57%) με λευκή αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = + 11.00^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)
 λ_{\max} 260 nm (ε 9960)

ESI-MS (*m/z*): 381.4 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₇H₁₇FN₂O₅S) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 53.68	H : 4.50	N : 7.36
Ευρ. (%)	C : 53.72	H : 4.64	N : 7.53

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 8.13-7.21 (m, 5H, H_{arom} βενζοϋλομάδας), 5.93 (d, 1H, $J_{1',2'} = 10.5$ Hz H-1'), 5.75-5.62 (m, 1H, H-4'), 4.41 (dtr, 1H, $J_{3',F} = 49.8$ Hz, $J_{3',4'} = J_{2',3'} = 9.0$ Hz, H-3'), 4.19-4.11 (m, 1H, H-2'), 2.96-2.88 (m, 2H, H-5'*a* and H-5'*b*), 1.97 (s, 3H, 5-CH₃).

1-(3'-Δεοξυ-3'-φθορο-2'-Ο-ακετυλο-β-D-ξυλοπυρανοζυλο-4'-ουλοζο)θυμίνης (56)

Σε διάλυμα της ένωσης **55** (0.54 g, 1.42 mmol) σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (7.3 mL) προστίθεται PDC (0.8 g, 2.13 mmol) και Ac₂O (0.67 mL, 7.1 mmol), και το προκύπτον εναιώρημα αναδεύεται με κάθετο ψυκτήρα στους 60 °C για 30 min. Στη συνέχεια στο μίγμα της αντίδρασης προστίθεται EtOAc (1.6 mL) και το προκύπτον παχύρρευστο έλαιο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το σύστημα οξικός αιθυλεστέρας / *n*-εξάνιο (60/40), οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **56** (0.28 g, 52%) με αφρώδη υφή.

$[\alpha]_D^{22} = + 17.00^\circ$ (c = 0.10 χλωροφόρμιο)
 λ_{\max} 260 nm (ε 15609)

ESI-MS (m/z): 317.4 (M+H⁺)

Στοιχειακή Ανάλυση: (C₁₂H₁₃FN₂O₅S) C, H, N

Υπολ. (%)	C : 45.57	H : 4.14	N : 8.86
Ευρ. (%)	C : 45.69	H : 4.08	N : 8.97

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ 6.07 (d, 1H, $J_{1',2'}$ = 10.6 Hz H-1'), 5.75 (m, 1H, $J_{3',4'}$ = 9.1 Hz, H-4'), 4.83 (dtr, 1H, $J_{3',F}$ = 48.0 Hz, H-3') 3.58-3.43 (m, 2H, H-5'a and H-5'b), 2.17 (s, 3H, OAc), 1.96 (s, 3H, 5-CH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ 195.05, 171.60, 163.00, 147.22, 137.54, 112.23, 98.57, 66.39, 64.61, 30.31, 20.84, 12.36.

IV. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Με επιτακτική την ανάγκη για την εύρεση νέων χημειοθεραπευτικών παραγόντων και με βάση τις σημαντικές φαρμακευτικές ιδιότητες των νουκλεοζιτικών αναλόγων, στην παρούσα διατριβή παρουσιάστηκαν οι έρευνες, οι οποίες αφορούν τη σύνθεση και τη βιολογική αποτίμηση νέων τάξεων φθοροθειονουκλεοζιτών, με τροποποιημένους πενταμελείς καθώς και εξαμελείς υδατανθρακικούς δακτυλίους

Ειδικότερα, λαμβάνοντας υπόψη ότι η εισαγωγή φθορίου στο σάκχαρο ενός φουρανο- ή πυρανονουκλεοζίτη έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη βιολογική του δράση, σε συνδυασμό με το ότι η εισαγωγή θείου εντός ή εκτός του δακτυλίου του σακχάρου ενός νουκλεοζίτη προσδίδει ιδιαίτερες χημικές ιδιότητες στο μόριο και αυξάνει σημαντικά τη βιολογική του δραστηριότητα και τέλος με τα ακόρεστα κετοπυρανονουκλεοζιτικά ανάλογα να παρουσιάζουν ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες, στην παρούσα διατριβή πραγματοποιήθηκε η σύνθεση νέων:

- φθοριωμένων 5'-θειοφουρανονουκλεοζιτών που φέρουν τη θυμίνη, την ουρακίλη ή την 5-φθοροουρακίλη ως ετεροκυκλική βάση
- φθοριωμένων 6'-θειοπυρανονουκλεοζιτών που φέρουν πυριμιδίνη ή πουρίνη ως ετεροκυκλική βάση
- φθοριωμένων 5'-θειοπυρανοζών και των αντίστοιχων 5'-θειοπυρανονουκλεοζιτών που φέρουν τη θυμίνη ως ετεροκυκλική βάση
- φθοριωμένων 5'-θειοκετοπυρανονουκλεοζιτών που φέρουν τη θυμίνη ως ετεροκυκλική βάση.

Θα πρέπει να αναφερθεί και η προσπάθεια σύνθεσης φθοριωμένων ακόρεστων 6'-θειοπυριδινυλικών νουκλεοζιτών που φέρουν θυμίνη, ουρακίλη ή 5-φθοροουρακίλη ως ετεροκυκλική βάση.

Για τη σύνθεση των παραπάνω νουκλεοζιτών ακολουθήθηκαν κυρίως δύο συνθετικές οδοί, οι οποίες περιελάμβαναν είτε αντιδράσεις που αφορούσαν την τροποποίηση αρχικά των σακχάρων και την μετέπειτα σύζευξη αυτών με τις αντίστοιχες νουκλεοβάσεις, είτε αντιδράσεις που αφορούσαν την τροποποίηση των νουκλεοζιτών ως πρόδρομες ενώσεις. Για να ληφθούν τα φθοριωμένα 5'-θειοφουρανονουκλεοζιτά ανάλογα, απαραίτητη προϋπόθεση αποτέλεσε η σύνθεση του τροποποιημένου

θειοσακχάρου. Ωστόσο, οι φθοριωμένοι 6'-θειοπυρανονουκλεοζίτες λήφθηκαν είτε με τροποποίηση των πρόδρομων γλυκοπυρανονουκλεοζιτών τους είτε με σύζευξη του νεοσυντιθέμενου θειοσακχάρου με τις αντίστοιχες βάσεις. Τέλος τόσο οι φθοριωμένοι 5'-θειοπυρανονουκλεοζίτες όσο και οι 5'-θειοκετοπυρανονουκλεοζίτες, συντέθηκαν μετά από σειρά αντιδράσεων και έχοντας ως πρόδρομη ένωση το κατάλληλο σάκχαρο-συνθόνη.

Οι βιολογικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν, απέδειξαν ότι τα νέα νουκλεοζιτικά ανάλογα διαθέτουν ενδιαφέρουσες αντιικές και αντικαρκινικές ιδιότητες. Συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε ότι οι παραπάνω νουκλεοζίτες μπορούν να θεωρηθούν ελπιδοφόροι για την ανάπτυξη αντι-εντεροϊικών φαρμάκων. Επιπλέον τα νέα μόρια παρουσίασαν κυτταροτοξική δράση έναντι διαφόρων καρκινικών κυτταρικών σειρών και πιο συγκεκριμένα έναντι των κυττάρων καρκινώματος του στήθους (MCF-7), των κυττάρων αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου (Caco-2) και των κυττάρων μελανώματος του δέρματος. Από τις βιολογικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στους νέους φθοριωμένους θειοπυριδινυλικούς νουκλεοζίτες, προέκυψε το συμπέρασμα ότι η ύπαρξη ενός πρωτοταγούς ελεύθερου υδροξυλίου στο σάκχαρο του νουκλεοζίτη δεν αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την εμφάνιση των βιολογικών τους ιδιοτήτων. Αντίθετα, οι ενώσεις που φέρουν μία προστατευτική ομάδα στην 6'-θέση του σακχάρου, εμφανίστηκαν να είναι πιο αποτελεσματικοί αντικαρκινικοί καθώς και αντιικοί παράγοντες.

Τέλος, μετά τη μελέτη της δομής του νέου 2'-κετο-φθορο-θειονουκλεοζίτη της θυμίνης, διαπιστώθηκε η αλλαγή της διαμόρφωσης του νέου μορίου, μέσω υπολογισμού της δίεδρης γωνίας και σύγκρισής της με αυτή του αντίστοιχου φθορο-κετονουκλεοζίτη. Η διαπίστωση αυτή ενισχύει την υπόθεση ότι, εξαιτίας της ύπαρξης μικρής δίεδρης γωνίας σε συνδυασμό με την διαμόρφωση της αποχωρούσας ομάδας και του Η, είναι αδύνατη η αντίδραση της β-απόσπασσης, με αποτέλεσμα τον μη σχηματισμό του διπλού δεσμού στις 3',4'-θέσεις του σακχάρου κετοθειονουκλεοζίτη.

V. BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Agelis, G.; Tzioumaki, N.; Tselios, T.; Botić, T.; Cencič, A.; Komiotis, D.** *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 1366.
- Al-Masoudi N.A.** *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 4795.
- Antonakis, K.** "Hexopyranose nucleosides". In *Studies in Natural Products Chemistry, Stereoselective Synthesis (Part C)*; Elsevier, Amsterdam, **1989**, *4*, p. 241.
- Antonakis, K.** "Ketonucleosides". In *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, Tipson, R. S. and Horton, D. (Eds), Academic Press, New York, **1984**, *42*, p. 227.
- Antonakis, K.** *Carbohydr. Res.* **1972**, *24*, 229.
- Antonakis, K.** *Chimia* **1975**, *29*, 59.
- Antonakis, K.; Arvor, M. J.** *C.R. Acad. Sci.* **1971**, 272-c, 1982.
- Antonakis, K.; Bessodes, M.** *Carbohydr. Res.* **1973**, *30*, 192.
- Antonakis, K.; Leclercq, F.** *C. R. Acad. Sci., Ser. C* **1970**, *271*, 1197.
- Antonakis, K.; Leclercq, F.** *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1971**, 2142.
- Arner, E. S. J.; Eriksson, S.** *Pharmacol. Ther.* **1995**, *67*, 155.
- Augustyns, K.; Rozenski, J.; Van Aerschot, A.; Janssen, G.; Herdewijn, P.** *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2977.
- Augustyns, K.; Rozenski, J.; Van Aerschot, A.; Busson, R.; Claes, P.; Herdewijn, P.** *Tetrahedron* **1994**, *50*, 1189.
- Augustyns, K.; Vandendriessche, F.; Van Aerschot, A.; Busson, R.; Urbanke, C.; Herdewijn, P.** *Nucleic Acids Res.* **1992**, *20*, 4711.
- Azuma, A.; Hanaoka, K.; Kurihara, A.; Kobayashi, T.; Miyaushi, S.; Kamo, N.; Tanaka, M.; Sasaki, T.; Matsuda, A.** *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 3391.
- Azuma, A.; Nakajima, Y.; Nishizono, N.; Minakawa, N.; Suzuki, M.; Hanaoka, K.; Kobayashi, T.; Tanaka, M.; Sasaki, T.; Matsuda, A.** *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 4183.

- Balatsos, N.A.A.; Vlachakis, D.; Maragozidis, P.; Manta, S.; Anastasakis, D.; Kyritsis, A.; Vlasi, M.; Komiotis, D.; Stathopoulos, C. *Biochemistry* **2009**, *48*, 6044-6051.
- Balatsos, N. A. A.; Anastasakis, D.; Stathopoulos, C. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2008**,
- Blackburn, G. M.; Gait, M. J. "Nucleic Acids in Chemistry and Biology", Oxford University Press, New York, **1996**.
- Blandin, M.; Son, T. D.; Catlin, J. C.; Guschlbauer, W. *Biochim. Biophys. Acta* **1974**, *361*, 249.
- Bloomfield, V. A.; Crothers, D. M.; Tinoco, I. "Nucleic Acids: Structure, Properties and Functions", University Science Books, Sausalito, California, **1999**.
- Challand, R.; Young, R. J. *Antiviral Chemotherapy* Mann, J. Ed.; UK, **1997**.
- Chambert, S.; Décout, J.-L. *Org. Prep.Proced. Int.* **2002**, *34*, 27.
- Chiu, W. C.; Whistler, L. R. *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 832.
- Chong, Y.; Choo, H.; Lee, S.; Choi, Y.; Schinazi, R. F.; Chu, C. K. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 4888.
- Choo, H.; Chong, Y.; Choi, Y.; Mathew, J.; Schinazi, R. F.; Chu, C. K. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 389.
- Clark, J. L.; Mason, J. C.; Hollecker, L.; Stuyver, L. J.; Tharnish, P. M.; McBrayer, T. R.; Otto, M. J.; Furman, A. P.; Schinazi, R. F.; Watanabe, K. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 1712.
- Cook, A. F.; Moffatt, J. G. *J. Amer. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 2697.
- Covès, J.; Le Hir de Fallois, L.; Le Pape, L.; Décout, J.L. ; Fontacave, M. *Biochemistry* **1996**, *35*, 8595.
- Daluge, S. M.; Purifoy, D. J.; Savina, P. M.; St. Clair, M. H.; Parry, N. R.; Dev, I. K.; Novak, P.; Ayers, K. M.; Reardon, J. E.; Roberts, G. B.; Fyfe, J. A.; Blum, M. R.; Averett, D. R.; Dornsife, R. E.; Domin, B. A.; Ferone, R.; Lewis, D. A.; Krenitsky, T. A. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1994**, *38*, 1590.

- Décout, J.-L.; Wnuk, S.F.** In *Frontiers in Nucleosides and Nucleic Acids*: Schinazi, R.F.; Liotta, D.C., Eds.; IHL Press: Tucker, USA, **2004**, pp. 235-266.
- Dess D.B. ; Martin, J.C.** *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4155.
- Elion, G. B.** *Science* **1989**, *244*, 41.
- Faderl, S.; Gandhi, V.; Kantarjian, H.; Plunkett, W.** *Cancer Chemother. Biol. Response Modif.* **2002**, *2002*, 37.
- Faderl, S.; Gandhi, V.; Keating, M. J.; Jeha, S.; Plunkett, W.; Kantarjian, H.** *Cancer* **2005**, *103*, 1001.
- Fernandez-Bolanos, J.G.; Al-Masoudi, N.A.; Maya, I.** *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **2001**, *57*, 21.
- Field, J.H.; Hodge V.R.A.** *Antiviral Agents, Encyclopedia of Virology* **2008**, 142.
- Foster, A. B.; Hems, R.; Webber, J. M.** *Carbohydr. Res.* **1967**, *5*, 292.
- Fuentes, J.; Angulo, M.; Pradera, M. A.** *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 2577.
- Gerland, B. ; Desire, J. ; Balzarini, J. ; Décout, J.L.** *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 6824.
- Guillerm, G. ; Guillerm, D. ; Vandenplas-Witkowki, C. ; Rogniaux, H.; Carte, N.; Leize, E. ; Van Dorsselaer, A.; De Clercq, E.; Lambert, C.** *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 2743.
- Gumina, G.; Chong, Y.; Choo, H.; Song, G.-H.; Chu, C.K.** *Curr. Top. Med. Chem.* **2002**, *2*, 1065.
- Gumina, G.; Song, G. Y.; Chu, C. K.** *FEMS Microbiology Letters* **2001**, *202*, 9.
- Gunaga, P.; Moon, R. H.; Choi J. W.; Shin H. D.; Park G. J.; Jeong, S. L.** *Curr. Med. Chem.* **2004**, *11*, 2585.
- Halmos, T.; Cardon, A.; Antonakis, K.** *Chem. -Biol. Interactions* **1983**, *46*, 11.

- Haouz, A.; Vanheusden, V.; Munier-Lechman, H.; Froeyen, M.; Herdewijn, P.; Van Galenbergh, S.; Delarue, M. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 4963.
- Hasegawa, A.; Kawai, Y.; Kasugai, H.; Kiso M. *Carbohydr. Res.* **1978**, *63*, 131.
- Herdewijn, P.; De Clercq, E. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1591.
- Herdewijn, P.; Van Aerschot, A.; Kerremans, L. *Nucleosides Nucleotides* **1989**, *8*, 65.
- Herscovici, J.; Antonakis, K. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1979**, *12*, 561.
- Hosono, A.; Fujii, K.; Tada, T.; Ohyo, Y.; Ishido, Y.; Sato, T. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **1973**, *46*, 2818.
- Hughes, A.N.; Munkombwe, M.N. *Carbohydr. Res.* **1985**, *136*, 397.
- Ishido, Y. *Bull. Inst. Technology, Tokyo*, **1964**, *57*, 109.
- Jeong, L. S.; Jin, D. Z.; Kim, H. O.; Shin, D. H.; Moon, H. R.; Hyung, R.; Gunaga, P.; Chun, M. W.; Kim, Y.-C.; Melman, N.; Gao, Z.-G.; Jacobson, K. A. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 3775.
- Khan, A. R.; Mulligan, K. X.; Redda, K. K.; Ollapally, A. P. *Synth. Commun.* **2002**, *32*, 1023.
- Kinchington, D. *J. Chin. Pathol.* **1999**, *52*, 89.
- Komiotis, D.; Delatre, S.; Holt, L.; Ollapally, A.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Ligo, M. *Nucleosides Nucleotides* **1991**, *10*, 431.
- Komiotis, D.; Manta S.; Tsoukala E.; Tzioumaki N. *Curr. Med. Chem.: Anti-Infect. Agents* **2008**, *7*, 219.
- Komiotis, D.; Pananookooln, S.; Zaw, K.; Dieter, J.P.; Le Breton, G.C.; Venton, D.L. *Eur. J. Med. Chem.* **1995**, *30*, 321.
- Kumar, P.; Ohkura, K.; Balzarini, J.; De Clerq, E.; Seki, K.; Wiebe, L. I. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids* **2004**, *23*, 7.
- Lakanen, J.R.; Pegg, A. E.; Coward, J. K. *J. Med. Chem.* **1995**, *34*, 2714.
- Langen, P.; Etzold, G. *Mol. Pharmacol.* **1966**, *2*, 89.
- Leclercq, F.; Antonakis, K. *Carbohydr. Res.* **1989**, *193*, 307.

- Lee, K.; Choi, Y.; Gullen, E.; Schlueter-Wirtz, S.; Shcinazi, R. F.; Cheng, Y. C.; Chu, C. K. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1320.
- Lee, K.; Choi, Y.; Gumina, G.; Zhou, W.; Shcinazi, R. F.; Chu, C. K. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1313.
- Lesnikowski, J. Z.; Shi, J.; Shinazi, F. R. *J. Organomet. Chem.* **1999**, *581*, 156.
- Lipnick, R. L.; Fissekis, J. D. *Biochim. Biophys. Acta* **1980**, *608*, 96.
- Malsen, H. J.; Hughes, D.; Hursthouse, M.; De Clercq, E.; Balzarini, J.; Simons, C. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 5482.
- Manta, S.; Agelis, G.; Botić, T.; Cencič, A.; Komiotis, D. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 980.
- Manta, S.; Agelis, G.; Botić, T.; Cencič, A.; Komiotis, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 420.
- Manta, S.; Tsoukala, E.; Tzioumaki, N.; Goropevsek, A.; Pamulapati, R.T.; Cencič, A.; Komiotis, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 2696.
- Margolis, D.; Heredia, A.; Gaywee, J.; Oldach, D.; Drusano, G.; Redfield, R. *J. Acquir. Imm. Def. Syndr.* **1999**, *21*, 362.
- Matsuda, A.; Azuma, A. *Nucleosides Nucleotides* **1995**, *14*, 461.
- Matsuda, A.; Nakajima, Y.; Azuma, A.; Tanaka, M.; Sasaki, T. *J. Med. Chem.* **1991b**, *34*, 2917.
- Matsuda, A.; Sasaki, T. *Cancer Sci.* **2004**, *95*, 105.
- Matthes, E.; Scholz, D.; Sydow, G.; Von Janta-Lipinski, M.; Rosenthal, H. A.; Langen, P. *Z. Klin. Med.* **1990**, *45*, 1255.
- Maurinsh, Y.; Schraml, J.; De Winter, H.; Blaton, N.; Peeters, O.; Lescrinier, E.; Rozenski, J.; Van Aerschot, A.; De Clercq, E.; Busson, R.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 2861.
- Milecki, J.; Foldesi, A.; Fischer, A.; Adamiak, R. W.; Chattopadhyaya, J. *J. Labelled Cpd Radiopharm.* **2001**, *44*, 763.

- Milecki, J.; Zamaratski, E.; Maltseva, T. V.; Földesi, A.; Adamiak, R. W.; Chattopadhyaya, J. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 6603.
- Miura, S.; Yoshimura, Y.; Endo, M.; Machida, H.; Matsuda, A.; Tanaka, M.; Sasaki, T. *Cancer Lett.* **1998**, *129*, 103.
- Morton, G. O.; Lancaster, J. E.; Van Lear, G. E.; Fulmor, W.; Meyer, W. E. *J. Amer. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 1535.
- Muzard, M.; Guillerme, D.; Vandenplas, C.; Guillerme, G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 1037.
- Neilson, T.; Werstiuk, E. S. *Can. J. Chem.* **1971**, *49*, 493.
- Niedballa, U.; Vorbruggen, H. *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 3654.
- Nord, D. L.; Dalley, N. K.; Mc Kernan, P. A.; Robins, R. K. *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 1044.
- Ollapally, A. P.; Dorange, I. B.; Whitaker, T. L. *Nucleosides & Nucleotides* **1999**, *18*, 703.
- Ostrowski, T.; Wroblowski, B.; Busson, R.; Rozenski, J.; De Clercq, E.; Bennet, M. S.; Champness, J. N.; Summers, W. C.; Sanderson, M. R.; Herdewijn, P. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 4343.
- Paintsil, E.; Cheng, C.Y. *Antiviral Agents, Encyclopedia of Microbiology* **2009**, 223.
- Pankiewicz, K.W. *Carbohydr. Res.* **2000**, *327*, 87.
- Paquette, L. A.; Dong, S. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 5655.
- Parker, W. B.; Secrist, J. A. III.; Waud, W. R. *Curr. Opin. Investig. Drugs* **2004**, *5*, 592.
- Paterson, J.; Uriel, C.; Egron, M. J.; Herscovici, J.; Antonakis, K.; Alaoui, M. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1998**, *42*, 779.
- Plunkett W.; Gandhi V. Purine and pyrimidine nucleoside analogues, in: G. Giaccone, R. Schilsky, P. Sondel (Eds.), *Cancer Chemotherapy and Biological Response Modifiers*, Elsevier Science B. V., **2001**, pp. 21-45.

Plunkett, W.; Huang, P.; Xu, Y. Z.; Heinemann, V.; Grunewald, R.; Gandhi, V. *Semin. Oncol.* **1995**, *22*, 3-10 (suppl 11) and references cited therein.

Pui, C. H.; Jeha, S.; Kirkpatrick, P. *Nat. Rev. Drug Disc.* **2005**, *4*, 369.

Rao, T. S.; Jayaraman, K.; Durland, R. H.; Revanker, G.R. *Nucleosides Nucleotides* **1994**, *13*, 255.

Reichman, U.; Watanabe, K. A.; Fox, J. J. *Carbohydr. Res.* **1975**, *42*, 233.

Robina, I.; Vogel, P.; Witczak, J. Z. *Curr. Org. Chem.* **2001**, *5*, 1177 and references cited therein.

Robina, I.; Vogel, P. *Curr. Org. Chem.* **2002**, *6*, 471.

Robins, R. K.; Kini, G. D. "Purines and Purine Nucleoside Analogues as Antitumor Agents". In *The Chemistry of Antitumor Agents*; Wilman, D. E. V. Ed.; Chapman and Hall: New York, **1990**, p.299.

Roy, B.; Chambert, S.; Lepoivre, M.; Décout, J.L. *Nucleosides, nucleotides & nucleic acids* **2003**, *22*, 883.

Roy, B.; Chambert, S.; Lepoivre, M.; Aubertin, A.; Balzarini, J.; Décout, J.L. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 2565.

Saenger, W. "Principles of Nucleic Acid Chemistry", Springer-Verlag, New York, **1984**.

Sato, T.; Shimadatte, T.; Ishido, Y. *Nippon Kagaku Zasshi* **1960**, *81*, 1440.

Sato, T.; Shimadatte, T.; Ishido, Y. *Nippon Kagaku Zasshi* **1961**, *82*, 938.

Secrist, J. A. *Nucleic Acids Symposium Series* **2005**, *49*, 15.

Someya, H.; Shaddix, S. C.; Tiwari, K. N.; Secrist, J. A. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2003**, *304*, 1314.

Tanaka, M.; Matsuda, A.; Terao, T.; Sasaki, T. *Cancer Lett.* **1992**, *64*, 67.

Ternansky, R. J.; Hertel, L. W. "Organofluorine Compounds in Medicinal Chemistry and Biomedical Applications". Filler, R.; Kobayashi, Y.; Yagupolski, L.M. (Eds), Elsevier, Amsterdam, **1993**, p. 23.

- Tiwari, K. N.; Shortnacy-Fowler, A. T.; Cappellacci, L.; Parker, W. B.; Waud, W. R.; Montgomery, J. A.; Secrist, J. A. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids* **2000**, *19*, 2005.
- Tsirkone, G.V.; Tsoukala, E.; Lamprakis, C.; Manta, S.; Hayes, M.J.; Skamnaki, T.V.; Drakou, C.; Zographos, E.S.; Komiotis, D.; Leonidas, D.D. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 3413.
- Tsuchiya, T. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1990**, *48*, 91.
- Tsuda, Y.; Sato, Y.; Kanemitsu, K.; Hosoi, S.; Shibayama, K.; Nakao, K.; Ichikawa, Y. *Chem. Pharm. Bull.* **1996**, *44*, 1465.
- Tzioumaki, N.; Tsoukala, E.; Manta, S.; Agelis, G.; Balzarini, J.; Komiotis, D. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2009**, *342*, 353.
- Van Aerschot, A.; Herdewijn, P.; Balzarini, J.; Pawels, R.; De Clercq, E. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 1743.
- Vanheusden, V.; Busson, R.; Herdewijn, P.; Van Calenbergh, S. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 4446.
- Vastmans, K.; Froeyen, M.; Kerremans, L.; Pochet, S.; Herdewijn, P. *Nucleic Acids Res.* **2001**, *29*, 3154.
- Vastmans, K.; Pochet, S.; Peys, A.; Kerremans, L.; Van Aerschot, A.; Hendrix, C.; Marliere, P.; Herdewijn, P. *Biochemistry* **2000**, *39*, 12757.
- Verheggen, I.; Van Aerschot, A.; Toppet, S.; Snoeck, R.; Janssen, G.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Herdewijn, P. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 2033.
- Verheggen, I.; Van Aerschot, A.; Van Meervelt, L.; Rozenski, J.; Wiebe, L.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Balzarini, J.; Claes, P.; De Clercq, E.; Herdewijn, P. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 826.
- Vorbruggen, H.; Hofle, G. *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 1256.
- Wang, J.; Jin, Y.; Rapp, K. L.; Schinazi, R. F.; Chu C. K. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 1828.
- Watanabe, K. A.; Hollenberg, D. H.; Fox, J. J. *J. Carb. Nucleos. Nucleot.* **1974**, *1*, 1.

Waud, W. R.; Gilbert, K. S.; Shepherd, R. V.; Montgomery, J. A.; Secrist, J. A. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2003, 5, 422.

Willson, L.J. ; Hager, M.W.; El-Kattan, Y.A. ; Liotta, D.C. *Synthesis* 1995, 1465.

Witczak, J. Z. *Curr. Med. Chem.* 1999, 6, 165.

Wnuk, S.F. *Tetrahedron* 1993, 49, 9877.

Yuasa, H.; Tamura, J.; Hashimoto, H. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* 1990, 2763.

Yokoyama, M. *Synthesis* 2000, 1637.

Yoshimura, Y.; Kitano, K.; Yamada, K.; Satoh, H.; Watanabe, M.; Miura, S.; Sakata, S.; Sasaki, T.; Matsuda, A. *J. Org. Chem.* 1997, 62, 3140.

Zhu, W.; Chong, Y.; Choo, H.; Mathews, J.; Schinazi, R. F.; Chu, C. K. *J. Med. Chem.* 2004, 47, 1631.

ABSTRACT

In recent years, a large number of investigations has been directed towards the development of drugs for the treatment of viral infections and cancer. The vast majority of approved drugs are analogues of natural nucleosides. Modified nucleosides play an important role in chemotherapy of viral diseases and cancer. The fact that many nucleosides have remarkable antiviral and anticancer activities, makes it important to conduct research on these bioactive agents and their biological properties. Therefore, considering the urgent need for the development of new chemotherapeutic agents and based on the significant pharmacological properties of modified nucleoside analogues, the synthesis of new series of fluorinated thionucleosides, with modified five- and six-membered carbohydrate rings, took place.

Based on the specific chemical properties and the great biological activity of furano- and pyranonucleosides, as a result of both the introduction of fluorine into the sugar moiety and containing sulfur in the sugar ring or as a substituent, while considering the interesting biological properties of fluorinated keto unsaturated pyranonucleoside analogues, in the present work, the synthesis of new series of fluorinated thionucleosides was described.

Initially, the synthesis of a new class of nucleoside analogues, fluoro-5'-thiofuranonucleosides, which combine the presence of fluorine and sulfur, as substituents of the sugar moiety, was studied. Then, the synthesis of new fluorinated 6'-thiopyranonucleosides, in which the presence of a six-membered sugar moiety is combined with the activity of fluorine and sulfur, was described, while the synthesis of unsaturated fluoro-6'-thio-ketonucleosides, possessing fluorine, sulfur and six-membered ring accompanied by the simultaneous presence of a double bond and a keto group, was studied. Finally, the synthesis of two new classes of fluorinated thionucleosides, followed. Fluorinated 5'-thiopyranonucleosides, which combine the introduction of sulfur in the six-membered sugar ring with the simultaneous presence of fluorine, as a substituent, and the corresponding 5'-thio-ketopyranonucleosides, which possess fluorine and sulfur in the six-membered ring together with a keto group, were synthesized.

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

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

An efficient synthesis of 3-fluoro-5-thio-xylofuranosyl nucleosides of thymine, uracil, and 5-fluorouracil as potential antitumor or/and antiviral agents

Evangelia Tsoukala,^a George Agelis,^a Jan Dolinšek,^b Tanja Botič,^b
Avrelja Cencič^{b,c} and Dimitri Komiotis^{a,*}

^aDepartment of Biochemistry and Biotechnology, Laboratory of Organic Chemistry, University of Thessaly, 41221 Larissa, Greece

^bDepartment of Microbiology, Biochemistry and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Maribor, Vrbanska c.30, 2000 Maribor, Slovenia

^cDepartment of Biochemistry, Medical Faculty, University of Maribor, Slovenia

Received 4 December 2006; revised 12 February 2007; accepted 16 February 2007

Available online 20 February 2007

Abstract—1,2:5,6-Di-*O*-isopropylidene- α -D-glucofuranose by the sequence of mild oxidation, reduction, fluorination, periodate oxidation, borohydride reduction, and sulfonylation gave 3-deoxy-3-fluoro-1,2-*O*-isopropylidene-5-*O*-*p*-toluenesulfonyl- α -D-xylofuranose (**5**). Tosylate **5** was converted to thioacetate derivative **6**, which after acetolysis gave 1,2-di-*O*-acetyl-5-*S*-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-5-thio-D-xylofuranose (**7**). Condensation of **7** with silylated thymine, uracil, and 5-fluorouracil afforded nucleosides 1-(5-*S*-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-5-thio- β -D-xylofuranosyl) thymine (**8**), 1-(5-*S*-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-5-thio- β -D-xylofuranosyl) uracil (**9**), and 1-(5-*S*-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-5-thio- β -D-xylofuranosyl) 5-fluorouracil (**10**). Compounds **8**, **9**, and **10** are biologically active against rotavirus infection and the growth of tumor cells.

© 2007 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Although an upsurge in the search for new antitumor agents has recently been observed, the survival rate of patients still remains low and one of the reasons is the poor sensitivity of tumors to drugs. Therefore, new agents capable of suppressing tumor growth would contribute greatly to a better prognosis and current therapy.

Thymidine 5'-monophosphate (TMP), which is essential for cell proliferation, can be furnished either from deoxyuridine 5-phosphate (dUMP) *via* the *de novo* pathway of biosynthesis or from exogenous thymidine. Today, several drugs are effective in blocking this *de novo* pathway.¹ An alternate route to TMP involves transfer of phosphate from a nucleoside 5-triphosphate to thymidine, a reaction which is catalyzed by thymidine kinase (TK).^{1–5} Two are the major forms of TK, which

are identified in mammalian tissues, the mitochondrial thymidine kinase (M-TK) and cytoplasmic thymidine kinase (C-TK).^{2–7} The C-TK is described as the essential precursor in human tumor cell lines and is believed to play a significant role in the biosynthesis of TMP.^{8–12} These data suggest that the use of a drug, which blocks *de novo* TMP biosynthesis and then selectively inhibits the C-TK, might offer a possibility for effective antineoplastic chemotherapy.^{6,7} Among several nucleosides that have been synthesized, 5-alkylthio-5-deoxythymidine derivatives were found to be non-competitive inhibitors of C-TK.^{5–7} Some other 5-alkylthionucleosides have also been found to be potent antitumor or antiviral agents.^{13–16}

On the other hand, a number of fluorine-substituted furanosyl nucleoside analogues have demonstrated a substantial antiviral and anticancer potency.^{17–29} This has been partly attributed to the small size and high electronegativity of fluorine, which is also capable of participating in hydrogen bonding.^{30,31} It appears that the high strength of the C–F bond may hinder metabolic pathways and may increase the effective lifetime of the active molecule. Moreover, the presence of fluorine

Keywords: 3-Deoxy-3-fluoro-5-thio-xylofuranose; Nucleoside; Thymine; Uracil; 5-Fluorouracil; Antiviral; Antitumor agent.

* Corresponding author. Tel.: +302410 565285; fax: +302410 565290; e-mail: dkom@bio.uth.gr

enhances lipophilicity and makes the penetration of the drug through the cell membrane easier.^{32–35} The introduction of fluorine into the sugar moiety, especially in the C-2 and/or C-3 positions, induces antiviral selectivity, as in the case of 2-fluoroarabinothymidine, which demonstrates selective inhibition of Herpes Simplex viruses (HSV-1 and HSV-2).^{21–23} Moreover, 3-fluoro-3-deoxy-thymidine was proven to be very active against human immunodeficiency viruses (HIV) and also a better inhibitor of HIV replication than 3-azido-3-deoxy-thymidine (AZT).^{23–25}

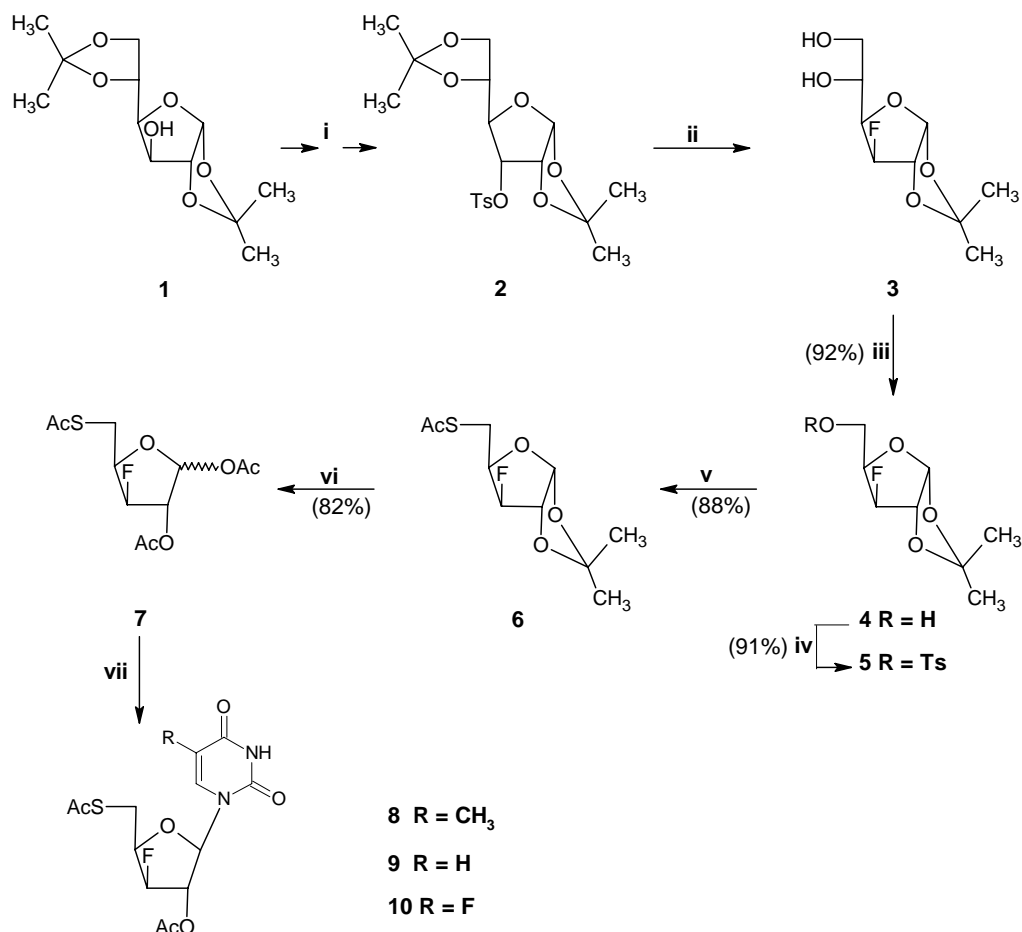
The above observations and the continuous demand for new antitumor and antiviral agents prompted us to design and synthesize a series of 1-(5-*S*-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-5-thio- β -D-xylofuranosyl) nucleosides of thymine, uracil, and 5-fluorouracil (5FU), which we report herein.

2. Results and discussion

2.1. Synthesis

Oxidation of the commercially available 1,2:5,6-di-*O*-isopropylidene- α -D-glucofuranose (**1**) with pyridinium dichromate and acetic anhydride in dichloromethane,

followed by stereoselective reduction with sodium borohydride in methanol and tosylation with *p*-toluenesulfonyl chloride in pyridine, gave the corresponding 1,2:5,6-di-*O*-isopropylidene-3-*O*-toluenesulfonyl- α -D-allofuranose (**2**).^{26–28} (Scheme 1) Displacement of the tosyloxy group at C-3 of **2** by a fluorine atom was effected by reacting **2** with potassium fluoride in acetamide. Selective removal of the 5,6-*O*-isopropylidene group afforded the 3-deoxy-3-fluoro-1,2-*O*-isopropylidene- α -D-glucofuranose (**3**),²⁹ which upon periodate oxidation, followed by borohydride reduction of the resulting aldehyde (one pot), gave 3-deoxy-3-fluoro-1,2-*O*-isopropylidene- α -D-xylofuranose (**4**). Sulfonation of **4** with *p*-toluenesulfonyl chloride in pyridine proceeded readily, giving the tosyl derivative **5** as a white solid. Tosylate **5** was in turn treated with potassium thioacetate in hot *N,N*-dimethylformamide³⁶ to give the corresponding thioacetate **6**, the infrared spectrum of which showed a characteristic absorption at 1697 cm^{-1} (*S*-acetyl group); the NMR spectrum and chemical analysis were also consistent with structure **6**. Acetolysis³⁷ of **6** in the presence of acetic acid, acetic anhydride, and sulfuric acid afforded a mixture of the anomeric diacetates **7** (ratio of α to β anomer, 1:2). Compound **7** showed strong IR absorptions at 1750 cm^{-1} (OAc) and 1697 cm^{-1} (SAc), while in its ¹H NMR spectrum appeared prominent 3-proton methyl signals, belonging to the acetylthio moiety (α : δ 2.36,



Scheme 1. Reagents and Conditions: (i) a—PDC/Ac₂O/CH₂Cl₂; b—NaBH₄/MeOH; c—TsCl/pyridine; (ii) a—KF/acetamide; b—70% AcOH; (iii) NaIO₄/MeOH/NaBH₄; (iv) TsCl/pyridine; (v) KSAc/DMF/100 °C; (vi) Ac₂O/CH₃COOH/H₂SO₄; (vii) silylated base/Me₃SiOSO₂CF₃.

β : δ 2.37) and 6-proton methyl peaks assigned to the acetoxy group (δ : 2.06–2.16). Condensation of the anomeric mixture **7** with the appropriate silylated nucleic acid bases in the presence of trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate afforded solely the protected β -nucleosides, that is the title 1-(5-*S*-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-5-thio- β -D-xylofuranosyl) nucleosides of thymine (**8**), uracil (**9**), and 5FU (**10**), respectively.

2.2. Antiviral activity

The results from the antiviral assays on the newly synthesized compounds are summarized in Table 1 and compared to AZT. In the neutralization assay all three compounds exhibited much higher efficacy (IC_{50}) than AZT. Compound **8** showed the highest direct antiviral effect on rotavirus as the virus vanished at a very low concentration (0.002 mg/mL), while slightly higher concentrations were necessary in the case for compounds **9** and **10** (0.006 mg/mL), in order to achieve the same result. Compound **8** exhibited the highest selectivity as the corresponding CC_{50}/IC_{50} value reached an optimum level. All compounds were also capable of inhibiting the rotavirus infection in Caco-2 cells, as strong inhibition of infectivity was observed after rotavirus attachment to the cells. Inhibition of rotavirus infectivity following virus attachment of all tested compounds was comparable to that of AZT or even slightly better, while their CC_{50}/IC_{50} values were almost of the same magnitude.

2.3. Cytotoxic and growth inhibition activity

The cytotoxicity of compounds **8–10** was measured on H4 normal human intestinal cells and on a series of other human tumor cells, such as human colonic adenocarcinoma derived Caco-2 cells, skin melanoma cells, and epithelial breast cancer derived MCF-7 cell line, and is expressed by the CC_{50} values. The growth

inhibition of Caco-2 cells induced by the new compounds was measured by determining the minimal inhibitory concentration (IC_{50}). The results are summarized in Table 2 and compared with the values obtained for 5FU.

The tested compounds exhibited higher cytotoxicity in tumor cells than in the normal H4 cell line, with the exception of compound **8**, which was 2-fold more toxic (*vide* TSI values) in skin melanoma and MCF-7 cells than in normal cells. Compounds **9** and **10** were highly selective for malignant cells. Comparison with 5FU revealed that these molecules were 2.5-fold Caco-2 cells selective and as selective as 5FU in skin melanoma and MCF-7 cells; compound **10** did not show any MCF-7 cells selectivity. This selective activity of the new compounds is noteworthy and merits further investigation.

The effect of compounds **8–10** on cell growth was determined using Caco-2 cells. As determined by colony numbers after 10 days of incubation, it was found that the new compounds are capable of inhibiting the growth of these cells in a concentration-dependent manner. Compound **8** exhibited growth inhibitory activity (IC_{50} 1.9 μ M) similar to 5FU (IC_{50} 1.5 μ M), but 4-fold less tumor selectivity (TSI 2.5 vs 10). Compounds **9** and **10** were also found to be strong inhibitors of cell growth, but although their effect was somewhat less pronounced than that of 5FU, they were highly selective in malignant cells, as they exhibited a 2.5-fold higher TSI values than 5FU.

3. Conclusion

In conclusion, the newly synthesized 1-(3-deoxy-3-fluoro-5-*S*-acetyl-5-thio- β -D-xylofuranosyl) nucleosides

Table 1. Antiviral activity of nucleosides **8–10** and AZT against rotavirus RF strain on Caco-2 cells (IC_{50})

Compound	Treatment A ^a			Treatment B ^a		
	IC_{50}		CC_{50}/IC_{50} ^b	IC_{50}		CC_{50}/IC_{50}
	(mg/mL)	(μ M)		(mg/mL)	(μ M)	
8	0.002	5.55	10	0.006	16.65	3.33
9	0.006	17.32	3.33	0.006	17.32	3.33
10	0.006	16.47	3.33	0.006	16.47	3.33
AZT	0.020	74.84	0.75 ^c	0.006	22.45	2.5

CC_{50}/IC_{50} ratios were calculated from CC_{50} values given in Table 2.

^a Treatment A, Neutralization of the virus in the solution before its attachment. Treatment B, Inhibition of infectivity following virus attachment.

^b CC_{50}/IC_{50} values were calculated using CC_{50} values in Table 2.

^c CC_{50} for AZT on Caco-2 cells = 56.1 μ M.

Table 2. Cytotoxic effect (CC_{50} , μ M) of compounds **8–10** and 5-fluorouracil (5FU) on Caco-2, H4, MCF 7, and skin melanoma cells, and growth inhibition (IC_{50} μ M) on Caco-2 cells

Compound	Cytotoxic effect (CC_{50} μ M)				TSI ^a			Growth inhibition (IC_{50} μ M)
	H4	Caco-2	Skin melanoma	MCF-7	Caco-2	Skin melanoma	MCF-7	Caco-2
8	138.7	55.5	277.5	277.5	2.5	0.5	0.5	1.9
9	1443.7	57.8	17.3	288.7	25	83.5	5	5.8
10	1372.4	54.9	16.5	1372.4	25	83.2	1	16.5
5FU	3843.8	384.4	46.1	768.8	10	83.4	5	1.5

^a TSI, tumor selectivity index (CC_{50} on H4 cells/ CC_{50} on the specified host cells).

8–10 are good candidates for the development of potential antiviral agents, as significantly lower concentrations of these agents with respect to AZT were needed to neutralize rotavirus infectivity. Further investigation will enable us to elucidate potential mechanisms of their activity and application. The most promising antitumor activity was observed in the case of colon carcinoma treatment, where growth inhibition and cytotoxic effect were achieved at low concentration in comparison to 5FU, although the antitumor activity of the new compounds was in most cases cell type depended.

4. Experimental

4.1. General procedure

Solutions were removed in vacuo below 40 °C under reduced pressure. Melting points were determined on a Mel-Temp apparatus and are uncorrected. Flash chromatography was performed with Silica Gel 60 (220–440 mesh, Merck). TLC was carried out on Silica gel (240–400 mesh, Merck), and the developing solvents were as specified. NMR spectra were recorded at room temperature with a Bruker 400 MHz spectrometer using CDCl₃ as solvent and TMS as internal standard. Chemical shifts (δ) were given in ppm measured downfield from TMS, and spin–spin coupling constants are in Hz. Infrared spectra were obtained with a Perkin–Elmer Model 1600 FT-IR spectrophotometer. Optical rotations were measured using a Schmidt and Haensch polarimeter. All reactions were carried out in dry solvents. CH₃CN was distilled from calcium hydride and stored over 3E molecular sieves. *N,N*-dimethylformamide (DMF) was also stored over 3E molecular sieves, and pyridine over potassium hydroxide pellets.

4.1.1. 3-Deoxy-3-fluoro-1,2-*O*-isopropylidene- α -D-xylofuranose (4). The diol **3**^{26–29} (5.0 g, 22.5 mmol) was added to a stirred solution of NaIO₄ (5.09 g, 23.8 mmol) in H₂O (79 mL) and MeOH (79 mL) leading to immediate precipitation of NaIO₃. After 1 h at room temperature, any residual periodate was destroyed with a drop of ethylene glycol. The reaction mixture was stirred for 1 h at room temperature with NaBH₄ (2.0 g, 52.3 mmol), neutralized with aqueous NaHCO₃, and then extracted with ethyl acetate (EtOAc) (4 × 500 mL). The organic layer was washed with NaHSO₄, dried over anhydrous sodium sulfate, evaporated to dryness, and purified by column chromatography with EtOAc/hexane (2:8) to give compound **4** (4.0 g, 92%, *R*_f = 0.3 in EtOAc/hexane, 2:8).

¹H NMR (CDCl₃): δ 5.91 (d, *J*_{1,2} = 3.8 Hz, 1H, H-1), 4.92 (dd, *J*_{3,F} = 50.4 Hz, *J*_{3,4} = 2.3 Hz, 1H, H-3), 4.62 (dd, *J*_{2,F} = 11.1 Hz, *J*_{2,1} = 3.8 Hz, 1H, H-2), 4.28 (m, 1H, H-4), 3.82 (m, 2H, H-5a and H-5b), 1.41 (s, 3H, CH₃), 1.25 (s, 3H, CH₃).

Found: C, 49.67; H, 7.00; F, 9.63. Calcd for C₈H₁₃FO₄: C, 50.00; H, 6.82; F, 9.89.

ESI-MS *m/z* (relative intensity, %): 193.3 [(M+H⁺), 100].

4.1.2. 3-Deoxy-3-fluoro-1,2-*O*-isopropylidene-5-*O*-*p*-toluenesulfonyl- α -D-xylofuranose (5). To a solution of compound **4** (4.0 g, 20.7 mmol) in dry pyridine (53.1 mL) was added *p*-toluenesulfonyl chloride (5.2 g, 27.6 mmol) and kept overnight at room temperature. After neutralization (NaHCO₃) and extraction with EtOAc (4 × 500 mL), the combined extracts were dried over anhydrous sodium sulfate and evaporated to dryness. Purification of the residue by flash chromatography with EtOAc/hexane (1:9) yielded the title compound (6.5 g, 91%, *R*_f = 0.2 in EtOAc/hexane, 1:9) as a white solid. mp 61 °C.

¹H NMR (CDCl₃): δ 7.4–7.8 (m, 4H, tosyl group), 5.93 (d, *J*_{1,2} = 3.7 Hz, 1H, H-1), 4.96 (dd, *J*_{3,F} = 50.1 Hz, *J*_{3,4} = 1.8 Hz, 1H, H-3), 4.67 (dd, *J*_{2,F} = 10.5 Hz, *J*_{2,1} = 3.7 Hz, 1H, H-2), 4.35–4.49 (m, *J*_{4,F} = 28.1 Hz, *J*_{4,3} = 1.8 Hz, 1H, H-4), 4.18–4.29 (m, 2H, H-5a and H-5b), 2.47 (s, 3H, ArCH₃), 1.48 (s, 3H, CH₃), 1.33 (s, 3H, CH₃).

Found: C, 52.23; H, 5.69; F, 5.72. Calcd for C₁₅H₁₉FO₆S: C, 52.01; H, 5.53; F, 5.48.

ESI-MS *m/z* (relative intensity, %): 347.4 [(M+H⁺), 100].

4.1.3. 3-Deoxy-3-fluoro-1,2-*O*-isopropylidene-5-*S*-acetylthio- α -D-xylofuranose (6). The tosylate **5** (6.5 g, 18.8 mmol) was heated with potassium thioacetate (2.9 g, 25.5 mmol) in DMF (71 mL) at 100 °C for 1 h. The reaction mixture was neutralized with aqueous NaHCO₃. After that, the mixture was concentrated under high vacuum pump to eliminate the DMF. The residue was partitioned between water and EtOAc, the organic extract was dried over anhydrous sodium sulfate, filtered, and evaporated to dryness. The residue was purified by flash chromatography using EtOAc/hexane (1:9) as eluent to give compound **7** (4.1 g, 87%, *R*_f = 0.3 in EtOAc/hexane, 1:9) as a yellow syrup.

IR (Nujol): 1697 (SAC) cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃): δ 5.96 (d, *J*_{1,2} = 3.8 Hz, 1H, H-1), 4.88 (dd, *J*_{3,F} = 50.1 Hz, *J*_{3,4} = 2.1 Hz, 1H, H-3), 4.68 (dd, *J*_{2,F} = 10.8 Hz, *J*_{2,1} = 3.8 Hz, 1H, H-2), 4.19–4.34 (m, *J*_{4,F} = 28.4 Hz, *J*_{4,3} = 2.1 Hz, 1H, H-4), 3.12–3.26 (m, 2H, H-5a and H-5b), 2.36 (s, 3H, SAC), 1.47 (s, 3H, CH₃), 1.31 (s, 3H, CH₃).

Found: C, 48.27; H, 5.89; F, 7.74. Calcd for C₁₀H₁₅FO₄S: C, 47.99; H, 6.04; F, 7.59.

ESI-MS *m/z* (relative intensity, %): 251.4 [(M+H⁺), 100].

4.1.4. 1,2-Di-*O*-acetyl-5-*S*-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-5-thio-D-xylofuranose (7). Compound **6** (4.1 g, 16.5 mmol) was acetylated with 350 mL of a mixture of acetic anhydride–acetic acid–sulfuric acid (70:30:1, v/v). After 3 days, anhydrous ether (600 mL) was added, followed by sodium acetate (25 g). The mixture was filtered and the residue was washed with ether (2 × 500 mL). The combined solutions were co-evaporated with toluene and the residue was purified by flash chromatography

on a silica gel column using EtOAc/hexane (2:8) as eluent. Pure compound **7** was collected as a thick syrup (4.0 g, 82%, $R_f = 0.3$ in EtOAc/hexane, 2:8).

IR (Nujol): 1697 (SAc), 1750 (OAc) cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3): δ 6.45 and 6.11 (α : d, $J_{1,2} = 4.8$ Hz, 0.3H, H-1; β : s, $J_{1,2} = 0.7$ Hz, 0.7H, H-1), 5.29–5.33 (m, 1H, H-2), 4.97 (dd, $J_{3,F} = 50.3$ Hz, $J_{3,4} = 3.7$ Hz, 1H, H-3), 4.31–4.48 (m, $J_{4,F} = 25.8$ Hz, $J_{4,3} = 3.7$ Hz, 1H, H-4), 3.14–3.34 (m, 2H, H-5a and H-5b), 2.36 and 2.37 (β and α , s, 3H, SAc), 2.06–2.16 (m, 6H, OAc).

Found: C, 45.08; H, 5.29; F, 6.31. Calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{FO}_6\text{S}$: C, 44.89; H, 5.14; F, 6.46.

ESI-MS m/z (relative intensity, %): 295.4 [(M+H⁺), 100].

4.1.5. 1-(5-S-Acetyl-3-deoxy-3-fluoro-5-thio- β -D-xylofuranosyl) thymine (8). A mixture of thymine (2.4 g, 18.9 mmol), hexamethyldisilazane (4.9 mL, 23.3 mmol), and saccharine (0.115 g, 0.63 mmol) in anhydrous CH_3CN (65 mL) was refluxed at 120 °C for 20 min. To this were added diacetylated 3-deoxy-3-fluoro-5-S-acetyl-5-thio-D-xylofuranose **7** (4.0 g, 13.5 mmol) and trimethylsilyl trifluoromethane-sulfonate (3.4 mL, 19 mmol). The reaction mixture was refluxed at 80 °C for 2 h. The mixture was neutralized with aqueous NaHCO_3 , then diluted with water and extracted with EtOAc (1000 mL). The extract was dried over sodium sulfate, filtered, and evaporated to a syrup, which was purified by column chromatography using EtOAc/hexane (8:2) to afford the title compound (2.7 g, 56%, $R_f = 0.35$ in EtOAc/hexane, 8:2).

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} + 28.9$ (c 0.25, CHCl_3)

IR (Nujol): 1697 (SAc), 1750 (OAc) cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3): δ 8.67 (br s, NH), 7.26 (s, 1H, H-6'), 6.06 (d, $J_{1,2} = 2.2$ Hz, 1H, H-1), 5.23 (d, $J_{2,F} = 16.9$ Hz, $J_{2,1} = 2.2$ Hz, 1H, H-2), 4.99 (dd, $J_{3,F} = 50.2$ Hz, $J_{3,4} = 2.3$ Hz, 1H, H-3), 4.11–4.26 (m, $J_{4,F} = 28.7$ Hz, $J_{4,3} = 2.3$ Hz, 1H, H-4), 3.29–3.33 (m, 2H, H-5a and H-5b), 2.40 (s, 3H, SAc), 2.14 (s, 3H, OAc), 1.94 (s, 3H, 5'- CH_3).

Found: C, 46.91; H, 5.13; F, 5.46; N, 7.52. Calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{FN}_2\text{O}_6\text{S}$: C, 46.66; H, 4.75; F, 5.27; N, 7.77.

ESI-MS m/z (relative intensity, %): 361.4 [(M+H⁺), 100].

4.1.6. 1-(5-S-Acetyl-3-deoxy-3-fluoro-5-thio- β -D-xylofuranosyl) uracil (9). Compound **9** was obtained from the 1,2-Di-*O*-acetyl-5-S-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-5-thio-D-xylofuranose (**7**) (4.0 g, 13.5 mmol), according to the general procedure as described for 1-(5-S-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-5-thio- β -D-xylofuranosyl) thymine (**8**). After purification on silica gel column using EtOAc/hexane (8:2), the title nucleoside **9** was obtained (2.4 g, 51%, $R_f = 0.3$ in EtOAc/hexane, 8:2).

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} + 27.6$ (c 0.25, CHCl_3)

IR (Nujol): 1697 (SAc), 1750 (OAc) cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3): δ 7.37 (d, $J_{6',5'} = 8.2$ Hz, 1H, H-6'), 6.03 (d, $J_{1,2} = 2.0$ Hz, 1H, H-1), 5.79 (d, $J_{5',6'} = 8.2$ Hz, 1H, H-5'), 5.24 (dd, $J_{2,F} = 16.0$ Hz, $J_{2,1} = 2.0$ Hz, 1H, H-2), 4.97 (dd, $J_{3,F} = 50.0$ Hz, $J_{3,4} = 2.2$ Hz, 1H, H-3), 4.16–4.27 (m, $J_{4,F} = 28.9$ Hz, $J_{4,3} = 2.2$ Hz, 1H, H-4), 3.24–3.36 (m, 2H, 1H, H-5a and 1H, H-5b), 2.40 (s, 3H, SAc), 2.15 (s, 3H, OAc).

Found: C, 45.33; H, 4.63; F, 5.26; N, 7.82. Calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{FN}_2\text{O}_6\text{S}$: C, 45.08; H, 4.37; F, 5.49; N, 8.09.

ESI-MS m/z (relative intensity, %): 347.5 [(M+H⁺), 100].

4.1.7. 1-(5-S-Acetyl-3-deoxy-3-fluoro-5-thio- β -D-xylofuranosyl) 5-fluorouracil (10). A mixture of 5FU (2.5 g, 18.9 mmol), hexamethyldisilazane (5.0 mL, 23.4 mmol), and saccharine (0.159 g, 0.87 mmol) in anhydrous CH_3CN (59 mL) was refluxed at 120 °C for 20 min. After cooling to rt, diacetylated compound **7** (4.0 g, 13.5 mmol) was added, followed by trimethylsilyl trifluoromethane-sulfonate (3.4 mL, 19 mmol). The reaction mixture was stirred at rt for 6 h, then diluted with EtOAc (1000 mL), washed with aqueous NaHCO_3 and finally with water. The organic layer was dried over sodium sulfate, filtered, and evaporated to syrup. The resulting material was purified by column chromatography using EtOAc/hexane (5:5) to give pure **10** (2.7 g, 55%, $R_f = 0.3$ in EtOAc/hexane, 5:5).

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} + 36.8$ (c 0.25, CHCl_3)

IR (Nujol): 1697 (SAc), 1750 (OAc) cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3): δ 7.74 (d, $J_{6,F5} = 5.8$ Hz, 1H, H-6'), 6.01 (dd, $J_{1,2} = 1.9$ Hz, $J_{1,F5} = 1.7$ Hz, 1H, H-1), 5.23 (dd, $J_{2,F} = 16.0$ Hz, $J_{2,1} = 1.9$ Hz, 1H, H-2), 4.98 (dd, $J_{3,F} = 50.0$ Hz, $J_{3,4} = 2.2$ Hz, 1H, H-3), 4.16–4.28 (m, $J_{4,F} = 28.8$ Hz, $J_{4,3} = 2.2$ Hz, 1H, H-4), 3.25–3.37 (m, 2H, 1H, H-5a and 1H, H-5b), 2.40 (s, 3H, SAc), 2.15 (s, 3H, OAc).

Found: C, 43.11; H, 3.63; F, 10.66; N, 7.42. Calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$: C, 42.86; H, 3.87; F, 10.43; N, 7.69.

ESI-MS m/z (relative intensity, %): 365.5 [(M+H⁺), 100].

4.2. Methods for measurement of biological activity

4.2.1. Cells and culture conditions. The human colonic adenocarcinoma Caco-2 cells were a generous gift of dr. Rene L'Harridon, INRA, VIM, Jouy-en-Josas, France; human fetal small intestine cell line H4, breast carcinoma cell line MCF 7, and skin melanoma cell line were used. Cells were grown in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, Sigma–Aldrich, Grand Island, USA), supplemented with 5% fetal calf serum (Cambrex, Verviers, Belgium), L-glutamine (2 mmol/L, Sigma, St. Louis, USA), penicillin (100 U/mL, Sigma, St. Louis, USA), and streptomycin (1 mg/mL, Fluka, Buchs, Switzerland) at 37 °C in 5% CO_2 atmosphere in tissue

culture flasks until confluent. Cell culture medium was regularly changed.

4.2.2. Fluoro-thiofuranosyl nucleosides. Stock drug solutions were freshly prepared in sterile dimethylsulfoxide (DMSO) at the concentration of 0.5 mg/mL. The final concentration of DMSO in the cell culture medium was less than 0.1%. All solutions were protected against light.

AZT (Retrovir[®]) GlaxoSmithKline, USA, a drug used for antiretroviral therapy (ART) was used as a standard compound in antiviral experiments and 5FU as a standard compound in antitumor experiments. Solutions were prepared in the same way as those of fluoro-thiofuranosyl nucleosides.

4.2.3. Virus propagation. Rotavirus RF strain was propagated on Caco-2 monolayers in the presence of trypsin (1 µg per mL of DMEM) as described previously.³⁸ Supernatant containing the virus was collected from the flasks when cytopathic effect (CPE) was observed (24–48 h at 37 °C) by microscopy and clarified by centrifugation. Virus was stored at –70 °C until used. For the antiviral assay, virus with 1.5 tissue culture infective dose 50% units per mL (TCID₅₀/mL) was used (100 µL per well).

4.2.4. Antiviral assay. The potential antiviral activity of the newly synthesized compounds was tested against rotavirus by investigating:

(a) *The inhibition of infectivity following virus attachment:* Washed monolayer Caco-2 cells were first incubated with rotavirus for 1 h at 37 °C in the presence of 5% CO₂ (time for virus to attach to cell membrane receptors). After incubation, the remaining virus was washed off with DMEM without supplements and monolayer was treated immediately with the nucleoside added in 3-fold serial dilutions (initial concentration of 0.5 mg/mL). After 72 h of incubation for rotavirus, the plates were stained with Crystal Violet in ethanol, rinsed with water, and destained with 10% (v/v) acetic acid. The A₅₉₀ was measured, and the results were expressed, for each dilution, by the mean ratios (% , ±SD) of absorbances in virus-infected wells (n = 6) compared to those in control (only virus-infected) wells (n = 6). The minimal inhibitory concentration (IC₅₀) of the tested compounds was obtained from the concentration–effect curve.

(b) *The neutralization of the virus in solution before attachment:* Threefold dilutions of the tested compound (initial concentration of 0.5 mg/mL) were first pre-incubated with rotavirus in DMEM supplemented with trypsin for 12 h prior to the infection of cell monolayer at 37 °C and 5% CO₂. Residual viral infectivity was measured after 72-h of infection for rotavirus. Rotavirus alone was treated in the same way as the control. After 72-h of incubation, the plates were stained with Crystal Violet in ethanol, rinsed with water, and destained with 10% (v/v) acetic acid. The A₅₉₀ was measured, and the results were expressed, for each dilution, by the mean

ratios (% , ±SD) of absorbances in virus-infected wells (n = 6) in comparison to those in control (only virus-infected) wells (n = 6). The minimal inhibitory concentration (IC₅₀) of the tested compounds was obtained from the concentration–effect curve.

4.2.5. Growth inhibition assay. It was performed on Caco-2 cell line by modified method described previously.³⁹ Briefly, in 96-well plates, six wells of 3-fold dilutions of compound (initial concentration of 0.5 mg/mL) were applied to monolayers of 10 cells/well in DMEM/10% fetal bovine serum. Incubation was performed at 37 °C in the humidified incubator for 10 days. The colonies were counted in each well and the results were expressed, for each dilution, by the mean ratios (% , ±SD) of colony number in treated wells (n = 2) in contrast with those in control wells (n = 24). The minimal inhibitory concentration (IC₅₀) of the tested compounds was obtained from the concentration–effect curve.

4.2.6. Cytotoxicity assay. Caco-2, H4, MCF 7, and skin melanoma cells (6 × 10⁶ cells per plate) were seeded in P 96 plate and treated with the compounds at 3-fold serial dilutions of each compound (initial concentration of 0.5 mg/mL). Then, the cells were incubated at 37 °C in the humidified incubator for 72 h. The plates were stained with Crystal Violet in ethanol, rinsed with water, and destained with 10% (v/v) acetic acid. The A₅₉₀ was measured, and the results were expressed, for each dilution, by the mean ratios (% , ±SD) of absorbances in treated wells (n = 2) compared to those in control wells (n = 24). The minimal inhibitory concentration (CC₅₀) of the tested compounds was obtained from the concentration–effect curve.

Acknowledgments

The authors are grateful to Dr. K. Antonakis (Ec. Nat. Sup. de Chimie de Paris; CNRS-FRE 2463) for encouraging this work, to Dr. T. Halmos (Ec. Nat. Sup. de Chimie de Paris) and to Associate Professor K. Litinas (Chem. Dpt. Arist. Univ. of Thessaloniki) for their unstinted and fruitful aid, as well as ELPEN pharmaceuticals for financial support.

References and notes

1. Girard, F.; Leonce, S.; Agrofoglio, L. A. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 7535.
2. Munch-Peterson, B.; Cloos, L.; Jensen, K. H.; Tyrsted, G. *Adv. Enzyme Regul.* **1995**, *35*, 69.
3. Yamada, N.; Sawasaki, Y.; Nakajima, H. *Brain Res.* **1980**, *195*, 485.
4. Look, K. Y.; Moore, D. H.; Sutton, G. P.; Prajda, N.; Abonyi, M.; Weber, G. *Anticancer Res.* **1997**, *17*, 2353.
5. Hampton, A.; Chawla, R. R.; Kappler, F. *J. Med. Chem.* **1982**, *25*, 644.
6. Hampton, A.; Kappler, F.; Chawla, R. R. *J. Med. Chem.* **1979**, *22*, 621.
7. Najim, A. Al-Masoudi *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 4795.
8. Attardi, B.; Attardi, G. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1972**, *69*, 2874.

9. Taylor, A. T.; Stafford, M. A.; Jones, O. W. *J. Biol. Chem.* **1972**, *247*, 1930.
10. Berk, A. J.; Clayton, D. A. *J. Biol. Chem.* **1973**, *248*, 2722.
11. Kit, S.; Leung, C. W. *J. Cell Biol.* **1974**, *61*, 35.
12. Lee, S. L.; Cheng, C. Y. *J. Biol. Chem.* **1976**, *251*, 2600.
13. Lesnikowski, J. Z.; Shi, J.; Shinazi, F. R. *J. Organomet. Chem.* **1999**, *581*, 156.
14. Rosowsky, A.; Kim, S. H.; Trites, D.; Wick, M. *J. Med. Chem.* **1982**, *25*, 1034.
15. Harada, K.; Matulic-Adamic, J.; Price, R. W.; Schinazi, R. F.; Watanabe, K. A.; Fox, J. J. *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 226.
16. Rao, T. S.; Jayaraman, K.; Durland, R. H.; Revanker, G. R. *Nucleosides Nucleotides* **1994**, *13*, 255.
17. Chong, Y.; Choo, H.; Choi, Y.; Mathew, J.; Shinazi, F. R.; Chu, K. C. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 4888.
18. Qiu, L. X.; Qing, L. F. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 277.
19. Shi, J.; Du, J.; Ma, T.; Pankiewicz, W. K.; Patterson, E. S.; Tharnish, M. P.; McBrayer, R. T.; Stuyver, J. L.; Otto, J. M.; Chu, K.; Shinazi, F. R.; Watanabe, A. K. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 1641.
20. Chong, Y.; Gumina, G.; Mathew, S. J.; Schinazi, F. R.; Chu, K. C. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 3245.
21. Kumar, P.; Ohkura, K.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Seki, K.; Wiebe, I. L. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2004**, *23*, 7.
22. Sidwell, R. W.; Huffaman, J. H. *Appl. Microbiol.* **1971**, *22*, 780.
23. Pankiewicz, W. K. *Carbohydr. Res.* **2000**, *327*, 87.
24. Koshida, R.; Cox, S.; Harmenberg, G.; Gilljam, G.; Wahren, B. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1989**, *33*, 2083.
25. Balzarini, J.; Baba, M.; Pauwels, R.; Herdewijn, P.; De Clercq, E. *Biochem. Pharmacol.* **1988**, *37*, 2847.
26. Elhalabi, J.; Rice, G. K. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2004**, *23*, 195.
27. Baker, C. D.; Horton, D.; Tindall, G. C. *Carbohydr. Res.* **1972**, *24*, 192.
28. Foster, A. B.; Hems, R.; Webber, J. M. *Carbohydr. Res.* **1967**, *5*, 292.
29. Reichman, U.; Watanabe, A. K.; Fox, J. J. *Carbohydr. Res.* **1975**, *42*, 233.
30. Clark, J. L.; Mason, J. C.; Hollecker, L.; Stuyver, L. J.; Tharnish, P. M.; McBrayer, T. R.; Otto, M. J.; Furman, A. P.; Schinazi, R. F.; Watanabe, K. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 1712.
31. Fuentes, J.; Angulo, M.; Pradera, M. A. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 2577.
32. Van Aerschot, A.; Herdewijn, P.; Balzarini, J.; Pawels, R.; De Clercq, E. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 1743.
33. Blandin, M.; Tran-Dinh-Son.; Catlin, J. C.; Guschlbauer, W. *Biochim. Biophys. Acta* **1974**, *361*, 249.
34. Morton, G. O.; Lancaster, J. E.; Van Lear, G. E.; Fulmor, W.; Meyer, W. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 1535.
35. Lipnick, R. L.; Fissekis, J. D. *Biochim. Biophys. Acta* **1980**, *608*, 96.
36. Hughes, A. N.; Munkombwe, M. N. *Carbohydr. Res.* **1985**, *136*, 397.
37. Chiu, W. C.; Whistler, L. R. *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 832.
38. Kitaoka, S.; Suzuki, H.; Numazaki, Y.; Konno, T.; Ishida, N. *Tohoku J. Exp. Med.* **1986**, *149*, 437.
39. Cencić, A.; Henry, C.; Lefèvre, F.; Huet, J. H.; Koren, S.; La Bonnardière, C. *Eur. J. Biochem.* **2002**, *269*, 2772.

Note

A concise synthesis of 3-fluoro-5-thio-xylo- and glucopyranoses, useful precursors towards their corresponding pyranonucleoside derivatives

Evangelia Tsoukala, Stella Manta, Niki Tzioumaki, George Agelis and Dimitri Komiotis*

*Department of Biochemistry and Biotechnology, Laboratory of Organic Chemistry, University of Thessaly,
26 Ploutonos Str., GR-41221 Larissa, Greece*

Received 14 December 2007; received in revised form 1 February 2008; accepted 4 February 2008

Available online 10 February 2008

Abstract—The chemical synthesis of 1,2,4-tri-*O*-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-5-thio-*D*-xylopyranose, 1,2,4,6-tetra-*O*-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-5-thio- α -*D*-glucopyranose and their corresponding nucleosides of thymine is described. Treatment of 3-fluoro-5-*S*-acetyl-5-thio-*D*-xylofuranose, obtained by hydrolysis of the isopropylidene group of 3-fluoro-1,2-*O*-isopropylidene-5-*S*-acetyl-5-thio-*D*-xylofuranose, with methanolic ammonia and direct acetylation, led to triacetylated 3-deoxy-3-fluoro-5-thio-*D*-xylopyranose. Condensation of acetylated 3-fluoro-5-thio-*D*-xylopyranose with silylated thymine afforded the corresponding nucleoside. Selective benzoylation and direct methanesulfonylation of 3-fluoro-1,2-*O*-isopropylidene- α -*D*-glucofuranose gave the 6-*O*-benzoyl-5-*O*-methylsulfonyl derivative, which on treatment with sodium methoxide afforded the 5,6-anhydro derivative. Treatment of the latter with thiourea, followed by acetolysis, gave the 3-fluoro-5-*S*-acetyl-6-*O*-acetyl-1,2-*O*-isopropylidene-5-thio- α -*D*-glucofuranose. 3-Fluoro-5-*S*-acetyl-6-*O*-acetyl-5-thio-*D*-glucofuranose, obtained after hydrolysis of 5-thiofuranose isopropylidene, was treated with ammonia in methanol and directly acetylated, giving tetraacetylated 3-deoxy-3-fluoro-5-thio- α -*D*-glucopyranose. Condensation of the latter with silylated thymine afforded the desired 3-deoxy-3-fluoro-5-thio- β -*D*-glucopyranonucleoside analogue.

© 2008 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Thiosugars; Thionucleosides; 3-Fluoro-5-thioxylopyranose; 3-Fluoro-5-thio-glucopyranose; Thymine

Thiosugars and their derivatives, containing a sulfur atom in the ring, possess unique physicochemical properties and exhibit remarkable biological activities.^{1–3} Thionucleosides have been studied extensively,^{4–8} because of their potent biological activities,^{4,5,9} and have been recognized as a novel and important class of antiviral^{6,9} and antitumour candidates.^{5–9}

In recent years, there has been a great deal of activity in the synthesis of fluorine-containing nucleosides and analogues due to the unique properties of the fluorine atom.¹⁰ The promising therapeutic potential of fluoronucleosides along with the unique biological activities of 4'-thionucleosides has drawn special attention on

the design and synthesis of fluorinated-4'-thionucleosides.^{11,12}

Despite the ever increasing profile of 4'-thionucleosides as clinically useful agents and the interesting biological properties of 5-thiopyranoses,^{13–16} very few systematic studies on 5-thiopyranosyl analogues have been reported, even though nucleosides with a six-membered carbohydrate moiety are known for their significant antiviral^{17,18} and antibiotic¹⁹ properties.

Our recent work on the synthesis of modified nucleoside analogues^{20–22} indicated that fluoropyranonucleosides are efficient antitumour growth inhibitors and have a promising potential in combating rotaviral infections. As a continuation of our studies and based on the evidence that the presence of sulfur in the sugar ring of nucleosides stabilizes the *N*-glycosyl linkage, we report herein on the preparation of 3-fluoro-5-thio-xylo- and

* Corresponding author. Tel.: +30 2410 565285; fax: +30 2410 565290; e-mail: dkom@bio.uth.gr

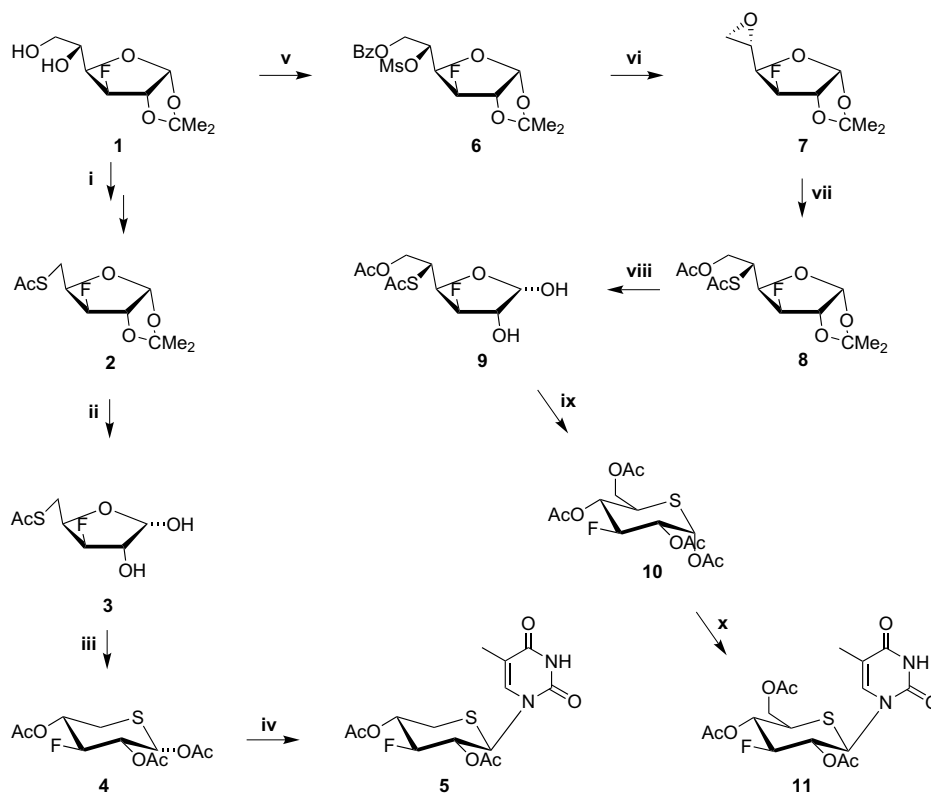
glucopyranoses, useful precursors for the synthesis of 3-fluoro-5-thio-xylo- and glucopyranonucleoside analogues.

3-Deoxy-3-fluoro-1,2-*O*-isopropylidene- α -D-glucopyranose²² (**1**) was chosen as starting material for the synthesis of 5-thioxylopyranose (Scheme 1). Oxidation of diol **1**, followed by reduction, sulfonylation and treatment with potassium thioacetate gave the desired thioacetate **2**.²² Treatment of **2** with sodium methoxide²³ gave the corresponding thiol, which underwent simultaneous oxidation to the disulfide (ESIMS: m/z 415.6 [$M+H^+$]). Since deacetylation of **2** before deisopropylideneation gave a disulfide, the isopropylidene acetal group of **2** was first hydrolyzed with 90% aqueous trifluoroacetic acid at room temperature²⁴ to give **3**. Acetate deprotection of **3** with methanolic ammonia²⁵ followed by direct standard acetylation gave a mixture of the anomeric 5-thioxylopyranose triacetates **4**, in a 4:1 α/β ratio. This was corroborated by the coupling constants (α : $J_{1',2'}$ 2.5 Hz, $J_{2',3'}$ 9.5 Hz, $J_{3',4'}$ 9.5 Hz; β : $J_{1',2'}$ 8.8 Hz, $J_{2',3'}$ 8.6 Hz, $J_{3',4'}$ 8.6 Hz) in the ¹H NMR spectrum of **4**. The tri-*O*-acetyl derivative showed no absorption characteristic of an *S*-acetyl group at 1697 cm⁻¹; this compound, therefore, must have a thiopyranose structure. Condensation of the anomeric mixture **4** with silylated

thymine in the presence of Sn(IV) chloride afforded solely the protected β -nucleoside **5**. In the ¹H NMR spectrum of this nucleoside, H-1' appeared as a doublet at δ 5.75 with a high $J_{1',2'}$ value (10.7 Hz), which indicated that the sugar moiety adopted the β -configuration.

Compound **1** was also used as a donor for the synthesis of 5-thioglucofuranose (Scheme 1). Selective benzoylation of the primary hydroxyl group at C-6 with benzoyl chloride in pyridine at -25 °C afforded the corresponding 6-benzoate; this was mesylated with methanesulfonyl chloride in pyridine to give the 6-*O*-benzoyl-5-*O*-methanesulfonyl derivative (**6**).²⁶

Diester **6** in dry chloroform was treated with sodium methoxide²⁷ in methanol to give 5,6-epoxide **7**. Treatment of this epoxide with thiourea, followed by acetylation,²⁶ gave 5-thiofuranose **8**. The IR spectrum of **8** exhibited characteristic absorptions at 1730 (*O*-acetyl group) and 1685 cm⁻¹ (*S*-acetyl group). Isopropylidene **8** was then hydrolyzed over 20 min with 90% aqueous TFA at room temperature²⁴ to give 3-deoxy-3-fluoro-5-*S*-acetyl-6-*O*-acetyl-5-thio-D-glucopyranose (**9**). Treatment of **9** with methanolic ammonia²⁵ and direct standard acetylation gave the 5-thioglucofuranose tetraacetate **10**, mainly as the α -anomer showing $J_{1',2'}$ 3.2 Hz, $J_{2',3'}$ 10.0 Hz, $J_{3',4'}$ 9.5 Hz in its ¹H NMR spectrum.



Scheme 1. Reagents and conditions: (i) (a) NaIO₄/MeOH; (b) NaBH₄/MeOH; (c) TsCl/pyridine; (d) KSAc/DMF/100 °C; (ii) 90% TFA; (iii) (a) NH₃, MeOH; (b) Ac₂O, pyridine; (iv) silylated thymine, Sn(IV) chloride; (v) (a) BzCl/pyridine/-25 °C; (b) MsCl/pyridine; (vi) NaOMe/CHCl₃; (vii) (a) thiourea/MeOH; (b) KOAc/AcOH/Ac₂O/140 °C; (viii) 90% TFA; (ix) (a) NH₃, MeOH; (b) Ac₂O, pyridine; (x) silylated thymine, Sn(IV) chloride.

Silylated thymine was condensed with the thiopyranose tetraacetate **10** using Sn(IV) chloride as catalyst to give the protected β -nucleoside **11**. The ^1H NMR spectrum of **11** showed large $J_{\text{H,H}}$ coupling values of $J_{1',2'}$ 10.7 Hz, $J_{2',3'}$ 9.0 Hz, $J_{3',4'}$ 9.7 Hz, indicative for the β -configuration of the sugar moiety.

In summary, we have accomplished the synthesis of two 3-fluoro-5-thiopyranoses (**4** and **10**). Furthermore, the usefulness of those analogues was exemplified by their easy transformation to their corresponding pyranonucleoside derivatives **5** and **11**.

1. Experimental

1.1. General

Melting points were recorded in a Mel-Temp apparatus and are uncorrected. TLC was performed on Merck pre-coated 60F₂₅₄ plates. Reactions were monitored by TLC on silica gel, with detection by UV light (254 nm) or by charring with sulfuric acid. Flash chromatography was performed using silica gel (240–400 mesh, Merck).

NMR spectra were recorded at room temperature using a Bruker 400 MHz spectrometer. CDCl₃ and/or CD₃OD with internal tetramethylsilane (TMS) for ^1H and internal trifluorotoluene (TFT) for decoupled ^{19}F were used. The chemical shifts are expressed δ . Infrared spectra were obtained with a Perkin–Elmer Model 1600 FT-IR spectrophotometer. Optical rotations were measured using Autopol I polarimeter. All reactions were carried out in dry solvents. MeCN was distilled from calcium hydride and stored over 3E molecular sieves. DMF was also stored over 3E molecular sieves. Pyridine was stored over pellets of potassium hydroxide. All reactions sensitive to oxygen or moisture were carried out under nitrogen atmosphere.

1.2. 3-Deoxy-3-fluoro-5-S-acetyl-5-thio-D-xylofuranose (**3**)

A soln of thioacetate **2**²² (4.20 mmol, 1.05 g) in 90% TFA (105 mL) was stirred for 20 min at room temperature. The mixture was extracted with EtOAc and the extract was sequentially washed with satd aq NaHCO₃ and brine, dried (Na₂SO₄) and concentrated under diminished pressure to leave a residue, which was purified by flash column chromatography (1:1 hexane–EtOAc, R_f 0.2) to give 0.64 g (72%) of diol **3** as a colourless syrup: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +8$ (c 0.1, MeOH); IR (Nujol); ν 1697 cm⁻¹ (SAc); ^1H NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ 5.41 (d, 0.3H, $J_{1',2'}$ 3.6 Hz, H-1'(α)), 5.13 (s, 0.7H, H-1'(β)), 4.41–4.08 (m, 5H, H-2', H-3', H-4' and H-5'_{a,b}(α,β)), 2.37 (s, 2.1H, SAc(β)), 2.36 (s, 0.9H, SAc(α)). Anal. Calcd for C₇H₁₁FO₄S: C, 39.99; H, 5.27. Found: C, 40.14; H, 5.32. ESIMS: m/z 211.3 [M+H⁺].

1.3. 1,2,4-Tri-O-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-5-thio-D-xylopyranose (**4**)

A soln of diol **3** (3.02 mmol, 0.64 g) in methanolic ammonia soln (67 mL) was stirred for 2 h at room temperature. The reaction mixture was concentrated under diminished pressure and crude was obtained as a colourless oil. Acetylation of the residue with Ac₂O–pyridine (1:2, 60.4 mL) and chromatography of the product (3:2 hexane–EtOAc, R_f 0.4) gave 0.58 g (65%) of triacetate mixture **4** as a colourless syrup (α/β 4:1, NMR): $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +121$ (c 0.1, CHCl₃); ^1H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 6.09 (d, 0.8H, $J_{1',2'}$ 2.5 Hz, H-1'(α)), 5.81 (d, 0.2H, $J_{1',2'}$ 8.8 Hz, H-1'(β)), 5.47–5.15 (m, 2H, H-2', H-4'(α,β)), 4.72 (dt, 0.8H, J 9.5 Hz, $J_{3',\text{F}}$ 50.9 Hz, H-3'(α)), 4.42 (dt, 0.2H, J 8.6 Hz, $J_{3',\text{F}}$ 49.1 Hz, H-3'(β)), 2.99–2.61 (m, 2H, H-5'_{a,b}(α,β)), 2.16, 2.12, 2.07 (3s, 7.2H, 3OAc(α)), 2.11, 2.10, 2.09 (3s, 1.8H, 3OAc(β)). Anal. Calcd for C₁₁H₁₅FO₆S: C, 44.89; H, 5.14. Found: C, 44.74; H, 5.27. ESIMS: m/z 295.4 [M+H⁺].

1.4. 1-(2,4-Di-O-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-5-thio- β -D-xylopyranosyl)thymine (**5**)

A mixture of thymine (3.33 mmol, 0.42 g), hexamethyl-disilazane (HMDS) (4.12 mmol, 0.9 mL) and saccharine (0.15 mmol, 27 mg) in anhyd MeCN (10.4 mL) was refluxed for 30 min. To this were added triacetylated 3-deoxy-3-fluoro-5-thio-D-xylopyranose (**4**) (1.96 mmol, 0.58 g) and Sn(IV) chloride (3.34 mmol, 0.39 mL). The reaction mixture was refluxed for 2 h, then cooled, neutralized with satd aq NaHCO₃ and extracted with CH₂Cl₂ (500 mL). The organic layer was washed with water (3 \times 10 mL) and dried (Na₂SO₄), evaporated to dryness, and purified by flash chromatography (7:3 hexane–EtOAc, R_f 0.4) to give 0.48 g (68%) of **5** as white crystals: mp 239–241 °C (hexane–EtOAc); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +42$ (c 0.1, CHCl₃); λ_{max} (CHCl₃) 260 nm (ϵ 8400); ^1H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 8.28 (br s, 1H, NH), 7.26 (s, 1H, H-6), 5.75 (d, 1H, $J_{1',2'}$ 10.7 Hz, H-1'), 5.47 (q, 1H, $J_{2',3'}$ 9.1 Hz, H-2'), 5.21 (dd, 1H, $J_{3',4'}$ 9.2 Hz, $J_{4',5'a}$ 11.2 Hz, $J_{4',5'b}$ 4.9 Hz, H-4'), 4.46 (dt, 1H, $J_{3',\text{F}}$ 49.6 Hz, H-3'), 3.01–2.93 (m, 1H, H-5'_b), 2.82–2.74 (m, 1H, H-5'_a), 2.13 and 2.05 (2s, 6H, 2OAc), 1.94 (s, 3H, 5-CH₃); ^{19}F NMR: δ -65.42. Anal. Calcd for C₁₄H₁₇FN₂O₆S: C, 46.66; H, 4.75; N, 7.77. Found: C, 46.74; H, 4.57; N, 7.53. ESIMS: m/z 361.4 [M+H⁺].

1.5. 3-Deoxy-3-fluoro-6-O-benzoyl-1,2-O-isopropylidene-5-O-methanesulfonyl- α -D-glucofuranose (**6**)

To a stirred soln of **1**²² (9.20 mmol, 2.05 g) in pyridine (9.2 mL)–CH₂Cl₂ (18 mL) at between -30 °C and -20 °C was slowly added a soln of BzCl (1.3 mL) in CH₂Cl₂ (12 mL) during 1 h, followed by MsCl (0.9 mL). The reaction mixture was gradually warmed

to room temperature, and the mixture was stirred overnight, washed several times with satd aq NaHCO₃ soln and evaporated. The residue was chromatographed on a column of silica gel (4:1 hexane–EtOAc, *R_f* 0.2) to give 2.90 g (78%) of **6** as an oil: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -21$ (*c* 0.1, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 8.10–8.05 and 7.61–7.42 (m, 5H, ArH), 6.01 (d, 1H, *J*_{1',2'} 3.6 Hz, H-1'), 5.25–5.18 (m, 1H, H-5'), 5.12 (dd, 1H, *J*_{3',F} 49.5 Hz, *J*_{3',4'} 2.1 Hz, H-3'), 4.89 (dd, 1H, *J*_{6'a,6'b} 12.9 Hz, *J*_{5',6'a} 2.1 Hz, H-6'a), 4.74 (dd, 1H, *J*_{2',F} 10.1 Hz, H-2'), 4.52 (dd, 1H, *J*_{5',6'b} 6.1 Hz, H-6'b), 4.42 (dd, 1H, *J*_{4',5'} 8.2 Hz, H-4'), 3.06 (s, 3H, SO₂Me), 1.49 (s, 3H, CH₃), 1.34 (s, 3H, CH₃); ¹⁹F NMR: δ –65.0. Anal. Calcd for C₁₇H₂₁FO₈S: C, 50.49; H, 5.23. Found: C, 50.54; H, 5.37. ESIMS: *m/z* 405.6 [M+H⁺].

1.6. 3-Deoxy-3-fluoro-5,6-anhydro-1,2-*O*-isopropylidene- β -L-idofuranose (**7**)

To a soln of **6** (7.17 mmol, 2.90 g) in dry CHCl₃ (29 mL), cooled to –15 °C, was added, with stirring, an ice-cooled soln of freshly prepared NaOMe methoxide in MeOH (0.14 g of Na in 9 mL MeOH). The mixture was stirred overnight below 0 °C, extracted with EtOAc and the extract was washed with brine, then dried (Na₂SO₄) and concentrated. The crude 5,6-anhydro compound **7** was sufficiently pure for the next reaction after chromatography (4:1 hexane–EtOAc, *R_f* 0.4), which gave 1.04 g (71%) of compound **7** as an oil: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -37$ (*c* 0.1, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 6.05 (d, 1H, *J*_{1',2'} 3.7 Hz, H-1'), 4.97 (dd, 1H, *J*_{3',F} 50.1 Hz, *J*_{3',4'} 2.4 Hz, H-3') 4.72 (dd, 1H, *J*_{2',F} 11.1 Hz, H-2'), 3.93 (dd, 1H, *J*_{4',5'} 6.0 Hz, H-4'), 3.28–3.21 (m, 1H, H-5'), 2.90–2.87 and 2.74–2.70 (m, 2H, H-6'a,b), 1.47 (s, 3H, CH₃), 1.33 (s, 3H, CH₃); ¹⁹F NMR: δ –63.85. Anal. Calcd for C₉H₁₃FO₄: C, 52.94; H, 6.42. Found: C, 52.73; H, 6.37. ESIMS: *m/z* 205.2 [M+H⁺].

1.7. 3-Deoxy-3-fluoro-5-*S*-acetyl-6-*O*-acetyl-1,2-*O*-isopropylidene-5-thio- α -D-glucopyranose (**8**)

A mixture of epoxide **7** (5.09 mmol, 1.04 g) and thiourea (5.09 mmol, 0.39 g) in MeOH (26.5 mL) was kept at room temperature overnight and was then evaporated. CH₂Cl₂ was then added to the residue, insoluble solid was removed by filtration through Celite and the filtrate was evaporated. A mixture of the residue with potassium acetate (8.20 mmol, 0.80 g) in acetic acid (1.8 mL)–acetic anhydride (9.1 mL) was refluxed at 140 °C for 19 h. After the mixture had cooled, ice-cold water was added and the mixture was stirred for 1 h before being extracted with EtOAc and the extract was evaporated. The residue was chromatographed (4:1 hexane–EtOAc, *R_f* 0.35) and 1.13 g (69%) of thioacetate **8** was obtained as colourless leaflets: mp 101–103 °C (hexane–EtOAc); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -10$ (*c* 0.1, CHCl₃); IR (Nujol);

ν 1685 (SAC), 1730 (OAc) cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 5.98 (d, 1H, *J*_{1',2'} 3.7 Hz, H-1'), 4.96 (dd, 1H, *J*_{3',F} 49.7 Hz, *J*_{3',4'} 2.1 Hz, H-3'), 4.68 (dd, 1H, *J*_{2',F} 10.3 Hz, H-2'), 4.46–4.31 (m, 3H, H-4' and H-6'a,b), 4.15–4.08 (m, 1H, H-5'), 2.36 (s, 3H, SAC), 2.06 (s, 3H, OAc), 1.49 (s, 3H, CH₃), 1.33 (s, 3H, CH₃). ¹⁹F NMR: δ –63.87. Anal. Calcd for C₁₃H₁₉FO₆S: C, 48.44; H, 5.94. Found: C, 48.57; H, 5.77. ESIMS: *m/z* 323.4 [M+H⁺].

1.8. 3-Deoxy-3-fluoro-5-*S*-acetyl-6-*O*-acetyl-5-thio-D-glucopyranose (**9**)

Thioacetate **8** (3.50 mmol, 1.13 g) in 90% TFA (87 mL) was stirred for 30 min at room temperature. The mixture was extracted with EtOAc and the extract was washed with satd NaHCO₃ and brine, then dried (Na₂SO₄) and concentrated. Chromatography of the residue (3:7 hexane–EtOAc, *R_f* 0.3) gave 0.65 g (66%) of diol **9** as white leaflets: mp 83–86 °C (hexane–EtOAc); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +5$ (*c* 0.1, MeOH); IR (Nujol); ν 1685 (SAC), 1730 (OAc) cm⁻¹; ¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ 5.45 (d, 0.3H, *J*_{1',2'} 3.9 Hz, H-1'(α)), 5.17 (s, 0.7H, H-1'(β)), 4.51–4.01 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5' and H-6'a,b), 2.36 (s, 2.1H, SAC(β)), 2.35 (s, 0.9H, SAC(α)), 2.05 (s, 2.1H, OAc(β)), 2.04 (s, 0.9H, OAc(α)); ¹⁹F NMR: δ –65.0. Anal. Calcd for C₁₀H₁₅FO₆S: C, 42.55; H, 5.36. Found: C, 42.67; H, 5.47. ESIMS: *m/z* 283.4 [M+H⁺].

1.9. 1,2,4,6-Tetra-*O*-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-5-thio- α -D-glucopyranose (**10**)

A soln of diol **9** (2.31 mmol, 0.65 g) in methanolic ammonia (51 mL) was stirred for 2 h at room temperature. The reaction mixture was concentrated under diminished pressure and the crude was obtained as colourless oil. Acetylation of the residue with Ac₂O–pyridine (1:2, 46 mL) and chromatography of the product (1:1 hexane–EtOAc, *R_f* 0.4) gave 0.59 g (69%) of tetraacetate **10** as a colourless syrup: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +230$ (*c* 0.1, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 6.15 (d, 1H, *J*_{1',2'} 3.2 Hz, H-1'), 5.45 (dd, 1H, *J*_{3',4'} 9.5 Hz, *J*_{4',5'} 9.4 Hz, H-4'), 5.34 (dd, 1H, *J*_{2',3'} 10.0 Hz, H-2'), 4.71 (dt, 1H, *J*_{3',F} 50.6 Hz, H-3'), 4.35 (dd, 1H, *J*_{6'a,6'b} 12.1 Hz, *J*_{5',6'a} 5.1 Hz, H-6'a), 4.10 (dd, 1H, *J*_{5',6'b} 2.8 Hz, H-6'b), 3.55–3.49 (m, 1H, H-5'), 2.17, 2.13, 2.09, 2.07 (4s, 12H, 4OAc); ¹⁹F NMR: δ –63.43. Anal. Calcd for C₁₄H₁₉FO₈S: C, 45.90; H, 5.23. Found: C, 45.77; H, 5.37. ESIMS: *m/z* 367.6 [M+H⁺].

1.10. 1-(2,4,6-Tri-*O*-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-5-thio- β -D-glucopyranosyl)thymine (**11**)

A mixture of thymine (2.23 mmol, 0.28 g), HMDS (2.76 mmol, 0.6 mL) and saccharine (0.10 mmol, 19 mg) in anhyd MeCN (7.4 mL) was refluxed for

30 min. To this were added tetraacetylated 3-deoxy-3-fluoro-5-thio-D-glucopyranose (**10**) (1.59 mmol, 0.59 g) and Sn(IV) chloride (2.23 mmol, 0.26 mL). The reaction mixture was refluxed for 2 h, then cooled, neutralized with aq sodium bicarbonate and extracted with CH₂Cl₂ (500 mL). The organic layer was washed with water (3 × 10 mL) and dried (Na₂SO₄), evaporated to dryness, finally purified with flash chromatography (7:3 hexane–EtOAc, R_f 0.4) to give 0.47 g (68%) of compound **11** as a white crystalline: mp 194–196 °C (hexane–EtOAc); [α]_D²⁰ +42 (c 0.1, CHCl₃); λ_{max} (CHCl₃) 260 nm (ϵ 10,100); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 8.51 (br s, 1H, NH), 7.26 (s, 1H, H-6), 5.84 (d, 1H, J_{1',2'} 10.7 Hz, H-1'), 5.57 (t, 1H, J_{2',3'} 9.0 Hz, H-2'), 5.41 (dd, 1H, J_{3',4'} 9.7 Hz, J_{4',5'} 10.0 Hz, H-4'), 4.45 (dt, 1H, J_{3',F} 49.3 Hz, H-3'), 4.34 (dd, 1H, J_{6'a,6'b} 12.2 Hz, J_{5',6'a} 5.6 Hz, H-6'a), 4.16 (dd, 1H, J_{5',6'b} 2.8 Hz, H-6'b), 3.43–3.35 (m, 1H, H-5), 2.14, 2.10, 2.05 (3s, 9H, 3OAc), 1.95 (s, 3H, 5-CH₃); ¹⁹F NMR: δ –64.3. Anal. Calcd for C₁₇H₂₁FN₂O₈S: C, 47.22; H, 4.89; N, 6.48. Found: C, 47.44; H, 4.67; N, 6.22. ESIMS: m/z 433.5 [M+H⁺].

Acknowledgements

This work was supported in part by the Greek General Secretariat for Research and Technology Program No. 3245C and bilateral scientific-technology project between Greece and Slovenia. The authors are grateful to Dr. K. Antonakis (Ec. Nat. Sup. de Chimie de Paris; CNRS-FRE 2463) for encouraging this work, to Dr. T. Halmos (Ec. Nat. Sup. de Chimie de Paris) for the unstinted and fruitful aid, as well as to ELPEN pharmaceuticals for financial support.

References

- Witczak, J. Z. *Curr. Med. Chem.* **1999**, *6*, 165–178.
- Robina, I.; Vogel, P.; Witczak, J. Z. *Curr. Org. Chem.* **2001**, *5*, 1177–1214 and references cited therein.
- Robina, I.; Vogel, P. *Curr. Org. Chem.* **2002**, *6*, 471–491.
- Choo, H.; Chong, Y.; Choi, Y.; Mathew, J.; Schinazi, R. F.; Chu, C. K. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 389–398.
- Malsen, H. J.; Hughes, D.; Hursthouse, M.; De Clercq, E.; Balzarini, J.; Simons, C. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 5482–5491.
- Zhu, W.; Chong, Y.; Choo, H.; Mathews, J.; Schinazi, R. F.; Chu, C. K. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 1631–1640.
- Jeong, L. S.; Jin, D. Z.; Kim, H. O.; Shin, D. H.; Moon, H. R.; Hyung, R.; Gunaga, P.; Chun, M. W.; Kim, Y.-C.; Melman, N.; Gao, Z.-G.; Jacobson, K. A. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 3775–3777.
- Paquette, L. A.; Dong, S. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 5655–5664.
- Gunaga, P.; Moon, R. H.; Choi, J. W.; Shin, H. D.; Park, G. J.; Jeong, S. L. *Curr. Med. Chem.* **2004**, *11*, 2585–2637.
- Meng, W.-D.; Qing, F.-L. *Curr. Top. Med. Chem.* **2006**, *6*, 1499–1528.
- Machida, H.; Ashida, N.; Miura, S.; Endo, M.; Yamada, K.; Kitano, K.; Yoshimura, Y.; Sakata, S.; Ijichi, O.; Eizuru, Y. *Antiviral Res.* **1998**, *39*, 129–137.
- Yoshimura, Y.; Kitano, K.; Yamada, K.; Sakata, S.; Miura, S.; Ashida, N.; Machida, H. *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 1545–1558.
- Uenishi, J.; Ohmiya, H. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 7011–7022.
- Bellamy, F.; Barberousse, V.; Martin, N.; Masson, P.; Millet, J.; Samreth, S.; Sepulchre, C.; Theveniaux, J.; Horton, D. *Eur. J. Med. Chem.* **1995**, *30*, 101–115 (and ref. cited therein).
- Al-Masoudi, N. A.; Al-Soud, Y. A.; Schuppler, T. *J. Carbohydr. Chem.* **2005**, *24*, 237–250.
- Al-Masoudi, N. A.; Al-Soud, Y. A. *J. Carbohydr. Chem.* **2004**, *23*, 111–122.
- Ostrowski, T.; Wroblowski, B.; Busson, R.; Rozenski, J.; De Clercq, E.; Bennet, M. S.; Champness, J. N.; Summers, W. C.; Sanderson, M. R.; Herdewijn, P. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 4343–4353.
- Maurinsh, Y.; Schraml, J.; De Winter, H.; Blaton, N.; Peeters, O.; Lescrinier, E.; Rozenski, J.; Van Aerschot, A.; De Clercq, E.; Busson, R.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 2861–2871.
- Haouz, A.; Vanheusden, V.; Munier-Lechman, H.; Froeyen, M.; Herdewijn, P.; Van Galenbergh, S.; Delarue, M. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 4963–4971.
- Manta, S.; Agelis, G.; Botić, T.; Cencić, A.; Komiotis, D. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 980–987.
- Manta, S.; Agelis, G.; Botić, T.; Cencić, A.; Komiotis, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 420–428.
- Tsoukala, E.; Agelis, G.; Dolinsek, J.; Botić, T.; Cencić, A.; Komiotis, D. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 3241–3247.
- Bozo, E.; Boros, S.; Kuszmann, J.; Gacs-Baitz, E.; Parkanyi, L. *Carbohydr. Res.* **1998**, *308*, 297–310.
- Tsuda, Y.; Sato, Y.; Kanemitsu, K.; Hosoi, S.; Shibayama, K.; Nakao, K.; Ichikawa, Y. *Chem. Pharm. Bull.* **1996**, *44*, 1465–1475.
- Vanheusden, V.; Busson, R.; Herdewijn, P.; Van Calenbergh, S. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 4446–4453.
- Yuasa, H.; Tamura, J.; Hashimoto, H. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1990**, 2763–2769.
- Hasegawa, A.; Kawai, Y.; Kasugai, H.; Kiso, M. *Carbohydr. Res.* **1978**, *63*, 131–137.

Antiviral Unsaturated Nucleosides

Dimitri Komiotis*, Stella Manta, Evangelia Tsoukala and Niki Tzioumaki

Department of Biochemistry and Biotechnology, Laboratory of Organic Chemistry, University of Thessaly, 41221, Larissa, Greece

Abstract: In the search for effective, selective and nontoxic antiviral agents, a variety of nucleoside analogues have been synthesized, with different functionalities in the carbohydrate moiety. Unsaturated nucleoside analogues are recognized as an important class of biologically active compounds and appear to be prominent drugs in the management of several viral infections, including HSV, HIV, HBV, HCV and HCMV infections. Currently, unsaturated nucleoside mimetics, such as stavudine, abacavir and entecavir have been approved for the treatment of viral infections, while elvicitabine and β -L-2'-F-d4C are in clinical trials. The purpose of this review is to give an update of the recent developments on unsaturated nucleoside and nucleoside analogues, in both cyclic and acyclic forms, which possess promising therapeutic potential, mainly antiviral. It covers analogues with ring sizes from three to six and provides useful data, in the aim to enhance chemical reactivity or to study the fixation of the sugar conformation.

Keywords: Unsaturated nucleosides, carbocyclic, exomethylene, acyclic, antiviral.

1. INTRODUCTION

Nucleosides and their analogues are considered over the past decades as the cornerstone for the development of effective, selective and nontoxic antiviral agents [1-3]. A variety of strategies have been devised to design nucleoside analogues, involving several structural modifications of the heterocyclic bases and/or modifications on the sugar moiety of the naturally occurring nucleosides. Today, synthetic nucleoside mimetics represent a highly valuable source of antiviral and antitumor agents, which contribute significantly to the arsenal of agents for the treatment of viral diseases and cancer. Although there is a continuous need for a better understanding of the structure activity relationships for different nucleoside mimetics, some structural features have proved to be particularly effective for specific antiviral and antitumor activities [4-7]. It is noteworthy that most of the unsaturated nucleoside analogues studied thus far have been shown to be highly effective as antiviral agents. Unsaturated five-membered nucleoside analogues are recognized as an important class of biologically active compounds and appear to be prominent drugs in the management of several viral infections, including herpes simplex virus (HSV), human immunodeficiency virus (HIV), hepatitis B virus (HBV), hepatitis C virus (HCV) and human cytomegalovirus (HCMV) infections [8]. Currently, reverse transcriptase inhibitors, 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxythymidine (d4T, Stavudine), (1S,4R)-4-[2-amino-6-(cyclopropylamino)-9H-purin-9yl]-2-cyclopentene-1-methanol (ABC, Abacavir) and 2-amino-9-[4'-hydroxy-3'-(hydroxymethyl)-2'-methylidene-cyclopentyl]-3H-purin-6-one (ETV, Entecavir) have been approved for the treatment of viral infections, while 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxy- β -L-5-fluorocytidine (β -L-d4FC, Elvicitabine) and

2',3'-didehydro-2',3'-dideoxy-2'-fluoro- β -L-cytidine (β -L-2'-F-d4C) are in clinical trials (Fig. 1). Given the noteworthy antiviral potency of 2',3'-unsaturated nucleoside analogues, unsaturated 4'-thionucleosides have been recently investigated for antiviral activity [9].

In an attempt to find new antiviral agents, considerable interest has also been generated in six-membered nucleoside analogues [10-12]. Unsaturated keto and exocyclic methylene pyranonucleosides proved to be promising rotavirus inhibitors [13-15], while cyclohexenyl derivatives *D*- and *L*-5-hydroxy-4-hydroxymethyl-2-cyclohexenylguanine exhibited a worthwhile and selective anti-herpes activity [16].

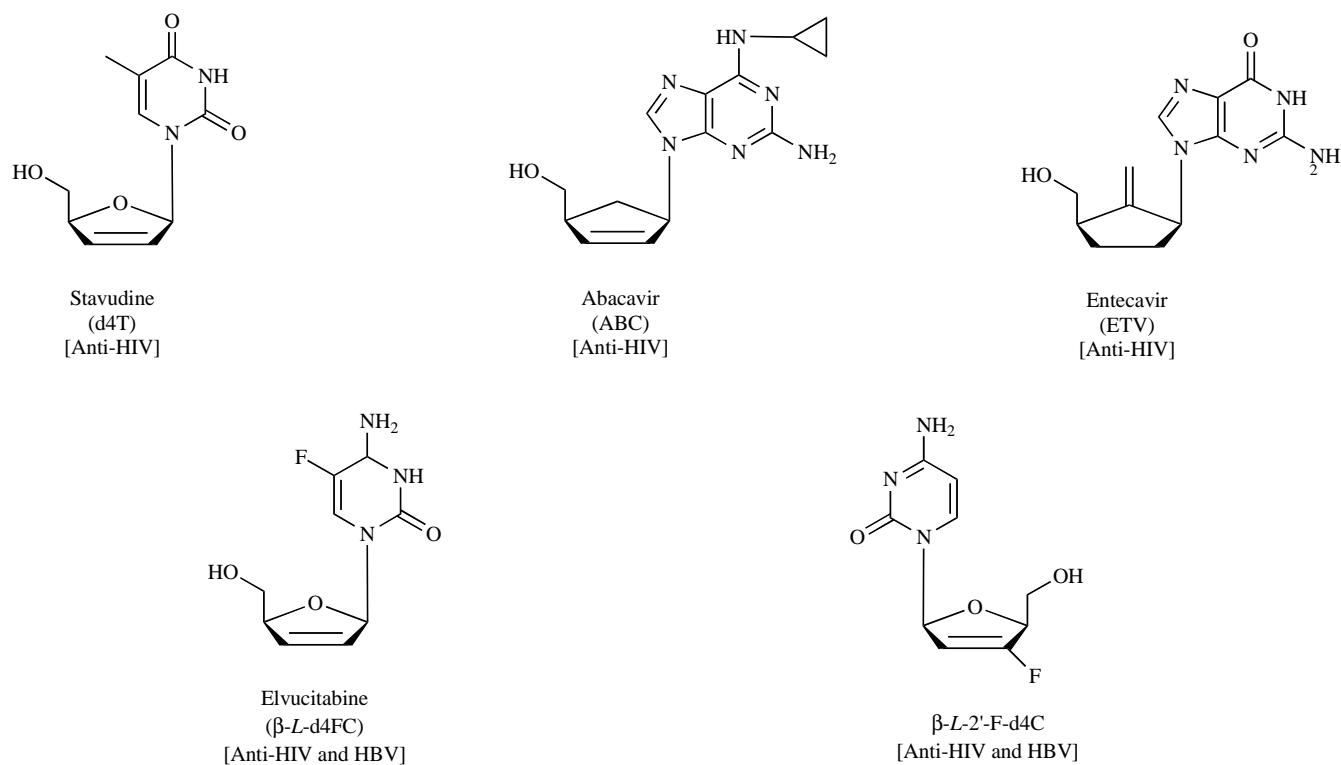
Lately, the presence of a double bond in acyclic nucleoside analogues has been found to be an important and effective structural feature for antiviral activity [17,18].

The purpose of this review is to give an update of the recent developments on unsaturated nucleoside and nucleoside analogues, in both cyclic and acyclic forms, which possess promising therapeutic potential, mainly antiviral. It covers analogues with ring sizes from three to six, emphasizing on natural bases, and provides useful data concerning structure-activity, in the aim to enhance chemical reactivity or to study the fixation of the sugar conformation.

2. PENTOFURANOSE UNSATURATED NUCLEOSIDES

Ever since the discovery of 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT), the first nucleoside drug for the treatment of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) [19], considerable efforts have been made to develop new nucleoside analogues with high activity, less toxicity and prone to trigger drug resistance. Based on these principals, several types of pentofuranose nucleosides have been synthesized and approved as antiviral drugs, especially for the treatment of infections caused by HIV, HBV, HSV and other viruses [20]. 2',3'-

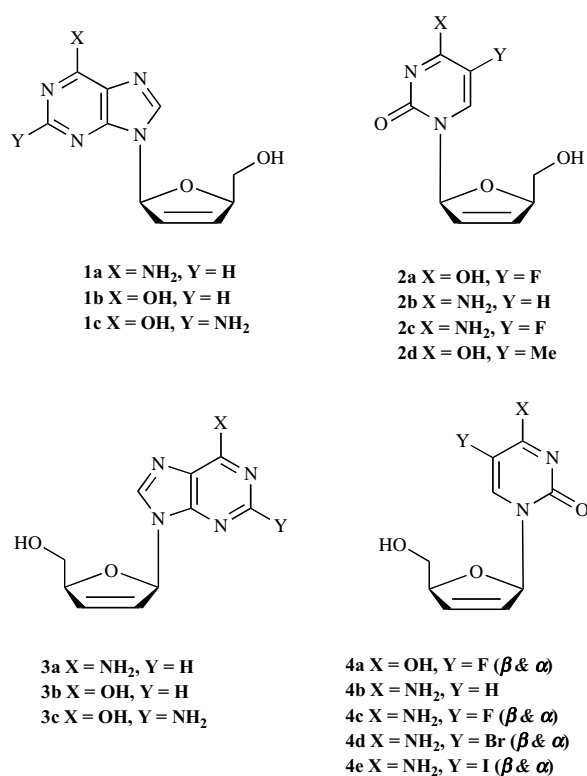
*Address correspondence to this author at the University of Thessaly, Department of Biochemistry & Biotechnology, Laboratory of Organic Chemistry, 26 Ploutonos Str., 41221 Larissa, Greece; Tel: +302410 565285; Fax: +302410 565290; E-mail: dkom@bio.uth.gr

**Fig. (1).**

Dideoxy-nucleosides (ddNs) and 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxynucleosides (d4Ns) form the most important class of compounds, active against HIV. Among the last series, d4T [21,22] has been approved by FDA for the treatment of HIV infection, while numerous modifications have been made, either on the heterocyclic bases or the sugar moiety.

2.1. 2',3'-Unsaturated Nucleosides

In search of new therapies against HIV, certain d4Ns have emerged as effective antiviral agents. In this series of nucleosides, *D*-d4T has been approved as a very potent and selective inhibitor of reverse transcriptase, which requires anabolic activation to the 5'-triphosphate derivative by cellular kinases [23,24]. Besides *D*-d4T, a number of *L*-d4N-nucleoside analogues have also been synthesized and evaluated for their anti-HIV and anti-HBV activity. Bolon *et al.* have synthesized several 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxy-β-*L*-purine nucleosides (Fig. 2) as potential antiviral agents [25]. Among these, *L*-d4A (**1a**) exhibited significant anti-HIV (EC_{50} 0.38 μM in peripheral blood mononuclear cells (PBM)) and anti-HBV (1.2 μM in 2.2.15 cells) activity. The hypoxanthine and guanine analogues, *L*-d4I (**1b**) and *L*-d4G (**1c**) were less potent against HIV and inactive against HBV. The adenine analogue **1a** exhibited a similar toxicity profile when compared to hypoxanthine and guanine analogue. 2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxy-β-*L*-5-fluorouracil (*L*-d4FU, **2a**), which was synthesized by Shi *et al.* [26] demonstrated both potent antiviral activity (EC_{50} 0.26 μM) and cytotoxicity in various cells. Two cytidine derivatives, *L*-d4C (**2b**) and *L*-d4FC (**2c**) were reported by Lin *et al.* [27] to exhibit anti-HIV and anti-HBV potency. *L*-d4C (**2b**) was found to be

**Fig. (2).**

anti-HIV (EC_{50} 1.0 μM in CEM cells) and anti-HBV (EC_{50} 0.008 μM in 2.2.15 cells) effective. *L*-d4FC (**2c**) showed anti-HIV (EC_{50} 0.09 μM in CEM cells) and anti-HBV agent (EC_{50} 0.002 μM in 2.2.15 cells) activity, which was 4-fold

and 10-fold more important than that of *L*-d4C, respectively. Moreover, both compounds were potent inhibitors of cell growth at concentrations below 20 μM , although *L*-d4FC did not exhibit any significant mitochondrial DNA inhibition in CEM cells at 100 μM . Surprisingly, the corresponding *L*-enantiomer of d4T (**2d**), which was earlier synthesized by Mansuri *et al.* [28], proved to be inactive.

The *D*-d4N-nucleoside analogues presented in Fig. 2 have been synthesized and biologically evaluated for their anti-HIV activity by Shi *et al.* [26] and Bolon *et al.* [25]. The *D*-enantiomer of d4A (**3a**) exhibited anti-HIV activity with EC_{50} 0.76 μM in PBM cells. Conversely, the 2',3'-unsaturated purine derivatives, hypoxanthine (*D*-d4I, **3b**) and guanine (*D*-d4G, **3c**) did not show any significant antiviral activity in PBM cells. β -*D*-d4C (**4b**) and its congeners, β - and α -*D*-d4FC (**4c**), were synthesized by Lin *et al.* [27]; the uracil analogues, β - and α -*D*-d4FU (**4a**), 5-halogen compounds β -*D*-d4BrC (**4d**) and β -*D*-d4IC (**4e**), were synthesized by Shi *et al.* [26]. All of these compounds were biologically evaluated for their anti-HIV and anti-HBV activity and cytotoxicity in various cells. β -*D*-d4C (**4b**) exhibited anti-HIV activity with EC_{50} 0.7 μM in MT-2 cells, which was less than that of β -*D*-d4FC (**4c**) (EC_{50} 0.046 μM). As expected, the change of the geometry of **4c** from β to α caused loss of activity. In comparison to the potent β -*D*-d4FC (**4c**), the 5-substitutions with bromine and iodine, **4d,e**, also resulted in the loss of anti-HIV activity.

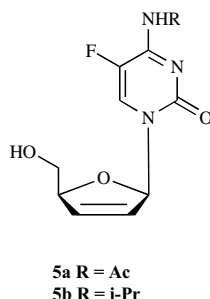


Fig. (3).

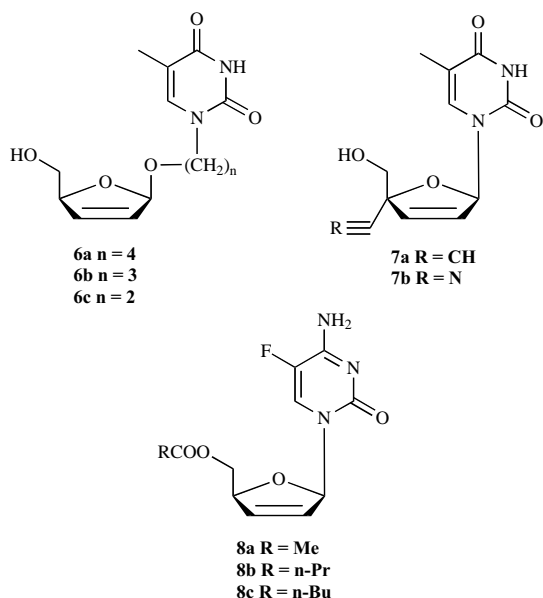


Fig. (4).

Shi *et al.* [26] have also synthesized and evaluated against HIV-1, the *N*^t-acyl, **5a**, and *N*^t-isopropyl, **5b**, derivatives, which are congeners of β -*D*-d4FC (Fig. 3). Only derivative **5a** exhibited a noteworthy antiviral activity comparable to that of the parent compound β -*D*-d4FC.

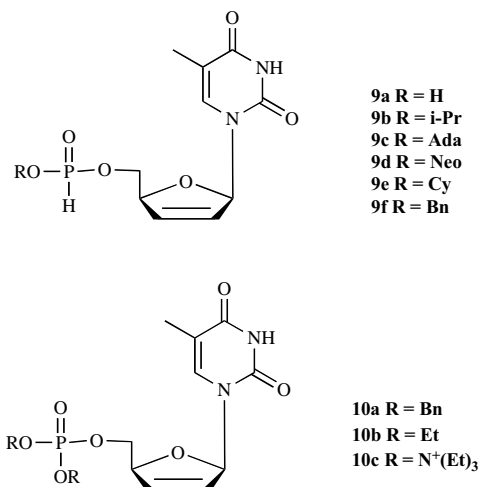


Fig. (5).

A series of d4T analogues bearing an acyclic chain between the sugar and the base moiety **6** (Fig. 4) was reported by Roy *et al.* [29]. These compounds were evaluated for their anti-HIV activity on CEM-SS and MT-4 cell lines and no specific antiviral activity was detected. Haraguchi *et al.* [30] synthesized derivative **7a** (Fig. 4), which was found to be more potent anti-HIV agent than stavudine, less toxic to CEM cell growth and also less inhibitory to mitochondrial DNA synthesis. Haraguchi *et al.* [31] reported the 4'-cyano analogue **7b**, which was evaluated for its ability to inhibit HIV-1 in MT-2 cells. It was found to be active, but its activity was almost five times lower than that of stavudine. Shi *et al.* [26] have also synthesized and evaluated against HIV-1, the 5'-*O*-acyl derivatives **8** (Fig. 4), which exhibited antiviral potency comparable to the parent compound β -*D*-d4FC.

Various phosphate and phosphonate derivatives of d4T, **9**, **10** (Fig. 5), have been synthesized and studied for their cytotoxicity and anti-HIV activity by Pokrovsky *et al.* [32] and Cardona *et al.* [33]; in general all showed activity against HIV-1. Analogue **9b** had the highest SI value, while **9f** exhibited significant HIV activity in MT-4 cells (EC_{50} 0.034 μM), without any sign of toxicity. The compound retained marked antiviral activity in TK⁻ (thymidine kinase deficient) mutant CEM cells, in which d4T was poorly active.

The d4T derivatives **11**, **12** (Fig. 6) were synthesized and evaluated for their anti-HIV activity in MT-4 cells by Shirokova *et al.* [34]. Aminocarbonyl analogues **12a,b** and **12d** displayed a high anti-HIV effect, while **11b,c** were inactive.

Meier *et al.* [35] synthesized a class of cyclosaligenyl d4T-monophosphates **13** (cycloSal-d4TMP) (Fig. 7), which exhibited high biological activity against HIV-1/HIV-2 in CEM cells; these compounds retained substantial activity in CEM/TK⁻ cells.

Several phosphoramidate derivatives of d4T, **14** and **15** (Fig. 8) were described by McGuigan *et al.* [36,37] and

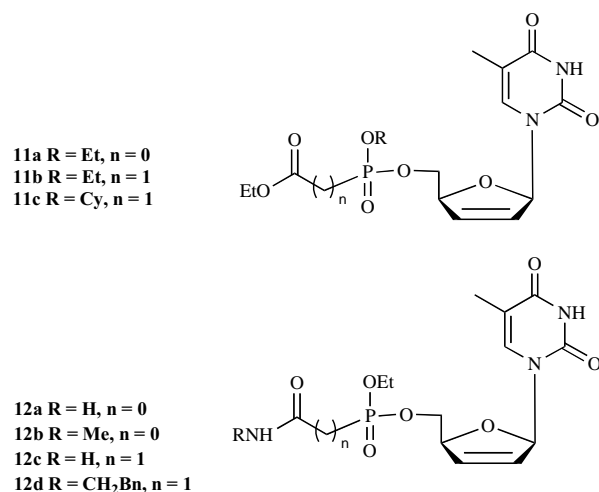


Fig. (6).

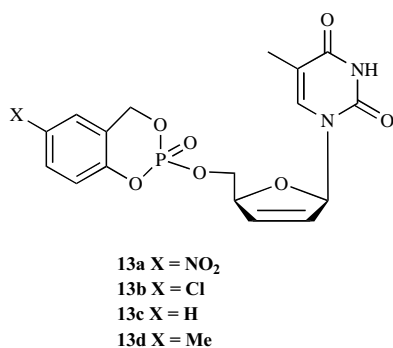


Fig. (7).

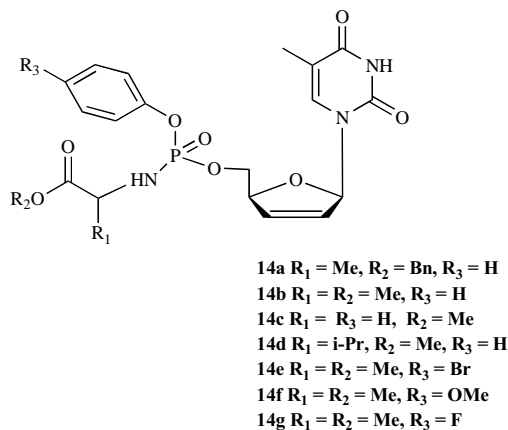
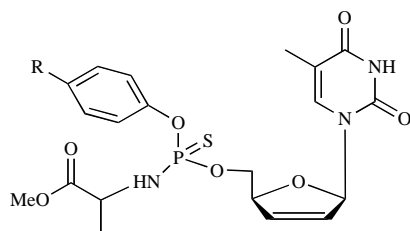


Fig. (8).



Venkatachalam *et al.* [38]. Analogues **14a,b** were approximately 2- to 5-fold more potent against HIV-1 than d4T, with **14a** being somewhat more active than **14b**, and **14b** (So324) demonstrating anti-HIV activity in human CEM, MT-4, and monocyte/macrophage cells, which was superior to that of d4T [39]. Whilst, d4T retained only very slight activity in TK⁻ cells, phosphates **14a** and **14b** retained virtually full activity, being ca. 300-500 fold more potent than d4T in these cells. Similarly, while AZT was inherently more potent than either d4T or d4T phosphate in thymidine kinase-competent cells, analogue **14a** was >1500 times more active than AZT in the kinase-deficient cell line. Compounds **14c** and **14d** were markedly less active (60-70 and 50-150 fold, respectively) than **14b** against HIV-1 and HIV-2 in CEM and CEM/TK⁻ cells. It is interesting to note, that the weakly active anti-HIV analogues **14c** and **14d** exhibited also low activity against Moloney murine sarcoma virus (MSV). Finally, the thiophosphoramidate derivatives of d4T, **15a-d**, showed reduced activity with IC₅₀ values >900-fold (IIIB virus) as compared to phosphoramidate analogues (**14b** and **14e-g**).

The podophyllotoxin derivatives **16** (Fig. 9) have been synthesized and evaluated for their anti-HIV-1 activities *in vitro* by Chen *et al.* [40]. Compounds **16b** and **16a** had an interesting anti-HIV-1 profile, with EC₅₀ values of 0.17 and 0.29 μM and TI values of 466.9 and 354.5, respectively.

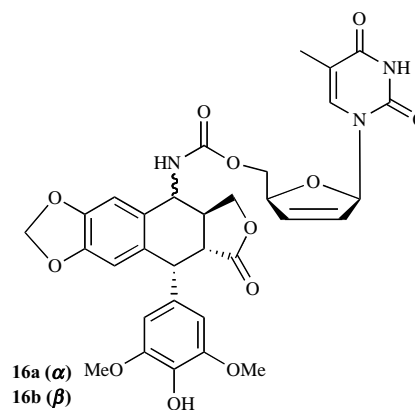


Fig. (9).

Finally, Balzarini *et al.* [41] studied the anti-retrovirus and anti-HBV activity of d4A aryloxyphosphoramidate derivative **17** (Cf 1001) (Fig. 10) in various cell culture models. Cf 1001 showed markedly superior efficacies than d4A against HIV-1, HIV-2, simian immunodeficiency virus (SIV), MSV and HBV replication and was equally efficient to 3TC (lamivudine) in inhibiting HBV replication in hepatocytes.

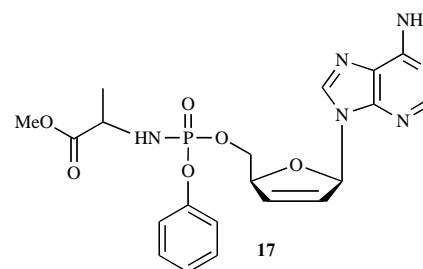


Fig. (10).

2.2. 2'- or 3'-Substituted-2',3'-Unsaturated Nucleosides

The strong necessity to discover compounds with increased activity, low toxicity and to provide structure-activity data has led to the synthesis of d4Ns, with a variety of substituents at the olefinic moiety. Various groups have been incorporated at either the 2'- or 3'-positions of d4Ns, which include halogens, N₃, CF₃, CN, alkyl, alkenyl, alkenyl, aryl, thio and seleno moieties [42].

2.2.1. 2'- or 3'-Fluoro-2',3'-Unsaturated Nucleosides

Lee *et al.* [43] reported the synthesis of 2'-fluoro-2',3'-unsaturated *D*-nucleosides **18** (β & α) (Fig. 11). Anti-HIV activities of these analogues were determined in human PBM cells acutely infected with HIV-1 and compared to those of AZT and 2',3'-dideoxy-5-fluoro-3'-thiacytidine (FTC). It was found, that only the β -*D*-2'-fluorinated derivatives (2'-F-d4N) had significant anti-HIV-1 activities. 2-Amino-6-chloropurine **18f**, adenine **18d**, hypoxanthine **18h**, guanine **18i**, 2,6-diaminopurine **18g** and 5-fluorocytosine **18b** were found to exhibit interesting anti-HIV potencies with EC₅₀ values of 4.3, 0.44, 1.0, 2.6, 3.0 and 0.82 μ M, respectively. The toxicity of the above nucleosides has been assessed in human PBM, Vero and CEM cells. No significant toxicity was detected for most of the evaluated compounds.

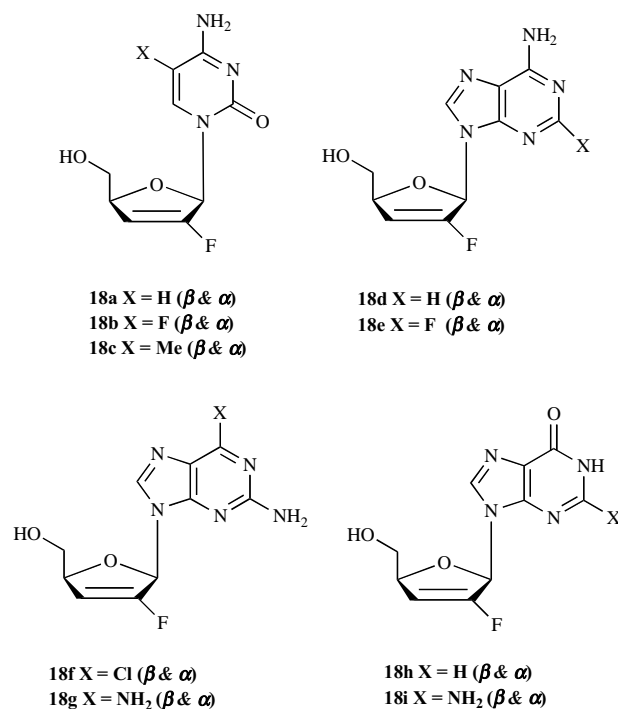


Fig. (11).

Chen *et al.* [44] and Lee *et al.* [45] reported the synthesis of 2'-fluoro-2',3'-unsaturated *L*-nucleosides **19** (β & α) (Fig. 12). These nucleosides were evaluated for their antiviral activities against HIV-1 in PBM cells and HBV in 2.2.15 cells. Among β -*L*-series, cytosine **19a**, 5-fluorocytosine **19b** and adenine **19f** derivatives exhibited moderate to potent anti-HIV (EC₅₀ 0.51, 0.17 and 1.5 μ M, respectively) and anti-HBV (EC₅₀ 0.18, 0.22 and 1.70 μ M, respectively) antiviral activities without significant cytotoxicity up to 100 μ M in human PBM, Vero, CEM and Hepatocellular cells (HepG2).

On the contrary, thymine and uracil derivatives **19c,d** showed no activity having EC₅₀ values higher than 100 μ M [45]. Furthermore, it was found that in the β -*D*-series, several purine derivatives, such as adenine **18d** (EC₅₀ 0.44 μ M) and hypoxanthine **18h** (EC₅₀ 1.0 μ M), showed significant antiviral activity, whereas in the β -*L*-series the pyrimidine derivatives, cytosine **19a** (EC₅₀ 0.51 μ M) and 5-fluorocytosine **19b** (EC₅₀ 0.17 μ M) were the most potent. In the case of 5-fluorocytosine derivative **19b**, however, the β -*L*-enantiomer exhibited higher antiviral potency than its synthesized β -*D*-counterpart **18b** (0.17 vs 0.82 μ M) [43].

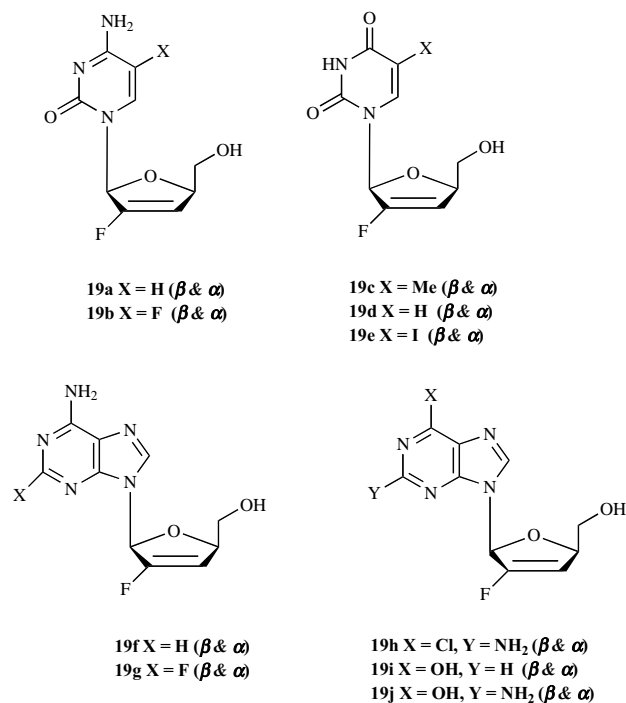


Fig. (12).

Zhou *et al.* synthesized the β -*D*-3'-fluoro-2',3'-unsaturated *D*-nucleosides **20** (Fig. 13) [46]. Their anti-HIV-1 activity was evaluated in PBM cells, and the highest was found in the cytidine analogue **20a** (EC₅₀ 2.3 μ M). The adenine analogue **20e** (EC₅₀ 6.55 μ M), 5-fluorocytosine **20b** (EC₅₀ 9.29 μ M) and the hypoxanthine derivative **20f** (EC₅₀ 12.8 μ M) displayed moderate antiviral activity without significant cytotoxicity.

Gumina *et al.* [47] and Chong *et al.* [48], have reported the synthesis of *L*-2',3'-dideoxy-2',3'-dideoxy-3'-fluoronucleosides **21** (β & α) (Fig. 13). In these *L*-series, β -3'-fluoro-2',3'-dideoxy-2',3'-dideoxycytidine **21a** and 5-fluorocytidine **21b** showed high anti-HIV-1 activity (EC₅₀ 0.089 and 0.018 μ M, respectively) in PBM cells, without any significant cytotoxicity. However, analogues **21a** and **21b** showed significantly decreased antiviral potency against the clinically important lamivudine-resistant variants (HIV-1_{M184V}). The β -guanosine analogue **21g** showed only marginal anti-HIV activity with some cytotoxicity (EC₅₀ 38.5 μ M, and IC₅₀ 17.4, 58.4, 36.5 μ M, in PBM, CEM and Vero cells, respectively) [48]. Moreover, the *D*-cytosine and 5-fluoro-*D*-cytosine derivatives **20a** and **20b** were 100- to 500-fold less potent than their β -*L*-isomers **21a** and **21b** [46].

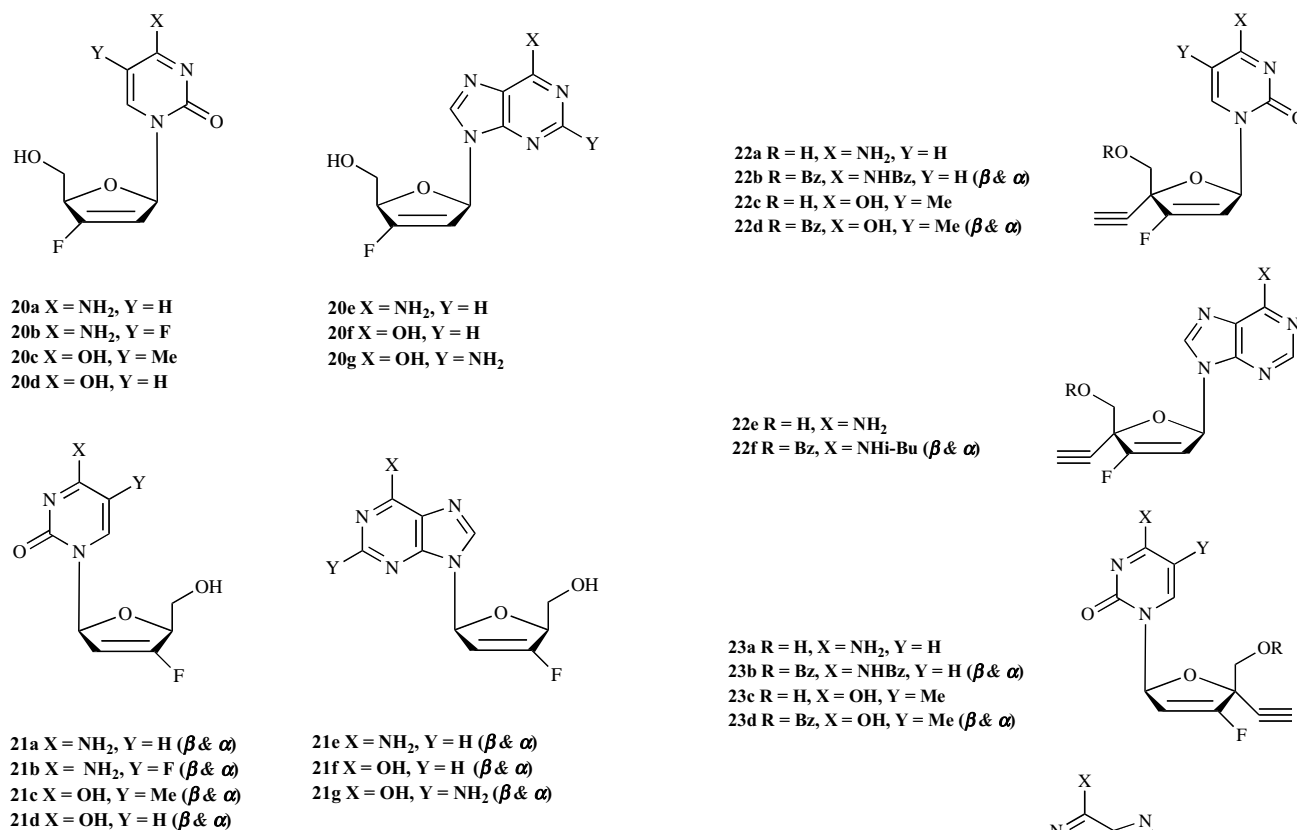


Fig. (13).

The 3'-fluoro-4'-ethynyl-2',3'-unsaturated *D*-, and *L*-nucleosides **22** (Fig. 14) were described by Chen *et al.* [49]. They tested these analogues for their antiviral properties against HIV in PBM cells *in vitro* and found that only the *D*-adenine derivative **22e** showed moderate anti-HIV activity (EC₅₀ 25.1 μ M) without any significant cytotoxicity.

2.2.2. C-Trifluoromethyl-, Chloro-, Bromo-, Iodo-2',3'-Unsaturated Nucleosides

The synthesis of 3'-*C*-trifluoromethyl-2',3'-unsaturated *D*-nucleosides **24** (Fig. 15) was reported by Lavaire *et al.* [50] and Jeannot *et al.* [51]. When evaluated for their antiviral activity in cell culture experiments, the 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydro-3'-*C*-CF₃-cytidine **24a** exhibited moderate HBV activity (EC₅₀ 5 μ M) [51].

Mikhailopulo *et al.* [52], Onuma *et al.* [53], Haraguchi *et al.* [54], Kumamoto *et al.* [55] and Hassan *et al.* [56] have reported the synthesis of 2'-chloro- **25** (Fig. 16), 2'- or 3'-bromo- **26**, **27** (Fig. 17), 3'-iodo-2',3'-unsaturated *D*-nucleosides **28** (Fig. 18) and the allylic iodides **29** (Fig. 18), without quoting any biological evaluation.

2.2.3. 2'- or 3'-C-Cyano- or Azido- 2',3'-Unsaturated Nucleosides

A series of 3'-*C*-cyano-2',3'-unsaturated *D*-nucleosides **30** (Fig. 19) was synthesized by Faul *et al.* [57], whereas Zhu *et al.* [58] described the synthesis of 3'-*C*-cyano-2',3'-unsaturated *L*-nucleosides **31** (Fig. 19). Compounds **31a-f** were evaluated against HIV-1 in human PBM cells *in vitro*, and only **31b** (EC₅₀ 38.0 μ M), **31c** (EC₅₀ 21.7 μ M), **31d** (EC₅₀ 67.4 μ M) and **31f** (EC₅₀ 28.0 μ M) showed modest anti-

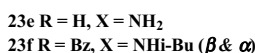


Fig. (14).

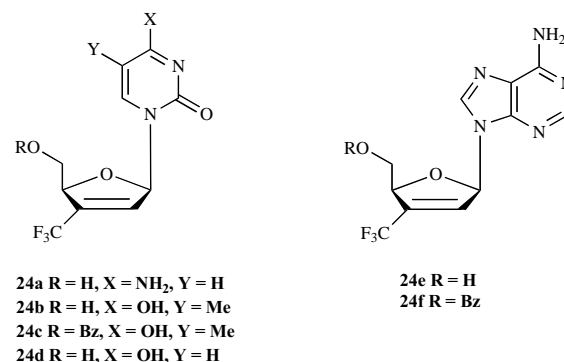


Fig. (15).

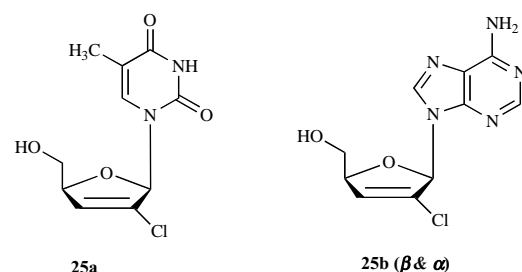


Fig. (16).

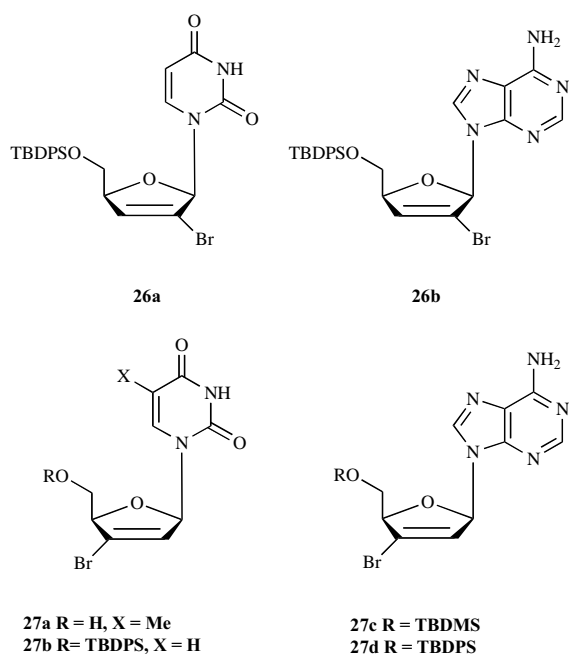


Fig. (17).

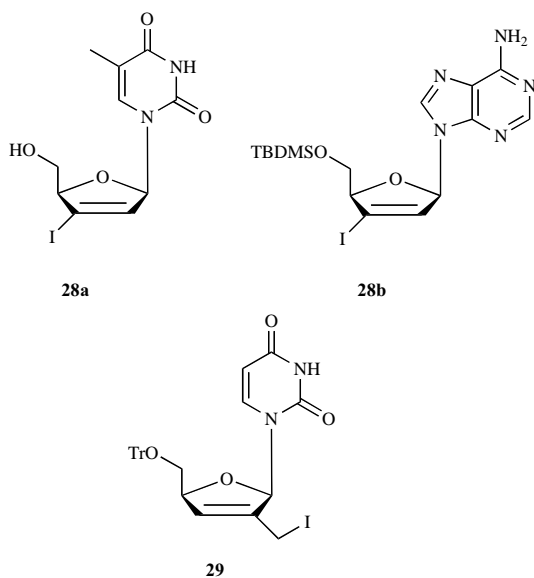


Fig. (18).

HIV activity. Azuma *et al.* [59] reported the synthesis of 2'-*C*-cyano-2',3'-unsaturated *D*-nucleosides **32** (Fig. 19), which were evaluated for *in vitro* cell growth inhibitory activity against murine leukemia L1210 and human oral epidermoid carcinoma KB cells. Compounds **32a** and **32b** were somewhat cytotoxic to both cell lines and the thymine derivative **32b** was more potent (IC_{50} 12.4 and 30.4, for each cell line) than the cytosine counterpart **32a**.

Mikhailopulo *et al.* [52] also reported the synthesis of the 2'-azido- **33** (Fig. 20), while the β -*D*-3'-azido-2',3'-unsaturated nucleosides **34** (Fig. 20) were described by Gadthula *et al.* [60]. Compounds **34a** (EC_{50} 44.9 μ M), **34b** (EC_{50} 31.0 μ M) and **34d** (EC_{50} 46.5 μ M) exhibited moderate anti-HIV activity with significant cytotoxicity in PBM, CEM and Vero cells. Adenine analogue **34c** (EC_{50} >100 μ M) exhibited weak

anti-HIV activity with significant cytotoxicity. 2',3'-Unsaturated pyrimidine *D*-nucleosides, bearing an azido-methyl group at the 2'- or 3'-position, **35** and **36** (Fig. 20), were synthesized by Czernecki and Ezzitouni [61,62], and Hassan *et al.* [56]. Compounds **36a** and **36b** did not show substantial anti-HIV activity.

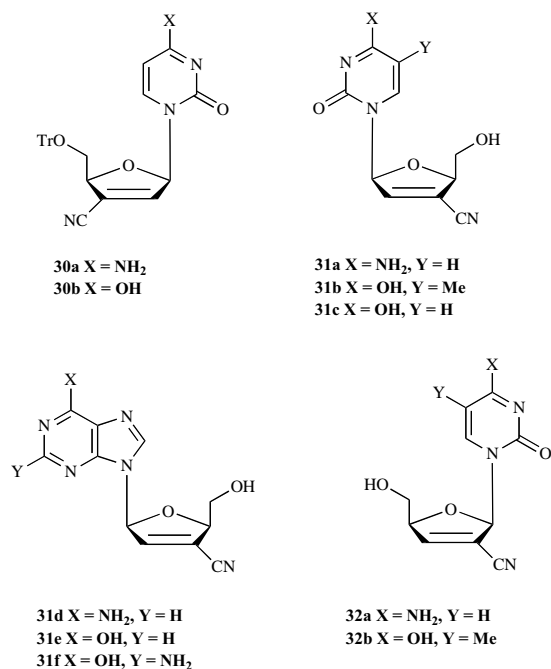


Fig. (19).

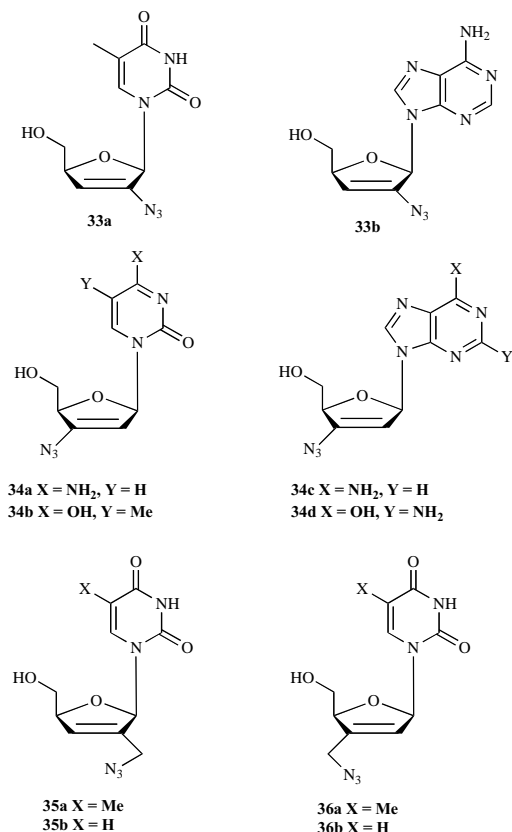


Fig. (20).

2.2.4. 2'- or 3'-C-Branched-2',3'-Unsaturated Nucleosides

Onuma *et al.* [53], Haraguchi *et al.* [54], Kumamoto *et al.* [55] and Matsuda *et al.* [63] reported the synthesis of various 2'- or 3'-C-branched-2',3'-unsaturated *D*-nucleosides, **37a** and **37b** (Fig. 21). Chiacchio *et al.* [64] applied an analogous strategy to synthesize the 2'-C-methyl analogue of d4T. Inhibition of the cytopathogenicity of HIV-1 (MT-4 cells) by nucleosides **37a** and **37b** was tested and none of them showed any significant inhibitory effect. Schlawe *et al.* [65] reported the synthesis of 2'-C-vinyl and 3'-C-vinyl-2',3'-unsaturated iron-containing nucleoside analogues **38** (Fig. 21). Although, tests against HIV showed no significant activity, some of the nucleoside analogues exhibited cytotoxic activities against tumor cells.

Finally, Ewing *et al.* [66-68] and Egron *et al.* [69] described the synthesis of 2',3'-dibranch-2',3'-unsaturated nucleosides **39** and **40** (Fig. 21), without reporting any biological data.

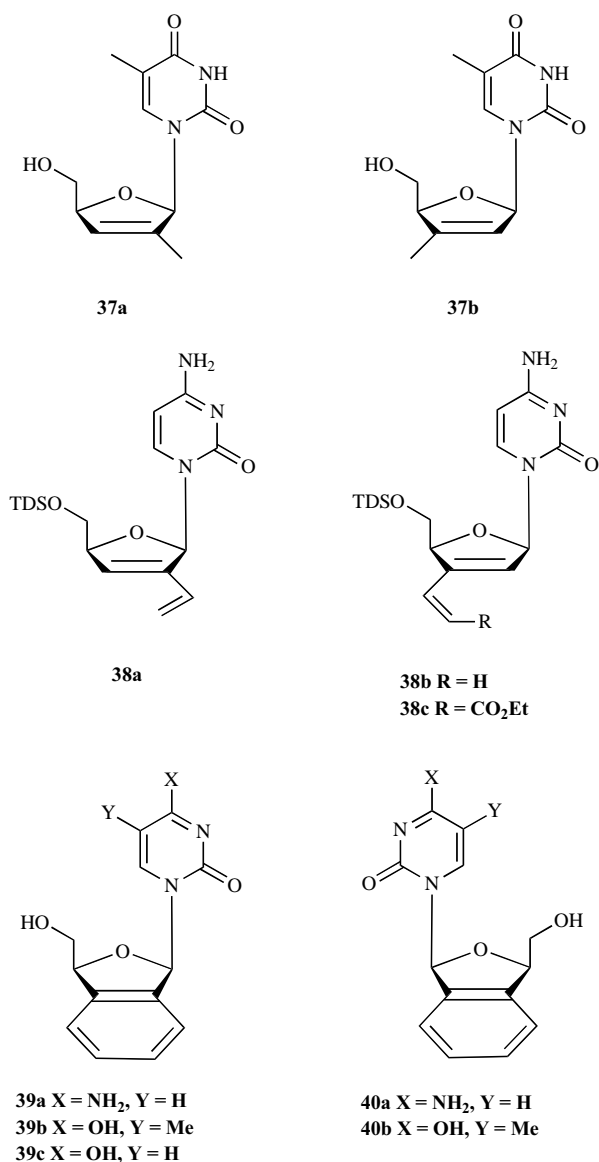


Fig. (21).

2.2.5. Stannyl-, Thio- and Seleno-2',3'-Unsaturated Nucleosides

Onuma *et al.* [53], Kumamoto *et al.* [55], and Wu and Chattopadhyaya [70] described the synthesis of the 3'-C-stannyl- **41a**, **42a**, 3'-C-phenylthio- **42b** and 3'-C-seleno- **41b**, 2',3'-unsaturated *D*-nucleosides (Fig. 22). Biological evaluation has not been mentioned.

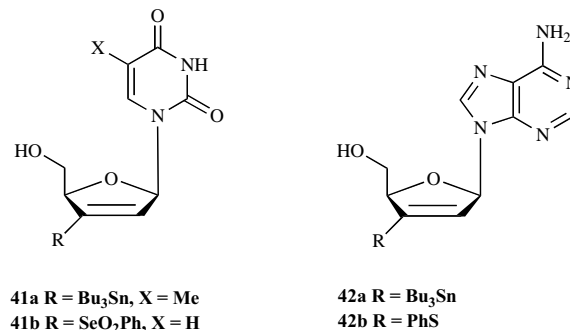


Fig. (22).

2.3. 1',2'- and 3',4'-Unsaturated Nucleosides

Since the first report in 1974 by Robins *et al.* on the preparation of 1',2'-unsaturated uridine **43** (Fig. 23), chemistry regarding 1',2'-unsaturated nucleosides had been unexploited until recently. However, Kumamoto *et al.* [71] reported the synthesis of an unknown series of nucleoside analogues **44** (Fig. 23), by introducing substituents at the 2'-position of **43**. The biological evaluation of **44** has not been reported.

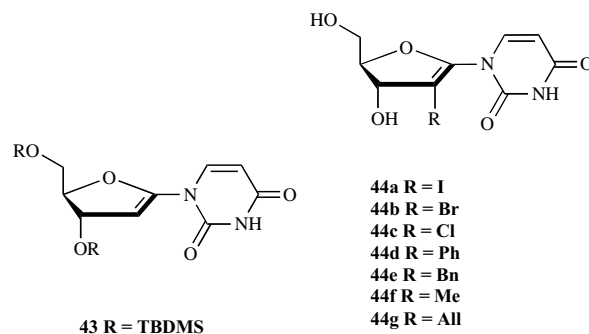


Fig. (23).

Analogues of 3',4'-unsaturated thymidine, **45**, and benzoyladenine, **47** (Fig. 24), were synthesized by Meggers *et al.* [72] and Giese *et al.* [73], but no biological data has been reported. Finally, the unusual 4'-(1,1-difluoroethyl)-3',4'-unsaturated cytosine nucleoside analogue **46** (Fig. 24) was synthesized by Robins and Nowak [74]; biological studies are currently underway.

2.4. Exocyclic Methylene Nucleosides

Modified nucleosides containing an exocyclic methylene or fluoromethylene group in position 2' or 3' exhibited potent antiviral activities. The satisfactory antiviral properties were attributed to their ability to irreversibly inactivate ribonucleotide reductase [75,76].

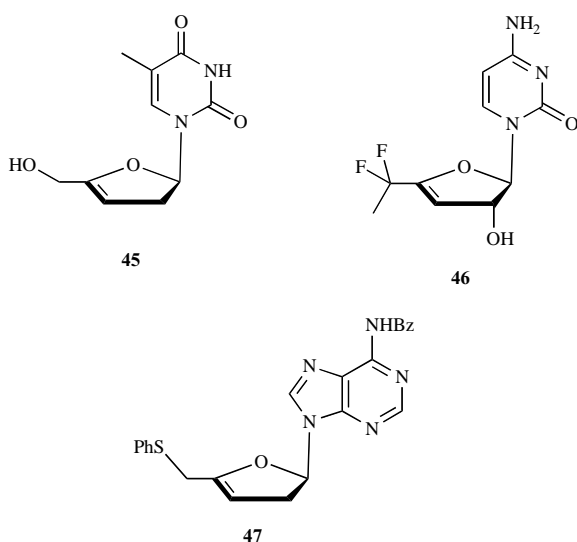


Fig. (24).

Based on the enhanced chemical reactivity or fixation of the sugar conformation, Matsuda *et al.* [77] managed to synthesize 2'-deoxy-2'-methylidene-5-cytidine (DMDC) (**48a**), which proved to be one of the most important 2'-deoxy-2'-methylidene nucleosides with a broad spectrum of antitumor activity (Fig. 25).

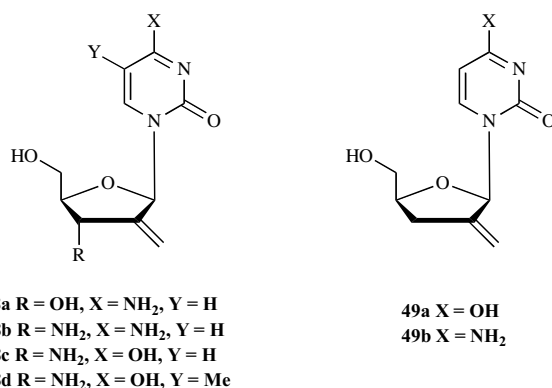


Fig. (25).

Hassan *et al.* [56] and Pontikis *et al.* [78] enriched the field of exocyclic methylene nucleosides by preparing a series of 3'-amino-2',3'-dideoxy-2'-methylidene pyrimidine derivatives, **48b-d**, and 3'-deoxy-2'-methylidene analogues of DMDC **49a,b** (Fig. 25). Both series have been reported as devoid of antitumor activity.

Robins *et al.* [79] reported the preparation and the antiviral activity of 2'-deoxy-2'-methylidene-5-guanosine (MdGuo) (**50c**), 2-amino-6-substituted-9-[2'-deoxy-2'-methylidene-β-D-erythro-pentofuranosyl]purines, 2'-deoxy-2'-methylidene-5-tubercidin (**51**) (Fig. 26) and 2-amino-6-substituted-9-[3'-deoxy-3'-methylene-β-D-erythro-pentofuranosyl]purines (**52**, Fig. 27). All of these compounds were evaluated for inhibition of replication of HSV-1 and HSV-2, vaccinia virus (VV) and vesicular stomatitis virus (VSV) in primary rabbit kidney (PRK) cells. The adenosine analogue **50h** inhibited VV replication at 20 μg/mL and MdGuo (**50c**) was inhibitory

to HSV-1, HSV-2 and VV replication in PRK cells. Compounds **50b** and **50c** were inhibitory against HSV-1 at 20 and 70 μg/mL, HSV-2 at 150 and >200 μg/mL, and against VV at 7 and 20 μg/mL, respectively. The deaminase-resistant 2'-deoxy-2'-methylidene-5-tubercidin (**51**) did not exhibit any biological action. Likewise, compounds **52b,c** and **52h** were no inhibitory to virus replication at 200 or 400 μg/mL.

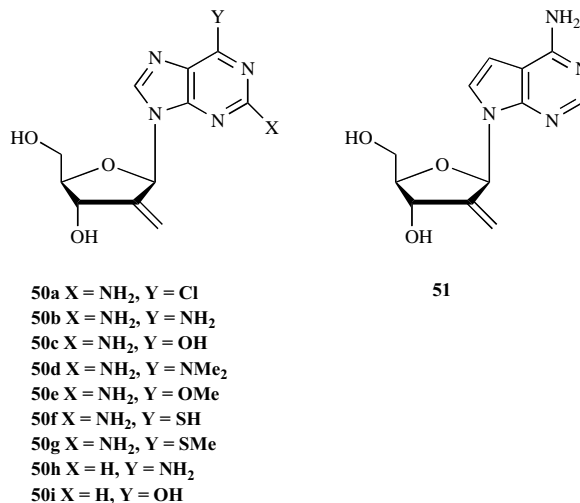


Fig. (26).

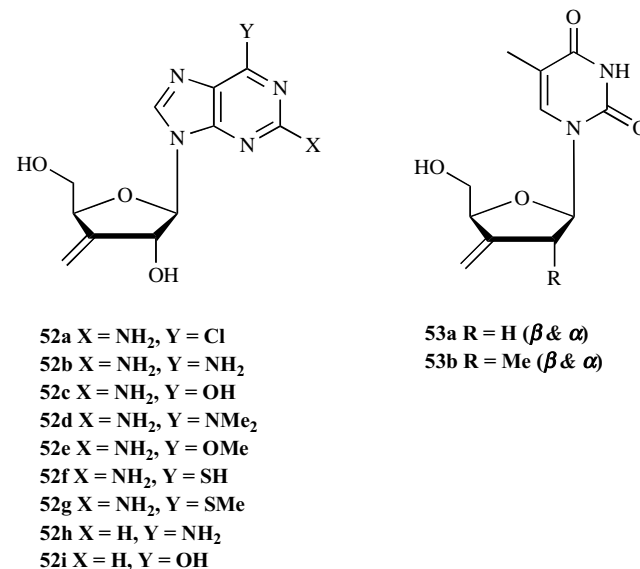


Fig. (27).

Riechokainen *et al.* [80] have described the synthesis of 3'-C-methylene- (**53a**) and 2'-methyl-3'-C-methylene-3'-deoxythymidine (**53b**) (Fig. 27), without reporting any biological data.

Jeong and Yoo [75] reported the synthesis and antiviral activity of (2*R*,4*R*)- **54,55** and (2*S*,4*S*)-*iso* dideoxynucleosides **56,57** with an exocyclic methylene group (Fig. 28). All synthesized (2*R*,4*R*)- and (2*S*,4*S*)-nucleosides were tested against several viruses, such as HIV-1, HSV-1, HSV-2, HCMV and HBV. None of the nucleosides was found to be active against HIV-1, HSV-1 and HSV-2 up to 100 μg/mL,

but many exhibited weak to potent antiviral potency against HCMV and HBV. *D*-adenine analogue **55a** appeared to be the most potent anti-HBV agent among the compounds tested, although it was less potent than lamivudine. *D*-uracil derivative **54a** was the most potent compound against HCMV among those tested, and *D*-adenine analogue **55a** was found to be moderately active against the same virus. The hypoxanthine derivative **55b** was the only one showing very weak anti-HSV-1 activity. It is interesting to note that (2*R*,4*R*)-isomers exhibited antiviral potency, while the corresponding (2*S*,4*S*)-isomers were found to be totally inactive against all the viruses tested [81].

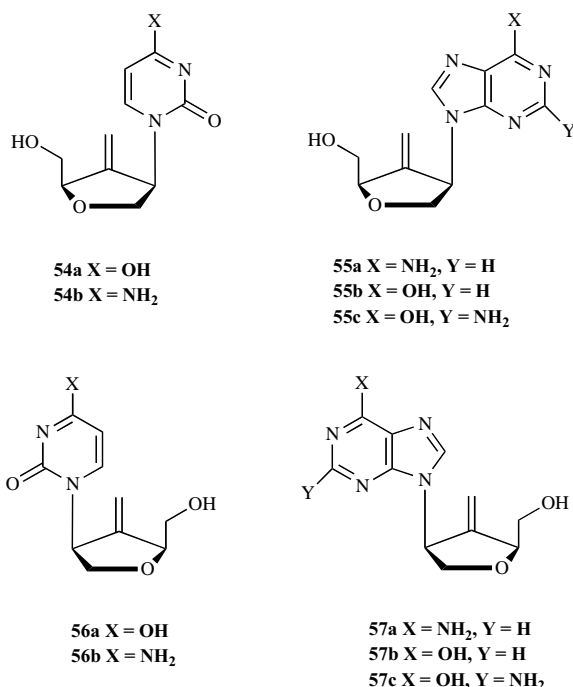


Fig. (28).

The synthesis of the ribonucleotide reductase inhibitor, 2'-fluoromethylene-2'-deoxycytidine (MDL 101,731) (**58**, Fig. **29**) has been described and examined by Bridges *et al.* [82] for antiviral activity against HSV-1 and HSV-2 *in vitro* and in combination with acyclovir in the murine zosteriform model of HSV-1 infection. In the zosteriform model, topical combination therapy of MDL 101,731 with acyclovir was more effective than acyclovir alone and even appeared to promote lesion resolution.

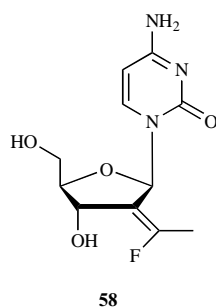


Fig. (29).

3. HEXOPYRANOSE UNSATURATED NUCLEOSIDES

The research on antiviral nucleosides with a six-membered carbohydrate moiety is relatively poor compared to that on biologically active nucleosides with modified five-membered ring structures. This is due to the fact that six-membered rings are conformationally less flexible than their five-membered congeners and conformational flexibility of a nucleoside is very important for the metabolic activation and for the interaction with the target enzyme(s). However, new series of biologically active unsaturated nucleosides with a six-membered moiety have been lately discovered.

Manta *et al.* [13,14], Leclercq *et al.* [83], Khan *et al.* [84], Ollapally *et al.* [85] and Egron *et al.* [86-88] have reported the synthesis of the unsaturated fluoro-ketonucleosides **59-63** (Fig. **30,31**). These molecules were evaluated for their antiviral activity, and **59a,b** and **60** showed rather modest, but direct activity against rotavirus. Compounds **62a,b** were able to inhibit rotavirus infectivity at the same IC₅₀ value (20 µg/mL), while **62b** was also able to inhibit VSV infectivity at 7 µg/mL. Additionally, earlier synthesized unsaturated ketopyranosyl derivatives **64-68** (Fig. **32,33**) showed significant *in vitro* and *in vivo* inhibitory activity against various types of cancer cells [89,90].

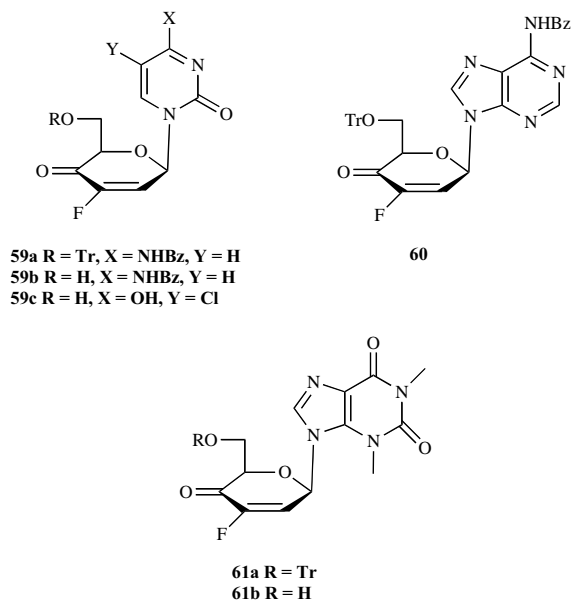


Fig. (30).

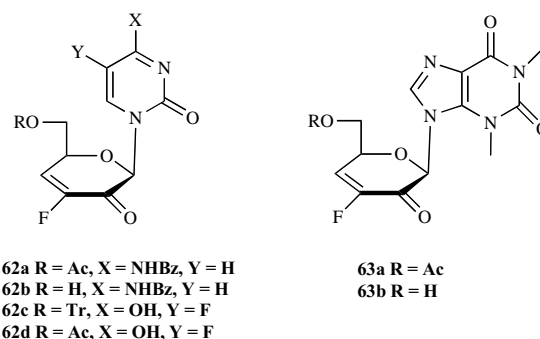


Fig. (31).

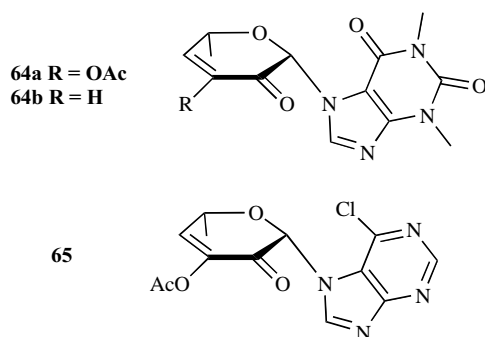


Fig. (32).

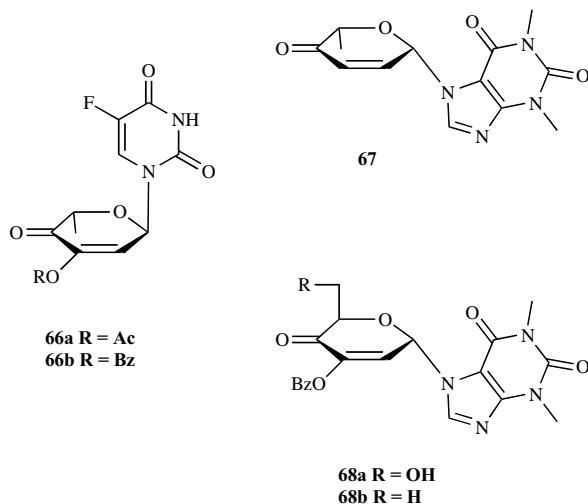


Fig. (33).

Lately, Lee *et al.* [91] reported a series of unsaturated fluorinated pyranosyl nucleosides in *D*- **69** and *L*- **70** configurations (Fig. 34), which were evaluated against HIV-1 in human PBM cells, but no significant antiviral activity was detected.

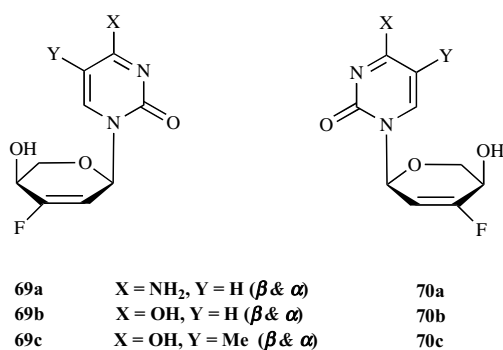


Fig. (34).

Luyten *et al.* [92] synthesized a series of 3',4'-dideoxy-1',5'-anhydrohexitol nucleosides **71,72** (Fig. 35). Only **71b** and **72a** showed low but significant activity against HIV-1 [93]. Hex-2-enopyranosyl and hex-3-enopyranosyl nucleoside analogues, **73-75** (Fig. 36), which were synthesized by Hansen *et al.* [94] and by Herdewijn *et al.* [95,96], were devoid of antiviral activity and cytotoxicity against HSV-1 or HIV-1.

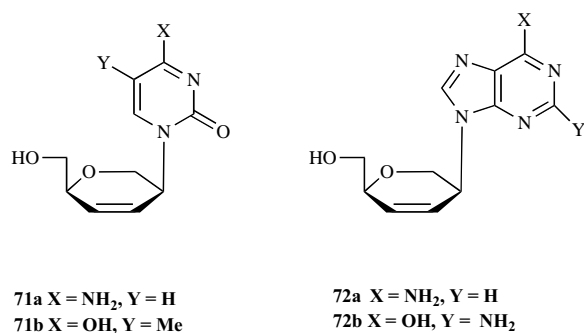


Fig. (35).

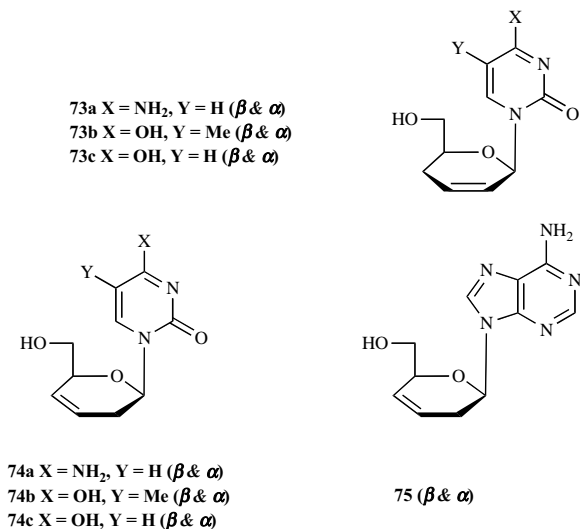


Fig. (36).

Pérez-Pérez *et al.* [97,98] reported the synthesis of a pentopyranosyl analogue of d4T monophosphate (compound **76**), as well as the isonucleoside of guanine **77** and its enantiomer **78** (Fig. 37). Analogue **76** showed no activity against HIV-1 or HIV-2 in CEM cells at concentrations up to 100 μg/mL and no toxicity was observed to the cell monolayers. Derivatives **77** and **78** were found to be inactive in cell culture against all herpes- and retrovirus assays tested (HSV-1, HSV-2, VZV, CMV, HIV-1, HIV-2).

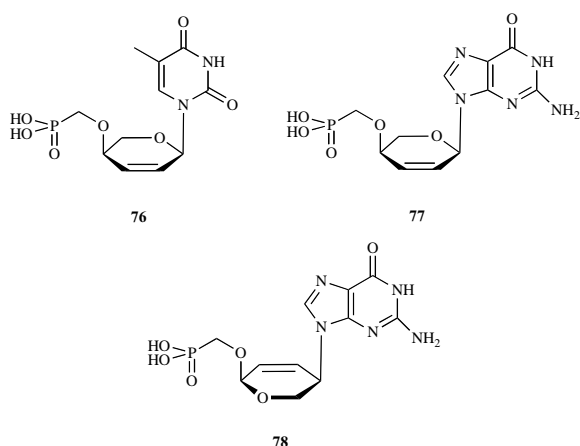


Fig. (37).

Agelis *et al.* [15] reported the synthesis of a new series of exomethylene and unsaturated exomethylene pyranonucleosides, **79** and **80** (Fig. 38). Compounds **79** and **80a** showed antiviral activity against rotavirus on MA 104 cells at 7.03 and 4.06 μM following virus attachment, while **79** exhibited a significant protection against rotavirus on Caco-2 cells and MA 104 cells at 2.46 μM , before virus attachment.

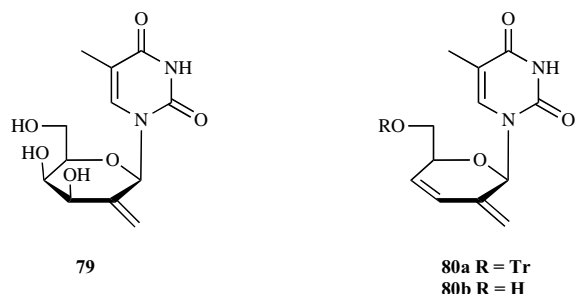


Fig. (38).

4. THIO UNSATURATED NUCLEOSIDES

As 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxy-2'-fluoronucleosides have exhibited interesting antiviral effects against HIV-1, as well as HBV [42-44], it was of interest to report on the synthesis and biological activity of the isosterically substituted 4'-thionucleosides [99,100]. Thus, Chong *et al.* [101] reported the synthesis of β -D-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxy-2'-fluoro-4'-thionucleosides **81**, **82** (Fig. 39). The antiviral activity of the synthesized compounds was evaluated against HIV-1 in PBM cells. Among the tested nucleosides, two pyrimidine nucleosides, cytidine **81a** (EC_{50} 1.3 μM) and 5-

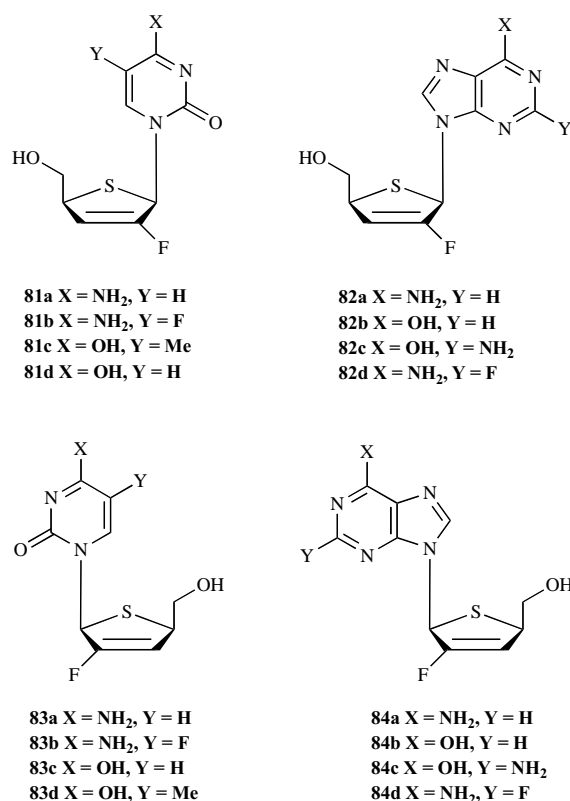


Fig. (39).

fluorocytidine **81b** (EC_{50} 11.6 μM), and all purine nucleosides, adenosine **82a** (EC_{50} 8.1 μM), inosine **82b** (EC_{50} 43.6 μM), guanosine **82c** (EC_{50} 80.5 μM) and 2-fluoroadenosine **82d** (EC_{50} 1.2 μM), showed moderate to potent antiviral activities. It is noteworthy that 2-fluoroadenosine analogue **82d** showed antiviral potency as well as high cytotoxicity (IC_{50} 1.5, 1.1 and 7.6 μM in PBM, CEM and Vero cells, respectively), whereas no other compound showed cytotoxicity up to 100 μM . The cytosine **81a** and 5-fluorocytidine analogues **81b** were also evaluated against the lamivudine-resistant mutant strain (HIV-1_{M184V}) in human PBM cells *in vitro*. Compared with the 4'-oxygen congeners, such as β -D-2'-F-d4FC, the β -D-2'-F-4'-Sd4C (**81a**) showed significantly reduced anti-HIV activity against HIV-1_{M184V}.

The β -L-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxy-2'-fluoro-4'-thionucleosides **83**, **84** (β -L-2'-F-4'-Sd4Ns, Fig. 39) have been synthesized by Choo, *et al.* [9] and evaluated for their anti-HIV-1 potency in human PBM cells and cytotoxicity in CEM and Vero cells. Two pyrimidine nucleosides, cytidine **83a** (EC_{50} 0.12 μM) and 5-fluorocytidine **83b** (EC_{50} 0.15 μM), showed the most interesting anti-HIV-1 activity. The purine nucleosides, adenosine **84a** (EC_{50} 1.7 μM), inosine **84b** (EC_{50} 15.5 μM), guanosine **84c** (EC_{50} 43.5 μM) and 2-fluoroadenosine **84d** (EC_{50} 11.5 μM), showed moderate antiviral activity, whereas significant cytotoxicity was observed for 2-fluoroadenosine **84d** (IC_{50} 13.0, 10.4 and 66.1 μM in PBM, CEM and Vero cells, respectively). However, all of the other synthesized nucleosides showed no significant cytotoxicity. The antiviral activity of the cytosine analogue **83a** was also evaluated against the lamivudine-resistant mutant strain (HIV-1_{M184V}) in human PBM cells *in vitro*, but proved to be significantly cross-resistant.

Various D- and L-2',3'-unsaturated 3'-fluoro-4'-thionucleosides **85-88** (Fig. 40) were prepared by Zhu *et al.* [102],

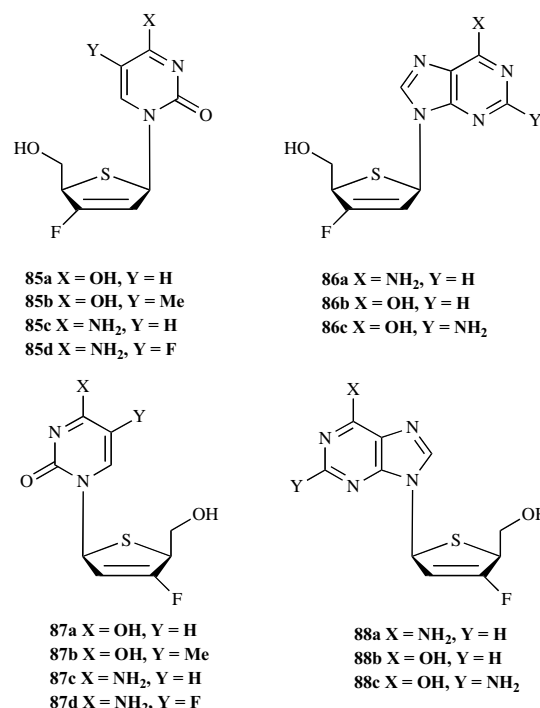


Fig. (40).

and their antiviral profile was evaluated against HIV-1 in human PBM cells *in vitro*. Among the tested nucleosides, *L*-cytosine **87c** (EC_{50} 0.13 μ M), *L*-5-fluorocytosine **87d** (EC_{50} 0.03 μ M), *L*-adenine **88a** (EC_{50} 14.9 μ M) and *L*-guanine **88c** (EC_{50} 43.9 μ M) showed moderate to potent antiviral activity. Only the *L*-5-fluorocytosine derivative **87d** showed marginal cytotoxicity (IC_{50} 88.1 μ M) in Vero cells, whereas no other compound showed any significant cytotoxicity up to 100 μ M. However, the synthesized *D*-2',3'-unsaturated 3'-fluoro-4'-thionucleosides did not show any significant antiviral activity against HIV-1. Only *D*-guanosine analogue **86c** had a marginal anti-HIV potency (EC_{50} 23.4 μ M). To assess the anti-HIV activity, the most potent derivatives, cytosine **87c** and 5-fluorocytosine **87d** were evaluated against the lamivudine-resistant mutant strain (HIV-1_{M184V}) in human PBM cells *in vitro*. The results indicated that both of these derivatives were not active against 3TC-resistant mutant (M184V).

Gunaga *et al.* [103] reported the stereoselective synthesis of the novel thioiso dideoxynucleosides **89** and **90** (Fig. 41) with an exocyclic methylene, as potential antiviral agents. All of the synthesized final nucleosides were tested against several viruses, such as HIV-1, HBV, HCV and HCMV. Only the 6-chloropurine derivative **90d** exhibited very weak anti-HCV activity.

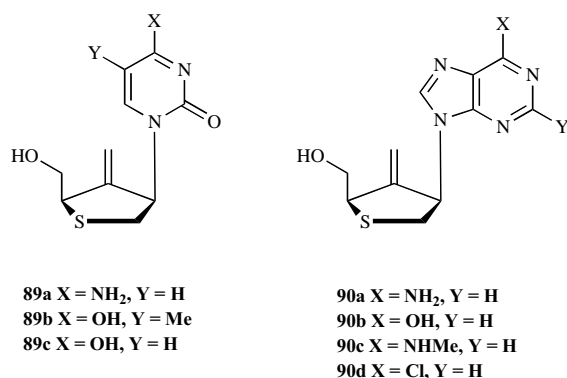


Fig. (41).

5. CARBOCYCLIC UNSATURATED NUCLEOSIDES

Several unsaturated nucleoside analogues synthesized during the past decade became an interesting class of biologically active compounds. Among the new structures, those containing a carbocycle showed to be particularly promising [104-106]. The advantage of these analogues, in which the sugar moiety was replaced by a carbocycle, is their better stability toward the phosphorylase enzymes, which cleave the glycosidic linkage. Many structures were proposed including cyclopropane [107,108], cyclobutane [109], cyclopentane [110] and even cyclohexane [111]. Among these, abacavir [112] and entecavir [76] have shown antiviral activities against HCMV, HSV, HBV and HIV.

5.1. Cyclopropyl Nucleosides

In recent years, there have been developed a series of analogues of nucleosides where the ribofuranose moiety is replaced by a methylenecyclopropane unit. Methylenecyclopropane analogues are a new class of antiviral agents, and

their antiviral activity is primarily associated with the purine *Z*-isomers. However, in some cases *E*-isomers are also effective.

Qiu *et al.* [113] have described the synthesis and the biological action of *Z*- and *E*- nucleoside analogues **91** (Fig. 42). The efficacy of analogues **91a-c**, of both geometries, as antiviral agents, was tested in cultures infected with HCMV and murine cytomegalovirus (MCMV), HSV-1 and HSV-2, EBV, VZV, HHV-6 and HBV. Analogues with the *Z*-structure were very effective inhibitors in a variety of herpetic viruses, whereas the respective *E*-isomers were much less potent or even inactive. Thus, synadenol, which is the *Z*-isomer of analogue **91a**, synguanol, the *Z*-isomer of analogue **91b**, and the *Z*-isomer of 2-amino-6-chloro analogue **91c** were the most effective against HCMV (IC_{50} 1.0-2.1, 0.04-2.1 and 0.8-5.6 μ M), MCMV (IC_{50} 2.1, 0.3 and 0.3 μ M) and Epstein-Barr virus (EBV) in H-1 (IC_{50} 0.2, 0.3 and 0.7 μ M) and Daudi cells (IC_{50} 3.2, 5.6 and 1.2 μ M). Activity against HSV-1 and -2 was of particular interest. Although, synadenol was found to be effective against HSV-2 and exhibited IC_{50} <0.14 μ M against HSV-1, synguanol lacked activity against HSV-1 and -2. Synadenol was also effective against the varicella-zoster virus (VZV) (IC_{50} 2.5 μ M); synguanol exhibited only a moderate effect (IC_{50} 61.3 μ M). Last, but not least, the efficacy of synadenol and synguanol against human herpes virus 6 (HHV-6) (IC_{50} 14.0 and 42.5 μ M, respectively) roughly corresponded to that of the drug foscarnet (IC_{50} 31.0 μ M). In the area of nonherpetic viruses, synadenol was the most effective agent against HBV in 2.2.15 cell culture (IC_{50} 2.0 μ M), whereas synguanol was much less active (IC_{50} 10.0 μ M). The IC_{50} values of 2-amino-6-chloro *Z*-analogue **91c** and *E*-isomers of **91a-c** were found to be higher than 10.0 μ M. The efficacy of all of these compounds against HIV-1 in CEM-SS cells was of significantly lower magnitude compared to most herpes viruses. Thus, the antiretroviral effect of the *Z*-isomers of adenine, **91a** and guanine analogue **91b** was only observed at lower virus titer (IC_{50} 0.8-1.1 μ M). At higher concentrations of HIV-1, some effect (IC_{50} 20.0 μ M) was noticed only for synadenol. All *E*-isomers were devoid of significant antiviral activity. Adenine analogue **91a** was the sole exception; it was found to be active against EBV in H-1 cell culture, while the guanine analogue **91b** had only a moderate effect against EBV in Daudi cells.

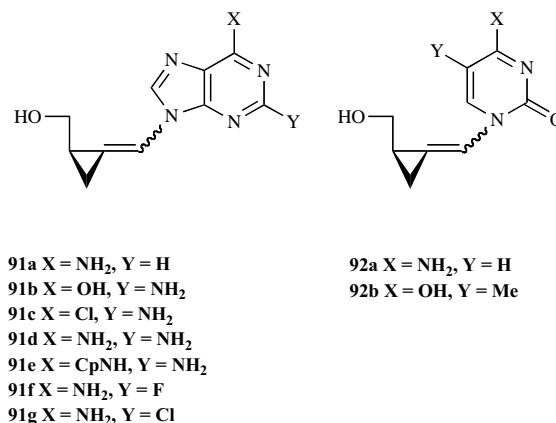


Fig. (42).

Qiu *et al.* [114] described the synthesis and the biological evaluation of *Z*- and *E*-nucleoside analogues **91d,e** and **92a,b** (Fig. 42). The methylenecyclopropane analogues were tested for their antiviral potency *in vitro* against HCMV and MCMV, EBV, VZV, HBV, HSV-1, HSV-2, HHV-6 and HIV-1. The *Z*-2-amino-6-cyclopropylaminopurine analogue **91e** was the most effective compound against HCMV (EC₅₀ or EC₉₀ 0.4-2.0 μM), followed by syncytol, the *Z*-cytosine analogue **92a**, and the *Z*-2,6-diaminopurine analogue **91d** (EC₅₀ or EC₉₀ 3.4-29.0 and 11.0-24.0 μM, respectively). The latter compound was also a strong inhibitor of MCMV (EC₅₀ 0.6 μM). Syncytol was the most potent against EBV (EC₅₀ <0.41 in Daudi cells and 2.5 μM in H-1 cells) followed by the *Z*-2,6-diaminopurine analogue **91d** (EC₅₀ 1.5 in Daudi cells and 6.9 μM in H-1 cells) and the *Z*-2-amino-6-cyclopropylaminopurine derivative **91e** (EC₅₀ 11.8 μM). Syncytol was also the most effective molecule against VZV (EC₅₀ 3.6 μM). Activity against HSV-1, HSV-2 and HHV-6 was generally lower; synthymol, the *Z*-thymine analogue **92b**, showed an EC₅₀ of 2.0 μM against HSV-1 and 1.3 μM against EBV in Daudi cells, but was inactive in other assays. *Z*-2-amino-6-cyclopropylaminopurine **91e** and *Z*-2,6-diaminopurine **91d** were effective against HBV (EC₅₀ 2.0 and 10.0 μM, respectively), whereas none of the analogues inhibited HIV-1. Syncytol and the corresponding *E*-isomer were equipotent against EBV in Daudi cells. The *E*-isomers of **91d** and **92b** were devoid of any antiviral activity. The *Z*- and *E*-2-fluoro- and 2-chloropurine methylenecyclopropanes, **91f** and **91g** (Fig. 42) were synthesized by Qin *et al.* [115], and their antiviral activity was evaluated against several viruses. The fluoro analogues were active against HCMV, but were cytotoxic at approximately the same concentrations. The chloro derivatives were non-cytotoxic and effective against EBV in Daudi cells (EC₅₀ <0.08 μM).

Qiu *et al.* [114] and Chen *et al.* [116] synthesized a series of *Z*-2-aminopurine methylenecyclopropanes, **93-96** (Fig. 43) and investigated their antiviral activity. Subsequent stud-

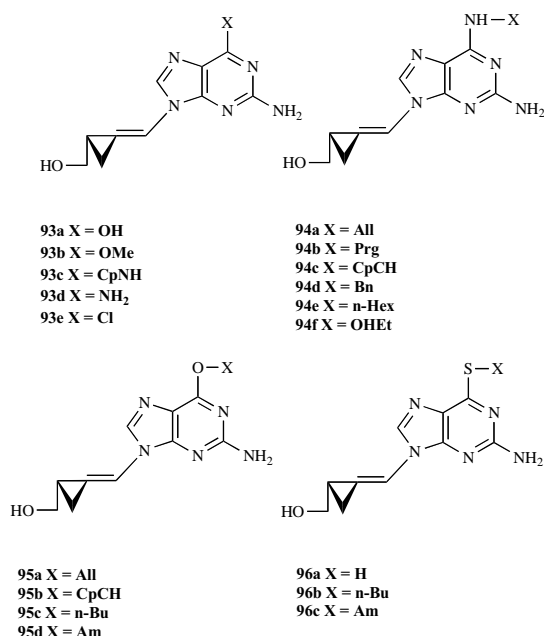


Fig. (43).

ies have shown that a potent inhibition of replication of CMV is associated with 2-aminopurine analogues **93a-c**. Investigations on analogues **93a** and **93c** in a murine model of CMV infection indicated that both compounds were effective, with cyclopropylamino analogue **93c** being more potent. The *N*⁶-alkyl derivatives **94a,b**, *O*⁶-analogues **95a-d** and *S*⁶-compounds **96b,c** were highly effective in all CMV assays and exhibited the lowest cytotoxicity in proliferating human foreskin fibroblast (HFF) cells; they also appeared to be good candidates for *in vivo* studies. The activity of the analogues against HSV-1 or HSV-2 was restricted to BSC-1 and Vero cultures. Compounds **94b,c**, **95a** and **95c** were effective against EBV in one of two assays (Daudi or H-1 cells). Analogues **95a** and **96c** were the most active anti-VZV agents, whereas compounds **95c,d** and **96b** inhibited the replication of HBV in a micromolar concentration range.

The synthesis and biological activity of racemic 2-aminopurine methylenecyclopropane analogues of nucleosides **97** and **98** (Fig. 44) has been described by Wang *et al.* [117]. Racemic analogues **97** and **98** were inactive against HCMV, HSV-1, HSV-2, EBV and VZV. Enantiomer (*S*)-(+)-**97** inhibited replication of HSV-1 in BSC-1 cells (EC₅₀ 35.0 μM), and was non-toxic in KB cells (CC₅₀ >100 μM). Compound (*S*)-(+)-**97** was also moderately effective against VZV in HFF culture with EC₅₀/CC₅₀ (μM) 60/>460.

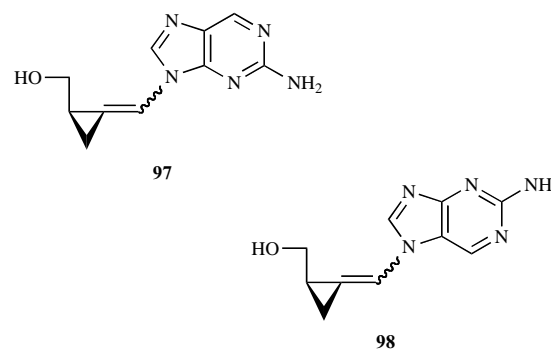


Fig. (44).

Phenylmethylphosphoro-*L*-alaninate derivatives of antiviral *Z*-methylenecyclopropane nucleoside analogues **99** and **100** (Fig. 45), and their inactive *E*-isomers were synthesized by Qiu *et al.* [118,119] and evaluated for their antiviral activity against HCMV, HSV-1, HSV-2, HHV-6, EBV, VZV, HIV-1 and HBV. The adenine *Z*-analogue **99a** was a potent inhibitor of all these viruses, but displayed cellular toxicity. The guanine *Z*-analogue **99b** was active against HCMV, HBV, EBV and VZV and was not cytotoxic. The 2,6-diaminopurine analogue **99c** was the most active compound against HIV-1 and HBV, but somewhat less against HHV-6, HCMV, EBV and VZV in a non-cytotoxic concentration range. The 2-amino-6-cyclopropylamino (**99d**) and 2-amino-6-methoxypurine (**99e**) analogues were also more active than the parent derivatives against several viruses, but with a less favorable cytotoxicity profile. In the *E*-series of analogues, adenine derivative was active against HIV-1, HBV and EBV, and was non-toxic. The guanine analogue exhibited a significant effect only against HBV. With the exception of a single EBV assay, the 2,6-diaminopurine *E*-analogue was inactive. The 2-amino-6-methoxypurine *Z*-methylenecyclopropane

nucleoside analogue was an effective inhibitor of HCMV, MCMV and EBV. The 2,6-diaminopurine Z-analogue seemed to be the best candidate for further development.

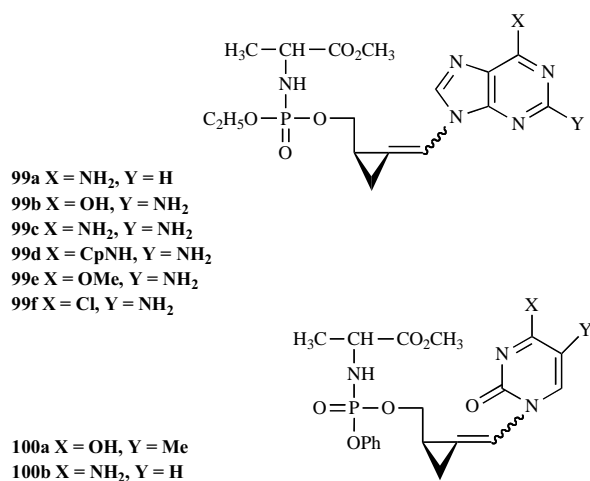


Fig. (45).

The Z- and E-thymine and cytosine derivatives **100a** of methylenecyclopropane nucleoside analogues were synthesized by Ambrose *et al.* [120] and evaluated for their antiviral potency against HCMV, HSV-1 and HSV-2, VZV, EBV, HIV-1 and HBV; their activity was compared to that of the parent compounds. Thus, conversely to the E-isomer, which was devoid of anti-HCMV potency, the Z-cytosine analogue of **100b** was effective in this assay. This isomer was also potent against EBV, while the E-isomer was moderately active. All of the tested analogues were ineffective against HSV-1, HSV-2, HIV-1 and HBV. Both Z-isomers of **100a** and **100b** were significantly less active against VZV than the parent compounds.

Guan *et al.* [121] reported the synthesis of Z- and E-isomers of phosphonates of methylenecyclopropane nucleoside analogues **101** (Fig. 46). All phosphonates were evaluated against several viruses and found to be inactive against herpes viruses (HSV-1, HSV-2, HCMV, VZV and EBV), as well as HBV and HIV-1. The Z-isomer of guanine phosphonate **101d**, which inhibited VZV in HFF culture (EC₅₀/CC₅₀ (μM) 2.3/>317) was the only exception.

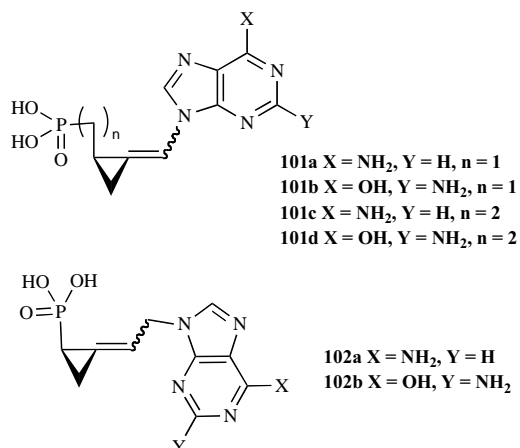


Fig. (46).

Yan *et al.* [122] synthesized the methylenecyclopropane analogues of nucleoside phosphonates **102** (Fig. 46) and evaluated them against HSV-1, HSV-2, HCMV, EBV, VZV, HIV-1 and HBV. Z- and E-isomers of guanine analogue **102b** were potent inhibitors of replication of EBV in Daudi cells (EC₅₀/CC₅₀ (μM) 1.1 and <0.03/>300), respectively. No activity was recorded against other viruses.

The synthesis and biology of the second generation of methylenecyclopropane nucleoside analogues, the 2,2-bis-hydroxymethyl-cyclopropane derivatives **103** and **104** (Fig. 47), was reported by Zhou *et al.* [123]. The guanine Z-isomer of **103b**, albeit being non-cytotoxic, was the most effective compound against HCMV and MCMV (EC₅₀ of 0.27-0.49 μM). The Z-6-methoxy analogue of **103e** was also active (EC₅₀ 2.0-3.5 μM), whereas the adenine Z-isomer of **103a** was less potent (EC₅₀ 3.6-11.7 μM). The Z-cytosine analogue of **104a** was moderately effective, but the Z-2-amino-6-cyclopropylamino derivative of **103c** was inactive. All E-isomers were devoid of anti-CMV activity, and none of them was significantly effective against HSV-1 or HSV-2; the potency against EBV was assay-dependent. In Daudi cells, the E-isomers of 2-amino-6-cyclopropylamino- and 2,6-diaminopurine derivatives **103c** and **103f** were the most potent (EC₅₀ 0.3 μM). Conversely in the same assay only the thymine Z-isomer of **104b** was active (EC₅₀ 4.6 μM). The guanine Z-derivative of **103b** was the most effective compound in H-1 cells (EC₅₀ 7.0 μM). Within the Z-series, the 2-amino-6-methoxypurine analogue **103e** was the most effective against VZV (EC₅₀ 3.3 μM), while its 2,6-diaminopurine congener **103f** against HBV (EC₅₀ 4.0 μM).

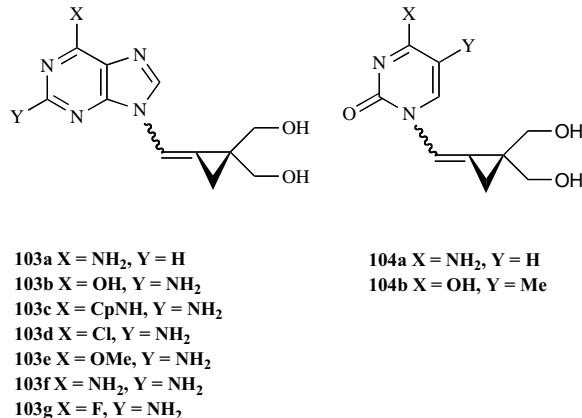


Fig. (47).

Zhou *et al.* [124] synthesized all the isomers of adenine and guanine methylene-3-fluoromethylenecyclopropane analogues of nucleosides **105a,b** and **106a,b** (Fig. 48). The antiviral activity of all of these compounds was evaluated and found that the Z-analogue of **105b** was effective against HCMV (EC₅₀ 2.9 μM), the E-isomer inhibited AD169 strain of HCMV (EC₅₀ 15.0 μM) and MCMV (EC₅₀ 2.5 μM), and the E-isomer of analogue **106a** was effective against EBV (EC₅₀ <0.03 μM); the Z-analogue of **105a** inhibited VZV (EC₅₀ 5.9 μM) and HIV-1 (EC₅₀ 5.2 μM).

Wang *et al.* [125] have reported the synthesis of the Z- and E-isomers of methylene-gem-difluorocyclopropanes, **107a** and **107b** (Fig. 48). Both analogues were tested against

HCMV, HSV-1 and HSV-2, VZV, EBV, HIV-1 and HBV. Only the *E*-isomer of adenine analogue **107a** was active against the Towne strain of HCMV propagated in HFF cells (EC_{50} 21.0 μ M), but not cytotoxic. More moderate effects were observed against HSV-1 in BSC-1 cells and EBV in Daudi cells. The *Z*- and *E*-isomers of the adenine analogue were also found to possess antitumor activity.

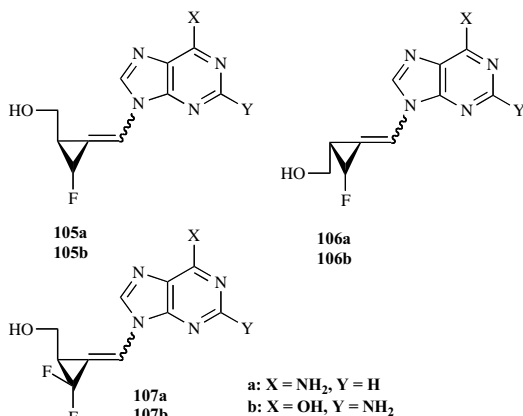


Fig. (48).

5.2. Cyclobutyl Nucleosides

Significant attention has been paid to the development of synthetic methods for the preparation of four-membered ring structures with endocyclic or exocyclic double bonds, with antiviral potential.

Guan *et al.* [109] has reported the synthesis of the *Z*- and *E*-methylenecyclobutane analogues **108** (Fig. 49). These molecules were tested against HCMV, HSV-1, HSV-2, EBV, HBV, VZV and HIV. None of them had a significant antiviral activity, and a moderate effect of *Z*-methylenecyclobutane analogue **108** against EBV in Daudi cells (IC_{50} 39.0 μ M) was accompanied by cytotoxicity (CC_{50} 40.0 μ M). These analogues were also ineffective as substrates for adenosine deaminase. Methylenecyclobutane analogues **109**, **110** (Fig. 49) were synthesized by Wang *et al.* [126] and found to be inactive (EC_{50}/CC_{50} (μ M) >100/>100) against all tested viruses (HIV-1, HBV, HSV-1, HSV-2, HCMV, EBV and VZV). Only adenine analogue **109a** was a moderate substrate for adenosine deaminase.

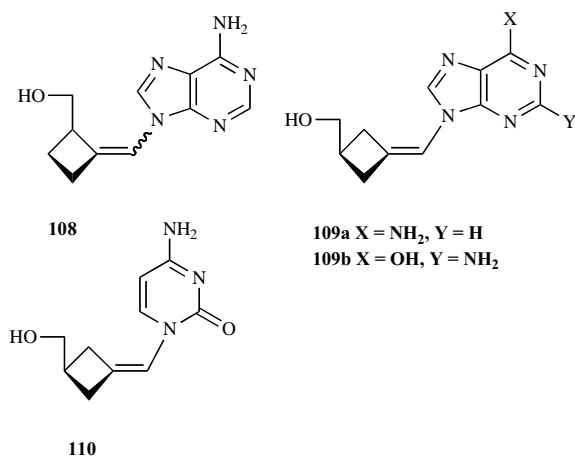


Fig. (49).

Danappe *et al.* [127] described the synthesis of *Z*- and *E*-nucleoside analogues **111-114** (Fig. 50) bearing a methylene cyclobutane unit. Compounds **111-114** were tested against HIV-1 and HSV-1, but none of them had a significant antiviral activity.

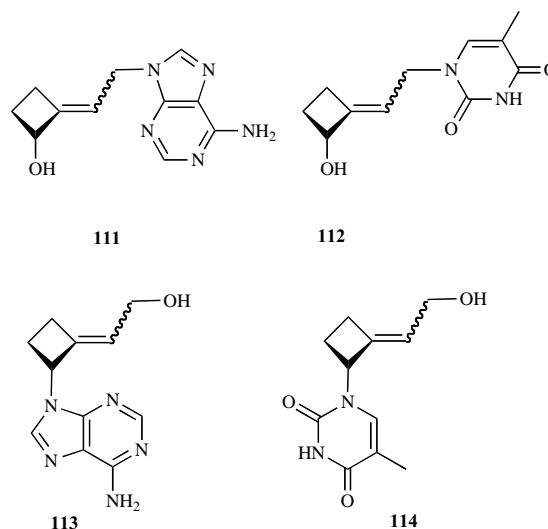


Fig. (50).

Cyclobutane nucleoside analogues **115a-c**, and **116** (Fig. 51) with adenine, hypoxanthine, guanine and 4,6-diamino-5-nitropyrimidine bases moieties, were synthesized by Gourdel-Martin *et al.* [128,129] and found to be inactive in *in vitro* anti-HIV-1 and HIV-2 screens (CEM 4 cells) and *in vitro* antitumor tests (KB cells).

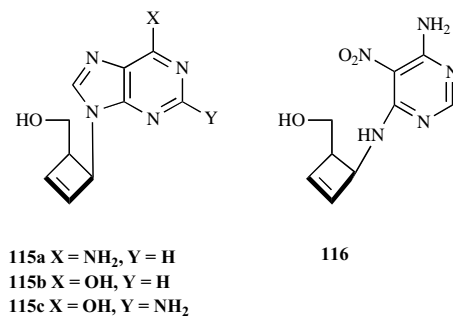


Fig. (51).

Hubert *et al.* [130] have synthesized cyclobutenic derivatives **117** and **118** (Fig. 52) with a methylene spacer between the carbocycle and the heterocycle moieties. Both compounds were tested against HIV-1, but none of them had any significant antiviral activity.

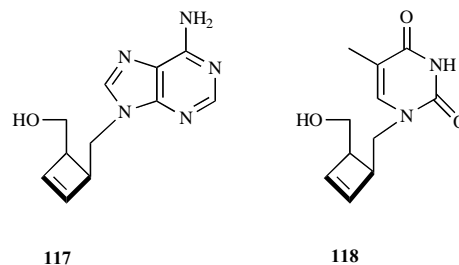


Fig. (52).

The synthesis and biology of compounds **119** and **120** (Fig. 53) has been described by Maruyama *et al.* [131]. The methylenecyclobutylpurines **119a**, **120a** and **120b** showed some activity against VZV and exhibited little activity against CMV; they were also virtually inactive against HSV-1 and HSV-2.

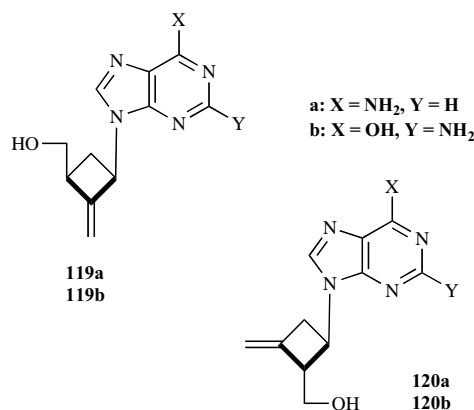


Fig. (53).

Finally, Wang *et al.* [126] synthesized phosphoralaninate nucleoside analogues **121** (Fig. 54), which comprise adenine and guanine bases. In contrast to **121b**, which was inactive against all tested viruses (HCMV, HSV-1, HSV-2, VZV, EBV, HIV-1 and HBV), compound **121a** was effective against EBV in Daudi cells.

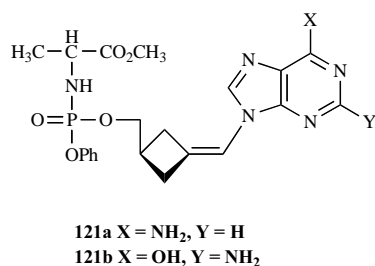


Fig. (54).

5.3. Cyclopentyl Nucleosides

Considerable evidence has been surfaced about the introduction of a rigid structural element into the cyclopentyl moiety of carbocyclic nucleosides, leading to compounds with interesting biological properties, especially antiviral [132].

Yin *et al.* [133] has reported the synthesis of carbanucleoside possessing a C-1'/C-6' double bond (**122a**) and its C-4' epimer **122b** (Fig. 55). These two compounds were subjected to antiviral screening and found to be inactive and display no cytotoxicity, except of that of **122a** towards the Daudi host cells used in the EBV assay. Yin *et al.* [134] also synthesized the 1',6'-double bond isomer **123a** of neplanocin A [135] and its 2'-deoxy congener **123b** (Fig. 55), but do not quote any biological screening.

An efficient and general approach of asymmetric synthesis of carbocyclic nucleoside **124** (1592U89, Fig. 56) was reported by Crimmins *et al.* [22]. 1592U89 proved to be a

reverse transcriptase inhibitor and reported to hold remarkable promise for the treatment of HIV [136].

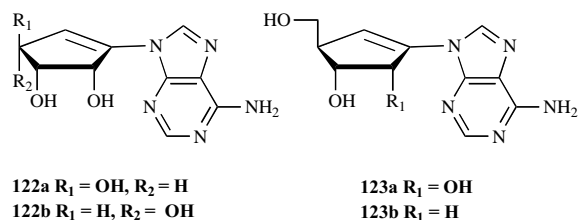


Fig. (55).

The synthesis and *in vitro* anti-HIV activity of the two racemic nucleoside analogues **125** (Fig. 56), was described by Katagiri *et al.* [137]. The inhibitory effect of **125a** and **125b** on HIV-1 induced cytopathogenicity in MT-4 cells was investigated; in contrast to compound **125b**, which showed no significant anti-HIV activity and toxicity, analogue **125a** showed significant protection of MT-4 cells from the cytopathic effects of HIV-1.

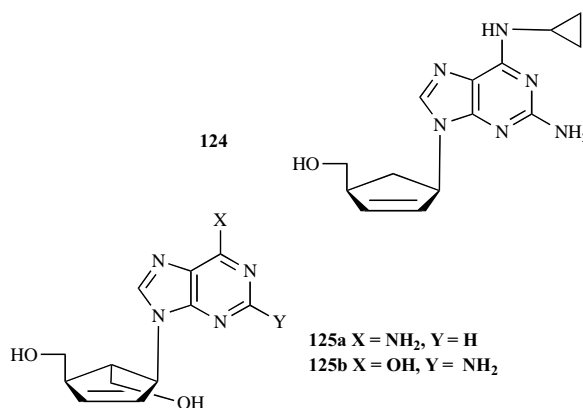


Fig. (56).

Wang *et al.* [138] synthesized both *D*- and *L*-2',3'-dideoxy-2',3'-didehydro-2'-fluoro-carbocyclic nucleosides **126** and **127** (Fig. 57) as potential anti-HIV agents. Among the target nucleosides, *L*-adenosine analogue **127d** was the most potent against wild-type HIV-1 (EC₅₀ 0.77 μM), although its *D*-counterpart was inactive. In the *D*-series, only cytidine **126d** (EC₅₀ 72.8 μM) and guanosine **126f** (EC₅₀ 37.8 μM) showed weak anti-HIV activity.

Wang *et al.* [139] also synthesized both *D*- and *L*-2',3'-dideoxy-2',3'-didehydro-3'-fluoro-carbocyclic nucleosides **128** and **129** (Fig. 58), which were evaluated against HIV-1 in PBM cells. Among the synthesized *L*-series nucleosides, compounds **129a-c** and **129e** exhibited moderate antiviral activity (EC₅₀ 7.1 μM, 6.4 μM, 10.3 μM and 20.7 μM, respectively), while from those of the *D*-series, the guanosine analogue **128d** exhibited the best anti-HIV activity (EC₅₀ 0.4 μM).

Kim *et al.* [140] and Oh *et al.* [141] synthesized a series of 2' and 4'-doubly branched carbocyclic nucleosides **130** (Fig. 59). After performing the antiviral assays, it was found that the cytosine analogues **130d** and **130e** showed moderate activity against coxsackie B3 (CoxB3) without being significantly cytotoxic to the host cell. In addition, adenine ana-

logue **130a** showed weak antiviral activity against the HCMV, while its cytosine congener **130f** exhibited moderate activity against the HCMV virus.

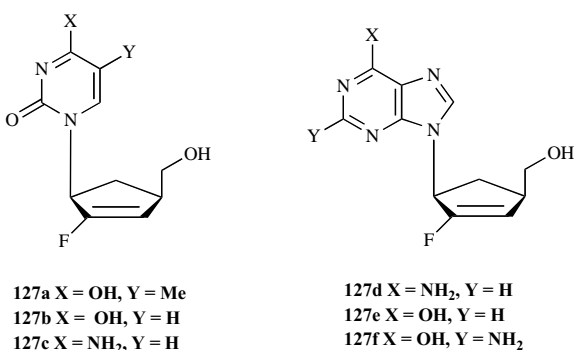
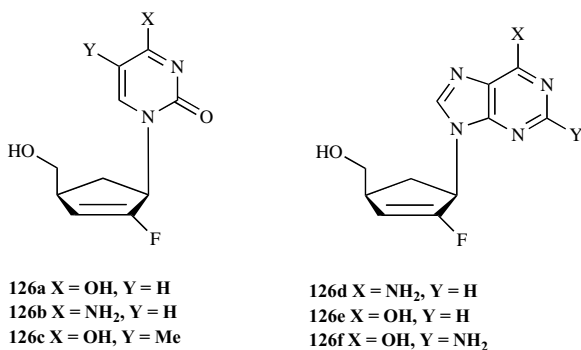


Fig. (57).

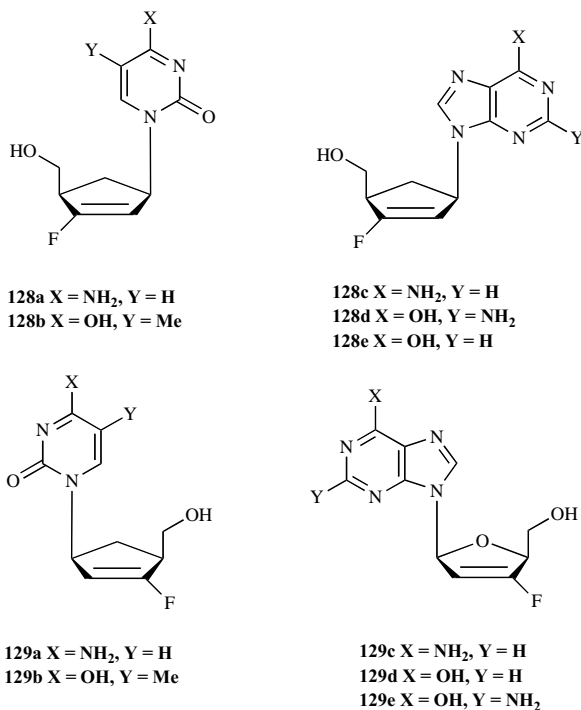


Fig. (58).

Oh *et al.* [141] also synthesized a series of 3',4'-doubly branched carbocyclic nucleosides **131** (Fig. 60). Although both of the synthesized compounds were assayed against

several viruses, none of them exhibited excellent antiviral activity and any cytotoxicity when tested up to 100 $\mu\text{g/mL}$.

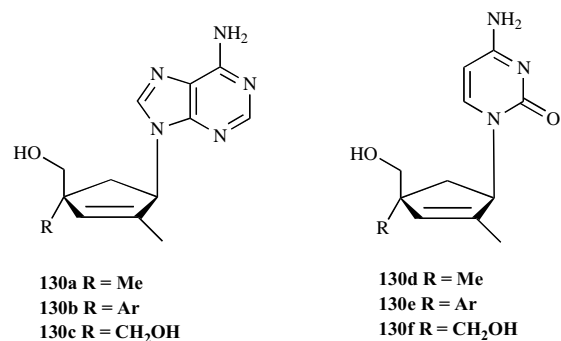


Fig. (59).

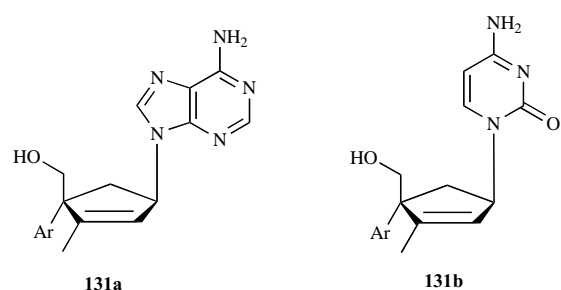


Fig. (60).

Bisacchi *et al.* [76] synthesized a carbocyclic analogue of 2'-deoxyguanosine **132a**, its enantiomer **132c** and adenine, thymine and iodouracil analogues **132b,d** and **e** respectively (Fig. 61). The anti-HBV activity of all analogues was evaluated, and compound **132a** with an EC₅₀ of 0.003 μM emerged as the most active analogue tested in cell culture. The adenine analogue **132b** was 43-fold less potent, while the thymine **132d** and 5-iodouracil **132e** analogues were much less potent and compound **132c** was 30.000-fold less active.

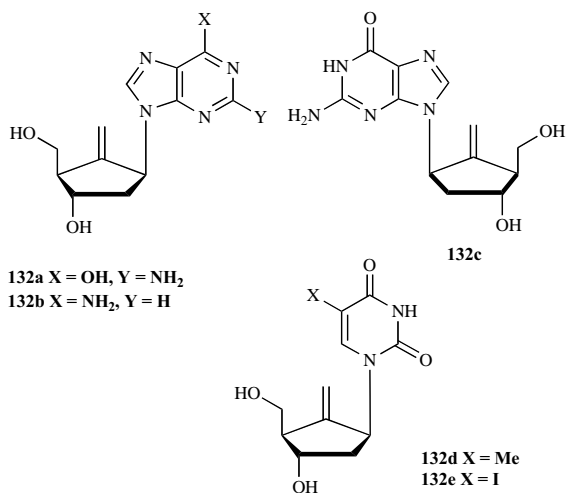


Fig. (61).

5.4. Cyclohexyl Nucleosides

Despite the fact that the carbocyclic analogues have led to the discovery of carbovir [142] as anti-HIV agent, less

efforts have been directed toward the synthesis of six-membered carbocyclic analogues. However, Wang *et al.* [143] have described the synthesis of *D*- and *L*-5-hydroxy-4-hydroxymethyl-2-cyclohexenylguanine **133** and **134** (Fig. 62). *D*- and *L*-Cyclohexenylguanine analogues were the first examples of two enantiomeric nucleosides showing similar activity against a whole range of herpes viruses. In comparison with acyclovir they were slightly more potent against HSV-1 and slightly less potent against HSV-2. They were equipotent with acyclovir in inhibiting VZV replication and showed the same potency against CMV as ganciclovir [144].

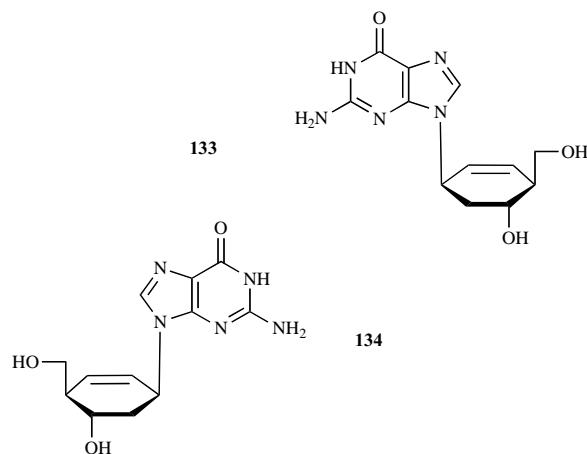


Fig. (62).

Barral *et al.* [16], Konkel *et al.* [145] and Rosenquit *et al.* [146] synthesized a series of purine and pyrimidine cyclohexenyl nucleosides, **135**-**137** (Fig. 63,64). Compounds **135a-d** were evaluated against HIV-1 and HIV-2, HSV-1 and HSV-2, VV, CoxB3 in Vero cells and HCMV in human embryonic lung (HEL) cells and no significant cytotoxicities were reported. Compound **135b** displayed moderate activity against wild-type HSV-1.

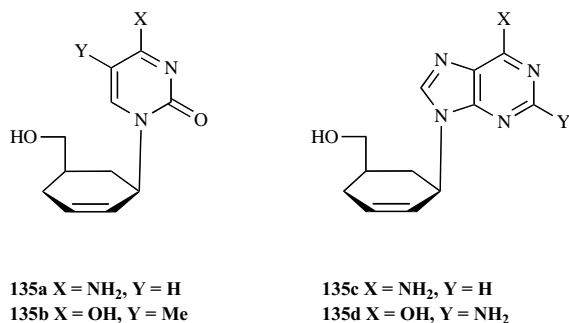


Fig. (63).

Analogues **136a-f** and **136c-f** (Fig. 64) were tested for activity against HSV-1 and HIV-1, respectively and found to be inactive. They were also evaluated for cytotoxicity against P388 mouse leukemia cells, and only **136a** showed cytotoxicity with IC₅₀ of 40 μg/mL. Analogues **137a,b** were found to be inactive against HIV on M4 cells.

Pérez-Pérez *et al.* [147] reported the synthesis of cyclohexenyl phosphonate nucleosides **138** (Fig. 65). Analogues **138a-d** were tested for inhibitory activity against herpes viruses (HSV-1, HSV-2, VZV, CMV) and HIV replication and

found inactive at concentrations up to 50 μg/mL. Maurinsh *et al.* [148] synthesized the series of nucleoside analogues **139** (Fig. 66), which were devoid of anti-HIV activity.

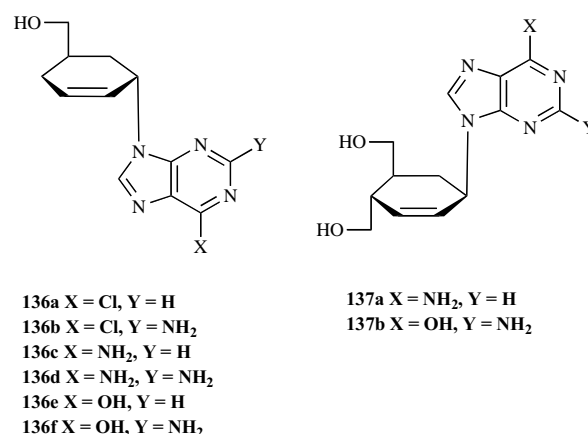


Fig. (64).

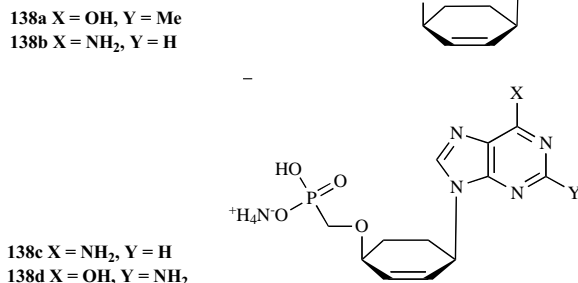


Fig. (65).

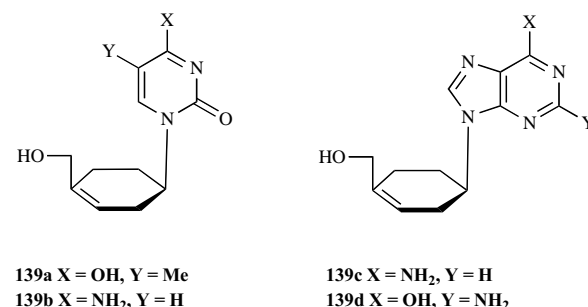
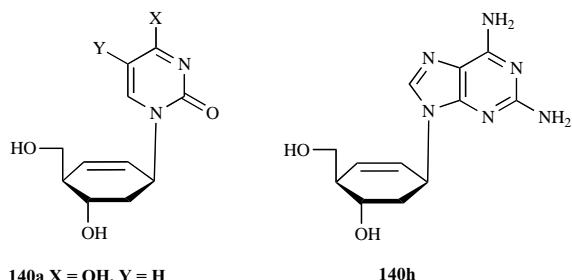


Fig. (66).

On the contrary, the cyclohexenyl nucleosides **140** (Fig. 67) prepared by Gu *et al.* [149] were quite potent. Thus, **140e-h** demonstrated marked activity against HSV-1 and HSV-2 and **140h** effected 50% reduction of the cytopathogenicity induced by HSV-1 at 0.38 μg/mL; compounds **140a** and **140d** exhibited no inhibitory effect on VZV or CMV in HEL cells.

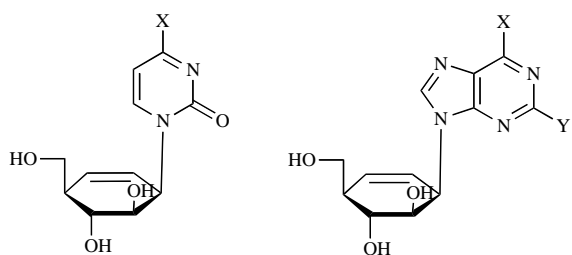
The “ara”-type cyclohexenyl nucleosides **141** (Fig. 68) synthesized by Wang *et al.* [150], were evaluated for their

inhibitory effect on the cytopathogenicity of HSV-1, HSV-2, VV and VSV. Only the guanine analogue **141d** demonstrated marginal antiviral activity against HSV-1 with an EC₅₀ value of 4 µg/mL. Rosenquist *et al.* [146] reported derivatives **142** (Fig. **68**), which were inactive against HIV on M4 cells.



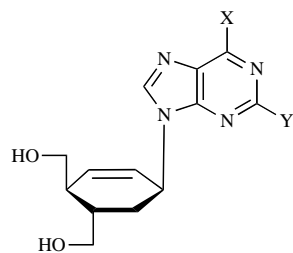
140a X = OH, Y = H
140b X = OH, Y = I
140c X = OH, Y = F
140d X = OH, Y = Me
140e X = NH₂, Y = H
140f X = NH₂, Y = F
140g X = NH₂, Y = Me

Fig. (67).



141a X = OH
141b X = NH₂

141c X = NH₂, Y = H
141d X = OH, Y = NH₂



142a X = NH₂, Y = H
142b X = OH, Y = NH₂

Fig. (68).

Finally, Ramesh *et al.* [151] reported the synthesis of hydroxylated cyclohexenyladenine analogues **143** and **144** (Fig. **69**). Only analogue **143b** showed inhibitory activity on the bovine liver S-adenosylhomocysteine hydrolase (1.0 µM, 26.7%; 10.0 µM, 59.6%), but it was not sufficient to warrant additional biological evaluation.

6. ACYCLIC UNSATURATED NUCLEOSIDES

The interest in the synthesis of acyclic nucleoside analogues emerged when it appeared that changing the ribose moiety by an acyclic chain leads to potent antiviral drugs, such as ganciclovir [152] and penciclovir [153-155]. However, the presence of one or more double bonds in acyclic

nucleoside analogues seems to be a structural feature important for their antiviral activities. The most interesting compounds of this series are Z-butenols, the guanine analogue is an antiviral agent, and allenols, the adenine analogue being a strong inhibitor of HIV [17].

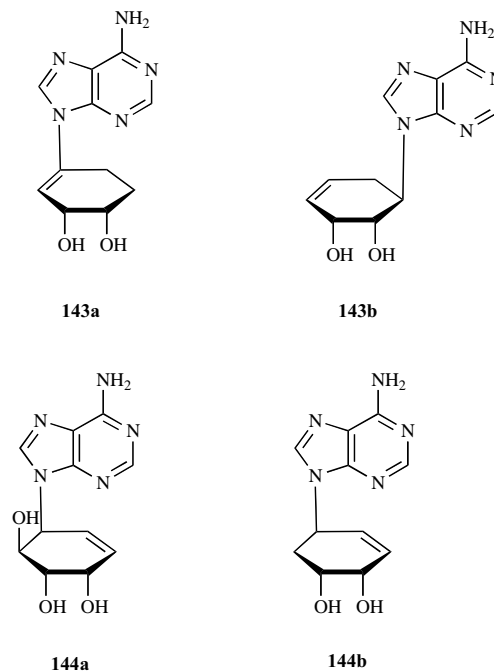
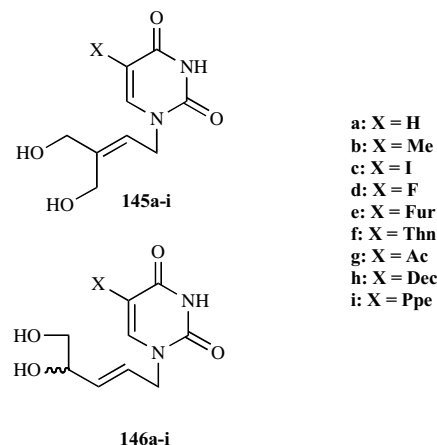


Fig. (69).

Amblard *et al.* [156,157] have reported the synthesis of various unsaturated acyclic pyrimidine nucleoside analogues **145-148** (Fig. **70,71**). Among these nucleosides, **145d**, **146e,f**, **145h,i** and **146h,i** were found to exhibit moderate anti-HIV activity, while **145g** and **146g** were inactive. The above acyclic nucleosides were also evaluated against HSV-1, and the highest activity was achieved by furanopyrimidine derivative **148b** (Fig. **71**) with an EC₅₀ value of 4.8 µM. Analogues **146e** and **146f** exhibited moderate anti-HSV activity with an EC₅₀ of 12.2 and 8.8 µM, respectively.



a: X = H
b: X = Me
c: X = I
d: X = F
e: X = Fur
f: X = Thn
g: X = Ac
h: X = Dec
i: X = Ppe

Fig. (70).

Hernandez *et al.* [158] synthesized and tested against human mitochondrial thymidine kinase (TK-2) and HSV-1

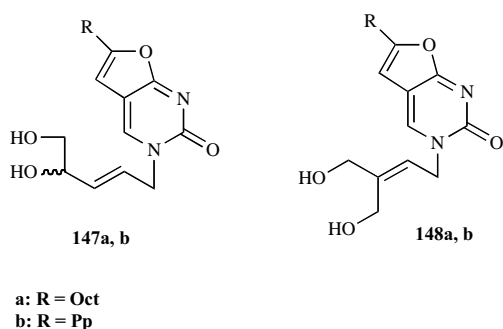


Fig. (71).

TK, a series of acyclic nucleoside analogues **149-153** (Fig. **72,73**) of 5'-*O*-tritylthymidine (Tr-dThd). *E*-Butenyl **150** was slightly more potent than Tr-dThd. Butynyl **149** showed weak activity at the level of TK-2 and same potency as **150** against HSV-1 TK. Replacement of the furanosyl moiety by a *Z*-butenyl spacer **151a** increased the inhibitory potency 20-fold against TK-2 (IC_{50} 1.5 μ M), but at the same time reduced the inhibitory potency 6-fold against HSV-1 TK. The 5-iodouracil **151c** retained activity against both enzymes, and the inhibitory behavior was similar to **151a**, while guanine **153b** and 5-methylcytosine **151d** analogues showed no inhibitory capacity. Finally, the 5,6-dihydrothymine derivative **153a** showed activity, exclusively against TK-2 with an IC_{50} value of 9.8 μ M, thus being a highly selective TK-2 inhibitor. Among the compounds in the acyl series **152**, the diphenyl acetyl derivative **152c** showed the most potent inhibition of TK-2 (IC_{50} 4.6 μ M).

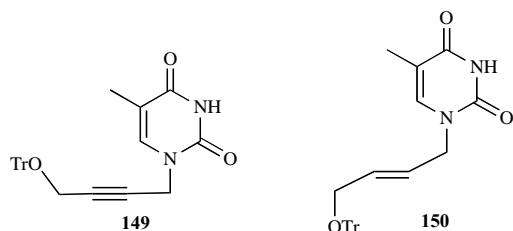


Fig. (72).

Several 6-azauracil unsaturated acyclonucleosides **154-156** with both *Z* and *E* configurations have been synthesized by Kabbaj *et al.* [159] (Fig. **74**). The unsaturated acyclonucleosides **154a,b**, **155a,b** and the unsaturated acyclonucleoside phosphonates **154c,d** were evaluated for their inhibitory effect against the cytopathicity of HIV-1 (III_B) and HIV-2 (ROD) in MT-4 cells. Compounds **154c** and **154d** showed activity at 7 μ g/mL, while analogues **154a,b** and **155a,b** had no activity at concentrations up to 100 μ g/mL. The N-1, N-3 bisalkyl acyclonucleosides **156a-h** were tested for their *in vitro* inhibitory effect on the replication of HSV-1, HSV-2, VV, sindbis virus, coxsackie virus and polio virus in three cell systems (Vero, E6SM and Hela). Only analogues **156a-d,g,h** showed interesting activity.

Hernandez *et al.* [160] synthesized and evaluated a series of analogues **157**, **158** (Fig. **75**) for their inhibitory activity against phosphorylation of thymidine (dThd) by recombinant TK-2 and HSV-1 TK. Derivative **157a** showed modest inhibition against TK-2 and no inhibition on the herpes enzyme, and **158a,b** were almost devoid of inhibitory activity against

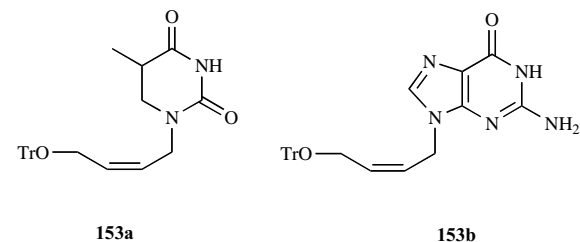
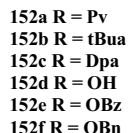


Fig. (73).

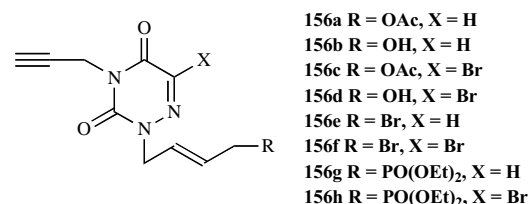
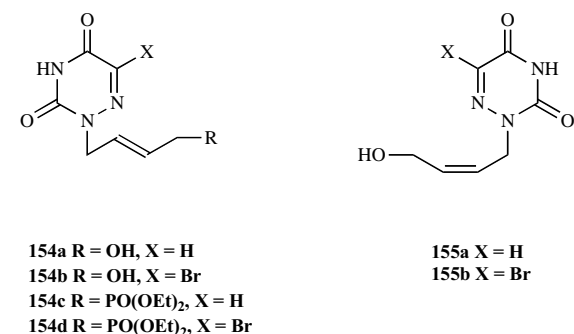


Fig. (74).

both enzymes. The dibenzylamine derivative **157c** was found to be a highly selective TK-2 inhibitor with an IC_{50} of 3.5 ± 0.5 μ M.

Tang *et al.* [161] reported a series of unsaturated carboacyclic nucleosides **159**, **160** (Fig. **76**), which were evaluated against HSV-1, HSV-2 in Vero cell lines. Analogue **160b** inhibited both herpes viruses with an IC_{50} of 34.6 μ M, the *Z*-isomer of **159b** had an IC_{50} of 37.7 μ M against HSV-2 and reduced potency ($IC_{50} > 37.7$ μ M) against HSV-1; the *E*-isomer of **159b** exhibited moderate action ($IC_{50} > 37.7$ μ M) against both herpes viruses. All compounds were also evaluated for antiviral activity against HIV-1 and no activity was observed. Finally, Hubert *et al.* [162] reported the synthesis

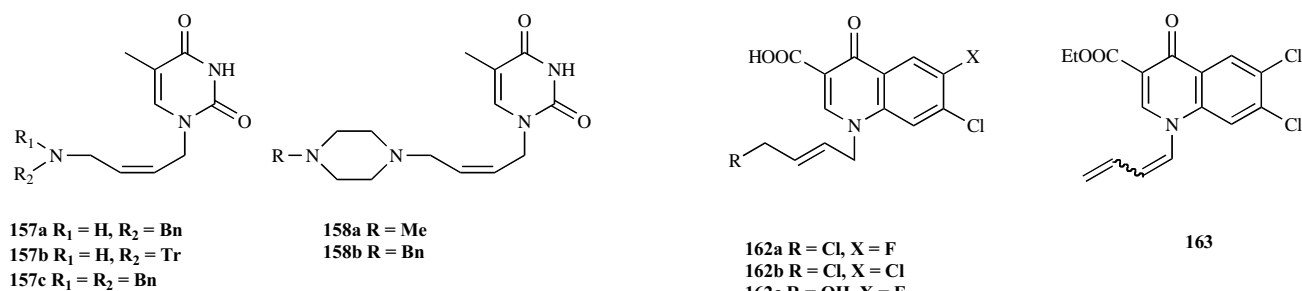


Fig. (75).

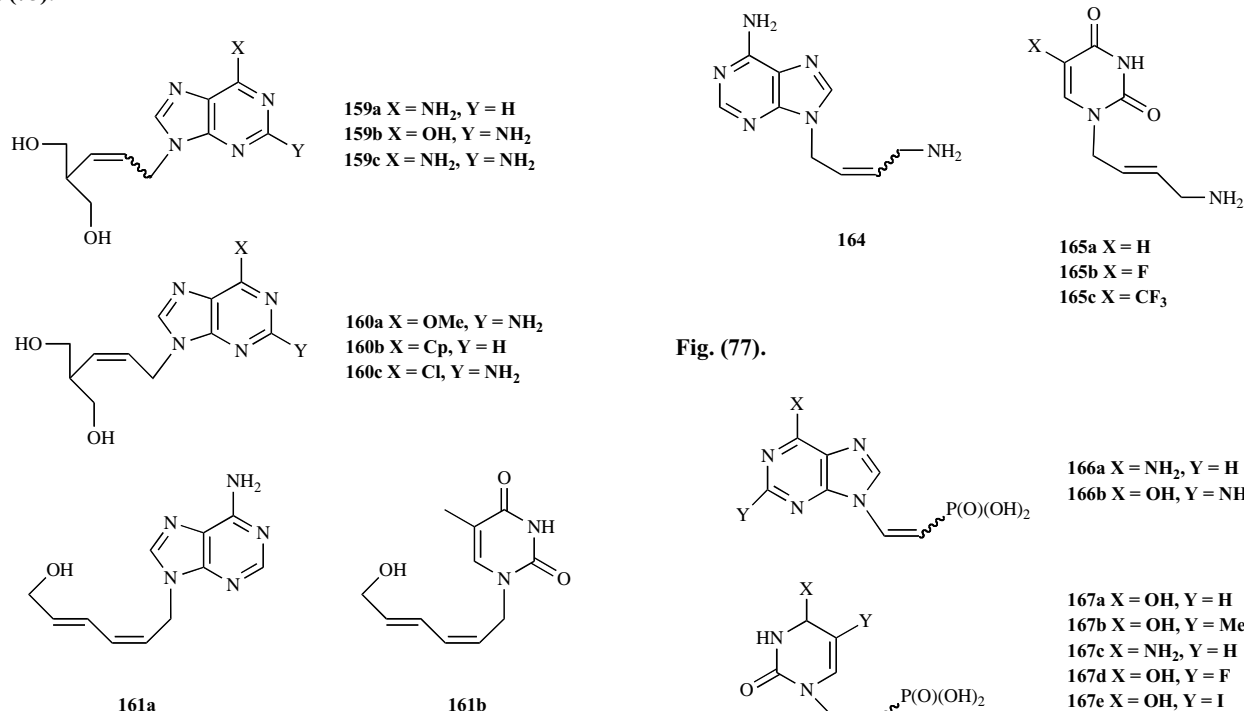


Fig. (77).

Fig. (78).

of two adenine and thymine dinucleoside analogues **161a,b** (Fig. 76), but no significant anti-HIV activity was detected.

Masoudi *et al.* [163] reported the synthesis of acyclic 6,7-dihaloquinolone nucleoside analogues **162** and **163** (Fig. 77) and **162a** was evaluated for its anti-HIV activity in MT-4 cells, but no selective anti-HIV activity could be witnessed.

A series of acyclic purine and pyrimidine nucleoside analogues **164** and **165** (Fig. 77) was synthesized by Kristafor *et al.* [18], which were evaluated for their antiviral and antitumor cell activities. *Z*-isomer of adenine analogue **164** showed modest but selective activity against HIV-1 (EC_{50} 4.83 $\mu g/mL$), but enhanced cytostatic potencies, particularly against colon carcinoma (SW 620, IC_{50} 26.0 μM).

The *Z* and *E* α -alkenyl phosphonic acid derivatives **166**, **167** (Fig. 78) were synthesized by Lazrek *et al.* [164]. They were evaluated for their activities against HIV-1, HIV-2 in CEM cells, HSV-1, TK⁻ HSV-1, HSV-2, VV, VSV in human embryonic skin-muscle (ESM) fibroblasts but no antiviral activity was observed.

Egerton *et al.* [165] reported the phosphotriester derivative **169** of adenallene (**168**) (Fig. 79), which proved to be more effective than the parent nucleoside **168** in inhibiting HIV-1 replication in several human T4 lymphoblastoid cell lines.

The phosphodiester alaninates **170** (Fig. 79) were synthesized by Winter *et al.* [166] and investigated as inhibitors of cytopathic effect and replication of HIV-1 in ATH-8 cells. The *Z*-isomer of adenine analogue **170a** was the most potent, and its protective effect against HIV infection was noticed in the range of 1-10 μM with a relatively low cytotoxicity, while the *Z*-hypoxanthine derivative **170b** and *E*-adenine analogue **170a** were devoid of anti-HIV activity.

Finally, Guillarme *et al.* [167] synthesized a new class of unsaturated acyclic nucleosides **171** and **172** (Fig. 80). Biological tests showed that **171a** did not have antitumor, anti-HIV and anti-herpes properties.

7. CONCLUSION

Unsaturated nucleosides make up an important part of the extensively studied field of nucleoside analogues, which are an important class of candidates for the antiviral agents.

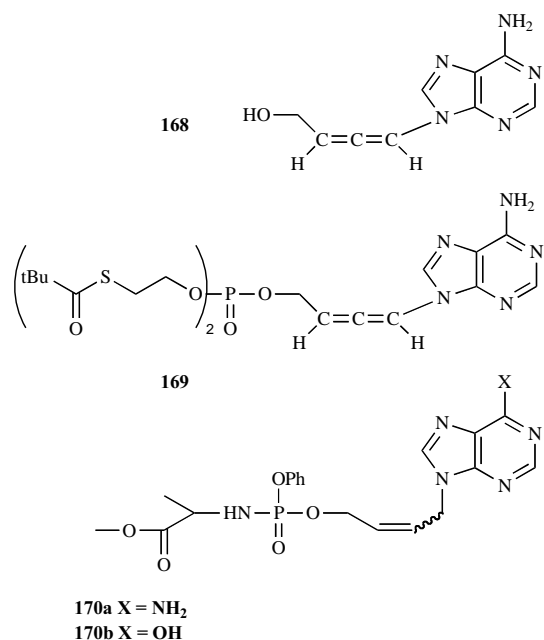


Fig. (79).

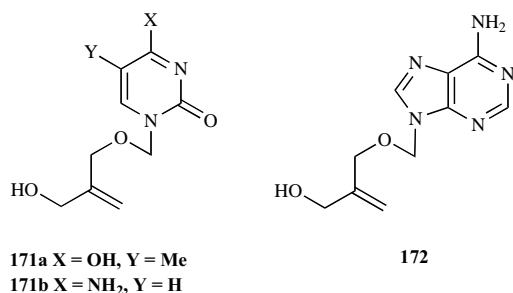


Fig. (80).

With development of more practical methodologies and more knowledge obtained about structure-activity relationships, unsaturated nucleosides will continue to be a useful tool to help meet the demand for novel antiviral agents.

ABBREVIATIONS

Ac	= Acetyl
Ada	= Adamantyl
All	= Allyl
Am	= Amyl or n-pentyl
Ar	= Aryl
Bn	= Benzyl
Bu	= Butyl
Bz	= Benzoyl
Cp	= Cyclopropyl
Cy	= Cyclohexyl
Dec	= 1-Decynyl
Dpa	= Diphenyl acetyl

Et	= Ethyl
Fur	= 2-furyl
i	= Iso
Me	= Methyl
n	= Normal
Neo	= Neopentyl
Oct	= Octyl
OMe	= Methoxy
Ph	= Phenyl
Pp	= 4-pentylphenyl
Ppe	= 2-(4-pentylphenyl)ethynyl
Pr	= Propyl
Prg	= Propargyl
Pv	= Pivaloyl
SI	= Selectivity Index
TBDMS	= <i>tert</i> -butyldimethylsilyl
TBDPS	= <i>tert</i> -butyldiphenylsilyl
tBua	= <i>tert</i> -butylacetyl
TDS	= Thexyldimethylsilyl
Thn	= 2-Thienyl
TI	= Therapeutic Index
Tr	= Triphenylmethyl

REFERENCES

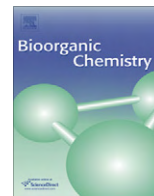
- [1] De Clercq, E. *Mini Rev. Med. Chem.*, **2002**, 2, 163.
- [2] Meadows, C.D.; Gervay-Hague, J. *Chem. Med. Chem.*, **2006**, 1, 16.
- [3] Mathé, C.; Gosselin, G. *Antiviral Res.*, **2006**, 71, 276.
- [4] De Clercq, E. *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2002**, 1, 13.
- [5] Ichikawa, E.; Kato, K. *Curr. Med. Chem.*, **2001**, 8, 385.
- [6] Zemlicka, J. *Pharmacol. Ther.*, **2000**, 85, 251.
- [7] De Clercq, E. *Antiviral Res.*, **2005**, 67, 56.
- [8] De Clercq, E. *Curr. Opin. Microbiol.*, **2005**, 8, 552.
- [9] Choo, H.; Chong, Y.; Choi, Y.; Mathew, J.; Schinazi, F.R.; Chu, K.C. *J. Med. Chem.*, **2003**, 46, 389.
- [10] Verheggen, I.; Van Aerschot, A.; Van Meervelt, L.; Rozenski, J.; Wiebe, L.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Balzarini, J.; Claes, P.; De Clercq, E.; Herdewijn, P. *J. Med. Chem.*, **1995**, 38, 826.
- [11] Ostrowski, T.; Wroblowski, B.; Busson, R.; Rozenski, J.; De Clercq, E.; Bennet, M.S.; Champness, J.N.; Summers, W.C.; Sanderson, M.R.; Herdewijn, P. *J. Med. Chem.*, **1998**, 41, 4343.
- [12] Maurinsh, Y.; Schraml, J.; De Winter, H.; Blaton, N.; Peeters, O.; Lescrinier, E.; Rozenski, J.; Van Aerschot, A.; De Clercq, E.; Busson, R.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 2861.
- [13] Manta, S.; Agelis, G.; Botić, T.; Cencič, A.; Komiotis, D. *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, 15, 980.
- [14] Manta, S.; Agelis, G.; Botić, T.; Cencič, A.; Komiotis, D. *Eur. J. Med. Chem.*, **2008**, 43, 420.
- [15] Agelis, G.; Tzioumaki, N.; Botić, T.; Cencič, A.; Komiotis, D. *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, 15, 5548.
- [16] Barral, K.; Courcambeck, J.; Pepe, G.; Balzarini, J.; Neyts, J.; De Clercq, E.; Camplo, M. *J. Med. Chem.*, **2005**, 48, 450.
- [17] Brakta, M.; Murthy, D.; Ellis, L.; Phadtare, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2002**, 12, 1489.
- [18] Kristafor, V.; Raic-Malic, S.; Cetina, M.; Kralj, M.; Suman, L.; Pavelic, K.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Mintas, M. *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14, 8126.

- [19] Mitsuya, H.; Weinhold, K.J.; Furman, P.A.; St Clair, M.H.; Nusinoff-Lehrman, S.; Gallo, R.C.; Bolognesi, D.; Barry, D.W.; Broder, S. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1985**, *82*, 7096.
- [20] De Clercq, E. *J. Clin. Virol.*, **2002**, *30*, 115.
- [21] Balzarini, J.; Kang, G.J.; Dalal, M.; Herdewijn, P.; De Clercq, E.; Broder, S.; Johns, D.G. *Mol. Pharm.*, **1987**, *32*, 162.
- [22] Crimmins, M.T.; King, B.W. *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 4192.
- [23] Hitchcock, M.J.M. *Antiviral Chem. Chemother.*, **1991**, *2*, 125.
- [24] Riddler, S.A.; Anderson, R.E.; Mellors, J.W. *Antiviral Res.*, **1995**, *27*, 189.
- [25] Bolon, P.J.; Wang, P.; Chu, C.K.; Gosselin, G.; Boudou, V.; Pierra, C.; Mathé, C.; Imbach, J.-L.; Faraj, A.; Alaoui, M.A.; Sommadossi, J.-P.; Pai, S.B.; Zhu, Y.-L.; Lin, J.-S.; Cheng, Y.-C.; Schinazi, R.F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1996**, *6*, 1657.
- [26] Shi, J.; McAtee, J.; Schlueter Wirtz, S.; Tharnish, P.; Juodawlkis, A.; Liotta, D.C.; Schinazi, R.F. *J. Med. Chem.*, **1999**, *42*, 859.
- [27] Lin, T.-S.; Luo, M.-Z.; Liu, M.-C.; Zhu, Y.-L.; Gullen, E.; Dutschman, G.E.; Cheng, Y.-C. *J. Med. Chem.*, **1996**, *39*, 1757.
- [28] Mansuri, M.M.; Farina, V.; Starrett, J.E.; Benigni, D.A.; Brankovan, V.; Martin, J.C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1991**, *1*, 65.
- [29] Roy, V.; Zerrouki, R.; Krausz, P.; Schmidt, S.; Aubertin, A.-M. *Nucleosides Nucleotides and Nucleic Acids*, **2004**, *23*, 1625.
- [30] Haraguchi, K.; Takeda, S.; Tanaka, S.; Tanaka, H.; Nitanda, T.; Baba, M.; Dutschman, G.E.; Cheng, Y.C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, *13*, 3775.
- [31] Haraguchi, K.; Itoh, Y.; Takeda, S.; Honma, Y.; Tanaka, H.; Nitanda, T.; Baba, M.; Dutschman, G.E.; Cheng, Y.-C. *Nucleosides Nucleotides and Nucleic Acids*, **2004**, *23*, 647.
- [32] Pokrovsky, A.G.; Pronayeva, T.R.; Fedyuk, N.V.; Shirokova, E.A.; Khandazhinskaya, A.L.; Tarusova, N.B.; Karpenko, I.L.; Krayevsky, A.A. *Nucleosides Nucleotides and Nucleic Acids*, **2001**, *20*, 767.
- [33] Cardona, V.M.F.; Ayi, A.I.; Aubertin, A.-M.; Guedj, R. *Antiviral Res.*, **1999**, *42*, 189.
- [34] Shirokova, E.A.; Jasko, M.V.; Khandazhinskaya, A.L.; Ivanov, A.V.; Yanvarev, D.V.; Skoblov, Y.S.; Mitkevich, V.A.; Bocharov, E.V.; Pronayeva, T.R.; Fedyuk, N.V.; Kukhanova, M.K.; Pokrovsky, A.G. *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 3606.
- [35] Meier, C.; Lorey, M.; De Clercq, E.; Balzarini, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1997**, *7*, 99.
- [36] McGuigan, C.; Tsang, H.-W.; Cahard, D.; Turner, K.; Velazquez, S.; Salgado, A.; Bidois, L.; Naesens, L.; De Clercq, E.; Balzarini, J. *Antiviral Res.*, **1997**, *35*, 195.
- [37] McGuigan, C.; Cahard, D.; Sheeka, H.M.; De Clercq, E.; Balzarini, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1996**, *6*, 1183.
- [38] Venkatachalam, T.K.; Yu, G.; Samuel, P.; Qazi, S.; Pendergrass, S.; Uckun, F.M. *Eur. J. Med. Chem.*, **2004**, *39*, 665.
- [39] Balzarini, J.; Karlsson, A.; Aquaro, S.; Perno, C.-F.; Cahard, D.; Naesens, L.; De Clercq, E.; McGuigan, C. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1996**, *93*, 7295.
- [40] Chen, S.-W.; Wang, Y.-H.; Jin, Y.; Tian, X.; Zheng, Y.-T.; Luo, D.-Q.; Tu, Y.-Q. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, *17*, 2091.
- [41] Balzarini, J.; Kruijning, J.; Wedgwood, O.; Pannecouque, C.; Aquaro, S.; Perno, C.-F.; Naesens, L.; Witvrouw, M.; Heijntink, R.; De Clercq, E.; McGuigan, C. *FEBS Lett.*, **1997**, *410*, 324.
- [42] Len, C.; Mackenzie, G. *Tetrahedron*, **2006**, *62*, 9085.
- [43] Lee, K.; Choi, Y.; Gumina, G.; Zhou, W.; Schinazi, R.F.; Chu, C.K. *J. Med. Chem.*, **2002**, *45*, 1313.
- [44] Chen, S.H.; Wang, Q.; Mao, J.; King, I.; Dutschman, G.E.; Gullen, E.A.; Cheng, Y.C.; Doyle, T.W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1998**, *8*, 1589.
- [45] Lee, K.; Choi, Y.; Gullen, E.; Schlueter-Wirtz, S.; Schinazi, R.F.; Cheng, Y.C.; Chu, C.K. *J. Med. Chem.*, **1999**, *42*, 1320.
- [46] Zhou, W.; Gumina, G.; Chong, Y.; Wang, J.; Schinazi, R.F.; Chu, C.K. *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 3399.
- [47] Gumina, G.; Schinazi, R.F.; Chu, C.K. *Org. Lett.*, **2001**, *3*, 4177.
- [48] Chong, Y.; Gumina, G.; Mathew, J.S.; Schinazi, R.F.; Chu, C.K. *J. Med. Chem.*, **2003**, *46*, 3245.
- [49] Chen, X.; Zhou, W.; Schinazi, R.F.; Chu, C.K. *J. Org. Chem.*, **2004**, *69*, 6034.
- [50] Lavaire, S.; Plantier-Royon, R.; Portella, C. *J. Carbohydr. Chem.*, **1996**, *15*, 361.
- [51] Jeannot, F.; Gosselin, G.; Standring, D.; Bryant, M.; Sommadossi, J.P.; Loi, A.G.; La Colla, P.; Mathé, C. *Bioorg. Med. Chem.*, **2002**, *10*, 3153.
- [52] Mikhailopulo, I.A.; Pricota, T.I.; Sivets, G.G.; Altona, C. *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 5897.
- [53] Onuma, S.; Kumamoto, H.; Kawato, M.; Tanaka, H. *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 2497.
- [54] Haraguchi, K.; Itoh, Y.; Tanaka, H.; Akita, M.; Miyasaka, T. *Tetrahedron*, **1993**, *49*, 1371.
- [55] Kumamoto, H.; Tanaka, H. *J. Org. Chem.*, **2002**, *67*, 3541.
- [56] Hassan, A.E.A.; Shuto, S.; Matsuda, A. *Tetrahedron*, **1994**, *50*, 689.
- [57] Faul, M.M.; Huff, B.E.; Dunlap, S.E.; Frank, S.A.; Fritz, J.E.; Kaldor, S.W.; Le Tourneau, M.E.; Staszak, M.A.; Ward, J.A.; Werner, J.A.; Winneroski, L.L. *Tetrahedron*, **1997**, *53*, 8085.
- [58] Zhu, W.; Gumina, G.; Schinazi, R.F.; Chu, C.K. *Tetrahedron*, **2003**, *59*, 6423.
- [59] Azuma, A.; Nakajima, Y.; Nishizono, N.; Minakawa, N.; Suzuki, M.; Hanaoka, K.; Kobayashi, T.; Tanaka, M.; Sasaki, T.; Matsuda, A. *J. Med. Chem.*, **1993**, *36*, 4183.
- [60] Gadthula, S.; Chu, C.K.; Schinazi, R.F. *Nucleosides Nucleotides*, **2005**, *24*, 1707.
- [61] Czernecki, S.; Ezzitouni, A. *Tetrahedron Lett.*, **1993**, *34*, 315.
- [62] Czernecki, S.; Ezzitouni, A. *J. Org. Chem.*, **1992**, *57*, 7325.
- [63] Matsuda, A.; Okajima, H.; Masuda, A.; Kakefuda, A.; Yoshimura, Y.; Ueda, T. *Nucleosides Nucleotides*, **1992**, *11*, 197.
- [64] Chiacchio, U.; Rescifina, A.; Iannazzo, D.; Romeo, G. *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 28.
- [65] Schlawe, D.; Majdalani, A.; Velcicky, J.; Hebler, E.; Wieder, T.; Prokop, A.; Schmalz, H.G. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, *43*, 1731.
- [66] Ewing, D.F.; Fahmi, N.; Len, C.; Mackenzie, G.; Ronco, G.; Villa, P.; Shaw, G. *Nucleosides Nucleotides*, **1999**, *18*, 2613.
- [67] Ewing, D.F.; Fahmi, N.; Len, C.; Mackenzie, G.; Pranzo, A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **2000**, *1*, 3561.
- [68] Ewing, D.F.; Len, C.; Mackenzie, G.; Ronco, G.; Villa, P. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2000**, *11*, 4995.
- [69] Egron, D.; Périgaud, C.; Gosselin, G.; Aubertin, A.M.; Faraj, A.; Sélouane, A.; Postel, D.; Len, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, *13*, 4473.
- [70] Wu, J.C.; Chattopadhyaya, J. *Tetrahedron*, **1989**, *45*, 4507.
- [71] Kumamoto, H.; Shindoh, S.; Tanaka, H. *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 3761.
- [72] Meggers, E.; Dussy, A.; Schäfer, T.; Giese, B. *Chem. Eur. J.*, **2000**, *6*, 485.
- [73] Giese, B.; Burger, J.; Kang, T.W.; Kesselheim, C.; Wittmer, T. *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 7322.
- [74] Nowak, I.; Robins, M.J. *J. Org. Chem.*, **2006**, *71*, 8876.
- [75] Jeong, L.S.; Yoo, S.J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1998**, *8*, 847.
- [76] Bisacchi, G.S.; Chao, S.T.; Bachard, C.; Daris, J.P.; Innaimo, S.; Jacobs, G.A.; Kocy, O.; Lapointe, P.; Martel, A.; Merchant, Z.; Slusarchyk, W.A.; Sundeen, J.E.; Young, M.G.; Colonna, R.; Zahler, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1997**, *7*, 127.
- [77] Matsuda, A.; Takenuki, K.; Tanaka, M.; Sasaki, T.; Ueda, T. *J. Med. Chem.*, **1991**, *34*, 812.
- [78] Pontikis, R.; Wolf, J.; Monneret, C.; Florent, J.-C. *Tetrahedron Lett.*, **1995**, *36*, 3523.
- [79] Robins, M.J.; Samano, V.; Zhang, W.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Borchardt, R.T.; Lee, Y.; Yuan, C.-S. *J. Med. Chem.*, **1992**, *35*, 2283.
- [80] Riehkainen, E.; Mikerin, I.E.; Slobodyan, N.N.; Tulebaev, M.B.; Severin, S.E. *Carbohydr. Res.*, **1999**, *320*, 161.
- [81] Yoo, S.J.; Kim, H.O.; Lim, Y.; Kim, J.; Jeong, L.S. *Bioorg. Med. Chem.*, **2002**, *10*, 215.
- [82] Bridges, C.G.; Ahmed, S.P.; Sunkara, P.S.; McCarthy, J.R.; Tyms, A.S. *Antiviral Res.*, **1995**, *27*, 325.
- [83] Leclercq, F.; Egron, M.J.; Antonakis, K. *Carbohydr. Res.*, **1992**, *228*, 95.
- [84] Khan, A.R.; Mulligan, K.X.; Ollapally, P. *Nucleosides Nucleotides and Nucleic Acids*, **2001**, *20*, 759.
- [85] Ollapally, A.P.; Dorange, I.B.; Whitaker, T.L.-Jr. *Nucleosides Nucleotides*, **1999**, *18*, 703.
- [86] Egron, M.J.; Dorange, I.B.; Antonakis, K.; Herscovici, J.; Ollapally, A.P. *Nucleosides Nucleotides and Nucleic Acids*, **2002**, *21*, 327.
- [87] Egron, M.J.; Komiotis, D.; Dorange, I.B.; Herscovici, J.; Ollapally, A.P.; Antonakis, K. *Nucleosides Nucleotides and Nucleic Acids*, **2005**, *24*, 243.
- [88] Egron, M.J.; Antonakis, K.; Bennani-Baiti, M.I.; Frayssinet, C. *Carbohydr. Res.*, **1993**, *248*, 143.

- [89] Komiotis, D.; Delatre, S.; Holt, L.; Ollapally, A.P.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Iigo, M. *Nucleosides Nucleotides*, **1991**, *10*, 431 and references cited therein.
- [90] Patterson, J.; Uriel, C.; Egron, M.J.; Herscovici, J.; Antonakis, K.; Alaoui-Jamali, M.A. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1998**, *42*, 779 and references cited therein.
- [91] Lee, K.; Zhou, W.; Kelley, L.-L.C.; Momany, C.; Chu, C.K. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2002**, *13*, 1589.
- [92] Luyten, I.; Herdewijn, P. *Tetrahedron*, **1996**, *52*, 9249.
- [93] Herdewijn, P. In *Anti-Infectives. Recent Advances in Chemistry and Structure-Activity Relationships*. Bentley, P.H., O'Hanlon, P.J., Eds.; The Royal Society of Chemistry, Cambridge, **1997**, pp. 316-326.
- [94] Hansen, H.B.; Pedersen, E.B.; Vestergaard, B.F. *Arch. Pharm.*, **1992**, *325*, 491.
- [95] Herdewijn, P.; Van Aerschot, A. *Bull. Soc. Chim. Belg.*, **1990**, *99*, 895.
- [96] Herdewijn, P.; Van Aerschot, A.; Balzarini, J.; De Clercq, E. *Nucleosides Nucleotides*, **1991**, *10*, 119.
- [97] Pérez-Pérez, M.-J.; Rozenski, J.; Herdewijn, P. *Bioorg. Med. Chem.*, **1994**, *4*, 1199.
- [98] Pérez-Pérez, M.-J.; Balzarini, J.; Rozenski, J.; De Clercq, E.; Herdewijn, P. *Bioorg. Med. Chem.*, **1995**, *5*, 1115.
- [99] Young, R.J.; Shaw-Ponter, S.; Thomson, J.B.; Allen Miller, J.; Cumming, J.G.; Pugh, A.W.; Rider, P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1995**, *5*, 2599.
- [100] Gunaga, P.; Moon, H.R.; Choi, W.J.; Shin, D.H.; Park, J.G.; Jeong, L.S. *Curr. Med. Chem.*, **2004**, *11*, 2585.
- [101] Chong, Y.; Choo, H.; Choi, Y.; Mathew, J.; Schinazi, F.R.; Chu, K.C. *J. Med. Chem.*, **2002**, *45*, 4888.
- [102] Zhu, W.; Chong, Y.; Choo, H.; Mathew, J.; Schinazi, F.R.; Chu, K.C. *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 1631.
- [103] Gunaga, P.; Kim, O.H.; Kim, J.H.; Chun, W.M.; Jeong, S.L. *Nucleosides Nucleotides and Nucleic Acids*, **2005**, *24*, 1115.
- [104] Zhu, X.-F. *Nucleosides Nucleotides and Nucleic Acids*, **2000**, *19*, 651.
- [105] Crimmins, M.T. *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 9229.
- [106] Ichiwa, E.; Kato, K. *Curr. Med. Chem.*, **2001**, *8*, 385.
- [107] Csuk, R.; Kern, A. *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 8409.
- [108] Qiu, Y.-L.; Ksebati, M.B.; Zemlicka, J. *Nucleosides Nucleotides and Nucleic Acids*, **2000**, *19*, 31.
- [109] Guan, H.P.; Ksebati, B.M.; Kern, R.E.; Zemlicka, J. *J. Org. Chem.*, **2000**, *65*, 5177.
- [110] Besada, P.; Teran, C.; Santana, L.; Teijeira, M.; Uriante, E. *Nucleosides Nucleotides*, **1999**, *18*, 725.
- [111] Wang, J.; Busson, R.; Blaton, N.; Rozenski, J.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, 3051.
- [112] Hughes, W.; McDowell, J.A.; Shenep, J.; Flynn, P.; Kline, M.W.; Yoge, R.; Symonds, W.; Lou, H.; Hetherington, S. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1999**, *43*, 609.
- [113] Qiu, Y.-L.; Ksebati, M.B.; Ptak, R.G.; Fan, B.Y.; Breitenbach, J.M.; Lin, J.-S.; Cheng, Y.-C.; Kern, E.R.; Drach, J.C.; Zemlicka, J. *J. Med. Chem.*, **1998**, *41*, 10.
- [114] Qiu, Y.-L.; Ptak, R.G.; Breitenbach, J.M.; Lin, J.-S.; Cheng, Y.-C.; Kern, E.R.; Drach, J.C.; Zemlicka, J. *Antiviral Chem. Chemother.*, **1998**, *9*, 123.
- [115] Qin, X.; Chen, X.; Wang, K.; Polin, L.; Kern, E.R.; Drach, J.C.; Gullen, E.; Cheng, Y.-C.; Zemlicka, J. *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, *14*, 1247.
- [116] Chen, X.; Kern, E.R.; Drach, J.C.; Gullen, E.; Cheng, Y.-C.; Zemlicka, J. *J. Med. Chem.*, **2003**, *46*, 1531.
- [117] Wang, R.; Chen, X.; Drach, J.C.; Kern, E.R.; Zemlicka, J. *Nucleosides Nucleotides and Nucleic Acids*, **2003**, *22*, 135.
- [118] Qiu, Y.-L.; Ptak, R.G.; Breitenbach, J.M.; Lin, J.-S.; Cheng, Y.-C.; Drach, J.C.; Kern, E.R.; Zemlicka, J. *Antiviral Res.*, **1999**, *43*, 37.
- [119] Qiu, Y.-L.; Geiser, F.; Kira, T.; Gullen, E.; Cheng, Y.-C.; Ptak, R.G.; Breitenbach, J.M.; Drach, J.C.; Hartline, C.B.; Kern, E.R.; Zemlicka, J. *Antiviral Chem. Chemother.*, **2000**, *11*, 191.
- [120] Ambrose, A.; Zemlicka, J.; Kern, E.R.; Drach, J.C.; Gullen, E.; Cheng, Y.-C. *Nucleosides Nucleotides and Nucleic Acids*, **2005**, *24*, 1763.
- [121] Guan, H.-P.; Qiu, Y.-L.; Ksebati, M.B.; Kern, E.R.; Zemlicka, J. *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 6047.
- [122] Yan, Z.; Zhou, S.; Kern, E.R.; Zemlicka, J. *Tetrahedron*, **2006**, *62*, 2608.
- [123] Zhou, S.; Breitenbach, J.M.; Borysko, K.Z.; Drach, J.C.; Kern, E.R.; Gullen, E.; Cheng, Y.-C.; Zemlicka, J. *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 566.
- [124] Zhou, S.; Kern, R.E.; Gullen, E.; Cheng, Y.C.; Drach, C.J.; Tamaya, S.; Mitsuya, H.; Zemlicka, J. *J. Med. Chem.*, **2006**, *49*, 6120.
- [125] Wang, R.; Ksebati, M.B.; Corbett, T.H.; Kern, E.R.; Drach, J.C.; Zemlicka, J. *J. Med. Chem.*, **2001**, *44*, 4019.
- [126] Wang, R.; Kern, E.R.; Zemlicka, J. *Antiviral Chem. Chemother.*, **2002**, *13*, 251.
- [127] Danappe, S.; Pal, A.; Alexandre, C.; Aubertin, A.-M.; Bourgounon, N.; Huet, F. *Tetrahedron*, **2005**, *61*, 5782.
- [128] Gourdel-Martin, M.-E.; Huet, F. *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 2166.
- [129] Gourdel-Martin, M.-E.; Huet, F. *Nucleosides Nucleotides*, **1999**, *18*, 645.
- [130] Hubert, C.; Alexandre, C.; Aubertin, A.-M.; Huet, F. *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 3775.
- [131] Maruyama, T.; Hanai, Y.; Sato, Y.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Hosooya, M.; Balzarini, J.; De Clercq, E. *Chem. Pharm. Bull.*, **1993**, *41*, 516.
- [132] Ferrero, M.; Gotor, V. *Chem. Rev.*, **2000**, *100*, 4319.
- [133] Yin, X.-Q.; Schneller, S.W. *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 3451.
- [134] Yin, X.-Q.; Schneller, S.W. *Tetrahedron Lett.*, **2005**, *46*, 1927.
- [135] Bray, M.; Raymond, J.L.; Geisbert, T.; Baker, R.O. *Antiviral Res.*, **2002**, *55*, 151.
- [136] Daluge, S. M. U.S. Patent 5,034,394, **1991**.
- [137] Katagiri, N.; Nomura, M.; Sato, H.; Kaneko, C.; Yusa, K.; Tsuruo, T. *J. Med. Chem.*, **1992**, *35*, 1882.
- [138] Wang, J.; Jin, Y.; Rapp, K.L.; Bennett, M.; Schinazi, R.F.; Chu, C.K. *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 3736.
- [139] Wang, J.; Jin, Y.; Rapp, K.L.; Schinazi, R.F.; Chu, C.K. *J. Med. Chem.*, **2007**, *50*, 1828.
- [140] Kim, A.; Hong, J.H. *Nucleosides Nucleotides and Nucleic Acids*, **2004**, *23*, 813.
- [141] Oh, C.H.; Hong, J.H. *Arch. Pharm. Med. Chem.*, **2004**, *337*, 457.
- [142] Agrofoglio, L.; Suhas, E.; Farese, A.; Condom, R.; Challand, S.R.; Earl, R.A.; Guedj, R. *Tetrahedron*, **1994**, *50*, 10611.
- [143] Wang, J.; Froeyen, M.; Hendrix, C.; Andrei, G.; Snoeck, R.; De Clercq, E.; Herdewijn, P. *J. Med. Chem.*, **2000**, *43*, 736.
- [144] Herdewijn, P.; De Clercq, E. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2001**, *11*, 1591.
- [145] Konkel, M.J.; Vince, R. *Tetrahedron*, **1996**, *52*, 8969.
- [146] Rosenquist, Å.; Kvarnström, I.; Classon, B.; Samuelson, B. *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 6282.
- [147] Pérez-Pérez, M.-J.; Rozenski, J.; Busson, R.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.*, **1995**, *60*, 1531.
- [148] Maurinsh, Y.; Schraml, J.; De Winter, H.; Blaton, N.; Peeters, O.; Lescrier, E.; Rozenski, J.; Van Aerschot, A.; De Clercq, E.; Busson, R.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 2861.
- [149] Gu, P.; Morral, J.; Wang, J.; Rozenski, J.; Busson, R.; Van Aerschot, A.; De Clercq, E.; Herdewijn, P. *Nucleosides Nucleotides and Nucleic Acids*, **2003**, *22*, 845.
- [150] Wang, J.; Viña, D.; Busson, R.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 4499.
- [151] Ramesh, K.; Wolfe, M.S.; Lee, Y.; Vander Velde, D.; Borhardt, R.T. *J. Org. Chem.*, **1992**, *57*, 5861.
- [152] Meier, C.; Habel, C.; Haller-Meier, F.; Lomp, A.; Herderich, M.; Klocking, R.; Meerbach, A.; Wutzler, P. *Antiviral Chem. Chemother.*, **1998**, *9*, 389.
- [153] De Clercq, E.; Andrei, G.; Snoeck, R.; De Bolle, L.; Naesens, L.; Degève, B.; Balzarini, J.; Zhang, Y.; Schols, D.; Leyssen, P.; Ying, C.; Neyts, J. *Nucleosides Nucleotides and Nucleic Acids*, **2001**, *20*, 271.
- [154] Torii, T.; Shiragami, H.; Yamashita, K.; Suzuki, Y.; Hijiya, T.; Kashiwagi, T.; Izawa, K. *Tetrahedron*, **2006**, *62*, 5709.
- [155] Bacon, T.H.; Boyd, M.R. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1995**, *39*, 1599.
- [156] Amblard, F.; Nolan, S.P.; Schinazi, R.F.; Agrofoglio, L.A. *Tetrahedron*, **2005**, *61*, 537.
- [157] Amblard, F.; Aucagne, V.; Guenot, P.; Schinazi, R.F.; Agrofoglio, L.A. *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, *13*, 1239.
- [158] Hernández, A.-I.; Balzarini, J.; Karlsson, A.; Camarasa, M.-J.; Pérez-Pérez, M.-J. *J. Med. Chem.*, **2002**, *45*, 4254.
- [159] Kabbaj, Y.; Lazrek, H.B.; Barascut, J.L.; Imbach, J.L. *Nucleosides Nucleotides and Nucleic Acids*, **2005**, *24*, 161.

- [160] Hernández, A.-I.; Balzarini, J.; Rodríguez-Barrios, F.; San-Félix, A.; Karlsson, A.; Gago, F.; Camarasa, M.-J.; Pérez-Pérez, M.-J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, *13*, 3027.
- [161] Tang, Y.; Muthyala, R.; Vince, R. *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, *14*, 5866.
- [162] Hubert, C.; Alexandre, C.; Aubertin, A.-M.; Huet, F. *Tetrahedron*, **2003**, *59*, 3127.
- [163] Al-Masoudi, N.A.; Al-Soud, Y.A.; Eherman, M.; De Clercq, E. *Bioorg. Med. Chem.*, **2000**, *8*, 1407.
- [164] Lazrek, H.B.; Rochdi, A.; Khaider, H.; Barascut, J.-L.; Imbach, J.-L.; Balzarini, J.; Witvrouw, M.; Pannecouque, C.; De Clercq, E. *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 3807.
- [165] Egron, D.; Périgaud, C.; Gosselin, G.; Aubertin, A.-M.; Gatanaga, H.; Mitsuya, H.; Zemlicka, J.; Imbach, J.-L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2002**, *12*, 265.
- [166] Winter, H.; Maeda, Y.; Uchida, H.; Mitsuya, H.; Zemlicka, J. *J. Med. Chem.*, **1997**, *40*, 2191.
- [167] Guillaume, S.; Legoupy, S.; Bourgougnon, N.; Aubertin, A.-M.; Huet, F. *Tetrahedron*, **2003**, *59*, 9635.

Received: August 30, 2007 Revised: May 16, 2008 Accepted: May 29, 2008



Synthesis of 3-fluoro-6-S-(2-S-pyridyl) nucleosides as potential lead cytostatic agents

Evangelia Tsoukala^a, Niki Tzioumaki^a, Stella Manta^a, Alexandra Riga^a, Jan Balzarini^b, Dimitri Komiotis^{a,*}

^a Department of Biochemistry and Biotechnology, Laboratory of Organic Chemistry, University of Thessaly, 41221 Larissa, Greece

^b Laboratory of Virology and Chemotherapy, Rega Institute for Medical Research, K.U.Leuven, B-3000 Leuven, Belgium

ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 July 2010

Available online 17 August 2010

Keywords:

3-Fluoro-6-S-(2-S-pyridyl) nucleosides

Thiopyridinylation

Cytostatic agents

ABSTRACT

The 3-deoxy-3-fluoro-6-S-(2-S-pyridyl)-6-thio-β-D-glucopyranosyl nucleoside analogs **7** were prepared via two facile synthetic routes. Their precursors, 3-fluoro-6-thio-glucopyranosyl nucleosides **5a-e**, were obtained by the sequence of deacetylation of 3-deoxy-3-fluoro-β-D-glucopyranosyl nucleosides **2a-e**, selective tosylation of the primary OH of **3** and finally treatment with potassium thioacetate. The desired thiopyridine protected analogs **7a-c,f,g** were obtained by the sequence of deacetylation of **5a-c** followed by thiopyridinylation and/or condensation of the corresponding heterocyclic bases with the newly synthesized peracetylated 6-S-(2-S-pyridyl) sugar precursor **13**, which was obtained via a novel synthetic route from glycosyl donor **12**. None of the compounds **6** and **7** showed antiviral activity, but the 5-fluorouracil derivative **7c** and particularly the uracil derivative **7b** were endowed with an interesting and selective cytostatic action against a variety of murine and human tumor cell cultures.

© 2010 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

Nucleoside analogs markedly contribute to the chemotherapy of cancer and viral diseases [1–4]. However, novel applications are still being explored and new nucleoside structures have reached the clinic as effective agents for the treatment of AIDS [5], herpes virus infections [6] and viral hepatitis [7].

Fluorine-containing nucleosides and their analogs are attractive compounds and have drawn special attention [8–11], with the fluorine incorporated either on the base moiety or on the sugar part frequently leading to a drastic change in biological activity, stability and bioavailability [8,12,13]. Our recent data have revealed, that new classes of uncommon fluorinated pyranonucleosides have a promising potential in combating the rotaviral infections, in the treatment of colon cancer and are efficient antitumor growth inhibitors [10,11,14,15]. Experimental data also suggested, that human Poly(A)-specific ribonuclease is among the molecular targets of these compounds and could act therapeutically by lowering the mRNA turnover rate [16].

In the field of nucleosides, sulfur chemistry appears particularly fruitful in the development of therapeutic agents [17,18]. Considerable interest has been drawn in the synthesis of thionucleoside analogs [18–21] and nucleosidyl disulfides [22–26], attractive

candidates for use as both antiviral and antineoplastic agents [21,24,27], with the latter being assessed as prodrugs able to interfere with HIV reverse transcription [21,22,26]. Particularly, nucleosides in which the primary hydroxyl group is replaced by a thiol- or an alkylthio-group, are promising antiviral agents since they disrupt essential viral macromolecular methylation processes [28,29].

In view of the above data and our recent findings on the biology of modified nucleosides, as templates for antiviral and anticancer activity [10,11,14–16,30–32], we turned our attention to the possible improvement of the biological properties of such molecules. We thus synthesised a series of glucopyranosyl nucleoside analogs, where we combined both a pharmacologically compatible fluorine and a sulfur/thiopyridine moiety in the sugar part. In this paper, we report on two efficient methods for their preparation and supply data on their biological activity.

2. Experimental

2.1. General methods

Melting points were recorded in a Mel-Temp apparatus and are uncorrected. Thin layer chromatography (TLC) was performed on Merck precoated 60F₂₅₄ plates. Reactions were monitored by TLC on silica gel, with detection by UV light (254 nm) or by charring with sulfuric acid. Flash column chromatography was performed using silica gel (240–400 mesh, Merck). ¹H, ¹⁹F and ¹³C NMR spectra were obtained at room temperature with a Bruker 400

* Corresponding author. Address: University of Thessaly, Department of Biochemistry and Biotechnology, Laboratory of Organic Chemistry, 26 Ploutonos Str., 41221 Larissa, Greece. Fax: +30 2410 565290.

E-mail address: dkom@bio.uth.gr (D. Komiotis).

spectrometer at 400, 376 and 100 MHz, respectively, using CDCl₃ and methanol-*d*₄ (CD₃OD) with internal tetramethylsilane (TMS) for ¹H and ¹³C and internal trifluorotoluene (TFT) for ¹⁹F.

The chemical shifts are expressed in parts per million (δ) and following abbreviations were used: s = singlet, d = doublet, dd = doublet doublet, dtr = doublet triplet and m = multiplet. Mass spectra were obtained with a Micromass Platform LC (ESI-MS). Infrared spectra were obtained with a Perkin–Elmer Model 1600 FT-IR spectrophotometer. Optical rotations were measured using an Autopol I polarimeter. All reactions were carried out in dry solvents. Acetonitrile was distilled from calcium hydride and stored over 3E molecular sieves. Dimethylformamide (DMF) was also stored over 3E molecular sieves, and pyridine was stored over potassium hydroxide pellets.

2.2. Synthesis of 1-[3-deoxy-3-fluoro-6-S-(2-S-pyridyl)-6-thio- β -D-glucopyranosyl] nucleosides (**7a-c**) from **5a-c** and/or **6a-c**

2.2.1. 1-(3-Deoxy-3-fluoro- β -D-glucopyranosyl)cytosine (**3f**)

A mixture of methanolic ammonia (140 mL) and N⁴-benzoyl-cytosine derivative **2d** [11] (1.70 g, 3.36 mmol) stirred for 4 h at room temperature. The reaction mixture was concentrated and crude **3f** was obtained (0.83 g, 90%, R_f = 0.15 in AcOEt) as colorless oil. Product **3f** was used without further purification. [α]_D²² + 5.00 (c 0.1, MeOH); λ_{\max} 268 nm (ϵ 7162); ESI-MS (*m/z*): 276.26 (M+H⁺).

2.2.2. 9-(3-Deoxy-3-fluoro- β -D-glucopyranosyl)adenine (**3g**)

Adenine derivative **3g** was synthesized from N⁶-benzoyl adenine derivative **2e** [11] by the similar procedure as described for **3f**. Compound **3g** was obtained (0.85 g, 88%, R_f = 0.12 in AcOEt) as colorless oil and it was used without further purification. [α]_D²² + 4.00 (c 0.1, MeOH); λ_{\max} 259 nm (ϵ 4930); ESI-MS (*m/z*): 300.27 (M+H⁺).

2.2.3. 1-(2,4-Di-O-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-6-O-p-toluenesulfonyl- β -D-glucopyranosyl)thymine (**4a**)

A solution of compound **3a** [15] (1.10 g, 3.70 mmol) in 4.50 mL of dry pyridine was cooled to 0 °C, and *p*-toluenesulfonyl chloride (1.10 g, 5.58 mmol) in 4.50 mL of dry pyridine was added dropwise with stirring. The reaction mixture was stored at room temperature overnight, and then was concentrated. The residual gum was dissolved in pyridine (49 mL), acetic anhydride was added (25 mL) and the resulted mixture stirred for 3 h at room temperature. MeOH (0.40 mL) was added to quench the reaction and the mixture was concentrated under high vacuum to remove the solvents. The mixture was extracted with two 200 mL portions of ethyl acetate and neutralized with aqueous NaHCO₃. The organic layer was washed with NaHSO₄ (20 mL), dried over anhydrous sodium sulfate and evaporated to dryness. Purification by flash chromatography (hexane/AcOEt, 4:6), gave **4a** (1.20 g, 62%, R_f = 0.35 in hexane/AcOEt, 4:6) as white solid. m.p. 145–147 °C; [α]_D²² + 10.52 (c 0.1, CHCl₃); λ_{\max} 260 nm (ϵ 8836); ¹H NMR (CDCl₃): δ 8.60 (br s, NH), 7.37–7.20 (m, 4H, tosyl group), 7.19 (s, 1H, H-6), 5.75 (d, 1H, J_{1',2'} = 9.5 Hz, H-1'), 5.29–5.20 (m, 2H, H-2' and H-4'), 4.70 (dtr, 1H, J_{F,3'} = 51.7 Hz, J_{2',3'} = 9.1, J_{3',4'} = 9.0 Hz, H-3'), 4.21–4.07 (m, 2H, H-6a',6b'), 3.84 (m, 1H, H-5'), 2.45 (s, 3H, ArCH₃), 2.10 and 2.05 (2s, 6H, 2OAc), 1.96 (s, 3H, 5-CH₃); Anal. Calcd for C₂₂H₂₅FN₂O₁₀S: C, 50.00; H, 4.77; N, 5.30. Found: C, 50.26; H, 4.92; N, 5.47. ESI-MS (*m/z*): 529.51 (M+H⁺).

2.2.4. 1-(2,4-Di-O-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-6-O-p-toluenesulfonyl- β -D-glucopyranosyl)uracil (**4b**)

Uracil derivative **4b** was synthesized from **3b** [15] by the similar procedure as described for **4a**. Purified by flash chromatography (hexane/AcOEt, 3:7) compound **4b** was obtained (1.10 g, 58%,

R_f = 0.4 in hexane/AcOEt, 3:7) as white solid. m.p. 175–177 °C; [α]_D²² + 5.26 (c 0.1, CHCl₃); λ_{\max} 260 nm (ϵ 6760); ¹H NMR (CDCl₃): δ 8.20 (br s, NH), 7.76 (d, 1H, J_{5,6} = 8.2 Hz, H-6), 7.38–7.22 (m, 4H, tosyl group), 5.79 (d, 1H, H-5), 5.73 (d, 1H, J_{1',2'} = 9.6 Hz, H-1'), 5.26–5.15 (m, 2H, H-2' and H-4'), 4.70 (dtr, 1H, J_{F,3'} = 51.7 Hz, J_{2',3'} = J_{3',4'} = 9.0 Hz, H-3'), 4.22–4.06 (m, 2H, H-6a',6b'), 3.85 (m, 1H, H-5'), 2.45 (s, 3H, ArCH₃), 2.10 and 2.06 (2s, 6H, 2OAc); Anal. Calcd for C₂₁H₂₃FN₂O₁₀S: C, 49.03; H, 4.51; N, 5.45. Found: C, 49.19; H, 4.65; N, 5.62. ESI-MS (*m/z*): 515.49 (M+H⁺).

2.2.5. 1-(2,4-Di-O-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-6-O-p-toluenesulfonyl- β -D-glucopyranosyl)5-fluorouracil (**4c**)

5-Fluorouracil derivative **4c** was synthesized from **3c** [15] by the similar procedure as described for **4a**. Purified by flash chromatography (hexane/AcOEt, 4:6) derivative **4c** was obtained (1.18 g, 60%, R_f = 0.4 in hexane/AcOEt, 4:6) as white solid. m.p. 198–200 °C; [α]_D²² + 5.32 (c 0.1, CHCl₃); λ_{\max} 260 nm (ϵ 7486); ¹H NMR (CDCl₃): δ 8.28 (br s, NH), 7.50 (d, 1H, J_{6,F5} = 5.85 Hz, H-6), 7.37–7.20 (m, 4H, tosyl group), 5.74 (d, 1H, J_{1',2'} = 9.4 Hz, H-1'), 5.27–5.15 (m, 2H, H-2' and H-4'), 4.75 (dtr, 1H, J_{F,3'} = 51.5 Hz, J_{2',3'} = 9.2, J_{3',4'} = 9.0 Hz, H-3'), 4.21–4.06 (m, 2H, H-6a',6b'), 3.90 (m, 1H, H-5'), 2.45 (s, 3H, ArCH₃), 2.11 and 2.07 (2s, 6H, 2OAc); Anal. Calcd for C₂₁H₂₂F₂N₂O₁₀S: C, 47.37; H, 4.16; N, 5.26. Found: C, 47.54; H, 4.29; N, 5.42. ESI-MS (*m/z*): 533.48 (M+H⁺).

2.2.6. 1-(2,4-Di-O-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-6-O-p-toluenesulfonyl- β -D-glucopyranosyl)-N⁴-benzoyl cytosine (**4d**)

N⁴-benzoyl cytosine derivative **4d** was synthesized from **3d** [11] by the similar procedure as described for **4a**. Purified by flash chromatography (hexane/AcOEt, 4:6) derivative **4d** was obtained (1.41 g, 62%, R_f = 0.4 in hexane/AcOEt, 4:6) as white foam. [α]_D²² + 12.00 (c 0.5, CHCl₃); λ_{\max} 263 nm (ϵ 21,906); ¹H NMR (CDCl₃): δ 8.66 (br s, NH), 7.88–7.31 (m, 11H, Bz, H-6, H-5 and tosyl group), 6.01 (d, 1H, J_{1',2'} = 9.4 Hz, H-1'), 5.30–5.14 (m, 2H, H-2' and H-4'), 4.74 (dtr, 1H, J_{F,3'} = 51.6 Hz, J_{2',3'} = 9.1, J_{3',4'} = 9.0 Hz, H-3'), 4.24–4.08 (m, 2H, H-6a',6b'), 3.86 (m, 1H, H-5'), 2.45 (s, 3H, ArCH₃), 2.12 and 2.04 (2s, 6H, 2OAc); Anal. Calcd for C₂₈H₂₈FN₃O₁₀S: C, 54.45; H, 4.57; N, 6.80. Found: C, 54.84; H, 4.29; N, 6.62. ESI-MS (*m/z*): 618.62 (M+H⁺).

2.2.7. 9-(2,4-Di-O-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-6-O-p-toluenesulfonyl- β -D-glucopyranosyl)-N⁶-benzoyl adenine (**4e**)

N⁶-benzoyl adenine derivative **4e** was synthesized from **3e** [11] by the similar procedure as described for **4a**. Purified by flash chromatography (hexane/AcOEt, 3:7) compound **4e** was obtained (1.52 g, 64%, R_f = 0.3 in hexane/AcOEt, 3:7) as white foam. [α]_D²² – 2.00 (c 0.2, CHCl₃); λ_{\max} 278 nm (ϵ 17,393); ¹H NMR (CDCl₃): δ 9.05 (br s, NH), 8.84 and 8.15 (2s, 2H, H-2,8), 8.14–7.51 (m, 9H, Bz and tosyl group), 5.84 (d, 1H, J_{1',2'} = 9.5 Hz, H-1'), 5.64 (m, 1H, H-2'), 5.35 (m, 1H, H-4'), 4.81 (dtr, 1H, J_{F,3'} = 51.5 Hz, J_{2',3'} = J_{3',4'} = 9.1 Hz, H-3'), 4.23–4.11 (m, 2H, H-6a',6b'), 4.01 (m, 1H, H-5'), 2.42 (s, 3H, ArCH₃), 2.16 and 1.84 (2s, 6H, 2OAc); Anal. Calcd for C₂₉H₂₈FN₅O₉S: C, 54.29; H, 4.40; N, 10.92. Found: C, 54.34; H, 4.59; N, 10.78. ESI-MS (*m/z*): 642.64 (M+H⁺).

2.2.8. 1-(2,4-Di-O-acetyl-6-S-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-6-thio- β -D-glucopyranosyl)thymine (**5a**)

The tosylate **4a** (1.20 g, 2.30 mmol) was heated with potassium thioacetate (0.36 g, 3.10 mmol) in DMF (8.70 mL) at 100 °C for 2 h. The reaction mixture was neutralized with aqueous NaHCO₃. After that, the mixture was concentrated under high vacuum pump to eliminate the DMF. The residue was partitioned between water and EtOAc, the organic extract was dried over anhydrous sodium sulfate, filtered, and evaporated to dryness. The residue was purified by flash chromatography (hexane/AcOEt, 4:6) to give compound **5a** (0.75 g, 78%, R_f = 0.4 in hexane/AcOEt, 4:6) as white solid.

m.p. 204–206 °C; $[\alpha]_D^{22} + 5.21$ (c 0.1, CHCl₃), λ_{\max} 260 nm (ϵ 9219); IR (Nujol): 1697 (SAC) cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃): δ 8.10 (br s, NH), 7.12 (s, 1H, H-6), 5.75 (d, 1H, $J_{1,2'} = 9.5$ Hz, H-1'), 5.29–5.18 (m, 2H, H-2' and H-4'), 4.71 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 51.8$ Hz, $J_{2',3'} = 9.1$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 3.78 (m, 1H, H-5'), 3.30–3.11 (m, 2H, H-6a', 6b'), 2.37 (s, 3H, SAC), 2.21 and 2.08 (2s, 6H, 2OAc), 1.98 (s, 3H, 5-CH₃); Anal. Calcd for C₁₇H₂₁FN₂O₈S: C, 47.22; H, 4.89; N, 6.48. Found: C, 47.39; H, 4.78; N, 6.54. ESI-MS (m/z): 433.44 (M+H⁺).

2.2.9. 1-(2,4-Di-O-acetyl-6-S-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-6-thio- β -D-glucopyranosyl)uracil (**5b**)

Uracil derivative **5b** was synthesized from **4b** by the similar procedure as described for **5a**. Purified by flash chromatography (hexane/AcOEt, 3:7) and obtained (0.64 g, 76%, $R_f = 0.45$ in hexane/AcOEt, 3:7) as white solid. m.p. 158–160 °C; $[\alpha]_D^{22} + 5.18$ (c 0.1, CHCl₃); λ_{\max} 260 nm (ϵ 6283); IR (Nujol): 1697 (SAC) cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃): δ 8.30 (br s, NH), 7.30 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.3$ Hz, H-6), 5.82 (d, 1H, H-5), 5.75 (d, 1H, $J_{1,2'} = 9.5$ Hz, H-1'), 5.26–5.15 (m, 2H, H-2' and H-4'), 4.69 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 51.8$ Hz, $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 9.1$ Hz, H-3'), 3.80 (m, 1H, H-5'), 3.27–3.11 (m, 2H, H-6a', 6b'), 2.35 (s, 3H, SAC), 2.19 and 2.07 (2s, 6H, 2OAc); Anal. Calcd for C₁₆H₁₉FN₂O₈S: C, 45.93; H, 4.58; N, 6.70. Found: C, 45.89; H, 4.64; N, 6.82. ESI-MS (m/z): 419.41 (M+H⁺).

2.2.10. 1-(2,4-Di-O-acetyl-6-S-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-6-thio- β -D-glucopyranosyl)5-fluorouracil (**5c**)

5-Fluorouracil derivative **5c** was synthesized from **4c** by the similar procedure as described for **5a**. Purified by flash chromatography (hexane/AcOEt, 4:6) and obtained (0.65 g, 75%, $R_f = 0.47$ in hexane/AcOEt, 4:6) as white solid. m.p. 200–202 °C; $[\alpha]_D^{22} + 5.26$ (c 0.1, CHCl₃); λ_{\max} 260 nm (ϵ 8232); IR (Nujol): 1697 (SAC) cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃): δ 8.28 (br s, NH), 7.36 (d, 1H, $J_{6,F5} = 5.3$ Hz, H-6), 5.71 (d, 1H, $J_{1,2'} = 9.3$ Hz, H-1'), 5.23–5.11 (m, 2H, H-2' and H-4'), 4.70 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 51.5$ Hz, $J_{2',3'} = 9.2$, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 3.80 (m, 1H, H-5'), 3.29–3.10 (m, 2H, H-6a', 6b'), 2.36 (s, 3H, SAC), 2.19 and 2.08 (2s, 6H, 2OAc); Anal. Calcd for C₁₆H₁₈F₂N₂O₈S: C, 44.04; H, 4.16; N, 6.42. Found: C, 44.28; H, 4.29; N, 6.34. ESI-MS (m/z): 437.41 (M+H⁺).

2.2.11. 1-(2,4-Di-O-acetyl-6-S-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-6-thio- β -D-glucopyranosyl)-N⁴-benzoyl cytosine (**5d**)

N⁴-benzoyl cytosine derivative **5d** was synthesized from **4d** by the similar procedure as described for **5a**. Purified by flash chromatography (hexane/AcOEt, 2:8) to give compound **5d** (0.82 g, 68%, $R_f = 0.32$ in hexane/AcOEt, 2:8) as solid. m.p. 277–279 °C; $[\alpha]_D^{22} + 16.00$ (c 0.1, CHCl₃); λ_{\max} 263 nm (ϵ 20,626); IR (Nujol): 1697 (SAC) cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃): δ 7.88 (d, 1H, $J_{5,6} = 7.2$ Hz, H-6), 7.84–7.48 (m, 6H, Bz and H-5), 6.03 (d, 1H, $J_{1,2'} = 9.4$ Hz, H-1'), 5.27–5.17 (m, 2H, H-2' and H-4'), 4.75 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 51.8$ Hz, $J_{2',3'} = 9.1$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 3.83–3.77 (m, 1H, H-5'), 3.29–3.11 (m, 2H, H-6a', 6b'), 2.35 (s, 3H, SAC), 2.20 and 2.05 (2s, 6H, 2OAc); Anal. Calcd for C₂₃H₂₄FN₃O₈S: C, 52.97; H, 4.64; N, 8.06. Found: C, 52.70; H, 4.80; N, 8.22. ESI-MS (m/z): 522.54 (M+H⁺).

2.2.12. 9-(2,4-Di-O-acetyl-6-S-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-6-thio- β -D-glucopyranosyl)-N⁶-benzoyl adenine (**5e**)

N⁶-benzoyl adenine derivative **5e** was synthesized from **4e** by the similar procedure as described for **5a**. Finally it was purified by flash chromatography (hexane/AcOEt, 2:8) to give compound **5e** (0.61 g, 60%, $R_f = 0.24$ in hexane/AcOEt, 2:8) as solid. m.p. 118–120 °C; $[\alpha]_D^{22} + 4.00$ (c 0.1, CHCl₃); λ_{\max} 279 nm (ϵ 12,567); IR (Nujol): 1697 (SAC) cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃): δ 9.07 (br s, NH), 8.77 and 8.19 (2s, 2H, H-2'), 7.98–7.42 (m, 5H, Bz), 5.88 (d, 1H, $J_{1,2'} = 9.5$ Hz, H-1'), 5.70–5.61 (m, 1H, H-2'), 5.40–5.31 (m, 1H, H-4'), 4.81 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 51.7$ Hz, $J_{2',3'} = 9.3$ Hz, $J_{3',4'} = 8.9$ Hz), 3.95–3.89 (m, 1H, H-5'), 3.32–3.15 (m, 2H, H-6a', 6b'), 2.35 (s, 3H, SAC),

2.23 and 1.84 (2s, 6H, 2OAc); Anal. Calcd for C₂₄H₂₄FN₅O₇S: C, 52.84; H, 4.43; N, 12.84. Found: C, 52.68; H, 4.38; N, 13.09. ESI-MS (m/z): 546.56 (M+H⁺).

2.2.13. 1-[3-Deoxy-3-fluoro-6-S-(2-S-pyridyl)-6-thio- β -D-glucopyranosyl]thymine (**7a**) from **5a**

To a solution of thioacetate **5a** (1.10 g, 2.50 mmol) in methanolic ammonia (104 mL), 2,2-dipyridyl-disulfide (DTDP) (2.60 g, 12 mmol) dissolved in MeOH/H₂O (1:1, 22 mL) was added dropwise and the mixture was stirred at room temperature. After stirring for 20 h, the reaction mixture was concentrated. The crude was finally purified by flash chromatography (AcOEt) to give compound **7a** (0.71 g, 68%, $R_f = 0.30$ in AcOEt) as white foam. $[\alpha]_D^{22} + 16.00$ (c 0.5, MeOH); λ_{\max} 266 nm (ϵ 9093); ¹H NMR (CD₃OD): δ 8.09 (br s, NH), 8.41 (d, H-6 of pyridine), 7.83–7.58 (m, H-4 and H-5 of pyridine), 7.29–7.12 (m, H-3 of pyridine and H-6), 5.40 (d, 1H, $J_{1,2'} = 9.4$ Hz, H-1'), 4.29 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 52.3$ Hz, $J_{2',3'} = 8.5$ Hz, $J_{3',4'} = 8.4$ Hz, H-3'), 3.92–3.79 (m, 1H, H-2'), 3.56–3.45 (m, 2H, H-6a' and H-4'), 3.44–3.35 (m, 1H, 6b'), 2.98–2.89 (m, 1H, H-5'); ¹⁹F NMR: δ -65.00; ¹³C NMR (CD₃OD): δ 163.73, 160.52, 150.11, 148.90, 136.95, 132.92, 121.11, 119.18, 110.23, 92.18, 85.49, 72.36, 70.12, 67.95, 33.63, 12.41; Anal. Calcd for C₁₆H₁₈FN₃O₅S₂: C, 46.26; H, 4.37; N, 10.11. Found: C, 46.41; H, 4.51; N, 10.32. ESI-MS (m/z): 416.47 (M+H⁺).

2.2.14. 1-[3-Deoxy-3-fluoro-6-S-(2-S-pyridyl)-6-thio- β -D-glucopyranosyl]uracil (**7b**) from **5b**

Uracil derivative **7b** was synthesized from thioacetate **5b** by the similar procedure as described for **7a**. Purified by flash chromatography (AcOEt) and obtained (0.70 g, 70%, $R_f = 0.27$ in AcOEt) as white foam. $[\alpha]_D^{22} + 6.00$ (c 0.1, MeOH); λ_{\max} 262 nm (ϵ 6478); ¹H NMR (CD₃OD): δ 8.53 (br s, NH), 8.32 (dd, H-6 of pyridine), 7.76–7.73 (m, H-4 and H-5 of pyridine), 7.66 (m, H-3 of pyridine), 7.57 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 5.68 (d, 1H, H-5), 5.46 (d, 1H, $J_{1,2'} = 9.4$ Hz, H-1'), 4.29 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 52.3$ Hz, $J_{2',3'} = 8.7$, $J_{3',4'} = 8.6$ Hz, H-3'), 3.83–3.77 (m, 1H, H-2'), 3.64–3.60 (m, 1H, H-6a'), 3.57–3.52 (m, 1H, H-4'), 3.42–3.39 (m, 1H, 6b'), 3.01–2.96 (m, 1H, H-5'); ¹⁹F NMR: δ -63.20; ¹³C NMR (CD₃OD): δ 163.34, 160.43, 150.19, 147.96, 142.56, 132.74, 120.95, 119.26, 101.76, 91.98, 84.77, 71.83, 70.31, 67.62, 33.64; Anal. Calcd for C₁₅H₁₆FN₃O₅S₂: C, 44.88; H, 4.02; N, 10.47. Found: C, 44.71; H, 4.22; N, 10.52. ESI-MS (m/z): 402.46 (M+H⁺).

2.2.15. 1-[3-Deoxy-3-fluoro-6-S-(2-S-pyridyl)-6-thio- β -D-glucopyranosyl]5-fluorouracil (**7c**) from **5c**

5-Fluorouracil derivative **7c** was synthesized from corresponding thioacetate **5c** by the similar procedure as described for **7a**. Purified by flash chromatography (AcOEt) and obtained (0.72 g, 69%, $R_f = 0.25$ in AcOEt) as white foam. $[\alpha]_D^{22} + 2.00$ (c 0.5, CHCl₃); λ_{\max} 263 nm (ϵ 5885); ¹H NMR (CD₃OD): δ 8.34–8.32 (m, H-6 of pyridine), 8.28 (br s, NH), 7.83–7.78 (m, H-4 and H-5 of pyridine), 7.17–7.13 (m, H-3 of pyridine), 5.44 (d, 1H, $J_{1,2'} = 9.0$ Hz, H-1'), 4.28 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 52.3$ Hz, $J_{2',3'} = 8.7$, $J_{3',4'} = 8.6$ Hz, H-3'), 3.82–3.76 (m, 1H, H-2'), 3.64–3.60 (m, 1H, H-6a'), 3.56–3.51 (m, 1H, H-4'), 3.43–3.39 (m, 1H, H-6b'), 3.01–2.96 (m, 1H, H-5'); ¹⁹F NMR: δ -64.30, -63.20; ¹³C NMR (CD₃OD): δ 162.34, 157.89, 150.41, 148.76, 138.11, 132.91, 127.45, , 120.32, 119.07, 94.41, 85.29, 72.37, 70.11, 68.65, 33.47; Anal. Calcd for C₁₅H₁₅F₂N₃O₅S₂: C, 42.95; H, 3.60; N, 10.02. Found: C, 42.81; H, 3.48; N, 10.28. ESI-MS (m/z): 420.44.

2.2.16. Bis-[1-(3-deoxy-3-fluoro-6-thio- β -D-glucopyranosyl)thymine]-6,6-disulfide (**6a**)

A mixture of methanolic ammonia (72.30 mL) and thionucleoside **5a** (0.75 g, 1.73 mmol) stirred for 4 h at room temperature. The reaction mixture was concentrated and disulfide **6a** was

obtained (0.95 g, 90%, $R_f = 0.20$ in AcOEt) as white foam. $[\alpha]_D^{22} + 2.00$ (c 0.5, MeOH); λ_{max} 262 nm (ϵ 19,126); 1H NMR (CD_3OD): δ 7.88 (br s, NH), 7.49 (s, 1H, H-6), 5.55 (d, 1H, $J_{1,2'} = 9.4$ Hz, H-1'), 4.37 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 52.3$ Hz, $J_{2',3'} = 8.5$, $J_{3',4'} = 8.3$ Hz, H-3'), 4.14–4.04 (m, 1H, H-2'), 3.72–3.55 (m, 1H, H-4'), 3.35–3.23 (m, 2H, H-6a',6b'), 2.92–2.80 (m, 1H, H-5'), 1.89 (s, 3H, 5-CH₃); Anal. Calcd for C₂₂H₂₈F₂N₄O₁₀S₂: C, 43.27; H, 4.62; N, 9.18. Found: C, 43.18; H, 4.84; N, 9.07. ESI-MS (m/z): 611.64.

2.2.17. Bis-[1-(3-deoxy-3-fluoro-6-thio- β -D-glucopyranosyl)uracil]-6,6-disulfide (**6b**)

Uracil derivative **6b** was synthesized from thionucleoside **5b** following similar procedure as described for **6a**. Disulfide **6b** was obtained (0.89 g, 88%, $R_f = 0.16$ in AcOEt) as white foam. $[\alpha]_D^{22} + 3.00$ (c 0.5, MeOH); λ_{max} 258 nm (ϵ 14,339); 1H NMR (CD_3OD): δ 7.66 (d, 1H, $J_{5,6} = 8.2$ Hz, H-6), 7.24 (br s, NH), 5.64 (d, 1H, H-5), 5.56 (d, 1H, $J_{1,2'} = 9.5$ Hz, H-1'), 4.38 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 52.0$ Hz, $J_{2',3'} = 8.6$ Hz, $J_{3',4'} = 8.1$ Hz, H-3'), 3.95–3.81 (m, 1H, H-2'), 3.74–3.53 (m, 1H, H-4'), 3.34–3.22 (m, 2H, H-6a',6b'), 2.92–2.81 (m, 1H, H-5'); Anal. Calcd for C₂₀H₂₄F₂N₄O₁₀S₂: C, 41.23; H, 4.15; N, 9.62. Found: C, 41.38; H, 4.34; N, 9.78. ESI-MS (m/z): 583.57.

2.2.18. Bis-[1-(3-deoxy-3-fluoro-6-thio- β -D-glucopyranosyl)5-fluorouracil]-6,6-disulfide (**6c**)

5-Fluorouracil derivative **6c** was synthesized from thionucleoside **5c** by the similar procedure as described for **6a**. Compound **6c** was obtained (0.95 g, 89%, $R_f = 0.13$ in AcOEt) as white foam. $[\alpha]_D^{22} + 2.00$ (c 0.5, MeOH); λ_{max} 263 nm (ϵ 15,056); 1H NMR (CD_3OD): δ 7.89 (d, 1H, $J_{6,F5} = 6.4$ Hz, H-6), 7.35 (br s, NH), 5.56 (d, 1H, $J_{1,2'} = 9.3$ Hz, H-1'), 4.38 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 52.5$ Hz, $J_{2',3'} = 8.7$, $J_{3',4'} = 8.6$ Hz, H-3'), 3.90–3.84 (m, 1H, H-2'), 3.70–3.66 (m, 1H, H-6a'), 3.61–3.56 (m, 1H, H-4'), 3.29–3.26 (m, 1H, H-6b'), 2.88–2.83 (m, 1H, H-5'); Anal. Calcd for C₂₀H₂₂F₄N₄O₁₀S₂: C, 38.84; H, 3.59; N, 9.06. Found: C, 38.72; H, 3.47; N, 9.12. ESI-MS (m/z): 619.56.

2.2.19. 1-[3-Deoxy-3-fluoro-6-S-(2-S-pyridyl)-6-thio- β -D-glucopyranosyl]thymine (**7a**) from **6a**

To a solution of **6a** (1.83 g, 3.00 mmol) in MeOH (26 mL), DTDP (3.16 g, 14.46 mmol) dissolved in MeOH/H₂O (1:1, 26 mL) was added dropwise. The reaction was carried out at room temperature and within 12 h. After disappearance of the starting material (TLC), the solvents were removed under diminished pressure and the yellow residue was purified by flash column chromatography (AcOEt) to give compound **7a** (0.88 g, 71%, $R_f = 0.30$ in AcOEt) as white foam.

2.2.20. 1-[3-Deoxy-3-fluoro-6-S-(2-S-pyridyl)-6-thio- β -D-glucopyranosyl]uracil (**7b**) from **6b**

Uracil derivative **7b** was synthesized from **6b** by the similar procedure as described for **7a**. Purified by flash chromatography (AcOEt) and obtained (0.83 g, 69%, $R_f = 0.27$ in AcOEt) as white foam.

2.2.21. 1-[3-Deoxy-3-fluoro-6-S-(2-S-pyridyl)-6-thio- β -D-glucopyranosyl]5-fluorouracil (**7c**) from **6c**

5-Fluorouracil derivative **7c** was synthesized from **6c** by the similar procedure as described for **7a**. Purified by flash chromatography (AcOEt) and obtained (0.86 g, 68%, $R_f = 0.25$ in AcOEt) as white foam.

2.3. Synthesis of 1-[3-deoxy-3-fluoro-6-S-(2-S-pyridyl)-6-thio- β -D-glucopyranosyl] nucleosides (**7a-c,f,g**) from glycosyl donor **13**

2.3.1. 3-Deoxy-3-fluoro-1,2-O-isopropylidene-6-O-p-toluenesulfonyl- α -D-glucofuranose (**9**)

To a solution of diol **8** [33] (4.00 g, 18 mmol) in dry pyridine (46.20 mL) was added *p*-toluenesulfonyl chloride (4.60 g, 24 mmol) and kept for 2 h at room temperature. After neutralization (NaHCO₃) and extraction with ethyl acetate (4 × 500 mL), the combined extracts were dried over anhydrous sodium sulfate and evaporated to dryness. Purification of the residue by flash chromatography (hexane/AcOEt, 1:1) yielded the title compound (5.08 g, 74%, $R_f = 0.45$ in hexane/AcOEt, 1:1) as colorless oil. $[\alpha]_D^{22} - 8.00$ (c 0.5, CHCl₃); 1H NMR (CDCl₃): δ 7.38 and 7.82 (dd, 4H, tosyl group), 5.92 (d, 1H, $J_{1,2'} = 3.2$ Hz, H-1'), 5.09 (dd, 1H, $J_{3',F} = 49.3$ Hz, H-3'), 4.70 (dd, 1H, $J_{2',F} = 10.3$ Hz, H-2'), 4.34 (d, 1H, H-4'), 4.13–4.06 (m, 2H, H-5a',5b'), 2.47 (s, 3H, ArCH₃), 1.48 (s, 3H, CH₃), 1.33 (s, 3H, CH₃); Anal. Calcd for C₁₆H₂₁FO₅S₂: C, 51.06; H, 5.62. Found: C, 51.14; H, 5.46. ESI-MS (m/z): 377.42 (M+H⁺).

2.3.2. 3-Deoxy-3-fluoro-1,2-O-isopropylidene-5-O-tetrahydropyranyl-6-O-p-toluenesulfonyl- α -D-glucofuranose (**10**)

To a 0 °C solution of **9** (5.00 g, 13.30 mmol) and dried *p*-toluenesulfonic acid (0.25 g, 1.33 mmol) in anhydrous CH₂Cl₂ (26.60 mL) was added 3,4-dihydro-2H-pyran (1.80 mL, 19.90 mmol). After being kept for 2 h in room temperature, the reaction mixture was neutralized with aqueous NaHCO₃ and extracted with CH₂Cl₂ (2 × 1 L). The organic layers were combined, dried over Na₂SO₄ and concentrated in vacuo. The residue was chromatographed through a column of silica gel (hexane/AcOEt, 3:7). Fractions containing the product were combined and concentrated to afford **10** (4.78 g, 78%, $R_f = 0.48$ in hexane/AcOEt, 3:7) as off-white oil. $[\alpha]_D^{22} - 6.00$ (c 0.5, CHCl₃); 1H NMR (CDCl₃): δ 7.84–7.80 (four separate s, 2H, HC₈+HC₂), 7.35–7.28 (m, 5H, Ph), 5.98 (d, 1/2H, $J_{1,2'} = 2.8$ Hz, H-1'), 5.89 (d, 1/2H, $J_{1,2'} = 2.9$ Hz, H-1'), 2.47 (s, 3H, ArCH₃), 1.50 (s, 3H, CH₃), 1.33 (s, 3H, CH₃); Anal. Calcd for C₂₁H₂₉FO₆S₂: C, 54.77; H, 6.35. Found: C, 54.64; H, 6.42. ESI-MS (m/z): 461.53 (M+H⁺).

2.3.3. 3-Deoxy-3-fluoro-1,2-O-isopropylidene-5-O-tetrahydropyranyl-6-S-acetyl-6-thio- α -D-glucofuranose (**11**)

The tosylate **10** (4.50 g, 9.80 mmol) was heated with potassium thioacetate (1.50 g, 13.50 mmol) in DMF (39.20 mL) at 100 °C for 1 h. The reaction mixture was neutralized with aqueous NaHCO₃. After that, the mixture was concentrated under high vacuum pump to eliminate the DMF. The residue was partitioned between water and EtOAc, the organic extract was dried over anhydrous sodium sulfate, filtered, and evaporated to dryness. The residue was purified by flash chromatography (hexane/AcOEt, 4:6) to give compound **11** (2.71 g, 76%, $R_f = 0.42$ in hexane/AcOEt, 4:6) as yellow syrup. $[\alpha]_D^{22} - 8.00$ (c 0.1, CHCl₃); IR (Nujol): 1697 (SAC) cm⁻¹; 1H NMR (CDCl₃): δ 7.84–7.80 (4 separate s, 2H, HC₈+HC₂), 7.35–7.28 (m, 5H, Ph), 5.96 (d, 1H, $J_{1,2'} = 3.7$ Hz, H-1'), 2.37 (s, 3H, SAC), 1.52 (s, 3H, CH₃), 1.34 (s, 3H, CH₃); Anal. Calcd for C₁₆H₂₅FO₆S₂: C, 52.73; H, 6.91. Found: C, 52.84; H, 6.72. ESI-MS (m/z): 365.47 (M+H⁺).

2.3.4. 1,2,4-Tri-O-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-6-S-acetyl-6-thio- β -D-glucopyranose (**12**)

A solution of thioacetate **11** (2.50 g, 6.90 mmol) in 90% TFA (172.50 mL) was stirred for 20 min at room temperature. The reaction mixture was concentrated under diminished pressure and crude was obtained as a colorless oil. Acetylation of the residue with Ac₂O-pyridine (1:2, 36.50 mL) and chromatography of the

product (hexane/AcOEt, 4:6) gave compound **12** (1.77 g, 70%, $R_f = 0.45$ in hexane/AcOEt, 4:6) as colorless syrup. $[\alpha]_D^{22} + 12.00$ (c 0.1, CHCl₃); IR (Nujol): 1697 (SAc) cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃): δ 6.30 (br s, 1H, H-1'), 5.62 (d, 1H, H-4'), 5.33–5.04 (m, 1H, H-2'), 4.80 (dtr, 1/2H, $J_{3',F} = 53.3$ Hz, $J_{3',4'} = 9.2$ Hz, H-3'), 4.58 (dtr, 1/2H, $J_{3',F} = 51.9$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 4.03–3.98 (m, 1/2H, H-5'), 3.70–3.64 (m, 1/2H, H-5'), 3.28–3.21 and 3.15–3.08 (2 m, 2H, H-6a',6b'), 2.36 (s, 3H, SAc), 2.17, 2.14, 2.12, 2.10 (4s, 12H, 4OAc); Anal. Calcd for C₁₄H₁₉FO₈S: C, 45.90; H, 5.23. Found: C, 46.04; H, 5.16. ESI-MS (m/z): 367.38 (M+H⁺).

2.3.5. 1,2,4-Tri-O-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-6-S-(2-S-pyridyl)-6-thio-D-glucopyranose (**13**)

To a solution of thiosugar **12** (2.00 g, 5.46 mmol) in methanolic ammonia (228 mL), DTDP (9.55 g, 43.70 mmol) dissolved in MeOH:H₂O (1:1, 47 mL) was added dropwise and the mixture was stirred at room temperature. After stirring for 20 h, the reaction mixture was concentrated. Acetylation of the residue with Ac₂O-pyridine (1:2, 109 mL) and chromatography of the product (hexane/AcOEt, 4:6) gave compound **13** (1.67 g, 70%, $R_f = 0.45$ in hexane/AcOEt, 4:6) as colorless syrup. $[\alpha]_D^{22} + 4.00$ (c 0.1, CHCl₃); λ_{max} 283 nm (ϵ 5510); ¹H NMR (CDCl₃): δ 5.62 (d, 1/2H, H-1'), 5.26–5.03 (m, 2H, H-2' and H-4'), 4.79 (dtr, 1/2H, $J_{3',F} = 51.9$ Hz, $J_{3',4'} = 9.2$ Hz, H-3'), 4.53 (dtr, 1/2H, $J_{3',F} = 51.7$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 4.19–4.14 (m, 1/2H, H-5'), 3.75–3.70 (m, 1/2H, H-5'), 3.42–3.35 (m, 2H, H-6a',6b'), 2.14, 2.12, 2.10, 2.08, 2.07, 2.05 (6s, 18H, 6OAc); Anal. Calcd for C₁₇H₂₀FNO₇S₂: C, 47.10; H, 4.65; N, 3.23. Found: C, 47.24; H, 4.46; N, 3.35. ESI-MS (m/z): 434.49.

2.3.6. 1-[3-Deoxy-3-fluoro-6-S-(2-S-pyridyl)-6-thio- β -D-glucopyranosyl]thymine (**7a**)

A mixture of thymine (2.33 g, 18.55 mmol), HMDS (4.80 mL, 23 mmol) and saccharine (0.16 g, 0.85 mmol) in anhydrous CH₃CN (69 mL) was refluxed for 30 min. Triacetylated thiopyridyl sugar **13** (5.74 g, 13.25 mmol) and tin chloride (1.94 mL, 17.22 mmol) were then added and the reaction mixture was refluxed for 5 h, cooled, neutralized with aqueous sodium bicarbonate, and extracted with CH₂Cl₂ (500 mL). The organic layer was washed with water (3 \times 10 mL) and dried over anhydrous sodium sulfate, evaporated to dryness. The crude underwent deacetylation with methanolic ammonia (550 mL) within 4 h, concentrated and finally purified by flash chromatography (AcOEt) to give compound **7a** (3.53 g, 64%, $R_f = 0.30$ in AcOEt) as white foam.

2.3.7. 1-[3-Deoxy-3-fluoro-6-S-(2-S-pyridyl)-6-thio- β -D-glucopyranosyl]uracil (**7b**)

A mixture of uracil (2.08 g, 18.55 mmol), HMDS (4.80 mL, 23 mmol) and saccharine (0.16 g, 0.85 mmol) in anhydrous CH₃CN (69 mL) was refluxed for 30 min. Triacetylated thiopyridyl sugar **13** (5.74 g, 13.25 mmol) and trimethylsilyl trifluoromethane-sulfonate (3.10 mL, 17.22 mmol) were then added and the reaction mixture was refluxed for 5 h, cooled, neutralized with aqueous sodium bicarbonate, and extracted with CH₂Cl₂ (500 mL). The organic layer was washed with water (3 \times 10 mL) and dried over anhydrous sodium sulfate, evaporated to dryness. The crude underwent deacetylation with methanolic ammonia (550 mL) within 4 h, concentrated and finally purified by flash chromatography (AcOEt) to give compound **7b** (3.29 g, 62%, $R_f = 0.27$ in AcOEt) as white foam.

2.3.8. 1-[3-Deoxy-3-fluoro-6-S-(2-S-pyridyl)-6-thio- β -D-glucopyranosyl]5-fluorouracil (**7c**)

A mixture of 5-fluorouracil (2.41 g, 18.55 mmol), HMDS (4.80 mL, 23 mmol) and saccharine (0.16 g, 0.85 mmol) in anhydrous CH₃CN (69 mL) was refluxed for 30 min. Triacetylated thiopyridyl sugar **13** (5.74 g, 13.25 mmol) and trimethylsilyl trifluoromethane-sulfonate (3.10 mL, 17.22 mmol) were then

added and the reaction mixture was refluxed for 5 h, cooled, neutralized with aqueous sodium bicarbonate, and extracted with CH₂Cl₂ (500 mL). The organic layer was washed with water (3 \times 10 mL) and dried over anhydrous sodium sulfate, evaporated to dryness. The crude underwent deacetylation with methanolic ammonia (550 mL) within 4 h, concentrated and finally purified by flash chromatography (AcOEt) to give compound **7c** (3.89 g, 70%, $R_f = 0.25$ in AcOEt) as white foam.

2.3.9. 1-[3-Deoxy-3-fluoro-6-S-(2-S-pyridyl)-6-thio- β -D-glucopyranosyl]cytosine (**7f**)

A mixture of N⁴-benzoyl cytosine (3.99 g, 18.55 mmol), HMDS (4.80 mL, 23 mmol) and saccharine (0.16 g, 0.85 mmol) in anhydrous CH₃CN (69 mL) was refluxed for 30 min. Triacetylated thiopyridyl sugar **13** (5.74 g, 13.25 mmol) and trimethylsilyl trifluoromethane-sulfonate (3.10 mL, 17.22 mmol) were then added and the reaction mixture was refluxed for 5 h, cooled, neutralized with aqueous sodium bicarbonate, and extracted with CH₂Cl₂ (500 mL). The organic layer was washed with water (3 \times 10 mL) and dried over anhydrous sodium sulfate, evaporated to dryness. The crude underwent deacetylation with methanolic ammonia (550 mL) within 4 h, concentrated and finally purified by flash chromatography (AcOEt) to give compound **7f** (3.60 g, 68%, $R_f = 0.32$ in AcOEt) as white foam. $[\alpha]_D^{22} + 2.00$ (c 0.5, MeOH); λ_{max} 269 nm (ϵ 7400); ¹H NMR (CD₃OD): δ 8.23 (m, H-6 of pyridine), 7.78–7.69 (m, H-4 and H-5 of pyridine), 7.51 (d, 1H, H-5), 7.46 (d, 1H, $J_{5,6} = 7.3$ Hz, H-6), 7.08–7.03 (m, H-3 of pyridine), 5.52 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.4$ Hz, H-1'), 4.22 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 52.5$ Hz, $J_{2',3'} = 9.0$ Hz, $J_{3',4'} = 8.9$ Hz, H-3'), 3.73–3.66 (m, 1H, H-2'), 3.53–3.42 (m, 2H, H-4' and H-6a'), 3.34–3.30 (m, 1H, H-6b'), 2.92–2.87 (m, 1H, H-5'); ¹⁹F NMR: δ -64.33; ¹³C NMR (CD₃OD): δ 165.54, 160.32, 154.28, 148.46, 137.56, 132.91, 122.03, 120.12, 99.36, 92.38, 85.62, 72.39, 70.64, 70.22, 33.63; Anal. Calcd for C₁₅H₁₇FN₄O₄S₂: C, 44.99; H, 4.28; N, 13.99. Found: C, 44.82; H, 4.42; N, 13.52. ESI-MS (m/z): 401.48.

2.3.10. 9-[3-Deoxy-3-fluoro-6-S-(2-S-pyridyl)-6-thio- β -D-glucopyranosyl]adenine (**7g**)

A mixture of N⁶-benzoyl adenine (2.93 g, 12.25 mmol), HMDS (3.10 mL, 15.19 mmol) and saccharine (0.10 g, 0.56 mmol) in anhydrous CH₃CN (46 mL) was refluxed for 30 min. Triacetylated thiopyridyl sugar **13** (3.80 g, 8.75 mmol) and tin chloride (1.38 mL, 12.25 mmol) were then added and the reaction mixture was refluxed for 5 h, cooled, neutralized with aqueous sodium bicarbonate, and extracted with CH₂Cl₂ (500 mL). The organic layer was washed with water (3 \times 10 mL) and dried over anhydrous sodium sulfate, evaporated to dryness. The crude underwent deacetylation with methanolic ammonia (512 mL) within 4 h, concentrated and finally purified by flash chromatography (AcOEt) to give compound **7g** (3.32 g, 64%, $R_f = 0.32$ in AcOEt) as white foam. $[\alpha]_D^{22} + 4.00$ (c 0.5, MeOH); λ_{max} 263 nm (ϵ 9860); ¹H NMR (CD₃OD): δ 8.58 and 8.35 (2s, 2H, H-2,8), 8.33–8.25 (m, H-6 of pyridine), 7.63–7.18 (m, H-4, H-5, H-3 of pyridine), 6.96 (br s, NH₂), 5.88 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9.1$ Hz, H-1'), 4.01 (dtr, 1H, $J_{F,3'} = 52.3$ Hz, $J_{2',3'} = 8.7$ Hz, $J_{3',4'} = 8.6$ Hz, H-3'), 3.79–3.67 (m, 1H, H-2'), 3.59–3.53 (m, 1H, H-6a'), 3.51–3.47 (m, 1H, H-4'), 3.42–3.37 (m, 1H, H-6b'), 2.96–2.81 (m, 1H, H-5'); ¹⁹F NMR: δ -63.20; ¹³C NMR (CD₃OD): δ 160.54, 155.75, 152.31, 149.86, 147.75, 145.76, 136.71, 120.37, 120.23, 116.98, 91.76, 89.64, 72.19, 69.70, 66.64, 33.87; Anal. Calcd for C₁₆H₁₇FN₆O₃S₂: C, 45.27; H, 4.04; N, 19.80. Found: C, 45.31; H, 4.12; N, 19.62. ESI-MS (m/z): 425.51.

2.4. Biological assays

The antiviral assays were based on the inhibition of virus-induced cytopathicity in confluent cell cultures, and the cytostatic

assays on inhibition of tumor cell proliferation in exponentially growing tumor cell cultures according to previously described methodology [15,32].

2.4.1. Antiviral activity assays

The antiviral assays, other than the anti-HIV assays, were based on inhibition of virus-induced cytopathicity in HEL [herpes simplex virus type 1 (HSV-1) (KOS), HSV-2 (G), vaccinia virus, vesicular stomatitis virus, cytomegalovirus (HCMV) and varicella-zoster virus (VZV)], Vero (parainfluenza-3, reovirus-1, Sindbis virus and Coxsackie B4), HeLa (vesicular stomatitis virus, Coxsackie virus B4, and respiratory syncytial virus) or MDCK [influenza A (H1N1; H3N2) and influenza B] cell cultures. Confluent cell cultures (or nearly confluent for MDCK cells) in microtiter 96-well plates were inoculated with 100 CCID₅₀ of virus (1 CCID₅₀ being the virus dose to infect 50% of the cell cultures). After a 1 h virus adsorption period, residual virus was removed, and the cell cultures were incubated in the presence of varying concentrations (200, 40, 8, . . . μM) of the test compounds. Viral cytopathicity was recorded as soon as it reached completion in the control virus-infected cell cultures that were not treated with the test compounds. The minimal cytotoxic concentration (MCC) of the compounds was defined as the compound concentration that caused a microscopically visible alteration of cell morphology. The methodology of the anti-HIV assays was as follows: human CEM (~3 × 10⁵ cells/cm³) cells were infected with 100 CCID₅₀ of HIV(III_B) or HIV-2(ROD)/mL and seeded in 200 μL wells of a microtiter plate containing appropriate dilutions of the test compounds. After 4 days of incubation at 37 °C, HIV-induced CEM giant cell formation was examined microscopically.

2.4.2. Cytostatic/toxic activity assays

Murine leukemia L1210, murine mammary carcinoma FM3A, and human lymphocyte CEM and human cervix carcinoma HeLa cells were seeded in 96-well microtiter plates at 50,000 (L1210, FM3A), 75,000 (CEM) or 20,000 (HeLa) cells per 200 μL-well in the presence of different concentrations of the test compounds. After 2 (L1210, FM3A), 3 (CEM) or 4 (HeLa) days, the viable cell number was counted using a Coulter counter apparatus. The 50% cytostatic concentration (CC₅₀) was defined as the compound concentration required to inhibit tumor cell proliferation by 50%.

2.4.3. Thymidine and uridine phosphorylase assays

The conversion of dThd to thymine, Urd to uracil and compounds **13b** and **13c** to the free base by human recombinant thymidine phosphorylase and uridine phosphorylase type 1 (kindly provided by Dr. T.P. Roosild, Las Vegas, Nevada, USA) was measured by high-pressure liquid chromatography (HPLC) analysis. To determine the conversion activity, a high amount of recombinant enzyme was incubated with 100 μM of dThd or **13b** and **13c** in TP-buffer (10 mM Tris.HCl, pH 7.6, 1 mM EDTA, 2 mM KH₂PO₄/K₂HPO₄ and 150 mM NaCl) or UP-buffer (same as TP-buffer, but 300 mM NaCl instead of 150 mM). At 20, 40 and 60 min, 100 μL aliquots of the reaction mixtures were withdrawn and heated at 95 °C for 3 min to inactivate the enzyme. dThd and Urd were separated from thymine and uracil and **13b** and **13c** were separated from 5-FU and uracil on a reverse-phase RP-8 column (Merck, Darmstadt, Germany) and quantified by high-pressure liquid chromatography (HPLC) analysis (Alliance 2690, Waters, Milford, MA). The separation was performed by a linear gradient from 98% buffer B (50 mM NaH₂PO₄ and 5 mM heptane sulfonic acid, pH 3.2), to 20% buffer B + 80% acetonitrile (8 min 98% buffer B + 2% acetonitrile; 5 min linear gradient of 98% buffer B + 2% acetonitrile to 20% buffer B + 80% acetonitrile; 10 min 20% buffer B + 80% acetonitrile, followed by equilibration at 98% buffer B + 2% acetonitrile). Retention times for thymine and dThd were, respectively, 5.1 and 10.8 min, for uracil and Urd, respectively, 2.1 and 2.4 min and for

13b, **13c** and 5-FU, respectively, 20.1, 20.1 and 2.4 min. UV-based detection was performed at 267 nm.

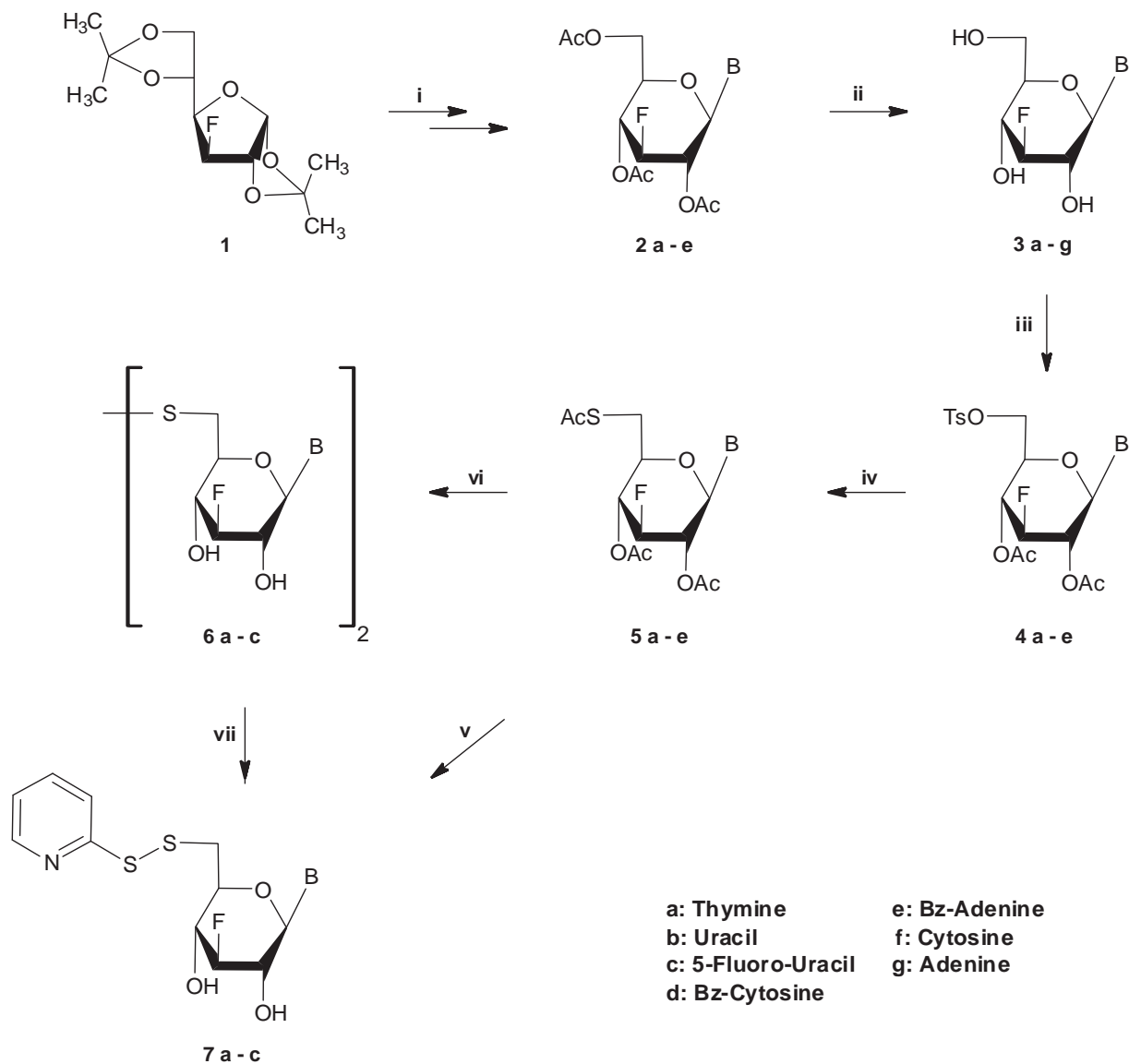
3. Results and discussion

3.1. Synthesis

Two main strategies were used for the synthesis of 3-fluoro-6-S-(2-S-pyridyl) nucleosides **7a-c,f,g**.

Our first approach (Scheme 1) was focused on the preparation of 3-fluoro-6-thio-glucopyranosyl nucleosides of thymine **5a**, uracil **5b**, 5-fluorouracil **5c**, N⁴-benzoyl cytosine **5d** and N⁶-benzoyl adenine **5e** as useful precursors toward the synthesis of 6-S-nucleosidyl S-pyridine disulfides. 1,2:5,6-di-O-isopropylidene-3-deoxy-3-fluoro-α-D-glucofuranose (**1**) [34] was readily transformed into the corresponding 1,2,4,6-tetra-O-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-glucopyranose [35], which upon condensation with purine and pyrimidine bases afforded 3-deoxy-3-fluoro-β-D-glucopyranosyl nucleosides **2a-e** [14]. Deprotection of nucleosides **2a-e** in methanolic ammonia gave the fully unprotected derivatives **3a-c,f,g**, while the base protected benzoylated derivatives **3d,e** were obtained when **2d,e** were treated with NaOH-ethanol-pyridine [10,11,14]. Treatment of **3a-e** with *p*-toluenesulphonyl chloride in dry pyridine [35] and direct acetylation of the free hydroxyls at C-2' and C-4' with acetic anhydride/pyridine afforded the desired acetylated 6-O-tosylated derivatives **4a-e** in very good yields. Subsequently, the tosylated derivatives **4a-e**, after treatment with potassium thioacetate in hot *N,N*-dimethylformamide (DMF) [36–38], were converted into the corresponding thioacetates, 1-(2,4-di-O-acetyl-6-S-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-6-thio-β-D-glucopyranosyl)thymine (**5a**), 1-(2,4-di-O-acetyl-6-S-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-6-thio-β-D-glucopyranosyl)uracil (**5b**), 1-(2,4-di-O-acetyl-6-S-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-6-thio-β-D-glucopyranosyl)5-fluorouracil (**5c**), 1-(2,4-di-O-acetyl-6-S-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-6-thio-β-D-glucopyranosyl)-N⁴-benzoyl cytosine (**5d**) and 9-(2,4-di-O-acetyl-6-S-acetyl-3-deoxy-3-fluoro-6-thio-β-D-glucopyranosyl)-N⁶-benzoyl adenine (**5e**), respectively. Deprotection of the β-protected thionucleosides **5a-e** by methanolic ammonia and *in situ* thiopyridinylation in H₂O, MeOH and 2,2-dipyridyl disulfide (DTDP) at room temperature [22], led to the desired derivatives **7a-c**. These reactions were completed within 20 h and the isolated yields of the 6-S-nucleosidyl S-pyridine disulfides were generally higher than 65%. Attempts to fully unprotect thionucleosides **5a-c** resulted to the formation of their corresponding symmetrical disulfides **6a-c**, the thiopyridinylation of which also led to the desired 6-S-nucleosidyl S-dipyridine disulfides **7a-c**. It is noteworthy that only decomposition products were obtained after deprotection/thiopyridinylation of N⁴-benzoyl cytosine and N⁶-benzoyl adenine derivatives, **5d** and **5e**, respectively.

In order to circumvent this difficulty we chose to investigate a route in which the thionucleosides could be generated from a suitable thiopyridine sugar precursor. Our alternative synthetic pathway, in which compound **12** was envisioned as an appropriate glycosyl donor for the preparation of the suitable sugar, is described in Scheme 2. Initially, selective removal of the 5,6-O-isopropylidene group of starting material **1** [34] led to the formation of diol **8** [33]. Selective sulfonylation of **8** with *p*-toluenesulphonyl chloride in pyridine led to compound **9**, which was treated with dihydropyran (DHP) and *p*-toluenesulphonic acid monohydrate in dry CH₂Cl₂ in order to give compound **10** in very satisfactory overall yield. Displacement of the tosyl group with the thioacetyl moiety proceeded without difficulties to afford compound **11**. Precursor **12** was readily available from glucofuranose **11** through hydrolysis with 90% aqueous trifluoroacetic acid at room temperature and direct acetylation. Deprotection of the glycosyl donor **12** using methanolic ammonia, direct thiopyridinylation



Scheme 1. (i) (a) MeOH/H₂O/amberlite IR 120(H⁺); (b) Ac₂O/pyridine; (c) silylated base, CH₃CN, trimethylsilyl trifluoromethane-sulfonate or tin chloride; (ii) pyridine/MeOH/amberlite IR 120(H⁺)/NaOH or methanolic ammonia; (iii) (a) pyridine, *p*-toluenesulfonyl chloride; (b) Ac₂O/Pyridine; (iv) KSAc/DMF/100 °C; (v) methanolic ammonia/H₂O/MeOH/2,2-dipyridine-disulfide; (vi) methanolic ammonia; (vii) H₂O/MeOH/2,2-dipyridine-disulfide.

tion [22] (8 mol excess of DTD/MeOH/H₂O) followed by acetylation led to the desired thiopyridine sugar **13**. In order to prepare not only the target 6-S-nucleosidyl S-dipyridine disulfides **7f,g**, but the previously synthesized 6-S-(2-S-pyridyl) nucleosides **7a-c** as well, glycosylation reactions with the corresponding purine and pyrimidine bases and the 6-thiopyridine sugar **13** followed by direct deacetylation were employed.

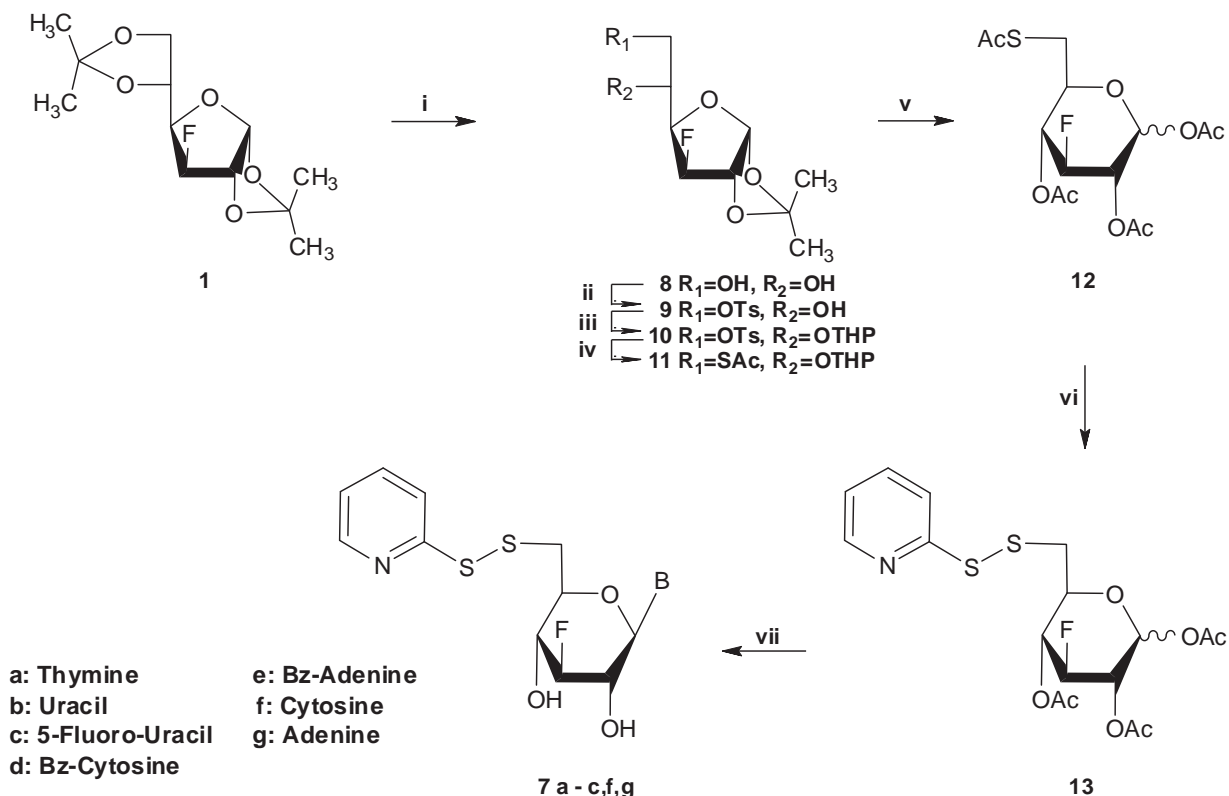
All new compounds were well-characterized by NMR and UV spectroscopy, mass spectrometry and elemental analysis. The ¹H NMR data obtained for the newly synthesized **5a-e** revealed that these compounds had the β configuration (*J*_{1,2'} >> 8.0 Hz). It must also be mentioned that the desired compounds **5a-e**, showed strong infra-red absorptions at 1750 cm⁻¹ (OAc) and 1697 cm⁻¹ (SAc), while in their ¹H NMR spectra prominent 3-proton methyl signals appeared, which were ascribed to the acetylthio moiety and 6-proton methyl peaks, which correspond to the acetoxy group. Moreover, data in the ¹H NMR spectra, obtained for the newly synthesized 6-S-(2-S-pyridyl) nucleosides **7a-c,f,g**, revealed the absence of 6-proton methyl peaks, which correspond to the

acetoxy group and the presence of 2-S-pyridyl moiety, whose proton peaks appeared between 8.4 and 7.1 ppm.

The stability of the target compounds was assigned after 3 months storage, either in organic solution or in solid phase, by performing NMR spectroscopy. Comparison of the primarily NMR spectra of the target molecules with those of the same storable compounds could clearly reveal identical proton NMR spectra.

3.2. Antiviral and cytostatic activity

Compounds **6a-c** and **7b,c,f,g** were evaluated for their antiviral activity against a wide variety of DNA and RNA viruses, including herpes simplex virus type 1 (HSV-1) (strain KOS), HSV-2 (strain G), vaccinia virus, vesicular stomatitis virus (VSV), varicella-zoster virus (VZV) strains OKA and 07/1, and human cytomegalovirus (HCMV) strains AD-169 and Davis in HEL cell cultures, VSV, Coxsackie B4 and respiratory syncytial virus (RSV) in HeLa cell cultures, parainfluenza-3 virus, reovirus, Sindbis virus, Coxsackie virus B4 and Punta Toro virus in Vero cell cultures, influenza A



Scheme 2. (i) 70% AcOH; (ii) pyridine, *p*-toluenesulfonyl chloride; (iii) CH₂Cl₂, *p*-TsOH, DHP; (iv) KSAc/DMF/100 °C; (v) (a) 90% TFA (b) Ac₂O/pyridine; (vi) (a) methanolic ammonia/H₂O/MeOH/2,2-dipyridine-disulfide (b) Ac₂O/pyridine; (vii) (a) silylated base, CH₃CN, trimethylsilyl trifluoromethane-sulfonate or tin chloride, (b) methanolic ammonia.

(H1N1, H3N2) and B virus in MDCK cell cultures and feline corona virus (FIPV) and feline herpesvirus in CRFK cell cultures. None of the compounds tested showed an appreciable inhibitory activity at subtoxic concentrations (i.e. 4–20 μM for **7b**, 20–100 μM for **7c** and >100 μM for the other compounds). The new molecules were also examined for their cytostatic activity against murine leukemia L1210, murine mammary carcinoma FM3A, human lymphocyte Molt4/C8 and CEM and human cervix carcinoma HeLa cells. Compounds **3a–g** (Table 1) and the acetyl-substituted **5a–e** analogs (data not shown) did not show appreciable antiproliferative activity. Likewise, the 6,6-disulfide glucopyranosyl pyrimidine dinucleoside derivatives **6a–c** did not show appreciable cytostatic action against the evaluated tumor cell lines (IC₅₀: 71 to >500 μM) (Table 1). However, their corresponding 2-*S*-pyridyl 6-thioglucofuranosyl mononucleosides **7** were endowed with a more pronounced cytostatic activity in cell culture. In particular, the 5-fluorouracil (**7c**) and especially the uracil (**7b**) derivative showed considerable cytostatic potency against the murine L1210, and human Molt4/C8, CEM and HeLa cells. Also, **7c** and **7b** were cytostatic against proliferating human embryonic lung HEL fibroblasts (IC₅₀: 36 μM and 9.2 μM, respectively), Crandell feline kidney cells (CRFK) (IC₅₀: 6.2 and 39 μM) and canine Madin-Darby kidney cells (MDCK) (IC₅₀: 50 μM and 11 μM, respectively). Conversely, the adenine (**7g**) and cytosine (**7f**) derivatives showed poor, if any cytostatic activity (192 – >500 μM) (Table 1). It is somewhat intriguing that among the 2-*S*-pyridyl 6-thioglucofuranosyl mononucleotides, only the derivatives containing an uracil/5-fluorouracil base were markedly more cytostatic than those, which bear a thymine, cytosine or adenine base. The fluorouracil derivatives proved equally cytostatic against murine and human cells, as well as against leukemia, mammary carcinoma, cervix carcinoma and lymphoma tumor cells. The molecular basis of the antiproliferative activity of

Table 1

Inhibitory effects of the test compounds on the proliferation of murine leukemia cells (L1210), murine mammary carcinoma cells (FM3A), human T-lymphocyte cells (Molt4/C8, CEM) and human cervix carcinoma (HeLa) cells.

Compounds	IC ₅₀ ^a (μM)				
	L1210	FM3A	Molt4/C8	CEM	HeLa
3a	>200	>200	>200	>200	
3b	>200	>200	>200	>200	
3c	>200	>200	>200	>200	
3d	>200	>200	>200	>200	
3e	≥200	>200	81 ± 7	120 ± 15	
3f	159 ± 58	>200	163 ± 21	155 ± 64	
3g	166 ± 47	>200	183 ± 24	124 ± 47	
6a	>500	>500		>500	>500
6b	302 ± 36	123 ± 39		>500	320 ± 40
6c	231 ± 34	71 ± 18		>500	280 ± 0
7a	120 ± 56	>200	84 ± 4	106 ± 21	
7b	9.5 ± 0.0	17 ± 4		9.2 ± 1.1	8.8 ± 0.7
7c	54 ± 19	35 ± 2		43 ± 3	35 ± 3
7f	>500	>500		>500	369 ± 7
7g	238 ± 41	≥500		228 ± 36	192 ± 9

^a 50% Inhibitory concentration or compound concentration required to inhibit tumor cell proliferation in cell culture by 50%.

the fluorouracil derivatives is currently unknown. When compounds **7b** and **7c** were exposed to purified recombinant thymidine phosphorylase (TPase) or uridine phosphorylase type I (UPase), they were not hydrolyzed to the free pyrimidine base under conditions where thymidine (exposed to TPase) and uridine (exposed to UPase) were readily converted to thymine and uracil, respectively (data not shown). These findings indicate that these molecules exert their potency *via* their intact nucleoside moiety (or anabolite derived thereof), rather than a catabolic metabolite

(i.e. free 2-*S*-pyridyl 6-thioglucofuranose). Also, it is clear from the inactivity of the **3a-g** series of compounds that the 2-*S*-pyridyl group plays an important role, in concert with the uracil base, to express pronounced cytostatic activity. In fact, Decout has recently reported on 2',3'-dideoxyribonucleoside 3'-disulfides [22] and found that those derivatives, which contain a rather bulky moiety on the disulfide part of the molecule (i.e. nitrophenyl, butyl, hexyl, acetyl) were also most cytostatic than others. This is in agreement with the presence of a rather bulky entity on the disulfide in compounds **7b** and **7c** as well. The exact molecular mechanism of cytostatic activity is currently subjected to further studies. *Mutatis mutandis*, compounds **7b** and **7c** could be viewed as potential lead compounds for further modification in order to redesign and synthesize more potent cytostatic agents.

4. Conclusion

We have prepared a series of 2-*S*-pyridyl-6-thionucleosides, bearing natural and modified purines and pyrimidines, by developing highly efficient synthetic routes. None of the new compounds showed antiviral potency at subtoxic concentrations, but compound **7c**, and in particular **7b**, were endowed with significant cytostatic potency and can be viewed as novel lead compounds for further modifications. It would therefore be interesting to further explore the structure–activity relationships by modifying the base part as well as the sugar portion by incorporating different chemical entities.

Acknowledgments

This work was supported in part by the Postgraduate Programmes “Biotechnology-Quality assessment in Nutrition and the Environment”, “Application of Molecular Biology–Molecular Genetics–Molecular Markers”, Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly. The authors are also grateful to K.U. Leuven (GOA 10/014) for financial support.

References

- [1] W. Plunkett, V. Gandhi, Purine and pyrimidine nucleoside analogues, in: G. Giaccone, R. Schilsky, P. Sondel (Eds.), *Cancer Chemotherapy and Biological Response Modifiers*, Elsevier Science B.V., 2001, pp. 21–45.
- [2] R.K. Robins, G.D. Kini, *The Chemistry of Antitumor Agents*, Chapman and Hall, New York, 1990, pp. 299.
- [3] M. MacCoss, M.J. Robins, *The Chemistry of Antitumor Agents*, Chapman and Hall, New York, 1990, pp. 261.
- [4] D. Komiotis, S. Manta, E. Tsoukala, N. Tzioumaki, *Curr. Med. Chem.: Anti-Infect. Agents* 7 (2008) 219–244.

- [5] E. De Clercq, *Biochim. Biophys. Acta* 1587 (2002) 258–275.
- [6] R.C. Brady, D.I. Bernstein, *Antivir. Res.* 61 (2004) 73–81.
- [7] G.V. Papatheodoridis, E. Dimou, V. Papadimitropoulos, *Am. J. Gastroenterol.* 97 (2002) 1618–1628.
- [8] W.-D. Meng, F.-L. Qing, *Curr. Top. Med. Chem.* 6 (2006) 1499–1528.
- [9] K.W. Pankiewicz, *Carbohydr. Res.* 327 (2000) 87–105, and references cited therein.
- [10] S. Manta, G. Agelis, T. Botić, A. Cencič, D. Komiotis, *Bioorg. Med. Chem.* 15 (2007) 980–987.
- [11] S. Manta, G. Agelis, T. Botić, A. Cencič, D. Komiotis, *Eur. J. Med. Chem.* 43 (2008) 420–428.
- [12] K.L. Kirk, *Curr. Top. Med. Chem.* 6 (2006) 1447–1456.
- [13] J.L. Clark, J.C. Mason, L. Hollecker, L.J. Stuyver, P.M. Tharnish, T.R. McBrayer, M.J. Otto, A.P. Furman, R.F. Schinazi, K.A. Watanabe, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 16 (2006) 1712–1715.
- [14] S. Manta, E. Tsoukala, N. Tzioumaki, A. Goropevsek, R.T. Pamulapati, A. Cencič, D. Komiotis, *Eur. J. Med. Chem.* 44 (2009) 2696–2704.
- [15] S. Manta, N. Tzioumaki, E. Tsoukala, A. Panagiotopoulou, M. Pelecanou, J. Balzarini, D. Komiotis, *Eur. J. Med. Chem.* 44 (2009) 4764–4771.
- [16] N.A.A. Balatsos, D. Vlachakis, P. Maragozidis, S. Manta, D. Anastasakis, A. Kyritsis, M. Vlassi, D. Komiotis, C. Stathopoulos, *Biochemistry* 48 (2009) 6044–6051.
- [17] M. Yokoyama, *Synthesis* (2000) 1637–1655.
- [18] S.F. Wnuk, *Tetrahedron* 49 (1993) 9877–9936.
- [19] C.J. Bacchi, J.R. Sufirin, H.C. Nathan, A.J. Spiess, T. Hannan, J. Garofalo, K. Alecia, L. Katz, N. Yarlett, *Antimicrob. Agents Chemother.* 35 (1991) 1315–1320.
- [20] M. Pignot, G. Pljevaljcic, E. Weinhold, *Eur. J. Org. Chem.* (2000) 549–555, and references cited therein.
- [21] F. Zheng, X.-H. Zhang, X.-L. Qiu, X. Zhang, F.-L. Qing, *Org. Lett.* 8 (2006) 6083–6086, and references cited therein.
- [22] B. Gerland, J. Desire, J. Balzarini, J.L. Decout, *Bioorg. Med. Chem.* 16 (2008) 6824–6831.
- [23] B. Roy, S. Chambert, M. Lepoivre, J.L. Decout, *Nucleos. Nucleot. Nucleic acids* 22 (2003) 883–885.
- [24] B. Roy, S. Chambert, M. Lepoivre, A. Aubertin, J. Balzarini, J.L. Decout, *J. Med. Chem.* 46 (2003) 2565–2568.
- [25] J. Elhalabi, K.G. Rice, *Nucleos. Nucleot. Nucleic acids* 23 (2004) 195–205.
- [26] K. Sivapriya, P. Suguna, S. Shubashree, P.R. Sridhar, S. Chandrasekaran, *Carbohydr. Res.* 342 (2007) 1151–1158.
- [27] T.C. Chien, C.S. Chen, F.H. Yu, J.W. Chern, *Chem. Pharmaceut. Bull.* 52 (2004) 1422–1426.
- [28] E. De Clercq, *Nat. Rev. Drug Discovery* 1 (2002) 13–25.
- [29] S. Liu, M.S. Wolfe, R.T. Borchardt, *Antivir. Res.* 19 (1992) 247–265.
- [30] G. Agelis, N. Tzioumaki, T. Botić, A. Cencič, D. Komiotis, *Bioorg. Med. Chem.* 15 (2007) 5448–5456.
- [31] G. Agelis, N. Tzioumaki, T. Tselios, T. Botić, A. Cencič, D. Komiotis, *Eur. J. Med. Chem.* 43 (2008) 1366–1375.
- [32] N. Tzioumaki, E. Tsoukala, S. Manta, G. Agelis, J. Balzarini, D. Komiotis, *Arch. Pharm.* 342 (2009) 353–360.
- [33] V.P. Kamath, J. Zhang, P.E. Morris, Y.S. Babu, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 16 (2006) 2662–2665.
- [34] C.D. Baker, D. Horton, G.C. Tindall, *Carbohydr. Res.* 24 (1972) 192–197.
- [35] A.B. Foster, R. Hems, J.M. Webber, *Carbohydr. Res.* 5 (1967) 292–301.
- [36] A.N. Hughes, M.N. Munkombwe, *Carbohydr. Res.* 136 (1985) 397–409.
- [37] E. Tsoukala, G. Agelis, J. Dolinšek, T. Botić, A. Cencič, D. Komiotis, *Bioorg. Med. Chem.* 15 (2007) 3241–3247.
- [38] E. Tsoukala, S. Manta, N. Tzioumaki, G. Agelis, D. Komiotis, *Carbohydr. Res.* 343 (2008) 1099–1103.