**ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ**

# Σύνθεση νέων ιμιδαζοπυριδινών με πιθανή δράση κατά του ερπητοϊού HHV-5

**ΣΤΕΦΑΝΟΣ ΚΟΡΙΣΙΑΝΟΣ**

**ΦΑΡΜΑΚΟΠΟΙΟΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ**

**ΑΘΗΝΑ 2015**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:**

ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ ΜΑΡΑΚΟΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ (ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ)

ΝΙΚΟΛΑΪΣ ΠΟΥΛΗ: ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ ΜΙΚΡΟΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

**ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ**

**Περίληψη…… 3**

**1.Α) Ιοί και αντιικά φάρμακα……. 5**

**1.Β) Δομή των Ιών …… 6**

**1.Γ) Εύρος ξενιστών/ Θεραπευτικές εφαρμογές……. 7**

**1.Δ) Η οικογένεια των ερπητοϊών…… 9**

**1.Ε) Επιδημιολογία και παθογένεση του HMCV……..10**

**1.Στ)Αναπαραγωγικός κύκλος του HMCV/ εγκεκριμένα φάρμακα …… 16**

**1.Ζ) Αντι-HMCV φάρμακα σε κλινικές δοκιμές/ σχεδιασμός νέων παραγώγων……... 21**

**1.Η) Σκοπός ……. 25**

**2. Χημικό Μέρος ……..... 26**

**3. Πειραματικό Μέρος …….. 55**

**4. Βιβλιογραφία ……. 72**

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο ανθρώπινος κυτταρομεγαλοϊός (HCMV) είναι DNA ιός που μετά τη μόλυνση, παραμένει σε λανθάνουσα κατάσταση στα λευκοκύτταρα και στα Τ-λεμφοκύτταρα, χωρίς να προκαλεί έντονη ανοσολογική αντίδραση. Στους υγιείς ενήλικες η λοίμωξη από HCMV είναι συνήθως ασυμπτωματική, όμως σε ομάδες υψηλού κινδύνου, όπως νεογνά και ασθενείς σε ανοσοκαταστολή, η μόλυνση από HCMV είναι ιδιαίτερα επικίνδυνη. Τα εγκεκριμένα φάρμακα είναι νουκλεοζιτικά παράγωγα, που δρουν ως ισχυροί και σχετικά εκλεκτικοί αναστολείς της ιικής DNA πολυμεράσης, αλλά χαρακτηρίζονται από ανεπιθύμητες ενέργειες, που καθιστούν προβληματική τη μακροχρόνια θεραπεία. Επίσης έχουν αναφερθεί νουκλεοζιτικά παράγωγα βενζιμιδαζολίου, τα οποία χαρακτηρίζονται από ευνοϊκές φαρμακοκινητικές ιδιότητες και μειωμένες ανεπιθύμητες ενέργειες. Βάσει των ανωτέρω, στην παρούσα εργασία σχεδιάστηκαν νουκλεοζιτικά παράγωγα ιμιδαζολοπυριδίνης, με δομική αναλογία προς τα παραπάνω μόρια, με σκοπό τη μελέτη της επίπτωσης που θα έχει η εισαγωγή του επιπλέον αζώτου στο ετεροκυκλικό σύστημα στη φαρμακολογική δράση. Πραγματοποιήθηκε η σύνθεση τεσσάρων νέων νουκλεοζιτικών παραγώγων, συγκεκριμένα των ισομερών των θέσεων 1 και 3 της ιμιδαζο[4,5-b]πυριδίνης, και των αντίστοιχων ισομερών της ιμιδαζο[4,5-b]πυριδιν-2-όνης ξεκινώντας από εμπορικά διαθέσιμες πρώτες ύλες και έγινε βελτιστοποίηση των μεθόδων σύνθεσής τους. Τα τελικά προϊόντα και τα ενδιάμεσά τους απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού και φασματομετρία μάζας.

**Synthesis of new imidazopyridines with potential activity against HHV-5**

**Abstract:**

Human cytomegalovirus (HCMV) is a DNA virus that is not life-threatening in normal population, however shows significant mortality and morbidity at high-risk groups, like infants or immune suppressed patients. Current antiviral drugs are mostly nucleoside analogues and even if they are effective even against wild type and mutant forms of the virus, they have quite serious side effects which in turn do not allow long term treatment. Some nucleoside derivatives of benzimidazole have also been tested, that possess improved pharmacokinetics and reduced side-effects. This has prompted us to design and synthesize a number of new structural analogues which are nucleosides of imidazopyridine, in order to study the biological importance of the additional nitrogen atom to the potential anti-HCMV activity of the compounds. We thus present in this thesis the synthesis of four new nucleosides, the 1- and 3-position isomers of imidazo[4,5-b]pyridine, as well as the corresponding isomers of imidazo[4,5-b]pyridine-2-one. The synthetic procedures have been optimized and all new compounds have been adequately characterized using 1D and 2D-NMR techniques and mass spectrometry.

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.Α) ΙΟΙ ΚΑΙ ΑΝΤΙΙΪΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ

Οι ιοί είναι μικροσκοπικοί μολυσματικοί παράγοντες, μεγέθους 0.02-0.40μ, που μεταδίδονται συνήθως μέσω των εκκρίσεων του αναπνευστικού, του γαστρεντερικού και του αναπαραγωγικού συστήματος.[1] Δρουν υποχρεωτικά ως ενδοκυτταρικά παράσιτα, δηλαδή απαιτούν την παρουσία των ζωντανών κυττάρων του ξενιστή, τα οποία μολύνουν προκειμένου να χρησιμοποιήσουν τις μεταβολικές διεργασίες τους για να πολλαπλασιαστούν. Η έναρξη του αναπαραγωγικού τους κύκλου είναι δυνατόν να αρχίσει αμέσως μετά την είσοδο τους σε κύτταρα του ξενιστή, αλλά μπορεί επίσης να καθυστερήσει για ορισμένο χρονικό διάστημα, δηλαδή ο ιός μπορεί να βρίσκεται σε λανθάνουσα κατάσταση, μέχρι που κάποιος αιτιολογικός παράγοντας να πυροδοτήσει την ενεργοποίηση του. Η παρουσία ορισμένου αριθμού νέων αντιγράφων παθογόνου ιού ανά κύτταρο προκαλεί την εμφάνιση κυτταροτοξικότητας και καταλήγει στην εκδήλωση ασθενειών στα ζώα και στον άνθρωπο. Η σοβαρότητα αυτών των ασθενειών ποικίλει σημαντικά, πχ κυμαίνεται από μια μικρής σημασίας παθολογική διαταραχή, όπως είναι το απλό κρυολόγημα και ο επιχείλιος έρπητας, έως και στην ανάπτυξη νόσων απειλητικών για τη ζωή του ασθενούς, όπως είναι σοβαρές μηνιγγίτιδες και εγκεφαλίτιδες, πνευμονίες, ή το σύνδρομο του AIDS.[2] Το είδος του ιού, η σοβαρότητα της μόλυνσης, καθώς και η αντίδραση του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή καθορίζουν την ανάρρωση ή το προσδόκιμο επιβίωσης του. Συνήθως, η ανοσολογική αντίδραση περιλαμβάνει την φαγοκυττάρωση του ιού από μακροφάγα καθώς και την παραγωγή Β-λεμφοκυττάρων από τον μυελό των οστών και Τ-λεμφοκυττάρων από τον θύμο αδένα, με τελικό αποτέλεσμα την ανάπτυξη αντισωμάτων έναντι του συγκεκριμένου ιού και την

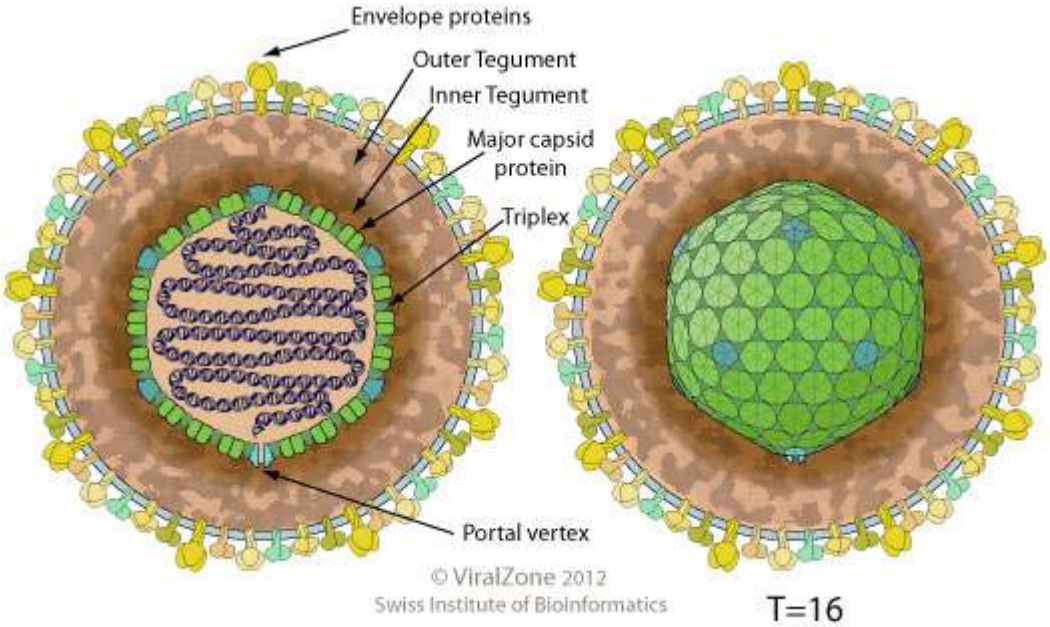
αδρανοποίησή του. Υπάρχουν όμως φορές που η παρουσία ιών δεν προκαλεί συμπτώματα, ούτε και την έντονη ανοσολογική απάντηση του ξενιστή τους, αλλά συνδέεται με την εκδήλωση και την έκβαση χρόνιων ή μη ασθενειών (προφανώς συμμετέχοντας στην παθογένεση τους), που δεν φαίνεται να έχουν αποκλειστικά ιϊκή προέλευση, όπως είναι π.χ. η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η σκλήρυνση κατά πλάκας, η ηπατίτιδα, καρδιαγγειακά νοσήματα, σακχαρώδης διαβήτης και συγκεκριμένοι τύποι καρκίνου.[3]

Η λεπτομερής μελέτη της λειτουργίας των ιών και κυρίως της διαδικασίας αναπαραγωγής τους έχει ιδιαίτερη σημασία για την ανάπτυξη αντιϊκών φαρμάκων, τα οποία πρέπει να μην επηρεάζουν τις φυσιολογικές κυτταρικές λειτουργίες, ώστε να μην εμφανίζουν τοξικότητα κατά την κλινική εφαρμογή. Η δυσκολία εύρεσης τέτοιων εκλεκτικών χημειοθεραπευτικών παραγόντων καθυστέρησε σημαντικά την κυκλοφορία ειδικών αντιϊικών φαρμάκων, η οποία έγινε εφικτή πολλά χρόνια μετά την ανακάλυψη των πρώτων αντιβιοτικών, δηλαδή μόνο μετά την σημαντική πρόοδο των βιολογικών επιστημών.

## 1.Β) ΔΟΜΗ ΤΩΝ ΙΩΝ

Το ιϊκό σωματίδιο είναι ένα πλήρως ανεπτυγμένο λοιμογόνο σωματίδιο ιού, που αποτελεί τον φορέα μετάδοσης του ιού από το ένα κύτταρο στο άλλο. Το ιϊκό σωματίδιο αποτελείται από το γενετικό υλικό του ιού, που μπορεί να είναι τμήμα γραμμικού ή κυκλικού νουκλεϊκού οξέος, DNA ή μονόκλωνου ή δίκλωνου RNA και από ένα πρωτεϊνικό κάλυμμα (καψίδιο), που περικλείει το γενετικό υλικό και του προσφέρει μηχανική και περιβαλλοντική προστασία. Το είδος του γενετικού υλικού χρησιμεύει, μεταξύ άλλων για τη συστηματική κατάταξη των ιών.[4]

Το ιϊκό καψίδιο αποτελείται από πρωτεϊνικές ομάδες, τα καψομερίδια και σε ορισμένους ιούς καλύπτεται από έναν φάκελο μεμβρανικής δομής, που είναι γνωστός και ως έλυτρο, ο οποίος αποτελείται από φωσφολιπίδια και υδατάνθρακες, που διαπερνώνται από πρωτεϊνες. Ορισμένοι ιοί απελευθερώνονται από τα κύτταρα του ξενιστή με μια διαδικασία που καταλήγει στο περιτύλιγμα του ιού με τμήμα της κυτταροπλασματικής μεμβράνης του ξενιστή που δεν περιέχει όμως πρωτεϊνες. Στην περίπτωση που οι νέοι ιοί χρησιμοποιήσουν πρωτεΐνες κυττάρου του ξενιστή, τα παραγόμενα αντισώματα θα στραφούν εναντίον τους, με αποτέλεσμα να προσβάλλουν όλα τα κύτταρα που εκφράζουν το συγκεκριμένο αντιγόνο και να οδηγήσουν έτσι στην εκδήλωση αυτοάνοσης νόσου. Κανονικά, η μεμβράνη που αποτελεί τον φάκελο του νέου ιού περιέχει πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από το ιϊκό νουκλεικό οξύ, ενώ τα υπόλοιπα συστατικά της προέρχονται από το κύτταρο του ξενιστή. Σε ορισμένα είδη ιών ο φάκελος καλύπτεται από χαρακτηριστικές ακίδες, οι οποίες αποτελούνται από υδατάνθρακες ή γλυκοπρωτεϊνες, που προβάλλουν από την επιφάνεια του φακέλου και βοηθούν την σύνδεση του ιού σε συγκεκριμένο είδος υποδοχέων των κυττάρων του ξενιστή. Η παρουσία και το είδος των ακίδων συνεισφέρει στην ταυτοποίηση του ιού.




**Εικόνα 1** Ιϊκό σωμάτιο

## 1.Γ) ΕΥΡΟΣ ΞΕΝΙΣΤΩΝ – ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Το εύρος ξενιστών κάθε ιού αναφέρεται στο φάσμα των κυττάρων που μπορεί αυτός να μολύνει.[5] Καθορίζεται από την ικανότητα σύνδεσης του σε συγκεκριμένους τύπους κυτταρικών υποδοχέων, καθώς και από την διαθεσιμότητα των κυτταρικών παραγόντων που απαιτούνται για τον ιϊκό πολλαπλασιασμό.

Η δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν ορισμένοι ιοί στη θεραπευτική αγωγή ασθενειών είναι ενδιαφέρουσα, λόγω του στενού εύρους των ξενιστών τους, αλλά και της δυνατότητας τους να σκοτώνουν τα κύτταρα που μολύνουν – πχ μπορεί να υποστηριχθεί η θεραπεία με φάγους για την αντιμετώπιση βακτηριακών λοιμώξεων. Ήδη κατά την δεκαετία του 1920 προκλήθηκαν πειραματικά ιογενείς λοιμώξεις σε καρκινοπαθείς και φάνηκε ότι υπάρχει δυνατότητα άσκησης αντικαρκινικής δράσης με τη

χρησιμοποίηση κατάλληλων ιϊκών στελεχών. Σήμερα γνωρίζουμε ότι η εκλεκτική στόχευση των νεοπλασματικών κυττάρων είναι δυνατόν να ενισχυθεί με κατάλληλη γενετική τροποποίηση του ιού, ενώ ο ακριβής ογκολυτικός μηχανισμός, που συχνά περιλαμβάνει την πρόκληση εκ μέρους του ιού μιας έντονης ανοσολογικής αντίδρασης έναντι των καρκινικών κυττάρων, διερευνάται ακόμη.

## 1.Δ) Η ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ ΤΩΝ ΕΡΠΗΤΟΪΩΝ (HERPESVIRIDAE)

Πρόκειται για μια από τις πολυπληθέστερες οικογένειες ιών (περιλαμβάνει περίπου 100 μέλη) που έχουν προσελκύσει μεγάλο βιοχημικό και ιατρικό ενδιαφέρον.[5] Διαθέτουν μεγάλο μέγεθος (~150 nm) και χαρακτηριστική μορφολογία. Το γενετικό υλικό τους είναι γραμμικό, δίκλωνο DNA και περικλείεται από εικοσαεδρική κάψα, που αποτελείται από 162 καψομερή. Διαθέτουν φάκελο που διαπερνάται από χαρακτηριστικές γλυκοπρωτεϊνες, ενώ στον χώρο μεταξύ φακέλου και κάψας (tegument) εντοπίζονται ιϊκές πρωτεϊνες και ένζυμα.

Έχουν ανιχνευτεί στα περισσότερα είδη σπονδυλωτών, ακόμη και σε ψάρια, μαλάκια και μύκητες και είναι οι πρώτοι ιοί που συνδέθηκαν με καρκινογενετικές διαδικασίες. Ονομάστηκαν με βάση τη μορφή διασποράς των δερματικών εξανθημάτων που προκαλούν συχνά στους ανθρώπους (είναι έρποντα). Οι ερπητοϊοί που προσβάλλουν τον άνθρωπο ανήκουν σε τρεις υποοικογένειες. Συγκεκριμένα, από την α-υποοικογένεια, οι HSV-1 και HSV-2 (Herpres Simplex Virus-1 και -2) προκαλούν δερματικά έλκη, ο HSV-1 τον απλό επιχείλιο έρπητα, ενώ ο HSV-2 τον έρπητα των γενετικών οργάνων. Επίσης, παθογόνος είναι και ο HHV-3 (Human Herpes Virus 3, γένος Varicella-zoster virus), που προκαλεί την ανεμοβλογιά στα παιδιά και τον έρπητα ζωστήρα στους

ενήλικες. Οι ανωτέρω ερπητοϊοί είναι νευροτροπικοί, σε αντίθεση με τους υπόλοιπους παθογόνους ερπητοϊούς, που είναι λεμφοτροπικοί.

Από την β-υποοικογένεια (*Beta herpesviridae*), ο HHV-5 ή HCMV (Human Herpes Virus-5, γένος Cytomegalovirus) διαθέτει το μεγαλύτερο γενετικό υλικό σε σχέση με τους υπόλοιπους 8 ερπητοϊούς (κωδικοποιεί περίπου 165 γονίδια) και προκαλεί σοβαρές λοιμώξεις σε νεογνά και σε ανοσοκατασταλμένα άτομα. Στην ίδια υποοικογένεια ανήκουν επίσης, ο HHV-6, (Human Herpes Virus-6, γένος Roseolovirus), που προκαλεί την ροδάνθη και ο ανοσολογικά συγγενής HHV-7 (Human Herpes Virus-7), που προκαλεί λοιμώξεις μόνο σε παιδιά.

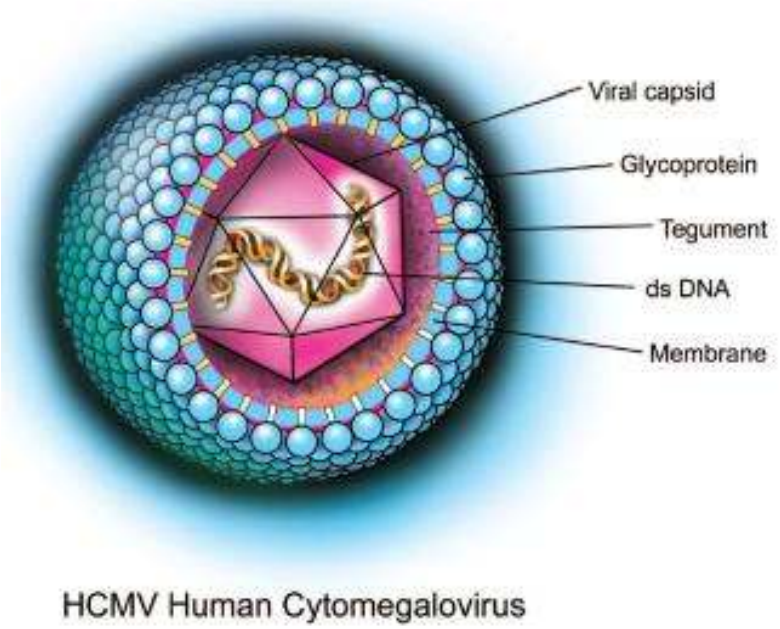
Από την γ-υποοικογένεια των ερπητοϊών, ο HHV-4 (Human Herpes Virus-4, γένος Lymphocryptovirus) είναι πιο γνωστός ως ιός Epstein-Barr (EBV) και προκαλεί λοιμώδη μονοπυρήνωση, ενώ συνδέεται με την εμφάνιση ρινοφαρυγγικού καρκίνωματος, του λεμφώματος Burkitt και πιθανότατα με την ανάπτυξη του συνδρόμου χρόνιας κόπωσης. Στην ίδια, γ-υποοικογένεια ανήκει και ο HHV-8 (Human Herpes Virus-8), που απομονώθηκε στο 100% των ασθενών με AIDS που ανέπτυξαν σάρκωμα Kaposi. Φαίνεται ότι ασκεί καρκινογενετική δράση, κυρίως στο αιμοποιητικό σύστημα (συνδέεται με την εμφάνιση διαφόρων λεμφωμάτων), όταν υπάρχει έκπτωση της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος.

## 1.Ε) ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ HCMV

Ο HCMV (Human Cytomegalovirus, HCMV), παρουσιάζει εξειδίκευση για ανθρώπινα κύτταρα, επιθηλιακά, ενθοθηλιακά, λεία μυϊκά, λευκοκύτταρα, κ.α. που όταν μολυνθούν αυξάνονται σε μέγεθος (κυτταρομεγαλία, cytomegalia), γεγονός που δικαιολογεί την ονομασία

του ιού. Επίσης, στο κυτταρόπλασμα και στον πυρήνα των μολυσμένων κυττάρων δημιουργούνται χαρακτηριστικά έγκλειστα, που είναι ορατά στο μικροσκόπιο και χρησιμεύουν για την διάγνωση των λοιμώξεων. Πρόκειται για χαρακτηριστικά κοκκία που αποτελούνται από δομικά συστατικά του ιού, δηλαδή νουκλεϊνικά οξέα ή/και πρωτεΐνες. Παρατηρήθηκαν για πρώτη φορά το 1925 σε κύτταρα που είχαν μεγαλύτερο μέγεθος από το φυσιολογικό και απομονώθηκαν από νεογνά που παρουσίαζαν συγγενείς ανωμαλίες,[6]

Η λοίμωξη από τον HMCV είναι ήπια για τους ενήλικες ενώ από την στιγμή της μόλυνσης ο ιός παραμένει σε λανθάνουσα κατάσταση μέσα στα κύτταρα, κατά κύριο λόγο μέσα στα λευκοκύτταρα, στα μονοκύτταρα και στα ουδετερόφιλα, όσο και στα Τ- λεμφοκύτταρα. Δεν προκαλεί έντονη ανοσολογική αντίδραση και δεν καταπολεμάται αποτελεσματικά από το ανοσοποιητικό σύστημα, διότι πολλαπλασιάζεται πολύ αργά και προστατεύεται από τα αντισώματα μετακινούμενος από κύτταρο σε κύτταρο. Μεταδίδεται με τις υγρές εκκρίσεις του σώματος, τον σίελο, το σπέρμα, και το μητρικό γάλα. Επομένως, μεταδίδεται εύκολα με την σωματική επαφή και κυρίως με την ανταλλαγή βιολογικών υγρών πχ με το φιλί, την σεξουαλική επαφή, τη μετάγγιση αίματος και την μεταμόσχευση οργάνων.

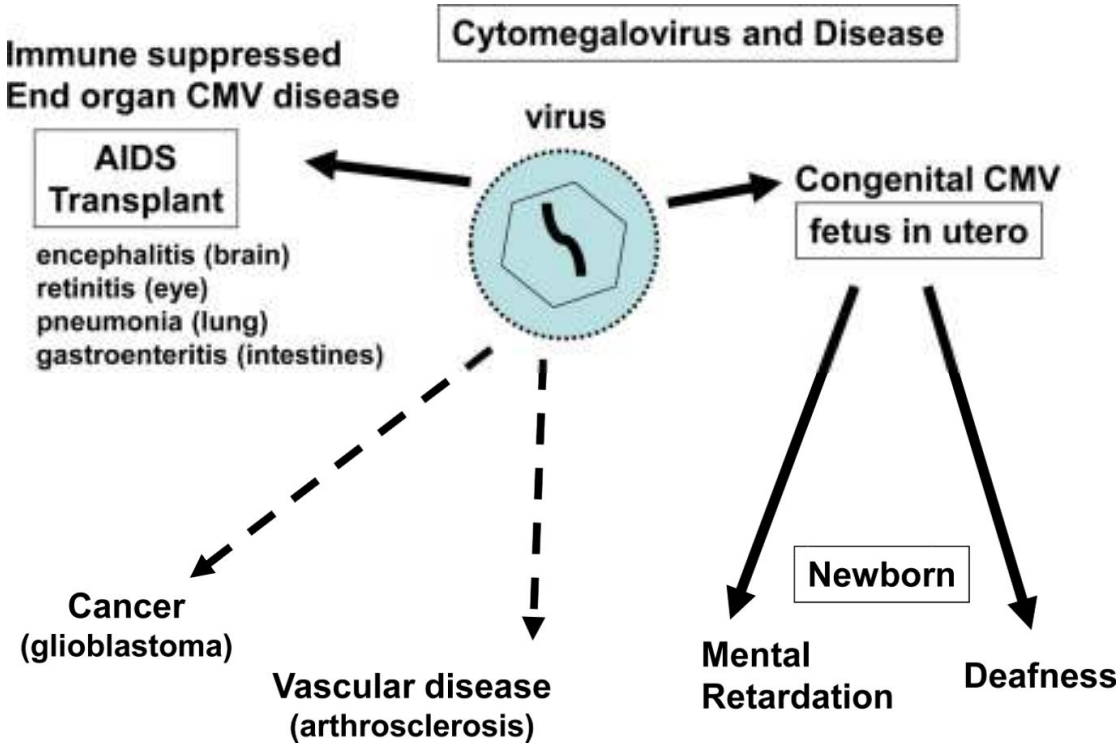



**Εικόνα 2:** Σχεδιάγραμμα του HCMV

Η μόλυνση από HCMV θεωρείται επικίνδυνη για τις έγκυες γυναίκες και τα παιδιά, ειδικά για τα βρέφη, επειδή ο ιός είναι δυνατόν να τους προκαλέσει σοβαρές νευρολογικές ανωμαλίες, που σχετίζονται με την παρουσία μολυσματικών παραγόντων κατά την διάρκεια της πρώιμης παιδικής ηλικίας. Παρά τις σημαντικότατες εξελίξεις στον τομέα της πρόληψης των λοιμωδών νοσημάτων, ο κυτταρομεγαλοϊός εξακολουθεί να αποτελεί σοβαρό πρόβλημα δημόσιας υγείας και τη συχνότερη αιτία ενδομήτριας και περιγεννητικής λοίμωξης παγκοσμίως. Η περιγεννητική μετάδοση μπορεί να γίνει κατά τον τοκετό, ή αργότερα, με το μητρικό γάλα, το οποίο μάλιστα αποτελεί την κύρια πηγή επίκτητης λοίμωξης από HCMV κατά τον πρώτο χρόνο της ζωής. Σε περίπτωση που η αρχική λοίμωξη συμβεί κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης ο ιός έχει 30-40% πιθανότητες να περάσει τον πλακούντα. Αντίθετα, αν υπάρξει επανενεργοποίηση ή επαναλοίμωξη από τον ιό κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης τότε οι αντίστοιχες πιθανότητες είναι μόλις 2-3%, ενώ συγχρόνως έχει πολύ ηπιότερες συνέπειες για το έμβρυο. Η μόλυνση από

τον HCMV είναι η πιο συχνή σύμφυτη λοίμωξη (συχνότερη και από την ερυθρά) με πιθανότητα εμφάνισης 1% σε νεογνά. Το 10% εξ' αυτών των λοιμώξεων είναι συμπτωματικές με κλασσικά ευρήματα όπως ηπατοσπληνομεγαλία, θρομβοκυτταροπενία, και από το ΚΝΣ μικροκεφαλία χοριοαμφιβληστροειδίτιδα, βαριά διανοητική καθυστέρηση και απώλεια ακοής.

Αντίθετα, στους υγιείς ενήλικες η πρωτολοίμωξη από HCMV είναι είτε ασυμπτωματική, είτε εκδηλώνεται ως ήπιο σύνδρομο λοιμώδους μονοπυρήνωσης.[7] Ο HCMV παραμένει σε λανθάνουσα κατάσταση για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα από τους υπόλοιπους ερπητοϊούς, και μολύνει τον ξενιστή του επ΄ αόριστον.[8] Η ενεργοποίηση του, δηλαδή η μετάβαση του από την λανθάνουσα στην ενεργή κατάσταση, συμβαίνει κυρίως σε άτομα που παρουσιάζουν κάποιο βαθμό ανοσοκαταστολής, όπως τους δέκτες μοσχεύματος ή τους ασθενείς με σύνδρομο AIDS. Στους τελευταίους ο ιός αυτός προκαλεί συχνά (στο 85% των περιστατικών) σοβαρή αμφιβληστροειδίτιδα, η οποία μπορεί να οδηγήσει ακόμη και σε απώλεια της όρασης, κυρίως στις περιπτώσεις που δεν εφαρμόζεται ειδική θεραπευτική αγωγή. Ο HCMV αποτελεί σημαντική απειλή για τους HIV-οροθετικούς ασθενείς, διότι συμμετέχει στην νοσηρότητα και παράλληλα επιταχύνει την ανάπτυξη του συνδρόμου ανοσοανεπάρκειας (AIDS).




Ασθένειες που προκαλεί ο HCMV. Οι διακεκομμένες γραμμές χρησιμοποιούνται στην περίπτωση που εμπλέκονται και άλλοι παθογόνοι παράγοντες

**Εικόνα 3:** Αμφιβληστροειδίτιδα σε ασθενή με AIDS

Η ενεργοποίηση και μετάδοση του ιού HCMV διευκολύνεται κατά τις διαδικασίες μεταμόσχευσης οργάνων ή μυελού των οστών, εξ αιτίας της φαρμακευτικά προκαλούμενης ανοσοκαταστολής. Σε αυτές τις περιπτώσεις η λοίμωξη μπορεί να εξελιχθεί σε δυνητικά θανατηφόρο

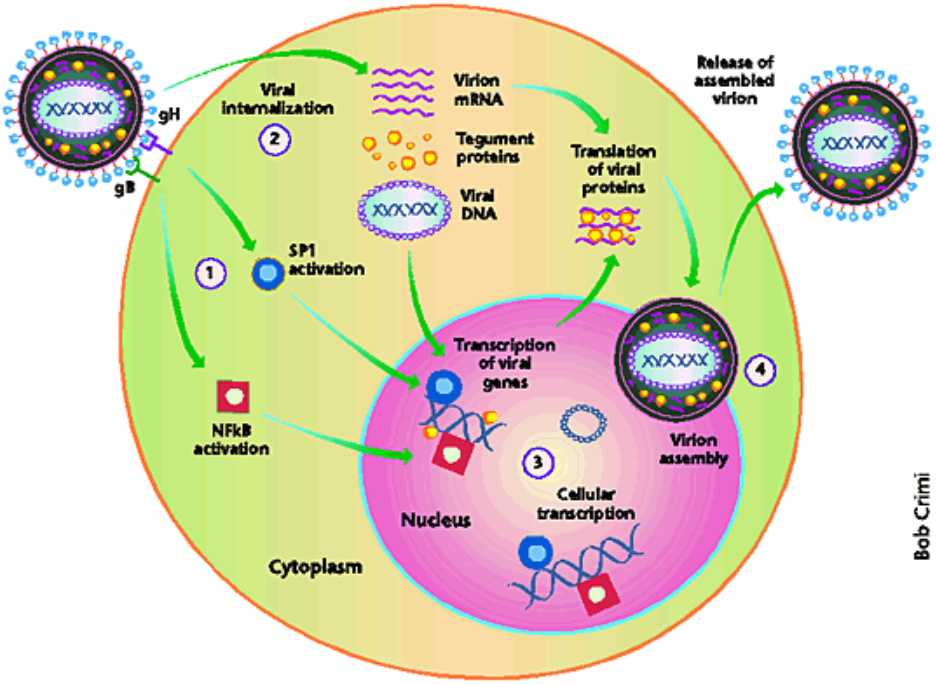
πνευμονία, χωρίς να αποκλείεται και η προσβολή οποιουδήποτε άλλου οργάνου. Εκτός αυτού όμως, η παρουσία του HCMV συνδέεται με την εμφάνιση σοβαρών επιπλοκών, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνεται και η απόρριψη του μοσχεύματος.[9] Για την ασφάλεια των μεταγγίσεων και μεταμοσχεύσεων, εφαρμόζεται πάντοτε ορολογικός έλεγχος στο μεταγγιζόμενο αίμα και ελέγχεται οπωσδήποτε η παρουσία του ιού στο υποψήφιο για μεταμόσχευση όργανο.

Όσον αφορά τα χρόνια νοσήματα, υπάρχουν ενδείξεις που συνηγορούν υπέρ της συσχέτισης της παρουσίας του HCMV με διαταραχές του ρυθμού του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Πράγματι έχει βρεθεί ότι αν οι ινοβλάστες στο μικροπεριβάλλον του όγκου μολυνθούν από τον HMCV μπορούν να εκκρίνουν παράγοντες που συμβάλλουν στην ανάπτυξη του όγκου. Μελέτες από τους Dumortier και την ομάδα του έδειξαν ότι μπορούν να παίξουν αυτό το ρόλο διάφορες κυτταροκίνες και χυμειοκίνες, όπως οι IL-6, GM-CSF, α-MIP-1, and MCP-1, που αυξάνουν την συσσώρευση των μακροφάγων, την μιτογεννητική δραστηριότητα, την αγγειογένεση και την ενεργοποίηση σηματοδοτικών καταρρακτών φλεγμονής. Η μιτογεννητική δραστηριότητα αυξάνεται και από τους παράγοντες ανάπτυξης GDNF, PDGF-AA, -AB, and –BB, TGF-$\beta_1$ των οποίων η έκκριση επάγεται από τα μολυσμένα με HMCV κύτταρα [10]. Τέλος, η παρουσία του HCMV πρόσφατα συνδέθηκε με την ανάπτυξη χρόνιας φλεγμονής σε αγγεία, που σχετίζεται με την επαγωγή της αθηροσκλήρωσης και την ανάπτυξη καρδιαγγειακής νόσου.[11].

## 1.Στ) ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ ΤΟΥ HCMV – ΕΓΚΕΚΡΙΜΕΝΑ ΦΑΡΜΑΚΑ

Σε αναλογία με τους υπόλοιπους DNA ιούς, μετά την προσκόλληση και την διείσδυση του HCMV στο ανθρώπινο κύτταρο, που πραγματοποιείται από τις πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από το γονίδιο UL128-131, ακολουθεί η απέκδυση του γενετικού υλικού του, που εν συνεχεία εισχωρεί στον πυρήνα του κυττάρου. Αυτοί οι ιοί αντιγράφουν το DNA τους μέσα στον πυρήνα, χρησιμοποιώντας σε μεγάλο βαθμό τα ένζυμα του ξενιστή, ενώ συνθέτουν τις πρωτεΐνες τους στο κυτταρόπλασμα, χρησιμοποιώντας τους μεταφραστικούς και λοιπούς μεταβολικούς μηχανισμούς του κυττάρου. Ένα τμήμα του DNA, που αντιστοιχεί στα πρώιμα γονίδια, μεταγράφεται άμεσα και μεταφράζεται προς τις λειτουργικές ιϊκές πρωτεϊνες, τα ένζυμα που χρειάζονται για τον πολλαπλασιασμό του ιϊκού DNA. Στην περίπτωση του HCMV πρώϊμο γονίδιο είναι το γονίδιο της περιοχής $UL_{54}$ που κωδικοποιεί την ιική DNA πολυμεράση. Στις περισσότερες περιπτώσεις αυτή η πρώιμη μεταγραφή πραγματοποιείται με τη βοήθεια των κυτταρικών μεταγραφασών, που είναι RNA πολυμεράσες. Σε μία δεύτερη, μεταγενέστερη φάση πραγματοποιείται η μεταγραφή και η μετάφραση των υπόλοιπων γονιδίων, που ονομάζονται όψιμα γονίδια. Οι όψιμες πρωτεΐνες είναι οι πρωτεϊνες της κάψας και οι υπόλοιπες δομικές πρωτεΐνες του ιού, που συνθέτονται στο κυτταρόπλασμα. Στην συνέχεια, αυτές οι πρωτεΐνες εισχωρούν στον πυρήνα, όπου επέρχεται η ωρίμανση, δηλαδή οι μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις και ο συνδυασμός των πρωτεϊνών με τα νέα τμήματα του ιϊκού DNA, για να πραγματοποιηθεί η συναρμολόγηση των νέων ιϊκών σωματιδίων. Τέλος, όλα αυτά μεταφέρονται κατά μήκος του ενδοπλασματικού δικτύου, προς την κυτταρική μεμβράνη του ξενιστή και απελευθερώνονται τελικά από το

κύτταρο. Επειδή ο HCMV χρησιμοποιεί κατά την αναπαραγωγή του σε τόσο μεγάλο βαθμό τα ανθρώπινα ένζυμα, καθίσταται εξαιρετικά δύσκολη η ανακάλυψη χημειοθεραπευτικών παραγόντων με εκλεκτική αντι-HCMV δράση.[12]




**Εικόνα 4** Αναπαραγωγικός κύκλος του HCMV

Τα περισσότερα αντιϊικά φάρμακα που χορηγούνται συστηματικά είναι αναστολείς ιϊκών ενζύμων και καθίστανται αποτελεσματικά μόνο όταν ο ιός πολλαπλασιάζεται. Για τον έλεγχο του HCMV, όπως και των άλλων ερπητοϊών χρησιμοποιούνται κυρίως νουκλεοζιτικά παράγωγα, που αναστέλλουν εκλεκτικά την ιϊκή DNA πολυμεράση, ενώ η εκλεκτικότητα τους ενισχύεται επειδή αναγνωρίζονται ως υποστρώματα από τις ιϊκές κινάσες, επομένως φωσφωρυλιώνονται και καθίστανται δραστικά μόνο μέσα στα μολυσμένα κύτταρα. Τα τριφωσφωρυλιωμένα νουκλεοζιτικά παράγωγα χρησιμεύουν ως υποστρώματα και παράλληλα ως συναγωνιστικοί αναστολείς των ιϊκών DNA πολυμερασών και οδηγούν τελικά σε σημαντική μείωση του ιϊκού DNA που βιοσυνθέτεται μέσα στα

μολυσμένα κύτταρα καθώς παράγονται σε μεγάλο βαθμό μη λειτουργικά τμήματα DNA.[13]

Κατά το παρελθόν χρησιμοποιήθηκαν σχετικά μη εκλεκτικοί αναστολείς της ιϊκής DNA πολυμεράσης, όπως τα Idoxuridine και Cytosine arabinoside (Ara C). Τα αποτελέσματα ήταν πενιχρά, πολλές φορές μάλιστα είχαν παρατηρηθεί και τοξικές παρενέργειες. Η ανακάλυψη του Acyclovir [9-(2-hydroxyethoxymethyl) guanine] που υπήρξε το πρώτο πραγματικά εκλεκτικό αντιϊικό φάρμακο,[14] ακολουθήθηκε από την ανάπτυξη, ως προφαρμάκου, του εστέρα του με το αμινοξύ L-βαλίνη (Valacyclovir, Valtrex, Σχήμα 1) που παρουσιάζει βελτιωμένη φαρμακοκινητική συμπεριφορά.[15] Αυτά τα δύο φάρμακα υπήρξαν πολύ αποτελεσματικά για τον έλεγχο των HSV-1, HSV-2, EBV και VZV, όμως ασκούν μέτρια δράση έναντι του HCMV. Παρόλ' αυτά έχουν λάβει έγκριση σε κάποιες Ευρωπαϊκές χώρες για προφύλαξη από μόλυνση με τον HCMV σε δέκτες οργάνων.

Αντίθετα, ένα άλλο άκυκλο νουκλεοζιτικό ανάλογο της 2'-δεοξυγουανίνης, το Ganciclovir (Cymeven, Σχήμα 1) έδειξε ισχυρή αντι-HCMV δράση και είναι το πρώτο φάρμακο που εγκρίθηκε από τον FDA έναντι του συγκεκριμένου ιού.[16] Το Ganciclovir φωσφορυλιώνεται αρχικά μόνο στα μολυσμένα κύτταρα, από την ιϊκή pUL97 φωσφοτρανσφεράση ενώ στη συνέχεια, με τη δράση κυτταρικών ενζύμων, ο μονοφωσφορικός εστέρας μετατρέπεται στον δραστικό τριφωσφορικό εστέρα του φαρμάκου, ο οποίος αναγνωρίζεται από την ιϊκή DNA πολυμεράση (ένζυμο που κωδικοποιείται από το ιϊκό γονίδιο UL54) και ενσωματώνεται από την ιϊκή DNA πολυμεράση, στη θέση της τριφωσφορικής 2΄-δεοξυγουανοσίνης (dGTP) στο νέο ιϊκό νουκλεϊνικό οξύ, που βιοσυνθέτεται. Έτσι, το φάρμακο δρα ως συναγωνιστικός αναστολέας του ιϊκού ενζύμου. Σε αναλογία με το Acyclovir, την

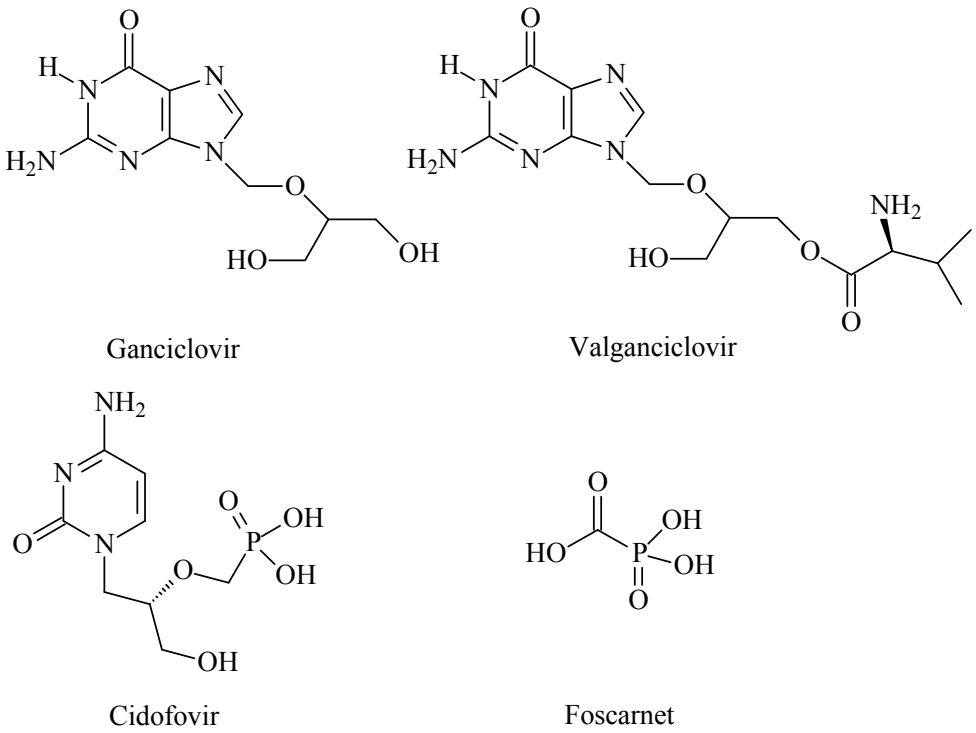
κυκλοφορία του Ganciclovir ακολούθησε η κυκλοφορία του προφαρμάκου του, δηλαδή του εστέρα του με το αμινοξύ L-βαλίνη (Valganciclovir, Valcyte, Σχήμα 1), που βελτιώνει σημαντικά (αυξάνει 10 φορές) την χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα του φαρμάκου και ουσιαστικά χρησιμοποιείται πλέον στην πλειψηφία των περιπτώσεων της per os χορήγησης του.[17] Σε αντίθεση με το Acyclovir, το Ganciclovir δεν στερείται παρενεργειών, κυριότερη εκ των οποίων είναι η καταστολή του μυελού των οστών, με αποτέλεσμα την εμφάνιση αιματολογικών διαταραχών, όπως σοβαρής ουδετεροπενίας, θρομβοκυτταροπενίας και αναιμίας. Επίσης, έχει παρατηρηθεί η ανάπτυξη ανθεκτικών στελεχών, που φέρουν μεταλλάξεις στα γονίδια UL54 και UL97, τα οποία συχνά διατηρούν την αντοχή τους κατά την επίδραση και άλλων νουκλεοζιτικών παραγώγων.

Σε ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται στην θεραπεία με το Ganciclovir, εξ αιτίας της ανάπτυξης ανθεκτικών στελεχών του HCMV ή λόγω έλλειψης ανοχής των τοξικών παρενεργειών, εφαρμόζονται άλλα φάρμακα, όπως το ανάλογο νουκλεοτιδίου 1-[(S)-3-υδροξυ-2-(φωσφονομεθοξυ)προπυλο]κυτοσίνη (Cidofovir, Vistide, Σχήμα 1) και το ανάλογο του πυροφωσφορικού οξέος Foscarnet (Foscavir, Σχήμα 1). Πρόκειται για παράγωγα που ασκούν ευρύτερη αντιϊική δράση έναντι DNA ιών.[18]

Το Cidofovir δεν χρειάζεται να φωσφορυλιωθεί για να μετατραπεί στη δραστική μορφή, και αναστέλλει πολύ ισχυρά και για μεγάλο χρονικό διάστημα την ιϊκή DNA πολυμεράση. Ωστόσο, λόγω της πολύ χαμηλής βιοδιαθεσιμότητας που παρουσιάζει, της εμφάνισης νεφροτοξικότητας και των καρκινογενετικών και τερατογόνων ιδιοτήτων που έδειξε σε πειραματόζωα, χρησιμοποιείται μόνο ως θεραπεία δεύτερης γραμμής. Το Foscarnet προσδένεται στην περιοχή σύνδεσης της πυροφωσφορικής

ομάδας της ιικής DNA πολυμεράσης και σταματά τον αναδιπλασιασμό του ιϊκού DNA επειδή αναστέλλει τη διάσπαση της πυροφωσφορικής ρίζας από την αναπτυσσόμενη έλικα. Το φάρμακο χορηγείται υποχρεωτικά ενδομυϊκά και χαρακτηρίζεται από τη συχνή εμφάνιση διαταραχής των ηλεκτρολυτών και ιδιαίτερα υποασβεστιαιμίας και νεφροτοξικότητας, με αποτέλεσμα να χρησιμοποιείται μόνο στις περιπτώσεις που αναπτύχθηκε αντοχή στο Ganciclovir. Αλκοξυαλκυλεστέρες του φαρμάκου, που αναπτύχθηκαν με την προσδοκία αύξησης της βιοδιαθεσιμότητας και μείωσης της νεφροτοξικότητας παρουσίασαν βελτιωμένη δραστικότητα έναντι του ιού και καθόλου νεφροτοξικότητα, με αποτέλεσμα ο εξαδεκυλοξυπροπυλεστέρας του Cidofovir να βρίσκεται σε κλινικές δοκιμές φάσης ΙΙ ως από του στόματος θεραπεία για οροθετικούς ασθενείς που πρόκειται να μεταμοσχευθούν. [19]

Τέλος, έχει λάβει έγκριση το 1998 το antisense RNA ολιγονουκλεοτίδιο Fomivirsen, (Vitravene), που εμποδίζει τη μετάφραση της ιϊκής IE2 πρωτεϊνης (κωδικοποιείται από πρώϊμα γονίδια) για τη θεραπεία της HCMV αμφιμβληστροειδίτιδας σε ασθενείς με AIDS. Χορηγείται τοπικά, ως κολλύριο και έχει ως παρενέργειες την εμφάνιση μολύνσεων και την αύξηση της ενδοφθάλμιας πίεσης.[20]




**Σχήμα 1** Αντι-HCMV φάρμακα που χορηγούνται συστηματικά

## 1.Ζ) ΑΝΤΙ-HCMV ΦΑΡΜΑΚΑ ΣΕ ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΕΣ - ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΝΕΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ

Για την αντιμετώπιση των μολύνσεων με τον HCMV χρειάζονται νέα φάρμακα, που χορηγούνται από το στόμα χωρίς να εμφανίζουν σοβαρές παρενέργειες. Όλα τα φάρμακα που κυκλοφορούν σήμερα εμφανίζουν τοξικότητα, κυρίως κατά τη μακροχρόνια χορήγηση τους, ενώ για τα νεογνά και τα παιδιά υπάρχει ιδιαίτερη ανησυχία, σχετικά με την εμφάνιση παρενεργειών μετά την ενηλικίωση, με επιπτώσεις στην αναπαραγωγική ικανότητα και την πιθανότητα ανάπτυξης νεοπλασμάτων. Επίσης, ο κοινός μηχανισμός δράσης όλων αυτών των φαρμάκων που είναι αναστολείς της ϊικής DNA πολυμεράσης, αυξάνει την πιθανότητα εμφάνισης διασταυρούμενης αντοχής και οδηγεί την

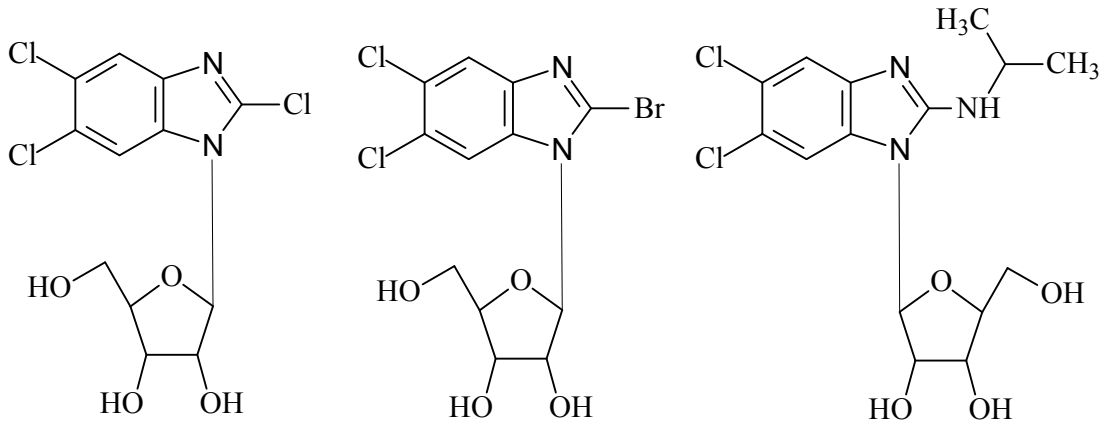
έρευνα προς την κατεύθυνση της εύρεσης φαρμάκων που δρουν με διαφορετικό μηχανισμό.[21]

Η επιτυχημένη εφαρμογή των νέων εξαιρετικά δραστικών αντι-HIV χημειοθεραπευτικών σχημάτων μείωσε τα περιστατικά σοβαρής HCMV αμφιμβληστροειδίτιδας σε πάσχοντες από AIDS και είχε ως αποτέλεσμα την παροδική ελάττωση του ερευνητικού ενδιαφέροντος σχετικά με την εύρεση νέων αντι-HCMV φαρμάκων. Το ενδιαφέρον όμως αυτό επανέκαμψε, επειδή ο HCMV επανήλθε πρόσφατα στην επικαιρότητα λόγω της εμπλοκής του στην χρόνια φλεγμονή των αγγείων, την αθηροσκλήρωση και την υπέρταση.[22]

Τα τελευταία χρόνια διερευνάται μεταξύ άλλων η ανάπτυξη του παραγώγου του ναφθαλενίου tomeglovir και αλογονωμένων παραγώγων του 1-(β-D-ριοφουρανοζυλο)βενζιμιδαζόλιου, που αναστέλλουν την ωρίμανση των ιϊκών σωματίων παρεμποδίζοντας την κατάτμηση των αρχικών, μεγάλου μοριακού βάρους αντιγράφων του ιϊκού DNA σε λειτουργικά DNA αντίγραφα.[23] Συγκεκριμένα, οι ενώσεις αυτές αναστέλλουν το cleavage complex της ιϊκής DNA τερμινάσης (προϊόν των γονιδίων UL56 και UL89), που σχετίζεται με το DNA packaging [24]

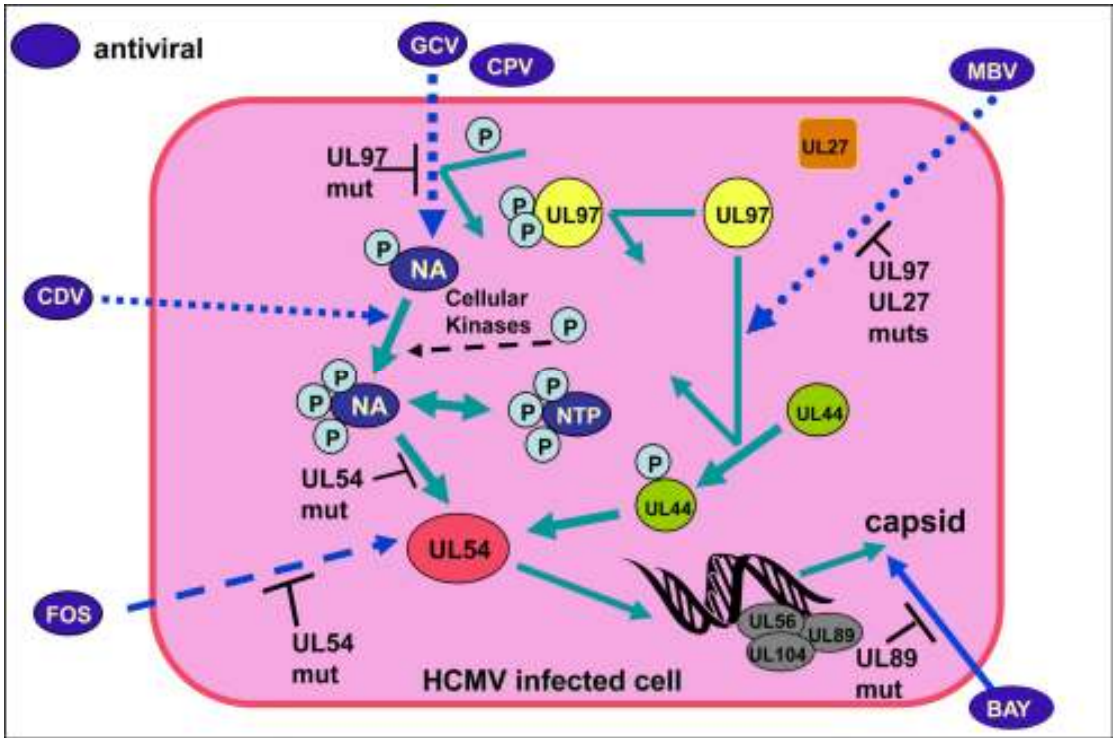
Για τα παράγωγα βενζιμιδαζολίου αποδείχθηκε ότι το τμήμα της ριβοφουρανόζης στην θέση 1 και η προσθήκη ηλεκτρονιοδοτών ομάδων στις θέσεις 5 και 6 του βενζιμιδαζολίου είναι σημαντικά για την εκδήλωση της αντιικής δράσης, ενώ η εισαγωγή στην θέση 2 ενός ακόμη ατόμου αλογόνου (Cl ή Br) βελτιώνει δραματικά τον θεραπευτικό δείκτη. [25]. Τα Triciribine (TCRB, 2,5,6-τριχλωρο-1-(β-D-ριβοφουρανοζυλο) βενζιμιδαζόλιο) και BDCRB (2-βρωμο-5,6-διχλωρο-1-(β-D-ριβοφουρανοζυλο)βενζιμιδαζόλιο, Σχήμα 2) επέδειξαν εξαιρετική δραστικότητα in vitro και μεγάλο θεραπευτικό εύρος, όμως η δράση τους περιορίζεται in vivo, εξ αιτίας της βιομετατροπής τους προς

λιγότερο δραστικά ή αδρανή παράγωγα. Η περιορισμένη μεταβολική τους σταθερότητα οδήγησε στην κλινική ανάπτυξη σταθερότερων μορίων, όπως το Maribavir (1-(β-L-ριβοφουρανοζυλο)-2-ισοπροπυλαμινο-5,6-διχλωροβενζιμιδαζόλιο, Σχήμα 2) που διαθέτει ισχυρή αντιϊική δράση in vitro και in vivo. [26] Το Maribavir ολοκλήρωσε με επιτυχία τις κλινικές μελέτες Φάσης ΙΙ σε δέκτες μυελού των οστών,[27] αλλά αποσύρθηκε από τη Φάση ΙΙΙ λόγω περιορισμένης αποτελεσματικότητας.[28] Προς έκπληξη των ερευνητών το Maribavir παρότι είναι δομικό ανάλογο παρουσιάζει διαφορετικό μηχανισμό δράσης από το Triciribine, αφού βρέθηκε ότι αναστέλλει τη σύνθεση του ιϊκού DNA, επειδή εμποδίζει την φωσφορυλίωση της πρωτεϊνης pUL44, που καταλύεται από την πρωτεϊνική κινάση pUL97. [29] [30]. Πρόκειται για το ίδιο ένζυμο που ενεργοποιεί το Ganciclovir μετατρέποντας το στον μονοφωσφορικό του εστέρα, το οποίο φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στον ιϊκό πολλαπλασιαμό.[31] Αν και ο μοριακός μηχανισμός δράσης του Maribavir δεν έχει κατανοηθεί απόλυτα, εξακολουθεί να προσελκύει ενδιαφέρον, επειδή δεν εμφανίζει τοξικές παρενέργειες και διατηρεί τη δραστικότητα του έναντι ανθεκτικών στελεχών του HCMV, όπου αποτυγχάνει η θεραπεία με τα Ganciclovir, Foscarner και Cidofovir.[32] Παράλληλα συνεχίζεται η προσπάθεια για την ανακάλυψη νέων αναστολέων της τερμινάσης, και σε αυτή την κατεύθυνση μελετώνται τα τελευταία χρόνια νέα, πολυαλογονωμένα παράγωγα βενζιμιδαζολίου, που βρέθηκε ότι διαθέτουν ισχυρή αντι-HCMV δράση [33]




TCRB, Triciribine BDCRB Maribavir

**Σχήμα 2** Παράγωγα βενζιμιδαζολίου με ισχυρή αντι-HCMV δράση




**Εικόνα 5:** Μηχανισμός δράσης εγκεκριμένων φαρμάκων και υπό ανάπτυξη παραγώγων έναντι του HCMV

Η σύνθεση αναλόγων των ανωτέρω μορίων έχει ως σκοπό την βελτιστοποίηση των φαρμακολογικών ιδιοτήτων τους, αλλά και την συμβολή στη διερεύνηση των μηχανισμών της αντιϊικής δράσης τους,

π.χ. τη χαρτογράφηση της θέσης σύνδεσης του HCMV προσδέματος τους. Επίσης, παρουσιάζει ενδιαφέρον η μελέτη της δυνατότητας αυτών των παραγώγων σχετικά με την εκδήλωση αντιϊικής δράσης έναντι άλλων β-DNA ιών, για τους οποίους δεν υφίσταται προς το παρόν κανένα ειδικό αντιϊικό φάρμακο.

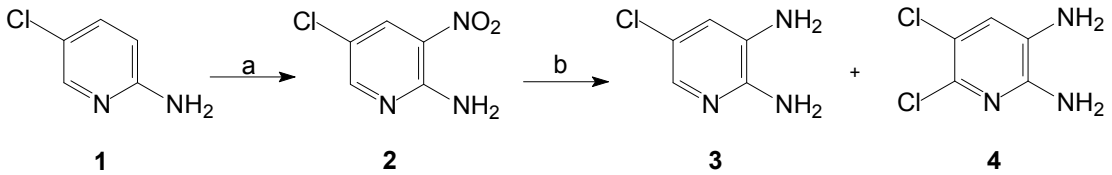
## 1.Η) Σκοπός της εργασίας

Σκοπός της παρούσης εργασίας είναι ο σχεδιασμός και η σύνθεση νουκλεοζιτικών παραγώγων ιμιδαζοϋλοπυριδίνης, που διαθέτουν δομική αναλογία με τα Maribavir, Triciribine και BDCRB, με σκοπό την μελέτη της αντιϊικής δράσης τους.

## 1. ΧΗΜΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η σύνθεση της 1-β-D-ριβοφουρανοζυλο-5,6-διχλωρο-2Η-ιμιδαζο[4,5-b]πυριδιν-2-όνης [21] και της 1-β-D-ριβοφουρανοζυλο-5,6-διχλωρο-ιμιδαζο[4,5-b]πυριδίνης [17], καθώς και των αντίστοιχων ισομερών θέσης τους.

Για τη σύνθεση των μορίων χρησιμοποιήθηκε ως 1η ύλη η εμπορικά διαθέσιμη 5-χλωρο-πυριδιν-2-αμίνη [1] (σχήμα 3), η οποία αρχικά νιτρώνεται με επίδραση $H_2SO_4$ και $HNO_3$ και θέρμανση οπότε προκύπτει το παράγωγο [2] σε ικανοποιητική απόδοση (77.2%). Ακολούθησε αναγωγή του νιτροπαραγώγου [2] για να προκύψει η διαμίνη [3] που θα χρησιμοποιηθεί για την κύκλωση προς ιμιδαζολοπυριδίνη. Η αναγωγή πραγματοποιήθηκε με θέρμανση με HCl παρουσία του διϋδρίτη του χλωριούχου κασσιτέρου ($SnCl_2x2H_2O$). Αποτέλεσμα αυτής της αντίδρασης ήταν η δημιουργία των παραγώγων [3] (σχήμα 3) σε απόδοση 77.5 % και [4] σε απόδοση 9.8 %. Εδώ πρέπει να σημειωθεί ότι κατά την κατεργασία της αντίδρασης και λόγω σχηματισμού γαλακτωμάτων προκύπτουν απώλειες και επομένως απαιτείται αλκαλοποίηση μέχρι pH~14. Η παρασκευή του [4] κατά την αντίδραση αναγωγής έχει ήδη αναφερθεί [34] όμως στην περίπτωσή μας ο σχηματισμός του έγινε σε πολύ χαμηλή απόδοση.

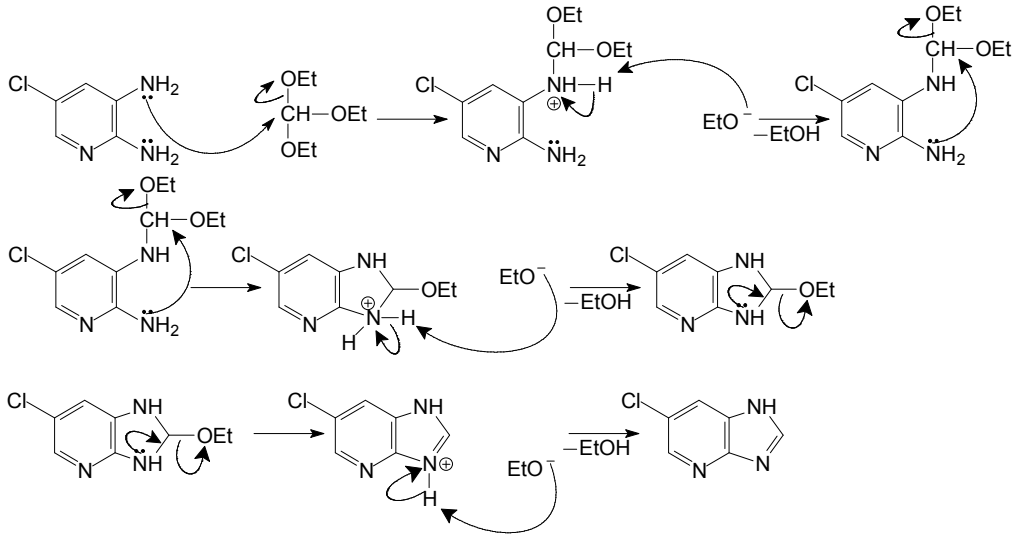



**Σχήμα 3**. Αντιδραστήρια και συνθήκες: a) 1)$H_2SO_4$, $0^o$ C/ 2) $55^oC$, $HNO_3$. b) HCl, $0^oC$/ 2) $SnCl_2x2H_2O$, $100^oC$. c) 1) HCl/ 2) $HC(OEt)_3$, 24 h.

Είναι γνωστό ότι αναγωγή της νιτροομάδας μπορεί να γίνει με αρκετούς τρόπους οι κυριότεροι των οποίων συνοψίζονται παρακάτω.

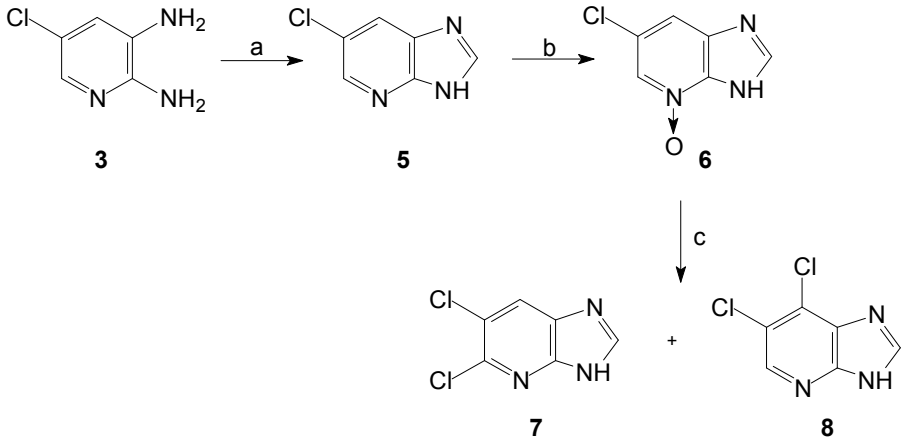
- Με την επίδραση κάποιου μετάλλου όπως του $SnCl_2$, του $ZnCl_2$ παρουσία οξέος συνήθως HCl ή $H_2SO_4$. Η μέθοδος αυτή παρουσιάζει το μειονέκτημα του σχηματισμού γαλακτωμάτων μετά το τέλος της αντίδρασης που εάν το pH δεν ρυθμιστεί κατάλληλα υπάρχει πιθανότητα το γαλάκτωμα να εγκλωβίσει προϊόν καταλήγοντας σε χαμηλή απόδοση. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται κατά κόρον για αναγωγικές αντιδράσεις όταν υπάρχει αρωματικός πυρήνας με αλογόνο.[35]
- Με καταλυτική υδρογόνωση παρουσία Ni του Raney ή παρουσία Pd/C η μέθοδος αυτή όμως δεν ενδείκνυται εάν υπάρχει αρωματικός πυρήνας με αλογόνο.
- Με επίδραση αναγωγικών μέσων όπως $LiAlH_4$ ή DiBAH τα οποία σχηματίζουν ιόν υδριδίου και με αυτόν τον τρόπο μπορούν να κάνουν αφαλογόνωση του αρωματικού πυρήνα [2]. Επίσης έχουν το σημαντικό μειονέκτημα του υψηλού κόστους.

Στη συνέχεια το διαμινοπαράγωγο [3], (το οποίο είναι σχετικά ασταθές, επειδή οι αρωματικές διαμίνες οξειδώνονται πολύ εύκολα σε ο- ή π-κινόνες), κυκλοποιήθηκε προς τον πιο σταθερό δακτύλιο της ιμιδαζολοπυριδίνης, με επίδραση ορθομυρμηκικού τριαιθυλεστέρα [$HC(OEt)_3$] παρουσία όξινης κατάλυσης με HCl. Ο μηχανισμός της κύκλωσης πιθανόν να είναι ο ακόλουθος σύμφωνα με το σχήμα 4:



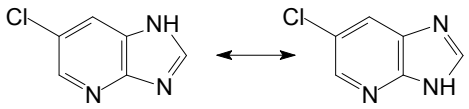

**Σχήμα 4 :** *Μηχανισμός σχηματισμού ιμιδαζόυλοπυριδίνης από διαμίνη με επίδραση ορθομυρμηγκικού τριαιθυλεστέρα.*

Ο πολύ ηλεκτροθετικός άνθρακας του ορθομυρμηκικού τριαιθυλεστέρα προσβάλλεται αρχικά από την μία αμινομάδα της διαμινοπυριδίνης. Κατόπιν, μέσω της δεύτερης αμινομάδας σχηματίζεται ο ιμιδαζολικός δακτύλιος, με την προσβολή του μεθινικού άνθρακα από την αμινομάδα και την απόσπαση αιθοξυλικού ανιόντος, οπότε προκύπτει το [5] (σχήμα 5) σε απόδοση 47 %.



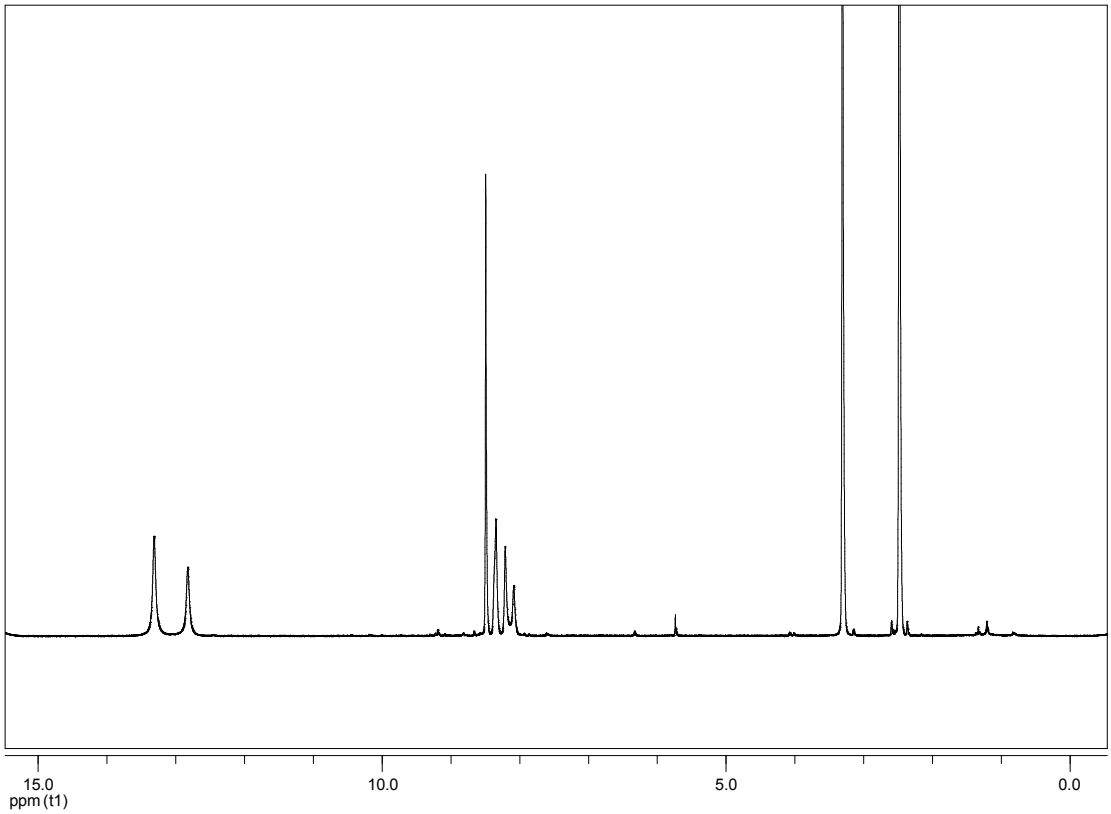

**Σχήμα 5**. Αντιδραστήρια και συνθήκες: a) 1) HCl/ 2) $HC(OEt)_3$, 24 h. b) 1) $CH_2Cl_2$, m-CPBA/ 2) 25°C, 4 d. c) 1) $POCl_3$/ 2) 110°C, 120 min.

Το μόριο [5] απαντάται στις δύο ταυτομερείς μορφές του σχήματος 4.




**Σχήμα 6 :** Ταυτομερείς δομές της ιμιδαζοϋλοπυριδίνης [5]

Η ύπαρξη της ταυτομέρειας αυτής είναι εμφανής στο φάσμα πρωτονίου του παραγώγου **5** (εικόνα 6), όπου παρατηρείται η παρουσία δύο ευρείων κορυφών συντονισμού για το ευκίνητο πρωτόνιο του ιμιδαζολίου στα 12.84 και στα 13.32 ppm αντίστοιχα, και σε αναλογία μεταξύ τους 1:1.5, όπως διαπιστώνεται από την ολοκλήρωση των κορυφών αυτών.

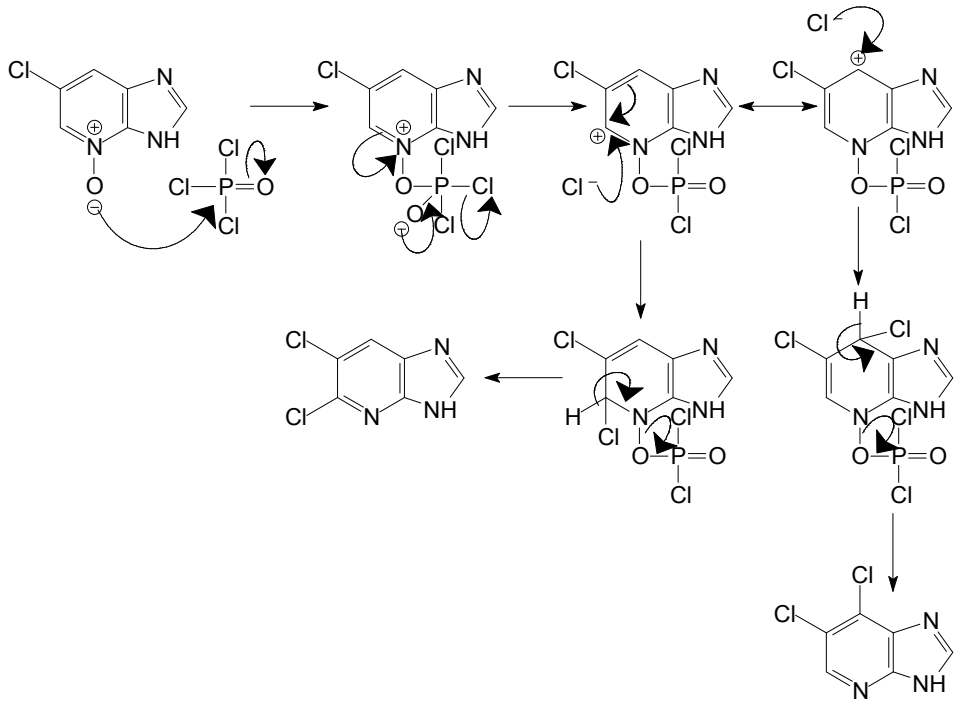



**Εικόνα 6 :** *Φάσμα $^1$H-NMR της ιμιδαζολοπυριδίνης **5**, σε διαλύτη DMSO-$d_6$.*

Επίσης, δύο κορυφές εμφανίζονται και για το πρωτόνιο της θέσης 7, στα 8.10 και 8.21 ppm, με αντίστοιχη ολοκλήρωση, ενώ τα πρωτόνια των θέσεων 2 και 5 εμφανίζονται με τη μορφή απλών κορυφών στα 8.50 και 8.36 ppm αντίστοιχα.

Στη συνέχεια το παράγωγο [5] μετατρέπεται σχεδόν ποσοτικά στο αντίστοιχο N-Οξείδιο [6] με τη χρήση m-χλωροϋπερβενζοϊκού οξέος εντός $CH_2Cl_2$.

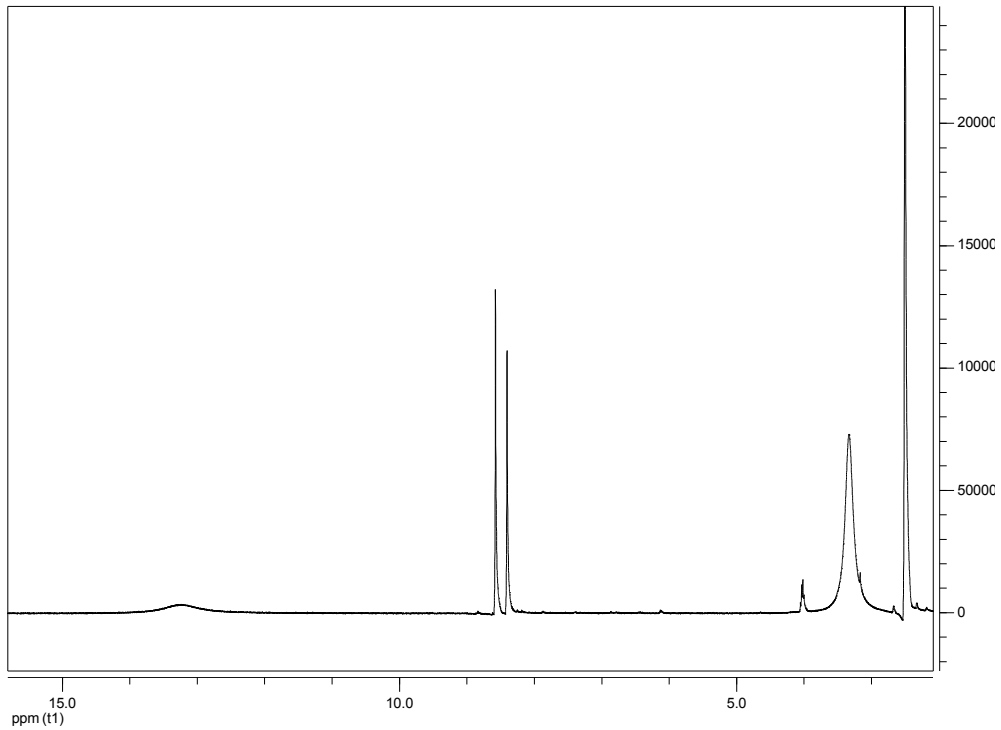
Το N-Οξείδιο [6] προστίθεται χωρίς προηγούμενη κατεργασία στην επόμενη αντίδραση που αφορά στην μέσω μετάθεσης εισαγωγή Cl στη θέση 6 του συμπυκνωμένου αρωματικού δακτυλίου. Η αντίδραση πραγματοποιείται με θέρμανση εντός $POCl_3$. Ο μηχανισμός της πυρηνόφιλης προσθήκης και απόσπασης φαίνεται στο σχήμα 7 [36]:

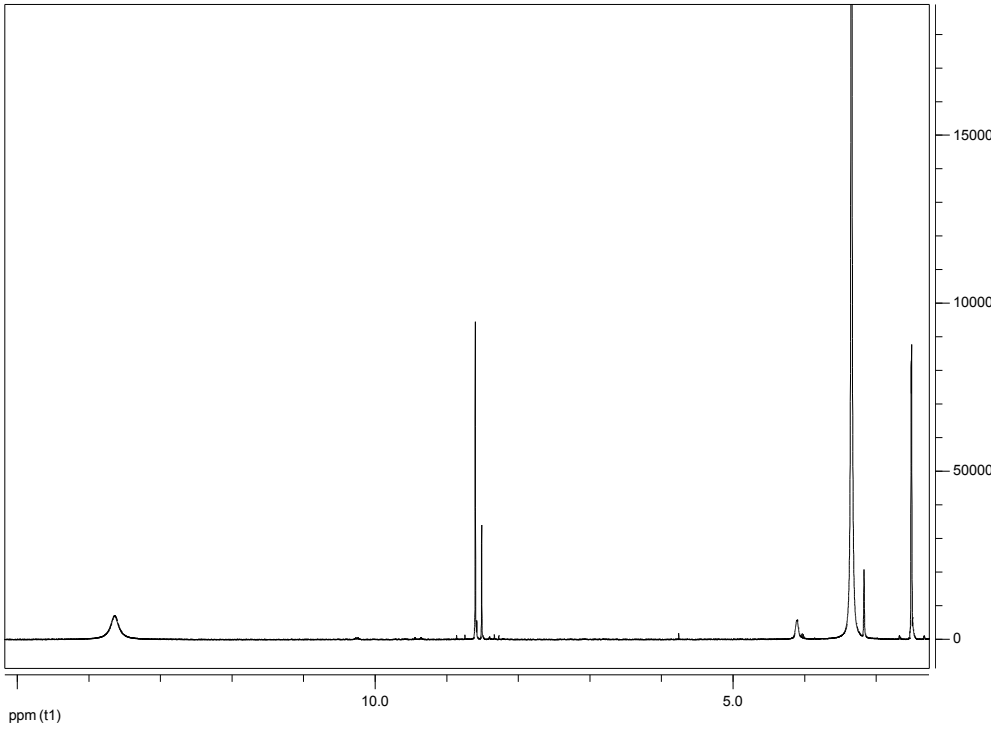


**Σχήμα 7 :** *Μηχανισμός χλωρίωσης με $POCl_3$ στις θέσεις 4,6 ιμιδαζόυλοπυριδίνης*

Το αρνητικά φορτισμένο άτομο οξυγόνου του N-οξειδίου προσβάλλει τον $POCl_3$ και αποσπάται ανιόν Cl, με επακόλουθο το θετικό φορτίο του αζώτου να απεντοπίζεται στους άνθρακες 4,6 του ετερόκυκλου. Το ανιόν χλωρίου προσβάλλει στη συνέχεια τον $C_4$ ή τον $C_6$ και ο ετερόκυκλος ανακτά την αρωματικότητά του με απόσπαση του $H_4$ ή του $H_6$. Έτσι σχηματίζονται τα παράγωγα [7] και [8], με απόδοση 44.9%. Δυστυχώς δεν κατέστη δυνατός ο πλήρης χρωματογραφικός διαχωρισμός των δύο ισομερών, παρά μόνο σε ποσότητες που επέτρεψαν τη λήψη φασμάτων.

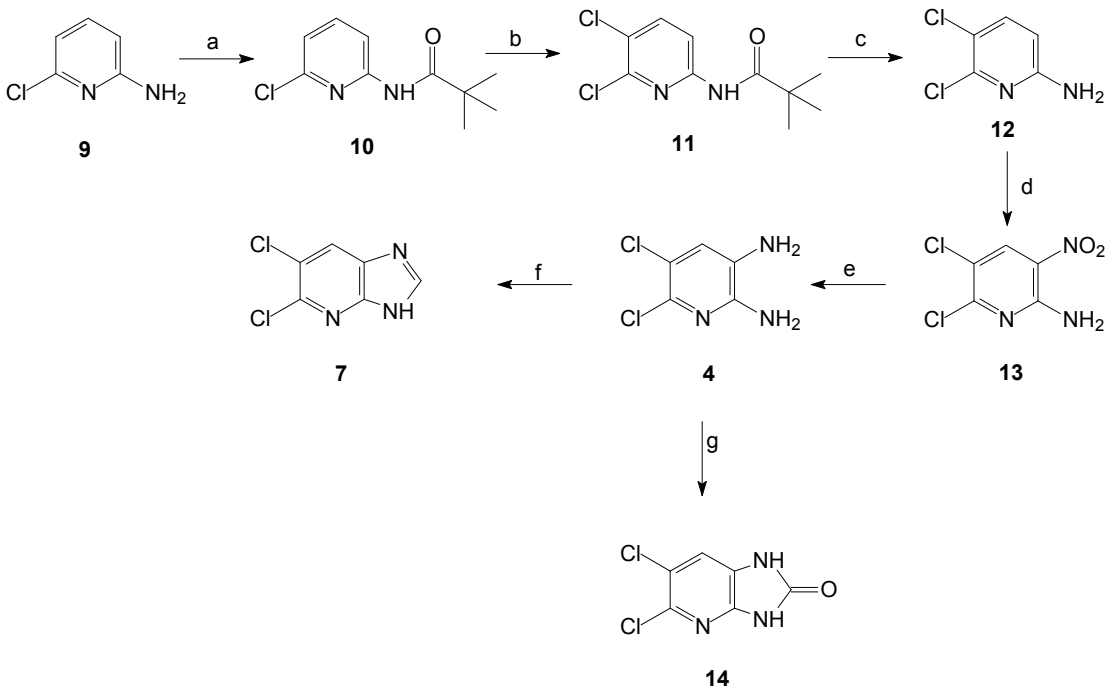
Από τα φάσματα πρωτονίου των δύο διχλωροπαραγώγων **7** και **8** βλέπουμε ότι στην περίπτωση του παραγώγου **7** τα δύο αρωματικά του πρωτόνια συντονίζονται στα 8.40 (H-7) και 8.57 ppm (H-2), ενώ στην περίπτωση του παραγώγου **8** το πρωτόνιο της θέσης 5 εμφανίζεται πιο αποθωρακισμένο και συντονίζεται στα 8.50 ppm, λόγω του ότι βρίσκεται σε όρθο-θέση ως προς το πυριδινικό άζωτο, ενώ το πρωτόνιο της θέσης 2 συντονίζεται στα 8.59 ppm (εικόνα 7).





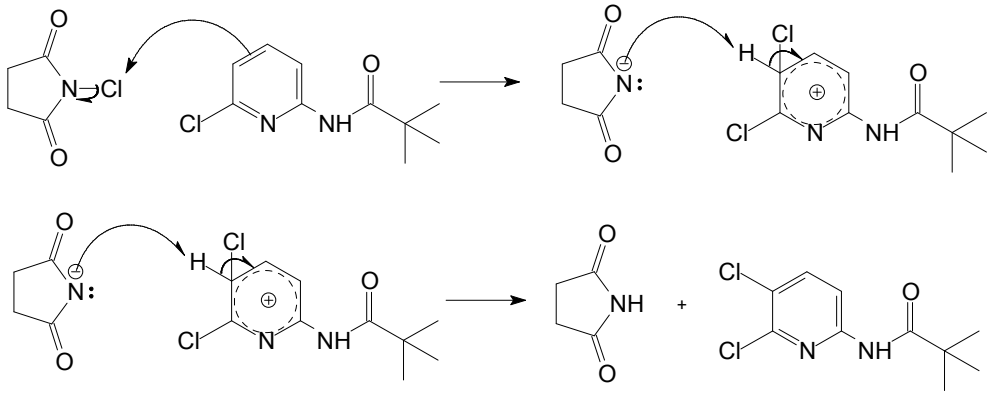

**Εικόνα 7 :** *Φάσματα $^{1}H$-NMR των διχλωροπαραγώγων **7** και **8** αντίστοιχα, σε διαλύτη DMSO-$d_6$.*

Λόγω της χαμηλής απόδοσης και της δυσκολίας απομόνωσης του παραγώγου [7] αναζητήθηκε μέθοδος εκλεκτικής παρασκευής του. Επιλέχθηκε ως εμπορικά διαθέσιμη α' ύλη η 6-χλωροπυριδιν-2-αμίνη [9] της οποίας η αμινομάδα προστατεύτηκε με ογκώδη ομάδα, ώστε μέσω στερεοχημικής παρεμπόδισης να μην επιτρέπεται χλωρίωση στη γειτονική θέση πυριδίνης. Έτσι, η πυριδίνη [9] αντέδρασε με πιβαλοϋλοχλωρίδιο (2,2-διμεθυλοπροπανοϋλοχλωρίδιο) παρουσία τριαιθυλαμίνης για να δεσμεύσει το σχηματιζόμενο HCl και προέκυψε το πιβαλοϋλοπαράγωγο [10] (σχήμα 8) σε καλή απόδοση (87%).




**Σχήμα 8.** Αντιδραστήρια και συνθήκες: a) 1) $(CH_3)_3CCOCl$/ 2) $Et_3N$, 25$^o$ C. b) 1) NCS/ 2) DMF, 100$^o$ C. c) 1) HCl/ 2) EtOH, 90$^o$ C. d) 1) π.$H_2SO_4$, 0$^o$ C/ 2) π.$HNO_3$, -10$^o$ C. e) 1) HCl/ 2) $SnCl_2x2H_2O$, 60$^o$ C. f) 1) HCl/ 2) $HC(OEt)_3$, 24 h. g) I) 1) cdi/ 2) THF, 70$^o$ C, II) 1) $[(CH_3)COCO]_2O$/ 2) THF, reflux, III) 1) $(Cl_3CO)_2CO$/ 2) THF, 25$^o$C

Ακολούθησε χλωρίωση του [10] με χρήση του N-χλωροσουκινιμιδίου (NCS) εντός διμεθυλοφορμαμιδίου ως χλωριωτικού μέσου. Η χλωρίωση του [10] φαίνεται να γίνεται στον ενεργοποιημένο δακτύλιο της πυριδίνης μέσω του μηχανισμού που παρουσιάζεται στο σχήμα 9 [37] :



**Σχήμα 9:** *Μηχανισμός χλωρίωσης πυριδίνης με NCS*

Όπως φαίνεται, ο δακτύλιος της πυριδίνης αρχικά προσβάλει το Cl γιατί ο δεσμός N-Cl είναι πολύ πολωμένος οπότε σχηματίζεται το ανιόν του σουκινιμιδίου το οποίο με την σειρά του προσβάλει το H της θέσης 5 και ο δακτύλιος της πυριδίνης επαναρωματικοποιείται και προκύπτουν το παράγωγο [11] και σουκινιμίδιο.

Ακολουθεί η αποπροστασία του [11] με θέρμανση παρουσία HCl 19 % εντός αιθανόλης, και προκύπτει η αμινοπυριδίνη [12] σε απόδοση 95%. Δεν προτιμήθηκε αλκαλική υδρόλυση του αμιδίου λόγω της πιθανότητας υδρόλυσης του όρθο ως προς το άζωτο της πυριδίνης 6-χλωρίου. Ακολουθεί νίτρωση του [12] εντός θειικού και νιτρικού οξέος, σε χαμηλή θερμοκρασία, και προέκυψε το [13] σε απόδοση 74%. Κατά τον χρωματογραφικό έλεγχο της εξέλιξης της νίτρωσης ήταν εμφανής στους -10$^{o}$C ο σχηματισμός της ενδιάμεσης νιτραμίνης, από την οποία προκύπτει το επιθυμητό νιτροπαράγωγο όταν η θερμοκρασία της αντίδρασης ανέβει στους 15 $^{o}$C.

Το νιτροπαράγωγο [13] ανάχθηκε με επίδραση $SnCl_2x2H_2O$ εντός HCl και παρελήφθη σε καλή απόδοση (70%) η πυριδίνη [4]. Το παράγωγο αυτό αντέδρασε με ορθομυρμηκικό τριαιθυλεστέρα παρουσία HCl και σχηματίστηκε η 5,6-διχλωρο-1H-ιμιδαζολο[4,5-b]πυριδίνη [7].

Για την κυκλοποίηση της διαμίνης [4] προς ιμιδαζολόνη [14] επιχειρήθηκαν στην παρούσα εργασία οι παρακάτω μέθοδοι

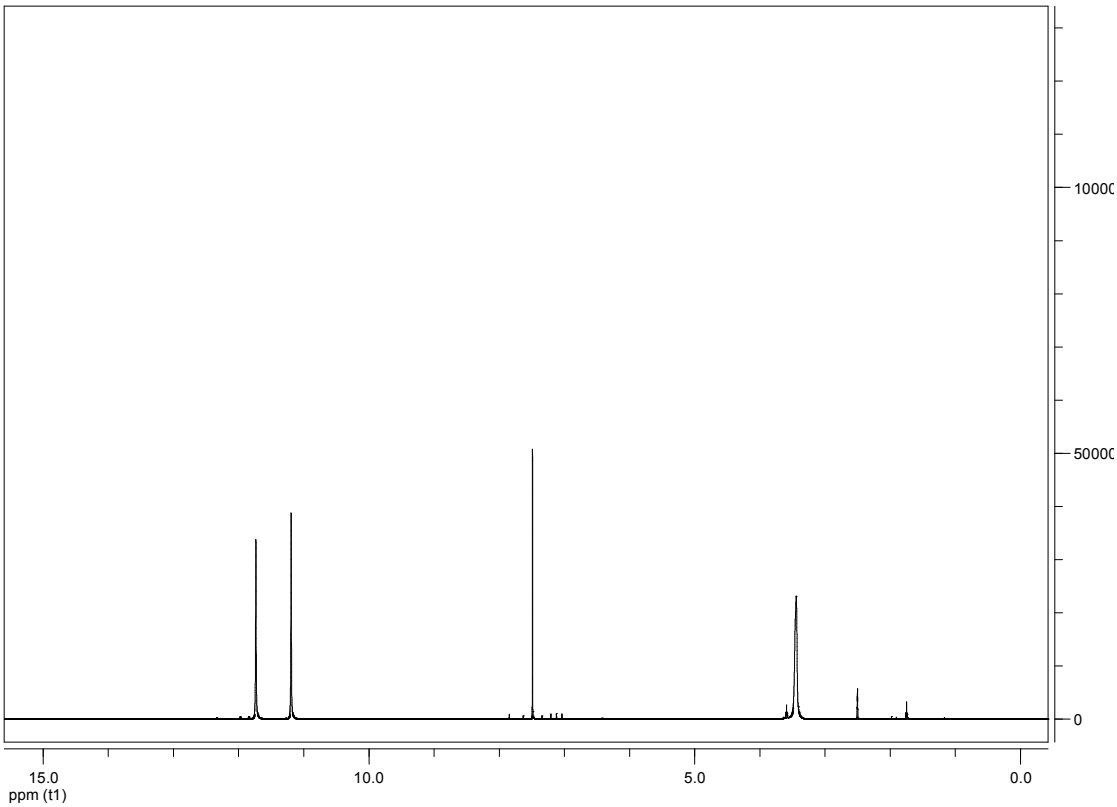
- Αρχικά προστέθηκε σε διάλυμα της διαμίνης εντός τετραϋδροφουρανίου καρβονυλοδιμιδαζόλιο με παράλληλη θέρμανση.[38] Η μέθοδος αυτή οδήγησε σε προϊόν, όμως εγκαταλείφθηκε λόγω προβλημάτων διαλυτότητας του μορίου [14].

- Στην δεύτερη μέθοδο χρησιμοποιήθηκε ο ανυδρίτης του tert-βουτοξυ καρβοξυλικού οξέος $(tBuOCO)_2O$ παρουσία άνυδρου THF.[39] Το μείγμα θερμάνθηκε και έδωσε ένα προϊόν το οποίο ταυτοποιήθηκε με φασματοσκοπία $^1$H-NMR ως ενδιάμεσο όπου είχε αντιδράσει μόνο η 3-αμινομάδα της πυριδίνης. Για να επιτευχθεί κυκλοποίηση, έπρεπε το ενδιάμεσο να θερμανθεί σε υψηλότερη θερμοκρασία για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης διμεθυλοσουλφοξείδιο. Η μέθοδος δεν προτιμήθηκε επίσης για το λόγο της δύσκολης απομόνωσης του προϊόντος από το DMSO.

- Τελικά το [4] αντέδρασε με $O{=}C(OCCl_3)$ εντός άνυδρου THF [40] δίνοντας την 5,6-διχλωρο-1,3-διυδρο-2Η-ιμιδαζολο[4,5-b]πυριδιν-2-όνη [14], που παραλήφθηκε εύκολα και σε υψηλή απόδοση (87%).

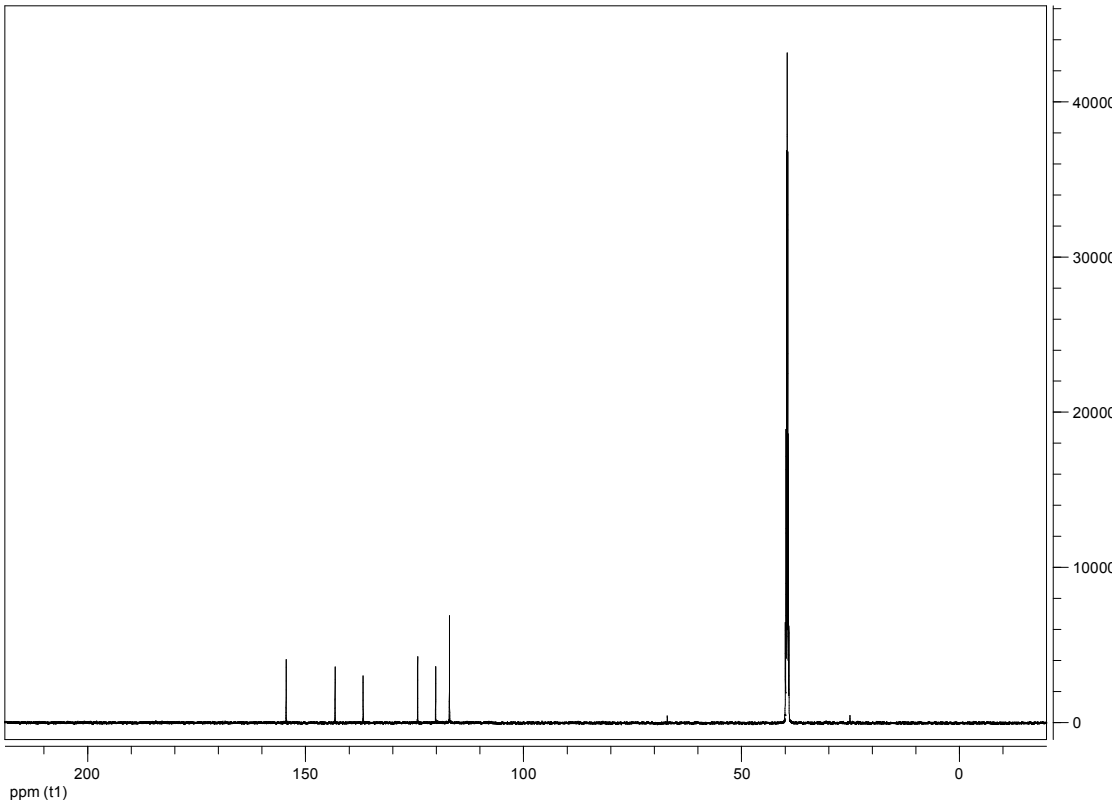
Στις παρακάτω εικόνες παρατίθενται τα φάσματα $^1$H-NMR και $^{13}$C-NMR του [14].

Στην εικόνα 8 παρατίθεται το φάσμα $^1$H-NMR της 5,6-διχλωρο-1,3-διυδρο-2Η-1-ιμιδαζολο[4,5-b]πυριδιν-2-ονης [14] σε DMSO. Χαρακτηριστική είναι η απλή κορυφή στα 7.49 ppm και αποδίδεται στο αρωματικό Η-4.




**Εικόνα 8 :** *Φάσμα $^{1}$H-NMR της ιμιδαζολόνης 14 σε διαλύτη DMSO-$d_6$*

Στην εικόνα 9 παρατίθεται το φάσμα $^{13}$C-NMR της 5,6-διχλωρο-1,3-διυδρο-2Η-ιμιδαζολο[4,5-b]πυριδιν-2-ονης [14] σε DMSO. Στο φάσμα αυτό φαίνεται η μεγαλύτερη αποθωράκιση του 2-C του [14] σε σύγκριση με το προϊόν [7].




**Εικόνα 9 :** *Φάσμα $^{13}$C-NMR της ιμιδαζολόνης 14 σε διαλύτη DMSO-$d_6$*

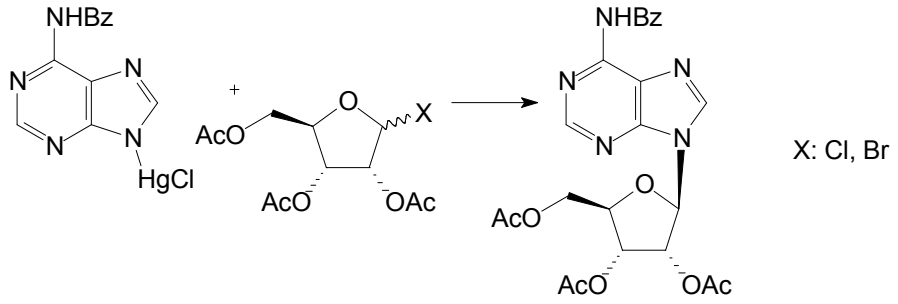
Το επόμενο βήμα αφορά στην αντίδραση γλυκοζυλίωσης των παραγώγων [7] και [14] για την παρασκευή των αντίστοιχων νουκλεοζιτών.

Η παρασκευή N-νουκλεοζιτών γίνεται μέσω της σύζευξης μίας ομάδας που διαθέτει πυρηνόφιλο κέντρο (πυριμιδίνης, πουρίνης ή δομικού αναλόγου τους), με ένα παράγωγο ριβόζης το οποίο διαθέτει ηλεκτρονιόφιλες ιδιότητες στον ανωμερικό του άνθρακα. Η σύνθεση νουκλεοζιτών είναι ένα παράδειγμα στερεοεκλεκτικότητας (σχηματισμός κατά προτεραιότητα του β-ανωμερούς) και χωροεκλεκτικότητας (σχηματισμός γλυκοζιτικού δεσμού του $N_1$ των πυριμιδινών και του $N_9$ των πουρινών). Υπάρχουν γενικά τρείς μέθοδοι σχηματισμού N-γλυκοζιτών: Α) αντιδράσεις προστατευμένης ριβόζης με άλατα των ετεροκυκλικών βάσεων με βαρέα μέταλλα. Β) αντιδράσεις σύντηξης με

ποικιλία τροποποιημένων βάσεων και Γ) αντιδράσεις με σιλυλιωμένα παράγωγα των ετεροκυκλικών βάσεων.[41] Ωστόσο πρέπει να αναφερθεί ότι αυτές οι μέθοδοι ενώ είναι ιδανικές για την σύνθεση ριβονουκλεοζιτών εάν επεκταθούν στην σύνθεση 2-δεοξυριβονουκλεοζιτών δεν έχουν την ίδια στερεοεκλεκτικότητα, λόγω έλλειψης του ενδιάμεσου 2-ακετυλίου (ή βενζοϋλίου) το οποίο σχηματίζει δομικό ενδιάμεσο με τον ανωμερικό $C_1$ της ριβόζης.

Α) <u>αντιδράσεις με άλατα των ετεροκυκλικών βάσεων με βαρέα μέταλλα</u>:

Στην μέθοδο αυτή που αναπτύχθηκε από τους Fischer, Helferich και τους Koenigs, Knorr χρησιμοποιείται ένα άλας της πουρίνης με κάποιο βαρύ μέταλλο συνήθως Ag ή Hg για να καταλύσει την πυρηνόφιλη προσβολή από το $N_9$ της πουρίνης στον υποκατεστημένο από αλογόνο $C_1$ της προστατευμένης ριβόζης (σχήμα 10). Λαμβάνεται σε ικανοποιητικές αποδόσεις το $N_9$ ισομερές θέσης και σχεδόν αποκλειστικά το β-ανωμερές.[41]

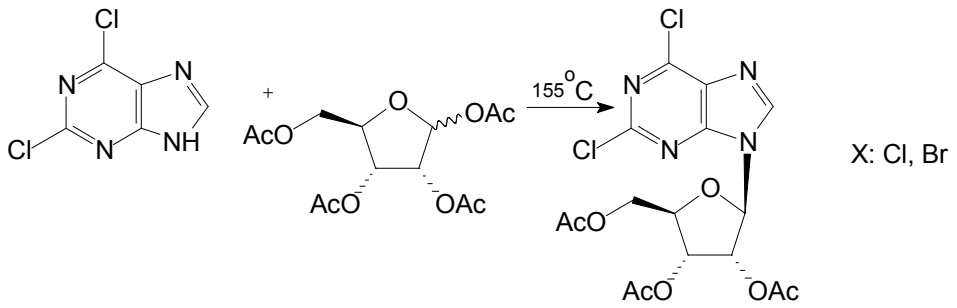



**Σχήμα 10 :** *Αντίδραση με άλατα των ετεροκυκλικών βάσεων με βαρέα μέταλλα*

Β) <u>αντιδράσεις σύντηξης με τροποποιημένες ετεροκυκλικές βάσεις</u>:

Αυτή η μέθοδος αποτελεί τροποποίηση της ανωτέρω λόγω των δύο μειονεκτημάτων που παρουσιάζει και είναι i) η χαμηλή διαλυτότητα των αλάτων του υδραργύρου και ii) η αστάθεια του αλογονομένου

παραγώγου της ριβόζης. Χρησιμοποιείται αρχικά ακετυλιωμένη ριβόζη παρουσία οξέος Lewis συνήθως $TiCl_4$ ή $SnCl_4$ για να παρασκευαστεί *in situ* το αλογονωμένο παράγωγο της ριβόζης. Ακολουθεί η σύντηξη της αλογονωμένης ριβόζης με την ετεροκυκλική βάση παρουσία ενός οξέος ως καταλύτη δίνοντας αποδεκτές αποδόσεις ριβονουκλεοζιτών (σχήμα 11). Η μέθοδος αυτή είναι πιο αποτελεσματική για πουρίνες που διαθέτουν στον ετερόκυκλο ομάδες ηλεκτρονιοδέκτες [42], ενώ χρησιμοποιείται και για τον σχηματισμό 2-δεοξυριβονουκλεοζιτών οδηγώντας σε μείγμα των 2 ανωμέρων, όπως η γλυκοζυλίωση Sato [43]



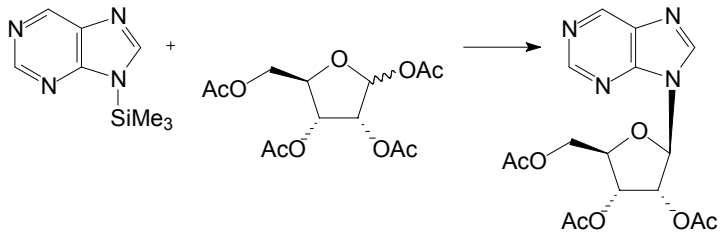

**Σχήμα 11:** *Αντίδραση σύντηξης με τροποποιημένη ετεροκυκλική βάση*

Επιπλέον, οι Hilbert-Johnson παρατήρησαν ότι οι υποκατεστημένες πυριμιδίνες έχουν αρκετά πυρηνόφιλο χαρακτήρα και μπορούν να αντιδρούν απευθείας με την $C_1$-αλογωνομένες ριβοφουρανόζες, χωρίς τον ενδιάμεσο σχηματισμό άλατος της ετεροκυκλικής βάσης. [41]

C) Αντιδράσεις με σιλυλιωμένα παράγωγα των ετεροκυκλικών βάσεων:

Η μέθοδος αυτή αποτελεί τροποποίηση της μεθόδου Hilbert-Johnson και έχει αναπτυχθεί με διάφορες παραλλαγές από τους Nishimura, Birkofer, Wittenberg και Vorbruggen [41]. Η μέθοδος παρουσιάζει τρία πλεονεκτήματα i) οι σιλυλιωμένες βάσεις προετοιμάζονται εύκολα, ii)

αντιδρούν εύκολα με τα σάκχαρα σε ομογενή διαλύματα λόγω της αυξήμενης διαλυτότητας τους και του ισχυρότερου πυρηνόφιλου χαρακτήρα τους και iii) δίνουν ενδιάμεσα τα οποία εύκολα μπορούν να μετατραπούν σε τροποποιημένες βάσεις. Η σιλυλιωμένη βάση αντιδρά με ένα πλήρως ακετυλιωμένο ή βενζοϋλιωμένο σάκχαρο παρουσία καταλύτη ενός οξέος κατά Lewis όπως τα HgO, $Hg(OAc)_2$, $SnCl_4$ και ο τριφθορομεθανοσουλφονικός τριμεθυλοσιλυλοεστέρας (TMSOTf). Ένα παράδειγμα φαίνεται στο σχήμα 12.

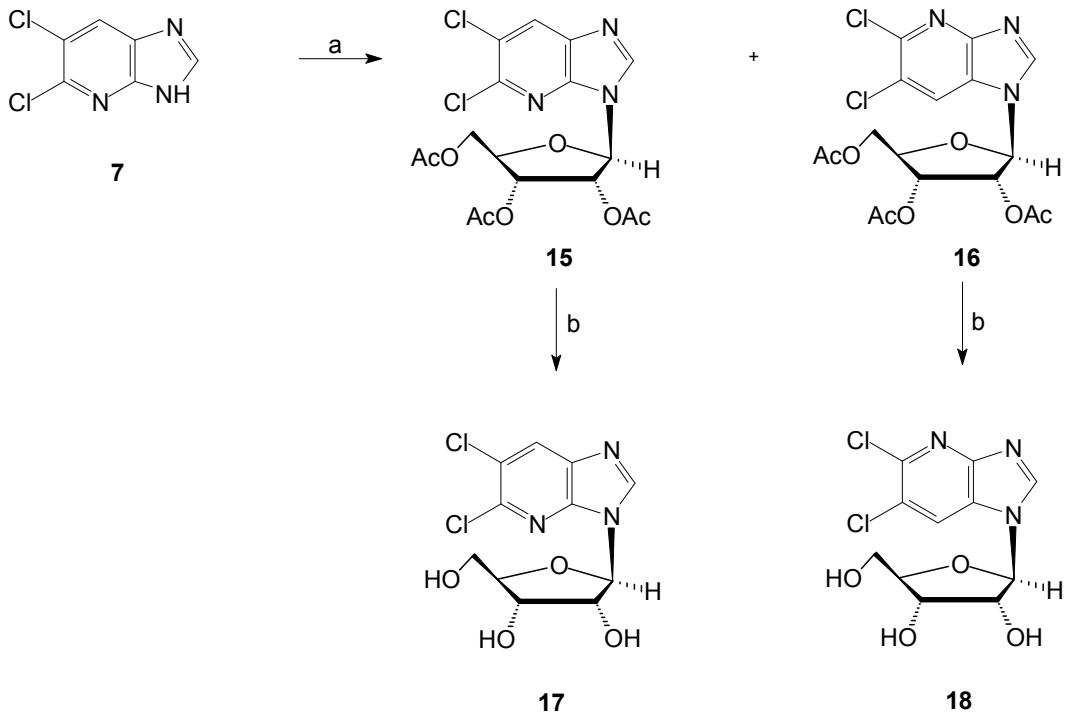



**Σχήμα 12 :** *Αντίδραση με σιλυλιωμένα παράγωγα των ετεροκυκλικών βάσεων*

Στην παρούσα εργασία εφαρμόστηκε η μέθοδος της γλυκοζυλίωσης Vorbrűgen κατά την οποία μία σιλυλιωμένη ετεροκυκλική βάση αντιδρά με ένα πλήρως ακετυλιωμένο (ή βενζοϋλιωμένο) σάκχαρο, παρουσία οξέος κατά Lewis. Οι σιλυλιωμένες ετεροκυκλικές βάσεις παρασκευάζονται in situ, λόγω της ευκολίας υδρόλυσής τους. [44]

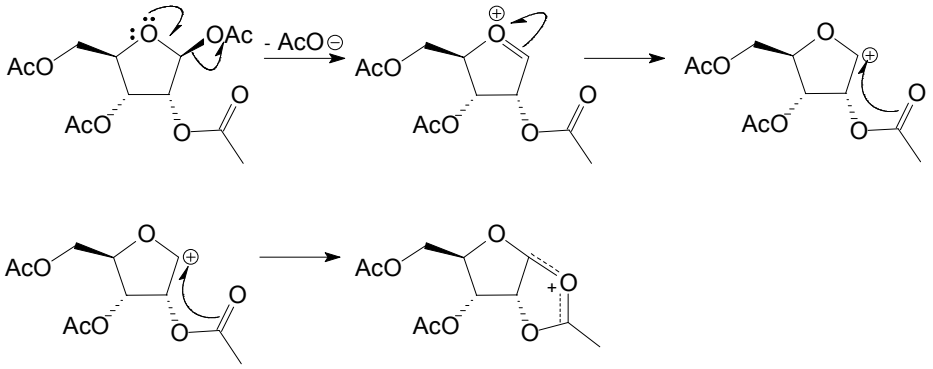
Η σύνθεση των νουκλεοζιτών της ιμιδαζολο[4,5-b]πυριδίνης φαίνεται στο Σχήμα 13. Το παράγωγο [7] αντέδρασε με δις-τριμεθυλοσιλυλοακεταμίδιο (BSA) και στον σιλυλιωμένο ετερόκυκλο που προέκυψε επέδρασε 1,2,3,5-τετρα-Ο-ακετυλο-β-D-ριβοφουρανόζη παρουσία τριφθορομεθανοσουλφονικού τριμεθυλοσιλυλεστέρα (TMSOTf) και παρελήφθησαν τα ακετυλιωμένα ισομερή θέσης [15] και [16]. Η αποπροστασία των τριών υδροξυλομάδων γίνεται με την

επίδραση μεθανολικής αμμωνίας επί των [15] ή [16], προς παραλαβή των τελικών νουκλεοζιτών [17] και [18].



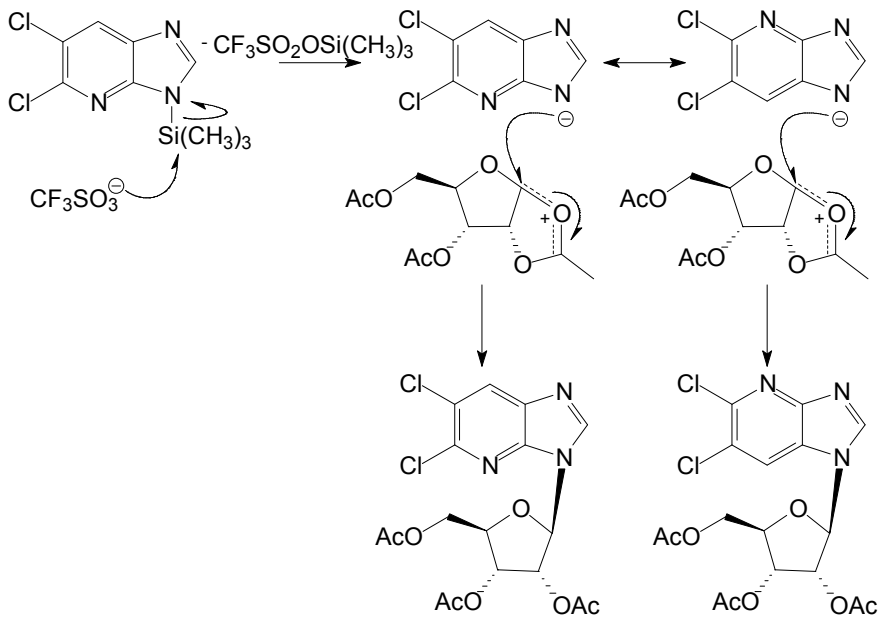

**Σχήμα 13.** Αντιδραστήρια και συνθήκες: a) 1) $CH_3CN$/BSA, 2) 1-2,3,5-tetra-O-acetyl-β-D-ribofuranose/ TMSOTf, $0^oC$. b) 1) MeOH/ 2) $NH_3$, $25^oC$.

Ένας πιθανός μηχανισμός της γλυκοζυλίωσης παρουσιάζεται στα δύο επόμενα Σχήματα. Αρχικά, παρουσία του οξέος Lewis σχηματίζεται διοξολανικό ενδιάμεσο με τη συμμετοχή της 2-ακετυλομάδας της ριβόζης (Σχήμα 14). Το σχηματιζόμενο καρβοκατιόν είναι επιδεκτικό κατά κύριο λόγο σε β-προσβολή, γεγονός που δικαιολογεί τη στερεοεκλεκτικότητα της μεθόδου.




**Σχήμα 14 :** *Μηχανισμός σχηματισμού του διοξολανικού ενδιάμεσου της ριβόζης 2*

Ακολουθεί η προσβολή της τριμεθυλοσιλυλομάδας της ετεροκυκλικής βάσης από το τριφθορομεθανοσουλφονικό ανιόν, καθώς ο δεσμός N-Si είναι ιδιαίτερα πολωμένος (Σχήμα 15), οδηγώντας έτσι στο σχηματισμό ανιόντος που προσβάλλει τον ανωμερικό άνθρακα, προκαλώντας διάνοιξη του δακτυλίου του διοξολανίου με ταυτόχρονο επανασχηματισμό της 2-ακετυλομάδας.

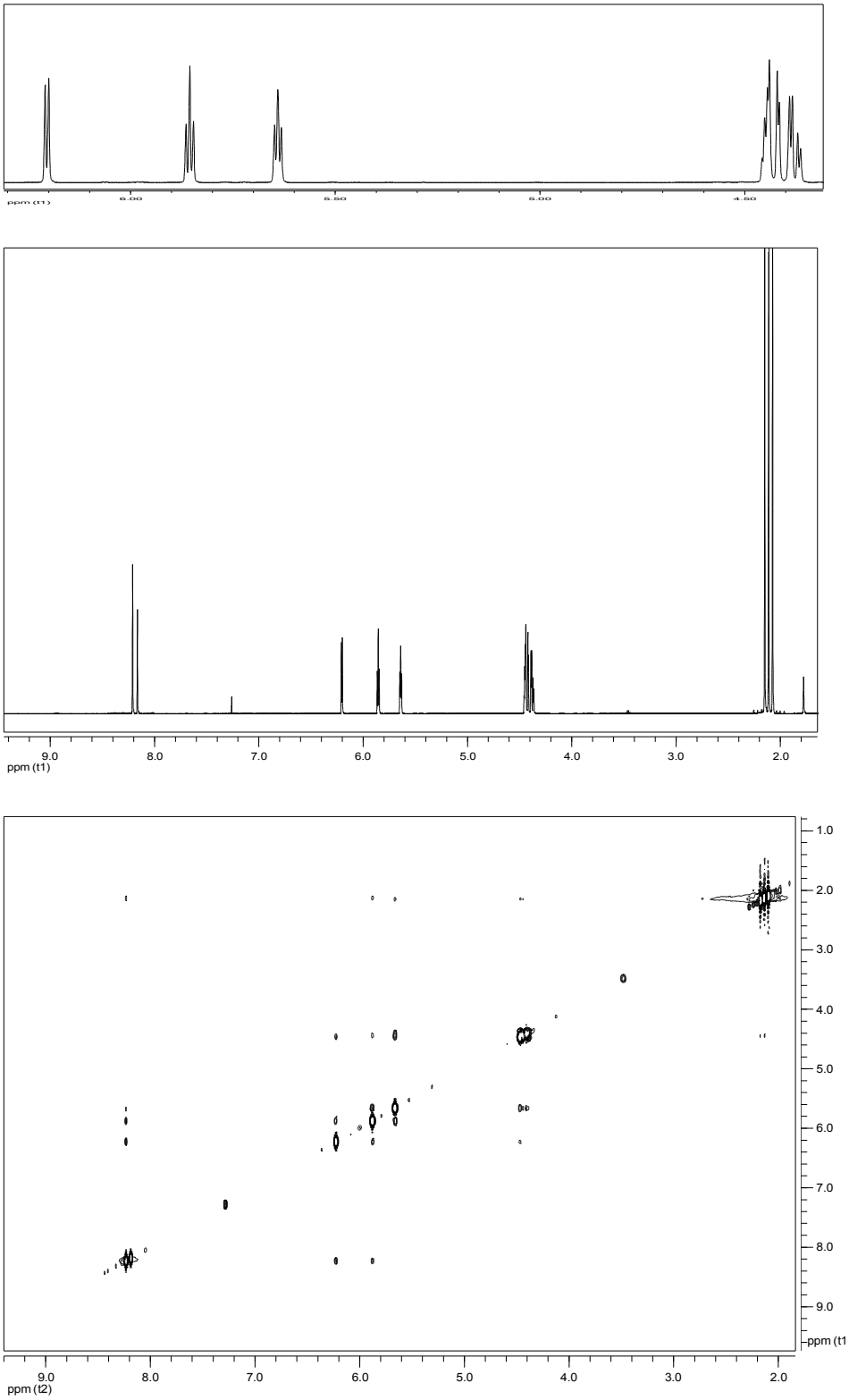



**Σχήμα 15 :** *Μηχανισμός της πυρηνόφιλης προσβολής του διοξολανικού ενδιαμέσου της ριβόζης από την ετεροκυκλική βάση.*

Κατά την αντίδραση της γλυκοζυλίωσης υπάρχει η δυνατότητα σχηματισμού δύο ισομερών θέσεως, αναλόγως του αν η ριβοφουρανόζη ενωθεί στο άζωτο 1 ή στο άζωτο 3 του ιμιδαζολίου. Για κάθε ένα από αυτά τα ισομερή θέσης υπάρχει και η δυνατότητα σχηματισμού δύο ανωμερών, α και β, αναλόγως του αν ο ετερόκυκλος ενωθεί πάνω ή κάτω από το επίπεδο του σακχάρου. Θεωρητικώς λοιπόν, από την αντίδραση της γλυκοζυλίωσης είναι δυνατόν να προκύψουν 4 παράγωγα. Ο σχηματισμός του α ανωμερούς μπορεί να ελαχιστοποιηθεί ή ακόμα και να μηδενιστεί με τη χρήση κατάλληλων συνθηκών κατά την αντίδραση, όπως για παράδειγμα η φύση του σιλυλιωτικού μέσου και η επιλογή του διαλύτη της αντίδρασης. Έτσι η χρήση του δις τριμεθυλοσιλυλοακεταμιδίου ως σιλυλιωτικό και η πραγματοποίηση της αντίδρασης σε ακετονιτρίλιο εξασφαλίζουν σε μεγάλο βαθμό τον σχηματισμό μόνο των αντίστοιχων β ανωμερών. Κάτι τέτοιο διαπιστώθηκε και στην περίπτωσή μας, όπου κατά την αντίδραση

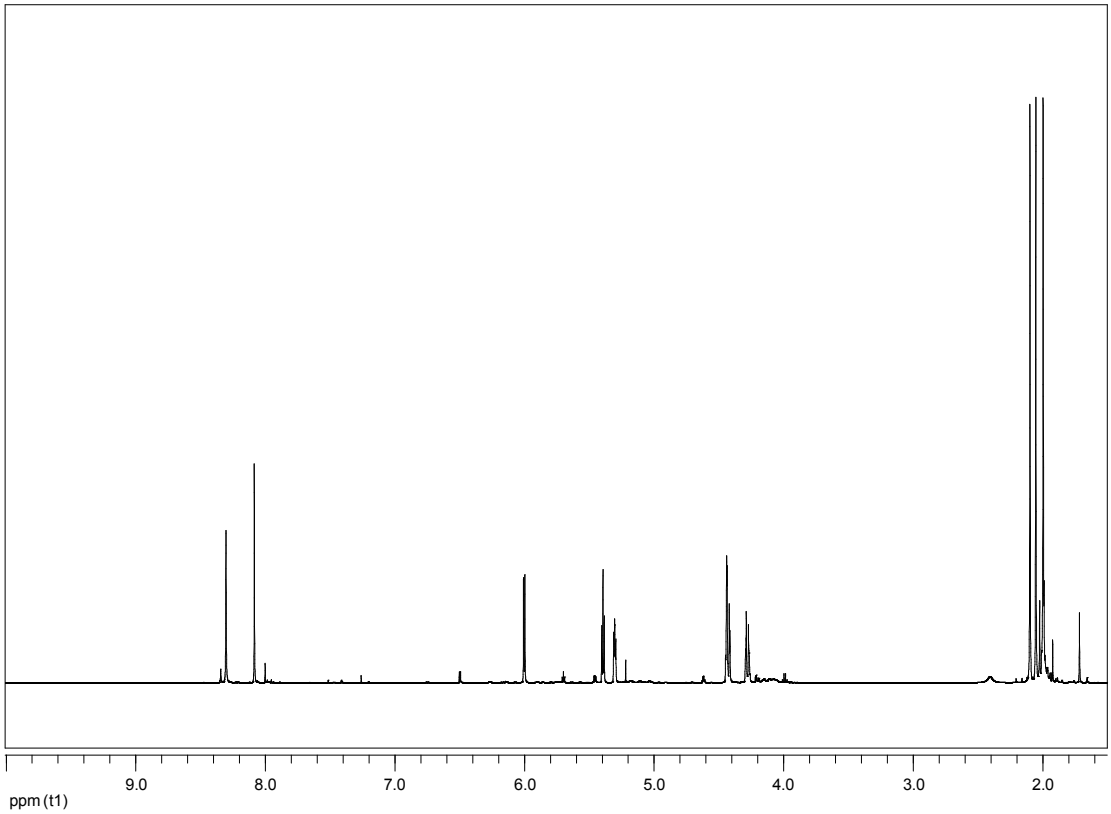
απομονώθηκαν μόνο δύο προϊόντα γλυκοζυλίωσης. Με την χρήση φασματοσκοπίας μίας και δύο διαστάσεων έγινε η πλήρης εξακρίβωση της δομής τους, όπου και αποδείχθηκε ότι πρόκειται για τα δύο ισομερή θέσης **15** και **16**, τα οποία παρουσιάζουν και τα δύο την β ανωμερική διαμόρφωση.

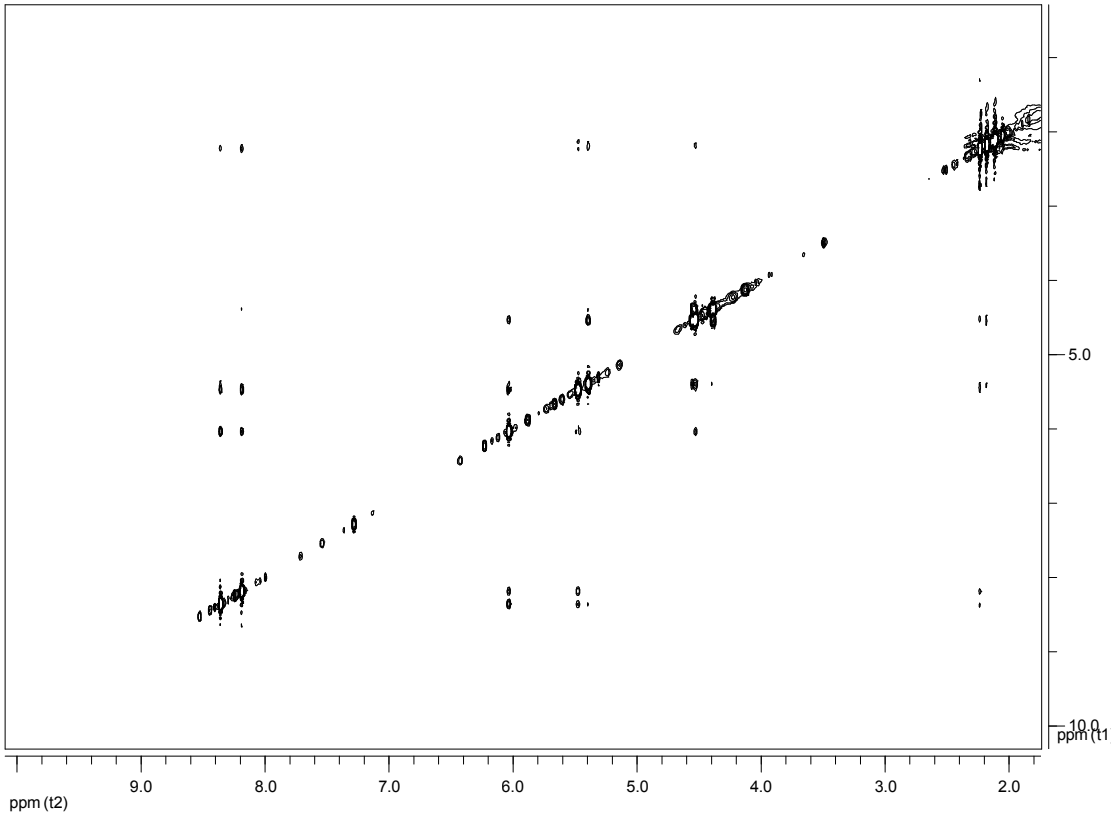
Στην περίπτωση του νουκλεοζιτικού παραγώγου **15** στο φάσμα $^{1}$H-NMR παρατηρούμε την ύπαρξη των τριών κορυφών που αντιστοιχούν στα ακετύλια σε χαμηλές τιμές ppm, ενώ στην αρωματική περιοχή παρατηρούνται δύο μονές κορυφές στα 8.16 και στα 8.21 ppm, για τα αρωματικά πρωτόνια H-7 και H-2 αντίστοιχα (εικόνα 10). Στην περιοχή μεταξύ 4.38 εώς 6.20 ppm συντονίζονται τα πρωτόνια της ριβοφουρανόζης. Στο φάσμα NOESY του παραγώγου **15** είναι εμφανής η κορυφή διασταύρωσης του ανωμερικού πρωτονίου H-1’ με τα πρωτόνια H-2’ και H-4’ ενώ δεν παρατηρούνται αντίστοιχες κορυφές με τα πρωτόνια H-3’ και H-5’, γεγονός που αποδεικνύει την β ανωμερική διαμόρφωση. Επίσης παρατηρούμε κορυφές διασταύρωσης του αρωματικού πρωτονίου H-2 με τα πρωτόνια H-1’ και H-2’ του σακχάρου, ενώ δεν παρατηρούνται αντίστοιχες κορυφές για το αρωματικό πρωτόνιο H-7 με κανένα από τα σακχαρικά υδρογόνα, πράγμα που υποδηλώνει ότι η σύνδεση του σακχάρου έχει γίνει στο άζωτο N-3 του ιμιδαζολίου.




**Εικόνα 10 :** *Φάσματα $^{1}$H-NMR και NOESY του ακετυλιωμένου νουκλεοζίτη* ***15****, σε διαλύτη $CDCl_3$. Σε μεγέθυνση παρουσιάζεται η περιοχή των πρωτονίων του σακχάρου.*

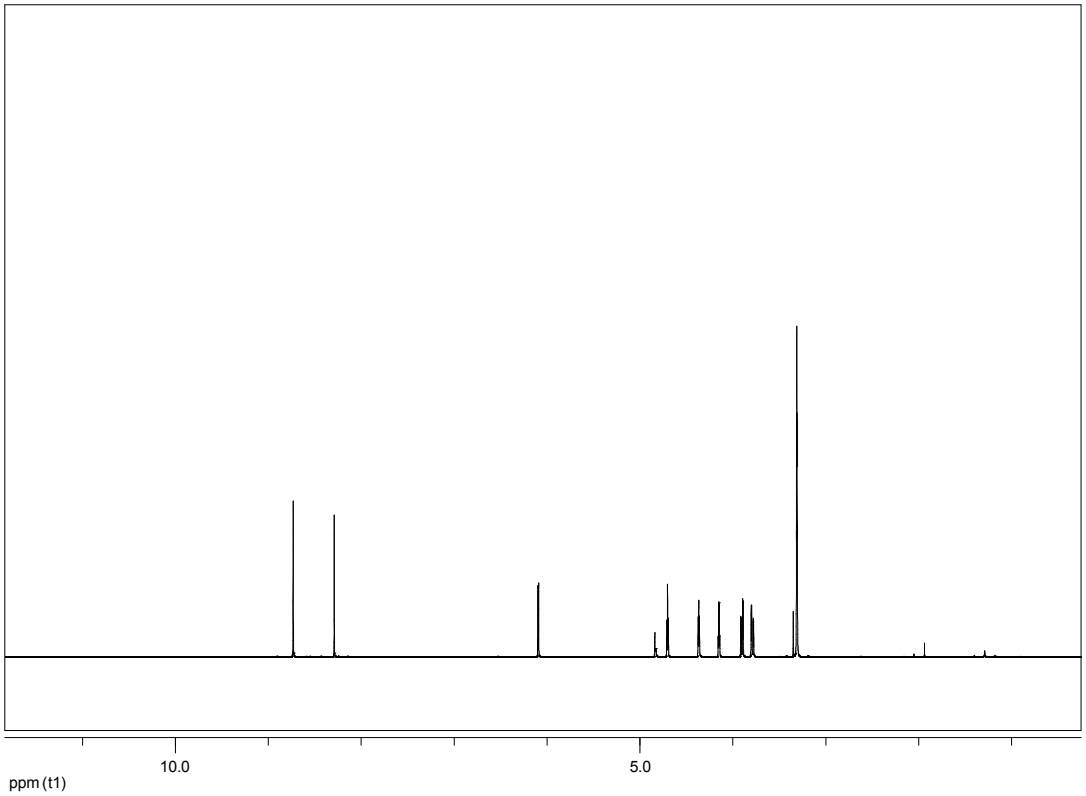
Στην περίπτωση του νουκλεοζιτικού παραγώγου **16** στο φάσμα $^{1}$H-NMR παρατηρούμε επίσης την ύπαρξη των τριών κορυφών που αντιστοιχούν στα ακετύλια σε χαμηλές τιμές ppm, ενώ στην αρωματική περιοχή παρατηρούνται δύο μονές κορυφές στα 8.09 και στα 8.30 ppm, για τα αρωματικά πρωτόνια H-7 και H-2 αντίστοιχα (Εικόνα 11). Στην περιοχή μεταξύ 4.28 εώς 6.00 ppm συντονίζονται τα πρωτόνια της ριβοφουρανόζης. Στο φάσμα NOESY του παραγώγου **16** είναι επίσης εμφανής η κορυφή διασταύρωσης του ανωμερικού πρωτονίου H-1’ με τα πρωτόνια H-2’ και H-4’ ενώ δεν παρατηρούνται αντίστοιχες κορυφές με τα πρωτόνια H-3’ και H-5’, γεγονός που αποδεικνύει όπως και στην περίπτωση του **15** την β ανωμερική διαμόρφωση. Επίσης παρατηρούμε κορυφές διασταύρωσης και των δύο αρωματικών πρωτονίων H-2 και H-7 με τα πρωτόνια H-1’ και H-2’ του σακχάρου, πράγμα που υποδηλώνει ότι η σύνδεση του σακχάρου έχει γίνει στο άζωτο N-1 του ιμιδαζολίου.

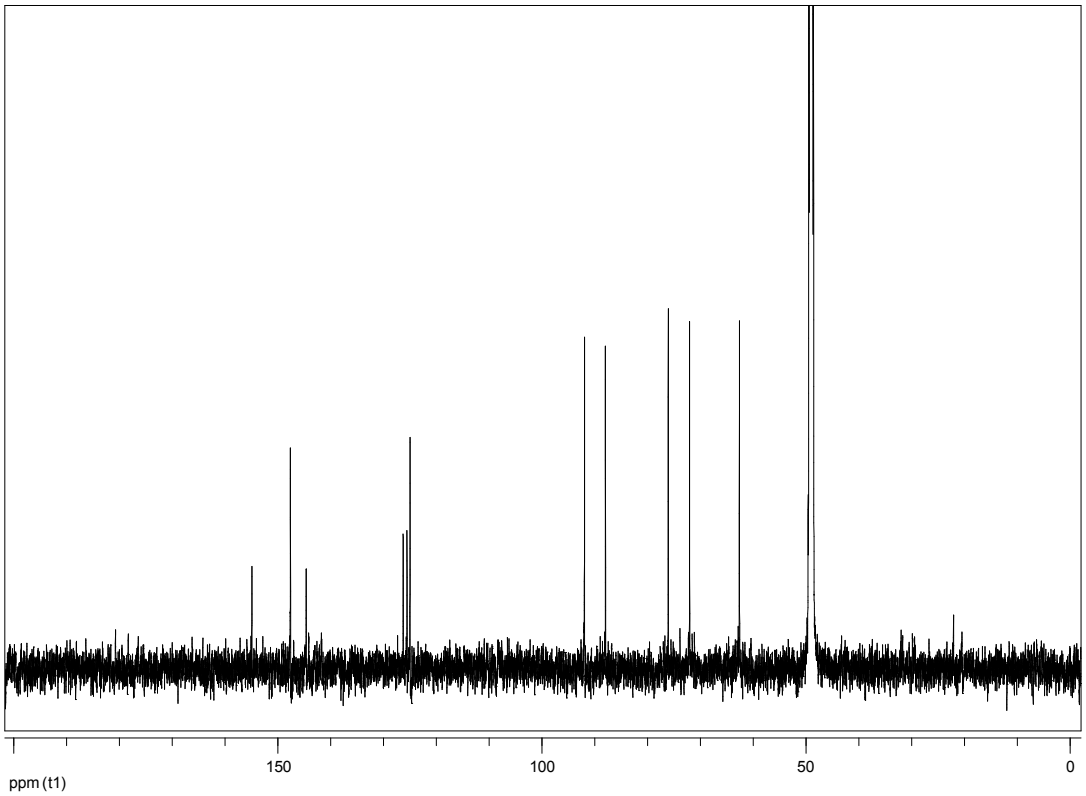





**Εικόνα 11 :** *Φάσματα $^{1}H$-NMR και NOESY του ακετυλιωμένου νουκλεοζίτη* ***16****, σε διαλύτη $CDCl_3$.*

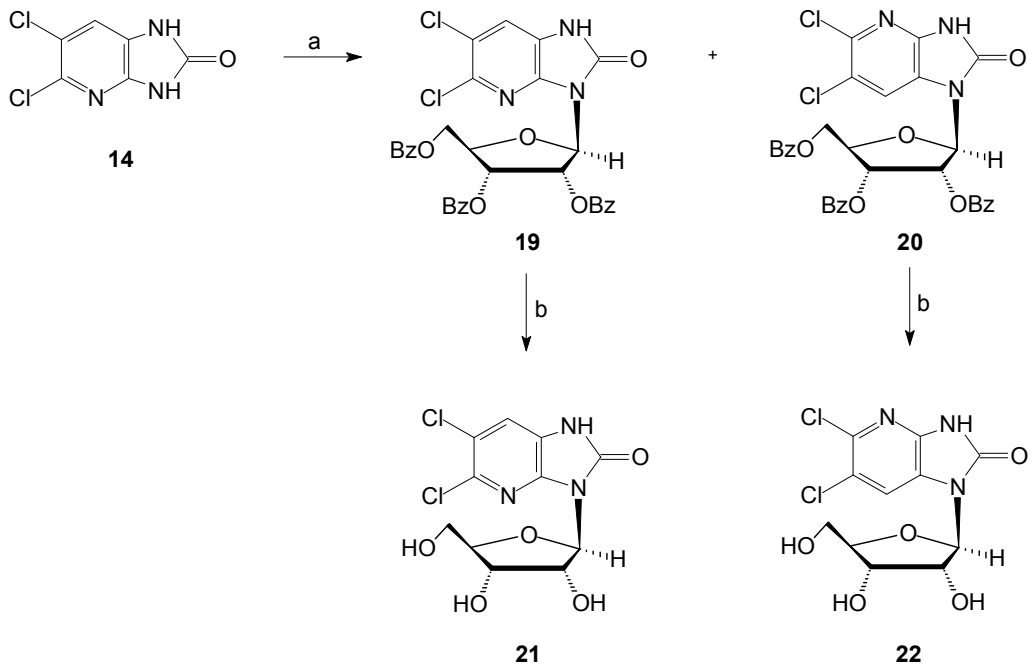
Μετά τον διαχωρισμό και την ταυτοποίηση της δομής των δύο νουκλεοζιτικών παραγώγων **15** και **16** ακολούθησε η απακετυλίωσή τους με τη χρήση μεθανολικής αμμωνίας, οδηγώντας στα τελικά προϊόντα **17** και **18**. Ενδεικτικά στο σχήμα 17 παρατίθενται τα φάσματα πρωτονίου και άνθρακα του παραγώγου **17**. Στο φάσμα πρωτονίου φαίνεται η απουσία των τριών ακετυλίων στις χαμηλές τιμές ppm, στην περιοχή μεταξύ 3.80 εώς 6.10 ppm συντονίζονται τα πρωτόνια της ριβοφουρανόζης, ενώ στην αρωματική περιοχή παρατηρούμε τις δύο κορυφές των αρωματικών πρωτονίων. Στο φάσμα του άνθρακα παρατηρούμε τις πέντε κορυφές που αντιστοιχούν στους άνθρακες της ριβοφουρανόζης καθώς και έξι κορυφές στην αρωματική περιοχή.



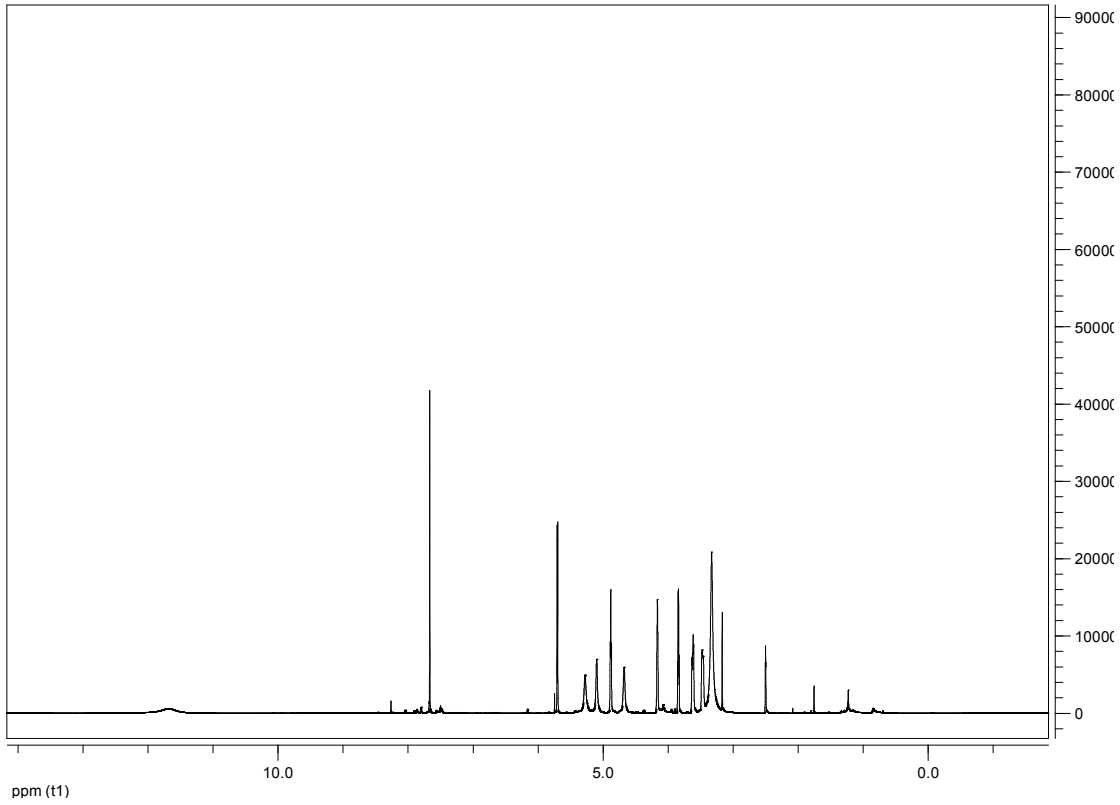

**Εικόνα 12 :** Φάσματα $^{1}$H-NMR και $^{13}$C-NMR του τελικού προϊόντος **17**, σε διαλύτη $CD_3OD$.

Αντίστοιχα, στο σχήμα 16 παρουσιάζεται σύνθεση των νουκλεοζιτών της ιμιδαζολο[4,5-b]πυριδιν-2-όνης [21] και [22], με τη χρήση 1-ακετυλο-2,3,5-τριβενζοϋλο-β-D-ριβοφουρανόζης παρουσία τριφθορομεθανοσουλφονικού τριμεθυλοσιλυλοεστέρα. Ο μηχανισμός της γλυκοζυλίωσης είναι ανάλογος με τον ήδη περιγραφέντα. Στην περίπτωση της ιμιδαζολο[4,5-b]πυριδιν-2-όνης **14,** λόγω του γεγονότος ότι αυτή ήταν πάρα πολύ δυσδιάλυτη, επιλέχθηκε κατά την γλυκοζυλίωση να χρησιμοποιηθεί η τρις βενζοϋλιωμένη ριβοφουρανόζη, ώστε οι αντίστοιχοι νουκλεοζίτες που θα προκύψουν να έχουν μεγαλύτερη διαλυτότητα στους συνήθως χρησιμοποιούμενους διαλύτες, και άρα να είναι και ευκολότερος ο διαχωρισμός και καθαρισμός τους.




**Σχήμα 16 :** Αντιδραστήρια και συνθήκες: a) 1) $CH_3CN$/BSA, 2) 1-acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranose/ TMSOTf, $0^oC$. b) 1) MeOH/ 2) $NH_3$, $25^oC$.

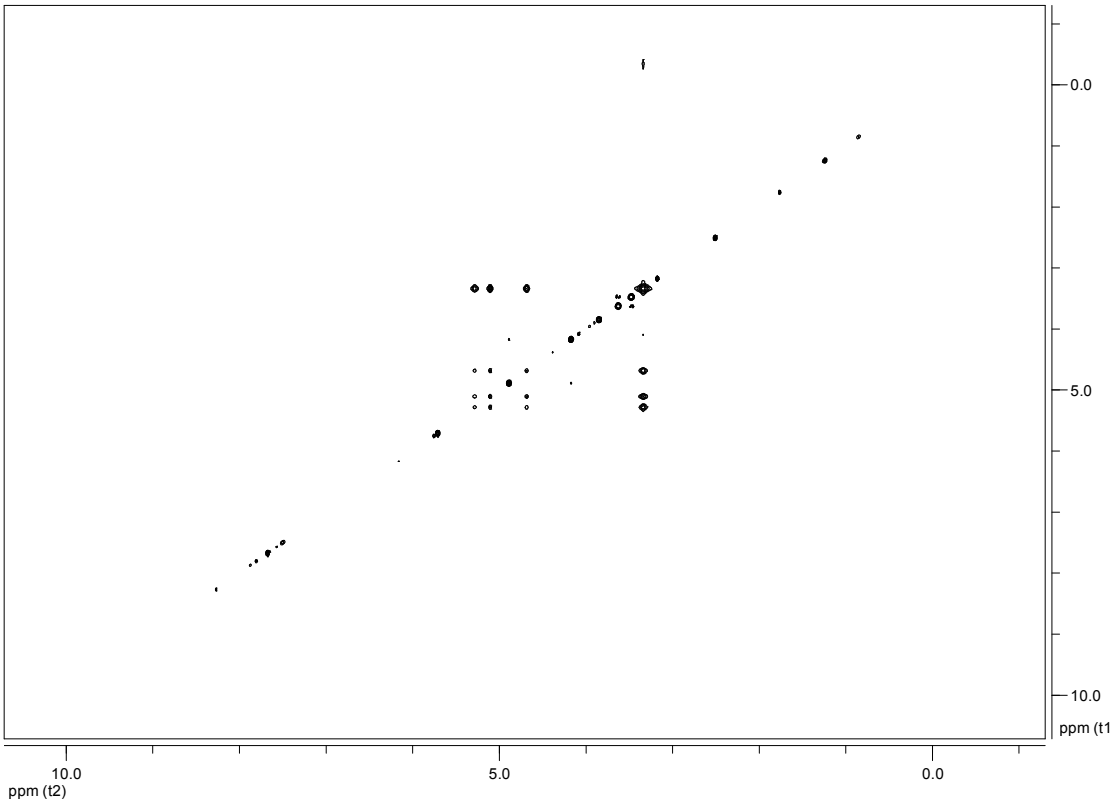
Η ταυτοποίηση των 2 ισομερών θέσης και των α, β ανωμερών έγινε με φασματοσκοπία NMR και συγκεκριμένα 2D-NMR με ομοπυρηνικό NOESY. Παρακάτω παρατίθενται τα φάσματα των 2 ισομερών θέσης:




**Εικόνα 13 :** *Φάσμα $^{1}$H-NMR του τελικού προϊόντος 21 σε διαλύτη DMSO-$d_6$*

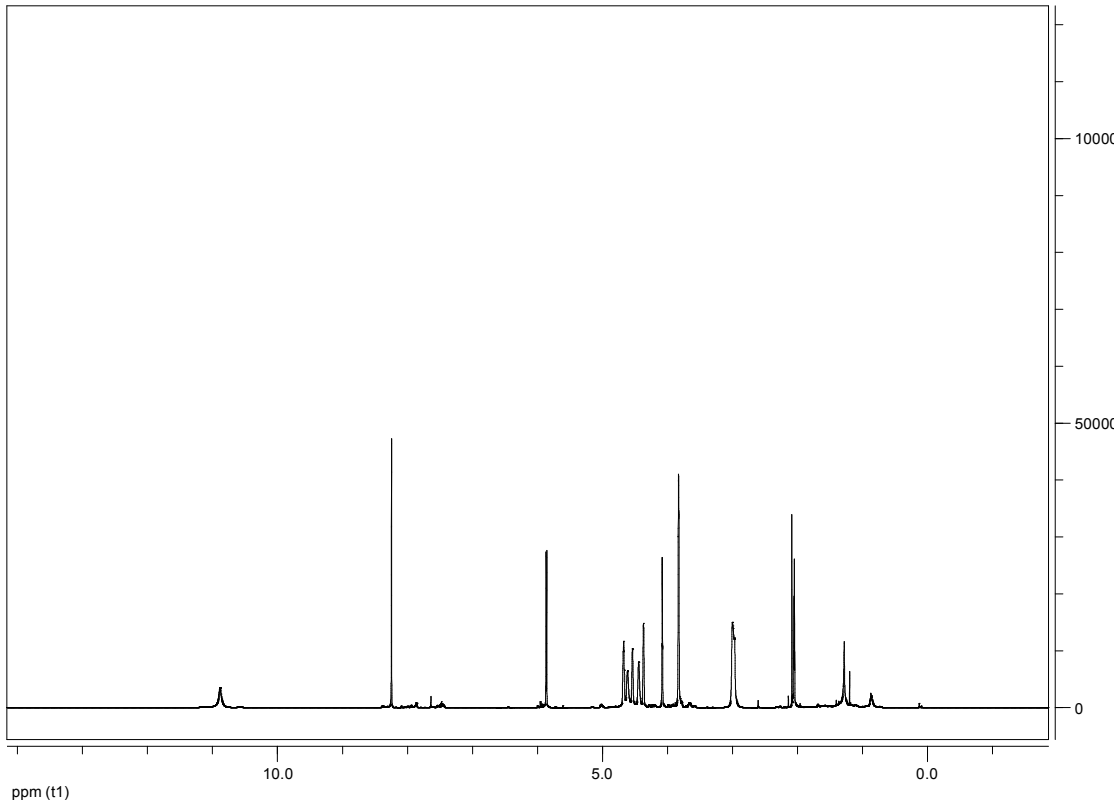
Στο φάσμα $^{1}$H-NMR του παραγώγου [21] (Εικόνα 13) φαίνεται ότι το ευκίνητο Η της αμινομάδας συντονίζεται στα 10.36 ppm ως μία ευρεία κορυφή ενώ το αρωματικό πρωτόνιο που είναι το πλέον αποθωρακισμένο εμφανίζεται ως μία οξεία κορυφή και συντονίζεται στα 7.67 ppm. Τα πρωτόνια της ριβόζης συντονίζονται μεταξύ 3.47 και 5.70 ppm, ενώ διακρίνονται τα υδροξύλια 2’, 3’ και 5’ ως ευρείες κορυφές.

Για να διαπιστωθεί ότι το παράγωγο είναι το β-ανωμερές λήφθηκε το 2D ομοπυρηνικό φάσμα NMR NOESY (εικόνα 14). Στο φάσμα παρατηρείται συσχέτιση των 1'H (5.70 ppm) και 4'H (3.84 ppm), γεγονός που καταδεικνύει ότι πρόκειται για β-ανωμερές.



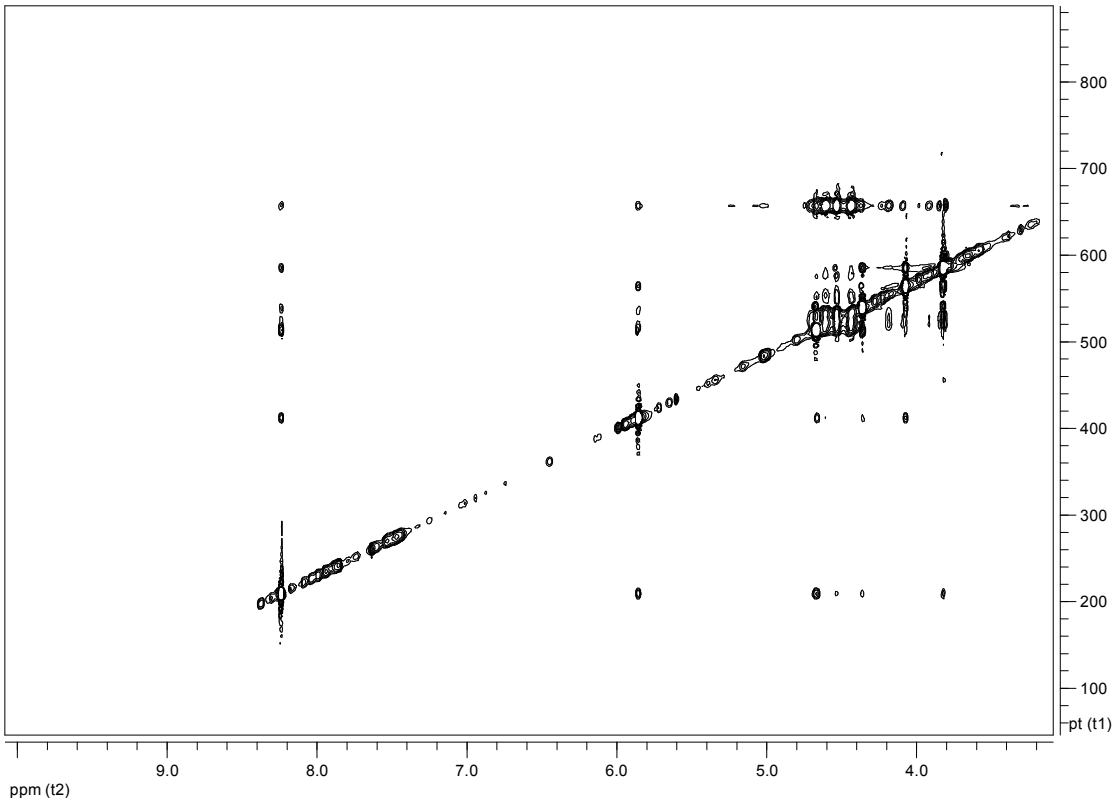

**Εικόνα 14 :** *Φάσμα 2D – NOESY NMR του τελικού προϊόντος 21 σε διαλύτη DMSO-$d_6$*

Επίσης στην εικόνα 14 δεν φαίνεται κάποια συσχέτιση του 1' με το 4-H γεγονός που αποτελεί πρώτη ένδειξη για την ακριβή θέση ριβοζυλίωσης. Αυτό απομένει να επιβεβαιωθεί από τη μελέτη των φασματοσκοπικών δεδομένων του ισομερούς [22]. Από το φάσμα $^1$H-NMR του [22] (εικόνα 15) φαίνεται ότι το ευκίνητο H της αμινομάδας συντονίζεται στα 10.36 ppm ως μία ευρεία κορυφή, το αρωματικό πρωτόνιο στα 8.27 ppm, τα πρωτόνια της ριβόζης συντονίζονται στα 3.85-5.89 ppm, και τα 2', 3' και 5' OH συντονίζονται ως ευρείες κορυφές.



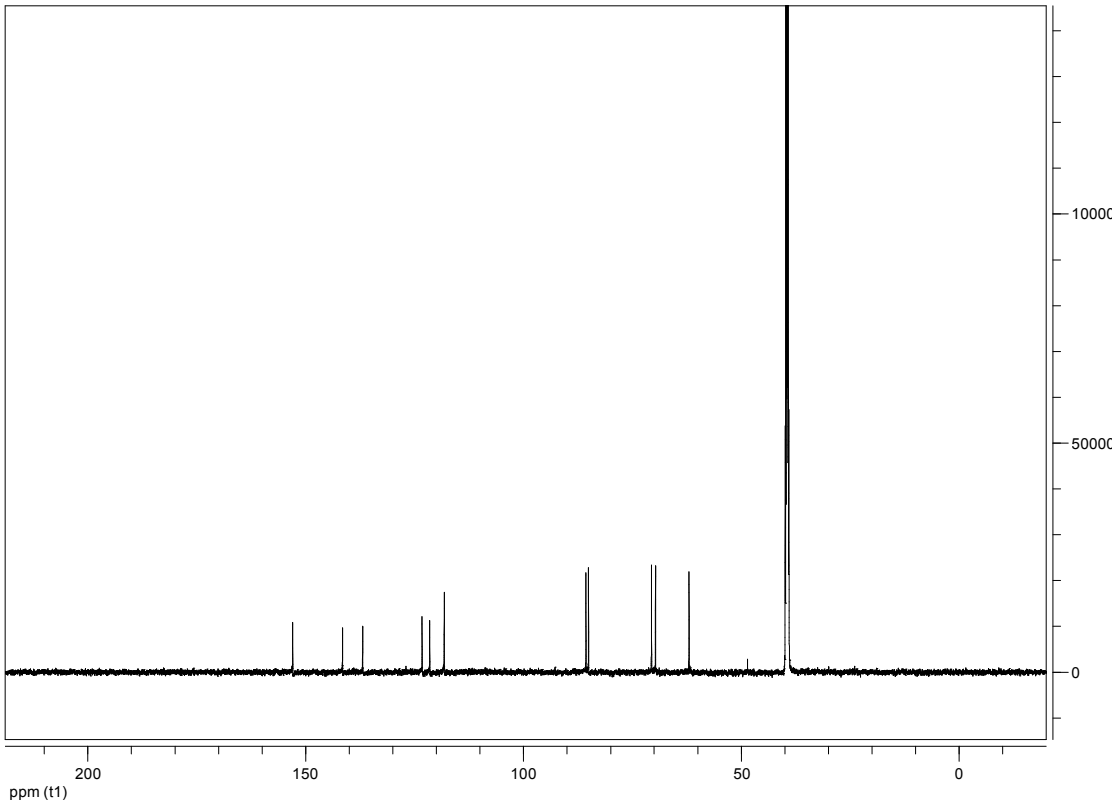

**Εικόνα 15 :** *Φάσμα $^{1}H$-NMR του τελικού προϊόντος 22 σε διαλύτη $(CD_3)_2CO$*

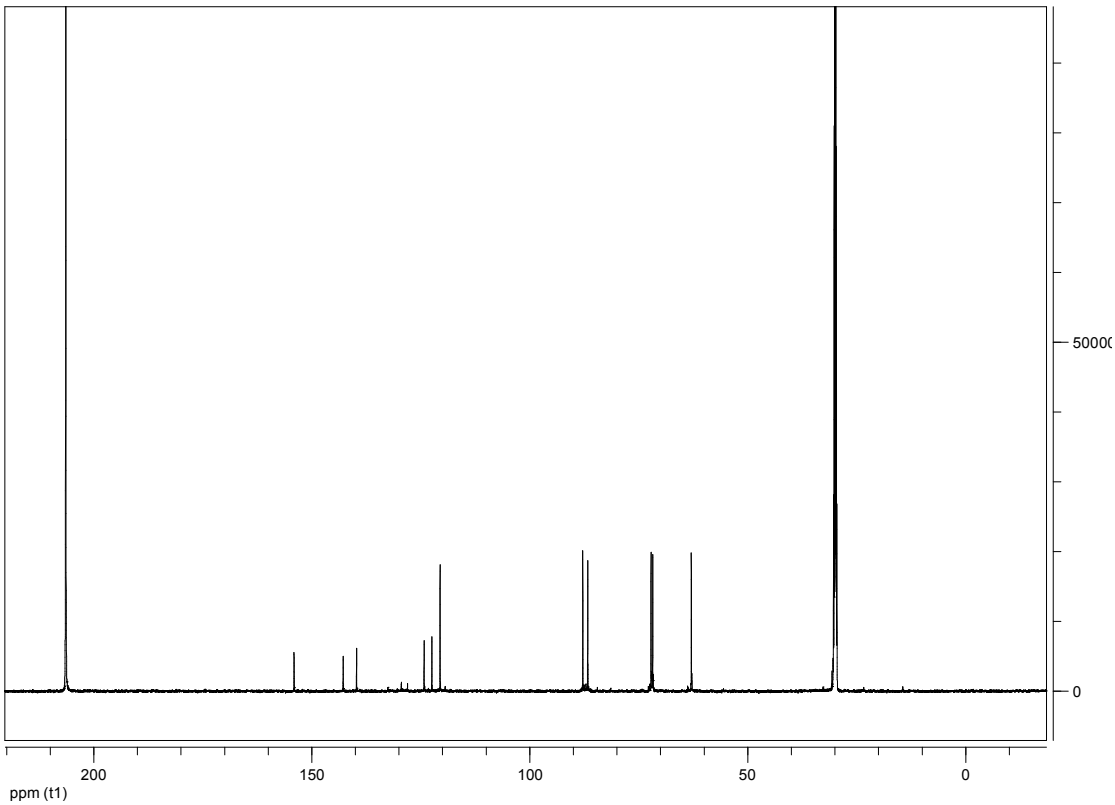
Στο αντίστοιχο 2D ομοπυρηνικό φάσμα NMR NOESY (εικόνα 15) επιβεβαιώνεται η σύζευξη του ανωμερικού 1'H με το 4'H πρωτόνιο της ριβόζης. Παράλληλα από τα πρωτόνια της ριβόζης παρατηρείται συσχέτιση μόνο του 1' ανωμερικού πρωτονίου με το 7H της ιμιδαζολόνης . Συνεπώς μπορούμε να πούμε με βεβαιότητα ότι το παράγωγο [22] είναι το β-ανωμερές του 3-ισομερούς θέσης.




**Εικόνα 16 :** *Φάσμα 2D-NOESY NMR του τελικού προϊόντος 22 σε διαλύτη $(CD_3)_2CO$.*

Παρακάτω παρατίθενται τα φάσματα $^{13}$C-NMR των τελικών προϊόντων 21 και 22 (εικόνα 17):



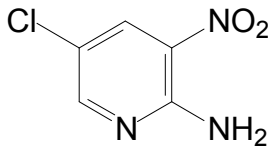




**Εικόνα 17 :** *Φάσματα $^{13}$C-NMR των τελικών προϊόντων 21 και 22 σε διαλύτη DMSO-$d_6$ και $(CD_3)_2CO$ αντίστοιχα.*

## 2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Τα σημεία τήξεως λήφθηκαν σε συσκευή Büchi και δεν είναι διορθωμένα. Οι χρωματογραφίες στήλης πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση Silica gel 60 AC.C (SDS 35-70 μm). Η παρακολούθηση της εξέλιξης των αντιδράσεων έγινε με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC) σε πλάκες Silica gel $60_{F254}$. Τα φάσματα $^1$H-NMR και δύο διαστάσεων, λήφθηκαν σε φασματοφωτόμετρο Bruker Avance 600 στα 600 MHz με τη χρήση δευτεριωμένου χλωροφορμίου ($CDCl_3$), (DMSO) και Acetone $d_6$ ως διαλυτών.

5-χλωρο-3-νιτρο-πυριδιν-2-αμίνη: [2]



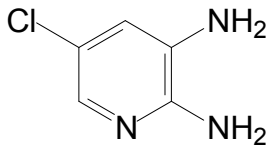

M.W.=173.5 mg/mmol

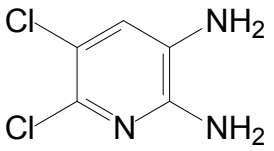
*Σύνθεση*: Σε 10 ml $H_2SO_4$ διαλύονται υπό ψύξη 2.57 g (0.02 mole) 5-χλωρο-πυριδιν-2-αμίνης [1]. Το διάλυμα θερμαίνεται στους 55$^o$C όπου προστίθενται στάγδην 1.29 ml $HNO_3$ και συνεχίζεται η θέρμανση για 60 min. Πραγματοποιείται TLC σε σύστημα $cC_6H_{12}/CH_3CO_2Et$ 5:5 όπου επιβεβαιώνεται το τέλος της αντίδρασης.

*Κατεργασία*: Το μίγμα αποχύνεται σε πάγο (~ 200 ml) και εξουδετερώνεται με δλμ 40% NaOH. Το στερεό που προκύπτει διηθείται οπότε λαμβάνονται 2.68 g προϊόντος. Απόδοση: 77.2 %, Σ.τ.: 209$^o$ C. Μικρή ποσότητα καθαρίζεται χρωματογραφικά σε σύστημα $cC_6H_{12}/CH_3CO_2Et$ 8:2.

$^1$H –NMR (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 8.06 (brs, 2H, $D_2O$ exch., $NH_2$), 8.42 (s, 1H, H-4), 8.45 (s, 1H, H-6). $^{13}$C-NMR (50 MHz, DMSO-$d_6$) δ 116.60 (C-5), 126.44 (C-3), 133.54 (C-4), 152.34 (C-2), 154.55 (C-6).

5-χλωροπυριδινο-2,3-διαμίνη:(3) 5,6-διχλωροπυριδινο-2,3-διαμίνη:(4)




M.W.= 143.5 mg/mmol M.W.= 178 mg/mmol

*Σύνθεση*: Εντός 58.32 ml HCl προστίθενται σταδιακά και υπό ψύξη 26 g $SnCl_2x2H_2O$, και 3.2 g (0.018 mole) του [2] και το μίγμα θερμαίνεται υπό reflux για 30 min. Ακολουθεί TLC σε σύστημα $cC_6H_{12}/CH_3CO_2Et$ 5:5 όπου επιβεβαιώνεται το τέλος της αντίδρασης που οδηγεί στα 2 προϊόντα.

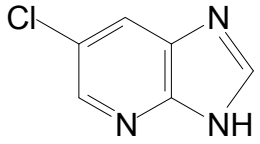
*Κατεργασία*: Το μίγμα αποχύνεται σε πάγο (~ 200 ml) και αλκαλοποιείται με δλμ NaOH 40% μέχρι pH=14. Το στερεό που σχηματίζεται διηθείται υπό κενό, ενώ το διήθημα εκχυλίζεται $CH_3CO_2Et$ και το λαμβανόμενο υπόλειμμα συνενώνεται με το υπόλοιπο ίζημα και ακολουθεί καθαρισμός με χρωματογραφία στήλης με $cC_6H_{12}/CH_3CO_2Et$ (1:1-1:9). Λαμβάνονται 3.2 g (77.5 %) του [3] και 0.5 g (9.8 %) του [4].

Δεδομένα **3**: Σ.τ.: 153$^o$-154$^o$ C. $^1$H –NMR (400 MHz, MeOD-$d_4$) δ 6.86 (d,1H, H-3, $J$=2.18 Hz), 7.28 (d,1H, H-6, $J$=2.18 Hz).

Δεδομένα **4**: Στ: 172 $^o$C ($CH_3CO_2Et$) (υποκίτρινο κρυσταλλικό στερεό). $^1$H-NMR (600 MHz, DMSO) δ (ppm): 6.82 (s, 1H, 4-H), 6.01 (brs, 2H, $D_2O$ exchangeable, 2-NH), 5.09 (brs, 2H, $D_2O$ exchangeable, 3-NH)

$^{13}$C-NMR (150 MHz, DMSO)δ (ppm): 113.92 (5-C), 119.07 (4-C), 129.94 ( 3-C), 130.86 (6-C), 147.05 (2-C).

6-χλωρο-3Η-ιμιδαζο[4,5-b]πυριδίνη: [5]



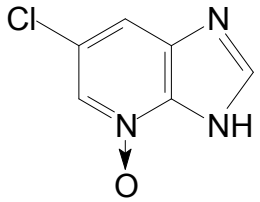

M.W.= 153.5 mg/mmol

*Σύνθεση*: Σε 0,32 g (0,002 mole) του [3], προστίθενται υπό άνυδρες συνθήκες 2 σταγόνες HCl και 3 ml ορθομυρμηκικού αιθυλεστέρα και το μίγμα αφήνεται 12h σε θερμοκρασία δωματίου.

*Κατεργασία*: Προστίθεται πεντάνιο και το στερεό που καταβυθίζεται διηθείται υπό κενό και καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε $CH_2Cl_2$/MeOH (100:1-100:3). Λαμβάνονται 0.16 g (47%) των δύο ταυτομερών σε αναλογία 1:1.5, όπως φαίνεται από το φάσμα τους. Σ.τ.: 149 $^{o}$C

$^{1}$H –NMR (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 8.10 (s, 1H, H-7), 8.21 (s, 1H, H-7), 8.36 (s, 1H, H-2), 8.50 (s, 1H, H-5), 12.84 (brs, 1H, $D_2O$ exch., NH), 13.32 (brs, 1H, $D_2O$ exch., NH).

Ν-Οξείδιο της 6-χλωρο-3Η-ιμιδαζο[4,5-b]πυριδίνης: [6]



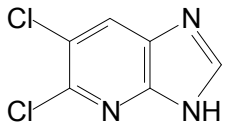

M.W.= 169.5 mg/mmol

*Σύνθεση*: Σε διάλυμα 0.16 g (0.001 mole) του [5] εντός 32.16 ml $CH_2Cl_2$ προστίθεται 0.27 g (0.001 mole) m-CPBA και το μίγμα αναδεύεται για 5 ημέρες. Με TLC σε σύστημα $CH_2Cl_2$/MeOH 96:4 επιβεβαιώνεται το τέλος της αντίδρασης.

*Κατεργασία*: Προστίθεται silica (60-200 μm) στο μίγμα της αντίδρασης και πραγματοποιείται χρωματογραφική στήλη βαθμιδωτής έκλουσης σε σύστημα $CH_2Cl_2$/MeOH (100:1-100:30). Λαμβάνονται 0.17 g καθαρού προϊόντος (96.6 %), Σ.τ.: $199^o$-$200^o$ C

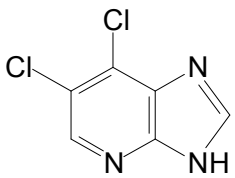
$^1$H –NMR (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 7.77 (s, 1H, H-7), 8.40 (s, 1H, H-5), 8.43 (s, 1H, H-2), 13.40 (v brs, 1H, $D_2O$ exch., NH). $^{13}$C-NMR (50 MHz, DMSO-$d_6$) δ 112.38 (C-7), 124.03 (C-6), 132.11 (C-5 + C-7α), 144.43 (C-2 + C-3α).

5,6-διχλωρο-3Η-ιμιδαζο[4,5-b]πυριδίνη: [7]




M.W.= 188 mg/mmol

6,7-διχλωρο-3Η-ιμιδαζο[4,5b]πυριδίνη: [8]




M.W.= 188 mg/mmol

*Σύνθεση*: Διάλυμα 0.08 g (0.0004 mole) του [6] εντός 1.5 ml $POCl_3$ θερμαίνεται στους $110^oC$ για 120 min. Με TLC σε σύστημα $CH_2Cl_2$/MeOH 9:1 επιβεβαιώνεται το τέλος της αντίδρασης.

*Κατεργασία*: Το μίγμα συμπυκνώνεται υπό κενό και το υπόλειμμα αποχύνεται σε πάγο. Ακολουθεί εξουδετέρωση με δλμ $NH_4OH$ 20% και εκχύλιση με 100 ml $CH_3CO_2Et$ (x4). Τα εκχυλίσματα συλλέγονται, ξηραίνονται υπεράνω $Na_2SO_4$ και συμπυκνώνονται μέχρι ξηρού. Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα $CH_2Cl_2/CH_3CO_2H$/MeOH 100:2.5:10, οπότε λαμβάνονται 0.04 g (44.9%) του [7] και 0.04 g (44.9%) του [8]. για το [7] και Απόδοση:, για το [8].

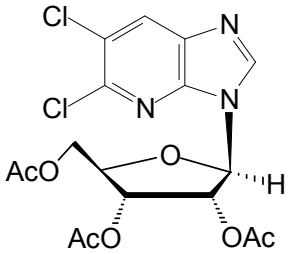
Δεδομένα του **7**:

Σ.τ.: 161$^o$ C. $^1$H –NMR (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 8.40 (s, 1H, H-7), 8.57 (s, 1H, H-2), 13.30 (v brs, 1H, $D_2O$ exch., NH). $^{13}$C-NMR (50 MHz, DMSO-$d_6$) δ 121.93 (C-6), 126.20 (C-7), 130.39 (C-7α), 140.89 (C-5), 146.84 (C-2), 149.81 (C-3α).

Δεδομένα του **8**:

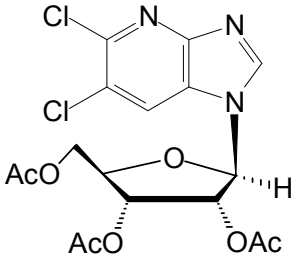
Σ.τ.: 197$^o$-198$^o$ C $^1$H –NMR (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 8.50 (s, 1H, H-5), 8.59 (s, 1H, H-2), 13.60 (v brs, 1H, $D_2O$ exch., NH). $^{13}$C-NMR (50 MHz, DMSO-$d_6$) δ 123.05 (C-6), 131.29 (C-7), 133.17 (C-7α), 143.35 (C-5), 146.19 (C-2), 147.24 (C-3α).

3-(2,3,5-τρι-Ο-ακετυλο)-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5,6-διχλωρο-3Η-ιμιδαζο[4,5-b]πυριδίνη: [15],




M.W.= 446 mg/mmol

1-(2,3,5-τρι-Ο-ακετυλο)-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5,6-διχλωρο-1Η-ιμιδαζο[4,5-b]πυριδίνη: [16]




M.W.= 446 mg/mmol

*Σύνθεση*: Σε εναιώρημα 0.55 g (0.003 mole) του [7] εντός 17.1 ml $CH_3CN$, προστίθεται υπό αργό 0.81 ml (0.003 mole) δις-τριμεθυλοσιλυλοακεταμιδίου (BSA) και το μίγμα θερμαίνεται στους 80$^o$C για 35 min. Το διάλυμα φέρεται στη συνέχεια σε θερμοκρασία δωματίου, προστίθεται 0.986 g (0.002 mole) 1,2,3,5-τετρακετυλο-β-D-ριβοφουρανόζη και κατόπιν ψύχεται στους 0$^o$C και προστίθεται 0.51 ml (0.003 mole) τριφθορομεθανοσουλφονικού τριμεθυλοσιλυλεστέρα (TMSOTf). Το διάλυμα που προκύπτει θερμαίνεται στους 80$^o$-90$^o$C για 150 min και η αντίδραση ολοκληρώνεται (παρακολούθηση με TLC σε $CH_3CO_2Et$).

*Κατεργασία*: Απομακρύνεται ο διαλύτης και το υπόλειμμα αποχύνεται σε ~100 ml νερού κορεσμένου με $NaHCO_3$. Ακολουθεί εκχύλιση με 100 ml $CH_3CO_2Et$ (x3). Τα εκχυλίσματα συλλέγονται, ξηραίνονται υπεράνω $Na_2SO_4$ και συμπυκνώνονται μέχρι ξηρού. Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης με πετρελαϊκό αιθέρα/ $CH_3CO_2Et$ αρχικά 3:7-2:8. Λαμβάνονται 0.84 g (64.5 %) του 15 και 0.18 g (13.8 %) του 16, τα οποία έχουν ημιστερεά υφή.

Δεδομένα του **15**:

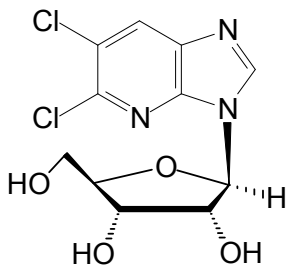
$^1$H –NMR (400 MHz, CDCl3) δ 2.07 (s, 3H, $CH_3CO$), 2.11 (s, 3H, $CH_3CO$), 2.15 (s, 3H, $CH_3CO$), 4.38 (dd, 1H, H-5', *J* = 11.96 Hz + 4.08 Hz), 4.41-4.46 (m, 2H, H-4' + H-5'), 5.64 (m, 1H, H-3'), 5.86 (m, 1H, H-2'), 6.20 (d, 1H, H-1', *J* = 5.33 Hz), 8.16 (s, 1H, H-7), 8.21 (s, 1H, H-2). $^{13}$C-NMR (50 MHz, CDCl3) δ 20.49 (*C*$H_3$CO), 20.64 (*C*$H_3$CO), 20.87 (*C*$H_3$CO), 63.12 (C-5'), 70.73 (C-3'), 73.24 (C-2'), 80.50 (C-4'), 86.51 (C-1'), 125.40 (C-6), 130.65 (C-7), 135.83 (C-7α), 143.84 (C-5), 144.04 (C-2 + C-3α), 169.47 (*C*O$CH_3$), 169.67 (*C*O$CH_3$), 170.42 (*C*O$CH_3$).

Δεδομένα του **16**:

$^1$H –NMR (400 MHz, CDCl3) δ 2.00 (s, 3H, $CH_3CO$), 2.05 (s, 3H, $CH_3CO$), 2.10 (s, 3H, $CH_3CO$), 4.28 (dd, 1H, H-5', *J* = 13.20 Hz + 3.50

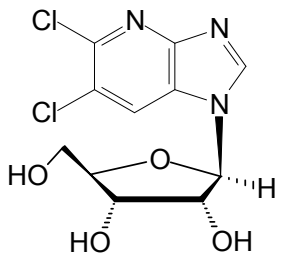
Hz), 4.41-4.45 (m, 2H, H-4’ + H-5’), 5.30 (m, 1H, H-3’), 5.39 (m, 1H, H-2’), 6.00 (d, 1H, H-1’, *J* = 5.85 Hz), 8.09 (s, 1H, H-7), 8.30 (s, 1H, H-2). $^{13}$C-NMR (50 MHz, CDCl3) δ 20.45 (*C*$H_3$CO), 20.63 (*C*$H_3$CO), 20.98 (*C*$H_3$CO), 62.81 (C-5’), 70.02 (C-3’), 73.09 (C-2’), 80.96 (C-4’), 87.93 (C-1’), 122.11 (C-7), 124.36 (C-7α), 125.17 (C-6), 144.62 (C-5), 144.78 (C-2), 154.36 (C-3α), 169.49 (*C*O$CH_3$), 169.68 (*C*O$CH_3$), 170.23 (*C*O$CH_3$).

<u>3-β-D-ριβοφουρανοζυλο-5,6-διχλωρο-3Η-ιμιδαζο[4,5-b]πυριδίνη</u>: [17],




M.W. = 350 mg/mmol

<u>1-β-D-ριβοφουρανοζυλο-5,6-διχλωρο-1Η-ιμιδαζο[4,5-b]πυριδίνη</u>: [18]




M.W. = 350 mg/mmol

<u>*Σύνθεση*</u>: Διάλυμα του [15] (0.001 mole) εντός 20 ml μεθανόλης κορένυται με αέρια $NH_3$ και αφήνεται για 120min. Με TLC σε $CH_3CO_2Et$ επιβεβαιώνεται το τέλος της αντίδρασης.

<u>*Κατεργασία*</u>: Το μίγμα συμπυκνώνεται μέχρι ξηρού και ακολουθεί ανακρυστάλλωση του προϊόντος με $Et_2O$. Λαμβάνονται 0.19 g (97.9%) του [17] και 0.13 g (90,3%) του [18].

Δεδομένα του **17**:

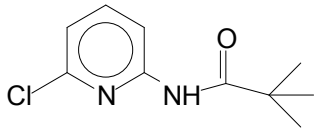
Σ.τ.: 184$^o$-186$^o$ C ($Et_2O$). $^1$H –NMR (400 MHz, methanol-$d_4$) δ 3.80 (dd, 1H, H-5’, *J* = 12.44 Hz + 3.58 Hz), 3.91 (dd, 1H, H-5’, *J* = 12.23 Hz +

3.20 Hz), 4.16 (m, 1H, H-4'), 4.37 (m, 1H, H-3'), 4.71 (m, 1H, H-2'), 6.10 (d, 1H, H-1', *J* = 5.32 Hz), 8.30 (s, 1H, H-7), 8.74 (s, 1H, H-2). $^{13}$C-NMR (50 MHz, methanol-$d_4$) δ 63.40 (C-5'), 72.59 (C-3'), 76.13 (C-2'), 87.74 (C-4'), 91.12 (C-1'), 126.53 (C-6), 131.57 (C-7), 137.31 (C-7α), 145.51 (C-5), 145.98 (C-3α), 147.84 (C-2).

Δεδομένα του **18**:

Σ.τ.:148$^o$-149$^o$ C ($Et_2O$). $^1$H –NMR (400 MHz, methanol-$d_4$) δ 3.82 (dd, 1H, H-5', *J* = 12.10 Hz + 2.85 Hz), 3.88 (dd, 1H, H-5', *J* = 12.08 Hz + 3.16 Hz), 4.18 (m, 1H, H-4'), 4.29 (m, 1H, H-3'), 4.43 (m, 1H, H-2'), 5.94 (d, 1H, H-1', *J* = 6.37 Hz), 8.67 (s, 1H, H-7), 8.74 (s, 1H, H-2). $^{13}$C-NMR (50 MHz, methanol-$d_4$) δ 62.63 (C-5'), 72.06 (C-3'), 76.10 (C-2'), 87.99 (C-4'), 91.96 (C-1'), 124.97 (C-7), 125.56 (C-6), 126.28 (C-7α), 144.65 (C-5), 147.63 (C-2), 154.92 (C-3α).

<u>N-(6-χλωροπυριδιν-2-υλο)-2,2-διμεθυλοπροπαναμίδιο</u>:(10)




M.W.: 212.5 mg/mmol

<u>*Σύνθεση*</u>: Σε διάλυμα 5 g (0.039 mole) 6-χλωρο-2-πυριδιναμίνης [9] εντός 20 ml διχλωρομεθανίου, και 6.52 ml (0.047 mole) τριαιθυλαμίνης, προστίθεται στάγδην, στους 0$^o$ C, διάλυμα 5.64 ml (0.046 mole) 2,2-διμεθυλοπροπανοϋλοχλωριδίου εντός 20 ml $CH_2Cl_2$. Μετά από 90 min επιβεβαιώνεται με TLC σε σύστημα $cC_6H_{12}/CH_3CO_2Et$ 7:3 το πέρας της αντίδρασης.

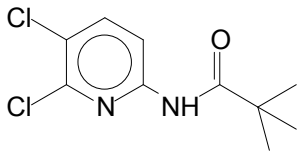
<u>*Κατεργασία*</u>: Το μίγμα αποχύνεται σε νερό κορεσμένο με $NaHCO_3$ και ακολουθεί εκχύλιση με 200 ml $CH_2Cl_2$ (x3). Τα εκχυλίσματα συλλέγονται, ξηραίνονται υπεράνω $Na_2SO_4$ και συμπυκνώνονται μέχρι

ξηρού. Λαμβάνονται 7.2 g (87%) του [10], ως λευκό κρυσταλλικό στερεό. Στ:90$^o$-91$^o$ C (n-Hexane) .

*Φασματοσκοπικά δεδομένα:* $^1$H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm):1.28 (s, 9H, 3x$CH_3$), 7.09 (dd, 1H, 3-H), 7.61 (m, 1H, 4-H), 7.96 (brs, 1H, $D_2O$ exchangeable, NH), 5'-H 8.14 (dd, 1H, 5-H).

$^{13}$C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$)δ (ppm): 27.38 (3x $CH_3$), 39.88 [$C(CH_3)_3$], 112,16 (5-C), 119.53 (3-C), 140.77 ( 4-C), 148.77 (6-C), 151,77 (2-C), 177.09 (C=O).

N-(5,6-διχλωροπυριδιν-2-υλο)-2,2-διμεθυλοπροπαναμίδιο: (11)




M.W.: 248 mg/mmol

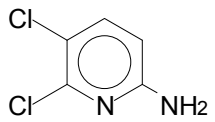
*Σύνθεση*: Σε διάλυμα 6.7 g (0.032 mole) του [10] εντός 10 ml άνυδρου διμέθυλοφορμαμιδίου προστίθεται υπό αργό 4.7 g (0.035 mole) N-χλωροσουκινιμιδίου (NCS) και το μίγμα θερμαίνεται στους 100 $^o$C για 5 h. Με TLC σε σύστημα $cC_6H_{12}/CH_3CO_2Et$ 99,9:0,1 επιβεβαιώνεται το πέρας της αντίδρασης.

*Κατεργασία*: Το μίγμα αποχύνεται σε πάγο και το στερεό που καταβυθίζεται διηθείται υπό κενό και καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα $cC_6H_{12}/CH_3CO_2Et$ 99,9:0,1. Λαμβάνονται 5.86 mg (74.9%) καθαρού λευκού κρυσταλλικού στερεού. Στ:87$^o$- 88$^o$C ($Et_2O$).

*Φασματοσκοπικά δεδομένα*:$^1$H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm):1.25 (s, 9H, 3x$CH_3$), 8.12 (dd, 1H, 3-H), 7.67 (dd, 1H, 4-H), 7.96 (brs, 1H, $D_2O$ exchangeable, NH),

$^{13}$C-NMR (x MHz, $CDCl_3$)δ (ppm): 27.34 (3x $CH_3$), 39.90 [$C(CH_3)_3$], 113.13 (3-C), 124.06 (5-C), 140.94 ( 4-C), 145.86 (6-C), 149.45 (2-C), 177.04 (C=O).

5,6-διχλωροπυριδιν-2-αμίνη: (12)




M.W.: 163 mg/mmol

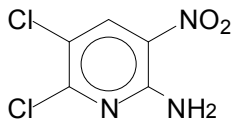
*Σύνθεση*: Σε διάλυμα 5.86 g (0.024 mole) του [11] εντός 16,21 ml αιθανόλης προστίθενται 20 ml HCl 18% και ακολουθεί θέρμανση στους 90$^o$ C για 4 h. Με TLC σε σύστημα $cC_6H_{12}/CH_3CO_2Et$ 8:2 επιβεβαιώνεται το τέλος της αντίδρασης.

*Κατεργασία*: Το μίγμα συμπυκνώνεται, στο στερεό που προκύπτει προστίθεται νερό και το διάλυμα εξουδετερώνεται υπό ψύξη με $NaHCO_3$ μέχρι το pH να φτάσει σε τιμή περίπου 7,00. Στο εναιώρημα που προκύπτει προστίθενται 200 ml $CH_3CO_2Et$ ακολουθεί εκχύλιση με $CH_3CO_2Et$ τρείς φορές (x3). Τα εκχυλίσματα συλλέγονται, ξηραίνονται υπεράνω $Na_2SO_4$ συμπυκνώνονται και λαμβάνεται το προϊόν (3.67 g 95%) ως λευκό αφρώδες στερεό. Στ:142 $^oC$ ($Et_2O$).

*Φασματοσκοπικά δεδομένα*:$^1$H-NMR (600 MHz, DMSO) δ (ppm): 6.42 (dd, 1H, 3-H), 6.56 (brs, 2H, $D_2O$ exchangeable, NH), 7.54 (dd, 1H, 4-H),

$^{13}$C-NMR (150 MHz, DMSO)δ (ppm): 109.10 (3-C), 113.99 (5-C), 140.52 ( 4-C), 145.16 (6-C), 158.99 (2-C).

5,6-διχλωρο-3-νιτροπυριδιν-2-αμίνη: (13)




M.W.:208 mg/mmol

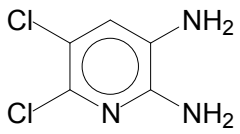
*Σύνθεση*: Σε 1.835 g (0.011 mole) του [12] εντός 12,5 ml θειικού οξέος $H_2SO_4$ προστίθεται στάγδην στους -10$^o$C 1.6 ml νιτρικού οξέος $HNO_3$ και το μίγμα αφήνεται για 25 min στους -10$^o$ C και άλλα 30 min σε θερμοκρασία δωματίου. Με TLC σε σύστημα $cC_6H_{12}/CH_3CO_2Et$ 5:5 επιβεβαιώνεται το τέλος της αντίδρασης.

*Κατεργασία*: Το μίγμα αποχύνεται σε 200 ml πάγου και ακολουθεί εξουδετέρωση με υδατικό διάλυμα αμμωνίας $NH_3$ 20 % (20 ml). Καθ' όλη την διάρκεια της εξουδετέρωσης αποβάλλεται κιτρινοπράσινο στερεό. Μόλις το στερεό καταβυθιστεί διηθείται και το στερεό αφήνεται να στεγνώσει από το νερό. Ακολουθεί στήλη για περαιτέρω καθαρισμό του προϊόντος [13] σε σύστημα $cC_6H_{12}/CH_3CO_2Et$ 7:3 οπότε συλλέγονται 3.45 g (74%) κιτρινου στερεού Στ:186$^o$-187 $^o$C ($CH_3CO_2Et$).

*Φασματοσκοπικά δεδομένα*:$^1$H-NMR (600 MHz, DMSO) δ (ppm): 6.56 (brs, 2H, $D_2O$ exchangeable, NH), 8.13 (s, 1H, 4-H),

$^{13}$C-NMR (150 MHz, DMSO)δ (ppm): 104.78 (5-C), 131.06 (3-C), 136.65 ( 4-C), 150.48 (6-C), 160.09 (2-C).

5,6-διχλωροπυριδινο-2,3-διαμίνη: (4)




M.W.:178 mg/mmol

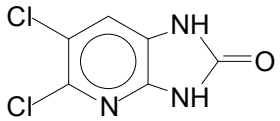
*Σύνθεση*: Η σύνθεση πραγματοποιήθηκε όμοια με το [4].

*Κατεργασία*: Η κατεργασία πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το [4]. Τα εκχυλίσματα συλλέγονται, ξηραίνονται με $Na_2SO_4$ και συμπυκνώνονται για να ληφθεί το προϊόν που καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα $cC_6H_{12}/CH_3CO_2Et$ 9:1 Λαμβάνονται 1.2 g ( 70.2%). Στ: 172 $^oC$ ($CH_3CO_2Et$) (υποκίτρινο κρυσταλλικό στερεό).

*Φασματοσκοπικά δεδομένα*:$^1$H-NMR (600 MHz, DMSO) δ (ppm): 6.82 (s, 1H, 4-H), 6.01 (brs, 2H, $D_2O$ exchangeable, 2-NH), 5.09 (brs, 2H, $D_2O$ exchangeable, 3-NH)

$^{13}$C-NMR (150 MHz, DMSO)δ (ppm): 113.92 (5-C), 119.07 (4-C), 129.94 ( 3-C), 130.86 (6-C), 147.05 (2-C).

5,6-διχλωρο-1,3-διυδρο-2H-ιμιδαζο[4,5-b]πυριδιν-2-όνη: (14)




M.W.:204 mg/mmol

*Σύνθεση*: Σε διάλυμα 1.1 g (0.006 mole) του [4] εντός 17 ml άνυδρου THF προστίθεται 2.268 g (0.003 mole) τριχλωρομεθανοϊκού διεστέρα του ανθρακικού οξέος $O=C(OCCl_3)_2$ και το μίγμα αναδεύεται υπό

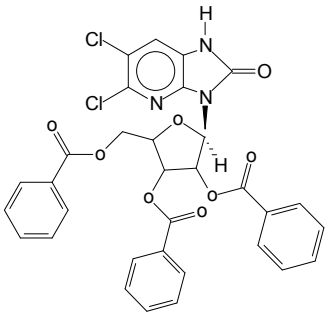
άνυδρες συνθήκες για 120 min. Με TLC σε σύστημα $cC_6H_{12}/CH_3CO_2Et$ 5:5 επιβεβαιώνεται το τέλος της αντίδρασης.

*Κατεργασία*: Το μίγμα διηθείται υπό κενό οπότε λαμβάνεται γκρίζο στερεό (1.01 g, 87.3%). Στ:172 $^oC$ (MeOH).

*Φασματοσκοπικά δεδομένα*:$^1$H-NMR (600 MHz, DMSO) δ (ppm): 11.73 (brs, 1H, $D_2O$ exchangeable, 1-NH), 11.19 (brs, 1H, $D_2O$ exchangeable, 3-NH), 7.49 (s, 1H, 4-H),

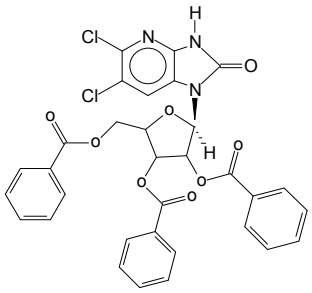
$^{13}$C-NMR (150 MHz, DMSO)δ (ppm): 154.45 (2-C), 143.22 (7a-C), 136.79 ( 6-C), 124.28 (4-C), 120.15 (3a-C), 116.98 ( 5-C).

3-(2,3,5-τρι-Ο-βενζοϋλο)-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5,6-διχλωρο-1,3-διυδρο-2Η-ιμιδαζο[4,5-b]πυριδιν-2-όνη: (19)



M.W.:664,48 mg/mmol

1-(2,3,5-τρι-Ο-βενζοϋλο)-β-D-ριβοφουρανοζυλο)-5,6-διχλωρο-1,3-διυδρο-2Η-ιμιδαζο[4,5-b]πυριδιν-2-όνη: (20)



M.W.:664,48 mg/mmol

*Σύνθεση*: Έγινε όμοια με το 15

*Κατεργασία*:

Το περιεχόμενο της σφαιρικής συμπυκνώνεται και στην συνέχεια το περιεχόμενο της σφαιρικής αποχύνεται σε ποτήρι κορεσμένο με $NaHCO_3$. Ακολουθεί εκχύλιση με 200 ml $CH_3CO_2Et$/MeOH 1 % τρείς φορές (x3). Τα εκχυλίσματα συλλέγονται, ξηραίνονται με $Na_2SO_4$ και συμπυκνώνονται τελικά για να λάβουμε $m_{mix}$=1.145 mg. Ακολουθεί στήλη σε σύστημα $cC_6H_{12}/CH_3CO_2Et$ 8:2 οπότε χωρίζουν τα a,b,c προϊόντα όπου το a χρησιμοποιείται για περαιτέρω καθαρισμό με μια στήλη MeOH/$CH_2Cl_2$ 10:0,1. Ενώ τα e,f χωρίζουν με μια prep-TLC σε σύστημα $cC_6H_{12}/CH_3CO_2Et$ 5:5. Το α από τα φάσματα NMR θα διαφανεί ότι είναι το δισυποκατεστημένο παράγωγο μάζας $m_{7a}$=20 mg. Στο b πραγματοποιήθηκε ανακρυστάλλωση οπότε λήφθηκε μπεζ στερεό μάζας $m_{7brec}$=0.055 g Στ:138$^o$-139 $^o$C ($Et_2O$/n-$CH_3(CH_2)_3CH_3$) Απόδοση: %. και $m_{7bcrude}$=0.070 g. Στο c πραγματοποιήθηκε ανακρυστάλλωση σε $Et_2O$ οπότε λήφθηκε λευκό στερεό $m_{7crec}$=0.711 g Στ:180$^o$-182 $^o$C ($Et_2O$) και $m_{7ccrude}$=0.21 g. Απόδοση: 64.5 %. Τα e,f δεν είναι άλλα από το ανοιχτό σάκχαρο της ριβόζης με μάζα 80 mg.

Δεδομένα του **19 :**

Απόδοση:64,5 % Στ: 180$^o$-182 $^o$C *Φασματοσκοπικά δεδομένα*:$^1$H-NMR (600 MHz, DMSO) δ (ppm): (20) 9.72 (brs, 1H, $D_2O$ exchangeable,3-NH), 8.14 (d, 2H, 2,6-benzoyl-H), 8.01 (d, 2H, 2,6-benzoyl-H), 7.94 (d, 2H, 2,6-benzoyl-H), 7.59 (t, 1H, 4-benzoyl-H), 7.58 (t, 1H, 4-benzoyl-H), 7.55 (s, 1H, 7-H), 7.52 (t, 1H, 4-benzoyl-H), 7.47 (t, 2H, 3,5-benzoyl-H), 7.41 (t, 2H, 3,5-benzoyl-H), 7.35 (t, 2H, 3,5-benzoyl-H), 6.33 (d, 1H, 1'-H), 6.09 (m, 1H, 2'-H), 6.03 (m, 1H, 3'-H), 4.84 (dd, 1H, 5'-H), 4.76 (dd, 1H, 5'-H), 4.74 (m, 1H, 4'-H).

$^{13}$C-NMR (150 MHz, DMSO)δ (ppm): (20) 166.34 [-C(O)O-], 165.59 [-C(O)O-], 165.50 [-C(O)O-], 152.87 (2-C), 140.89 (3a-C), 140.83 (5-C), 133.95 (4-benzoyl-C), 133.91 (4-benzoyl-C), 133.75 (4-benzoyl-C), 130.04 (2,6-benzoyl-C), 129.99 (2,6-benzoyl-C), 129.88 (2,6-benzoyl-C), 129.41 (1-benzoyl-C), 128.93 (3,5-benzoyl-C), 128.80 (1-benzoyl-C), 128.72 (3,5- benzoyl -C), 128.68 (3,5-benzoyl-C), 128.59 (1- benzoyl -C), 123,27 (7a-C), 122.06 (6-C), 119.12 (7-C), 84.71 (1'-C), 80.61 (4'-C), 71.51 (2'-C), 70.96 (3'-C), 64.10 (5'-C)

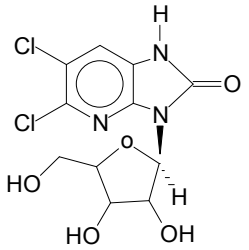
Δεδομένα του **20 :**

Απόδοση:7.7 % Στ: 138$^{o}$-139 $^{o}$C *Φασματοσκοπικά δεδομένα*:$^{1}$H-NMR (600 MHz, DMSO) δ (ppm): (19) 10.364 (brs, 2H, $D_2O$ exchangeable, NH), 8.02 (d, 2H, 2,6-benzoyl-H), 8,00 (d, 2H, 2,6-benzoyl-H), 7,95 (d, 2H, 2,6-benzoyl-H), 7,55 (t, 1H, 4-benzoyl-H), 7,54 (t, 1H, 4-benzoyl-H), 7,49 (t, 1H, 4- benzoyl -H), 7.48 (s, 1H, 4-H), 7.38 (t, 2H, 3,5-benzoyl-H), 7.36 (t, 2H, 3,5-benzoyl-H), 7.34 (t, 2H, 3,5-benzoyl-H), 6.565 (m, 1H, 2'-H), 6.383 (d, 1H, 1'-H), 6.348 (m, 1H, 3'-H), 4.844(dd, 1H, 5'-H), 4.793 (m, 1H, 4'-H), 4.732 (dd, 1H, 5'-H).

$^{13}$C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$)δ (ppm):(19) 166.44 [-C''(O)O-], 165.47 [-C'''(O)O-], 165.44 [-C''''(O)O-], 154.07 (2-C), 140.57 (3a-C), 140.37 (5-C), 133.82 (4-benzoyl-C), 133.68 (4-benzoyl-C), 133.31 (4-benzoyl-C), 129.98 (2'',6''-C), 129.98 (2,6- benzoyl-C), 129.89 (2,6-benzoyl-C), 129.63 (1-benzoyl-C), 129.02 (1-benzoyl-C), 128.84 (1-benzoyl-C), 128.62 (3,5-benzoyl-C), 128.60 (3,5-benzoyl-C), 128.46 (3,5-benzoyl-C), 124.31 (7a-C), 122.07 (6-C), 119.53 (4-C), 84.98 ( 1'-C), 79.57(4'-C), 72.83 (2'-C), 71.360 (3'-C), 63.34 (5'-C).

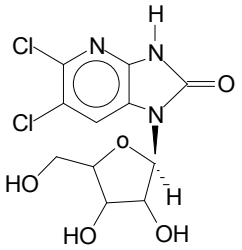
*Φυσικές Ιδιότητες*: στροφική ικανότητα για το (20)β [α]= - 30.59 (c= 1.7 g/100 ml) $CHCl_3$, β= - 0.52. στροφική ικανότητα για το (19)c [α]= -85.67 (2.1 g/100 ml) $CHCl_3$, β= - 1.799

3-β-D-ριβοφουρανοζυλο-5,6-διχλωρο-1,3-διυδρο-2Η-ιμιδαζο[4,5-b]πυριδιν-2-όνη: (21)




M.W.:352,48 mg/mmol

1-β-D-ριβοφουρανοζυλο-5,6-διχλωρο-1,3-διυδρο-2Η-ιμιδαζο[4,5-b]πυριδιν-2-όνη: (22)




M.W.:352,48 mg/mmol

*Σύνθεση*: Παρασκευάζονται αντίστοιχα με το παράγωγο [17].

*Κατεργασία*: Είναι ανάλογη του [17].

Δεδομένα του **21 :**

Απόδοση: 72.1 % Στ: 236°-237 °C *Φασματοσκοπικά δεδομένα*: $^1$H-NMR (600 MHz, Acetone d-6) δ (ppm): (21) $^1$H-NMR 10.364 (brs, 1H, $D_2O$ exchangeable, NH), 7.67 (s, 1H, 4-H), 5.702 (d, 1H, 1'-H), 5.28 (brs, 1H, $D_2O$ exchangeable, 2'-OH), 5.10 (brs, 1H, $D_2O$ exchangeable, 3'-OH), 4.88 (m, 1H, 2'-H), 4.68 (brs, 1H, $D_2O$ exchangeable, 5'-OH), 4.16 (m, 1H, 3'-H), 3.84 (dd, 1H, 4'-H), 3.62 (m, 1H, 5'-H), 3.47 (dd, 1H, 5'-H)

$^{13}$C-NMR (150 MHz, Acetone d-6)δ (ppm): 154.07 (2-C), 140.57 ( 7a-C), 140.37 (6-C), 133.60 (4-C), 130.16 (3a-C), 123.59 (5-C), 84.98 ( 1'-C), 79.57(4'-C), 72.83 (2'-C), 71.360 (3'-C), 63.34 (5'-C).

Δεδομένα του **22 :**

Απόδοση: 37.7 % Στ: 194$^{o}$-195 $^{o}$C *Φασματοσκοπικά δεδομένα*: $^{1}$H-NMR (600 MHz, Acetone d-6) δ (ppm): (22) 10.364 (brs, 1H, $D_2O$ exchangeable, NH), 8.27 (s, 1H, 4-H), 5.89 (d, 1H, 1'-H), , 4.70 (m, 1H, 2'-H), 4.63 (brs, 1H, $D_2O$ exchangeable, 2'-OH), 4.56 (brs, 1H, $D_2O$ exchangeable, 5'-OH), 4.46 (brs, 1H, $D_2O$ exchangeable, 3'-OH), 4.39 (m, 1H, 3'-H), 4.10 (m, 1H, 4'-H), 3.85 (m, 2H, 5'-H)

$^{13}$C-NMR (150 MHz, Acetone d-6)δ (ppm): 154.061 (2-C), 142.744 ( 7a-C), 139.72 (6-C), 124.213 (3a-C), 122.441 (5-C), 120.560 (4-C), 87.83 ( 1'-C), 86.69 (4'-C), 72.17 (2'-C), 71.74 (3'-C), 62.92 (5'-C).

## 3. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ


1. H. Fraenkel-Conrat, Ed. The Chemistry and Biology of Viruses, New York, Academic Press, 1969, pp 45-109.
2. G. J. Galasso et al. Eds., Antiviral Agents and Viral Diseases of Man, New York, Raven Press, 1990.
3. A. S. Evans, Ed. Viral infections of Humans, Epidemiology and Control, 3rd Ed. New York, Plenum Medical Book, 1991, pp. 77-806.
4. J. A. Levy, H. Fraenkel-Conrat, R. A. Owens, Virology, 3rd Ed. Prentice Hall, New Jersey, 1994.
5. G. J. Tortora, B. R. Funke , C. L. Case Εισαγωγή στην Μικροβιολογία (9η έκδοση) τόμος 1, κεφάλαιο 13.
6. G. J. Tortora, B. R. Funke , C. L. Case Εισαγωγή στην Μικροβιολογία (9η έκδοση) τόμος 2, κεφάλαιο 23.
7. Taylor, Francis Health Sciences International reviews of Immunology, 2004 23, 113-139.
8. C. Sinzger, G. Jahn Human cytomegalovirus cell tropism and pathogenesis Intervirology 1996 39, 302–319.
9. J. R. Wingard, S. Piantadosi, W. H. Burns, M. L. Zahurak, G. W. Santos, R.Saral Cytomegalovirus Infections in BoneMarrow Transplant Recipients given Intensive CytoreductiveTherapy. Rev. Infect. Dis. 1990, 12, S793-S804. R. H. Rubin, Impact of Cytomegalovirus Infection on OrganTransplant Recipients. Rev. Infect. Dis. 1990, 12, S754-S766.
10. L. Soroceanu, C. S. Cobbs Virus Res. 2011 May, 157(2): 193-203.
11. Simanek AM, Dowd JB, Pawelec G, et al. Seropositivity to cytomegalovirus, inflammation, all-cause and cardiovascular disease-related mortality in the united states. PLoS One. Feb 17.2011 6(2):16103.
12. H. P. Rang, M. M. Dale, J. M. Ritter, P. K. Moore Φαρμακολογία (5η έκδοση) , κεφάλαιο 46 , Ελληνική μετάφραση - Εκδόσεις Παρισιάνου.
13. K. K. Biron Antiviral Research 2006 71 154–163.
14. G. B. Elion, P. A. Furman., J. A. Fyfe, P. de Miranda, L. Beauchamp, H. J. Schaeffer Selectivity of action of an antiherpetic agent, 9-(2-hydroxyethoxymethyl) guanine. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1977 74, 5716–5720.
15. P. Fiddian, C. A. Sabin, P. D. Griffiths Valacyclovir provides optimum acyclovir exposure for prevention of cytomegalovirus and

related outcomes after organ transplantation J. Infect. Dis. 2002.186 (Suppl. 1), S110–S115.
16. R. R. Razonable, V. C. Emery Management of CMV infection and disease in transplant patients [consensus article—IHMF® management recommendations] Herpes 2004 11, 77–86.
17. E. De Clercq, H. J. Field Antiviral prodrugs—the development ofsuccessful prodrug strategies for antiviral chemotherapy Br. J. Pharmacol. 2006 147, 1–11.
18. E. De Clercq, A. Holy Acyclic nucleoside phosphonates: a key class of antiviral drugs. Nat. Rev. Drug Discov. 2005 4, 928–940.
19. Hostetler KY. Alkoxyalkyl prodrugs of acyclic nucleoside phosphonates enhance oral antiviral activity and reduce toxicity: Current state of the art. Antiviral Res. 2009 82(2): A84–98.
20. C. Marwick, First "Antisense" Drug Will Treat CMV Retinitis. J. Am. Med. Assoc. 1998 280, 871-871.
21. K. K. Biron Antiviral Research 2006 71 154–163.
22. C. Soderberg-Naucler Does cytomegalovirus play a causitive role in the development of various inflammatory diseases and cancer? J. Intern. Med. 2006 259:219–246.
23. M. R. Underwood, R. J.Harvey, S. C., Stanat, M. L., Hemphill, T. Miller, J. C. Drach, L. B. Townsend, K. K., Biron. Inhibition of human cytomegalovirus DNA maturation by a benzimidazole ribonucleoside is mediated through the UL89 gene product. J. Virol. 1998 72, 717-725.
24. Y. Bansal, O. Silakari, The Therapeutic journey of benzimidazoles, A review, Biorganic and medicinal chemistry.
25. L. B. Townsend, R. V. Devivar, S. R Turk, M. R. Nassiri, J. C. Drach, Design, Synthesis, and Antiviral Activity of Certain 2,5,6-Trihalo-1-(β-D-ribofuranosyl)benzimidazoles J. Med. Chem. 1995, 38, 4098-4105.
26. G. W. Koszalka, S. D. Chamberlain, R. J. Harvey, L. W. Frick, S. S. Good, M. L. Davis, A. Smith, J. C. Drach, L. B. Townsend, K. K. Biron Benzimidazoles for the treatment of human cytomegalovirus infections. Antiviral Res. 1996 30, A43.
27. Winston DJ, Young JA, Pullarkat V, et al. Maribavir prophylaxis for prevention of cytomegalovirus infection in allogeneic stem cell transplant recipients: A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging study. Blood 2008 111(11):5403–10.
28. K. K., Biron, R. J. Harvey, S. C. Chamberlain, S. S. Good, A. A. Smith III, M. G. Davis, C. L. Talarico, W. H. Miller, R. Ferris, R. E. Dornsife, S. C. Stanat, J. C. Drach, L. B. Townsend, G. W, Koszalka Potent and selective inhibition of human cytomegalovirus

replication by 1263W94, a benzimidazole l-riboside with a unique mode of action Antimicrob. Agents Chemother. 2002 46, 2365–2372.
29. P. M. Krosky, M. C. Baek, D. M. Coen, J. Virol. 2003, 77, 905–914.
30. Prichard MN. Function of human cytomegalovirus UL97 kinase in viral infection and its inhibition by maribavir. Rev Med Virol. Jul; 2009 19(4):215–29.
31. Prichard, M. N.. Function of human cytomegalovirus UL97 kinase in viral infection and its inhibition by maribavir. Rev. Med. Virol. **19:**215–229 (2009).
32. Drew WL, Miner RC, Marousek GI, et al. Maribavir sensitivity of cytomegalovirus isolates resistant to ganciclovir, cidofovir or foscarnet. J Clin Virol. 2006 37(2):124–7.
33. Hwang JS, Kregler O, Schilf R, et al. Identification of acetylated, tetrahalogenated benzimidazole D-ribonucleosides with enhanced activity against human cytomegalovirus. J Virol. Nov; 2007 81(21):11604–11.
34. M.Israel, A.Day, journal of organic chemistry, *preparation of pyrido-(2,3)-pyrazines, Pyrido-(3,4)-pyrazines and Imidazo-(b)-pyridines,* October 1959, *p: 1455-1456.*
35. John R. Kosak, Annals of the N.York Academy of sciences, *Catalytic Hydrogenation of Aromatic Halonitro Compounds,* dec.2006, volume 172, issue 9, page: 175.
36. J.Joule, K.Mills, Heterocyclic chemistry,pages:121.
37. James, Alkene addition pattern vol.2, the three membered ring pathways.
38. M. Begg, A. Miah, H.Abbas, Lead Identification of Benzimidazole and Azabenzimidazole Arylsulfonamides as CC-Chemokine Receptor 4 Antagonists, Departments of Medicinal Chemistry,a Respiratory Biology,b Respiratory TAU, GlaxoSmithKline Medicines Research Centre, page 23.
39. J.Fischer, H. Ritter, Oligomeric epoxide–amine adducts based on 2-amino-*N*-isopropylacetamide and α-amino-ε-caprolactam: Solubility in presence of cyclodextrin and curing properties, "Superstructures with cyclodextrins: Chemistry and applications", *J. Org. Chem.* **2013,** *9,* 2803–2811.
40. D. Zhang, X. Xing, G. D. Cuny, Enantiomerically pure hydantoins are prepared from optically pure α-amino amides utilizing triphosgene. A mechanism for the racemization observed with 1,1′-carbonyldiimidazole (CDI) for this type of reaction is proposed, *J. Org. Chem.*, **2006**, *71*, 1750-1753.

41. M.Blackburn, Nucleic Acids in Chemistry and Biology chapter 3.1.1 formation of the glycosidic bond, pages:79-84.
42. Diekmann, E.; Friedrich, K.; Fritz, H.-G. *J. Prakt. Chem.* **1993**, *335*, 415.
43. Y. Ishido, T.Sato, Bull. Chem. Soc. Jpn.1961, 34, 1347.
44. Vorbrüggen, H.; Bennua, B. *Tetrahedron Lett.* **1978**, 1339.

# ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα Διπλωματική Εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο του Τομέα Φαρμακευτικής Χημείας του Τμήματος Φαρμακευτικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Στο σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω τους καθηγητές μου κ. Παναγιώτη Μαράκο και κα Νικολέττα Πουλή για την καθοδήγησή τους καθώς και την συμπαράστασή τους καθ'όλα τα στάδια της παρούσας εργασίας. Τέλος ένα μεγάλο ευχαριστώ και στον μεταδιδακτορικό ερευνητή κ. Νίκο Λουγιάκη για την ανεκτίμητη εργαστηριακή συμβολή και συμβουλή του.