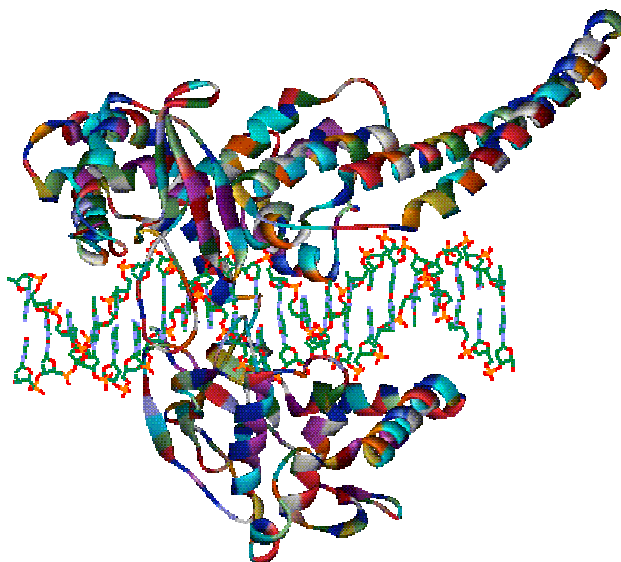




ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

Σχεδιασμός και σύνθεση
νέων αζα-ακριδινικών παραγώγων
ως αναστολέων τοποϊσομερασών



ΜΑΡΙΑ Σ. ΚΑΡΕΛΟΥ
ΦΑΡΜΑΚΟΠΟΙΟΣ

ΑΘΗΝΑ
ΙΟΥΛΙΟΣ 2015

Στους γονείς μου, Σωτήρη και Λούλα
Στον αδερφό μου, Παντελή

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΙΩΑΝΝΗΣ Κ. ΚΩΣΤΑΚΗΣ, ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ (επιβλέπων)

ΑΝΔΡΕΑΣ ΤΣΟΤΙΝΗΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΓΡΗΓΟΡΗΣ ΖΩΙΔΗΣ, ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στον τομέα Φαρμακευτικής Χημείας, του τμήματος Φαρμακευτικής, του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά και ειλικρινά τον επιβλέποντα καθηγητή μου, επίκουρο καθηγητή, κύριο Ιωάννη Κ. Κωστάκη, για τη συνεχή και αδιάκοπη καθοδήγηση και βοήθειά του, τις γνώσεις που μου μετέδωσε, τις πολύτιμες συμβουλές και υποδείξεις του, τη στήριξή του καθώς και την πολύτιμη ηθική συμπαράστασή του σε όλη τη διάρκεια εκπόνησης του μεταπτυχιακού μου.

Ευχαριστώ τα μέλη της τριμελούς επιτροπής που αποτελείται από τον κύριο Τσοτίνη Ανδρέα, Καθηγητή και τον κύριο Ζωΐδη Γρηγόρη, Επίκουρο Καθηγητή για τις εύστοχες διορθώσεις και συμβουλές τους.

Ευχαριστώ τον Dr Yves Romier, (NCI, Bethesda) καθώς και την ερευνητική του ομάδα για την πραγματοποίηση των φαρμακολογικών πειραμάτων.

Επιπλέον ευχαριστώ τον κύριο Ευάγγελο Γκίκα, Επίκουρο Καθηγητή για τη καθοδήγησή του στους μοριακούς υπολογισμούς που πραγματοποιήθηκαν.

Ευχαριστώ τους συναδέλφους μου στο εργαστήριο, Αντώνη, Κωνσταντίνο, Χρήστο, καθώς και τις φίλες μου Αμαλία, Γιάννα, και Ρωξάνη για την άψογη συνεργασία καθώς και το ιδιαίτερα ευχάριστο κλίμα που μου παρείχαν.

Ευχαριστώ επίσης τις συναδέλφους μου στον τομέα Φαρμακευτικής Χημείας και φίλες μου, Ροδούλα, Άννα, Κλόντια και Μαρίζα για τη συμπαράστασή τους.

Ευχαριστώ πολύ τους γονείς μου και τον αδερφό μου που είναι συνεχώς δίπλα μου και με στηρίζουν σε κάθε βήμα της ζωής μου. Χωρίς την οικονομική καθώς και την ηθική στήριξη τους οι σπουδές μου θα ήταν αδύνατες.

Ευχαριστώ την κυρία Έφη Ροδανάκη για τη βοήθειά της καθώς και τις φίλες μου Αριστιάννα, Ερωφίλη, Νικητία, Ελευθερία και Τίνα για την αληθινή φιλία και υπομονή τους όλα αυτά τα χρόνια.

Table of Contents

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	5
ABSTRACT.....	6
1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	7
1.1 Γενικές πληροφορίες περί καρκίνου	7
1.2 Θεραπευτική αντιμετώπιση καρκίνου.....	9
1.2.1 Αντιμεταβολίτες.....	11
1.2.2 Ορμονικές θεραπείες.....	12
1.2.3 Αντικαρκινικά φάρμακα που δρουν μέσω ελευθέρων ριζών (οξειδωτική αποικοδόμηση του DNA)	12
1.2.4 Αλκυλιωτικοί παράγοντες	12
1.2.5 Αναστολείς της λειτουργίας των μικροσωληνίσκων	12
1.2.6 Φάρμακα που επιδρούν άμεσα ή έμμεσα στο DNA, χωρίς να συνδέονται με ομοιολογικό δεσμό- Παράγοντες ενδοπαρεμβολής και αναστολής ενζύμων.....	13
1.3 Τοποϊσομερασες.....	15
1.3.1 Τοποϊσομεραση I	16
1.3.2 Τοποϊσομεραση II	199
1.3.3 Αναστολείς Τοποϊσομερασών	23
1.3.3.1 Αναστολείς της τοποϊσομεράσης I.....	24
1.3.3.2 Αναστολείς της τοποϊσομεράσης II.....	324
1.4 Σχεδιασμός.....	424
2. ΧΗΜΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	49
3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	69
Παρασκευή του 2,6-διχλωρο-3-νιτρο-βενζοϊκού οξέος (2)	69
Παρασκευή του 3-νιτρο-2-(πυριδιν-2-υλαμινο)-6-χλωροβενζοϊκού οξέος (4)	70
Παρασκευή της 1-χλωρο-4-νιτρο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-11-όνης (5)	70
Παρασκευή της 1-{2-[(διαιθυλαμινο)αιθυλ]αμινο}-4-νιτρο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-11-όνης (6)	71
Παρασκευή της 1-{2-[(διμεθυλαμινο)αιθυλ]αμινο}-4-νιτρο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-11-όνης (7)	72
Παρασκευή της 1-{2-[(διαιθυλαμινο)προπυλ]αμινο}-4-νιτρο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-11-όνης (8)	73
Παρασκευή της 1-{2-[(διμεθυλαμινο)προπυλ]αμινο}-4-νιτρο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-11-όνης (9)	74
Παρασκευή του 2-χλωρο-N-1-((2-(διαιθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμίδιου (14)	75

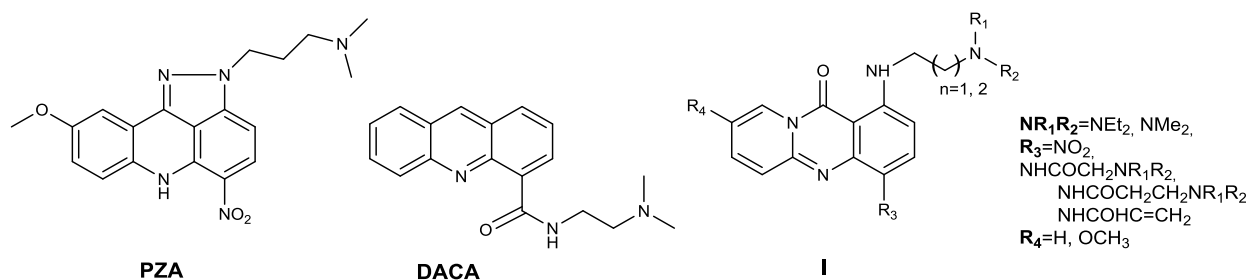
(Παρασκευή του 2-(διαιθυλαμινο)-N-1-((2-(διαιθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (18)	76
Παρασκευή του N-(1-((2-(διαιθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-11οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακρυλαμιδίου (26)	77
Παρασκευή του 3-(διαιθυλαμινο)-N-1-((3-(διαιθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)προπαναμιδίου (30)	78
Παρασκευή του 2-χλωρο-N-1-((2-(διμεθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-11H-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (15)	79
Παρασκευήτου 2-(διμεθυλαμινο)-N-1-((2-(διμεθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (19)	80
Παρασκευή του N-(1-((2-(διμεθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακρυλαμιδίου (27)	81
Παρασκευή του 3-(διμεθυλαμινο)-N-1-((2-(διμεθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)προπαναμιδίου (31)	82
Παρασκευή του 2-χλωρο-N-1-((3-(διαιθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (16)	83
Παρασκευή του 2-(διαιθυλαμινο)-N-1-((3-(διαιθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (20)	84
Παρασκευή του N-1-((3-(διαιθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακρυλαμιδίου (28)	85
Παρασκευή του 3-(διαιθυλαμινο)-N-1-((3-(διαιθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)προπαναμιδίου (32)	86
Παρασκευή του 2-χλωρο-N-1-((3-(διμεθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (17)	87
Παρασκευή του 2-διμεθυλαμινο-N-1-((3-(διμεθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (21)	88
Παρασκευή του N-1-((3-(διμεθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακρυλαμιδίου (29)	89
Παρασκευή του 3-διμεθυλαμινο-N-1-((3-(διμεθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ) (33)	90
Παρασκευή της 2-νιτρο-5-χλωροπυριδίνης (35)	91
Παρασκευή της 2-νιτρο-5-μεθοξυπυριδίνης (36)	91
Παρασκευή της 2-αμινο-5-ιωδοπυριδίνης (38)	92

Παρασκευή της 2-αμινο-5-μεθοξυ-πυριδίνης (37)	93
Παρασκευή του 2-((5-μεθοξυπυριδιν-2-υλ)αμινο)-3-νιτρο-6-χλωρο-βενζοϊκού οξέος (39)	93
Παρασκευή της 8-μεθοξυ-4-νιτρο-1-χλωρο-11 <i>H</i> -πυριδο[2,1- <i>b</i>]κιναζολιν-11-όνης (40)	94
Παρασκευή της 1-(2-((διαιθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-4-νιτρο-11 <i>H</i> -πυριδο[2,1- <i>b</i>]κιναζολιν-11-όνης (41)	95
Παρασκευή της 1-(2-((διμεθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-4-νιτρο-11 <i>H</i> -πυριδο[2,1- <i>b</i>]κιναζολιν-11-όνης (42)	96
Παρασκευή της 1-(2-((διαιθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-4-νιτρο-11 <i>H</i> -πυριδο[2,1- <i>b</i>]κιναζολιν-11-όνης (43)	97
Παρασκευή της 1-(2-((διμεθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-4-νιτρο-11 <i>H</i> -πυριδο[2,1- <i>b</i>]κιναζολιν-11-όνης (44)	98
Παρασκευή του 2-χλωρο- <i>N</i> -(1-(2-((διαιθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11-οξο-11 <i>H</i> -πυριδο[2,1- <i>b</i>]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (49)	99
Παρασκευή του 2-διαιθυλαμινο- <i>N</i> -(1-(2-((διαιθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11-οξο-11 <i>H</i> -πυριδο[2,1- <i>b</i>]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (53)	100
Παρασκευή του <i>N</i> -(1-(2-((διαιθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11-οξο-11 <i>H</i> -πυριδο[2,1- <i>b</i>]κιναζολιν-4-υλ)ακρυλαμιδίου (57)	101
Παρασκευή του 3-διαιθυλαμινο- <i>N</i> -(1-(2-((διαιθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11 <i>H</i> -οξο-11-πυριδο[2,1- <i>b</i>]κιναζολιν-4-υλ)προπαναμιδίου (63)	102
Παρασκευή του 2-χλωρο- <i>N</i> -(1-(2-((διμεθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11 <i>H</i> -οξο-11-πυριδο[2,1- <i>b</i>]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (50)	103
Παρασκευή του 2-διμεθυλαμινο- <i>N</i> -(1-(2-((διμεθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11 <i>H</i> -οξο-11-πυριδο[2,1- <i>b</i>]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (54)	104
Παρασκευή του 3-διμεθυλαμινο- <i>N</i> -(1-(2-((διμεθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11-οξο-11 <i>H</i> -πυριδο[2,1- <i>b</i>]κιναζολιν-4-υλ)προπαναμιδίου (64)	105
Παρασκευή του 2-χλωρο- <i>N</i> -(1-(3-((διαιθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11-οξο-11 <i>H</i> -πυριδο[2,1- <i>b</i>]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (51)	106
Παρασκευή του 2-διαιθυλαμινο- <i>N</i> -(1-(3-((διαιθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11-οξο-11 <i>H</i> -πυριδο[2,1- <i>b</i>]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (55)	107
Παρασκευή του <i>N</i> -(1-(3-((διαιθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11-οξο-11 <i>H</i> -πυριδο[2,1- <i>b</i>]κιναζολιν-4-υλ)ακρυλαμιδίου (58)	108
Παρασκευή του 3-διαιθυλαμινο- <i>N</i> -(1-(3-((διαιθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11-οξο-11 <i>H</i>	

-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)προπαναμιδίου (65)	110
Παρασκευή του 2-χλωρο-N-(1-(3-((διμεθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11-οξο-11 <i>H</i>	
-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (52)	111
Παρασκευή του 2-δισουλφαμινο-N-(1-(3-((δισουλφαμινο)προπυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11-οξο-11 <i>H</i>	
-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (56)	112
Παρασκευή του 3-διμεθυλαμινο-N-(1-(3-((διμεθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11-οξο-11 <i>H</i>	
-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)προπαναμιδίου (66)	113
4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	111

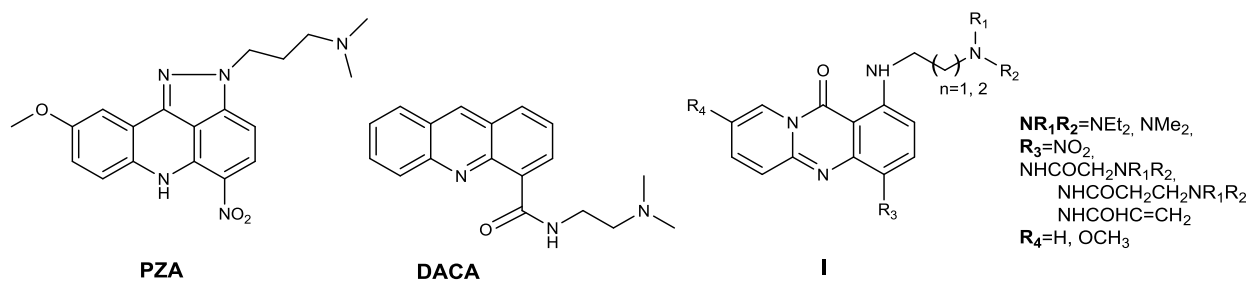
ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι τοποϊσομεράσες είναι ένζυμα που ρυθμίζουν την τοπολογία του DNA επιτρέποντας έτσι να γίνουν οι λειτουργίες του, δηλαδή η αντιγραφή, η μεταγραφή και η συμπύκνωση της χρωματίνης. Δρουν προκαλώντας προσωρινό σπάσιμο στη διπλή έλικα του DNA (οι τύπου I προκαλούν σπάσιμο στον έναν κλώνο, ενώ οι τύπου II και στους δύο κλώνους), δημιουργώντας έτσι ένα παροδικό σύμπλοκο ενζύμου-DNA. Οι αναστολείς των τοποϊσομερασών σταθεροποιούν αυτό το σύμπλοκο κάτι που οδηγεί σε μη αναστρέψιμο σπάσιμο της διπλής έλικας και συνεπώς στην απόπτωση των καρκινικών κυττάρων. Ανάμεσα στους αναστολείς αυτούς, σημαντική δράση έχουν δείξει τα ακριδινικά παράγωγα PZA και DACA, τα οποία έχουν αποτελέσει ενώσεις οδηγούς για τη σύνθεση πολλών νέων αμινοποκατεστημένων ακριδινικών παραγώγων ως πιθανών αναστολέων. Μεγάλη σημασία δίνεται στην τροποποίηση του χρωμοφόρου τους με σκοπό την αύξηση της δράσης τους και τη μείωση των σοβαρών παρενεργειών τους. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται η σύνθεση κάποιων νέων αζαακριдино-αμινοουποκατεστημένων παραγώγων. Στόχος μας είναι να κατανοήσουμε τις σχέσεις δομής-δράσης σχετικά με την επίδραση της εισαγωγής ενός αζώτου στον ακριδινικό πυρήνα, την επίδραση της νιτροομάδας, της αμινοουποκατεστημένης αλυσίδας και της α , β ακόρεστης ομάδας.



ABSTRACT

Topoisomerases take an active part at replication, transcription and chromatin condensation of DNA. Their activity is based on the break of DNA double helix (single strand break from topoisomerase I or double strand break from topoisomerase II) by creating a transient enzyme-DNA complex. The topoisomerase inhibitors act by stabilizing this complex, which causes irreversible breakage of the double helix of DNA, thereby leading to apoptosis of tumor cells. Among different classes of topoisomerase inhibitors, PZA and DACA have been extensively studied and were also used as lead compounds for the development of structurally related analogues. Much effort has been devoted to the modification of the chromophore in order to optimize its characteristics, regarding severe side effects and solubility under physiological conditions, resulting in the development of a number of aminosubstituted acridine derivatives. Prompted by the above mentioned studies we present here the synthesis of some novel aza-acridone aminosubstituted compounds. Our aim is to understand the structure–activity relationships regarding the impact of the fused nitrogen in the acridone core, the impact of the nitro, the aminosubstituted side chain and the α,β unsaturated group.



1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Γενικές πληροφορίες περί καρκίνου

Τα κύτταρα στο σώμα μας αυξάνονται, διαιρούνται και πεθαίνουν με έναν αυστηρά ελεγχόμενο τρόπο. Οι προσεκτικά ρυθμιζόμενοι μηχανισμοί που ελέγχουν αυτές τις διεργασίες μπορεί να απορρυθμιστούν, οδηγώντας σε καταστροφικές συνέπειες. Το σημαντικότερο νόσημα ανανέωσης των ιστών είναι ο καρκίνος. Ο καρκίνος είναι μια ασθένεια στην οποία υπάρχει ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός και διασπορά στο σώμα, ανώμαλων μορφών κυττάρων του ίδιου του σώματος. Είναι μία από τις σημαντικότερες αιτίες θανάτου στα ανεπτυγμένα κράτη. Τα καρκινικά κύτταρα χαρακτηρίζονται από δύο κληρονομικές ιδιότητες. Αυτά τα ίδια και οι απόγονοί τους

- αναπαράγονται αψηφώντας τους φυσιολογικούς περιορισμούς, και
- διεισδύουν και αποικίζουν τόπους που κανονικά αποτελούν την επικράτεια άλλων κυττάρων.

Ο ιδιαίτερος κίνδυνος του καρκίνου δημιουργείται από το συνδυασμό αυτών των δύο χαρακτηριστικών. Τα κύτταρα που έχουν την πρώτη όχι όμως και τη δεύτερη ιδιότητα, πολλαπλασιάζονται υπέρμετρα αλλά παραμένουν συναθροισμένα σε μία ενιαία μάζα και μπορεί να δημιουργήσουν έναν όγκο (ή νεόπλασμα). Στην περίπτωση αυτή ο όγκος χαρακτηρίζεται ως καλοήθης και συνήθως μπορεί να αφαιρεθεί πλήρως με χειρουργική επέμβαση. Ένας όγκος είναι καρκινικός μόνο αν τα κύτταρα του έχουν την ικανότητα να διεισδύουν στους περιβάλλοντες ιστούς: στην περίπτωση αυτή ο όγκος χαρακτηρίζεται ως κακοήθης. Τα κακοήθη καρκινικά κύτταρα με τη διεισδυτική ικανότητα μπορεί να εγκαταλείψουν τον πρωτοπαθή όγκο, να εισέλθουν στην κυκλοφορία του αίματος ή στα λεμφαγγεία και να σχηματίσουν δευτεροπαθείς όγκους, ή αλλιώς μεταστάσεις, σε άλλες θέσεις του σώματος. Όσο περισσότερο έχει διασπαρεί ο όγκος τόσο δυσκολότερο είναι να αντιμετωπιστεί.¹

Ένα φυσιολογικό κύτταρο μετατρέπεται σε καρκινικό ως αποτέλεσμα μιας ή περισσότερων μεταλλάξεων στο DNA του, οι οποίες μπορεί να είναι επίκτητες ή κληρονομούμενες (αυτό που κληρονομείται δεν είναι ο ίδιος ο καρκίνος αλλά ένα γονίδιο που έχει μεταλλαχθεί και προδιαθέτει στην εμφάνιση καρκίνου).

Σήμερα είναι γνωστοί δύο κύριοι τύποι μεταλλάξεων:

- οι σωματικές που συμβαίνουν σε διάσπαρτα μεμονωμένα κύτταρα του ώριμου σώματος, και

- οι μεταλλάξεις της γαμετικής σειράς που μεταβιβάζονται από τα γαμετικά κύτταρα από τα οποία αναπτύσσεται ολόκληρος ο πολυκύτταρος οργανισμός.¹

Οι περισσότεροι παράγοντες που προδιαθέτουν στην ανάπτυξη καρκίνου είναι μεταλλαξιγόνοι, οι οποίοι προκαλούν αλλαγές στην αλληλουχία των νουκλεοτιδίων του DNA και σε αυτούς συμπεριλαμβάνονται τα χημικά καρκινογόνα αλλά και η ιονίζουσα ακτινοβολία. Εκτός όμως από τους εξωγενείς μεταλλαξιγόνους παράγοντες, μεταλλάξεις συμβαίνουν και αυθόρμητα με συχνότητα περίπου 10^{-6} ή 10^{-7} ανά γονίδιο, ανά κυτταρική διαίρεση. Λαμβάνοντας όμως υπ' όψιν το γεγονός ότι σε όλη τη ζωή του ανθρώπου συμβαίνουν περίπου 10^{16} κυτταρικές διαιρέσεις, κάθε γονίδιο μπορεί να υποστεί μετάλλαξη περίπου σε 10^9 διαφορετικές περιστάσεις. Με λίγα λόγια για να μετατραπεί ένα φυσιολογικό κύτταρο σε καρκινικό απαιτούνται περισσότερες από μία μεταλλάξεις.¹

Υπάρχουν δύο βασικές κατηγορίες γενετικών αλλαγών που οδηγούν σε καρκινογένεση:²

- Η μετατροπή πρωτο-ογκογονιδίων σε ογκογονίδια
- Η αδρανοποίηση ογκοκατασταλτικών γονιδίων

Ογκογονίδιο είναι η περιοχή του γενετικού υλικού που φέρει τις πληροφορίες για την πρόκληση καρκίνου, ενώ τα πρωτο-ογκογονίδια υπό φυσιολογικές συνθήκες ελέγχουν την κυτταρική διαίρεση, την απόπτωση και τη διαφοροποίηση. Τα ογκοκατασταλτικά (αντιογκογονίδια) είναι γονίδια που καταστέλλουν την τάση προς κακοήγη εξαλλαγή.²

Η ταξινόμηση του καρκίνου γίνεται με βάση τον τύπο του ιστού στον οποίο εντοπίζεται (ιστικός τύπος) αλλά και τον τύπο των κυττάρων που αποτελούν τον όγκο (κυτταρικός τύπος). Ως εκ τούτου διακρίνονται περισσότεροι από 150 τύποι καρκίνου στον άνθρωπο, διαφορετικής συμπεριφοράς.³ Ανάλογα με τον ιστό στον οποίο ανήκουν, η διάκριση του καρκίνου γίνεται σε δύο κύριους τύπους, το καρκίνωμα³ και το σάρκωμα⁴. Το καρκίνωμα αναφέρεται σε καρκίνους επιθηλιακών ιστών, οι οποίοι καλύπτουν το εξωτερικό του σώματος (δέρμα) και επενδύουν τις εσωτερικές κοιλότητες των οργάνων όπως του μαστού, του αναπνευστικού και γαστρεντερικού συστήματος, των ενδοκρινών αδένων (υπόφυση, θυρεοειδής, επινεφρίδια) καθώς και του ουροποιητικού και γεννητικού συστήματος. Το σάρκωμα είναι κακοήθης όγκος των μαλακών μορίων (μυών, λίπους, αγγείων, νεύρων, δέρματος κλπ) αλλά και των οστών. Μπορεί να φθάσει σε πολύ μεγάλο μέγεθος, χωρίς να δίνει κανένα σύμπτωμα και συνήθως αντιμετωπίζεται με χειρουργική αφαίρεση.

Όπως είναι κατανοητό, λόγω της πολυπλοκότητας της νόσου, τα αίτια για την ανάπτυξη του καρκίνου είναι πολλά και περίπλοκα. Οι ειδικοί λοιπόν μιλούν για «παράγοντες κινδύνου» και όχι για αίτια. Οι παράγοντες αυτοί συμβάλλουν στην πρόκληση του, ωστόσο ο καρκίνος δεν

οφείλεται ειδικά σε έναν απ' αυτούς. Έτσι, η πρόβλεψη της εμφάνισης καρκίνου είναι κάτι ιδιαίτερα περίπλοκο.⁵ Οι παράγοντες αυτοί μπορούν να συνοψισθούν ως εξής:

- *Ηλικία:* Αυξάνει τον κίνδυνο, σχεδόν σε όλους τους τύπους καρκίνου.
- *Κληρονομικότητα:* Η σημασία της διαφέρει σε κάθε ασθενή. Η γενετική προδιάθεση είναι σημαντικός παράγοντας, σε καμιά περίπτωση όμως δεν σημαίνει πως κάποιος θα εμφανίσει σίγουρα καρκίνο.
 - *Περιβάλλον:* Σχετίζεται με τον τρόπο και τον τόπο που ζούμε.
 - *Κάπνισμα:* Συνδέεται με καρκίνο του πνεύμονα, της κεφαλής και του τραχήλου, της ουροδόχου κύστης, των νεφρών, του στομάχου, του τραχήλου της μήτρας, του παγκρέατος, καθώς και με κάποιες λευχαιμίες.
 - *Ηλιακή ακτινοβολία:* Υπερβολική έκθεση σε ηλιακό φως συνδέεται με καρκίνο του δέρματος.
 - *Διατροφή:* Διατροφικοί παράγοντες συνδέονται με διάφορους καρκίνους όπως του πεπτικού, του μαστού, του προστάτη και της μήτρας. Διατροφικές συνήθειες που ίσως συντελούν σε καρκίνο είναι η υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ, λίπους και άλλων τροφών. Ελλιπής πρόσληψη φυτικών ινών, τροφών πλούσιων σε αντιοξειδωτικά, βιταμινών και μετάλλων αποτελούν επιβαρυντικούς παράγοντες για την εμφάνιση της νόσου.
 - *Περιβαλλοντικά καρκινογόνα:* Περιλαμβάνονται διάφορα χημικά (αέρια ή άλλες ουσίες στον αέρα, το νερό και σε τροφές), φυτοφάρμακα, καπνός τσιγάρου, προϊόντα καθαρισμού, χρώματα κ.α.
 - *Ακτινοβολία:* Μεγάλη έκθεση σε ιονίζουσα ακτινοβολία, όπως ακτίνες Χ, συνδέεται με εμφάνιση καρκίνου.
 - *Ασθένειες:* Ορισμένοι ιοί, όπως του AIDS, της ηπατίτιδας Β, των κονδυλωμάτων και ο ιός Epstein- Barr συνδέονται με εμφάνιση καρκίνου.
 - *Τέλος, το στρες και η ιδιοσυγκρασία του κάθε ατόμου ενοχοποιούνται για καρκίνο, όμως το ποσοστό συμμετοχής τους δύσκολα θα αποδειχτεί επιστημονικά.*

1.2 Θεραπευτική αντιμετώπιση καρκίνου

Η επιλογή της θεραπείας του καρκίνου σχετίζεται με το είδος του, τον προσβληθέντα ιστό καθώς και το στάδιο της νόσου. Ωστόσο λόγω της πολυπλοκότητας αλλά και του εύρους των περιπτώσεων της νόσου απαιτείται συνδυασμός των παρακάτω κλασικών μεθόδων αντιμετώπισης:

- *Χειρουργική επέμβαση:* Για την επιτυχή έκβαση μιας χειρουργικής επέμβασης θα πρέπει η νόσος να βρίσκεται σε αρχικό στάδιο και να υπάρχουν οι λιγότερες δυνατές πιθανότητες να επηρεαστούν παρακείμενοι ιστοί και ζωτικά όργανα. Επιπλέον, έχει

θεραπευτικό και διαγνωστικό χαρακτήρα και συνήθως συνδυάζεται με άλλες μεθόδους.⁶

- **Ακτινοβολία:** Μέσω πρόκλησης βλάβης στο DNA των καρκινικών κυττάρων, η ακτινοβολία οδηγεί είτε σε μείωση του μεγέθους του όγκου, είτε σε πλήρη καταστροφή του. Συνήθως εφαρμόζεται η εκπομπή ακτίνων Χ, οι οποίες εστιάζονται απευθείας πάνω στον όγκο.⁶
- **Ανοσοθεραπεία:** Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στην ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος του οργανισμού για την καταπολέμηση των κακοήθων όγκων. Αυτό επιτυγχάνεται με την αύξηση του αριθμού των λεμφοκυττάρων και ιδιαιτέρως των Τ και των Β λεμφοκυττάρων.⁶
- **Χημειοθεραπεία:** Η χημειοθεραπεία αποτελεί ίσως τον σημαντικότερο από τους τρόπους αντιμετώπισης του καρκίνου. Τα περισσότερα χημειοθεραπευτικά φάρμακα που χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη έχουν ως στόχο την εξάλειψη των κακοήθων κυττάρων, αναστέλλοντας μηχανισμούς που εμπλέκονται στην κυτταρική διαίρεση. Ως εκ τούτου, η μεγάλη πλειοψηφία των αντικαρκινικών φαρμάκων είναι κυτταροστατικά ή κυτταροτοξικά.

Είναι φανερό ότι η χημειοθεραπεία του καρκίνου αποτελεί ένα πολύ δύσκολο έργο. Το κύριο πρόβλημα της είναι η μη εκλεκτική τοξικότητα, λόγω της κατανομής των αντικαρκινικών φαρμάκων στο σώμα, κάτι που ενισχύεται από το γεγονός ότι απαιτείται η χορήγηση μεγάλης δόσης, για την επίτευξη θεραπευτικών συγκεντρώσεων στον όγκο.⁷ Παρόλα αυτά, η ραγδαία εξέλιξη της βιολογίας και παθοφυσιολογίας του καρκίνου τις τελευταίες δεκαετίες, οδηγεί στην ανάπτυξη πιο δραστικών και αποτελεσματικών αντικαρκινικών φαρμάκων με υψηλότερη εξειδίκευση. Ένα δεύτερο μεγάλο πρόβλημα της χημειοθεραπείας είναι η ανάπτυξη αντοχής. Μετά την ανάπτυξη αντοχής ως απάντηση σε ένα φάρμακο, τα καρκινικά κύτταρα είναι ικανά να αναπτύξουν αντοχή σε άλλα μόρια, διαφορετικής δομής και μηχανισμού δράσης. Το φαινόμενο αυτό είναι γνωστό σαν φαινόμενο πολλαπλής διασταυρούμενης αντοχής (MultiDrugResistance, MDR), στο οποίο ATP-εξαρτώμενοι μεταφορείς διαδραματίζουν ένα σημαντικό ρόλο.⁸

Τα περισσότερα αντικαρκινικά φάρμακα αλληλεπιδρούν με τα νουκλεϊνικά οξέα ή επεμβαίνουν σε ένζυμα και άλλα κυτταρικά υποστρώματα που σχετίζονται με την λειτουργία των νουκλεϊνικών οξέων. Ο κύριος μηχανισμός δράσης τους αποτελεί συνήθως κριτήριο για την κατηγοριοποίησή τους, ωστόσο η πλειοψηφία τους παρουσιάζει σύνθετο τρόπο δράσης, με αποτέλεσμα η απόλυτη κατάταξή τους σε κατηγορίες, να είναι όχι μόνο δύσκολη αλλά και σχετικά αυθαίρετη.

Μια από τις προτεινόμενες κατηγοριοποιήσεις είναι η εξής:⁹

1.2.1 Αντιμεταβολίτες

Είναι φάρμακα που επηρεάζουν τον μεταβολισμό του DNA και του RNA των καρκινικών κυττάρων μέσω αναστολής της βιοσύνθεσης των νουκλεϊνικών οξέων.^{9,10} Αυτό επιτυγχάνεται με τρόπο άμεσο, μέσω αναστολής αναβολισμού νουκλεοτιδίων, ή έμμεσο, μέσω αναστολής των ενζύμων που συμμετέχουν στο μεταβολισμό τους. Οι αντιμεταβολίτες επεμβαίνουν στον μεταβολισμό των νουκλεϊνικών οξέων με μια πληθώρα μηχανισμών στους οποίους συμπεριλαμβάνονται οι ακόλουθοι:

- Αναστολή ενζύμων που συμμετέχουν στην βιοσύνθεση των δομικών στοιχείων του DNA (π.χ. διϋδροφολική αναγωγή, ριβονουκλεοτιδική αναγωγή, κ.α.).
- Ενσωμάτωσή τους στην αλυσίδα του DNA με αποτέλεσμα τη διατάραξη της ομαλής λειτουργίας και την ενεργοποίηση της διαδικασίας απόπτωσης.
- Υποκατάσταση των φυσιολογικώς απαντώμενων πουρινών και πυριμιδινών στις αναβολικές οδούς των νουκλεοτιδίων με συνέπεια τη διακοπή του σχηματισμού των βάσεων του DNA (π.χ. αναστολή της συνθετάσης της θυμιδίνης από την 5-φθοροουρακίλη).

Πιο αναλυτικά στους αντιμεταβολίτες συγκαταλέγονται:

1.2.1.1 Ανταγωνιστές του φολικού οξέος

Ο σημαντικότερος αντιπρόσωπος της κατηγορίας αυτής είναι το methotrexate, το οποίο παρεμβαίνει στη λειτουργία της διϋδροφολικής αναγωγάσης (DHFR, Dihydrofolate Reductase), ενζύμου που καταλύει την αναγωγή του φολικού οξέος προς 5,6,7,8-τετραϋδροφολικό οξύ (THF).¹¹

1.2.1.2 Ανάλογα πουρινών

Τα παράγωγα αυτά εμφανίζουν δομικές αναλογίες με τις πουρίνες, αδενίνη και γουανίνη και δρουν είτε μέσω αναστολής σύνθεσης των ριβο- και δεοξυριβονουκλεοτιδίων, είτε μέσω ενσωμάτωσής τους στα νουκλεϊνικά οξέα και διατάραξη της λειτουργίας τους. Οι κυριότεροι αντιπρόσωποι της κατηγορίας είναι οι θειοπουρίνες 6-μερκαπτοπουρίνη και 6-θειογουανίνη. Και τα δύο μόρια αναστέλλουν τη σύνθεση των πουρινών κατόπιν μεταβολικής ενεργοποίησης, μέσω ενσωμάτωσής τους στα νουκλεϊνικά οξέα.¹²

1.2.1.3 Ανάλογα πυριμιδινών

Οι κύριοι εκπρόσωποι αυτής της κατηγορίας είναι φθοροπυριμιδίνες (π.χ. 5-FU) καθώς και νουκλεοζιτικά ανάλογα κυτοσίνης ή αζα-κυτοσίνης με τροποποιημένο τον δακτύλιο της ριβόζης. Οι φθοροπυριμιδίνες δρουν αναστέλλοντας άμεσα την δράση της συνθετάσης της θυμιδίνης,¹³ ενώ το cytarabine, που αποτελεί προϊόν φυσικής προέλευσης, επεμβαίνει στη σύνθεση μόνο του DNA, καθώς ο τριφωσφορικός του εστέρας έχει τη δυνατότητα να

αναστέλλει τις DNA πολυμεράσες, καθώς και να ενσωματώνεται στο DNA παρεμποδίζοντας τις λειτουργίες του.¹⁴

1.2.2 Ορμονικές θεραπείες

Οι θεραπείες καρκίνων με ορμόνες ή ανταγωνιστές τους, αφορούν τύπους καρκίνου που η ανάπτυξη τους εξαρτάται ή επηρεάζεται από την παρουσία ορμονικού ερεθίσματος. Ένας από τους κύριους εκπρόσωπους της κατηγορίας αυτής είναι το tamoxifen, μη στεροειδής ανταγωνιστής της οιστραδιόλης στις θέσεις σύνδεσης με τον υποδοχέα, το οποίο χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση προχωρημένου καρκίνου του μαστού και σε μεταστατικό καρκίνο του μαστού μετά από μαστεκτομή.¹⁵

1.2.3 Αντικαρκινικά φάρμακα που δρουν μέσω ελευθέρων ριζών (οξειδωτική αποικοδόμηση του DNA)

Κύριοι εκπρόσωποι αυτής της κατηγορίας είναι τα *enediynes*, φυσικής προέλευσης αντικαρκινικά αντιβιοτικά. Κοινό δομικό χαρακτηριστικό τους είναι ένα επίπεδο αρωματικό σύστημα συμπυκνωμένο με ένα σύστημα που διαθέτει τουλάχιστον έναν διπλό και δύο τριπλούς δεσμούς. Μέλη αυτής της κατηγορίας φαρμάκων είναι το neocarzinostatin και το dynemicinA.¹⁶ Τα μόρια αυτά αλληλεπιδρούν με το DNA στη μικρή αύλακα και κατόπιν βιομετατροπής τους, προκαλούν οξειδωτική σχάση της αλυσίδας του DNA. Σύμφωνα με τους Myers και Bergman, η βιομετατροπή τους συνίσταται στη δημιουργία ελευθέρων ριζών.¹⁷

1.2.4 Αλκυλιωτικοί παράγοντες

Δρουν προκαλώντας αλκυλίωση σε διάφορες ομάδες νουκλεϊνικών οξέων (συνήθως με το N-7 της γουανίνης και σπανιότερα με το N-1 της αδενίνης ή N-3 της κυτοσίνης και της θυμίνης), ή πρωτεϊνών.¹⁸ Δεν παρουσιάζουν εξειδίκευση όσον αφορά τη φάση του κυτταρικού κύκλου που εκδηλώνεται η δράση τους και είναι τοξικά για όλα τα ταχέως πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα. Στην ευρύτερη αυτή κατηγορία ανήκουν οι μουστάρδες του αζώτου (π.χ. mechlorethamine, cyclophosphamide, chlorambucil), οι αζιριδίνες (π.χ. mitomycin), οι νιτροζουρίες (π.χ. carmustine, iomustine), οι ενώσεις λευκόχρυσου (π.χ. cisplatin, carboplatin) και οι αλκυλοσουλφονικοί εστέρες (π.χ. busulfan).

1.2.5 Αναστολείς της λειτουργίας των μικροσωληνίσκων

Οι μικροσωληνίσκοι είναι πολυμερή που αποτελούνται από την πρωτεΐνη τουμπουλίνη. Είναι οργανίδια που σχηματίζουν τη μιτωτική άτρακτο και είναι απαραίτητα για την διαίρεση του κυττάρου, όπως και για μια σειρά άλλων λειτουργιών. Η τουμπουλίνη αποτελείται από δύο υπομονάδες, την α και την β, και υπό συγκεκριμένες συνθήκες πολυμερίζεται αντιστρεπτά προς τον σχηματισμό μικροσωληνίσκων. Τα μόρια που υπάγονται σε αυτήν την κατηγορία, ασκούν την δράση τους διαταράσσοντας την προαναφερθείσα ισορροπία μεταξύ των ελεύθερων διμερών τουμπουλίνης με την πολυμερισμένη της μορφή, παρεμβαίνοντας έτσι στην διαδικασία της μίτωσης.¹⁹ Οι γνωστότεροι από τους αναστολείς λειτουργίας

μικροσωληνίσκων είναι τα αλκαλοειδή της Vinca και η ταξόλη. Τα αλκαλοειδή της Vinca συνδέονται εκλεκτικά με τα διμερή της ελεύθερης τουμπουλίνης, εμποδίζοντας τον πολυμερισμό και συνεπώς το σχηματισμό της μιτωτικής ατράκτου, με αποτέλεσμα την διακοπή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού.²⁰ Αντίθετα, η δράση ταξόλης και των ανάλογων της οφείλεται στην ικανότητα τους να προάγουν τον πολυμερισμό της τουμπουλίνης και στη συνέχεια να συμπλέκονται με τους μικροσωληνίσκους, εμποδίζοντας τον αποπολυμερισμό τους, με αποτέλεσμα τη διακοπή της μίτωσης.

1.2.6 Φάρμακα που επιδρούν άμεσα ή έμμεσα στο DNA, χωρίς να συνδέονται με ομοιοπολικό δεσμό- Παράγοντες ενδοπαρεμβολής και αναστολής ενζύμων.

Τα φάρμακα αυτά δρουν αλληλεπιδρώντας με τα νουκλειικά οξέα μέσω δεσμών υδρογόνου, δεσμών Vander Waals, υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων, ηλεκτροστατικών δεσμών κ.α.. Με τη σύνδεση τους προκαλούν μεταβολές στη δομή των νουκλεϊνικών οξέων, με αποτέλεσμα να διακόπτονται οι λειτουργίες τους (αντιγραφή, μεταγραφή, μετάφραση) και να προκαλείται απόπτωση του κυττάρου.

1.2.6.1 Παράγοντες ενδοπαρεμβολής.

Πρόκειται για μόρια που διαθέτουν επίπεδα αρωματικά συστήματα. Αυτά τα μόρια ενδοπαρεμβάλλονται στο DNA, εισερχόμενα μεταξύ παρακείμενων ζευγών βάσεων, κάθετα στον άξονα της έλικας. Η διαδικασία της ενδοπαρεμβολής ξεκινά με τη μεταφορά του μορίου από ένα υδρόφιλο περιβάλλον στον υδρόφοβο χώρο μεταξύ των ζευγών βάσεων του DNA, μια διαδικασία που ευνοείται θερμοδυναμικά και έχει σαν αποτέλεσμα την επιμήκυνση της αλυσίδας και γενικά τη μεταβολή της διπλής έλικας.²¹ Η ενδοπαρεμβολή του φαρμάκου στην διπλή έλικα αποτελεί το πρώτο βήμα μιας σειράς αλλαγών στη βιολογία του καρκινικού κυττάρου, που οδηγούν στην απόπτωση του, όπως αναστολή της δράσης ενζύμων (π.χ. πολυμεράσες, τοποϊσομεράσες, τελομεράσες κ.α.), σχάση των κλώνων του DNA και αλκυλίωση. Τα φάρμακα αυτής της κατηγορίας εκτός από κυτταροτοξικά και μεταλλαξιογόνα είναι και καρκινογόνα. Μόρια που ανήκουν σε αυτήν την κατηγορία φαρμάκων είναι παράγωγα ανθρακυκλινών (π.χ. doxorubicin), το mitoxantrone και ανάλογα του, καθώς και κάποια αντικαρκινικά αντιβιοτικά, όπως τα dactinomycin κ.α. .

1.2.6.2 Αναστολείς λειτουργίας τελομεράσης

Στην αντιγραφή του DNA εμπλέκεται ένας μεγάλος αριθμός ενζύμων, με σημαντικότερες ίσως τις DNA πολυμεράσες. Τα ένζυμα αυτά στην πράξη προσθέτουν συμπληρωματικά δεοξυριβονουκλεοτίδια απέναντι από την μητρική αλυσίδα, όμως για να ξεκινήσουν την διαδικασία της αντιγραφής χρειάζονται οπωσδήποτε κάποια μικρά τμήματα RNA, τους εκκινήτες. Η διαδικασία γίνεται μόνο σε κατεύθυνση 5' → 3' με αποτέλεσμα η μία θυγατρική αλυσίδα να συντίθεται συνεχώς ενώ η άλλη να συντίθεται σε κομμάτια (κλάσματα Okazaki). Με τον τρόπο αυτό, λόγω της ύπαρξης του RNA εκκινήτη του τελευταίου κλάσματος Okazaki

στο 5' άκρο του νέου κλώνου, οι DNA πολυμεράσες δεν έχουν την δυνατότητα αντιγραφής της άκρης του DNA και επομένως η καινούρια αλυσίδα είναι ελαφρώς κοντύτερη σε σχέση με την μητρική.

Το πρόβλημα αυτό λύνεται με τα τελομερή. Πρόκειται για σύμπλοκα εξανουκλεοτιδικών επαναλήψεων με τον γενικό τύπο (TTAGGG)*n* και πρωτεϊνών. Σε κάθε διαίρεση τα χρωμοσώματα χάνουν 20-200 ζεύγη βάσεων από τα τελομερή τους και όχι από το DNA αυτό καθ' αυτό. Τα τελομερή λοιπόν συμβάλλουν στην προστασία των άκρων των χρωμοσωμάτων διατηρώντας την χρωμοσωμική ακεραιότητα και αποτρέποντας την αποικοδόμηση και σύντηξη των χρωμοσωμάτων. Προφανώς, σε κάθε διαίρεση χάνονται συνεχώς τελομερή με αποτέλεσμα, μετά από κάποιο αριθμό διαιρέσεων, τα χρωμοσώματα να αναδιατάσσονται και να μεταλλάσσονται. Τελικά τα κύτταρα αδυνατούν να συνεχίσουν με επιτυχία τον πολλαπλασιασμό και εισέρχονται σε διαδικασία απόπτωσης και κυτταρικού θανάτου.

Πώς όμως δημιουργούνται οι επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες στα τελομερή; Ένα ένζυμο, που ονομάζεται τελομεράση, το οποίο εκτελεί αυτή τη λειτουργία έχει απομονωθεί και χαρακτηριστεί. Οι Elizabeth Blackburn και Carol Greider ανακάλυψαν ότι αποτελείται από δύο υπομονάδες, μια RNA υπομονάδα (εκμαγείο για τη σύνθεση του συμπληρωματικού DNA) και μια υπομονάδα με δράση αντίστροφης μεταγραφάσης. Η τελομεράση λοιπόν, συμμετέχοντας στην διαδικασία αντιγραφής του DNA προσθέτει νέα τελομερή, παρέχοντας στα κύτταρα την δυνατότητα για «απεριόριστο» αριθμό διαιρέσεων με την προϋπόθεση ότι τα κύτταρα φέρουν ενεργή τελομεράση.

Τα καρκινικά κύτταρα έχουν αναπτύξει μηχανισμούς για τη διατήρηση του τελομερικού DNA. Στο 80-85 % των καρκινικών κύτταρων παρατηρείται υπερλειτουργία της τελομεράσης, γεγονός που δείχνει ότι η υπερδραστηριότητα του ενζύμου αυτού κατέχει ένα σημαντικό ρόλο στην καρκινογένεση, κάνοντας το καρκινικό κύτταρο «αθάνατο». Ως εκ τούτου, η αναστολή της υπερδραστήριας τελομεράσης των καρκινικών κυττάρων αποτελεί έναν ελκυστικό στόχο για την ανάπτυξη νέων, εκλεκτικών, αντικαρκινικών παραγόντων.²²

Μία σημαντική ιδιότητα των περιοχών που είναι πλούσιες σε γουανίνη, όπως το ανθρώπινο τελομερικό DNA, είναι η δημιουργία των λεγόμενων G-quadruplex δομών. Οι δομές αυτές σχηματίζονται από πλούσιες σε γουανίνη αλληλουχίες νουκλεϊκών οξέων και έχουν λάβει μεγάλη προσοχή πρόσφατα. Δημιουργείται μια τετρακλωνική δομή όπου 4 βάσεις γουανίνης ενώνονται μέσω δεσμών υδρογόνου για να κάνουν μια τετράγωνη επίπεδη δομή που ονομάζεται G-τετράδα (G-tetrad). Δύο ή περισσότερες τετράδες γουανίνης μπορούν να τοποθετηθούν η μια πάνω από την άλλη για να σχηματίσουν το G-quadruplex.²³ Διαπιστώθηκε ότι η τελομεράση δεν αναγνωρίζει αυτές τις δομές. Ως εκ τούτου, σχεδιάστηκαν μόρια που έχουν ως στόχο τη σταθεροποίηση των *G-quadruplexes*, με σκοπό την αναστολή της δράσης της τελομερασης.^{23,24} Στα μόρια αυτά σπουδαίο ρόλο κατέχουν συνθετικά παράγωγα

ακριδινών, τα οποία μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως εξής: 1) τρεις υποκατεστημένες ακριδίνες στις θέσεις 3,6 και 9 και 2) πυριδοακριδίνες.

Η θεραπεία του καρκίνου με στόχο την τελομεράση βρίσκεται σε πρώιμο στάδιο, και συγκεντρώνει μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον, αφού η στόχευση της υπερδραστικής τελομεράσης στα καρκινικά κύτταρα, μπορεί να οδηγήσει σε ενώσεις με υψηλή εκλεκτικότητα.

1.2.6.3 Αναστολείς της λειτουργίας των τοποϊσομερασών.

Μια πολύ σημαντική κατηγορία χημειοθεραπευτικών φαρμάκων είναι οι αναστολείς των τοποϊσομερασών. Οι τοποϊσομεράσες ανακαλύφθηκαν για πρώτη φορά το 1971, ως ένα ένζυμο της *E. Coli*, το οποίο μπορούσε να μετατρέψει αρνητικώς υπερελικωμένο DNA στη χαλαρή του μορφή.^{25,26} Από τότε, ένζυμα αυτού του είδους έχουν περιγραφεί σε πολλούς οργανισμούς από τα βακτήρια μέχρι τον άνθρωπο. Εκτός από το βασικό τους ρόλο που είναι η επίλυση τοπολογικών προβλημάτων που υπάρχουν σε όλες τις διαδικασίες που συμμετέχουν τα νουκλεϊκά οξέα, τα ένζυμα αυτά έχουν αποτελέσει μοριακούς στόχους πολλών αντιβιοτικών και αντικαρκινικών φαρμάκων.

1.3 Τοποϊσομεράσες

Όπως αναφέρθηκε ήδη, οι τοποϊσομεράσες είναι ένζυμα που τροποποιούν και διαμορφώνουν την τοπολογία, δηλαδή την διάταξη στο χώρο του δίκλωνου DNA, χωρίς όμως να μεταβάλλουν την ακολουθία των νουκλεοτιδίων. Δρουν αρχικά διασπώντας και συνέχεια επανασχηματίζοντας των φωσφοδιεστερικό δεσμό μεταξύ των νουκλεοτιδίων στην έλικα του DNA. Με τον τρόπο αυτό είναι εφικτό το ξετύλιγμα του DNA και κατεπέκταση η χαλάρωση της υπερελικωμένης του μορφής. Η χαλάρωση αυτή είναι ουσιαστική για την δράση ενζύμων όπως οι DNA και RNA πολυμεράσες, καθιστώντας έτσι τις τοποϊσομεράσες απαραίτητες για τις διαδικασίες της αντιγραφής, μεταγραφής και μετάφρασης του DNA καθώς και για τον ανασυνδυασμό του DNA.

Η πρώτη τοποϊσομεράση που ανακαλύφθηκε ήταν η τοποϊσομεράση I της *E.Coli*, το 1971, και αρχικά ονομάστηκε πρωτεΐνη ω, ενώ τον επόμενο χρόνο απομονώθηκε και σε εκχύλισμα κυττάρων ποντικού. Εξάλλου, το 1976 απομονώθηκε και η τοποϊσομεράση II από την *E.Coli*, γνωστή ως γυράση. Γενικά λοιπόν, οι τοποϊσομεράσες κατηγοριοποιούνται με βάση τη δομή και τη λειτουργία τους σε δύο μεγάλες κατηγορίες, τις τοποϊσομεράσες τύπου I και τις τοποϊσομεράσες τύπου II. Οι τοποϊσομεράσες τύπου I προκαλούν παροδικές σχάσεις στην μία από τις δύο αλυσίδες του DNA και ανάλογα με το αν σχηματίζουν ομοιοπολικό δεσμό με την 5' ή την 3' φωσφορική ομάδα αντίστοιχα, διαρούνται στις υποοικογένειες IA και IB. Αντίθετα, Οι τοποϊσομεράσες τύπου II προκαλούν παροδικές σχάσεις και στις δύο αλυσίδες του DNA. Με

βάση διαφορές στην πρωτεϊνική τους δομή διαρούνται και αυτές στις υποοικογένειες IIA και IIB (**Εικόνα 1**).

Στον άνθρωπο σήμερα περιγράφονται 3 ομάδες τοποϊσομερασών (**Εικόνα 1**):²⁷⁻³¹

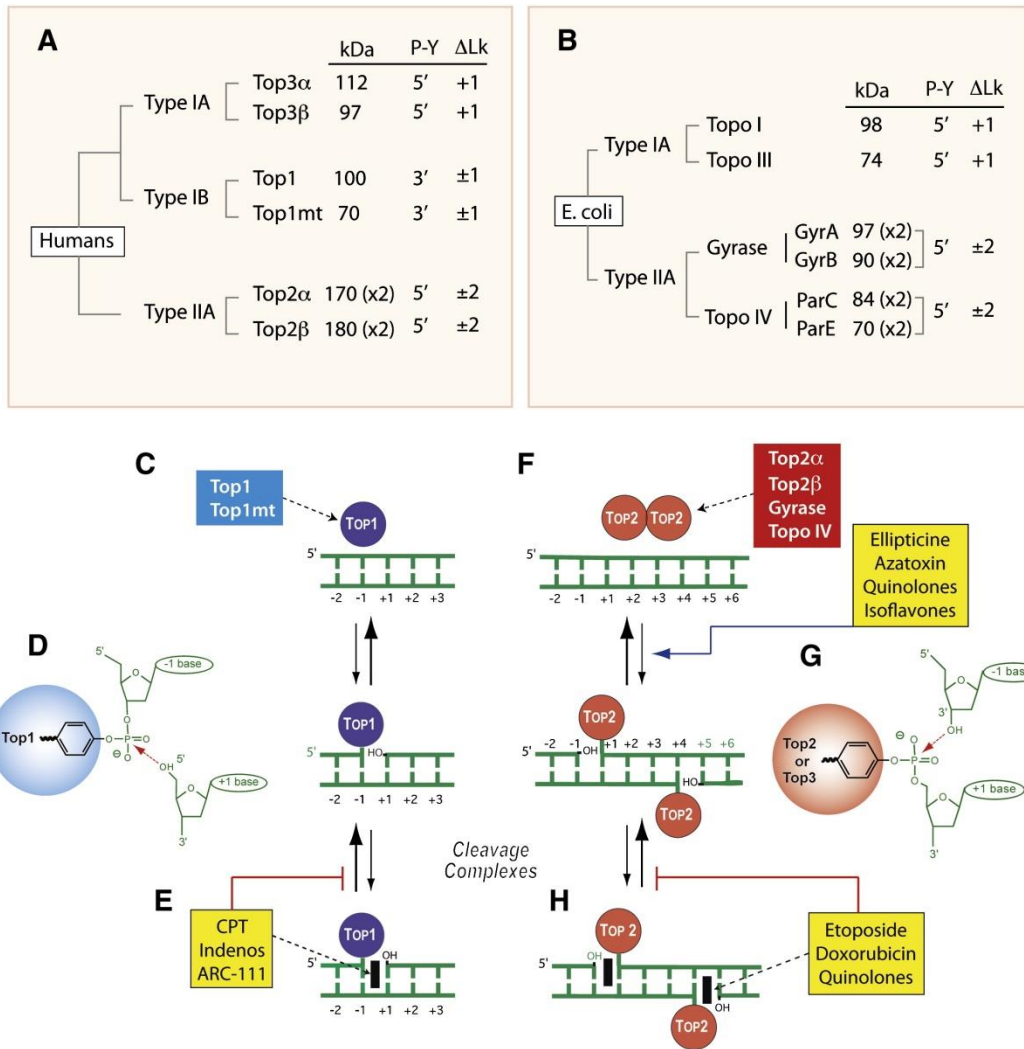
- Η τοποϊσομεράση I και η μιτοχονδριακή DNA τοποϊσομεράση, οι οποίες ανήκουν στην ευρύτερη ομάδα των τοποϊσομερασών τύπου IB,
- Οι τοποϊσομεράσες IIα και IIβ οι οποίες ανήκουν στην ευρύτερη ομάδα των τοποϊσομερασών τύπου II, και
- Οι τοποϊσομεράσες IIIα και IIIβ οι οποίες ανήκουν στην ευρύτερη ομάδα των τοποϊσομερασών τύπου IA.

Οι καλύτερα μελετημένοι τύποι ανθρώπινης τοποϊσομεράσης είναι η τοποϊσομεράση I και η τοποϊσομεράση IIα, οι οποίες αποτελούν μορικοκούς στόχους αντινεοπλασματικών φαρμάκων. Οι ανθρώπινες τοποϊσομεράσες τύπου IIIα και IIIβ πιθανότατα εμπλέκονται στην παθογένεση των συνδρόμων Bloom, Werner και Rothmund-Thomson. Στο σημείο αυτό αξίζει να τονιστεί ότι ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν και οι προκαρυωτικές τοποϊσομεράσες, γνωστές ως γυράσες, οι οποίες αποτελούν στόχο αντιβιοτικών, αλλά και οι τοποϊσομεράσες ιών.

1.3.1 Τοποϊσομεράση I

Η ανθρώπινη τοποϊσομεράση I είναι ένα μονομερές πολυπεπτίδιο 91 kDa που αποτελείται από 765 αμινοξέα (**Εικόνα 2**). Εκφράζεται από ένα γονίδιο που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 20q12-13.2. Η τοποϊσομεράση I καταλύει τη χαλάρωση του θετικά και του αρνητικά υπερελικωμένου DNA, σε αντίθεση με την βακτηριακή τοποϊσομεράση I (γυράση) η οποία καταλύει τη χαλάρωση μόνο του αρνητικά υπερελικωμένου DNA.³²

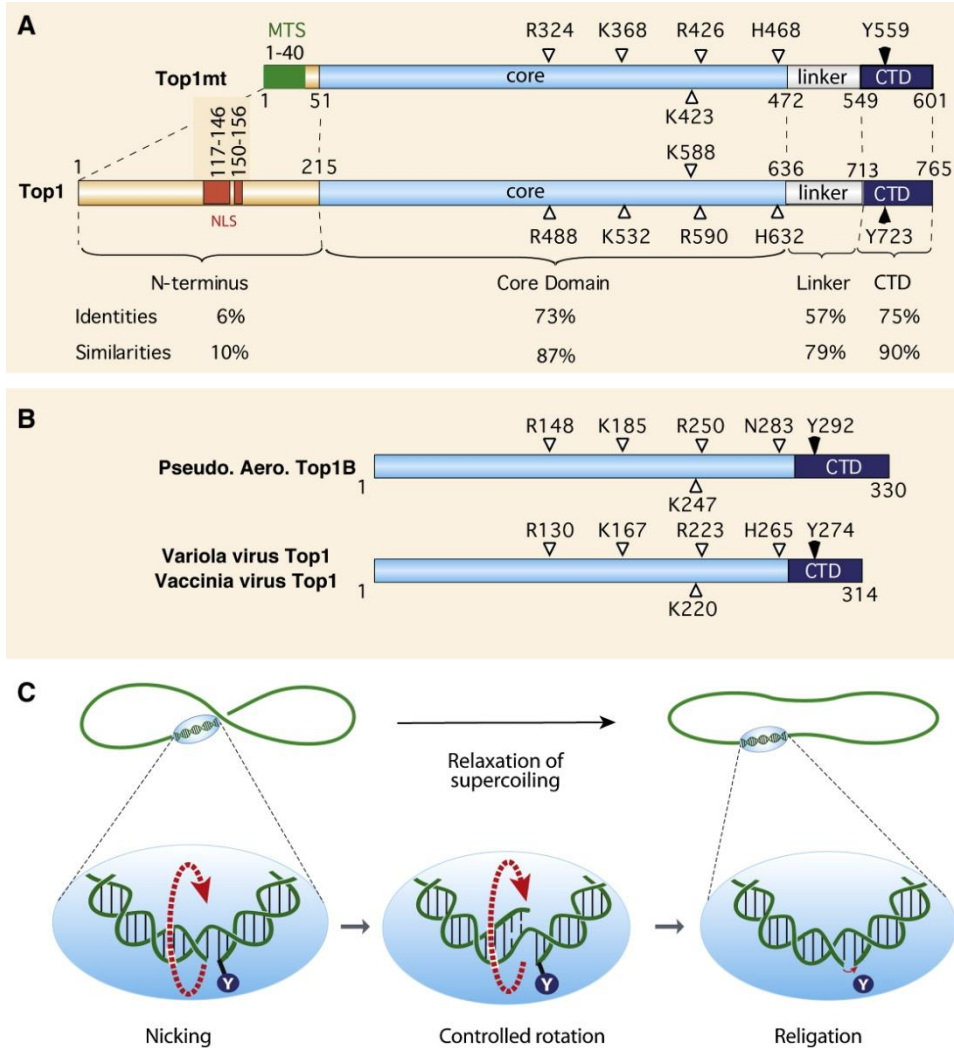
Η πυκνότητα της υπερέλικας των μορίων DNA στη φύση συνήθως κυμαίνεται μεταξύ -0.03 έως -0.09, όπου το αρνητικό πρόσημο δείχνει ότι οι υπερέλικες είναι αριστερόστροφες. Κατά την διάρκεια της μεταγραφής του DNA, η RNA πολυμεράση ακολουθεί την πορεία του DNA με αποτέλεσμα την δημιουργία θετικών υπερελικώσεων μπροστά της και αρνητικών υπερελικώσεων πίσω της, καθώς το μόριο του DNA ξετυλίγεται. Όπως είναι κατανοητό, αυτή η άθροιση των υπερελικώσεων μπορεί να μπλοκάρει την διαδικασία της μεταγραφής και κατά συνέπεια να μειώσει τη βιωσιμότητα του κυττάρου. Η λύση στο πρόβλημα αυτό δίνεται από την φύση με την βοήθεια της τοποϊσομεράσης I, η οποία «απομακρύνει» αυτές τις ανεπιθύμητες υπερελικώσεις (**Εικόνα 1**).



Εικόνα 1: DNA Τοποϊσομεράσες: (A), (B): κατηγοριοποίηση Τοποϊσομερασών. (C)-(H): Μηχανισμός δράσης Τοποϊσομερασών I και II, και μηχανισμός δράσης κύριων αναστολέων τους.

Είναι αυτονόητο ότι οι υπερελικώσεις αυτές αναπτύσσονται και κατά την διαδικασία της αντιγραφής του DNA όπου και πάλι η λύση στο πρόβλημα δίνεται από την τοποϊσομεράση I. Εκτός των ανωτέρω, η τοποϊσομεράση I φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο τόσο στον ανασυνδυασμό και την επιδιόρθωση του DNA όσο και στη συμπύκνωση κατά την μίτωση.

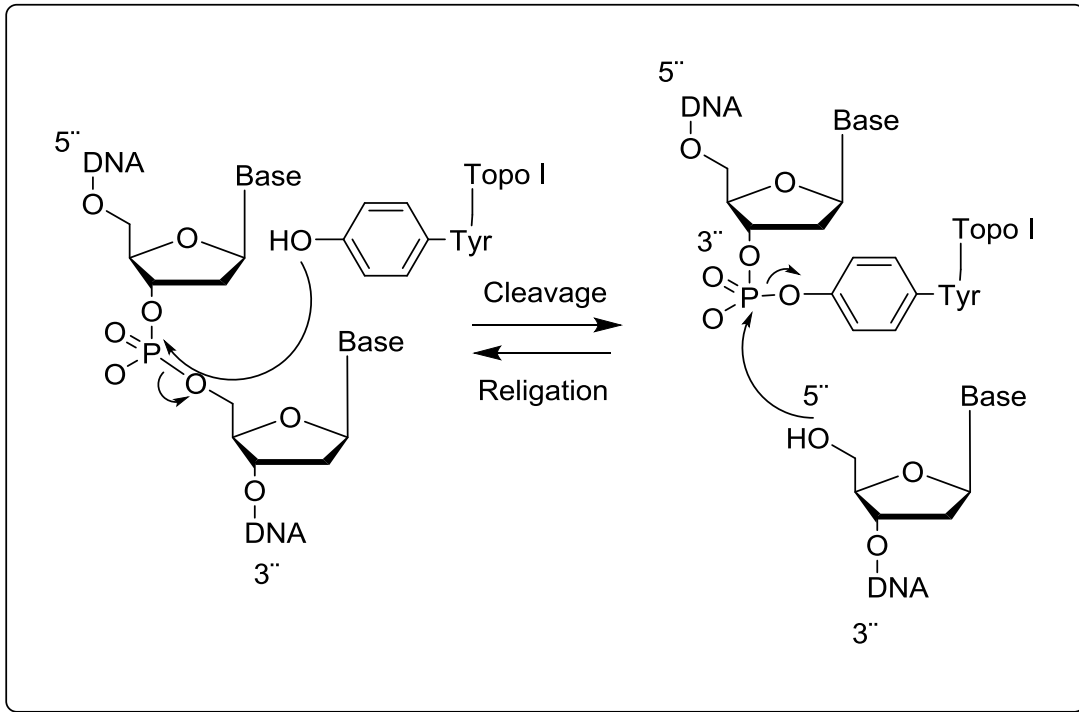
Για την δράση του ενζύμου ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο παίζει ένα κατάλοιπο τυροσίνης που βρίσκεται στο ενεργό κέντρο του ενζύμου, στην θέση 723 (**Σχήμα 1**). Πιο συγκεκριμένα, η ελεύθερη υδροξυλομάδα του καταλοίπου αυτού, μέσω πυρηνόφιλης προσβολής στην 3' φωσφορική ομάδα της αλυσίδας του DNA σπάει το φωσφοδιεστερικό δεσμό με αποτέλεσμα το ένζυμο να συνδέεται ομοιοπολικό δεσμό στο 3' άκρο του «σπασμένου» κλώνου ενώ το 5' άκρο παραμένει ελεύθερο.



Εικόνα 2: Δομή Τοποϊσομερασών τύπου I και μηχανισμός δράσης

Με τον προσωρινό σχηματισμό του λεγόμενου αυτού «εύθραυστου συμπλέγματος» το μόριο του DNA μπορεί πλέον να περισταφεί ελεύθερα γύρω από την άθικτη αλυσίδα και να χαλαρώσει (**Εικόνα 2**). Η όλη διαδικασία ολοκληρώνεται με την αποκατάσταση του φωσφοδιεστερικού δεσμού, μέσω πυρηνόφιλης προσβολής από την 5' υδροξυτελική ομάδα, αποσύνδεση του καταλοίπου τυροσίνης από το 3' άκρο και αποκατάσταση της διπλής έλικας του DNA.^{33,34}

Τα επίπεδα της τοποϊσομεράσης I είναι ανεξάρτητα από τον κυτταρικό κύκλο και παραμένουν σχετικά σταθερά κατά την διάρκεια αυτού. Επίσης, η τοποϊσομεράση I εκφράζεται σε όλα τα κύτταρα, ακόμα και στα μη διαιρούμενα, όμως στα καρκινικά κύτταρα τα επίπεδα της είναι υψηλότερα σε σχέση με τα παρακείμενα μη καρκινικά, γεγονός που την καθιστά ακόμα πιο ελκυστικό στόχο χημειοθεραπείας.

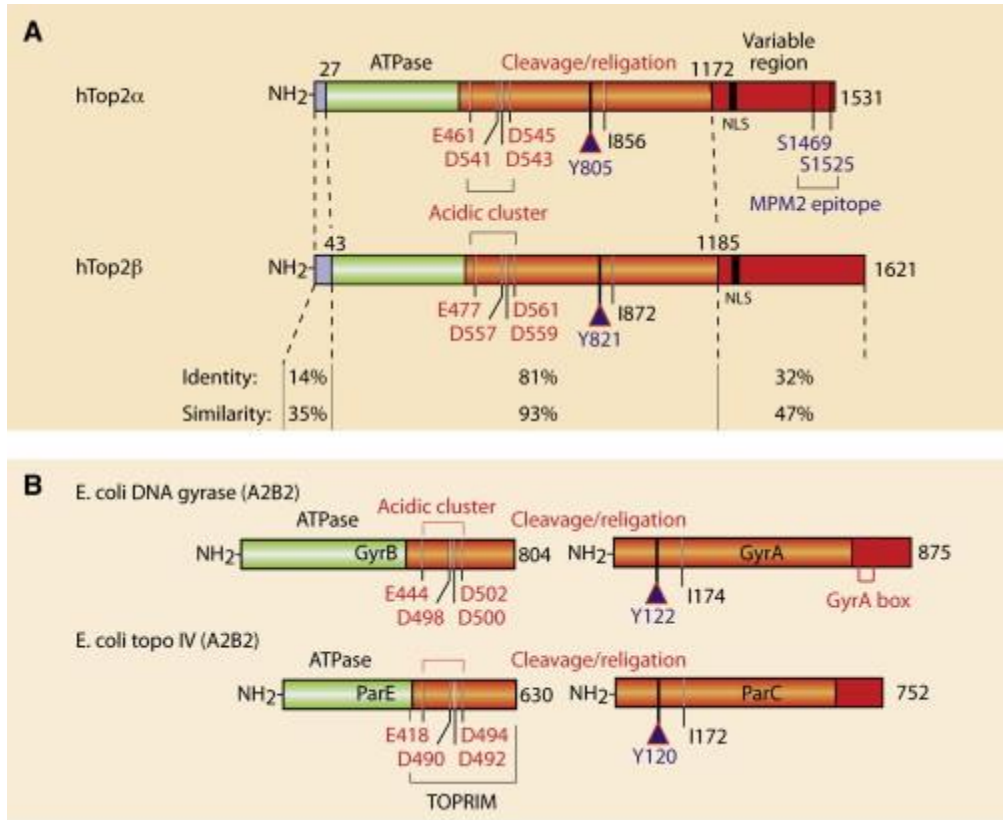


Σχήμα 1: Καταλυτικός κύκλος της τοποϊσομεράσης I

Έτσι, αυξημένα επίπεδα τοποϊσομεράσης I, από 5-35 φορές, έχουν βρεθεί σε καρκινικά κύτταρα παχέως εντέρου, ενώ το φαινόμενο αυτό έχει παρατηρηθεί και σε άλλους καρκίνους όπως των ωοθηκών, του τραχήλου της μήτρας, του προστάτη, μελάνωμα κ.α.

1.3.2 Τοποϊσομεράση II

Η τοποϊσομεράση II είναι ένα ένζυμο που απαντάται σε όλους τους ευκαρυωτικούς οργανισμούς παίζοντας σημαντικό ρόλο σε κάθε πτυχή του μεταβολισμού του DNA αλλά και στην οργάνωση των χρωμοσωμάτων. Το ένζυμο αυτό απαντάται σε δύο ισομορφές, την τοποϊσομεράση IIα και την τοποϊσομεράση IIβ, οι οποίες εμφανίζουν ομολογία στην αλληλουχία των βάσεων του DNA σε ποσοστό της τάξεως του 70%. Η τοποϊσομεράση IIα είναι αυτή που απαντάται κατά κανόνα στα θηλαστικά. Ειδικότερα, η ανθρώπινη τοποϊσομεράση IIα είναι μία πρωτεΐνη μοριακού βάρους 170 kDa και εκφράζεται από ένα γονίδιο που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 17q21-22. Αντίθετα, η ανθρώπινη τοποϊσομεράση IIβ είναι μία πρωτεΐνη μοριακού βάρους 180 kDa που εκφράζεται από γονίδιο που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 3q24. Και οι δύο πρωτεΐνες, σε αντίθεση με την τοποϊσομεράση I υφίστανται ως ομοδιμερή (**Εικόνα 3**).^{28,29}



Εικόνα 3: Δομή Τοποϊσομεράσων II

Κάθε μονομερές της τοποϊσομεράσης II μπορεί να θεωρηθεί ότι αποτελείται από τρεις διακριτές περιοχές:^{28,29}

- Την *αμινοτελική περιοχή*, η οποία αποτελείται από τα πρώτα 660 περίπου αμινοξέα του ενζύμου και περιέχει τις αλληλουχίες πρόσδεσης του ATP,
- Την *κεντρική περιοχή* του ενζύμου, η οποία εκτείνεται από την αμινοτελική περιοχή έως το αμινοξύ 1200 περίπου. Στην περιοχή αυτή συναντάται το κατάλοιπο τυροσίνης (ανάλογο με το κατάλοιπο τυροσίνης που συναντάται στο ενεργό κέντρο της τοποϊσομεράσης I) το οποίο σχηματίζει ομοιοπολικό δεσμό με το DNA μέσω πυρηνόφιλης προσβολής στο φωσφοδιεστερικό δεσμό, και
- Την *έντονα φορτισμένη καρβοξυτελική περιοχή* της οποίας η φυσιολογική λειτουργία δεν έχει ακόμα αποσαφηνιστεί αλλά θεωρείται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην διάσπαση και στη συνέχεια επανασύνδεση του DNA.

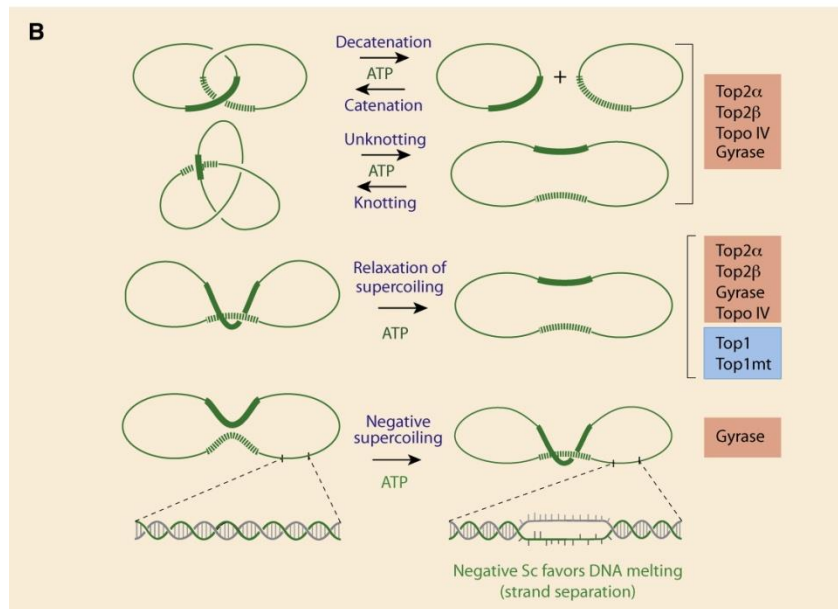
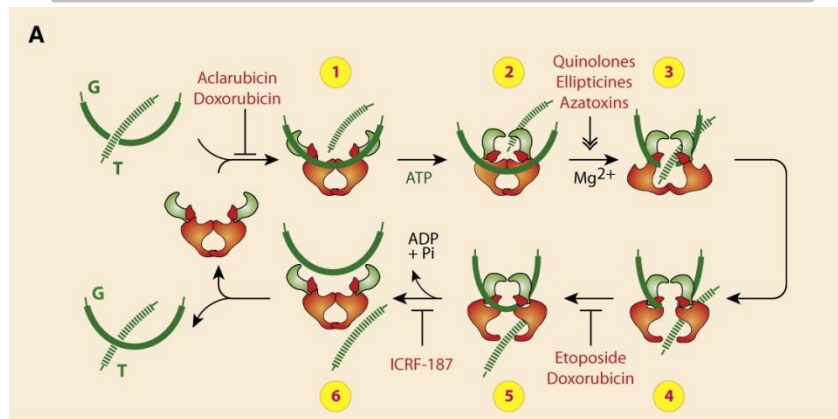
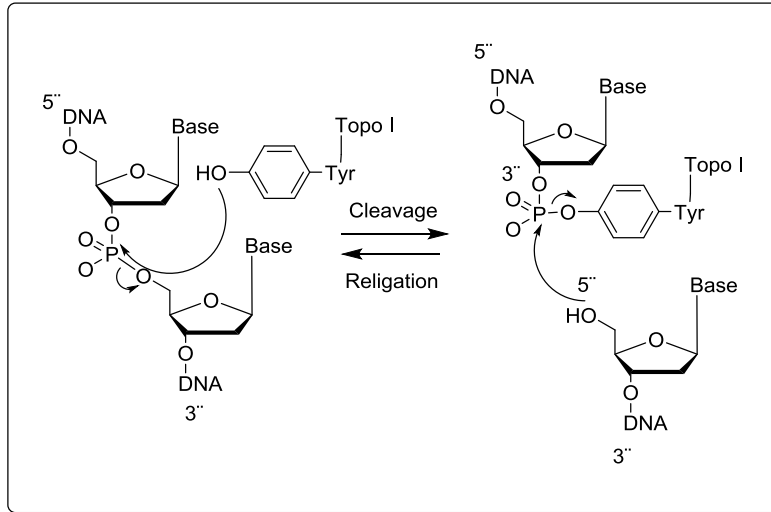
Οι συγκεντρώσεις της τοποϊσομεράσης IIβ είναι σταθερές κατά την διάρκεια του κυτταρικού κύκλου, ενώ αντίθετα οι συγκεντρώσεις της τοποϊσομεράσης IIα αυξάνονται 2-3 φορές κατά την διάρκεια της φάσης G2/M, συνδεόμενες στενά με την κατάσταση πολλαπλασιασμού του κυτταρικού κύκλου. Η αύξηση αυτή αφορά ταχέως πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα και για τον

λόγο αυτό θεωρείται ότι η τοποϊσομεράση IIβ είναι υπεύθυνη για την οικονομία/διαχείριση του κυττάρου, ενώ η τοποϊσομεράση IIα σχετίζεται περισσότερο με την αντιγραφή του DNA.

Η τοποϊσομεράση II καταλύει τη χαλάρωση τόσο θετικά όσο και αρνητικά υπερελικωμένου DNA προκαλώντας ταυτόχρονη σχάση και στις δύο αλυσίδες της διπλής έλικας του DNA. Τα κατάλοιπα τυροσίνης που βρίσκονται στο ενεργό κέντρο του ενζύμου (ένα σε κάθε ομοδιμερές) σχηματίζουν ομοιοπολικό δεσμό με τα 5' άκρα των κλώνων του DNA που έχουν σχαστεί και έτσι δημιουργείται ένας προσωρινός σχηματισμός, το λεγόμενο «εύθραστο σύμπλεγμα», όπως και στην περίπτωση της τοποϊσομεράσης I. Στη φάση αυτή το πρωτεϊνικό διμερές σταθεροποιείται με δισουλφιδικούς δεσμούς-γέφυρες οι οποίες δημιουργούνε μια πύλη διαμέσου της οποίας διέρχεται μία δεύτερη άθικτη διπλή έλικα DNA. Η διέλευση αυτή είναι ενεργειακά εξαρτώμενη και απαιτεί την κατανάλωση ενέργειας μέσω της υδρόλυσης του ATP. Όλη διαδικασία τελικά ολοκληρώνεται με την αποκατάσταση της διπλής έλικας του DNA που έχει σχαστεί (**Εικόνα 4**).³⁰⁻³²

Με την δράση της τοποϊσομεράσης II όχι μόνο απομακρύνονται θετικές ή αρνητικές υπερελικώσεις αλλά ταυτόχρονα «απεμπλέκονται» τα περιπλεγμένα ζεύγη χρωμοσωμάτων που έχουν προκύψει κατά την διαδικασία της αντιγραφής. Αυτή η δυνατότητα της τοποϊσομεράσης II, η οποία δεν παρατηρείται και στην τοποϊσομεράση I, είναι ιδιαίτερα σημαντική για την οργάνωση και τον διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα επίπεδα της τοποϊσομεράσης IIα είναι υψηλότερα στη φάση G2/M του κυτταρικού κύκλου και για το λόγο αυτό, όσον αφορά τους φυσιολογικούς ιστούς, τα επίπεδα της τοποϊσομεράσης IIα είναι υψηλότερα σε ιστούς με πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα πχ σπερματοκύτταρα, ενώ αντίθετα δεν ανιχνεύεται σε ιστούς που εμφανίζουν υψηλή διαφοροποίηση όπως ο μυϊκός ή ο νευρικός ιστός. Όπως είναι κατανοητό, υψηλά επίπεδα τοποϊσομεράσης II απαρατηρούνται σε επιθετικούς ή ταχέως πολλαπλασιαζόμενους όγκους όπως τα υψηλής κακοήθειας λεμφώματα. Σε αντίθεση με την τοποϊσομεράση IIα, η τοποϊσομεράση IIβ εκφράζεται παντού και είναι παρούσα ακόμα και σε πληθυσμούς που βρίσκονται σε κατάσταση ηρεμίας.³³



Εικόνα 4: Μηχανισμός δράσης τοποϊσομεράσης II.

1.3.2.1 Τοποϊσομεράση II και διασταυρούμενη αντοχή

Η τοποϊσομεράση II αποτελεί στόχο ενός μεγάλου αριθμού αντινεοπλασματικών φαρμάκων, μεταξύ αυτών τις ανθρακυκλίνες και τις επιποδοφυλοτοξίνες, φάρμακα τα οποία εμπλέκονται στο φαινόμενο της πολλαπλής διασταυρούμενης αντοχής (MDR). Εκτός αυτού, η τοποϊσομεράση II φαίνεται να εμπλέκεται και σε μορφή πολλαπλής αντίστασης γνωστής ως «άτυπης MDR». Κατά την άτυπη αυτή MDR έχει παρατηρηθεί ανάπτυξη αντοχής στις ανθρακυκλίνες και στις επιποδοφυλλοτοξίνες και όχι στα αλκαλοειδή της Vinca και την κολχικίνη. Αυτή η άτυπη MDR οφείλεται σε δύο ειδών μεταλλάξεις σχετιζόμενες με την τοποϊσομεράση II:

- Μεταλλάξεις που έχουν ως αποτέλεσμα μειωμένα επίπεδα του ενζύμου, και
- Μεταλλάξεις που οδηγούν σε τροποποιημένη τοποϊσομεράση II, λιγότερο ευαίσθητη στις ενώσεις που την έχουν ως στόχο.

Οι τοποϊσομεράσες I και II είναι ένζυμα απαραίτητα για την πραγματοποίηση βασικών λειτουργιών του DNA. Προκαλούν αντιστρεπτή σχάση σε συγκεκριμένα τμήματα του ενός (τοποϊσομεράση I) ή και των δύο κλώνων του DNA (τοποϊσομεράση II), έτσι ώστε να επιτραπεί η αντιγραφή ή η μεταγραφή του DNA. Οι δύο τύποι των ενζύμων αυτών παρουσιάζουν ορισμένα κοινά χαρακτηριστικά, περιλαμβανομένης της χρήσης κρίσιμων υπολοίπων τυροσίνης για να σχηματίσουν ομοιοπολικές συνδέσεις με τον σκελετό της πολυνουκλεοτιδικής αλυσίδας, η οποία διασπάται μεταβατικά. Τα περισσότερα φάρμακα που χρησιμοποιούνται κλινικά είναι αναστολείς της τοποϊσομεράσης II.

1.3.3 Αναστολείς Τοποϊσομερασών

Όπως γίνεται κατανοητό, λόγω της συμμετοχής των τοποϊσομερασών σε όλες τις διαδικασίες μεταβολισμού του DNA, έχουν γίνει διάφορες προσπάθειες εύρεσης χημικών αναστολέων τόσο των Τοποϊσομερασών I όσο και των Τοποϊσομερασών II. Γενικά, οι αναστολείς των Τοποϊσομερασών διακρίνονται σε δύο ευρύτερες κατηγορίες, τους αναστολείς/καταστολείς και στα δηλητήρια αυτών. Και οι δύο ομάδες ενώσεων αναστέλλουν την δράση των Τοποϊσομερασών, όμως τα δηλητήρια «παγιδεύουν» το «εύθραστο σύμπλοκο» ενώ οι καταστολείς όχι. Πιο συγκεκριμένα, τα δηλητήρια θανατώνουν τα καρκινικά κύτταρα παγιδεύοντας τα εύθραυστα σύμπλοκα παρά αναστέλλοντας το ένζυμο, ενώ οι καταστολείς δρουν απευθείας στο ένζυμο αναστέλλοντας τις αντιδράσεις αποσύζευξης και επανασύνδεσης του DNA χωρίς να επηρεάζουν τη σταθερότητα του εύθραυστο συμπλόκου. Έτσι, κύτταρα στα οποία παρατηρείται υπερέκφραση της Τοποϊσομεράσης είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα σε δηλητήρια. Αντίθετα, κύτταρα με μειωμένα επίπεδα Τοποϊσομερασών είναι ευαίσθητα σε καταστολείς ενώ είναι ανθεκτικά σε δηλητήρια Τοποϊσομερασών (Σχήμα 2).^{34,39}

1.3.3.1 Αναστολείς της τοποϊσομεράσης I.

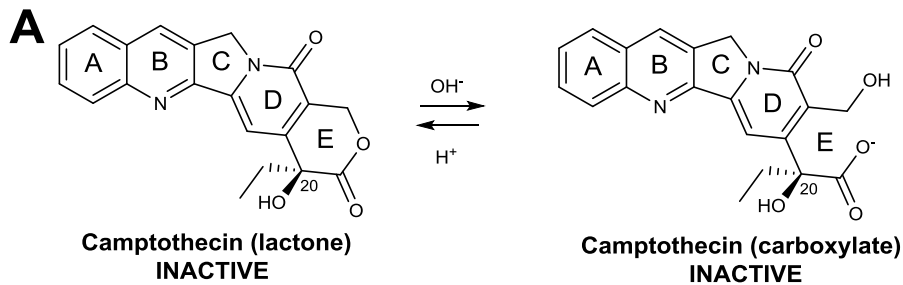
Με την πάροδο των χρόνων έχει ανακαλυφθεί ένας μεγάλος αριθμός αναστολέων της Τοποϊσομεράσης I πολλά από τα οποία βρίσκονται σε στάδιο κλινικών δοκιμών ενώ ορισμένα έχουν ήδη εγκριθεί και ανήκουν πλέον στον οπλοστάσιο των γιατρών για την αντιμετώπιση διαφόρων τύπων καρκίνου. Μεταξύ αυτών ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν η καμπτοθεκίνη και τα ανάλογα της, τα ινδολοκαρβαζόλια, οι ινδανοϊσοκινολίνες και οι διβενζοναφθυριδινόνες (**Σχήμα 2,4**).

1.3.3.1.1 Καμπτοθεκίνες.

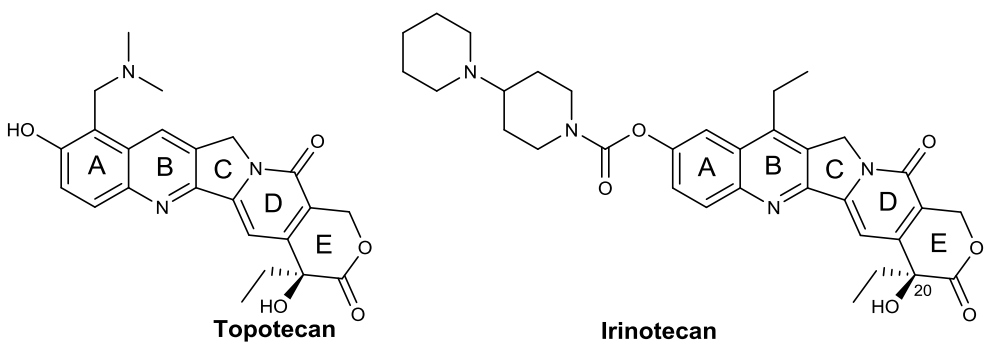
Η καμπτοθεκίνη (CPT) είναι ένα ισχυρό αντικαρκινικό που απομονώθηκε για πρώτη φορά από το φλοιό του κινέζικου δέντρου, *Camptotheca acuminata* το 1958.⁴⁰ Ανακαλύφθηκε και αναπτύχθηκε από το αμερικανικό Εθνικό Ινστιτούτο Καρκίνου (NCI) σχεδόν ταυτόχρονα με το *racitaxel* (Taxol).⁴¹ Σύμφωνα με τις αρχικές προκλινικές μελέτες, το παράγωγο αυτό παρουσίαζε ισχυρές αντικαρκινικές ιδιότητες, όμως λόγω της ιδιαίτερα μικρής διαλυτότητας του, για τις κλινικές μελέτες χρησιμοποιήθηκε το αντίστοιχο μετά Νατρίου ανάλογο του (CPT-Na, Εικόνα 6Α). Οστόσο, το CPT-Na παρουσίαζε μικρή δραστηριότητα και ιδιαίτερα υψηλή τοξικότητα με αποτέλεσμα την αναστολή των μελετών. Το ενδιαφέρον για την CPT αναζωπυρώθηκε κατά τα μέσα της δεκαετίας του 90 όταν και ανακαλύφθηκε ότι ο μοριακός στόχος της είναι η τοποϊσομεράση I (και μοναδικός). Η ανακάλυψη αυτή έδωσε νέα ώθηση στις έρευνες και οδήγησε στην ανάπτυξη νέων αναλόγων της CPT με βελτιωμένα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά και ισχυρότερη δράση, όπως τα εμπορικά διαθέσιμα υδατοδιαλυτά της παράγωγα *topotecan* και *irinotecan* (γνωστό ως CPT-11) (**Σχήμα 2**).^{42,43}

1.3.3.1.1.1 Δομή της καμπτοθεκίνης και των παραγώγων της

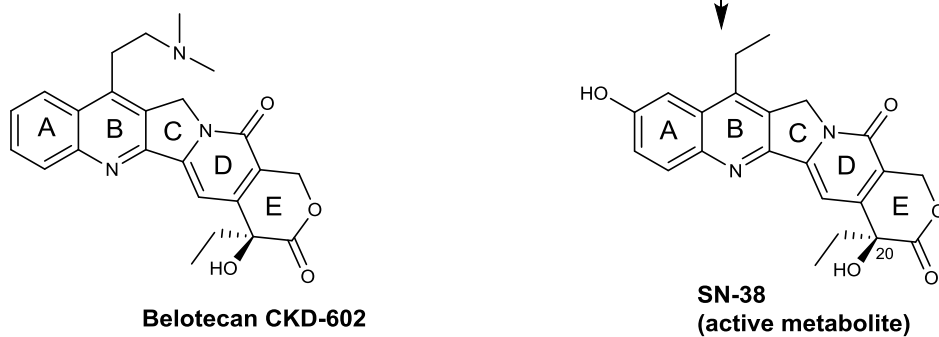
Η καμπτοθεκίνη και τα παράγωγα της (CPTs) αποτελούνται από ένα πεντακυκλικό σύστημα, όπου στο ένα άκρο του βρίσκεται ένας δακτύλιος κινολίνης (A,B) ενώ στο άλλο άκρο του ένας α-υδροξυ-δ-λακτονικός δακτύλιος (E) που φέρει ένα χειρόμορφο κέντρο στον C-20 (**Σχήμα 2Α**). Μεταξύ των δύο αυτών δακτυλίων βρίσκονται συμπυκνωμένοι ένας δακτύλιος πυρολίου (Γ) και ένας δακτύλιος πυριδίνης. Ο λακτονικός δακτύλιος E είναι ιδιαίτερα ασταθής και βρίσκεται σε ισορροπία με την ανηγμένη μορφή του καρβοξυλικού οξέος, η οποία όπως ήδη αναφέρθηκε είναι αδρανής. Με την βοήθεια διαφόρων μελετών σχέσεων δομής δράσης καθώς και την μελέτη πολλών παραγώγων της καμπτοθεκίνης έχουν εξαχθεί πολλά συμπεράσματα όσον αφορά τα απαραίτητα δομικά χαρακτηριστικά των CPTs, τα οποία κυρίως αφορούν την επιπεδότητα του αρωματικού συστήματος, την σταθερότητα του λακτονικού δακτυλίου E, την S διαμόρφωση του C-20 του λακτονικού δακτυλίου, καθώς και την αύξηση της διαλυτότητας των νέων παραγώγων.^{32,43,44}



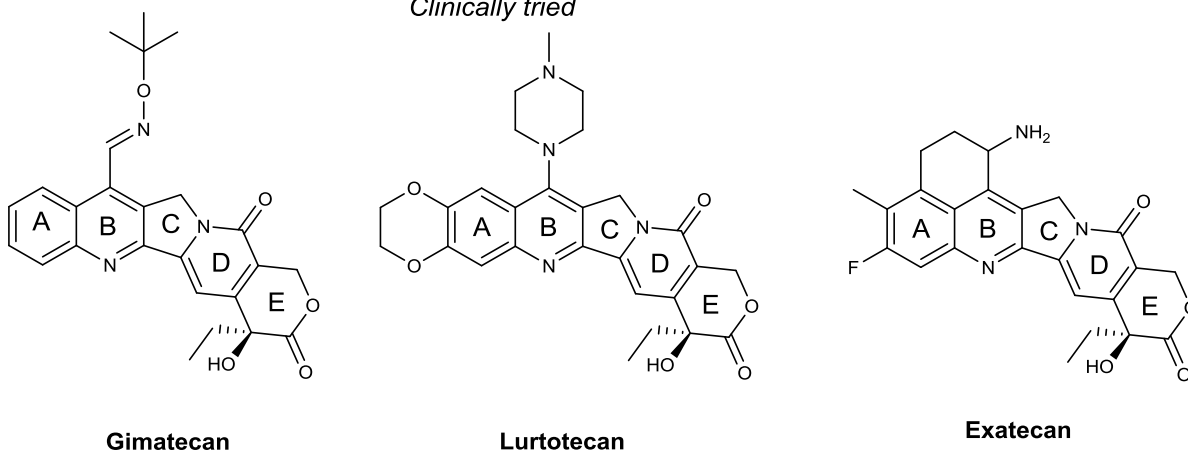
Clinically approved

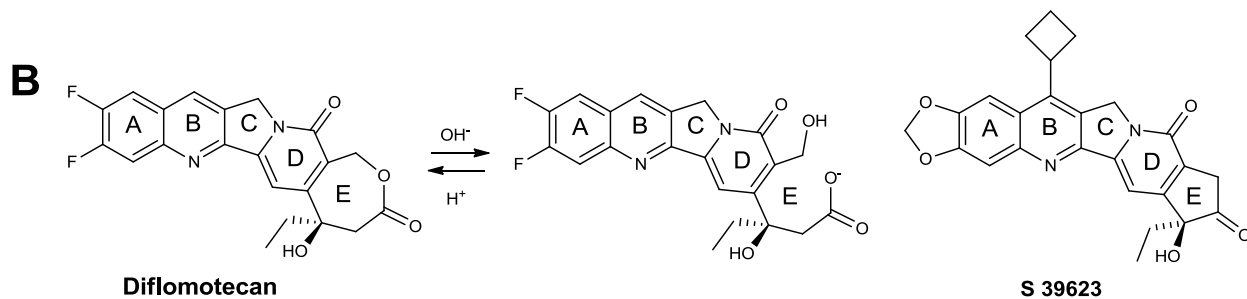


carboxylesterase



Clinically tried





Σχήμα 2: Καμπτοθεκίνη και ανάλογα της.

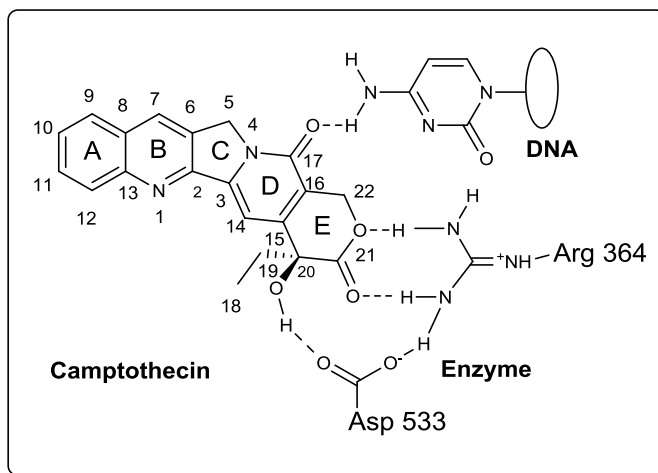
Πιο συγκεκριμένα:

- **Δακτύλιοι A και B:** Ο κινολινικός δακτύλιος φαίνεται να είναι και το τμήμα του μορίου που επιδέχεται τις περισσότερες αλλαγές χωρίς όμως να παρατηρείται δραστική μείωση της δράσης των νέων παραγώγων. Έχουν σχεδιαστεί και συντεθεί πολλά ανάλογα με υποκαταστάτες σε διάφορες θέσεις στο σκελετό της κινολίνης με δράση υψηλότερη ή ελαφρά χαμηλότερη. Εν συντομία φαίνεται ότι υποκαταστάτες στις θέσεις 11 και 12 δεν ευνοούν την δράση με εξαίρεση όμως τα παράγωγα που φέρουν F ή CN στον άνθρακα 11, τα οποία παρουσιάζουν ισχυρότερη αναστολή της τοποϊσομεράσης I. Αντίθετα, υποκαταστάτες NH₂, OH και αλογόνο στις θέσεις 9 και 10 φαίνεται να βελτιώνουν τη δράση. Η παρατήρηση ότι η υποκατάσταση στους άνθρακες 7,9,10 και 11 δεν επηρεάζει ιδιαίτερα την ικανότητα αναστολής του ενζύμου οδήγησε στην ανάπτυξη νέων μορίων με βελτιωμένη διαλυτότητα (topotecan, irinotecan), ή μορίων τα οποία δρουν ως προφάρμακα (irinotecan).

Το irinotecan, αυτό καθ'αυτό παρουσιάζει μικρή δραστικότητα όμως στον οργανισμό υδρολύεται γρήγορα προς τον ιδιαίτερα δραστικό μεταβολίτη του SN-38.⁴³ Εκτός αυτών ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το Belotecan του οποίου η κυκλοφορία έχει ήδη εγκριθεί στην Κορέα καθώς και τα Gimotecan, Lurtotecan και Exatecanτα οποία λόγω των βελτιωμένων φυσικοχημικών ιδιοτήτων τους βρίσκονται σε κλινικές μελέτες.^{45,46,47}

- **Δακτύλιοι C και D:** Τροποποίηση των δακτυλίων αυτών οδηγεί σε παράγωγα με μειωμένη δράση.^{48,49,50}
- **Δακτύλιος E:**^{51,52} Ο λακτονικός δακτύλιος επηρεάζει ιδιαίτερα την δράση των CPTs εξαιτίας δύο βασικών δομικών του χαρακτηριστικών, της σταθερότητας του και του χειρόμορφου κέντρου στον C-20. Μόνο τα παράγωγα με διαμόρφωση 20S είναι δραστικά (το ισομερές 20R είναι περίπου 100 φορές λιγότερο δραστικό. Αυτό εξηγείται με την βοήθεια διαφόρων μοντέλων μοριακής προσομείωσης του ομοιοπολικού συμπλόκου DNA-καμπτοθεκίνης, όπου φαίνεται ότι για την ανάπτυξη των πολύ

σημαντικών δεσμών υδρογόνου με την Arg364 και το Asp533 είναι απαραίτητη η διάταξη 20S (**Σχήμα 3**). Τα δεδομένα αυτά υποστηρίζονται και από την ανάλυση ανθεκτικών στην καμπτοθεκίνη κυτταρικών σειρών. Μετά από ανάλυση των μεταλλάξεων αυτών των κυτταρικών σειρών φαίνεται η μεγάλη σημασία των Arg364 και Asp533 στην δράση του ενζύμου.



Σχήμα 3: Σχηματική αναπαράσταση αλληλεπίδρασης DNA με την καμπτοθεκίνη

Ο δακτύλιος E, ανάλογα με το pH, βρίσκεται σε ισορροπία μεταξύ της μορφής της λακτόνης, η οποία ευνοείται σε όξινο pH, και της καρβοξυλικής μορφής η οποία είναι αδρανής και ευνοείται σε αλκαλικό και ουδέτερο περιβάλλον (**Σχήμα 2A**). Η ανοικτή, αδρανής μορφή είναι καλύτερα διαλυτή στο πλάσμα από την λακτόνη ενώ ταυτόχρονα παρουσιάζει στο πλάσμα μεγαλύτερη συγγένεια με τις αλβουμίνες. Οι παραπάνω παρατηρήσεις που ισχύουν τόσο για την καμπτοθεκίνη όσο και για τα παράγωγα της εξηγούν γιατί στο πλάσμα η ισορροπία βρίσκεται μετατοπισμένη προς την πλευρά της καρβοξυλικής μορφής, με άμεσο αποτέλεσμα την δραστική μείωση της δραστικότητας των παραγώγων.

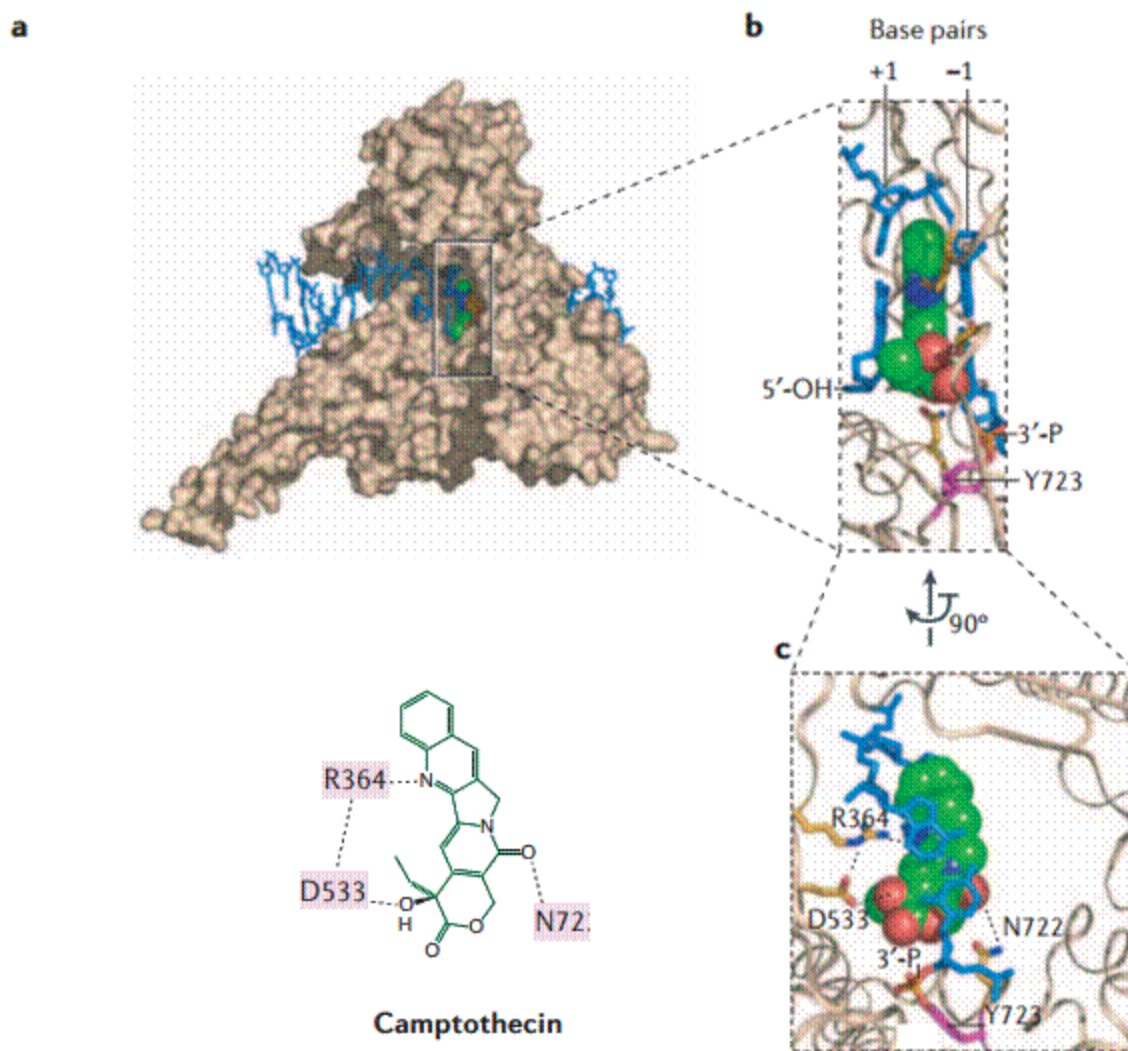
Το γεγονός αυτό οδήγησε στον σχεδιασμό και την ανάπτυξη νέων παραγώγων και ιδιαίτερα του Diflomotecan και του S39635. Στο Diflomotecan ο δακτύλιος E φέρει ένα επιπλέον μεθυλενιο με αποτέλεσμα να είναι πιο σταθερός όμως η διάνοιξη του δακτυλίου πλέον δεν είναι αντιστρεπτή, αντίθετα το S39635 φέρει έναν ιδιαίτερα σταθερό πενταμελή δακτύλιο. Και τα δύο παράγωγα διατηρούν την δράση τους έναντι της Τοποϊσομεράσης I (**Σχήμα2B**).

1.3.3.1.1.2 Μηχανισμός δράσης της καμπτοθεκίνης και των παραγώγων της

Η καμπτοθεκίνη και τα ανάλογα της φαίνεται να σταθεροποιούν το ομοιοπολικό σύμπλοκο Τοποϊσομεράσης-DNA με μοναδικό τρόπο ο οποίος ακόμα και σήμερα δεν είναι πλήρως κατανοητός. Η ίδια η καμπτοθεκίνη φαίνεται να μην μπορεί να σχηματίσει σταθερό σύμπλοκο με την Τοποϊσομεράση I, ενώ και με το DNA αλληλεπιδρά ασθενώς. Μελέτες μοριακής προσομείωσης καθώς και δεδομένα κρυσταλλογραφίας ακτίνων Χ οδήγησαν τον Romier και τους συνεργάτες του ότι η καμπτοθεκίνη σχηματίζει με το εύθραυστο σύμπλεγμα Τοποϊσομεράσης DNA (TOP1cc) ένα τριαδικό σύμπλοκο στο οποίο το μόριο της καμπτοθεκίνης είναι «στοιβαγμένο-πακτωμένο» μεταξύ των βάσεων που πλαισιώνουν το TOP1cc (μία θυμίνη σε θέση -1 και μία γουανίνη σε θέση +1 ως προς το εύθραυστο σύμπλεγμα) (Εικόνα 5). Στο σχηματισμό και την σταθεροποίηση αυτού του τριαδικού συμπλόκου ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο παίζει, όπως έχει ήδη αναφερθεί, ο λακτονικός δακτύλιος με την ιδιαίτερη στερεοχημεία του.^{38a,41}

Επειδή η καμπτοθεκίνη καθώς και οι άλλοι αναστολείς TOP1 αλληλεπιδρούν αντιστρεπτά με τα TOP1ccs είναι προφανές ότι αμέσως μετά την απομάκρυνση του φαρμάκου, η Τοποϊσομεράση 1 να μπορεί να επανασυνδέσει την αλυσίδα του DNA που είχε σχαστεί και επομένως να είναι εφικτή η συνέχιση της διαδικασίας σύνθεσης του. Πως λοιπόν εξηγείται η διακοπή της σύνθεσης του DNA και η μετέπειτα απόπτωση και ο κυτταρικός θάνατος κατά την χορήγηση της καμπτοθεκίνης και των άλλων αναστολέων;

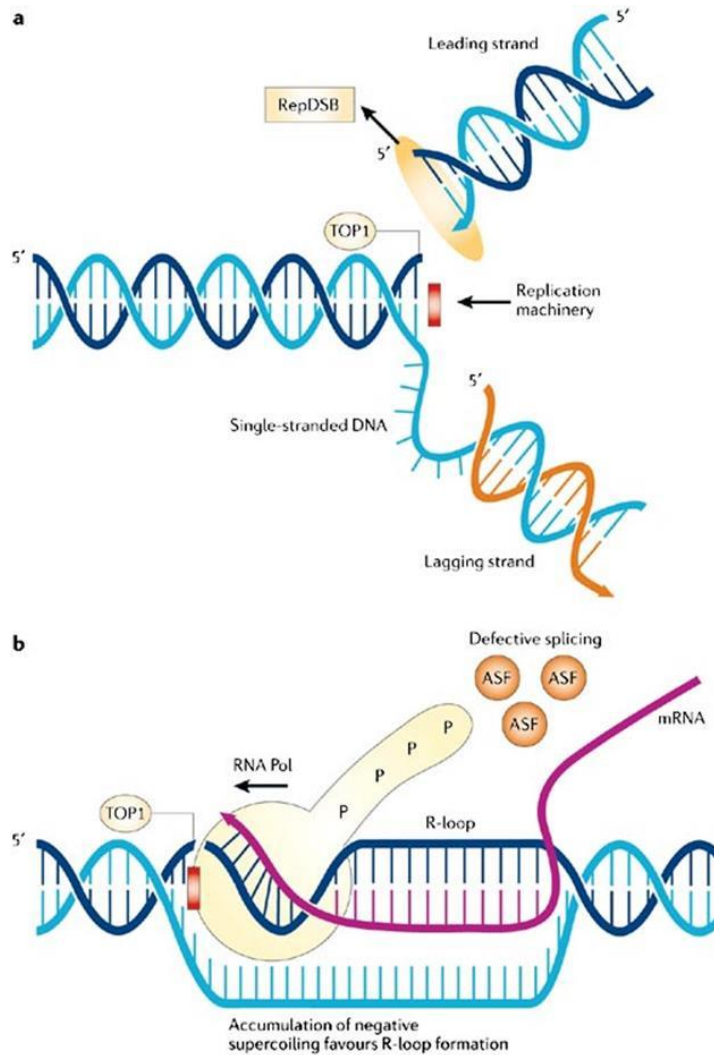
Στην πράξη, η ίδια η τοποϊσομεράση, κατά την πρόοδο της διαδικασίας σύνθεσης του DNA προκαλεί βλάβες και σπάσιμο του διπλού κλώνου. Πιο συγκεκριμένα, καθώς η καμπτοθεκίνη επιβραδύνει την διαδικασία επανασύνδεσης της αλυσίδας του DNA ενώ η διαδικασία σύνθεσης αυτού από τις DNA-πολυμεράσες συνεχίζεται ανεπηρέστα, η φουρκέτα διπλασιασμού «προλαβαίνει» και «συγκρούεται» με τα TOP1ccs σχηματίζοντας μη αντιστρεπτά, ομοιοπολικά σύμπλοκα καθώς το 5' άκρο της αλυσίδας δεν έχει πλέον την ορθή διευθέτηση στο χώρο για τον απανασχηματισμό της σχασμένης αλυσίδας (Εικόνα 6). Αυτός είναι και ο λόγος που τα παράγωγα της καμπτοθεκίνης καθώς και άλλες ενώσεις που παγιδεύουν τα TOP1ccs περιγράφονται και σαν δηλητήρια.³²



Εικόνα 5: Τριαδικό σύμπλοκο καμπτοθεκίνης-TOP1cc (η καμπτοθεκίνη παρουσιάζεται με πράσινο χρώμα ενώ το DNA με μπλε).

1.3.3.1.2 Άλλοι αναστολείς της τοποϊσομεράσης I

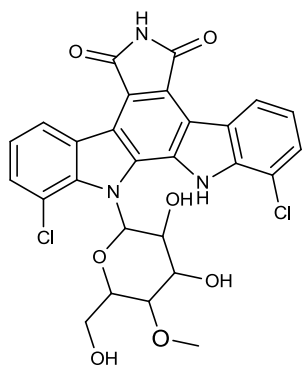
Εκτός από την καμπτοθεκίνη και τα παράγωγα της έχουν αναπτυχθεί και άλλοι αναστολείς, όπως τα ινδολοκαρβαζόλια, οι ινδενοϊσοκινολίνες και οι διβενζοναφθυριδιόνες (**Σχήμα 2**). Τα ινδολοκαρβαζόλια είναι οι πιο σημαντικοί αναστολείς της τοποϊσομεράσης I που δεν ανήκουν στις καμπτοθεκίνες και βρίσκονται υπό κλινική αξιολόγηση. Ένωση οδηγός για τα παράγωγα αυτά θεωρείται το Rebecamycin, μεταβολίτης του *Saccharothrix aerocolonigenes* που απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1985.



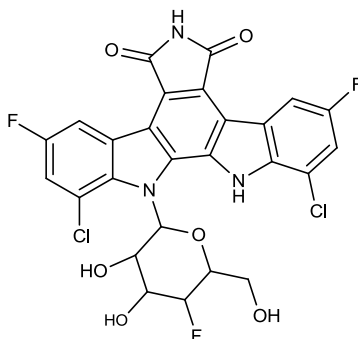
Εικόνα 6: Μηχανισμός δράσης δηλητηρίων Τοποϊσομεράσης I.

Το Rebeccamycin σχετίζεται δομικά και με άλλους μεταβολίτες που έχουν απομονωθεί όπως την Staurosporine, όμως σε αντίθεση με αυτήν που είναι μη εκλεκτικός αναστολέας κινασών, το Rebeccamycin εμφανίζει εκλεκτικότητα και υψηλή δραστικότητα έναντι της Τοποϊσομεράσης I.⁵³ Διάφορα ινδολοκαρβαζόλια όπως το BMS250749 που αναπτύχθηκε από την Bristol Myers, βρίσκονται σε κλινικές δοκιμές (**Σχήμα 4**).⁵⁴ Εκτός των ινδολοκαρβαζολίων, ενδιαφέρον παρουσιάζουν και τα παράγωγα φαινανθριδινών τα οποία αναπτύχθηκαν στα μέσα της δεκαετίας του 1990.^{39,55} Μεταξύ αυτών, το Toronvale (ARC-111) βρίσκεται σε κλινικές δοκιμές (**Σχήμα 4**).

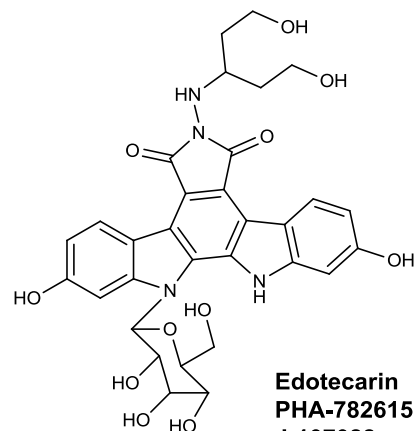
INDOLOCARBAZOLES



Rebecamycin

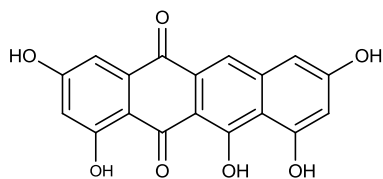


BMS 250749

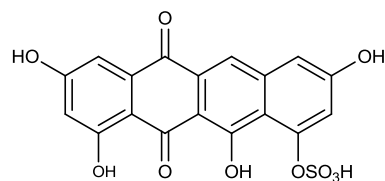


**Edotecarin
PHA-782615
J-107088**

BENZANTHRACENS

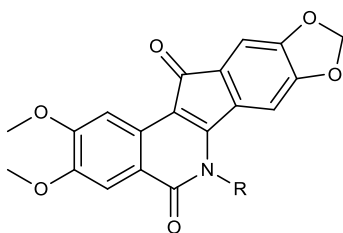


Saintopin

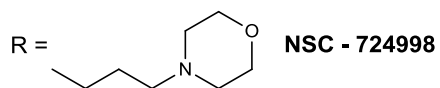
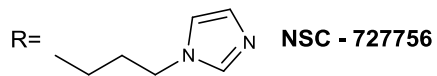


USE 1022

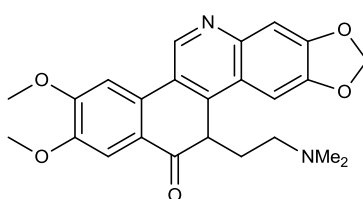
INDENOISOQUINOLINES



R=CH₂CH₂NHCH₂CH₂OH **NSC - 706744**

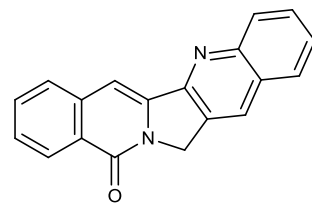


PHENANTHRIDINES



ARC-11 topovalate

AROMATHECINS



Rosettacin

Σχήμα 4: Άλλοι αναστολείς της τοποϊσομεράσης I

Επίσης, από το NCI έχουν μελετηθεί πάνω από 400 ινδανοϊσοκινολίνες ως αναστολείς της τοποϊσομεράσης I και ως αντιπολλαπλασιαστικοί παράγοντες.^{39, 56} Οι ινδανοϊσοκινολίνες έχουν πολλά διαφορετικά χαρακτηριστικά και πλεονεκτήματα συγκριτικά με τις καμπτοθεκίνες καθώς, είναι χημικά σταθερές, παγιδεύουν τα TOP1ccs σε διαφορετικές DNA αλληλουχίες, ενώ τέλος, τα TOP1ccs είναι λιγότερο αναστρέψιμα από εκείνα που δημιουργούνται από τις καμπτοθεκίνες. Ως εκ τούτου, είναι εφικτός ο σχηματισμός επίμονων TOP1ccs, κάτι που επιτρέπει μικρότερους χρόνους έγχυσης.³² Τέλος, ενδιαφέρον παρουσιάζουν και τα βενζοανθρακένια, όπως το saintopin που παράγεται από το *Raecilomyces* sp. και το UCE1022 που είναι ισχυροί επαγωγείς των εύθραυστων συμπλόκων της Τοποϊσομεράσης I (**Σχήμα 4**).⁵⁷

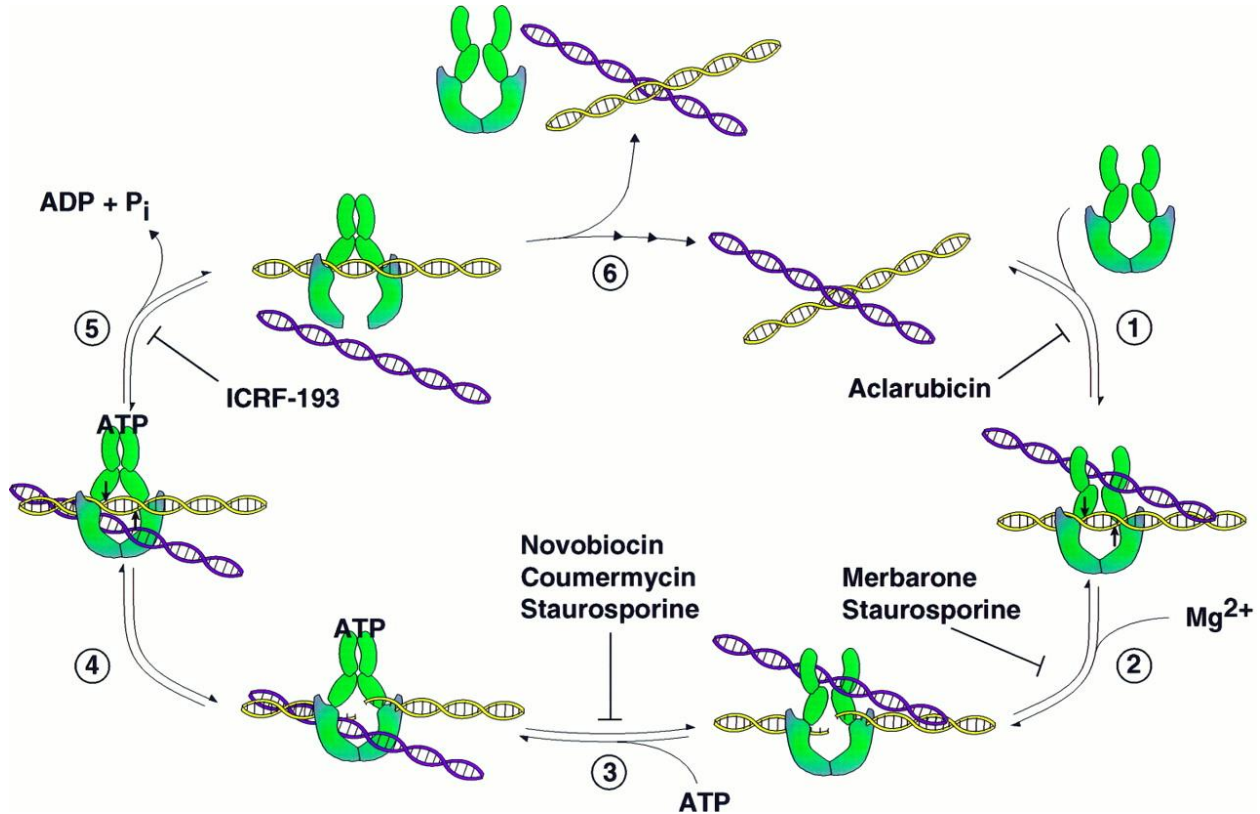
1.3.3.2 Αναστολείς της τοποϊσομεράσης II.

Οι ενώσεις που μεταβάλλουν την καταλυτική δραστηριότητα της τοποϊσομεράσης II μπορούν να διαχωριστούν σε δύο κατηγορίες. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν ενώσεις όπως το Etoposide, το Doxorubicin και το mitoxantrone τα οποία αυξάνουν τα επίπεδα των εύθραυστων συμπλόκων Τοποϊσομεράσης II-DNA με αποτέλεσμα την δημιουργία βλαβών στο DNA (πχ σχάσεις κλπ). Τα παράγωγα αυτά αναφέρονται ως «δηλητήρια τοποϊσομεράσης II» και διακρίνονται από τους καταλυτικούς αναστολείς οι οποίοι αναστέλλουν τη δράση της Τοποϊσομεράσης II χωρίς όμως να αυξάνουν τα επίπεδα ευύθραυστων συμπλόκων ενζύμου-DNA (**Εικόνα 7, Σχήμα 5**). Τα πιο σημαντικά από τα παράγωγα της κατηγορίας αυτής είναι οι διοξοπιπεραζίνες όπως ICRF-159, ICRF-187 και MST-16 (**Εικόνα 7, Σχήμα 5**). Τα παράγωγα αυτά έχουν δύο μηχανισμούς δράσης: είναι ισχυροί χηλικοί παράγοντες αναστέλλουν τον καταλυτικό κύκλο της Τοποϊσομεράσης II μετά το πέρασμα της δεύτερης αλυσίδας του DNA από την σχασμένη αλυσίδα αλλά πριν την υδρόλυση του δεύτερου μορίου ATP προς ADP (**Εικόνα 7**).⁵⁸

Ειδικότερα, όσον αφορά τα δηλητήρια της τοποϊσομεράσης II, υπάρχουν δύο διακριτοί μηχανισμοί δράσης των ενώσεων αυτών έπειτα από την αλληλεπίδραση με την τοποϊσομεράση II:⁵⁹

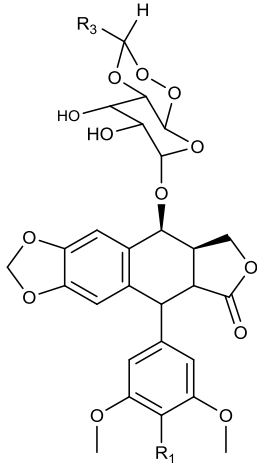
1. Ενώσεις όπως η Etoposide (VP-16) και η teniposide (VM-26), αλλά και οι παράγοντες ενδοπαρεμβολής όπως το doxorubicin, το daunorubicin, το amsacrine (m-AMSA) και το TAS-103 αναστέλλουν ισχυρά την ικανότητα του ενζύμου να επανασυνδέει τα τμημένα κομμάτια του DNA, ενώ
2. Άλλα όπως η κινολόνη CP-115,953, οι ελιπτισίνες, η αζατοξίνες αλλά και το φυσικό φλαβονοειδές genistein, δεν επιδρούν επί της επανασύνδεσης, αλλά ενισχύουν την

ικανότητα του συμπλόκου να προκαλεί τμήσεις στη ραχοκοκαλιά της διπλής έλικας μέσω ενίσχυσης του σχηματισμού των Top2cc.




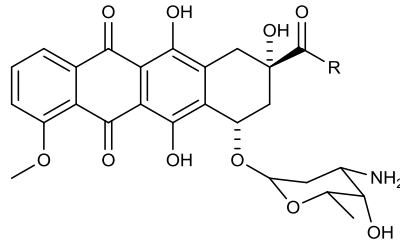
Εικόνα 7: Μηχανισμός δράσης αναστολέων της τοποϊσομεράσης II.

Αναστολή της καταλυτικής δράσης της τοποϊσομεράσης II παρατηρείται και σε δηλητήρια του ενζύμου τα οποία όμως έχουν την δυνατότητα να ενδοπαραμβάλλονται στο DNA. Αυτό συμβαίνει μόνο σε συγκεντρώσεις ικανές να τροποποιήσουν την δομή του DNA και επομένως να αποτρέψουν τον σχηματισμό Top2ccs. Το φαινόμενο αυτό παρατηρείται στην doxorubicin και το mitoxantrone, όπου σε χαμηλές συγκεντρώσεις λειτουργούν ως δηλητήρια, ενώ σε υψηλές συγκεντρώσεις μειώνουν τα επίπεδα των Top2ccs.⁶⁰

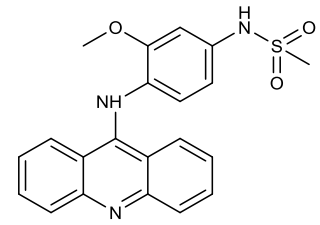


R₁= OH, R₂= CH₃, **Etoposide**
 R₁= OPO₂H₂, R₂= CH₃ **Etoposide Phosphate**

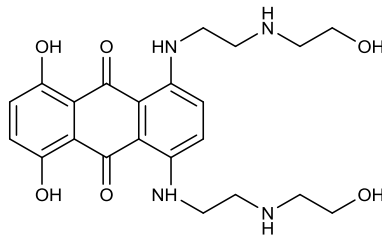
R₁= OH, R₂=  **Tenoposide**



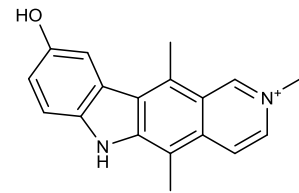
R=CH₃OH **Doxorubicin**
 R=CH₃ **Daunorubicin**



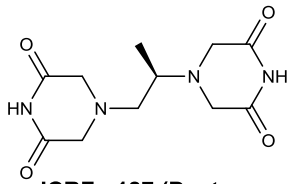
Amsacrine



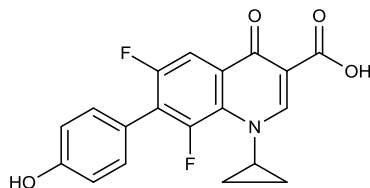
Mitoxantrone



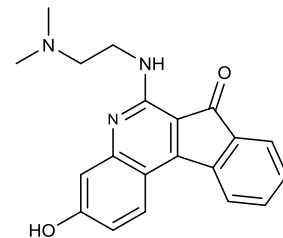
Elipticinium



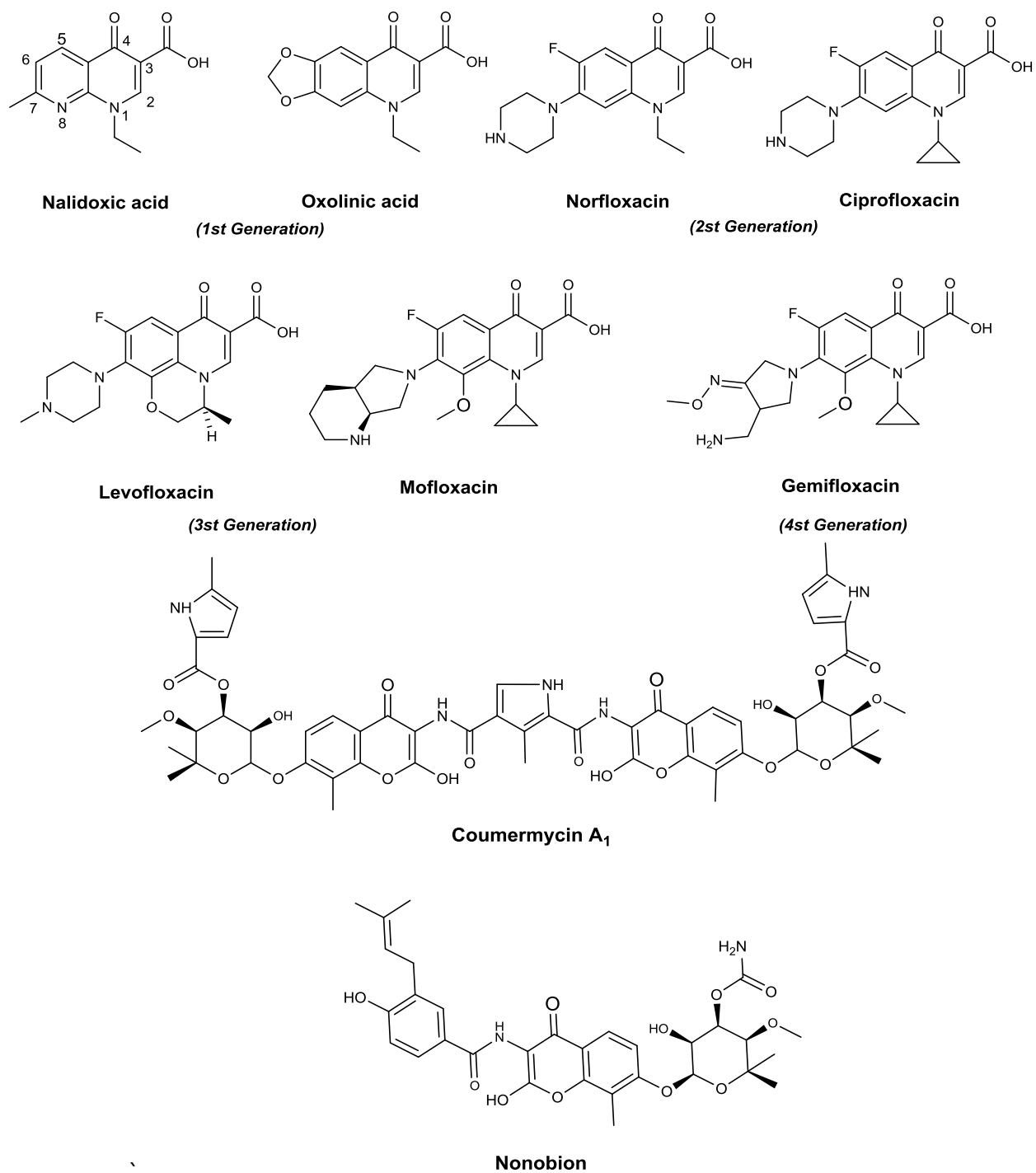
ICRF - 187 (Dextrazoxane)



CP- 115,953



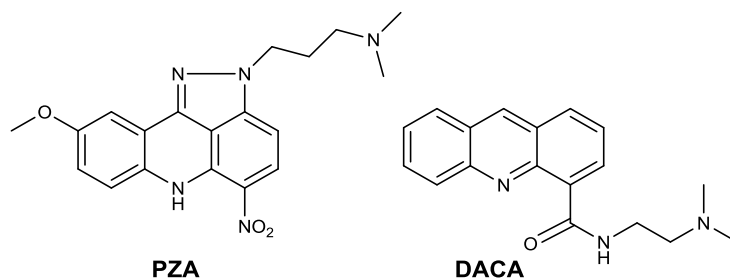
TAS - 103



Σχήμα 5: Αναστολείς τοποϊσομεράσης II.

Πρέπει να τονιστεί ότι υπάρχουν και διπλοί αναστολείς της τοποϊσομεράσης I και II (**Σχήμα 6**). Επειδή όπως έχει ήδη αναφερθεί, η φάση του κυτταρικού κύκλου στην οποία εκφράζεται

η κάθε Τοποϊσομεράση διαφέρει, οι ενώσεις αυτής της κατηγορίας παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον. Αυτό συμβαίνει γιατί έχει παρατηρηθεί ότι σε κύτταρα που έχουν αναπτύξει ανοχή σε αναστολείς της τοποϊσομεράσης I παρατηρείται αύξηση των επιπέδων της τοποϊσομεράσης II και αντίστροφα, για να εξασφαλιστεί η κυτταρική διαίρεση και ο πολλαπλασιασμός.⁶¹



Σχήμα 6: Διπλοί αναστολείς τοποϊσομεράσης I και II

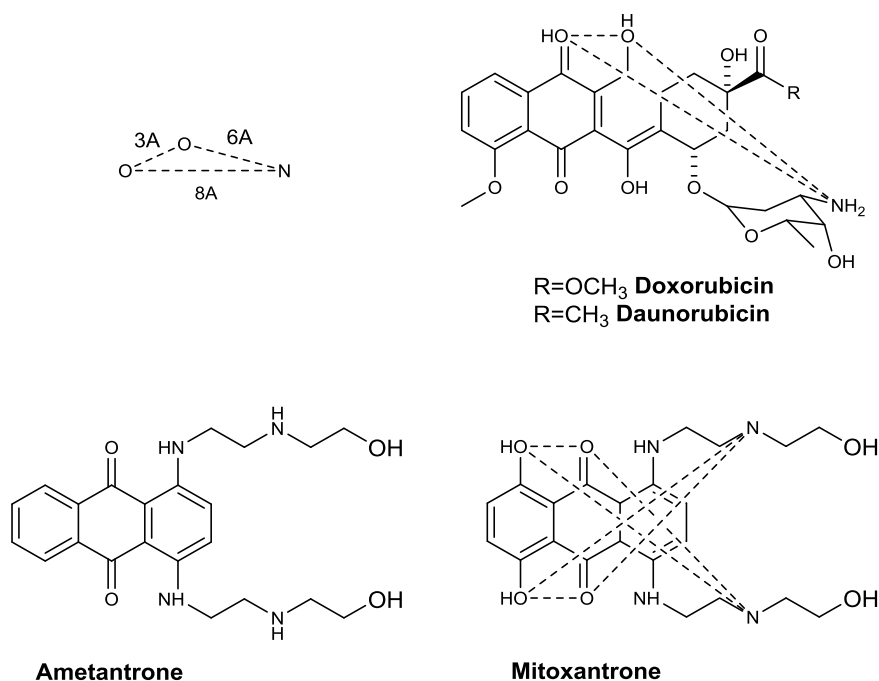
Μεταξύ των αναστολέων της Τοποϊσομεράσης II, αλλά και των διπλών αναστολέων τοποϊσομεράσης I και II ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν το mitoxantrone αλλά και διάφορα παράγωγα ακριδίνης όπως το amsacrine, το DACA, το PZA κ.α.

1.3.3.2.1 Mitoxantrone.

Το mitoxantrone είναι ένα παράγωγο ανθρακενο-9,10-διόνης που χορηγείται αφενός για προχωρημένους καρκίνους του μαστού και της μήτρας και αφετέρου για την αντιμετώπιση λευχαιμιών και λεμφωμάτων. Θεωρείται δομικό ανάλογο του doxorubicin και εκδηλώνει τη δράση του, όπως έχει ήδη αναφερθεί, με ενδοπαρεμβολή και αναστολή της τοποϊσομεράσης II (αναστέλλεται η ικανότητα του ενζύμου να επανασυνδέει τα τμημένα κομμάτια του DNA) (Εικόνα 15). Το mitoxantrone και τα ανάλογα του σχεδιάστηκαν έπειτα από σάρωση ρουτίνας του NCI και την παρατήρηση ότι πολλοί αντιλευχαιμικοί παράγοντες διέθεταν ένα κοινό σύστημα, αποτελούμενο από δύο άτομα οξυγόνου και ένα άτομο αζώτου διευθετημένα στο χώρο σε συγκεκριμένες αποστάσεις μεταξύ τους, το οποίο ήταν παρόν και στις ανθρακυκλίνες και συμπεριελάμβανε την αμινομάδα του σακχαρικού τους τμήματος.⁶² Η εισαγωγή των πλευρικών αμινικών αλυσίδων, καθώς και των φαινολικών υδροξυλίων στο mitoxantrone, προσδίδουν στο μόριο εις διπλούν το τριαδικό σύστημα N-O-O και αντικαθιστούν το αμινοσάκχαρο daunomycine, το οποίο έχει σχετιστεί με την καρδιοτοξικότητα του doxorubicin κατά περιπτώσεις (Σχήμα 7).⁶³

Χαρακτηριστικά του φαρμάκου αυτού είναι η αυξημένη μεταβολική σταθερότητα καθώς και η δημιουργία σταθερών συμπλόκων με το DNA. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι το

mitoxantrone, σε σύγκριση με τις ανθρακυκλίνες, παρουσιάζει μειωμένη καρδιοτοξικότητα, παρόλα αυτά εμφανίζει παρενέργειες που έχουν σχέση με την καταστολή του μυελού των οστών.



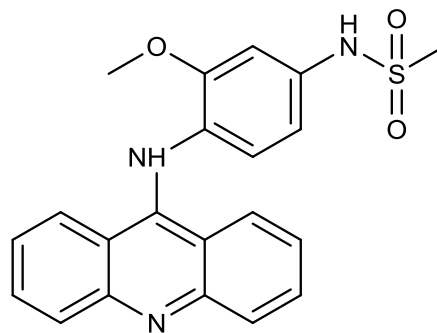
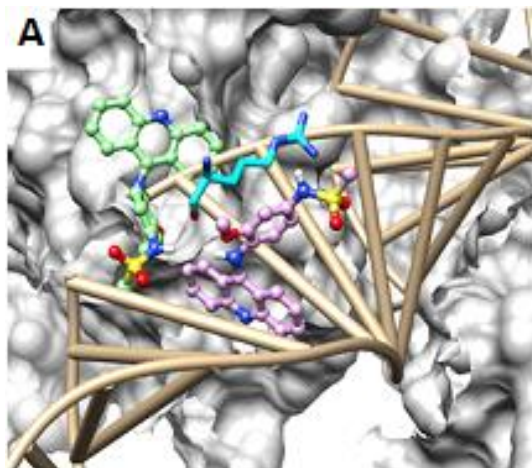
Σχήμα 7: Κοινά χαρακτηριστικά doxorubicin-mitoxantrone.

1.3.3.2.2 Παράγωγα ακριδίνης και τοποϊσομεράσες

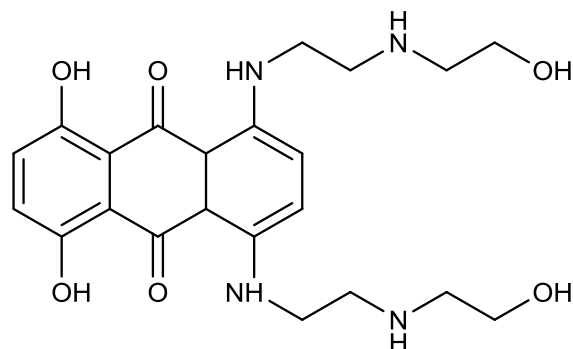
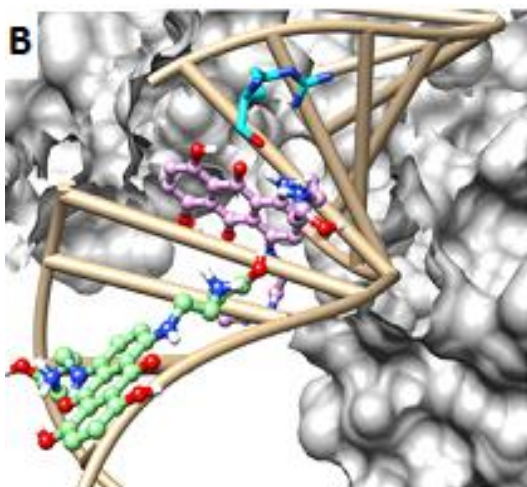
Τα ακριδινικά παράγωγα έχουν εκτενώς μελετηθεί ως πιθανοί θεραπευτικοί παράγοντες για την αντιμετώπιση ενός αριθμού ασθενειών, όπως ο καρκίνος, η νόσος Alzheimer και βακτηριακές και πρωτοζωικές λοιμώξεις. Ο τρόπος δράσης τους οφείλεται κυρίως στην ενδοπαρεμβολή τους στο DNA και τις συνέπειες για τις βιολογικές διαδικασίες που συνδέονται με το DNA και τα ένζυμα που σχετίζονται με αυτό. Ο μηχανισμός δράσης τους στηρίζεται στο ότι το χρωμοφόρο τους (επίπεδος αρωματικός δακτύλιος) έχει την ικανότητα να ενδοπαρεμβάλλεται στη διπλή έλικα του DNA μεταξύ των ζευγών βάσεων, όπου μέσω π-π αλληλεπιδράσεων διαταράσσει την κυτταρική διαίρεση. Ειδικότερα, προκαλείται αναστολή της σύνθεσης του DNA αλλά και του RNA ενώ εμφανίζονται απλά και διπλά σπασίματα των νουκλεοτιδικών αλυσιδών. Παράλληλα παρεμποδίζεται η λειτουργία επιδιορθωτικών και

μεταγραφικών ενζύμων ενώ αναστέλλεται η δράση και των ενζύμων του DNA όπως οι τοποϊσομεράσες, οι τελομεράσες, και DNA-εξαρτώμενες πρωτεϊνικές κινάσες.

Από τα παράγωγα της ακριδίνης με ανασταλτική δράση έναντι των Τοποϊσομερασών, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το Amsacrine(m-AMSA) (**Σχήμα 8**). Πρόκειται για τον πρώτο συνθετικό παράγοντα με ανασταλτική δράση έναντι της τοποϊσομεράσης II που εγκρίθηκε για τη θεραπεία της λευχαιμίας το 1976. Η ανασταλτική του δράση στηρίζεται στο σχηματισμό ενός τριμερούς συμπλόκου DNA-φαρμάκου-τοποϊσομεράσης II, όπου ο δακτύλιος της ακριδίνης ενδοπαρεμβάλλεται στο DNA μέσω π - π αλληλεπιδράσεων ενώ η πλευρική αλυσίδα της ανιλίνης αλληλεπιδρά με το ένζυμο.^{64,65} Οι αλληλεπιδράσεις αυτές φαίνεται να είναι ζωτικής σημασίας για την ανασταλτική του δράση (**Εικόνα 8**). Πολλές κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι το m-AMSA μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη θεραπεία της οξείας μυελοειδούς λευχαιμίας (AML), της οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας ενηλίκων και της οξείας προμυελοκυτταρικής λευχαιμίας.⁶⁶



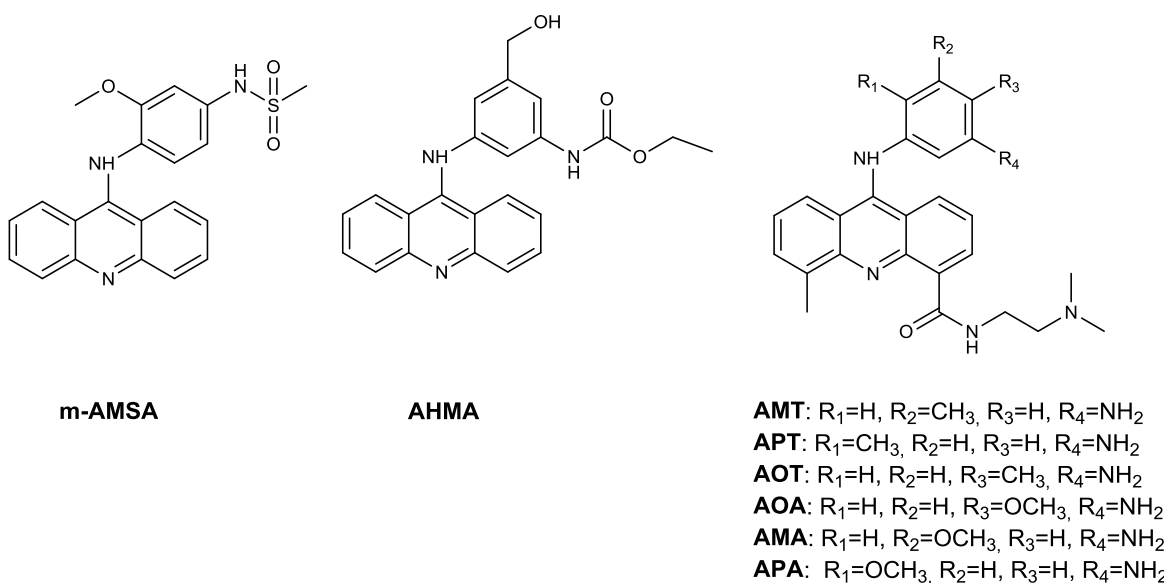
m-AMSA



Mitoxantrone

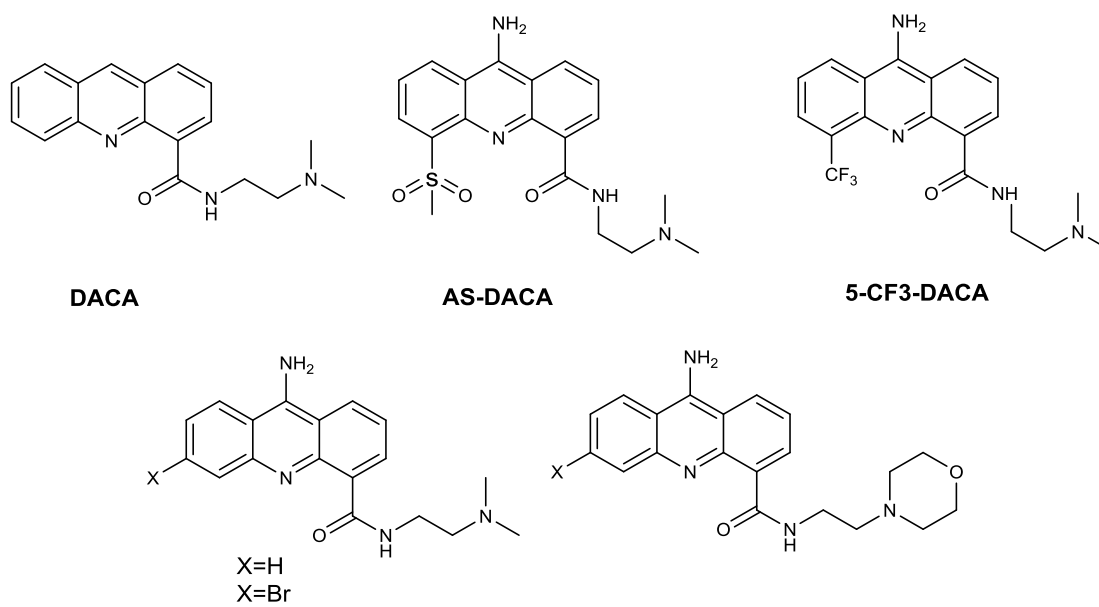
Εικόνα 8: Αλληλεπίδραση Mitoxantrone και m-AMSA με DNA και τοποϊσομεράση II

Το κύριο μειονεκτήματα του m-AMSA είναι η καρδιοτοξικότητα που αποδίδεται στο κινονικό σύστημα που σχηματίζεται κατά την οξείδωση της ανιλίνης.^{67,68} Έχουν γίνει διάφορες προσπάθειες βελτιστοποίησης της δράσης του m-AMSA με σημαντικότερες την τροποποίηση της πλευρικής ανιλίνης ώστε να μην είναι εφικτός ο σχηματισμός του κινονικού συστήματος, με στόχο τη μείωση της καρδιοτοξικότητας και τη διατήρηση/βελτίωση της κυτταροτοξικής δράσης. Με αυτόν τον τρόπο έχουν προκύψει αρκετά μόρια με ευρέως φάσματος αντικαρκινική δράση έναντι ευαίσθητων αλλά και ανθεκτικών καρκινικών σειρών. Πλήθος παραγώγων στα οποία συνδυάζονται τα παραπάνω δομικά στοιχεία βρίσκονται σε κλινικές δοκιμές, ενώ άλλα μελετώνται σε προκλινικό επίπεδο (Σχήμα 8).



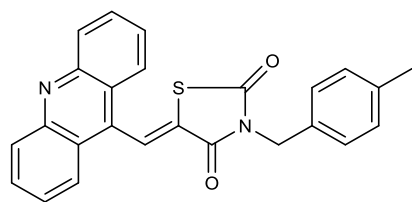
Σχήμα 8: m-AMSA και ανάλογα του

Ένα άλλο ενδιαφέρον παράγωγο είναι το DACA, μία 4-καρβοξαμιδοανιλίνη η οποία έφτασε σε κλινικές μελέτες φάσης II για μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, προχωρημένο καρκίνο των οσθικών και υποτροπιάζων πολύμορφο γλοιοβλάστωμα.⁶⁹ Πρόκειται για έναν διπλό αναστολέα των Τοποϊσομερασών I και II με βάση τον οποίο σχεδιάστηκαν και μελετήθηκαν πολλά άλλα παράγωγα (Σχήμα 9).

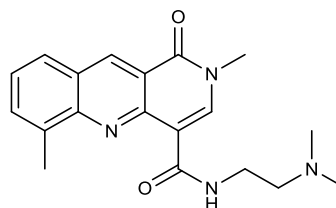


Σχήμα 9: DACA και ανάλογα του

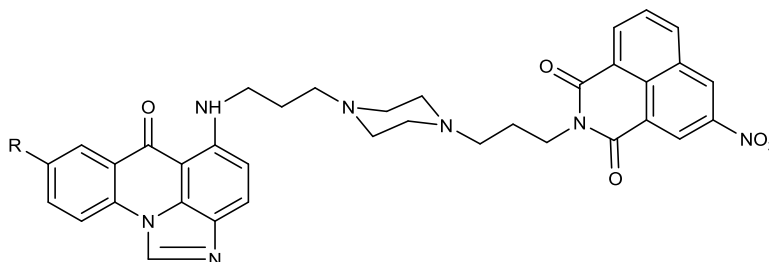
Η πλευρική αλυσίδα παίζει ουσιαστικό ρόλο στην δράση του μορίου καθώς σχηματίζει δεσμό υδρογόνου με το N-7 της γουανίνης και σταθεροποιεί το μόριο εντός της μεγάλης αύλακας του DNA.⁷⁰ Φαίνεται ότι η αλυσίδα πρέπει να βρίσκεται στη θέση 4 του δακτυλίου της ακριδίνης καθώς ενώσεις με την αλυσίδα στις θέσεις 1-3 του σκελετού δεν παρουσίασαν κυτταροστατική δράση, ενώ και το μέγεθος της παίζει σημαντικό ρόλο στη δραστηριότητα του μορίου με τα δραστικότερα παράγωγα να είναι αυτά με αλυσίδα μήκους 2-4 ατόμων άνθρακα. Επιπλέον, δοκιμάστηκε η εισαγωγή κυκλικών αλειφατικών ή αρωματικών τμημάτων (πιπεριδίνη, N-μεθυλο-πιπεραζίνη, μορφολίνη και 2-πυριδίνη) στο ακραίο άζωτο της πλευρικής αλυσίδας που όμως και αυτά με τη σειρά τους εξαφάνισαν τη δραστηριότητα του μορίου. Τέλος, εκτός από την αλυσίδα, προστέθηκαν και άλλοι υποκαταστάτες (-Cl, -OCH₃, -CH₃) σε διάφορες θέσεις του μορίου που μείωναν τη δραστηριότητα σε κάποιες κυτταρικές σειρές ενώ σε άλλες την άυξαναν, ειδικά το χλώριο και το μεθύλιο.⁷¹ Με την πάροδο των χρόνων έχει σχεδιαστεί και μελετηθεί ένας μεγάλος αριθμός ακριδινών όπως τα παράγωγα LPSF/AC04⁷², αλλά και διάφορα διμερή της ακριδίνης όπως τα ΗΚΗ40Α, WMC-79, SN28049, κ.α. (**Σχήμα 10**).⁷²⁻⁷⁴



LPSF/ACO4



SN28049

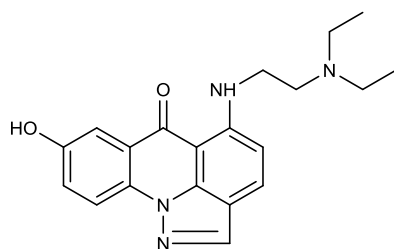


HKH40A: R=OCH₃

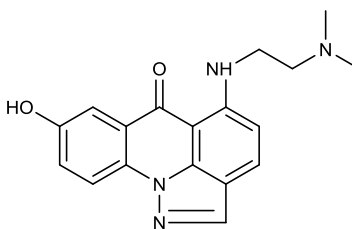
WMC79: R=OH

Σχήμα 10: Διάφορα παράγωγα της ακριδίνης

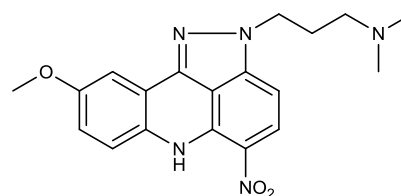
Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι ακριδίνες C-1305, C-1311 και το PZA (Σχήμα 11). Τα παράγωγα C-1305 και C-1311 ανακαλύφθηκαν και 1990 και είναι αναστολείς της Τοποϊσομεράσης II.⁷⁵⁻⁷⁸ Όπως σε όλα τα παράγωγα ανάλογη δομής, ιδιαίτερο ρόλο για την δράση τους παίζει η πλαϊνή πλευρική αλυσίδα. Βέλτιστη δράση παρατηρείται όταν η απόσταση είναι 2-3 άτομα άνθρακα. Ειδικότερα, η ιμιδαζολοακριδίνη έχει προχωρήσει σε κλινικές μελέτες φάσης II και ο μηχανισμός δράσης της στηρίζεται στην ενδοπαρεμβολή μεταξύ των ζευγών βάσεων του DNA και σχηματισμό σταθερού συμπλόκου με το ένζυμο.



C-1311



C-1305



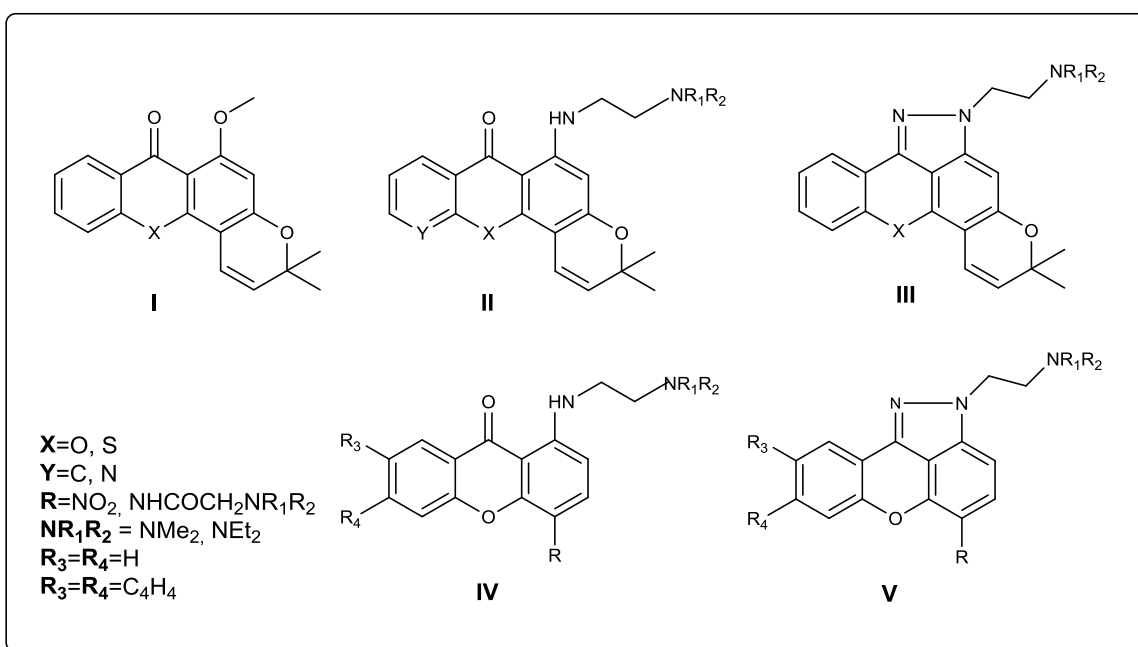
PZA

Σχήμα 11: Διάφορα παράγωγα της ακριδίνης

Η 9-μεθοξυπυραζολοακρινιδίνη (PZA) θεωρείται ότι αποτελεί εξέλιξη των ανθρακυκλινών και του Mitoxantrone ιδιαίτερα όσον αφορά την μειωμένη καρδιοτοξικότητα που παρατηρείται στο παράγωγο αυτό. Όσον αφορά τον μηχανισμό δράσης του PZA, πειράματα αντικατάστασης ethidiumbromide από DNA έδειξαν ότι το μόριο συνδέεται ισχυρά στη διπλή έλικα και προκαλεί διάσπαση του νουκλεϊνικού οξέος σε μονόκλινα ή δίκλινα τμήματα της έλικας που συνδέονται με πρωτεΐνες. Παρόλα αυτά μέσα στο κύτταρο δρα περισσότερο ως αναστολέας σύνθεσης RNA παρά DNA, γεγονός που αποδίδεται στην ισχυρή σύνδεση του με τη διπλή έλικα με τρόπο ώστε να αποτρέπεται η προσέγγιση και δράση ενζύμων που λαμβάνουν μέρος όχι μόνο στην αντιγραφή του DNA, αλλά κυρίως στις μεταγραφικές διαδικασίες. Επίσης ασκεί τη δράση του και ως αναστολέας των τοποϊσομερασών I και II. Ο αριθμός των μορίων που παρουσιάζουν αναστολή και των δύο μορφών του ενζύμου είναι περιορισμένος και συνήθως παρουσιάζουν ισχυρή αντικαρκινική δράση.⁷⁹

1.4 Σχεδιασμός

Κατά το παρελθόν έχουμε ασχοληθεί με τον σχεδιασμό, τη σύνθεση και την αξιολόγηση της δράσης παραγώγων ακριδόνης, ξανθόνης, θειοξανθόνης και του , φυσικής προέλευσης αλκαλοειδούς, acronycine (Σχήμα 12).⁸⁰ Ορισμένα από τα παράγωγα αυτά εμφάνισαν ικανοποιητική δράση σε λευχαιμικά κύτταρα και σε σειρές που προέρχονται από ανθρώπινους στερεούς όγκους.



Σχήμα 12: Ανάλογα των mitoxantrone και acronycine με αντικαρκινική δράση που συντέθηκαν από το εργαστήριό μας.

Οι πυρανοξανθόνες του τύπου *I* (**Σχήμα 12**) έδειξαν παραπλήσια και σε ορισμένες περιπτώσεις ανώτερη κυτταροτοξική δράση από το acronycine, έναντι της λευχαιμικής κυτταρικής σειράς L1210. Μία ενδιαφέρουσα τροποποίηση των πυρανοξανθονών του τύπου *I* ήταν η αντικατάσταση του 6-μεθοξυλίου από μία βασική αμινική αλυσίδα, με αποτέλεσμα να προκύψουν οι πυρανοξανθόνες του τύπου *II*. Από την μελέτη κυτταροτοξικότητας αυτών των παραγώγων φαίνεται ότι η εισαγωγή της αμινικής αλυσίδας ενισχύει τη δράση έναντι της σειράς L1210 (Πίνακας 1).

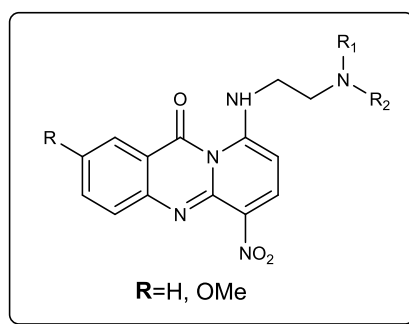
Παράγωγα γενικού τύπου Σχήματος 12.	L1210	HT29	MES-SA	MES-SA/Dx
I	17-20	-	-	-
II	2-10	-	-	-
III	2-17	3-10	-	-
IV	0.3-1.9	1.2-2.5	0.7-2.3	0.5-2.6
V	1.2-2	0.4-2.2	0.5-1.9	0.3-1.9
Acronycine	26	αδρανής	-	-
Doxorubicin	0.08	0.32	0.016	1.56

Πίνακας 1: Ενδεικτικές τιμές IC₅₀ σε μΜ των παραγώγων των γενικών τύπων του Σχήματος 12.

Δεδομένης της θετικής επίπτωσης στην αντιλευχαιμική δράση της αμινικής αλυσίδας συντέθηκαν τα ανάλογα του τύπου *III*, όπου η συμπύκνωση του πυραζολικού δακτυλίου περιορίζει σημαντικά πλέον την ευκινησία και την διαμόρφωση στο χώρο της πλευρικής αμινικής αλυσίδας. Τα μόρια αυτά διατηρούν την αξιόλογη δράση έναντι της λευχαιμικής κυτταρικής σειράς L1210 και επιπλέον διαθέτουν εξαιρετική δράση έναντι της στερεάς καρκινικής σειράς HT-29, στην οποία το acronycine είναι αδρανές. Ακολούθως, σχεδιάστηκαν και συντέθηκαν οι ξανθόνες και βενζο[*b*]ξανθόνες των τύπων *IV* και *V* που φέρουν ως υποκαταστάτη στην 1-θέση βασική αμινική αλυσίδα και συμπύκνωση πυραζολικού δακτυλίου που φέρει την ίδια αμινική αλυσίδα αντίστοιχα. Επίσης, συντέθηκαν παράγωγα που φέρουν και δεύτερο υποκαταστάτη στην 4-θέση του δακτυλίου, που μπορεί να είναι νιτρομάδα ή δεύτερο βασικό κέντρο, βασιζόμενοι στο γεγονός ότι η ύπαρξη αναλόγων υποκαταστατών σε π-θέση ως προς την αμινική αλυσίδα της 1-θέσης σε μόρια ακριδονών αυξάνει θεαματικά τη δράση. Τα περισσότερα από αυτά τα μόρια είχαν εξαιρετική δράση έναντι των σειρών L1210 και HT-29, όμως ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει η δραστηριότητα τους έναντι της ανθεκτικής στην δοξορουβικίνη καρκινικής σειράς MES-SA/Dx, γεγονός που είναι ιδιαίτερα ενθαρρυντικό

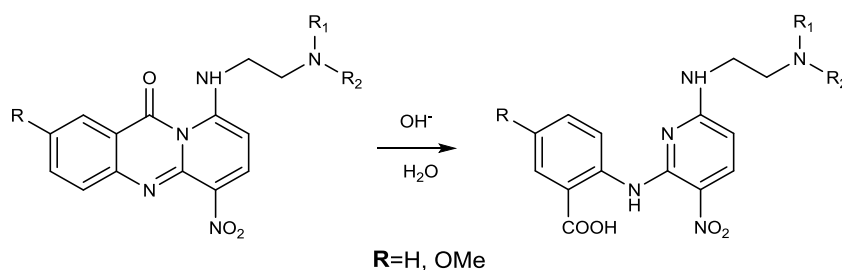
σχετικά με το σχεδιασμό νέων μορίων, αφού τα παράγωγα αυτά εμφανίζονται ικανά να αντιμετωπίσουν το φαινόμενο πολλαπλής διασταυρούμενης αντοχής (MDR).

Εκτός των μορίων του Σχήματος 12, στο εργαστήριο μας συντέθηκαν πρόσφατα μόρια του γενικού τύπου του Σχήματος 13. Τα παράγωγα αυτά παρά την δομική τους ομοιότητα με τα μόρια που έχουν περιγραφεί παρουσίασαν ιδιαίτερα μικρή κυτταροτοξική δράση. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με την μεγάλη δομική τους ομοιότητα τόσο με το Mitoxantrone όσο και με το PZA μας έκανε να μελετήσουμε τη σταθερότητα των ενώσεων αυτών σε υδατικό περιβάλλον.



Σχήμα 13: Γενικός τύπος νέων παραγώγων

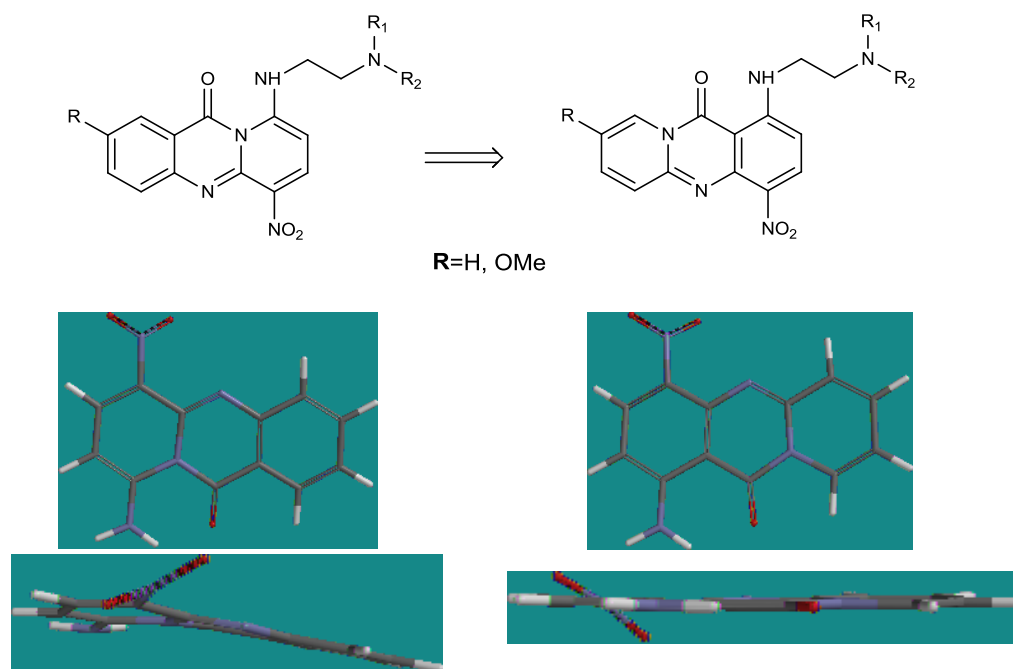
Με την βοήθεια φασματοσκοπίας μάζας διαπιστώθηκε ότι στα παράγωγα αυτά, σε υδατικό περιβάλλον, ο αμιδικού τύπου δεσμός προσβάλλεται ταχύτατα από το νερό με αποτέλεσμα την διάνοιξη του και την παραλαβή του «ανοικτού» καρβοξυλικού οξέος I (**Σχήμα 14**).



Σχήμα 13: Διάνοιξη δακτυλίου σε υδατικό περιβάλλον.

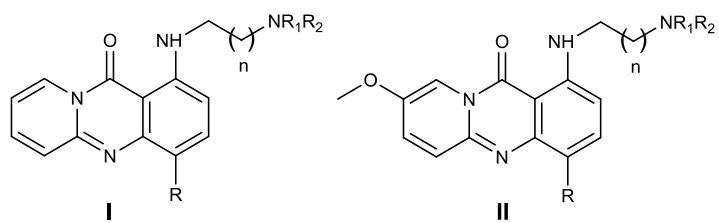
Η παρατήρηση αυτή επιβεβαιώνεται και με την βοήθεια μοριακών υπολογισμών κατά τους οποίους φαίνεται ότι τα παράγωγα αυτά παρουσιάζουν μικρή αρωματικότητα ενώ ο αμιδικού τύπου δεσμός είναι ιδιαίτερα πολωμένος. Θεωρώντας ότι τα μόρια αυτά παρουσιάζουν αξιόλογη δράση δεδομένης της υψηλής τους αστάθειας στο φυσιολογικό pH, αποφασίστηκε ο σχεδιασμός και η σύνθεση νέων μορίων με τον ίδιο βασικό σκελετό αλλά βελτιωμένη αρωματικότητα και επομένως σταθερότητα. Γνωρίζοντας ήδη ότι τα παράγωγα που φέρουν

υποκαταστάτη μεθόξυ ομάδα είναι πιο σταθερά σε σχέση με τα παράγωγα χωρίς υποκαταστάτη (μία έως δύο τάξεις μεγέθους) θεωρήθηκε ότι η μετατόπιση του συμπυκνωμένου αζώτου σε διαφορετική θέση του αρωματικού δακτυλίου θα μπορούσε να συνεισφέρει στην σταθερότητα των ενώσεων (**Εικόνα 9**). Με την βοήθεια μοριακών υπολογισμών φαίνεται ότι πράγματι η μεταφορά αυτή συνεισφέρει θετικά στην αρωματικότητα και κατ'επέκταση σταθερότητα των νέων ενώσεων.



Εικόνα 9: Σύγκριση σταθερότητας των ενώσεων σύμφωνα με την αρωματικότητά τους

Έτσι λοιπόν, σε συμφωνία με όσα αναφέρθηκαν και ως συνέχεια της μελέτης μας για την ανακάλυψη δραστικότερων αναλόγων μορίων, θεωρήθηκε ενδιαφέρον να συντεθούν και να αξιολογηθούν φαρμακολογικά οι ακριδόνες των γενικών τύπων I και II (**Σχήμα 15**). Τα παράγωγα αυτά, σε αντιστοιχία με όσα έχουν ήδη αναφερθεί φέρουν διαλκυλαμινοαιθυλάμινο ή διαλκυλαμινοπροπυλάμινο υποκαταστάτη. Σε ορισμένα μόρια έχει εισαχθεί η χαρακτηριστική νιτρομάδα που φέρει ως υποκαταστάτη το PZA, ενώ σε άλλα μόρια στη θέση της εισάγεται είτε ένα δεύτερο βασικό κέντρο, κατ' αναλογία με το DACA, είτε ένα α,β ακόρεστο σύστημα που μπορεί να αποτελέσει υπόστρωμα για 1,4 προσθήκη Michael, εφόσον το μόριο προσεγγίσει το DNA (π.χ. από το N-7 ενός μορίου γουανίνης). Προφανώς, στα νέα αυτά παράγωγα υπάρχει και ένα συμπυκνωμένο άτομο αζώτου με σκοπό να μελετηθεί η επίδραση του ατόμου αυτού τόσο στη σταθερότητα όσο και στην δράση των μορίων αυτών.

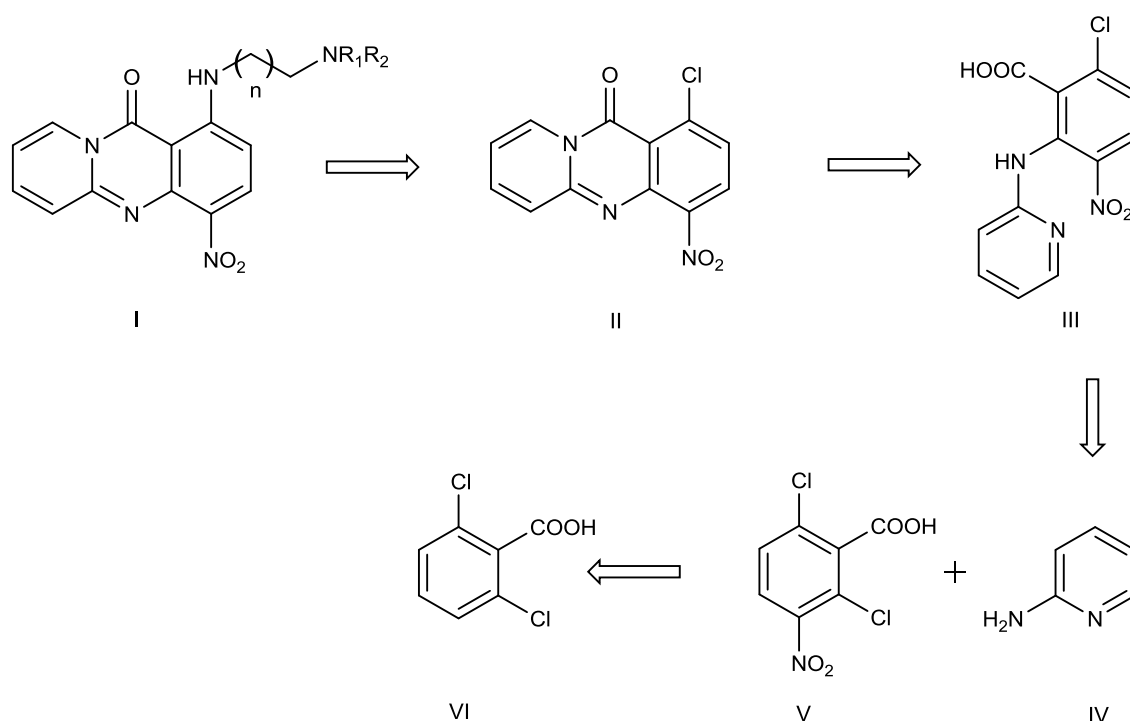


R=NO₂, NHCOCH₂NR₁R₂, NHCOCH₂CH₂NR₁R₂, NHCOCH=CH₂
NR₁R₂=NMe₂, NEt₂
n=1,2

Σχήμα 15: Γενικοί τύποι των επιθυμητών τελικών μορίων της παρούσας εργασίας.

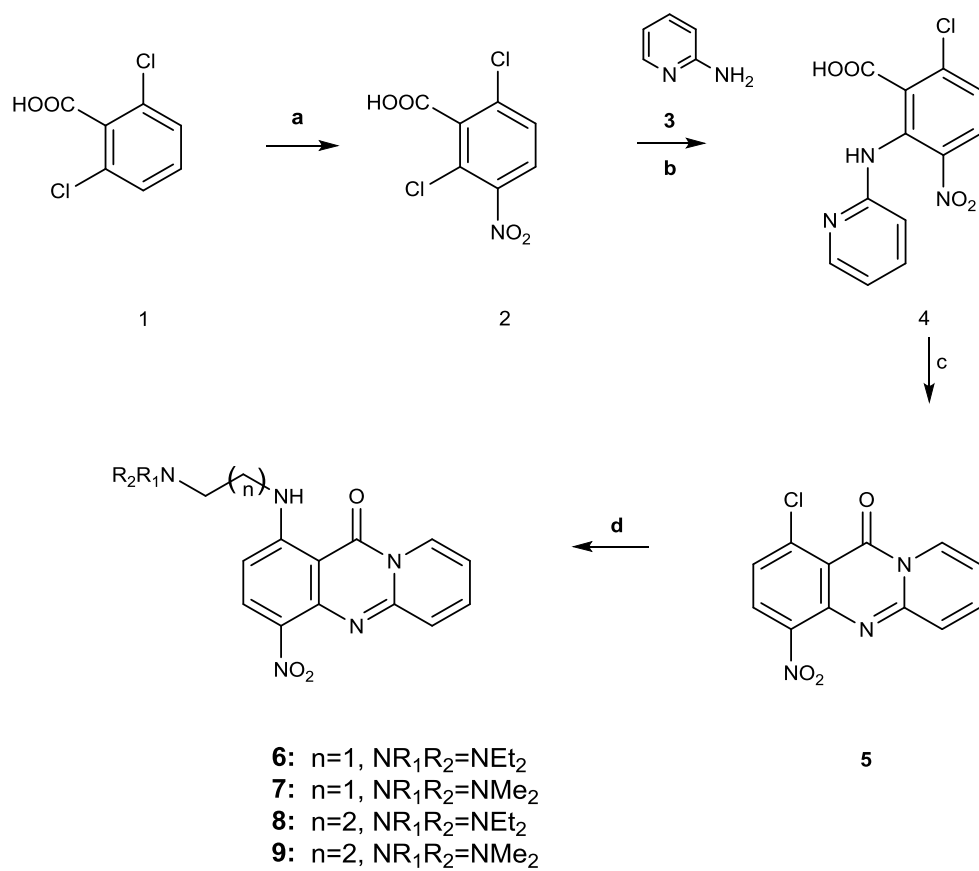
2. ΧΗΜΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Για τη σύνθεση των επιθυμητών παραγώγων του γενικού τύπου I (σχήμα 16) απαραίτητο δομικό ενδιάμεσο είναι η αμίνη I, η σύνθεση της οποίας μπορεί να γίνει με επίδραση της κατάλληλα υποκατεστημένης αμίνης επί του χλωρονιτροπαραγώγου II, το οποίο μπορεί να συντεθεί με ενδομοριακή κύκλωση του οξέος III. Το οξύ III μπορεί να συντεθεί έπειτα από σύζευξη της 2-αμινοπυριδίνης IV με το οξύ V το οποίο παρασκευάζεται με νίτρωση του εμπορικά διαθέσιμου 2,6-διχλωροβενζοϊκού οξέος VI (σχήμα 17).



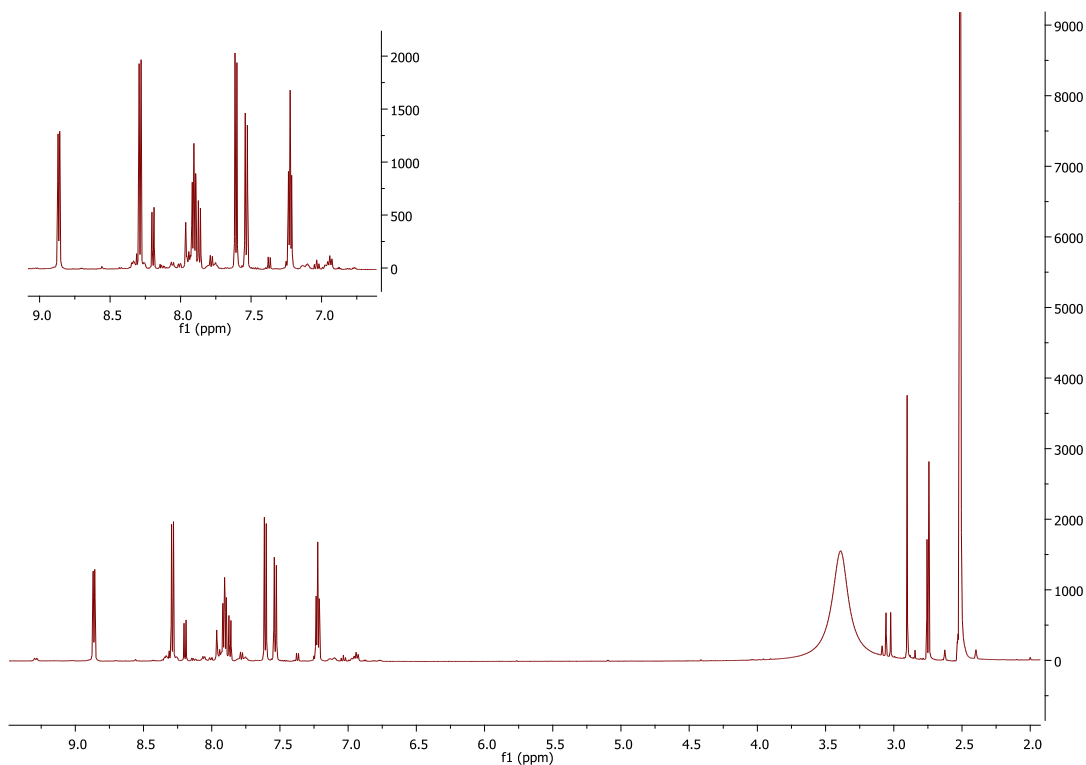
Σχήμα 16: Ρετροσυνθετικό σχήμα για την σύνθεση των παραγώγων του γενικού τύπου I

Αρχικά λοιπόν, με επίδραση ατμίζοντος HNO₃ εντός πυκνού H₂SO₄ επί του 2,6-διχλωροβενζοϊκού οξέος **1** λαμβάνεται το νιτροπαραγόγο **2** (σχήμα 6). Η αντίδραση αυτή είναι ιδιαίτερα απλή και το προϊόν λαμβάνεται καθαρό, απλά με απόχυση της αντίδρασης σε μίγμα πάγου/νερού και διήθηση υπό κενό του στερεού που σχηματίζεται. Ακολούθως, με επίδραση ανιόντος της 2-αμινοπυριδίνης **3** επί του οξέος **2** λαμβάνεται το επιθυμητό οξύ **4**.



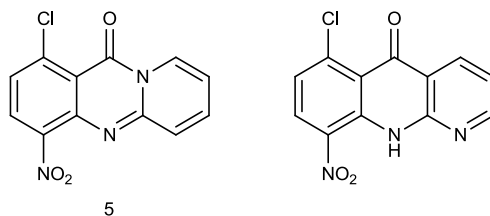
Σχήμα 17: Αντιδραστήρια και συνθήκες: (a) ατμ. HNO_3 , π. H_2SO_4 , θερμοκρασία περιβάλλοντος, 45 min (b) NaH , άνυδρο DMF , $50\text{ }^\circ C$, 24 h (c) PPA , $100\text{ }^\circ C$, 2 h (d) $H_2NCH_2(CH_2)_nNR_1R_2$, THF , βρασμός, 8 h.

Στο φάσμα 1H NMR του οξέος **4** παρατηρούνται 2 διπλές κορυφές στα 8.4 ppm και 8.8 ppm περίπου, που αντιστοιχούν στα H-5 και H-6', ιδιαίτερα αποθωρακισμένες λόγω της γειννίας με τη νιτρομάδα και το πυριδινικό άζωτο αντίστοιχα (**εικόνα 10**).



Εικόνα 10: Φάσμα ^1H NMR του οξέος **4** σε $\text{DMSO-}d_6$

Ακολουθώντας από το οξύ **4** με ενδομοριακή κύκλωση, εντός πολυφωσφωρικού οξέος, προκύπτει το επιθυμητό χλωρονιτροπαράγωγο **5**. Κατά τη συγκεκριμένη αντίδραση θεωρητικά μπορεί να ληφθούν 2 ισομερή θέσεως, ανάλογα με τη θέση κύκλωσης (**σχήμα 18**). Η απόδειξη της δομής του παραγώγου **5** έγινε με τη βοήθεια φασματοσκοπίας NMR μίας και δύο διαστάσεων.

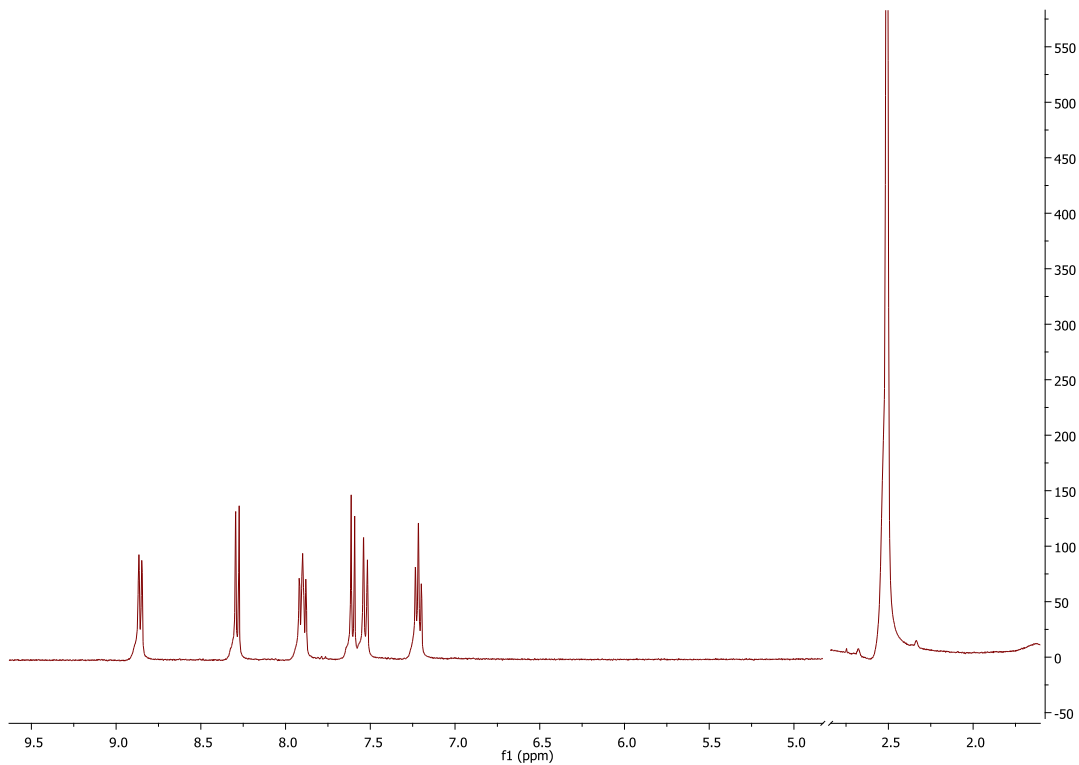


Σχήμα 18: Πιθανά ισομερή κατά την ενδομοριακή κύκλωση του οξέος **4**

Ειδικότερα, στο φάσμα ^1H NMR είναι εμφανές ότι έχει ληφθεί αποκλειστικά το επιθυμητό προϊόν **5**, αφού στην αρωματική περιοχή παρατηρούνται 2 τριπλές κορυφές σε αντίθεση με το ισομερές θέσεως όπου αναμένεται μόνο 1 τριπλή κορυφή (**Εικόνα 11**).

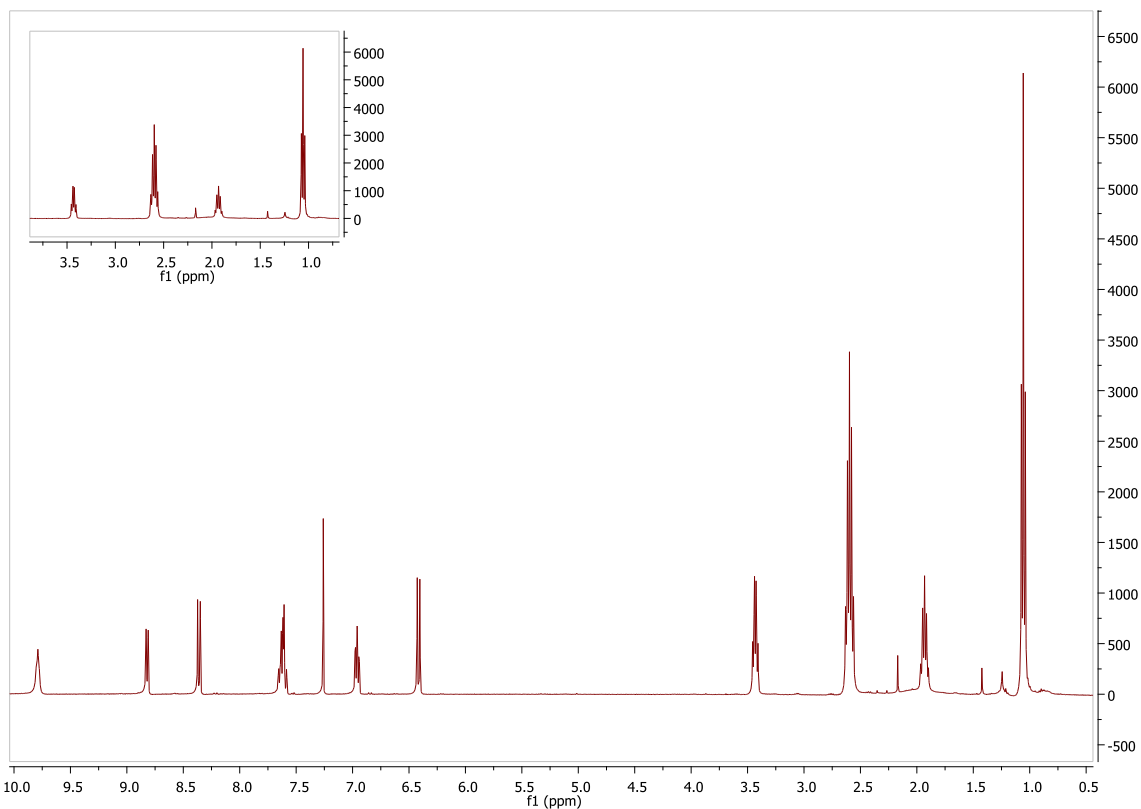
Στη συνέχεια με επίδραση περίσσειας της κατάλληλα υποκατεστημένης αλειφατικής αμίνης επι του χλωρονιτροπαραγώγου **5** λαμβάνονται οι επιθυμητές αμίνες **6-9**. Κατά την αντίδραση αυτή είναι εμφανές ότι ο ετερόκυκλος πλέον είναι ιδιαίτερα σταθερός σε σχέση με τα

αμινοϋποκατεστημένα παράγωγα του σχήματος 14, όπου παρουσία νερού, ο αμιδικού τύπου δεσμός υδρολύεται προς το αντίστοιχο οξύ.



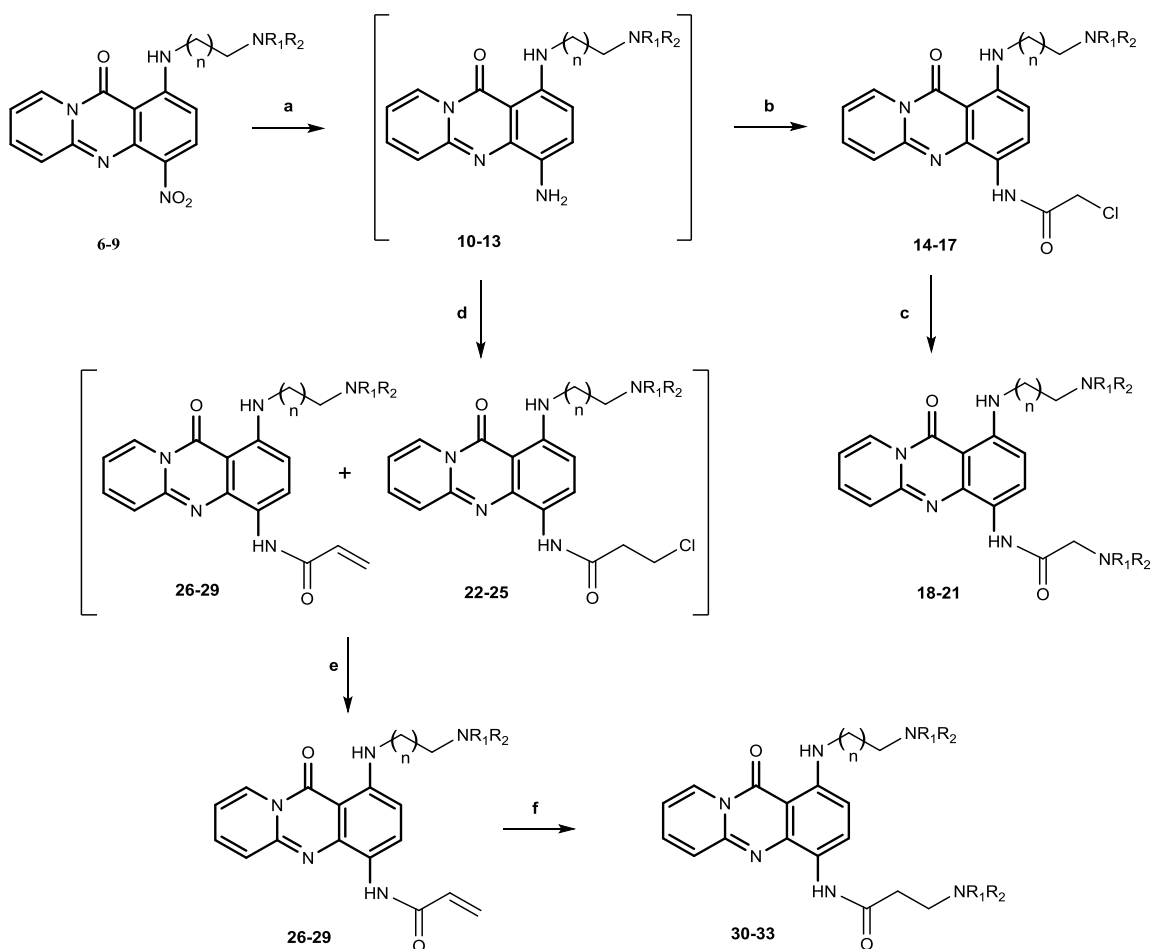
Εικόνα 11: Φάσμα ^1H NMR του παραγώγου **5** σε $\text{DMSO-}d_6$

Στο φάσμα ^1H -NMR της αμίνης **8** είναι εμφανής η ύπαρξη της αλειφατικής αλυσίδας καθώς στην περιοχή των αλειφατικών παρατηρείται μια τριπλή κορυφή στα 1 ppm και ταυτόχρονα μία τετραπλή στα 2.5 ppm περίπου (**εικόνα 12**).



Εικόνα 12: Φάσμα ^1H NMR του παραγώγου **8** σε CDCl_3

Το επόμενο στάδιο της συνθετικής πορείας αφορά την αναγωγή προς το αντίστοιχο αμινο παράγωγο, μέσω του οποίου θα συντεθούν τα τελικά δισυποκατεστημένα παράγωγα. Η αναγωγή της νιτρομάδας έχει περιγραφεί με διάφορους τρόπους στη βιβλιογραφία. Μεταξύ αυτών, οι πιο συνηθισμένοι αφορούν την αναγωγή με H_2 , παρουσία κάποιου καταλύτη όπως Pd/C ή Ni-Raney , ή με την χρήση Fe , Zn ή SnCl_2 σε όξινο περιβάλλον. Εκτός των τρόπων αυτών έχουν περιγραφεί πολλοί άλλοι όπως μυρμηγκικό αμμώνιο με Pd/C , Ni-Raney με NH_2NH_2 , NaBH_4 με Pd/C , NaBH_4 με Pd/C , ZrCl_4 , NH_4Cl με Zn , Na_2S με 5% Ru και $(\text{Ph}_3\text{P})_3\text{RuCl}_2$ με Zn , οι οποίοι μεταξύ άλλων χαρακτηρίζονται για την εκλεκτικότητα τους αλλά και για τον ήπιο χαρακτήρα τους.



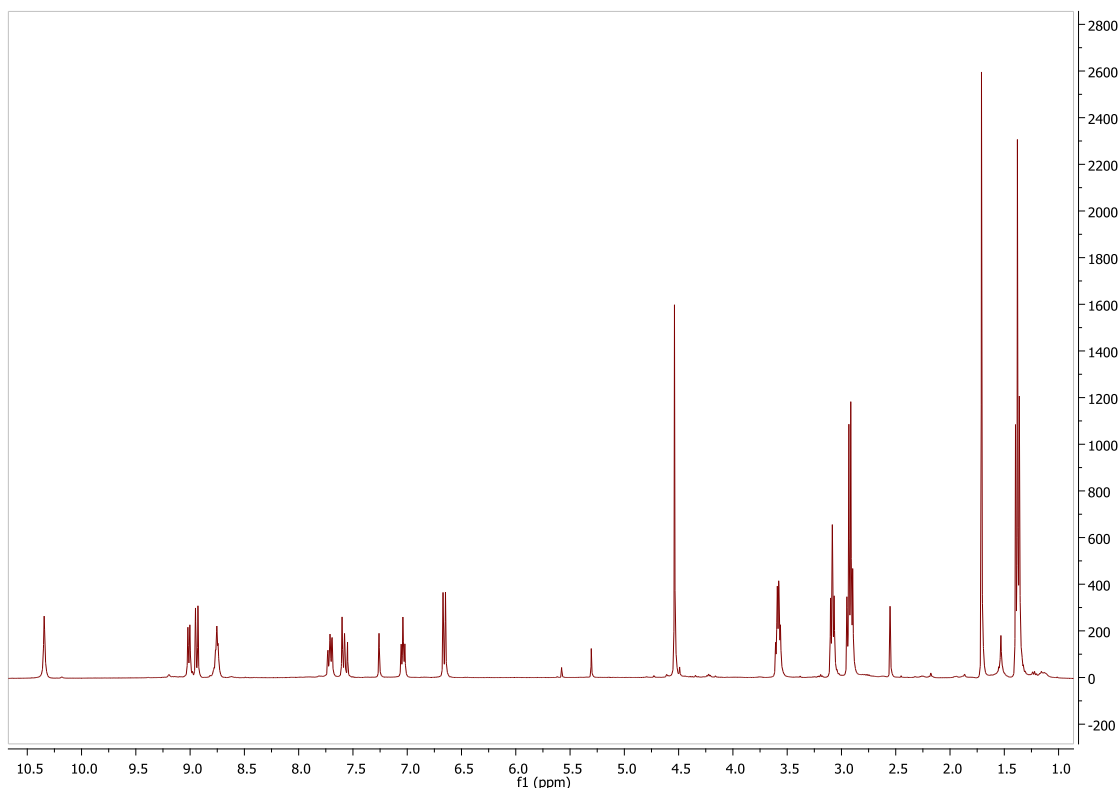
Σχήμα 19: Αντιδραστήρια και συνθήκες: (a) HCOONH₄, Pd/C, MeOH, 70 °C, 2 min (b) ClCOCH₂Cl, Na₂CO₃, THF θερμοκρασία περιβάλλοντος, 15 min (c) HNR₁R₂, βρασμός, 72 h (d) ClCOCH₂CH₂Cl, Na₂CO₃, THF, θερμοκρασία περιβάλλοντος, 15 min (e) Na₂CO₃, MeOH, θερμοκρασία περιβάλλοντος, 72h (f) HNR₁R₂, βρασμός, 72 h

Στην παρούσα πορεία η αναγωγή της νιτρομάδας επιχειρήθηκε με διάφορους τρόπους όπως:

- ✓ Με καταλυτική υδρογόνωση παρουσία Pd/C ή NiRaney σε ατμοσφαιρική πίεση ή σε πίεση 50 psi.
- ✓ Με τριαιθυλοσιλάνιο σε τριφθοροξικό οξύ.
- ✓ Με χλωριούχο αμμώνιο και ψευδάργυρο.
- ✓ Με χλωριούχο κασίτερο.
- ✓ Με υδραζίνη παρουσία Pd/C ή NiRaney.
- ✓ Με μυρμηγικό αμμώνιο παρουσία Pd/C.
- ✓ Με μυρμηγικό αμμώνιο και ενεργοποιημένο ψευδάργυρο.

Τελικά η αναγωγή επετεύχθη, σε ικανοποιητική απόδοση, με μυρμηκικό αμμώνιο παρουσία 10% Pd/C, με χρήση μικροκυμματικής ακτινοβολίας. Είναι αξιοσημείωτο ότι κατά την αναγωγή με τους υπόλοιπους προαναφερθέντες τρόπους λαμβάνεται πολύπλοκο μίγμα προϊόντων πιθανώς λόγω αναγωγής του πυριδινικού δακτυλίου αλλά και της αστάθειας των ενδιάμεσων αμινοπαραγώγων **10-13**. Εξάλλου, κατά την αναγωγή με μυρμηκικό αμμώνιο παρουσία 10% Pd/C, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, λαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν όμως η αναγωγή «σταματά» περίπου στο 60% (ταυτοποίηση μόνο με την βοήθεια TLC), ενώ μετά από ήπια θέρμανση (30 °C έως 60 °C) λαμβάνεται εκ νέου πολύπλοκο μίγμα προϊόντων.

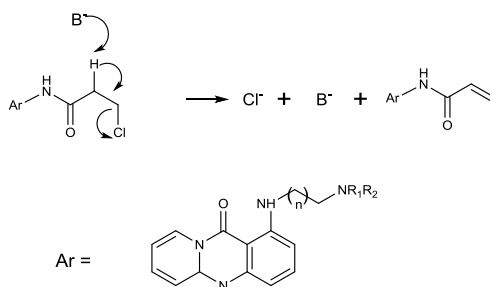
Ακολούθως, με επίδραση χλωρακετυλοχλωριδίου επί των ενδιάμεσων αμινών **10-13**, παρασκευάζονται τα επιθυμητά αμίδια **14-17** (σχήμα 19). Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **14** παρατηρείται η ύπαρξη μιας έντονης απλής κορυφής στα 4.5 ppm περίπου, η οποία αντιστοιχεί στο μεθυλένιο της χλωρακετυλομάδας και η αποθωράκισή της δικαιολογείται από την άμεση γειτνίαση με το καρβονύλιο (εικόνα 13).



Εικόνα 13: Φάσμα ^1H NMR του παραγώγου **14** σε CDCl_3

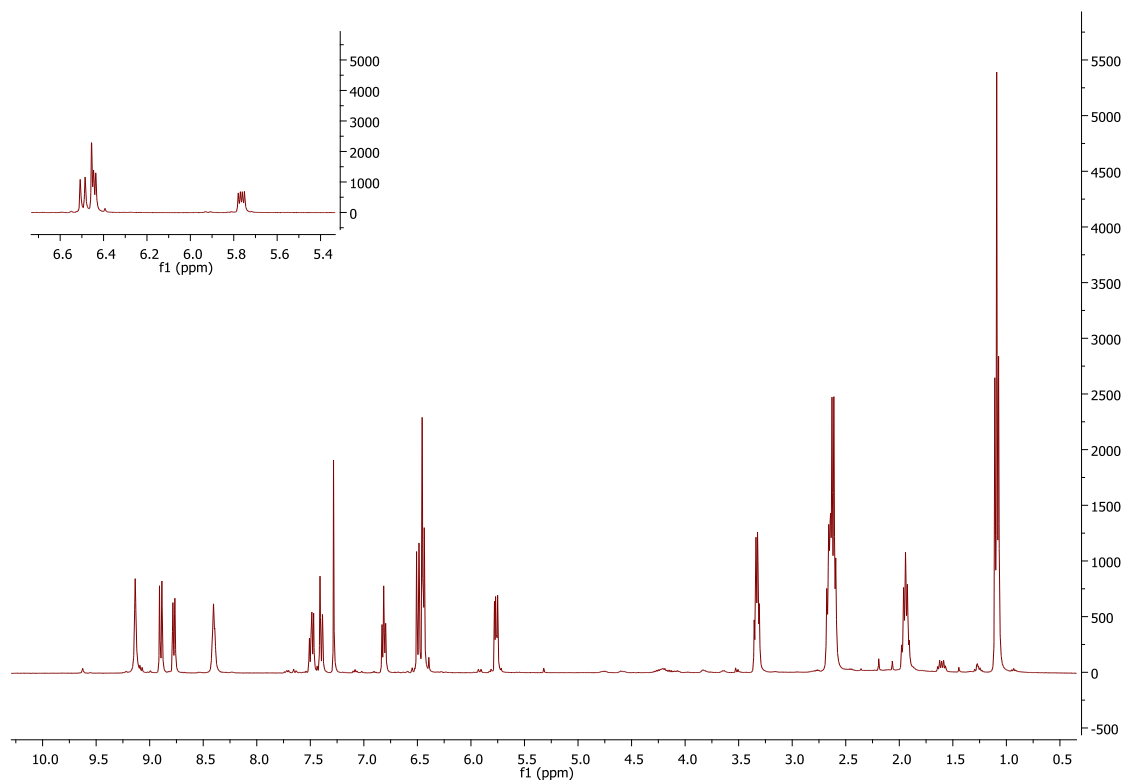
Κατ'αντιστοιχία, με επίδραση 3-χλωροπροπιονυλοχλωριδίου επί των ενδιάμεσων αμινών **10-13**, παρουσία Na_2CO_3 , λαμβάνεται μίγμα των χλωροπαραγώγων **22-25** και **26-29**, προφανώς λόγω αφυδραλογονόσεως των ενδιάμεσων **22-25** (σχήμα 19). Ο διαχωρισμός των παραγώγων **22-25** και **26-29** δεν κατέστη δυνατός με την βοήθεια των συνηθών χρωματογραφικών

τεχνικών και για τον λόγο αυτό, χωρίς κάποια άλλη κατεργασία, με επίδραση Na_2CO_3 εντός μεθανόλης παρελήφθησαν τα επιθυμητά βινυλοπαράγωγα **26-29** (E2 απόσπαση, **σχήμα 20**).



Σχήμα 20: Μηχανισμός αφυδραλογονώσεως

Στο φάσμα ^1H NMR του βινυλοπαράγωγου **28** είναι χαρακτηριστικές μία πολλαπλή κορυφή στα 5.7 ppm περίπου και δύο πολλαπλές κορυφές στα 6.5 ppm περίπου οι οποίες αντιστοιχούν στη βινυλομάδα (**εικόνα 14**).

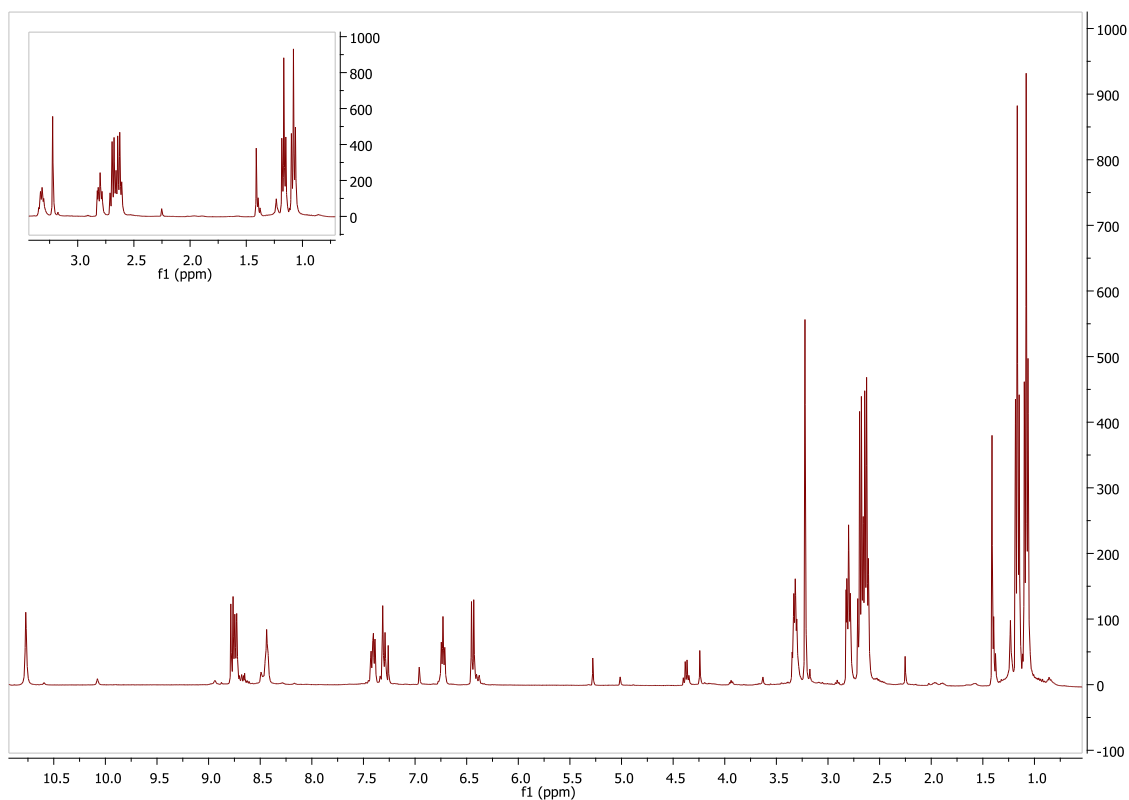


Εικόνα 14: Φάσμα ^1H NMR του παραγώγου **28** σε CDCl_3

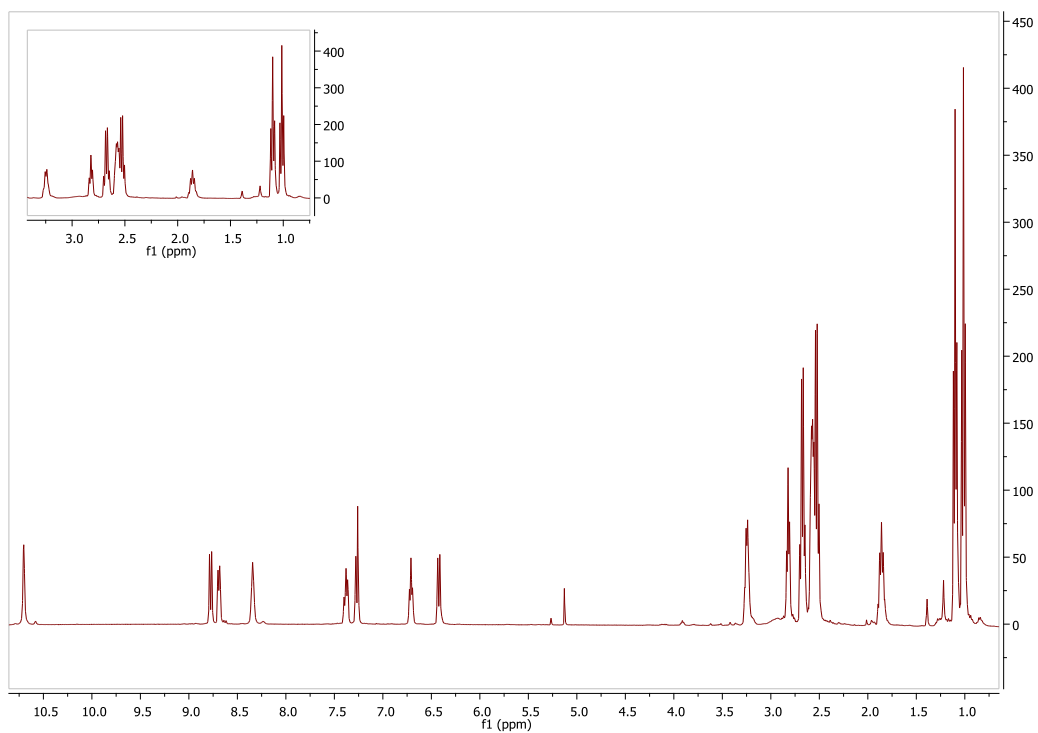
Ακολουθως, με επίδραση της κατάλληλης δευτεροταγούς αμίνης επί των αμιδίων **14-17** παρασκευάστηκαν τα επιθυμητά αμινοπαράγωγα **18-21** (**σχήμα 19**). Στο φάσμα ^1H -NMR της αμίνης **18** παρατηρείται μια επιπλέον τριπλή κορυφή στα 1.2 ppm περίπου και μια νέα

τετραπλή κορυφή στα 2.7 ppm περίπου οι οποίες είναι ενδεικτικές για την ύπαρξη της νέας διαιθυλαμινομάδας (**εικόνα 15**).

Τέλος, οι επιθυμητές αμίνες **30-33** παρασκευάστηκαν με επίδραση των κατάλληλων αλλειφατικών αμινών (1,4 Michael προσθήκη) επί των βινυλοπαραγώγων **26-29**, με βρασμό εντός απόλυτης αιθανόλης (**σχήμα 19**). Στο φάσμα ^1H NMR της επιθυμητής αμίνης **32** δε παρατηρούνται πλέον οι κορυφές της βινυλομάδας ενώ στα 2.7 και 2.9 ppm παρατηρούνται δύο τριπλές κορυφές χαρακτηριστικές της αιθυλενικής ομάδας (**εικόνα 16**).



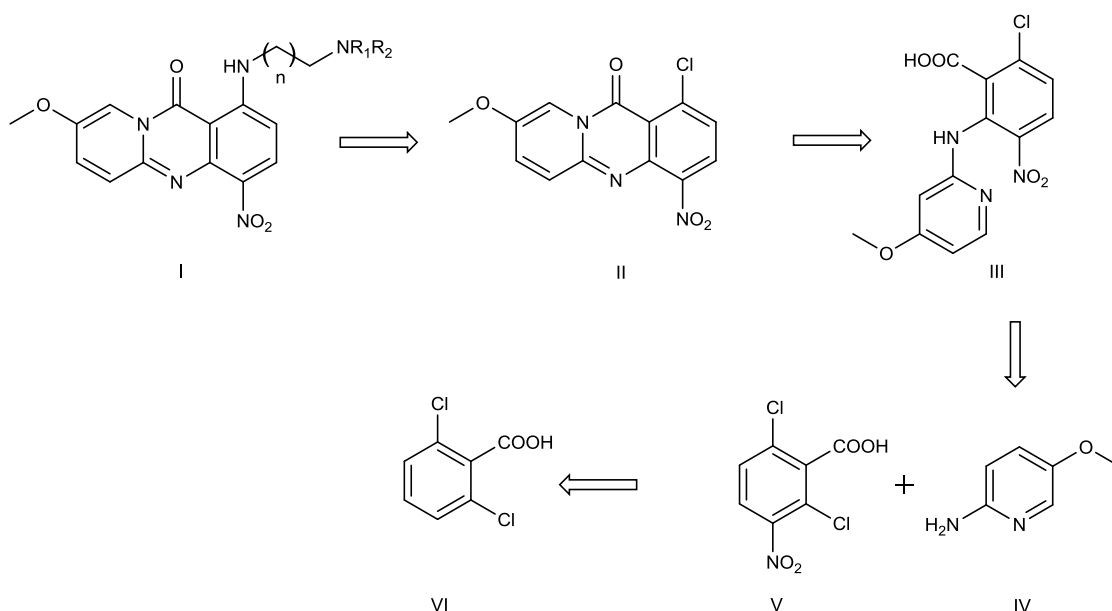
Εικόνα 15: Φάσμα ^1H NMR της αμίνης **18** σε CDCl_3



Εικόνα 16: Φάσμα ¹H NMR της αμίνης **32** σε CDCl₃

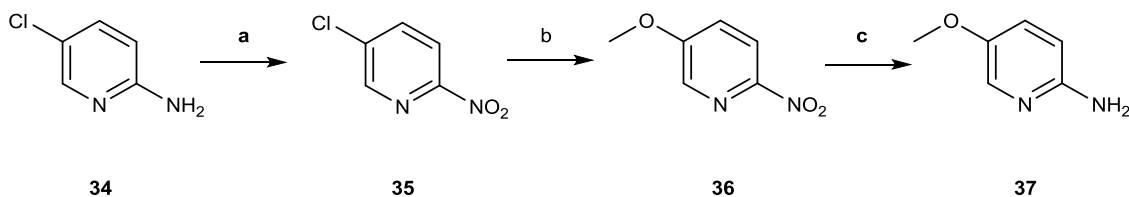
Για τη σύνθεση των επιθυμητων μεθοξυπαραγώγων του γενικού τύπου II (**σχήμα 15**) απαραίτητο δομικό ενδιάμεσο είναι η αμίνη I (**σχήμα 21**), η σύνθεση της οποίας μπορεί να γίνει με τρόπο ανάλογο της σύνθεσης των αμινών **6-9** (**σχήμα 16**), χρησιμοποιώντας στο στάδιο της σύζευξης την 2-αμινο-5-μεθοξυπυριδίνη IV (**σχήμα 21**).

Όπως είναι γνωστό, στον σκελετό της πυριδίνης δεν ευνοείται η αρωματική πυρηνόφιλη υποκατάσταση στις θέσεις 3 και 5. Για τον λόγο αυτό θεωρήθηκε ότι μέσω της οξείδωσης της αμινομάδας της εμπορικά διαθέσιμης 5-χλωρο-2-αμινοπυριδίνης στο αντίστοιχο νιτροπαραγόγο θα μπορούσε να διευκολυνθεί η αντίδραση αρωματικής πυρηνόφιλης υποκατάστασης στον C-5 της 2-νιτρο-5-χλωροπυριδίνης.



Σχήμα 21: Ρετροσυνθετικό σχήμα για την σύνθεση των παραγώγων του γενικού τύπου II

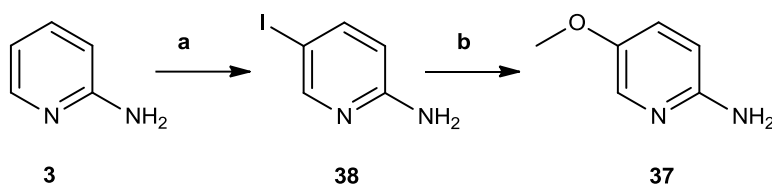
Αρχικά λοιπόν, το εμπορικά διαθέσιμο αμινοπαράγωγο **34**, με επίδραση 30% H₂O₂ και πυκνού H₂SO₄ οξειδώνεται προς το νιτροπαράγωγο **35** (σχήμα 22).⁸¹ Στη συνέχεια, από το νιτροπαράγωγο **35**, με επίδραση μεθοξυνατρίου σε μεθανόλη λαμβάνεται το παράγωγο **36**, από το οποίο με αναγωγή με H₂ παρουσία Pd/C, σε ατμοσφαιρική πίεση, παρελήφθη το επιθυμητό αμινοπαράγωγο **37**.



Σχήμα 22: Αντιδραστήρια και συνθήκες: (a) 30% H₂O₂, π. H₂SO₄, θερμοκρασία περιβάλλοντος, 24 h (b) Na, MeOH, θερμοκρασία περιβάλλοντος, 24 h (c) H₂, Pd/C, ατμοσφαιρική πίεση, 8 h.

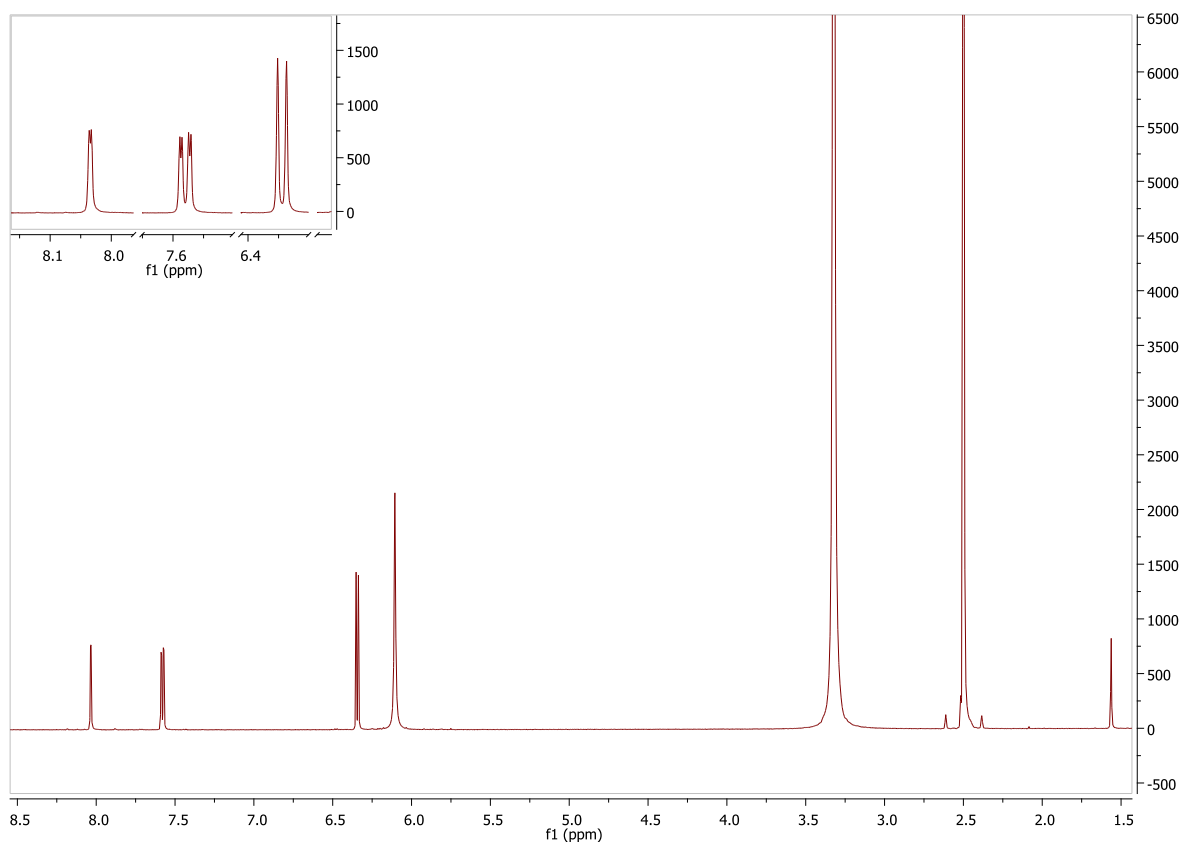
Η συνολική απόδοση της ανωτέρω πορείας ήταν ιδιαίτερα μικρή (της τάξεως του 10%), και για τον λόγο αυτό εγκαταλήφθηκε και αποφασίστηκε να επιχειρηθεί η σύνθεση της μέσω αντίδρασης Ullmann επί της κατάλληλης 5-αλογονο-2-αμινοπυριδίνης. Η σύνθεση της 2-αμινο-5-μεθοξυπυριδίνης με αντίδραση τύπου Ullmann έχει ήδη περιγραφεί στη βιβλιογραφία με επίδραση μεθοξυνατρίου επί της εμπορικά διαθέσιμης 2-αμινο-5-βρωμοπυριδίνης⁸² ή του αντίστοιχου 2-αμινο-5-ιωδοπαραγώγου⁸³ παρουσία μεταλλικού χαλκού ως καταλύτη. Όμως, παρά το γεγονός ότι η αντίδραση αυτή επαναλήφθηκε πολλές φορές, τόσο στο βρώμο όσο και στο ίωδο παράγωγο, δεν κατέστη δυνατό να παραληφθεί το επιθυμητό προϊόν **37**. Δεδομένου

ότι στις αντιδράσεις τύπου Ullmann θεωρείται καλύτερη αποχωρούσα ομάδα το ιώδιο, αποφασίστηκε να αναπτυχθεί ένας νέος τρόπος σύνθεσης της 2-αμινο-5-μεθοξυπυριδίνης (**37**), μέσω της 2-αμινο-5-ιωδοπυριδίνης και την χρήση του κατάλληλου καταλύτη χαλκού και της κατάλληλης βάσης.



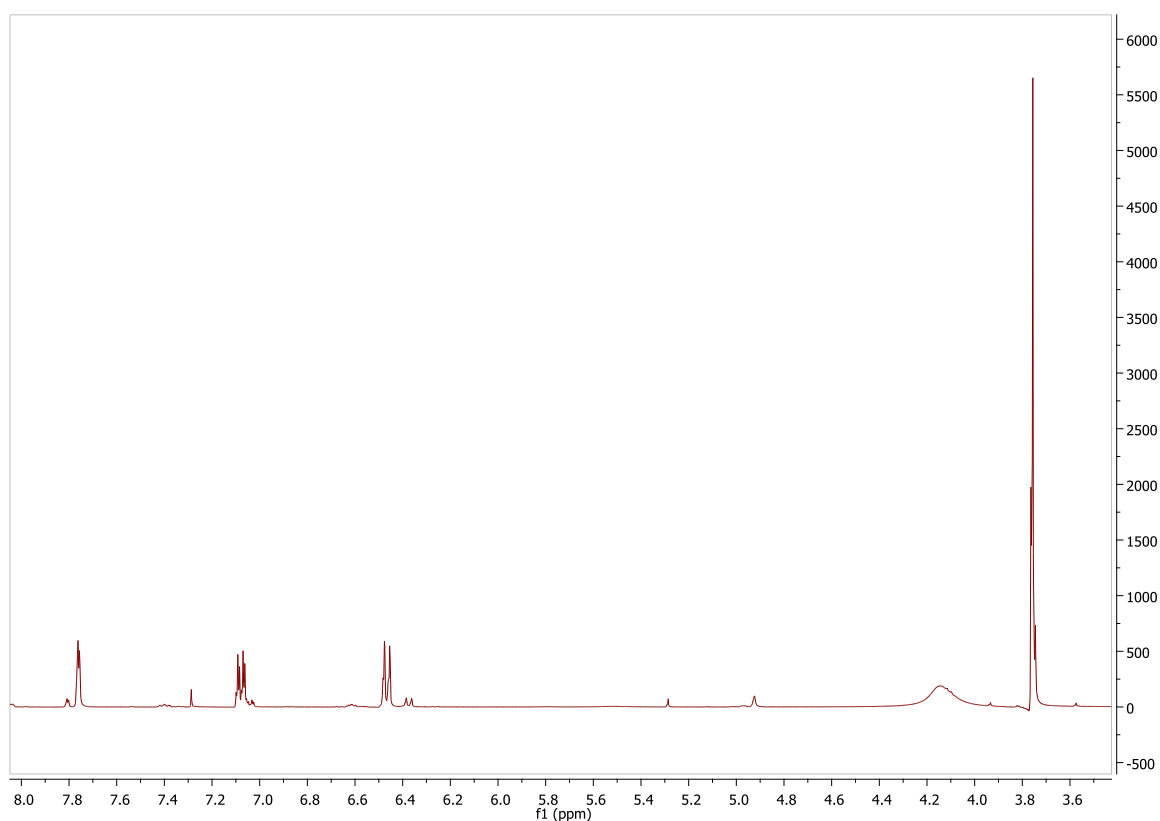
Σχήμα 23: Αντιδραστήρια και συνθήκες: (a) KIO_4 , I_2 , CH_3COOH , H_2O , π H_2SO_4 , 80°C , 5 h (b) Cs_2CO_3 , CuI , 1,10-φαινανθρολίνη, MeOH , 120°C , 12 h

Αρχικά, η 2-αμινο-5-ιωδοπυριδίνη **38** παρασκευάστηκε με επίδραση I_2 και KIO_4 επί της 2-αμινοπυριδίνης **3**. Στο φάσμα της πυριδίνης **38** παρατηρούνται τρεις κορυφές στα 6.3, 7.6 και 8.0 ppm περίπου, που αντιστοιχούν στα αρωματικά πρωτόνια της πυριδίνης και μία ευρεία κορυφή στα 6.1 ppm περίπου, με ολοκλήρωση 2, που αντιστοιχεί στα πρωτόνια της αμινομάδας (**εικόνα 17**).



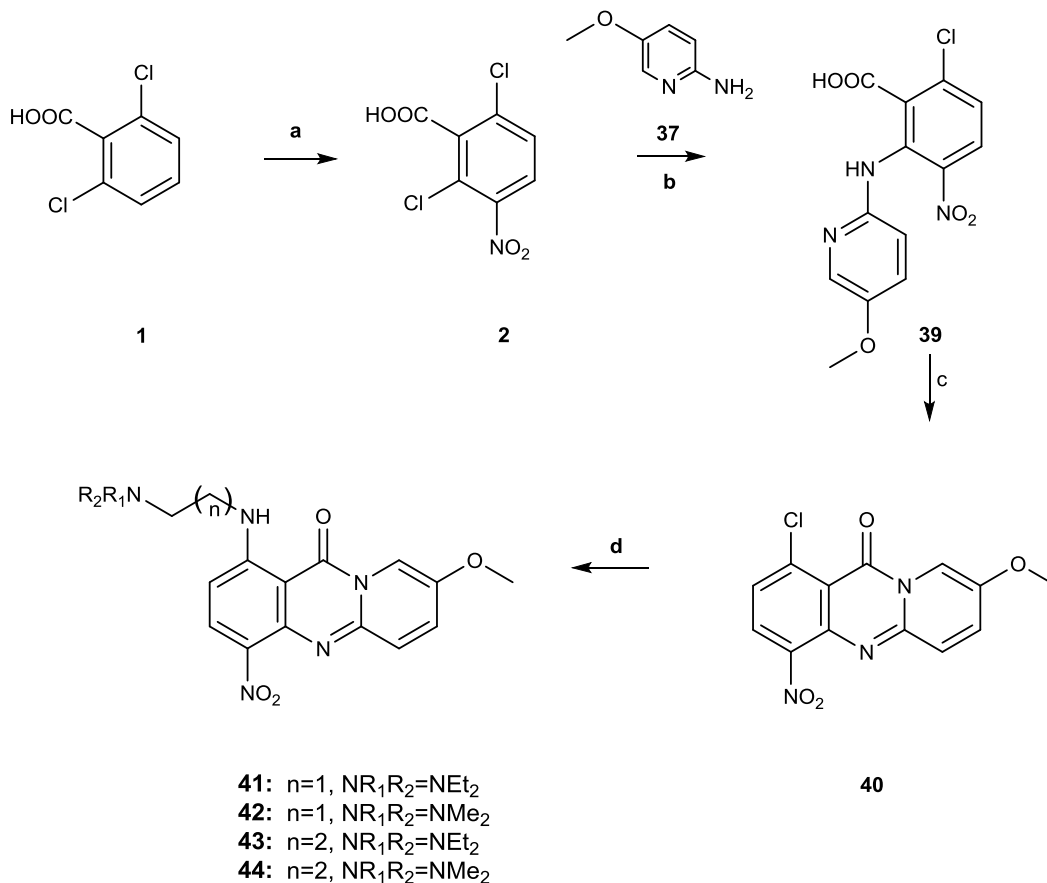
Εικόνα 17: Φάσμα ^1H NMR της αμίνης **38** σε $\text{DMSO}-d_6$

Ακολούθως, η αιθεροποίηση τύπου Ullmann επιχειρήθηκε με διάφορους καταλύτες (Cu, CuI, Cu₂O), βάσεις (CH₃ONa, Na₂CO₃, Cs₂CO₃) και διαλύτες (μεθανόλη, 1,2 διμεθοξυαιθανόλη), με κλασικές συνθήκες θέρμανσης (βρασμός σε μεθανόλη ή 1,2 διμεθοξυαιθανόλη) ή θέρμανση σε αυτόκλειστο καθώς και με χρήση μικροκυματικής ακτινοβολίας. Τελικά, η αντίδραση πραγματοποιήθηκε με χρήση CuI ως καταλύτη (καταλυτική ποσότητα και όχι σε στοιχειομετρική αναλογία), καταλυτικής ποσότητας 1,10-φαινανθρολίνης και Cs₂CO₃ ως βάσης. Αξίζει να αναφερθεί ότι η απόδοση της αντίδρασης με θέρμανση σε συσκευή μικροκυμάτων είναι της τάξεως του 30% ενώ με θέρμανση σε αυτόκλειστο, σε διαλύτη μεθανόλη, στους 120 °C είναι 44%. Στο φάσμα ¹H NMR του μεθόξυ παραγώγου **37** είναι εμφανής πλέον μία απλή κορυφή στα 3.7 ppm περίπου που αντιστοιχεί στη μεθόξυ ομάδα (**εικόνα 18**).



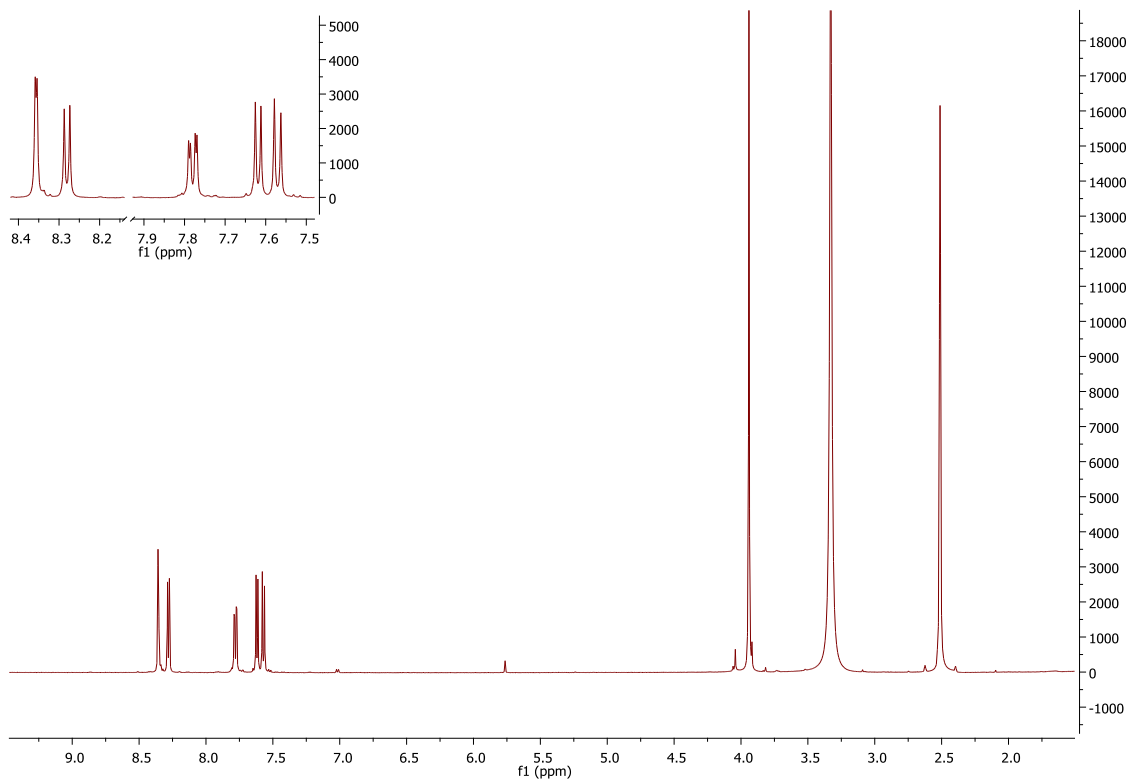
Εικόνα 18: Φάσμα ¹H NMR της αμίνης **37** σε CDCl₃

Ακολούθως, με επίδραση της 2-αμινο-5-μεθοξυπυριδίνης **37** επί του οξέος **2** λαμβάνεται το αντίστοιχο επιθυμητό οξύ **39**, από το οποίο, με ενδομοριακή κύκλωση εντός πολυφωσφορικού οξέος, παρελήφθη με ανάλογο τρόπο το επιθυμητό χλωρονιτροπαράγωγο **40** (**σχήμα 24**).



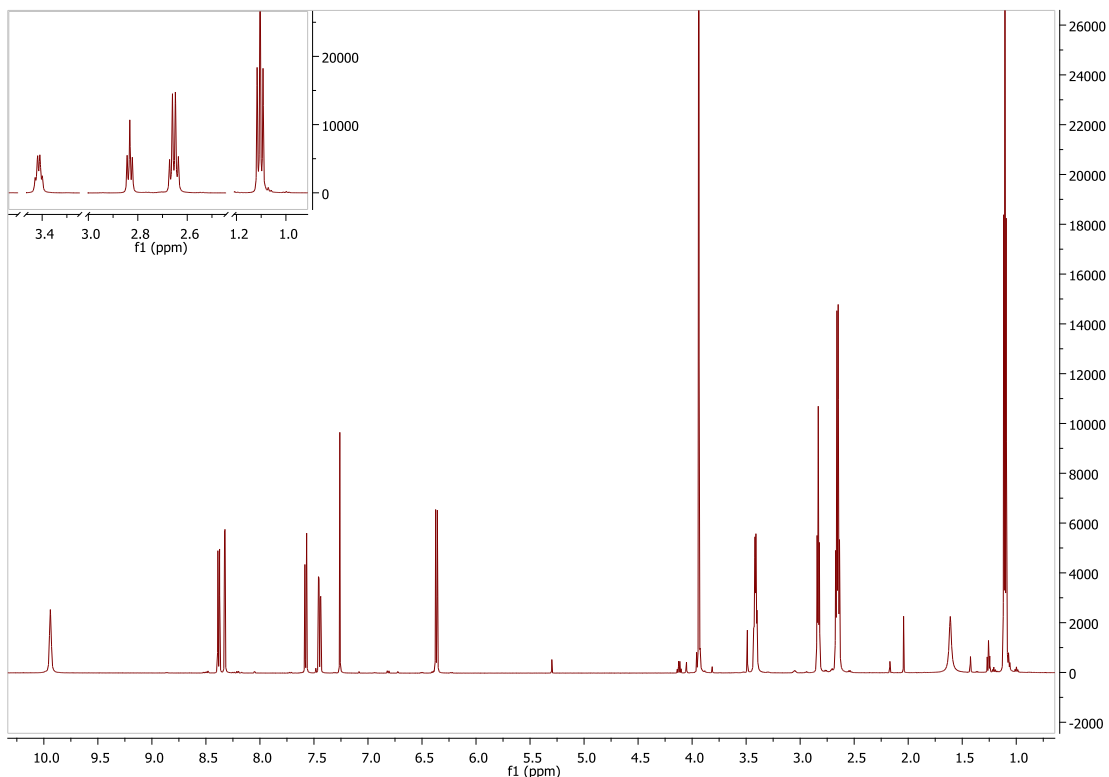
Σχήμα 24: Αντιδραστήρια και συνθήκες: (a) ατμ. HNO_3 , π. H_2SO_4 , θερμοκρασία περιβάλλοντος, 45 min (b) NaH , άνυδρο DMF, 50 °C, 24 h (c) PPA, 100 °C, 2 h (d) $H_2NCH_2(CH_2)_nNR_1R_2$, THF, βρασμός, 8 h.

Στο φάσμα 1H NMR του μεθοξυπαραγώγου **40** χαρακτηριστική είναι μια απλή κορυφή στα 4 ppm περίπου που αντιστοιχεί στην μεθόξυ ομάδα και μία ιδιαίτερα αποθωρακισμένη διπλή κορυφή με μικρή σχάση (περίπου στα 8.4 ppm) που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο που βρίσκεται μεταξύ της μεθόξυ ομάδας και του καρβonyλίου (**εικόνα 19**).



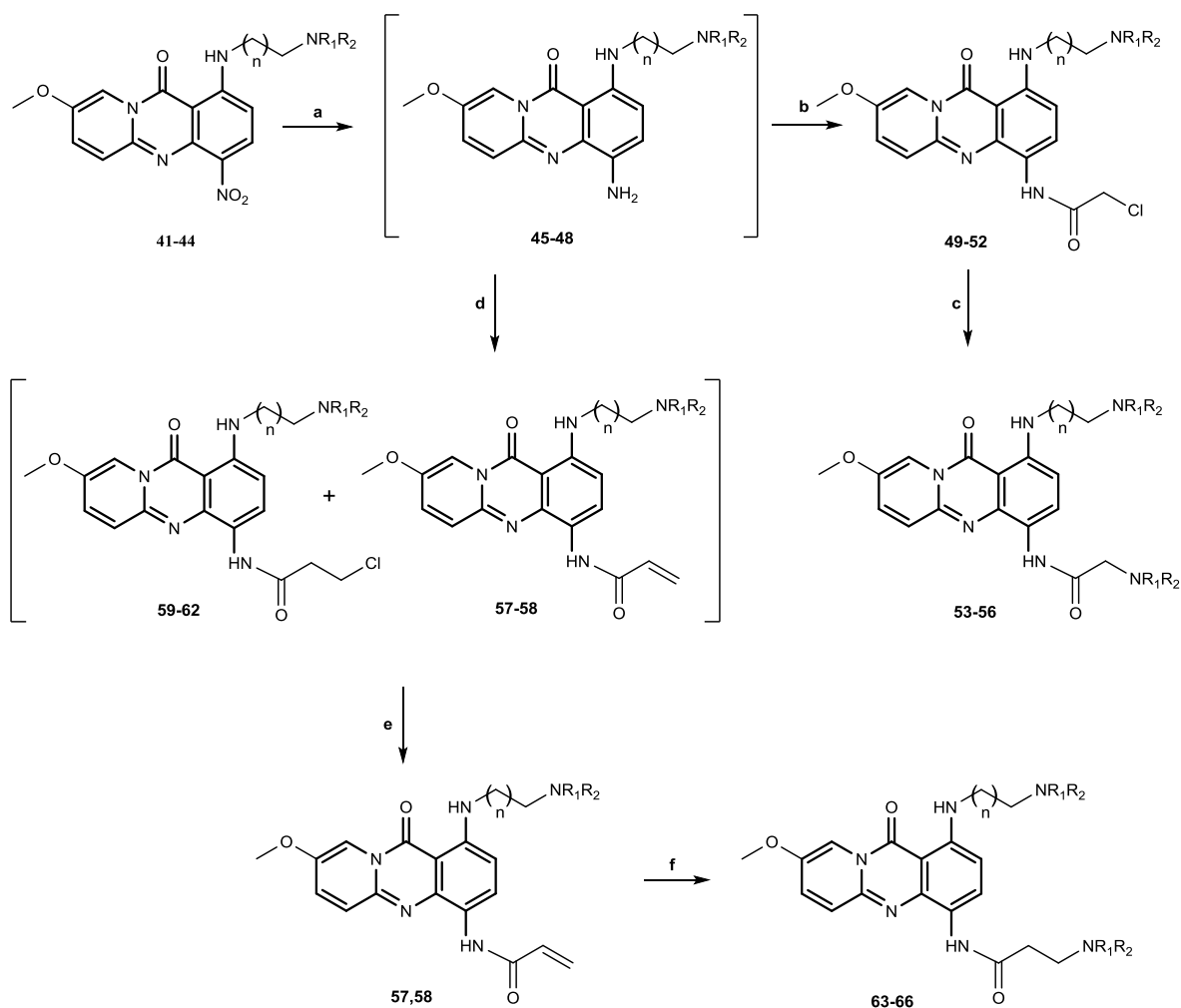
Εικόνα 19: Φάσμα ^1H NMR του παραγώγου **40** σε $\text{DMSO-}d_6$

Στη συνέχεια, οι τελικές αμίνες **41-44** παρασκευάστηκαν με αντίδραση αρωματικής πυρηνόφιλης υποκατάστασης της κατάλληλα υποκατεστημένης αλειφατικής αμίνης επί του χλωρονιτροπαραγώγου **40**, με παρατεταμένο βρασμό εντός THF. Στο φάσμα ^1H NMR της αμίνης **41** είναι εμφανής η ύπαρξη μίας τετραπλής κορυφής στα 3.5 ppm και μίας τριπλής κορυφής στα 2.8 ppm περίπου που αντιστοιχούν στα μεθυλένια της αιθυλενικής αλυσίδας (**εικόνα 20**).



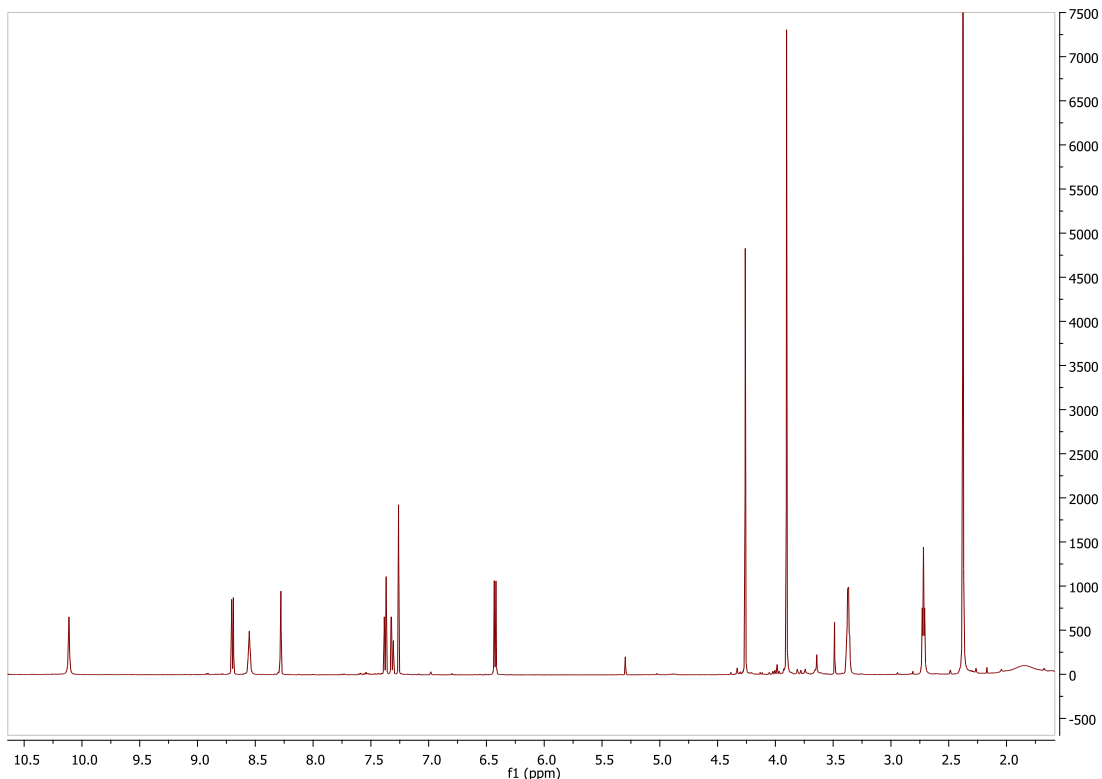
Εικόνα 20: Φάσμα ^1H NMR της αμίνης **41** σε CDCl_3

Το επόμενο στάδιο της συνθετικής πορείας αφορά την αναγωγή της νιτρομάδας προς τα αντίστοιχα αμινοπαράγωγα. Η αναγωγή αυτή αρχικά επιχειρήθηκε με ανάλογο τρόπο με αυτόν που χρησιμοποιήθηκε για την αναγωγή των νιτροπαραγώγων **6-9**, χωρίς όμως αποτέλεσμα. Τελικά η αναγωγή των νιτροπαραγώγων **41-44** επιτεύχθηκε με ενεργοποιημένο ψευδάργυρο και δότη υδρογόνου το μυρμηγκικό αμμώνιο εντός άνυδρης MeOH . Ακολούθως, χωρίς τον καθαρισμό και την ταυτοποίηση των ενδιάμεσων αμινών **45-48**, λόγω της ιδιαίτερης αστάθειας τους, με επίδραση χλωρακέτυλο χλωριδίου παρασκευάστηκαν τα αμίδια **49-52**.



Σχήμα 25: Αντιδραστήρια και συνθήκες: (a) Zn, HCOONH₄, MeOH, θερμοκρασία.περιβάλλοντος, 60 min (b) ClCOCH₂Cl, Na₂CO₃, THF, θερμοκρασία.περιβάλλοντος, 15 min (c) HNR₁R₂ βρασμός, 72 h (d) ClCOCH₂CH₂Cl, Na₂CO₃, THF, θερμοκρασία.περιβάλλοντος, 15 min (e) HNR₁R₂, βρασμός, 72 h (f) Na₂CO₃, MeOH, θ.π, 72h.

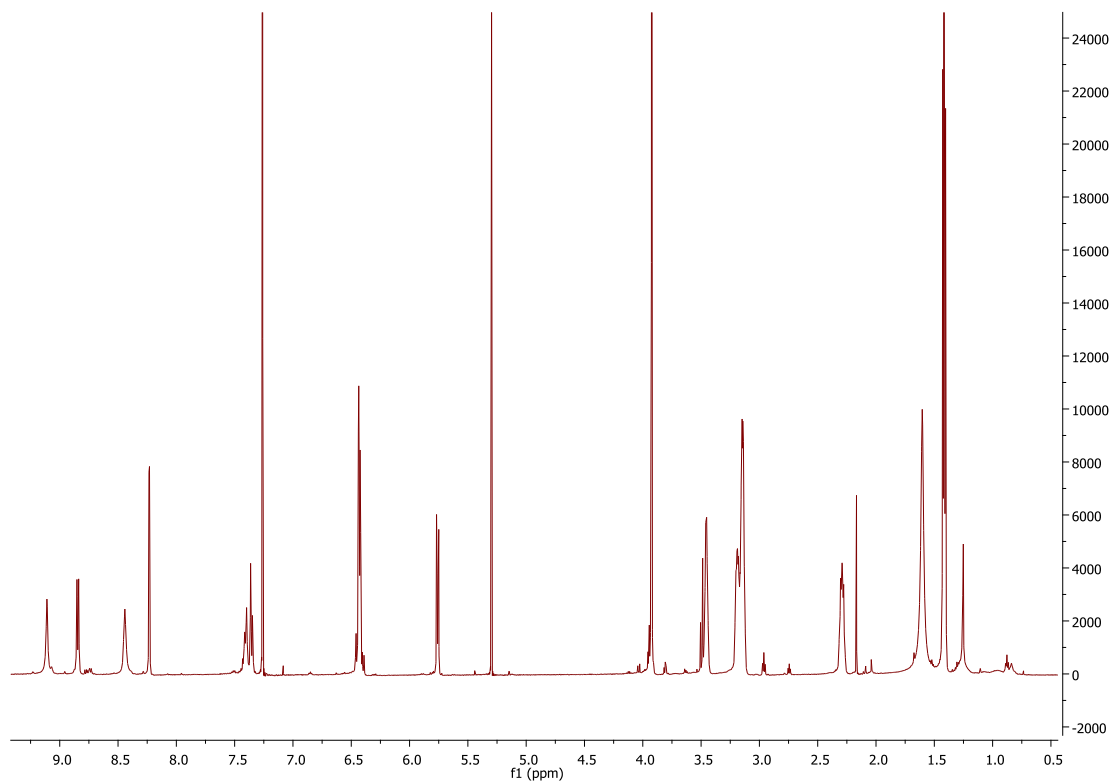
Στο Φάσμα ¹H NMR του αμιδίου **50** παρατηρείται μία έντονη απλή κορυφή στα 4.3 ppm περίπου, που αντιστοιχεί στο μεθυλένιο της χλωρακετυλομάδας (**εικόνα 21**).



Εικόνα 21: Φάσμα ^1H NMR της αμίνης **50** σε CDCl_3

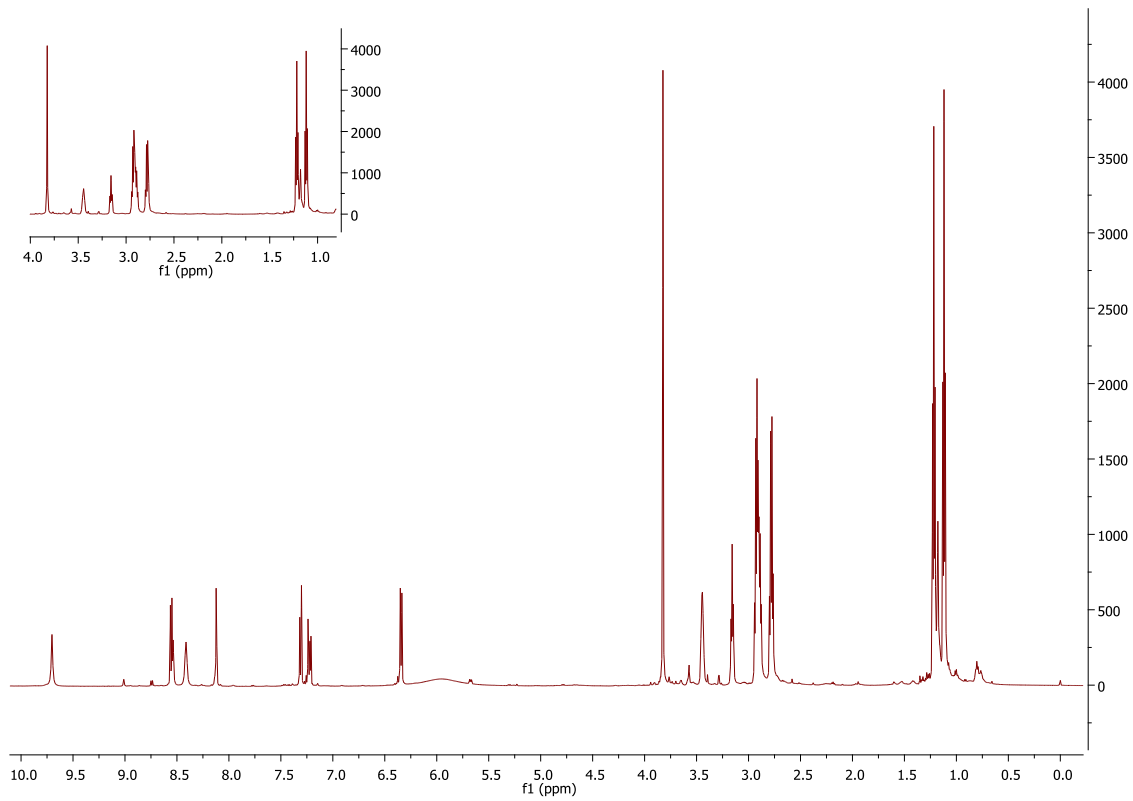
Όσον αφορά την επίδραση χλωροπροπιονυλοχλωριδίου επί των ενδιάμεσων αμινών **45-48** λαμβάνεται εκ νέου μίγματος χλωροπαραγώγων **59-62** και των αντίστοιχων βινυλοπαραγώγων **57-58**, τα οποία ήταν αδύνατον να διαχωριστούν με τις συνήθεις χρωματογραφικές τεχνικές, και για τον λόγο αυτό, με επίδραση Na_2CO_3 σε μεθανόλη παρελήφθησαν τα επιθυμητά βινυλοπαραγώγα **57, 58**. Στο φάσμα ^1H NMR του παραγώγου **58** είναι εμφανείς δύο πολλαπλές κορυφές σταστα 5.7 ppm και 6.4 ppm περίπου, με ολοκλήρωση 1 και 2 αντίστοιχα, που αντιστοιχούν στα πρωτόνια της βινυλομάδας (εικόνα 22).

Οι τελικές επιθυμητές αμίνες **53-56** και **63-66** παρασκευάστηκαν με επίδραση της κατάλληλης δευτεροταγούς αμίνης επί των αμιδίων **49-52** και **57,58,60,62** αντίστοιχα (σχήμα 25).



Εικόνα 22: Φάσμα ^1H NMR της αμίνης **58** σε CDCl_3

Χαρακτηριστικά, στο φάσμα ^1H NMR της αμίνης **65** είναι εμφανής η ύπαρξη των δύο αλειφατικών αλυσίδων στην περιοχή 1.0-3.5 ppm καθώς και η παρουσία της μεθόξυ ομάδας, σαν μία απλή κορυφή στα 3.8 ppm περίπου. (**εικόνα 23**).

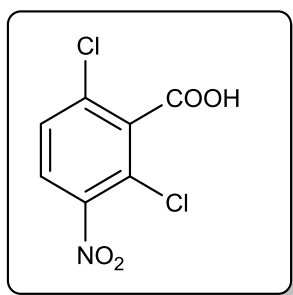


Εικόνα 23: Φάσμα ^1H NMR της αμίνης **65** σε CDCl_3

3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Τα σημεία τήξεως λήφθηκαν σε συσκευή Büchi και δεν είναι διορθωμένα. Οι χρωματογραφίες στήλης πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση silicagel 60AC.C (SDS 35-70 μm). Η παρακολούθηση των αντιδράσεων έγινε με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας σε πλάκες silicagel 60_{F254}. Τα φάσματα ¹H-NMR και δύο διαστάσεων λήφθηκαν σε φασματοσκόπιο BrukerAvance 400 στα 400 MHz, ενώ τα φάσματα ¹³C-NMR λήφθηκαν σε φασματοσκόπιο BrukerAC 200 στα 50 MHz. Ως διαλύτες χρησιμοποιήθηκαν δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl₃), διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO-*d*₆) και μεθανόλη (MeOD-*d*₄).

Παρασκευή του 2,6-διχλωρο-3-νιτρο-βενζοϊκού οξέος (2)



C₇H₃NO₄Cl₂
MW:236.00

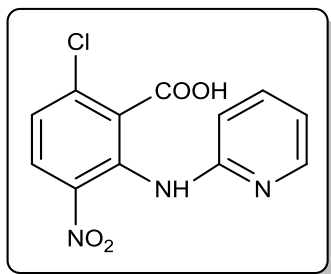
Σε σφαιρική που φέρει πυκνό H₂SO₄ (30 mL), στους 0° C, προστίθεται σε μικρές ποσότητες το 2,6-διχλωροβενζοϊκό οξύ (10 g, 52.63 mmol, **1**) και στη συνέχεια στάγδην ατμίζον HNO₃ (3 mL, 71.42 mmol) και το εναιώρημα που προκύπτει αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 45 λεπτά. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης το μίγμα αποχύνεται σε πάγο και το στερεό που αποβάλλεται ως ίζημα διηθείται υπό κενό και ξηραίνεται σε ξηραντήρα κενού παρουσία P₂O₅. Λαμβάνονται 12.3 g του επιθυμητού προϊόντος **2** ως λευκό κρυσταλλικό στερεό, πρακτικά καθαρό, το οποίο χρησιμοποιείται ως έχει για το επόμενο στάδιο. Απόδοση: 99 %

Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 140 °C (H₂O)[βιβλ. 140-142 °C (H₂O)]⁸⁴

¹HNMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 8.19 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.86 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H).

Παρασκευή του 3-νιτρο-2-(πυριδιν-2-υλαμινο)-6-χλωροβενζοϊκού οξέος (4)



$C_{12}H_8N_3O_4Cl$
MW:293.66

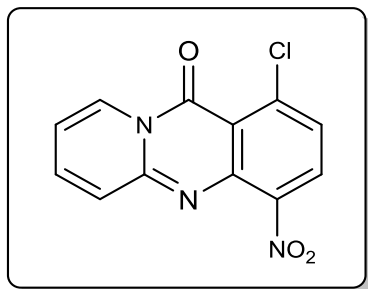
Σε διάλυμα της 2-αμινοπυριδίνης (600 mg, 6.38 mmol, **3**) σε άνυδρο DMF (40 mL) στους 0 °C, υπό ατμόσφαιρα αργού, προστίθεται σταδιακά NaH (60% σε έλαιο) (2.5 g, 62.5 mmol) και το εναιώρημα που προκύπτει αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 30 λεπτά. Στη συνέχεια προστίθεται σταδιακά το οξύ **2** (1.5 g, 6.38 mmol) στους 0 °C και το μίγμα που προκύπτει αναδεύεται στους 50 °C για 24 ώρες. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης ακολουθεί εξουδετέρωση της περίσσειας του NaH με την προσθήκη μεθανόλης (1 mL) στους 0 °C, το μίγμα αποχύνεται σε νερό και οξινίζεται με HCl 37% (pH ~ 3) όπου παρατηρείται αλλαγή χρώματος από σκούρο πορτοκαλί σε κίτρινο. Το στερεό που αποβάλλεται ως ίζημα διηθείται υπό κενό και ξηραίνεται σε ξηραντήρα κενού παρουσία P₂O₅ για να ληφθούν 1.59 g του επιθυμητού προϊόντος **4** ως κίτρινο στερεό. Απόδοση: 85 %

Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 242-244 °C (EtOAc)

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.91 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H, H-4), 7.98 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-6'), 7.70 (td, *J* = 6.9 Hz, 1 Hz, 1H, H-4'), 7.58 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H, H-4), 7.47 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-3'), 7.04 (td, *J* = 6.9 Hz, 1 Hz, 1H, H-5').

Παρασκευή της 1-χλωρο-4-νιτρο-11H-πυριδο[2,1-*b*]κινναζολιν-11-όνης (5)



$C_{12}H_6N_3O_3Cl$
MW:275.65

Σε σφαιρική που φέρει πολυφωσφορικό οξύ (10 mL), προστίθεται το οξύ **4** (4 g, 13.65 mmol) και το μίγμα της αντίδρασης θερμαίνεται στους 100 °C για 2 ώρες. Μετά την ολοκλήρωση της

αντίδρασης το μίγμα αποχύνεται σε πάγο και αναδεύεται μέχρις αλλαγής χρώματος από πορτοκαλί σε κίτρινο. Το στερεό που αποβάλλεται ως ίζημα διηθείται υπό κενό για να ληφθούν 2.85 g του επιθυμητού προϊόντος **5** ως κίτρινο στερεό. Απόδοση: 76 %

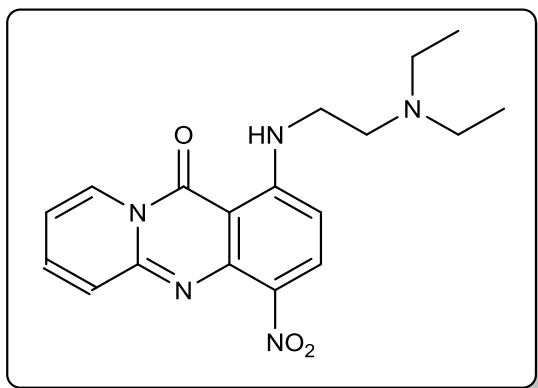
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 242-244 °C (EtOH).

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 8.84 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H, H-9), 8.26 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-3), 7.88 (td, *J* = 8.4, 1.6 Hz, 1H, H-7), 7.58 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, H-2), 7.51 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-6), 7.20 (td, *J* = 8.4, 1.6 Hz, 1H, H-8).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 155.52 (CO), 149.15 (C-5a), 145.01 (C-4a), 142.24 (C-1), 138.24 (C-7), 136.60 (C-3), 127.65 (C-3), 127.18 (C-9), 125.56 (C-6), 125.04 (C-2), 114.64 (C-11a), 114.06 (C-9).

Παρασκευή της 1-{2-[(διαιθυλαμινο)αιθυλ]αμινο}-4-νιτρο-11H-πυριδο[2,1-*b*]κινναζολιν-11-όνης (6)



C₁₈H₂₁N₅O₃
MW:355.40

Σε διάλυμα του παραγώγου **5** (1 g, 3.64 mmol) σε THF (40 mL), προστίθεται 2,2-διαιθυλαμινοαιθυλαμίνη (1 mL, 7.13 mmol) και το μίγμα που προκύπτει αναδεύεται σε θερμοκρασία βρασμού για 24 ώρες. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης το THF απομακρύνεται υπό κενό και το ελαιώδες υπόλειμμα που προκύπτει εκχυλίζεται με μίγμα CH₂Cl₂/νερού. Τα οργανικά εκχυλίσματα συνενώνονται. Ξηραίνονται με άνυδρο Na₂SO₄ και εξατμίζονται υπό κενό. Το στερεό υπόλειμμα που προκύπτει καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silicagel), χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης σύστημα CH₂Cl₂/CH₃OH 10/0 έως 9/1 για να ληφθούν 870 mg του επιθυμητού προϊόντος **6** ως κίτρινο στερεό. Απόδοση: 67 %.

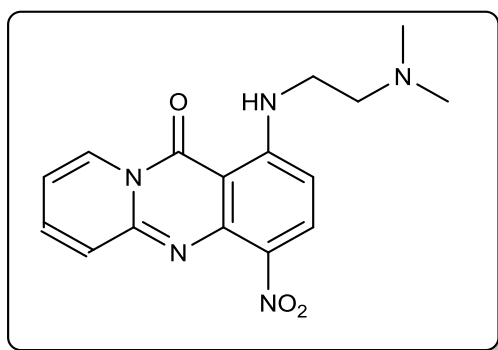
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 123-125 °C (EtOAc)

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 9.87 (t, 1H, NH, D_2O exchange), 8.82 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, H-9), 8.32 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, H-3), 7.62 (t, $J = 6.61$ Hz, 1H, H-7), 7.55 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H, H-6), 6.94 (t, $J = 6.27$ Hz, 1H, H-8), 6.34 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, H-2), 3.41 (q, $J = 6.3$ Hz, 2H, NHCH_2CH_2), 2.83 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H, NHCH_2CH_2), 2.66 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 1.09 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$).

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 159.38 (C=O), 154.93 (C-1), 148.72 (C-5a), 145.54 (C-4a), 136.18 (C-7), 134.64 (C-3), 131.10 (C-4), 126.74 (C-6), 126.41 (C-9), 113.58 (C-8), 101.82 (C-2), 100.73 (C-11a), 50.74 (NHCH_2CH_2), 46.93 ($\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 41.32 (NHCH_2CH_2), 11.76 ($\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$).

Παρασκευή της 1-{2-[(διμεθυλαμινο)αιθυλ]αμινο}-4-νιτρο-11H-πυριδο[2,1-b]κινναζολιν-11-όνης (7)



$\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_3$
MW:327.34

Για την παρασκευή του προϊόντος **7** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του αναλόγου **6** με επίδραση 2,2-διμεθυλαμινοαιθυλαμίνης επί του παραγώγου **5**. Το επιθυμητό προϊόν **7** λαμβάνεται ως κίτρινο στερεό ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης σύστημα $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 100/0 έως 92/8. Απόδοση: 76 %.

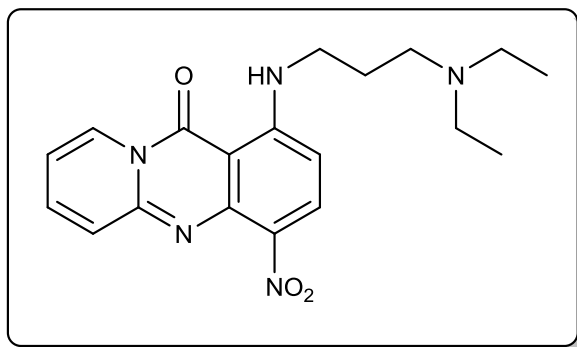
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 160-162 °C (EtOAc)

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 9.85 (s, 1H, NH, D_2O exchange), 8.83 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, H-9), 8.33 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, H-3), 7.58-7.63 (m, 2H, H-6, H-7), 6.91 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, H-8), 6.34 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, H-2), 3.4 (q, $J = 6.1$ Hz, 2H, NHCH_2CH_2), 2.67 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H, NHCH_2CH_2), 2.34 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$).

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 159.80 (C=O), 155.07 (C-1), 148.89 (C-5a), 145.68 (C-4a), 136.25 (C-7), 134.88 (C-3), 131.61 (C-4), 127.05 (C-6), 126.54 (C-9), 113.75 (C-8), 101.84 (C-2), 101.03 (C-11a), 57.50 (NHCH_2CH_2), 45.56 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 41.23 (NHCH_2CH_2).

Παρασκευή της 1-{2-[(διαιθυλαμινο)προπυλ]αμινο}-4-νιτρο-11H-πυριδο[2,1-b]κινναζολιν-11-όνης (8)



$\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_3$
MW:369.43

Για την παρασκευή του προϊόντος **8** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του παραγώγου **6** με επίδραση 3,3-διαιθυλαμινοπροπυλαμίνης επί του παραγώγου **5**. Το επιθυμητό προϊόν **8** λαμβάνεται ως κίτρινο στερεό ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης σύστημα $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 100/0 έως 85/15. Απόδοση: 56 %

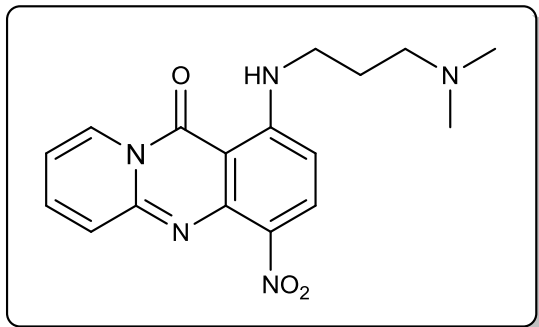
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 217-219°C (EtOAc).

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 9.76 (s, 1H, NH, D_2O exchange), 8.80 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, H-9), 8.34 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, H-3), 7.58-7.63 (m, 2H, H-6, H-7), 6.95 (t, $J = 6.7$ Hz, 1H, H-8), 6.40 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, H-2), 3.43 (q, $J = 6.2$ Hz, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.61-2.63 (m, 6H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 1.94 (quintet, $J = 6.9$ Hz, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1.06 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$).

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 159.85 (C=O), 155.28 (C-1), 148.82 (C-5a), 145.65 (C-4a), 136.26 (C-7), 134.87 (C-3), 131.43 (C-4), 127.04 (C-6), 126.37 (C-9), 113.87 (C-8), 101.84 (C-2), 100.85 (C-11a), 50.31 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 47.07 ($\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 41.68 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.41 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 11.59 ($\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$).

Παρασκευή της 1-{2-[(διμεθυλαμινο)προπυλ]αμινο}-4-νιτρο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-11-όνης (**9**)



C₁₇H₁₉N₅O₃
MW:341.37

Για την παρασκευή του προϊόντος **9** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του αναλόγου **6** με επίδραση 3,3-διμεθυλαμινοπροπυλαμίνης επί του παραγώγου **5**. Το επιθυμητό προϊόν **9** λαμβάνεται ως κίτρινο στερεό ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης σύστημα CH₂Cl₂/CH₃OH 100/0 εως 75/25. Απόδοση: 94 %

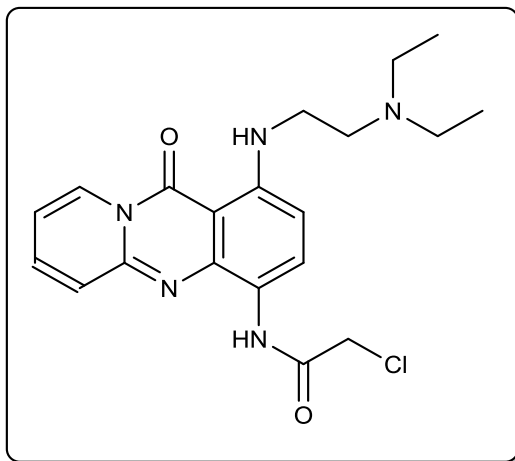
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 134-136 °C (EtOAc).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.78 (s, 1H, NH, D₂Oexchange), 8.82 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, H-9), 8.35 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H, H-3), 7.59-7.64 (m, 2H, H-6, H-7), 6.95 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H, H-8), 6.42 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H, H-2), 3.44 (q, *J* = 6.2 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 2.45 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 2.27 (s, 6H, N(CH₃)₂) 1.93 (quintet, *J* = 6.9 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂).

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 159.90 (C=O), 155.34 (C-1), 148.82 (C-5a), 145.67 (C-4a), 136.22 (C-7), 134.89 (C-3), 131.48 (C-4), 127.08 (C-6), 126.37 (C-9), 113.85 (C-8), 101.85 (C-2), 100.09 (C-11a), 57.09 (NHCH₂CH₂CH₂), 45.64 (N(CH₃)₂), 41.56 (NHCH₂CH₂CH₂), 26.88 (NHCH₂CH₂CH₂).

Παρασκευή του 2-χλωρο-N-1-((2-(διαιθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (14)



C₂₀H₂₄N₅O₂Cl
MW:401.89

Σε σωλήνα χαλαζία, προστίθεται το παράγωγο **6** (150 mg, 0.42 mmol), παλλάδιο επί άνθρακα 10% (45 mg), μυρμηγκικό αμμώνιο (400 mg, 6.30 mmol) και άνυδρη μεθανόλη (20 mL) και ο σωλήνας τοποθετείται σε συσκευή μικροκυμάτων (Milestone, StartE). Το μίγμα θερμαίνεται για 2 λεπτά, στους 70 °C, στα 150W. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης το μίγμα διηθείται και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Στη συνέχεια, στο ενδιάμεσο προϊόν **10**, χωρίς κάποια άλλη κατεργασία λόγω της ιδιαίτερης αστάθειας του, προστίθεται THF (25 mL), CH₂Cl₂ (5 mL), Na₂CO₃ (1.6 g, 15.12 mmol) και χλωρακετυλοχλωρίδιο (0.6 ml, 7.56 mmol) και το εναιώρημα που προκύπτει αναδεύεται για 12 ώρες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης οι οργανικοί διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό και το ελαιώδες υπόλειμμα που προκύπτει διαλύεται σε CH₂Cl₂, πλένεται με διάλυμα Na₂CO₃ 10%, νερό, ξηραίνεται με άνυδρο Na₂SO₄ και ο οργανικός διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το στερεό υπόλειμμα που προκύπτει καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silicagel), χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης σύστημα CH₂Cl₂/CH₃OH 10/0 έως 10/1.5 για να ληφθούν 100 mg του επιθυμητού προϊόντος **14**. Απόδοση: 67 %.

Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

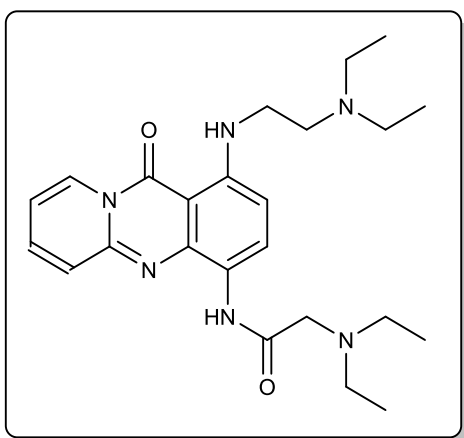
Στ: 160-162 °C (EtOAc)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 10.05 (s, br 1H, NHCO, D₂Oexchange), 8.71 (d, J = 8.2 Hz, 1H, H-3), 8.65 (d, J = 8.9 Hz, 1H, H-9), 8.47 (t, J = 4.5 Hz, NHCH₂CH₂, D₂Oexchange), 7.42 (t, J = 7.9 Hz, 1H, H-7), 7.30 (d, J = 9.1 Hz, 1H, H-6), 6.75 (t, J = 6.9 Hz, 1H, H-8), 6.37 (d, J = 9.0 Hz, 1H, H-2),

4.22 (s, CH₂Cl), 3.29 (q, *J* = 6.0 Hz, 2H, NHCH₂CH₂), 2.78 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, NHCH₂CH₂), 2.63 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H, NHCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 1.09 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H, CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 163.11 (NHCO), 159.95 (CO), 147.52 (C-5a), 147.13 (C-4a), 139.75 (C-1), 134.73 (C-7), 126.63 (C-9), 126.61 (C-3), 126.01 (C-6), 119.77 (C-4), 112.29 (C-8), 102.79 (C-2), 101.58 (C-11a), 51.38 (CH₂Cl), 47.29 (CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 43.53 (NHCH₂CH₂), 41.43 (NHCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 12.01 (NHCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂).

Παρασκευή του 2-(διαιθυλαμινο)-N-1-((2-(διαιθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-*b*]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (**18**)



C₂₄H₃₄N₆O₂
MW: 438.58

Σε διάλυμα του παραγώγου **14** (100 mg, 0.25 mmol) σε μίγμα απόλυτης αιθανόλης (20 mL) και CH₂Cl₂ (2 mL) προστίθεται διαιθυλαμίνη (3.5 mL, 33.8 mmol) και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται σε θερμοκρασία βρασμού για 72 ώρες. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό και το ελαιώδες υπόλειμμα που προκύπτει καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης σύστημα CH₂Cl₂/CH₃OH 97/3 έως 90/10 για να ληφθούν 80 mg του επιθυμητού προϊόντος **18**. Απόδοση: 74 %

Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

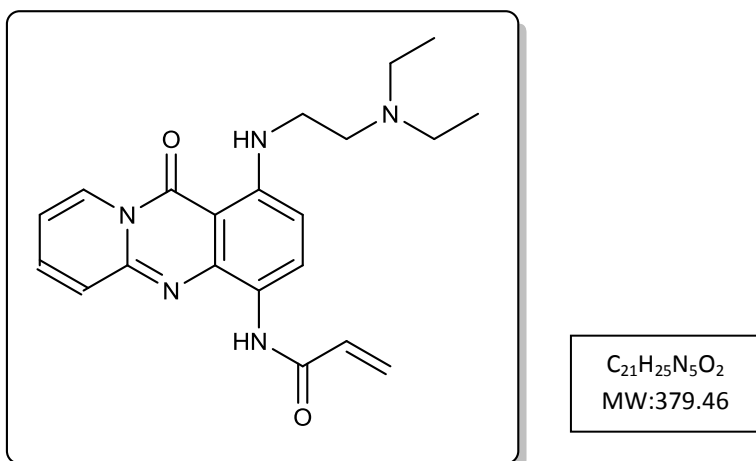
Στ: 90-92 °C (EtOAc)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 10.77 (s, br, 1H, NHCO, D₂Oexchange), 8.77 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, H-3), 8.74 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, H-9), 8.44 (t, *J* = 4.5 Hz, 1H, NHCH₂CH₂, D₂Oexchange), 7.40 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, H-7), 7.30 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-6), 6.73 (t, *J* = 6.7 Hz, 1H, H-8), 6.44 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, H-2), 3.32 (q, *J* = 6.0 Hz, 2H, NHCH₂CH₂), 3.22 (s, 2H, COCH₂), 2.81 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, NHCH₂CH₂),

2.68 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H, $\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 2.63 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 1.17 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H, $\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 1.08 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 169.70 (NHCO), 160.04 (CO), 146.74 (C-4a, C-5a), 139.64 (C-1), 134.23 (C-7), 126.48 (C-9), 126.08 (C-3), 126.01 (C-6), 121.01 (C-4), 111.97 (C-8), 102.98 (C-2), 101.72 (C-11a), 59.19 (COCH_2), 51.27 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 48.64 ($\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 47.23 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 41.19 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 12.90 ($\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 11.73 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$).

Παρασκευή του N-(1-((2-(διαιθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κινναζολιν-4-υλ)ακρυλαμίδιου (26)



Σε σωλήνα χαλαζία, συσκευής μικροκυμάτων (Milestone, StartE), προστίθεται το παράγωγο **6** (150 mg, 0.42 mmol), παλλάδιο επί άνθρακα 10% (45 mg), μυρμηγκικό αμμώνιο (400 mg, 6.30 mmol) και άνυδρη μεθανόλη (20 mL) και ο σωλήνας τοποθετείται στη συσκευή μικροκυμάτων για 2 λεπτά στους 70 °C, στα 150W. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης το μίγμα διηθείται και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Στη συνέχεια, στο μίγμα της αμίνης **10** προστίθεται THF (25 mL), CH_2Cl_2 (5 mL), Na_2CO_3 (1.6 g, 15.12 mmol) και 3-χλωροπροπιονυλοχλωρίδιο (0.7 mL, 7.56 mmol). Το εναιώρημα που προκύπτει αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 1 ώρα και στη συνέχεια προστίθεται CH_3OH (15 mL) και Na_2CO_3 (1.6 g, 15.12 mmol) και το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για άλλες 24 ώρες. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό και το υπόλειμμα που προκύπτει εκχυλίζεται με μίγμα CH_2Cl_2 /νερού. Τα οργανικά εκχυλίσματα συνενώνονται, ξηραίνονται με άνυδρο Na_2SO_4 , εξατμίζονται υπό κενό και το ελαιώδες υπόλειμμα που προκύπτει καθαρίζεται με

χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/CH₃OH 97/3 εως 90/10 για να ληφθούν 20 mg του επιθυμητού προϊόντος **26**. Απόδοση: 22 %.

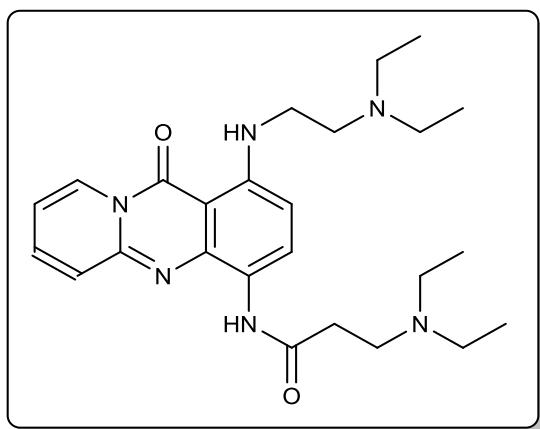
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 90-92 °C (EtOAc)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.15 (s,br, 1H, NHCO, D₂Oexchange), 8.89 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-3), 8.79 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H, H-9), 8.51 (t, *J* = 4.3 Hz, 1H, NHCH₂CH₂, D₂Oexchange), 7.47 (t, *J* = 9.2 Hz, 1H, H-7), 7.39 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-6), 6.79 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H, H-8), 6.48 (d, *J*=9.0 Hz, 2H, H-2), 6.42-6.44 (m, 2H, COCHCH=CHH) 5.74 (dd, *J* = 7.3, 3.7Hz, 1H,COCHCH=CHH), 3.33 (q, *J* = 5.9 Hz, 2H, NHCH₂CH₂), 2.81 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, NHCH₂CH₂), 2.64 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H, N(CH₂CH₃)₂), 1.08 (t, *J*= 7.1 Hz, 6H, N(CH₂CH₃)₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 162.89 (HNCO), 159.98 (CO), 146.98 (C-4a, C-5a), 139.26 (C-1), 134.74 (C-7), 132.19 (COCH), 126.70 (C-3), 126.39 (C-9, CH=CH₂), 125.93 (C-6), 121.00 (C-4), 112.26 (C-8), 103.12 (C-2), 101.54 (C-11a), 51.25 (NHCH₂CH₂), 47.18 (N(CH₂CH₃)₂), 41.08 (NHCH₂CH₂), 11.67 (N(CH₂CH₃)₂).

Παρασκευή του 3-(διαιθυλαμινο)-N-1-((3-(διαιθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)προπαναμιδίου (30)



C₂₅H₃₆N₆O₂
MW:425.60

Για την παρασκευή του προϊόντος **30** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του παραγώγου **18** με επίδραση διαιθυλαμίνης επί του παραγώγου **26**. Το επιθυμητό προϊόν **30** λαμβάνεται ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης σύστημα CH₂Cl₂/CH₃OH/τριαιθυλαμίνης 96/4/5 εως 70/30/5. Απόδοση: 80 %.

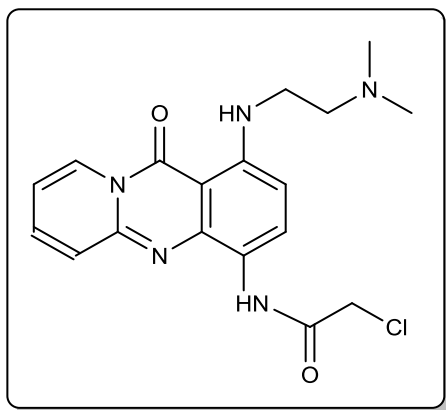
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Έλαιο

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 9.87 (s, br, 1H, NHCO , D_2O exchange), 8.69 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, H-3), 8.61 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, H-9), 8.43 (t, $J = 4.6$ Hz, 1H, NHCH_2CH_2 , D_2O exchange), 7.45 (t, $J = 5.1$ Hz, 1H, H-7), 7.35 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H, H-6), 6.76 (t, $J = 6.4$ Hz, 1H, H-8), 6.41 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, H-2), 3.49 (q, $J = 6.7$ Hz, 2H, NHCH_2CH_2), 3.19 (q, $J = 6.5$ Hz, 2H, NHCH_2CH_2), 2.89-3.07 (m, 10H, NHCH_2CH_2 , COCH_2CH_2 , $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 2.77 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 1.27 (t, $J = 6.9$ Hz, 6H, $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 1.14 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 169.68 (HNCO), 159.98 (CO), 146.74 (C-5a), 146.56 (C-4a), 139.53 (C-1), 134.32 (C-7), 126.90 (C-3), 126.48 (C-9), 125.73 (C-6), 121.41 (C-4), 111.96 (C-8), 102.91 (C-2), 101.61 (C-11a), 51.27 (NHCH_2CH_2), 48.59 (COCH_2CH_2), 47.20 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 46.54 ($\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 41.14 (NHCH_2CH_2), 34.31 (COCH_2CH_2), 11.68 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 10.85 ($\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$).

Παρασκευή του 2-χλωρο-N-1-((2-(διμεθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (15)



$\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{ClN}_5\text{O}_2$
MW: 373.84

Για την παρασκευή του παραγώγου **15** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του προϊόντος. Απόδοση: 50 %.

Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

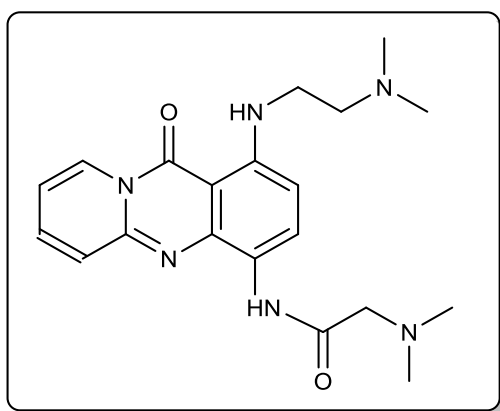
Στ: 230 °C (dec). (EtOAc)

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 10.10 (s, 1H, NHCO , D_2O exchange), 8.76 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, H-3), 8.68 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, H-9), 8.49 (s, br, 1H, NHCH_2CH_2 , D_2O exchange), 7.46 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H,

H-7), 7.34 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H, H-6), 6.78 (t, $J = 7.5$ Hz, H-8), 6.39 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H, H-2), 4.26 (s, 2H, CH_2Cl), 3.32 (q, $J = 6.7$ Hz, 2H, NHCH_2CH_2), 2.66 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H, NHCH_2CH_2), 2.33 (s, 6H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 163.09 (NHCO), 159.95 (CO), 147.34 (C-5a), 147.00 (C-5a), 139.66 (C-1), 134.69 (C-7), 126.52 (C-9), 126.13 (C-3), 125.89 (C-6), 119.79 (C-4), 112.32 (C-8), 102.59 (C-2), 101.47 (C-11a), 58.04 (CH_2Cl), 45.68 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 43.50 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 41.12 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$).

Παρασκευή του 2-(διμεθυλαμινο)-N-1-((2-(διμεθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (19)



$\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_2$
MW: 382.47

Για την παρασκευή του προϊόντος **19** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του παραγώγου **18** με επίδραση διμεθυλαμίνης επί του παραγώγου **15**. Το επιθυμητό προϊόν **19** λαμβάνεται ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης σύστημα διχλωρομεθανίου/μεθανόλης/τριαιθυλαμίνης 96/4/0 έως 90/10/2. Απόδοση: 47 %

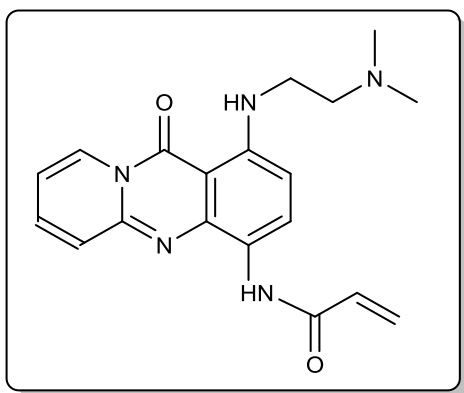
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 230 °C (dec) (EtOAc)

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 10.31 (s, br 1H, NHCO, D_2O exchange), 8.69 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, H-3), 8.60 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, H-9), 8.45 (t, $J = 4.5$ Hz, 1H, NHCH_2CH_2 , D_2O exchange), 7.46 (t, $J = 9.0$ Hz, 1H, H-7), 7.35 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H, H-6), 6.81 (t, $J = 10.04$ Hz, 1H, H-8), 6.47 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, H-2), 3.76 (q, $J = 6.3$ Hz, 2H, NHCH_2CH_2), 3.27 (s, 2H, COCH_2), 3.22 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H, NHCH_2CH_2), 2.80 (s, 6H, $\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.50 (s, 6H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$),

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 168.46 (NHCO), 160.13 (CO), 146.9 (C-1), 145.63 (C-5a), 140.17 (C-1), 134.70 (C-7), 126.26 (C-9, C-3, C-6), 121.20 (C-4), 112.69 (C-8), 102.64 (C-2), 101.72 (C-11a), 63.59 (COCH_2), 56.40 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 45.98 ($\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 44.05 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 39.00 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$.

Παρασκευή του N-(1-((2-(διμεθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κινναζολιν-4-υλ)ακρυλαμιδίου (27)



$\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_2$
MW:351.4

Για την παρασκευή του παραγώγου **27** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του προϊόντος **26**, χρησιμοποιώντας εδώ ως πρώτη ύλη το παράγωγο **7**. Το επιθυμητό προϊόν **27** λαμβάνεται ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης σύστημα $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 98/2 έως 84/16. Απόδοση: 38 %.

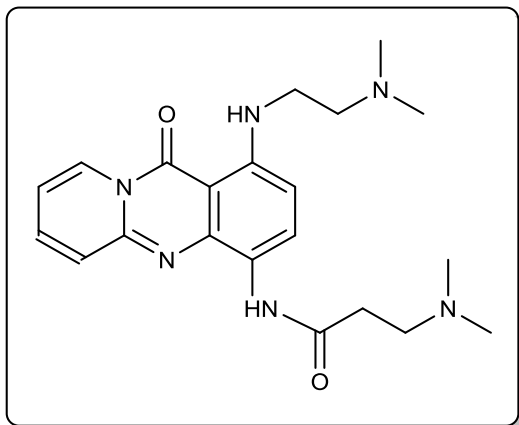
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 230-239 °C (EtOAc)

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 9.14 (s, 1H, NHCO, D_2O exchange), 8.89 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, H-3), 8.81 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H-9), 8.53 (s, br, 1H, NHCH_2CH_2 , D_2O exchange), 7.48 (t, $J = 7.1$ Hz, 1H, H-7), 7.40 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H, H-6), 6.80 (t, $J = 6.9$ Hz, 1H, H-8), 6.46 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, H-2), 6.42-6.43 (m, 2H, $\text{COCH}=\text{CHH}$), 5.75 (dd, $J = 8.0, 3.4$ Hz, 1H, $\text{COCH}=\text{CHH}$), 3.48 (q, $J = 6.0$ Hz, 2H, NHCH_2CH_2), 2.77 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H, NHCH_2CH_2), 2.43 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$).

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 162.95 (HNCO), 160.12 (CO), 147.00 (C-4a, C-5a), 139.39 (C-1), 134.77 (C-7), 132.20 (COCH), 126.70 (C-3), 126.45 (C-9), 126.38 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 125.98 (C-6), 125.67 (C-4), 112.36 (C-8), 103.07 (C-2), 101.84 (C-11a), 57.80 (NHCH_2CH_2), 45.43 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 40.79 (NHCH_2CH_2).

Παρασκευή του 3-(διμεθυλαμινο)-N-1-((2-(διμεθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)προπαναμιδίου (31)



C₂₁H₂₈N₆O₂
MW:396.49

Για την παρασκευή του προϊόντος **31** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του παραγώγου **18** με επίδραση διμεθυλαμίνης επί του παραγώγου **27**. Το επιθυμητό προϊόν **31** λαμβάνεται ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης σύστημα CH₂Cl₂/CH₃OH/τριαιθυλαμίνης 100/0/2 έως 90/10/2. Απόδοση: 45 %.

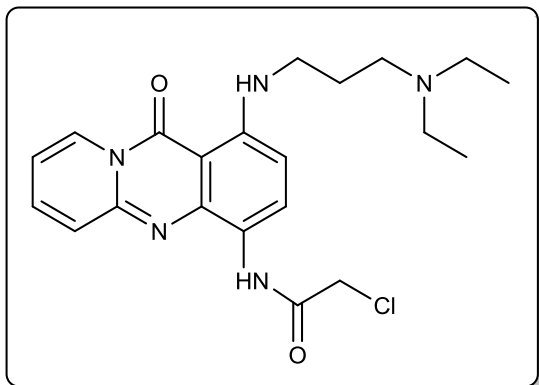
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 258-260 °C (EtOAc)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ(ppm): 10.70 (s,br 1H, NHCO, D₂Oexchange), 8.64 (d, J = 7.3 Hz, 1H, H-3), 8.55 (d, J = 8.9 Hz, 1H, H-9), 8.40 (s, br, 1H, NHCH₂CH₂CH₂, D₂Oexchange), 7.39 (t, J = 8.1 Hz, 1H, H-7), 7.27 (d, J = 7.8 Hz, 1H, H-6), 6.72 (t, J = 6.9 Hz, 1H, H-8), 6.34 (d, J = 9.0 Hz 1H, H-2), 3.29 (q, J = 7.0 Hz, 2H, NHCH₂CH₂), 2.82 (t, J = 6.6 Hz, 2H, COCH₂CH₂), 2.67 (q, J = 7.0 Hz, 4H,COCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 2.65-2.69 (m, 4H, NHCH₂CH₂, COCH₂CH₂), 2.41 (s, 6H, COCH₂CH₂N(CH₃)₂), 2.28 (s, 6H, CH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂).

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 168.84 (HNCO), 160.13 (CO), 146.82 (C-5a), 146.66 (C-4a), 139.69 (C-1), 134.57 (C-7), 126.82 (C-3), 126.48 (C-9), 125.95 (C-6), 121.26 (C-4), 112.96 (C-8), 102.82 (C-2), 101.68 (C-11a), 57.79 (NHCH₂CH₂), 54.75 (COCH₂CH₂), 45.41 (NHCH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂), 44.59 (COCH₂CH₂N(CH₃)₂), 40.83 (NHCH₂CH₂), 34.24 (COCH₂CH₂),

Παρασκευή του 2-χλωρο-N-1-((3-(διαιθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (**16**)



C₂₁H₂₆ClN₅O₂
MW: 415.92

Για την παρασκευή του παραγώγου **16** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του προϊόντος **26** χρησιμοποιώντας εδώ ως πρώτη ύλη το παράγωγο **8**. Το επιθυμητό προϊόν **16** λαμβάνεται ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης σύστημα CH₂Cl₂/CH₃OH 98/2 έως 90/10. Απόδοση: 63 %.

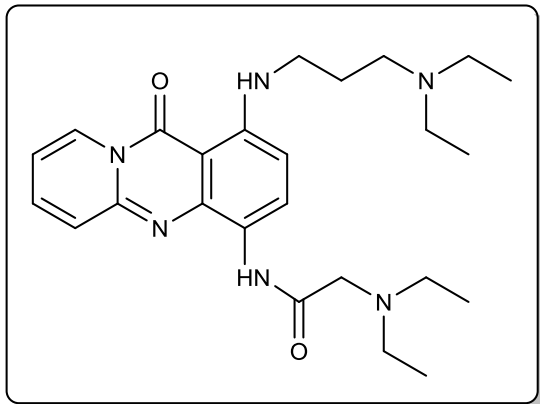
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 130 °C (EtOAc)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 10.14 (s, 1H, NHCO, D₂Oexchange), 8.77 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, H-3), 8.73 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-9), 8.42 (t, *J* = 4.7 Hz, 1H, NHCH₂CH₂CH₂, D₂Oexchange), 7.49 (t, *J* = 6.35 Hz, 1H, H-7), 7.41 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-6), 6.82 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H-8), 6.45 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H, H-2), 4.26 (s, 2H, CH₂Cl), 3.22 (q, *J* = 6.6 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 2.64-2.66 (m, 6H, NHCH₂CH₂CH₂, CH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 1.96 (quintet, *J* = 7.4 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 1.10 (t, *J* = 6.9 Hz, 6H, CH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 163.18 (HNCO), 160.14 (CO), 147.44 (C-5a), 147.07 (C-4a), 139.79 (C-1), 134.79 (C-7), 126.46 (C-9), 126.28 (C-3), 126.02 (C-6), 120.02 (C-4), 112.53 (C-8), 102.71 (C-2), 101.56 (C-11a), 60.54 (COCH₂), 47.02 (CH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 43.52 (NHCH₂CH₂CH₂), 41.30 (NHCH₂CH₂CH₂), 27.06 (NHCH₂CH₂CH₂), 14.34 (CH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂).

Παρασκευή του 2-(διαιθυλαμινο)-N-1-((3-(διαιθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (20)



C₂₅H₃₆N₆O₂
MW:452.60

Για την παρασκευή του προϊόντος **20** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του παραγώγου **18** με επίδραση διαιθυλαμίνης επί του παραγώγου **16**. Το επιθυμητό προϊόν **20** λαμβάνεται ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης σύστημα CH₂Cl₂/CH₃OH/τριαιθυλαμίνης 100/0/2 έως 90/10/2. Απόδοση: 92 %.

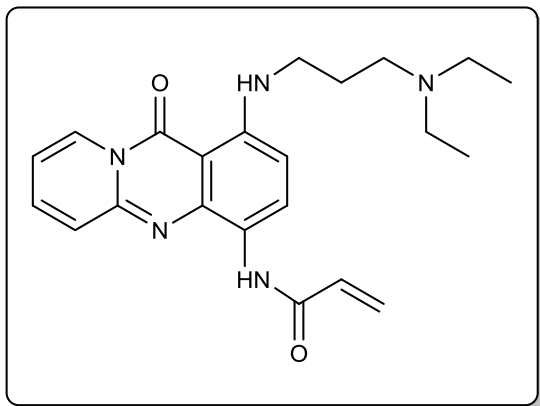
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 86-88 °C (EtOAc).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 10.70 (s, 1H, NHCO, D₂Oexchange), 8.67 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, H-3), 8.63 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, H-9), 8.26 (t, *J* = 4.7 Hz, 1H, NHCH₂CH₂CH₂, D₂Oexchange), 7.39 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, H-7), 7.23 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H-6), 6.71 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H, H-8), 6.34 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H, H-2), 3.27 (q, *J* = 6.8 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 3.16 (s, 2H, COCH₂), 2.96 (t, 2H, *J* = 7.1 Hz, NHCH₂CH₂CH₂), 2.84 (q, *J* = 7.2 Hz, 4H, COCH₂N(CH₂CH₃)₂) 2.62 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H, CH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 2.03 (quintet, *J* = 7.59, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 1.18 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H, COCH₂N(CH₂CH₃)₂), 1.09 (t, *J* = 7.12 Hz, 6H, CH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 170.00 (HNCO), 160.01 (CO), 146.61 (C-5a), 146.08 (C-4a), 139.68 (C-1), 134.48 (C-7), 126.09 (C-9), 125.92 (C-3), 125.70 (C-6), 121.18 (C-4), 112.43 (C-8), 102.58 (C-2), 101.62 (C-11a), 58.89 (COCH₂), 49.48 (NHCH₂CH₂CH₂), 48.52 (NHCH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 46.83 (COCH₂N(CH₂CH₃)₂), 40.34 (NHCH₂CH₂CH₂), 23.33 (NHCH₂CH₂CH₂), 12.73 (CH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 8.94 (COCH₂CH₂N(CH₂CH₃)).

Παρασκευή του N-1-((3-(διαιθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κινναζολιν-4-υλ)ακρυλαμιδίου (**28**)



C₂₂H₂₇N₃O₂
MW: 393.49

Για την παρασκευή του παραγώγου **28** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του προϊόντος **26** χρησιμοποιώντας εδώ ως πρώτη ύλη το παράγωγο **8**. Το επιθυμητό προϊόν **28** λαμβάνεται ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης σύστημα CH₂Cl₂/CH₃OH 98/2 έως 90/10. Απόδοση: 85 %

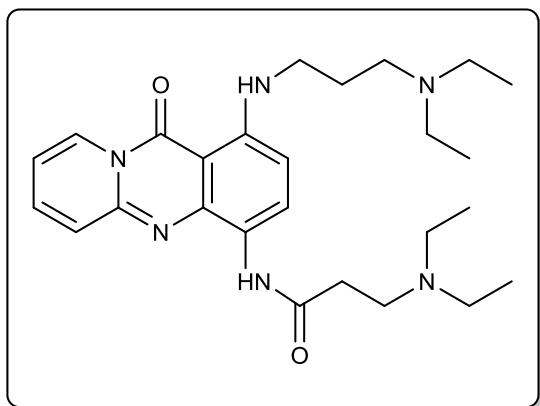
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 155-157 °C (EtOAc)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.09 (s, br, 1H, NHCO, D₂Oexchange), 8.87 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-3), 8.75 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, H-9), 8.37 (t, *J* = 4.5 Hz, 1H, NHCH₂CH₂CH₂, D₂Oexchange), 7.46 (t, *J* = 8.4, 7.1 Hz, 1H, H-7), 7.38 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, H-6), 6.79 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H, H-8), 6.47 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, H-2), 6.41-6.43 (m, 2H, COCH=CHH), 5.73 (dd, *J* = 7.8, 3.7 Hz, 1H, COCH=CHH), 3.31 (q, *J* = 6.2 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 2.57-2.65 (m, 6H, NHCH₂CH₂CH₂, N(CH₂CH₃)₂), 1.92 (quintet, *J* = 7.24 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 1.07 (t, *J* = 7.1 Hz, N(CH₂CH₃)₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 162.88 (HNCO), 160.13 (CO), 147.16 (C-4a), 146.91 (C-5a), 139.18 (C-1), 134.68 (C-7), 132.19 (COCH), 126.54 (C-3, C-9), 126.32 (CH=CH₂), 125.97 (C-6), 120.63 (C-4), 112.32 (C-8), 103.11 (C-2), 101.44 (C-11a), 50.59 (NHCH₂CH₂CH₂), 47.09 (N(CH₂CH₃)₂), 41.59 (NHCH₂CH₂CH₂), 26.48 (NHCH₂CH₂CH₂), 11.71 (N(CH₂CH₃)₂).

Παρασκευή του 3-(διαιθυλαμινο)-N-1-((3-(διαιθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)προπαναμιδίου (32)



C₂₆H₃₈N₆O₂
MW:466.63

Για την παρασκευή του προϊόντος **32** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του παραγώγου **18** με επίδραση διμεθυλαμίνης επί του παραγώγου **28**. Το επιθυμητό προϊόν **32** λαμβάνεται ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης σύστημα CH₂Cl₂/CH₃OH/τριαιθυλαμίνης 96/4/0 έως 70/10/4. Απόδοση: 50 %.

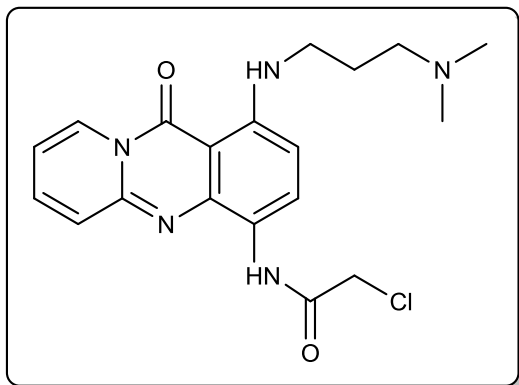
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: λάδι

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 10.70 (s, 1H, NHCO, D₂Oexchange), 8.78 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, H-3), 8.69 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H, H-9), 8.34 (s, br, 1H, NHCH₂CH₂CH₂, D₂Oexchange), 7.38 (t, *J* = 8.4, 7.3 Hz, 1H, H-7), 7.27 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H-6), 6.71 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H, H-8), 6.42 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, H-2), 3.25 (q, *J* = 5.9 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 2.82 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, COCH₂CH₂), 2.67 (q, *J* = 7.0 Hz, 4H, COCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂) 2.50-2.58 (m, 8H, NHCH₂CH₂CH₂, COCH₂CH₂, CH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 1.86 (quintet, *J* = 6.9 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 1.10 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H, COCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 1.02 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H, CH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 170.58 (HNCO), 160.21 (CO), 147.03 (C-5a), 146.41 (C-4a), 139.50 (C-1), 134.12 (C-7), 127.23 (C-3), 126.42 (C-9), 125.76 (C-6), 121.69 (C-4), 111.89 (C-8), 103.08 (C-2), 101.51 (C-11a), 50.59 (NHCH₂CH₂CH₂), 48.81 (COCH₂CH₂), 47.03 (CH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 46.57 (COCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 41.58 (NHCH₂CH₂CH₂), 34.96 (COCH₂CH₂, 26.61 (NHCH₂CH₂CH₂), 11.80 (NHCH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 11.52 (COCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂).

Παρασκευή του 2-χλωρο-N-1-((3-(διμεθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (17)



C₁₉H₂₂N₅ClO₂
MW:387.87

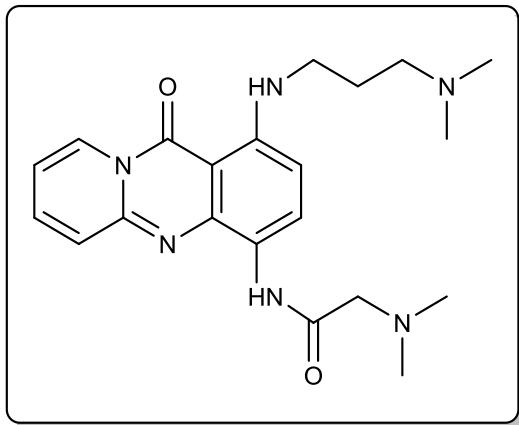
Για την παρασκευή του παραγώγου **17** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του προϊόντος **14** χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη το παράγωγο **9**. Το επιθυμητό προϊόν **17** λαμβάνεται ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης σύστημα CH₂Cl₂/CH₃OH 98/2 έως 90/10. Απόδοση: 59 %

Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 230 °C (dec) (EtOAc)

¹HNMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 10.10 (s, 1H, NHCO, D₂Oexchange), 8.74 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, H-3), 8.69 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, H-9), 8.38 (t, *J* = 4.6 Hz, 1H, NHCH₂CH₂CH₂, D₂Oexchange), 7.45 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H, H-7), 7.37 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, H-6), 6.79 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H, H-8), 6.38 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-2), 4.25 (s, 2H, CH₂Cl), 3.29 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 2.43 (t, 2H, *J* = 7.3 Hz, NHCH₂CH₂CH₂), 2.27 (s, 6H, CH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂), 1.91 (quintet, *J* = 7.5 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂).

Παρασκευή του 2-διμεθυλαμινο-N-1-((3-(διμεθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (**21**)



C₂₁H₂₈N₆O₂
MW:396.49

Για την παρασκευή του προϊόντος **21** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του παραγώγου **18** με επίδραση διμεθυλαμίνης επί του παραγώγου **17**. Το επιθυμητό προϊόν **32** λαμβάνεται ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης σύστημα CH₂Cl₂/CH₃OH/Et₃N 96/4/0 εως 70/10/4. Απόδοση: 35 %.

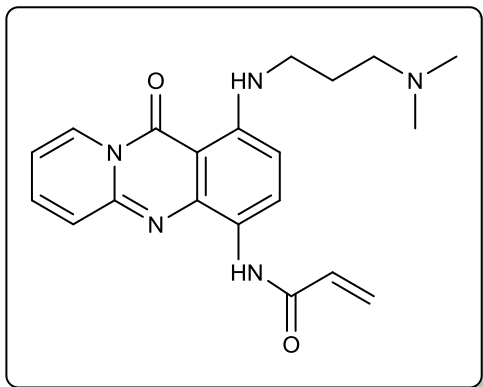
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 98-100 °C (EtOAc)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 10.40 (s,br, 1H, NHCO, D₂Oexchange), 8.71-8.74 (m, 2H, H-3, H-9), 8.36 (s, br, 1H, NHCH₂CH₂CH₂, D₂Oexchange), 7.43 (t, J = 6.3 Hz, 1H, H-7), 7.36 (d, J = 9.0 Hz, 1H, H-6), 6.77 (t, J = 7.5 Hz, 1H, H-8), 6.46 (d, J = 9.0 Hz, 1H, H-2), 3.30 (q, J = 12.1, 6.7 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 3.16 (s, 2H, COCH₂), 2.43-2.47 (m, 8H, NHCH₂CH₂CH₂, COCH₂N(CH₃)₂), 2.06 (s, 6H, CH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂), 1.92 (quintet, J = 7.12 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 168.43 (HNCO), 160.35(CO), 147.18 (C-5a), 146.84 (C-4a), 139.86(C-1), 134.25 (C-7), 126.69 (C-9), 126.49 (C-3, C-6), 120.72 (C-4), 112.22 (C-8), 103.13 (C-2), 101.69 (C-11a), 64.40 (COCH₂), 57.27 (NHCH₂CH₂CH₂), 46.40 (COCH₂N(CH₃)₂), 45.70 (NHCH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂), 41.52 (NHCH₂CH₂CH₂), 27.33 (NHCH₂CH₂CH₂).

Παρασκευή του N-1-((3-(διμεθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κινναζολιν-4-υλ) ακρυλαμιδίου (**29**)



C₂₀H₂₃N₅O₂
MW: 365.44

Για την παρασκευή του παραγώγου **29** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του προϊόντος **26** χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη τοπαράγωγο **9**. Το επιθυμητό προϊόν **29** λαμβάνεται ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης σύστημα CH₂Cl₂/CH₃OH 98/2 έως 80/20. Απόδοση: 11 %.

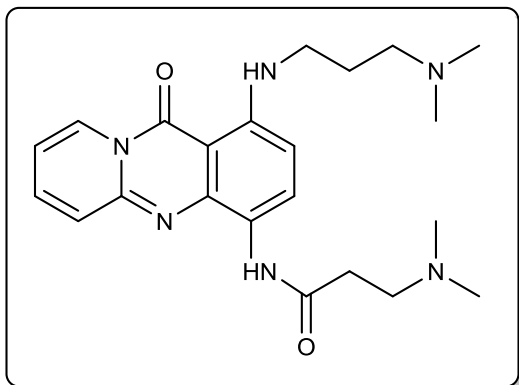
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 155-177 °C (EtOAc)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.09 (s, br, 1H, NHCO, D₂Oexchange), 8.85 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, H-3), 8.73 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, H-9), 8.35 (s, br, 1H, NHCH₂CH₂CH₂, D₂Oexchange), 7.45 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, H-7), 7.35 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, H-6), 6.78 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H, H-8), 6.45 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, H-2), 6.40-6.46 (m, 2H, COCH=CHH), 5.74 (dd, *J* = 7.8, 3.7 Hz, 1H, COCH=CHH), 3.31 (q, *J* = 4.3 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 2.54 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 2.36 (s, 6H, N(CH₃)₂), 1.96 (quintet, *J* = 7.2 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 162.87 (HNCO), 160.10 (CO), 147.01 (C-4a), 146.88 (C-5a), 139.17 (C-1), 134.66 (C-7), 132.20 (COCH), 126.48 (C-3, C-9), 126.30 (CH=CH₂), 125.80 (C-6), 120.75 (C-4), 112.34 (C-8), 103.07 (C-2), 101.48 (C-11a), 57.31 (NHCH₂CH₂CH₂), 45.27 (N(CH₃)₂), 41.30 (NHCH₂CH₂CH₂), 26.73 (NHCH₂CH₂CH₂).

Παρασκευή του 3-διμεθυλαμινο-N-1-((3-(διμεθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ) (33)



C₂₂H₃₀N₆O₂
MW:410.52

Για την παρασκευή του προϊόντος **33** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του παραγώγου **18** με επίδραση διμεθυλαμίνης επί του παραγώγου **29**. Το επιθυμητό προϊόν **33** λαμβάνεται ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης σύστημα CH₂Cl₂/CH₃OH/Et₃N 96/4/5 έως 80/2/5. Απόδοση: 24 %.

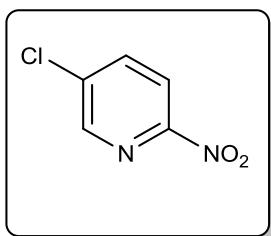
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Έλαιο

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 10.68 (s,br, 1H, NHCO, D₂Oexchange), 8.73-8.78 (m, 2H, H-3, H-9), 8.36 (s, br, 1H, NHCH₂CH₂CH₂, D₂Oexchange), 7.44 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H, H-7), 7.34 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-6), 6.77 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H, H-8), 6.46 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-2), 3.31 (q, *J* = 6.2 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 2.78 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, COCH₂CH₂), 2.65 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, COCH₂CH₂), 2.54 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 2.44 (s, 6H, COCH₂CH₂N(CH₃)₂), 2.35 (s, 6H, NHCH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂), 1.95 (quintet, *J* = 14.2, 7.0 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂).

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 169.85 (HNCO), 160.30 (CO), 146.84 (C-5a), 146.65 (C-4a), 139.61 (C-1), 134.30 (C-7), 127.10 (C-3), 126.46 (C-9), 126.06 (C-6), 121.71 (C-4), 112.14 (C-8), 103.20 (C-2), 101.65 (C-11a), 57.27 (NHCH₂CH₂CH₂), 55.21 (COCH₂CH₂), 45.15 (NHCH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂), 45.09 (COCH₂CH₂N(CH₃)₂), 41.29 (NHCH₂CH₂CH₂), 34.94 (COCH₂CH₂), 26.61 (NHCH₂CH₂CH₂).

Παρασκευή της 2-νιτρο-5-χλωροπυριδίνης (35)



C₅H₃ClN₂O₂
MW:158.54

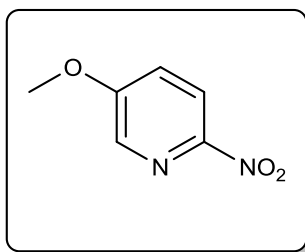
Σε σφαιρική που φέρει πυκνό H₂SO₄ (30 mL) και 30% H₂O₂ (15 mL), στους 0° C, προστίθεται 2-αμινο-5-χλωροπυριδίνη (5 g, 39.06 mmol, **34**) και το εναιώρημα που προκύπτει αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 24 ώρες. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης το μίγμα αποχύνεται σε νερό και το στερεό που αποβάλλεται ως ίζημα διηθείται υπό κενό και ξηραίνεται σε ξηραντήρα κενού υπεράνω P₂O₅. Το διήθημα εκχυλίζεται με μίγμα CH₂Cl₂/νερού, τα οργανικά εκχυλίσματα συνενώνονται, ξηραίνονται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται υπό κενό λαμβάνοντας έτσι επιπλέον ποσότητα προϊόντος. Το συνολικό μίγμα της αντίδρασης καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silicagel), χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης σύστημα κυκλοεξανίου/EtOAc 6/1 έως 5/1 λαμβάνοντας 6.16 g του επιθυμητού προϊόντος **35**. Απόδοση: 46 %

Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 118-120°C (αιθανόλη)⁸⁵.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.58 (d, 1H, J=2.8 Hz), 8.23 (d, 1H, J= 8.8 Hz), 8.80 (dd, 1H, J=8.8, 2.8 Hz)

Παρασκευή της 2-νιτρο-5-μεθοξυπυριδίνης (36)



C₆H₆N₂O₃
MW:154.13

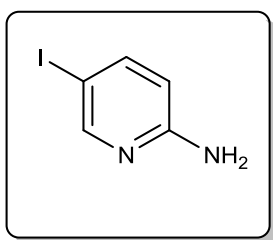
Σε σφαιρική που φέρει MeONa (108 mg, 2.0 mmol) σε άνυδρη μεθανόλη (10 mL) στους 0 °C, υπό ατμόσφαιρα αργού, προστίθεται στάγδην το παράγωγο **35** (300 mg, 1.9 mmol) διαλυμένο

σε άνυδρο THF (10 mL) και το εναιώρημα που προκύπτει αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 24 ώρες. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης το μίγμα συμπυκνώνεται υπό κενό και το υπόλειμμα που λαμβάνεται εκχυλίζεται με μίγμα CH₂Cl₂/νερού, τα οργανικά εκχυλίσματα συνενώνονται, ξηραίνονται με άνυδρο Na₂SO₄, συμπυκνώνονται υπό κενό και το υπόλειμμα που λαμβάνεται καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο/EtOAc 4/1 έως EtOAc για να ληφθούν 30 mg του επιθυμητού προϊόντος **36**. Απόδοση: 10 %.

Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

¹HNMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.26 (m, 2H, H-3, H-6), 7.40 (dd, *J* = 8.9, 2.9 Hz, 1H, H-4), 3.98 (s, 3H, OCH₃).

Παρασκευή της 2-αμινο-5-ιωδοπυριδίνης (**38**)



C₅H₅IN₂
MW : 220.01

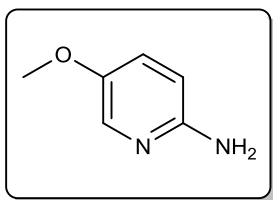
Σε σφαιρική που φέρει μίγμα οξικού οξέος (99.6 mL) και νερού (5 mL) στους 0 °C προστίθεται 2-αμινοπυριδίνη (4 g, 42.55 mmol), KIO₄ (1.43 g, 62.17 mmol), I₂ (4.48 g, 84.56 mmol) και π. H₂SO₄ (1.16 mL) και το μίγμα που προκύπτει αναδεύεται στους 80 °C για 5 ώρες. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης το μίγμα αποχύνεται σε νερό και η περίσσεια των οξέων εξουδετερώνεται με υδατικό διάλυμα NaOH 20%, υπό ψύξη. Το στερεό που αποβάλλεται διηθείται υπό κενό και πλένεται με υδατικό διάλυμα Na₂S₂O₃ οπότε λαμβάνονται 8 g του επιθυμητού ιωδοπαράγωγο **38** ως λευκή κρυσταλλική σκόνη, πρακτικά καθαρού, που χρησιμοποιούνται στο επόμενο στάδιο της συνθετικής πορείας χωρίς κάποιον επιπλέον καθαρισμό. Απόδοση: 67 %

Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 126-130 °C⁸⁶

¹HNMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 8.03 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, H-6), 7.58 (dd, *J* = 8.7, 2.2 Hz, 1H, H-4), 6.34 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.11 (s, 2H, NH₂).

Παρασκευή της 2-αμινο-5-μεθοξυ-πυριδίνης (**37**)



$C_6H_8N_2O$
MW : 124.14

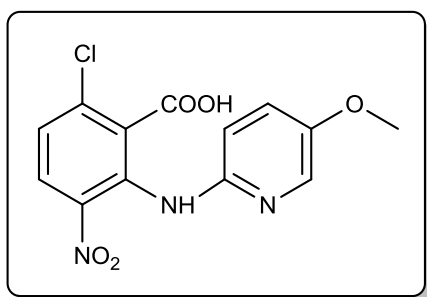
Μίγμα 2-αμινο-5-ιωδοπυριδίνης (6 g, 27.3 mmol, **38**), CS_2CO_3 (17.8 g, 54.6 mmol), CuI (520 mg, 2.73 mmol), 1,10-φαινανθρολίνης (0.98 g, 5.46 mmol) σε άνυδρη μεθανόλη (50 mL) θερμαίνεται σε αυτόκλειστο στους 120 °C για 12 ώρες. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης το μίγμα διηθείται από πτυχωτό ηθμό, το στερεό εκπλένεται με οξικό αιθυλεστέρα και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Το υπόλειμμα που προκύπτει καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο/EtOAc 3/1 έως 0/1 για να ληφθούν 1.5 g του επιθυμητού προϊόντος **37**⁸⁷. Απόδοση: 44%.

Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Έλαιο

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 7.64 (dd, 1H), 7.10 (dd, 1H), 6.42 (dd, 1H), 5.43 (br, 2H), 3.68 (s, 3H, OCH_3).

Παρασκευή του 2-((5-μεθοξυπυριδιν-2-υλ)αμινο)-3-νιτρο-6-χλωρο-βενζοϊκού οξέος (**39**)



$C_{13}H_{10}N_3O_5Cl$
MW : 323.69

Για την παρασκευή του οξέος **39** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη σύνθεση του οξέος **4** χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη το παράγωγο **37**. Το επιθυμητό προϊόν **39** λαμβάνεται πρακτικά καθαρό μετά από κατεργασία του μίγματος της αντίδρασης με

διαιθυλαιθέρα και χρησιμοποιείται ως έχει για το επόμενο στάδιο της συνθετικής πορείας.
Απόδοση: 91 %

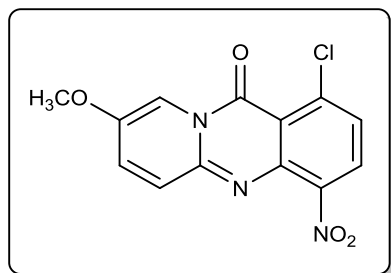
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 232-234 °C (EtOH)

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 8.31 (d, J = 3.6 Hz, 1H, H-10), 8.24 (d, J = 8.3 Hz, 1H, H-3), 7.93 (s, 1H, NH, D_2O exchang), 7.75 (dd, J = 7.0, 2.7 Hz, 1H, H-8), 7.58 (d, J = 8.3 Hz, 1H, H-2), 7.52 (d, J = 6.7 Hz, 1H, H-7), 3.9 (s, 3H, OCH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 162.46 (COOH), 149.44 (C-9), 146.69 (C-6), 145.11 (C-5), 141.78 (C-1), 133.77 (C-8), 127.43 (C-3), 126.99 (C-7), 125.27 (C-2), 113.24, 106.33 (C-10), 56.46 (OCH_3).

Παρασκευή της 8-μεθοξυ-4-νιτρο-1-χλωρο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-11-όνης (40)



$C_{13}H_8N_3O_4Cl$
MW : 305.02

Για την παρασκευή του προϊόντος **40** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του κιναζολινόνης **5**. Απόδοση: 77 %

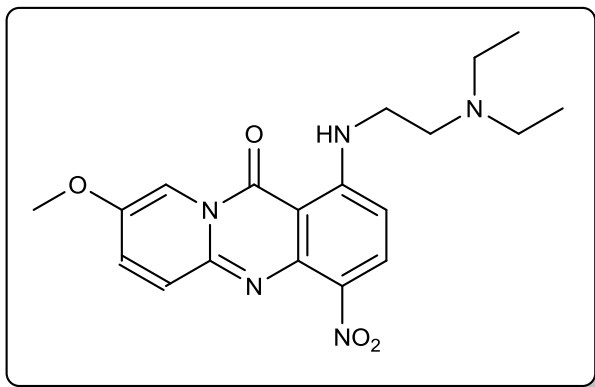
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 248-250 °C (EtOAc)

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 8.34 (d, J = 2.5 Hz, 1H, H-9), 8.27 (d, J = 8.3 Hz, 1H, H-3), 7.77 (dd, J = 7.07, 2.65 Hz, 1H, H-7), 7.61 (d, J = 8.3 Hz, 1H, H-2), 7.56 (d, J = 9.7 Hz, 1H, H-6), 3.93 (s, 4H, OCH_3).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 154.98 (CO), 149.33 (C-8), 146.60 (C-5a), 145.05 (C-4a), 141.62 (C-1), 136.42 (C-4), 133.65 (C-7), 127.31 (C-3), 126.92 (C-6), 125.16 (C-2), 113.17 (C-11a), 106.25 (C-9), 56.38 (OCH_3).

Παρασκευή της 1-(2-((διαιθυλαμινο)αιθυλαμινο)-8-μεθοξυ-4-νιτρο-11H-πυριδο[2,1-b]κινναζολιν-11-όνης (**41**)



C₁₉H₂₃N₅O₄
MW:385.42

Για την παρασκευή της αμίνης **41** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του παραγώγου **6** με επίδραση 2,2-διαιθυλαμινοαιθυλαμίνης επί του χλωριδίου **40**. Το επιθυμητό προϊόν **41** λαμβάνεται ως κίτρινο στερεό ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/CH₃OH 10/0 έως 8/2. Απόδοση: 63 %.

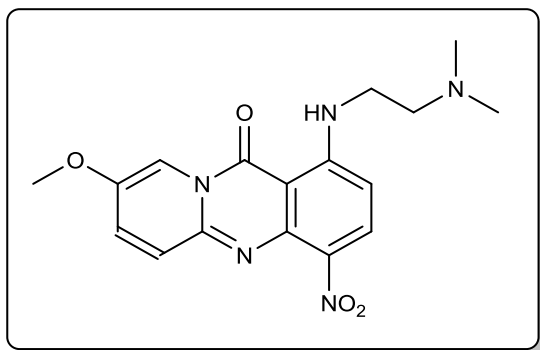
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά

Στ: 140-142°C (EtOAc)

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.94 (s, br, 1H, NH, D₂Oexchange), 8.38 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H, H-3), 8.32 (s, *J* = 2.67 Hz, 1H, H-9), 7.58 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H, H-6), 7.45 (dd, *J* = 9.73, 2.74 Hz 1H, H-7), 6.37 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H, H-2), 3.93 (s, 3H, OCH₃), 3.41 (q, *J* = 6.4 Hz, 2H, NHCH₂CH₂), 2.83 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, NHCH₂CH₂), 2.65 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H, N(CH₂CH₃)₂), 1.10 (t, *J* = 7.12 Hz, 6H, N(CH₂CH₃)₂).

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 159.38 (C=O), 155.05 (C-1), 149.68 (C-8), 146.55 (C-5a), 145.26 (C-4a), 134.70 (C-3), 132.64 (C-7), 131.27 (C-4), 127.9 (C-6), 105.47 (C-9), 101.72 (C-2), 100.83 (C-11a), 56.51 (OCH₃), 50.99 (NHCH₂CH₂), 47.15 (N(CH₂CH₃)₂), 41.62 (NHCH₂CH₂), 11.99 ((CH₂CH₃)₂).

Παρασκευή της 1-(2-((διμεθυλαμινο)αιθυλαμινο)-8-μεθοξυ-4-νιτρο-11H-πυριδο[2,1-b]κινναζολιν-11-όνης (**42**)



C₁₇H₁₉N₅O₄
MW:357.37

Για την παρασκευή του προϊόντος **42** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη της αμίνης **41** με επίδραση 2,2-διμεθυλαμινοαιθυλαμίνης επί του παραγώγου **40**. Το επιθυμητό προϊόν **42** λαμβάνεται ως κίτρινο στερεό ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/CH₃OH 10/0 έως 8/2. Απόδοση: 50 %.

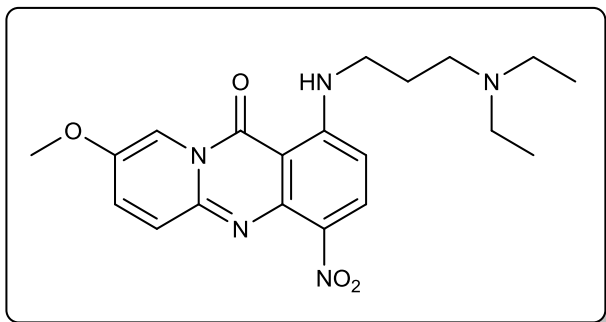
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 193-195 °C (EtOAc)

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.90 (s,br, 1H, NH, D₂Oexchange), 8.37 (d, J = 9.3 Hz, 1H, H-3), 8.34 (s, 1H, H-9), 7.58 (d, J = 9.7 Hz, 1H, H-6), 7.44 (dd, J = 9.7, 2.26Hz, 1H, H-7), 6.36 (d, J = 9.4, Hz, 1H, H-2), 3.92 (s, 3H, OCH₃), 3.42 (q, J = 11.0, 6.0 Hz, 2H, NHCH₂CH₂), 2.70 (t, J= 9.7 Hz, 2H, NHCH₂CH₂), 2.36 (s, 6H, N(CH₃)₂).

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 159.48 (C=O), 154.97 (C-1), 149.70 (C-8), 146.51 (C-5a), 145.18 (C-4a), 134.70 (C-3), 132.69 (C-7), 131.43 (C-4), 127.88 (C-6), 105.47 (C-9), 101.57 (C-2), 100.85 (C-11a), 57.58 (NHCH₂CH₂), 56.50 (OCH₃), 45.58 (N(CH₃)₂), 41.21 (NHCH₂CH₂).

Παρασκευή της 1-(2-((διαιθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-4-νιτρο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-11-όνης (43)



C₂₀H₂₅N₅O₄
MW:399.45

Για την παρασκευή του προϊόντος **43** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του αναλόγου **41** με επίδραση 3,3-διαιθυλαμινοπροπυλαμίνης επί του παραγώγου **40**. Το επιθυμητό προϊόν **43** λαμβάνεται ως κίτρινο στερεό ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/CH₃OH 10/0 εως 8/2. Απόδοση: 53 %.

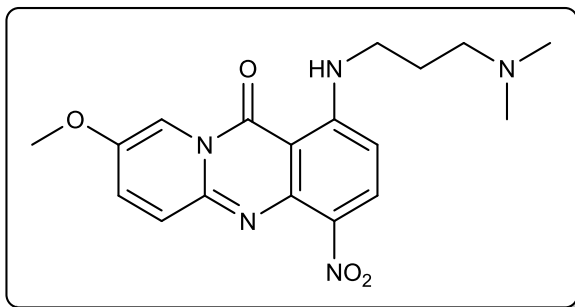
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 230 °C (dec) (EtOAc).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.94 (t, 1H, *J* = 5.0 Hz, NH, D₂Oexchange), 8.36 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, H-3), 8.27 (s, *J* = 2.6 Hz, 1H, H-9), 7.59 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H, H-6), 7.48 (dd, *J* = 9.8, 2.7 Hz, 1H, H-7), 6.39 (d, *J* = 9.3, Hz, 1H, H-2), 3.94 (s, 3H, OCH₃), 3.56 (q, *J* = 6.2 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 2.30 (quintet, *J* = 6.8 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 3.07-3.09(m, 6H, N(CH₂CH₃)₂, NHCH₂CH₂CH₂), 1.73 (t, *J* = 7.2 Hz, 6H, N(CH₂CH₃)₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 159.49 (C=O), 155.10 (C-1), 149.76 (C-8), 146.38 (C-5a), 145.08 (C-4a), 134.68 (C-3), 132.68 (C-7), 131.24 (C-4), 127.86 (C-6), 105.18 (C-9), 101.56 (C-2), 100.65 (C-11a), 56.45 (OCH₃), 50.99 (NHCH₂CH₂CH₂), 46.93 (N(CH₂CH₃)₂), 41.55 (NHCH₂CH₂CH₂), 26.18 (NHCH₂CH₂CH₂), 11.36 (N(CH₂CH₃)₂).

Παρασκευή της 1-(2-((διμεθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-4-νιτρο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-11-όνης (**44**)



C₁₈H₂₁N₅O₄
MW:371.40

Για την παρασκευή του προϊόντος **44** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του αναλόγου **41** με επίδραση 3,3-διμεθυλαμινοπροπυλαμίνης επί του παραγώγου **40**. Το επιθυμητό προϊόν **44** λαμβάνεται ως κίτρινο στερεό ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/CH₃OH 10/0 εως 8/2. Απόδοση: 61 %.

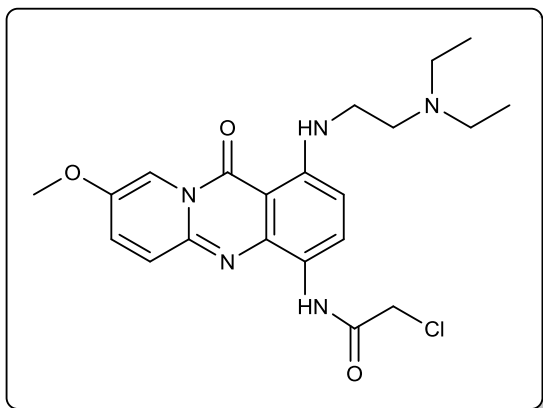
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 164-167 °C (EtOAc).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.80 (s,br, 1H, NH, D₂Oexchange), 8.34 (d, J = 9.2 Hz, 1H, H-3), 8.27 (d, J = 2.66 Hz, 1H, H-9), 7.55 (d, J = 9.7 Hz, 1H, H-6), 7.44 (dd, J = 9.7, 2.7 Hz, 1H, H-7), 6.39 (d, J = 8.9 Hz, 1H, H-2), 3.92 (s, 3H, OCH₃), 3.42 (q, J = 6.8 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 2.45 (t, J = 6.9 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 2.27 (s, 1H, 6H, N(CH₃)₂), 1.94 (quintet, J = 7.0 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂).

¹³C NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 159.53 (C=O), 155.18 (C-1), 149.76 (C-8), 146.39 (C-5a), 145.10 (C-4a), 134.66 (C-3), 132.64 (C-7), 131.24 (C-4), 127.88 (C-6), 105.21 (C-9), 101.57 (C-2), 100.67 (C-11a), 57.05 (NHCH₂CH₂CH₂), 56.45 (OCH₃), 45.62 (N(CH₃)₂), 41.50 (NHCH₂CH₂CH₂), 26.92 (NHCH₂CH₂CH₂).

Παρασκευή του 2-χλωρο-N-(1-(2-((διαιθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (49)



C₂₁H₂₆N₅O₃Cl
MW:431.92

Σε διάλυμα του παραγώγου **41** (200 mg, 0.52 mmol) σε άνυδρη μεθανόλη (10 mL) προστίθεται μурμηγκικό αμμώνιο (50 mg, 0.78 mmol), ενεργοποιημένος ψευδάργυρος (136 mg, 2.08 mmol) και το εναιώρημα που προκύπτει αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 1 ώρα. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης το μίγμα διηθείται και συμπυκνώνεται υπο κενό. Η αμίνη **45**, λόγω της ιδιαίτερης αστάθειας της, χωρίς κάποια άλλη κατεργασία διαλύεται σε THF (10 mL) και στο διάλυμα προστίθεται Na₂CO₃ (170 mg, 1.56 mmol) και χλωρακέτυλο χλωρίδιο (0.06 mL, 0.78 mmol) μέχρις αλλαγής χρώματος από κίτρινο σε πορτοκαλί. Το εναιώρημα που προκύπτει αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 15 λεπτά και μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης το THF απομακρύνεται υπό κενό, το υπόλειμμα που προκύπτει διαλύεται σε CH₂Cl₂ και πλένεται με υδατικό διάλυμα ανθρακικού νατρίου και νερό, ξηραίνεται με άνυδρο Na₂SO₄ και ο οργανικός διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Το στερεό υπόλειμμα που λαμβάνεται καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silicagel), χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/CH₃OH 10/0 έως 8.5/1.5 για να ληφθούν 150 mg του επιθυμητού προϊόντος **49**. Απόδοση: 67 %.

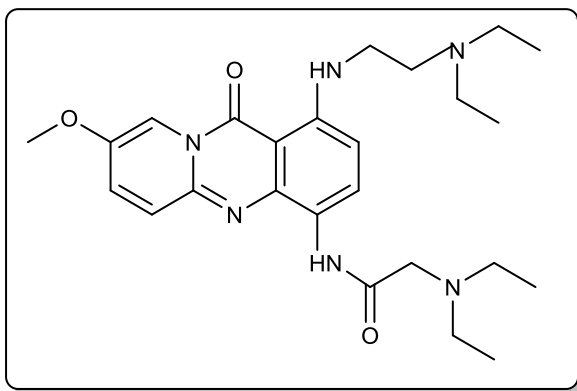
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 178-180 °C (EtOAc).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 10.12 (s, br, 1H, NHCO, D₂Oexchange), 8.69 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, H-3), 8.53 (t, *J* = 4.1 Hz, 1H, NHCH₂CH₂, D₂Oexchange), 8.25 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, H-9), 7.37 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, H-6), 7.32 (dd, *J* = 9.8, 2.6 Hz, 1H, H-7), 6.44 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-2), 4.26 (s, 2H, CH₂Cl), 3.91 (s, 3H, OCH₃), 3.47 (q, *J* = 5.7 Hz, 2H, NHCH₂CH₂), 2.90 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, NHCH₂CH₂), 2.75 (q, *J* = 6.9 Hz, 4H, NHCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 1.15 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H, HNCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂).

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 163.07 (NHCO), 159.61 (C=O), 148.67 (C-8), 146.85 (C-4a), 144.76 (C-5a), 139.41 (C-1), 131.39 (C-7), 126.96 (C-6), 125.14 (C-6), 119.87 (C-4), 105.11 (C-9), 102.51 (C-2), 101.40 (C-11a), 56.36 (COCH_2), 51.33 (OCH_3), 43.52 (NHCH_2CH_2), 47.29 $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$, 41.14 (NHCH_2CH_2), 11.67 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$).

Παρασκευή του 2-δισουλφαμιν-Ν-(1-(2-((δισουλφαμιν)αιθυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11-οξο-11Η-πυριδο[2,1-β]κινναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (53)



$\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_3$
MW:484.65

Για την παρασκευή του προϊόντος **53** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του παραγώγου **18** με επίδραση δισουλφαμίνης επί του παραγώγου **49**. Το επιθυμητό προϊόν **53** λαμβάνεται ως κίτρινο στερεό ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 10/0 έως 75/25. Απόδοση: 89 %.

Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

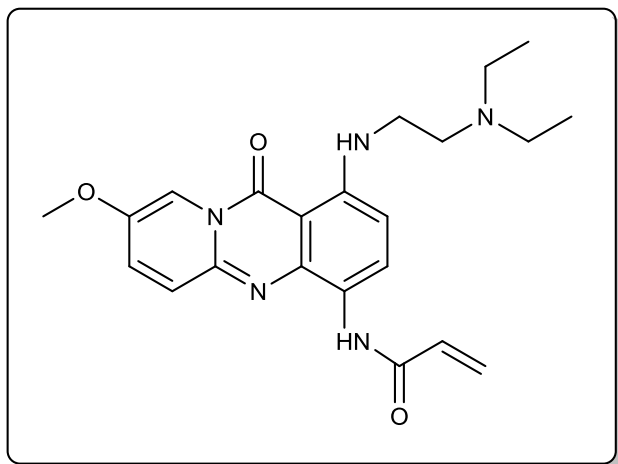
Στ: 144-146 °C (EtOAc).

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 10.76 (s,br, 1H, NHCO, D_2O exchange), 8.77 (d, $J=8.9$ Hz, 1H, H-3), 8.44 (t, $J=4.6$ Hz, 1H, NHCH_2CH_2 , D_2O exchange), 8.22 (d, $J=2.6$ Hz, 1H, H-9), 7.29 (d, $J=9.6$ Hz, 1H, H-6), 7.26 (dd, $J=9.75, 2.57$ Hz, 1H, H-7), 6.44 (d, $J=8.9$ Hz, 1H, H-2), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 3.35 (q, $J=6.2$ Hz, 3H, NHCH_2CH_2), 3.22 (s, 2H, COCH_2), 2.82 (t, $J=6.5$ Hz, 2H, NHCH_2CH_2), 2.62-2.68(m, 4H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$, $\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 1.16 (t, $J=7.1$ Hz, 6H, $\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 1.08 (t, $J=7.12$ Hz, 6H, $\text{HNCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$).

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 169.69 (NHCO), 159.82 (C=O), 148.45 (C-8), 146.35 (C-4a), 144.35 (C-5a), 139.50 (C-1), 130.99 (C-7), 126.99 (C-6), 125.32 (C-6), 121.09 (C-4), 105.03 (C-9), 102.92 (C-2), 101.64 (C-11a), 59.23 (COCH_2), 56.29 (OCH_3), 51.41 (NHCH_2CH_2), 48.67

(NHCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 47.28 (COCH₂N(CH₂CH₃)₂), 41.29 (NHCH₂CH₂), 12.91 (NHCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 11.74 (COCH₂N(CH₂CH₃)₂).

Παρασκευή του N-(1-(2-((διδαιθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κινναζολιν-4-υλ)ακρυλαμιδίου (57)



C₂₂H₂₇N₅O₃
MW : 409.49

Σε διάλυμα του παραγώγου **41** (150 mg, 0.39 mmol) σε άνυδρη CH₃OH (10 mL), προστίθεται μυρμηγκικό αμμώνιο (100 mg, 1.56 mmol) και ενεργοποιημένος ψευδάργυρος (153 mg, 2.34 mmol) και το εναιώρημα που προκύπτει αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 1 ώρα. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης το μίγμα διηθείται και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό. Στη συνέχεια, στο μίγμα της αμίνης **45** προστίθεται THF (10 mL), Na₂CO₃ (130 mg, 1.17 mmol) και 3-χλωροπροπιονυλοχλωρίδιο (55 μL, 0.59 mmol). Το εναιώρημα που προκύπτει αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 1 ώρα και στη συνέχεια προστίθεται CH₃OH (15 mL) και Na₂CO₃ (130 mg, 1.17 mmol) και το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για άλλες 72 ώρες. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό και το υπόλειμμα που προκύπτει εκχυλίζεται με μίγμα CH₂Cl₂/νερού. Τα οργανικά εκχυλίσματα συνενώνονται, ξηραίνονται με άνυδρο Na₂SO₄, εξατμίζονται υπό κενό και το ελαιώδες υπόλειμμα που προκύπτει καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/CH₃OH 97/3 έως 85/15 για να ληφθούν 40 mg του επιθυμητού προϊόντος **26**. Απόδοση: 25 %.

Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

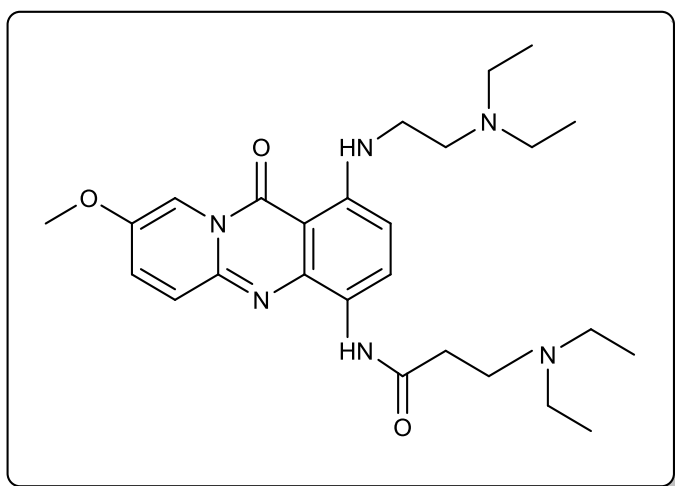
Στ: 205-207 °C (EtOAc).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.13 (s, br, 1H, NHCO, D₂Oexchange), 8.87 (d, J = 8.9 Hz, 1H, H-3), 8.50 (t, J = 4.2 Hz 1H, NHCH₂CH₂CH₂, D₂Oexchange), 8.29 (s, J = 2.6 Hz, 1H, H-9), 7.38 (d, J = 9.2 Hz 1H, H-6), 7.32 (dd, J = 9.81, 2.64Hz, 1H, H-7), 6.49 (d, J = 9.5 Hz, 1H, H-2), 6.41-6.43 (m, 2H, COCH=CHH), 5.74 (dd, J = 7.9, 3.7 Hz, 1H, COCH=CHH), 3.91 (s, 3H, OCH₃), 3.34 (q, J = 6.6 Hz,

2H, NHCH₂CH₂), 2.82 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, NHCH₂CH₂), 2.65 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H, N(CH₂CH₃)₂), 1.09 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H, N(CH₂CH₃)₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 163.00 (HNCO), 159.88 (CO), 148.93 (C-8), 146.86 (C-4a) 144.87 (C-5a), 132.36 (C-7), 131.55 (COCH), 126.94 (C-6), 126.41 (CH=CH₂), 125.75 (C-3), 105.40 (C-9), 103.19 (C-2), 101.60 (C-11a), 56.54 (OCH₃), 51.65 (NHCH₂CH₂), 47.43 (N(CH₂CH₃)₂), 41.65 (NHCH₂CH₂), 12.17 (N(CH₂CH₃)₂).

Παρασκευή του 3-διαιθυλαμινο-N-(1-(2-((διαιθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κινναζολιν-4-υλ)προπαναμιδίου (63)



C₂₇H₄₂N₆O₃
MW:498.63

Για την παρασκευή του προϊόντος **63** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του παραγώγου **18** με επίδραση διαιθυλαμίνης επί του παραγώγου **57**. Το επιθυμητό προϊόν **65** λαμβάνεται ως κίτρινο στερεό ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/CH₃OH 10/0 έως 75/25. Απόδοση: 28 %.

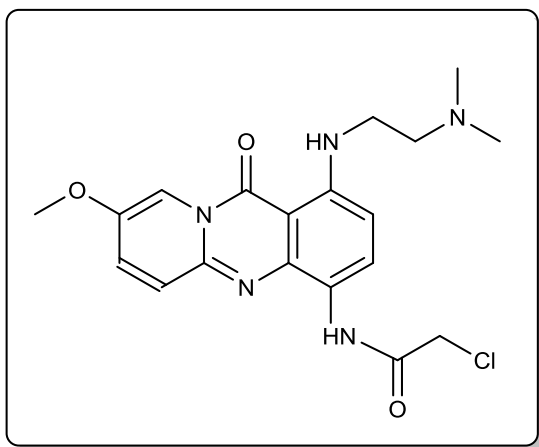
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 128-130 °C (EtOAc).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.75 (s,br, 1H,NHCO, D₂Oexchange), 8.60 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, H-3), 8.46 (s, br, 1H, NHCH₂CH₂, D₂Oexchange), 8.18 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, H-9), 7.36 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H, H-6), 7.28 (dd, *J* = 9.7, 2.5 Hz, 1H, H-7), 6.40 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H, H-2), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 3.49 (t, *J* = 4.1 Hz, 3H,, NHCH₂CH₂), 3.21 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, COCH₂CH₂), 2.82-2.91 (m, 8H, COCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂, NHCH₂CH₂CH₂, COCH₂CH₂), 2.83 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H, NHCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 1.27 (t, *J* = 7.2 Hz, 6H, COCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 1.17 (t, *J* = 7.2 Hz, 6H, HNCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂).

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 168.15 (NHCO), 159.67 (C=O), 148.67 (C-8), 146.01 (C-4a), 144.56 (C-5a), 139.37 (C-1), 131.34 (C-7), 126.74 (C-3), 126.81 (C-6), 121.25 (C-4), 104.99 (C-9), 102.53 (C-2), 101.57 (C-11a), 56.31 (OCH_3), 50.80 (NHCH_2CH_2), 48.27 (COCH_2CH_2), 47.09 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 46.44 ($\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 40.19 (NHCH_2CH_2), 33.29 (COCH_2CH_2), 10.68 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 9.63 ($\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$).

Παρασκευή του 2-χλωρο-N-(1-(2-((διμεθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (50)



$\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{ClN}_5\text{O}_3$
MW:403.87

Για την παρασκευή του παραγώγου **50** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του προϊόντος **49** χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη το παράγωγο **42**. Το επιθυμητό χλωρίδιο **50** λαμβάνεται ως κίτρινο στερεό ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 10/0 έως 8.5/1.5. Απόδοση: 71 %.

Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

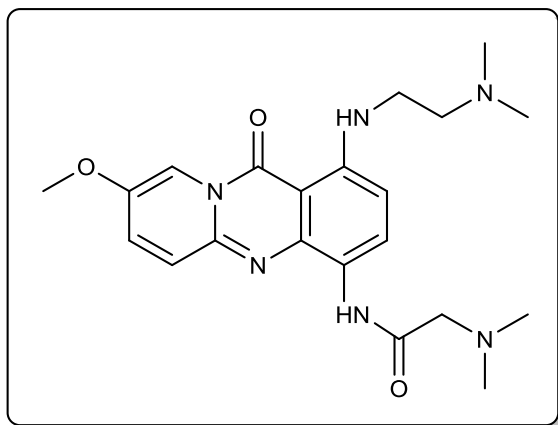
Στ: 220 °C (dec) (EtOAc).

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 10.11 (s,br, 1H, NHCO, D_2O exchange), 8.70 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, H-3), 8.55 (t, $J = 4.2$ Hz, 1H, NHCH_2CH_2 , D_2O exchange) 8.29 (d, $J = 2.52$ Hz, 1H, H-9), 7.38 (d, $J = 9.7$ Hz, 1H, H-6), 7.32 (dd, $J = 9.7, 2.6$ Hz, 1H, H-7), 6.42 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, H-2), 4.26 (s, 2H, CH_2Cl), 3.90 (s, 3H, OCH_3), 3.37 (q, $J = 5.8$ Hz, 2H, NHCH_2CH_2), 2.72 (t, 2H, $J = 6.3$ Hz, NHCH_2CH_2), 2.38 (s, 6 H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$).

^{13}C NMR (151 MHz, MeOD) δ (ppm): 163.13 (NHCO), 159.78 (C=O), 148.75 (C-8), 146.92 (C-4a), 144.85 (C-5a), 139.68 (C-1), 131.48 (C-7), 127.05 (C-6), 125.29 (C-6), 119.96 (C-4), 105.21 (C-9),

102.53 (C-2), 101.47 (C-11a), 58.05 (COCH₂), 56.39 (OCH₃), 56.84 (OCH₃), 45.61 (NHCH₂CH₂N(CH₃)₂), 43.53 (NHCH₂CH₂), 41.04 (NHCH₂CH₂).

Παρασκευή του 2-διμεθυλαμινο-N-(1-(2-((διμεθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κινναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (54)



C₂₁H₂₈N₆O₃
MW:412.49

Για την παρασκευή του παραγώγου **54** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του προϊόντος **18** με επίδραση διμεθυλαμίνης επί του παραγώγου **50**. Η επιθυμητή αμίνη **54** λαμβάνεται ως κίτρινο στερεό ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/CH₃OH 10/0 έως 8/2. Απόδοση: 86 %.

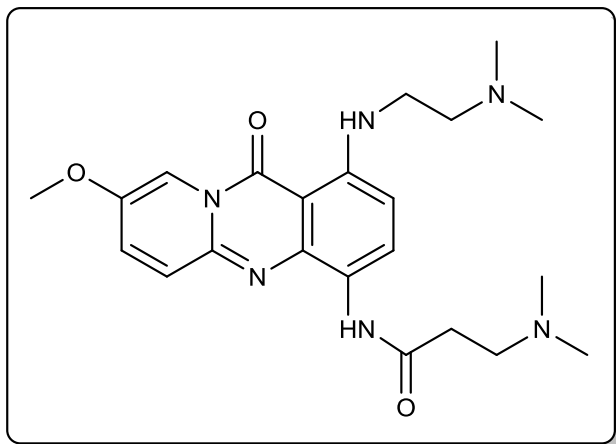
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 108-110 °C (dec) (EtOAc).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 10.38 (s, br, 1H, NHCO, D₂Oexchange), 8.69 (d, J=8.8 Hz, 1H, H-3), 8.52 (s, br, 1H, NHCH₂CH₂, D₂Oexchange), 8.24 (d, J= 2.5 Hz, 1H, H-9), 7.35 (d, J = 9.8 Hz, 1H, H-6), 7.29 (dd, J = 9.7, 2.6 Hz, 1H, H-7), 6.45 (d, J = 8.9 Hz, 1H, H-2), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 3.51 (q, J= 4.8 Hz, 2H, NHCH₂CH₂), 3.17 (s, 2H, COCH₂), 2.89 (t, 2H, J= 6.0 Hz, NHCH₂CH₂), 2.71 (s, 6H, COCH₂N(CH₃)₂), 2.45 (s, 6H, NHCH₂CH₂N(CH₃)₂).

¹³C NMR (151 MHz, MeOD-*d*₄) δ (ppm): (NHCO), 161.03 (C=O), 150.66 (C-8), 147.85 (C-4a), 146.61 (C-5a), 142.36 (C-1), 133.32 (C-7), 128.79 (C-6), 127.73 (C-6), 121.57 (C-4), 106.21 (C-9), 103.48 (C-2), 101.25 (C-11a), 60.26 (COCH₂), 57.18 (NHCH₂CH₂), 56.84 (OCH₃), 44.64 (NHCH₂CH₂N(CH₃)₂), 44.07 (COCH₂N(CH₃)₂), 39.19 (NHCH₂CH₂).

Παρασκευή του 3-διμεθυλαμινο-N-(1-(2-((διμεθυλαμινο)αιθυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)προπαναμιδίου (64)



C₂₂H₃₀N₆O₃
MW : 426.52

Για την παρασκευή του προϊόντος **64** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του παραγώγου **63** με επίδραση διμεθυλαμίνης επί του **60**. Το επιθυμητό προϊόν **64** λαμβάνεται ως κίτρινο στερεό ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/CH₃OH/Et₃N 98/2/10 έως 70/10/10. Απόδοση: 19 %.

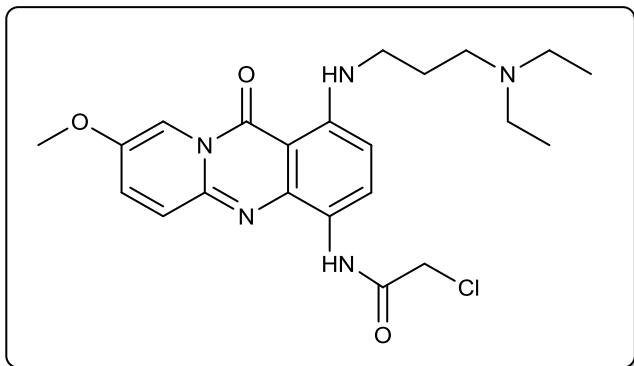
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 202-204 °C (EtOAc).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 10.33 (s,br, 1H, NHCO, D₂Oexchange), 8.72 (d, J = 8.8 Hz, 1H, H-3), 8.51 (t, J = 4.2 Hz, 1H, NHCH₂CH₂, D₂Oexchange), 8.25 (d, J = 2.5 Hz, 1H, H-9), 7.35 (d, J = 9.74 Hz, 1H, H-6), 7.29 (dd, J = 9.7, 2.6 Hz, 1H, H-7), 6.42 (d, J = 8.9 Hz, 1H, H-2), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 3.37 (q, J = 5.5 Hz, 2H, NHCH₂CH₂), 2.94 (t, J = 6.3 Hz, 2H, COCH₂CH₂), 2.77 (t, J = 6.4 Hz, 2H, NHCH₂CH₂), 2.72 (t, J = 6.3 Hz, 2H, COCH₂CH₂), 2.52 (s, 6H, COCH₂CH₂N(CH₃)₂), 2.38 (s, 6H, HNCH₂CH₂N(CH₃)₂).

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 169.01 (NHCO), 159.93 (C=O), 148.62 (C-8), 146.29 (C-4a), 144.63 (C-5a), 139.47 (C-1), 131.28 (C-7), 126.88 (C-6), 126.12 (C-3), 121.52 (C-4), 105.17 (C-9), 102.82 (C-2), 101.65 (C-11a), 57.83 (NHCH₂CH₂), 56.36 (OCH₃), 54.74 (COCH₂CH₂), 45.34 (HNCH₂CH₂N(CH₃)₂), 44.56 (COCH₂CH₂N(CH₃)₂), 40.83 (NHCH₂CH₂), 34.44 (COCH₂CH₂).

Παρασκευή του 2-χλωρο-N-(1-(3-((διαιθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (51)



C₂₂H₂₈ClN₅O₃
MW:445.95

Για την παρασκευή του παραγώγου **51** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του προϊόντος **49** χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη το παράγωγο **43**. Το επιθυμητό προϊόν **51** λαμβάνεται ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης σύστημα ως σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/CH₃OH 10/0 εως 8.5/1.5. Απόδοση: 54 %.

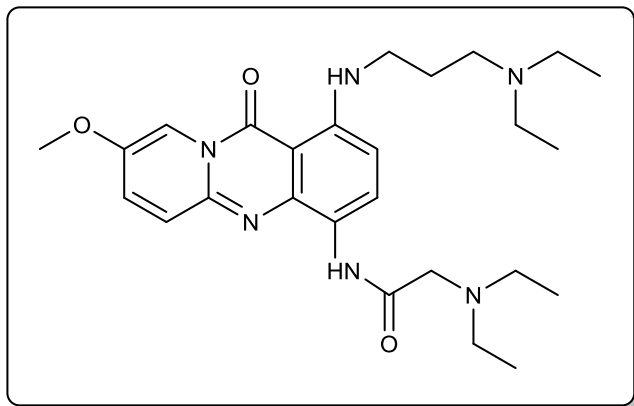
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 104 °C (dec) (EtOAc).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.85 (s,br, 1H, NHCO, D₂Oexchange), 8.60 (d, J= 8.9 Hz, 1H, H-3), 8.19 (s, br, 1H, NHCH₂CH₂CH₂, D₂Oexchange) 8.12 (d, J =1,85 Hz,1H, H-9), 7.48 (d, J = 8.5 Hz, 1H, H-6), 7.32 (dd, J = 8.3 Hz, 1H, H-7), 6.35 (d, J = 8.9 Hz, 1H, H-2), 4.27 (s, 2H, CH₂Cl), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 3.27 (q, J = 5.41 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 2.58-2.70 (m, 6H, NHCH₂CH₂CH₂, NHCH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 1.91 (quintet, J = 7.2 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 1.08 (t, J = 7.1 Hz, 6H, NHCH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂).

¹³C NMR (151 MHz, MeOD) δ (ppm): 172.26 (NHCO), 160.90 (C=O), 150.45 (C-8), 147.46 (C-4a), 146.22 (C-5a), 140.25 (C-1), 132.84 (C-7), 127.92 (C-6), 126.16 (C-3), 121.45 (C-4), 105.98 (C-9), 103.26 (C-2), 102.49 (C-11a), 63.30 (COCH₂), 56.77 (OCH₃), 54.79 (NHCH₂CH₂CH₂), 40.86 (NHCH₂CH₂CH₂), 30.73 (CH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 24.40 (NHCH₂CH₂CH₂), 9.25 (CH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂).

Παρασκευή του 2-δισουλφουαμινο-N-(1-(3-((δισουλφουαμινο)προπυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (55)



C₂₆H₃₈N₆O₃
MW:482.63

Για την παρασκευή του παραγώγου **55** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του προϊόντος **18** με επίδραση δισουλφουαμίνης επί του παραγώγου **51**. Το επιθυμητό προϊόν **55** λαμβάνεται ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/CH₃OH 96/4 έως 70/30. Απόδοση: 29 %.

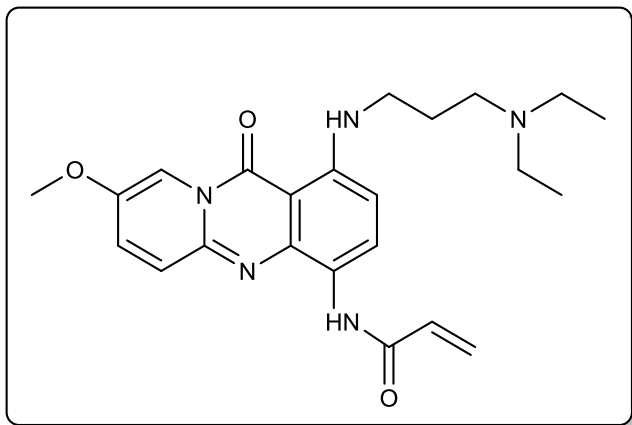
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 148-150 °C (dec) (EtOAc).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 10.77 (s, 1H, NHCO, D₂Oexchange), 8.75 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H, H-3), 8.39 (s, br, 1H, NHCH₂CH₂CH₂, D₂Oexchange), 8.19 (s, 1H, H-9), 7.37 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H, H-6), 7.30 (dd, *J* = 9.8, 2.6 Hz, 1H, H-7), 6.40 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H-2), 6.43 (d, *J* = 10 Hz, 1H, H-2), 3.91 (s, 3H, OCH₃), 3.41 (q, *J* = 2.6 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 3.12 (s, 2H, COCH₂), 3.09 (m, 6H, NHCH₂CH₂CH₂, COCH₂N(CH₂CH₃)₂), 2.70 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H, CH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 2.20 (quintet, *J* = 8.02 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 1.36 (t, *J* = 7.3 Hz, 6H, COCH₂N(CH₂CH₃)₂), 1.16 (t, *J* = 7.11 Hz, 6H, CH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 169.55 (NHCO), 159.70 (C=O), 148.61 (C-8), 145.50 (C-4a), 144.40 (C-5a), 139.47 (C-1), 131.13 (C-7), 126.81 (C-6), 124.41 (C-3), 121.54 (C-4), 104.94 (C-9), 102.56 (C-2), 101.59 (C-11a), 58.89 (COCH₂), 56.22 (OCH₃), 49.34 (NHCH₂CH₂CH₂), 48.55 (CH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 46.77 (CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 40.36 (NHCH₂CH₂CH₂), 22.88 (NHCH₂CH₂CH₂), 12.71 (CH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 8.77 (CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂).

Παρασκευή του **N-(1-(3-((διαιθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακρυλαμίδιου (58)**



C₂₃H₂₉N₅O₃
MW:423.52

Για την παρασκευή του παραγώγου **58** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του προϊόντος **57**, χρησιμοποιώντας εδώ ως πρώτη ύλη το παράγωγο **43**. Το επιθυμητό προϊόν **29** λαμβάνεται ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/CH₃OH 98/2 έως 80/20. Απόδοση: 20%

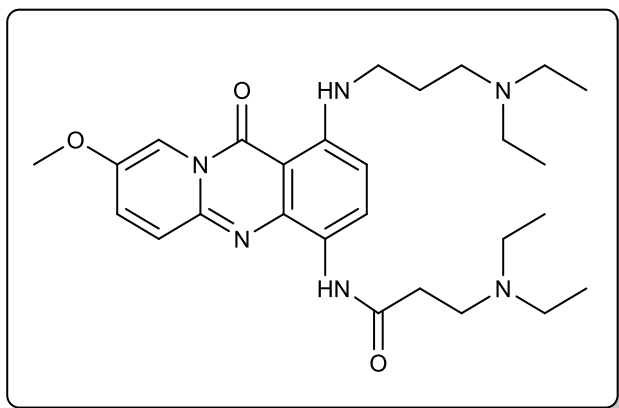
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 204-206 °C (dec) (EtOAc).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ(ppm): 9.09 (s, br, 1H, NHCO, D₂Oexchange), 8.84 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, H-3), 8.44 (s, br 1H, NHCH₂CH₂CH₂, D₂Oexchange), 8.23 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, H-9), 7.41 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H, H-6), 7.35 (dd, *J* = 9.8, 2.6 Hz, 1H, H-7), 6.42-6.44 (m, *J* = 3.4 Hz, 3H, H-2, COCH=CHH) 5.76 (dd, *J* = 8.3, 3.2 Hz, 1H, COCH=CHH), 3.92 (s, 3H, OCH₃) 3.46 (q, *J* = 4.6 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 3.18 (t, *J* = 4.46 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 3.15 (q, *J* = 3.43 Hz, 4H, N(CH₂CH₃)₂), 2.29 (quintet, *J* = 6.78 Hz 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 1.42 (t, *J* = 7.3 Hz, 6H, N(CH₂CH₃)₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 163.11 (HNCO), 159.74 (CO), 149.06 (OCH₃), 145.84 (C-4a), 144.67 (C-5a), 139.25 (C-1), 132.07 (C-7), 131.93 (COCH), 126.70 (C-6, CH=CH₂), 125.74 (C-3), 105.14 (C-9), 102.89 (C-2), 101.57 (C-11a), 56.48 (OCH₃), 49.60 (NHCH₂CH₂CH₂), 46.88 (N(CH₂CH₃)₂), 40.49 (NHCH₂CH₂CH₂) 22.87 (NHCH₂CH₂CH₂), 8.87 (N(CH₂CH₃)₂).

Παρασκευή του 3-διαιθυλαμινο-N-(1-(3-((διαιθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11H-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)προπαναμιδίου (65)



C₂₇H₄₀N₆O₃
MW:496.66

Για την παρασκευή του προϊόντος **65** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του παραγώγου **18** με επίδραση διαιθυλαμίνης επί του παραγώγου **58**. Το επιθυμητό προϊόν **65** λαμβάνεται ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (alumina, BrockmanIV) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/CH₃OH/Et₃N 100/0/0.1 έως 94/6/0.1. Απόδοση: 10 %.

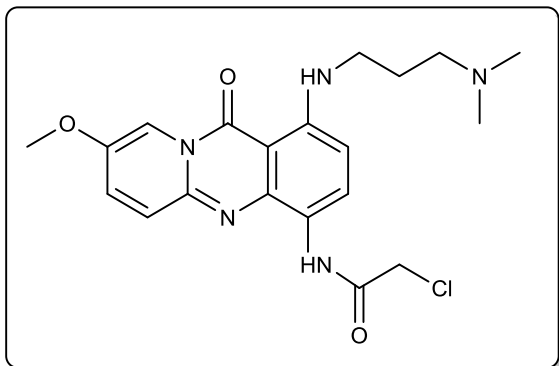
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Έλαιο

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 10.26 (s,br, 1H, NHCO, D₂Oexchange), 8.78 (d, J = 8.9 Hz, 1H, H-3), 8.59 (s, br, 1H, NHCH₂CH₂CH₂, D₂Oexchange), 8.22 (d, J = 2.56 Hz 1H, H-9), 7.37 (d, J=9.7 Hz,1H, H-6), 7.31 (dd, J = 9.8, 2.6 Hz, 1H, H-7), 6.39 (d, J = 9.3 Hz, 1H, H-2), 6.43 (d, J = 8.9 Hz, 1H, H-2), 3.90 (s, 3H, OCH₃), 3.35 (t, J = 6.6 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂),3.03 (t, J = 6.6 Hz, 2H, COCH₂CH₂), 2.82-2.93(m, 10H, NHCH₂CH₂CH₂, CH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂, CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 2.77 (t, J = 6.6 Hz, 2H,COCH₂CH₂), 2.06 (quintet, J = 7.6 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 1.20-1.24 (m, 12H, CH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂, CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂).

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 169.47 (NHCO), 160.00 (C=O), 148.71 (C-8), 146.12 (C-4a), 144.48 (C-5a), 139.49 (C-1), 131.28 (C-7), 126.16 (C-3), 126.81 (C-6), 121.81 (C-4), 104.94 (C-9), 102.85 (C-2), 101.64 (C-11a), 56.32 (OCH₃), 49.53 (NHCH₂CH₂CH₂), 48.48 (COCH₂CH₂), 46.42 (CH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 46.38 (CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 41.07 (NHCH₂CH₂CH₂), 34.13 (COCH₂CH₂), 24.39 (NHCH₂CH₂CH₂), 10.51 (CH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 9.90 (CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂).

Παρασκευή του 2-χλωρο-N-(1-(3-((διμεθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (52)



C₂₀H₂₄N₅ClO₃
MW : 417.89

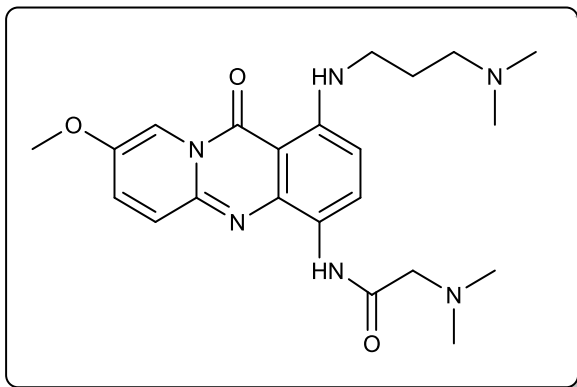
Για την παρασκευή του παραγώγου **52** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του προϊόντος **49** χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη το παράγωγο **44**. Το επιθυμητό προϊόν **52** λαμβάνεται ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (silicagel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης σύστημα ως σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/CH₃OH 10/0 εως 8.5/1.5. Απόδοση: 47 %

Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 210-212 °C (dec) (EtOAc).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 10.09 (s,br, 1H, NHCO, D₂Oexchange), 8.69 (d, J = 10.0 Hz, 1H, H-3), 8.40 (t, J = 4.6 Hz, 1H, NHCH₂CH₂CH₂, D₂Oexchange), 8.24 (s, J = 2.5 Hz, 1H, H-9), 7.38 (d, J = 9.7 Hz, 1H, H-6), 7.32 (dd, J = 9.8, 2.6 Hz, 1H, H-7), 6.45 (d, J = 9.3 Hz, 1H, H-2), 4.26 (s, 2H, CH₂Cl), 3.91 (s, 3H, OCH₃), 3.29 (q, J = 6.3 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 2.46 (t, J = 7.3 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 2.27 (s, 6H, NHCH₂CH₂N(CH₃)₂), 1.94 quintet, J = 7.1 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂).

Παρασκευή του 2-δισουλφουαμινο-N-(1-(3-((δισουλφουαμινο)προπυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)ακεταμιδίου (56)



C₂₂H₃₀N₆O₃
MW : 425.52

Για την παρασκευή του προϊόντος **56** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του παραγώγου **18** με επίδραση διμεθυλαμίνης επί του παραγώγου **52**. Το επιθυμητό προϊόν λαμβάνεται ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (alumina, BrockmanIV) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/CH₃OH/Et₃N 100/0/0.1 έως 94/6/0.1. Απόδοση: 37 %.

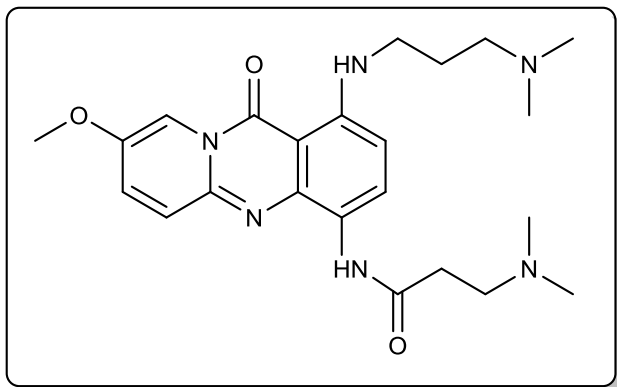
Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 210 °C (dec) (EtOAc).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 10.37 (s, br 1H, NHCO, D₂Oexchange), 8.69 (d, J = 8.8 Hz, 1H, H-3), 8.21 (s, J = 2.5 Hz, 1H, H-9), 7.38 (d, J = 9.8 Hz, 1H, H-6), 7.31 (dd, J = 9.8, 2.6 Hz, 1H, H-7), 6.40 (d, J = 8.9 Hz, 1H, H-2), 3.91 (s, 3H, OCH₃), 3.42 (q, J = 6.4 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 3.20 (s, 2H, COCH₂), 3.09 (t, J = 4.06 Hz, 2H, HCH₂CH₂CH₂), 2.76 (s, 6H, COCH₂N(CH₃)₂), 2.49 (s, 6H, NHCH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂), 2.24 (quintet, J = 7.9 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 168.39 (NHCO), 160.02 (C=O), 148.80 (C-8), 145.92 (C-4a), 144.61 (C-5a), 139.78 (C-1), 131.20 (C-7), 127.31 (C-6), 125.68 (C-6), 121.37 (C-4), 104.84 (C-9), 102.79 (C-2), 101.90 (C-11a), 64.17 (COCH₂), 56.33 (NHCH₂CH₂CH₂), 56.06 (OCH₃), 46.23 (NHCH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂), 43.13 (COCH₂N(CH₃)₂), 40.57 (NHCH₂CH₂CH₂), 24.19 (NHCH₂CH₂CH₂).

Παρασκευή του 3-διμεθυλαμινο-N-(1-(3-((διμεθυλαμινο)προπυλ)αμινο)-8-μεθοξυ-11-οξο-11H-πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-4-υλ)προπαναμιδίου (66)



C₂₃H₃₂N₆O₃
MW : 440.55

Για την παρασκευή του προϊόντος **66** ακολουθείται η ίδια πορεία που περιγράφηκε για τη λήψη του παραγώγου **64** με επίδραση διμεθυλαμίνης επί του **62**. Το επιθυμητό προϊόν **66** λαμβάνεται ύστερα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (alumina, BrockmanIV) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/CH₃OH/Et₃N 100/0/0.1 έως 94/6/0.1. Απόδοση: 10 %.

Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά:

Στ: 178-180 °C (dec) (EtOAc).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 10.34 (s, br, 1H, CONH, D₂Oexchange), 8.64 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 8.3 (t, J = 8.4 Hz 1H, NHCH₂CH₂CH₂, D₂Oexchange), 8.19 (s, J = 2.3 Hz, 1H, H-9), 7.34 (d, J = 9.8 Hz, 1H, H-6), 7.29 (dd, J = 9.8, 2.5 Hz, 1H, H-7), 6.41 (d, J = 8.9 Hz, 1H, H-3), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 3.31 (q, J = 7.2 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂), 2.87 (t, J = 6.3 Hz, 2H, COCH₂CH₂), 2.67-2.72(m, 4H, NHCH₂CH₂CH₂, COCH₂CH₂), 2.47 (s, 6H, COCH₂CH₂N(CH₃)₂), 2.43 (s, 6H, HNCH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂), 2.02 (quintet, J = 6.9 Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂).

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 169.86 (NHCO), 160.03 (C=O), 148.59 (C-8), 146.35 (C-4a), 144.45 (C-5a), 139.44 (C-1), 131.13 (C-7), 126.91 (C-6), 126.34 (C-3), 121.70 (C-4), 104.91 (C-9), 103.02 (C-2), 101.64 (C-11a), 57.30 (NHCH₂CH₂CH₂), 56.31 (OCH₃), 55.19 (COCH₂CH₂), 45.12 (NHCH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂, COCH₂CH₂N(CH₃)₂), 41.30 (NHCH₂CH₂CH₂), 34.91 (COCH₂CH₂), 26.61 (NHCH₂CH₂CH₂).

4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Alberts B., Bray D., Hopkin K., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts, K., Walter P. Βασικές αρχές κυτταρικής βιολογίας. *Ιατρικές εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης*, Αθήνα, **2006**, 21, 902-905.
2. Rang H., Dale M., Ritter J., Moore P., Φαρμακολογία *Επιστημονικές εκδόσεις Παρισιάνου Α.Ε.* Αθήνα, **2007**, 50, 749.
3. Φώσκολος Γ., Τσοτίνης Α. Μαθήματα Φαρμακευτικής Χημείας (I). *Πανεπιστήμιο Αθηνών*, **2009**, 2, 22.
4. Campanacci M., Bacci G. *Cancer* **1981**, 48, 1569-1681.
5. α) Bissell M. J. and Radisky D. *Nat. Rev. Cancer*, **2001**, 46, β) Atkins J. H., Gershell L. J., *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2002**, 1, 491.
6. Liehr J. G. *Endocr. Rev.*, **2000**, 21, 40.
7. α) Bradbury R. H. *Cancer in Topics in Medicinal Chemistry, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg*, **2007**. vol. 1. β) Toffoli G., Cecchin E., Corona G., Boiocch, M. *Curr. Med. Chem. Anti-Cancer Agents*, **2003**, 3, 225
8. Gottesman M. M., Fojo T., Bates S. E. *Nat. Rev. Cancer*, **2002**, 2, 48-.
9. Avendano C., Menendez J. C., *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs. Elsevier*, **2008**.
10. α) Guillemard V., Saragovi H. U. *Curr. Cancer Drug Targets*, **2004**, 4, 313. β) Redei I., Green F., Hoffman J. P., Weiner L. M., Scher R., O'Dwyer P. J. *Invest. New Drugs*, **1994**, 12, 319-.
11. α) Goodsell D. S. *Oncologist*, **1999**, 4, 340. β) Blakley R. L., Cocco, L. *Biochemistry*, **1985** 24, 4772.
12. Elgemeie G. H. *Curr. Pharm. Des.*, **2003**, 9, 2627.
13. α) Adjei A. A. *J. Clin. Pharmacol.*, **1999**, 48, 265, β) Papamichael D. *Stem Cells*, **2000**, 18, 166.
14. Ohta T., Hori H., Ogawa M., Miyahara M., Kawasaki H., Taniguchi N., Komada Y. *Oncol. Rep.*, **2004**, 12, 1115.
15. Jordan V. C. *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2003**, 2, 205.
16. Abe S., Otsuki M. *Curr. Med. Chem. Anticancer Agents*, **2002**, 2, 715.
17. α) Myers A. G., Proteau P. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 1146. β) Nicolaou C., Dai W-M., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1991**, 30, 1387. γ) Bergmann R. G. *Acc. Chem. Res.*, **1973**, 6, 25. δ) Nicolaou K.C. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **1993**, 90, 5881.
18. Puyo S, Montaudon D, Pourquier P. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, **2013**, 13, 1040.
19. α) Jordan M. A., Wilson L. *Nat. Rev. Cancer*, **2004**, 4, 253-; β) Hamel E. *Med. Res. Rev.*, **1996**, 16, 207.
20. α) Fahy J. *Curr. Pharm. Des.*, **2001**, 7, 1181-; β) Duflos A, Kruczynski A, Barret J.M. *Curr Med Chem Anticancer Agents.*, **2002**, 1, 55.
21. Ren J., Chaires J. B. *Biochemistry*, **1999**, 38, 16067.

22. α) Neidle S, Parkinson G. *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2002**, *1*, 383. b) Mergny J.L., Riou J.F., Mailliet P., Teulade-Fichou M.P., Gilson E. *Nucleic Acids Res.*, **2002**, *30*, 839.
23. Neidle S. *FEBS J.* **2010**, *277*, 1118.
24. Cholewiński G., Dzierzbicka K., Kołodziejczyk A.M. *Pharmacol. Rep.*, **2011**, *63*, 305.
25. Denny W.A. Emerging DNA topoisomerase inhibitors as anticancer drugs. *Exp.Opin. Emerg. Drugs*, **2004**, *9*, 105.
26. Liu L.F. DNA topoisomerase poisons as antitumor drugs. *Ann. Rev. Biochem.*, **1989**, *58*, 351-375.
27. Pomier Y. Topoisomerase I inhibitors: Camptothecins and beyond. *Nature Reviews Cancer*, **2006**, *Vol 6*, 791-792.
28. a) K. B. Tan, M. R. Mattern, Wai-Kwong Eng et al. Nonproductive rearrangement of DNA topoisomerase I and II genes: correlation with resistance to topoisomerase inhibitors; *Journal of the National Cancer Institute*, **1989**, *81 (22)*, 1732 – 1735. b) Giaccone G, Gazdar A.F., Beck H et al. Multidrug sensitivity phenotype of Human Lung Cancer cells associated with Topoisomerase II expression. *Cancer Research*, **1992**, *52*, 1666 – 1674.
29. Dong Y.B., Yang H.L., Elliott M.J. Adenovirus-mediated E2F-1 Gene Transfer Sensitizes Melanoma Cells to Apoptosis Induced by Topoisomerase II Inhibitors. *Cancer Res.*, **2002**, *62*, 1776 – 1783.
30. Earnshaw W.C., Halligan B., Cooke C.A., Heck M.M., Liu L.F. Topoisomerase II is a structural component of mitotic chromosome scaffolds. *J. Cell Biol.*, **1985**, *100*, 1706-1715.
31. Yang X, Li W, Prescott E.D., Burden S. J, Wang J C. DNA topoisomerase II β and neural development. *Science*, **2000**, *287*, 131-134.
32. Pomier Y. Topoisomerase I inhibitors: Camptothecins and beyond. *Nature Reviews Cancer*, **2006**, *Vol 6*, 789-791.
33. Stivers J., Harris T.K., Mildvan A.S. Vaccinia DNA Topoisomerase I: Evidence supporting a free rotation mechanism for DNA supercoil relaxation. *Biochemistry*, **1997**, *36*, 5212-5222.
34. Pomier Y., Champoux J. J. Cancer drug discovery and development: DNA topoisomerases and cancer. **2012**, *2*, 56-58.
35. Earnshaw W.C., Halligan B., Cooke C.A., Heck M.M., Liu L.F. Topoisomerase II is a structural component of mitotic chromosome scaffolds. *J. Cell Biol.*, **1985**, *100*, 1706-1715.
36. Yang ,X, Li W, Prescott E.D., Burden S. J, Wang J C. DNA topoisomerase II β and neural development. *Science*, **2000**, *287*, 131-134.
37. Burden AD, Osheroff N. Mechanism of action of eukaryotic topoisomerase II and drugs targeted to the enzyme. *Biochem. Biophys. Acta.*, **1998**, *1400*, 139-154.

38. α) Avendano C., Menendez C. J., Medicinal chemistry of anticancer drugs. **2008**, *7*, 211-213. b) Avendano C., Menendez C. J., Medicinal chemistry of anticancer drugs. **2008**, *7*, 211-213.
39. Pommier Y., Leo E., Zhang H.L, Marchand C. DNA Topoisomerases and Their Poisoning by Anticancer and Antibacterial Drugs. *Chem. Biol.*, **2010**, *17*, 420-433.
40. Wall M.E., Camptothecin and Taxol In: Lednicer D. *Chronicles of Drug Discovery*, American Chemical Society, Washington D. C., **1993**, *3*, 327.
41. Wall M. E., Wani M. C., Camptothecin and taxol: discovery to clinic — thirteenth Bruce F. Cain Memorial Award lecture. *Cancer Res.*, **1995**, *55*, 753–760.
42. Hsiang Y. H., Hertzberg R., Hecht S., Liu L. F. Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I. *J. Biol. Chem.*, **1985**, *260*, 14873–14878.
43. Thurston D. E., Chemical and pharmacology of anticancer drugs. **2007**, *3*, 77-78.
44. Wani M.C., Nicholas A.W., Wall M.E. Plant antitumor agents. 28. Resolution of a key tricyclic synthon, 5'(RS)-1,5-dioxo-5'-ethyl-5'-hydroxy-2'H,5'H,6'H-6'-oxopyrano[3',4'-f]delta 6,8-tetrahydro-indolizine: Total synthesis and antitumor activity of 20(S)- and 20(R)-camptothecin. *J. Med. Chem.*, **1987**, *30*, 2317-2319.
45. Potmesil M., Pinedo H (Eds), Camptothecins: New Anticancer Agents, *CRC Press, Boca Raton*, **1995**.
46. Kawato Y., Terasawa H., Recent advances in the medicinal chemistry and pharmacology of camptothecin In: *Ellis G.P., Luncombe D.K. (Eds), Progress in Medicinal Chemistry, Elsevier, London*. **1997**, *34*, 70-109.
47. Yaegashi T., Sawada S., Nagata H., Furuta T., Yokokura T., Miyasaka T., Synthesis and antitumor activity of 20(S)-camptothecin derivatives. A-ring-substituted 7-ethylcamptothecins and their E-ringmodified water-soluble derivatives *Chem. Pharm. Bull.*, **1994**, *42*, 2518-2525.
48. Ihara M., Noguchi K., Ohsawa T., Fukumoto K., Kametani T., Studies on the syntheses of heterocyclic compounds and natural products. Double enamine annelation of 3,4-dihydro-1-methyl-β-carboline and isoquinoline derivatives with 6-methyl-2-pyrone-3,5dicarboxylates and its application for the synthesis of (±)camptothecin *J. Org. Chem.*, **1983**, *48*, 3150-3156.
49. Subrahmanyam D., Venkateswarlu A., Venkateswara R.K., Sastry T.V., Vandana G., Kumar S.A., Novel C-ring analogues of 20(S)camptothecin-part-2: Synthesis and in vitro cytotoxicity of 5-C substituted 20(S)-camptothecin analogues *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1999**, *9*, 1633-1638.
50. Sugimori M., Ejima A., Ohsuki S., Matsumoto K., Kawato Y., Yasuoka M., Tagawa H., Terasawa H., Antitumor agents. VI. Synthesis and antitumor activity of ring A-, ring B-, and ring C-modified derivatives of camptothecin *Heterocycles* , **1994**, *38*, 81-94.

51. a) Larsen A.K., Gilbert C., Chyzak G., Plisov S.Y., Naguibneva I., Lavergne O., Lesueur-Ginot L., Bigg D.C., Unusual potency of BN 80915, a novel fluorinated E-ring modified camptothecin, toward human colon carcinoma cells. *Cancer Res.*, **2001**, *61*, 2961-2967. b) Du W., Curran D.P., Bevins R. L, Zimmer S.G., Zhang J., Burke T.G., Synthesis and evaluation of a novel E-ring modified alpha-hydroxy keto ether analogue of camptothecin. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2002**, *10*, 103110.
52. a) Cagir A., Jones S.H., Gao R., Eisenhauer B.M., Hecht S.M., Luotonin A. A naturally occurring human DNA topoisomerase I poison. *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 13628-13629. b) Hautefaye P., Cimetiere B., Pierre A., Leonce S., Hickman J., Laine W., Bailly C., Lavielle G., Synthesis and pharmacological evaluation of novel non-lactone analogues of camptothecin. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, *13*, 2731-2735.
53. a) Nettleton D.E., Doyle T.W., Krishnan B., Matsumoto G.K., Clardy J., Isolation and structure of rebeccamycin - a new antitumor antibiotic from *Nocardia aerocoligenes*. *Tet. Lett.*, **1985**, *26*, 4011-4014. b) Kaneko T., Wong H., Okamoto K.T., Clardy J., Two synthetic approaches to rebeccamycin *Tet. Lett.*, **1985**, *26*, 4015-4018.
54. Saulnier M.G., Balasubramanian B.N., Long B.H., Frennesson D.B., Ruediger E., Zimmermann K., Eummer J.T., St. Laurent D.R., Stoffan K.N, Narasimhulu Naidu B., Mahler M., Langley D.R., Vyas D.M. Discovery of a Fluoroindolo[2,3-*a*]carbazole Clinical Candidate with Broad Spectrum Antitumor Activity in Preclinical Tumor Models Superior to the Marketed Oncology Drug, CPT-11. *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 2258–2261.
55. Li T. K. Characterization of ARC-111 as a novel topoisomerase I-targeting anticancer drug. *Cancer Res.*, **2003**, *63*, 8400–8407.
56. Morrell A. Evaluation of indenoisoquinoline topoisomerase I inhibitors using a hollow fiber assay. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, *16*, 4395–4399.
57. a) Yamashita Y., Kawada S., Fujii N., Nakano H., Induction of mammalian DNA topoisomerase I and II mediated DNA cleavage by saintopin, a new antitumor agent from fungus. *Biochemistry*, **1991**, *30*, 5838-5845. b) Fujii N., Yamashita Y., Mizukami T., Nakano H., Correlation between the formation of cleavable complex with topoisomerase I and growthinhibitory activity for saintopin-type antibiotics. *Mol. Pharmacol.*, **1997** *51*, 269-276. c) Leteurtre F., Fujimori A., Tanizawa A., Chhabra A., Mazumder A., Kohlhagen G., Nakano H., Pommier Y., Saintopin, a dual inhibitor of DNA topoisomerases I and II, as a probe for drug-enzyme interactions *J. Biol. Chem.*, **1994**, *269*, 28702-28707.
58. a) Roca J, Ishida R, Berger JM, Andoh T, Wang JC. Antitumor bisdioxopiperazines inhibit yeast DNA topoisomerase II by trapping the enzyme in the form of a closed protein clamp. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1994**, *91*, 1781–5. b) Andoh T, Ishida R. Catalytic inhibitors of DNA topoisomerase II. *Biochemical Et Biophysical Acta*, **1998**, *1400*, 155–171.
59. α) Burden D.A., Osheroff N., Mechanism of action of eukaryotic topoisomerase II and drugs targeted to the enzyme. *Biochem. Biophys. Acta.*, **1998**, 139-154. b) Fortune J.M.,

- Osheroff N. Topoisomerase II as a target for anticancer drugs: when enzymes stop being nice. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, **2000**, *64*, 221–253.
60. Pommier Y., Schwartz R.E., Kohn K.W., Zwillig, L.A. Formation and rejoining of deoxyribonucleic acid double-strand breaks induced in isolated cell nuclei by antineoplastic intercalating agents. *Biochemistry*, **1984**, *23*, 3194–3201.
 61. Whitacre C.M., Zborowska E., Gordon N.H., Mackay W., Berger N.A., Topotecan increases topoisomerase II α levels and sensitivity to treatment with etoposide in schedule-dependent process. *Cancer Res.*, **1997**, 1425–1428.
 62. Siveski-Iliskovic N., Hill M., Chow D. A., Singal P.K. *Circulation*, **1995**, *91*, 10.
 63. Cheng, C. C. *Prog. Med. Chem.*, **1983**, *20*, 83.
 64. Ketron AC, Denny WA, Graves DE, Osheroff N. Amsacrine as a topoisomerase II poison. Importance of drug-DNA interactions. *Biochemistry*, **2012**, *51*, 1730-1739.
 65. Robinson MJ, Osheroff N. Stabilization of the topoisomerase II-DNA cleavage complex by antineoplastic drugs Inhibition of enzyme-mediated DNA religation by 4'-(9-acridinylamino) methanesulfon-m-anisidide. *Biochemistry*, **1990**, *29*, 2511-2515.
 66. Denny WA. Acridine derivatives as chemotherapeutic agents. *Curr. Med. Chem.*, **2002**, *9*, 1655-65.
 67. Ganta S, Paxton JW, Baguley BC, Garg S. Formulation and pharmacokinetic evaluation of an amsacrine nanocrystalline suspension for intravenous delivery. *Int. J Pharm.*, **2009**, *367*, 179-186.
 68. Lang X, Li L, Chen Y, et al. Novel synthetic acridine derivatives as potent DNA-binding and apoptosis-inducing antitumor agents. *Bioorg. Med. Chem.*, **2013**, *21*, 4170-7.
 69. a) Dittrich C., Coudert B., Paz-Ares L., Caponigro F., Salzberg M., Gamucci T., Paoletti X., Hermans C., Lacombe D., Fumoleau P. Phase II study of XR 5000 (DACA), an inhibitor of topoisomerase I and II, administered as a 120-h infusion in patients with non-small cell lung cancer. *Eur. J. Cancer*, **2003**, 330-33. b) Dittrich C., Dieras V., Kerbrat P., Punt C., Sorio R., Caponigro F., Paoletti X., de Balincourt C., Lacombe D., Fumoleau P. Phase II study of XR5000 (DACA), an inhibitor of topoisomerase I and II, administered as a 120-h infusion in patients with advanced ovarian cancer. *Invest New Drugs*, **2003**, 347-352. c) Twelves C., Campone M., Coudert B., Van den Bent M., de Jonge M., Dittrich C., Rampling R., Sorio R., Lacombe D., de Balincourt C., Fumoleau P. Phase II study of XR5000 (DACA) administered as a 120-h infusion in patients with recurrent glioblastoma multiforme. *Ann. Oncol.*, **2002**, 777-780.
 70. Todd A.K., Adams A., Thorpe J.H., Denny W.A., Wakelin L.P.G., Cardin C.J., Major Groove Binding and 'DNA-Induced' Fit in the Intercalation of a Derivative of the Mixed Topoisomerase I/II Poison N-(2-(Dimethylamino)ethyl)acridine-4-carboxamide (DACA) into DNA: X-ray Structure Complexed to d(CG(5-BrU)ACG)₂ at 1.3-Å Resolution. *J. Med. Chem.*, **1999**, 536-540.

71. α) Atwell G.J., Cain B.F., Baguley B.C., Finlay G.J., Denny W.A.; Potential Antitumor Agents. 43. Synthesis and Biological Activity of Dibasic 9-Aminoacridine-4-carboxamides, a New Class of Antitumor Agent. *J. Med. Chem.*, **1984**, *43*, 1481-1485. b) Atwell G.J., Rewcastle G.W., Baguley B.C., Denny W.A.; Potential Antitumor Agents. 50. In Vivo Solid-Tumor Activity of Derivatives of N-[2-(Dimethyl-1-amino)ethyl]acridine-4-carboxamide. *J. Med. Chem.*, **1987**, *50*, 664-669.
72. Barros FW, Bezerra DP, Ferreira PM, et al. Inhibition of DNA topoisomerase I activity and induction of apoptosis by thiazacridine derivatives. *Toxicol Appl Pharmacol*, **2013**, *268*, 37-46.
73. Vispè S, Vandenberghe I, Robin M, Annereau JP, Crèancier L, Pique V, Galy JP et al.: Novel tetra-acridine derivatives as dual inhibitors of topoisomerase II and the human proteasome. *Biochem Pharmacol*, **2007**, *73*, 1863–1872.
74. Baguley BC, Deady LW, Denny WA,. Anti-tumour polycyclic carboxamides. *EP1507778*, **2012**.
75. Lemke K, Wojciechowski M, Laine W, et al. Induction of unique structural changes in guanine-rich DNA regions by the triazoloacridone C-1305, a topoisomerase II inhibitor with antitumor activities. *Nucleic Acids Res.*, **2005**, *33*, 6034-47.
76. Cholody WM, Martelli S, Konopa J. 8-Substituted 5-[(aminoalkyl) amino]- 6H-v-triazolo [4, 5, 1-de] acridin-6-ones as potential antineoplastic agents. Synthesis and biological activity. *J. Med. Chem.*, **1990**, *33*, 2852-6.
77. Lemke K, Wojciechowski M, Laine W, Bailly C, Colson P, Baginski M, Larsen AK, Skladanowski A: Induction of unique structural changes in guanine-rich DNA regions by the triazoloacridone C-1305, a topoisomerase II inhibitor with antitumor activities. *Nucleic Acids Res.*, **2005**, *33*, 6034–6047.
78. Mazerska Z, Sowinski P, Konopa J: Molecular mechanism of the enzymatic oxidation investigated for imidazoacridinone antitumor drug, C-1311. *Biochem Pharmacol*, **2003**, *66*, 1727–1736.
79. α) Ramaswamy, B., Mrozek, E., Kuebler J.P., Bekaii-Saab T., Kraut E.H. *Invest New Drugs*, **2011**, *29*, 347; β) Adjei,A.A. *Invest.New Drugs*, **1999**, *17*, 43.
80. α) Kolokythas G., Kostakis I. K., Pouli N., Marakos P., Skaltsounis A. L., Pratsinis, H., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2002**, *12*, 1443. b) Kolokythas G., Kostakis I. K., Pouli N., Marakos P., Kletsas D., Pratsinis H., *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, *11*, 4591. c) Kostakis I.K., Magiatis P., Pouli N., Marakos P., Skaltsounis A. L., Pratsinis H., Leonce S., Pierre A. *J. Med. Chem.*, **2002**, *45*, 2599. d) Kostakis I. K., Tenta R., Pouli N., Marakos P., Skaltsounis A. L., Pratsinis H., Kletsas D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, *15*, 5057, e) Kostakis I.K., Pouli N., Marakos P., Skaltsounis A. L., Pratsinis H., Kletsas. D., *Bioorg. Med.Chem.*, **2006** *14*, 2910.

81. Kimiyuki S., Toru M., Katsumu K., Yukihiro S., Tadaaki O., Takahiro K., Chiyoka O., Toshiyuki E., Mitsuteru H., Amide compounds and medications containing the same technical field. *Patent US6849647B1, Kowa Company, Ltd., 2005.*
82. Cai L., Cuevas J., Temme S., Herman M.M., Dagostin D., Widdowson D. A., Innis R. B., Pike V. W., Synthesis and Structure–Affinity Relationships of New 4-(6-Iodo-H-imidazo[1,2-a]pyridin-2-yl)-N-dimethylbenzeneamine Derivatives as Ligands for Human β -Amyloid Plaques. *J. Med. Chem.*, **2007**, *50*, 4746–4758.
83. Bochis R.J. Substituted pyrido-triazines as anthelmintics. *Patent US3984549A1, Merckand Co, 1976.*
84. Cuyegkeng, M. A., Mannschreck A., Chromatographic separation of enantiomers and barriers to enantiomerization of axially chiral aromatic carboxamides. *Chem. Ber.*, **1987**, *120*, 803-9.
85. PATENT: WO2013/31802 A₁, 2013
86. Karthik Kumar K., Elango M., Subramaniam V., Moxan Das T. Novel saccharide based: selective and diversity in superstructures. *New journal of chemistry*, **2009**, vol 33, 7, 1570-1577.
87. Fantasia S, Windisch J, Scalone M., Ligandless Copper-Catalyzed Coupling of Heteroaryl Bromides with Gaseous Ammonia. *Advanced synthesis and catalysis*, **2013**, vol 355, 4, 627-631.