

ND=3375

ΓΕΩΡΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ



ΣΥΜΒΟΛΗ ΣΤΗΝ ΗΜΙΣΥΝΘΕΣΗ  
ΑΜΙΝΟΓΛΥΚΟΖΙΤΙΚΩΝ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΗ Γ. ΙΕΡΑΠΕΤΡΙΤΗ  
ΧΗΜΙΚΟΥ

ΑΘΗΝΑ 1993

"Η έγκρισις της παρούσης διδακτορικής διατριβής υπό του Γεωργικού Πανεπιστημίου Αθηνών δεν υποδηλεί αποδοχήν των γνώμων του συγγραφέως".

(Νόμος 5343/1932 άρθρο 202)

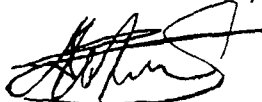
Στούς γονείς μου  
με ευγνωμοσύνη

Στην Ελένη  
Στην Μαριάνθη  
Στην Ανδριάννα

Τα μέλη της Επαμελούς Εξεταστικής Επιτροπής

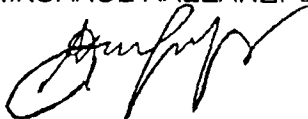
ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ

1) ΜΟΣΧΟΣ ΠΟΛΥΣΙΟΥ, Αναπλ. Καθηγητής Γ.Π.Α.

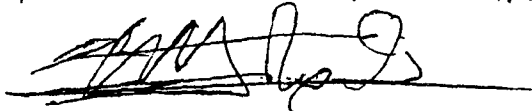


ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ  
ΕΠΙΤΡΟΠΗ

2) ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΥ, Καθηγητής Α.Π.Θ.

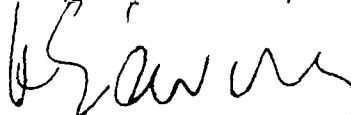


3) ΗΛΙΑΣ ΚΟΥΛΑΔΟΥΡΟΣ, Επικ.Καθηγητής Γ.Π.Α.

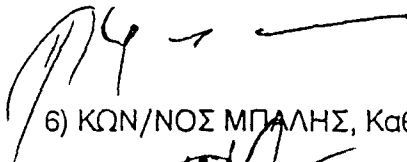


ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

4) ΚΩΝ/ΝΟΣ ΣΑΝΔΡΗΣ, Καθηγητής Ε.Μ.Π.



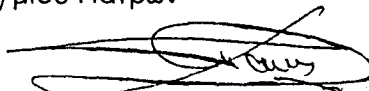
5) ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ ΚΟΥΡΟΥΝΑΚΗΣ Καθηγητής Α.Π.Θ.



6) ΚΩΝ/ΝΟΣ ΜΠΑΛΗΣ, Καθηγητής Γ.Π.Α.



7) ΔΙΟΝΥΣΙΟΣ ΠΑΠΑΙΩΑΝΝΟΥ, Αναπλ. Καθηγητής  
Παν/μιου Πατρών





## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Γενικής Χημείας του Γεωργικού Πανεπιστημίου Αθηνών την περίοδο 1988-1993. Εξτάσσεται δε στο πλαίσιο των επιστημονικών ερευνών του Εργαστηρίου, που αφορά τη σύνθεση αμινογλυκοζιτικών αντιβιοτικών. "μικτών" φαρμάκων και φυσικών προϊόντων που περιέχουν πυρανικές δομές.

Στους επιβλέποντες Καθηγητές μου, καθηγητή κ.Μ.Γεωργιάδη και αναπληρωτή καθηγητή κ.Μ.Πολυσιού οφείλω τις θερμότερες ευχαριστίες μου, στο μεν πρώτο επειδή ήταν εμπνευστής της παραπάνω έρευνας καθώς και για την ακούραστη καθοδήγηση και συμπαράσταση του κατά τη διεξαγωγή του πειραματικού μέρους ως τη συνταξιοδότηση του, τον Αύγουστο του 1992, το δε δεύτερο τόσο για το αδιάλειπτο ενδιαφέρον και τη συμπαράσταση του κατά το στάδιο της συγγραφής της διατριβής, όσο και για τη βοήθεια του σε θέματα φασματοσκοπίας κατά το υπόλοιπο χρονικό διάστημα.

Ιδιαίτερα ευχαριστώ τον Επίκουρο Καθηγητή κ.Η.Κουλαδούρο, για την επιστημονική του βοήθεια σε πολλά σημεία της πειραματικής εργασίας και τον Δρ.κ.Ιωάννη Γράφα για τη σημαντική συμβολή του στην εξέλιξη της διδακτορικής μου διατριβής καθώς και τα φάσματα που πραγματοποιήθηκαν στο Πανεπιστήμιο του Detroit στις Η.Π.Α., αλλά και για την υπόλοιπη συνεργασία μας.

Θερμές ευχαριστίες οφείλω επίσης στον Αναπληρωτή Καθηγητή του Πανεπιστημίου Πατρών κ.Δ.Παπαϊωάννου για την βοήθεια του καθ'όλη τη διάρκεια της διδακτορικής διατριβής μου.

Τους καθηγητές του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης Ν.Αλεξάνδρου και Π.Κουρουνάκη τους ευχαριστώ θερμά για τις πολιτίμες υποδείξεις τους σχετικά με την παρουσίαση της διατριβής.

Ευχαριστώ επίσης τον Καθηγητή του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου κ.Κ.Σάνδρη για την επιμελή διόρθωση των κειμένων της διατριβής που βοήθησαν στην καλύτερη παρουσίαση της, καθώς και τον Καθηγητή του Γεωργικού Πανεπιστημίου Αθηνών κ.Κ.Μπαλή για τις υποδείξεις του σε θέματα μικροβιολογίας.

Ευχαριστίες εκφράζω και σε όλο το προσωπικό του εργαστηρίου Γενικής Χημείας για τη συνεργασία του καθ'όλη τη διάρκεια της διατριβής.

Τον καθηγητή κ.Καλατζή ευχαριστώ για τις στοιχειακές αναλύσεις που πραγματοποίησε στο Εθνικό Ιδρυμα Ερευνών.

Οφείλω να ευχαριστήσω το Ιδρυμα Κρατικών Υποτροφιών (Ι.Κ.Υ.) για την υποτροφία που μου προσέφερε, η οποία διευκόλυνε σημαντικά την εκπόνηση της παρούσης διατριβής.

Τέλος τις πιο μεγάλες ευχαριστίες μου εκφράζω προς τους γονείς μου, για τη συμπαράσταση και τις θυσίες τους, οι οποίες με βοήθησαν να αντεπεξέλθω στις απαιτήσεις της εργασίας αυτής.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Σελίδα

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ.....	1
ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	3

### ΜΕΡΟΣ Α

#### ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι : ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ

I.1.1. Γενικά για τα αντιβιοτικά.....	7
I.1.2. Ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά .....	10
I.2. ΑΜΙΝΟΚΥΚΛΙΤΟΛΕΣ	
I.2.1. Γενικά.....	14
I.2.2. Ταξινόμηση.....	16
I.2.3. Τρόπος Δράσης.....	19
I.2.4. Τοξικότητα Αμινοκυκλιτολών.....	21
I.2.5. Ανθεκτικότητα στους Αμινογλυκοζιτες.....	24
I.2.6. Ενζυμα Μετατροπής.....	26
I.2.7. Τροποποιήσεις των Αμινοκυκλιτολικών Αντιβιοτικών.....	31
I.3. ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΑΜΙΝΟΓΛΥΚΟΖΙΤΙΚΩΝ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ ΜΕ ΕΠΙΜΕΡΕΙΩΣΕΙΣ	
I.3.1.Επιμερή παράγωγα της νεαμίνης.....	44
I.3.2.Επιμερή παράγωγα της καναμυκίνης Α και Β.....	48
I.3.3.Επιμερή παράγωγα της σισομυκίνης.....	50
I.3.4.Συμπεράσματα για τη νεομυκίνη Β.....	52
I.4. ΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΠΟΡΕΙΕΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ C-5'ΕΠΙΜΕΡΕΙΩΣΗ ΤΗΣ ΝΕΑΜΙΝΗΣ.....	54

#### ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙ : ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΠΟΡΕΙΕΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ C-5'ΕΠΙΜΕΡΕΙΩΣΗ ΤΗΣ ΝΕΑΜΙΝΗΣ

II.1.ΓΕΝΙΚΑ.....	65
II.2.ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΣΥΝΘΕΤΙΚΩΝ ΠΟΡΕΙΩΝ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ.....	66
II.3.ΜΕΛΕΤΗ ΣΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ C-5'ΕΠΙΜΕΡΩΝ ΗΜΙΣΥΝΘΕΤΙΚΩΝ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ	
II.3.1.Μελέτη της C-5'-επιμερείωσης στο μόριο του μεθυλο α-D-γλυκοπυρανοζιτη.....	69
II.3.2.Σύνθεση της 5'-επι-παρομαμίνης και της 5'-επι-νεαμίνης.....	86
II.4.ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ.....	95

**ΜΕΡΟΣ Β**  
**ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙΙ : ΜΙΚΤΑ ΦΑΡΜΑΚΑ**

ΙΙΙ.1. ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ ΔΥΟ ΦΑΡΜΑΚΩΝ.....	99
ΙΙΙ.2. ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΑ ΜΙΚΤΑ ΦΑΡΜΑΚΑ.....	100
ΙΙΙ.2.1. Κινολόνες.....	101
ΙΙΙ.2.2. Αμινογλυκοζίδες.....	105
ΙΙΙ.3. ΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΠΑΘΕΙΕΣ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΙ	
ΙΙΙ.3.1. Κεφαλοσπορίνες 3'-κινολόνες εστέρες.....	106
ΙΙΙ.3.2. Κεφαλοσπορίνες 3'-τεταρτοταγείς αμινοκινολόνες.....	108
ΙΙΙ.3.3. Κεφαλοσπορίνες 3'-κινολόνες μέσω καρβαμιδικού δεσμού.....	109

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙV : ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΠΟΡΕΙΕΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΣΥΝΘΕΣΗ**  
**"ΜΙΚΤΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ" ΜΕΤΑΞΥ ΦΘΟΡΟΚΙΝΟΛΟΝΩΝ ΚΑΙ ΑΜΙΝΟΓΛΥΚΟΖΙΤΩΝ**

ΙV.1. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΣΥΝΘΕΤΙΚΩΝ ΠΟΡΕΙΩΝ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ.....	113
ΙV.2. ΜΕΛΕΤΗ ΣΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΜΙΚΤΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΜΕΤΑΞΥ ΦΘΟΡΟΚΙΝΟΛΟΝΩΝ ΚΑΙ ΑΜΙΝΟΓΛΥΚΟΖΙΤΩΝ.....	116
ΙV.3. ΣΥΝΘΕΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑΣ "ΜΙΚΤΟΥ" ΦΑΡΜΑΚΟΥ ΜΕΤΑΞΥ ΣΙΠΡΟΦΛΟΞΑΣΙΝΗΣ ΚΑΙ ΚΑΝΑΜΥΚΙΝΗΣ Α	
ΙV.3.1. Συνθετική πορεία δημιουργίας της 1,3,6',3''-τετρα-N-τρ.βουτυλοξυκαρβονυλο-2',3',4',2'',4''-πεντα-Ο-ακετυλο-καναμυκίνης Α.....	119
ΙV.3.2. Συνθετική πορεία δημιουργίας του "μικτού φαρμάκου" μεταξύ της 1,3,6',3''-τετρα-N-τρ.βουτυλοξυκαρβονυλο-2',3',4',2'',4''-πεντα-Ο-ακετυλο-καναμυκίνης Α και της σιπροφλοξασίνης με 3'-καρβαμιδικό δεσμό.....	122
ΙV.4. ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ.....	124

**ΜΕΡΟΣ Γ**  
**ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

Εκθεση Προϊόντων.....	125
<u>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ(Φάσματα nmr.ir,μάζας)</u> .....	251
<u>SUMMARY</u> .....	289
<u>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</u> .....	297
<u>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</u> .....	299

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

Ac = CH <sub>3</sub> CO-	ακετυλο-
AcOEt	οξικός αιθυλεστέρας
Ar	αρυλο-
ATP	τριφωσφορική αδενοσίνη
Bn = C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -CH <sub>2</sub> -	βενζυλο-
Boc = (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> C-O-CO-	τριπ.βουτοξυκαρβονυλο-
Bu = CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -	βουτυλο-
Bz = C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -CO-	βενζοΐλο-
Cbe = CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> -O-CO-	αιθοξυ-καρβονυλο-
Cbz = C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -CH <sub>2</sub> -O-CO-	βενζυλοξυκαρβονυλο-
CoA	συνένζυμο A
CTP ή PTC	κατάλυση με μεταφορά φάσης
DBU	1,8-διαζα-δικυκλο[5.4.0]ενδεκ-7-ένιο
DMAP	4-διμεθυλαμινοπυριδίνη
DMF	διμεθυλοφορμαμίδιο
DMSO	διμεθυλοσουλφοξείδιο
DOS	δεοξυ-στρεπταμίνη
Et = CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> -	αιθυλο-
Et <sub>2</sub> O	διαιθυλαιθέρας
Et <sub>3</sub> N	τριαιθυλαμίνη
FAB-MS	φάσμα μάζης με την τεχνική ιονισμού δια βομβαρδισμού με ταχέως κινούμενα άτομα
HABA	υδροξυαμινοβουτυρικό οξύ
Hex	εξάνιο
IR	υπέρυθρο
Me = CH <sub>3</sub> -	μεθυλο-
Moz = CH <sub>3</sub> O-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -CH <sub>2</sub> O-CO-	π-μεθοξυβενζυλοξυκαρβονυλο-
Ms = CH <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> -	μεθυλοσουλφονυλο-
mCPBA	μ-χλωρούπερβενζοϊκό οξύ
NMR	πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός
NTG	N-μεθυλο-N'-νιτροζο-γουανιδίνη
Ph ή φ = C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -	φαινυλο-
py	πυριδίνη
ppGpp	τετραφωσφορική γουανοσίνη

THF

Tos ή Ts =  $\text{CH}_3\text{-C}_6\text{H}_5\text{-SO}_2\text{-}$

Tr =  $(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C-}$

Χ.Λ.Σ.

t-Bu =  $(\text{CH}_3)_3\text{C-}$

τετραύδροφουράνιο

τοσυλο-

τριτυλο-

Χρωματογραφία Λεπτής Στοιβάδας

τριτοταγές βουτυλο-

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Οι επί μέρους διαφορές της βιολογικής σύστασης των ιών, των ρικετσιών, των μυκήτων, των πρωτοζώων, των σκωλήκων και των νεοπλασματικών κυττάρων επιτρέπουν την εκλεκτική τους καταστροφή από φάρμακο εξειδικευμένης δράσης και αβλαβούς γενικά για τον ξενιστή ιστό ή τον οργανισμό. Τα φάρμακα αυτά ονομάζονται χημειοθεραπευτικά. Υπάρχουν πολλές κατηγορίες χημειοθεραπευτικών. Το κύριο θέμα της διατριβής αυτής είναι τα αντιμικροβιακά χημειοθεραπευτικά της ομάδας των αμινογλυκοζιτών. Επίσημα η χρησιμοποίησή τους άρχισε το 1944 όταν ο Waksman και οι συνεργάτες του απομόνωσαν τη στρεπτομυκίνη από τον *Streptomyces griseus*. Ακολούθησε η ραγδαία ανακάλυψη πολλών ακόμα αντιβιοτικών της κατηγορίας αυτής όπως το 1949 πάλι από τον Waksman της νεομυκίνης<sup>1</sup>, το 1957 της καναμυκίνης από τον Umezawa<sup>2</sup>, το 1963 της γενταμυκίνης από τον Weinstein<sup>3</sup> και πολλά άλλα τα οποία στα επόμενα χρόνια μπήκαν σε κλινική χρήση. Όμως τα ευεργετικά θεραπευτικά αποτελέσματα από τη χρησιμοποίησή τους δημιούργησαν και ένα από τα μεγαλύτερα προβλήματα - επεκράτησαν βακτήρια που διαθέτουν μηχανισμούς αδρανοποίησης των αμινογλυκοζιτών (ανθεκτικά στελέχη). Η πρόοδος της γενετικής των μικροοργανισμών έδειξε μάλιστα ότι η αντίσταση που ανέπτυξαν τα βακτήρια εναντίον των αντιμικροβιακών φαρμάκων είναι αποτέλεσμα προσαρμογής και μη προκαλούμενης από τα αντιβιοτικά μεταλλάξεως<sup>4</sup>. Δηλαδή προϋπάρχοντα στελέχη ανθεκτικά στο συγκεκριμένο αμινογλυκοζιτη επέζησαν και πολλαπλασιάσθηκαν, ενώ άλλα ευαίσθητα σ' αυτόν μειώθηκαν ή και εξαφανίσθηκαν. Το αντιβιοτικό δηλαδή, συνετέλεσε στην επιλογή και όχι στη μετάλλαξη. Η εξάπλωση των ανθεκτικών στελεχών έχει λάβει σήμερα ανησυχητικές διαστάσεις καθώς νέοι τρόποι αντίστασης στα αντιμικροβιακά φάρμακα κάνουν συνέχεια την εμφάνισή τους.

Εκτός μάλιστα από το κεφαλαίωδες σημασίας, πρόβλημα της εξάπλωσης ανθεκτικών βακτηρίων, πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι η κλινική χρήση των αμινογλυκοζιτών συνδέεται και με ένα άλλο μεγάλο πρόβλημα, εκείνο της νέφρο- και ώτο- τοξικότητάς τους<sup>5</sup>.

Από το 1965 που έγιναν οι πρώτες παρατηρήσεις σχετικά με την αδρανοποίηση αμινογλυκοζιτών από παθογόνα βακτήρια<sup>5,6</sup>, άρχισαν εντατικές προσπάθειες για τη σύνθεση και ημισύνθεση νέων αμινογλυκοζιτών ευρέως φάσματος δραστηριότητας, αλλά και μειωμένης τοξικότητας. Η παρούσα διατριβή έχοντας σαν κύριο στόχο να συμβάλει στην σύνθεση νέων αντιβιοτικών χρησιμοποιώντας χημικές μετατροπές διαφόρων φυσικών αμινογλυκοζιτών, εντάσσεται σ' αυτό τον τομέα ερεύνης.

Ακολουθώντας μάλιστα τις σύγχρονες τάσεις<sup>7</sup> στο θέμα των νέων

αντιμικροβιακών φαρμάκων, η διατριβή προσπάθησε να εισέλθει στον τομέα των "μικτών φαρμάκων", δηλαδή φαρμάκων που προκύπτουν από την σύνδεση δύο κατηγοριών χημειοθεραπευτικών όπως αμινογλυκοζιτών και κινολονών, και τέλος ένα τμήμα της περιλαμβάνει τη σύνθεση φυσικών προϊόντων που περιέχουν πυρανικές δομές στο μόριο τους και αποτελούν τόσο πρότυπες ενώσεις των αμινογλυκοζιτικών αντιβιοτικών όσο έχουν και οι ίδιες ως φάρμακα ή μεταβολίτες μεγάλη βιολογική σημασία.



ΜΕΡΟΣ Α

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι

ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ

### Ι.1.1 ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΑ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ

Από τον 17<sup>ο</sup> αιώνα είχαν χρησιμοποιηθεί διάφορα χημικά μέσα για την αντιμετώπιση λοιμωδών ασθενειών (π.χ. κινίνη για την ελονοσία), όμως η χημειοθεραπεία σαν επιστήμη αρχίζει από τον Paul Ehrlich κατά την πρώτη δεκαετία του 20<sup>ου</sup> αιώνα, με τη διατύπωση των αρχών της εκλεκτικής τοξικότητας και των σχέσεων μεταξύ παρασίτων και φαρμάκων.<sup>8</sup> Τα πειράματα του Ehrlich οδήγησαν τελικά και στις αρσφαιναμίνες (ενώσεις αρσενικού - Salvarsan, neosalvarsan), που αποτελούν τον πρώτο θρίαμβο της προγραμματισμένης χημειοθεραπείας.

Η ανακάλυψη από τον Domagk<sup>9</sup> το 1935 των σουλφοναμιδίων αποτέλεσε την αρχή της σημερινής εποχής της ταχείας εξέλιξης στην αντιμικροβιακή χημειοθεραπεία. Ιδιαίτερα η χημειοθεραπευτική έρευνα επικεντρώθηκε σε μεγάλο βαθμό σε αντιμικροβιακές ουσίες μικροβιακής προελεύσεως που ονομάζονται αντιβιοτικά. Σήμερα τα φάρμακα της ομάδας αυτής αντιπροσωπεύουν τα 3/4 των φαρμάκων που χρησιμοποιούνται στην ιατρική.<sup>10</sup> Το σωστό αντιβιοτικό δεν μπορεί να επιλεγεί προτού γίνει μια κλινική διάγνωση τουλάχιστον υποθετικά. Το φάρμακο που επιλέγεται πρέπει να είναι εκείνο στο οποίο ο μικροοργανισμός εμφανίζει ευαισθησία. Ιδανικά, πριν αρχίσει η θεραπεία, ο παθογόνος μικροοργανισμός θα πρέπει ν'απομονωθεί και να καθοριστεί η ευαισθησία του, αλλά αυτή η τακτική δεν είναι πρακτική και συνήθως λαμβάνεται υπόψη η πιθανή φύση των υπεύθυνων μικροοργανισμών και η συνήθης ευαισθησία τους<sup>11</sup>.

Στην αρχή οι ουσίες αυτές απομονώθηκαν από διήθηση μέσων, στα οποία είχαν καλλιεργηθεί οι αντίστοιχοι μύκητες ή στρεπτομύκητες, εν συνεχεία δε ορισμένες παρήχθησαν συνθετικά. Τα τελευταία χρόνια η χημική τροποποίηση μορίων και η βιοσύνθεσή τους έχουν γίνει σημαντικές μέθοδοι ανάπτυξης νέων φαρμάκων. Αναλυτικότερα όμως στις συνθετικές αυτές προσπάθειες θα αναφερθούμε παρακάτω.

Ενας ιδανικός αντιμικροβιακός παράγοντας εμφανίζει εκλεκτική τοξικότητα. Συχνά η εκλεκτική τοξικότητα είναι μάλλον σχετική παρά απόλυτη· αυτό σημαίνει ότι ένα φάρμακο σε συγκέντρωση ανεκτή από το ξενιστή μπορεί να καταστρέφει το παράσιτο. Η καταστροφή αυτή γίνεται όταν ένα αποκλειστικό και διακεκριμένο δομικό του στοιχείο ή λειτουργία του, απαραίτητο για την εξέλιξη του βιολογικού του κύκλου, μπορεί να καταστραφεί από το φάρμακο αυτό. Το δομικό αυτό στοιχείο ή η λειτουργική αυτή οργάνωση πρέπει να λείπει από τα κύτταρα του ξενιστή (ανθρώπου ή ζώου) για να έχει έννοια και η εκλεκτική τοξικότητα.

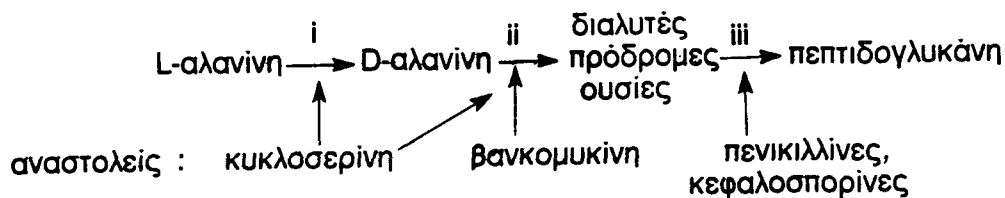
Τα αντιμικροβιακά χημειοθεραπευτικά μπορούν να χωριστούν σε διάφορες κατηγορίες βάσει: α) του μηχανισμού δράσης β) του αποτελέσματος που κύρια επιτυγχάνεται γ) του αντιμικροβιακού φάσματος δ) της χημικής τους σύνθεσης. Έτσι κατατάσσονται:

### A) ΒΑΣΕΙ ΤΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΔΡΑΣΕΩΣ

Γενικά δρούν ως εξής:

1. Σαν αναστολείς της σύνθεσης του μικροβιακού τοιχώματος. Παραδείγματα αποτελούν οι πενικιλίνες, οι κεφαλοσπορίνες, η κυκλοσερίνη, η ριστοσετίνη κ.ά.

Σε αντίθεση με τα ζωικά κύτταρα, τα βακτήρια έχουν ένα άκαμπτο πεπτιδογλυκανικής σύστασης εξωτερικό στρώμα, το κυτταρικό τοίχωμα. Σ' αυτή την κατηγορία φαρμάκων έχουμε εκμετάλλευση του γεγονότος αυτού με αναστολή της σύνθεσής του (βλέπε σχήμα 1).



Σχήμα 1 : Αναστολή στο σχηματισμό σε διάφορα στάδια της πεπτιδογλυκάνης του κυτταρικού τοιχώματος από ορισμένα χημειοθεραπευτικά. Οι λατινικοί αριθμοί συμβολίζουν: i)ρακεμάση, ii)συνθετάση, iii)τρανσπεπτιδάση

2. Με αναστολή της λειτουργίας της κυτταρικής μεμβράνης. Παραδείγματα αποτελούν η Αμφοτερικίνη Β, οι ιμιδαζόλες, οι πολυμυξίνες κ.ά.

Η μέσα από το τοίχωμα των μικροοργανισμών μεμβράνη, που διαχωρίζει το κυτταρόπλασμα, διαφέρει στην σύνθεση στις διάφορες ομάδες μικροοργανισμών όπως και από την κυτταρική μεμβράνη των μεγαλοοργανισμών. Η λειτουργία της κυτταροπλασματικής αυτής μεμβράνης διαταράσσεται από τα χημειοθεραπευτικά της κατηγορίας αυτής και έτσι τα βακτήρια (ή και τα κύτταρα) καταστρέφονται.

3. Με αναστολή της σύνθεσης νουκλεϊνικού οξέος. Παραδείγματα αποτελούν το ναλιδιξικό οξύ, η ριφαμπίνη, οι σουλφοναμίδες, η νοβοβιοκίνη, κ.ά.

Εδώ έχουμε αναστολή της σύνθεσης νουκλεϊνικών οξέων ή δημιουργία συμπλόκου με το DNA που έχει σαν αποτέλεσμα να παύει να πολλαπλασιάζεται ο μικροοργανισμός. Τα αντιμικροβιακά αυτά παρεμβαίνουν σε διαφορετικά σημεία της πορείας σύνθεσης των νουκλεϊνικών οξέων ή του πολλαπλασιασμού των κυττάρων.

4. Με αναστολή της συνθέσεως πρωτεΐνης. Παραδείγματα αποτελούν η χλωραμφενικόλη, οι ερυθρομυκίνες, οι τετρακυκλίνες, οι αμινογλυκοζίτες κ.ά. Στην κατηγορία αυτή τα αντιβιοτικά αναστέλλουν την πρωτεϊνική σύνθεση πολλών κατηγοριών μικροβίων ενεργώντας κυρίως στη ριβοσωματική λειτουργία. Για την σημαντική αυτή κατηγορία θα αναφερθούμε αναλυτικότερα σε παρακάτω κεφάλαιο.

#### Β) ΒΑΣΕΙ ΤΟΥ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΟΣ ΠΟΥ ΕΠΙΤΥΓΧΑΝΕΤΑΙ

1. Βακτηριοστατικά: Είναι τα χημειοθεραπευτικά που προκαλούν την αναστολή της αναπύξεως των βακτηρίων (σουλφοναμίδια, τετρακυκλίνες, κ.ά.).

2. Βακτηριοκτόνα: Είναι τα χημειοθεραπευτικά που σε κατάλληλη πυκνότητα και σε συγκεκριμένο χρόνο προκαλούν το θάνατο των βακτηρίων (πενικιλίνες, κεφαλοσπορίνες, αμινογλυκοζίτες κ.ά.).

3. Χημειοθεραπευτικά που η δράση τους είναι συνάρτηση της δόσης (ερυθρομυκίνη, νοβοβοκίνη κ.ά.).

#### Γ) ΒΑΣΕΙ ΤΟΥ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΥ ΤΟΥΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣ

Σαν αντιμικροβιακό φάσμα ενός χημειοθεραπευτικού καθορίζεται το σύνολο των ευαίσθητων μικροοργανισμών σ' αυτό. Έτσι έχουμε δραστικά αντιβιοτικά:

1. Εναντι των gram(+) βακτηρίων (οι περισσότερες πενικιλίνες και κεφαλοσπορίνες, ερυθρομυκίνη, κ.ά.)

2. Εναντι ευρέος φάσματος μικροοργανισμών (αμινογλυκοζίτες, χλωραμφενικόλη, κ.ά.)

3. Εναντι μυκήτων (νυστατίνη, αμφοτερισίνη Β, κ.ά.)

4. Εναντι μυκοβακτηρίων (κυκλοσερίνη, κ.ά.)

5. Εναντι μυκοπλασμάτων (τετρακυκλίνες, κ.ά.)

#### Δ) ΒΑΣΕΙ ΤΗΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥΣ

1. Αμινοξέα (πενικιλίνες, χλωραμφενικόλη, κ.ά.)

2. Πολυπεπίδια (πολυμιξίνες, κ.ά.)

3. Υδατάνθρακες (αμινογλυκοζίτες, κ.ά.)

4. Καρβοξυλικά οξέα (τετρακυκλίνες, κ.ά.)

5. Πολυενικά χημειοθεραπευτικά (νυστατίνη, κ.ά.)

6. Σουλφοναμίδια και σουλφόνες

7. Άλλης σύστασης

Καμμία όμως από τις παραπάνω κατατάξεις σε ομάδες των χημειοθεραπευτικών δεν μπορεί να διευκολύνει την μελέτη τους. Επιτυχής είναι μόνο ο συνδυασμός τους.

Ένα σημαντικό ζήτημα στη χρησιμοποίηση των αντιμικροβιακών χημειοθεραπευτικών προκύπτει από την αντίσταση που μπορούν να προβάλλουν σ'αυτά οι μικροοργανισμοί και που έχει σαν αποτέλεσμα την αδυναμία του χημειοθεραπευτικού να ελέγξει τη νόσο (βλέπε επόμενη παράγραφο).

Ένα δεύτερο ζήτημα στη χρησιμοποίηση των χημειοθεραπευτικών είναι ότι κανένα απ'αυτά δεν είναι τελείως ελεύθερο από τον κίνδυνο να προκαλέσει ανεπιθύμητες και μερικές φορές επικίνδυνες παρενέργειες<sup>11</sup> όπως:

- α) τοξικότητα (αμινογλυκοζίδες σε αρρώστους με νεφρική ανεπάρκεια),
- β) αλλεργικές αντιδράσεις (ιδιαίτερα μεγάλος κίνδυνος από τη χρήση πενικιλινών) και
- γ) καταστροφή της φυσιολογικής εντερικής χλωρίδας, καθώς και πολλές ακόμα παρενέργειες.

Για το λόγο αυτό τα τελευταία χρόνια οι συνθετικές έρευνες στον τομέα των αντιμικροβιακών φαρμάκων επικεντρώνονται και στο θέμα των παρενεργειών, προσπαθώντας να τις ελαττώσουν.

Μια από τις μεγαλύτερες κατηγορίες χημειοθεραπευτικών παραγόντων με ευρεία κλινική χρήση είναι οι αμινοκυκλιτόλες. Την κατηγορία αυτή που έχει ως κύριο στόχο η παρούσα διατριβή θα δούμε αναλυτικότερα στο επόμενο κεφάλαιο

### 1.1.2 ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΑ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ

Ένα από τα μεγαλύτερα προβλήματα, όπως προαναφέραμε, έχει δημιουργηθεί από την εξάπλωση ανθεκτικών στελεχών βακτηρίων. Καθημερινά νέοι τρόποι ανθεκτικότητας στα αντιμικροβιακά φάρμακα κάνουν την εμφάνισή τους σε κλινικά δείγματα που απομονώνονται, με αποτέλεσμα η αποτελεσματικότητα των αντιβιοτικών σήμερα, να περιορίζεται σε επικίνδυνο βαθμό<sup>12</sup>.

Με τον όρο ανθεκτικότητα στα αντιμικροβιακά φάρμακα εννοούμε ότι μικρόβια ευπρόσβλητα σε ένα χημειοθεραπευτικό μπορούν επικτήτως να παρουσιάσουν αντοχή σ'αυτό και να γίνουν λιγότερο ευαίσθητα ή και απρόσβλητα, με αποτέλεσμα το χημειοθεραπευτικό να αδυνατεί να ελέγξει τη νόσο που προκαλείται από το μικρόβιο αυτό.

Η αντοχή αυτή μπορεί να αναπτυχθεί ανεξάρτητα από την έκθεση του μικροβίου στο χημειοθεραπευτικό. Μετά από πολλές πειραματικές εργασίες βρέθηκε ότι αυτή οφείλεται στις μεταλλάξεις των μικροβίων που συμβαίνουν απουσία του χημειοθεραπευτικού και που σ'αυτές οφείλεται και ο νέος χαρακτήρας που εμφανίζει το μικρόβιο και δεν προϋπήρχε. Αν τώρα πληθυσμός μικροβίων είναι εκτεθειμένος σε

κάποιο χημειοθεραπευτικό τότε, όπως είναι κατανοητό, θα επιζήσουν μόνο τα ανθεκτικά από τις μεταλλάξεις στελέχη, τα οποία δε θα είναι ευαίσθητα στο χημειοθεραπευτικό. Αποτέλεσμα είναι η εξαφάνιση των ευαίσθητων στελεχών και η επικράτηση ανθεκτικών μικροβίων. Δηλαδή η εξαπλωση των ανθεκτικών βακτηρίων οφείλεται σε επιλογή μεταξύ ευαίσθητων και ανθεκτικών στελεχών που επέβαλε το αντιβιοτικό και όχι σε μεταλλάξεις που προκλήθηκαν απ' αυτό.

Καθημερινά σε κλινικά δείγματα απομονώνονται ανθεκτικά στελέχη που διαθέτουν νέους τρόπους αντοχής στα αντιμικροβιακά φάρμακα. Η αλόγιστη μάλιστα, πολλές φορές χρήση των αντιβιοτικών μπορεί μεν να αύξησε κατακόρυφα τα κέρδη των φαρμακευτικών εταιρειών, αλλά οι τόνοι αντιβιοτικών που παράχθηκαν και διασκορπίστηκαν στην επιφάνεια του πλανήτη κατά τις τελευταίες δεκαετίες περιόρισαν σε επικίνδυνο βαθμό την αποτελεσματικότητά τους και δημιούργησαν ένα από τα κεφαλαιώδους σημασίας προβλήματα στην ανθρωπότητα<sup>12</sup>.

Για τους παραπάνω λόγους και ο άνθρωπος πρέπει να είναι "προσαρμοσμένος" και να μελετάει τους μηχανισμούς αυτούς ανθεκτικότητας συνέχεια και να συνθέτει νέα φάρμακα για να επιζήσει.

Πολλές μελέτες έγιναν, πάνω στους μηχανισμούς αντίστασης των ανθεκτικών στελεχών στα αντιβιοτικά που αποτέλεσαν την αρχή και το οδηγό για την σύνθεση νέων αναλόγων των φυσικών αντιβιοτικών, που σε πολλές περιπτώσεις μάλιστα βρέθηκαν να είναι δραστικά και εισήχθηκαν σε κλινική χρήση.

Οι κυριώτεροι βιοχημικοί μηχανισμοί ανθεκτικότητας που έχουν μέχρι σήμερα παρατηρηθεί είναι ο μικροοργανισμός να μπορεί<sup>8</sup>:

- 1) Να μεγαλώνει τη δυνατότητά του να αδρανοποιεί το χημειοθεραπευτικό ενζυμικά (πενικιλίνη κ.ά)
- 2) Να αλλάζει τη διαπερατότητα του τοιχώματός του και της μεμβράνης σε τρόπο που το χημειοθεραπευτικό να μην μπορεί να μπει στο κύτταρο (τετρακυκλίνες, αμινογλυκοζίτες, κ.ά.)
- 3) Να αυξάνει τις παραγόμενες απ' αυτόν ουσίες, τις οποίες το χημειοθεραπευτικό αντικαθιστά (σουλφοναμίδια, κ.ά)
- 4) Να αυξάνει την παραγωγή ενζύμων, τα οποία το χημειοθεραπευτικό αδρανοποιεί. Έτσι για να προκληθεί η ίδια ενέργεια απαιτείται μεγαλύτερη πυκνότητα φαρμάκου
- 5) Να παράγει ένζυμα τροποποιημένης αλλοστερικής συμπεριφοράς. Έτσι το παραγόμενο ένζυμο από ένα μικροοργανισμό που υπέστη τέτοιου είδους μετάλλαξη είναι ανθεκτικό στην επίδραση του φαρμάκου, ενώ δεν αλλάζει η λειτουργικότητά του (νεομυκίνη, κ.ά.) και

6) Να μεταβάλλει την σύνθεση του ριβοσώματος, με αποτέλεσμα την ορθή ανάγνωση του κώδικα mRNA (στρεπτομυκίνη, κ.ά.)

Στον πίνακα 1 δίνονται οι μηχανισμοί αντιστάσεως για ορισμένα χημειοθεραπευτικά φάρμακα.

Πίνακας 1 : Μηχανισμοί ανθεκτικότητας σε αντιμικροβιακά φάρμακα <sup>13</sup>			
Φάρμακο	Στόχος	Μηχανισμός Ανθεκτικότητας	Πλασμιδίο Παραγωγής που ανακαλύφθηκε
Χλωραμφενικόλη	Ριβόσωμα, 50S υπομονάδα Αναστέλει την πρωτεϊνική σύνθεση	α) αδρανοποίηση με ακετυλίωση των -OH β) συσχετίζεται με την μεταφορά του φαρμάκου	Ακετύλ τρανσφεράσες
Πενικιλίνες, κεφαλοσπορίνες (β-λακτάμες)	Αναστολή της συνθέσεως του κυτταρικού τοιχώματος	α) αδρανοποίηση με ενζυματική υδρόλυση του δακτυλίου της β-λακτάμης	β-λακταμάση
Υδράργυρος και οργανοϋδραργυρικά	Αναστολή της δράσης αρκετών πρωτεϊνών με επίδραση στις -SH	Αποτοξίνωση και μετακίνηση από το κυτταρικό περιβάλλον	Υδρολάσες και αναγωγή (-ες)
Ερυθρομυκίνη και λινκομυκίνες	Ριβόσωμα, 50S υπομονάδα Αναστέλει την πρωτεϊνική σύνθεση	Αλλοίωση της πλευράς του στόχου του φαρμάκου - Τροποποίηση του 23S RNA	Μεθυλάση
Σουλφοναμίδες	Συναγωνιστική αναστολή της σύνθεσης της διϋδροπτεροϊκής συνθετάσης	α) υποκατάσταση θείου ανενεργού ενζύμου β) συσχετίζεται με την μεταφορά	θείο-ανθεκτική διϋδροπτεροϊκή συνθετάση
Τριμεθοπρίμη	Συναγωνιστική αναστολή της αναγωγής του διϋδροφολικού οξέος	υποκατάσταση τριμεθοπρίμης ανενεργού ενζύμου	τριμεθοπρίμης ανθεκτική αναγωγή του διϋδροφολικού οξέος



Φάρμακο	Στόχος	Μηχανισμός Αντιστασεως	Πλασμιδιο Παραγωγής που ανακαλύφθηκε
Τετρακυκλίνες	Ριβόσωμα, 30S υπομονάδα Αναστέλει την πρωτεϊνική σύνθεση	συσχετίζεται με την μεταφορά του φαρμάκου	
Στρεπτομυκίνη	Ριβόσωμα, 30S υπομονάδα Αναστέλει την πρωτεϊνική σύνθεση	σχετίζεται με την μεταφορά του φαρμάκου	O-φωσφοτρανσφεράση O-αδενυλοτρανσφεράση
Σπεκτινομυκίνη	Ριβόσωμα, 30S υπομονάδα Αναστέλει την πρωτεϊνική σύνθεση	συσχετίζεται με την μεταφορά του φαρμάκου	O-αδενυλοτρανσφεράση
Νεομυκίνη, καναμυκίνη, γενταμικίνη, τομπραμικίνη και σχετικοί αμινογλυκοζίτες	Ριβόσωμα - Αναστέλει την πρωτεϊνική σύνθεση	α) αδρανοποίηση με ενζυματική τροποποίηση φαρμάκου β) συσχετίζεται με την μεταφορά του φαρμάκου	N-ακετυλτρανσφεράση O-φωσφοτρανσφεράσες O-νουκλεοτυδυλοτρανσφεράσες
Κάδμιο, αρσενικό	Επίδραση με τις κυτταρικές πρωτεΐνες;	Μεταλοθειονεΐνη	Δεν είναι γνωστά
Φουσιδικό οξύ	Πρωτεϊνική σύνθεση - Παράγοντας επιμύκινσης G	α) αδρανοποίηση με ακετυλίωση των -OH β) συσχετίζεται με την μεταφορά του φαρμάκου	Δεν είναι γνωστά
Υπεριώδης ιοντισμένη ακτινοβολία	Καταστροφή του DNA	Επαναλαμβανόμενος μηχανισμός;	DNA πολυμεράση;
Νοβοβιοκίνη	DNA γυράση	Δεν είναι γνωστός	Δεν είναι γνωστά

## 1.2 ΑΜΙΝΟΚΥΚΛΙΤΟΛΕΣ

### 1.2.1 ΓΕΝΙΚΑ

Τα αμινοκυκλιτολικά αντιβιοτικά, των οποίων η ανακάλυψη άρχισε το 1944 με την στρεπτομυκίνη, αποτελούν μια σημαντική τάξη κλινικών χημειοθεραπευτικών μέσων, που περιέχει μερικά από τα πιο επιτυχημένα εμπορικά αντιβιοτικά, όπως η γενταμυκίνη και η στρεπτομυκίνη. Οι ενώσεις αναφέρονται και σαν αμινογλυκοζιτικά αντιβιοτικά, και ο αριθμός τους που παράγεται από μικρόβια φθάνει τις 100, αυξανόμενος καθημερινά<sup>14,15</sup>. Τα περισσότερα απ'αυτά παράγονται από είδη που ανήκουν στους στρεπτομύκητες, τα μικρομονόσπορα, τους βακίλους ακόμα και τις ψευδομονάδες (πίνακας 2). Η βακτηριακή δραστηριότητα εναντίον των αεροβίων βακίλων, η κάλυψη στο περιβάλλον των ψευδομονάδων και η αντιφυματιακή δράση αποτελούν τους τρεις σημαντικότερους λόγους για τη χρησιμοποίησή τους<sup>16</sup>. Η σχέση δόσης - τοξικότητας από την άλλη πλευρά είναι ο κύριος παράγοντας που περιορίζει τη χρήση τους και οδηγεί στην επιλογή άλλων κατηγοριών αντιβιοτικών<sup>17</sup>. Παρ'όλα αυτά τα αντιβιοτικά της κατηγορίας αυτής συνεχίζουν και σήμερα να χρησιμοποιούνται ευρέως σε μια σειρά μολυσματικών ασθενειών (πίνακας 3).

Πίνακας 2 : Οι κυριώτερες ανακαλύψεις αμινογλυκοζιτών <sup>18</sup>		
Ετος	Αντιβιοτικό	Οργανισμός που το παράγει
1944	Στρεπτομυκίνη	<i>S.griseus</i>
1949	Νεομυκίνη	<i>S.fradiae</i>
1957	Καναμυκίνη	<i>S.kanamyceticus</i>
1959	Παρομομυκίνη	<i>S.rimosus, f.paromomycinus</i>
1961	Σπεκτινομυκίνη	<i>S.spectabilis</i>
1963	Γενταμικίνη	<i>M.purpurea</i>
1965	Καζουγκαμυκίνη	<i>S.kasugaensis</i>
1968	Τομπραμυκίνη	<i>S.tenebrarius</i>
1970	Ριβοσταμυκίνη	<i>S.ribosidificus</i>
1970	Σισομικίνη	<i>M.inyoensis</i>
1971	Λιβιντομυκίνη	<i>S.lividus</i>
1971	Βουτυροσίνη	<i>B.circulans</i>
1973	Απραμυκίνη	<i>S.tenebrarius</i>
1974	Μικοζαμινομυκίνη	<i>Actinomyces</i>
1975-77	Σελντομυκίνη	<i>S.hofuensis</i>
1976	Σορμπισίνη	<i>P.sorbicini</i>
1977	Φορτιμικίνη	<i>M.olivoasterospora</i>
1979	Σποραρισίνη	<i>Saccharopolyspora hirsuta</i>
1979	Ισταμυκίνη	<i>S.tenjimariensis</i>
1979	Σανναμυκίνη	<i>S.sannanensis</i>

S:Streptomyces M:Micromonospora B:Bacillus P:Pseudomonas

Πίνακας 3 : Αμινογλυκοζίτες σε κλινική χρήση <sup>6</sup>			
Στρεπτομυκίνη	Νεομυκίνη Β	Αμικασίνη	Καναμυκίνη Α, Β
Διυδρο-στρεπτομυκίνη	Παρομομυκίνη	Νετιλμικίνη	Τομπραμυκίνη
Σπεκτινομυκίνη	Ριβοσταμυκίνη	Απραμυκίνη	Σισομικίνη

### 1.2.2 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Τα αμινογλυκοζιτικά αντιβιοτικά ανήκουν στα αντιμικροβιακά φάρμακα ευρέος φάσματος και στην κατηγορία των βακτηριοκτόνων. Όσο αφορά το μηχανισμό δράσης κατατάσσονται στους αναστολείς της πρωτεϊνσύνθεσης. Από χημική σύσταση ανήκουν στους υδατάνθρακες. Αναλυτικότερα τώρα οι αμινογλυκοζίτες είναι μια ομάδα φαρμάκων που έχουν κοινά χημικά, αντιμικροβιακά, φαρμακολογικά και τοξικά χαρακτηριστικά. Σήμερα η ομάδα περιλαμβάνει εκτός από την στρεπτομυκίνη και τη γενταμικίνη, τη νεομυκίνη, την καναμυκίνη, την αμικασίνη, την τομπραμυκίνη, τη σισομυκίνη, τη νετιλμικίνη και πολλά ακόμα.

Οι αμινοκυκλιτόλες διαιρούνται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: αυτές που περιέχουν την 2-δεοξυ-στρεπταμίνη (2-DOS) 1 και σ'όλες τις άλλες αμινοκυκλιτόλες. Η πρώτη κατηγορία που είναι και η σημαντικότερη μπορεί να χωριστεί σε παραπέρα υποομάδες με βάση τον αριθμό των υποκαταστατών που έχει η 2-DOS. Έτσι έχουμε:

α) 4,5-διυποκατεστημένη 2-DOS. Περιλαμβάνει τη νεομυκίνη, τη παρομομυκίνη, κ.ά. (Σχήμα 2).

β) 4,6-διυποκατεστημένη 2-DOS. Αντιβιοτικά όπως η καναμυκίνη, η τομπραμυκίνη, η σισομυκίνη, σελιδομικίνες όπως η γενταμικίνη, ανήκουν στην κατηγορία αυτή (Σχήμα 3).

γ) 4-υποκατεστημένη 2-DOS, όπως η απραμυκίνη 7 (σχήμα 4). Η ομάδα αυτή χαρακτηρίζεται από μεγάλες ανομοιότητες στη χημική δομή τους.

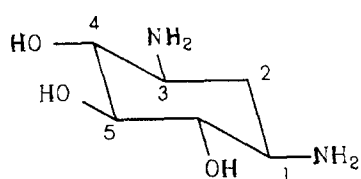
Εκτός από τις κατηγορίες αυτές υπάρχουν και ενώσεις όπως οι φορτιμυκίνες και οι σποραρισίνες που περιέχουν 1,4 διαμινοκυκλιτόλες που συνήθως είναι Ν-μέθυλο υποκατεστημένες ή και ακόμα παραπέρα υποκατεστημένες από ακύλο ομάδες (Σχήμα 5). Άλλες ενώσεις που περιέχουν μονοαμινοκυκλιτόλες είναι η μπλενσομυκίνη, η υγρομυκίνη Α και η βαλιδομυκίνη.

Όλες οι παραπάνω ενώσεις διαφέρουν κύρια ως προς τους υποκαταστάτες της DOS, που είναι διαφορετικά αμινοσάκχαρα όπως η νεοζαμίνη, η πουρπουροζαμίνη, η σισοζαμίνη, κ.ά. (βλέπε σχήμα 2, 3). Τα αμινοσάκχαρα αυτά διαφέρουν μεταξύ τους ως προς την παρουσία ή απουσία αμινομάδων, υδροξυλομάδων ή διπλού δεσμού. Στις διαφορές αυτές έχουν αποδοθεί οι σημαντικά αποκλίνουσες αντιμικροβιακές ιδιότητες μεταξύ των αμινογλυκοζιτών<sup>5</sup>.

Οι κύριοι αμινογλυκοζίτες που χρησιμοποιούνται στην κλινική πρακτική ανήκουν στην ομάδα της γενταμικίνης και της καναμικίνης που έχουν την συνήθη ψευδοτρισακχαρική δομή και που περιέχει την 2-DOS ενωμένη με δύο αμινοσάκχαρα.

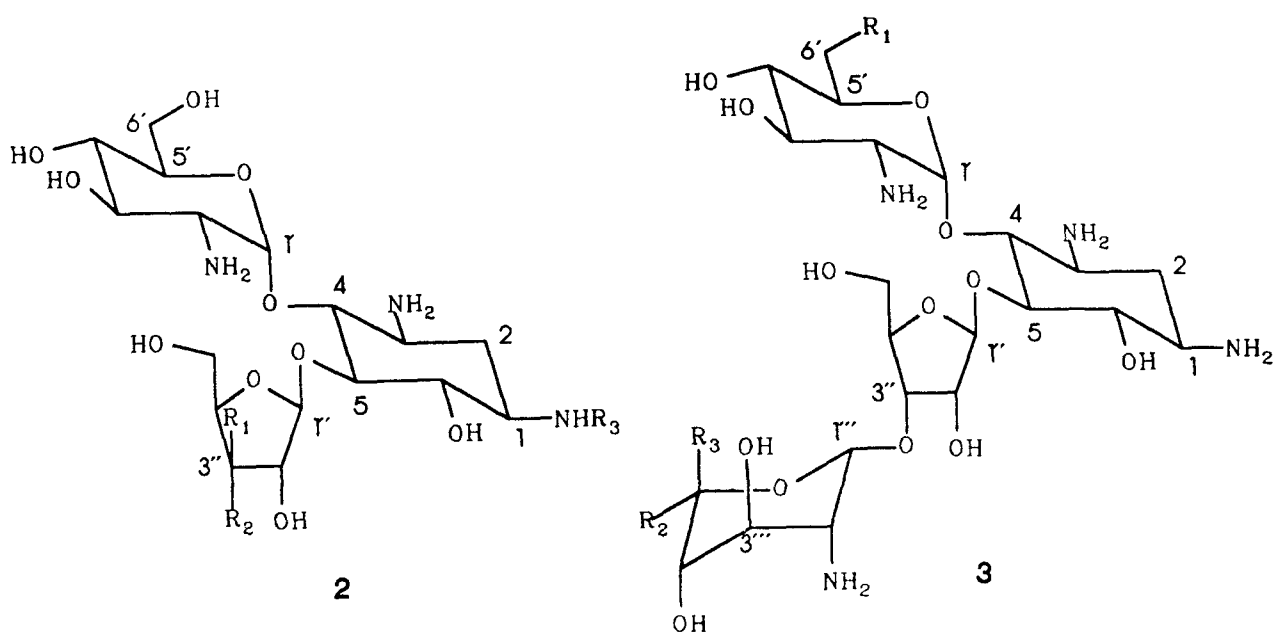
Ας σημειωθεί ακόμα ότι τα αντιβιοτικά στρεπτομυκίνη, νεομυκίνη, καναμυκίνη και τομπραμυκίνη έχει το καθένα απομονωθεί από διαφορετικό περιβάλλον στρεπτομυκίων, ενώ η γενταμικίνη και η νετιλμικίνη έχουν απομονωθεί από περιβάλλον του μύκητα

*Micromonospora*. Η διαφορετική ορθογραφία των καταλήξεων αυτών, δηλαδή με -ι- αντι-υ- δείχνει και τη διαφορά προέλευσης των αντιβιοτικών αυτών. Τα δύο νεότερα αντιβιοτικά αμικασίνη και νετιλμικίνη είναι ημισυνθετικά αντιβιοτικά, απευθείας παράγωγα φυσικών αντιβιοτικών (η αμικασίνη είναι παράγωγο της καναμικίνης Α με 1-N-υδροξυαμινοβουτυρικό οξύ και η νετιλμικίνη είναι 1-N-αιθύλο παράγωγο της σισομικίνης).



1

2-δεοξυ-στρεπταμίνη

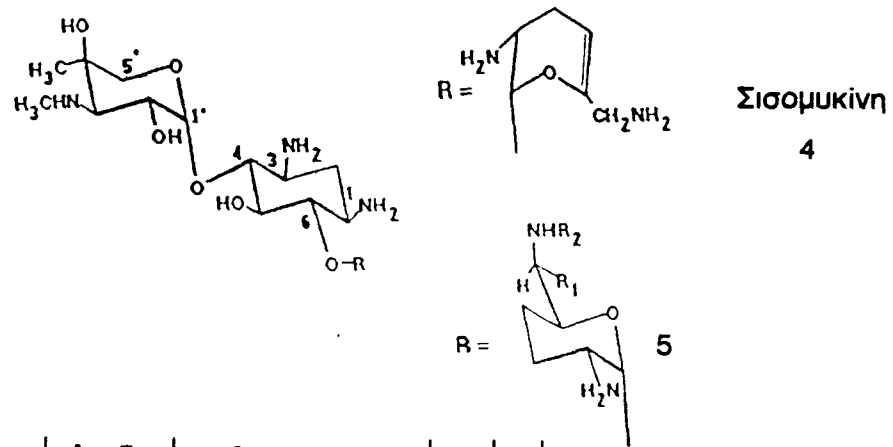


2

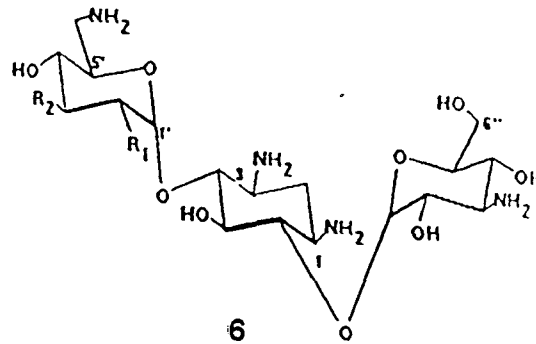
3

Αρ.Εν.	Όνομα	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Αρ.Εν.	Όνομα	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
2α	Ξυλοστατίνη	OH	H	H	3α	Νεομικίνη Β	NH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	H
2β	ΡΙβοσταμικίνη	H	OH	H	3β	Νεομικίνη C	NH <sub>2</sub>	H	CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>
2γ	Βουτυροσίνη Α	OH	H	HABA	3γ	Παρομομικίνη Ι	OH	CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	H
2δ	Βουτυροσίνη Β	H	OH	HABA	3δ	Παρομομικίνη ΙΙ	OH	H	CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>

Σχήμα 2 : Αμινογλυκοζίτες της 4,5-δι-υποκατεστημένης 2-δεοξυ-στρεπταμίνης.

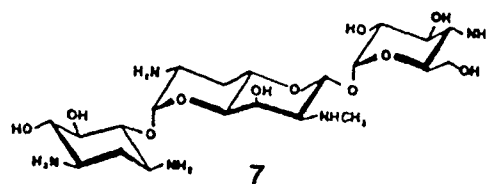


Αρ.Εν.	Όνομα	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
5α	Γενταμικίνη C <sub>1</sub>	OH	OH
5β	Γενταμικίνη C <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	OH
5γ	Γενταμικίνη C <sub>1a</sub>	NH <sub>2</sub>	H



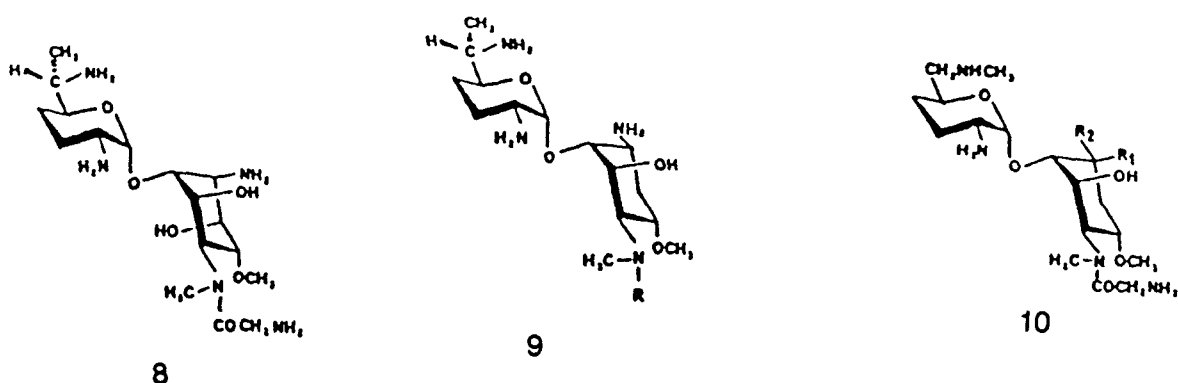
Αρ.Εν.	Όνομα	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
6α	Καναμικίνη Α	OH	OH
6β	Καναμικίνη Β	NH <sub>2</sub>	OH
6γ	Τομπραμικίνη	NH <sub>2</sub>	H

Σχήμα 3 : Αμινογλυκοζίτες της 4,6-δι-υποκατεστημένης 2-δεοξυ-στρεπταμίνης



**Απραμικίνη**

Σχήμα 4 : Μονο-υποκατεστημένη 2-δεοξυ-στρεπταμίνη



		R		
			R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Φορτιμυκίνη Α (8)	Σποραρισίνη Α(9α)	COCH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	H
	Σποραρισίνη Β(9β)	H	H	NH <sub>2</sub>

Σχήμα 5 : Αμινογλυκοζίτες 6-υποκατεστημένων 1,4-δι-αμινο-κυκλιτολών.

### 1.2.3 ΤΡΟΠΟΣ ΔΡΑΣΕΩΣ

Οι αμινογλυκοζίτες δρουν αναστέλλοντας την πρωτεϊνική σύνθεση των βακτηρίων με αποτέλεσμα το θάνατό τους. Για ορισμένους απ' αυτούς υπάρχουν πειραματικά αποτελέσματα<sup>19,20</sup> που συνηγορούν στην ύπαρξη και άλλων μηχανισμών δράσης, οι οποίοι όμως δεν έχουν πλήρως διευκρινιστεί.

Οι αμινογλυκοζίτες αναστέλλουν την πρωτεϊνική σύνθεση μετά από την αλληλεπίδρασή τους με μία ή περισσότερες ριβοσωματικές περιοχές σύνδεσης. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές συμβαίνουν στη διεπιφάνεια μεταξύ της μικρότερης και της μεγαλύτερης ριβοσωματικής υπομονάδας, περιοχή που περιλαμβάνει ειδικές πρωτεΐνες της μικρότερης ριβοσωματικής μονάδας (S3, S4, S5 και S12) και το λιγότερο μία πρωτεΐνη της μεγάλης ριβοσωματικής υπομονάδας (L6)<sup>21-25</sup>. Η στρεπτομυκίνη συνδέεται εκλεκτικά, γρήγορα, ισχυρά και αντιστρεπτά σε αναλογία 1:1 με την μικρότερη 30S ριβοσωματική υπομονάδα<sup>24,25</sup>. Η σύνδεση της στρεπτομυκίνης είναι εξαρτημένη από την S12 πρωτεΐνη, αν και η ενεργή σύνδεση δεν γίνεται με την πρωτεΐνη αυτή, αλλά με μια κοντινή περιοχή στις S3 και S5<sup>26,27</sup>. Οι άλλοι αμινογλυκοζίτες που έχουν εξεταστεί (περιλαμβανομένων της νεομυκίνης, της καναμυκίνης, της γενταμικίνης και της τομπραμυκίνης) δείχνουν ότι συνδέονται με περισσότερες ριβοσωματικές πλευρές σύνδεσης όχι μόνο στη μεγάλη αλλά και στη μικρότερη ριβοσωματική υπομονάδα και δείχνουν ακόμα να μην συσχετίζονται με τον τρόπο σύνδεσης της στρεπτομυκίνης με τη μικρότερη υπομονάδα<sup>26</sup>. Έτσι, η ακριβής πλευρά σύνδεσης των

αμινογλυκοζιτών διαφέρει μεταξύ των διαφόρων μελών και οδηγεί σε τουλάχιστον δύο διαφορετικά είδη ριβοσωματικής σύνδεσης, μία που αφορά την στρεπτομυκίνη και μία άλλη που αφορά τους άλλους αμινογλυκοζίτες.

Οι συνέπειες από την επίδραση των αμινογλυκοζιτών με τα ριβοσώματα είναι πολλές<sup>20</sup>. Οι δύο καλύτερα μελετημένες είναι η αναστολή της πρωτεϊνικής σύνθεσης και η λανθασμένη ανάγνωση του γενετικού κώδικα. Οι περισσότερες μελέτες για το μηχανισμό δράσης των αμινογλυκοζιτικών αντιβιοτικών έχουν γίνει στην στρεπτομυκίνη<sup>30,31</sup>, όπου αποδείχθηκε ότι οι αμινογλυκοζίτες επηρεάζουν την ορθότητα (ακρίβεια) της μετάφρασης. Η εύρεση του φαινομένου αυτού, της λανθασμένης δηλαδή ανάγνωσης του μηνύματος οδήγησε σε περαιτέρω έρευνα, όπου βρέθηκε ότι το φαινόμενο αυτό οφείλεται όχι μόνο σε μπλοκάρισμα των ενεργών πλευρών του ριβοσώματος αλλά και σε παραμόρφωσή του<sup>32</sup>. Έτσι οι παραμορφώσεις αυτές μπορούν να μικραίνουν ή να μεγαλώνουν την πιστότητα της μετάφρασης. Περαιτέρω έρευνα έδειξε ότι σημαντικό ρόλο ακόμα παίζουν και οι παράγοντες IF αφού τα ελεύθερα 70S ριβοσώματα είναι ανενεργά και κατά τη διάρκεια του μακρόκυκλου της πρωτεϊνοσύνθεσης χωρίζονται στις υπομονάδες 30S και 50S<sup>33</sup>. Τελευταίες μελέτες έδειξαν ότι η στρεπτομυκίνη όχι μόνο αναστέλλει την πρωτεϊνοσύνθεση αλλά είναι και η αιτία για την εξασθένιση της ακεραιότητας της κυτταρικής μεμβράνης<sup>34</sup> καθώς και ότι το φαινόμενο αυτό είναι συνδεδεμένο με τη δράση στο ριβόσωμα<sup>35</sup>.

Έτσι όσον αφορά τουλάχιστον την στρεπτομυκίνη ο τρόπος δράσης της συνοψίζεται στα εξής στάδια:

Πρώτον συνδέεται με μια ειδική πρωτεΐνη δέκτη (S12) στην υπομονάδα 30S του μικροβιακού ριβοσώματος.

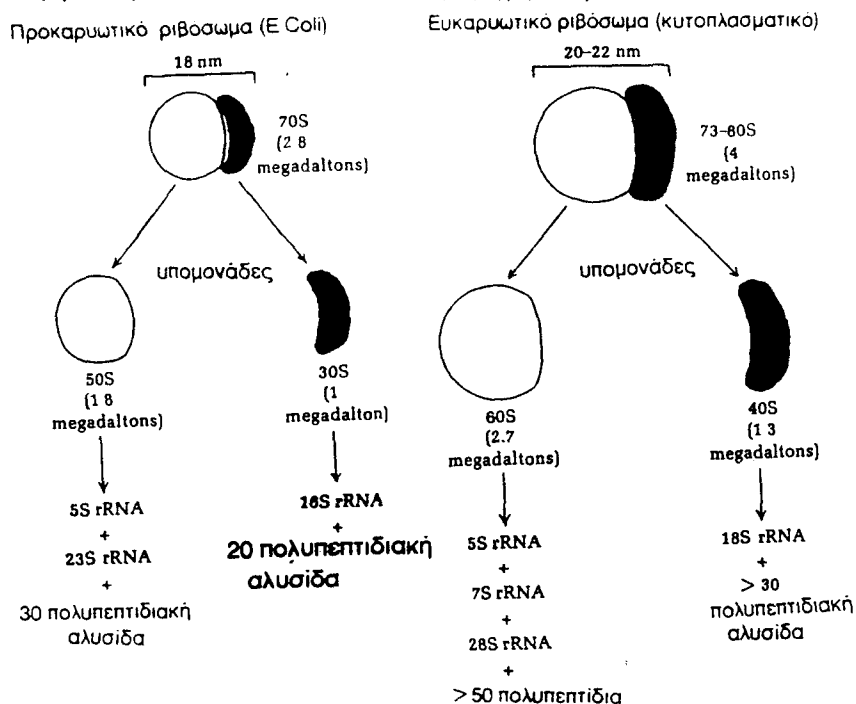
Δεύτερον το αμινογλυκοζιτικό αντιβιοτικό εμποδίζει τη φυσιολογική δράση του "συμπλέγματος έναρξης" του σχηματισμού πεπτιδίου (mRNA+φορμυλική μεθειονίνη+tRNA).

Τρίτον το μήνυμα του mRNA διαβάζεται λανθασμένα στην "περιοχή αναγνώρισης" του ριβοσώματος και έτσι εισάγεται στο πεπτιδίο εσφαλμένο αμινοξύ, με αποτέλεσμα μη λειτουργική πρωτεΐνη. Τέταρτον, έχουμε τη διάσπαση πολυσωμάτων και το διαχωρισμό τους σε "μονοσώματα", που είναι ανίκανα να συνθέτουν πρωτεΐνη. Αυτές οι δραστηριότητες εμφανίζονται λίγο-πολύ ταυτόχρονα και το γενικό αποτέλεσμα είναι συνήθως ένα μη αναστρέψιμο γεγονός, η εξόντωση του βακτηριακού κυττάρου<sup>8,31</sup>.

Παρ'όλες τις μελέτες που γίνονται εντατικά τα τελευταία χρόνια ο λεπτομερής μηχανισμός δράσης των υπολοίπων αντιβιοτικών της κατηγορίας αυτής δεν είναι απόλυτα γνωστός, έτσι ώστε να εντοπισθούν επακριβώς τα μέρη της πρωτεϊνοσυνθετικής συσκευής που είναι υπεύθυνα για την εξειδίκευση των αντιβιοτικών αυτών, πάντως το μέγεθος, οι υπομονάδες, η χημική σύσταση και η εξειδίκευση των



ριβοσομάτων των ευκαρυωτικών και προκαρυωτικών κυττάρων είναι αρκετά διαφορετικά, γεγονός που δικαιολογεί γιατί οι διάφοροι αντιμικροβιακοί παράγοντες της ομάδας αυτής χαρακτηρίζονται από μεγάλη εξειδίκευση σ'ότι αφορά το είδος των κυττάρων στα οποία δρουν (προκαρυωτικά ή ευκαρυωτικά). (σχήμα 6)



Σχήμα 6 : Προκαρυωτικό (E.Coli) και ευκαρυωτικό (κυτοπλασματικό) ριβόσωμα

#### 1.2.4 ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΑΜΙΝΟΚΥΚΛΙΤΟΛΩΝ

Οι αμινοκυκλιτόλες είναι ενώσεις εξαιρετικά δραστικές και παρουσιάζουν ευρύ φάσμα αντιμικροβιακής ενέργειας εναντίον των περισσοτέρων αεροβίων Gram(-) οργανισμών, σταφυλόκοκκων και Gram(-) βακκίλων<sup>11</sup>. Δυστυχώς η κλινική χρήση αυτών περιορίζεται δραστικά από την τοξικότητά τους. Ολοι οι αμινογλυκοζίτες εμφανίζουν τρία διαφορετικά είδη τοξικότητας αν και ποσοτικές διαφορές μεταξύ διαφορετικών αμινογλυκοζιτών υπάρχουν για κάθε μια από τις τρεις. Οι κυριώτερες τοξικές δράσεις τους είναι: νευροτοξικότητα, ωτοτοξικότητα και νευρομυϊκή παράλυση<sup>5,17</sup>. Κατά μέσο όρο μάλιστα 8-30% των ασθενών που λαμβάνουν αμινογλυκοζίτες παρουσιάζουν συμπτώματα νεφρο- ή ωτο- τοξικότητας<sup>36</sup>. Τα συμπτώματα της νεφροτοξικότητας είναι συνήθως μικρής ισχύος και αντιστρεπτά και εκλείπουν όταν παύσει η χορήγηση του φαρμάκου, δυστυχώς όμως η σοβαρή βλάβη που προκαλείται στην ακοή είναι μόνιμη<sup>37</sup>. Αυτό περιορίζει τη χρήση των αμινογλυκοζιτών, ενώ δίνει την αφορμή για τη σύνθεση ή το σχεδιασμό λιγότερο τοξικών παραγώγων. Σημαντική βοήθεια σ'αυτή τη κατεύθυνση αποτελεί η μελέτη των μοριακών και κυτταρικών μηχανισμών μέσω των οποίων οι αμινογλυκοζίτες προκαλούν τα συμπτώματα τοξικότητας<sup>38</sup>. Αν και οι λεπτομέρειες των

μηχανισμών που δημιουργούν την τοξικότητα δεν έχουν ακόμα διευκρινισθεί μια γενική μελέτη του μηχανισμού αυτού δείχνει ότι περνάει διαμέσου μιας αυξημένης αλληλεπίδρασης των πολυκατιοντικών αμινογλυκοζιτών, πολυαμινών, ασβεστίου και μαγνησίου, με την πολυανιοντική διφωσφορική φωσφατιδυλινοσιτόλη και την τριφωσφορική φωσφατιδυλινοσιτόλη<sup>17</sup>.

Όσο αφορά τώρα την νεφροτοξικότητα, όλοι οι αμινογλυκοζίτες την προκαλούν αν και υπάρχουν σημαντικές διαφορές στην έντασή της ανάμεσα στα διάφορα μέλη της οικογενείας αυτής. Ο μηχανισμός που οδηγεί στην νεφροτοξικότητα των αμινογλυκοζιτών περιλαμβάνει τη γρήγορη μεταφορά, την εκτεταμένη συσσώρευση και την πλεονασματική συγκράτηση των αμινογλυκοζιτών σε μια παρατεταμένη περίοδο του χρόνου. Ακόμα οι αμινογλυκοζίτες είναι υπεύθυνοι για την παραγωγή βιοχημικών φαινομένων στο μεταβολισμό των εγγύς σωληναριακών νεφρικών κυττάρων η οποία οδηγεί σε παθοφυσιολογικά φαινόμενα που συνδέονται με την καταστροφή των εγγύς σωληναριακών κυττάρων ελλιώνοντας την συνάρτηση δράσεως (διηθήσεως ούρων) των σπειροειδών τριχοειδών αγγείων του νεφρού<sup>17</sup>.

Οι αμινογλυκοζίτες όλοι είναι υπεύθυνοι για ωτοτοξικότητα. Αν και διαφορετικοί αμινογλυκοζίτες προκαλούν εκλεκτικά ακουστική ή προθαλάμια τοξικότητα στα πειραματόζωα, στους ανθρώπους όλοι οι αμινογλυκοζίτες προκαλούν και τις δύο τοξικές δράσεις. Η μη αντιστρεπτότητα της μάλιστα, την καθιστά σημαντικό μειονέκτημα στη χρήση των αμινογλυκοζιτών. Ο μηχανισμός της ωτοτοξικότητας περιλαμβάνει την εκλεκτική καταστροφή των εξωτερικών κυτταρικών χορδών του οργάνου του Corti, ειδικότερα όπως αυτή προσδιορίζεται στη βασική στροφή του<sup>39-42</sup>. Η κυτταρική καταστροφή συσχετίζεται με την συγκέντρωση των αμινογλυκοζιτών στα περιλύμφια και ενδολύμφια στα οποία βρίσκονται τα σχετικά κύτταρα. Οι αμινογλυκοζίτες εισάγονται και ελευθερώνονται στα περιλύμφια αργά σε σχέση με τη φαρμακοκινητική στο πλάσμα<sup>43</sup>. Το ενδολυμφικό επίπεδο τους αυξάνει και στη συνέχεια με αργότερο ρυθμό ελαττώνεται<sup>43</sup> έτσι ώστε τα κύτταρα που λούονται με αυτό το υγρό να μένουν εκτεθειμένα στον αμινογλυκοζίτη για μια μακριά περίοδο χρόνου μετά τη διακοπή χορήγησης του φαρμάκου. Τα βιοχημικά φαινόμενα που σχετίζονται με την αμινογλυκοζιτική ωτο-τοξικότητα πρέπει να είναι διπλά: αρχικά ένα ενδιάμεσο φαινόμενο που είναι αντιστρεπτό με το  $Ca^{2+}$  και κατόπιν ένα μεταγενέστερο φαινόμενο που αυξάνει την σύνδεση του αμινογλυκοζιτη με τη διφωσφορική φωσφατιδυλ-ινοσιτόλη<sup>44,45</sup>. Η αναστολή της Na-K-ATPase έχει επίσης βρεθεί<sup>46</sup>. Αυτή η αναστολή οδηγεί σε αλληλεπίδρασεις στα ενδολυμφικά ή περιλυμφικά ιόντα βαθμιαία με μετέπειτα φαινόμενα ακεραιότητας των κοχλιακών (cochlear) κυττάρων.

Τέλος όσον αφορά τη νευρομυϊκή παράλυση, όλοι πάλι οι αμινογλυκοζίτες δημιουργούν παρατηρήσιμη νευρομυϊκή παράλυση, εντούτοις το φαινόμενο αυτό είναι

ασθενές και παρατηρείται μόνο όταν χρησιμοποιηθούν μεγάλες δόσεις αμινογλυκοζιτών, πλην όμως δεν παύει να είναι σημαντικό λόγω της σοβαρότητας της παρενέργειας αυτής. Ο μηχανισμός που είναι υπεύθυνος σχετίζεται με την αναστολή της απελευθέρωσης της ακετυλο-χολίνης καθώς και με τη δέσμευση των υποδοχέων της<sup>47-49</sup>.

Αναφέρουμε ακόμα ότι πιθανόν οι αμινογλυκοζίτες να είναι υπεύθυνοι και για την αναστολή του μυοκαρδίου, πλην όμως οι κλινικές παρατηρήσεις στο θέμα αυτό συνεχίζονται<sup>50-52</sup>.

Μερικά ακόμα συμπληρωματικά στοιχεία που αφορούν τους βιοχημικούς μηχανισμούς που προκαλούν την τοξικότητα των αμινογλυκοζιτών είναι: η σύνδεση των αμινογλυκοζιτών στη διπλοστοιβάδα της κυτταρικής μεμβράνης η οποία είναι σημαντική για την τοξικότητα των αμινογλυκοζιτών για τα νεφρά και τα άλλα κύτταρα. Οι περισσότερες φυσικές μεμβράνες περιέχουν φορτισμένα φωσφολιπίδια, όπως την φωσφατιδυλοσερίνη και το φωσφατιδικό οξύ. Η φωσφατιδυλοσερίνη είναι το κύριο όξινο φωσφολιπίδιο των μεμβρανών των λυσοσωμάτων και η ηλεκτροστατική σύνδεση της γενταμικίνης μ' αυτό το λιπίδιο έχει αποδειχθεί<sup>53</sup>. Τα φωσφολιπίδια αυτά καταβολίζονται από φωσφολιπάσες A1 και A2. Με την προσθήκη των αμινογλυκοζιτών έχουμε αναστολή της δράσης των A1 και A2 και συσσώρευση των φωσφολιπιδίων στην εξωτερική μεμβράνη των κυττάρων<sup>53-55</sup>. Η αναστολή αυτή βρέθηκε ότι εξαρτάται α) από τη φύση των όξινων φωσφολιπιδίων, που επηρεάζει την ενέργεια αλληλεπίδρασης (σύνδεση με τα αρνητικά φωσφολιπίδια) και τη διαθεσιμότητα του φαρμάκου στην υδατική φάση και β) από τον προσανατολισμό του φαρμάκου που σχετίζεται με τη χημική δομή-διαμόρφωση του μορίου<sup>56</sup>.

Η λυσοσωματική φωσφολιπάση εκτός του ότι είναι απαραίτητη για τον καταβολισμό των φωσφολιπιδίων (ιδίως των τοξικών), παίζει σημαντικό ρόλο και στην αναστροφή της μεμβράνης<sup>57</sup>.

Το ότι η αναστολή της δράσης της φωσφολιπάσης αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την εμφάνιση της τοξικότητας, φαίνεται καλύτερα από τη μελέτη δύο τέτοιων αμινογλυκοζιτικών αντιβιοτικών, της γενταμικίνης και της αμικασίνης<sup>53</sup>. Ετσι η γενταμικίνη που συνδέεται πιο ισχυρά από την αμικασίνη με τα φωσφολιπίδια της διπλοστοιβάδας, με αποτέλεσμα να προκαλεί πλήρη αναστολή της δράσης της φωσφολιπάσης, είναι περισσότερο τοξική από την αμικασίνη. Ετσι αποδεικνύεται ότι οι λυσοσωματικές επιδράσεις είναι ένα καθοριστικό στάδιο στη τοξικότητα των αμινογλυκοζιτών.

Συνοπτικά αναφερόμενοι στα αποτελέσματα των ερευνών αυτών θα επισημάνουμε ότι:

α) το πιο κρίσιμο στάδιο είναι η εκλεκτική συσσώρευση του αμινογλυκοζιτη στο νεφρικό περίβλημα και στον ιστό του έσω ωτός και η αλληλεπίδραση με τα όξινα φωσφολιπίδια. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές χαρακτηρίζονται από βιοχημικές και βιοφυσικές ιδιότητες οι οποίες δείχνουν ότι το φάρμακο σταθεροποιείται κυρίως με ηλεκτροστατικές επιδράσεις με τις πολικές κεφαλές των ομάδων αυτών.

β) Κατά τη σύνδεση με την αρνητικά φορτισμένη φωσφολιπιδιακή διπλοστοιβάδα, αναστέλλεται η ενεργότητα της λυσοσωματικής φωσφολιπάσης. Αν και πολλές μελέτες έχουν γίνει και σ' αυτό τον τομέα, το πώς η επίδραση του φαρμάκου με τη λιπαρή στοιβάδα επιδρά στην αναστολή της φωσφολιπάσης δεν έχει ακόμα βρεθεί.

γ) Σημαντικό στοιχείο είναι και ο βαθμός διείσδυσης του αμινογλυκοζιτη στη λιπαρή στοιβάδα. Όσο αυξάνει ο βαθμός αυτός τόσο μεγαλύτερη είναι και η αναστολή.

Έτσι η τοξική δράση των αμινογλυκοζιτών μπορεί να περιγραφεί σε 3 στάδια:

- α) η είσοδος (εισαγωγή) των αντιβιοτικών στα κύτταρα,
- β) η διαλυσοσωματική συσσώρευση λιπιδίων και
- γ) η νέκρωση των κυττάρων<sup>54</sup>.

#### 1.2.5 ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΟΥΣ ΑΜΙΝΟΓΛΥΚΟΖΙΤΕΣ

Η ευρεία χρησιμοποίηση των αμινογλυκοζιτών οφείλεται σε ένα ποσοστό και στην εκλεκτική τοξικότητα τους ενάντια στα βακτηριακά σε αντίθεση με τα ευκαρυωτικά (που περιλαμβάνουν και τα ανθρώπινα) κύτταρα. Αυτή η εκλεκτική τοξικότητα στα βακτηριακά κύτταρα ή αλλιώς η εκλεκτική ανθεκτικότητα των ευκαρυωτικών κυττάρων οφείλεται στην ικανότητα των κυττάρων των περισσότερων ανθρώπινων οργάνων να μεταφέρουν τους αμινογλυκοζιτες και στην ανικανότητα των αμινογλυκοζιτών να αντιδρούν με τα ευκαρυωτικά ριβοσώματα<sup>21</sup>. Αν και τα μιτοχονδριακά ριβοσώματα είναι ευαίσθητα στους αμινογλυκοζιτες, τα μιτοχόνδρια δεν επιτρέπουν τη διόδο τους και έτσι η μιτοχονδριακή πρωτεϊνική σύνθεση συνεχίζεται *in vivo*.

Η βακτηριακή ανθεκτικότητα στους αμινογλυκοζιτες λαμβάνει χώρα με τρεις τουλάχιστον διαφορετικούς μηχανισμούς:

- 1) Ριβοσωματική ανθεκτικότητα με ανεπάρκεια του ριβοσωματικού δέκτη (χρωμοσωματικός μεταλλάκτης), π.χ. η πρωτεΐνη S12 στην υπομονάδα 30S του βακτηριακού ριβοσώματος χρησιμοποιείται ως δέκτης για τη σύνδεση της στρεπτομυκίνης. Η μετάλλαξη στο γονίδιο που ελέγχει αυτή τη πρωτεΐνη έχει σαν αποτέλεσμα την αντοχή στην στρεπτομυκίνη<sup>8,28</sup>.
- 2) Ενζυμική μετατροπή (καταστροφή) του φαρμάκου<sup>58,59</sup>.
- 3) Έλλειψη διαπερατότητας από το μόριο του φαρμάκου και έλλειψη ενεργής μεταφοράς στο κύτταρο. Τα αναερόβια βακτήρια είναι συχνά ανθεκτικά στα αμινογλυκοζιτικά

αντιβιοτικά, γιατί η μεταφορά μέσω της μεμβράνης είναι διεργασία που απαιτεί ενέργεια και είναι οξυγονοεξαρτημένη.<sup>8,17</sup>

Ο συνήθης και πλέον μελετημένος τρόπος αντίστασης ενάντια στις αμινοκυκλιτόλες οφείλεται σε πολλές και διαφορετικές ενζυμικές τροποποιήσεις, που περιλαμβάνουν *O*-φωσφορυλίωση, *O*-αδενυλίωση και *N*-ακετυλίωση<sup>5,6,13</sup>. Δώδεκα διαφορετικές ενζυμικές μετατροπές έχουν βρεθεί μέχρι σήμερα σε κλινικά απομονώσιμα Gram(+) και Gram(-) βακτήρια (πίνακας 4).

Στον πίνακα 4 δίνονται οι μετατροπές που γίνονται από τα ένζυμα και ανενεργοποιούν μερικά από τα πιο συχνά κλινικά χρησιμοποιούμενα αμινογλυκοζιτικά αντιβιοτικά.

Οι μετατροπές αυτές δεν συμβαίνουν όλες ταυτόχρονα αν και έχουν βρεθεί ανθεκτικά βακτήρια που κάνουν μέχρι και 4 διαφορετικές μετατροπές ταυτόχρονα<sup>13</sup>.

Πίνακας 4: Ενζυμα-μετατροπές αμινογλυκοζιτών που βρέθηκαν σε καλλιέργειες ανθεκτικών στελεχών <sup>13</sup>		
Μετατροπή	Ένζυμο	Τυπικά υποστρώματα*
Ακετυλίωση	AAC(2')	Γενταμικίνη, τομπραμικίνη
	AAC(6')	Τομπραμικίνη, καναμικίνη, αμικασίνη, νεομικίνη
	AAC(3)	Γενταμικίνη, τομπραμικίνη, καναμικίνη
Αδενυλίωση	AAD(4')	Αμικασίνη, τομπραμικίνη, καναμικίνη
	AAD(2'')	Γενταμικίνη, τομπραμικίνη, καναμικίνη
	AAD(3'')	Στρεπτομικίνη, σπεκτινομικίνη
	AAD(6)	Στρεπτομικίνη
Φωσφορυλίωση	APH(3')	Καναμικίνη, νεομικίνη
	APH(3'')	Στρεπτομικίνη
	APH(2'')	Γενταμικίνη
	APH(5'')	Ριβοσταμικίνη

\* Δεν αναφέρονται όλα τα υποστρώματα. Κάθε ένζυμο εμφανίζεται σε ποικιλία μορφών με διαφορετικό εύρος υποστρωμάτων.

Παρόλες τις μελέτες ο ακριβής βιοχημικός μηχανισμός της αντίστασης δεν είναι ακόμα γνωστός και μόνο ορισμένα χαρακτηριστικά του έχουν προσδιορισθεί<sup>13</sup>.

1) Η είσοδος του αμινογλυκοζιτη στο κύτταρο από το ειδικό πολυαμινικό σύστημα μεταφοράς παίζει σημαντικό ρόλο στην ανθεκτικότητα των μικροβίων.

2) Η κάθε μετατροπή αμινογλυκοζιτη συνδέεται με τη δράση κάποιου ενζύμου (ένζυμο μετατροπίας)

3) Οι ενζυμικές μετατροπές μέσω των οποίων εκδηλώνεται η ανθεκτικότητα στους αμινογλυκοζιτες είναι κωδικοποιημένη σε πλασμίδια και κατά συνέπεια μπορεί να μεταφερθεί από στέλεχος σε στέλεχος, αλλά και ανάμεσα σε διαφορετικά γένη<sup>13</sup> (μεταφορά γενετικού υλικού).

Η μελέτη του ρόλου των ενζύμων-μετατροπών στην ανθεκτικότητα των βακτηρίων στα αντιβιοτικά διευκόλυσε σημαντικά το έργο της σύνθεσης και ημισύνθεσης αντιβιοτικών, αφού περιόρισε την αναζήτηση νέων δραστικών αμινογλυκοζιτών σε συγκεκριμένο πλαίσιο: οι νέες ουσίες θα έπρεπε να είναι ικανές να αποφύγουν συγκεκριμένες ενζυμικές μετατροπές.

Για το λόγο αυτό θα δούμε παρακάτω αναλυτικότερα το ρόλο -των ενζύμων-μετατροπής.

## 1.2.6 ENZYMA ΜΕΤΑΤΡΟΠΗΣ

### 1) ΓΕΝΙΚΑ

Μελέτες έδειξαν ότι η ανθεκτικότητα στην πενικιλίνη οφείλεται στις β-λακταμάσες<sup>60-62</sup> και στη χλωραμφενικόλη στις ακετυλοτρανσφεράσες της χλωραμφενικόλης<sup>62,63</sup>. Ο μηχανισμός της αντίστασης αυτών των φαρμάκων επιφέρει την πλήρη αποτοξίνωσή τους στην καλλιέργεια, αφού για τα στελέχη αυτά είναι καταστροφική η αύξηση της συγκέντρωσης του φαρμάκου πάνω από μια ελάχιστη συγκέντρωση<sup>64</sup>.

Από την άλλη πλευρά η ανθεκτικότητα στους αμινογλυκοζιτες οφείλεται στα ένζυμα-μετατροπής που δε δείχνουν τόσο μεγάλη ευαισθησία στους αμινογλυκοζιτες<sup>64</sup>. Έτσι ο μηχανισμός αντίστασης από τα αμινογλυκοζιτικά ένζυμα-μετατροπής δεν επιτρέπει πλήρη αποτοξίνωση των αντιβιοτικών.

Τα αμινογλυκοζιτικά ένζυμα-μετατροπής που είναι κωδικοποιημένα στους R-παράγοντες των Gram(-) βακτηρίων βρίσκονται στο χώρο μεταξύ της εσωτερικής και εξωτερικής μεμβράνης του κυττάρου, στον περιπλασματικό χώρο<sup>65</sup>. Αυτό βρέθηκε με ανάλυση των πρωτεϊνών που απεκρίθησαν όταν τα ανθεκτικά στελέχη υποβλήθηκαν σε σοκ ωσμωτικής πίεσης (osmotic shock treatment). Έτσι ωσμωτικό σοκ κυττάρων που κωδικοποιούν την 3-N-ακετυλοτρανσφεράση των αμινογλυκοζιτών, ελευθέρωσε 92% των διαθέσιμων ενζύμων μαζί με τα κύτταρα. Όμως δεν μπορούμε να πούμε με βεβαιότητα ότι αυτά τα ένζυμα είναι πραγματικές περιπλασμικές πρωτεΐνες<sup>65</sup>, αφού δεν ελευθερώνονται από λυσοζύμες σφαιροπλάστες και δεν ελευθερώνονται μέσα στο

"περιπλαστικό δίκτιο" των μεταλλαγμένων βακτηρίων (mutants). Είναι πιθανόν ότι τα αμινογλυκοζιτικά ένζυμα-μετατροπής είναι διαθέσιμα στην εσωτερική μεμβράνη των κυττάρων, όπου υπάρχουν διαθέσιμα και μερικά υποστρώματα τους, όπως το ακέτυλο συνένζυμο A και το ATP<sup>66</sup>.

Ο Williams απομόνωσε το AAC(3)-I και εκτίμησε ότι κάθε κύτταρο περιέχει κατά μέσο όρο 1500 μόρια του ενζύμου<sup>66</sup>. Αν και δεν έχουν βρεθεί παρόμοια δεδομένα για άλλα ένζυμα-μετατροπής, μπορούμε γενικά να μιλήσουμε για ένα ομοιόμορφο μηχανισμό αντίστασης απ'όλα αυτά τα ένζυμα. Έτσι αν και τα ένζυμα είναι παρόντα σε χαμηλή συγκέντρωση στα κύτταρα, η ανεπαρκής μεταφορά του αμινογλυκοζιτικού συσχετίζεται με την υψηλή συγγένεια των ενζύμων έτσι ώστε να γίνεται δυνατή η μετατροπή παρά το πρόβλημα της μεταφοράς του<sup>67</sup>. Σχετικά λίγα ένζυμα-μετατροπής έχουν απομονωθεί και χαρακτηριστεί. Φαίνεται όμως ότι τα ένζυμα-μετατροπής είναι μικρές πρωτεΐνες. Το μοριακό βάρος του APH(3')-II είναι 25000<sup>68</sup>, το APH(3')-III υφίσταται σαν μονομερές με M.B 29000 αλλά και σαν διμερές με M.B 58000<sup>62</sup>, και το AAD(2'') έχει M.B 35000<sup>69</sup>.

Τα υποστρώματα των αμινογλυκοζιτικών ενζύμων-μετατροπής είναι το ATP ή το ακέτυλο-CoA, ένα δισθενές κατιόν και οι αμινογλυκοζιτικές<sup>69</sup>. Αρκετά ένζυμα αναστέλλονται από αυτά τα αντιβιοτικά υποστρώματα<sup>66,69</sup> (AAD(2''), APH(3')-II, κ.ά.).

## 2) ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ENZYΜΩΝ-ΜΕΤΑΤΡΟΠΕΩΝ ΤΩΝ ΑΜΙΝΟΓΛΥΚΟΖΙΤΩΝ

Ενας αριθμός τρόπων προσδιορισμού είναι διαθέσιμος για τη μελέτη των αμινογλυκοζιτικών ενζύμων-μετατροπής. Οι προσδιορισμοί χρησιμοποιούνται για την ανακάλυψη και μελέτη των ίδιων των ενζύμων, όπως η μελέτη της κινητικής των σχετικών αντιδράσεων, αλλά είναι χρήσιμοι και στη γρήγορη διερεύνηση της συγκέντρωσης των αντιβιοτικών στους ορούς. Οι προσδιορισμοί που κυρίως χρησιμοποιούνται είναι οι εξής: α) μικροβιολογική μέθοδος<sup>62</sup>, β) φωσφοκυτταρίνης χαρτιού<sup>62,70</sup> και γ) φασματοφωτομετρική μέθοδος<sup>62</sup>. Η κάθε μέθοδος έχει τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα της, που η σύγκρισή τους όμως μας οδηγεί στο συμπέρασμα, ότι η μέθοδος προσδιορισμού με το χαρτί της φωσφοκυτταρίνης είναι πιο ευαίσθητη και πιο κατάλληλη για τα αμινογλυκοζιτικά ένζυμα-μετατροπής.

## 3) ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΤΩΝ ENZYΜΩΝ-ΜΕΤΑΤΡΟΠΗΣ

Λίγα είναι γνωστά για την προέλευση ή τη σχέση των αμινογλυκοζιτικών ενζύμων-μετατροπής μεταξύ τους. Διάφορες μελέτες έδειξαν ότι υπάρχει μικρή σχέση μεταξύ της δομής και της λειτουργικής σχέσης αυτών<sup>62</sup>. Υπολογίζεται ότι αυτά παράγονται από τα στελέχη των βακτηρίων που παράγουν και τα αντιβιοτικά<sup>71-73</sup>. Αυτό επιβεβαιώνεται από το ότι έχουν πολλά κοινά υποστρώματα και καταλύουν τον ίδιο τύπο αντίδρασης.

Ο ρόλος των αμινογλυκοζιτικών ενζύμων-μετατροπής στα στελέχη που παράγουν αντιβιοτικό είναι άγνωστος. Παρ'όλα αυτά μπορούμε να υποθέσουμε ότι ή αδρανοποιούν

τους αμινογλυκοζίτες ή εμποδίζουν την είσοδό τους μετά την απέκκριση τους στο κύτταρο ή ακόμα το ένζυμο-μετατροπής καταλύει το σχηματισμό ενός εδιαμέσου στη βιοσύνθεση του αντιβιοτικού<sup>62</sup>. Τελικά αυτό που συμβαίνει, πρέπει να περιλαμβάνει και τους 3 αυτούς ρόλους. Μπορούμε να φανταστούμε ότι τα αμινογλυκοζιτικά ένζυμα-μετατροπής παίζουν κάποιο ρόλο στη βιοσύνθεση ή στην ανθεκτικότητα στο αντιβιοτικό, εξαρτώνται όμως και από άλλους παράγοντες.

Τα αμινογλυκοζιτικά ένζυμα-μετατροπής έχουν απομονωθεί από πολλά διαφορετικά βακτηριακά γένη, που περιέχουν και τα Gram(+) και (-) στελέχη. Ο πίνακας 5 δείχνει τις τάξεις των αμινογλυκοζιτικών ενζύμων-μετατροπής που βρέθηκαν στα Gram(+) και (-) βακτήρια που δεν παράγουν αντιβιοτικό και στα Gram(-) βακτήρια που παράγουν αντιβιοτικό.

Πίνακας 5 Προέλευση των αμινογλυκοζιτικών ενζύμων - μετατροπής <sup>13</sup>			
Ενζυμο	Gram +	Gram-	Gram+ που παράγουν αντιβιοτικό
<b>Φωσφοτρανσφεράσες</b>			
APH(6)	+	-	+
APH(3')	+	+	+
APH(2'')	-	+	-
APH(3'')	+	+	+
APH(5'')	+	-	-
<b>Νουκλεοτιδυλοτρανσφεράσες</b>			
AAD(6)	-	+	-
AAD(4')	-	+	-
AAD(2'')	+	;	-
AAD(3'')(9)	+	+	-
<b>Ακετυλοτρανσφεράσες</b>			
AAC(3)	+	;	+
AAC(2')	+	-	+
AAC(6')	+	+	+

+ ) Παρουσία ενζύμου, - ) Απουσία ενζύμου, ; ) προκαταρκτικές έρευνες έδειξαν την παρουσία του ενζύμου το οποίο όμως δεν έχει χαρακτηριστεί ακόμα



#### 4) ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΤΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ-ΜΕΤΑΤΡΟΠΗΣ

Επειδή υπάρχουν αρκετά ένζυμα που τροποποιούν το ίδιο αντιβιοτικό σε διαφορετικές θέσεις ή διαφορετικά αντιβιοτικά στην ίδια θέση, είναι δύσκολο να τα ονομάσουμε με βάση το υπόστρωμα και να γίνει η διαίρεσή τους σε γενικές υποκατηγορίες με βάση αυτό το όνομα. Τα αμινογλυκοζιτικά ένζυμα-μετατροπής χωρίζονται με βάση το μηχανισμό τροποποίησης και τη θέση που τροποποιούν στο αντιβιοτικό<sup>62</sup>. Έτσι έχουμε:

α) αμινογλυκοζιτικά ένζυμα-μετατροπής που προκαλούν ακετυλίωση (AAC). Τα αμινογλυκοζιτικά ένζυμα ακετυλίωσης καταλύουν τη μεταφορά της ακετυλοομάδας από το ακετυλο-CoA σε μια αμινομάδα του αντιβιοτικού. Τα ένζυμα αυτά τροποποιούν μόνο τους αμινογλυκοζίτες που έχουν στο μόριο τους την 2-DOS. Οι αμινογλυκοζιτικές N-ακετυλοτρανσφεράσες AAC χωρίζονται σε 3 ομάδες AAC(6'), AAC(3), AAC(2') (βλ.σχ.7 σελ.31).

Οι υποκατηγορίες αυτές περιέχουν μέλη που κάνουν ακριβώς την ίδια διεργασία, σε υποστρώματα όμως ευρύτερα. Για παράδειγμα: στις N-ακετυλοτρανσφεράσες στην υποομάδα AAC(3') βρέθηκε αρχικά ότι το ένζυμο AAC(3')-I που απομονώθηκε από τη *Pseudomonas aeruginosa*<sup>66,74</sup> που έκανε ακετυλίωσεις με υποστρώματα τη γενταμικίνη C και την σισομικίνη, αλλά δεν ακετυλίωνε υποστρώματα όπως η τομπραμικίνη, οι καναμικίνες A,B,C και η γενταμικίνη A. Αργότερα λοιπόν ανακαλύφθηκε το AAC(3')-III που είχε τα ίδια περίπου χαρακτηριστικά με το AAC(3)-I, αλλά που ακετυλίωνε υποστρώματα όπως η τομπραμικίνη και οι καναμικίνες. Το ένζυμο αυτό προήλθε με μετάλλαξη από το AAC(3')-I<sup>75</sup>. Οσο όμως δημιουργούνται δομικά ανάλογα αυτών των ενζύμων τόσο και παράγονται νέες υποκατηγορίες αυτών των υποομάδων, αφού προστίθενται νέα στελέχη ανθεκτικά στους καινούργιους αμινογλυκοζίτες.

β) αμινογλυκοζιτικά ένζυμα-μετατροπής που προκαλούν αδενυλίωση (AAD). Τα ένζυμα αυτά χρησιμοποιούν ATP ή άλλα νουκλεοτίδια σαν υποστρώματα στις ενζυμικές τροποποιήσεις των υδροξυλομάδων στους αμινογλυκοζίτες. Αυτά τα ένζυμα αποτελούν μια σημαντική ομάδα αντίστασης και βρίσκονται και στα Gram(-) και στα Gram(+) βακτήρια. Εδώ οι υποομάδες είναι AAD(3'), AAD(9), AAD(6), AAD(2'') και AAD(4')<sup>62</sup>.

γ) αμινογλυκοζιτικά ένζυμα-μετατροπής που προκαλούν φωσφορυλίωση (APH). Τα φωσφορυλιωτικά ένζυμα είναι πιθανόν τα πιο ευρέως διαδεδομένα ένζυμα-μετατροπής. Εδώ έχουμε: APH(3''), APH(2''), APH(6), APH(3')<sup>62</sup>.

## 5) Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΑΜΙΝΟΓΛΥΚΟΖΙΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ-ΜΕΤΑΤΡΟΠΗΣ ΣΤΗΝ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΟΥΣ ΑΜΙΝΟΓΛΥΚΟΖΙΤΕΣ

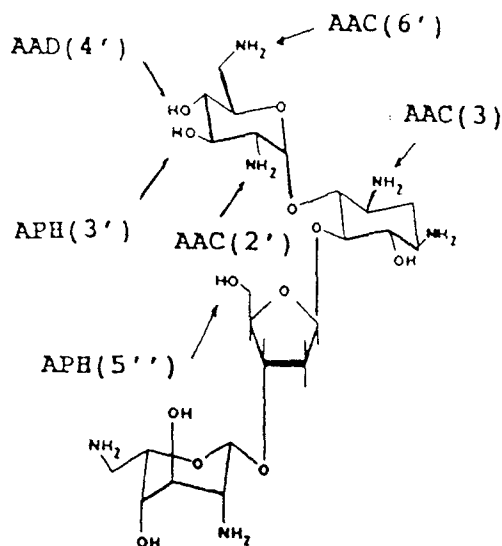
Ο μηχανισμός με τον οποίο τα αμινογλυκοζιτικά ένζυμα-μετατροπής μεσολαβούν στην ανθεκτικότητα των αμινογλυκοζιτικών αντιβιοτικών στα βακτήρια παραμένει αδιευκρίνιστος. Λίγα είναι γνωστά για την επίδραση των φαρμάκων στα ευαίσθητα κύτταρα. Αποδείχθηκε ότι η μεταφορά των αμινογλυκοζιτών στο κύτταρο είναι ενεργητική (καταναλώνει ενέργεια) και έχει ως προϋπόθεση τις κανονικές ενεργειακές λειτουργίες των βακτηριακών κυτταρικών μεμβρανών. Το αποτέλεσμα αυτό προέρχεται από μελέτη μεταλλαγμένων στελεχών και αναστολέων της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης ή συνδέονται με τη σύνθεση του ATP<sup>76,77</sup>. Με μια σειρά μελετών ο Bryan και οι συνεργάτες του<sup>67,76,78</sup> στήριξαν αυτή την αντίληψη για τους αμινογλυκοζιτες, αλλά ο βιοχημικός μηχανισμός παραμένει για εξερεύνηση. Αρκετά πρότυπα για το μηχανισμό των πλασμιδίων-μεσολαβητών της αντίστασης στους αμινογλυκοζιτες έχουν αναφερθεί. Αφού μόνα τους τα αμινογλυκοζιτικά ένζυμα-μετατροπής είναι απαραίτητα και επαρκή για την απόδειξη της αντίστασης, μπορούμε να υποθέσουμε ότι η μετατροπή των αντιβιοτικών με Ο-φωσφορυλίωση, Ο-αδενυλίωση και Ν-ακετυλίωση γίνεται με σκοπό την παρεμπόδιση της μεταφοράς του φαρμάκου στο εσωτερικό του κυττάρου. Ο Nordstrom και οι συνεργάτες του μάλιστα υποστήριξαν ότι η ταχύτητα μετατροπής του αντιβιοτικού είναι ίση με την αργή ταχύτητα της εισόδου του φαρμάκου, εμποδίζοντας έτσι την είσοδο στο κύτταρο αναλλοίωτου φαρμάκου<sup>79</sup>.

Όμως το ότι τα αμινογλυκοζιτικά αντιβιοτικά δεν αδρανοποιούνται (εκτός από ορισμένα ανθεκτικά στην στρεπτομυκίνη στελέχη, όπου το φάρμακο αδρανοποιείται στο μέσο καλλιέργειας) ή δεν είναι τοξικά στο μέσο παραγωγής τους και τα ανθεκτικά στελέχη συνεχίζουν να αναπτύσσονται κανονικά σε υψηλή συγκέντρωση άθικτου αντιβιοτικού, δείχνει ότι η ανθεκτικότητα σ'αυτά τα αντιβιοτικά πιθανόν να πραγματοποιείται από την αδρανοποίηση του αντιβιοτικού (δηλαδή με την παρεμπόδιση σύνδεσης του με το ριβόσωμα)<sup>80</sup>.

Είναι δύσκολο να γίνει σαφής διάκριση μεταξύ αυτών των δύο πιθανοτήτων. Εξάλλου η πληθώρα των αμινογλυκοζιτικών ενζύμων-μετατροπής που είναι γνωστά στα διάφορα βακτηριακά γένη, μας κάνει να πιστεύουμε ότι δε δρουν όλα με ένα μηχανισμό.

Ένα ακόμη σημαντικό σημείο που πρέπει να τονίσουμε και που αφορά και άμεσα τον σχεδιασμό ημισυνθετικών αντιβιοτικών, είναι ότι πολλές από τις ομάδες που τροποποιούν τα ένζυμα αυτά παίζουν και σημαντικό ρόλο στην αντιμικροβιακή δράση του φαρμάκου που τα περιέχει<sup>81</sup>. Υπάρχουν πολλά αμινογλυκοζιτικά ένζυμα-μετατροπής και πολλοί αμινογλυκοζιτες είναι υποστρώματα για περισσότερα από ένα ένζυμα. Όπως φαίνεται στο σχήμα 7 η νεομυκίνη είναι διαθέσιμη για ενζυμικές τροποποιήσεις σε 6 διαφορετικές θέσεις.

Ετσι, ενώ δεν είναι δύσκολο να παρασκευστούν μπλοκαρισμένες ημισυνθετικά ενώσεις που να αποφεύγουν τις ενζυμικές μετατροπές, αυτό δεν αρκεί, γιατί οι ενώσεις αυτές μπορεί να μην έχουν αντιμικροβιακή δράση.



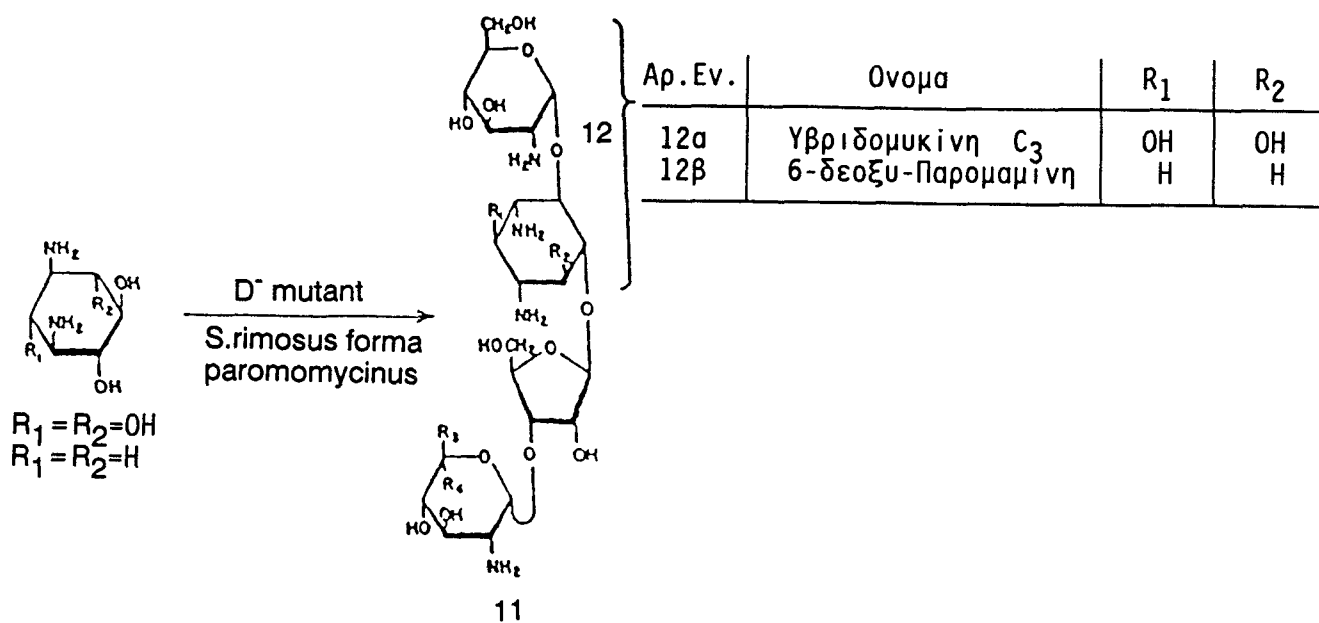
Σχήμα 7 : Δομικές μετατροπές που υφίσταται η νεομικίνη Β από ενζυμικώς ανθεκτικά βακτήρια

## 1.2.7 ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΑΜΙΝΟΚΥΚΛΙΤΟΛΙΚΩΝ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ

### 1.2.7.α ΓΕΝΙΚΑ

Τις τελευταίες δεκαετίες πολλές εργασίες έχουν γίνει πάνω στην τροποποίηση της δομής των αντιβιοτικών, έτσι ώστε να έχουμε στη διάθεση μας "καλύτερα" αντιβιοτικά (λιγότερο τοξικά και περισσότερο δραστικά).

Το 1969 πρώτος ο Rinehart παρασκεύασε τροποποιημένα αντιβιοτικά<sup>82</sup>, που τα ονόμασε "υβριδομυκίνες", με τη νέα τεχνική της βιομετατροπής. Οι υβριδομυκίνες ήταν ανάλογα της νεομικίνης όπου η 2-DOS είχε αντικατασταθεί με τη στρεπταμίνη ή τη 2-επι στρεπταμίνη (σχήμα 8). Η βιομετατροπή αυτή καλείται "μουτασύνθεση" και σήμερα χρησιμοποιείται ευρέως για την παρασκευή νέων αντιβιοτικών. Εκτός όμως από τη μουτασύνθεση, υπάρχουν άλλες δύο τεχνικές που μπορούν να μας οδηγήσουν στην σύνθεση νέων αντιβιοτικών, αυτές είναι: η ολική σύνθεση αντιβιοτικών που περιέχουν αμινοκυκλιτόλες γνωστής δομής και η ημισύνθεση που είτε περιορίζεται στη χημική μετατροπή ενός φυσικού αντιβιοτικού ή στην πλέον επίπονη χημική σύνθεση ενός επιθυμητού αναλόγου από τμήμα φυσικού αντιβιοτικού.



Αρ. Εν.	Όνομα	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
11α	Υβριδομυκίνη C <sub>1</sub>	OH	OH	H	CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>
11β	Υβριδομυκίνη C <sub>2</sub>	OH	OH	CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	H
11γ	6-δεοξυ-παρομομυκίνη I	H	H	H	CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>
11δ	6-δεοξυ-παρομομυκίνη II	H	H	CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	H

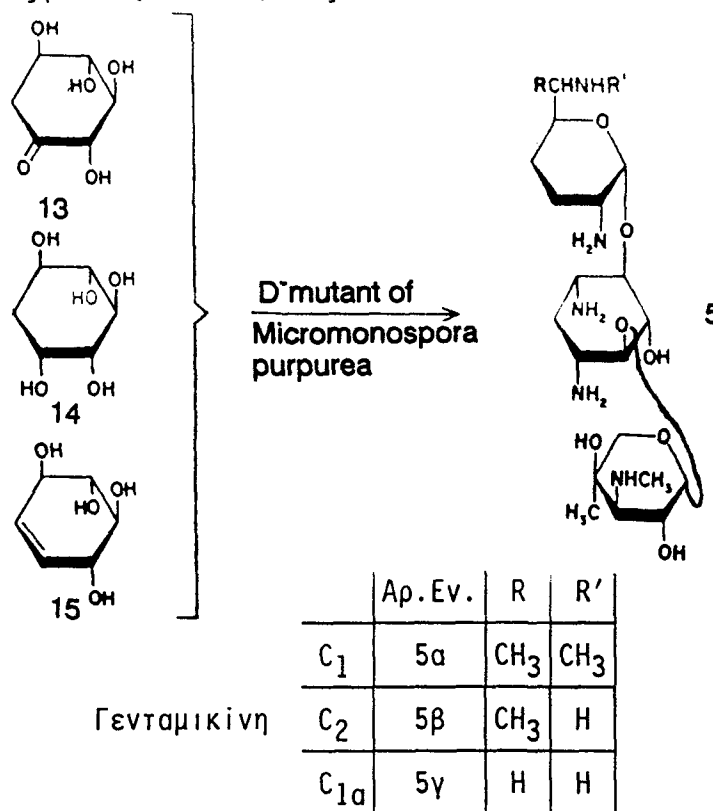
Σχήμα 8 : Βιομετατροπή της 2-δεοξυ-στρεπταμίνης σε ανάλογα παρομομυκίνης

#### 1.2.7.β ΜΟΥΤΑΣΥΝΘΕΣΗ ΑΜΙΝΟΚΥΚΛΙΤΟΛΩΝ

Όπως είπαμε και παραπάνω η πηγή των αμινογλυκοζιτικών αντιβιοτικών είναι τα πλασμίδια που βρίσκονται πάνω σε βακτήρια. Βρέθηκε ότι μεταλλαγμένοι μικροοργανισμοί δεν μπορούν πλέον, να παράγουν 2-DOS που υπάρχει στα αντιβιοτικά και έτσι είμαστε υποχρεωμένοι να την προσθέτουμε εξωτερικά. Τα μεταλλαγμένα αυτά βακτήρια, καλούνται ιδιότροφα από τον Demain<sup>83</sup>, αλλά είναι γνωστά και σαν mutants D<sup>-</sup><sup>82</sup>

Η ανακάλυψη αυτών των στελεχών, άνοιξε αμέσως νέους δρόμους στη δημιουργία νέων αντιβιοτικών, αφού θα μπορούσαν στα στελέχη αυτά να δοθούν εξωτερικά ενώσεις διαφορετικές από την 2-DOS οι οποίες θα ενσωματωνόντουσαν στη θέση της 2-DOS στα αντιβιοτικά.

Μ'αυτή την τεχνική<sup>84</sup> παρασκευάσθηκαν κοντινά ανάλογα με κάθε κλινικά σημαντικό αμινοκυκλιτολικό αντιβιοτικό. Για παράδειγμα παρασκευάστηκε η 2-υδροξυ-παρομομυκίνη (υβριδομυκίνη C, σχήμα 8)<sup>85</sup>, ακολούθησαν η 6-δεόξυ-νεομυκίνη και η 6-δεόξυ-παρομομυκίνη<sup>86</sup>. Βέβαια εδώ πρέπει να αναφερθούμε και στην πρώτη δημοσίευση, που όπως είπαμε έγινε από τον Rinehart με τις παρασκευές της υβριδομυκίνης A και B που είναι η 2-υδροξυ-νεομυκίνη και η 2-επιυδροξυ-νεομυκίνη με προσθήκη στρεπταμίνης και 2-επι-στρεπταμίνης σε D<sup>-</sup> mutants του *Streptomyces fradiae*. Ακόμα με χρησιμοποίηση D<sup>-</sup> mutant του *Micromonospora purpurea* ο Daum<sup>87</sup> παρασκεύασε τη γενταμικίνη C από ενδιάμεσα όπως η τετραύδροξυκυκλοεξανόνη(13), η κουερκικόλη(14) και το τετραύδροξυκυκλοεξάνιο(15), με την ίδια επιτυχία όπως και με τη χρήση της 2-DOS (σχήμα 9). Βρέθηκε μάλιστα έτσι ότι η τετραύδροξυκυκλοεξανόνη(13) είναι ένα ενδιάμεσο μεταξύ γλυκόζης και 2-DOS<sup>88</sup>. Ο Daum και άλλοι ερευνητές, με σημαντικότερο τον Daniels, έδωσαν με τη μέθοδο αυτή αρκετές πληροφορίες και για τη βιοσύνθεση των αντιβιοτικών, απομονώνοντας τις ενδιάμεσες ενώσεις μετά τη σύνθεσή τους<sup>89</sup>.



Σχήμα 9 : Ενσωμάτωση κυκλικών αναλόγων της 2-δεοξυ-στρεπταμίνης στην γενταμικίνη από το D<sup>-</sup>mutant του *M. Purpurea*

Άλλο ένα σημείο που διευκρινήθηκε με έρευνες γύρω από τη μέθοδο αυτή, ήταν η σημασία των μεταλλαξιγόνων παραγόντων (curing agents) στην σύνθεση των ιδιοτρόφων. Οι παράγοντες αυτοί χρησιμοποιούνται για την παραγωγή των ιδιοτρόφων. Αρχικά χρησιμοποιήθηκε η Ν-μεθυλο-Ν'-νιτροζο-γουανιδίνη (NTG)<sup>90,91</sup>, που πολλές φορές όμως προκαλεί και θανατηφόρες μεταλλάξεις ή μεταλλάξεις που σχετίζονται με το βασικό μεταβολισμό του κυττάρου, εμποδίζοντας έτσι την ανάπτυξη του ιδιοτρόφου ή την ικανότητα του να παράγει αντιβιοτικό<sup>92</sup>. Στη συνέχεια με χρήση άλλων μεταλλαξιγόνων παραγόντων, όπως το πορτοκαλλί της ακριδίνης όχι μόνο υπήρξαν καλύτερα αποτελέσματα αλλά αποκτήθηκαν και πληροφορίες για το ρόλο που παίζουν τα ένζυμα-μετατροπής στη βιοσύνθεση των αντιβιοτικών. Έτσι βρέθηκε ότι<sup>91</sup>:

α) οι ουσίες αυτές επιδρούν στο γενετικό υλικό που βρίσκεται στα πλασμίδια και στο οποίο ήταν μάλλον κωδικοποιημένη η βιοσύνθεση της 2-DOS και

β) υπάρχουν δύο κατηγορίες μεταλλαγμένων στελεχών, ανάλογα με τη δυνατότητα που έχουν ή δεν έχουν να παράγουν αντιβιοτικό όταν τους χορηγηθεί εξωτερικά 2-DOS. Αυτή η παρατήρηση έγινε και σε στελέχη του *Streptomyces fradiae* και του *S.rimosus forma paratomycinus*, αλλά και σε άλλα στελέχη μεταλλαγμένα με χρήση του πορτοκαλλί της ακριδίνης.

Βλέπουμε κι εδώ ότι τα ένζυμα-μετατροπής παίζουν κάποιο ρόλο στη βιοσύνθεση των αντιβιοτικών (βλέπε προηγούμενη παράγραφο), καθώς και ότι η βιοσύνθεση των αντιβιοτικών είναι κωδικοποιημένη σε πλασμίδια.

Επειδή όμως συμβαίνουν γενετικές αλλαγές στους μικροοργανισμούς κατά την παραγωγή των αντιβιοτικών, γι'αυτό τα νέα αντιβιοτικά που παράγονται πρέπει να χαρακτηρίζονται επακριβώς<sup>92</sup>.

Οι ενώσεις που προστίθενται στα μεταλλαγμένα αυτά βακτήρια (mutant) ονομάζονται μουτασυνθόνια, τα αντιβιοτικά που παράγονται μουτασυνθετικά αντιβιοτικά και η τεχνική αυτή όπως είπαμε μουτασύνθεση.

Η μουτασύνθεση στη συνέχεια εφαρμόστηκε, αλλά χωρίς μεγάλη επιτυχία και για την παραγωγή άλλων αντιβιοτικών που δεν ανήκουν στην κατηγορία των φυσικών αντιβιοτικών που περιέχουν 2-DOS<sup>92</sup>.

Πολλά τέτοια ανάλογα των φυσικών αντιβιοτικών παρασκευάστηκαν, όμως λίγα μόνο από αυτά έχουν ίση ή μεγαλύτερη δραστηριότητα από τα φυσικά ανάλογά τους (πίνακας 6). Μιά σπουδαία παράμετρος για την αξιολόγηση των μουτασυνθετικών αντιβιοτικών, εκτός από την δραστηριότητα τους είναι και η τοξικότητά τους, όπως προαναφέραμε. Δυστυχώς έχουμε λίγες μόνο τιμές γι'αυτά όπου όπως φαίνεται τα μουτασυνθετικά αντιβιοτικά είναι λιγότερο τοξικά από τα φυσικά ανάλογά τους (πίνακας 7).

Πίνακας 6. Σχετική αντιβακτηριακή δράση των μουτσαυνθετικών αντιβιοτικών με τα αντίστοιχα φυσικά αντιβιοτικά			
Μουτσαυνθετικό Αντιβιοτικό	Φυσικό αντιβιοτικό	Βιβλιογραφία	Παρατηρήσεις
2-υδροξυ-νεομυκίνη	≤ νεομυκίνη	93	
2-υδοξυ-νεαμίνη	< νεαμίνη	94	
2-επι-υδροξυ-νεομυκίνη	< νεομυκίνη	93	
2-επι-υδροξυ-νεαμίνη	< νεαμίνη	94	
6-δεοξυ-νεομυκίνη B	≤ νεομυκίνη B	95	E.coli, P.mirabilis, S.aureus, S.typhimurium
6-δεοξυ-νεομυκίνη C	≥ νεομυκίνη C	95	
2-υδροξυ-παρομομυκίνη I	< παρομομυκίνη I	96	
2-υδροξυ-παρομαμίνη	≤ παρομαμίνη	96	
6-δεοξυ-παρομομυκίνη I	< παρομομυκίνη I	86	
2-υδροξυ-ριβοσταμικίνη	< ριβοσταμικίνη	97	
2-επι-υδροξυ-ριβοσταμικίνη	< ριβοσταμικίνη	97	
1-N-μεθυλ-ριβοσταμικίνη	< ριβοσταμικίνη	97	
3',4'-διδεοξυ-ριβοσταμικίνη	≤ ριβοσταμικίνη	97	E.coli, P.aerugi
2-υδροξυ-βουτυροσίνη	< βουτυροσίνη	98	
5-δεοξυ-βουτυροσαμίνη	≥ βουτυροσαμίνη	98	K.pneumoniae, P.mirabilis, E.coli P.aeruginosa E.coli, S.sonnei
3,4 διδεοξυ-βουτυροσίνη A	= βουτυροσίνη A	99	
6'-N-μεθυλο-βουτυροσίνη A	= βουτυροσίνη A	100	
3',4'-διδεοξυ-6'-N-μεθυλο-βουτυροσίνη A	= βουτυροσίνη A	101	E.coli, K.pneumoniae, S.sonnei, P.rettgeri, P.stuartii, P.aeruginosa
3',4'-διδεοξυ-6'-N-μεθυλο-βουτυροσίνη B	≤ βουτυροσίνη B	102	

Μουτσαυνθετικό Αντιβιοτικό	Φυσικό αντιβιοτικό	Βιβλιο- γραφία	Παρατηρήσεις
6'-υδροξυ-6'-δεαμινο-2-επι- υδροξυ-καναμικίνη Α	<< καναμικίνη Α	97	
6'-υδροξυ-6'-δεαμινο- 1-N-μεθυλο-καναμικίνη Α	<< καναμικίνη Α	97	
2-υδροξυ-γενταμικίνη	≤ γενταμικίνη	102	E.coli, K.pneumo- niae, E.cloacae
5-δεοξυ-γενταμικίνη	≥ γενταμικίνη	102	E.coli, P.aerugi- nosa
2-υδροξυ-σισομικίνη	≤ σισομικίνη	103	E.coli, K.pneumo- niae
5-δεοξυ-σισομικίνη	≤ σισομικίνη	103	P.aeruginosa
5-αμινο-5-δεοξυ-σισομικίνη	= σισομικίνη	105	
5-επι-σισομικίνη	> σισομικίνη	104	E.coli, K.pneumo- niae, P.morganii, P.rettgeri, Pro- videncia, P.aeru- ginosa, serratia, S.aureus
3-N-μεθυλο-σισομικίνη	< σισομικίνη	105	
1-N-μεθυλο-5-δεοξυσισομικίνη	= σισομικίνη	105	
5-επι-φθορο-σισομικίνη	> σισομικίνη	88	

&gt; : δραστικότερο

&lt; : λιγότερο δραστικό

≥ : παρόμοια δραστικότητα

= : ίση δραστικότητα

Πίνακας 7: Σύγκριση τοξικότητας μουτσαυνθετικών και φυσικών αντιβιοτικών <sup>92</sup>				
	Τοξικότητα <sup>a</sup>			
	Οξύτητα (ID <sub>50</sub> )			
	Εφβ	ΥΠΥ	Νέφρο-	Ωτο-
Νεομικίνη	1.00	1.00	1.00	
2-υδροξυ-	0.90	0.73	0.46	
2-επι-υδροξυ-	0.93	0.86	1.25	
Γενταμικίνη C	1.00		1.00	1.00
2-υδροξυ-	0.58		0.16	0.16
5-δεοξυ-	2.51		2.00	
Βουτυροσίνη Α	1.00			
3',4'-διδεοξυ- 6'-N-μεθυλο-	0.83			

<sup>a</sup>Η τοξικότητα των καγονικών αντιβιοτικών λαμβάνεται  
ίση με 1.00. Ρενδοφλέβια. Υποδόριος



Στά μειονεκτήματα της μεθόδου αυτής εκτός από τις γενετικές αλλαγές στα μεταλλαγμένα στελέχη (mutant) που συμβαίνουν, πρέπει να προστεθεί και η μικρή απόδοση της μεθόδου που ακόμα και σήμερα την κάνει χρήσιμη μόνο για παραγωγή αντιβιοτικών σε εργαστηριακή κλίμακα. Πιθανόν αυτή η μικρή απόδοση να οφείλεται στον τρόπο με τον οποίο προκαλείται η μετάλλαξη στους παράγοντες μικροοργανισμούς.

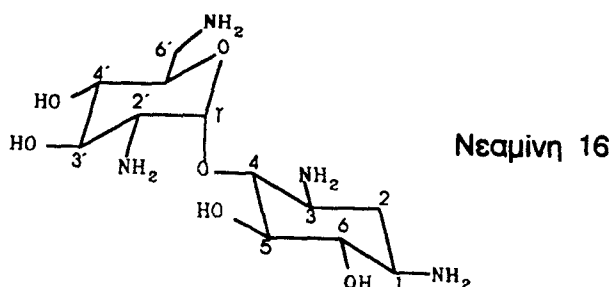
Η μουτασύνθεση λοιπόν, υπόσχεται πολλά στον τομέα της δημιουργίας νέων αντιβιοτικών, αλλά χρειάζονται πολλές προσπάθειες ακόμα για να γίνει τελικά βιοτεχνολογική μέθοδος.

### 1.2.7.γ ΟΛΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ

Η μέθοδος αυτή είναι αντιοικονομική και επίπονη και χρησιμοποιείται πλέον μόνο για την ταυτοποίηση των αντιβιοτικών που απομονώνονται. Βέβαια η μέθοδος αυτή προσέφερε πάρα πολλές γνώσεις στην χημεία των υδατανθράκων, τόσο στο επίπεδο των αντιδράσεων όσο και στο επίπεδο της στερεοχημικής μελέτης και της φασματοσκοπίας των ενώσεων αυτών.

Ενδεικτικά εδώ θα αναφερθούμε μόνο στην σύνθεση της νεαμίνης που αποτελεί και το κύριο αντικείμενο της δικιάς μας έρευνας.

Η νεαμίνη 16 είναι συστατικό της νεομυκίνης, της καναμυκίνης και της βουτυροσίνης, που είναι κλινικά χρησιμοποιούμενα αμινογλυκοζιτικά αντιβιοτικά, αλλά παρουσιάζει και από μόνη της αντιβακτηριακή δράση<sup>81</sup>.



Η πρώτη σύνθεση της νεαμίνης 16 έγινε το 1967 από τον Umezawa με πρώτη ύλη την παρομομυκίνη<sup>106</sup>. Η δεύτερη από τον Kohno<sup>107</sup>. Ακόμα έχει αναφερθεί η σύνθεσή της από την γλυκόζη και την στρεπταμίνη<sup>108</sup>.

Η ολική σύνθεση των αντιβιοτικών αυτών, δημιουργεί σημαντικά προβλήματα, κύρια λόγω της δημιουργίας πολλών ασύμμετρων κέντρων και αποτελεί επίπονη εργασία που σήμερα ουσιαστικά έχει εγκαταλειφθεί από τα περισσότερα ερευνητικά εργαστήρια.

### 1.2.7.δ ΗΜΙΣΥΝΘΕΣΗ

Η μέθοδος αυτή είναι σήμερα η κυριότερη για τη δημιουργία νέων αντιβιοτικών. Συνίσταται στο συνδυασμό χημικών και βιολογικών μετατροπών των φυσικών αμινογλυκοζιτών και οδηγεί σε προϊόντα, πολλά των οποίων αν και δεν έχουν ακόμα καλύτερες κλινικές ιδιότητες, βοηθούν σημαντικά στην εκτίμηση της σχέσης ανάμεσα στην δομή και στην δραστικότητα και ανοίγουν τον δρόμο για την παραπέρα σύνθεση νέων φαρμάκων.

Μέχρι σήμερα έχει συντεθεί ένας πολύ μεγάλος αριθμός αναλόγων, στα οποία περιλαμβάνονται δεόξυ, έπι, υδρόξυ, υδρόξυ δεάμινο, Ο-άλκυλο, Ν-άλκυλο και Ν-άκυλο παράγωγα φυσικών αμινογλυκοζιτικών αντιβιοτικών, καθώς και ισομερή θέσεως και έχουν εξαχθεί σημαντικά συμπεράσματα όσον αφορά τους αμινογλυκοζίτες και τις κατευθύνσεις στις οποίες πρέπει να στραφεί η έρευνα στον τομέα αυτό. Έτσι και εμείς θα δούμε ορισμένες από τις μετατροπές αυτές που αιτιολογούν και την επιλογή των δικών μας μετατροπών.

ι) Όσον αφορά τα δεόξυ-παράγωγα η αποοξυγόνωση μιας θέσης επιφέρει αύξηση της δραστικότητας που όμως συνοδεύεται και με αύξηση της τοξικότητάς τους. Γενικά πιστεύεται ότι ο ρόλος των υδροξυλομάδων του μορίου εξαρτάται από την θέση τους στο μόριο. Ο πίνακας 8 με τα δεόξυ-παράγωγα που έχουν συντεθεί τεκμηριώνει την παραπάνω άποψη.

Πίνακας 8: Ημισυνθετικά δεοξυ-παράγωγα φυσικών αμινογλυκοζιτών			
Συνθετικό Αντιβιοτικό	Φυσικό Αντιβιοτικό	Βιβλιο- γραφία	Δραστικό έναντι ανθεκτικών στελεχών
5-δεοξυ-νεαμίνη	> Νεαμίνη	109	
3'-δεοξυ-καναμικίνη Α	≥ Καναμικίνη Α	110	
3'-δεοξυ-3'-αμινο- νεαμίνη	< Νεαμίνη	111	
4'-δεοξυ-4'-αμινο- νεαμίνη	< Νεαμίνη	111	
4'-δεοξυ-παρομαμίνη	< Παρομαμίνη	112	
4'-δεοξυ-νεομικίνη Β	> Νεομικίνη Β	112	E.coli, P.aeruginosa
5-αμινο-5-δεοξυ- νεαμίνη	<< Νεαμίνη	113	
5-δεοξυ-παρομαμίνη	< Παρομαμίνη	114	

Συνθετικό Αντιβιοτικό	Φυσικό Αντιβιοτικό	Βιβλιο- γραφία	Δραστικό έναντι ανθεκτικών στελεχών
5-δεοξυ-καναμικίνη Β	≤ Καναμικίνη Β	114	
5-δεοξυ-διβεκασίνη	< Διβεκασίνη	115	

> : δραστικότερο                      < : λιγότερο δραστικό  
 ≥ : παρόμοια δραστηριότητα        = : ίση δραστηριότητα

Στη συνέχεια θα ασχοληθούμε με τις μετατροπές αυτές στην νεαμίνη :

Τα "μουτασυνθετικά" ανάλογα (πίνακας 6) 6-δεόξυ-νεομικίνη Β και C έχουν παρόμοια δραστηριότητα με την νεομικίνη Β και C αντίστοιχα. Η ημισυνθετική 6-δεοξυ-νεαμίνη έχει παρόμοια με την νεαμίνη αντιμικροβιακή δράση, ενώ η δραστηριότητα της 6-αμινο-6-δεοξυνεαμίνης είναι σημαντικά μειωμένη ως προς εκείνη της νεαμίνης. Τα 3'-δεοξυ-3'-αμινο και 4'-δεοξυ-4'-αμινο παράγωγα της νεαμίνης βρέθηκε να είναι λιγότερο δραστικά από την νεαμίνη<sup>111</sup>, ενώ η 4'-δεοξυ-νεομικίνη Β παρουσίασε ευρύτερο αντιμικροβιακό φάσμα από την νεομικίνη Β<sup>112</sup>.

Πίνακας 9: Ημισυνθετικά πολυ-δεοξυ-παράγωγα φυσικών αμινογλυκοζιτών			
Συνθετικό Αντιβιοτικό	Φυσικό Αντιβιοτικό	Βιβλιο- γραφία	Δραστικό έναντι ανθεκτικών στελεχών
5-δεοξυ-5-αμινο-5,6- διεπι-νεαμίνη	<< Νεαμίνη	113	
5,6-διδεοξυ-5ενο- νεαμίνη	< Νεαμίνη	95	
3',4',5,6-τετρα- δεοξυ-νεαμίνη	< Νεαμίνη	95,116	
3',4',5-τριδεοξυ- νεαμίνη	<< 5-δεοξυ-νεαμίνη	115	
3',4'-διδεοξυ- νεαμίνη	> Νεαμίνη	117	
3',4'-διδεοξυ- καναμικίνη Β	> Καναμικίνη Β	118	E.coli, P.aeruginosa

> : δραστικότερο                      < : λιγότερο δραστικό  
 ≥ : παρόμοια δραστηριότητα        = : ίση δραστηριότητα

Όσον αφορά τα πολυ-δεοξυ παράγωγα που δίνονται στον πίνακα 9, ένα μέτρο της σημασίας των πολλαπλών αποοξυγονώσεων φυσικών αμινογλυκοζιτών δίνεται στην νεαμίνη από τα εξής:

Τα 3',4'-διδεόξυ παράγωγα της νεαμίνης, έχουν αυξημένο αντιμικροβιακό φάσμα έναντι της νεαμίνης.

Η 3',4',5-τριδεοξυνεαμίνη έχει παραπλήσια δραστηριότητα με την 5-δεόξυ νεαμίνη.

Η 3',4',5,6-τετραδεόξυ νεαμίνη είναι πολύ λιγότερο δραστική από την νεαμίνη.

Συμπερασματικά μπορούμε να αναφέρουμε ότι περισσότερες από δύο αποοξυγονώσεις δεν επιφέρουν αλλαγή στην δραστηριότητα, αντίθετα μπορούν να την μειώσουν.

ii) Όσον αφορά τώρα τη στερεοδομή στις θέσεις C-5 και C-6 φαίνεται ότι σχετίζεται με την αντιμικροβιακή τους δράση. Μόνο όμως η 5-επι-νεαμίνη δίνει ελπιδοφόρα αποτελέσματα κατά των ανθεκτικών στελεχών των βακτηρίων, ενώ η 6-επι-νεαμίνη, η 3'-επι-νεαμίνη και η 5,6-δι-επι-νεαμίνη έχουν μικρότερη δράση κατά των συνηθισμένων βακτηρίων από το μητρικό αντιβιοτικό. Στον πίνακα 10 δίνονται τα σημαντικότερα επι- παράγωγα των αμινογλυκοζιτών που έχουν συντεθεί.

Πίνακας 10: Ημισυνθετικά επιμερή παράγωγα φυσικών αμινογλυκοζιτών			
Συνθετικό Αντιβιοτικό	Φυσικό Αντιβιοτικό	Βιβλιο- γραφία	Δραστικό έναντι ανθεκτικών στελεχών
5-επι-νεαμίνη	≥ Νεαμίνη	119	<i>E.coli</i> , <i>K.pneumoniae</i>
5-επι-5-χλωρο- νεαμίνη	< 5-δεοξυ-νεαμίνη	115	
5,6-διεπι-νεαμίνη	<< Νεαμίνη	119	
4',δεοξυ-4'-αμινο- 3',4'-διεπι-νεαμίνη	< Νεαμίνη	111	
3'-δεοξυ-3'-αμινο- 3',4'-διεπι-νεαμίνη	< Νεαμίνη	111	
4'-δεοξυ-4'-επι- αμινο-νεαμίνη	< Νεαμίνη	111	
5-επι-καναμυκίνη Β	≤ Καναμυκίνη Β	115	
4'-δεοξυ-5'-επι- καναμυκίνη Β	<< Καναμυκίνη Β	115	
4''-δεοξυ-5''-επι- καναμυκίνη Α	<< Καναμυκίνη Α	120	
5-δεοξυ-5-επι- αζιδο-σισομυκίνη	≥ 5-επι-Σισομυκίνη	87	

> : δραστικότερο

≥ : παρόμοια δραστηριότητα

< : λιγότερο δραστικό

= : ίση δραστηριότητα

Ένα σημαντικό στοιχείο που ανακαλύφθηκε κατά τις μελέτες αυτές, είναι ότι αν η επιμερείωση συνοδευτεί και με εισαγωγή αμινομάδας, τότε η δραστηριότητα αυξάνεται σημαντικά. Γενικότερα μάλιστα πρέπει να τονίσουμε ότι η δραστηριότητα των αμινογλυκοζιτών συνήθως αυξάνει όταν έναν υδροξύλιο τους (όχι στη 2-DOS) αντικαθίσταται από αμινοομάδα (νεομυκίνη >> παρομομυκίνη).

iii) Τέλος για τα Ο-άλκυλο, Ν-άλκυλο και Ν-άκυλο παράγωγα έχουμε να πούμε τα εξής:

α) Η Ο-αλκυλίωση φαίνεται ότι επηρεάζει αρνητικά την δραστηριότητα ενός παραγώγου

β) Η Ν-αλκυλίωση αντίθετα, σε πολλές περιπτώσεις έδωσε παράγωγα με σημαντική αντιμικροβιακή δράση και σημαντικά μειωμένη τοξικότητα. Το πιο σημαντικό απ' αυτά το οποίο σήμερα βρίσκεται σε ευρεία κλινική χρήση είναι η νετιλμυκίνη<sup>121,122</sup>.

γ) Η Ν-ακυλίωση από την άλλη φαίνεται να οδηγεί σε παράγωγα ανενεργά, τάση που συνδέεται μάλλον με το ότι η Ν-ακετυλίωση είναι τρόπος αντίστασης των ανθεκτικών στελεχών στους αμινογλυκοζίτες. Η άποψη αυτή στηρίζεται και από το γεγονός ότι Ν-άκυλο παράγωγα αμινοομάδων που δεν έχει διαπιστωθεί ακετυλίωση τους κατά την δράση βακτηριακών μηχανισμών αντίστασης, έχουν βρεθεί δραστικά ως αντιβιοτικά. Παράδειγμα η αμικασίνη που είναι C-1,Ν-1 άκυλο παράγωγο της καναμυκίνης Α και η οποία έχει σήμερα σημαντική κλινική χρήση<sup>123,124</sup>.

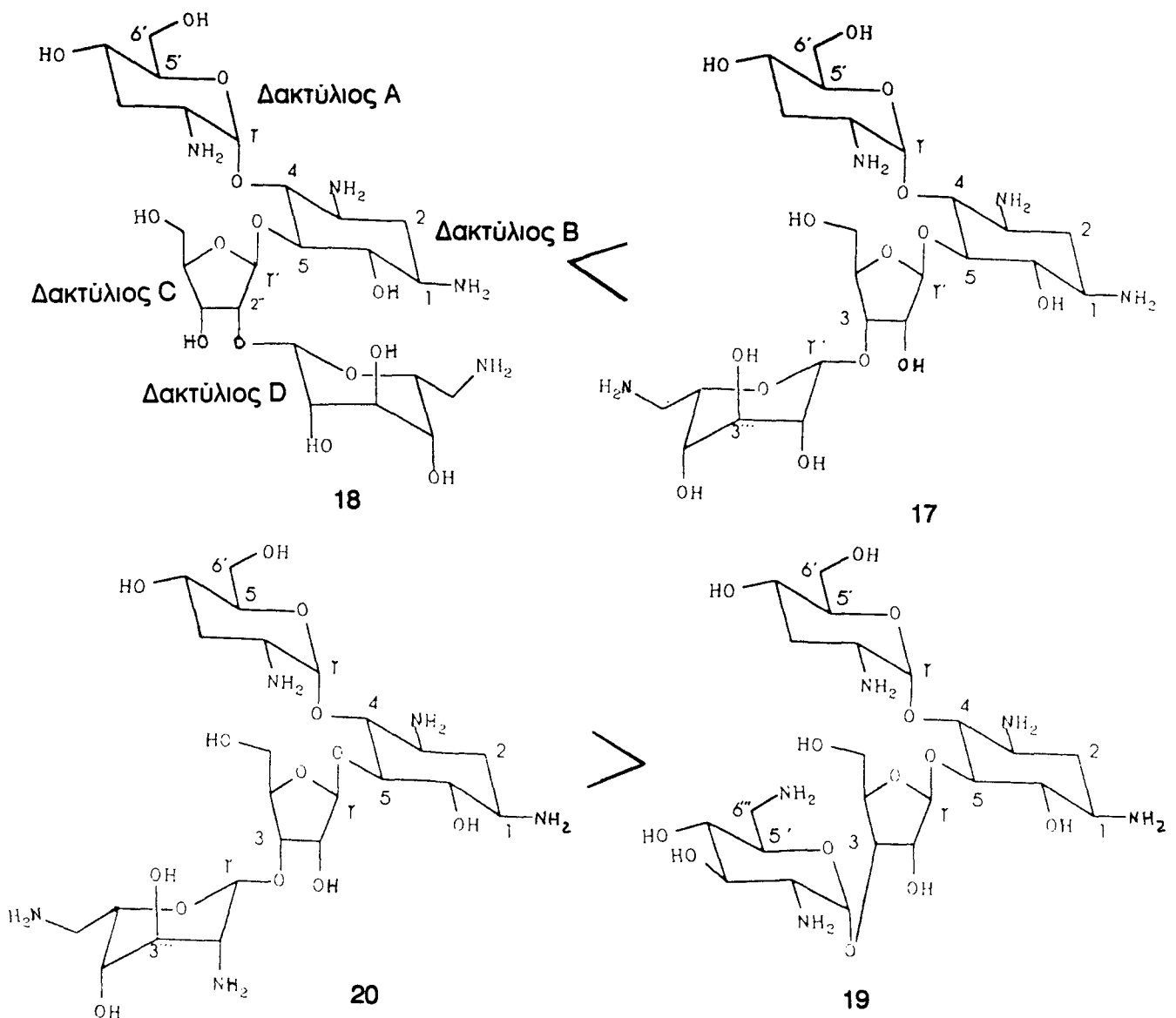
iv) Η προσθήκη υδροξυλοομάδων δίνει παράγωγα των οποίων το αντιμικροβιακό φάσμα είναι ευρύτερο μόνο για τα 2-υδροξύ παράγωγα της γενταμυκίνης. Το σημαντικό εδώ είναι ότι η προσθήκη υδροξυλοομάδων ειδικά στην θέση 2 δίνει παράγωγα λιγότερο τοξικά από τα φυσικά ανάλογα τους<sup>125</sup>.

Από τις παραπάνω μελέτες βλέπουμε ότι η επίδραση που μπορεί να έχει στην δραστηριότητα και την τοξικότητα μιά συγκεκριμένη δομική μετατροπή ενός αντιβιοτικού, πρέπει πάντα να εκτιμάται σε συνάρτηση με την συνολική δομή του μορίου και τυχόν γενικά συμπεράσματα για την σχέση δομής-δραστηριότητας, μόνο ενδεικτικό χαρακτήρα μπορούν να έχουν.

Εκτός όμως από τα συμπεράσματα από τις παραπάνω τροποποιήσεις, σημαντικές τροποποιήσεις σε αμινογλυκοζιτικά μόρια έχουμε και ως προς το είδος και την θέση των γλυκοζιτικών δεσμών της 2-DOS και ως προς το είδος και την θέση των γλυκοζιτών της D-ριβόζης που μας οδηγούν και σε άλλα χρήσιμα συμπεράσματα. Ετσι:

α) Όσον αφορά τους αμινογλυκοζιτικούς τρισακχαρίτες με βάση την νεαμίνη, έχουμε ότι τα 5-Ο-γλυκοζιτικά παράγωγα της νεαμίνης είναι δραστικότερα από τα 6-Ο αναλόγα των<sup>126,127</sup> και ότι οι α-γλυκοζίτες της 2-DOS είναι δραστικότεροι από τους β-γλυκοζίτες<sup>128</sup>.

β) Όσον αφορά τα τετρασακχαρικά αντιβιοτικά, όπως η νεομικίνη, οι 3''-Ο γλυκοζίτες (δακτύλιος C) 17 είναι δραστικότεροι των αντίστοιχων 2''-Ο γλυκοζιτών (σχήμα 10) 18. Από την άλλη η C-5''' χειρομορφία τετρασακχαριτών παίζει σημαντικό ρόλο στην δραστικότητα τους ως αντιβιοτικά. Το τελευταίο διαπιστώνεται από την σύγκριση των προϊόντων που προκύπτουν με αντικατάσταση του L-ιδοπυρανόζυλο τμήματος (δακτύλιος D) της λιβινομικίνης Β από ένα D-γλυκοπυρανόζυλο ανάλογο <sup>129</sup>. Έτσι ο 3''-Ο-(α-D-γλυκοπυρανόζυλο)-γλυκοζίτης 19 παρουσίασε μειωμένη δραστικότητα έναντι του 3''-Ο-(β-L-ιδοπυρανόζυλο)-γλυκοζίτη 20 σε συμφωνία με την μειωμένη δραστικότητα της νεομικίνης C έναντι της νεομικίνης Β.

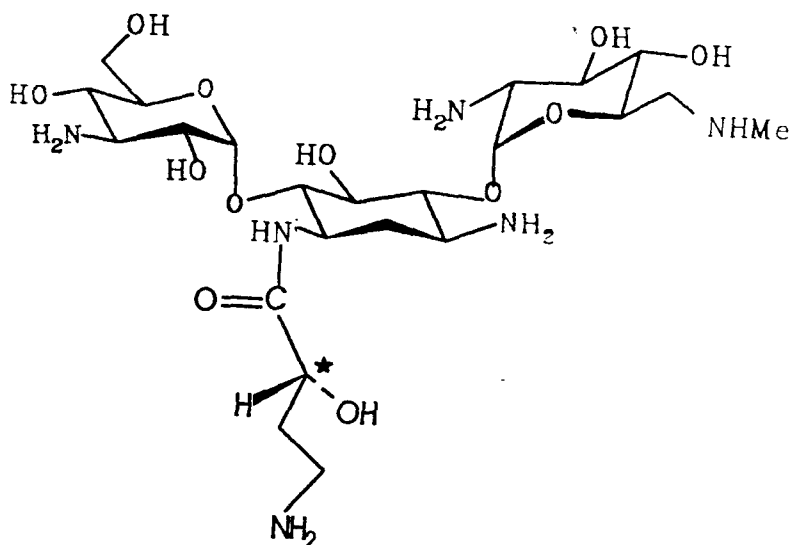


Σχήμα 10 : Σύγκριση δραστικότητας τετρασακχαρικών αντιβιοτικών με διαφορά στο είδος ή στη θέση γλυκοζιτών της D-ριβόζης

### 1.2.7.ε ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Όπως είπαμε παραπάνω, πολλές τροποποιήσεις έχουν γίνει στα αμινογλυκοζιτικά αντιβιοτικά, με σκοπό την προστασία τους από τις τροποποιήσεις των ενζύμων-μετατροπέν που οδηγούν στην αδρανοποίηση τους. Το εύλογο ερώτημα θα ήταν λοιπόν: γιατί να μη συντεθεί ένα μόριο στο οποίο θα είχαν γίνει όλες οι απαιτούμενες τροποποιήσεις έτσι ώστε αυτό να ήταν δραστικό στα ανθεκτικά στελέχη; Η απάντηση θα πρέπει να αναζητηθεί σε μια άλλη διάσταση στην κλινική χρήση ενός φαρμάκου: το εμπορικό κέρδος. Έτσι ενώ πράγματι είχε συντεθεί ένα μόριο η 1-N-HABA-3',4'-διδεοξυ-6'-N-μεθυλο-καναμικίνη Β (21)<sup>134</sup>, παράγωγο που όπως διαπιστώθηκε δεν αδρανοποιείται από φωσφο-, αδενυλο- και ακυλο- τρανσφεράσες και ακόμα έχει σημαντική δραστικότητα εναντίον ανθεκτικών στελεχών, το κόστος παραγωγής του όμως ήταν τέτοιο που δεν επέτρεψε την κλινική χρήση του.

Έτσι συνθετικές προσπάθειες στον τομέα των αντιβιοτικών, πρέπει να λαμβάνουν σοβαρά υπόψη τους και την παράμετρο του κόστους παραγωγής αυτών.



1-N-HABA-3',4'-διδεοξυ-6'-N-μεθυλο-καναμικίνη Β 21

### 1.3. ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΑΜΙΝΟΓΛΥΚΟΖΙΤΙΚΩΝ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ ΜΕ ΕΠΙΜΕΡΕΙΩΣΕΙΣ

Στην παράγραφο αυτή θ'αναφερθούμε αναλυτικότερα στις συνθετικές προσπάθειες που έγιναν στους φυσικούς αμινογλυκοζίτες και που οδήγησαν σε επιμερή παράγωγα φυσικών αμινογλυκοζιτών (βλέπε πίνακα 10). Η αναφορά αυτή θα μας βοηθήσει να καταλάβουμε τον τρόπο προσέγγισης της σύνθεσης τους, καθώς και θα δείξει τις δυσκολίες που υπάρχουν για την επιτυχία της επιμερείωσης. Επιμερή παράγωγα έχουν αναφερθεί για τα μόρια της νεαμίνης, της σισομυκίνης και της καναμυκίνης.

#### 1.3.1) Επιμερή παράγωγα της νεαμίνης

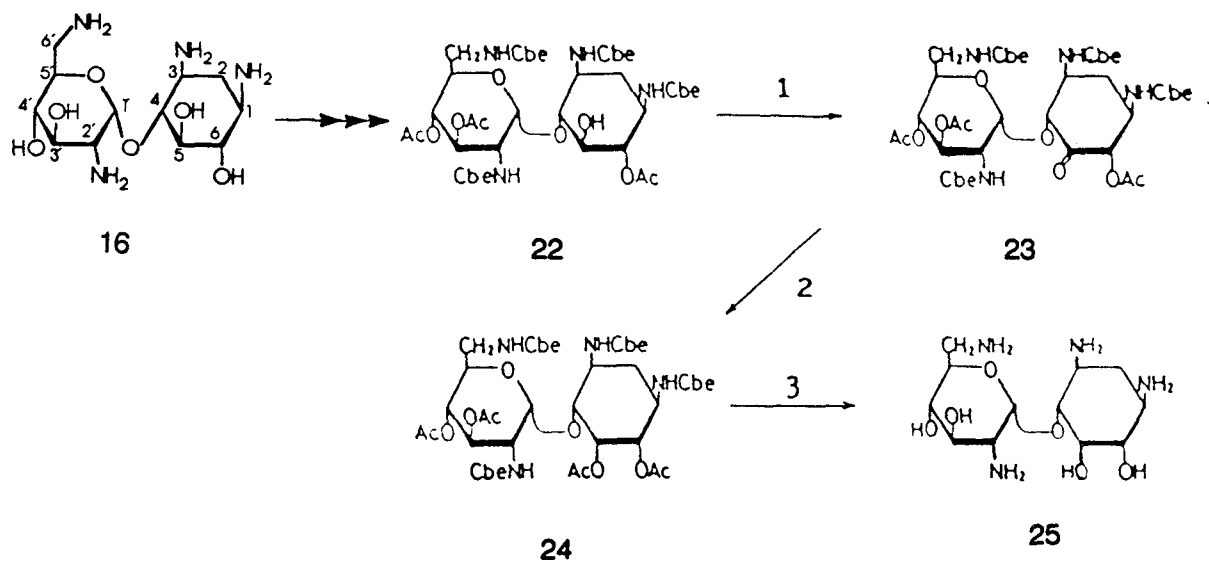
Τα επιμερή που έχουν μέχρι σήμερα παρασκευαστεί δίνονται στον πίνακα 11.

Πίνακας 11: Επιμερή παράγωγα της νεαμίνης			
Ενωση		Βιβλιο- γραφία	Απόδο- ση
5-επι-νεαμίνη	<u>25</u>	119, 131	52%
6-επι-νεαμίνη	<u>29</u>	131	31%
5,6-διεπι-νεαμίνη	<u>32</u>	119	
5-χλωρο-5-δεοξυ-5-επι-νεαμίνη	<u>41</u>	115	
5-αμινο-5-δεοξυ-5,6-διεπι-νεαμίνη	<u>33</u>	119	29%, 10%
3',4'-διεπι-4'-δεοξυ-4'-αμινο-νεαμίνη		111	
3',4'-διεπι-3'-δεοξυ-3'-αμινο-νεαμίνη		111	

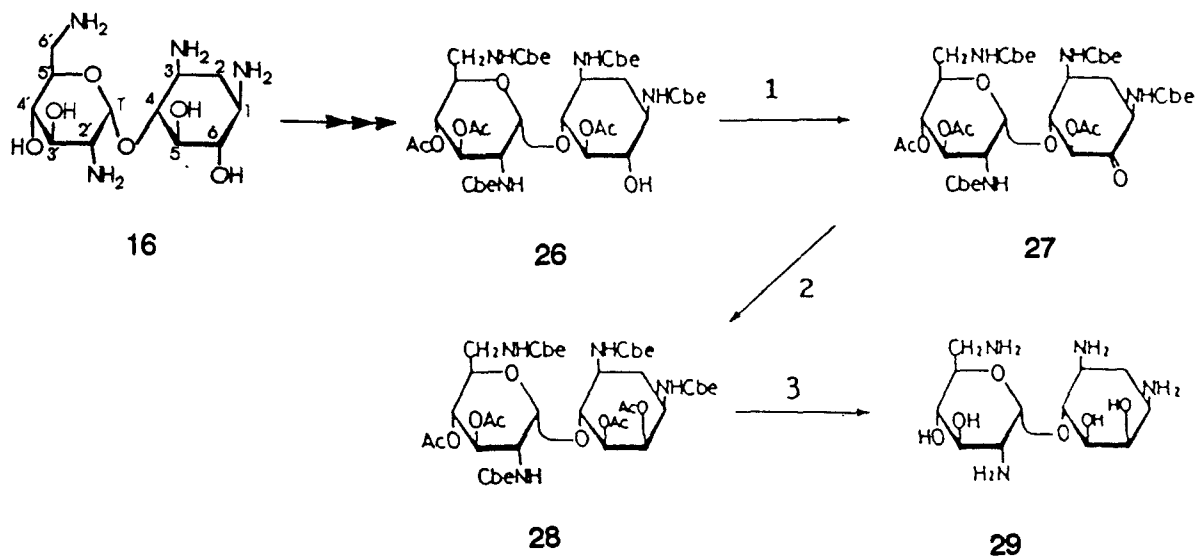
Ετσι έχουμε τις εξής πορείες:

Από την νεαμίνη 16 με κατεργασία πολλών σταδίων συνθέεται:



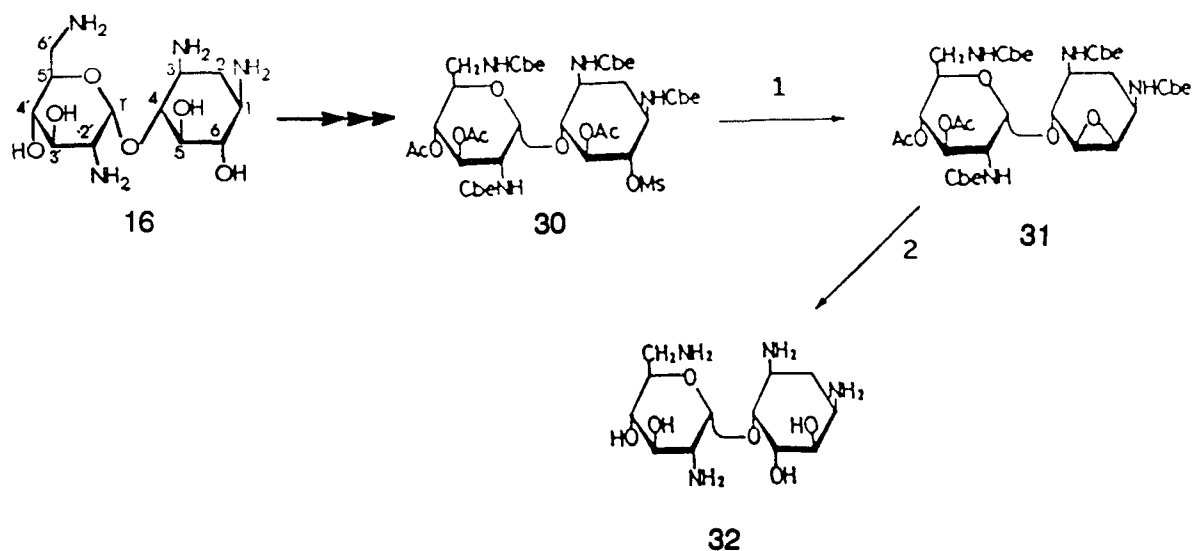
α) Η 5-επι-νεαμίνη 25

Σχήμα 11 : Σύνθεση της 5-επι-νεαμίνης από την νεαμίνη. 1)RuO<sub>2</sub>; 2)α.Pt/H<sub>2</sub>, β.Ac<sub>2</sub>O/py; 3)Ba(OH)<sub>2</sub>

β) Η 6-επι-νεαμίνη 29

Σχήμα 12 : Σύνθεση της 6-επι-νεαμίνης. 1)RuO<sub>2</sub>; 2)α.NaB(s-Bu)<sub>3</sub>H, β.Ac<sub>2</sub>O/py; 3)Ba(OH)<sub>2</sub>

γ) Η 5,6-δι-επι-νεαμίνη 32



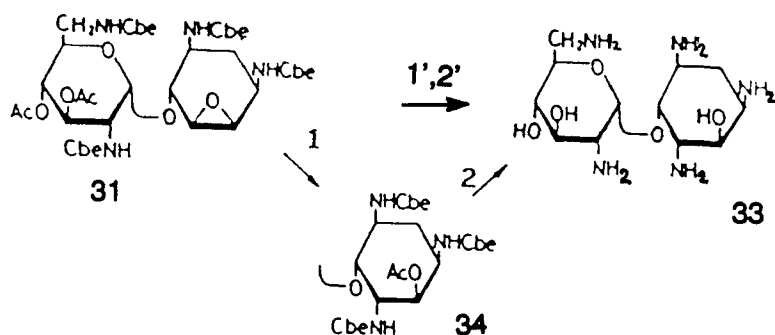
Σχήμα 13 : Σύνθεση της 5,6-δι-επι-νεαμίνης. 1) α. NaOR, β. Ac<sub>2</sub>O/py; 2) α. AcO<sup>-</sup>, β) Ba(OH)<sub>2</sub>.

Σημαντική στο παραπάνω σχήμα είναι η διάνοση του εποξειδίου με οξικό νάτριο, που είναι μια *trans*-διαξονική διάνοση<sup>119</sup>.

Το εποξείδιο 31 με κατεργασία με BF<sub>3</sub> σε ακετονιτρίλιο και μετά αποπροστασία οδήγησε στην 5-αμινο-5-δεοξυ-5,6-δι-επι-νεαμίνη 33 (σχήμα 14).

Η δημιουργία του 5-αμινο-παραγώγου αποδόθηκε στη διάνοση του οξιρανικού δακτυλίου από το ακετονιτρίλιο<sup>119</sup>.

Σε άλλη εργασία αναφέρεται διάνοση του 31 με NaN<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub>Cl σε 2-μεθοξυ-αιθανόλη, που ακολουθούμενη από αναγωγή οδηγεί πάλι στο 33 (σχήμα 14).

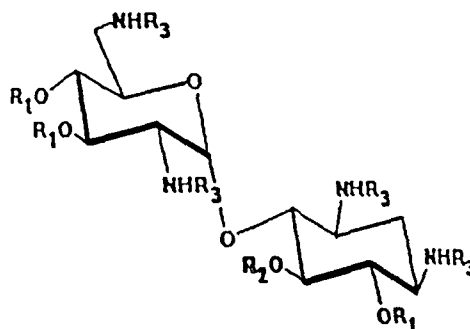


Σχήμα 14 : Σύνθεση της 5-αμινο-5-δεοξυ-5,6-δι-επι-νεαμίνης.

1) α. NaN<sub>3</sub>, β. Py/Ac<sub>2</sub>O, γ. H<sub>2</sub>, δ. Cbe-Cl; 2) Ba(OH)<sub>2</sub>.

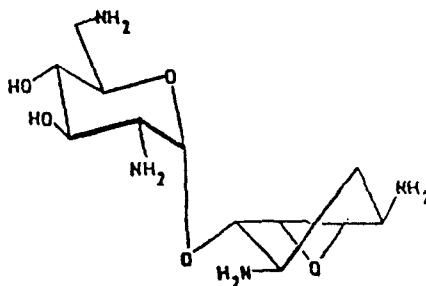
1') BF<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>CN; 2') Αποπροστασία

Βέβαια πολλές προσπάθειες έγιναν ακόμα για τη βελτίωση των συνθηκών και την αύξηση της αποδόσεως των τελικών προϊόντων. Μια τέτοια μέθοδος είναι αυτή που έγινε από τον Verheyden et.al.<sup>115</sup>, ο οποίος κατά τη διάρκεια της σύνθεσης 3',4',5'-τριδεοξυ-αναλόγων της καναμικίνης ανέπτυξε μέθοδο για τη σύνθεση του μερικώς ακετυλιωμένου ενδιαμέσου 22 και του 5,6-εποξειδίου 31 η οποία είναι η ακόλουθη: ακετυλίωση της τετρα-*N*-βενζυλοξυκαρβονυλο-νεαμίνης 35 (py/Ac<sub>2</sub>O, 20 °C, 2.5 hr), έδωσε σε καλή απόδοση το τρι-*O*-ακετυλιωμένο παράγωγο 36, το οποίο διακατεργασίας με MsCl σε CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, παρουσία Et<sub>3</sub>N, έδωσε το 5-*O*-μεθυλοσουλφονικό παράγωγο 37.



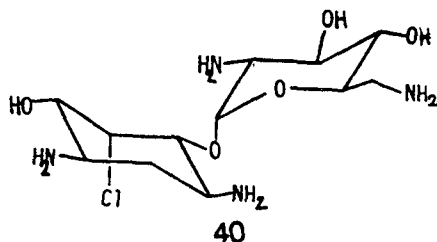
Αρ.Εν.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
35	-H	-H	-Cbz
36	-Ac	-H	-Cbz
37	-Ac	-Ms	-Cbz
38	-H	-Ms	-H

Η εν συνεχεία υδρόλυση των οξικών εστέρων και υδρογονόλυση των καρβοβενζοξυ-ομάδων οδήγησε στην ελεύθερη 5-*O*-μεθυλοσουλφονυλο-νεαμίνη 38. Κατεργασία αυτής με 0.1 N MeONa σε MeOH, επί 16h, έδωσε το 5,6-εποξειδίο 39 σε 80% απόδοση. Όταν μάλιστα, ο σχηματισμός του 5,6 εποξειδίου προηγήθηκε της απομακρύνσεως των *N*-προστατευτικών ομάδων, το 39 προέκυψε ποσοτικά μετά την αποπροστασία των αμινομάδων.



39

Στην ίδια εργασία κατεργασία του 36 με σουλφουρυλοχλωρίδιο σε μίγμα  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -py (3:1), υπό ρεύμα αζώτου, στους  $0^\circ\text{C}$  επί 20h, έδωσε το κρυσταλλικό 5-χλωρο-5-δεοξυ-5-επι-παράγωγο, το οποίο μετά από γενική αποπροστασία κατέληξε στην ελεύθερη 5-χλωρο-5-δεοξυ-5-επι-νεαμίνη 40.

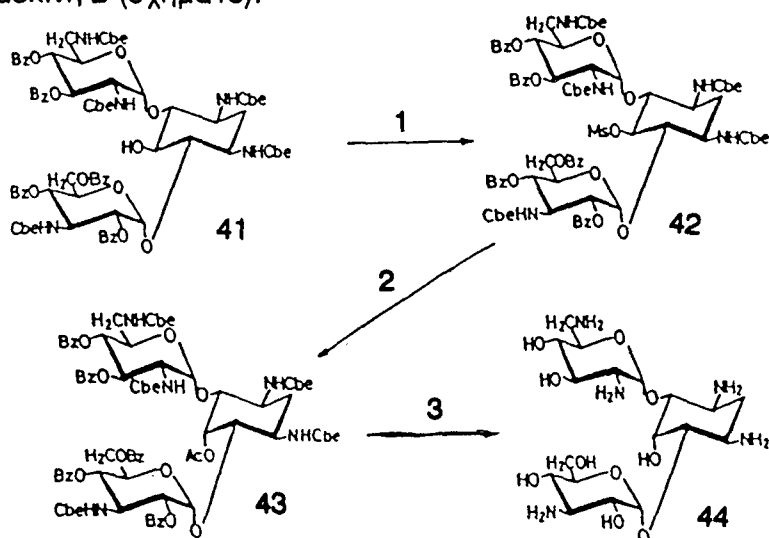


### 1.3.2) Επιμερή παράγωγα της καναμικίνης A και B

Πίνακας 12: Επιμερή παράγωγα της καναμικίνης A και B		
Ενωση		Βιβλιο-γραφία
5-επι-καναμικίνη B	<u>44</u>	132
4''-δεοξυ-5''-επι-καναμικίνη A	<u>48</u>	120, 133
4'-δεοξυ-5'-επι-καναμικίνη B	<u>52</u>	134

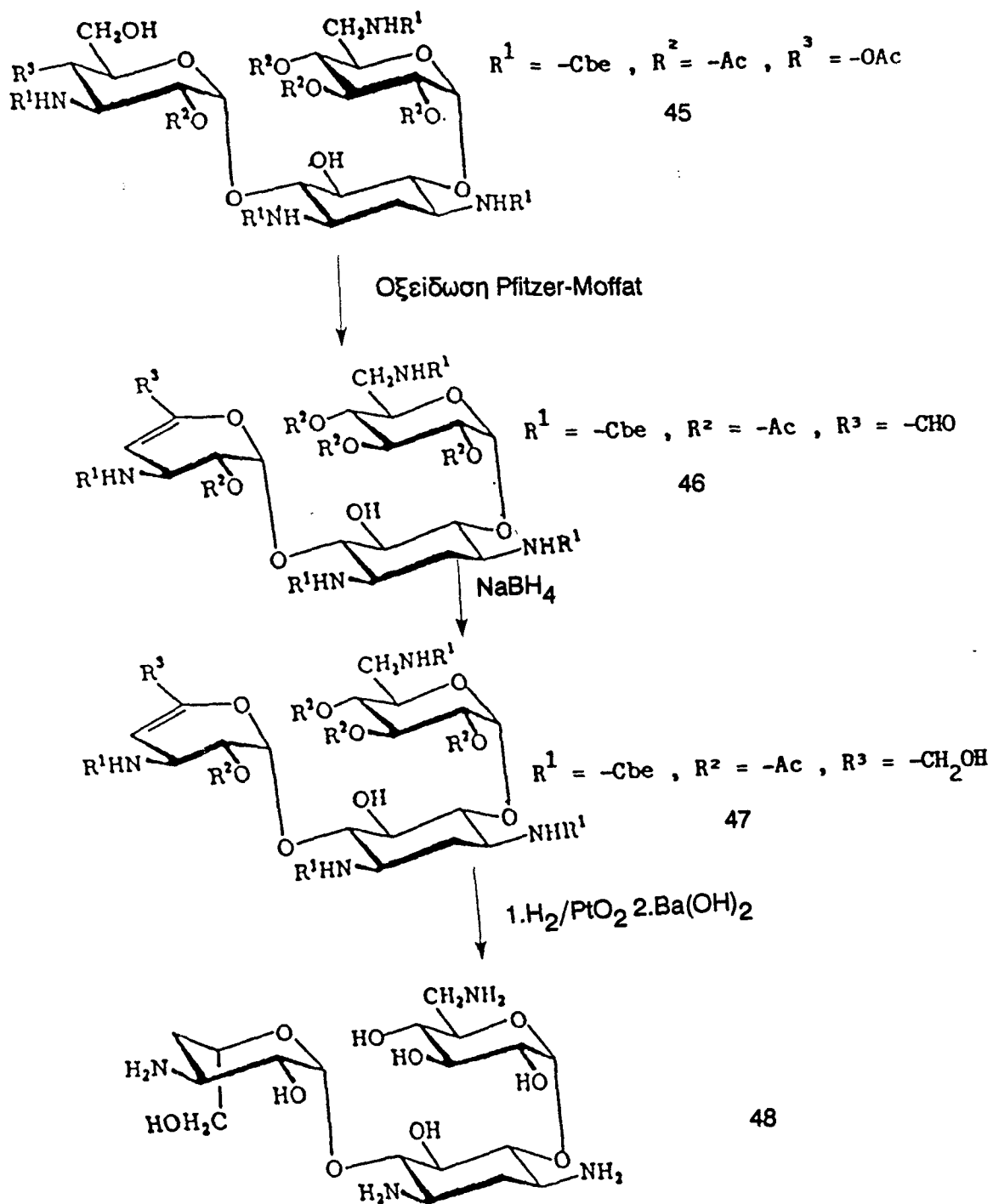
Οι πορείες σύνθεσης είναι:

α) Η πεντα-*N*-αιθοξυκαρβονυλο-καναμικίνη B με κατεργασία της με περίσσεια  $\text{BzCl}$  οδηγεί στο μερικώς ακυλιωμένο παράγωγο της 41 το οποίο τελικά δίνει την 5-επι-καναμικίνη B (σχήμα 15).

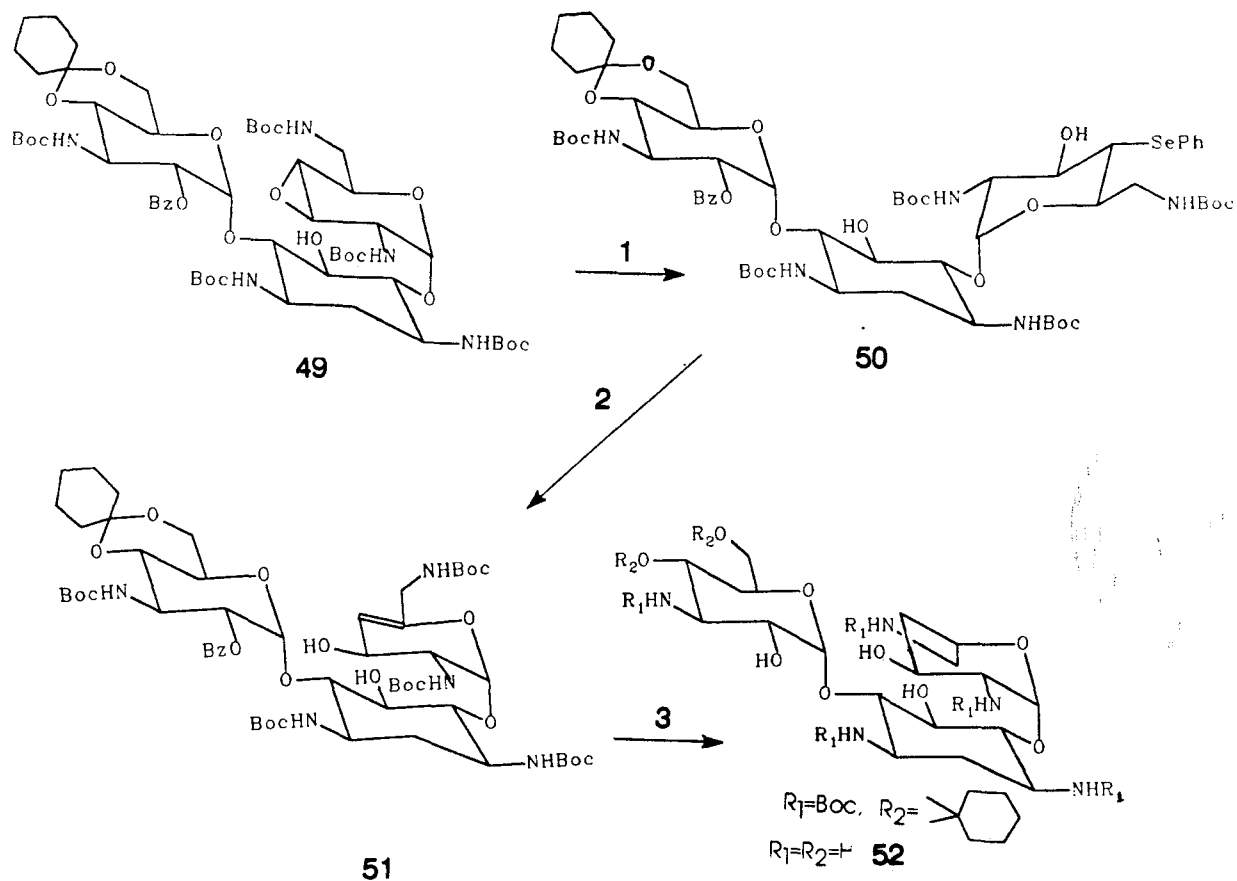


Σχήμα 15 : Σύνθεση της 5-επι-καναμικίνης B. 1)  $\text{MsCl/py}$ ; 2)  $\text{AcONa}$ ; 3)  $\text{Ba(OH)}_2$ .

β) Η 4''-δεοξυ-5''-επι-καναμικίνη Α 48 παρασκευάστηκε από το εκλεκτικά προστατευμένο παράγωγο της καναμικίνης 45 ως εξής :



γ) Η 4'-δεοξυ-5'-επι-καναμικίνη Β 52 συντέθηκε από το 3',4'-εποξειδίο της καναμικίνης Β 52 ως εξής:

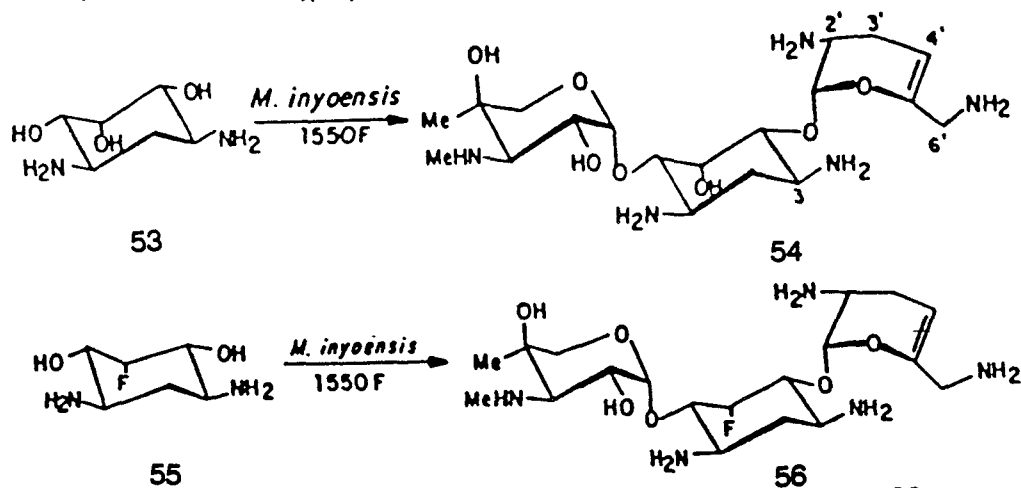


Σχήμα 16 : Σύνθεση της 4'-δεοξυ-5'-επι-καναμικίνης Β. 1) PhSeNa; 2) α.mCPBA, β.Θέρμανση; 3) α.H<sub>2</sub>/PtO<sub>2</sub>, β.Αποπροστασία.

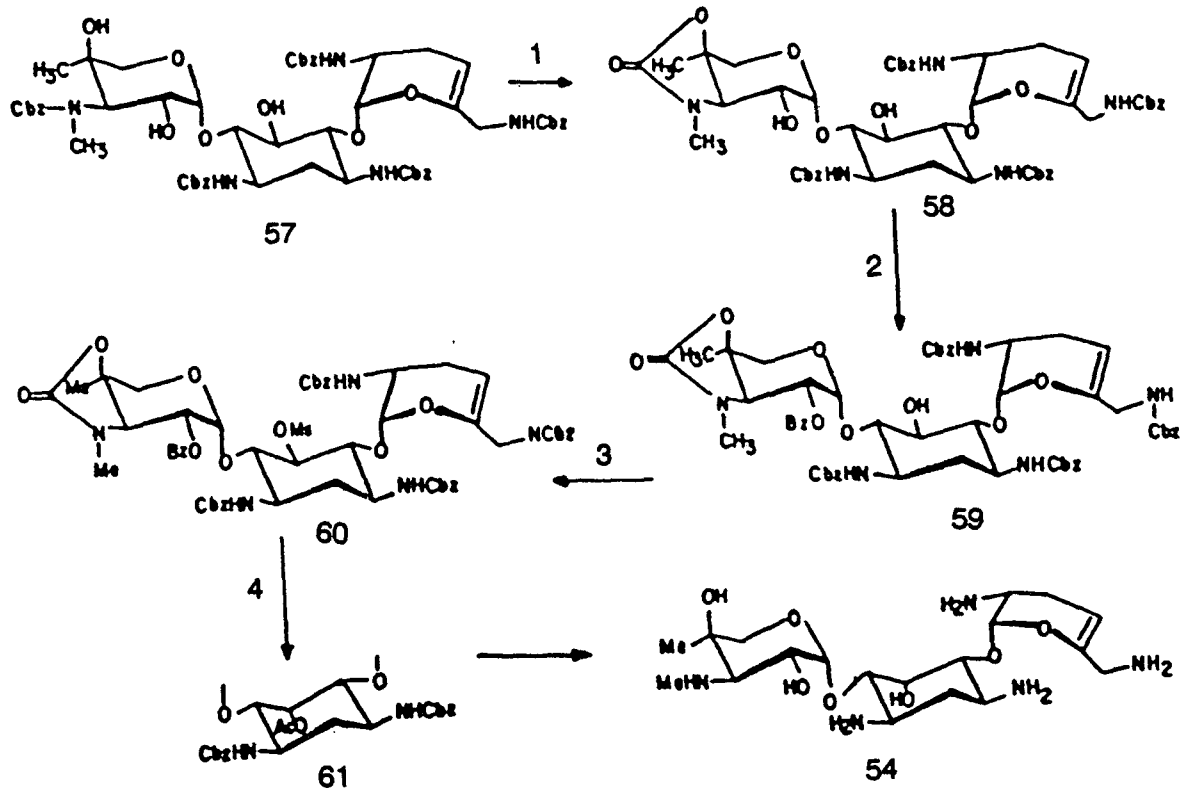
### 1.3.3) Επιμερή παράγωγα της σισομικίνης

Τα επιμερή παράγωγα της σισομικίνης περιορίζονται σ'αυτά της θέσεως C-5 και έχουν παραχθεί τόσο με μουτασύνθεση όσο και με ημισύνθεση.

Με μουτασύνθεση έχουμε:

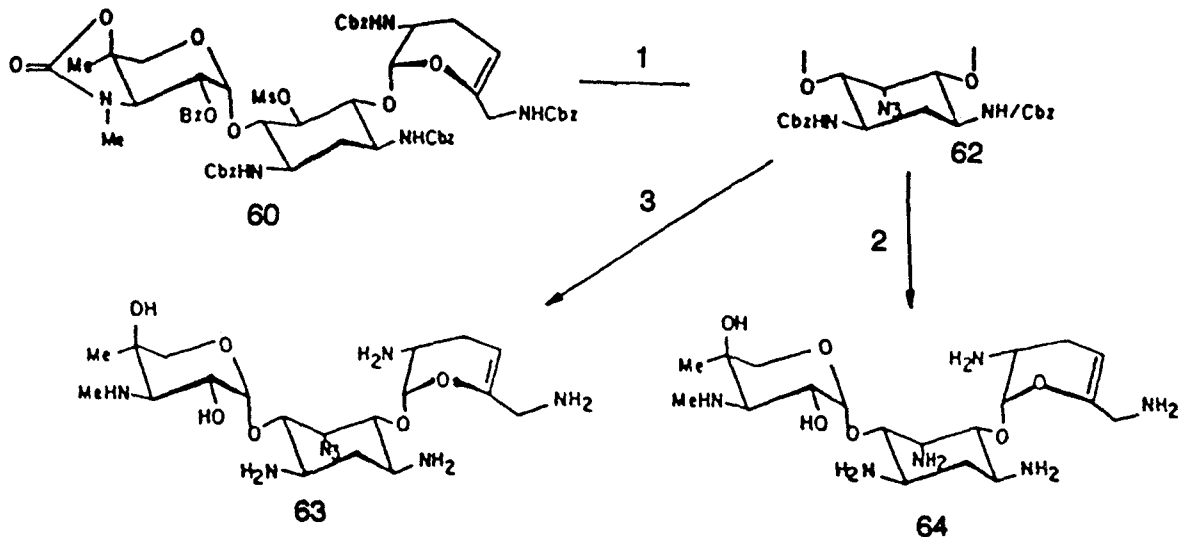


Το ίδιο προϊόν 54 προέκυψε σε 60% απόδοση και με ημισύνθεση<sup>88</sup> (σχήμα 17).

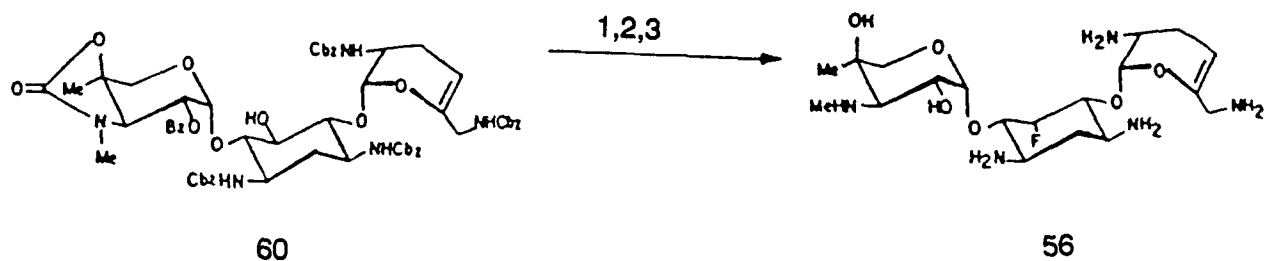


Σχήμα 17 : Σύνθεση της 5-επι-ισσομικίνης. 1) NaH; 2) PhCOCl/py; 3) MsCl/Et<sub>3</sub>N; 4) Bu<sub>4</sub>N<sup>+</sup>AcO<sup>-</sup>/DMF/90<sup>o</sup>; 5) Αποπροστασία.

Ακόμα από το ενδιάμεσο 60 έχουν δημιουργηθεί και οι:  
5-επι-αζιδο-ισσομικίνη<sup>88</sup>63, 5-επι-αμινο-ισσομικίνη<sup>88</sup>64, 5-επι-φθορο-ισσομικίνη<sup>88</sup>56.



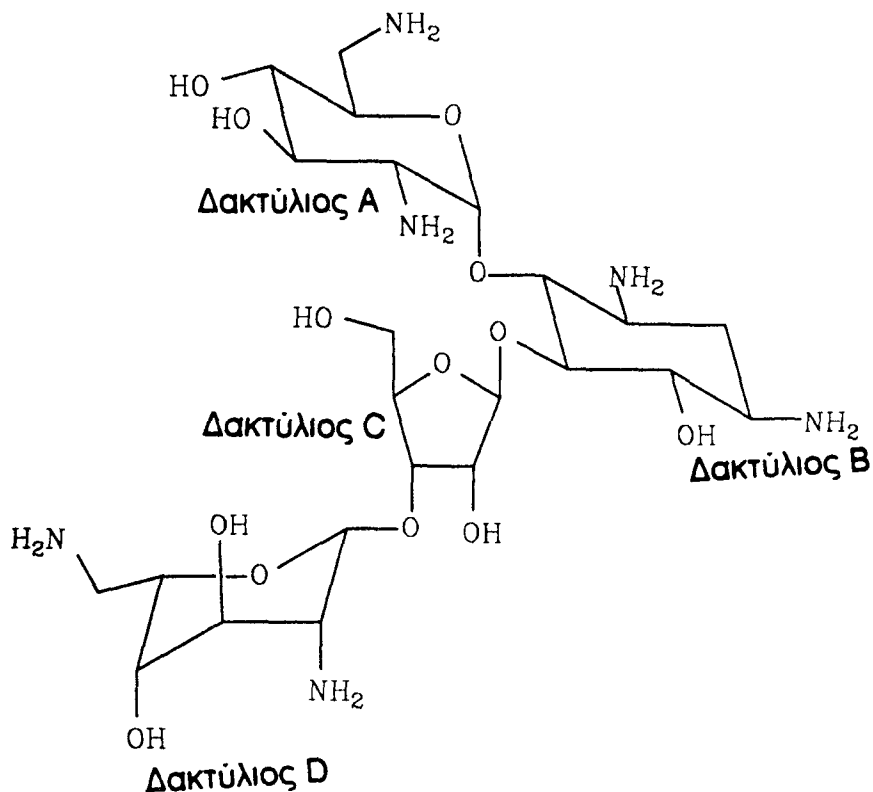
Σχήμα 18 : Σύνθεση της 5-επι-αζιδο- και της 5-επι-αμινο-ισσομικίνης. 1) NaN<sub>3</sub>; 2) α. Na/NH<sub>3</sub>, β. OH<sup>-</sup>; 3) OH<sup>-</sup>.



Σχήμα 19 : Σύνθεση της 5-επι-φθορο-σισομυκίνης. 1)  $F_3SNEt_2/CH_2Cl_2/-78^\circ C$ ; 2)  $Na/NH_3$ ; 3)  $OH^-$

### 1.3.4) ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΝΕΟΜΥΚΙΝΗ Β

Η νεομυκίνη Β είναι ένας τετρασακχαρίτης του οποίου οι 4 δακτύλιοι συμβολίζονται με τα λατινικά γράμματα Α, Β, C και D, όπως στο σχήμα 20.



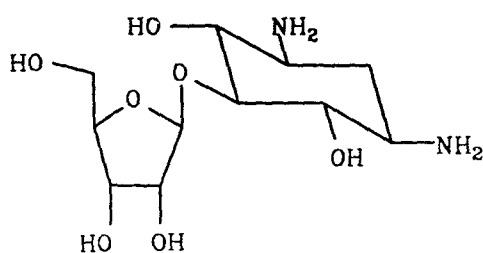
Σχήμα 20 : Νεομυκίνη Β (3a)

Η αξιολόγηση της σημασίας που έχει ένας έκαστος των δακτυλίων αυτών στη δραστηριότητα της νεομυκίνης Β, κατέστη δυνατή ύστερα από τη σύνθεση παραγώγων με συνδυασμούς των Α, Β, C και D δακτυλίων από τους Hannessian et al<sup>135</sup>.

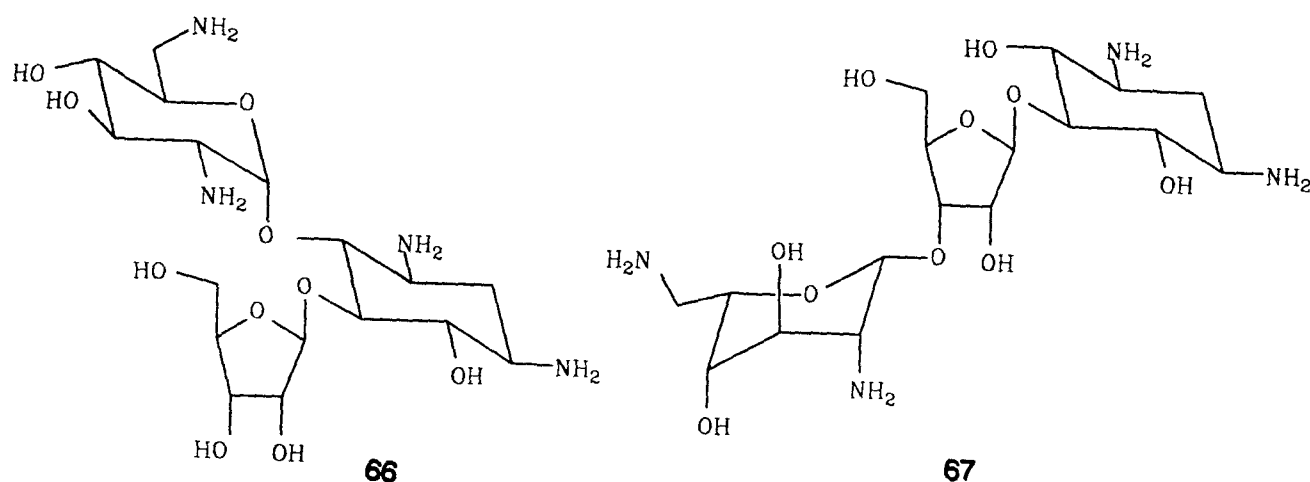


Ετσι συντέθηκαν τα παράγωγα 65, 66, 67 που η δράση τους σε σχέση με τη νεομυκίνη Β 3a, φαίνεται στο πίνακα 13.

Πίνακας 13		
Ενωση	Δακτύλιοι	Σχετική αντιμικροβιακή δράση
3a	A+B+C+D νεομυκίνη Β	10
65	B+C	0
66	A+B+C	5-7
67	B+C+D	1-4



65



66

67

Από τα στοιχεία αυτά γίνεται σαφές ότι είναι απαραίτητη η ύπαρξη ενός τουλάχιστον αμινοσακχάρου στο μόριο του αμινογλυκοζίτη έτσι ώστε αυτό να έχει αντιμικροβιακή δράση. Το αμινοσάκχαρο αυτό μάλιστα μπορεί να έχει είτε την

D-γλυκοπυρανόζυλο δομή (δακτύλιος A) είτε την L-ιδοπυρανόζυλο δομή αντίστοιχα (δακτύλιος D). Η απαίτηση αυτή μάλιστα πρέπει να δικαιολογείται από το ότι οι αμινογλυκοζίτες μεταφέρονται μέσα στο κύτταρο με το σύστημα μεταφοράς σακχάρων ή αμινοσακχάρων. Τα αμινοσάκχαρα του αμινογλυκοζίτη αποτελούν τα σημεία "σύνδεσης" του, με τις πρωτείνες μεταφοράς από την εξωτερική μεμβράνη του κυττάρου στο κυτταρόπλασμα (βλέπε και παράγραφο). Εξ'άλλου έτσι μπορεί να γίνει κατανοητή και η τάση των ενζύμων-μετατροπής να προστατεύουν (με Ο-φωσφορυλίωση, Ο-αδενυλίωση ή Ν-ακετυλίωση) κατά προτίμηση τις υδροξύλο ομάδες ή τις αμινο ομάδες του δακτυλίου A της νεομικίνης B, δηλαδή να μπλοκάρουν τις θέσεις σύνδεσης έτσι ώστε να εμποδίζουν την είσοδο του αμινογλυκοζίτη στο κύτταρο.

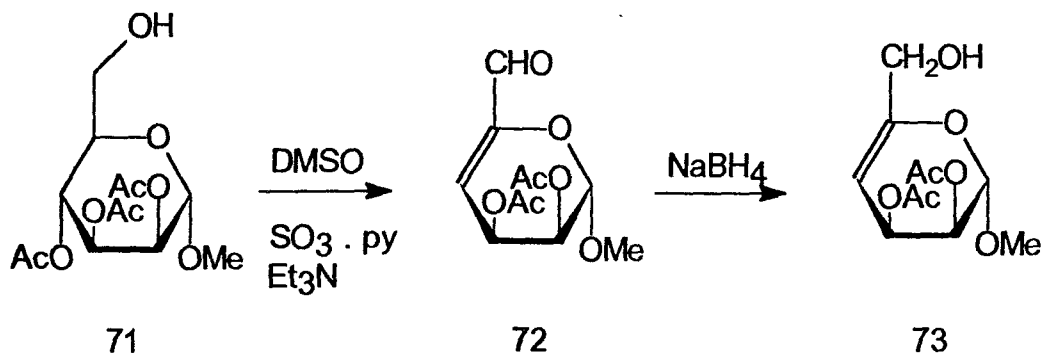
Όμως αν και έχουν γίνει πολλές τροποποιήσεις του δακτυλίου A αμινογλυκοζιτών, όπως η νεομικίνη (βλέπε προηγούμενη παράγραφο), αντίθετα στο δακτύλιο D έχουν γίνει ελάχιστες προσπάθειες: αντικατάσταση της C-2''-αμινομάδας από υδροξύλομάδα και αντικατάσταση όλου του δακτυλίου D από την D-γλυκοπυρανόζυλο δομή, προϊόν μάλιστα που οδήγησε σε αντιβιοτικό με μειωμένη δραστηριότητα, δείχνοντας έτσι ότι η ύπαρξη στο δακτύλιο D τουλάχιστον στη νεομικίνη, της L-ιδοπυρανόζυλο δομής είναι σημαντική για την αντιμικροβιακή δράση. Σε συμφωνία μ'αυτά τα αποτελέσματα είναι και η αυξημένη δραστηριότητα της νεομικίνης B έναντι της νεομικίνης C (βλέπε σχήμα 2, σελ. 17)

#### 1.4. ΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΠΟΡΕΙΕΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ C-5' ΕΠΙΜΕΡΕΙΩΣΗ ΤΗΣ ΝΕΑΜΙΝΗΣ

Στην παράγραφο αυτή θα αναφερθούμε στις μεθόδους επιμερείωσης στα απλά σάκχαρα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν πρότυπες ενώσεις για τις επιμερειώσεις στις αμινοκυκλιτόλες.

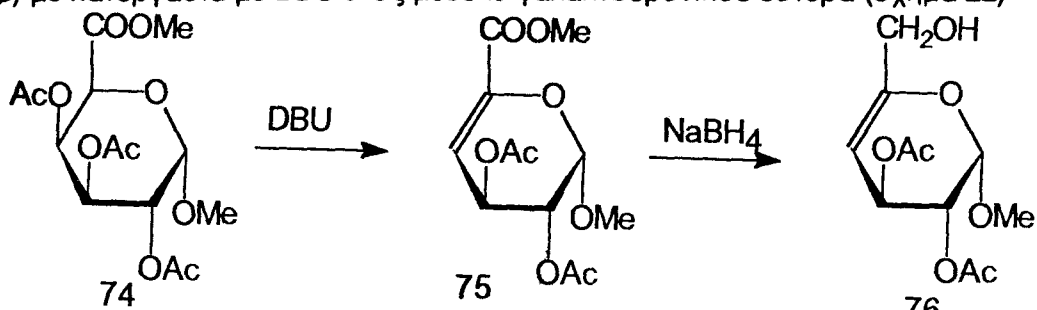
Η κυριώτερη μέθοδος αναστροφής σε συγκεκριμένο άτομο άνθρακα στηρίζεται σε κάποιο ακορέστο σύστημα. Η δημιουργία ενός τέτοιου ακορέστου συστήματος μπορεί να γίνει:

α) με οξειδωση στη θέση C-6 εστερικών παραγώγων εξοπυρανοζών με απόσπαση οξικού οξέος από την θέση C-4 (σχήμα 21)<sup>136</sup>



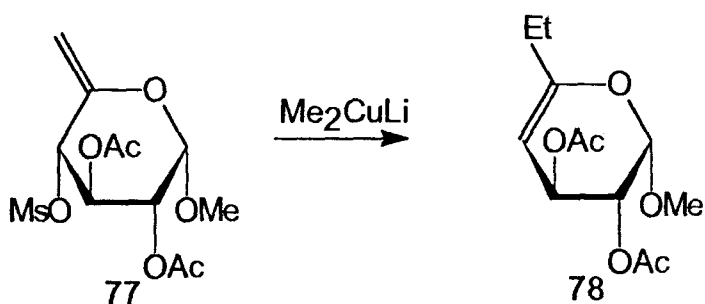
Σχήμα 21

β) με κατεργασία με DBU ενός μεθυλο-γαλακτουρονικού εστέρα (σχήμα 22)<sup>137</sup>



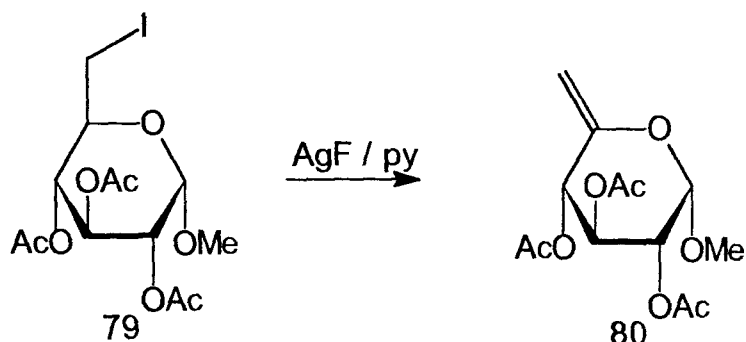
Σχήμα 22

γ) με μετάθεση ενός 5,6 διπλού δεσμού κατά την επίδραση οργανολιθικού αντιδραστηρίου (σχήμα 23)<sup>138</sup>



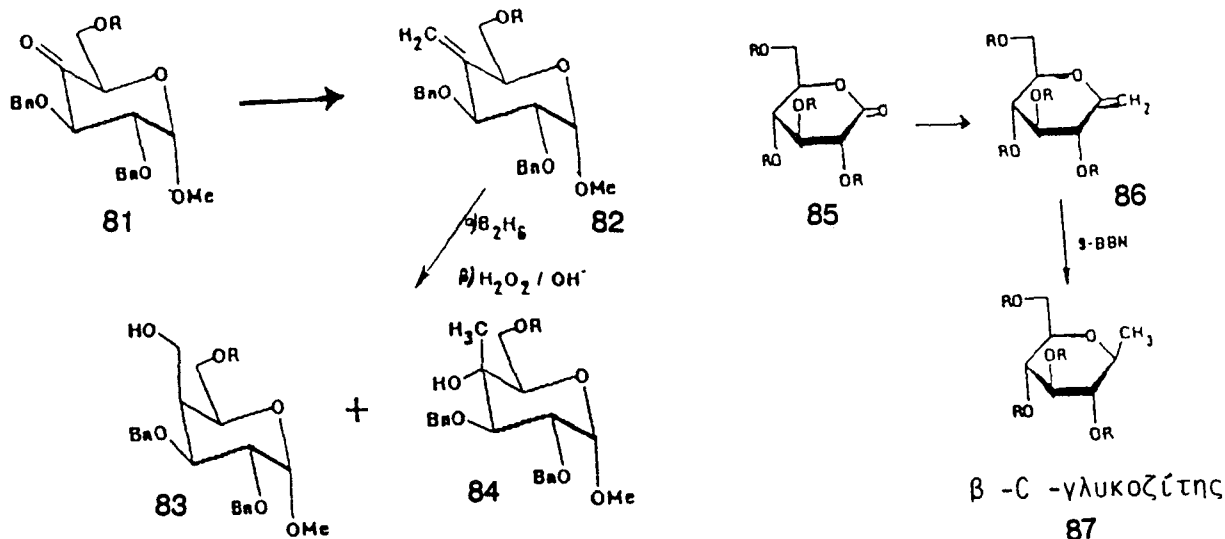
Σχήμα 23

δ) με αφυδραλογόνωση 6-ιωδιδίου υπό την επίδραση AgF/py σε θερμοκρασία περιβάλλοντος<sup>139-142</sup> ή με επίδραση DBU σε THF υπό βρασμό (σχήμα 24)



Σχήμα 24

και ε) μέσω της αντίδρασης Wittig στα αντίστοιχα κέτο παράγωγα (σχήμα 25)<sup>143,144</sup>.

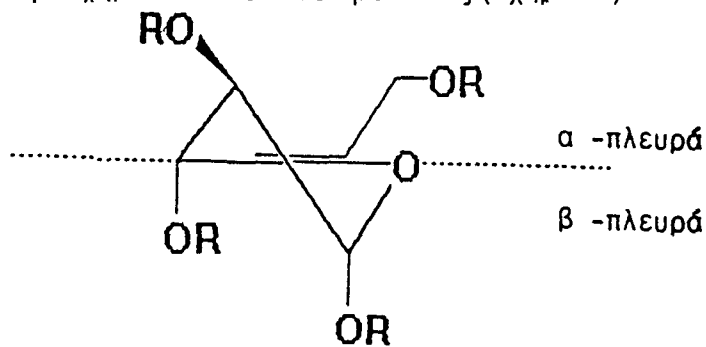


Σχήμα 25

Το ακόρεστο αυτό σύστημα μπορεί:

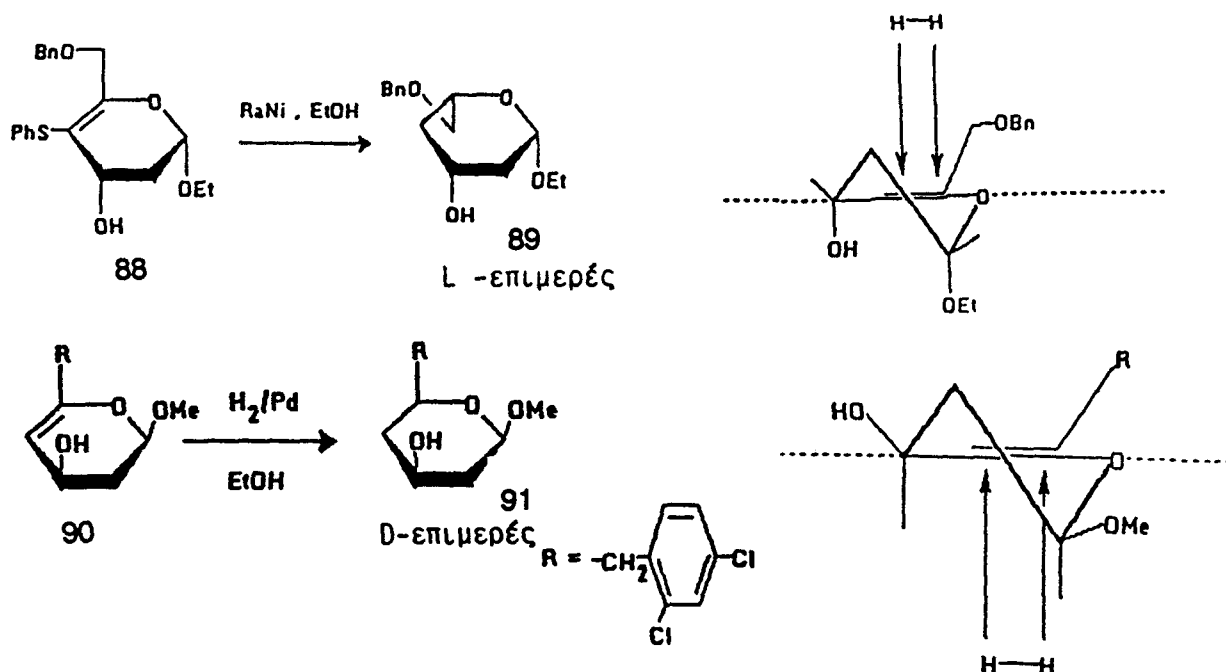
1) Με στερεοεκλεκτική αναγωγή να δώσει το επιθυμητό προϊόν. Η αναγωγή αυτή μπορεί να γίνει με υδρογόνο ή υδριδίο και αποτελεί άριστο τρόπο επιμερίωσης. Οι διαφορετικές χαρακτηριστικές ομάδες που φέρουν τα ολεφινικά συστήματα, έχουν σαν αποτέλεσμα αυτά να παρουσιάζουν διαφορετική δραστηριότητα. Έτσι πρέπει να μελετηθεί καλά το ολεφινικό σύστημα στο οποίο θα γίνει η αναγωγή, προκειμένου να ξέρουμε αν θα οδηγηθούμε στο επιθυμητό προϊόν ή όχι. Μερικά στοιχεία που δίνουν σημαντικές πληροφορίες για την αναγωγή αυτή είναι:

(α) όσον αφορά την καταλυτική υδρογόνωση των εξεν-4-πυρανοζιτών, αυτή γίνεται κατά τρόπο απόλυτα στερεοεκλεκτικό. Το C-5'επιμερές όμως, που ευνοείται είναι κατά περίπτωση διαφορετικό και εξαρτάται από την πλευρά της προσθήκης του υδρογόνου ή του υδριδίου. Σε κάθε ολεφινικό σύστημα και συγκεκριμένα σ'αυτά των εξεν-πυρανοζιτών διακρίνουμε δύο πλευρές, την α- και την β-πλευρά από την οποία εξαρτάται και η στερεοχημία του τελικού προϊόντος (σχήμα 26).



Σχήμα 26

Ετσι αν η προσθήκη του υδρογόνου ή του υδριδίου γίνει από την α- πλευρά, κάτι που θα καθοριστεί από τον προσανατολισμό των υπολοίπων υποκαταστατών (πόσο δηλαδή θα αφήνουν ανεμπόδιστη την προσθήκη του υδρογόνου ή του υδριδίου σ'αυτή τη πλευρά), τότε το προϊόν θα είναι το L-επιμερές. Η αντίθετη προσθήκη από την β-πλευρά θα οδηγήσει στο D-επιμερές(σχήμα 27). Εδώ να επισημάνουμε ότι και η προσθήκη του διβορανίου (δίνει το H<sup>-</sup>) έχει επίσης υψηλή στερεοεκλεκτικότητα και αυτό είναι αποτέλεσμα της cis προσθήκης του διβορανίου που γίνεται σε υψηλό βαθμό ή και αποκλειστικά από τη λιγότερο παρεμποδισμένη πλευρά (α ή β).



Σχήμα 27 : Παραδείγματα καταλυτικής υδρογόνωσης των εξεν-4-πυρανοζιτών

Για το 4,5 ακόρεστο σύστημα συγκεκριμένα ο 6-υποκαταστάτης δεν επηρεάζει την επιλογή του C-5 επιμερούς αφού φαίνεται ότι είναι αρκετά μακριά από το ακόρεστο σύστημα, ενώ αντίθετα καθοριστικής σημασίας γι'αυτή την επιλογή έχει ο προσανατολισμός των 1-, 2- και 3- υποκαταστατών.

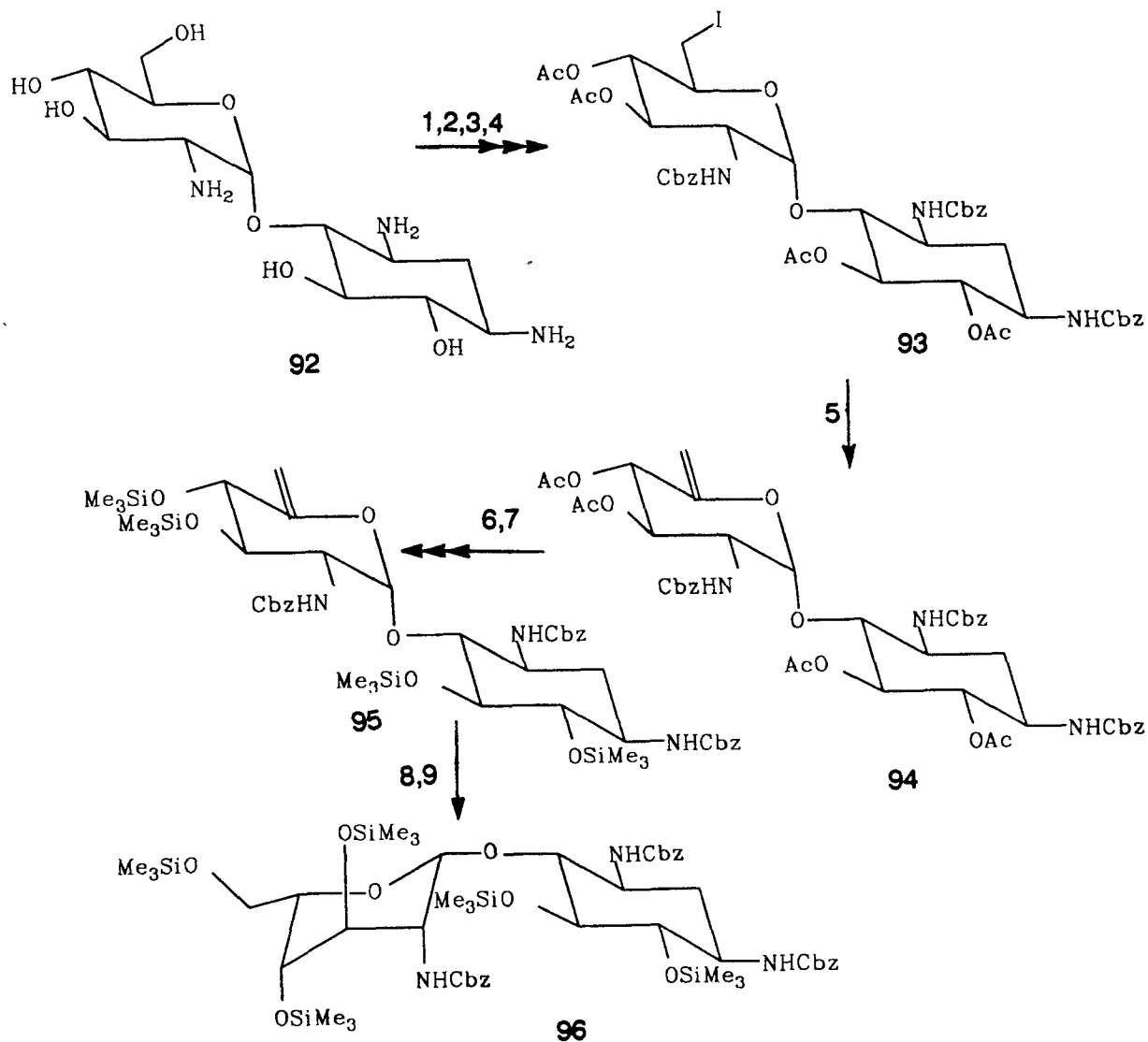
Ετσι έλλειψη υποκαταστατών στο C-2, ή ισημερινός προσανατολισμός του αν αυτός υπάρχει και αξονικός προσανατολισμός των 1,3 υποκαταστατών οδηγεί το σύστημα στο L-επιμερές.

Τα παραπάνω συμπεράσματα δυστυχώς δεν αποτελούν κανόνα, απλά έχουν παρατηρηθεί σε πολλές πειραματικές εργασίες<sup>145-147</sup>. Ομως υπάρχουν και περιπτώσεις ιδίως όταν έχουμε ογκώδεις υποκαταστάτες, όπως στη σισομυκίνη, όπου ενώ λόγω κυρίως της απουσίας C-3 υποκαταστάτη αναμενόταν η προσθήκη του υδρογόνου να λάβει χώρα από την β-πλευρά, αυτή συμβαίνει από την α, οδηγώντας σχεδόν

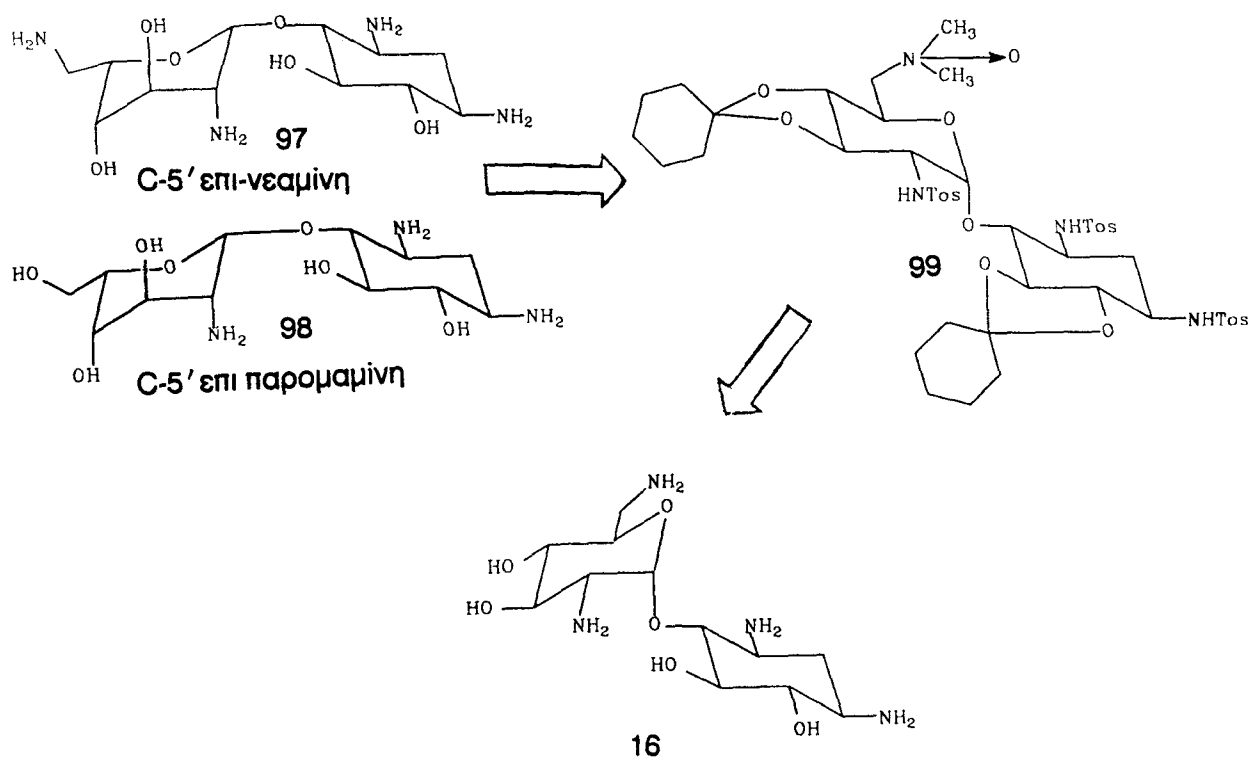
αποκλειστικά στο σχηματισμό του L-επιμερούς<sup>148</sup>. Ερμηνεία της προσθήκης αυτής μπορεί να γίνει με την παραδοχή ότι η β-πλευρά του ακορέστου συστήματος καλύπτεται από το άγλυκο μέρος που βρίσκεται σ'αυτή τη θέση, επειδή αυτό το στροφομερές που προκύπτει από την περιστροφή γύρω από το δεσμό O-C<sub>4</sub> ευνοείται.

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιήθηκε για την αναστροφή της παρομαμίνης (σχήμα 28)<sup>149</sup>.

Η δημιουργία όμως τόσο της C-5'επι-νεαμίνης, όσο και της C-5' επι-παρομαμίνης μπορεί να γίνει και από την νεαμίνη με τη νέα πορεία που σχεδιάσαμε, σε πολύ λιγότερα στάδια από την παραπάνω μέθοδο όπως φαίνεται στο σχήμα 29. Σημαντικό στη πορεία αυτή είναι και το μικρό κόστος της νεαμίνης σαν πρώτης ύλης.



Σχήμα 28 : Σύνθεση της (C-5')-επι-παρομαμίνης. 1) N-βενζυλοξυ-καρβονυλο-ηλεκτριμιδίο/Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>; 2) PPh<sub>3</sub>/NBS; 3) Ac<sub>2</sub>O/py; 4) KI/50°C; 5) AgF/py; 6) KCN/MeOH; 7) (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>SiCl/(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>SiNHSi(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>; 8) a. B<sub>2</sub>H<sub>6</sub>, β. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/OH<sup>-</sup>; 9) (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>SiCl / (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>SiNHSi(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>

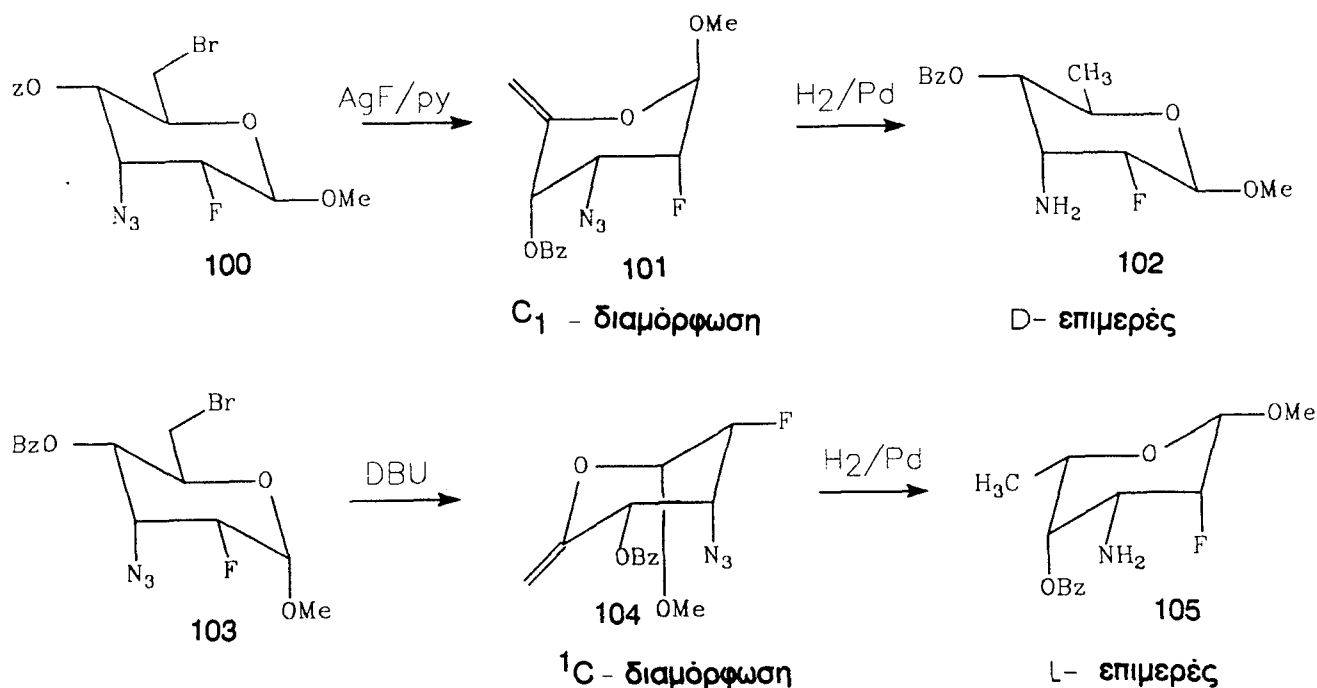


Σχήμα 29 : Αντιθετική ανάλυση της (C-5') επιμερείωσης της νεαμίνης και της παρομαμίνης

Οι αρχικές προσπάθειες έγιναν πάλι στο μόριο του α-D-γλυκοπυρανοζίτη που μετατράπηκε και στον 6-αμινο-γλυκοπυρανοζίτη, δομικό ανάλογο της νεαμίνης. Εξ'άλλου η μέθοδος μετατροπής του Ν-οξειδίου σε αλδεΐδομάδα, άνοιξε σε εμάς και άλλους συνθετικούς δρόμους, όχι μόνο μέσω της υδροξυλομάδας, αλλά και μέσω της αμινομάδας, αφού θα μπορούσε πλέον η 6'-αμινομάδα της νεαμίνης να μετατραπεί στην αλδεΐδομάδα (βλ.κεφ.ΙΙ).

(β) Το σύστημα όμως που εμάς μας ενδιέφερε περισσότερο ήταν ένα 5,6 ακόρεστο εξωκυκλικό σύστημα.

Η υδρογόνωση λοιπόν και ενός τέτοιου συστήματος παρουσιάζει υψηλή στερεοεκλεκτικότητα, που δίνει σχεδόν αποκλειστικά ένα μόνο C-5 επιμερές<sup>150</sup>. Η επιλογή του C-5 επιμερούς εξαρτάται όπως είναι φυσικό, από τη φύση και τον προσανατολισμό όλων των υποκαταστατών. Σημαντικό σημείο που πρέπει να προσεχθεί εδώ, προκειμένου να μην εξαχθούν εσφαλμένα συμπεράσματα, είναι η διαμόρφωση που μπορεί να υιοθετεί ο πυρανικός δακτύλιος του ακορέστου συστήματος (<sup>1</sup>C ή C<sub>1</sub>). Παραδείγματα υδρογόνωσης τέτοιων συστημάτων δίνονται στο σχήμα 30.

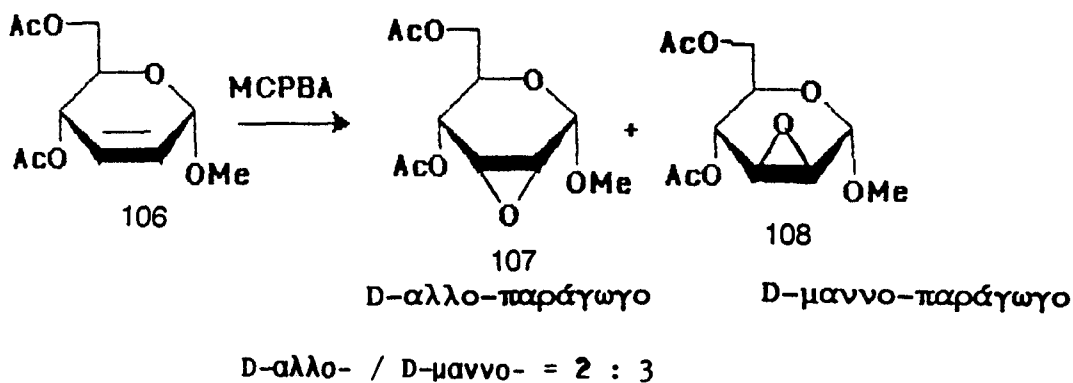


Σχήμα 30 : Υδρογόνωση 5,6-εν-πυρανοζιτών<sup>150</sup>

Βλέπουμε επομένως ότι το τελικό προϊόν, μπορεί να είναι διαφορετικό σε κάθε περίπτωση και επομένως χρειάζεται πειραματική εργασία προκειμένου να είμαστε σίγουροι για τη απεικόνιση του τελικού προϊόντος.

2) Από το ακόρεστο σύστημα μπορούν να προκύψουν ακόμα οξιρανικά παράγωγα, τα οποία με στερεοεκλεκτική διάνοση να δώσουν το προϊόν που θέλουμε.

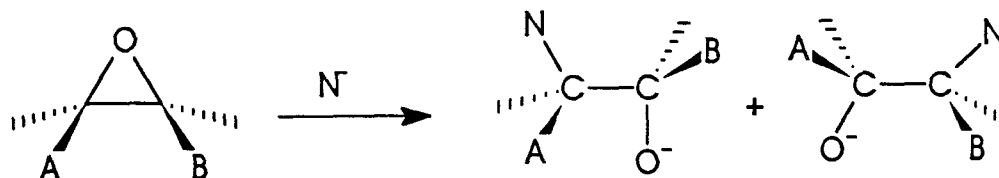
Η μέθοδος των οξιρανικών δακτυλίων υστερεί στο ότι η παρασκευή εποξειδίων από ακόρεστα σάκχαρα οδηγεί σε μίγμα cis και trans παραγώγων<sup>151</sup> (σχήμα 31), όταν χρησιμοποιηθούν υπεροξεία για τη σύνθεση αυτή. Ομως μπορούν να επιτευχθούν και εποξείδια με διαφορετικό τρόπο, όπως με το αντιδραστήριο Davis.



Σχήμα 31



Από την άλλη πλευρά η διάνοιξη του οξιρανικού δακτυλίου γίνεται εύκολα με προσβολή πυρηνόφιλων αντιδραστηρίων, οπότε το πυρηνόφιλο συνδέεται με τον ένα άνθρακα του οξιρανικού δακτυλίου και στον άλλο σχηματίζεται μια υδροξυλομάδα. Ο μηχανισμός μάλιστα που ακολουθείται<sup>152</sup> είναι  $S_N2$  υποκατάσταση στον ένα άνθρακα και οδηγεί τελικά στη δημιουργία ενός *trans*- $\alpha$ -υδροξυ-παραγώγου. Μπορούν να σχηματιστούν δύο ισομερή θέσης και η εκλεκτικότητα θέσης είναι αυτή που καθορίζει και τη στερεοχημεία του προϊόντος (σχήμα 32), δηλαδή η στερεοεκλεκτικότητα εξαρτάται από τη δομή του εποξειδίου, το πυρηνόφιλο, τις συνθήκες αντίδρασης κ.ά. Ευτυχώς όμως τα σακχαρικά οξιράνια που έχουν κατά καιρούς εξετασθεί έχουν δείξει μια σταθερή στερεοεκλεκτικότητα κατά τη διάνοιξη τους με ποικιλία αντιδραστηρίων και έτσι αποτελούν σημαντικές ενώσεις στη σύνθεση φυσικών προϊόντων.

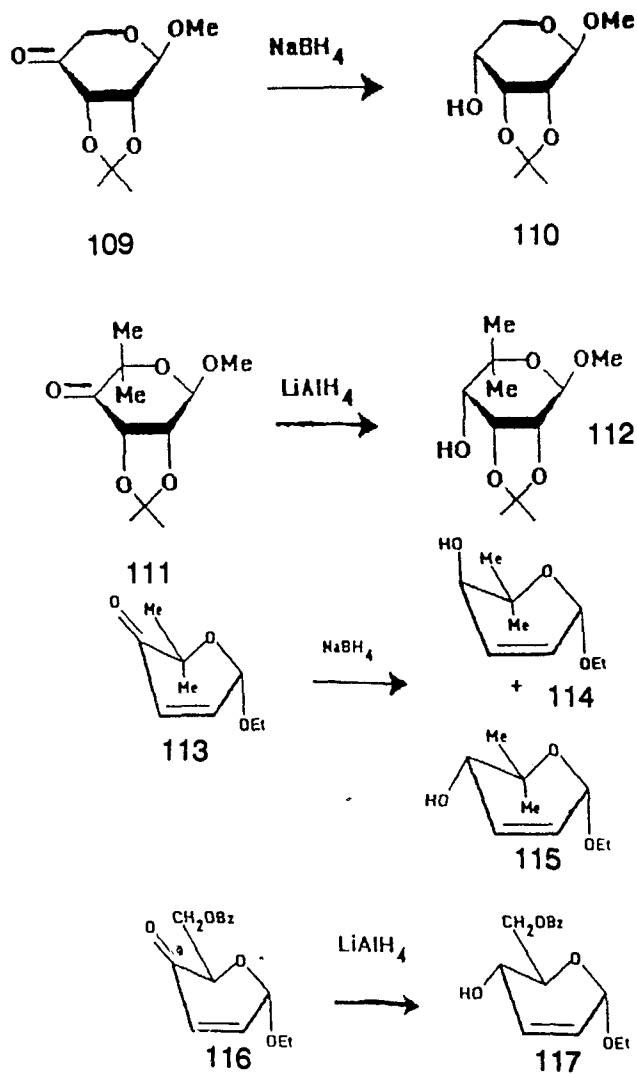


Σχήμα 32

3) Στην κατηγορία των ακορέστων συστημάτων, θα αναφερθούμε εδώ και στα κετο-παραγώγα, των οποίων η στερεοεκλεκτική αναγωγή, μπορεί να δώσει την επιμερείωση στον άνθρακα που γίνεται η αναγωγή. Το πρώτο βήμα στην πορεία αυτή είναι η οξειδωση ενός υδροξυλίου σε καρβονύλιο. Ο σχηματισμός οξιμής ή εναμίνης σε επόμενο στάδιο μάλιστα, έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία αμινοσακχάρων ως προϊόντα.

Η μεθοδολογία αυτή εφαρμόστηκε για την επιμερείωση στη θέση του C-3' της παρομαμίνης<sup>153</sup> και για την επιμερείωση στον C-3 της D-γλυκόζης<sup>154</sup>.

Τα 4-κετο-παραγώγα δίνουν κατά την αναγωγή τους την δομή που αντιστοιχεί στην D-γλυκόζη, στην αντίστοιχη θέση<sup>155</sup>. Συνδυασμός μάλιστα των παραγώγων αυτών με 2,3 ακόρεστο σύστημα μπορεί να δώσει και τα δύο επιμερή<sup>156,157</sup> (σχήμα 33). Σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να πραγματοποιηθεί επιμερείωση μέσω κετο-παραγώγου και σ' άλλες θέσεις, με απόσπαση του  $\alpha$ -υδρογόνου με βάση, αφήνοντας το σύστημα να εκδηλώσει τη στερεοχημική του προτίμηση<sup>158</sup>.



Σχήμα 33

Μπορούμε ακόμα με τη δημιουργία εναμίνης από το κετο-παράγωγο να πάρουμε πάλι επιμερίωση σε συγκεκριμένο κέντρο (υδρογονώσεις εναμινών).

Φαίνεται από όσα εκθέσαμε προηγουμένως ότι πράγματι η δημιουργία ενός ακόρεστου συστήματος είναι σημαντικότερο ενδιαμέσο και η επίτευξη του αποτελεί κλειδί στις επιμερίώσεις. Απλά εδώ να αναφέρουμε ότι επιμερίωση μπορούμε να πετύχουμε και με υποκατάσταση σουλφονυλοξυ-ομάδων ή αλογόνων με πυρηνόφιλα, αφού ο μηχανισμός στην περίπτωση αυτή είναι  $\text{S}_{\text{N}}2$  με αποτέλεσμα να έχουμε αναστροφή απεικόνισης και έτσι επιμερίωση, πλην όμως σαν συνθετική πορεία δεν αρμόζει στους στόχους μας.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ II

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ  
ΠΟΡΕΙΕΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ  
ΜΕ ΤΗΝ C-5' ΕΠΙΜΕΡΕΙΩΣΗ  
ΤΗΣ ΝΕΑΜΙΝΗΣ



ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙ. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΠΟΡΕΙΕΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ C-5'  
ΕΠΙΜΕΡΕΙΩΣΗ ΤΗΣ ΝΕΑΜΙΝΗΣ

### ΙΙ.1 ΓΕΝΙΚΑ

Απόσα αναφέρθηκαν στο προηγούμενο κεφάλαιο, είναι προφανής η αναγκαιότητα για την εύρεση νέων αντιβιοτικών, ώστε να ξεπερασθούν τα προβλήματα της τοξικότητας και της ανάπτυξης ανθεκτικών στελεχών.

Ενας από τους σκοπούς της διατριβής αυτής ήταν η σύνθεση της (C-5')-επι-νεαμίνης, με επιμερίωση του άνθρακα 5' της νεαμίνης, για τη δημιουργία νέων τροποποιημένων αντιβιοτικών, αφού όπως είπαμε (κεφ.Ι) η νεαμίνη αποτελεί κοινό τμήμα για πολλά αμινογλυκοζιτικά αντιβιοτικά (παρομομυκίνη, καναμυκίνη, ριβοσταμυκίνη, κ.ά.).

Η εμπειρία της ερευνητικής ομάδας στην οποία είχα την τιμή να συμμετέχω<sup>149,159</sup> και ο παράγοντας κόστους της προτεινόμενης ένωσης αποτέλεσαν σημαντικά στοιχεία στην τοποθέτηση και επίτευξη του σκοπού αυτού του μέρους της διατριβής.

Στο κεφάλαιο αυτό θα δούμε τους λόγους που μας οδήγησαν στην σύνθεση της (C-5')-επι-νεαμίνης και με ποιά κριτήρια αποφασίσαμε να την πραγματοποιήσουμε.

Η σημασία της L-ιδοπυρανόζυλο δομής (ως δακτυλίου D) στην αντιμικροβιακή δράση του αμινογλυκοζιτη και ίσως στη μεταφορά του μέσα στο κύτταρο, την οποία μελετήσαμε στο προηγούμενο κεφάλαιο μας οδήγησε στο σχεδιασμό συνθετικής πορείας για τη σύνθεση της 5'-επι-νεαμίνης. Στη δομή αυτή η L-ιδοπυρανόζυλο δομή έχει το ρόλο του δακτυλίου A, δηλαδή είναι συνδεδεμένη με τη 2-DOS (ενώ όταν αποτελεί το δακτύλιο D είναι συνδεδεμένη με τη D-ριβόζη).

Με την επιτυχία της σύνθεσης της ένωσης αυτής, εκτός του ότι θα είχαμε τη δυνατότητα με μουτασύνθεση να συνθέσουμε την 5'-επι-νεομυκίνη θα μπορούσαμε να συνθέσουμε μια σειρά πιθανών αντιβιοτικών που έχουν σαν βάση την νεαμίνη και να εξετάσουμε την αντιμικροβιακή τους δράση. Έτσι θα ήταν δυνατόν να εξαγάγουμε συμπεράσματα για το ρόλο της L-ιδοπυρανόζυλο δομής ως δακτυλίου A στα αντιβιοτικά της οικογένειας της νεομυκίνης, αλλά να εξαγάγουμε και γενικότερα συμπεράσματα για το ρόλο της L-ιδοπυρανόζυλο δομής στην αντιμικροβιακή δράση των αμινογλυκοζιτών. Δηλαδή θα μπορούσαμε να δούμε κατά πόσο όταν η L-ιδοπυρανόζυλο δομή παίρνει τη θέση του δακτυλίου A είναι ή δεν είναι πλέον το αντιβιοτικό υπόστρωμα για τα μέχρι σήμερα γνωστά ένζυμα-μετατροπείς.

Δυστυχώς όμως όσον αφορά τις ενζυμικές μετατροπές του δακτυλίου D της νεομικίνης που έχει την L-ιδοπυρανόζυλο δομή, δεν έχουν μελετηθεί και έτσι δεν γνωρίζουμε αν υπάρχουν ή όχι, οπότε δεν έχουμε και κανένα δεδομένο για το κατά πόσο η L-ιδοπυρανόζυλο δομή είναι ανθεκτική σ'αυτές όταν έχει το ρόλο του δακτυλίου D. Σημειώνουμε ακόμα, ότι και αν βρεθεί ότι τα ένζυμα-μετατροπής τροποποιούν τον δακτύλιο D, αυτό δεν θα σημαίνει ότι τροποποιούν γενικά την L-ιδοπυρανόζυλο δομή, αφού όταν αυτή καταλάβει την θέση του δακτυλίου A μπορεί να μην τροποποιείται.

## II.2. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΣΥΝΘΕΤΙΚΩΝ ΠΟΡΕΙΩΝ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Οι ενώσεις που σχεδιάστηκαν να συντεθούν στη διατριβή αυτή παρουσιάζουν μεγάλη δομική ομοιότητα με το φυσικό αντιβιοτικό νεομικίνη B. Μπορούν λοιπόν να συντεθούν με πρώτη ύλη το φυσικό αντιβιοτικό στο οποίο θα πραγματοποιούσαμε τη (C-5')-επιμερείωση. Η συνεχής μάλιστα μείωση της κλινικής χρήσης της νεομικίνης, δίνει μεγαλύτερο κύρος στην σχεδιασθείσα σύνθεση αφού επιτυχία της θα μπορούσε να δώσει νέα οικονομική προοπτική στα αντιβιοτικά της οικογένειας αυτής.

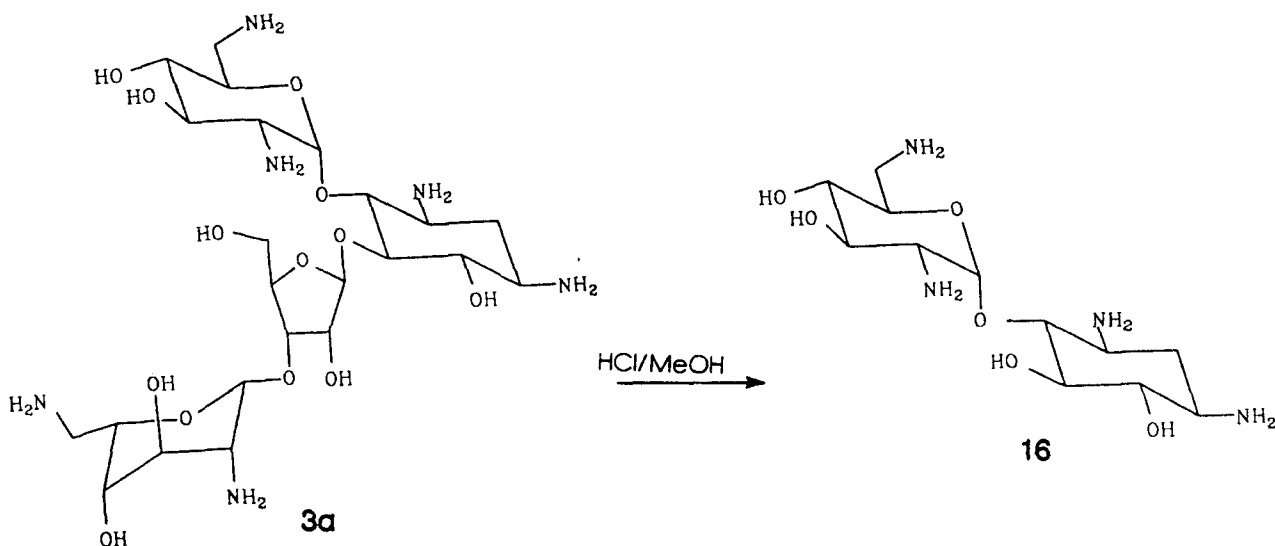
Τα στάδια της συνθετικής τακτικής ήταν:

1<sup>ο</sup> στάδιο: Η νεομικίνη B μεθανολύεται προς τη νεαμίνη (σχήμα 34).

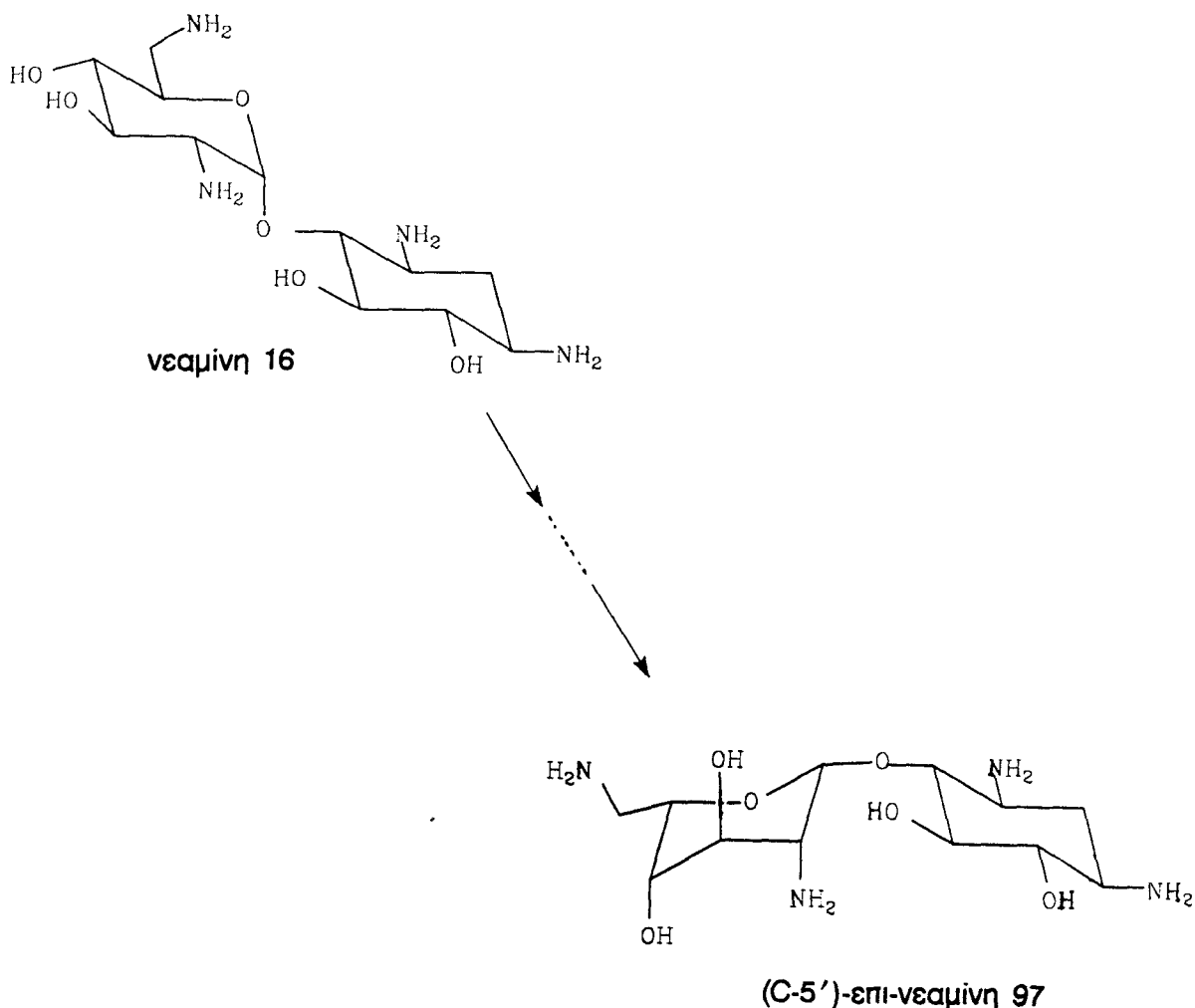
2<sup>ο</sup> στάδιο: Η νεαμίνη επιμεριώνεται στο C-5' και μετατρέπεται έτσι στην 5'-επι-νεαμίνη (σχήμα 35).

3<sup>ο</sup> στάδιο: Η 5'-έπι νεαμίνη βιομετατρέπεται στην 5'-επι-νεομικίνη B.

4<sup>ο</sup> στάδιο: Η 5'-επι νεαμίνη βιομετατρέπεται στην 5'-επι ριβοσταμικίνη.



Σχήμα 34 : Μεθανόλυση της νεομικίνης B προς τη νεαμίνη



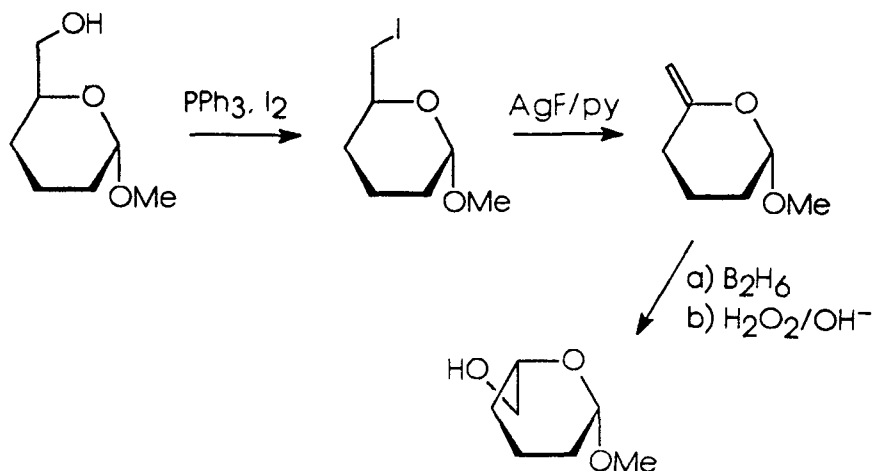
Σχήμα 35 : Πιθανό δομικό αποτέλεσμα από την (C-5')-επιμερείωση της νεαμίνης

Το σημαντικό που πρέπει να τονισθεί στη πορεία αυτή και που αποτελεί την πρωτοτυπία της σε σχέση με παρόμοιες εργασίες, είναι ότι οδηγούμαστε απευθείας στην σύνθεση της 5'-έπι νεαμίνης χωρίς να πρέπει να περάσουμε από την 5'-έπι παροαμίνη. Έτσι μειώνονται δραστικά τα στάδια σύνθεσης, κάνοντας τη μέθοδο ελκυστική και από εμπορικής πλευράς, καθώς και το ότι η 5'-έπι νεαμίνη μπορεί να δοκιμαστεί και η ίδια για την αντιμικροβιακή δράση της.

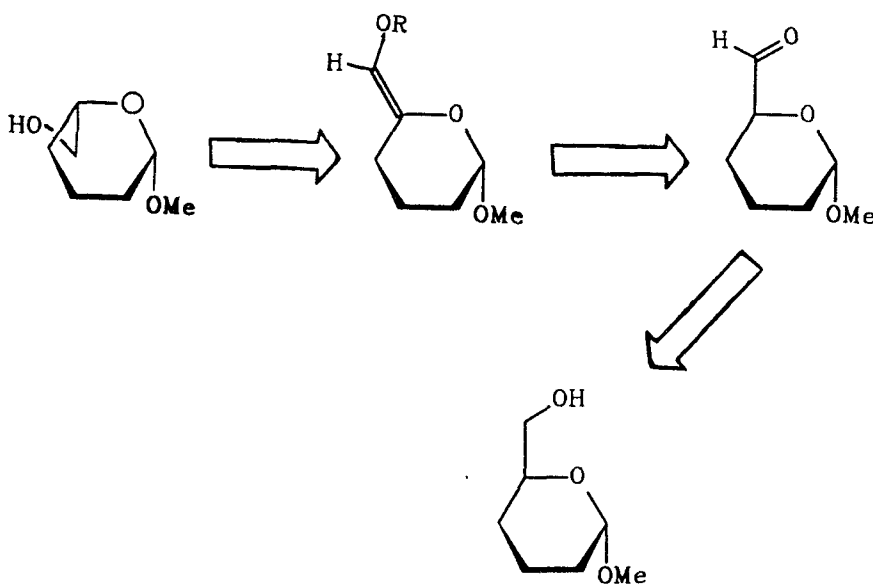
Όπως φαίνεται από τα παραπάνω, μόνο τα δύο πρώτα στάδια αποτελούν το χημικό τμήμα της συνθέσεως αυτής. Συγκεκριμένα το δεύτερο στάδιο (η επιμερείωση της C-5'-νεαμίνης), αποτέλεσε έναν από τους στόχους της διατριβής αυτής.

Στο σημείο αυτό πρέπει να τονίσουμε ότι ενώ η σύνθεση των L-εξοपुरανοζών είναι καλώς ανεπτυγμένη, η μετατροπή των D-γλυκοζιτών στους αντίστοιχους L-γλυκοζίτες (C-5 επιμερή) είναι ένα διαφορετικό ζήτημα. Το ζήτημα αυτό μέχρι πρότινος είχε προσεγγιστεί μόνο με τη διάνοιξη του πυρανικού δακτυλίου των D-αναλόγων τους, επιμερείωση στην ανοικτή μορφή και επαναδημιουργία του δακτυλίου. Όμως η

σημαντική απαίτηση στη δική μας περίπτωση (στάδιο 2), είναι να μη λυθεί ο γλυκοζιτικός δεσμός. Η απαίτηση αυτή και η σύνθεση του L-επιμερούς από το D για τον μεθυλο-α-D-γλυκοπυρανοζίτη έχει γίνει<sup>149</sup> με τη βοήθεια ενός 5,6 ακόρεστου συστήματος (σχήμα 36). Μια διαφορετική προσέγγιση στο ίδιο θέμα σχεδιάστηκε να γίνει σ'αυτή τη διατριβή, μέσω ενός ενολικού συστήματος (σχήμα 37) καθώς και μέσω μιάς εναμίνης (σχήμα 38).

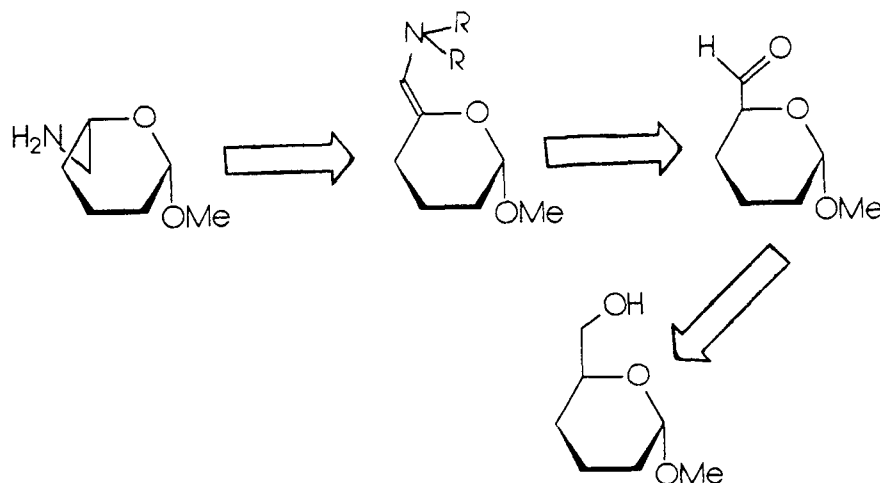


Σχήμα 36 : Σύνθεση του β-L-ιδοπυρανοζίτη από το μεθυλο α-D-γλυκοπυρανοζίτη (στους τύπους αναγράφονται μόνο τα υδροξύλια που τροποποιούνται).



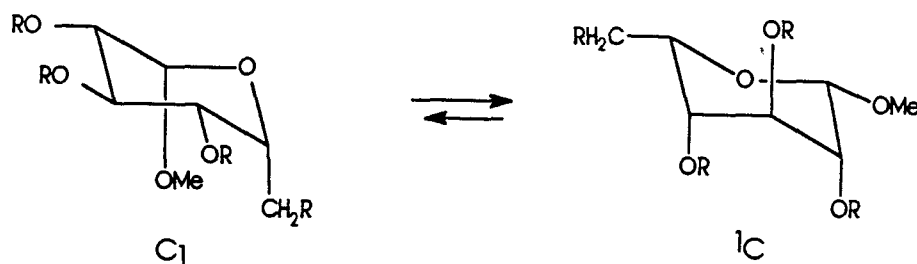
Σχήμα 37 : Αντιθετική ανάλυση της (C-5)-επιμερείωσης μέσω ενός ενολικού συστήματος.





Σχήμα 38 : Αντιθετική ανάλυση της (C-5)-επιμερείωσης μέσω μιας εναμίνης.

Τέλος όσον αφορά τη διαμόρφωση του δακτυλίου A των τελικών προϊόντων (C<sub>1</sub> ή <sup>1</sup>C) είναι πιθανόν να είναι παρόμοια μ'αυτή του δακτυλίου D της νεομυκίνης B. Ετσι αν και η διαμόρφωση του δακτυλίου D δεν έχει μέχρι σήμερα ξεκαθαριστεί, γιατί τα φάσματα N.M.R. είναι πολύ πολύπλοκα<sup>135</sup>, από μελέτες που έγιναν σε ελεύθερους β-L-ιδοπυρανοζίτες<sup>160</sup> βρέθηκε ότι σε διάλυμα υιοθετούν την <sup>1</sup>C διαμόρφωση κατ'αποκλειστικότητα, πράγμα που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι είναι πιθανό η 5'-έπι νεαμίνη να υιοθετεί και αυτή σε διάλυμα την <sup>1</sup>C (L) διαμόρφωση (σχήμα 39).



Σχήμα 39 : <sup>1</sup>C-C<sub>1</sub> διαμόρφωση του μεθυλο β-L-γλυκοπυρανοζίτη

### II.3. ΜΕΛΕΤΗ ΣΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ C-5'ΕΠΙΜΕΡΩΝ ΗΜΙΣΥΝΘΕΤΙΚΩΝ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ

#### II.3.1.ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ C-5'-ΕΠΙΜΕΡΕΙΩΣΗΣ ΣΤΟ ΜΟΡΙΟ ΤΟΥ ΜΕΘΥΛΟ α-D-ΓΛΥΚΟΠΥΡΑΝΟΖΙΤΗ

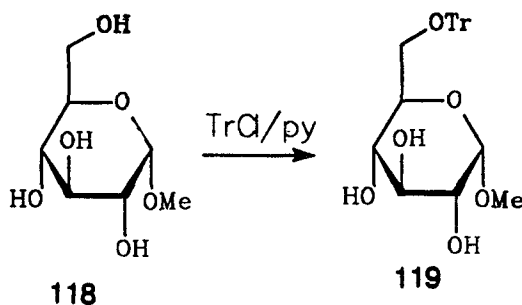
Όπως αναφέραμε στην παράγραφο I.4 (σελ.54), σημαντικό ενδιάμεσο στην επίτευξη αναστροφής σε συγκεκριμένο άτομο άνθρακα είναι η δημιουργία ενός ακόρεστου συστήματος.

Η πρώτη προσπάθεια έτσι ήταν η δημιουργία ενός 5,6 ακόρεστου συστήματος στον μεθυλο α-D-γλυκοπυρανοζίτη. Η συνθετική αυτή πορεία προέβλεπε την εκλεκτική οξειδωση της 6-υδροξυλομάδας του προς το αντίστοιχο αλδεύδο-παράγωγο και στη συνέχεια ενολοποίηση του, προς ένα 5,6-ακόρεστο σύστημα (βλέπε σχήμα 37).

Η ύπαρξη πολλών υδροξυ-ομάδων στα σάκχαρα δημιουργεί τα εξής ζητήματα:

- α) το πρόβλημα της διαφοροποίησης τους
- β) την επιλογή κατάλληλων προστατευτικών ομάδων, έτσι ώστε τα παράγωγα να έχουν ικανοποιητική διαλυτότητα στους διαλύτες που θα χρησιμοποιηθούν και να είναι σταθερά στις συνθήκες των αντιδράσεων που θα γίνουν
- γ) να είναι αδρανείς στις συνθήκες των διαφόρων σταδίων
- δ) να μπορούν να απομακρύνονται εύκολα κατά το πέρας της συνθετικής πορείας.

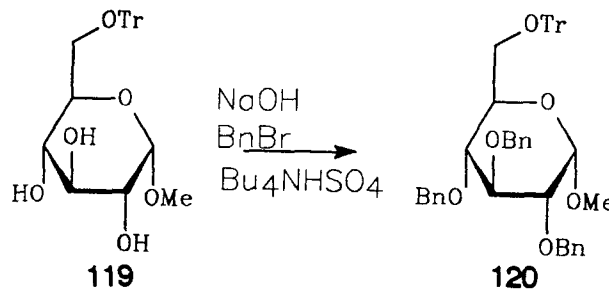
Η πρωταρχική απαίτηση και στη δική μας συνθετική πορεία ήταν η διαφοροποίηση της 6-υδροξυλομάδας από τις υπόλοιπες του δακτυλίου, έτσι ώστε να καταστεί δυνατή η εκλεκτική οξειδωση στον C-6. Η διαφοροποίηση αυτή έγινε αρκετά εύκολα με τη χρήση του  $\text{Ph}_3\text{CCl}$  που λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης αντιδρά μόνο με την πρωτοταγή υδροξυλομάδα του μορίου, δηλαδή την 6 119.



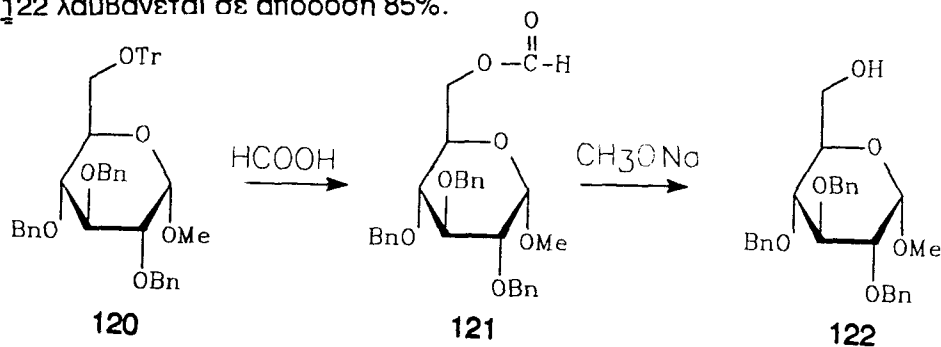
Στη συνέχεια γίνεται βενζυλίωση των 2,3,4 υδροξυλομάδων με την νέα μέθοδο CTP (καταλύση με μεταφορά φάσης). Η μέθοδος αυτή την οποία ανακοίνωσαν οι Garegg et.al.<sup>161</sup> το 1976 και βελτιώθηκε αργότερα<sup>162</sup>, συνίσταται στην σύνθεση βενζυλο-πυρανοζιτών, επιδρώντας  $\text{BnBr}$  παρουσία όξινου θειϊκού τετραβουτυλικού αμμωνίου ( $\text{Bu}_4\text{NHSO}_4$ ) παρουσία διφασικού συστήματος βενζολίου-50%  $\text{NaOH}$ .

Η προστασία των υπόλοιπων υδροξυλομάδων του δακτυλίου υπό την μορφή βενζυλ-αιθέρων, προτιμήθηκε σε σχέση με την προστασία με ακέτυλο εστέρες, επειδή: α)οι βενζυλικοί αιθέρες είναι σημαντικά διαλυτοί σε οργανικούς διαλύτες β)είναι σταθεροί τόσο σε όξινες όσο και σε βασικές συνθήκες γ)είναι αδρανείς σε πολλά αντιδραστήρια και δ)απομακρύνονται εύκολα με καταλυτική υδρογόνωση<sup>163</sup>. Ακόμα η υιοθέτηση της μεθόδου CTP έγινε αφού οι κλασσικές μέθοδοι σύνθεσης<sup>164</sup> βενζολικών αιθέρων (κατεργασία του σακχάρου διαδοχικά με βάσεις όπως  $\text{NaOH}$ ,  $\text{KOH}$ ,  $\text{NaH}$  και βενζυλαλογονίδια όπως  $\text{BnBr}$ ,  $\text{BnCl}$  σε διαλύτες όπως το  $\text{DMF}$ ,  $\text{DMSO}$ ), είχαν σαν κύρια προβλήματα τη χρήση διαλυτών υψηλού σημείου ζέσης προκειμένου να έχουμε διαλυτοποίηση των ελεύθερων σακχάρων, μακρούς χρόνους αντίδρασης, τη χρήση περίσσειας  $\text{BnX}$  καθώς και της ατμόσφαιρας αδρανούς αερίου, όταν σαν βάση χρησιμοποιείται το  $\text{NaH}$ .

Έτσι η βενζυλίωση του 119 έγινε στις συνθήκες CTP με τις τροποποιήσεις που έγιναν στο εργαστήριο μας<sup>149</sup>. Το 119 διαλύθηκε σε άνυδρο βενζόλιο και προστέθηκε στερεό κονιορτοποιημένο NaOH, έγινε ισχυρός βρασμός για 30' με χρήση συσκευής Dean-Stark, έτσι ώστε ν'απομακρυνθεί το νερό που πιθανόν υπήρχε. Η διαδικασία αυτή είναι απαραίτητη μόνο στην περίπτωση που ξεκινάμε με μεγάλη ποσότητα από το 119. Η ύπαρξη νερού στην αντίδραση μας είναι ισχυρά ανασταλτικός παράγοντας στην απόδοση του τελικού προϊόντος και τη δημιουργία παραπροϊόντων (μερικώς βενζυλιωμένα παράγωγα). Στη συνέχεια προσθέτουμε 2 ισοδύναμα BnBr για κάθε υδροξυλομάδα και Bu<sub>4</sub>N<sup>+</sup>HSO<sub>4</sub><sup>-</sup>, αναδεύουμε και θερμαίνουμε ισχυρά για 12hr οπότε λαμβάνουμε το 120 σε απόδοση 85% σαν μοναδικό προϊόν. Για μεγάλη ποσότητα του 119 χρειάζεται επιμήκυνση του χρόνου αντίδρασης στις 24hr προκειμένου να μην έχουμε εν μέρει μερικώς βενζυλιωμένα παράγωγα. Για την αποφυγή των προϊόντων αυτών είναι απαραίτητη και η συσκευή Dean-Stark όπως προαναφέραμε, προκειμένου να απομακρύνεται το παραγόμενο από την αντίδραση νερό.



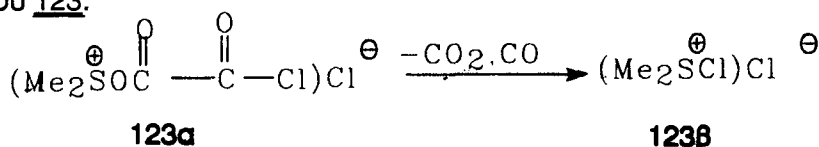
Το επόμενο στάδιο ήταν η απομάκρυνση της τριτυλο-ομάδας. Η απομάκρυνση αυτή έγινε με μυρμηκικό οξύ (HCOOH 98%-100%). Το προϊόν που πάρθηκε εδώ κατά την αντίδραση ήταν το 121. Η μετατροπή του 121 στο επιθυμητό προϊόν 122 γίνεται με κατεργασία του 121 με μεθανολικό νάτριο (CH<sub>3</sub>ONa) σε μεθανόλη για 15min, οπότε το προϊόν 122 λαμβάνεται σε απόδοση 85%.



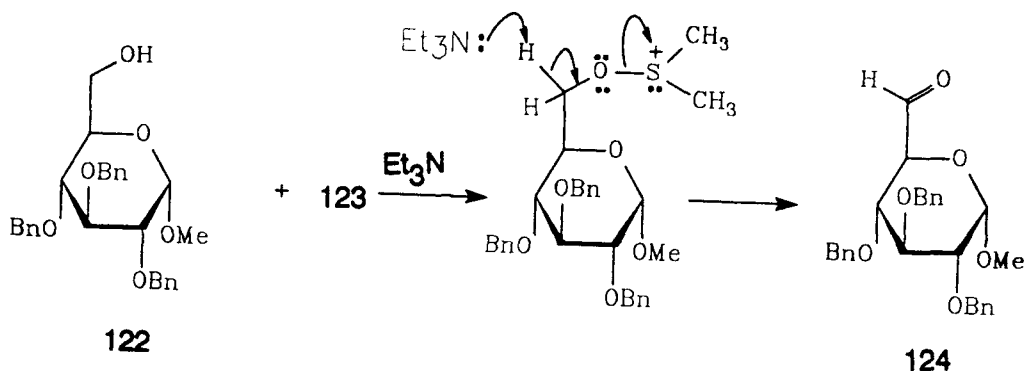
Έχοντας έτσι διαφοροποιήσει την εξωκυκλική υδροξυλο-ομάδα από εκείνες του δακτυλίου και μάλιστα παίρνοντας τον μεθυλο 2,3,4 τρι-*O*-βενζυλο- $\alpha$ -D-γλυκοπυρανοζίτη 122 σε απόδοση 60% από τον μεθυλο  $\alpha$ -D-γλυκοπυρανοζίτη, προχωρήσαμε στο επόμενο στάδιο που ήταν η οξειδωση του 122 προς το αντίστοιχο αλδεΐδο-παράγωγο. Το στάδιο

αυτό το οποίο ήταν καθοριστικό σ' όλη τη σύνθεση και στο οποίο είχαν αποτύχει άλλες προσπάθειες επιχειρήθηκε να γίνει μέσω της τελειοποιημένης αντίδρασης Swern.

Ο Daniel Swern ήταν αυτός που μελέτησε πολύ τις οξειδώσεις αλκοολών, με έναν συνδυασμό του διμεθυλο-σουλφοξειδίου (DMSO) με πολλά αντιδραστήρια ενεργοποιητές του<sup>165,166</sup>. Από πιο παλιά όμως ήταν γνωστές οξειδώσεις αλκοολών με βάση το DMSO και το διμεθυλοσουλφίδιο (DMS), όπως το  $\text{DMSO-py}\cdot\text{SO}_3$ <sup>167</sup> και το DMSO με αρκετούς ανυδρίτες και όξινα χλωρίδια. Μαζί με τον Omura, ο Swern εξέτασε αρκετούς τέτοιους ενεργοποιητές με λεπτομέρειες και βρήκαν ότι το θειονυλοχλωρίδιο ( $\text{SOCl}_2$ ) και το σολφουρυλοχλωρίδιο ( $\text{SO}_2\text{Cl}_2$ ) είναι και οι δύο μέτρια καλοί ενεργοποιητές, το οξαλυλοχλωρίδιο ( $\text{COCl}_2$ ) όμως πολύ πιο ικανοποιητικός βοηθός ενεργοποίησης του DMSO. Αλκοόλες πρωτοταγείς, δευτεροταγείς, αλλυλικές, βενζυλικές και δικυκλικές οξειδώνονται με αποδόσεις 80-100%<sup>166,168</sup>. Το οξαλυλοχλωρίδιο αντιδρά βίαια και εξώθερμα με το DMSO στη θερμοκρασία δωματίου, έτσι είναι απαραίτητη η χρήση χαμηλών θερμοκρασιών ( $-60\text{ }^\circ\text{C}$ ) για την αντίδραση αυτή και το σχηματισμό του ενδιάμεσου 123.

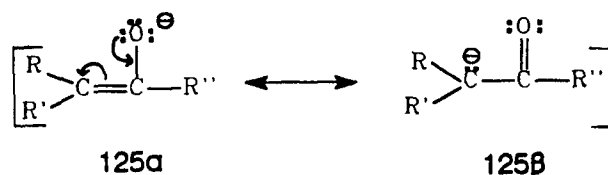


Η δομή του ενδιάμεσου 123 δεν είναι γνωστή. Τα ενδιάμεσα 123a και 123b είναι και τα δύο πιθανά να υπάρχουν. Πολλές αλκοόλες με τη χρήση του συστήματος αυτού έδωσαν πολύ καλές αποδόσεις σε αλδεύδες και το μόνο πρόβλημα ήταν όταν η αλκοόλη δεν είχε καλή διαλυτότητα στο σύστημα της αντίδρασης ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -DMSO), πρόβλημα το οποίο δεν αντιμετωπίζαμε εμείς. Στο τέλος η μέθοδος χρησιμοποιεί τριαιθυλαμίνη προκειμένου να διασπαστεί το αλκοξυ-θειικό άλας και να πάρουμε το καρβονύλιο. Έτσι στους  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  και κάτω από άζωτο έγινε η δημιουργία του συμπλόκου 123. Στη συνέχεια προσθήκη σιγά-σιγά του 122 σε αυτή τη χαμηλή θερμοκρασία, ανάδευση για 30 min και προσθήκη τριαιθυλαμίνης ( $\text{Et}_3\text{N}$ ) προκειμένου να διασπαστεί το σύμπλοκο και να ληφθεί η επιθυμητή αλδεύδη 124. Στο προϊόν 124 παίρνεται I.R. όπου υπάρχει η χαρακτηριστική απορρόφηση στα  $1720\text{cm}^{-1}$ . Το προϊόν όμως είναι ασταθές, όπως φαίνεται και από την χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (Χ.Λ.Σ). Έτσι προχωράμε στο επόμενο στάδιο, που είναι η δημιουργία του 5,6 ακόρεστου συστήματος μέσω της αντίστοιχης ενόλης.



Τα ενολικά ιόντα ως σημαντικά ενδιάμεσα σε συνθετικές πορείες

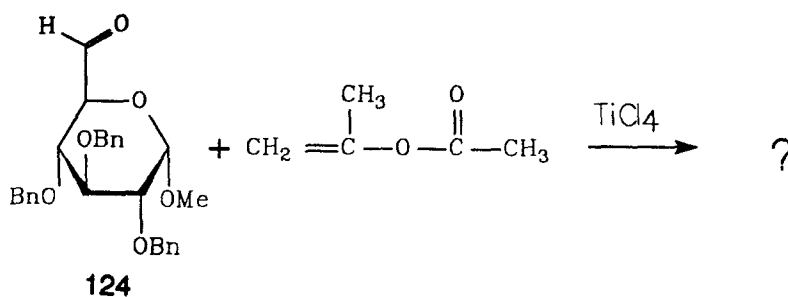
Η δημιουργία ενολικών ιόντων ως ενδιάμεσων σε πολλές συνθετικές πορείες, είναι από παλιά γνωστή. Αντιδράσεις όπως η αλδολική συμπύκνωση και η συμπύκνωση Claisen, λαμβάνουν χώρα μέσω αυτών των ιόντων. Τα ιόντα αυτά είναι πολύ σημαντικά, γιατί εμφανίζουν χαρακτήρα καρβανιόντων (μεσομερή δομή 125β).



Ο πιο γενικός τρόπος για τη δημιουργία καρβανιόντων είναι η απόσπαση ενός πρωτονίου από ένα άνθρακα με τη χρησιμοποίηση μιας βάσης κατά Brønsted. Η σταθεροποίηση όσο και η παραγωγή τους εξαρτάται από τους υποκαταστάτες του πυρηνόφιλου άνθρακα<sup>169</sup>.

ΠΡΟΣΠΑΘΕΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΜΕΘΥΛΟ-6-Ο-ΑΚΕΤΥΛΟ-2,3,4-ΤΡΙ-Ο-ΒΕΝΖΥΛΟ-α-D-ΓΛΥΚΟΠΥΡΑΝΟ-5-ΕΝΟΖΙΤΗ (126).

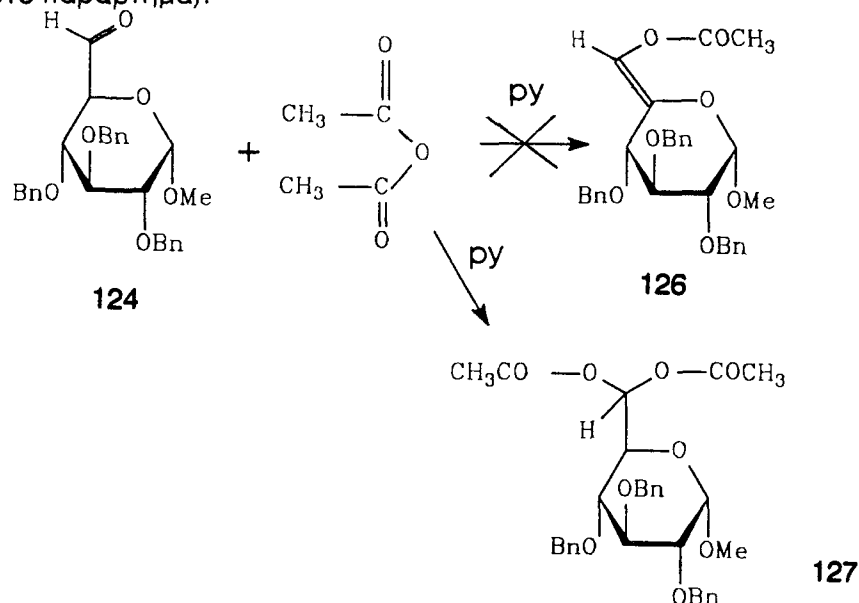
Η πρώτη προσπάθεια στον τομέα αυτό έγινε με προσθήκη στο 124 του ισοπροπυλενοξικού εστέρα και τετραχλωριούχου τιτανίου τόσο σαν καταλύτη, όσο και σαν δεσμευτή του παραγόμενου νερού. Το αποτέλεσμα όμως ήταν μια σειρά από κηλίδες που ήταν αδύνατο να απομονωθούν με χρωματογραφία στήλης.



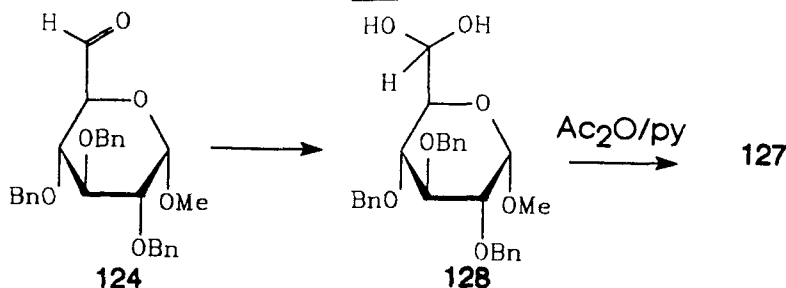
Στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε αντί του  $\text{TiCl}_4$  το π-τολουολοσουλφονικό οξύ (π-Tos-OH). Όμως και σ'αυτή την περίπτωση, δεν υπήρξε κάποιο κύριο προϊόν, που να μπορεί ν'απομονωθεί.

Οι αποτυχίες αυτές μας οδήγησαν στο να προσπαθήσουμε την σύνθεση με διαφορετικό τρόπο. Έτσι το 124 διαλύθηκε σε πυριδίνη και προστέθηκε οξικός ανυδρίτης. Συνεχή παρακολούθηση της αντίδρασης με Χ.Λ.Σ, μας οδήγησε σε 10 ημέρες σ'ένα προϊόν, που ελπίζαμε ότι θα ήταν το επιθυμητό προϊόν 126. Όμως η απομόνωση και ο καθορισμός της δομής του με  $400\text{MHz } ^1\text{H N.M.R.}$ , έδειξε ότι δεν ήταν

το επιθυμητό προϊόν αλλά το 127. Χαρακτηριστικά στοιχεία για την απόδοση στην ένωση μας του τύπου 127 από το NMR αποτελούν : α) Η ύπαρξη εξί πρωτονίων σε  $\delta=3.36\text{ppm}$  που αντιστοιχούν στην ύπαρξη δυο ακέτυλο ομάδων. β) Το ότι το H5 πρωτόνιο που εμφανίζεται σε  $\delta=3.8\text{ppm}$  σχάζεται σε διπλή κορυφή και όχι σε τετραπλή, επειδή μάλλον βρίσκεται σε γωνία  $90^\circ$  με το H6, κάτι που δικαιολογείται και με το απλό σήμα του H6 (βλ.  $^1\text{H}$  N.M.R. στο παράρτημα).



Το προϊόν αυτό υποθέσαμε ότι μπορεί να προέρχεται από ακετυλίωση της ενυδατωμένης μορφής της αλδεΐδης 128.

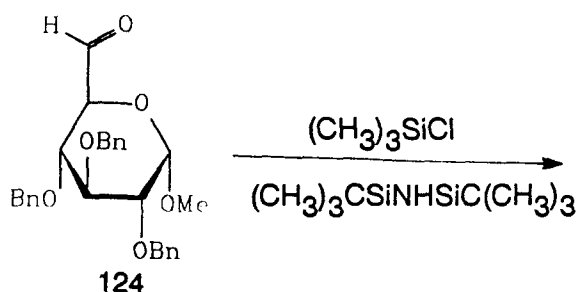


Προκειμένου να πάρουμε το προϊόν 126, κάναμε στο 124 ισχυρό βρασμό με άνυδρο βενζόλιο και συσκευή Dean-Stark και στη συνέχεια προχωρήσαμε στην προσθήκη του μίγματος  $\text{Ac}_2\text{O/py}$ . Όμως το προϊόν ήταν πάλι το ίδιο.

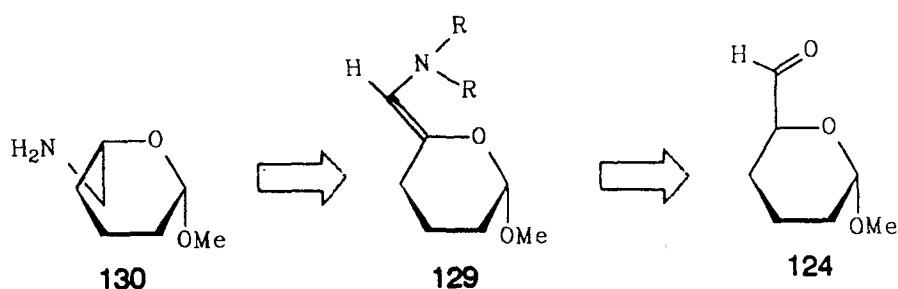
Για να πάρουμε την ενόλη που θέλουμε, θερμάναμε το 127 με DBU σε άνυδρο βενζόλιο. Όμως η αντίδραση της ενολοποίησης δεν έγινε.

Χρησιμοποίηση του σιλυλιωτικού μίγματος που αναφέρεται για τη δημιουργία τέτοιων ενολών<sup>170</sup>, δυστυχώς είχε επίσης αρνητικά αποτελέσματα, αφού τα προϊόντα που πάρθηκαν ήταν πολύ ευαίσθητα και δεν μπορούσαν ν'απομονωθούν. Προσπάθεια μάλιστα απ'ευθείας υδρογόνωσης τους, έδωσε νέες κηλίδες στη Χ.Λ.Σ. που όμως δεν είχαν καμία σχέση με τα αναμενόμενα προϊόντα, δηλαδή τον μεθυλο 2,3,4-τρι-*O*-βενζυλο-

$\beta$ -L-ιδιοπυρανοζίτη (σύγκριση χρωματογραφικής συμπεριφοράς με το αντίστοιχο μεθυλο 2,3,4-τρι-O-βενζυλο- $\alpha$ -D-γλυκοπυρανοζίτη).



Υστερα από τις αποτυχημένες αυτές προσπάθειες στραφήκαμε στη δημιουργία από την αλδεΐδη 124 της αντίστοιχης εναμίνης 129, που με υδρογόνωση της θα μπορούσε να οδηγήσει στο προϊόν 130.



Η δημιουργία των εναμινών γίνεται με συμπύκνωση δευτεροταγών αμινών με καρβονυλικές ενώσεις παρουσία όξινου καταλύτη και με θέρμανση. Προκειμένου να οδηγήσουμε την αντίδραση αυτή σε συμπλήρωση της, πρέπει να απομακρύνουμε το νερό με αζεοτροπικό μίγμα.

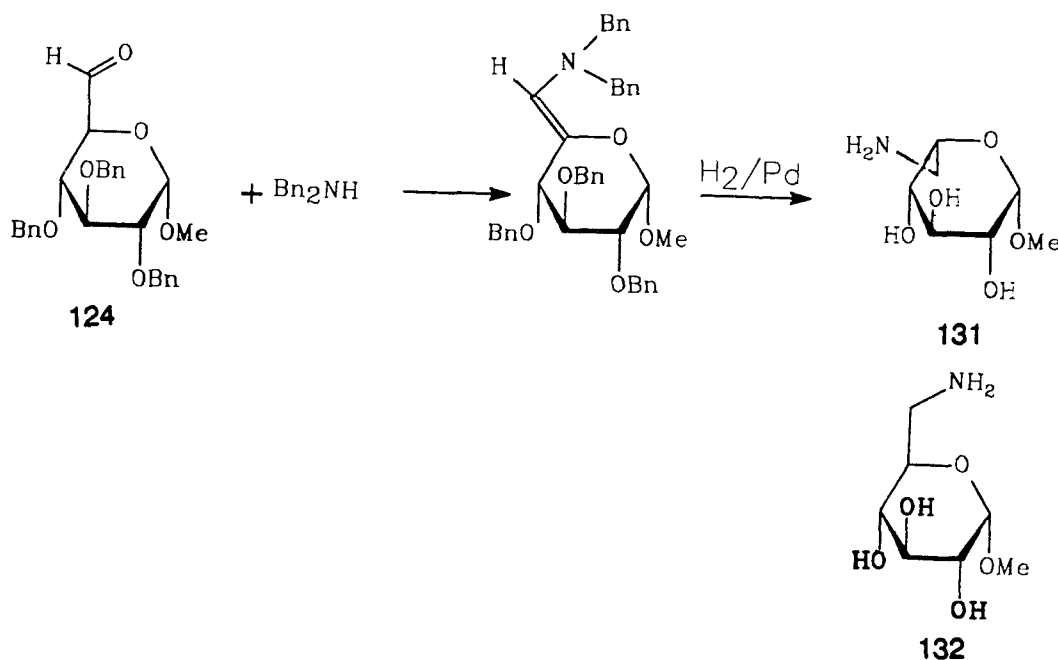
Πολλοί άλλοι τρόποι για την παρασκευή εναμινών έχουν αναφερθεί<sup>171</sup>, ένας από τους οποίους είναι η μετατροπή των δευτεροταγών αμινών στα τριμεθυλο-πυριτίο-παράγωγά τους και στη συνέχεια αντίδρασή τους με καρβονύλιο, που λόγω της μεγαλύτερης συγγένειας του πυριτίου με το οξυγόνο απ'ότι με το άζωτο, οδηγεί στο σχηματισμό εναμινών σε πιο ήπιες συνθήκες<sup>172</sup>.

Η χρήση  $\text{TiCl}_4$  στην αντίδραση οδηγεί επίσης στο γρήγορο σχηματισμό εναμινών σε ήπιες συνθήκες<sup>173</sup>. Η τελευταία αυτή μέθοδος μάλιστα δίνει πολύ καλές αποδόσεις, ακόμα και σε στερεοχημικά παρεμποδισμένες καρβονυλικές ενώσεις. Η χρήση του  $\text{TiCl}_4$  παίζει σημαντικότερο ρόλο στην αντίδραση αυτή επειδή:

- α) μπορεί να δράσει σαν οξύ κατά Lewis πολώνοντας τον καρβονυλικό δεσμό και
- β) δεσμεύει ποσοτικά το παραγόμενο νερό (scavenger).

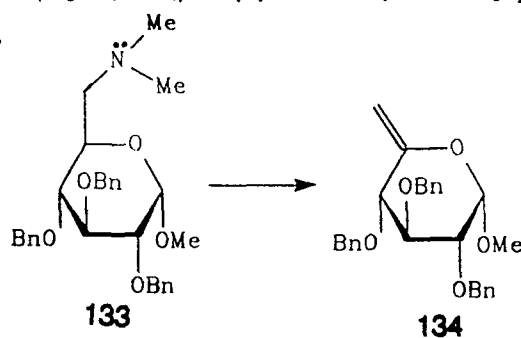
Ο χρόνος της αντίδρασης αυτής εξαρτάται από το πόσο παρεμποδίζεται το καρβονύλιο στο οποίο θέλουμε να γίνει η εναμίνη.

Έτσι διαλύσαμε την αλδεύδη **124** σε βενζόλιο και προσθέσαμε την διβενζυλαμίνη. Αφού απομακρύναμε τον αέρα από την αντίδραση με τη διαβίβαση αζώτου, προσθέσαμε το  $\text{TiCl}_4$  σε θερμοκρασία  $0-10^\circ\text{C}$  και αφήσαμε για ανάδευση 1hr. Αμεση συμπύκνωση υπό κενό και υδρογόνωση, δίνει ένα κύριο προϊόν. Σύγκριση της χρωματογραφικής συμπεριφοράς του προϊόντος αυτού **131** με το αντίστοιχο (C-5)-D-ισομερές **132** που προήλθε από την μετατροπή του μεθυλο α-D-γλυκοπυρανοζίτη σε μεθυλο 6-αμινο-6-δεοξυ-α-D γλυκοπυρανοζίτη (βλ.σελ.77), έδειξε ότι το **131** προχωρούσε αργότερα στη χρωματογραφική πλάκα από το **132**. Η χρωματογραφική συμπεριφορά του προϊόντος αυτού **131** και του **132** ήταν ταυτόσημη με αυτή που αναφέρεται στη βιβλιογραφία<sup>149</sup>, για τα αντίστοιχα μεθυλο α-D-γλυκοπυρανοζίτη και μεθυλο β-L-ιδοπυρανοζίτη και μας έδειξε ότι το προϊόν αυτό ήταν πιθανότατα ο μεθυλο 6-αμινο-6-δεοξυ-β-L-ιδοπυρανοζίτης **131**<sup>174</sup>.



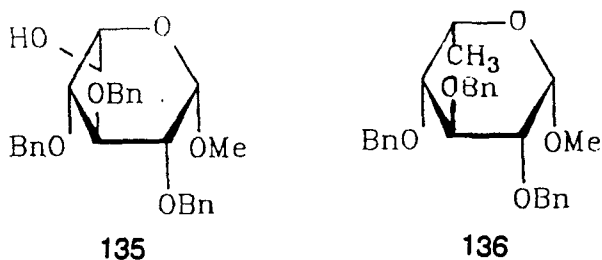
Ας επισημάνουμε εδώ ότι η εισαγωγή της αμινομάδας στη θέση 6 είναι το προϊόν που μας ενδιέφερε άμεσα, επειδή η νεαμίνη στη θέση 6' έχει αμινομάδα και η μετατροπή της σε αλδεύδομάδα και επαναδημιουργία της με διαφορετική στερεοχημεία είναι πολύ σημαντική.

Εκτός από τον παραπάνω τρόπο προσέγγισης της επιθυμητής τροποποίησης της απεικόνισης του C-5, που αναφέραμε παραπάνω, προσπαθήσαμε να επιτύχουμε σε χαμηλότερες θερμοκρασίες την δημιουργία του προϊόντος **134** από το **133** μέσω της αντίδρασης Hoffmann.

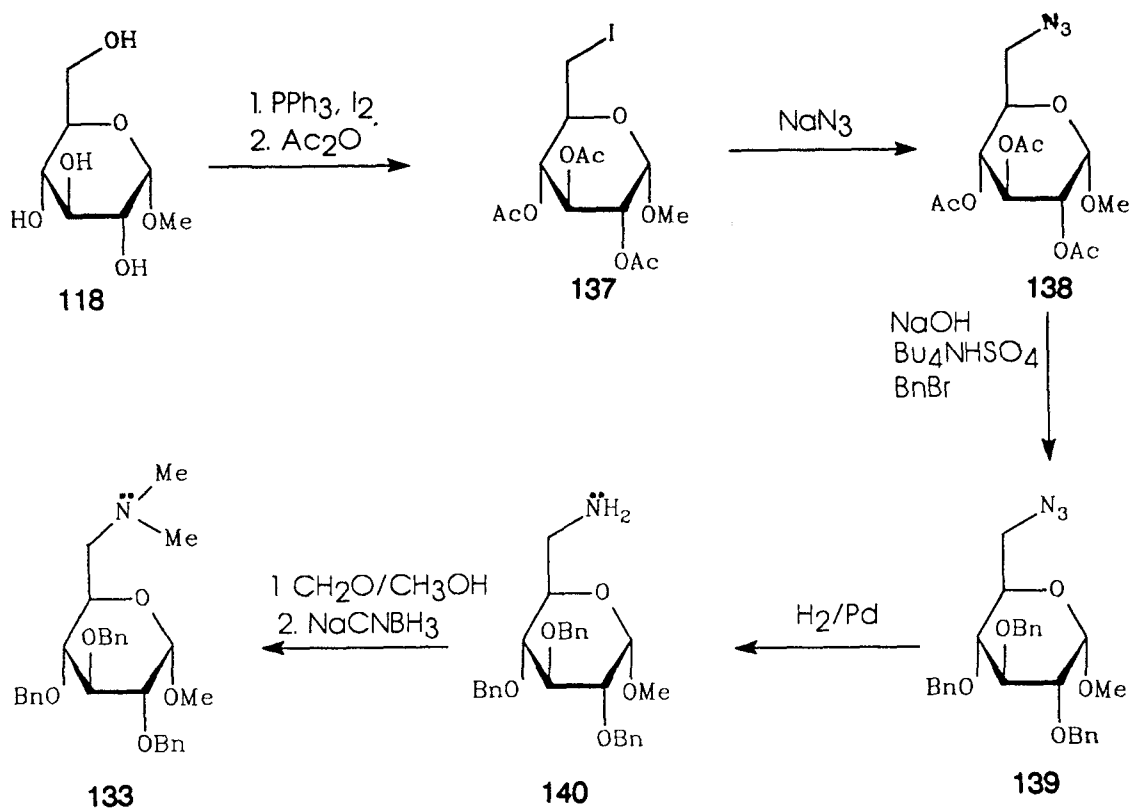




Η υδροβορίωση<sup>144,149</sup> του 134 ή η καταλυτική υδρογόνωση του<sup>175,176</sup> θα οδηγούσε στα προϊόντα 135, 136, όπως έχει περιγραφεί αναλυτικά στη βιβλιογραφία.

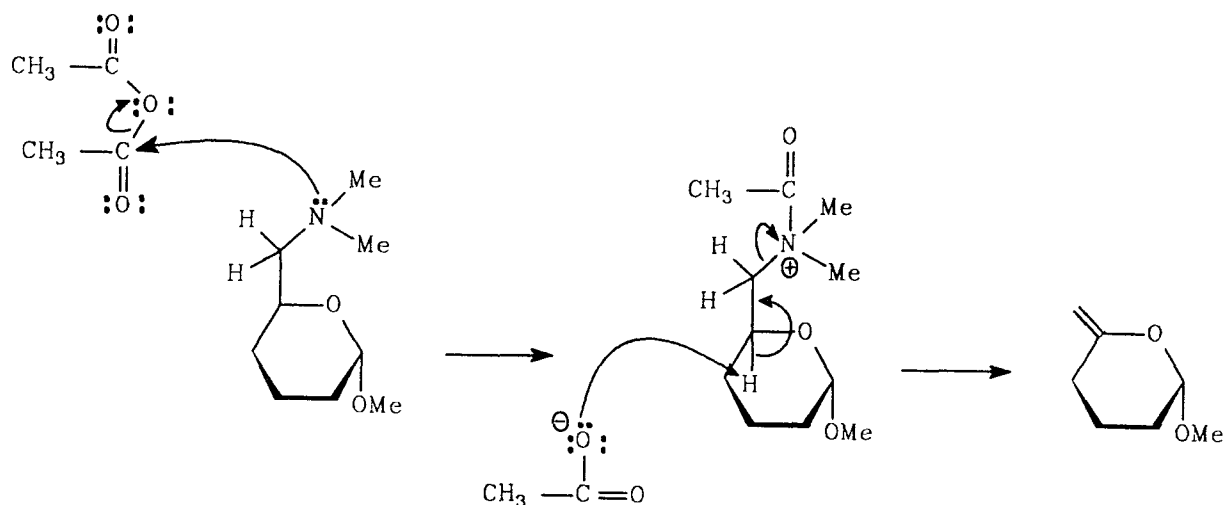


Προκειμένου να γίνουν οι δοκιμές, συντέθηκε το προϊόν 133 σύμφωνα με την παρακάτω πορεία<sup>149</sup>:

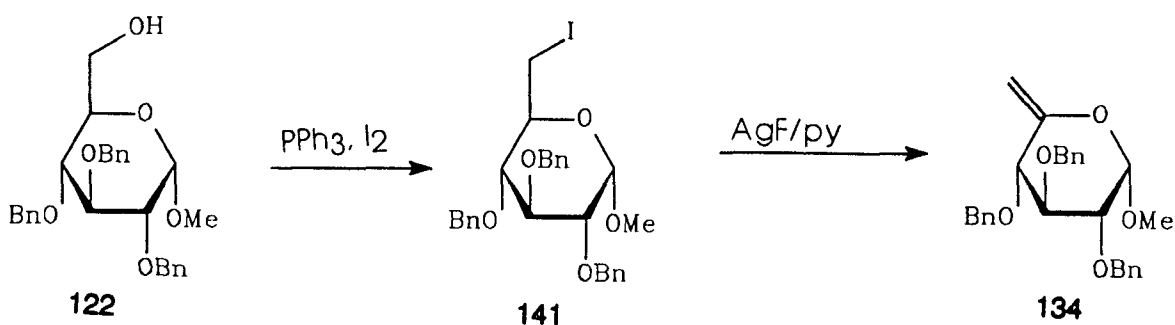


Το προϊόν 133 προκειμένου να απαμινωθεί προς το 5,6 ακόρεστο ενοζήτη 134, ίσως να μπορούσε ν'αντιδράσει με κάποιο ηλεκτρονιόφιλο κέντρο (όπως ο άνθρακας ενός καρβοξυλίου), με τη δημιουργία όμως μαζί με το διυποκατεστημένο άζωτο, μιας

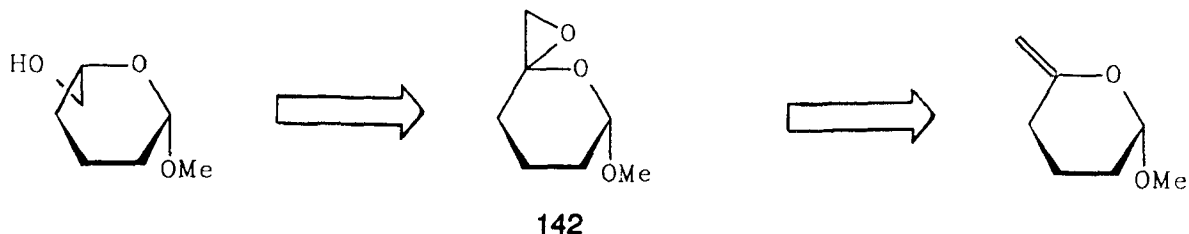
καλής αποχωρούσας ομάδας, που με κάποια βάση θα μπορούσε ν'αποχωρήσει σε ήπιες συνθήκες. Η απόσπαση κατά Hoffmann η οποία όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία<sup>149</sup> όταν εφαρμόσθηκε στο **133**, έδωσε το **134** σε 50% απόδοση και χρειάστηκε και θέρμανση στους 70 °C, πιθανόν θερμοκρασία καταστροφική για ορισμένα αντιβιοτικά, σχεδιάστηκε στη διατριβή αυτή να πραγματοποιηθεί με τη χρήση οξικού ανυδρίτη σε πυριδίνη και αναμέναμε το σχηματισμό του προϊόντος **134** με τον εξής πιθανό μηχανισμό:



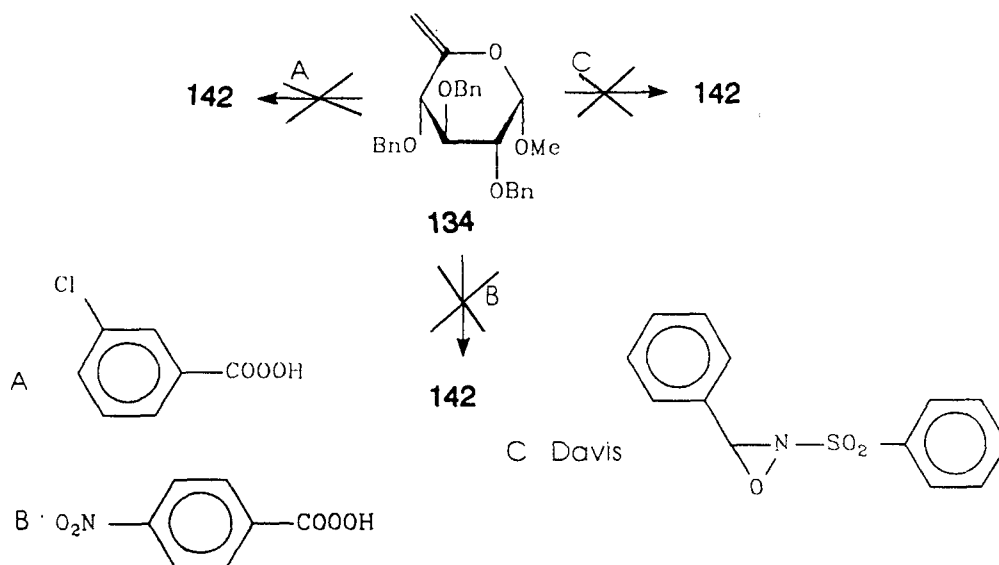
Όμως τόσο σε θερμοκρασία δωματίου όσο και με θέρμανση η παραπάνω αντίδραση δεν έλαβε χώρα. Χρησιμοποιήσαμε τότε ένα πιο ενεργοποιημένο καρβονύλιο, το τριφθοροξικό ανυδρίτη  $[(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}]$  που λόγω του αρνητικού επαγωγικού φαινομένου των φθορίων (-I), έχει πιο ενεργοποιημένο τον ηλεκτρονιόφιλο χαρακτήρα του άνθρακα του καρβοξυλίου, πάλι όμως δεν παρατηρήσαμε καμιά αντίδραση, ούτε και όταν χρησιμοποιήσαμε και ισχυρή βάση όπως το DBU. Ετσι εγκαταλείψαμε την προσπάθεια αυτή και αφού πήραμε το προϊόν **134** με τη γνωστή μέθοδο της αφυδραλογονώσεως<sup>139</sup>, σύμφωνα με την πορεία:



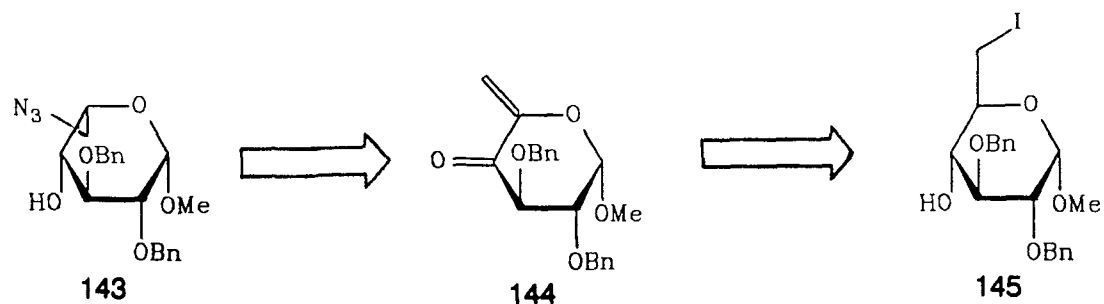
επιδιώξαμε εκ νέου τη σύνθεση του 5,6 εποξειδίου **142** με το π-νιτρο-υπερβενζοϊκό οξύ<sup>177</sup> και η διάνοιξη του οξιρανικού δακτυλίου θα οδηγούσε στην αναστροφή της C-5 στερεοδομής του μεθυλο α-D-γλυκοπυρανοζίτη.



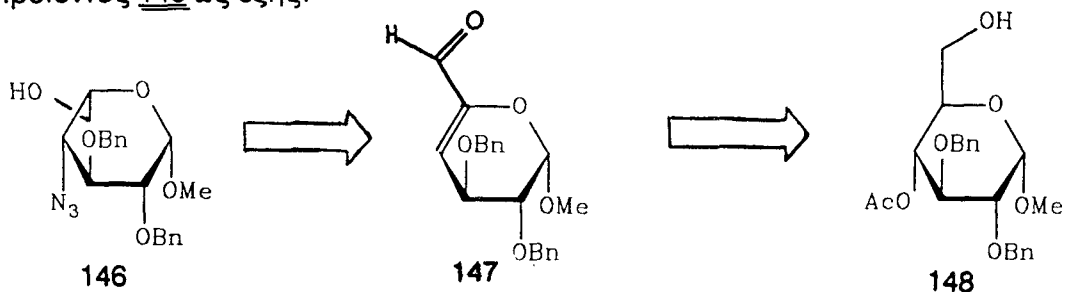
Όμως οι προσπάθειες μας ήταν ανεπιτυχείς τόσο με το μ-χλωρούπερβενζοϊκό οξύ (αντίδραση A), όσο και με το π-νιτρούπερβενζοϊκό οξύ (αντίδραση B) και το αντιδραστήριο Davis (αντίδραση C).



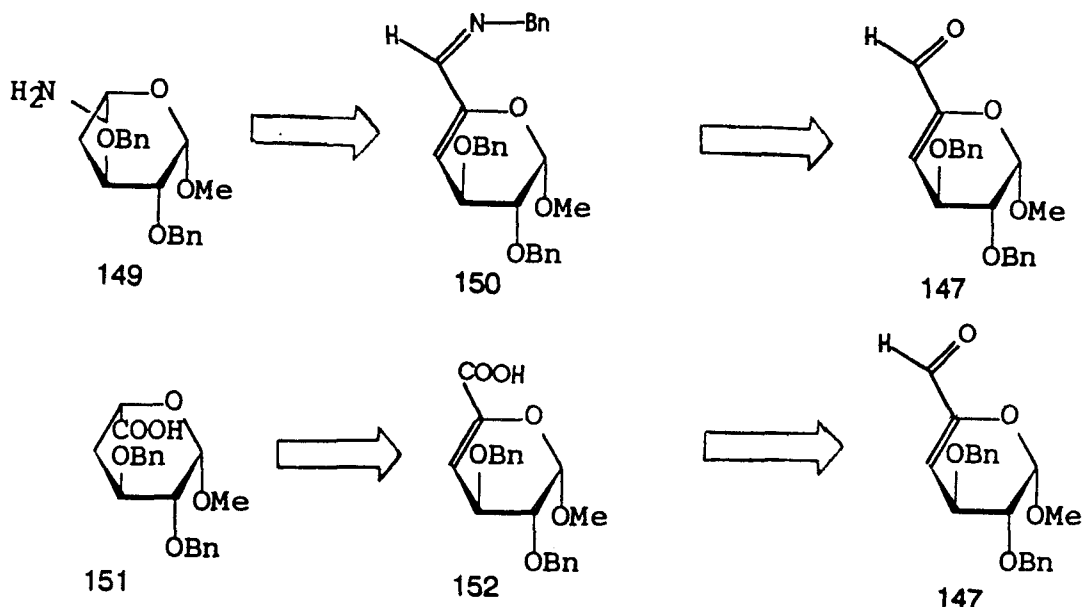
Μια διαφορετική προσέγγιση της C-5 επιμερείωσης του μεθυλο α-D-γλυκοπυρανοζίτη σχεδιάστηκε με βάση την αντίδραση Michael. Προσπαθήσαμε να επιτύχουμε τον σκοπό μας, δηλαδή τη σύνθεση του προϊόντος **143**, ως εξής:



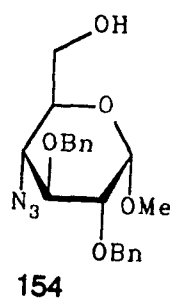
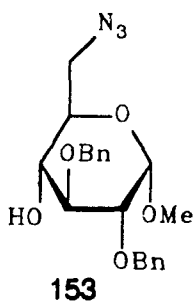
ή του προϊόντος 146 ως εξής:



καθώς και των προϊόντων 149 και 151 όπως φαίνεται παρακάτω:



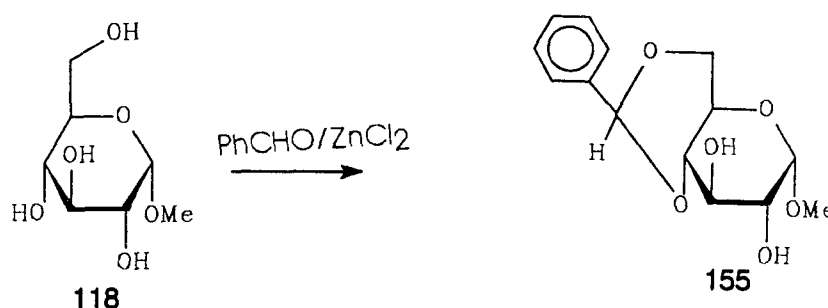
Η επιτυχία στη σύνθεση των προϊόντων 143 και 146 ήταν πραγματοποιήσιμη μόνο εφόσον η αντίδραση στο σύστημα Michael 144 ή 147 ήταν στερεοεκλεκτική και μάλιστα προς συγκεκριμένη κατεύθυνση. Η ήδη υπάρχουσα βιβλιογραφία για το θέμα αυτό ποικίλει πολύ από σύστημα σε σύστημα και ανάλογα με τους υποκαταστάτες που έχει η εξεταζόμενη ένωση. Επισημαίνεται ότι τα συζυγικά συστήματα 144 και 147 δεν έχουν μελετηθεί απ'όσο τουλάχιστον γνωρίζουμε<sup>178-180</sup>. Κρίθηκε σκόπιμο λοιπόν πριν ξεκινήσουμε τις συνθέσεις αυτές να μελετήσουμε το σύστημα μας, μέσω προγράμματος μοριακής προσομείωσης (Desktop molecular modeller, Aldrich-Chemie)<sup>181</sup>. Από τη μελέτη αυτή οδηγηθήκαμε στα πλαίσια αξιοπιστίας του στο συμπέρασμα ότι οι ενέργειες των επιθυμητών μορίων 143 και 146 με τον 6-υποκαταστάτη αζονικό ήταν χαμηλότερες, αλλά λιγότερες χαμηλές σε σχέση με τα προϊόντα 153 και 154, όπου ο 6-υποκαταστάτης είναι ισημερινός και οδηγεί στα D-επιμερή.



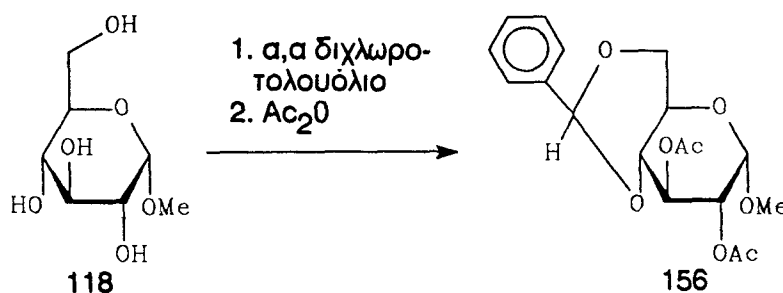
Πρέπει λοιπόν να κοιτάξουμε πειραματικά την περίπτωση αυτή, καθώς και τα προϊόντα που πέρνουμε κάτω από κινητικό έλεγχο των αντιδράσεων μας.

Προκειμένου να συνθέσουμε το προϊόν 143 ακολουθήσαμε την παρακάτω πορεία:

Διαφοροποιήσαμε τα δυο υδροξύλια δηλαδή το 4 και το 6 με προστασία τους με την βενζυλιδανο-ομάδα, μια μέθοδο που εφαρμόζεται κατά κύριο λόγο όταν μας ενδιαφέρει η δέσμευση *cis*-1,2 διολών. Οι κυκλικές κετάλες σχηματίζονται με αντίδραση της διόλης με μια καρβονυλική ένωση, συνήθως την βενζαλδεύδη, παρουσία  $ZnCl_2$ <sup>182</sup> ή άλλου όξινου καταλύτη. Έτσι πήραμε την ένωση 155.

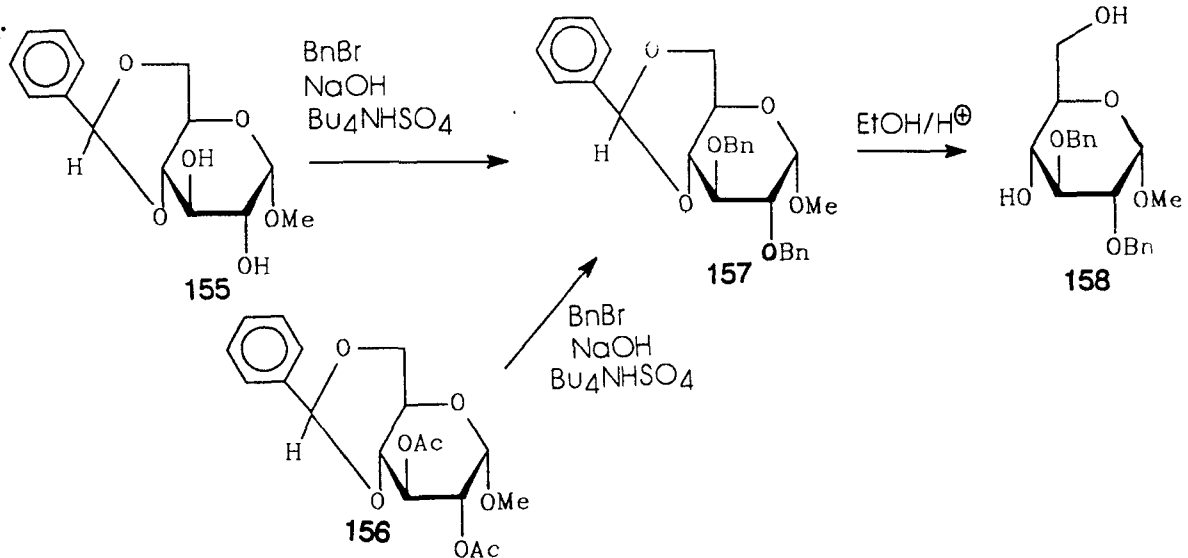


Εκτός από την κλασσική παραπάνω μέθοδο, την οποία χρησιμοποιήσαμε και στην οποία αντιμετωπίζεται έντονα το πρόβλημα της απομάκρυνσης της βενζαλδεύδης μετά το πέρας της αντίδρασης και της απομόνωσης του προϊόντος, λόγω του υψηλού σημείου ζέσης της (σ.ζ. βενζαλδεύδης 178 °C) και του ότι αυτή χρησιμοποιείται και σαν διαλύτης, εφαρμόσαμε και μια πιο πρόσφατη μέθοδο<sup>183</sup> που χρησιμοποιεί α,α-διχλωρο-τολουόλιο σε πυριδίνη και ισχυρό βρασμό. Η απόδοση ας σημειωθεί ότι και στις δυο περιπτώσεις είναι πολύ καλή, περίπου 75%. Στη δεύτερη βέβαια περίπτωση, μπορούμε στη συνέχεια με χρήση οξικού ανυδρίτη στο μίγμα της αντίδρασης να απομονώσουμε πιο εύκολα και να κρυσταλλώσουμε το προϊόν 156.

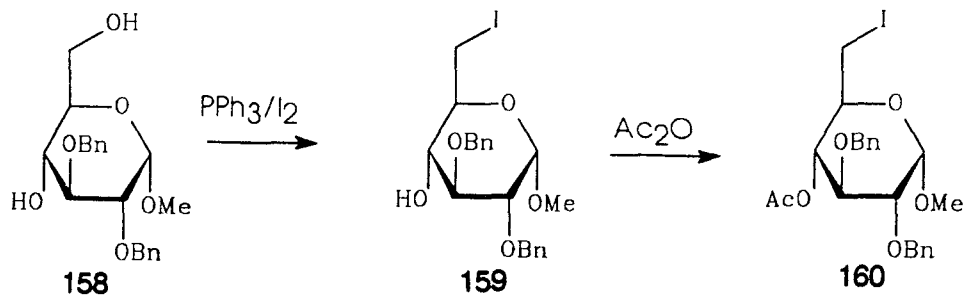


Με την ευκολία σύνθεσης των βενζυλικών αιθέρων σαν προστατευτικών ομάδων ως δεδομένη, αλλά και τη μεγάλη σταθερότητα στα διάφορα αντιδραστήρια των βενζυλικών αιθέρων, συνθέσαμε το προϊόν 157 με τη μέθοδο CTP που περιγράψαμε πιο πάνω (βλ.σελ.71). Η αποπροστασία των 4- και 6- υδροξυλίων του προϊόντος 157, έγινε

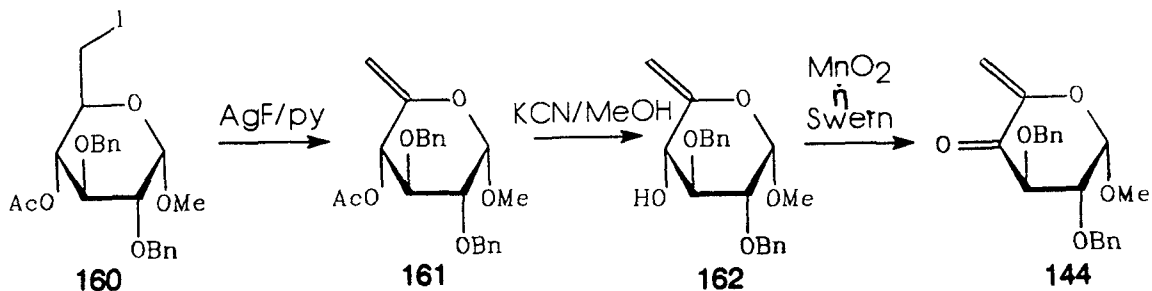
σύμφωνα με τις μεθόδους που αναφέρονται στη βιβλιογραφία<sup>184</sup> και συγκεκριμένα με θέρμανση 18hr σε αιθανόλη παρουσία καταλυτικής ποσότητας Tos-OH. Προέκυψε το προϊόν 158 που αποτελεί το ενδιάμεσο κλειδί για την σύνθεση των προϊόντων 144 και 147.



Προκειμένου να συνθέσουμε το προϊόν 144, ιωδιώσαμε το 6-OH του 158 με τη μέθοδο των Garegg et.al.<sup>185</sup> 159 και το προϊόν το ακετυλιώσαμε 160, για να επιτύχουμε την αφυδραλογόνωση και τη δημιουργία του 5,6 ενοπυρανοζιτη.

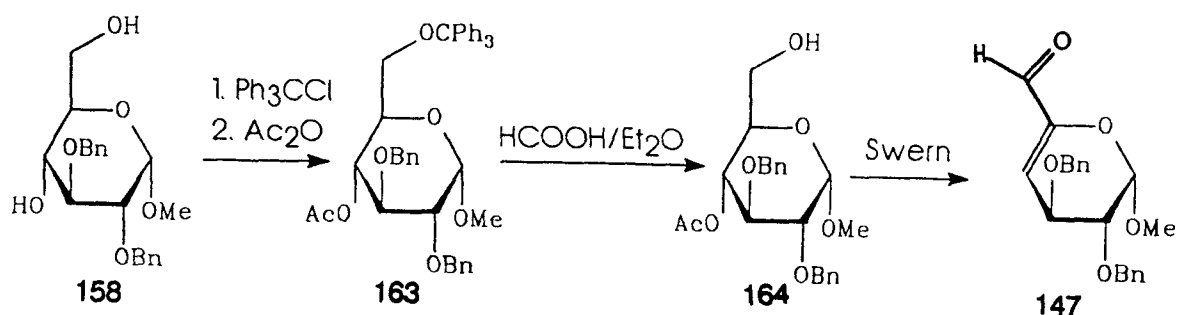


Η αφυδραλογόνωση έγινε με AgF/py<sup>139</sup>. Η απόδοση αυτής της αντίδρασης είναι χαμηλή (20%) και το προϊόν 161 διαχωρίζεται πολύ δύσκολα από το αρχικό ιωδιδιο (παραπλήσιο Rf κηλίδων σε πολλά διαφορετικά χρωματογραφικά συστήματα). Προσπάθεια αφυδραλογόνωσης του 159 με το ίδιο σύστημα, οδήγησε σε μίγμα προϊόντων που δεν ήταν δυνατόν να διαχωριστούν και επομένως η προηγούμενη ακετυλίωση της 4-υδροξυλομάδας είναι απαραίτητη.



Αποπροστασία του υδροξυλίου της θέσης 4, έδωσε το προϊόν **162** (βλ.φάσμα I.R. στο παράρτημα) που έπρεπε να οξειδωθεί. Προσπάθεια οξείδωσης του **162** έγινε με τη χρήση διοξειδίου του μαγγανίου ( $MnO_2$ )<sup>178,186</sup>, αντιδραστήριου που δεν αντιδρά με τις άλλες ομάδες του μορίου, όμως το προϊόν που θέλαμε το παίρναμε σε πολύ μικρή απόδοση περίπου 10% (δεν καταναλώνεται όλη η αρχική ουσία). Για το λόγο αυτό επιχειρήσαμε να πετύχουμε την οξείδωση με την αντίδραση Swern και πετύχαμε να λάβουμε το **144** (βλ. φάσμα I.R. στο παράρτημα) σε καλύτερη απόδοση (30%). Σημειώνεται ότι το προϊόν είναι πολύ ευαίσθητο και καταστρέφεται πολύ γρήγορα έτσι ώστε να είναι αδύνατη η απομόνωση του. Για το λόγο αυτό επιχειρήσαμε αμέσως την προσθήκη της αζιδομάδας σε THF/AcOH. Όμως αυτό που είδαμε στη Χ.Λ.Σ ήταν δύο κηλίδες που όταν επιχειρήσαμε και την αναγωγή των ουσιών αυτών με  $NaBH_4$  στους 0 °C οι κηλίδες αυτές έγιναν τέσσερεις (δύο από την προσθήκη του αζιδίου και δύο από την αναγωγή του καρβονυλίου). Το αποτέλεσμα αυτό βέβαια δεν ήταν καθόλου ενθαρρυντικό. Νέες δοκιμές που έγιναν σε διαφορετικές συνθήκες, οδήγησαν στο ίδιο αποτέλεσμα. Μπορούμε να πούμε ότι όσον αφορά το σύστημα Michael **144**, τόσο η προσθήκη της αζιδομάδας στον διπλό δεσμό, όσο και η αναγωγή του καρβονυλίου δεν παρουσιάζει καμία στερεοεκλεκτικότητα. Έτσι οι προσπάθειές μας στράφηκαν στη δημιουργία του συστήματος **147**.

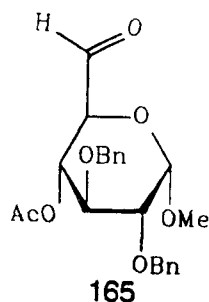
Το σύστημα αυτό συντίθεται όπως φαίνεται παρακάτω:



Προκειμένου να έχουμε εκλεκτικότητα κατά την απομάκρυνση της τριτυλομάδας υιοθετήσαμε μια πρόσφατη μέθοδο<sup>187</sup>, με τη χρησιμοποίηση μίγματος  $HCOOH/Et_2O$  1:1 και χρόνο αντίδρασης 30min, παίρνοντας το προϊόν **164** (βλ.φάσμα I.R. στο παράρτημα) σε καλή απόδοση 85%. Μεγαλύτερος χρόνος αντίδρασης οδηγεί στο σχηματισμό του 6-Ο-φορμυλο-παραγώγου, που εδώ δεν έχει καμιά χρησιμότητα αφού είναι αδύνατη πλέον η εκλεκτική αποπροστασία της 6-υδροξυλομάδας.

Το προϊόν **147** έτσι ήταν δυνατόν να ληφθεί από το **164** με οξείδωση με Swern (DMSO-οξαλυλοχλωρίδιο). Η δημιουργία συζυγιακού καρβονυλίου σε σάκχαρα, όταν σε β-θέση είναι μια καλή αποχωρούσα ομάδα είχε παρατηρηθεί και παλιότερα<sup>178</sup>. Έτσι συντέθηκε το προϊόν **147** (βλ.φάσματα I.R. και  $^1H$  N.M.R. στο παράρτημα).

Επισημαίνουμε εδώ ότι σε μεγαλύτερες ποσότητες εκτός από το προϊόν 147 λαμβάνεται και ένα δεύτερο προϊόν που είναι η κορεσμένη αλδεΐδη 165.



Το σύστημα 147 σε αντίθεση με το 144 είναι αρκετά σταθερό. Έτσι επιχειρήσαμε να μελετήσουμε την αντίδραση Michael με προσθήκη της αζιδομάδας σε THF/AcOH. Δεν είχαμε όμως ουσιαστικά καμιά αντίδραση, κάποιες κηλίδες που φάνηκαν στη Χ.Λ.Σ ήταν ασήμαντες, μπροστά στο ουσιαστικά αναλλοίωτο αρχικό αντιδραστήριο. Ούτε και με θέρμανση στους 50 °C παρατηρήσαμε τίποτα. Αλλαγή του διαλύτη σε CH<sub>3</sub>OH/AcOH, δηλαδή σε πολικότερο, δεν έδωσε ούτε αυτές τις σκιές στη Χ.Λ.Σ. Ακόμα και σε βασικό περιβάλλον CH<sub>3</sub>OH/Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (pH 8-9) η αντίδραση 1,4 προσθήκης της αζιδομάδας δεν έλαβε χώρα.

Χρησιμοποιήσαμε την βενζυλαμίνη που όπως έχει αναφερθεί είναι δραστικότερη, χωρίς να έχουμε όμως κάτι διαφορετικό στη Χ.Λ.Σ.. Φάσμα I.R. δεν έδειξε όμως την απορρόφηση του συζυγιστικού καρβονυλίου. Περαιτέρω ταυτοποίηση με 300MHz <sup>1</sup>H N.M.R., έδειξε ότι επρόκειτο για την αντίστοιχη βάση του Schiff 150. Η υδρογόνωση της έδωσε στην Χ.Λ.Σ. δύο κηλίδες που απομονώνονται και ταυτοποιούνται με <sup>1</sup>H N.M.R. (βλ. <sup>1</sup>H N.M.R. στο παράρτημα). Η πάνω κηλίδα είναι αυτή όπου έχει υδρογονωθεί μόνο η βάση του Schiff και όχι ο ενδοκυκλικός διπλός δεσμός 150α, ενώ η άλλη είναι μίγμα των D και L ισομερών με υδρογονωμένο και το διπλό δεσμό 150β και 150γ.

#### ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΟΥ ΦΑΣΜΑΤΟΣ <sup>1</sup>H NMR

Από το φάσμα <sup>1</sup>H N.M.R. της ένωσης που αντιστοιχεί στην κάτω κηλίδα της Χ.Λ.Σ. της υδρογόνωσης του 150 μπορούμε να πάρουμε σημαντικές πληροφορίες για την υδρογόνωση του συζυγιστικού αυτού συστήματος. Βλέπουμε δηλαδή ότι η αναλογία των D και L επιμερών είναι 2:1. Το συμπέρασμα αυτό εξάγεται από την ολοκλήρωση των σημάτων των πρωτονίων στην περιοχή με δ=1.2-2.1. Τα πρωτόνια αυτά είναι τα H4 πρωτόνια των δύο ενώσεων που επειδή ο άνθρακας 4 είναι δεόξυ έχουν μετατοπισθεί σε ισχυρότερο πεδίο και δεν βρίσκονται στην περιοχή με δ=3.4-5ppm, όπου εμφανίζονται τα πυρανικά πρωτόνια. Επειδή όμως το φάσμα έχει ληφθεί σε μίγμα των δυο επιμερών D και L, τα πρωτόνια αυτά δίνουν 4 σήματα. Η απόδοση των σημάτων αυτών στα H4 πρωτόνια του D και του L επιμερούς γίνεται με το εξής σκεπτικό:

Το H5 πρωτόνιο στο D επιμερές είναι αξονικό. Επομένως για τα H4 πρωτόνια το μεν αξονικό θα σχάζεται από το H5 σε κορυφές με σταθερές σύζευξης  $J_{aa} = 8-14\text{Hz}$

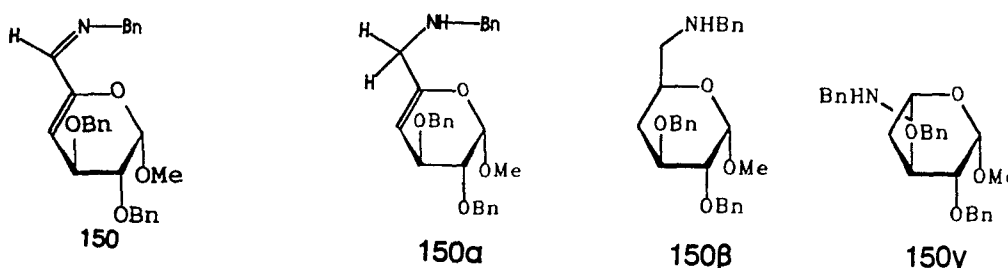


( $J_{\text{πειρ.}} = 10\text{Hz}$ ) ενώ το ισημερινό θα σχάζεται σε κορυφές με σταθερές σύζευξης  $J_{\text{ae}} = 0-7\text{Hz}$  ( $J_{\text{πειρ.}} = 5\text{Hz}$ ). Εξάλλου το κάθε H4 πρωτόνιο θα σχάζεται από το H3, το μεν αξονικό σε κορυφές με σταθερές σύζευξης  $J_{\text{aa}}$  ( $J_{\text{πειρ.}} = 12\text{Hz}$ ), ενώ το ισημερινό με σταθερές  $J_{\text{ae}}$  ( $J_{\text{πειρ.}} = 5\text{Hz}$ ). Τέλος να επισημάνουμε ότι το κάθε H4 πρωτόνιο θα έχει και μια gem σύζευξη γύρω στα 12Hz.

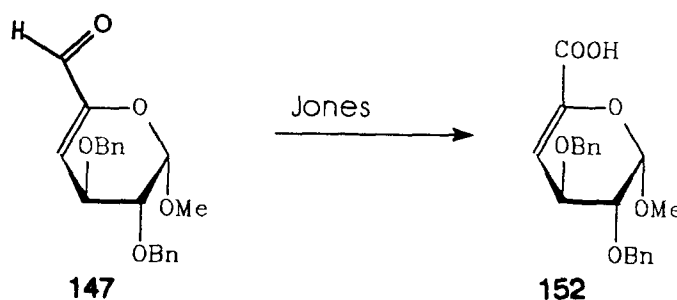
Το H5 πρωτόνιο στο L επιμερές είναι ισημερινό και με βάση τα παραπάνω έχουμε σταθερές σύζευξης για τα H4 πρωτόνια: Για το αξονικό H4 :  $J_{\text{H4a-H5e}} = 2.5\text{Hz}$ ,  $J_{\text{H4a-H3a}} = 11.5\text{Hz}$  και για το ισημερινό H4 :  $J_{\text{H4e-H5e}} = 2\text{Hz}$ ,  $J_{\text{H4e-H3a}} = 2\text{Hz}$ .

Οι παραπάνω σταθερές, μας οδηγούν στην απόδοση του σήματος με  $\delta = 1.4\text{ppm}$  στο H4 αξονικό πρωτόνιο του D-επιμερούς και του σήματος σε  $\delta = 2\text{ppm}$  στο H4 ισημερινό πρωτόνιο του D-επιμερούς, ενώ το H4 αξονικό πρωτόνιο του L-επιμερούς είναι το σήμα με  $\delta = 1.8\text{ppm}$  και το H4 ισημερινό πρωτόνιο με σήμα  $\delta = 1.6\text{ppm}$ .

Σχολιάζοντας τώρα το αποτέλεσμα αυτό, φαίνεται ότι το συζυγιακό σύστημα της βάσης του Schiff αναγκάζει το μόριο σε μια τέτοια διαμόρφωση όπου η προσβολή από το υδρογόνο να γίνεται έτσι που να ευνοείται το D-επιμερές αν και όχι αποκλειστικά. Σημαντικό είναι επίσης ότι δεν έχουμε στερεοεκλεκτικότητα της αντίδρασης όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία για τις καταλυτικές υδρογονώσεις.



Η εύρεση της σημασίας των φορτισμένων ομάδων στην τοξικότητα των αμινογλυκοζιτών (βλέπε κεφάλαιο I), οδήγησε στη παρασκευή της ένωσης 152 από την 147.



Η σύνθεση του έγινε με τη χρήση του αντιδραστηρίου Jones σε ακετόνη<sup>187</sup>.

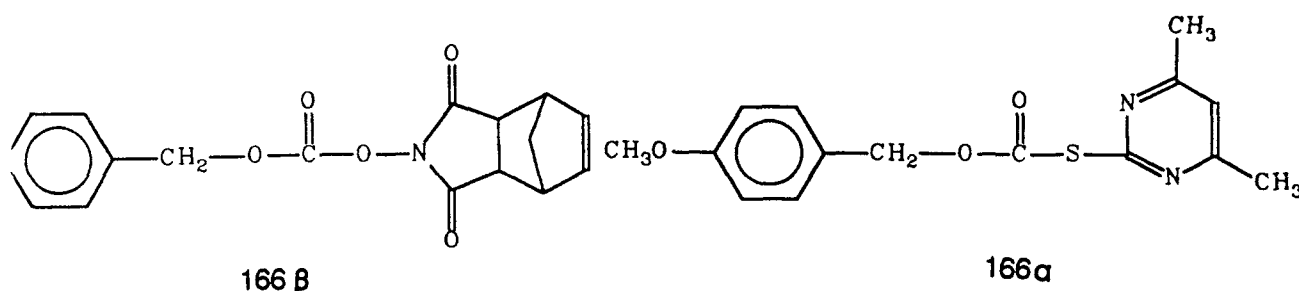
Η όλη μεθοδολογία με τις πρότυπες ενώσεις θα μπορούσε να εφαρμοστεί στο 6''-υδροξύλιο της καναμικίνης A 6a ή B 6b (σελ.18), δημιουργώντας έτσι μια τροποποιημένη ένωση, με την καρβοξυλομάδα στην θέση 6'', μια ομάδα δηλαδή εύκολα αρνητικά φορτιζόμενη, με την ελπίδα ότι το τροποποιημένο μόριο θα ήταν εξίσου δραστικό και λιγότερο τοξικό.

### II.3.2. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ 5'-ΕΠΙ-ΠΑΡΟΜΑΜΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ 5'-ΕΠΙ-ΝΕΑΜΙΝΗΣ

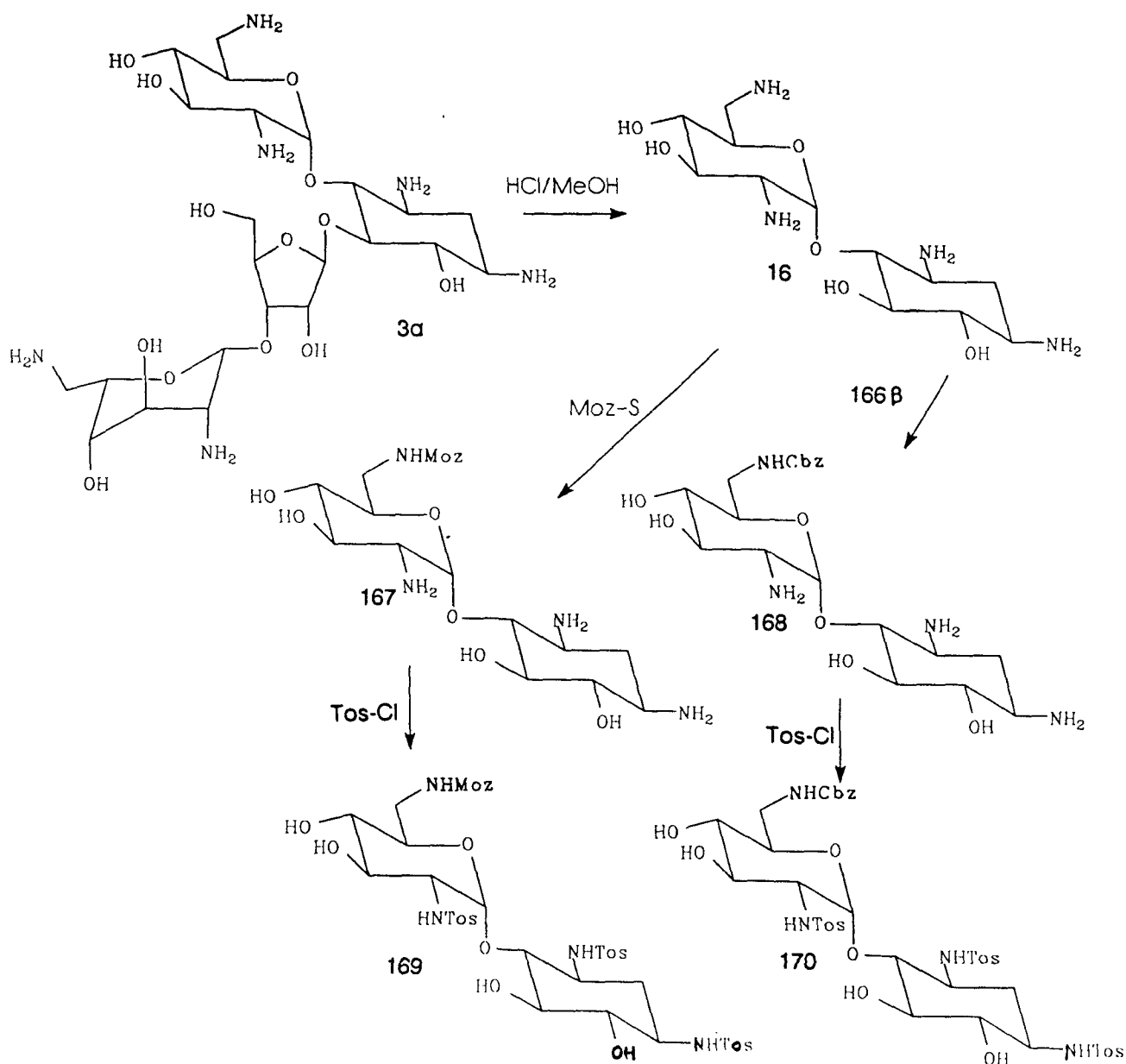
#### II.3.2.1 Σύνθεση της 6'-N-βενζυλοξυκαρβονυλο-1,3,2'-τρι-N-τοσυλο-5,6 3',4'-δι-O-κυκλοεξυλιδενο-νεαμίνης 173

Το πρώτο βήμα για την σύνθεση των (C-5')-επιμερών της νεαμίνης, ήταν η μεθανόλυση της θειϊκής νεομικίνης B 3a προς την υδροχλωρική νεαμίνη 16, προκειμένου να έχουμε ένα πιο απλό μόριο για κατεργασία. Το προϊόν παραλήφθηκε σε απόδοση 90% (βλ.  $^{13}\text{C}$  N.M.R. στο παράρτημα) και πριν χρησιμοποιηθεί ανακρυσταλλώθηκε από μεθανόλη. Το επόμενο στάδιο ήταν η εκλεκτική προστασία της 6'-αμινομάδας. Αυτή αρχικά έγινε με βάση την έρευνα του καθηγητή Μ.Γεωργιάδη επί του θέματος, με τη χρήση του π-μεθοξυβενζυλ-S-(4,6-διμεθυλπυριμιδιν-2-υλ)θειοκαρβονικού εστέρα<sup>189</sup> (MOZ-S) 166a σε διαλύτη 1,4 διοξάνιο : H<sub>2</sub>O (5:3) και ανάδευση για 10 hr. Η δημιουργία παραπροϊόντων δι-, τρι- και πολυ-παραγώγων, απαιτεί καθαρισμό του τελικού προϊόντος με χρωματογραφία ρητίνης (CG-50).

Η εκλεκτική προστασία της 6'-αμινο-ομάδας έγινε και με τη χρήση του αντιδραστήριου N-βενζυλοξυκαρβονυλοξυ-5-νορβορνεν-2,3 δикаρβοξυιμιδίου<sup>190</sup> 166b. Με το αντιδραστήριο αυτό έχουμε καλύτερη απόδοση και λιγότερα παραπροϊόντα, ενώ ο καθαρισμός γίνεται ευκολότερος.



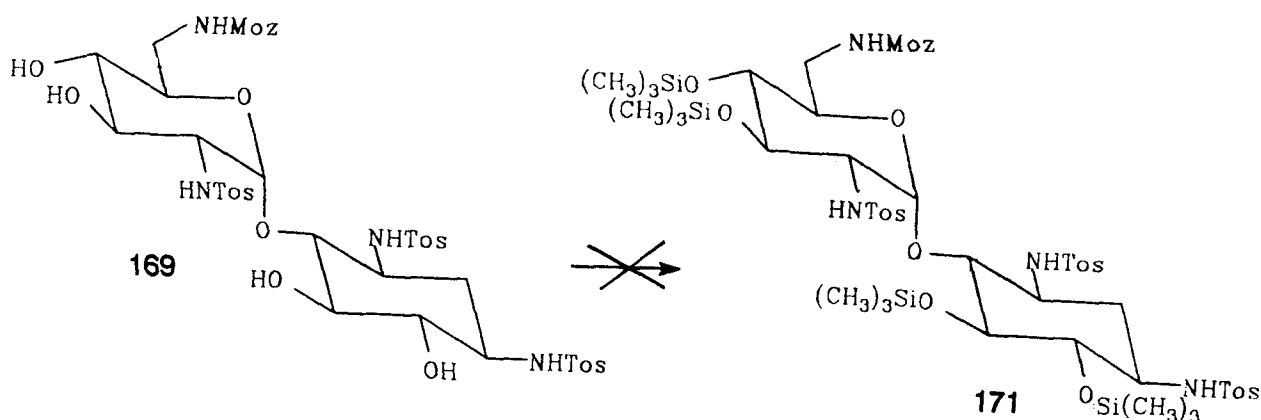
Έτσι δημιουργήθηκε η 6'-N-π-μεθοξυ-βενζυλοξυκαρβονυλο-νεαμίνη 167 ή η 6'-N-βενζυλοξυκαρβονυλο-νεαμίνη 168. Στο επόμενο στάδιο, οι υπόλοιπες αμινομάδες, προστατεύονται με χρήση του π-τολουολοσουλφονυλο-χλωριδίου σε 1,4 διοξάνιο : H<sub>2</sub>O (7:3) παρουσία Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> που μετά από 8hr δίνει το 169 ή το 170 σε απόδοση 80%.



Η επιλογή των προστατευτικών ομάδων των ελεύθερων υδροξυλίων του **170** μας προβλημάτισε αρκετά, έχοντας σαν δεδομένα ότι η βενζυλίωσή τους είναι προβληματική (δημιουργία πολλών παραγώγων κ.λ.π.)<sup>149</sup>, ενώ με την ακετυλίωση θα είχαμε προβλήματα σταθερότητας στις μετέπειτα αντιδράσεις. Γι'αυτό χρησιμοποιήσαμε το α,α-διχλωρο-τολουόλιο, που όπως προαναφέραμε μπορεί να μπλοκάρει δυο γειτονικά (vic)

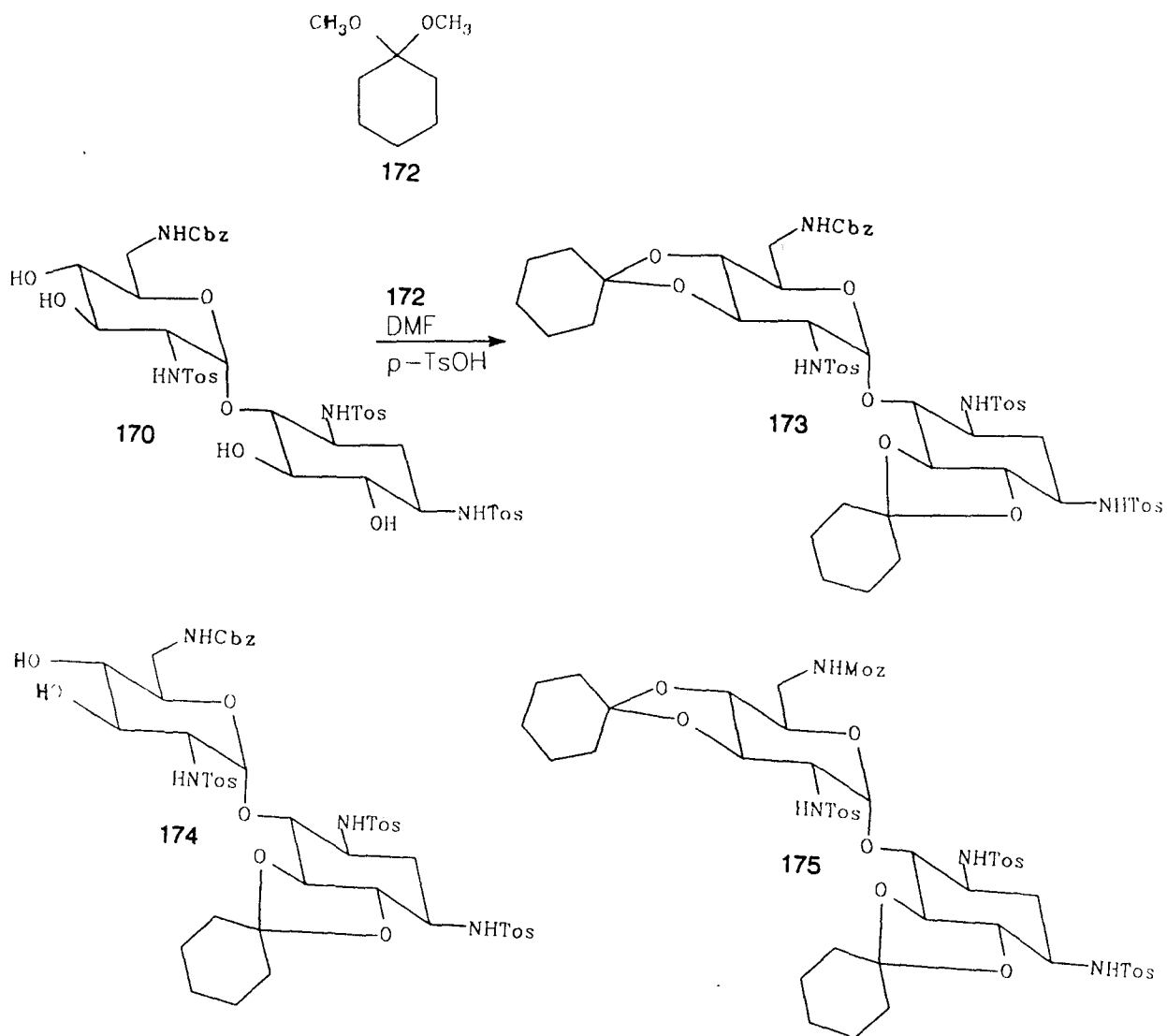
υδροξύλια<sup>182</sup> και εφαρμόστηκε για το προϊόν 156 (σελ.81). Ομως μετά από ισχυρό βρασμό του 169 σε πυριδίνη με το α,α-διχλωρο-τολουόλιο για 4hr, η Χ.Λ.Σ δείχνει ότι δεν έχει καταναλωθεί πλήρως το αρχικό προϊόν, ενώ έχουν προκύψει δυο νέες κηλίδες. Περαιτέρω παράταση της αντίδρασης στις 15hr και χρήση και περίσσειας αντιδραστήριου, δίνει τελικά μια σειρά από κηλίδες που είναι δύσκολο να διαχωριστούν. Ας σημειωθεί για μια φορά ακόμα ότι η λήψη Χ.Λ.Σ είναι εξαιρετικά δύσκολη, αφού τόσο η αρχική ένωση όσο και τα προϊόντα φαίνονται πολύ ασθενικά σ'αυτή.

Δοκιμάσαμε να πυριτιώσουμε το 169 με την επίδραση μίγματος τριμεθυλοσιλυλοχλωριδίου και εξαμεθυλοδισιλαζανίου  $\{(\text{CH}_3)_3\text{SiCl} : (\text{CH}_3)_3\text{SiNHSi}(\text{CH}_3)_3\}$  (1:3) σε ξηρή πυριδίνη για να πάρουμε το 171, με αποτέλεσμα να πάρουμε πάλι ένα σύνθετο μίγμα προϊόντων, από το οποίο δεν μπορούσαμε να διακρίνουμε κάποιο κύριο προϊόν, ακόμα και όταν ο χρόνος αντίδρασης έφθασε τις 7 ημέρες.



Στη συνέχεια έγινε χρήση της κυκλοεξυλιδENO-ομάδας, ομάδα που είχε χρησιμοποιηθεί για την προστασία γειτονικών (vic) υδροξυλομάδων<sup>191,192</sup> Η προστασία έγινε με την διμεθυλοκετάλη της κυκλοεξανόνης<sup>193</sup> 172, σε μια αντίδραση ανταλλαγής κεταλών παρουσία καταλυτικής ποσότητας π-Tos-OH και μικρής ποσότητας DMF σαν διαλύτη για να δώσει την ένωση 173. Το αντιδραστήριο 172 χρησιμοποιήθηκε σε μεγάλη περίσσεια. Το πρόβλημα της δημιουργίας του μονο-κυκλοεξυλιδENO-παραγώγου της νεαμίνης<sup>15</sup> 174, αντιμετωπίστηκε με την απομάκρυνση της παραγόμενης μεθανόλης τόσο με μοριακούς ηθμούς όσο και με υδραντλία κενού, καθώς και με τη χρήση καλά στεγνωμένων διαλυτών. Η εξουδετέρωση του Tos-OH στο τέλος της αντίδρασης έγινε

με τη χρήση  $\text{Et}_3\text{N}$  και στερεού  $\text{NaHCO}_3$ . Μετά γίνεται συμπύκνωση υπό κενό και το μίγμα της αντίδρασης χρωματογραφείται σε στήλη, προκειμένου ν' απομονωθεί το προϊόν τόσο από το αντιδραστήριο 172 (σ.ζ.  $162^\circ\text{C}$  στα  $35\text{mmHg}$ ), όσο και από το μονο-παράγωγο 174. Με έκλουση της στήλης με σύστημα διαλυτών εξαάνιο/ $\text{Et}_2\text{O}$  6:1 και 2%  $\text{Et}_3\text{N}$  προκειμένου να έχουμε βασικό περιβάλλον στη στήλη και να μην διασπαστεί το προϊόν 173, μικρές μόνο ποσότητες αποκτήθηκαν, ενώ έκλουση της στήλης με μεθανόλη, έδειξε ότι η κύρια μάζα των προϊόντων έμενε στη στήλη, παρ'όλο που με το χρησιμοποιούμενο σύστημα εκλούσεως τα προϊόντα αυτά αναπτύσσονταν κανονικά σε πλακίδιο Χ.Λ.Σ. Δοκιμές με διάφορα συστήματα έδωσαν σαν καλύτερο το σύστημα οξικού αιθυλεστέρα/διχλωρομεθανίου 1:3 με 2%  $\text{Et}_3\text{N}$  τόσο για την Χ.Λ.Σ. όσο και για τη χρωματογραφία στήλης. Ομοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και κατά την προστασία των υδροξυλομάδων του 169 175.



Η απόδοση του προϊόντος 173 ήταν περίπου 60%. Ας σημειωθεί εδώ ότι διάφοροι αστάθμητοι παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στην απόδοση της αντίδρασης, κυρίως όσον αφορά τη λήψη του επιθυμητού προϊόντος και όχι του μονο-παραγώγου (π.χ η βασικότητα του DMF λόγω διάσπασης του κατά την απόσταξη, η ποσότητα του καταλύτη, του DMF και του αντιδραστήριου), που την ελαττώνουν δραματικά. Αυτές οι λεπτομέρειες είναι βασικό να προσεχθούν (οι βέλτιστες συνθήκες δίνονται στην έκθεση προϊόντος).

### II.3.2.2. Σύνθεση του 6'-N,N-διμεθυλαμινοοξειδίου της 1,3,2'-τρι-N-τοσυλο-5,6 3',4'-δι-O-κυκλοεξυλιδενο-νεαμίνης 178

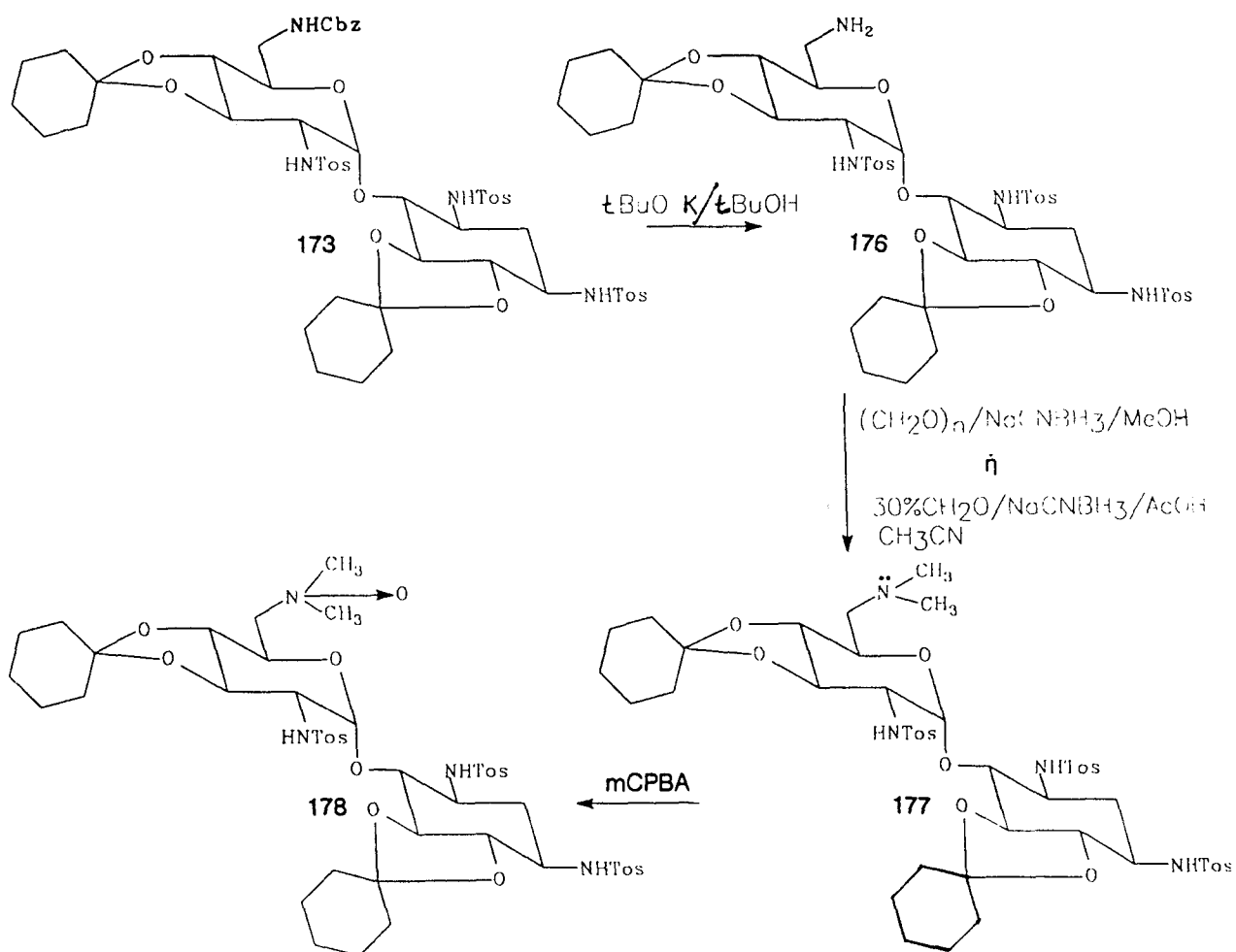
Το επόμενο στάδιο ήταν η αποπροστασία της 6'-αμινομάδας. Η ελευθέρωση αυτή γίνεται για την ένωση 173 με τη χρήση μιας ισχυρής βάσης, του τριτ. βουτυλοξειδίου του καλίου (tBuOK) σε διαλύτη την τριτ. βουτανόλη με θέρμανση στους 70 °C για 1hr. Η αντίδραση αυτή έχει απόδοση 90% στο προϊόν 176 και κάνει απόλυτα εκλεκτικό σπάσιμο του αμιδικού δεσμού παρουσία των σουλφαμικικών δεσμών. Ομοια συμπεριφορά παρουσιάζει και η ένωση 175 οδηγώντας μας πάλι στην 176. Το 176 εμφανίζεται στη Χ.Λ.Σ με σύστημα ανάπτυξης οξικό αιθυλεστέρα:εξάνιο:μεθανόλη 3:2:1.5 (Rf=0.47) με νινυδρίνη και ταυτοποιείται περαιτέρω με FAB (βλ.παραρτήμα). Ας σημειωθεί ακόμα ότι οι κυκλοεξυλιδενομάδες σταθεροποιούνται μετά την απελευθέρωση της 6'-αμινομάδας, αφού αυτή δημιουργεί βασικό περιβάλλον, στο οποίο οι ομάδες αυτές είναι σταθερές.

Η δημιουργία της διμεθυλιωμένης αμινομάδας έγινε με τη μέθοδο των Karpag et.al.<sup>194</sup> που δεν είναι τίποτα άλλο παρά μια τροποποιημένη μέθοδος (όσον αφορά τις συνθήκες) της μεθόδου Eischweiler-Clark<sup>195</sup>. Η αμίνη 176, δηλαδή κατεργάζεται με ισχυρό βρασμό σε μεθανόλη με ισοδύναμη ποσότητα παραφορμαλδεΐδης, έως ότου καταναλωθεί εξ ολοκλήρου και μετά ακολουθεί *in situ* αναγωγή του ενδιάμεσου προϊόντος με NaCNBH<sub>3</sub> οπότε προκύπτει το επιθυμητό N,N διμεθυλο-παραγώγο 177 της νεαμίνης, σε 70% απόδοση.

Το προϊόν αυτό μπορούμε να το πάρουμε όπως διαπιστώσαμε και με την κλασσική μέθοδο των Eischweiler-Clark<sup>195</sup>, χρησιμοποιώντας διαλύτη ακετονιτρίλιο (CH<sub>3</sub>CN) και ποσότητα οξικού οξέος(AcOH).

Το τελευταίο στάδιο πριν τη δημιουργία της αλδεΐδομάδας (βλ.σελ.94) είναι η σύνθεση του αντίστοιχου αμινοξειδίου 178. Η οξειδωση διμεθυλαμινών προς τα

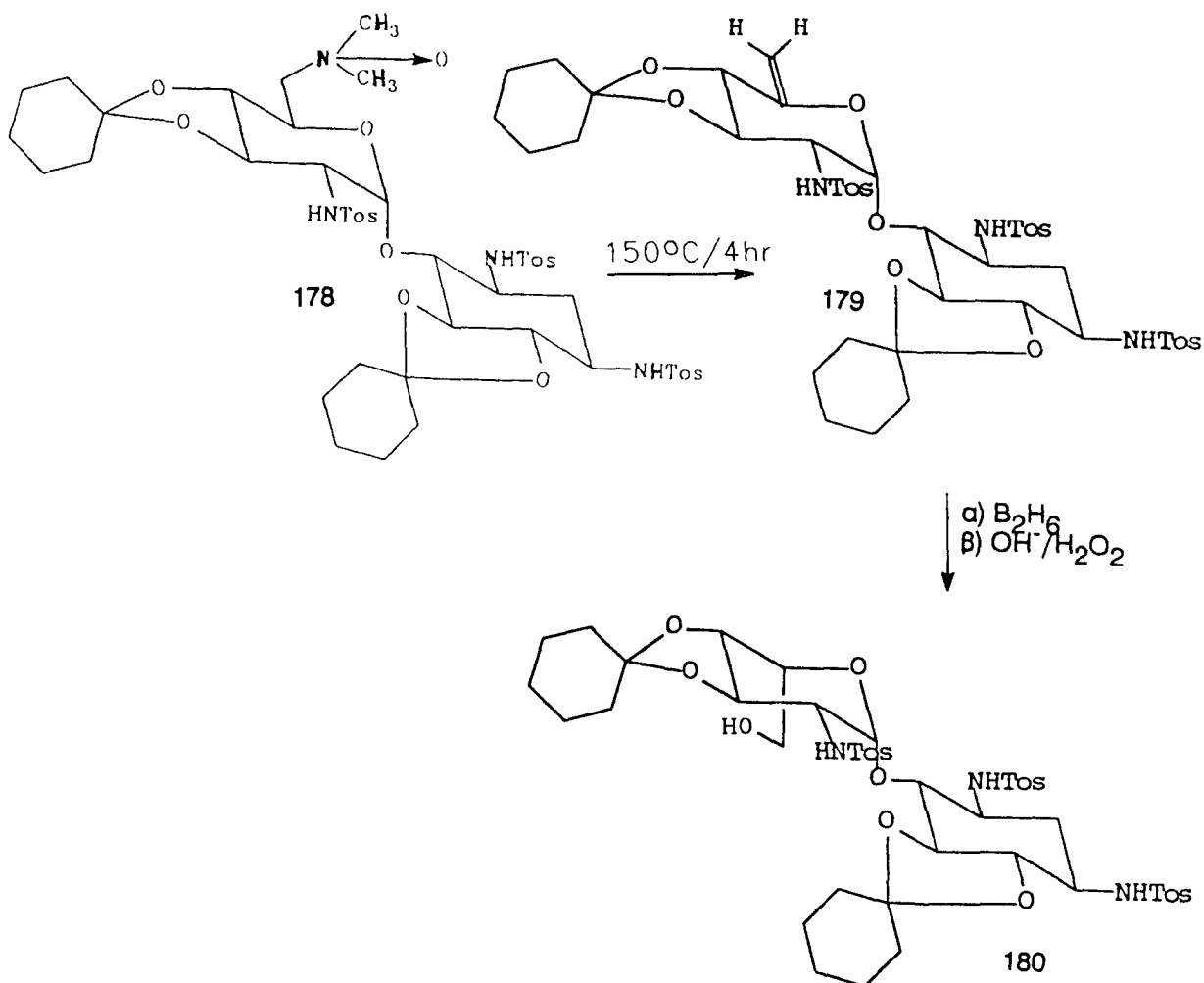
αντίστοιχα αμινοξείδια συνήθως επιτυγχάνεται δια χρήσεως 30%  $H_2O_2$  ή κάποιου οργανικού υπεροξειδίου<sup>196,197</sup> (π.χ mCPBA). Η οξείδωση του **177** προς το **178**, πραγματοποιείται με τη χρήση του μ-χλωρούπερβενζοϊκού οξέος σε διχλωρομεθάνιο και σε απόδοση 70%. Το προϊόν αυτό που ταυτοποιείται με FAB και DEPT.  $^{13}C$  N.M.R. και  $^1H$  N.M.R. (βλ.παράρτημα) δείχνει και την ορθότητα των τελευταίων αντιδράσεων.



### II.3.2.3. Σύνθεση της 5'-επι-1,3,2'-τρι-*N*-τοσυλο-5,6 3',4'-δι-*O*-κυκλοεξυλιδενο-παρομαμίνης 180

Από το αμινοξείδιο 178 με πυρόλυση κατά Core μπορούμε να οδηγηθούμε σ'ένα 5',6' διπλό δεσμό, ο οποίος με υδροβορίωση θα έδινε σχεδόν αποκλειστικά την C-5'-επι παρομαμίνη. Πραγματικά όταν θερμάναμε την 178 στους 150 °C για 4 ώρες υπό κενό, πήραμε μιά νέα κηλίδα που όταν την ταυτοποιήσαμε είδαμε ότι πραγματικά είχαμε τον 5',6' αλκένιο 179 (Εξαφάνιση του C-5' και μετατόπιση του C-6' από τα 76.11ppm στα 86ppm στο DEPT. του  $^{13}\text{C}$ ).

Προκειμένου να πάρουμε την 5'επι παρομαμίνη κατεργαστήκαμε το 179 με διβοράνιο που δημιουργήθηκε με  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  και  $\text{NaBH}_4$ , σε THF, υπό ατμόσφαιρα αζώτου και μετέπειτα με αλκαλική οξειδωση με  $\text{H}_2\text{O}_2 / \text{NaOH}$  πήραμε ένα μοναδικό προϊόν με απόδοση 15%. Το προϊόν αυτό είναι η C-5'-επι-παρομαμίνη 180 που ταυτοποιείται με το  $^{13}\text{C}$  N.M.R. (βλ.παράρτημα) αφού επανεμφανίζεται ο C-5' στα 74.79ppm. Η χρωματογραφική συμπεριφορά της σε αντιστοιχία με την αντίστοιχα προστατευμένη παρομαμίνη, καθώς και η μετατόπιση του C-5' αποδίδουν αυτόν τον τύπο στην ένωση μας (κινείται αργότερα από την παρομαμίνη στην Χ.Λ.Σ).

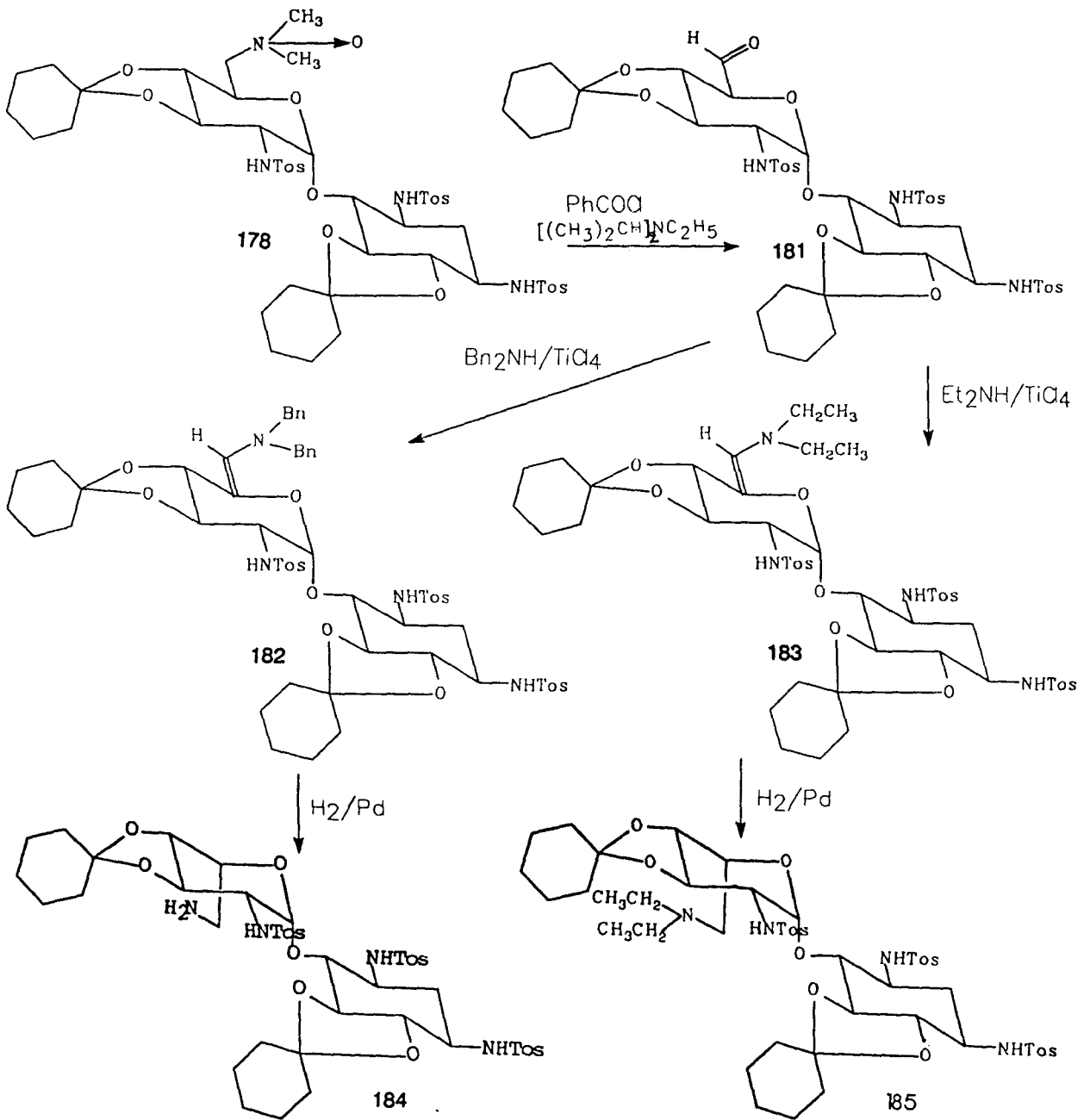




#### II.3.2.4. Σύνθεση της 5'-επι-1,3,2'-τρι-N-τοσυλο-5,6 3',4'-δι-O-κυκλοεξυλιδανο-νεαμίνης 184

Οι N,N-διαλκυλαμίνες αποτελούν σημαντικότερα ενδιάμεσα σε πολλές οργανικές συνθέσεις και πολλές μέθοδοι για την μετατροπή τους σε αλκοόλες<sup>198,199</sup>, αλκένια<sup>200</sup>, και οπτικά ενεργές εναμίνες<sup>201</sup>, έχουν αναφερθεί. Μια απλή και εκλεκτική μέθοδος για την μετατροπή των N,N-διαλκυλαμινών σε αλδεύδες, στηρίζεται στην αντίδραση του Poloronovsky<sup>197</sup> και αναφέρεται από τους Takabe K. et al<sup>196</sup>. Η μέθοδος αυτή μετατρέπει σ'ένα πρώτο στάδιο την N,N-διαλκυλαμίνη στο αντίστοιχο αμινοξείδιο και κατόπιν αυτό μετατρέπεται στο τελικό προϊόν, την αλδεύδη.

Εφαρμόζοντας τη μέθοδο αυτή διαλύσαμε σε ακετόνη το N-οξείδιο της νεαμίνης 178 και προσθέσαμε ισοδύναμη ποσότητα βενζούλοχλωριδίου και αντίστοιχη διισοπροπυλαιθυλαμίνη και θερμαίνουμε ελαφρά στους 40 °C για 15min οπότε σε πλακίδιο Χ.Λ.Σ. εμφανίστηκαν δύο κηλίδες με R<sub>f</sub> μεγαλύτερο από την αρχική. Διαχωρισμός τους και FAB δείχνει ότι η αλδεύδη 181 είναι η κάτω κηλίδα με R<sub>f</sub>=0.25 σε σύστημα ανάπτυξης οξικού αιθυλεστέρα/εξανίου 3:1. Σημειώνεται ότι φάσμα <sup>1</sup>H N.M.R. είναι εξαιρετικά πολύπλοκο αλλά φαίνεται το αλδεύδικό πρωτόνιο στα 9.6ppm καθώς και ότι η ένωση μας είναι αρκετά ευαίσθητη. Προκειμένου να σταθεροποιήσουμε την ένωση μας και να μπορέσουμε να την ταυτοποιήσουμε επακριβώς προσπαθήσαμε να συνθέσουμε την αντίστοιχη οξίμη με προσθήκη στο 181 υδροξυλαμίνης<sup>202</sup>. Οι προσπάθειες μας όμως, δεν ήταν επιτυχείς, αφού και εδώ προέκυψε σειρά προϊόντων. Προχωρήσαμε στο επόμενο στάδιο, που σύμφωνα με όσα αναφέραμε σε προηγούμενη παράγραφο (βλ.σελ.75-76), ήταν η δημιουργία της εναμίνης. Αυτή επιτεύχθηκε με τη χρήση TiCl<sub>4</sub>. Αρχικά χρησιμοποιήθηκε η διαιθυλαμίνη προκειμένου στο τελικό προϊόν να υπάρχουν τα δύο αιθύλια που θα μας έκαναν να ταυτοποιήσουμε την ένωση μας στο <sup>1</sup>H N.M.R. Πράγματι μετά από υδρογόνωση της εναμίνης 183 σε μεθανόλη με καταλύτη Pd/C σε συσκευή Parr και πίεση 10psi και απομόνωση του προϊόντος πήραμε ένα προϊόν που σε 60MHz <sup>1</sup>H N.M.R. δείχνει τόσο τα αιθύλια όσο και τους αρωματικούς δακτυλίους των τοσυλομάδων. Έτσι το προϊόν αυτό είναι η N,N-διαιθυλο-5'-επι-νεαμίνη 185. Για το λόγο αυτό και για παραπέρα ταυτοποίηση, χρησιμοποιήσαμε την διβενζυλαμίνη και διαμέσου της εναμίνης 182 μετά από υδρογόνωση οδηγηθήκαμε σ'ένα προϊόν 184 που σε Χ.Λ.Σ κινείται αργότερα από το προϊόν 176. Έτσι το προϊόν αυτό του οποίου η συμπεριφορά είναι όμοια μ'αυτή που έχει παρατηρηθεί και στην παρομαμίνη<sup>149</sup>, πιθανόν είναι το επιθυμητό 5'-επιμερές της νεαμίνης. Δυστυχώς η μικρή απόδοση στο προϊόν αυτό καθώς και το ότι το FAB της ένωσης αυτής δεν έδωσε μοριακό ιόν δεν μας επέτρεψε να ταυτοποιήσουμε πλήρως την ένωση μας και έτσι προκειμένου να έχουμε τα πλήρη στοιχεία του χρειάζεται νέα σύνθεση του σε μεγαλύτερη ποσότητα.



## II.4. ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ

Στο τμήμα αυτό της διατριβής παρουσιάζονται και σχολιάζονται οι συνθέσεις και άλλα πειραματικά αποτελέσματα που αφορούν την διερεύνηση των συνθετικών πορειών για την (C-5') επιμερείωση της νεαμίνης.

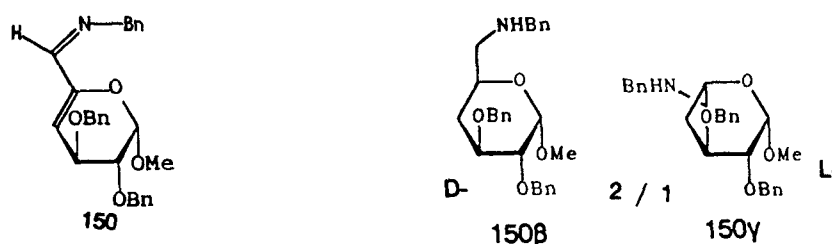
Συγκεκριμένα:

1) Επιτεύχθηκε με την συνθετική πορεία που περιγράφεται στο κεφάλαιο αυτό, η (C-5')-επιμερείωση της νεαμίνης αν και η συνολική απόδοση είναι μικρή.

2) Συντέθηκε η (C-5')-επι-παρομαμίνη με τη πορεία που χρησιμοποιήσαμε, αν και αυτή έχει επίσης μικρή απόδοση. Η πορεία αυτή έχει παρ'όλα αυτά ξεχωριστό ενδιαφέρον, γιατί χρησιμοποιεί σαν αρχική πρώτη ύλη την φθηνή νεομυκίνη Β.

Ακόμα στο κεφάλαιο αυτό:

3) Περιγράφεται η καταλυτική υδρογόνωση της βάσης του Schiff 150, όπου διαπιστώθηκε ότι η διαμόρφωση του συζυγιακού αυτού συστήματος έχει σαν αποτέλεσμα η προσθήκη του υδρογόνου να γίνεται και από τις δύο πλευρές του μορίου, σε μεγαλύτερη αναλογία όμως στην πλευρά που οδηγεί στο D-επιμερές (D-/L- 2:1).



4) Διερευνήθηκε η τροποποίηση της απόσπασης κατά Hoffmann, η ενολοποίηση της 6-αλδεΐδομάδας του μεθυλο α-D-γλυκοκυρανοζίτη και η σύνθεση του 5,6 εποξειδίου του. Όμως αυτές οι προσπάθειες δεν ήταν επιτυχείς.

5) Συντέθηκαν τα συζυγιακά συστήματα 144 και 147 προκειμένου να εξετασθεί η σύνθεση των C-5 επιμερών με προσθήκη Michael. Όπως όμως αποδείχθηκε η αντίδραση Michael δεν έδωσε την στερεοεκλεκτικότητα που περιμέναμε.





## ΜΕΡΟΣ Β

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙΙ

ΜΙΚΤΑ ΦΑΡΜΑΚΑ

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙΙ ΜΙΚΤΑ ΦΑΡΜΑΚΑ

### ΙΙΙ1. ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ ΔΥΟ ΦΑΡΜΑΚΩΝ

Η λογική που επικρατούσε μέχρι πριν από μερικά χρόνια στην σύνθεση νέων αντιβιοτικών και που δημιούργησε μια ολόκληρη γενιά νέων αντιβιοτικών ήταν ότι οι νέες ουσίες θα έπρεπε να είναι ικανές να αποφύγουν συγκεκριμένες ενζυμικές μετατροπές. Με τη λογική αυτή δημιουργήθηκαν πράγματι πολλά βελτιωμένα αντιβιοτικά, τα οποία μάλιστα εισήχθηκαν σε κλινική χρήση όπως η αμικασίνη, η νετιλμικίνη, η ισεπαμικίνη κ.ά., αντιβιοτικά που είχαν προστατευμένες τις ευαίσθητες ομάδες τους. Τα αντιβιοτικά αυτά μάλιστα βρέθηκαν να έχουν και μειωμένη τοξικότητα<sup>53</sup>, γεγονός τυχαίο βέβαια αφού αυτά σχεδιάστηκαν απλά και μόνο για αντίσταση στα ένζυμα μετατροπής, έδειξαν όμως έτσι το δρόμο για τη σύνθεση παραγώγων με μειωμένη τοξικότητα.

Οι σύγχρονες συνθετικές προσπάθειες στον τομέα των αμινογλυκοζιτών επικεντρώνονται σήμερα στο θέμα της τοξικότητας και η σύνθεση νέων αντιμικροβιακών φαρμάκων επιδιώκεται να λυθεί μέσω των "μικτών" φαρμάκων. Τα "μικτά" φάρμακα αποτελούνται από την σύνδεση δύο διαφορετικών κατηγοριών φαρμάκων, όσον αφορά τον μηχανισμό δράσης τους, και στοχεύουν στο ευρύτερο αντιμικροβιακό φάσμα και στην ελαττωμένη τοξικότητα. Η ιδέα της γενέσεως των φαρμάκων αυτών ξεκίνησε από την κλινική χρήση αντιμικροβιακών φαρμάκων χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό. Η χρησιμοποίηση αυτή δυο ή περισσότερων αντιμικροβιακών φαρμάκων γίνεται στις εξής περιπτώσεις<sup>8</sup>:

1) επείγουσα θεραπεία σε απειληστική κατάσταση ασθενών, όπου απλά γίνεται μια κατά εικασία εκτίμηση για την ύπαρξη 2-3 παθογόνων μικροοργανισμών και δίνονται τα αντίστοιχα φάρμακα

2) Μικτές λοιμώξεις που ακολουθούν βαριούς τραυματισμούς

3) Για την επίτευξη μικροβιοκτόνου ενέργειας

4) Για την ελάττωση της απαραίτητης δόσης, έτσι ώστε να μην εμφανίζεται η τοξικότητα ενώ συγχρόνως να έχουμε ικανοποιητική μικροβιοκτόνο δράση.

Τα σημαντικότερα προβλήματα στην χρησιμοποίηση δύο φαρμάκων και κατά συνέπεια στην εκλογή για τη σύνδεση δύο φαρμάκων στα "μικτά φάρμακα" είναι:

α) ο αντιμικροβιακός συνδυασμός να μην πετυχαίνει τίποτα περισσότερο από ότι ένα αποτελεσματικό φάρμακο μόνο του και

β) η πιθανότητα ανταγωνισμού των δύο φαρμάκων

Ειδικά το δευτερο πρόβλημα είναι πολύ σημαντικό (αν και εμφανίζεται σπάνια στην κλινική αντιμικροβιακή θεραπεία), μπορεί να οδηγήσει όμως και στο θάνατο του ασθενούς (στην περίπτωση που χρησιμοποιηθεί ένα βακτηριοστατικό με ένα βακτηριοκτόνο). Όμως και το πρώτο πρόβλημα έχει άμεσο αντίκτυπο στο κόστος της θεραπείας χωρίς να υπάρχει σημαντικό αποτέλεσμα.

Η καλύτερη περίπτωση όταν δύο αντιμικροβιακοί παράγοντες επιδρούν ταυτόχρονα σ'ένα ομοιογενή μικροβιακό πληθυσμό, είναι το αποτέλεσμα που θα φέρουν να είναι η συνέργειά τους, δηλαδή η συνδυασμένη δράση να είναι το άθροισμα ή σημαντικά μεγαλύτερη από το σύνολο των δύο επιδράσεων. Η συνέργεια αυτή μπορεί να συμβεί<sup>8</sup> όταν το ένα από τα δύο χρησιμοποιούμενα φάρμακα μπορεί:

α) να προλαμβάνει την αδρανοποίηση του δευτέρου φαρμάκου με μικροβιακά ένζυμα π.χ. οι αναστολείς της β-λακταμάσης μπορούν να προστατεύσουν την αμοξικιλίνη από την β-λακταμάση

β) να τροποποιεί την κυτταρική μεμβράνη ώστε να διευκολύνει την είσοδο του δευτέρου φαρμάκου, καθώς και να ελαττώνει την τοξικότητα

γ) να ενισχύει σημαντικά τη λήψη ενός δευτέρου φαρμάκου. Σ'αυτή τη κατηγορία βρίσκεται και ο συνδυασμός των κινολονών με τους αμινογλυκοζίτες.

Από τις παραπάνω παρατηρήσεις γίνεται φανερό η μεγάλη σημασία της δημιουργίας των "μικτών" φαρμάκων. Στις παραπάνω παρατηρήσεις πρέπει να σημειώσουμε τη δυνατότητα με τη δημιουργία των φαρμάκων αυτών, να μειωθεί η τοξικότητα των αμινογλυκοζιτικών αντιβιοτικών όχι μόνο σαν αποτέλεσμα της ελάττωσης της δόσης, αλλά και σαν αποτέλεσμα του τρόπου δράσης, καθώς και να αυξηθεί η διαλυτότητα των κινολονών έτσι ώστε να τις καθιστά λήψιμες και παρεντερικά.

### III.2 ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΑ ΜΙΚΤΑ ΦΑΡΜΑΚΑ

Τα "μικτά φάρμακα" είναι μια προσπάθεια που άρχισε τα τελευταία χρόνια και που έχει βρει όμως φοβερή απήχηση στις φαρμακευτικές εταιρείες. Έτσι φαρμακευτικές εταιρείες όπως η Hoffman La Roche, Farmitalia, κ.ά έχουν πρόσφατα ανακοινώσει<sup>7</sup> τη σύνθεση "μικτών" φαρμάκων μεταξύ κινολονών και πενικιλινών, μερικά από τα οποία θα εισαχθούν σύντομα σε κλινική χρήση. Τα φάρμακα αυτά χαρακτηρίζονται από διπλή δράση : δρουν και σαν πενικιλίνες και σαν κινολόνες (βλέπε παρακάτω παράγραφο). Παρόμοια δράση αναμένεται και για τις ενώσεις μεταξύ αμινογλυκοζιτών και κινολονών που είχε σαν στόχο η διατριβή αυτή. Οι νέες αυτές ενώσεις έχουν όμως σαν κύριο στόχο τη μειωμένη τοξικότητα των αμινογλυκοζιτών.

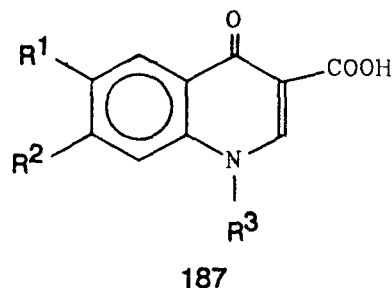
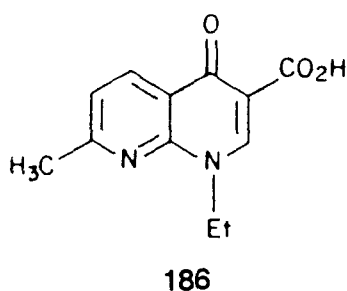


Πρίν προχωρήσουμε όμως στους στόχους αυτούς είναι χρήσιμο να αναφερθούμε στον τρόπο δράσης των κινολονών, αφού την δράση των αμινογλυκοζιτικών αντιβιοτικών την είδαμε αναλυτικά στο πρώτο κεφάλαιο.

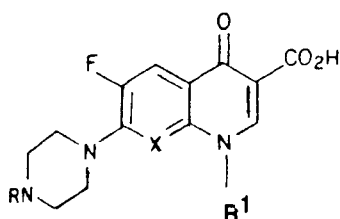
### III.2.1 ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ

#### III.2.1.α ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ανακάλυψη του ναλιδιξικού οξέος 186 το 1962<sup>203</sup>, αποτέλεσε σημαντικό σταθμό στη θεραπεία λοιμώξεων του ουροποιητικού συστήματος. Η γρήγορη όμως ανακάλυψη πολλών ανθεκτικών στελεχών σ'αυτό περιόρισε την αρχική χρήση του. Προκειμένου μάλιστα να καταπολεμηθούν τα στελέχη αυτά αυξήθηκαν οι χορηγούμενες δόσεις, με αποτέλεσμα την εμφάνιση των τοξικών συνεπειών του. Για το λόγο αυτό άρχισαν εντατικές ερευνητικές προσπάθειες με στόχο την εύρεση περισσότερο δραστικών ουσιών. Η απλή δομή μάλιστα του ναλιδιξικού οξέος ήταν εύκολα τροποποιήσιμη, έτσι ώστε μέχρι το 1977 να έχουν συντεθεί πάνω από 1000 ενώσεις με τροποποιημένη τη δομή του<sup>204</sup>, πολλές από τις οποίες έδειξαν μάλιστα βελτιωμένη αντιμικροβιακή δράση. Μόνο όμως πριν από μερικά χρόνια συντέθηκαν ενώσεις με μεγάλη δραστηριότητα, 100-1000 φορές μεγαλύτερη από το ναλιδιξικό οξύ, τόσο εναντίον των Gram(+) όσο και σε αρκετά Gram(-) ανθεκτικά βακτήρια όπως το *Pseudomonas Aeruginosa*<sup>205</sup>. Οι ενώσεις αυτές αποτελούν την τάξη των κινολονών και είναι αποτέλεσμα μελετών συσχέτισης δομής-δραστηριότητας (Structure Activity Relationship S.A.R.). Έτσι η αντιβακτηριακή δράση στα καρβοξυλικά οξέα των κινολονών 187 σχετίζεται άμεσα με τους υποκαταστάτες  $R^1, R^2$  και μάλιστα βρέθηκε ότι όταν ο υποκαταστάτης  $R^1$  είναι F και ο  $R^2$  η πιπεραζινυλο ομάδα, τότε έχουμε και την μεγαλύτερη δραστηριότητα<sup>206,207</sup>.



Οι ελπίδες των ερευνητών ότι οι ενώσεις αυτές θα δρούσαν σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις εναντίον των βακτηρίων στα οποία δρούσε και το ναλιδιξικό οξύ και ότι θα ήταν λιγότερο τοξικές, σε μεγαλύτερες δόσεις που θα χρειαζόντουσαν τα περισσότερα ανθεκτικά βακτήρια, επαληθεύθηκαν πλήρως από την κλινική χρήση. Αρχικά η νορφλοξασίνη, η ενοξασίνη και μεταγενέστερα η σιπροφλοξασίνη (δομές 188α-ε) χρησιμοποιήθηκαν και χρησιμοποιούνται σήμερα ευρέως σε λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος, κυρίως, με πραγματικά ασυνήθιστα ευρύ φάσμα αντιμικροβιακής δράσης (πίνακας 17).



188

Πίνακας 17: Κλινικά συχνά χρησιμοποιούμενες κινολόνες					
Φάρμακο		X	R <sub>1</sub>	R	Βιβλιο- γραφία
Νορφλοξασίνη	188α	CH	Et	H	207
Περφλοξασίνη	188β	CH	Et	Me	207
Ενοξασίνη	188γ	N	Et	H	208
Σιπροφλοξασίνη	188δ	CH	c-Pr	H	209,210
Αμιφλοξασίνη	188ε	CH	NHCH <sub>3</sub>	Me	211

### III.2.1.β ΤΡΟΠΟΣ ΔΡΑΣΗΣ

Οι φθοροκινολόνες ανήκουν στην κατηγορία των αντιμικροβιακών που δρουν με αναστολή της σύνθεσης των νουκλεϊνικών οξέων<sup>8</sup>.

Συγκεκριμένα τα παράγωγα των κινολονών 187 βρέθηκαν να δρουν μέσω αναστολής της DNA γυράσης<sup>212</sup>. Η κυκλική διπλή έλικα του DNA μέσα στα βακτηριακά κύτταρα συχνά είναι υπερελικωμένη. Το αποτέλεσμα είναι ότι υπάρχει μεγαλύτερος αριθμός ζευγών βάσεων ανά μονάδα μήκους σε σχέση με τη απλή διπλή έλικα. Ετσι δημιουργούνται από την υπερελικωση αυτή ισχυρές τάσεις που χαλαρώνουν με αρνητικές τέτοιες τάσεις. Για τις τελευταίες αυτές αρνητικές τάσεις είναι απαραίτητη η DNA γυράση<sup>213</sup>. Ένα μέρος της χαλάρωσης γίνεται με σπάσιμο στη μια αλυσίδα και χαλάρωση με εισαγωγή σημαντικών χημικών ουσιών όπως το βρωμιούχο αιθίδιο (ethidium bromide) μεταξύ των ζευγών των βάσεων ή συνδέοντας κύριες πρωτεΐνες<sup>214</sup>.

Αναστολή έτσι της δράσης της DNA γυράσης :

- α) παρεμποδίζει την εισαγωγή των ουσιών αυτών για χαλάρωση της υπερελικωσης
- β) οδηγεί σε απώλεια της δυνατότητας υπερελικωσης των βακτηριακών χρωμοσωμάτων και των πλασμιδίων DNA.

Όπως φαίνεται από τα παραπάνω η αναστολή της δράσης της DNA γυράσης παίζει καθοριστικό ρόλο σε μια σειρά από λειτουργίες του κυττάρου, όπως η αντιγραφή και η μετάφραση του DNA καθώς και στη σταθερότητα των πλασμιδίων με επίδραση στο επίπεδο της υπερελικωσης.

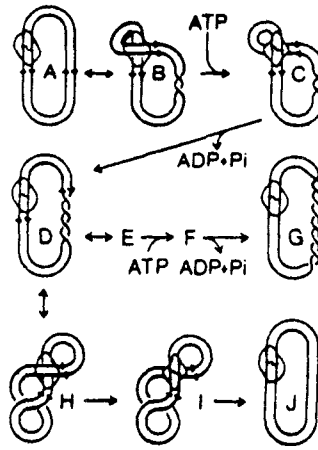
Η DNA γυράση είναι μια τοποϊσομεράση η οποία παίζει διπλό ρόλο στον έλεγχο της υπερελικωσης του DNA<sup>214,215</sup>. Το ένζυμο αυτό καταλύει:

- α) Την αρνητική υπερελικωση που είναι εξαρτημένη από το ATP στα κλειστά κυκλικά διπλής έλικας DNA

- β) Την χαλάρωση της υπερελικωσης του DNA, απουσία ATP

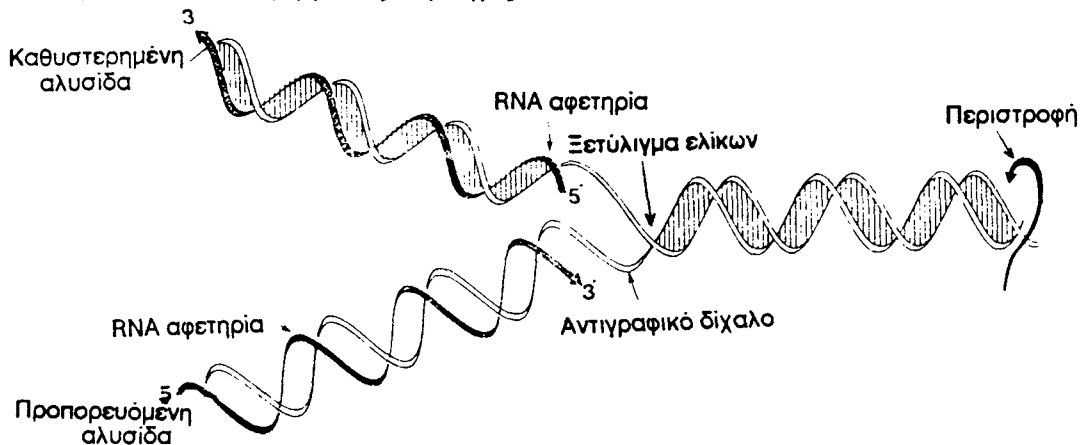
Η διαφοροποίησή της μάλιστα από τις άλλες τοποϊσομεράσες που την καθιστά και σημαντικότερη απ'αυτές, είναι η ικανότητά της να μπορεί να μετατρέπει την χαλαρωμένη διπλή έλικα του DNA στην υπερελικωμένη μορφή της. Επειδή μάλιστα η υπερελικωση του DNA έχει μεγαλύτερη ελεύθερη ενέργεια από την χαλαρωμένη μορφή γι'αυτό χρειάζεται και ενέργεια που δίνεται με υδρόλυση του ATP.

Επειδή οι παραπάνω έννοιες αναπτύχθηκαν σε πολύ μικρό χώρο κρίνουμε σκόπιμο την παράθεση του παρακάτω σχήματος<sup>214</sup>:



Σχήμα 40 : Το πρότυπο για την DNA γυράση - που παράγει την υπερελίκωση του DNA στο παροδικό σπάσιμο της διπλής έλικας. Το ένζυμο συνδέεται εκλεκτικά σε κύριες περιοχές του DNA και δημιουργεί μια αριστερόστροφη (θετική υπερελίκωση) περιστροφή τοπικά σε μια περιοχή του DNA (B). Η σύνδεση του ATP οδηγεί σε μεταφορά της μεγαλύτερης διπλής έλικας μέσα στην μικρότερη μέσω του σπασίματος της διπλής αλυσίδας (C), με διαφορετική διαμόρφωση του ενζύμου. Αυτή η αντίδραση ελαττώνει τον αριθμό σύνδεσης του DNA. Η επόμενη υδρόλυση του ATP και η απελευθέρωση του από το DNA προετοιμάζει το σύστημα για τον επόμενο κύκλο της υπερελίκωσης (D-G). Κατά τη διάρκεια της χαλάρωσης από την αρνητική υπερελίκωση του DNA (κάτω σειρά σχεδίου), η υπερελίκωση είναι η αιτία για ένα κύκλο του DNA που διπλώνει το ένζυμο με την αντίστροφη (δεξιά) περιστροφή απ'αυτή που χρησιμοποιείται στην αντίδραση υπερελίκωσης (H). Η μεταφορά διαμέσου του συστήματος του σπασίματος της διπλής αλυσίδας είναι η αιτία της αύξησης του αριθμού των συνδέσεων (χαλάρωση) από τα δύο μέρη (I-J).

Η DNA γυράση δηλαδή μπαίνει μπροστά από το αντιγραφικό δίχαλο, γεγονός που διευκολύνει το ξετύλιγμα των ελίκων του μητρικού DNA. Όπως είπαμε όμως εκτός από το παραπάνω φαινόμενο η DNA γυράση δρά και σαν τις άλλες τοποϊσομεράσες, χωρίς τη δαπάνη ATP χαλαρώνοντας το θετικό υπερελικωμένο DNA. Η θετική υπερελίκωση του DNA είναι αυτή που δημιουργείται κατά την αντιγραφή στο υπόλοιπο μητρικό DNA, λόγω της γρήγορης προόδου του αντιγραφικού δίχαλου (σχ. 41). Η χαλάρωση αυτή γίνεται με διαβαθμισμένες τομές του ομοιοπολικού σκελετού (με περιστροφή γύρω από τα κομμένα άκρα) σε συγκεκριμένες περιοχές του DNA.



Σχήμα 41 : Η σύνθεση νέων ελίκων DNA προϋποθέτει την εκτύλιξη του μητρικού DNA στο αντιγραφικό δίχαλο

Ο μηχανισμός δράσης των κινολονών δεν είναι ακόμα πλήρως διευκρινισμένος. Έτσι πριν από μερικά χρόνια πίστευαν ότι οι κινολόνες αναστέλουν τη δράση της DNA γυράσης με σύνδεση με την υπομονάδα A του ενζύμου. Όμως τα τελευταία χρόνια τείνει να επικρατήσει η άποψη ότι δρουν με επίδραση στο υπόστρωμά της, δηλαδή στο DNA<sup>216</sup>. Σύμφωνα με την τελευταία αυτή άποψη η δράση των φαρμάκων αυτών μπορεί να γίνεται με έναν από τους παρακάτω τρόπους:

α) Το φάρμακο συνδέεται στην πλευρά του DNA που συνδέεται και το ένζυμο.

β) Η παρουσία του φαρμάκου δημιουργεί μια υψηλής συγγένειας πλευρά για το ένζυμο.

γ) Το φάρμακο ή το ένζυμο μετατοπίζεται κατά μήκος του DNA μέχρι να σχηματιστεί ένα τριαδικό σύμπλοκο.

Μελέτες<sup>216</sup> έδειξαν ότι αυτό που μάλλον τελικά γίνεται είναι το τρίτο. Έτσι είναι πιθανό ότι η γυράση μετατοπίζεται κατά μήκος του DNA ή τμήμα του DNA μετατοπίζεται γύρω από την γυράση, πιθανόν στα πρώτα στάδια της υπερελίκωσης, για να σχηματιστεί ένα τριαδικό σύμπλοκο με τον αναστολέα, το οποίο είναι πιο σταθερό από το σύμπλοκο DNA-γυράσης και που οδηγεί σε αναστολή της δράσης του ενζύμου.

Με τον μηχανισμό αυτό μπορεί να εξηγηθεί και η εκλεκτικότητα στην αναστολή της δράσης μόνο στην DNA γυράση, σε αντίθεση με την πρώτη θεωρία.

Αναστολή έτσι της δράσης της DNA γυράσης έχει σαν αποτέλεσμα :

α) την αναστολή της χαλαρωτικής ενέργειας της γυράσης στο χρωμοσωματικό DNA των βακτηρίων κατά την αντιγραφή<sup>217,218</sup> β) αύξηση της χρωμοσωματικής υπερελίκωσης<sup>219</sup>

γ) αύξηση της ποσότητας της γυράσης, άσχετα από το επίπεδο της υπερελίκωσης<sup>220,221</sup>.

Εκτός από την αναστολή της δράσης της DNA γυράσης που οδηγεί στο θάνατο των βακτηρίων, ένας δεύτερος παράγοντας που οδηγεί στη αντιβακτηριακή δράση των φαρμάκων αυτών είναι η ικανότητα τους να διαπερνούν το κυτταρικό τοίχωμα των βακτηρίων, οδηγώντας έτσι αυτά τα κύτταρα στην θανάτωσή τους. Υπάρχουν ορισμένα σημεία μάλιστα στην δομή των κινολονών που είναι απαραίτητα για το δεύτερο αυτό παράγοντα και άλλα που είναι απαραίτητα για την αναστολή της δράσης της DNA γυράσης. Η δράση έτσι εξασφαλίζεται μόνο όταν τὰ μόρια πληρούν την βασική δομή 187<sup>206</sup>.

### III.2.2 AMINOΓΛΥΚΟΖΙΤΕΣ

Όσον αφορά το δεύτερο φάρμακο που θα χρησιμοποιηθεί στη σύνθεση αυτή, είναι οι αμινογλυκοζίτες τους οποίους έχουμε εξετάσει λεπτομερώς στο πρώτο

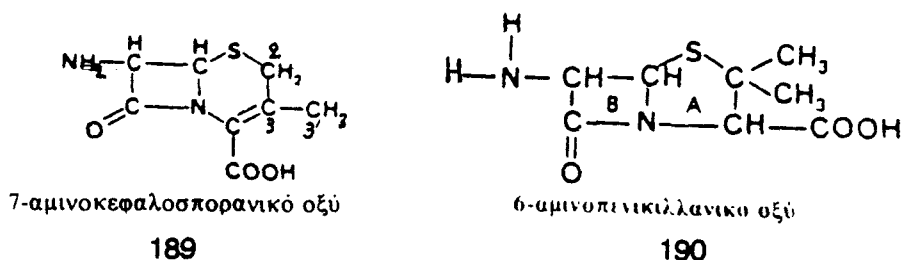
κεφάλαιο. Εδώ απλώς να τονίσουμε ότι προσπάθειες σύνθεσης "μικτών φαρμάκων" μπορεί να γίνουν με ημισυνθετικούς αμινογλυκοζίτες που δεν προσβάλλονται από τα ένζυμα μετατροπής, όπως τα επιμερή των φυσικών αμινογλυκοζιτών.

### III.3 ΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΠΑΘΕΙΕΣ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΙ

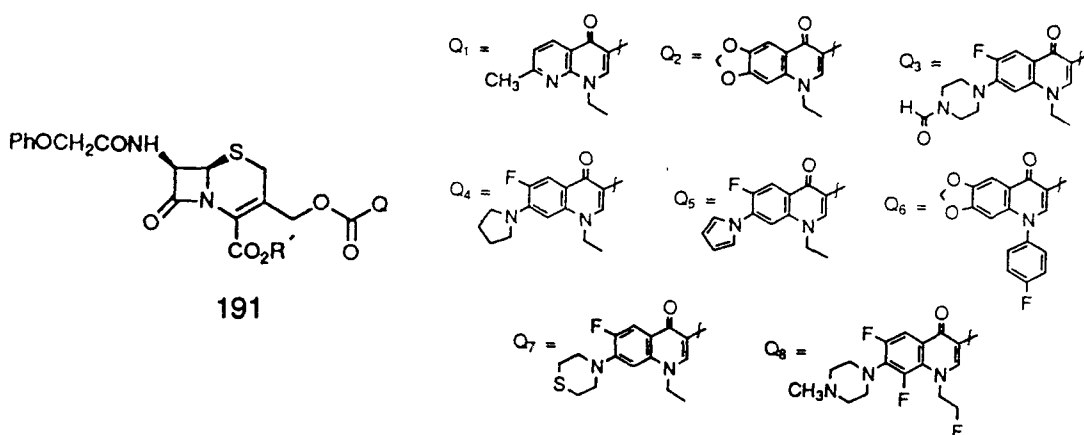
Όπως προαναφέραμε τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει αρκετές συνθετικές προσπάθειες πάνω στο τομέα της σύνθεσης των "μικτών φαρμάκων". Οι κυριώτερες απ'αυτές που οδήγησαν σε ενώσεις οι οποίες σύντομα θα εισαχθούν σε κλινική χρήση αναφέρονται εδώ και είναι ενώσεις μεταξύ κεφαλοσπορινών και κινολονών.

#### III.3.1 ΚΕΦΑΛΟΣΠΟΡΙΝΕΣ 3'-ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ ΕΣΤΕΡΕΣ<sup>222</sup>

Οι κεφαλοσπορίνες είναι χημειοθεραπευτικές ενώσεις, παράγωγα του 7-αμινοκεφαλοσπορανικού οξέος 189 και δρουν με αναστολή της σύνθεσης του κυτταρικού τοιχώματος των βακτηρίων και που παρουσιάζουν πολλές ομοιότητες με τις πενικιλίνες (παράγωγα του 6-αμινοπενικιλανικού οξέος 190).

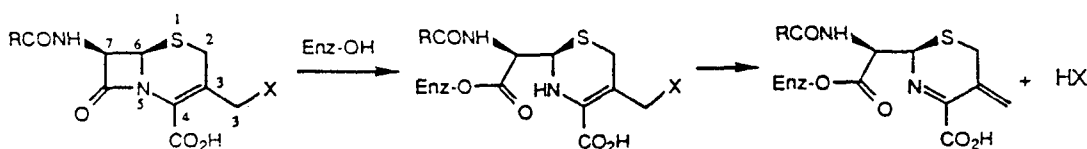


Η αδρανοποίησή τους έχει βρεθεί ότι γίνεται με βακτηριακά ένζυμα (β-λακταμάσες) που αντιδρούν μ'αυτές ανοίγοντας τον δακτύλιο της β-λακτάμης<sup>223,224</sup>. Για το λόγο αυτό έχουν συντεθεί 3'υποκατεστημένες κεφαλοσπορίνες που δεν αδρανοποιούνται από τις β-λακταμάσες<sup>225,226</sup>. Μια σειρά διπλής δράσης κεφαλοσπορίνες παρασκευάστηκε με σύνδεση των αντιβακτηριακών κινολονών με 3'-υποκατεστημένες κεφαλοσπορίνες 191 (σχήμα 42). Η σύνδεση αυτή έγινε σ'αυτή την κατηγορία διαμέσου ενός εστερικού δεσμού με την ελπίδα ότι οι ενώσεις αυτές θα είχαν διπλή δράση. Πράγματι, τα φάρμακα αυτά επέδειξαν ένα ευρύτατο αντιβακτηριακό φάσμα, δείχνοντας έτσι ότι η διπλή δράση είναι γεγονός<sup>222</sup>.



Σχήμα 42 : Μικτά φάρμακα με εστερικό δεσμό μεταξύ κεφαλοσπορινών-κινολονών

Ο μηχανισμός δράσης που προτάθηκε για τις ενώσεις αυτές είναι<sup>222</sup>:



Σχήμα 43 : Πιθανός μηχανισμός δράσης των παραπάνω μικτών φαρμάκων

Τα αντιβιοτικά της σειράς των β-λακταμών δρουν κάνοντας ακυλίωση σε μια σερίνη που αποτελεί το ενεργό κέντρο μιας τρυσπεπτιδάσης απαραίτητης για την σύνθεση των πεπτιδογλυκανών του κυτταρικού τοιχώματος των βακτηρίων<sup>223,224</sup>. Ο ίδιος μηχανισμός (δηλαδή ακυλίωση του ενεργού κέντρου), είναι και αυτός με τον οποίο αρκετές β-λακταμάσες απενεργοποιούν αυτά τα αντιβιοτικά με υδρόλυση του δακτυλίου της β-λακτάμης<sup>225,226</sup>. Κατά την ακυλίωση αυτή όταν οι κεφαλοσπορίνες περιέχουν στην 3' θέση μια ομάδα, αυτή ελευθερώνεται. Όταν τώρα, η αποχωρούσα αυτή ομάδα έχει αντιβακτηριακή δράση, έχουμε την διπλή δράση. Δηλαδή οι κεφαλοσπορίνες δρουν σαν "προφάρμακα" για το δεύτερο αντιβακτηριακό αντιδραστήριο, εδώ τις κινολόνες. Η "διπλή δράση" περιγράφει αυτές τις κεφαλοσπορίνες. Ετσι μπορεί να διευρυνθεί το αντιβακτηριακό φάσμα και σε οργανισμούς που δείχνουν αντίσταση στις τρίτης γενιάς κεφαλοσπορίνες. Γενικά τα "μικτά φάρμακα" αυτής της κατηγορίας :

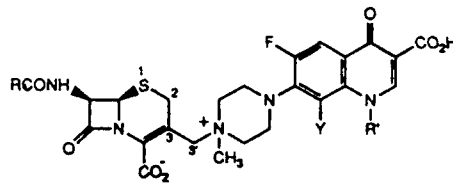
α) Έχουν συμπληρωματικό αντιβακτηριακό φάσμα, δηλαδή οι κινολόνες είναι δραστικές εναντίον των ανθεκτικών στελεχών στις β-λακτάμες και οι κεφαλοσπορίνες περισσότερο δραστικές εναντίον των στρεπτόκοκκων

β) Είναι περισσότερο διαλυτά, αφού οι κινολόνες από μόνες τους δεν είναι πολύ διαλυτές κάτω από φυσιολογικές συνθήκες. Ετσι μπορούμε να πετύχουμε μια περισσότερο διαλυτή μορφή φαρμάκου με καλύτερη φαρμοκοκινητική που να λαμβάνεται και παρεντερικά.

γ) Ο μηχανισμός δράσης των κινολονών που αναστέλλουν την DNA γυράση είναι συνεργάσιμος μ'αυτόν που δρουν οι κεφαλοσπορίνες, δηλαδή δεν υπάρχει ανταγωνισμός<sup>227,228</sup>.

### III.3.2 ΚΕΦΑΛΟΣΠΟΡΙΝΕΣ 3'-ΤΕΤΑΡΤΟΤΑΓΕΙΣ ΑΜΙΝΟ ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ<sup>229</sup>

Εκτός από τον παραπάνω τρόπο σύνδεσης, μπορούμε να έχουμε και σύνδεση με το τριτοταγές άζωτο των κινολονών, όπως στη δομή 192:



192

Πίνακας 18 : Μικτά φάρμακα μεταξύ κεφαλοσπορινών και φθοροκινολόνης μέσω του τριτοταγούς αζώτου της κινολόνης			
R	R'	Y	αλάτι <sup>a</sup>
H 192α	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> F	F	HI
ATM 192β	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> F	F	HI
PhOCH <sub>2</sub> 192γ	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> F	F	HI
ATIBA 192δ	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> F	F	Na
ATM 192ε	Et	H	HI

<sup>a</sup> Αλάτι χρησιμοποιούμενο για βιολογικά τεστ





Η σύνδεση αυτή είναι ενδιαφέρουσα αφού έχει παρατηρηθεί η ωφέλιμη επίδραση της υποκατάστασης των τριτοταγών αζώτων στην βιολογική δραστικότητα των αντιβακτηριακών της κατηγορίας των β-λακταμών<sup>230,231</sup>.

Ετσι μ'αυτά τα φάρμακα δημιουργούνται παρεντερικές κεφαλοσπορίνες με ευρύτερο φάσμα δράσης, με καλύτερες φαρμακοκινητικές, χαμηλότερη τοξικότητα κ.ά.

Ο μηχανισμός δράσης αυτών των φαρμάκων δεν είναι πλήρως διευκρινισμένος. Έχουν γίνει όμως οι παρακάτω προτάσεις :

1) Η δράση τόσο των β-λακταμών όσο και των κινολονών γίνεται μέσω του συνολικού μορίου. Για το λόγο αυτό είναι απαραίτητη και η ύπαρξη του καρβοξυλίου στη θέση 3 του κινολινικού πυρήνα

2) Η διάσπαση του αρχικού μορίου στα βιοενεργά προϊόντα με υδρόλυσή του

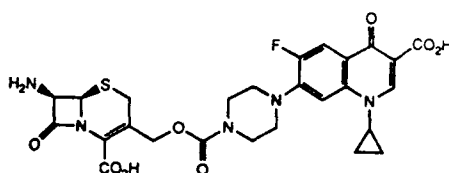
3) Ο προηγούμενος μηχανισμός, δηλαδή το βακτηριακό-ενζυμικό άνοιγμα του δακτυλίου των β-λακταμών ακολουθούμενο από απόσπαση της κινολόνης

Επισημαίνεται ότι και στους 3 παραπάνω μηχανισμούς είναι απαραίτητη η διατήρηση των δομικών στοιχείων τόσο της φθοροκινολόνης (-COOH, -C=O) όσο και της κεφαλοσπορίνης προκειμένου να έχουμε δράση του "μικτού φαρμάκου".

### III.3.3 ΚΕΦΑΛΟΣΠΟΡΙΝΕΣ-3'ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ ΜΕΣΩ ΚΑΡΒΑΜΙΔΙΚΟΥ ΔΕΣΜΟΥ<sup>232</sup>

Εδώ έχουμε μια σειρά από κεφαλοσπορίνες που συνθέτονται με δεσμό της 3' θέσης τους με το άζωτο της κινολόνης σιπροφλοξασίνης διαμέσου ενός καρβαμιδικού δεσμού. Η προσπάθεια αυτή έγινε για να βρεθούν ενώσεις με τα ίδια χαρακτηριστικά όπως οι παραπάνω, αλλά και που θα είναι ασταθέστερες και ευκολότερες στην σύνθεση.

Μια τέτοια ένωση μεταξύ σιπροφλοξασίνης και κεφαλοσπορίνης φαίνεται στη δομή 193.



193

Οι ενώσεις αυτές πράγματι είχαν όλα τα παραπάνω χαρακτηριστικά και αποτελούν τις καλύτερες ενώσεις που έχουν συντεθεί. Βέβαια αρκετά ερωτηματικά για τον μηχανισμό δράσης και αυτών των "μικτών φαρμάκων" μένουν για διευκρίνηση, όπως :

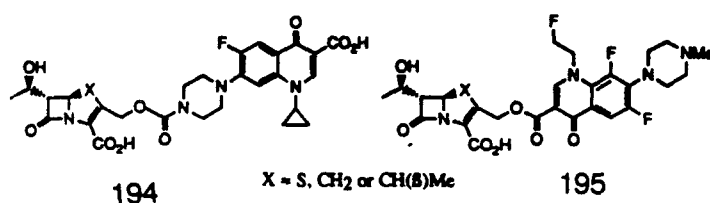
α) γιατί δρουν σαν κεφαλοσπορίνες;

β) πρέπει να ανοίξει ο δακτύλιος της β-λακτάμης για να απελευθερωθούν οι δύο ενώσεις;

γ) μήπως δρουν πάλι σαν μια ένωση και πως εισέρχεται αυτή από την εξωτερική και εσωτερική μεμβράνη και φθάνει στον στόχο της;

Σήμερα μελετάται και η πιθανότητα να δρά πρώτα η κεφαλοσπορίνη και στη συνέχεια αφού ολοκληρωθεί η δράση της να ανοίγει ο δακτύλιος με την απελευθέρωση της κινολόνης που δρά με την σειρά της. Μένουν όμως πράγματι πολλά ερωτηματικά για τη διευκρίνηση του μηχανισμού δράσης των "μικτών φαρμάκων". Η αστάθεια πάντως του καρβαμιδικού δεσμού δίνει προϊόντα με καλύτερα αποτελέσματα από αυτά με τον εστερικό δεσμό.

Τέλος αξ σημειωθεί ότι έχουν συντεθεί και "μικτά φάρμακα" μεταξύ πενεμών και καρβοπενεμών με κινολόνες και με τους τρεις παραπάνω τρόπους και στον C-2' της β-λακτάμης και αποτέλεσαν και αυτά πολύ δραστικά αντιμικροβιακά φάρμακα δείχνοντας μάλιστα και διπλή δράση<sup>233</sup> (δομές 194, 195).



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ IV

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΠΟΡΕΙΕΣ  
ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ  
ΣΥΝΘΕΣΗ "ΜΙΚΤΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ"  
ΜΕΤΑΞΥ ΦΘΟΡΟΚΙΝΟΛΟΝΩΝ ΚΑΙ  
ΑΜΙΝΟΓΛΥΚΟΖΙΤΩΝ



ΚΕΦΑΛΑΙΟ IV. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΠΟΡΕΙΕΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΣΥΝΘΕΣΗ "ΜΙΚΤΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ" ΜΕΤΑΞΥ ΦΘΟΡΟΚΙΝΟΛΟΝΩΝ ΚΑΙ ΑΜΙΝΟΓΛΥΚΟΖΙΤΩΝ

IV.1. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΣΥΝΘΕΤΙΚΩΝ ΠΟΡΕΙΩΝ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Η σύνθεση των σημαντικών ενώσεων που προαναφέραμε μας οδήγησε στην σκέψη να συνθέσουμε ενώσεις μεταξύ αμινογλυκοζιτών και κινολονών. Οι ενώσεις αυτές θα είχαν διπλή αντιμικροβιακή συμπεριφορά δηλαδή θα δρούσαν και σαν αμινογλυκοζίτες και σαν κινολόνες, κάτι που διαφαίνεται λογικό, αφού ήδη έχουν δημιουργηθεί φάρμακα μεταξύ πενικιλινών και φθοροκινολονών με διπλή δράση, ενώ καταβάλλονται προσπάθειες για τη σύνθεση "μικτών" φαρμάκων αμινογλυκοζιτών και πενικιλινών. Ίσως μάλιστα να είχαμε και μειωμένη τοξικότητα των αμινογλυκοζιτών, αφού η απελευθέρωση τους πιθανόν να γινόταν μόνο μέσα στα κύτταρα των βακτηρίων. Ακόμα θα πετυχαίναμε μεγαλύτερη διαλυτότητα των κινολονών, έτσι ώστε να μπορούσαν να χορηγηθούν και παρεντερικά.

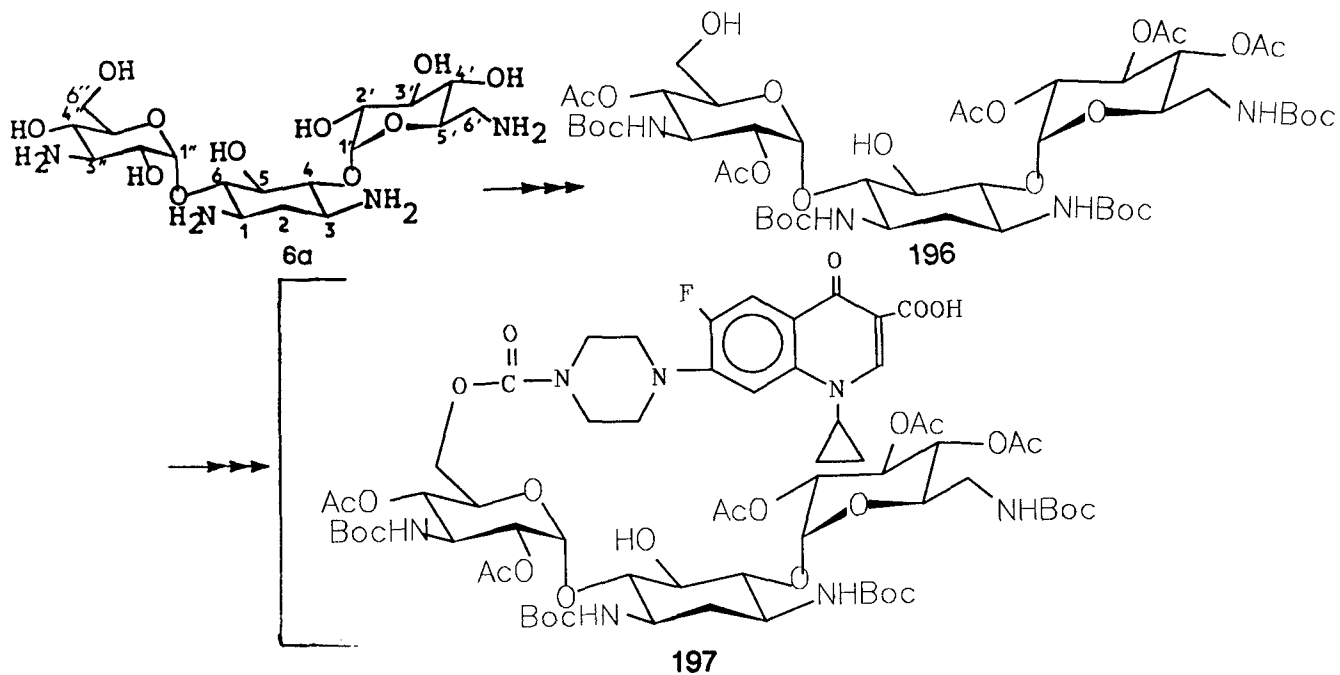
Σημαντικό ρόλο στη δράση των φαρμάκων αυτών πιθανόν να παίξει ο δεσμός με τον οποίο θα γίνει η σύζευξη και για το λόγο αυτό σχεδιάσαμε σύζευξη με διαφορετικούς τρόπους, αφού ο μηχανισμός δράσης των φαρμάκων που ήδη έχουν συντεθεί δεν είναι απόλυτα γνωστός.

Η επιλογή αυτών των ενώσεων-φαρμάκων έγινε για τους λόγους που αναφέρθηκαν στο κεφάλαιο III, κυρίως με το να έχουμε υπ'όψη ότι οι φθοροκινολόνες και ειδικότερα η σιπροφλοξασίνη δεν παρουσιάζει διασταυρούμενη δράση με τους αμινογλυκοζίτες και μάλιστα σε μελέτες *in vitro* βρέθηκε ότι συχνά παρουσιάζεται αθροιστική δράση, όταν συνδυάζεται μ'αυτούς.

Για το λόγο αυτό σχεδιάστηκε η σύνδεση της καναμικίνης A 6a με την σιπροφλοξασίνη 188δ. Η σύνδεση μπορεί να γίνει:

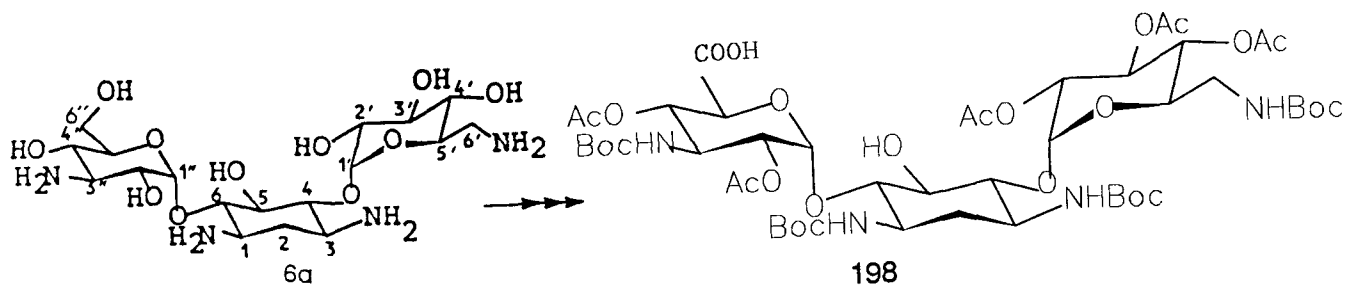
α) μέσω καρβαμιδικού δεσμού 197 με τα εξής στάδια :

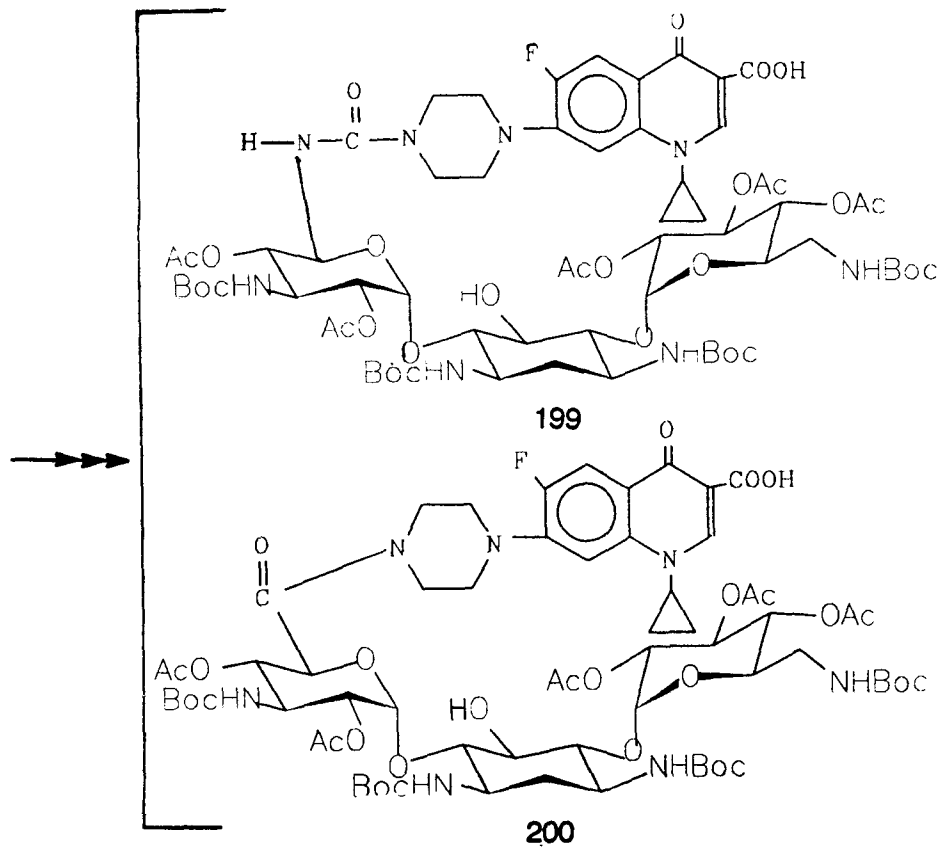
1. Προστασία των αμινομάδων και υδροξυλομάδων της καναμικίνης A έτσι ώστε μόνο η 6''-υδροξυλομάδα να είναι ελεύθερη (δομή 196).
2. Σύζευξη της ελεύθερης 6''-υδροξυλομάδας με την δευτεροταγή αμινομάδα της σιπροφλοξασίνης
3. Απομάκρυνση των προστατευτικών ομάδων



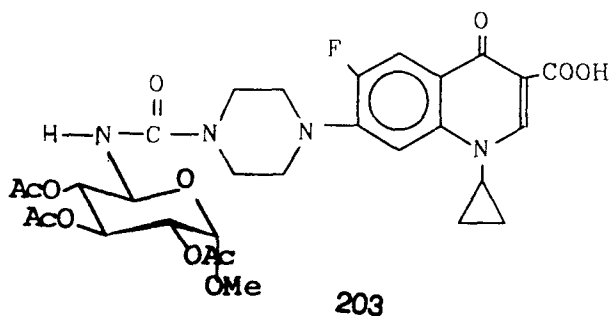
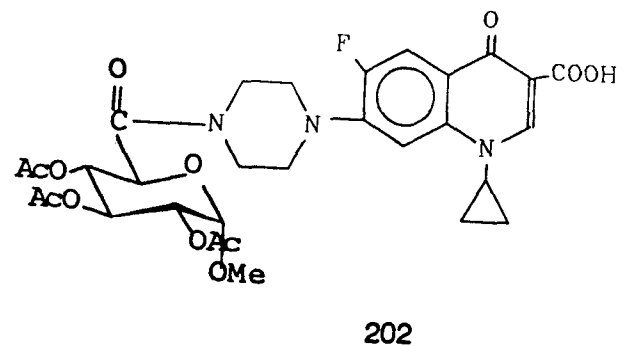
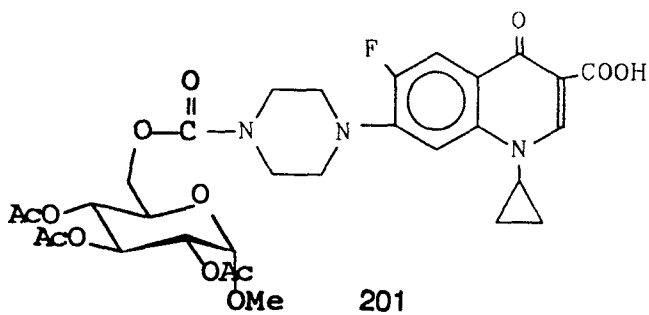
β) μέσω δεσμού τύπου ουρίας (δομή 199) ή αμιδικού δεσμού (δομή 200) με τα εξής στάδια :

1. Προστασία των αμινομάδων και υδροξυλομάδων της καναμικίνης Α έτσι ώστε μόνο η 6''-υδροξυλομάδα να είναι ελεύθερη και οξείδωση της σε καρβοξυλομάδα (δομή 198).
2. Ενεργοποίηση της καρβοξυλομάδας και σύζευξη της με την δευτεροταγή αμινομάδα της σπιροφλοξασίνης
3. Απομάκρυνση των προστατευτικών ομάδων



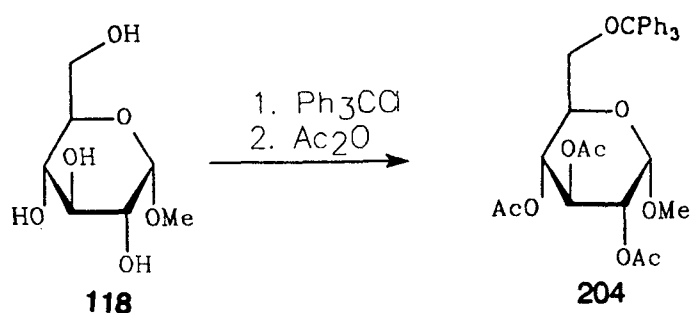


Προκειμένου να πραγματοποιηθεί η σύνθεση των μικτών αυτών ενώσεων και ν'αποκτηθεί σχετική εμπειρία, χρησιμοποιήθηκε σαν πρότυπη ένωση ο μεθυλο α-D-γλυκοπυρανοζίτης. Τα προϊόντα που θα προέκυπταν απ'αυτή την σύνθεση πιθανόν να ήταν χρήσιμα, με την αύξηση της διαλυτότητας των κινολονών και ίσως μπορεί να είχαν και μεγαλύτερη δραστηριότητα. Έτσι αρχικά επιχειρήθηκε η σύνθεση των παρακάτω ενώσεων:

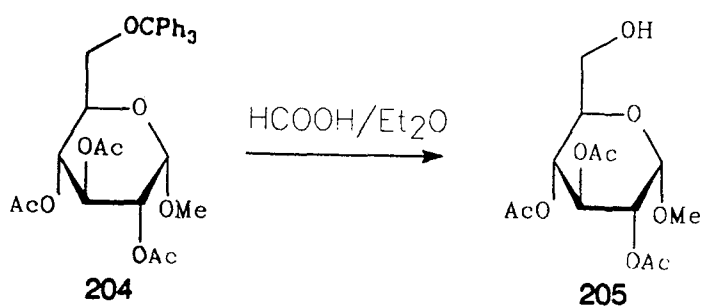


## IV.2 ΜΕΛΕΤΗ ΣΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΜΙΚΤΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΜΕΤΑΞΥ ΦΘΟΡΟΚΙΝΟΛΟΝΩΝ ΚΑΙ ΑΜΙΝΟΓΛΥΚΟΖΙΤΩΝ

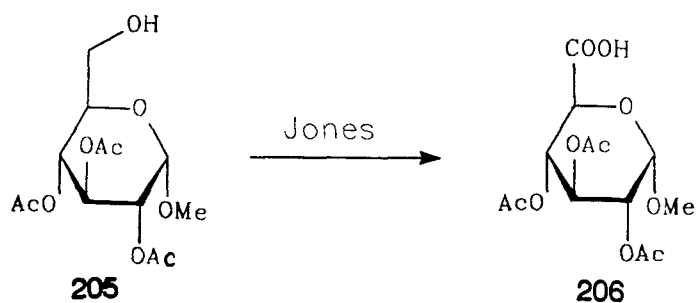
Προκειμένου να πετύχουμε την σύνθεση μας έπρεπε να έχουμε διαφοροποιήσει την 6-υδροξυλομάδα του μεθυλο α-D-γλυκοπυρανοζίτη. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήσαμε τη μέθοδο που αναφέραμε σε προηγούμενη παράγραφο (βλ.σελ.70, κεφ1). Έτσι τριτυλιώσαμε τον μεθυλο α-D-γλυκοπυρανοζίτη στην 6-υδροξυλομάδα και στην συνέχεια ακετυλιώσαμε τα υπόλοιπα υδροξύλια του λαμβάνοντας το προϊόν 204.



Την αποτριτυλίωση την επιτύχαμε με μίγμα HCOOH/Et<sub>2</sub>O 1:1 και χρόνο αντίδρασης 30min<sup>149</sup>. Πήραμε το προϊόν 205 σε απόδοση 40% από τον αρχικό μεθυλο α-D-γλυκοπυρανοζίτη.

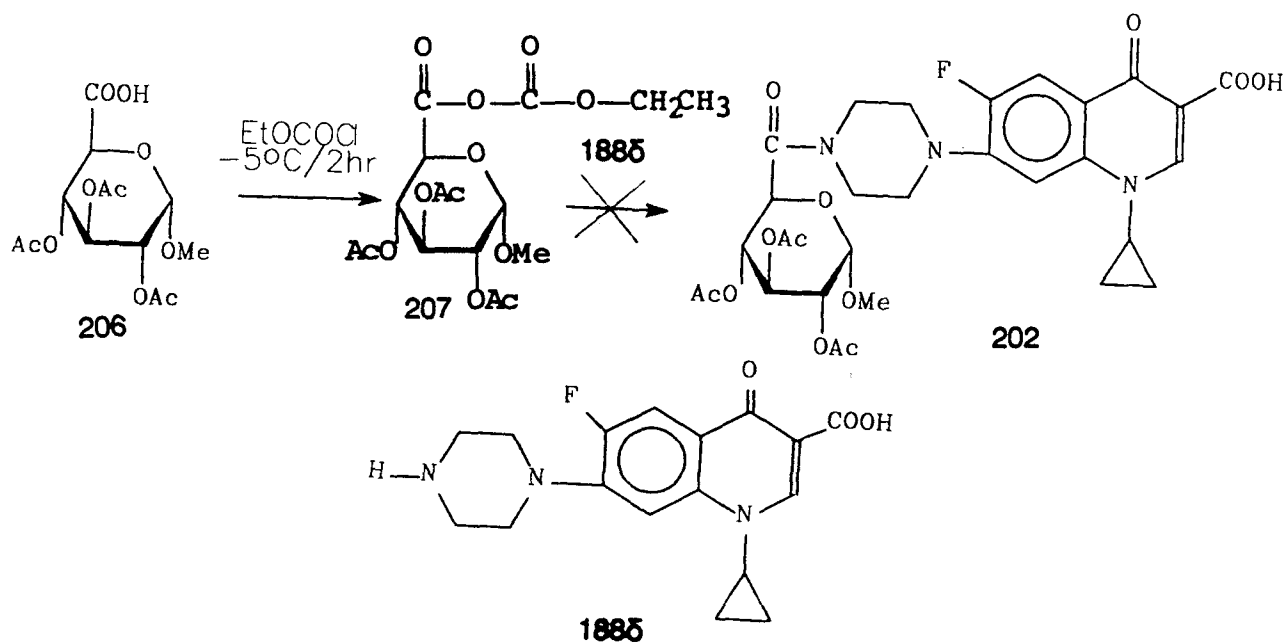


Το προϊόν 205 το οξειδώσαμε με το αντιδραστήριο Jones σε ακετόνη<sup>187</sup>, παίρνοντας το 2,3,4-τρι-O-ακετυλο-ουρονικό οξύ 206.





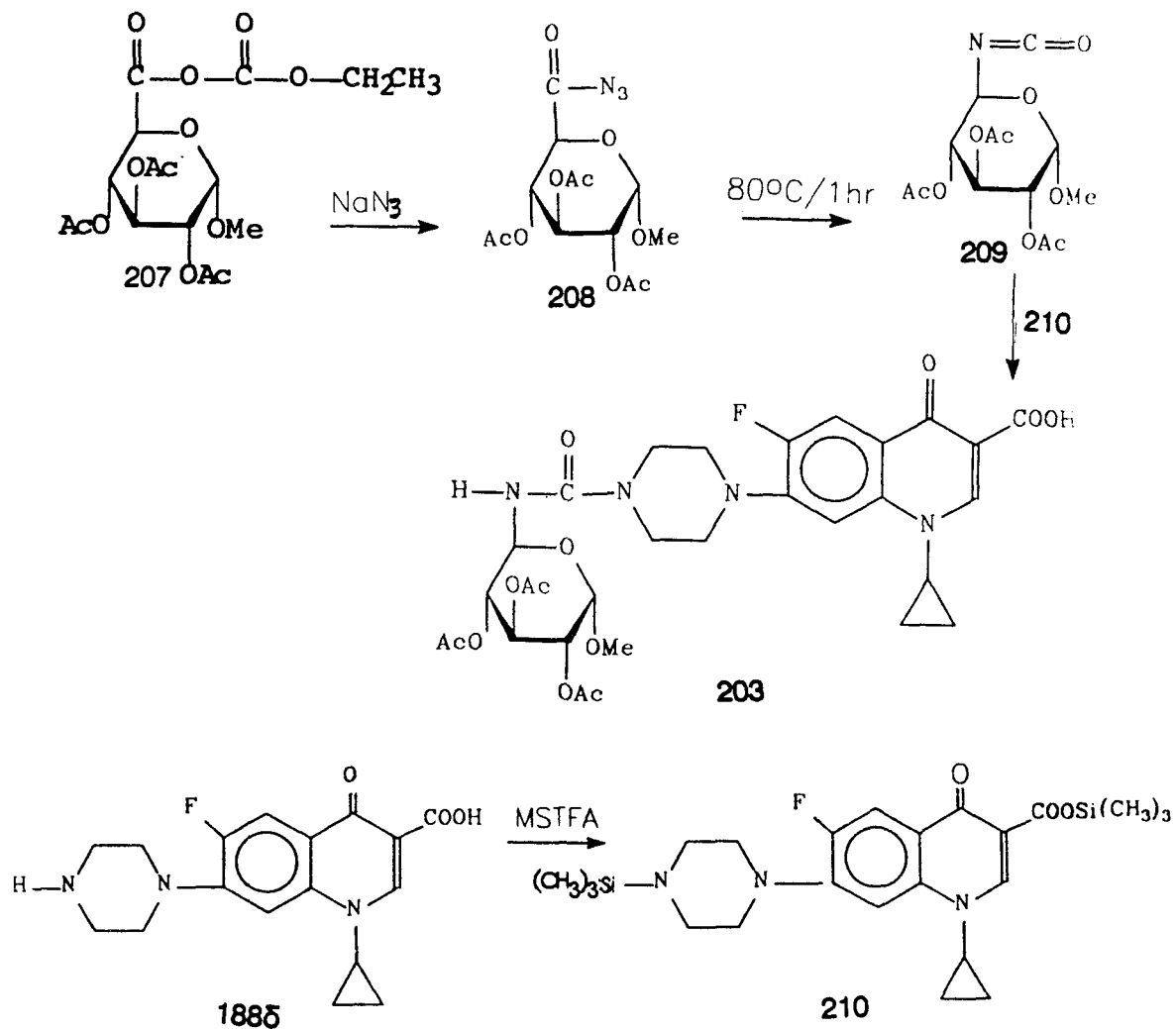
Για να επιτύχουμε την επιθυμητή σύζευξη, που θα μας οδηγούσε τόσο στο προϊόν 202 όσο και στο 203 έπρεπε να ενεργοποιήσουμε το καρβοξύλιο του 206. Την ενεργοποίηση αυτή την επιτύχαμε με την μέθοδο των "μικτών ανυδριτών"<sup>234</sup>. Τοποθετήσαμε την ένωση 206 μέσα σε τετραύδροφουράνιο και προσθέσαμε χλωρομυρμηκικό αιθυλεστέρα στους 0 °C. Αναδεύουμε για 2hr στους [-5]-0 °C οπότε δημιουργείται το προϊόν 207, το οποίο φυσικά είναι πολύ δραστικό και για το λόγο αυτό δεν απομονώνεται. Στο μίγμα αυτό της αντίδρασης προσθέτουμε την σιπροφλοξασίνη 188δ και αναδεύουμε για 1hr, οπότε παίρνουμε μια διαφορετική κηλίδα στην Χ.Λ.Σ. Δυστυχώς όμως η ένωση που αντιστοιχεί στην κηλίδα αυτή δεν είναι η 202, αλλά μια διαφορετική που δεν κατέσται δυνατή η ταυτοποίηση της.



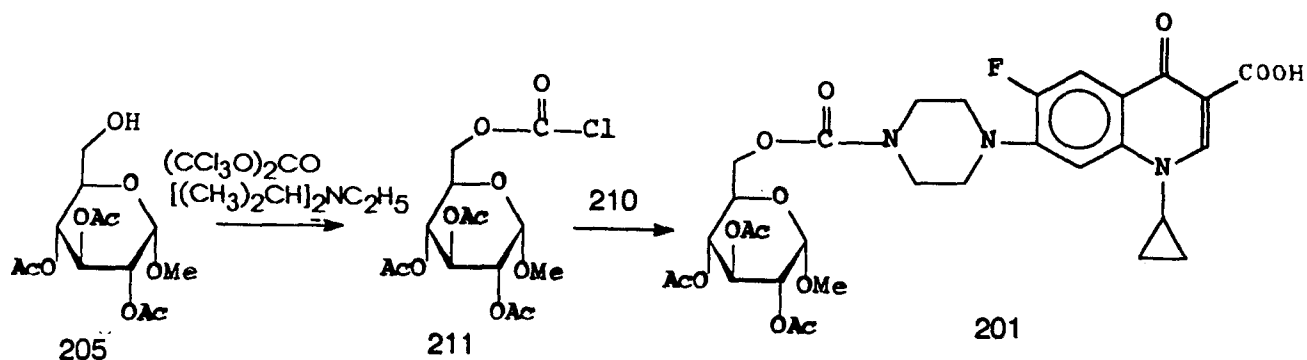
Έτσι προκειμένου να επιτύχουμε τη σύζευξη, συνεχίσαμε τις προσπάθειες στο σχηματισμό δεσμού τύπου ουρίας. Αυτό το επιτύχαμε με την εξής συνθετική πορεία: από το 206 πήραμε τον μικτό ανυδρίτη 207 στον οποίο προσθέσαμε  $\text{NaN}_3$  και ύστερα από ανάδευση για 1hr πήραμε στη Χ.Λ.Σ μια κηλίδα και απομονώσαμε την ουσία 208<sup>235</sup>. Φάσμα I.R. της ένωσης μας, έδειξε ότι επρόκειτο για το επιθυμητό αζίδιο (χαρακτηριστική ταινία απορρόφησης στα  $2145\text{cm}^{-1}$ , βλ.παράρτημα). Την ένωση μας την θερμάναμε στους 80 °C, μέσα σε τολουόλιο, οπότε προέκυψε νέα ένωση 209, της οποίας το φάσμα I.R., ύστερα από συμπύκνωση της δίνει την χαρακτηριστική ταινία απορρόφησης στα  $2250\text{cm}^{-1}$  (βλ.παράρτημα) για την οποία είναι υπεύθυνη η ισοκυανική ομάδα ( $-\text{N}=\text{C}=\text{O}$ )<sup>235</sup>.

Στο προϊόν 209 προσθέτουμε ένα διάλυμα το οποίο έχουμε ψύξει από *N,O*-δι-τριμεθυλοσιλυλο-σιπροφλοξασίνη 210 (που έχει παρασκευασθεί από την αντίδραση της σιπροφλοξασίνης 188δ σε διχλωρομεθάνιο με *N*-μεθυλο-*N*-τριμεθυλοσιλυλο-

τριφθοροακεταμίδιο για 20min και ανάδευση με 4A μοριακά κόσκινα για 1hr) και που με ανάδευση για 1hr στους 0°C, δε διακρίνεται καμιά αλλαγή στην Χ.Λ.Σ. Ούτε με ανάδευση για 1hr ακόμα σε θερμοκρασία δωματίου παρατηρούμε κάποια αλλαγή. Κάνουμε ισχυρή θέρμανση για 30min, οπότε εμφανίζεται μια νέα κηλίδα έντονα φθορίζουσα, η οποία απομονώνεται με εκχύλιση. Η νέα αυτή ένωση είναι η **203**, όπως ταυτοποιείται με τη στοιχειακή ανάλυση, το  $^1\text{H}$  N.M.R. και το FAB.



Εκτός από την παραπάνω πορεία συνθέσης, όπου έχουμε σύζευξη μέσω δεσμού τύπου ουρίας, επιχειρήσαμε και τη σύζευξη μέσω καρβαμιδικού δεσμού, με βάση τα δεδομένα του Albrecht<sup>229</sup>. Η ένωση **205** σε  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  αντιδράει με τριφωσγένιο και διισοπροπυλαιθυλαμίνη δίνοντας τον ενδιάμεσο χλωρομυρμηκικό εστέρα **211**. Παραπέρα αντίδραση με την *N,O*-δι-τριμεθυλοσιλυλο-σιπροφλοξασίνη **210** δίνει την ένωση **201** που απομονώνεται και ταυτοποιείται με στοιχειακή ανάλυση  $^1\text{H}$  N.M.R. και FAB.



Ας σημειωθεί εδώ ότι αποπροστασία των ενώσεων 201 και 203 μπορεί να γίνει με κυανιούχο κάλιο σε μεθανόλη ή με τριφθοροξικό οξύ σε διχλωρομεθάνιο<sup>229</sup>, καθώς και ότι είναι δυνατό ακόμα να αποπροστατευθούν οι παραπάνω ενώσεις από τις ακετυλομάδες και με αμμωνόλυση.

#### IV.3 ΣΥΝΘΕΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑΣ "ΜΙΚΤΟΥ" ΦΑΡΜΑΚΟΥ ΜΕΤΑΞΥ ΣΙΠΡΟΦΛΟΞΑΣΙΝΗΣ ΚΑΙ ΚΑΝΑΜΥΚΙΝΗΣ Α

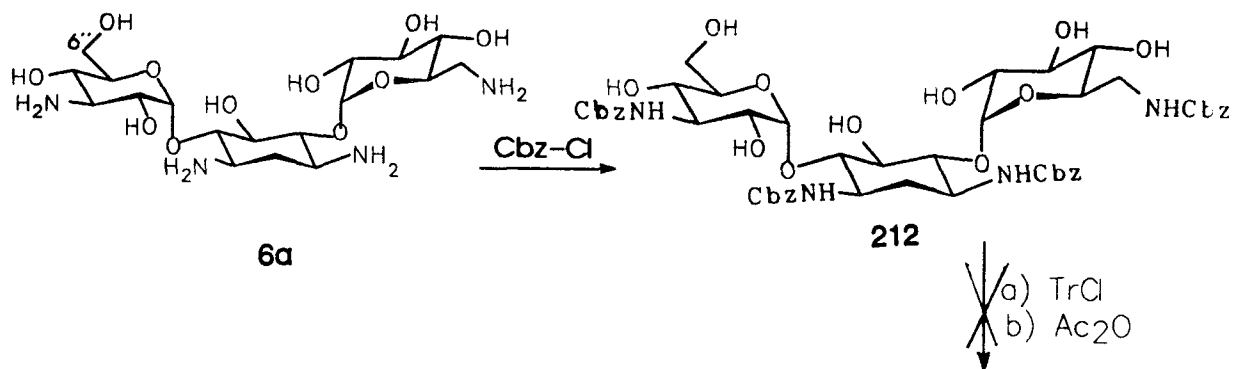
##### IV.3.1 Συνθετική πορεία δημιουργίας της 1,3,6',3''-τετρα-Ν-τρ.βουτυλοξυκαρβονυλο-2',3',4',2'',4''-πεντα-Ο-ακετυλο-καναμυκίνης Α 196

Μετά την επιτυχία των παραπάνω πειραμάτων, αρχίσαμε την εργασία μας, πάνω στο μόριο της καναμυκίνης Α με σκοπό την σύνθεση ένωσης μεταξύ σιπροφλοξασίνης και καναμυκίνης Α. Πρώτο ζήτημα ήταν πάλι η επιλογή των προστατευτικών ομάδων. Αρχικά αποφασίσαμε να προστατεύσουμε τις αμινομάδες του μορίου με βενζυλοξυκαρβονυλοχλωρίδιο<sup>236</sup> (Cbz-Cl) που θα μπορούσε να απομακρυνθεί με 50% CF<sub>3</sub>COOH ή με υδρογόνωση. Γενικά οι πολλοί τρόποι αποπροστασίας, αλλά και η σταθερότητα αυτής της προστατευτικής ομάδας μας οδήγησε στην επιλογή αυτή, επειδή:

- είχαμε άγνωστες αντιδράσεις και
- το τελικό προϊόν πιθανόν να περιείχε ευαίσθητους δεσμούς και άρα οι προστατευτικές ομάδες θα έπρεπε να απομακρύνονται εύκολα με ήπιες δηλαδή συνθήκες.

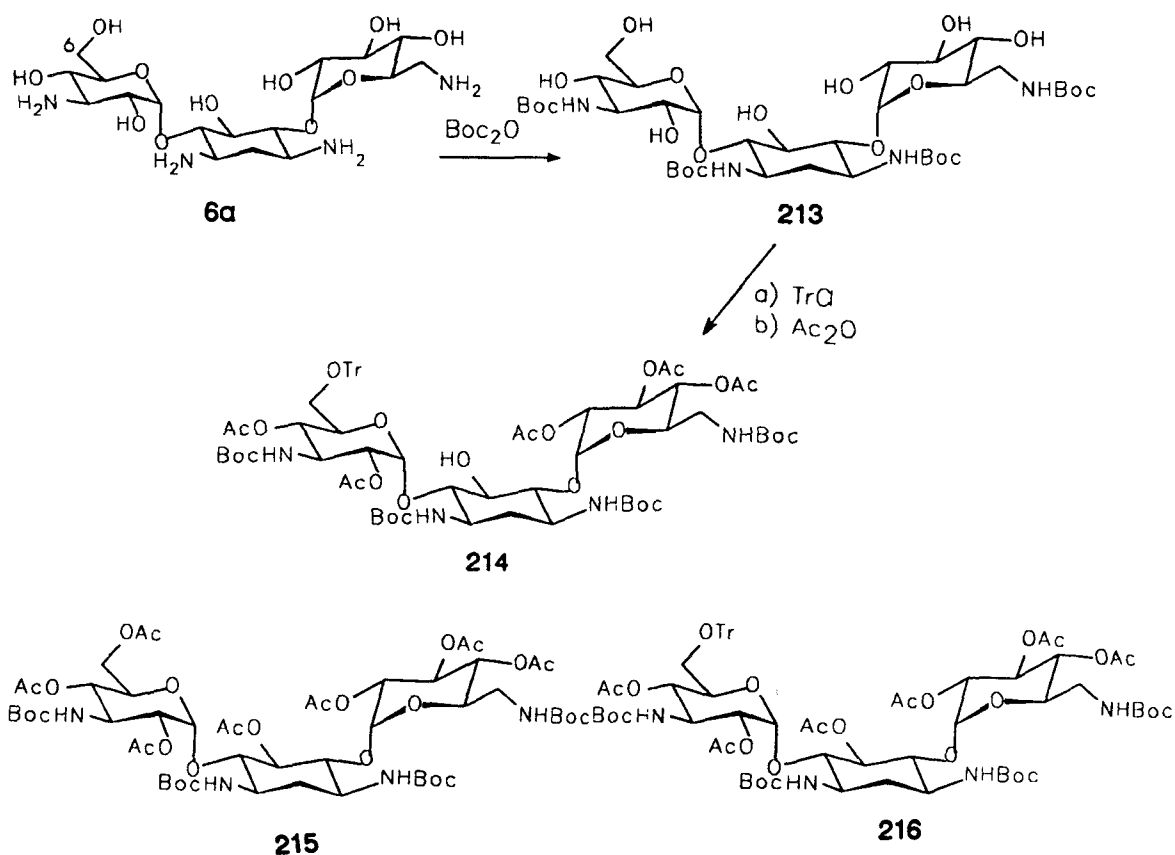
Πραγματικά η προστασία των τεσσάρων αμινο-ομάδων του μορίου πραγματοποιήθηκε σε διαλύτη 1,4 διοξάνιο/H<sub>2</sub>O (1:1) μέσα σε 3hr και σε 85% απόδοση, δίνοντας το προϊόν 212. Όταν όμως προσπαθήσαμε να προστατεύσουμε την 6''-υδροξυλομάδα του μορίου της καναμυκίνης Α με την χρήση του Φ<sub>3</sub>CCl σε πυριδίνη, βάση όσων είπαμε παραπάνω (σελ. 70 και 116), η τριτυλίωση έλαβε χώρα σε ελάχιστο

ποσοστό, ακόμα και μετά 10ημέρες, ενώ η μεγαλύτερη ποσότητα του **212** παρέμεινε αναλλοίωτη. Ακόμα και με τη χρήση καταλύτη DMAP η αντίδραση δεν έλαβε χώρα σε σημαντικό ποσοστό. Σκεφθήκαμε ότι η προστασία αυτή μπορεί να μην έλαβε χώρα, λόγω της διαμόρφωσης που πήρε το μόριο της καναμυκίνης A μετά την προστασία των αμινομάδων με την βενζυλοξυκαρβονυλομάδα.

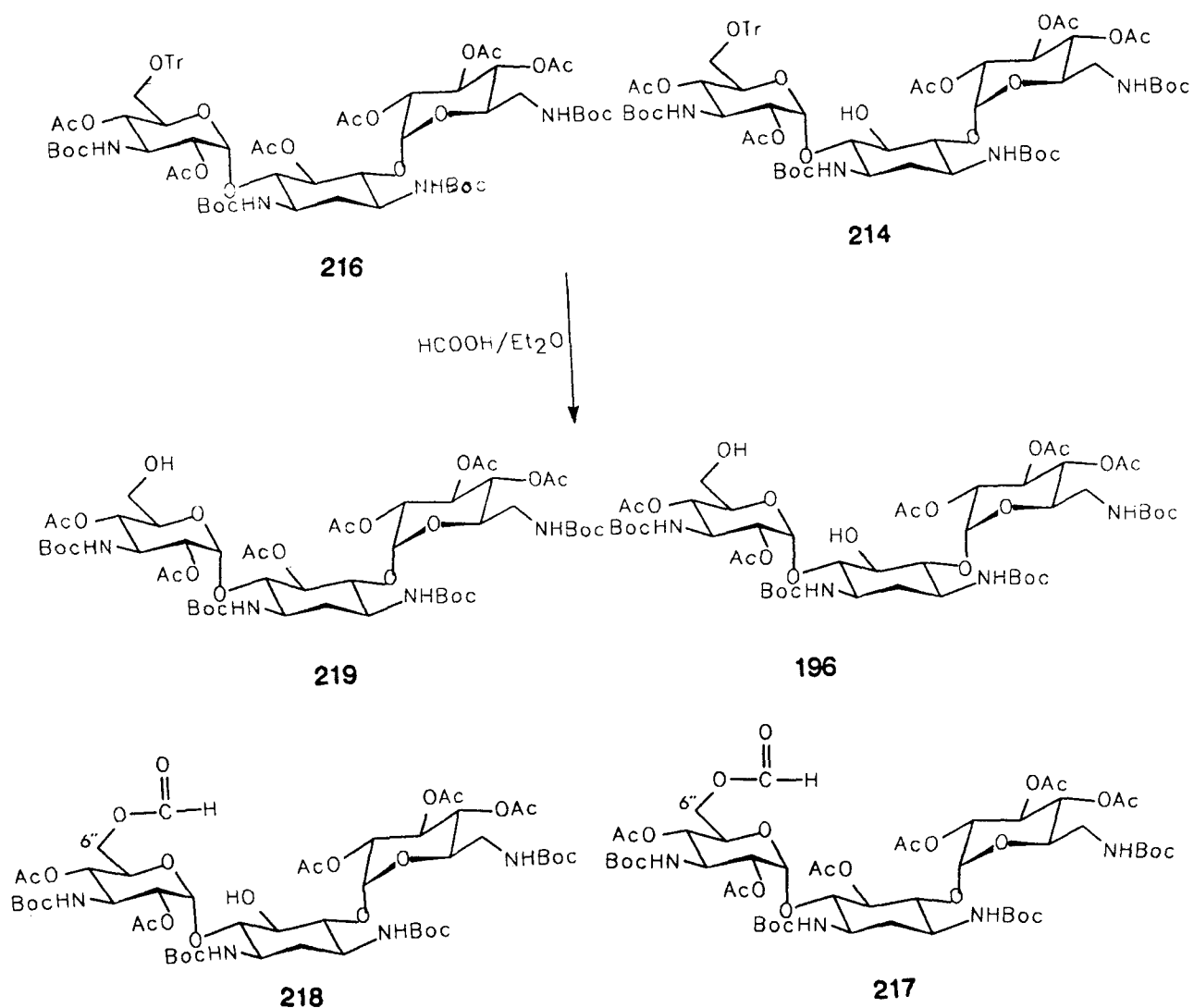


Για το λόγο αυτό προχωρήσαμε στην προστασία των αμινομάδων με τριτ.-βουτυλοξυκαρβονυλομάδα<sup>237</sup> (Boc-) και εδώ η απόδοση ήταν καλή 75% στο προϊόν **213** και ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε ήταν DMSO:H<sub>2</sub>O (6:1). Στη συνέχεια επιχειρήθηκε τριτυλίωση που πραγματικά έβγαλε την υπόθεση μας σωστή, αφού προχώρησε αυτή τη φορά σε ικανοποιητικό βαθμό. Το προϊόν δεν απομονώθηκε όμως, αφού στη συνέχεια επιχειρήθηκε και ακετυλίωση των υπολοίπων υδροξυλίων της καναμυκίνης A μέσα στην πυριδίνη με οξικό ανυδρίτη. Εδώ όμως λάβαμε τρεις κηλίδες στην Χ.Λ.Σ. που διαχωρίσαμε με χρωματογραφία στήλης. Από τις τρεις αυτές κηλίδες μόνο οι δύο που κινούνται ταχύτερα πάνω στο πλακίδιο συμπεριφέρονται ανάλογα των ενώσεων που περιέχουν την τριτυλομάδα (κιτρινίζουν και στη συνέχεια μαυρίζουν μετά από ψεκασμό τους με H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και θέρμανση τους). Η τρίτη κηλίδα απλά μαυρίζει και πρέπει να προέρχεται από την ουσία που η 6''-υδροξυλομάδα δεν προστατεύθηκε με την τριτυλομάδα, δηλαδή είναι η 5,2',3',4',2'',4'',6''-επτα-Ο-ακετυλο-καναμυκίνη A **215**. Από τις άλλες δύο κηλίδες η ψηλότερη πρέπει να είναι το προϊόν **216** όπου όλα τα υδροξύλια, δηλαδή και τα έξι, είναι προστατευμένα με ακετυλομάδες, ενώ η άλλη κηλίδα **214** που είναι και το κύριο προϊόν είναι αυτή που δεν έχει προστατευθεί η 5-υδροξυλομάδα. Η συμπεριφορά αυτή της καναμυκίνης, ως σημειωθεί έχει παρατηρηθεί και άλλες φορές στη βιβλιογραφία<sup>238</sup> και αιτιολογείται πάλι με τη διαμόρφωση του μορίου της

καναμικίνης A στην οποία η 5-υδροξυλομάδα είναι στερεοχημικά υψηλά παρεμποδισμένη, ουσιαστικά δηλαδή "κρυμμένη".



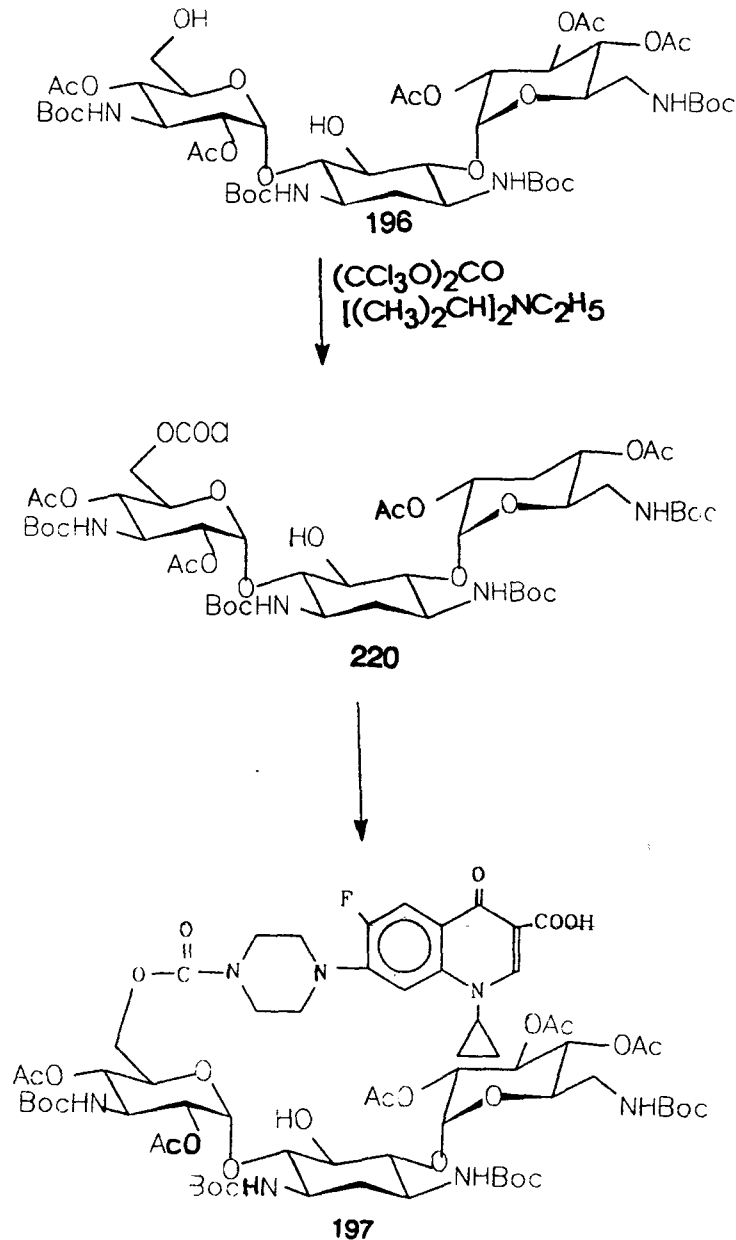
Στα προϊόντα που αντιστοιχούν στις δύο κηλίδες αυτές επιχειρήσαμε αποτριτυλίωση με το σύστημα  $\text{HCOOH}/\text{Et}_2\text{O}$  1:1 που χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία στο μόριο του μεθυλο  $\alpha$ -D-γλυκοπυρανοζίτη (βλ.σελ.116). Η αποτριτυλίωση επιτεύχθηκε και εδώ όμως η αντίδραση δεν ήταν τόσο "καθαρή". Τρεις κηλίδες σχηματίστηκαν οι οποίες όμως δεν ήταν ευκρινείς. Βέβαια η αιτιολόγηση ήταν προφανής. Η αρχική ουσία που δεν είχε καταναλωθεί 214 ή 216, ο φορμικός εστέρας 217 ή 218 και το προϊόν που θέλαμε 218 ή 196. Με τη μη καλή εμφάνιση όλων των ενώσεων της καναμικίνης A στα πλακίδια Χ.Λ.Σ, γίνεται πολύ δύσκολος ο προσδιορισμός του σημείου που θα έπρεπε να σταματήσει η αντίδραση (κατανάλωση του αρχικού - σχηματισμός του επιθυμητού προϊόντος - σχηματισμός του ανεπιθύμητου φορμικού εστέρα). Έτσι η ποσότητα που παραλαμβάνεται είναι μικρή. Όταν μάλιστα επιχειρήθηκε η αποτριτυλίωση να γίνει με  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ <sup>239</sup>, τότε οι κηλίδες που πάρθηκαν ήταν περισσότερες, ίσως λόγω του μικρού χρόνου αντίδρασης 1min και βέβαια της δραστηρότητας του αντιδραστήριου.



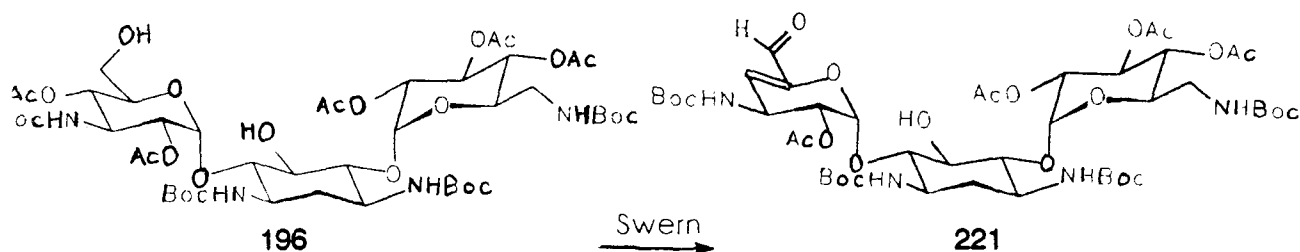
Ο πλήρης διαχωρισμός των προϊόντων **196** και **219** δεν κατέστη δυνατόν να γίνει και έτσι στο κύριο προϊόν **196** υπάρχει και μικρή ποσότητα του **217**.

IV.3.2 Συνθετική πορεία δημιουργίας του "μικτού" φαρμάκου μεταξύ της 1,3,6',3''-τετρα-N-τρ.βουτυλοξυκαρβονυλο-2',3',4',2'',4''-πεντα-O-ακετυλο-καναμικίνης **A** και της σιπροφλοξασίνης με καρβαμιδικό δεσμό **197**

Το **196** ενεργοποιείται με το τριφωσγένιο (σύμφωνα με όσα αναφέρθηκαν στην προηγούμενη παράγραφο, βλ. σελ. 118) δίνοντας τον ενδιάμεσο χλωρομυρμηκικό αιθυλεστέρα **220** που κατόπιν αντιδρά με την *N,O*-δι-τριμεθυλο-σιλυλο-σιπροφλοξασίνη **210** δίνοντας το προϊόν **197**. Το τελευταίο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silica-gel) και πιστοποιείται με στοιχειακή ανάλυση και φασματοσκοπία μάζης (FAB).



Ακόμα μελετήθηκε η μετατροπή του 196 στο 221 μέσω της αντίδρασης Swern, προκειμένου να εξεταστεί η 221, καθώς και η ένωση που θα προέκυπτε με οξείδωση με Jones της 6''-αλδεΐδομάδας, για την αντιμικροβιακή τους δράση και την τοξικότητά τους. Στη συνέχεια η πλήρως οξειδωμένη θα μπορέσει να χρησιμοποιηθεί και σε πορείες ανάλογες αυτών που περιγράφονται στη σελ.118, για τη δημιουργία "μικτών" ενώσεων μεταξύ φθοροκινολονών και καναμυκίνης A. Όμως η απόδοση της αντίδρασης αυτής είναι μικρή και θα πρέπει να γίνουν συμπληρωματικές μελέτες προκειμένου να υπάρξουν καλύτερες αποδόσεις ή να επαναληφθεί η ίδια συνθετική πορεία για να αποκτηθούν οι απαραίτητες ποσότητες για τις δοκιμές των παραπάνω συνθέσεων που αναφέραμε.



#### IV.4.ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ

Το τμήμα αυτό της διατριβής περιλαμβάνει την σύνθεση πρωτότυπων ενώσεων με πιθανή χρήση στη θεραπευτική, αφού γίνεται η σύνθεση "μικτών φαρμάκων" μεταξύ αμινογλυκοζιτών και φθοροκινολονών.

Επειδή για τα "μικτά φάρμακα" μεταξύ φθοροκινολονών και κεφαλοσπορινών που πρόσφατα ανακοινώθηκαν δεν έχει διευκρινισθεί ακόμα ο μηχανισμός δράσης τους, θεωρήθηκε απαραίτητη η σύνθεση "μικτών φαρμάκων" όπου οι δύο ενώσεις (ο αμινογλυκοζίτης και η φθοροκινολόνη) θα συνδέονταν μεταξύ τους με διαφορετικούς τρόπους, πάντα όμως χωρίς να τροποποιούνται τα δομικά στοιχεία των ενώσεων αυτών που είναι απαραίτητα για τη δράση τους.

Προκειμένου να επιτευχθεί η σύνθεση των ενώσεων αυτών και επειδή δεν υπάρχουν προηγούμενες αναφορές θεωρήθηκε σκόπιμο να αναπτυχθεί μεθοδολογία για τη σύνδεση αυτή. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκε σαν πρότυπη ένωση από πλευράς αμινογλυκοζιτικών αντιβιοτικών ο μεθυλο α-D-γλυκοπυρανοζίτης. Έτσι προστατεύθηκαν εκλεκτικά οι υδροξυλομάδες του μεθυλο α-D-γλυκοπυρανοζίτη αφήνοντας ελεύθερη την 6-υδροξυλομάδα και η σύζευξη έγινε :

α) μέσω της ενεργοποίησης της 6-υδροξυλομάδας με τριφωσγένιο και που οδήγησε σε καρβαμιδικό δεσμό

β) με οξείδωση της 6-υδροξυλομάδας σε καρβοξυλομάδα, ενεργοποίηση του καρβοξυλίου με τη μέθοδο των μικτών ανυδριτών, και τελικώς σχηματισμό δεσμού τύπου ουρίας.

Η πρώτη μεθοδολογία σύζευξης εφαρμόστηκε στο μόριο της Καναμικίνης Α με επιτυχία.



ΜΕΡΟΣ Γ

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



## ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ

Όλες οι συνθέσεις που αναφέρονται σ'αυτή τη διατριβή πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Γενικής Χημείας του Γεωργικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Τα φάσματα  $^1\text{H}$  και  $^{13}\text{C}$  NMR καταγράφηκαν με εσωτερική αναφορά το τετραμεθυλοσιλάνιο στα φασματομέτρα Varian 360 EM 60 MHz (Εργ.Γεν.Χημείας), Bruker AM-400 (400MHz, Service Commun de RMN, Universite de Nancy I, Γαλλία), 300MHz και 500MHz (Nicolet), Detroit, ΗΠΑ

Τα φάσματα μάζης καταγράφηκαν στο Chem.Department, Wayne State University, Detroit, ΗΠΑ.

Τα φάσματα I.R. καταγράφηκαν σε φασματοφωτόμετρο Perkin-Elmer 283 B σε δίσκιο KBr ή σαν υγρό υμένιο (Εργαστήριο Γενικής Χημείας).

Τα σημεία τήξεως ελήφθησαν σε συσκευή Buchi και δεν είναι διορθωμένα.

Οι οπτικές στροφικές ικανότητες ελήφθησαν σε ηλεκτρονικό πολωσίμετρο Perkin-Elmer 141 σε κυψελίδα 10 cm, στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Οι στοιχειακές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν στο Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών και στο Chem.Department, Wayne State University, Detroit, ΗΠΑ.

Οι καταλυτικές υδρογονώσεις έγιναν σε συσκευή Parr με πίεση ή σε ατμοσφαιρική πίεση.

Η χρωματογραφία στήλης με πίεση έγινε με silica-gel (Merck Art. 9385 230-400 mesh) ενώ η απλή με silica-gel (Merck Art. 7734 70-230 mesh). Η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδος σε πλάκες προεπιστρωμένες με silica-gel και φθορίζον υλικό (Merck Art. 4755), η εμφάνιση έγινε με διάλυμα θειικού οξέος/αιθανόλης ή με διάλυμα νινυδρίνης και θέρμανση.

Όπου δεν αναφέρεται σημείο τήξης η ουσία είναι με τη μορφή παχύρρευστου υγρού.



ΠΑΡΑΣΚΕΥΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

1,1 Διμεθοξυκυκλοεξανίο 172<sup>193</sup>

Σε σφαιρική των 100ml τοποθετούμε 10.3ml (0.1mol) κυκλοεξανόνη, 14.75ml (0.12mol) 2,2 διμεθοξυ-προπάνιο, 0.01g (0.05 mmol) π-τολουολοσουλφονικό οξύ και 10ml μεθανόλη και κάνουμε απόσταξη. Όταν αποστάξει και το κλάσμα με σημείο βρασμού 62°C διακόπτουμε τη θέρμανση και προσθέτουμε στη φιάλη 0.02g μεθοξυ-νατρίου διαλυμένα σε 2ml μεθανόλη. Συνεχίζουμε την απόσταξη με υδραντλία και συλλέγουμε το κλάσμα με σημείο ζέσης τους 140-142°C που ταυτοποιούμε με <sup>1</sup>H N.M.R. [<sup>1</sup>H N.M.R. 80MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ: 3.17(s, 6H, -OCH<sub>3</sub>), 1.47-1.57(ευρεία, 10H, -CH<sub>2</sub>-)].

2-(φαινυλοσουλφονυλο)-3-φαινυλοξαζιριδίνη (αντιδραστήριο Davis)<sup>239</sup>.

Σε 100ml κορεσμένου διαλύματος NaHCO<sub>3</sub> προστίθενται 80ml CHCl<sub>3</sub> και 10g *N*-βενζυλιδενοσουλφοναμιδίου. Το μίγμα αναδεύεται ισχυρά και αφού ψυχθεί σε πάγο, προστίθενται στάγδην, σε διάστημα 30min, 1.1eqs *m*CPBA (85%) διαλυμένα σε 100ml CHCl<sub>3</sub>. Στη συνέχεια το μίγμα αναδεύεται επί 4hr και μετά οι φάσεις του διαχωρίζονται. Η οργανική φάση πλένεται διαδοχικά με νερό, 10% Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> και τέλος με κορεσμένο διάλυμα NaCl. Επακολουθεί ξήρανση (MgSO<sub>4</sub>) και συμπύκνωση έως ξηρού. Προκύπτει στερεό υπόλειμμα (70%), που ανακρυσταλλώνεται από οξ.αιθυλεστέρα/πεντάνιο.

Αντιδραστήριο Jones<sup>187</sup>

Σε 1000ml διαλύματος 3.5M θειικού οξέος διαλύουμε 14g οξειδίου του χρωμίου(VI).

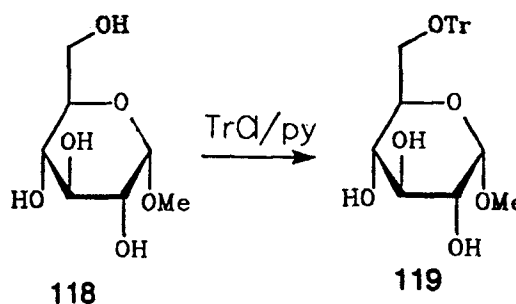


ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-6-Ο-τριφαινυλομεθυλο-α-D-γλυκοπυρανοζιτης

No E : 119	M.T : C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>6</sub>
M.B : 436	Απόδοση : 80%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

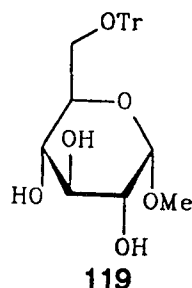


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	moles	g	ml
118	194	0.0448	8.7	-
Φ <sub>3</sub> CCl	278.5	0.0494	13.76	-
Διαλύτης πυριδίνη	-	-	-	175

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Σε 175ml άνυδρη πυριδίνη διαλύονται 8.7g μεθυλο α-D-γλυκο-πυρανοζιτη 118 και 13.76g τριτυλοχλωριδίου. Μετά από ανάδευση επί 48hr σε θερμοκρασία περιβάλλοντος το μίγμα της αντίδρασης αποχύνεται σε μίγμα νερού-πάγου. Σχηματίζεται στερεό το οποίο λαμβάνεται με διήθηση, διαλύεται σε CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> και πλένεται διαδοχικά με κορ.δ.KHSO<sub>4</sub>, κορ.δ.NaHCO<sub>3</sub> και νερό. Η οργανική φάση ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και εξατμίζεται μέχρι ξηρού, οπότε προκύπτει υπόλειμμα που κρυσταλλώνεται (15.6g) και ανακρυσταλλώνεται από μεθανόλη.

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:**

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 5	0.85	κίτρινη με θειϊκό οξύ που μαυρίζει με θέρμανση
	Hex 1		

σ.τ.: 131-132 °C

σ.τ.βιβλ.<sup>240</sup> 131 °C[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = +55 ° (c 1, CHCl<sub>3</sub>)[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> βιβλ.<sup>240</sup> = +53 ° (c 1, CHCl<sub>3</sub>)ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ<sup>1</sup>H N.M.R. 400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>,

δ: 4.63(d, 1H, J<sub>1,2</sub>=3.8, H1), 3.23(ddd, 1H, J<sub>2,3</sub>=9.5, J<sub>2,OH</sub>=6.4, H2), 3.39(ddd, 1H, J<sub>3,4</sub>=9.2, J<sub>3,OH</sub>=4.2, H3), 2.98(ddd, 1H, J<sub>4,5</sub>=9.2, J<sub>4,OH</sub>=5.9, H4), 3.63(ddd, 1H, J<sub>5,6</sub>=5.1, J<sub>5,6'</sub>=4.1, H5), 3.03(dd, 1H, J<sub>6,6'</sub>=10.5, H6), 3.28(dd, 1H, H6'), 3.50(s, 3H, -OMe), 4.75(d, 1H, 2-OH), 4.80(d, 1H, 3-OH), 4.84(d, 1H, 4-OH), 7.50(m, 15H, Ph)

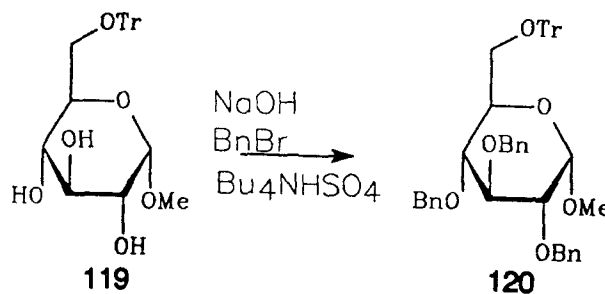


ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-2,3,4-τρι-Ο-βενζυλο-6-Ο-τριφαινυλομεθυλο-α-D-γλυκοκυρανοζίτης

No E	: 120	M.T	: C <sub>47</sub> H <sub>46</sub> O <sub>6</sub>
M.B	: 706	Απόδοση	: 85%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ

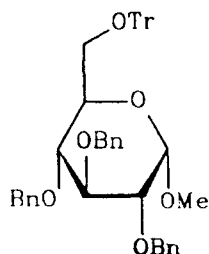


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	moles	g	ml
119	436	0.0252	10.98	-
BnBr	171.04	0.1512	-	18
NaOH	40	1.008	40.32	-
Bu <sub>4</sub> NHSO <sub>4</sub>	339.6	0.00756	2.567	-
Διαλύτης βενζόλιο	-	-	-	300

**ΜΕΘΟΔΟΣ :**

Σε 300ml βενζόλιο προστίθενται υπό ισχυρή ανάδευση: 10.98g του 119, 40g καυστικό νάτριο, 18ml βενζυλοβρωμιδίου και 2.56g όξινο θειικό τετραβούτυλο αμμώνιο (Bu<sub>4</sub>NHSO<sub>4</sub>). Το μίγμα βράζεται σε συσκευή Dean-Stark, ώστε να απομακρύνεται το παραγόμενο κατά την αντίδραση νερό και αναδεύεται ισχυρά επί 24hr. Μετά ψύχεται στους 0 °C και προστίθεται νερό-πάγος μέσα στη φιάλη της αντιδράσεως ώστε να διαλυθεί όλο το καυστικό νάτριο. Οι δύο φάσεις διαχωρίζονται σε διαχωριστική χοάνη και πλένονται η μόν οργανική με νερό, ή δε υδατική με αιθέρα. Οι οργανικές φάσεις ενώνονται και πλένονται με νερό έως ότου απομακρυνθεί το καυστικό νάτριο, ξηραίνονται (MgSO<sub>4</sub>) και εξατμίζονται υπό ελαττωμένη πίεση. Το προϊόν παραλαμβάνεται μετά από χρωματογραφία στήλης (silica gel) με διαλύτη εκλούσεως εξάνιο-οξ.αιθυλεστέρα 4:1 (15.1g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:**

ΠΡΟΙΟΝ

120

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 2	0.76	κίτρινη με θειϊκό οξύ που μαυρίζει με θέρμανση
	Hex 3		

$$[\alpha]_D^{25} = +19^\circ \text{ (c 1, CHCl}_3\text{)}$$

$$[\alpha]_D^{25} \text{βιβλ.}^{149} = +18^\circ \text{ (c 1, CHCl}_3\text{)}$$

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

$^1\text{H N.M.R. 400MHz, CDCl}_3$ ,

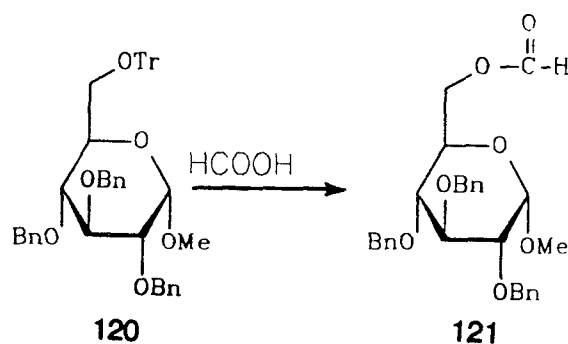
δ: 4.75(d, 1H,  $J_{1,2}=3.6$ , H1), 3.27(dd, 1H,  $J_{2,3}=9.6$ , H2), 3.96(dd, 1H,  $J_{3,4}=9.4$ , H3), 3.62(dd, 1H,  $J_{4,5}=10.1$ , H4), 3.80(ddd, 1H,  $J_{5,6}=4.8$ ,  $J_{5,6'}=1.7$ , H5), 3.19(dd, 1H,  $J_{6,6'}=10.0$ , H6), 3.49(dd, 1H, H'6), 3.44(s, 3H, -OMe), 4.28(ABq, 2H,  $J'_{\text{gem}}=10.4$ ,  $-\text{CH}_2'$ -), 4.73(ABq, 2H,  $J''_{\text{gem}}=12.2$ ,  $-\text{CH}_2''$ -), 4.80(ABq, 2H,  $J'''_{\text{gem}}=10.8$ ,  $-\text{CH}_2'''$ -), 7.30(m, 30H, Ph)

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-2,3,4-τρι-Ο-βενζυλο-6-Ο-φορμυλο-α-D-γλυκοπιρανοζιτης

No E : 121	M.T : C <sub>29</sub> H <sub>32</sub> O <sub>7</sub>
M.B : 492	Απόδοση : 95%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----



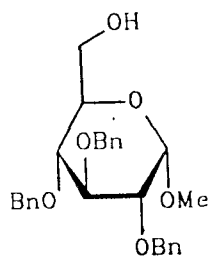
Ε Ν Ω Σ Η	M . B	moles	g	ml
120	706	0.0155	10.943	-
HCOOH 98-100%	46	-	-	70

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Σε 70ml μυρμηκικού οξέος 98-100% διαλύονται 10.943g του 120 και το διάλυμα αναδεύεται επί 4hr σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ο διαλύτης εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση οπότε λαμβάνονται 7.2g.

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ: Αρχικά σχηματίζεται το 122 (σελ.137) το οποίο όμως με την πάροδο του χρόνου μετατρέπεται στο 121.

Μετά την εξατμηση προχωράμε στο επόμενο στάδιο.

ΠΡΟΙΟΝ<sup>149</sup>

122

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 1	0.32	μαύρη με θέρμανση με θειϊκό οξύ
	Hex 3		

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

<sup>1</sup>H N.M.R. 400MHz, CDCl<sub>3</sub>,

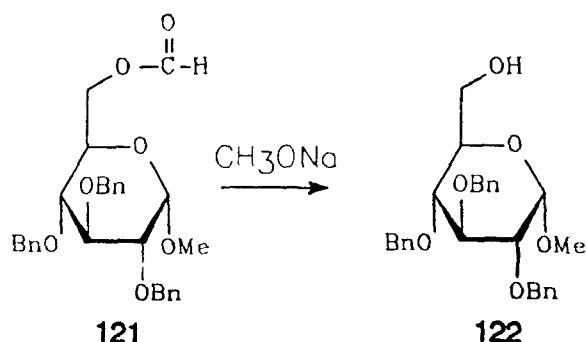
δ: 4.58(d, 1H,  $J_{1,2}=3.5$ , H1), 3.53(dd, 1H,  $J_{2,3}=9.7$ , H2), 4.01(dd, 1H,  $J_{3,4}=9.2$ , H3), 3.47(dd, 1H,  $J_{4,5}=9.9$ , H4), 3.83(ddd, 1H,  $J_{5,6}=4.0$ ,  $J_{5,6'}=2.0$ , H5), 4.29(dd, 1H,  $J_{6,6'}=12.0$ , H6), 4.33(dd, 1H, H'6), 3.37(s, 3H, -OMe), 4.57(ABq, 2H,  $J'_{gem}=11.0$ , -CH<sub>2</sub>'-), 4.65(ABq, 2H,  $J''_{gem}=12.1$ , -CH<sub>2</sub>''-), 4.83(ABq, 2H,  $J'''_{gem}=10.9$ , -CH<sub>2</sub>'''-), 7.35(m, 30H, Ph), 8.00(s, 1H, -O(CO)H)

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-2,3,4-τρι-Ο-βενζυλο-α-D-γλυκοπυράνοζιτης

No E : 122	M.T : C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>6</sub>
M.B : 464	Απόδοση : 95%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

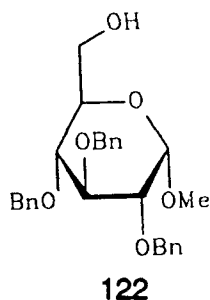


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	moles	g	ml
121	492	0.015	7.24	-
CH <sub>3</sub> ONa	54	-	-	-
Διαλύτης CH <sub>3</sub> OH	-	-	-	50

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Σε 50ml μεθανόλης διαλύεται το υπόλειμμα 121 και προστίθεται προσεκτικά μεθανολικό νάτριο έως ότου το διάλυμα παρουσιάσει βασική αντίδραση ( $\approx 1\text{g}$ ). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για άλλα 15min και μετά εξατμίζεται μέχρι ξηρού. Το υπόλειμμα διαλύεται σε CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> και πλένεται διαδοχικά με νερό, κορ.δ.NH<sub>4</sub>Cl και εκ νέου με νερό. Η οργανική φάση ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) εξατμίζεται και το υπόλειμμα χρωματογραφείται σε στήλη silica-gel με διαλύτη εξάνιο-οξ.αιθυλεστέρα 3:2 . Η ουσία με Rf=0.35 συλλέγεται και με την παραμονή στο ψυγείο κρυσταλλώνει (6.48g). Ανακρυστάλλωση γίνεται από αιθέρα-πετρελαϊκό αιθέρα.

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:**

ΠΡΟΪΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 2	0.35	μαύρη με θέρμανση με θειϊκό οξύ
	Hex 3		

σ.τ. : 47-49 °C

σ.τ.βιβλιογ.<sup>149</sup> : 48-50 °C[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = +25 ° (c 1.04, CHCl<sub>3</sub>)[α]<sub>D</sub><sup>25</sup>βιβλιογ.<sup>149</sup> = +24 ° (c 1.08, CHCl<sub>3</sub>)ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ<sup>1</sup>H N.M.R. 400MHz, CDCl<sub>3</sub>,

δ: 4.57(d, 1H,  $J_{1,2}=3.6$ , H1), 3.50(dd, 1H,  $J_{2,3}=9.7$ , H2), 4.00(dd, 1H,  $J_{3,4}=9.3$ , H3), 3.52(dd, 1H,  $J_{4,5}=9.3$ , H4), 3.66(m, 1H, H5), 3.72(m, 2H, H6), 3.36(s, 3H, -OMe), 4.64(ABq, 2H,  $J'_{gem}=11.0$ , -CH<sub>2</sub>'-), 4.66(ABq, 2H,  $J''_{gem}=12.0$ , -CH<sub>2</sub>''-), 4.84(ABq, 2H,  $J'''_{gem}=10.9$ , -CH<sub>2</sub>'''-), 7.33(m, 15H, Ph)

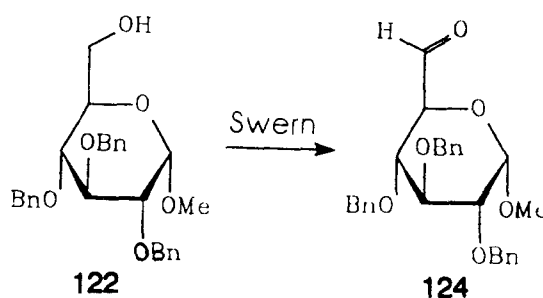
## ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ

=====

Μεθυλο-2,3,4-τρι-Ο-βενζυλο-α-D-ξυλο-εξ-πυρανοζιτο-5-αλη

No E	: 124	M.T	: C <sub>28</sub> H <sub>30</sub> O <sub>6</sub>
M.B	: 463	Απόδοση	: 65%

## ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ

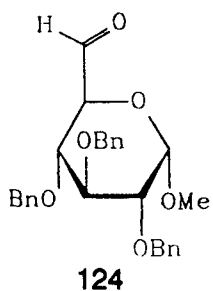


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
122	464	9.69	4.496	-
DMSO	78	19.38	-	1.42
οξαλυλο-χλωρίδιο 2.0M	126.93	9.8	-	4.9
Et <sub>3</sub> N	101	25.29	-	3.5
διαλύτης CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-	-	-	130

## ΜΕΘΟΔΟΣ :

Διάλυμα άνυδρου DMSO (2.0eqs) σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (4ml/mmol) προστίθεται σταγόδην σε παγωμένο (-78 °C) διάλυμα οξαλυλο-χλωριδίου σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (4ml/mmol) κάτω από άζωτο. Το μίγμα αναδεύεται για 15min στους -78 °C και προστίθεται σταγόδην διάλυμα του 122 σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (5ml/mmol). Ακολουθεί ανάδευση για άλλα 20-30min και προστίθεται σταγόδην τριαιθυλαμίνη (2.6eqs). Αφήνεται το μίγμα να έρθει σε θερμοκρασία δωματίου και εκχυλιζεται με κορ.δ.NaHCO<sub>3</sub>. Η οργανική φάση ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση (2.91g).

Π Α Ρ Α Τ Η Ρ Η Σ Ε Ι Σ: Το προϊόν 124 είναι πολύ ευαίσθητο και καταστρέφεται τόσο με την παραμονή στον αέρα όσο και με το πέρασμα του από χρωματογραφική στήλη. Μετά την εξάτμιση προχωράμε στο επόμενο στάδιο.

ΠΡΟΙΟΝ

Χ.Λ.Σ.	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
		EtOAc 1 Hex 3	0.53

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

I.R.(cm<sup>-1</sup>) : 3080-3020[=C-H(Ar)], 2990,2960,2800(-CH<sub>3</sub>), 1720[-CO-(αλδεΐδη)],  
1610,1490[C=C(Ar)], 1100,1040(C-O), 760,700(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-), 750[O-C-O (α-ανωμερές)]



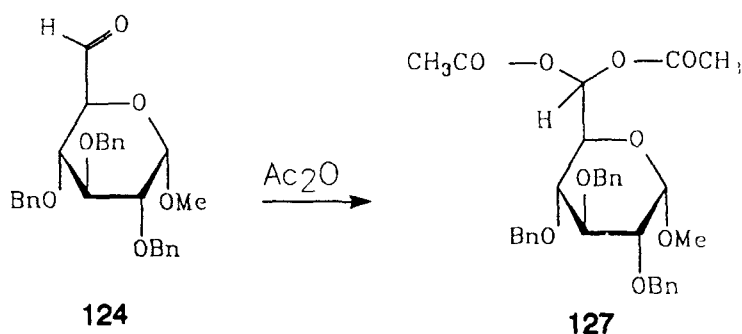
## ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ

=====

Μεθυλο-2,3,4-τρι-Ο-βενζυλο-6-Ο-ακετυλο-6-ακετοξυ-α-D-γλυκοπυρανοζίτης

No E	: 127	M.T	: C <sub>32</sub> H <sub>36</sub> O <sub>9</sub>
M.B	: 564	Απόδοση	: 40%

## ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ

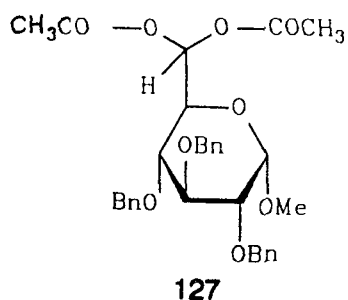


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
124	463	4.319	2	-
Ac <sub>2</sub> O	102	21.1	-	2
διαλύτης πυριδίνη	-	-	-	4

## ΜΕΘΟΔΟΣ:

Σε 4ml άνυδρης πυριδίνης διαλύονται 2g του 124 και προσθέτονται υπό ψύξη 2ml οξικού ανυδρίτη. Το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 10 ημέρες. Στη συνέχεια συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση και το υπόλειμμα διαλύεται σε διχλωρομεθάνιο και η οργανική φάση πλένεται διαδοχικά με κορ.δ. ΚΗSO<sub>4</sub>, κορ.δ. NaHCO<sub>3</sub> και νερό. Η οργανική φάση ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και εξατμίζεται μέχρι ξηρού (0.92g).

## ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 2	0.45	μαύρη με θέρμανση με θειϊκό οξύ
	Hex 3		

Στοιχειακή ανάλυση

Θεωρητικά για  $C_{32}H_{36}O_9$  : C 68.08, H 6.38

Ευρεθέν : C 68.17, H 6.36

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

I.R.( $cm^{-1}$ ) : 3080-3020[=C-H(Ar)], 2990,2920,2820(C-H), 1740[-CO-(Ac)],  
1600,1490[C=C(Ar)], 1090(C-O), 740,690( $C_6H_5$ -), 750[O-C-O (α-ανωμερές)]

$^1H$  N.M.R. 400MHz,  $CDCl_3$ , (βλ.φάσμα παράρτημα)

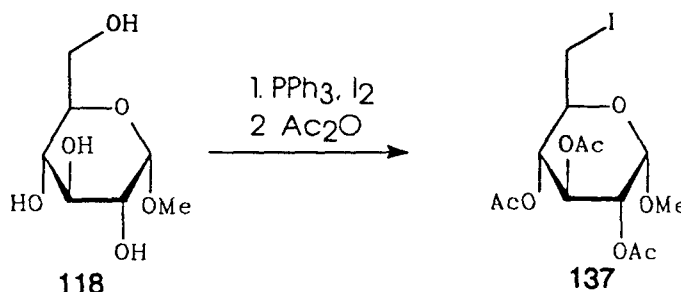
δ: 5.00(d, 1H,  $J_{1,2}=3.5$ , H1), 3.54(dd, 1H,  $J_{2,3}=9.6$ , H2), 3.47(dd, 1H,  $J_{3,4}=9.4$ , H3),  
4.02(dd, 1H,  $J_{4,5}=9.3$ , H4), 3.80(d, 1H, H5), 5.27(s, 1H, H6), 3.36(s, 3H, -OMe), 4.65(ABq,  
2H,  $J'_{gem}=10.5$ ,  $-CH_2'$  -), 4.82(ABq, 2H,  $J''_{gem}=12.10$ ,  $-CH_2''$  -), 4.86(ABq, 2H,  
 $J'''_{gem}=10.8$ ,  $-CH_2'''$  -), 7.30(m, 15H, Ph), 2.03(s, 3H, -OAc), 2.07(s, 3H, -OAc)

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-2,3,4-τρι-Ο-ακετυλο-6-δεοξυ-6-ιωδο-α-D-γλυκοπυρανοζίτης

No E : 137	M.T : C <sub>13</sub> H <sub>19</sub> O <sub>8</sub> I
M.B : 430	Απόδοση : 75%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----



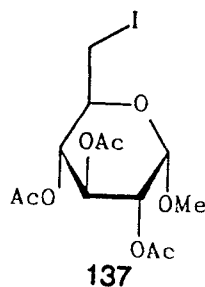
Ε Ν Ω Σ Η	M . B	moles	g	ml
118	194	0.103	20	-
PPh <sub>3</sub>	262	0.140	36.7	-
ιμιδαζόλιο	67	0.316	21.2	-
I <sub>2</sub>	254	0.140	35.6	-
διαλύτης τολουόλιο	-	-	-	1600
Ac <sub>2</sub> O	102	-	-	100
διαλύτης πυριδίνη	-	-	-	200

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

20g μεθυλο-α-D-γλυκοπυρανοζίτη 118 προσθέτονται σε 1600ml τολουόλιο και υπό ισχυρή ανάδευση προστίθονται στη συνέχεια 36.7g τριφαινυλοφωσφίνης, 21.2g ιμιδαζόλιο και 35.6g ιωδίου. Το μίγμα θερμαίνεται στους 70°C επί 3hr και μετά, αφού ψυχθεί σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, προσθέτονται 1400ml απιονισμένου νερού και η ανάδευση συνεχίζεται επί 30min. Οι δύο φάσεις μεταφέρονται σε διαχωριστική χοάνη όπου διαχωρίζονται, η υδατική πλένεται μια φορά με τολουόλιο (100ml), συλλέγεται και εξατμίζεται μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Πάνω από το υπόλειμμα που προκύπτει αποστάζεται άνυδρη ακετόνη και επακολουθεί ακετυλίωση με 200ml πυριδίνης και 100ml οξικού ανυδρίτη. Μετά 24hr η περίσσεια του ανυδρίτη καταστρέφεται με τη προσθήκη μεθανόλης και ο διαλύτης απομακρύνεται με απόσταξη υπό ελαττωμένη πίεση. Στο

υπόλειμμα προστίθεται τολουόλιο το οποίο αποστάζεται υπό ελαττώμενη πίεση. Προκύπτει κίτρινο στερεό (33.2g) που ανακρυσταλλώνεται από μεθανόλη.

ΠΡΟΙΟΝ



	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 2	0.65	καφέ με θέρμανση με θειϊκό οξύ
	Hex 1		

σ.τ. = 146-148 °C

σ.τ.βιβλιογ.<sup>184</sup> = 148-149 °C

$[\alpha]_D^{25} = +119^\circ$  (c 1.01, CHCl<sub>3</sub>)

$[\alpha]_D^{25}$  βιβλιογ.<sup>184</sup> = +117° (c 1, CHCl<sub>3</sub>)

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

<sup>1</sup>H N.M.R. 400MHz, CDCl<sub>3</sub>,

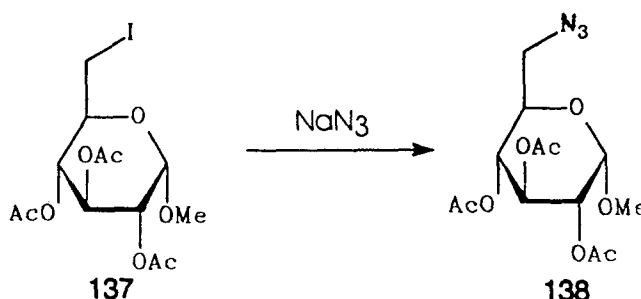
δ: 4.97(d,1H, $J_{1,2}=3.7$ ,H1), 4.89(dd,1H, $J_{2,3}=10.3$ ,H2), 5.47(dd,1H, $J_{3,4}=9.5$ ,H3),  
4.87(dd,1H, $J_{4,5}=10.0$ ,H4), 3.79(ddd,1H, $J_{5,6}=8.1$ , $J_{5,6'}=2.6$ ,H5), 3.14(dd,1H,  
 $J_{6,6'}=11.0$ ,H6), 3.30(dd,1H,H'6), 3.48(s,3H,-OMe), 2.01(s,3H,-OAc), 2.06(s,3H,-OAc),  
2.08(s,3H,-OAc)

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-2,3,4-τρι-Ο-ακετυλο-6-αζιδο-6-δεοξυ-α-D-γλυκοκυρανοζίτης

No E : 138	M.T : C <sub>13</sub> H <sub>19</sub> O <sub>8</sub> N <sub>3</sub>
M.B : 345	Απόδοση : 80%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

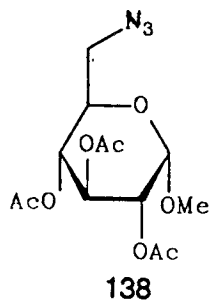


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	moles	g	ml
137	430	0.0348	15	-
NaN <sub>3</sub>	65.01	0.0576	3.75	-
διαλύτης DMF	-	-	-	160

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Σε 160ml ξηρό διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF) προστίθενται 15g του 137 και 3.75g αζίδιο του νατρίου. Το μίγμα θερμαίνεται υπό ισχυρή ανάδευση στους 100 °C επί 1hr. Ο διαλύτης μετά απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση, το υπόλειμμα διαλύεται σε διχλωρομεθάνιο και πλένεται δύο φορές με νερό. Η οργανική φάση ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και εξατμίζεται μέχρι ξηρού (9.6g). Το υπόλειμμα ανακρυσταλλώνεται από απόλυτη αιθανόλη και προκύπτει λευκό στερεό.

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:** Προσοχή στη θερμοκρασία και στο άνυδρο των διαλυτών (πρόσφατα αποσταγμένοι διαλύτες), γιατί καταστρέφονται οι ακετυλο εστέρες.

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 2	0.65	μαύρη με θέρμανση με θειϊκό οξύ
	Hex 1		

σ.τ. : 96-98 °C

σ.τ.βιβλιογ.<sup>149</sup> :94-96 °C[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = +154 ° (c 1.08, CHCl<sub>3</sub>)[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> βιβλιογ.<sup>149</sup> = +155.6 ° (c 1.1, CHCl<sub>3</sub>)ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

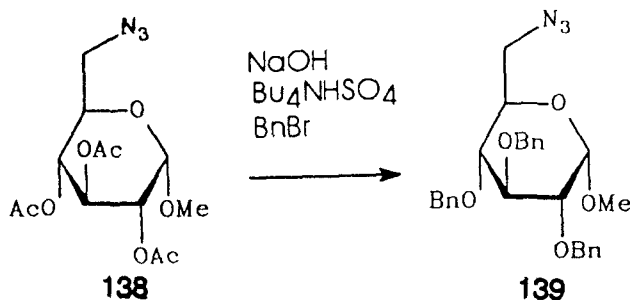
I.R.(cm<sup>-1</sup>) : 2990,2960,2850(C-H), 2145(-N<sub>3</sub>), 1740[-CO-(Ac)], 1080,1030(C-O), 750[O-C-O  
(α-ανωμερές)]

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-2,3,4-τρι-Ο-βενζυλο-6-αζιδο-6-δεοξυ-α-D-γλυκοπιρανοζιτης

No E : 139	M.T : C <sub>28</sub> H <sub>31</sub> O <sub>5</sub> N <sub>3</sub>
M.B : 489	Απόδοση : 90%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

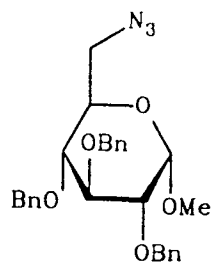


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	moles	g	ml
138	345	0.0188	6.5	-
BnBr	171.04	0.118	-	14.02
NaOH	40	0.79	31.6	-
Bu <sub>4</sub> NHSO <sub>4</sub>	339.6	0.0058	2	-
διαλύτης βενζόλιο	-	-	-	150

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Σε 150ml βενζόλιο προστίθενται υπό ισχυρή ανάδευση 6.5g του 138, 31.6g καυστικό νάτριο, 14ml βενζυλοβρωμιδίου και 2g όξινοθειϊκό τετραβούτυλο αμμώνιο (Bu<sub>4</sub>NHSO<sub>4</sub>). Το μίγμα βράζεται υπό κάθετο ψυκτήρα και αναδεύεται ισχυρά επί 3hr. Στη συνέχεια ψύχεται στους 0 °C και προστίθεται νερό και πάγος μέσα στη φιάλη της αντίδρασης ώστε να διαλυθεί το καυστικό νάτριο. Το μίγμα της αντίδρασης μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη, διαχωρίζονται οι δύο φάσεις και η μεν οργανική πλένεται τρεις φορές με νερό ή δε υδατική δύο φορές με αιθέρα. Οι οργανικές φάσεις ενώνονται πλένονται εκ νέου με νερό έως ότου απομακρυνθεί όλο το καυστικό νάτριο, ξηραίνονται (MgSO<sub>4</sub>) και εξατμίζεται μέχρι ξηρού. Το υπόλειμμα χρωματογραφείται σε silica-gel με διαλύτη εξάνιο/οξικό αιθυλεστέρα 7:1 και τα κλάσματα που περιέχουν ουσία με Rf=0.32 ενώνονται και συμπυκνώνονται (8.29g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:**

ΠΡΟΙΟΝ

139

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 1	0.35	μαύρη με θέρμανση με θειϊκό οξύ
	Hex 2		

$[\alpha]_D^{25}$  βιβλιογ.<sup>149</sup> = +49° (c 1.1, CHCl<sub>3</sub>)

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

I.R.(cm<sup>-1</sup>) : 3080-3020[=C-H(Ar)], 2990,2920,2830(C-H), 2140(-N<sub>3</sub>), 1600,1490[C=C(Ar)],  
1090,1030(C-O), 760,690(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-), 750[O-C-O (α-ανωμερές)]

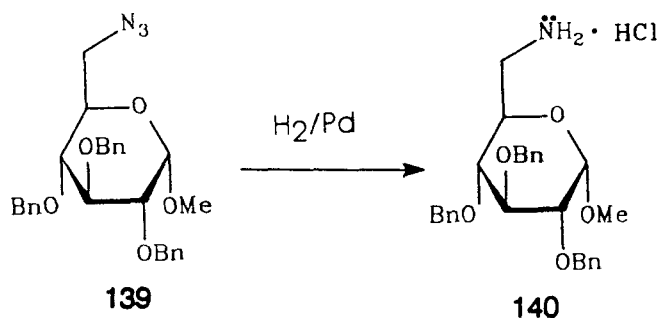


ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ  
=====

Υδροχλωρικό άλας του Μεθυλο-2,3,4-τρι-Ο-βενζυλο-6-αμινο-6-δεοξυ-α-D-γλυκοκυρανοζιτη

No E	: 140	M.T	: C <sub>28</sub> H <sub>33</sub> O <sub>5</sub> N +HCl
M.B	: 463+36.5	Απόδοση	: 80%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

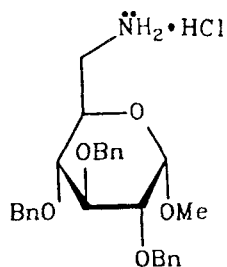


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	moles	g	ml
139	307	0.0276	8.5	-
Pd/C 10%	-	-	0.85	-
Διαλύτης οξ.αιθυλεστ.	-	-	-	500

**ΜΕΘΟΔΟΣ :**

Σε 500ml οξικό αιθυλεστέρα διαλύονται 8.5g του 139. Προστίθενται 0.85g Pd/C (10%) και το μίγμα υδρογονώνεται υπό πίεση 25 psi έως ότου εξαφανισθεί η κηλίδα του αρχικού προϊόντος σε πλάκα Χ.Λ.Σ. (Rf=0.32 σε εξάνιο:οξικό αιθυλεστέρα 7:1). Ο καταλύτης απομακρύνεται με διήθηση μέσω στοιβάδας celite και ο διαλύτης απομακρύνεται με απόσταξη υπό ελαττωμένη πίεση. Στο υπόλειμμα προστίθεται διάλυμα υδροχλωρίου σε αιθέρα οπότε προκύπτει υποκίτρινο στερεό το οποίο λαμβάνεται με διήθηση (11g) και πλένεται επανειλημμένα με άνυδρο αιθέρα.

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:** Το προϊόν είναι έντονα υγροσκοπικό και στον αέρα μετατρέπεται σε άσπρο κολλοειδές.

ΠΡΟΙΟΝ

140

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 3	0.20	μώβ με θέρμανση με νινυδρίνη
	Hex 1		
	MeOH 2		

σ.τ. : 66-70 °C

σ.τ.βιβλιογ.<sup>149</sup> : 60-70 °CΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ<sup>1</sup>H N.M.R. 400MHz, CDCl<sub>3</sub>,

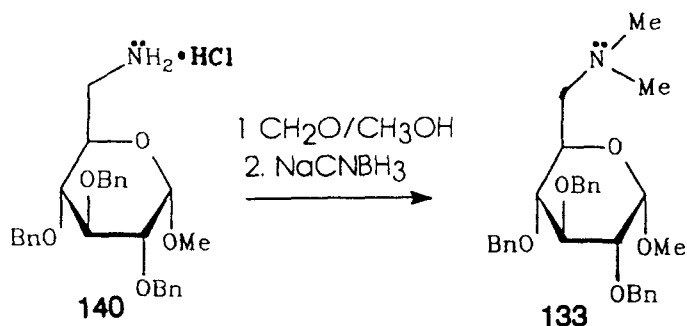
δ: 4.59(d, 1H,  $J_{1,2}=3.5$ , H1), 3.44(dd, 1H,  $J_{2,3}=9.6$ , H2), 3.91(dd, 1H,  $J_{3,4}=9.4$ , H3), 3.18(dd, 1H,  $J_{4,5}=9.2$ , H4), 3.78(ddd, 1H,  $J_{5,6}=3.0$ , H5), 2.72(ευρεία, 1H, H6), 3.10(ευρεία, 1H, H'6), 3.30(s, 3H, -OMe), 4.56(ABq, 2H,  $J'_{gem}=12.0$ , -CH<sub>2</sub>' ), 4.56(ABq, 2H,  $J''_{gem}=12.0$ , -CH<sub>2</sub>'' -), 4.69(ABq, 2H,  $J_{gem}'''=10.8$ , -CH<sub>2</sub>''' -), 7.23(m, 15H, Ph), 8.40(ευρεία, 3H, -NH<sub>3</sub><sup>+</sup>)

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-2,3,4-τρι-*O*-βενζυλο-6-(*N,N*-διμεθυλαμινο)-6-δεοξυ-α-D-γλυκοπιρανοζίτης

No E : 133	M.T : C <sub>30</sub> H <sub>37</sub> O <sub>5</sub> N
M.B : 491	Απόδοση : 85%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ

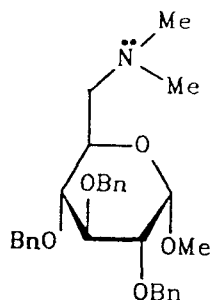


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	moles	g	ml
140	499.5	0.010	5	-
παραφορμαλδεΰδη	3x30=90	0.02	1.8	-
NaCNBH <sub>3</sub>	62.3	0.0401	2.5	-
διαλύτης μεθανόλη	-	-	-	20

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Σε 20ml άνυδρη μεθανόλη διαλύονται 5g του 140 και προστίθεται ρητίνη Amberlite IRA-410 (OH<sup>-</sup>) ώστε να ελευθερωθεί η αμίνη από το υδροχλωρικό άλας. Η ρητίνη απομακρύνεται με διήθηση μετά από 0.5h και στο διήθημα προστίθενται 1.8g παραφορμαλδεΰδης. Το μίγμα βράζεται υπό κάθετο ψυκτήρα έως ότου εξαφανισθεί η κηλίδα του αρχικού προϊόντος σε πλάκα Χ.Λ.Σ. (Rf=0.5 CHCl<sub>3</sub>:MeOH 5:1). Το διάλυμα αφήνεται να ψυχθεί σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και μετά προστίθενται 2.5g κυανιούχου βοροϋδριδίου-νατρίου (NaCNBH<sub>3</sub>). Το μίγμα αναδεύεται για επιπλέον 0.5hr, η περίσσεια του υδριδίου καταστρέφεται με νερό και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Το υπόλειμμα διαλύεται σε CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, πλένεται με νερό, η οργανική φάση ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και ο διαλύτης απομακρύνεται με απόσταξη υπό ελαττωμένη πίεση. Το υπόλειμμα χρωματογραφείται σε στήλη silica-gel με CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10:1, τα κλάσματα που παρουσιάζουν κηλίδα σε Rf=0.58 (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 5:1) ενώνονται και εξατμίζονται μέχρι ξηρού (4.17g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:**

ΠΡΟΪΟΝ<sup>149</sup>**133**

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 3	0.40	μαύρη με θέρμανση με θειικό οξύ
	Hex 2		
	MeOH 3		

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

<sup>1</sup>H N.M.R. 400MHz, CDCl<sub>3</sub>,

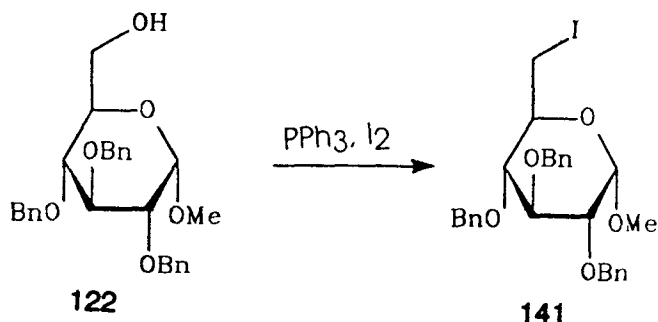
δ: 4.577(d, 1H,  $J_{1,2}=3.5$ , H1), 3.500(dd, 1H,  $J_{2,3}=9.7$ , H2), 4.003(dd, 1H,  $J_{3,4}=9.2$ , H3), 3.258(dd, 1H,  $J_{4,5}=10.0$ , H4), 3.833(ddd, 1H,  $J_{5,6}=6.8$ ,  $J_{5,6'}=3.4$ , H5), 2.500(m, 2H, H6), 3.413(s, 3H, -OMe), 4.906(ABq, 2H,  $J'_{gem}=11.0$ , -CH<sub>2</sub>'-), 4.651(ABq, 2H,  $J''_{gem}=12.2$ , -CH<sub>2</sub>''-), 4.805(ABq, 2H,  $J'''_{gem}=10.8$ , -CH<sub>2</sub>'''-), 7.290(m, 15H, Ph), 2.254(s, 6H, -NMe<sub>2</sub>)

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-2,3,4-τρι-Ο-βενζυλο-6-δεοξυ-6-ιωδο-α-D-γλυκοπυρανοζιτης

No E : 141	M.T : C <sub>28</sub> H <sub>31</sub> O <sub>5</sub> I
M.B : 574	Απόδοση : 85%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

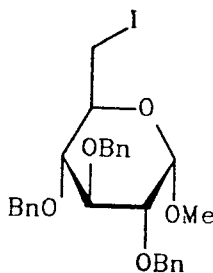


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	moles	g	ml
122	464	0.0107	5	-
PPh <sub>3</sub>	262	0.016	4.2	-
ιμιδαζόλιο	67	0.0328	2.2	-
ιώδιο	254	0.0149	3.79	-
διαλύτης τολουόλιο	-	-	-	125

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Σε 125ml ξηρή τολουόλιο διαλύονται 5g 122 και υπό ισχυρή ανάδευση προστίθενται στη συνέχεια 4.2g τριφαινυλοφωσφίνης, 2.2g ιμιδαζολίου και 3.79g ιωδίου. Το μίγμα θερμαίνεται στους 70°C επί 3hr και μετά αφού ψυχθεί σε θερμοκρασία περιβάλλοντος προστίθενται 125ml απιονισμένου νερού και η ανάδευση συνεχίζεται επί 30min. Οι δύο φάσεις μεταφέρονται σε διαχωριστική χοάνη όπου διαχωρίζονται, η οργανική πλένεται με κορ.δ.NaHSO<sub>3</sub>, μια φορά με νερό, συλλέγεται και εξατμίζεται μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Το υπόλειμμα διηθείται μέσω μικρής στήλης silica-gel εκλούοντας με διαλύτη εξάνιο:οξικό αιθυλεστέρα 6:1 και αφού συμπυκνωθούν τα κλάσματα που περιέχουν ουσία με R<sub>f</sub>=0.46 προκύπτει το 141 ως λευκό στερεό (5.25g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:**

ΠΡΟΙΟΝ

141

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 1	0.46	μαύρη με θέρμανση με θειικό οξύ
	Hex 6		

σ.τ. : 68-70 °C

σ.τ.βιβλιογ.<sup>149</sup> : 69-70 °C[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> βιβλιογ.<sup>149</sup> = + 30 ° (c 2, CHCl<sub>3</sub>)ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ<sup>1</sup>H N.M.R. 400MHz, CDCl<sub>3</sub>,

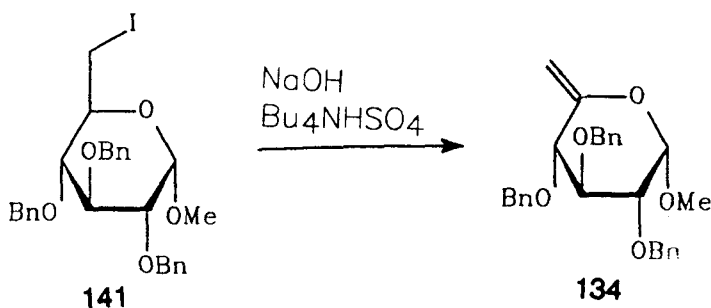
δ: 4.61(d, 1H,  $J_{1,2}=3.6$ , H<sub>1</sub>), 3.54(dd, 1H,  $J_{2,3}=9.6$ , H<sub>2</sub>), 4.01(dd, 1H,  $J_{3,4}=9.0$ , H<sub>3</sub>), 3.38(dd, 1H,  $J_{4,5}=9.0$ , H<sub>4</sub>), 3.47(ddd, 1H,  $J_{5,6}=6.2$ ,  $J_{5,6'}=2.8$ , H<sub>5</sub>), 3.29(dd, 1H,  $J_{6,6'}=10.5$ , H<sub>6</sub>), 3.44(dd, 1H, H'<sub>6</sub>), 3.42(s, 3H, -OMe), 4.65(ABq, 2H,  $J''_{gem}=12.1$ , -CH'<sub>2</sub>-), 4.68(ABq, 2H,  $J'''_{gem}=10.8$ , -CH'''<sub>2</sub>-), 4.80(ABq, 2H,  $J''''_{gem}=10.8$ , -CH''''<sub>2</sub>-), 7.30(m, 15H, Ph)

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-2,3,4-τρι-Ο-βενζυλο-6-δεοξυ-α-D-ξυλο-εξ-5-ενο-πυρανοζίτης

No E : 134	M.T : C <sub>28</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>
M.B : 446	Απόδοση : 85%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ (Μέθοδος Α)

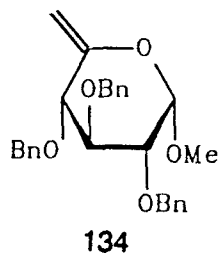


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
141	574	1.742	1	-
NaOH	40	62.5	2.5	-
Bu <sub>4</sub> NHSO <sub>4</sub>	339.6	0.176	0.06	-
διαλύτης βενζόλιο	-	-	-	25

**ΜΕΘΟΔΟΣ :**

Σε 25ml βενζόλιο προστίθενται υπό ισχυρή ανάδευση : 1g του 141, 2.5g κονιοποιημένο καυστικό νάτριο και 0.06g όξινο θειικό τετραβούτυλο αμμώνιο (Bu<sub>4</sub>NHSO<sub>4</sub>). Το μίγμα βράζεται υπό κάθετο ψυκτήρα και ανδεύεται ισχυρά επί 12hr. Μετά ψύχεται σε πάγο και προστίθεται νερό-πάγος μέσα στη φιάλη της αντιδράσεως ώστε να διαλυθεί όλο το καυστικό νάτριο. Οι δύο φάσεις διαχωρίζονται και η μέν οργανική πλένεται με νερό, η δε υδατική με αιθέρα. Οι οργανικές φάσεις ενώνονται, πλένονται με νερό έως ότου απομακρυνθεί όλο το καυστικό νάτριο, ξηραίνονται (MgSO<sub>4</sub>) και εξατμίζονται υπό ελαττωμένη πίεση μέχρι ξηρού. Το υπόλειμμα χρωματογραφείται σε στήλη silica-gel με εξάνιο/οξ.αιθυλεστέρα 6:1. Το προϊόν με παραμονή στο ψυγείο κρυσταλλώνει (0.66g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ :** Εναλλακτική ονομασία : Μεθυλο-2,3,4-τρι-Ο-βενζυλο-5-μεθυλενο-α-D-ξυλοπυρανοζίτης

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 2	0.75	καφέ με θέρμανση με θειικό οξύ
	Hex 3		

σ.τ. : 100-102 °C

σ.τ.βιβλιογ.<sup>149</sup>: 99-100 °C[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = +116 ° (c 2, CHCl<sub>3</sub>)[α]<sub>D</sub><sup>25</sup>βιβλιογ.<sup>149</sup> = +117 ° (c 2, CHCl<sub>3</sub>)ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

I.R.(cm<sup>-1</sup>) : 3080-3020[=C-H(Ar)], 2980,2920,2840(C-H), 1655(C=C), 1600,1490[C=C(Ar)], 1090,1020(C-O), 740,685(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-), 750[O-C-O (α-ανωμερές)]

<sup>1</sup>H N.M.R. 400MHz, CDCl<sub>3</sub>,

δ: 4.62(d, 1H, J<sub>1,2</sub>=3.4, H<sub>1</sub>), 3.60(dd, 1H, J<sub>2,3</sub>=9.1, H<sub>2</sub>), 3.97(dd, 1H, J<sub>3,4</sub>=9.1, H<sub>3</sub>), 3.91(ddd, 1H, J<sub>4,6</sub>=1.8, J<sub>4,6'</sub>=1.2, H<sub>4</sub>), 3.76(dd, 1H, J<sub>6,6'</sub>=4.6, H<sub>6</sub>), 4.15(dd, 1H, H'<sub>6</sub>), 3.42(s, 3H, -OMe), 4.91(ABq, 2H, -CH'<sub>2</sub>-), 4.66(ABq, 2H, -CH''<sub>2</sub>-), 4.81(ABq, 2H, -CH'''<sub>2</sub>-), 7.33(m, 15H, Ph)

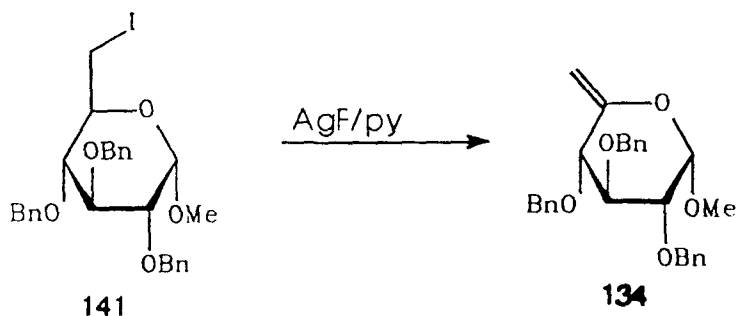


ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-2,3,4-τρι-Ο-βενζυλο-6-δεοξυ-α-D-ξυλο-εξ-5-ενο-πυρανοζιτης

No E : 134	M.T : C <sub>28</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>
M.B : 446	Απόδοση : 85%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ (Μέθοδος Β)  
-----



Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
141	574	1.742	1	-
AgF	126.8	3.47	0.44	-
διαλύτης πυριδίνη	-	-	-	6

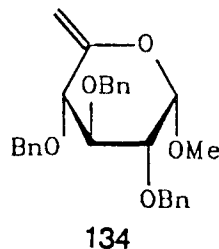
**ΜΕΘΟΔΟΣ :**

Σε 6ml ξηρή πυριδίνη διαλύονται 1g του 141 και 0.44g φθοριούχου αργύρου. Το διάλυμα αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος επί 24hr και μετά προστίθεται οξικός αιθυλεστέρας και υπό ισχυρή ανάδευση ενεργός άνθρακας. Το μίγμα βράζεται επί 30min και στη συνέχεια διηθείται μέσω στοιβάδος celite. Το διήθημα συμπυκνώνεται και το υπόλειμμα χρωματογραφείται σε στήλη silica-gel με διαλύτη εξάνιο/οξικό αιθυλεστέρα 6:1. Τα κλάσματα που παρουσιάζουν Rf=0.25 ενώνονται και εξατμίζονται υπό ελαττωμένη πίεση μέχρι ξηρού (0.66g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:**

α) Η πυριδίνη πρέπει να έχει μόλις αποσταχθεί υπεράνω NaOH και ο AgF να έχει ξηρανθεί επί μακρό διάστημα σε ξηραντήρα κενού υπεράνω θειϊκού οξέος και πεντοξειδίου του φωσφόρου.

β) Η φιάλη της αντίδρασης πρέπει να είναι καλά προστατευμένη από το φως.

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 2	0.75	καφέ με θέρμανση με θειικό οξύ
	Hex 3		

σ.τ. : 100-102 °C

σ.τ.βιβλιογ.<sup>149</sup>: 99-100 °C[α]<sub>D</sub><sup>25</sup>βιβλιογ.<sup>149</sup> = +117 ° (c 2, CHCl<sub>3</sub>)Στοιχειακή ανάλυσηΘεωρητικά για C<sub>28</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub> : C 75.34, H 6.73

Ευρεθέν : C 75.28, H 6.74

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑI.R.(cm<sup>-1</sup>) : 3080-3020[=C-H(Ar)], 2980,2920,2840(C-H), 1655(C=C), 1600,1490[C=C(Ar)], 1090,1020(C-O), 740,685(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-), 750[O-C-O (α-ανωμερές)]<sup>1</sup>H N.M.R. 400MHz, CDCl<sub>3</sub>,

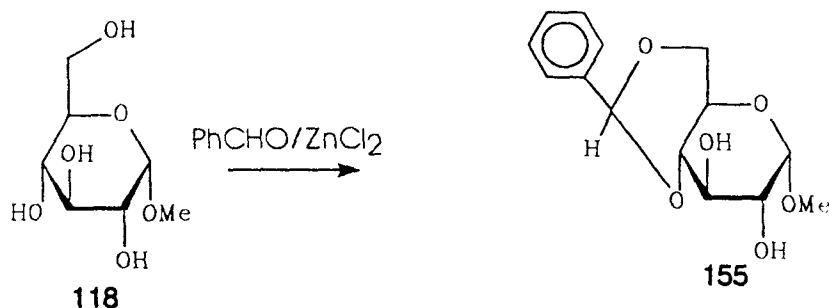
δ: 4.62(d, 1H, J<sub>1,2</sub>=3.4, H<sub>1</sub>), 3.60(dd, 1H, J<sub>2,3</sub>=9.1, H<sub>2</sub>), 3.97(dd, 1H, J<sub>3,4</sub>=9.1, H<sub>3</sub>), 3.91(ddd, 1H, J<sub>4,6</sub>=1.8, J<sub>4,6'</sub>=1.2, H<sub>4</sub>), 3.76(dd, 1H, J<sub>6,6'</sub>=4.6, H<sub>6</sub>), 4.15(dd, 1H, H'<sub>6</sub>), 3.42(s, 3H, -OMe), 4.91(ABq, 2H, -CH'<sub>2</sub>-), 4.66(ABq, 2H, -CH''<sub>2</sub>-), 4.81(ABq, 2H, -CH'''<sub>2</sub>-), 7.33(m, 15H, Ph)

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-4,6-δι-Ο-βενζυλιδενο-α-D-γλυκοπυρανοζιτης

No E : 155	M.T : C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>
M.B : 282	Απόδοση : 70%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

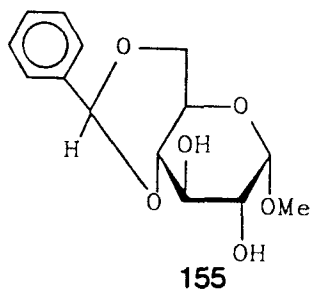


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	moles	g	ml
118	194	0.10	20	-
ZnCl <sub>2</sub>	136	0.10	15	-
βενζαλδεΐδη	-	-	-	50

**ΜΕΘΟΔΟΣ :**

Σε 50ml βενζαλδεΐδης διαλύονται 20g του 118 και προστίθενται 15g πρόσφατα τηγμένου και κονιορτοποιημένου χλωριούχου ψευδαργύρου. Το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 18hr. Μετά προσθέτουμε άλλο τόσο όγκο πάγου-νερού οπότε προκύπτει λευκό στερεό και κάνουμε απόχυση του υγρού. Τη διαδικασία την επαναλαμβάνουμε για 3 φορές. Το στερεό που προκύπτει πλένεται με ακετόνη. Στο υπόλειμμα προστίθεται εξάνιο, οπότε το προϊόν κρυσταλλώνει και διηθείται. Στη συνέχεια το προϊόν στεγνώνεται σε ξηραντήρα κενού πάνω από άνυδρο χλωριούχο ασβέστιο και ζυγίζεται (20.3g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:** Χρειάζεται καλή ξήρανση του προϊόντος επειδή η βενζαλδεΐδη λόγω του υψηλού σημείου ζέσης της απομακρύνεται πολύ δύσκολα

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 8	0.68	μαύρη με θέρμανση με θειικό οξύ
	EtOH 1		
	H <sub>2</sub> O 1		

σ.τ. : 165-168 °C

σ.τ.βιβλιογ.<sup>181</sup>: 167-168 °CΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

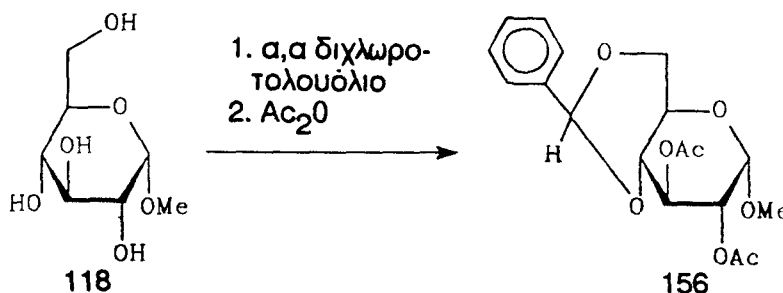
I.R.(cm<sup>-1</sup>) : 3440[-OH(ευρεία)], 3080-3020[=C-H(Ar)], 2980,2920,2840(C-H),  
1600,1490[C=C(Ar)], 1090,1020(C-O), 740,685(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-), 750[O-C-O (α-ανωμερές)]

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-4,6-δι-*O*-βενζυλιδενο-2,3-δι-*O*-ακετυλο- $\alpha$ -D-γλυκοπυρανοζιτης

No E : 156	M.T : C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub>
M.B : 366	Απόδοση : 75%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

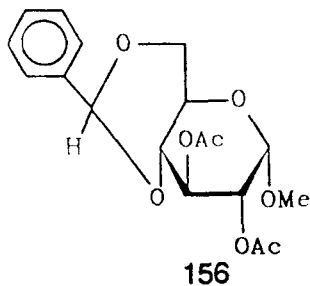


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	moles	g	ml
118	194	0.0515	10	-
$\alpha,\alpha$ διχλωρο-τολουόλιο	161	0.056	-	7.2
Ac <sub>2</sub> O	102	0.26	-	25
διαλύτης πυριδίνη	-	-	-	40

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Σε 40ml ξηρή πυριδίνη διαλύονται 10g του 118 και προστίθενται 7.2ml  $\alpha,\alpha$  διχλωρο-τολουόλιο και το μίγμα βράζεται για 10hr υπό κάθετο ψυκτήρα μέχρι η αρχική ουσία καταναλωθεί στο μεγαλύτερο μέρος της (παρακολουθείται με Χ.Λ.Σ. και σύστημα ανάπτυξης CHCl<sub>3</sub>:MeOH 5:1). Στη συνέχεια το μίγμα αφήνεται να έρθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ψύχεται με πάγο και προστίθενται 25ml οξικού ανυδρίτη και το νέο μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για άλλες 24hr. Στη συνέχεια το μίγμα της αντίδρασης ρίχνεται σε μίγμα πάγου-νερού. Ετσι σχηματίζεται στερεό το οποίο λαμβάνεται με διήθηση, διαλύεται σε CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> και πλένεται με νερό. Η οργανική φάση συλλέγεται, ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και συμπυκνώνεται υπό ελατωμένη πίεση, οπότε προκύπτει υπόλειμμα που ύστερα από κατεργασία με ενεργό άνθρακα σε μεθανόλη και διήθηση υπό celite, κρυσταλλώνει με πετρελαιοκό αιθέρα (14.1g) και ανακρυσταλλώνεται από οξικό αιθυλεστέρα:πετρελαιοκό αιθέρα.

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:**

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 2	0.6	μαύρη με θέρμανση με θειικό οξύ
	Hex 5		

σ.τ. : 95-100 °C

Στοιχειακή ανάλυση

Θεωρητικά για C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O<sub>8</sub> : C 59.02, H 6.01

Ευρεθέν : C 58.95, H 6.05

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

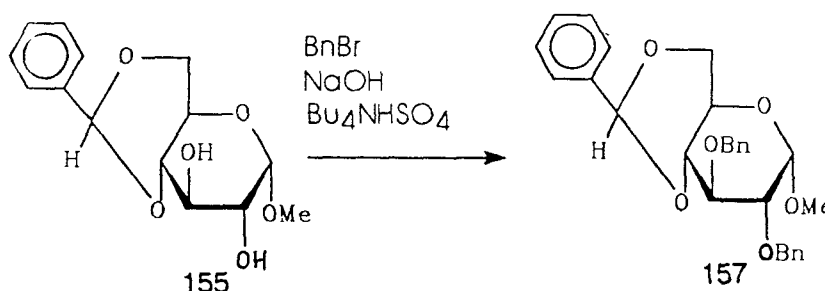
I.R.(cm<sup>-1</sup>) : 3080-3020[=C-H(Ar)], 2980,2920,2840(C-H), 1740[-CO-(Ac)],  
1600,1490[C=C(Ar)], 1090,1020(C-O), 740,685(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-), 750[O-C-O (α-ανωμερές)]

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-4,6-δι-Ο-βενζυλιδενο-2,3-δι-Ο-βενζυλο-α-D-γλυκοπυρανοζιτης

No E : 157	M.T : C <sub>28</sub> H <sub>30</sub> O <sub>6</sub>
M.B : 462	Απόδοση : 70%

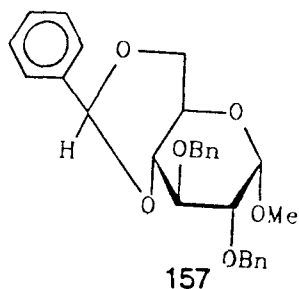
ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----



Ε Ν Ω Σ Η	M . B	moles	g	ml
155	282	0.0273	7.7	-
NaOH	40	0.625	25	-
Bu <sub>4</sub> NHSO <sub>4</sub>	339.6	0.0082	2.8	-
βενζυλοβρωμίδιο	171.04	0.1	-	12
διαλύτης βενζόλιο	-	-	-	154

**ΜΕΘΟΔΟΣ :**

Σε 154ml βενζόλιο προστίθενται υπό ισχυρή ανάδευση: 7.7g του 155, 25g καυστικό νάτριο, 12ml βενζυλοβρωμιδίου και 2.8g όξινο θειικό τετραβούτυλο αμμώνιο (Bu<sub>4</sub>NHSO<sub>4</sub>). Το μίγμα βράζεται υπό συσκευή Dean-Stark, ώστε να απομακρύνεται το παραγόμενο κατά την αντίδραση νερό και αναδεύεται ισχυρά επί 24hr. Μετά ψύχεται σε πάγο και προστίθεται νερό-πάγος μέσα στη φιάλη της αντιδράσεως ώστε να διαλυθεί όλο το καυστικό νάτριο. Οι δύο φάσεις διαχωρίζονται σε διαχωριστική χοάνη και πλένονται η μέν οργανική με νερό, ή δε υδατική με αιθέρα. Οι οργανικές φάσεις ενώνονται και πλένονται με νερό έως ότου απομακρυνθεί το καυστικό νάτριο, ξηραίνονται (MgSO<sub>4</sub>) και εξατμίζονται υπό ελαττωμένη πίεση, μέχρι ξηρού για να δώσουν υπόλειμμα που τοποθετείται στην κορυφή στήλης silica-gel. Η έκλουση γίνεται με εξάνιο-οξ.αιθυλεστέρα 5:1 και η ουσία με Rf 0.41 (εξάνιο-οξ.αιθυλεστέρας 5:2) συλλέγεται (8.8g).

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 2	0.41	μαύρη με θέρμανση με θειικό οξύ
	Hex 5		

σ.τ. : 86-88 °C

σ.τ.βιβλιογ.<sup>149</sup>: 87-88 °CΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ<sup>1</sup>H N.M.R. 400MHz, CDCl<sub>3</sub>,

δ: 4.59(d, 1H,  $J_{1,2}=3.7$ , H<sub>1</sub>), 3.56(dd, 1H,  $J_{2,3}=9.3$ , H<sub>2</sub>), 4.05(dd, 1H,  $J_{3,4}=9.4$ , H<sub>3</sub>), 3.60(dd, 1H,  $J_{4,5}=9.9$ , H<sub>4</sub>), 3.83(ddd, 1H,  $J_{5,6}=4.7$ ,  $J_{5,6'}=10.1$ , H<sub>5</sub>), 4.26(dd, 1H,  $J_{6,6'}=10.2$ , H<sub>6</sub>), 3.70(dd, 1H, H'<sub>6</sub>), 3.40(s, 3H, -OMe), 4.70(ABq, 2H,  $J'_{gem}=12.2$ , -CH'<sub>2</sub>-), 4.84(ABq, 2H,  $J''_{gem}=11.3$ , -CH''<sub>2</sub>-), 5.55(s, 1H, PhCH-), 7.35(m, 15H, Ph)

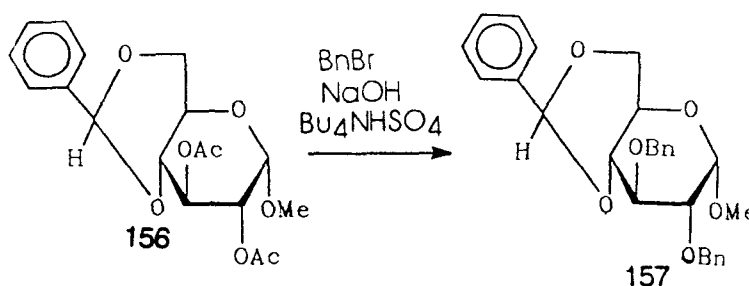


ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-4,6-δι-Ο-βενζυλιδενο-2,3-δι-Ο-βενζυλο-α-D-γλυκοπυρανοζιτης

No E : 157	M.T : C <sub>28</sub> H <sub>30</sub> O <sub>6</sub>
M.B : 462	Απόδοση : 70%

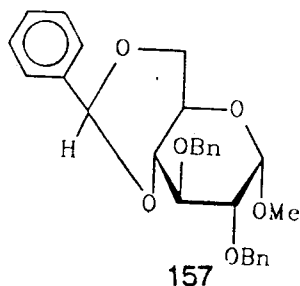
ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----



Ε Ν Ω Σ Η	M . B	moles	g	ml
156	366	0.0269	9.88	-
NaOH	40	0.625	25	-
Bu <sub>4</sub> NHSO <sub>4</sub>	339.6	0.0082	2.8	-
βενζυλοβρωμιδίο	171.04	0.1	-	12
διαλύτης βενζόλιο	-	-	-	154

**ΜΕΘΟΔΟΣ :**

Σε 154ml βενζόλιο προστίθενται υπό ισχυρή ανάδευση: 9.88g του 156, 25g καυστικό νάτριο, 12ml βενζυλοβρωμιδίου και 2.8g όξινο θειικό τετραβούτυλο αμμώνιο (Bu<sub>4</sub>NHSO<sub>4</sub>). Το μίγμα βράζεται υπό συσκευή Dean-Stark, ώστε να απομακρύνεται το παραγόμενο κατά την αντίδραση νερό και αναδεύεται ισχυρά επί 24hr. Μετά ψύχεται σε πάγο και προστίθεται νερό-πάγος μέσα στη φιάλη της αντιδράσεως ώστε να διαλυθεί όλο το καυστικό νάτριο. Οι δύο φάσεις διαχωρίζονται σε διαχωριστική χοάνη και πλένονται η μὲν οργανική με νερό, ἡ δε υδατική με αιθέρα. Οι οργανικές φάσεις ενώνονται και πλένονται με νερό ἕως ὅτου απομακρυνθεί το καυστικό νάτριο, ξηραίνονται (MgSO<sub>4</sub>) και εξατμίζονται υπό ελαττωμένη πίεση, μέχρι ξηρού για να δώσουν υπόλειμμα που τοποθετείται στην κορυφή στήλης silica-gel. Η έκλουση γίνεται με εξάνιο-οξ.αιθυλεστέρα 5:1 και η ουσία με Rf 0.41 (εξάνιο-οξ.αιθυλεστέρας 5:2) συλλέγεται (8.7g).

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 2	0.41	μαύρη με θέρμανση με θειικό οξύ
	Hex 5		

σ.τ. : 86-89 °C

σ.τ.βιβλιογ.<sup>149</sup>: 87-88 °CΣτοιχειακή ανάλυσηΘεωρητικά για C<sub>28</sub>H<sub>30</sub>O<sub>6</sub> : C 72.71, H 6.54

Ευρεθέν : C 72.56, H 6.51

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

I.R.(cm<sup>-1</sup>) : 3080-3020[=C-H(Ar)], 2980,2940,2830(C-H), 1600,1490[C=C(Ar)],  
1100,1050(C-O), 740,690(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-), 750[O-C-O (α-ανωμερές)]

1H N.M.R. 400MHz, CDCl<sub>3</sub>,

δ: 4.59(d, 1H, J<sub>1,2</sub>=3.7, H<sub>1</sub>), 3.56(dd, 1H, J<sub>2,3</sub>=9.3, H<sub>2</sub>), 4.05(dd, 1H, J<sub>3,4</sub>=9.4, H<sub>3</sub>),  
3.60(dd, 1H, J<sub>4,5</sub>=9.9, H<sub>4</sub>), 3.83(ddd, 1H, J<sub>5,6</sub>=4.7, J<sub>5,6'</sub>=10.1, H<sub>5</sub>), 4.26(dd, 1H,  
J<sub>6,6'</sub>=10.2, H<sub>6</sub>), 3.70(dd, 1H, H'<sub>6</sub>), 3.40(s, 3H, -OMe), 4.70(ABq, 2H, J'<sub>gem</sub>=12.2, -CH'<sub>2</sub>-  
) , 4.84(ABq, 2H, J''<sub>gem</sub>=11.3, -CH''<sub>2</sub>-), 5.55(s, 1H, PhCH-), 7.35(m, 15H, Ph)

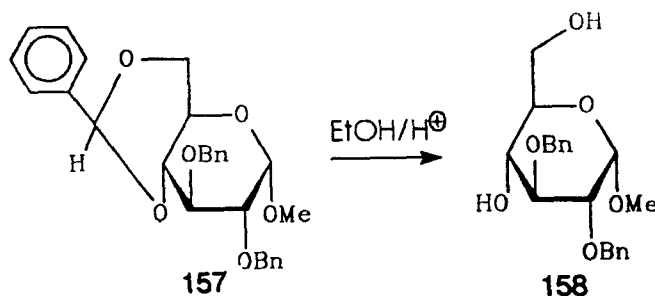
## ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ

=====

Μεθυλο-2,3-δι-Ο-βενζυλο-α-D-γλυκοπυρανοζίτης

No E	: 158	M.T	: C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>6</sub>
M.B	: 374	Απόδοση	: 70%

## ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ

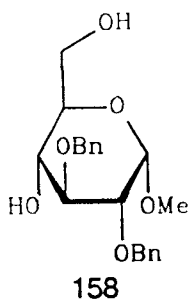


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
157	462	21.645	10	-
TsOH	172	0.5813	0.1	-
διαλύτης αιθανόλη	-	-	-	160

## ΜΕΘΟΔΟΣ:

Σε 160ml αιθανόλης διαλύονται 10g του 157 και προστίθενται 0.1g παρα-τολουολο-σουλφονικό οξύ. Το μίγμα θερμαίνεται στους 80 oC για 18hr. Στη συνέχεια ψύχεται και το μίγμα μεταφέρεται με CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> σε διαχωριστική χοάνη και η οργανική φάση πλένεται διαδοχικά με δ.NaHCO<sub>3</sub>, νερό και ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>). Στη συνέχεια συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση μέχρι ξηρού για να δώσει υπόλειμμα που διαβιβάζεται στην κορυφή στήλης silica-gel. Η έκλουση γίνεται με διχλωρομεθάνιο-οξ.αιθυλεστέρα 3:1 και η ουσία με Rf 0.25 συλλέγεται και ζυγίζεται (5.66g).

Π Α Ρ Α Τ Η Ρ Η Σ Ε Ι Σ: Το τελικό προϊόν 158, πρέπει να χρωματογραφείται με πολύ προσοχή επειδή πολλές φορές παραμένει μέσα στη στήλη χρωματογραφίας.

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 2	0.32	μαύρη με θέρμανση με θειικό οξύ
	Hex 5		

σ.τ. : 78-79 °C

$[\alpha]_D^{25} = +16.5^\circ$  (c 0.279, CHCl<sub>3</sub>)

Στοιχειακή ανάλυση

Θεωρητικά για C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>6</sub> : C 67.38, H 6.95

Ευρεθέν : C 67.52, H 7.02

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

I.R.(cm<sup>-1</sup>) : 3440[-OH(ευρεία)], 3080-3020[=C-H(Ar)], 2980,2940,2850(C-H), 1600,1490[C=C(Ar)], 1100,1030(C-O), 740,690(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-), 750[O-C-O (α-ανωμερές)]

<sup>1</sup>H N.M.R. 400MHz, CDCl<sub>3</sub>,

δ: 4.59(d, 1H,  $J_{1,2}=3.4$ , H<sub>1</sub>), 3.47(dd, 1H,  $J_{2,3}=9.5$ , H<sub>2</sub>), 4.01(dd, 1H,  $J_{3,4}=9.0$ , H<sub>3</sub>), 3.67(m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.69(ευρεία, 1H, H<sub>5</sub>), 3.82(ευρεία, 2H, H<sub>6</sub>), 3.08(s, 3H, -OMe), 4.48(ABq, 2H, -CH<sub>2</sub>'-), 4.87(ABq, 2H, -CH<sub>2</sub>''-), 7.00-7.30(m, 6H, Ph), 7.30-7.40(m, 4H, Ph), 2.00-2.80(ευρεία, 2H, -OH)

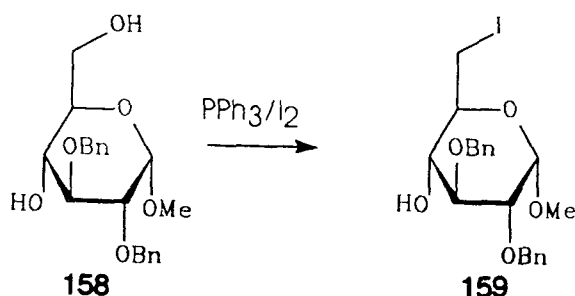
## ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ

=====

Μεθυλο-2,3-δι-Ο-βενζυλο-6-δεοξυ-6-ιωδο-α-D-γλυκοπιρανοζιτης

No E	: 159	M.T	: C <sub>21</sub> H <sub>25</sub> O <sub>5</sub> I
M.B	: 484	Απόδοση	: 65%

## ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ

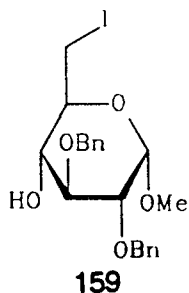


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
158	374	2.6737	1	-
PPh <sub>3</sub>	262	4.0076	1.05	-
ιμιδαζόλιο	67	8.2089	0.55	-
ιώδιο	254	3.7007	0.94	-
διαλύτης τολουόλιο	-	-	-	40

## ΜΕΘΟΔΟΣ:

Σε 40ml ξηρό τολουόλιο διαλύονται 1g του 158 και υπό ισχυρή ανάδευση ακολουθεί η προσθήκη 1.05g τριφαινυλοφωσφίνης, 0.55g ιμιδαζολίου και 0.94g ιωδίου. Το μίγμα θερμαίνεται στους 70°C επί 6hr και μετά αφού ψυχθεί σε θερμοκρασία περιβάλλοντος προστίθενται 40ml απιονισμένου νερού και η ανάδευση συνεχίζεται επί 30min. Οι δύο φάσεις μεταφέρονται σε διαχωριστική χοάνη όπου διαχωρίζονται, η οργανική πλένεται με κορ.δ. NaHSO<sub>3</sub>, μια φορά με νερό, συλλέγεται και εξατμίζεται μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Το υπόλειμμα διηθείται μέσω μικρής στήλης silica-gel εκλούοντας με διαλύτη εξάνιο:οξικό αιθυλεστέρα 3:1 (0.84g).

## ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 1	0.37	μαύρη με θέρμανση με θειικό οξύ
	Hex 3		

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

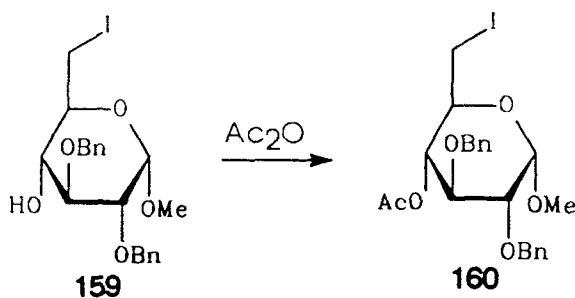
I.R.(cm<sup>-1</sup>) : 3440[-OH(ευρεία)], 3080-3020[=C-H(Ar)], 2980,2940,2850(C-H),  
1600,1490[C=C(Ar)], 1100,1030(C-O), 750,690(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-), 760[O-C-O (α-ανωμερές)]

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-2,3-δι-Ο-βενζυλο-4-Ο-ακετυλο-6-δεοξυ-6-ιωδο-α-D-γλυκοπιρανοζίτης

No E : 160	M.T : C <sub>23</sub> H <sub>27</sub> O <sub>6</sub> I
M.B : 526	Απόδοση : 65%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

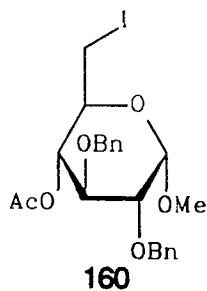


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
159	484	1.8595	0.9	-
Ac <sub>2</sub> O	102	52.9	-	5
διαλύτης πυριδίνη	-	-	-	10

**ΜΕΘΟΔΟΣ :**

Σε 10ml πυριδίνης διαλύονται 0.9g του 159 και προστίθενται υπό ψύξη 5ml οξικού ανυδρίτη. Το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 10 ημέρες. Στη συνέχεια συμπυκνώνουμε υπό ελαττωμένη πίεση και το υπόλειμμα το διαλύουμε σε διχλωρομεθάνιο και η οργανική φάση πλένεται διαδοχικά με κορ.δ. KHSO<sub>4</sub>, κορ.δ. NaHCO<sub>3</sub> και νερό. Η οργανική φάση ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και εξατμίζεται μέχρι ξηρού (0.63g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:**

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 1	0.44	μαύρη με θέρμανση με θειικό οξύ
	Hex 3		

Στοιχειακή ανάλυση

Θεωρητικά για  $C_{23}H_{27}O_6$  : C 52.47, H 5.13, I 24.14

Ευρεθέν : C 52.56, H 5.17, I 23.45

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

I.R.( $cm^{-1}$ ) : 3080-3020[=C-H(Ar)], 2980,2940,2850(C-H), 1740[-CO-(Ac)],  
1600,1490[C=C(Ar)], 1100,1030(C-O), 750,690( $C_6H_5$ -), 740[O-C-O (α-ανωμερές)]

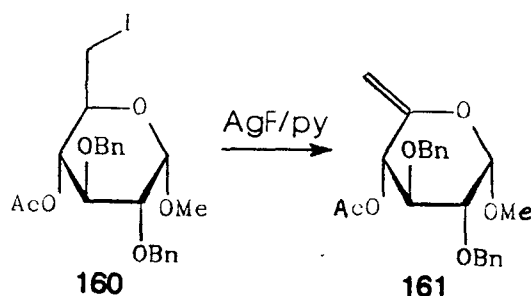


ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-2,3-δι-Ο-βενζυλο-4-Ο-ακετυλο-α-D-ξυλο-εξ-5-ενο-πυρανοζίτης

No E : 161	M.T : C <sub>23</sub> H <sub>26</sub> O <sub>6</sub>
M.B : 398	Απόδοση : 30%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----



Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
160	526	1.9011	1.0	-
AgF	127	3.1496	0.4	-
διαλύτης πυριδίνη	-	-	-	10

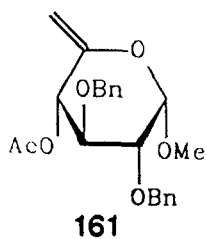
**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Σε 10ml ξηρή πυριδίνη διαλύονται 1g του 160 και 0.4g φθοριούχου αργύρου. Το διάλυμα αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος επί 3 ημέρες και μετά προστίθεται οξικός αιθυλεστέρας και υπό ισχυρή ανάδευση ενεργός άνθρακας. Το μίγμα βράζεται επί 30min και στη συνέχεια διηθείται μέσω μικρής στοιβάδος celite. Το διήθημα συμπυκνώνεται και το υπόλειμμα χρωματογραφείται σε στήλη silica-gel με διαλύτη εξάνιο/οξικό αιθυλεστέρα 3:1. Τα κλάσματα που παρουσιάζουν R<sub>f</sub>=0.4 ενώνονται και εξατμίζονται υπό ελαττωμένη πίεση μέχρι ξηρού (0.22g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:**

α) Η πυριδίνη πρέπει να έχει μόλις αποσταχθεί υπεράνω NaOH και ο AgF να έχει ξηρανθεί επί μακρό διάστημα σε ξηραντήρα κενού υπεράνω θειικού οξέος και πεντοξειδίου του φωσφόρου.

β) Η φιάλη της αντίδρασης πρέπει να είναι καλά προστατευμένη από το φως.

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 1	0.40	καφέ με θέρμανση με θειικό οξύ
	Hex 3		

σ.τ. : 67-69 °C

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

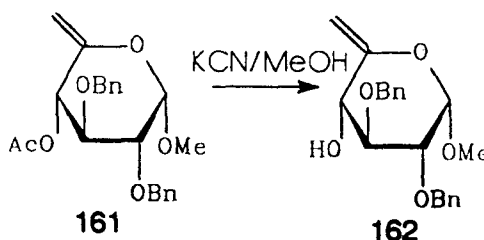
I.R.(cm<sup>-1</sup>) : 3080-3020[=C-H(Ar)], 2990,2920,2840(C-H), 1745[-CO-(Ac)], 1665(C=C),  
1600,1490[C=C(Ar)], 1100,1040(C-O), 735,695(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-), 745[O-C-O (α-ανωμερές)]

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-2,3-δι-Ο-βενζυλο-α-D-ξυλο-εξ-5-ενο-πυρανοζιτης

No E : 162	M.T : C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> O <sub>5</sub>
M.B : 356	Απόδοση : 90%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

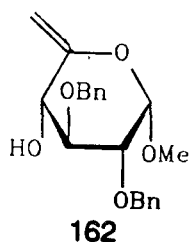


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
161	399	0.5012	0.2	-
KCN	65	0.3076	0.02	-
διαλύτης μεθανόλη	-	-	-	10

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Σε 10ml μεθανόλη διαλύονται 0.2g του 161 και προστίθενται 20mg κυανιούχου καλίου. Το διάλυμα αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος επί 5hr και μετά συμπυκνώνεται μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Το υπόλειμμα διαλύεται σε διχλωρομεθάνιο και εκχυλίζεται δύο φορές με νερό. Η οργανική φάση ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και συμπυκνώνεται μέχρι ξηρού (0.16g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:**

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 1	0.33	καφέ με θέρμανση με θειικό οξύ
	Hex 2		

Στοιχειακή ανάλυση

Θεωρητικά για  $C_{21}H_{24}O_5$  : C 70.78, H 6.74

Ευρεθέν : C 70.48, H 7.08

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

βλ. φάσμα παράρτημα

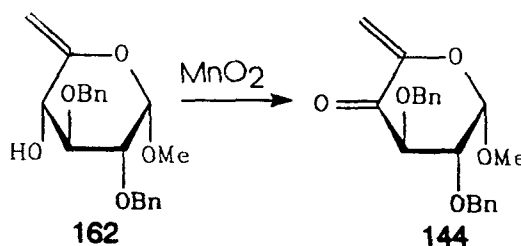
I.R. ( $cm^{-1}$ ) : 3450 [-OH (ευρεία)], 3080-3020 [=C-H (Ar)], 2950, 2930, 2840 (C-H), 1745 [-CO-(Ac)], 1665 (C=C), 1600, 1490 [C=C (Ar)], 1100, 1040 (C-O), 735, 690 ( $C_6H_5^-$ ), 745 [O-C-O (α-ανωμερές)]

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-2,3-δι-Ο-βενζυλο-6-δεοξυ-α-D-ξυλο-εξ-5-ενο-πυρανοζιτο-4-ουλόζη

No E : 144	M.T : C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub>
M.B : 354	Απόδοση : 10%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ (Μέθοδος Α)  
-----

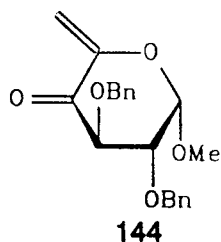


ΕΝΩΣΗ	M . B	mmoles	g	ml
162	357	0.5602	0.2	-
MnO <sub>2</sub>	87	22.988	2	-
διαλύτης χλωροφόρμιο	-	-	-	100

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Σε 100ml άνυδρο χλωροφόρμιο διαλύονται 0.2g του 162 και προστίθενται 2g κονιορτοποιημένου οξειδίου του μαγγανίου (πρόσφατα παρασκευασμένου και καλά στεγνωμένου, 80 °C μία νύχτα). Το διάλυμα αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος επί 10hr και μετά διηθούμε μέσω μικρής στήλης celite και το διήθημα συμπυκνώνεται μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση (0.02g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:** Το προϊόν είναι πολύ ευαίσθητο και καταστρέφεται ακόμα και στην κατάψυξη. Έτσι πρέπει να προχωράμε απευθείας στο επόμενο στάδιο, που είναι οι δοκιμές Michael. Ταυτοποίηση του είναι δυνατή μόνο με τη λήψη φάσματος I.R.

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 1	0.4	μαύρη με θέρμανση με θειικό οξύ
	Hex 3		

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

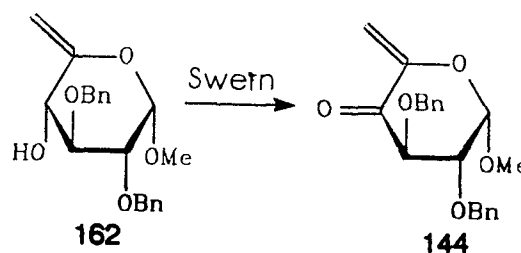
I.R.(cm<sup>-1</sup>) : 3080-3020[=C-H(Ar)], 2950,2930,2840(C-H), 1700 [C=O(συζυγιακό)], 1655 (C=C), 1600,1490[C=C(Ar)], 1100,1040(C-O), 735,690(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-), 745[O-C-O (α-ανωμερές)]

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-2,3-δι-Ο-βενζυλο-6-δεοξυ-α-D-ξυλο-εξ-5-ενο-πυρανοζιτο-4-ουλόζη

No E : 144	M.T : C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub>
M.B : 354	Απόδοση : 30%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ (Μέθοδος Β)  
-----

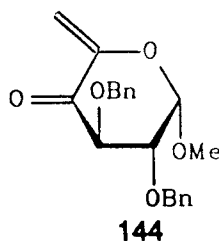


Ε Ν Ω Σ Η	M.B	mmoles	g	ml
162	357	1.1204	0.4	-
DMSO	78	2.24	-	0.18
οξαλυλο-χλωρίδιο 98%	126.93	1.2	-	0.11
Et <sub>3</sub> N	101	2.79	-	0.39
διαλύτης CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-	-	-	130

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Διάλυμα άνυδρου DMSO (2.0eqs) σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (4ml/mmol) προστίθεται στάγδην σε παγωμένο (-78 °C) διάλυμα οξαλυλο-χλωριδίου σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (4ml/mmol) κάτω από άζωτο. Το μίγμα αναδεύεται για 15min στους -78 °C και προστίθεται στάγδην διάλυμα του 162 σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (5ml/mmol). Ακολουθεί ανάδευση για άλλα 20-30min και προστίθεται στάγδην τριαιθυλαμίνη (2.5eqs). Αφήνεται το μίγμα να έρθει σε θερμοκρασία δωματίου και εκχυλιζεται με κορ.δ. NaHCO<sub>3</sub>. Η οργανική φάση ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση (0.12g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:** Το προϊόν 144 είναι πολύ ευαίσθητο και καταστρέφεται τόσο με την παραμονή του στον αέρα όσο και με το πέρασμα του από χρωματογραφική στήλη.

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 1 Hex 3	0.4	μαύρη με θέρμανση με θειικό οξύ

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

I.R.(cm<sup>-1</sup>) : 3080-3020[=C-H(Ar)], 2950,2930,2840(C-H), 1700 [C=O(συζυγιακό)], 1655 (C=C), 1600,1490[C=C(Ar)], 1100,1040(C-O), 735,690(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-), 745[O-C-O (α-ανωμερές)]

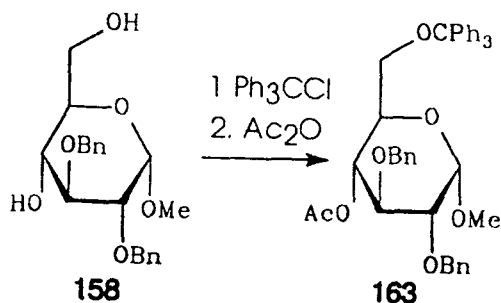


ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-2,3-δι-Ο-βενζυλο-4-Ο-ακετυλο-6-Ο-τριφαινυλομεθυλο-α-D-γλυκοπυρανοζίτης

No E : 163	M.T : C <sub>42</sub> H <sub>42</sub> O <sub>7</sub>
M.B : 658	Απόδοση : 60%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

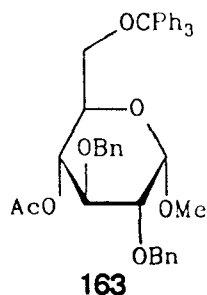


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
158	374	2.67	1	-
Φ <sub>3</sub> CCl	278.5	2.93	0.818	-
Ac <sub>2</sub> O	102	52.9	-	5
διαλύτης πυριδίνη	-	-	-	10

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Σε 10ml άνυδρη πυριδίνη διαλύονται 1g του 158 και 0.818g τριτυλοχλωριδίου. Μετά από ανάδευση επί 48hr σε θερμοκρασία περιβάλλοντος στο μίγμα της αντίδρασης προστίθενται 5ml οξικού ανυδρίτη και η ανάδευση συνεχίζεται για άλλες 24hr. Στη συνέχεια στο μίγμα της αντίδρασης προστίθενται 5ml κορ.δ.NaHCO<sub>3</sub> και το μίγμα αναδεύεται για άλλες 2hr. Στη συνέχεια εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση στο 1/3 του αρχικού του όγκου και το υπόλειμμα ρίχνεται σε μίγμα νερού-πάγου. Σχηματίζεται στερεό το οποίο λαμβάνεται με διήθηση, διαλύεται σε διχλωρομεθάνιο και πλένεται διαδοχικά με κορ.δ.KHSO<sub>4</sub>, κορ.δ.NaHCO<sub>3</sub> και νερό. Η οργανική στοιβάδα ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και εξατμίζεται μέχρι ξηρού οπότε προκύπτει λευκό στερεό που με τη βοήθεια διχλωρομεθανίου μεταφέρεται στη κορυφή στήλης silica-gel. Η έκλουση γίνεται με οξικό αιθυλεστέρα:εξάνιο 1:3 και η ουσία με Rf=0.49 συλλέγεται (1.05g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:**

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 1	0.49	κίτρινη που μαυρίζει με θέρμανση με θειϊκό οξύ
	Hex 3		

σ.τ. : 110-115 °C

Στοιχειακή ανάλυση

Θεωρητικά για C<sub>42</sub>H<sub>42</sub>O<sub>7</sub> : C 76.59, H 6.38

Ευρεθέν : C 76.58, H 6.39

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

I.R.(cm<sup>-1</sup>) : 3080-3020[=C-H(Ar)], 29700,2925,2845(C-H), 1740[-CO-(Ac)],  
1600,1490[C=C(Ar)], 1100,1040(C-O), 735,690(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-), 745[O-C-O (α-ανωμερές)]

<sup>1</sup>H N.M.R. 400MHz, CDCl<sub>3</sub>,

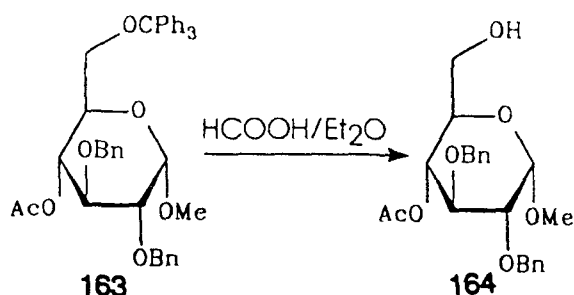
δ: 4.69(d, 1H, J<sub>1,2</sub>=3.6, H<sub>1</sub>), 3.61(dd, 1H, J<sub>2,3</sub>=9.6, H<sub>2</sub>), 3.87(dd, 1H, J<sub>3,4</sub>=9.4, H<sub>3</sub>),  
4.909(dd, 1H, J<sub>4,5</sub>=10.3, H<sub>4</sub>), 3.804(ddd, 1H, J<sub>5,6</sub>=5.4, J<sub>5,6'</sub>=2.9, H<sub>5</sub>), 3.071(m, 2H, H<sub>6</sub>),  
3.485(s, 3H, -OMe), 4.608(ABq, 2H, J'<sub>gem</sub>=11.6, -CH<sub>2</sub>'-), 4.675(ABq, 2H, J''<sub>gem</sub>=12.1, -  
CH<sub>2</sub>''-), 1.607(s, 3H, -OAc), 7.300(m, 25H, Ph)

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-2,3-δι-Ο-βενζυλο-4-Ο-ακετυλο-α-D-γλυκοπυρανοζιτης

No E : 164	M.T : C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> O <sub>7</sub>
M.B : 416	Απόδοση : 85%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

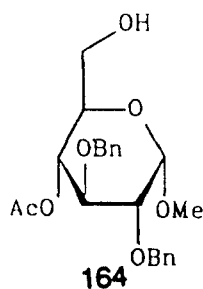


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
163	658	0.65	0.4	-
HCOOH 98-100%	46	79.5	-	3
αιθέρας	-	-	-	3

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Σε 6ml μίγματος αιθέρα/μυρμηκικού οξέος 98-100% (1:1) διαλύονται 0.4g του 163 και το διάλυμα αναδεύεται επί 30min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Προστίθεται αιθέρας και το διάλυμα πλένεται με νερό, κορ. δ. NaHCO<sub>3</sub> και εκ νέου με νερό. Η οργανική φάση ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση μέχρι ξηρού. Το υπόλειμμα χρωματογραφείται σε στήλη silica-gel με οξικό αιθυλεστέρα/εξάνιο 3:4. Τα κλάσματα που περιέχουν ουσία με Rf=0.12 ενώνονται και εξατμίζονται μέχρι ξηρού. Προκύπτει λευκό στερεό (0.21g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:** Η αντίδραση παρακολουθείται από Χ.Λ.Σ. και το τέλος της επιλέγεται σε σχέση με την ποσότητα του φορμικού εστέρα που έχει σχηματιστεί και που αποτελεί άχρηστο παραπροϊόν.

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 3	0.12	μαύρη με θέρμανση με θειικό οξύ
	Hex 4		

σ.τ. : 97-99 °C

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

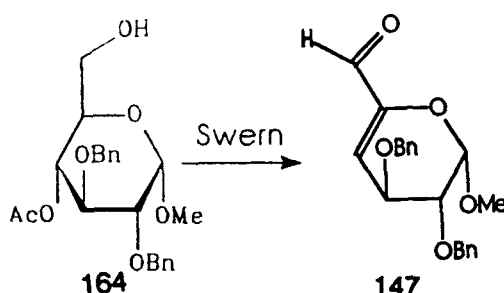
I.R.(cm<sup>-1</sup>) : 3470 [-OH (ευρεία)], 3080-3020[=C-H(Ar)], 2970,2920,2845(C-H), 1740[-CO-(Ac)], 1600,1490[C=C(Ar)], 1100,1040(C-O), 735,690(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-), 745[O-C-O (α-ανωμερές)]

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-2,3-δι-Ο-βενζυλο-4-δεοξυ-α-D-ξυλο-εξ-4-ενο-πυρανοζιτο-5-αλη

No E : 147	M.T : C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub>
M.B : 354	Απόδοση : 70%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

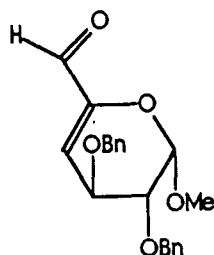


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
164	416	2.4	1	-
DMSO	78	4.8	-	0.34
οξαλυλο-χλωριδιο	126.9	2.4	-	0.23
Et <sub>3</sub> N	101	2.8	-	0.39
διαλύτης CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-	-	-	21.6

**ΜΕΘΟΔΟΣ :**

Διάλυμα άνυδρου DMSO (2.0eqs) σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (4ml/mmol) προστίθεται στάγδην σε παγωμένο (-78 °C) διάλυμα οξαλυλο-χλωριδίου σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (4ml/mmol) κάτω από άζωτο. Το μίγμα αναδεύεται για 15min στους -78 °C και προστίθεται στάγδην διάλυμα του 164 σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (5ml/mmol). Ακολουθεί ανάδευση για άλλα 20-30min και προστίθεται στάγδην τριαιθυλαμίνη (2.5eqs). Αφήνεται το μίγμα να έρθει σε θερμοκρασία δωματίου και εκχυλίζεται με κορ.δ.NaHCO<sub>3</sub>. Ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση (0.58g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:**

ΠΡΟΙΟΝ

147

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 1	0.74	μαύρη με θέρμανση με θειϊκό οξύ
	Hex 3		

Στοιχειακή ανάλυσηΘεωρητικά για C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub> : C 71.18, H 6.50

Ευρεθέν : C 71.20, H 6.60

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

I.R.(cm<sup>-1</sup>) : 3080-3020[=C-H(Ar)], 2990,2930,2820(C-H), 1700 (-CHO συζυγιακή), 1640 (C=C), 1600,1490[C=C(Ar)], 1100,1040(C-O), 755,695(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-), 745[O-C-O (α-ανωμερές)]

<sup>1</sup>H N.M.R. 300MHz, CDCl<sub>3</sub>, (βλ.φάσμα παράρτημα)

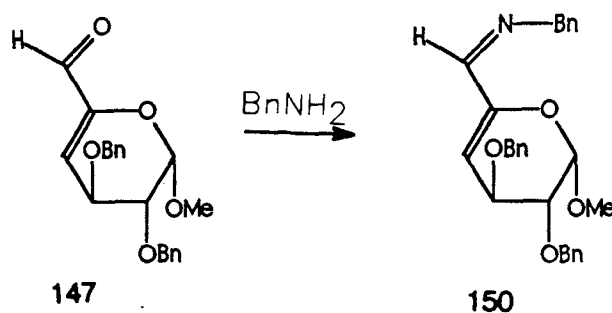
δ: 4.95(d, 1H, J<sub>1,2</sub>=2.1, H<sub>1</sub>), 3.81(dd, 1H, J<sub>2,3</sub>=8.1, H<sub>2</sub>), 4.51(dd, 1H, J<sub>3,4</sub>=2.4, H<sub>3</sub>), 5.88(d, 1H, H<sub>4</sub>), 9.20(s, 1H, -CHO), 3.50(s, 3H, -OMe), 4.71(ABq, 2H, J' gem=12.0, -CH<sub>2</sub>'-), 4.81(ABq, 2H, J'' gem=12.9, -CH<sub>2</sub>''-), 7.30(m, 10H, Ph)

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

*N*-(1-*O*-μεθυλο-2,3 δι-*O*-βενζυλο-4-δεοξυ- $\alpha$ -D-ξυλο-εξ-4-ενο-πυρανοζ-6-υλο)-βενζυλιμίνη

No E : 150	M.T : C <sub>28</sub> H <sub>29</sub> O <sub>4</sub> N
M.B : 443	Απόδοση : 80%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

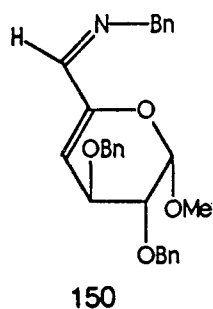


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
147	354	1.13	0.4	-
βενζυλαμίνη	107	1.15	-	0.12
διαλύτης THF	-	-	-	5

**ΜΕΘΟΔΟΣ :**

Σε 5ml τετραϊδροφουρανίου διαλύονται 0.4g του 147 και το μίγμα ψύχεται στους -5 °C και προστίθεται στάγδην 0.12ml βενζυλαμίνης. Το μίγμα αναδεύεται για 15λεπ. στους 0°C. Στη συνέχεια πλένεται με νερό και κορ.δ.NaCl και η οργανική φάση ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση μέχρι ξηρού (0.42g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ :** Στη Χ.Λ.Σ. δεν παρατηρείται καμμία αλλαγή κατά τη διάρκεια της αντίδρασης και το προϊόν ταυτοποιείται μόνο με N.M.R.

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 1	0.74	μαύρη με θέρμανση με θειϊκό οξύ
	Hex 3		

Στοιχειακή ανάλυση

Θεωρητικά για  $C_{28}H_{29}O_4N$ : C 75.84, H 6.54, N 3.16

Ευρεθέν : C 75.09, H 6.48, N 3.09

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

I.R. ( $cm^{-1}$ ): 3080-3020 [=C-H(Ar)], 2990, 2930, 2820 (C-H), 1650 (C=C), 1600, 1490 [C=C(Ar)], 1110, 1040 (C-O), 740, 700 ( $C_6H_5^-$ ), 755 [O-C-O (α-ανωμερές)]

$^1H$  N.M.R. 300MHz,  $CDCl_3$ , (βλ. φάσμα παράρτημα)

δ: 4.98(d, 1H,  $J_{1,2}=2.7$ ,  $H_1$ ), 3.84(dd, 1H,  $J_{2,3}=8.1$ ,  $H_2$ ), 4.48(dd, 1H,  $J_{3,4}=2.25$ ,  $H_3$ ), 5.40(d, 1H,  $H_4$ ), 3.50(s, 3H, -OMe), 4.71(ABq, 2H,  $-CH_2^-$ ), 4.81(ABq, 2H,  $-CH_2''^-$ ), 7.30(m, 15H, Ph), 7.65(s, 1H, HC=N-)

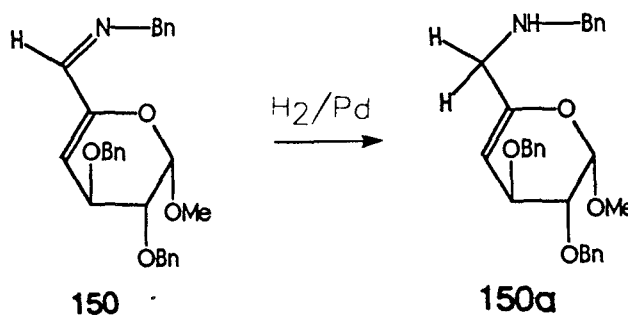


ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-2,3 δι-Ο-βενζυλο-4,6-δι-δεοξυ-6-βενζυλαμινο-α-D-ξυλο-εξ-4-ενο-πυρανοζίτης

No E : 150a	M.T : C <sub>28</sub> H <sub>31</sub> O <sub>4</sub> N
M.B : 445	Απόδοση : 22%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

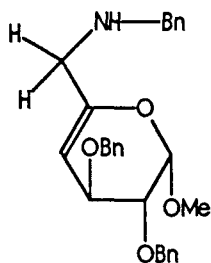


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
150	443	0.903	0.4	-
10% Pd/C	-	-	0.04	-
διαλύτης : οξ. αιθυλεστ.	-	-	-	10

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Σε 10ml οξικού αιθυλεστέρα διαλύονται 0.4g του 150 και προστίθεται 0.04g 10% Pd/C και το μίγμα υδρογονώνεται υπό ατμοσφαιρική πίεση για 5hr. σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στη συνέχεια διηθείται υπό celite έτσι ώστε να απομακρυνθεί ο καταλύτης και συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση μέχρι ξηρού. Το υπόλειμμα χρωματογραφείται με silica gel και διαλύτη EtOAc:Hex 3:1.

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:** Στη Χ.Λ.Σ. παρατηρούνται δύο κηλίδες που διαχωρίζονται. Η κηλίδα με R<sub>f</sub>=0.39 είναι η ένωση όπου ο ενδοκυκλικός διπλός δεσμός δεν έχει υδρογονωθεί όπως διαπιστώνεται με το <sup>1</sup>H N.M.R.

ΠΡΟΙΟΝ

150α

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 3	0.39	μαύρη με θέρμανση με θειϊκό οξύ
	Hex 1		

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

I.R.(cm<sup>-1</sup>) : 3080-3020[=C-H(Ar)], 2990,2930,2820(C-H), 1655(C=C), 1600,1490[C=C(Ar)], 1110,1040(C-O), 740,700(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-), 755[O-C-O (α-ανωμερές)]

<sup>1</sup>H N.M.R. 500MHz, CDCl<sub>3</sub>, (βλ.φάσμα παράρτημα)

δ: 4.83(d, 1H, J<sub>1,2</sub>=3, H<sub>1</sub>), 4.2(dd, 1H, J<sub>2,3</sub>=5, H<sub>2</sub>), 4.92(d, 1H, J<sub>3,4</sub>=2.5, H<sub>4</sub>), 3.22(dd, 2H, J<sub>gem</sub>=15.5, H<sub>6,6'</sub>), 3.52(s, 3H, -OMe), 4.77(ABq, 2H, -CH<sub>2</sub>'-), 4.8(ABq, 2H, -CH<sub>2</sub>''-), 3.77[ευρεία, 2H, -CH<sub>2</sub>-(-NH-Bn)], 7.35(m, 15H, Ph), 2.2(s, 1H, -NH-)

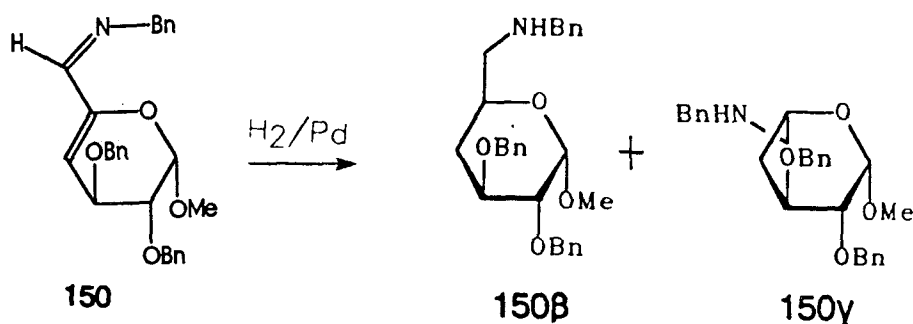
## ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ

=====

Μεθυλο-2,3 δι-Ο-βενζυλο-4,6-δι-δεοξυ-6-βενζυλαμινο-β-L-ιδοπυρανοζίτης 150γ και Μεθυλο-2,3 δι-Ο-βενζυλο-4,6-δι-δεοξυ-6-βενζυλαμινο-α-D-γλυκοπυρανοζίτης 150β

No E	:150β, 150γ	M.T	: C <sub>28</sub> H <sub>33</sub> O <sub>4</sub> N
M.B	: 447	Απόδοση	: 22%

## ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ

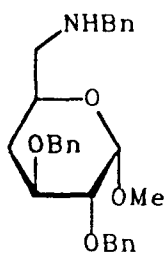


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
150	443	0.903	0.4	-
10% Pd/C	-	-	0.04	-
διαλύτης :οξ.αιθυλεστ.	-	-	-	10

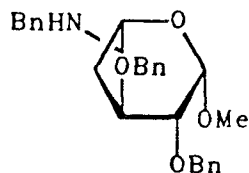
## ΜΕΘΟΔΟΣ:

Σε 10ml οξικού αιθυλεστέρα διαλύονται 0.4g του 150 και προστίθεται 0.04g 10% Pd/C και το μίγμα υδρογώνεται υπό ατμοσφαιρική πίεση για 5hr. σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στη συνέχεια διηθείται υπό celite έτσι ώστε να απομακρυνθεί ο καταλύτης και συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση μέχρι ξηρού. Το υπόλειμμα χρωματογραφείται με silica gel και διαλύτη EtOAc:Hex 3:1.

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ: Στη Χ.Λ.Σ. παρατηρούνται δύο κηλίδες που διαχωρίζονται. Η χαμηλότερη όμως κηλίδα με Rf=0.375 είναι μίγμα των D και L επιμερών όπως διαπιστώνεται με το <sup>1</sup>H N.M.R.

ΠΡΟΙΟΝ

150β



150γ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 3	0.37	μαύρη με θέρμανση με θειϊκό οξύ
	Hex 1		

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

I.R.(cm<sup>-1</sup>) : 3080-3020[=C-H(Ar)], 2990,2930,2820(C-H), 1600,1490[C=C(Ar)], 1110,1040(C-O), 740,700(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-)

<sup>1</sup>H N.M.R. 500MHz, CDCl<sub>3</sub>, του 150γ (βλ.φάσμα παράρτημα)

δ: 4.64(d, 1H, J<sub>1,2</sub>=3.5, H<sub>1</sub>), 3.45(dd, 1H, J<sub>2,3</sub>=6, H<sub>2</sub>), 1.80(ddd, 1H, J<sub>3,4</sub>=11.5, J<sub>4,5</sub>=5, J<sub>gem</sub>=14, H<sub>4ax</sub>), 1.60(ddd, 1H, J<sub>3,4</sub>=2, J<sub>4,5</sub>=3, H<sub>4eq</sub>), 2.85(dd, 2H, H<sub>6,6'</sub>), 3.53(s, 3H, -OMe), 4.84(ABq, 2H, -CH<sub>2</sub>'-), 4.70(ABq, 2H, -CH<sub>2</sub>''-), 7.31(m, 15H, Ph), 1.84(ευρεία, 1H, -NH-)

<sup>1</sup>H N.M.R. 500MHz, CDCl<sub>3</sub>, του 150β

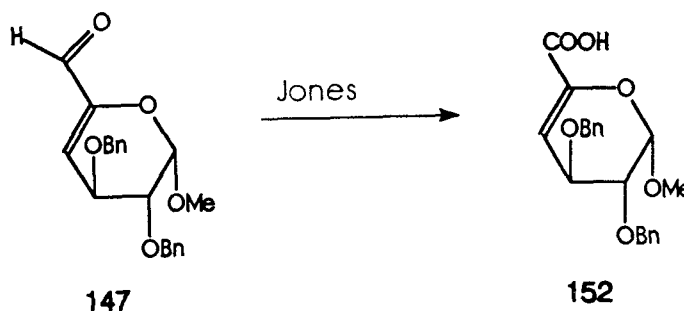
1.44(ddd, 1H, J<sub>3,4</sub>=12.0, J<sub>4,5</sub>=10, J<sub>gem</sub>=12, H<sub>4ax</sub>), 2.03(ddd, 1H, J<sub>3,4</sub>=5, J<sub>4,5</sub>=5, H<sub>4eq</sub>)

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

1-Ο-μεθυλο-2,3-δι-Ο-βενζυλο-4-δεοξυ-α-D-ξυλο-εξ-4-ενο-πυρανοζιτο-ουρονικό οξύ

No E : 152	M.T : C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>6</sub>
M.B : 370	Απόδοση : 90%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

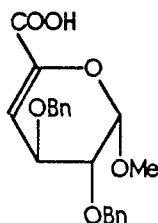


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
147	354	1.13	0.4	-
αντιδραστήριο Jones	-	-	-	4
διαλύτης ακετόνη	-	-	-	20

**ΜΕΘΟΔΟΣ :**

Σε 20ml ακετόνης διαλύονται 0.4g του 147 και το διάλυμα ψύχεται στους 0 °C. Στη συνέχεια προστίθεται σταγόδην 4ml αντιδραστήριου Jones και το μίγμα αναδεύεται για 1hr σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Κατόπιν το μίγμα μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη και η οργανική φάση πλένεται με νερό, κορ. δ. NaHCO<sub>3</sub> και εκ νέου με νερό, η δε υδατική δύο φορές με διχλωρομεθάνιο. Η οργανική φάση ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση μέχρι ξηρού (0.4g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:** Κατά την εκχύλιση το pH του διαλύματος δεν πρέπει να γίνει αλκαλικό, γιατί τότε η ουσία βρίσκεται στην υδατική φάση.

ΠΡΟΙΟΝ

152

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 4	0.34	μαύρη με θέρμανση με θειϊκό οξύ
	MeOH 1		

Στοιχειακή ανάλυση

Θεωρητικά για  $C_{21}H_{22}O_6$  : C 68.10, H 5.94

Ευρεθέν : C 68.24, H 5.72

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

I.R.( $cm^{-1}$ ) : 3470[-OH(ευρεία)], 3080-3020[=C-H(Ar)], 2990,2950,2840(C-H), 1710[-COOH(συζυγ.)], 1640(C=C), 1600,1490[C=C(Ar)], 1110,1035(C-O), 745,700( $C_6H_5^-$ ), 755[O-C-O (α-ανωμερές)]

## ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ

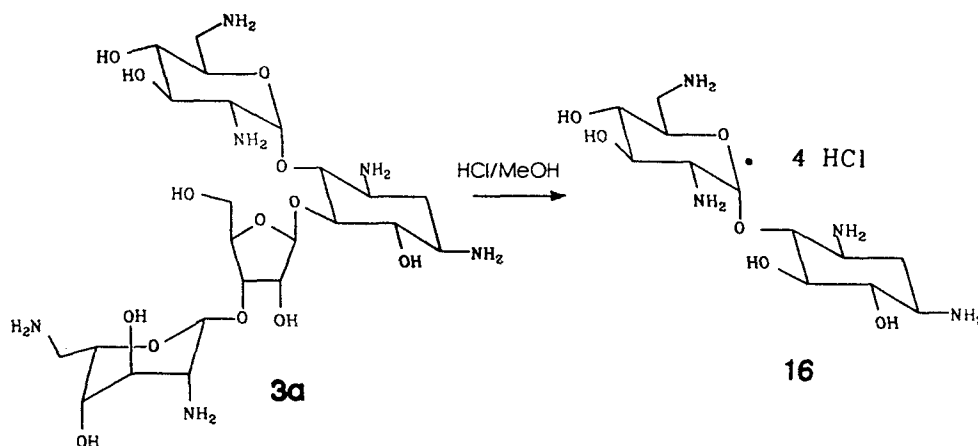
=====

Υδροχλωρικό άλας της *O*-(2-αμινο-2-δεοξυ-6-αμινο-6-δεοξυ- $\alpha$ -D-γλυκοπυρανοζυλο)-  
(1-4)-2-δεοξυ-στρεπταμίνης  
(Τετρα-υδροχλωρική νεαμίνη)

No E	: 16	M.T:	$C_{12}H_{26}N_4O_6 \cdot 4HCl$
M.B	: 468.2	Απόδοση	: 90%

## ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ

-----

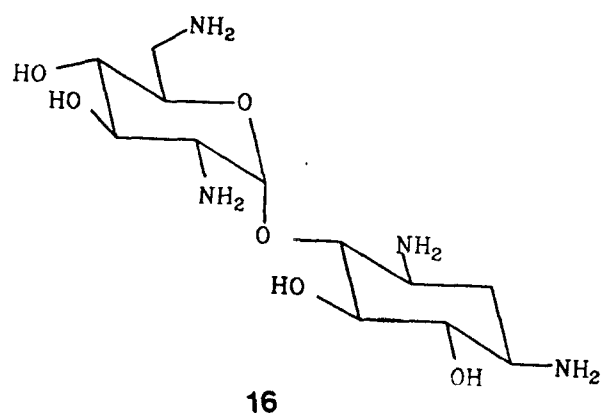


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	moles	g	ml
θειϊκή νεομυκίνη Β (3a)	908.3	0.04	38	-
διάλυμα HCl σε μεθανόλη	36.5	2	73	-
διαλύτης αν. μεθανόλη	-	-	-	4000

**Μ Ε Θ Ο Δ Ο Σ** (Πιστοποίηση πειραματικών δεδομένων Καθ. Μ.Π.Γεωργιάδη) :

Σε 4lt άνυδρης μεθανόλης στην οποία έχουν διαλυθεί 73g αέριου HCl (διάλυμα HCl 0.5N σε μεθανόλη) διασπείρονται 38g θειϊκής νεομυκίνης Β. Το μείγμα βράζεται υπό αποκλεισμό υγρασίας με κάθετο ψυκτήρα περίπου για 18hr, οπότε ομογενοποιείται. Τότε συμπυκνώνεται στο 1/4-1/3 του αρχικού όγκου και μετά από ψύξη, το ίζημα που σχηματίζεται διηθείται και εκπλένεται με άφθονο άνυδρο αιθέρα. Η υδροχλωρική νεαμίνη που συλλέγεται κατ'αυτὸν τον τρόπο (18.6g) στεγνώνεται και φυλάσσεται σε ξηραντήρα κενού γιατί είναι υγροσκοπική. Ανακρυσταλλώνεται από μεθανόλη.

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:**

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOH 5 MeOH 5 H <sub>2</sub> O 2.5 NH <sub>3</sub> 2.5	0.34	μώβ με θέρμανση με βινυδρίνη

σ.τ. : 142 °C

σ.τ.βιβλιογ.<sup>159</sup> : 143 °C[α]<sub>D</sub><sup>25</sup>βιβλιογ.<sup>159</sup> = +69 ° (c 0.8, H<sub>2</sub>O)ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ<sup>13</sup>C N.M.R. 100MHz, CDCl<sub>3</sub>,

δ : 100.54(C-1'), 86.39(C-4), 77.21(C-6), 76.09(C-5), 73.54(C-3'), 72.18(C-5'), 71.56(C-4'),  
55.32(C-2'), 50.50(C-1), 49.40(C-3), 41.56(C-6'), 35.33(C-2)

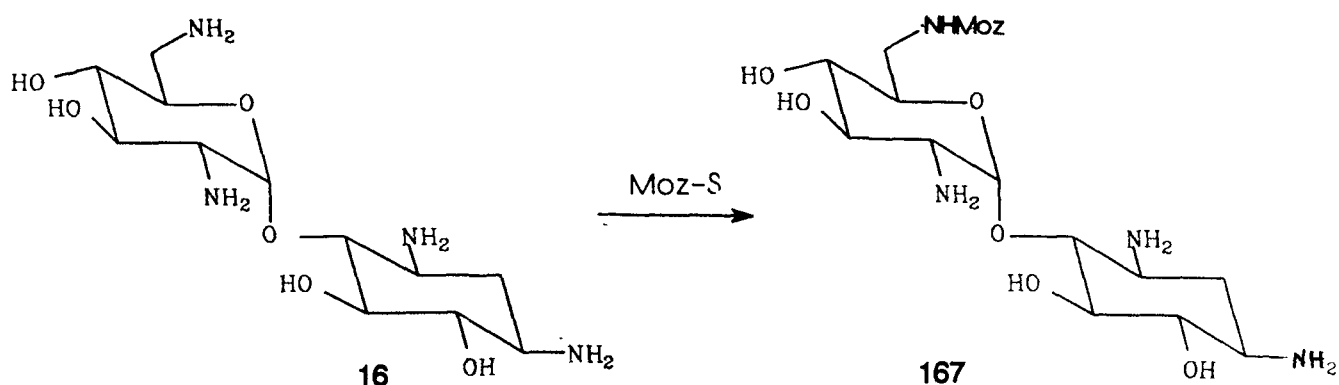


ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

O-(2-αμινο-2-δεοξυ-6-π-μεθοξυβενζυλοξυκαρβονυλαμινο-6-δεοξυ-α-D-γλυκοπυρανοζυλο)-  
(1-4)-2-δεοξυ-στρεπταμίνη  
(6'-N-π-μεθοξυβενζυλοξυκαρβονυλο νεαμίνη)

No E : 167	M.T : C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> N <sub>4</sub> O <sub>9</sub>
M.B : 486.2	Απόδοση : 60%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

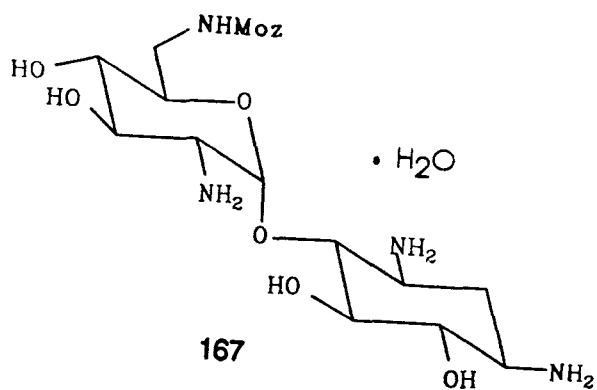


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	moles	g	ml
16	468.2	0.038	18	-
τριαιθυλαμίνη	101.2	0.28	-	40
Moz-S	312	0.038	12	-
διαλύτης: Διοξάνιο 1,4 Νερό	-	-	-	240 80

**Μ Ε Θ Ο Δ Ο Σ** (Πιστοποίηση πειραματικών δεδομένων Καθ. Μ.Π.Γεωργιάδη) :

Σε 80ml αποσταγμένο νερό και 120ml διοξάνιο διαλύονται 18g υδροχλωρικής νεαμίνης 16 και προσθέτονται στους 3<sup>o</sup>C 40ml τριαιθυλαμίνης και μετά από 30min, κατά μικρά ποσά 12g π-μεθοξυ-βενζυλο-S-(4,6-διμεθυλπυριμιδιν-2-υλο)-θειοκαρβονικού εστέρα (Moz- διαλυμένα σε 120ml διοξανίου. Μετά από παραμονή 10hr στους 3 <sup>o</sup>C οι διαλύτες απομακρύνονται υπό ελαττωμένη πίεση. Το υπόλειμμα καθαρίζεται σε στήλη που περιέχει Amberlite CG 50 αμμωνιακού τύπου. Το Amberlite εκλούεται αρχικά με αιθανόλη και στη συνέχεια με αιθανόλη νερό αναλογίας 15:2.5 που περιέχει 2.5% π.NH<sub>3</sub>. Τα κλάσματα που συλλέγονται συμπυκνώνονται μέχρι μικρότερου όγκου και λιοφυλιώνονται (11.21g).

**Π Α Ρ Α Τ Η Ρ Η Σ Ε Ι Σ**: Η ένωση 167 κρυσταλλώνει με ένα μόριο νερού.

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOH 15 H <sub>2</sub> O 2.5 NH <sub>3</sub> 2.5	0.49	μώβ με θέρμανση με βινυδρίνη

σ.τ. :191-193 °C

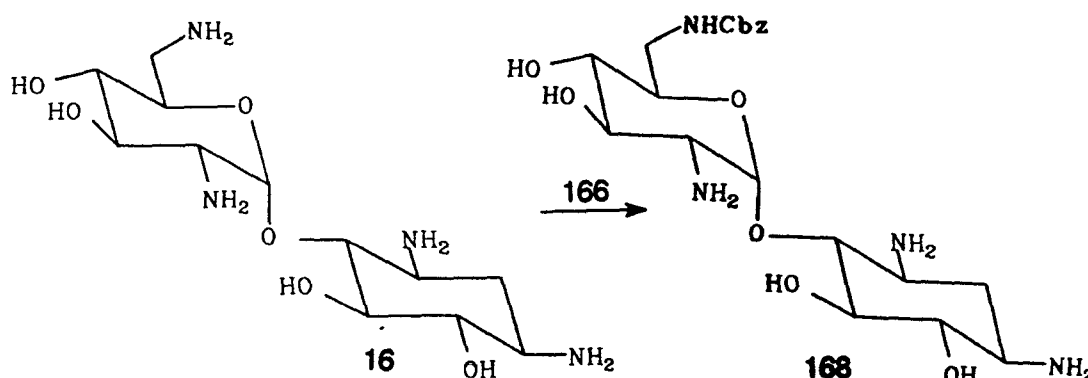
σ.τ.βιβλιογ.<sup>159</sup>:192-193 °CΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑI.R. (cm<sup>-1</sup>) : 3500(-OH), 3400(-NH-), 2900(-CH-), 1700(-NHCOO-), 1190(Ph-O-)

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

O-(2-αμινο-2-δεοξυ-6-βενζυλοξυκαρβονυλαμινο-6-δεοξυ-α-D-γλυκοπυρανοζυλο)-  
(1-4)-2-δεοξυ-στρεπταμίνη  
(6'-N-βενζυλοξυκαρβονυλο-νεαμίνη)

No E : 168	M.T : C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> N <sub>4</sub> O <sub>8</sub>
M.B : 456	Απόδοση : 70%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----



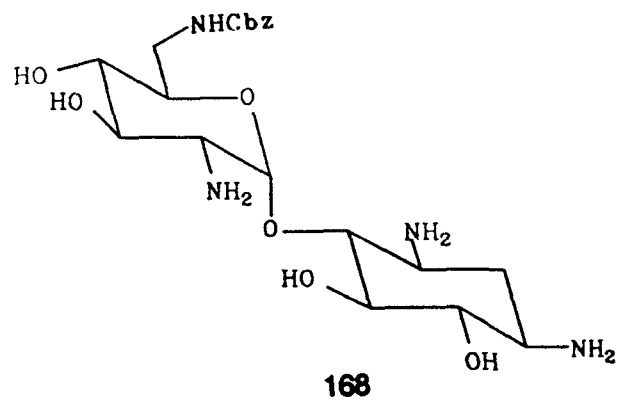
Ε Ν Ω Σ Η	M . B	moles	g	ml
16	468.2	0.038	18	-
τριαιθυλαμίνη	101.2	0.25	-	35
N-βενζυλοξυκαρβονυλοξυ-5-νορβορνεν-2,3-δικαρβοξυιμίδιο (166)	315.2	0.021	6.62	- - -
διαλύτης: Διοξάνιο 1,4 Νερό	- -	- -	- -	180 70

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Σε 245ml διοξάνιο/νερό/τριαιθυλαμίνη 4:2:1 διαλύονται 9g του 16 και το διάλυμα ψύχεται στους 0°C. Στη συνέχεια προστίθεται σταγόνη μέσα σε 15min 6.62g N-βενζυλοξυκαρβονυλοξυ-5-νορβορνεν-2,3-δικαρβοξυιμίδιο 166 διαλυμένα σε 40ml 1,4-διοξάνιο και το μίγμα αναδεύεται για 6hr σε θερμοκρασία δωματίου. Κατόπιν συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Στο υπόλειμμα προστίθεται άνυδρη ακετόνη και το μίγμα αναδεύεται ισχυρά για 10hr. Στη συνέχεια το στερεό διηθείται, αναδιαλύεται σε 250ml νερό, ενώ τυχόν υπόλειμμα διηθείται. Στο διήθημα προστίθεται ίσος όγκος κ.-βουτανόλης και αναδεύεται ισχυρά για 1hr. Διαχωρίζουμε τις φάσεις σε διαχωριστική χράνη και η οργανική στοιβάδα πλένεται με νερό που έχει προκορεσθεί με βουτανόλη, ενώ η υδατική με στοιβάδα με βουτανόλη που έχει προκορεσθεί με νερό. Οι υδατικές στοιβάδες

ενώνονται και εξατμίζονται υπό ελαττωμένη πίεση. Το υπόλειμμα χρωματογραφείται σε στήλη με βασική ρητίνη (Amberlite CG-50  $\text{NH}_4^+$  - 300ml ρητίνης/8ml νεαμίνης), όπως προηγούμενα (σελ.193) οπότε λαμβάνεται καθαρό το προϊόν (12.7g).

ΠΡΟΙΟΝ



	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	η-BuOH 4 AcOH 1 H <sub>2</sub> O 1	0.12	μώβ με θέρμανση με νινυδρίνη

σ.τ. = 198-200 °C

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

FAB-MS  $m/z(M+H)^+ = 457$

I.R. ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3500(-OH), 3400(-NH-), 2900(C-H), 1700(-NHCOO-), 1190(Ph-O-)

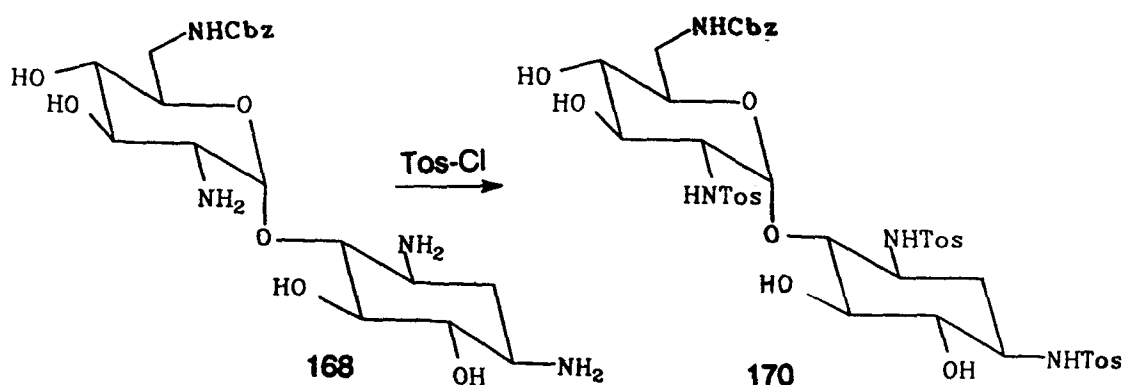
## ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ

=====

*O*-(2-δεοξυ-2-*N*-π-τολουολοσουλφονυλαμινο-6-δεοξυ-6-*N*-βενζυλοξυκαρβονυλαμινο- $\alpha$ -D-γλυκοκυρανοζυλο)-(1-4)-2-δεοξυ-1,3-δι-*N*-π-τολουολοσουλφονυλο-στρεπταμίνη  
(6'-*N*-Cbz-τρι-*N*-τοσυλο-νεαμίνη)

No E	: 170	M.T	: C <sub>41</sub> H <sub>50</sub> N <sub>4</sub> O <sub>14</sub> S <sub>3</sub>
M.B	: 918	Απόδοση	: 80%

## ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ

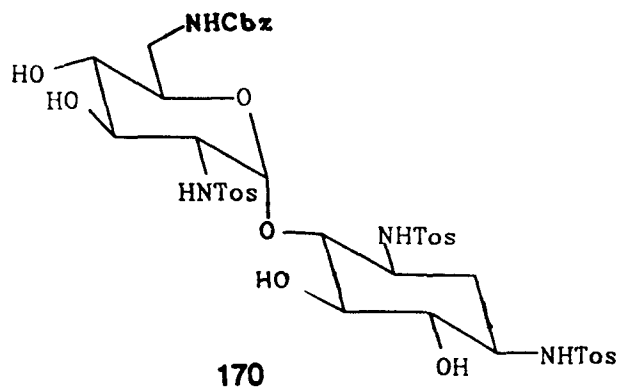


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
168	456	4.386	2	-
π-τολουολοσουλφονυλο- χλωρίδιο	190.6	13.91	2.65	-
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> · H <sub>2</sub> O	124	14.51	1.8	-
διαλύτης: Διοξάνιο 1,4 Νερό	-	-	-	350 150

## ΜΕΘΟΔΟΣ:

Σε 500ml διοξάνιο/νερό 7:3 διαλύονται 2g του 168 και προσθέτουμε 1.6g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O και 2.65g π-τολουολοσουλφονυλο-χλωριδίου. Αναδεύουμε για 10min. και μετράμε το pH του διαλύματος ώστε να είναι αλκαλικό. Αν δεν είναι προσθέτουμε ανθρακικό νάτριο έτσι ώστε να γίνει. Αναδεύουμε για 10hr και στη συνέχεια διηθούμε για να απομακρύνουμε ότι στερεό υπάρχει αδιάλυτο. Το δε διάλυμα το συμπυκνώνουμε μέχρι ξηρού και στο υπόλειμμα προσθέτουμε 500ml νερού οπότε προκύπτει υποκίτρινο στερεό που διηθείται και πλένεται καλά στον ηθμό με νερό. Στεγνώνουμε το στερεό σε ξηραντήρα κενού πάνω από CaCl<sub>2</sub> για 12hr και ζυγίζουμε 3.16g.

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ: Ομοια μέθοδος για τη μετατροπή του 167 στο 169.

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	CHCl <sub>3</sub> 5	0.6	μαύρη με θέρμανση με θειϊκό οξύ
	MeOH 3		

σ.τ. :135-138 °C

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

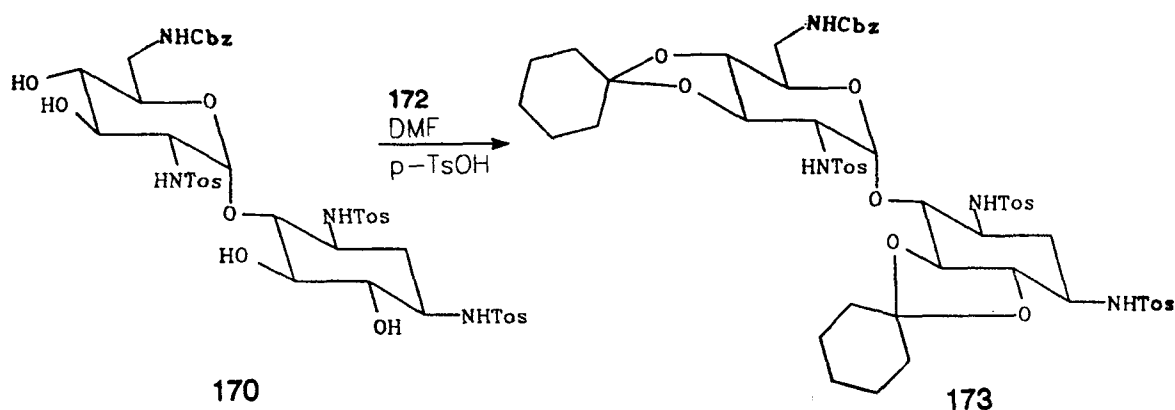
FAB-MS  $m/z(M+H)^+ = 919$

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

*O*-(2-δεοξυ-2-π-τολουολοσουλφονυλαμινο-6-δεοξυ-6-*N*-βενζυλοξυκαρβονυλαμινο-3,4-κυκλοεξυλιδενο- $\alpha$ -D-γλυκοπυρανοζυλο)-  
(1-4)-1,3-δι-*N*-π-τολουολοσουλφονυλο-5,6-*O*-κυκλοεξυλιδενο-2-δεοξυ-στρεπταμίνη  
(6'-*N*-Cbz-1,3,2'-τρι-*N*-τοσυλο-5,6 3',4'-δι-*O*-κυκλοεξυλιδενο-νεαμίνη)

No E : 173	M.T : C <sub>53</sub> H <sub>66</sub> N <sub>4</sub> O <sub>14</sub> S <sub>3</sub>
M.B : 1078	Απόδοση : 60%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----



Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
170	918	1.742	1.6	-
1,1-διμεθοξυ-κυκλοεξανίο (172)	190.6	13.91	-	2.65
π-τολουολο-σουλφονικό οξύ	190.2	0.13	0.025	-
τριαιθυλαμίνη	101	0.11	-	0.016
όξινο ανθρακικό νάτριο	84.01	0.76	0.064	-
διαλύτης: διμεθυλο-φορμαμίδιο	-	-	-	16

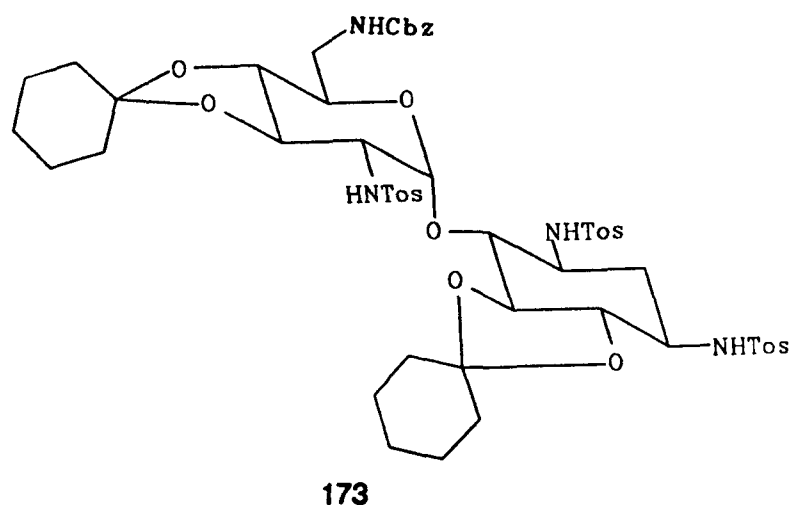
**ΜΕΘΟΔΟΣ :**

Σε 16ml άνυδρου διμεθυλοφορμαμιδίου (υπεράνω CaH<sub>2</sub>) διαλύονται 1.6g του 58, 2.65ml 1,1-διμεθοξυκυκλοεξανίου 172 (πρόσφατα παρασκευασμένης) και 0.025g π-τολουολοσουλφονικού οξέος και το μίγμα αναδεύεται στους 60 °C για 20hr αφού προστεθούν σ'αυτό μοριακά κόσκινα 4A. Στη συνέχεια προσθέτουμε 0.016ml τριαιθυλαμίνης και 0.064g NaHCO<sub>3</sub> και το μίγμα συμπυκνώνεται μέχρι μικρότερου όγκου υπό ελαττωμένη πίεση και το υπόλειμμα τοποθετείται στην κορυφή στήλης με silica gel και

χρωματογραφείται με διαλύτη οξ.αιθυλ./δichλωρομεθάνιο 1:3 και 2% τριαιθυλαμίνη. Τα κλάσματα με  $R_f=0.45$  συλλέγονται και συμπυκνώνονται μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση οπότε προκύπτει 1.1g στερεό.

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ: 1) Οι διαλύτες πρέπει να είναι πολύ καλά στεγνοί και η παραγόμενη μεθανόλη να απομακρύνεται από το μίγμα της αντίδρασης τόσο με τα μοριακά κόσκινα όσο και με συσκευή απόσταξης υπό ελαττωμένη πίεση που θα έχει προσαρμοστεί στην φιάλη της αντίδρασης. 2) Ομοια μέθοδος ακολουθείται και για τη σύνθεση του 175 από το 169.

ΠΡΟΙΟΝ



	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 3 EtOAc 1	0.45	μαύρη με θέρμανση με θειϊκό οξύ

σ.τ. :106-108 °C

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

βλ.φάσμα παράρτημα

I.R. (cm<sup>-1</sup>) : 3055(=CH), 3274(-NH-), 2929(-CH-), 1703(-NHCOO-), 1190(Ph-O-)

<sup>1</sup>H N.M.R.,300MHz,CDCl<sub>3</sub>

δ : 5.63(d, 1H, J=8.4, H<sub>1</sub>'), 2.35-2.40[s, 9H, CH<sub>3</sub>-(Tos)], 7.1-7.8(m, 17H, Ar), 1.2-1.4[m, 20H, -CH<sub>2</sub>-(κυκλοεξ.)]

Από την ολοκλήρωση στην περιοχή με δ=1.2-1.4 μπορούμε και προσδιορίζουμε ότι στο μόριο μας υπάρχουν και οι δύο κυκλοεξυλιδενο-ομάδες

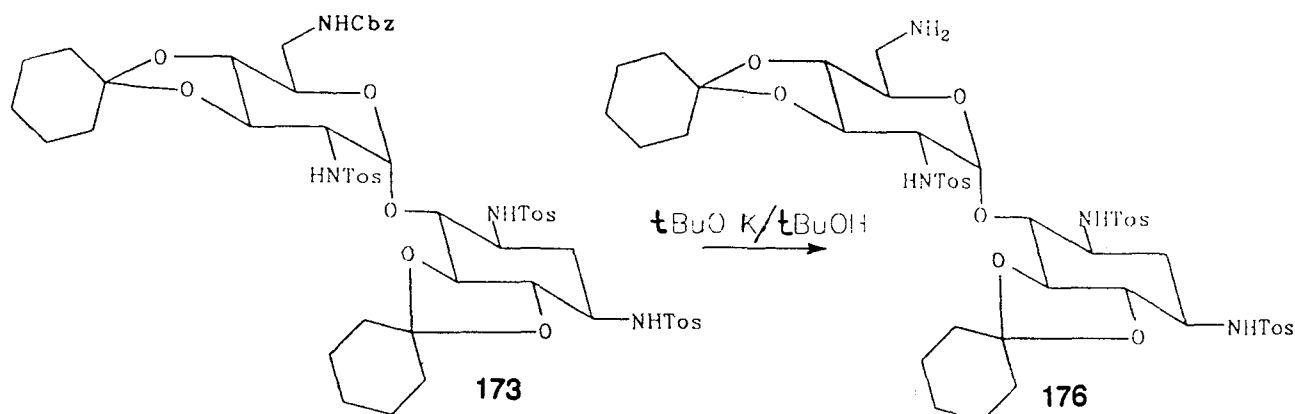


ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

O-(6-δεοξυ-6-αμινο-2-δεοξυ-2-π-τολουολοσουλφονυλαμινο-3,4-κυκλοεξυλιδενο-  
α-D-γλυκοπιρανοζυλο)-  
(1-4)-1,3-δι-N-π-τολουολοσουλφονυλο-5,6-κυκλοεξυλιδενο-2-δεοξυ-στρεπταμίνη  
(1,3,2'-τρι-N-τοσυλο-5,6 3',4'-δι-O-κυκλοεξυλιδενο-νεαμίνη)

No E	: 176	M.T	: C <sub>45</sub> H <sub>60</sub> N <sub>4</sub> O <sub>12</sub> S <sub>3</sub>
M.B	: 944	Απόδοση	: 90%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

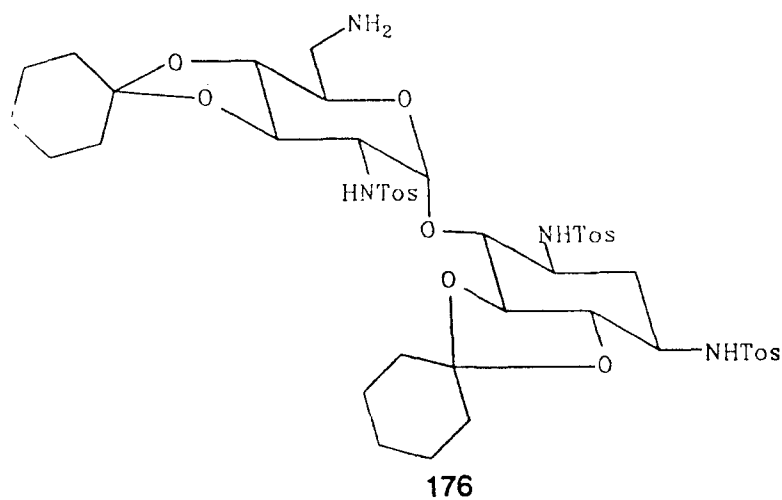


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
173	1078	0.83	0.92	-
τριτοταγές BuOK	122.2	7.52	0.92	-
διαλύτης: τρ. βουτανόλη	-	-	-	27.6
νερό	18	-	-	0.05

**ΜΕΘΟΔΟΣ :**

Σε 27.6ml τριτοταγούς βουτανόλης διαλύονται 0.92g του 173 στους 70°C και προστίθενται 0.92g τριτοταγούς βουτοξυ-καλίου. Αναδεύουμε το μίγμα 1hr στους 70 °C και στη συνέχεια προσθέτουμε 15ml οξ.αιθυλεστέρα και εξουδετερώνουμε με HCl 0.1M (34.5ml/1g αρχ.ουσίας). Στη συνέχεια το μίγμα μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη όπου η οργανική φάση πλένεται δύο φορές με κορ.δ.NaCl, ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και συμπυκνώνεται μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση (0.72g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:** 1) Προσοχή το pH του διαλύματος να είναι ουδέτερο ή ελαφρά αλκαλικό, διαφορετικά σπάνε οι κυκλοεξυλιδενο ομάδες. 2) Ομοια μέθοδος ακολουθείται και για την μετατροπή του 175 στο 176.

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	Hex 2	0.47	μώβ με θέρμανση με βινυδρίνη
	EtOAc 3		
	MeOH 1.5		

σ.τ. :120-123 °C

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

FAB-MS  $m/z(M+H)^+ = 945$ , βλ.φάσμα παράρτημα

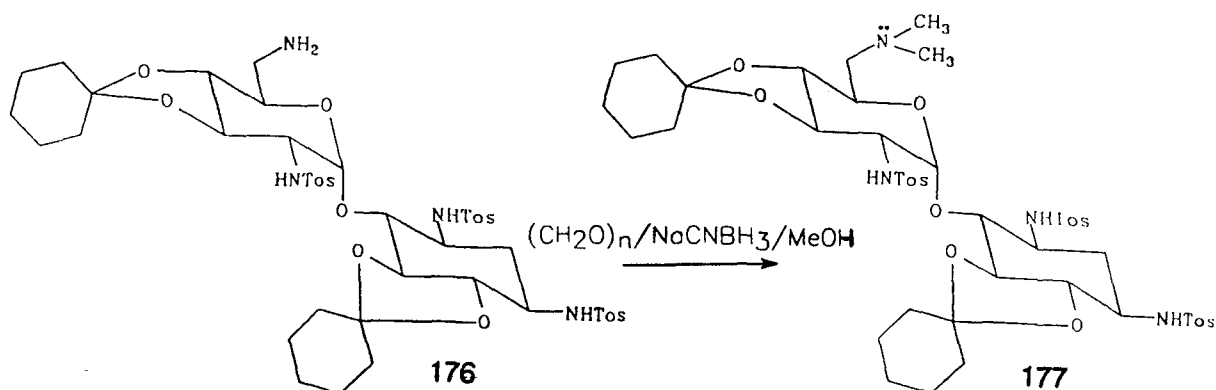
Θραύσματα: 155 ( $CH_3-Ph-SO_2^+$ ), 91( $Ph-CH_2^+$ )

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

*O*-(2-δεοξυ-2-π-τολουολοσουλφονυλαμινο-6-δεοξυ-6-*N,N*-διμεθυλαμινο-3,4-κυκλοεξυλιδενο- $\alpha$ -D-γλυκοκυρανοζυλο)-  
(1-4)-1,3-δι-*N*-π-τολουολοσουλφονυλο-5,6-κυκλοεξυλιδενο-2-δεοξυ-στρεπταμίνη  
(6'-*N,N*-διμεθυλο-1,3,2'-τρι-*N*-τοσυλο-5,6 3',4'-δι-*O*-κυκλοεξυλιδενο-νεαμίνη)

No E : 177	M.T : C <sub>47</sub> H <sub>64</sub> N <sub>4</sub> O <sub>12</sub> S <sub>3</sub>
M.B : 972	Απόδοση : 70%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ (Μέθοδος Α)

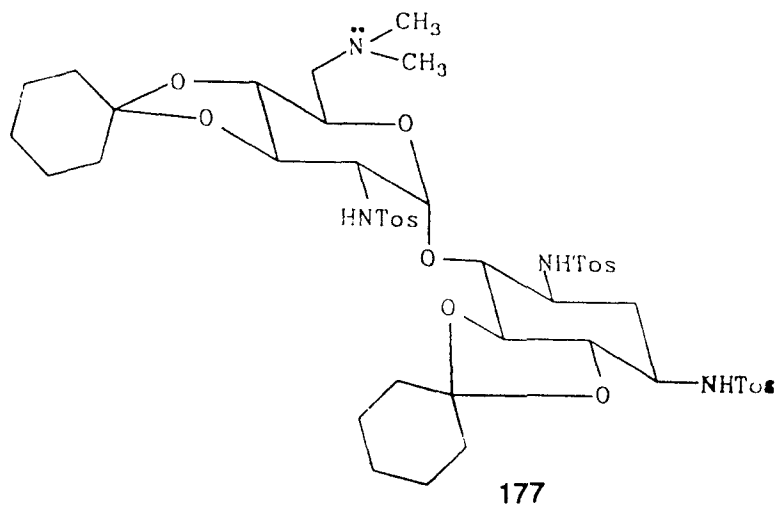


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
176	944	0.35	0.3	-
παραφορμαλδεΐδη	3*30=90	0.35	0.0315	-
NaCNBH <sub>3</sub>	61.9	1.05	0.065	-
διαλύτης: ανυδ.μεθανόλη	-	-	-	20

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Σε 20ml άνυδρη μεθανόλη διαλύονται 0.3g του 176 και προστίθενται 0.0315g παραφορμαλδεΐδης. Το μίγμα βράζεται υπό κάθετο ψυκτήρα έως ότου εξαφανισθεί η κηλίδα του αρχικού προϊόντος σε πλάκα Χ.Λ.Σ. (Rf=0.75 EtOAc:Hex:MeOH 3:2:1). Το διάλυμα αφήνεται να ψυχθεί σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και μετά προστίθενται 0.065g κυανιούχου υδριδίου βορίου-νατρίου (NaCNBH<sub>3</sub>). Το μίγμα αναδεύεται για επιπλέον 0.5hr, η περίσσεια του υδριδίου καταστρέφεται με νερό και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Το υπόλειμμα διαλύεται σε CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, πλένεται με νερό, η οργανική φάση ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και ο διαλύτης απομακρύνεται με απόσταξη υπό ελαττωμένη πίεση (0.21g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:**

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	Hex 2	0.52	Μαύρη με θέρμανση με θειϊκό οξύ
	EtOAc 3		
	MeOH 1		

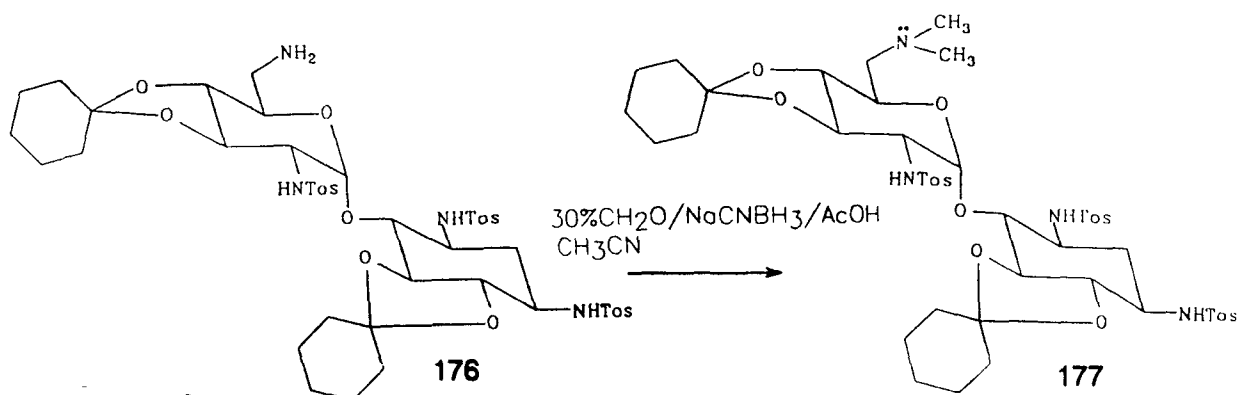
## ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ

=====

*O*-(2-δεοξυ-2-π-τολουολοσουλφονυλαμινο-6-δεοξυ-6-*N,N*-διμεθυλαμινο-3,4-κυκλοεξυλιδενο-  
α-D-γλυκοπιρανοζυλο)-  
(1-4)-1,3-δι-*N*-π-τολουολοσουλφονυλο-5,6-κυκλοεξυλιδενο-2-δεοξυ-στρεπταμίνη  
(6'-*N,N*-διμεθυλο-1,3,2'-τρι-*N*-Τοσυλο-5,6 3',4'-δι-*O*-κυκλοεξυλιδενο-νεαμίνη)

No E	: 177	M.T	: C <sub>47</sub> H <sub>64</sub> N <sub>4</sub> O <sub>12</sub> S <sub>3</sub>
M.B	: 972	Απόδοση	: 70%

## ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ (Μέθοδος Β)



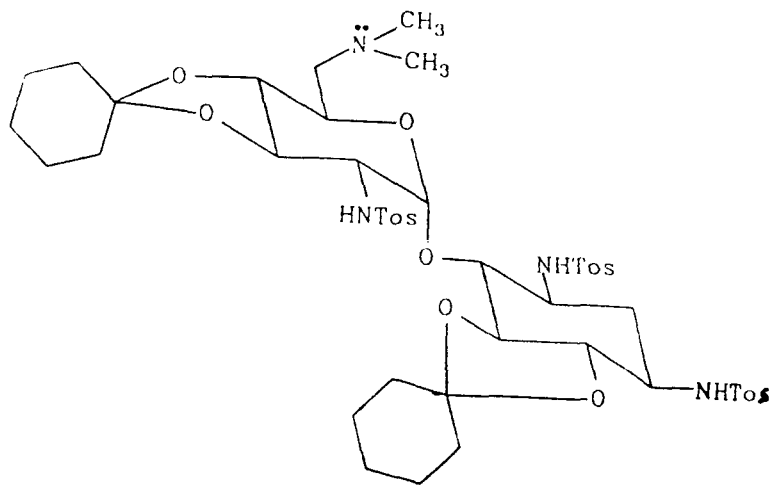
Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
176	944	0.21	0.2	-
30%υδ. διαλ. φορμαλδεΰδης	30	0.35	-	1
NaCNBH <sub>3</sub>	61.9	3.23	0.2	-
παγόμορφο οξικό οξύ	60.05	10.48	-	0.6
διαλύτης:ακετονιτρίλιο	-	-	-	18

## ΜΕΘΟΔΟΣ:

Σε 18ml ακετονιτρίλιου διαλύονται 0.2g του 176 και προστίθενται 1ml υδατικού διαλύματος 30% φορμαλδεΰδης, 0.2g κυανιούχου υδριδίου βορίου-νατρίου (NaCNBH<sub>3</sub>) και στη συνέχεια στάγδην 0.6ml οξικού οξέος. Το διάλυμα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 1hr και η περίσσεια του υδριδίου και του οξικού οξέος καταστρέφεται με κορ.δ.NaHCO<sub>3</sub>. Το διάλυμα συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση και το υπόλειμμα διαλύεται σε οξ.αιθυλεστέρα και πλένεται με νερό δύο φορές, η οργανική φάση ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση (0.14g).

## ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:

ΠΡΟΙΟΝ



177

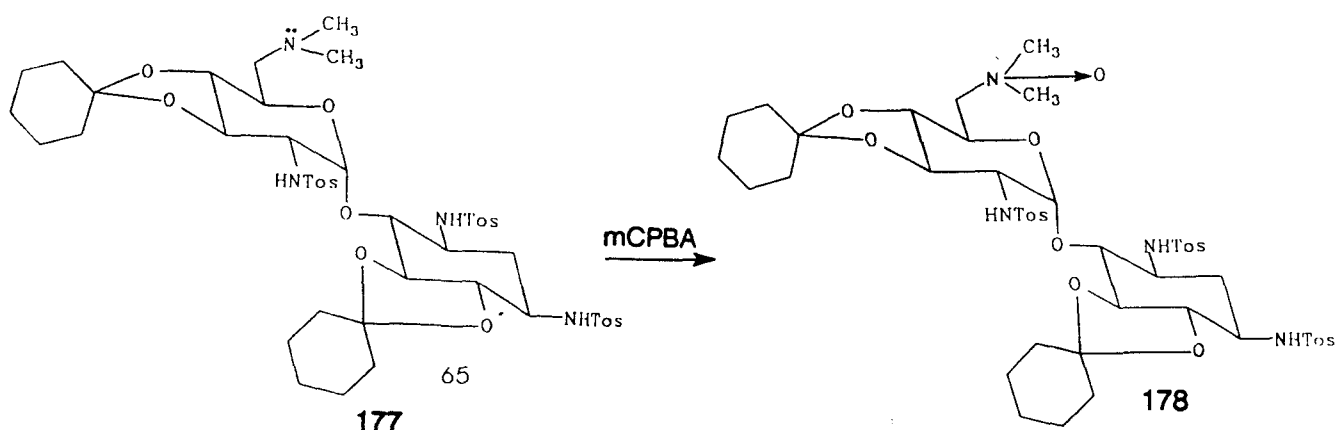
	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	Hex 2	0.52	Μαύρη με θέρμανση με θειϊκό οξύ
	EtOAc 3		
	MeOH 1		

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

*O*-(6-δεοξυ-6-*N,N*-διμεθυλο-αμινοξείδιο-2-δεοξυ-2-π-τολουολοσουλφονυλαμινο-3,4-κυκλοεξυλιδανο- $\alpha$ -D-γλυκοπιρανοζυλο)-(1-4)-1,3-δι-*N*-π-τολουολοσουλφονυλο-5,6-κυκλοεξυλιδανο-2-δεοξυ-στρεπταμίνη (6'-*N,N*-διμεθυλο-*N*-οξείδιο-1,3,2'-τρι-*N*-τοσυλο-5,6 3',4'-δι-*O*-κυκλοεξυλιδανο-νεαμίνης)

No E : 178	M.T : C <sub>47</sub> H <sub>64</sub> N <sub>4</sub> O <sub>13</sub> S <sub>3</sub>
M.B : 988	Απόδοση : 70%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

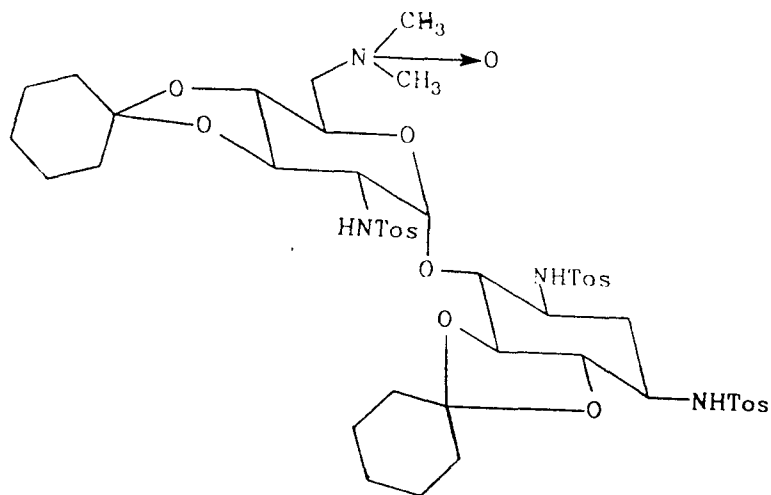


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
177	972	0.42	0.4	-
μ-χλωρο-υπερβενζοϊκό οξύ	172.5	0.46	0.08	-
διαλύτης: χλωροφόρμιο	-	-	-	10

ΜΕΘΟΔΟΣ:

Σε 10ml χλωροφορμίου διαλύονται 0.4g του 177 και 0.08g μ-χλωρουπερβενζοϊκού οξέος και το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 0.5hr. Στη συνέχεια στο μίγμα της αντίδρασης προσθέτονται άλλα 10ml χλωροφορμίου και μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη όπου η οργανική φάση πλένεται διαδοχικά με κορ.δ.NaHCO<sub>3</sub>, κορ.δ.Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> και κορ.δ.NaCl. Η οργανική φάση ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και ο διαλύτης απομακρύνεται με απόσταξη υπό ελαττωμένη πίεση οπότε προκύπτει στερεό το οποίο διαλύεται σε διχλωρομεθάνιο και χρωματογραφείται με διαλύτη έκλουσης CHCl<sub>3</sub>/MeOH 8:1. Τα κλάσματα με Rf=0.3 ενώνονται και συμπυκνώνονται οπότε προκύπτει λευκό στερεό (0.28g).

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:

ΠΡΟΙΟΝ

178

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 2 MeOH 1	0.32	μαύρη με θέρμανση με θειϊκό οξύ

σ.τ. 125-128 °C

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑFAB-MS  $m/z(M+H)^+ = 989$  $^{13}\text{C}$  N.M.R. 100MHz,  $\text{CDCl}_3$ , βλ.φάσμα παράρτημα

$\delta$  : 96.07(C-1'), 79.73(C-4), 78.50(C-6), 76.12(C-5), 75.421(C-3'), 73.97(C-5'), 67.34(C-4'),  
56.71(C-2'), 53.69(C-1), 51.218(C-3), 60.25( $\underline{\text{C}}\text{H}_3^-$ ), 60.66( $\underline{\text{C}}\text{H}_3^-$ )

 $^1\text{H}$  N.M.R., 300MHz,  $\text{CDCl}_3$ , βλ.φάσμα παράρτημα

$\delta$  : 5.5(d, 1H,  $J=8.7$ ,  $\text{H}_{1'}$ ), 1.9(m, 1H,  $\text{H}_{2\text{eq}}$ ), 2.3-2.5[s, 9H,  $\text{CH}_3$ -(Tos)], 3.25(s, 3H,  $\text{CH}_3^-$ ),  
3.32(s, 3H,  $\text{CH}_3^-$ ), 7.1-7.9(m, 12H, Ar), 1.2-1.6[m, 20H,  $-\text{CH}_2$ -(κυκλοεξ.)]

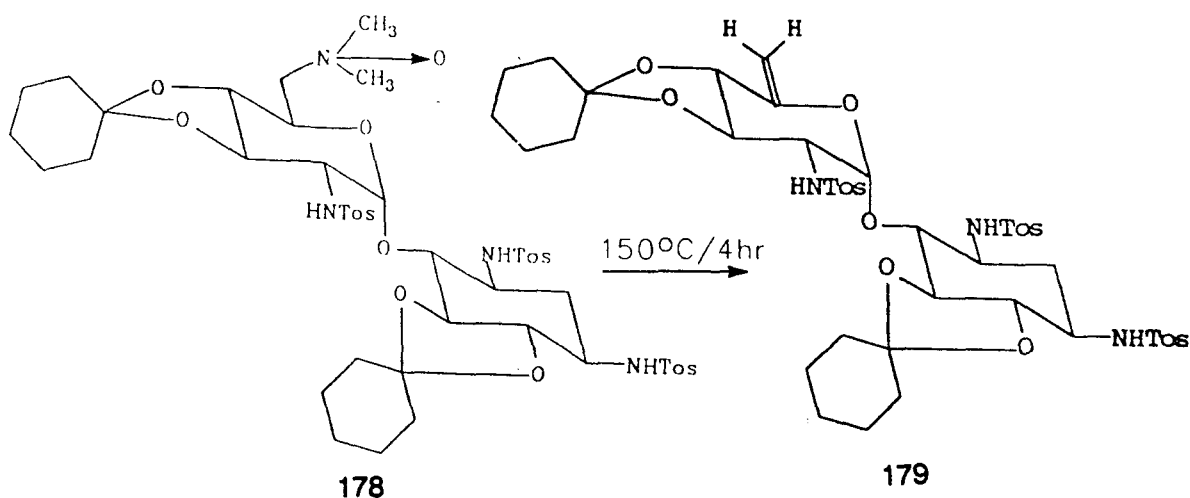


ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

*O*-(2-δεοξυ-2-π-τολουολοσουλφονυλαμινο-3,4-κυκλοεξυλιδενο-6-δεοξυ-5-ενο-  
α-D-γλυκοπυρανοζυλο)-(1-4)-1,3-δι-*N*-π-τολουολοσουλφονυλο-5,6-κυκλοεξυλιδενο-  
2-δεοξυ-στρεπταμίνη  
(6'δεαμινο-5-ενο-1,3,2'-τρι-*N*-τοσυλο-5,6 3',4'-δι-*O*-κυκλοεξυλιδενο-νεαμίνη)

No E	: 179	M.T	: C <sub>45</sub> H <sub>57</sub> N <sub>3</sub> O <sub>12</sub> S <sub>3</sub>
M.B	: 927	Απόδοση	: 70%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ

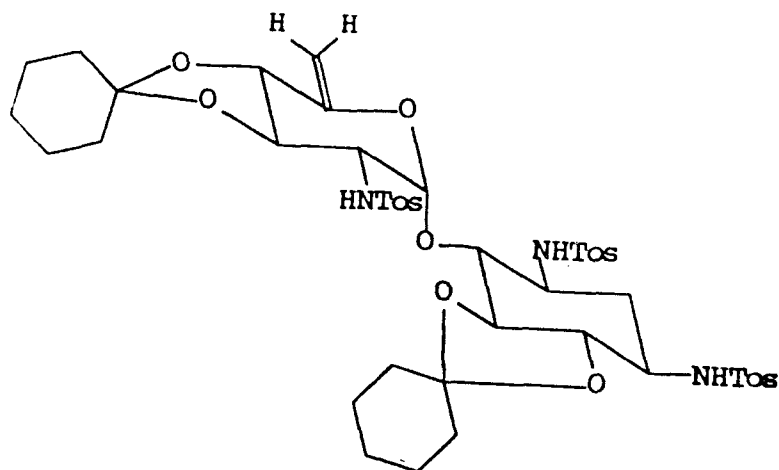


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
178	972	0.308	0.3	-

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούμε 0.3g του 178. Η φιάλη συνδέεται με μικροαποστακτική συσκευή και στην άκρη της συνδέεται υδραντλία μέσω γυάλινης παγίδας που περιέχει πεντοξείδιο του φωσφόρου. Δημιουργείται κενό μέσα στη φιάλη και μετά τοποθετείται σε ελαιόλουτρο με θερμοκρασία 150 °C. Σταδιακά το λευκό στερεό μετατρέπεται σε κοκκινωπό λάδι και μετά από 4hr με πλάκα Χ.Λ.Σ. διαπιστώνεται ότι η αρχική ουσία έχει καταναλωθεί, ενώ μια νέα κηλίδα εμφανίζεται σε R<sub>f</sub>=0.3 (EtOAc/MeOH 2:1). Το σύστημα ψύχεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ξεπλένεται με διχλωρομεθάνιο και το διάλυμα που προκύπτει διηθείται μέσω μικρής στήλης silica-gel και συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση (0.2g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:**

ΠΡΟΙΟΝ

179

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 2 MeOH 1	0.30	μαύρη με θέρμανση με θειϊκό οξύ

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

$^{13}\text{C}$  N.M.R. 100MHz,  $\text{CDCl}_3$ , βλ.φάσμα παράρτημα

$\delta$  : 96.53(C-1'), 79.92(C-4), 78.45(C-6), 76.23(C-5), 75.56(C-3'), 71.98(C-4'), 56.76(C-2'),  
53.85(C-1), 51.32(C-3), 60.69(=C $\text{H}_2$ )

$^1\text{H}$  N.M.R., 300MHz,  $\text{CDCl}_3$ , βλ.φάσμα παράρτημα

$\delta$  : 2.35-2.40[s, 9H,  $\text{CH}_3$ -(Tos)], 7.2-7.8(m, 17H, Ar), 1.2-1.4[m, 20H, - $\text{CH}_2$ -(κυκλοεξ.)]

## ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ

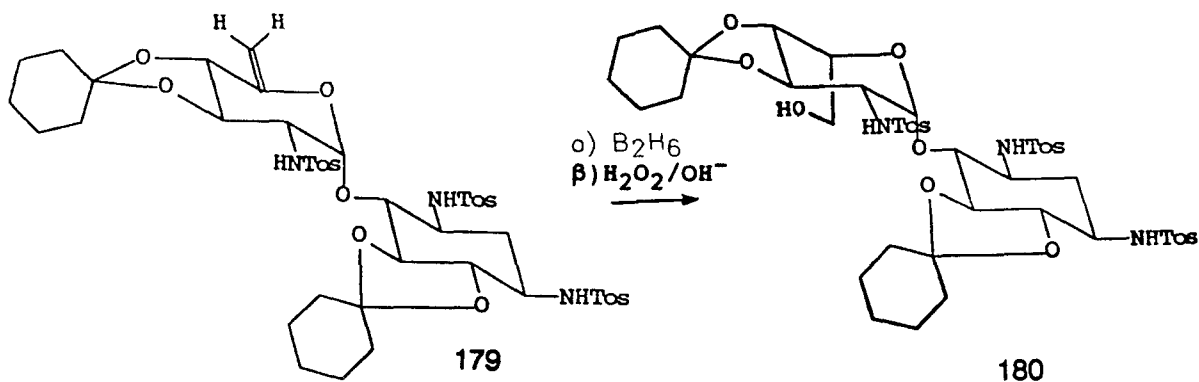
=====

*O*-(2-δεοξυ-2-π-τολουολοσουλφονυλο-3,4-κυκλοεξυλιδανο-β-L-ιδοπυρανοζυλο)-  
(1-4)-1,3-δι-*N*-π-τολουολοσουλφονυλο-5,6-κυκλοεξυλιδανο-2-δεοξυ-στρεπταμίνη  
(1,3,2'-τρι-*N*-τοσυλο-5,6 3',4'-δι-*O*-κυκλοεξυλιδανο-επι-παρομαμίνη)

No E	: 180	M.T	: C <sub>45</sub> H <sub>59</sub> N <sub>3</sub> O <sub>13</sub> S <sub>3</sub>
M.B	: 945	Απόδοση	: 15%

## ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ

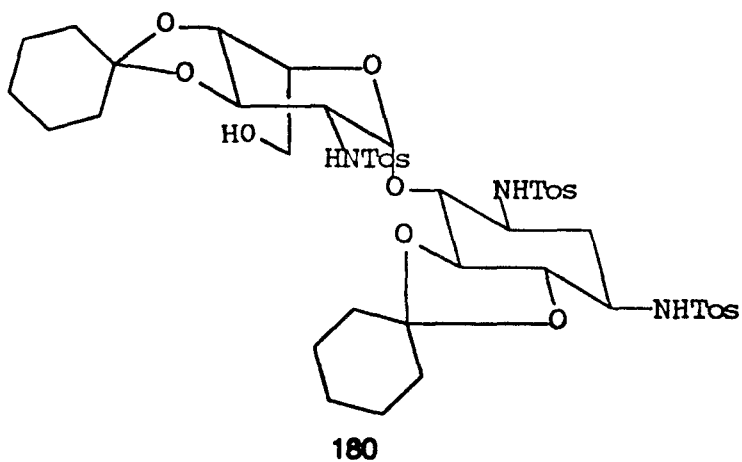
-----



Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	mg	ml
179	927	0.215	200	-
NaBH <sub>4</sub>	37.8	0.112	4.2	-
BF <sub>3</sub> ·Et <sub>2</sub> O	141.9	0.1437	20.4	-
NaOH υδ. διαλ. 3M	40	-	-	1.2
50% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	34	39.153	-	1.2
διαλύτης : THF	-	-	-	5

## ΜΕΘΟΔΟΣ:

0.2 g του 179 διαλύονται σε 5ml άνυδρο τετραϊδροφουράνιο, το διάλυμα απασερώνεται με άζωτο και προστίθενται 4.2mg βοροϋδριδίου νατρίου ακολουθούμενου από 20.4mg αιθερικό τριφθορο-βόριο. Το διάλυμα αναδεύεται επί 4hr σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και στη συνέχεια προστίθενται 1.2ml δ. καυστικού νατρίου 3M και 1.2ml υδατικό διάλυμα 50% υπεροξειδίου του υδρογόνου. Μετά από ανάδευση επί 0.5hr σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, το προϊόν της αντίδρασης εκχυλίζεται με διχλωρομεθάνιο. Η οργανική φάση πλένεται διαδοχικά με κορ.δ. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O και κορ.δ. NH<sub>4</sub>Cl, ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση μέχρι ξηρού (0.03g).

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 2 MeOH 1	0.30	μαύρη με θέρμανση με θειϊκό οξύ

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

$^{13}\text{C}$  N.M.R. 100MHz,  $\text{CDCl}_3$ , βλ.φάσμα παράρτημα

$\delta$ : 96.57(C-1'), 79.85(C-4), 78.46(C-6), 76.71(C-5), 75.26(C-3'), 74.79(C-5'), 1.98(C-4'),  
69.51(C-2'), 57.00(C-1), 55.14(C-3), 66.26(=C $\underline{\text{H}}_2$ )

$^1\text{H}$  N.M.R., 300MHz,  $\text{CDCl}_3$

$\delta$ : 2.3-2.4[s, 9H,  $\text{CH}_3$ -(Tos)], 7.2-7.8(m, 12H, Ar), 1.2-1.5[m, 20H,  $-\text{CH}_2$ -(κυκλοεξ.)]

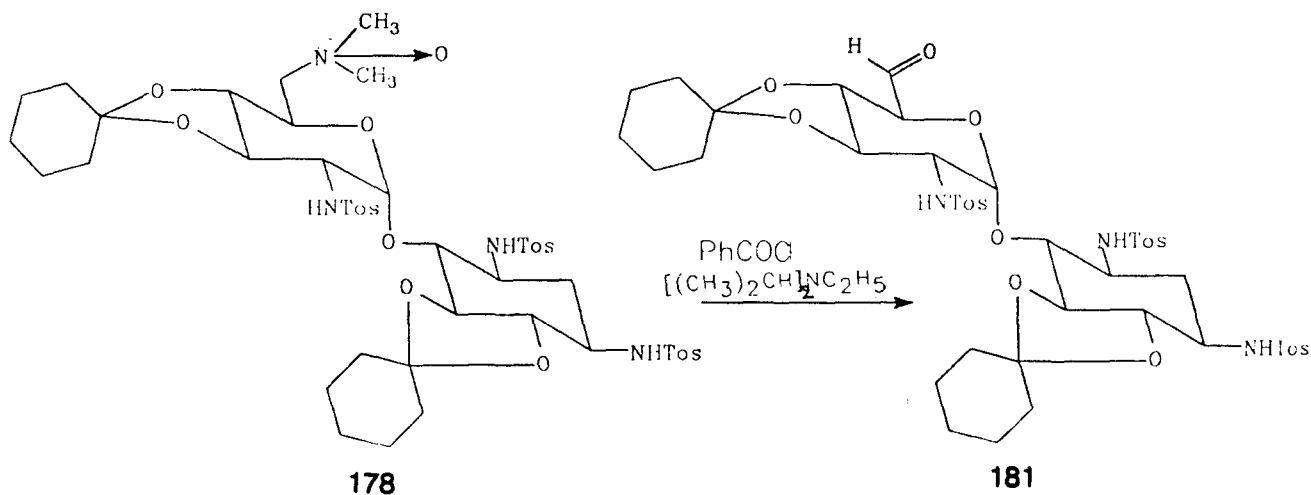
## ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ

=====

*O*-(2-δεοξυ-2-π-τολουολοσουλφονυλαμινο-3,4-κυκλοεξυλιδενο-5-φορμυλο-  
α-D-ξυλοπυρανοζυλο)-  
(1-4)-1,3-δι-N-π-τολουολοσουλφονυλο-5,6-κυκλοεξυλιδενο-2-δεοξυ-στρεπταμίνη  
(6'-οξο-6'-δεαμινο-1,3,2'-τρι-N-τοσυλο-5,6 3',4'-δι-O-κυκλοεξυλιδενο-νεαμίνη)

No E	: 181	M.T	: C <sub>45</sub> H <sub>57</sub> N <sub>3</sub> O <sub>13</sub> S <sub>3</sub>
M.B	: 943	Απόδοση	: -

## ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ



Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
178	972	0.36	0.36	-
N,N-δισοπροπυλ-αιθυλαμίνη	129.25	0.28	-	0.05
Βενζοϋλοχλωρίδιο	140.57	0.34	-	0.04
διαλύτης:ακετόνη	-	-	-	4

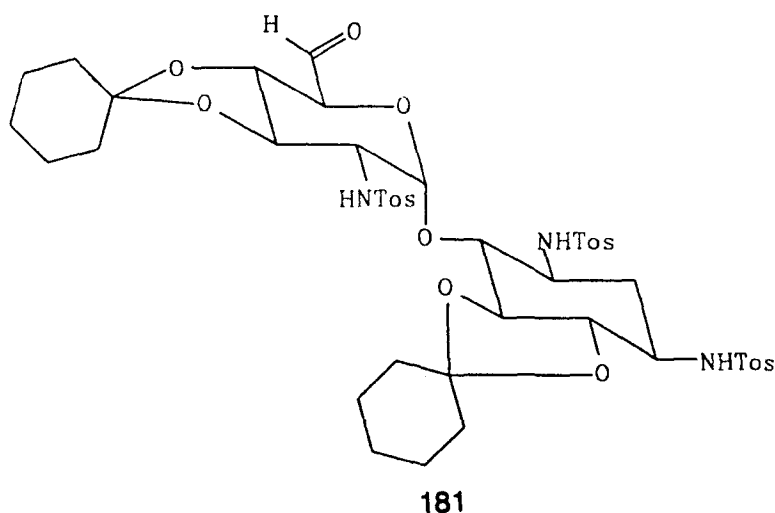
## ΜΕΘΟΔΟΣ:

Σε 4ml ακετόνη διαλύονται 0.364g του 178 και αφού ψύξουμε στους 0 °C προσθέτουμε 0.05ml N,N-δισοπροπυλαιθυλαμίνης και 0.04ml βενζοϋλοχλωριδίου. Το διάλυμα θερμαίνεται στους 40 °C για 15min. Κατόπιν συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση μέχρι ξηρού και το υπόλειμμα διαλύεται σε 5ml οξικού αιθυλεστέρα και μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη όπου η οργανική φάση πλένεται διαδοχικά με κορ.δ.NaHCO<sub>3</sub>, κορ.δ.NaCl και νερό. Η οργανική φάση ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και ο διαλύτης απομακρύνεται με απόσταξη υπό ελαττωμένη πίεση. Το υπόλειμμα χρωματογραφείται γρήγορα σε μικρή στήλη silica-gel με διαλύτη έκλουσης οξ.αιθ/εξάνιο 3:1 και τα κλάσματα με Rf=0.25

ενώνονται και συμπυκνώνονται υπό ελαττωμένη πίεση οπότε προκύπτει στερεό (0.2g) με το οποίο προχωράμε στο επόμενο στάδιο.

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:** Προσοχή η αλδεύδη είναι ευαίσθητη και καταστρέφεται με την παραμονή της στον αέρα.

ΠΡΟΙΟΝ



	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 3 MeOH 1	0.25	μαύρη με θέρμανση με θειϊκό οξύ

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

$^1\text{H N.M.R.}$  300MHz,  $\text{CDCl}_3$

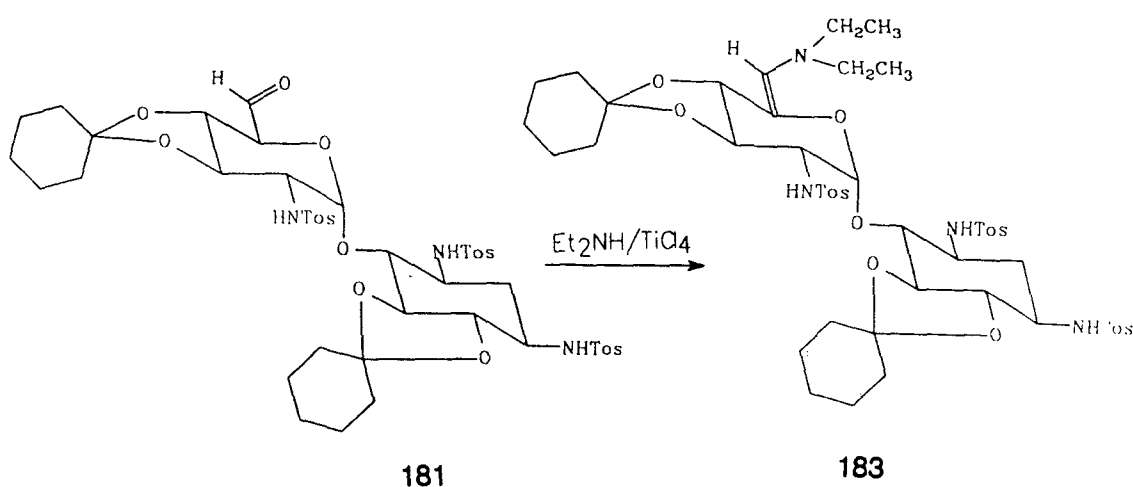
$\delta$  : 9.6(s, 1H, -CHO), 2.3-2.5[s, 9H,  $\text{CH}_3$ -(Tos)], 7.1-7.9(m, 12H, Ar), 1.2-1.6[m, 20H,  $-\text{CH}_2-$  (κυκλοεξ.)]

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

*O*-(2-δεοξυ-2-π-τολουολοσουλφονυλαμινο-3,4-κυκλοεξυλιδενο-6-δεοξυ-6-δι-αιθυλαμινο-5-ενο-α-D-γλυκοκυρανοζυλο)-  
(1-4)-1,3-δι-*N*-π-τολουολοσουλφονυλο-5,6-κυκλοεξυλιδενο-2-δεοξυ-στρεπταμίνη  
(6'-*N,N*-διαιθυλο-5'-ενο-1,3,2'-τρι-*N*-τοσυλο-5,6 3',4'-δι-*O*-κυκλοεξυλιδενο-νεαμίνη)

No E : 183	M.T : C <sub>49</sub> H <sub>66</sub> N <sub>4</sub> O <sub>12</sub> S <sub>3</sub>
M.B : 998	Απόδοση : -

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----



Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
181	943	0.21	0.2	-
Διαιθυλαμίνη 98%	73.1	1.9	-	0.2
TiCl <sub>4</sub>	189.7	1.36	-	0.15
διαλύτης: βενζόλιο	-	-	-	10

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Σε 10ml άνυδρο βενζόλιο (πρόσφατα αποσταγμένου πάνω από νάτριο) και υπό ατμόσφαιρα αζώτου διαλύονται 0.2g του 181 και προστίθενται υπό ψύξη στάγδην 0.2ml διαιθυλαμίνης και 0.15ml τετραχλωριούχου τιτανίου. Το διάλυμα αναδεύεται για 1hr σε θερμοκρασία δωματίου και κατόπιν συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση έως ξηρού. Το υπόλειμμα χρησιμοποιείται για το επόμενο στάδιο.

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:**



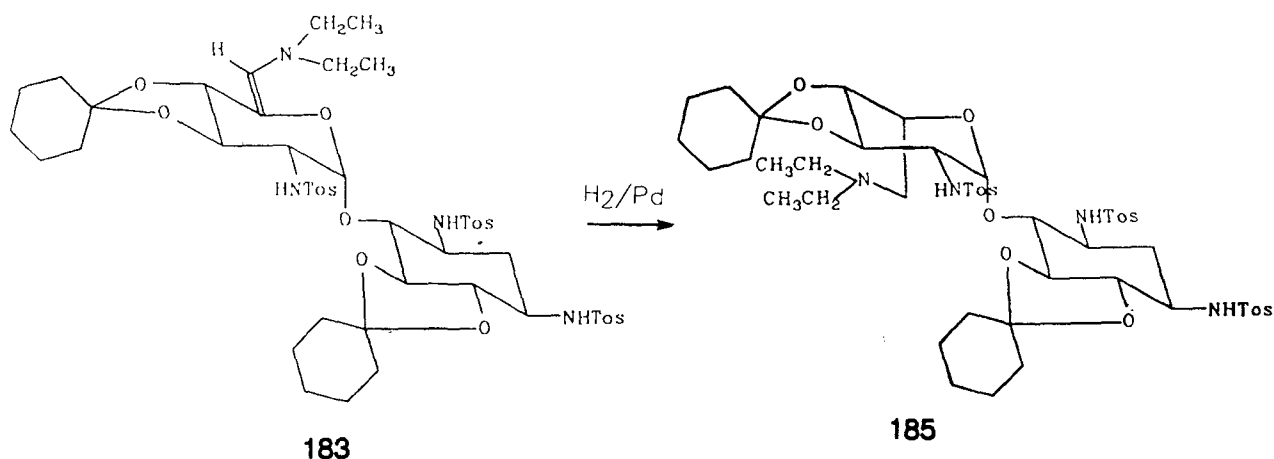


ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

*O*-(2-δεοξυ-2-π-τολουολοσουλφονυλαμινο-3,4-κυκλοεξυλιδανο-6-δεοξυ-6-*N,N*-διαιθυλαμινο-β-*L*-ιδοπυρανοζυλο)-  
(1-4)-1,3-δι-*N*-π-τολουολοσουλφονυλο-5,6-κυκλοεξυλιδανο-2-δεοξυ-στρεπταμίνη  
(6'-*N,N*-διαιθυλο-1,3,2'-τρι-*N*-τοσυλο-5,6 3',4'-δι-*O*-κυκλοεξυλιδανο-5'-επι-νεαμίνη)

No E : 185	M.T : C <sub>49</sub> H <sub>68</sub> N <sub>4</sub> O <sub>12</sub> S <sub>3</sub>
M.B : 1000	Απόδοση: 3% από 178

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

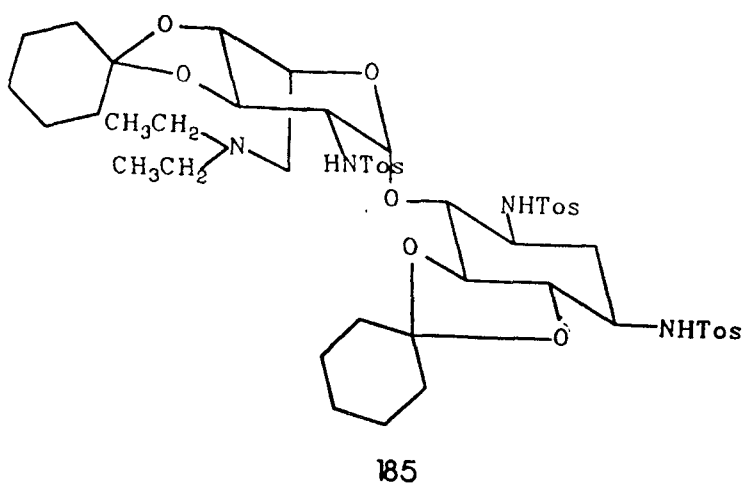


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
183	998	-	-	-
10% Pd/C	-	-	0.02	-
διαλύτης: μεθανόλη	-	-	-	20

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Σε 20ml μεθανόλη διαλύεται το προηγούμενο υπόλειμμα και προστίθεται 0.02g 10% Pd/C το δε μίγμα τοποθετείται σε συσκευή υδρογόνωσης Parr και με πίεση 15psi υδρογονώνεται για 1hr. Στη συνέχεια διηθείται υπό celite έτσι ώστε να απομακρυνθεί ο καταλύτης και συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση μέχρι ξηρού. Το υπόλειμμα διαλύεται σε οξ.αιθυλεστέρα και μεταφέρεται σε εκχυλιστική χοάνη όπου η οργανική φάση πλένεται 3 φορές με νερό και στη συνέχεια ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση, οπότε προκύπτει υποκίτρινο στερεό (0.006g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:**

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 3	0.44	μαύρη με θέρμανση με θειϊκό οξύ
	Hex 2		
	MeOH 1		

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

FAB-MS  $m/z(M+H)^+ = 1001$ : βλ.φάσμα παράρτημα

θραύσματα:  $Tos^+ = 155$ ,  $PhCH_2^+ = 91$

$^1H$  N.M.R. 60MHz,  $CDCl_3$

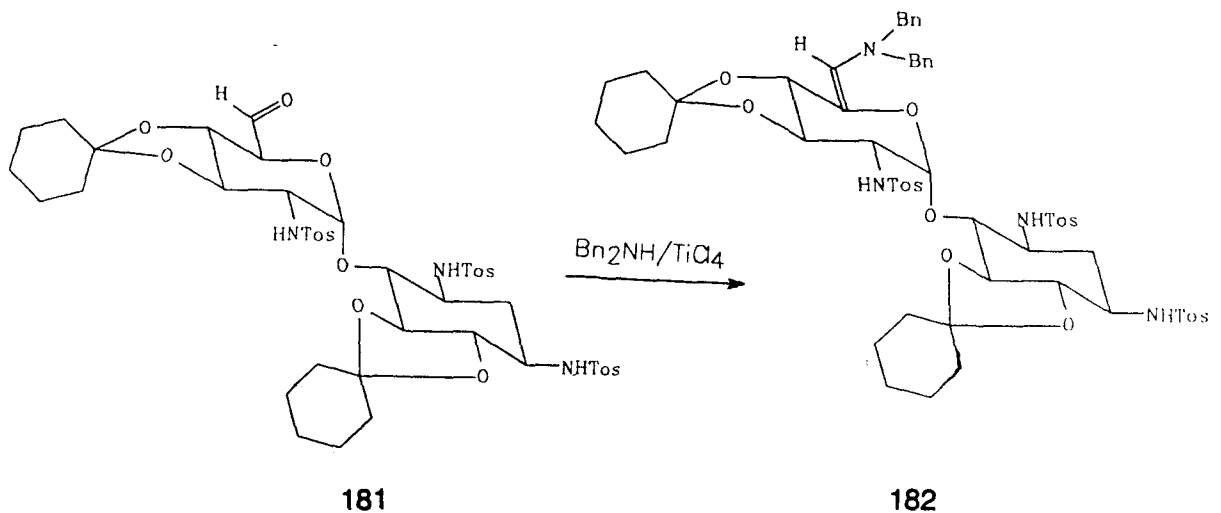
$\delta$  : 1.2(t, 3H,  $-CH_3$ ), 2.8(dd, 2H,  $-CH_2-$ ), 2.3-2.5[s, 9H,  $CH_3-(Tos)$ ], 7.1-7.7(m, 12H, Ar), 1.3-1.6[m, 20H,  $-CH_2-$ (κυκλοεξ.)]

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

*O*-(2-δεοξυ-2-π-τολουολοσουλφονυλαμινο-3,4-κυκλοεξυλιδενο-6-δεοξυ-6-διβενζυλαμινο-5-ενο-α-D-γλυκοκυρανοζυλο)-  
(1-4)-1,3-δι-*N*-π-τολουολοσουλφονυλο-5,6-κυκλοεξυλιδενο-2-δεοξυ-στρεπταμίνη  
(6'-*N,N*-διβενζυλαμινο-5'-ενο-1,3,2'-τρι-*N*-τοσυλο-5,6 3',4'-δι-*O*-κυκλοεξυλιδενο-νεαμίνη)

No E : 182	M.T : C <sub>59</sub> H <sub>70</sub> N <sub>4</sub> O <sub>12</sub> S <sub>3</sub>
M.B : 1122	Απόδοση : -

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----



Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
181	943	0.318	0.3	-
Διβενζυλαμίνη 97%	197.2	0.67	-	0.13
TiCl <sub>4</sub> 99%	189.7	1.17	-	0.13
διαλύτης: βενζόλιο	-	-	-	10

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Σε 10ml άνυδρο βενζόλιο (πρόσφατα αποσταγμένου πάνω από νάτριο) και υπό ατμόσφαιρα αζώτου διαλύονται 0.3g του 181 και προστίθενται υπό ψύξη στάγδην 0.13ml διβενζυλαμίνης και 0.13ml τετραχλωριούχου τιτανίου. Το διάλυμα αναδεύεται για 1hr σε θερμοκρασία δωματίου και κατόπιν συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση μέχρι ξηρού. Το υπόλειμμα χρησιμοποιείται στο επόμενο στάδιο.

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:**

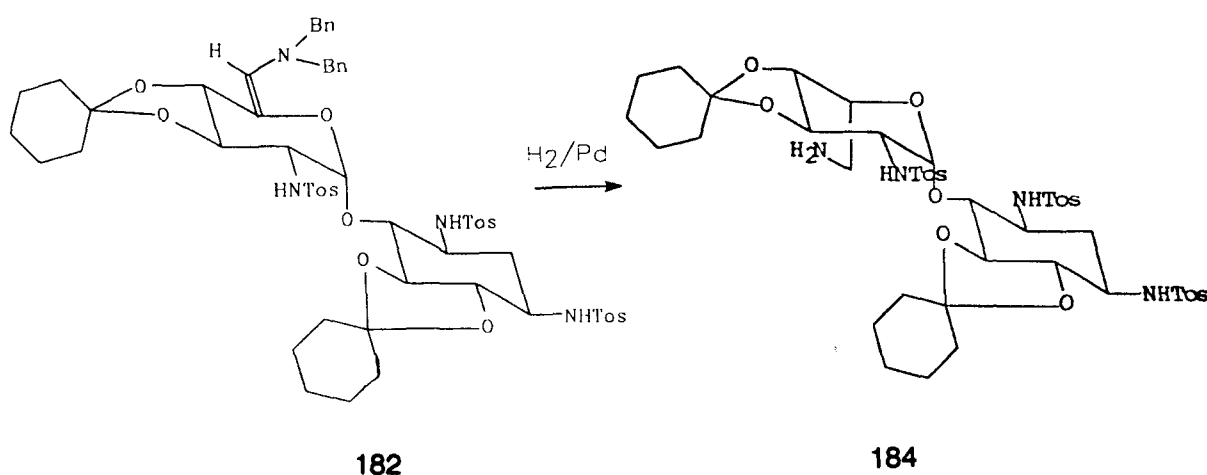


## ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ

O-(2-δεοξυ-2-π-τολουολοσουλφονυλαμινο-3,4-κυκλοεξυλιδενο-6-δεοξυ-6-αμινο-β-L-ιδοπυρανοζυλο)-(1-4)-1,3-δι-N-π-τολουολοσουλφονυλο-5,6-κυκλοεξυλιδενο-2-δεοξυ-στρεπταμίνη  
(1,3,2'-τρι-N-τοσυλο-5,6 3',4'-δι-O-κυκλοεξυλιδενο-5'-επι-νεαμίνη)

No E	: 184	M.T	: C <sub>45</sub> H <sub>60</sub> N <sub>4</sub> O <sub>12</sub> S <sub>3</sub>
M.B	: 944	Απόδοση	: 2% από 178

## ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ

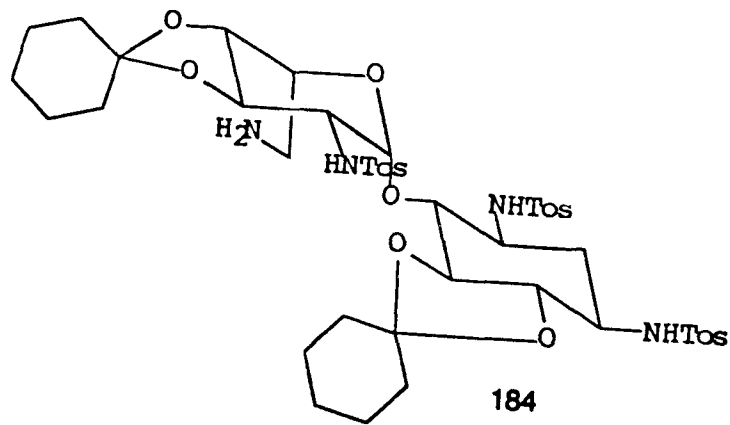


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
182	1122	-	-	-
10% Pd/C	-	-	0.03	-
διαλύτης: μεθανόλη	-	-	-	20

## ΜΕΘΟΔΟΣ:

Σε 20ml μεθανόλη διαλύεται το προηγούμενο υπόλειμμα και προστίθεται 0.03g 10%Pd/C το δε μίγμα τοποθετείται σε συσκευή υδρογόνωσης Parr και με πίεση 15psi υδρογονώνεται για 1hr. Στη συνέχεια διηθείται υπό celite έτσι ώστε να απομακρυνθεί ο καταλύτης και συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση έως ξηρού. Το υπόλειμμα διαλύεται σε οξικό αιθυλεστέρα και μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη όπου η οργανική φάση πλένεται 3 φορές με νερό και στη συνέχεια ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση, οπότε προκύπτει υποκίτρινο στερεό (0.006g).

## ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 3	0.40	μώβ με θέρμανση με νινυδρίνη
	Hex 2		
	MeOH 1.5		

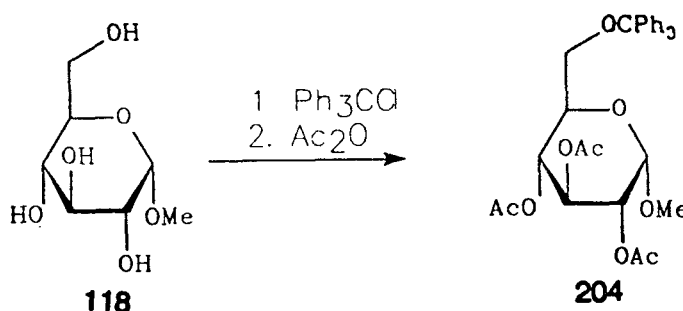
## ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ

=====

Μεθυλο-2,3,4-τρι-Ο-ακετυλο-6-Ο-τριφαινυλομεθυλο-α-D-γλυκοπυρανοζιτης

No E	: 204	M.T	: C <sub>32</sub> H <sub>34</sub> O <sub>9</sub>
M.B	: 562	Απόδοση	: 60%

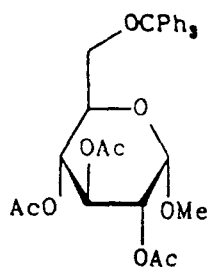
## ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ



Ε Ν Ω Σ Η	M . B	moles	g	ml
118	194.18	0.0515	10	-
Φ <sub>3</sub> CCl	278.7	0.0538	15	-
DMAP	122.17	0.0049	0.6	-
Ac <sub>2</sub> O	102	0.41	-	39
διαλύτης πυριδίνη	-	-	-	50

## ΜΕΘΟΔΟΣ:

Σε 50ml άνυδρη πυριδίνη διαλύονται 10g του 118, 15g τριτυλοχλωριδίου και 0.6g 4-διμεθυλαμινοπυριδίνης. Μετά από ανάδευση επί 24hr σε θερμοκρασία περιβάλλοντος στο μίγμα της αντίδρασης προστίθενται 39ml οξικού ανυδρίτη και η ανάδευση συνεχίζεται για άλλες 24hr. Στη συνέχεια στο μίγμα της αντίδρασης προστιθέονται 50ml κορ.δ.NaHCO<sub>3</sub> και το μίγμα αναδεύεται για άλλες 2hr. Στη συνέχεια το μίγμα της αντίδρασης εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση στο 1/3 του αρχικού του όγκου και το υπόλειμμα ρίχνεται αργά σε μίγμα νερού-πάγου. Σχηματίζεται στερεό το οποίο λαμβάνεται με διήθηση, διαλύεται σε διχλωρομεθάνιο και πλένεται διαδοχικά με κορ.δ.KHSO<sub>4</sub>, κορ.δ.NaHCO<sub>3</sub> και νερό. Η οργανική φάση ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και εξατμίζεται μέχρι ξηρού οπότε προκύπτει λευκό στερεό που με τη βοήθεια διχλωρομεθανίου μεταφέρεται στη κορυφή στήλης silica-gel. Η έκλυση γίνεται με EtOAc/Hex 1:3 και η ουσία με Rf=0.37 συλλέγεται (17.36g).

ΠΡΟΪΟΝ

204

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 1	0.37	κίτρινη με θειϊκό οξύ που μαυρίζει με θέρμανση
	Hex 3		

σ.τ.: 66-68 °C

σ.τ.βιβλιογ.<sup>241</sup>: 64-66 °C[α]<sub>D</sub><sup>25</sup>βιβλιογ.<sup>241</sup> = +18 ° (c 1, CHCl<sub>3</sub>)ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ<sup>1</sup>H N.M.R. 400MHz, CDCl<sub>3</sub>,

δ: 5.01(d, 1H,  $J_{1,2}=3.7$ , H1), 4.93(dd, 1H,  $J_{2,3}=10.2$ , H2), 5.43(dd, 1H,  $J_{3,4}=9.6$ , H3),  
 5.06(dd, 1H,  $J_{4,5}=10.2$ , H4), 3.92(ddd, 1H,  $J_{5,6}=5.1$ ,  $J_{5,6'}=2.6$ , H5), 3.12(dd, 1H,  
 $J_{6,6'}=10.4$ , H6), 3.19(dd, 1H, H6'), 3.46(s, 3H, -OMe), 2.08(s, 3H, -OAc), 1.99(s, 3H, -OAc),  
 1.73(s, 3H, -OAc), 7.26(m, 15H, Ph)

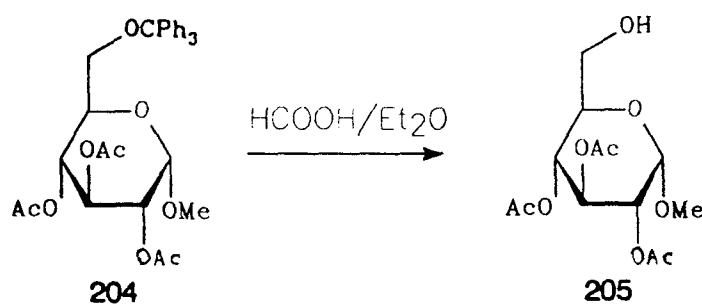


ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-2,3,4-τρι-Ο-ακετυλο-α-D-γλυκοκυρανοζιτης

No E : 205	M.T : C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>
M.B : 320	Απόδοση : 70%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

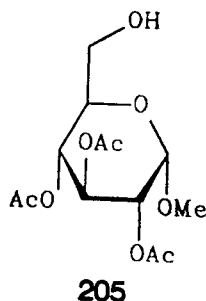


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	moles	g	ml
204	562	0.0267	15	-
HCOOH 98-100%	46	1.99	-	75
διαλύτης : αιθέρας	-	-	-	75

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Σε 150ml μίγματος αιθέρα/μυρμηκικού οξέος 98-100% (1:1) διαλύονται 15g του 204 και το διάλυμα αναδεύεται επί 30min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Προστίθεται αιθέρας και το διάλυμα πλένεται με νερό, κορ.δ.NaHCO<sub>3</sub> και εκ νέου με νερό. Η οργανική φάση ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και εξατμίζεται έως ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Το υπόλειμμα χρωματογραφείται σε στήλη silica-gel με οξ.αιθ./εξάνιο 3:4. Τα κλάσματα που περιέχουν ουσία με Rf=0.11 ενώνονται και εξατμίζονται έως ξηρού. Προκύπτει λευκό στερεό (5.97g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:** Η αντίδραση παρακολουθείτε με Χ.Λ.Σ. και το τέλος της επιλέγεται σε σχέση με την ποσότητα του φορμικού εστέρα που έχει σχηματιστεί και που αποτελεί άχρηστο παραπροϊόν.

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 3	0.11	μαύρη με θέρμανση με θειικό οξύ
	Hex 4		

σ.τ.: 107-108 °C

σ.τ.βιβλιογ.<sup>149</sup>: 107-108 °C[α]<sub>D</sub><sup>25</sup>. = +156 ° (c 1.06, CHCl<sub>3</sub>)[α]<sub>D</sub><sup>25</sup>βιβλιογ.<sup>149</sup> = +156.8 ° (c 1.08, CHCl<sub>3</sub>)ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ<sup>1</sup>H N.M.R. 400MHz, CDCl<sub>3</sub>,

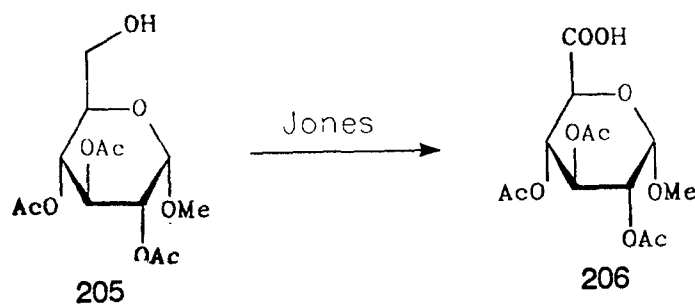
δ: 4.97(d, 1H,  $J_{1,2}=3.7$ , H1), 4.87(dd, 1H,  $J_{2,3}=10.2$ , H2), 5.54(dd, 1H,  $J_{3,4}=9.7$ , H3), 5.03(dd, 1H,  $J_{4,5}=10.0$ , H4), 3.79(ddd, 1H,  $J_{5,6}=4.4$ ,  $J_{5,6'}=2.4$ , H5), 3.60(dd, 1H,  $J_{6,6'}=12.6$ , H6), 3.72(dd, 1H, H6'), 3.41(s, 3H, -OMe), 2.02(s, 3H, -OAc), 2.06(s, 3H, -OAc), 2.08(s, 3H, -OAc)

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

Μεθυλο-2,3,4-τρι-Ο-ακετυλο-α-D-γλυκοπιρανοζιτο-ουρονικό οξύ

No E	: 206	M.T	: C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub>
M.B	: 334	Απόδοση	: 80%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

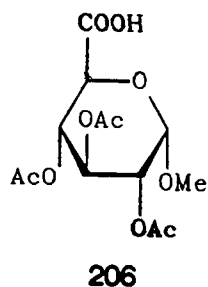


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
205	320	4.687	1.5	-
αντιδραστήριο Jones	-	1.99	-	8
διαλύτης : ακετόνη	-	-	-	30

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Σε 30ml ακετόνης διαλύονται 1.5g του 205 και το διάλυμα ψύχεται στους 0 °C. Στη συνέχεια προστίθενται 8ml αντιδραστήριου Jones και το μίγμα αναδεύεται για 1hr σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Κατόπιν το μίγμα μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη και η οργανική φάση πλένεται με νερό, κορ.δ.NaHCO<sub>3</sub> και εκ νέου με νερό, η δε υδατική δύο φορές με διχλωρομεθάνιο. Η οργανική φάση ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και εξατμίζεται μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση (1.25g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:** Κατά την εκχύλιση το pH του διαλύματος δεν πρέπει να γίνει αλκαλικό, γιατί τότε η ουσία 211 περνάει στην υδατική στοιβάδα.

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 3 MeOH 1	0.13	μαύρη με θέρμανση με θειϊκό οξύ

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

I.R. ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3470(-OH), 1750[-CO-(OAc)], 1250 (C-O-C, Ac)

$^1\text{H}$  N.M.R. 60MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,

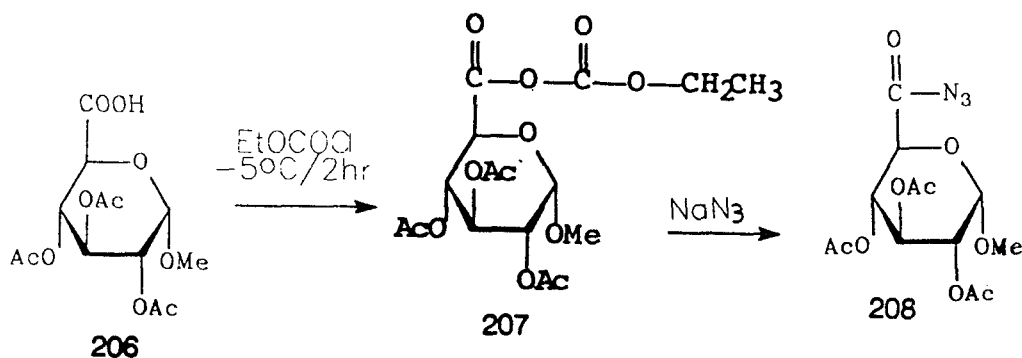
$\delta$ : 5.05(d, 1H,  $J_{1,2}=3.5$ , H1), 4.90(dd, 1H,  $J_{2,3}=10.6$ , H2), 5.3(m, 2H, H3,H4), 3.5(s, 3H, -OMe), 2.2(s, 9H, -OAc), 10.6(s, 1H, -COOH)

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

Αζίδιο του μεθυλο-2,3,4-τρι-Ο-ακετυλο-α-D-γλυκουρονικού οξέος

No E : 208	M.T : C <sub>13</sub> H <sub>17</sub> O <sub>9</sub> N <sub>3</sub>
M.B : 359	Απόδοση : 30%

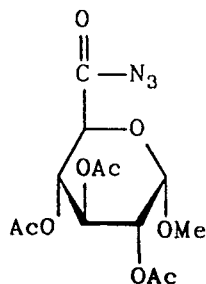
ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----



Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
206	334	2.09	0.7	-
χλωρομυρμηκικός αιθυλε- στέρας	108.5	4.5	-	0.43
τριαιθυλαμίνη	101	4.76	-	0.66
αζίδιο νατρίου	65.0	2	0.13	-
νερό	18	16.6	-	0.3
διαλύτης THF	-	-	-	12

**ΜΕΘΟΔΟΣ :**

Σε 12ml τετραϋδροφουρανίου διαλύονται 0.7g του 206 και το διάλυμα ψύχεται στους 0°C. Στη συνέχεια προστίθενται στάγδην 0.66ml τριαιθυλαμίνης και 0.43ml χλωρομυρμηκικού αιθυλεστέρα και το μίγμα αναδεύεται υπό ατμόσφαιρα αζώτου για 2hr. Στο μίγμα προσθέτουμε με σύριγγα 0.13g αζίδιο του νατρίου διαλυμένο σε 0.3ml νερό και το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 1hr. Στη συνέχεια το μίγμα συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση μέχρι ξηρού και το υπόλειμμα μεταφέρεται με διχλωρομεθάνιο σε διαχωριστική χοάνη όπου η οργανική στοιβάδα πλένεται με κορ.δ.NaHCO<sub>3</sub> και νερό και αφού ξηρανθεί (MgSO<sub>4</sub>) συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση έως ξηρού οπότε προκύπτει λάδι (0.22g).

ΠΡΟΙΟΝ

208

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 3	0.65	Μαύρη με θέρμανση με θειϊκό οξύ
	Hex 0.5		

Στοιχειακή ανάλυση

Θεωρητικά για  $C_{13}H_{17}O_9N_3$  : C 43.45, H 4.73, N 11.70

Ευρεθέν : C 43.49, H 4.69, N 11.62

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

βλ.φάσμα παράρτημα

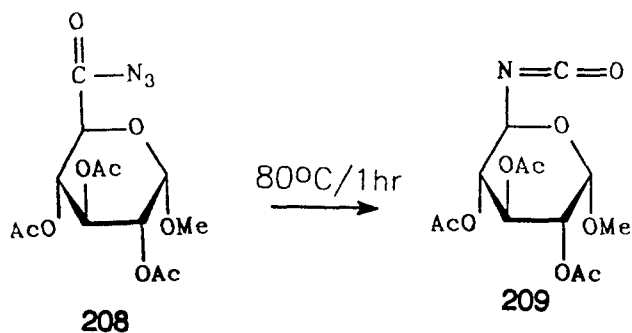
I.R. ( $cm^{-1}$ ) : 2145(-N<sub>3</sub>), 1740[-CO-(Ac)]

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

*N*-(1-Ο-μεθυλο-2,3,4-τρι-Ο-ακετυλο-α-D-ξυλο-πεντο-πυρανοζ-5-υλο)-ισοκυανικός εστέρας

No E : 209	M.T : C <sub>13</sub> H <sub>17</sub> O <sub>9</sub> N
M.B : 331	Απόδοση : 70%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

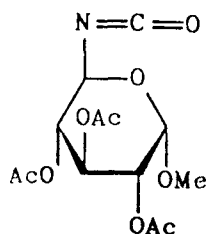


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	moles	g	ml
208	359	0.61	0.22	-
διαλύτης : τολουόλιο	-	-	-	10

**ΜΕΘΟΔΟΣ :**

Σε 10ml τολουολίου διαλύονται 0.22g του 208 και το διάλυμα θερμαίνεται στους 80 °C για 1hr. Στη συνέχεια το μίγμα συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση μέχρι ξηρού οπότε προκύπτει λάδι (0.14g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:**

ΠΡΟΙΟΝ

209

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 3 Hex 0.5	0.75	Μαύρη με θέρμανση με θειϊκό οξύ

Στοιχειακή ανάλυση

Θεωρητικά για  $C_{13}H_{17}O_9N$  : C 47.10, H 5.13, N 4.23  
 Ευρεθέν : C 47.26, H 5.09, N 4.24

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

βλ. φάσμα παράρτημα

I.R. ( $cm^{-1}$ ) : 2245(-N=C=O), 1740[-CO-(Ac)], 1720(=C=O)

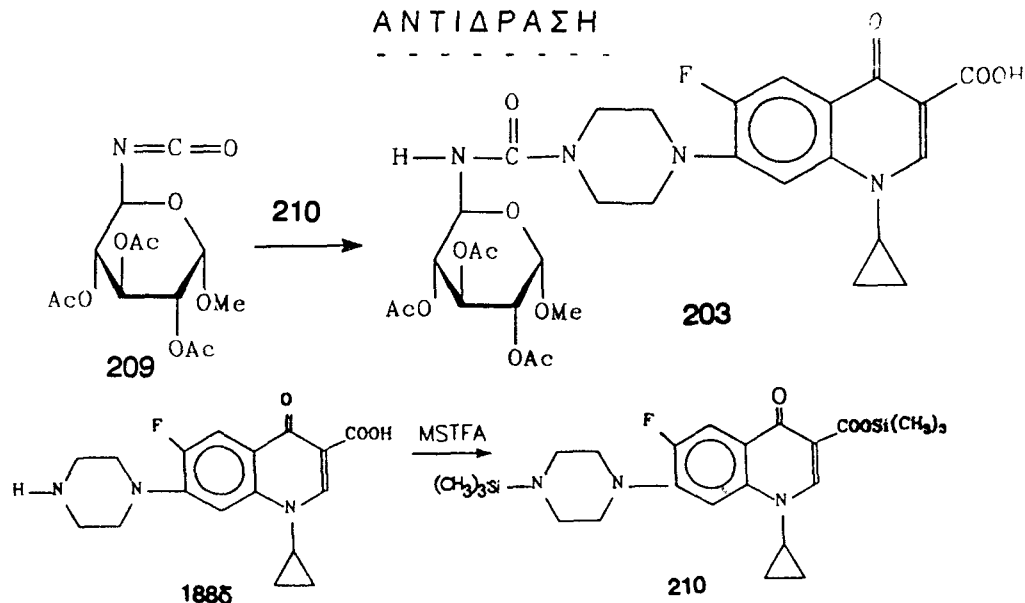


ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

1-κυκλοπροπυλο-6-φθορο-4-οξο-7-[1'-(4'-(μεθυλο 2,3,4-τρι-Ο-ακετυλο-  
α-D-ξυλοπυρανοζιτο-5-αμινοκαρβονυλο))-πιπεραζινυλο] 3-κινολινο-καρβοξυλικό οξύ  
N-(μεθυλο-2,3,4 τρι-Ο-ακετυλο-α-D-ξυλοπυρανοζιτο-5-αμινοκαρβονυλο)- σιπροφλοξασίνη

No E	: 203	M.T	: C <sub>30</sub> H <sub>35</sub> O <sub>12</sub> N <sub>4</sub> F
M.B	: 662	Απόδοση	: 10%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ

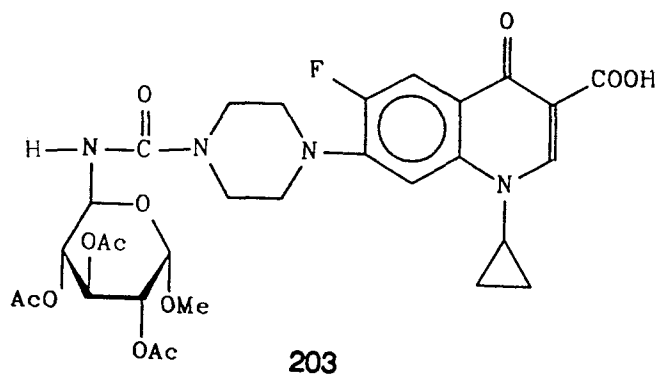


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
σιπροφλοξασίνη (188δ)	331	0.45	0.15	-
MSTFA	199	1.13	-	0.21
209	331	0.42	0.14	-
διαλύτης : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-	-	-	10

ΜΕΘΟΔΟΣ :

Σε 5ml άνυδρου διχλωρομεθανίου διαλύονται 0.14 g του 209 και το διάλυμα ψύχεται στους 0 °C και προστίθεται στάγδην σε ένα διάλυμα που έχει παρασκευαστεί από 0.15g σιπροφλοξασίνης και από 0.21ml N-μεθυλο-N-τριμεθυλοσιλυλοφθοροακεταμίδιο και 5ml διχλωρομεθανίου και το μίγμα αναδεύεται για 40min. στους 40 °C. Στη συνέχεια συμπυκνώνεται υπό κενό και το υπόλειμμα μεταφέρεται με τη βοήθεια διχλωρομεθανίου σε διαχωριστική χοάνη, όπου η οργανική φάση πλένεται με κορ.δ.NH<sub>4</sub>Cl, κορ.δ.NaCl και νερό και στη συνέχεια ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και συμπυκνώνεται υπό κενό (0.10g).

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:

ΠΡΟΪΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOH 2 MeOH 2 H <sub>2</sub> O 1 NH <sub>3</sub> 0.5	0.77	μώβ με θέρμανση με νινυδρίνη UV ενεργό

σ.τ : 270 °C (Αποσ.)

Στοιχειακή ανάλυση

Θεωρητικά για C<sub>30</sub>H<sub>35</sub>O<sub>12</sub>N<sub>4</sub>F : C 54.38, H 5.28, N 8.45

Ευρεθέν : C 54.41, H 5.34, N 8.35

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

FAB-MS m/z(M+H)<sup>+</sup> = 663 βλ.φάσμα παράρτημα

<sup>1</sup>H N.M.R. 300MHz, CDCl<sub>3</sub>,

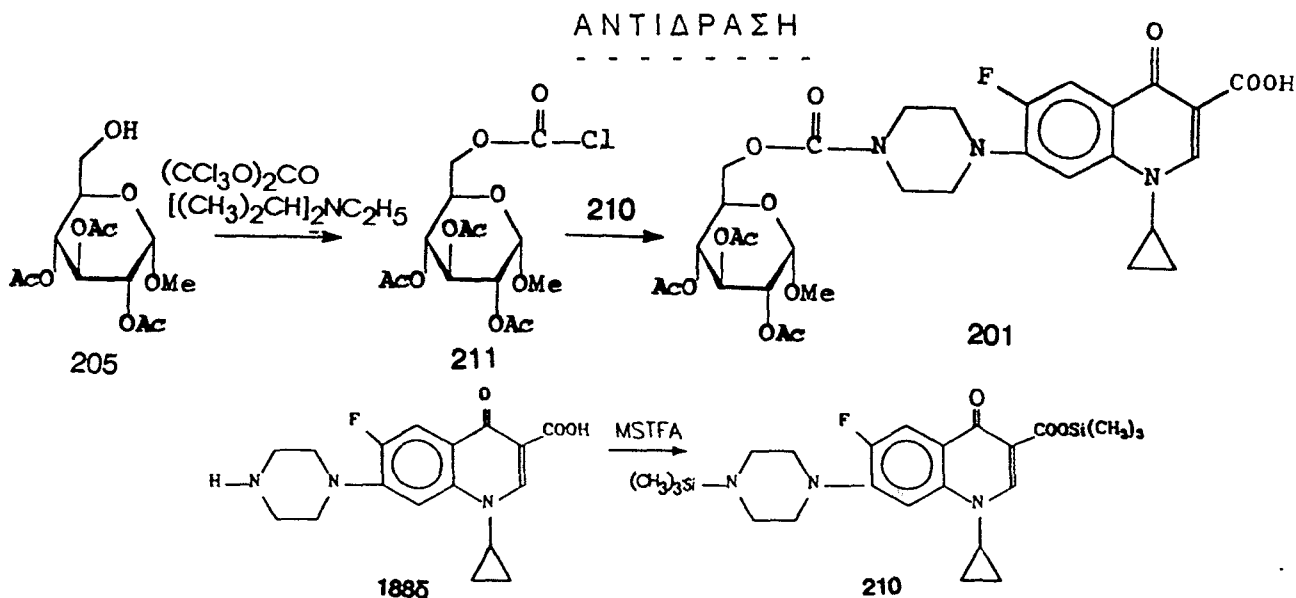
δ: 8.78(s, 1H, -COOH), 8.06(d, 1H, J=12.6, H-N), 7.37(d, 1H, Ar-), 7.27(s, 1H, Ar), 3.59(s, 3H, -OMe), 3.3-3.45(m<sub>x2</sub>, 8H, (N[CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>]<sub>2</sub>N), 2.04-2.01(s, 3x3H, -OAc), 1.25-1.35(m<sub>x2</sub>, 4H, -CH<sub>2</sub>-κυκλοπρ.).

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

1-κυκλοπροπυλο-6-φθορο-4-οξο-7-[1'-(4'-(μεθυλο 2,3,4-τρι-Ο-ακετυλο-  
α-D-γλυκοπυρανοζιτο-6-Ο-καρβονυλο))-πιπεραζινυλο] 3-κινολινο-καρβοξυλικό οξύ

( N-(μεθυλο-2,3,4 τρι-Ο-ακετυλο-α-D-γλυκοπυρανοζιτο-6-Ο-καρβονυλο)-σιπροφλοξασίνη )

No E : 201	M.T : C <sub>31</sub> H <sub>36</sub> O <sub>13</sub> N <sub>3</sub> F
M.B : 677	Απόδοση : 2.5%



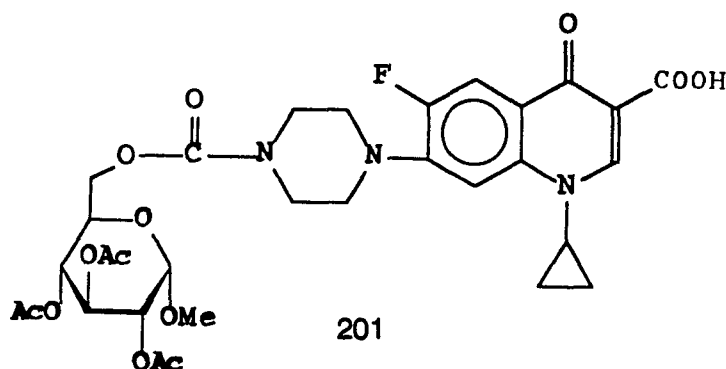
Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
205	320	1.87	0.6	-
(CCl <sub>3</sub> O) <sub>2</sub> CO	296.7	0.81	0.241	-
N,N-δισοπροπυλ-αιθυλαμίνη	129.25	2.10	-	0.376
188δ	331	1.50	0.497	-
MSTFA	199	3.37	-	0.625
διαλύτης : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-	-	-	53.3

**ΜΕΘΟΔΟΣ :**

Σε 11ml διχλωρομεθανίου διαλύονται 0.6g του 205, προστίθενται μοριακά κόσκινα 4A και το διάλυμα αναδεύεται κάτω από ατμόσφαιρα αζώτου για 45min. Στη συνέχεια ψύχεται στους 0 °C και προστίθεται σταδιακά μέσα σε χρονική περίοδο 10min. μαζί με ισοδύναμες ποσότητες διισοπροπυλαιθυλαμίνης (0.376 ml) σ'ένα διάλυμα που αποτελείται από 0.241g τριφωσγενίου σε 13.3ml διχλωρομεθανίου. Το νέο μίγμα αναδεύεται για 30min. υπό ψύξη και για άλλα 45min. σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια προστίθενται 14ml

διχλωρομεθανίου και το διάλυμα συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Το μίγμα ψύχεται σε πάγο και προστίθεται μέσα σε 10min. σε ένα διάλυμα του 210 που έχει παρασκευαστεί από 0.497g σιπροφλοξασίνης και από 0.625ml *N*-μεθυλο-*N*-τριμεθυλοσιλυλοφθοροακεταμίδιο και 15ml διχλωρομεθανίου και το μίγμα αναδεύεται για 20min. στους 0°C και άλλη 1.5hr σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Κατόπιν προστίθενται 20ml οξ.αιθυλεστέρα και το μίγμα διηθείται προκειμένου να απομακρυνθούν τα αδιάλυτα συστατικά. Ο οξικός αιθυλεστέρας πλένεται με κορ.δ.NH<sub>4</sub>Cl και κορ.δ.NaCl, ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και συμπυκνώνεται μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Χρωματογραφείται με στήλη silica-gel και διαλύτη έκλουσης EtOAc/MeOH 80:2 0 (0.025g).

ΠΡΟΙΟΝ



	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	EtOAc 8 MeOH 0.4	0.4	μώβ με θέρμανση με νινυδρίνη UV ενεργό

σ.τ. : 110-115 °C

Στοιχειακή ανάλυση

Θεωρητικά για C<sub>31</sub>H<sub>36</sub>O<sub>13</sub>N<sub>3</sub>F : C 54.95, H 5.32, N 6.20  
Ευρεθέν : C 55.41, H 5.34, N 6.35

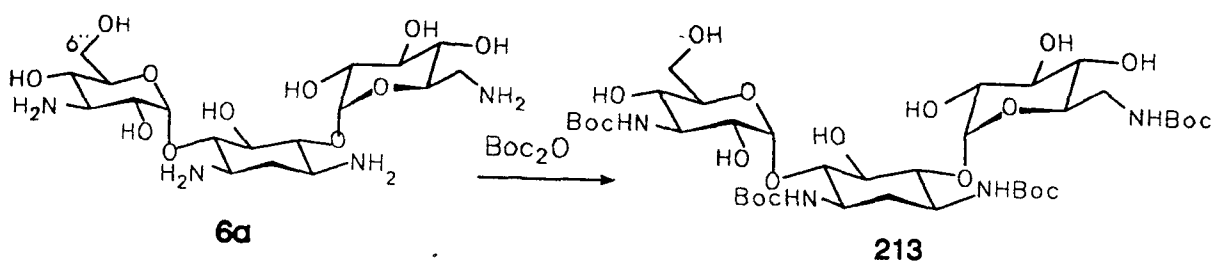
FAB-MS m/z(M+H)<sup>+</sup> = 678

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

1,3,6',3''-τετρα-*N*-Boc-καναμικίνη Α

No E : 213	M.T : C <sub>38</sub> H <sub>68</sub> O <sub>19</sub> N <sub>4</sub>
M.B : 884	Απόδοση : 75%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

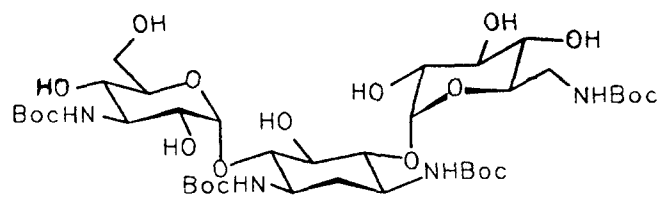


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	moles	g	ml
Καναμικίνη Α (6a)	484	0.011	5.4	-
Boc <sub>2</sub> O	218	0.05	10.96	-
NH <sub>3</sub>	17	-	-	14
διαλύτης DMSO	-	-	-	72
H <sub>2</sub> O	-	-	-	12

**ΜΕΘΟΔΟΣ :**

Σε 84ml διμεθυλοσουλφοξειδίου/νερού 6:1 διαλύονται 5.4g καναμικίνης Α ελεύθερης βάσης (καναμικίνη Α που έχει περάσει από βασική ρητίνη) και προστίθενται 10.96g δι-τριτοταγούς βουτυλο-δικαρβονικού εστέρα. Το μίγμα της αντίδρασης θερμαίνεται στους 60 °C για 6hr και κατόπιν ψύχεται και η περίσσεια του αντιδραστήριου διασπάται και το προϊόν απομονώνεται με την προσθήκη 14ml υδατικού διαλύματος 33% NH<sub>3</sub>. Το στερεό διηθείται, πλένεται με νερό και στεγνώνεται. Το προϊόν διαλύεται σε 50ml τολουόλιο και προστίθενται 80ml άνυδρου αιθέρα. Το gel που δημιουργείται διηθείται, πλένεται με άνυδρο αιθέρα και στεγνώνεται (7.39g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ**

ΠΡΟΙΟΝ

213

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 7 MeOH 1 NH <sub>3</sub> 0.2	0.1	μαύρη με θέρμανση με θείϊκό οξύ

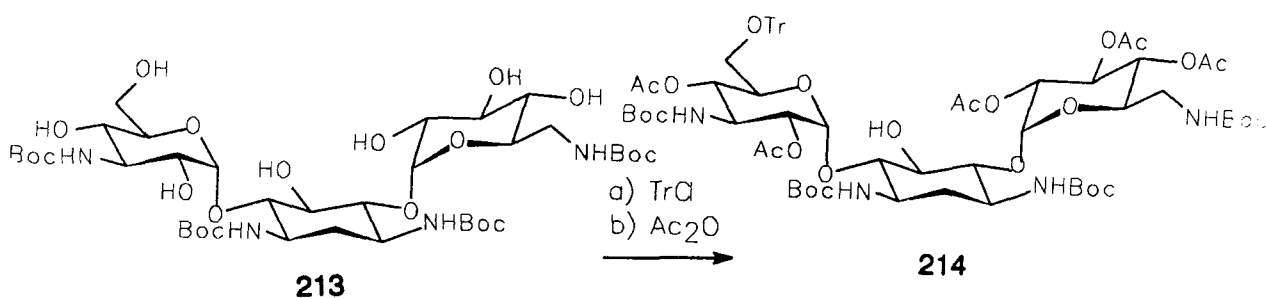
σ.τ.:234 °C(Αποσ.)

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

2',3',4',2'',4''-πεντα-Ο-ακετυλο-6''-Ο-τριφαινυλομεθυλο-1,3,6',3''-τετρα-Ν-Βοc-καναμυκίνη Α

No E : 214	M.T : C <sub>67</sub> H <sub>92</sub> O <sub>24</sub> N <sub>4</sub>
M.B : 1336	Απόδοση : 40%

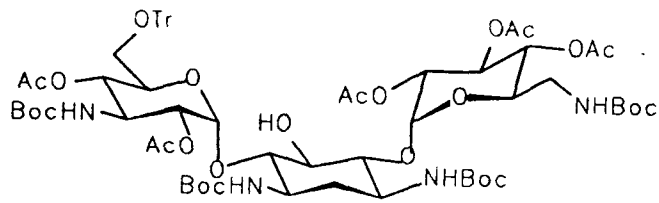
ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----



Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
213	884	9.61	8.5	-
Φ <sub>3</sub> CCl	278.7	10.57	2.94	-
DMAP	122.17	0.98	0.12	-
Ac <sub>2</sub> O	102	264.7	-	25
διαλύτης πυριδίνη	-	-	-	50

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Σε 50ml άνυδρη πυριδίνη διαλύονται 8.5g του 213, 2.94g τριτυλοχλωριδίου και 0.12g 4-διμεθυλαμινοπυριδίνης. Μετά από ανάδευση επί 24hr στους 50 °C στο μίγμα της αντίδρασης προστίθενται 39ml οξικού ανυδρίτη και η ανάδευση συνεχίζεται για άλλες 24hr στους 50 °C. Στη συνέχεια στο μίγμα της αντίδρασης προστιθέονται 50ml κορ.δ.NaHCO<sub>3</sub> και το μίγμα αναδεύεται για άλλες 3hr. Στη συνέχεια εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση στο 1/3 του αρχικού του όγκου και το υπόλειμμα ρίχνεται αργά σε μίγμα νερού-πάγου. Σχηματίζεται στερεό το οποίο λαμβάνεται με διήθηση, διαλύεται σε διχλωρομεθάνιο και πλένεται διαδοχικά με κορ.δ.KHSO<sub>4</sub>, κορ.δ.NaHCO<sub>3</sub> και νερό. Η οργανική στοιβάδα ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και εξατμίζεται μέχρι ξηρού οπότε προκύπτει λευκό στερεό που με τη βοήθεια διχλωρομεθανίου μεταφέρεται στη κορυφή στήλης silica-gel. Η έκλυση γίνεται με διχλωρομεθάνιο/μεθανόλη 80:2 και οι ουσίες με Rf=0.67 συλλέγονται (4.97g).

ΠΡΟΙΟΝ

214

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 8 MeOH 0.2	0.67	κίτρινη με θειϊκό οξύ που μαυρίζει με θέρμανση

σ.τ. : 124-127 °C

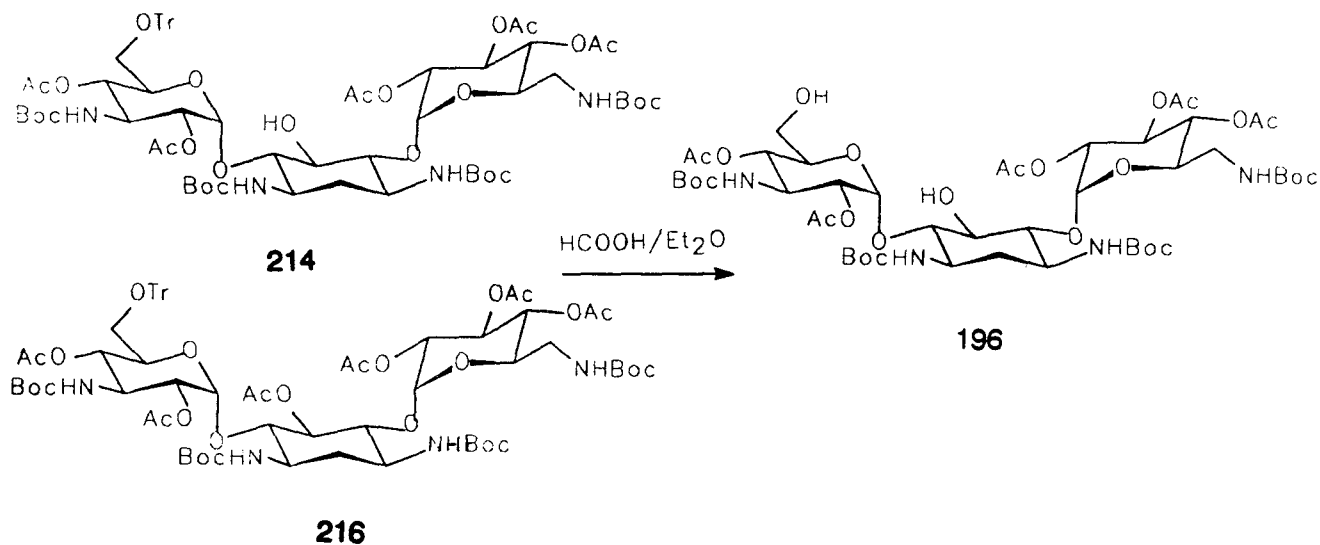


## ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ

2',3',4',2'',4''-πεντα-Ο-ακετυλο-1,3,6',3''-τετρα-Ν-Βοc-καναμικίνη Α

No E	: 196	M.T	: C <sub>48</sub> H <sub>78</sub> O <sub>24</sub> N <sub>4</sub>
M.B	: 1094	Απόδοση	: 30%

## ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ

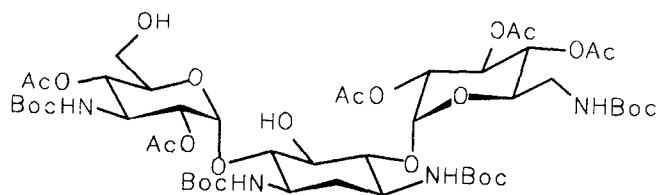


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	moles	g	ml
214 και 216	1294	-	-	-
HCOOH 98-100%	46	1.99	-	75
αιθέρας	-	-	-	75

## ΜΕΘΟΔΟΣ:

Σε 150ml μίγματος αιθέρα/μυρμηκικού οξέος 98-100% (1:1) διαλύονται 15g των ενώσεων 214 και 216 και το διάλυμα αναδεύεται επί 30min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Προστίθεται αιθέρας και το διάλυμα πλένεται με νερό, κορ. δ. NaHCO<sub>3</sub> και εκ νέου με νερό. Η οργανική φάση ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση έως ξηρού. Το υπόλειμμα χρωματογραφείται σε στήλη silica-gel με οξ.αιθ./εξάνιο 3:4. Τα κλάσματα που περιέχουν ουσία με R<sub>f</sub>=0.11 ενώνονται και εξατμίζονται μέχρι ξηρού. Προκύπτει λευκό στερεό.

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ: Η αντίδραση παρακολουθείται με Χ.Λ.Σ. και το τέλος της επιλέγεται σε σχέση με την ποσότητα του φορμικού εστέρα που έχει σχηματιστεί και που αποτελεί άχρηστο παραπροϊόν.

ΠΡΟΙΟΝ

196

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 8 MeOH 0.2	0.11	μαύρη με θέρμανση με θειϊκό οξύ

σ.τ. : 141-142 °C

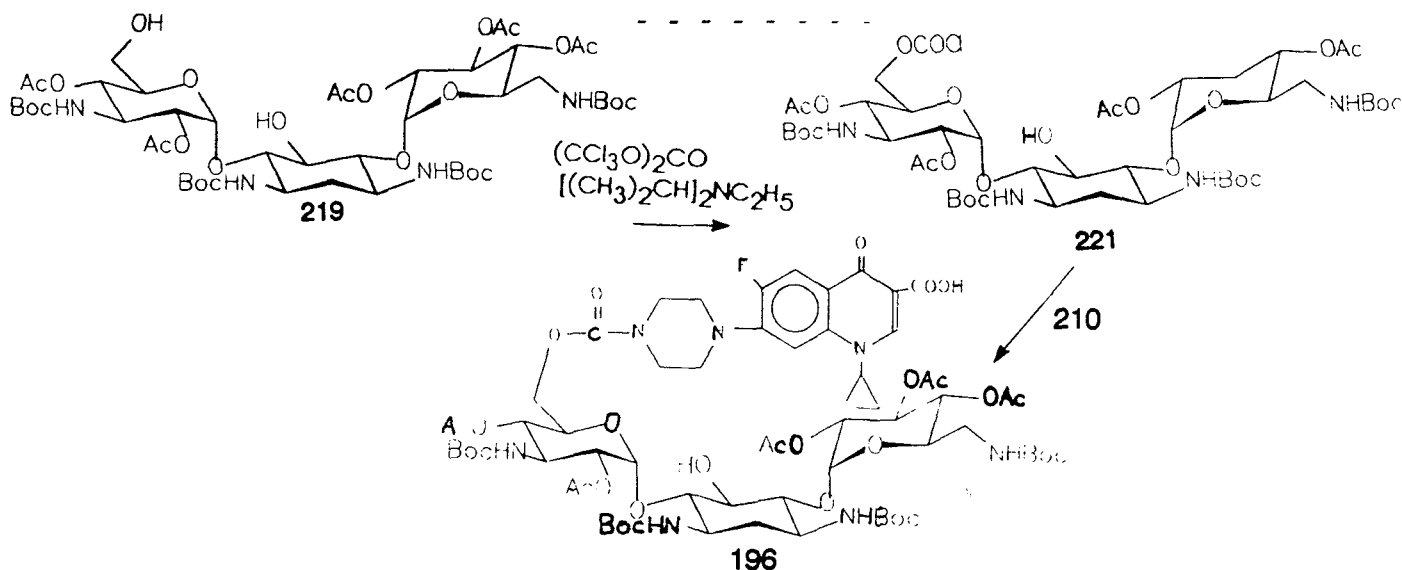
ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑFAB-MS m/z(M+H)<sup>+</sup> = 1095 βλ.φάσμα παράρτημα

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
 =====

*N*-(2',3',4',2'',4''-πεντα-*O*-ακετυλο-1,3,6',3''-τετρα-*N*-Boc-6''-*O*-καρβονυλο-καναμυκίνη Α)-  
 σιπροφλοξασίνη

No E	: 197	M.T	: C <sub>66</sub> H <sub>94</sub> O <sub>28</sub> N <sub>7</sub> F
M.B	: 1451	Απόδοση	: 1.5%

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ



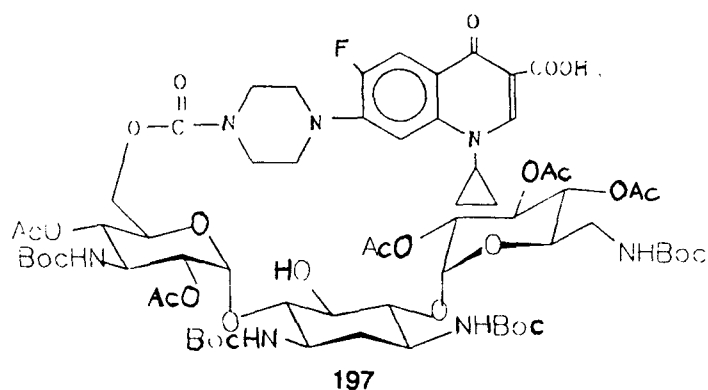
Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
196	1094	0.914	1	-
$(CCl_3O)_2CO$	296.7	0.4119	0.122	-
<i>N,N</i> -δισοπροπυλ-αιθυλαμίνη	129.25	1.0632	-	0.19
188δ	331	0.76	0.252	-
MSTFA	199	1.72	-	0.32
διαλύτης : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-	-	-	26.8

ΜΕΘΟΔΟΣ:

Σε 5.5ml διχλωρομεθανίου διαλύονται 1g του 196, προστίθενται μοριακά κόσκινα 4A και το διάλυμα αναδεύεται κάτω από ατμόσφαιρα αζώτου για 45min. Στη συνέχεια ψύχεται στους 0 °C και προστίθεται σταδιακά μέσα σε χρονική περίοδο 10min. μαζί με ισοδύναμες ποσότητες διισοπροπυλαιθυλαμίνης (0.19 ml) σ'ένα διάλυμα που αποτελείται από 0.122g τριφωσγενίου σε 6.7ml διχλωρομεθανίου. Το νέο μίγμα αναδεύεται για 30min. υπό ψύξη και για άλλα 45min. σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια προστίθενται 7ml

διχλωρομεθανίου και το διάλυμα συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Το υπόλειμμα ψύχεται σε πάγο και προστίθεται μέσα σε 10min. σε ένα διάλυμα του 210 που έχει παρασκευαστεί από 0.252g σιπροφλοξασίνης και από 0.32ml Ν-μεθυλο-Ν-τριμεθυλοσιλυλοφθοροακεταμίδιο και 7.6ml διχλωρομεθανίου και το μίγμα αναδεύεται για 20min. στους 0°C και άλλη 1.5hr σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Κατόπιν προστίθενται 10ml οξ.αιθυλεστέρα και το μίγμα διηθείται προκειμένου να απομακρυνθούν τα αδιάλυτα συστατικά. Ο οξικός αιθυλεστέρας πλένεται με κορ.δ.ΝΗ<sub>4</sub>Cl και κορ.δ.ΝaCl, Ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και συμπυκνώνεται μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Το υπόλειμμα χρωματογραφείται με στήλη silica-gel και διαλύτη έκλουσης EtOAc/MeOH 80:3 οπότε λαμβάνεται στερεό προϊόν (0.02g).

ΠΡΟΙΟΝ



	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 8 MeOH 0.3	0.10	μώβ με θέρμανση με νινυδρίνη UV ενεργό

σ.τ.: 105-108 °C

Στοιχειακή ανάλυση

Θεωρητικά για C<sub>66</sub>H<sub>94</sub>O<sub>28</sub>N<sub>7</sub>F : C 54.58, H 6.48, N 6.75

Ευρεθέν : C 55.47, H 6.34, N 6.65

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

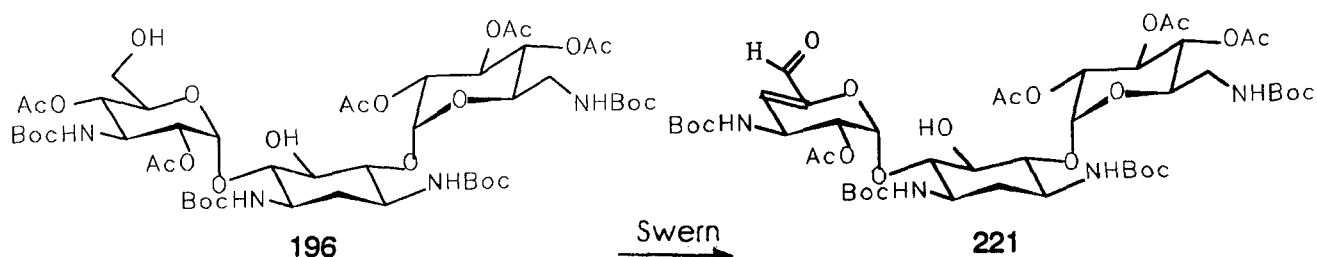
FAB-MS m/z(M+H)<sup>+</sup> = 1452 βλ.φάσμα παράρτημα

ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ  
=====

6''-αλδο-4''-δεοξυ-4''-ενο-2',3',4',2''-τετρα-Ο-ακετυλο-1,3,6',3''-τετρα-Ν-Βοc-καναμυκίνη Α

No E : 221	M.T : C <sub>46</sub> H <sub>72</sub> O <sub>22</sub> N <sub>4</sub>
M.B : 1032	Απόδοση : 5 %

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ  
-----

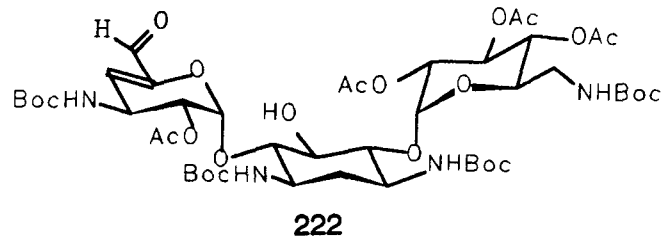


Ε Ν Ω Σ Η	M . B	mmoles	g	ml
196	1094	0.52	0.568	-
DMSO	78	1.35	-	0.09
οξαλυλοχλωρίδιο 98%	126.93	0.75	-	0.07
Et <sub>3</sub> N	101		-	0.25
διαλύτης CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-	-	-	10

**ΜΕΘΟΔΟΣ:**

Διάλυμα άνυδρου DMSO (2.5eqs) σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (4ml/mmol) προστίθεται σταγόδην σε παγωμένο (-78 °C) διάλυμα οξαλυλο-χλωριδίου σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (4ml/mmol) κάτω από άζωτο. Το μίγμα αναδεύεται για 15min στους -78 °C και προστίθεται σταγόδην διάλυμα του 196 σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (5ml/mmol). Ακολουθεί ανάδευση για άλλα 20-30min και προστίθεται σταγόδην τριαιθυλαμίνης (5eqs). Αφήνεται το μίγμα να έρθει σε θερμοκρασία δωματίου και εκχυλίζεται με κορ.δ.NaHCO<sub>3</sub>. Η οργανική στοιβάδα ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση οπότε προκύπτει στερεό που χρωματογραφείται σε στήλη silica-gel με διαλύτη τολουόλιο/οξικό αιθυλεστέρα 2:3 και τα κλάσματα με R<sub>f</sub>=0.61 συλλέγονται και συμπυκνώνονται (0.026g).

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:**

ΠΡΟΙΟΝ

	Σύστημα	Rf	Εμφάνιση
Χ.Λ.Σ.	Tol. 2	0.4	μαύρη με θέρμανση με θειικό οξύ
	EtOAc 3		

σ.τ. 131-133 °C

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

<sup>1</sup>H N.M.R. 300MHz, CDCl<sub>3</sub>,

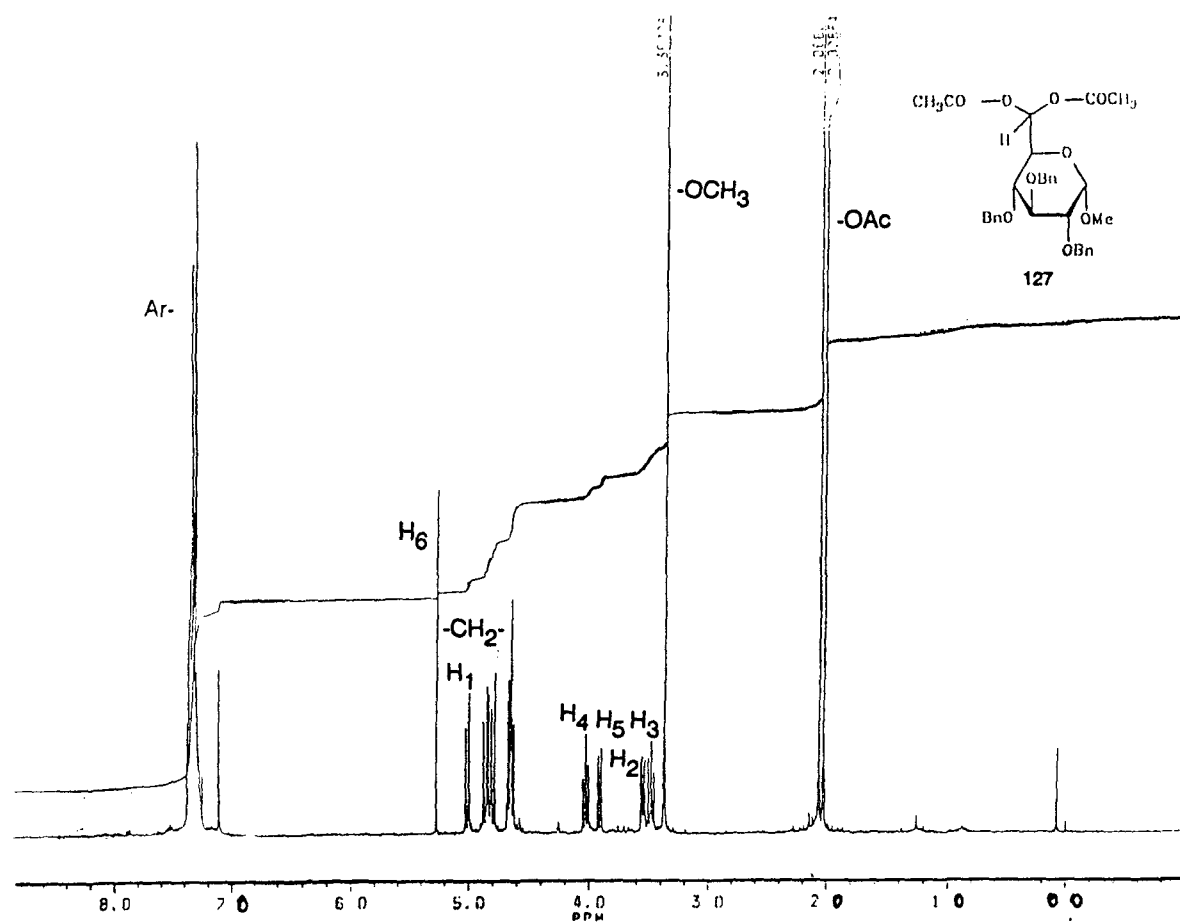
δ : 9.18(s, 1H, -CHO), 1.24-1.43[s, 36H, CH<sub>3</sub>-(BOC-)], 2.00-2.05[s, 12H, CH<sub>3</sub>-(Ac-)]

# ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΦΑΣΜΑΤΑ ( N.M.R., I.R., ΜΑΖΗΣ )

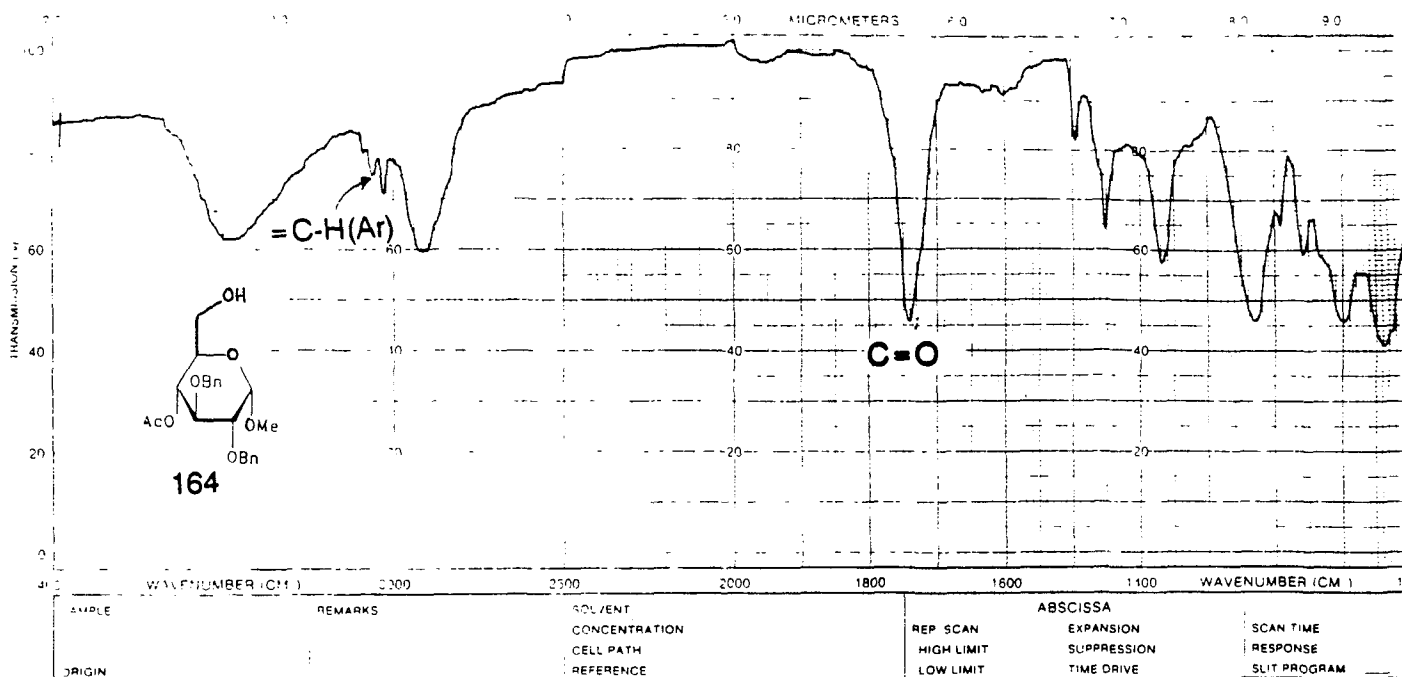




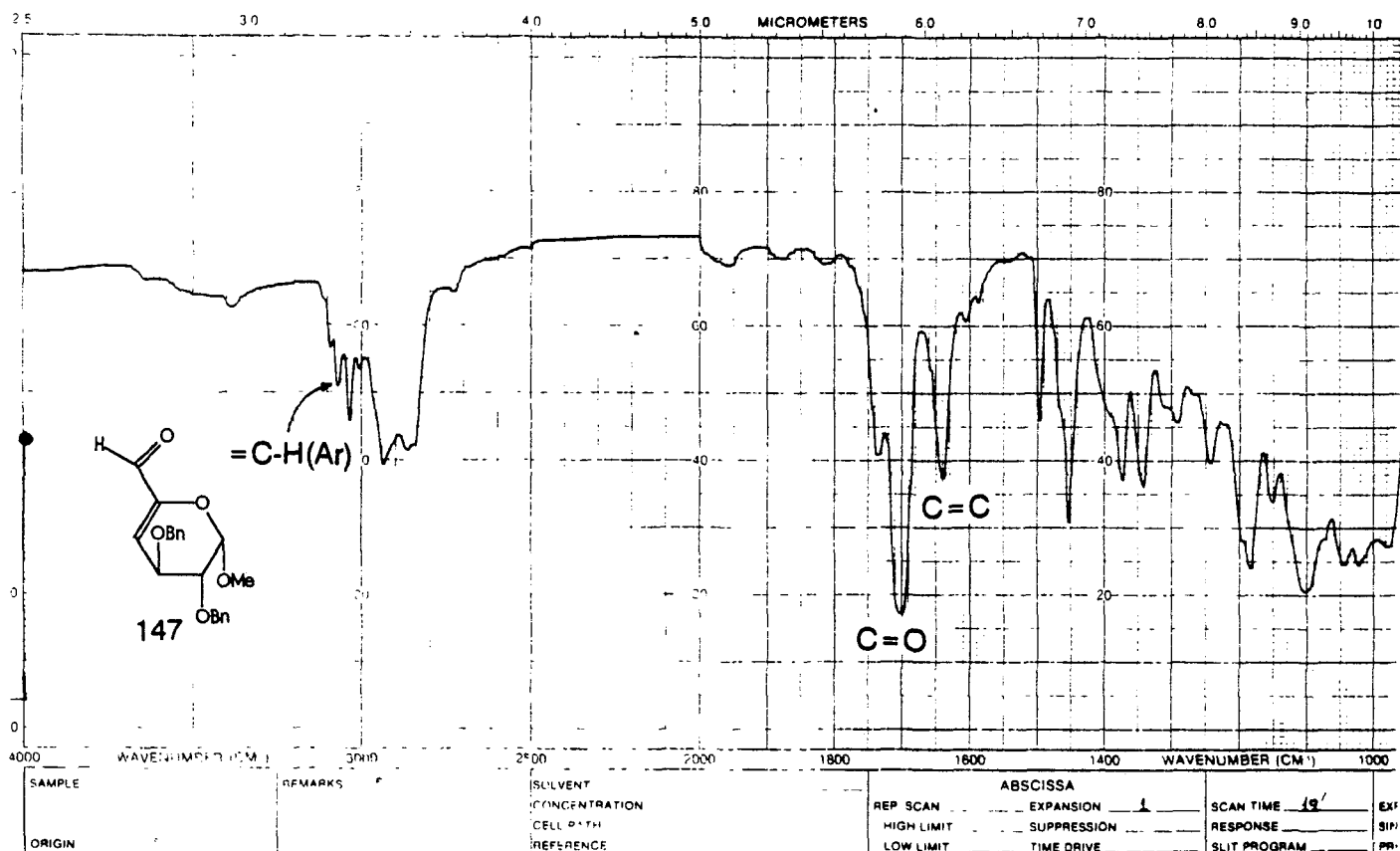


400MHz  $^1\text{H}$  NMR φάσμα του μεθυλο-2,3,4-τρι-*O*-βενζυλο-6-*O*-ακετυλο-6-*C*-ακετοξυ- $\alpha$ -D-γλυκοπιρανοζίτη 127 σε  $\text{CDCl}_3$





IR φάσμα του μεθυλο-2,3-δι-Ο-βενζυλο-4-Ο-ακετυλο-α-D-γλυκοπυρανοζιτη 164



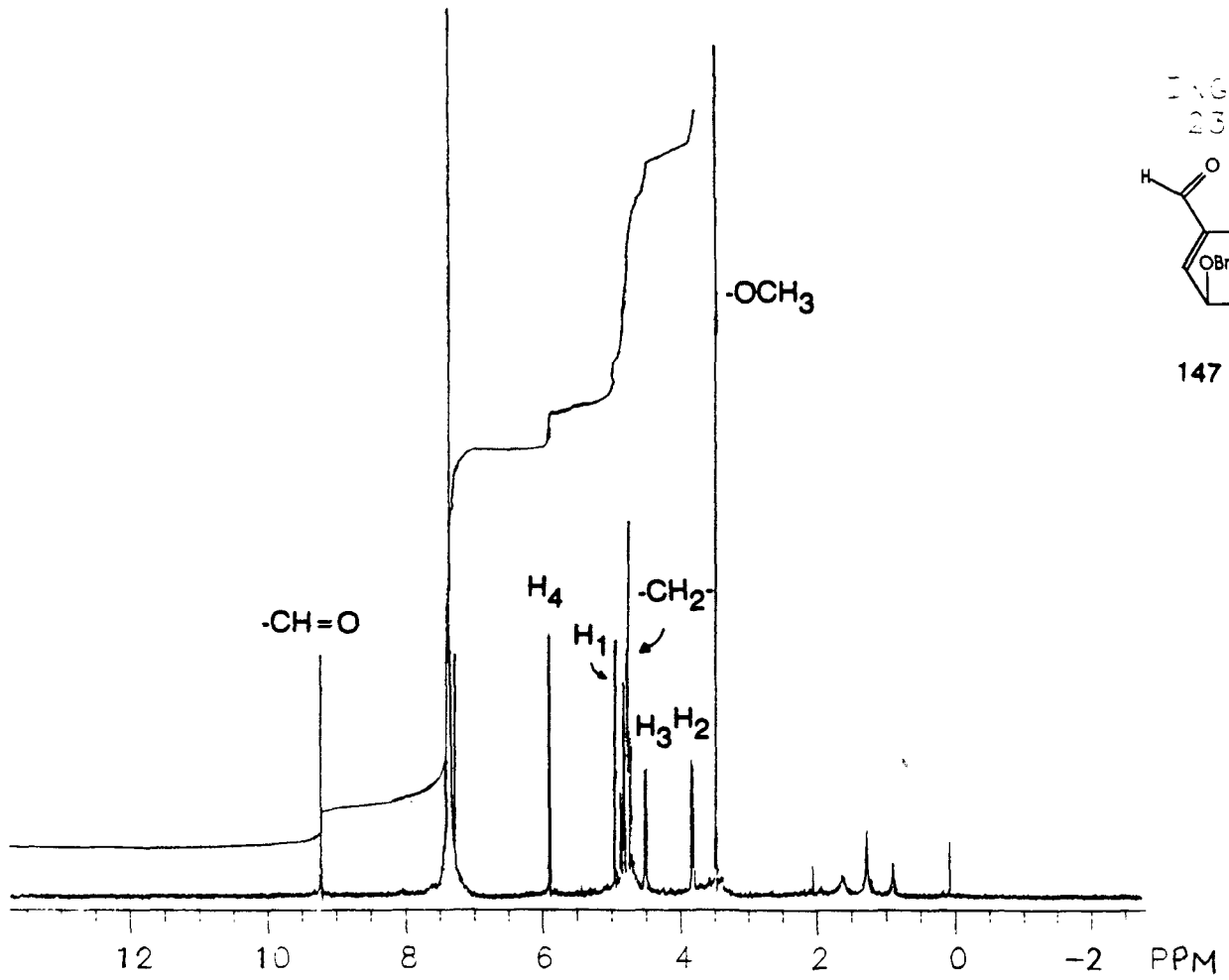
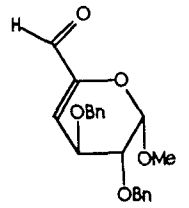
Ι.Ρ. φάσμα της μεθυλο-2,3-δι-Ο-βενζυλο-4-δεοξυ-α-D-ξυλο-εξ-4-ενο-πυρανοζιτο-5-αλης 147





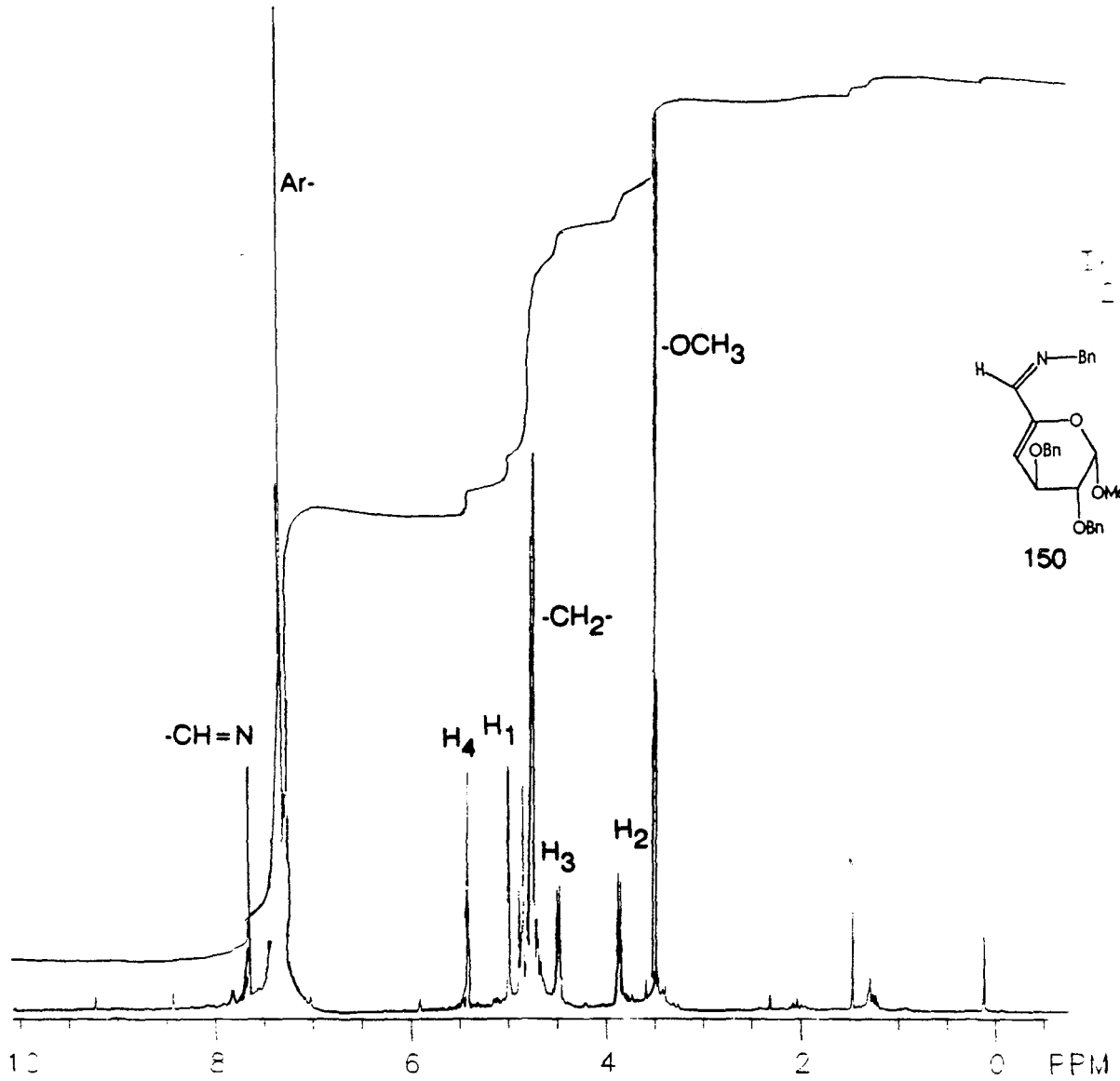
GE 114  
GE 114

FIG 100  
23 APR 92



300MHz  $^1\text{H}$  NMR φάσμα της μεθυλο-2,3-δι-*O*-βενζυλο-4-δεοξυ-α-*D*-ξυλο-εξ-4-ενο-πυρανοζιτο-5-αλης 147 σε  $\text{CDCl}_3$

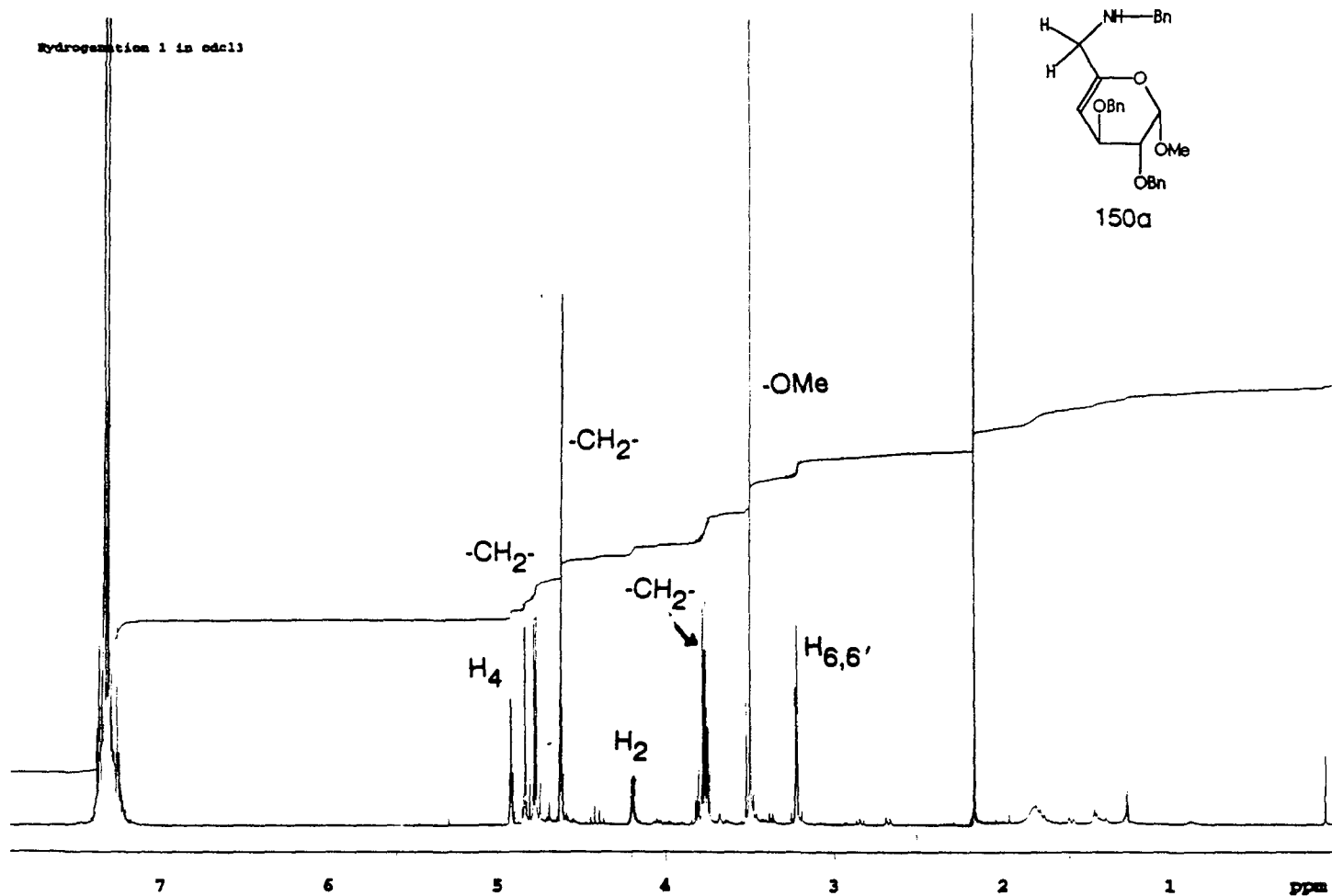




300MHz  $^1\text{H}$  NMR φάσμα της N-(1-O-μεθυλο-2,3-δι-O-βενζυλο-4-δεοξυ-α-D-ξυλο-εξ-4-ενο-πυρανοζ-6-υλο)-βενζυλιμίνης 150 σε  $\text{CDCl}_3$

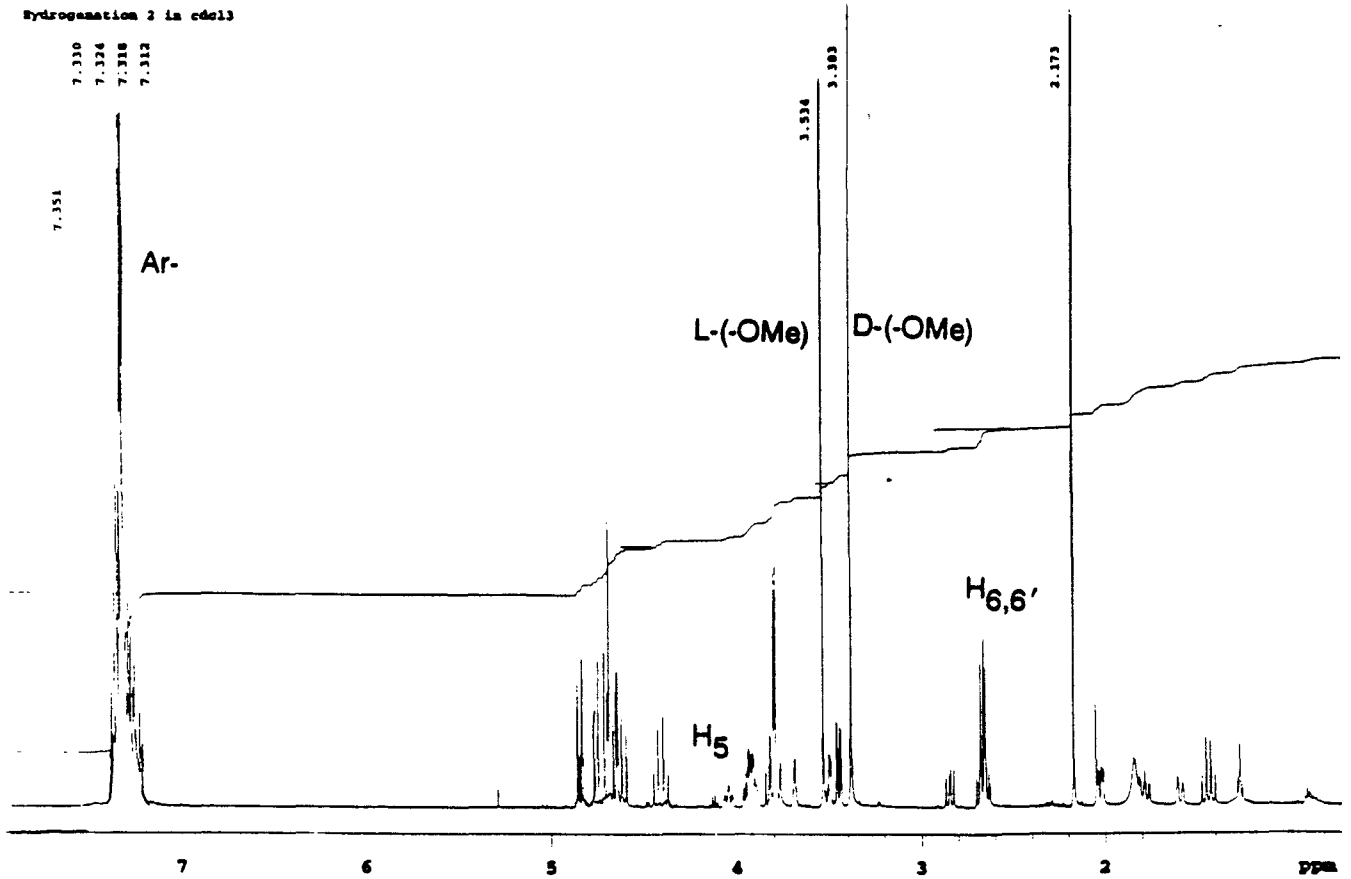
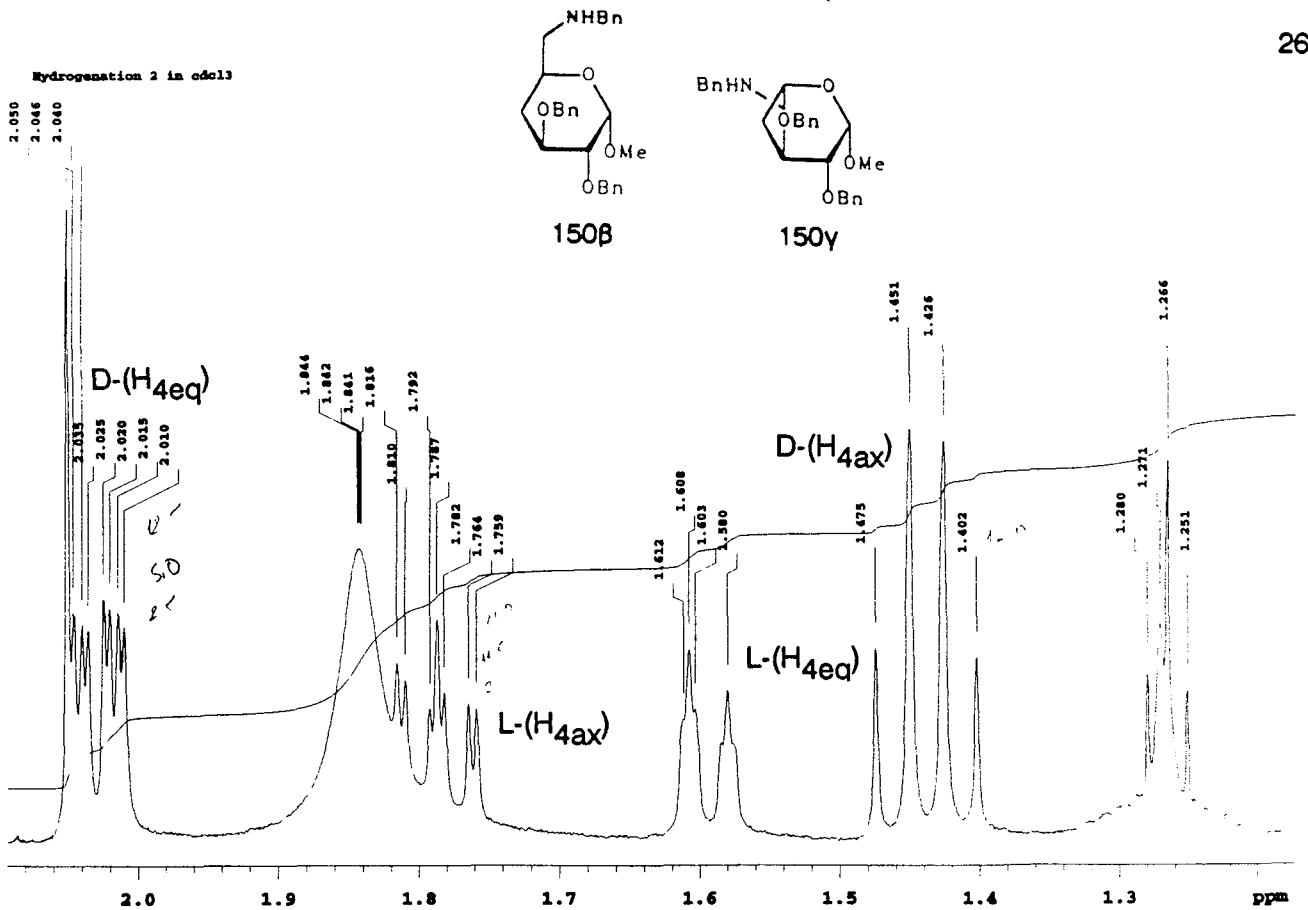






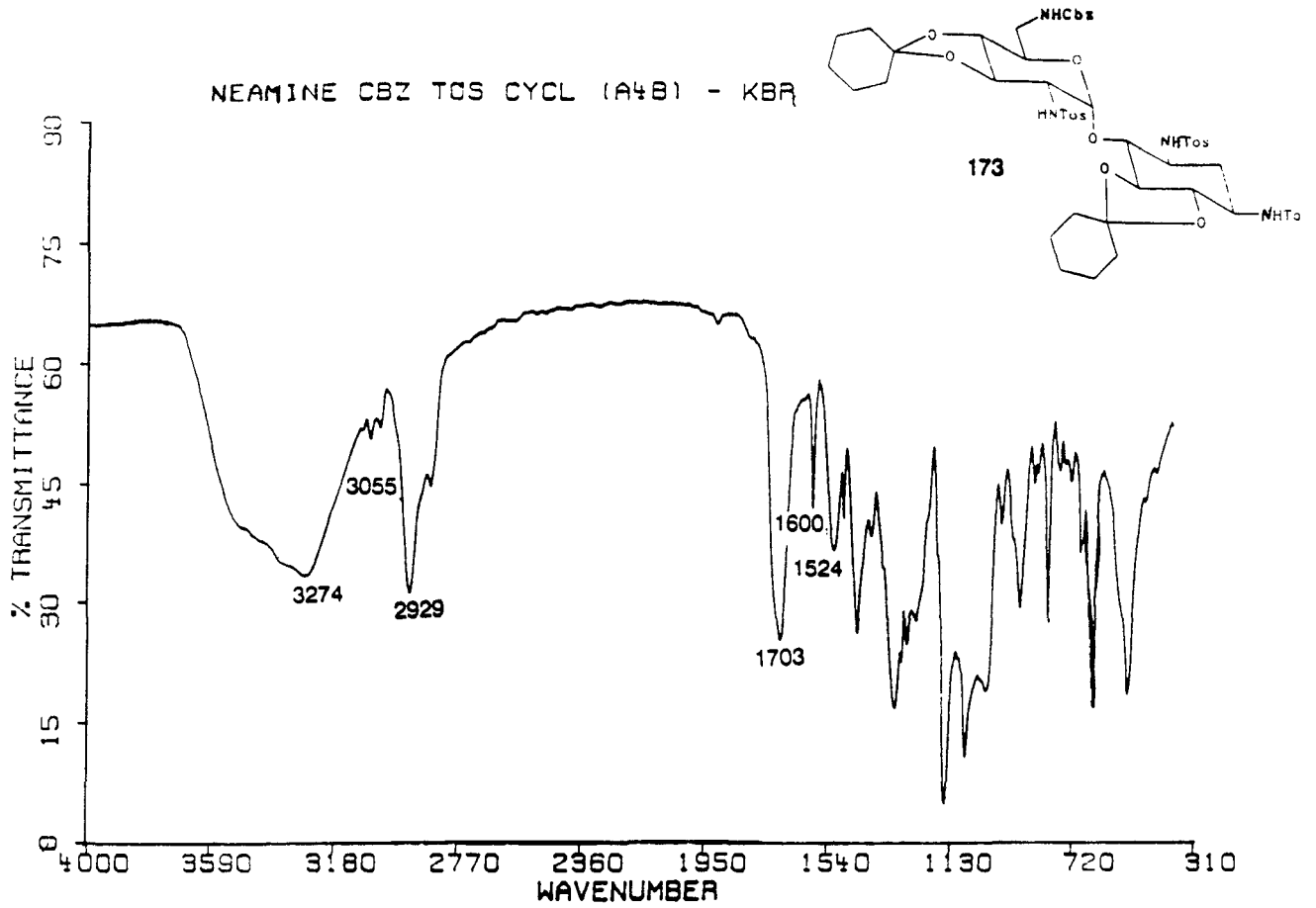
500MHz <sup>1</sup>H NMR φάσμα του μεθυλο-2,3-δι-*O*-βενζυλο-4,6-δι-δεοξυ-α-D-ξυλο-εξ-4-ενο-πυρανοζίτη 150a σε CDCl<sub>3</sub>





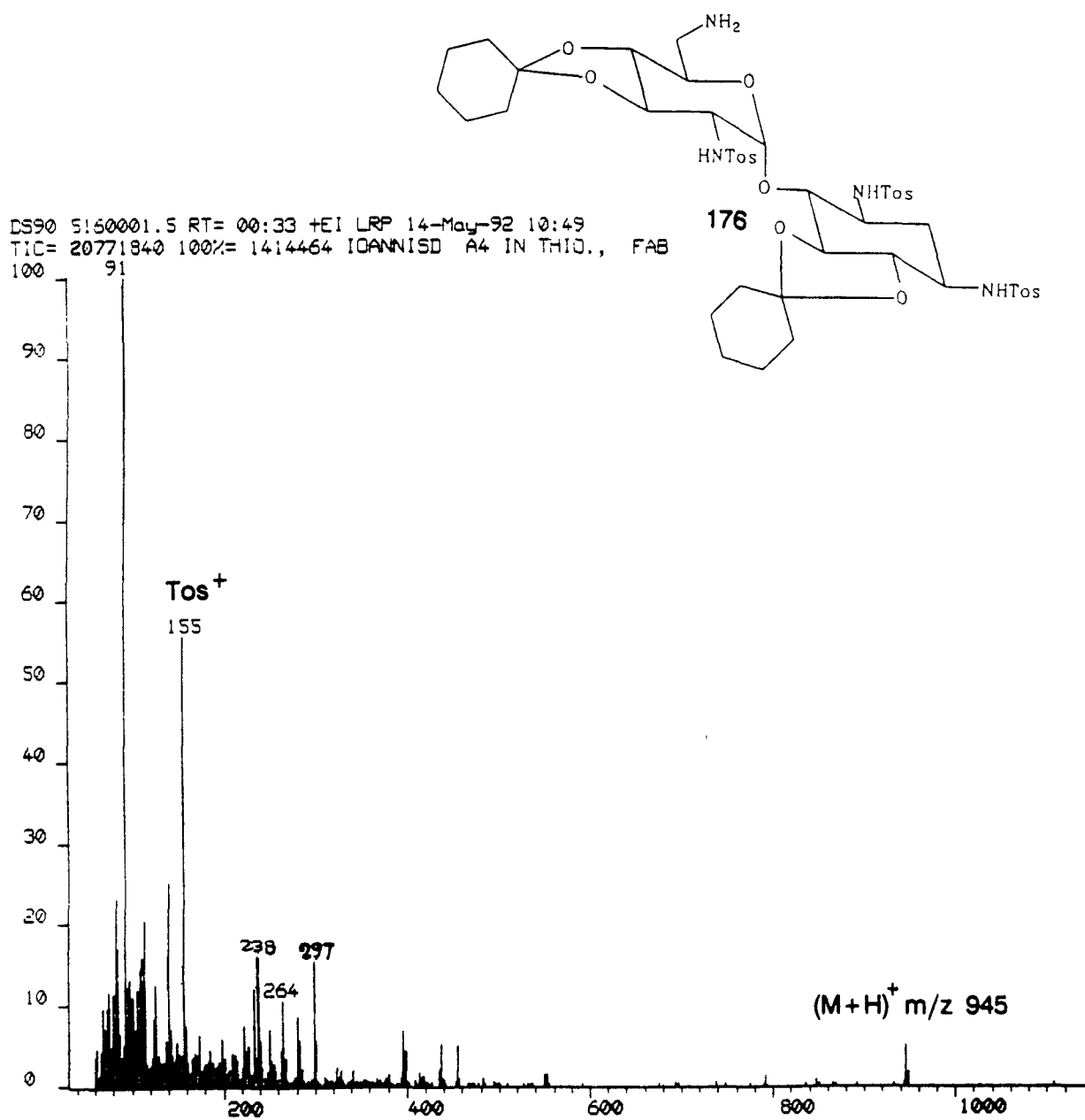
500MHz <sup>1</sup>H NMR φάσμα μίγματος του μεθυλο-2,3-δι-Ο-βενζυλο-4,6-δι-δεοξυ-6-βενζυλαμινο-α-D-γλυκοπυρανοζιτη 150β και του μεθυλο-2,3-δι-Ο-βενζυλο-4,6-δι-δεοξυ-6-βενζυλαμινο-β-L-ιδιοπυρανοζιτη 150γ σε CDCl<sub>3</sub>





I.R. φάσμα της 6'-N-Cbz-1,3,2'-τρι-N-τοσυλο-5,6 3',4'-δι-Ο-κυκλοεξυλιδενο-νεαμίνης 173

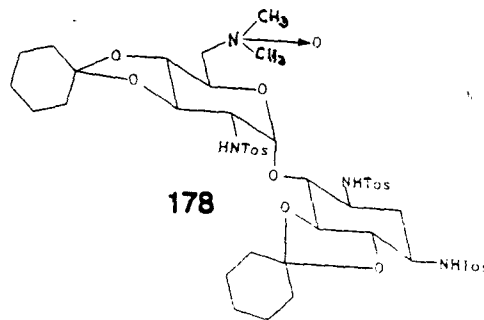
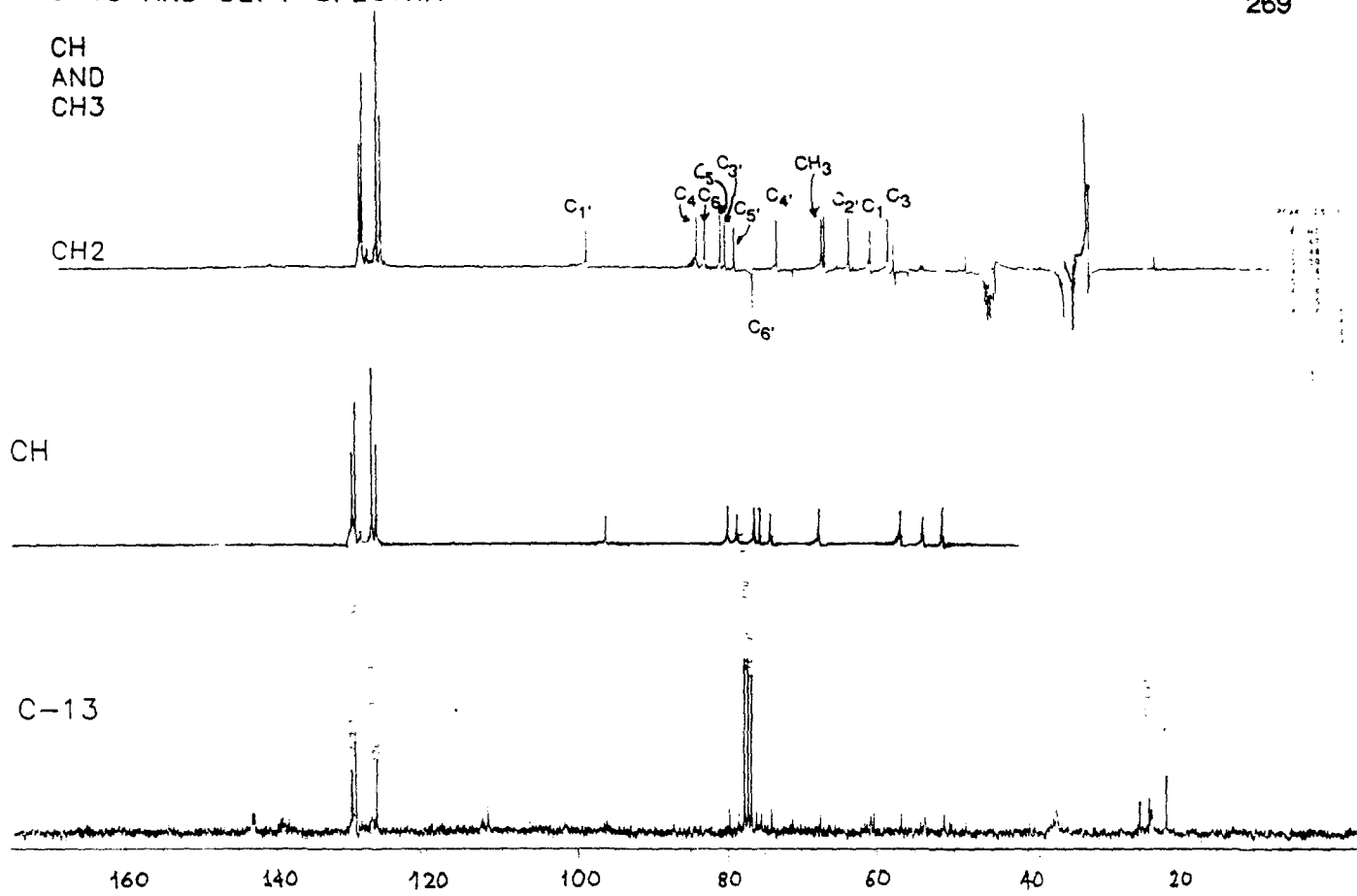




FAB-MS φάσμα της 1,3,2'-τρι-N-τοσυλο-5,6 3',4'-δι-O-κυκλοεξυλιδενο-νεαμίνης 176







$^{13}\text{C}$  και Dept. 100MHz φάσμα του 6'-N,N-διμεθυλο-N-οξειδίου της 1,3,2'-τρι-N-τοσυλο-5,6 3',4'-δι-O-κυκλοεξυλιδανο-νεαμίνης 178

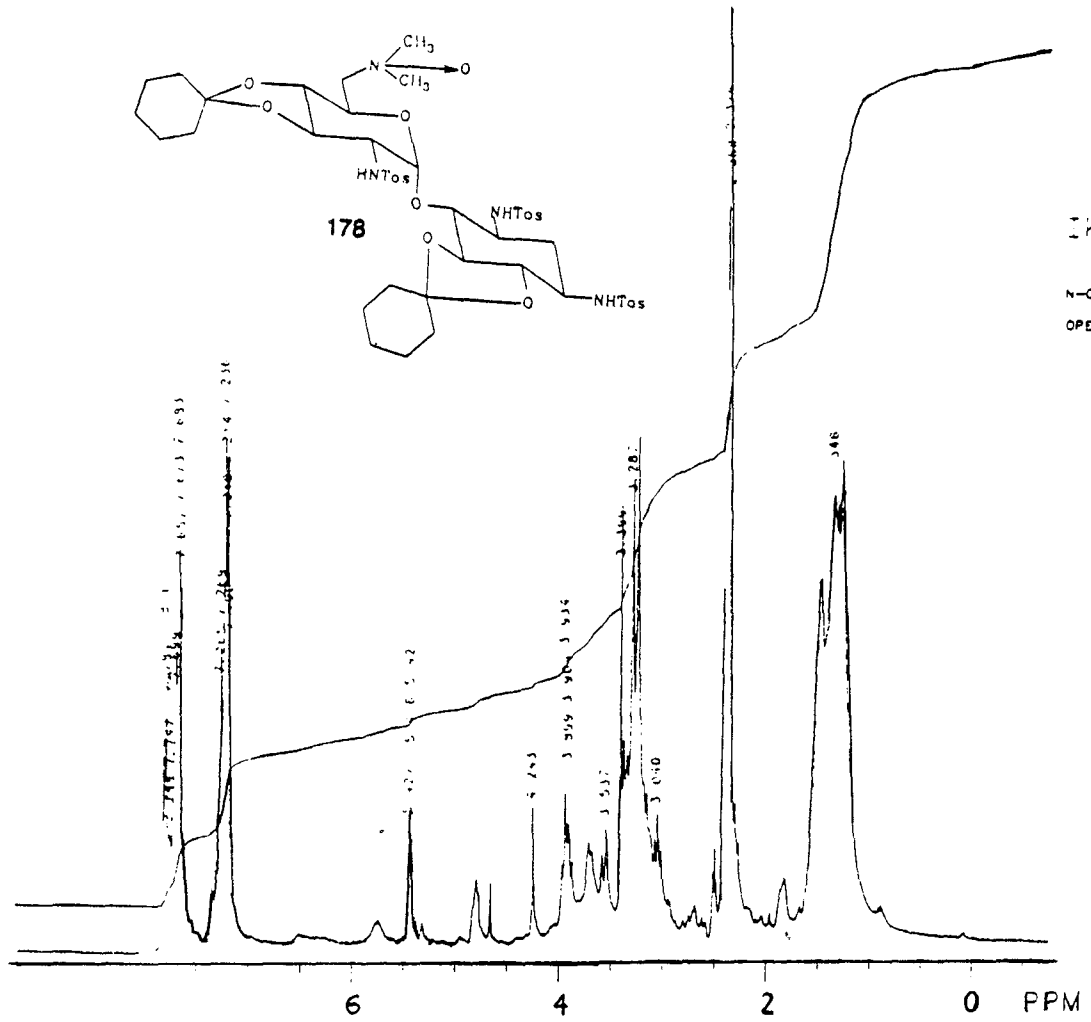




GE 211V  
GE 11E

IKG 510  
18SEP92

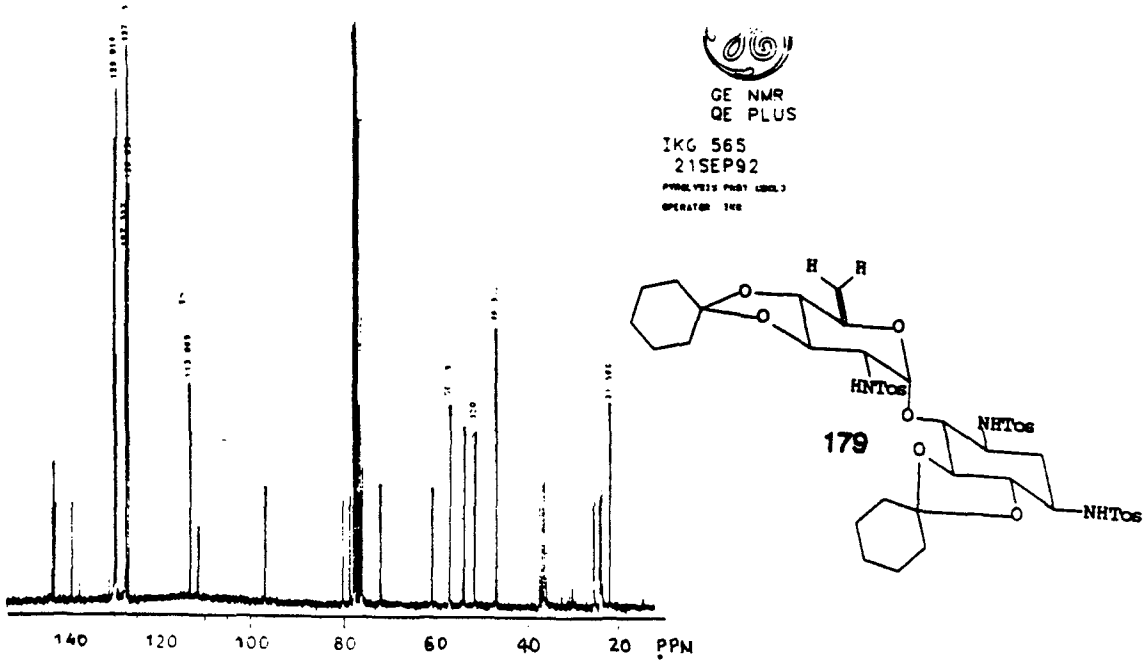
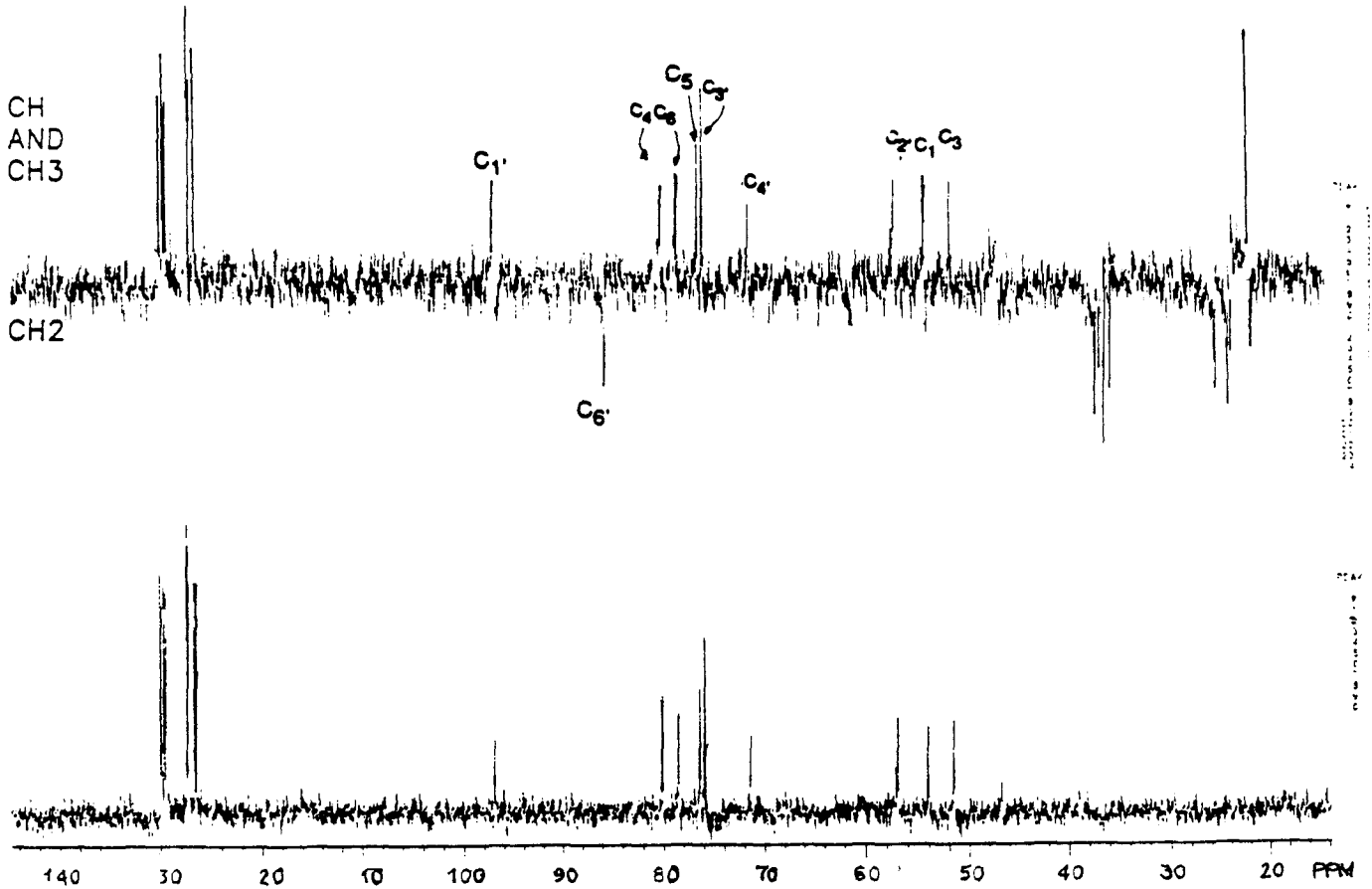
N-OXIDE IN CDCl<sub>3</sub>  
OPERATOR: IKG



<sup>1</sup>H NMR 300MHz φάσμα του 6'-N,N-διμεθυλο-N-οξειδίου της 1,3,2'-τρι-N-τοσυλο-5,6,3',4'-δι-O-κυκλοεξυλιδενο-νεαμίνης 178

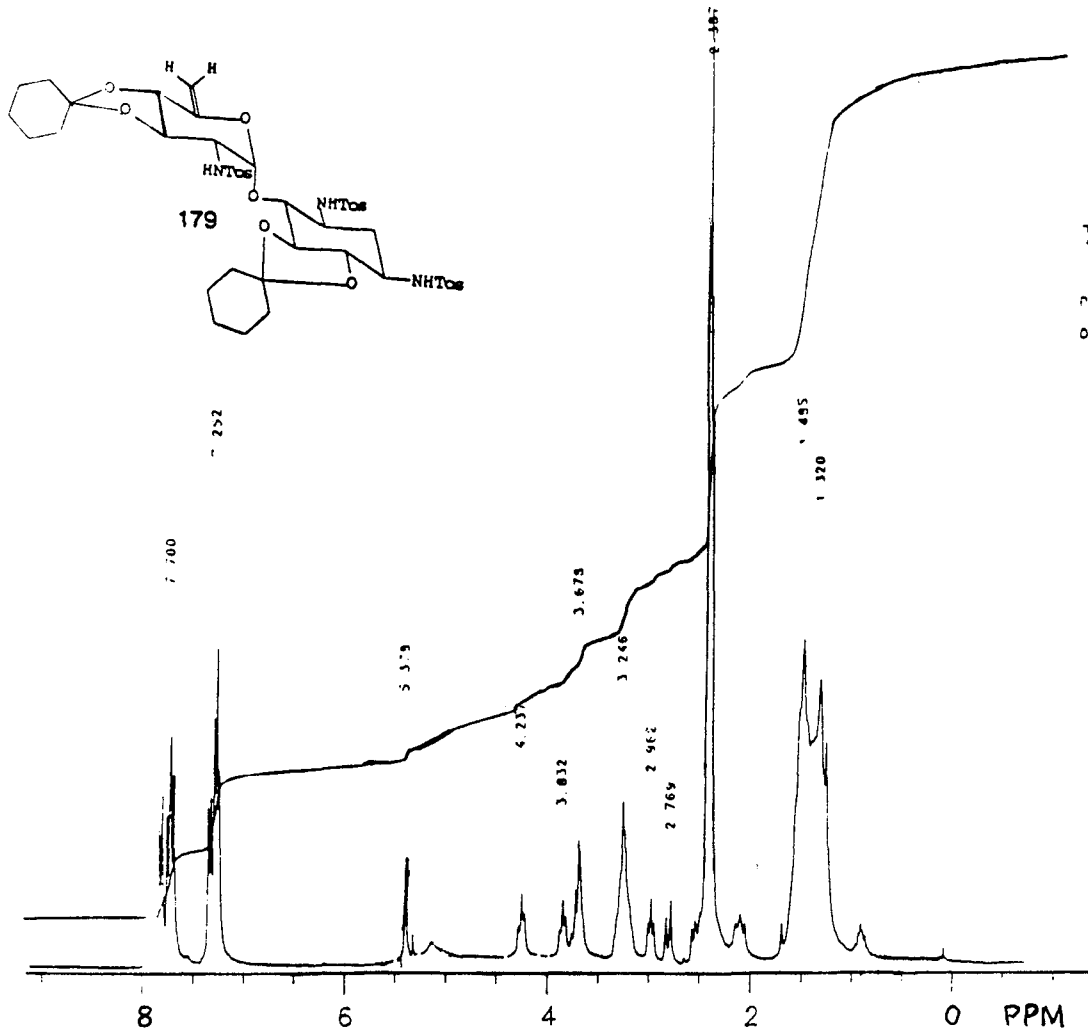


DEPT SPECTRA



<sup>13</sup>C και Dept. 100MHz φάσμα της 6'-δεαμινο-5'-ενο-1,3,2'-τρι-N-τοσυλο-5,6 3',4'-δι-O-κυκλοεξυλιδενο-νεαμίνης 179





GE  
 GE  
 TKG 560  
 19SEP92  
 PYROLYSIS COLL3  
 OPERATOR TAG

<sup>1</sup>H NMR 300MHz φάσμα της 6'-δεαμινο-5'-ενο-1,3,2'-τρι-N-τοσυλο-5,6 3',4'-δι-O-κυκλοεξυλιδενο-νεαμίνης 179

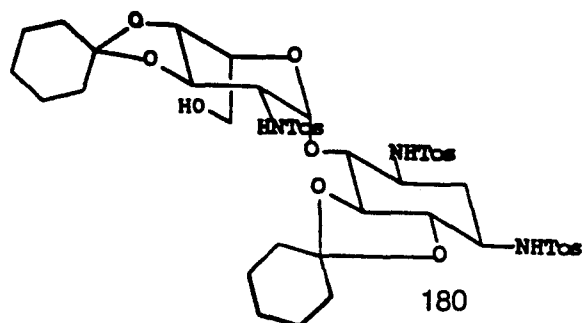
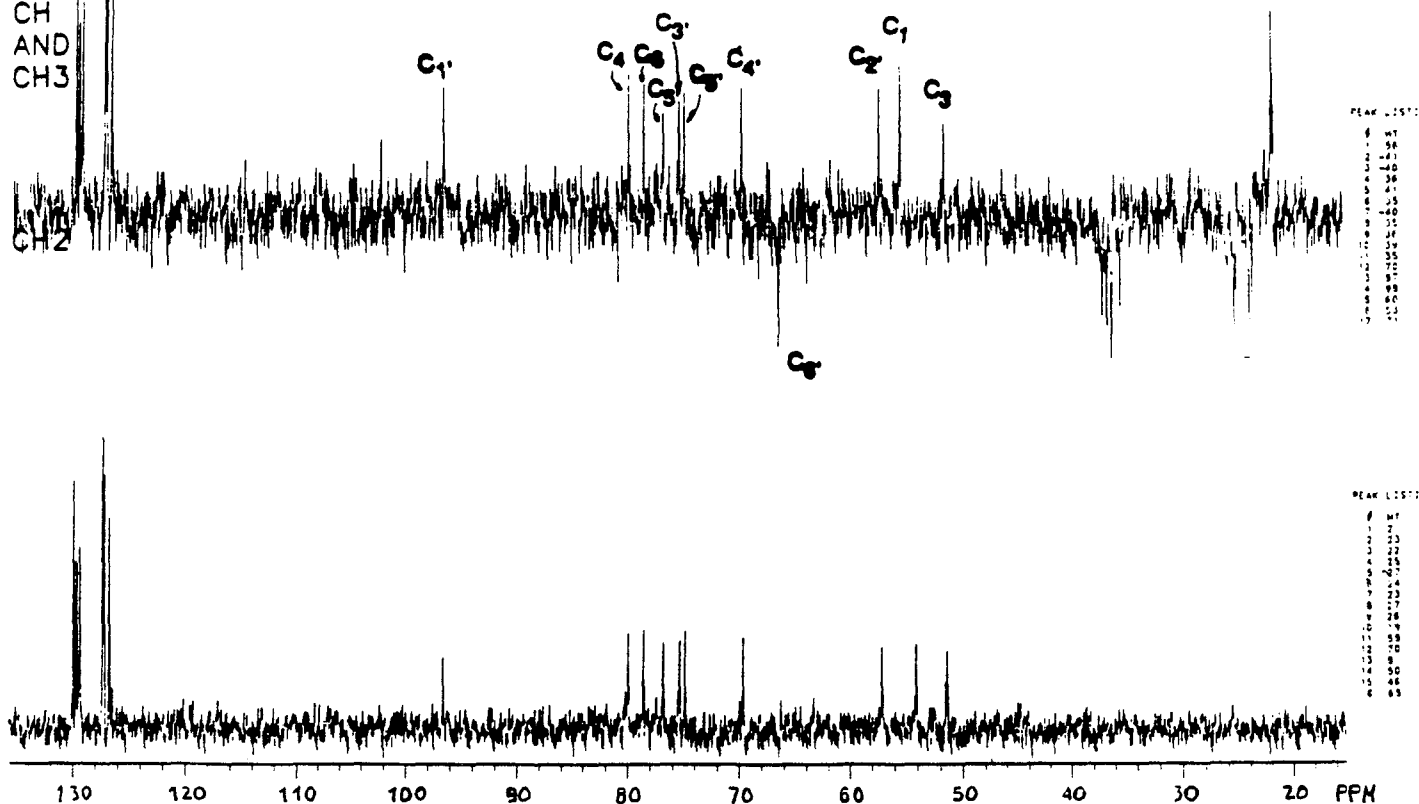




## DEPT SPECTRA

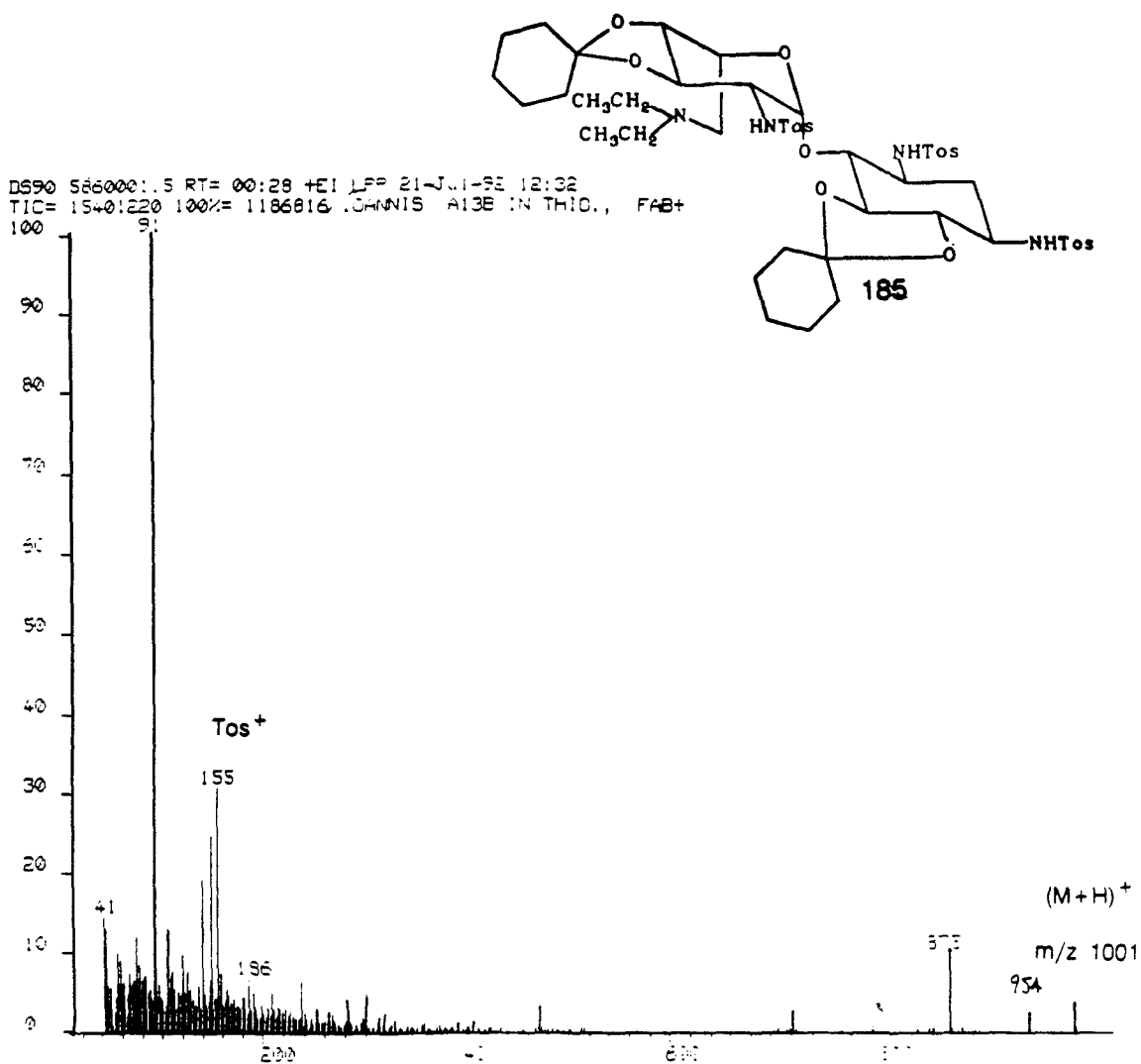
CH  
AND  
CH3

CH2



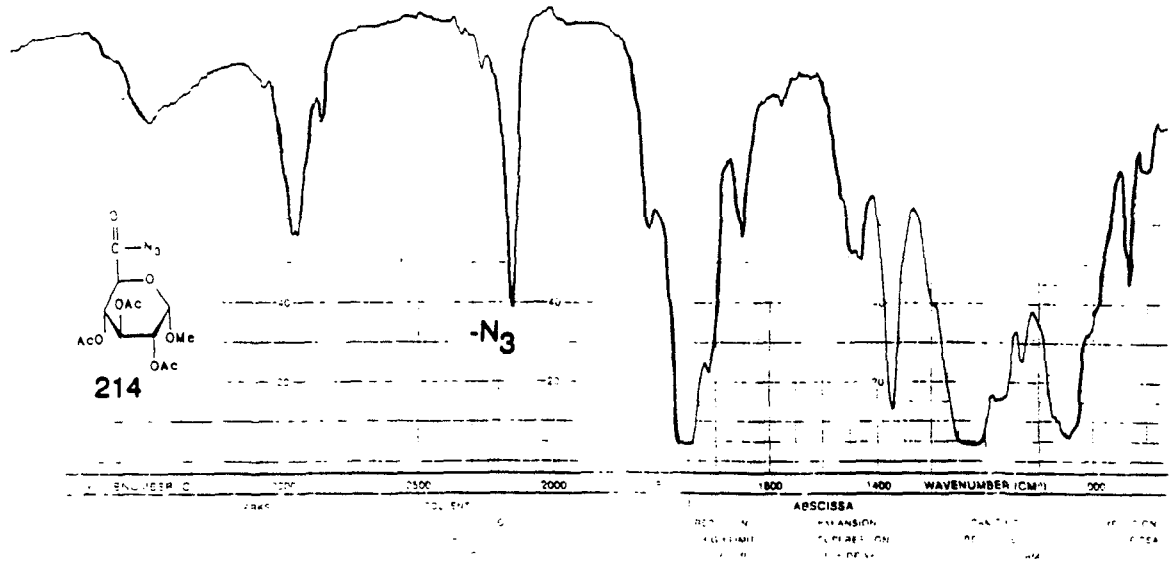
$^{13}\text{C}$  Dept. 100MHz φάσμα της 5'-επι-1,3,2'-τρι-N-τοσυλο-5,6 3',4'-δι-O  
κυκλοξυλιδανο-παροαμίνης 180



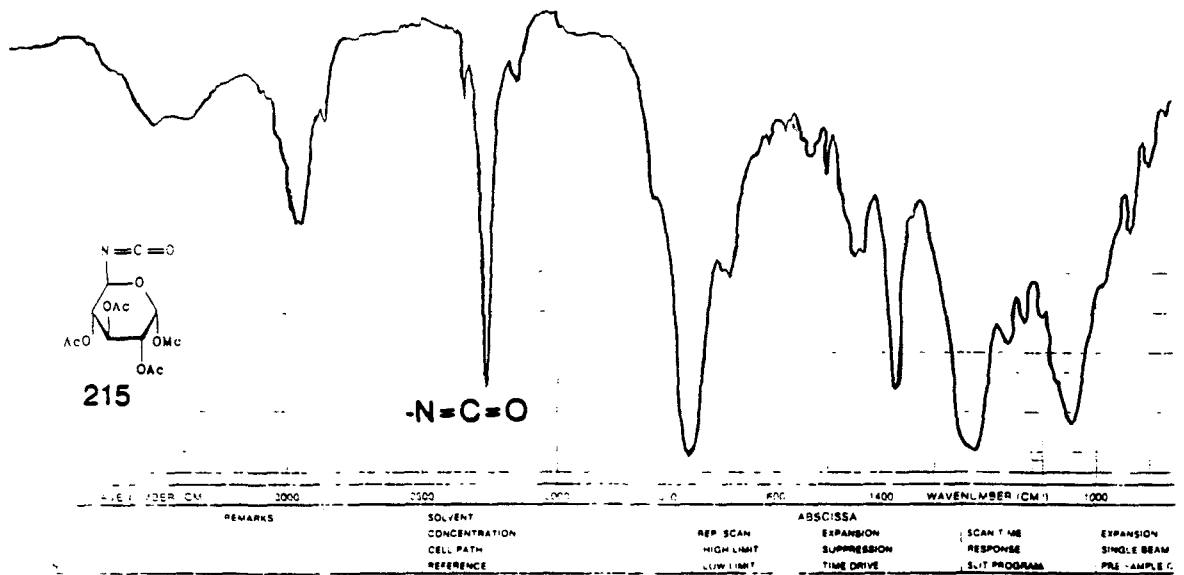


Φάσμα FAB-MS της 6'-N,N-διαιθυλο-1,3,2'-τρι-N-τοσυλο-5,6,3',4'-δι-O-κυκλοεξυλιδενο-5'-επι-νεαμίνης **185**



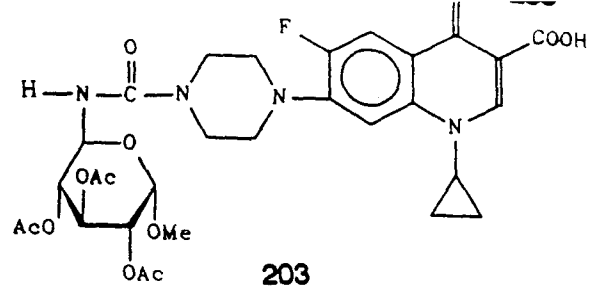


IR φάσμα του αζιδίου του μεθυλο-2,3,4-τρι-Ο-ακετυλο-α-D-γλυκουρονικού οξέος 208

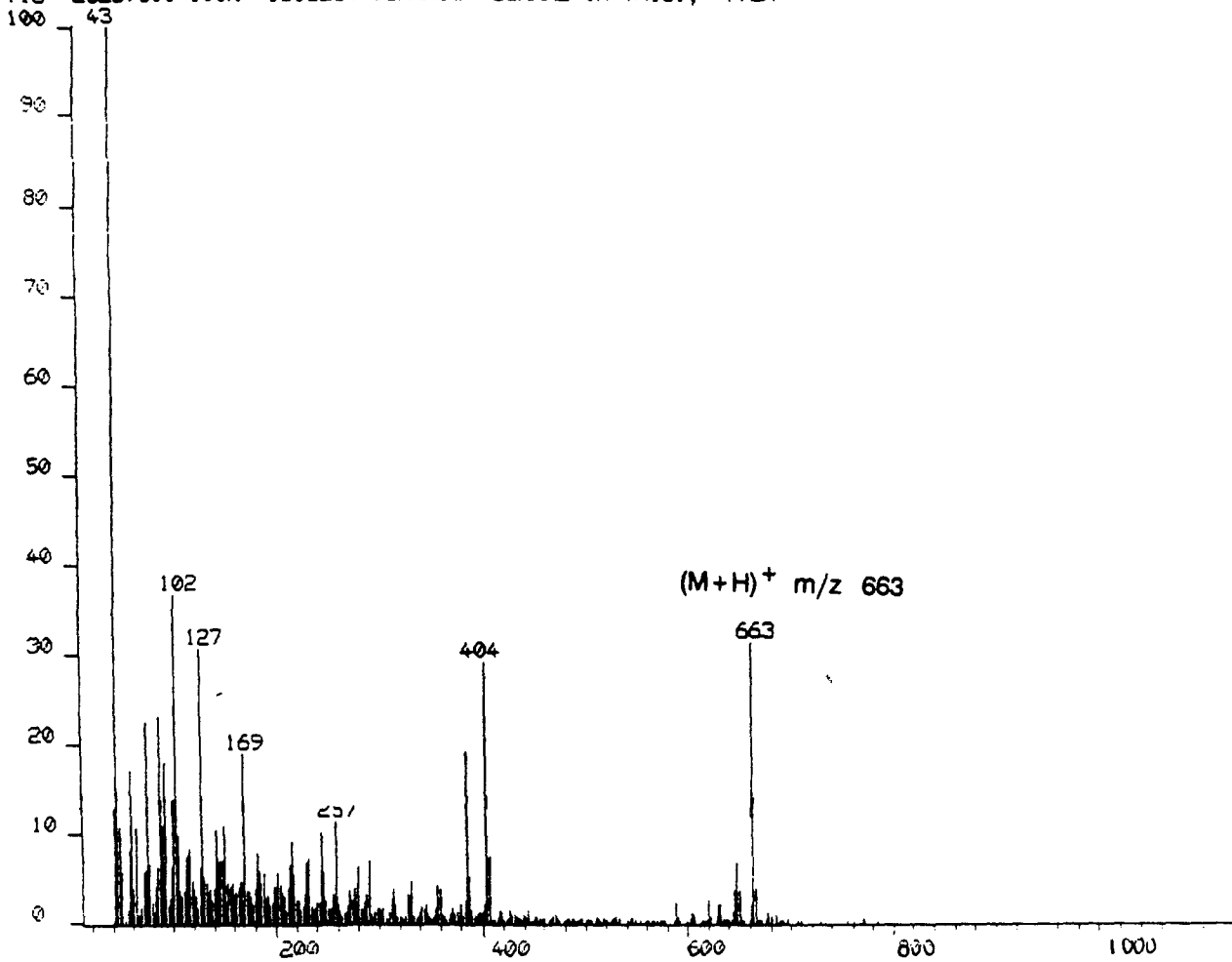


IR φάσμα του N-(1-Ο-μεθυλο-2,3,4-τρι-Ο-ακετυλο-α-D-ξυλο-πεντο-πυρανοζ-5-υλο)-ισοκυανικού εστέρα 209





DS90 6790001.9 RT= 00:59 +EI LRP 16-Dec-92 14:13  
 TIC= 25237500 100%= 1603264 IOANNIS CONNH2 IN THIO., FAB+

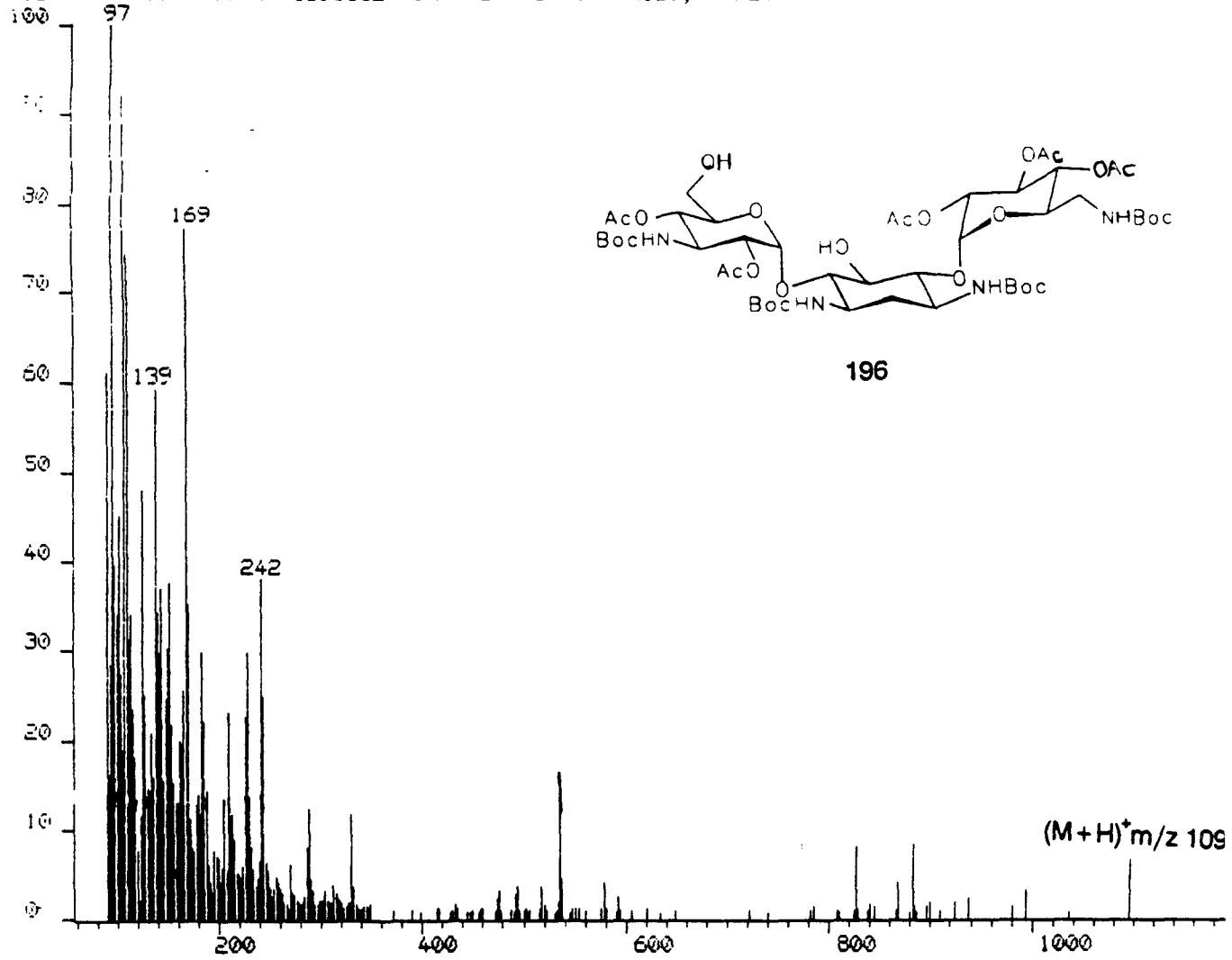


FAB-MS φάσμα της N-(μεθυλο-2,3,4-τρι-O-ακετυλο-α-D-ξυλοπυρανοζιτο-5-αμινοκαρβονυλο)-σιπροφλοξασίνης 203





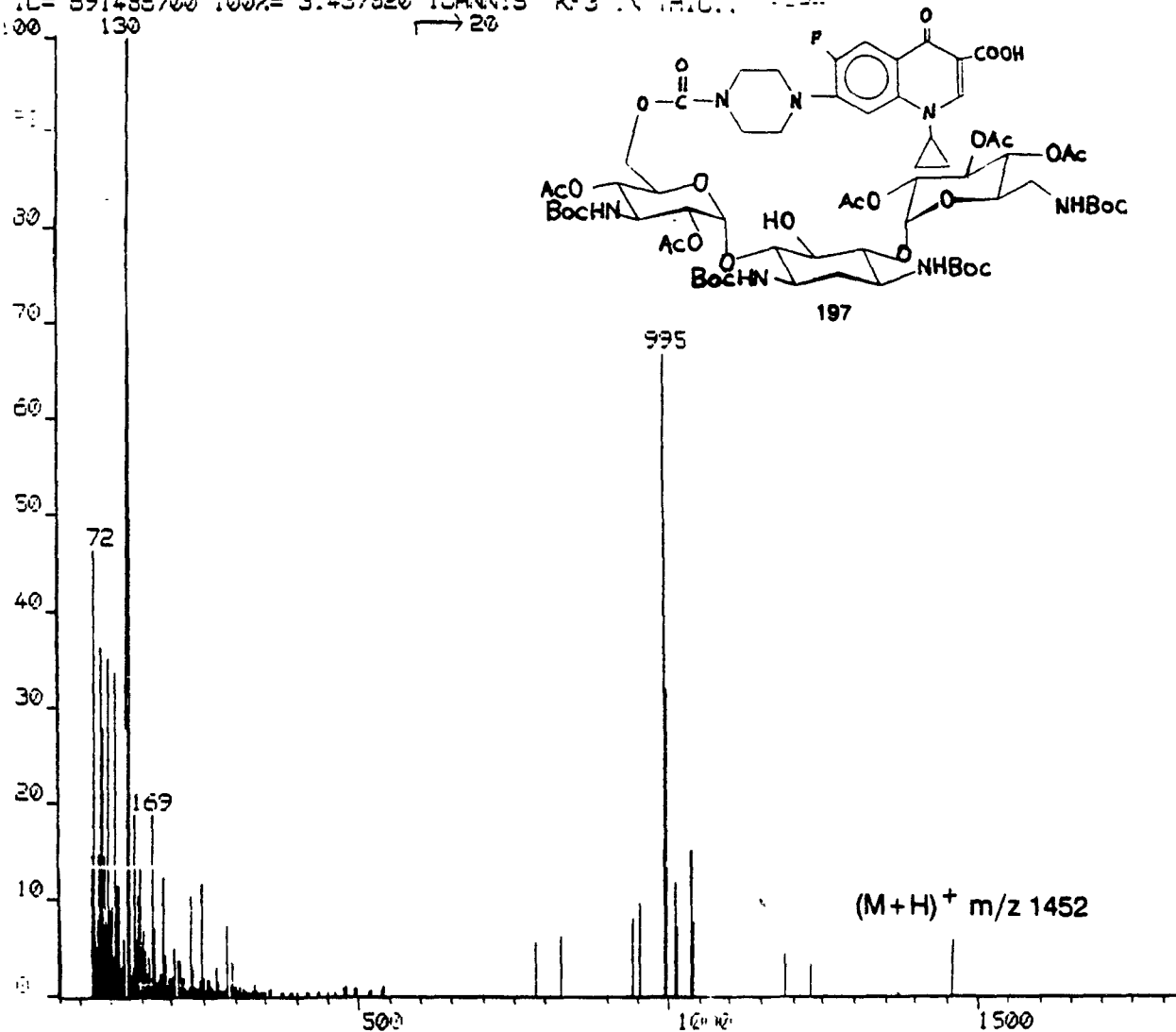
ES90 3562001.4 RT= 20:21 +EI LRP 17-Jun-93 13:08  
 TIC= 577485800 100%= 8695552 IOANNIS KΩM IN TRIS., FAB+



FAB-MS φάσμα της 2',3',4',2'',4''-πεντα-Ο-ακετυλο-1,3,6',3''-τετρα-N-Boc-  
 καναμικίνης A 196



0390 0730001.15 RT= 01:36 +EI LRP 1-JUL-93 10:43  
 TIC= 691485700 100%= 3.1437820 ICANNIS KF3 IN TRIC...  
 100 130 → 20



FAB-MS φάσμα της N-(2',3',4',2'',4''-πεντα-O-ακετυλο-1,3,6',3''-τετρα-N-Boc-6''-O-καρβονυλο-καναμικίνη A)-σιπροφλοξασίνης



## S U M M A R Y

The synthesis of medicinally interesting compounds is the main issue of this work. The thesis is organised as follows: It consists of four chapters in three parts. The first part which serves as an introduction is referred to antibiotics and particularly aminoglycosides and the work related to the transformation of neamine. Part two presents the synthesis of a new class of compounds with pharmacological interest which consist of two other biological active compounds and the contribution of the present work to this field. Finally, the third part consists of the detailed experimental descriptions, the characteristics of the synthesized compounds, an index and the literature citations.

In particular, chapter I discusses the following aspects:

- (a) The basic classes of antibiotics and their antibacterial activity.
- (b) The structure, the antibacterial activity and the toxicity of aminoglycosides.
- (c) Bacteria resistance to antimicrobial agents.
- (d) New approaches in synthesis of semisynthetic aminoglycosides.
- (e) A review of the most important articles on epimerizations effected in monosaccharides and aminoglycosides.

Our approach for making better antibiotics was the following:

A) Investigation for inversion of chirality on the carbon-5' of neamine (a common moiety of all aminocyclitol antibiotics) which would be applicable for the synthesis of new antibiotics chemically or by mutasynthesis. Such antibiotics which contain the C-5'-epi-neamine moiety would be invulnerable by resistant strains of bacteria and thus active against them.

B) Preparation of "hybrid" or mixed structure antibiotics with wider spectrum of antibiotic activity, that is, aminoglycoside x quinolones.

More specifically chapter II describes the main issue of the thesis which is the methodology of formation of L-idopyranosyl-structures by epimerization on carbon-5' of neamine. Methyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside, a model-compound for this epimerization, was transformed to methyl-2,3-di-O-benzyl-4-deoxy- $\alpha$ -D-xylo-hex-4-enopyranosid-5-al in order to investigate its transformation to the ido-configuration by hydrogenation of the conjugated system of this molecule (fig.1). On the other hand the synthetic strategy for

the inversion of chirality at the (C-5') carbon of neamine for preparing (C-5')-epi-paromamine or (C-5')-epi-neamine was achieved as follows:

Neamine was transformed to 6'-N-oxide which was subsequently by a Cope elimination yielded an unsaturated molecule via which (C-5')-epi-paromamine was prepared as shown in figure 3. (C-5')-epi-neamine was prepared by a direct elegant procedure via enamine formation at (C-5') carbon and hydrogenolysis and hydrogenation of neamine as shown in figure 2.

Chapter III presents the literature and trends of "hybrid" or mixed structure antibiotics related to our work.

Chapter IV presents our own approach for making mixed structure antibiotics and more specifically the novel aminoglycoside x quinolone.

The experimental results (found in product records) of this thesis are presented and discussed in chapters II and IV and summarized as follows:

- (a) Conversion of neamine (derived from neomycin B) to (C-5')-epi-neamine.
- (b) Conversion of neamine (derived from neomycin B) to (C-5')-epi-paromamine.
- (c) Model work for conversion of D-glucopyranoside to L-ido configuration on methyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside.
- (d) Ciprofloxacin, an insoluble in water molecule, was transformed to  $\alpha$ -D-glucopyranose conjugate for biological screening. More specifically the coupling was achieved via a carbamate bond or via isocyanate formation at C-5, prior to coupling to the quinolone (fig.4).
- (e) Finally the coupling of kanamycin A with ciprofloxacin via an activated carbonate with phosgene was achieved (fig.5).

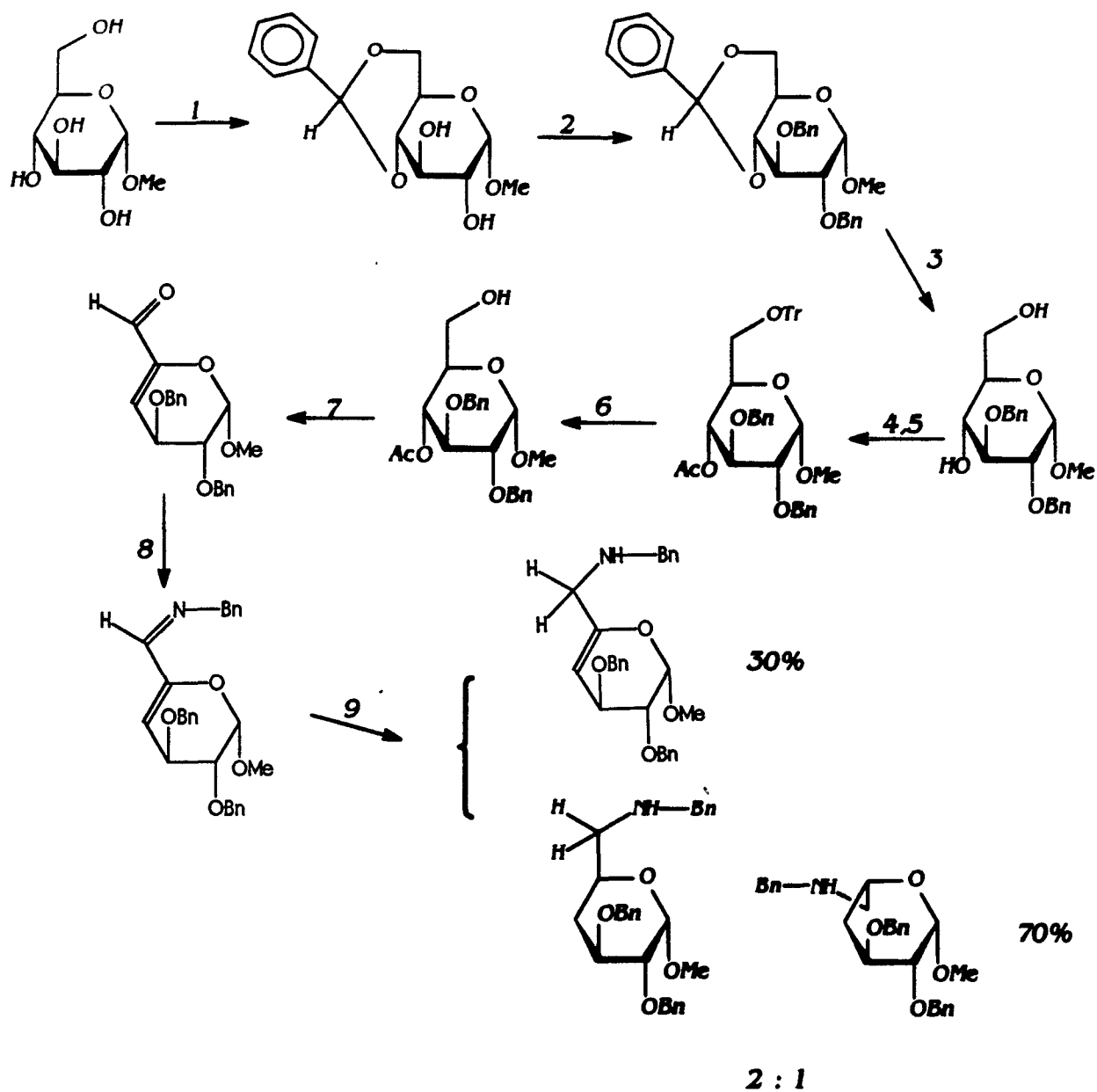
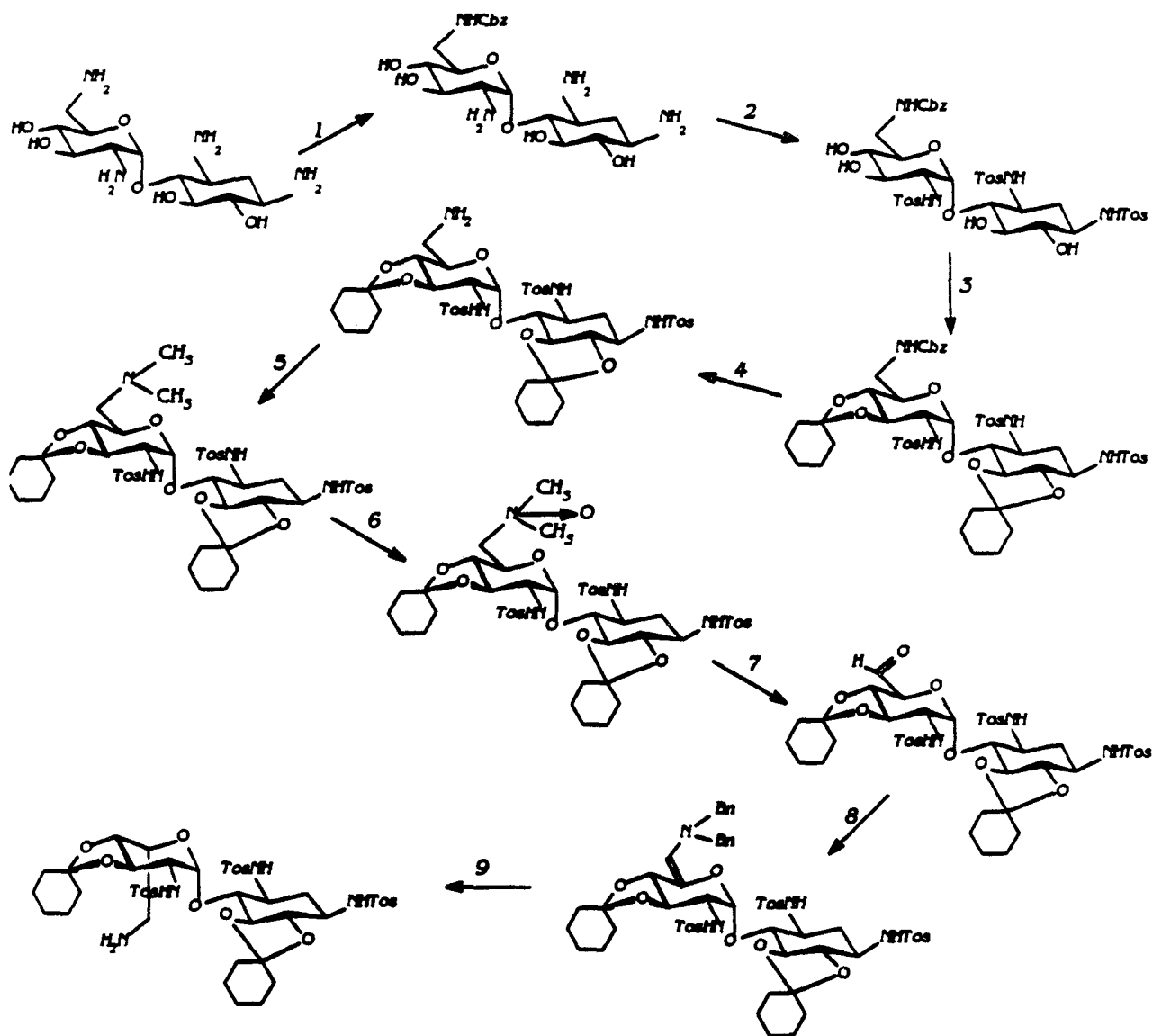


FIGURE 1

ΣΧΗΜΑ 1

## THE (C-5')-EPIMERIZATION OF NEAMINE



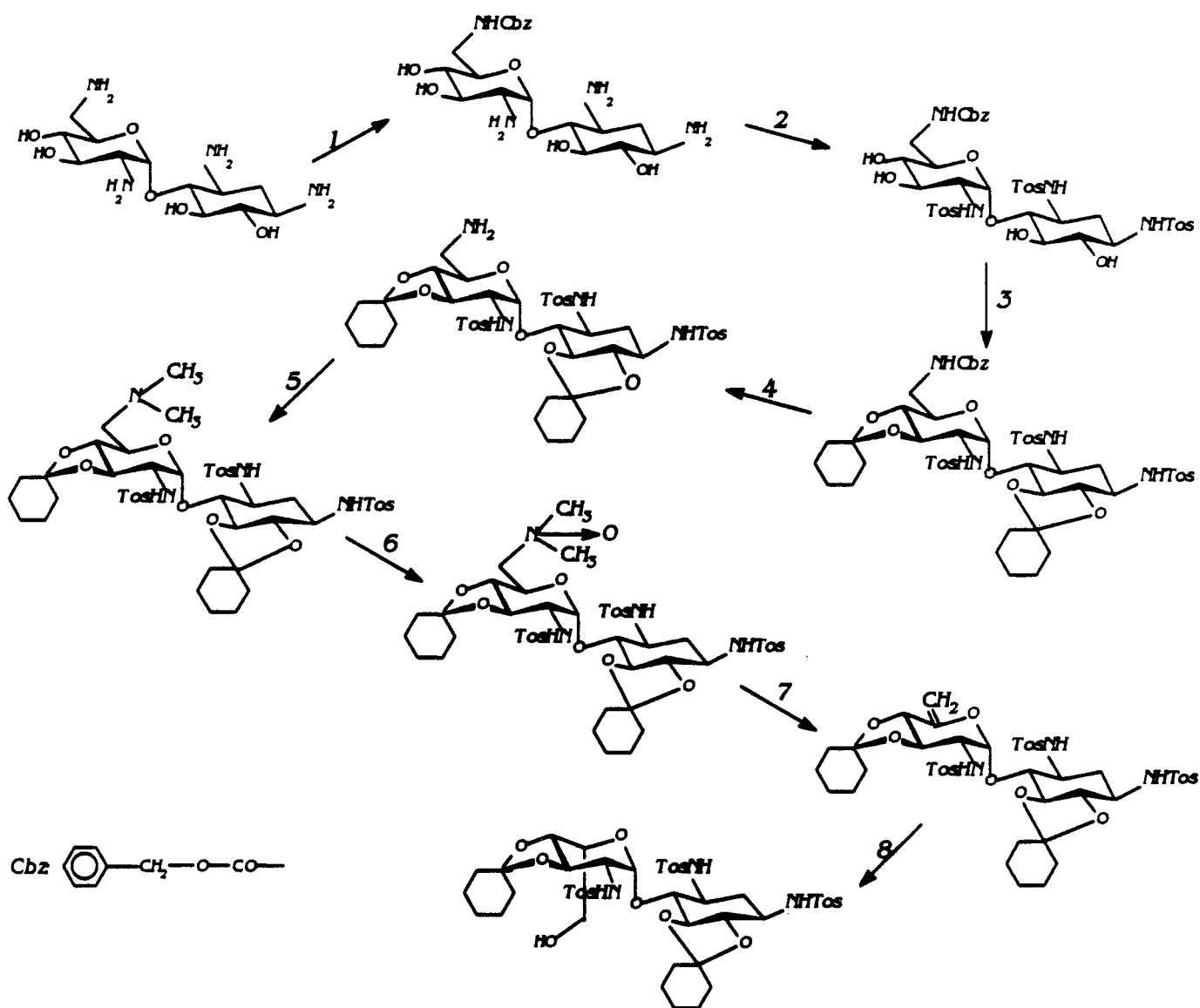
1.N-benzyloxycarbonyloxy-5-norbornen-2,3-dicarboxyimidio/Dioxan:H<sub>2</sub>O 2.Tos-Cl/Dioxan:H<sub>2</sub>O  
 3.Cyclohexanone Dimethyl Ketal/TsOH/DMF/70°C 4.tBuOK/tBuOH 5.(CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>/NaCNBH<sub>3</sub>/MeOH  
 6.mCPBA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 7.PhCOCl/[(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH]<sub>2</sub>NC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>/Acetone 8.Bn<sub>2</sub>NH/TiCl<sub>4</sub>/Benzene 9.H<sub>2</sub>/Pd

FIGURE 2

ΣXHMA 2



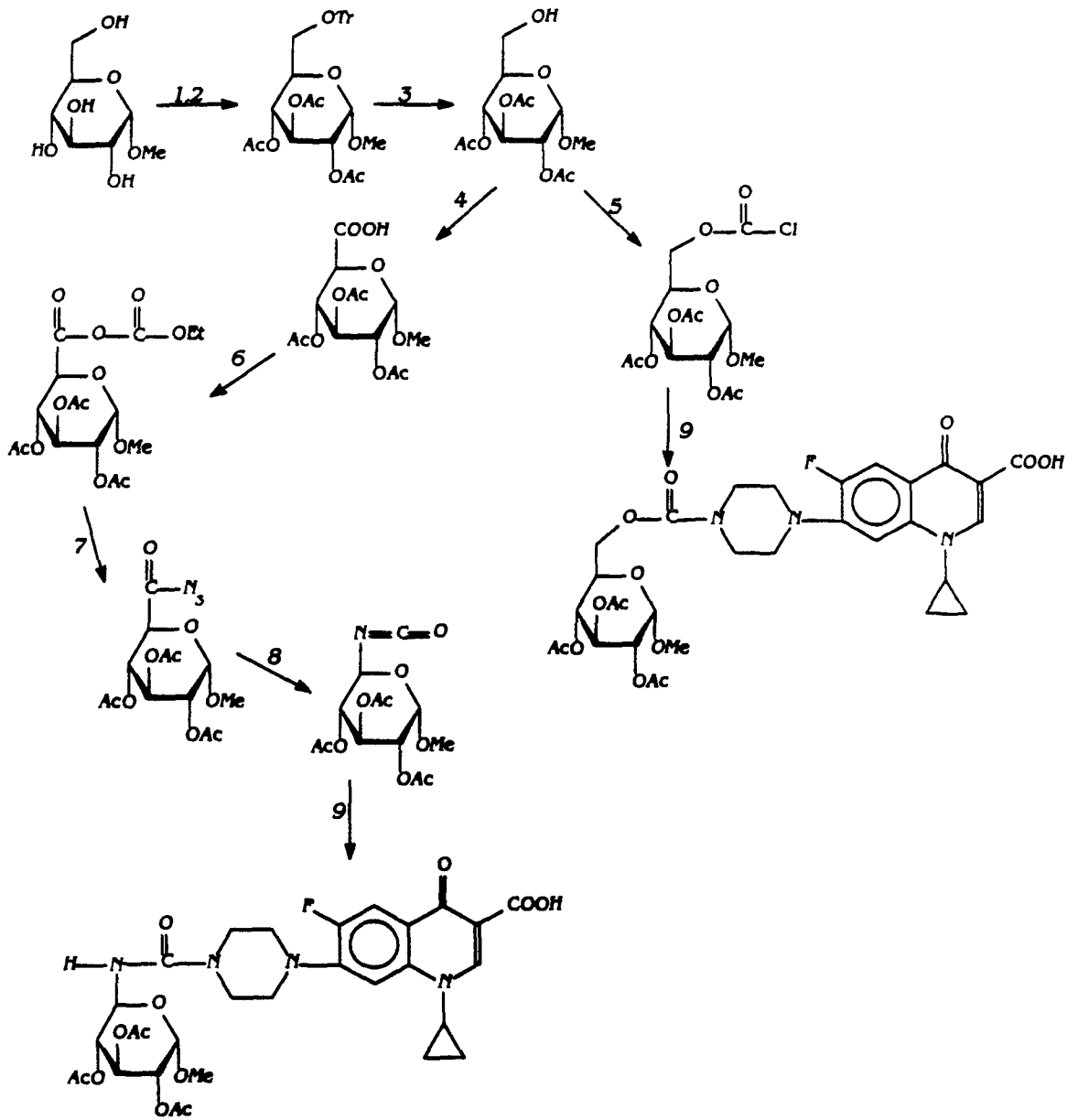
## SYNTHESIS OF (C-5')-EPI-PAROMAMINE



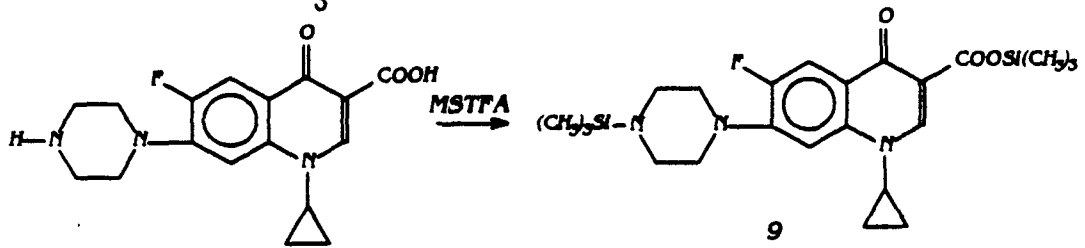
1. N-benzyloxycarbonyloxy-5-norbornen-2,3-dicarboxyimidio/Dioxan:H<sub>2</sub>O 2. Tos-Cl/Dioxan:H<sub>2</sub>O  
 3. Cyclohexanone Dimethyl Ketal/TsOH/DMF/70°C 4. tBuOK/tBuOH 5. (CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>/NaCNBH<sub>3</sub>/MeOH  
 6. mCPBA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 7. 150°C/4h, 8. a) B<sub>2</sub>H<sub>6</sub> b) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/OH<sup>-</sup>/THF

FIGURE 3

ΣXHMA 3



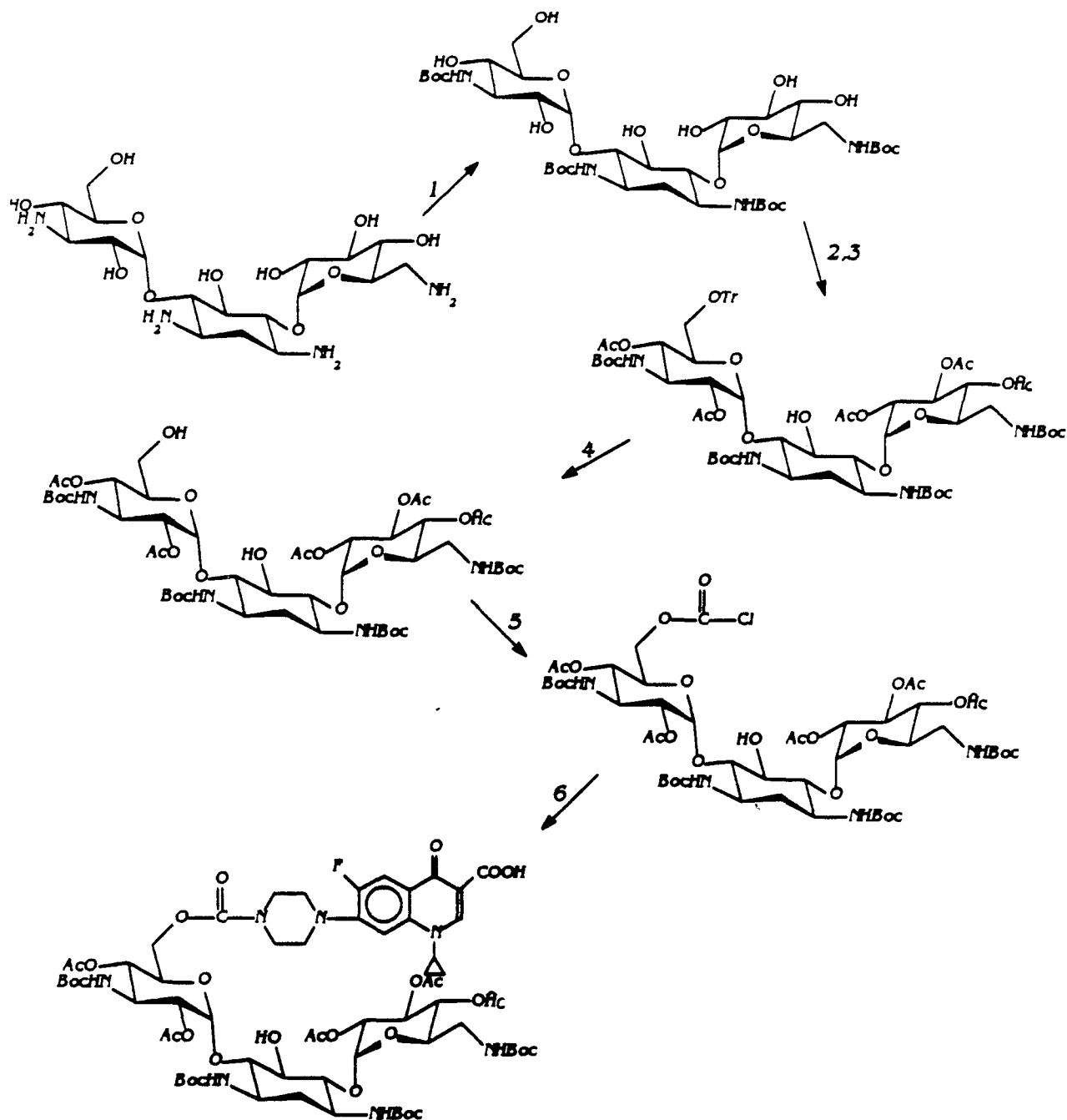
1.  $\text{CCl}_3\text{COCl}/\text{py}$  2.  $\text{Ac}_2\text{O}/\text{py}$  3.  $\text{HCOOH}/\text{Et}_2\text{O}$  4. Jones 5.  $(\text{CCl}_3\text{O})_2\text{CO}/[(\text{CH}_3)_2\text{CH}]_2\text{NC}_2\text{H}_5/\text{CH}_2\text{Cl}_2$   
 6.  $\text{EtOCCl}/\text{THF}$  7.  $\text{NaN}_3/\text{THF}$  8.  $\text{CO}/80^\circ\text{C}$



MSTFA :  $\text{CF}_3\text{CONMeSiMe}_3$

FIGURE 4

ΣXHMA 4



1. Boc<sub>2</sub>O/DMSO:H<sub>2</sub>O 2. TrCl/py 3. Ac<sub>2</sub>O/py 4. HCOOH/Et<sub>2</sub>O 5. (CCl<sub>3</sub>O)<sub>2</sub>CO/((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>

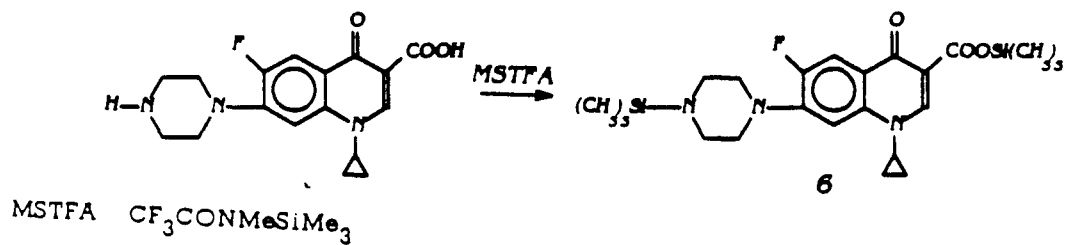


FIGURE 5

ΣXHMA 5



## Π Ε Ρ Ι Λ Η Ψ Η

Η παρούσα διατριβή αποτελεί μια έρευνα πάνω στην σύνθεση ενώσεων με βιολογικό ενδιαφέρον και αποτελείται από τρία μέρη.

Στο πρώτο μέρος γίνεται αναφορά στα αντιβιοτικά και ειδικότερα σε αυτά της κατηγορίας των αμινογλυκοζιτών και στις προσπάθειες που έγιναν για την τροποποίηση της νεαμίνης. Στο δεύτερο μέρος αναφερόμαστε σε μια προσπάθεια που έχει αρχίσει τα τελευταία χρόνια, στον τομέα της σύνθεσης των αντιβιοτικών και που συνίσταται στη δημιουργία φαρμάκων τα οποία είναι ενώσεις που περιέχουν συνδεδεμένες δυο άλλες βιολογικά δραστικές ενώσεις και στην συμβολή της παρούσας εργασίας στον κλάδο αυτό. Τέλος το τρίτο μέρος περιλαμβάνει τις λεπτομερείς πειραματικές περιγραφές των συνθέσεων με τα χαρακτηριστικά των ενώσεων που συντέθηκαν, παράρτημα με ορισμένα χαρακτηριστικά φάσματα καθώς και τις βιβλιογραφικές παραπομπές.

Συγκεκριμένα τα κεφάλαια του Α μέρους έχουν ως εξής:

Στο κεφάλαιο Ι γίνεται μια γενική αναφορά στην αντιμικροβιακή χημειοθεραπεία, στις κατηγορίες των αντιμικροβιακών χημειοθεραπευτικών και στους τρόπους ανθεκτικότητας σ'αυτά από τα βακτήρια. Στη συνέχεια αναφερόμαστε συγκεκριμένα στους αμινογλυκοζίτες. Περιγράφονται από άποψη δομής οι σπουδαιότεροι αμινογλυκοζίτες και αναλύονται οι απόψεις σχετικά με τη δράση, την τοξικότητα τους και το πώς αναπτύσσεται η ανθεκτικότητα των παθογόνων βακτηρίων σ'αυτούς. Σχολιάζονται οι σύγχρονες μέθοδοι παρασκευής ημισυνθετικών αμινογλυκοζιτών και γίνεται μια βιβλιογραφική ανασκόπηση των σπουδαιότερων επιμερειώσεων που πραγματοποιήθηκαν σε μονοσακχαρίτες και αμινογλυκοζίτες.

Το πρόβλημα της σύνθεσης νέων αντιβιοτικών, δραστικών εναντίον των ανθεκτικών στελεχών των βακτηρίων, κατά τη γνώμη μας, μπορεί ν'αντιμετωπιστεί ως εξής:

A)Με τη σύνθεση νέων αντιβιοτικών χημικώς ή με μουτασύνθεση ύστερα από αναστροφή της χειρομορφίας του άνθρακα 5' της νεαμίνης (κοινό τμήμα των περισσοτέρων αμινογλυκοζιτικών αντιβιοτικών).

B)Με τη σύνθεση "μικτών" φαρμάκων μεταξύ αμινογλυκοζιτών και φθοροκινολονών, με ευρύ φάσμα αντιμικροβιακής δράσης.

Στο κεφάλαιο II τίθεται το κύριο πρόβλημα της διατριβής που συγκεκριμενοποιείται στη μεθοδολογία για τη σύνθεση L-ιδοπυρανοζυλο-δομών με επιμερείωση του (C-5') της νεαμίνης. Σαν πρότυπη ένωση για την επιμερείωση επιλέγεται ο μεθυλο α-D-γλυκοπυρανοζίτης που μετατρέπεται στην μεθυλο δι-O-βενζυλο-4-δεοξυ-α-D-ξυλο-εξ-4-ενοπυρανοζιτο-5-αλη προκειμένου να μελετηθεί η μετατροπή του στην L-δομή (σχ.1). Η συνθετική τακτική που υιοθετήθηκε προκειμένου να επιτύχουμε την αναστροφή της χειρομορφίας του άνθρακα 5' του μορίου της νεαμίνης για τη σύνθεση τόσο της (C-5')-επι-παρομαμίνης όσο και της (C-5')-επι-νεαμίνης είναι η ακόλουθη: Η νεαμίνη μετατρέπεται στο 6'-N-οξειδίο της, που με απόσπαση κατά Core δίνει ένα 5,6 ακόρεστο σύστημα από το οποίο συντίθεται η (C-5')-επι-παρομαμίνη (σχ. 3). Η (C-5')-επι-νεαμίνη από την άλλη πλευρά, παρασκευάζεται με μετατροπή του 6'-N-οξειδίου της νεαμίνης στην (C-5')-εναμίνη και υδρογόνωση της τελευταίας (σχ. 2). Τέλος σχολιάζονται ορισμένες άλλες μη επιτυχείς προσπάθειες σύνθεσης των 5-επιμερών.

Τα κεφάλαια του Β μέρους έχουν ως εξής:

Στο κεφάλαιο III, περιγράφονται οι σύγχρονες απόψεις για την αντιμικροβιακή χημειοθεραπεία, που συνίστανται στη δημιουργία "μικτών" φαρμάκων. Αρχικά γίνεται μια βιβλιογραφική αναφορά στις προϋποθέσεις που πρέπει να ισχύουν για την επιλογή των φαρμάκων που θα συνδεθούν και την επιλογή του τρόπου σύνδεσης των, καθώς και στον τρόπο δράσης των κινολονών. Ακόμα παρουσιάζονται οι προσπάθειες σύνθεσης "μικτών" φαρμάκων που έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία.

Στο κεφάλαιο IV αναλύονται οι συνθετικές πορείες για τη δημιουργία "μικτών" φαρμάκων μεταξύ αμινογλυκοζιτών και φθοροκινολονών. Στο τέλος των κεφαλαίων II και IV αναφέρονται τα συμπεράσματα γύρω από τις συνθέσεις που πραγματοποιήθηκαν.

Συνοψίζοντας, στην εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε:

- α) Μετατροπή της νεαμίνης στην (C-5')-επι-νεαμίνη
- β) Μετατροπή της νεαμίνης στην (C-5')-επι-παρομαμίνη
- γ) Πρότυπη εργασία για τη μετατροπή της D-γλυκο-δομής στην L-ιδο-δομή του μεθυλο α-D-γλυκοπυρανοζίτη.
- δ) Σύνδεση του μεθυλο α-D-γλυκοπυρανοζίτη και της σιπροφλοξασίνης μέσω της πιπεραζινυλο ομάδας της σιπροφλοξασίνης. Αυτή έγινε με δυο διαφορετικούς τρόπους έτσι ώστε να μελετηθεί η δράση των προϊόντων αυτών (σχ. 4).
- ε) Σύνθεση του "μικτού" φαρμάκου καναμυκίνης Α και σιπροφλοξασίνης (σχ. 5).

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Waksman S.A., Lechevalier H.A., *Science* 109:305 (1949).
2. Umezawa S., Koto S. & Ito Y., *Bull.Chem.Soc. Jpn.*,38:1447 (1957)
3. Weinstein M.J., Leudemann G.M., Oden E.M., Wagman G.H., Rosslet J.P., Marquez J.A., Coniglio C.T., Charney W., Herzog H.L. & Black J., "Gentamicin, a new antibiotic complex from micromonospora", *J.Med.Chem.*, 6:463, (1963)
4. Α.Ν.Γρανίτσας, "Γενική Βιολογία", Αριστοτέλειο Παν/μιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη (1981), σελ.487.
5. Gero S.D., Cleophax J., Mercier D., Philippe M., Pearce C.J., Quiclet-Sire B., Semeria D., Sepulchre A.M., "Excursions into the field of Aminocyclitol Antibiotics: A Bifurcated Attack by Fermentation and Chemical Approaches.", *Chemistry and Biotechnology of Biologically Active Natural Products*, 2<sup>nd</sup> Int.Conf., σελ.75, Budapest (1983).
6. Davies J., "Enzymes Modifying Aminocyclitol Antibiotics and Their Roles in Resistance Determination and Biosynthesis.", στο "Aminocyclitol Antibiotics", K.L.Rinehart,Jr., T.Suami (Editors), A.C.S.Symposium Series No.125, Washington D.C.(1980), σελ.323.
7. Abstracts of the A.C.S., Annual Meeting, Washington D.C., 1992.
8. Jawetz E., Melnick J., Adelberg E., "Ιατρική Μικροβιολογία", Μετάφραση: Α.Θ.Παπακωνσταντίνου, Ν.Ο.Κονιδάρης, Επιβλέπων: Ι.Δ.Παπαβασιλείου, σελ.146-148.
9. *Deut.Med.Woh.* 61:250, (1935).
10. Δ.Δ.Βαρώνου, "Ιατρική Φαρμακολογία", 5<sup>η</sup> Έκδοση, Γ.Κ. Παρισιάνος, Αθήνα 1987, σελ.489-490.
11. Read A.E., Baritt D.W., Lamghton R. Hewer, "Σύγχρονη Παθολογία", Επιμέλεια Ελληνικής Έκδοσης:Χ.Μουτσόπουλος, Εκδόσεις Λίτσας, 2<sup>η</sup> Έκδοση, 1984.
12. Davies J., Pasteur Institute, Paris, Προσωπική επικοινωνία.
13. Davies J., Smith D.I., *Ann.Rev.of Microbiol.*, 32:464, (1978)
14. a) Davies J., "General Mechanisms of Antimicrobial Resistance.", *Rev.Infect.Dis.* 1:23, (1979).  
b) Falkows S., "Infectious Multiple Drug Resistance", Pion Ltd, 1975.
15. Rinehart K.L.Jr., T.Suami, Πρόλογος του "Aminocyclitol Antibiotics", K.L.Rinehart,Jr., T.Suami (Editors), A.C.S.Symposium Series No.125, Washington D.C.(1980).

16. Umezawa S., "Synthesis of Aminocyclitol Antibiotics" στο "Aminocyclitol Antibiotics", K.L.Rinehart, Jr., T.Suami (Editors), A.C.S.Symposium Series No.125, Washington D.C.(1980), σελ.15.
17. Lietman P.S., Infectious Diseases : "Aminoglycosides & Spectinomycin : Aminocyclitols", J.Willey & Sons, N.Y., 1985, σελ.192.
18. Cleophax J., Roland A., Colas C., Castellanos L., Gero S.D., Sepulchre A.M. & Quiclet B., "Synthesis and Mutasynthesis of Pseudosaccharides Related to Aminocyclitol-Glycoside Antibiotics" στο "Aminocyclitol Antibiotics", K.L.Rinehart, Jr., T.Suami (Editors), A.C.S.Symposium Series No.125, Washington D.C.(1980), σελ.393.
19. Hancock R.E.W., *J.Antimicrob.Chemother.*, 8:249, (1981).
20. Hancock R.E.W., *J.Antimicrob.Chemother.*, 8:429, (1981).
21. Pestka S.: Inhibitors of protein synthesis, in Weissbach H, Pestka S. (eds): *Molecular Mechanisms of Protein Synthesis*. N.Y., Academic Press, 1977, σελ.467
22. Stoffer G., Wittmann HG: Primary Structure and three-dimensional arrangement of proteins within the Escherichia Coli ribosome, in Weissbach H, Pestka S. (eds): *Molecular Mechanisms of Protein Synthesis*. N.Y., Academic Press, 1977, σελ. 117.
23. Hummel H, Piepersberg W, Bock A, *Mol.Gen.Genet.*, 179:147, (1980).
24. Kuhberger R., Piepersberg W., Bock A., *Biochemistry*, 18:187, (1979).
25. Tai P-C, Davis B.D., *Biochemistry*, 18:193, (1979).
26. Chang F.N., Flaks J.G., *Antimicrob.Agents Chemother.*, 2:294, (1972).
27. Chang F.N., Flaks J.G., *Antimicrob.Agents Chemother.*, 2:308, (1972).
28. Ozaki M., Mizushima S., Nomura M., *Nature*, 222:333, (1969).
29. Schreiner G., Nierchaus K.H., *J.Mol.Biol.*, 81:71, (1973).
30. B.D.Davis, Phang-C.Tai, "Multiple Interactions of Aminoglycosides Antibiotics with Ribosomes" στο "Aminocyclitol Antibiotics", K.L.Rinehart, Jr., T.Suami (Editors), A.C.S.Symposium Series No.125, Washington σελ.413, D.C.(1980).
31. Davis B.D., Tai Phang C., *Proc.Natl.Acad.Sci. U.S.A.*, 75:275, (1978).
32. Davis B.D., Tai, P.-C, & Wallace, B.J., στο "Ribosomes" Cold Spring Harbor Laboratory, 1974, σελ.771.
33. Tai, P.-C., Wallace, B.J., Herzog, E.L., and Davis, B.D., *Biochemistry*, 12:609, 1973.
34. Anand N. & Davis B.D., *Nature*, 185:22 (1960)
35. Smith W.P., Tai P-C., Thompson R.C. & Davis B.D., *Proc.Natl.Acad.Sci. U.S.A.*, 74:2830 (1977)
36. A.Van Schepdael, *J.Med.Chem.*, 34:1468 (1991)



37. A.Whelton, H.C.Neu, "The Aminoglycosides Kidney Disease", Vol.2, Marcel Dekker Inc., N.Y. (1982)
38. a)R.Brummet,K.Fox, *Antimicrob.Agents Chemotherapy*, 33:797 (1989)  
b)P.S.Lietman, "Principles and Practise of Infectious Diseases", J.L.Mandell, R.J.Douglas, J.E.Bennet, John Willey & Sons, N.Y., 192-206 (1985)
39. Lerner S.A., Matz G.J., Hawkins J.E.(eds):Aminoglycoside Ototoxicity. Boston, Little, Brown & Company, 1981
40. Brummett R.E., Meikle M.M., Vernon J.A., *Arch.Otolaryngol*, 94:59, (1971)
41. Theopold H.M., *Acta Otolaryngol*, 84:57, (1977)
42. Johnsson L-G., Hawkins J.E.Jr., Kinesley T.C., et al, *Acta Otolaryngol. (Suppl)(Stockh)*, 383:1,(1981)
43. Tran Ba Hay P, Muelemans A., Wassef M., *Antimicrob.Agents Chemother.*, 23:344, (1983)
44. Takada A., Schacht J., *Hear Res.*, 8:179, (1982)
45. Schacht J., *J.Acoust.Soc.Am.*, 59:940, (1978)
46. Iinuma T., Mizukoshi O., Daly J.F., *Laryngoscope*, 77:159, (1967)
47. Wright J.M., Collier B., *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, 200:576, (1977)
48. Lee C., DeSilva J.C., *Br.J.Anaesth.*, 51:431, (1979)
49. Caputy A.J., Kim Y.I., Sanders D.B., *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, 217:369, (1981)
50. Adams H.R., *Eur.J.Pharmacol.*, 30:272, (1975)
51. Descotes J., Evreux J.C., *J.Antimicrob.Chemother.*, 7:197, (1981)
52. Adams H.R., Goodman F.R., Wass G.B., *Antimicrob.Agents Chemother.*, 5:640, (1974)
53. Laurent G., Carlier M.-B., Rollman B., Van Hoof F. & Tulkens P., *Biochem.Pharmacol.*, 31:3861, (1982)
54. Lullmann H., Vollmer B., *Biochem.Pharmacol.*, 31:3769, (1982)
55. Brasseur R., Laurent G., Ruyschaert J.-M. & Tulkens P., *Biochem.Pharmacol.*, 33:629, (1984)
56. Mingeot-Leclercq M.-P., Piret J., Brasseur R. & Tulkens P.M., *Biochem.Pharmacol.*, 40:489, (1990)
57. Mingeot-Leclercq M.-P., Piret J., Brasseur R. & Tulkens P.M., *Biochem.Pharmacol.*, 40:499, (1990)
58. Mitsuhashi S., Kawabe H., Aminoglycoside antibiotic resistance in bacteria, στο "The Aminoglycosides", Whelton A., Neu H.C. (eds), N.Y., Marcel Dekker, Inc., (1983), σελ.97.
59. Davies J.E., *Rev.Infect.Dis.*, 5(suppl):3261, (1983)
60. Richmond M.H., Sykes R.B., *Adv.Microb.Physiol.*, 9:31, (1973)

61. Sykes R.B., Matthew M., *J.Antimicrob.Chemother.*, 2:115, (1976)
62. Davies J., Smith D.I., *Ann.Rev of Microbiol.*, 32:469, (1978)
63. Shaw W.V.: *Biochem.Soc.Trans.*, 2:834, (1974)
64. Gundliffe E., *Ann.Rev of Microbiol.*, 43:207, (1989)
65. Davies J., Benveniste R., *Ann.N.Y.Acad.Sci.*, 235:130, (1974)
66. Williams J., Northrop D., *Biochemistry*, 15:125, (1976)
67. Bryan L.E., Van den Elzen H.M.: *Antimicrob.Agents Chemother.* 9:928, (1976)
68. Matsushashi Y., Sawa T., Takeuchi T., Umezawa H., *J.Antibiot.* 29:204, (1976)
69. Smith A.L., Smith D.H., *J.Infect.Dis.* 129:391, (1974)
70. Ozanne B., Benveniste R., Tipper D., Davies J., *J.Bacteriol.* 100:1144, (1969)
71. Benveniste R., Davies J., *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, 70:2276, (1973)
72. Davies J., Courralin P., Berg P., *J.Antimicrob. Chemother.*, 3:7, (1977)
73. Dowding J.E., Davies J., *Microbiology 1974*, D.Schlessinger (eds), σελ.179 Washington D.C., Am.Soc.Microbiol.
74. Brzezinska M., Benveniste R., Davies J., Daniels P.J.L., Weinstein J., *Biochemistry* 11:761, (1972)
75. Biddecome S., Haas M., Davies J., Miller G.H., Rane D.F., Daniels P.J.L., *Antimicrob. Agents Chemother.* 9:951, (1976)
76. Bryan L.E., Van Den Elzen H.M., *Antimicrob.Agents Chemother.* 12:163, (1976)
77. Davies J., Kagan S.A., "R-factors:Their properties and Possible Control" J.Drews, G.Hogenauer (eds), N.Y.Springer, 207(1977)
78. Bryan L.E., Van Den Elzen H.M., Shahrubadi M.S., "Microbiology Drug Resistance" S.Mitsushashi, H.Hashimoto (eds), Baltimore Univ.Park.Press, 475-90(1975)
79. Nordstrom K., Engberg B., Gustafsson P., Molin S., Uhlin B.E., "R-factors:Their Properties & Possible Control", J.Drews , G.Hogenauer (eds), N.Y.Springer, 77(1977)
80. Bucket P., Buchberger A., Bock A., Wittmann H.G., *Mol.Gen.Genet.*, 158:47, (1977)
81. Price K., Godfrey J., Kawaguchi H., *Adv.Appl. Microbiol.*, 18:191, (1974)
82. Shier W.T., Rinehart K.L.Jr, Gottlieb D., *Proc.Nat.Acad.Sci.U.S.A*, 63:198-204, (1969)
83. Nagaoka K., Demain A.L., *J.Antibiot.*, 28:627, (1975)
84. Rinehart K.L. Jr., *Pure and Appl.Chem.*, 49:1361, (1977)
85. Shier W.T., Schaefer P.C., Gottlieb D., Rinehart K.L. Jr., "Use of Mutants in the study of Aminocyclitol Antibiotic Biosynthesis and the Preperation of the Hybrimycin C Complex", *Biochemistry*, 13:5073, (1974)

86. Cleophax J., Gero S.D., Leboul J., Akhtar M., Barnett J.E.G., Pearce C.J., *J.Am.Chem.Soc.*, 98:7110, (1976)
87. Daum S.J., Rosi D., Goss W.A., *J.Antibiot.*, 30:98, (1977)
88. Rinehart K.L.Jr., Stroshane R.M., *J.Antibiot.*, 29:319, (1976)
89. Daniels P.J.L., Rane D.F., McCombie S.W., Testa R.T., Wright J.J. & Nagabhushan T.L., "Chemical and Biological Modification of Antibiotics of the Gentamicin Group", στο "Aminocyclitol Antibiotics" K.L.Rinehart,Jr., T.Suami (Editors), A.C.S.Symposium Series No.125, Washington D.C.(1980), σελ.371
90. Rinehart K.L.Jr., *Pure Appl.Chem.*, 49:1361, (1977)
91. a)Guerola R., Ingraham J.L., Cerda-Olmedo E., *Nature*, 230:122, (1971)  
b)Randazzo R., Sermonti G., Carere A., Bignami J., *J. Bacteriol.*, 113:500, (1973)
92. Rinehart K.L.Jr, "Biosynthesis and Mutasyntesis of Aminocyclitol Antibiotics", στο "Aminocyclitol Antibiotics", K.L.Rinehart,Jr., T.Suami (Editors), A.C.S.Symposium Series No.125, Washington D.C.(1980), σελ.335
93. Shier W.T., Rinehart K.L.Jr., Gottlied D., *Proc.Nat. Acad.Sci.U.S.A.*, 63:198, (1969).
94. Shier W.T., Rinehart K.L.Jr., Gottlied D., *J. Antibiot.*, 23:51, (1970)
95. Cleophax J., Gero S.D., Leboul J., Akhtar M., Barnett J.E.G., Pearce C.J., *J.Am.Chem.Soc.*, 98:7110, (1976)
96. Shier W.T., Schaefer P.C., Rinehart K.L.Jr., Gottlied D., *Biochemistry*, 13:5073, (1974)
97. Kojima M., Satoh A., *J.Antibiot.*, 26:784, (1973)
98. Taylor H.D., Schitz H., *J.Antibiot.*, 29:532, (1976)
99. Saeki H., Shimada Y., Ohashi Y., Tajima M., Sugawara S., Ohki E., *Chem.Pharm.Bull.Jpn.*, 22:1145, (1974)
100. Takeda K., Kinumaki A., Okuno S., Matsishita T., Ito Y., *J.Antibiot.*, 31:1039, (1978)
101. Takeda K., Kinumaki A., Hayasaka H., Yamaguchi T., Ito J., *J.Antibiot.*, 31:1031, (1978)
102. Daum S.J., Rosi D., Goss W.A., *J.Antibiot.*, 30:98, (1977)
103. Testa R.T., Wagman G.H., Daniels L., *J.Antibiot.*, 27:917, (1974)
104. Waitz J.A., Miller G.H., Moss E.Jr., Chiu P.J.S., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 13:41, (1978)
105. Daniels P.J.L., Rane D.F., "Synthetic and Mutasyntetic Antibiotics Related to Sisomicin", στο "Microbiology-1979", Schlessinger D.(ed), American Society for Microbiology, Washington D.C. 1979, σελ.314

106. Umezawa S., Tatsuka K., Tsuchiya T., Kitazawa E., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 40:2371, (1967)
107. Kohno H., Fukami H., Nakajima M., *Agric.Biol.Chem.*, 39:1091, (1975)
108. Harayama-Tsuchiya T., Umezawa S., *Bull.Chem.Soc.Jpn.*, 52:3626, (1979)
109. Suami T., Nishiyama S., Ishikawa Y., Katsura S., *Carbohydr. Res.*, 53:239, (1977)
110. Umezawa S., Nishimura Y., Hineno H., Watanabe K., Koike S., Tsuchiya T., Umezawa H., *Bull.Chem.Soc.Jpn.*, 45:2847, (1972)
111. Sitrin R.D., Pfeiffer F.R., Rosenbloom J.P., Cooper D.J., Schmidt S.J., Peterson D., Wellman G., Hoover J.R.E. & Weisbach J.A., *J.Antibiot.*, 33:383, (1980)
112. Hannessian J.M., Vatele J.-M., *J.Antibiot.*, 33:675, (1980)
113. Suami T., "Modification of Aminocyclitols Antibiotics", στο "Aminocyclitol Antibiotics", K.L.Rinehart,Jr., T.Suami (Editors), A.C.S.Symposium Series No.125, Washington D.C.(1980), σελ.43.
114. Ogawa S., Funaki Y., Iwata K., Suami T., *Bull.Chem.Soc.Jpn.*, 49:1975, (1976)
115. Verheyden J.P.H., Repke D.B., Tompkins T.C., Moffatt J.G., "Synthesis of Analogs of Kanamycin B" στο "Aminocyclitol Antibiotics", K.L.Rinehart,Jr., T.Suami (Editors), A.C.S.Symposium Series No.125, Washington D.C.(1980), σελ.209.
116. Price K.E., Godfrey J.C., Kawagushi H., *Adv.Appl.Microbiol.*, 18:293, (1974)
117. Jikihara T., Tsuchiya T., Umezawa S., Umezawa H., *Bull.Chem.Soc.Jpn.*, 46:3507, 1973
118. Umezawa S., Umezawa H., Okaraki Y., Tsuchiya T., *Bull.Chem.Soc.Jpn.*, 45:3624, (1972)
119. Suami T., Nishiyama S., Ishikawa Y., Katsura S., *Carbohydr.Res.*, 65:57, (1978)
120. Albert R., Dax K., Gassner N.A., Stutz A.E., Weidmann H., *Liebigs Ann.Chem.*, 644, (1985)
121. Miller G.H., Arcieri G., Weinstein M.J., Waitz J.A., *Antimicrobiol.Agents Chemother.*, 10:827, (1976)
122. Luft F.C., *J.Int.Med.Research*, 6:286, (1978)
123. Cron M.J., Keil J.G., Lin J.S., Ruggeri M.V., Walker D., "The selective N-Acylation of Kanamycin A", στο "Aminocyclitol Antibiotics", K.L.Rinehart,Jr., T.Suami (Editors), A.C.S.Symposium Series No.125, Washington D.C.(1980), σελ.247.
124. a)Kawaguchi H., Naito T., Nakagawa S., Fujisawa K., *J.Antibiot.*, 25:695, (1972)  
b)Naito T., Nakagawa S., Abe Y., Toda S., Fujisawa K., Miyaki T., Kashiyama H., Ohkuma H., Kawaguchi H., *J.Antibiot.*, 26:297, (1973)
125. Daum S.J., "New Gentamicin-Type Antibiotics Produced by Mutasynthesis", στο "Microbiology 1979", D.Schlessinger (ed.), Am.Chem.Soc. for Microbiology, Washington D.C., (1979), σελ.312

126. Endo T., Perlman D.J., *J.Antibiot.*, 25:681, (1972)
127. Suami T., Nishiyama S., Ishikawa Y., Katsura S., *Carbohydr.Res.*, 56:415, (1977)
128. Suami T., Nishiyama S., Ishikawa Y., Katsura S., *Carbohydr.Res.*, 53:187, (1977)
129. Watanabe I., Tsuchiya T., Umezawa S., Umezawa H., *Bull.Chem.Soc.Jpn.*, 50:2369, (1977)
130. Umezawa H., Iinuma K., Kondo S., Hamada M., Maeda K., *J.Antibiot.*, 28:340, (1975)
131. Suami T., Nishiyama S., Ishikawa Y., Katsura S., *Carbohydr.Res.*, 53:239, (1977)
132. Suami T., "Modification of Aminocyclitol Antibiotics", στο "Aminocyclitol Antibiotics", K.L.Rinehart, Jr., T.Suami (Editors), A.C.S.Symposium Series No.125, Washington D.C.(1980), σελ.43.
133. Kobayashi T., Tsuchiya T., Umezawa S., *J.Antibiot.*, 23:225, (1970)
134. Yoneta T., Shibahara S., Matsuno T., Tohma S., Fokatsu S., Seki S., Umezawa H., *Bull.Chem.Soc.Jpn.*, 52:1131, (1979)
135. Hannessian S., Masse R., Ekborg G., *Can.J.Chem.*, 56:1492, (1978)
136. Cree G.M., MacKie D.W., Perlin A.S., *Can.J.Chem.*, 47:511, (1969)
137. Llewellyn J.W., Williams J.M., *Carbohydr.Res.*, 22:221, (1972)
138. Chapleur Y., Grapsas I., *Carbohydr.Res.*, 141:153, (1985)
139. Helferich B., Himmen E., *Chem.Ber.*, 61:1825, (1928)
140. Helferich B., Himmen E., *Chem.Ber.*, 62:2136, (1929)
141. Oediger H., Moller F., *Angew.Chem.*, 79:53, (1967)
142. Sakairi N., Kuzuhara H., *Tet.Lett.*, 23:5327, (1982)
143. Molino B.F., Cusmano J., Mootoo D.R., Faghih R., Fraser-Reid B., *J.Carbohydr.Chem.*, 6:479, (1987)
144. RajanBabu T.V., Reddy G.S., *J.Org.Chem.*, 51:5458, (1986)
145. Schmidt R.R., Maier M., *Tet.Lett.*, 26:2065, (1985)
146. Boquel P., Chapleur Y., *Tet.Lett.*, 31:1869, (1990)
147. Schmidt R.R., Frick W., Haag-Zeino B., Apparao S., *Tet.Lett.*, 28:4045, (1987)
148. Reimann H., Cooper D., Mallams A.K., Jaret R.S., Yehaskel A., Kugelman M., Vernay H.F., Schumacher D., *J.Org.Chem.*, 39:1451, (1974)
149. Γράψας Ι.Κ., "Η (C-5')-Επιμερίωση αμινογλυκοζιτών του τύπου της νεομικίνης με σκοπό την μελέτη της αντιστάσεως ανθεκτικών βακτηρίων σε αντιβιοτικά ως και παρασκευή και μελέτη πυρανικών παραγώγων βιολογικού ενδιαφέροντος", Διδακτορική διατριβή, Γεωργικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 1991
150. Baer H.H., Matzo F.H., Siemsen L., *Carbohydr.Res.*, 195:225, (1990)
151. Ferrier R.J., Prasad N., *J.Chem.Soc.*, 575, (1969)
152. Parker R.E., Isaacs N.S., *Chem.Rev.*, 59:73, (1959)

153. Hanessian S., Masse R., Nakagawa T., *Can.J.Chem.*, 56:1509, (1978)
154. Baker D.C., Horton D., Tindall C.G., *Carbohydr.Res.*, 24:192, (1972)
155. Achmatowicz O.Jr., Burzynska M., *Tetrahedron*, 38:3507, (1982)
156. Fraser-Reid B., McLean A., Usherwood E., Yunker M., *Can.J.Chem.*, 48:2877, (1970)
157. Achmatowicz O.Jr., Gryniewicz G., Szechner B., *Tetrahedron*, 32:1051, (1976)
158. Hanessian S., Rancourt G., *Can.J.Chem.*, 55:1111, (1977)
159. Κωνσταντίνου-Κόκοτου Β., "Πορείες Συνθέσεως και Ημισυνθέσεως νέων αντιβιοτικών ή αναλόγων τους", Διδακτορική διατριβή, Γεωργικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 1989
160. Matsuda K., Tsuchiya T., Torii T., Umezawa S., *Bull.Chem.Soc.Jpn.*, 59:1397, (1986)
161. Caregg P.J., Iversen T., Oscarson S., *Carbohydr.Res.*, 50:12, (1976)
162. Szeja W., *Pol.J.Chem.*, 55:1503, (1981)
163. Semeria D., Philippe M., Delaumeny J.-M., Sepulchre A.-M., Gero S.D., *Synthesis*, 710, (1983)
164. Wing R.E., BeMiller J.N., "Methods Carbohydr. Chem.", Academic Press Inc., Vol.VI, 368, (1972)
165. Omura K., Swern D., *Tetrahedron*, 34:1651, (1978)
166. Mancuso A.J., Huang S.L., Swern D., *J.Org.Chem.*, 43:2480, (1978)
167. Fieser M., Fieser L.F., "Reagents for Organic Sybthesis", J.Willey & Sons, N.Y., Vol.2, σελ.394, (1969)
168. Mansuko A.J., Brownfain D.S., Swern D., *J.Org.Chem.*, 44:4148, (1979)
169. House H.O., Trost B.M., *J.Org.Chem.*, 30:2502, (1965)
170. House H.O., Czuba L.J., Gall M., Olmstead H.D., *J.Org.Chem.*, 34:2324, (1969)
171. Cook A.G., "Enamines: Synthesis, Stucture & Reactions", Dekker N.Y., (1969)
172. Comi R., Franck R.W., Reitano M., Weinreb S., *Tet.Lett.*, 33:3107, (1973)
173. White W., Weingarten H., *J.Org.Chem.*, 32:213, (1967)
174. Georgiadis M., Grapsas I., Ierapetritis I., XI<sup>th</sup> International Symposium on Medicinal Chemistry, Jerusalem, Israel, 1990.
175. Iyengar B.S., Kumar V., Remers W.A., *Carbohydr.Res.*, 157:95, (1986)
176. Horton D., Weckerle W., *Carbohydr.Res.*, 44:227, (1975)
177. Defaye J., *Compt.Rend.*, 255:794, (1962)
178. Fraser-Reid B., McLean A., Usherwood E.W., Yunker M., *Can.J.Chem.*, 48:2877, (1970)
179. Sakakibara T., Kawahara T., Sudoh R., *Carbohydr.Res.*, 58:39, (1977)
180. Georgiadis M.P., Couladouros E.A., *J.Heterocyclic Chem.*, 28:1325, (1991)

181. "Desktop Molecular Modeller" (DTMM) by Grabbe J.C. and Appleyard J.R., distributed by Aldrich Chemical Company Inc., Wisconsin-U.S.A.
182. Fletcher H.G.Jr., "Methods Carbohydr. Chem.", Academic. Press Inc., Vol.II, 307, (1963)
183. Garegg P.J., Swahn C.-G., "Methods Carbohydr. Chem.", Academic. Press Inc., Vol.VIII, 317, (1980)
184. Giuliano & Buzby "Methods Carbohydr. Chem.", Academic. Press Inc., Vol.VIII, 548, (1980)
185. Garegg P.J., Samuelsson B., *J.Chem.Soc.Perkin I*, 2866, (1980)
186. Henbest H.B., Jones E.R.H., Owen T.C., *J.*, 4909, (1957)
187. Bessodes M., Komiotis D., Antonakis K., *Tet.Lett.*, 27:579, (1986)
188. Bowden K., Heilbron I.M., Jones E.R.H., Weedon B.C.L., *J.Chem.Soc.*, 39, (1946)
189. Rinehart K.L.Jr., Georgiadis M.P., Αδημοσίευτα αποτελέσματα.
190. British Patent 1,485,450 (1977), C.A. 83:179524n
191. Cook S.L., Secrist J.A., *J.Am.Chem.Soc.*, 101:1554, (1979)
192. Evans M.E., Parrish F.W., Long L.Jr., *Carbohydr.Res.*, 3:453, (1967)
193. Lorette N.B., Howard W.L., *J.Org.Chem.*, 25:521, (1960)
194. Kapnang H., Charles G., Sondengam B.L., Hentchoya-Hemo J., *Tet.Lett.*, 39:3469, (1977)
195. Clarke H.T., Gillespie H.B., Weishaus S.Z., *J.Am.Chem.Soc.*, 55:4571, (1933)
196. Takabe K., Yamada T., Katagiri T., *Chem.Lett.*, 1987, (1982)
197. Ikeda M., Tamura Y., *Yuki Gosei Kagaku Kyokai Shi*, 38:10, (1980), C.A. 92:197312g
198. Rautenstrauch V., *Helv.Chim.Acta*, 56:2492, (1973)
199. Takabe K., Katagiri T., Tanaka J., *Tet.Lett.*, 3005, (1975)
200. Takabe K., Katagiri T., Tanaka J., *Chem.Lett.*, 1025, (1977)
201. Tani K., Yamagata T., Otsuka S., Akutagawa S., Kumobayashi H., Taketomi T., Takaya H., Miyashita A., Noyori R., *J.Chem.Soc., Chem. Commun.*, 600, (1982)
202. Stevens C.L., Bryant C.P., "Methods Carbohydr. Chem.", Academic. Press Inc., Vol.VI, 235, (1972)
203. Leshner G.Y., Froelich E.J., Gruett M.D., Bailey J.H. & Brundage R.P., *J.Med.Chem.*, 5:1063, (1962)
204. Albrecht R., *Prog.Drug.Res.*, 21:9, (1977)
205. Newsom S.W.B., 504, (1986)
206. Domagala J.M., Hanna L.D., Heifetz C.L., Hutt M.P., Mich T.F., Sanchez J.P. & Solomon M., *J.Med.Chem.*, 29:394, (1986)
207. Koga H., Itoh A., Murayamas S., Suzue S., Irikura T., *J.Med.Chem.*, 23:1358, (1980)

208. Matsumoto J., Miyamoto T., Minamida A., Nishimura V., Hiroshi E., *J.Med.Chem.*, 27:292, (1984)
209. Wise R., Andrews J.M., Edwards L.J., *Antimicrob.Agents Chemother.*, 23:559, (1983)
210. Grohe K., Zeller H., Metzger K.G., European.Patent.Appl. 0,078,362, 1983, *Chem.Abstr.*, 99:53790h, (1983)
211. Wentland M.P., Baily D.M., Cornett J.B., Dobson R.A., Powles R.G., Wagner R.B., *J.Med.Chem.*, 27:1103, (1984)
212. Domagala J.M., Heifetz C.L., Mich T.F., Nichols J.B., *J.Med.Chem.*, 29:445, (1986)
213. Τρακατέλλης Α., "Βιοχημεία", Θεσσαλονίκη 1984, Εκδόσεις Αφοι Κυριακίδη, 1<sup>η</sup> Έκδοση, σελ.707
214. Gellert M., "DNA Topoisomerases", *Ann.Rev.Biochem.*, 50:879, (1981)
215. Drlica K., *Microbiol.Reviews*, 48:273, (1984)
216. Shen L.L., Pernet A.G., *Proc.Natl.Acad.Sci. U.S.A.*, 82:307, (1985)
217. Gellert M., Mizuuchi K., O'Dea M. & Nash H., *Proc.Natl.Acad.Sci. U.S.A.*, 73:3872, (1976)
218. Gellert M., O'Dea M., Itoh T., & Tomizawa J., *Proc.Natl.Acad.Sci. U.S.A.*, 73:4474, (1976)
219. Drlica K. & Snyder M., *J.Mol.Biol.*, 120:145, (1978)
220. Gellert M., Mizuuchi K., O'Dea M., Itoh T., & Tomizawa J., *Proc.Natl.Acad.Sci. U.S.A.*, 74:4472, (1977)
221. Franco R.J., Drlica K., *Biochem.Soc.Trans.*, 499, (1986)
222. Albrecht H.A., Beskid G., Chan Ka-Kong, Christerson J.G., Cleeland R., Deitcher K.H., Georgopapadaku N.H., Keith D.D., Pruess D.L., Sepinwall J., Specian A.C.Jr., Then R.L., Weigele M., West K.F. & Yang R., *J.Med.Chem.*, 33:77, (1990)
223. Fink A.L., *Pharm.Res.*, 2:55, (1985)
224. Knott-Hunziker V., Walley S.G., Orlek B.S., Sammes P.G., *FEBS Lett.*, 99:59, (1979)
225. Frere J.M., Joris B., *CRC Crit.Rev.Microbiol.*, 11:299, (1985)
226. Waxman D.J., Strominger J.L., *J.Biol.Chem.*, 255:3964, (1980)
227. Wolfson J.S., Hooper D.C., *Antimicrob.Agents Chemother.*, 28:581, (1985)
228. Haller I., *Arzneim.-Forsch.*, 36:226, (1986)
229. Albrecht H.A., Beskid G., Christerson J.G., Durkin J.W., Fallat V., Georgopapadaku N.H., Keith D.D., Konzelmann F.M., Lipschitz E.R., McGarry D.H., Siebelist J., Wei C.C., Weigele M., & Yang R., *J.Med.Chem.*, 34:669, (1991)
230. Morin R.B., 25th Interscience Conference on Antimicrobial Agents Chemotherapy, 1985, Session 84.



231. Naito T., Aburaki S., Kamachi H., Narita Y., Okumura J., Kawaguchi H., *J.Antibiot.*, 39:1092, (1986)
232. Albrecht H.A., Beskid G., Christerson J.G., Georgopapadakou N.H., Keith D.D., Konzelmann F.M., Pruess D.L., Rossman P.L., & Wei C.C., *J.Med.Chem.*, 34:2857, (1991)
233. Corraz A.J., Dax S.L., Dunlap N.K., Georgopapadakou N.H., Keith D.D., Pruess D.L., Rossman P.L., Then R., Unowsky J. & Wei C.C., *J.Med.Chem.*, 35:1828, (1992)
234. Gross E. & Meienhofer J., "The peptides", Vol.1, Academic Press, N.Y., 1979, σελ.263-314
235. Wiesner K., McCluskey J.G., Ghang J.K., Smula V., *Can.J.Chem.*, 49:1092, (1971)
236. Bergmann M., Zervas L., *Chem.Ber.*, 65:1192, (1932)
237. Umezawa H., Ikeda D., Miyasaka T., Kondo S., *J.Antibiot.*, 32(12):1360, (1979)
238. Van Schepdael A., Delcourt J., Mullier M., Busson R., Verbist L., Vanderhaeghe H.J., Mingeot-Leclercq M.P., Tulkens P.M., Claes P.J., *J.Med.Chem.*, 34:1468, (1991)
239. Davis F.A., Stringer D.D., *J.Org.Chem.*, 47:1774, (1982)
240. Helferich B., Becker J., *Ann.*, 440:1, (1924)
241. Brederick H., *Chem. Ber.*, 68:777, (1935)