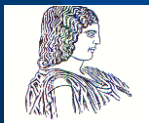


# Σύνθεση νέων αζαετεροκυκλικών μορίων και αποτίμηση της βιολογικής τους δράσης ως

1. εξειδικευμένοι τροποποιητές των οιστρογονικών υποδοχέων (SERMs), και
2. αναστολείς της αγγειογένεσης



*Σέρκο Α. Χαρουτουιάν,*  
Καθηγητής Χημείας  
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο  
Αθηνών



# Ερευνητικά Αντικείμενα

## ✓ Περιβάλλον-κλιματική αλλαγή

- Διαχείριση γεωργικών αποβλήτων
- Δασικές πυρκαγιές
- Κομποστοποίηση

## ✓ Τρόφιμα

- Ανάδειξη ιδιαιτεροτήτων ελληνικών παραδοσιακών τροφίμων & αγροτ. προϊόντων
- Προορητική μικροβιολογία τροφίμων
- Ανάπτυξη μεθόδων προσδιορισμού ξενοβιοτικών ουσιών σε παιδικές τροφές
- Νέες συσκευασίες τροφίμων – *edible plastics*



# *Ερευνητικά Αντικείμενα*

## ✓ **Φυσικά προϊόντα - Διερεύνηση Ελληνικής βιοποικιλότητας**

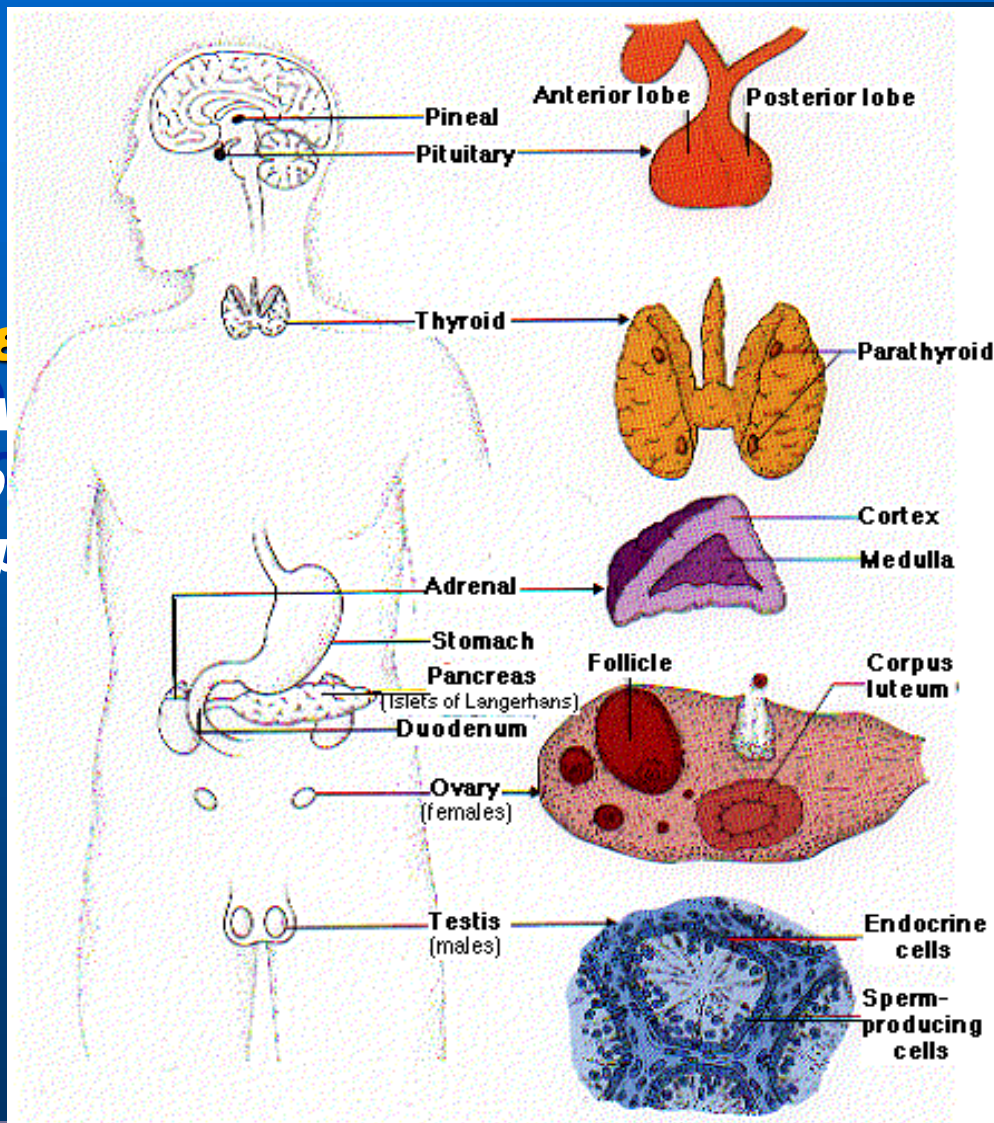
- Παραγωγή συμπληρωμάτων διατροφής
- Παραγωγή φυσικών βιοκτόνων
- Ανάπτυξη φυσικών αντιμικροβιακών

## ✓ **Σχεδιασμός- σύνθεση νέων βιοδραστικών μορίων**

- Ανάπτυξη νέων φθορισμομετρικών ανιχνευτών των οιστρογονικών υποδοχέων
- Ολική σύνθεση φυσικών αλκαλοειδών
- Ανάπτυξη νέων εξειδικευμένων τροποποιητών των οιστρογονικών υποδοχέων
- Ανάπτυξη αναστολέων της αγγειογένεσης



**ΟΡΜΟΝΕΣ** &  
των ζώικων  
αιματικής ο  
ρυθμίσουν μ



στοις αδένες  
νται μέσω της  
ώματος για να  
γίες



# Χαρακτηριστικά και τρόπος λειτουργίας των ορμονών

*Η δράση των ορμονών πραγματοποιείται μέσω του συστήματος των ορμονικών υποδοχέων, οι οποίοι είναι πρωτεΐνες που διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη. Με την πρόσδεση μίας ορμόνης στον υποδοχέα, ξεκινά μια ακολουθία από ενδοκυτταρικά σήματα τα οποία οδηγούν στη:*

- ✓ διαφοροποίηση της συμπεριφοράς του κυττάρου (με άνοιγμα ή κλείσιμο διαύλων στις μεμβράνες ή τη μεταβολή της διαπερατότητας της μεμβράνης),*
- ✓ διέγερση (ή καταστολή) της γονιδιακής έκφρασης στον πυρήνα.*



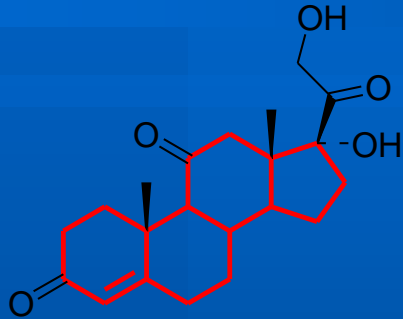
# *Κατηγορίες ορμονών*

- ✓ *παράγωγα αμινοξέων*
- ✓ *προσταγλανδίνες*
- ✓ *πεπτιδορμόνες*
- ✓ *στεροειδείς ορμόνες*

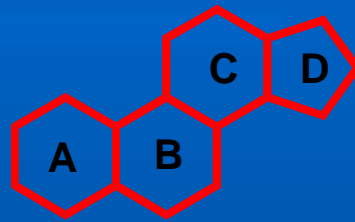


# ΣΤΕΡΟΕΙΔΕΙΣ ΟΡΜΟΝΕΣ

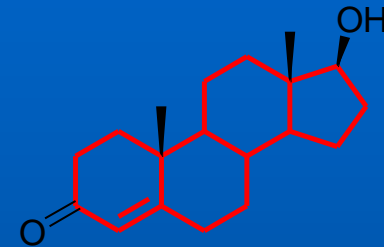
Κορτικοστεροειδείς ορμόνες Σεξουαλικές ορμόνες ανδρών



Κορτιζόνη



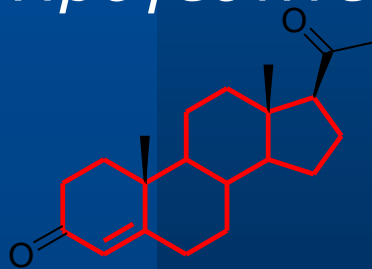
Στεράνιο



Τεστοστερόνη

Σεξουαλικές ορμόνες θηλέων

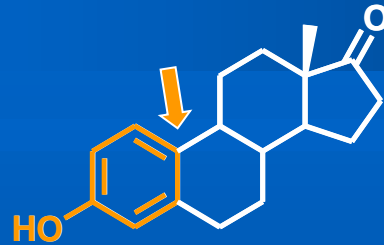
Προγεστίνες



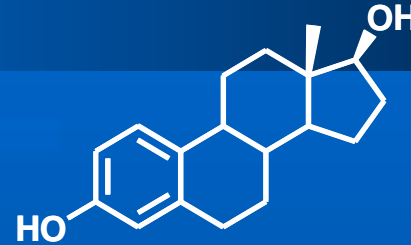
Προγεστερόνη

Οιστρογόνα

# Οιστρογόνα (estrogens, σεξουαλικές ορμόνες)



Οιστρονή



Οιστραδιόλη (E2)

## Αναπαραγωγικά Αποτελέσματα



- σεξουαλική ωρίμανση γυναικών
- έμμηνος ρύση
- κατανομή λιπώδους ιστού
- τριχοφυΐα

## Μη Αναπαραγωγικά Αποτελέσματα



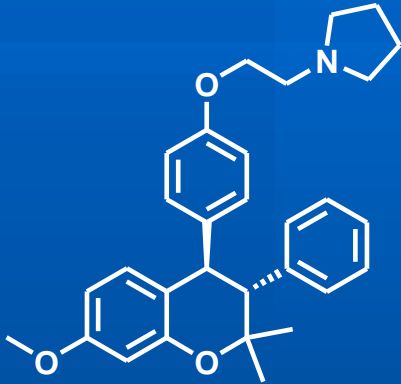
- συμβολή στη διατήρηση επιπέδων ασβεστίου
- πήξη αίματος





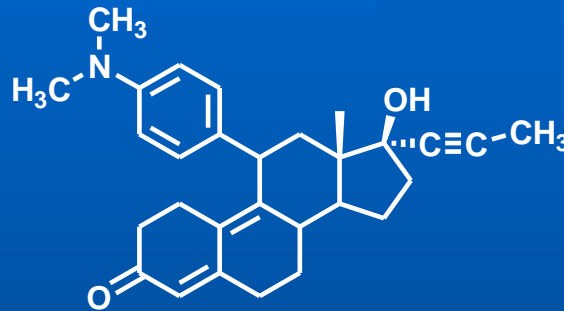
# Συνθετικά και Φυσικά Οιστρογόνα

## Συνθετικά Οιστρογόνα



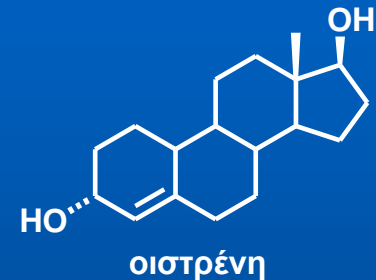
CDRI 67/20

Χρησιμοποιείται ως αντισυλληπτικό με την κοινή ονομασία ορμελοξιφαίνη (*centchroman*)



RU486

Χορηγείται σε συνδυασμό με προσταγλανδίνες, για να προκαλέσει διακοπή της εγκυμοσύνης κατά τις εννέα πρώτες εβδομάδες της κύησης



οιστρένη

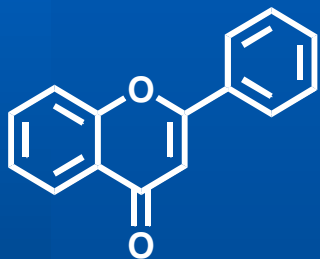
- Προσδένεται στις πρωτεΐνες του υποδοχέα και ελέγχει την οστική πυκνότητα
- Αντιστρέφει την ελάττωση της οστικής πυκνότητας χωρίς παρενέργειες στο αναπαραγωγικό σύστημα (ανεξαρτήτως φύλου)



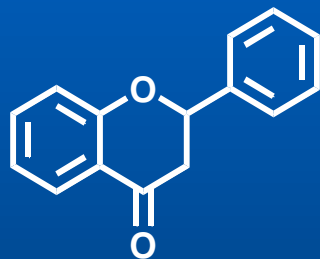
# Φυτοοιστρογόνα

Τα φυτοοιστρογόνα αποτελούν την πλέον σημαντική κατηγορία των φυσικών οιστρογόνων (μη ζωικής προέλευσης) διαθέτοντας οιστρογονική ή αντιοιστρογονική δράση

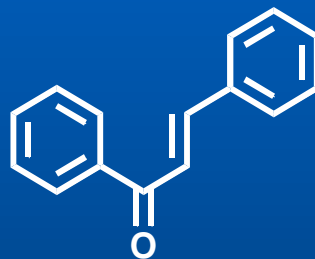
✓ *Ισοφλαβόνες, φλαβόνες, φλαβονόνες και χαλκόνες (Καιμφερόλη, ναριγγενίνη γενιστεΐνη)*



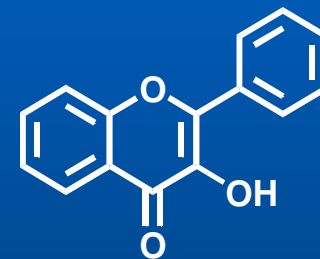
Φλαβόνες



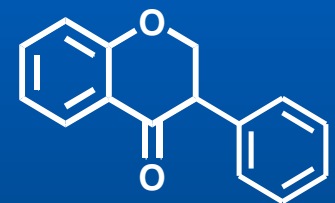
Φλαβονόνες



Χαλκόνες

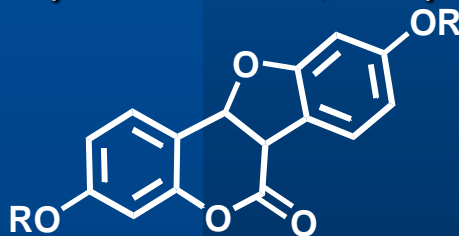


Φλαβονόλες



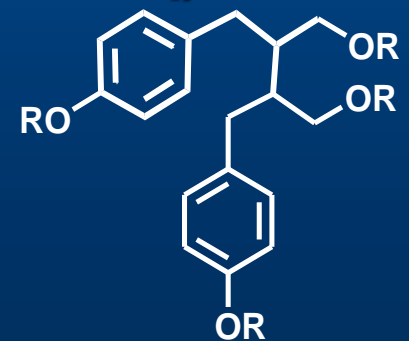
Ισοφλαβόνες

✓ *Κουμεστάνια (κουμεστρόλη)*



Κουμεστάνια

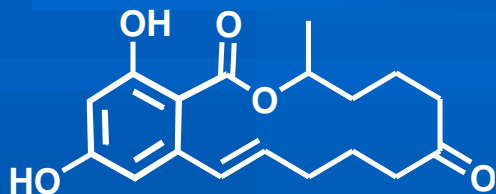
✓ *Λιγνάνες (εντεροδιόλη, εντερολακτόνη)*



Λιγνάνια

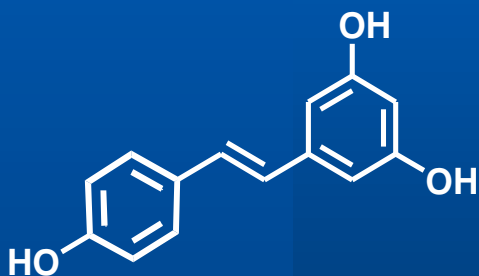


## Άλλα Φυτοοιστρογόνα



Ζεαραλενόνη

**Μυκοοιστρογόνο**  
**Απομονώθηκε από *Fusarium graminearum***



Ρεσβερατρόλη

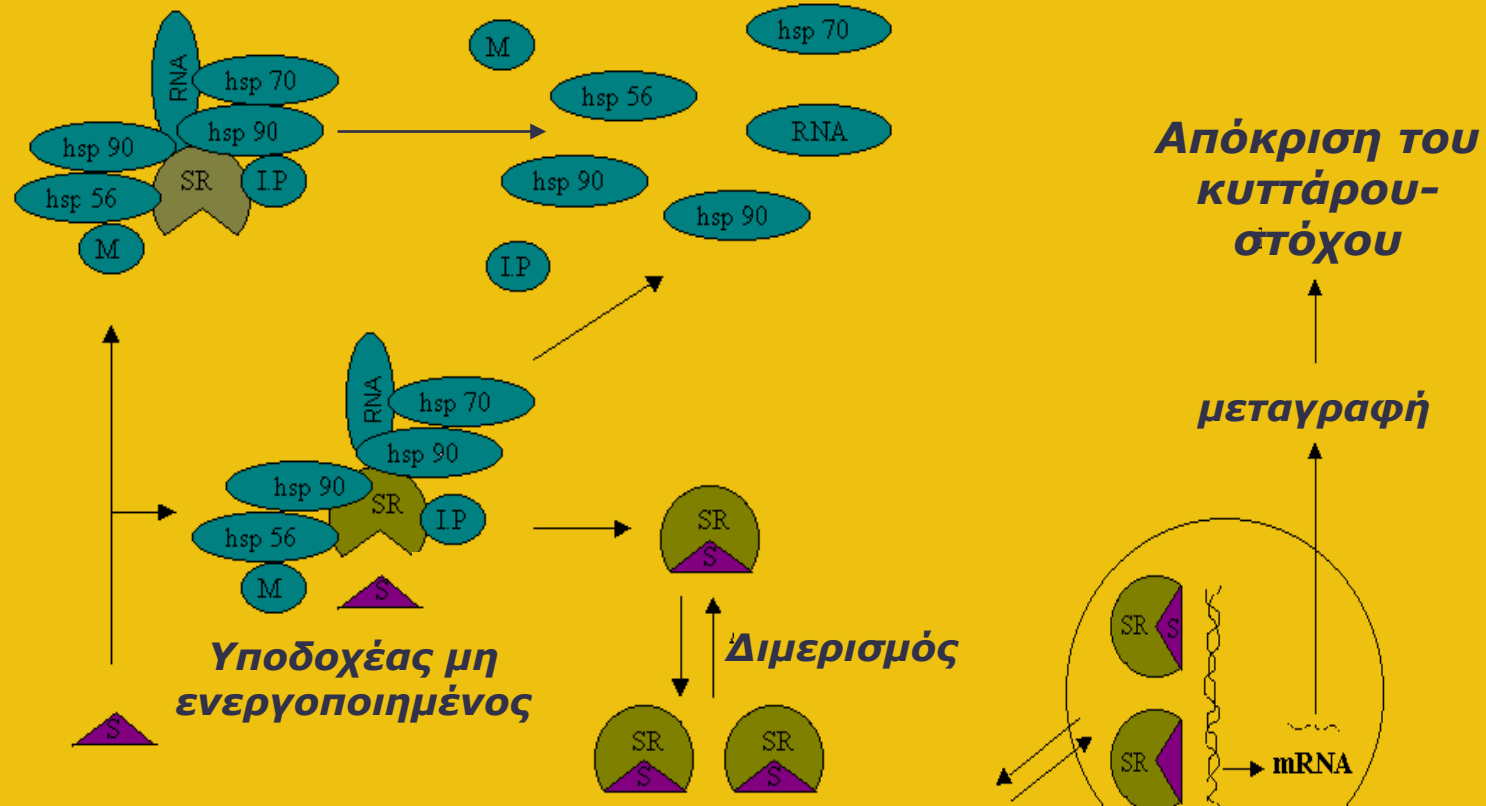
- Απομονώνεται από τα σταφύλια
  - Βρίσκεται στο κόκκινο κρασί
- Παρουσιάζει/προκαλεί:**
- ικανότητα πρόσδεσης στον ER (διέγερση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού σε καρκινική σειρά/μαστό)
  - αύξηση του βάρους της μήτρας
  - παρεμβολή στον κύκλο της έμμηνου ρύσης



# Τα οιστρογόνα στον οργανισμό δρουν μέσω του συστήματος των οιστρογονικών υποδοχέων



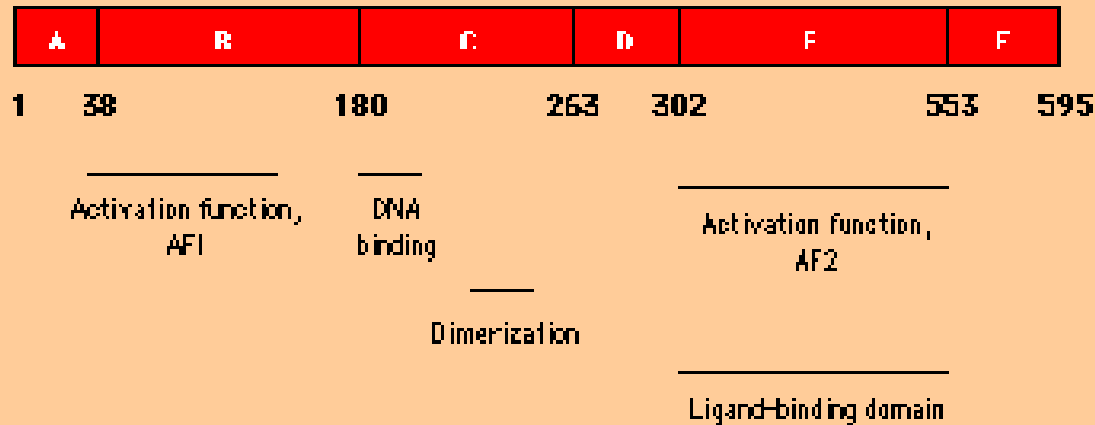
# Μηχανισμός δράσης των οιστρογόνων



S: οιστρογόνο  
 SR: Υποδοχέας οιστρογόνων  
 HSP: Πρωτεΐνες του θερμικού σοκ



# ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΙΚΟΣ ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ



- Πεδίο E:** προσδέονται οιστραδιόλη και αντιοιστρογόνα, (πχ.ταμοξιφαίνη)
- Πεδίο C:** η ειδική λειτουργία που ακολουθείται για την πρόσδεση με το DNA
- Πεδίο D:** περιέχει το πυρηνικά προσανατολισμένο σήμα, που είναι απαραίτητο για τη μεταφορά του οιστρογονικού υποδοχέα από το κυτταρόπλασμα στον πυρήνα
- Πεδίο A/ B (AF1) και E (AF2):** προάγουν την ενεργοποίηση της μεταγραφής



## ΙΣΤΟΙ ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ ΕΡ

Ωοθήκη	Νεφρά
Κόλπος	Νησίδια του Langerhans
Μήτρα	Ήπαρ
Μαστός	Οστά
Επινεφρίδια	Καρδιαγγειακό Σύστημα
Προστάτης	Μακροφάγα
Υπόφυση	Θυμοκύτταρα
Υποθάλαμος	Λεμφοκύτταρα
Κύτταρα Leydig	Ενδοθηλιακά κύτταρα
Όρχεις	Οστεοβλαστικά κύτταρα
Επιδιδυμίδα	Νευρικά κύτταρα
Δέρμα	Κύτταρα του Schwann



# ΤΥΠΟΙ ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΙΚΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ

**ER $\alpha$**



**Μαστός**  
**Ενδομήτριο**

**ER $\beta$**

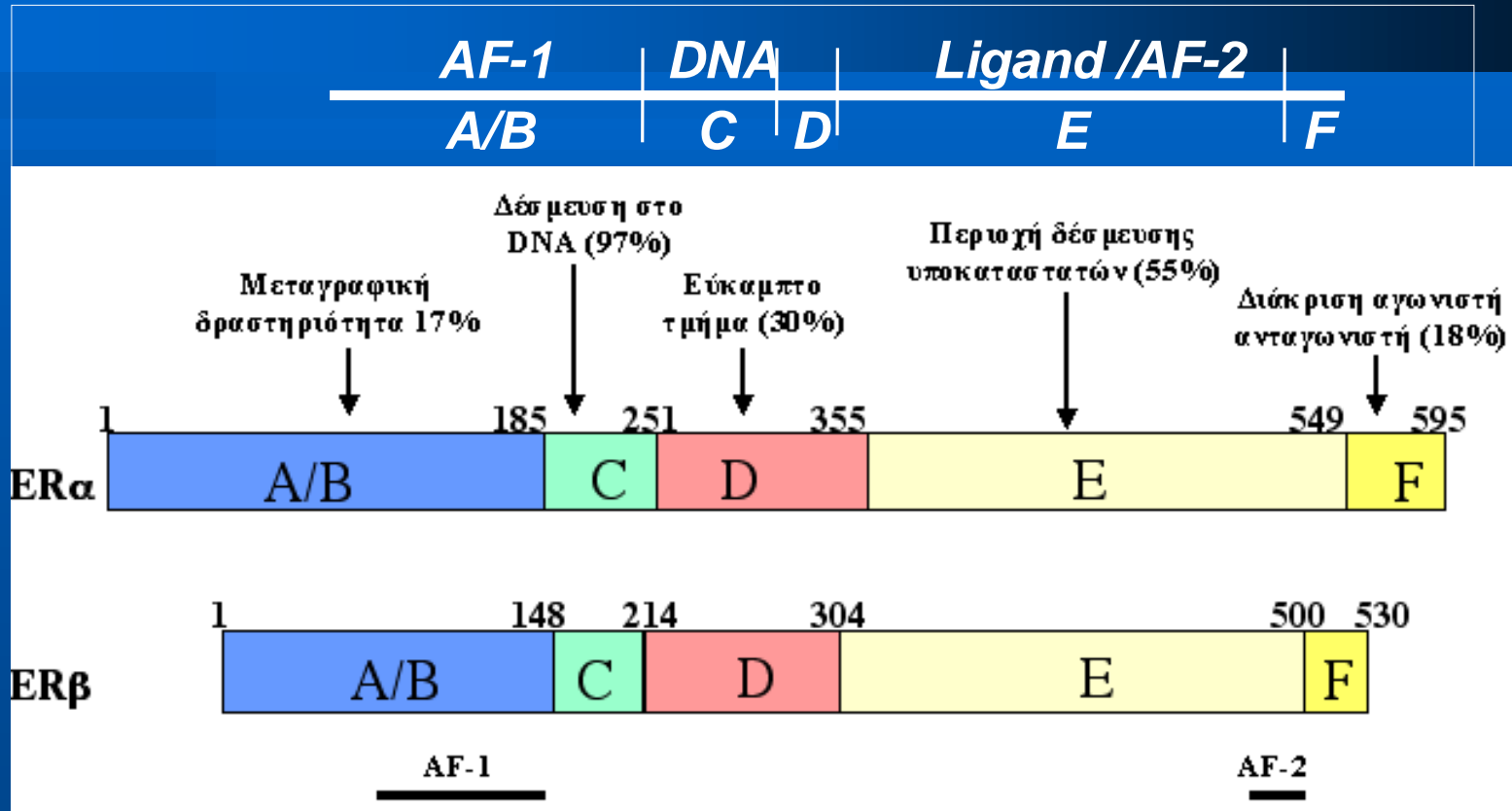


**ΚΝΣ**  
**Οστά**  
**Ενδοθήλιο**





# ERα και ERβ

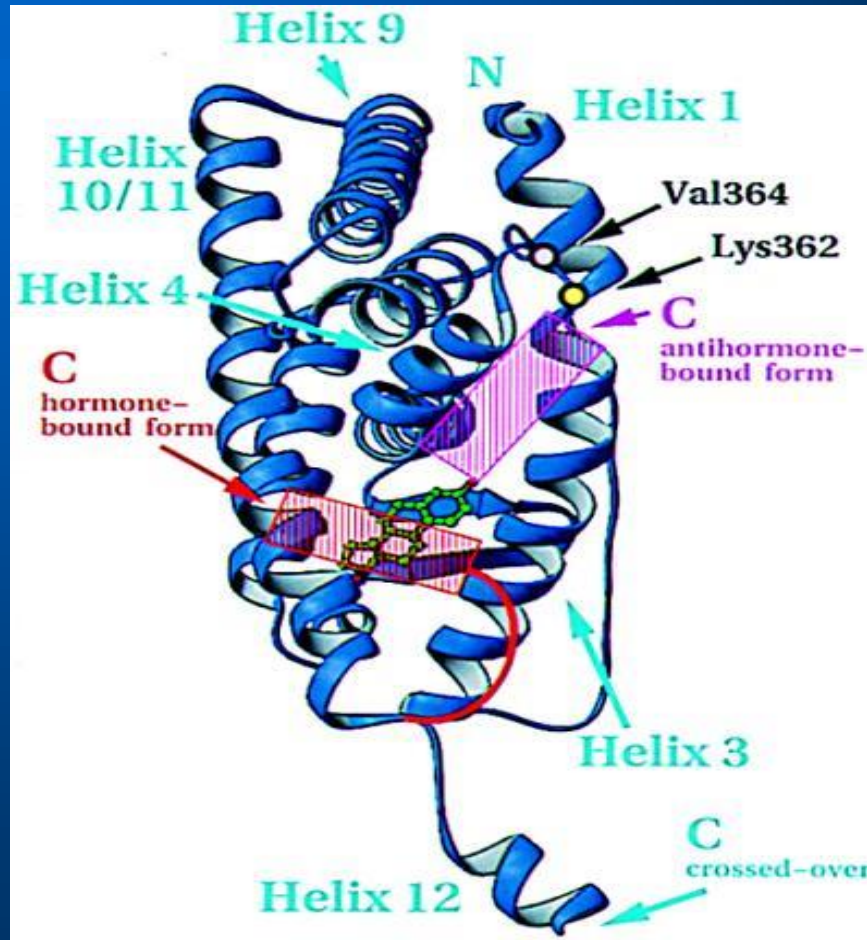


➤ ΣΥΝΔΕΟΝΤΑΙ ΜΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

➤ Ενεργοποιούν διαφορετικά γονίδια



# Δομικές απαιτήσεις για αγωνιστική και ανταγωνιστική δράση στον ERα



**Από τους γυναικολογικούς καρκίνους που πλήττουν -σε όλο και αυξανόμενα ποσοστά- τις γυναίκες των ανεπτυγμένων κυρίως χωρών, ένα μεγάλο ποσοστό είναι ορμονοεξαρτώμενοι**

**Κύριο χαρακτηριστικό τους είναι η παρουσία μεγάλου αριθμού οιστρογονικών υποδοχέων, οι οποίοι αλληλεπιδρώντας με τις αντίστοιχες ορμόνες ρυθμίζουν στον πυρήνα του κυττάρου την έκφραση σειράς γονιδίων που έχουν σχέση με την κυτταρική αύξηση**

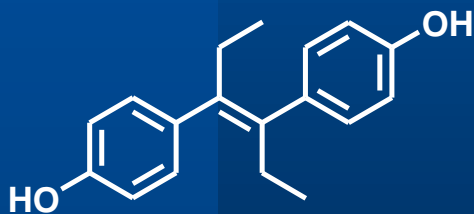
**Οι ορμονοεξαρτώμενοι γυναικολογικοί καρκίνοι αντιμετωπίζονται κατά κύριο λόγο με τη χορήγηση αντιοιστρογόνων τα οποία ανταγωνίζονται τα οιστρογόνα για τις θέσεις πρόσδεσης των υποδοχέων τους**

# Αντιοιστρογόνα

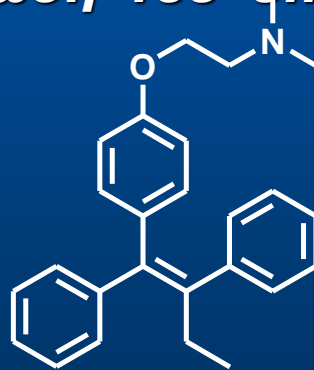
Συνθετικά ανάλογα των οιστρογόνων ορμονών που έχουν την ιδιότητα να ανταγωνίζονται τα ενδογενή οιστρογόνα στις θέσεις πρόσδεσης με τους οιστρογονικούς υποδοχείς.

Μπορούν να προκαλέσουν:

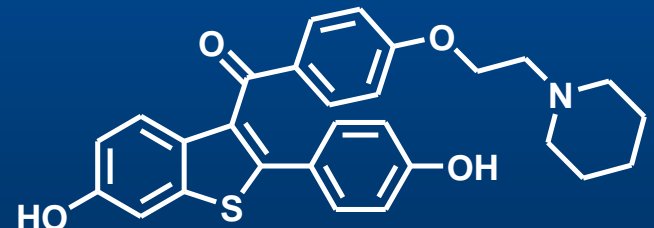
- Σταθεροποίηση του συμπλόκου του υποδοχέα με την πρωτεΐνη του θερμικού shock.
- Μεταβολή της διαμόρφωσης του υποδοχέα, (αδύνατη η αλληλεπίδρασή του με τους υπόλοιπους μεταγραφικούς παράγοντες)
- Στερεοχημική διαμόρφωση του υποδοχέα (αδυναμία συνδεσης με το DNA)



(E)-Διαιθυλοστιλβεστρόλη



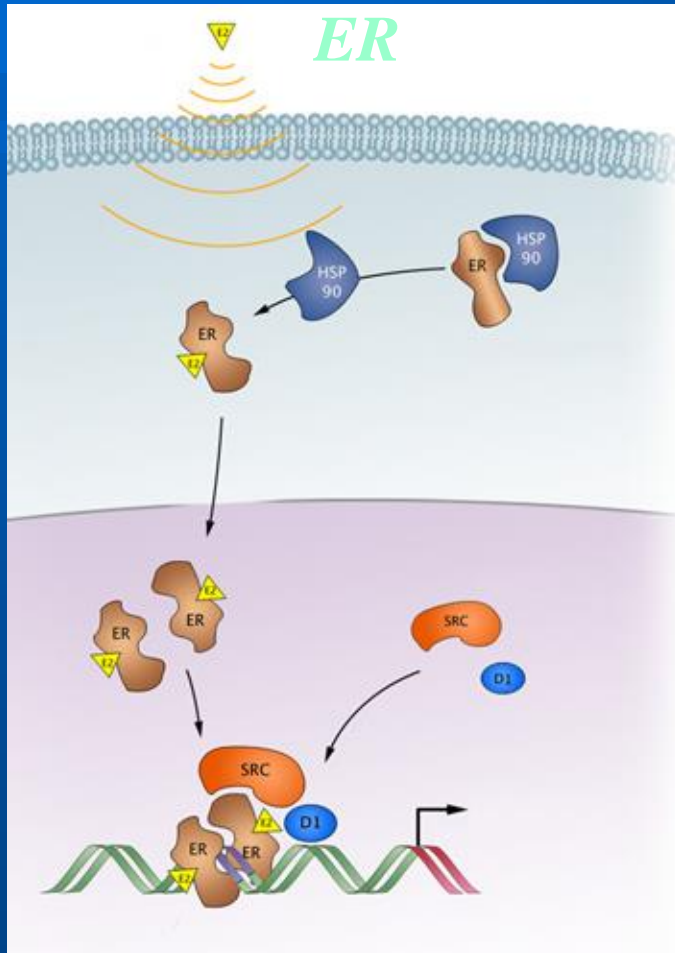
Ταμοξιφαίνη



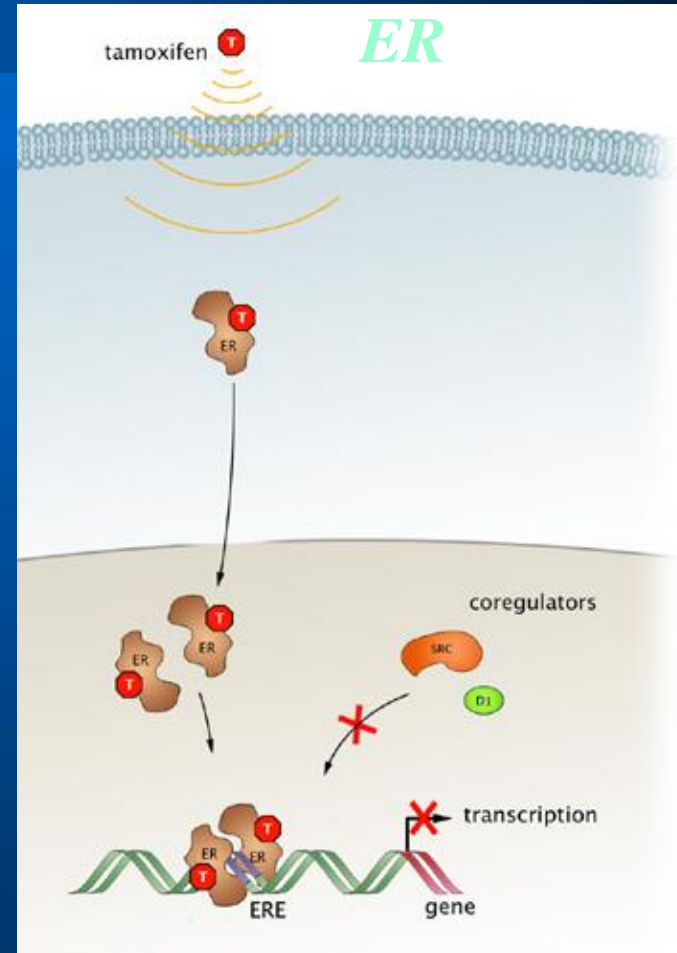
Ραλοξιφαίνη



## Δράση οιστρογόνου στον



## Δράση ταμοξιφαίνης στον



***Τα οιστρογονικά παράγωγα (οιστρογόνα-αντιοιστρογόνα) χορηγούνται ως φαρμακευτική αγωγή:***

- α. Για την καταπολέμηση των ορμονοεξαρτώμενων γυναικολογικών καρκίνων***
- β. Την καταστολή των συνεπειών της εμμηνόπαυσης (μετεμμηνοπαυσιακό σύνδρομο)***
- γ. Την πρόκληση ή διακοπή της εγκυμοσύνης***
- δ. Ως αντισυλληπτικά***



## **α. Ορμονοεξαρτώμενοι γυναικολογικοί καρκίνοι**

- ✓ **Μαστό**
- ✓ **Ενδομήτριο**
- ✓ **Ωοθήκες**

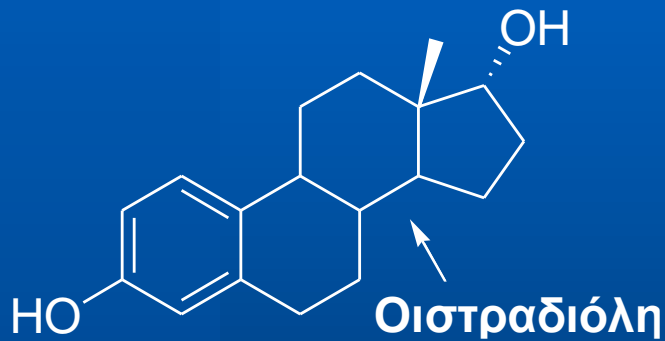
## **β. Μετεμμηνοπαυσιακό σύνδρομο**

**Η εμμηνόπαυση χαρακτηρίζεται από το τέλος των μηνιαίων κύκλων έμμηνης ρύσης που σηματοδοτεί μια σημαντική μείωση της παραγωγής οιστρογόνων με αποτέλεσμα:**

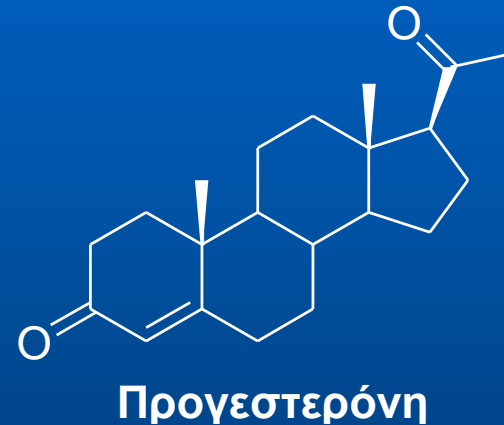
- ✓ **Εξάψεις**
- ✓ **Νυκτερινές εφιδρώσεις**
- ✓ **Κατάθλιψη**
- ✓ **Αλλαγή κατανομής του λιπώδους ιστού**
- ✓ **Μείωση οστικής μάζας - οστεοπόρωση με ή χωρίς κατάγματα**
- ✓ **Υψηλά επίπεδα χοληστερόλης και απόφραξη αρτηριών**
- ✓ **Μεταβολή στο ουροποιητικό σύστημα**
- ✓ **Αυξημένος κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του μαστού**

# Θεραπεία Ορμονικής Υποκατάστασης (Ο.Θ.Υ)

## ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΩΝ & ΠΡΟΓΕΣΤΕΡΟΝΗΣ



+





# ΟΦΕΛΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΟΡΜΟΝΙΚΗΣ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ

- ✓ Στο αγγειοκινητικό σύστημα
- ✓ Στην οστεοπόρωση
- ✓ Στον ύπνο
- ✓ Στο κεντρικό νευρικό σύστημα

## *ΠΙΘΑΝΟΙ ΚΙΝΔΥΝΟΙ ΑΠΟ ΤΗΝ Ο.Θ.Υ*

- **ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΔΙΗΘΗΤΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ**
- **ΑΥΞΗΣΗ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΩΝ ΣΥΜΒΑΜΑΤΩΝ**
- **ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ**
- **ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΑΥΤΟΑΝΟΣΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ**

*W.H.I (WOMEN'S HEALTH INITIATIVE), 2003*

*HERS Study, 2002*

# Εκλεκτικοί Τροποποιητές Των Οιστρογονικών Υποδοχέων – SERM's

## (Selective Estrogen Receptor Modulators)

**Ανταγωνιστική (αντιοιστρογονική) δράση:**

- **Μαστός**
- **Ενδομήτριο**

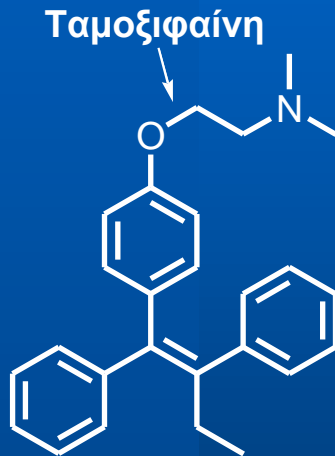
**Αγωνιστική (οιστρογονική) δράση:**

- **Οστά**
- **Καρδιαγγειακό**
- **Νευρικό Σύστημα**



# Ταμοξιφαίνη

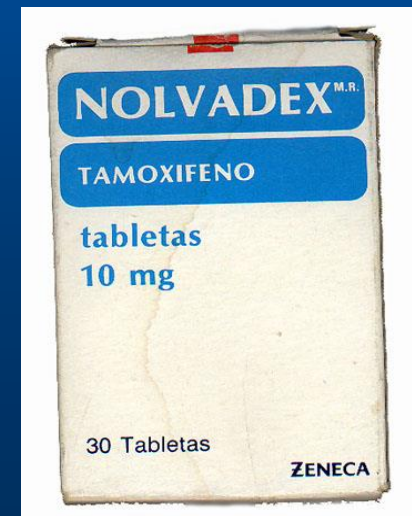
**1η Γενιά εκλεκτικών τροποποιητών των οιστρογονικών υποδοχέων (SERM's)**



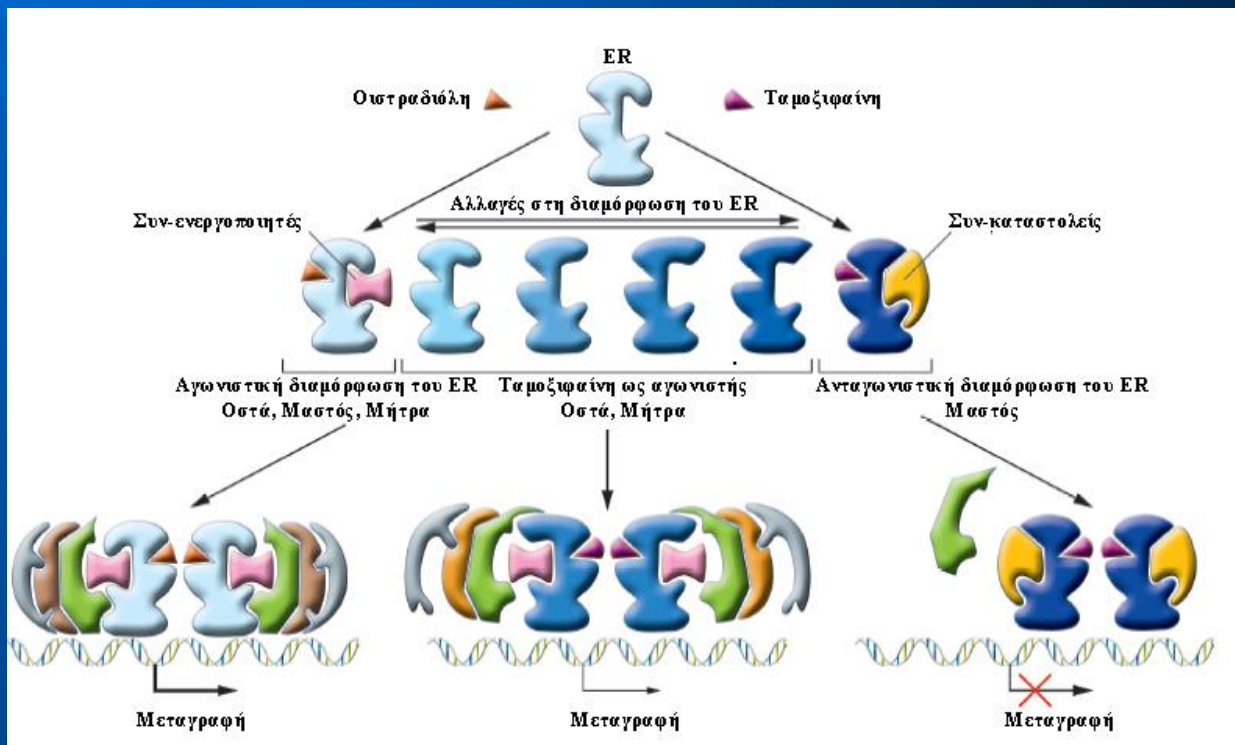
- ☺ **Θεραπεία ορμονοεξαρτώμενου καρκίνου του μαστού (πρωτοπαθής ή μεταστατικός)**
- ☹ **Κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του ενδομητρίου**

$$RBA_{TAM} = 23 \%$$

$$RBA_{OH-TAM} = 40 \%$$



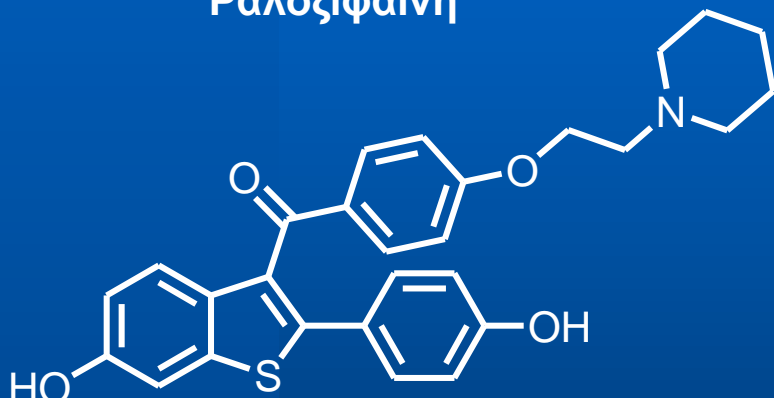
**Μηχανιστικά, η δέσμευση της ταμοξιφαίνης οδηγεί σε αλλαγές στη διαμόρφωση του υποδοχέα, με τη νέα δομή του συμπλόκου ταμοξιφαίνη-υποδοχέα να "στρατολογεί" συν-καταστολείς με τελικό στόχο την αναστολή της μεταγραφής**



**Το μειονέκτημα της ταμοξιφαίνης είναι ότι εμφανίζει οιστρογονική δράση σε άλλους ιστούς όπως τα οστά, το ενδομήτριο και το ήπαρ. Επιπλέον μετά την πάροδο ενός ικανού χρονικού διαστήματος παρατηρείται η εμφάνιση όγκων ανθεκτικών στην ταμοξιφαίνη**

## 2ης Γενιά *SERM*'s

Ραλοξιφαίνη



**RBA = 37%**

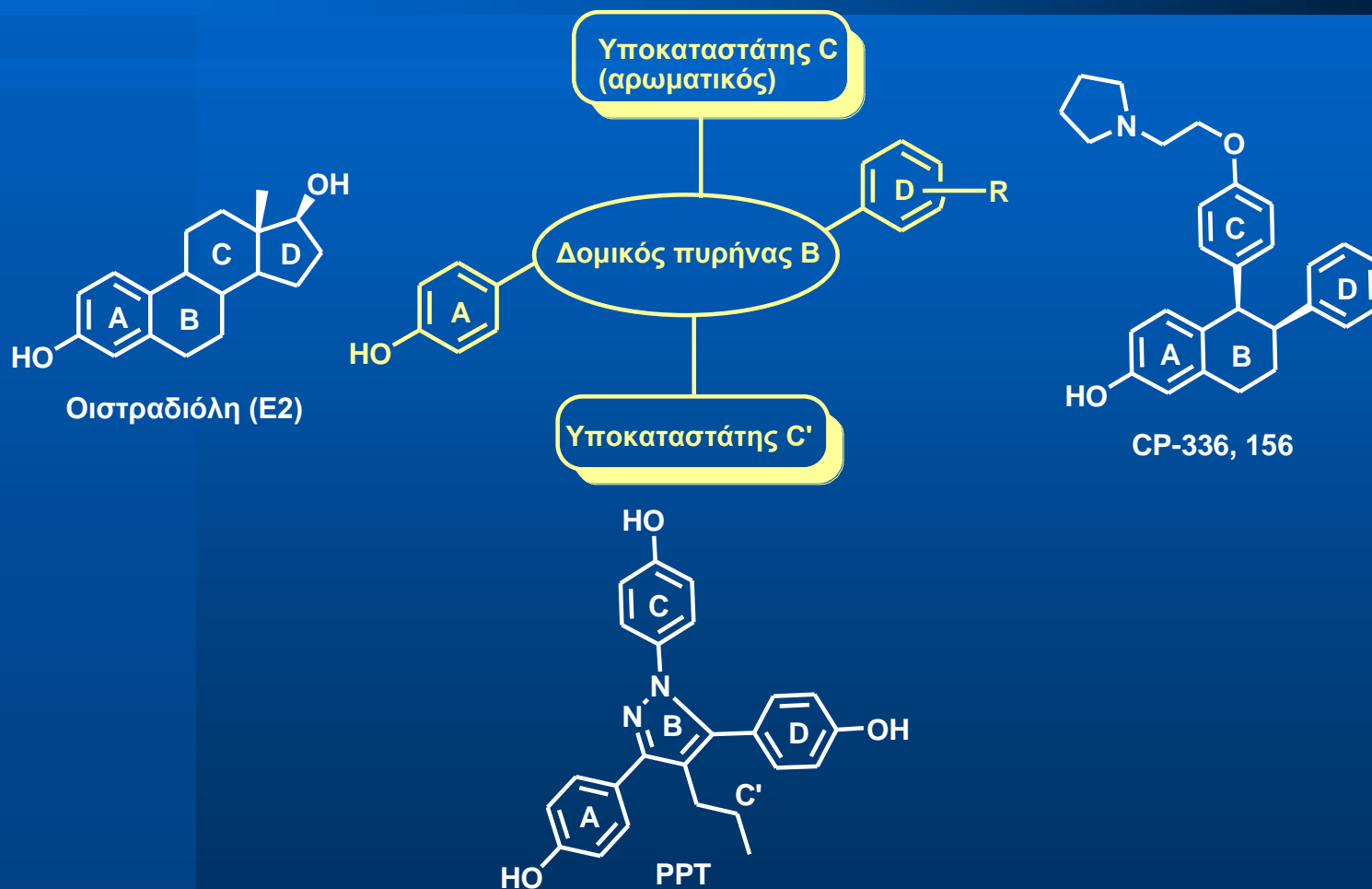
- ☺ **Θεραπεία Οστεοπόρωσης**
- ☺ **Πιθανότητα πρόληψης καρκίνου μαστού**



## ΣΤΟΧΟΣ η σύνθεση-μελέτη νέων

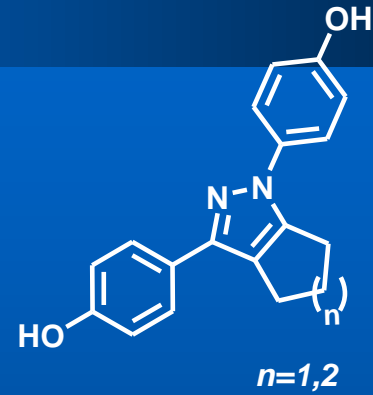
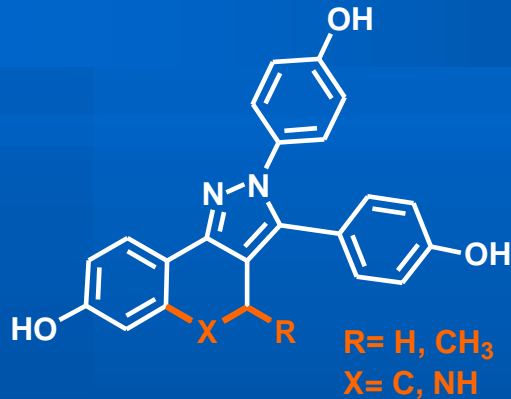
- *διαζαιτεροκυκλικών μορίων, με πιθανή ιστοειδική δράση ως SERM's*
- *τριαρυλαιθυλενικών παραγώγων – αναλόγων της ταμοξιφαίνης – με πιθανή αντιοιστρογονική δράση*

# Διαζαετεροκυκλικά μόρια με πιθανή δράση ως SERM's





# Πυραζολικά παράγωγα



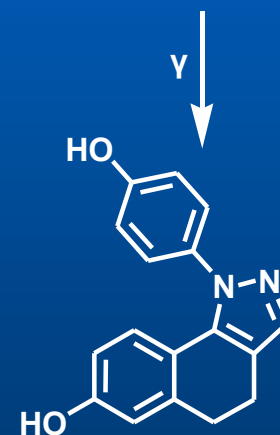
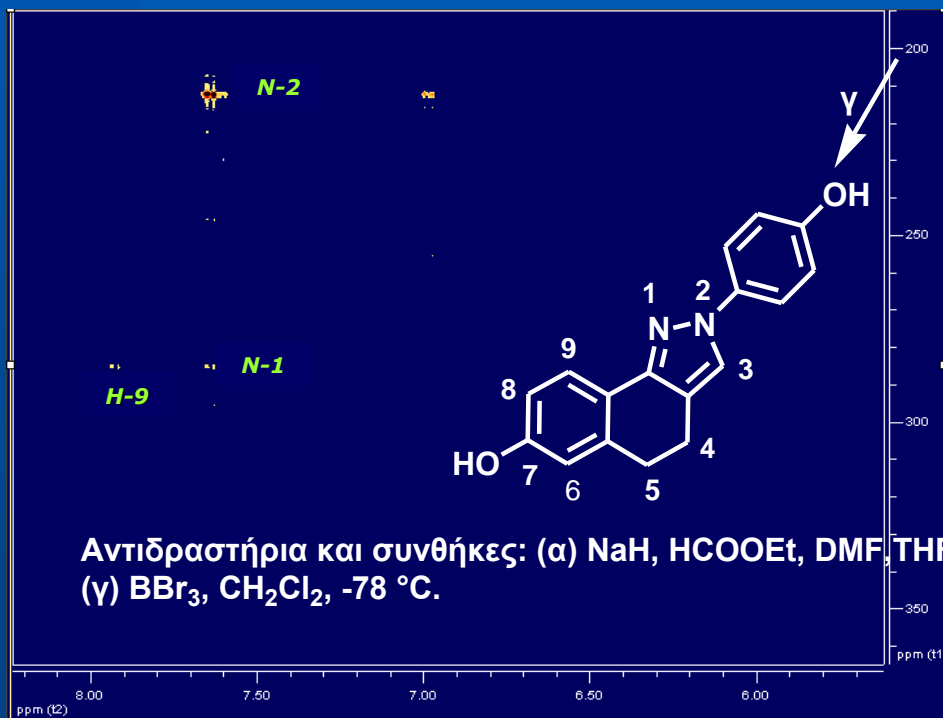
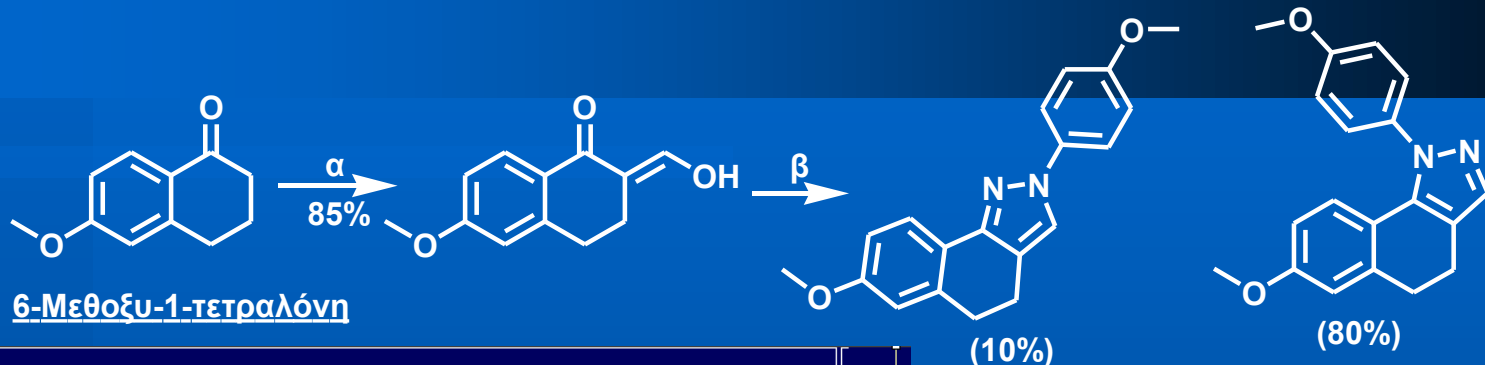
Σταθερή

Ελεύθερη

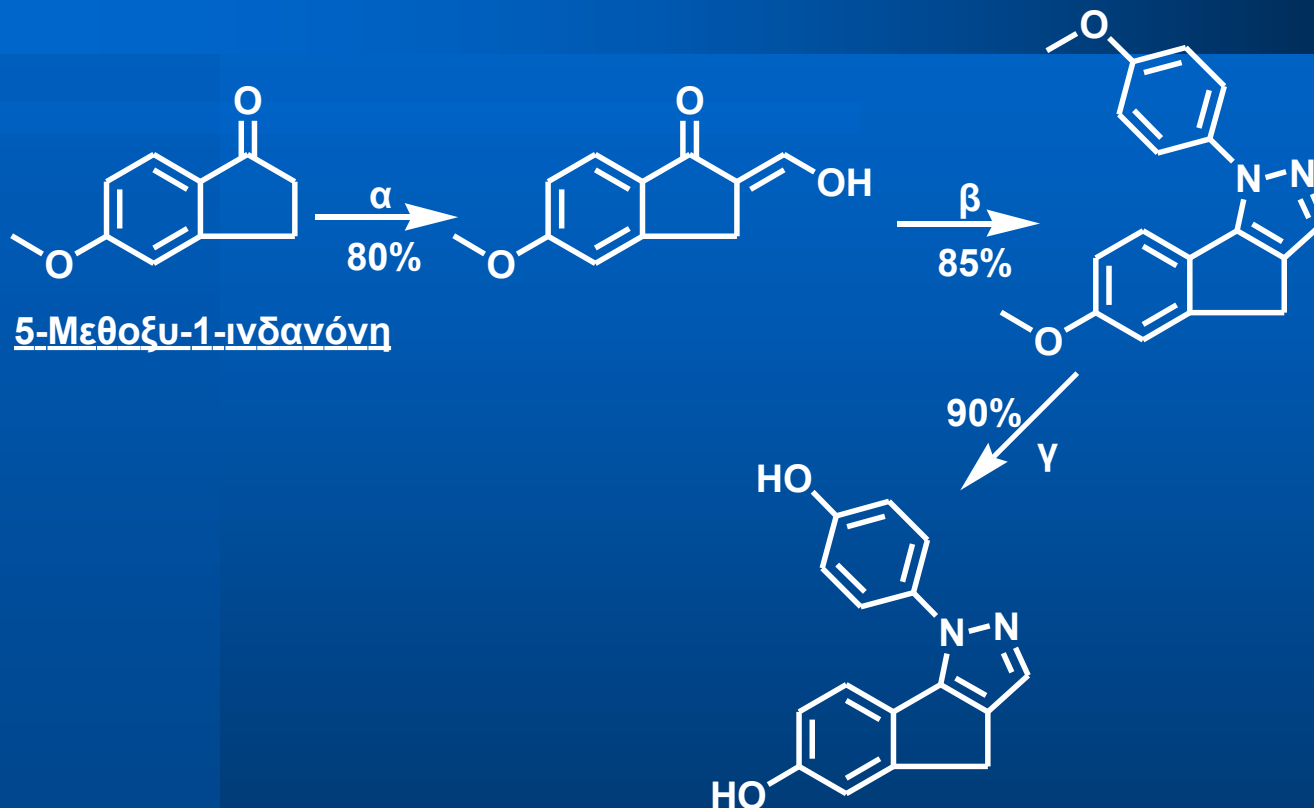
Διαμόρφωση



# Σύνθεση παραγώγων των βενζο[*g*]ινδαζολ-7-ολών



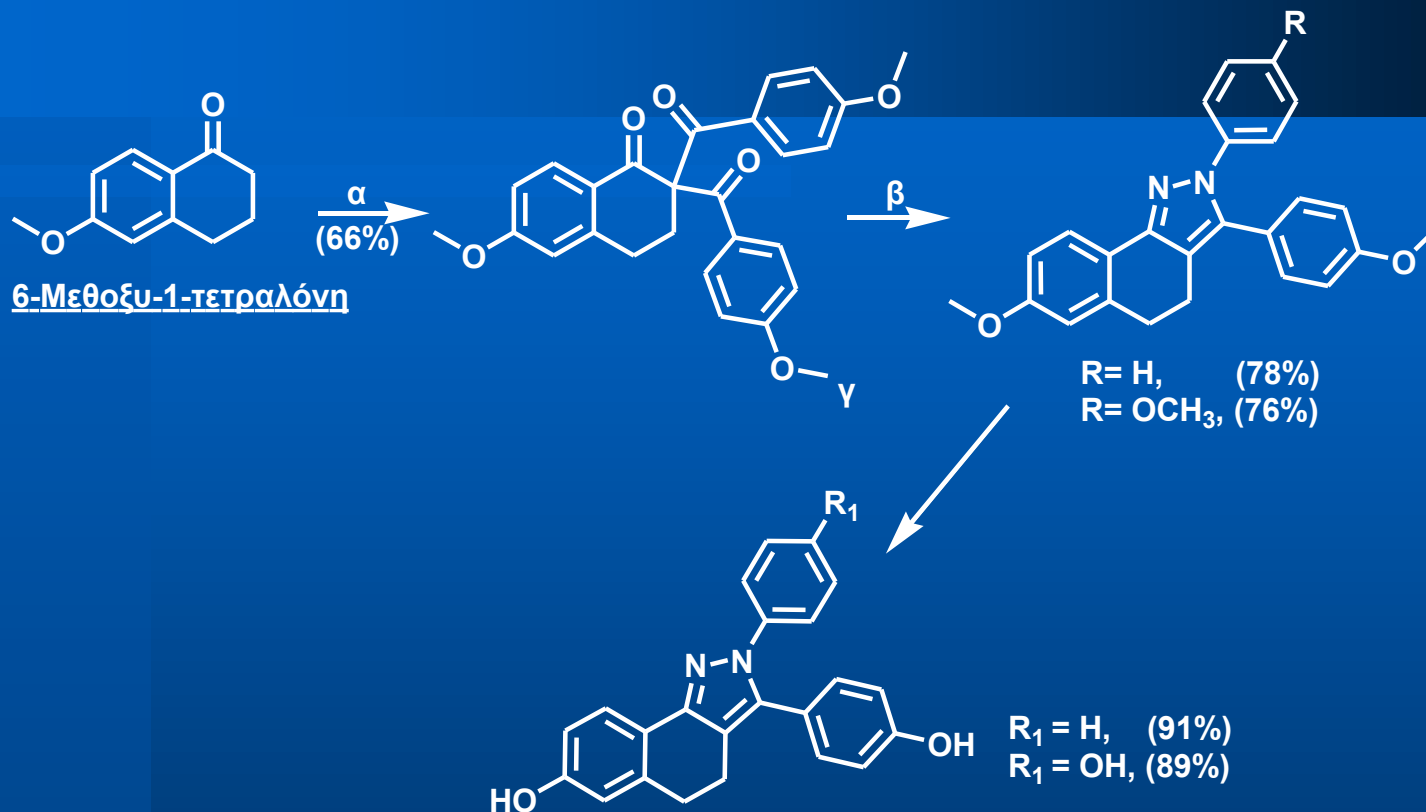
## Σύνθεση παραγώγου της ινδENO [1,2-c]πυραζολ-6-όλης



<sup>a</sup> Αντιδραστήρια και συνθήκες: (α) NaH, HCOOEt, DMF, THF. (β) RC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NHNH<sub>2</sub>·HCl, DMF/THF 3:1 120 °C. (γ) BBr<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -78 °C.



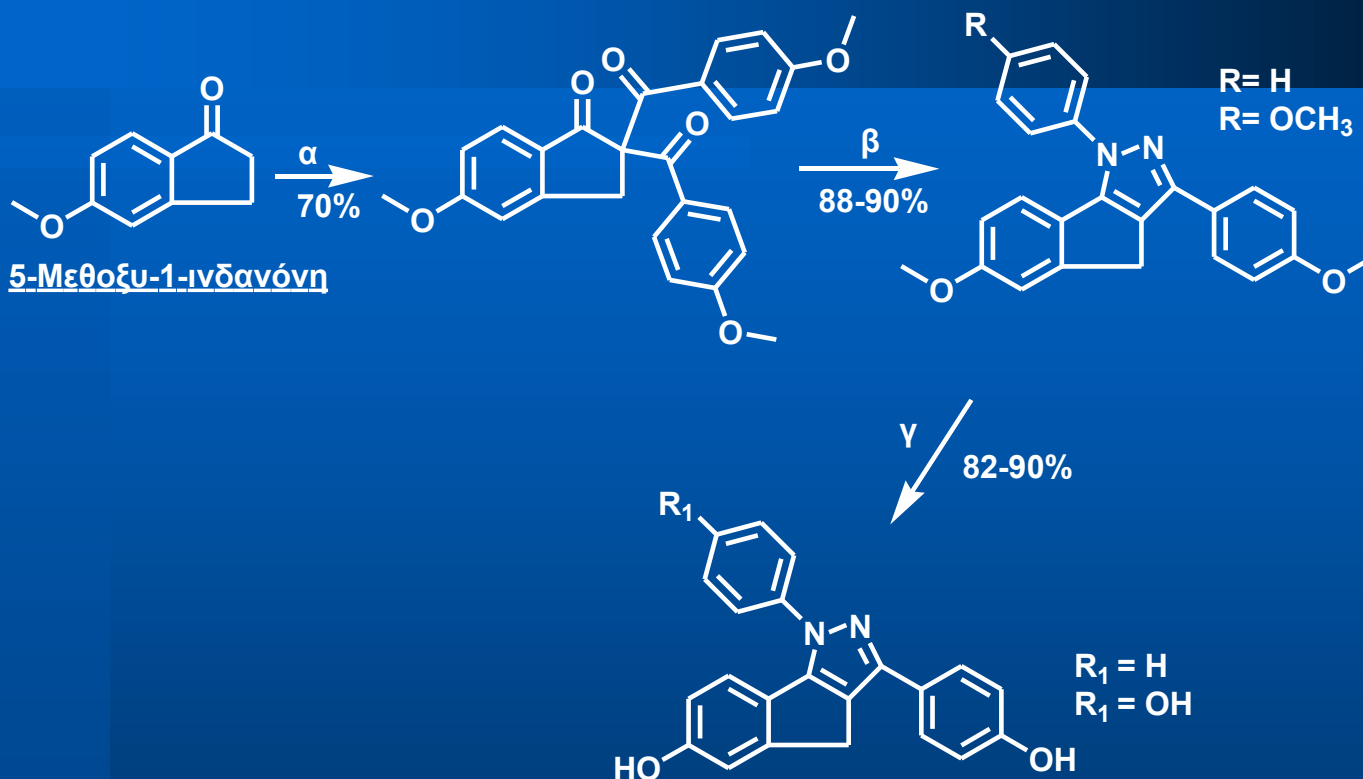
# Σύνθεση παραγώγων των βενζο[g]ινδαζ-7-ολίων



Αντιδραστήρια και συνθήκες: (α) LHMDs, CH<sub>3</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>COCl, THF. (β) CH<sub>3</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NHNH<sub>2</sub>.HCl, DMF/THF 3:1 120 °C. (γ) BBr<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -78 °C.



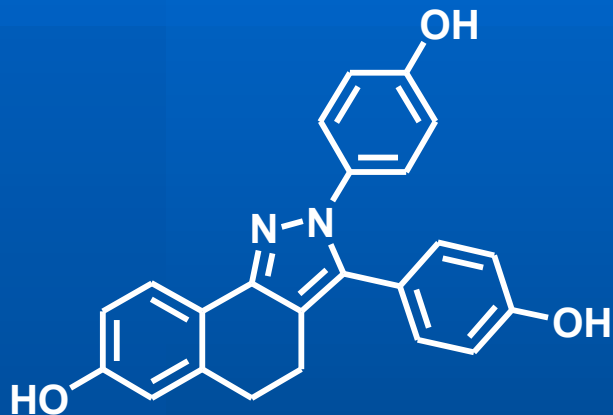
# Σύνθεση παραγώγων των ινδανο[1,2-*c*]πυραζολ-6-ολών



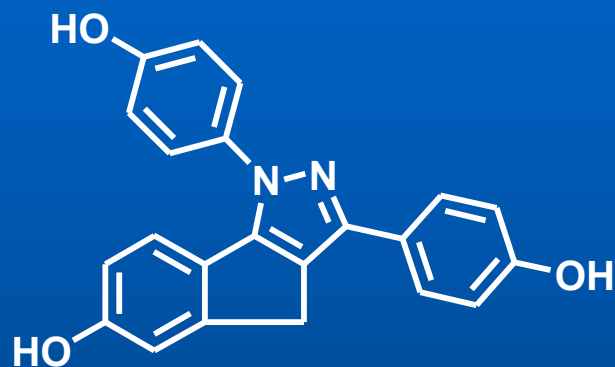
Αντιδραστήρια και συνθήκες: (α) LHMDS, CH<sub>3</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>COCl, THF. (β) CH<sub>3</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NHNH<sub>2</sub>·HCl, DMF/THF 3:1 120 °C. (γ) BBr<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -78 °C.



## **RBA (Receptor Binding Affinity) των νέων πυραζολικών παραγώγων με σταθερή διαμόρφωση**



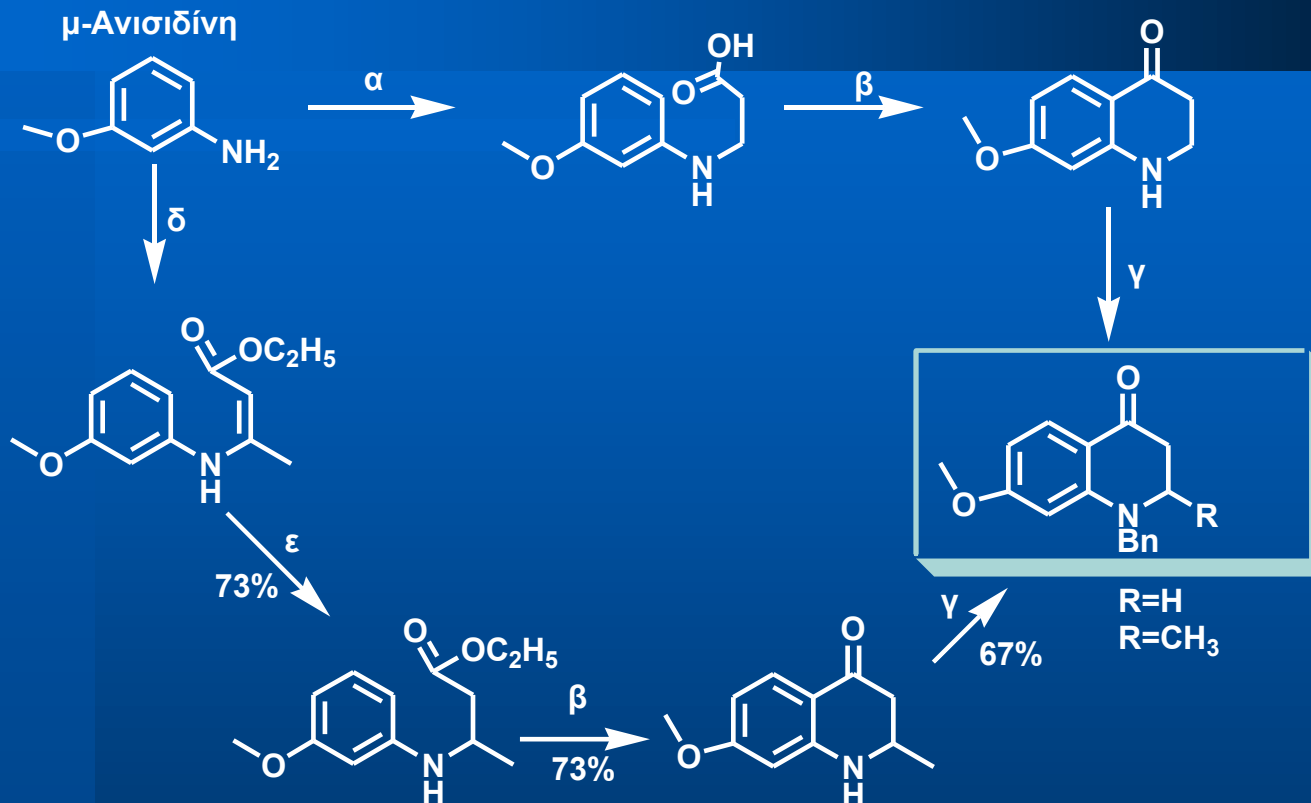
ER $\alpha$  = 45%  
ER $\beta$  = 0.42%  
 $\alpha/\beta$  = 107



ER $\alpha$  = 38%  
ER $\beta$  = 0.51%  
 $\alpha/\beta$  = 75



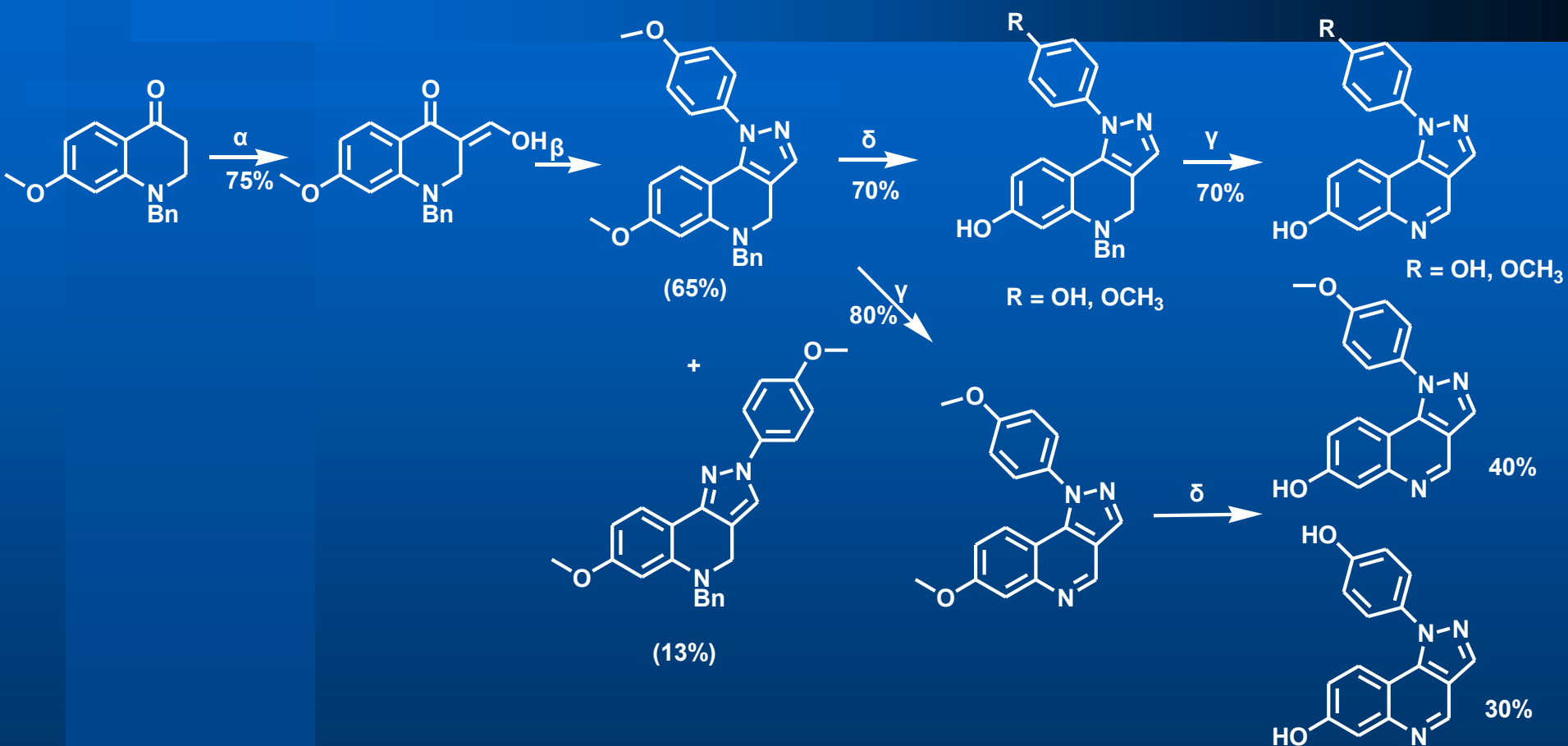
# Σύνθεση κινολινονών (πρώτων υλών)



Αντιδραστήρια και συνθήκες: (α)  $Et_3N$ ,  $Br(CH_2)COOH$ ,  $CH_2Cl_2$ ,  $40\text{ }^\circ C$ . (β) PPA,  $90\text{ }^\circ C$ .  
 (γ)  $K_2CO_3$ , BnBr, DMF,  $60\text{ }^\circ C$ . (δ)  $CH_3COCH_2COOC_2H_5$ , οξικό οξύ. (ε)  $H_2/Pd$ , MeOH.



# Σύνθεση παραγώγων των πυραζολο[4,3-c]κινολινών

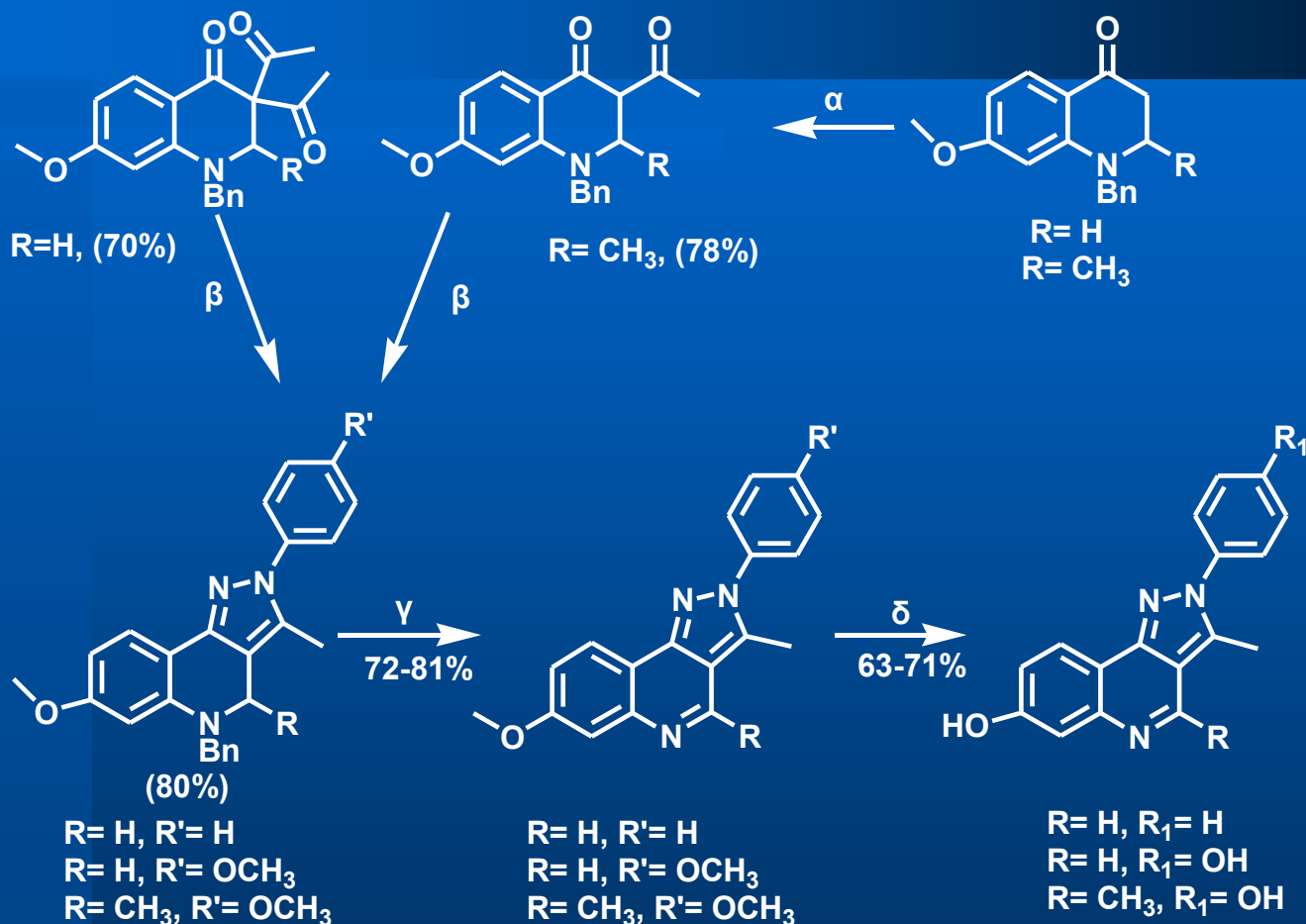


<sup>a</sup> Αντιδραστήρια και συνθήκες: ( $\alpha$ ) NaH, HCOOEt, DMF, THF. ( $\beta$ ) RC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NHNH<sub>2</sub>·HCl, DMF/THF 3:1 120 °C. ( $\gamma$ ) H<sub>2</sub>, Pd/C, EtOAc ή MeOH ( $\delta$ ) BBr<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -78 °C.





# Σύνθεση παραγώγων των πυραζολο[4,3-c]κινολινών

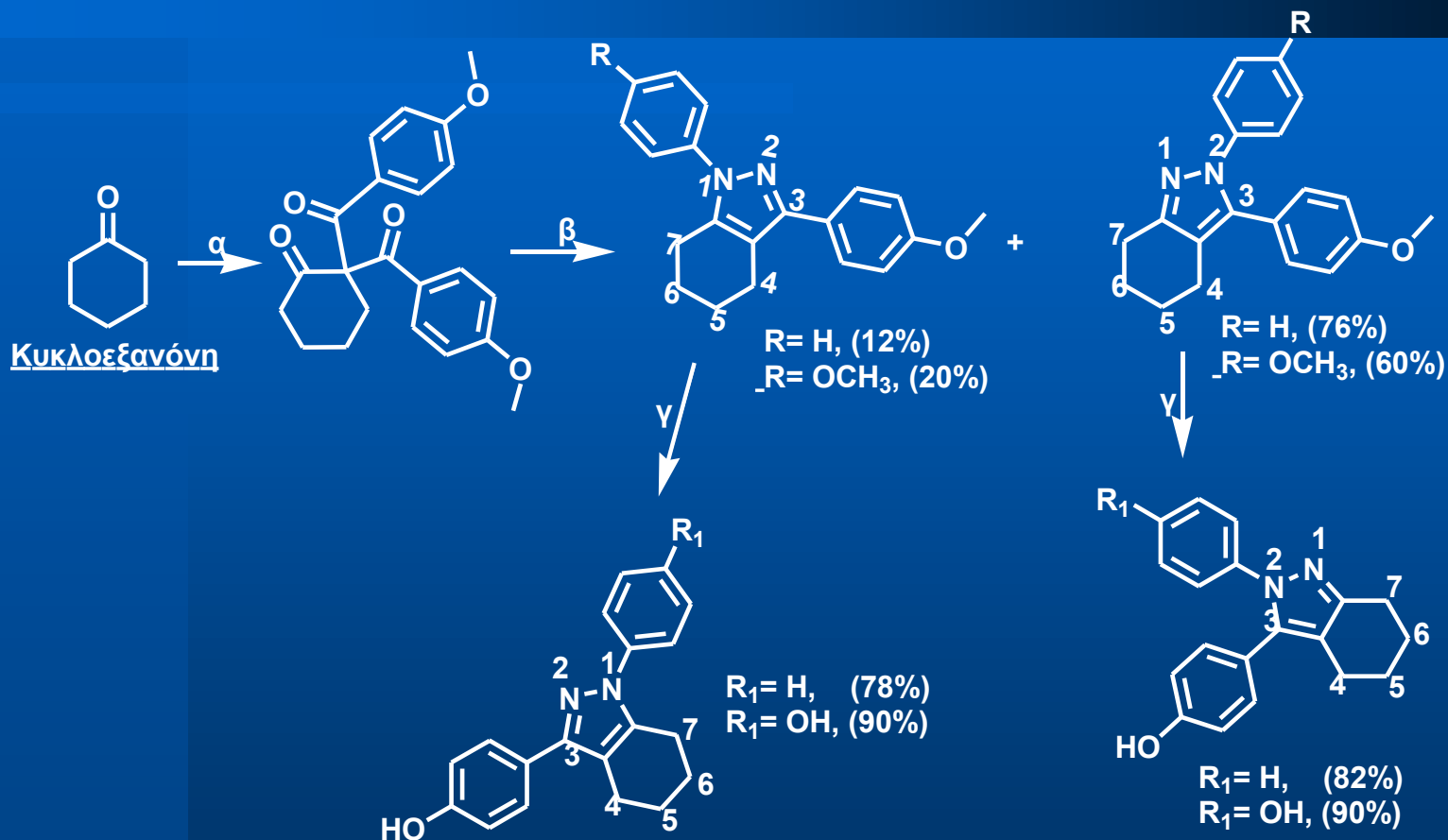


<sup>a</sup> Αντιδραστήρια και συνθήκες: (α) LHMDS, CH<sub>3</sub>COCN, THF. (β) R'C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NHNH<sub>2</sub>·HCl, DMF/THF 3:1 120 °C. (γ) H<sub>2</sub>, Pd/C, EtOAc ή MeOH (δ) BBr<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -78 °C.





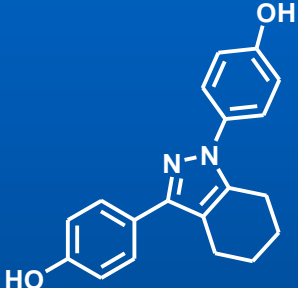
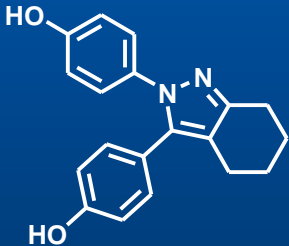
# Σύνθεση νέων πυραζολικών παραγώγων με ελεύθερη διαμόρφωση



Αντιδραστήρια και συνθήκες: (α) LHMDS,  $CH_3OC_6H_4COCl$ , THF. (β)  $RC_6H_4NHNH_2 \cdot HCl$ , DMF/THF 3:1 120 °C. (γ)  $BBr_3$ ,  $CH_2Cl_2$ , -78 °C.



# Μελέτες **RBA** (**R**eceptor **B**inding **A**ffinity) των νέων πυραζολικών παραγώγων με ελεύθερη διαμόρφωση

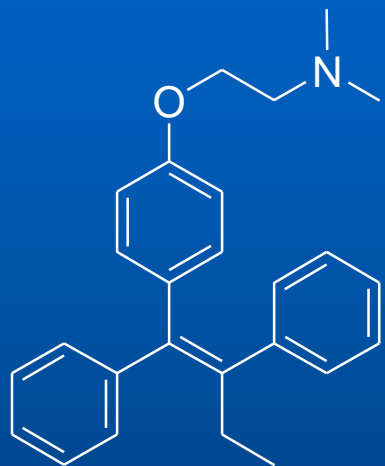
Προϊόν	RBA <sub>α</sub>	RBA <sub>β</sub>	β/α
	1.44	19.16	14
	0.64	11.9	20



## ΣΤΟΧΟΣ η σύνθεση-μελέτη νέων

- *διαζαετεροκυκλικών μορίων, με πιθανή ιστοειδική δράση ως SERM's*
- *τριαρυλαιθυλενικών παραγώγων – αναλόγων της ταμοξιφαίνης – με πιθανή αντιοιστρογονική δράση*

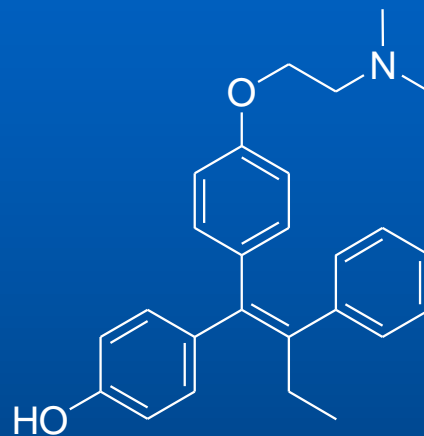
# ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΝΕΩΝ ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΤΗΣ ΤΑΜΟΞΙΦΑΙΝΗΣ



Ταμοξιφαίνη



$RBAa = 23\%$



Υδροξυταμοξιφαίνη

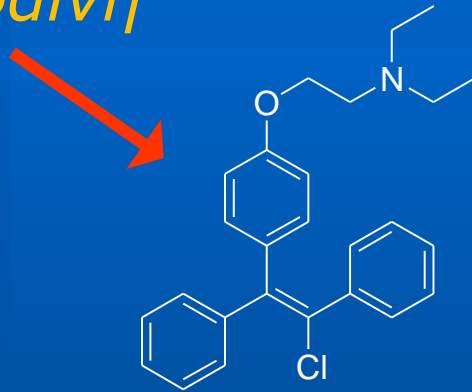


$RBAa = 40\%$

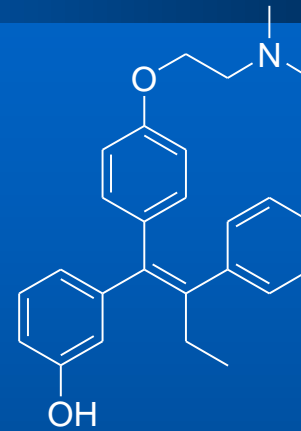
*Ενεργός μεταβολίτης*

# Παράγωγα των τριαρυλοαιθυλενίων Νέα ανάλογα της ταμοξιφαίνης

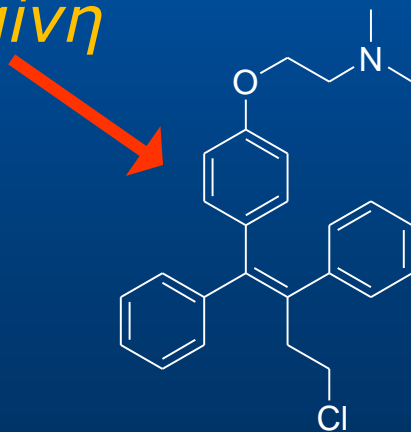
Χλωμιφαΐνη



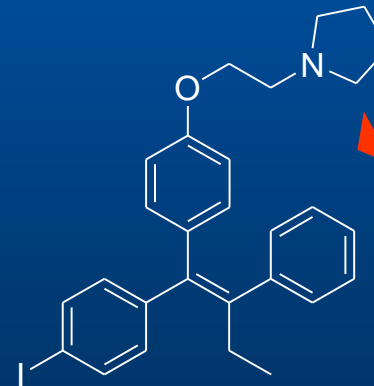
Ντρολοξιφαΐνη



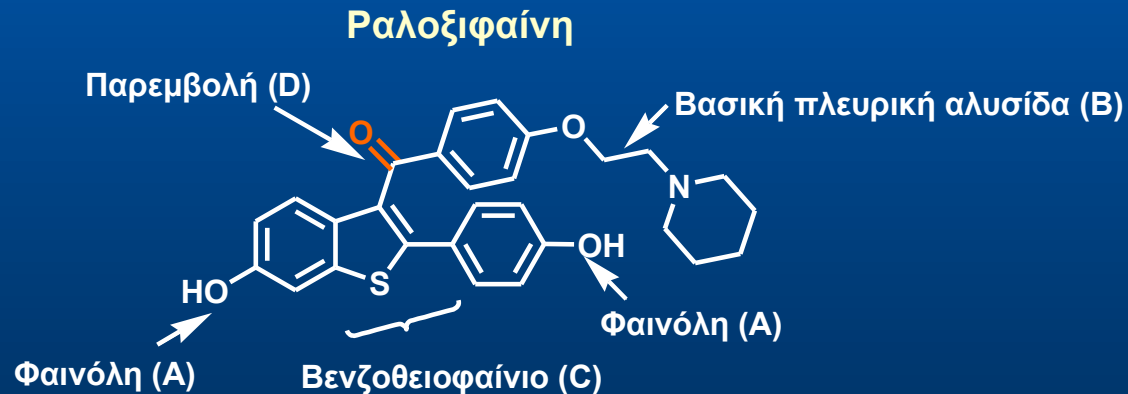
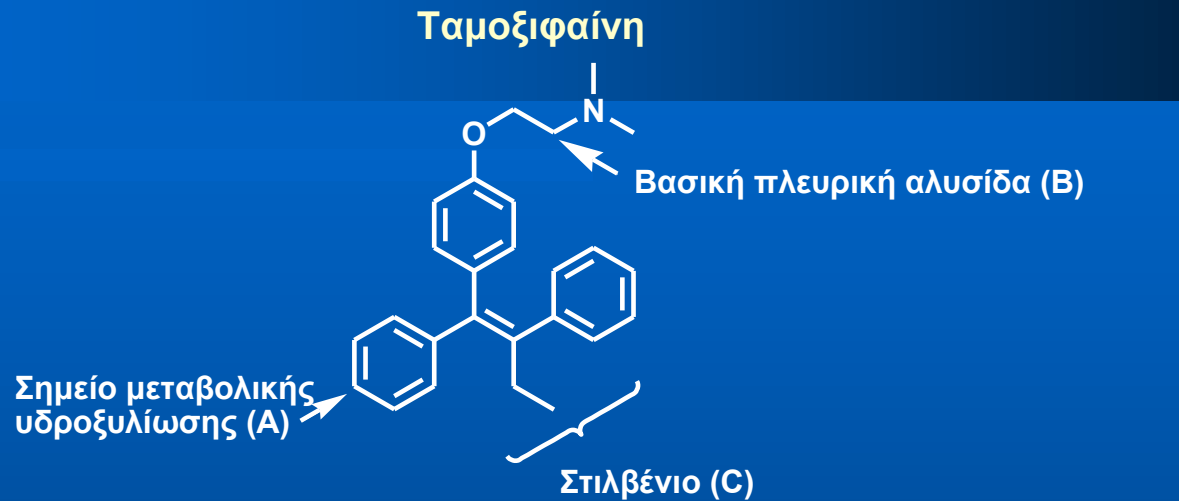
Τορεμιφαΐνη



Ιδοξιφαΐνη

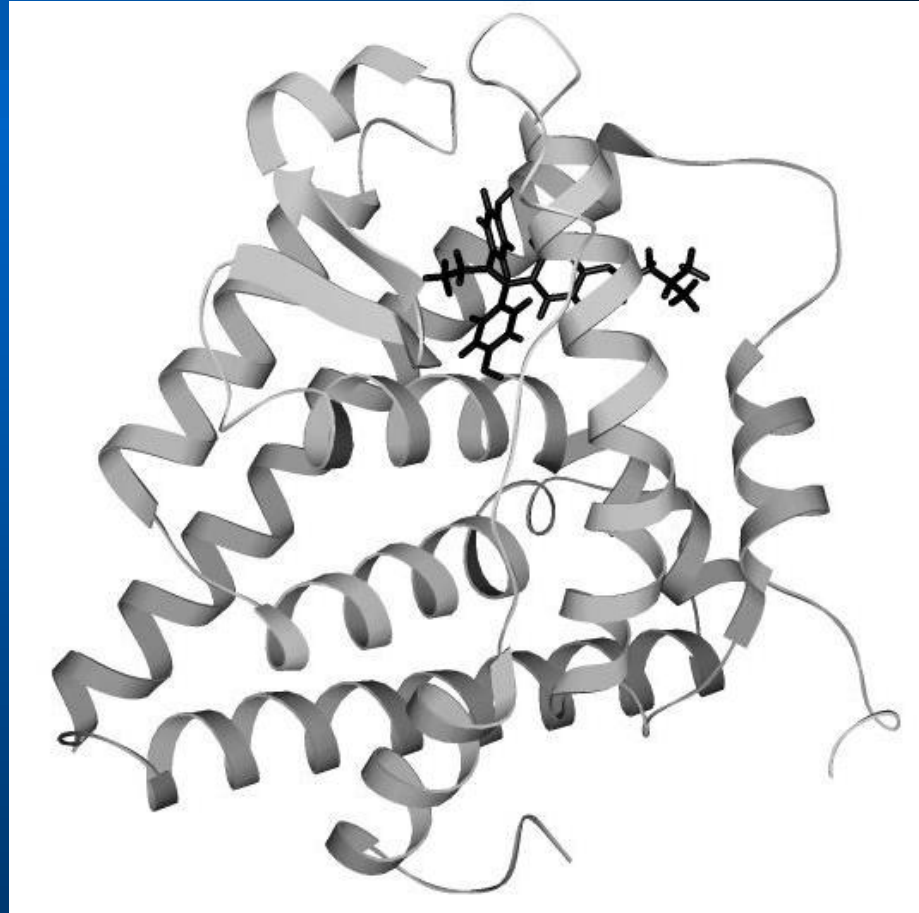
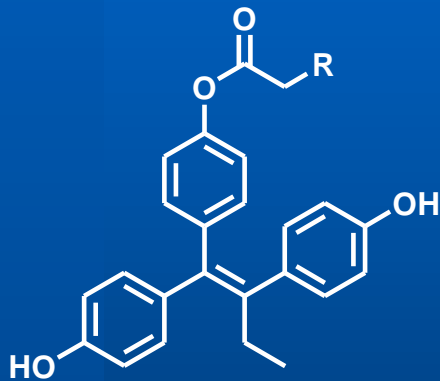


# Δομική σύγκριση Ταμοξιφαίνης-Ραλοξιφαίνης

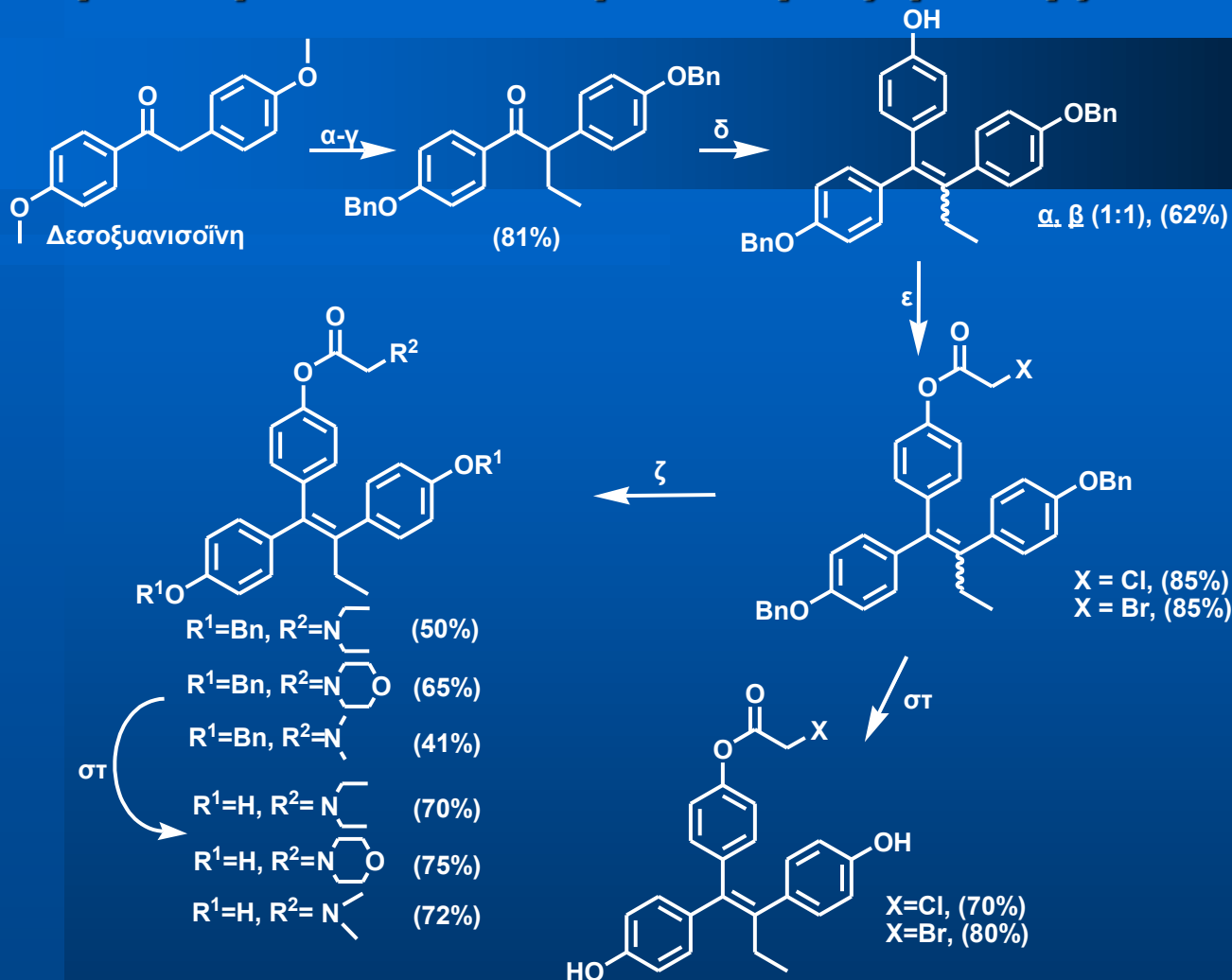




# Σχεδιασμός νέων αναλόγων ταμοξιφαίνης



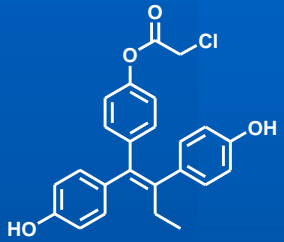
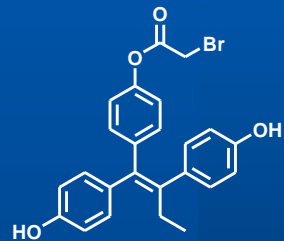
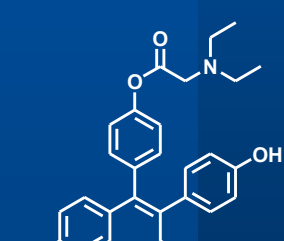
# Σύνθεση εστερικών αναλόγων ταμοξιφαίνης

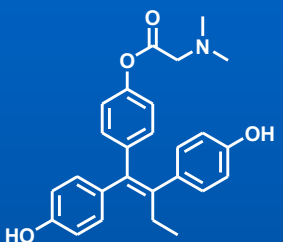
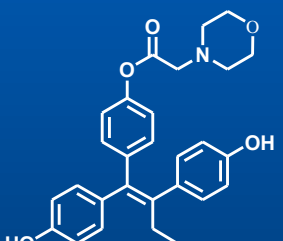
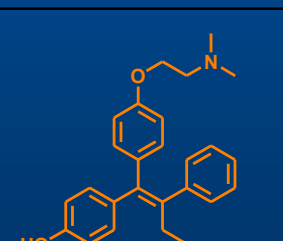


Αντιδραστήρια και συνθήκες: (α) NaH, EtI, DMF, THF; (β) HBr, AcOH, 100 °C; (γ) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, BnBr, DMF, 60 °C; (δ) i. *n*-BuLi, BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OTBDMS, -78 °C; ii. HCl; (ε) XCH<sub>2</sub>COX, πυριδίνη, Et<sub>2</sub>O, 0-5 °C; (στ) H<sub>2</sub>, Pd/C, EtOAc; (ζ) Et<sub>3</sub>N, NH<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>O ή NH<sub>2</sub>, THF.



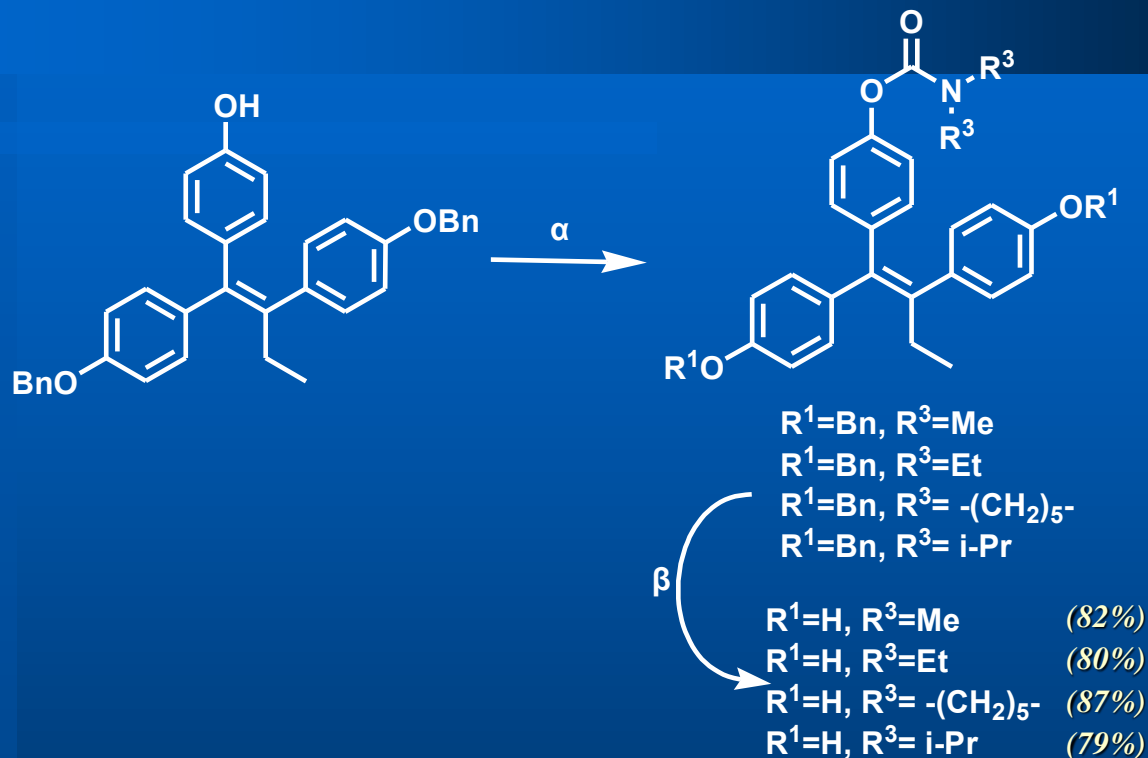
# Μελέτες **RBA** εστερικών αναλόγων ταμοξιφαίνης

Δομή	RBA <sub>α</sub>	RBA <sub>β</sub>
	<b>120.08</b>	<b>62.14</b>
	<b>96.37</b>	<b>82.39</b>
	<b>108.12</b>	<b>77.37</b>

Δομή	RBA <sub>α</sub>	RBA <sub>β</sub>
	<b>80.06</b>	<b>67.90</b>
	<b>101.35</b>	<b>72.72</b>
	<b>40.04</b>	<b>22.2</b>



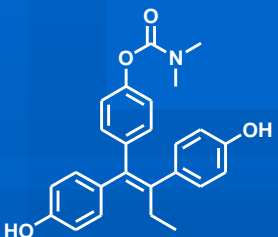
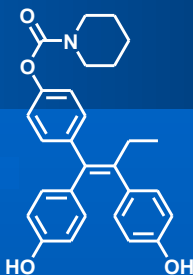
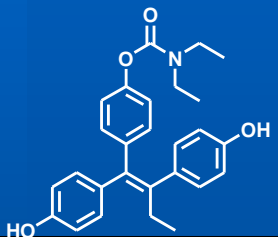
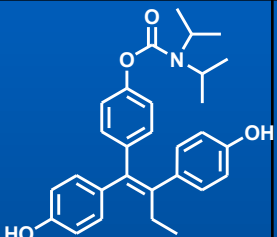
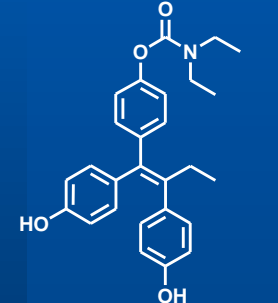
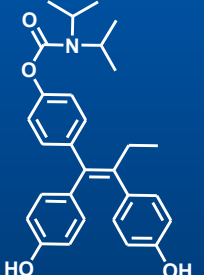
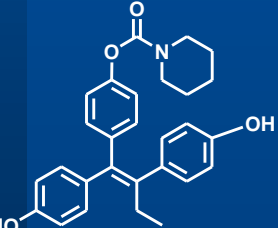
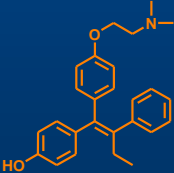
# Σύνθεση νέων καρβαμοϋλόξυ παραγώγων



Αντιδραστήρια και συνθήκες: (α) NaH,  $(R^3)_2\text{NCOCl}$ , THF, 0-75 °C. ; (β) H<sub>2</sub>, Pd/C, EtOAc.



# Μελέτες RBA των παραγώγων της ταμοξιφαίνης

Δομή	RBA <sub>α</sub>	RBA <sub>β</sub>	α/β	Δομή	RBA <sub>α</sub>	RBA <sub>β</sub>	α/β
	36.7±4.0	45.7±12	0,8		4.50±0.6	2.00±0.6	2,25
	15.0±3.0	11.0±4.8	1,4		15.2±2.3	20.6±3.2	0,74
	2.40±1.0	1.10±0.2	2,2		1.10±0.2	0.70±0.2	1,6
	14.3±2.6	10.3±1.2	1,4		40	22	1,8



# *In vitro* αξιολόγηση Βιοδοκιμασία ενεργοποίησης γονιδίων αναφοράς

Ενεργοποίηση γονιδίων από τα οιστρογόνα

πρωτεϊνοσύνθεση

λουσιφεράση

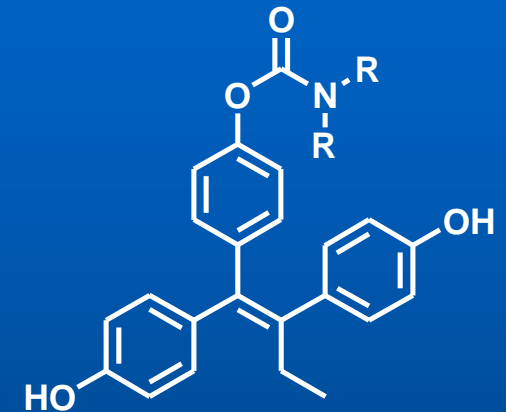
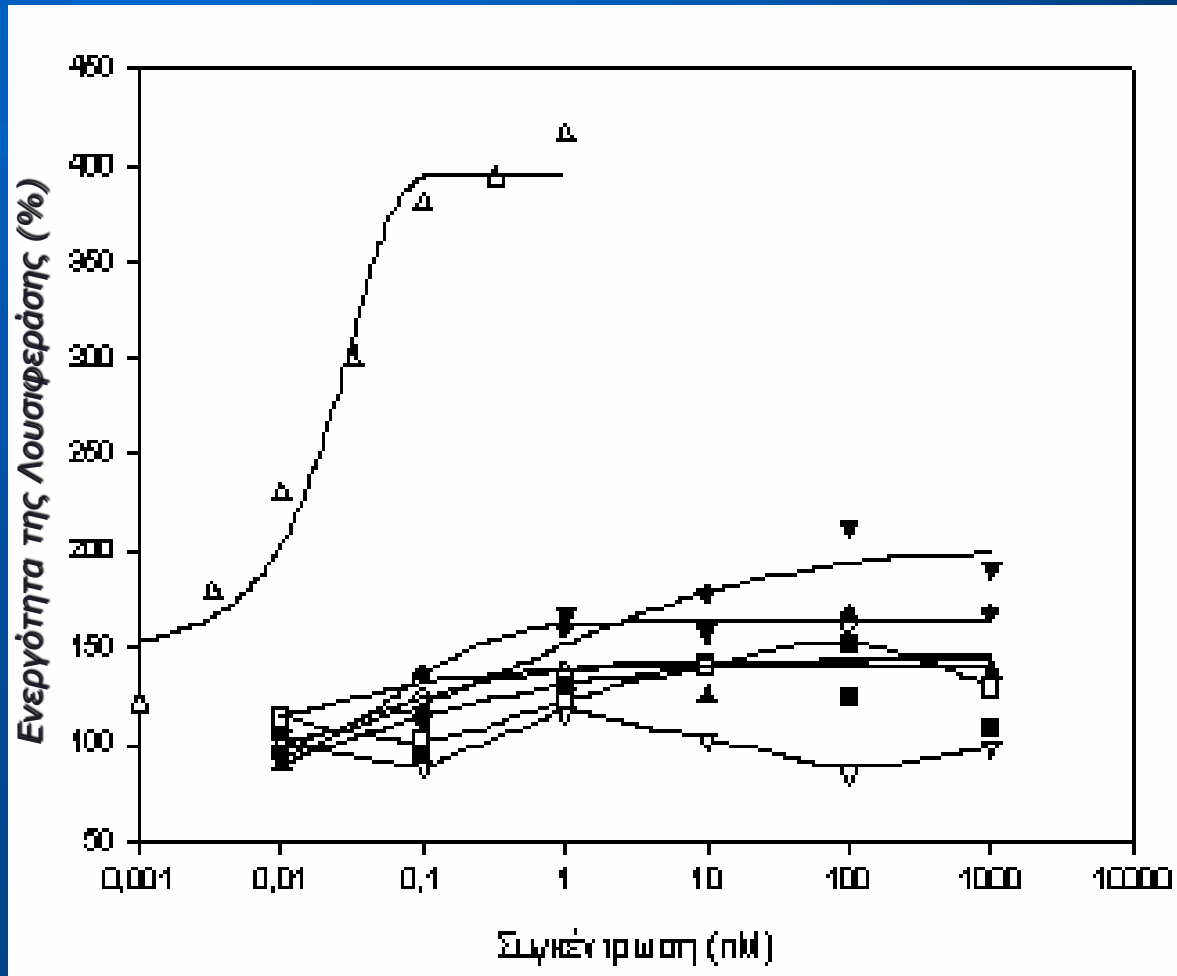
αλκαλική φωσφατάση

κυτταρική σειρά μαστού MCF-7:D5

κυτταρική σειρά ενδομητρίου Ishikawa



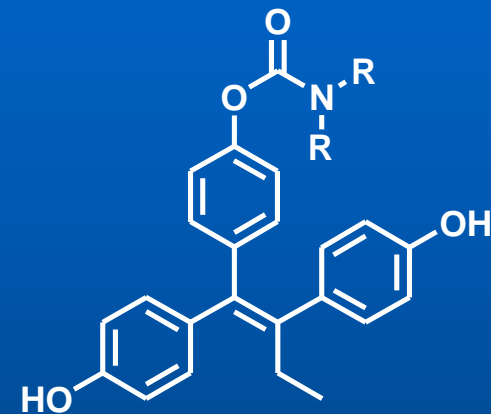
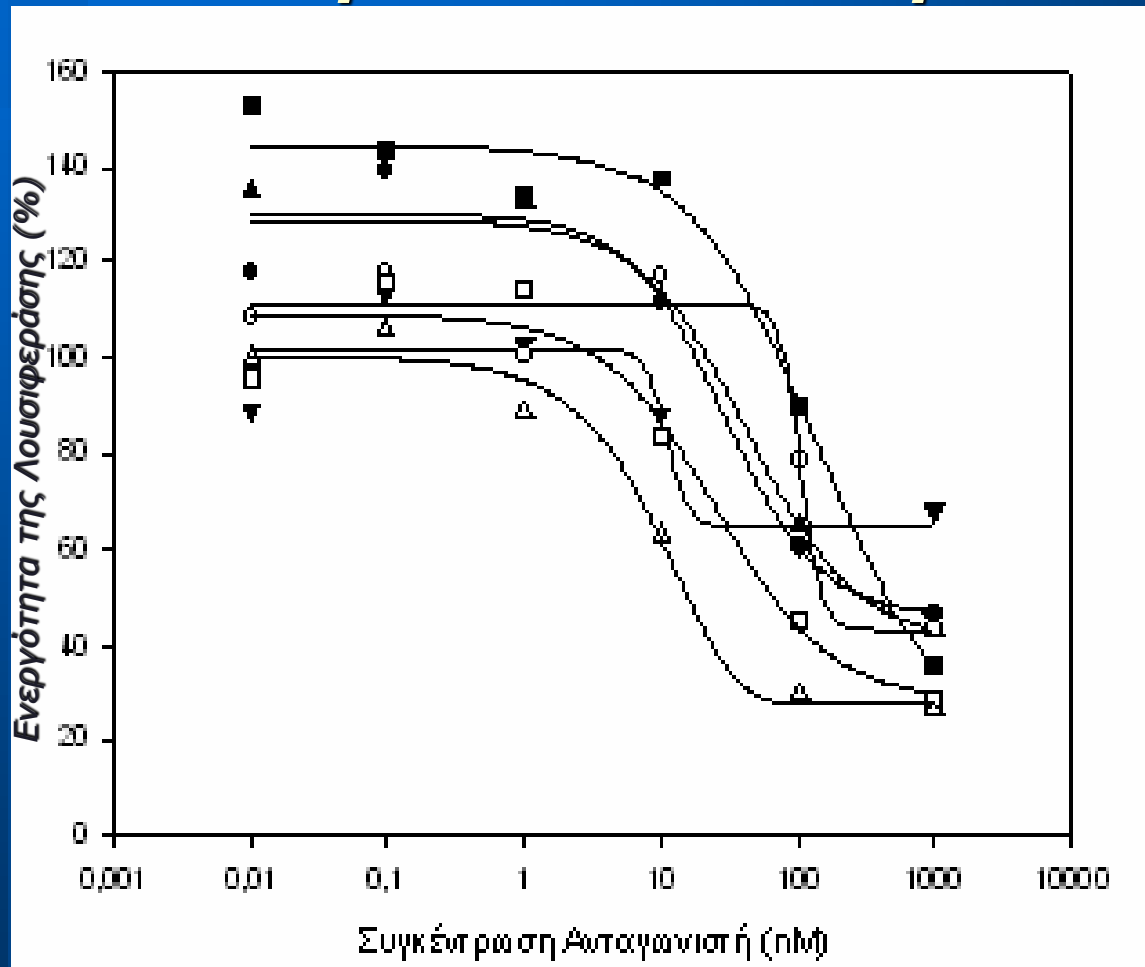
# Επαγωγή της Λουσιφεράσης στα κύτταρα MCF-7:D5 (μαστός)



- R=Et (Z)
- R=Et (E)
- ▲ R=Me
- ▼ R=πιπεριδίνη (Z)
- R=πιπεριδίνη (E)
- △ Οιστραδιόλη
- ▽ Υδροξυ ταμοξιφαίνη



# Καταστολή Επαγωγής της Λουσιφεράσης στα κύτταρα MCF-7:D5 παρουσία Οιστραδιόλης

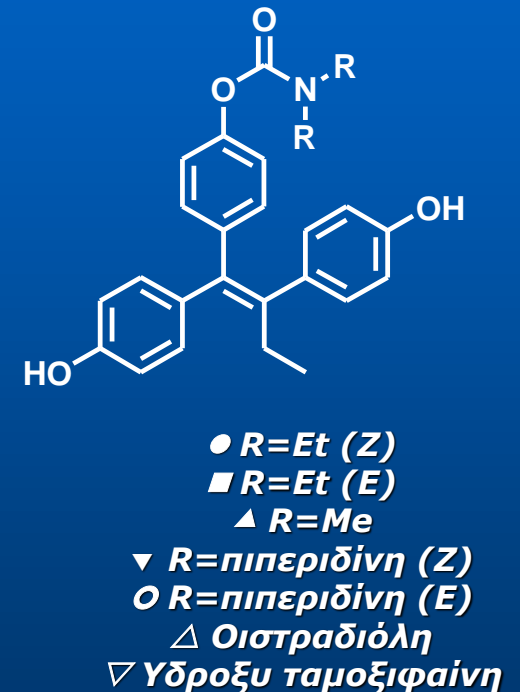
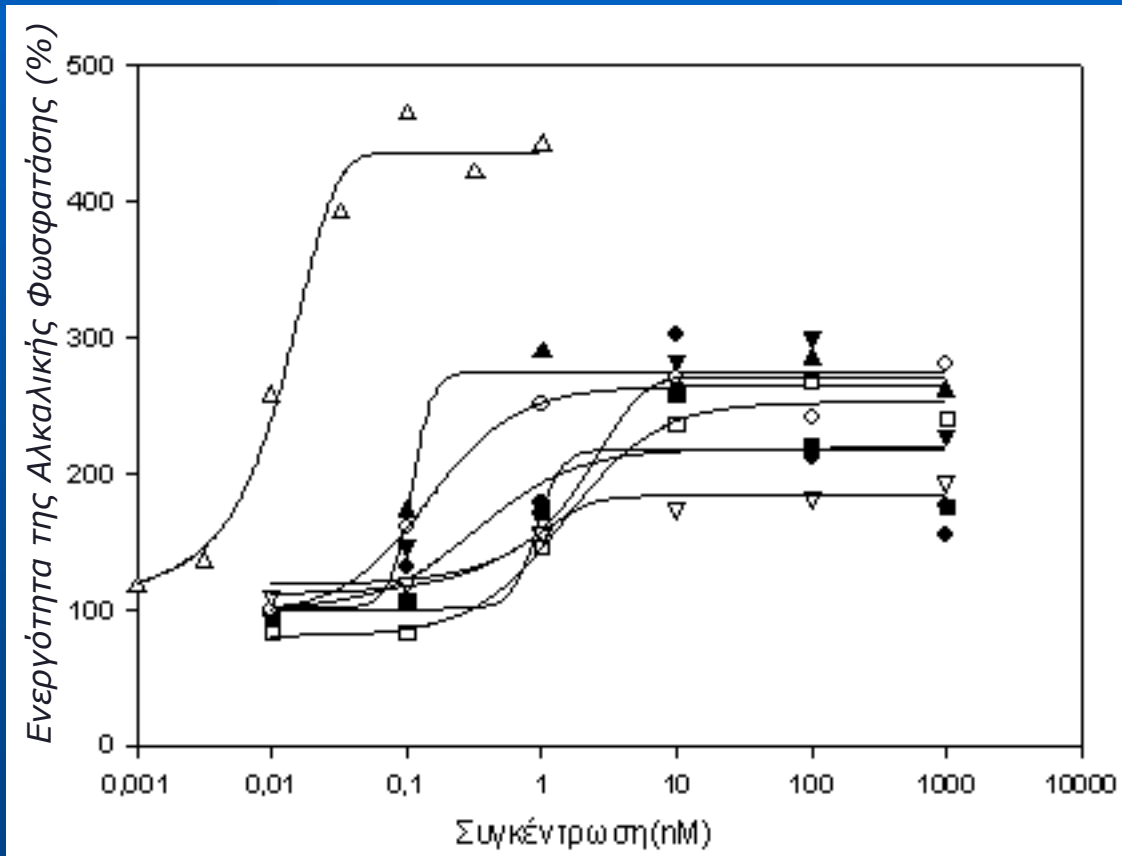


- R=Et (Z)
- R=Et (E)
- ▲ R=Me
- ▼ R=πιπεριδίνη (Z)
- R=πιπεριδίνη (E)
- △ Υδροξυ ταμοξιφαίνη

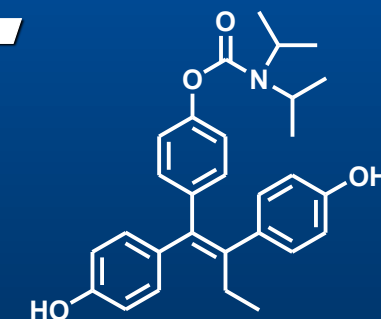
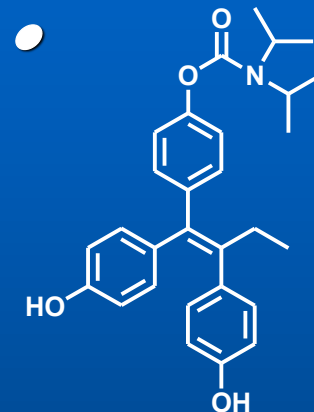
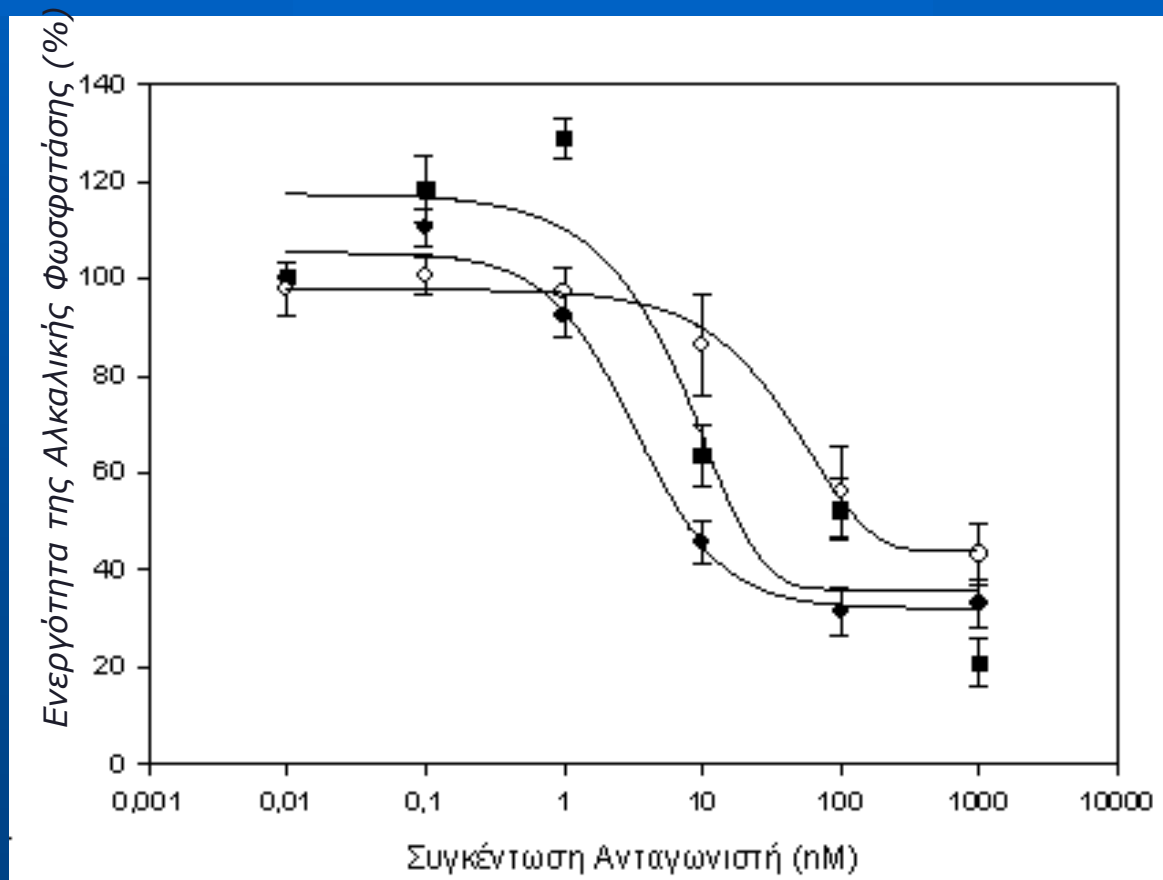




# Επαγωγή της Αλκαλικής Φωσφατάσης στα κύτταρα *Ishikawa* (ενδομήτριο)



# Καταστολή της Επαγωγής της Αλκαλικής Φωσφατάσης στα κύτταρα *Ishikawa* παρουσία Οιστραδιόλης

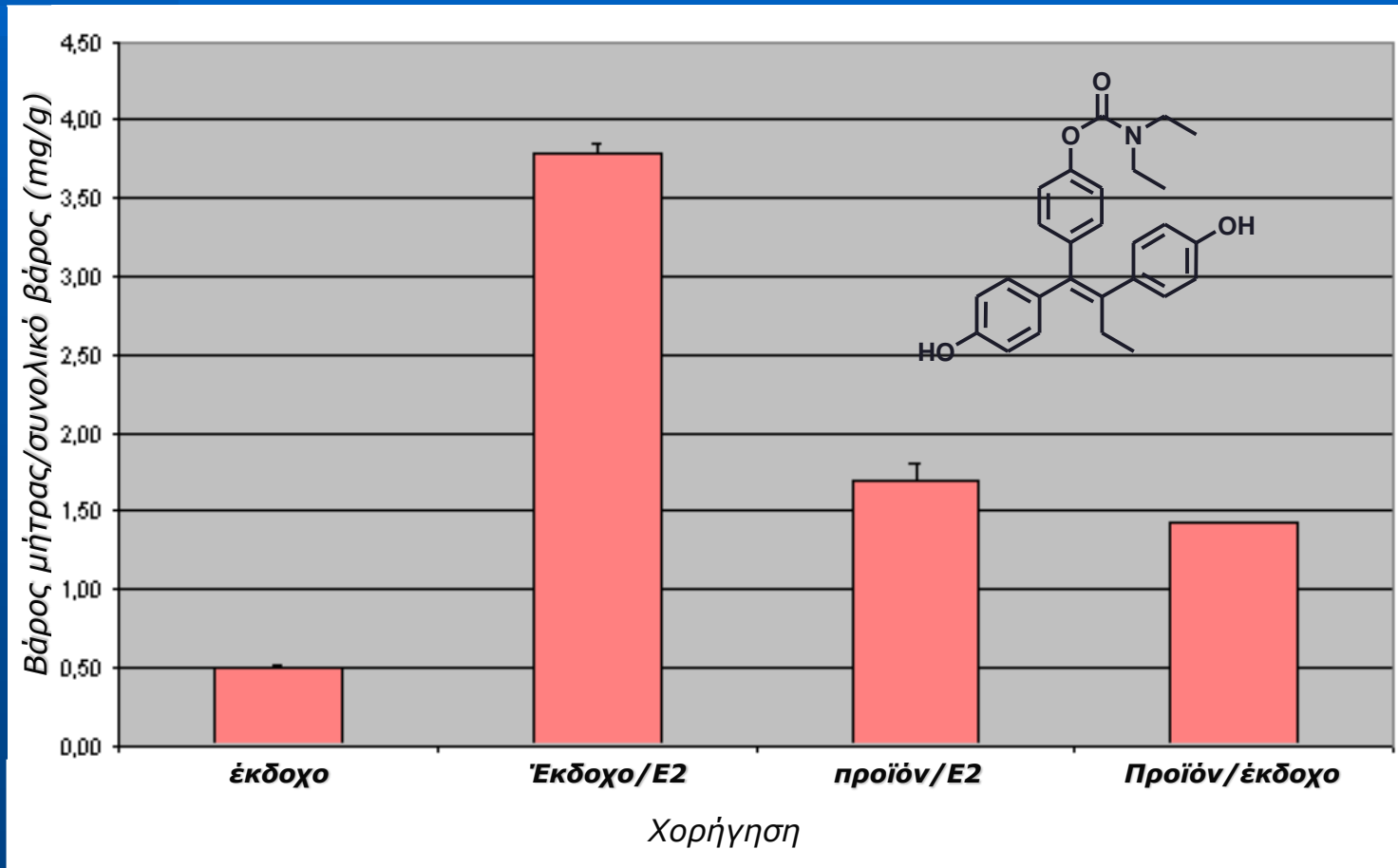


Ο Υδροξυταμοξιφαίνη

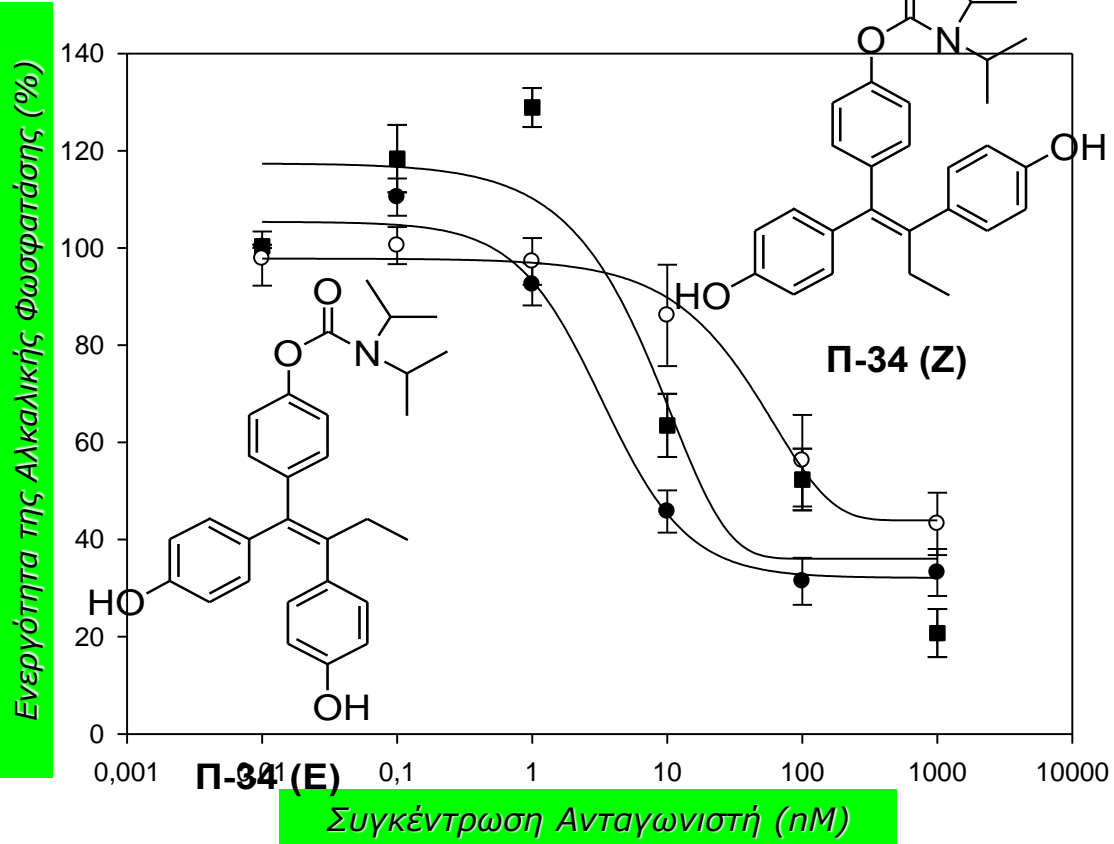


# *In Vivo* βιοδοκιμασία ελέγχου αντιοιστρογόνου δράσης στο ενδομήτριο

**Αναστολή της αύξησης βάρους μήτρας μυός από την οιστραδιόλη**

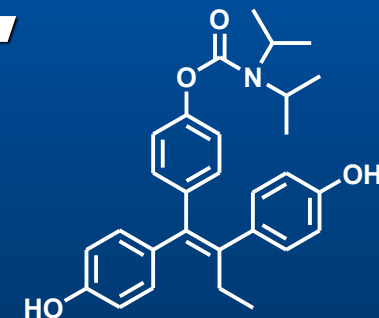
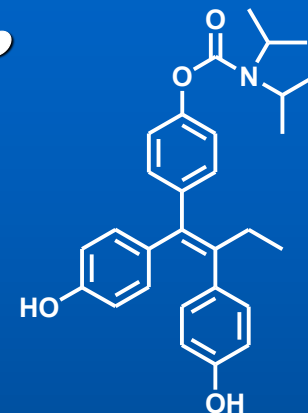
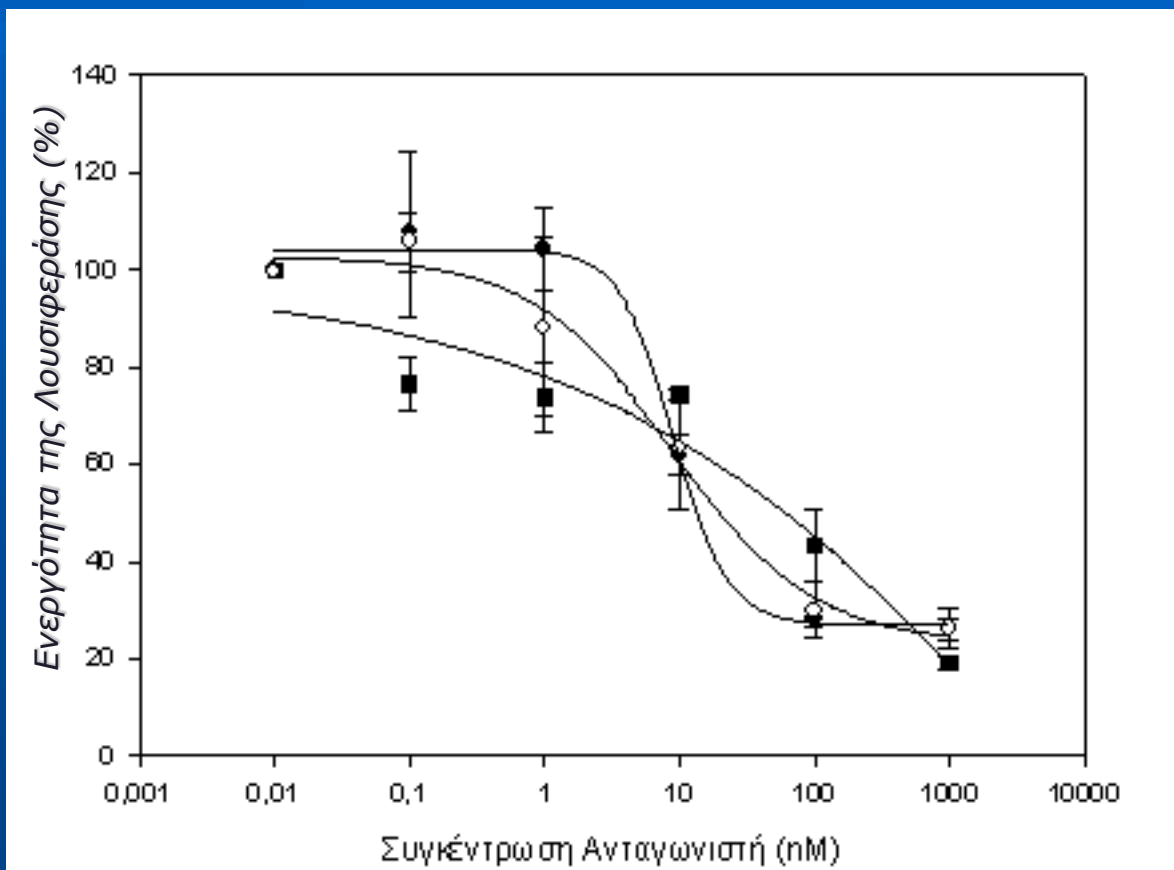


Καταστολή της Επαγωγής της Αλκαλικής Φωσφατάσης  
στα κύτταρα *Ishikawa* από την Οιστραδιόλη



- Π-34 (Z)
- Π-34 (E)
- Υδροξυταμοξifaίνη

# Καταστολή της Επαγωγής της Λουσιφεράσης στα κύτταρα MCF-7:D5 παρουσία Οιστραδιόλης

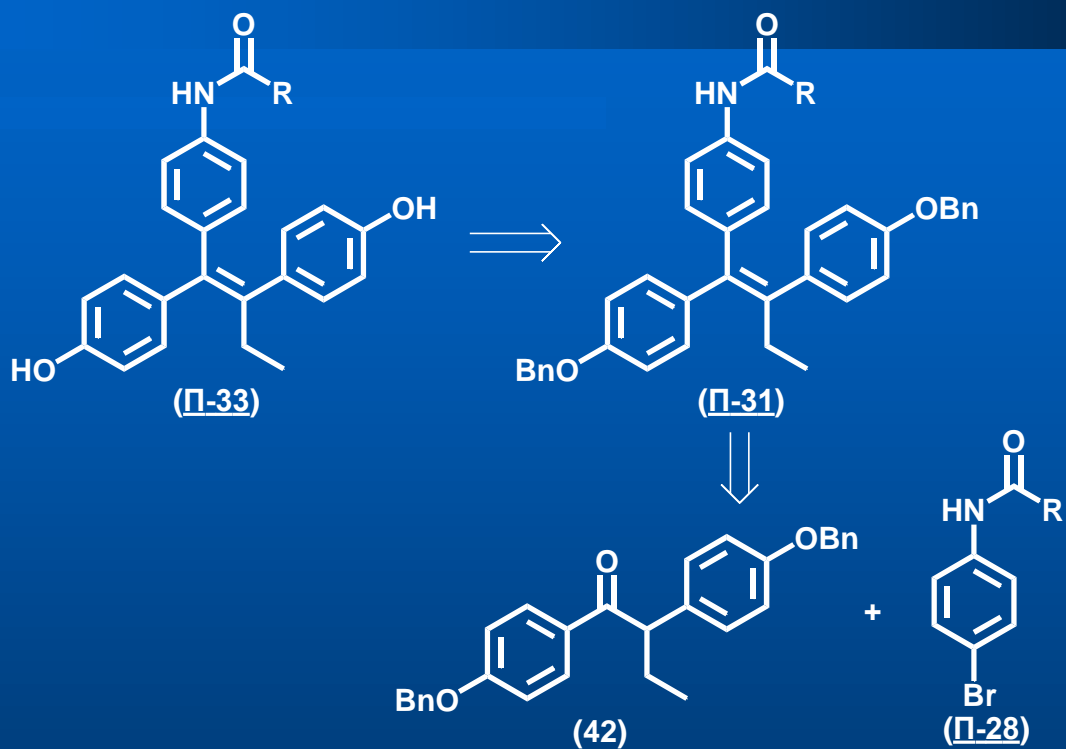


Ο Υδροξυταμοξιφαίνη



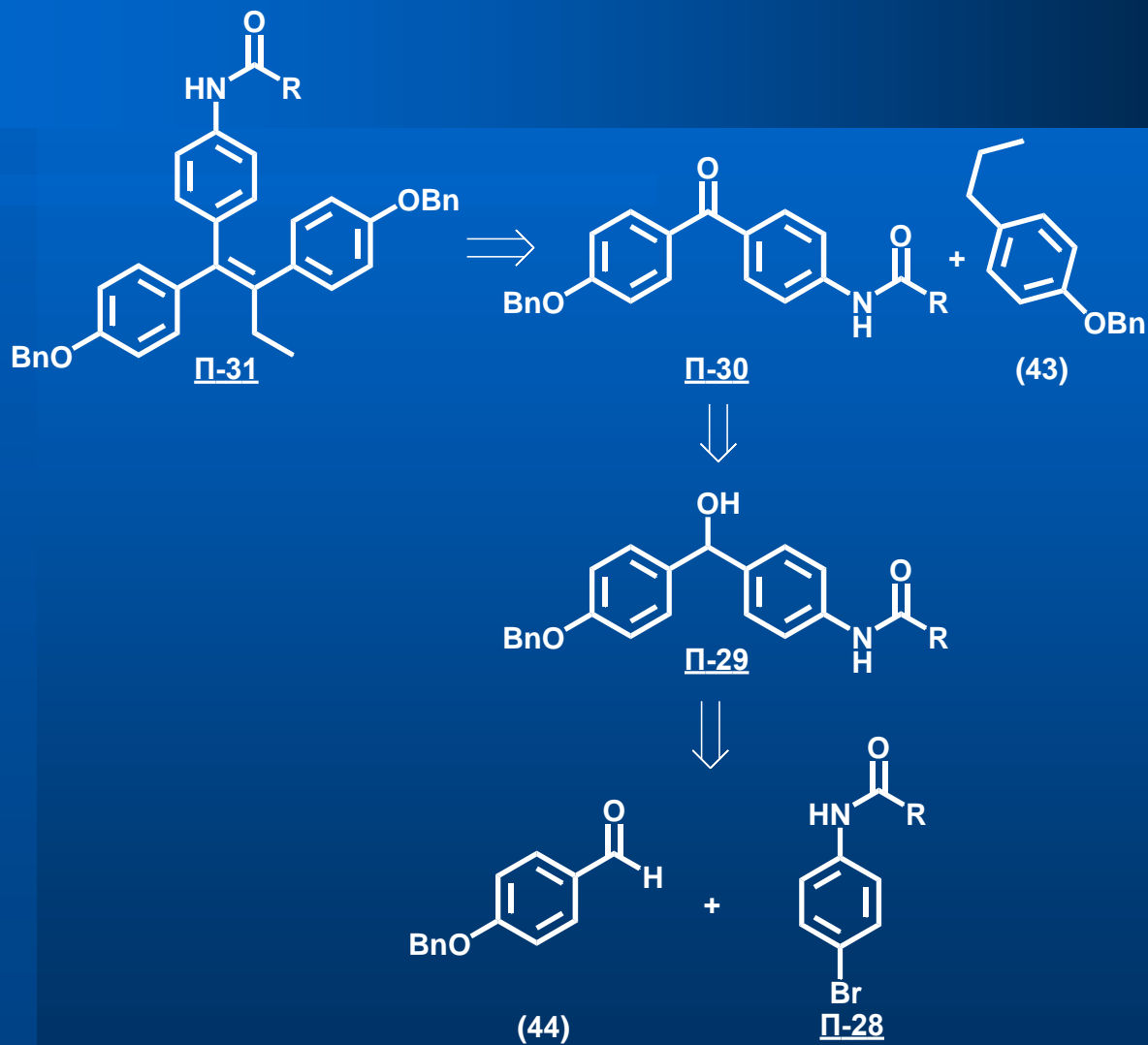


## Ρετροσυνθετική ανάλυση



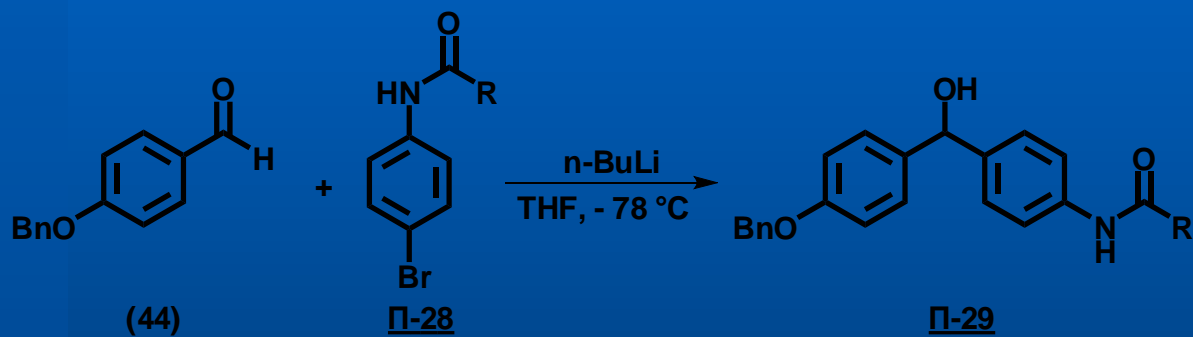
Συνθήκες αντίδρασης: (α) *n*-BuLi, -78 °C; (β) HCl, MeOH.

# Ρετροσυνθετική ανάλυση





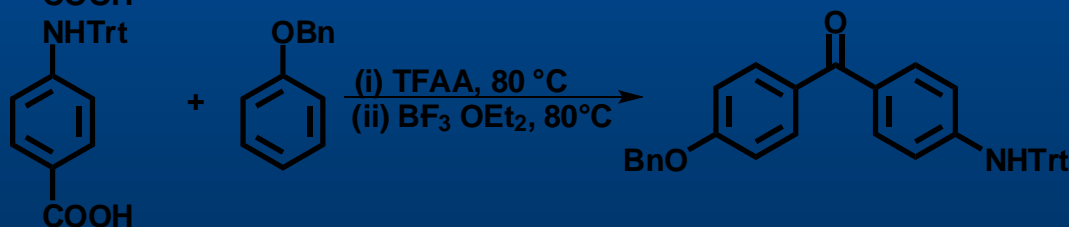
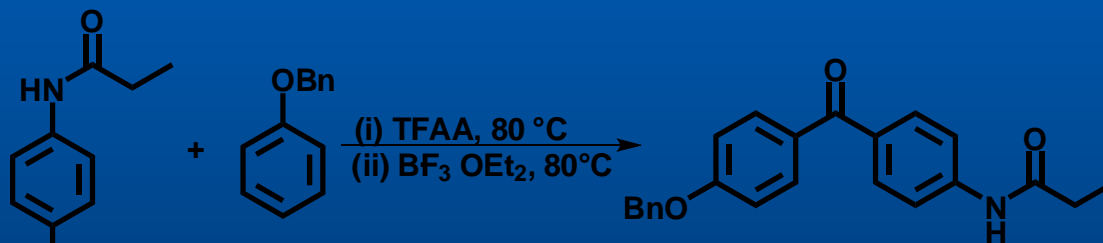
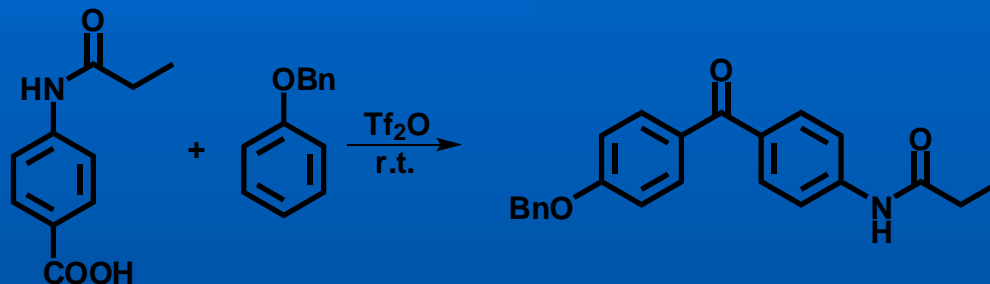
**Σύνθεση των πρόδρομων υδροξυ-αναλόγων Π-29 σε μέτριες αποδόσεις (15 – 55%)**

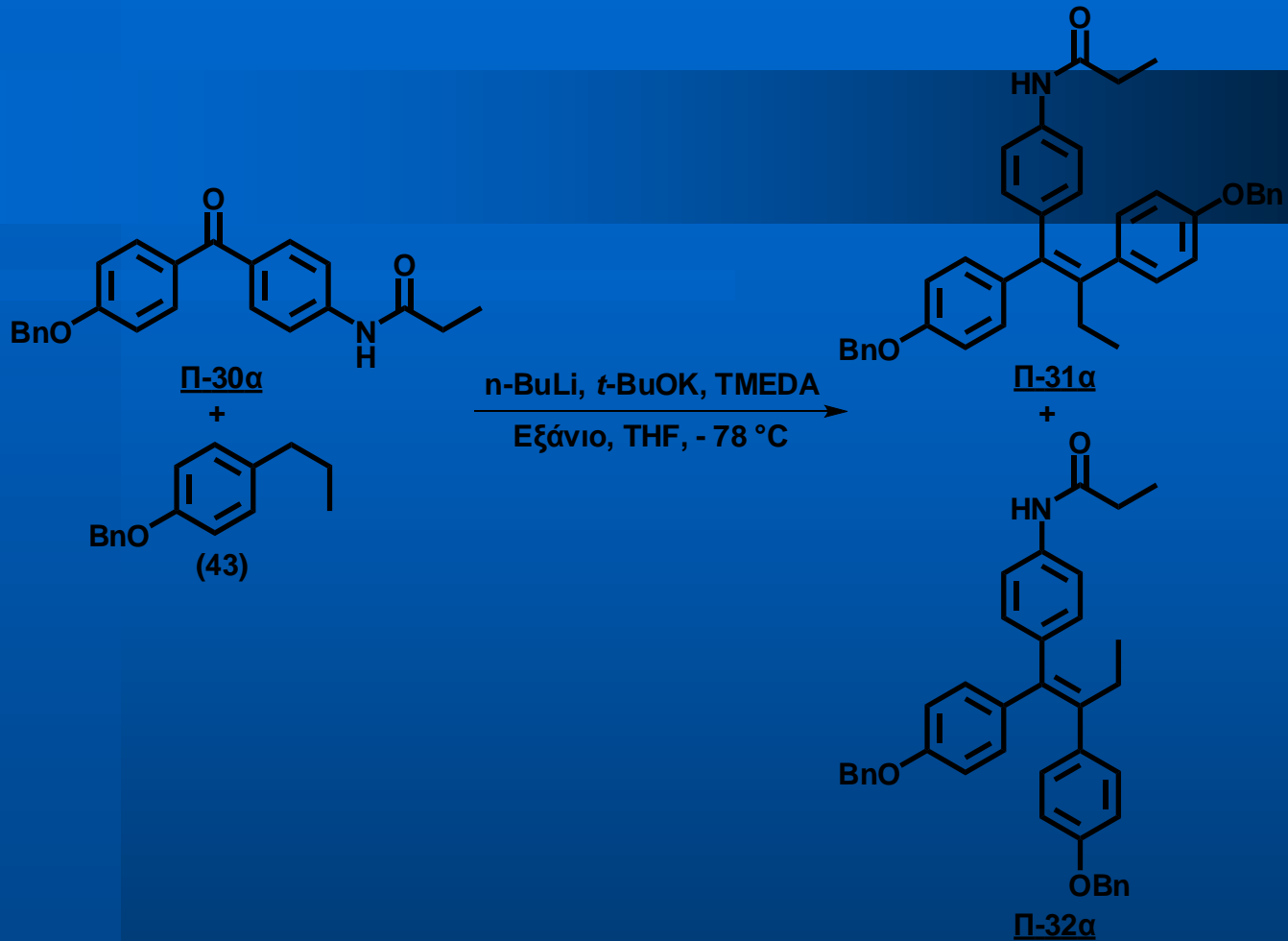


## Σύνθεση των αναλόγων Π-30

1) ακυλίωση με τριφθορομεθυσουλφονικού ανυδρίτη ( $\text{Tf}_2\text{O}$ )

2) ακυλίωση Friedel-Crafts



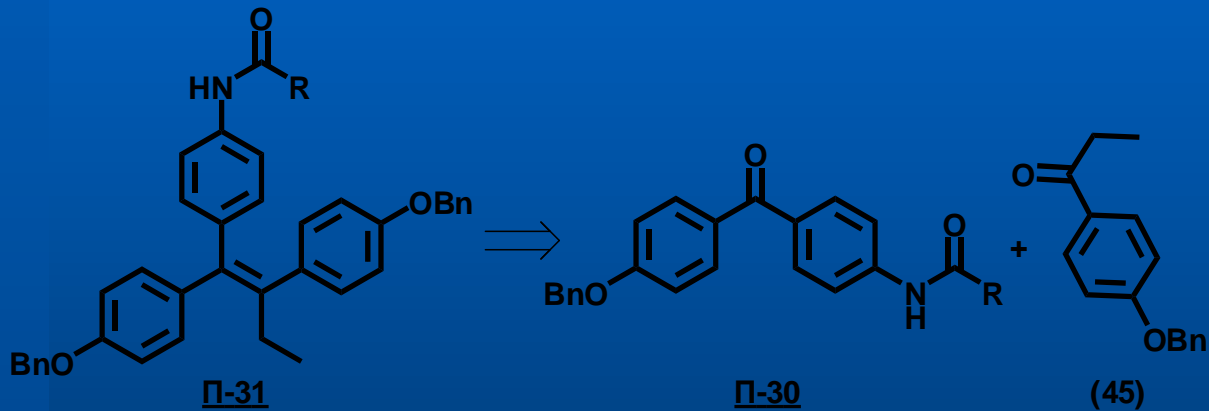


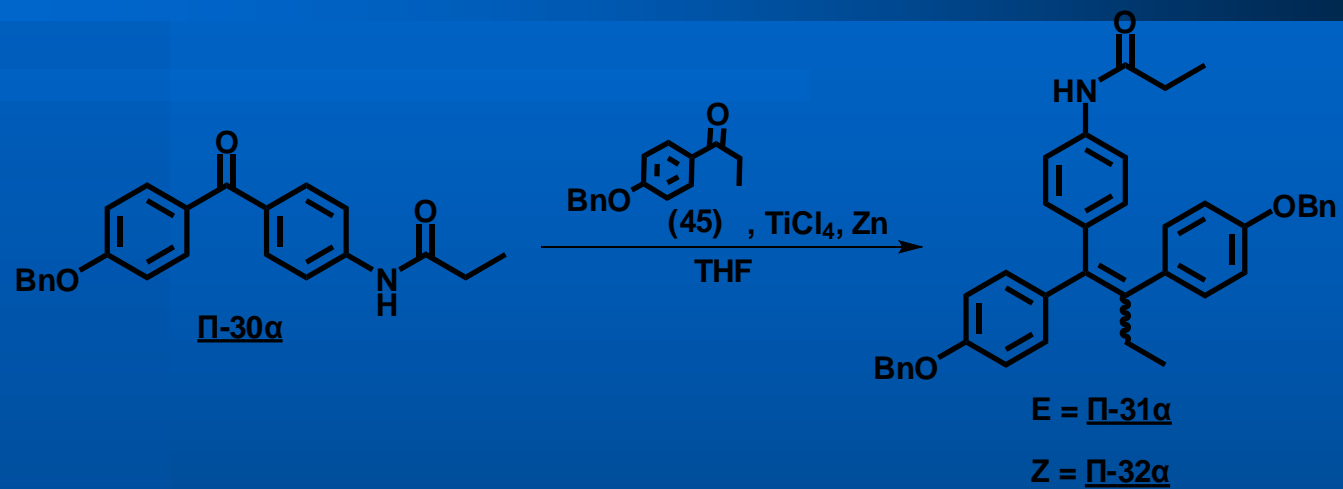
$E = \text{Π-31}\alpha$   
 $Z = \text{Π-32}\alpha$

**(Z/E 1:1 15%)**

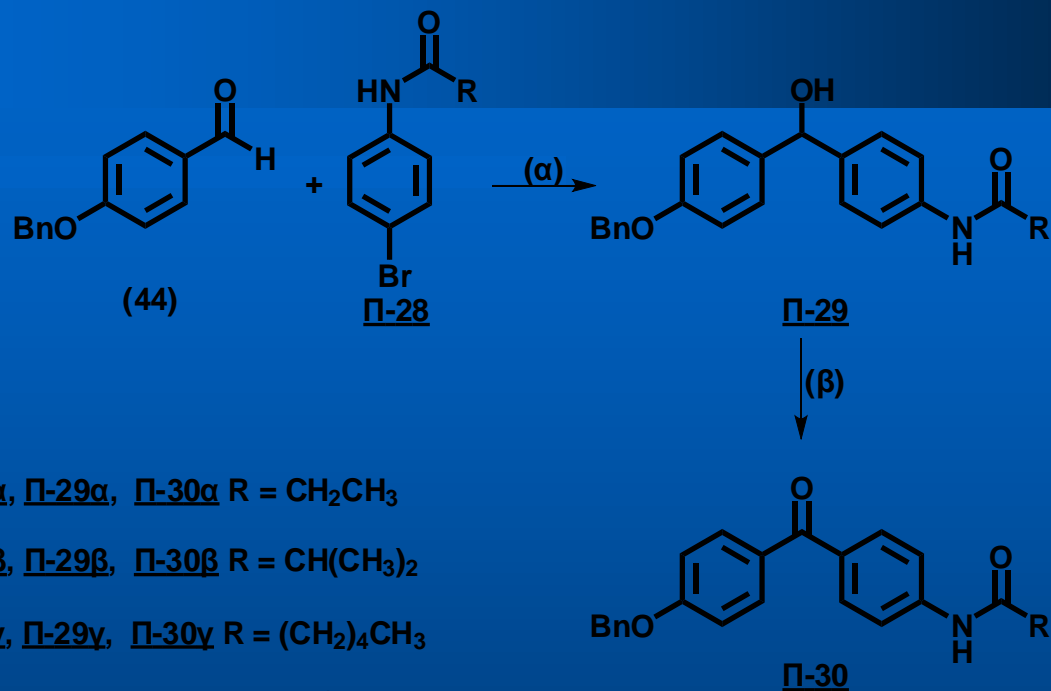
# Ρετροσυνθετική ανάλυση

Σύνθεση ολεφινών μέσω της αντίδρασης McMurry





**(Z/E 1:1 55%)**



$\Pi-28\alpha$ ,  $\Pi-29\alpha$ ,  $\Pi-30\alpha$  R = CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>

$\Pi-28\beta$ ,  $\Pi-29\beta$ ,  $\Pi-30\beta$  R = CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

$\Pi-28\gamma$ ,  $\Pi-29\gamma$ ,  $\Pi-30\gamma$  R = (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>

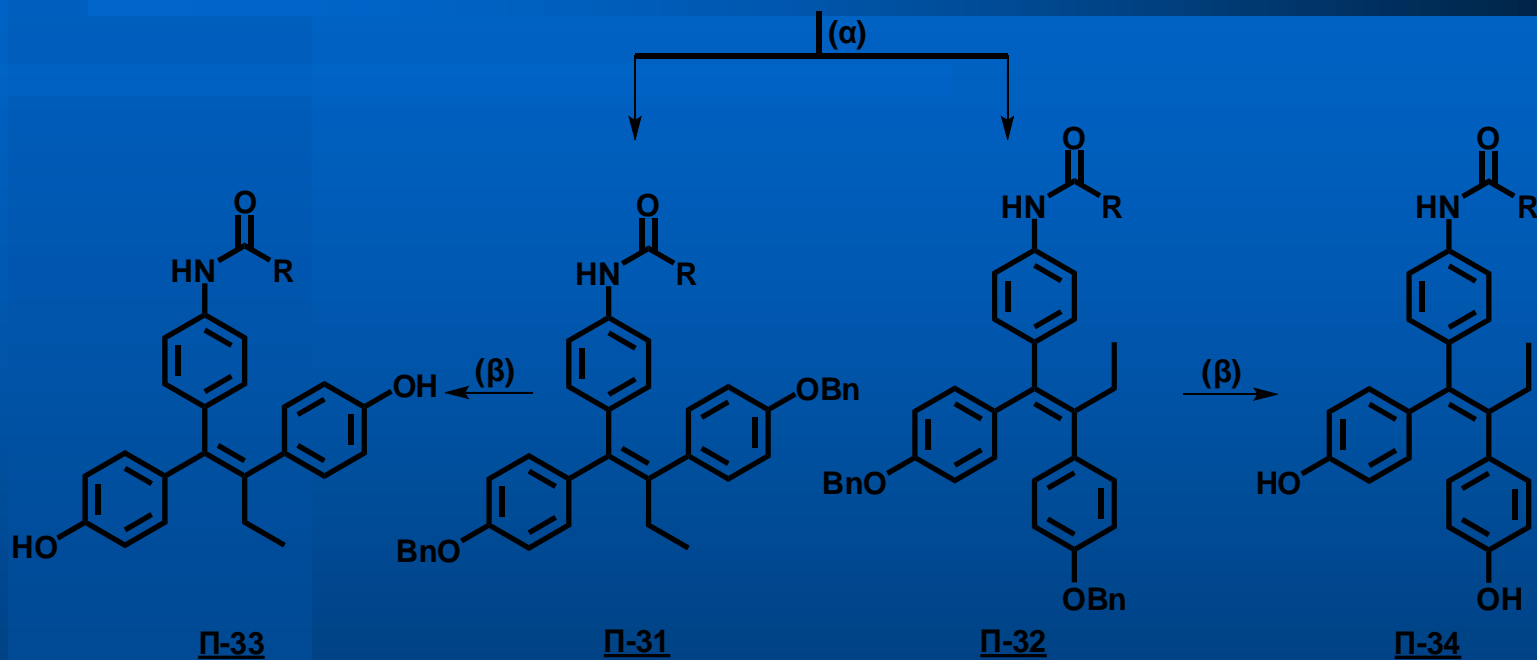
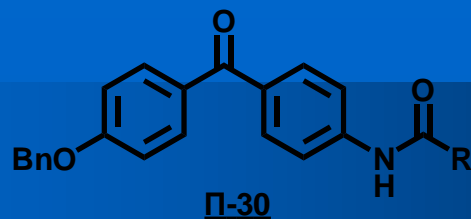
$\Pi-28\delta$ ,  $\Pi-29\delta$ ,  $\Pi-30\delta$  R = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

$\Pi-28\epsilon$ ,  $\Pi-29\epsilon$ ,  $\Pi-30\epsilon$  R = N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

$\Pi-28\zeta$ ,  $\Pi-29\zeta$ ,  $\Pi-30\zeta$  R = 

$\Pi-28\eta$ ,  $\Pi-29\eta$ ,  $\Pi-30\eta$  R = 

**Αντιδραστήρια και συνθήκες: (α) *n*-BuLi, THF, -78 °C; (β) Αντιδραστήριο Jones, ακετόνη 0 °C.**



Π-30α, Π-31α, Π-32α, Π-33α, Π-34α R = CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>    Π-30ε, Π-31ε, Π-32ε, Π-33ε, Π-34ε R = N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

Π-30β, Π-31β, Π-32β, Π-33β, Π-34β R = CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>    Π-30ζ, Π-31ζ, Π-32ζ, Π-33ζ, Π-34ζ R =

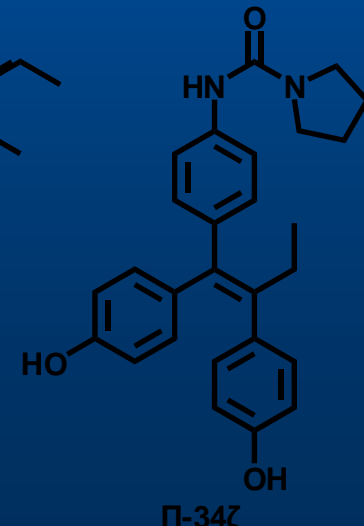
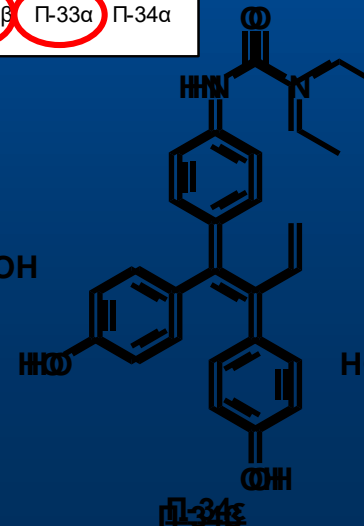
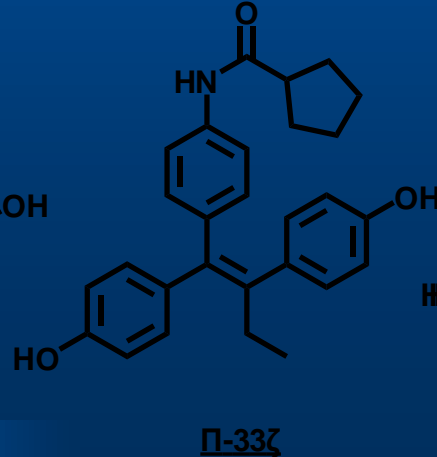
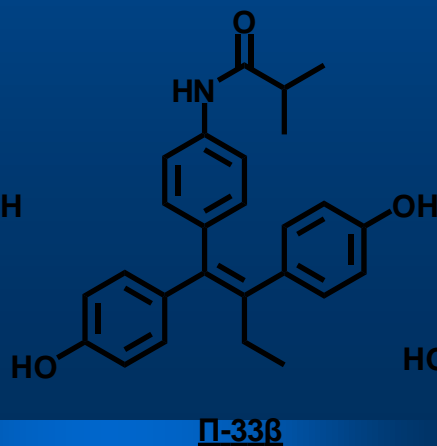
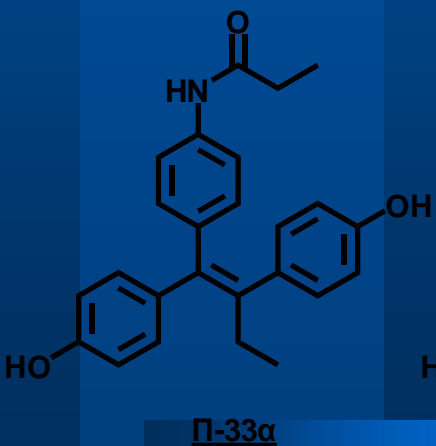
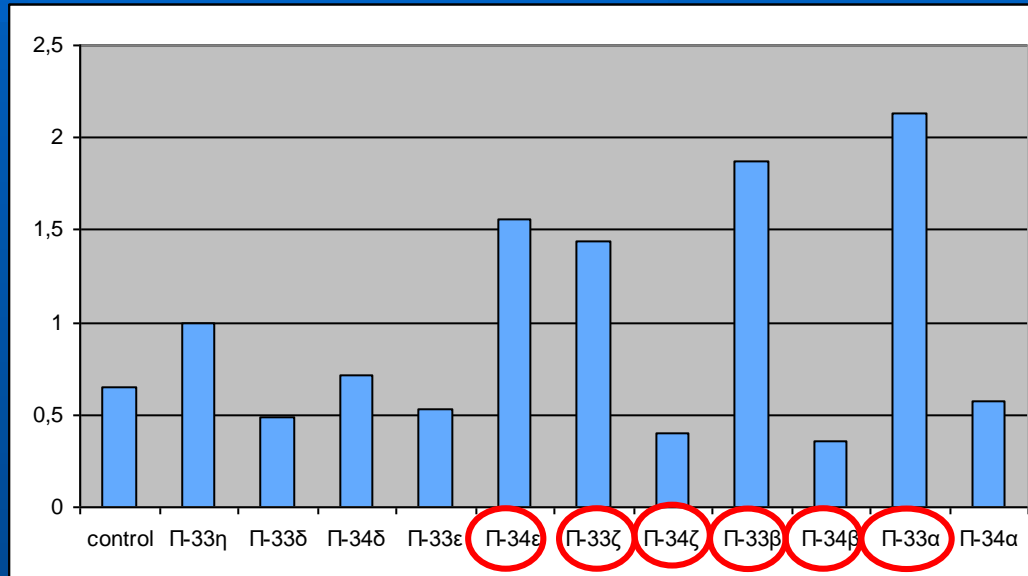
Π-30γ, Π-31γ, Π-32γ, Π-33γ, Π-34γ R = (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>    Π-30η, Π-31η, Π-32η, Π-33η, Π-34η R =

Π-30δ, Π-31δ, Π-32δ, Π-33δ, Π-34δ R = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

**Αντιδραστήρια και συνθήκες: (α) TiCl<sub>4</sub>, Zn, THF 1-(4'-(βενζυλοξυ)φαινουλ)πραπαν-1-όνη;**  
**(β) BBr<sub>3</sub>, DCM, -78 °C.**

## Βιολογική δράση

- Προσδιορίστηκε η *in vitro* δραστηριότητά των αναλόγων Π-33 και Π-33 με την δοκιμή της λουσιφεράσης στην κυτταρική σειρά HC11 (mouse mammary epithelial cells)

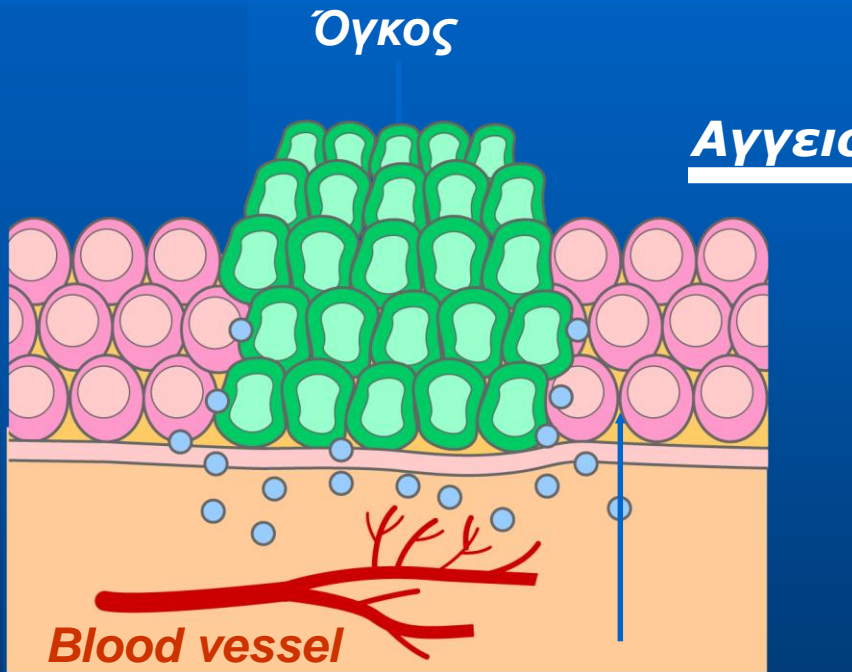
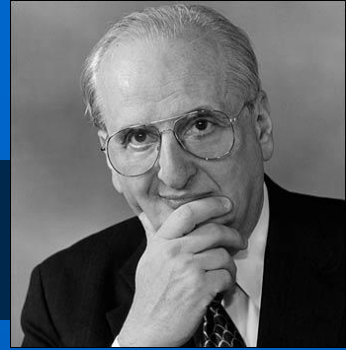




# Τα "μονοπάτια" του καρκίνου

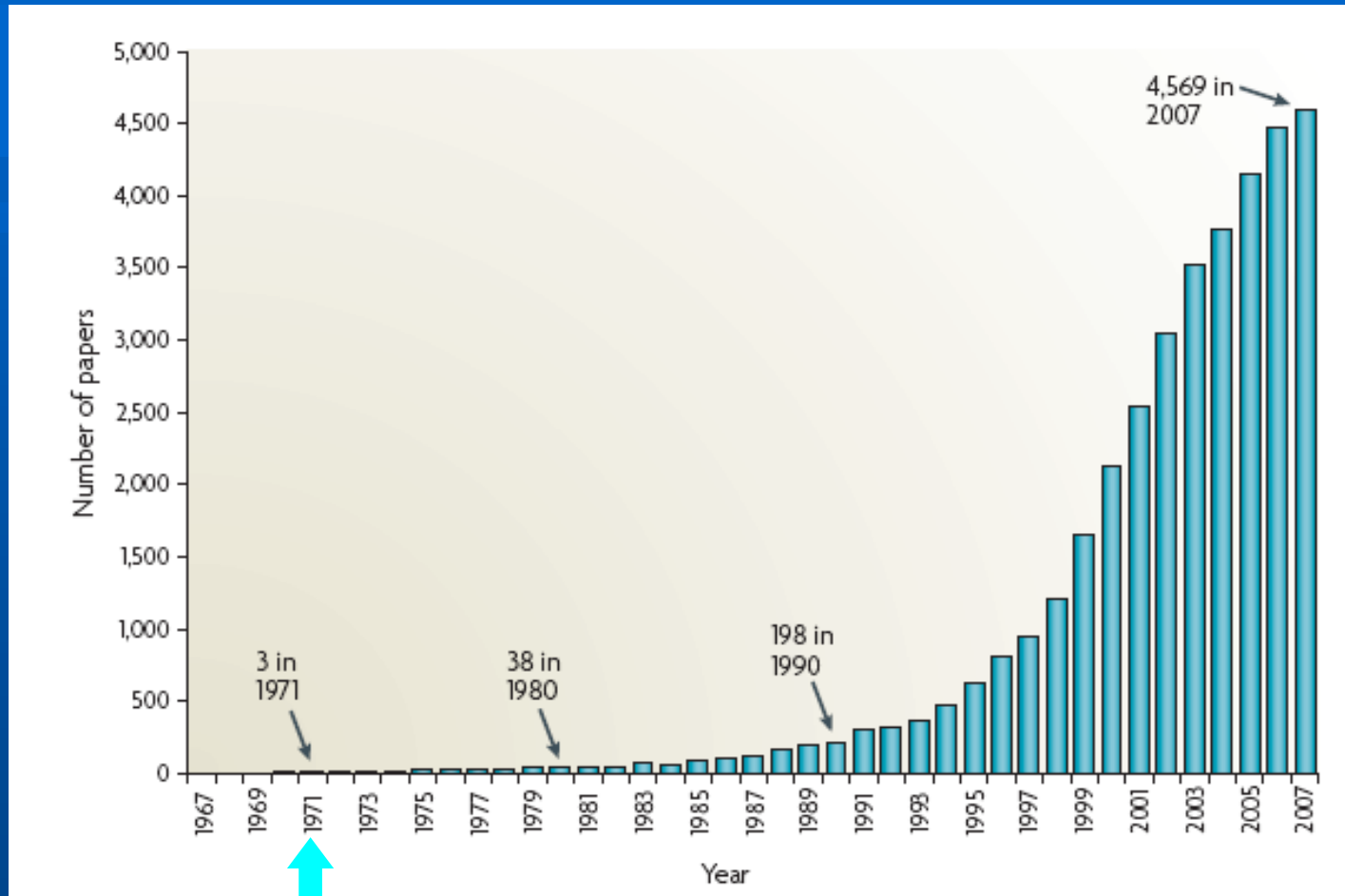


# Judah Folkman (1933-2008)



**Tumor Angiogenic Factor  
(TAF)**

# Δημοσιεύσεις για την αγγειογένεση



***Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. New Eng J Med 1971; 285: 1182-1186.***

Η ρύθμιση της αγγειογένεσης προσομοιάζει με ένα ζυγό που ισορροπεί μεταξύ ενεργοποιητών και καταστολέων

### Ενεργοποιητές

**VEGF**

**FGF**

**PIGF**

**TNF $\alpha$**

**Angiopoietins**

**PDGF**



### *Αναστολείς*

*Trombospondin*

*Angiostatin*

*Endostatin*

*Vasoinhibin*

*Tumstatin*

*Vasostatin*

*PEDF*

# Αγγειογένεση Φυσιολογική

# Παθολογική

- Εμβρυογένεση
- Επούλωση των τραυμάτων
- Αναπαραγωγή
- Ανάπτυξη των οργάνων

**Καρκίνος**

**Παθολογική**

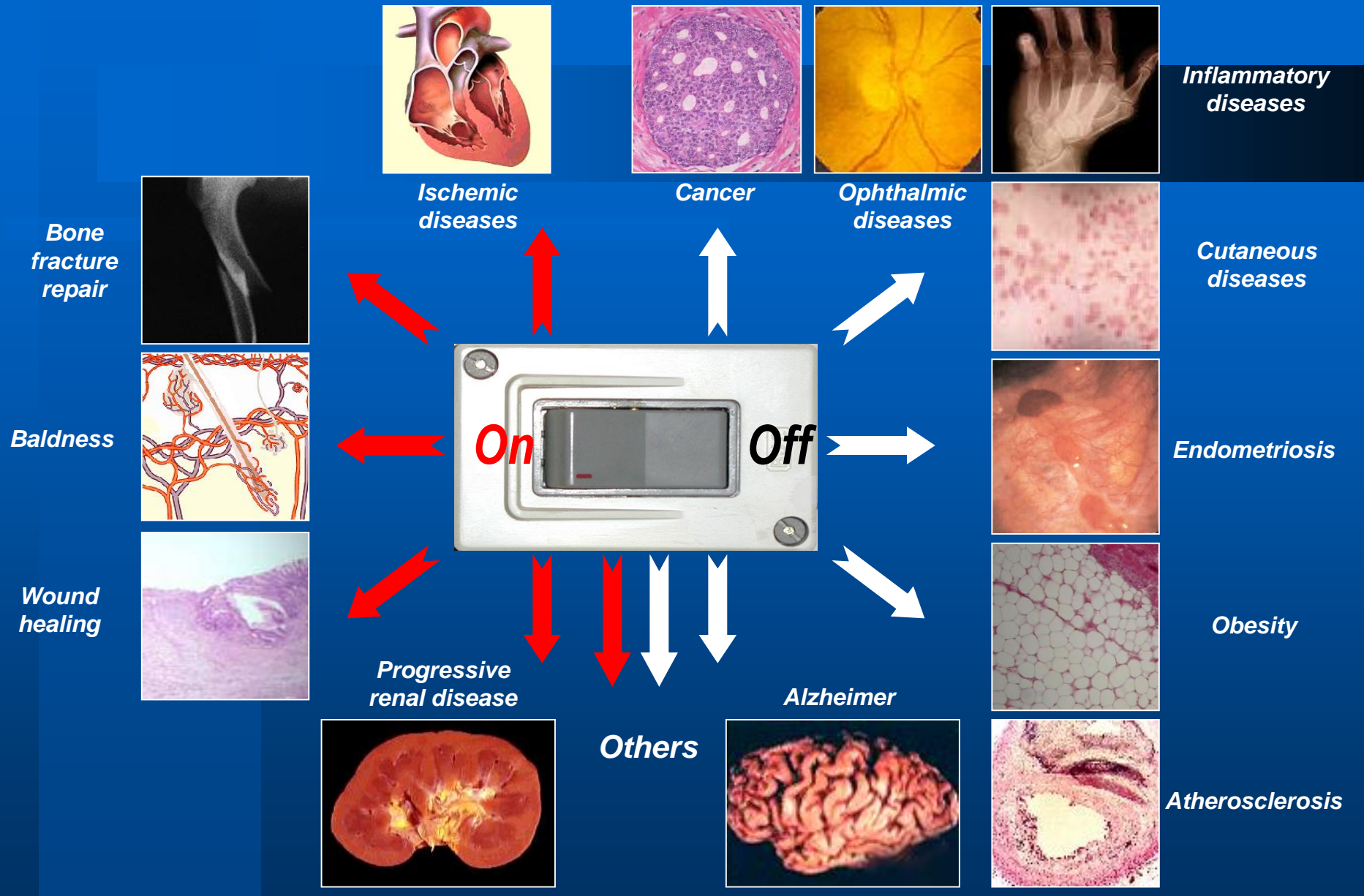
Ρευματοειδής αρθρίτιδα

Διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια

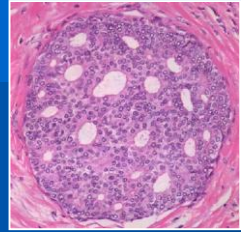
Αθηρωσκλήρυνση

Ψωρίαση





**Ischemic diseases**



**Cancer**



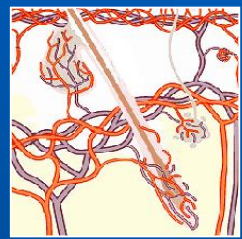
**Ophthalmic diseases**



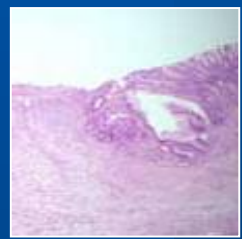
**Inflammatory diseases**



**Bone fracture repair**



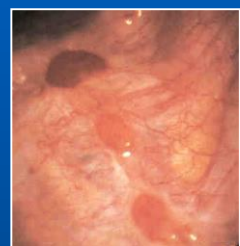
**Baldness**



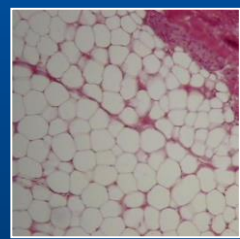
**Wound healing**



**Cutaneous diseases**



**Endometriosis**



**Obesity**



**Progressive renal disease**



**Alzheimer**

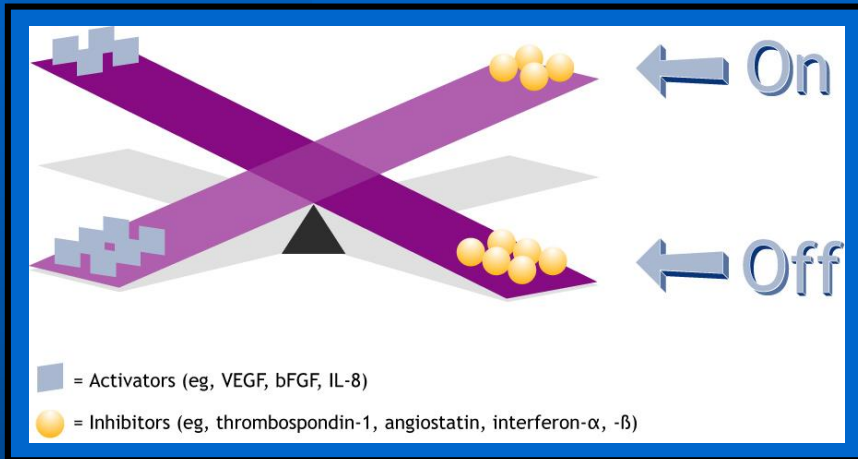
**Others**



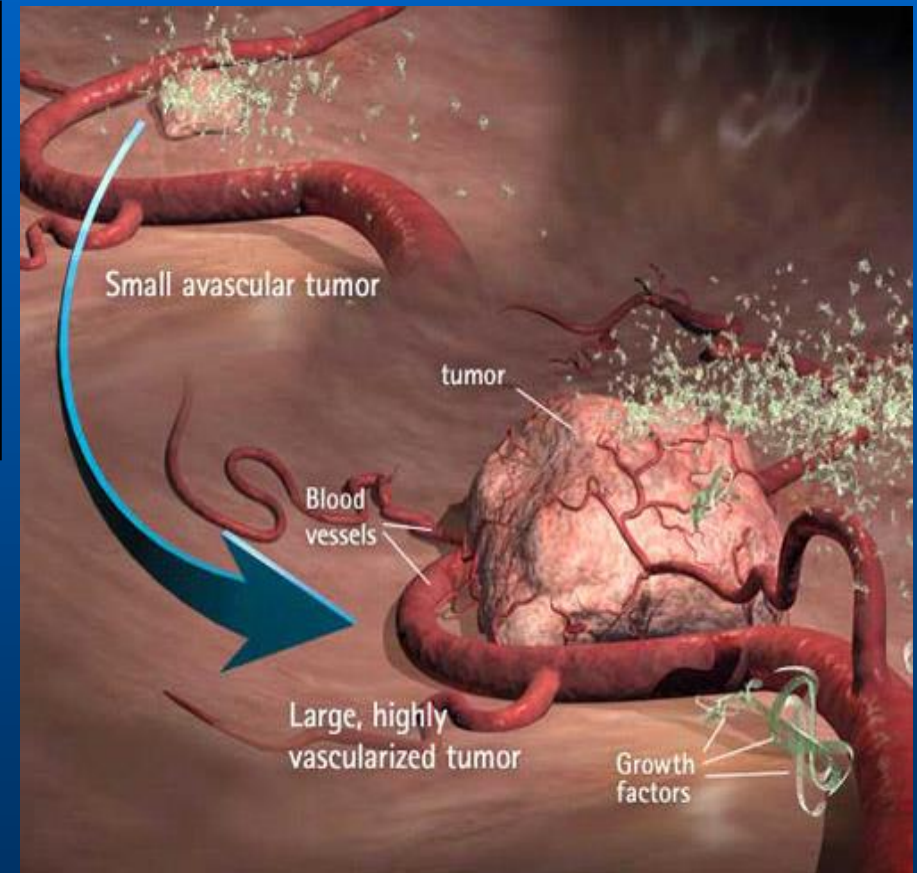
**Atherosclerosis**

# Ανοίγοντας το “διακόπτη” της αγγειογένεσης

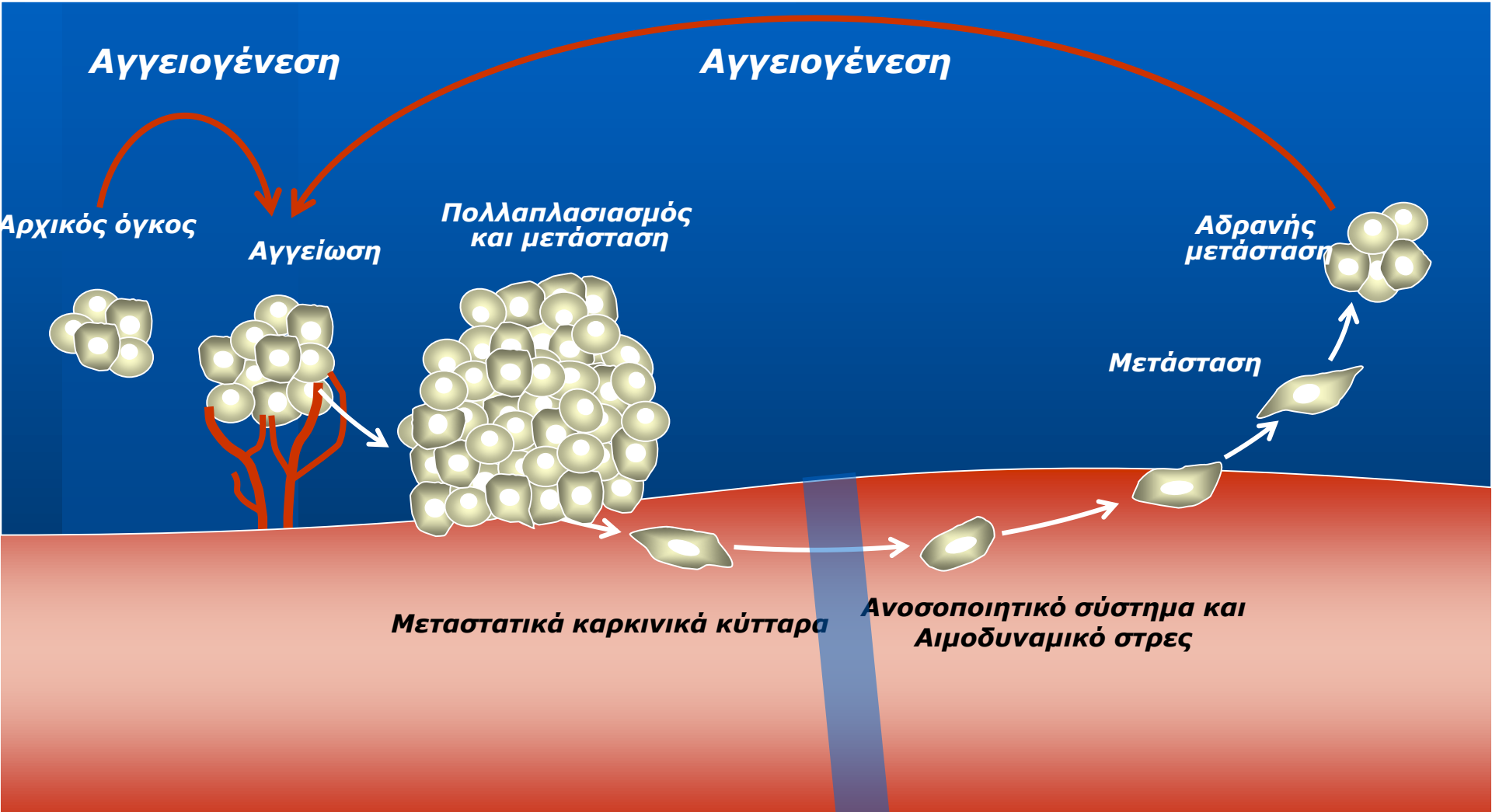
Ο “διακόπτης” της αγγειογένεσης αποτελεί το σημείο στο οποίο ο όγκος ξεκινά να υπερεκφράζει προ-αγγειογενετικούς παράγοντες



*Bergers G et al. Nat Rev Cancer. 2003;3:401-410.*



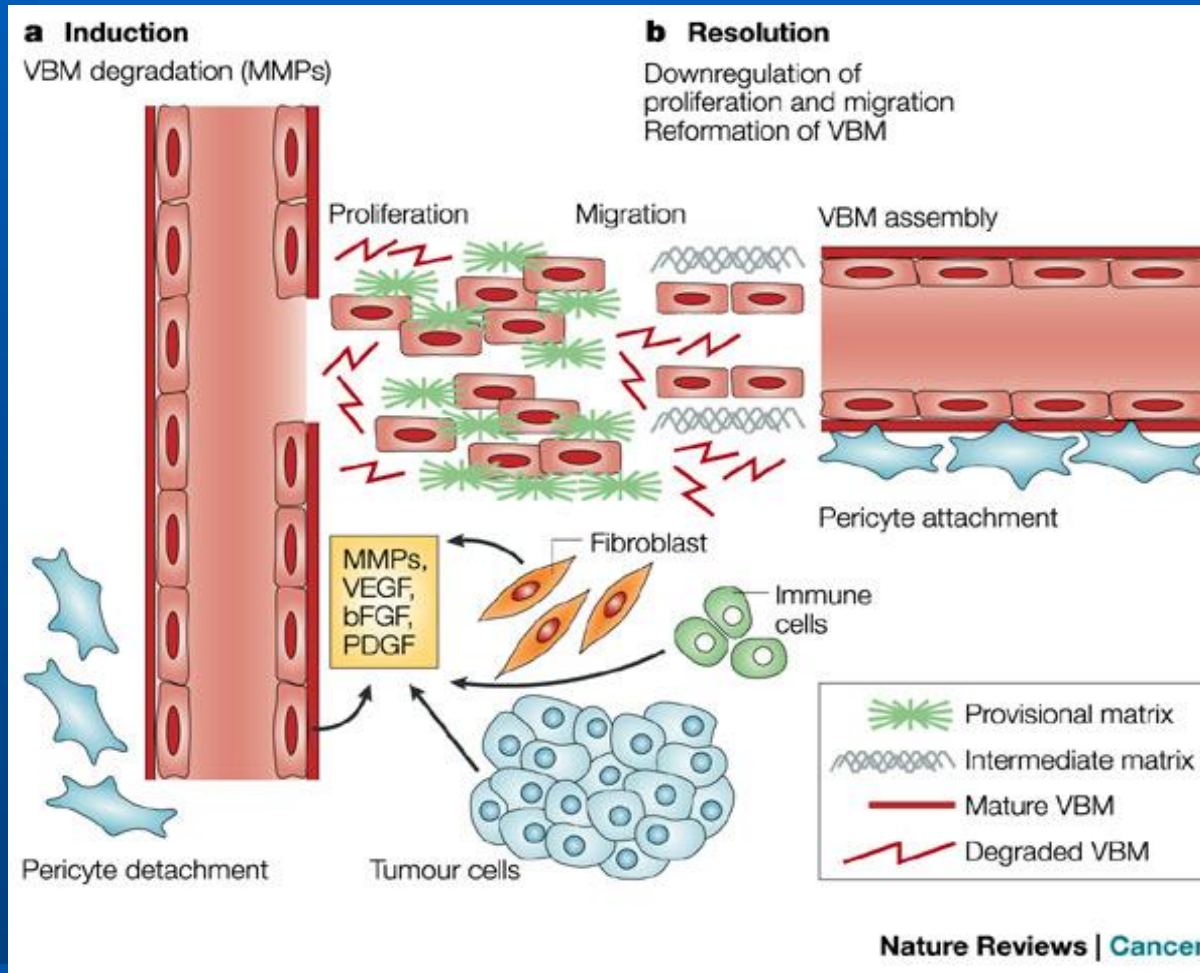
# Η μετάσταση εξαρτάται από την αγγειογένεση





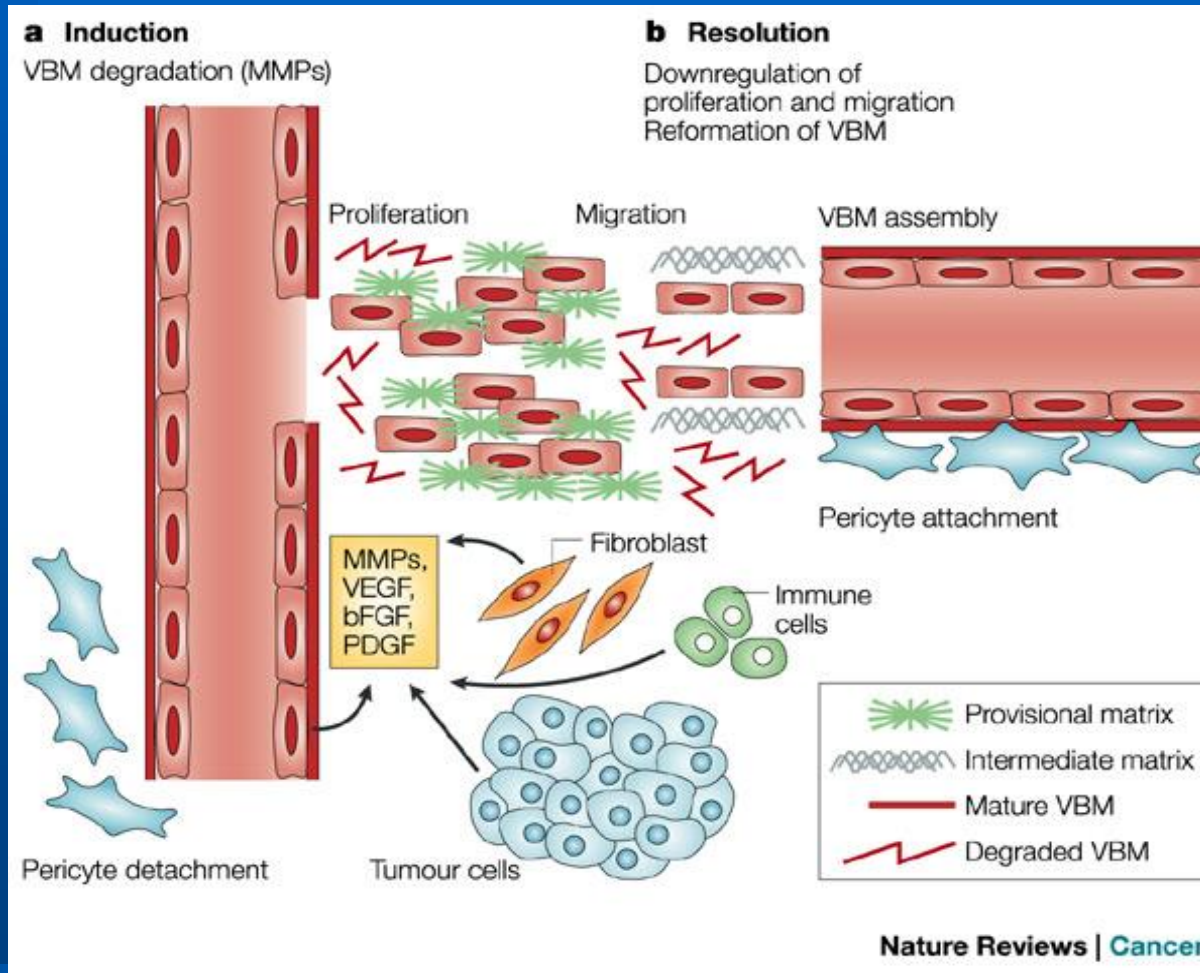
**Η κατασκευή ενός νέου αγγειακού δικτύου απαιτεί την επιτέλεση διαφορετικών διαδοχικών διεργασιών που αναφέρονται στη(ν):**

**1) Απελευθέρωση πρωτεασών από τα "ενεργοποιημένα" ενδοθηλιακά κύτταρα**



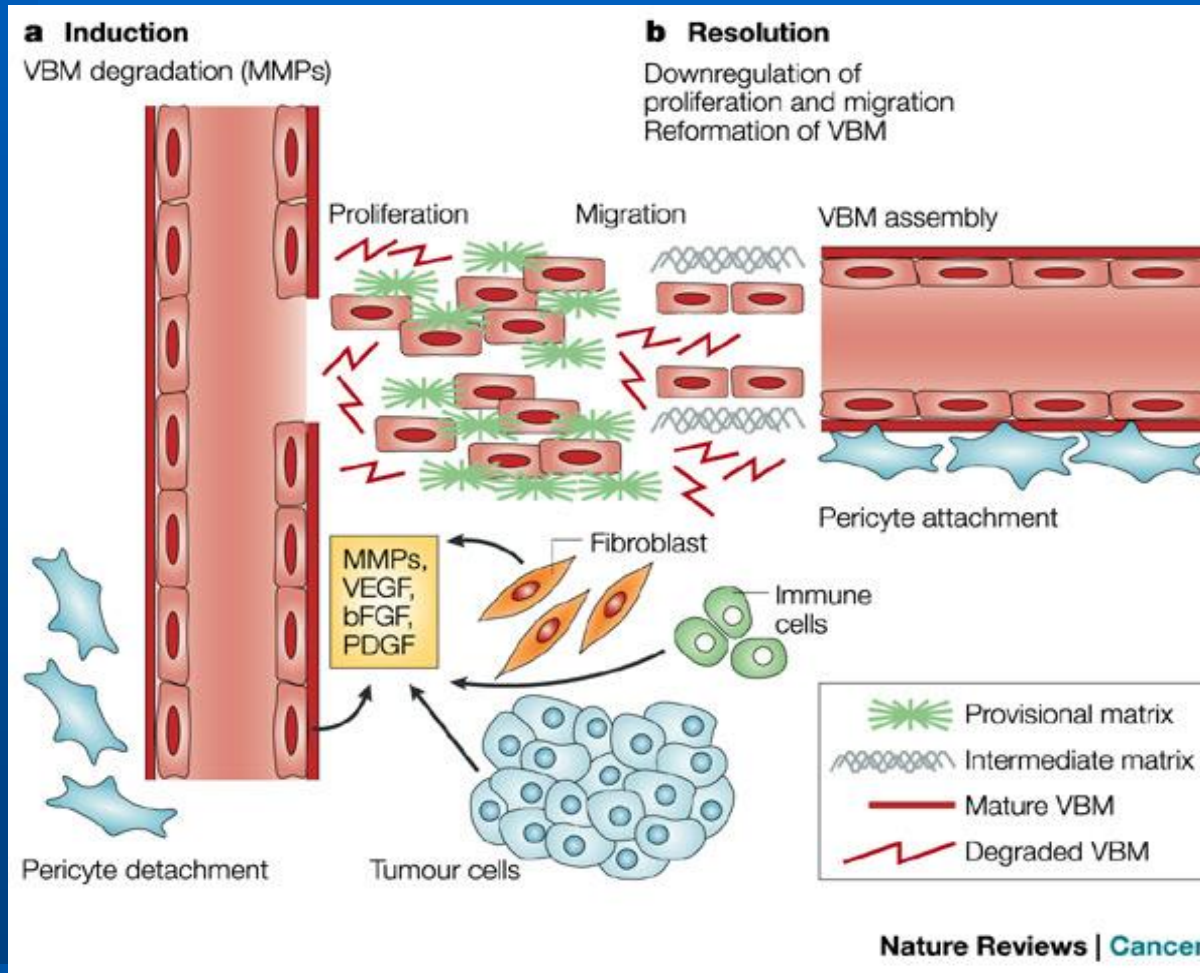
**Η κατασκευή ενός νέου αγγειακού δικτύου απαιτεί την επιτέλεση διαφορετικών διαδοχικών διεργασιών που αναφέρονται στη(ν):**

**2) Αποικοδόμηση της βασικής μεμβράνης που περιβάλλει τα υπάρχοντα κύτταρα**



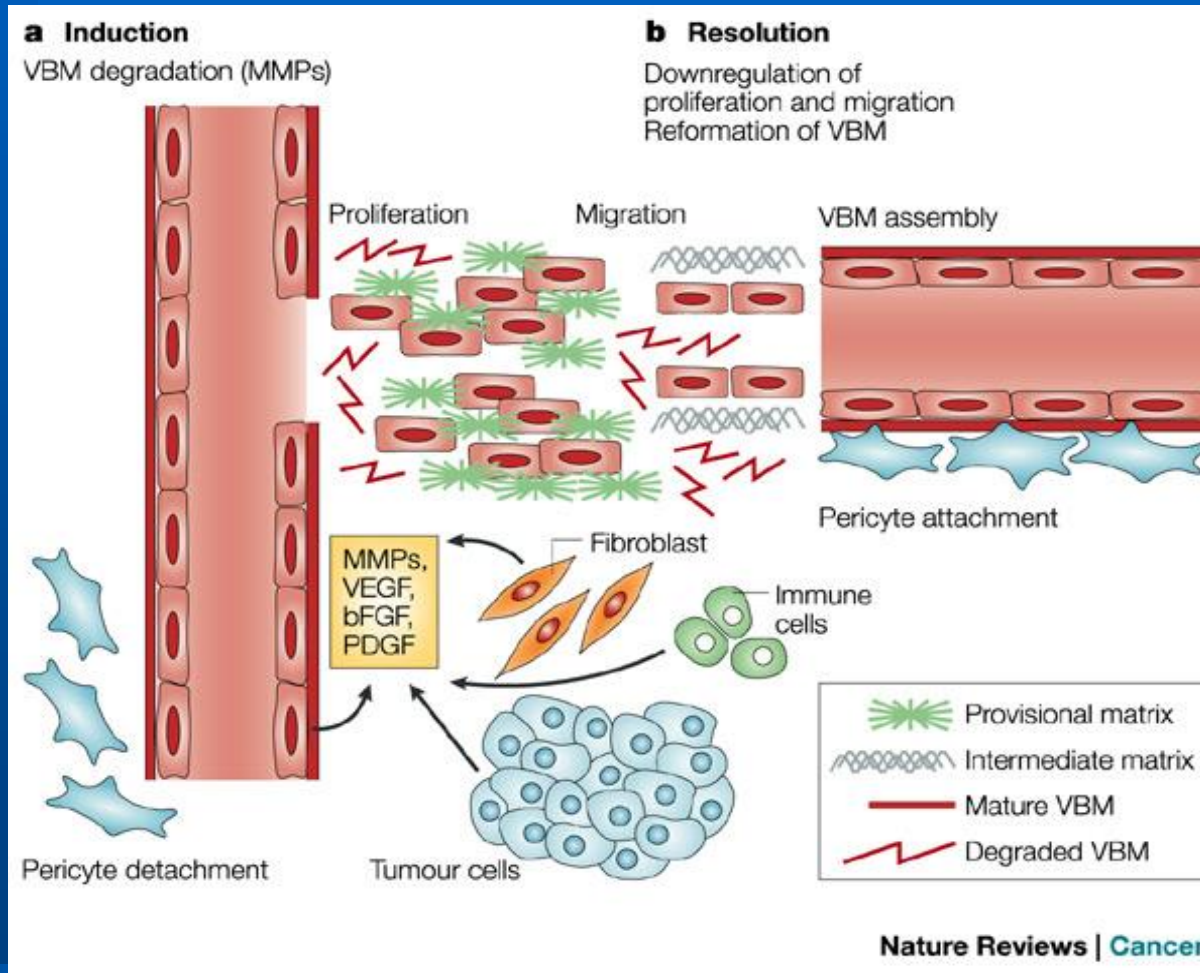
**Η κατασκευή ενός νέου αγγειακού δικτύου απαιτεί την επιτέλεση διαφορετικών διαδοχικών διεργασιών που αναφέρονται στη(ν):**

### **3) Μετακίνηση των ενδοθηλιακών κυττάρων στον ενδιάμεσο χώρο**



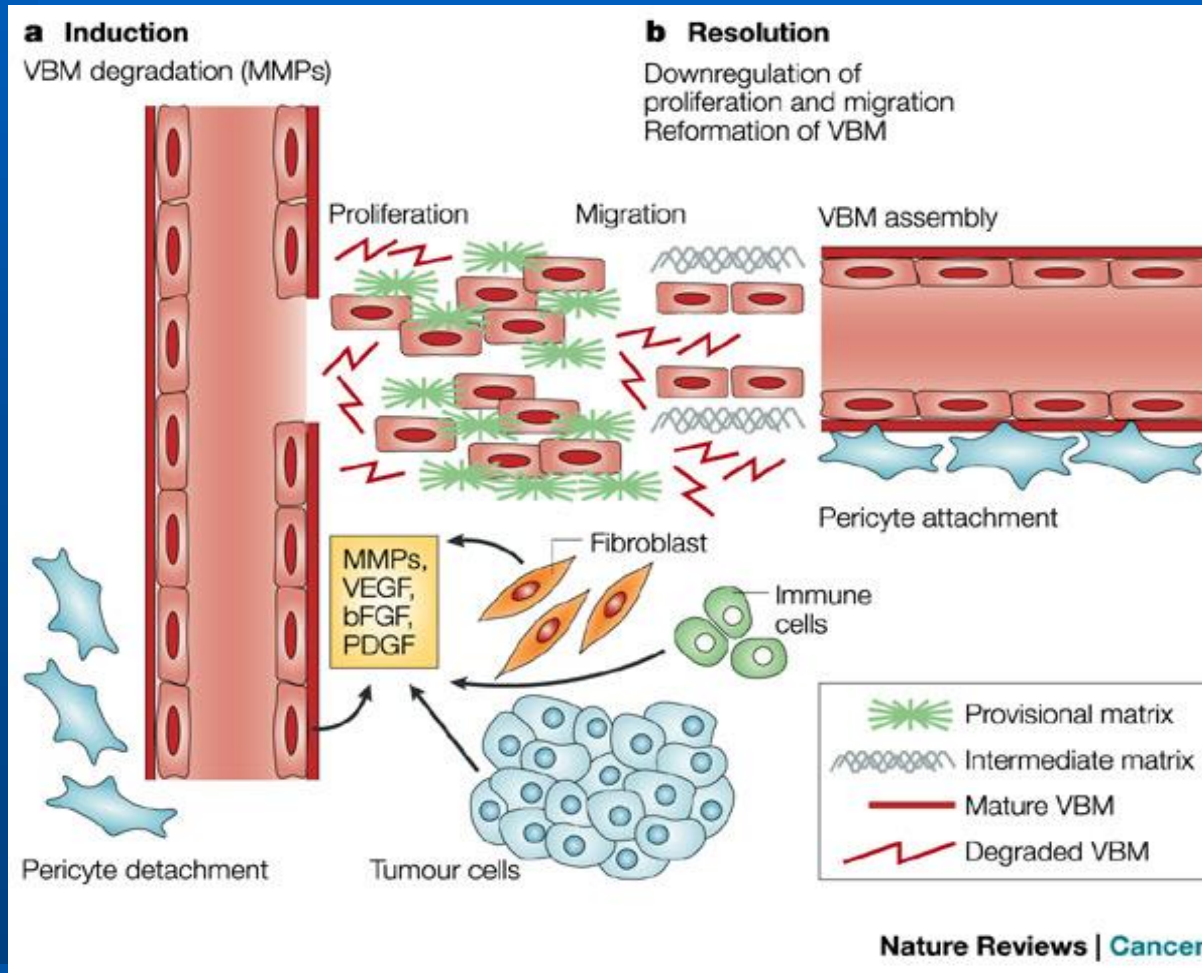
Η κατασκευή ενός νέου αγγειακού δικτύου απαιτεί την επιτέλεση διαφορετικών διαδοχικών διεργασιών που αναφέρονται στη(ν):

#### 4) Εξάπλωση των ενδοθηλιακών κυττάρων



**Η κατασκευή ενός νέου αγγειακού δικτύου απαιτεί την επιτέλεση διαφορετικών διαδοχικών διεργασιών που αναφέρονται στη(ν):**

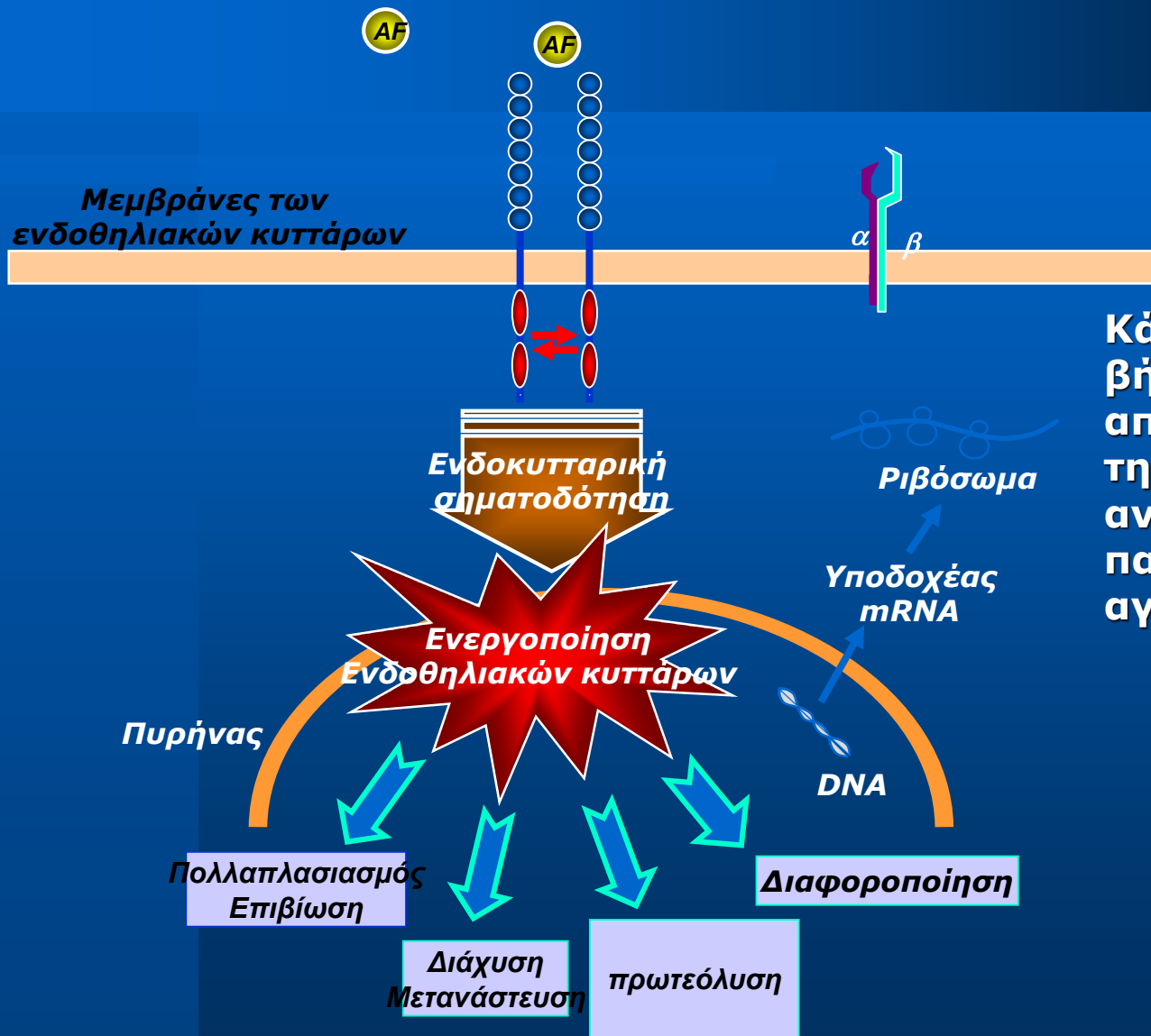
**5) Διαμόρφωσή τους σε ώριμα αγγεία αίματος**



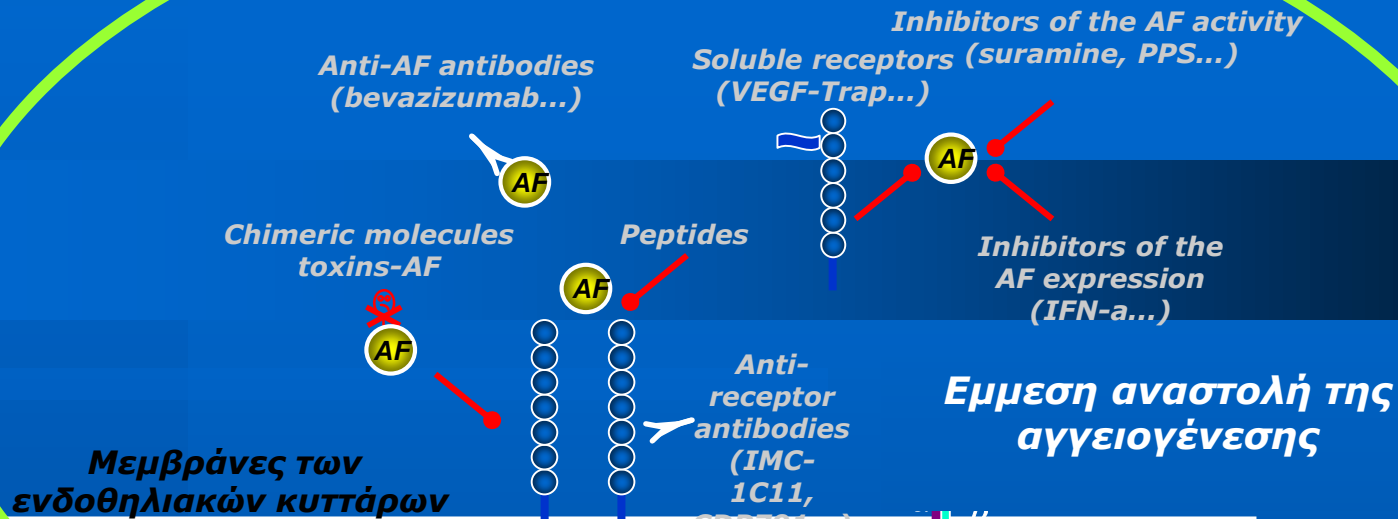
## Ρυθμιστές της αγγειογένεσης

- **Πρωτεολυτικά ένζυμα**
  - **Μεταλλοπρωτεάσες του εξωκυττάριου χώρου (MMP)**
- **Μόρια διάχυσης**
  - **Ιντεγκρίνες**
- **Διαλυτοί παράγοντες**
  - **Χημοκίνες**
    - **Platelet factor-4 (CXCL4/PF-4)**
    - **Stromal-derived factor 1 (CXCL12/SDF-1)**
  - **Αυξητικοί παράγοντες**
    - **Vascular endothelial growth factor (VEGF)**
    - **Basic fibroblast growth factor (bFGF/FGF-2)**
    - **Platelet-derived growth factor (PDGF)**
  - **Angiopoietins (Ang)**

# Στρατηγικές για τη φαρμακευτική αντιμετώπιση της παθολογικής αγγειογένεσης



Κάθε ένα από τα βήματα αυτά αποτελεί στόχο για τη φαρμακευτική αντιμετώπιση της παθολογικής αγγειογένεσης



Πολλαπλασιασμός  
Επιβίωση

TNP-470

(vitaxin, EMD12974...)

Διάχυση  
Μετανάστευση

Πρωτεόλυση

Διαφοροποίηση

(aeropylsinin-1...)  
(marimastat, metastat, neovastat...)

**Άμεση αναστολή της αγγειογένεσης**

Ribosomes



## **Αντι-αγγειογενετική θεραπεία**

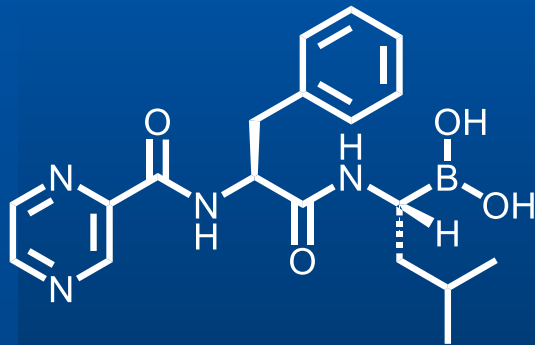
- **Ηπιότερες παρενέργειες**
- **Ελαττωμένη πιθανότητα εμφάνισης αντίστασης στο φάρμακο**
- **Εφαρμογή σε μεγαλύτερο αριθμό όγκων**

*Το πρώτο φαρμακευτικό σκεύασμα που εγκρίθηκε από τον F.D.A. για την αναστολή του σχηματισμού των νέων αιμοφόρων αγγείων είναι το Bevacizumab (Avastin™), ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που δεσμεύεται και αναστέλλει τη λειτουργία του VEGF και παρουσιάζει εξαιρετικά κλινικά αποτελέσματα, όταν συνδυαστεί με χημειοθεραπεία*

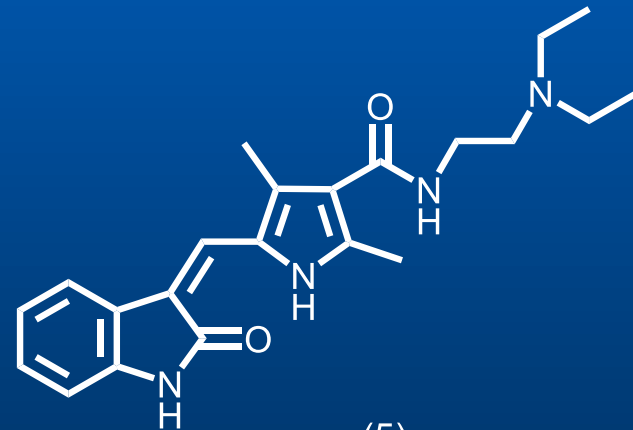


**Νέα φάρμακα που αναστέλλουν την αγγειογένεση και έχουν πρόσφατα εγκριθεί είναι τα:**

- ***Bortezomib (Velcade®) για τη θεραπεία του πολλαπλού μυελώματος***
- ***Sunitinib (Sutent®) για τη θεραπεία των γαστροεντερικών όγκων***



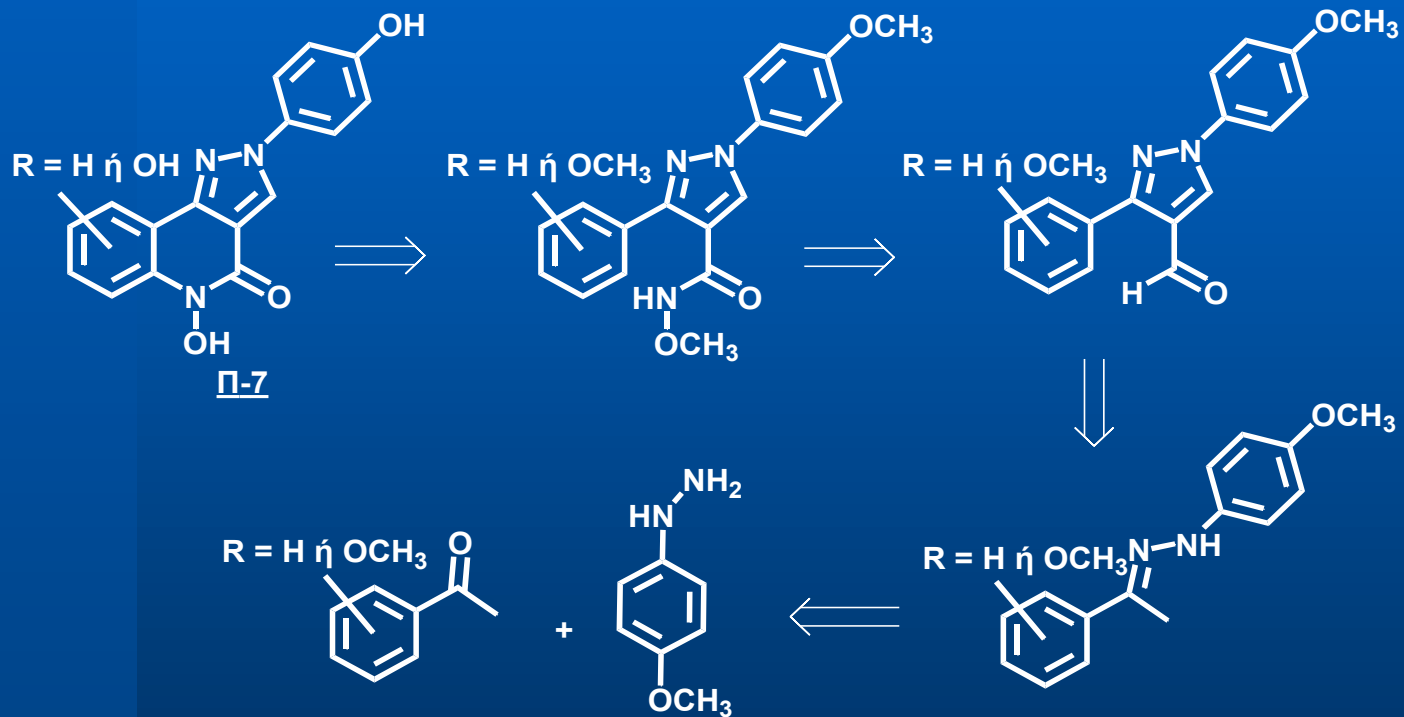
(4)  
Bortezomib

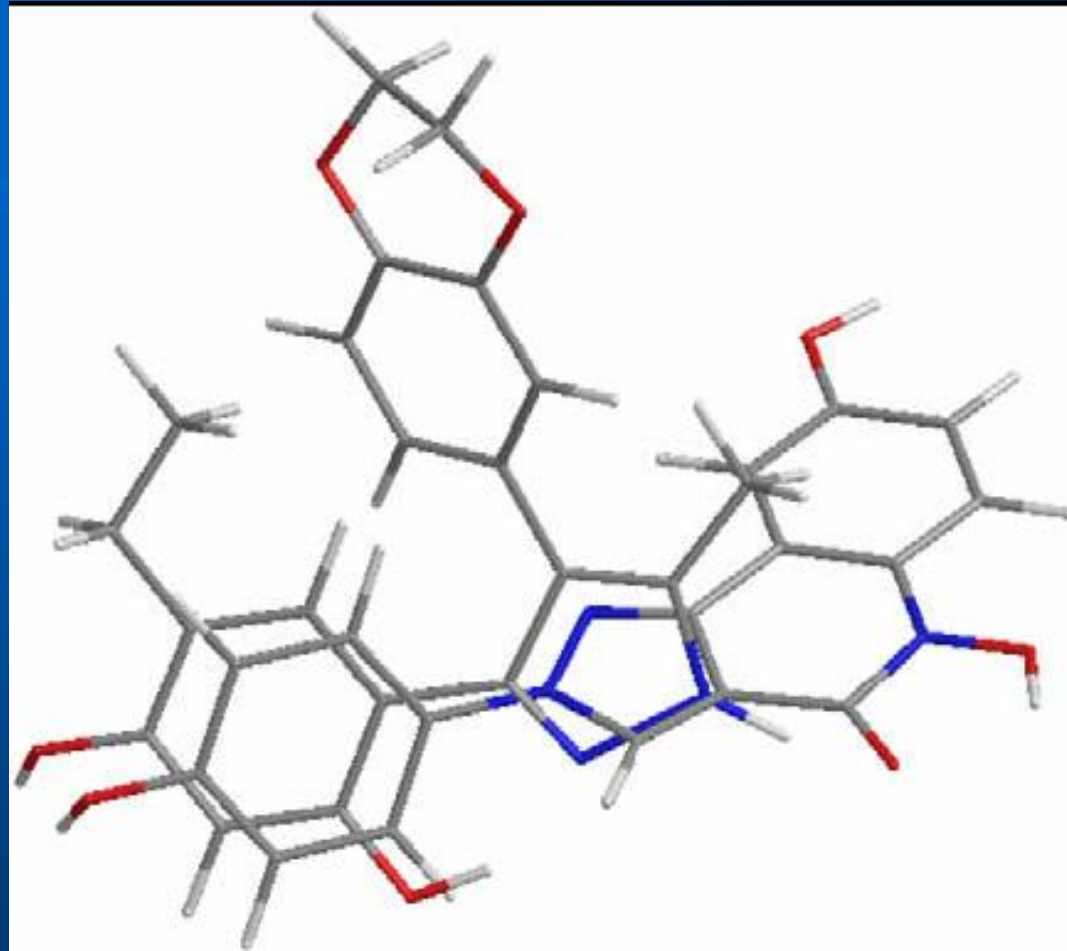


(5)  
Sunitinib

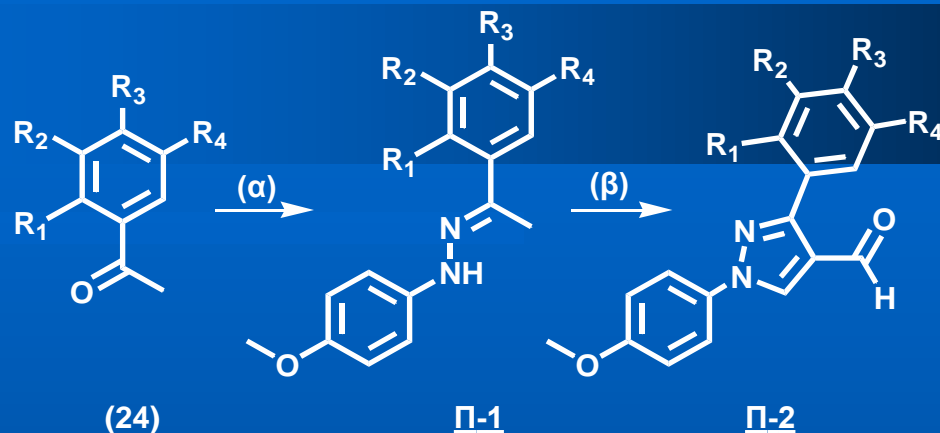


# ΣΤΟΧΟΣ-ΡΕΤΡΟΣΥΝΘΕΣΗ





Υπέρθεση τρισδιάστατων δομών του παραγώγου **Π7β** και του αντι-αγγειογενετικού πυραζολικού παραγώγου **CCT018159**.



24α, Π-1α, Π-2α R<sub>1</sub>= H, R<sub>2</sub>= H,  
R<sub>3</sub>= H, R<sub>4</sub>= H

24β, Π-1β, Π-2β R<sub>1</sub>= H, R<sub>2</sub>=  
OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub>= H, R<sub>4</sub>= H

24γ, Π-1γ, Π-2γ R<sub>1</sub>= H, R<sub>2</sub>= H,  
R<sub>3</sub>= OCH<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>= H

24δ, Π-1δ, Π-2δ R<sub>1</sub>= H, R<sub>2</sub>=  
OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub>= OCH<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>= H

24ε, Π-1ε, Π-2ε R<sub>1</sub>= OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>= H,  
R<sub>3</sub>= H, R<sub>4</sub>= OCH<sub>3</sub>

Π-3α R<sub>5</sub>= H, R<sub>6</sub>= H, R<sub>7</sub>= H, R<sub>8</sub>= H

Π-3β R<sub>5</sub>= H, R<sub>6</sub>= OH, R<sub>7</sub>= H, R<sub>8</sub>= H

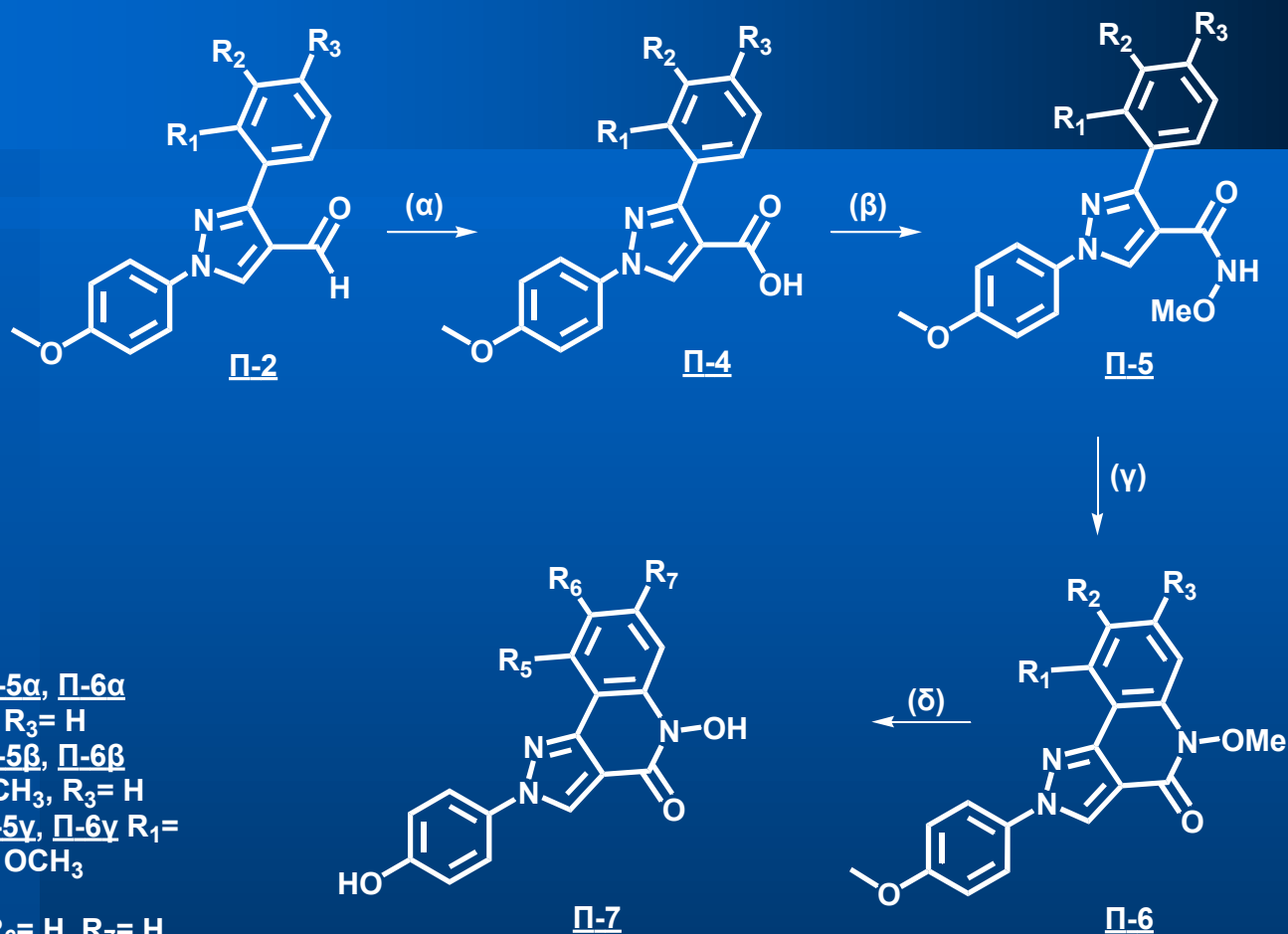
Π-3γ R<sub>5</sub>= H, R<sub>6</sub>= H, R<sub>7</sub>= OH, R<sub>8</sub>= H

Π-3δ R<sub>5</sub>= H, R<sub>6</sub>= OH, R<sub>7</sub>= OH, R<sub>8</sub>= H

Π-3ε R<sub>5</sub>= OH, R<sub>6</sub>= H, R<sub>7</sub>= H, R<sub>8</sub>= OH



**Αντιδραστήρια και συνθήκες: (α) υδροχλωρική 4-μεθοξυφαιτυλαμίνη, οξικό οξύ, Et<sub>3</sub>N, EtOH (95%); (β) TCT, DMF (50-60%); (γ) BBr<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -78 °C (90-95%).**



Π-2α, Π-4α, Π-5α, Π-6α

$R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$

Π-2β, Π-4β, Π-5β, Π-6β

$R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{OCH}_3$ ,  $R_3 = \text{H}$

Π-2γ, Π-4γ, Π-5γ, Π-6γ  $R_1 =$

$\text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{OCH}_3$

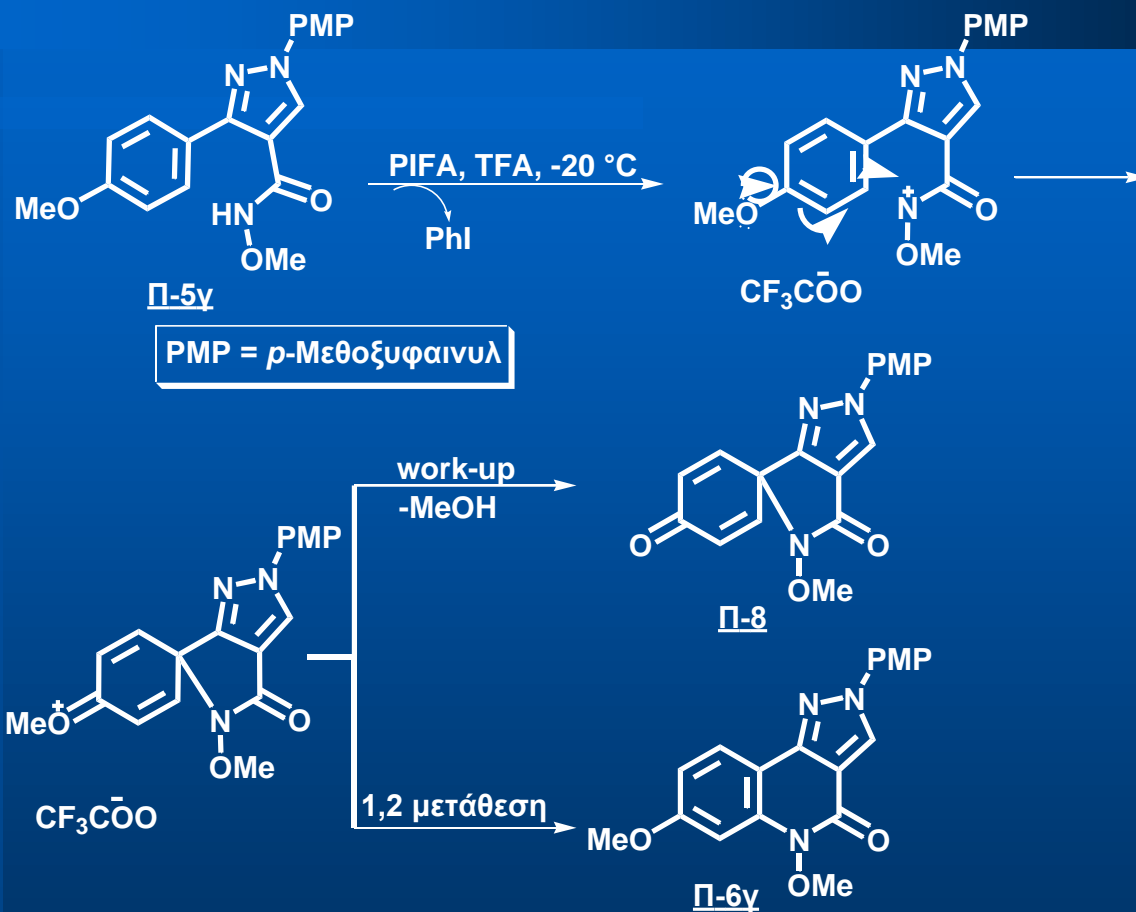
Π-7α  $R_5 = \text{H}$ ,  $R_6 = \text{H}$ ,  $R_7 = \text{H}$

Π-7β  $R_5 = \text{H}$ ,  $R_6 = \text{OH}$ ,  $R_7 = \text{H}$

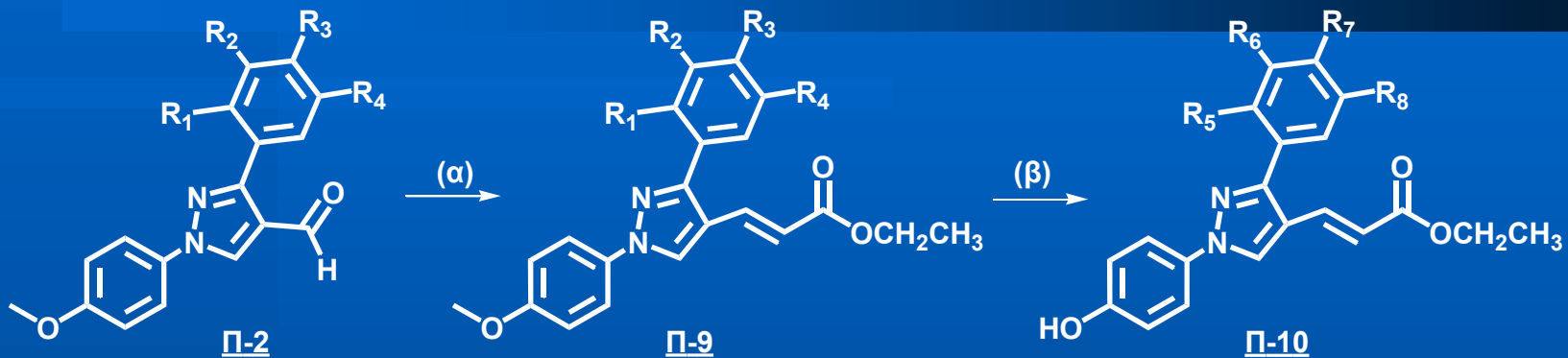
Π-7γ  $R_5 = \text{H}$ ,  $R_6 = \text{H}$ ,  $R_7 = \text{OH}$

**Αντιδραστήρια και συνθήκες:** (a)  $\text{NaClO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{NSO}_3\text{H}$ , ακετόνη/ $\text{H}_2\text{O}$ ,  $0^\circ\text{C}$  (95%); (b)  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{NH}_2\text{OMe}\cdot\text{HCl}$ , TBTU, MeCN (90-95%); (c) PIFA, TFA,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (55-57%); (d)  $\text{BBr}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $-78^\circ\text{C}$  (95%).









Π-2α, Π-9α  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  
 $R_4 = \text{H}$

Π-2β, Π-9β  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{OCH}_3$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  
 $R_4 = \text{H}$

Π-2γ, Π-9γ  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{OCH}_3$ ,  
 $R_4 = \text{H}$

Π-2δ, Π-9δ  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{OCH}_3$ ,  $R_3 = \text{OCH}_3$ ,  
 $R_4 = \text{H}$

Π-2ε, Π-9ε  $R_1 = \text{OCH}_3$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  
 $R_4 = \text{OCH}_3$

Π-10α  $R_5 = \text{H}$ ,  $R_6 = \text{H}$ ,  $R_7 = \text{H}$ ,  
 $R_8 = \text{H}$

Π-10β  $R_5 = \text{H}$ ,  $R_6 = \text{OH}$ ,  $R_7 = \text{H}$ ,  
 $R_8 = \text{H}$

Π-10γ  $R_5 = \text{H}$ ,  $R_6 = \text{H}$ ,  $R_7 = \text{OH}$ ,  
 $R_8 = \text{H}$

Π-10δ  $R_5 = \text{H}$ ,  $R_6 = \text{OH}$ ,  $R_7 = \text{OH}$ ,  
 $R_8 = \text{H}$

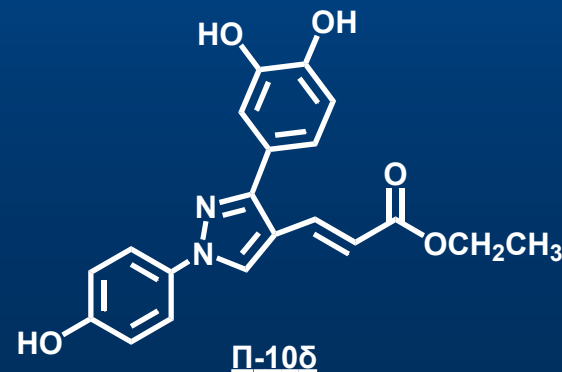
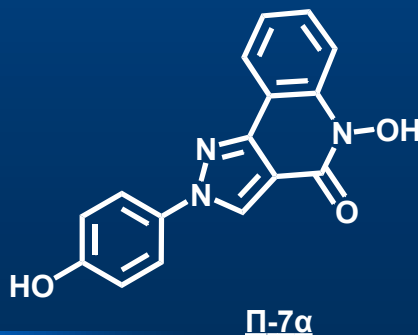
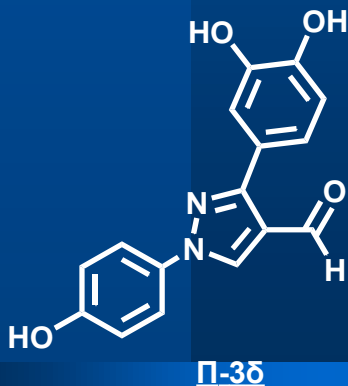
Π-10ε  $R_5 = \text{OH}$ ,  $R_6 = \text{H}$ ,  $R_7 = \text{H}$ ,  
 $R_8 = \text{OH}$

**Αντιδραστήρια και συνθήκες: (α)  $\text{Ph}_3\text{PCHCO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $\text{MeCN}$ , reflux (80-90%); (β)  $\text{VBr}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $-78^\circ\text{C}$  (85%).**

## Βιολογική δράση

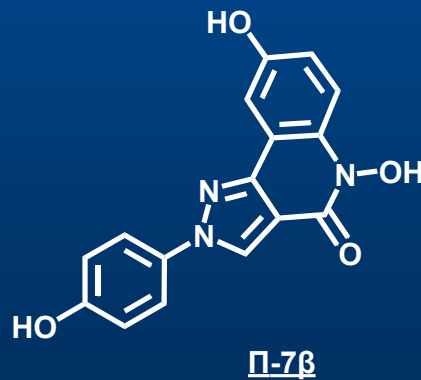
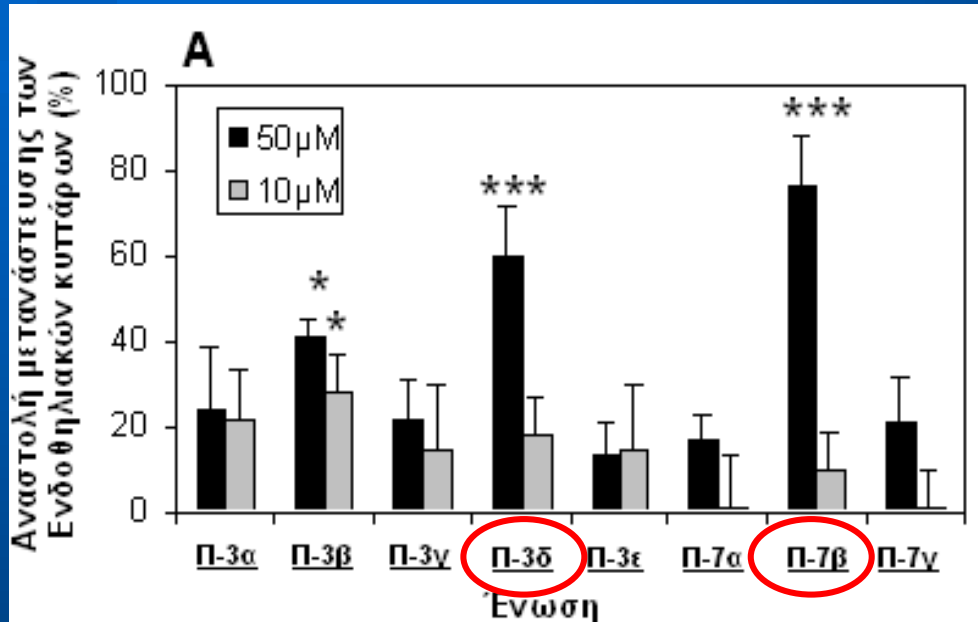
- In vitro* αναστολή του πολλαπλασιασμού των ενδοθηλιακών κυττάρων MAEC (Mouse Aortic Endothelial Cells)**

Αλδεΐδες	<u>Π-3α</u>	<u>Π-3β</u>	<u>Π-3γ</u>	<u>Π-3δ</u>	<u>Π-3ε</u>
IC <sub>50</sub> *	≥ 100	42 ± 3.4	44 ± 7.2	12 ± 2.9	43 ± 15
Κλειστός δακτύλιος	<u>Π-7α</u>	<u>Π-7β</u>	<u>Π-7γ</u>		
IC <sub>50</sub> *	7.0 ± 0.3	25 ± 1.4	42 ± 4.2		
Εστέρες	<u>Π-10α</u>	<u>Π-10β</u>	<u>Π-10γ</u>	<u>Π-10δ</u>	<u>Π-10ε</u>
IC <sub>50</sub> *	29 ± 15	14 ± 0.6	25 ± 1.1	6.2 ± 1.3	12 ± 2.8

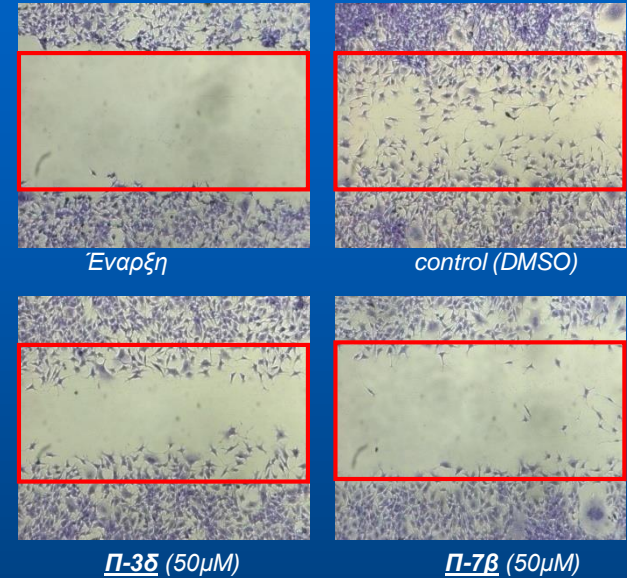


# Βιολογική δράση

- *in vitro* αναστολή της μετανάστευσης των ενδοθηλιακών κυττάρων



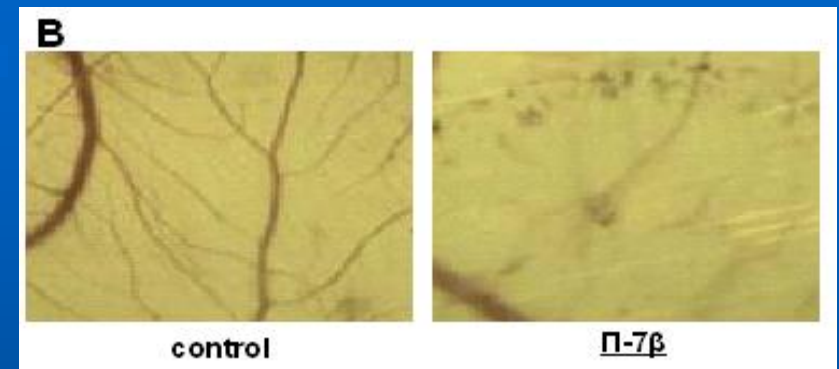
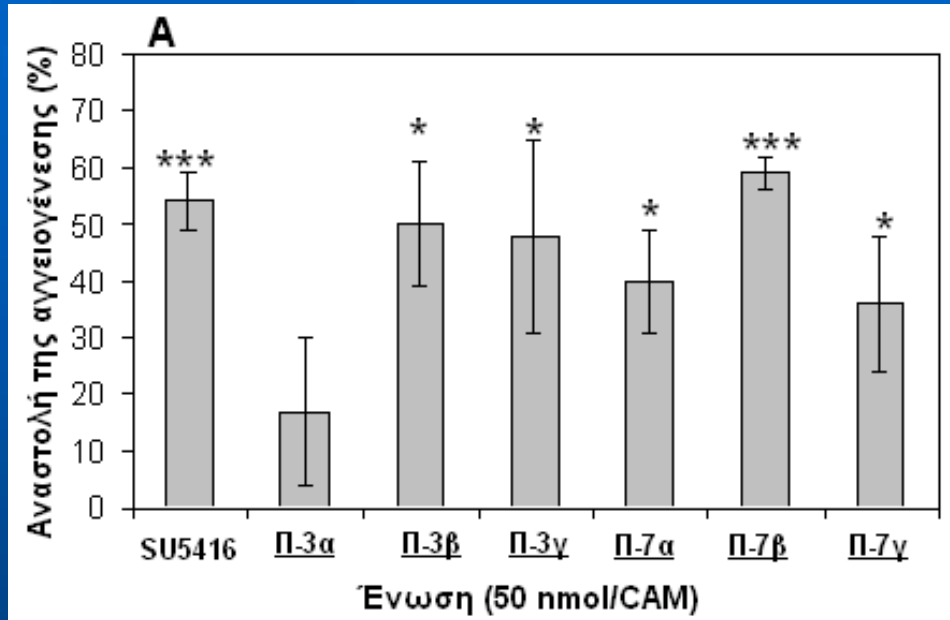
**B**



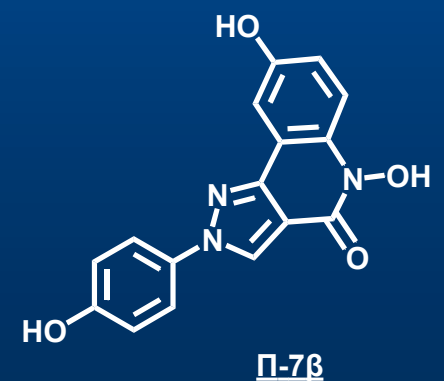
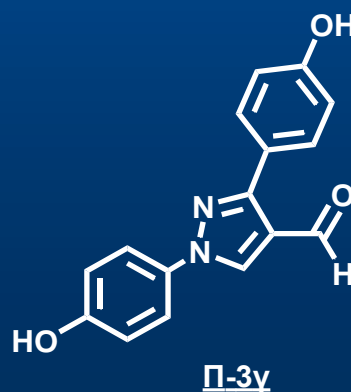
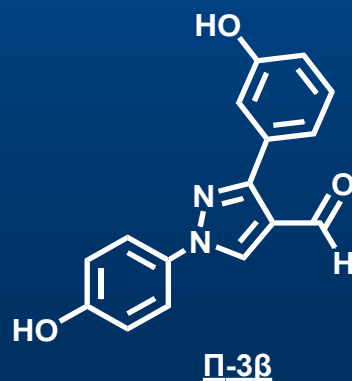
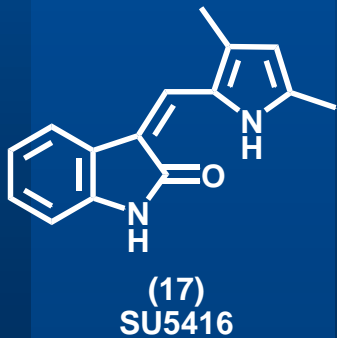
Αντιπροσωπευτικές εικόνες σε 0 και 8 h μετά τη δημιουργία τραύματος. Οι ενώσεις Π-3δ και Π-7β καθυστερούν σημαντικά την επούλωση του τραύματος σε συγκεντρώσεις 50 μM μετά από 8 h.

## Βιολογική δράση

- *in vivo* αναστολή της αγγειογένεσης στη χοριοαλλαντοϊκή μεμβράνη ωών των ορνίθων (CAM)



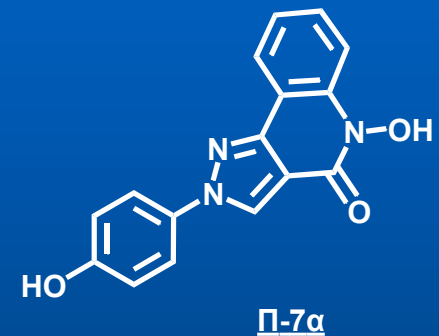
Οι εικόνες CAM στις οποίες χρησιμοποιήθηκε μόνο το control (DMSO) παρουσίασαν εκτεταμένη εμφάνιση νέων αγγείων, ενώ εκείνες στις οποίες χορηγήθηκε η ένωση Π-7β χαρακτηρίζονται από μεγάλες περιοχές χωρίς αγγεία.



## Βιολογική δράση

- *in vitro* αναστολή του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων σε ποικίλες σειρές

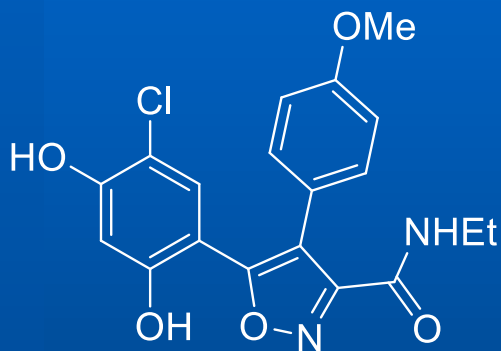
Ένωση	*IC <sub>50</sub> (μM)			
	MAEC	BAEC	Hela	MCF-7
<u>Π-3α</u>	≥ 100	64 ± 8.4	79 ± 8.8	47 ± 5.1
<u>Π-3β</u>	42 ± 3.4	29 ± 4.5	37 ± 4.9	29 ± 6.8
<u>Π-3γ</u>	44 ± 7.2	32 ± 8.7	37 ± 9.5	38 ± 6.0
<u>Π-3δ</u>	12 ± 2.9	17 ± 4.2	39 ± 1.4	24 ± 0.4
<u>Π-3ε</u>	43 ± 15	≥ 100	≥ 100	≥ 100
<u>Π-7α</u>	7.0 ± 0.25	4.6 ± 0.9	8.9 ± 0.1	5.8 ± 1.8
<u>Π-7β</u>	25 ± 1.4	38 ± 9.1	37 ± 2.6	26 ± 2.2
<u>Π-7γ</u>	42 ± 4.2	52 ± 11	38 ± 4.3	25 ± 8.1



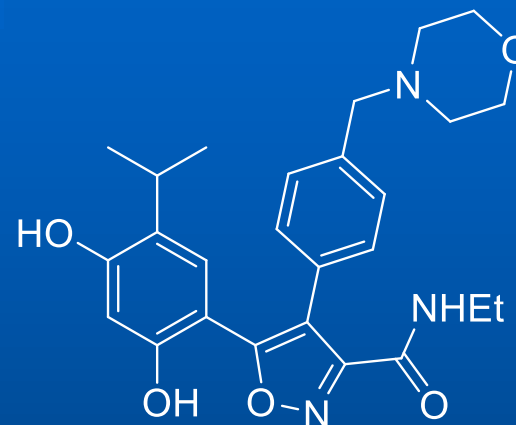
\*IC<sub>50</sub> = Συγκέντρωση της ένωσης για τη μείωση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού κατά 50%.

Christodoulou et al (*Bioorganic Medicinal Chemistry* 2010, 18, 4338-4350)

# ΙΣΟΞΑΖΟΛΙΚΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ



VER-50589

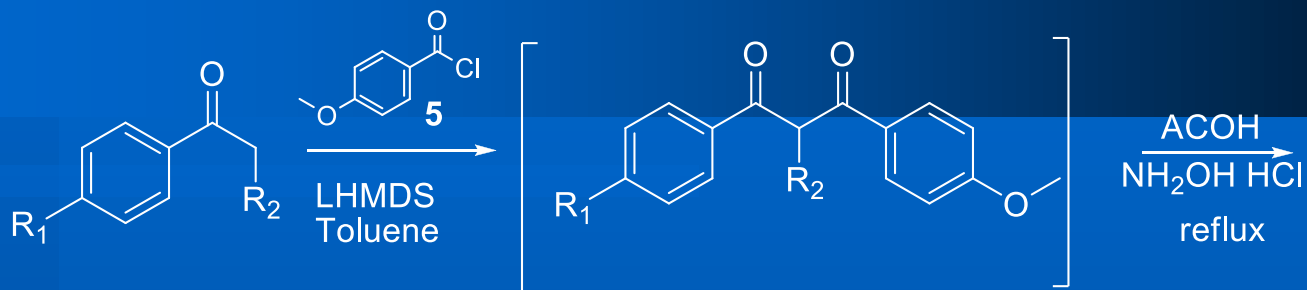


NVP-AUY922  
VER-52296

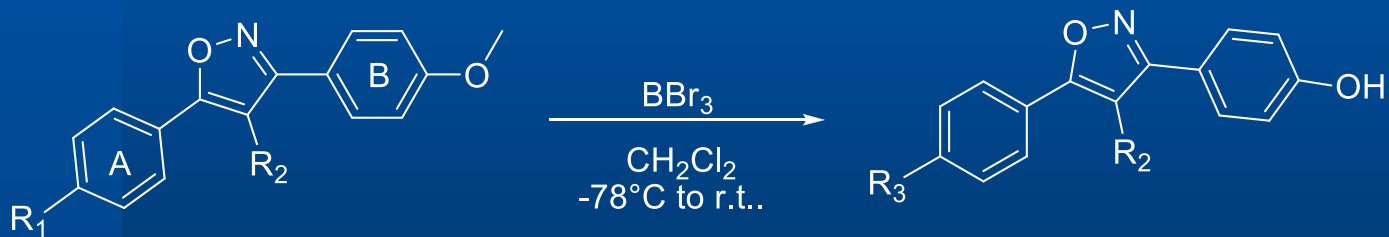
**Χημικές δομές ρεσορκινιλικών ισοξαζολίων  
VER-50589 και NVP-AUY922 αναστολέων της HSP90**



# Ακετοφαινόνες ως πρόδρομα μόρια



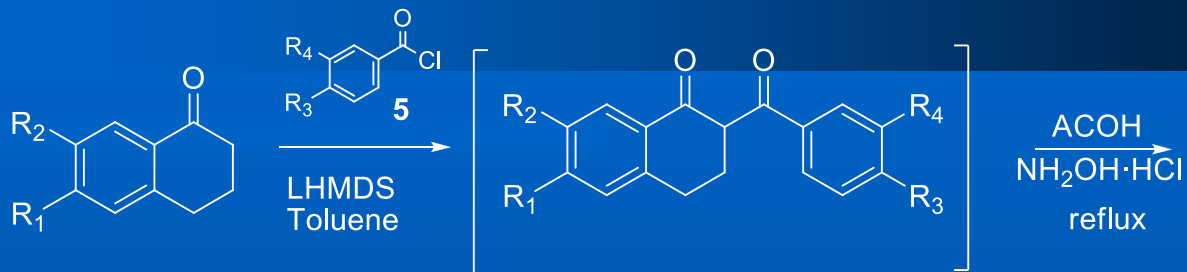
- 1,  $\text{R}_1 = \text{OCH}_3$ ,  $\text{R}_2 = \text{H}$
- 2,  $\text{R}_1 = \text{OCH}_3$ ,  $\text{R}_2 = \text{CH}_3$
- 3,  $\text{R}_1 = \text{OCH}_3$ ,  $\text{R}_2 = \text{CH}_2\text{CH}_3$
- 4,  $\text{R}_1 = \text{NO}_2$ ,  $\text{R}_2 = \text{H}$



- 6,  $\text{R}_1 = \text{OCH}_3$ ,  $\text{R}_2 = \text{H}$
- 7,  $\text{R}_1 = \text{OCH}_3$ ,  $\text{R}_2 = \text{CH}_3$
- 8,  $\text{R}_1 = \text{OCH}_3$ ,  $\text{R}_2 = \text{CH}_2\text{CH}_3$
- 9,  $\text{R}_1 = \text{NO}_2$ ,  $\text{R}_2 = \text{H}$

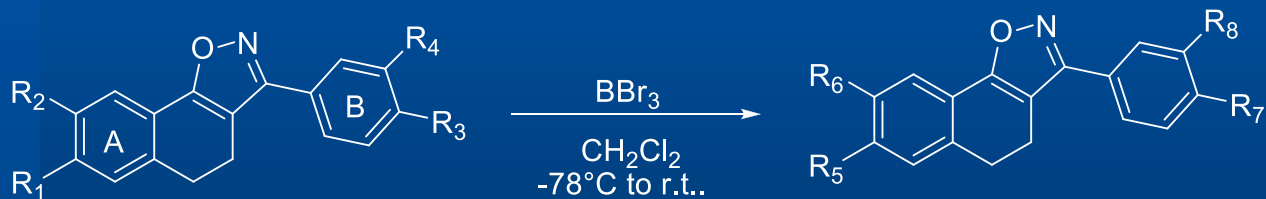
- 10,  $\text{R}_3 = \text{OH}$ ,  $\text{R}_2 = \text{H}$
- 11,  $\text{R}_3 = \text{OH}$ ,  $\text{R}_2 = \text{CH}_3$
- 12,  $\text{R}_3 = \text{OH}$ ,  $\text{R}_2 = \text{CH}_2\text{CH}_3$
- 13,  $\text{R}_3 = \text{NO}_2$ ,  $\text{R}_2 = \text{H}$

# Τετραλόνες ως πρόδρομα μόρια



**1**,  $R_1 = \text{OCH}_3$ ,  $R_2 = \text{H}$

**14**,  $R_1 = \text{OCH}_3$ ,  $R_2 = \text{OCH}_3$



**15**,  $R_1 = \text{OCH}_3$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{OCH}_3$ ,  $R_4 = \text{H}$

**16**,  $R_1 = \text{OCH}_3$ ,  $R_2 = \text{OCH}_3$ ,  $R_3 = \text{OCH}_3$ ,  $R_4 = \text{H}$

**17**,  $R_1 = \text{OCH}_3$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{OCH}_3$ ,  $R_4 = \text{OCH}_3$

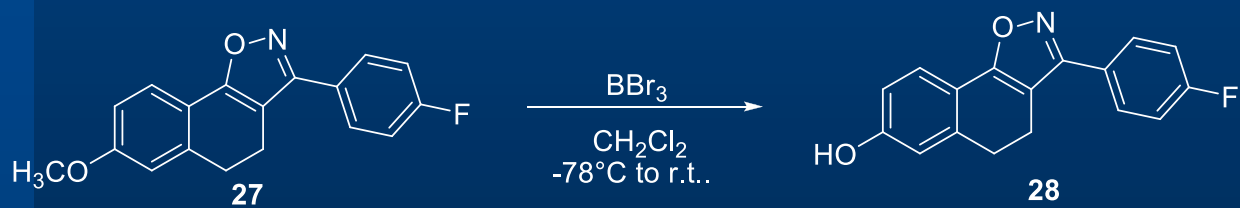
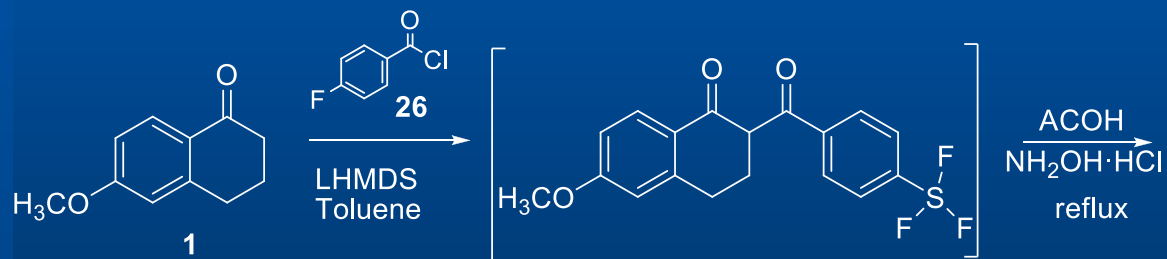
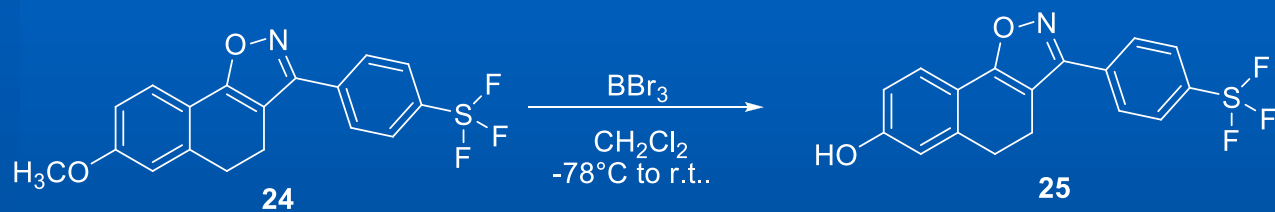
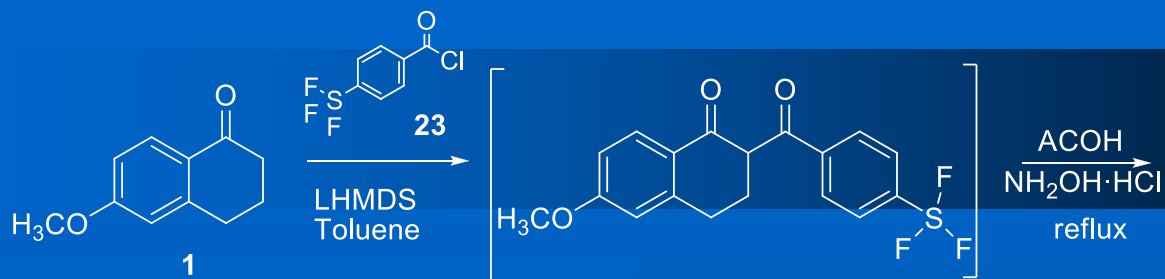
**18**,  $R_1 = \text{OCH}_3$ ,  $R_2 = \text{OCH}_3$ ,  $R_3 = \text{OCH}_3$ ,  $R_4 = \text{OCH}_3$

**19**,  $R_5 = \text{OH}$ ,  $R_6 = \text{H}$ ,  $R_7 = \text{OH}$ ,  $R_8 = \text{H}$

**20**,  $R_5 = \text{OH}$ ,  $R_6 = \text{OH}$ ,  $R_7 = \text{OH}$ ,  $R_8 = \text{H}$

**21**,  $R_5 = \text{OH}$ ,  $R_6 = \text{H}$ ,  $R_7 = \text{OH}$ ,  $R_8 = \text{OH}$

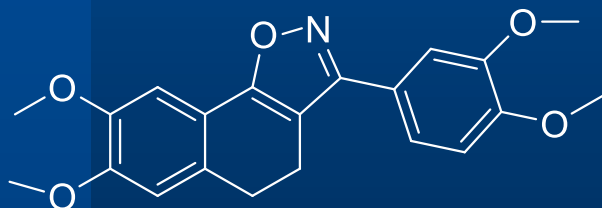
**22**,  $R_5 = \text{OH}$ ,  $R_6 = \text{OH}$ ,  $R_7 = \text{OH}$ ,  $R_8 = \text{OH}$



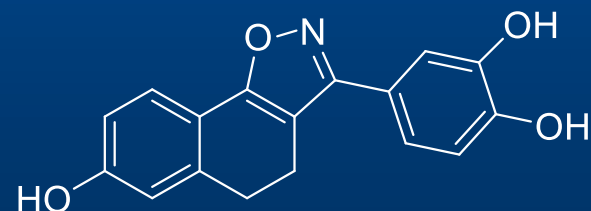
## Βιολογική δράση

- in vitro* αναστολή του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων σε ποικίλες σειρές

Μόριο	IC50 (μM)			
	HMEC-1	MBEC	HeLa	MCF-7
10	6,3 ± 0,5	2,5 ± 0,2	6 ± 0,9	5,2 ± 0,3
12	9,7 ± 1,1	13 ± 2	16 ± 1	9,8 ± 0,4
<b>18</b>	<b>0,56 ± 0,12</b>	<b>1,1 ± 0,1</b>	<b>0,59 ± 0,08</b>	<b>0,36 ± 0,05</b>
19	6,7 ± 0,1	4,6 ± 1,7	3,3 ± 0,2	3,1 ± 0,8
20	7,4 ± 0,8	6,8 ± 0,1	10 ± 1	2,1 ± 0,1
22	4,2 ± 2,2	10 ± 1	9,1 ± 0,6	2,1 ± 0,1
<b>21</b>	<b>0,42 ± 0,12</b>	<b>0,96 ± 0,4</b>	<b>0,97 ± 0,08</b>	<b>0,72 ± 0,14</b>

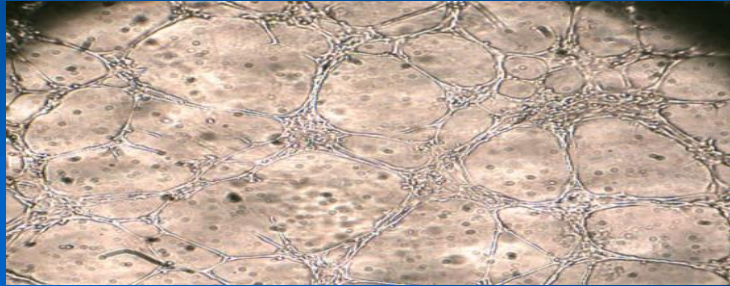


18

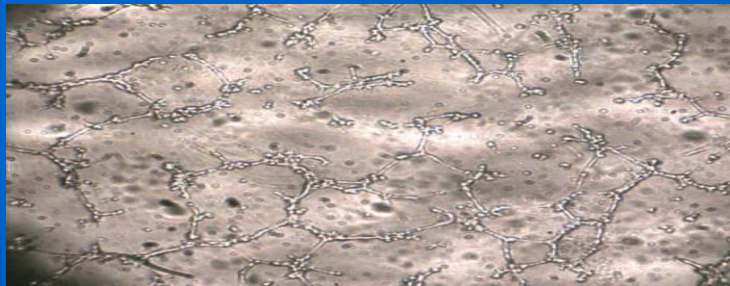


21

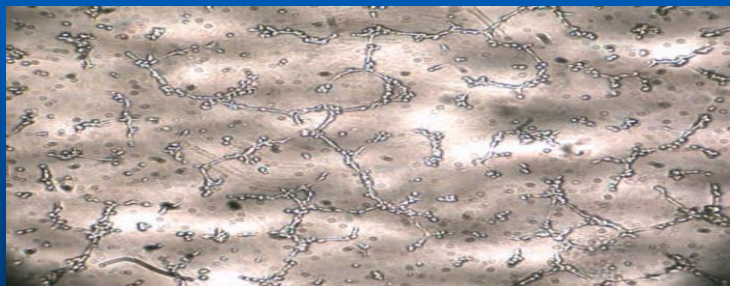
*Αναστολή Σχηματισμού Μικροσωληνίσκων  
σε ανθρώπινη μικροαγγειακή ενδοθηλιακή κυτταρική σειρά  
HMEC-1*



*control*

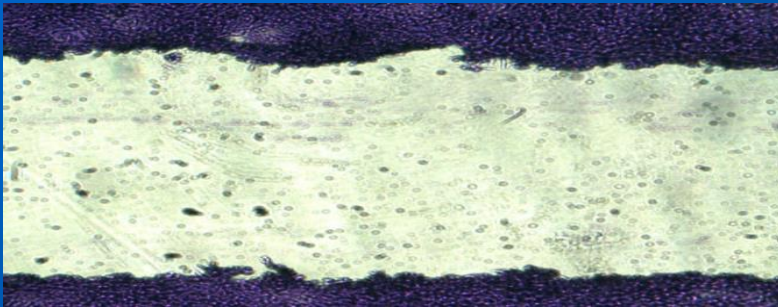


*18 (10μM)*

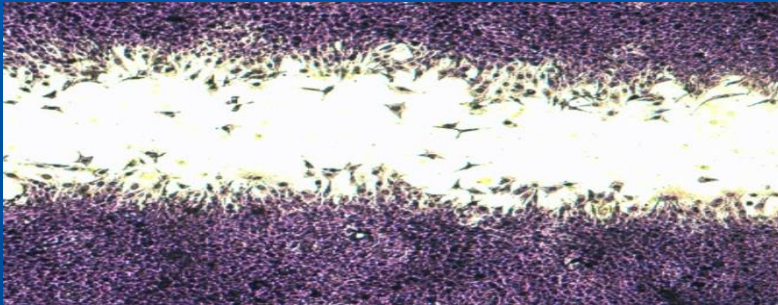


*21 (10μM)*

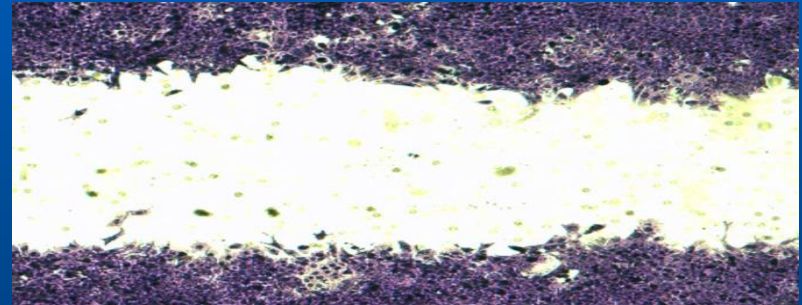
# Αναστολή Κυτταρικής Μετανάστευσης στη κυτταρική σειρά (HMEC-1)



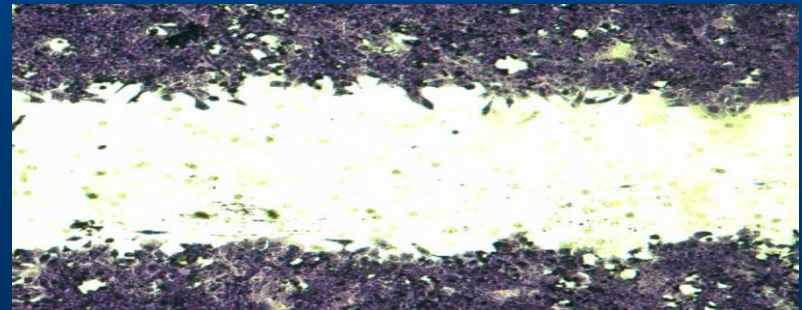
*Control (start)*



*Control (16h)*

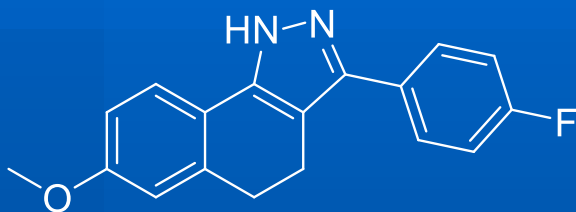


**21** 10 μM (16h)

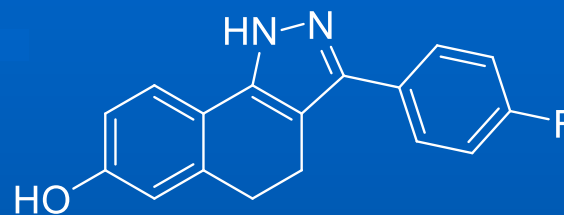


**18** 10 μM (16h)

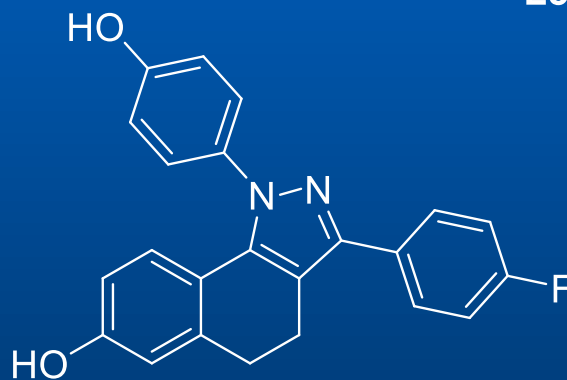
## Άλλα Δραστικά Πυραζολικά Παράγωγα



L47

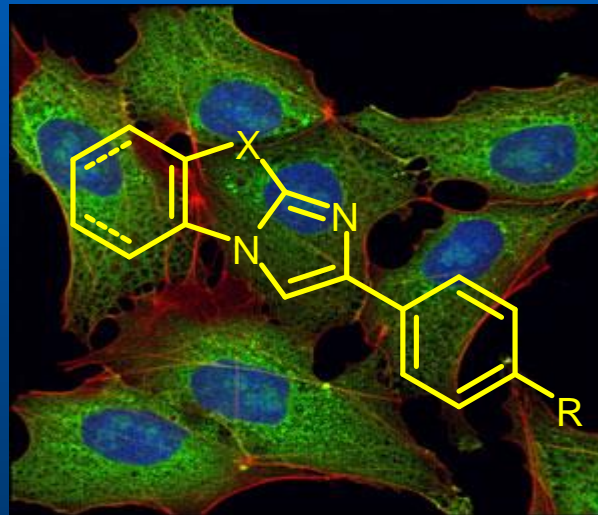


L50



L52

**Σύνθεση και βιολογική αποτίμηση νέων  
ιμιδαζο[2,1-b]βενζοθειαζολο παραγώγων ως  
αναστολείς της πρωτεΐνης p53**

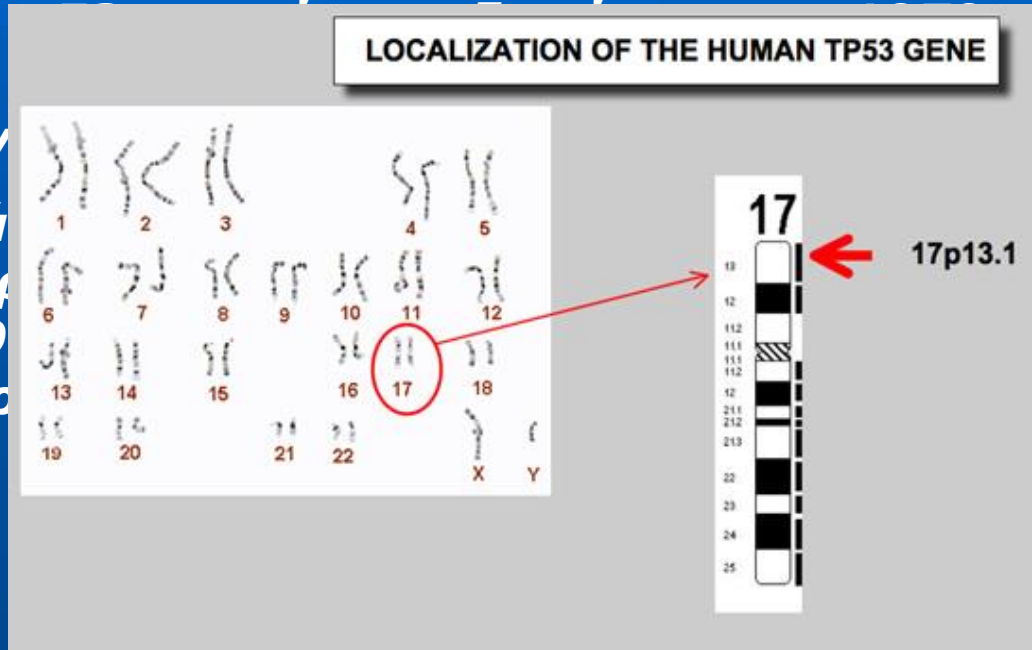




# p53

Το γονίδιο  
Levine,  
(έν

- Αρχικά  
χαρακτήρ  
το 19  
ερ
- Το 1993,



πό τους Arnold  
του ιού SV40  
όγκων)

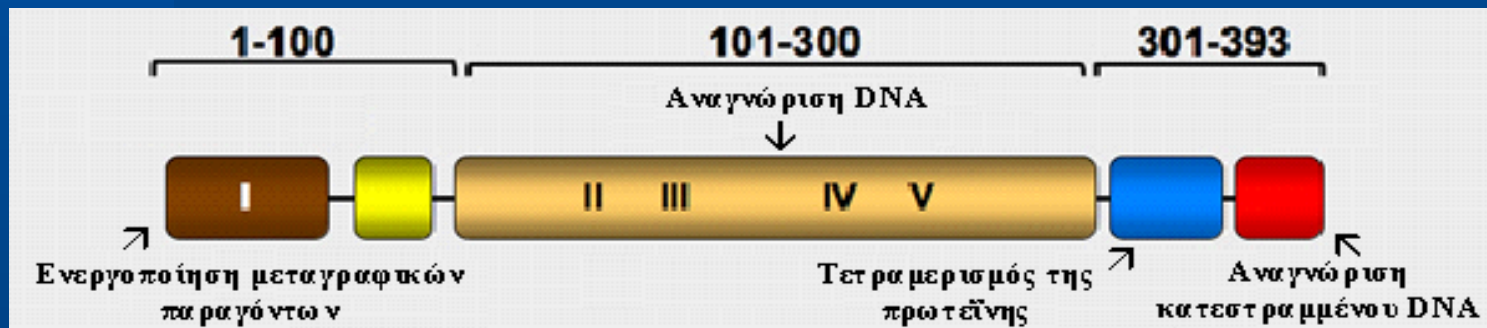
γματικό του  
ποκαλύπτεται  
hite σε μία  
ντέρου  
ης χρονιάς από  
ence

**Ονομασία:** p = πρωτεΐνη και 53 = 53000 μοριακό βάρος

**Τοποθεσία:** Το γονίδιο p53 βρίσκεται στο 17 χρωμόσωμα

## p53

- **Δομή:** είναι μία φωσφοπρωτεΐνη που αποτελείται από **393** αμινοξέα. Χωρίζεται σε τέσσερις περιοχές:
- Την περιοχή που ενεργοποιεί τους μεταγραφικούς παράγοντες
- Την περιοχή που αναγνωρίζει συγκεκριμένες αλληλουχίες DNA (κεντρική περιοχή)
- Την περιοχή που είναι υπεύθυνη για τον τετραμερισμό της πρωτεΐνης
- Την περιοχή που αναγνωρίζει το κατεστραμμένο DNA (π.χ. λανθασμένα ζεύγη βάσεων, μονόκλωνο DNA)



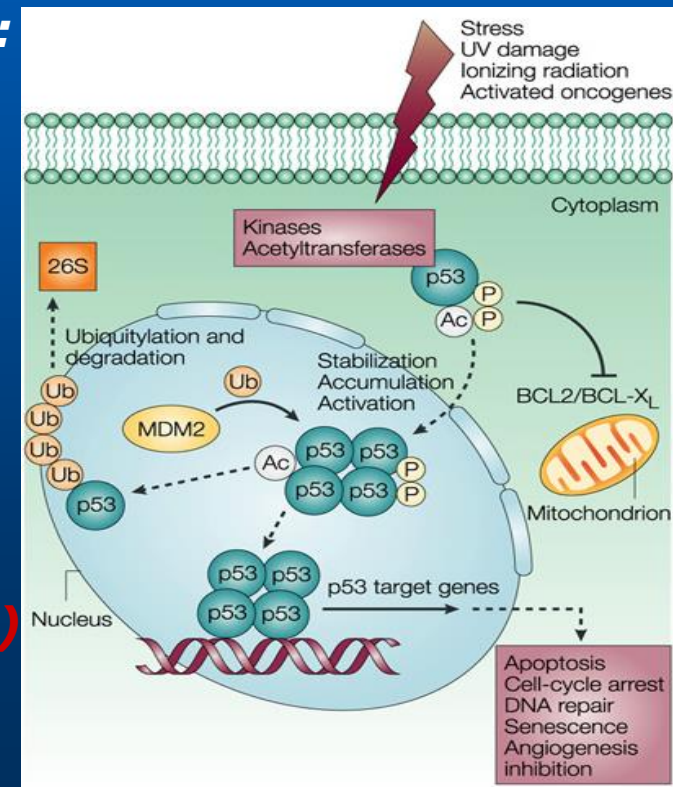
**WTp53:** είναι μία ασταθής πρωτεΐνη, που περιέχει άμορφα τμήματα τα οποία λειτουργούν συνεργειακά

# p53 "προστάτης του γονιδιώματος"

Αναγνωρίστηκε ως ο κεντρικός παράγοντας που προστατεύει τους ανθρώπους από τον καρκίνο, με βάση την ικανότητα να:

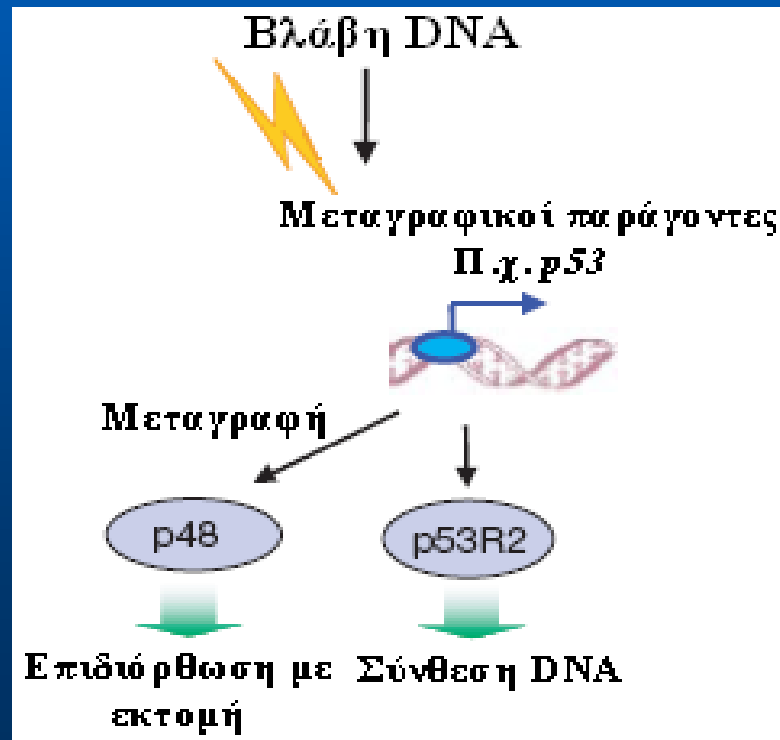
- Ανταποκρίνεται στο γονοτοξικό στρες που προκαλείται είτε από καταστροφή στο DNA είτε από άλλα σήματα που προκαλούν στρες
- Προστατεύει το γονιδίωμα προκαλώντας ένα πλήθος βιολογικών αντιδράσεων όπως:

- ✓ Επιδιόρθωση του DNA
- ✓ Διακοπή του κυτταρικού κύκλου
- ✓ Απόπτωση
- ✓ Καταστολή της μετάστασης
- ✓ Αναστολή της δημιουργίας νέων αιμοφόρων αγγείων (αγγειογένεση)



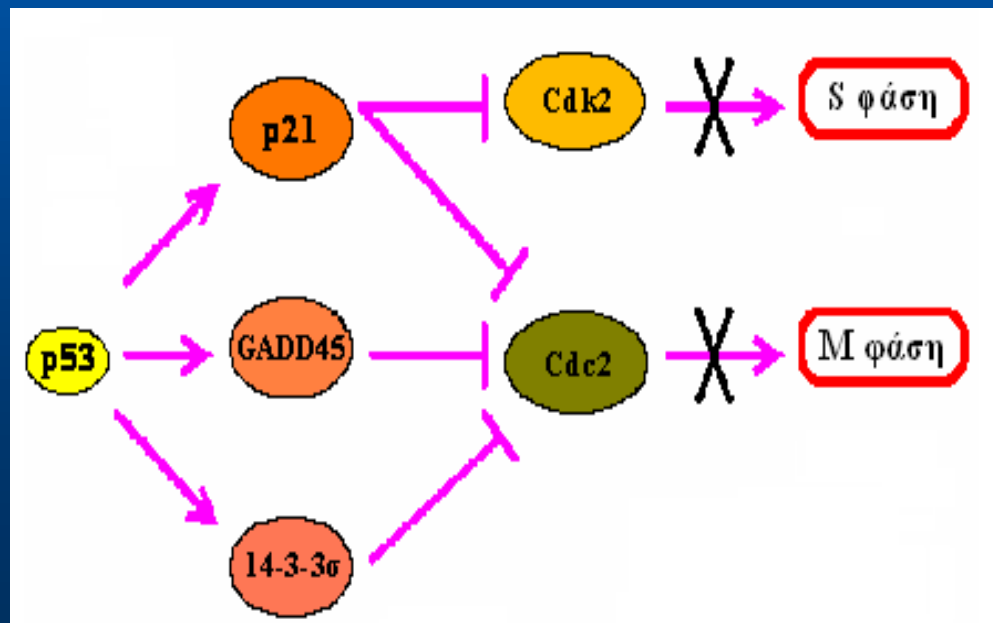
# p53 - μηχανισμός επιδιόρθωσης DNA

- εκφράζει το γονίδιο p48 που είναι υπεύθυνο για την επιδιόρθωση του DNA με εκτομή
- τη ριβονοκλεοτιδική αναγωγή p53R2, η οποία είναι υπεύθυνη για τη σύνθεση του DNA



# p53 - διακοπή του κυτταρικού κύκλου

- Η πρωτεΐνη p21 αναστέλλει τη δράση του ενζύμου Cdk2 που είναι υπεύθυνο για τη σωστή λειτουργία του πολλαπλασιασμού κατά τη μετάβαση από τη G1 στην S φάση
- οι πρωτεΐνες GADD45, 14-3-3σ και p21 αναστέλλουν τη λειτουργία του ενζύμου Cdc2 που είναι υπεύθυνο για τη μετάβαση του κυττάρου από τη G2 στην M φάση

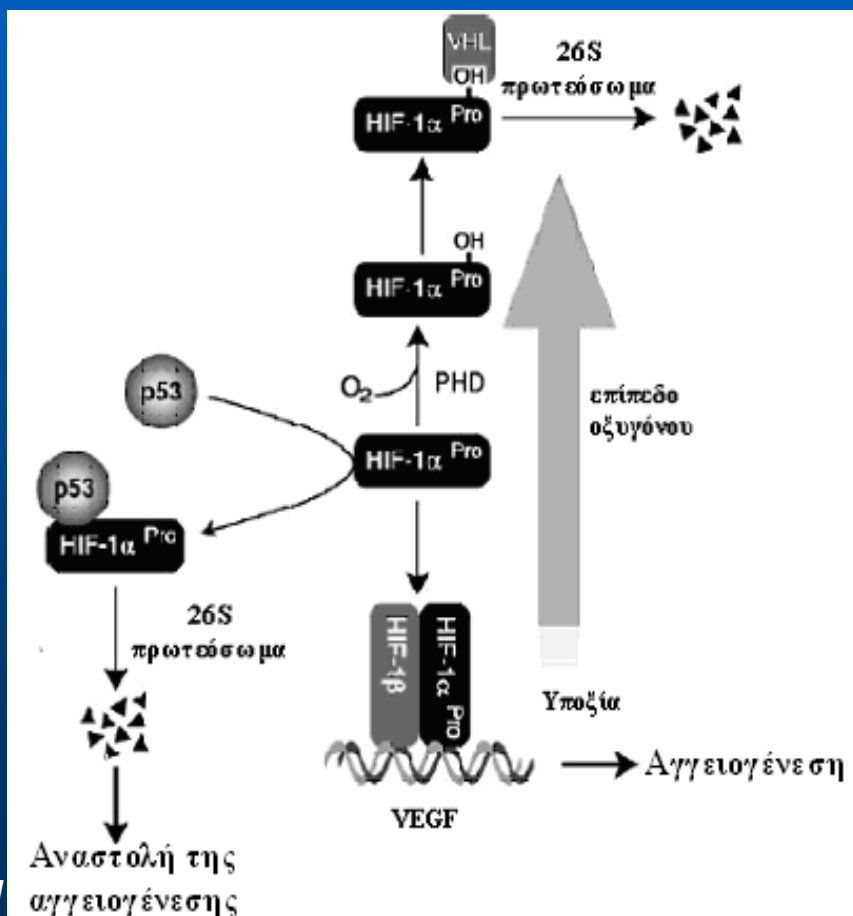




# p53 - αγγειογένεση

Η πρωτεΐνη p53 αναστέλλει την αγγειογένεση με τρεις διαφορετικούς μηχανισμούς:

## 1) αναστολή του μηχανισμού της υποξίας



HIF: (Hypoxia Inducible Factor)

Pro: Προλίνη

PHD: υδροξυλάσες της προλίνης

VHL: πρωτεΐνη von Hippel-Lindau

Αναστολή της  
αγγειογένεσης

## **p53 - αγγειογένεση**

**Η πρωτεΐνη p53 αναστέλλει την αγγειογένεση με τρεις διαφορετικούς μηχανισμούς:**

**2) μειорύθμιση (downregulation) προ-αγγειογενετικών παραγόντων**

**Καταστέλλει τη δράση γονιδίων που κωδικοποιούν ποικίλους προ-αγγειογενετικούς παράγοντες απαραίτητους για τη δημιουργία όγκων:**

- **VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)**
  - **bFGF (basic Fibroblast Growth Factor)**
    - **bFGF-BP (bFGF-binding protein)**
      - **COX-2 (Cyclooxygenase-2)**



## **p53 - αγγειογένεση**

**Η πρωτεΐνη p53 αναστέλλει την αγγειογένεση με τρεις διαφορετικούς μηχανισμούς:**

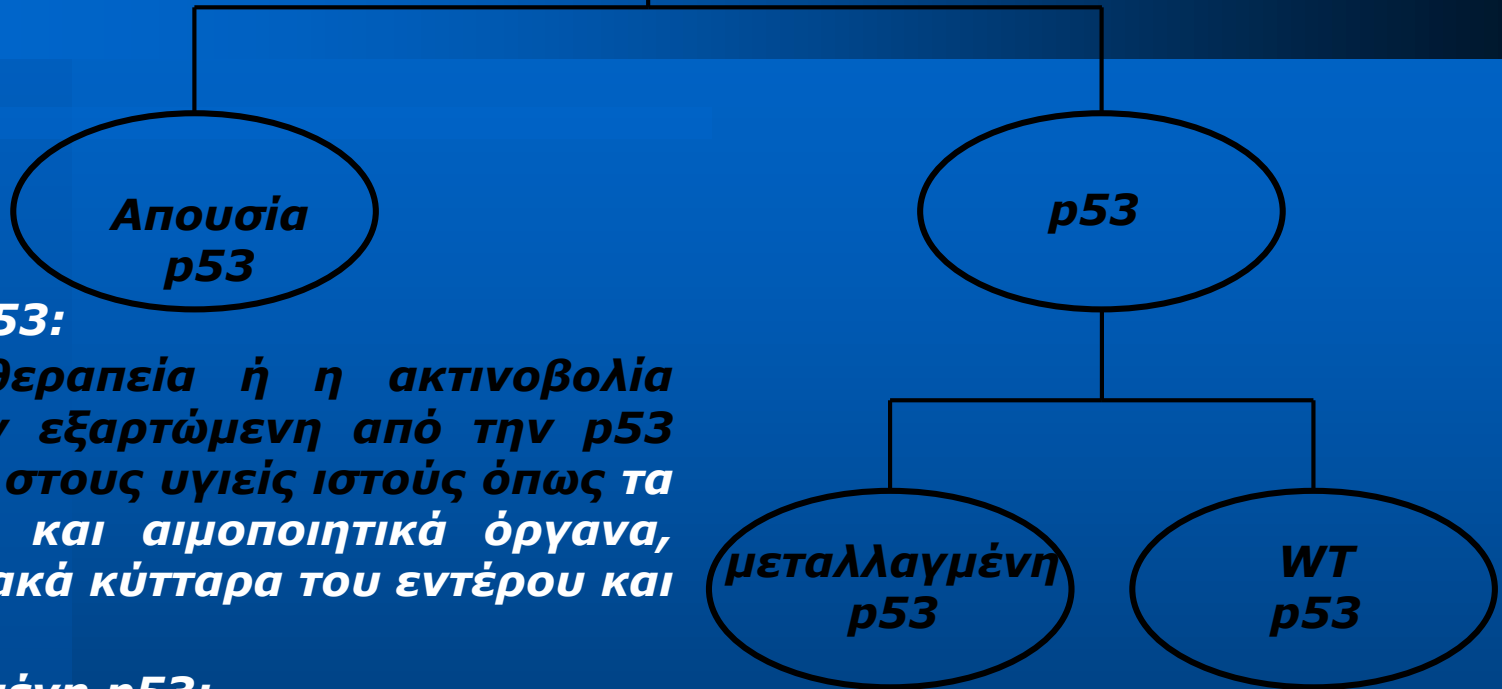
### **3) αυξορύθμιση (upregulation) των αντι-αγγειογενετικών παραγόντων**

**Η ενεργοποίηση των αντι-αγγειογενετικών παραγόντων εξαρτάται αυστηρά από τη δέσμευση της p53 σε κοινές χαρακτηριστικές αλληλουχίες του DNA των γονιδίων-στόχων**

- Το γονίδιο θρομβοσπονδίνη 1 (TSP-1) αποτελεί τον πρώτο ενδογενή παράγοντα που βρέθηκε ότι αναστέλλει την αγγειογένεση**
- Το γονίδιο καταστολής της αγγειογένεσης BAI1 (Brain-specific Angiogenesis Inhibitor 1)**
- Το γονίδιο που εκφράζει τον υποδοχέα της εφρίνης A2 (EPHA2)**
- Τα γονίδια που εκφράζουν τα αντι-αγγειογενετικά κολαγόνα**

# Αναστολή του p53

Όγκοι



## Απουσία p53:

Η χημειοθεραπεία ή η ακτινοβολία επάγει την εξαρτώμενη από την p53 απόπτωση στους υγιείς ιστούς όπως τα λεμφοειδή και αιμοποιητικά όργανα, τα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου και οι όρχεις

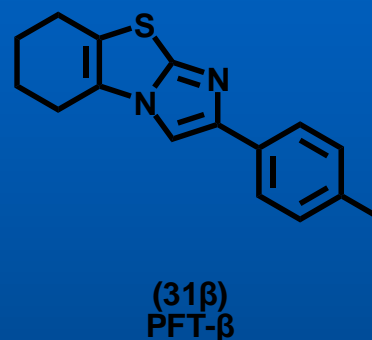
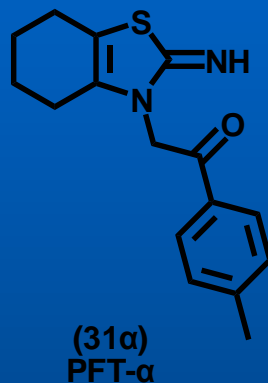
## Μεταλλαγμένη p53:

Η μεταλλαγμένη πρωτεΐνη p53 έχει την ικανότητα να αλληλεπιδρά με το μεταγραφικό παράγοντα NF- $\kappa$ B, οδηγώντας στην αύξηση της σύνθεσης του DNA ως απόκριση στην καταστροφή του DNA, που προκαλείται από την αντικαρκινική θεραπεία

## WT p53:

Εμφανίζει έναν προστατευτικό ρόλο στα καρκινικά ενδοθηλιακά κύτταρα σε συνθήκες γονοτοξικού στρες βοηθώντας τα να βρεθούν σε κατάσταση ηρεμίας, μειώνοντας το ρίσκο της μιτωτικής καταστροφής

# Αναστολείς της πρωτεΐνης p53

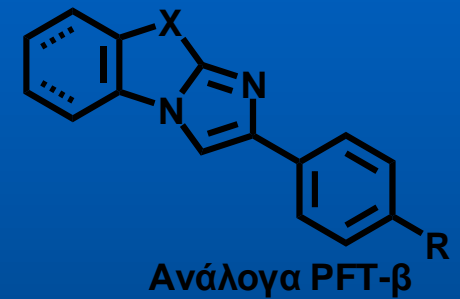
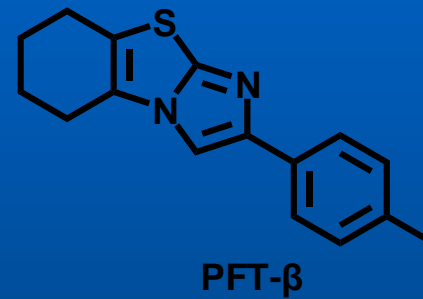
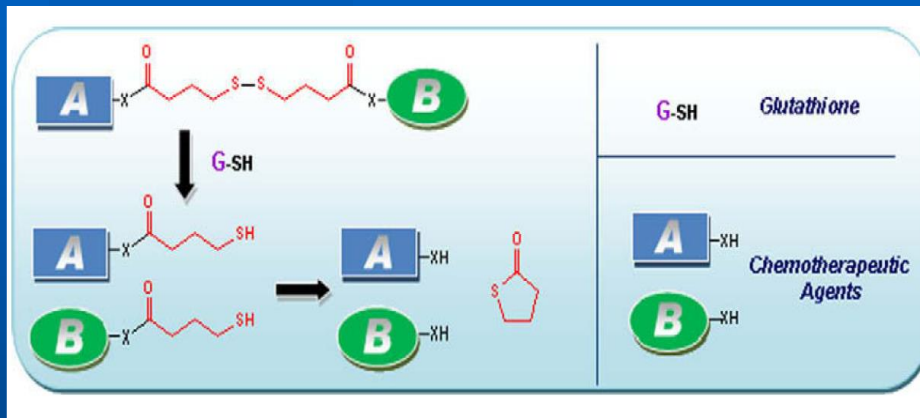


**Οδηγός ένωση η οποία  
μειώνει τη δράση της p53\***

**Η ικανότητά της να μπλοκάρει την πρωτεΐνη p53 αποδείχθηκε από την ανεπάρκειά της να εμποδίσει το εξαρτώμενο από την πρωτεΐνη p53 κυτταρικό θάνατο**

\* Komarov, P. G.; Komarova, E. A.; Kondratov, R. V.; Christov-Tselkov, K.; Coon, J. S.; Chernov, M. V.; Gudkov, A. V.; **Science**, 1999, 285, 1733-1737

# Στρατηγική

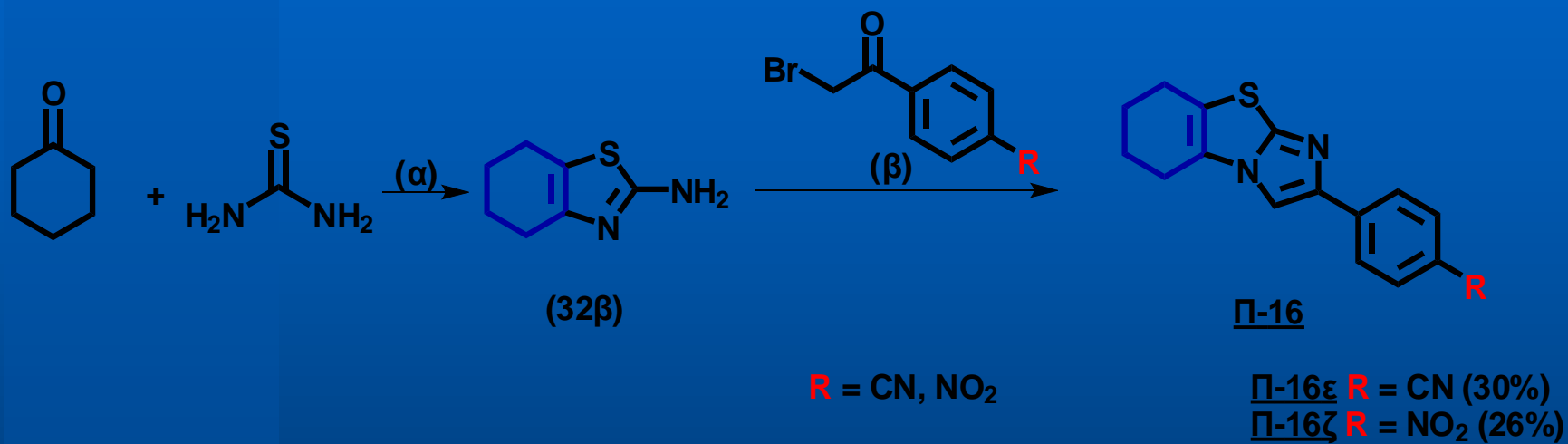


**A**

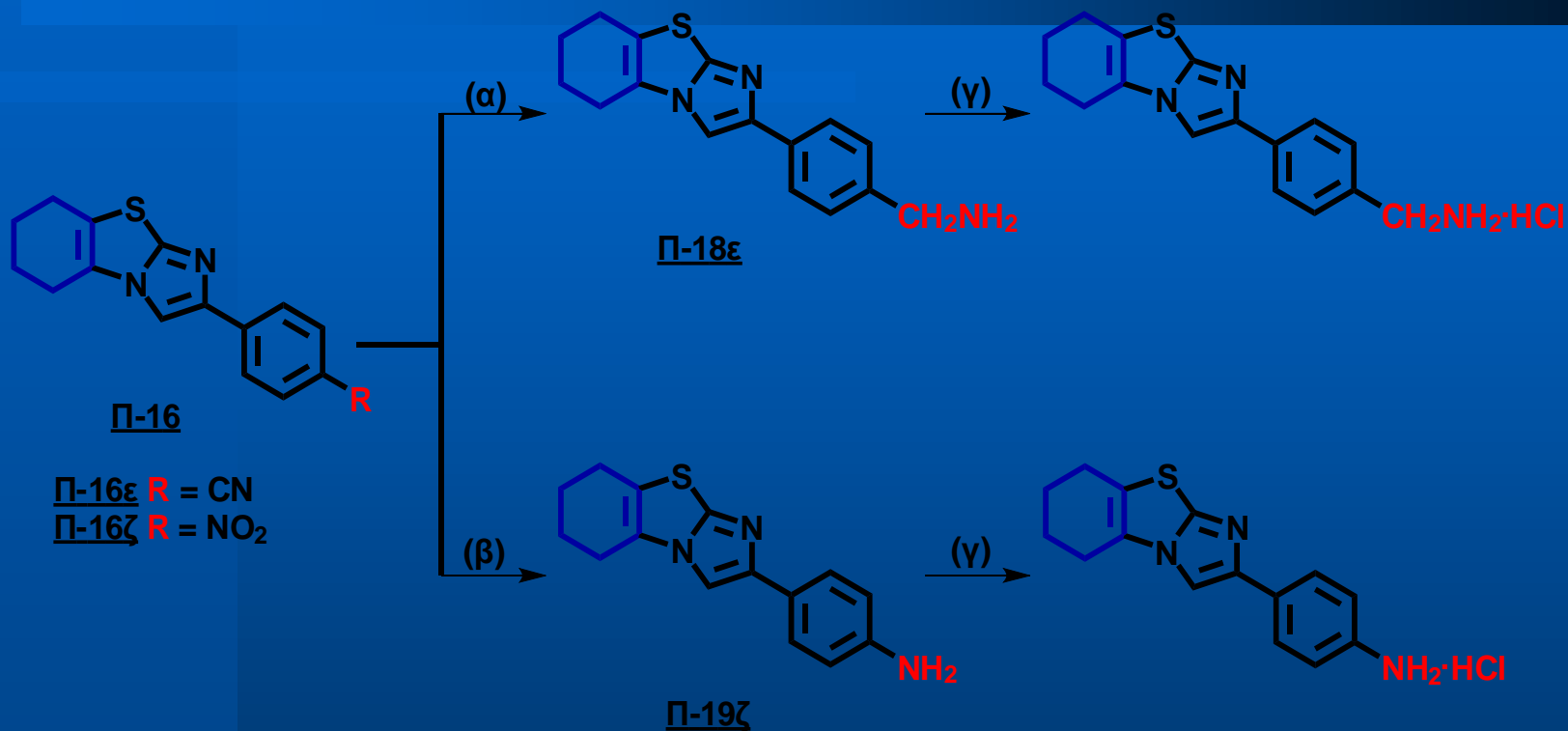
= αναστολέας της p53

**B**

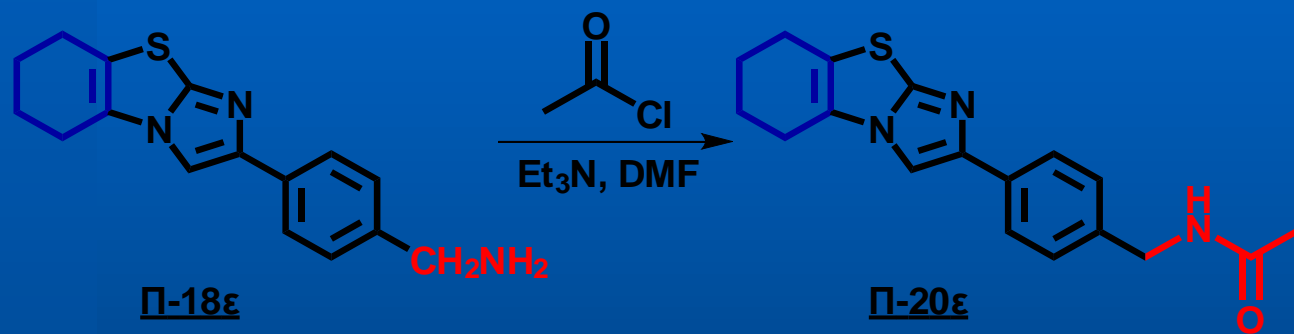
= αντικαρκινικός παράγοντας (ταξόλη, θειοκολχικίνη)

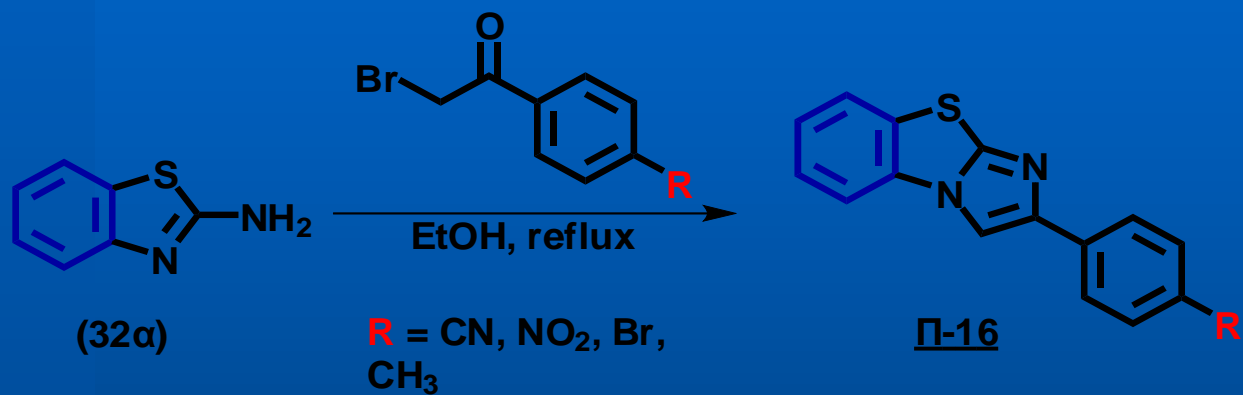


(α) I<sub>2</sub>, 110°C, 12h, (34%); (β) EtOH, reflux.



(α) DIBALH, τολουόλιο (dry), reflux, (95%); (β) Fe, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/H<sub>2</sub>O, 90°C, (89%); (γ) κορ. HCl σε MeOH, rt, (95%).





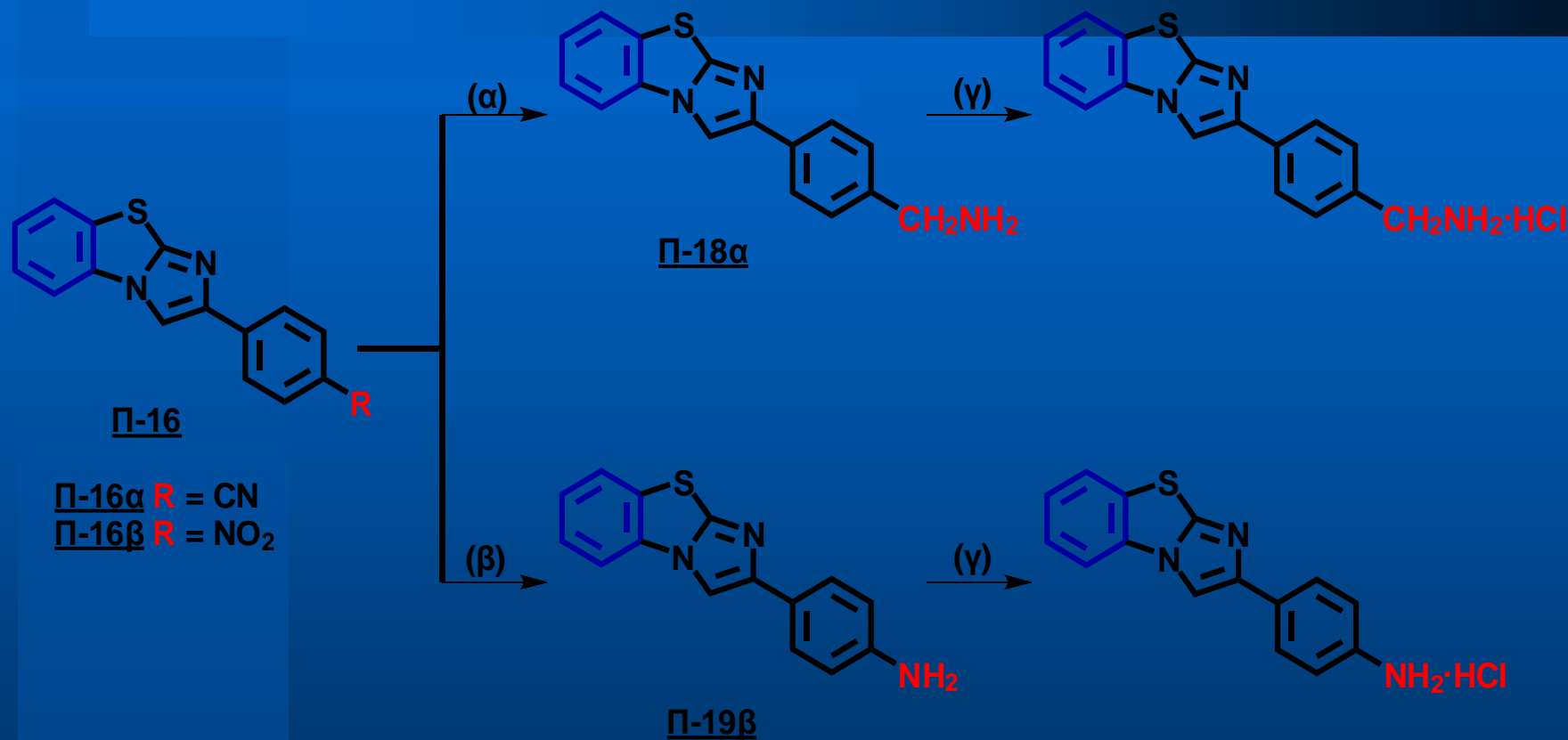
$\Pi$ -16 $\alpha$  **R** = CN (35%)

$\Pi$ -16 $\beta$  **R** = NO<sub>2</sub> (26%)

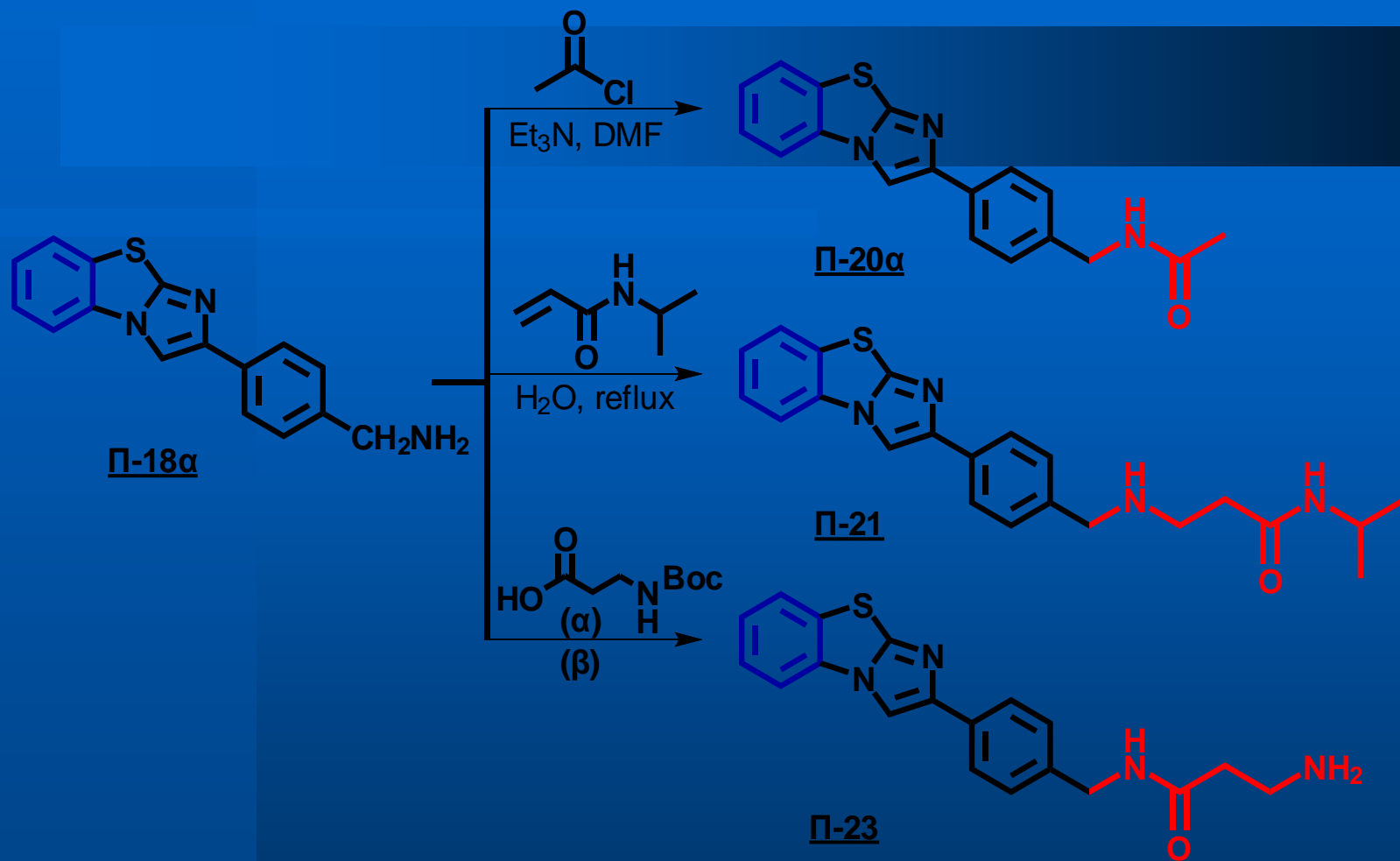
$\Pi$ -16 $\gamma$  **R** = Br (23%)

$\Pi$ -16 $\delta$  **R** = CH<sub>3</sub> (48%)

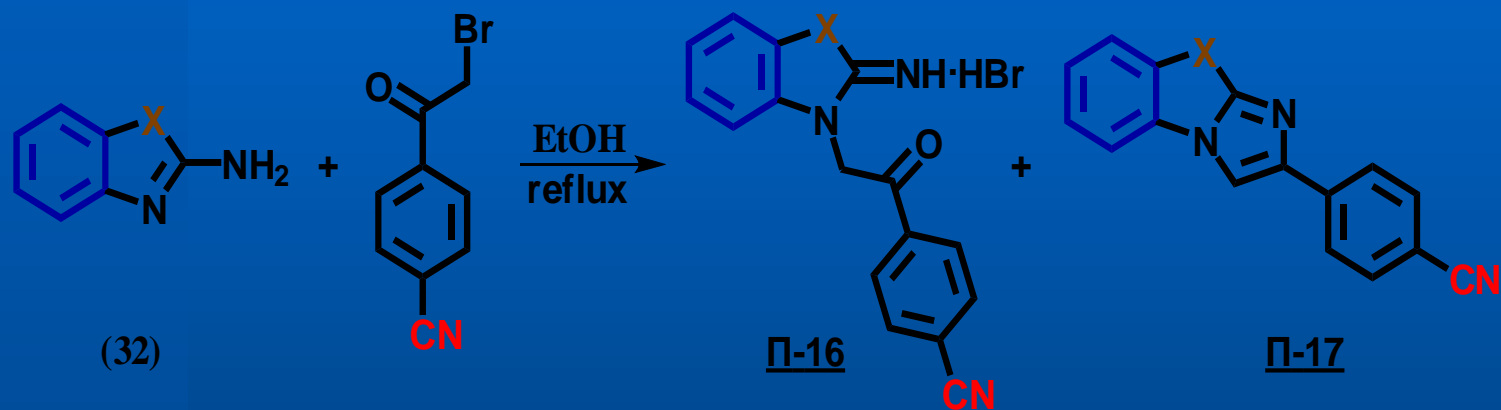




(α) *DIBALH*, τολουόλιο (dry), reflux, (95%); (β)  $\text{Fe}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}$ ,  $90^\circ\text{C}$ , (89%); (γ) κορ.  $\text{HCl}$  σε  $\text{MeOH}$ , rt, (95%).



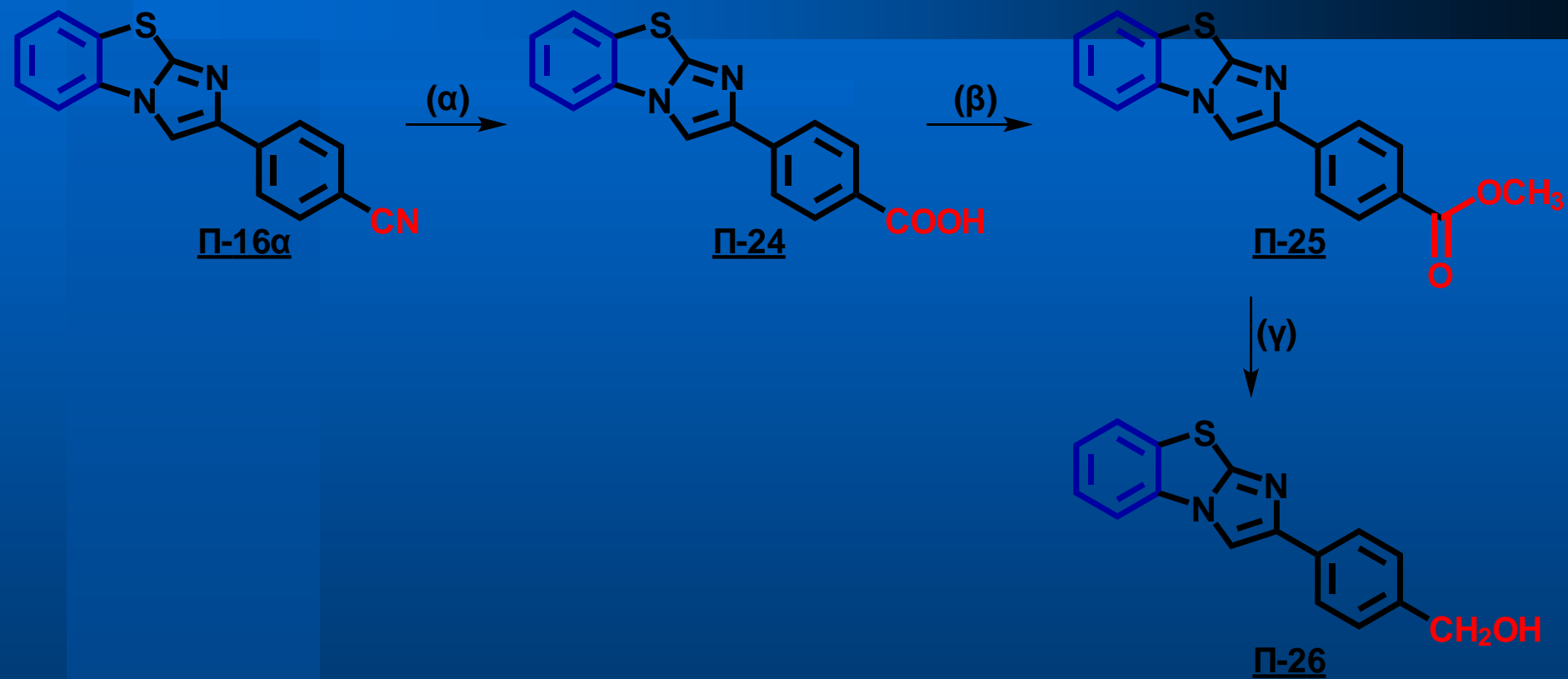
(α) HATU, DIPEA, r.t.; (β) TMSCl, MeOH, (60%).



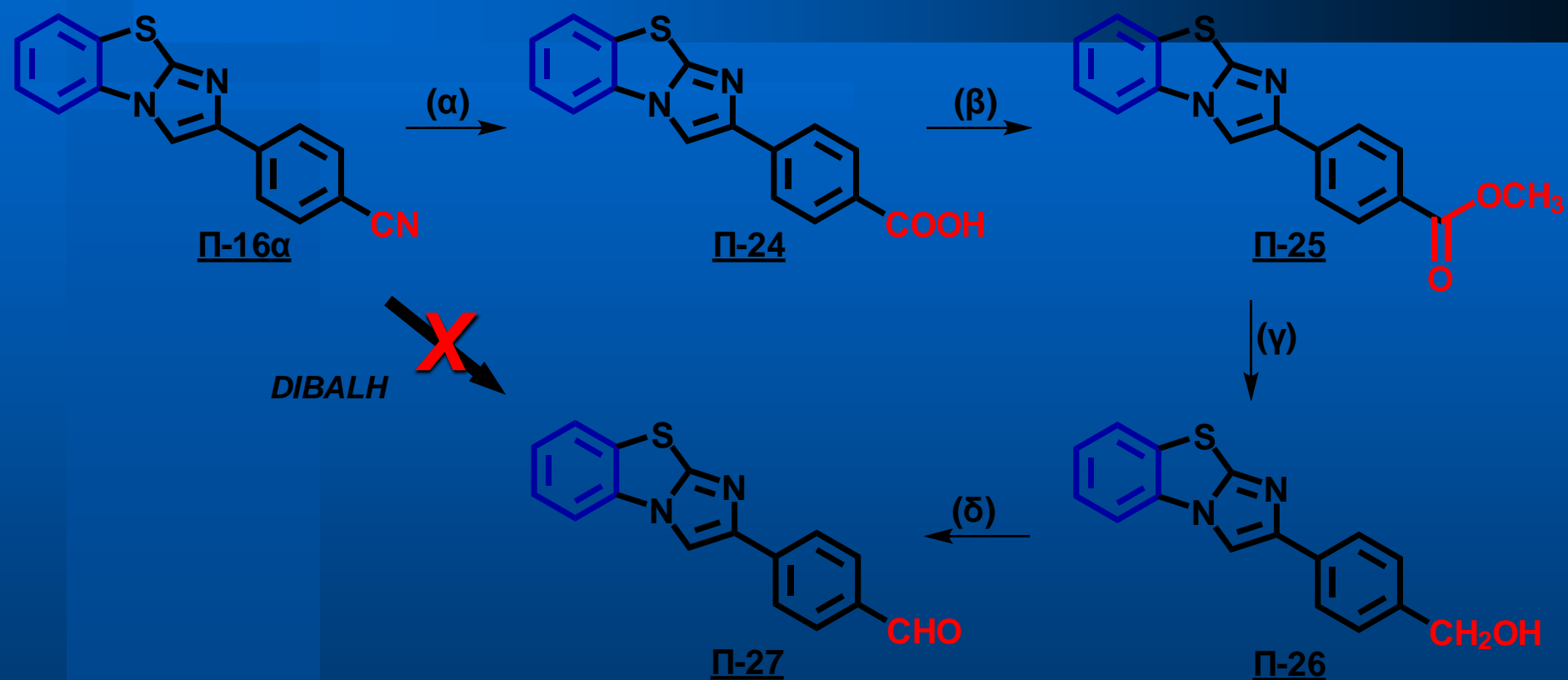
32γ,  $\Pi$ -16η,  $\Pi$ -17η X = NH  
 32δ,  $\Pi$ -16θ,  $\Pi$ -17θ X = NCH<sub>3</sub>  
 32ε,  $\Pi$ -16ι,  $\Pi$ -17ι X = NCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>

$\Pi$ -16η 60%  
 $\Pi$ -16θ 75%  
 $\Pi$ -16ι 60%

$\Pi$ -17η 0%  
 $\Pi$ -17θ 5%  
 $\Pi$ -17ι 20%



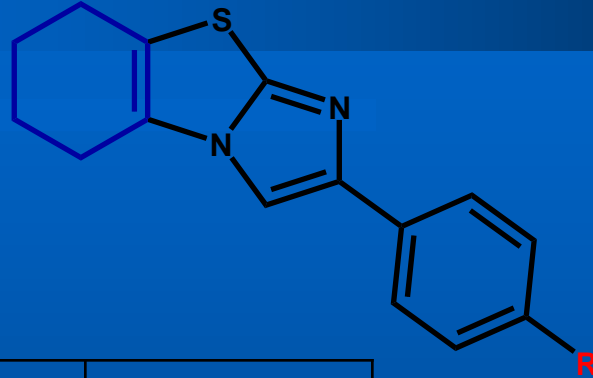
**Αντιδραστήρια και συνθήκες:** (α) NaOH, EtOH/H<sub>2</sub>O (1/1), (96%); (β) TMSiCHN<sub>2</sub>, MeOH (70%); (γ) LiAlH<sub>4</sub>, THF (dry), (70%).



**Αντιδραστήρια και συνθήκες:** (α)  $\text{NaOH}$ ,  $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$  (1/1), (96%); (β)  $\text{TMSiCHN}_2$ ,  $\text{MeOH}$  (70%); (γ)  $\text{LiAlH}_4$ ,  $\text{THF}$  (dry), (70%); (δ) **Dess-Martin**,  $\text{DCM}$  (98%).

## Βιολογική δράση (*in vitro*)

- των τετραϋδροϊμιδαζο[2,1-*b*]βενζοθειάζολο παραγώγων στην καρκινική σειρά IGROV-1 (*human ovarian carcinoma cell line*)

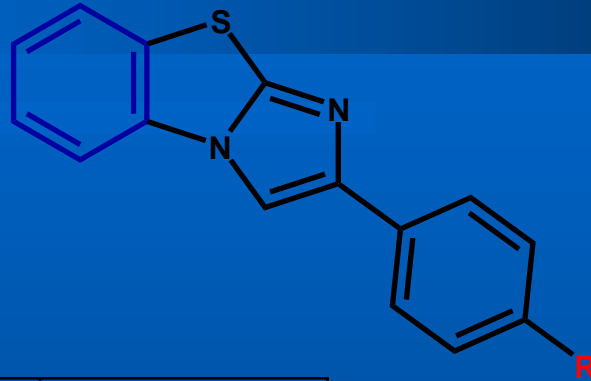


Ένωση	R	IC <sub>50</sub> (μM)
<u>Π-16ε</u>	CN	10
<u>Π-18ε</u>	CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	10
<u>Π-18ε</u> •HCl	CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> •HCl	29
<u>Π-19ζ</u>	NH <sub>2</sub>	5
<u>Π-19ζ</u> •HCl	NH <sub>2</sub> •HCl	18
<u>Π-20ε</u>	 <chem>CC(=O)N</chem>	30

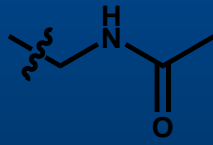
\*IC<sub>50</sub> = Συγκέντρωση της ένωσης για τη μείωση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού κατά 50%

## Βιολογική δράση (*in vitro*)

- των ιμιδαζο[2,1-*b*]βενζοθειάζολο παραγώγων στην καρκινική σειρά IGROV-1 (*human ovarian carcinoma cell line*)



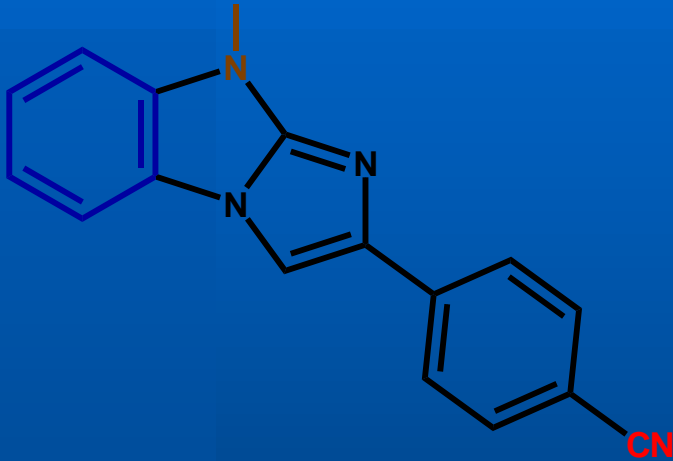
Ένωση	<b>R</b>	IC <sub>50</sub> (μM)
<u>Π-16α</u>	CN	0.01
<u>Π-16β</u>	NO <sub>2</sub>	3
<u>Π-16γ</u>	Br	0.1
<u>Π-16δ</u>	CH <sub>3</sub>	0.1
<u>Π-18α</u>	CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	0.01
<u>Π-18α</u> •HCl	CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> •HCl	0.33
<u>Π-19β</u>	NH <sub>2</sub>	1
<u>Π-19β</u> •HCl	NH <sub>2</sub> •HCl	3

Ένωση	<b>R</b>	IC <sub>50</sub> (μM)
Π-26	CH <sub>2</sub> OH	5.4
<u>Π-20α</u>		8

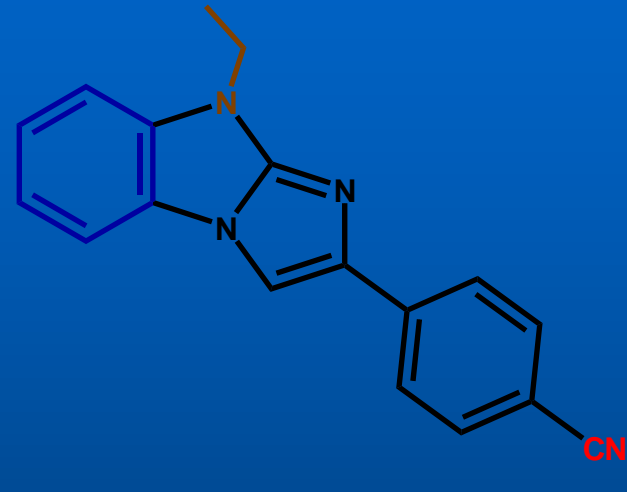
\*IC<sub>50</sub> = Συγκέντρωση της ένωσης για τη μείωση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού κατά 50%

## Βιολογική δράση (*in vitro*)

- των ιμιδαζο[2,1-*b*]βενζοϊμιδαζολο παραγώγων στην καρκινική σειρά IGROV-1 (*human ovarian carcinoma cell line*)



$IC_{50} = 7,2 \mu M$



$IC_{50} = 4,5 \mu M$