



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Σύνθεση και Μελέτη Αναστολέων Λιπολυτικών Ενζύμων

**ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ ΝΙΚΟΛΑΟΥ
ΧΗΜΙΚΟΣ**

ΑΘΗΝΑ

ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2016

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Σύνθεση και Μελέτη Αναστολέων Λιπολυτικών Ενζύμων

ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ ΝΙΚΟΛΑΟΥ

A.M.: 001202

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:

Γεώργιος Κόκοτος, Καθηγητής ΕΚΠΑ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ:

Γεώργιος Κόκοτος, Καθηγητής

Βιολέττα Κωνσταντίνου-Κόκοτου, Καθηγήτρια

Βικτωρία Μαγκριώτη, Επίκουρη Καθηγήτρια

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Γεώργιος Κόκοτος, Καθηγητής

Βιολέττα Κωνσταντίνου-Κόκοτου, Καθηγήτρια

Βικτωρία Μαγκριώτη, Επίκουρη Καθηγήτρια

Παναγιώτα Μουτεβελή-Μηνακάκη, Καθηγήτρια

Σταματία Βασιλείου, Επίκουρη Καθηγήτρια

Βασίλης Αϊδίνης, Ερευνητής Α', Ινστιτ. Φλέμινγκ

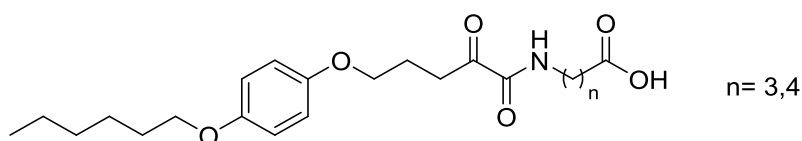
Ανδρέας Τσοτίνης, Καθηγητής

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ 30/09/2016

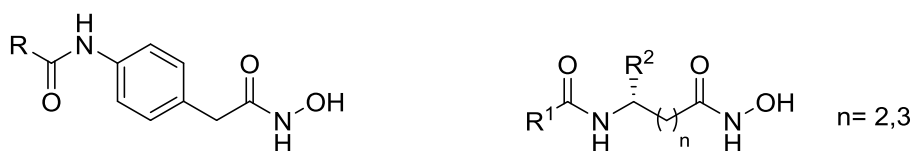
ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι φωσφολιπάσες A_2 (PLA_2) είναι ένζυμα που υδρολύουν τον εστερικό δεσμό στη θέση *sn*-2 των φωσφολιπιδίων απελευθερώνοντας λιπαρά οξέα και λυσοφωσφολιπίδια. Από αυτά, το αραχιδονικό οξύ μπορεί να μετατραπεί σε πλήθος εικοσανοειδών με τη βοήθεια μεταβολικών ενζύμων, ενώ η λυσοφωσφατιδυλοχολίνη (LPC), το πιο άφθονο στο πλάσμα και στους ιστούς λυσοφωσφολιπίδιο, μπορεί να μετατραπεί σε λυσοφωσφατιδικό οξύ (LPA) με τη βοήθεια ενός εκκρινόμενου ενζύμου που εμφανίζει δράση λυσοφωσφολιπάσης D, γνωστό ως αυτοταξίνη (ATX). Και τα δύο ένζυμα εμπλέκονται σε φλεγμονώδεις παθολογικές καταστάσεις και επομένως, αποτελούν ελκυστικούς στόχους για την ανάπτυξη νέων ενώσεων για την αντιμετώπιση φλεγμονωδών ασθενειών.

Γνωρίζοντας ότι ενώσεις που φέρουν τη 2-οξοαμιδική λειτουργική ομάδα και μακριές ανθρακικές αλυσίδες εμφανίζουν ανασταλτική δράση έναντι της κυτοσολικής GIVA $cPLA_2$, σχεδιάστηκαν και παρασκευάστηκαν 2-οξοαμιδικά παράγωγα με μειωμένη λιποφιλικότητα.



Λαμβάνοντας υπόψη πως τα υδροξαμικά οξέα έχουν προσελκύσει ιδιαίτερη προσοχή τα τελευταία χρόνια λόγω των φαρμακολογικών ιδιοτήτων τους, σχεδιάστηκαν και παρασκευάστηκαν υδροξαμικά οξέα και παράγωγά τους και εξετάστηκε η ανασταλτική τους δράση έναντι της ATX.



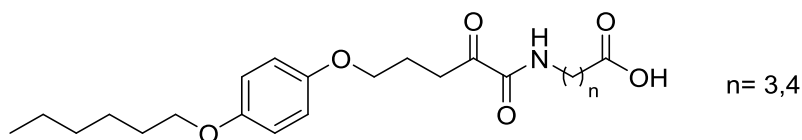
ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: Σύνθεση αναστολέων των PLA_2 και της ATX.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: φωσφολιπάση A_2 , αυτοταξίνη, οξοαμίδιο, υδροξαμικό οξύ, αναστολέας

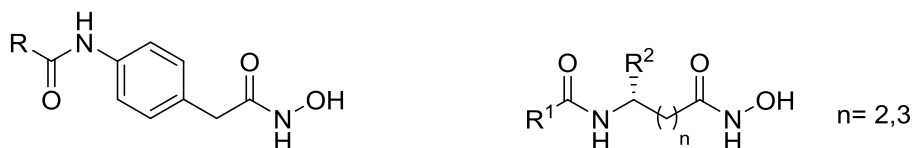
ABSTRACT

Phospholipases A_2 (PLA₂) are enzymes that hydrolyze the *sn*-2 ester bond of phospholipids releasing free fatty acids and lysophospholipids. Among them, arachidonic acid can be converted into a variety of eicosanoids by metabolic enzymes, while lysophosphatidylcholine (LPC), the most abundant lysophospholipid in plasma and tissues, can be converted into lysophosphatidic acid (LPA) by a secreted enzyme that exhibits lysophospholipase D activity, known as autotaxin (ATX). Both enzymes are involved in inflammatory conditions and, as a consequence, constitute attractive targets for the development of novel agents for the treatment of inflammatory diseases.

Due to the fact that molecules which bear the 2-oxoamide functional group and long aliphatic chains exhibit inhibitory activity against cytosolic GIVA cPLA₂, 2-oxoamides with reduced lipophilicity were designed and synthesized.



Taking into consideration that in recent years hydroxamic acids have attracted considerable attention due to their pharmacological properties, hydroxamic acids and derivatives thereof were designed and synthesized, so as to evaluate their inhibitory activity against ATX.



SUBJECT AREA: Synthesis of PLA₂ and ATX inhibitors.

KEYWORDS: phospholipase A_2 , autotaxin, oxoamide, hydroxamic acid, inhibitor

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών από το Νοέμβριο του 2012 έως το Σεπτέμβριο του 2016, υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Γεωργίου Κόκοτου. Το θέμα της διατριβής εντάσσεται στο πλαίσιο ευρύτερης έρευνας, που αφορά στην ανάπτυξη νέων αναστολέων Φωσφολιπασών A_2 και Αυτοταξίνης.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω πάρα πολύ τον Καθηγητή μου, κ. Γεώργιο Κόκοτο, για την ανάθεση του θέματος και την καθοδήγησή του καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης και συγγραφής της παρούσας εργασίας. Περισσότερο όμως τον ευχαριστώ για την εμπιστοσύνη που μου έχει δείξει όλα αυτά τα χρόνια, για το ειλικρινές ενδιαφέρον του και για τις αμέτρητες ευκαιρίες που μου έχει δώσει.

Ευχαριστώ θερμά την Καθηγήτρια του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών κ. Βιολέττα Κωνσταντίνου-Κόκοτου για τη βοήθειά της, τις πολύτιμες συμβουλές της και την εμπιστοσύνη που έδειξε προς το πρόσωπό μου.

Πάρα πολύ θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω την Επίκουρη Καθηγήτρια Βικτωρία Μαγκριώτη για την αγάπη της, το αμέριστο ενδιαφέρον της τόσο σε επιστημονικό όσο και σε προσωπικό επίπεδο και, κυρίως, για την ηρεμία που πάντα μου μετέδιδε.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω και στα μέλη της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής για την τιμή που μου έκαναν να διαβάσουν και να αξιολογήσουν την εργασία μου.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω πολύ τον Δρ. Βασίλη Αϊδίνη από το Ινστιτούτο Ανοσολογίας του Ερευνητικού Κέντρου Βιοϊατρικών Επιστημών «Αλέξανδρος Φλέμινγκ» για την ευκαιρία που μου έδωσε να διεξάγω εκεί τις μελέτες αναστολής των ενώσεων που συντέθηκαν στην παρούσα εργασία έναντι της Αυτοταξίνης, όπως και την Δρ. Ελεάννα Καφφέ που με δίδαξε και με βοήθησε πάρα πολύ στην πραγμάτωσή τους. Ακόμη, ευχαριστώ όλα τα παιδιά που με έκαναν να αισθανθώ κι εγώ ένα κομμάτι του εργαστηρίου.

Ένα ακόμη ευχαριστώ στον Prof. Edward Dennis του University of California στο San Diego και την ερευνητική του ομάδα για τις μελέτες αναστολής έναντι των Φωσφολιπασών A_2 .

Ευχαριστώ θερμά όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών για το πολύ ευχάριστο περιβάλλον και το φιλικό κλίμα που επικρατούσε. Επίσης, ευχαριστώ τις υποψήφιες διδάκτορες Χριστίνα Δεδάκη και Ευανθία Παπαδάκη με τις οποίες είχα την τύχη να βρίσκομαι στο ίδιο εργαστήριο, καθώς και τη μεταπτυχιακή φοιτήτρια Σοφία Κάββαλου.

Φυσικά, ευχαριστώ πάρα πολύ τους δικούς μου ανθρώπους που με στηρίζουν στο σπίτι και με αγαπούν.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω το πρόγραμμα του ΕΣΠΑ με τίτλο «Αυτοταξίνη (ΑΤΧ): Ένας καινούργιος φαρμακευτικός στόχος στον καρκίνο του πνεύμονα» με κωδικό αριθμό 09ΣΥΝ-11-679 που εντάσσεται στη Δράση Εθνικής Εμβέλειας «ΣΥΝΕΡΓΑΣΙΑ-Πράξη II» του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Ανταγωνιστικότητα και Επιχειρηματικότητα» (ΕΠΑΝ II), καθώς και το πρόγραμμα με τίτλο «Αναστολείς Φωσφολιπασών A_2 : Ανάπτυξη αλυσίδας φαρμακευτικής ανακάλυψης για την αντιμετώπιση φλεγμονωδών νευρολογικών διαταραχών» με κωδικό αριθμό 11ΣΥΝ-1-1258, που εντάσσεται στη Δράση Εθνικής Εμβέλειας «Συνεργασία 2011 - Συμπράξεις παραγωγικών και ερευνητικών φορέων σε εστιασμένους ερευνητικούς και τεχνολογικούς τομείς» του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Ανταγωνιστικότητα και Επιχειρηματικότητα» (ΕΠΑΝ II), για τη χρηματοδότηση της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	20
1. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΑΥΤΟΤΑΞΙΝΗ	21
1.1 Εισαγωγή.....	21
1.2 Το ένζυμο αυτοταξίνη	22
1.3 Φυσικά υποστρώματα της ATX	25
1.4 Φυσιολογικές λειτουργίες της ATX.....	25
1.5 LPA, ένα βιοδραστικό φωσφολιπίδιο	26
1.6 Ο ρόλος της ATX στη χρόνια φλεγμονή.....	26
1.6.1 Καρδιαγγειακές παθήσεις, παχυσαρκία και διαβήτης.....	27
1.6.2 Ρευματοειδής αρθρίτιδα	28
1.6.3 Πνευμονική ίνωση	28
1.6.4 Χρόνια ηπατίτιδα.....	29
1.7 Ο ρόλος της ATX στον καρκίνο	30
1.7.1 Έκφραση της ATX στον ανθρώπινο καρκίνο	30
1.8 Αναστολείς της ATX.....	31
1.8.1 <i>In vitro</i> μέθοδοι για την αξιολόγηση αναστολέων	31
1.8.2 Ενώσεις που αναστέλλουν την ATX.....	34
1.8.3 Κλινικές δοκιμές	45
2. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΥΔΡΟΞΑΜΙΚΑ ΟΞΕΑ.....	46
2.1 Εισαγωγή.....	46
2.2 Τα υδροξαμικά οξέα στη φύση	46
2.3 Σύνθεση.....	48
2.3.1 Σύνθεση με ενεργοποίηση του οξέος	48
2.3.2 Αντίδραση Angeli-Rimini	49
2.3.3 Σύνθεση σε στερεά φάση	50

2.3.4	Σύνθεση <i>N</i> -υποκατεστημένων υδροξαμικών οξέων	50
2.3.5	Σύνθεση με χρήση καταλυτών	51
2.4	Όξινες ιδιότητες και δομή	52
2.5	Δεσμοί υδρογόνου	53
2.6	Σύμπλοκα με μέταλλα.....	53
2.7	Σύμπλοκα υδροξαμικού οξέος στη χημική βιολογία.....	55
2.7.1	Συστήματα που περιέχουν Fe(III)	56
2.7.2	Συστήματα που περιέχουν Ni(II)	56
2.7.3	Συστήματα που περιέχουν Zn(II)	57
2.8	Φαρμακολογικές και βιολογικές δράσεις υδροξαμικών οξέων και παραγώγων τους	58
2.8.1	Απομάκρυνση μετάλλων	58
2.8.2	Αντιοξειδωτική δράση	60
2.8.3	Αντιμολυσματική δράση	60
2.8.4	Αντικαρκινική δράση	61
2.8.5	Αντιφλεγμονώδης δράση	67
2.8.6	Αντινευροεκφυλιστική δράση	68
2.8.7	Προστατευτική δράση έναντι καρδιαγγειακών νοσημάτων	69
2.9	Φάρμακα που είναι παράγωγα υδροξαμικών οξέων	69
2.9.1	Vorinostat.....	69
2.9.2	Υδροξουρία	70
2.9.3	Ακετουϋδροξαμικό οξύ (Lithostat)	70
2.9.4	Desferal	71
2.9.5	Belinostat (PXD101)	72
2.9.6	Panobinostat	72
3.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	74
4.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ ΥΔΡΟΞΑΜΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ ΩΣ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΤΗΣ ΑΤΧ	76

4.1	Σχεδιασμός των πιθανών αναστολέων.....	76
4.2	Σύνθεση υδροξαμικών οξέων βασισμένων στο 4-αμινοφαινυλοξικό οξύ.....	76
4.2.1	Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης	77
4.2.2	Σύνθεση του <i>N</i> -(4-(2-(υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)τετραδεκαναμιδίου 78	
4.2.3	Σύνθεση του <i>N</i> -(4-(2-(υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ) δεκαναμιδίου	79
4.2.4	Σύνθεση του <i>N</i> -(4-(2-(υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)-4- οκτυλβενζαμιδίου.....	80
4.2.5	Σύνθεση του <i>N</i> -(4-(2-(υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)-3-(4- οκτυλφαινυλ)προπαναμιδίου	80
4.2.6	Σύνθεση του <i>N</i> -υδροξυ-2-(4-(2-(4- οκτυλφαινοξυ)ακεταμιδο)φαινυλ)ακεταμιδίου	82
4.2.7	Σύνθεση του 5-([1,1'-διφαινυλο]-4-υλ)- <i>N</i> -(4-(2-(υδροξυαμινο)-2- οξοαιθυλ)φαινυλ)πενταναμιδίου	83
4.2.8	Σύνθεση του 5-(4-βουτοξυφαινυλ)- <i>N</i> -(4-(2-(υδροξυαμινο)-2- οξοαιθυλ)φαινυλ)πενταναμιδίου	84
4.2.9	Σύνθεση του <i>N</i> ¹ -(4-(2-(υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)- <i>N</i> ⁶ - φαινυλαδιπαμιδίου.....	85
4.2.10	Σύνθεση του <i>N</i> ¹ -(4-(2-(υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)- <i>N</i> ⁸ - φαινυλοκτανοδιαμιδίου	86
4.2.11	Σύνθεση του <i>N</i> -(5-((4-(2-(υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)αμινο)-5- οξοπεντυλ)βενζαμιδίου.....	87
4.2.12	Σύνθεση του 4-φθορο- <i>N</i> -(5-((4-(2-(υδροξυαμινο)-2- οξοαιθυλ)φαινυλ)αμινο)-5-οξοπεντυλ)βενζαμιδίου	88
4.2.13	Σύνθεση του <i>N</i> -(5-((4-(2-(υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)αμινο)-5- οξοπεντυλ)-4-μεθοξυβενζαμιδίου	89
4.2.14	Σύνθεση του <i>N</i> -(4-(2-(υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)-7- φαινυλεπταναμιδίου.....	90
4.3	Χαρακτηριστικά φάσματα υδροξαμικών οξέων βασισμένων στο 4- αμινοφαινυλοξικό οξύ.....	91

4.4	Σύνθεση διαφόρων παραγώγων του 4-αμινοφαινυλοξικού οξέος	95
4.4.1	Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης του καρβοξυλικού οξέος, της πενταφθοροαίθυλο κετόνης και του βενζαμιδίου	96
4.4.2	Σύνθεση του 2-(4-(6-οξο-6-(φαινυλαμινο)εξαναμιδο)φαινυλο)οξικού οξέος 96	
4.4.3	Σύνθεση του N^1 -(4-(3,3,4,4,4-πενταφθορο-2-οξοβουτυλ)φαινυλ)- N^6 -φαινυλαδιπαμιδίου.....	97
4.4.4	Σύνθεση του N^1 -(4-(2-((2-αμινοφαινυλ)αμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλο)- N^6 -φαινυλαδιπαμιδίου.....	99
4.4.5	Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης του βορονικού οξέος.....	99
4.4.6	Σύνθεση του (4-(6-οξο-6-(φαινυλαμινο)εξαναμιδο)φαινυλο)βορονικού οξέος 100	
4.5	Σύνθεση υδροξαμικών οξέων βασισμένων σε γλουταμινικό οξύ	100
4.5.1	Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης	101
4.5.2	Σύνθεση του (S)- N^1 -(1,5-δι(υδροξυαμινο)-1,5-διοξοπενταν-2-υλ)- N^6 -φαινυλαδιπαμιδίου.....	102
4.5.3	Σύνθεση του N^5 -υδροξυ- N^2 -(6-οξο-6-(φαινυλαμινο)εξανοϋλ)-L-γλουταμινικού μεθυλεστέρα.....	102
4.5.4	Σύνθεση του N^2 -(5-βενζαμιδοπεντανοϋλ)- N^5 -υδροξυ-L-γλουταμινικού μεθυλεστέρα.....	103
4.5.5	Σύνθεση του N^5 -υδροξυ- N^2 -(6-((4-μεθοξυφαινυλ)αμινο)-6-οξοεξανοϋλ)-L-γλουταμινικού μεθυλεστέρα.....	104
4.5.6	Σύνθεση του N^2 -(6-((4-φθοροφαινυλ)αμινο)-6-οξοεξανοϋλ)- N^5 -υδροξυ-L-γλουταμινικού μεθυλεστέρα.....	104
4.5.7	Σύνθεση του N^2 -(6-((4-αιθοξυφαινυλ)αμινο)-6-οξοεξανοϋλ)- N^5 -υδροξυ-L-γλουταμινικού μεθυλεστέρα.....	105
4.6	Σύνθεση υδροξαμικών οξέων βασισμένων στο αμινοαδιπικό οξύ (ομογλουταμινικό οξύ).....	106
4.6.1	Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης	106

4.6.2	Σύνθεση του (S)-6-(υδροξυαμινο)-6-οξο-2-(6-οξο-6-(φαινυλαμινο)εξαναμιδο)εξανοϊκού μεθυλεστέρα.....	107
4.6.3	Σύνθεση του (S)-6-(υδροξυαμινο)-6-οξο-2-(7-φαινυλεπταναμιδο)εξανοϊκού μεθυλεστέρα.....	108
4.7	Χαρακτηριστικά φάσματα υδροξαμικού οξέος βασισμένου στο γλουταμινικό οξύ	109
4.8	Σύνθεση υδροξαμικών οξέων βασισμένων στη δομή της δ-νορλευκίνης.....	111
4.8.1	Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης	112
4.8.2	Σύνθεση του (S)-N ¹ -(1-(υδροξυαμινο)-1-οξονοναν-5-υλ)-N ⁶ -φαινυλαδιπαμιδίου.....	113
4.8.3	Σύνθεση των (S)-N-υδροξυ-5-(3-(4-οξο-4-(φαινυλαμινο)βουτυλο)θειουριδο)εννεαμίδιο και (S)-N-υδροξυ-5-(3-(4-οξο-4-(φαινυλαμινο)βουτυλο)ουριδο)εννεαμίδιο	114
5.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΑΣΤΑΛΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ ΑΤΧ	116
5.1	Αξιολόγηση της ανασταλτικής δράσης έναντι της ΑΤΧ.....	116
5.1.1	Μελέτη δομής-δράσης υδροξαμικών οξέων βασισμένων στο 4-αμινοφαινυλοξικό οξύ	117
5.1.2	Συγκριτική μελέτη δομής-δράσης υδροξαμικού οξέος και διαφόρων παραγώγων.....	120
5.1.3	Μελέτη δομής-δράσης υδροξαμικών οξέων βασισμένων στο γλουταμινικό οξύ και σε δ-αμινοξέα	121
5.1.4	Συμπεράσματα.....	123
6.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ ΟΞΟΑΜΙΔΙΚΩΝ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΤΗΣ cPLA₂ ΜΕ ΜΕΙΩΜΕΝΗ ΛΙΠΟΦΙΛΙΚΟΤΗΤΑ	124
6.1	Σχεδιασμός των πιθανών αναστολέων.....	124
6.1.1	Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης	125
6.1.2	Σύνθεση του 5-(4-(εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-υδροξυπεντανοϊκού οξέος	126
6.1.3	Σύνθεση του 4-(5-(4-(εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-οξοπενταναμιδο)βουτανοϊκού οξέος	127

6.1.4	Σύνθεση του 5-(5-(4-(εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-οξοπενταναμιδο)πεντανοϊκού οξέος	127
6.2	Χαρακτηριστικά φάσματα 2-οξοαμιδικού παραγώγου	128
6.3	Μελέτη της ανασταλτικής ισχύος των οξοαμιδίων έναντι των φωσφολιπασών A ₂	130
	Τα αποτελέσματα των <i>in vitro</i> δοκιμών παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.	130
7.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ-ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΙ ΕΝΩΣΕΩΝ	132
7.1	Γενικό πειραματικό μέρος	132
7.1.1	Αντιδραστήρια	132
7.1.2	Χρωματογραφικός έλεγχος αντιδράσεων	132
7.1.3	Χρωματογραφικός καθαρισμός ενώσεων	133
7.1.4	Χαρακτηρισμός ενώσεων	133
7.1.5	Ενζυμικά πειράματα	134
7.2	Συνθετικές μέθοδοι – Χαρακτηρισμοί ενώσεων	134
	(S)-6-(Υδροξυαμινο)-6-οξο-2-(7-φαινυλεπταναμιδο)εξανοϊκός μεθυλεστέρας (145)	190
8.	ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ	204
9.	ΑΝΑΦΟΡΕΣ	207

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων.	48
Σχήμα 2: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων με χρήση αντιδραστήριων σύζευξης.....	48
Σχήμα 3: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων με χρήση προστατευτικής ομάδας.....	48
Σχήμα 4: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων μέσω ενεργοποίησης του οξέος.	49
Σχήμα 5: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων μέσω ενεργοποίησης με χλωρομυρμηκικούς εστέρες.	49
Σχήμα 6: Αντίδραση Angeli-Rimini.....	49
Σχήμα 7: Σύνθεση κυκλικών υδροξαμικών οξέων.....	50
Σχήμα 8: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων με χρήση <i>N</i> -συνδεμένης ρητίνης υδροξυλαμίνης.....	50
Σχήμα 9: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων με χρήση της ρητίνης Marshall.....	50
Σχήμα 10: Σύνθεση <i>N</i> -αρυλοϋδροξαμικών οξέων.	51
Σχήμα 11: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων μέσω οξείδωσης σιλυλιωμένων ιμινοαιθέρων.	51
Σχήμα 12: Μετατροπή <i>N</i> -ακυλοοξαζολιδινονών προς παράγωγα υδροξαμικών οξέων με χρήση τριφλικού σαμαρίου.....	51
Σχήμα 13: Σύνθεση <i>N</i> -αρυλοϋδροξαμικών οξέων καταλυόμενη από <i>N</i> -ετεροκυκλικά καρβένια.	51
Σχήμα 14: Δομές υδροξαμικών οξέων (46), υδροξαμικών ιόντων (47) και υδροξυμικών ιόντων (48) με παράθεση της <i>cis-trans</i> ισομέρειας (46α, 46β), της ταυτομέρειας (46β, 46γ) και των δομών συντονισμού (47α, 47β και 48α, 48β).	53
Σχήμα 15: Ενδομοριακοί δεσμοί υδρογόνου.....	53
Σχήμα 16: Αποπρωτονιωμένες μορφές υδροξαμικού οξέος που συμμετέχουν στη σύμπλεξη με μέταλλα.	54
Σχήμα 17: Παραδείγματα φυσικών υδροξαμικών σιδηροφόρων.....	56
Σχήμα 18: Σύμπλεξη του ακετοϋδροξαμικού οξέος στο διπύρρηνο ενεργό κέντρο της ουρεάσης <i>Bacillus pasteurii</i>	57

Σχήμα 19: Μοτίβο σύμπλεξης των υδροξαμικών οξέων στο Zn(II) ενεργό κέντρο των μεταλλοπρωτεϊνών όπως προσδιορίζεται από κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ.	58
Σχήμα 20: Η αμινοπεπτιδάση <i>Aeromonas proteolytica</i> αναστέλλεται από το υδροξαμικό οξύ της <i>p</i> -ιωδο-D-φαινυλαλανίνης.	58
Σχήμα 21: Φεροξαμίνη Β, σύμπλοκο της δεφεροξαμίνης Β με το σίδηρο.	59
Σχήμα 22: Αναστολείς της νευροτοξίνης botulinum.	60
Σχήμα 23: Τριχοστατίνη Α.	64
Σχήμα 24: Batimastat.	65
Σχήμα 25: Maramistat.	66
Σχήμα 26: Prinomastat.	66
Σχήμα 27: SAHA.	70
Σχήμα 28: Υδροξουρία.	70
Σχήμα 29: Ακετούδροξαμικό οξύ.	71
Σχήμα 30: Belinostat.	72
Σχήμα 31: Panobinostat.	72
Σχήμα 32: Υδροξαμικά οξέα βασισμένα στη δομή του 4-αμινοφαινυλοξικού οξέος που σχεδιάστηκαν και παρασκευάστηκαν ως πιθανοί αναστολείς της ATX.	77
Σχήμα 33: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης υδροξαμικών οξέων βασισμένων στη δομή του 4-αμινοφαινυλοξικού οξέος.	77
Σχήμα 34: Σύνθεση αιθυλεστέρα του 4-αμινοφαινυλοξικού οξέος.	78
Σχήμα 35: Σύνθεση της ένωσης 55 μέσω αντιδράσης σύζευξης.	78
Σχήμα 36: Μηχανισμός σύζευξης.	79
Σχήμα 37: Αντίδραση σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 56.	79
Σχήμα 38: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 58.	80
Σχήμα 39: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 60.	80
Σχήμα 40: Σύνθεση του οξέος 63.	81
Σχήμα 41: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 65.	81
Σχήμα 42: Μηχανισμός της αντίδρασης Wittig.	82

Σχήμα 43: Σύνθεση του οξέος 68.	82
Σχήμα 44: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 70.	83
Σχήμα 45: Σύνθεση του οξέος 74.	84
Σχήμα 46: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 76.	84
Σχήμα 47: Μηχανισμός δράσης του τριαιθυλο-4-φωσφονοκροτονικού διεστέρα.	84
Σχήμα 48: Σύνθεση του οξέος 80.	85
Σχήμα 49: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 82.	85
Σχήμα 50: Σύνθεση του οξέος 85.	86
Σχήμα 51: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 87.	86
Σχήμα 52: Σύνθεση του οξέος 89.	86
Σχήμα 53: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 91.	87
Σχήμα 54: Πορεία σύνθεσης του οξέος 95.....	87
Σχήμα 55: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 97.	88
Σχήμα 56: Πορεία σύνθεσης του οξέος 101.....	88
Σχήμα 57: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 103.	89
Σχήμα 58: Μηχανισμός της οξειδωσης Pinnick.....	89
Σχήμα 59: Πορεία σύνθεσης του οξέος 107.....	90
Σχήμα 60: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 109.	90
Σχήμα 61: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 111.	91
Σχήμα 62: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 82 σε DMSO-d ₆	92
Σχήμα 63: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 82 σε DMSO-d ₆	93
Σχήμα 64: Συγκριτικό φάσμα ^{13}C NMR του εστέρα 81 (πράσινο) και του υδροξαμικού οξέος 82 (κόκκινο) σε DMSO-d ₆	94
Σχήμα 65: Συγκριτικό φάσμα ^1H NMR των υδροξαμικών οξέων.	95
Σχήμα 66: Παράγωγα του υδροξαμικού οξέος 87.....	95
Σχήμα 67: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης παραγώγων υδροξαμικού οξέος.	96
Σχήμα 68: Πορεία σύνθεσης του καρβοξυλικού οξέος 112.....	97

Σχήμα 69: Πορεία σύνθεσης της πενταφθοροαιθυλοκετόνης 113.	97
Σχήμα 70: Μηχανισμός δράσης του $(\text{COCl})_2$ για την παρασκευή του ακυλοχλωριδίου..	98
Σχήμα 71: Μηχανισμός σύνθεσης των πενταφθοροαιθυλοκετονών.	99
Σχήμα 72: Πορεία σύνθεσης του βενζαμιδίου 114.	99
Σχήμα 73: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης του βορονικού οξέος-παραγώγου του υδροξαμικού οξέος 87.	100
Σχήμα 74: Πορεία σύνθεσης του βορονικού οξέος 117.	100
Σχήμα 75: Υδροξαμικά οξέα βασισμένα στο γλουταμινικό οξύ που παρασκευάστηκαν ως πιθανοί αναστολείς της ATX.....	101
Σχήμα 76: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης υδροξαμικών οξέων βασισμένων στη δομή του γλουταμινικού οξέος.	101
Σχήμα 77: Πορεία σύνθεσης του διυδροξαμικού οξέος 121.....	102
Σχήμα 78: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 122.	103
Σχήμα 79: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 124.	103
Σχήμα 80: Σύνθεση του οξέος 126.	104
Σχήμα 81: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 128.	104
Σχήμα 82: Σύνθεση του οξέος 130.	105
Σχήμα 83: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 132.	105
Σχήμα 84: Σύνθεση του οξέος 134.	105
Σχήμα 85: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 136.	106
Σχήμα 86: Υδροξαμικά οξέα βασισμένα στο αμινοαδιπτικό οξύ.....	106
Σχήμα 87: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης υδροξαμικών οξέων βασισμένων στη δομή του αμινοαδιπτικού οξέος.....	107
Σχήμα 88: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 143.	108
Σχήμα 89: Μηχανισμός της αντίδρασης Arndt-Eistert.....	108
Σχήμα 90: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 145.	109
Σχήμα 91: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 145 σε CD_3OD	110
Σχήμα 92: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 145 σε CD_3OD	111

Σχήμα 93: Υδροξαμικά οξέα βασισμένα στη δ-νορλευκίνη.	112
Σχήμα 94: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης υδροξαμικών οξέων βασισμένων στη δ-νορλευκίνη.	112
Σχήμα 95: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 153.	114
Σχήμα 96: Πορεία σύνθεσης των υδροξαμικών οξέων 159 και 160.....	115
Σχήμα 97: Μέθοδος προσδιορισμού της δράσης των πιθανών αναστολέων της ATX με το αντιδραστήριο Amplex red.	116
Σχήμα 98: 2-Οξοαμίδια ως πιθανοί αναστολείς της GIVA cPLA ₂	124
Σχήμα 99: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης της ένωσης 171.....	125
Σχήμα 100: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης της ένωσης 177.....	125
Σχήμα 101: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης του 2-υδροξυοξέος.....	126
Σχήμα 102: Σύνθεση του 5-(4-(εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-υδροξυπεντανοϊκού οξέος.....	126
Σχήμα 103: Σύνθεση του 4-(5-(4-(εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-οξοπενταναμιδο)βουτανοϊκού οξέος.....	127
Σχήμα 104: Σύνθεση του 5-(5-(4-(εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-οξοπενταναμιδο)πεντανοϊκού οξέος.....	128
Σχήμα 105: Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 171 σε CDCl ₃	129
Σχήμα 106: Φάσμα ¹³ C NMR της ένωσης 171 σε CDCl ₃	130

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Κατάλυση της υδρόλυσης του LPC σε LPA από την ATX με ενεργοποίηση των GPCRs. ⁵	22
Εικόνα 2: Ισομορφές της ανθρώπινης ATX. ⁸	22
Εικόνα 3: Κρυσταλλική δομή της ATX. ¹⁴	24
Εικόνα 4: Περιοχές της ATXβ τρωκτικών. ⁸	24
Εικόνα 5: Σύμπλοκα μετάλλων ή μεταλλοειδών (ομάδες 3-15) με υδροξαμικά οξέα χαρακτηρισμένα με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ (σκούρο γκρι) ή σε διάλυμα (ανοικτό γκρι). Τα κεντρικά μέταλλα των “μεταλλοστεμμάτων” φαίνονται υπογραμμισμένα.....	55

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Προέλευση και βιολογική δράση ορισμένων φυσικών υδροξαμικών οξέων.	47
Πίνακας 2: Παράγωγα υδροξαμικού οξέος ως αντικαρκινικά φάρμακα και τα ένζυμα-στόχοι τους.	61
Πίνακας 3: <i>In vitro</i> ανασταλτική ισχύς των βασισμένων στο 4-αμινοφαινυλοξικό οξύ υδροξαμικών οξέων έναντι του ενζύμου ATX	117
Πίνακας 4: <i>In vitro</i> ανασταλτική ισχύς διαφόρων παραγώγων έναντι του ενζύμου ATX	120
Πίνακας 5: <i>In vitro</i> ανασταλτική ισχύς των βασισμένων στο γλουταμινικό οξύ και σε δ-αμινοξέα υδροξαμικών οξέων έναντι του ενζύμου ATX	121
Πίνακας 6: <i>In vitro</i> ανασταλτική ισχύς των οξοαμιδίων έναντι των PLA ₂ .	131

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

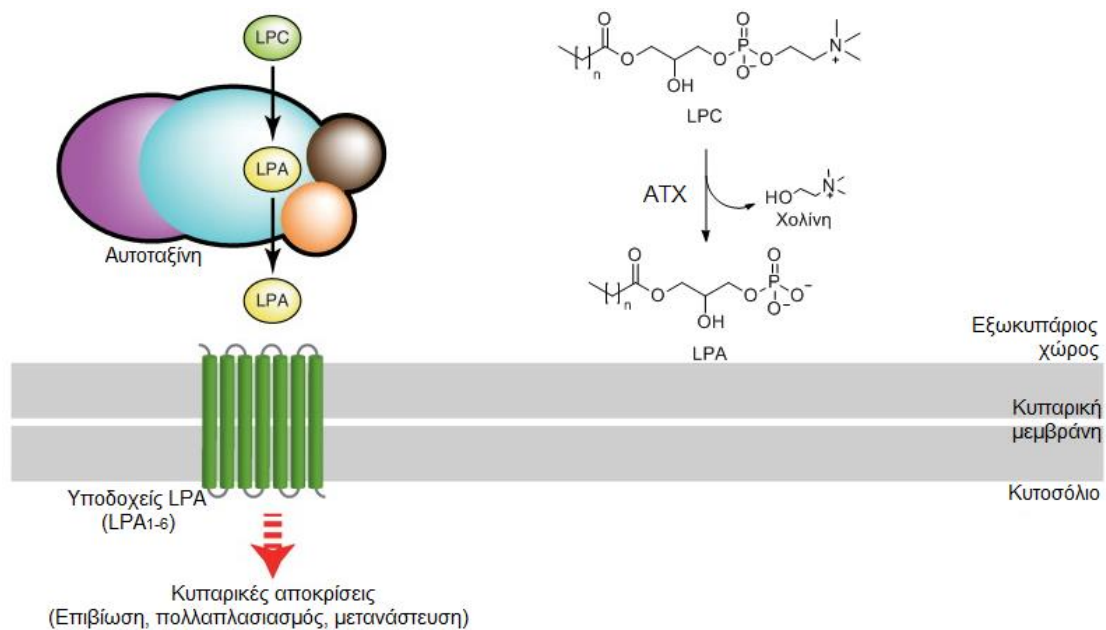
Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών κατά την περίοδο Νοεμβρίου 2012- Σεπτεμβρίου 2016, υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Γεωργίου Κόκοτου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΑΥΤΟΤΑΞΙΝΗ

1.1 Εισαγωγή

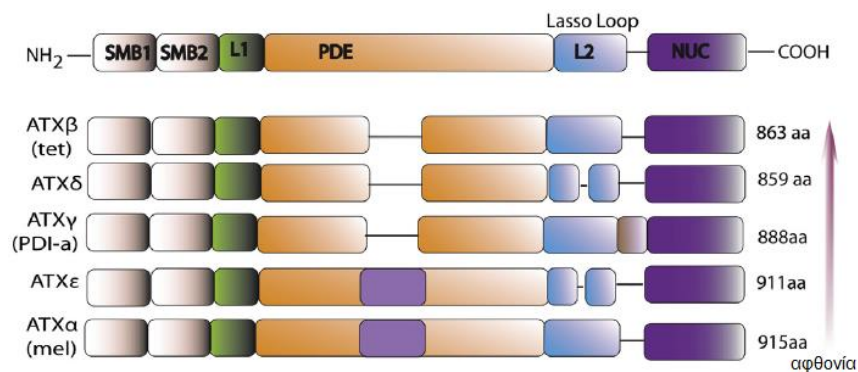
Η αυτοταξίνη (ATX), επίσης γνωστή ως πυροφωσφατάση/φωσφοδιεστεράση εκτονουκλεοτιδίων 2 (ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 2, ENPP2 ή NPP2), απομονώθηκε το 1992 και ανήκει στην οικογένεια των πυροφωσφατασών/φωσφοδιεστερασών νουκλεοτιδίων (ENPP ή NPP), οι οποίες υδρολύουν φωσφοδιεστερικούς δεσμούς νουκλεοτιδίων.¹ Η ATX είναι η μοναδική NPP που εκδηλώνει δράση εκκρινόμενης λυσοφωσφολιπάσης D (lysoPLD), καταλύοντας την υδρόλυση της λυσοφωσφατιδυλοχολίνης (lysophosphatidylcholine, LPC) προς το βιοδραστικό φωσφολιπίδιο λυσοφωσφατιδικό οξύ (lysophosphatidic acid, LPA) και χολίνη² (Εικόνα 1). Το LPA ενεργοποιεί τους συζευγμένους με πρωτεΐνες G υποδοχείς [G protein-coupled receptors, GPCRs, πιο συγκεκριμένα τους LPAR₁₋₆ (LPA Receptors) στα θηλαστικά],³ επάγοντας τη μετανάστευση, τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των κυττάρων. Η ATX παράγεται σε διάφορους ιστούς και είναι το κύριο ένζυμο παραγωγής LPA στην κυκλοφορία. Μετά τη βιοσύνθεση του από την ATX, το LPA υφίσταται αποικοδόμηση από δεσμευμένες στη μεμβράνη φωσφατάσες.⁴



Εικόνα 1: Κατάλυση της υδρόλυσης του LPC σε LPA από την ATX με ενεργοποίηση των GPCRs.⁵

1.2 Το ένζυμο αυτοταξίνη

Η ATX αποτελεί ένα ένζυμο μοριακού βάρους ~125kDa. Η ομολογία της με τις φωσφοδιεστεράσες αποκαλύφθηκε το 1994 με κλωνοποίηση του cDNA της. Μόλις το 2008 πραγματοποιήθηκε κλωνοποίηση και μελέτη της κατανομής στους ιστούς των τριών ισομορφών της (α , β και γ),⁶ ενώ το 2012 ανακαλύφθηκαν δύο ακόμη ισομορφές (δ και ϵ).⁷



Εικόνα 2: Ισομορφές της ανθρώπινης ATX.⁸

Η ATXα, η πρώτη ισομορφή που ταυτοποιήθηκε, είναι η λιγότερο εκφραζόμενη στο κεντρικό νευρικό σύστημα όπως και στους περιφερειακούς

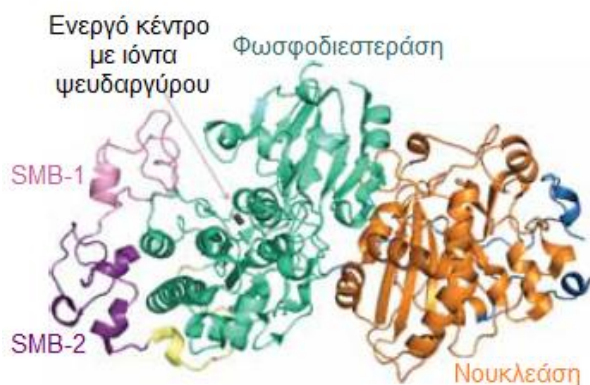
ιστούς.^{6,9} Η ATXβ αποτελεί την ισομορφή που βρίσκεται σε μεγαλύτερη αφθονία στους περιφερειακούς ιστούς τόσο στον άνθρωπο όσο και στα ποντίκια, ενώ εκφράζεται και στο κεντρικό νευρικό σύστημα σε χαμηλά επίπεδα, είναι πανομοιότυπη της LysoPLD του πλάσματος και ευθύνεται για την παραγωγή του LPA στην κυκλοφορία.² Αντιθέτως, η ATXγ απαντά κυρίως στο κεντρικό νευρικό σύστημα.⁶ Η ATXδ αποτελεί τη δεύτερη σημαντικότερη ισομορφή μετά την ATXβ, διαθέτοντας παρόμοιες βιοχημικές ιδιότητες με αυτή, ενώ η ATXε είναι η δεύτερη λιγότερο εκφραζόμενη μετά την ATXα.⁹

Η κρυσταλλική δομή της ATX ανακαλύφθηκε το 2011 από δύο ανεξάρτητες ομάδες.¹⁰ Ξεκινώντας από το N-τελικό άκρο, αποτελείται από δύο περιοχές τύπου σωματομεδίνης B (SMB1 και SMB2), μία κεντρική καταλυτική περιοχή φωσφοδιεστεράσης (PDE) και μία C-τελική περιοχή ανάλογη νουκλεάσης (NUC) (Εικόνες 2,3,4).

Η περιοχή SMB είναι πλούσια σε κυστεΐνη και συναντάται σε ένα μεγάλο αριθμό πρωτεϊνών.¹¹ Στην περίπτωση της ATX, οι N-τελικές SMB περιοχές εμφανίζονται σε όλες τις ισομορφές της και σταθεροποιούνται με τέσσερα ζεύγη δισουλφιδικών δεσμών,^{10b} που φαίνονται να προωθούν την αλληλεπίδραση της ATX (αμινοξέα His119, Asp122 και Asp129) με ενεργοποιημένα αιμοπετάλια μέσω της ιντεγκρίνης β3.^{10a,12}

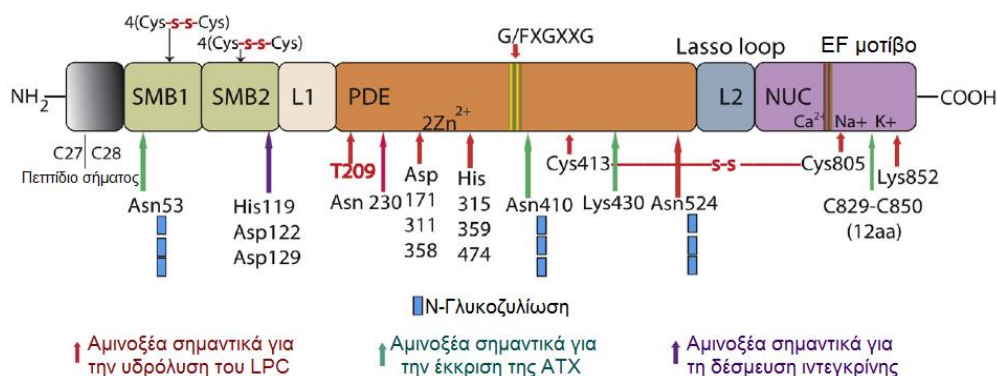
Μία θρεονίνη καθώς και δύο ιόντα ψευδαργύρου στο ενεργό κέντρο του ενζύμου, στην περιοχή PDE ευθύνονται για την υδρολυτική δράση της ATX.¹³ Στην ίδια περιοχή, πιο απομακρυσμένος από το ενεργό κέντρο, υπάρχει ένας υδροφοβικός θύλακας, στον οποίο συνδέονται οι άλκυλο- αλυσίδες των λιπιδικών υποστρωμάτων (LPA και LPC) με διαφορετικά μήκη αλυσίδας, διαφορετικούς βαθμούς κορεσμού και διαφορετικές διαμορφώσεις. Σημειακές μεταλλάξεις σε αμινοξέα του θύλακα αυτού στην ανθρώπινη ATX μειώνουν την παραγωγή του LPA.^{10b} Ακόμη, η ATX φαίνεται να έχει μία δεύτερη θέση δέσμευσης του LPA, ένα υδρόφοβο κανάλι που σχηματίζει μία διασταύρωση σε σχήμα T και οδηγεί τόσο στο ενεργό κέντρο όσο και στον υδρόφοβο θύλακα. Αυτός ο μοναδικός σχηματισμός της ATX, ο οποίος δεν απαντά στις άλλες NPPs, είναι ευέλικτος και πιθανώς κλειστός όταν απουσιάζουν τα λιπιδικά μόρια. Βρίσκεται ανάμεσα στην SMB1 και το καταλυτικό κέντρο και είναι πιθανό να χρησιμεύει επίσης ως είσοδος για τα υποστρώματα LPC και

ως έξοδος για το LPA, παρέχοντας ένα υδρόφοβο μικροπεριβάλλον για τη μεταφορά του LPA στους GPCRs.^{10a} Τέλος, η περιοχή PDE αλληλεπιδρά τόσο με τις περιοχές SMB όσο και με την NUC.



Εικόνα 3: Κρυσταλλική δομή της ATX.¹⁴

Η περιοχή NUC είναι επίσης απαραίτητη για την έκφραση της lysoPLD δράσης της ATX. Είναι ισχυρά συνδεδεμένη με την PDE περιοχή μέσω ενός βρόγχου-λάσου ("lasso" loop) 50 αμινοξέων. Η σύνδεση αυτή ενισχύεται από επτά δεσμούς υδρογόνου, εννέα γέφυρες άλατος και ένα δισουλφιδικό δεσμό ανάμεσα στην Cys413 της PDE περιοχής και στην Cys805 της NUC^{10b} (Εικόνα 3), ο οποίος αποδείχτηκε απαραίτητος για την καταλυτική δράση της ATX των αρουραίων.¹⁵ Η NUC περιλαμβάνει ακόμη ένα EF μοτίβο που θυμίζει "χέρι" και δεσμεύει ιόντα Ca^{2+} , Na^{+} και K^{+} (Εικόνα 4).^{10a} Τέλος, έχει προταθεί η παρουσία μίας ακόμη περιοχής στο C-τελικό άκρο της ATX η οποία καλείται MORFO (Modulator of Oligodendrocyte Remodeling and Focal adhesion Organization). Αυτή δεν εμπλέκεται στην παραγωγή του LPA, έχει όμως αναφερθεί ότι εκδηλώνει ιδιότητες αντι-συγκόλλησης και προκαλεί μορφολογική ωρίμανση των ολιγοδενδροκυττάρων.¹⁶



Εικόνα 4: Περιοχές της ATXβ τρωκτικών.⁸

1.3 Φυσικά υποστρώματα της ATX

Η ATX αποτελεί το κυριότερο ένζυμο που ευθύνεται για την παραγωγή του LPA στην κυκλοφορία του αίματος. Η καταλυτική της δράση φαίνεται να επηρεάζεται σημαντικά από το μέγεθος της λιπιδικής αλυσίδας του υποστρώματος, καθώς και από το βαθμό κορεσμού, αφού η σειρά προτίμησης της ATX για τα υποστρώματα LPC είναι $18:0 \ll 16:0 < 14:0 < 12:0$ και $18:0 \ll 18:1 < 18:3$.^{2a,6,10a} Ακόμη, η προτίμηση σε ένα υπόστρωμα μπορεί να αλλοιωθεί από την παρουσία δισθενών κατιόντων, όπως τα Co^{2+} και Mn^{2+} .¹⁷

Εκτός από την LPC, η ATX υδρολύει *in vitro* την σφιγγοσυλοφωσφορυλοχολίνη (SPC) προς παραγωγή 1-φωσφορικής σφιγγοσίνης (S1P).¹⁸ Παρ' όλα αυτά, η S1P πιστεύεται ότι προέρχεται κυρίως από τη φωσφορυλίωση της σφιγγοσίνης από κινάσες σφιγγοσίνης *in vivo* και όχι από την υδρόλυση της SPC μέσω της ATX, αφού τα επίπεδα της S1P ήταν αμετάβλητα στον ορό ετερόζυγων ποντικών που στερούνται ATX,¹⁹ ενώ στον ορό ποντικών από τα οποία είχε αφαιρεθεί η κινάση σφιγγοσίνης τα επίπεδα ήταν πολύ χαμηλά.²⁰ Η ATX μπορεί ακόμη να υδρολύει νουκλεοτίδια, σε μικρότερο όμως βαθμό.²¹

1.4 Φυσιολογικές λειτουργίες της ATX

Η έκφραση της ATX είναι απαραίτητη για την εμβρυική ανάπτυξη. Γενετική διαγραφή της ATX σε ποντίκια οδήγησε σε μη φυσιολογική αγγειακή και νευρωνική ανάπτυξη και τελικά στο θάνατο κατά την εμβρυική ημέρα E9.5.²² Το γεγονός αυτό οφείλεται στη μειωμένη παραγωγή του LPA, αφού στην κυκλοφορία των ποντικών αυτών τα επίπεδα του LPA ήταν μειωμένα κατά 50% του φυσιολογικού, ενώ η ελλιπής ανάπτυξή τους μπορούσε να αποκατασταθεί μετά από προσθήκη LPA *ex vivo*.^{22d}

Στην ενήλικη ζωή η ATX εκφράζεται ευρέως, με τα υψηλότερα επίπεδα mRNA να ανιχνεύονται στον εγκέφαλο,²³ στον πλακούντα, στις ωοθήκες, στο έντερο⁶ και στα υψηλά ενδοθηλιακά φλεβίδια (HEVs),²⁴ ενώ μέτρια επίπεδα έκφρασης εμφανίζονται στους νεφρούς, στον προστάτη, στους όρχεις, στο πάγκρεας, στο κόλον και στους πνεύμονες.⁶ Παρ' όλα αυτά, 50% μείωση των επιπέδων της ATX (και του LPA) του πλάσματος ποντικών δεν οδήγησε σε αλλαγές στο

φαινότυπο,^{22c,d} ενώ προκαταρκτικές έρευνες κατά τις οποίες έγινε ολική γενετική διαγραφή της ATX σε ενήλικα ποντίκια ή μακροχρόνια φαρμακολογική αναστολή της δεν αποκάλυψαν παθολογικές ενδείξεις, υποδηλώνοντας ότι το μεγαλύτερο ποσοστό έκφρασης της ATX δεν είναι απαραίτητο για την ενήλικη ζωή.

1.5 LPA, ένα βιοδραστικό φωσφολιπίδιο

Το LPA είναι ένα βιοδραστικό φωσφολιπίδιο που εμπλέκεται στη μεταγωγή σήματος μεταξύ των κυττάρων²⁵ και ανιχνεύεται στα περισσότερα βιολογικά υγρά, συμπεριλαμβανομένου του αίματος. Έχουν αναφερθεί πολλαπλές επιδράσεις του LPA σχεδόν σε κάθε τύπο κυττάρων *in vitro*.⁸ Οι περισσότερες από αυτές παρατηρήθηκαν σε συγκεντρώσεις του LPA πολύ υψηλότερες από τις φυσιολογικές, επομένως ενδέχεται να αποτελούν παθοφυσιολογικές επιπτώσεις των τοπικά αυξημένων συγκεντρώσεων του LPA σε σημεία φλεγμονής ή κακοήθειας (πιθανότατα ως αποτέλεσμα της αυξημένης έκφρασης της ATX). Οι κυριότερες επιπτώσεις περιλαμβάνουν αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού, καθώς και μορφολογικές και φυσιολογικές μετατροπές στα κύτταρα που οδηγούν σε αυξημένα επίπεδα πολλαπλασιασμού, επιβίωσης και μετανάστευσης.²⁶

Το μεγάλο φάσμα των επιδράσεων του LPA αποδίδεται στους LPARs 1-6. Οι LPARs ανήκουν στην οικογένεια πρωτεϊνών GPCRs, τη μεγαλύτερη οικογένεια μορίων κυτταρικής επιφάνειας που εμπλέκεται στη μεταγωγή σήματος. Οι GPCRs έχουν αποδειχθεί σημαντικοί παράγοντες στην ανάπτυξη όγκων και τη μετάσταση και είναι στόχοι αρκετών συνταγογραφούμενων φαρμάκων.²⁷ Η υπερέκφραση και η ενεργοποίηση των GPCRs είναι συνήθη φαινόμενα σε περιπτώσεις καρκίνου. Επιπλέον, οι GPCRs, συμπεριλαμβανομένων ενδεχομένως και των LPARs, αποτελούν στόχο βασικών φλεγμονωδών μεσολαβητών, παρέχοντας μια πιθανή σχέση μεταξύ της χρόνιας φλεγμονής και του καρκίνου.

1.6 Ο ρόλος της ATX στη χρόνια φλεγμονή

Οι πρώτες ενδείξεις για πιθανή εμπλοκή της ATX σε χρόνιες φλεγμονώδεις διαταραχές παρουσιάστηκαν με την παρατήρηση αυξημένης έκφρασης του ενζύμου στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό ασθενών με σκλήρυνση κατά πλάκας,²⁸

στο μετωπιαίο φλοιό ασθενών με άνοια τύπου Alzheimer,²⁹ σε ενεργά αστροκύτταρα μετά από τραυματισμό,³⁰ στην ενδοθηλιακά κύτταρα των HEVs κατόπιν χρόνιας φλεγμονής,³¹ στον ινώδη πνεύμονα³² και στο αρθρικό υγρό σε περίπτωση αρθριτικών.³³

1.6.1 Καρδιαγγειακές παθήσεις, παχυσαρκία και διαβήτης

Η αθηροσκλήρωση είναι μία χρόνια φλεγμονώδης νόσος του αρτηριακού τείχους που προκαλείται από το σχηματισμό αθηρωματικών πλακών στο εσωτερικό τοίχωμα των αρτηριών,³⁴ με την ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων, την προφλεγμονώδη έκκριση κυτοκίνης και τα μακροφάγα κύτταρα αφρού ως παθολογικά χαρακτηριστικά της νόσου.³⁵ Παράγοντες κινδύνου που συμβάλλουν στην παθολογία της αποτελούν η υπέρταση, η υπερχοληστερολαιμία, ο διαβήτης και η παχυσαρκία.³⁶

Το LPA αρχικά ταυτοποιήθηκε ως παράγοντας υπέρτασης.³⁷ Πολλές έρευνες αργότερα υποδηλώνουν ότι μπορεί να δρα επίσης ως ένας ενδογενής αθηρογόνος παράγοντας. Το LPA απελευθερώνεται στον ορό κατά το έμφραγμα του μυοκαρδίου,³⁸ έχει τη δυνατότητα, μετά από ρήξη της αθηρωματικής πλάκας, να ενεργοποιεί τα αιμοπετάλια και να ξεκινάει το σχηματισμό θρόμβου³⁹ και έχει προταθεί ότι επάγει την αθηροσκλήρωση ενισχύοντας τη διείσδυση των μονοκυττάρων του αίματος στον υποενδοθηλιακό χώρο του αγγειακού ιστού σε κουνέλια τα οποία τρέφονται με δίαιτα υψηλή σε χοληστερόλη.⁴⁰ Επιπλέον, αναστολή των LPAR σε ποντίκια μείωσε την αθηροσκλήρωση που προκαλείται από υπερλιπιδαιμία και ακόρεστα LPA επιτάχυναν το σχηματισμό αλλοιώσεων στα ποντίκια αυτά.⁴¹

Εκτός από το ρόλο τους στη θρομβογένεση, η ATX και το LPA εμπλέκονται επίσης στην παχυσαρκία, το διαβήτη και την αντίσταση στην ινσουλίνη. Έχει αποδειχτεί ότι στις περιπτώσεις παχυσαρκίας τα λιποκύτταρα παράγουν και εκκρίνουν εκτός των άλλων και LPA,⁴² ενώ η ATX μπορεί να προκαλέσει πολλαπλασιασμό προλιποκυττάρων.⁴³ Στον άνθρωπο, η έκφραση της ATX του λιπώδους ιστού είναι αυξημένη σε παχύσαρκους ασθενείς με δυσανεξία στη γλυκόζη σε σύγκριση με παχύσαρκους ασθενείς χωρίς συμπτώματα διαβήτη⁴⁴ και η ATX του σπλαχνικού λίπους αυξάνεται σε παχύσαρκους σε

σχέση με μη παχύσαρκους ασθενείς.⁴⁵ Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η έκφραση του mRNA της ATX είναι πάντοτε υψηλότερη στο υποδόριο λίπος από ότι στο σπλαχνικό τόσο σε παχύσαρκα όσο και σε μη παχύσαρκα άτομα.⁴⁵

1.6.2 Ρευματοειδής αρθρίτιδα

Η ρευματοειδής αρθρίτιδα είναι μια καταστροφική αρθροπάθεια, η οποία χαρακτηρίζεται από χρόνια φλεγμονή των αρθρώσεων που οδηγεί στην καταστροφή των χόνδρων και των οστών.⁴⁶ Η εξέλιξη της ασθένειας περιλαμβάνει μια σειρά από αυτοάνοσες και φλεγμονώδεις διεργασίες.

Αυξημένη έκφραση της ATX έχει ανιχνευθεί στο αρθρικό υγρό, καθώς και στους ορούς ασθενών και ζωικών μοντέλων με αρθριτικά.^{33,47} Γενετική διαγραφή του ενζύμου από τους ινοβλάστες του αρθρικού υμένα (SFs) -τα κύρια δραστικά κύτταρα στην παθογένεση της νόσου- και άλλα μεσεγχυματικά κύτταρα εξασθένησε την έκφραση της ATX και την εξέλιξη της νόσου σε φλεγμονώδη και αυτοάνοσα ζωικά μοντέλα,³³ γεγονός το οποίο θα μπορούσε να αποδοθεί σε μειωμένη σηματοδότηση του LPA στον αρθρικό υμένα, αφού έχει αποδειχθεί ότι το LPA ενεργοποιεί *in vitro* διάφορες λειτουργίες των SFs, όπως τον πολλαπλασιασμό, την προσκόλληση, τη μετανάστευση, την παραγωγή κυτοκίνης και μεταλλοπρωτεϊνάσης μήτρας (matrix metalloproteinase, MMP),^{33,48} όλα τα χαρακτηριστικά της επιθετικής συμπεριφοράς των SFs αρθριτικών.⁴⁹ Επομένως, αποδεικνύεται ότι η ATX και το LPA διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της νόσου.

1.6.3 Πνευμονική ίνωση

Η ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση (IPF) είναι μια χρόνια, εξελισσόμενη, ινωτική μορφή διάχυτης πνευμονικής νόσου που χαρακτηρίζεται από προοδευτική επιδείνωση των λειτουργιών του πνεύμονα λόγω αυξημένης αγγειακής διαπερατότητας, εξωαγγειακής πήξης, ενεργοποίησης του αυξητικού παράγοντα μετασχηματισμού-β (TGF-β), ανθεκτικότητας των ινοβλαστών και διαφοροποίησής τους σε μυοϊνοβλάστες, οι οποίοι εκκρίνουν υπέρμετρη ποσότητα κολλαγόνου.⁵⁰ Αυξημένη έκφραση της ATX έχει αναφερθεί σε ινωτικούς πνεύμονες ασθενών ανθρώπων και ζωικών μοντέλων,³² ενώ η υπό όρους γενετική διαγραφή της από βρογχικά επιθηλιακά κύτταρα ή κυψελιδικά

μακροφάγα εξασθένησε την εξέλιξη της ασθένειας στα ζωικά μοντέλα, γεγονός που αποδίδεται στη μειωμένη τοπική παραγωγή του LPA.³²

Η αποδεδειγμένη εμπλοκή των ATX και LPA στην πνευμονική φλεγμονή και ίνωση έχει διερευνηθεί ευρέως με *in vitro* μελέτες.⁵¹ Αξίζει να σημειωθεί ότι φαρμακολογική αναστολή της ATX³² ή ανταγωνισμός της LPAR1⁵² οδηγούν σε μείωση της νόσου, καθιστώντας την ATX και το LPA νέους θεραπευτικούς στόχους για την IPF.

1.6.4 Χρόνια ηπατίτιδα

Η χρόνια ιογενής ηπατίτιδα (HCV και HBV), η αυτοάνοση ηπατίτιδα και η στεατοηπατίτιδα είναι χρόνιες φλεγμονώδεις νόσοι που προκύπτουν μετά από επίμονη επιζήμια προσβολή του ήπατος. Κατεστραμμένα ηπατικά κύτταρα προκαλούν φλεγμονή οδηγώντας σε αυξημένη παραγωγή προφλεγμονώδων και προϊνωτικών παραγόντων, που ενεργοποιούν τα ηπατικά αστεροειδή κύτταρα και προωθούν τη διαφοροποίησή τους σε μυοϊνοβλάστες. Η αυξημένη εναπόθεση κολλαγόνου από τους μυοϊνοβλάστες οδηγεί σε ίνωση και τελικά κίρρωση, για την οποία δεν υπάρχει, επί του παρόντος, αποτελεσματική φαρμακευτική θεραπεία.⁵³

Αυξημένα επίπεδα δραστηριότητας της ATX στον ορό και του LPA στο πλάσμα έχουν αναφερθεί σε ασθενείς με χολοστατικές διαταραχές και κνησμό,⁵⁴ καθώς και σε ασθενείς με HCV.⁵⁵ Τα επίπεδα της ATX στον ορό σχετίζονται με το βαθμό ίνωσης και την ηπατική ακαμψία, καθιστώντας το ένζυμο προγνωστικό δείκτη της κίρρωσης, ξεπερνώντας τους καθιερωμένους δείκτες: APRI (δείκτης λόγου αμινοτρανσφεράσης/αιμοπεταλίων) και υαλουρονικό οξύ (HA).⁵⁶ Σε ζωικά μοντέλα, τα επίπεδα του LPA στο πλάσμα και η δραστηριότητα της ATX στον ορό αυξάνονται κατά την οξεία και τη χρόνια ηπατίτιδα που προκαλούνται από τοξίνες και έχει αποδειχθεί ότι σχετίζονται με τη σοβαρότητα της ηπατικής βλάβης. *In vitro*, το LPA διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των ηπατικών αστεροειδών κυττάρων αρουραίου⁵⁷ και αναστέλλει την απόπτωσή τους.⁵⁸ Τα παραπάνω δεδομένα καθιστούν το ρόλο των ATX και LPA στην ίνωση του ήπατος και στην ηπατίτιδα σημαντικό.

1.7 Ο ρόλος της ATX στον καρκίνο

Όπως αποδεικνύεται και από τη συσχέτιση μεταξύ χρόνιων φλεγμονώδων νόσων του εντέρου με τον αυξημένο κίνδυνο καρκινώματος του παχέος εντέρου, υπάρχουν στοιχεία που υποδεικνύουν ότι η χρόνια φλεγμονή μπορεί να προδιαθέσει καρκίνο. Αν και η μελέτη των ATX και LPA στον καρκίνο έχει προηγηθεί των μελετών για τη φλεγμονή, η ανακάλυψη του ρόλου τους στη χρόνια φλεγμονή προσθέτει μία επιπλέον παράμετρο στις πολλαπλές επιδράσεις τους στην ανάπτυξη καρκίνου.

1.7.1 Έκφραση της ATX στον ανθρώπινο καρκίνο

Η ATX αρχικά εντοπίστηκε στο υπερκείμενο κυτταρικών σειρών μελανώματος και χαρακτηρίστηκε ως αυτοκρινής παράγοντας κινητικότητας και διέγερσης όγκων.^{1b} Έκτοτε, αυξημένη έκφραση της ATX έχει αναφερθεί σε διάφορες άλλες μορφές καρκίνου, όπως του μαστού, του παγκρέατος, σε αιματολογικούς καρκίνους, σε γλοιοβλαστώματα, σε ηπατοκυτταρικά και θυρεοειδικά καρκινώματα, κ.ά. Επιπλέον, υψηλότερη έκφραση της ATX έχει αναφερθεί σε υπό διαφοροποίηση όγκους παρά σε τερματικώς διαφοροποιημένους και, σε ανεξάρτητες μελέτες, έχει συσχετισθεί με τη διηθητικότητα των καρκινικών κυττάρων, υπονοώντας μεγαλύτερη πιθανότητα μετάστασης των όγκων όπου εκφράζεται.⁸

Η ATX έχει δειχθεί *in vitro* ότι προστατεύει τα καρκινικά κύτταρα από την απόπτωση που επάγεται από την -ευρέως χρησιμοποιούμενη για τη θεραπεία του μεταστατικού και πρώιμου σταδίου καρκίνου του μαστού- ταξόλη.⁵⁹ Επιπλέον, η ATX μέσω σηματοδότησης του LPA φαίνεται να εμπλέκεται στην επίκτητη ανθεκτικότητα του νεφροκυτταρικού καρκινώματος έναντι στο sunitinib, έναν αναστολέα του υποδοχέα τυροσινικών κινασών (RTK),⁶⁰ και έναντι στο cisplatin και στην αδριαμικίνη σε καρκινικά κύτταρα ωοθηκών *in vitro*.⁶¹

Αυξημένα επίπεδα ATX του ορού έχουν αναφερθεί στη χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία και στο θυλακιώδες λέμφωμα.⁶² Ακόμη, το LPA φαίνεται να προκαλεί την εισβολή των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων στις στιβάδες στρωματικών κυττάρων,⁶³ να ρυθμίζει την πρόωρη αιμοποίηση⁶⁴ και να προωθεί τη μυελοειδή διαφοροποίηση στο μυελό των

οστών⁶⁵. Ως εκ τούτου, ένας πρωταρχικός ρόλος της ATX και της σηματοδότησης του LPA στην αιμοποίηση και την εκ νέου ενεργοποίησή της στις περιπτώσεις καρκίνου δεν είναι απίθανος.

Η υπερέκφραση της ATX σε καρκίνους πιθανότατα οδηγεί σε τοπικά αυξημένα επίπεδα του LPA. Πράγματι, αυξημένα επίπεδα LPA έχουν αναφερθεί στο πλάσμα ή/και στα υγρά ασκίτη ασθενών με καρκίνο των ωοθηκών⁶⁶ και του παγκρέατος,⁶⁷ ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα⁶⁸ και πολλαπλό μυέλωμα.⁶⁹

Αναμφισβήτητα, ο σημαντικός ρόλος της ATX στη χρόνια φλεγμονή και τον καρκίνο θα πυροδοτήσει μελλοντικές μελέτες.

1.8 Αναστολείς της ATX

Χάρη στη συσχέτισή της με παθολογικές καταστάσεις όπως είναι ο καρκίνος, η χρόνια φλεγμονή και οι ινωτικές νόσοι, η ATX αποτελεί έναν ελκυστικό φαρμακευτικό στόχο. Επομένως, μια πληθώρα συνθετικών χημικών αναστολέων της έχουν σχεδιαστεί και αναπτυχθεί. Μετά την ανακάλυψη ότι τα LPA και S1P αναστέλλουν την ATX *in vitro*,⁷⁰ πολλοί από τους πρώτους αναστολείς της ήταν λιπιδικά ανάλογα του LPA ή άλλων βιοδραστικών μορίων. Ωστόσο, έχουν αναπτυχθεί αρκετοί αναστολείς χαμηλού μοριακού βάρους με μεγάλη σημασία.

1.8.1 *In vitro* μέθοδοι για την αξιολόγηση αναστολέων

Κατά τα προηγούμενα χρόνια έχουν αναπτυχθεί *in vitro* μέθοδοι για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας της ATX και την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των αναστολέων της. Οι μέθοδοι αυτές θα μπορούσαν να χωρισθούν σε δύο κατηγορίες, με την πρώτη να περιλαμβάνει φυσικά υποστρώματα του ενζύμου, ενώ η δεύτερη μη φυσικά υποστρώματα.

1.8.1.1 Φυσικά υποστρώματα

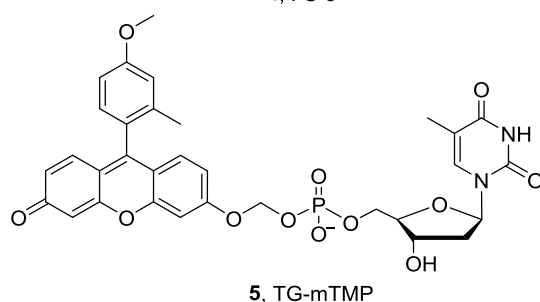
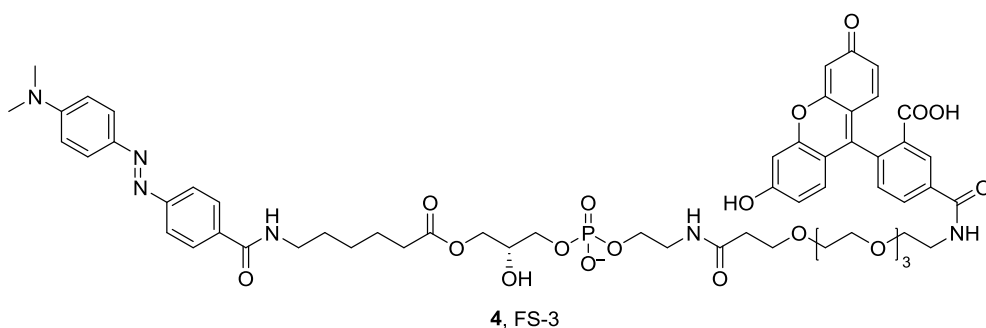
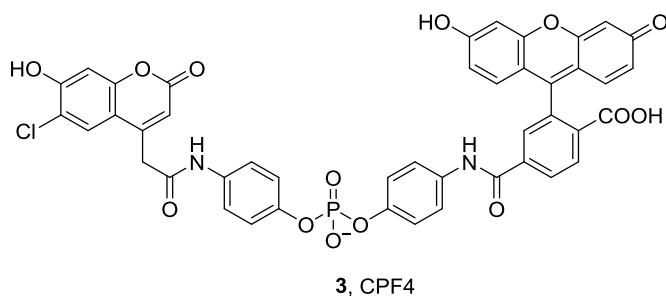
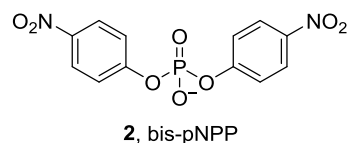
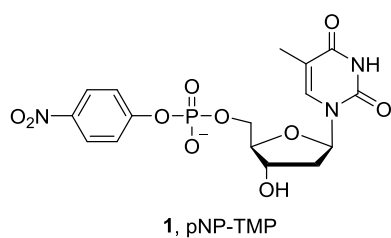
Η δραστηριότητα της ATX μπορεί να μετρηθεί με την ανίχνευση του παραγόμενου LPA κατά την υδρόλυση του LPC. Όταν LPC ιχνηθετημένο με ¹⁴C στη λιπιδική αλυσίδα υδρολύεται από την ATX, η δραστηριότητα του ενζύμου μπορεί να προσδιοριστεί ποσοτικά με ραδιομετρία του παραγόμενου ¹⁴C-LPA.⁷⁰⁻⁷¹ Ο σχηματισμός του LPA μπορεί επίσης να μετρηθεί με υγρή

χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας (LC-MS/MS).⁷² Η ανίχνευση του δεύτερου προϊόντος υδρόλυσης, της χολίνης, επίσης εφαρμόζεται για τη μέτρηση της δραστηριότητας του ενζύμου.^{2b,73} Η χολίνη μπορεί να μετατραπεί με οξειδάση της χολίνης σε βεταΐνη και υπεροξειδίο του υδρογόνου, το οποίο στη συνέχεια χρησιμοποιείται από την υπεροξειδάση αγριοράπανου (horseradish peroxidase, HRP) για να μετατρέψει ένα υπόστρωμα, όπως το 2,2'-αζινοδισ(3-αιθυλβενζοθειαζολινο-6-σουλφονικό οξύ) (ABTS), το ομοβανιλλικό οξύ (HVA), ή την 10-ακετυλο-3,7-διυδροξυφαινοξαζίνη (Amplex Red), στην οξειδωμένη του χρωμοφόρα μορφή. Έτσι, η παρακολούθηση αυτών των δοκιμασιών μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω χρωματομετρίας ή φθορισμού.⁷⁴

1.8.1.2 Μη φυσικά υποστρώματα

Αφού η ATX υδρολύει επίσης νουκλεοτίδια, το νουκλεοτίδιο pNP-TMP (thymidine 5'-monophosphate p-nitrophenyl ester, **1**) μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως υπόστρωμα για την παρακολούθηση της δραστηριότητας της ATX. Κατά την υδρόλυση του απελευθερώνεται *p*-νιτροφαινόλη, η οποία μπορεί να ανιχνευθεί με χρωματομετρία,^{2a,75} ενώ το ίδιο προϊόν σχηματίζεται και κατά την υδρόλυση του bis-pNPP [bis(*p*-nitrophenyl) phosphate, **2**] από την ATX.⁷⁰

Ένα συνθετικό υπόστρωμα του ενζύμου είναι το CPF4 (**3**), το οποίο έχει την ίδια βασική δομή με το bis-pNPP με τις δύο νίτρο- ομάδες να έχουν αντικατασταθεί από κουμαρίνη και φθορεσκεΐνη, ομάδες που αλληλεπιδρούν μέσω μεταφοράς ενέργειας συντονισμού φθορισμού (FRET) Förster. Μετά την υδρόλυση η FRET χάνεται, παρέχοντας ένα αντιδραστήριο προσδιορισμού με μεγάλη ευαισθησία.⁷⁶ Ένα ακόμη συνθετικό υπόστρωμα είναι το -βασισμένο στη δομή του LPC- FS-3 (**4**). Περιέχει μία φλουορεσκεϊνική ομάδα η οποία δεν φθορίζει εξαιτίας ενδομοριακής FRET με την DABCYL ομάδα, ενώ μετά από ενζυμική υδρόλυση γίνεται φθορίζουσα.⁷⁷ Τέλος, πολύ πρόσφατα αναπτύχθηκε ένα ευαίσθητο και εκλεκτικό υπόστρωμα, χρήσιμο στη μελέτη αναστολέων της ATX, το TG-mTMP (Tokyo Green meta-Thymidine MonoPhosphate) (**5**).⁷⁸



1.8.1.3 Μέθοδος βασισμένη στη δράση της ATX

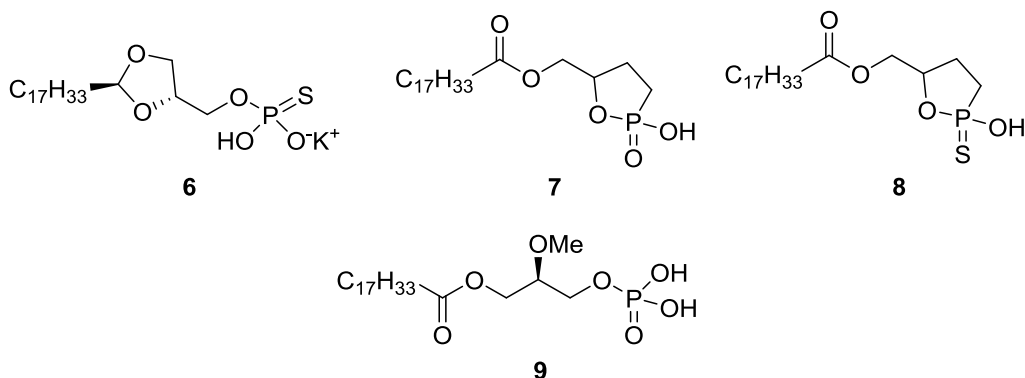
Έχουν σχεδιαστεί και συντεθεί αντιδραστήρια (activity-based probe, ABP) τα οποία βασιζόμενα στην καταλυτική δράση των ενζύμων στόχων χρησιμεύουν στην παρακολούθηση της λειτουργίας των ενζύμων σε σύνθετα βιολογικά συστήματα, στην ανακάλυψη βιοδεικτών και στην αναζήτηση αναστολέων.⁷⁹ Το ATX-ABP,⁸⁰ το οποίο συνδέεται ομοιοπολικά με το ενεργό κέντρο του ενζύμου, μπορεί να χρησιμεύσει στη μελέτη αναστολέα, καθώς και στον προσδιορισμό της δραστηριότητας της ATX σε βιολογικά υγρά.

1.8.2 Ενώσεις που αναστέλλουν την ATX

Η L-ιστιδίνη ήταν το πρώτο μόριο που αναφέρθηκε να αναστέλλει τη δράση της ATX ως λυσοφωσfolιπάση D σε συγκεντρώσεις της τάξης των mM. Ανέστειλε επίσης τη μετανάστευση των ανθρώπινων κυττάρων μελανώματος και καρκίνου των ωοθηκών που διεγείρεται από την ATX.⁸¹ Η ανασταλτική δράση της L-ιστιδίνης οφείλεται στην ιδιότητά της να σχηματίζει σύμπλοκα με μέταλλα, κυρίως με κατιόντα ψευδαργύρου, κάτι που είναι απαραίτητο για την αναστολή της ATX.

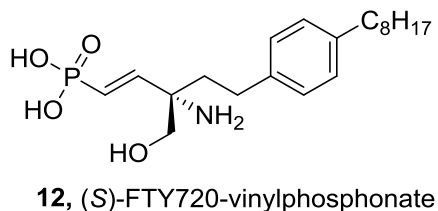
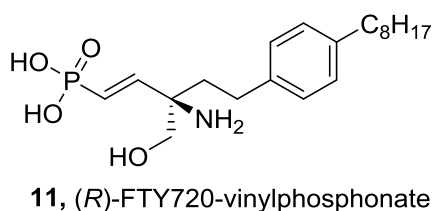
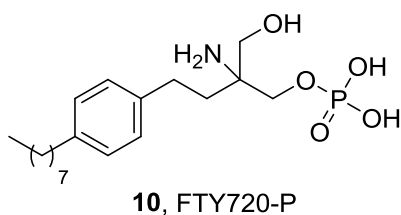
1.8.2.1 Λιπιδικά ανάλογα

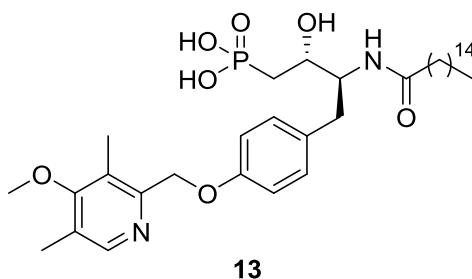
Πολλοί από τους πρώτους αναστολείς της ATX ήταν λιπιδικά ανάλογα του LPA ή άλλων βιοδραστικών μορίων. Τα 1-λινολεοϋλο- και 1-ολεοϋλολυσοφωσφατιδικά οξέα,⁸² καθώς και θειοφωσφορικά παράγωγα, όπως το παράγωγο **6** (IC_{50} = 252 nM, μέθοδος LPC), έχουν αναφερθεί να αναστέλλουν την ATX.⁸³ Μία άλλη κατηγορία αναστολέων της ATX βασίζεται στο cPA (cyclic phosphatidic acid),⁸⁴ το οποίο περιέχει έναν πενταμελή δακτύλιο μεταξύ της υδροξυ- ομάδας στη θέση sn-2 και της φωσφορικής στη θέση sn-3. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι το κάρβα- (στη θέση sn-3) ανάλογο cPA **7** (3ccPA 18:1, IC_{50} 294 nM, μέθοδος bis-pNPP), το οποίο κατάφερε να αναστείλει της πνευμονική μετάσταση των κυττάρων μελανώματος B16F10 σε ποντίκια.^{84a} Κάθε στερεοϊσομερές του **7** ανέστειλε την ATX *in vitro* και τη μετάσταση των κυττάρων μελανώματος *in vivo* χωρίς ιδιαίτερη στερεοχημική προτίμηση.^{84b} Ένα άλλο ανάλογο του cPA, το θειο-ccPA 18:1 (**8**), που είναι αναστολέας της ATX και ανταγωνιστής των LPAR1/3, προκάλεσε σημαντική μείωση στις βλάβες που προκαλεί η μετάσταση των κυττάρων μελανώματος στους πνεύμονες ποντικών.⁸⁵ Το ολεϋλ- παράγωγο **9** εμφάνισε τιμή IC_{50} 220 nM έναντι στην ATX (δοκιμασία FS-3).⁸⁶



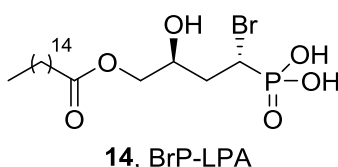
Η ένωση **10** (FTY720-P), το φωσφορυλιωμένο παράγωγο του FTY720 που είναι ένα εγκεκριμένο φάρμακο για τη θεραπεία της υποτροπιάζουσας σκλήρυνσης κατά πλάκας,⁸⁷ είναι ένας ανταγωνιστικός αναστολέας της ATX. Αποτελεί ανάλογο της σφιγγοσίνης και παρουσιάζει σταθερά αναστολή (K_i) περίπου 0.2 μ M (μέθοδος FS-3), τιμή σχεδόν διπλάσια από εκείνη της S1P,⁸⁸ ενώ και τα δύο εναντιομερή ενός βινυλοφωσφονικού αναλόγου του FTY720 (**11,12**) αποδείχθηκαν ισχυροί δόσοεξαρτώμενοι αναστολείς της ATX, με τιμή K_i της τάξης του 1 μ M.⁸⁹

β -Κετο- και β -υποκατεστημένες φωσφονικές ενώσεις βασισμένες στη δομή της τυροσίνης έχουν αναφερθεί ως αναστολείς της ATX. Η ένωση **13**, γνωστή ως VPC8a202, αναστέλλει της δράση της ATX κατά 73% σε συγκέντρωση 1 μ M (μέθοδος LPC).⁹⁰



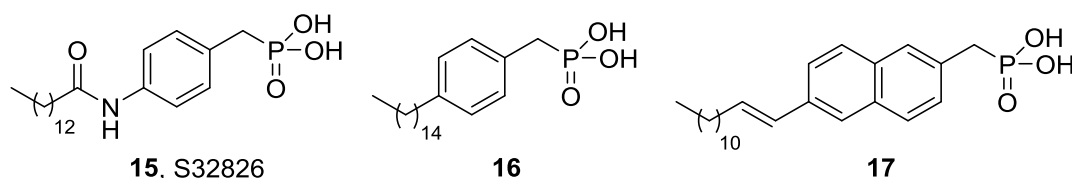


Τα α-υποκατεστημένα ανάλογα του LPA, όπως το BrP-LPA (**14**), είναι επίσης γνωστό ότι αναστέλλουν την ATX, αν και ασθενώς.⁹¹ Αν και το μη βρωμιωμένο παράγωγο είναι πιο ισχυρός αναστολέας της ATX, ο διπλός ρόλος του **14** ως αναστολέας του ενζύμου και ως ανταγωνιστής όλων των υποδοχέων του LPA οδήγησε σε περαιτέρω χρησιμότητά του σε αντικαρκινικά και αντιμεταστατικά μοντέλα για τη θεραπεία του καρκίνου. Καθένα από τα διαστερεομερή του BrP-LPA που έχουν συντεθεί αναστέλλουν την ATX περισσότερο από 98% σε συγκέντρωση 10 μ M. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί σαφής επίδραση δόσης-απόκρισης τόσο για το *syn*- όσο και για το *anti*- BrP-LPA, με το *anti*- ισομερές να είναι πιο ισχυρό (IC₅₀ 22 nM, μέθοδος FS-3).⁹² Η αναστολή της ATX και των υποδοχέων του LPA με BrP-LPA αποδείχθηκε αποτελεσματικότερη από τη θεραπεία με ταξόλη στη μείωση της πυκνότητας των αιμοφόρων αγγείων σε ιστούς όγκων σε τρία μοντέλα ξενομοσχεύματος καρκίνου του μαστού, του πνεύμονα και του παχέος εντέρου.⁹³



Με τεχνική διαλογής υψηλής απόδοσης (high-throughput screening, HTS) σε 13.000 διαφορετικές ενώσεις ξεχώρισε η ένωση S32826 (**15**), με τιμή IC₅₀ 5.6 nM (μέθοδος LPC).⁷⁴ Όμως, παρότι επέδειξε υψηλή ανασταλτική ικανότητα και σε μοντέλα κυττάρων, η χαμηλή της σταθερότητα ή/και βιοδιαθεσιμότητα *in vivo* δεν επέτρεψαν περαιτέρω χρήση σε ζωικά μοντέλα. Για να παρακαμφθούν τα προβλήματα διαλυτότητας, συντέθηκε και δοκιμάστηκε μία σειρά αναλόγων με διαφορετικούς υποκαταστάτες στην α-θέση ως προς την φωσφονική ομάδα του S32826, καθώς και άκυλο- αλυσίδες ίδιου ή μικρότερου μήκους. Από αυτά, ένα α-υδροξυμεθυλενο φωσφονικό ανάλογο με βραχύτερη άκυλο- αλυσίδα από εκείνη του S32826 εμφάνισε καλή ισχύ και

διαλυτότητα.⁹⁴ Σε μια πολύ πρόσφατη μελέτη, ένα παράγωγο του S32826 συζευγμένο με ένα δενδριμερές πολυαμιδοαμίνης (polyamidoamine, PAMAM) τρίτης γενιάς ανέστειλε τη δράση της ATX (IC_{50} 160 nM, μέθοδος FS-3) και μείωσε τη μετανάστευση μιας κυτταρικής σειράς καρκίνου των ωοθηκών τροποποιημένης ώστε να υπερεκφράζει την ATX.⁹⁵ Τα βένζυλο- (**16**, IC_{50} 0.17 μ M, μέθοδος FS-3) και ναφθαλέν-2-υλο- (**17**, IC_{50} 1.4 μ M, μέθοδος FS-3) ανάλογα του S32826, που δεν έχουν τον αμιδικό δεσμό, επέδειξαν υψηλή σταθερότητα *in vivo*, ανέστειλαν *in vitro* την εισβολή των ηπατικών κυττάρων MM1 στις μονοστιβάδες μεσοθηλιακών κυττάρων ποντικών και ανθρώπινων αγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων και μείωσαν σημαντικά τη μετάσταση των κυττάρων μελανώματος στους πνεύμονες ποντικού *in vivo*.⁹⁶



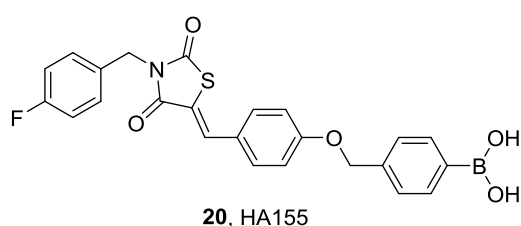
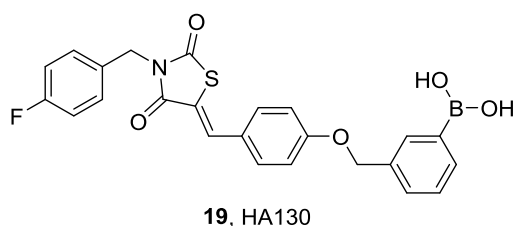
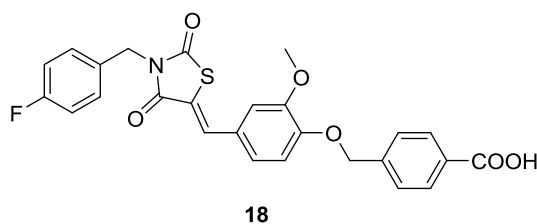
Αν και τα παραπάνω μικρά φωσφονικά μόρια δεν είναι ακριβώς ανάλογα φυσικών λιπιδίων, συμπεριλαμβάνονται σε αυτήν την ενότητα διότι φέρουν μια μακρά αλειφατική αλυσίδα. Εν γένει, ενώσεις με τόσο μακριές αλυσίδες δεν αναμένεται να παρουσιάζουν ευνοϊκές φαρμακοκινητικές ιδιότητες. Παρόλα αυτά, με ορισμένες αλλαγές στη δομή, μπορούν να αποτελέσουν τη βάση για την παραγωγή άλλων αναστολέων.

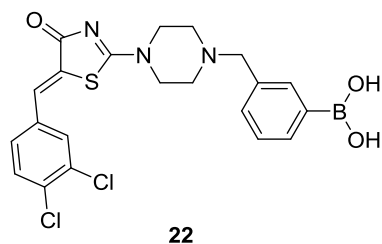
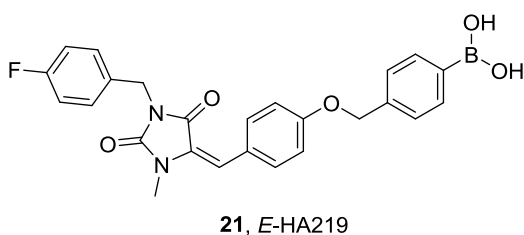
1.8.2.2 Μη λιπιδικά ανάλογα

Στη βιβλιογραφία υπάρχει μία σωρεία δομικά διαφορετικών μικρών μη λιπιδικών μορίων ως αναστολέων της ATX. Μία σημαντική κατηγορία τέτοιων αναστολέων περιλαμβάνει παράγωγα βορονικού οξέος, τα οποία σχεδιάστηκαν έτσι ώστε να στοχεύουν το πυρηνόφιλο οξυγόνο της καταλυτικής θρεονίνης.⁹⁷ Έπειτα από screening μιας βιβλιοθήκης περίπου 40.000 μικρών μορίων, μια θειαζολιδινεδιόνη (**18**, IC_{50} 2.5 μ M, μέθοδος LPC) ταυτοποιήθηκε ως ο πιο ισχυρός αναστολέας της ATX⁹⁸ και επιλέχθηκε ως βάση για περαιτέρω βελτιστοποίηση. Παράλειψη της μεθόξυ- ομάδας και αντικατάσταση του καρβοξυλικού οξέος με βορονικό οξύ σε meta- θέση οδήγησε στον αναστολέα HA130 (**19**, IC_{50} 28 nM, μέθοδος LPC), με περίπου 100 φορές αυξημένη ισχύ. Επιπλέον, ο HA130 μείωσε ραγδαία τα επίπεδα

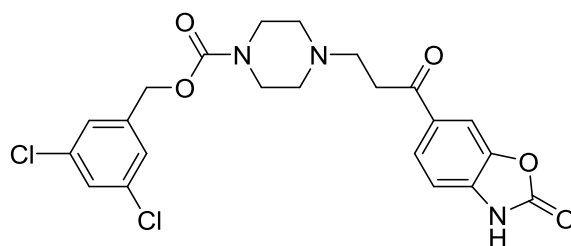
του LPA στο πλάσμα όταν χορηγήθηκε ενδοφλεβίως σε ποντίκια. Αργότερα, ο αναστολέας HA155 (**20**, IC_{50} 5.7 nM, μέθοδος LPC)⁹⁹ αποδείχθηκε περισσότερο από 400 φορές πιο ισχυρός έναντι στην ATX από την αρχική ένωση **18**. Ο προσδιορισμός της κρυσταλλικής δομής της ATX αρουραίων σε σύμπλεξη με τον HA155 επιβεβαίωσε την υποψία ότι το άτομο βορίου σχηματίζει έναν αναστρέψιμο ομοιοπολικό δεσμό με την πυρηνόφιλη υδροξυλομάδα της Thr209, ενώ το υδρόφοβο 4-φθοροβενζυλικό τμήμα στρέφεται προς το λιπιδικό υδροφοβικό θύλακα.¹⁰⁰ Περαιτέρω τροποποίηση στον πυρήνα θειαζολιδινο-2,4-διόνης του **20** οδήγησε στο σχεδόν εξίσου ισχυρό παράγωγο ιμιδαζολιδινοδιόνης **21** (IC_{50} 5.3 nM, μέθοδος LPC).⁹⁷ Αξίζει να σημειωθεί ότι η γεωμετρία του **21** (cis-/trans- ισομερές) δεν επηρεάζει σημαντικά την *in vitro* δραστηριότητα, αλλά οι μελέτες με docking αποκάλυψαν ότι το 4-φθοροβενζυλικό τμήμα του *E*-**21** λαμβάνει διαφορετική θέση μέσα στον υδρόφοβο θύλακα σε σύγκριση με τον **20**, γεγονός το οποίο επιτρέπει επιπλέον βελτιστοποίηση αυτού του τμήματος του μορίου και πιο αποτελεσματικό σχεδιασμό αναστολέων.

Το TG-mTMP, ένας ανιχνευτής φθορισμού που χρησιμοποιείται για τη διαλογή αναστολέων της ATX μέσα από μεγάλες χημικές βιβλιοθήκες, ανέδειξε βελτιστοποιημένους αναστολείς βασισμένους στο βορονικό οξύ.⁷⁸ Συγκεκριμένα, η ένωση **22** (3BoA) εμφάνισε ευνοϊκότερη μεταβολική σταθερότητα και ανέστειλε την ATX πιο ισχυρά από τον HA155 σε επωασμένο πλάσμα και δοκιμασίες κινητικότητας κυττάρων.

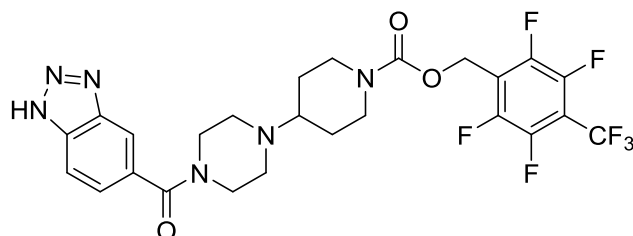




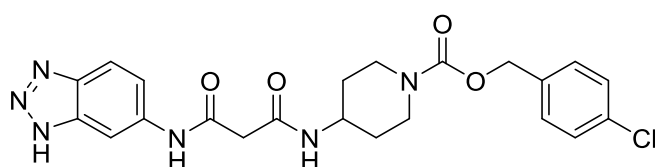
Το παράγωγο πιπεραζίνης **23** –ο πιο ισχυρός αναστολέας ATX μέχρι στιγμής- που δημοσιεύτηκε από τους ερευνητές της Pfizer ως PF-8380,¹⁰¹ παρουσίασε χαμηλές τιμές IC₅₀ της τάξης των nM έναντι του απομονωμένου ενζύμου (1.7 nM, μέθοδος LPC και 2.8 nM, μέθοδος FS-3) και 101 nM στο ολικό ανθρώπινο αίμα. Μία δόση από το στόμα του PF-8380 στα 30 mg/kg προκάλεσε >95% μείωση του LPA στο πλάσμα και στον αεροθύλακα επιμύων *in vivo* εντός τριών ωρών. Ακόμη, ο PF-8380 μείωσε τη φλεγμονώδη υπεραλγησία με την ίδια αποτελεσματικότητα όπως και τα 30 mg/kg ναπροξένης. Έχει επίσης αναφερθεί ότι η αναστολή της ATX με τον PF-8380 οδηγεί σε μείωση της εισβολής των κυττάρων του πολύμορφου γλοιοβλαστώματος και ενισχύει τη ραδιοευαισθησία τους. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η χορήγηση PF-8380 σε ποντίκια πριν από τη θεραπεία με ακτινοβολία προκαλεί καθυστέρηση της εξέλιξης του όγκου *in vivo*.¹⁰² Η σύνθεση και η δοκιμασία έναντι της ATX ορισμένων αναλόγων του PF-8380 υπέδειξαν ότι τα τμήματα των *μετα*-διχλωροβένζυλο και βενζο(*d*)οξαζολ-2(3H)-όνης είναι απαραίτητα για την υψηλή αναστολή. Αξίζει να σημειωθεί ότι δύο ενώσεις που φέρουν μόνο το τμήμα της βενζο[*d*]οξαζόλ-2(3H)-όνης, αν και λιγότερο δραστικά από τον PF-8380, αποδείχθηκαν περισσότερο κυτταροτοξικά για την κυτταρική σειρά γλοιοβλαστώματος LN229 από τον PF-8380 και την τεμοζολομίδα (TMZ).¹⁰³ Η Merck έχει επίσης αναπτύξει μία σειρά παραγώγων πιπεριδίνης και πιπεραζίνης ως αναστολέων της ATX, συμπεριλαμβανομένου του **23**.¹⁰⁴ Ενώσεις όπως οι **24** και **25** παρουσιάζουν ανασταλτική δράση έναντι του ενζύμου μικρότερη από 1 μM (μέθοδος LPC).



23, PF-8380

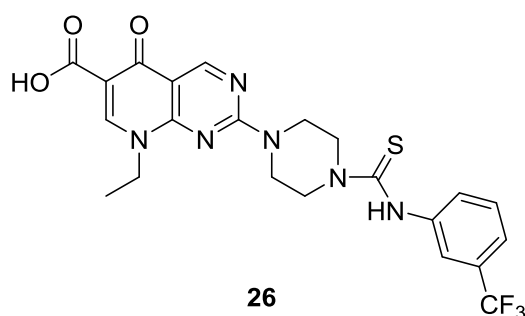


24



25

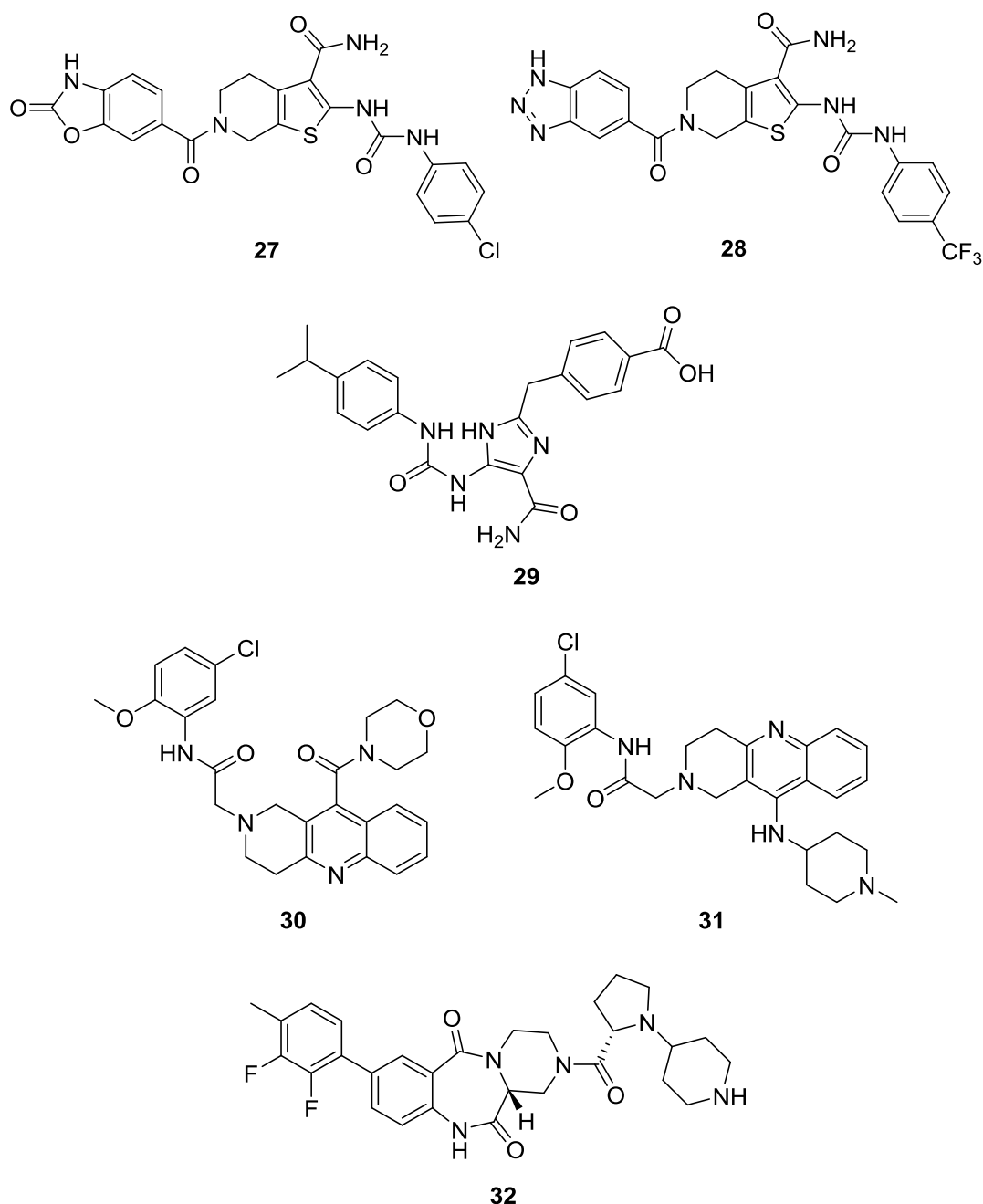
Υπολογιστικά πειράματα πρόσδεσης ανάμεσα σε μικρά μόρια υπέδειξαν τον βασισμένο στο πιπεμιδικό οξύ αναστολέα H2L 7905958.¹⁰⁵ Επομένως, μια σειρά παραγώγων του πιπεμιδικού οξέος βασισμένων στη δομή αυτού σχεδιάστηκαν, συντέθηκαν και δοκιμάστηκαν έναντι της ATX.¹⁰⁶ Οι μελέτες αυτές ανέδειξαν την ένωση **26**, που φέρει μία *μετα*- τριφθορομεθυλομάδα και βρέθηκε δύο φορές πιο ισχυρή από την αρχική ένωση (IC₅₀ 0.9 μM, K_i 0.7 μM, μέθοδος FS-3).



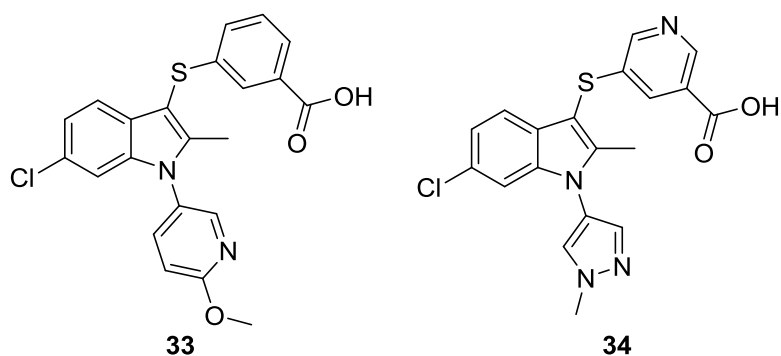
26

Η Merck έχει δημοσιεύσει αρκετές κατηγορίες αναστολέων της ATX. Οι ενώσεις που φέρουν τμήματα βενζοξαζολόνης ή βενζοτριαζολίου, όπως οι **27** και **28**, παρουσίασαν ανασταλτική δράση μικρότερη από 1 μM (μέθοδος LPC).¹⁰⁷ Ιμιδαζολικά παράγωγα, όπως το **29**, ανέστειλαν το ένζυμο με τιμές

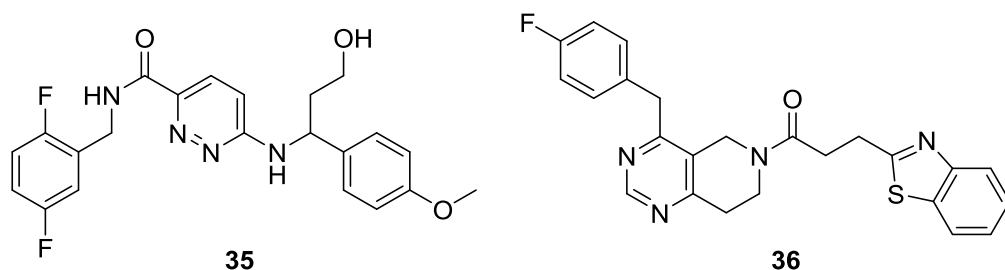
IC₅₀ 1-10 μM (μέθοδος LPC).¹⁰⁸ Τα βασισμένα στη δομή βενζοναφθυριδινάμινης μόρια **30** και **31** είχαν τιμές IC₅₀ μικρότερες από 100 nM και 1 μM αντίστοιχα (μέθοδος LPC).¹⁰⁹ Άλλες ετεροκυκλικές ενώσεις, όπως είναι η **32**, παρουσίασαν IC₅₀ από 100 nM έως 1 μM (μέθοδος LPC).¹¹⁰



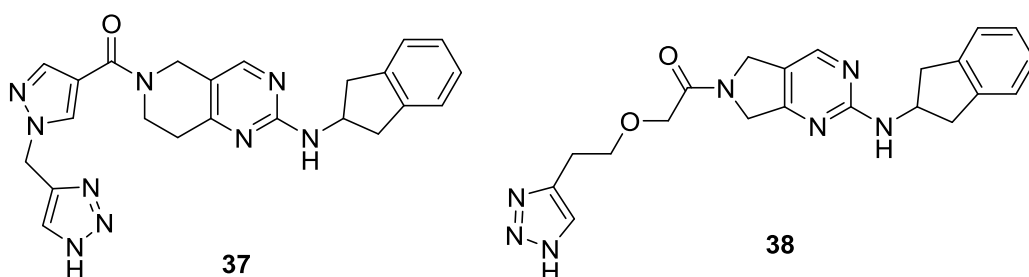
Η φαρμακευτική εταιρία Amira έχει παρουσιάσει υποκατεστημένα ινδολοθειοαιθερικά παράγωγα καρβοξυλικού οξέος ως αναστολείς της ATX, εκ των οποίων χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν τα **33** και **34**, με IC₅₀ μικρότερα από 0.3 μM (μέθοδος LPC).¹¹¹



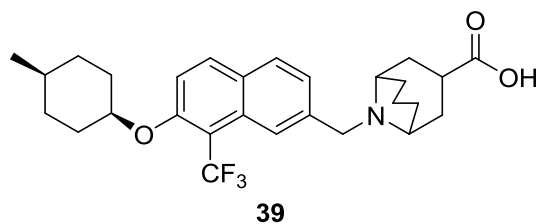
Το 2013 η Pfizer χαρακτήρισε ως αναστολείς της ATX ορισμένα παράγωγα πυριδαζίνης και τετραϋδροπυριδοπυριμιδίνης.¹¹² Πολλά από αυτά εμφάνισαν πολύ υψηλή ισχύ σε συγκεντρώσεις της τάξης των nM. Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα είναι οι ενώσεις **35** (IC₅₀ 14 nM, μέθοδος FS-3) και **36** (IC₅₀ 2.6 nM, μέθοδος FS-3).



Πιο πρόσφατα, η εταιρία Eli Lilly παρουσίασε παράγωγα πυριδο- ή πυρρολοπυριμιδίνης. Οι ενώσεις **37** και **38** εκδήλωσαν ανασταλτική δράση κατά της ATX, με τιμές IC₅₀ μικρότερες από 1.7 nM (μέθοδος LPC).¹¹³



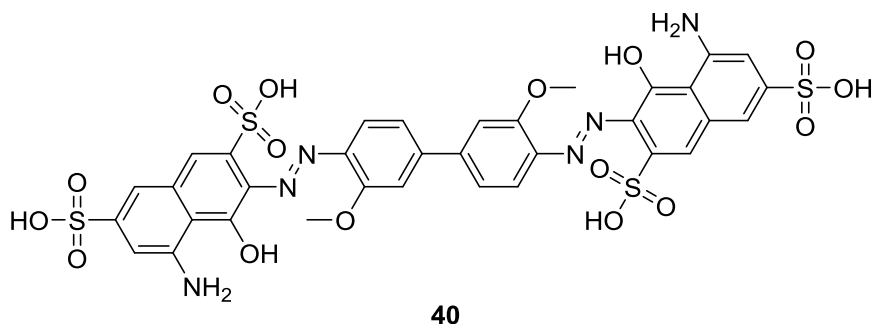
Η φαρμακευτική εταιρία Biogen πρότεινε διάφορες δικυκλικές αρυλικές ενώσεις όπως η **39** ως αναστολείς της ATX, από τις οποίες οι πιο ισχυρές εμφάνισαν τιμές IC₅₀ όχι μεγαλύτερες από 100 nM (μέθοδος FS-3).¹¹⁴



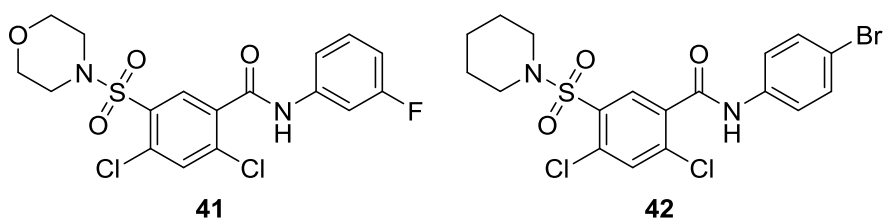
Η φαρμακευτική εταιρία ONO εισήγαγε τον βασισμένο στη δομή της τετραϋδροκαρβολίνης αναστολέα ONO-8430506, ο οποίος ανέστειλε εκλεκτικά τη δράση της ανασυνδυασμένης ανθρώπινης ATX ως lysoPLD με τιμές IC_{50} 5.1 nM (μέθοδος FS-3) και 4.5 nM (μέθοδος LPC). Όταν ο ONO-8430506 χορηγήθηκε από του στόματος σε επίμυες σε δόση 30 mg/kg, επέδειξε ικανοποιητική φαρμακοκινητική και ανέστειλε εντελώς τον σχηματισμό LPA στο πλάσμα ακόμα και μετά από 24 ώρες. Επιπλέον, κατάφερε να μειώσει την ενδοουρηθρική πίεση (IUP, intraurethral pressure) που συνοδεύεται από χαλάρωση της ουρήθρας *in vivo*.¹¹⁵ Σε μια άλλη μελέτη, που έγινε σε συγγενές ορθοτοπικό μοντέλο καρκίνου του μαστού σε ποντίκια, απεδείχθη ότι με αναστολή της ATX από τον ONO-8430506, τόσο η αρχική ανάπτυξη του όγκου όσο και τα επακόλουθα μεταστατικά οζίδια στον πνεύμονα μειώθηκαν κατά 60% σε σύγκριση με τα ποντίκια που δεν έλαβαν αγωγή.¹¹⁶

Η βιθειονόλη (K_i 66 μ M, μέθοδος FS-3) αναγνωρίστηκε ως αναστολέας της ATX ανάμεσα σε 960 ενώσεις από τη βιβλιοθήκη GenPlus. Ήταν σε θέση να μειώσει τη μετανάστευση των κυττάρων μελανώματος με δόσοεξαρτώμενο τρόπο σε *in vitro* δοκιμασίες κυτταρικής μετανάστευσης και εισβολής.¹¹⁷ Επιπλέον, η βιθειονόλη μείωσε εντυπωσιακά τη μετανάστευση των λεμφοκυττάρων στο έντερο σε ένα μοντέλο κολίτιδας.¹¹⁸

Με βάση τα χημικά χαρακτηριστικά και τις ιδιότητες των ήδη γνωστών αναστολέων, προέκυψε η ένωση **40** από τις βάσεις δεδομένων του Εθνικού Ινστιτούτου Καρκίνου (National Cancer Institute, NCI). Αυτό το παράγωγο ναφθαλενοσουλφόνης, γνωστό ως NSC 9616, αναγνωρίστηκε ως ο πιο αποτελεσματικός αναστολέας μεταξύ άλλων δομικώς παρόμοιων μορίων, με τιμή K_i 271 nM (μέθοδος FS-3).¹¹⁹

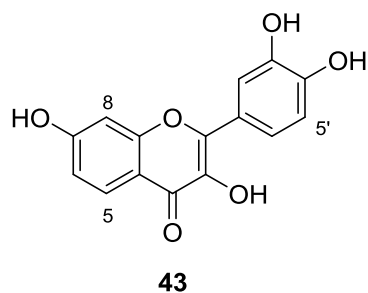


Το 2013, το αρωματικό σουλφοναμίδιο **41** ταυτοποιήθηκε ως αναστολέας της ATX, με HTS περίπου 10.000 ενώσεων από τις βάσεις δεδομένων του κέντρου ανακάλυψης φαρμάκων του Πανεπιστημίου του Σινσινάτι (University of Cincinnati Drug Discovery Center, UC-DDC). Με εκτέλεση υπολογιστικής πρόσδεσης και πειραμάτων μεταλλαξιγένεσης, προτάθηκε ότι ο αναστολέας **41** (IC_{50} 32 nM, μέθοδος FS-3) εκδηλώνει τη δράση του αλληλεπιδρώντας με τον υδρόφοβο θύλακα του ενζύμου, εμποδίζοντας έτσι την πρόσβαση στο ενεργό του κέντρο.¹²⁰ Πιο πρόσφατα, εικονικό screening αποκάλυψε ένα άλλο παράγωγο σουλφοναμιδίου (**42**), με τιμή IC_{50} 21 nM (μέθοδος FS-3).¹²¹ Τα παράγωγα **41** και **42** προκαλούν μείωση της εισβολής των A2058 κυττάρων του ανθρώπινου μελανώματος, εξαρτώμενη από τη συγκέντρωση.



Το φυσικό προϊόν Gintonin, που απομονώθηκε από τζίνσενγκ, βρέθηκε να αναστέλλει την ATX με εξαρτώμενο από τη συγκέντρωση τρόπο, με μια τιμή IC_{50} περίπου 350 nM (μέθοδος FS-3). Επίσης, ανέστειλε τη μετάσταση στους πνεύμονες και κατέστειλε σημαντικά την ανάπτυξη του όγκου που προκαλείται από υποδόρια μοσχεύματα κυττάρων μελανώματος *in vivo*.¹²²

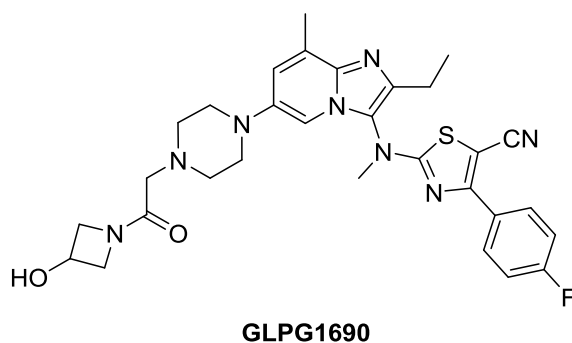
Διάφορα αντιοξειδωτικά, συμπεριλαμβανομένων πολυφαινόλων και φαινολικών οξέων, έχουν επίσης δοκιμαστεί για την ανασταλτική τους δράση έναντι της ATX. Μεταξύ αυτών, οι φλαβονόλες myricetin, robinetin και quercetagenin -που φαίνονται στη δομή **43**- βρέθηκαν να είναι οι πιο ισχυρές.¹²³



flavonol	C5	C8	C5'
myricetin	OH	-	OH
robinetin	-	-	OH
quercetagetin	OH	OH	-

1.8.3 Κλινικές δοκιμές

Μέχρι σήμερα, μόνο ένας αναστολέας της ATX έχει προχωρήσει σε κλινικές δοκιμές. Ο GLPG1690,¹²⁴ που αναπτύχθηκε από τη φαρμακευτική εταιρία Galapagos, έχει βρεθεί ότι δρα ως ισχυρός αναστολέας τόσο έναντι στην ATX ποντικού όσο και στην ανθρώπινη ATX με τιμές IC_{50} 224 nM και 131 nM, αντίστοιχα, (μέθοδος LPC) και έχει εμφανίσει υψηλή δράση σε προκλινικό μοντέλο για την IPF. Έχει ολοκληρώσει με επιτυχία τη φάση 1 κλινικών δοκιμών, όπου διαπιστώθηκε ότι είναι ανεκτός έως μία από του στόματος δόση των 1500 mg και έως 1000 mg δύο φορές ημερησίως για 14 ημέρες. Ακόμη, ο αναστολέας αποδείχτηκε ικανοποιητικά βιοδιαθέσιμος με $t_{1/2}$ = 5 h, ενώ έχει βρεθεί ότι μειώνει τα επίπεδα του LPA18:2 στο πλάσμα με τρόπο ανάλογο με τη συγκέντρωσή του. Ο GLPG1690 σήμερα βρίσκεται στη φάση 2 κλινικών δοκιμών για την IPF.



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΥΔΡΟΞΑΜΙΚΑ ΟΞΕΑ

2.1 Εισαγωγή

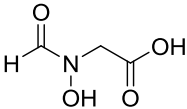
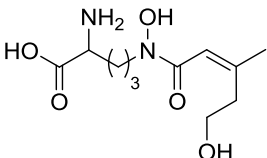
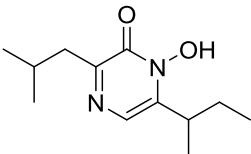
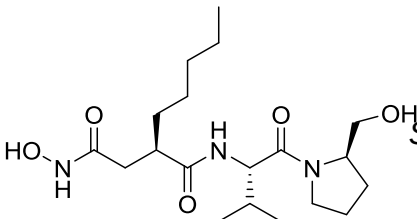
Η χημεία των υδροξαμικών οξέων ξεκίνησε το 1869, όταν ο Heinrich Lossen¹²⁵ απομόνωσε το οξαλοϋδροξαμικό οξύ από τα προϊόντα της αντίδρασης του οξαλικού διαιθυλεστέρα με υδροξυλαμίνη.¹²⁶ Έκτοτε, έχει διεξαχθεί σημαντική έρευνα σχετικά με το σχεδιασμό, τη σύνθεση και τη σχέση δομής-δραστικότητας (Structure-Activity Relationships, SAR) τους.¹²⁷ Τα υδροξαμικά οξέα είναι οργανικές ενώσεις της μορφής $R_C C(O)N(R_N)OH$ (όπου R_C =αλκυλ/αρυλ, R_N =αλκυλ/αρυλ/H), πολύ ασθενέστερα οξέα από τα αντίστοιχα καρβοξυλικά οξέα.¹²⁸ Τις τελευταίες δεκαετίες, η χημεία και η βιοχημεία των υδροξαμικών οξέων και των παραγώγων τους έχουν προσελκύσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, καθόσον παρουσιάζουν ένα ευρύ φάσμα δράσεων, όπως η ικανότητα να αναστέλλουν έναν αριθμό ενζύμων¹²⁹ και όγκων.¹³⁰ Επιπλέον, τα υδροξαμικά οξέα δρουν ως σιδηροφόρα του σιδήρου (III),¹³¹ χρησιμοποιούνται ως εντομοκτόνα,¹³² αντιμικροβιακά,¹³³ και ρυθμιστές ανάπτυξης φυτών.¹³⁴ Στη βιομηχανία χρησιμεύουν ως αντιοξειδωτικά¹³⁵, ως αναστολείς της διάβρωσης,¹³⁶ για την απόσπαση τοξικών στοιχείων,¹³⁷ ως μέσο επίπλευσης των ορυκτών,¹³⁸ καθώς και ως διακόπτες οξειδοαναγωγής για ηλεκτρονικές συσκευές.¹³⁹

2.2 Τα υδροξαμικά οξέα στη φύση

Η ικανότητα των υδροξαμικών οξέων να δίνουν ισοκυανικούς εστέρες με θέρμανση (αναδιάταξη Lossen)¹⁴⁰ και να σχηματίζουν έγχρωμα σύμπλοκα με το σίδηρο αναγνωρίστηκε σύντομα μετά την ανακάλυψή τους. Ωστόσο, η ιδιαίτερη προτίμηση του υδροξαμικού ανιόντος για το ιόν τρισθενούς σιδήρου φαίνεται να είχε ανακαλυφθεί εκατομμύρια χρόνια νωρίτερα, από κύτταρα ζώντων οργανισμών -κυρίως μικροοργανισμών- που χρειάζονταν τέτοιους παράγοντες για τον μεταβολισμό του σιδήρου. Τα υδροξαμικά οξέα που απαντούν στη φύση συντίθενται από μικροοργανισμούς (σιδηροφόρα) και φυτά (βενζοξαζινοειδή).¹⁴¹ Στον Πίνακα 1 φαίνονται ορισμένα φυσικά

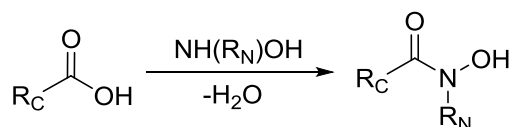
υδροξαμικά οξέα, καθώς και η προέλευσή τους και η βιολογική τους δράση. Τα περισσότερα προέρχονται από μύκητες, συναντώνται όμως και στη ζύμη, στα βακτήρια και στα πράσινα φυτά. Υφίστανται μόνο- δι- και τρι- υδροξαμικά οξέα, ανάλογα με τον αριθμό των ομάδων -CON(OH)- που περιέχουν. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η ομάδα υδροξαμικού οξέος εμφανίζεται τόσο σε αλειφατικές όσο και σε κυκλικές δομές, εκ των οποίων οι περισσότερες σχετίζονται με αυτές των αμινοξέων. Παραδείγματος χάρη, το αμινοξύ N^δ -υδροξυορνιθίνη εμφανίζεται στη φουσαρινίνη, ενώ το ασπεργιλλικό οξύ και τα υποκατεστημένα παράγωγά του σχετίζονται στενά με τους ανυδρίτες αμινοξέων και με τις δικετοπιπεραζίνες.¹⁴²

Πίνακας 1: Προέλευση και βιολογική δράση ορισμένων φυσικών υδροξαμικών οξέων

Όνομα	Δομή	Προέλευση	Βιολογική δράση
Χαδασιδίνη		<i>Penicillium aurantioviolaceum</i>	Παράγοντας κατά των όγκων
Φουσαρινίνη		<i>Fusarium roseum</i>	
Ασπεργιλλικό οξύ		<i>Aspergillus flavus</i>	Αντιβιοτικό
Ακτινονίνη		<i>Streptomyces</i> sp.	Αντιβιοτικό

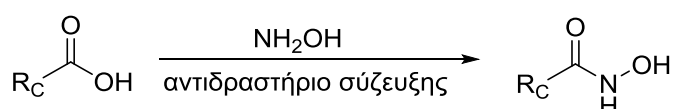
2.3 Σύνθεση

Τα υδροξαμικά οξέα συντίθενται από την αντίδραση μεταξύ ενός καρβοξυλικού οξέος ή παραγώγου του και υδροξυλαμίνης ($R_N=H$) ή μίας N-αλκυλο/αρυλο υδροξυλαμίνης.



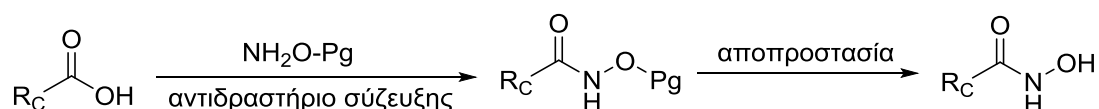
Σχήμα 1: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων.

Η παραπάνω αντίδραση μπορεί επίσης να επιτευχθεί με χρήση κατάλληλων αντιδραστήρια σύζευξης όπως EDC, BOP και DIC. Εφαρμογές της στρατηγικής αυτής έχουν πραγματοποιηθεί στις συνθέσεις πολλών βιολογικά σημαντικών μόριων.¹⁴³



Σχήμα 2: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων με χρήση αντιδραστήριων σύζευξης.

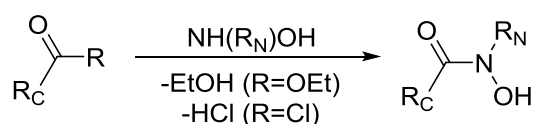
Προστατευμένες υδροξυλαμίνες χρησιμοποιούνται συχνά για να αποφευχθεί πιθανή O-ακυλίωση ή άλλες ανεπιθύμητες αντιδράσεις με τις όξινες NH ή OH ομάδες κατά τη διάρκεια μετέπειτα χειρισμών.¹⁴⁴



Σχήμα 3: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων με χρήση προστατευτικής ομάδας.

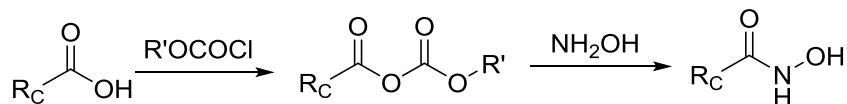
2.3.1 Σύνθεση με ενεργοποίηση του οξέος

Συχνά, το καρβοξυλικό οξύ μετατρέπεται σε εστέρα, χλωρίδιο του οξέος ή ανυδρίτη του οξέος πριν από την αντίδραση με το πυρηνόφιλο της υδροξυλαμίνης (Σχήμα 4).^{125c,145} Η αντίδραση των εστέρων με υδροξυλαμίνη έχει επιτευχθεί και με τη βοήθεια μικροκυματικής ακτινοβολίας.¹⁴⁶



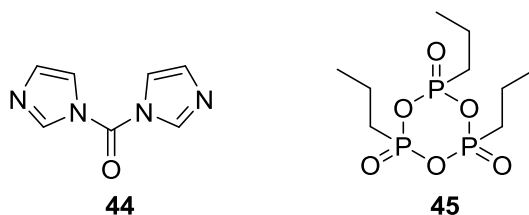
Σχήμα 4: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων μέσω ενεργοποίησης του οξέος.

Τα καρβοξυλικά οξέα μπορούν να ενεργοποιηθούν με χρήση κατάλληλων χλωρομυρμηκικών εστέρων, ώστε να σχηματίσουν μικτούς ανυδρίτες, οι οποίοι στη συνέχεια υποβάλλονται σε επεξεργασία με υδροξυλαμίνη για να καταλήξουν στα αντίστοιχα υδροξαμικά οξέα (Σχήμα 5).¹⁴⁷



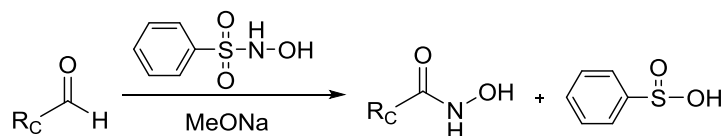
Σχήμα 5: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων μέσω ενεργοποίησης με χλωρομυρμηκικούς εστέρες.

Ενεργοποίηση του καρβοξυλικού οξέος πραγματοποιείται ακόμη με *N,N'*-καρβονυλδιιμιδαζολίο (CDI, *N,N'*-carbonyldiimidazole, **44**)¹⁴⁸ ή με τον κυκλικό ανυδρίτη του 1-προπανοφωσφονικού οξέος, **45**.¹⁴⁹



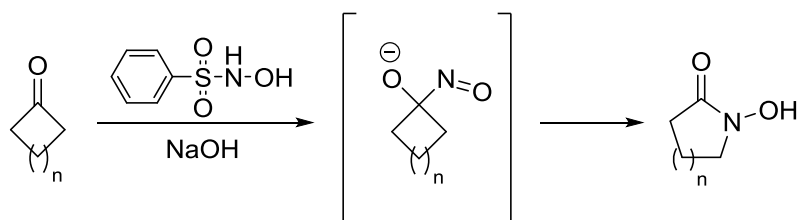
2.3.2 Αντίδραση Angeli-Rimini

Υδροξαμικά οξέα μπορούν επίσης να συντεθούν μέσω αντίδρασης Angeli-Rimini μεταξύ μίας αλδεΐδης και *N*-υδροξυβενζολοσουλφοναμιδίου παρουσία βάσης (Σχήμα 6).¹⁵⁰



Σχήμα 6: Αντίδραση Angeli-Rimini.

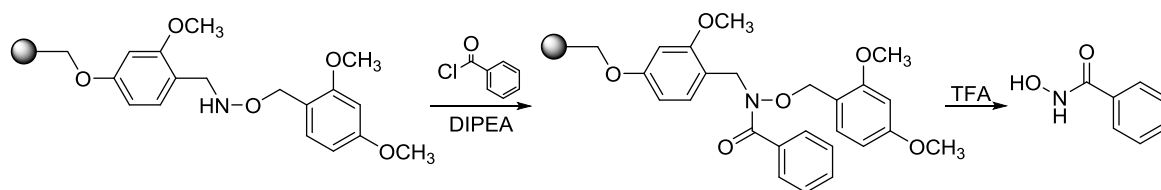
Το *N*-υδροξυβενζολοσουλφοναμίδιο χρησιμοποιείται και στην παραγωγή κυκλικών υδροξαμικών οξέων, μέσω εισαγωγής της NOH ομάδας σε κυκλικές κετόνες, όπως φαίνεται στο Σχήμα 7.¹⁵¹



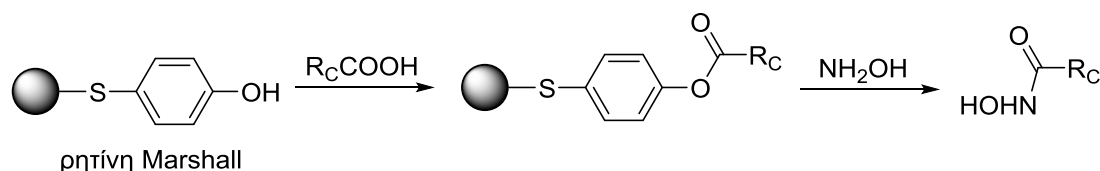
Σχήμα 7: Σύνθεση κυκλικών υδροξαμικών οξέων.

2.3.3 Σύνθεση σε στερεά φάση

Παρασκευές υδροξαμικών οξέων έχουν πραγματοποιηθεί με χρήση ρητινών για σύνθεση σε στερεά φάση. Υπάρχουν δύο στρατηγικές σύνθεσης: η χρήση ρητινών υδροξυλαμίνης, όπου χρησιμοποιούνται είτε *O*-συνδεδεμένες¹⁵² είτε *N*-συνδεδεμένες ρητίνες,¹⁵³ και η χρήση εστέρων ως συνδετών οι οποίοι απομακρύνονται παρουσία υδροξυλαμίνης ή παραγώγων της.¹⁵⁴ Παραδείγματα των δύο κατηγοριών φαίνονται στα Σχήματα 8 και 9 αντίστοιχα.



Σχήμα 8: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων με χρήση *N*-συνδεδεμένης ρητίνης υδροξυλαμίνης.

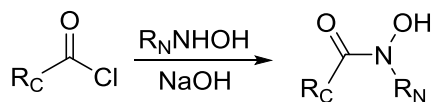


Σχήμα 9: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων με χρήση της ρητίνης Marshall.

Πρόσφατα επετεύχθη τροποποιημένη αντίδραση Angeli-Rimini σε στερεά φάση με υψηλή απόδοση και καθαρότητα.¹⁵⁵

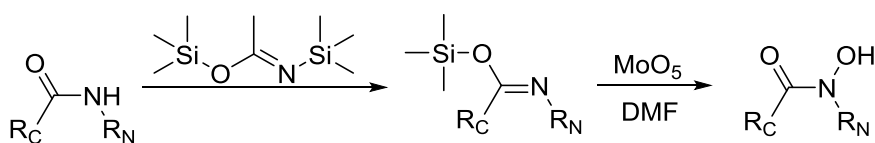
2.3.4 Σύνθεση *N*-υποκατεστημένων υδροξαμικών οξέων

Μία σειρά από *N*-αρυλοϋδροξαμικά οξέα έχουν συντεθεί με αντίδραση *N*-φαινυλϋδροξυλαμίνης με ακετυλοχλωρίδιο ή παράγωγα αυτού παρουσία βάσης.¹⁵⁶



Σχήμα 10: Σύνθεση *N*-αρυλοϋδροξαμικών οξέων.

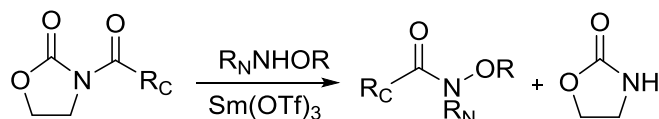
Υδροξαμικά οξέα μπορούν επίσης να παραληφθούν μέσω οξειδωσης αμιδίων, μία αντίδραση δύο σταδίων,¹⁵⁷ η οποία χρησιμοποιείται κυρίως για το σχηματισμό κυκλικών προϊόντων, αλλά μπορεί να εφαρμοστεί και στη σύνθεση *N*-υποκατεστημένων υδροξαμικών.¹⁵⁸ Το πρώτο στάδιο περιλαμβάνει τριμεθυλοσιλυλίωση του αμιδίου και το δεύτερο οξείδωση μέσω συμπλόκου του μολύβδου με διμεθυλοφορμαμίδιο (Σχήμα 11).



Σχήμα 11: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων μέσω οξειδωσης σιλυλιωμένων ιμινοαιθέρων.

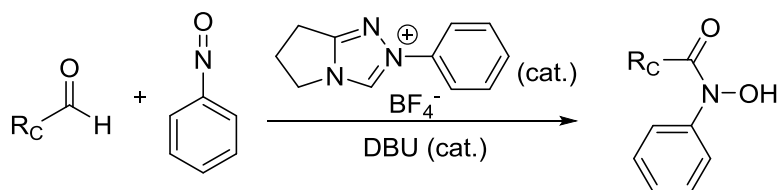
2.3.5 Σύνθεση με χρήση καταλυτών

Πρόσφατες μέθοδοι περιλαμβάνουν τη μετατροπή των *N*-ακυλοοξαζολιδινονών προς υδροξαμικά οξέα υποκατεστημένα ή μη με χρήση τριφλικού σαμαρίου ως καταλύτη (Σχήμα 12).¹⁵⁹



Σχήμα 12: Μετατροπή *N*-ακυλοοξαζολιδινονών προς παράγωγα υδροξαμικών οξέων με χρήση τριφλικού σαμαρίου.

Η αμιδίωση αλκυλο-, αρυλο- και ετεροκυκλικών αλδεϋδών με νιτροσο-ενώσεις, καταλυόμενη από *N*-ετεροκυκλικά καρβένια, αποτελεί μία σημαντική μέθοδο σύνθεσης *N*-αρυλοϋδροξαμικών οξέων (Σχήμα 13).¹⁶⁰

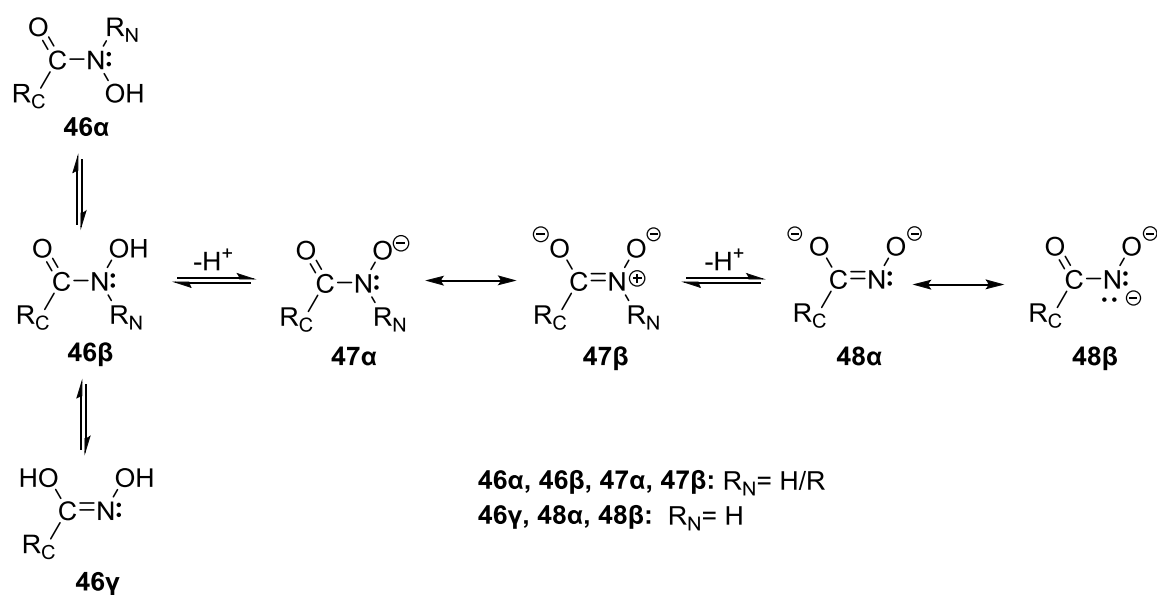


Σχήμα 13: Σύνθεση *N*-αρυλοϋδροξαμικών οξέων καταλυόμενη από *N*-ετεροκυκλικά καρβένια.

Έχουν πραγματοποιηθεί και άλλες μέθοδοι σύνθεσης υδροξαμικών οξέων,^{150d,161} όπως και πολυπλοκότερων *N*-υποκατεστημένων υδροξαμικών οξέων,¹⁴¹ με μικρότερη όμως εφαρμογή.

2.4 Όξινες ιδιότητες και δομή

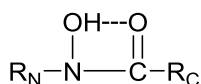
Τα υδροξαμικά οξέα έχουν την ιδιότητα να απομακρύνεται ένα πρωτόνιό τους σε ελαφρώς αλκαλικό περιβάλλον. Είναι ασθενή οξέα με τιμές pK_a του N-OH πρωτονίου της τάξης του 8.5-9.4 σε υδατικούς διαλύτες.¹⁶² Σε μη πρωτικούς διαλύτες, όπως στο διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO), μελέτες έχουν δείξει ότι ορισμένα υδροξαμικά οξέα, συμπεριλαμβανομένου του βενζουόδροξαμικού οξέος ($R_C=Ph$, $R_N=H$) δρουν ως N-H οξέα, παρά ως N-OH οξέα.¹⁶³ Τα υδροξαμικά οξέα με $R_N=H$ μπορούν να υποβληθούν σε δύο διαδοχικές αποπρωτονιώσεις (Σχήμα 14): απώλεια του πρώτου πρωτονίου παρέχει το υδροξαμικό ανιόν (**47α**, **47β**), ενώ απώλεια του δεύτερου έχει ως αποτέλεσμα το υδροξιμικό διανιόν (**48α**, **48β**). Τα υδροξαμικά οξέα και τα αντίστοιχα ανιόντα εμφανίζουν *cis/trans* ισομέρεια (**46α**, **46β**) που προκύπτει από την ελεύθερη περιστροφή γύρω από το δεσμό C-N, ταυτομέρεια κετο-ιμινόλης (**46β**, **46γ**) και έχουν αρκετές δομές συντονισμού (**47α**, **47β** και **48α**, **48β**). Οι σχετικές σταθερότητες των δομών αυτών έχουν μελετηθεί με χρήση της θεωρίας συναρτησιοειδούς πυκνότητας (density functional theory, DFT).¹⁶⁴



Σχήμα 14: Δομές υδροξαμικών οξέων (46), υδροξαμικών ιόντων (47) και υδροξιμικών ιόντων (48) με παράθεση της *cis-trans* ισομέρειας (46α, 46β), της ταυτομέρειας (46β, 46γ) και των δομών συντονισμού (47α, 47β και 48α, 48β).

2.5 Δεσμοί υδρογόνου

Οι χαμηλές συχνότητες των δονήσεων του δεσμού O-H των υδροξαμικών οξέων υποδεικνύουν την παρουσία ενδομοριακών δεσμών υδρογόνου στα μόρια αυτά, όπως φαίνεται στο Σχήμα 15.¹⁶⁵



Σχήμα 15: Ενδομοριακοί δεσμοί υδρογόνου

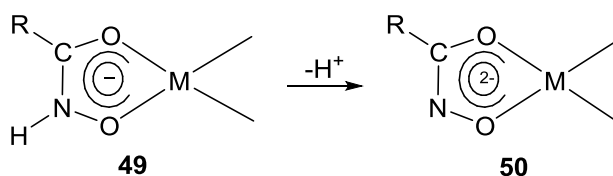
Ταυτόχρονα, τα υδροξαμικά οξέα δρουν ως δότες δεσμού υδρογόνου (hydrogen bond donor, HBD) παρουσία διαλυτών-δεκτών δεσμού υδρογόνου (hydrogen bond acceptor, HBA) και ως HBA όταν συνδέονται με συστήματα HBD μέσω του οξυγόνου και του αζώτου.¹⁶⁶

Στους δεσμούς υδρογόνου οφείλεται η διαφορά στην οξύτητα ανάμεσα στα υδροξαμικά οξέα όπου $\text{R}_\text{N}=\text{H}$ και στα *N*-υποκατεστημένα υδροξαμικά οξέα ($\text{R}_\text{N}\neq\text{H}$). Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν το ακετοϋδροξαμικό οξύ (acetohydroxamic acid, AHA) με $\text{R}_\text{C}=\text{Me}$, $\text{R}_\text{N}=\text{H}$ και $\text{pK}_\text{a}=9.28$ και το *N*-μεθυλακετοϋδροξαμικό οξύ ($\text{R}_\text{C}=\text{R}_\text{N}=\text{Me}$) με $\text{pK}_\text{a}=8.80$. Ο προσδιορισμός της κρυσταλλικής δομής του $\text{AHA}\cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$ αποκάλυψε την παρουσία ενός δικτύου διαμοριακών δεσμών υδρογόνου, τόσο μεταξύ της ομάδας δότη N-H και της ομάδας δέκτη CO άλλου μορίου, όσο και μεταξύ του AHA και του ύδατος.¹⁶⁷ Δεδομένου του γεγονότος ότι στο *N*-υποκατεστημένο υδροξαμικό οξύ ($\text{R}_\text{N}\neq\text{H}$) το δίκτυο δεσμών υδρογόνου είναι λιγότερο εκτεταμένο, η αποπρωτονίωση της ομάδας N-OH πραγματοποιείται ευκολότερα σε σύγκριση με το μη υποκατεστημένο ανάλογο. Για το λόγο αυτό, το *N*-μεθυλακετοϋδροξαμικό οξύ αποτελεί ισχυρότερο οξύ.

2.6 Σύμπλοκα με μέταλλα

Μία από τις σημαντικότερες ιδιότητες των υδροξαμικών οξέων είναι η σύμπλεξή τους με ιόντα μετάλλων. Τα υδροξαμικά ιόντα φέρουν δύο άτομα οξυγόνου και μπορούν να συνδεθούν με το μεταλλικό ιόν με μονοσχιδή ή

δισχιδή τρόπο, γεγονός το οποίο μπορεί επίσης να συμβεί μέσω του αζώτου και ενός ατόμου οξυγόνου. Ωστόσο, το μεγαλύτερο μέρος των πειραματικών δεδομένων υποστηρίζει τη δισχιδή σύμπλεξη με τα δύο άτομα οξυγόνου. Πιο συγκεκριμένα, το άτομο του αζώτου δεν βρέθηκε ποτέ να συμμετέχει σε μεταλλικά σύμπλοκα σχηματισμένα με απλά υδροξαμικά οξέα, παρότι στην περίπτωση των αμινοϋδροξαμικών οξέων μπορεί να αποτελέσει αποτελεσματική θέση πρόσδεσης.¹⁶⁸ Αντιθέτως, μία μελέτη περίθλασης ακτίνων Χ συμπλόκου με Fe(III) έδειξε ότι η σύνδεση περιλαμβάνει τα άτομα οξυγόνου που ανήκουν στο καρβονύλιο και στην NHOH ομάδα.¹⁶⁹ Έρευνες σε υδατικό διάλυμα απέδειξαν ότι, ανάλογα με το pH, τα απλούστερα υδροξαμικά οξέα (όπως το ακετοϋδροξαμικό και το βενζοϋδροξαμικό) μπορούν να συμμετάσχουν στη σύμπλεξη υπό δύο αποπρωτονιωμένες μορφές -το υδροξαματο(1-) ανιόν (**49**) ή το υδροξιματο(2-) διανιόν (**50**)- εκ των οποίων και οι δύο είναι ικανές να δημιουργήσουν έναν πενταμελή δακτύλιο όπως φαίνεται στο Σχήμα 16.¹⁷⁰



Σχήμα 16: Αποπρωτονιωμένες μορφές υδροξαμικού οξέος που συμμετέχουν στη σύμπλεξη με μέταλλα.

Ωστόσο, προκειμένου να συνδεθεί με τα μεταλλικά ιόντα, το οξύ πρέπει να υιοθετήσει την απαιτούμενη *cis* (Z) διαμόρφωση. Επομένως, αναμένεται συσχετισμός μεταξύ της αναλογίας Z/E και της σταθερότητας του συμπλόκου (τόσο θερμοδυναμική όσο και κινητική).¹⁷¹

Τριαδικά συστήματα τα οποία περιλαμβάνουν το μέταλλο, το ιόν υδροξαμικού και έναν πρόσθετο υποκαταστάτη (όπως η αιθυλενοδιαμίνη) επίσης σχηματίζονται, έχουν μελετηθεί όμως σε λίγες περιπτώσεις.¹⁷²

Πολλά μέταλλα ή μεταλλοειδή του Περιοδικού Πίνακα έχουν συμπλεχθεί με υδροξαμικά οξέα και τα περισσότερα σύμπλοκα έχουν χαρακτηριστεί με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ (Εικόνα 5).¹²⁸ Τα σύμπλοκα που έχουν χαρακτηριστεί είναι μονοπύρηνια ή πολυπύρηνια (εξαρτάται από τον αριθμό των μεταλλικών ιόντων), ομοληπτικά ή ετεροληπτικά (εξαρτάται από το

πλήθος των διαφορετικών υποκαταστατών), καθώς και σύμπλοκα που σχηματίζονται ανάμεσα σε πολυλειτουργικά υδροξαμικά οξέα –όπως τα α- ή β-αμινοϋδροξαμικά οξέα– και σε ιόντα Mn(III)/(II), Cu(II) ή Ni(II) και ονομάζονται “μεταλλοστέμματα” (metallacrowns), αφού σχηματίζουν συστάδες που θυμίζουν αιθέρες στέμματα και έχουν στο κέντρο τους άτομα οξυγόνου τα οποία ενθυλακώνουν ένα μεταλλικό ιόν, το ίδιο [Mn(III)/(II), Cu(II) ή Ni(II)] ή διαφορετικό.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
H																	He
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	<u>La</u>	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	<u>Pb</u>	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra	Ac	Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt									
		Ce	Pr	Nd	Pm	<u>Sm</u>	<u>Eu</u>	<u>Gd</u>	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu		
		Th	Pa	U	Np	<u>Pu</u>	<u>Am</u>	<u>Cm</u>	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr		

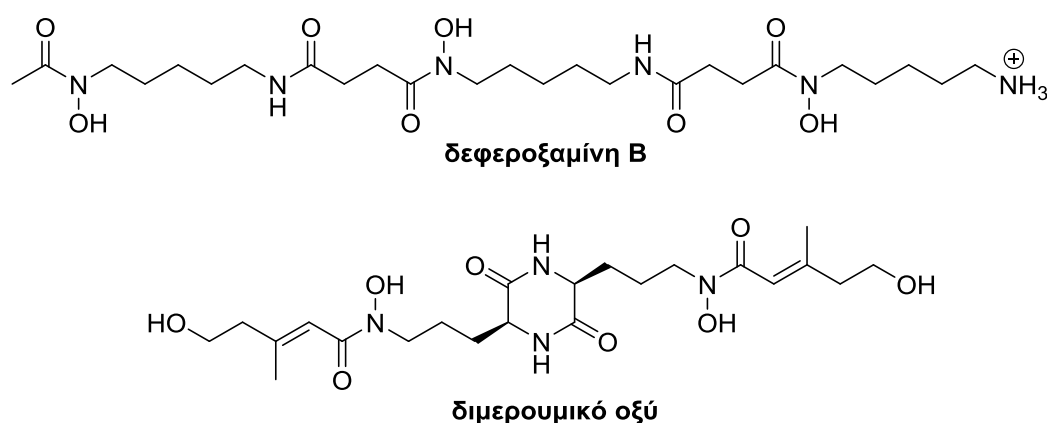
Εικόνα 5: Σύμπλοκα μετάλλων ή μεταλλοειδών (ομάδες 3-15) με υδροξαμικά οξέα χαρακτηρισμένα με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ (σκούρο γκρι) ή σε διάλυμα (ανοικτό γκρι). Τα κεντρικά μέταλλα των “μεταλλοστεμμάτων” φαίνονται υπογραμμισμένα.

2.7 Σύμπλοκα υδροξαμικού οξέος στη χημική βιολογία

Η ικανότητα των υδροξαμικών οξέων να συμπλέκονται με μέταλλα υποδηλώνει ότι μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τα μεταλλικά ιόντα του ενεργού κέντρου των μεταλλοπρωτεϊνών. Σύμπλοκα μονοϋδροξαμικών οξέων με διαφορετικά μεταλλοένζυμα που περιέχουν Zn(II) ή Ni(II) έχουν μελετηθεί με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ. Τα ένζυμα αυτά περιλαμβάνουν την ουρεάση [που περιέχει Ni(II)] και ένζυμα που περιέχουν Zn(II), συμπεριλαμβανομένων των αποακετυλασών ιστόνης (histone deacetylases, HDACs), των MMPs, των αμινοπεπτιδασών, του θανατηφόρου παράγοντα του άνθρακα, της βοτουλινικής νευροτοξίνης και της καρβονικής ανυδράσης. Ακόμη, με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ έχει μελετηθεί η αλληλεπίδραση ανάμεσα στο Fe(III) και τα υδροξαμικά οξέα.

2.7.1 Συστήματα που περιέχουν Fe(III)

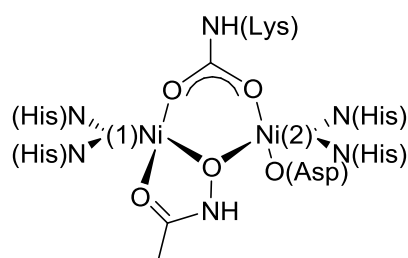
Όπως προαναφέρθηκε, η ομάδα υδροξαμικού οξέος απαντά σε φυσικές ενώσεις. Τα μόρια αυτά ονομάζονται σιδηροφόρα και παράγονται από μικροοργανισμούς προκειμένου να σχηματίσουν πολύ σταθερά σύμπλοκα με τον τρισθενή σίδηρο¹⁷³ (Σχήμα 17), αφού διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στους μηχανισμούς απόκτησης σιδήρου των μικροοργανισμών. Η παραγωγή τους οφείλεται όχι μόνο στην αναγκαιότητα για σίδηρο που χρησιμεύει στο μεταβολισμό, αλλά και στην ανεπάρκεια του σε διαλυτή, διαθέσιμη για το κύτταρο μορφή.¹⁷⁴ Τα υδροξαμικά σιδηροφόρα έχουν μελετηθεί εκτεταμένα λόγω του ρόλου τους ως ειδικοί παράγοντες απομόνωσης Fe(III) και λόγω των πιθανών φαρμακολογικών εφαρμογών που συνδέονται είτε με τη μεταφορά μικροβιακού Fe(III) είτε με την *in vivo* απομάκρυνση του Fe(III) από ασθενείς με συσσώρευση αυτού¹⁷¹ (Ενότητα 2.8.1).



Σχήμα 17: Παραδείγματα φυσικών υδροξαμικών σιδηροφόρων.

2.7.2 Συστήματα που περιέχουν Ni(II)

Τα υδροξαμικά οξέα αναστέλλουν την ουρεάση, ένα ένζυμο που περιέχει δύο ιόντα Ni(II) και καταλύει την υδρόλυση της ουρίας προς αμμωνία και καρβαμικό οξύ.¹⁷⁵ Η δομή της ουρεάσης *Bacillus pasteurii* όταν αναστέλλεται από το ακετοϋδροξαμικό οξύ έχει χαρακτηριστεί με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ. Σε αυτή φαίνεται ότι το ανιόν του αναστολέα γεφυρώνει συμμετρικά τα δύο ιόντα Ni στο ενεργό κέντρο μέσω του υδροξαμικού οξυγόνου και συνδέεται χηλικά με το ένα ιόν Ni μέσω του καρβονυλικού οξυγόνου, όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 18.¹⁷⁶

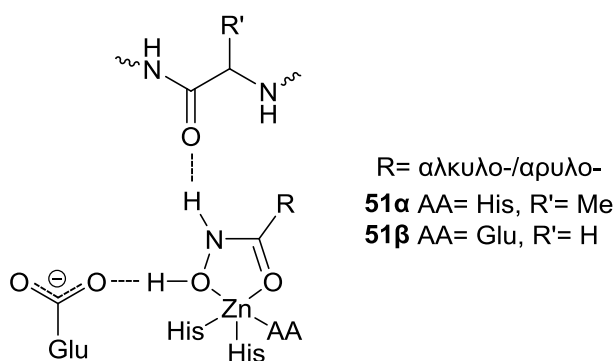


Σχήμα 18: Σύμπλεξη του ακετοϋδροξαμικού οξέος στο διπύρρηνο ενεργό κέντρο της ουρεάσης *Bacillus pasteurii*.

2.7.3 Συστήματα που περιέχουν Zn(II)

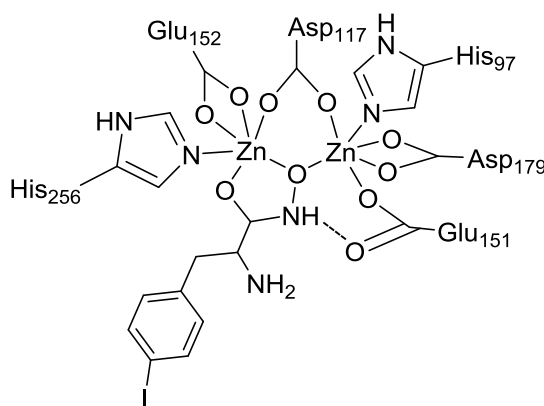
Κρυσταλλογραφίες ακτίνων Χ αναφέρουν τη σύμπλεξη των υδροξαμικών οξέων στην καταλυτική Zn(II) θέση των MMPs. Οι MMPs θα αναπτυχθούν σε επόμενη ενότητα, όμως μιας και το ένζυμο που μελετάται στην παρούσα εργασία, η ATX, έχει δύο ιόντα ψευδαργύρου στο ενεργό της κέντρο, θα ήταν ενδιαφέρον να περιγραφεί ο τρόπος με τον οποίο πραγματοποιείται η προσαρμογή. Υπάρχει ένα χαρακτηριστικό μοτίβο σύνδεσης μεταξύ του υδροξαμικού οξέος και του καταλυτικού Zn(II) κέντρου των MMPs. Πρώτον, ένα υδροξαμικό οξύ με R_C = αλκύλ-/αρύλ- και R_N = H συμπλέκεται με το καταλυτικό Zn(II) ιόν με δισχιδή τρόπο μέσω δύο ατόμων οξυγόνου. Δεύτερον, σχηματίζεται ένας δεσμός υδρογόνου ανάμεσα στο άτομο υδρογόνου του NOH του υδροξαμικού οξέος και στο άτομο(-α) οξυγόνου ενός κοντινού γλουταμινικού οξέος από απόσταση που κυμαίνεται μεταξύ 2.4 Å και 3.1 Å. Τρίτον, σε πολλές (αλλά όχι σε όλες) τις δομές υπάρχει μία επιπρόσθετη αλληλεπίδραση δεσμού υδρογόνου ανάμεσα στην ομάδα NH του υδροξαμικού οξέος και στο άτομο οξυγόνου του αμιδίου μίας αλανίνης (Σχήμα 19, **51α**).¹⁷⁷ Οι δομικώς πολυπλοκότεροι αναστολείς που βασίζονται σε υδροξαμικό οξύ παρουσιάζουν επιπλέον δεσμούς υδρογόνου και υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις κατά τη σύμπλεξη στο Zn (II) των MMPs.¹⁷⁸

Τα υδροξαμικά οξέα εντάσσονται στο Zn(II) ενεργό κέντρο του θανατηφόρου παράγοντα του άνθρακα¹⁷⁹ και της βοτουλινικής νευροτοξίνης με ορότυπο A¹⁸⁰ κατά παρόμοιο τρόπο. Η διαφορά έγκειται στο αμινοξύ που είναι συμπλεγμένο με το Zn(II) (Glu αντί για His) και σε ορισμένες περιπτώσεις στο αμινοξύ που αλληλεπιδρά μέσω του O της ομάδας αμιδίου με το NH πρωτόνιο (Gly αντί για Ala) (Σχήμα 19, **51β**).



Σχήμα 19: Μοτίβο σύμπλεξης των υδροξαμικών οξέων στο Zn(II) ενεργό κέντρο των μεταλλοπρωτεϊνών όπως προσδιορίζεται από κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ.

Μία γεφυρωμένη δομή έχει επίσης παρατηρηθεί μεταξύ του υδροξαμικού οξέος της *p*-ιωδο-φαινυλαλανίνης και της *Aeromonas proteolytica* αμινοπεπτιδάσης που έχει δύο Zn(II) στο ενεργό της κέντρο.¹⁸¹ Στη δομή αυτή η αμιδοϋδροξυλατοομάδα γεφυρώνει τα δύο Zn(II) ιόντα, με μία ακόμη γέφυρα προερχόμενη από το καρβοξύλιο ενός ασπαρτικού οξέος, καθώς και επιπλέον αλληλεπιδράσεις με γειτονικά αμινοξέα σε κάθε Zn(II) κέντρο.¹⁸²



Σχήμα 20: Η αμινοπεπτιδάση *Aeromonas proteolytica* αναστέλλεται από το υδροξαμικό οξύ της *p*-ιωδο-D-φαινυλαλανίνης.

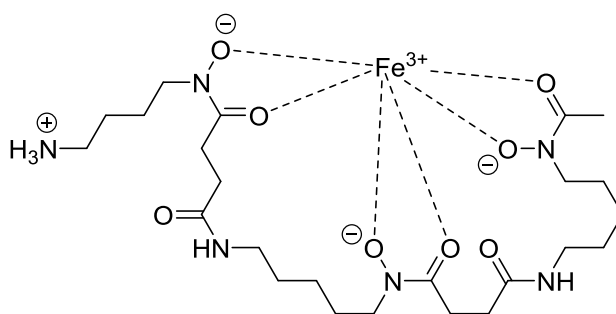
2.8 Φαρμακολογικές και βιολογικές δράσεις υδροξαμικών οξέων και παραγώγων τους

2.8.1 Απομάκρυνση μετάλλων

Η περίσσεια σιδήρου είναι τοξική, διότι προκαλεί την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS), μέσω αντιδράσεων Fenton και Haber-Weiss.¹⁸³ Τα ROS είναι υπεύθυνα για την αποικοδόμηση

του DNA, για τροποποιήσεις στις κυτταρικές μεμβράνες, τραυματισμούς ιστών και για την αγγειακή διαπερατότητα,¹⁸⁴ τα οποία ευθύνονται για τις παθολογικές καταστάσεις που παρατηρούνται σε ασθενείς με υπερφόρτωση σιδήρου, μια αργή συσσωρευτική διαδικασία.¹⁸⁵ Μία από τις παθολογικές αυτές καταστάσεις είναι η ιδιοπαθής αιμοχρωμάτωση. Ο σίδηρος συσσωρεύεται κυρίως στο ήπαρ των ασθενών και μακροπρόθεσμα το όργανο αναπτύσσει σοβαρές επιπλοκές, μεταξύ των οποίων και ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα.¹⁸⁶ Άλλες παθολογικές καταστάσεις είναι η β-θαλασσαιμία¹⁸⁷ και η δρεπανοκυτταρική αναιμία,¹⁸⁸ λόγω των τακτικών μεταγγίσεων αίματος που οδηγούν σε συσσώρευση σιδήρου (με κάθε μετάγγιση να επιφέρει περίπου 250 mg σιδήρου). Υπερφορτώσεις σιδήρου και αλουμινίου έχουν επίσης παρατηρηθεί σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια που υποβάλλονται σε επαναλαμβανόμενες αιμοκαθάρσεις.¹⁸⁹ Τέλος, υπερφόρτωση σιδήρου στον εγκέφαλο έχει παρατηρηθεί σε νευροεκφυλιστικές ασθένειες,¹⁹⁰ όπως είναι η νόσος του Alzheimer,¹⁹¹ η νόσος του Huntington,¹⁹² η σκλήρυνση κατά πλάκας,¹⁹³ η νόσος του Parkinson¹⁹⁴ και η αταξία του Friedreich.¹⁹⁵

Καθώς ο σίδηρος τείνει να συσσωρεύεται στους οργανισμούς και να εξαλείφεται πολύ αργά, είναι αναγκαία η θεραπευτική αγωγή με σκοπό την προστασία των οργάνων από την περίσσεια του μετάλλου. Στο ήπαρ ή την καρδιά περίσσεια σιδήρου μπορεί να προκαλέσει μη αναστρέψιμη βλάβη η οποία θα μπορούσε να αποβεί μοιραία. Η συνήθης θεραπεία περιλαμβάνει σχηματισμό συμπλόκων με το σίδηρο ώστε να διευκολυνθεί η αποβολή του με τα ούρα.¹⁹⁶ Το μόριο που χρησιμοποιείται είναι η δεφεροξαμίνη B, της οποίας το μεθανοσουλφονικό άλας είναι γνωστό ως Desferal® (Ενότητα 2.9.4). Η ισχυρή σύνδεση οφείλεται στις ιδανικές θέσεις στον τρισδιάστατο χώρο των τριών υδροξαμικών ομάδων (Σχήμα 21).¹²⁸



Σχήμα 21: Φεροξαμίνη B, σύμπλοκο της δεφεροξαμίνης B με το σίδηρο.

Εφόσον τα υδροξαμικά οξέα συμπλέκονται και με άλλα μεταλλικά ιόντα εκτός του σιδήρου, μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για θεραπείες ασθενειών που προκαλούνται από αλουμίνιο, πλουτώνιο ή ακτινίδες.¹⁹⁷

2.8.2 Αντιοξειδωτική δράση

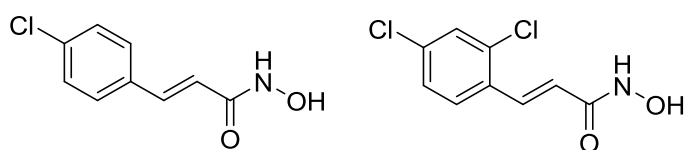
Η ομάδα υδροξαμικού οξέος συμβάλλει στην αντιοξειδωτική ικανότητα¹⁹⁸ ενώσεων όπως είναι οι δεσφεροξαμίνες,¹⁹⁹ η κυκλοπιροξολαμίνη,²⁰⁰ καθώς και πηκτίνες τροποποιημένες ώστε να περιέχουν την ομάδα υδροξαμικού οξέος.²⁰¹ Η ιδιότητα αυτή παίζει σημαντικό ρόλο στην προστασία του ήπατος^{198a} και του κεντρικού νευρικού συστήματος από οξειδωτικές βλάβες,²⁰² ενώ έχει σχετισθεί και με τον περιορισμό της εκφύλισης του αμφιβληστροειδούς.²⁰³

2.8.3 Αντιμολυσματική δράση

Η δεφεροξαμίνη Β παρουσιάζει ανθελνοσσιακή δραστικότητα *in vitro* και *in vivo*²⁰⁴ ενάντια στο *Plasmodium* sp., το παράσιτο που προκαλεί ελονοσία, απομακρύνοντας απευθείας το σίδηρο από αυτό,²⁰⁵ μειώνοντας δραστικά το ρυθμό αναπαραγωγής του, ενώ συγχρόνως προστατεύει τον ασθενή από την οξειδωτική βλάβη που προκαλείται από το παράσιτο.

Επιπλέον, τα υδροξαμικά οξέα παρουσιάζουν αντιβακτηριακή δράση αναστέλλοντας ένζυμα απαραίτητα για την ανάπτυξη βακτηρίων, όπως η μεθειονίνη αμινοπεπτιδάση,²⁰⁶ ενώ ορισμένα εκδηλώνουν αντιμυκητιακές ιδιότητες. Παραδείγματα αυτών είναι το φαινοξυακετούδροξαμικό και το κινναμουλοϋδροξαμικό οξύ.²⁰⁷

Τα υδροξαμικά οξέα έχουν επίσης την ικανότητα να περιορίζουν τις επιπτώσεις των τοξινών που εκκρίνονται από μικροοργανισμούς, οδηγώντας σε μείωση της μολυσματικότητάς τους. Αναστολείς της νευροτοξίνης botulinum, μίας από τις πιο τοξικές πρωτεΐνες που έχουν περιγραφεί, φαίνονται στο Σχήμα 22.²⁰⁸



Σχήμα 22: Αναστολείς της νευροτοξίνης botulinum.

Διαφορετικά υδροξαμικά οξέα έχουν δράση ενάντια σε ιούς όπως ο απλός έρπης,²⁰⁹ ο ιός της γρίπης A/H1N1²¹⁰ ή ο ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (Human Immunodeficiency Virus, HIV).²¹¹

2.8.4 Αντικαρκινική δράση

Ορισμένα υδροξαμικά οξέα εκδηλώνουν αντικαρκινική δράση αναστέλλοντας την αναγωγή ριβονουκλεοτιδίου (ribonucleotide reductase, RNR), η οποία βρίσκεται υπερεκφρασμένη σε καρκινικά κύτταρα.¹⁸³ Το ένζυμο αυτό είναι απαραίτητο για τη μετατροπή των ριβονουκλεοτιδίων σε δεοξυριβονουκλεοτίδια. Το ενεργό κέντρο του, το οποίο έχει δύο ιόντα Fe(III) μπορεί να στοχευτεί από κατάλληλα υδροξαμικά οξέα,²¹² οδηγώντας σε μη βιώσιμο DNA και σε μείωση του πολλαπλασιασμού των κυττάρων. Η χρήση της υδροξουρίας (hydroxyurea, HU)^{212a} (Σχ. 28, Ενότητα 2.9.2) ως αντικαρκινικού παράγοντα ξεκίνησε κατά τη δεκαετία του 1960, όταν διαπιστώθηκε ότι εμποδίζει τη σύνθεση του DNA μέσω της αναστολής του ενζύμου RNR, ενώ η αναστολή δεν μεταβάλλει το ποσοστό του RNA και της πρωτεϊνοσύνθεσης.²¹³

Για τη δημιουργία πιο αποτελεσματικών αντικαρκινικών φαρμάκων, συντέθηκαν και άλλα παράγωγα υδροξαμικού οξέος.²¹⁴ Ορισμένα από αυτά που εκδηλώνουν αντικαρκινική δράση φαίνονται στον Πίνακα 2. Τα περισσότερα δρουν κατά των HDACs και των MMPs, ένζυμα γνωστά για τη συμμετοχή τους στην ανάπτυξη όγκων.

Πίνακας 2: Παράγωγα υδροξαμικού οξέος ως αντικαρκινικά φάρμακα και τα ένζυμο-στόχοι τους.

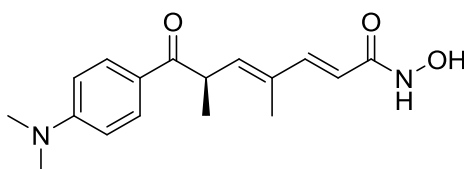
Παράγωγο υδροξαμικού οξέος	Ένζυμο-στόχος				
	MMP	HDAC	RNR	PDF	LOX
Τριχοστατίνη A		•			
SAHA		•			
LAQ824		•			

Parabinostat (LBH589)	•		
3,4-Διυδροξυβενζοϋδροξαμικό οξύ		•	
Ακτινονίνη			•
CGS 27023A	•		
KB R7785	•		
PXD101		•	
Οξαμφλατίνη		•	
ITF 2357		•	
BL1521		•	
Αζελαϊκό δισυδροξαμικό οξύ		•	
BB 3103	•		
Σουβερικό δισυδροξαμικό οξύ		•	
3,4,5-Τριυδροξυβενζοϋδροξαμικό οξύ			•
<i>N</i> -Βενζυλο- <i>N</i> -υδροξυ-5-φαινυλπενταναμίδιο			•
Πυροξαμίδιο		•	
Ro-31-9790	•		
TAPI-2	•		
Tubacin		•	
5-(4-Διμεθυλαμινοβενζοϋλο)–αμινοβαλερικούϋδροξαμικό οξύ		•	
BB 3644	•		

CRA 024781	•
CRA 026440	•
FYK 1388	•
KB R8301	•
3-(1-Μεθυλ-4-φαινυλακετυλ-1H-2- πυρρολυλ)-N-υδροξυπροπεναμίδιο	•
3-(3-(Βενζοφουραν-2- καρβονυλ)φαινυλ)-N- υδροξυακρυλαμίδιο	•
Marimastat	•
Batimastat	•
Prinomastat	•

Οι HDACs είναι μια οικογένεια ενζύμων που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην επιγενετική ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων, αφαιρώντας ακετυλοομάδες από ιστόνες και άλλες πρωτεΐνες.²¹⁵ Οι HDACs ομαδοποιούνται σε τέσσερις κατηγορίες με βάση τη λειτουργία και την ομοιότητα στην αλληλουχία του DNA. Οι κατηγορίες I, II και IV περιλαμβάνουν ψευδάργυρο στο ενεργό τους κέντρο, ενώ η κατηγορία III είναι εξαρτώμενη από NAD⁺.²¹⁶ Οι HDACs εμπλέκονται στη διαμόρφωση βασικών κυτταρικών διεργασιών, όμως έχουν βρεθεί να λειτουργούν εσφαλμένα σε περιπτώσεις καρκίνου.²¹⁷ Βρίσκονται υπερεκφρασμένες στον καρκίνο του παχέος εντέρου, του μαστού, του προστάτη και άλλων καρκίνων, γεγονός το οποίο τις καθιστά ελκυστικό αντικαρκινικό στόχο.²¹⁸ Σύμφωνα με μελέτες η αναστολή των HDACs μπορεί να οδηγήσει σε διακοπή της ανάπτυξης των κυττάρων, σε διαφοροποίηση, απόπτωση και μεταβολές στην έκφραση γονιδίων των καρκινικών κυττάρων.²¹⁹ Οι αναστολείς των HDACs εμποδίζουν τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των κυττάρων του όγκου, με πολύ χαμηλή

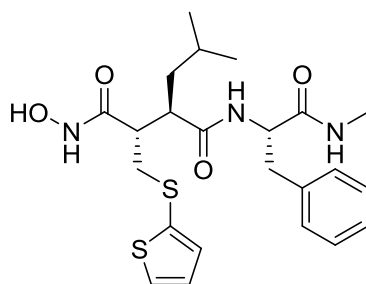
τοξικότητα προς τα φυσιολογικά κύτταρα. Ενώσεις που μπορούν να συμπλεχθούν με μέταλλα, όπως είναι τα υδροξαμικά οξέα, είναι σε θέση να αναστέλλουν τις εξαρτώμενες από ψευδάργυρο HDACs.²²⁰ Για το λόγο αυτό, υπάρχει δραματική αύξηση των παραγώγων υδροξαμικού οξέος υπό δοκιμή.²²¹ Η τριχοστατίνη Α (Σχήμα 23) ήταν το πρώτο φυσικό υδροξαμικό οξύ που βρέθηκε να αναστέλλει τις HDACs. Σύμφωνα με μελέτη της επίδρασής της σε κυτταρικές σειρές ανθρώπινου καρκίνου του μαστού, απεδείχθη ισχυρός αναστολέας του πολλαπλασιασμού των κυττάρων με IC_{50} 124.4 ± 120.4 nM.²²² Οι SAHA, LAQ824, LBH589A, ITF 2357 και PXD-101 (Πίνακας 2) είναι μερικοί από τους αναστολείς που έχουν προχωρήσει σε κλινικές δοκιμές.²²³



Σχήμα 23: Τριχοστατίνη Α.

Οι MMPs είναι εξαρτώμενες από ψευδάργυρο πρωτεολυτικές ενδοπεπτιδάσες που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διείσδυση και την αναδιαμόρφωση των εξωκυττάρων δομών. Εμπλέκονται σε διάφορες βιολογικές διαδικασίες, όπως η αναδιαμόρφωση των ιστών,²²⁴ ωστόσο συμβάλλουν στην εισβολή και τον πολλαπλασιασμό όγκων²²⁵ και θεωρούνται πρόδρομοι της μεταστατικής διαδικασίας.²²⁶ Τα ένζυμα αυτά έχουν το ιόν ψευδαργύρου συμπλεγμένο με τρεις ιμιδαζολικές πλευρικές αλυσίδες ιστιδίνης και ο τέταρτος υποκαταστάτης είναι νερό. Εκδηλώνουν τη δράση τους διασπώντας αμιδικούς δεσμούς πεπτιδίων λόγω της παρουσίας νερού που συνδέεται με το ιόν $Zn(II)$ του ενεργού κέντρου.²²⁴ Τα παράγωγα υδροξαμικού οξέος μπορούν να συμπλέξουν το ιόν $Zn(II)$ αντικαθιστώντας το νερό και, επομένως, να οδηγήσουν σε αδρανοποίηση του ενζύμου, γεγονός που εξηγεί την αντικαρκινική δράση των μορίων αυτών. Εφόσον η κύρια αιτία θανάτου των ασθενών με καρκίνο είναι η αδυναμία ελέγχου της μετάστασης και οι MMPs διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αγγειογένεση των όγκων,²²⁷ οι αναστολείς τους αποκτούν διπλό ρόλο στη θεραπεία του καρκίνου.

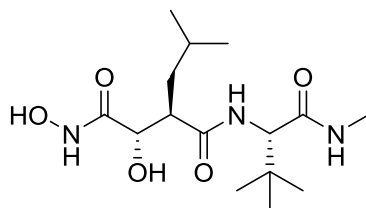
Οι αναστολείς υδροξαμικού οξέος συνήθως αντικαθιστούν το μόριο του νερού και διακρίνονται σε δύο γενιές. Οι αναστολείς πρώτης γενιάς περιλαμβάνουν πεπτιδομιμητικά υδροξαμικά οξέα, όπου μία δομή πεπτιδίου με ομάδα υδροξαμικού μιμείται φυσικά υποστρώματα των MMPs. Η λειτουργική ομάδα υδροξαμικού συμπλέκεται ως ανιόν με το Zn(II), αποτελώντας έναν πολύ ισχυρό 1,4-δισχιδή υποκαταστάτη.²²⁸ Η κατηγορία αυτή είναι ανάμεσα στους πλέον ισχυρούς αναστολείς των MMPs. Το batimastat (BB-94) (Σχ. 24) ήταν ο πρώτος MMP αναστολέας που εισήλθε σε κλινικές δοκιμές.²²⁹ Η ένωση αυτή είναι ισχυρή, αλλά σχετικώς μη εκλεκτική, με τιμές IC₅₀<10 ng/mL έναντι των MMP-1, -2, -3, -7 και -9. *In vitro* το batimastat είχε κυτταροστατικές επιδράσεις ενάντια σε μια σωρεία κυτταρικών σειρών καρκίνου και δεν ήταν κυτταροτοξικό.²³⁰ Λόγω της κακής διαλυτότητάς του, χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά και ενδοπλευρικά σε ασθενείς με καρκίνο για την αξιολόγησή του στις κλινικές δοκιμές.²³¹ Ωστόσο, οι δοκιμές δεν παρείχαν αξιόλογα αποτελέσματα, επομένως αντικαταστάθηκε από το marimastat (BB-2516) (Σχήμα 25), έναν άλλο πεπτιδομιμητικό αναστολέα που θα μπορούσε να χορηγηθεί από το στόμα.



Σχήμα 24: Batimastat.

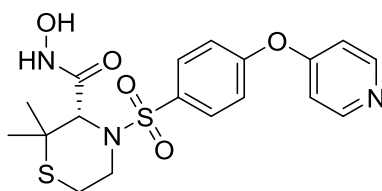
Το marimastat είναι ένας ευρέως φάσματος αναστολέας για την οικογένεια των MMPs, με τιμές IC₅₀ της τάξης των nanomolar ενάντια σε όλες τις MMPs εκτός από την MMP-3. Οι ασθενείς που εμφάνισαν μείωση των καρκινικών δεικτών μετά την χορήγηση του marimastat έτειναν να επιβιώνουν για μεγαλύτερα διαστήματα από εκείνους που δεν είχαν λάβει το φάρμακο.^{214a} Σε μία μελέτη ορμονοάντοχου καρκίνου του προστάτη, θεραπεία των ασθενών με marimastat απέδωσε σημαντική μείωση του PSA (Prostate Specific Antigen, ειδικό προστατικό αντιγόνο),²³² γεγονός το οποίο αποτελεί ένδειξη της αναστολής ανάπτυξης όγκου σε ασθενείς με καρκίνο του

προστάτη. Τέλος, σε κλινική δοκιμή, ασθενείς με ανεγχείρητο γαστρικό καρκίνο που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με marimastat, έδειξαν μία μέτρια αύξηση στην επιβίωση.²³³



Σχήμα 25: Maramistat.

Οι αναστολείς δεύτερης γενιάς είναι μη πεπτιδικοί και περισσότερο ειδικοί, πιθανότατα επειδή έχουν σχεδιαστεί με βάση δομικές μελέτες του ενεργού κέντρου των MMPs με NMR και κρυσταλλογραφίας ακτίνων Χ. Ένας από αυτούς, το prinomastat (AG-3340) (Σχήμα 26) αναστέλλει τις MMP-2, -9, -3 και -13, με $IC_{50} < 0.13$ ng/mL.²³⁴ Προκλινικές μελέτες κατέδειξαν μείωση στο ποσοστό ανάπτυξης πρωτογενούς όγκου καθώς και στον αριθμό και στο μέγεθος των μακρινών μεταστάσεων σε ζωικά μοντέλα.²³⁵ Το prinomastat επέδειξε αντικαρκινική δράση ενάντια σε ένα ευρύ φάσμα μοντέλων όγκων τρωκτικών μετά από ενδοπεριτοναϊκή και χορήγηση από το στόμα.²³⁶ Παρ' όλα αυτά οι κλινικές δοκιμές φάσης III για τον προχωρημένο καρκίνο του προστάτη και του πνεύμονα διακόπηκαν διότι δεν απέδωσαν ευεργετικά αποτελέσματα.²³⁷



Σχήμα 26: Prinomastat.

Ένας λιγότερο συνήθης στόχος των παραγώγων υδροξαμικού οξέος είναι η RNR. Το βενζοϋδροξαμικό οξύ και άλλα υδροξαμικά οξέα με εξαμελή αρωματικό δακτύλιο βρέθηκαν να εκδηλώνουν παρόμοια ανασταλτική δράση με την HU, όμως επιπλέον προσθήκη υδροξυλομάδων στο δακτύλιο του βενζοϋδροξαμικού οξέος έκανε την αναστολή πιο αποτελεσματική. Απεδείχθη ότι σημαντικός παράγοντας ήταν η εγγύτητα των προστιθέμενων υδροξυλομάδων και το 2,3,4-τριυδροξυβενζοϋδροξαμικό οξύ θεωρήθηκε ως

ο πιο ισχυρός αναστολέας, αφού ήταν 160 φορές πιο αποτελεσματικός από την ΗΥ.^{212b}

Οι καρβονικές ανυδράσες είναι επίσης ένζυμα που περιέχουν ψευδάργυρο και καταλύουν την αλληλομετατροπή μεταξύ διοξειδίου του άνθρακα και διττανθρακικού ιόντος.²³⁸ Έτσι εμπλέκονται σε σημαντικές φυσιολογικές διαδικασίες,²³⁹ όπως η αναπνοή και η ομοιόσταση του CO₂ και του pH. Ορισμένα ισoenζυμα καρβονικής ανυδράσης, τα οποία έχουν περιορισμένη έκφραση σε φυσιολογικούς ιστούς, βρίσκονται κατά κύριο λόγο σε κύτταρα όγκου και είναι υπεύθυνα για την οξίνιση του περιβάλλοντος του όγκου. Αντιστροφή αυτού του φαινομένου με αναστολή των ανθρακικών ανυδρασών έχει ως απόρροια τον περιορισμό της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων.²⁴⁰ Νέοι ισχυροί αναστολείς καρβονικών ανυδρασών έχουν σχεδιαστεί εκμεταλλευόμενοι την ικανότητα των υδροξαμικών οξέων να συμπλέκονται με τον ψευδάργυρο.^{238,241}

Μελέτη επί του αραχιδονικού οξέος και των μεταβολιτών του υποδεικνύει τη σημασία των αναστολέων κυκλοοξυγενάσης και λιποξυγενάσης (Ενότητα 2.8.5) στη θεραπεία του καρκίνου.²⁴² Τα παράγωγα υδροξαμικού οξέος έχουν αποδείξει την ικανότητά τους να παρεμβαίνουν όχι μόνο στο μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος, αλλά και σε άλλες βιολογικές διεργασίες που περιλαμβάνουν ένζυμα όπως η φωσφατάση,^{157a} η μεθειονίνη αμινοπεπτιδάση (Ενότητα 2.8.3),²⁴³ οι φωσφολιπάσες C,²⁴⁴ η γλουταμινική καρβοξυπεπτιδάση II (Ενότητα 2.8.6),²⁴⁵ οι απομεθυλάσες λυσίνης²⁴⁶ και η γλυοξαλάση,²⁴⁷ των οποίων η αναστολή οδηγεί σε αντικαρκινική δράση.

2.8.5 Αντιφλεγμονώδης δράση

Υπάρχουν δύο βιοχημικά μονοπάτια που οδηγούν σε φλεγμονή -και τα δύο ξεκινούν από το αραχιδονικό οξύ.²⁴⁸ Το πρώτο περιλαμβάνει την κυκλοοξυγενάση και καταλήγει στην παραγωγή προσταγλανδινών και θρομβοξανών. Ο σίδηρος στο ενεργό κέντρο της κυκλοοξυγενάσης²⁴⁹ μπορεί να συμπλεχθεί με τα υδροξαμικά οξέα, γεγονός που οδηγεί στον αποκλεισμό αυτού του μονοπατιού. Η δεύτερη οδός περιλαμβάνει λιποξυγενάσες οι οποίες χρειάζονται το σίδηρο για να είναι ενεργές. Είναι υπεύθυνες για την

οξειδωση των λιπαρών οξέων που παράγουν λευκοτριένια και οι λιποξίνες²⁵⁰ και μπορούν επίσης να απενεργοποιηθούν από τα υδροξαμικά οξέα.

Ο διαλυτός TNF-α είναι υπεύθυνος για φλεγμονώδεις αντιδράσεις που συνδέονται με διάφορες ασθένειες, όπως η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου, η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η οστεοαρθρίτιδα, το εγκεφαλικό επεισόδιο και η νόσος του Crohn. Η διαλυτή αυτή μορφή προέρχεται από τον TNF-α με τη βοήθεια του μετατρεπτικού ενζύμου του TNF-α,²⁵¹ το οποίο είναι μία μεταλλοπρωτεάση με ενεργό κέντρο παρόμοιο με αυτό των MMPs. Ενδιαφέρουσα αντιφλεγμονώδης δράση έχει αναφερθεί για πολλά παράγωγα υδροξαμικών οξέων.^{220,252}

Αναστολή άλλων ενζύμων -όπως οι αφυδρογονάσες τύπου 2 των 11β-υδροξυστεροειδών.²⁵³ η αμινοπεπτιδάση, η διπεπτιδυλαμινοπεπτιδάση²⁵⁴ και οι HDACs-²⁵⁵ που οδηγεί σε αντιφλεγμονώδη δράση έχει αναφερθεί. Η αναστολή των HDACs είναι επίσης ενδιαφέρουσα στη θεραπεία του άσθματος.²⁵⁶

2.8.6 Αντινευροεκφυλιστική δράση

Η ανθρώπινη ρακεμάση της σερίνης είναι υπεύθυνη για την παραγωγή στο κεντρικό νευρικό σύστημα της D-σερίνης, η οποία δρα ως νευροδιαβιβαστής και ενδογενής συναγωνιστής των ιοντικών διαύλων των υποδοχέων N-μεθυλο-D-ασπαρτικού οξέος. Οι αναστολείς ρακεμάσης της σερίνης αποτελούν εργαλείο για τη θεραπεία νευροεκφυλιστικών ασθενειών όπως η αμυοατροφική πλευρική σκλήρυνση²⁵⁷ και η νόσος του Alzheimer,²⁵⁸ αφού και οι δύο σχετίζονται με αυξημένα επίπεδα της D-σερίνης. Λίγες πληροφορίες σχετικά με την τρισδιάστατη δομή του ενζύμου έχουν αναφερθεί μέχρι σήμερα, περιορίζοντας την *in silico* ανάπτυξη αναστολέων, παρ' όλα αυτά ο πιο ισχυρός φαίνεται να είναι τα υδροξαμικά οξέα.²⁵⁹

Διάφορες εκφυλιστικές ασθένειες του κεντρικού και του περιφερικού νευρικού συστήματος σχετίζονται με την παραγωγή περίσσειας γλουταμινικού που προκαλεί νευροτοξικά αποτελέσματα και προέρχεται από την υδρόλυση του N-ακετυλοασπαρτυλογλουταμινικού από την γλουταμινική καρβοξυπεπτιδάση II.²⁶⁰ Φαντάζει προφανές ότι η αναστολή αυτού του ενζύμου θα έχει ευεργετική επίδραση στη θεραπεία τέτοιων εκφυλιστικών ασθενειών. Η

καρβοξυπεπτιδάση II είναι μία μεταλλοπεπτιδάση που φέρει δύο ιόντα ψευδαργύρου, τα οποία μπορούν να συμπλακούν με παράγωγα υδροξαμικού οξέος αδρανοποιώντας το ένζυμο.²⁴⁵

Ακόμη, η αναστολή των HDACs και MMPs δοκιμάστηκε και έδωσε θετικά αποτελέσματα στη θεραπεία νευροεκφυλιστικών παθήσεων.²⁶¹

2.8.7 Προστατευτική δράση έναντι καρδιαγγειακών νοσημάτων

Εκτός από την αναστολή των HDACs,²⁶² διάφορες βιολογικές δράσεις θα μπορούσαν να σχετίζονται με την προστασία από καρδιαγγειακές παθήσεις.

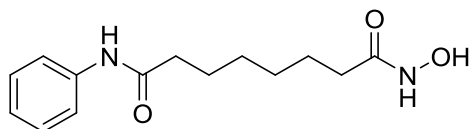
Ο σχηματισμός μονοξειδίου του αζώτου αποτελεί μία βιοχημική οδό που εμπλέκεται στη ρύθμιση του καρδιαγγειακού συστήματος.²⁶³ Τα υδροξαμικά οξέα είναι δότες οξειδίου του αζώτου,²⁶⁴ γεγονός το οποίο εξηγεί τις αγγειοδιασταλτικές ιδιότητες τους²⁶⁵ και, ως εκ τούτου, τη σημασία τους στην ανάπτυξη αντιυπερτασικών φαρμάκων.

2.9 Φάρμακα που είναι παράγωγα υδροξαμικών οξέων

2.9.1 Vorinostat

Ανάμεσά στους αναστολείς των HDACs οι πιο ισχυροί είναι τα παράγωγα υδροξαμικού οξέος, με το vorinostat (σουβεροϋλανιλιδοϋδροξαμικό οξύ, suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA, εμπορική ονομασία Zolinza[®]) να είναι ο πρώτος εγκεκριμένος από τον FDA (Food and Drug Administration) αναστολέας για τη θεραπεία του πρωτοπαθούς δερματικού λεμφώματος T-κυττάρων (cutaneous T cell lymphoma, CTCL)²⁶⁶ και να δοκιμάζεται και για άλλες κακοήθειες.²⁶⁷ Εκτός του CTCL, το vorinostat ανέστειλε προκλινικά διαφορετικές κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού,²⁶⁸ όμως η φάση II κλινικών δοκιμών υπέδειξε ότι πρέπει να αξιολογηθεί περαιτέρω για την αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού ως μέρος μιας συνδυαστικής θεραπείας.²⁶⁹ Επίσης, επέδειξε μέτρια δραστηριότητα σε ασθενείς με προχωρημένο πολλαπλό μυέλωμα.²⁷⁰ Περιορισμένη δράση είχε κατά του υποτροπιάζοντος διάχυτου από μεγάλα B-κύτταρα λεμφώματος,²⁷¹ κατά του

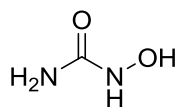
υποτροπιάζοντος ή εμμένοντος επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών και κατά του πρωτοπαθούς περιτοναϊκού καρκινώματος.²⁷²



Σχήμα 27: SAHA.

2.9.2 Υδροξουρία

Η HU^{212a} (Σχήμα 28) ήταν αρχικά γνωστή για τη δράση της κατά της ανάπτυξης των λευκοκυττάρων. Το 1967 ο FDA ενέκρινε τη χρήση της. Σήμερα, χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας,²⁷³ της HIV λοίμωξης,²⁷⁴ της θρομβοκυτταραιμίας,²⁷⁵ της ψωρίασης²⁷⁶ και της πολυκυτταραιμίας vera.²⁷⁷ Ως αντικαρκινικό φάρμακο δρα κατά της χρόνιας ανθεκτικής μυελοκυτταρικής λευχαιμίας,²⁷⁸ του καρκίνου των ωοθηκών, του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας,²⁷⁹ του μελανώματος και του μηνιγγιώματος.²⁸⁰ Τέλος, σε συνδυασμό με ακτινοβολία χρησιμοποιείται στη θεραπεία του καρκινώματος πλακωδών κυττάρων στο κεφάλι και το λαιμό.²⁸¹ Αυτό το ευρύ φάσμα δράσης οφείλεται κυρίως στην ικανότητα της HU να εισέρχεται μέσω παθητικής διάχυσης στα κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων του εγκεφάλου και του εγκεφαλονωτιαίου υγρού.²⁸² Η HU βρίσκεται στο World Health Organization's List of Essential Medicines, έναν κατάλογο με τα πιο σημαντικά φάρμακα που χρειάζονται σε ένα βασικό σύστημα υγείας.

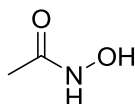


Σχήμα 28: Υδροξουρία.

2.9.3 Ακετοϋδροξαμικό οξύ (Lithostat)

Η βακτηριακή ουρεάση είναι η κύρια αιτία δημιουργίας πετρών του ουροποιητικού που προκαλείται από μόλυνση. Το ακετοϋδροξαμικό οξύ είναι ένας ισχυρός και μη αντιστρεπτός αναστολέας της ουρεάσης. Το 1983 ο FDA ενέκρινε τη χρήση του και το χαρακτήρισε ως ορφανό φάρμακο (δηλαδή φάρμακο που προορίζεται για τη θεραπεία σπάνιων ασθενειών) για την πρόληψη των λεγόμενων πετρών στρουβίτη.²⁸³ Απορροφάται ταχέως και

πλήρως από το γαστρεντερικό σωλήνα και αποβάλλεται με τα ούρα. Η χρήση από ασθενείς με ουρικές μολύνσεις εξαιτίας βακτηρίων μπορεί να μειώσει την παθογένεια του μολυσματικού οργανισμού και να οδηγήσει στην πρόληψη ή/και στη διάλυση των λίθων που συνδέονται συνήθως με τις μολύνσεις αυτές.²⁸⁴ Επιπλέον, μειώνει τα επίπεδα αμμωνίας και το pH στα ούρα, ενισχύοντας έτσι την αποτελεσματικότητα των αντιμικροβιακών παραγόντων, με αποτέλεσμα να επιταχύνεται η θεραπεία των λοιμώξεων.²⁸⁵



Σχήμα 29: Ακετουδροξαμικό οξύ.

2.9.4 Desferal

Το desferal ή μεθανοσουλφονικό άλας της δεφεροξαμίνης είναι μία ένωση που έχει την ικανότητα να συμπλέκεται με το σίδηρο. Έτσι, είναι σημαντικό στη θεραπεία της οξείας δηλητηρίασης σιδήρου. Ως χηλικός παράγοντας, το desferal σχηματίζει με το σίδηρο τη φεροξαμίνη, ένα σταθερό σύμπλοκο που εμποδίζει το σίδηρο να συμμετάσχει σε περαιτέρω χημικές αντιδράσεις. Το σύμπλοκο είναι διαλυτό σε νερό και περνά εύκολα στους νεφρούς, δίνοντας στα ούρα ένα χαρακτηριστικό κοκκινωπό χρώμα.²⁸⁶

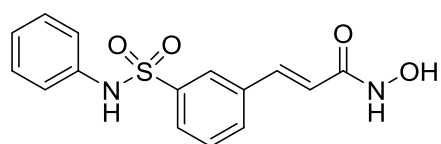
Χρησιμοποιείται επίσης για τη θεραπεία της αιμοχρωμάτωσης, μίας ασθένειας συσσώρευσης σιδήρου που μπορεί να είναι είτε γενετική είτε επίκτητη. Η επίκτητη αιμοχρωμάτωση είναι συνήθης σε ασθενείς με ορισμένους τύπους χρόνιας αναιμίας (π.χ. μεσογειακή αναιμία και μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο), οι οποίοι απαιτούν πολλές μεταγγίσεις αίματος, γεγονός το οποίο μπορεί να αυξήσει σημαντικά την ποσότητα του σιδήρου στον οργανισμό τους.²⁸⁷

Είναι ακόμη χρήσιμο στην ελαχιστοποίηση των καρδιοτοξικών παρενεργειών της δοξορουβικίνης καθώς και στη θεραπεία ασθενών με ασερουλοπ्लासминαιμία.²⁸⁸

Και αυτό υπάρχει στο World Health Organization's List of Essential Medicines.

2.9.5 Belinostat (PXD101)

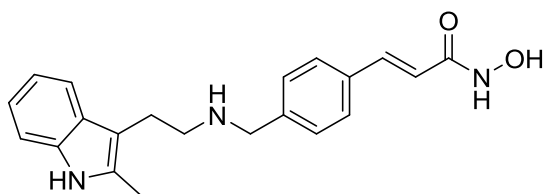
Το belinostat (εμπορική ονομασία Beleodaq) είναι ένας αναστολέας HDAC που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία αιματολογικών κακοηθειών και στερεών όγκων.²⁸⁹ Κλινικές δοκιμές φάσης I διενεργήθηκαν σε ένα ευρύ φάσμα αιματολογικών και συμπαγών όγκων, φανερώνοντας σταθερότητα της νόσου με χαμηλά ποσοστά ανεπιθύμητων ενεργειών, ενώ σε δύο μελέτες φάσης II με χορήγηση του belinostat ενδοφλεβίως παρατηρήθηκε τουλάχιστον 25% συνολική απόκριση έναντι του T περιφερικού λεμφώματος και ελάχιστη τοξικότητα.²⁹⁰ Χαρακτηρίστηκε ως ορφανό φάρμακο από τον FDA και εγκρίθηκε στις ΗΠΑ το 2014 για χρήση κατά του T περιφερικού λεμφώματος, ενώ στην Ευρώπη δεν είναι εγκεκριμένο.



Σχήμα 30: Belinostat.

2.9.6 Panobinostat

Το panobinostat (LBH-589, εμπορική ονομασία Farydak[®]) (Σχήμα 31) δρα ως μη-εκλεκτικός αναστολέας των HDACs.²⁹¹ Το 2015 έλαβε την έγκριση του FDA για χρήση από ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα, συνδυαστικά με βορτεζομίπη, έναν τύπο χημειοθεραπείας, και δεξαμεθαζόνη, ένα αντιφλεγμονώδες φάρμακο.²⁹²



Σχήμα 31: Panobinostat.

Επίσης εξετάζεται κατά του λεμφώματος Hodgkin, του CTCL και άλλων τύπων κακοήθων νόσων σε επίπεδο φάσης III κλινικών μελετών, κατά του καρκίνου του μαστού, του καρκίνου του προστάτη και μυελοδυσπλαστικών συνδρόμων σε φάση II και κατά της χρόνιας μυελομονοκυτταρικής λευχαιμίας σε φάση I κλινικών δοκιμών.²⁹³

Ακόμη, το Panobinostat δοκιμάζεται από το 2014 σε φάση I/II κλινικών μελετών που αποσκοπεί στην θεραπεία του AIDS με αντιρετροϊκή θεραπεία υψηλής δραστηριότητας (θεραπεία που περιλαμβάνει τρία ή περισσότερα αντιρετροϊκά φάρμακα). Πιο συγκεκριμένα, το panobinostat χρησιμοποιείται για να οδηγήσει το DNA του HIV εκτός του DNA του ασθενούς, με την προσδοκία ότι το ανοσοποιητικό σύστημα του ασθενούς σε συνδυασμό με τα φάρμακα θα το εξαλείψουν.²⁹⁴

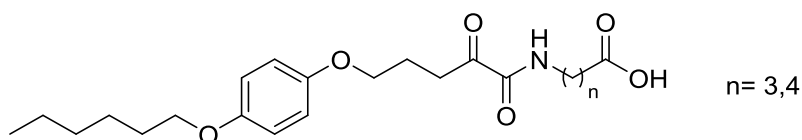
Σε προκλινικές μελέτες, το panobinostat βρέθηκε να αυξάνει σημαντικά *in vitro* τα επίπεδα της πρωτεΐνης SMN (survival of motor neuron) σε κύτταρα ασθενών που πάσχουν από νωτιαία μυϊκή ατροφία,²⁹⁵ ενώ πέτυχε σημαντική υποχώρηση παγκρεατικού όγκου *in vivo*.²⁹⁶ Ακόμη, μία μελέτη του 2015 υπέδειξε ότι το panobinostat ήταν αποτελεσματικό *in vitro* και *in vivo* στην πρόληψη της ανάπτυξης κυττάρων του διάχυτου εγγενούς γλοιώματος γέφυρας, ένα θανατηφόρο καρκίνο της παιδικής ηλικίας.²⁹⁷

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

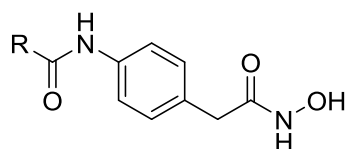
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Οι φωσφολιπάσες A_2 (PLA_2) υδρολύουν φωσφολιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών απελευθερώνοντας λιπαρά οξέα, συμπεριλαμβανομένου του αραχιδονικού οξέος, και λυσοφωσφολιπίδια. Το αραχιδονικό οξύ μετατρέπεται μέσω διαφόρων ενζύμων σε μία σειρά προφλεγμονωδών εικοσανοειδών (προσταγλανδίνες, λευκοτριένια κλπ). Από την άλλη πλευρά, ένα από τα σημαντικότερα λυσοφωσφολιπίδια είναι το LPC, το οποίο στη συνέχεια μετατρέπεται από την ATX σε LPA. Τόσο οι PLA_2 όσο και η ATX εμπλέκονται σε φλεγμονώδεις καταστάσεις, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου, με αποτέλεσμα ο άξονας PLA_2/ATX να αποτελεί ιδιαίτερα ελκυστικό στόχο για την ανάπτυξη αναστολέων και την ανακάλυψη νέων αντιφλεγμονωδών ενώσεων.

Γνωρίζοντας από τη βιβλιογραφία ότι ενώσεις που φέρουν τη 2-οξοαμιδική ομάδα δρουν ανασταλτικά έναντι της κυτοσολικής GIVA $cPLA_2$, πρωταρχικός σκοπός ήταν η σύνθεση νέων 2-οξοαμιδικών παραγώγων με διαφορετικό μήκος της ανθρακικής αλυσίδας του αμινοξέος. Τέτοια παράγωγα παρουσιάζουν μειωμένη λιποφιλικότητα.

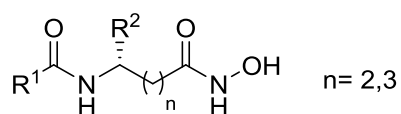


Όσον αφορά τον σχεδιασμό αναστολέων ATX, γνωρίζοντας πως τα υδροξαμικά οξέα έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν τα μεταλλικά ιόντα ενζύμων, αναστέλλοντας τη δράση τους, θεωρήθηκε πιθανό να δρουν ανασταλτικά και κατά της ATX, η οποία φέρει στο ενεργό της κέντρο δύο ιόντα ψευδαργύρου. Επομένως, σκοπός ήταν να παρασκευαστούν νέα υδροξαμικά οξέα και παράγωγά αυτών, ώστε να εξεταστεί εάν έχουν ανασταλτική δράση έναντι του ενζύμου.



Αρχικά σχεδιάστηκαν ενώσεις βασισμένες στο 4-αμινοφαινυλοξικό οξύ. Η άκυλο αλυσίδα μπορεί να είναι ευθεία κορεσμένη αλυσίδα ή αλυσίδα που να περιέχει αρωματικό δακτύλιο.

Στη συνέχεια σχεδιάστηκαν υδροξαμικές ενώσεις που βασίζονται σε γλουταμινικό οξύ αλλά και σε δ-αμινοξέα όπως η δ-νορλευκίνη ή το αμινοαδιπικό οξύ.



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

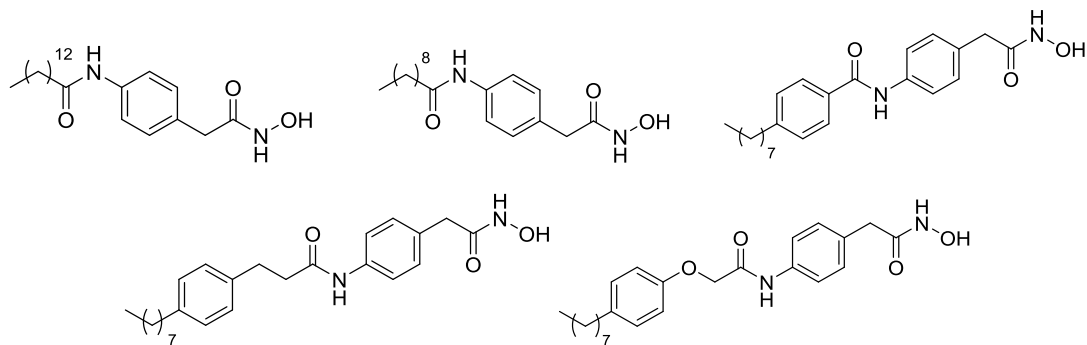
ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ ΥΔΡΟΞΑΜΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ ΩΣ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΤΗΣ ΑΤΧ

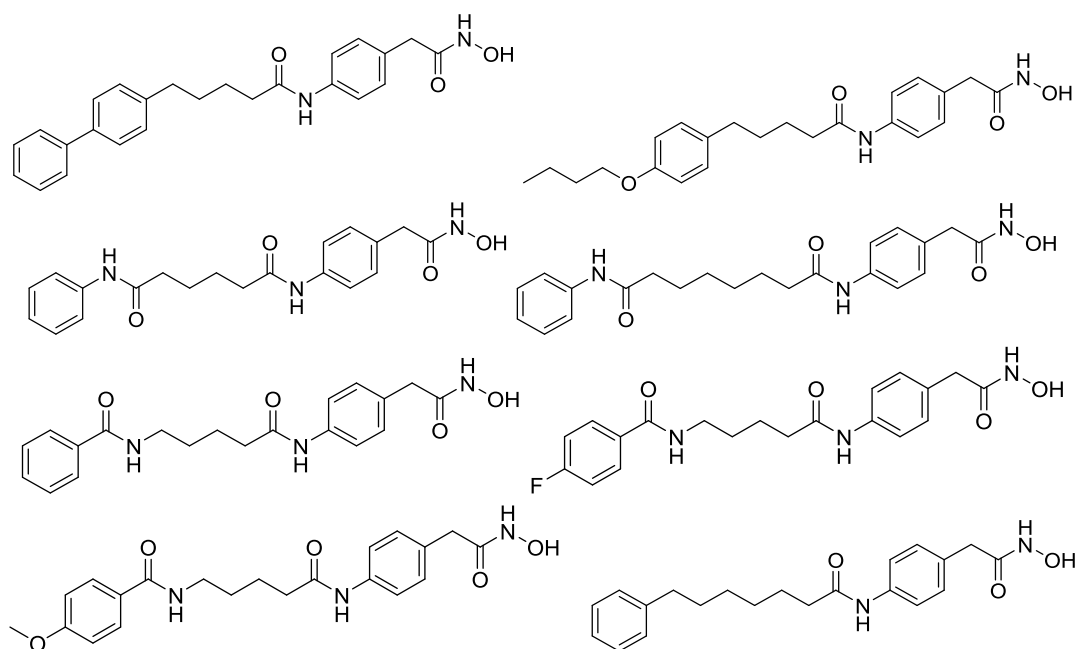
4.1 Σχεδιασμός των πιθανών αναστολέων

Όπως προαναφέρθηκε, τα υδροξαμικά οξέα έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν τα μεταλλικά ιόντα ενζύμων, αναστέλλοντας έτσι τη δράση τους. Στην παρούσα εργασία θεωρήθηκε ενδιαφέρον να εξεταστεί εάν υδροξαμικά οξέα και παράγωγά τους παρουσιάζουν ανασταλτική δράση κατά της ΑΤΧ, η οποία φέρει στο ενεργό της κέντρο δύο ιόντα ψευδαργύρου. Για το λόγο αυτό σχεδιάστηκε και συντέθηκε μία σειρά από υδροξαμικά οξέα και παράγωγά τους και μελετήθηκε η *in vitro* δράση τους έναντι του ενζύμου.

4.2 Σύνθεση υδροξαμικών οξέων βασισμένων στο 4-αμινοφαινυλοξικό οξύ

Αρχικά συντέθηκε το υδροξαμικό ανάλογο του αναστολέα S32826 (**15**). Έπειτα σχεδιάστηκαν και συντέθηκαν υδροξαμικά οξέα με διαφοροποιήσεις στη δομή -όπως διαφορετικό μήκος ανθρακικής αλυσίδας, εισαγωγή αρωματικών δακτυλίων, ύπαρξη υποκαταστατών επάνω σε αυτούς- οι τύποι των οποίων συνοψίζονται στο Σχήμα 32. Αντικειμενικός σκοπός ήταν να επιτευχθεί η μεγαλύτερη δυνατή συγγένεια των αναστολέων ως προς το ένζυμο.

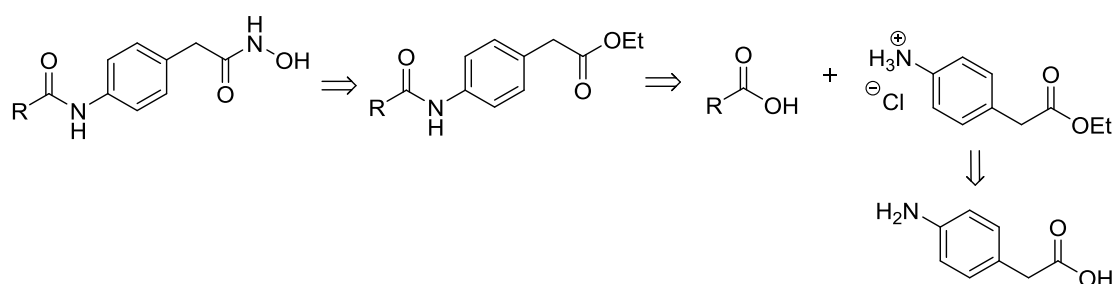




Σχήμα 32: Υδροξαμικά οξέα βασισμένα στη δομή του 4-αμινοφαινυλοξικού οξέος που σχεδιάστηκαν και παρασκευάστηκαν ως πιθανοί αναστολείς της ATX.

4.2.1 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης

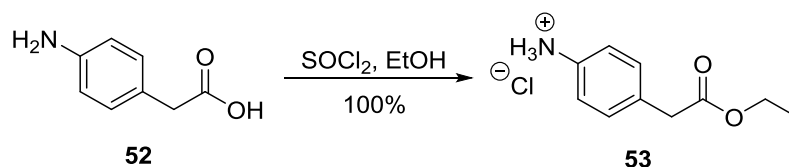
Όπως φαίνεται από την αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης (Σχήμα 33), προκειμένου να συντεθούν οι ενώσεις στόχοι απαιτείται η σύνθεση των ανάλογων εστέρων, οι οποίοι μπορούν να συντεθούν μέσω αντιδράσεων σύζευξης του εκάστοτε κατάλληλου οξέος με τον εστέρα (π.χ. αιθυλεστέρα) του 4-αμινοφαινυλοξικού οξέος, ο οποίος μπορεί να προκύψει με εστεροποίηση του 4-αμινοφαινυλοξικού οξέος.



Σχήμα 33: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης υδροξαμικών οξέων βασισμένων στη δομή του 4-αμινοφαινυλοξικού οξέος.

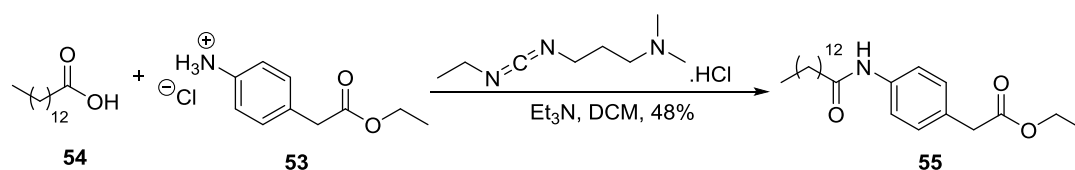
4.2.2 Σύνθεση του *N*-(4-(2-(υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)τετραδεκαναμιδίου

Ξεκινώντας με πρώτη ύλη το 4-αμινοφαινυλοξικό οξύ (**52**) πραγματοποιήθηκε αντίδραση εστεροποίησης με απόλυτη αιθανόλη παρουσία θειονυλοχλωριδίου²⁹⁸ (Σχήμα 34).



Σχήμα 34: Σύνθεση αιθυλεστέρα του 4-αμινοφαινυλοξικού οξέος.

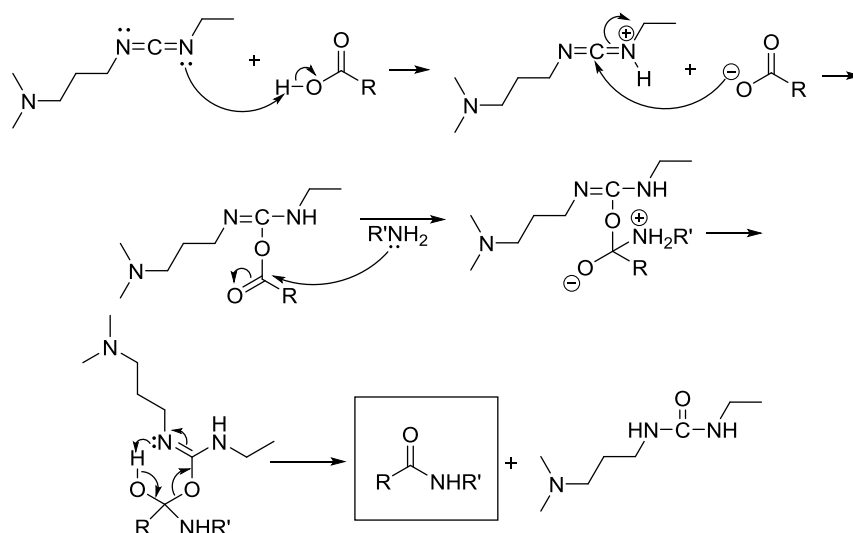
Στη συνέχεια, έλαβε χώρα αντίδραση σύζευξης της ένωσης **53** με μυριστικό οξύ (**54**), με τη χρήση υδροχλωρικού άλατος του 1-αιθυλο-3-(3-διμεθυλαμινοπροπυλο)καρβοδιιμιδίου (EDC.HCl) και τριαιθυλαμίνης, με προϊόν την ένωση **55** (Σχήμα 35).



Σχήμα 35: Σύνθεση της ένωσης **55** μέσω αντίδρασης σύζευξης.

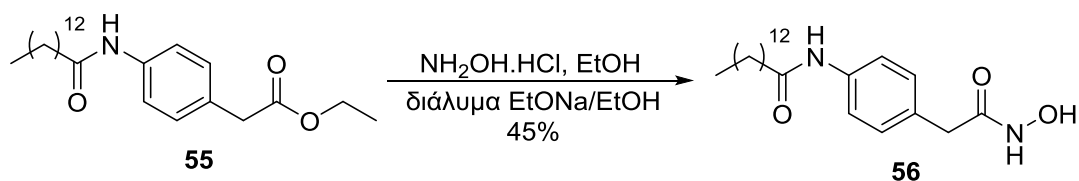
Ο μηχανισμός της παραπάνω αντίδρασης φαίνεται στο Σχήμα 36. Η τριαιθυλαμίνη εξουδετερώνει τόσο το υδροχλωρικό άλας του αμινο συστατικού, όσο και το υδροχλωρικό άλας του καρβοδιιμιδίου.

Ακόμη, αξίζει να σημειωθεί ότι σε αντίθεση με τις περιπτώσεις που υπάρχει ένα ασύμμετρο κέντρο (όπως σε επόμενες συνθέσεις) και χρησιμοποιείται υδροξυβενζοτρίαζόλιο (HOBT), το οποίο μειώνει τον κίνδυνο ρακεμίσωσης, σε όσες δεν υπάρχει ασύμμετρο κέντρο δεν χρησιμοποιήθηκε χάριν οικονομίας αντιδραστηρίων.



Σχήμα 36: Μηχανισμός σύζευξης.

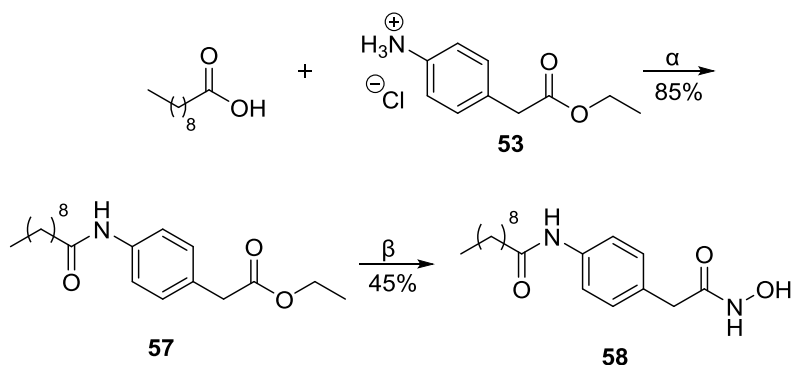
Τέλος, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση του υδροξαμικού οξέος **56**, με αντίδραση του εστέρα **55** με υδροχλωρική υδροξυλαμίνη, σε διάλυμα αιθοξυ νατρίου σε αιθανόλη και ρύθμιση του pH σε τιμή 8 (Σχήμα 37).



Σχήμα 37: Αντίδραση σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος **56**.

4.2.3 Σύνθεση του *N*-(4-(2-(υδροξαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ) δεκαναμιδίου

Η ίδια συνθετική πορεία ακολουθήθηκε και για τη σύνθεση του υδροξαμικού οξέος **58**. Το 4-αμινοφαινυλοξικό οξύ (**52**) υπέστη εστεροποίηση και η ένωση **53** συνεζεύχθη με το δεκανοϊκό οξύ παρέχοντας τον εστέρα **57**, ο οποίος μετατράπηκε στο αντίστοιχο υδροξαμικό οξύ **58** (Σχήμα 38).

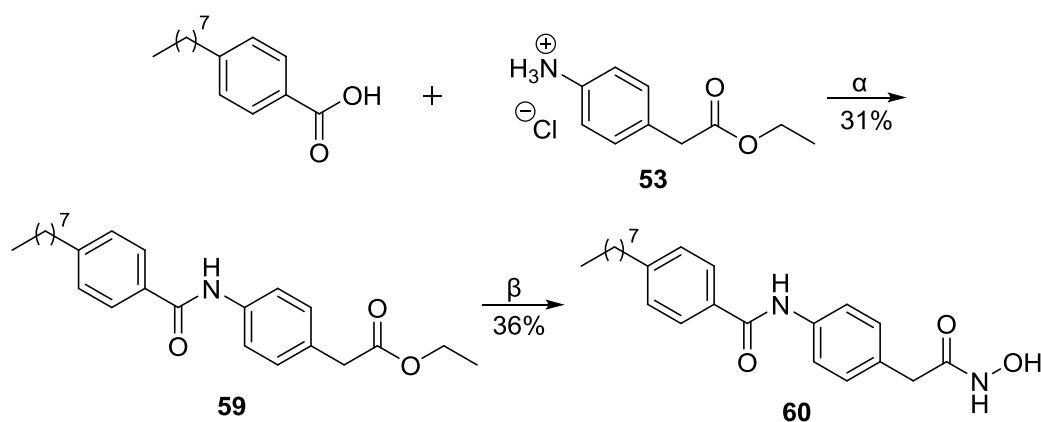


(α) EDC.HCl, NEt₃, άνυδρο CH₂Cl₂, (β) NH₂OH.HCl, EtOH, διάλυμα EtONa/EtOH.

Σχήμα 38: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 58.

4.2.4 Σύνθεση του *N*-(4-(2-(υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)-4-οκτυλβενζαμιδίου

Η ίδια πορεία έλαβε χώρα για τη σύνθεση της ένωσης **60**. Μετά από σύζευξη του εστεροποιημένου 4-αμινοφαινυλοξικού οξέος (**53**) με το 4-οκτυλοβενζοϊκό οξύ, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση του τελικού υδροξαμικού οξέος **60** (Σχήμα 39).



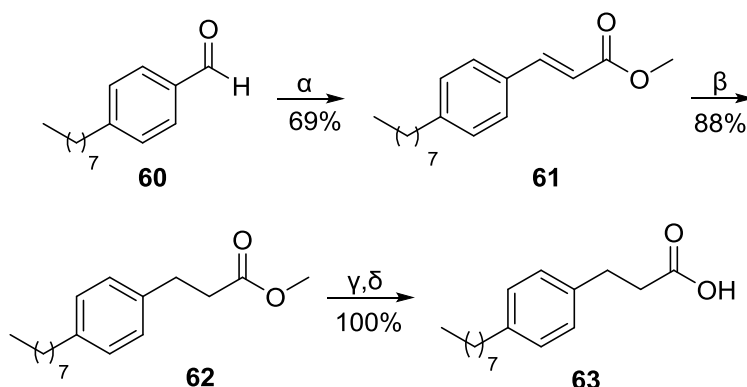
(α) EDC.HCl, NEt₃, άνυδρο CH₂Cl₂, (β) NH₂OH.HCl, EtOH, διάλυμα EtONa/EtOH.

Σχήμα 39: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 60.

4.2.5 Σύνθεση του *N*-(4-(2-(υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)-3-(4-οκτυλφαινυλ)προπαναμιδίου

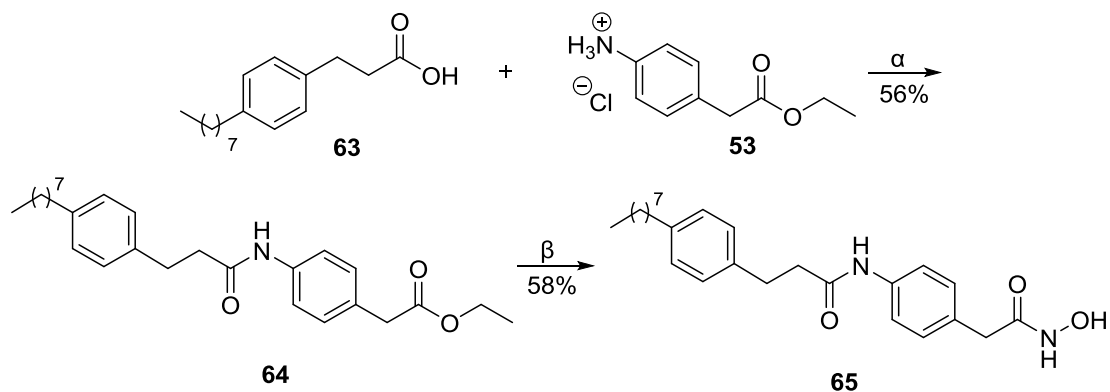
Ομοίως συντέθηκε και το τελικό προϊόν **65**, με τη διαφορά ότι το οξύ που συζεύχθηκε με το αλάτι **53** δεν ήταν εμπορικά διαθέσιμο. Για τη σύνθεση του χρησιμοποιήθηκε η 4-οκτυλοβενζαλδεΰδη (**60**), από την οποία προέκυψε ο ακόρεστος εστέρας **61** μέσω αντίδρασης Wittig με το σταθεροποιημένο υλίδιο

$\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCOOMe}$. Με καταλυτική υδρογόνωση παρουσία Pd/C 10% λήφθηκε ο αντίστοιχος κορεσμένος εστέρας **62**, ο οποίος σαπωνοποιήθηκε με NaOH 1N και υπέστη κατεργασία με HCl 1N, ώστε να παραληφθεί το ελεύθερο καρβοξυλικό οξύ **63** (Σχήμα 40). Τέλος, το συζευγμένο παράγωγο αυτού με το **53** παρείχε το υδροξαμικό οξύ αντιδρώντας με υδροχλωρική υδροξυλαμίνη (Σχήμα 41).



(α) $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCOOCH}_3$, άνυδρο THF, (β) H_2 , 10% Pd/C , MeOH, (γ) NaOH 1N, 1,4-διοξάνη, (δ) HCl 1N.

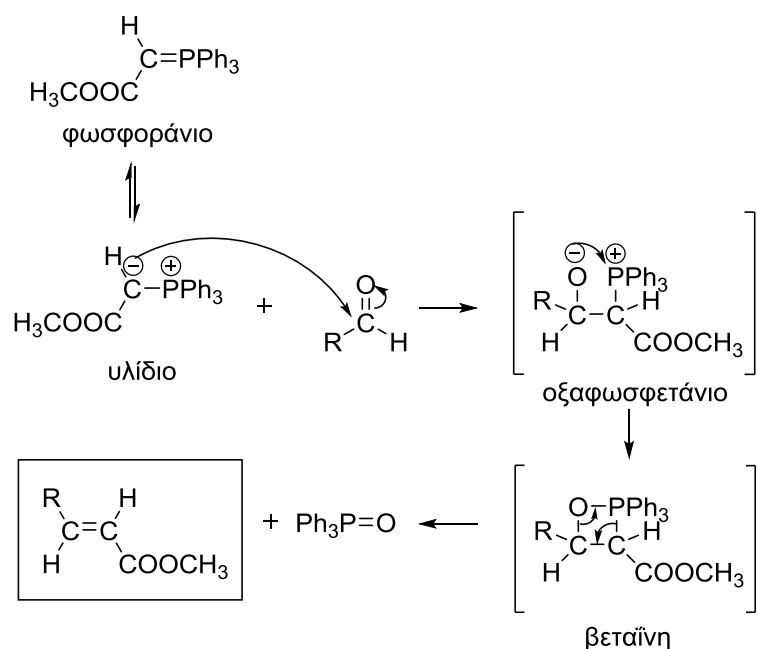
Σχήμα 40: Σύνθεση του οξέος 63.



(α) EDC.HCl , NEt_3 , άνυδρο CH_2Cl_2 , (β) $\text{NH}_2\text{OH.HCl}$, EtOH, διάλυμα EtONa/EtOH .

Σχήμα 41: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 65.

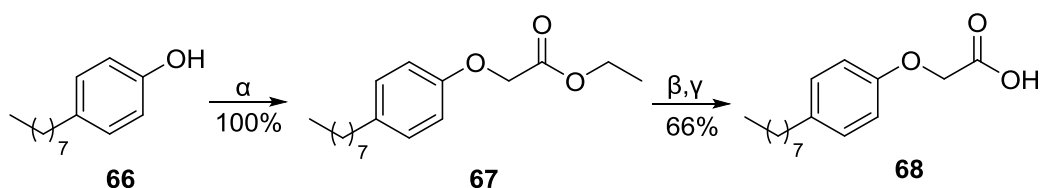
Ο μηχανισμός της αντίδρασης Wittig μεταξύ του υλιδίου του φωσφόρου και της αλδεΐδης παρουσιάζεται στο Σχήμα 42.



Σχήμα 42: Μηχανισμός της αντίδρασης Wittig.

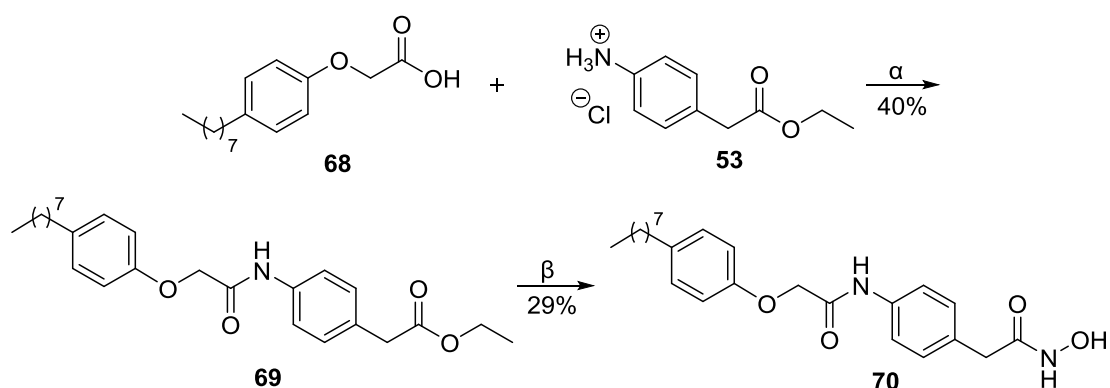
4.2.6 Σύνθεση του *N*-υδροξυ-2-(4-(2-(4-οκτυλφαινοξυ)ακεταμιδο)φαινυλ)ακεταμιδίου

Το οξύ που απαιτείται για τη σύνθεση του προϊόντος **70** δεν είναι εμπορικά διαθέσιμο και παρασκευάστηκε ως εξής: η πρώτη ύλη, η 4-*n*-οκτυλφαινόλη (**66**) αντέδρασε με βρωμοξικό αιθυλεστέρα παρουσία ανθρακικού καλίου²⁹⁹ και το προϊόν (**67**) υπέστη σαπωνοποίηση (Σχήμα 43). Ακολούθησε σύζευξη με την ένωση **53** και, τέλος, η παραλαβή του υδροξυαμικού οξέος **70** μετά από αντίδραση με υδροχλωρική υδροξυλαμίνη, όπως φαίνεται στο Σχήμα 44.



(α) K_2CO_3 , $\text{BrCH}_2\text{COOEt}$, ακετόνη, (β) NaOH 1N, 1,4-διοξάνη, (γ) HCl 1N.

Σχήμα 43: Σύνθεση του οξέος **68**.

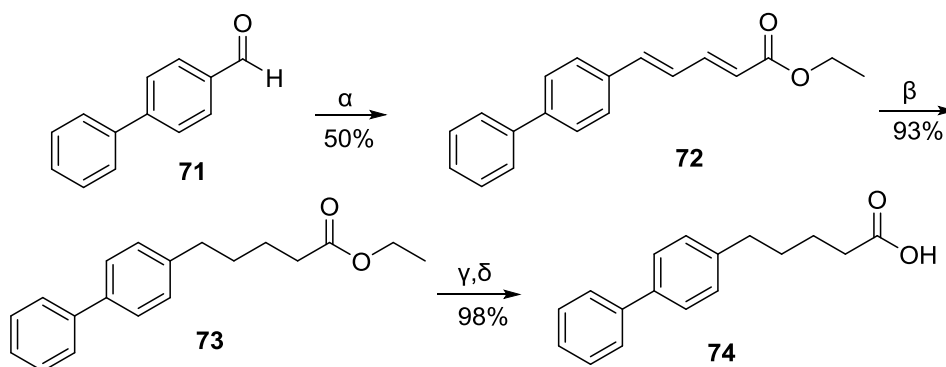


(α) EDC.HCl, NEt₃, άνυδρο CH₂Cl₂, (β) NH₂OH.HCl, EtOH, διάλυμα EtONa/EtOH.

Σχήμα 44: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 70.

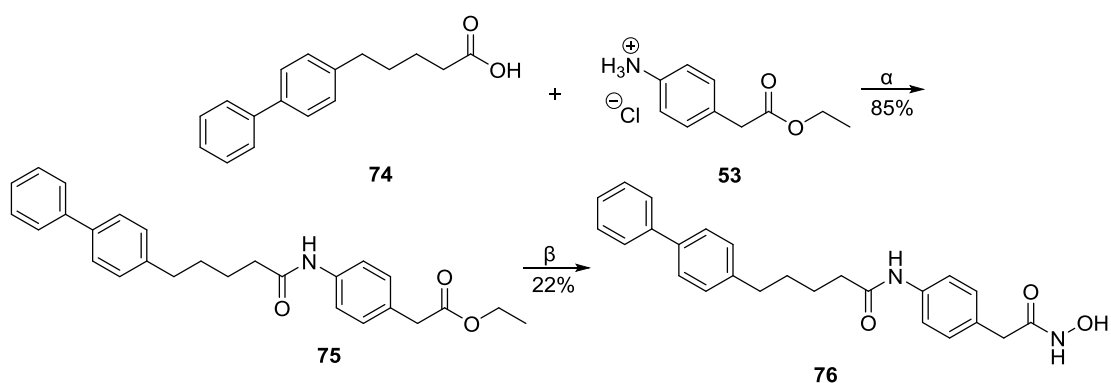
4.2.7 Σύνθεση του 5-([1,1'-διφαινυλο]-4-υλ)-N-(4-(2-(υδροξαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)πενταναμιδίου

Το καρβοξυλικό οξύ που χρειάστηκε στη σύνθεση του τελικού προϊόντος **76** συντέθηκε με την ακόλουθη πορεία. Ξεκινώντας με πρώτη ύλη τη διφαινυλο-4-καρβοξαλδεΐδη (**71**) πραγματοποιήθηκε αντίδραση ολεφिनοποίησης Horner-Wadsworth-Emmons με το φωσφινικό ανιόν που προέκυψε από τον τριαιθυλο-4-φωσφονοκροτονικό διεστέρα μετά από κατεργασία με LiOH δίνοντας τον αιθυλεστέρα **72**. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκαν καταλυτική υδρογόνωση παρουσία 10% Pd/C (**73**) και σαπωνοποίηση προς σχηματισμό του καρβοξυλικού οξέος **74** (Σχήμα 45). Το οξύ συζεύχθηκε με την ένωση **53**, παρέχοντας τον εστέρα **75** ο οποίος μετατράπηκε τελικά στο επιθυμητό υδροξαμικό οξύ **76** (Σχήμα 46).



(α) C₂H₅OOCCH=CHCH₂P(=O)(OC₂H₅)₂, LiOH.H₂O, άνυδρο THF, (β) H₂, 10% Pd/C, απόλυτη EtOH, (γ) NaOH 1N, 1,4-διοξάνη, (δ) HCl 1N.

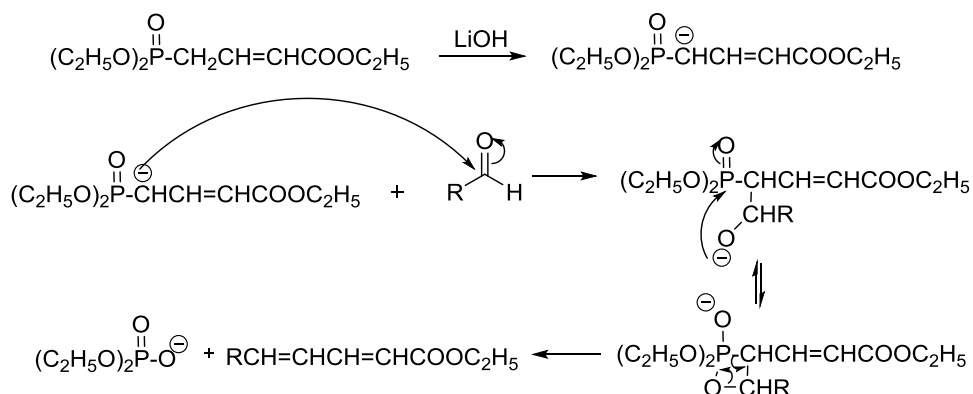
Σχήμα 45: Σύνθεση του οξέος 74.



(α) EDC.HCl, NEt₃, άνυδρο CH₂Cl₂, (β) NH₂OH.HCl, EtOH, διάλυμα EtONa/EtOH.

Σχήμα 46: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 76.

Ο μηχανισμός που έχει προταθεί για την αντίδραση του C₂H₅OOCC⁻CH=CHCH₂P(=O)(OC₂H₅)₂ με τις αλδεΐδες, περιλαμβάνει το σχηματισμό ενός κυκλικού ενδιάμεσου τύπου Wittig³⁰⁰ και παρουσιάζεται στο Σχήμα 47.

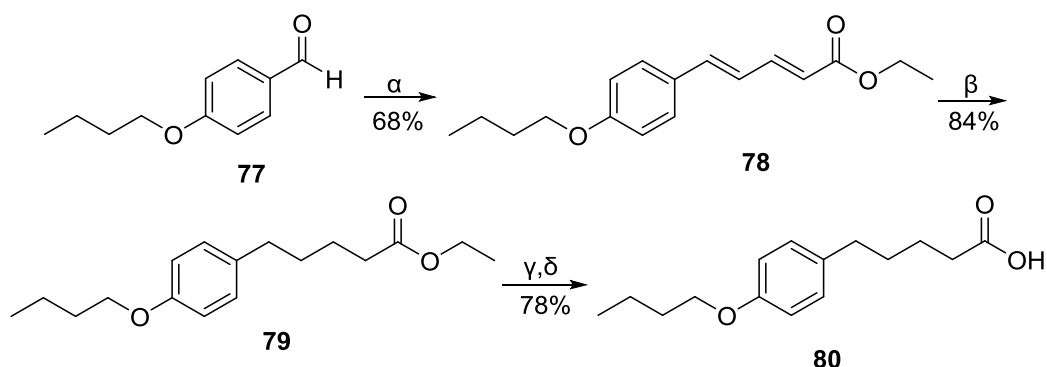


Σχήμα 47: Μηχανισμός δράσης του τριαιθυλο-4-φωσφοнокροτονικού διεστέρα.

4.2.8 Σύνθεση του 5-(4-βουτοξυφαινυλ)-N-(4-(2-(υδροξαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)πενταναμιδίου

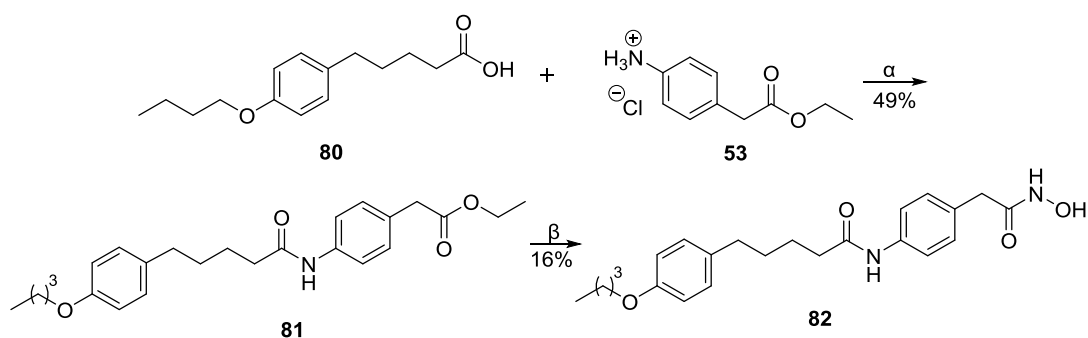
Με την ίδια ακριβώς πορεία πραγματοποιήθηκε η σύνθεση του υδροξαμικού οξέος 82. Η 4-n-βουτοξυβενζαλδεΐδη (77) μέσω επιμήκυνσης της ανθρακικής αλυσίδας με αντίδραση ολεφिनοποίησης Horner-Wadsworth-Emmons μετατράπηκε στον αιθυλεστέρα 78. Έπειτα από διαδοχικές αντιδράσεις καταλυτικής υδρογόνωσης (79) και σαπωνοποίησης προέκυψε το καρβοξυλικό οξύ 80 (Σχήμα 48). Σύζευξη αυτού με την ένωση 53 παρείχε τον

εστέρα **81**, ο οποίος αντέδρασε με υδροχλωρική υδροξυλαμίνη προς σχηματισμό του τελικού προϊόντος **82** (Σχήμα 49).



(α) $\text{C}_2\text{H}_5\text{OOCCH}=\text{CHCH}_2\text{P}(=\text{O})(\text{OC}_2\text{H}_5)_2$, $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$, άνυδρο THF, (β) H_2 , 10% Pd/C, απόλυτη EtOH, (γ) NaOH 1N, 1,4-διοξάνη, (δ) HCl 1N.

Σχήμα 48: Σύνθεση του οξέος **80**.

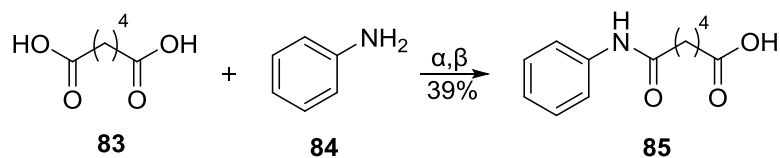


(α) EDC.HCl, NEt_3 , άνυδρο CH_2Cl_2 , (β) $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, EtOH, διάλυμα EtONa/EtOH.

Σχήμα 49: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος **82**.

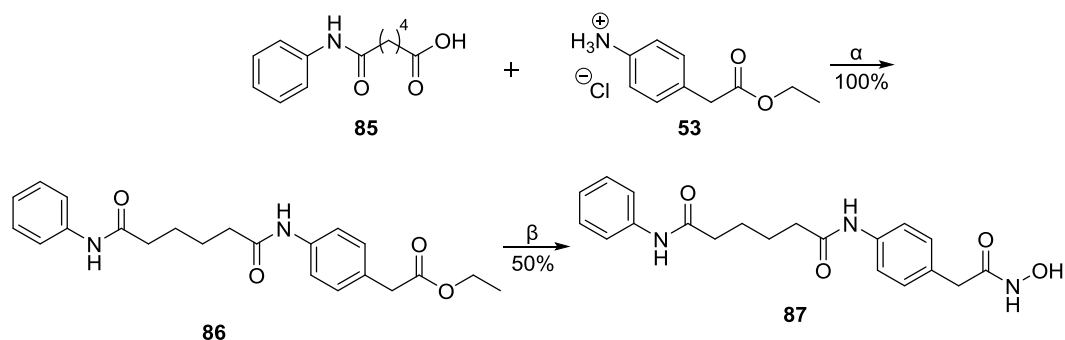
4.2.9 Σύνθεση του N^1 -(4-(2-(υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)- N^6 -φαινυλαδιπαμίδιου

Προκειμένου να συντεθεί το υδροξαμικό οξύ **87**, αρχικά έγινε σύζευξη του αδιπικού οξέος (**83**) με ανιλίνη (**84**),³⁰¹ όπως φαίνεται στο Σχήμα 50. Η ένωση που προέκυψε από την αντίδραση αυτή (**85**) συζεύχτηκε με την **53** προς σχηματισμό του εστέρα **86** και αυτός με τη σειρά του παρείχε το τελικό υδροξαμικό οξύ **87** μετά από αντίδραση με υδροχλωρική υδροξυλαμίνη παρουσία διαλύματος αιθόξυ νατρίου (Σχήματα 50,51).



(α) KOH, H₂O, (β) HCl 1N.

Σχήμα 50: Σύνθεση του οξέος 85.

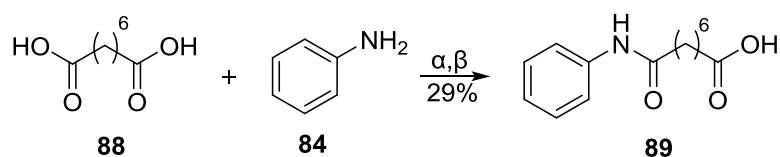


(α) EDC.HCl, NEt₃, άνυδρο CH₂Cl₂, (β) NH₂OH.HCl, EtOH, διάλυμα EtONa/EtOH.

Σχήμα 51: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 87.

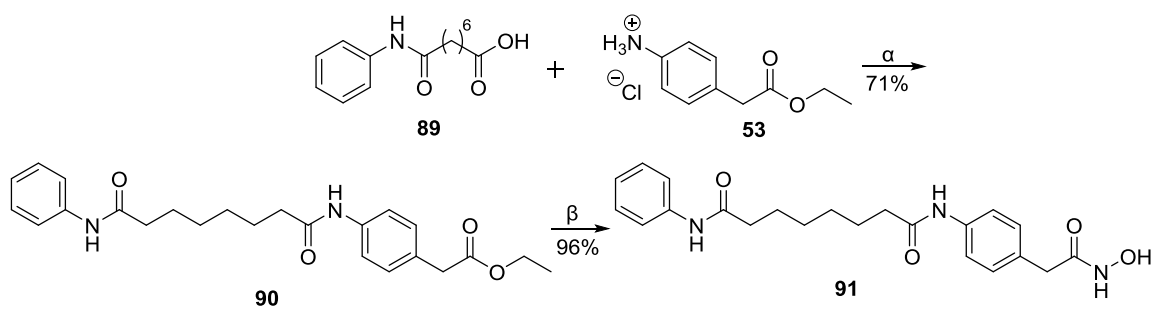
4.2.10 Σύνθεση του N¹-(4-(2-(υδροξαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)-N⁸-φαινυλοκτανοδιαμιδίου

Ομοίως, για τη σύνθεση του υδροξαμικού οξέος **91**, πραγματοποιήθηκε σύζευξη του σουβερικού οξέος (**88**) με ανιλίνη (**84**) (Σχήμα 52). Το προϊόν (**89**) συζεύχτηκε με την **53** και ο εστέρας (**90**) που προέκυψε μετατράπηκε στο αντίστοιχο υδροξαμικό οξύ **91**, όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 53.



(α) KOH, H₂O, (β) HCl 1N.

Σχήμα 52: Σύνθεση του οξέος 89.

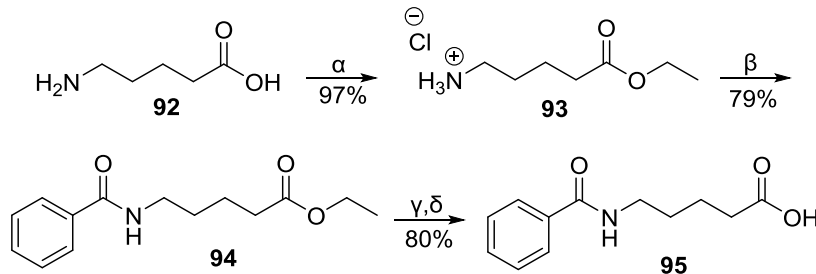


(α) EDC.HCl, NEt₃, άνυδρο CH₂Cl₂, (β) NH₂OH.HCl, EtOH, διάλυμα EtONa/EtOH.

Σχήμα 53: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 91.

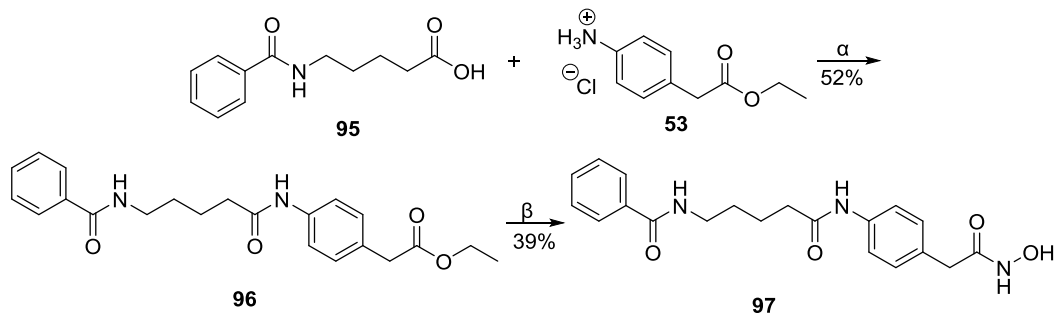
4.2.11 Σύνθεση του *N*-(5-((4-(2-(υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)αμινο)-5-οξοπεντυλ)βενζαμιδίου

Ξεκινώντας από το 5-αμινοβαλερικό οξύ (**92**) προέκυψε μέσω αντίδρασης εστεροποίησης ο αιθυλεστέρας **93**, ο οποίος συζεύχθηκε με το βενζοϊκό οξύ και το προϊόν της αντίδρασης αυτής (**94**) σαπωνοποιήθηκε με NaOH 1N (**95**) (Σχήμα 54). Ακολούθησε σύζευξη με την ένωση **53** και μετέπειτα αντίδραση μετατροπής του εστέρα (**96**) στο ανάλογο υδροξαμικό οξύ (**97**), όπως φαίνεται στο Σχήμα 55.



(α) SOCl₂, EtOH, (β) βενζοϊκό οξύ, EDC.HCl, NEt₃, άνυδρο CH₂Cl₂, (γ) NaOH 1N, 1,4-διοξάνη, (δ) HCl 1N.

Σχήμα 54: Πορεία σύνθεσης του οξέος 95.

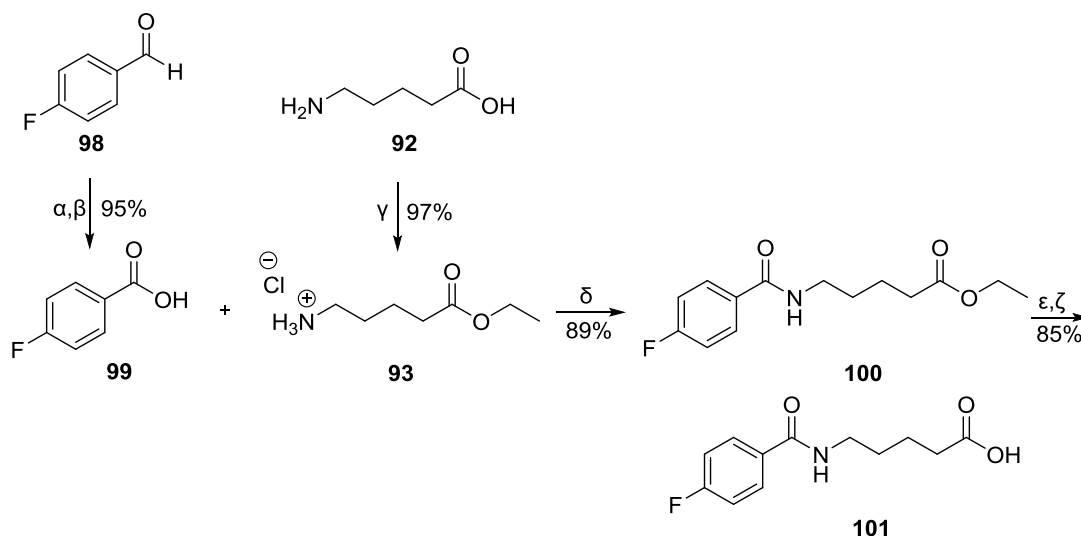


(α) EDC.HCl, NEt₃, άνυδρο CH₂Cl₂, (β) NH₂OH.HCl, EtOH, διάλυμα EtONa/EtOH.

Σχήμα 55: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 97.

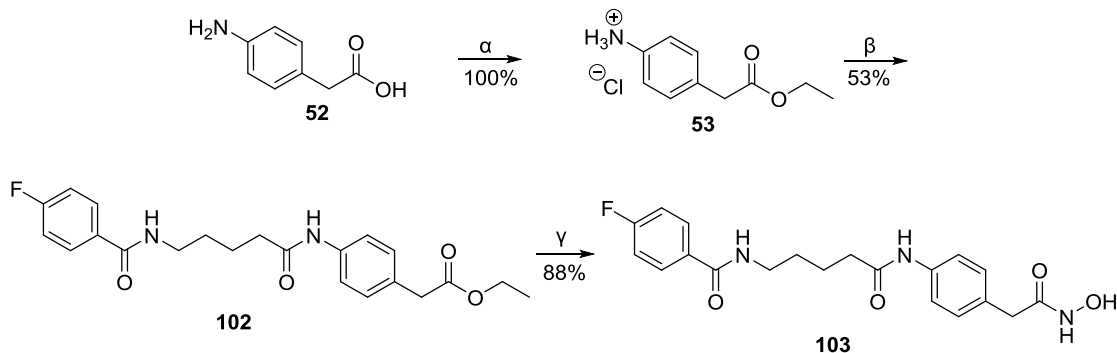
4.2.12 Σύνθεση του 4-φθορο-N-(5-((4-(2-(υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)αμινο)-5-οξοπεντυλ)βενζαμιδίου

Η πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος **103** ξεκίνησε με οξείδωση Pinnick³⁰² της *p*-φθοροβενζαλδεΐδης (**98**) προς το αντίστοιχο οξύ (**99**) με χρήση δισόξινου φωσφορικού νατρίου, υπεροξειδίου του υδρογόνου, χλωριώδους νατρίου και θειώδους νατρίου. Το οξύ συζεύχτηκε με τον εστέρα (**93**) του 5-αμινοβαλερικού οξέος (**92**) οδηγώντας στην ένωση **100**. Η τελευταία υπέστη σαπωνοποίηση, ώστε το οξύ **101** να συζευχθεί με το άλας **53** και το προϊόν της αντίδρασης αυτής (**102**) να παρέχει το τελικό υδροξαμικό οξύ **103** (Σχήματα 56,57).



(α) NaH₂PO₄, H₂O₂, NaClO₂, Na₂SO₃, MeCN, H₂O, (β) HCl 1N, (γ) SOCl₂, EtOH, (δ), EDC.HCl, NEt₃, άνυδρο CH₂Cl₂, (ε) NaOH 1N, 1,4-διοξάνη, (ζ) HCl 1N.

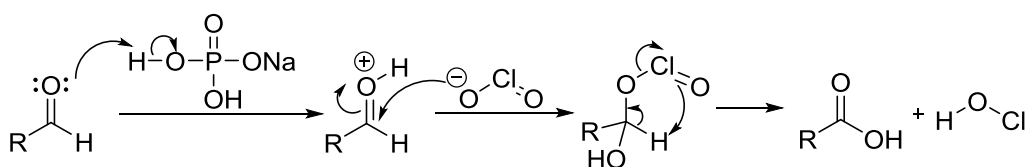
Σχήμα 56: Πορεία σύνθεσης του οξέος 101.



(α) SOCl_2 , απόλυτη EtOH, (β) **101**, EDC.HCl, NEt_3 , άνυδρο CH_2Cl_2 , (β) $\text{NH}_2\text{OH.HCl}$, EtOH, διάλυμα EtONa/EtOH.

Σχήμα 57: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 103.

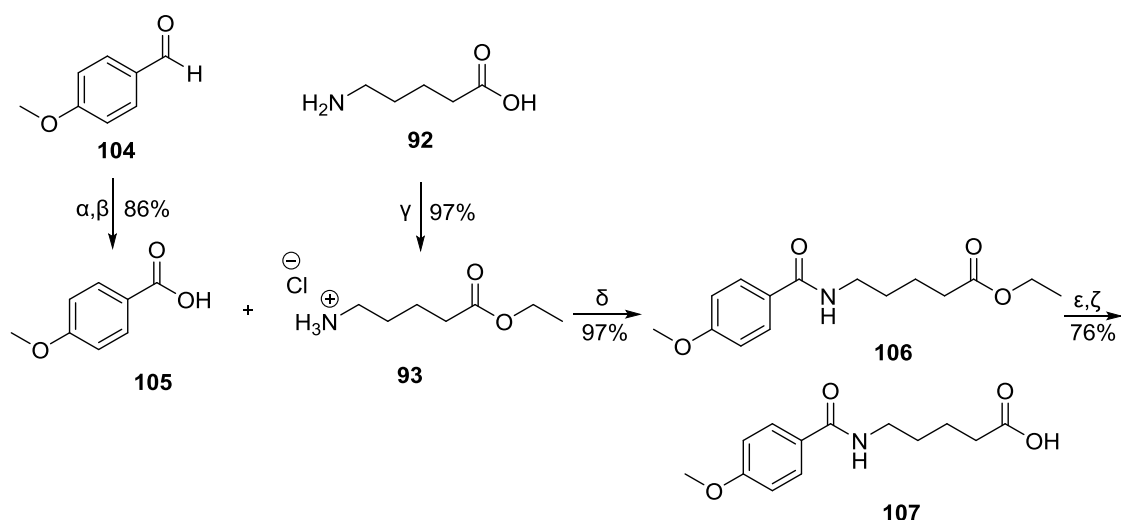
Ο μηχανισμός της οξείδωσης Pinnick παρατίθεται στο Σχήμα 58.



Σχήμα 58: Μηχανισμός της οξείδωσης Pinnick.

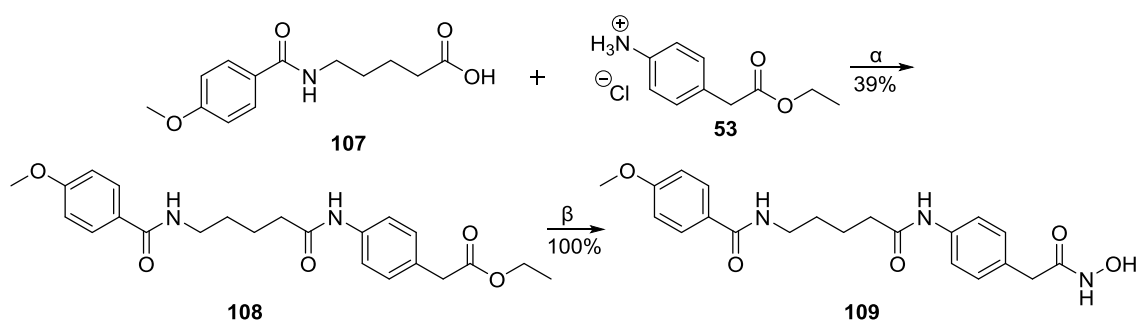
4.2.13 Σύνθεση του *N*-(5-((4-(2-(υδροξαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)αμινο)-5-οξοπεντυλ)-4-μεθοξυβενζαμιδίου

Η πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος **109** ήταν παρεμφερής με την παραπάνω. Αρχικά πραγματοποιήθηκε οξείδωση Pinnick της *p*-ανισαλδεΰδης (**104**) προς το αντίστοιχο οξύ (**105**), το οποίο συζεύχτηκε με τον εστέρα (**93**) του 5-αμινοβαλερικού οξέος (**92**) οδηγώντας στην ένωση **106**. Μετά από σαπωνοποίηση, το οξύ **107** συζεύχθηκε με το άλας **53**, ώστε το προϊόν της αντίδρασης αυτής (**108**) να μετατραπεί στο τελικό υδροξαμικό οξύ **109** (Σχήματα 59,60).



(α) NaH_2PO_4 , H_2O_2 , NaClO_2 , Na_2SO_3 , MeCN, H_2O , (β) HCl 1N, (γ) SOCl_2 , EtOH, (δ), EDC.HCl, NEt_3 , άνυδρο CH_2Cl_2 , (ε) NaOH 1N, 1,4-διοξάνη, (ζ) HCl 1N.

Σχήμα 59: Πορεία σύνθεσης του οξέος 107.

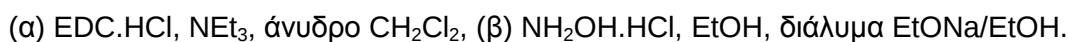


(α) EDC.HCl, NEt_3 , άνυδρο CH_2Cl_2 , (β) $\text{NH}_2\text{OH.HCl}$, EtOH, διάλυμα EtONa/EtOH .

Σχήμα 60: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 109.

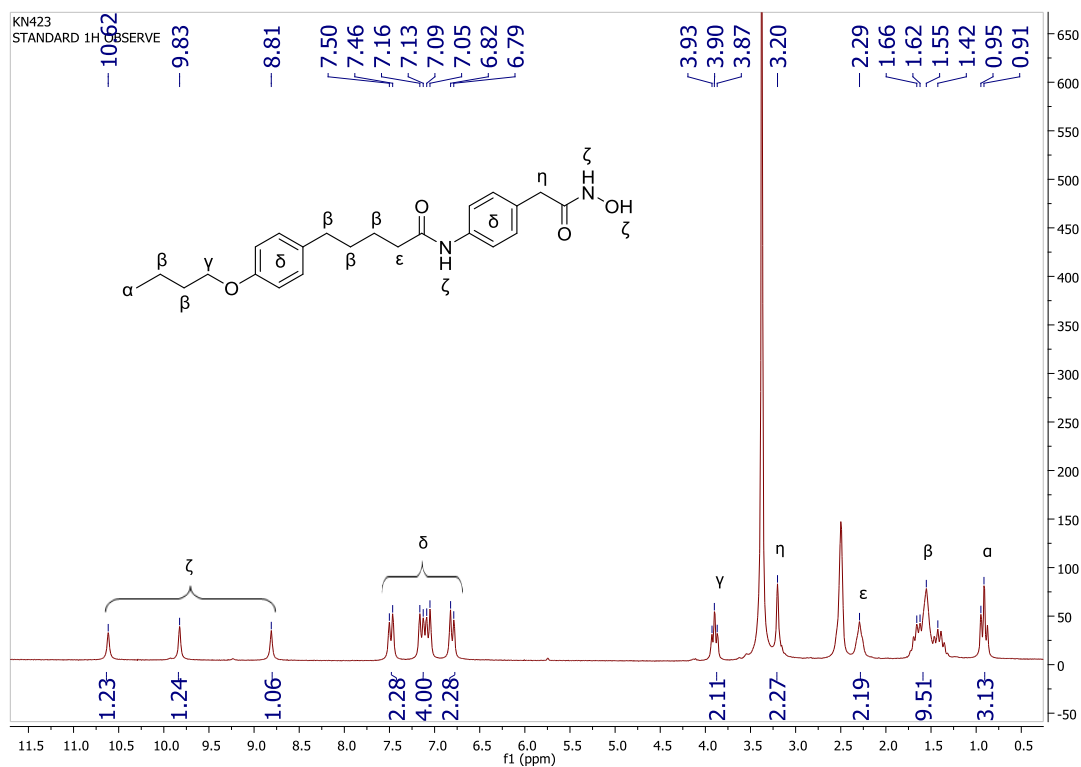
4.2.14 Σύνθεση του *N*-(4-(2-(υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)-7-φαινυλεπταναμιδίου

Η σύνθεση του υδροξαμικού οξέος **111** ξεκίνησε με σύζευξη του εστεροποιημένου 4-αμινοφαινυλοξικού οξέος (**53**) με το 7-φαινυλοεπτανοϊκό οξύ, που παρείχε τον εστέρα **110**, ο οποίος μετατράπηκε στο αντίστοιχο υδροξαμικό οξύ **111** (Σχήμα 61).



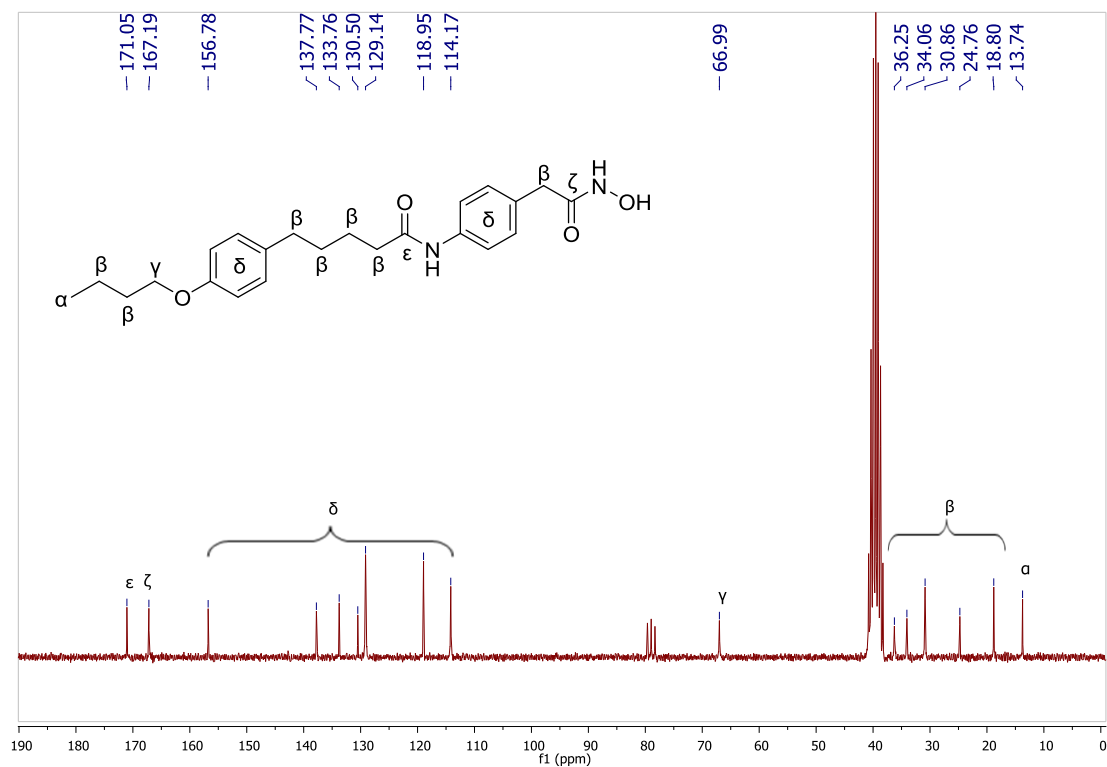
4.3 Χαρακτηριστικά φάσματα υδροξαμικών οξέων βασισμένων στο 4-αμινοφαινυλοξικό οξύ

Ακολουθώντας παρατίθενται χαρακτηριστικά φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του υδροξαμικού οξέος **82**. Όπως παρουσιάζεται στο φάσμα ^1H NMR (Σχήμα 62), τα πρωτόνια της υδροξαμικής ομάδας και το πρωτόνιο του αμιδίου συντονίζονται στα 10.62 ppm, 9.83 ppm και 8.81 ppm. Ακολουθούν τα σήματα των αρωματικών πρωτονίων στην περιοχή 7.60-6.70 ppm. Τα πρωτόνια δίπλα στο άτομο οξυγόνου μετατοπίζονται στα 3.90 ppm και σχάζονται σε τριπλή πολλαπλότητα με $J = 7.0$ Hz, ενώ τα μεθυλενικά πρωτόνια που βρίσκονται ανάμεσα στον δακτύλιο και την υδροξαμική ομάδα συντονίζονται στα 3.20 ppm. Στην περιοχή 2.50-1.20 ppm εμφανίζονται τα μεθυλενικά πρωτόνια των αλειφατικών αλυσίδων και, τέλος, στα 0.91 ppm το μεθύλιο, το οποίο σχάζεται σε πολλαπλότητα τριπλή με $J = 7.0$ Hz.



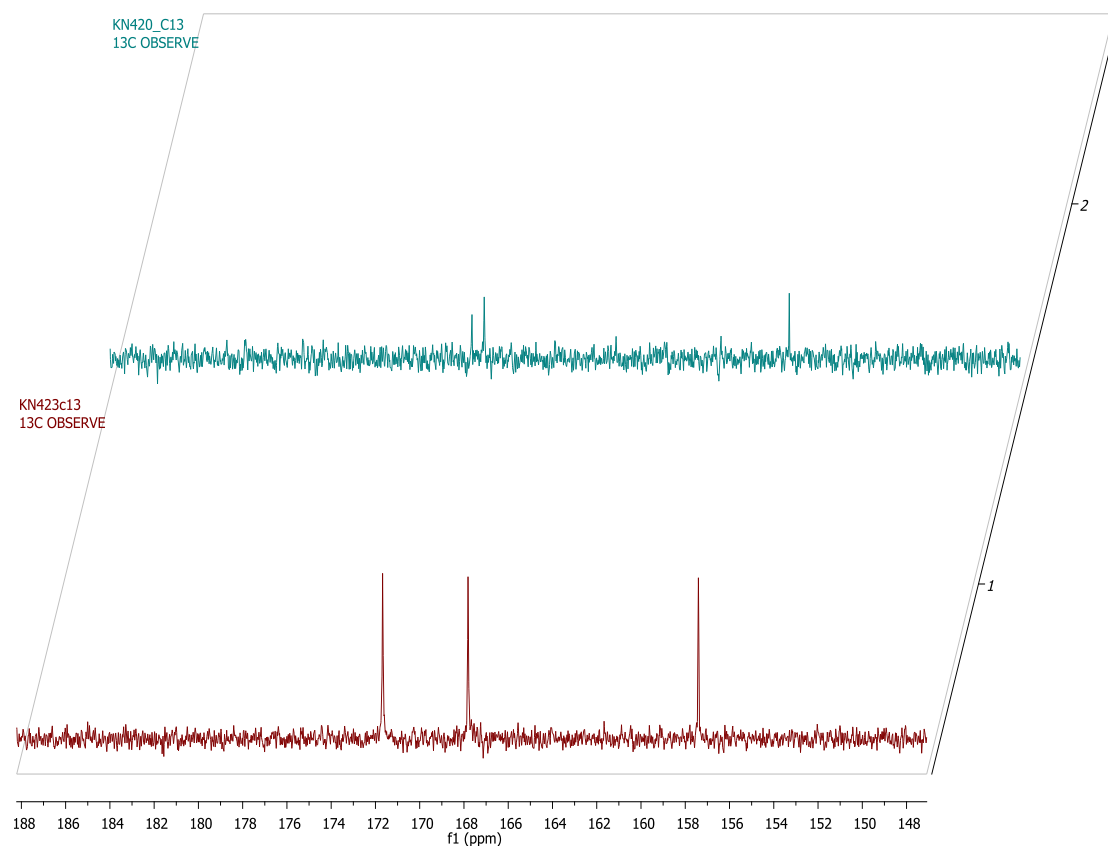
Σχήμα 62: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 82 σε DMSO- d_6 .

Στο φάσμα ^{13}C NMR (Σχήμα 63) ο άνθρακας του αμιδίου μετατοπίζεται στα 171.1 ppm και ο άνθρακας της υδροξαμικής ομάδας στα 167.2 ppm. Οι κορυφές στην περιοχή 160.0-110.0 ppm αντιστοιχούν στους αρωματικούς άνθρακες, ενώ η κορυφή στα 67.0 ppm στον άνθρακα που βρίσκεται δίπλα στο άτομο οξυγόνου. Ακολουθούν οι μετατοπίσεις των ανθράκων των μεθυλενίων στην περιοχή 40.0-15.0 ppm και του άνθρακα του μεθυλίου στα 13.74 ppm.



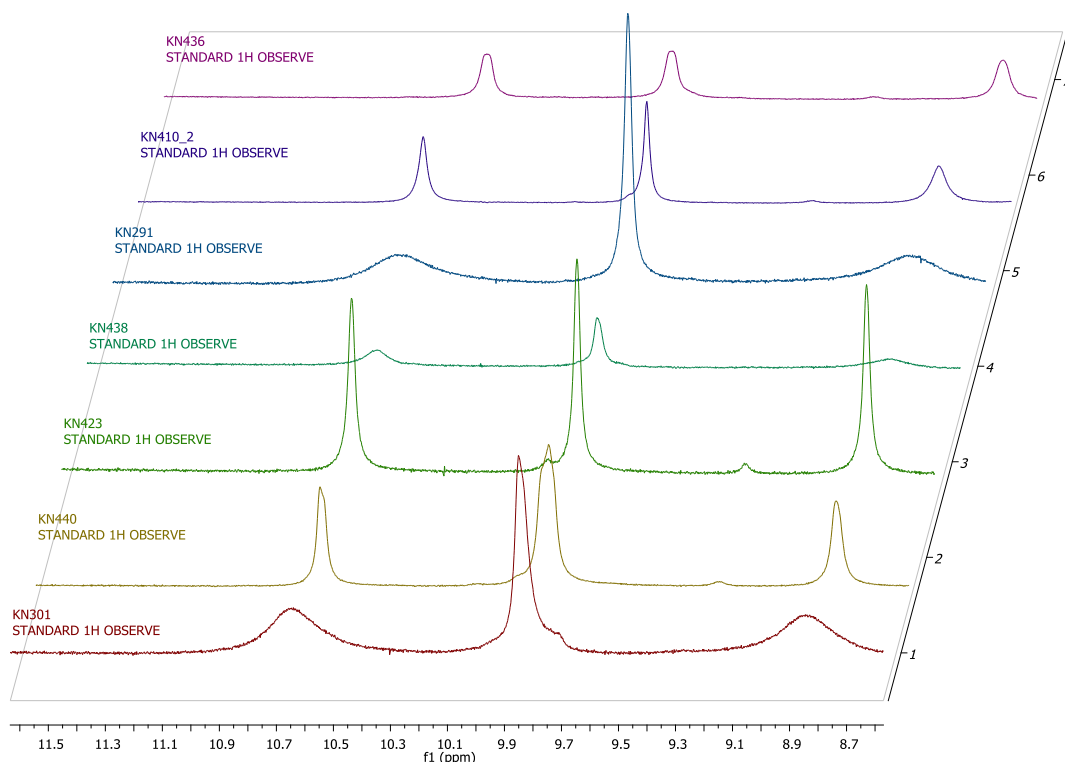
Σχήμα 63: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 82 σε DMSO-d6.

Στο συγκριτικό φάσμα ^{13}C NMR (Σχήμα 64) που ακολουθεί εμφανίζονται τα σήματα των καρβονυλίων του εστέρα **81** (πράσινο) και του υδροξαμικού οξέος **82** (κόκκινο). Παρατηρείται ότι η μία κορυφή παραμένει στα ίδια ppm (171.1), άρα αντιστοιχεί στον άνθρακα της αμιδικής ομάδας. Αντιθέτως, η κορυφή του εστέρα στα 171.6 ppm μετατοπίζεται στα 167.2 ppm μετά την αντίδραση υδροξαμίωσης, γεγονός το οποίο οδηγεί στο συμπέρασμα ότι ο άνθρακας της υδροξαμικής ομάδας συντονίζεται σε χαμηλότερα ppm.



Σχήμα 64: Συγκριτικό φάσμα ^{13}C NMR του εστέρα 81 (πράσινο) και του υδροξαμικού οξέος 82 (κόκκινο) σε DMSO-d6.

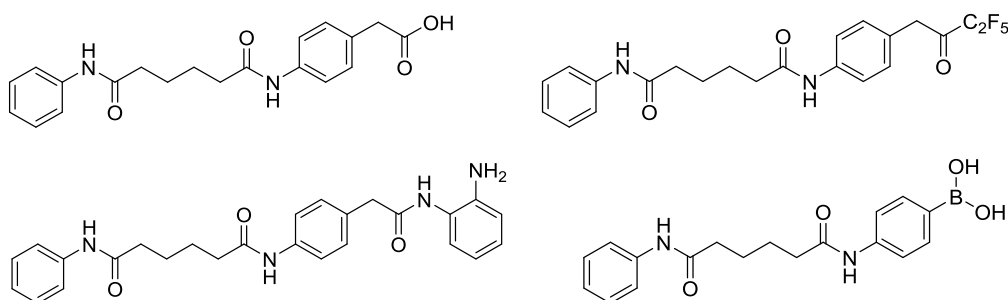
Στο φάσμα ^1H NMR που ακολουθεί (Σχήμα 65) παρουσιάζονται οι χαρακτηριστικές κορυφές των πρωτονίων της υδροξαμικής ομάδας και του αμιδίου των ενώσεων **58**, **65**, **70**, **82**, **91**, **97**, **111** που εμφανίζονται περίπου στα 10.65 ppm, 9.90 ppm και 8.80ppm.



Σχήμα 65: Συγκριτικό φάσμα ^1H NMR των υδροξαμικών οξέων.

4.4 Σύνθεση διαφόρων παραγώγων του 4-αμινοφαινυλοξικού οξέος

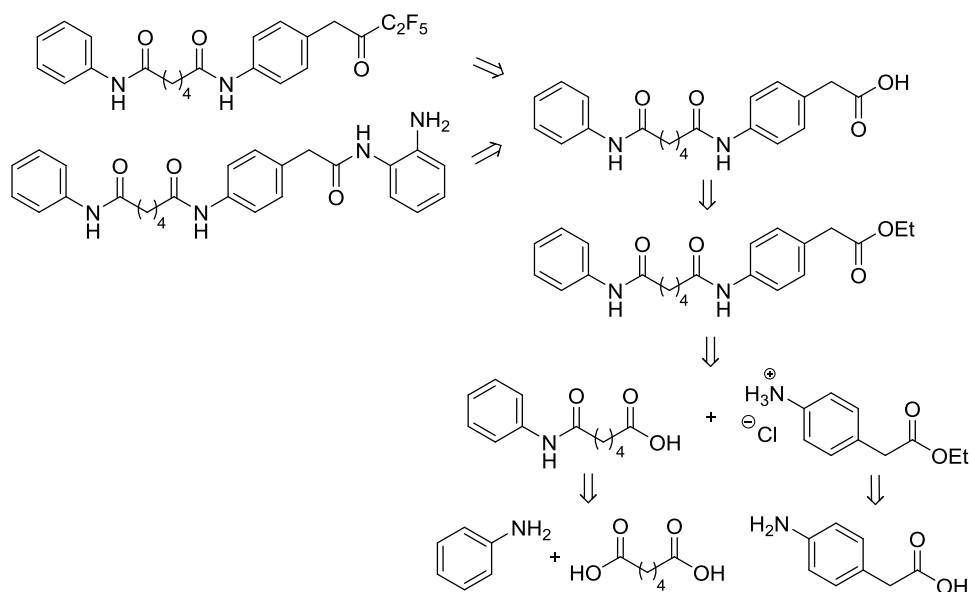
Προκειμένου να επιβεβαιωθεί ότι η ομάδα υδροξαμικού οξέος συμβάλλει στην αναστολή της ATX, συντέθηκαν ανάλογα του υδροξαμικού οξέος **87** και δοκιμάστηκε η *in vitro* δράση τους έναντι του ενζύμου. Τα παράγωγα που παρασκευάστηκαν ήταν ένα καρβοξυλικό οξύ, μία πενταφθοροαιθύλο κετόνη, ένα βενζαμίδιο και ένα βορονικό οξύ (Σχήμα 66). Η ομάδα του βενζαμιδίου χρησιμοποιήθηκε καθόσον είναι γνωστό ότι μπορεί να συμπλεχθεί με μεταλλοϊόντα, ενώ η ομάδα του βορονικού γιατί ήδη έχει αναφερθεί ότι διάφορα βορονικά οξέα αποτελούν αναστολείς της ATX.⁹⁹



Σχήμα 66: Παράγωγα του υδροξαμικού οξέος **87**.

4.4.1 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης του καρβοξυλικού οξέος, της πενταφθοροαιθύλου κετόνης και του βενζαμιδίου

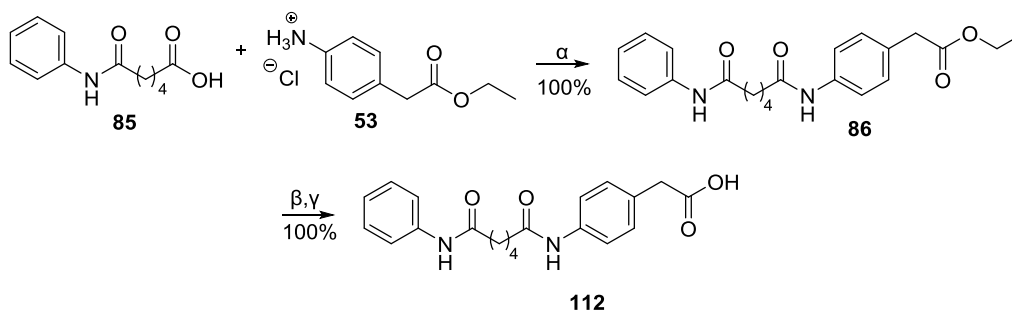
Όπως φαίνεται από την αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης (Σχήμα 67), η πενταφθοροαιθύλου κετόνη και το βενζαμίδιο μπορούν να προέλθουν από το αντίστοιχο καρβοξυλικό οξύ, το οποίο μπορεί να προκύψει από τον ανάλογο εστέρα και αυτός μπορεί να παρασκευαστεί από τη σύζευξη του εστέρα του 4-αμινοφαινυλοξικού οξέος με το κατάλληλο οξύ. Το μεν οξύ μπορεί να συντεθεί από αδιπικό οξύ και ανιλίνη, ενώ ο εστέρας από το 4-αμινοφαινυλοξικό οξύ.



Σχήμα 67: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης παραγώγων υδροξαμικού οξέος.

4.4.2 Σύνθεση του 2-(4-(6-οξο-6-(φαινυλαμινο)εξαναμιδο)φαινυλο)οξικού οξέος

Η σύνθεση του καρβοξυλικού οξέος **112** ξεκίνησε με σύζευξη του εστεροποιημένου 4-αμινοφαινυλοξικού οξέος (**53**) με το οξύ **85**, η παρασκευή των οποίων έχει περιγραφεί νωρίτερα. Ο εστέρας **86** που προέκυψε σαπωνοποιήθηκε με NaOH 1N οδηγώντας στο επιθυμητό προϊόν **112** (Σχήμα 68).

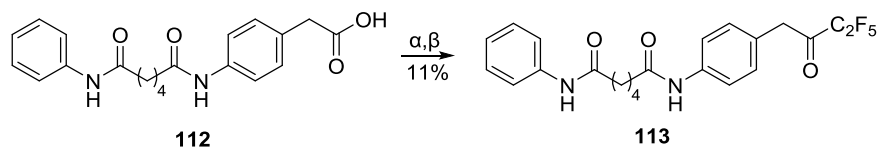


(α) EDC.HCl, NEt₃, άνυδρο CH₂Cl₂, (β) NaOH 1N, 1,4-διοξάνη, (γ) HCl 1N.

Σχήμα 68: Πορεία σύνθεσης του καρβοξυλικού οξέος 112.

4.4.3 Σύνθεση του *N*¹-(4-(3,3,4,4,4-πενταφθορο-2-οξοβουτυλ)φαινυλ)-*N*⁶-φαινυλαδιπαμιδίου

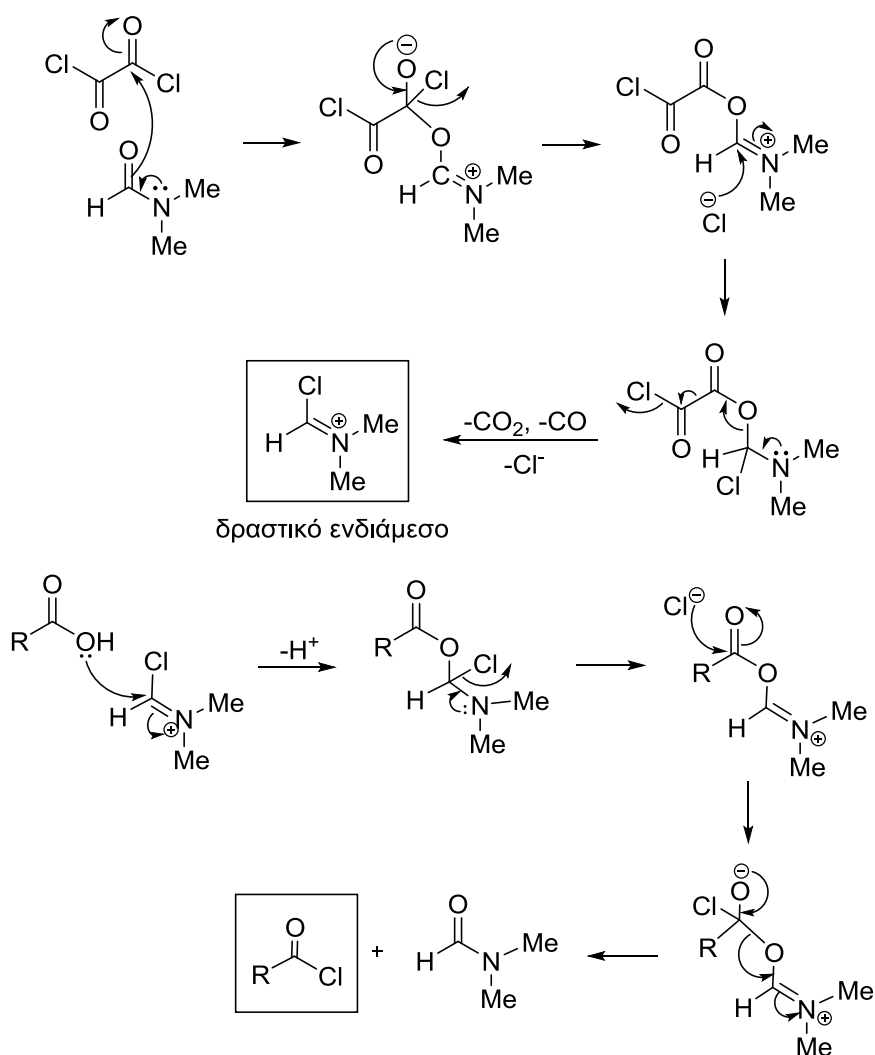
Η σύνθεση της πενταφθοροαιθυλοκετόνης **113** ακολούθησε την ίδια πορεία με δύο επιπλέον βήματα. Αφού παρασκευάστηκε το καρβοξυλικό οξύ **112**, μετατράπηκε με χρήση οξαλυλοχλωριδίου και DMF σε ακυλοχλωρίδιο, το οποίο στη συνέχεια κατεργάστηκε με πυριδίνη και πενταφθοροπροπιονικό ανυδρίτη προς σχηματισμό του τελικού προϊόντος (Σχήμα 69).



(α) (COCl)₂, άνυδρο DMF, άνυδρο CH₂Cl₂, (β) (CF₃CF₂CO)₂O, πυριδίνη, άνυδρο CH₂Cl₂

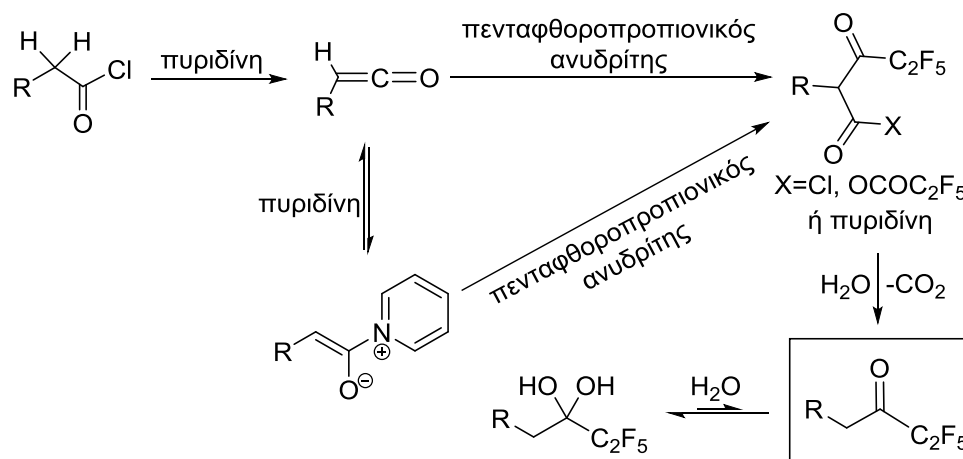
Σχήμα 69: Πορεία σύνθεσης της πενταφθοροαιθυλοκετόνης 113.

Στο πρώτο στάδιο σχηματίζεται το ενδιάμεσο ακυλοχλωρίδιο. Ο μηχανισμός³⁰³ που έχει προταθεί για την παρασκευή των ακυλοχλωριδίων από τα αντίστοιχα οξέα με τη χρήση (COCl)₂ και DMF παρουσιάζεται στο Σχήμα 70. Το DMF πραγματοποιεί πυρηνόφιλη προσβολή στο (COCl)₂ παρέχοντας ένα θετικά φορτισμένο δραστικό ενδιάμεσο. Ακολούθως, αυτό προσβάλλεται από το καρβοξυλικό οξύ και μετά από μία σειρά ενδιάμεσων σταδίων σχηματίζεται το ακυλοχλωρίδιο και αναγεννάται το DMF.



Σχήμα 70: Μηχανισμός δράσης του $(\text{COCl})_2$ για την παρασκευή του ακυλοχλωριδίου.

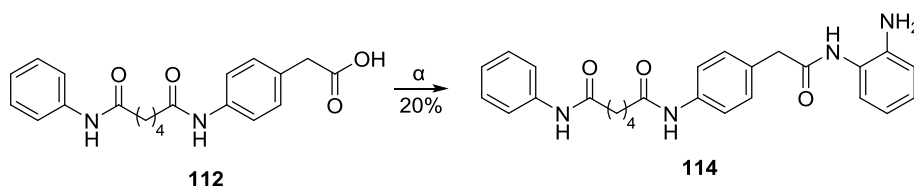
Ο προτεινόμενος μηχανισμός για τη σύνθεση των τριφθορομέθυλο κετονών από τα αντίστοιχα ακυλοχλωρίδια περιλαμβάνει τη σύνθεση ενός κετενικού ενδιάμεσου, που σχηματίζεται με τη δράση της πυριδίνης, και έπειτα την προσθήκη του πενταφθοροπροπιονικού ανυδρίτη σε αυτό. Με την προσθήκη νερού λαμβάνει χώρα αποκαρβοξυλίωση και σχηματίζεται το τελικό προϊόν. Σε υδατικά διαλύματα οι πενταφθοροαιθυλοκετόνες βρίσκονται σε ισορροπία με τη μορφή του υδρίτη τους³⁰⁴ (Σχήμα 71).



Σχήμα 71: Μηχανισμός σύνθεσης των πενταφθοροαιθυλοκετονών.

4.4.4 Σύνθεση του N^1 -(4-(2-((2-αμινοφαινυλ)αμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλο)- N^6 -φαινυλαδιπαμιδίου

Το καρβοξυλικό οξύ **112** αντέδρασε με 1,2-φαινυλενοδιαμίνη παρουσία EDC.HCl και HOBT,³⁰⁵ οδηγώντας στο επιθυμητό προϊόν (Σχήμα 72).

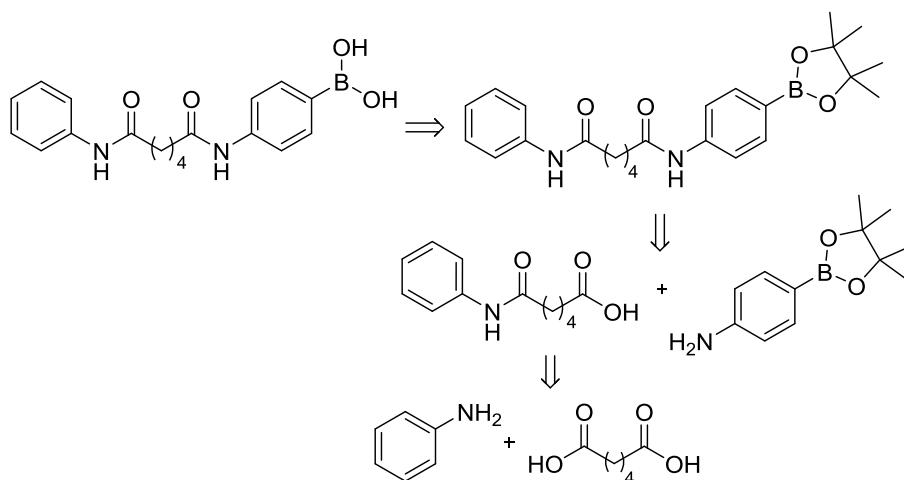


(α) 1,2-φαινυλενοδιαμίνη, EDC.HCl, HOBT, άνυδρο THF

Σχήμα 72: Πορεία σύνθεσης του βενζαμιδίου **114**.

4.4.5 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης του βορονικού οξέος

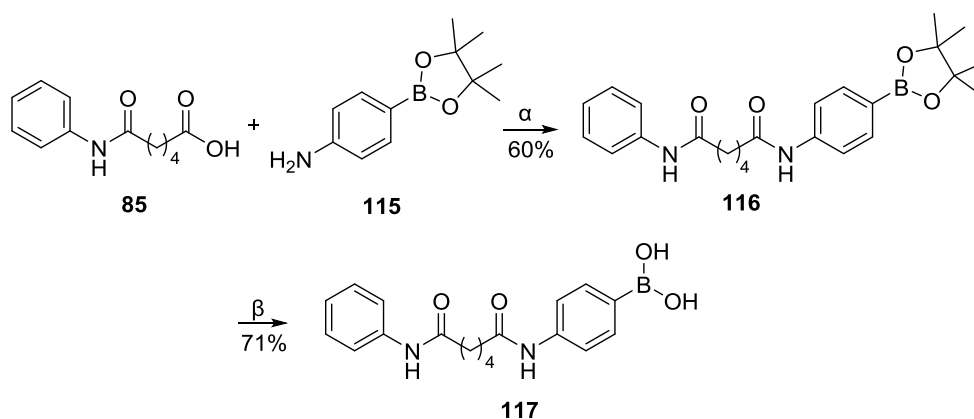
Όπως παρουσιάζεται στην αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης (Σχήμα 73), το επιθυμητό βορονικό οξύ μπορεί να προέλθει από το αντίστοιχο προστατευμένο παράγωγο, το οποίο μπορεί να προκύψει από τη σύζευξη του εμπορικά διαθέσιμου πινακολικού εστέρα του 4-αμινοφαινυλοβορονικού οξέος με το οξύ που μπορεί να συντεθεί από αδιπικό οξύ και ανιλίνη.



Σχήμα 73: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης του βορονικού οξέος-παραγώγου του υδροξαμικού οξέος 87.

4.4.6 Σύνθεση του (4-(6-οξο-6-(φαινυλαμινο)εξαναμιδο)φαινυλο)βορονικού οξέος

Προκειμένου να συντεθεί το βορονικό οξύ **117**, το ίδιο οξύ **85** που χρησιμοποιήθηκε και παραπάνω συζεύχθηκε με τον πινακολικό εστέρα του 4-αμινοφαινυλοβορονικού οξέος και, έπειτα, από το συζευγμένο παράγωγο **116** απομακρύνθηκε η προστατευτική ομάδα με χρήση HCl 1N³⁰⁶ (Σχήμα 74).



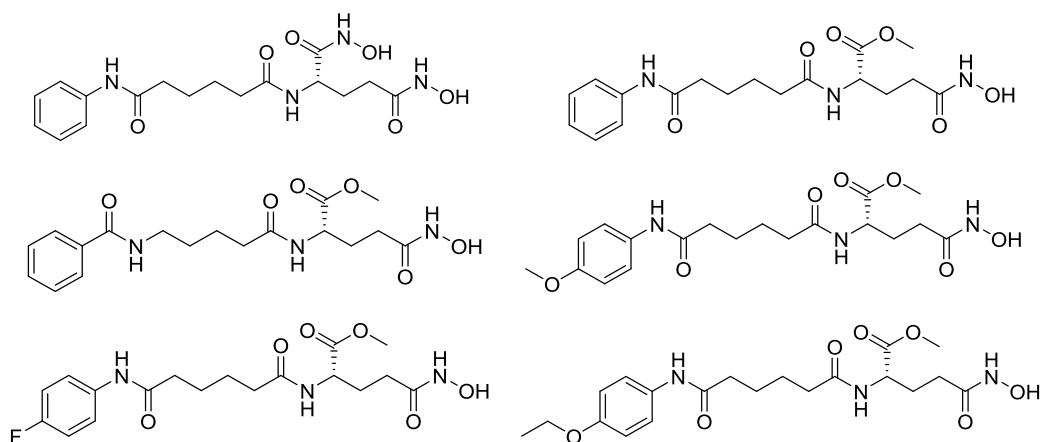
(α) EDC.HCl, NEt₃, άνυδρο CH₂Cl₂, (β) HCl 1N, THF

Σχήμα 74: Πορεία σύνθεσης του βορονικού οξέος **117**.

4.5 Σύνθεση υδροξαμικών οξέων βασισμένων σε γλουταμινικό οξύ

Στα πλαίσια της αναζήτησης της μεγαλύτερης δυνατής συγγένειας των πιθανών αναστολέων ως προς το ένζυμο, θεωρήθηκε καλό να εισάγουμε ένα ασύμμετρο κέντρο στη δομή του αναστολέα. Το φυσικό αμινοξύ γλουταμινικό

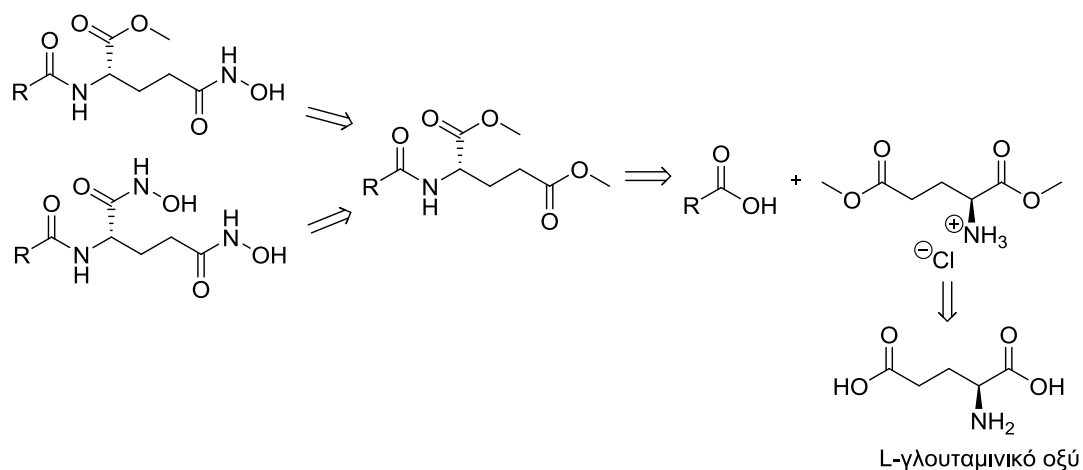
οξύ μπορεί να αποτελέσει μία πολύ καλή χειρόμορφη ύλη για αυτό το σκοπό. Έτσι σχεδιάστηκαν και παρασκευάστηκαν τα υδροξαμικά οξέα που συνοψίζονται στο Σχήμα 75.



Σχήμα 75: Υδροξαμικά οξέα βασισμένα στο γλουταμινικό οξύ που παρασκευάστηκαν ως πιθανοί αναστολείς της ATX.

4.5.1 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης

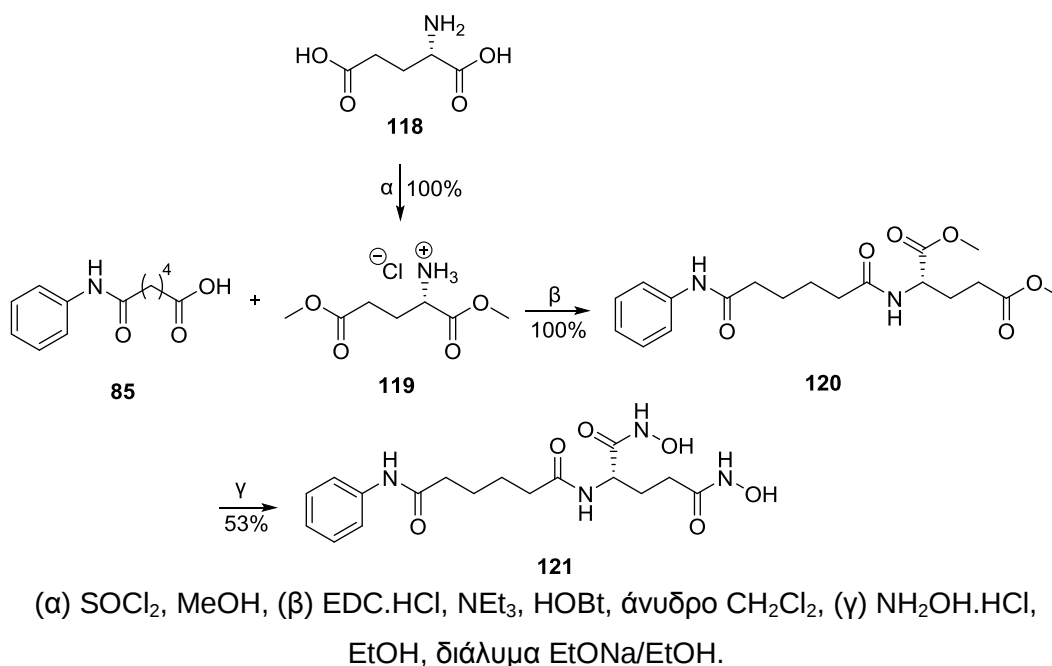
Όπως φαίνεται από την αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης (Σχήμα 76), τα υδροξαμικά οξέα μπορούν να προέλθουν από τους αντίστοιχους εστέρες, οι οποίοι μπορούν να παρασκευαστούν από τη σύζευξη του εστέρα του γλουταμινικού οξέος με το κατάλληλο κάθε φορά οξύ.



Σχήμα 76: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης υδροξαμικών οξέων βασισμένων στη δομή του γλουταμινικού οξέος.

4.5.2 Σύνθεση του (S)-N¹-(1,5-δι(υδροξυαμινο)-1,5-διοξοπενταν-2-υλ)-N⁶-φαινυλαδιπαμιδίου

Η σύνθεση του διυδροξαμικού οξέος **121** ξεκίνησε με την εστεροποίηση του L-γλουταμινικού οξέος (**118**). Ο εστέρας (**119**) συζεύχθηκε με το προϊόν (**85**) της σύζευξης του αδιπικού οξέος (**83**) με ανιλίνη (**84**). Ο διμεθυλεστέρας που προέκυψε (**120**) μετατράπηκε στο αντίστοιχο διυδροξαμικό οξύ (**121**) (Σχήμα 77).



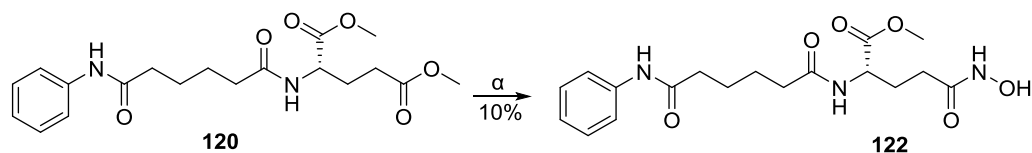
Σχήμα 77: Πορεία σύνθεσης του διυδροξαμικού οξέος **121**.

4.5.3 Σύνθεση του N⁵-υδροξυ-N²-(6-οξο-6-(φαινυλαμινο)εξανοϋλ)-L-γλουταμινικού μεθυλεστέρα

Η πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος **122** ήταν ίδια με την παραπάνω, με μία διαφοροποίηση στο τελευταίο στάδιο. Ο διμεθυλεστέρας που προέκυψε (**120**) μετατράπηκε στο υδροξαμικό οξύ (**122**) (Σχήμα 78).

Η διαφορά από τη σύνθεση του αντίστοιχου διυδροξαμικού οξέος έγκειται στη ρύθμιση της θερμοκρασίας και στη χρήση διαλύματος EtONa σε αιθανόλη ή MeONa σε μεθανόλη. Πιο συγκεκριμένα, στην περίπτωση του διυδροξαμικού οξέος η αντίδραση πραγματοποιήθηκε υπό αναρροή και χρησιμοποιήθηκε το εμπορικά διαθέσιμο διάλυμα EtONa σε αιθανόλη, το οποίο όπως παρατηρήθηκε ήταν πιο δραστικό. Αντίθετα, στην περίπτωση που στόχος

ήταν να μετατραπεί μόνο η μία ομάδα σε υδροξαμικό οξύ, η αντίδραση έγινε πιο ελεγχόμενα, δηλαδή σε θερμοκρασία δωματίου και με χρήση του διαλύματος MeONa σε μεθανόλη (παρασκευαζόταν κάθε φορά στο εργαστήριο) που αποδείχθηκε λιγότερο δραστικό.



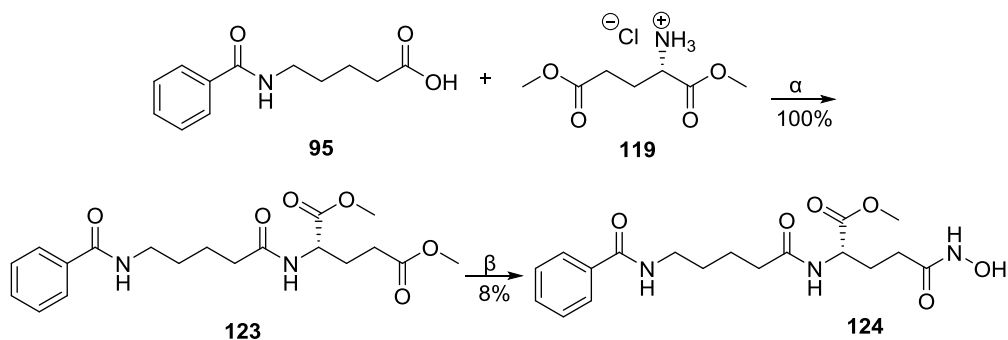
(α) $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$, MeOH, διάλυμα MeONa/MeOH.

Σχήμα 78: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 122.

Στα *in vitro* πειράματα (Ενότητα 5.1.3) των πιθανών αναστολέων έναντι της ATX, το μονο- υδροξαμικό οξύ έδειξε σαφώς πιο ελπιδοφόρα αποτελέσματα από το αντίστοιχό του διυδροξαμικό, επομένως στη συνέχεια παρασκευάστηκαν μονο- υδροξαμικά οξέα.

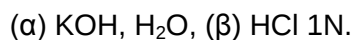
4.5.4 Σύνθεση του N^2 -(5-βενζαμιδοπεντανοϋλ)- N^5 -υδροξυ-L-γλουταμινικού μεθυλεστέρα

Η σύνθεση του υδροξαμικού οξέος **124** ακολούθησε αντίστοιχη πορεία. Αρχικά, παρασκευάστηκε το καρβοξυλικό οξύ **95** όπως υπεδείχθη στο Σχήμα 54. Αυτό συζεύχθηκε με τον εστέρα (**119**) και το προϊόν που προέκυψε (**123**) μετατράπηκε στο υδροξαμικό οξύ (**124**) (Σχήμα 79).



(α) EDC.HCl, NEt_3 , HOBt, άνυδρο CH_2Cl_2 , (β) $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$, MeOH, διάλυμα MeONa/MeOH.

Σχήμα 79: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 124.

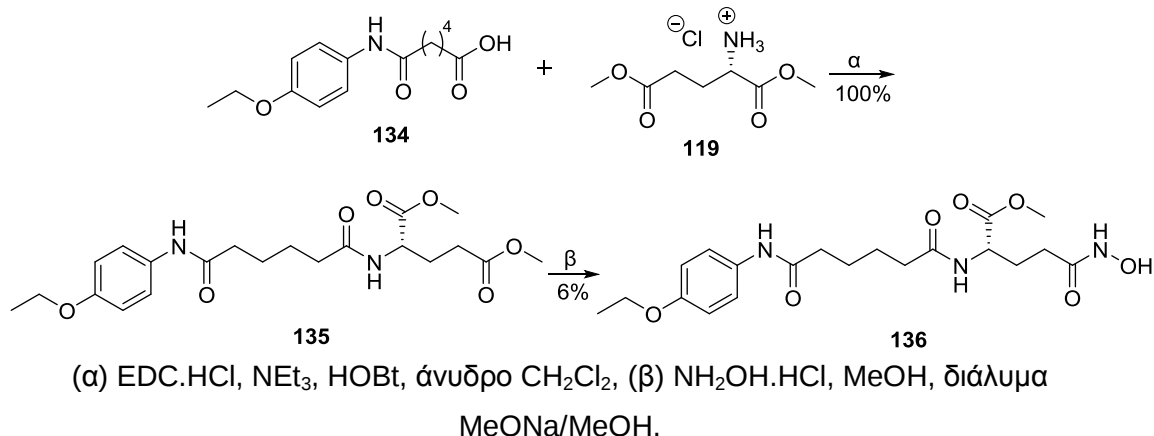


Fc1ccc(NC(=O)C[C@H](O)C(=O)O)cc1 (**130**) + COC(=O)CCC[C@@H](NC(=O)CCC(=O)OC)C(=O)OC (**119**) $\xrightarrow{\alpha}$ Fc1ccc(NC(=O)CCCCC(=O)N[C@@H](CCC(=O)OC)C(=O)OC)cc1 (**131**) $\xrightarrow{\beta}$ Fc1ccc(NC(=O)CCCCC(=O)N[C@@H](CCC(=O)O)C(=O)O)cc1 (**132**)

94%
9%

Σχήμα 83: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 132.

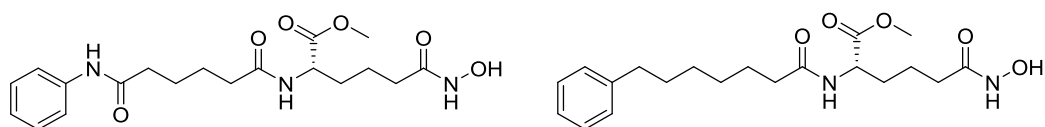
105



Σχήμα 85: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 136.

4.6 Σύνθεση υδροξαμικών οξέων βασισμένων στο αμινοαδιπικό οξύ (ομογλουταμινικό οξύ)

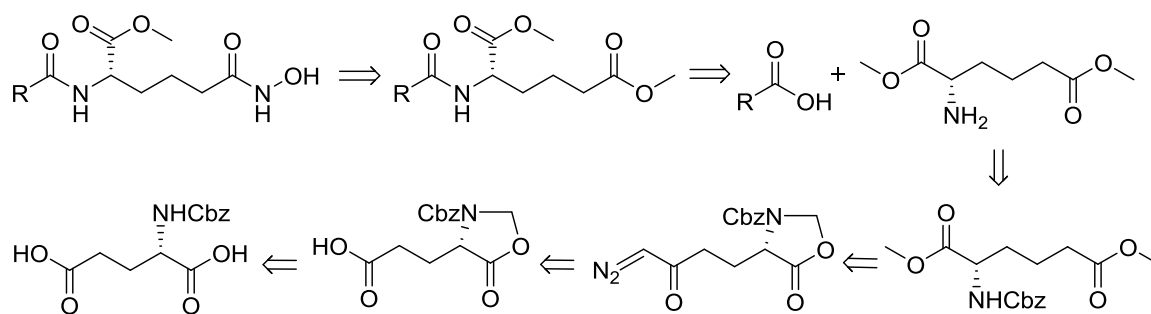
Τα *in vitro* πειράματα που αναπτύσσονται στο Κεφάλαιο 5 έδειξαν ότι η απόσταση τεσσάρων ανθρακοατόμων μεταξύ της υδροξαμικής ομάδας και της ομάδας αμιδίου οδηγεί σε καλύτερα αποτελέσματα αναστολής. Για τον λόγο αυτό συντέθηκαν επίσης τα δύο υδροξαμικά οξέα του Σχήματος 86, των οποίων η δομή βασίζεται στο μόριο του γλουταμινικού οξέος ανοικοδομημένου κατά ένα άτομο άνθρακα.



Σχήμα 86: Υδροξαμικά οξέα βασισμένα στο αμινοαδιπικό οξύ.

4.6.1 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης

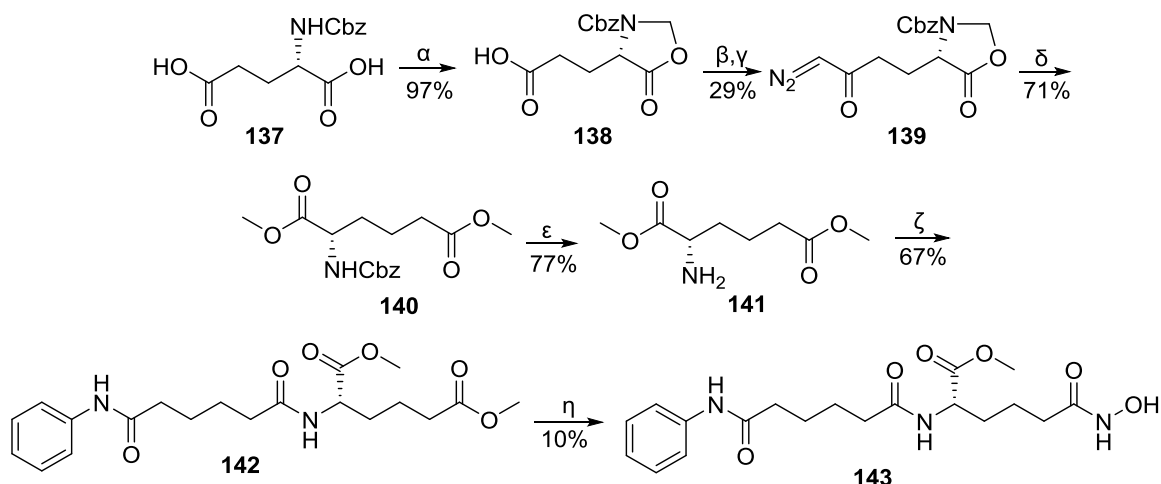
Όπως φαίνεται στο Σχήμα 87, τα υδροξαμικά οξέα μπορούν να προέλθουν από τους αντίστοιχους εστέρες, οι οποίοι μπορούν να συντεθούν με σύζευξη του εστέρα του ομογλουταμινικού οξέος με το ανάλογο οξύ. Ο διεστέρας του ομογλουταμινικού οξέος μπορεί να προκύψει από τον αντίστοιχο προστατευμένο εστέρα, ο οποίος μπορεί να προέλθει από την κυκλοποιημένη α-διαζωκετόνη, αυτή με τη σειρά της μπορεί να συντεθεί από το αντίστοιχο οξύ, το οποίο μπορεί να προέλθει από το Cbz- προστατευμένο γλουταμινικό οξύ.



Σχήμα 87: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης υδροξαμικών οξέων βασισμένων στη δομή του αμινοαδιπικού οξέος.

4.6.2 Σύνθεση του (S)-6-(υδροξαμινο)-6-οξο-2-(6-οξο-6-(φαινυλαμινο)εξαναμιδο)εξανοϊκού μεθυλεστέρα

Για την πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος **143** πραγματοποιήθηκε ομολογοποίηση Arndt-Eistert.³⁰⁷ Ξεκινώντας με αντίδραση του Z-προστατευμένου γλουταμινικού οξέος (**137**) με παραφορμαλδεΐδη παρουσία *p*-τολουολοσουλφονικού οξέος σχηματίστηκε η οξαζολιδινόνη **138**,³⁰⁸ από την οποία, με επίδραση χλωροφορμικού αιθυλεστέρα και *N*-μεθυλομορφολίνης προέκυψε ο μικτός ανυδρίτης, ο οποίος αντέδρασε με διαζωμεθάνιο οδηγώντας στην ένωση **139**. Παρουσία βενζοϊκού αργύρου και τριαιθυλαμίνης λήφθηκε ο εστέρας **140** και, μετά από καταλυτική υδρογόνωση, η ελεύθερη αμίνη **141**. Ακολούθησε σύζευξη με το καρβοξυλικό οξύ **85** και αντίδραση παραγωγής του υδροξαμικού οξέος **143** (Σχήμα 88).

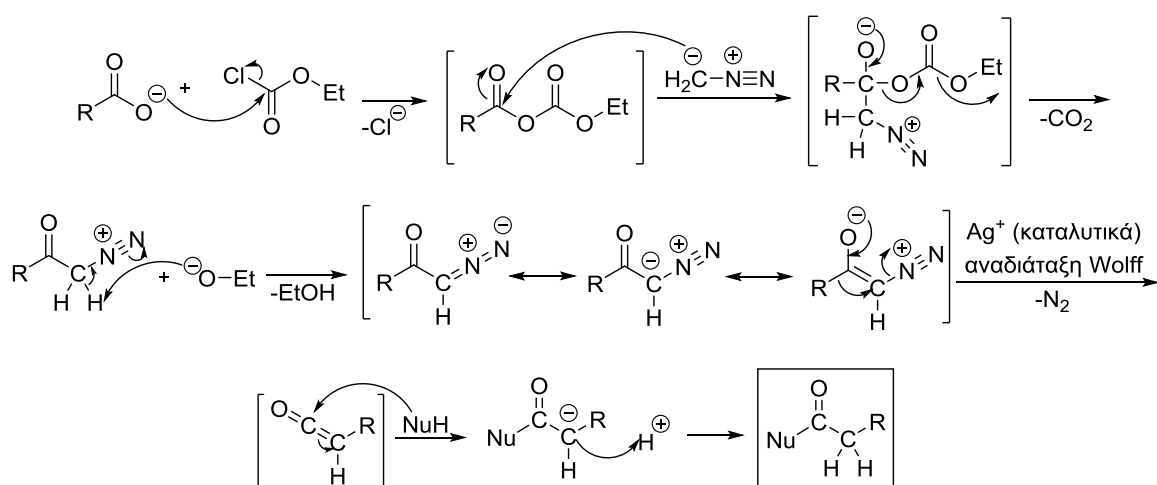


(α) (HCHO)_n, PTSA, βενζόλιο, (β) ClCOOEt, *N*-μεθυλομορφολίνη, άνυδρο CH₂Cl₂, (γ) CH₂N₂, Et₂O, (δ) PhCOOAg, NEt₃, MeOH, (ε) H₂, 10% Pd/C, MeOH, (ζ) **85**,

EDC.HCl, NEt₃, HOBt, άνυδρο CH₂Cl₂, (η) NH₂OH.HCl, MeOH, διάλυμα MeONa/MeOH.

Σχήμα 88: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 143.

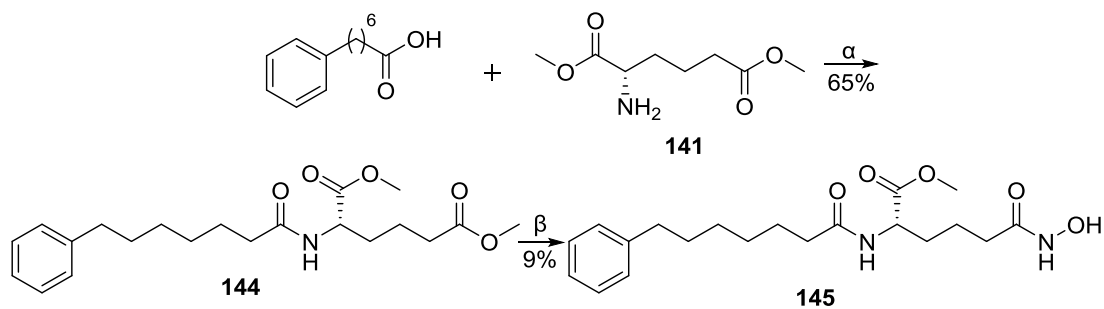
Ο προτεινόμενος μηχανισμός της αντίδρασης Arndt-Eistert παρουσιάζεται στο Σχήμα 89. Η μετατροπή των διαζωκετονών προς τις κετένες πραγματοποιείται με αναδιάταξη Wolff,³⁰⁹ η οποία μπορεί να επιτευχθεί θερμικά, φωτοχημικά ή καταλυόμενη με Ag(I), όπως έγινε στην παρούσα εργασία. Το πυρηνόφιλο μπορούν να είναι νερό, αλκοόλες ή αμίνες ώστε να παραληφθούν καρβοξυλικά οξέα, εστέρες ή αμίδια, αντίστοιχα.



Σχήμα 89: Μηχανισμός της αντίδρασης Arndt-Eistert.

4.6.3 Σύνθεση του (S)-6-(υδροξαμινο)-6-οξο-2-(7-φαινυλεπταναμιδο)εξανοϊκού μεθυλεστέρα

Ακολουθώντας την ίδια πορεία, το Z-προστατευμένο γλουταμινικό οξύ (**137**) ανοικοδομήθηκε κατά ένα άτομο άνθρακα και η προστατευτική ομάδα αποχώρησε με καταλυτική υδρογόνωση (**141**). Έπειτα πραγματοποιήθηκε σύζευξη με το 7-φαινυλοεπτανοϊκό οξύ, ακολουθούμενη από αντίδραση σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος **145** (Σχήμα 90).

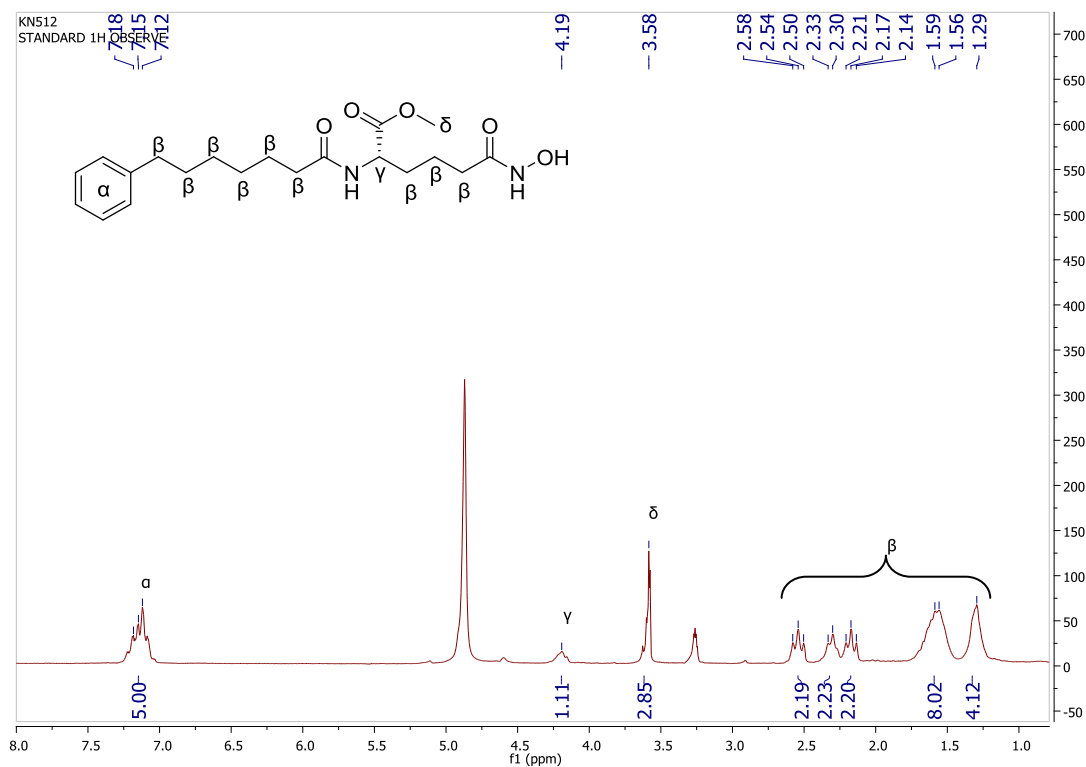


(α) EDC.HCl, NEt₃, HOBT, άνυδρο CH₂Cl₂, (β) NH₂OH.HCl, MeOH, διάλυμα MeONa/MeOH.

Σχήμα 90: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος 145.

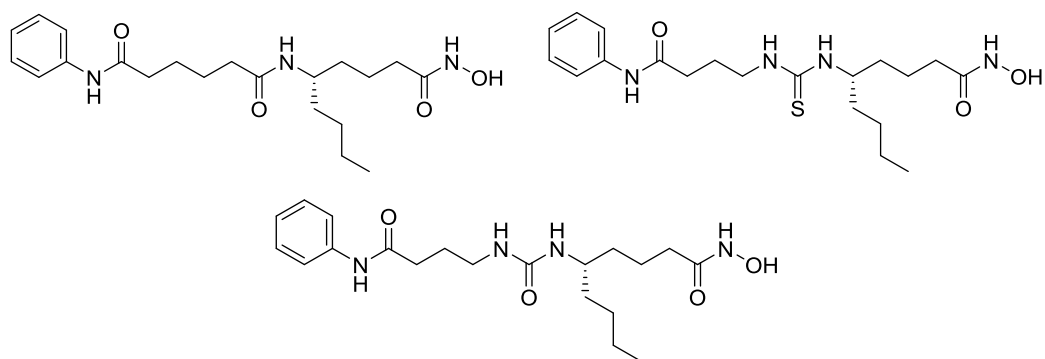
4.7 Χαρακτηριστικά φάσματα υδροξαμικού οξέος βασισμένου στο γλουταμινικό οξύ

Στη συνέχεια παρατίθενται χαρακτηριστικά φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του υδροξαμικού οξέος **145**. Όπως φαίνεται στο φάσμα ¹H NMR της ένωσης **145** (Σχήμα 91), τα αρωματικά πρωτόνια συντονίζονται στην περιοχή 7.30-7.00 ppm και το πρωτόνιο που ενώνεται με τον ασύμμετρο άνθρακα στα 4.19 ppm. Ακολουθεί το σήμα των μεθόξυ- πρωτονίων στα 3.58 ppm, καθώς και οι μετατοπίσεις των μεθυλενίων στην περιοχή 2.60-1.20 ppm.



Σχήμα 91: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 145 σε CD_3OD .

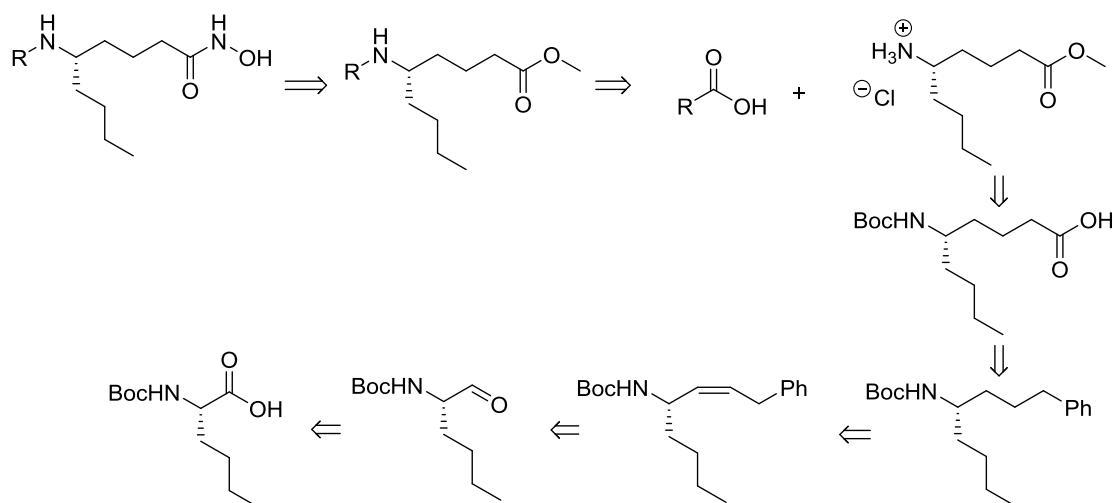
Στο φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης **145** (Σχήμα 92) ο εστερικός άνθρακας συντονίζεται στα 176.2 ppm, ο άνθρακας του αμιδίου στα 175.3 ppm και ο άνθρακας της υδροξαμικής ομάδας στα 171.0 ppm. Ακολουθούν οι χημικές μετατοπίσεις των ανθράκων του αρωματικού δακτυλίου στην περιοχή 145.0-120.0 ppm και του ασύμμετρου άνθρακα στα 52.1 ppm. Το άτομο άνθρακα της μεθόξυ- ομάδας συντονίζεται στα 51.9 ppm και οι άνθρακες των μεθυλενίων στην περιοχή 40.0-20.0 ppm.



Σχήμα 93: Υδροξαμικά οξέα βασισμένα στη δ-νορλευκίνη.

4.8.1 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης

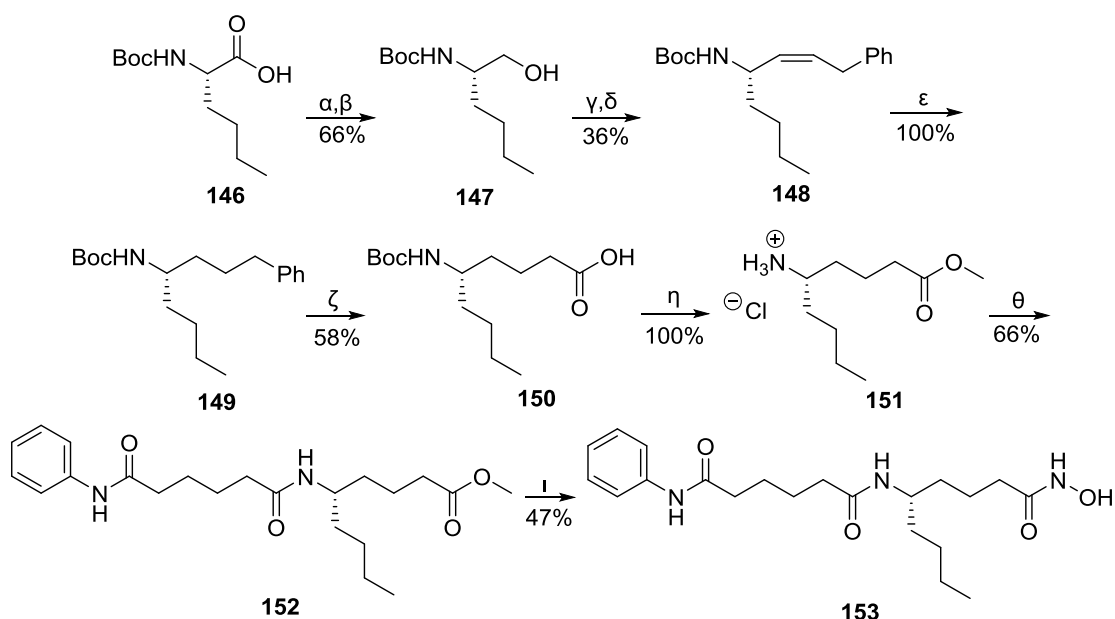
Όπως φαίνεται και στο Σχήμα 94, οι ενώσεις στόχοι μπορούν να προέλθουν από τους αντίστοιχους εστέρες, οι οποίοι μπορούν να συντεθούν από αντιδράσεις σύζευξης ανάμεσα στον εστέρα της δ-νορλευκίνης και στο κατάλληλο οξύ. Ο εστέρας της δ-νορλευκίνης μπορεί να προκύψει με εστεροποίηση του αντίστοιχου Boc- προστατευμένου αμινοξέος, το οποίο μπορεί να προέλθει από την ανάλογη φέρουσα αρωματικό δακτύλιο ένωση, που μπορεί να αποδοθεί από την αντίστοιχη ακόρεστη ένωση. Η τελευταία δύναται να συντεθεί μέσω αντίδρασης επιμήκυνσης της ανθρακικής αλυσίδας της ανάλογης αλδεΐδης, η οποία μπορεί να προέλθει από την αντίστοιχη αλκοόλη και αυτή από την Boc- προστατευμένη νορλευκίνη.



Σχήμα 94: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης υδροξαμικών οξέων βασισμένων στη δ-νορλευκίνη.

4.8.2 Σύνθεση του (S)-*N*¹-(1-(υδροξαμινο)-1-οξονοναν-5-υλ)-*N*⁶-φαινυλαδιπαμιδίου

Η σύνθεση του υδροξαμικού οξέος **153** περιλάμβανε την παρασκευή του υδροχλωρικού άλατος της δ-νορλευκίνης (**151**).³¹⁰ Αρχικά η Boc-L-νορλευκίνη **146** αντέδρασε με χλωρομυρμηκικό αιθυλεστέρα παρουσία *N*-μεθυλομορφολίνης και ο μικτός ανυδρίτης που προέκυψε μετατράπηκε στην αλκοόλη **147** με χρήση βοροϋδριδίου του νατρίου.³¹¹ Η αλκοόλη οξειδώθηκε προς την αντίστοιχη αλδεΐδη, μετά από κατεργασία με NaOCl, 4-ακεταμιδο-TEMPO, NaBr και NaHCO₃,³¹² η οποία υπέστη ολεφίνοποίηση Wittig με το μη σταθεροποιημένο υλίδιο Br⁻Ph₃P⁺CH₂CH₂C₆H₅ παρουσία βουτυλολιθίου ώστε να παραχθεί η ένωση **148**. Μετά από καταλυτική υδρογόνωση (**149**), πραγματοποιήθηκε οξείδωση του φαινυλίου με χρήση υπερϊωδικού νατρίου και τριχλωριούχου ρουθηνίου (**150**).³¹³ Έπειτα, με αντίδραση εστεροποίησης έγινε παράλληλα και αποπροστασία της αμινομάδας, με αποτέλεσμα να προκύψει το υδροχλωρικό αλάτι της δ-νορλευκίνης (**151**). Το τελευταίο συζεύχθηκε με το οξύ **85** και το προϊόν **152** μετατράπηκε στο αντίστοιχο υδροξαμικό οξύ **153** (Σχήμα 95). Να σημειωθεί ότι στη σύνθεση των υδροξαμικών οξέων που βασίζονται στη δομή της δ-νορλευκίνης χρησιμοποιήθηκε το πιο δραστικό διάλυμα EtONa/EtOH, αφού δεν υπήρχε ο κίνδυνος παραγωγής διυδροξαμικού οξέος, όπως συνέβαινε στην περίπτωση των υδροξαμικών οξέων που βασίζονταν στο γλουταμινικό και το ομογλουταμινικό οξύ.



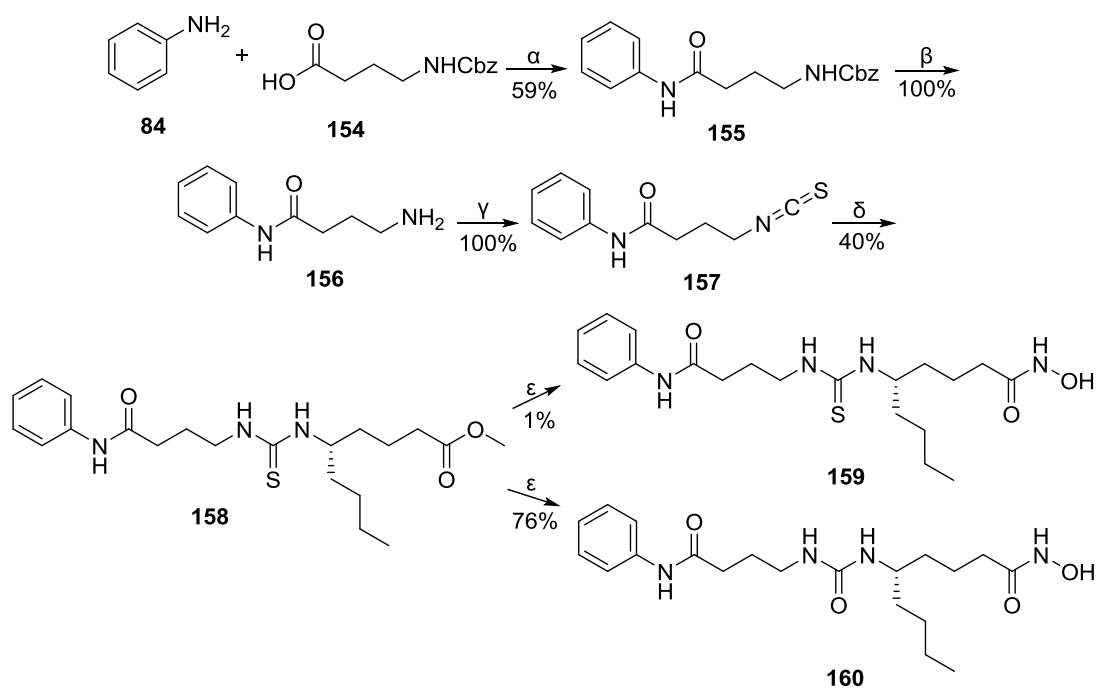
(α) NMM, ClCOOEt, άνυδρο THF, (β) NaBH₄, MeOH, (γ) NaOCl, ακεταμιδο-TEMPO, NaBr, NaHCO₃, EtOAc/PhCH₃/H₂O, (δ) Ph₃P⁺(CH₂)₂PhBr⁻, BuLi, άνυδρο THF, (ε) H₂, 10% Pd/C, EtOH (ζ) NaIO₄, RuCl₃, EtOAc/MeCN/H₂O, (η) SOCl₂, MeOH, (θ) **85**, EDC.HCl, NEt₃, HOBt, άνυδρο CH₂Cl₂, (ι) NH₂OH.HCl, EtOH, διάλυμα EtONa/EtOH.

Σχήμα 95: Πορεία σύνθεσης του υδροξαμικού οξέος **153**.

4.8.3 Σύνθεση των (S)-N-υδροξυ-5-(3-(4-οξο-4-(φαινυλαμινο)βουτυλο)θειουριδο)εννεαμίδιο και (S)-N-υδροξυ-5-(3-(4-οξο-4-(φαινυλαμινο)βουτυλο)ουριδο)εννεαμίδιο

Το υδροχλωρικό αλάτι της δ-νορλευκίνης (**151**) χρησιμοποιήθηκε και στη σύνθεση του υδροξαμικού οξέος **159** και συζεύχθηκε με το ισοθειοκυανικό παράγωγο **157**, το οποίο παρασκευάστηκε ως εξής: αρχικά έλαβε χώρα σύζευξη ανιλίνης με Z-προστατευμένο γ-αμινοβουτυρικό οξύ. Η προστατευτική ομάδα του προϊόντος **155** απομακρύνθηκε με καταλυτική υδρογόνωση και η ελεύθερη πλέον αμίνη **156** μετατράπηκε στο αντίστοιχο ισοθειοκυανικό παράγωγο **157**, αντιδρώντας με θειοφωσγένιο παρουσία υδατικού διαλύματος NaHCO₃.³¹⁴ Σύζευξη λοιπόν αυτού με το **151** οδήγησε στο προϊόν **158**, το οποίο μετατράπηκε στο αντίστοιχο υδροξαμικό οξύ **159** (Σχήμα 96).

Στο τελικό στάδιο της παραπάνω πορείας παραλήφθηκε ως παραπροϊόν το αντίστοιχο παράγωγο ουρίας σε αρκετά υψηλό ποσοστό. Έτσι δοκιμάστηκε και αυτό ως προς την ανασταλτική του δράση έναντι της ATX.



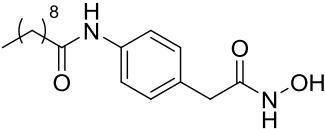
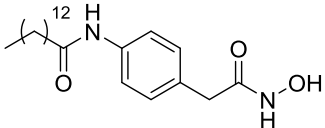
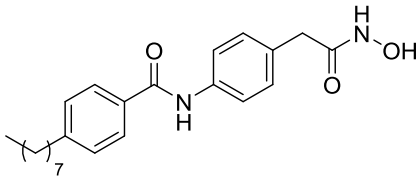
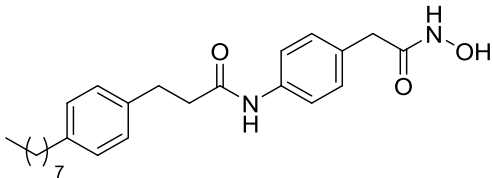
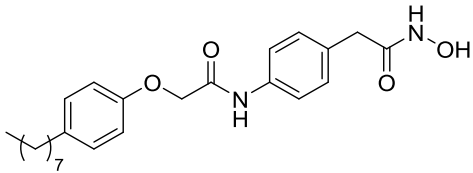
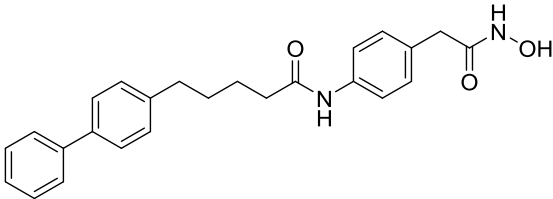
(α) EDC.HCl, NEt₃, άνυδρο CH₂Cl₂, (β) H₂, 10% Pd/C, MeOH (γ) CSCI₂, NaHCO₃ 10%, CH₂Cl₂, (δ) **151**, NEt₃, άνυδρο CH₂Cl₂, (ε) NH₂OH.HCl, EtOH, διάλυμα EtONa/EtOH.

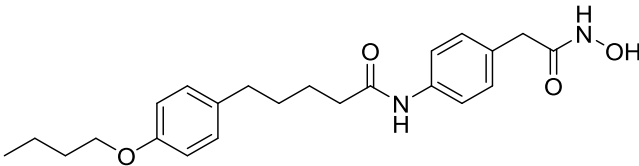
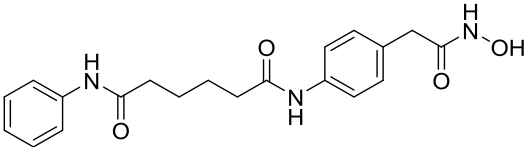
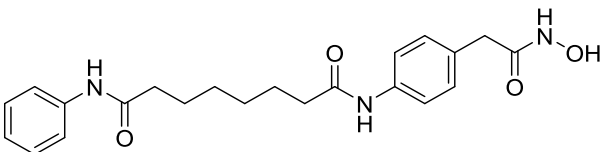
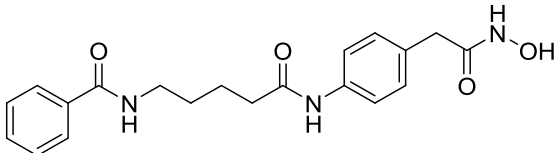
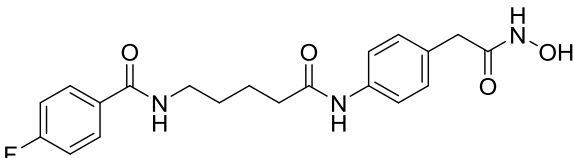
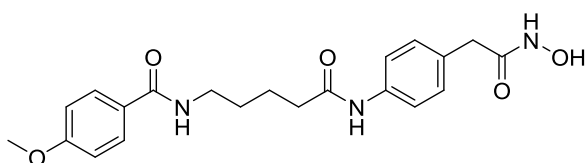
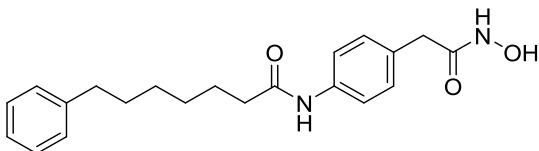
Σχήμα 96: Πορεία σύνθεσης των υδροξαμικών οξέων **159** και **160**.

5.1.1 Μελέτη δομής-δράσης υδροξαμικών οξέων βασισμένων στο 4-αμινοφαινυλοξικό οξύ

Τα αποτελέσματα των *in vitro* πειραμάτων παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3: *In vitro* ανασταλτική ισχύς των βασισμένων στο 4-αμινοφαινυλοξικό οξύ υδροξαμικών οξέων έναντι του ενζύμου ATX

Κωδικός	Δομή	16:0 LPC	18:0 LPC
		IC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)
58 (GK284)		5.8	
56 (GK332)		1	0.2
60 (GK342)		>5	
65 (GK345)		5	
70 (GK344)		1	0.3
76 (GK339)		>5	

82 (GK341)		4	
87 (GK285)		1.2	
91 (GK346)		2	
97 (GK340)		1	0.2
103 (GK380)		>5	
109 (GK381)		1	
111 (GK333)		0.7	2

Το υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν το LPC 16:0, ωστόσο οι ενώσεις που έδωσαν καλύτερα αποτελέσματα δοκιμάστηκαν και στο LPC 18:0 υπόστρωμα.

Αρχικά, μελετήθηκαν δύο ενώσεις με μακριές αλειφατικές αλυσίδες (**GK284**, **GK332**), εκ των οποίων η ένωση με τη μεγαλύτερη αλυσίδα παρουσίασε πιο ισχυρή αναστολή. Πράγματι, στη δοκιμασία με το υπόστρωμα LPC 18:0 το IC_{50} ήταν 0.2 μ M.

Στη συνέχεια μελετήθηκαν οι ενώσεις όπου η μακριά αλειφατική αλυσίδα έχει αντικατασταθεί από αλυσίδες που περιέχουν και αρωματικό δακτύλιο. Μεταξύ των ενώσεων **GK342**, **GK344** και **GK345**, οι οποίες έχουν έναν αρωματικό δακτύλιο κοντά στο αμίδιο και λίγο μικρότερη αλειφατική αλυσίδα, ο **GK344**, που φέρει ένα άτομο οξυγόνου ανάμεσα στο αμίδιο και στο δακτύλιο, επέδειξε την υψηλότερη ανασταλτική δράση με IC_{50} = 1 μ M στη δοκιμασία με το υπόστρωμα LPC 16:0 και IC_{50} = 0.3 μ M στη δοκιμασία με το LPC 18:0.

Στη συνέχεια, ο αρωματικός δακτύλιος τοποθετήθηκε σε απόσταση τεσσάρων ατόμων άνθρακα από το αμίδιο έχοντας μία φαινυλοομάδα (**GK339**) ή μία η-βουτοξυομάδα (**GK341**) ως υποκαταστάτες σε *para* θέση, κάτι το οποίο μείωσε τη δράση των αναστολέων.

Η ένωση **GK285**, η οποία φέρει ακόμη μία αμιδική ομάδα, παρουσίασε ικανοποιητική δράση (IC_{50} = 1.2 μ M). Όταν ο αριθμός των ανθράκων μεταξύ των δύο αμιδικών δεσμών αυξήθηκε κατά δύο (**GK346**), παρατηρήθηκε μείωση της δραστηριότητας.

Ακολούθως δοκιμάστηκε αναστροφή του αμιδικού δεσμού (**GK340**), γεγονός το οποίο βελτίωσε ελαφρώς την ανασταλτική ισχύ έναντι τη ATX (IC_{50} = 1 μ M στη δοκιμασία με LPC 16:0 και IC_{50} = 0.2 μ M στη δοκιμασία με LPC 18:0).

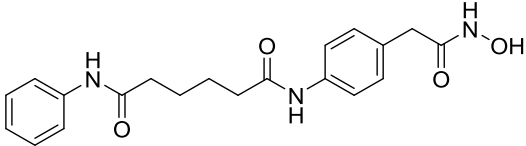
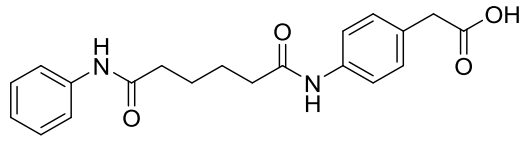
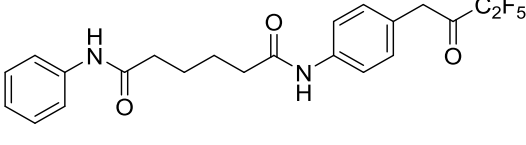
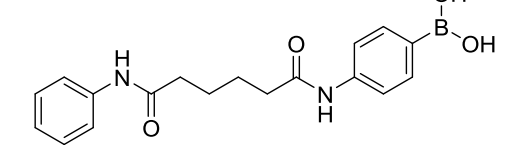
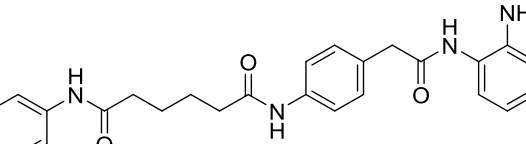
Εισαγωγή ενός ατόμου φθορίου (**GK380**) ή μίας τριφθορομεθυλομάδας (**GK381**) ως υποκαταστατών σε *para* θέση δυσχέρανε ή δεν επηρέασε την ανασταλτική δράση, αντίστοιχα.

Τέλος, με βάση τη δομή των **GK285** και **GK340**, ο ένας από τους δύο αμιδικούς δεσμούς αντικαταστάθηκε από δύο μεθυλενομάδες (**GK333**), βελτιώνοντας την ανασταλτική δράση (IC_{50} = 0.7 μ M στη δοκιμασία με το LPC 16:0). Παρ' όλα αυτά, στο LPC 18:0 η δράση μειώθηκε.

5.1.2 Συγκριτική μελέτη δομής-δράσης υδροξαμικού οξέος και διαφόρων παραγώγων

Στον Πίνακα 4 συνοψίζονται τα αποτελέσματα των *in vitro* βιολογικών δοκιμών.

Πίνακας 4: *In vitro* ανασταλτική ισχύς διαφόρων παραγώγων έναντι του ενζύμου ATX

Κωδικός	Δομή	16:0 LPC	18:0 LPC
		IC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)
87 (GK285)		1.2	
112 (GK334)		>5	
113 (GK336)		3	0.5
117 (GK343)		0.7	4
114 (GK335)		0.6	

Εξετάστηκαν ως προς την *in vitro* ανασταλτική δράση τους έναντι της ATX ορισμένα ανάλογα του υδροξαμικού οξέος **GK285**.

Το καρβοξυλικό οξύ **GK334** δεν παρουσίασε ανασταλτική δράση, αποδεικνύοντας τη σημασία της ύπαρξης της υδροξαμικής ομάδας.

Η αντίστοιχη πενταφθοροαίθυλο κετόνη **GK336** επίσης δεν επέδειξε ισχυρή δράση στη δοκιμασία με το υπόστρωμα LPC 16:0, στο LPC 18:0 όμως το IC₅₀ ήταν 0.5 μ M.

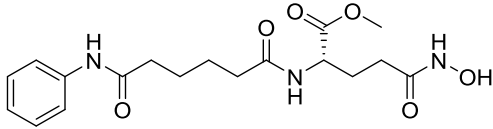
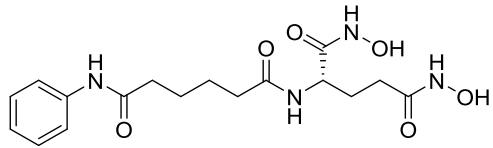
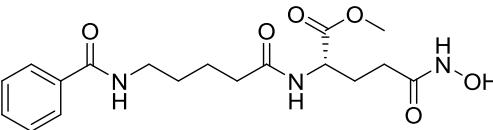
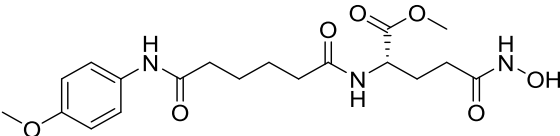
Το βορονικό οξύ **GK343** παρουσίασε ανασταλτική ισχύ με τιμή IC₅₀= 0.7 μ M στη δοκιμασία με το LPC 16:0, ωστόσο στο LPC 18:0 η δράση μειώθηκε.

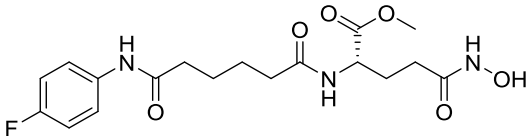
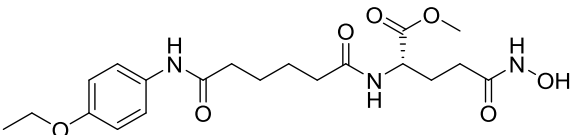
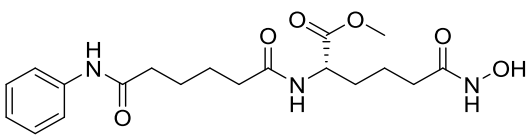
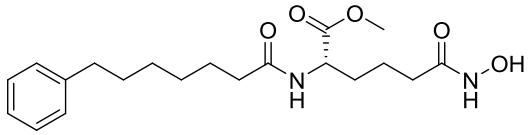
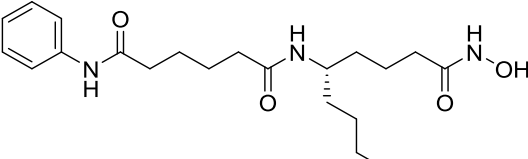
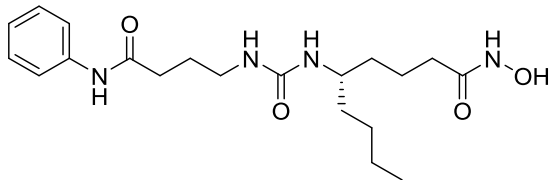
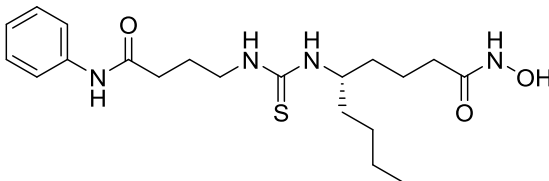
Τέλος, το αντίστοιχο βενζαμίδιο **GK335** επέδειξε παρόμοια ανασταλτική δράση με τον **GK343** με IC₅₀= 0.6 μ M.

5.1.3 Μελέτη δομής-δράσης υδροξαμικών οξέων βασισμένων στο γλουταμινικό οξύ και σε δ-αμινοξέα

Στον Πίνακα 5 παρουσιάζεται η *in vitro* ανασταλτική δράση των βασισμένων σε αμινοξύ υδροξαμικών οξέων.

Πίνακας 5: *In vitro* ανασταλτική ισχύς των βασισμένων στο γλουταμινικό οξύ και σε δ-αμινοξέα υδροξαμικών οξέων έναντι του ενζύμου ATX

Κωδικός	Δομή	IC ₅₀ (μ M)
122 (GK337)		0.4
121 (GK338)		>5
124 (GK363)		>5
128 (GK382)		4.5

132 (GK383)		>5
136 (GK386)		>5
143 (GK400)		0.05
145 (GK418)		>5
153 (GK442)		0.06
160 (GK472)		4
159 (GK471)		0.8

Για τη μελέτη αυτή το υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν το LPC 16:0.

Ο πρώτος αναστολέας που δοκιμάστηκε ήταν ο **GK337** ο οποίος επέδειξε υψηλή ανασταλτική δράση έναντι του ενζύμου ($IC_{50} = 0.4 \mu M$).

Ωστόσο, εισαγωγή δεύτερης υδροξαμικής ομάδας (**GK338**) ή αναστροφή του αμιδικού δεσμού (**GK363**) οδήγησε σε μείωση της δραστηριότητας.

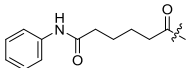
Επίσης, προσθήκη υποκαταστατών σε *para* θέση (**GK382**, **GK383**, **GK386**) οδήγησε σε υψηλότερες τιμές IC₅₀.

Ο **GK400**, το πρώτο υδροξαμικό οξύ που βασίζεται στο L-2-αμινοαδιπικό οξύ, απεδείχθη ο πιο ισχυρός ανάμεσα στους αναστολείς με IC₅₀= 0.05 μM, ενώ το ανάλογό του όπου ο ένας αμιδικός δεσμός έχει αντικατασταθεί από δύο μεθυλενομάδες (**GK418**) παρουσίασε χαμηλή δράση.

Ο αναστολέας **GK442**, που είναι βασισμένος στη δομή της δ-νορλευκίνης, παρουσίασε ισχυρή αναστολή (IC₅₀= 0.06 μM), της ίδιας τάξης μεγέθους με τον **GK400**, ενώ αντικατάσταση του αμιδίου με μία ομάδα ουρίας (**GK472**) ή θειουρίας (**GK471**) μείωσε τη δράση.

5.1.4 Συμπεράσματα

Ανακεφαλαιώνοντας, αναπτύχθηκε μία σειρά καινοτόμων παραγώγων υδροξαμικών οξέων που επέτρεψε τη διεξαγωγή μελέτης συσχέτισης δομής-δραστηριότητας. Αρχικά μελετήθηκαν παράγωγα υδροξαμικού που στηρίζονταν στο 4-αμινοφαινυλοξικό οξύ, όπου φάνηκε ότι αν υπάρχει μακριά αλυσίδα πρέπει να έχει μήκος δεκατεσσάρων ατόμων άνθρακα, ενώ αντικαθιστώντας

την με την αλυσίδα  μειώνεται ευεργετικά η λιποφιλικότητα των ενώσεων. Αποδείχτηκε η σημασία της ύπαρξης της υδροξαμικής ομάδας, εφόσον το αντίστοιχο ελεύθερο καρβοξυλικό οξύ δεν παρουσιάζει ανασταλτική δράση. Ακόμη, φάνηκε πως όταν εισάγεται ασύμμετρο ανθρακοάτομο στο δομικό τμήμα που φέρει την υδροξαμική ομάδα βελτιώνεται σημαντικά η ανασταλτική ισχύς. Ιδιαίτερα όταν η ένωση βασίζεται σε χειρόμορφο μη φυσικό δ-αμινοξύ επιτυγχάνονται άριστα αποτελέσματα αναστολής.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

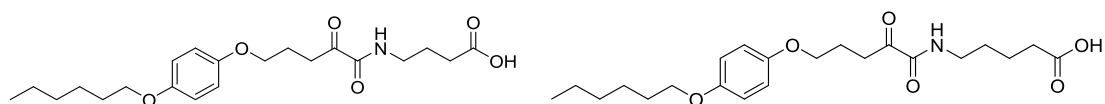
ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ ΟΞΟΑΜΙΔΙΚΩΝ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΤΗΣ cPLA₂ ΜΕ ΜΕΙΩΜΕΝΗ ΛΙΠΟΦΙΛΙΚΟΤΗΤΑ

6.1 Σχεδιασμός των πιθανών αναστολέων

Η κυτοσολική GIVA φωσφολιπάση A₂ (GIVA cPLA₂) είναι ένα ένζυμο που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο σε φλεγμονώδεις νόσους.³¹⁶ Καταλύει την υδρόλυση του εστερικού δεσμού στην θέση sn-2 των γλυκεροφωσφολιπιδίων, απελευθερώνοντας ελεύθερα λιπαρά οξέα, συμπεριλαμβανομένου του αραχιδονικού οξέος, και λυσοφωσφολιπίδια. Με τη βοήθεια μεταβολικών ενζύμων, το αραχιδονικό οξύ μετατρέπεται σε πλήθος εικοσανοειδών, όπως οι προσταγλανδίνες και τα λευκοτριένια, ενώ τα λυσοφωσφολιπίδια μπορούν να μετατραπούν σε άλλα βιοενεργά λιπίδια όπως ο παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (PAF) ή το LPA. Ως εκ τούτου, οι αναστολείς της GIVA cPLA₂ έχουν την ικανότητα να ρυθμίζουν την παραγωγή ενός μεγάλου αριθμού φλεγμονωδών μεσολαβητών και η ανακάλυψή τους έχει προσελκύσει έντονο ενδιαφέρον στην εύρεση νέων φαρμακευτικών ενώσεων για την θεραπεία φλεγμονωδών ασθενειών.^{316b}

Ωστόσο, ένα πρόβλημα των αναστολέων της GIVA cPLA₂ είναι η υψηλή τους λιποφιλικότητα, η οποία έχει ως απόρροια χαμηλή υδατοδιαλυτότητα και χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η σύνθεση 2-οξοαμιδικών παραγώγων -τα οποία έχει βρεθεί ότι εμφανίζουν ανασταλτική δράση έναντι της κυτοσολικής GIVA cPLA₂- με μειωμένη όμως λιποφιλικότητα.

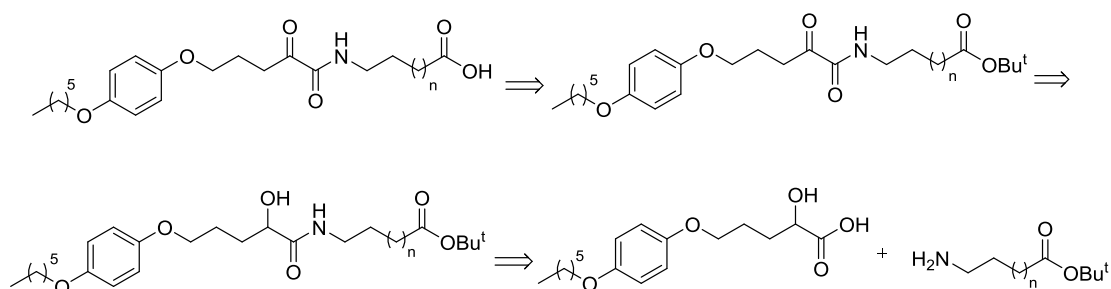
Επομένως, συντέθηκαν τα 2-οξοαμιδικά παράγωγα του Σχήματος 98 και έπειτα μελετήθηκε η *in vitro* ανασταλτική τους δράση έναντι του ενζύμου.



Σχήμα 98: 2-Οξοαμίδια ως πιθανοί αναστολείς της GIVA cPLA₂.

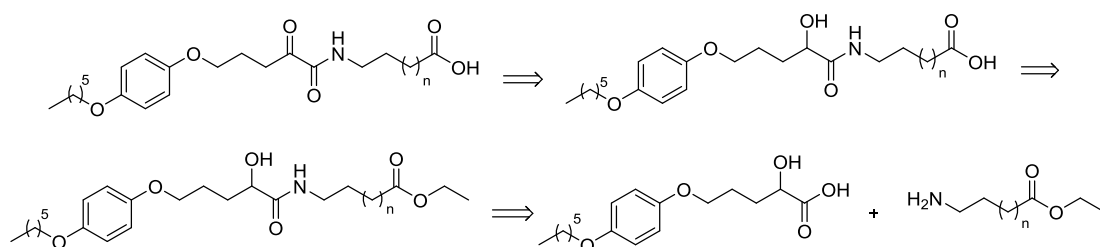
6.1.1 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης

Όπως φαίνεται από την αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης (Σχήμα 99), προκειμένου να συντεθούν οι ενώσεις-στόχοι απαιτείται η σύνθεση του ανάλογου *tert*-βουτυλεστέρα, ο οποίος μπορεί να προκύψει από το αντίστοιχο υδροξυαμίδιο και το τελευταίο μπορεί να συντεθεί μέσω αντίδρασης σύζευξης του υδροξυοξέος με τον *tert*-βουτυλεστέρα του αμινοξέος.



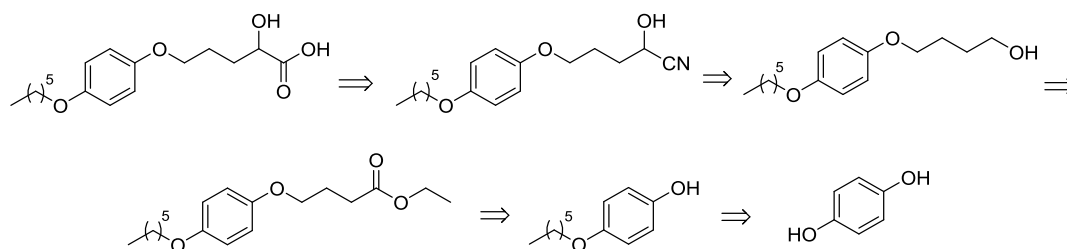
Σχήμα 99: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης της ένωσης 171.

Εναλλακτικά, το 2-οξοαμιδικό παράγωγο μπορεί να συντεθεί από το αντίστοιχο υδροξυαμίδιο, το οποίο μπορεί να προκύψει από τον αντίστοιχο αιθυλεστέρα και αυτός μπορεί να προέλθει από τη σύζευξη του υδροξυοξέος με τον αιθυλεστέρα του αμινοξέος (Σχήμα 100).



Σχήμα 100: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης της ένωσης 177.

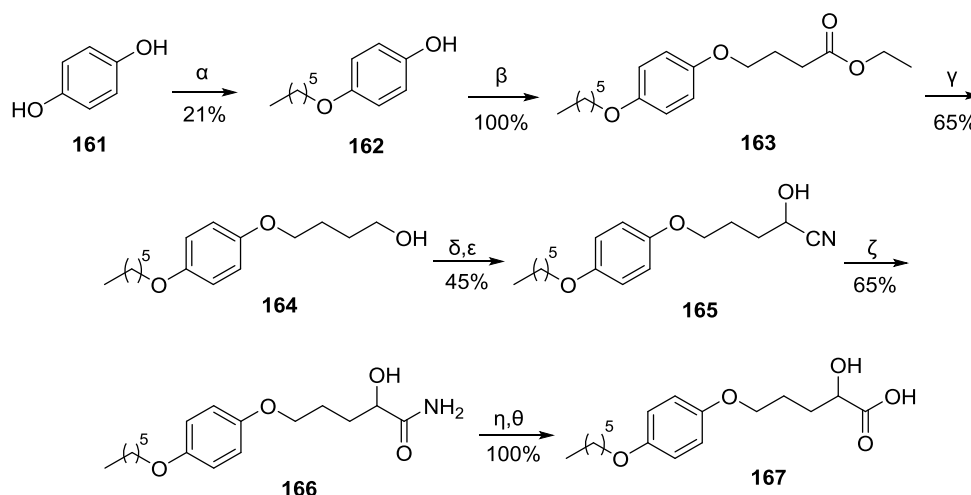
Το υδροξυοξύ μπορεί να προέλθει από την αντίστοιχη κυανυδρίνη και αυτή μπορεί να συντεθεί από την ανάλογη αλκοόλη. Η αλκοόλη μπορεί να προκύψει από τον εστέρα, ο οποίος μπορεί να συντεθεί μέσω αιθεροποίησης από την αλκοόλη και η τελευταία μπορεί να προέλθει από την υδροκινόνη (Σχήμα 101).



Σχήμα 101: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης του 2-υδροξυοξέος.

6.1.2 Σύνθεση του 5-(4-(εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-υδροξυπεντανοϊκού οξέος

Προκειμένου να συντεθούν τα 2-οξοαμιδικά παράγωγα, έπρεπε πρώτα να παραχθεί το υδροξυοξύ. Η σύνθεσή του ακολούθησε την παρακάτω πορεία. Η υδροκινόνη (**161**) αντέδρασε με 1-βρωμοεξάνιο παρουσία ανθρακικού καλίου,³¹⁷ ώστε να ληφθεί η 4-(εξυλοξυ)φαινόλη (**162**). Η **162** αντέδρασε με τον 4-βρωμοβουτυρικό αιθυλεστέρα παρουσία ανθρακικού καλίου και η ένωση που προέκυψε (**163**) ανήχθη προς την αλκοόλη **164** με χρήση LiAlH_4 .³¹⁸ Ακολούθησε οξείδωση προς την αντίστοιχη αλδεΐδη, η οποία υπέστη κατεργασία με διάλυμα NaHSO_3 σε H_2O και στη συνέχεια με διάλυμα KCN σε H_2O , ώστε να προκύψει η κυανυδρίνη **165**. Με χρήση πυκνού HCl παρήχθη η ένωση **166**,³¹⁹ η οποία μετατράπηκε στο υδροξυοξύ **167** παρουσία KOH και μετέπειτα κατεργασία με διάλυμα H_2SO_4 (Σχήμα 102).

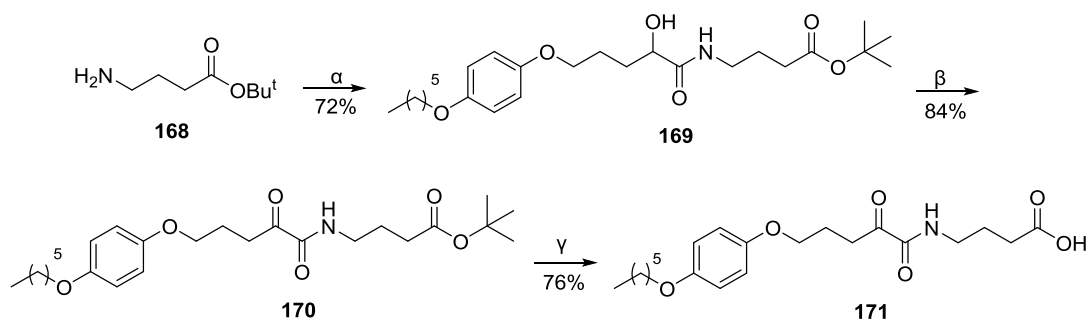


(α) K_2CO_3 , 1-βρωμοεξάνιο, DMSO, (β) K_2CO_3 , 4-βρωμοβουτυρικός αιθυλεστέρας, ακετόνη, (γ) LiAlH_4 , άνυδρο THF, (δ) NaOCl , TEMPO, NaBr , NaHCO_3 , $\text{EtOAc}/\text{PhCH}_3/\text{H}_2\text{O}$, (ε) i. NaHSO_3 , CH_2Cl_2 , H_2O ; ii. KCN , H_2O , (ζ) π. HCl , (η) KOH , $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$, (θ) H_2SO_4 .

Σχήμα 102: Σύνθεση του 5-(4-(εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-υδροξυπεντανοϊκού οξέος.

6.1.3 Σύνθεση του 4-(5-(4-(εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-οξοπενταναμιδο)βουτανοϊκού οξέος

Ο *tert*-βουτυλεστέρας του γ-αμινοβουτυρικού οξέος (**168**) συζεύχθηκε με το υδροξυοξύ **167**, παρουσία EDC.HCl και τριαιθυλαμίνης. Η ένωση που προέκυψε (**169**) οξειδώθηκε προς το αντίστοιχο οξοαμίδιο **170** με χρήση αντιδραστηρίου Dess-Martin³²⁰ και, τέλος, η προστατευτική ομάδα απομακρύνθηκε με χρήση τριφθοροξικού οξέος,³²¹ ώστε να παραληφθεί το τελικό προϊόν **171** (Σχήμα 103).

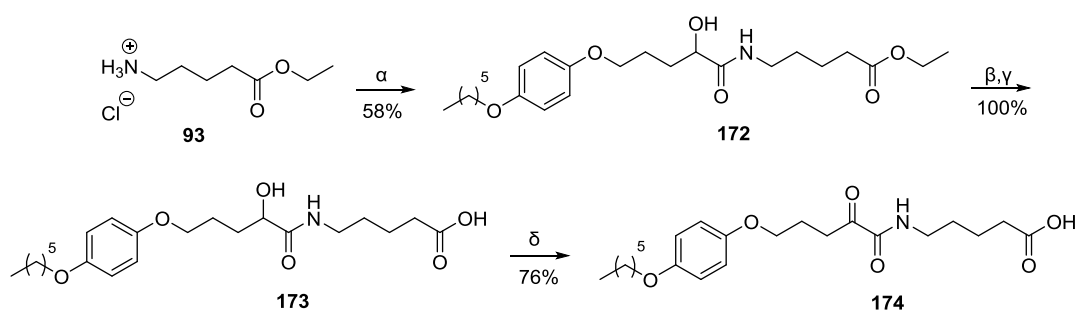


(α) **167**, EDC.HCl, NEt₃, άνυδρο CH₂Cl₂, (β) Dess-Martin, άνυδρο CH₂Cl₂, (γ) 50% TFA/CH₂Cl₂.

Σχήμα 103: Σύνθεση του 4-(5-(4-(εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-οξοπενταναμιδο)βουτανοϊκού οξέος.

6.1.4 Σύνθεση του 5-(5-(4-(εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-οξοπενταναμιδο)πεντανοϊκού οξέος

Το υδροχλωρικό άλας του αιθυλεστέρα του 5-αμινοπεντανοϊκού οξέος (**93**) συζεύχθηκε με το υδροξυοξύ **167** και το προϊόν **173** σαπωνοποιήθηκε με NaOH 1N και κατεργασία με HCl 1N, ώστε να παραληφθεί το ελεύθερο καρβοξυλικό οξύ **173**. Αυτό οξειδώθηκε με χρήση αντιδραστηρίου Dess-Martin προς το αντίστοιχο οξοαμίδιο **174** (Σχήμα 104).

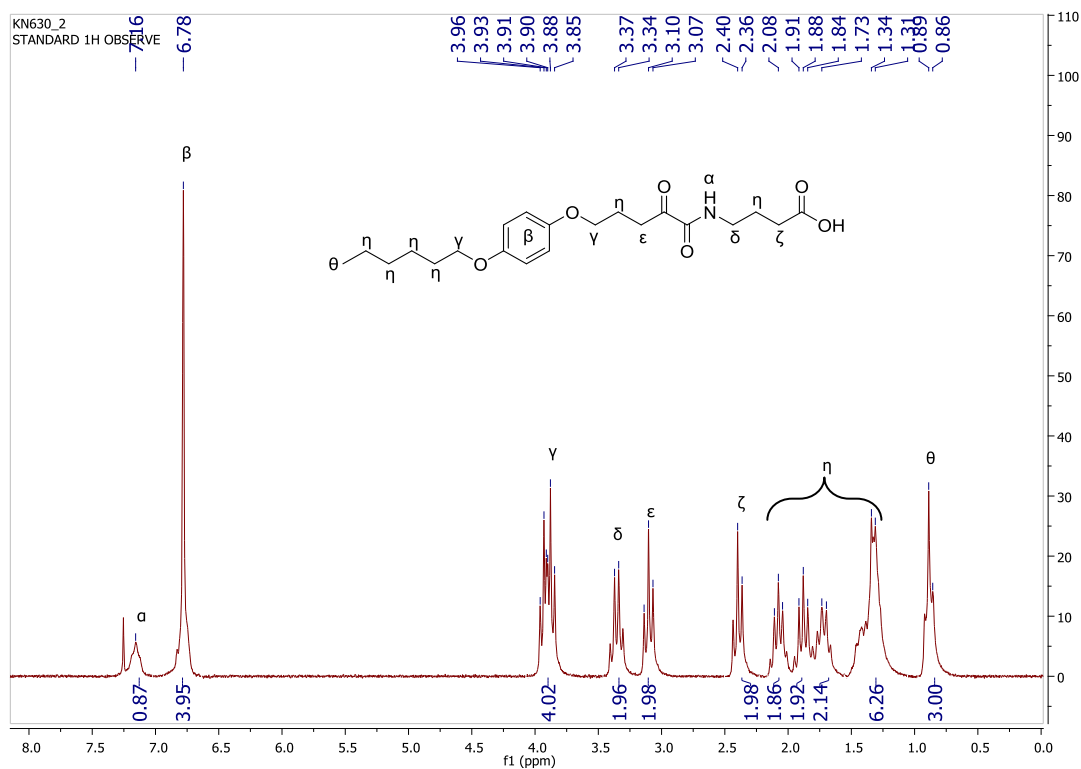


(α) **167**, EDC.HCl, NEt₃, άνυδρο CH₂Cl₂, (β) NaOH 1N, 1,4-διοξάνη/H₂O, (γ) HCl 1N, (δ) Dess-Martin, άνυδρο CH₂Cl₂.

Σχήμα 104: Σύνθεση του 5-(5-(4-(εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-οξοπενταναμιδο)πεντανοϊκού οξέος.

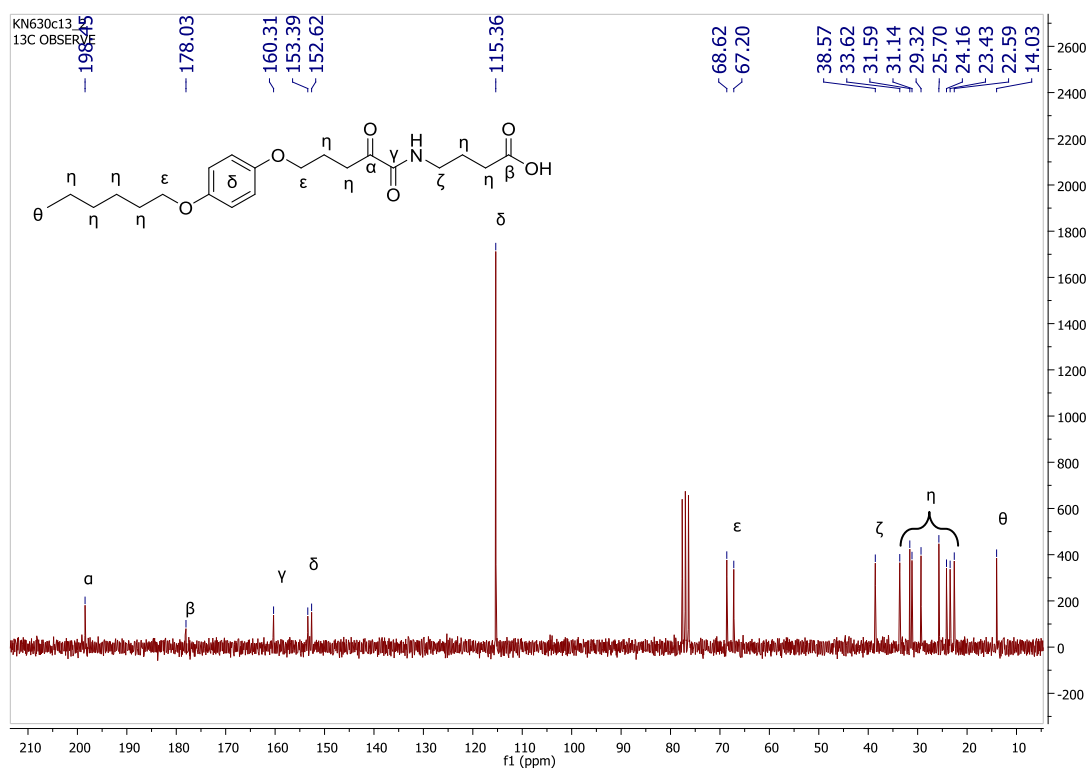
6.2 Χαρακτηριστικά φάσματα 2-οξοαμιδικού παραγώγου

Παρατίθενται χαρακτηριστικά φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του 2-οξοαμιδικού παραγώγου **171**. Όπως φαίνεται στο φάσμα ¹H NMR (Σχήμα 105), το αμιδικό πρωτόνιο συντονίζεται στα 7.16 ppm, ενώ τα αρωματικά πρωτόνια στην περιοχή 7.00-6.60 ppm. Ακολουθούν δύο κορυφές των μεθυλενίων που βρίσκονται δίπλα στα δύο άτομα οξυγόνου στα 3.93 ppm και 3.88 ppm, καθώς και μία τετραπλή κορυφή στα 3.36 ppm, που αντιστοιχεί στα πρωτόνια του μεθυλενίου που βρίσκεται δίπλα στο άτομο του αζώτου. Τα πρωτόνια του μεθυλενίου που βρίσκεται δίπλα στην οξοαμιδική ομάδα μετατοπίζονται στα 3.10 ppm, ενώ τα πρωτόνια του μεθυλενίου που είναι δίπλα στο καρβοξύλιο συντονίζονται στα 2.40 ppm. Ακολουθούν τα πρωτόνια των υπόλοιπων μεθυλενίων: τρεις πενταπλές κορυφές στα 2.08, 1.88 και 1.73 ppm και μία πολλαπλή κορυφή στην περιοχή 1.50-1.00 ppm. Τέλος, τα πρωτόνια του μεθυλίου συντονίζονται στα 0.89 ppm.



Σχήμα 105: Φάσμα ¹H NMR της ένωσης 171 σε CDCl₃.

Στο φάσμα ¹³C NMR (Σχήμα 106) ο άνθρακας της οξοαμιδικής ομάδας που βρίσκεται σε μεγαλύτερη απόσταση από το άτομο αζώτου συντονίζεται στα 198.5 ppm, ο άνθρακας της καρβοξυλικής ομάδας στα 178.0 ppm και ο άνθρακας του δεύτερου καρβονυλίου της οξοαμιδικής ομάδας (δίπλα στο άτομο αζώτου) στα 160.3 ppm. Ακολουθούν οι άνθρακες του αρωματικού δακτυλίου στην περιοχή 155.0-110.0 ppm και οι άνθρακες που βρίσκονται δίπλα στα δύο άτομα οξυγόνου στα 68.6 και 67.2 ppm. Ο άνθρακας που είναι δίπλα στο άτομο του αζώτου μετατοπίζεται στα 38.6 ppm, οι άνθρακες των υπόλοιπων μεθυλενίων στην περιοχή 35.0-20.0 ppm και ο άνθρακας του ακραίου μεθυλίου στα 14.0 ppm.



Σχήμα 106: Φάσμα ¹³C NMR της ένωσης 171 σε CDCl₃.

6.3 Μελέτη της ανασταλτικής ισχύος των οξοαμιδίων έναντι των φωσφολιπασών A₂

Τα οξοαμίδια που συντέθηκαν στην παρούσα εργασία αξιολογήθηκαν με *in vitro* πειράματα ως προς την ανασταλτική τους δράση έναντι των φωσφολιπασών A₂.

Ο έλεγχος της ανασταλτικής δράσης των ενώσεων πραγματοποιήθηκε στο University of California στο San Diego από την ερευνητική ομάδα του Prof. Edward Dennis.

Τα αποτελέσματα των *in vitro* δοκιμών παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.

Πίνακας 6: *In vitro* ανασταλτική ισχύς των οξοαμιδίων έναντι των PLA₂

Κωδικός	Δομή	ClogP	GIVA cPLA ₂		GVIA iPLA ₂	GV sPLA ₂
			% Inhibition	X _i (50)	% Inhibition	% Inhibition
171 (GK488)		4.94	63.6 ± 2.6		81.1 ± 1.0	N.D.
174 (GK487)		4.82	88.0 ± 0.9	0.013 ± 0.002	82.5 ± 1.4	N.D.

Το οξοαμίδιο **GK488** δεν παρουσίασε σημαντική αναστολή της GIVA cPLA₂, ανέστειλε όμως την GVIA iPLA₂ κατά 81.1%. Ωστόσο, αύξηση της απόστασης μεταξύ της λειτουργικής οξοαμιδικής ομάδας και το ελεύθερου καρβοξυλίου κατά ένα άτομο άνθρακα οδήγησε σε αύξηση της ανασταλτικής δράσης έναντι της GIVA cPLA₂. Ο αναστολέας **GK487** παρουσίασε τιμή X_i(50) = 0.013, έχοντας συγχρόνως μειωμένη λιποφιλικότητα (ClogP = 4.82).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ-ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΙ ΕΝΩΣΕΩΝ

7.1 Γενικό πειραματικό μέρος

7.1.1 Αντιδραστήρια

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των ενώσεων που περιγράφονται σε αυτήν την εργασία ήταν εμπορικά διαθέσιμα προϊόντα των εταιριών Sigma-Aldrich, Fluka, Merck, Alfa. Η καθαρότητα των αντιδραστηρίων ήταν 99% και άνω (εκτός και αν δηλώνεται διαφορετικά) και χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

7.1.2 Χρωματογραφικός έλεγχος αντιδράσεων

Για τον έλεγχο της πορείας των αντιδράσεων χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (Thin Layer Chromatography, TLC). Οι χρωματογραφικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε πλάκες αλουμινίου πάχους 0.25 mm, επιστρωμένες με silica gel και φθορίζον υλικό που απορροφά στα 254 nm της εταιρίας Merck (silica gel 60 F₂₅₄).

Για τον χρωματογραφικό χαρακτηρισμό των ενώσεων μετρήθηκαν οι συντελεστές ανάσχεσης (R_f) σε διαφορετικά συστήματα ανάπτυξης. Τα συστήματα ανάπτυξης που χρησιμοποιήθηκαν είναι:

1.	Πετρελαϊκός αιθέρας/οξικός αιθυλεστέρας	(PE/AcOEt)	95/5
2.	Πετρελαϊκός αιθέρας/οξικός αιθυλεστέρας	(PE/AcOEt)	9/1
3.	Πετρελαϊκός αιθέρας/οξικός αιθυλεστέρας	(PE/AcOEt)	8/2
4.	Πετρελαϊκός αιθέρας/οξικός αιθυλεστέρας	(PE/AcOEt)	7/3
5.	Πετρελαϊκός αιθέρας/οξικός αιθυλεστέρας	(PE/AcOEt)	1/1
6.	Χλωροφόρμιο/μεθανόλη	(CHCl ₃ /MeOH)	95/5
7.	Χλωροφόρμιο/μεθανόλη	(CHCl ₃ /MeOH)	9/1
8.	Διχλωρομεθάνιο/μεθανόλη	(CHCl ₃ /MeOH)	9/1
9.	Χλωροφόρμιο/μεθανόλη	(CHCl ₃ /MeOH)	9/1
+ 5 σταγόνες CH ₃ COOH			

Για την εμφάνιση των χρωματογραφιών χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω μέθοδοι:

A. Υπεριώδης ακτινοβολία (254 nm)

B. Ψεκασμός με διάλυμα φωσφομολυβδαινικού οξέος 7.5% σε αιθανόλη και θέρμανση

Γ. Ψεκασμός με διάλυμα νινυδρίνης 5% σε αιθανόλη και θέρμανση

Δ. Ψεκασμός με υδατικό διάλυμα $\text{Ce}(\text{NH}_4)_4(\text{SO}_4)_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.1%, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 2.7%, πυκνό H_2SO_4 11% (Bluestain) και θέρμανση.

7.1.3 Χρωματογραφικός καθαρισμός ενώσεων

Οι ενώσεις που περιγράφονται στην παρούσα εργασία καθαρίστηκαν με χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιώντας ως υλικό πληρώσης Silica gel 60 (230-400 mesh). Τα συστήματα έκλουσης αναφέρονται στις πειραματικές μεθόδους για κάθε ένωση ξεχωριστά.

7.1.4 Χαρακτηρισμός ενώσεων

Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR): Οι ενώσεις που συνετέθησαν χαρακτηρίστηκαν και ταυτοποιήθηκαν με ^1H , ^{13}C και ^{19}F φασματοσκοπία NMR. Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε όργανο 200 MHz Varian τύπου Mercury. Τα φάσματα ^{13}C είναι αποσυζευγμένα (proton decoupled).

Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των δειγμάτων ήταν CDCl_3 , CD_3OD και DMSO. Η κλίμακα των χημικών μετατοπίσεων στα φάσματα ^1H NMR είναι βαθμονομημένη σύμφωνα με τη χημική μετατόπιση του πρωτονιωμένου συστατικού, που βρίσκεται ως πρόσμιξη στους δευτεριωμένους διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν.

Φασματομετρία μάζας: Τα φάσματα μάζας ελήφθησαν σε όργανο φασματομετρίας μαζών Finnigan, Surveyor MSQ Plus με την τεχνική του

ιονισμού μέσω ηλεκτροψεκασμού (electron spray ionization, ESI-MS). Τα φάσματα HRMS ελήφθησαν σε όργανο Bruker Maxis Impact QTOF.

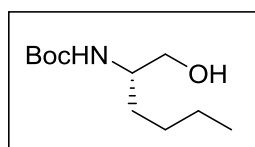
Σημείο τήξης: Τα σημεία τήξης των ενώσεων μετρήθηκαν σε συσκευή Buchi 530 και δεν δίνονται διορθωμένα.

7.1.5 Ενζυμικά πειράματα

Ο έλεγχος της ανασταλτικής δράσης των ενώσεων που συντέθηκαν έναντι της ATX πραγματοποιήθηκε στο Ινστιτούτο Ανοσολογίας του Ερευνητικού Κέντρου Βιοϊατρικών Επιστημών «Αλέξανδρος Φλέμινγκ» υπό την επίβλεψη του Δρ. Βασίλη Αϊδίνη.

7.2 Συνθετικές μέθοδοι – Χαρακτηρισμοί ενώσεων

(S)-(1-Υδροξυεξαν-2-υλο)καρβαμιδικός *tert*-βουτυλεστέρας (147)³²²



Σε αναδευόμενο διάλυμα του οξέος **146** (1 mmol, 231 mg) σε άνυδρο THF (5 mL), το οποίο έχει ψυχθεί στους -10 °C, προστίθενται N-μεθυλομορφολίνη (1 mmol, 101 mg) και χλωρομυρμηκικός αιθυλεστέρας (1 mmol, 109 mg) και το μίγμα αναδεύεται 10 min στην ίδια θερμοκρασία. Έπειτα προστίθενται NaBH₄ (3 mmol, 113 mg) και στάγδην MeOH (5 mL) και όταν η θερμοκρασία ανέβει στους 0 °C γίνεται στάγδην προσθήκη ίσης ποσότητας MeOH (5 mL). Το μίγμα αναδεύεται 10 min στους 0 °C και 10 min σε θερμοκρασία δωματίου. Αφού γίνει προθήκη H₂O και εξουδετέρωση με υδατικό διάλυμα κιτρικού οξέος 5%, οι οργανικοί διαλύτες απομακρύνονται υπό ελαττωμένη πίεση. Η υδατική φάση εκχυλίζεται τρεις φορές με AcOEt. Οι οργανικές στιβάδες συγκεντρώνονται και εκπλένονται με υδατικό διάλυμα κιτρικού οξέος 5%, κορεσμένο διάλυμα NaCl, υδατικό διάλυμα NaHCO₃ 10% και κορεσμένο διάλυμα NaCl. Ακολουθούν ξήρανση της οργανικής στιβάδας με άνυδρο

Na₂SO₄, συμπύκνωση του διαλύτη υπό ελαττωμένη πίεση και καθαρισμός με χρωματογραφία στήλης, με σύστημα έκλουσης: CHCl₃ 100% για τις δύο πρώτες εκλούσεις και στη συνέχεια CHCl₃/MeOH 98/2.

Λευκό στερεό. Απόδοση 66% (3,23 g), σ.τ.: 43-45 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 42-44 °C,³²² R_f (6)= 0,4.

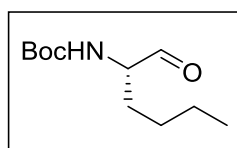
¹H NMR (CDCl₃): δ 4.74 (d, J = 7.0 Hz, 1H, NH), 3.60-3.40 (m, 3H, CH₂OH, CH), 2.94 (br, 1H, OH), 1.41 (s, 9H, Boc), 1.40-1.20 (m, 6H, CH₂), 0.86 (t, J = 8.0 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃): δ 156.6 (CO), 79.5 (C(CH₃)₃), 65.8 (CH₂OH), 52.8 (CHNH), 31.2 (CH₂), 28.3 (C(CH₃)₃), 28.1 (CH₂), 22.5 (CH₂), 13.9 (CH₃).

MS (ESI) m/z (%): 218.25 [(M+H)⁺, 85] (Exact Mass: 217.17).

[α]_D²⁵ = -32.6 (c 1, CHCl₃).

(S)-(1-Οξοεξαν-2-υλο)καρβαμιδικός *tert*-βουτυλεστέρας³¹⁰



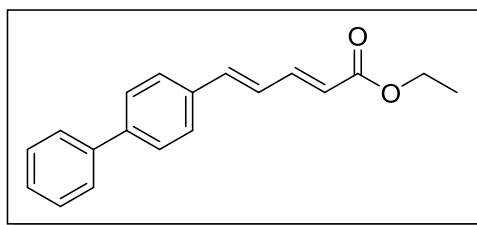
Σε αναδευόμενο διάλυμα της αλκοόλης **147** (1 mmol, 217 mg) σε AcOEt (3 mL) και τολουόλιο (3 mL) προστίθεται διάλυμα NaBr (1.1 mmol, 113 mg) σε H₂O (0.5 mL), καθώς και 4-AcNH-TEMPO (0.1 mmol, 21 mg), υπό θερμοκρασία περίπου -4 °C. Κατά τη διάρκεια της επόμενης μίας ώρας προστίθεται στάγδην διάλυμα NaHCO₃ (3 mmol, 253 mg) και NaOCl (1.1 mmol, 2.2 mL, 0.35 M) σε H₂O και έπειτα λαμβάνουν χώρα εκχυλίσσεις με 5% KI σε 5% κιτρικό οξύ, 10% Na₂S₂O₃ και κορεσμένο διάλυμα NaCl. Ακολουθούν ξήρανση με άνυδρο Na₂SO₄, συμπύκνωση του διαλύτη υπό ελαττωμένη πίεση και το προϊόν που παραλαμβάνεται χρησιμοποιείται κατ' ευθείαν στην επόμενη αντίδραση.

Υπόλευκο στερεό. Απόδοση 100% (1.44 g), R_f (6)= 0,6.

Γενική μέθοδος ολεφίνοποίησης Horner – Wadsworth – Emmons

Σε αναδευόμενο διάλυμα της αλδεΐδης (1 mmol) σε άνυδρο THF (10 mL), και υπό αδρανή ατμόσφαιρα αργού, προστίθεται $\text{C}_2\text{H}_5\text{OOCCH=CHCH}_2\text{P(=O)(OC}_2\text{H}_5)_2$ (1.5 mmol, 0.34 mL). Ακολουθεί προσθήκη μοριακών κοσκίνων (1.5 g/mmol αλδεΐδης, 1.5 g) και τέλος $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (1.5 mmol, 63 mg). Το μίγμα αναδεύεται υπό αναρροή για 24 ώρες, ακολουθεί διήθηση από celite και απομακρύνεται ο οργανικός διαλύτης υπό ελαττωμένη πίεση. Τέλος, γίνεται καθαρισμός του προϊόντος με χρωματογραφία στήλης.

(2E,4E)-5-([1,1'-Διφαινυλο]-4-υλο)πεντα-2,4-διενοϊκός αιθυλεστέρας
(72)³²³



Λευκό στερεό. Απόδοση 50% (0,57 g), σ.τ.: 98-100 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 97-100 °C, ³²³ $R_f(2) = 0,4$.

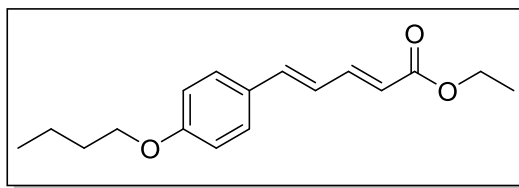
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: PE/Et₂O 8/2.

¹H NMR (CDCl_3): δ 7.80-7.30 (m, 10H, CH), 7.10-6.80 (m, 2H, CH), 6.00 (d, $J = 14$ Hz, 1H, CH), 4.24 (q, $J = 8.0$ Hz, 2H, OCH_2CH_3), 1.33 (t, $J = 8.0$ Hz, 3H, OCH_2CH_3).

¹³C NMR (CDCl_3): δ 167.1 (CO), 144.6 (CH), 139.9 (CH), 135.0 (CH), 128.8 (CH), 127.6 (CH), 127.4 (CH), 126.9 (CH), 126.2 (CH), 121.2 (CH), 60.4 (OCH_2CH_3), 14.3 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 279.08 [(M+H)⁺, 15] (Exact Mass: 278.13).

(2E,4E)-5-(4-Βουτοξυφαινυλο)πεντα-2,4-διενοϊκός αιθυλεστέρας (78)



Υπόλευκο στερεό. Απόδοση 68% (1,04 g), σ.τ.: 79-81 °C, R_f (3)= 0,5.

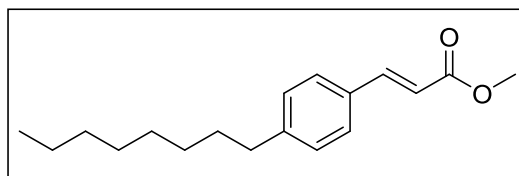
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: PE/AcOEt 9/1 έως 8/2.

^1H NMR (CDCl_3): δ 7.82 (d, J = 8.0 Hz, 1H, CH), 7.50-7.30 (m, 2H, CH), 7.00-6.60 (m, 4H, CH), 5.92 (d, J = 17.0 Hz, 1H, CH), 4.22 (q, J = 8.0 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 3.97 (t, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2CH_2), 1.90-1.60 (m, 2H, CH_2), 1.60-1.40 (m, 2H, CH_2), 1.30 (t, J = 8.0 Hz, 3H, OCH_2CH_3), 0.97 (t, J = 8.0 Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 167.3 (CO), 160.0 (CH), 145.0 (CH), 140.2 (CH), 132.0 (CH), 128.6 (CH), 123.9 (CH), 119.9 (CH), 114.7 (CH), 67.7 (OCH_2), 60.2 (OCH_2), 31.2 (CH_2), 19.2 (CH_2), 14.3 (CH_3), 13.8 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 275.25 [$(\text{M}+\text{H})^+$, 100] (Exact Mass: 274.16).

(E)-3-(4-Οκτυλοφαινυλ)ακρυλικός μεθυλεστέρας (61)



Σε αναδευόμενο διάλυμα της αλδεΐδης **60** (1 mmol, 218 mg) σε άνυδρο THF (5 mL), και υπό αδρανή ατμόσφαιρα αργού, προστίθεται το σταθεροποιημένο υλίδιο $\text{Rh}_3\text{P}=\text{CHCOOCH}_3$ (1.5 mmol, 0.5 g). Το μίγμα αναδεύεται υπό αναρροή για 24 ώρες και ο οργανικός διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Ακολουθεί προσθήκη Et_2O , στον οποίο δεν διαλύεται το τριφαινυλοφωσφινολίτιο, και διήθηση από silica flash. Το προϊόν παραλαμβάνεται έπειτα από απομάκρυνση του διαλύτη υπό ελαττωμένη πίεση.

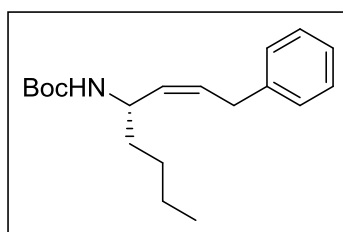
Άχρωμο έλαιο. Απόδοση 69% (0,69 g), R_f (1)= 0,4.

^1H NMR (CDCl_3): δ 7.68 (d, J =17.0 Hz, 1H, CH), 7.43 (d, J =8.0 Hz, 2H, arom), 7.18 (d, J =8.0 Hz, 2H, arom), 6.40 (d, J =17.0 Hz, 1H, CH), 3.79 (s, 1H, OCH_3), 2.61 (t, J = 8.0 Hz, 2H, CH_2Ph), 1.80-1.50 (m, 2H, CH_2), 1.50-1.00 (m, 10H, CH_2), 0.87 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH_3) .

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 167.6 (CO), 145.7 (CH), 144.9 (CH), 131.8 (CH), 128.9 (CH), 128.0 (CH), 116.6 (CH), 51.6 (OCH_3), 35.8 (CH_2), 31.8 (CH_2), 31.2 (CH_2), 29.4 (CH_2), 29.2 (CH_2), 22.6 (CH_2), 21.6 (CH_2), 14.1 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 292.16 $[(\text{M}+\text{NH}_4)^+, 10]$ (Exact Mass: 274.19).

(S,Z)-(1-Φαινυλοκτ-2-εν-4-υλο)καρβαμιδικός *tert*-βουτυλεστέρας (148)³¹⁰



Σε αναδευόμενο διάλυμα του $\text{Br}^-\text{Ph}_3\text{P}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ (2 mmol, 895 mg) σε άνυδρο THF (10 mL), που βρίσκεται στους -15°C και υπό ατμόσφαιρα αργού, προστίθεται στάγδην διάλυμα BuLi 1.6 M σε άνυδρο THF (2 mmol, 1.25 mL). Μετά από 20 λεπτά προστίθεται διάλυμα της αλδεΐδης (1 mmol, 215 mg) σε άνυδρο THF (2 mL) στους -15°C και αφήνεται να έρθει σε θερμοκρασία δωματίου και υπό ανάδευση για 24 ώρες. Ο διαλύτης συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση και προστίθεται CH_2Cl_2 το οποίο εκχυλίζεται με H_2O . Οι δύο στιβάδες διαχωρίζονται, η οργανική ξηραίνεται με άνυδρο Na_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Το προϊόν παραλαμβάνεται έπειτα από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης: PE/AcOEt 95/5.

Υπόλευκο στερεό. Απόδοση 36% (1,14 g), σ.τ.: $44-46^\circ\text{C}$, R_f (2)= 0,7.

^1H NMR (CDCl_3): δ 7.40-7.00 (m, 5H, arom), 5.60 (dt, J_1 = 10.0 Hz, J_2 = 8.0 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}$), 5.28 (dd, J_1 = 10.0 Hz, J_2 = 9.6 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}$), 4.72 (m, 1H, NH), 4.60-4.30 (m, 1H, CH), 3.70-3.30 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 1.70-1.50 (m, 2H, CH_2), 1.45 (s, 9H, Boc), 1.40-1.20 (m, 4H, CH_2), 0.88 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 154.2 (CO), 139.6 (CH), 130.5 (CH), 129.4 (CH), 127.5 (CH), 127.4 (CH), 124.9 (CH), 77.8 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 46.8 (CHNH), 34.8 (CH_2), 33.1 (CH_2), 27.5 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 27.0 (CH_2), 21.6 (CH_2), 13.1 (CH_3).

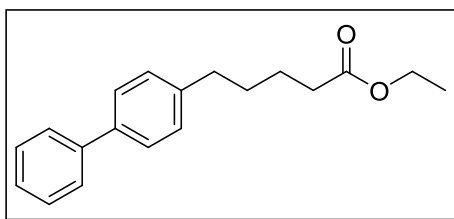
MS (ESI) m/z (%): 304.32 [(M+H) $^+$, 100] (Exact Mass: 303.22).

$[\alpha]_D^{25} = +1.8$ (c 1, CHCl_3), $[\beta]_{\text{βλ}}. [\alpha]_D^{25} = +1.9$ (c 2.1, CHCl_3).³¹⁰

Γενική μέθοδος υδρογόνωσης

Σε διάλυμα της αρχικής ένωσης (1 mmol) σε μεθανόλη ή αιθανόλη (2.7 mL ή 10 mL ανάλογα με την αντίδραση) προστίθεται καταλύτης Pd/C 10% και το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση και υπό ατμόσφαιρα υδρογόνου για 2 ώρες. Ακολουθεί διήθηση από celite και συμπύκνωση του διαλύτη υπό ελαττωμένη πίεση.

5-([1,1'-Διφαινυλο]-4-υλο)πεντανοϊκός αιθυλεστέρας (73)³²³



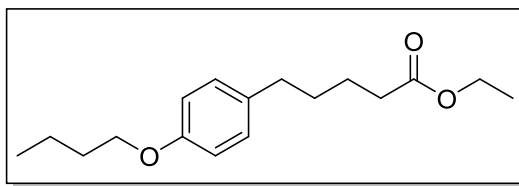
Άχρωμο έλαιο. Απόδοση 93% (0,50 g), R_f (2)= 0,5.

^1H NMR (CDCl_3): δ 7.90-7.00 (m, 9H, arom), 4.14 (q, $J = 8.0$ Hz, 2H, OCH_2CH_3), 2.69 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H, PhCH_2), 2.36 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H, CH_2CO), 1.71 (quintet, $J = 8.0$ Hz, 4H, $2 \times \text{CH}_2$), 1.27 (t, $J = 8.0$ Hz, 3H, OCH_2CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 173.6 (CO), 141.2 (arom), 141.0 (arom), 138.7 (arom), 128.8 (arom), 128.7 (arom), 127.0 (arom), 126.9 (arom), 60.2 (OCH_2CH_3), 35.2 (CH_2), 34.2 (CH_2), 30.9 (CH_2), 24.6 (CH_2), 14.2 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 300.3 [(M+NH $_4$) $^+$, 100] (Exact Mass: 282.16).

5-(4-Βουτοξυφαινυλ)πεντανοϊκός αιθυλεστέρας (79)



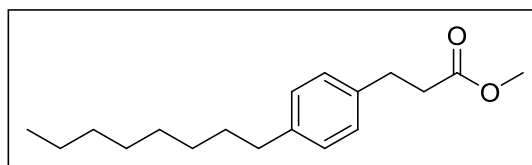
Άχρωμο έλαιο. Απόδοση 84% (0,84 g), R_f (3)= 0,6.

^1H NMR (CDCl_3): δ 7.07 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 6.81 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 4.12 (q, J = 8.0 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 3.93 (t, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2CH_2), 2.56 (t, J = 7.0 Hz, 2H, PhCH_2), 2.31 (t, J = 8.0 Hz, 2H, CH_2CO), 1.90-1.40 (m, 8H, CH_2), 1.24 (t, J = 8.0 Hz, 3H, OCH_2CH_3), 0.97 (t, J = 8.0 Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 173.7 (CO), 157.2 (arom), 134.0 (arom), 129.1 (arom), 128.6 (arom), 114.5 (arom), 114.3 (arom), 67.6 (OCH_2), 60.2 (OCH_2), 34.6 (CH_2), 34.2 (CH_2), 31.3 (CH_2), 31.1 (CH_2), 24.5 (CH_2), 19.2 (CH_2), 14.2 (CH_3), 13.8 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 296.24 [$(\text{M}+\text{NH}_4)^+$, 100] (Exact Mass: 278.19).

3-(4-Οκτυλοφαινυλο)προπανοϊκός μεθυλεστέρας (62)



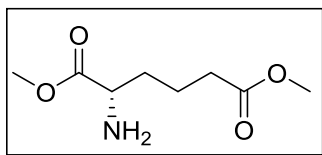
Λευκό στερεό. Απόδοση 88% (0,56 g), σ.τ.: 97-99 °C, R_f (2)= 0,7.

^1H NMR (CDCl_3): δ 7.30-7.00 (m, 4H, arom), 3.67 (s, 3H, OCH_3), 2.93 (t, J = 8.0 Hz, 2H, CH_2Ph), 2.70-2.50 (m, 4H, $\text{PhCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 1.80-1.50 (m, 2H, CH_2), 1.50-1.10 (m, 10H, CH_2), 0.89 (t, J = 8.0 Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 173.4 (CO), 140.8 (arom), 137.5 (arom), 128.4 (arom), 128.0 (arom), 51.5 (OCH_3), 35.7 (CH_2), 35.5 (CH_2), 31.8 (CH_2), 31.5 (CH_2), 30.5 (CH_2), 29.4 (CH_2), 29.3 (CH_2), 29.2 (CH_2), 22.6 (CH_2), 14.1 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 294.41 [$(\text{M}+\text{NH}_4)^+$, 100] (Exact Mass: 276.21).

(S)-2-Αμινοεξανοδιοϊκός διμεθυλεστέρας (141)³²⁴



Κίτρινο έλαιο. Απόδοση 77% (0,27 g), R_f (8)= 0,3.

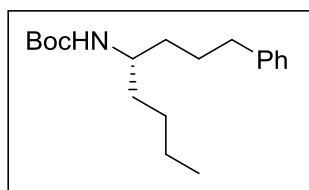
^1H NMR (CDCl_3): δ 3.56 (s, 3H, OCH_3), 3.50 (s, 3H, OCH_3), 3.50-3.30 (m, 1H, CH), 2.50-2.30 (m, 2H, NH_2), 2.19 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2), 1.80-1.40 (m, 4H, CH_2).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 175.4 (CO), 173.3 (CO), 53.6 (CH), 51.7 (OCH_3), 51.2 (OCH_3), 33.4 (CH_2), 33.2 (CH_2), 20.7 (CH_2).

MS (ESI) m/z (%): 190.27 [$(\text{M}+\text{H})^+$, 30] (Exact Mass: 189.10).

$[\alpha]_D^{25} = +6.0$ (c 1, CHCl_3), $[\beta]_\beta\lambda$: $[\alpha]_D^{25} = +8.2$ (c 3.9, CHCl_3).³²⁴

(S)-(1-Φαινυλοκταν-4-υλο)καρβαμιδικός *tert*-βουτυλεστέρας (149)³¹⁰



Υπόλευκο στερεό. Απόδοση 100% (1,08 g), σ.τ.: 43-45 °C, R_f (1)= 0,3.

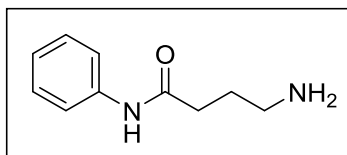
^1H NMR (CDCl_3): δ 7.40-7.00 (m, 5H, arom), 4.34 (s, 1H, NH), 4.20-3.90 (m, 1H, CH), 3.80-3.40 (m, 2H, CH_2), 2.80-2.40 (m, 2H, CH_2), 1.80-1.50 (m, 2H, CH_2), 1.45 (s, 9H, Boc), 1.40-1.10 (m, 6H, CH_2), 0.89 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 155.7 (CO), 142.3 (arom), 128.3 (arom), 128.2 (arom), 125.6 (arom), 78.7 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 50.3 (CH), 35.6 (CH_2), 35.2 (CH_2), 35.1 (CH_2), 28.3 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 27.9 (CH_2), 27.6 (CH_2), 22.5 (CH_2), 14.0 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 306.33 [$(\text{M}+\text{H})^+$, 60] (Exact Mass: 305.24).

$[\alpha]_D^{25} = +2.6$ (c 1, CHCl_3).

4-Αμινο-*N*-φαινυλοβουταναμίδιο (156)



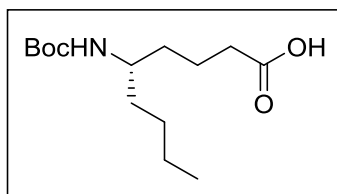
Λευκό στερεό. Απόδοση 100% (0,74 g), σ.τ.: 110-112 °C, R_f (7)= 0,1.

^1H NMR (CDCl_3): δ 9.15 (s, 1H, NH), 7.51 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.25 (t, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.03 (t, J = 8.0 Hz, 1H, arom), 2.85 (m, 2H, NH_2), 2.74 (m, 2H, CH_2NH_2), 2.38 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2CONH), 1.82 (quintet, J = 7.0 Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 171.8 (CO), 138.2 (arom), 128.6 (arom), 123.8 (arom), 119.8 (arom), 40.3 (CH_2N), 34.2 (CH_2), 27.5 (CH_2).

MS (ESI) m/z (%): 179.42 [$(\text{M}+\text{H})^+$, 60] (Exact Mass: 178.11).

(S)-5-((*tert*-Bουτοξυκαρβονυλο)αμινο)εννεανοϊκό οξύ (150)³²⁵



Σε διάλυμα της ένωσης **149** (1 mmol, 305 mg) σε $\text{AcOEt}/\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (3/3/24 mL) προστίθενται NaIO_4 (29 mmol, 6.2 g) και RuCl_3 (0.05 mmol, 10 mg) και το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 24 ώρες. Έπειτα προστίθενται AcOEt και H_2O , οι δύο στιβάδες διαχωρίζονται και η οργανική ξηραίνεται με άνυδρο Na_2SO_4 . Ακολουθεί διήθηση από celite και silica gel. Το διήθημα συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση και καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 95/5.

Λευκό στερεό. Απόδοση 58% (0,56 g), σ.τ.: 60-62 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 72-74 °C,³²⁵ R_f (6)= 0,2.

^1H NMR (CDCl_3): δ 9.90 (br, 1H, COOH), 4.35 (d, J = 10.0 Hz, 1H, NH), 3.70-3.30 (m, 1H, CH), 2.31 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2CO), 1.80-1.40 (m, 4H, CH_2), 1.39 (s, 9H, Boc), 1.30-1.00 (m, 6H, CH_2), 0.84 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 177.3 (COOH), 154.9 (CO), 78.7 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 50.2 (C-N), 35.2 (CH_2), 34.8 (CH_2), 33.7 (CH_2), 28.4 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 28.0 (CH_2), 22.6 (CH_2), 21.0 (CH_2), 14.0 (CH_3).

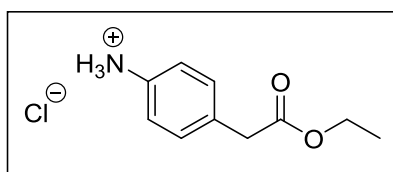
MS (ESI) m/z (%): 272.22 [(M-H) $^-$, 100] (Exact Mass: 273.19).

$[\alpha]_D^{25} = +6.0$ (c 0.5, DMF), $[\beta]_D^{25} = +5.4$ (c 1, DMF)].³²⁵

Γενική μέθοδος εστεροποίησης οξέων

Σε αναδευόμενο διάλυμα του οξέος (1 mmol) σε απόλυτη MeOH ή EtOH (1.2 mL), που βρίσκεται στους 0 °C, προστίθεται στάγδην SOCl_2 (1.2 mmol, 88 μL) και το διάλυμα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 4 ώρες με σωλήνα CaCl_2 . Ακολουθεί συμπύκνωση του διαλύτη υπό ελαττωμένη πίεση και ανακρυστάλλωση από MeOH ή EtOH/ Et_2O .

Υδροχλωρικό άλας του 2-(4-αμινοφαινυλ)οξικού αιθυλεστέρα (53)³²⁶



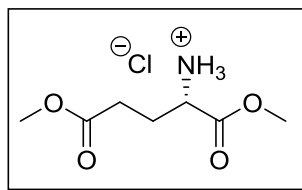
Υπόλευκο στερεό. Απόδοση 100% (1,42 g), σ.τ.: 213-215 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 215 °C.³²⁶

^1H NMR: δ 10.05 (s, 3H, NH_3^+), 7.50-7.00 (m, 4H, arom), 4.04 (q, $J = 8.0$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 3.66 (s, 2H, CH_2), 1.14 (t, $J = 8.0$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CD_3OD): δ 171.6 (CO), 136.1 (arom), 131.1 (arom), 129.6 (arom), 123.0 (arom), 61.0 (OCH_2CH_3), 40.0 (CH_2), 13.3 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 197.26 [(M-Cl) $^-$, 100] (Exact Mass: 215.07).

Υδροχλωρικό άλας του L-γλουταμινικού διμεθυλεστέρα (119)³²⁷



Λευκό στερεό. Απόδοση 100% (3,06 g), σ.τ.: 85-87 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 83 °C.³²⁸

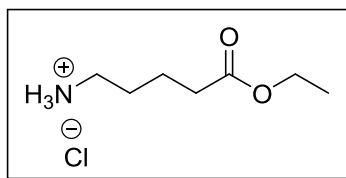
¹H NMR (DMSO): δ 8.69 (s, 3H, NH₃), 4.03 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, CH), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 3.58 (s, 3H, OCH₃), 2.53 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, COCH₂), 2.01 (q, *J* = 8.0 Hz, 2H, CH₂).

¹³C NMR (DMSO): δ 172.5 (CO), 169.8 (CO), 53.1 (C-N), 51.8 (OCH₃), 51.3 (OCH₃), 29.0 (CH₂), 24.2 (CH₂).

MS (ESI) *m/z* (%): 176.27 [(M-Cl)⁻, 100] (Exact Mass: 211.06).

[α]_D²⁵ = +27.3 (c 1, MeOH), [βιβλ: [α]_D²⁵ = +25.8 (c 1.83, MeOH)].³²⁷

Υδροχλωρικό άλας του 5-αμινοπεντανοϊκού αιθυλεστέρα (93)³²⁹



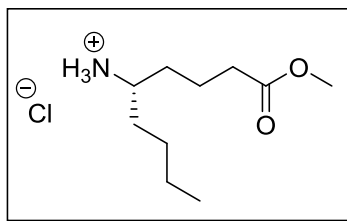
Λευκό στερεό. Απόδοση 97% (1,05 g), σ.τ.: 98-100 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 116 °C.³²⁹

¹H NMR (CDCl₃): δ 8.26 (br, 3H, NH₃), 4.09 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 3.40-2.70 (m, 2H, NCH₂), 2.60-2.10 (m, 2H, CH₂CO), 2.10-1.50 (m, 4H, CH₂), 1.22 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH₂CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃): δ 173.3 (CO), 60.5 (OCH₂CH₃), 33.4 (CH₂), 26.9 (CH₂), 25.1 (CH₂), 21.8 (CH₂), 14.1 (CH₃).

MS (ESI) *m/z* (%): 180.25 [(M-H)⁻, 70] (Exact Mass: 181.09).

Υδροχλωρικό άλας του (S)-5-αμινοεννεανοϊκού μεθυλεστέρα (151)



Λευκό στερεό. Απόδοση 100% (250 mg), σ.τ.: 43-45 °C.

^1H NMR (CDCl_3): δ 8.35 (br, 3H, NH_3), 3.65 (s, 3H, OCH_3), 3.40-3.00 (m, 1H, CH), 2.50-2.20 (m, 2H, CH_2CO), 1.90-1.60 (m, 6H, CH_2), 1.60-1.10 (m, 4H, CH_2), 0.90 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 173.5 (CO), 52.2 (C-N), 51.7 (OCH_3), 33.3 (CH_2), 32.2 (CH_2), 31.9 (CH_2), 27.2 (CH_2), 22.3 (CH_2), 20.6 (CH_2), 13.8 (CH_3).

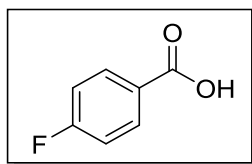
MS (ESI) m/z (%): 188.16 [$(\text{M}-\text{Cl})^-$, 100] (Exact Mass: 223.13).

$[\alpha]_D^{25} = -4.0$ (c 1, MeOH).

Γενική μέθοδος οξείδωσης Pinnick

Η αλδεΐδη (1 mmol) διαλύεται σε MeCN (3.6 mL) και προστίθενται διάλυμα NaH_2PO_4 (0.28 mmol, 33 mg) σε H_2O (1.45 mL), H_2O_2 30% (1 mmol, 1 mL) και διάλυμα NaClO_2 (1.74 mmol, 150 mg) H_2O (3.6 mL) στάγδην. Αφού αναδευτούν για 4 ώρες προστίθεται Na_2SO_3 (0.072 mmol, 10 mg) και το μίγμα αναδεύεται για άλλα 2 λεπτά. Ύστερα γίνεται προσθήκη HCl 1N και λαμβάνει χώρα εκχύλιση με CH_2Cl_2 . Η οργανική στιβάδα εκπλένεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl , ξηραίνεται με άνυδρο Na_2SO_4 και ο διαλύτης συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση, ώστε να προκύψει το ζητούμενο οξύ.

4-Φθοροβενζοϊκό οξύ (99)³³⁰



Λευκό στερεό. Απόδοση 95% (0,40 g), σ.τ.: 185-187 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 184-185 °C,³³⁰ R_f (2)= 0,2.

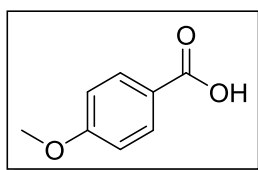
^1H NMR (CDCl_3): δ 8.60-7.90 (m, 2H, arom), 7.50-6.80 (m, 2H, arom).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 183.2 (CO), 166.2 (d, J = 268.5 Hz, C-F), 133.2 (d, J = 10.0 Hz, arom), 125.8 (d, J = 2.5 Hz, arom), 116.1 (d, J = 22.0 Hz, arom).

^{19}F NMR (CDCl_3): δ -104.4 (F).

MS (ESI) m/z (%): 141.53 [(M+H) $^+$, 75] (Exact Mass: 140.03).

4-Μεθοξυβενζοϊκό οξύ (105)³³⁰



Λευκό στερεό. Απόδοση 86% (0,48 g), σ.τ.: 197-199 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 183-185 °C,³³⁰ R_f (2)= 0,2.

^1H NMR (CDCl_3): δ 8.20-7.90 (m, 2H, arom), 7.10-6.80 (m, 2H, arom), 3.87 (s, 3H, OCH_3).

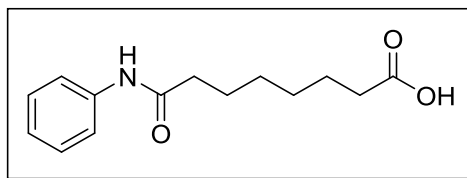
^{13}C NMR (CDCl_3): δ 183.5 (CO), 164.5 (arom), 132.4 (arom), 121.9 (arom), 113.7 (arom), 55.5 (OCH_3).

MS (ESI) m/z (%): 151.25 [(M-H) $^-$, 100] (Exact Mass: 152.05).

Γενική μέθοδος σύζευξης αμινών με δικαρβοξυλικά οξέα

Το δικαρβοξυλικό οξύ (1 mmol) και η αμίνη (1.2 mmol) αναδεύονται υπό αναρροή για 10 λεπτά. Έπειτα προστίθεται υδατικό διάλυμα 8% w/v KOH (1.8 mmol, 101 mg KOH, 1.3 mL) και, μετά από 20 λεπτά ανάδευσης, καταβυθίζεται στερεό το οποίο διηθείται και εκπλένεται με H_2O . Το διήθημα οξινίζεται με HCl 1N και καταβυθίζεται το ζητούμενο στερεό, το οποίο παραλαμβάνεται μετά από διήθησεις και εκπλύσεις με θερμό H_2O .

8-Οξο-8-(φαινυλαμινο)οκτανοϊκό οξύ (89)³⁰¹



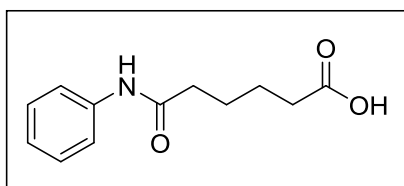
Λευκό στερεό. Απόδοση 29% (1,45 g), σ.τ.: 124-126 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 126-128 °C,³⁰¹ R_f (1)= 0,2.

¹H NMR (DMSO): δ 12.04 (br s, 1 H, COOH), 9.86 (s, 1H, NH), 7.57 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.26 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, arom), 6.99 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, arom), 2.40-2.00 (m, 4H, 2xCH₂CO), 1.70-1.40 (m, 4H, CH₂), 1.40-1.20 (m, 4H, CH₂).

¹³C NMR (DMSO): δ 174.6 (COOH), 171.3 (CONH), 139.4 (arom), 128.7 (arom), 123.0 (arom), 119.1 (arom), 36.4 (CH₂), 33.7 (CH₂), 28.4 (CH₂), 25.1 (CH₂), 24.5 (CH₂), 20.8 (CH₂).

MS (ESI) *m/z* (%): 248.20 [(M-H)⁻, 100] (Exact Mass: 249.14).

6-Οξο-6-(φαινυλαμινο)εξανοϊκό οξύ (85)³³¹



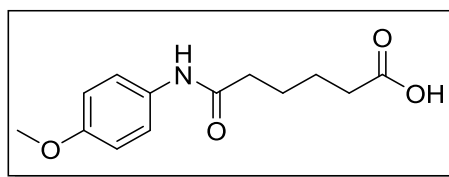
Λευκό στερεό. Απόδοση 39% (1,73 g), σ.τ.: 140-142 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 152-153 °C,³³¹ R_f (6)= 0,2.

¹H NMR (DMSO): δ 12.00 (br s, 1 H, COOH), 9.90 (s, 1H, NH), 7.58 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.28 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.02 (t, *J* = 8.0 Hz 1H, arom), 2.40-2.00 (m, 4H, CH₂), 1.80-1.40 (m, 4H, CH₂).

¹³C NMR (DMSO): δ 174.8 (COOH), 171.4 (CONH), 139.5 (arom), 128.9 (arom), 123.3 (arom), 119.3 (arom), 36.4 (CH₂), 33.7 (CH₂), 24.9 (CH₂), 24.4 (CH₂).

MS (ESI) *m/z* (%): 222.18 [(M+H)⁺, 100] (Exact Mass: 221.11).

6-((4-Μεθοξυφαινυλ)αμινο)-6-οξοεξανοϊκό οξύ (126)³³²



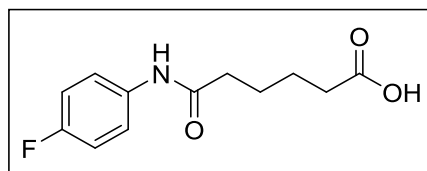
Μωβ στερεό. Απόδοση 59% (2,02 g), σ.τ.: 163-165 °C, R_f (8)= 0,3.

^1H NMR (CD_3OD): δ 12.40 (br s, 1 H, COOH), 8.04 (s, 1H, NH), 7.34 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 6.78 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 3.67 (s, 3H, OCH_3), 2.40-2.10 (m, 4H, CH_2), 1.80-1.40 (m, 4H, CH_2).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 177.5 (COOH), 174.0 (CONH), 157.8 (arom), 128.2 (arom), 123.1 (arom), 114.9 (arom), 55.8 (OCH_3), 37.4 (CH_2), 34.6 (CH_2), 26.4 (CH_2), 25.6 (CH_2).

MS (ESI) m/z (%): 250.21 [$(\text{M}-\text{H})^-$, 100] (Exact Mass: 251.12).

6-((4-Φθοροφαινυλ)αμινο)-6-οξοεξανοϊκό οξύ (130)



Ροζ στερεό. Απόδοση 33% (1,08 g), σ.τ.: 110-112 °C, R_f (8)= 0,5.

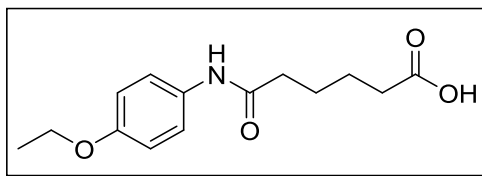
^1H NMR (CDCl_3): δ 12.40 (br s, 1 H, COOH), 9.10 (s, 1H, NH), 7.50-7.30 (m, 2H, arom), 7.00-6.70 (m, 2H, arom), 2.40-2.10 (m, 4H, CH_2), 1.80-1.40 (m, 4H, CH_2).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 176.2 (COOH), 172.2 (CONH), 159.0 (d, J = 241.5 Hz, C-F), 134.0 (d, J = 3.0 Hz, arom), 121.5 (d, J = 8.0 Hz, arom), 115.1 (d, J = 22.5 Hz, arom), 36.4 (CH_2), 33.4 (CH_2), 24.8 (CH_2), 24.0 (CH_2).

^{19}F NMR (CDCl_3): δ -119.3 (F).

MS (ESI) m/z (%): 238.25 [$(\text{M}-\text{H})^-$, 100] (Exact Mass: 239.10).

6-((4-Αιθοξυφαινυλ)αμινο)-6-οξοεξανοϊκό οξύ (134)



Ροζ στερεό. Απόδοση 38% (1,38 g), σ.τ.: 172-174 °C, R_f (7)= 0,7.

^1H NMR (CDCl_3): δ 12.40 (br s, 1 H, COOH), 8.66 (s, 1H, NH), 7.34 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 6.75 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 3.92 (q, J = 8.0 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 2.50-2.00 (m, 4H, CH_2), 1.80-1.40 (m, 4H, CH_2), 1.30 (t, J = 8.0 Hz, 3H, OCH_2CH_3).

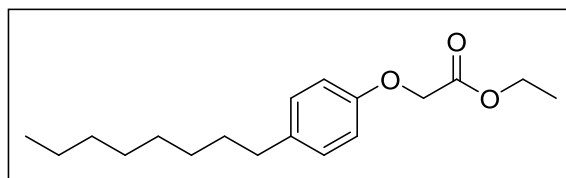
^{13}C NMR (CDCl_3): δ 176.2 (COOH), 171.9 (CONH), 155.3 (arom), 128.0 (arom), 121.6 (arom), 114.4 (arom), 63.5 (OCH_2), 36.4 (CH_2), 33.5 (CH_2), 24.9 (CH_2), 24.1 (CH_2), 14.5 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 264.18 [(M-H) $^-$, 100] (Exact Mass: 265.13).

Μέθοδος αιθεροποίησης αλκοόλης

Σε διάλυμα της αλκοόλης (1 mmol) σε ακετόνη (7.85 mL) προστίθεται K_2CO_3 (3 mmol, 410 mg) και ακολουθεί ανάδευση υπό αναρροή για 30 λεπτά. Έπειτα γίνεται προσθήκη βρωμοξικού ή 4-βρωμοβουτυρικού αιθυλεστέρα (1.5 mmol) και η αναρροή συνεχίζεται για 24 ώρες. Η ακετόνη συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση και προστίθεται CH_2Cl_2 το οποίο εκπλένεται με H_2O . Η οργανική στιβάδα ξηραίνεται με άνυδρο Na_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση.

2-(4-Οκτυλοφαινοξυ)οξικός αιθυλεστέρας (67)²⁹⁹



Άχρωμο έλαιο. Απόδοση 100% (0,98 g) , R_f (3)= 0,6.

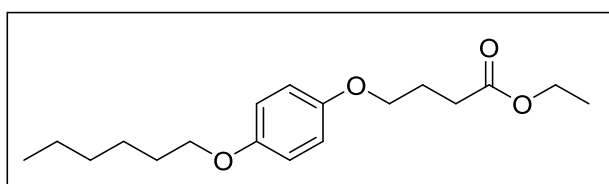
^1H NMR (CDCl_3): δ 7.07 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 6.81 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 4.57 (s, 2H, OCH_2CO), 4.25 (q, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 2.52 (t, J =

8.0 Hz, 2H, CH₂Ph), 1.70-1.40 (m, 2H, CH₂), 1.40-1.10 (m, 10H, CH₂), 1.24 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, OCH₂CH₃), 0.86 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃): δ 169.0 (CO), 155.8 (arom), 136.0 (arom), 129.2 (arom), 114.3 (arom), 65.5 (OCH₂CO), 61.1 (OCH₂CH₃), 34.9 (CH₂), 31.8 (CH₂), 31.6 (CH₂), 29.4 (CH₂), 29.2 (CH₂), 25.9 (CH₂), 22.6 (CH₂), 14.1 (CH₃), 14.0 (CH₃).

MS (ESI) m/z (%): 310.33 [(M+NH₄)⁺, 100] (Exact Mass: 292.20).

4-(4-(Εξυλοξυ)φαινοξυ)βουτανοϊκός αιθυλεστέρας (163)



Άχρωμο έλαιο. Απόδοση 100% (10.38g), R_f (4)= 0,8.

¹H NMR (CDCl₃): δ 6.90-6.70 (m, 4H, arom), 4.09 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, OCH₂CH₃), 3.90 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, OCH₂), 3.84 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, OCH₂), 3.42 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, CH₂COO), 2.60-2.30 (m, 4H, CH₂), 2.20-1.90 (m, 4H, CH₂), 1.71 (quintet, $J = 7.0$ Hz, 2H, CH₂), 1.22 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, OCH₂CH₃), 0.86 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃): δ 173.1 (CO), 153.2 (arom), 152.7 (arom), 115.1 (arom), 68.4 (OCH₂), 67.1 (OCH₂), 60.2 (OCH₂CH₃), 32.3 (CH₂), 30.7 (CH₂), 29.2 (CH₂), 27.6 (CH₂), 25.6 (CH₂), 24.6 (CH₂), 14.1 (OCH₂CH₃), 13.9 (CH₃).

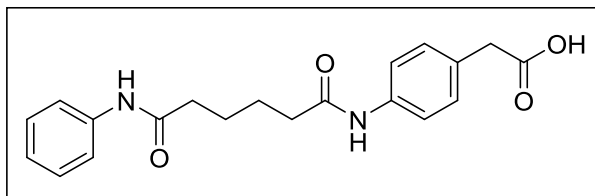
MS (ESI) m/z (%): 309.27 [(M+H)⁺, 100] (Exact Mass: 308.20).

Γενική μέθοδος σαπωνοποίησης

Σε αναδευόμενο διάλυμα του εστέρα (1 mmol) σε 1,4-διοξάνη (2 mL) ή σε μίγμα 1,4-διοξάνης/H₂O 9/1 (10 mL) προστίθεται NaOH 1N (1.5 mmol, 1.5 mL) και το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση για 24 ώρες. Ακολουθεί συμπύκνωση του διαλύτη υπό ελαττωμένη πίεση και εκχύλιση με Et₂O και H₂O. Έπειτα από οξίνιση της υδατικής στιβάδας με HCl 1N, γίνεται τρεις φορές εκχύλιση με Et₂O. Το προϊόν παραλαμβάνεται έπειτα από

ξήρανση της οργανικής φάσης με άνυδρο Na_2SO_4 και απομάκρυνση του διαλύτη υπό ελαττωμένη πίεση.

2-(4-(6-Οξο-6-(φαινυλαμινο)εξαναμιδο)φαινυλο)οξικό οξύ (112)



Λευκό στερεό. Απόδοση 100% (0,57 g), σ.τ.: 215-217 °C, R_f (7)= 0,2.

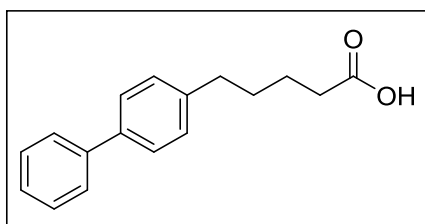
^1H NMR (CD_3OD): δ 7.47 (t, J = 7.0 Hz, 4H, arom), 7.40-7.10 (m, 4H, arom), 7.10-6.90 (m, 1H, arom), 3.51 (s, 2H, PhCH_2CO), 2.50-2.10 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2\text{CO}$), 1.90-1.60 (m, 4H, CH_2).

^{13}C NMR (CD_3OD): δ 177.0 (COOH), 174.3 (CONH), 164.9 (CONH), 132.0 (arom), 130.7 (arom), 129.7 (arom), 125.1 (arom), 121.2 (arom), 113.1 (arom), 41.1 (CH_2), 37.6 (CH_2), 30.9 (CH_2), 26.5 (CH_2), 22.1 (CH_2).

MS (ESI) m/z (%): 353.26 [$(\text{M}-\text{H})^-$, 100] (Exact Mass: 354.16).

HRMS 353.1508 ($(\text{M}-\text{H})^-$), (353.1507).

5-([1,1'-Διφαινυλο]-4-υλο)πεντανοϊκό οξύ (74)³²³



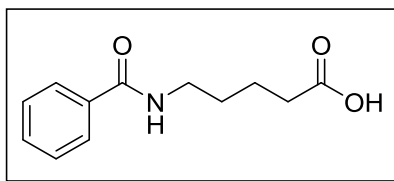
Λευκό στερεό. Απόδοση 98% (0,48 g), σ.τ.: 125-127 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 125-128 °C,³²³ R_f (3)= 0,4.

^1H NMR (CDCl_3): δ 7.70-7.10 (m, 9H, arom), 2.68 (t, J = 8.0 Hz, 2H, PhCH_2), 2.41 (t, J = 8.0 Hz, 2H, CH_2CO), 1.72 (quintet, J = 4.0 Hz, 4H, $2\times\text{CH}_2$).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 179.6 (CO), 141.1 (arom), 138.8 (arom), 128.8 (arom), 128.7 (arom), 127.1 (arom), 127.0 (arom), 35.1 (CH_2), 33.8 (CH_2), 30.8 (CH_2), 24.3 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 253.13 [$(\text{M}-\text{H})^-$, 100] (Exact Mass: 254.13).

5-Βενζαμιδοπεντανοϊκό οξύ (95)³³³



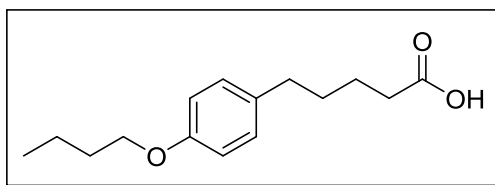
Λευκό στερεό. Απόδοση 80% (0,77 g), σ.τ.: 93-95 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 105-106 °C,³³³ R_f (7) = 0,2.

^1H NMR (CDCl_3): δ 12.10 (br s, 1H, COOH), 7.90-7.60 (m, 2H, arom), 7.60-7.30 (m, 3H, arom), 6.45 (s, 1H, NH), 3.60-3.30 (m, 2H, NHCH_2), 2.50-2.20 (m, 2H, CH_2CO), 1.90-1.50 (m, 4H, CH_2).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 178.3 (COOH), 167.9 (CONH), 134.4 (arom), 131.5 (arom), 128.6 (arom), 126.9 (arom), 39.5 (CH_2), 33.4 (CH_2), 28.8 (CH_2), 21.8 (CH_2).

MS (ESI) m/z (%): 222.07 [$(\text{M}+\text{H})^+$, 100] (Exact Mass: 221.11).

5-(4-Βουτοξυφαινυλ)πεντανοϊκό οξύ (80)



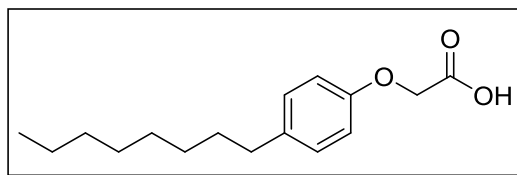
Λευκό στερεό. Απόδοση 78% (0,27 g), σ.τ.: 74-76 °C, R_f (3) = 0,2.

^1H NMR (CDCl_3): δ 7.06 (d, J = 10.0 Hz, 2H, arom), 6.80 (d, J = 10.0 Hz, 2H, arom), 3.92 (t, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2CH_2), 2.55 (t, J = 8.0 Hz, 2H, PhCH_2), 2.35 (t, J = 8.0 Hz, 2H, CH_2CO), 2.00-1.40 (m, 8H, CH_2), 0.95 (t, J = 8.0 Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 179.3 (CO), 157.3 (arom), 133.9 (arom), 129.2 (arom), 114.3 (arom), 67.7 (OCH_2), 34.6 (CH_2), 33.8 (CH_2), 31.4 (CH_2), 31.0 (CH_2), 24.2 (CH_2), 19.3 (CH_2), 13.9 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 249.22 [$(\text{M}-\text{H})^-$, 100] (Exact Mass: 250.16).

2-(4-Οκτυλοφαινοξυ)οξικό οξύ (68)³³⁴



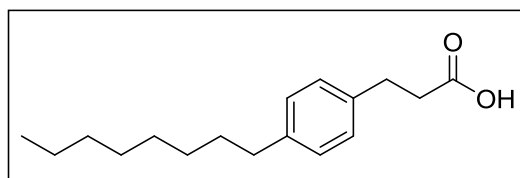
Λευκό στερεό. Απόδοση 66% (0,42 g), σ.τ.: 101-103 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 91-92 °C,³³⁴ R_f (3)= 0,1.

^1H NMR (DMSO): δ 6.99 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 6.68 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 4.04 (s, 2H, OCH_2CO), 2.55 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2Ph), 1.70-1.40 (m, 2H, CH_2), 1.40-1.10 (m, 10H, CH_2), 0.83 (t, J = 8.0 Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CD_3OD): δ 183.0 (CO), 158.1 (arom), 136.1 (arom), 130.1 (arom), 115.5 (arom), 68.5 (OCH_2CO), 41.7 (CH_2), 36.0 (CH_2), 33.0 (CH_2), 30.6 (CH_2), 30.4 (CH_2), 30.3 (CH_2), 23.7 (CH_2), 14.4 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 263.29 [$(\text{M}-\text{H})^-$, 100] (Exact Mass: 264.17).

3-(4-Οκτυλοφαινυλο)προπανοϊκό οξύ (63)



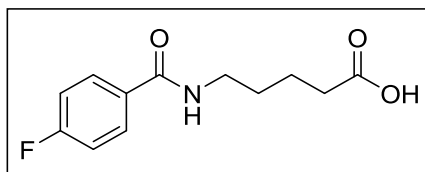
Λευκό στερεό. Απόδοση 100% (0,49 g), σ.τ.: 44-46 °C, R_f (1)= 0,2.

^1H NMR (CDCl_3): δ 7.30-7.00 (m, 4H, arom), 2.93 (t, J = 8.0 Hz, 2H, CH_2Ph), 2.80-2.50 (m, 4H, $\text{PhCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 1.80-1.50 (m, 2H, CH_2), 1.50-1.10 (m, 10H, CH_2), 0.88 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 179.4 (CO), 141.0 (arom), 137.2 (arom), 128.5 (arom), 128.1 (arom), 35.7 (CH_2), 35.5 (CH_2), 31.9 (CH_2), 31.5 (CH_2), 30.2 (CH_2), 29.5 (CH_2), 29.4 (CH_2), 29.3 (CH_2), 22.7 (CH_2), 14.1 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 261.22 [$(\text{M}-\text{H})^-$, 100] (Exact Mass: 262.19).

5-(4-Φθοροβενζαμιδο)πεντανοϊκό οξύ (101)



Λευκό στερεό. Απόδοση 85% (0,32 g), σ.τ.: 123-125 °C, R_f (5)= 0,2.

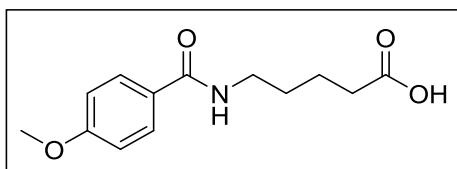
^1H NMR (CDCl_3): δ 7.90-7.60 (m, 2H, arom), 7.37 (t, J = 5.0 Hz, 1H, NH), 7.10-6.80 (m, 2H, arom), 5.13 (br s, 1H, OH), 3.50-3.10 (m, 2H, CH_2), 2.40-2.00 (m, 2H, CH_2), 1.80-1.40 (m, 4H, CH_2).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 176.5 (COOH), 167.3 (CONH), 164.4 (d, J = 249.5 Hz, C-F), 130.2 (d, J = 3.0 Hz, arom), 129.2 (d, J = 10.0 Hz, arom), 115.2 (d, J = 21.5 Hz, arom), 39.4 (CH_2), 33.3 (CH_2), 28.4 (CH_2), 21.8 (CH_2).

^{19}F NMR (CDCl_3): δ -108.9 (F).

MS (ESI) m/z (%): 238.19 [$(\text{M}-\text{H})^-$, 100] (Exact Mass: 239.10).

5-(4-Μεθοξυβενζαμιδο)πεντανοϊκό οξύ (107)³³⁵



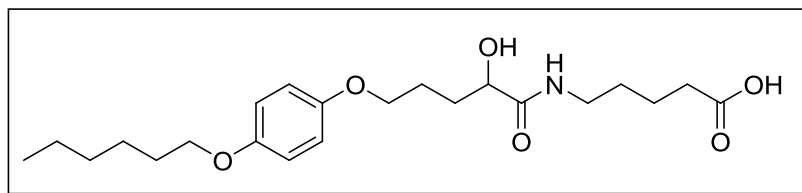
Λευκό στερεό. Απόδοση 76% (0,42 g), σ.τ.: 127-129 °C, R_f (5)= 0,2.

^1H NMR (CDCl_3): δ 7.80-7.50 (m, 2H, arom), 7.10 (t, J = 7.0 Hz, 1H, NH), 6.90-6.70 (m, 2H, arom), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 3.50-3.10 (m, 2H, CH_2), 2.40-2.00 (m, 2H, CH_2), 1.80-1.40 (m, 4H, CH_2).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 176.8 (COOH), 167.8 (CONH), 161.9 (arom), 128.7 (arom), 126.2 (arom), 113.4 (arom), 55.2 (OCH_3), 39.4 (CH_2), 33.3 (CH_2), 28.5 (CH_2), 21.8 (CH_2).

MS (ESI) m/z (%): 250.13 [$(\text{M}-\text{H})^-$, 100] (Exact Mass: 251.12).

5-(5-(4-(Εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-υδροξυπενταναμιδο)πεντανοϊκό οξύ (173)



Λευκό στερεό. Απόδοση 100% (200 mg), σ.τ.: 68-70 °C, R_f (8) = 0,4.

^1H NMR (CDCl_3 +σταγ. CD_3OD): δ 7.03 (t, J = 7.0 Hz, 1H, NH), 6.90-6.60 (m, 4H, arom), 4.20-4.00 (m, 1H, CHOH), 3.92 (t, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2), 3.87 (t, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2), 3.25 (q, J = 7.0 Hz, 2H, NHCH_2), 2.31 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2COOH), 2.10-1.50 (m, 10H, CH_2), 1.50-1.10 (m, 6H, CH_2), 0.87 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH_3).

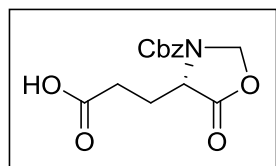
^{13}C NMR (CDCl_3 +σταγ. CD_3OD): δ 176.5 (COOH), 174.5 (CONH), 153.4 (arom), 152.5 (arom), 115.4 (arom), 115.3 (arom), 71.6 (CHOH), 68.6 ($2\times\text{OCH}_2$), 38.4 (NHCH_2), 33.3 (CH_2), 33.0 (CH_2), 31.5 (CH_2), 29.3 (CH_2), 28.7 (CH_2), 25.7 (CH_2), 25.2 (CH_2), 22.6 (CH_2), 21.8 (CH_2), 14.0 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 408.32 [$(\text{M}-\text{H})^-$, 64] (Exact Mass: 409.25).

(S)-3-(3-((Βενζυλοξυ)καρβονυλο)-5-οξοοξαζολιδιν-4-υλο)προπανοϊκό οξύ (138)³⁰⁸

Το Z-γλουταμινικό οξύ (1 mmol, 281 mg) διαλύεται σε βενζόλιο (8 mL) και προστίθενται παραφορμαλδεΰδη (1.3 mmol, 39 mg) και ένυδρο *p*-τολουολοσουλφονικό οξύ (0.05 mmol, 9.5 mg). Το μίγμα αναδεύεται υπό αναρροή σε συσκευή Dean-Stark για 24 ώρες. Ακολουθούν απομάκρυνση του βενζολίου υπό ελαττωμένη πίεση, προσθήκη AcOEt και έκπλυση αυτού με H_2O και κορεσμένο διάλυμα NaCl. Αφού ο οργανικός διαλύτης ξηρανθεί με

άνυδρο Na_2SO_4 και συμπυκνωθεί υπό ελαττωμένη πίεση, λαμβάνει χώρα καθαρισμός με χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9/1.



Άχρωμο έλαιο. Απόδοση 97% (4.15 g), R_f (8)= 0,8.

^1H NMR (CDCl_3): δ 9.63 (br, 1H, OH), 7.50-7.20 (m, 5H, arom), 5.46 (s, 1H, OCHH), 5.18 (s, 1H, OCHH), 5.14 (s, 2H, PhCH_2), 4.35 (t, $J = 7.0$ Hz, 1H, CH), 2.60-2.30 (m, 2H, CH_2), 2.30-2.00 (m, 2H, CH_2).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 177.2 (COOH), 171.7 (CO), 152.9 (CO), 135.0 (arom), 128.4 (arom), 128.3 (arom), 128.0 (arom), 77.6 (NCO), 67.9 (PhCH_2), 53.7 (CH), 28.8 (CH_2), 25.4 (CH_2).

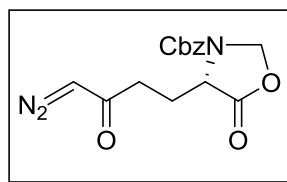
MS (ESI) m/z (%): 292.16 [(M-H) $^-$, 84] (Exact Mass: 293.09).

$[\alpha]_D^{25} = +62.0$ (c 0.5, MeOH), [βιβλ. $[\alpha]_D^{25} = +73.0$ (c 2.3, MeOH)].³⁰⁸

(S)-4-(4-Διαζω-3-οξοβουτυλ)-5-οξοοξαζολιδιν-3-καρβοξικός βενζυλεστέρας (139)³³⁶

Σε αναδευόμενο διάλυμα του οξέος **138** (1 mmol, 293 mg) σε άνυδρο CH_2Cl_2 (1 mL) που βρίσκεται στους -10°C προστίθενται N-μεθυλομορφολίνη (1.1 mmol, 0.12 mL) και χλωροφορμικός αιθυλεστέρας (1.1 mmol, 0.11 mL) και το μίγμα αναδεύεται έντονα υπό ατμόσφαιρα αργού για 15 λεπτά. Ακολουθεί διήθηση και στο διήθημα προστίθεται, υπό 0°C , το αιθερικό διάλυμα διαζωμεθανίου [το οποίο παρασκευάζεται ως εξής: σε μία κωνική φιάλη αναδεύονται υδατικό διάλυμα KOH 40% (6.3 mL) και Et_2O (12.4 mL) στους 0°C και, έπειτα, προστίθεται σε δόσεις N-νιτροσο-N-μεθυλουρία (2.7 mmol, 278 mg). Η αιθερική στιβάδα γίνεται κίτρινη και περιέχει το CH_2N_2]. Το μίγμα αναδεύεται για 24 ώρες και ύστερα αφήνεται για 2 ώρες χωρίς πώμα προκειμένου να απομακρυνθεί η περίσσεια του CH_2N_2 . Ακολουθούν εκχυλίσσεις με κορεσμένο διάλυμα NaHCO_3 και H_2O και ξήρανση με άνυδρο

Na₂SO₄. Ο διαλύτης συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση και το προϊόν καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης: PE/AcOEt 5/5.



Άχρωμο έλαιο. Απόδοση 29% (1.13 g), R_f (5)= 0,5.

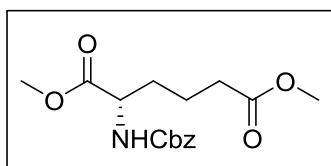
¹H NMR (CDCl₃): δ 7.50-7.20 (m, 5H, arom), 5.51 (s, 1H, OCHH), 5.21 (s, 1H, OCHH), 5.17 (s, 2H, PhCH₂), 4.34 (t, J = 7.0 Hz, 1H, CH), 2.60-2.30 (m, 2H, CH₂), 2.30-2.00 (m, 2H, CH₂).

¹³C NMR (CDCl₃): δ 192.4 (CO), 171.5 (CO), 152.5 (CO), 135.1 (CH), 128.0 (CH), 127.9 (CH), 127.6 (CH), 127.4 (CH), 77.3 (NCH₂O), 67.2 (PhCH₂), 59.6 (CH), 25.1 (CH₂), 20.2 (CH₂).

[α]_D²⁵ = +65.0 (c 0.5, CHCl₃), [βιβλ. [α]_D²⁵ = +98.2 (c 1, CHCl₃)].³³⁶

(S)-2-(((Βενζυλοξυ)καρβονυλο)αμινο)εξανοδιικός διμεθυλεστέρας (140)³³⁷

Σε αναδευόμενο διάλυμα της α-διαζωκετόνης **139** (1 mmol, 317 mg) σε άνυδρη MeOH (6.2 mL) προστίθεται στάγδην διάλυμα βενζοϊκού αργύρου (1 mmol, 229 mg) σε τριαιθυλαμίνη (1.8 mL) και ακολουθεί ανάδευση για 30 λεπτά. Προστίθεται ζωάνθρακας και, αφού διηθηθεί, συμπυκνώνεται ο διαλύτης υπό ελαττωμένη πίεση. Το υπόλειμμα διαλύεται σε AcOEt, ο οποίος εκπλένεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl, υδατικό διάλυμα KHSO₄ 10% και ξανά κορεσμένο διάλυμα NaCl. Η οργανική στιβάδα ξηραίνεται με άνυδρο Na₂SO₄, απομακρύνεται ο διαλύτης υπό ελαττωμένη πίεση και ο προκύπτων μεθυλεστέρας καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης: PE/AcOEt 6/4.



Άχρωμο έλαιο. Απόδοση 71% (0.7 g), R_f (5)= 0,8.

^1H NMR (CDCl_3): δ 7.50-7.20 (m, 5H, arom), 5.37 (s, J = 8.0 Hz, 1H, NH), 5.10 (s, 2H, PhCH_2), 4.38 (q, J = 7.0 Hz, 1H, CH), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 3.65 (s, 3H, OCH_3), 2.32 (t, J = 8.0 Hz, 2H, CH_2), 2.00-1.40 (m, 4H, CH_2).

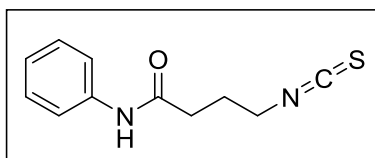
^{13}C NMR (CDCl_3): δ 173.2 (CO), 172.5 (CO), 155.8 (CO), 136.1 (arom), 128.3 (arom), 127.9 (arom), 66.7 (PhCH_2), 53.4 (CH), 52.1 (OCH_3), 51.3 (OCH_3), 33.0 (CH_2), 31.5 (CH_2), 20.4 (CH_2).

MS (ESI) m/z (%): 324.15 $[(M+H)^+]$, 100] (Exact Mass: 323.14).

$[\alpha]_D^{25} = +7.2$ (c 0.8, CHCl_3), $[\beta]_{\text{βλ}}. [\alpha]_D^{25} = +8.6$ (c 1.4, CHCl_3).³³⁷

4-Ισοθειοκυανο-*N*-φαινυλοβουταναμίδιο (157)³³⁸

Σε αναδευόμενο διάλυμα της αμίνης **156** (1 mmol, 178 mg) σε CH_2Cl_2 (1.5 mL) προστίθεται υδατικό διάλυμα NaHCO_3 10% (1.5 mL). Η ανάδευση διακόπτεται και προστίθεται θειοφωσγένιο (1.1 mmol, 0.077 mL) στην οργανική στιβάδα. Το μίγμα αναδεύεται έντονα για μία ώρα και έπειτα οι δύο στιβάδες διαχωρίζονται και η υδατική εκπλένεται δύο φορές με CH_2Cl_2 . Το σύνολο των οργανικών φάσεων ξηραίνεται με άνυδρο Na_2SO_4 , ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση και το προϊόν χρησιμοποιείται απευθείας στην επόμενη αντίδραση.



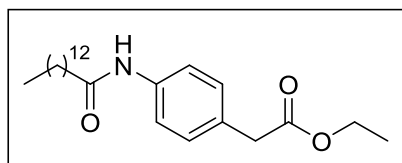
Πορτοκαλί στερεό. Απόδοση 100% (910 mg), R_f (5) = 0,5.

Γενική μέθοδος σύζευξης αμινών με καρβοξυλικά οξέα

Σε διάλυμα της αμίνης (1 mmol) σε άνυδρο CH_2Cl_2 (10 mL), προστίθενται, στους 0 °C, Et_3N (2.2 mmol, 0.31 mL στην περίπτωση υδροχλωρικού άλατος της αμίνης ή 1.1 mmol, 0.15 mL στην περίπτωση της ελεύθερης αμίνης), το καρβοξυλικό οξύ (1.2 mmol) και το EDC.HCl (1.2 mmol, 230 mg). Σε περίπτωση που υπάρχει ασύμμετρο κέντρο προστίθεται και HOBt (1.1 mmol, 148 mg). Το διάλυμα αναδεύεται για 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου υπό

ατμόσφαιρα αργού και έπειτα εκπλένεται με H₂O. Το προϊόν παραλαμβάνεται έπειτα από ξήρανση της οργανικής φάσης με άνυδρο Na₂SO₄, απομάκρυνση του διαλύτη υπό ελαττωμένη πίεση και καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης.

2-(4-Τετραδεκαναμιδοφαινυλ)οξικός αιθυλεστέρας (55)



Λευκό στερεό. Απόδοση 48% (0,52 g), σ.τ.: 88-90 °C, R_f (4)= 0,4.

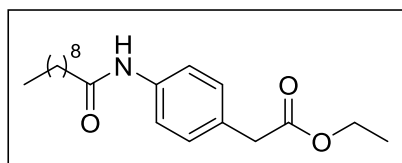
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: PE/AcOEt 7/3.

¹H NMR (CDCl₃): δ 7.46 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.24 (s, 1H, NH), 7.19 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 4.13 (q, J = 7.0 Hz, 2H, COOCH₂CH₃), 3.56 (s, 2H, PhCH₂CO), 2.33 (t, J = 8.0 Hz, 2H, CH₂CO), 1.80-1.50 (m, 2H, CH₂), 1.40-1.10 (m, 23H, CH₂, CH₃), 0.87 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃): δ 171.7 (COO), 171.4 (CONH), 138.0 (arom), 136.9 (arom), 129.8 (arom), 119.8 (arom), 60.9 (OCH₂CH₃), 40.8 (PhCH₂CO), 37.8 (CH₂CO), 31.9 (CH₂), 29.6 (CH₂), 29.5 (CH₂), 29.4 (CH₂), 29.3 (CH₂), 25.6 (CH₂), 22.7 (CH₃), 14.1 (CH₃).

MS (ESI) m/z (%): 390.40 [(M+H)⁺, 100] (Exact Mass: 389.29).

2-(4-Δεκαναμιδοφαινυλ)οξικός αιθυλεστέρας (57)



Λευκό στερεό. Απόδοση 85% (0,32 g), σ.τ.: 81-83 °C, R_f (4)= 0,4.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: PE/AcOEt 7/3.

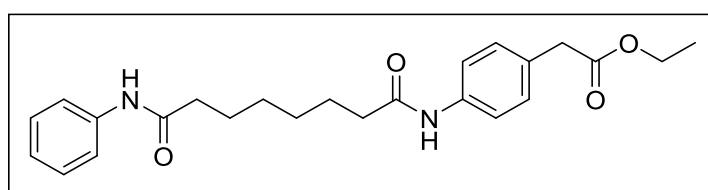
¹H NMR (CDCl₃): δ 7.45 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.36 (s, 1H, NH), 7.20 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 4.13 (q, J = 7.0 Hz, 2H, COOCH₂CH₃), 3.55 (s, 2H,

PhCH₂CO), 2.32 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, CH₂CO), 1.80-1.50 (m, 2H, CH₂), 1.50-1.10 (m, 15H, CH₂, CH₃), 0.86 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃): δ 171.7 (COO), 171.6 (CONH), 137.0 (arom), 129.7 (arom), 119.9 (arom), 60.9 (OCH₂CH₃), 40.8 (PhCH₂CO), 37.7 (CH₂CO), 31.8 (CH₂), 29.4 (CH₂), 29.3 (CH₂), 29.2 (CH₂), 25.6 (CH₂), 22.6 (CH₃), 14.1 (CH₃).

MS (ESI) *m/z* (%): 332.35 [(M-H)⁻, 100] (Exact Mass: 333.23).

2-(4-(8-Οξο-8-(φαινυλαμινο)οκταναμιδο)φαινυλ)οξικός αιθυλεστέρας (90)



Λευκό στερεό. Απόδοση 71% (0,34 g), σ.τ.: 140-142 °C, *R_f* (7)= 0,6.

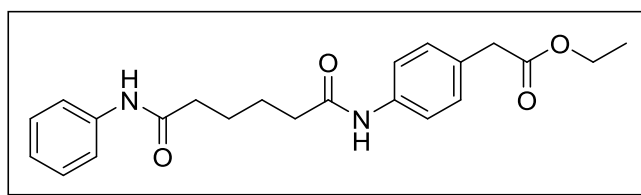
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία σήλης: PE/AcOEt 5/5 έως 4/6.

¹H NMR (CDCl₃): δ 7.71 (s, 1H, NH), 7.68 (s, 1H, NH), 7.49 (t, *J* = 7.0 Hz, 4H, arom), 7.40-7.00 (m, 5H, arom), 4.12 (q, *J* = 8.0 Hz, 2H, CH₂CH₃), 3.55 (s, 2H, PhCH₂CO), 2.31 (t, *J* = 8.0 Hz, 4H, 2xCH₂CO), 1.90-1.50 (m, 4H, CH₂), 1.50-1.30 (m, 4H, CH₂), 1.23 (t, *J* = 8.0 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃): δ 171.6 (COO), 169.6 (CONH), 168.1 (CONH), 136.0 (arom), 129.7 (arom), 128.9 (arom), 124.1 (arom), 119.9 (arom), 119.8 (arom), 60.9 (OCH₂CH₃), 40.8 (CH₂), 37.3 (CH₂), 28.4 (CH₂), 25.1 (CH₂), 14.2 (CH₃).

MS (ESI) *m/z* (%): 411.31 [(M+H)⁺, 100] (Exact Mass: 410.22).

2-(4-(6-Οξο-6-(φαινυλαμινο)εξαναμιδο)φαινυλο)οξικός αιθυλεστέρας (86)



Λευκό στερεό. Απόδοση 100% (0,38 g), σ.τ.: 160-162 °C, *R_f* (6)= 0,4.

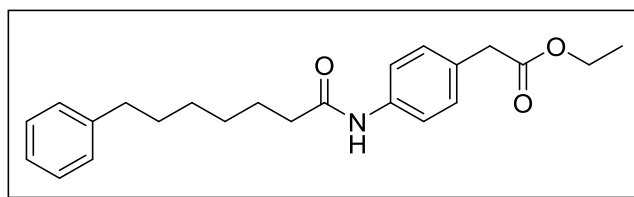
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: CHCl₃/MeOH 95/5.

¹H NMR (CDCl₃): δ 7.91 (s, 1H, NH), 7.82 (s, 1H, NH), 7.70-7.40 (m, 4H, arom), 7.40-7.00 (m, 5H, arom), 4.12 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂CH₃), 3.55 (s, 2H, PhCH₂CO), 2.60-2.20 (m, 4H, 2xCH₂CO), 1.90-1.50 (m, 4H, CH₂), 1.22 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃): δ 172.4 (COO), 171.0 (CONH), 166.4 (CONH), 138.0 (arom), 133.3 (arom), 129.6 (arom), 128.7 (arom), 124.0 (arom), 119.9 (arom), 119.8 (arom), 60.9 (OCH₂CH₃), 49.7 (CH₂), 48.9 (CH₂), 40.7 (CH₂), 36.6 (CH₂), 24.9 (CH₂), 14.0 (CH₃).

MS (ESI) *m/z* (%): 383.07 [(M+H)⁺, 100] (Exact Mass: 382.19).

2-(4-(7-Φαινυλεπταναμιδο)φαινυλ)οξικός αιθυλεστέρας (110)



Υπόλευκο στερεό. Απόδοση 64% (0,19 g), σ.τ.: 80-82 °C, *R_f* (5)= 0,7.

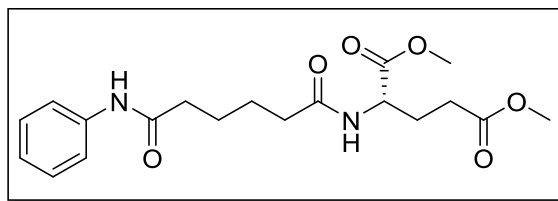
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: PE/AcOEt 6/4.

¹H NMR (CDCl₃): δ 8.30 (s, 1H, NH), 7.48 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.40-7.00 (m, 7H, arom), 4.14 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 3.55 (s, 2H, PhCH₂CO), 2.58 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, PhCH₂), 2.30 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, CH₂CONH), 1.90-1.50 (m, 4H, CH₂), 1.50-1.20 (m, 4H, CH₂), 1.24 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃): δ 171.8 (COO), 171.7 (CONH), 142.4 (arom), 137.1 (arom), 129.4 (arom), 129.3 (arom), 128.1 (arom), 128.0 (arom), 125.4 (arom), 119.9 (arom), 60.7 (OCH₂CH₃), 40.5 (CH₂), 37.2 (CH₂), 35.6 (CH₂), 31.1 (CH₂), 28.9 (CH₂), 28.8 (CH₂), 25.4 (CH₂), 14.0 (CH₃).

MS (ESI) *m/z* (%): 366.26 [(M-H)⁻, 100] (Exact Mass: 367.21).

(6-Οξο-6-(φαινυλαμινο)εξανούλ)-L-γλουταμινικός διμεθυλεστέρας (120)



Λευκό στερεό. Απόδοση 100% (0,75 g), σ.τ.: 116-118 °C, R_f (7)= 0,5.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 95/5 έως 9/1.

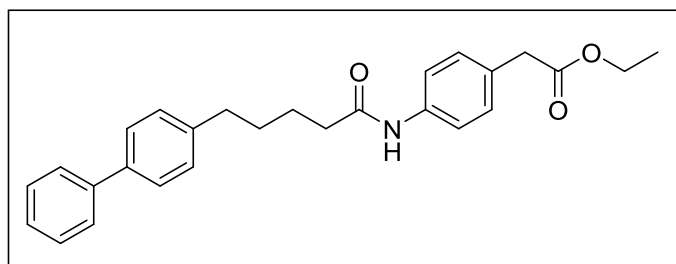
^1H NMR (CDCl_3): δ 8.41 (s, 1H, NH), 7.53 (d, J = 7.0 Hz, 2H, arom), 7.26 (t, J = 7.0 Hz, 2H, arom), 7.04 (t, J = 7.0 Hz, 1H, arom), 6.83 (d, J = 8.0 Hz, 1H, NH), 4.56 (t, J = 8.0 Hz, 1H, CH), 3.69 (s, 3H, OCH_3), 3.63 (s, 3H, OCH_3), 2.80-2.00 (m, 8H, CH_2), 1.80-1.50 (m, 4H, CH_2).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 173.3 (COO), 173.2 (COO), 172.4 (CONH), 171.5 (CONH), 138.2 (arom), 128.8 (arom), 123.9 (arom), 119.7 (arom), 52.5 (C-N), 51.9 (OCH_3), 51.6 (OCH_3), 36.8 (CH_2), 35.5 (CH_2), 30.1 (CH_2), 26.7 (CH_2), 24.8 (CH_2), 24.5 (CH_2).

MS (ESI) m/z (%): 379.21 [$(\text{M}+\text{H})^+$, 100] (Exact Mass: 378.18).

$[\alpha]_D^{25} = +11.1$ (c 1, CHCl_3).

**2-(4-(5-([1,1'-Διφαινυλο]-4-υλ)πενταναμιδο)φαινυλ)οξικός αιθυλεστέρας
(75)**



Λευκό στερεό. Απόδοση 85% (0,24 g), σ.τ.: 136-138 °C, R_f (6)= 0,8.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 98/2 έως 97/3.

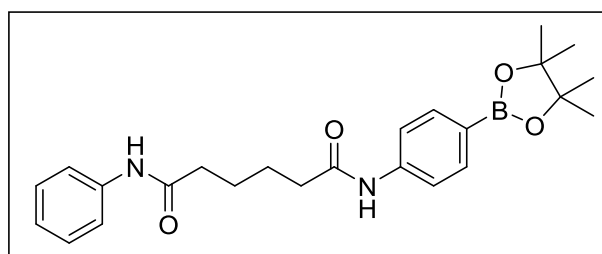
^1H NMR (CDCl_3): δ 7.70 (s, 1H, NH), 7.70-7.30 (m, 8H, arom), 7.30-7.10 (m, 5H, arom), 4.13 (q, J = 8.0 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 3.55 (s, 2H, PhCH_2CO), 2.66

(t, $J = 8.0$ Hz, 2H, PhCH_2), 2.34 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H, CH_2CO), 1.90-1.50 (m, 4H, CH_2), 1.24 (t, $J = 8.0$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 171.7 (COO), 171.3 (CONH), 141.1 (arom), 140.9 (arom), 138.6 (arom), 136.9 (arom), 129.6 (arom), 128.7 (arom), 128.6 (arom), 126.9 (arom), 126.8 (arom), 119.9 (arom), 60.8 (OCH_2CH_3), 40.7 (CH_2), 37.3 (CH_2), 35.2 (CH_2), 30.9 (CH_2), 25.2 (CH_2), 14.1 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 416.15 $[(M+H)^+]$, 100] (Exact Mass: 415.21).

**N^1 -Φαινυλ- N^6 -(4-(4,4,5,5-τετραμεθυλ-1,3,2-διοξαβωρολαν-2-
υλ)φαινυλ)αδιπαμίδιο (116)**



Υπόλευκο στερεό. Απόδοση 60% (0,32 g), σ.τ.: 211-213 °C, R_f (7)= 0,7.

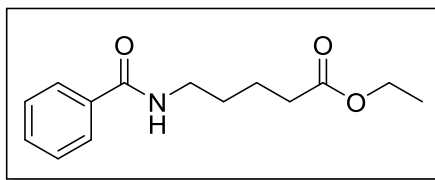
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 97/3 έως 96/4.

^1H NMR (DMSO): δ 10.05 (s, 1H, NH), 9.91 (s, 1H, NH), 7.70-7.50 (m, 6H, arom), 7.28 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H, arom), 7.02 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, arom), 2.40-2.10 (m, 4H, CH_2), 1.80-1.40 (m, 4H, CH_2), 1.27 (s, 12H, CH_3).

^{13}C NMR (DMSO): δ 171.6 (CO), 171.3 (CO), 142.3 (arom), 139.4 (arom), 135.5 (arom), 128.8 (arom), 119.2 (arom), 118.2 (arom), 83.6 (C-O), 38.3 (CH_2), 36.4 (CH_2), 25.1 (CH_2), 24.8 (CH_2), 14.4 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 423.31 $[(M+H)^+]$, 100] (Exact Mass: 422.24).

5-Βενζαμιδοπεντανοϊκός αιθυλεστέρας (94)³³⁹



Άχρωμο έλαιο. Απόδοση 79% (1,11 g) , R_f (7)= 0,6.

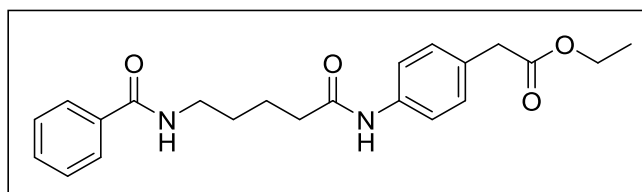
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία σήλης: PE/AcOEt 7/3 έως 5/5.

^1H NMR (CDCl_3): δ 7.90-7.60 (m, 2H, arom), 7.50-7.30 (m, 3H, arom), 6.71 (s, 1H, NH), 4.09 (q, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 3.60-3.20 (m, 2H, NHCH_2), 2.50-2.20 (m, 2H, CH_2CO), 1.80-1.50 (m, 4H, CH_2), 1.21 (t, J = 7.0 Hz, 3H, OCH_2CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 173.6 (COO), 167.6 (CONH), 134.5 (arom), 131.2 (arom), 128.4 (arom), 126.8 (arom), 60.3 (OCH_2CH_3), 39.4 (CH_2), 33.6 (CH_2), 28.8 (CH_2), 21.9 (CH_2), 14.1 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 250.00 [$(\text{M}+\text{H})^+$, 100] (Exact Mass: 249.14).

2-(4-(5-Βενζαμιδοπενταναμιδο)φαινυλ)οξικός αιθυλεστέρας (96)



Υποκίτρινο στερεό. Απόδοση 52% (0,27 g), σ.τ.: 148-150 °C, R_f (7)= 0,5.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία σήλης: PE/AcOEt 3/7.

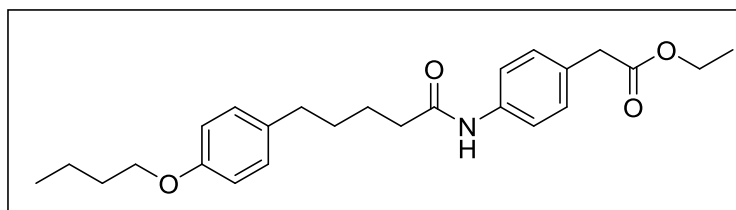
^1H NMR (CDCl_3): δ 8.43 (s, 1H, NH), 7.78 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.60-7.30 (m, 5H, arom), 7.16 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 6.92 (t, J = 7.0 Hz, 1H, NH), 4.11 (q, J = 8.0 Hz, 2H, CH_2CH_3), 3.54 (s, 2H, PhCH_2CO), 3.43 (q, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2NH), 2.37 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2CO), 1.80-1.40 (m, 4H, CH_2), 1.22 (t, J = 8.0 Hz, 3H, CH_2CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 171.8 (COO), 171.8 (CONH), 168.0 (CONH), 137.3 (arom), 134.3 (arom), 131.4 (arom), 129.6 (arom), 129.5 (arom), 128.5

(arom), 126.9 (arom), 119.8 (arom), 60.9 (OCH₂CH₃), 40.7 (CH₂), 39.0 (CH₂), 36.5 (CH₂), 28.8 (CH₂), 22.5 (CH₂), 14.1 (CH₃).

MS (ESI) m/z (%): 383.19 [(M+H)⁺, 100] (Exact Mass: 382.19).

2-(4-(5-(4-Βουτοξυφαινυλ)πενταναμιδο)φαινυλ)οξικός αιθυλεστέρας (81)



Υπόλευκο στερεό. Απόδοση 49% (0,16 g), σ.τ.: 132-134 °C, R_f (3)= 0,7.

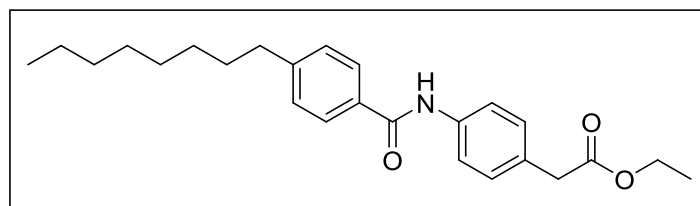
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: PE/AcOEt 8/2.

¹H NMR (CDCl₃): δ 7.43 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.40-7.10 (m, 2H, arom), 7.06 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 6.80 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 6.69 (d, J = 8.0 Hz, 2H, NH), 4.12 (q, J = 8.0 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 3.91 (t, J = 7.0 Hz, 2H, OCH₂CH₂), 3.55 (s, 2H, PhCH₂CO), 2.57 (t, J = 8.0 Hz, 2H, PhCH₂), 2.33 (t, J = 8.0 Hz, 2H, CH₂CONH), 1.90-1.30 (m, 8H, CH₂), 1.23 (t, J = 8.0 Hz, 3H, OCH₂CH₃), 0.95 (t, J = 8.0 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃): δ 171.6 (COO), 171.1 (CONH), 157.3 (arom), 136.8 (arom), 133.9 (arom), 129.8 (arom), 129.2 (arom), 119.8 (arom), 114.3 (arom), 67.6 (OCH₂CH₂), 60.9 (OCH₂CH₃), 40.8 (CH₂), 37.6 (CH₂), 34.7 (CH₂), 31.2 (CH₂), 29.7 (CH₂), 25.2 (CH₂), 19.3 (CH₂), 14.2 (CH₃), 13.9 (CH₃).

MS (ESI) m/z (%): 429.25 [(M+NH₄)⁺, 90] (Exact Mass: 411.24).

2-(4-(4-Οκτυλβενζαμιδο)φαινυλ)οξικός αιθυλεστέρας (59)



Υπόλευκο στερεό. Απόδοση 31% (0,14 g), σ.τ.: 114-116 °C, R_f (7)= 0,3.

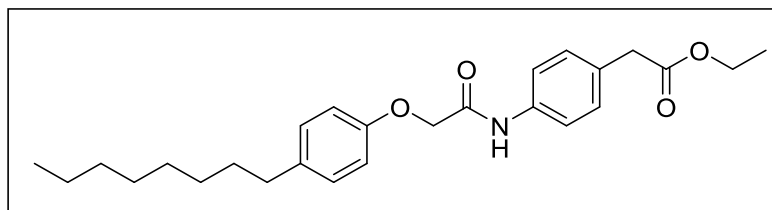
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: PE/AcOEt 6/4.

^1H NMR (CDCl_3): δ 7.85 (s, 1H, NH), 7.76 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.58 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.26 (d, J = 8.0 Hz, 4H, arom), 4.13 (d, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 3.58 (s, 2H, PhCH_2CO), 2.65 (t, J = 8.0 Hz, 2H, PhCH_2), 1.80-1.50 (m, 2H, CH_2), 1.40-1.00 (m, 10H, CH_2), 1.23 (t, J = 7.0 Hz, 3H, OCH_2CH_3), 0.83 (t, J = 8.0 Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 171.6 (COO), 165.7 (CONH), 147.3 (arom), 137.0 (arom), 132.2 (arom), 130.1 (arom), 129.8 (arom), 128.8 (arom), 127.0 (arom), 120.2 (arom), 60.9 (OCH_2CH_3), 40.8 (CH_2), 35.8 (CH_2), 32.8 (CH_2), 31.8 (CH_2), 31.2 (CH_2), 29.4 (CH_2), 29.2 (CH_2), 22.6 (CH_2), 14.2 (CH_3), 14.1 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 394.28 [$(\text{M}-\text{H})^-$, 100] (Exact Mass: 395.25).

2-(4-(2-(4-Οκτυλφαινοξυ)ακεταμιδο)φαινυλ)οξικός αιθυλεστέρας (69)



Υπόλευκο στερεό. Απόδοση 40% (0,19 g), σ.τ.: 80-82 °C, R_f (5)= 0,6.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: PE/AcOEt 5/5.

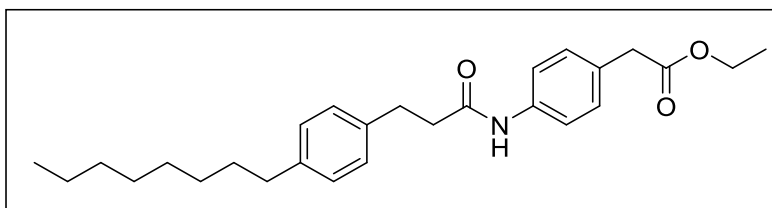
^1H NMR (CDCl_3): δ 8.27 (s, 1H, NHCO), 7.53 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.36 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.13 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 6.88 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 4.56 (s, 2H, OCH_2CO), 4.13 (q, J = 8.0 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 3.57 (s, 2H, PhCH_2CO), 2.55 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2Ph), 1.70-1.50 (m, 2H, CH_2), 1.50-1.10 (m, 10H, CH_2), 1.23 (t, J = 8.0 Hz, 3H, OCH_2CH_3), 0.86 (t, J = 8.0 Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 171.5 (COO), 166.4 (CONH), 155.0 (arom), 137.0 (arom), 135.8 (arom), 130.6 (arom), 129.9 (arom), 129.6 (arom), 120.2 (arom), 114.6 (arom), 67.8 (OCH_2CO), 60.9 (OCH_2CH_3), 40.8 (CH_2), 35.0

(CH₂), 31.8 (CH₂), 31.6 (CH₂), 29.4 (CH₂), 29.2 (CH₂), 22.6 (CH₂), 14.2 (CH₃), 14.1 (CH₃).

MS (ESI) m/z (%): 424.35 [(M-H)⁻, 100] (Exact Mass: 425.26).

2-(4-(3-(4-Οκτυλφαινυλ)προπαναμιδο)φαινυλ)οξικός αιθυλεστέρας (64)



Λευκό στερεό. Απόδοση 56% (0,14 g), σ.τ.: 99-101 °C, R_f (5)= 0,6.

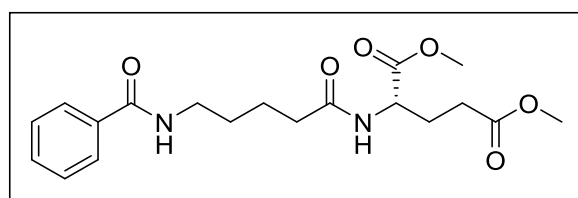
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: PE/AcOEt 7/3 έως 6/4.

¹H NMR (CDCl₃): δ 8.00 (s, 1H, NH), 7.38 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.20-7.00 (m, 6H, arom), 6.92 (t, J = 7.0 Hz, 1H, NH), 4.12 (q, J = 8.0 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 3.54 (s, 2H, PhCH₂CO), 2.97 (t, J = 8.0 Hz, 2H, CH₂Ph), 2.58 (q, J = 8.0 Hz, 4H, PhCH₂CH₂CO), 1.70-1.40 (m, 2H, CH₂), 1.40-1.20 (m, 10H, CH₂), 1.23 (t, J = 8.0 Hz, 3H, OCH₂CH₃), 0.89 (t, J = 8.0 Hz, 3H, CH₃)

¹³C NMR (CDCl₃): δ 171.8 (COO), 170.8 (CONH), 140.7 (arom), 137.7 (arom), 136.9 (arom), 129.5 (arom), 128.4 (arom), 128.1 (arom), 120.1 (arom), 60.8 (OCH₂CH₃), 40.6 (CH₂), 39.1 (CH₂), 35.4 (CH₂), 31.8 (CH₂), 31.5 (CH₂), 31.0 (CH₂), 29.4 (CH₂), 29.3 (CH₂), 29.1 (CH₂), 22.5 (CH₂), 14.0 (CH₃)

MS (ESI) m/z (%): 422.36 [(M-H)⁻, 100] (Exact Mass: 423.28).

(5-Βενζαμιδοπεντανοϋλ)-L-γλουταμινικός διμεθυλεστέρας (123)



Υπόλευκο στερεό. Απόδοση 100% (0,38 g), σ.τ.: 38-40 °C, R_f (7)= 0,6.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: CHCl₃/MeOH 98/2 έως 95/5.

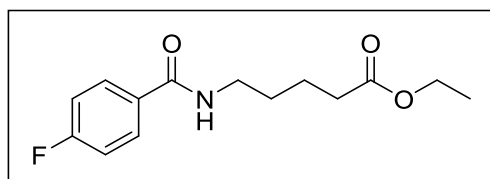
¹H NMR (CDCl₃): δ 7.75 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H, arom), 7.50-7.30 (m, 3H, arom), 7.02 (s, 1H, NH), 6.81 (s, 1H, NH), 4.60-4.40 (m, 1H, CH), 3.64 (s, 3H, OCH₃), 3.58 (s, 3H, OCH₃), 2.60-1.80 (m, 8H, CH₂), 1.80-1.40 (m, 4H, CH₂).

¹³C NMR (CDCl₃): δ 173.2 (COO), 172.3 (COO), 170.5 (CONH), 167.6 (CONH), 134.4 (arom), 131.2 (arom), 128.3 (arom), 126.9 (arom), 52.3 (C-N), 51.7 (OCH₃), 51.5 (OCH₃), 39.0 (CH₂), 35.2 (CH₂), 30.0 (CH₂), 28.5 (CH₂), 26.8 (CH₂), 22.3 (CH₂).

MS (ESI) *m/z* (%): 379.31 [(M+H)⁺, 100] (Exact Mass: 378.18).

[α]_D²⁵ = +8.6 (c 1, CHCl₃).

5-(4-Φθοροβενζαμιδο)πεντανοϊκός αιθυλεστέρας (100)



Λευκό στερεό. Απόδοση 89% (0,55 g), σ.τ.: 74-76 °C, *R_f* (4)= 0,3.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: PE/AcOEt 7/3 έως 6/4.

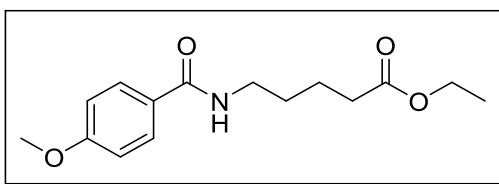
¹H NMR (CDCl₃): δ 7.90-7.40 (m, 2H, arom), 6.90-6.50 (m, 2H, arom), 3.75 (q, *J* = 8.0 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 3.30-2.90 (m, 2H, CH₂), 2.10-1.80 (m, 2H, CH₂), 1.80-1.60 (m, 2H, CH₂), 1.50-1.20 (m, 2H, CH₂), 1.22 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH₂CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃): δ 172.6 (COO), 166.3 (CONH), 163.8 (d, *J* = 249.5 Hz, C-F), 130.3 (d, *J* = 3.0 Hz, arom), 128.9 (d, *J* = 10.0 Hz, arom), 114.4 (d, *J* = 21.5 Hz, arom), 59.5 (OCH₂CH₃), 38.9 (CH₂), 33.0 (CH₂), 28.2 (CH₂), 21.6 (CH₂), 13.4 (CH₃).

¹⁹F NMR (CDCl₃): δ -109.9 (F).

MS (ESI) *m/z* (%): 268.11 [(M+H)⁺, 100] (Exact Mass: 267.13).

5-(4-Μεθοξυβενζαμιδο)πεντανοϊκός αιθυλεστέρας (106)



Κίτρινο έλαιο. Απόδοση 97% (0,65 g) , R_f (5)= 0,4.

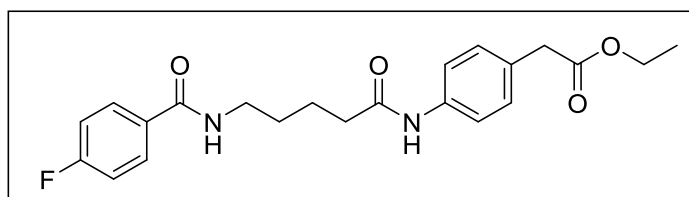
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: PE/AcOEt 6/4 έως 5/5.

^1H NMR (CDCl_3): δ 7.58 (d, J = 8.0 Hz 2H, arom), 6.57 (d, J = 8.0 Hz 2H, arom), 3.81 (q, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 3.51 (s, 3H, OCH_3), 3.30-3.00 (m, 2H, CH_2), 2.20-1.90 (m, 2H, CH_2), 1.80-1.60 (m, 2H, CH_2), 1.50-1.20 (m, 2H, CH_2), 0.95 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH_2CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 172.8 (COO), 166.7 (CONH), 161.3 (arom), 128.4 (arom), 126.4 (arom), 112.8 (arom), 59.6 (OCH_2CH_3), 54.6 (OCH_3), 38.9 (CH_2), 33.2 (CH_2), 28.4 (CH_2), 21.6 (CH_2), 13.5 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 280.21 [$(\text{M}+\text{H})^+$, 100] (Exact Mass: 279.15).

2-(4-(5-(4-Φθοροβενζαμιδο)πενταναμιδο)φαινυλ)οξικός αιθυλεστέρας (102)



Λευκό στερεό. Απόδοση 53% (0,22 g), σ.τ.: 146-148 °C, R_f (7)= 0,3.

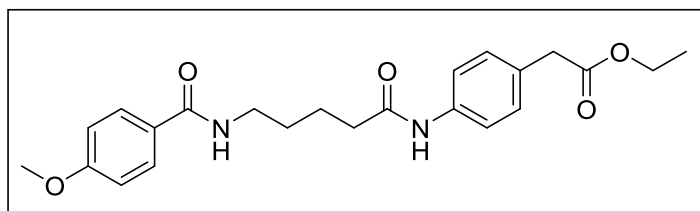
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 98/2 έως 95/5.

^1H NMR (CDCl_3): δ 8.74 (s, 1H, NH), 7.90-7.70 (m, 2H, arom), 7.47 (d, J = 10.0 Hz, 2H, arom), 7.32 (t, J = 5.0 Hz, 1H, NH), 7.12 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 6.98 (t, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 4.09 (q, J = 8.0 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 3.52 (s, 2H, PhCH_2CO), 3.34 (q, J = 7.0 Hz, 2H, NHCH_2CH_2), 2.31 (t, J = 7.0 Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 1.80-1.40 (m, 4H, CH_2), 1.20 (t, J = 8.0 Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 171.9 (COO), 166.9 (CONH), 164.7 (CONH), 164.5 (d, J = 250.5 Hz, C-F), 137.3 (arom), 130.8 (d, J = 3 Hz, arom), 129.6 (arom), 129.5 (arom), 129.3 (d, J = 10 Hz, arom), 119.9 (arom), 115.3 (d, J = 22 Hz, arom), 60.9 (OCH_2CH_3), 40.6 (CH_2), 39.3 (CH_2), 36.4 (CH_2), 28.7 (CH_2), 22.5 (CH_2), 14.0 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 401.21 $[(\text{M}+\text{H})^+]$, 100] (Exact Mass: 400.18).

**2-(4-(5-(4-Μεθοξυβενζαμιδο)πενταναμιδο)φαινυλ)οξικός αιθυλεστέρας
(108)**



Λευκό στερεό. Απόδοση 39% (0,21 g), σ.τ.: 167-169 °C, R_f (7)= 0,5.

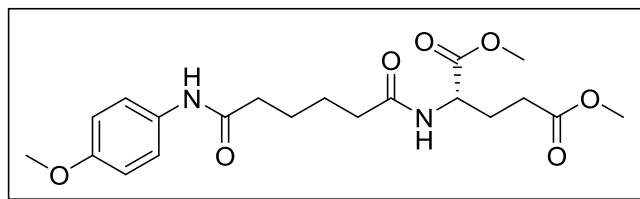
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 97/3 έως 95/5.

^1H NMR (CDCl_3): δ 8.62 (s, 1H, PhNHCO), 7.90-7.60 (m, 2H, arom), 7.60-7.40 (m, 2H, arom), 7.20-7.00 (m, 2H, arom), 6.95-6.90 (m, 1H, CONHCH_2), 6.90-6.70 (m, 2H, arom), 4.10 (q, J = 8.0 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 3.79 (s, 3H, OCH_3), 3.53 (s, 2H, PhCH_2CO), 3.50-3.20 (m, 2H, NHCH_2CH_2), 2.50-2.20 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 1.80-1.30 (m, 4H, CH_2), 1.21 (t, J = 8.0 Hz, 3H, OCH_2CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 171.9 (COO), 167.5 (CONH), 162.1 (CONH), 155.2 (arom), 137.4 (arom), 129.6 (arom), 129.4 (arom), 128.8 (arom), 126.6 (arom), 119.9 (arom), 113.6 (arom), 60.9 (OCH_2), 55.3 (OCH_3), 40.7 (CH_2), 39.0 (CH_2), 36.5 (CH_2), 28.9 (CH_2), 22.6 (CH_2), 14.1 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 413.12 $[(\text{M}+\text{H})^+]$, 100] (Exact Mass: 412.21).

**(6-((4-Μεθοξυφαινυλ)αμινο)-6-οξοεξανούλο)-L-γλουταμινικός
διμεθυλεστέρας (127)**



Ροζ στερεό. Απόδοση 70% (0,49 g), σ.τ.: 127-129 °C, R_f (8)= 0,7.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 98/2 έως 95/5.

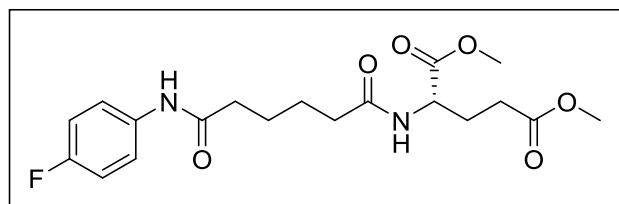
^1H NMR (CDCl_3): δ 8.74 (s, 1H, NH), 7.30 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.22 (d, J = 8.0 Hz, 1H, NH), 6.65 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 4.50-4.30 (m, 1H, CH), 3.60 (s, 3H, OCH_3), 3.55 (s, 3H, OCH_3), 3.50 (s, 3H, OCH_3), 2.50-1.80 (m, 8H, CH_2), 1.70-1.40 (m, 4H, CH_2).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 173.2 (COO), 172.9 (COO), 172.1 (CONH), 171.3 (CONH), 155.6 (arom), 131.2 (arom), 121.5 (arom), 113.5 (arom), 55.0 (OCH_3), 52.0 (C-N), 51.4 (OCH_3), 51.3 (OCH_3), 36.2 (CH_2), 35.2 (CH_2), 29.8 (CH_2), 26.3 (CH_2), 24.7 (CH_2), 24.6 (CH_2).

MS (ESI) m/z (%): 431.21 [$(\text{M}+\text{Na})^+$, 100] (Exact Mass: 408.19).

$[\alpha]_D^{25} = +5.3$ (c 0.83, CHCl_3).

**(6-((4-Φθοροφαινυλ)αμινο)-6-οξοεξανούλο)-L-γλουταμινικός
διμεθυλεστέρας (131)**



Ροζ στερεό. Απόδοση 94% (1,05 g), σ.τ.: 99-101 °C, R_f (7)= 0,5.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95/5.

^1H NMR (CDCl_3): δ 8.70 (s, 1H, NH), 7.60-7.30 (m, 2H, arom) 7.10-6.80 (m, 2H, arom), 4.70-4.40 (m, 1H, CH), 3.65 (s, 3H, OCH_3), 3.60 (s, 3H, OCH_3), 2.70-1.80 (m, 8H, CH_2), 1.80-1.40 (m, 4H, CH_2).

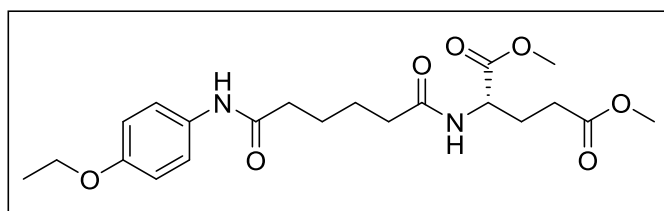
^{13}C NMR (CDCl_3): δ 173.3 (COO), 173.2 (COO), 172.3 (CONH), 171.5 (CONH), 165.6 (d, $J = 257.0$ Hz, C-F), 134.6 (d, $J = 3.0$ Hz, arom), 121.9 (d, $J = 8.0$ Hz, arom), 115.5 (d, $J = 22.5$ Hz, arom), 52.4 (C-N), 51.8 (OCH_3), 51.7 (OCH_3), 36.6 (CH_2), 35.5 (CH_2), 30.0 (CH_2), 26.7 (CH_2), 24.8 (CH_2), 24.5 (CH_2).

^{19}F NMR (CDCl_3): δ -119.0 (F).

MS (ESI) m/z (%): 395.13 $[(\text{M}-\text{H})^-]$, 100] (Exact Mass: 396.17).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +8.0$ (c 1, CHCl_3).

**(6-((4-Αιθοξυφαινυλ)αμινο)-6-οξοεξανούλο)-L-γλουταμινικός
διμεθυλεστέρας (135)**



Ροζ στερεό. Απόδοση 100% (1,35 g), σ.τ.: 122-124 °C, R_f (7) = 0,8.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95/5 έως 9/1.

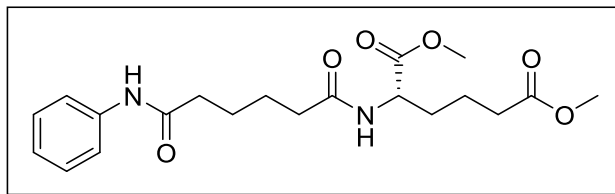
^1H NMR (CDCl_3): δ 7.39 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, arom), 6.77 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, arom), 4.60-4.40 (m, 1H, CH), 3.94 (q, $J = 8.0$ Hz, 2H, OCH_2CH_3), 3.67 (s, 3H, OCH_3), 3.61 (s, 3H, OCH_3), 2.50-1.80 (m, 8H, CH_2), 1.80-1.50 (m, 4H, CH_2), 1.33 (t, $J = 8.0$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 173.8 (COO), 173.4 (COO), 172.4 (CONH), 171.8 (CONH), 155.3 (arom), 131.3 (arom), 121.6 (arom), 114.5 (arom), 63.6 (OCH_2), 52.4 (C-N), 51.6 (OCH_3), 50.3 (OCH_3), 36.6 (CH_2), 35.4 (CH_2), 30.0 (CH_2), 26.7 (CH_2), 24.9 (CH_2), 24.6 (CH_2), 14.7 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 423.27 $[(\text{M}+\text{H})^+]$, 100] (Exact Mass: 422.21).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +8.2$ (c 1, CHCl_3).

**(S)-2-(6-Οξο-6-(φαινυλαμινο)εξαναμιδο)εξανοδικός διμεθυλεστέρας
(142)**



Υποκίτρινο έλαιο. Απόδοση 67% (0,4 g), R_f (8)= 0,3.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95/5 έως 9/1.

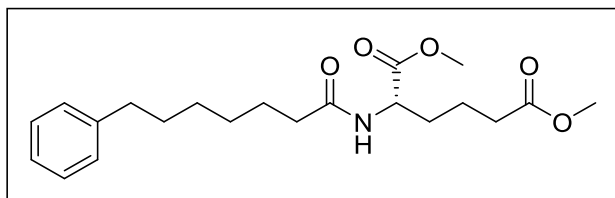
^1H NMR: δ 8.47 (s, 1H, NH), 7.53 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.24 (t, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.01 (t, J = 8.0 Hz, 1H, arom), 6.92 (d, J = 8.0 Hz, 1H, NH), 4.70-4.40 (m, 1H, CH), 3.68 (s, 3H, OCH_3), 3.60 (s, 3H, OCH_3), 2.80-2.00 (m, 8H, CH_2), 2.00-1.50 (m, 6H, CH_2).

^{13}C NMR: δ 173.3 (COO), 173.2 (COO), 172.5 (CONH), 171.6 (CONH), 138.4 (arom), 128.7 (arom), 123.7 (arom), 119.7 (arom), 52.6 (C-N), 51.8 (OCH_3), 51.6 (OCH_3), 36.7 (CH_2), 35.4 (CH_2), 30.9 (CH_2), 30.1 (CH_2), 26.8 (CH_2), 25.2 (CH_2), 24.8 (CH_2).

MS (ESI) m/z (%) 393.14 [$(\text{M}+\text{H})^+$, 98] (Exact Mass: 392.19).

$[\alpha]_D^{25} = -1.2$ (c 0.83, CHCl_3).

(S)-2-(7-Φαινυλοεπταναμιδο)εξανοδικός διμεθυλεστέρας (144)



Άχρωμο έλαιο. Απόδοση 65% (0,39 g), R_f (5)= 0,6.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: PE/AcOEt 6/4.

^1H NMR (CDCl_3) δ 7.20-6.90 (m, 5H, arom), 6.81 (d, J = 8.0 Hz, 1H, NH), 4.60-4.30 (m, 1H, CH), 3.57 (s, 3H, OCH_3), 3.50 (s, 3H, OCH_3), 2.46 (t, J =

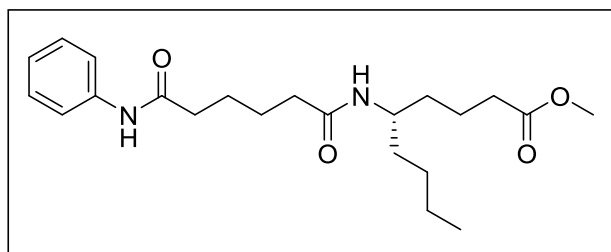
8.0 Hz, 2H, CH₂), 2.30-2.00 (m, 6H, CH₂), 1.70-1.40 (m, 6H, CH₂), 1.40-1.10 (m, 4H, CH₂).

¹³C NMR (CDCl₃) δ 173.0 (COO), 172.7 (COO), 172.4 (CONH), 142.1 (arom), 127.8 (arom), 127.7 (arom), 125.1 (arom), 51.8 (C-N), 51.2 (OCH₃), 51.0 (OCH₃), 35.6 (CH₂), 35.3 (CH₂), 32.7 (CH₂), 30.8 (CH₂), 29.6 (CH₂), 28.6 (CH₂), 28.5 (CH₂), 26.5 (CH₂), 25.1 (CH₂).

MS (ESI) m/z (%) 378.36 [(M+H)⁺, 100] (Exact Mass: 377.22).

[α]_D²⁵ = +2.9 (c 0.75, CHCl₃).

(S)-5-(6-Οξο-6-(φαινυλαμινο)εξαναμιδο)εννεανικός μεθυλεστέρας (152)



Λευκό στερεό. Απόδοση 66% (190 mg), σ.τ.: 120-122°C, R_f (6) = 0,2.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: CHCl₃/MeOH 97/3 έως 95/5.

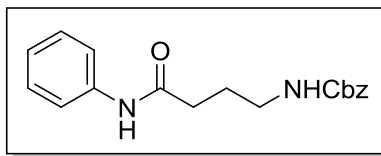
¹H NMR (CDCl₃): δ 9.20 (s, 1H, NH), 7.50 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.15 (t, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 6.94 (t, J = 8.0 Hz, 1H, arom), 6.40 (d, J = 8.0 Hz, 1H, NH), 3.90-3.60 (m, 1H, CH), 3.53 (s, 3H, OCH₃), 2.50-2.00 (m, 8H, CH₂), 1.90-1.40 (m, 6H, CH₂), 1.40-1.00 (m, 6H, CH₂), 0.80 (t, J = 8.0 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃): δ 174.2 (CO), 173.1 (CO), 172.1 (CO), 138.5 (arom), 128.4 (arom), 123.4 (arom), 119.7 (arom), 52.8 (C-N), 51.2 (OCH₃), 36.2 (CH₂), 34.1 (CH₂), 33.4 (CH₂), 31.1 (CH₂), 27.9 (CH₂), 27.1 (CH₂), 25.0 (CH₂), 22.3 (CH₂), 21.1 (CH₂), 19.4 (CH₂), 13.8 (CH₃).

MS (ESI) m/z (%) 389.24 [(M-H)⁻, 100] (Exact Mass: 390.25).

[α]_D²⁵ = +1.5 (c 1, CHCl₃).

(4-Οξο-4-(φαινυλαμινο)βουτυλο)καρβαμιδικός βενζυλεστέρας (155)³⁴⁰



Λευκό στερεό. Απόδοση 59% (1,25 g), σ.τ.: 125-127 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 122 °C,³⁴⁰ R_f (5) = 0,2.

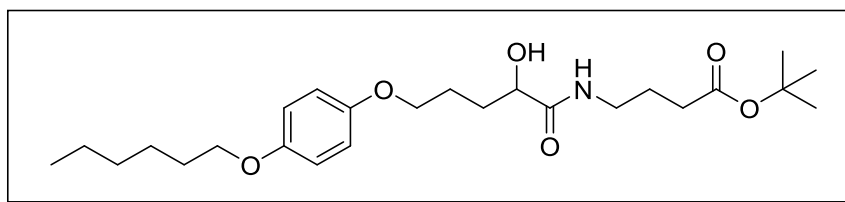
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: PE/AcOEt 5/5 έως 4/6.

^1H NMR (CDCl_3): δ 8.56 (s, 1H, NH), 7.52 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.40-7.20 (m, 7H, arom), 7.07 (t, J = 8.0 Hz, 1H, arom), 5.28 (s, 1H, NH), 5.08 (s, 2H, PhCH_2), 3.26 (q, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2NHZ), 2.34 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2CONH), 1.86 (quintet, J = 7.0 Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 170.6 (CONH), 156.7 (CO), 137.5 (arom), 135.6 (arom), 128.2 (arom), 127.8 (arom), 127.5 (arom), 127.3 (arom), 123.8 (arom), 119.2 (arom), 66.2 (OCH_2), 39.3 (CH_2N), 33.9 (CH_2), 25.9 (CH_2).

MS (ESI) m/z (%) 313.10 [$(\text{M}+\text{H})^+$, 100] (Exact Mass: 312.15).

4-(5-(4-(Εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-υδροξυπενταναμιδο)βουτανοϊκός *tert*-βουτυλεστέρας (169)



Υποκίτρινο στερεό χαμηλού σημείου τήξεως. Απόδοση 72% (240mg), R_f (8) = 0,7.

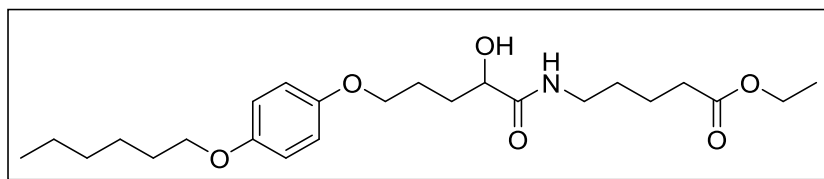
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 95/5.

^1H NMR (CDCl_3): δ 7.01 (t, J = 7.0 Hz, 1H, NH), 6.90-6.60 (m, 4H, arom), 4.34 (brs, 1H, OH), 4.20-4.00 (m, 1H, CHOH), 3.89 (t, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2), 3.84 (t, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2), 3.25 (q, J = 7.0 Hz, 2H, NHCH_2), 2.22 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2COO), 2.10-1.60 (m, 8H, CH_2), 1.40 (s, 9H, $(\text{C}(\text{CH}_3)_3)$), 1.30-1.10 (m, 6H, CH_2), 0.86 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 174.1 (CO), 172.6 (CO), 153.3 (arom), 152.4 (arom), 115.3 (arom), 115.2 (arom), 80.5 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 71.6 (CHOH), 68.5 ($2\times\text{OCH}_2$), 38.3 (NHCH_2), 32.7 (CH_2), 31.7 (CH_2), 31.5 (CH_2), 29.2 (CH_2), 27.9 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 25.6 (CH_2), 25.1 (CH_2), 24.7 (CH_2), 22.5 (CH_2), 13.9 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 452.38 $[(\text{M}+\text{H})^+]$, 100] (Exact Mass: 451.29).

**5-(5-(4-(Εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-υδροξυπενταναμιδο)πεντανοϊκός
αιθυλεστέρας (172)**



Λευκόστερεό. Απόδοση 58% (230 mg), σ.τ.: 89-91 $^{\circ}\text{C}$, R_f (8)= 0,6.

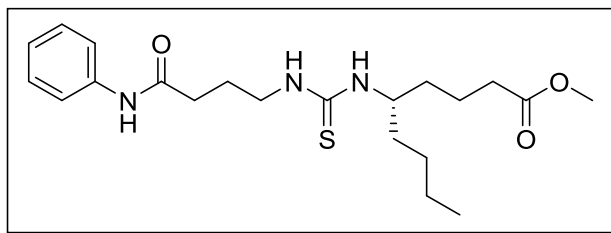
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 95/5.

^1H NMR (CDCl_3): δ 6.90-6.80 (m, 4H, arom), 6.75 (t, J = 7.0 Hz, 1H, NH), 4.30-4.10 (m, 1H, CHOH), 4.11 (q, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 3.96 (t, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2), 3.88 (t, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2), 3.28 (q, J = 7.0 Hz, 2H, NHCH_2), 2.31 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2COO), 2.20-1.50 (m, 10H, CH_2), 1.50-1.30 (m, 6H, CH_2), 1.23 (t, J = 7.0 Hz, 3H, OCH_2CH_3), 0.89 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 173.5 (CO), 170.5 (CO), 153.7 (arom), 152.2 (arom), 115.5 (arom), 115.4 (arom), 71.9 (CHOH), 68.8 (OCH_2), 68.6 (OCH_2), 60.4 (OCH_2CH_3), 38.6 (NHCH_2), 33.7 (CH_2), 32.2 (CH_2), 31.6 (CH_2), 29.3 (CH_2), 29.0 (CH_2), 25.7 (CH_2), 25.3 (CH_2), 22.6 (CH_2), 22.1 (CH_2), 14.2 (OCH_2CH_3), 14.0 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 438.32 $[(\text{M}+\text{H})^+]$, 100] (Exact Mass: 437.28).

**(S)-5-(3-(4-Οξο-4-(φαινυλαμινο)βουτυλο)θειουριδο)εννεανικός
μεθυλεστέρας (158)**



Σε διάλυμα της ένωσης **151** (1 mmol, 224 mg) σε άνυδρο CH_2Cl_2 (10 ml), προστίθενται Et_3N (1 mmol, 0.063 mL) και το ισοθειοκυανικό παράγωγο **157** (1 mmol, 220 mg). Το διάλυμα αναδεύεται για 24 ώρες υπό ατμόσφαιρα αργού και έπειτα εκπλένεται με H_2O . Το προϊόν παραλαμβάνεται έπειτα από ξήρανση της οργανικής φάσης με άνυδρο Na_2SO_4 , απομάκρυνση του διαλύτη υπό ελαττωμένη πίεση και καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης, με σύστημα έκλουσης: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 98/2 έως 9/1.

Κίτρινο έλαιο. Απόδοση 40% (120 mg), R_f (7) = 0,3.

^1H NMR (CDCl_3): δ 9.02 (s, 1H, NH), 7.49 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.23 (t, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.02 (t, J = 8.0 Hz, 1H, arom), 6.86 (s, 1H, NHCS), 6.29 (s, 1H, NHCS), 3.57 (s, 3H, OCH_3), 3.50-3.40 (m, 1H, CH), 3.20-2.80 (m, 2H, CH_2), 2.50-2.30 (m, 2H, CH_2), 2.30-2.10 (m, 2H, CH_2), 2.00-1.70 (m, 2H, CH_2), 1.70-1.00 (m, 10H, CH_2), 0.79 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 180.8 (CS), 174.3 (CO), 172.1 (CO), 138.0 (arom), 128.7 (arom), 124.0 (arom), 119.9 (arom), 53.8 (CH), 51.5 (OCH_3), 38.8 (C-N), 36.2 (CH_2), 34.3 (CH_2), 33.9 (CH_2), 33.6 (CH_2), 27.7 (CH_2), 24.7 (CH_2), 22.5 (CH_2), 20.9 (CH_2), 13.8 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%) 408.33 [$(\text{M}+\text{H})^+$, 100] (Exact Mass: 407.22).

$[\alpha]_D^{25} = +2.7$ (c 0.8, MeOH).

Γενική μέθοδος σύνθεσης υδροξαμικών οξέων από τους αντίστοιχους εστέρες

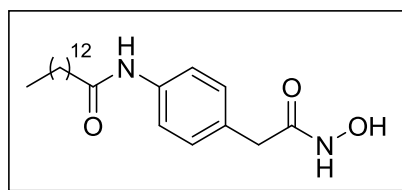
Σε διάλυμα του εστέρα (1 mmol) σε απόλυτη MeOH ή EtOH (4 mL) (εξαρτάται από το διάλυμα που θα χρησιμοποιηθεί στη συνέχεια), στους 0 °C, προστίθενται $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (10 mmol, 695 mg) και διάλυμα 25% w/v MeONa (20 mmol, 1.08 g) σε MeOH (4.2 mL) (παρασκευάζεται) ή 21% w/w EtONa (20

mmol, 1.36 g) σε EtOH (7.25 mL) (εμπορικά διαθέσιμο). (Όπως προαναφέρθηκε, το διάλυμα EtONa/EtOH παρατηρήθηκε πως είναι πιο δραστικό. Έτσι, στις περιπτώσεις που η αρχική ένωση φέρει δύο εστερικές ομάδες, εκ των οποίων η μία πρέπει να παραμείνει ως έχει ενώ η δεύτερη να μετατραπεί σε ομάδα υδροξαμικού οξέος, χρησιμοποιείται το διάλυμα MeONa/MeOH, ώστε να πραγματοποιηθεί η αντίδραση ελεγχόμενα. Σε όλες τις άλλες περιπτώσεις προτιμάται το διάλυμα EtONa/EtOH, προς επίτευξη υψηλότερων αποδόσεων.) Το διάλυμα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 2-48 ώρες υπό ατμόσφαιρα αργού. Ο διαλύτης συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση και προστίθεται σύστημα διαλυτών CHCl₃/MeOH 95/5. Ακολουθεί εξουδετέρωση με προσθήκη HCl 1N, έπειτα το pH γίνεται 8 με NaOH 1N και οι δύο στιβάδες διαχωρίζονται.

A) Εάν το προϊόν είναι διαλυτό στους συνήθεις οργανικούς διαλύτες (CHCl₃, MeOH), η οργανική στιβάδα ξηραίνεται με άνυδρο Na₂SO₄, ο διαλύτης συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση και ακολουθεί καθαρισμός με χρωματογραφία στήλης.

B) Εάν το προϊόν είναι δυσδιάλυτο στους συνήθεις οργανικούς διαλύτες και στο H₂O, παραλαμβάνεται επάνω σε ηθμό μετά από διήθηση και εκπλύσεις με CHCl₃, MeOH και Et₂O. Στην περίπτωση αυτή τα φάσματα NMR λαμβάνονται με χρήση διαλύτη DMSO, στον οποίο τα προϊόντα είναι διαλυτά.

***N*-(4-(2-(Υδροξαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)τετραδεκαναμίδιο (56)**



Υπόλευκο στερεό. Απόδοση 45% (40 mg), σ.τ.: 112-114 °C, R_f (9)= 0,2.

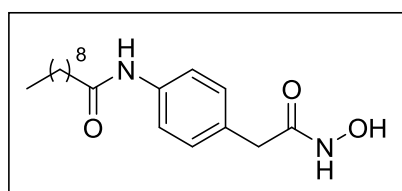
¹H NMR (DMSO): δ 10.74 (s, 1H), 9.90 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 7.47 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.14 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 3.20 (s, 2H, PhCH₂CO), 2.25 (t, J = 8.0 Hz, 2H, CH₂CO), 1.70-1.40 (m, 2H, CH₂), 1.40-1.00 (m, 20H, CH₂), 0.82 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH₃).

^{13}C NMR (CD_3OD): δ 169.3 (CONH), 159.6 (CONHOH), 132.4 (arom), 130.7 (arom), 129.9 (arom), 121.2 (arom), 41.4 (PhCH_2CO), 40.2 (CH_2), 37.8 (CH_2), 34.8 (CH_2), 33.7 (CH_2), 33.1 (CH_2), 30.8 (CH_2), 30.7 (CH_2), 30.5 (CH_2), 27.0 (CH_2), 24.1 (CH_2), 23.8 (CH_2), 22.7 (CH_2), 14.5 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 375.40 [$(\text{M}-\text{H})^-$, 100] (Exact Mass: 376.27).

HRMS 375.2675 ($\text{M}-\text{H})^-$, (375.2653).

***N*-(4-(2-(Υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)δεκαναμίδιο (58)**



Λευκό στερεό. Απόδοση 45% (130 mg), σ.τ.: 187-189 °C, R_f (9)= 0,2.

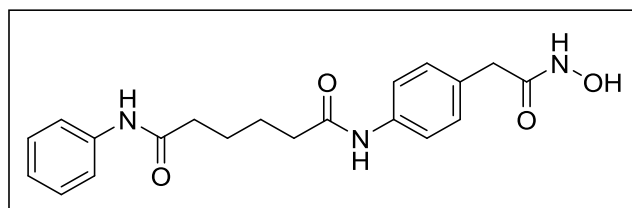
^1H NMR (DMSO): δ 10.63 (s, 1H), 9.83 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 7.49 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.15 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 3.20 (s, 2H, PhCH_2CO), 2.27 (t, J = 8.0 Hz, 2H, CH_2CO), 1.80-1.40 (m, 2H, CH_2), 1.40-1.00 (m, 12H, CH_2), 0.85 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (DMSO): δ 171.2 (CONH), 167.1 (CONHOH), 137.8 (arom), 130.5 (arom), 129.1 (arom), 119.0 (arom), 38.8 (PhCH_2CO), 36.4 (CH_2), 31.4 (CH_2), 29.0 (CH_2), 28.9 (CH_2), 28.8 (CH_2), 25.2 (CH_2), 22.2 (CH_2), 14.0 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 319.24 [$(\text{M}-\text{H})^-$, 100] (Exact Mass: 320.21).

HRMS 319.2029 ($\text{M}-\text{H})^-$, (319.2027).

***N*¹-(4-(2-(Υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)-*N*⁶-φαινυλαδιπαμίδιο (87)**



Υπόλευκο στερεό. Απόδοση 50% (30 mg), σ.τ.: 253-255 °C, R_f (9)= 0,1.

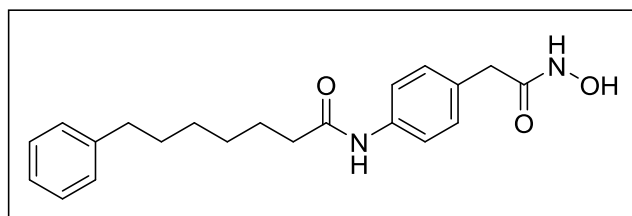
^1H NMR (DMSO): δ 10.20 (s, 1H), 10.16 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 7.80-7.40 (m, 4H, arom), 7.40-7.10 (m, 4H, arom), 7.10-6.90 (m, 1H, arom), 3.23 (s, 2H, PhCH_2CO), 2.40-2.20 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2\text{CO}$), 1.80-1.30 (m, 4H, CH_2).

^{13}C NMR (DMSO): δ 171.4 (CONH), 171.2 (CONH), 167.1 (CONHOH), 139.5 (arom), 137.9 (arom), 130.7 (arom), 129.2 (arom), 128.7 (arom), 123.0 (arom), 119.1 (arom), 119.0 (arom), 36.2 (CH_2), 30.8 (CH_2), 24.9 (CH_2).

MS (ESI) m/z (%): 368.40 $[(\text{M}-\text{H})^-]$, 100] (Exact Mass: 369.17).

HRMS 368.1615 $(\text{M}-\text{H})^-$, (368.1616).

***N*-(4-(2-(Υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)-7-φαινυλεπταναμίδιο (111)**



Υπόλευκο στερεό. Απόδοση 47% (45 mg), σ.τ.: 176-178 °C, R_f (9)= 0,1.

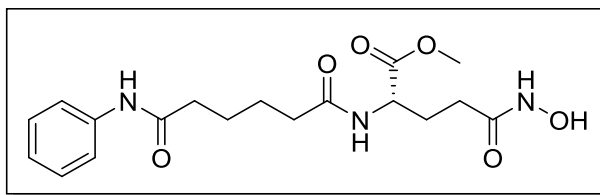
^1H NMR (DMSO): δ 10.64 (s, 1H), 9.85 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 7.51 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.40-6.90 (m, 7H, arom), 3.22 (s, 2H, PhCH_2CO), 2.56 (t, J = 8.0 Hz, 2H, PhCH_2), 2.27 (t, J = 8.0 Hz, 2H, CH_2CONH), 1.70-1.50 (m, 4H, CH_2), 1.40-1.00 (m, 4H, CH_2).

^{13}C NMR (DMSO): δ 171.2 (CONH), 167.1 (CONHOH), 142.3 (arom), 137.9 (arom), 130.6 (arom), 129.2 (arom), 128.3 (arom), 125.7 (arom), 119.0 (arom), 36.4 (CH_2), 35.2 (CH_2), 31.0 (CH_2), 28.5 (CH_2), 25.2 (CH_2).

MS (ESI) m/z (%): 353.24 $[(\text{M}-\text{H})^-]$, 100] (Exact Mass: 354.19).

HRMS 353.1872 $(\text{M}-\text{H})^-$, (353.1871).

Μεθυλεστέρας της *N*⁵-υδροξυ-*N*²-(6-οξο-6-(φαινυλαμινο)εξανοϋλο)-*L*-γλουταμίνης (122)



Υπόλευκο στερεό. Απόδοση 10% (22 mg), σ.τ.: 118-120 °C, R_f (7)= 0,3.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9/1.

^1H NMR (CD_3OD): δ 7.43 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.17 (t, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 6.97 (t, J = 8.0 Hz, 1H, arom), 4.30-4.00 (m, 1H, CH), 3.52 (s, 3H, OCH_3), 2.50-1.70 (m, 8H, CH_2), 1.70-1.40 (m, 4H, CH_2).

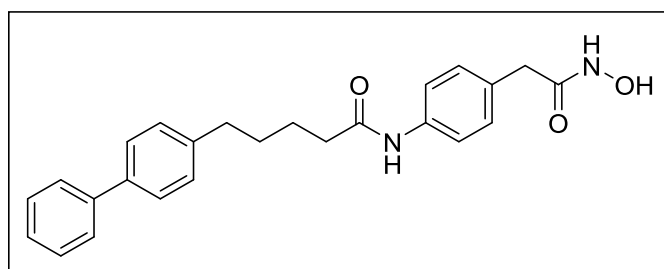
^{13}C NMR (CD_3OD): δ 175.8 (COO), 174.7 (CONH), 174.2 (CONH), 170.6 (CONHOH), 139.9 (arom), 129.8 (arom), 125.1 (arom), 121.1 (arom), 52.2 (C-N), 51.5 (OCH_3), 37.6 (CH_2), 36.4 (CH_2), 30.9 (CH_2), 28.3 (CH_2), 27.3 (CH_2), 26.4 (CH_2).

MS (ESI) m/z (%): 378.21 [$(\text{M}-\text{H})^-$, 100] (Exact Mass: 379.17)

HRMS 378.1677 ($(\text{M}-\text{H})^-$), (378.1671).

$[\alpha]_D^{25} = -11.6$ (c 0.43, MeOH).

5-([1,1'-Διφαινυλο]-4-υλο)-N-(4-(2-(υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)πενταναμίδιο (76)



Υπόλευκο στερεό. Απόδοση 22% (45 mg), σ.τ.: 181-183 °C, R_f (9)= 0,1.

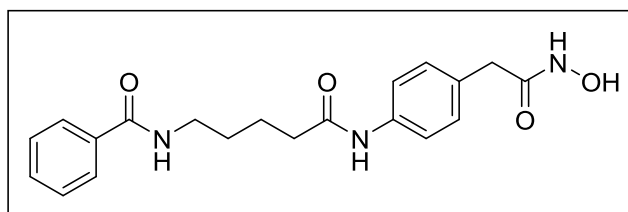
^1H NMR (DMSO): δ 10.67 (s, 1H), 9.87 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 7.80-7.20 (m, 8H, arom), 7.20-7.00 (m, 5H, arom), 3.55 (s, 2H, PhCH_2CO), 2.64 (t, J = 8.0 Hz, 2H, PhCH_2CH_2), 2.32 (t, J = 8.0 Hz, 2H, CH_2CO), 1.70-1.40 (m, 4H, CH_2).

^{13}C NMR (DMSO): δ 170.9 (CONH), 169.5 (CONHOH), 156.2 (arom), 154.3 (arom), 139.4 (arom), 135.8 (arom), 128.6 (arom), 126.9 (arom), 125.1 (arom), 124.5 (arom), 117.0 (arom), 34.3 (CH_2), 34.2 (CH_2), 32.6 (CH_2), 28.7 (CH_2), 25.3 (CH_2).

MS (ESI) m/z (%): 401.34 [(M-H) $^-$, 55] (Exact Mass: 402.19).

HRMS 401.1870 (M-H) $^-$, (401.1871).

***N*-(5-((4-(2-(Υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)αμινο)-5-οξοπεντυλ)βενζαμίδιο (97)**



Υπόλευκο στερεό. Απόδοση 39% (87 mg), σ.τ.: 179-181 °C, R_f (8)= 0,1.

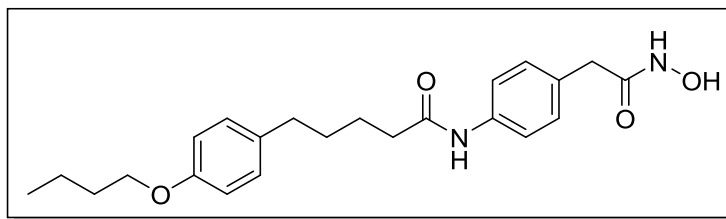
^1H NMR (DMSO): δ 10.68 (s, 1H), 9.90 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.51 (t, J = 7.0 Hz, 1H, NHCH_2), 7.82 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.60-7.30 (m, 5H, arom), 7.14 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 3.27 (q, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2NH), 3.20 (s, 2H, PhCH_2CO), 2.31 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2CO), 1.80-1.40 (m, 4H, CH_2).

^{13}C NMR (DMSO): δ 171.4 (CONH), 167.5 (CONH), 166.4 (CONHOH), 137.9 (arom), 134.8 (arom), 131.3 (arom), 130.7 (arom), 129.3 (arom), 128.5 (arom), 127.3 (arom), 119.2 (arom), 40.2 (CH_2), 39.8 (CH_2), 36.7 (CH_2), 29.4 (CH_2), 23.4 (CH_2).

MS (ESI) m/z (%): 368.10 [(M-H) $^-$, 100] (Exact Mass: 369.17).

HRMS 368.1615 (M-H) $^-$, (368.1616).

5-(4-Βουτοξυφαινυλ)-*N*-(4-(2-(υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλο)πενταναμίδιο (82)



Υπόλευκο στερεό. Απόδοση 16% (22 mg), σ.τ.: 198-200 °C, R_f (3)= 0,1.

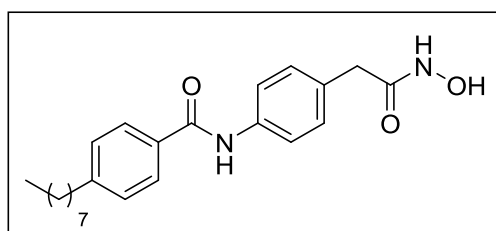
^1H NMR (DMSO): δ 10.62 (s, 1H), 9.83 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 7.48 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.30-6.90 (m, 4H, arom), 6.81 (d, J = 7.0 Hz, 2H, arom), 3.90 (t, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2), 3.20 (s, 2H, PhCH_2CO), 2.29 (t, J = 8.0 Hz, 2H, CH_2CONH), 1.80-1.20 (m, 10H, CH_2), 0.91 (t, J = 8.0 Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (DMSO): δ 171.1 (CONH), 167.2 (CONHOH), 156.8 (arom), 137.8 (arom), 133.8 (arom), 130.5 (arom), 129.1 (arom), 119.0 (arom), 114.2 (arom), 67.0 (OCH_2), 36.3 (CH_2), 34.1 (CH_2), 30.9 (CH_2), 24.8 (CH_2), 18.8 (CH_2), 13.7 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 397.34 [(M-H) $^-$, 100] (Exact Mass: 398.22).

HRMS 397.2126 (M-H) $^-$, (397.2133).

***N*-(4-(2-(Υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλο)φαινυλο)-4-οκτυλοβενζαμίδιο (60)**



Μπεζ στερεό. Απόδοση 36% (45 mg), σ.τ.: 240-242 °C, R_f (3)= 0,1.

^1H NMR (DMSO): δ 10.67 (s, 1H), 10.13 (s, 1H), 8.86 (s, 1H), 7.84 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.66 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.31 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.21 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 3.24 (s, 2H, PhCH_2CO), 2.62 (t, J = 8.0 Hz, 2H, PhCH_2), 1.80-1.40 (m, 2H, CH_2), 1.40-1.00 (m, 10H, CH_2), 0.83 (t, J = 8.0 Hz, 3H, CH_3).

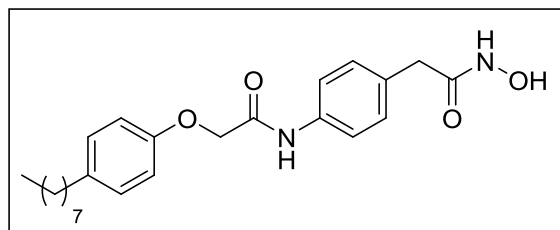
^{13}C NMR (DMSO): δ 167.4 (CONHOH), 165.5 (CONH), 146.4 (arom), 137.8 (arom), 132.4 (arom), 131.3 (arom), 129.2 (arom), 128.4 (arom), 127.8

(arom), 120.4 (arom), 35.1 (CH₂), 31.4 (CH₂), 30.9 (CH₂), 28.9 (CH₂), 28.8 (CH₂), 22.2 (CH₂), 14.1 (CH₃).

MS (ESI) m/z (%): 381.34 [(M-H)⁻, 100] (Exact Mass: 382.23).

HRMS 381.2185 (M-H)⁻, (381.2184).

N-Υδροξυ-2-(4-(2-(4-οκτυλφαινοξυ)ακεταμιδο)φαινυλ)ακεταμίδιο (70)



Λευκό στερεό. Απόδοση 29% (46 mg), σ.τ.: 182-184 °C, R_f (8)= 0,2.

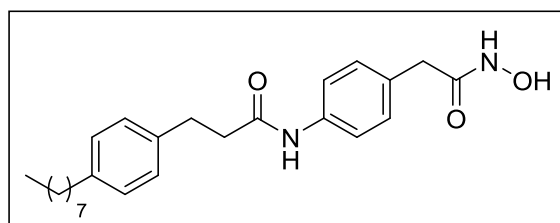
¹H NMR (DMSO): δ 10.68 (s, 1H), 9.97 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 7.70-7.40 (m, 2H, arom), 7.40-7.00 (m, 4H, arom), 7.00-6.80 (m, 2H, arom), 4.63 (s, 2H, OCH₂CO), 3.25 (s, 2H, PhCH₂CO), 2.50 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH₂Ph), 1.70-1.40 (m, 2H, CH₂), 1.40-1.00 (m, 10H, CH₂), 0.85 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (DMSO): δ 167.4 (CONH), 166.8 (CONHOH), 156.0 (arom), 136.9 (arom), 135.2 (arom), 131.5 (arom), 129.3 (arom), 119.8 (arom), 114.6 (arom), 67.4 (OCH₂), 34.4 (CH₂), 31.4 (CH₂), 29.0 (CH₂), 28.8 (CH₂), 22.3 (CH₂), 14.0 (CH₃).

MS (ESI) m/z (%): 411.16 [(M-H)⁻, 100] (Exact Mass: 412.24).

HRMS 411,2289 (M-H)⁻, (411,2289).

N-(4-(2-(Υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλο)φαινυλο)-3-(4-οκτυλφαινυλο)προπαναμίδιο (65)



Μπεζ στερεό. Απόδοση 58% (140 mg), σ.τ.: 195-197 °C, R_f (6)= 0,2.

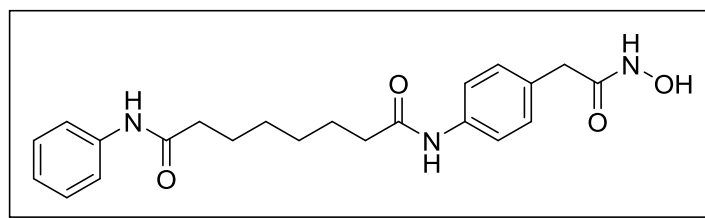
^1H NMR (DMSO): δ 10.67 (s, 1H), 9.90 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 7.48 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.30-6.90 (m, 6H, arom), 3.21 (s, 2H, PhCH_2CO), 2.85 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2Ph), 2.57 (t, J = 7.0 Hz, 4H, $\text{PhCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 1.70-1.40 (m, 2H, CH_2), 1.40-1.00 (m, 10H, CH_2), 0.84 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (DMSO): δ 170.6 (CONH), 167.5 (CONHOH), 140.1 (arom), 138.5 (arom), 137.8 (arom), 130.8 (arom), 129.3 (arom), 128.4 (arom), 128.3 (arom), 119.2 (arom), 35.0 (CH_2), 31.5 (CH_2), 31.2 (CH_2), 30.7 (CH_2), 29.0 (CH_2), 28.9 (CH_2), 22.3 (CH_2), 14.2 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 409.19 [(M-H) $^-$, 100] (Exact Mass: 410.26).

HRMS 409.2497 (M-H) $^-$, (408.2497).

N^1 -(4-(2-(Υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλ)- N^8 -φαινυλοκτανοδιαμίδιο (91)



Μπεζ στερεό. Απόδοση 96% (270 mg), σ.τ.: 195-197 °C, R_f (7)= 0,1.

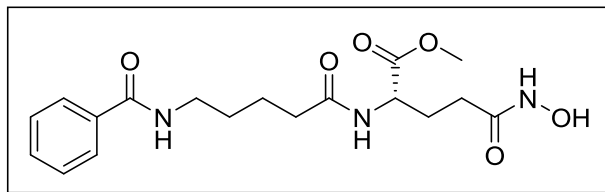
^1H NMR (DMSO): δ 10.64 (s, 1H), 9.84 (s, 2H), 8.83 (s, 1H), 7.70-7.40 (m, 4H, arom), 7.40-7.10 (m, 4H, arom), 7.10-6.90 (m, 1H, arom), 3.22 (s, 2H, PhCH_2CO), 2.40-2.10 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2\text{CO}$), 1.80-1.40 (m, 4H, CH_2), 1.40-1.10 (m, 4H, CH_2).

^{13}C NMR (DMSO): δ 171.3 (CONH), 171.1 (CONH), 167.2 (CONHOH), 139.4 (arom), 137.8 (arom), 130.5 (arom), 129.1 (arom), 128.7 (arom), 123.0 (arom), 119.1 (arom), 119.0 (arom), 38.8 (CH_2), 36.4 (CH_2), 28.6 (CH_2), 25.1 (CH_2).

MS (ESI) m/z (%): 396.25 [(M-H) $^-$, 100] (Exact Mass: 397.20).

HRMS 396.1932 (M-H) $^-$, (396.1929).

Μεθυλεστέρας της N^2 -(5-βενζαμιδοπεντανοϋλο)- N^5 -υδροξυ-L-γλουταμίνης (124)



Υπόλευκο στερεό. Απόδοση 8% (17 mg), σ.τ.: 139-141 °C, R_f (7)= 0,3.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9/1.

^1H NMR (CD_3OD): δ 8.46 (s, 1H, NH), 7.87 (s, 1H, NH), 7.77 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.60-7.30 (m, 3H, arom), 4.30-4.10 (m, 1H, CH), 3.60 (s, 3H, OCH_3), 2.50-1.80 (m, 8H, CH_2), 1.80-1.40 (m, 4H, CH_2).

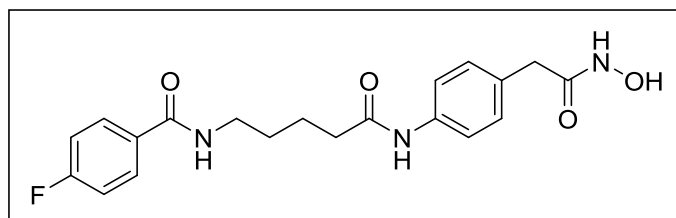
^{13}C NMR (CD_3OD): δ 175.9 (COO), 174.7 (CONH), 170.6 (CONH), 170.3 (CONHOH), 135.8 (arom), 132.6 (arom), 129.5 (arom), 128.3 (arom), 52.2 (C-N), 51.5 (OCH_3), 40.5 (CH_2), 36.2 (CH_2), 31.0 (CH_2), 29.9 (CH_2), 28.3 (CH_2), 24.2 (CH_2).

MS (ESI) m/z (%): 378.28 [$(\text{M}-\text{H})^-$, 100] (Exact Mass: 379.17)

HRMS 378.1670 ($\text{M}-\text{H})^-$, (378.1671).

$[\alpha]_D^{25}$ = -14.0 (c 0.5, MeOH).

4-Φθορο- N -(5-((4-(2-(υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλο)φαινυλο)αμινο)-5-οξοπεντυλο)βενζαμίδιο (103)



Μπεζ στερεό. Απόδοση 88% (170 mg), σ.τ.: 269-271 °C, R_f (9)= 0,5

^1H NMR (DMSO): δ 9.89 (s, 2H), 8.56 (s, 2H), 7.91 (t, J = 7.0 Hz, 2H, arom), 7.47 (d, J = 7.0 Hz, 2H, arom), 7.40-7.20 (m, 2H, arom), 7.14 (d, J = 8.0 Hz,

2H, arom), 3.40-3.20 (m, 2H, NHCH₂CH₂), 3.14 (s, 2H, PhCH₂CO), 2.40-2.10 (m, 2H, CH₂CH₂CO), 1.80-1.40 (m, 4H, CH₂).

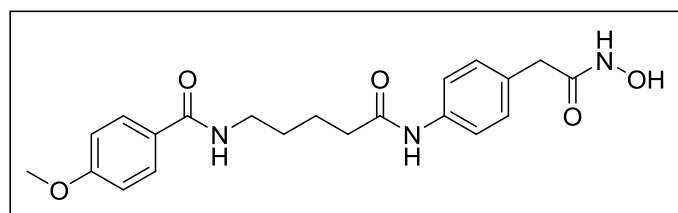
¹³C NMR (DMSO): δ 171.0 (CONH), 166.3 (CONH), 165.1 (CONHOH), 164.8 (d, *J* = 240.0 Hz, C-F), 137.5 (arom), 131.1 (d, *J* = 3.0 Hz, arom), 129.9 (arom), 129.2 (d, *J* = 8.0 Hz, arom), 129.1 (arom), 118.8 (arom), 115.2 (d, *J* = 21.0 Hz, arom), 39.2 (CH₂), 38.9 (CH₂), 36.1 (CH₂), 28.9 (CH₂), 22.8 (CH₂)

¹⁹F NMR (CDCl₃): δ -110.3 (F).

MS (ESI) *m/z* (%): 386.22 [(M-H)⁻, 100] (Exact Mass: 387.16).

HRMS 386.17522 (M-H)⁻, (386.1522).

***N*-(5-((4-(2-(Υδροξυαμινο)-2-οξοαιθυλο)φαινυλο)αμινο)-5-οξοπεντυλο)-4-μεθοξυβενζαμίδιο (109)**



Μπεζ στερεό. Απόδοση 100% (190 mg), σ.τ.: 216-218 °C, *R_f* (9)= 0,2.

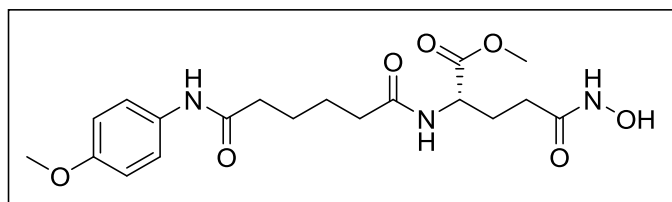
¹H NMR (DMSO): δ 9.85 (s, 2H), 8.34 (s, 2H), 7.81 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.50 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.14 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, arom), 6.97 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, arom), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.50-3.30 (m, 2H, NHCH₂CH₂), 3.20 (s, 2H, PhCH₂CO), 2.40-2.10 (m, 2H, CH₂CH₂CO), 1.80-1.30 (m, 4H, CH₂).

¹³C NMR (DMSO): δ 171.1 (CONH), 167.2 (CONH), 165.6 (CONHOH), 161.5 (arom), 137.8 (arom), 130.6 (arom), 129.2 (arom), 129.0 (arom), 126.9 (arom), 119.0 (arom), 113.5 (arom), 55.4 (OCH₃), 38.9 (CH₂), 38.3 (CH₂), 36.1 (CH₂), 29.0 (CH₂), 22.8 (CH₂).

MS (ESI) *m/z* (%): 398.18 [(M-H)⁻, 100] (Exact Mass: 399.18).

HRMS 398.1724 (M-H)⁻, (398.1721).

Μεθυλεστέρας της N^5 -υδροξυ- N^2 -(6-((4-μεθοξυφαινυλ)αμινο)-6-οξοεξανουόλο)-L-γλουταμίνης (128)



Υπόλευκο στερεό. Απόδοση 6% (18 mg), σ.τ.: 157-159 °C, R_f (7)= 0,3.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9/1.

^1H NMR (CD_3OD): δ 7.40 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 6.82 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 4.30-4.10 (m, 1H, CH), 3.72 (s, 3H, OCH_3), 3.61 (s, 3H, OCH_3), 2.50-1.80 (m, 8H, CH_2), 1.80-1.50 (m, 4H, CH_2).

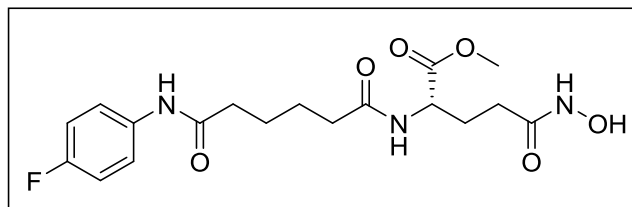
^{13}C NMR (CD_3OD): δ 175.8 (COO), 174.7 (CONH), 174.0 (CONH), 170.6 (CONHOH), 157.8 (arom), 132.8 (arom), 123.1 (arom), 114.9 (arom), 55.8 (OCH_3), 52.2 (C-N), 51.5 (OCH_3), 37.4 (CH_2), 36.4 (CH_2), 31.0 (CH_2), 28.3 (CH_2), 26.5 (CH_2), 26.4 (CH_2).

MS (ESI) m/z (%): 408.16 [$(\text{M}-\text{H})^-$, 100] (Exact Mass: 409.18).

HRMS 408.1789 ($(\text{M}-\text{H})^-$), (408.1776).

$[\alpha]_D^{25} = -17.6$ (c 0.5, MeOH).

Μεθυλεστέρας της N^2 -(6-((4-φθοροφαινυλ)αμινο)-6-οξοεξανουόλο)- N^5 -υδροξυ-L-γλουταμίνης (132)



Υπόλευκο στερεό. Απόδοση 9% (38 mg), σ.τ.: 147-149 °C, R_f (7)= 0,3.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9/1.

^1H NMR (CD_3OD): δ 7.60-7.40 (m, 2H, arom) 6.99 (t, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 4.26 (t, J = 8.0 Hz, 1H, CH), 3.61 (s, 3H, OCH_3), 2.60-1.80 (m, 8H, CH_2), 1.80-1.40 (m, 4H, CH_2).

^{13}C NMR (CD_3OD): δ 175.8 (COO), 174.7 (CONH), 174.1 (CONH), 170.6 (CONHOH), 169.7 (d, J = 241.5 Hz, C-F), 136.1 (d, J = 3.0 Hz, arom), 123.0 (d, J = 8.0 Hz, arom), 116.2 (d, J = 22.5 Hz, arom), 52.2 (C-N), 51.5 (OCH_3), 37.5 (CH_2), 36.4 (CH_2), 31.0 (CH_2), 28.3 (CH_2), 26.5 (CH_2), 26.3 (CH_2).

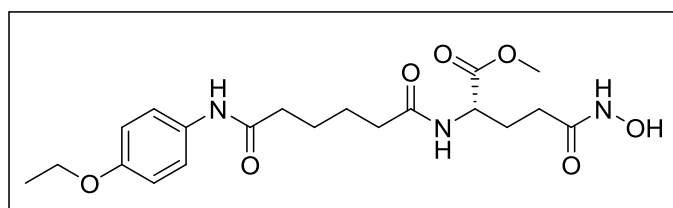
^{19}F NMR (CDCl_3): δ -121.1 (F).

MS (ESI) m/z (%): 396.34 [(M-H) $^-$, 100] (Exact Mass: 397.16).

HRMS 396.1573 (M-H) $^-$, (396.1576).

$[\alpha]_D^{25}$ = -18.0 (c 1, MeOH).

Μεθυλεστέρας της N^2 -(6-((4-αιθοξυφαινυλ)αμινο)-6-οξοεξανούλ)- N^5 -υδροξυ-L-γλουταμίνης (136)



Λευκό στερεό. Απόδοση 6% (22 mg), σ.τ.: 146-148 $^{\circ}\text{C}$, R_f (7) = 0,3.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9/1.

^1H NMR (CD_3OD): δ 7.38 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 6.80 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 4.30-4.10 (m, 1H, CH), 3.96 (q, J = 8.0 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 3.61 (s, 3H, OCH_3), 2.50-1.80 (m, 8H, CH_2), 1.80-1.50 (m, 4H, CH_2), 1.32 (t, J = 8.0 Hz, 3H, CH_3).

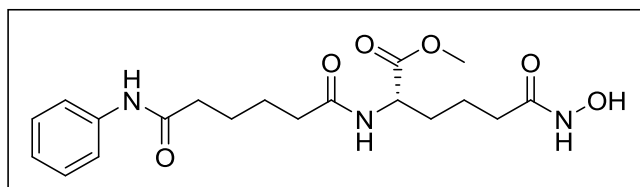
^{13}C NMR (CD_3OD): δ 175.9 (COO), 174.7 (CONH), 174.0 (CONH), 170.6 (CONHOH), 157.1 (arom), 132.7 (arom), 123.0 (arom), 115.5 (arom), 64.6 (OCH_2), 52.2 (C-N), 51.5 (OCH_3), 37.4 (CH_2), 36.4 (CH_2), 31.0 (CH_2), 28.3 (CH_2), 26.5 (CH_2), 26.4 (CH_2), 15.2 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 422.19 [(M-H) $^-$, 100] (Exact Mass: 423.20).

HRMS 422.1908 (M-H)⁻, (422.1933).

$[\alpha]_D^{25} = -17.8$ (c 0.4, MeOH).

**(S)-6-(Υδροξυαμινο)-6-οξο-2-(6-οξο-6-(φαινυλαμινο)εξαναμιδο)εξανοϊκός
μεθυλεστέρας (143)**



Λευκό στερεό. Απόδοση 10% (22 mg), σ.τ.: 126-128 °C, R_f (7)= 0,3.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία σήλης: CHCl₃/MeOH 9/1.

¹H NMR (CD₃OD): δ 7.53 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.27 (t, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.06 (t, J = 8.0 Hz, 1H, arom), 4.40-4.10 (m, 1H, CH), 3.62 (s, 3H, OCH₃), 2.60-2.20 (m, 8H, CH₂), 1.90-1.50 (m, 6H, CH₂).

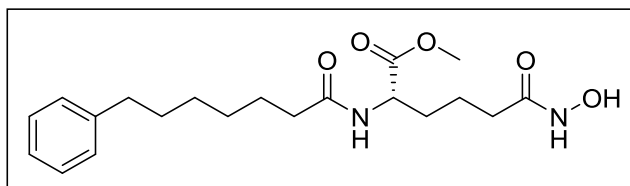
¹³C NMR (CD₃OD): δ 175.8 (COO), 175.4 (CONH), 174.2 (CONH), 170.9 (CONHOH), 139.8 (arom), 129.7 (arom), 125.1 (arom), 121.2 (arom), 53.3 (C-N), 52.0 (OCH₃), 37.5 (CH₂), 36.4 (CH₂), 34.0 (CH₂), 32.4 (CH₂), 31.7 (CH₂), 26.4 (CH₂), 22.2 (CH₂).

MS (ESI) m/z (%): 392.27 [(M-H)⁻, 100] (Exact Mass: 393.19).

HRMS 392.1814 (M-H)⁻, (392.1827).

$[\alpha]_D^{25} = -15.6$ (c 0.4, MeOH).

**(S)-6-(Υδροξυαμινο)-6-οξο-2-(7-φαινυλεπταναμιδο)εξανοϊκός
μεθυλεστέρας (145)**



Λευκό στερεό. Απόδοση 9%; σ.τ.: 60-62 °C, R_f (7)= 0,5.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: CH₂Cl₂/MeOH 95/5.

¹H NMR (CD₃OD) δ 7.30-7.00 (m, 5H, arom), 4.30-4.10 (m, 1H, CH), 3.58 (s, 3H, OCH₃), 2.54 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, CH₂), 2.30 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, CH₂), 2.17 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, CH₂), 1.80-1.40 (m, 8H, CH₂), 1.40-1.20 (m, 4H, CH₂).

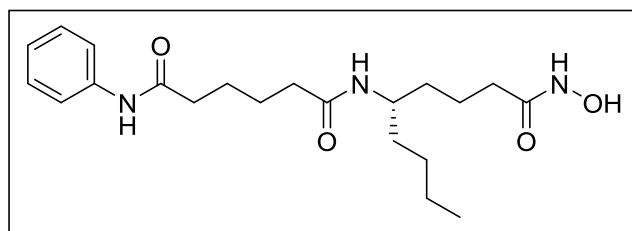
¹³C NMR (CD₃OD) δ 176.2 (COO), 175.3 (CONH), 171.0 (CONHOH), 143.9 (arom), 129.4 (arom), 129.2 (arom), 126.6 (arom), 52.1 (C-N), 51.9 (OCH₃), 36.8 (CH₂), 36.7 (CH₂), 34.1 (CH₂), 32.6 (CH₂), 32.5 (CH₂), 30.1 (CH₂), 30.0 (CH₂), 26.9 (CH₂), 22.2 (CH₂).

MS (ESI) *m/z* (%) 377.41 [(M-H)⁻, 100] (Exact Mass: 378.22).

HRMS 377.2078 (M-H)⁻, (377.2082).

[α]_D²⁵ = -17.7 (c 1, MeOH).

(S)-N¹-(1-(Υδροξυαμινο)-1-οξονοναν-5-υλο)-N⁶-φαινυλαδιπαμίδιο (153)



Υποκίτρινο στερεό. Απόδοση 47% (115 mg), σ.τ.: 161-163 °C, R_f (8)= 0,3.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: CHCl₃/MeOH 95/5 έως 9/1.

¹H NMR (CD₃OD): δ 7.78 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H, NH), 7.54 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H, arom), 7.28 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, arom), 7.06 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H, arom), 3.80-3.60 (m, 1H, CH), 2.60-2.00 (m, 6H, CH₂), 1.85 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 1.80-1.60 (m, 4H, CH₂), 1.60-1.10 (m, 8H, CH₂), 0.86 (t, *J* = 4.0 Hz, 3H, CH₃).

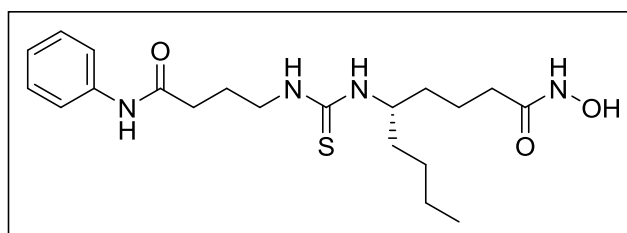
¹³C NMR (CD₃OD): δ 175.6 (CO), 174.1 (CO), 172.6 (CONHOH), 139.8 (arom), 129.7 (arom), 125.0 (arom), 121.1 (arom), 52.0 (C-N), 37.6 (CH₂), 36.9 (CH₂), 35.7 (CH₂), 35.3 (CH₂), 33.3 (CH₂), 29.3 (CH₂), 26.8 (CH₂), 26.5 (CH₂), 23.5 (CH₂), 23.2 (CH₂), 14.4 (CH₃).

MS (ESI) *m/z* (%) 390.24 [(M-H)⁻, 100] (Exact Mass: 391.25).

HRMS 390.2392 (M-H)⁻, (390.2398).

[α]_D²⁵ = -1.1 (c 1, MeOH).

(S)-N-Υδροξυ-5-(3-(4-οξο-4-(φαινυλαμινο)βουτυλο)θειουριδο)εννεαναμίδιο (159)



Υποκίτρινο στερεό. Απόδοση 1% (2 mg), σ.τ.: 65-67 °C, R_f (7)= 0,5.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: CHCl₃/MeOH 9/1.

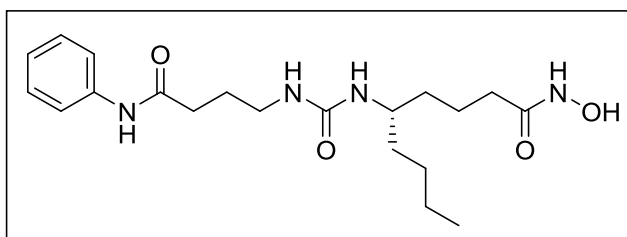
¹H NMR (CDCl₃ + σταγόνες CD₃OD): δ 7.50 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.23 (t, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.01 (t, J = 8.0 Hz, 1H, arom), 3.70-3.40 (m, 1H, CH), 2.32 (t, J = 8.0 Hz, 2H, CH₂), 2.10-1.90 (m, 2H, CH₂), 1.90-1.60 (m, 2H, CH₂), 1.60-1.00 (m, 12H, CH₂), 0.80 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃ + σταγόνες CD₃OD): δ 181.0 (CS), 173.0 (CONH), 171.2 (CONH), 134.0 (arom), 128.3 (arom), 123.2 (arom), 119.8 (arom), 48.6 (CH), 39.1 (C-N), 35.6 (CH₂), 32.6 (CH₂), 30.0 (CH₂), 29.7 (CH₂), 28.3 (CH₂), 27.2 (CH₂), 24.4 (CH₂), 22.8 (CH₂), 14.2 (CH₃).

MS (ESI) m/z (%) 409.30 [(M+H)⁺, 100] (Exact Mass: 408.22).

[α]_D²⁵ = -18.7 (c 0.6, MeOH).

(S)-N-Υδροξυ-5-(3-(4-οξο-4-(φαινυλαμινο)βουτυλο)ουριδο)εννεαναμίδιο (160)



Υποκίτρινο στερεό. Απόδοση 76% (22 mg), σ.τ.: 104-106 °C, R_f (7)= 0,4.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9/1.

^1H NMR (CDCl_3 + σταγόνες CD_3OD): δ 7.50 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.23 (t, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.01 (t, J = 8.0 Hz, 1H, arom), 3.70-3.40 (m, 1H, CH), 2.32 (t, J = 8.0 Hz, 2H, CH_2), 2.10-1.90 (m, 2H, CH_2), 1.90-1.60 (m, 2H, CH_2), 1.60-1.00 (m, 12H, CH_2), 0.80 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH_3).

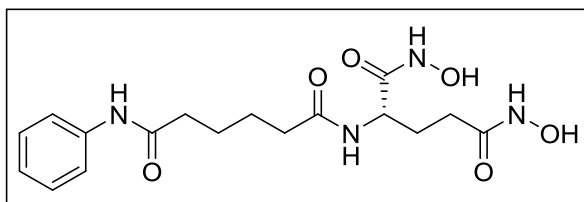
^{13}C NMR (CDCl_3 + σταγόνες CD_3OD): δ 172.7 (CONH), 171.4 (CONH), 159.6 (NHCONH), 138.1 (arom), 128.7 (arom), 124.0 (arom), 119.9 (arom), 48.8 (CH), 39.1 (C-N), 35.2 (CH_2), 34.4 (CH_2), 34.2 (CH_2), 32.2 (CH_2), 28.1 (CH_2), 26.3 (CH_2), 22.5 (CH_2), 21.6 (CH_2), 13.9 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%) 393.24 [$(\text{M}+\text{H})^+$, 100] (Exact Mass: 392.24).

HRMS 391.2300 ($\text{M}-\text{H}^-$), (391.2351).

$[\alpha]_D^{25} = -20.1$ (c 1, MeOH).

**(R)- N^1 -(1,5-Δι(υδροξυαμινο)-1,5-διοξοπενταν-2-υλ)- N^6 -φαινυλαδιπαμίδιο
(121)**



Σε διάλυμα του εστέρα **120** (1 mmol, 378 mg) σε απόλυτη EtOH (4 mL) που βρίσκεται στους 0 °C, προστίθενται $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (20 mmol, 1.39 g) και διάλυμα 21% w/w EtONa (40 mmol, 2.72 g) σε EtOH (14.5 mL). Το μίγμα αναδεύεται υπό αναρροή για 3 ώρες υπό ατμόσφαιρα αργού. Ο διαλύτης συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση και προστίθεται σύστημα διαλυτών $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9/1. Το διάλυμα εξουδετερώνεται με προσθήκη HCl 1N και ακολούθως το pH γίνεται 8 με NaOH 1N. Οι δύο στιβάδες διαχωρίζονται, η οργανική στιβάδα ξηραίνεται με άνυδρο Na_2SO_4 και ο διαλύτης συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται μετά από εκπλύσεις με CHCl_3 και Et_2O .

Υποκίτρινο στερεό. Απόδοση 53% (90 mg), σ.τ.>250 °C, R_f (9)= 0,1.

¹H NMR (CD₃OD): δ 7.49 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.22 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.00 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, arom), 4.30-4.10 (m, 1H, CH), 2.40-2.00 (m, 8H, CH₂), 1.80-1.50 (m, 4H, CH₂).

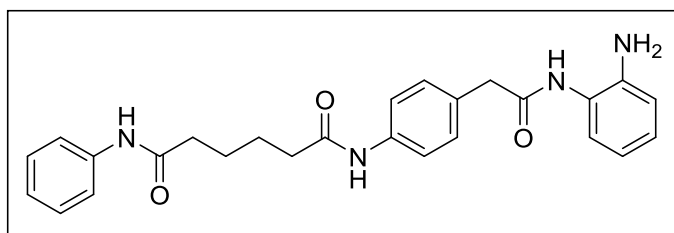
¹³C NMR (CD₃OD): δ 174.3 (CONH), 171.4 (CONH), 170.7 (CONHOH), 169.4 (CONHOH), 144.7 (arom), 134.8 (arom), 128.7 (arom), 119.1 (arom), 50.8 (C-N), 39.8 (CH₂), 39.3 (CH₂), 36.4 (CH₂), 35.0 (CH₂), 28.6 (CH₂), 18.1 (CH₂)

MS (ESI) *m/z* (%): 381.26 [(M+H)⁺, 100] (Exact Mass: 380.17).

HRMS 379.1621 (M-H)⁻, (379.1623).

[α]_D²⁵ = -10.0 (c 0.1, MeOH).

***N*¹-(4-(2-((2-Αμινοφαινυλ)αμινο)-2-οξοαιθυλ)φαινυλο)-*N*⁶-φαινυλαδιπαμίδιο (114)**



Σε διάλυμα του οξέος **112** (1 mmol, 354 mg) σε άνυδρο THF (10 mL) προστίθεται η 1,2-φαινυλενοδιαμίνη (6 mmol, 649 mg) και EDC.HCl (0.75 mmol, 144 mg) και το μίγμα αναδεύεται υπό ατμόσφαιρα αργού για 24 ώρες. Ο διαλύτης συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση και προστίθεται AcOEt, ο οποίος εκπλένεται με H₂O και κορεσμένο διάλυμα NaCl. Ακολουθεί ξήρανση με άνυδρο Na₂SO₄ και συμπύκνωση του διαλύτη υπό ελαττωμένη πίεση. Το προϊόν καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης CHCl₃/MeOH 95/5.

Κίτρινο στερεό. Απόδοση 20% (34 mg), σ.τ.: 238-240 °C, R_f (7)= 0,2.

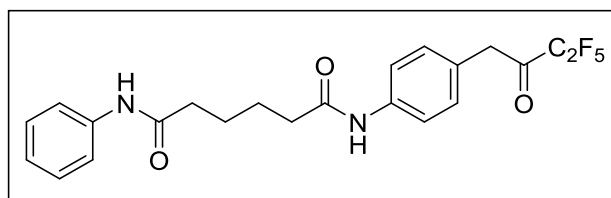
¹H NMR (CD₃OD): δ 7.53 (d, *J* = 8.0 Hz, 4H, arom), 7.40-7.20 (m, 4H, arom), 7.20-6.80 (m, 5H, arom), 3.62 (s, 2H, PhCH₂CO), 2.60-2.20 (m, 4H, 2xCH₂CO), 1.90-1.60 (m, 4H, CH₂).

^{13}C NMR (CD_3OD): δ 174.2 (CONH), 171.5 (CONH), 168.9 (CONH), 138.8 (arom), 130.5 (arom), 129.8 (arom), 129.5 (arom), 125.1 (arom), 123.2 (arom), 121.4 (arom), 121.2 (arom), 118.5 (arom), 116.7 (arom), 112.5 (arom), 41.1 (CH_2), 37.7 (CH_2), 30.9 (CH_2), 26.5 (CH_2), 23.7 (CH_2)

MS (ESI) m/z (%): 445.24 $[(\text{M}+\text{H})^+]$, 100] (Exact Mass: 444.22).

HRMS 443.2083 ($\text{M}-\text{H}^-$), (443.2089).

**N^1 -(4-(3,3,4,4,4-Πενταφθορο-2-οξοβουτυλ)φαινυλ)- N^6 -φαινυλαδιπαμίδιο
(113)**



Σε αναδευόμενο διάλυμα του οξέος **112** (1 mmol, 354 mg) σε άνυδρο CH_2Cl_2 (40 mL) και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος προστίθεται άνυδρο DMF (38 μL) και $(\text{COCl})_2$ (3 mmol, 1.5 mL). Ακολουθεί ανάδευση για 2 ώρες υπό ατμόσφαιρα αργού ώστε να σχηματιστεί το χλωρίδιο του οξέος και στη συνέχεια συμπύκνωση υπό ελαττωμένη πίεση για την απομάκρυνση της περίσσειας του οξαλυλοχλωριδίου. Το χλωρίδιο του οξέος διαλύεται σε άνυδρο CH_2Cl_2 (10 mL) και ακολουθεί στάγδην προσθήκη της πυριδίνης (8 mmol, 0.65 mL) και του πενταφθοροπροπιονικού ανυδρίτη $(\text{CF}_3\text{CF}_2\text{CO})_2\text{O}$ (6 mmol, 1.2 mL) στους 0°C υπό ατμόσφαιρα αργού. Μετά από 2.5 ώρες ανάδευσης στους 0°C , προστίθεται πάγος και η ανάδευση συνεχίζεται για 30 λεπτά. Αφού γίνει διαχωρισμός των δύο φάσεων, η οργανική στιβάδα εκχυλίζεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl, ξηραίνεται με άνυδρο Na_2SO_4 και ο διαλύτης συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Ακολουθεί καθαρισμός με χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 95/5.

Κίτρινο στερεό. Απόδοση 11% (25 mg), σ.τ.: $184-186^\circ\text{C}$, R_f (7)= 0,4.

^1H NMR (CDCl_3): δ 8.00-7.00 (m, 9H, arom), 3.47 (s, 2H, PhCH_2CO), 2.80-2.10 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2\text{CO}$), 2.10-1.50 (m, 4H, CH_2).

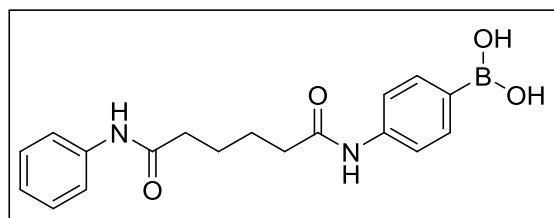
^{13}C NMR (CDCl_3): δ 196.2 (t, J = 26.1 Hz, COC_2F_5), 172.6 (CONH), 171.6 (CONH), 130.7 (arom), 129.4 (arom), 128.6 (arom), 128.3 (arom), 123.9 (arom), 119.8 (arom), 119.6 (arom), 117.8 (qt, J_1 = 284.9 Hz, J_2 = 34.1 Hz, CF_3), 113.3 (arom), 106.9 (tq, J_1 = 265.6 Hz, J_2 = 37.9 Hz, CF_2), 36.4 (CH_2), 30.6 (CH_2), 29.5 (CH_2), 24.9 (CH_2), 22.5 (CH_2)

^{19}F NMR (CDCl_3): δ -83.4 (CF_3), -121.9 (CF_2).

MS (ESI) m/z (%): 455.09 [(M-H) $^-$, 100] (Exact Mass: 456.15).

HRMS 455.1406 (M-H) $^-$, (455.1400).

(4-(6-Οξο-6-(φαινυλαμινο)εξαναμιδο)φαινυλο)βορονικό οξύ (117)



Σε αναδευόμενο διάλυμα του εστέρα **116** (1 mmol, 422 mg) σε THF (30 mL) προστίθεται υδατικό διάλυμα HCl 1N (30 mL) και το μίγμα αφήνεται για 24 ώρες. Αφού συμπυκνωθεί ο διαλύτης υπό ελαττωμένη πίεση, προστίθεται CH_2Cl_2 το οποίο εκπλένεται με H_2O και κορεσμένο διάλυμα NaCl. Το προϊόν πάει στην οργανική στιβάδα, όμως δεν διαλύεται. Επομένως λαμβάνεται μετά από διήθηση και έκπλυση με CH_2Cl_2 .

Λευκό στερεό. Απόδοση 71% (20 mg), σ.τ.: 218-220 °C, R_f (8)= 0,5.

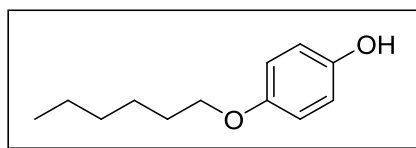
^1H NMR (DMSO): δ 9.94 (s, 1H, NH), 9.90 (s, 1H, NH), 7.93 (m, 2H, arom), 7.69 (d, J = 8.0 Hz, 2H, arom), 7.65-7.40 (m, 2H, arom), 7.40-7.10 (m, 2H, arom), 7.10-6.90 (m, 1H, arom), 4.04 (s, 2H, $\text{B}(\text{OH})_2$), 2.50-2.20 (m, 4H, $2 \times \text{CH}_2\text{CO}$), 1.80-1.50 (m, 4H, CH_2).

^{13}C NMR (DMSO): δ 171.3 (CONH), 171.2 (CONH), 140.9 (arom), 139.3 (arom), 134.8 (arom), 128.6 (arom), 123.0 (arom), 119.2 (arom), 117.9 (arom), 36.4 (CH_2), 25.0 (CH_2).

MS (ESI) m/z (%): 341.24 [(M+H) $^+$, 100] (Exact Mass: 340.16).

HRMS 339.1518 (M-H) $^-$, (339.1522).

4-(Εξυλοξυ)φαινόλη (162)³⁴¹



Σε αναδευόμενο διάλυμα υδροκινόνης (**161**) (1 mmol, 110 mg) και K_2CO_3 (1 mmol, 138 mg) σε DMSO (10 mL), προστίθεται 1-βρωμοεξάνιο (0.5 mmol, 0.07 mL) και το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 24 ώρες υπό N_2 στους 70 °C. Μετά από ψύξη σε θερμοκρασία δωματίου, το μίγμα της αντίδρασης εκχυλίζεται με $CHCl_3$ (3 x 5 mL). Οι οργανικές στιβάδες εκπλένονται με H_2O (6 x 10 mL) και ακολουθεί ξήρανση με άνυδρο Na_2SO_4 και εξάτμιση του διαλύτη υπό ελαττωμένη πίεση. Το προϊόν λαμβάνεται μετά από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης, χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης: PE/AcOEt 9/1.

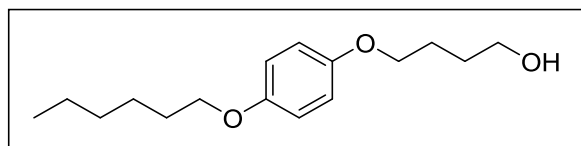
Λευκό στερεό. Απόδοση 21% (4.79 g), σ. τ.: 43-45 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 44-47 °C,³⁴¹ R_f (3) = 0,7.

1H NMR ($CDCl_3$): δ 7.00-6.50 (m, 4H, arom), 3.90 (t, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2), 1.76 (quintet, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2), 1.60-1.10 (m, 6H, CH_2), 0.92 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR ($CDCl_3$): δ 152.7 (arom), 149.5 (arom), 116.0 (arom), 115.6 (arom), 68.8 (OCH_2), 31.5 (CH_2), 29.1 (CH_2), 25.6 (CH_2), 22.5 (CH_2), 13.9 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 193.20 [$(M-H)^-$, 25] (Exact Mass: 194.13).

4-(4-(Εξυλοξυ)φαινοξυ)βουταν-1-όλη (164)



Σε αναδευόμενο διάλυμα του 4-(4-(εξυλοξυ)φαινοξυ)βουτανοϊκού αιθυλεστέρα (**163**) (1.0 mmol, 308 mg) σε ξηρό THF (3.3 mL) προστίθεται στάγδην διάλυμα 1.0 M $LiAlH_4$ σε THF (1.1 mL, 1.1 mmol) υπό ατμόσφαιρα N_2 και το μίγμα

αναρρέει επί 4 ώρες. Αφού ψυχθεί σε θερμοκρασία δωματίου, προστίθεται στάγδην HCl 1 N (4.4 mL, 4.4 mmol) και το μίγμα αναδεύεται για 1 ώρα. Ο διαλύτης εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση και προστίθενται AcOEt και H₂O. Η υδατική στιβάδα διαχωρίζεται και εκπλένεται με EtOAc. Οι συνδυασμένες οργανικές στιβάδες εκπλένονται με κορεσμένο διάλυμα NaCl και ξηραίνονται με άνυδρο Na₂SO₄. Ο διαλύτης απομακρύνεται και το προϊόν παραλαμβάνεται μετά από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης, χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης: PE/AcOEt 6/4.

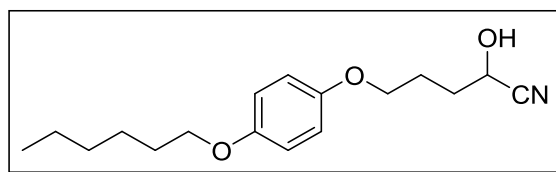
Λευκό στερεό. Απόδοση 65% (4.32g), σ. τ.: 49-51 °C, R_f (5)= 0,2.

¹H NMR (CDCl₃): δ 6.80-6.60 (m, 4H, arom), 3.79 (t, J = 7.0 Hz, 2H, OCH₂), 3.75 (t, J = 7.0 Hz, 2H, OCH₂), 3.54 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH₂OH), 3.06 (bs, 1H, OH), 1.80-1.40 (m, 6H, CH₂), 1.40-1.10 (m, 6H, CH₂), 0.78 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃): δ 152.9 (arom), 152.6 (arom), 115.0 (arom), 68.2 (OCH₂), 68.0 (OCH₂), 61.8 (CH₂OH), 31.3 (CH₂), 29.0 (CH₂), 25.6 (CH₂), 25.4 (CH₂), 22.3 (CH₂), 20.6 (CH₂), 13.8 (CH₃).

MS (ESI) m/z (%): 267.25 [(M+H)⁺, 99] (Exact Mass: 266.19).

5-(4-(Εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-υδροξυπεντανενιτρίλιο (165)



Σε αναδευόμενο διάλυμα της 4-(4-(εξυλοξυ)φαινοξυ)βουταν-1-όλης (**164**) (1 mmol, 266 mg) σε μίγμα AcOEt (3 mL) και τολουολίου (3 mL) προστίθεται διάλυμα NaBr (1.1 mmol, 113 mg) σε H₂O (0.5 mL), καθώς και AcNH-TEMPO (0.1 mmol, 21 mg), υπό θερμοκρασία περίπου -4 °C. Κατά τη διάρκεια της επόμενης μίας ώρας προστίθεται στάγδην διάλυμα NaHCO₃ (3 mmol, 253 mg) και NaOCl (1.1 mmol, 2.2 mL, 0.35 M) σε H₂O και έπειτα λαμβάνουν χώρα εκχυλίσες με 5% KI σε 5% κιτρικό οξύ, 10% Na₂S₂O₃ και κορεσμένο διάλυμα NaCl. Ακολουθούν ξήρανση με άνυδρο Na₂SO₄, συμπύκνωση του διαλύτη

υπό ελαττωμένη πίεση και το προϊόν που παραλαμβάνεται χρησιμοποιείται κατ' ευθείαν στην επόμενη αντίδραση.

Σε αναδευόμενο διάλυμα της αλδεΐδης (1 mmol, 264 mg) σε CH_2Cl_2 (1.25 mL) προστίθεται διάλυμα NaHSO_3 (156 mg, 1,5 mmol) σε H_2O (0.25 mL) και το μίγμα αναδεύεται έντονα για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Ο οργανικός διαλύτης εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση, προστίθεται H_2O και το μίγμα ψύχεται στους 0°C . Στη συνέχεια προστίθεται στάγδην διάλυμα KCN (98 mg, 1.5 mmol) σε H_2O (0.25 mL) μέσα σε διάστημα 3.5 ωρών και το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση επί 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί εκχύλιση με CH_2Cl_2 (2 x 5 mL) και οι οργανικές στιβάδες εκπλένονται με κορεσμένο διάλυμα NaCl και ξηραίνονται με άνυδρο Na_2SO_4 . Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση και το προϊόν καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιώντας PE/AcOEt ως σύστημα έκλουσης.

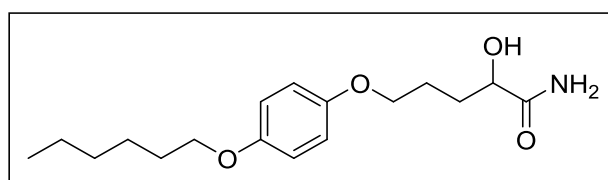
Άχρωμο έλαιο. Απόδοση 45% (1.93g), R_f (4)= 0,3.

^1H NMR (CDCl_3): δ 6.90-6.70 (m, 4H, arom), 4.55 (t, $J = 7.0$ Hz, 1H, CHOH), 3.94 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, OCH_2), 3.89 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, OCH_2), 2.10-1.90 (m, 4H, CH_2), 1.74 (quintet, $J = 7.0$ Hz, 2H, CH_2), 1.60-1.20 (m, 6H, CH_2), 0.89 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 153.4 (arom), 152.3 (arom), 119.9 (CN), 115.4 (arom), 68.6 (OCH_2), 67.7 (OCH_2), 60.8 (CHOH), 32.3 (CH_2), 31.5 (CH_2), 29.2 (CH_2), 25.6 (CH_2), 24.6 (CH_2), 22.5 (CH_2), 14.0 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 309.24 [$(\text{M}+\text{NH}_4)^+$, 100] (Exact Mass: 291.18).

5-(4-(Εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-υδροξυπενταναμίδιο (166)



Διάλυμα του 5-(4-(εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-υδροξυπενταναμίδιου (**165**) (1.0 mmol, 291 mg) σε πυκνό HCl (2.5 mL) αναδεύεται για 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια προστίθεται H_2O και το υδατικό διάλυμα

εκχυλίζεται με CHCl_3 (3 x 15 mL). Οι οργανικές στιβάδες εκπλένονται με κορεσμένο διάλυμα NaCl και ξηραίνονται με άνυδρο Na_2SO_4 . Ο οργανικός διαλύτης εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση και το προκύπτον 2-υδροξυαμιδίο καταβυθίζεται με Et_2O .

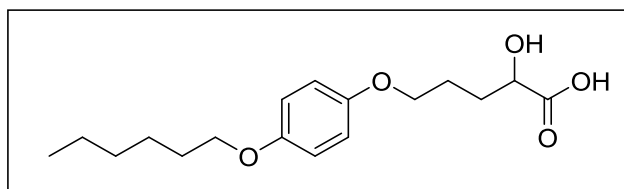
Λευκό στερεό. Απόδοση 65% (1.30 g), σ.τ.: 146-148 °C, R_f (8)= 0,3.

^1H NMR (CDCl_3): δ 6.90-6.70 (m, 4H, arom), 6.58 (bs, 1H, NH), 5.48 (bs, 1H, NH), 4.30-4.10 (m, 1H, CHOH), 3.98 (t, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2), 3.89 (t, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2), 2.10-1.50 (m, 6H, CH_2), 1.50-1.20 (m, 6H, CH_2), 0.89 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 172.6 (CO), 153.2 (arom), 152.6 (arom), 115.3 (arom), 71.1 (CHOH), 68.6 (OCH_2), 68.3 (OCH_2), 31.4 (CH_2), 31.1 (CH_2), 29.1 (CH_2), 25.5 (CH_2), 25.0 (CH_2), 22.4 (CH_2), 13.8 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 310.30 [$(\text{M}+\text{H})^+$, 100] (Exact Mass: 309.19).

5-(4-(Εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-υδροξυπεντανοϊκό οξύ (167)



Σε διάλυμα του 5-(4-(εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-υδροξυπεντανοϊδίου (**166**) (1.0 mmol, 309 mg) σε μίγμα $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$ (2/1, 10 mL), προστίθεται KOH (0.56 g, 10.0 mmol) και το μίγμα της αντίδρασης αναρρέει για 4 ώρες. Έπειτα από ψύξη, η EtOH απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση, προστίθεται H_2O και το υδατικό διάλυμα οξινίζεται με πυκνό H_2SO_4 μέχρι pH 1. Ακολουθούν εκχυλίσσεις με Et_2O (3 x 5 mL) και οι οργανικές στιβάδες εκπλένονται με κορεσμένο διάλυμα NaCl και ξηραίνονται με άνυδρο Na_2SO_4 . Ο οργανικός διαλύτης εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση και το προϊόν παραλαμβάνεται μετά από ανακρυστάλλωση με CHCl_3/PE .

Λευκό στερεό. Απόδοση 100% (1.37 g), σ.τ.: 102-104 °C, R_f (8)= 0,1.

^1H NMR (CDCl_3): δ 6.90-6.60 (m, 4H, arom), 4.92 (bs, 1H, OH), 4.30-4.00 (m, 1H, CHOH), 3.85 (t, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2), 3.80 (t, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2), 2.00-1.50 (m, 6H, CH_2), 1.50-1.10 (m, 6H, CH_2), 0.80 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH_3).

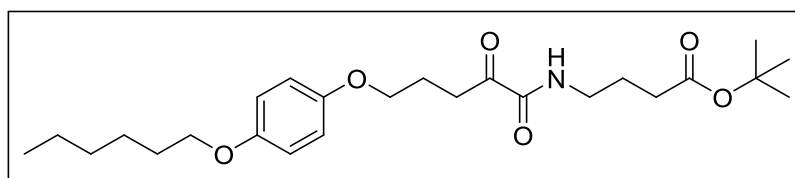
^{13}C NMR (CDCl_3): δ 176.8 (CO), 153.1 (arom), 152.7 (arom), 115.2 (arom), 69.8 (CHOH), 68.5 (OCH_2), 68.0 (OCH_2), 31.4 (CH_2), 30.6 (CH_2), 29.1 (CH_2), 25.5 (CH_2), 24.8 (CH_2), 22.4 (CH_2), 13.8 (CH_3).

MS (ESI) m/z (%): 309.32 [$(\text{M}-\text{H})^-$, 100] (Exact Mass: 310.18).

Γενική μέθοδος οξείδωσης με το αντιδραστήριο Dess-Martin

Σε διάλυμα του 2-υδροξυαμιδίου (1 mmol) σε άνυδρο CH_2Cl_2 (10 mL) προστίθεται αντιδραστήριο Dess-Martin (0.64 g, 1.5 mmol) και το μίγμα αναδεύεται για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Ο διαλύτης εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση και ακολουθεί καθαρισμός με χρωματογραφία στήλης.

4-(5-(4-(Εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-οξοπενταναμιδο)βουτανοϊκός *tert*-βουτυλεστέρας (170)



Υποκίτρινο στερεό. Απόδοση 84% (175 mg), σ.τ.: 55-57 °C, R_f (8)= 0,8..

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 95/5.

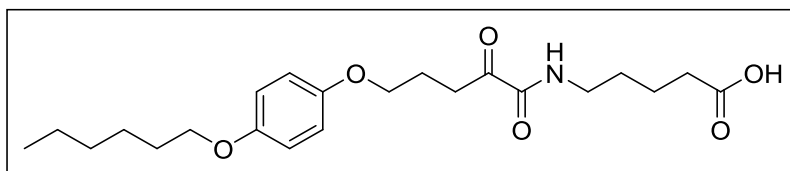
^1H NMR (CDCl_3): δ 7.20 (t, J = 7.0 Hz, 1H, NH), 7.00-6.60 (m, 4H, arom), 3.89 (t, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2), 3.84 (t, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2), 3.28 (q, J = 7.0 Hz, 2H, NHCH_2), 3.07 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2COCO), 2.23 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2COO), 2.03 (quintet, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2), 1.88 (quintet, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2), 1.79 (quintet, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2), 1.70-1.60 (m, 2H, CH_2), 1.40 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.30-1.10 (m, 4H, CH_2), 0.86 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 198.4 (COCONH), 172.1 (COO), 160.1 (COCONH), 153.2 (arom), 152.5 (arom), 115.2 (arom), 80.4 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 68.4 (OCH_2), 67.0

(OCH₂), 38.6 (NHCH₂), 33.5 (CH₂), 32.6 (CH₂), 31.4 (CH₂), 29.2 (CH₂), 27.9 (C(CH₃)₃), 25.6 (CH₂), 24.3 (CH₂), 23.3 (CH₂), 22.5 (CH₂), 13.9 (CH₃).

MS (ESI) m/z (%): 448.25 [(M-H)⁻, 100] (Exact Mass: 449.28).

5-(5-(4-(Εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-οξοπενταναμιδο)πεντανοϊκό οξύ (174)



Λευκό στερεό. Απόδοση 76% (61mg), σ.τ.: 91-93 °C, R_f (8)= 0,5.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία σήλης: CHCl₃/MeOH 95/5.

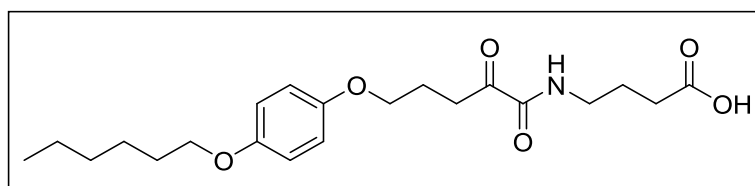
¹H NMR (DMSO): δ 8.61 (t, J = 7.0 Hz, 1H, NH), 7.00-6.60 (m, 4H, arom), 3.88 (t, J = 7.0 Hz, 2H, OCH₂), 3.86 (t, J = 7.0 Hz, 2H, OCH₂), 3.09 (q, J = 7.0 Hz, 2H, NHCH₂), 2.94 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH₂COCO), 2.20 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH₂COOH), 1.92 (quintet, J = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 1.65 (quintet, J = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 1.50-1.40 (m, 4H, CH₂), 1.40-1.20 (m, 6H, CH₂), 0.86 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (DMSO): δ 198.9 (COCONH), 176.5 (COOH), 161.2 (COCONH), 152.8 (arom), 152.4 (arom), 115.4 (arom), 67.9 (OCH₂), 67.1 (OCH₂), 40.6 (NHCH₂), 33.7 (CH₂), 33.4 (CH₂), 31.1 (CH₂), 28.9 (CH₂), 28.3 (CH₂), 25.3 (CH₂), 23.1 (CH₂), 22.2 (CH₂), 22.0 (CH₂), 14.1 (CH₃).

MS (ESI) m/z (%): 406.35 [(M-H)⁻, 100] (Exact Mass: 407.23).

HRMS 406.2171 (M-H)⁻, (406.2235).

4-(5-(4-(Εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-οξοπενταναμιδο)βουτανοϊκό οξύ (171)



Διάλυμα του 4-(5-(4-(εξυλοξυ)φαινοξυ)-2-οξοπενταναμιδο)βουτανοϊκού *tert*-βουτυλεστέρα **170** (450 mg, 1 mmol) σε 50% TFA/CH₂Cl₂ (2 mL) αναδεύεται για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Ο οργανικός διαλύτης εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση και το προϊόν παραλαμβάνεται με ανακρυστάλλωση με AcOEt/PE.

Λευκό στερεό. Απόδοση 76% (113 mg), σ.τ.: 109-111 °C, R_f (8)= 0,5.

¹H NMR (CDCl₃): δ 7.16 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H, NH), 7.00-6.60 (m, 4H, arom), 3.93 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, OCH₂), 3.88 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, OCH₂), 3.36 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H, NHCH₂), 3.10 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂COCO), 2.40 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂COOH), 2.08 (quintet, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 1.88 (quintet, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 1.73 (quintet, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 1.50-1.00 (m, 6H, CH₂), 0.89 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃): δ 198.5 (COCONH), 178.0 (COOH), 160.3 (COCONH), 153.4 (arom), 152.6 (arom), 115.4 (arom), 68.6 (OCH₂), 67.2 (OCH₂), 38.6 (NHCH₂), 33.6 (CH₂), 31.6 (CH₂), 31.1 (CH₂), 29.3 (CH₂), 25.7 (CH₂), 24.2 (CH₂), 23.4 (CH₂), 22.6 (CH₂), 14.0 (CH₃).

MS (ESI) *m/z* (%): 392.32 [(M-H)⁻, 100] (Exact Mass: 393.22).

HRMS 392.2017 (M-H)⁻, (392.2079).

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

Ακρωνύμια και ανάπτυξή τους

ABP	Activity-based probe
ABTS	2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
Ala	Alanine
AHA	Acetohydroxamic acid
APRI	Aminotransferase/platelet ratio index
ATX	Autotaxin
bis-pNPP	Bis(p-nitrophenyl) phosphate
BOP	(Benzotriazol-1-yloxy)tris(dimethylamino)phosphonium hexafluorophosphate
BuLi	Butyllithium
cAMP	Cyclic adenosine monophosphate
CDI	N,N'-Carbonyldiimidazole
CHO	Chinese hamster ovary
cPLA ₂	Cytosolic Phospholipase A ₂
CTCL	Cutaneous T cell lymphoma
DABCYL	4-(Dimethylaminoazo)benzene-4-carboxylic acid
DFT	Density functional theory
DIC	Diisopropylcarbodiimide
DMSO	Dimethylsulfoxide
EDC	Ethyl-(N',N'-dimethylamino)propylcarbodiimide
ENPP2	Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 2
FDA	Food and Drug Administration
FRET	Fluorescence resonance energy transfer
Glu	Glutamic acid
Gly	Glycine
GPCRs	G protein-coupled receptors
HA	Hyaluronic acid
HBA	Hydrogen bond accertor
HBV	Hepatitis B virus
HBD	Hydrogen bond donor

HCV	Hepatitis C virus
HDACs	Histone deacetylases
HEVs	High endothelial venules
His	Histidine
HIV	Human immunodeficiency virus
HOBt	Hydroxybenzotriazole
HRP	horseradish peroxidase
HTS	High throughput screening
HU	Hydroxyurea
HVA	Homovanillic acid
IC ₅₀	Inhibitory concentration 50
IPF	Idiopathic pulmonary fibrosis
IUP	Intraurethral pressure
LC-MS	Liquid Chromatography–Mass Spectrometry
LPA	Lysophosphatidic acid
LPARs	Lysophosphatidic acid receptors
LPC	Lysophosphatidylcholine
LOX	Lipoxygenase
MEF	Mouse embryo fibroblasts
MMP	Matrix metalloproteinase
NCI	National Cancer Institute
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NUC	Nuclease
PAF	Platelet activating factor
PDE	Phosphodiesterase
PDF	Peptide deformylase
PLA ₂	Phospholipases A ₂
pNP-TMP	Thymidine 5'-monophosphate p-nitrophenyl ester
PSA	Prostate specific antigen
PTSA	p-Toluenesulfonic acid
RNR	Ribonucleotide reductase
ROS	Reactive oxygen species
RTK	Receptor tyrosine kinase

S1P	Sphingosine 1-phosphate
SAHA	Suberoylanilide hydroxamic acid
SAR	Structure-activity relationships
SF	Synovial fibroblast
SMB	Somatomedin
SMN	Survival of motor neuron
SPC	Sphingosylphosphorylcholine
TGF	Transforming growth factor
TG-mTMP	Tokyo green meta-thymidine monophosphate
TSA	Trichostatin A
TNF	Tumor necrosis factor
TMZ	Temozolomide
UC-DDC	University of Cincinnati Drug Discovery Center

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. (a) Stefan, C.; Jansen, S.; Bollen, M. NPP-type ectophosphodiesterases: unity in diversity. *Trends Biochem. Sci.* **2005**, *30*, 542-550; (b) Stracke, M. L.; Krutzsch, H. C.; Unsworth, E. J.; Arestad, A.; Cioce, V.; Schiffmann, E.; Liotta, L. A. Identification, purification, and partial sequence analysis of autotaxin, a novel motility-stimulating protein. *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 2524-2529.
2. (a) Tokumura, A.; Majima, E.; Kariya, Y.; Tominaga, K.; Kogure, K.; Yasuda, K.; Fukuzawa, K. Identification of human plasma lysophospholipase D, a lysophosphatidic acid-producing enzyme, as autotaxin, a multifunctional phosphodiesterase. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 39436-39442; (b) Umezu-Goto, M.; Kishi, Y.; Taira, A.; Hama, K.; Dohmae, N.; Takio, K.; Yamori, T.; Mills, G. B.; Inoue, K.; Aoki, J.; Arai, H. Autotaxin has lysophospholipase D activity leading to tumor cell growth and motility by lysophosphatidic acid production. *J. Cell Biol.* **2002**, *158*, 227-233.
3. (a) Moolenaar, W. H.; van Meeteren, L. A.; Giepmans, B. N. G. The ins and outs of lysophosphatidic acid signaling. *BioEssays* **2004**, *26*, 870-881; (b) Noguchi, K.; Herr, D.; Mutoh, T.; Chun, J. Lysophosphatidic acid (LPA) and its receptors. *Curr. Opin. Pharmacol.* **2009**, *9*, 15-23; (c) Yung, Y. C.; Stoddard, N. C.; Chun, J. LPA receptor signaling: pharmacology, physiology, and pathophysiology. *J. Lipid Res.* **2014**, *55*, 1192-1214.
4. (a) Sciorra, V. A.; Morris, A. J. Roles for lipid phosphate phosphatases in regulation of cellular signaling. *BBA – Mol. Cell Biol. L.* **2002**, *1582*, 45-51; (b) Brindley, D. N.; Pilquil, C. Lipid phosphate phosphatases and signaling. *J. Lipid Res.* **2009**, *50*, S225-S230.
5. Nishimasu, H.; Ishitani, R.; Aoki, J.; Nureki, O. A 3D view of autotaxin. *Trends Pharmacol. Sci.* **2012**, *33*, 138-145.
6. Giganti, A.; Rodriguez, M.; Fould, B.; Moulharat, N.; Cogé, F.; Chomarat, P.; Galizzi, J.-P.; Valet, P.; Saulnier-Blache, J.-S.; Boutin, J. A.; Ferry, G. Murine and human autotaxin α , β , and γ Isoforms: Gene organization, tissue distribution, and biochemical characterization. *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, 7776-7789.
7. Hashimoto, T.; Okudaira, S.; Igarashi, K.; Hama, K.; Yatomi, Y.; Aoki, J. Identification and biochemical characterization of a novel autotaxin isoform, ATX δ , with a four-amino acid deletion. *J. Biochem.* **2012**, *151*, 89-97.
8. Barbayianni, E.; Kaffe, E.; Aidinis, V.; Kokotos, G. Autotaxin, a secreted lysophospholipase D, as a promising therapeutic target in chronic inflammation and cancer. *Prog. Lipid Res.* **2015**, *58*, 76-96.
9. Houben, A. J. S.; van Wijk, X. r. M. R.; van Meeteren, L. A.; van Zeijl, L.; van de Westerloo, E. M. A.; Hausmann, J.; Fish, A.; Perrakis, A.; van Kuppevelt, T. H.; Moolenaar, W. H. The polybasic insertion in autotaxin α confers specific binding to heparin and cell surface heparan sulfate proteoglycans. *J. Biol. Chem.* **2013**, *288*, 510-519.

10. (a) Nishimasu, H.; Okudaira, S.; Hama, K.; Mihara, E.; Dohmae, N.; Inoue, A.; Ishitani, R.; Takagi, J.; Aoki, J.; Nureki, O. Crystal structure of autotaxin and insight into GPCR activation by lipid mediators. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2011**, *18*, 205-212; (b) Hausmann, J.; Kamtekar, S.; Christodoulou, E.; Day, J. E.; Wu, T. D.; Fulkerson, Z.; Albers, H. M. H. G.; van Meeteren, L. A.; Houben, A. J. S.; van Zeijl, L.; Jansen, S.; Andries, M.; Hall, T.; Pegg, L. E.; Benson, T. E.; Kasiem, M.; Harlos, K.; Kooi, C. W. V.; Smyth, S. S.; Ovaa, H.; Bollen, M.; Morris, A. J.; Moolenaar, W. H.; Perrakis, A. Structural basis of substrate discrimination and integrin binding by autotaxin. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2011**, *18*, 198-204.
11. Leavesley, D. I.; Kashyap, A. S.; Croll, T.; Sivaramakrishnan, M.; Shokohmand, A.; Hollier, B. G.; Upton, Z. Vitronectin - master controller or micromanager? *IUBMB Life* **2013**, *65*, 807-818.
12. (a) Fulkerson, Z.; Wu, T. D.; Sunkara, M.; Kooi, C. V.; Morris, A. J.; Smyth, S. S. Binding of autotaxin to integrins localizes lysophosphatidic acid production to platelets and mammalian cells. *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 34654-34663; (b) Pamuklar, Z.; Federico, L.; Liu, S.; Umez-Goto, M.; Dong, A.; Panchatcharam, M.; Fulkerson, Z.; Berdyshev, E.; Natarajan, V.; Fang, X.; van Meeteren, L. A.; Moolenaar, W. H.; Mills, G. B.; Morris, A. J.; Smyth, S. S. Autotaxin/lysopholipase D and lysophosphatidic acid regulate murine hemostasis and thrombosis. *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 7385-7394.
13. Gijssbers, R.; Aoki, J.; Arai, H.; Bollen, M. The hydrolysis of lysophospholipids and nucleotides by autotaxin (NPP2) involves a single catalytic site. *FEBS Lett.* **2003**, *538*, 60-64.
14. Barbayianni, E.; Magrioti, V.; Moutevelis-Minakakis, P.; Kokotos, G. Autotaxin inhibitors: a patent review. *Expert Opin. Ther. Patents* **2013**, *23*, 1123-1132.
15. Jansen, S.; Andries, M.; Derua, R.; Waelkens, E.; Bollen, M. Domain interplay mediated by an essential disulfide linkage is critical for the activity and secretion of the metastasis-promoting enzyme autotaxin. *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 14296-14302.
16. Yuelling, L. M.; Fuss, B. Autotaxin (ATX): A multi-functional and multi-modular protein possessing enzymatic lysoPLD activity and matricellular properties. *BBA – Mol. Cell Biol. L.* **2008**, *1781*, 525-530.
17. Lee, J.; Jung, I. D.; Nam, S. W.; Clair, T.; Jeong, E. M.; Hong, S. Y.; Han, J. W.; Lee, H. W.; Stracke, M. L.; Lee, H. Y. Enzymatic activation of autotaxin by divalent cations without EF-hand loop region involvement. *Biochem. Pharmacol.* **2001**, *62*, 219-224.
18. Clair, T.; Aoki, J.; Koh, E.; Bandle, R. W.; Nam, S. W.; Ptaszynska, M. M.; Mills, G. B.; Schiffmann, E.; Liotta, L. A.; Stracke, M. L. Autotaxin hydrolyzes sphingosylphosphorylcholine to produce the regulator of migration, sphingosine-1-phosphate. *Cancer Res.* **2003**, *63*, 5446-5453.
19. Tanaka, M.; Okudaira, S.; Kishi, Y.; Ohkawa, R.; Iseki, S.; Ota, M.; Noji, S.; Yatomi, Y.; Aoki, J.; Arai, H. Autotaxin stabilizes blood vessels and is required for embryonic vasculature by producing lysophosphatidic Acid. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 25822-25830.

20. Mizugishi, K.; Yamashita, T.; Olivera, A.; Miller, G. F.; Spiegel, S.; Proia, R. L. Essential role for sphingosine kinases in neural and vascular development. *Mol. Cell. Biol.* **2005**, *25*, 11113-11121.
21. Clair, T.; Lee, H. Y.; Liotta, L. A.; Stracke, M. L. Autotaxin is an exoenzyme possessing 5'-nucleotide phosphodiesterase/ATP pyrophosphatase and ATPase activities. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 996-1001.
22. (a) Bächner, D.; Ahrens, M.; Betat, N.; Schröder, D.; Gross, G. Developmental expression analysis of murine autotaxin (ATX). *Mech. Dev.* **1999**, *84*, 121-125; (b) Ohuchi, H.; Hayashibaral, Y.; Matsuda, H.; Onoi, M.; Mitsumori, M.; Tanaka, M.; Aoki, J.; Arai, H.; Noji, S. Diversified expression patterns of autotaxin, a gene for phospholipid-generating enzyme during mouse and chicken development. *Dev. Dyn.* **2007**, *236*, 1134-1143; (c) van Meeteren, L. A.; Ruurs, P.; Stortelers, C.; Bouwman, P.; van Rooijen, M. A.; Pradère, J. P.; Pettit, T. R.; Wakelam, M. J. O.; Saulnier-Blache, J. S.; Mummery, C. L.; Moolenaar, W. H.; Jonkers, J. Autotaxin, a secreted lysophospholipase D, is essential for Blood vessel formation during development. *Mol. Cell. Biol.* **2006**, *26*, 5015-5022; (d) Fotopoulou, S.; Oikonomou, N.; Grigorieva, E.; Nikitopoulou, I.; Paparountas, T.; Thanassopoulou, A.; Zhao, Z.; Xu, Y.; Kontoyiannis, D. L.; Remboutsika, E.; Aidinis, V. ATX expression and LPA signalling are vital for the development of the nervous system. *Dev. Biol.* **2010**, *339*, 451-464.
23. Offermanns, S.; Mancino, V.; Revel, J.-P.; Simon, M. I. Vascular system defects and impaired cell chemokinesis as a result of Gα13 deficiency. *Science* **1997**, *275*, 533-536.
24. Kanda, H.; Newton, R.; Klein, R.; Morita, Y.; Gunn, M. D.; Rosen, S. D. Autotaxin, an ectoenzyme that produces lysophosphatidic acid, promotes the entry of lymphocytes into secondary lymphoid organs. *Nat. Immunol.* **2008**, *9*, 415-423.
25. Jesionowska, A.; Cecerska-Heryc, E.; Matoszka, N.; Dolegowska, B. Lysophosphatidic acid signaling in ovarian cancer. *J. Recept. Signal Transd.* **2015**, *35*, 578-584.
26. (a) Choi, J. W.; Herr, D. R.; Noguchi, K.; Yung, Y. C.; Lee, C. W.; Mutoh, T.; Lin, M. E.; Teo, S. T.; Park, K. E.; Mosley, A. N.; Chun, J., LPA receptors: Subtypes and biological actions. In *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2010; Vol. 50, pp 157-186; (b) Aoki, J.; Inoue, A.; Okudaira, S. Two pathways for lysophosphatidic acid production. *BBA – Mol. Cell Biol. L.* **2008**, *1781*, 513-518; (c) van Meeteren, L. A.; Moolenaar, W. H. Regulation and biological activities of the autotaxin–LPA axis. *Prog. Lipid Res.* **2007**, *46*, 145-160; (d) Sevastou, I.; Kaffé, E.; Mouratis, M.-A.; Aidinis, V. Lysoglycerophospholipids in chronic inflammatory disorders: The PLA₂/LPC and ATX/LPA axes. *BBA – Mol. Cell Biol. L.* **2013**, *1831*, 42-60.
27. (a) Dorsam, R. T.; Gutkind, J. S. G-protein-coupled receptors and cancer. *Nat. Rev. Cancer* **2007**, *7*, 79-94; (b) McCudden, C. R.; Hains, M. D.; Kimple, R. J.; Siderovski, D. P.; Willard, F. S. G-protein signaling: back to the future. *Cell. Mol. Life Sci.* **2005**, *62*, 551-577.

28. Hammack, B. N.; Fung, K. Y. C.; Hunsucker, S. W.; Duncan, M. W.; Burgoon, M. P.; Owens, G. P.; Gilden, D. H. Proteomic analysis of multiple sclerosis cerebrospinal fluid. *Mult. Scler.* **2004**, *10*, 245-260.
29. Umemura, K.; Yamashita, N.; Yu, X.; Arima, K.; Asada, T.; Makifuchi, T.; Murayama, S.; Saito, Y.; Kanamaru, K.; Goto, Y.; Kohsaka, S.; Kanazawa, I.; Kimura, H. Autotaxin expression is enhanced in frontal cortex of Alzheimer-type dementia patients. *Neurosci. Lett.* **2006**, *400*, 97-100.
30. Savaskan, N. E.; Rocha, L.; Kotter, M. R.; Baer, A.; Lubec, G.; Meeteren, L. A.; Kishi, Y.; Aoki, J.; Moolenaar, W. H.; Nitsch, R.; Bräuer, A. U. Autotaxin (NPP-2) in the brain: cell type-specific expression and regulation during development and after neurotrauma. *Cell. Mol. Life Sci.* **2006**, *64*, 230-243.
31. Nakasaki, T.; Tanaka, T.; Okudaira, S.; Hirosawa, M.; Umemoto, E.; Otani, K.; Jin, S.; Bai, Z.; Hayasaka, H.; Fukui, Y.; Aozasa, K.; Fujita, N.; Tsuruo, T.; Ozono, K.; Aoki, J.; Miyasaka, M. Involvement of the lysophosphatidic acid-generating enzyme autotaxin in lymphocyte-endothelial cell interactions. *Am. J. Pathol.* **2008**, *173*, 1566-1576.
32. Oikonomou, N.; Mouratis, M.-A.; Tzouveleakis, A.; Kaffe, E.; Valavanis, C.; Vilaras, G.; Karameris, A.; Prestwich, G. D.; Bouros, D.; Aidinis, V. Pulmonary autotaxin expression contributes to the pathogenesis of pulmonary fibrosis. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* **2012**, *47*, 566-574.
33. Nikitopoulou, I.; Oikonomou, N.; Karouzakis, E.; Sevastou, I.; Nikolaidou-Katsaridou, N.; Zhao, Z.; Mersinias, V.; Armaka, M.; Xu, Y.; Masu, M.; Mills, G. B.; Gay, S.; Kollias, G.; Aidinis, V. Autotaxin expression from synovial fibroblasts is essential for the pathogenesis of modeled arthritis. *J. Exp. Med.* **2012**, *209*, 925-933.
34. Hansson, G. K., Regulation of immune mechanisms in atherosclerosis. In *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2001; Vol. 947, pp 157-166.
35. Libby, P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* **2002**, *420*, 868-874.
36. Bhatt, D. L.; Gabriel Steg, P.; Magnus Ohman, E.; Hirsch, A. T.; Ikeda, Y.; Mas, J. L.; Goto, S.; Liao, C. S.; Richard, A. J.; Röther, J.; Wilson, P. W. F. International prevalence, recognition, and treatment of cardiovascular risk factors in outpatients with atherothrombosis. *J. Am. Med. Assoc.* **2006**, *295*, 180-189.
37. Tokumura, A.; Fukuzawa, K.; Tsukatani, H. Effects of synthetic and natural lysophosphatidic acids on the arterial blood pressure of different animal species. *Lipids* **1978**, *13*, 572-574.
38. Chen, X.; Yang, X. Y.; Wang, N. D.; Ding, C.; Yang, Y. J.; You, Z. J.; Su, Q.; Chen, J. H. Serum lysophosphatidic acid concentrations measured by dot immunogold filtration assay in patients with acute myocardial infarction. *Scand. J. Clin. Lab. Investig.* **2003**, *63*, 497-503.
39. Siess, W.; Zangl, K. J.; Essler, M.; Bauer, M.; Brandl, R.; Corrinth, C.; Bittman, R.; Tigyi, G.; Aepfelbacher, M. Lysophosphatidic acid mediates the rapid activation of platelets and endothelial cells by mildly oxidized low density lipoprotein and accumulates in human atherosclerotic lesions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1999**, *96*, 6931-6936.

40. Tokumura, A.; Kanaya, Y.; Kitahara, M.; Miyake, M.; Yoshioka, Y.; Fukuzawa, K. Increased formation of lysophosphatidic acids by lysophospholipase D in serum of hypercholesterolemic rabbits. *J. Lipid Res.* **2002**, *43*, 307-315.
41. Zhou, Z.; Subramanian, P.; Sevilimis, G.; Globke, B.; Soehnlein, O.; Karshovska, E.; Megens, R.; Heyll, K.; Chun, J.; Saulnier-Blache, J. S.; Reinholz, M.; van Zandvoort, M.; Weber, C.; Schober, A. Lipoprotein-derived lysophosphatidic acid promotes atherosclerosis by releasing CXCL1 from the endothelium. *Cell Metab.* **2011**, *13*, 592-600.
42. (a) Valet, P.; Pagès, C.; Jeanneton, O.; Daviaud, D.; Barbe, P.; Record, M.; Saulnier-Blache, J. S.; Lafontan, M. Alpha2-adrenergic receptor-mediated release of lysophosphatidic acid by adipocytes. A paracrine signal for preadipocyte growth. *J. Clin. Invest.* **1998**, *101*, 1431-1438; (b) Pagès, C.; Girard, A.; Jeanneton, O.; Barbe, P.; Wolf, C.; Lafontan, M.; Valet, P.; Saulnier-Blache, J. S., LPA as a paracrine mediator of adipocyte growth and function. In *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2000; Vol. 905, pp 159-164.
43. Ferry, G.; Tellier, E.; Try, A.; Grès, S.; Naime, I.; Simon, M. F.; Rodriguez, M.; Boucher, J.; Tack, I.; Gesta, S.; Chomarat, P.; Dieu, M.; Raes, M.; Galizzi, J. P.; Valet, P.; Boutin, J. A.; Saulnier-Blache, J. S. Autotaxin is released from adipocytes, catalyzes lysophosphatidic acid synthesis, and activates preadipocyte proliferation: up-regulated expression with adipocyte differentiation and obesity. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 18162-18169.
44. Boucher, J.; Quilliot, D.; Pradères, J. P.; Simon, M. F.; Grès, S.; Guigné, C.; Prévot, D.; Ferry, G.; Boutin, J. A.; Carpené, C.; Valet, P.; Saulnier-Blache, J. S. Potential involvement of adipocyte insulin resistance in obesity-associated up-regulation of adipocyte lysophospholipase D/autotaxin expression. *Diabetologia* **2005**, *48*, 569-577.
45. Rancoule, C.; Dusaulcy, R.; Tréguer, K.; Grès, S.; Guigné, C.; Quilliot, D.; Valet, P.; Saulnier-Blache, J. S. Depot-specific regulation of autotaxin with obesity in human adipose tissue. *J. Physiol. Biochem.* **2012**, *68*, 635-644.
46. McInnes, I. B.; Schett, G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N. Engl. J. Med.* **2011**, *365*, 2205-2219.
47. (a) Sevastou, I.; Kaffé, E.; Mouratis, M.-A.; Aidinis, V. Lysoglycerophospholipids in chronic inflammatory disorders: The PLA₂/LPC and ATX/LPA axes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids* **2013**, *1831*, 42-60; (b) Bourgoin, S. G.; Zhao, C. Autotaxin and lysophospholipids in rheumatoid arthritis. *Curr. Opin. Investig. Drugs* **2010**, *11*, 515-526.
48. (a) Zhao, C.; Fernandes, M. J.; Prestwich, G. D.; Turgeon, M.; Di Battista, J.; Clair, T.; Poubelle, P. E.; Bourgoin, S. G. Regulation of lysophosphatidic acid receptor expression and function in human synoviocytes: Implications for rheumatoid arthritis? *Mol. Pharmacol.* **2008**, *73*, 587-600; (b) Orosa, B.; González, A.; Mera, A.; Gómez-Reino, J. J.; Conde, C. Lysophosphatidic acid receptor 1 suppression sensitizes rheumatoid fibroblast-like synoviocytes to tumor necrosis factor-induced apoptosis. *Arthritis. Rheum.* **2012**, *64*, 2460-2470.

49. Aidinis, V.; Carninci, P.; Armaka, M.; Witke, W.; Harokopos, V.; Pavelka, N.; Koczan, D.; Argyropoulos, C.; Thwin, M. M.; Möller, S.; Waki, K.; Gopalakrishnakone, P.; Ricciardi-Castagnoli, P.; Thiesen, H. J.; Hayashizaki, Y.; Kollias, G. Cytoskeletal rearrangements in synovial fibroblasts as a novel pathophysiological determinant of modeled rheumatoid arthritis. *PLoS Genet.* **2005**, *1*.
50. Wynn, T. A. Integrating mechanisms of pulmonary fibrosis. *J. Exp. Med.* **2011**, *208*, 1339-1350.
51. Magkrioti, C.; Aidinis, V. Autotaxin and lysophosphatidic acid signalling in lung pathophysiology. *World J. Respirol.* **2013**, *3*, 77-103.
52. (a) Swaney, J. S.; Chapman, C.; Correa, L. D.; Stebbins, K. J.; Broadhead, A. R.; Bain, G.; Santini, A. M.; Darlington, J.; King, C. D.; Baccei, C. S.; Lee, C.; Parr, T. A.; Roppe, J. R.; Seiders, T. J.; Ziff, J.; Prasit, P.; Hutchinson, J. H.; Evans, J. F.; Lorrain, D. S. Pharmacokinetic and pharmacodynamic characterization of an oral lysophosphatidic acid type 1 receptor-selective antagonist. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2011**, *336*, 693-700; (b) Swaney, J. S.; Chapman, C.; Correa, L. D.; Stebbins, K. J.; Bunday, R. A.; Prodanovich, P. C.; Fagan, P.; Baccei, C. S.; Santini, A. M.; Hutchinson, J. H.; Seiders, T. J.; Parr, T. A.; Prasit, P.; Evans, J. F.; Lorrain, D. S. A novel, orally active LPA1 receptor antagonist inhibits lung fibrosis in the mouse bleomycin model. *Br. J. Pharmacol.* **2010**, *160*, 1699-1713.
53. Friedman, S. L. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology* **2008**, *134*, 1655-1669.
54. (a) Kremer, A. E.; Martens, J. J.; Kulik, W.; Ruëff, F.; Kuiper, E. M.; van Buuren, H. R.; van Erpecum, K. J.; Kondrackiene, J.; Prieto, J.; Rust, C.; Geenes, V. L.; Williamson, C.; Moolenaar, W. H.; Beuers, U.; Oude Elferink, R. P. Lysophosphatidic acid is a potential mediator of cholestatic pruritus. *Gastroenterology* **2010**, *139*, 1018.e1011-1018; (b) Kremer, A. E.; van Dijk, R.; Leckie, P.; Schaap, F. G.; Kuiper, E. M.; Mettang, T.; Reiners, K. S.; Raap, U.; van Buuren, H. R.; van Erpecum, K. J.; Davies, N. A.; Rust, C.; Engert, A.; Jalan, R.; Oude Elferink, R. P.; Beuers, U. Serum autotaxin is increased in pruritus of cholestasis, but not of other origin, and responds to therapeutic interventions. *Hepatology* **2012**, *56*, 1391-1400.
55. (a) Schlatzer, D. M.; Sugalski, J. M.; Chen, Y.; Barnholtz-Sloan, J.; Davitkov, P.; Hazlett, F. E.; Funderburg, N.; Rodriguez, B.; Lederman, M. M.; Sieg, S. F.; Chance, M. R.; Anthony, D. D. Plasma proteome analysis reveals overlapping, yet distinct mechanisms of immune activation in chronic HCV and HIV infections. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **2013**, *63*, 563-571; (b) Cooper, A. B.; Wu, J.; Lu, D.; Maluccio, M. A. Is autotaxin (ENPP2) the link between hepatitis C and hepatocellular cancer? *J. Gastrointest. Surg.* **2007**, *11*, 1628-1635; (c) Watanabe, N.; Ikeda, H.; Nakamura, K.; Ohkawa, R.; Kume, Y.; Aoki, J.; Hama, K.; Okudaira, S.; Tanaka, M.; Tomiya, T.; Yanase, M.; Tejima, K.; Nishikawa, T.; Arai, M.; Arai, H.; Omata, M.; Fujiwara, K.; Yatomi, Y. Both plasma lysophosphatidic acid and serum autotaxin levels are increased in chronic hepatitis C. *J. Clin. Gastroenterol.* **2007**, *41*, 616-623.
56. Nakagawa, H.; Ikeda, H.; Nakamura, K.; Ohkawa, R.; Masuzaki, R.; Tateishi, R.; Yoshida, H.; Watanabe, N.; Tejima, K.; Kume, Y.; Iwai, T.;

- Suzuki, A.; Tomiya, T.; Inoue, Y.; Nishikawa, T.; Ohtomo, N.; Tanoue, Y.; Omata, M.; Igarashi, K.; Aoki, J.; Koike, K.; Yatomi, Y. Autotaxin as a novel serum marker of liver fibrosis. *Clin. Chim. Acta* **2011**, *412*, 1201-1206.
57. Ikeda, H.; Yatomi, Y.; Yanase, M.; Satoh, H.; Nishihara, A.; Kawabata, M.; Fujiwara, K. Effects of lysophosphatidic acid on proliferation of stellate cells and hepatocytes in culture. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1998**, *248*, 436-440.
58. Ikeda, H.; Nagashima, K.; Yanase, M.; Tomiya, T.; Arai, M.; Inoue, Y.; Tejima, K.; Nishikawa, T.; Omata, M.; Kimura, S.; Fujiwara, K. Involvement of Rho/Rho kinase pathway in regulation of apoptosis in rat hepatic stellate cells. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **2003**, *285*, G880-G886.
59. Samadi, N.; Gaetano, C.; Goping, I. S.; Brindley, D. N. Autotaxin protects MCF-7 breast cancer and MDA-MB-435 melanoma cells against Taxol-induced apoptosis. *Oncogene* **2009**, *28*, 1028-1039.
60. Su, S.-C.; Hu, X.; Kenney, P. A.; Merrill, M. M.; Babaian, K. N.; Zhang, X.-Y.; Maity, T.; Yang, S.-F.; Lin, X.; Wood, C. G. Autotaxin-lysophosphatidic acid signaling axis mediates tumorigenesis and development of acquired resistance to sunitinib in renal cell carcinoma. *Clin. Cancer Res.* **2013**, *19*, 6461-6472.
61. Shuyu, E.; Lai, Y. J.; Tsukahara, R.; Chen, C. S.; Fujiwara, Y.; Yue, J.; Yu, J. H.; Guo, H.; Kihara, A.; Tigyi, G.; Lin, F. T. Lysophosphatidic acid 2 receptor-mediated supramolecular complex formation regulates its antiapoptotic effect. *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 14558-14571.
62. Masuda, A.; Nakamura, K.; Izutsu, K.; Igarashi, K.; Ohkawa, R.; Jona, M.; Higashi, K.; Yokota, H.; Okudaira, S.; Kishimoto, T.; Watanabe, T.; Koike, Y.; Ikeda, H.; Kozai, Y.; Kurokawa, M.; Aoki, J.; Yatomi, Y. Serum autotaxin measurement in haematological malignancies: a promising marker for follicular lymphoma. *Br. J. Haematol.* **2008**, *143*, 60-70.
63. Yanai, N.; Matsui, N.; Furusawa, T.; Okubo, T.; Obinata, M. Sphingosine-1-phosphate and lysophosphatidic acid trigger invasion of primitive hematopoietic cells into stromal cell layers. *Blood* **2000**, *96*, 139-144.
64. Li, H.; Yue, R.; Wei, B.; Gao, G.; Du, J.; Pei, G. Lysophosphatidic acid acts as a nutrient-derived developmental cue to regulate early hematopoiesis. *EMBO J.* **2014**, *33*, 1383-1396.
65. Evseenko, D.; Latour, B.; Richardson, W.; Corselli, M.; Sahaghian, A.; Cardinal, S.; Zhu, Y.; Chan, R.; Dunn, B.; Crooks, G. M. Lysophosphatidic acid mediates myeloid differentiation within the human bone marrow microenvironment. *PLoS ONE* **2013**, *8*.
66. (a) Xu, Y.; Shen, Z.; Wiper, D. W.; Wu, M.; Morton, R. E.; Elson, P.; Kennedy, A. W.; Belinson, J.; Markman, M.; Casey, G. Lysophosphatidic acid as a potential biomarker for ovarian and other gynecologic cancers. *JAMA* **1998**, *280*, 719-723; (b) Fang, X.; Schummer, M.; Mao, M.; Yu, S.; Tabassam, F. H.; Swaby, R.; Hasegawa, Y.; Tanyi, J. L.; LaPushin, R.; Eder, A.; Jaffe, R.; Erickson, J.; Mills, G. B. Lysophosphatidic acid is a bioactive mediator in ovarian cancer. *Biochim. Biophys. Acta* **2002**, *1582*, 257-264; (c) Sutphen, R.; Xu, Y.; Wilbanks, G. D.; Fiorica, J.; Grendys, E. C., Jr.; LaPolla, J. P.; Arango,

H.; Hoffman, M. S.; Martino, M.; Wakeley, K.; Griffin, D.; Blanco, R. W.; Cantor, A. B.; Xiao, Y. J.; Krischer, J. P. Lysophospholipids are potential biomarkers of ovarian cancer. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* **2004**, *13*, 1185-1191; (d) Nakamura, K.; Igarashi, K.; Ohkawa, R.; Yokota, H.; Masuda, A.; Nakagawa, S.; Yano, T.; Ikeda, H.; Aoki, J.; Yatomi, Y. Serum autotaxin is not a useful biomarker for ovarian cancer. *Lipids* **2012**, *47*, 927-930; (e) Seo, E. J.; Kwon, Y. W.; Jang, I. H.; Kim, D. K.; Lee, S. I.; Choi, E. J.; Kim, K. H.; Suh, D. S.; Lee, J. H.; Choi, K. U.; Lee, J. W.; Mok, H. J.; Kim, K. P.; Matsumoto, H.; Aoki, J.; Kim, J. H. Autotaxin regulates maintenance of ovarian cancer stem cells through lysophosphatidic acid-mediated autocrine mechanism. *Stem Cells* **2016**, *34*, 551-564.

67. (a) Yamada, T.; Sato, K.; Komachi, M.; Malchinkhuu, E.; Tobo, M.; Kimura, T.; Kuwabara, A.; Yanagita, Y.; Ikeya, T.; Tanahashi, Y.; Ogawa, T.; Ohwada, S.; Morishita, Y.; Ohta, H.; Im, D. S.; Tamoto, K.; Tomura, H.; Okajima, F. Lysophosphatidic acid (LPA) in malignant ascites stimulates motility of human pancreatic cancer cells through LPA1. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 6595-6605; (b) Nakai, Y.; Ikeda, H.; Nakamura, K.; Kume, Y.; Fujishiro, M.; Sasahira, N.; Hirano, K.; Isayama, H.; Tada, M.; Kawabe, T.; Komatsu, Y.; Omata, M.; Aoki, J.; Koike, K.; Yatomi, Y. Specific increase in serum autotaxin activity in patients with pancreatic cancer. *Clin. Biochem.* **2011**, *44*, 576-581.

68. Zhang, G.; Zhao, Z.; Xu, S.; Ni, L.; Wang, X. Expression of autotaxin mRNA in human hepatocellular carcinoma. *Chin. Med. J.* **1999**, *112*, 330-332.

69. Sasagawa, T.; Okita, M.; Murakami, J.; Kato, T.; Watanabe, A. Abnormal serum lysophospholipids in multiple myeloma patients. *Lipids* **1999**, *34*, 17-21.

70. Van Meeteren, L. A.; Ruurs, P.; Christodoulou, E.; Goding, J. W.; Takakusa, H.; Kikuchi, K.; Perrakis, A.; Nagano, T.; Moolenaar, W. H. Inhibition of autotaxin by lysophosphatidic acid and sphingosine 1-phosphate. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 21155-21161.

71. Tokumura, A.; Miyake, M.; Yoshimoto, O.; Shimizu, M.; Fukuzawa, K. Metal-Ion stimulation and inhibition of lysophospholipase D which generates bioactive lysophosphatidic acid in rat plasma. *Lipids* **1998**, *33*, 1009-1015.

72. (a) Scherer, M.; Schmitz, G.; Liebisch, G. High-throughput analysis of sphingosine 1-phosphate, sphinganine 1-phosphate, and lysophosphatidic acid in plasma samples by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Clin. Chem.* **2009**, *55*, 1218-1222; (b) Murph, M.; Tanaka, T.; Pang, J.; Felix, E.; Liu, S.; Trost, R.; Godwin, A. K.; Newman, R.; Mills, G., Liquid chromatography mass spectrometry for quantifying plasma lysophospholipids: Potential biomarkers for cancer diagnosis. In *Methods Enzymol.*, Academic Press: 2007; Vol. Volume 433, pp 1-25.

73. Imamura, S.; Horiuti, Y. Enzymatic determination of phospholipase D activity with choline oxidase. *J. Biochem.* **1978**, *83*, 677-680.

74. Ferry, G.; Moulharat, N.; Pradère, J.-P.; Desos, P.; Try, A.; Genton, A.; Giganti, A.; Beucher-Gaudin, M.; Lonchamp, M.; Bertrand, M.; Saulnier-Blache, J.-S.; Tucker, G. C.; Cordi, A.; Boutin, J. A. S32826, A nanomolar inhibitor of autotaxin: Discovery, synthesis and applications as a pharmacological tool. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2008**, *327*, 809-819.

75. Gijsbers, R.; Aoki, J.; Arai, H.; Bollen, M. The hydrolysis of lysophospholipids and nucleotides by autotaxin (NPP2) involves a single catalytic site. *FEBS Lett.* **2003**, *538*, 60-64.
76. Takakusa, H.; Kikuchi, K.; Urano, Y.; Sakamoto, S.; Yamaguchi, K.; Nagano, T. Design and synthesis of an enzyme-cleavable sensor molecule for phosphodiesterase activity based on fluorescence resonance energy transfer. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1653-1657.
77. Ferguson, C. G.; Bigman, C. S.; Richardson, R. D.; van Meeteren, L. A.; Moolenaar, W. H.; Prestwich, G. D. Fluorogenic phospholipid substrate to detect lysophospholipase D/autotaxin activity. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2023-2026.
78. Kawaguchi, M.; Okabe, T.; Okudaira, S.; Nishimasu, H.; Ishitani, R.; Kojima, H.; Nureki, O.; Aoki, J.; Nagano, T. Screening and X-ray crystal structure-based optimization of autotaxin (ENPP2) inhibitors, using a newly developed fluorescence probe. *ACS Chem. Biol.* **2013**, *8*, 1713-1721.
79. (a) Barglow, K. T.; Cravatt, B. F. Activity-based protein profiling for the functional annotation of enzymes. *Nat. Methods* **2007**, *4*, 822-827; (b) Ovaa, H. Active-site directed probes to report enzymatic action in the ubiquitin proteasome system. *Nat. Rev. Cancer* **2007**, *7*, 613-620.
80. Cavalli, S.; Houben, A. J. S.; Albers, H. M. H. G.; Van Tilburg, E. W.; De Ru, A.; Aoki, J.; Van Veelen, P.; Moolenaar, W. H.; Ovaa, H. Development of an activity-based probe for autotaxin. *ChemBioChem* **2010**, *11*, 2311-2317.
81. Clair, T.; Koh, E.; Ptaszynska, M.; Bandle, R. W.; Liotta, L. A.; Schiffmann, E.; Stracke, M. L. L-histidine inhibits production of lysophosphatidic acid by the tumor-associated cytokine, autotaxin. *Lipids Health Dis.* **2005**, *4*.
82. Liu, X.-W.; Sok, D.-E.; Yook, H.-S.; Sohn, C.-B.; Chung, Y.-J.; Kim, M. R. Inhibition of lysophospholipase D activity by unsaturated lysophosphatidic acids or seed extracts containing 1-linoleoyl and 1-oleoyl lysophosphatidic acid. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 8717-8722.
83. (a) Durgam, G. G.; Virag, T.; Walker, M. D.; Tsukahara, R.; Yasuda, S.; Liliom, K.; van Meeteren, L. A.; Moolenaar, W. H.; Wilke, N.; Siess, W.; Tigyi, G.; Miller, D. D. Synthesis, structure-activity relationships, and biological evaluation of fatty alcohol phosphates as lysophosphatidic acid receptor ligands, activators of PPAR γ , and inhibitors of autotaxin. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 4919-4930; (b) Durgam, G. G.; Tsukahara, R.; Makarova, N.; Walker, M. D.; Fujiwara, Y.; Pigg, K. R.; Baker, D. L.; Sardar, V. M.; Parrill, A. L.; Tigyi, G.; Miller, D. D. Synthesis and pharmacological evaluation of second-generation phosphatidic acid derivatives as lysophosphatidic acid receptor ligands. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 633-640; (c) Gududuru, V.; Zeng, K.; Tsukahara, R.; Makarova, N.; Fujiwara, Y.; Pigg, K. R.; Baker, D. L.; Tigyi, G.; Miller, D. D. Identification of Darmstoff analogs as selective agonists and antagonists of lysophosphatidic acid receptors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 451-456.
84. (a) Baker, D. L.; Fujiwara, Y.; Pigg, K. R.; Tsukahara, R.; Kobayashi, S.; Murofushi, H.; Uchiyama, A.; Murakami-Murofushi, K.; Koh, E.; Bandle, R. W.; Byun, H.-S.; Bittman, R.; Fan, D.; Murph, M.; Mills, G. B.; Tigyi, G. Carba analogs of cyclic phosphatidic acid as selective inhibitors of autotaxin and

- cancer cell invasion and metastasis. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 22786-22793;
- (b) Gupte, R.; Siddam, A.; Lu, Y.; Li, W.; Fujiwara, Y.; Panupinthu, N.; Pham, T.-C.; Baker, D. L.; Parrill, A. L.; Gotoh, M.; Murakami-Murofushi, K.; Kobayashi, S.; Mills, G. B.; Tigyi, G.; Miller, D. D. Synthesis and pharmacological evaluation of the stereoisomers of 3-carba cyclic-phosphatidic acid. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 7525-7528; (c) Tanaka, R.; Kato, M.; Suzuki, T.; Nakazaki, A.; Nozaki, E.; Gotoh, M.; Murakami-Murofushi, K.; Kobayashi, S. Efficient synthesis of 3-O-thia-cPA and preliminary analysis of its biological activity toward autotaxin. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 4180-4182; (d) Nozaki, E.; Gotoh, M.; Hanazawa, S.; Mori, H.; Kobayashi, S.; Murakami-Murofushi, K. Comparison of inhibitory activities of stereo-isomers of cyclic phosphatidic acid (cPA) on autotaxin. *Cytologia* **2011**, *76*, 73-80; (e) Nozaki, E.; Gotoh, M.; Tanaka, R.; Kato, M.; Suzuki, T.; Nakazaki, A.; Hotta, H.; Kobayashi, S.; Murakami-Murofushi, K. Pharmacological evaluation of a novel cyclic phosphatidic acid derivative 3-S-cyclic phosphatidic acid (3-S-cPA). *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 3196-3201.
85. Altman, M. K.; Gopal, V.; Jia, W.; Yu, S.; Hall, H.; Mills, G. B.; McGinnis, A. C.; Bartlett, M. G.; Jiang, G.; Madan, D.; Prestwich, G. D.; Xu, Y.; Davies, M. A.; Murph, M. M. Targeting melanoma growth and viability reveals dualistic functionality of the phosphonothionate analogue of carba cyclic phosphatidic acid. *Mol. Cancer* **2010**, *9*.
86. Gendaszewska-Darmach, E.; Laska, E.; Rytczak, P.; Okruszek, A. The chemical synthesis of metabolically stabilized 2-OMe-LPA analogues and preliminary studies of their inhibitory activity toward autotaxin. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 2698-2700.
87. Scott, L. J. Fingolimod: a review of its use in the management of relapsing-remitting multiple sclerosis. *CNS Drugs* **2011**, *25*, 673-698.
88. van Meeteren, L. A.; Brinkmann, V.; Saulnier-Blache, J. S.; Lynch, K. R.; Moolenaar, W. H. Anticancer activity of FTY720: phosphorylated FTY720 inhibits autotaxin, a metastasis-enhancing and angiogenic lysophospholipase D. *Cancer Lett.* **2008**, *266*, 203-208.
89. Valentine, W. J.; Kiss, G. N.; Liu, J.; E, S.; Gotoh, M.; Murakami-Murofushi, K.; Pham, T. C.; Baker, D. L.; Parrill, A. L.; Lu, X.; Sun, C.; Bittman, R.; Pyne, N. J.; Tigyi, G. (S)-FTY720-vinylphosphonate, an analogue of the immunosuppressive agent FTY720, is a pan-antagonist of sphingosine 1-phosphate GPCR signaling and inhibits autotaxin activity. *Cell Signal* **2010**, *22*, 1543-1553.
90. (a) Cui, P.; Tomsig, J. L.; McCalmont, W. F.; Lee, S.; Becker, C. J.; Lynch, K. R.; Macdonald, T. L. Synthesis and biological evaluation of phosphonate derivatives as autotaxin (ATX) inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 1634-1640; (b) Cui, P.; McCalmont, W. F.; Tomsig, J. L.; Lynch, K. R.; Macdonald, T. L. α - and β -Substituted phosphonate analogs of LPA as autotaxin inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 2212-2225.
91. (a) Nikitopoulou, I.; Kaffé, E.; Sevastou, I.; Sirioti, I.; Samiotaki, M.; Madan, D.; Prestwich, G. D.; Aidinis, V. A metabolically-stabilized phosphonate analog of lysophosphatidic acid attenuates collagen-induced arthritis. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e70941; (b) Jiang, G.; Xu, Y.; Fujiwara, Y.;

Tsukahara, T.; Tsukahara, R.; Gajewiak, J.; Tigyi, G.; Prestwich, G. D. α -Substituted phosphonate analogues of lysophosphatidic acid (LPA) selectively inhibit production and action of LPA. *ChemMedChem* **2007**, *2*, 679-690.

92. Zhang, H.; Xu, X.; Gajewiak, J.; Tsukahara, R.; Fujiwara, Y.; Liu, J.; Fells, J. I.; Perygin, D.; Parrill, A. L.; Tigyi, G.; Prestwich, G. D. Dual activity lysophosphatidic acid receptor pan-antagonist/autotaxin inhibitor reduces breast cancer cell migration in vitro and causes tumor regression in vivo. *Cancer Res.* **2009**, *69*, 5441-5449.

93. Xu, X.; Yang, G.; Zhang, H.; Prestwich, G. D. Evaluating dual activity LPA receptor pan-antagonist/autotaxin inhibitors as anti-cancer agents in vivo using engineered human tumors. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* **2009**, *89*, 140-146.

94. Jiang, G.; Madan, D.; Prestwich, G. D. Aromatic phosphonates inhibit the lysophospholipase D activity of autotaxin. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 5098-5101.

95. Fisher, N.; Hilton-Bolt, T.; Edwards, M. G.; Haxton, K. J.; McKenzie, M.; Allin, S. M.; Richardson, A. Dendrimer conjugate of [4-(tetradecanoylamino)benzyl]phosphonic acid (S32826) as an autotaxin inhibitor. *ACS Med. Chem. Lett.* **2014**, *5*, 34-39.

96. Gupte, R.; Patil, R.; Liu, J.; Wang, Y.; Lee, S. C.; Fujiwara, Y.; Fells, J.; Bolen, A. L.; Emmons-Thompson, K.; Yates, C. R.; Siddam, A.; Panupinthu, N.; Pham, T.-C. T.; Baker, D. L.; Parrill, A. L.; Mills, G. B.; Tigyi, G.; Miller, D. D. Benzyl and naphthalene methylphosphonic acid inhibitors of autotaxin with anti-invasive and anti-metastatic activity. *ChemMedChem* **2011**, *6*, 922-935.

97. Albers, H. M. H. G.; Hendrickx, L. J. D.; van Tol, R. J. P.; Hausmann, J.; Perrakis, A.; Ovaa, H. Structure-based design of novel boronic acid-based inhibitors of autotaxin. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 4619-4626.

98. Albers, H. M. H. G.; Dong, A.; Van Meeteren, L. A.; Egan, D. A.; Sunkara, M.; Van Tilburg, E. W.; Schuurman, K.; Van Tellingen, O.; Morris, A. J.; Smyth, S. S.; Moolenaar, W. H.; Ovaa, H. Boronic acid-based inhibitor of autotaxin reveals rapid turnover of LPA in the circulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2010**, *107*, 7257-7262.

99. Albers, H. M. H. G.; van Meeteren, L. A.; Egan, D. A.; van Tilburg, E. W.; Moolenaar, W. H.; Ovaa, H. Discovery and optimization of boronic acid based inhibitors of autotaxin. *J Med Chem* **2010**, *53*, 4958-4967.

100. Hausmann, J.; Kamtekar, S.; Christodoulou, E.; Day, J. E.; Wu, T.; Fulkerson, Z.; Albers, H. M.; van Meeteren, L. A.; Houben, A. J.; van Zeijl, L.; Jansen, S.; Andries, M.; Hall, T.; Pegg, L. E.; Benson, T. E.; Kasiem, M.; Harlos, K.; Kooi, C. W.; Smyth, S. S.; Ovaa, H.; Bollen, M.; Morris, A. J.; Moolenaar, W. H.; Perrakis, A. Structural basis of substrate discrimination and integrin binding by autotaxin. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2011**, *18*, 198-204.

101. Gierse, J.; Thorarensen, A.; Beltey, K.; Bradshaw-Pierce, E.; Cortes-Burgos, L.; Hall, T.; Johnston, A.; Murphy, M.; Nemirovskiy, O.; Ogawa, S.; Pegg, L.; Pelc, M.; Prinsen, M.; Schnute, M.; Wendling, J.; Wene, S.; Weinberg, R.; Wittwer, A.; Zweifel, B.; Masferrer, J. A novel autotaxin inhibitor

reduces lysophosphatidic acid levels in plasma and the site of inflammation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2010**, 334, 310-317.

102. Bhawe, S. R.; Dadey, D. Y.; Karvas, R. M.; Ferraro, D. J.; Kotipatruni, R. P.; Jaboin, J. J.; Hallahan, A. N.; Dewees, T. A.; Linkous, A. G.; Hallahan, D. E.; Thotala, D. Autotaxin inhibition with PF-8380 enhances the radiosensitivity of human and murine glioblastoma cell lines. *Front. Oncol.* **2013**, 3, 236.

103. St-Cœur, P.-D.; Ferguson, D.; Morin, P., Jr.; Touaibia, M. PF-8380 and closely related analogs: synthesis and structure–activity relationship towards autotaxin inhibition and glioma cell viability. *Arch. Pharm.* **2013**, 346, 91-97.

104. (a) Merck Patent GMBH. Piperidine and piperazine derivatives. WO2009046841A2; (b) Merck Patent GMBH. Heterocyclic compounds as autotaxin inhibitors. WO2010112116A1; (c) Merck Patent GMBH. Piperidine and piperazine derivatives as autotaxin inhibitors. WO2010115491A2.

105. (a) Parrill, A. L.; Echols, U.; Nguyen, T.; Pham, T.-C. T.; Hoeglund, A.; Baker, D. L. Virtual screening approaches for the identification of non-lipid autotaxin inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 1784-1795; (b) Hoeglund, A. B.; Howard, A. L.; Wanjala, I. W.; Pham, T. C. T.; Parrill, A. L.; Baker, D. L. Characterization of non-lipid autotaxin inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 769-776.

106. Hoeglund, A. B.; Bostic, H. E.; Howard, A. L.; Wanjala, I. W.; Best, M. D.; Baker, D. L.; Parrill, A. L. Optimization of a pipemidic acid autotaxin inhibitor. *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 1056-1066.

107. Merck Patent GMBH. Autotaxin inhibitors. WO2010112124A1.

108. Merck Patent GMBH. Imidazole derivatives. WO2009046804A1.

109. (a) Merck Patent GMBH. Benzonaphthyridine compounds used as inhibitors of autotaxin. WO2010060532A1; (b) Merck Patent GMBH. Benzonaphthyridinamines as autotaxin inhibitors. WO2011116867A1.

110. Merck Patent GMBH. Heterocyclic compounds as autotaxin inhibitors. WO2011006569A1.

111. (a) Amira Pharmaceuticals Inc., Autotaxin inhibitors and uses thereof. WO2012024620A2; (b) Amira Pharmaceuticals Inc., Heterocyclic autotaxin inhibitors and uses thereof. WO2012166415A1.

112. (a) Pfizer Limited. Pyridazine derivatives useful in therapy. WO2013061297A1; (b) Pfizer Inc., Pyrimidine and pyridine derivatives useful in therapy. WO2013054185A1.

113. (a) Eli Lilly and Company. Pyrido- or pyrrolo-fused pyrimidine derivatives as autotaxin inhibitors for treating pain. WO2014110000A1; (b) Eli Lilly and Company. Dihydropyrido pyrimidine compounds as autotaxin inhibitors. WO2014168824A1.

114. Biogen Idec Inc. ATX modulating agents. WO2014018881A1.

115. Saga, H.; Ohhata, A.; Hayashi, A.; Katoh, M.; Maeda, T.; Mizuno, H.; Takada, Y.; Komichi, Y.; Ota, H.; Matsumura, N.; Shibaya, M.; Sugiyama, T.; Nakade, S.; Kishikawa, K. A novel highly potent autotaxin/ENPP2 inhibitor

produces prolonged decreases in plasma lysophosphatidic acid formation *in vivo* and regulates urethral tension. *PLoS ONE* **2014**, 9, e93230.

116. Benesch, M. G. K.; Tang, X.; Maeda, T.; Ohhata, A.; Zhao, Y. Y.; Kok, B. P. C.; Dewald, J.; Hitt, M.; Curtis, J. M.; McMullen, T. P. W.; Brindley, D. N. Inhibition of autotaxin delays breast tumor growth and lung metastasis in mice. *FASEB J.* **2014**, 28, 2655-2666.

117. Saunders, L. P.; Ouellette, A.; Bandle, R.; Chang, W. C.; Zhou, H.; Misra, R. N.; De La Cruz, E. M.; Braddock, D. T. Identification of small-molecule inhibitors of autotaxin that inhibit melanoma cell migration and invasion. *Mol. Cancer Ther.* **2008**, 7.

118. Hozumi, H.; Hokari, R.; Kurihara, C.; Narimatsu, K.; Sato, H.; Sato, S.; Ueda, T.; Higashiyama, M.; Okada, Y.; Watanabe, C.; Komoto, S.; Tomita, K.; Kawaguchi, A.; Nagao, S.; Miura, S. Involvement of autotaxin/lysophospholipase D expression in intestinal vessels in aggravation of intestinal damage through lymphocyte migration. *Lab. Invest.* **2013**, 93, 508-519.

119. North, E. J.; Howard, A. L.; Wanjala, I. W.; Pham, T. C. T.; Baker, D. L.; Parrill, A. L. Pharmacophore development and application toward the identification of novel, small-molecule autotaxin inhibitors. *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 3095-3105.

120. Fells, J. I.; Lee, S. C.; Fujiwara, Y.; Norman, D. D.; Lim, K. G.; Tsukahara, R.; Liu, J.; Patil, R.; Miller, D. D.; Kirby, R. J.; Nelson, S.; Seibel, W.; Papoian, R.; Parrill, A. L.; Baker, D. L.; Bittman, R.; Tigyi, G. Hits of a high-throughput screen identify the hydrophobic pocket of autotaxin/lysophospholipase D as an inhibitory surface. *Mol. Pharmacol.* **2013**, 84, 415-424.

121. Fells, J. I.; Lee, S. C.; Norman, D. D.; Tsukahara, R.; Kirby, J. R.; Nelson, S.; Seibel, W.; Papoian, R.; Patil, R.; Miller, D. D.; Parrill, A. L.; Pham, T.-C.; Baker, D. L.; Bittman, R.; Tigyi, G. Targeting the hydrophobic pocket of autotaxin with virtual screening of inhibitors identifies a common aromatic sulfonamide structural motif. *FEBS J.* **2014**, 281, 1017-1028.

122. Hwang, S. H.; Lee, B. H.; Kim, H. J.; Cho, H. J.; Shin, H. C.; Im, K. S.; Choi, S. H.; Shin, T. J.; Lee, S. M.; Nam, S. W.; Kim, H. C.; Rhim, H.; Nah, S. Y. Suppression of metastasis of intravenously-inoculated B16/F10 melanoma cells by the novel ginseng-derived ingredient, gintonin: Involvement of autotaxin inhibition. *Int. J. Oncol.* **2013**, 42, 317-326.

123. Ueda, K.; Yoshihara, M.; Nakao, M.; Tanaka, T.; Sano, S.; Fukuzawa, K.; Tokumura, A. Evaluation of inhibitory actions of flavonols and related substances on lysophospholipase D activity of serum autotaxin by a convenient assay using a chromogenic substrate. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, 58, 6053-6063.

124. (a) Van der Aar, E.; Fagard, L.; Desrivot, J.; Dupont, S.; Heckmann, B.; Blanque, R.; Gheyle, L.; Ralic, J.; Vanhoutte, F. Favorable human safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics of the autotaxin inhibitor GLPG1690, a potential new treatment in COPD. *Eur. Respir. J.* **2015**, 46; (b) Blanque, R.; Desroy, N.; Dupont, S.; Cottreaux, C.; Monjardet, A.;

Wakselman, E.; Laenen, W.; Russell, V.; Van der Aar, E.; Brys, R.; Heckmann, B. Pharmacological profile and efficacy of GLPG1690, a novel ATX inhibitor for COPD treatment. *Eur. Respir. J.* **2015**, *46*; (c) <http://www.glpg.com/docs/view/573b49bf4c48b-en>. 05/09/2016.

125. (a) Lossen, H. Ueber die oxalohydroxamsäure. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1869**, *150*, 314-322; (b) Hara, Y.; Shen, L.; Tsubouchi, A.; Akiyama, M.; Umemoto, K. Tripodal peptide hydroxamates as siderophore models. Iron(III) binding with ligands containing H-(Alanyl) n - β -(N-hydroxy)alanyl strands ($n = 1-3$) anchored by nitrilotriacetic acid. *Inorg. Chem.* **2000**, *39*, 5074-5082; (c) Yang, K.; Lou, B. Molecular diversity of hydroxamic acids: part I. Solution- and solid-phase synthesis. *Mini Rev. Med. Chem.* **2003**, *3*, 349-360.

126. Bauer, L.; Exner, O. The chemistry of hydroxamic acids and N-hydroxyimides. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1974**, *13*, 376-384.

127. Muri, E. M. F.; Nieto, M. J.; Sindelar, R. D.; Williamson, J. S. Hydroxamic acids as pharmacological agents. *Curr. Med. Chem.* **2002**, *9*, 1631-1653.

128. Codd, R. Traversing the coordination chemistry and chemical biology of hydroxamic acids. *Coord. Chem. Rev.* **2008**, *252*, 1387-1408.

129. (a) Mishra, H.; Parrill, A. L.; Williamson, J. S. Three-dimensional quantitative structure-activity relationship and comparative molecular field analysis of dipeptide hydroxamic acid Helicobacter pylori urease inhibitors. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, *46*, 2613-2618; (b) Muri, E. M. F.; Mishra, H.; Avery, M. A.; Williamson, J. S. Design and synthesis of heterocyclic hydroxamic acid derivatives as inhibitors of Helicobacter pylori urease. *Synth. Commun.* **2003**, *33*, 1977-1995; (c) Zhang, Y.; Li, D.; Houtman, J. C.; Witiak, D. T.; Seltzer, J.; Bertics, P. J.; Lauhon, C. T. Design, combinatorial chemical synthesis and in vitro characterization of novel urea based gelatinase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 2823-2826; (d) Tsukamoto, K.; Itakura, H.; Sato, K.; Fukuyama, K.; Miura, S.; Takahashi, S.; Ikezawa, H.; Hosoya, T. Binding of salicylhydroxamic acid and several aromatic donor molecules to arthromyces ramosus peroxidase, Investigated by X-ray crystallography, optical difference spectroscopy, NMR relaxation, molecular dynamics, and kinetics. *Biochemistry* **1999**, *38*, 12558-12568; (e) Leung, D.; Abbenante, G.; Fairlie, D. P. Protease inhibitors: Current status and future prospects. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 305-341.

130. Fazary, A. E.; Khalil, M. M.; Fahmy, A. The role of hydroxamic acids in biochemical processes. *Med. J. Islamic World Acad. Sci.* **2001**, *14*, 109-116.

131. (a) Albrecht-Gary, A. M.; Libman, J.; Shanzer, A., Biomimetic iron(III) trishydroxamate complexes and triple stranded diferric helices. In *Pure Appl. Chem.*, 1996; Vol. 68, p 1243; (b) Crumbliss, A. L. Iron bioavailability and the coordination chemistry of hydroxamic acids. *Coord. Chem. Rev.* **1990**, *105*, 155-179.

132. Elek, H.; Smart, L.; Martin, J.; Ahmad, S.; Gordon-Weeks, R.; Welham, S.; Nádas, M.; Pickett, J. A.; Werner, C. P. The potential of hydroxamic acids in tetraploid and hexaploid wheat varieties as resistance factors against the bird-cherry oat aphid, Rhopalosiphum padi. *Ann. Appl. Biol.* **2013**, *162*, 100-109.

133. (a) Hase, J.; Kobashi, K.; Kawaguchi, N.; Sakamoto, K. Antimicrobial activity of hydroxamic acids. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **1971**, *19*, 363-368; (b) Davis, A. L.; Hulme, K. L.; Wilson, G. T.; McCord, T. J. In vitro antimicrobial activity of some cyclic hydroxamic acids and related lactams. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1978**, *13*, 542-544; (c) Apfel, C.; Banner, D. W.; Bur, D.; Dietz, M.; Hirata, T.; Hubschwerlen, C.; Locher, H.; Page, M. G. P.; Pirson, W.; Rossé, G.; Specklin, J.-L. Hydroxamic acid derivatives as potent peptide deformylase inhibitors and antibacterial agents. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 2324-2331; (d) Grant, S. K.; Green, B. G.; Kozarich, J. W. Inhibition and structure-activity studies of methionine hydroxamic acid derivatives with bacterial peptide deformylase. *Bioorg. Chem.* **2001**, *29*, 211-222; (e) Thorarensen, A.; Douglas, J. M. R.; Rohrer, D. C.; Vosters, A. F.; Yem, A. W.; Marshall, V. D.; Lynn, J. C.; Bohanon, M. J.; Tomich, P. K.; Zurenko, G. E.; Sweeney, M. T.; Jensen, R. M.; Nielsen, J. W.; Seest, E. P.; Dolak, L. A. Identification of novel potent hydroxamic acid inhibitors of peptidyl deformylase and the importance of the hydroxamic acid functionality on inhibition. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1355-1358; (f) Bravo, H. R.; Lazo, W. Antialgal and antifungal activity of natural hydroxamic acids and related compounds. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 1569-1571; (g) Petrosyan, V. S.; Yashina, N. S.; Sizova, T. V.; Leonova, T. V.; Aslanov, L. A.; Yatsenko, A. V.; Pellerito, L. Synthesis and structures of some diorganotin bis(hydroxamate)s. *Appl. Organomet. Chem.* **1994**, *8*, 11-17; (h) Gunes, H. S.; Cosar, G. Synthesis of some hydroxamic acid derivatives of benzimidazole and their antibacterial and antifungal activities. *Arzneim.-Forsch.* **1992**, *42*, 1045-1048.
134. (a) Powell, P. E.; Szaniszlo, P. J.; Cline, G. R.; Reid, C. P. P. Hydroxamate siderophores in the iron nutrition of plants. *J. Plant Nutr.* **1982**, *5*, 653-673; (b) Tanabe, J.; Sue, M.; Ishihara, A.; Iwamura, H. Occurrence and characterization of 2-hydroxy-1,4-benzoxazin-3-one and indole hydroxylases in juvenile wheat. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1999**, *63*, 1614-1617; (c) Wilkes, M. A.; Marshall, D. R.; Copeland, L. Hydroxamic acids in cereal roots inhibit the growth of take-all. *Soil Biol. Biochem.* **1999**, *31*, 1831-1836; (d) Gianoli, E.; Niemeyer, H. M. Environmental effects on the accumulation of hydroxamic acids in wheat seedlings: The importance of plant growth rate. *J. Chem. Ecol.* **23**, 543-551.
135. (a) Green, E. S. R.; Evans, H.; Rice-Evans, P.; Davies, M. J.; Salah, N.; Rice-Evans, C. The efficacy of monohydroxamates as free radical scavenging agents compared with di- and trihydroxamates. *Biochem. Pharmacol.* **1993**, *45*, 357-366; (b) Taira, J.; Miyagi, C.; Aniya, Y. Dimerumic acid as an antioxidant from the mold, *Monascus anka*: the inhibition mechanisms against lipid peroxidation and hemeprotein-mediated oxidation. *Biochem. Pharmacol.* **2002**, *63*, 1019-1026.
136. (a) Telegdi, J.; Shaban, A.; Kálmán, E. EQCM study of copper and iron corrosion inhibition in presence of organic inhibitors and biocides. *Electrochim. Acta* **2000**, *45*, 3639-3647; (b) Shaban, A.; Kálmán, E.; Telegdi, J. An investigation of copper corrosion inhibition in chloride solutions by benzo-hydroxamic acids. *Electrochim. Acta* **1998**, *43*, 159-163.

137. Szymanowski, J. A. N. Removal of toxic elements from copper electrolyte by solvent extraction. *Miner. Process. Extr. Metall. Rev.* **1998**, *18*, 389-418.
138. Quast, K. B. A review of hematite flotation using 12-carbon chain collectors. *Miner. Eng.* **2000**, *13*, 1361-1376.
139. (a) Amit, T.; Hochberg, Z.; Yogev-Falach, M.; Youdim, M. B. H.; Barkey, R. J. Shedding of growth hormone-binding protein is inhibited by hydroxamic acid-based protease inhibitors: Proposed mechanism of activation of growth hormone-binding protein secretase. *J. Endocrinol.* **2001**, *169*, 397-407; (b) Maquoi, E.; Frankenne, F.; Noël, A.; Krell, H.-W.; Grams, F.; Foidart, J.-M. Type IV collagen induces matrix metalloproteinase 2 activation in HT1080 fibrosarcoma cells. *Exp. Cell Res.* **2000**, *261*, 348-359; (c) Roghani, M.; Becherer, J. D.; Moss, M. L.; Atherton, R. E.; Erdjument-Bromage, H.; Arribas, J.; Blackburn, R. K.; Weskamp, G.; Tempst, P.; Blobel, C. P. Metalloprotease-disintegrin MDC9: Intracellular maturation and catalytic activity. *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 3531-3540.
140. Lossen, W. Ueber benzoylderivate des hydroxylamins. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1872**, *161*, 347-362.
141. Bertrand, S.; Hélesbeux, J. J.; Larcher, G.; Duval, O. Hydroxamate, a key pharmacophore exhibiting a wide range of biological activities. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2013**, *13*, 1311-1326.
142. Neilands, J. B. Hydroxamic acids in nature. *Science* **1967**, *156*, 1443-1447.
143. (a) Martin, F. M.; Beckett, R. P.; Bellamy, C. L.; Courtney, P. F.; Davies, S. J.; Drummond, A. H.; Dodd, R.; Pratt, L. M.; Patel, S. R.; Ricketts, M. L.; Todd, R. S.; Tuffnell, A. R.; Ward, J. W. S.; Whittaker, M. The synthesis and biological evaluation of non-peptidic matrix metalloproteinase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 2887-2892; (b) Xue, C. B.; He, X.; Corbett, R. L.; Roderick, J.; Wasserman, Z. R.; Liu, R. Q.; Jaffee, B. D.; Covington, M. B.; Qian, M.; Trzaskos, J. M.; Newton, R. C.; Magolda, R. L.; Wexler, R. R.; Decicco, C. P. Discovery of macrocyclic hydroxamic acids containing biphenylmethyl derivatives at P1', a series of selective TNF- α converting enzyme inhibitors with potent cellular activity in the inhibition of TNF- α release. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 3351-3354; (c) Clare, B. W.; Scozzafava, A.; Supuran, C. T. Protease inhibitors: Synthesis of a series of bacterial collagenase inhibitors of the sulfonyl amino acyl hydroxamate type. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 2253-2258.
144. (a) Hanessian, S.; Bouzbouz, S.; Boudon, A.; Tucker, G. C.; Peyroulan, D. Picking the S1, S1' and S2' pockets of matrix metalloproteinases. A niche for potent acyclic sulfonamide inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 1691-1696; (b) Lavoie, R.; Bouchain, G.; Frechette, S.; Woo, S. H.; Abou-Khalil, E.; Leit, S.; Fournel, M.; Yan, P. T.; Trachy-Bourget, M. C.; Beaulieu, C.; Li, Z.; Besterman, J.; Delorme, D. Design and synthesis of a novel class of histone deacetylase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2847-2850.
145. (a) Reddy, A. S.; Kumar, M. S.; Reddy, G. R. A convenient method for the preparation of hydroxamic acids. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 6285-6288; (b) Bade, M. L. Aminoalkanoxyhydroxamates. A case of slow proton transfer

between electronegative atoms in solution. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 949-953; (c) Renfrow Jr, W. B.; Hauser, C. R. The relative rates of decomposition of the potassium salts of certain meta and para substituted dibenzhydroxamic acids. A study of the Lossen rearrangement. *J. Am. Chem. Soc.* **1937**, 59, 2308-2314.

146. Massaro, A.; Mordini, A.; Reginato, G.; Russo, F.; Taddei, M. Microwave-assisted transformation of esters into hydroxamic acids. *Synthesis* **2007**, 3201-3204.

147. (a) Bailey, S.; Bolognese, B.; Buckle, D. R.; Faller, A.; Jackson, S.; Louis-Flamberg, P.; McCord, M.; Mayer, R. J.; Marshall, L. A.; Smith, D. G. Selective inhibition of low affinity IgE receptor (cd23) processing. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 29-34; (b) Massa, S.; Mai, A.; Sbardella, G.; Esposito, M.; Ragno, R.; Loidl, P.; Brosch, G. 3-(4-Aroyl-1H-pyrrol-2-yl)-N-hydroxy-2-propenamides, a new class of synthetic histone deacetylase inhibitors. *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 2069-2072.

148. (a) Staab, H. A.; Lüking, M.; Dürr, F. H. Darstellung von imidazoliden. Synthese von amidien, hydraziden und hydroxamsäuren nach der imidazolidmethode. *Chem. Ber.* **1962**, 95, 1275-1283; (b) Usachova, N.; Leitis, G.; Jirgensons, A.; Kalvinsh, I. Synthesis of hydroxamic acids by activation of carboxylic acids with N,N'-carbonyldiimidazole: Exploring the efficiency of the method. *Synth. Commun.* **2010**, 40, 927-935.

149. Ech-Chahad, A.; Minassi, A.; Berton, L.; Appendino, G. An expeditious hydroxyamidation of carboxylic acids. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 5113-5115.

150. (a) Velardi, G.; Angeli, Angelico; Rimini, W. Über den nachweis von aldehydverbindungen. *Z. Anal. Chem.* **1907**, 46, 185; (b) Rimini, E.; Hofmann; Küspert. Eine neue methode zur bestimmung von hydrazin. *Z. Anal. Chem.* **1901**, 40, 420; (c) Hassner, A.; Wiederkehr, E.; Kascheres, A. J. Reaction of aldehydes with N-hydroxybenzenesulfonamide. Acetal formation catalyzed by nucleophiles. *J. Org. Chem.* **1970**, 35, 1962-1964; (d) Yale, H. L. The hydroxamic acids. *Chem. Rev.* **1943**, 33, 209-256.

151. Liu, Y.; Jacobs, H. K.; Gopalan, A. S. A new approach to cyclic hydroxamic acids: Intramolecular cyclization of N-benzyloxy carbamates with carbon nucleophiles. *Tetrahedron* **2011**, 67, 2206-2214.

152. (a) Floyd, C. D.; Lewis, C. N.; Patel, S. R.; Whittaker, M. A method for the synthesis of hydroxamic acids on solid phase. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 8045-8048; (b) Bauer, U.; Ho, W. B.; Koskinen, A. M. P. A novel linkage for the solid-phase synthesis of hydroxamic acid. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 7233-7236; (c) Mellor, S. L.; Chan, W. C. 4-[2,4-Dimethoxyphenyl(N-fluoren-9-ylmethoxycarbonyl-N-alkylaminooxy)- methyl]phenoxymethyl polystyrene: A multiple solid-phase approach to N-alkylhydroxamic acids. *Chem. Commun.* **1997**, 2005-2006.

153. (a) Yin, Z.; Low, K.; Lye, P. N-Linked hydroxylamine resin: Solid-phase synthesis of hydroxamic acids. *Synth. Commun.* **2005**, 35, 2945-2950; (b) Salvino, J. M.; Mathew, R.; Kiesow, T.; Narensingh, R.; Mason, H. J.; Dodd, A.; Groneberg, R.; Burns, C. J.; McGeehan, G.; Kline, J.; Orton, E.; Tang, S. Y.; Morrisette, M.; Labaudiniere, R. Solid-phase synthesis of an arylsulfone hydroxamate library. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, 10, 1637-1640.

154. (a) Choi, J.; Park, J. G.; Pang, Y.-P. Convenient synthesis of a library of discrete hydroxamic acids using the hydroxythiophenol (Marshall) resin. *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49, 1103-1106; (b) Dankwardt, S. M. Solid phase synthesis of hydroxamic acids. *Synlett* **1998**, 761; (c) Zhang, W.; Zhang, L.; Li, X.; Weigel, J. A.; Hall, S. E.; Mayer, J. P. Solid-phase synthesis of C-terminal peptide hydroxamic acids. *J. Com. Chem.* **2001**, 3, 151-153.
155. Porcheddu, A.; Giacomelli, G. Angeli-Rimini's reaction on solid support: A new approach to hydroxamic acids. *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 7057-7059.
156. Agrawal, Y. K.; Tandon, S. G. Preparation and properties of N-arylhydroxamic acids. *J. Chem. Eng. Data* **1971**, 16, 371-372.
157. (a) Fürstner, A.; Feyen, F.; Prinz, H.; Waldmann, H. Synthesis and evaluation of the antitumor agent TMC-69-6H and a focused library of analogs. *Tetrahedron* **2004**, 60, 9543-9558; (b) Macías, F. A.; Marín, D.; Oliveros-Bastidas, A.; Chinchilla, D.; Simonet, A. M.; Molinillo, J. M. G. Isolation and synthesis of allelochemicals from gramineae: Benzoxazinones and related compounds. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, 54, 991-1000.
158. Matlin, S. A.; Sammes, P. G.; Upton, R. M. The oxidation of trimethylsilylated amides to hydroxamic acids. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1979**, 2481-2487.
159. Sibi, M. P.; Hasegawa, H.; Ghorpade, S. R. A convenient method for the conversion of N-acyloxazolidinones to hydroxamic acids. *Org. Lett.* **2002**, 4, 3343-3346.
160. Wong, F. T.; Patra, P. K.; Seayad, J.; Zhang, Y.; Ying, J. Y. N-Heterocyclic carbene (NHC)-catalyzed direct amidation of aldehydes with nitroso compounds. *Org. Lett.* **2008**, 10, 2333-2336.
161. (a) Chatterjee, B. Donor properties of hydroxamic acids. *Coord. Chem. Rev.* **1978**, 26, 281-303; (b) Thouin, E.; Lubell, W. D. Effective synthesis of enantiopure hydroxamates by displacement of resin-bound esters with hydroxylamine. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 457-460; (c) De Luca, L.; Giacomelli, G.; Taddei, M. An easy and convenient synthesis of Weinreb amides and hydroxamates. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 2534-2537; (d) White, J. M.; Tunoori, A. R.; Turunen, B. J.; Georg, G. I. [Bis(2-methoxyethyl)amino]sulfur trifluoride, the deoxo-fluor reagent: Application toward one-flask transformations of carboxylic acids to amides. *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 2573-2576.
162. Fazary, A. E. Thermodynamic studies on the protonation equilibria of some hydroxamic acids in NaNO₃ solutions in water and in mixtures of water and dioxane. *J. Chem. Eng. Data* **2005**, 50, 888-895.
163. (a) Ventura, O. N.; Rama, J. B.; Turi, L.; Dannenberg, J. J. Acidity of hydroxamic acids: an ab initio and semiempirical study. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 5754-5761; (b) Bordwell, F. G.; Fried, H. E.; Hughes, D. L.; Lynch, T. Y.; Satish, A. V.; Whang, Y. E. Acidities of carboxamides, hydroxamic acids, carbonylhydrazides, benzenesulfonamides, and benzenesulfonohydrazides in DMSO solution. *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 3330-3336.

164. (a) Kakkar, R.; Grover, R.; Chadha, P. Conformational behavior of some hydroxamic acids. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 2200-2206; (b) Wu, D.-H.; Ho, J.-J. Ab initio study of intramolecular proton transfer in formohydroxamic acid. *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 3582-3586; (c) Kakkar, R.; Grover, R.; Gahlot, P. Density functional study of the properties of isomeric aminophenylhydroxamic acids and their copper (II) complexes. *Polyhedron* **2006**, *25*, 759-766; (d) Kakkar, R.; Grover, R.; Gahlot, P. Metal ion selectivity of hydroxamates: A density functional study. *J. Mol. Struct. - THEOCHEM* **2006**, *767*, 175-184; (e) Edwards, D. C.; Myneni, S. C. B. Hard and soft X-ray absorption spectroscopic investigation of aqueous Fe(III)-hydroxamate siderophore complexes. *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 10249-10256.
165. (a) Vanjari, H.; Pande, R. Hydroxamic acids: proton donor and acceptor strength for use in drug design. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2003**, *33*, 783-788; (b) Pande, K. R.; Tandon, S. G. Preparation and properties of N-arylhydroxamic acids. *J. Chem. Eng. Data* **1979**, *24*, 72-74.
166. Taft, R. W.; Berthelot, M.; Laurence, C.; Leo, A. J. Hydrogen bonds and molecular structure. *Chemtech* **1996**, *26*, X1-28.
167. Bracher, B. H.; Small, R. W. H. The crystal structure of acetohydroxamic acid hemihydrate. *Acta Crystallogr. B* **1970**, *26*, 1705-1709.
168. Kurzak, B.; Kozłowski, H.; Farkas, E. Hydroxamic and aminohydroxamic acids and their complexes with metal ions. *Coord. Chem. Rev.* **1992**, *114*, 169-200.
169. Lindner, H. J.; Gottlicher, S. Die kristall- und molekülstruktur des eisen(III)-benzhydroxamat-trihydrates. *Acta Crystallographica Section B* **1969**, *25*, 832-842.
170. (a) Dessì, A.; Micera, G.; Sanna, D.; Erre, L. S. Vanadium(IV) and oxovanadium(IV) complexes of hydroxamic acids and related ligands. *J. Inorg. Biochem.* **1992**, *48*, 279-287; (b) Farkas, E.; Kozma, E.; Petho, M.; Herlihy, K. M.; Micera, G. Equilibrium studies on copper(II)- and iron(III)-monohydroxamates. *Polyhedron* **1998**, *17*, 3331-3342.
171. Kakkar, R., Theoretical studies on hydroxamic acids. In *Hydroxamic Acids: A Unique Family of Chemicals with Multiple Biological Activities*, 2013; pp 19-53.
172. (a) Farkas, E.; Enyedy, É. A.; Micera, G.; Garribba, E. Coordination modes of hydroxamic acids in copper(II), nickel(II) and zinc(II) mixed-ligand complexes in aqueous solution. *Polyhedron* **2000**, *19*, 1727-1736; (b) Kurzak, B.; Kroczevska, D.; Jezierska, J. Ternary copper(II) complexes with diethylenetriamine and α -(or β -) alaninehydroxamic acids in water solution. *Polyhedron* **1998**, *17*, 1831-1841; (c) Dallavalle, F.; Folesani, G.; Leporati, E.; Borromei, R. Formation equilibria of copper(II) ternary complexes with (S)-leucinehydroxamic acid and (R)- or (S)-amino acids in aqueous solution. *J. Coord. Chem.* **1998**, *44*, 225-235; (d) Farkas, E.; Kurzak, B. Potentiometric and spectroscopic studies of binary and ternary copper(II) complexes with histidinehydroxamic acid. *J. Coord. Chem.* **1990**, *22*, 145-151.
173. Hider, R. C.; Kong, X. Chemistry and biology of siderophores. *Nat. Prod. Rep.* **2010**, *27*, 637-657.

174. Wong, G. B.; Kappel, M. J.; Raymond, K. N.; Matzanke, B.; Winkelmann, G. Coordination chemistry of microbial iron transport compounds. 24. Characterization of coprogen and ferricrocin, two ferric hydroxamate siderophores. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 810-815.
175. Amtul, Z.; Atta-ur-Rahman, A.; Siddiqui, R. A.; Choudhary, M. I. Chemistry and mechanism of urease inhibition. *Curr. Med. Chem.* **2002**, *9*, 1323-1348.
176. Benini, S.; Rypniewski, W. R.; Wilson, K. S.; Miletto, S.; Ciurli, S.; Mangani, S. The complex of *Bacillus pasteurii* urease with acetohydroxamate anion from X-ray data at 1.55 Å resolution. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2000**, *5*, 110-118.
177. (a) Bertini, I.; Calderone, V.; Cosenza, M.; Fragai, M.; Lee, Y.-M.; Luchinat, C.; Mangani, S.; Terni, B.; Turano, P. Conformational variability of matrix metalloproteinases: Beyond a single 3D structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2005**, *102*, 5334-5339; (b) Nar, H.; Werle, K.; Bauer, M. M. T.; Dollinger, H.; Jung, B. Crystal structure of human macrophage elastase (MMP-12) in complex with a hydroxamic acid inhibitor 1. *J. Mol. Biol.* **2001**, *312*, 743-751; (c) Brandstetter, H.; Engh, R. A.; Roedern, E. G. V.; Moroder, L.; Huber, R.; Bode, W.; Grams, F. Structure of malonic acid-based inhibitors bound to human neutrophil collagenase. A new binding mode explains apparently anomalous data. *Protein Sci.* **1998**, *7*, 1303-1309; (d) Lovejoy, B.; Welch, A. R.; Carr, S.; Luong, C.; Broka, C.; Hendricks, R. T.; Campbell, J. A.; Walker, K. A. M.; Martin, R.; Van Wart, H.; Browner, M. F. Crystal structures of MMP-1 and -13 reveal the structural basis for selectivity of collagenase inhibitors. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **1999**, *6*, 217-221; (e) Bertini, I.; Calderone, V.; Fragai, M.; Luchinat, C.; Mangani, S.; Terni, B. Crystal structure of the catalytic domain of human matrix metalloproteinase 10. *J. Mol. Biol.* **2004**, *336*, 707-716.
178. Lang, R.; Kocourek, A.; Braun, M.; Tschesche, H.; Huber, R.; Bode, W.; Maskos, K. Substrate specificity determinants of human macrophage elastase (MMP-12) based on the 1.1 Å crystal structure 1. *J. Mol. Biol.* **2001**, *312*, 731-742.
179. (a) Turk, B. E.; Wong, T. Y.; Schwarzenbacher, R.; Jarrell, E. T.; Leppla, S. H.; Collier, R. J.; Liddington, R. C.; Cantley, L. C. The structural basis for substrate and inhibitor selectivity of the anthrax lethal factor. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2004**, *11*, 60-66; (b) Shoop, W. L.; Xiong, Y.; Wiltsie, J.; Woods, A.; Guo, J.; Pivnichny, J. V.; Felcetto, T.; Michael, B. F.; Bansal, A.; Cummings, R. T.; Cunningham, B. R.; Friedlander, A. M.; Douglas, C. M.; Patel, S. B.; Wisniewski, D.; Scapin, G.; Salowe, S. P.; Zaller, D. M.; Chapman, K. T.; Scolnick, E. M.; Schmatz, D. M.; Bartizal, K.; MacCoss, M.; Hermes, J. D. Anthrax lethal factor inhibition. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2005**, *102*, 7958-7963.
180. Fu, Z.; Chen, S.; Baldwin, M. R.; Boldt, G. E.; Crawford, A.; Janda, K. D.; Barbieri, J. T.; Kim, J.-J. P. Light chain of botulinum neurotoxin serotype A: structural resolution of a catalytic intermediate. *Biochemistry* **2006**, *45*, 8903-8911.

181. Chevrier, B.; D'Orchymont, H.; Schalk, C.; Tarnus, C.; Moras, D. The structure of the *Aeromonas proteolytica* aminopeptidase complexed with a hydroxamate inhibitor. *Eur. J. Biochem.* **1996**, *237*, 393-398.
182. Brown, D. A.; Fitzpatrick, N. J.; Muller-Bunz, H.; Ryan, Á. T. Di-, tri-, and tetranuclear zinc hydroxamate complexes as structural models for the inhibition of zinc hydrolases by hydroxamic acids. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 4497-4507.
183. Richardson, D. R.; Kalinowski, D. S.; Lau, S.; Jansson, P. J.; Lovejoy, D. B. Cancer cell iron metabolism and the development of potent iron chelators as anti-tumour agents. *BBA - Gen. Subjects* **2009**, *1790*, 702-717.
184. Henle, E. S.; Linn, S. Formation, prevention, and repair of DNA damage by iron/hydrogen peroxide. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 19095-19098.
185. McLaren, G. D.; Gordeuk, V. R. Hereditary hemochromatosis: insights from the hemochromatosis and iron overload screening (HEIRS) study. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* **2009**, 195-206.
186. Zhou, T.; Ma, Y.; Kong, X.; Hider, R. C. Design of iron chelators with therapeutic application. *Dalton Trans.* **2012**, *41*, 6371-6389.
187. Savulescu, J. Thalassaemia major: the murky story of deferiprone: Conducting life saving research properly and quickly is a moral imperative. *Br. Med. J.* **2004**, *328*, 358-359.
188. Loukopoulos, D. Haemoglobinopathies in greece: Prevention programme over the past 35 years. *Indian J. Med. Res.* **2011**, *134*, 572-576.
189. Ackrill, P.; Day, J. P.; Ahmed, R. Aluminum and iron overload in chronic dialysis. *Kidney Int. Suppl.* **1988**, *24*, S163-167.
190. Hayflick, S. J. Neurodegeneration with brain iron accumulation: From genes to pathogenesis. *Semin. Pediatr. Neurol.* **2006**, *13*, 182-185.
191. Quintana, C.; Bellefqih, S.; Laval, J. Y.; Guerquin-Kern, J. L.; Wu, T. D.; Avila, J.; Ferrer, I.; Arranz, R.; Patiño, C. Study of the localization of iron, ferritin, and hemosiderin in Alzheimer's disease hippocampus by analytical microscopy at the subcellular level. *J. Struct. Biol.* **2006**, *153*, 42-54.
192. Bartzokis, G.; Lu, P. H.; Tishler, T. A.; Fong, S. M.; Oluwadara, B.; Finn, J. P.; Huang, D.; Bordelon, Y.; Mintz, J.; Perlman, S. Myelin breakdown and iron changes in huntington's disease: Pathogenesis and treatment implications. *Neurochem. Res.* **2007**, *32*, 1655-1664.
193. Burgetova, A.; Seidl, Z.; Krasensky, J.; Horakova, D.; Vaneckova, M. Multiple sclerosis and the accumulation of iron in the basal ganglia: Quantitative assessment of brain iron using MRI T2 relaxometry. *Eur. Neurol.* **2010**, *63*, 136-143.
194. Dexter, D. T.; Wells, F. R.; Lees, A. J.; Agid, F.; Agid, Y.; Jenner, P.; Marsden, C. D. Increased nigral iron content and alterations in other metal ions occurring in brain in Parkinson's disease. *J. Neurochem.* **1989**, *52*, 1830-1836.

195. Kakhlon, O.; Breuer, W.; Munnich, A.; Cabantchik, Z. I. Iron redistribution as a therapeutic strategy for treating diseases of localized iron accumulation. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **2010**, *88*, 187-196.
196. Hershko, C. Oral iron chelators: New opportunities and new dilemmas. *Haematologica* **2006**, *91*, 1307-1312.
197. Jones, M. M. New developments in therapeutic chelating agents as antidotes for metal poisoning. *Crit. Rev. Toxicol.* **1991**, *21*, 209-233.
198. (a) Aniya, Y.; Ohtani, I. I.; Higa, T.; Miyagi, C.; Gibo, H.; Shimabukuro, M.; Nakanishi, H.; Taira, J. Dimerumic acid as an antioxidant of the mold, *Monascus anka*. *Free Radic. Biol. Med.* **2000**, *28*, 999-1004; (b) Kwak, S. Y.; Lee, S.; Choi, H. R.; Park, K. C.; Lee, Y. S. Dual effects of caffeoyl-amino acidyl-hydroxamic acid as an antioxidant and depigmenting agent. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 5155-5158; (c) Hašková, P.; Koubková, L.; Vávrová, A.; Macková, E.; Hrušková, K.; Kovaříková, P.; Vávrová, K.; Šimůnek, T. Comparison of various iron chelators used in clinical practice as protecting agents against catecholamine-induced oxidative injury and cardiotoxicity. *Toxicology* **2011**, *289*, 122-131.
199. (a) Shimoni, E.; Ampel, M.; Záhner, H.; Neeman, I. Antioxidant properties of desferrioxamine E, a new hydroxamate antioxidant. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1998**, *75*, 1453-1455; (b) Adgent, M. A.; Squadrito, G. L.; Ballinger, C. A.; Krzywanski, D. M.; Lancaster, J. R.; Postlethwait, E. M. Desferrioxamine inhibits protein tyrosine nitration: Mechanisms and implications. *Free Radic. Biol. Med.* **2012**, *53*, 951-961.
200. Sato, E.; Kohno, M.; Nakashima, T.; Niwano, Y. Ciclopirox olamine directly scavenges hydroxyl radical. *Int. J. Dermatol.* **2008**, *47*, 15-18.
201. Rha, H. J.; Bae, I. Y.; Lee, S.; Yoo, S. H.; Chang, P. S.; Lee, H. G. Enhancement of anti-radical activity of pectin from apple pomace by hydroxamation. *Food Hydrocoll.* **2011**, *25*, 545-548.
202. Lehtinen, M. K.; Bonni, A. Modeling oxidative stress in the central nervous system. *Curr. Mol. Med.* **2006**, *6*, 871-881.
203. Obolensky, A.; Berenshtein, E.; Lederman, M.; Bulvik, B.; Alper-Pinus, R.; Yaul, R.; Deleon, E.; Chowers, I.; Chevion, M.; Banin, E. Zinc-desferrioxamine attenuates retinal degeneration in the rd10 mouse model of retinitis pigmentosa. *Free Radic. Biol. Med.* **2011**, *51*, 1482-1491.
204. Weinberg, E. D.; Moon, J. Malaria and iron: History and review *Drug Metab. Rev.* **2009**, *41*, 644-662.
205. Tsafack, A.; Loyevsky, M.; Ponka, P.; Ioav Cabantchik, Z. Mode of action of iron (III) chelators as antimalarials. IV. Potentiation of desferal action by benzoyl and isonicotinoyl hydrazone derivatives. *J. Lab. Clin. Med.* **1996**, *127*, 574-582.
206. Schiffmann, R.; Neugebauer, A.; Klein, C. D. Metal-mediated inhibition of escherichia coli methionine aminopeptidase: Structure-activity relationships and development of a novel scoring function for metal-ligand interactions. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 511-522.

207. Sharma, N.; Kumari, M.; Kumar, V.; Chaudhry, S. C. Synthesis, structural characterisation and antibacterial activity of bis(1-phenyl-1,3-butanedionato)non-oxovanadium(IV) hydroxamates. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2010**, *25*, 708-714.
208. (a) Hicks, R. P.; Hartell, M. G.; Nichols, D. A.; Bhattacharjee, A. K.; van Hamont, J. E.; Skillman, D. R. The medicinal chemistry of botulinum, ricin and anthrax toxins. *Curr. Med. Chem.* **2005**, *12*, 667-690; (b) Smith, G. R.; Caglić, D.; Čapek, P.; Zhang, Y.; Godbole, S.; Reitz, A. B.; Dickerson, T. J. Reexamining hydroxamate inhibitors of botulinum neurotoxin serotype A: Extending towards the β -exosite. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 3754-3757; (c) Čapková, K.; Yoneda, Y.; Dickerson, T. J.; Janda, K. D. Synthesis and structure-activity relationships of second-generation hydroxamate botulinum neurotoxin A protease inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 6463-6466.
209. Barbarić, M.; Uršić, S.; Pilepić, V.; Zorc, B.; Hergold-Brundić, A.; Nagl, A.; Grdiša, M.; Pavelić, K.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Mintas, M. Synthesis, X-ray crystal structure study, and cytostatic and antiviral evaluation of the novel cycloalkyl-N-aryl-hydroxamic acids. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 884-887.
210. Rajic, Z.; Butula, I.; Zorc, B.; Kraljevic Pavelic, S.; Hock, K.; Pavelic, K.; Naesens, L.; De Clercq, E.; Balzarini, J.; Przyborowska, M.; Ossowski, T.; Mintas, M. Cytostatic and antiviral activity evaluations of hydroxamic derivatives of some non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Chem. Biol. Drug Des.* **2009**, *73*, 328-338.
211. Plewe, M. B.; Butler, S. L.; Dress, K. R.; Hu, Q.; Johnson, T. W.; Kuehler, J. E.; Kuki, A.; Lam, H.; Liu, W.; Nowlin, D.; Peng, Q.; Rahavendran, S. V.; Tanis, S. P.; Tran, K. T.; Wang, H.; Yang, A.; Zhang, J. Azaindole hydroxamic acids are potent HIV-1 integrase inhibitors. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 7211-7219.
212. (a) Saban, N.; Bujak, M. Hydroxyurea and hydroxamic acid derivatives as antitumor drugs. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2009**, *64*, 213-221; (b) Elford, H. L.; Wampler, G. L.; Van 'T Riet, B. New ribonucleotide reductase inhibitors with antineoplastic activity. *Cancer Res.* **1979**, *39*, 844-851.
213. (a) Yarbro, J. W.; Kennedy, B. J.; Barnum, C. P. Hydroxyurea inhibition of DNA synthesis in ascites tumor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1965**, *53*, 1033-1035; (b) Young, C. W.; Hodas, S. Hydroxyurea: Inhibitory effect on DNA metabolism. *Science* **1964**, *146*, 1172-1174; (c) Adams, R. L.; Lindsay, J. G. Hydroxyurea reversal of inhibition and use as a cell-synchronizing agent. *J. Biol. Chem.* **1967**, *242*, 1314-1317; (d) Krakoff, I. H.; Brown, N. C.; Reichard, P. Inhibition of ribonucleoside diphosphate reductase by hydroxyurea. *Cancer Res.* **1968**, *28*, 1559-1565.
214. (a) Rothenberg, M. L.; Nelson, A. R.; Hande, K. R. New drugs on the horizon: Matrix metalloproteinase inhibitors. *Oncologist* **1998**, *3*, 271-274; (b) Walkinshaw, D. R.; Yang, X. J. Histone deacetylase inhibitors as novel anticancer therapeutics. *Curr. Oncol.* **2008**, *15*, 70-76.

215. (a) Jones, P. A.; Baylin, S. B. The Epigenomics of Cancer. *Cell* **2007**, *128*, 683-692; (b) Glozak, M. A.; Seto, E. Histone deacetylases and cancer. *Oncogene* **2007**, *26*, 5420-5432.
216. Imai, S. I.; Armstrong, C. M.; Kaeberlein, M.; Guarente, L. Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NAD-dependent histone deacetylase. *Nature* **2000**, *403*, 795-800.
217. Li, Z.; Zhu, W. G. Targeting histone deacetylases for cancer therapy: From molecular mechanisms to clinical implications. *Int. J. Biol. Sci.* **2014**, *10*, 757-770.
218. Carew, J. S.; Giles, F. J.; Nawrocki, S. T. Histone deacetylase inhibitors: Mechanisms of cell death and promise in combination cancer therapy. *Cancer Lett.* **2008**, *269*, 7-17.
219. (a) Marks, P. A.; Rifkind, R. A.; Richon, V. M.; Breslow, R. Inhibitors of histone deacetylase are potentially effective anticancer agents. *Clin. Cancer Res.* **2001**, *7*, 759-760; (b) Johnstone, R. W. Histone-deacetylase inhibitors: Novel drugs for the treatment of cancer. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2002**, *1*, 287-299.
220. Lou, B.; Yang, K. Molecular diversity of hydroxamic acids: part II. Potential therapeutic applications. *Mini Rev. Med. Chem.* **2003**, *3*, 609-620.
221. Nebbioso, A.; Carafa, V.; Benedetti, R.; Altucci, L. Trials with 'epigenetic' drugs: An update. *Mol. Oncol.* **2012**, *6*, 657-682.
222. Vigushin, D. M.; Ali, S.; Pace, P. E.; Mirsaidi, N.; Ito, K.; Adcock, I.; Coombes, R. C. Trichostatin A is a histone deacetylase inhibitor with potent antitumor activity against breast cancer in vivo. *Clin. Cancer Res.* **2001**, *7*, 971-976.
223. (a) Lindemann, R. K.; Gabrielli, B.; Johnstone, R. W. Histone-deacetylase inhibitors for the treatment of cancer. *Cell Cycle* **2004**, *3*, 779-788; (b) Marks, P. A.; Richon, V. M.; Miller, T.; Kelly, W. K., Histone deacetylase inhibitors. In *Adv. Cancer Res.*, 2004; Vol. 91, pp 137-168; (c) Rosato, R. R.; Grant, S. Histone deacetylase inhibitors in clinical development. *Expert Opin, Inv, Drugs* **2004**, *13*, 21-38; (d) Drummond, D. C.; Noble, C. O.; Kirpotin, D. B.; Guo, Z.; Scott, G. K.; Benz, C. C., Clinical development of histone deacetylase inhibitors as anticancer agents. In *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2005; Vol. 45, pp 495-528; (e) Kelly, W. K.; Marks, P. A. Drug insight: Histone deacetylase inhibitors - Development of the new targeted anticancer agent suberoylanilide hydroxamic acid. *Nat. Clin. Pract. Oncol.* **2005**, *2*, 150-157.
224. Verma, R. P.; Hansch, C. Matrix metalloproteinases (MMPs): Chemical-biological functions and (Q)SARs. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 2223-2268.
225. Gialeli, C.; Theocharis, A. D.; Karamanos, N. K. Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting. *FEBS J.* **2011**, *278*, 16-27.
226. Nelson, A. R.; Fingleton, B.; Rothenberg, M. L.; Matrisian, L. M. Matrix metalloproteinases: Biologic activity and clinical implications. *J. Clin. Oncol.* **2000**, *18*, 1135-1149.

227. Fang, J.; Shing, Y.; Wiederschain, D.; Yan, L.; Butterfield, C.; Jackson, G.; Harper, J.; Tamvakopoulos, G.; Moses, M. A. Matrix metalloproteinase-2 is required for the switch to the angiogenic phenotype in a tumor model. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2000**, *97*, 3884-3889.
228. Cross, J. B.; Duca, J. S.; Kaminski, J. J.; Madison, V. S. The active site of a zinc-dependent metalloproteinase influences the computed pKa of ligands coordinated to the catalytic zinc ion. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11004-11007.
229. Botos, I.; Scapozza, L.; Zhang, D.; Liotta, L. A.; Meyer, E. F. Batimastat, a potent matrix metalloproteinase inhibitor, exhibits an unexpected mode of binding. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1996**, *93*, 2749-2754.
230. Brown, P. D. Clinical studies with matrix metalloproteinase inhibitors. *APMIS* **1999**, *107*, 174-180.
231. (a) Wojtowicz-Praga, S.; Low, J.; Marshall, J.; Ness, E.; Dickson, R.; Barter, J.; Sale, M.; McCann, P.; Moore, J.; Cole, A.; Hawkins, M. J. Phase I trial of a novel matrix metalloproteinase inhibitor batimastat (BB-94) in patients with advanced cancer. *Investig. New Drugs* **1996**, *14*, 193-202; (b) Macaulay, V. M.; O'Byrne, K. J.; Saunders, M. P.; Braybrooke, J. P.; Long, L.; Gleeson, F.; Mason, C. S.; Harris, A. L.; Brown, P.; Talbot, D. C. Phase I study of intrapleural batimastat (BB-94), a matrix metalloproteinase inhibitor, in the treatment of malignant pleural effusions. *Clin. Cancer Res.* **1999**, *5*, 513-520; (c) Beattie, G. J.; Smyth, J. F. Phase I study of intraperitoneal metalloproteinase inhibitor BB94 in patients with malignant ascites. *Clin. Cancer Res.* **1998**, *4*, 1899-1902.
232. Laufer, M.; Pound, C. R.; Carducci, M. A.; Eisenberger, M. A. Management of patients with rising prostate-specific antigen after radical prostatectomy. *Urology* **2000**, *55*, 309-315.
233. Bramhall, S. R.; Hallissey, M. T.; Whiting, J.; Scholefield, J.; Tierney, G.; Stuart, R. C.; Hawkins, R. E.; McCulloch, P.; Maughan, T.; Brown, P. D.; Baillet, M.; Fielding, J. W. L. Marimastat as maintenance therapy for patients with advanced gastric cancer: A randomised trial. *Br. J. Cancer* **2002**, *86*, 1864-1870.
234. Shalinsky, D. R.; Brekken, J.; Zou, H.; McDermott, C. D.; Forsyth, P.; Edwards, D.; Margosiak, S.; Bender, S.; Truitt, G.; Wood, A.; Varki, N. M.; Appelt, K. Broad antitumor and antiangiogenic activities of AG3340, a potent and selective MMP inhibitor undergoing advanced oncology clinical trials. In *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1999; Vol. 878, pp 236-270.
235. Price, A.; Shi, Q.; Morris, D.; Wilcox, M. E.; Brasher, P. M. A.; Rewcastle, N. B.; Shalinsky, D.; Zou, H.; Appelt, K.; Johnston, R. N.; Yong, V. W.; Edwards, D.; Forsyth, P. Marked inhibition of tumor growth in a malignant glioma tumor model by a novel synthetic matrix metalloproteinase inhibitor AG3340. *Clin. Cancer Res.* **1999**, *5*, 845-854.
236. Santos, O.; McDermott, C. D.; Daniels, R. G.; Appelt, K. Rodent pharmacokinetic and anti-tumor efficacy studies with a series of synthetic inhibitors of matrix metalloproteinases. *Clin. Exp. Metastasis* **1997**, *15*, 499-508.

237. Bissett, D.; O'Byrne, K. J.; Von Pawel, J.; Gatzemeier, U.; Price, A.; Nicolson, M.; Mercier, R.; Mazabel, E.; Penning, C.; Zhang, M. H.; Collier, M. A.; Shepherd, F. A. Phase III study of matrix metalloproteinase inhibitor prinomastat in non-small-cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.* **2005**, *23*, 842-849.
238. Winum, J. Y.; Köhler, S.; Scozzafava, A.; Montero, J. L.; Supuran, C. T. Targeting bacterial metalloenzymes: A new strategy for the development of anti-infective agents. *Antiinfect. Agents in Med. Chem.* **2008**, *7*, 169-179.
239. Supuran, C. T.; Scozzafava, A.; Casini, A. Carbonic anhydrase inhibitors. *Med. Res. Rev.* **2003**, *23*, 146-189.
240. Guler, O. O.; de Simone, G.; Supuran, C. T. Drug design studies of the novel antitumor targets carbonic anhydrase IX and XII. *Curr. Med. Chem.* **2010**, *17*, 1516-1526.
241. Santos, M. A.; Marques, S.; Vullo, D.; Innocenti, A.; Scozzafava, A.; Supuran, C. T. Carbonic anhydrase inhibitors: Inhibition of cytosolic/tumor-associated isoforms I, II, and IX with iminodiacetic carboxylates/hydroxamates also incorporating benzenesulfonamide moieties. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 1538-1543.
242. Hyde, C. A. C.; Missailidis, S. Inhibition of arachidonic acid metabolism and its implication on cell proliferation and tumour-angiogenesis. *Int. Immunopharmacol.* **2009**, *9*, 701-715.
243. (a) Hu, X.; Zhu, J.; Srivathsan, S.; Pei, D. Peptidyl hydroxamic acids as methionine aminopeptidase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 77-79; (b) Kawai, M.; BaMaung, N. Y.; Fidanze, S. D.; Erickson, S. A.; Tedrow, J. S.; Sanders, W. J.; Vasudevan, A.; Park, C.; Hutchins, C.; Comess, K. M.; Kalvin, D.; Wang, J.; Zhang, Q.; Lou, P.; Tucker-Garcia, L.; Bouska, J.; Bell, R. L.; Lesniewski, R.; Henkin, J.; Sheppard, G. S. Development of sulfonamide compounds as potent methionine aminopeptidase type II inhibitors with antiproliferative properties. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 3574-3577.
244. González-Bulnes, P.; González-Roura, A.; Canals, D.; Delgado, A.; Casas, J.; Llebaria, A. 2-Aminohydroxamic acid derivatives as inhibitors of *Bacillus cereus* phosphatidylcholine preferred phospholipase C PC-PLC_{Bc}. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 8549-8555.
245. Stoermer, D.; Liu, Q.; Hall, M. R.; Flanary, J. M.; Thomas, A. G.; Rojas, C.; Slusher, B. S.; Tsukamoto, T. Synthesis and biological evaluation of hydroxamate-based inhibitors of glutamate carboxypeptidase II. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 2097-2100.
246. Heightman, T. D. Chemical biology of lysine demethylases. *Curr. Chem. Genomics* **2011**, *5*, 62-71.
247. Ly, H. D.; Susan, L. C.; Sampson, P. B.; Honek, J. F. Syntheses and kinetic evaluation of hydroxamate-based peptide inhibitors of glyoxalase I. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 705-710.
248. Leone, S.; Ottani, A.; Bertolini, A. Dual acting anti-inflammatory drugs. *Curr. Top. Med. Chem.* **2007**, *7*, 265-275.

249. Simmons, D. L.; Botting, R. M.; Hla, T. Cyclooxygenase isozymes: The biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacol. Rev.* **2004**, *56*, 387-437.
250. Andreou, A.; Feussner, I. Lipoxygenases – Structure and reaction mechanism. *Phytochemistry* **2009**, *70*, 1504-1510.
251. Bahia, M. S.; Silakari, O. Strategy for generation of new TACE inhibitors: Pharmacophore and counter pharmacophore modeling to remove non-selective hits. *Med. Chem. Res.* **2011**, *20*, 760-768.
252. Feng, W.-f.; Zhao, Y.-b.; Huang, W.; Yang, Y.-z. Molecular modeling and biological effects of peptidomimetic inhibitors of TACE activity. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2010**, *25*, 459-466.
253. Stanetty, C.; Czollner, L.; Koller, I.; Shah, P.; Gaware, R.; Cunha, T. D.; Odermatt, A.; Jordis, U.; Kosma, P.; Classen-Houben, D. Synthesis of novel 3-amino and 29-hydroxamic acid derivatives of glycyrrhetic acid as selective 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 2 inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 7522-7541.
254. Fournié-Zaluski, M. C.; Coulaud, A.; Bouboutou, R.; Chaillet, P.; Devin, J.; Waksman, G.; Costentin, J.; Roques, B. P. New bidentates as full inhibitors of enkephalin-degrading enzymes: Synthesis and analgesic properties. *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 1158-1169.
255. Halili, M. A.; Andrews, M. R.; Sweet, M. J.; Fairlie, D. P. Histone deacetylase inhibitors in inflammatory disease. *Curr. Top. Med. Chem.* **2009**, *9*, 309-319.
256. Royce, S. G.; Karagiannis, T. C. Histone deacetylases and their role in asthma. *J. Asthma* **2012**, *49*, 121-128.
257. (a) Sasabe, J.; Chiba, T.; Yamada, M.; Okamoto, K.; Nishimoto, I.; Matsuoka, M.; Aiso, S. d-Serine is a key determinant of glutamate toxicity in amyotrophic lateral sclerosis. *EMBO J.* **2007**, *26*, 4149-4159; (b) Mothet, J. P.; Parent, A. T.; Wolosker, H.; Brady, R. O., Jr.; Linden, D. J.; Ferris, C. D.; Rogawski, M. A.; Snyder, S. H. D-serine is an endogenous ligand for the glycine site of the N-methyl-D-aspartate receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2000**, *97*, 4926-4931.
258. Hashimoto, K.; Fukushima, T.; Shimizu, E.; Okada, S.-i.; Komatsu, N.; Okamura, N.; Koike, K.; Koizumi, H.; Kumakiri, C.; Imai, K.; Iyo, M. Possible role of d-serine in the pathophysiology of Alzheimer's disease. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* **2004**, *28*, 385-388.
259. Hoffman, H. E.; Jirásková, J.; Cígler, P.; Šanda, M.; Schraml, J.; Konvalinka, J. Hydroxamic acids as a novel family of serine racemase Inhibitors: Mechanistic analysis reveals different modes of Interaction with the pyridoxal-5'-phosphate cofactor. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 6032-6041.
260. Thomas, A. G.; Rojas, C. J.; Hill, J. R.; Shaw, M.; Slusher, B. S. Bioanalysis of N-acetyl-aspartyl-glutamate as a marker of glutamate carboxypeptidase II inhibition. *Anal. Biochem.* **2010**, *404*, 94-96.
261. (a) Ptak, C.; Petronis, A. Epigenetic approaches to psychiatric disorders. *Dialogues Clin. Neurosci.* **2010**, *12*, 23-33; (b) Scuteri, A.; Ravasi, M.; Pasini,

S.; Bossi, M.; Tredici, G. Mesenchymal stem cells support dorsal root ganglion neurons survival by inhibiting the metalloproteinase pathway. *Neuroscience* **2011**, *172*, 12-19; (c) Gibson, C. L.; Murphy, S. P. Benefits of histone deacetylase inhibitors for acute brain injury: a systematic review of animal studies. *J. Neurochem.* **2010**, *115*, 806-813.

262. McKinsey, T. A., Therapeutic potential for HDAC inhibitors in the heart. In *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2012; Vol. 52, pp 303-319.

263. (a) Moncada, S.; Higgs, E. A. Molecular mechanisms and therapeutic strategies related to nitric oxide. *FASEB J.* **1995**, *9*, 1319-1330; (b) Stuehr, D. J. Mammalian nitric oxide synthases. *BBA-Bioenergetics* **1999**, *1411*, 217-230.

264. Marmion, C. J.; Murphy, T.; Docherty, J. R.; Nolan, K. B. Hydroxamic acids are nitric oxide donors. Facile formation of ruthenium(II)-nitrosyls and NO-mediated activation of guanylate cyclase by hydroxamic acids. *Chem. Commun.* **2000**, 1153-1154.

265. Marmion, C. J.; Griffith, D.; Nolan, K. B. Hydroxamic acids - An intriguing family of enzyme inhibitors and biomedical ligands. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2004**, 3003-3016.

266. Maxmen, A. Cancer research: Open ambition. *Nature* **2012**, *488*, 148-150.

267. Santini, V.; Gozzini, A.; Ferrari, G. Histone deacetylase inhibitors: Molecular and biological activity as a premise to clinical application. *Curr. Drug Metab.* **2007**, *8*, 383-394.

268. Munster, P. N.; Troso-Sandoval, T.; Rosen, N.; Rifkind, R.; Marks, P. A.; Richon, V. M. The histone deacetylase inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid induces differentiation of human breast cancer cells. *Cancer Res.* **2001**, *61*, 8492-8497.

269. Luu, T. H.; Morgan, R. J.; Leong, L.; Lim, D.; McNamara, M.; Portnow, J.; Frankel, P.; Smith, D. D.; Doroshow, J. H.; Gandara, D. R.; Aparicio, A.; Somlo, G.; Wong, C. A phase II trial of vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid) in metastatic breast cancer: A California cancer consortium study. *Clin. Cancer Res.* **2008**, *14*, 7138-7142.

270. Richardson, P.; Mitsiades, C.; Colson, K.; Reilly, E.; McBride, L.; Chiao, J.; Sun, L.; Ricker, J.; Rizvi, S.; Oerth, C.; Atkins, B.; Fearen, I.; Anderson, K.; Siegel, D. Phase I trial of oral vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA) in patients with advanced multiple myeloma. *Leuk. Lymphoma* **2008**, *49*, 502-507.

271. Crump, M.; Coiffier, B.; Jacobsen, E. D.; Sun, L.; Ricker, J. L.; Xie, H.; Frankel, S. R.; Randolph, S. S.; Cheson, B. D. Phase II trial of oral vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid) in relapsed diffuse large-B-cell lymphoma. *Ann. Oncol.* **2008**, *19*, 964-969.

272. Modesitt, S. C.; Sill, M.; Hoffman, J. S.; Bender, D. P. A phase II study of vorinostat in the treatment of persistent or recurrent epithelial ovarian or primary peritoneal carcinoma: A gynecologic oncology group study. *Gynecol. Oncol.* **2008**, *109*, 182-186.

273. (a) Charache, S.; Dover, G. J.; Moyer, M. A.; Moore, J. W. Hydroxyurea-induced augmentation of fetal hemoglobin production in patients with sickle cell anemia. *Blood* **1987**, 69, 109-116; (b) Charache, S.; Terrin, M. L.; Moore, R. D.; Dover, G. J.; Barton, F. B.; Eckert, S. V.; McMahon, R. P.; Bonds, D. R. Effect of hydroxyurea on the frequency of painful crises in Sickle cell anemia. *N. Engl. J. Med.* **1995**, 332, 1317-1322; (c) Schechter, A. N.; Rodgers, G. P. Sickle cell anemia - Basic research reaches the clinic. *N. Engl. J. Med.* **1995**, 332, 1372-1374.
274. Gao, W. Y.; Cara, A.; Gallo, R. C.; Lori, F. Low levels of deoxynucleotides in peripheral blood lymphocytes: A strategy to inhibit human immunodeficiency virus type 1 replication. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1993**, 90, 8925-8928.
275. Cortelazzo, S.; Finazzi, G.; Ruggeri, M.; Vestri, O.; Galli, M.; Rodeghiero, F.; Barbui, T. Hydroxyurea for patients with essential thrombocythemia and a high risk of thrombosis. *N. Engl. J. Med.* **1995**, 332, 1132-1136.
276. Rosten, M. Hydroxyurea: a new antimetabolite in the treatment of psoriasis. *Br. J. Dermatol.* **1971**, 85, 177-181.
277. Donovan, P. B.; Kaplan, M. E.; Goldberg, J. D.; Tatarsky, I.; Najean, Y.; Silberstein, E. B.; Knospe, W. H.; Laszlo, J.; Mack, K.; Berk, P. D.; Wasserman, L. R. Treatment of polycythemia vera with hydroxyurea. *Am. J. Hematol.* **1984**, 17, 329-334.
278. (a) Silver, R. T.; Woolf, S. H.; Hehlmann, R.; Appelbaum, F. R.; Anderson, J.; Bennett, C.; Goldman, J. M.; Guilhot, F.; Kantarjian, H. M.; Lichtin, A. E.; Talpaz, M.; Tura, S. An evidence-based analysis of the effect of busulfan, hydroxyurea, interferon, and allogeneic bone marrow transplantation in treating the chronic phase of chronic myeloid leukemia: Developed for the American Society of Hematology. *Blood* **1999**, 94, 1517-1536; (b) Goldman, J. M. Optimizing treatment for chronic myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* **1997**, 337, 270-271; (c) Hehlmann, R.; Berger, U.; Pfirrmann, M.; Hochhaus, A.; Metzgeroth, G.; Maywald, O.; Hasford, J.; Reiter, A.; Hossfeld, D. K.; Kolb, H. J.; Löffler, H.; Pralle, H.; Queisser, W.; Griesshammer, M.; Nerl, C.; Kuse, R.; Tobler, A.; Eimermacher, H.; Tichelli, A.; Aul, C.; Wilhelm, M.; Fischer, J. T.; Perker, M.; Scheid, C.; Schenk, M.; Weiss, J.; Meier, C. R.; Kremers, S.; Labedzki, L.; Schmeiser, T.; Lohrmann, H. P.; Heimpel, H. Randomized comparison of interferon alpha and hydroxyurea with hydroxyurea monotherapy in chronic myeloid leukemia (CML-study II): prolongation of survival by the combination of interferon alpha and hydroxyurea. *Leukemia* **2003**, 17, 1529-1537.
279. (a) Piver, M. S.; Barlow, J. J.; Vongtama, V.; Blumenson, L. Hydroxyurea: A radiation potentiator in carcinoma of the uterine cervix. A randomized double-blind study. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1983**, 147, 803-808; (b) Hreshchyshyn, M. M.; Aron, B. S.; Boronow, R. C.; Franklin Iii, E. W.; Shingleton, H. M.; Blessing, J. A. Hydroxyurea or placebo combined with radiation to treat stages iiib and iv cervical cancer confined to the pelvis. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **1979**, 5, 317-322.
280. (a) Schrell, U. M. H.; Rittig, M. G.; Koch, U.; Marschalek, R.; Anders, M. Hydroxyurea for treatment of unresectable meningiomas. *Lancet* **1996**, 348,

888-889; (b) Schrell, U. M. H.; Rittig, M. G.; Anders, M.; Kiesewetter, F.; Marschalek, R.; Koch, U. H.; Fahlbusch, R. Hydroxyurea for treatment of unresectable and recurrent meningiomas. I. Inhibition of primary human meningioma cells in culture and in meningioma transplants by induction of the apoptotic pathway. *J. Neurosurg.* **1997**, *86*, 845-852.

281. (a) Cammack, K. V.; Taylor, R. M. Advanced neoplasms of head and neck. Treatment with combined radiation and chemotherapy. *Rocky Mt. Med. J.* **1972**, *69*, 54-56; (b) Richards Jr, G. J.; Chambers, R. G. Hydroxyurea in the treatment of neoplasms of the head and neck. A resurvey. *Am. J. Surg.* **1973**, *126*, 513-518; (c) Hussey, D. H.; Abrams, J. P. Combined therapy in advanced head and neck cancer: hydroxyurea and radiotherapy. *Prog. Clin. Cancer* **1975**, *6*, 79-86; (d) Lerner, H. J. Concomitant hydroxyurea and irradiation. Clinical experience with 100 patients with advanced head and neck cancer at Pennsylvania Hospital. *Am. J. Surg.* **1977**, *134*, 505-509.

282. (a) Gwilt, P. R.; Tracewell, W. G. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of hydroxyurea. *Clin. Pharmacokinet.* **1998**, *34*, 347-358; (b) Blasberg, R. G.; Patlak, C.; Fenstermacher, J. D. Intrathecal chemotherapy: brain tissue profiles after ventriculo cisternal perfusion. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1975**, *195*, 73-83.

283. Marwick, C. New drugs selectively inhibit kidney stone formation. *J. Am. Med. Assoc.* **1983**, *250*, 321-322.

284. Griffith, D. P.; Musher, D. M. Acetohydroxamic acid. Potential use in urinary infection caused by urea-splitting bacteria. *Urology* **1975**, *5*, 299-302.

285. Griffith, D. P.; Moskowitz, P. A.; Carlton Jr, C. E. Adjunctive chemotherapy of infection-induced staghorn calculi. *J. Urol.* **1979**, *121*, 711-715.

286. Ciba Pharmaceutical, C. Deferoxamine mesylate (Desferal mesylate); A specific iron-chelating agent for treating acute iron intoxication. *Clin. Pharmacol. Ther.* **1969**, *10*, 595-596.

287. Italia, K.; Colah, R.; Ghosh, K. Experimental animal model to study iron overload and iron chelation and review of other such models. *Blood Cells Mol. Dis.* **2015**, *55*, 194-199.

288. Miyajima, H.; Takahashi, Y.; Kamata, T.; Shimizu, H.; Sakai, N.; Gitlin, J. D. Use of desferrioxamine in the treatment of aceruloplasminemia. *Ann. Neurol.* **1997**, *41*, 404-407.

289. Plumb, J. A.; Finn, P. W.; Williams, R. J.; Bandara, M. J.; Romero, M. R.; Watkins, C. J.; La Thangue, N. B.; Brown, R. Pharmacodynamic response and inhibition of growth of human tumor xenografts by the novel histone deacetylase inhibitor PXD101. *Mol. Cancer Ther.* **2003**, *2*, 721-728.

290. McDermott, J.; Jimeno, A. Belinostat for the treatment of peripheral T-cell lymphomas. *Drugs Today* **2014**, *50*, 337-345.

291. Mack, G. S. To selectivity and beyond. *Nat Biotech* **2010**, *28*, 1259-1266.

292. (a) Garnock-Jones, K. P. Panobinostat: First global approval. *Drugs* **2015**, *75*, 695-704; (b) Tan, D.; Phipps, C.; Hwang, W. Y. K.; Tan, S. Y.; Yeap, C. H.; Chan, Y. H.; Tay, K.; Lim, S. T.; Lee, Y. S.; Kumar, S. G.; Ng, S.

C.; Fadilah, S.; Kim, W. S.; Goh, Y. T. Panobinostat in combination with bortezomib in patients with relapsed or refractory peripheral T-cell lymphoma: An open-label, multicentre phase 2 trial. *Lancet Haematol.* **2015**, *2*, e326-e333.

293. (a) Dickinson, M.; Ritchie, D.; Deangelo, D. J.; Spencer, A.; Ottmann, O. G.; Fischer, T.; Bhalla, K. N.; Liu, A.; Parker, K.; Scott, J. W.; Bishton, M.; Miles Prince, H. Preliminary evidence of disease response to the pan deacetylase inhibitor panobinostat (LBH589) in refractory Hodgkin Lymphoma. *Br. J. Haematol.* **2009**, *147*, 97-101; (b) Prince, H. M.; Bishton, M. Panobinostat (LBH589): A novel pan-deacetylase inhibitor with activity in T cell lymphoma. *Haematol. Meet Rep.* **2009**, *3*, 33-38.

294. Rasmussen, T. A.; Tolstrup, M.; Brinkmann, C. R.; Olesen, R.; Erikstrup, C.; Solomon, A.; Winckelmann, A.; Palmer, S.; Dinarello, C.; Buzon, M.; Lichterfeld, M.; Lewin, S. R.; Ostergaard, L.; Søgaaard, O. S. Panobinostat, a histone deacetylase inhibitor, for latent virus reactivation in HIV-infected patients on suppressive antiretroviral therapy: A phase 1/2, single group, clinical trial. *Lancet HIV* **2014**, *1*, e13-e21.

295. Garbes, L.; Riessland, M.; Hölker, I.; Heller, R.; Hauke, J.; Tränkle, C.; Coras, R.; Blümcke, I.; Hahnen, E.; Wirth, B. LBH589 induces up to 10-fold SMN protein levels by several independent mechanisms and is effective even in cells from SMA patients non-responsive to valproate. *Hum. Mol. Genet.* **2009**, *18*, 3645-3658.

296. Mehdi, O.; Françoise, S.; Sofia, C. L.; Urs, G.; Kevin, Z.; Bernard, S.; Igor, S.; Anabela, C. D. S.; Dominique, L.; Eric, M.; Ali, O. HDAC gene expression in pancreatic tumor cell lines following treatment with the HDAC inhibitors panobinostat (LBH589) and trichostatine (TSA). *Pancreatology* **2012**, *12*, 146-155.

297. Grasso, C. S.; Tang, Y.; Truffaux, N.; Berlow, N. E.; Liu, L.; Debily, M. A.; Quist, M. J.; Davis, L. E.; Huang, E. C.; Woo, P. J.; Ponnuswami, A.; Chen, S.; Johung, T. B.; Sun, W.; Kogiso, M.; Du, Y.; Qi, L.; Huang, Y.; Hütt-Cabezas, M.; Warren, K. E.; Le Dret, L.; Meltzer, P. S.; Mao, H.; Quezado, M.; Van Vuurden, D. G.; Abraham, J.; Fouladi, M.; Svalina, M. N.; Wang, N.; Hawkins, C.; Nazarian, J.; Alonso, M. M.; Raabe, E. H.; Hulleman, E.; Spellman, P. T.; Li, X. N.; Keller, C.; Pal, R.; Grill, J.; Monje, M. Functionally defined therapeutic targets in diffuse intrinsic pontine glioma. *Nat. Med.* **2015**, *21*, 555-559.

298. Brenner, M.; Huber, W. Herstellung von α -aminosäureestern durch alkoholyse der methylester. *Helv. Chim. Acta* **1953**, *36*, 1109-1115.

299. Kokotos, G.; Feuerherm, A. J.; Barbayianni, E.; Shah, I.; Sæther, M.; Magrioti, V.; Nguyen, T.; Constantinou-Kokotou, V.; Dennis, E. A.; Johansen, B. Inhibition of group IVA cytosolic phospholipase A₂ by thiazolyl ketones in vitro, ex vivo, and in vivo. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 7523-7535.

300. Wadsworth, W. S.; Emmons, W. D. The utility of phosphonate carbanions in olefin synthesis. *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 1733-1738.

301. Stowell, J. C.; Huot, R. I.; Van Voast, L. The synthesis of N-hydroxy-N'-phenyloctanediamide and its inhibitory effect on proliferation of AXC rat prostate cancer cells. *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 1411-1413.
302. Bal, B. S.; Childers, W. E.; Pinnick, H. W. Oxidation of α,β -unsaturated aldehydes. *Tetrahedron* **1981**, 37, 2091-2096.
303. Clayden, J. Organic chemistry. Oxford: Oxford University Press **2001**, 276-296.
304. (a) Boivin, J.; Kaim, L. E.; Zard, S. Z. An expedient access to trifluoromethyl ketones from carboxylic acids. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 1285-1288; (b) Boivin, J.; Kaim, L. E.; Zard, S. Z. A new and efficient synthesis of trifluoromethyl ketones from carboxylic acids. Part I. *Tetrahedron* **1995**, 51, 2573-2584.
305. Lu, Q.; Yang, Y. T.; Chen, C. S.; Davis, M.; Byrd, J. C.; Etherton, M. R.; Umar, A.; Chen, C. S. Zn^{2+} -Chelating motif-tethered short-chain fatty acids as a novel class of histone deacetylase inhibitors. *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 467-474.
306. Draffin, S. P.; Duggan, P. J.; Duggan, S. A. M. Highly fructose selective transport promoted by boronic acids based on a pentaerythritol core. *Org. Lett.* **2001**, 3, 917-920.
307. Arndt, F.; Eistert, B. Ein verfahren zur überführung von carbonsäuren in ihre höheren homologen bzw. deren derivat. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1935**, 68, 200-208.
308. Ducrot, P.; Rabhi, C.; Thal, C. Synthesis of tetrahydro- β -carboline and studies of the Pictet-Spengler reaction. *Tetrahedron* **2000**, 56, 2683-2692.
309. Wolff, L.; Krüche, R. Über diazoanhydride (1,2,3-oxydiazole oder diazoxyde) und diazoketone. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1912**, 394, 23-59.
310. Six, D. A.; Barbayianni, E.; Loukas, V.; Constantinou-Kokotou, V.; Hadjipavlou-Litina, D.; Stephens, D.; Wong, A. C.; Magrioti, V.; Moutevelis-Minakakis, P.; Baker, S. F.; Dennis, E. A.; Kokotos, G. Structure-activity relationship of 2-oxoamide inhibition of group IVA cytosolic phospholipase A_2 and group V secreted phospholipase A_2 . *J. Med. Chem.* **2007**, 50, 4222-4235.
311. Kokotos, G. A convenient one-pot conversion of N-protected amino acids and peptides into alcohols. *Synthesis* **1990**, 1990, 299-301.
312. Robert Leanna, M.; Sowin, T. J.; Morton, H. E. Synthesis of α -amino and α -alkoxy aldehydes via oxoammonium oxidation. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 5029-5032.
313. Moutevelis-Minakakis, P.; Sinanoglou, C.; Loukas, V.; Kokotos, G. Synthesis of non-natural amino acids based on the ruthenium-catalysed oxidation of a phenyl group to carboxylic acid. *Synthesis* **2005**, 2005, 933-938.
314. Fitzmaurice, R. J.; Gaggini, F.; Srinivasan, N.; Kilburn, J. D. Carboxylate binding in polar solvents using pyridylguanidinium salts. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, 5, 1706-1714.

315. Ferry, G.; Moulharat, N.; Pradère, J.-P.; Desos, P.; Try, A.; Genton; Giganti, A.; Beucher-Gaudin, M.; Lonchamp, M.; Bertrand, M.; Saulnier-Blache, J.-S.; Tucker, G. C.; Cordi, A.; Boutin, J. A. S32826, A Nanomolar Inhibitor of Autotaxin: Discovery, Synthesis and Applications as a Pharmacological Tool. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2008**, 327, 809-819.
316. (a) Leslie, C. C. Cytosolic phospholipase A₂: physiological function and role in disease. *J. Lipid Res.* **2015**, 56, 1386-1402; (b) Dennis, E. A.; Cao, J.; Hsu, Y.-H.; Magrioti, V.; Kokotos, G. Phospholipase A₂ enzymes: physical structure, biological function, disease implication, chemical inhibition, and therapeutic intervention. *Chem. Rev.* **2011**, 111, 6130-6185.
317. Lo, P. K.; Sleiman, H. F. Nucleobase-templated polymerization: copying the chain length and polydispersity of living polymers into conjugated polymers. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 4182-4183.
318. Nystrom, R. F.; Brown, W. G. Reduction of organic compounds by lithium aluminum hydride. I. Aldehydes, ketones, esters, acid chlorides and acid anhydrides. *J. Am. Chem. Soc.* **1947**, 69, 1197-1199.
319. Johnson, H. E.; Chosby, D. G. α -hydroxy acid amides. A convenient synthesis. *J. Org. Chem.* **1963**, 28, 3255-3256.
320. Dess, D. B.; Martin, J. C. A useful 12-I-5 triacetoxyperiodinane (the Dess-Martin periodinane) for the selective oxidation of primary or secondary alcohols and a variety of related 12-I-5 species. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 7277-7287.
321. Lundt, B. F.; Johansen, N. L.; Vølund, A.; Markussen, J. Removal of t-butyl and t-butoxycarbonyl protecting groups with trifluoroacetic acid. *Int. J. Pept. Protein Res.* **1978**, 12, 258-268.
322. Shinozuka, T.; Shimada, K.; Matsui, S.; Yamane, T.; Ama, M.; Fukuda, T.; Taki, M.; Takeda, Y.; Otsuka, E.; Yamato, M.; Mochizuki, S.-i.; Ohhata, K.; Naito, S. Potent and selective cathepsin K inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 6789-6806.
323. Magrioti, V.; Nikolaou, A.; Smyrniotou, A.; Shah, I.; Constantinou-Kokotou, V.; Dennis, E. A.; Kokotos, G. New potent and selective polyfluoroalkyl ketone inhibitors of GVIA calcium-independent phospholipase A₂. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, 21, 5823-5829.
324. Zhang, Z. D.; Scheffold, R. Asymmetric catalysis by vitamin B12: The isomerization of achiral aziridines to optically active allylic amines. *Helv. Chim. Acta* **1993**, 76, 2602-2615.
325. Mendre, C.; Rodriguez, M.; Laur, J.; Aumelas, A.; Martinez, J. Peptide and pseudopeptide analogues of cholecystokinin, chemical modifications of the met28-gly29 region. *Tetrahedron* **1988**, 44, 4415-4430.
326. Ferber, E.; Leonhardt, P. Zur kenntnis der [p-amino-cyclohexyl]-essigsäure. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1934**, 67, 245-249.
327. Rijkers, D. T. S.; Adams, H. P. H. M.; Hemker, H. C.; Tesser, G. I. A convenient synthesis of amino acid p-nitroanilides; synthons in the synthesis of protease substrates. *Tetrahedron* **1995**, 51, 11235-11250.

328. Geiger, C.; Zelenka, C.; Weigl, M.; Fröhlich, R.; Wibbeling, B.; Lehmkuhl, K.; Schepmann, D.; Grünert, R.; Bednarski, P. J.; Wünsch, B. Synthesis of bicyclic σ receptor ligands with cytotoxic activity. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 6144-6153.
329. Hurd, C. D.; Buess, C. M.; Bauer, L. 5-Carboxyvalerohydroxamic acid, 5-carboxyvaleryl azide, 3-carboxypropionohydroxamic acid, o-carboxybenzohydroxamic acid, and polyamides prepared from them by rearrangement. *J. Org. Chem.* **1952**, *17*, 865-876.
330. Zheng, R.; Zhou, Q.; Gu, H.; Jiang, H.; Wu, J.; Jin, Z.; Han, D.; Dai, G.; Chen, R. Copper-catalyzed synthesis of aromatic carboxylic acids from arylboronic acids and acetyl acetate. *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 5671-5675.
331. Hill, J. W. Studies on polymerization and ring formation. VI. Adipic anhydride. *J. Am. Chem. Soc.* **1930**, *52*, 4110-4114.
332. McDonald, I. A.; Bernotas, R. C.; Dudley, M. W.; Sprouse, J. S., Serotonin 5ht1a agonists. Google Patents: 1993.
333. Schniepp, L. E.; Marvel, C. S. Some reactions of δ -aminovaleric acid and its derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **1935**, *57*, 1557-1558.
334. Ainsworth, C.; Benslay, D. N.; Davenport, J.; Hudson, J. L.; Kau, D.; Lin, T. M.; Pfeiffer, R. R. Cholesterol-solubilizing agents related to the gallstone problem. *J. Med. Chem.* **1967**, *10*, 158-161.
335. Elaut, G.; Laus, G.; Alexandre, E.; Richert, L.; Bachellier, P.; Tourwé, D.; Rogiers, V.; Vanhaecke, T. A metabolic screening study of trichostatin A (TSA) and TSA-like histone deacetylase inhibitors in rat and human primary hepatocyte cultures. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2007**, *321*, 400-408.
336. Allevi, P.; Anastasia, M. Synthesis of all four possible stereoisomers of 5-hydroxylysine. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 3151-3160.
337. Li, S.-G.; Portela-Cubillo, F.; Zard, S. Z. A convergent synthesis of enantiopure open-chain, cyclic, and fluorinated α -amino acids. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 1888-1891.
338. Kricheldorf, H. R.; Leppert, E. Reaktionen mono- und bifunktioneller thiocarbonsäuren mit mono- und bifunktionellen isocyanaten oder isothiocyanten. *Makromol. Chem.* **1973**, *167*, 47-68.
339. Bornwater, J. T. Sur quelques dérivés des amino-acides. *Recl. Trav. Chim. Pay B.* **1917**, *36*, 281-284.
340. Ishibashi, N.; Kouge, K.; Shinoda, I.; Kanehisa, H.; Okai, H. A mechanism for bitter taste sensibility in peptides. *Agric. Biol. Chem.* **1988**, *52*, 819-827.
341. Sutter, M.; Lafon, R.; Raoul, Y.; Méta, E.; Lemaire, M. Heterogeneous palladium-catalyzed synthesis of aromatic ethers by solvent-free dehydrogenative aromatization: mechanism, scope, and limitations under aerobic and non-aerobic conditions. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *2013*, 5902-5916.