



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

Σχεδιασμός, Σύνθεση και Φαρμακολογική Αξιολόγηση
Νέων Ιμιδαζο[4,5-*c*]πυριδινών

Μαρκέλος Καϊρης

Χημικός

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

Αθήνα 2014

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Ν. ΠΟΥΛΗ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ (ΕΠΙΒΕΠΟΥΣΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ)

Π. ΜΑΡΑΚΟΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

Ε. ΜΙΚΡΟΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	
ABSTRACT.....	
I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
II. ΧΗΜΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	17
III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	30
IV. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	32
V. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	48

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Πουρινικά παράγωγα, αποτελούν τους δομικούς λίθους των νουκλεϊνικών οξέων και συμμετέχουν σε όλες τις σημαντικές μεταβολικές διεργασίες του κυττάρου. Η πρόσληψη και ο μεταβολισμός τους αποτελεί απαραίτητη φυσιολογική λειτουργία όλων των οργανισμών, καθιστώντας απαραίτητη την παρουσία εξειδικευμένων διαμεμβρανικών μεταφορέων για την πρόσληψή τους. Αυτοί οι μεταφορείς, λειτουργούν είτε με παθητική διάχυση, είτε με ενεργό μεταφορά. Οι μύκητες διαθέτουν τρεις εξελικτικά διακριτές οικογένειες μεταφορέων που εξειδικεύονται στις νουκλεοτιδικές βάσεις. Μεταξύ αυτών είναι ο διαμεμβρανικός μεταφορέας FcyB που έχει μελετηθεί εκτενώς. Στην εργασία αυτή παρουσιάζεται ο σχεδιασμός και η σύνθεση νέων ιμιδαζο[4,5-*c*]πυριδινών ως πιθανών αναστολέων των μεταφορέων πουρινών και η φαρμακολογική αξιολόγησή τους έναντι του FcyB του μύκητα *Aspergillus nidulans*. Τα νέα μόρια παρασκευάστηκαν από κατάλληλα υποκατεστημένες νιτροπυριδίνες, στις οποίες εισήχθησαν συγκεκριμένοι αμινικοί ή αιθερικοί υποκαταστάτες και ακολούθησε κυκλοποίηση προς υποκατεστημένες ιμιδαζοπυριδίνες, στις οποίες πραγματοποιήθηκε κατόπιν N1-αλκυλοϋποκατάσταση. Από τα προκαταρκτικά αποτελέσματα του βιολογικού ελέγχου, φαίνεται ότι τα μόρια που φέρουν N1-ισοπροπυλο- ή κυκλοπεντυλομάδα, και 4-N-μεθυλοπιπεραζινυλομάδα, διαθέτουν αξιόλογη ανασταλτική δράση και μπορεί να θεωρηθούν ως μόρια-οδηγοί για την ανάπτυξη ανταγωνιστών του μεταφορέα.

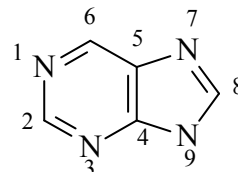
ABSTRACT

DESIGN, SYNTHESIS AND PHARMACOLOGICAL EVALUATION OF NEW IMIDAZO[4,5-*c*]PYRIDINES

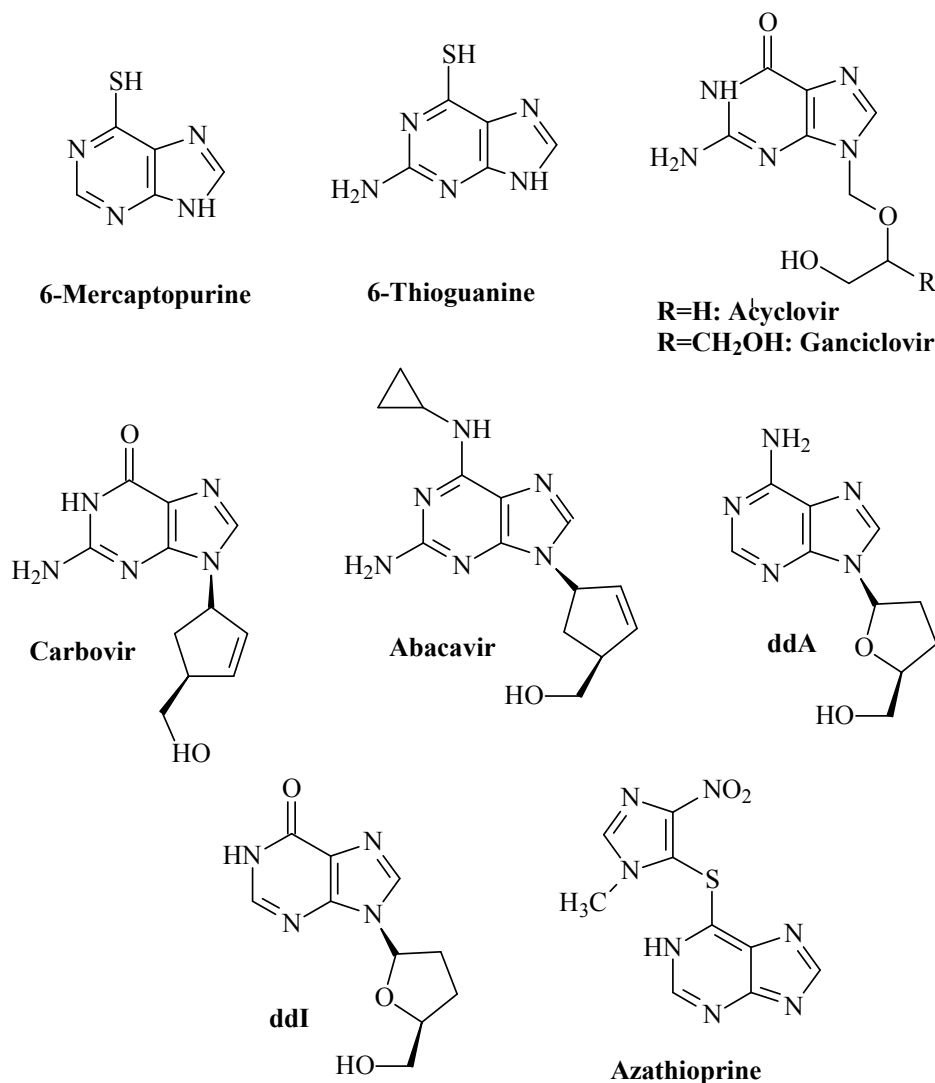
Purines constitute the building blocks of the nucleic acids and participate in many important cellular processes as well. The transport of purine nucleosides across the cell membrane is mediated by families of transmembrane transporters (nucleoside transport proteins, NTPs), which are divided into the equilibrative nucleoside transporters (ENTs) and the concentrative nucleoside transporters (CNTs). Unlike their mammalian hosts, most parasites lack the pathways for *de novo* purine biosynthesis and rely on salvage pathways and nucleoside transporters to meet their purine demands. Fungi possess three families of purine transporters and among them FcyB has been extensively studied. In this project we present the design and synthesis of a number of new imidazo[4,5-*c*]pyridines and their biological evaluation as inhibitors of FcyB transporter of *Aspergillus nidulans*. The derivatives were synthesized from suitably substituted nitropyridines, which were first substituted with selected amino- or ether groups and then cyclized to provide the fused ring system. N1 alkyl substituents were finally introduced to result in the target compounds. The preliminary biological results indicate that N1-isopropyl or cyclopentyl substitution together with the presence of a 4-N-methylpiperazinyl group is in favor of FcyB inhibitory activity, concerning this class of compounds. These molecules could serve as useful leads for the development of more potent inhibitors.

I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο Emil Fischer (Βραβείο Nobel Χημείας 1902) εισήγαγε το εμπειρικό όνομα πουρίνη για το δικυκλικό σύστημα της ιμιδαζο[4,5-*d*]πυριμιδίνης **[1]** και απέδειξε ότι φυσικά προϊόντα μεγάλου βιολογικού ενδιαφέροντος, η αδερίνη, η γουανίνη, η ξανθίνη, η καφεΐνη και το ουρικό οξύ, αποτελούν παράγωγα της.



Σήμερα είναι γνωστός ο ρόλος των διαφόρων πουρινικών παραγώγων, που αποτελούν δομικούς λίθους των νουκλεϊνικών οξέων, αλλά παράλληλα συμμετέχουν σε όλες τις σημαντικές μεταβολικές διεργασίες του κυττάρου, στη μεταγωγή του σήματος και στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου. Εκτιμάται ότι το 7% των πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται από το ανθρώπινο γονιδίωμα και κυρίως οι υποδοχείς GPCR (G-protein coupled receptors) χρησιμοποιούν ως συμπαράγοντες ή συμπληρωματικά υποστρώματα νουκλεοτίδια πουρινών (ATP, GTP, c-AMP, c-GTP, NAD, FAD κλπ) **[2]**. Ως φυσικό επακόλουθο προκύπτει ότι μόρια που μιμούνται τις πουρίνες μπορεί να αναγνωρίζονται από μεταβολικά εμπλεκόμενες πρωτεΐνες και πιθανότατα θα ασκήσουν βιολογική δράση. Το γεγονός αυτό προκάλεσε την ανάπτυξη πληθώρας συνθετικών παραγώγων, που έχουν ως βάση τον πουρινικό σκελετό, ή ανάλογα προς αυτόν συμπυκνωμένα ετεροκυκλικά συστήματα. Ένας μεγάλος αριθμός αυτών των ενώσεων αναστέλλουν, πολλές φορές με εκλεκτικότητα, διάφορα κυτταρικά ένζυμα, λειτουργεί ως αντιμεταβολίτες, ή συνδέονται σε υποδοχείς και τροποποιούν, θετικά ή αρνητικά τη λειτουργία τους **[3]**. Από την αξιολόγηση των σχετικών μελετών προέκυψαν ενώσεις φαρμακολογικού ενδιαφέροντος και αναπτύχθηκαν κλινικά παράγωγα πουρίνης που χρησιμεύουν ως θεραπευτικοί παράγοντες. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται τα γνωστά αντικαρκινικά φάρμακα 6-μερκαπτοπουρίνη και θειογουανίνη, **[4]** φάρμακα που καταπολεμούν ιογενείς λοιμώξεις, όπως τα acyclovir, ganciclovir, abacavir, carbovir, διδεοξυαδενοσίνη (ddA), διδεοξυινοσίνη (ddI) **[5]** και ανοσοκατασταλτικά φάρμακα (αζαθειοπρίνη), που χορηγούνται προφυλακτικά έναντι της απόρριψης μοσχευμάτων (Σχήμα 1.1) **[6]**.



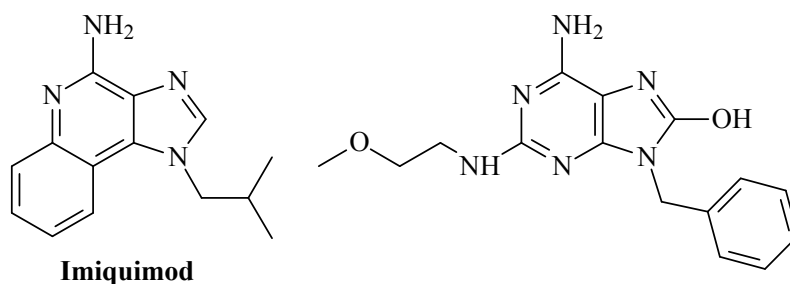
Σχήμα 1.1 Φάρμακα που είναι παράγωγα πουρίνης

Πολύ μεγαλύτερος είναι ο αριθμός διαφόρων δισυποκατεστημένων και τρισυποκατεστημένων πουρινών και δομικών τους αναλόγων, που μελετώνται *in vitro* και *in vivo* ως αναστολείς ενζύμων, ή ως τροποποιητές (αγωνιστές, μερικοί αγωνιστές, ή ανταγωνιστές) κυτταρικών υποδοχέων.

α) Επαγωγείς της έκκρισης Ιντερφερόνης

Η θεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας C βασίζεται στη χορήγηση Ιντερφερόνης-α, ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με Ribavirin. Μια διαφορετική προσέγγιση για τη θεραπεία ιογενών λοιμώξεων βασίζεται στην επαγωγή της σύνθεσης της ενδογενούς Ιντερφερόνης με τη χορήγηση από το στόμα φαρμακευτικών ενώσεων μικρού μοριακού βάρους. Σε αυτά τα πλαίσια εισήχθησαν σε κλινικές δοκιμές παράγωγα του Imiquimod, που δεν έδωσαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα, ενώ αντίθετα παρουσίασε ενδιαφέρον σειρά 2-

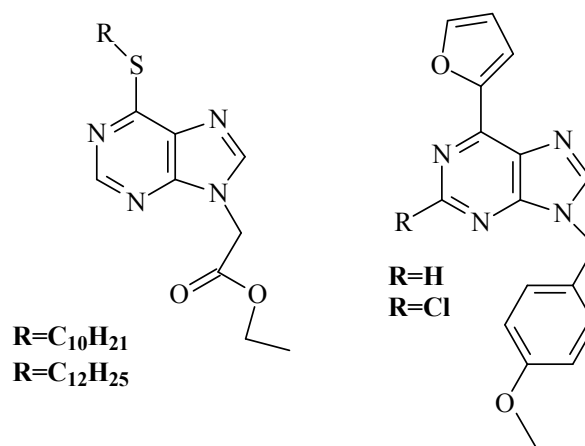
υποκατεστημένων παραγώγων 8-υδροξυαδενίνης (Σχήμα 1.2) που είναι βιοδιαθέσιμες και δραστικές [7].



Σχήμα 1.2 Επαγωγείς της έκκρισης ιντερφερόνης

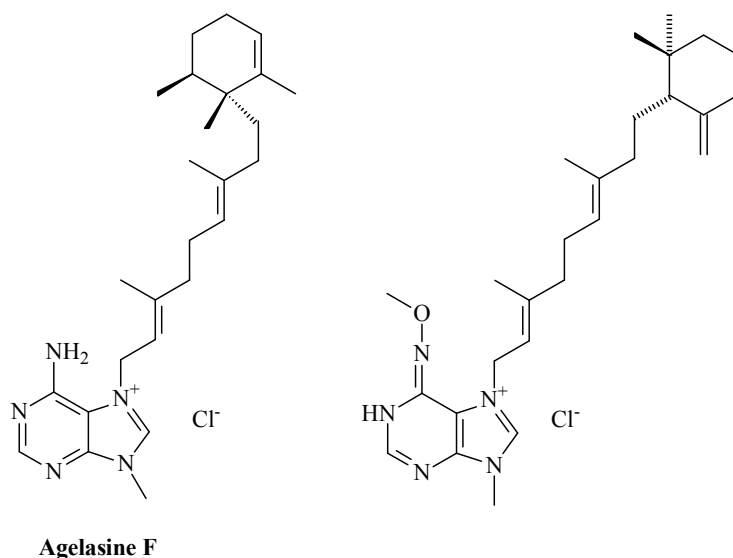
β) Αντιμυκοβακτηριακές πουρίνες

Παρά την ανακάλυψη εξαιρετικά δραστικών αντιφυματικών φαρμάκων, η φυματίωση παραμένει ως ασθένεια στο προσκήνιο λόγω της εμφάνισης ανθεκτικών στελεχών του μυκοβακτηρίου. Στο Σχήμα 1.3 παρατίθενται οι δομές νέων 6-αλκυλοθειο- και 6-φουρανοϋποκατεστημένων πουρινών, που έχουν δείξει ισχυρή αντιμυκοβακτηριακή δράση, χωρίς να είναι τοξικά για τα ανθρώπινα κύτταρα [8].



Σχήμα 1.3 Παράγωγα πουρίνης με αντιμυκοβακτηριακή δράση

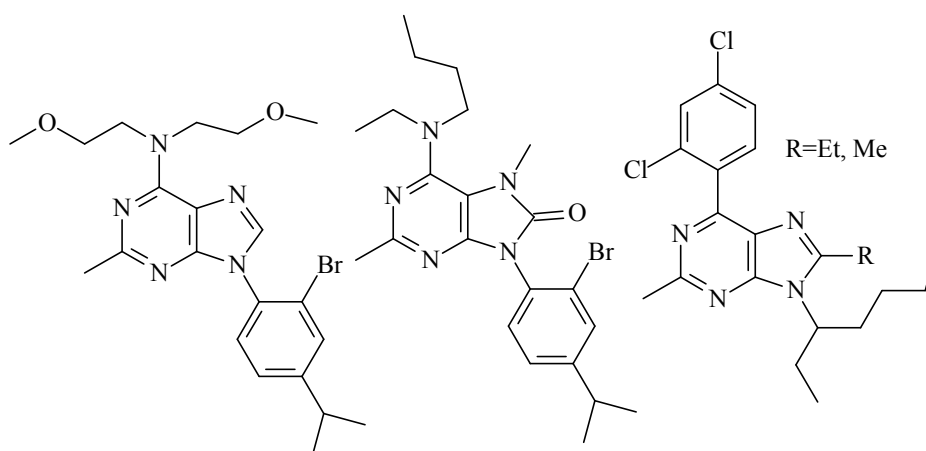
Το φυσικό προϊόν Agelasine F που απομονώνεται από τα θαλάσσια σφουγγάρια του γένους *Agelas* παρουσιάζει επίσης αντιμυκοβακτηριακή δράση, η οποία διατηρείται και ενισχύεται στα συνθετικά ανάλογα που παρουσιάζονται στο Σχήμα 1.4 [9].



Σχήμα 1.4 Agelasine F και συνθετικά ανάλογα με αντιμυκοβακτηριακή δράση

γ) Τροποποιητές του υποδοχέα της εκλυτικής ορμόνης της κορτικοτροπίνης

Καθώς ο εκλυτικός παράγοντας της κορτικοτροπίνης (corticotropin-releasing factor, CRF) παίζει σημαντικό ρόλο στην απόκριση του ανθρώπινου οργανισμού σε συνθήκες άγχους (stress), ανωμαλίες στη βιοσύνθεση και έκκριση του υποκρύπτονται στην παθογενετική διαδικασία νευρολογικών διαταραχών, από το απλό άγχος και την κατάθλιψη, μέχρι και τις νευροεκφυλιστικές νόσους του Parkinson και του Alzheimer. Ορισμένες πολυ-υποκατεστημένες πουρίνες, όπως αυτές που φαίνονται στο Σχήμα 1.5 ανήκουν στα μη πεπτιδικά παράγωγα που ανταγωνίζονται τον CRF και ασκούν αγχολυτική και αντικαταθλιπτική δράση [10].



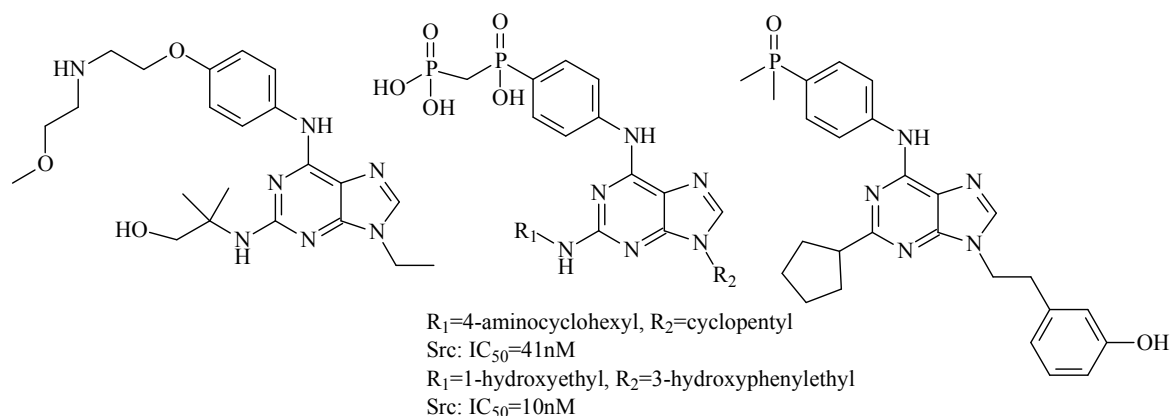
Σχήμα 1.5 Παράγωγα πουρίνης ανταγωνιστές του CRF

δ) Αναστολείς πρωτεϊνικών κινασών και φωσφατασών

Μεταξύ των μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων που υφίστανται οι πρωτεΐνες με σκοπό τον έλεγχο της δραστηριότητάς τους, εξέχουσα θέση καταλαμβάνει η αντίδραση φωσφορυλίωσης του υδροξυλίου των αμινοξέων σερίνη, θρεονίνη και τυροσίνη, καθώς εκτιμάται ότι το ένα τρίτο περίπου (30%) των πρωτεϊνών του κυττάρου φωσφορυλιώνονται, έστω και παροδικά. Από την ανάλυση του ανθρώπινου γονιδιώματος ταυτοποιήθηκαν 518 πρωτεϊνικές κινάσες, που λαμβάνουν μέρος στη μεταγωγή σήματος και επομένως στον έλεγχο όλων των πολύπλοκων κυτταρικών διεργασιών, που περιλαμβάνουν τις μεταβολικές οδούς, την κυτταρική διαίρεση, τη διαφοροποίηση τη γήρανση και την απόπτωση. Ανταγωνιστικό ρόλο ως προς τις πρωτεϊνικές κινάσες παίζουν οι αντίστοιχες πρωτεϊνικές φωσφατάσες, που καταλύουν την ακριβώς αντίθετη αντίδραση της φωσφορύλωσης, που είναι απαραίτητη για τον έλεγχο της διάρκειας δράσης του σήματος [11]. Καθώς οι πρωτεϊνικές κινάσες «μεταφράζουν» ουσιαστικά τα διάφορα ερεθίσματα σε βιοχημικά γεγονότα είναι φυσικό να εντοπίζονται κυριολεκτικά παντού, από την κυτταρική μεμβράνη, όπου το ενδοκυτταρικό τμήμα πολλών υποδοχέων της ασκεί λειτουργία κινάσης, έως και τον πυρήνα του κυττάρου, όπου οι περισσότεροι ρυθμιστές της μεταγραφής των γονιδίων είναι κινάσες. Ενδιάμεσα μεσολαβούν οι διαδικασίες που έχει επικρατήσει να χαρακτηρίζονται ως «καταρράκτες», δηλαδή διαδοχικές αντιδράσεις φωσφορυλίωσης, αντίδρασης που λαμβάνει χώρα συχνά σε διάφορες οδούς για τη μετάδοση και για την ενίσχυση του σήματος. Η κατάλληλη ρύθμιση του βαθμού ενεργότητας των πρωτεϊνικών κινασών παίζει καθοριστικό ρόλο όχι απλά για τη ρύθμιση της λειτουργίας, αλλά και για την ίδια την τύχη του κυττάρου. Η μη φυσιολογική ενεργοποίησή τους οδηγεί σε σοβαρή διαταραχή όλων των θεμελιωδών κυτταρικών λειτουργιών και συνδέεται με την εμφάνιση σοβαρών νοσημάτων, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης και η φλεγμονή, ενώ συχνά καταλήγει σε καρκινικό φαινότυπο. Όλες οι χαρακτηριστικές ιδιότητες του νεοπλασματικού κυττάρου, η ανεξέλεγκτη διαίρεση, η ικανότητα διήθησης, μετάστασης και αγγειογένεσης σχετίζονται με διαταραχή της λειτουργικότητας πρωτεϊνικών κινασών και οι διάφορες μορφές καρκίνου μπορούν να περιγραφούν ως ασθένειες με βάση τις παρατηρούμενες διαταραχές τους [12]. Ως φυσικό επακόλουθο αυτών των παρατηρήσεων προέκυψε μια εντατική προσπάθεια για την εύρεση και τη μελέτη αναστολέων πρωτεϊνικών κινασών, που θα μπορούσαν να φανούν χρήσιμοι όχι μόνο στην αντικαρκινική θεραπεία, αλλά και στην αντιμετώπιση αυτοάνοσων παθήσεων και διαταραχών του μεταβολισμού. Οι πρωτεϊνικές κινάσες αποτελούν σήμερα τον δεύτερο πιο σημαντικό στόχο φαρμάκων, μετά τους GPCRs [13,14,15].

- Αναστολείς της Src κινάσης

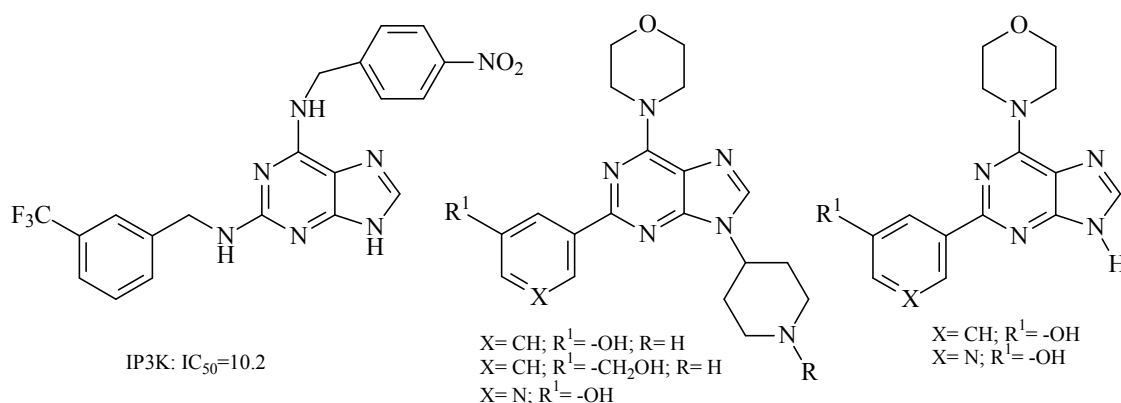
Η κινάση Src είναι πρωτεϊνική κινάση τυροσίνης-μη υποδοχέας η οποία κωδικοποιείται από το πρωτο-ογκογονίδιο Src και η λειτουργία της επάγεται στο 50% των καρκίνων παχέος εντέρου, μαστού, ήπατος και παγκρέατος. Η ενεργοποίηση αυτής της κινάσης έπεται της ενεργοποίησης συγκεκριμένων κυτταρικών υποδοχέων κατά την πρώτη φάση μετάδοσης του σήματος. Έχουν συντεθεί πολλοί διαφορετικοί αναστολείς της συγκεκριμένης κινάσης οι οποίοι δρουν ανταγωνιστικά με το ATP για τη θέση πρόσδεσης του ATP στο ενεργό κέντρο της κινάσης. Μεταξύ των αναστολέων της Src κινάσης περιλαμβάνονται τα παράγωγα του Σχήματος 1.6. Υποκατάσταση με ομάδα ανάλογη φωσφορικού ή διφωσφορικού εστέρα έχει χρησιμοποιηθεί σε ορισμένες περιπτώσεις ώστε να προσθέτει χημική συγγένεια για το ανόργανο υλικό των οστών, με την προσδοκία πιθανής εφαρμογής αυτών των ενώσεων στη θεραπεία του οστεοσαρκώματος, ή της οστεοπόρωσης [16].



Σχήμα 1.6 Παράγωγα πουρίνης που αναστέλλουν την Src κινάση

- Αναστολείς της κινάσης της φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης (IP3K)

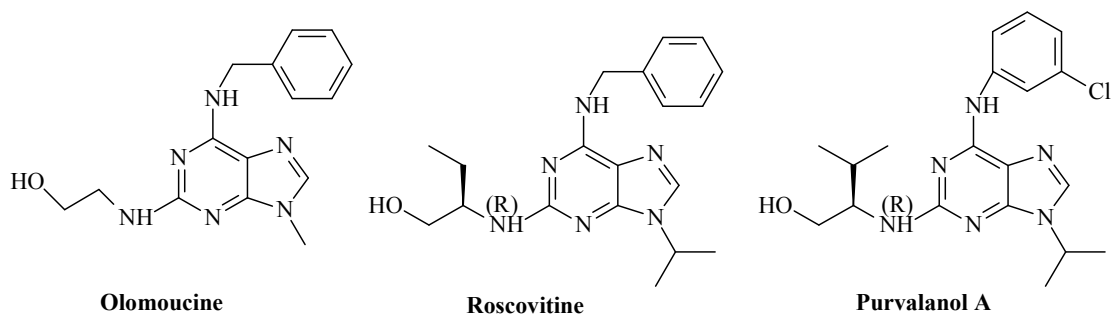
Η κινάση IP3K (Inositol-1,4,5-triphosphate-3-kinase) φωσφορυλιώνει την 1,4,5-τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP3) προς 1,3,4,5-τετραφωσφορική ινοσιτόλη (IP4) και παίζουν σημαντικό ρόλο σε όλες τις κυτταρικές λειτουργίες, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνεται ο έλεγχος της ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης ασβεστίου. Αναστολείς αυτών των κινάσεων, όπως τα παράγωγα του Σχήματος 1.7 μπορεί να αποτελέσουν χρήσιμα εργαλεία για την μελέτη της σημασίας αυτής της οικογένειας ενζύμων στη μετάδοση του σήματος και στον μεταβολισμό του ασβεστίου [17].



Σχήμα 1.7 Αναστολείς των κινασών IP3K

- Αναστολείς κυκλινοεξαρτώμενων κινασών (Cyclin-dependent kinases, CDKs)

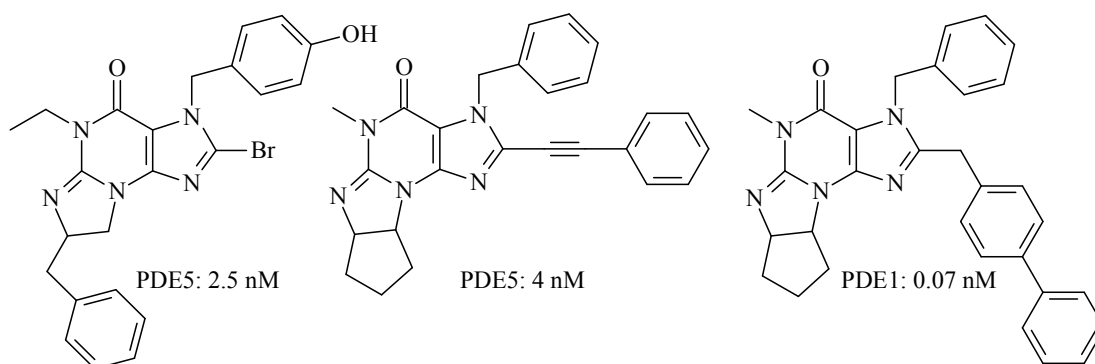
Οι CDKs είναι κινάσες σερίνης-θρεονίνης οι οποίες ενεργοποιούνται όταν συμπλέκονται με άλλες εξειδικευμένες πρωτεΐνες, τις κυκλίνες και παίζουν καθοριστικό ρόλο στον έλεγχο των φάσεων του κυτταρικού κύκλου. Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί 13 CDKs και 25 κυκλίνες. Η κυτταρική τους δραστηριότητα ελέγχεται με ένα σύνολο μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένων φωσφορυλιώσεων από άλλες κινάσες, αποφωσφορυλιώσεων από αντίστοιχες φωσφατάσες και σύνδεσης με ανασταλτικά πεπτίδια. Αυτοί οι πεπτιδικοί αναστολείς συχνά βρίσκονται μεταλλαγμένοι στους καρκινικούς όγκους, γεγονός που έδωσε το έναυσμα για τη δημιουργία μικρών μορίων-αναστολέων των CDKs. Η βιολογική δράση αυτών των αναστολέων οδηγεί σε απόπτωση και είναι αρκετά εκλεκτική για τα καρκινικά κύτταρα, στα οποία λειτουργούν ελαττωματικά ή απουσιάζουν τα σημεία ελέγχου του κυτταρικού κύκλου και κυρίως αυτό που αφορά τη μετάβαση G1/S. Η ανακάλυψη των Olomoucine, Roscovitine και Purvalanol A (Σχήμα 1.8) που αναστέλλουν ισχυρά κυκλινοεξαρτώμενες κινάσες κέντρισε το ενδιαφέρον για την ανάπτυξη 2,6,9-τρισυποκατεστημένων πουρινικών αναλόγων ως αναστολέων των CDKs 1, 2 και 5 [18], ενώ η αναστολή των κυκλινοεξαρτώμενων κινασών περιλαμβάνεται μεταξύ των σημαντικότερων θεραπευτικών στόχων για την ανάπτυξη εκλεκτικών αντικαρκινικών φαρμάκων [19].



Σχήμα 1.8 Αναστολείς κυκλινοεξαρτώμενων κινασών

ε) Αναστολείς φωσφοδιεστερασών

Τα ένζυμα αυτά υδρολύουν τα κυκλικά νουκλεοτίδια c-AMP και c-GTP, που δρουν ως δευτερογενείς αγγελιαφόροι στη ρύθμιση και τη μετάδοση κυτταρικών σημάτων. Ανεξάρτητα από την πολυπλοκότητα των ισομορφών των φωσφοδιεστερασών, ορισμένοι αναστολείς τους παρουσιάζουν ικανοποιητική εκλεκτικότητα και μπορούν να προσφέρουν θεραπευτικό αποτέλεσμα. Για παράδειγμα, οι 1,2,3,7,8-πενταϋποκατεστημένες πουρίνες του Σχήματος 1.9 είναι το ίδιο δραστικοί και εκλεκτικότεροι αναστολείς της φωσφοδιεστεράσης 5 από τα φάρμακα Sildenafil και Tadalafil [20]. Επίσης, στα πλαίσια της εύρεσης νέων αντιϋπερτασικών φαρμάκων, ενδιαφέρον εμφανίζει η πολυ-υποκατεστημένη πουρίνη του Σχήματος 1.9, που αποτελεί τον ισχυρότερο γνωστό αναστολέα της PDE1, καθώς η αναστολή της υδρόλυσης του c-GTP από τις PDE1 και PDE5 ελαττώνει σημαντικά την αρτηριακή πίεση σε πειραματόζωα [21].



Σχήμα 1.9 Αναστολείς φωσφοδιεστερασών

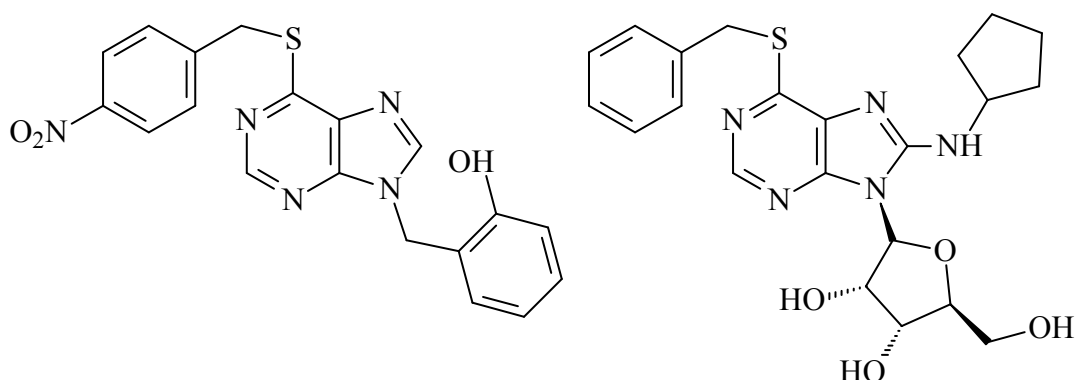
Στ) Αναστολείς νουκλεοζιτικών μεταφορέων

Η πρόσληψη και ο μεταβολισμός των πουρινικών και πυριμιδινικών βάσεων αποτελεί απαραίτητη φυσιολογική λειτουργία όλων των οργανισμών. Ωστόσο, η φύση της λιπιδικής

διπλοστιβάδας της μεμβράνης αποτελεί επιλεκτικό και αποτελεσματικό εμπόδιο στη διέλευση των νουκλεοτιδικών βάσεων, καθιστώντας απαραίτητη την παρουσία εξειδικευμένων διαμεμβρανικών μεταφορέων για την πρόσληψή τους. Αυτοί οι μεταφορείς (nucleoside transport proteins, NTPs), που λειτουργούν είτε με παθητική διάχυση, εξισορροπιστικά ως προς τις εκατέρωθεν συγκεντρώσεις (equilibrative nucleoside transporters, ENTs), είτε με ενεργό μεταφορά (concentrative nucleoside transporters, CNTs), που απαιτεί την κατανάλωση ενέργειας. Οι μεταφορείς ENT του ανθρώπου υποδιαιρούνται περαιτέρω σε 4 υποοικογένειες (ENT1-ENT4) [22].

Αντίστοιχα συστήματα μεταφοράς νουκλεοτιδικών βάσεων εντοπίζονται τόσο στα διάφορα συστήματα των θηλαστικών (ερυθροκύτταρα, Τ λεμφοκύτταρα, επιθηλιακά κύτταρα), όσο και σε κατώτερους οργανισμούς, φυτά, έντομα, πρωτόζωα, βακτήρια και μύκητες. Οι περισσότεροι οργανισμοί, εκτός από τα πρωτόζωα, διαθέτουν την ικανότητα de novo βιοσύνθεσης των νουκλεοτιδικών βάσεων και έτσι οι πουρίνες και οι πυριμιδίνες που προσλαμβάνονται από το περιβάλλον, είτε καταβολίζονται προς γλουταμίνη και ουρία και χρησιμοποιούνται ως πηγές αζώτου, είτε εμπλέκονται στη βιοσύνθεση των νουκλεϊνικών οξέων, ή μεμονωμένα των ATP και GTP [23]. Τα προϊόντα του καταβολισμού τους, ξανθίνη, ουρικό οξύ και αλλαντοΐνη, χρησιμεύουν ως αποθήκες αζώτου, ενώ παράγονται και προϊόντα δευτερογενούς μεταβολισμού όπως οι κυτοκίνες, η θειοβρωμίνη και η καφεΐνη [24]. Στον άνθρωπο, το ουρικό οξύ αποτελεί το τελικό προϊόν του μεταβολισμού των πουρινών και παίζει σημαντικό ρόλο όχι μόνο για τη φυσιολογική λειτουργία των νεφρών, αλλά και ως αντιοξειδωτικός παράγοντας που περιέχεται στον ορό του αίματος. Τα πρωτόζωα που εξαρτώνται αποκλειστικά από την εξωτερική πρόσληψη νουκλεοτιδίων διαθέτουν πολλαπλούς μεταφορείς νουκλεοτιδίων και νουκλεοτιδικών βάσεων, που παρουσιάζουν πολύ μεγαλύτερη συγγένεια για τις νουκλεοτιδικές βάσεις από ότι οι αντίστοιχοι μεταφορείς των θηλαστικών, ώστε να μπορούν να τις προσλαμβάνουν ακόμα και όταν βρίσκονται σε χαμηλές συγκεντρώσεις στο αίμα ή το κυτταρόπλασμα των θηλαστικών [25]. Παρόλ' αυτά ορισμένοι αναστολείς μεταφορέων νουκλεοτιδίων έχει βρεθεί ότι ασκούν ανθελνοσοσιακή και αντιτοξοπλασματική δράση, γεγονός που προκάλεσε ερευνητικό ενδιαφέρον, σχετικά με την πιθανότητα διαφοροποίησης των ανθρώπινων μεταφορέων από τους μεταφορείς των διαφόρων ξενιστών, με σκοπό την προστασία των μη μολυσμένων και την εκλεκτική στόχευση των μολυσμένων κυττάρων. Επιπλέον αναπτύσσεται φαρμακολογικό ενδιαφέρον για επιμέρους ειδικές εφαρμογές τέτοιων ειδικών αναστολέων μεταφοράς νουκλεοτιδίων πχ η αναστολή του ENT1 και η προκαλούμενη αύξηση της εξωκυτταρικής συγκέντρωσης της αδενοσίνης αυξάνει

σημαντικά την κατάληψη των A1 υποδοχέων, προσφέροντας πιθανά θεραπευτικό αποτέλεσμα σε ισχαιμικά καρδιακά ή εγκεφαλικά επεισόδια [26]. Παρόλο που υπάρχουν ενδιαφέροντα in vitro αποτελέσματα, όπως η αναστολή του ENT1 από τις ενώσεις του Σχήματος Ι.10, [27] απομένει αρκετό έδαφος να καλυφθεί, μέχρι να φθάσουμε σε ικανοποιητικά in vivo αποτελέσματα, εξ αιτίας φαρμακοκινητικών προβλημάτων, που περιορίζουν την αποτελεσματικότητα, αλλά και προβλημάτων τοξικότητας, που αντικατοπτρίζουν τη δυσκολία εκλεκτικής αναστολής συγκεκριμένων μόνο μεταφορέων.



Σχήμα Ι. 10 Αναστολείς του νουκλεοτιτικού μεταφορέα ENT1

Η σημασία της μελέτης των μεταφορέων νουκλεοτιδικών βάσεων

Κατά το σχεδιασμό νέων ενώσεων φαρμακευτικού ενδιαφέροντος, που στοχεύουν στην αντιμετώπιση παθογόνων μικροοργανισμών, πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ότι:

- Τα παράγωγα αυτά και οι μεταβολίτες τους πρέπει να προσλαμβάνονται με υψηλή συγγένεια από τους μικροβιακούς μεταφορείς και όχι από τους αντίστοιχους μεταφορείς του ξενιστή.
- Ουσίες που πιθανά ανταγωνίζονται τις θέσεις πρόσδεσης του μεταβολίτη πρέπει να βρίσκονται σε μικρή συγκέντρωση στο περιβάλλον δράσης του.
- Η πρόσληψη των μεταβολιτών είναι προτιμότερο να λαμβάνει χώρα με τη λειτουργία ενεργών συστημάτων μεταφοράς και όχι με διάχυση.

Πράγματι, οι μικροβιακοί μεταφορείς πληρούν τουλάχιστον τις δύο τελευταίες απαιτήσεις. Τα φυσιολογικά επίπεδα συγκέντρωσης πουρινών στο αίμα και στους ιστούς του ανθρώπου είναι πολύ χαμηλά, με εξαίρεση τη συγκέντρωση του ουρικού οξέος, η οποία μπορεί να

φτάνει τα 400 μM . Επιπρόσθετα, όλοι οι γνωστοί μικροβιακοί μεταφορείς νουκλεοτιδικών βάσεων ανήκουν στην κατηγορία PMF (Proton Motive Force), δηλαδή διαμεσολαβούν ενεργό μεταφορά, που είναι συζευγμένη με τη μεταφορά ιόντων H^+ . Τέλος, φαίνεται ότι η μελέτη των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των νουκλεοτιδικών βάσεων και των αντίστοιχων μεταφορέων τους, τουλάχιστον στα πρωτόζωα, μπορεί να οδηγήσει σε ασφαλείς προβλέψεις για την εξειδικευμένη πρόσληψη κυτταροτοξικών νουκλεοτιδικών αναλόγων αποκλειστικά από τους μεταφορείς του παθογόνου. Η συγκριτική κατανόηση των μοριακών μηχανισμών αναγνώρισης και πρόσληψης διαφόρων νουκλεοτιδικών αναλόγων σε κύτταρα θηλαστικών και μικροοργανισμών, υπόσχεται να οδηγήσει στην εύρεση ή και τον σχεδιασμό, νέων φαρμάκων, τα οποία θα στοχεύουν τα παθογόνα, χωρίς να επηρεάζουν τα υγιή κύτταρα. Επι πλέον, από τη χρήση τους δε φαίνεται να επάγεται ανθεκτικότητα μέσω ενεργοποίησης ή υπερέκφρασης των συστημάτων εκροής τοξικών ουσιών (Multi-drug Resistance, MDR), του σημαντικότερου μηχανισμού ανθεκτικότητας των κυττάρων-στόχων. Η λειτουργία των μεταφορέων νουκλεοτιδικών βάσεων δεν περιορίζεται στην πρόσληψη του φαρμάκου από το κύτταρο-στόχο, αλλά ειδικοί μεταφορείς ρυθμίζουν και την αποβολή των φαρμάκων από το αίμα, το μεταβολισμό τους στο ήπαρ και την ικανότητά τους να διαπερνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, στοιχεία που συνολικά καθορίζουν την αποτελεσματικότητα, την καταλληλότητα και τις παρενέργειες αυτών των φαρμάκων [28]. Σε αυτά τα πλαίσια δεν πρέπει να υποτιμάται το γεγονός ότι νουκλεοτιδικά ανάλογα και παράγωγά τους που χρησιμοποιούνται ως φάρμακα, όπως τα acyclovir και ganciclovir, οφείλουν μεγάλο μέρος της επιτυχίας τους ως αντιμεταβολίτες τους αντίστοιχους νουκλεοτιδικούς μεταφορείς που τις εισάγουν τις στο εσωτερικό των μολυσμένων κυττάρων, ώστε να καταστεί εκεί μόνο δυνατή η βιομετατροπή τους προς κυτταροτοξικά νουκλεοτιδικά παράγωγα.

Οι μέχρι στιγμής γνωστοί μεταφορείς νουκλεοτιδικών βάσεων ταξινομούνται σε έξι εξελικτικά διακριτές οικογένειες, σύμφωνα με τα παρακάτω κριτήρια: 1) μεταφορείς της ίδιας οικογένειας πρέπει να έχουν ταυτότητα πάνω από 20% και ομοιότητα πάνω από 40% σε επίπεδο αμινοξικής αλληλουχίας, 2) τα 10-14 διαμεμβρανικά τμήματα α -έλικας πρέπει να διαθέτουν παρόμοια λιποφιλία 3) πρέπει να διαθέτουν συντηρημένες συναινετικές αλληλουχίες, χαρακτηριστικές για κάθε οικογένεια, σε τοπολογικά παρόμοιες θέσεις της αλληλουχίας τους.

- **Η οικογένεια NCS1 (Nucleobase Cation Symporter 1) ή PRT (Purine Related Transporters).** Η οικογένεια NCS1/ PRT περιορίζεται σε προκαρυωτικά κύτταρα, μύκητες και φυτά. Περιλαμβάνει μεταφορείς πουρινών, ουρακίλης, κυτοσίνης, ουριδίνης,

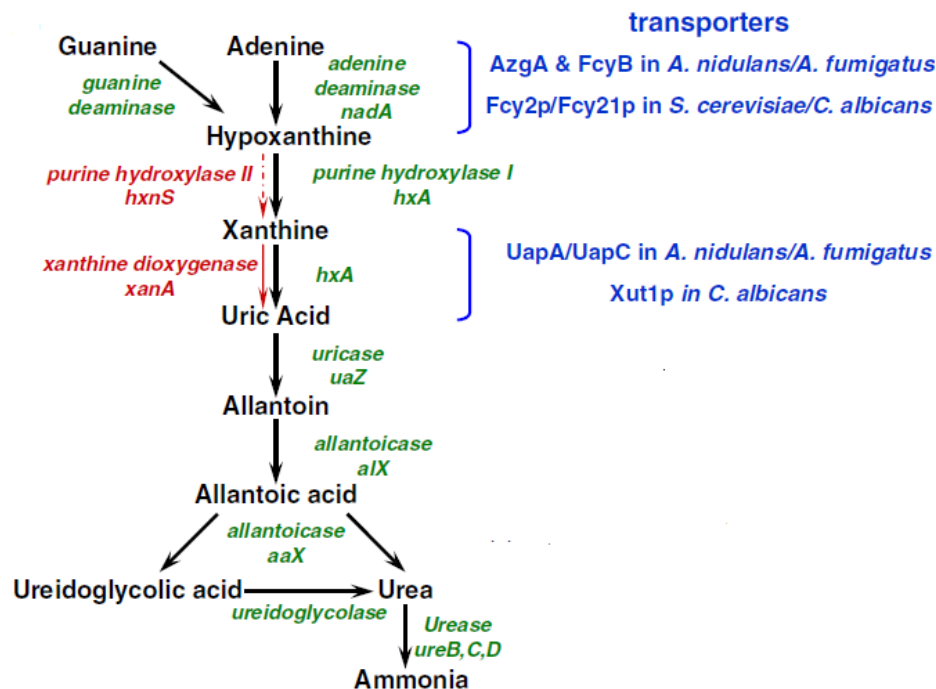
αλλαντοΐνης, πυριδοξίνης και θειαμίνης και η συντριπτική πλειοψηφία των χαρακτηρισμένων μελών της NCS1 οικογένειας προέρχονται από το *S. Cerevisiae*.

- **Η οικογένεια μεταφορέων νουκλεοτιδικών βάσεων και ασκορβικού οξέος, NAT (Nucleobase Ascorbate Transporter) ή NCS2 (Nucleobase Cation Symporter 2):** Η οικογένεια NAT είναι η πλέον διαδεδομένη μεταξύ των οργανισμών και συμπεριλαμβάνει μέλη από βακτήρια, αρχαία, μύκητες, φυτά, έντομα, νηματώδεις και θηλαστικά, συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπου. Μεταφορείς αυτής της οικογένειας δεν απαντώνται στον *S. cerevisiae* και στα παρασιτικά πρωτόζωα. Πρωτότυπα μέλη της οικογένειας είναι οι συμμεταφορείς ουρικού οξέος-ξανθίνης/ H^+ UapA [29] του *Aspergillus nidulans* και οι μεταφορείς ουρακίλης UraA και PyrP της *Escherichia coli* [30].
- **Η οικογένεια που ορίζεται από το μεταφορέα πουρινών AzgA:** Ο *A. nidulans* διαθέτει ένα συμμεταφορέα αδεΐνης-υποξανθίνης-γουανίνης/ H^+ , τον AzgA [31]. Ομόλογα του AzgA βρέθηκαν σε φυτά, μύκητες, βακτήρια, αρχαιοβακτήρια, αλλά όχι σε μετάρζωα. Η πρωτεΐνη AzgA του *A. nidulans* είναι ένας υψηλής συγγένειας και μεταφορικής ικανότητας μεταφορέας αδεΐνης, υποξανθίνης, γουανίνης, 8-αζαξανθίνης και 2,6-διαμινοπουρίνης, ο οποίος μεταφέρει επίσης πουρίνες και το τοξικό ανάλογο 8-αζαγουανίνη [32].
- **Η οικογένεια εξισορροπηστικών μεταφορέων νουκλεοτιδίων και νουκλεοτιδικών βάσεων ENT (Equilibrative Nucleoside Transporter):** Η ENT οικογένεια περιλαμβάνει μεταφορείς που καταλύουν τη μεταφορά νουκλεοτιδίων, τοξικών αναλόγων τους και πουρινών-πυριμιδινών. Πολύ καλά μελετημένοι είναι οι ENT μεταφορείς στον άνθρωπο, hENT1 και hENT2 και οι ομόλογοι τους στον αρουραίο (rENT1, rENT2). Πρόκειται για ευρείας εξειδίκευσης και κατανομής μεταφορείς νουκλεοτιδίων πουρινικών/πυριμιδινικών και αναλόγων μορίων. Οι hENT1 και rENT1 απαντώνται στην πλασματική μεμβράνη, στα μιτοχόνδρια και τα λυσοσώματα [33].
- **Οι οικογένειες φυτικών μεταφορέων PUP (plant Purine Permease) και UPS (Ureide Permeases):** Η οικογένεια PUP περιλαμβάνει μεταφορείς πουρινών και πυριμιδινών που απαντώνται αποκλειστικά σε φυτά. Ο μοναδικός χαρακτηρισμένος μεταφορέας της οικογένειας είναι ο AtPUP1 στο φλοιώμα και τους γυρεόκοκκους της *A. thaliana*, ο οποίος αναγνωρίζει και μεταφέρει με υψηλή συγγένεια αδεΐνη και κυτοσίνη, πιθανώς με συμμεταφορά πρωτονίου.
- **Η οικογένεια συγκεντρωτικών μεταφορέων νουκλεοτιδίων και νουκλεοτιδικών βάσεων CNT (Concentrative Nucleoside Transporter):** Μέλη της οικογένειας απαντώνται

σε θετικά και αρνητικά κατά Gram βακτήρια και ζύμες, όπου είναι συµμεταφορείς H^+ , και σε θηλαστικά, όπου είναι συµμεταφορείς Na^+ , αλλά όχι σε πρωτόζωα [34]. Στον άνθρωπο έχουν βρεθεί τρεις διαφορετικής εξειδίκευσης μεταφορείς της οικογένειας, οι hCNT1, hCNT2 και hCNT3.

Μεταφορείς πουρινών-πυριμιδινών στους μύκητες

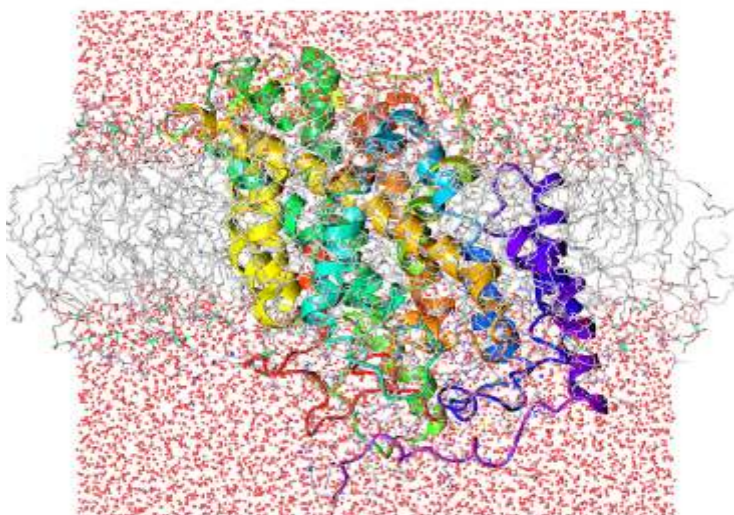
Οι περισσότεροι μύκητες χρησιμοποιούν τις πουρίνες αλλά όχι τις πυριμιδίνες ως πηγές αζώτου [35]. Το γεγονός αυτό οφείλεται στην αποικοδόμηση των πουρινών αρχικά προς ουρεΐδια (αλλαντοΐνη και αλλαντοϊκό οξύ) και τελικά σε ουρία μέσω μιας σειράς ενζυμικά καταλυόμενων οξειδώσεων, που προσομοιάζουν με την αντίστοιχη μεταβολική διαδικασία των βακτηρίων και των φυτών (Εικόνα Ι.1).



Εικόνα Ι. 1. Καταβολισμός των πουρινών στους μύκητες

Οι μύκητες διαθέτουν τρεις εξελικτικά διακριτές οικογένειες μεταφορέων που εξειδικεύονται στις νουκλεοτιδικές βάσεις. Μία από αυτές, η **NCS1** (**n**ucleobase **c**ation **s**ymport ή purine related transporter) απαντάται σε όλους τους μύκητες, σε κάποια αρχαία και φυτά, αλλά απουσιάζει στα πρωτόζωα και στα μετάρζωα. Εκτός από τις φυσικές πουρίνες, αντιμυκητιακά φάρμακα όπως η 5-φθοροκυτοσίνη και η 5-φθοροουρακίλη αποτελούν υποστρώματα αυτών των μεταφορέων. Οι πρωτεΐνες τύπου Fcy- αποτελούν υποοικογένεια των NCS1 και τρεις από αυτούς έχουν μελετηθεί εκτενώς. Αυτοί είναι οι μεταφορείς Fcy2p στον *Saccharomyces cerevisiae* [36], ο Fcy21p στην *Candida albicans* [37]

και ο FcyB στον *Aspergillus nidulans* [38]. Και οι τρεις είναι μεταφορείς υψηλής συγγένειας για αδενίνη, υποξανθίνη, γουανίνη, κυτοσίνη και 5-φθοροκυτοσίνη. Η μοναδική διαφορά μεταξύ τους είναι ότι οι Fcy2p και Fcy21p αποτελούν τη μόνη «πύλη» για την πρόσληψη πουρινών, ενώ στον *A. Nidulans* η πρόσληψη πουρινών πραγματοποιείται κυρίως από τον μεταφορέα AzgA, ενώ ο FcyB συμπεριφέρεται πρωτίστως ως μεταφορέας κυτοσίνης και δευτερευόντως ως μεταφορέας πουρινών [38]. Στην Εικόνα 1.2 απεικονίζεται ένα τρισδιάστατο μοντέλο του FcyB που έχει κατασκευαστεί και επικυρωθεί βάσει της κρυσταλλικής δομής του μεταφορέα βενζυλοϋδαντοΐνης (Mhr1). Το μοντέλο αυτό χρησιμοποιήθηκε σε μελέτες docking ώστε να ανιχνευτούν τα κατάλοιπα εκείνα που εμπλέκονται στην πρόσδεση και μεταφορά του υποστρώματός του.

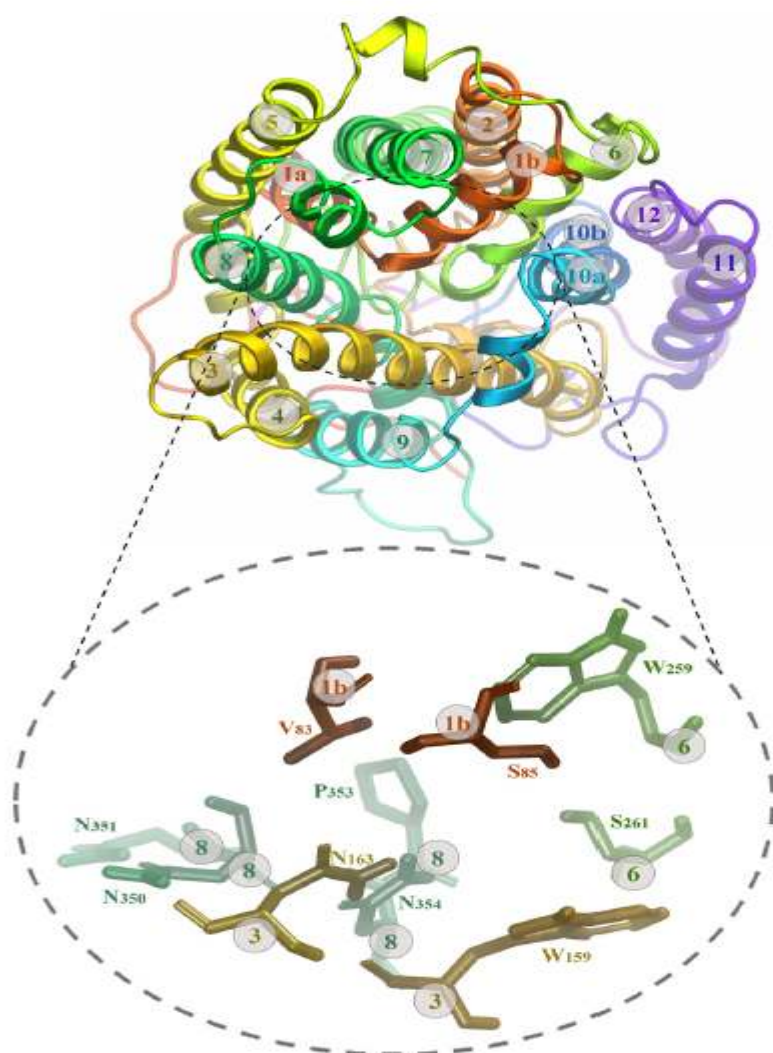


Εικόνα 1.2. Η τρισδιάστατη δομή του FcyB.

Το μοντέλο της τρισδιάστατης δομής του FcyB προς τα έξω, απαρτίζεται από 12 διαμεμβρανικές περιοχές (TMSs) α-έλικας. Οι διαμεμβρανικές έλικες του πυρήνα συνδέονται με μικρές θηλιές (<14 αμινοξέα), ενώ ο βρόχος που διαχωρίζει τον πυρήνα και τα τμήματα TMS11-12 είναι μακρύτερος (23 αμινοξέα). Ιονισμένα αμινοξέα κατανέμονται στην κυτταροπλασματική και περιπλασματική περιοχή ή κατά μήκος του πόρου στο εσωτερικό της πρωτεΐνης, με τα θετικά φορτισμένα αμινοξέα να συγκεντρώνονται κυρίως στις κυτταροπλασματικές θηλιές.

Ο πυρήνας του FcyB υποδιαιρείται σε δύο ανεστραμμένες επαναλαμβανόμενες περιοχές που απαρτίζονται από τα τμήματα TMS1-5 και TMS6-10 που διατάσσονται

ψευδοσυμμετρικά παράλληλα με την μεμβράνη. Η περιοχή πρόσδεσης με το υπόστρωμα τοποθετείται στο κενό μεταξύ των δύο υποπεριοχών του πυρήνα (Εικόνα Ι.3)

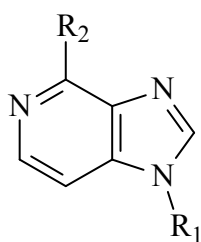


Εικόνα Ι.3. Ο πυρήνας του FcγB.

Στο παρακάτω σχήμα φαίνονται οι αλληλεπιδράσεις του FcγB με τους τέσσερεις φυσιολογικούς προσδέτες τους, καθώς και με την αντινυκητική 5-φθοροκυτοσίνη. Ο υποδοχέας αλληλεπιδρά με την αδενίνη μέσω δισχιδούς δεσμού υδρογόνου μεταξύ του καταλοίπου Asn -163 και των περιοχών του προσδέτη C6-NH₂ και N1, ένα δεσμό υδρογόνου μεταξύ της Ser-85 και του N7 της πουρίνης και π - π αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δακτυλίων της πουρίνης και των ινδολικών δακτυλίων των καταλοίπων Trp-159 και Trp-259 (Εικόνα Ι.3).

Σχεδιασμός των ενώσεων της παρούσας εργασίας

Όπως προαναφέρθηκε τα μικρόβια και οι μύκητες, σε αντίθεση με τα θηλαστικά, δεν έχουν την ικανότητα της *de novo* βιοσύνθεσης πουρινών, αλλά διαθέτουν μεταφορείς πουρινών στην κυτταρική τους μεμβράνη για να εισάγουν στο κυτταρόπλασμά τους πουρίνες σημαντικές για τη φυσιολογική τους λειτουργία [39]. Στα πλαίσια ενός ερευνητικού προγράμματος αποφασίσαμε να συνθέσουμε πουρινικά ανάλογα ως πιθανούς αναστολείς του μεταφορέα FcyB. Συγκεκριμένα συντέθηκαν και παρουσιάζονται στην παρούσα εργασία νέες ιμιδαζο[4,5-*c*]πυριδίνες του παρακάτω γενικού τύπου:

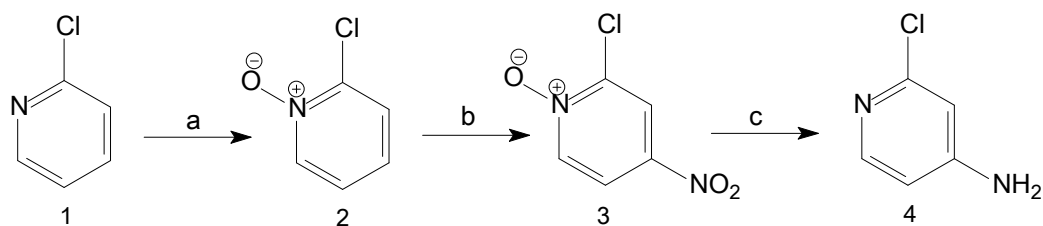


R₁= H, isopropyl, cyclopentyl

R₂= alkyl, or arylamines, arylothers, Cl

II. ΧΗΜΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

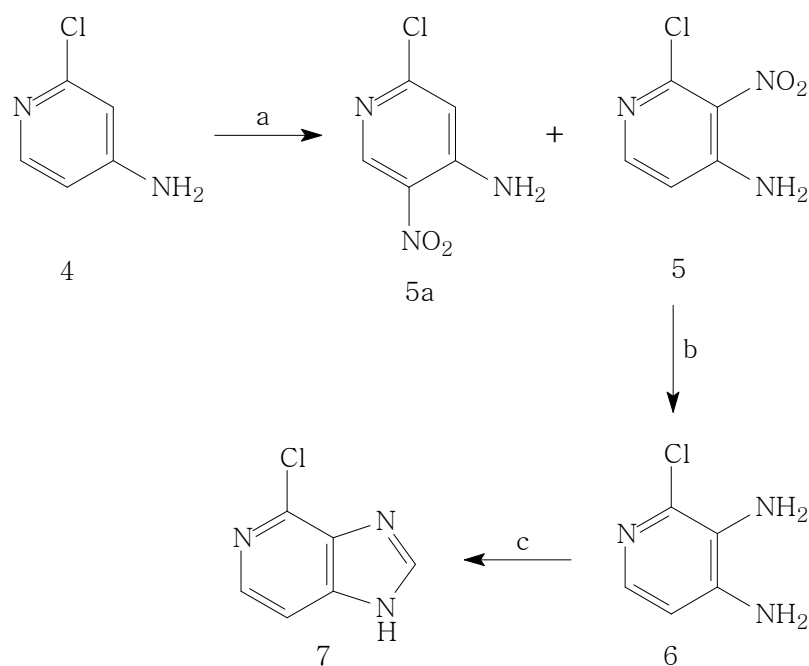
Ως πρώτη ύλη για την παρασκευή των μορίων-στόχων της εργασίας, χρησιμοποιήθηκε η 2-χλωροπυριδίνη (**1**, Σχήμα II.1), που οξειδώθηκε αρχικά, με επίδραση 3-χλωροϋπερβενζοϊκού οξέος, προς το *N*-οξειδίο **2** [40], το οποίο κατόπιν μετατράπηκε στο 4-νιτροπαράγωγο **3** με επίδραση οξέος νίτρωσης [41]. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε ταυτόχρονη αναγωγή του *N*-οξειδίου και της νιτρομάδας με χρήση μεταλλικού σιδήρου και καταλυτικής ποσότητας υδροχλωρικού οξέος και ελήφθη η αμινοπυριδίνη **4** [42].



Σχήμα II.1: a. m-CPBA, CH₂Cl₂, 24h, rt; b. HNO₃, c. H₂SO₄, 100°C, 3.5h; c. Fe, HCl, EtOH, 80°C, 5h.

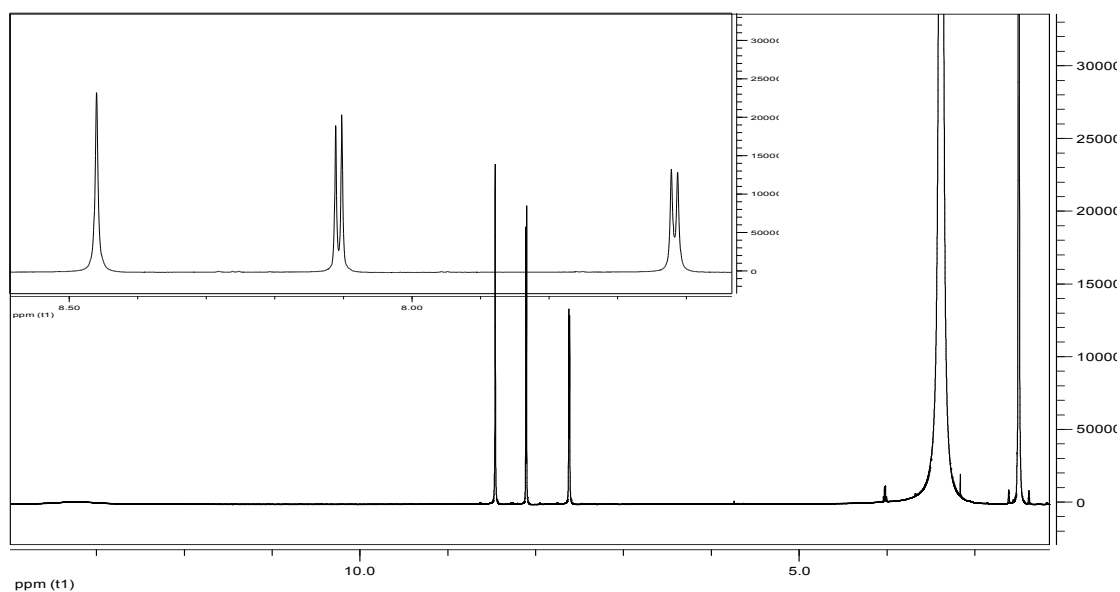
Η αμινοπυριδίνη **4** μετατράπηκε κατόπιν στο νιτροπαράγωγο **5** (Σχήμα II.2), σύμφωνα με μέθοδο που αναφέρεται στη βιβλιογραφία [43]. Σε πρώτο στάδιο σχηματίζεται η αντίστοιχη νιτραμίνη μετά από επίδραση νιτρικού οξέος επί της αμίνης **4** εντός θειικού οξέος. Η νιτραμίνη, η οποία απομονώνεται, υφίσταται σε επόμενο στάδιο μετάθεση της νιτρομάδας και λαμβάνονται τα 3- και 5-νιτροπαράγωγα **5** και **5a** αντίστοιχα, τα οποία διαχωρίζονται με χρωματογραφία στήλης.

Για τη συνέχεια της συνθετικής πορείας ήταν αναγκαία η αναγωγή της 3-νιτρομάδας, η οποία αρχικά έγινε με επίδραση διχλωριούχου κασσίτερου σε διάλυμα του νιτροπαραγώγου **5** σε ακετόνη [44]. Η μέθοδος αυτή όμως οδήγησε σε χαμηλή απόδοση του επιθυμητού διαμινοπαραγώγου **6** (παρουσιάζονται δυσκολίες κατά την κατεργασία, λόγω του γαλακτώματος που σχηματίζεται από τα κασσιτερικά σύμπλοκα). Έτσι, η αναγωγή της νιτρομάδας έγινε με υδρογόνωση (40psi), χρησιμοποιώντας ως καταλύτη Ni-Raney και το προϊόν ελήφθη εύκολα και σε υψηλή απόδοση [45]. Επί της διαμίνης **6** επέδρασε κατόπιν ορθομυρμηκικός τριαιθυλεστέρας, παρουσία καταλυτικής ποσότητας υδροχλωρικού οξέος και μετά από κύκλωση παρασκευάστηκε η 4-χλωροιμιδαζο[4,5-*c*]πυριδίνη (**7**) [46].



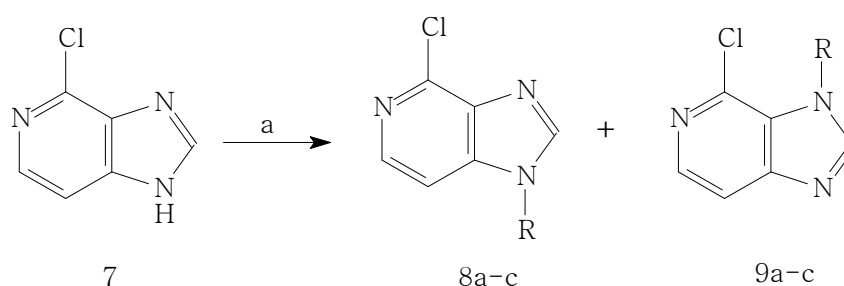
Σχήμα II.2: a. i) HNO_3 fuming, H_2SO_4 , 30min, 0°C , ii) H_2SO_4 , 90min, 75°C ; b. H_2 , Ni-Raney, abs. EtOH, 3.5h, 40psi; c. triethylorthoformate, HCl, 48h, rt.

Στην Εικόνα II.1 παρουσιάζεται το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του παραγώγου **7**, όπου διακρίνονται , η χαρακτηριστική εξαιρετικά αποθωρακισμένη απλή κορυφή (8.50ppm) που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο της θέσης 2 της ιμιδαζοπυριδίνης, ενώ οι 2 διπλές κορυφές (8.13 και 7.64ppm) αντιστοιχούν στα αρωματικά πρωτόνια των θέσεων 6 και 7 αντίστοιχα.



Εικόνα II.1. Φάσμα πρωτονίου της 4-χλωροιμιδαζο[4,5-*c*]πυριδίνης (**7**).

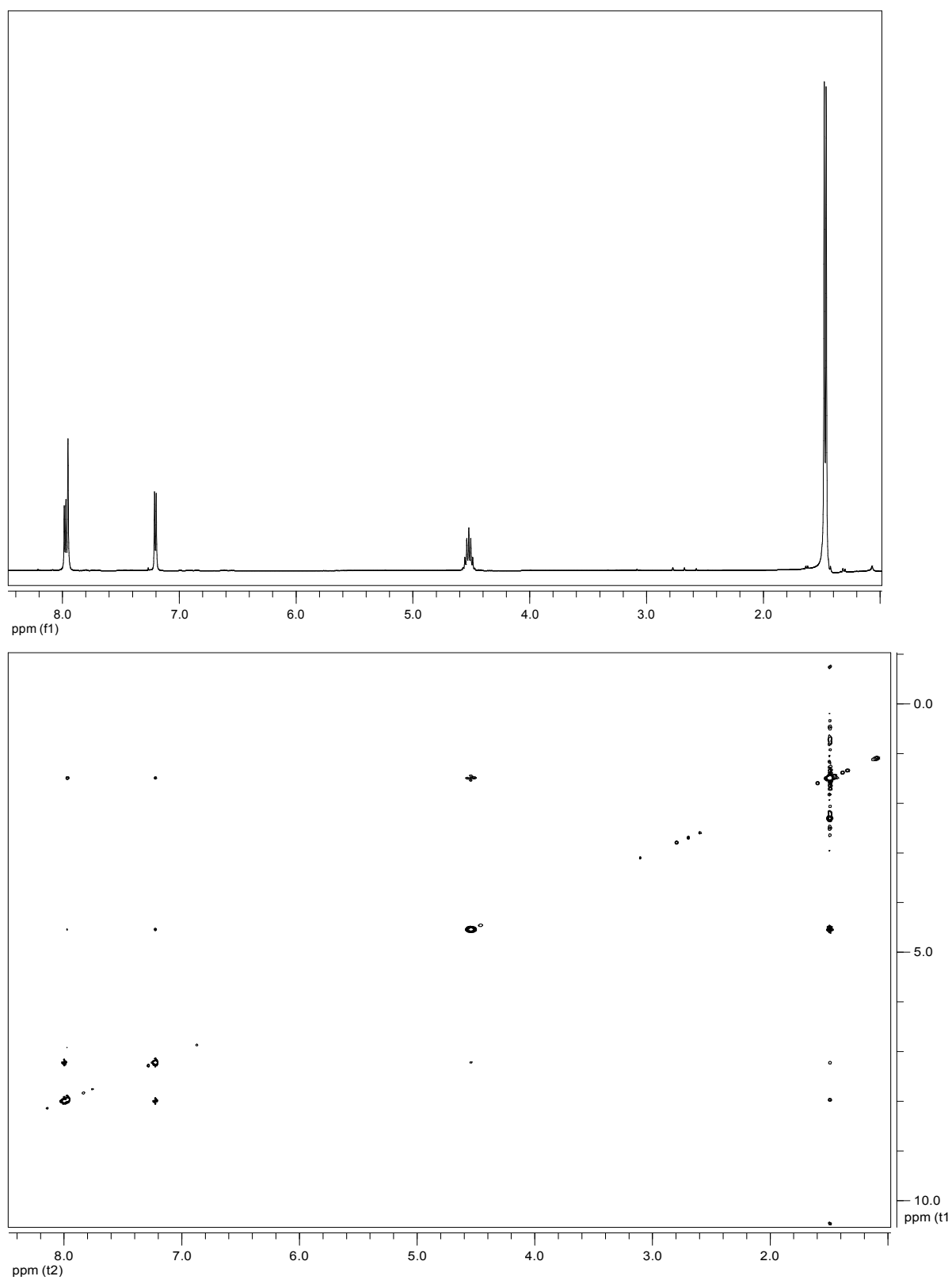
Το επόμενο στάδιο της συνθετικής πορείας αφορά στην *N*-υποκατάσταση του ιμιδαζολίου με επιλεγμένους αλκυλο- ή αρυλο- υποκαταστάτες. Αρχικά δοκιμάστηκε αντίδραση τύπου Mitsunobu, σύμφωνα με την οποία σε διάλυμα της πρώτης ύλης **7** και διμοριακής ποσότητας τριφαινυλφωσφίνης επιδρά αρχικά σε χαμηλή θερμοκρασία (-10°C) διμοριακή ποσότητα της κατάλληλης αλκοόλης και κατόπιν διμοριακή επίσης ποσότητα του αντιδραστήριου σύζευξης DEAD (diethyl-azobiscarboxylate). Το επιθυμητό προϊόν απομονώθηκε δύσκολα από το μίγμα της αντίδρασης, σε πολύ χαμηλή όμως απόδοση (<10%). Για το λόγο αυτό σχηματίστηκε αρχικά ανιόν επί του αζώτου του ιμιδαζολίου με επίδραση περίσσειας ανθρακικού καλίου και στη συνέχεια προστέθηκε το κατάλληλο αλκυλο- ή αρυλο-αλογονίδιο και σχηματίστηκαν οι 1- και 3- υποκατεστημένες ισομερείς ιμιδαζοπυριδίνες (Σχήμα II.3), που διαχωρίστηκαν με χρωματογραφία στήλης και χαρακτηρίστηκαν φασματοσκοπικά.



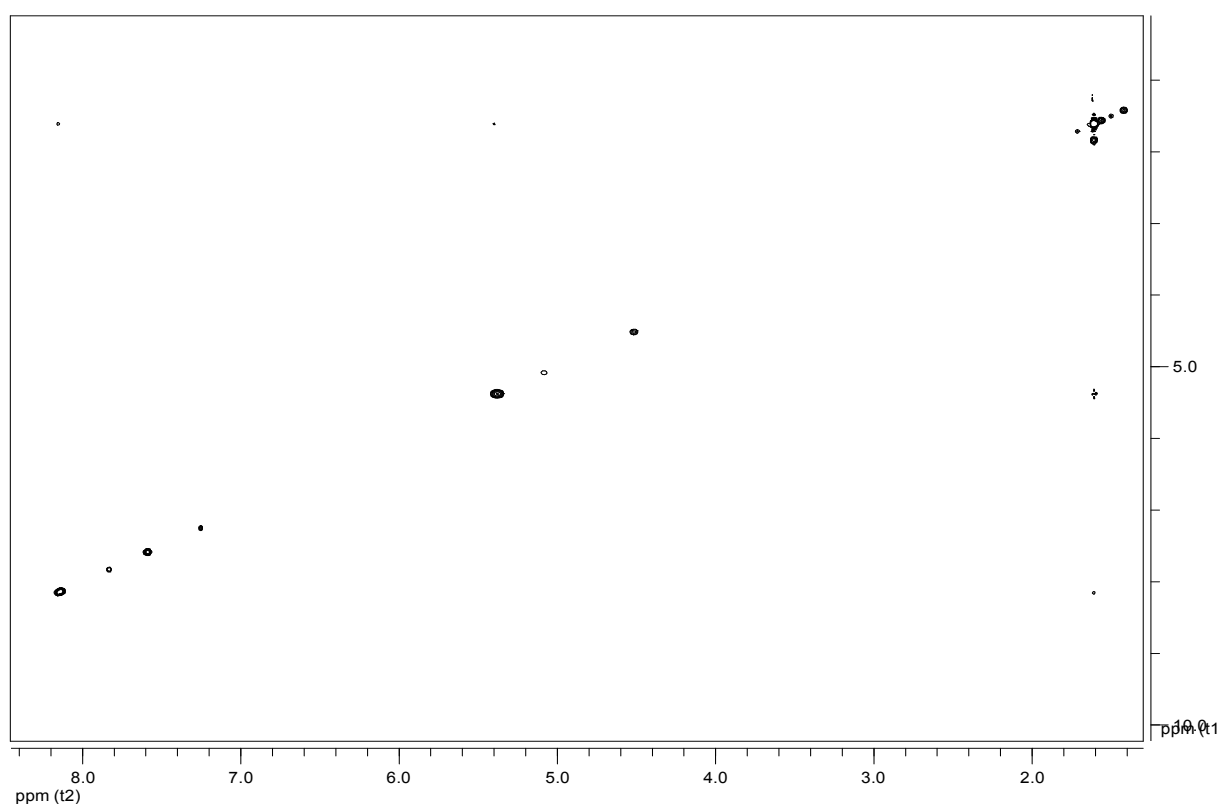
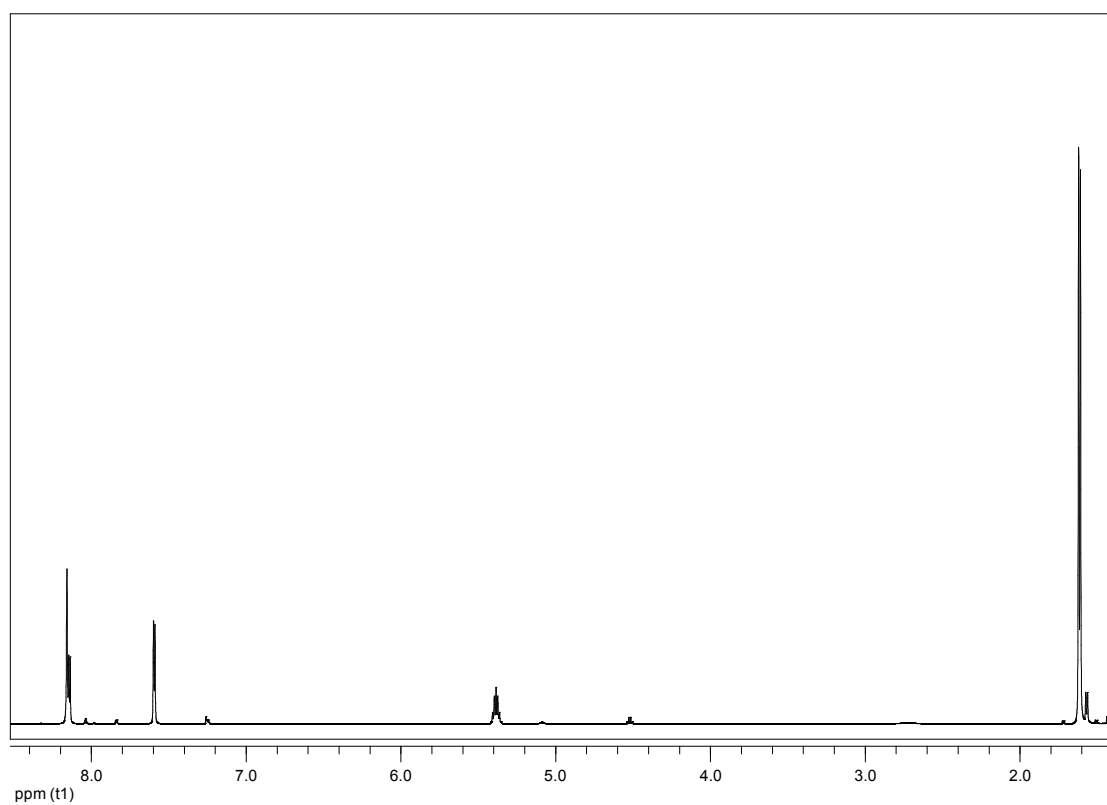
8a,9a R=ισοπροπυλο, **8b,9b** R=κυκλοπεντυλο, **8c,9c** R=4-μεθοξυβενζυλο

Σχήμα II.3: a. K₂CO₃, αλογονίδιο, άνυδρο DMF, 72h, r.t

Στις Εικόνες II.2 και II.3 φαίνονται ενδεικτικά τα φάσματα ¹H-NMR και NOESY των ισομερών παραγώγων **8a** και **9a**. Στο φάσμα NOESY του 1-υποκατεστημένου παραγώγου **8a** παρατηρείται κορυφή διασταύρωσης τόσο των μεθυλικών όσο και του μεθινικού πρωτονίου της ισοπροπυλομάδας με το 7-πρωτόνιο του πυριδινικού δακτυλίου, ενώ στο φάσμα NOESY του παραγώγου **9a** η κορυφή αυτή απουσιάζει.

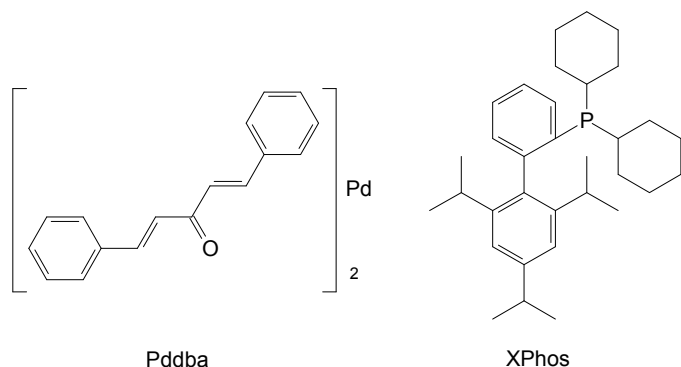


Εικόνα II.2. Φάσμα πρωτονίου και NOESY του παραγώγου **8a**.



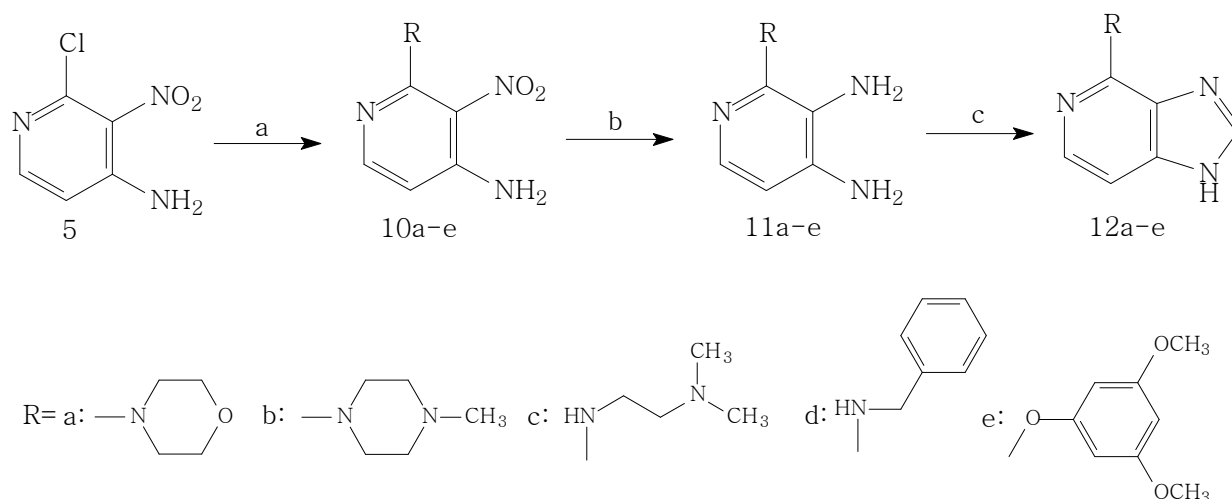
Εικόνα II.3. Φάσμα πρωτονίου και NOESY του παραγώγου **9a**.

Επιχειρήθηκε κατόπιν η υποκατάσταση του ατόμου χλωρίου με επίδραση της κατάλληλης αμίνης επί ιμιδαζοπυριδίνης. Η αντίδραση έγινε σε βρασμό εντός 1,4-διοξάνης αλλά και 2-αιθοξυαιθανόλης, χωρίς όμως αποτέλεσμα. Έγινε επίσης προσπάθεια σύζευξης με τη χρήση καταλύτη δις(διβενζυλιδενοακετονο)παλλάδιο (Pddba) [47] και προσδέτη 2-δικυκλοεξυλοφωσφινό-2',4',6'-τριισοπροπυλοδιφαινύλιο (XPhos) εντός 1,4-διοξάνης (Εικόνα II.4) [48]. Με τις συνθήκες αυτές παρελήφθη το επιθυμητό προϊόν σε απόδοση όμως της τάξης του 5%.



Εικόνα II.4. Συντακτικοί τύποι των Pd(dba)₂ και XPhos

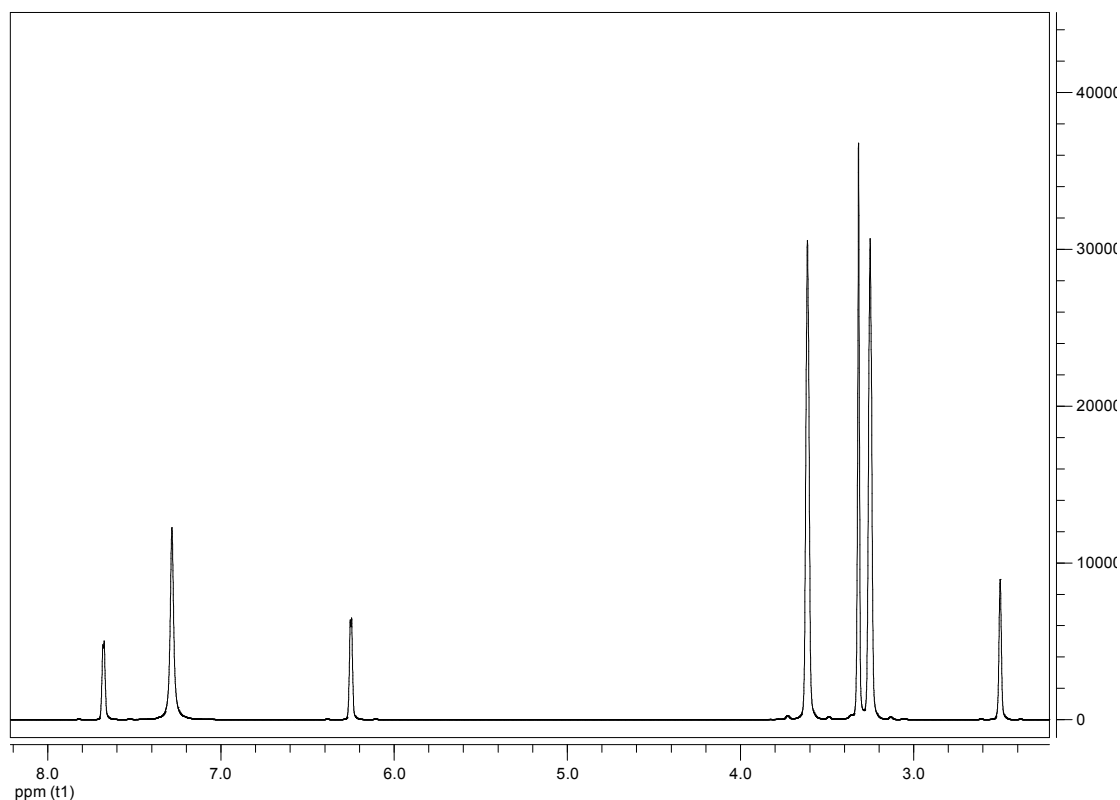
Η δυσκολία υποκατάστασης του 4-χλωρίου, μας οδήγησε σε τροποποίηση της συνθετικής πορείας σύμφωνα με την οποία η εισαγωγή της αμινομάδας έγινε σε πρώιμο στάδιο, συγκεκριμένα στην 4-αμινο-2-χλωρο-3-νιτροπυριδίνη (**5**, Σχήμα II.4).



Σχήμα II.4: a. για τα a-d: αμίνη, abs EtOH, 800C, 2h, για το e: 3,5-διμεθοξυφαινόλη, CsCO₃, THF, 700C, 24h; b. H₂, Pd/C, abs EtOH, 4h, 55psi, rt; c. triethylorthoformate, c.HCl, 48h, rt.

Τα προϊόντα **10a-d** συντέθηκαν με τη μέθοδο αυτή σε εξαιρετικά υψηλές αποδόσεις, ενώ παρασκευάστηκε σε ικανοποιητική απόδοση και ο διαρυλαιθέρας **10e**, μετά από επίδραση της κατάλληλης φαινόλης επί του **5**, παρουσία ανθρακικού καυσίου ως βάσης.

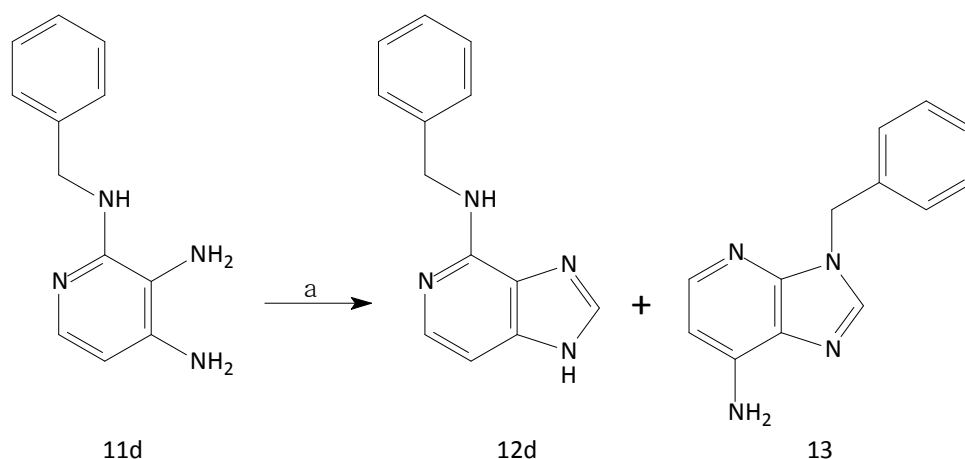
Στην Εικόνα II.4 φαίνεται ενδεικτικά το φάσμα ^1H -NMR του 4-μορφολινοϋποκατεστημένου παραγώγου **10a**. Διακρίνονται οι δύο κορυφές που αντιστοιχούν στα ανά δύο χημικά ισοδύναμα πρωτόνια της μορφολίνης (3.61 και 3.25ppm), οι κορυφές των 5- και 6-πυριδινικών πρωτονίων (6.25 και 7.67ppm αντίστοιχα) και η αποθωρακισμένη ευρεία απλή κορυφή που συντονίζονται τα πρωτόνια της αμινομάδας (7.28ppm).



Εικόνα II.5. Φάσμα πρωτονίου του παραγώγου **10a** σε $\text{DMSO}-d_6$

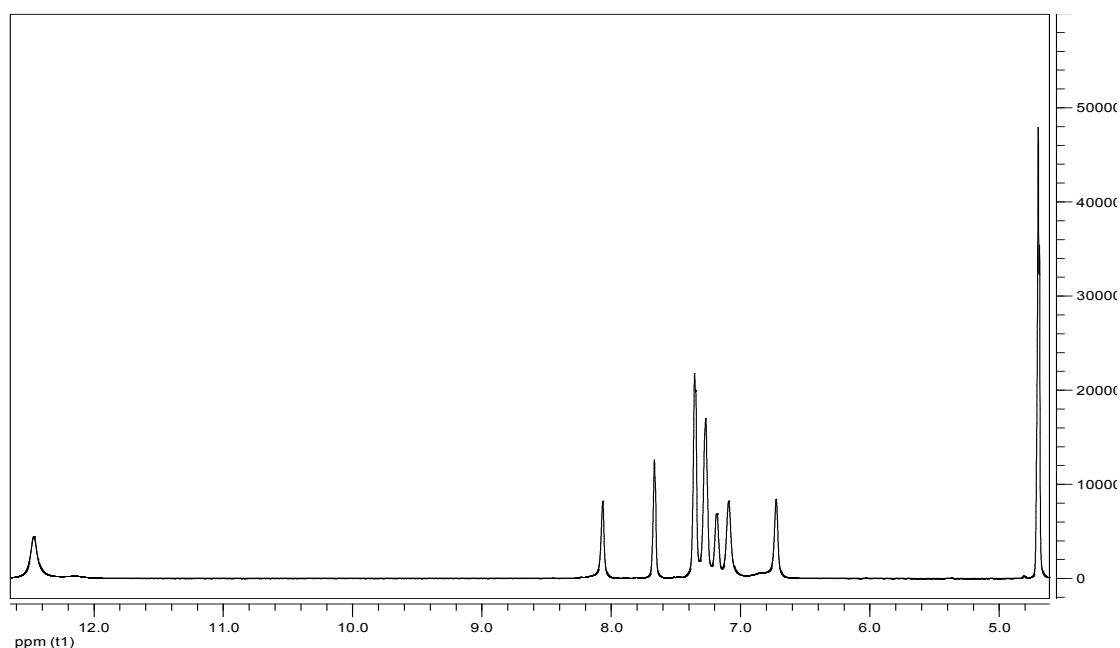
Για τη λήψη των ενώσεων **11a-e** έγινε αναγωγή της νιτρομάδας των **10a-e** με υδρογόνωση σε πίεση 55psi χρησιμοποιώντας ως καταλύτη παλλάδιο επί άνθρακα και προϊόντα ελήφθησαν σχεδόν ποσοτικά. Τα παράγωγα **12a-e** συντέθηκαν κατόπιν με κύκλωση των διαμινών **11a-e** με τη χρήση ορθομυρμηκικού τριαιθυλεστέρα και καταλυτικής ποσότητας υδροχλωρικού οξέος.

Στην περίπτωση του 4-βενζυλαμινο παραγώγου **12d** παρελήφθη και το παραπροϊόν **13** σε απόδοση 10% (Σχήμα II.4) το οποίο χαρακτηρίστηκε με τη βοήθεια φασμάτων NMR μίας και δύο διαστάσεων.



Σχήμα II.4. a. triethylorthoformate, HCl, 48h, rt.

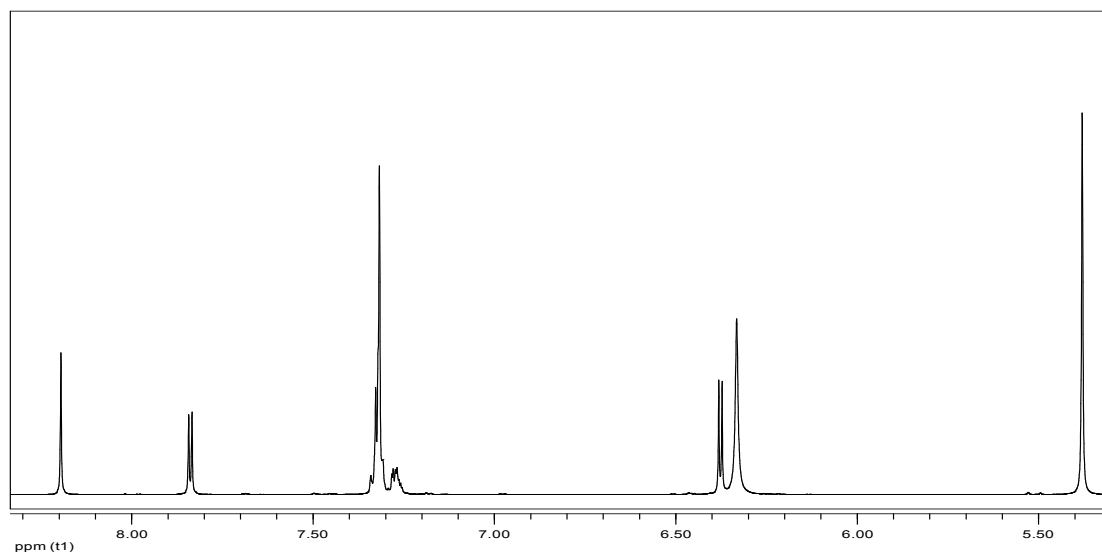
Στην Εικόνα II.6 φαίνεται το φάσμα πρωτονίου του παραγώγου **12d**. Και σε αυτήν την περίπτωση φαίνονται οι χαρακτηριστικές κορυφές στην αρωματική περιοχή, που αντιστοιχούν στα πρωτόνια στις θέσεις 2 (8.06ppm), 6 (7.67ppm) και 7 (6.72ppm) της ιμιδαζοπυριδίνης, τα κοντινά σε χημική μετατόπιση και ανά δύο χημικά ισοδύναμα πρωτόνια της βενζυλαμινομάδας (7.28ppm και 7.35ppm) καθώς και η εξαιρετικά αποθωρακισμένη απλή, ευρεία κορυφή που αντιστοιχεί στο ευκίνητο πρωτόνιο της 1-θέσης(12.46ppm) του ιμιδαζολίου.



Εικόνα II.6. Φάσματα πρωτονίου του παραγώγου **12d**.

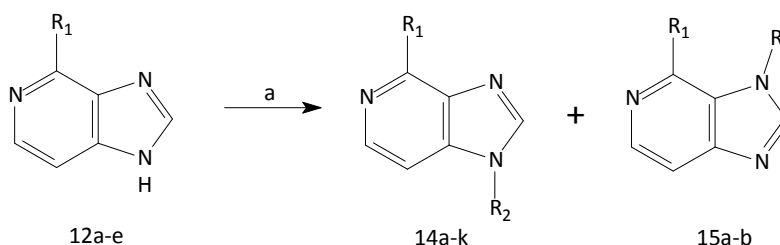
Στην Εικόνα II.7 φαίνεται το φάσμα πρωτονίου του παραπροϊόντος **13**. Στο φάσμα αυτό απουσιάζει κορυφή που αντιστοιχεί σε ευκίνητο πρωτόνιο ιμιδαζολίου και εμφανίζεται απλή ευρεία κορυφή που αντιστοιχεί στα πρωτόνια της αμινομάδας (6.33ppm). Επίσης παρατηρείται και αποθωρακισμός

των μεθυλενικών πρωτονίων της βενζυλομάδας, ενώ διατηρούνται οι κορυφές των αρωματικών πρωτονίων στις θέσεις 2,5 και 6 της ιμιδαζοπυριδίνης.



Εικόνα II.7. Φάσμα πρωτονίου του παραγώγου **13**.

Κατόπιν έγινε η υποκατάσταση του ιμιδαζολικού NH, για τη λήψη των τελικών προϊόντων **14a-k** και **15a-b** (Σχήμα II.5). Σχηματίστηκε ανιόν των **12a-e** με επίδραση ανθρακικού καλίου εντός άνυδρου *N,N*-διμεθυλφορμαμιδίου και ακολούθησε προσθήκη του κατάλληλου αλογονιδίου.

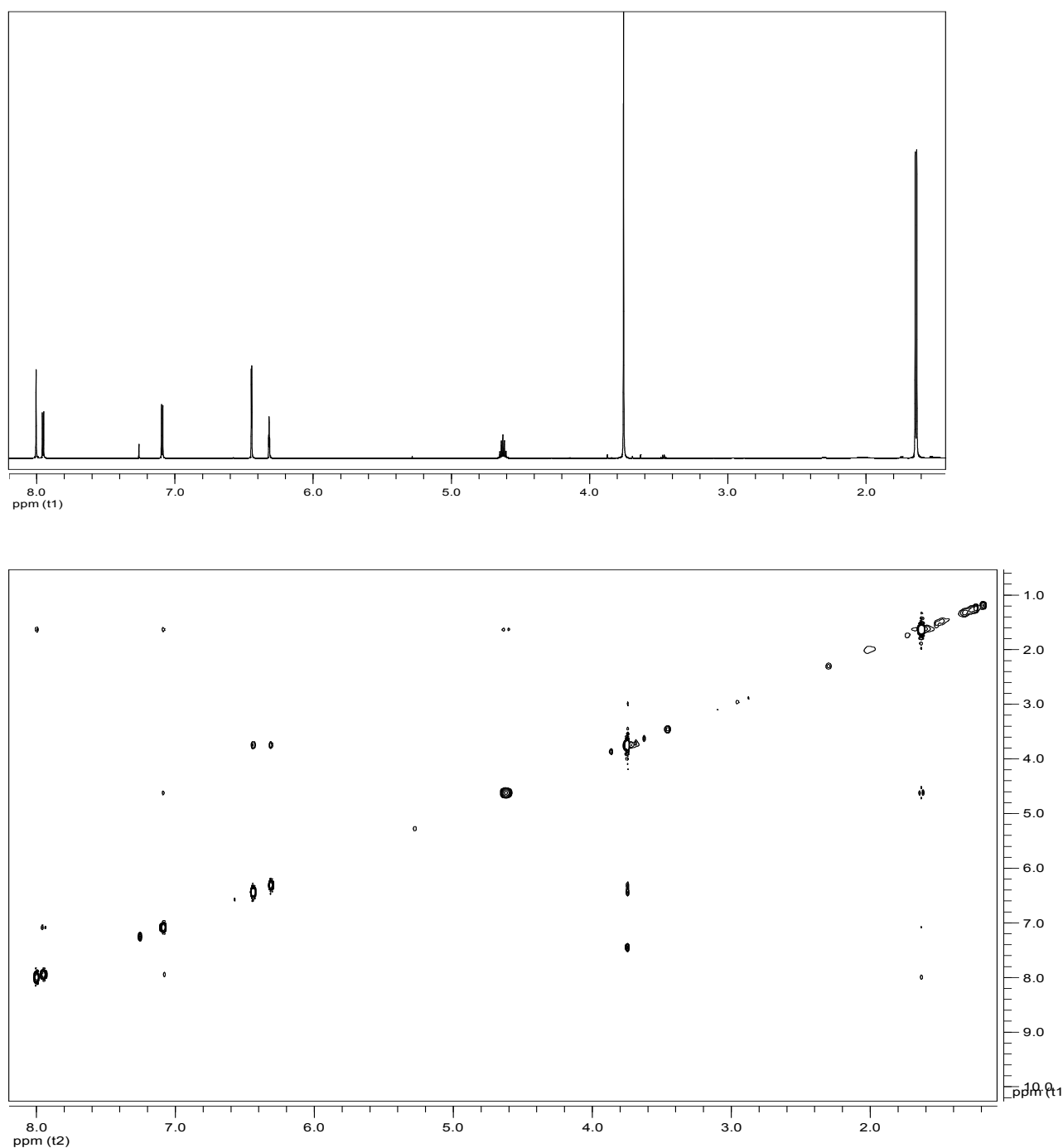


14a: R₁= morpholin-1-yl, R₂= isopropyl, 14b: R₁= morpholin-1-yl, R₂= cyclopentyl,
 14c: R₁= morpholin-1-yl, R₂= 4-methoxyphenylmethyl, 14d: R₁= 4-methylpiperazin-1-yl, R₂= isopropyl,
 14e: R₁= 4-methylpiperazin-1-yl, R₂= cyclopentyl, 14f: R₁= dimethylaminoethylamino, R₂= isopropyl,
 14g: R₁= dimethylaminoethylamino, R₂= cyclopentyl, 14h: R₁= 3,5-dimethoxyphenyloxy, R₂= isopropyl,
 14i: R₁= 3,5-dimethoxyphenyloxy, R₂= cyclopentyl, 14j: R₁= benzylamino, R₂= isopropyl,
 14k: R₁= benzylamino, R₂= cyclopentyl
 15a: R₁= 3,5-dimethoxyphenyloxy, R₂= isopropyl, 15b: R₁= 3,5-dimethoxyphenyloxy, R₂= cyclopentyl,

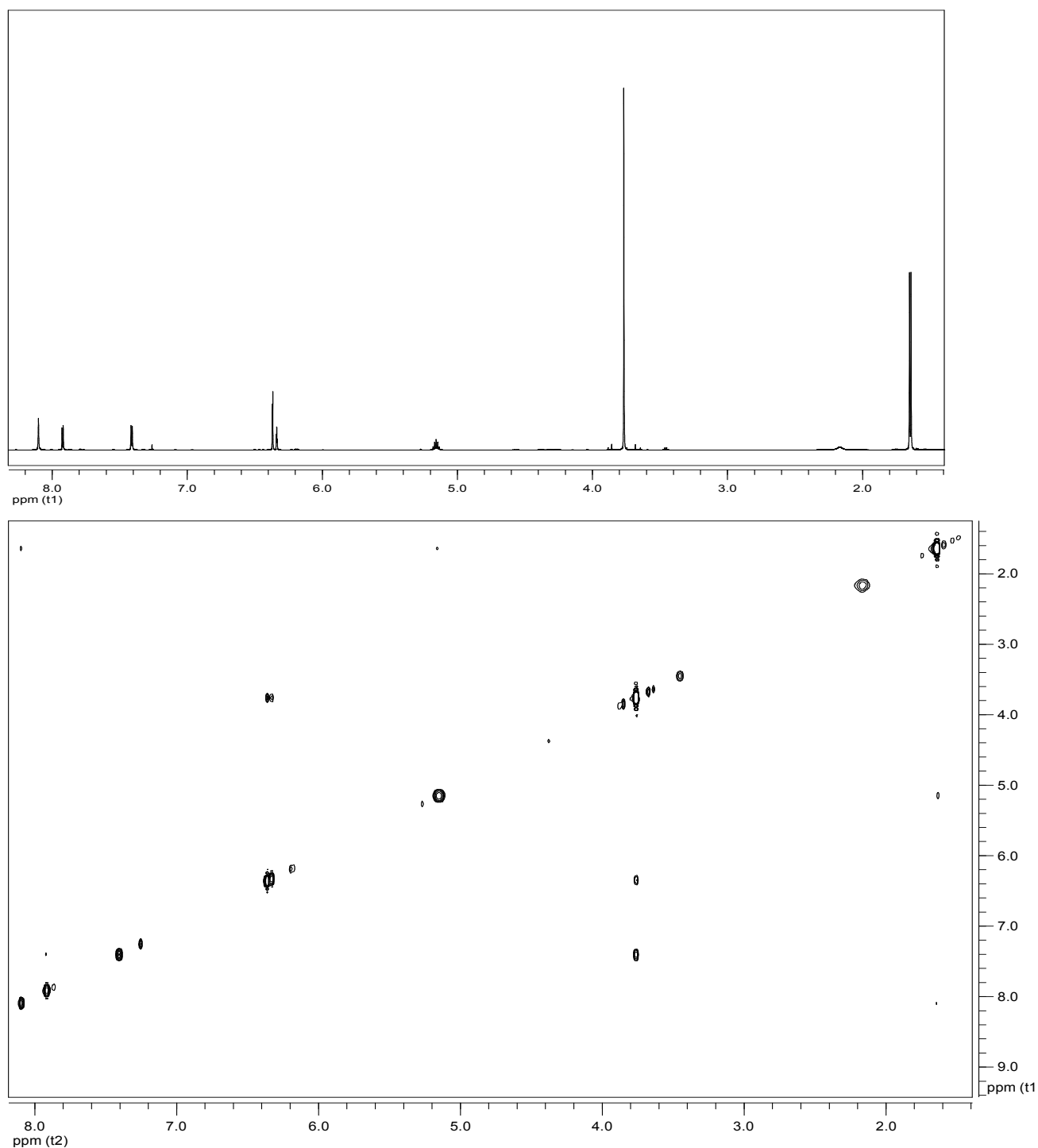
Σχήμα II.5. a. K₂CO₃, αλογονίδιο, dry DMF, rt, 48h.

Όπως φαίνεται στο Σχήμα II.5, στα παράγωγα που φέρουν ως 4-υποκαταστάτη την 3,5-διμεθοξυφαινυλοξυ-ομάδα, ήταν δυνατή η απομόνωση και των δύο ισομερών θέσης **15a** και **15b**. Στην περίπτωση αυτή τα 3-αλκυλοϋποκατεστημένα παράγωγα (**15a-b**) ελήφθησαν σε μεγαλύτερη απόδοση από ότι τα αντίστοιχα 1-υποκατεστημένα παράγωγα **14h-i**.

Στις Εικόνες II.8 και II.9 παρουσιάζονται τα φάσματα πρωτονίου και NOESY των ισομερών παραγώγων **14h** και **15a**. Εκτός των απορροφήσεων των αρωματικών πρωτονίων (ιμιδαζοπυριδίνη και 4-φαινυλομάδα), είναι χαρακτηριστικές η πολλαπλή κορυφή του μεθινικού πρωτονίου της ισοπροπυλομάδας (4.62 ppm) και οι χημικές μετατοπίσεις των πρωτονίων των μεθυλομάδων (1.63 ppm) και μεθοξυλομάδων (3.75 ppm). Από τα φάσματα NOESY των παραγώγων αυτών μόνο το φάσμα του **14h** εμφανίζει κορυφή διασταύρωσης των ισοπροπυλικών (μεθινικού και μεθυλικών) πρωτονίων με τα 6- και 7- αρωματικά πρωτόνια, γεγονός ενδεικτικό του συγκεκριμένου ισομερούς θέσης.



Εικόνα II.8. Φάσμα πρωτονίου και NOESY του παραγώγου **14h**.

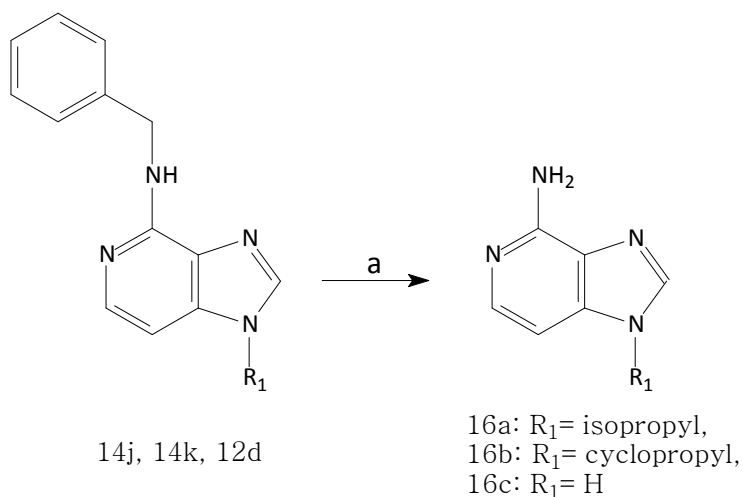


Εικόνα II.9. Φάσμα πρωτονίου και NOESY του παραγώγου **15a**.

Το 1-(4-μεθοξυβενζυλο)παράγωγο **14c** απομονώθηκε μόνο κατά την αλκυλίωση του **12a**, ενώ στις υπόλοιπες αντίστοιχες περιπτώσεις οδηγηθήκαμε σε πολύπλοκα μίγματα προϊόντων.

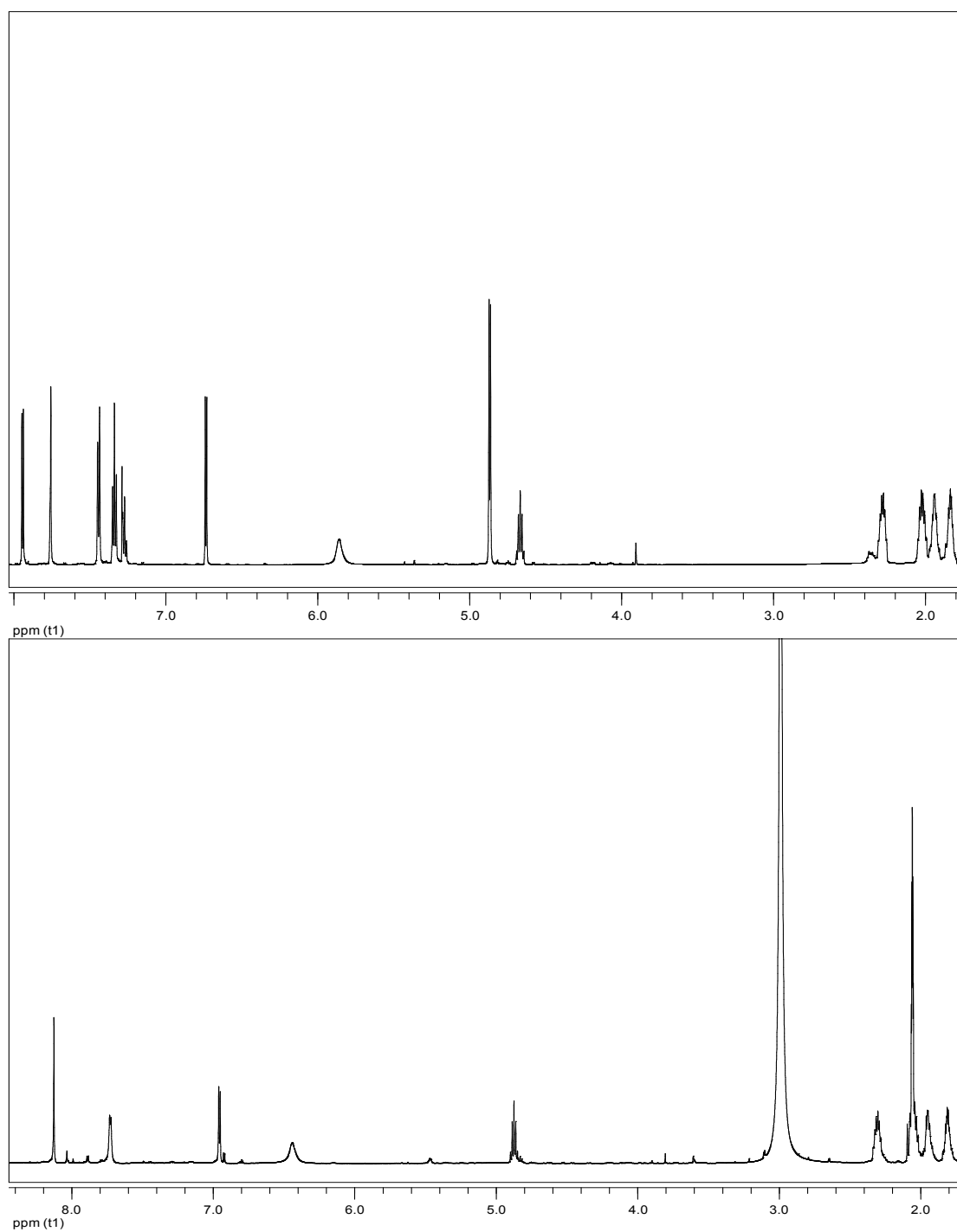
Για τη λήψη των προϊόντων **16a-c** (Σχήμα II.6) αρχικά δοκιμάστηκε μέθοδος που αναφέρεται στη βιβλιογραφία [49] και περιλαμβάνει δύο στάδια, αυτό του σχηματισμού 4-υδραζιδίου και σε

δεύτερο στάδιο την αναγωγή του προς την αντίστοιχη αμίνη. Η μέθοδος εφαρμόστηκε στο χλωροπαράγωγο **7** αλλά χωρίς επιτυχία. Επίσης ανεπιτυχής απέβη η αναγωγή του 4-βενζυλαμινοπαραγώγου **14j** με υδρογόνωση παρουσία παλλαδίου επί άνθρακα ως καταλύτη [50]. Όμως, τα αμινοπαραγώγα ελήφθησαν από τα αντίστοιχα παράγωγα **14j**, **14k** και **12d** με επίδραση περίσσειας μυρμηκικού αμμωνίου εντός μεθανολικού τους διαλύματος, παλλαδίου επί άνθρακα ως καταλύτη.



Σχήμα II.6.a. HCOONH₄, Pd/C, MeOH, 144h, reflux.

Στην Εικόνα II.10 φαίνονται τα φάσματα πρωτονίου του παραγώγου **14k** και του αντίστοιχου αποβενζυλιωμένου παραγώγου **16b**. Είναι εμφανής η απουσία στο δεύτερο φάσμα των κορυφών που αντιστοιχούν στη βενζυλομάδα, καθώς και η παρουσία των πρωτονίων της αμινομάδας, που συντονίζονται ως απλή ευρεία κορυφή στα 6.44ppm.

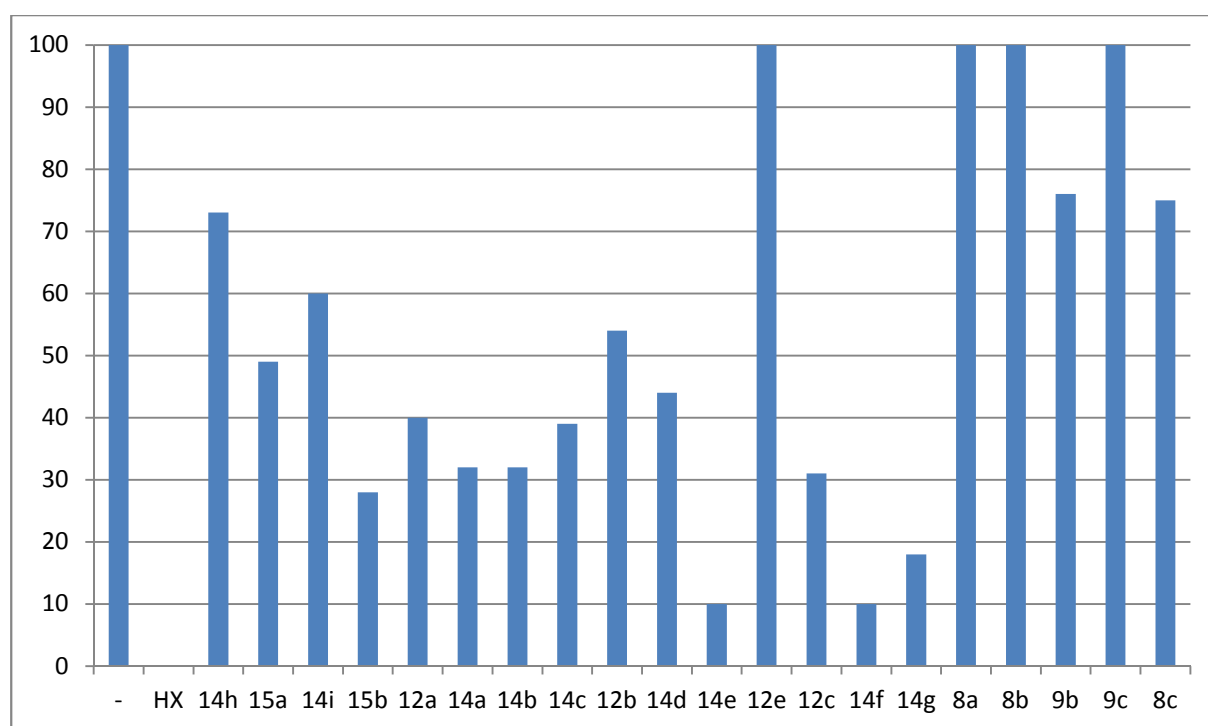


Εικόνα II.10. Φάσματα πρωτονίου των παραγώγων **14k** (πάνω) και **16b** (κάτω).

III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Προκαταρκτικά αποτελέσματα ανταγωνισμού των νέων ενώσεων στον διαμεμβρανικό μεταφορέα FcyB, στα 500 μM παρουσιάζονται στον Πίνακα 1. Στον Πίνακα εμφανίζεται επίσης η δράση της υποξανθίνης (HX), η οποία αποτελεί την ένωση αναφοράς.

Πρόκειται για *in vivo* πειράματα που πραγματοποιήθηκαν με κονιδιοσπόρια του μύκητα *Aspergillus nidulans* όπου έχει εκφραστεί ως μοναδικός πουρινικός μεταφορέας ο FcyB. Τα κύτταρα επωάζονται με 0.1 μM επισημασμένης υποξανθίνης και η τιμή αυτή (πρώτη στήλη του Πίνακα III.1) είναι ενδεικτική της 100% πρόσληψης HX. Επιπλέον πείραμα γίνεται με επώαση των κυττάρων με 0.1 μM επισημασμένης υποξανθίνης και 500 μM μη επισημασμένης και είναι ενδεικτικό της 100% αναστολής μεταφοράς πουρινών (δεύτερη στήλη του Πίνακα III.1). Τέλος, 500 μM από κάθε νέα ένωση συνεπωάζονται με 0.1 μM επισημασμένης υποξανθίνης και υπολογίζεται η εκατοστιαία αναστολή του μεταφορέα.



Πίνακας III.1.

Τα υψηλότερα ποσοστά ανταγωνισμού παρουσιάζουν οι ενώσεις **14e-g**. Οι **14e** (1-κυκλοπεντυλο-ανάλογο) και **14f** (1-ισοπροπυλο-ανάλογο) εμφανίζονται ως τα δραστικότερα παράγωγα της σειράς, ανταγωνιζόμενα κατά 90% τη συγκεκριμένη πρωτεΐνη. Είναι

επιπλέον χαρακτηριστικό ότι και τα δύο μόρια φέρουν ως 4-υποκατάσταση ομάδα 1,2-διαμίνης, που στο ανάλογο **14e** διαθέτει περιορισμένο βαθμό ελευθερίας. Σημαντική επίσης ανταγωνιστική δράση (83%) παρουσιάζει και το παράγωγο **14g**, που αποτελεί ανώτερο ομόλογο του **14f**. Στα αντίστοιχα παράγωγα που δεν φέρουν υποκατάσταση επί του ιμιδαζολικού δακτυλίου (**12b**, **12c**) παρατηρείται ουσιαστική μείωση της δράσης, που είναι περισσότερο εμφανής στο **12b**. Φαίνεται επίσης ότι αρωματικός υποκαταστάτης στη θέση 1- (παράγωγο **14c**) ή 4- (παράγωγα **12c**, **14h**, **14i**) δεν ευνοεί την εμφάνιση ανταγωνιστικής δράσης στα παράγωγα της σειράς αυτής. Το ίδιο παρατηρείται και στην περίπτωση των 4-χλωροπαραγώγων **8a-c**. Τέλος, τα 3-υποκατεστημένα παράγωγα **15a,b**, **9b** και **9c** (με την οριακή ίσως εξαίρεση του **15b**) δεν έχουν αξιόλογη δραστηριότητα.

Συμπερασματικά, ο δακτύλιος της ιμιδαζο[4,5-*c*]πυριδίνης που φέρει 1-ισοπροπυλομάδα, ή αλκυλομάδα αντίστοιχου όγκου και 4-διμεθυλαμινοαιθυλαμινο-, ή την αντίστοιχη *N*-μεθυλοπιπεραζινυλ υποκατάσταση, μπορεί να αποτελέσει αξιόλογο σημείο εκκίνησης για τη διερεύνηση του FcγB μεταφορέα, και την ανακάλυψη ανταγωνιστών του.

IV. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Τα σημεία τήξεως ελήφθησαν σε συσκευή Buchi και δεν είναι διορθωμένα. Οι χρωματογραφίες στήλης πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση Silica gel 60 AC.C (SDS 35-70 μm). Η παρακολούθηση των αντιδράσεων έγινε με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (Thin Layer Chromatography, TLC) σε πλάκες Silica gel 60_{F254}. Για τη λήψη φασμάτων ^1H -NMR και φασμάτων δύο διαστάσεων χρησιμοποιήθηκαν Φασματοφωτόμετρα Bruker 400 ή 600 στα 400 ή 600 MHz αντίστοιχα. Ως διαλύτες για τη λήψη των φασμάτων χρησιμοποιήθηκαν δευτεριωμένο χλωροφόρμιο, μεθανόλη (CD_3OD), ακετόνη και διμεθυλοσουλφοξείδιο ($\text{DMSO}-d_6$).

Σύνθεση του *N*-οξειδίου της 2-χλωροπυριδίνης (2)

Σε διάλυμα της 2-χλωροπυριδίνης 1 (1.7mL, 18mmoles) εντός άνυδρου διχλωρομεθανίου (10mL) προστίθεται 3-χλωροϋπερβενζοϊκό οξύ (6.2g, 36mmoles) και το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου επί 24 ώρες, σε σκοτεινό μέρος. Μετά το τέλος της αντίδρασης ο οργανικός διαλύτης συμπυκνώνεται υπό κενό, το στερεό υπόλειμμα κατεργάζεται με διαιθυλαιθέρα και μετά από διήθηση υπό κενό λαμβάνονται 2g (86%) του επιθυμητού προϊόντος, πρακτικά καθαρού, το οποίο χρησιμοποιείται ως έχει στο επόμενο στάδιο. Λευκό στερεό Σ.Τ 67-69 °C (οξικός αιθυλεστέρας) [51].

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.30 (m, 2H, H-4, H-5), 7.57 (m, 1H, H-3), 8.39 (m, 1H, H-6)

Σύνθεση του *N*-οξειδίου της 4-νιτρο-2-χλωροπυριδίνης (3)

Σε μίγμα θειϊκού οξέος (10mL) και ατμίζοντος νιτρικού οξέος (5mL) προστίθεται το *N*-οξείδιο της 2-χλωροπυριδίνης (2.6g, 20mmoles) και το μίγμα που προκύπτει θερμαίνεται στους 100°C επί 3,5 ώρες. Μετά το τέλος της αντίδρασης το μίγμα ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου, μεταφέρεται σε ποτήρι ζέσεως και εξουδετερώνεται με διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου 40% υπό ψύξη οπότε καταβυθίζεται στερεό το οποίο διηθείται υπό κενό. Λαμβάνονται 1,03g (33%) του επιθυμητού προϊόντος το οποίο χρησιμοποιείται ως έχει στο επόμενο στάδιο. Κίτρινο στερεό Σ.Τ. 152-154 °C (αιθανόλη) [52]

^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.71 (s, 1H, H-3), 8.19 (m, 1H, H-5), 8.64 (m, 1H, H-6).

Σύνθεση της 4-αμινο-2-χλωροπυριδίνης (4)

Σε διάλυμα του *N*-οξειδίου της 4-νιτρο-2-χλωροπυριδίνης (625mg, 3,9mmoles) εντός αιθανόλης (50mL) προστίθεται μεταλλικός στερεός σίδηρος (1g) και κατόπιν στάγδην πυκνό υδροχλωρικό οξύ (0.4mL). Το μίγμα θερμαίνεται στους 80 °C (reflux) επί 3 ώρες. Η περίσσεια του οξέος εξουδετερώνεται με στερεό όξινο ανθρακικό νάτριο, το μίγμα διηθείται από κελλίτη και το διήθημα συμπυκνώνεται έως ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Το στερεό υπόλειμμα προσροφάται σε silica gel και φέρεται σε χρωματογραφική στήλη με κινητή φάση μίγμα διχλωρομεθάνιου/μεθανόλης 98:2. Τελικά λαμβάνονται 500mg (απόδοση σχεδόν ποσοτική) του επιθυμητού προϊόντος. Λευκό στερεό Σ.Τ 88-90 °C (βενζόλιο/εξάνιο) [53]

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 6.45-6.47 (dd, 1H, H-5), 6.55 (d, 1H, H-3), 7.93-7.94 (d, 1H, H-6).

Σύνθεση της 4-αμινο-3-νιτρο-2-χλωροπυριδίνης (5) και της 4-αμινο-5-νιτρο-2-χλωροπυριδίνης (5a)

Σε διάλυμα της 4-αμινο-2-χλωροπυριδίνης (2.0g, 15.6mmoles) εντός πυκνούθειϊκού οξέος (96%, 20mL) στους 0 °C, προστίθεται στάγδην ατμίζον νιτρικό οξύ(90%, 10mL). Το μίγμα αφήνεται σε ανάδευση για 30 λεπτά στην ίδια θερμοκρασία και έπειτα αποχύνεται σε ποτήρι ζέσεως που περιέχει θρυμματισμένο πάγο. Το pH ρυθμίζεται στο 3 με χρήση διαλύματος αμμωνίας 20%. Το στερεό που αποβάλλεται διηθείται υπό κενό και εκπλένεται με παγωμένο νερό ώστε να αποδώσει τη νιτραμίνη ως υπόλευκο στερεό, η οποία χρησιμοποιείται απευθείας στο επόμενο στάδιο κατά το οποίο διαλύεται σε δόσεις σεθειϊκό οξύ (96%, 40mL) στους 0 °C και το μίγμα που προκύπτει θερμαίνεται στους 75 °C για 90 λεπτά. Στη συνέχεια, το μίγμα αποχύνεται σε θρυμματισμένο πάγο και αλκαλοποιείται σε pH=8 με χρήση διαλύματος αμμωνίας 20%, ενώ η θερμοκρασία παραμένει κάτω από 10 °C. Το στερεό που προκύπτει διηθείται υπό κενό και ξηραίνεται για να αποδώσει 1.8g (73%) των δύο νιτροπαραγώγων. Το μείγμα φέρεται σε χρωματογραφική στήλη και διαχωρίζεται στα συστατικά του χρησιμοποιώντας ως κινητή φάση μίγμα κυκλοεξάνιου/οξικού αιθυλεστέρα 1:1. Λαμβάνονται 1.7g του προϊόντος 5 (64%) ως κίτρινο στερεό Σ.Τ. 215-216 °C (οξικός αιθυλεστέρας) [54]

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.91 (d, *J*=6Hz, 1H, H-6), 7.37 (brs, 2H, D₂O exch, NH₂), 6.83 (d, *J*=6Hz, 1H, H-5)

και 0.10g του παραγώγου 5a (9%) ως κίτρινο στερεό Σ.Τ 190-191°C (οξικός αιθυλεστέρας) [55].

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8.84 (s, 1H, H-6), 8.10 (brs, 2H, D₂O exch, NH₂), 6.95 (s, 1H, H-3).

Σύνθεση της 3,4-διαμινο-2-χλωροπυριδίνης (6)

Σε εναιώρημα της 4-αμινο-3-νιτρο-2-χλωροπυριδίνης (1,0g 5,7mmoles) σε απόλυτη αιθανόλη (20mL) προστίθεται Ni-Raney(1,0g) και το μίγμα υδρογονώνεται υπό πίεση 40psi επί 3 ώρες. Μετά το τέλος της αντίδρασης γίνεται διήθηση από κελλίτη και ακολουθεί έκπλυση με διχλωρομεθάνιο/μεθανόλη 100:10. Το υπόλειμμα συμπυκνώνεται υπό χαμηλή πίεση ώστε να ληφθούν 800mg (98%) του προϊόντος 6.

Σύνθεση της 4-χλωρο-1H-ιμιδαζο[4,5-c]-πυριδίνης (7)

Σε εναιώρημα της διαμίνης 6 (1,43g 10mmoles) εντός ορθομυρμηκικού τριαιθυλεστέρα (18mL) προστίθεται στάγδην πυκνό υδροχλωρικό οξύ (1mL) και το μίγμα αφήνεται σε ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου επί 48 ώρες. Μετά το τέλος της αντίδρασης, η περίσσεια του ορθομυρμηκικού τριαιθυλεστέρα απομακρύνεται υπό κενό, στο υπόλειμμα προστίθεται μεθανόλη και εξουδετερώνεται με στερεό όξινο ανθρακικό νάτριο. Τέλος, προστίθεται silica gel και το μείγμα της αντίδρασης φέρεται σε χρωματογραφική στήλη από όπου λαμβάνονται 1,3g(8.5mmoles απόδοση 84%) ως λευκό στερεό Σ.Τ. 264°C (νερό) [54]

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 13.27 (brs, 1H, D₂O exch, NH), 8.50 (s, 1H, H-2), 8.13 (d, 1H, J=6Hz, H-6), 7.64 (d, 1H, J=6Hz, H-7).

Γενική μέθοδος σύνθεσης των 1- και 3-υποκατεστημένων παραγώγων 8a-c και 9a-c

Σε διάλυμα της διαμίνης 7 (200mg 1.3 mmoles) εντός ανύδρου DMF (5mL), προστίθεται K₂CO₃ (1.9 mmoles) και το μίγμα αφήνεται σε ανάδευση για 20min. Ακολούθως, προστίθεται περίσσεια του κατάλληλου αλογονιδίου(1.9 mmoles) και η αντίδραση αναδεύεται επί 72 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου (στις 24 ώρες προστίθενται επιπλέον 1.9 mmoles K₂CO₃ και 1,9mmoles αλογονιδίου). Μετά το τέλος της αντίδρασης γίνεται εκδίωξη του διαλύτη υπό κενό, στο υπόλειμμα προστίθεται νερό και εκχυλίζεται με χλωροφόρμιο (3x50mL). Ακολουθεί ξήρανση της οργανικής φάσης υπεράνω Na₂SO₄,

διήθηση και συμπύκνωση υπό κενό ώστε να ληφθεί το μίγμα των ισομερών παραγώγων, τα οποία διαχωρίζονται με χρωματογραφία στήλης.

Σύνθεση της 1-ισοπροπυλο-4-χλωρο-1*H*-ιμιδαζο[4,5-*c*]πυριδίνης (**8a**) και 3-ισοπροπυλο-4-χλωρο-1*H*-ιμιδαζο[4,5-*c*]πυριδίνης (**9a**)

Παρασκευάζονται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Το μίγμα των ισομερών διαχωρίζεται στα συστατικά του με χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιώντας ως κινητή φάση οξικό αιθυλεστέρα/κυκλοεξάνιο 3:7.

Λαμβάνονται 150mg του προϊόντος 8a (76%). Λευκό στερεό Σ.Τ 59⁰C (πεντάνιο)

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.05 (d, 1H, *J*=5.5Hz, H-6), 8.02 (s, 1H, H-2), 7.27 (d, 1H, *J*=5.5Hz, H-7), 4.59 (septet, 1H, *J*=6.6Hz, CH(CH₃)₂), 1.54 (d, 6H, *J*=6.6Hz, 2xCH₃)

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 22.29 (2xCH₃), 48.75 (CH(CH₃)₂), 105.61 (C-7), 137.44 (C-3a), 139.03 (C-7a), 140.70 (C-2), 141.91 (C-6), 142.48 (C-4)

και 55mg του προϊόντος 9a (24%). Λευκό στερεό Σ.Τ 93⁰C (διαιθυλαιθέρας)

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.16 (s, 1H, H-2), 8.14 (d, 1H, *J*=5.4Hz, H-6), 7.59 (d, 1H, *J*=5.4Hz, H-7), 5.38 (septet, 1H, *J*=6.6Hz, CH(CH₃)₂), 1.62 (d, 6H, *J*=6.6Hz, 2xCH₃)

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 23.92 (2xCH₃), 49.86 (CH(CH₃)₂), 114.97 (C-7), 127.91 (C-3a), 133.61 (C-4), 140.88 (C-6), 143.62 (C-2), 151.44 (C-7a)

Σύνθεση της 1-κυκλοπεντυλο-4-χλωρο-1*H*-ιμιδαζο[4,5-*c*]πυριδίνης (**8b**) και 3-κυκλοπεντυλο-4-χλωρο-1*H*-ιμιδαζο[4,5-*c*]πυριδίνης (**9b**).

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Το μίγμα των ισομερών διαχωρίζεται στα συστατικά του με χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιώντας ως κινητή φάση χλωροφόρμιο/μεθανόλη 100:1.

Λαμβάνονται 170mg του προϊόντος 8b (76%). Λευκό στερεό Σ.Τ 87-88⁰C (διαιθυλαιθέρας)

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 1.83-1.89 (m, 2H, H-3'), 1.92-1.97 (m, 2H, H-4'), 1.99-2.06 (m, 2H, H-2'), 2.30-2.36 (m, 2H, H-5'), 4.74 (m, 1H, *J*=7.2Hz, H-1'), 7.33 (d, 1H, *J*=5.6Hz, H-7), 8.05 (s, 1H, H-2), 8.20 (d, 1H, *J*=5.6Hz, H-6)

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 23.73 (C-3', C-5'), 32.31 (C-2', C-6'), 57.79 (C-1'), 105.87 (C-7), 137.97 (C-3a), 139.66 (C-4), 140.88 (C-6), 142.49 (C-2), 142.71 (C-7a)

και 50mg του προϊόντος 9b (17%). Λευκό στερεό Σ.Τ 77-78⁰C (διαιθυλαιθέρας)

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 1.83-1.94 (m, 4H, H-3', H-4'), 1.97-2.05 (m, 2H, H-2'), 2.32-2.40 (m, 2H, H-5'), 5.50 (m, 1H, $J=6.4\text{Hz}$, H-1'), 7.64 (d, 1H, $J=5.3\text{Hz}$, H-7), 8.14 (s, 1H, H-2), 8.20 (d, 1H, $J=5.3\text{Hz}$, H-6)

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 23.77 (C-3', C-4'), 34.06 (C-2', C-5'), 58.43 (C-1'), 114.98 (C-7), 128.46 (C-7a), 133.91 (C-3a), 140.94 (C-2), 144.07 (C-6), 151.57 (C-4).

Σύνθεση της 1-(4-μεθοξυβενζυλο)-4-χλωρο-1H-ιμιδαζο[4,5-c]πυριδίνης (8c) και 3-(4-μεθοξυβενζυλο)-4-χλωρο-1H-ιμιδαζο[4,5-c]πυριδίνης (9c).

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Το μίγμα των ισομερών διαχωρίζεται στα συστατικά του με χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιώντας ως κινητή φάση διχλωρομεθάνιο/μεθανόλη 100:1 .

Λαμβάνονται 120mg του προϊόντος 8c (45%). Λευκό στερεό Σ.Τ 110-111 $^{\circ}\text{C}$ (οξικός αιθυλεστέρας, διαιθυλαιθέρας)

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 8.13 (d, 1H, $J=5.6\text{Hz}$, H-6), 8.00 (s, 1H, H-2), 7.17 (d, 1H, $J=5.6\text{Hz}$, H-7), 7.12 (d, 2H, $J=8.5\text{Hz}$, H-2', H-6'), 6.87 (d, 2H, $J=8.5\text{Hz}$, H-3', H-5'), 5.29 (s, 2H, CH_2), 3.78 (s, 3H, OCH_3)

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 160.09 (C-4'), 144.62 (C-2), 143.11 (C-2), 141.54 (C-6), 140.08 (C-7a), 138.16 (C-3a), 128.94 (C-2', C-6'), 126.00 (C-1'), 114.81 (C-3', C-5'), 105.70 (C-7), 55.46 (CH_3O), 49.33 (CH_2)

και 50mg του προϊόντος 9c (18%). Λευκό στερεό Σ.Τ 133-134 $^{\circ}\text{C}$ (διαιθυλαιθέρας)

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 8.25 (d, 1H, $J=4.5\text{Hz}$, H-6) , 8.10(s, 1H, H-2) , 7.70 (d, 1H, $J=4.5\text{Hz}$, H-7) , 7.17 (d, 2H, $J=8.5\text{Hz}$, H-2', H-6') , 6.91 (d, 2H, $J=8.5\text{Hz}$, H-3', H-5') , 5.70 (CH_3O) , 3.81 (CH_2)

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 150.16 (C-4), 114.62 (C-7a), 126.74 (C-1'), 126.93 (C-3a), 160.17 (C-4'), 50.25 (CH_2), 55.38 (OCH_3), 114.57 (C-7) 114.74 (C-3', C-5'), 128.93 (C-2', C-6'), 141.65 (C-6), 146.74 (C-2)

Γενική μέθοδος σύνθεσης των 2-υποκατεστημένων παραγώγων 10a-d

Σε διάλυμα της πυριδίνης 5 (500mg, 2,88mmoles) εντός απόλυτης αιθανόλης (10mL) προστίθεται η κατάλληλη αμίνη (6,3mmoles) και το μίγμα θερμαίνεται στους 80 $^{\circ}\text{C}$ (reflux) επί 2 ώρες. Μετά το τέλος της αντίδρασης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση ο

οργανικός διαλύτης και στο υπόλειμμα προστίθεται νερό. Το στερεό που αποβάλλεται διηθείται υπό κενό και ξηραίνεται για να αποδώσει το επιθυμητό προϊόν.

Σύνθεση της 2-(μορφολιν-1-υλο)-3-νιτροπυριδιν-4-υλαμίνης (10a)

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Λαμβάνονται 520mg του προϊόντος 10a (80%). Κίτρινο στερεό Σ.Τ 131-132⁰C (χλωροφόρμιο/διαιθυλαιθέρας)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.67 (d, 1H, *J*=4.5Hz, H-6), 7.28 (brs, 2H, D₂O exch, NH₂), 6.25 (d, 1H, *J*=4.5Hz, H-5), 3.61 (m, 4H, H-3', H-5'), 3.25 (m, 4H, H-2', H-6')

¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 154.75 (C-2), 151.11 (C-4), 148.60 (C-6), 119.37 (C-3), 103.35 (C-5), 65.89 (C-3', C-5'), 47.91 (C-2', C-6')

Σύνθεση της 2-(4-μεθυλοπιπεραζιν-1-υλο)-3-νιτροπυριδιν-4-υλαμίνης (10b)

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Λαμβάνονται 504mg του προϊόντος 10b (73%). Κίτρινο στερεό Σ.Τ 166-167⁰C (οξικός αιθυλεστέρας)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.65 (d, 1H, *J*=5Hz, H-6), 7.24 (brs, 2H, D₂O exch, NH₂), 6.20 (d, 1H, *J*=5Hz, H-5) 3.25 (s, 4H, H-2', H-6'), 2.32 (s, 4H, H-3', H-5'), 2.18 (s, 3H, NCH₃)

¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 154.75 (C-2), 151.05 (C-4), 148.61 (C-6), 119.22 (C-3), 102.87 (C-5), 54.36 (NCH₃), 47.26 (C-2', C-6'), 45.68 (C-3', C-5')

Σύνθεση της 2-(*N,N*-διμεθυλαιθυλαμινο)-3-νιτροπυριδιν-4-υλαμίνης (10c)

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Λαμβάνονται 500mg του προϊόντος 10c (77%). Κίτρινο στερεό Σ.Τ 120-121⁰C (οξικός αιθυλεστέρας/ διαιθυλαιθέρας)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.90 (t, 1H, *J*=4.6Hz, NH), 8.09 (brs, 2H, D₂O exch, NH₂), 7.64 (d, 1H, *J*=5.8Hz, H-6), 6.09 (d, 1H, *J*=5.8Hz, H-5), 3.51 (q, 2H, *J*=6.1Hz, H-2'), 2.44 (t, 2H, *J*=6.1Hz, H-3'), 2.17 (s, 6H, 2xCH₃)

¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 154.13 (C-4), 153.41(C-2), 151.32(C-6), 116.14(C-3), 101.13(C-5), 57.50 (C-3'), 45.13 (2xCH₃), 38.87 (C-2')

Σύνθεση της 2-(1-βενζυλαμινο)-3-νιτροπυριδιν-4-υλαμίνης (10d)

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Λαμβάνονται 675mg προϊόντος (96%). Κίτρινο στερεό Σ.Τ 111-112⁰C (διχλωρομεθάνιο/πεντάνιο)

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 4.68 (d, 2H, $J=5.7\text{Hz}$, CH_2), 6.11 (d, 1H, $J=5.7\text{Hz}$, H-5), 7.20-7.35 (m 5H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'), 7.62 (d, 1H, $J=5.7\text{Hz}$, H-6), 8.12 (brs, 2H, D_2O exch, NH_2), 9.15 (m, 1H, D_2O exch, NH)

^{13}C NMR (151 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 153.81 (C-2), 153.16 (C-4), 150.90 (C-6), 139.58 (C-1'), 128.19 (C-3', C-5'), 127.14 (C-2', C-6'), 126.59 (C-4'), 116.01 (C-3), 101.34 (C-5), 44.10 (CH_2).

Σύνθεση της 2-(3,4-διμεθοξυφαινυλοξυ)-3-νιτροπυριδιν-4-υλαμίνης (**10e**)

Σε διάλυμα της πυριδίνης 5 (500mg, 2,88mmoles) εντός THF (24mL) προστίθεται υπό ατμόσφαιρα Ar 3,5-διμεθοξυφαινόλη (444mg, 2,88mmoles) και CsCO_3 (940mg, 2,88mmoles) και το μίγμα θερμαίνεται στους 70°C για 12 h. Μετά το τέλος της αντίδρασης απομακρύνεται υπό χαμηλή πίεση ο οργανικός διαλύτης, στο υπόλειμμα προστίθεται νερό και το στερεό που αποβάλλεται διηθείται και ξηραίνεται υπό κενό για να αποδώσει το προϊόν (750mg, 89%). Υποκίτρινο στερεό Σ.Τ $166-167^\circ\text{C}$ (οξικός αιθυλεστέρας)

^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.64 (d, 1H, $J=5.7\text{Hz}$, H-6), 7.43 (brs, 2H, D_2O exch, NH_2), 6.59 (d, 1H, $J=5.7\text{Hz}$, H-5), 6.35 (s, 1H, H-4'), 6.27 (s, 2H, H-2', H-6'), 3.71 (s, 6H, $2\times\text{OCH}_3$)

^{13}C NMR (151 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 160.89 (C-3', C-5'), 156.49 (C-2), 154.90 (C-4), 150.77 (C-1'), 147.39 (C-6), 120.61 (C-3), 108.63 (C-5), 99.98 (C-2', C-6'), 97.07 (C-4'), 55.43 ($2\times\text{OCH}_3$).

Γενική μέθοδος σύνθεσης των διαμινοπαραγώγων **11a-c** και **11e**

Σε εναιώρημα της πρώτης ύλης (2.00mmoles) εντός απόλυτης αιθανόλης (60mL) προστίθεται Pd/C(90mg) και το μίγμα υδρογονώνεται υπό πίεση 55psi επί 4 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά το τέλος της αντίδρασης γίνεται διήθηση από κελλίτη και συμπύκνωση του διηθήματος ώστε να ληφθεί το επιθυμητό προϊόν.

Σύνθεση της 2-(μορφολιν-1-υλο)πυριδιν-3,4-διαμίνης (**11a**)

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Λαμβάνονται 380mg (98%) και χρησιμοποιούνται ως έχουν στην επόμενη αντίδραση.

Σύνθεση της 2-(4-μεθυλοπιπεραζιν-1-υλο)πυριδιν-3,4-διαμίνης (**11b**)

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Λαμβάνονται 414mg (σχεδόν ποσοτική απόδοση) και χρησιμοποιούνται ως έχουν στην επόμενη αντίδραση.

Σύνθεση της 2-(*N,N*-διμεθυλαιθυλαμινο)πυριδινό-3,4-διαμίνης (**11c**)

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Λαμβάνονται 390mg (σχεδόν ποσοτική απόδοση) και χρησιμοποιούνται ως έχουν στην επόμενη αντίδραση.

Σύνθεση της 2-βενζυλαμινοπυριδινό-3,4-διαμίνης (**11d**)

Σε διάλυμα της νιτροπυριδίνης 10d (50mg, 0.2 mmol) σε πυκνό υδροχλωρικό οξύ (1.5mL) προστίθεται σε δόσεις ο διχλωριούχος κασσίτερος (180mg, 0.8mmol) και το μίγμα θερμαίνεται στους 55°C για 25 λεπτά. Μετά το τέλος της αντίδρασης, το μίγμα εξουδετερώνεται με στερεό όξινο ανθρακικό νάτριο. Κατόπιν γίνεται εκχύλιση με μίγμα οξικού αιθυλεστέρα/μεθανόλης 100:2 και ακολουθούν ξήρανση της οργανικής στιβάδας υπεράνω θειϊκού νατρίου, διήθηση και συμπύκνωση υπό κενό ώστε να ληφθούν 40mg ελαιώδους προϊόντος (93%) τα οποία χρησιμοποιούνται στην επόμενη αντίδραση χωρίς περαιτέρω κατεργασία.

Σύνθεση της 2-(3,5-διμεθοξυφαινυλοξυ)πυριδινό-3,4-υλοδιαμίνης (**11e**)

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Λαμβάνονται 522mg (σχεδόν ποσοτική απόδοση) και χρησιμοποιούνται ως έχουν στην επόμενη αντίδραση.

Γενική μέθοδος σύνθεσης των 4-υποκατεστημένων-1*H*-ιμιδαζο[4,5-*c*]πυριδινών **12a-c** και **12e**

Παρασκευάζονται με μέθοδο ανάλογη αυτής που χρησιμοποιήθηκε κατά τη σύνθεση του παραγώγου 7.

Σύνθεση της 4-(μορφολιν-1-υλο)-1*H*-ιμιδαζο[4,5-*c*]πυριδίνης (**12a**)

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Λαμβάνονται 380mg προϊόντος (93%). Λευκό στερεό Σ.Τ 211-212°C (μεθανόλη)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.61 (brs, 2H, D₂O exch, NH), 8.09 (s, 1H, H-2), 7.78 (d, 1H, *J*=5.6Hz, H-6), 6.88 (d, 1H, *J*=5.6Hz, H-7), 4.00 (t, 4H, *J*=4.9Hz, H-3', H-5'), 3.71 (t, 4H, *J*=4.9Hz, H-2', H-6')

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ 151.63 (C-4), 139.89 (C-6), 139.57 (C-7a), 139.37 (C-2), 128.22 (C-3a), 99.73 (C-7), 66.77 (C-3', C-5'), 46.98 (C-2', C-6')

Σύνθεση της 4-(4-μεθυλοπιπεραζιν-1-υλο)-1H-ιμιδαζο[4,5-c]πυριδίνης (**12b**)

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω.

Λαμβάνονται 434mg προϊόντος (σχεδόν ποσοτική απόδοση). Λευκό στερεό Σ.Τ 234-235 $^{\circ}\text{C}$ (αιθανόλη/διαιθυλαιθέρας)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12.61 (brs, 2H, D $_2$ O exch, NH), 8.10 (s, 1H, H-2), 7.76 (d, 1H, $J=5.5\text{Hz}$, H-6), 6.86 (d, 1H, $J=5.5\text{Hz}$, H-7), 4.05 (s, 4H, $J=4.9\text{Hz}$, H-3', H-5'), 2.43 (s, 4H, H-2', H-6'), 2.22 (s, 3H, NCH $_3$)

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ 151.45 (C-4), 139.90 (C-6), 139.55 (C-7a), 139.23 (C-2), 128.12 (C-3a), 99.48 (C-7), 54.97 (NCH $_3$), 45.81 (C-2', C-6'), 41.21 (C-3', C-5')

Σύνθεση της 4-(N,N-διμεθυλαιθυλαμινο)-1H-ιμιδαζο[4,5-c]πυριδίνης (**12c**)

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω.

Λαμβάνονται 246mg προϊόντος (60%). Λευκό στερεό Σ.Τ 286-287 $^{\circ}\text{C}$ (μεθανόλη/οξικός αιθυλεστέρας)

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 2.86 (s, 6H, 2xCH $_3$), 3.43 (m, 2H, H-3'), 4.08 (m, 2H, H-2'), 7.20 (d, 1H, $J=6.8\text{Hz}$, H-7), 7.70 (d, 1H, $J=6.8\text{Hz}$, H-6), 8.46 (s, 1H, H-2), 8.99 (brs, 1H, D $_2$ O exch, NHCH $_2$), 10.08 (brs, 1H, D $_2$ O exch, NH1)

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 147.18 (C-4), 143.56 (C-2), 139.76 (C-7a), 129.59 (C-6), 126.26 (C-3a), 100.95 (C-7), 55.52 (C-3'), 42.98 (2xCH $_3$), 37.71 (C-2')

Σύνθεση της 4-(3,5-διμεθοξυφαινυλοξυ)-1H-ιμιδαζο[4,5-c]πυριδίνης (**12e**)

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Λαμβάνονται 417mg προϊόντος (77%). Λευκό στερεό Σ.Τ 211-212 $^{\circ}\text{C}$ (μεθανόλη)

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 8.35 (s, 1H, H-2), 7.81 (d, 1H, $J=5.5\text{Hz}$, H-6), 7.35 (d, 1H, $J=5.5\text{Hz}$, H-7), 6.34-6.38 (m, 2H, H-2', H-6'), 6.36-6.38 (m, 1H, H-4'), 3.73 (s, 6H, 2xOCH $_3$)

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 161.08 (C-3', C-5'), 156.00 (C-1'), 154.19 (C-4), 142.70 (C-2), 141.08 (C-7a), 138.58 (C-6), 128.52 (C-3a), 104.68 (C-7), 99.88 (C-2', C-6'), 96.46 (C-4'), 55.50 (2xOCH $_3$)

Σύνθεση της 4-βενζυλαμινο-1*H*-ιμιδαζο[4,5-*c*]πυριδίνης (**12d**) και της 7-αμινο-3-βενζυλο-1*H*-ιμιδαζο[4,5-*b*]πυριδίνης (**13**)

Ακολουθείται μέθοδος ανάλογη με αυτή της σύνθεσης του παραγώγου 7. Ο διαχωρισμός γίνεται χρωματογραφικά χρησιμοποιώντας ως κινητή φάση διχλωρομεθάνιο/μεθανόλη 100:2

Λαμβάνονται 510mg του παραγώγου 12d (78%). Λευκό στερεό Σ.Τ 145-146°C

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.46 (brs, 1H, D₂O exch, NH), 8.06 (s, 1H, H-2), 7.67 (d, 1H, *J*=5.2Hz, H-6), 7.35 (m, 2H, H-2', H-6'), 7.28 (m, 2H, H-3', H-5'), 7.18 (m, 1H, H-4'), 6.72 (s, 1H, H-7), 4.69 (d, 2H, *J*=5.8Hz, CH₂), 7.09 (s, 1H, NHCH₂)

¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 151.02 (C-4), 141.40 (C-1'), 139.90 (C-6), 139.28 (C-2), 137.04 (C-7a), 128.01 (C-3', C-5'), 127.15 (C-2', C-6'), 126.67 (C-3a), 126.23 (C-4'), 97.60 (C-7), 43.36 (CH₂)

και 70mg του παραγώγου 13 (10%). Μπεζ στερεό Σ.Τ 168-169°C

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) 5.38 (s, 2H, CH₂), 6.33 (brs, D₂O exch, 2H, NH₂), 6.37 (d, 1H, *J*=5.5Hz, H-6), 7.25-7.34 (m, 5H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'), 7.89 (d, 1H, *J*=5.5Hz, H-5), 8.19 (s, 1H, H-2)

¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 147.14 (C-3a), 146.77 (C-7), 144.77 (C-5), 140.37 (C-2), 137.64 (C-1'), 128.53 (C-2', C-6'), 127.50 (C-4'), 127.44 (C-3', C-5'), 122.68 (C-7a), 102.03 (C-6), 45.92 (CH₂)

Γενική μέθοδος σύνθεσης των 1,4- και 3,4-δισυποκατεστημένων παραγώγων **14a-k** και **15a-**

b

Σε διάλυμα της πρώτης ύλης (0.5mmole) που ελήφθη από την προηγούμενη αντίδραση εντός άνυδρου διμεθυλφορμαμιδίου (3mL) προστίθεται σε τριμοριακή ποσότητα στερεού ανθρακικού καλίου και το μίγμα αναδεύεται για 20 λεπτά. Ακολουθεί προσθήκη τριμοριακής ποσότητας του κατάλληλου βρωμιδίου ή χλωριδίου, το μίγμα αφήνεται σε ανάδευση υπό ατμόσφαιρα αργού σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες, κατόπιν προστίθενται επιπλέον ποσότητες βάσης και αλογονιδίου (0.5 και 0.5 mmole αντίστοιχα) και το μίγμα αφήνεται σε ανάδευση για άλλες 24 ώρες. Μετά το πέρας της αντίδρασης, προστίθεται νερό, γίνεται εκχύλιση με χλωροφόρμιο, η οργανική στιβάδα ξηραίνεται υπεράνω θειϊκού νατρίου, διηθείται και συμπυκνώνεται υπό χαμηλή πίεση. Το υπόλειμμα μεταφέρεται σε χρωματογραφική στήλη όπου διαχωρίζεται στα συστατικά του.

Σύνθεση της 4-(μορφολιν-1-υλο)-1-ισοπροπυλο-1H-ιμιδαζο[4,5-c]πυριδίνης (14a)

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Για τον καθαρισμό του προϊόντος χρησιμοποιήθηκε ως κινητή φάση διχλωρομεθάνιο/μεθανόλη 100:1. Λαμβάνονται 65mg προϊόντος (53%). Λευκό στερεό Σ.Τ 75-76⁰C (πεντάνιο)

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.93 (d, 1H, J=5.7Hz, H-6), 7.79 (s, 1H, H-2), 6.75 (d, 1H, J=5.7Hz, H-7), 4.52 (septet, 1H, J=6.8Hz, H-1'), 4.11 (t, 4H, J=4.8Hz, H-3'', H-5''), 3.86 (t, 4H, J=4.8Hz, H-2'', H-6''), 1.56 (d, 6H, J=6.8Hz, 2xCH₃)

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 22.55 (2xCH₃), 47.22 (C-3'', C-5''), 48.13 (C-1'), 67.10 (C-2'', C-6''), 97.86 (C-7), 128.78 (C-3a), 137.26 (C-2), 138.73 (C-6), 139.60 (C-7a), 151.30 (C-4).

Σύνθεση της 1-κυκλοπεντυλο-4-(μορφολιν-1-υλο)-1H-ιμιδαζο[4,5-c]πυριδίνης (14b)

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Για τον καθαρισμό του προϊόντος χρησιμοποιήθηκε ως κινητή φάση διχλωρομεθάνιο/μεθανόλη 98:2. Λαμβάνονται 120mg προϊόντος (90%). Λευκό στερεό Σ.Τ 97-98⁰C (οξικός αιθυλεστέρας/πεντάνιο).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.73-1.82 (m, 2H, H-3'), 1.84-1.91 (m, 2H, H-4'), 1.92-2.00 (m, 2H, H-2'), 2.17-2.27 (m, 2H, H-5'), 3.85 (t, 4H, J=4.3Hz, H-3'', H-5''), 4.20 (t, 4H, J=4.3Hz, H-2'', H-6''), 4.62 (m, 1H, J=7.0Hz, H-1'), 6.76 (d, 1H, J=5.1Hz, H-7), 7.76 (s, 1H, H-2), 7.92 (d, 1H, J=5.1Hz, H-6)

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 23.81 (C-3', C-4'), 32.36 (C-2', C-6'), 46.96 (C-3'', C-5''), 57.13 (C-1'), 67.18 (C-2'', C-6''), 98.01 (C-7), 129.04 (C-3a), 137.46 (C-2), 139.92 (C-6), 140.06 (C-7a), 140.66 (C-4)

Σύνθεση της 1-(4-μεθοξυβενζυλο)-4-(μορφολιν-1-υλο)-1H-ιμιδαζο[4,5-c]πυριδίνης (14c)

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Για τον καθαρισμό του προϊόντος χρησιμοποιήθηκε ως κινητή φάση διχλωρομεθάνιο/μεθανόλη 100:1. Λαμβάνονται 50mg υποκίτρινου ελαιώδους προϊόντος (32%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.87 (d, 1H, J=5.7Hz, H-6), 7.71 (s, 1H, H-2), 7.03 (d, 2H, J=8.7Hz, H-2', H-6'), 6.80 (d, 2H, J=8.7Hz, H-3', H-5'), 6.62 (d, 1H, J=5.7Hz, H-7), 5.13 (s, 2H, CH₂), 4.09 (t, 4H, J=4.7Hz, H-3'', H-5''), 3.82 (t, 4H, J=4.7Hz, H-2'', H-6''), 3.72 (s, 3H, OCH₃)

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 159.58 (C-4'), 151.98 (C-4), 140.32 (C-6), 140.12 (C-7a), 139.66 (C-2), 128.84 (C-3a), 128.53 (C-2', C-6'), 126.97 (C-1'), 114.41 (C-3', C-5'), 97.63 (C-7), 67.14 (C-2'', C-6''), 55.26 (OCH₃), 48.37 (CH₂), 46.95 (C-3'', C-5'')

Σύνθεση της 4-(4-μεθυλοπιπεραζιν-1-υλο)-1-ισοπροπυλο-1H-ιμιδαζο[4,5-c]πυριδίνης (14d)

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Για τον καθαρισμό του προϊόντος χρησιμοποιήθηκε ως κινητή φάση διχλωρομεθάνιο/μεθανόλη 90:10. Λαμβάνονται 109mg προϊόντος (84%). Λευκό στερεό Σ.Τ 168-169°C (διχλωρομεθάνιο).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 1.49 (d, 6H, *J*=6.8Hz, 2xCH₃), 2.28 (s, 3H, NCH₃), 2.54 (t, 4H, *J*=5.1Hz, H-3'', H-5''), 4.13 (m, 4H, H-2'', H-6''), 4.44 (septet, 1H, *J*=6.8Hz, H-1'), 6.66 (d, 1H, *J*=5.7Hz, H-7), 7.73 (s, 1H, H-2), 7.86 (d, 1H, *J*=5.7Hz, H-6)

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 152.09 (C-4), 140.13 (C-6), 139.36 (C-7a), 136.69 (C-2), 128.91 (C-3a), 97.44 (C-7), 55.23 (C-3'', C-5''), 47.90 (C-1'), 46.10 (NCH₃, C-2'', C-6''), 22.50 (2xCH₃)

Σύνθεση της 1-κυκλοπεντυλο-4-(4-μεθυλοπιπεραζιν-1-υλο)-1H-ιμιδαζο[4,5-c]πυριδίνης (14e)

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Για τον καθαρισμό του προϊόντος χρησιμοποιήθηκε ως κινητή φάση διχλωρομεθάνιο/μεθανόλη 90:10. Λαμβάνονται 63mg προϊόντος (45%). Λευκό στερεό Σ.Τ 192-193°C (χλωροφόρμιο/διαιθυλαιθέρας).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 1.73-1.81 (m, 2H, H-3'), 1.82-1.89 (m, 2H, H-4'), 1.91-1.98 (m, 2H, H-2'), 2.15-2.25 (m, 2H, H-5'), 2.35 (s, 3H, NCH₃), 2.61 (t, 4H, *J*=5Hz, H-3'', H-5''), 4.17 (m, 4H, H-2'', H-6''), 4.61 (m, 1H, *J*=6.8Hz, H-1'), 6.73 (d, 1H, *J*=5.7Hz, H-7), 7.75 (s, 1H, H-2), 7.90 (d, 1H, *J*=5.7Hz, H-6)

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 152.08 (C-4), 140.17 (C-6), 139.97 (C-7a), 137.43 (C-2), 129.07 (C-3a), 97.86 (C-7), 57.23 (C-1'), 55.27 (C-3'', C-5''), 46.12 (NCH₃, C-2'', C-6''), 32.37 (C-2', C-5'), 23.91 (C-3', C-4')

Σύνθεση της 4-(N,N-διμεθυλαιθυλαμινο)-1-ισοπροπυλο-1H-ιμιδαζο[4,5-c]πυριδίνης (14f)

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Για τον καθαρισμό του προϊόντος χρησιμοποιήθηκε ως κινητή φάση διχλωρομεθάνιο/μεθανόλη/τριαιθυλαμίνη 85:15:5. Λαμβάνονται 104mg πορτοκαλόχρωμου ελαιώδους προϊόντος (84%).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 1.58 (d, 6H, *J*=6.7Hz, 2xCH₃), 2.55 (s, 6H, N(CH₃)₂), 2.97 (t, 2H, *J*=6.1Hz, H-3'), 3.89 (t, 2H, *J*=6.1Hz, H-2'), 4.54 (septet, 1H, *J*=6.7Hz, CH(CH₃)₂), 6.01 (brs, 1H, D₂O exch, NH), 6.71 (d, 1H, *J*=6.1Hz, H-7), 7.85 (1H, *J*=6.1Hz, H-6), 7.86 (s, 1H, H-2)

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 151.10 (C-4), 139.23 (C-6), 138.58 (C-2), 137.69 (C-3a), 127.79 (C-7a), 97.24 (C-7), 58.01(C-3'), 48.49 ($\underline{\text{CH}}(\text{CH}_3)_2$), 44.55 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 38.07 (C-2'), 22.71 ($2\times\text{CH}_3$)

Σύνθεση της 4-(N,N-διμεθυλοαιθυλαμινο)-1-κυκλοπεντυλο-1H-ιμιδαζο[4,5-c]πυριδίνης (14g)

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Για τον καθαρισμό του προϊόντος χρησιμοποιήθηκε ως κινητή φάση διχλωρομεθάνιο/μεθανόλη 85:15. Λαμβάνονται 110mg πορτοκαλόχρωμου ελαιώδους προϊόντος (81%).

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 1.79-1.86 (m, 2H, H-3'), 1.90-1.96 (m, 2H, H-4'), 1.96-2.03 (m, 2H, H-2'), 2.26-2.34 (m, 2H, H-5'), 3.01 (s, 6H, $2\times\text{CH}_3$), 3.46 (t, 2H, $J=5.3\text{Hz}$, H-3''), 3.97 (t, 2H, $J=5.3\text{Hz}$, H-2''), 4.87 (m, 1H, H-1'), 7.10 (d, 1H, $J=6.3\text{Hz}$, H-7), 7.85 (d, 1H, $J=6.3\text{Hz}$, H-6), 8.26 (s, 1H, H-2)

^{13}C NMR (151 MHz, CD_3OD) δ 151.79 (C-4), 142.65 (C-2), 140.54 (C-7a), 137.73 (C-6), 128.62 (C-3a), 100.37 (C-7), 60.36 (C-3''), 59.04(C-1'), 44.06 (C-5'', C-6''), 39.29 (C-2''), 33.49 (C-2', C-5'), 25.00 (C-3', C-4')

Σύνθεση της 1-ισοπροπυλο-4-(3,5-διμεθοξυφαινυλοξυ)-1H-ιμιδαζο[4,5-c]πυριδίνης (14h) και της 3-ισοπροπυλο-4-(3,5-διμεθοξυφαινυλοξυ)-3H-ιμιδαζο[4,5-c]πυριδίνης (15a)

Παρασκευάζονται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Για το διαχωρισμό του μίγματος των ισομερών χρησιμοποιήθηκε ως κινητή φάση διχλωρομεθάνιο/μεθανόλη 100:1.

14h: Λαμβάνονται 45mg λευκού στερεού (29%) Σ.Τ 127-128 $^{\circ}\text{C}$ (διαιθυλαιθέρας).

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 1.63 (d, 6H, $J=6.7\text{Hz}$, $2\times\text{CH}_3$), 3.75 (s, 6H, $2\times\text{OCH}_3$), 4.62 (septet, 1H, $J=6.7\text{Hz}$, H-1'), 6.31 (t, 1H, $J=2.2\text{Hz}$, H-4'), 6.44 (d, 2H, $J=2.2\text{Hz}$, H-2'', H-6''), 7.09 (d, 1H, $J=5.7\text{Hz}$, H-7), 7.95 (d, 1H, $J=5.7\text{Hz}$, H-6), 8.00 (s, 1H, H-2)

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 161.26 (C-3'', C-5''), 155.75 (C-1''), 155.61 (C-4), 140.72 (C-7a), 140.60 (C-2), 139.54 (C-6), 129.68 (C-3a), 102.49 (C-7), 100.30 (C-2'', C-6''), 97.41 (C-4''), 55.50 ($2\times\text{OCH}_3$), 48.75 (C-1'), 22.76 ($2\times\text{CH}_3$)

15a: Λαμβάνονται 56mg λευκού στερεού (36%) Σ.Τ 135-136 $^{\circ}\text{C}$ (διαιθυλαιθέρας).

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 1.64 (d, 6H, $J=6.7\text{Hz}$, $2\times\text{CH}_3$), 3.76 (s, 6H, $2\times\text{OCH}_3$), 5.15 (septet, 1H, $J=6.7\text{Hz}$, H-1'), 6.33 (t, 1H, $J=2.2\text{Hz}$, H-4''), 6.36 (d, 2H, $J=2.2\text{Hz}$, H-2'', H-6''), 7.41 (d, 1H, $J=5.7\text{Hz}$, H-7), 7.92 (d, 1H, $J=5.7\text{Hz}$, H-6), 8.10 (s, 1H, H-2)

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 161.55 (C-3'', C-5''), 155.38 (C-1''), 152.26 (C-4), 150.11 (C-7a), 142.53 (C-2), 138.71 (C-6), 119.97 (C-3a), 111.65 (C-7), 99.85 (C-2'', C-6''), 97.36 (C-4''), 55.55 ($2\times\text{OCH}_3$), 49.96 (C-1'), 23.71 ($2\times\text{CH}_3$)

Σύνθεση της 1-κυκλοπεντυλο-4-(3,5-διμεθοξυφαινυλοξυ)-1H-ιμιδαζο[4,5-c]πυριδίνης (**14i**) και της 3-κυκλοπεντυλο-4-(3,5-διμεθοξυφαινυλοξυ)-3H-ιμιδαζο[4,5-c]πυριδίνης **15b**

Παρασκευάζονται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Για το διαχωρισμό του μίγματος των ισομερών χρησιμοποιήθηκε ως κινητή φάση διχλωρομεθάνιο/μεθανόλη 100:1.

14i: Λαμβάνονται 44mg λευκού στερεού (44%) Σ.Τ 165-166 $^{\circ}\text{C}$ (διαιθυλαιθέρας).

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 1.81-1.85 (m, 2H, H-3'), 1.90-1.96 (m, 2H, H-4'), 1.99-2.06 (m, 2H, H-2'), 2.26-2.33 (m, 2H, H-5'), 3.76 (s, 6H, $2\times\text{OCH}_3$), 4.72 (m, 1H, H-1'), 6.31 (t, 1H, $J=2.2\text{Hz}$, H-4''), 6.43 (d, 2H, $J=2.2\text{Hz}$, H-2'', H-6''), 7.09 (d, 1H, $J=5.7\text{Hz}$, H-7), 7.94 (d, 1H, $J=5.7\text{Hz}$, H-6), 7.96 (s, 1H, H-2)

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 156.77 (C-7a) 161.24 (C-3'', C-5''), 155.77 (C-1''), 155.54 (C-4), 141.18 (C-2), 139.47 (C-6), 129.73 (C-3a), 102.72 (C-7), 100.26 (C-2'', C-6''), 97.37 (C-4''), 57.77 (C-1'), 55.47($2\times\text{OCH}_3$), 32.55 (C-2', C-5'), 24.00 (C-3', C-4')

15b: Λαμβάνονται 74mg λευκού στερεού (44%) Σ.Τ 139-140 $^{\circ}\text{C}$ (διαιθυλαιθέρας).

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 1.74-1.80 (m, 2H, H-3'), 1.84-1.91 (m, 2H, H-4'), 1.99-2.06 (m, 2H, H-2'), 2.26-2.33 (m, 2H, H-5'), 3.76 (s, 6H, $2\times\text{OCH}_3$), 5.23 (m, 1H, H-1'), 6.33 (t, 1H, $J=2.2\text{Hz}$, H-4''), 6.36 (d, 2H, $J=2.2\text{Hz}$, H-2'', H-6''), 7.40 (d, 1H, $J=5.7\text{Hz}$, H-7), 7.91 (d, 1H, $J=5.7\text{Hz}$, H-6), 8.06 (s, 1H, H-2)

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 161.51 (C-5'', C-5''), 155.47 (C-1''), 152.42 (C-4), 150.24 (C-7a), 143.01 (C-2), 138.67 (C-6), 120.43 (C-3a), 111.62 (C-7), 99.79 (C-2'', C-6''), 97.25 (C-4''), 59.23 (C-1'), 55.51 ($2\times\text{OCH}_3$), 33.64 (C-2', C-5'), 23.86 (C-3', C-4')

Σύνθεση της 4-βενζυλαμινο-1-ισοπροπυλο-ιμιδαζολο[4,5-c]-πυριδίνης **14j**

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Λαμβάνονται 114mg υποκίτρινου ελαιώδους προϊόντος (86%).

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 1.58 (d, 6H, $J=6.7\text{Hz}$, $2\times\text{CH}_3$), 4.53 (septet, 1H, $J=6.7\text{Hz}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.83 (d, 2H, $J=5.6\text{Hz}$, CH_2), 5.90 (brs, 1H, D_2O exch, NH), 6.70 (d, 1H, $J=5.9\text{Hz}$, H-7), 7.24 (t, 1H, $J=7.2\text{Hz}$, H-4'), 7.31 (t, 2H, $J=7.2\text{Hz}$, H-3', H-5'), 7.41 (d, 2H, $J=7.2\text{Hz}$, H-2', H-6'), 7.75 (s, 1H, H-2), 7.91 (d, 1H, $J=5.9\text{Hz}$, H-6)

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 151.74 (C-4), 140.74 (C-6), 139.77 (C-1'), 137.98 (C-2), 137.53 (C-7a), 128.63 (C-3', C-5'), 127.93 (C-2', C-6'), 127.21 (C-4'+C-3a), 97.06 (C-7), 48.40 (CH(CH₃)₂), 45.20 (CH₂), 22.80 (2xCH₃)

Σύνθεση της 4-βενζυλαμινο-1-κυκλοπεντυλο-1H-ιμιδαζο[4,5-c]πυριδίνης (**14k**)

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Λαμβάνονται 76mg υποκίτρινου ελαιώδους προϊόντος (52%).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 1.70-1.76 (m, 2H, H-3''), 1.81-1.87 (m, 2H, H-4''), 1.89-1.96 (m, 2H, H-2''), 2.15-2.22 (m, 2H, H-5''), 4.57 (m, 1H, H-1''), 4.77 (d, 2H, J=5.7Hz, CH₂), 5.77 (brs, 1H, D₂O exch, NH), 6.64 (d, 1H, J=5.9Hz, H-7), 7.17 (t, 1H, J=7.5Hz, H-4'), 7.24 (t, 2H, J=7.5Hz, H-3', H-5'), 7.34 (d, 2H, J=7.5Hz, H-2', H-6'), 7.66 (s, 1H, H-2), 7.84 (d, 1H, J=5.9Hz, H-6)

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 24.05 (C-3'', C-4''), 32.55 (C-2'', C-5''), 45.20 (CH₂), 57.54 (C-1''), 97.30 (C-7), 127.20 (C-4'), 127.92 (C-2', C-6'), 137.99 (C-7a), 138.64 (C-2), 139.78 (C-1'), 140.67 (C-6), 151.71 (C-4)

Γενική μέθοδος σύνθεσης των 4-αμινοπαραγώγων **16a-c** από τα παράγωγα 14j, 14k και 12d

Σε διάλυμα της πρώτης ύλης (0.25mmoles) εντός μεθανόλης (5mL) υπό ατμόσφαιρα αργού προστίθενται 150mg (2.5mmoles) μυρμηκικού αμμωνίου και 70mg παλλαδίου επί άνθρακα. Το μίγμα αφήνεται σε ανάδευση σε θερμοκρασία βρασμού του διαλύτη (reflux) επί 48 ώρες και κατόπιν προστίθεται επιπλέον ποσότητα μυρμηκικού αμμωνίου (300mg, 5mmoles) και αφήνεται σε ανάδευση για άλλες 48 ώρες. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης το μίγμα ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου, διηθείται από κελλίτη και το διήθημα συμπυκνώνεται για να αποδώσει το επιθυμητό προϊόν.

Σύνθεση της 4-αμινο-1-ισοπροπυλο-1H-ιμιδαζο[4,5-c]πυριδίνης (**16a**)

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Λαμβάνονται 17.6mg(0.10mmoles) υποκίτρινου ελαιώδους προϊόντος σε απόδοση 43%.

¹H NMR (600 MHz, (CD₃)₂CO) δ 1.60 (d, 6H, J=6.7Hz, 2xCH₃), 4.73 (septet, 1H, J=6.7Hz, CH(CH₃)₂), 6.29 (brs, 2H, D₂O exch, NH₂), 6.92 (d, 1H, J=6Hz, H-7), 7.71 (d, 1H, J=6Hz, H-6), 8.12 (s, 1H, H-2)

¹³C NMR (151 MHz, (CD₃)₂CO) δ 153.01 (C-4), 140.53 (C-2), 139.13 (C-7a), 138.87 (C-6), 128.39 (C-3a), 98.48 (C-7), 49.18 (CH(CH₃)₂), 22.76 (2xCH₃)

Σύνθεση της 4-αμινο-1-κυκλοπεντυλο-1*H*-ιμιδαζο[4,5-*c*]πυριδίνης (**16b**)

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Λαμβάνονται 41mg υποκίτρινου ελαιώδους προϊόντος (82%).

^1H NMR (600 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ 1.77-1.84 (m, 2H, H-3'), 1.91-1.97 (m, 2H, H-4'), 2.00-2.08 (m, 2H, H-2'), 2.26-2.34 (m, 2H, H-5'), 4.87 (m, 1H, H-1'), 6.44 (brs, 2H, D_2O exch, NH_2), 6.95 (d, 1H, $J=6\text{Hz}$, H-7), 7.72 (d, 1H, $J=6\text{Hz}$, H-6), 8.12 (s, 1H, H-2)

^{13}C NMR (151 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ 24.64 (C-3', C-5'), 33.04 (C-2', C-5'), 58.28 (C-1'), 98.76 (C-7), 128.44 (C-3a), 138.14 (C-6), 139.75 (C-7a), 141.24 (C-2), 152.81 (C-4)

Σύνθεση της 4-αμινο-1*H*-ιμιδαζο[4,5-*c*]πυριδίνης (**16c**)

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο που αναφέρθηκε ανωτέρω. Λαμβάνονται 5.2mg υποκίτρινου ελαιώδους προϊόντος (14%).

^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 6.36 (brs, 2H, D_2O exch, NH_2), 6.81 (d, 1H, $J=5.8\text{Hz}$, H-7), 7.63 (d, 1H, $J=5.8\text{Hz}$, H-6), 8.12 (s, 1H, H-2)

^{13}C NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 151.25 (C-4), 140.38 (C-2, C-7a), 139.59 (C-6), 124.91 (C-3a), 99.43 (C-7).

V. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Fischer, E. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1898**, 31, 2551
- [2] Chapman, T. *Nature* **2004**, 430, 109
- [3] Legraverend, M. Grierson, D. S. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 3987
- [4] Johnson, S. A. Thomas, W. *Hematol. Oncol.* **2000**, 18, 141
- [5] De Clercq, E. *Clin. Microb. Rev.* **1997**, 10, 674
- [6] Drognitz, O. Benz, S. Pfeffer, F. Fischer, C. Makowiec, F. Schareck, W. Hopt, U. T. *Transplantation* **2004**, 78, 1802
- [7] Kurimoto, A. Ogino, T. Ichii, S. Isobe, Y. Tobe, M. Ogita, H. Takaku, H. Sajiki, H. Hirota, K. Kawakami, H. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, 12, 1091
- [8] Bakkestuen, A. K. Gundersen, L.-L. Utenova, B. T. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 2710.
- [9] Bakkestuen, A. K. Gundersen, L. L. Petersen, D. Utenova, B. T. Vik, A. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 1025
- [10] Beck, J. P. Arvanitis, A. G. Curry, M. A. Rescinito, J. T. Fitzgerald, L. W. Gilligan, P. J. Zaczek, R. Trainor, G. L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 967.
- [11] T. Hunter, *Cell*, **1995**, 80, 225
- [12] T. Mikaelsen, N. Gerits, U. Moens, *Biotechn. Ann. Rev.* **2006**, 12, 153
- [13] T. K. Sawyer, *Curr. Med. Chem. Anti-Cancer Agents* **2004**, 4, 449
- [14] J. Luo, N. L. Solimini, S. J. Elledge. *Cell* **2009** 136, 823
- [15] Aronov, A. M., Murcko, M. A. *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 5616
- [16] Shakespeare, W. C. Metcalf, I. Chester, A. Wang, Y. Sundaramoorthi, R. Keenan, T. P. Weigele, M. Bohacek, R. S. Dalgarno, D. C. Sawyer, T. K. *Curr. Opin. Drug Discov. Dev.* **2003**, 6, 729
- [17] Chang, Y.-T. Choi, G. Bae, Y.-S. Burdett, M. Moon, H.-S. Lee, J. W. Gray, N. S. Schultz, P. G. Meijer, L. Chung, S.-K. Choi, K. Y. Suh, P.-G. Ryu, S. H. *ChemBioChem* **2002**, 897
- [18] Albani *Molecular Research, I.*, WO 03/022805 A2, **2003**
- [19] Davies, T. G. Bentley, J. Arris, C. E. Boyle, F. T. Curtin, N. J. Endicott, J. A. Gibson, A. E. Golding, B. T. Griffin, R. J. Hardcastle, et al. *Nat. Struct. Biol.* **2002**, 9, 745
- [20] Boyle, C. D. Xu, R. Asberom, T. Chackalamannil, S. Clader, J. W. Greenlee, W. J. Guzik, H. Hu, Y. Hu, Z. Lankin, C. M. Pissarnitski, D. A. Stamford, A. W. Wang, Y. Skell, J. Kurowski, S. Vemulapalli, S. Palamanda, J. Chintala, M. Wu, P. Myers, J. Wang, P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 2365
- [21] Ahn, H.-S. Bercovici, A. Boykow, G. Bronnenkant, A. Chackalamannil, S. Chow, J. Cleven, R. Cook, J. Czarniecki, M. Domalski, C. Fawzi, A. Green, M. Gundes, A. Ho, G. Laudicina, M.

- Lindo, N. Ma, K. Manna, M. McKittrick, B. Mirzai, B. Nechuta, T. Neustadt, B. Puchalski, C. Pula, K. Silverman, L. Smith, E. Stamford, A. Tedesco, R. P. Tsai, H. Zhang, H., et al. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 2196
- [22] Tromp, R. A. van Ameijde, S. Putz, C. Sundermann, C. Sundermann, B. von Frijtag Drabbe Kunzel, J. K. IJzerman, A. P. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 5441
- [23] Scazzocchio & Darlington, *Biochim Biophys Acta* **1968** *166*, 557
- [24] Fox and Kelley, *Ann Rev of Bioch.* **1978** *47*, 655
- [25] Hyde et al., *Mol Memb Biol.* **2001**, *18*, 53-63
- [26] Baldwin, S. A. Mackey, J. R. Cass, C. E. Young, J. D. *Mol. Med. Today* **1999**, *5*, 216
- [27] Tromp, R. A. Spanjersberg, R. F. von Frijtag Drabbe Kunzel, J. K. IJzerman, A. P. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 321
- [28] De Konning & Diallinas, *Mol Memb Biol* **2000**, *75*, 75
- [29] Diallinas and Scazzocchio, *Genetics* **1989**, *122*, 341
- [30] Andersen et al, *J Bacteriol* **1995**, *177*, 2008
- [31] Ceccheto et al., *J Biol Chem* **2004**, *274*, 3132
- [32] Goudela et al., *Mol Membr Biol* **2006**, *23*, 291
- [33] Lee et al., *J Biol Chem* **2006**, *281*, 16700
- [34] Podgorska et al., *Acta Biochim Pol* **2005**, *52*, 749
- [35] Scazzocchio C *Genetics* **1982**, *100*, 185
- [36] Weber, E., Rodriguez, C., Chevallier, M. R., Jund, R. *Mol. Microbiol.* **1990**, *4*, 585
- [37] Goudela, S., Tsilivi, H., Diallinas, G. *Mol. Membr. Biol.* **2006** *23*, 291
- [38] Vlanti, A., Diallinas G. *Mol. Microbiol.* **2008**, *68*, 959
- [39] Tromp, R. A. van Ameijde, S. Putz, C. Sundermann, C. Sundermann, B. von Frijtag Drabbe Kunzel, J. K. IJzerman, A. P. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 5441
- [40] Rao, U. Narasimha Sathunuru, Ramadas Maguire, John A. Biehl, *J. Heter. Chem.* **2004**, *41*, 13
- [41] Schnekenburger Riedel *Archiv der Pharmazie*, **1982**, *315*, 825
- [42] Searls, Tim McLaughlin, Larry W. *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 11985

- [43] Yin, Xueqiang Schneller, Stewart W *Nucleosides, nucleotides and nucleic acids*, **2004**, 23, 67)
- [44] T. P. Roczniki Chemii, 1956, 30, 1139, 1145, Chem. Abstr., 1957, 12089
- [45] UNIVERSITY OF GEORGIA RESEARCH FOUNDATION, INC. Patent: WO2007/47793 A2, **2007** Location in patent: Page/Page column 87
- [46]Dainippon Sumitomo Pharma Co., Ltd. Patent: EP1690863 A1, **2006**, Location in patent: Page/Page column 120-121
- [47] Ukai T., Kawazura H., Ishii Y., Bonnet J.J. and Ibers J.A. *J. Organomet. Chem.* **1974**, 65, 253
- [48] Huang X., Anderson K.W., Zim D., Jiang L., Klapars A. and Buchwald S.L. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 6653
- [49]UNIVERSITY OF GEORGIA RESEARCH FOUNDATION, INC. Patent:WO2007/47793 A2, **2007** Location in patent: Page/Page column 36-38
- [50] Jung M. E., Longmei Z., Tangsheng P., Huiyan Z., Yan L., Jingyu S. *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 3528
- [51] Pentimalli *Gazzetta Chimica Italiana*, **1964**, 94, 458
- [52] Brown *J. Amer. Chem. Soc.*, **1957**, 79, 3565
- [53] Vohra et al. *J. Med. Chem.*, **1965**, 8, 296
- [54] Fox et al. *J. Med. Chem.*, **1966**, 9, 101
- [55] Rousseau, Robins *J. Heterocycl. Chem.*, **1965**, 2, 196