## ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ, ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ, ΓΕΝΙΚΟ ΤΜΗΜΑ

ΔΙΑΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ "ΟΡΓΑΝΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗ ΧΗΜΙΚΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ"

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

# Διερεύνηση Ορθογωνικής Προστασίας Φωσφινικών Ψευδοδιπεπτιδικών Δομών

ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ ΠΑΠΑΚΟΤΣΗ ΧΗΜΙΚΟΣ

> ΑΘΗΝΑ ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2019

## ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

Διερεύνηση Ορθογωνικής Προστασίας Φωσφινικών Ψευδοδιπεπτιδικών Δομών

## ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ ΠΑΠΑΚΟΤΣΗ

## A.M.: 161509

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:

Δημήτριος Γεωργιάδης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΕΚΠΑ

# ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Δημήτριος Γεωργιάδης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΕΚΠΑ

Αθανάσιος Γκιμήσης, Καθηγητής ΕΚΠΑ

Βικτωρία Μαγκριώτη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΕΚΠΑ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ 06/09/2016

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η σύνθεση φωσφινικών ψευδοπεπτιδίων, ως αναστολέων μεταλλοενζύμων που δρουν ως ανάλογα μεταβατικής κατάστασης, είναι ένας εξαιρετικής σημασίας στόχος καθώς η επίτευξη της βέλτιστης βιολογικής δράσης σχετίζεται με συγκεκριμένες δομικές απαιτήσεις. Η ανάπτυξη μεθόδων παρασκευής των κεντρικών φωσφινικών ψευδοδιπεπτιδικών μονάδων αποτελεί βασικό σημείο διερεύνησης.



κατάλληλα παρασκευή προστατευμένων δομικών μονάδων για σύνθεση σε στερεά

φάση. Βρέθηκε ότι με χρήση κατάλληλης προστατευτικής ομάδας, επιτυγχάνεται μέγιστη ορθογωνικότητα μεταξύ των προστευτικών ομάδων του φωσφινικού, αμινοτελικού, καρβοξυτελικού άκρου της ένωσης και των προστατευτικών ομάδων των πλευρικών αλυσίδων. Προτείνεται ένα νέο, βελτιωμένο πρωτόκολλο σύνθεσης Fmocπροστατευμένων φωσφινικών μονάδων, κατάλληλα προστατευμένων για τις ανάγκες της σύνθεσης σε στερεά φάση, το οποίο να μπορεί να χρησιμοποιηθεί με ευαίσθητες λειτουργικές ή προστατευτικές ομάδες. Στη συνέχεια, παρουσιάζεται η μελέτη βελτιστοποίησης της αντίδρασης αδαμαντυλίωσης και της αντίδρασης αποπροστασίας του καρβόξυ τελικού άκρου των αμινοφωσφινικών δομών. Τέλος, συντέθηκαν αμινοφωσφινικές δομές οι οποίες φερουν στη θέση Ρ1' λειτουργικές ομάδες που είναι δύσκολο να συντεθούν με τις ήδη υπάρχουσες συνθετικές μεθοδολογίες, αποδεικνύοντας την ευρύτητα και την υπεροχή της μεθόδου που περιγράφεται.

Τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας αναμένεται να αποτελέσουν βάση για μία γενική αξιόπιστη μέθοδο σύνθεσης φωσφινικών πεπτιδίων με τη μέγιστη δυνατή ορθογωνικότητα.

#### ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: ΟΡΓΑΝΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Οργανική Σύνθεση, Ορθογωνικότητα, Προστατευτικές ομάδες, Ρ-Michael, Φωσφινικό οξύ

### ABSTRACT

The synthesis phosphinic peptides, a class of metalloenzyme inhibitors that act as transition state analogues, is a highly important target since optimization of their biological activity relies heavily on specific structural requirements. The development of reliable synthetic protocols for the preparation lack of core phosphinic pseudodipeptidic units renders a key point of inquiry.



At this thesis, we have developed an orthogonal synthetic protocol that enables the preparation of suitably protected building blocks for solid-phase peptide synthesis. It

was found that by using a suitable protecting group, maximum orthogonality is achieved among the protecting groups of the phosphinic, amine and carboxylic termini, as well as the protecting groups of the side chains. A new and improved protocol of Fmocprotected phosphinic units, suitably protected for the requirements of SPPS, which can be applied in cases of sensitive funvtional and protecting groups. Subsequently, the adamantylation reaction and deprotection of the carboxy terminus reaction are optimized. Finally, aminophosphinic units that are inaccessible by following current methologies were synthesized, proving the wide scope and supremacy of the described protocol.

The results of this study are expected to set the basis for a reliable protocol for the synthesis of phosphinic peptides with maximum orthogonality and increased diastereoselectivity.

SUBJECT AREA: Organic Chemistry

**KEYWORDS**: Organic Synthesis, Orthogonality, Protective groups, P-Michael, Phosphinic Acid

# ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Φθάνοντας στο τέλος της συγγραφής της παρούσας διατριβής θα ήθελα να ευχαριστήσω τους ανθρώπους χωρίς τη συμβολή των οποίων η παρούσα εργασία δε θα είχε πραγματοποιηθεί.

Τον καθηγητή μου, **κ. Δημήτριο Γεωργιάδη**, για την ανάθεση του θέματος της παρούσας εργασίας. Τον ευχαριστώ για την συνέπεια, την κατανόηση και την υπομονή που έδειξε. Με το πάθος του, τις συμβουλές και τη συνεχή καθοδήγηση, συνέβαλε τα μέγιστα στην εκπόνιση αυτής της διατριβής. Μου έμαθε να ελίσσομαι στο εργαστήριο, να υπομένω και να επιμένω μέχρι να φτάσω στον επιθυμητό στόχο. Πέρα από πολύ καλός δάσκαλος, είναι και ένας αξιοθαύμαστος επιστήμονας με τον οποίο είχα τη χαρά να συνεργαστώ.

Ευχαριστώ επίσης τα άλλα δύο μέλη που απαρτίζουν την τριμελή εξεταστική επιτροπή, τον κ. Γκιμήση Αθανάσιο και την κα. Μαγκριώτη Βικτώρια, για τις διορθώσεις τους και τη συμβολή τους στην αρτιότερη παρουσίαση της εργασίας αυτής.

Επιπλέον, ευχαριστώ τα μέλη της ομάδας μας, Κώστα Βορεάκο, Εύη Κοκκάλα και Άγγελο Λέλη για τις συμβουλές και τις προτάσεις τους τόσο σε επιστημονικό όσο και σε προσωπικό επίπεδο και όλους όσους με άκουγαν στωικά χωρίς να έχουν ιδέα από οργανική χημεία.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς τους γονείς μου, Νίκο και Βούλα, για την κατανόηση, την υπομονή και την αμέριστη υποστήριξή τους.

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠF	ΠΡΟΛΟΓΟΣ16										
1.	KEQ	ΦΑΛΑ	AIO	1	ΦΩΣΦΙΝΙΚΑ	ΠΕΠΤΙΔΙΑ	ΩΣ	ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ			
MI	ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΑΣΩΝ ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΥ17										
	1.1	Мето	αλλοπρω	τεάσες	ς ψευδαργύρου	l		17			
	1.2	.2 Φωσφινικά πεπτίδια ως αναστολείς μεταλλοπρωτεϊνασών Zn									
	1.2.	1	סק20								
	1.2.2		Φωσφινικοί αναστολείς ματριξινών (MMPs)20								
	1.2. (AC	3 E)	Φωσφινι 23	κοί αν	αστολείς του	υετατρεπτικού εν	ζύμου της	αγγειοτενσίνης-Ι			
	1.2. (EC	4 E-1)	Φωσφινι 24	κοί αν	αστολείς του	μετατρεπτικού ε	νζύμου τη	ς ενδοθηλίνης-1			
	1.2.	5	Φωσφινι	κοί ανα	αστολείς αμινο <sup>.</sup>	πεπτιδασών		25			
2.	KEQ	ΦΑΛΑ	ΑΙΟ 2 ΣΥ	ΝΘΕΤ	ΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ 🤇	οΩΣΦΙΝΙΚΩΝ ΠΕ	ΕΠΤΙΔΙΩΝ	27			
	2.1	Γενι	κές συνθι	ετικές	μέθοδοι			27			
	2.1.	1	H NP+C	προσέ	έγγιση						
	2.1.2		H N+PC	προσέ	έγγιση			29			
	2.2	Διαφ	οοροποίη	ση φω	σφινικών πεπτ	ιδίων σε τελικό σ	τάδιο	31			
	2.3 πεπτιδ	Ορθ δική ε	ογωνική πιμήκυνα	προστ ση	ασία φωσφινικ	ών διπεπτιδίων ι	και η σημα	σία της κατά την 34			
	2.4 32	Συν6 36	θετικές π	ορείες	και εφαρμογέ	ς Fmoc-προστατ	ευμένων δα	ομικών μονάδων			
3.	KEQ	ΦΑΛΑ	AIO 3 ПЕ	ΡΙΓΡΑ	ΦΗ ΠΕΙΡΑΜΑ	ΤΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ		41			
	3.1	Στόγ	(ος της εί	ογασία	ς			41			
	3.2	Διερ	εύνηση τ	ης αντ	ίδρασης P-Mic	hael		45			
	3.2.	1	Σύνθεση	υποσ	τρωμάτων για ΄	την αρχική διερεύ	νηση	45			

3.2.2	2 Πειράματα βελτιστοποίησης της αντίδρασης P-Michael47
3.3	Ολοκλήρωση της σύνθεσης του 18α - Βελτιστοποίηση55
3.4	Διερεύνηση της μεθοδολογίας – Επιλογή ενώσεων-στόχων58
3.5	Σύνθεση των αρχικών ακρυλικών και φωσφινικών υποστρωμάτων59
3.5.	1 Σύνθεση των ακρυλικών οξέων 8β, 8δ και 8ι60
3.5.2	2 Σύνθεση των ακρυλικού οξέος 8λ62
3.5.: тоџ	3 Σύνθεση του ακρυλικού οξέος 13γ και ανεπιτυχείς προσπάθειες σύνθεσης αναλόγου 13γ΄63
3.5.4	4 Σύνθεση του ακρυλικού οξέος 8ε65
3.5.	5 Σύνθεση των ακρυλικών εστέρων τύπου 1368
3.5.	6 Σύνθεση του ακρυλικού DMB-εστέρα 13η69
3.5.	7 Σύνθεση φωσφινικού παραγώγου 6θ72
3.6	Σύνθεση των τελικών υποστρωμάτων 2974
4. KEQ	ΦΑΛΑΙΟ 4 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ – ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΙ ΕΝΩΣΕΩΝ80
4.1	Γενικό πειραματικό μέρος80
4.1.	1 Αντιδραστήρια80
4.1.	2 Χρωματογραφική ανάλυση και χρωματογραφικός καθαρισμός80
4.1.	1 Χαρακτηρισμοί ενώσεων81
4.2	Συνθετικές μέθοδοι – Χαρακτηρισμοί82
4.2.	1 Σύνθεση αμινοφωσφινικών παραγώγων 6α και 6β82
4.2.2	2 Σύνθεση ακρυλικών οξέων τύπου 883
5. ΣΥΝ	ΙΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ125
ΠΑΡΑΡ	ΓΗΜΑ Ι: Φάσματα NMR χαρακτηριστικών ενώσεων
ΑΝΑΦΟ	ΡΕΣ135

# ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1: Κύριες συνθετικές πορείες σχηματισμού φωσφινικών ψευδοδιπεπτιδίων από την NP+C στρατηγική29
Σχήμα 2: Εφαρμογή της στρατηγικής N+PC στη σύνθεση φωσφινικών ψευδοδιπεπτιδίων απο (α) Chen et al. και (β) Matziari et al
Σχήμα 3: Βελτιστοποίηση της αντίδρασης αμιδοαλκυλίωσης από την ερευνητική ομάδα του Ragulin
Σχήμα 4: Αντίδραση Βος-αμιναλών με φωσφινικά διοξέα του τύπου 22 από Εργαστήριο Οργανικής Χημείας ΕΚΠΑ31
Σχήμα 5: Σύνθεση αναλόγων φωσφινικών διπεπτιδίων μετά από τροποποιήση τελικού σταδίου των θέσεων (α) Ρ <sub>1</sub> και (β) Ρ <sub>1</sub> ΄32
Σχήμα 6: Χρήση των (α) δεϋδροδιπεπτιδίων και (β) μηλονικών παραγώγων στην στρατηγική τελικής τροποποίησης32
Σχήμα 7: Τροποποίηση τελικού σταδίου βασισμένη σε αντίδραση διπολικής κυκλοπροσθήκης
Σχήμα 8: Τροποποίηση τελικού σταδίου φωσφινικών δομών βασισμένη σε μια μετάθεση Ireland-Claisen
Σχήμα 9: Τροποποίηση σε τελικό στάδιο με χρήση της αντίδρασης Giese
Σχήμα 10: Προσεγγίσεις κατά την εισαγωγή φωσφινικών διπεπτιδίων σε πεπτιδικές δομές: ορθογωνικότητα των προστατευτικών ομάδων
Σχήμα 12: Σύνθεση Fmoc-προστατευμένων ψευδοδιπεπτιδικών δομικών μονάδων από Yiotakis et al
Σχήμα 13: Σύνθεση Fmoc-προστατευμένων ψευδοδιπεπτιδικών δομικών μονάδων από Georgiadis et al
Σχήμα 14: Σύνθεση Fmoc-προστατευμένων ψευδοδιπεπτιδικών δομικών μονάδων από Lepore et al
Σχήμα 15: Σύνθεση Fmoc-προστατευμένων ψευδοδιπεπτιδικών δομικών μονάδων από Nasopoulou et al

Σχήμα 16: Σύνθεση Fmoc-προστατευμένων ψευδοδιπεπτιδικών δομικών μονάδων από Voreakos et al
Σχήμα 17: Συγκριτική παρουσίαση συνθετικών μεθοδολογιών προς τις δομές Ι41
Σχήμα 18 Σύνθεση της ένωσης 4 από Chackalamannil et al43
Σχήμα 19: Περίγραμμα της προτεινόμενης μεθοδολογίας, προκλήσεις και πλεονεκτήματα
Σχήμα 20: Σύνθεση του Fmoc-προστατευμένου αμινοφωσφινικού παραγώγου 6α45
Σχήμα 21: Σύνθεση του ακρυλικού παραγώγου 13α46
Σχήμα 22: Στάδια της αντίδρασης P-Michael και ερωτήματα προς διερεύνηση47
Σχήμα 23: Σιλυλίωση με BSA και με TMSCI/DIPEA48
Σχήμα 24: Παρακολούθηση της αντίδρασης των 5α και 13α με BSA σε θερμοκρασία δωματίου, με χρήση φασματοσκοπίας <sup>31</sup> P-NMR49
Σχήμα 25: Αντιδράσεις των 5α/13α και 6α/13α με BSA σε 45-50 °C51
Σχήμα 26: Σχηματισμός του παραπροϊόντος 2552
Σχήμα 27: Σχηματισμός παραγώγου 24 κατά την αντίδραση του 6α με μεθακρυλικό αιθυλεστέρα με χρήση BSA σε 45-50 °C και 25 °C53
Σχήμα 28: Φάσματα <sup>1</sup> Η NMR των μιγμάτων αντίδρασης των 6α + 13α με χρήση TMSCI/DIPEA (Συνθήκες Α) και BSA/TMSCI (Συνθήκες Β)
Σχήμα 29: Μηχανισμός αντίδρασης αδαμαντυλίωσης57
Σχήμα 30: Αντίδραση απομάκρυνσης της ομάδας DMB57
Σχήμα 31: Σύνθεση των ακρυλικών οξέων 8β και 8ι61
Σχήμα 32: Σύνθεση του ακρυλικού οξέος 8δ62
Σχήμα 33: Σύνθεση του ακρυλικού οξέος 8λ62
Σχήμα 34: Προσπάθειες σύνθεσης των 6γ΄ και 7γ΄64
Σχήμα 35: Σύνθεση του ακρυλικού οξέος 8γ64
Σχήμα 36: Ρετροσυνθετική ανάλυση για τα παράγωγα Asp Bn-8ε΄ και PMB-8ε΄66
Σχήμα 37: Προσπάθειες σύνθεσης των παραγώγων Bn-8ε΄ και PMB-8ε΄66

Σχήμα 38: Σύνθεση του παραγώγου 45 και αποτυχία μετατροπής στον εστέρα 13ε68
Σχήμα 39: Σύνθεση του ακρυλικού οξέος 8ε68
Σχήμα 40: Σύνθεση των ακρυλικών εστέρων τύπου 1369
Σχήμα 41: Ρετροσυνθετική προσέγγιση για τον DMB-εστέρα 13η και αποτυχία εφαρμογής της
Σχήμα 42: Ρετροσυνθετική προσέγγιση του DMB-εστέρα 13η και σύνθεση του ενδιαμέσου 50
Σχήμα 43: Μηχανισμός διπλής αντίδρασης τύπου Horner-Wadsworth-Emmons72
Σχήμα 44: Ακετυλίωση της αλκοόλης 47 προς τον εστέρα 13η
Σχήμα 45: Σύνθεση του φωσφινικού παραγώγου 6θ
Σχήμα 46: Σύνθεση των παραγώγων τύπου 26 με πορεία 2 σταδίων Ρ- Michael/αδαμαντυλίωσης75
Σχήμα 47: Σύνθεση των τελικών παραγώγων τύπου 2978

# ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Φωσφονικοί (Ι), φωσφοναμιδικοί (ΙΙ) και φωσφινικοί (ΙΙΙ) αναστολείς που
προκύπτουν με αντικαταστάση του πεπτιδικού δεσμού18
Εικόνα 2: Γενική κατηγοριοποίηση αναστολέων μεταλλοπρωτεασών Zn19
Εικόνα 3: Φωσφινικός αναστολέας με εκλεκτικότητα για συγκεκριμένα μέλη των MMPs. 21
Εικόνα 4: Φωσφινικοί αναστολείς των MMPs με ισοξαζολικό δακτύλιο22
Εικόνα 5: Δομή και ανασταλτική δράση του φωσφινικού αναστολέα RXP470.123
Εικόνα 6: Δομές των φωσφινικών αναστολέων του ACE, RXP407 και RXPA38024
Εικόνα 7: Φωσφινικός αναστολέας του ECE-1 με αντιυπερτασική δράση24
Εικόνα 8: Δομές φωσφινικών αναστολέων αμινοπεπτιδασών ΑΡΝ και ΑΡΑ25
Εικόνα 9: Δομή φωσφινικών αναστολέων των ER αμινοπεπτιδασών
Εικόνα 10: Σχηματική αναπαράσταση των συνθετικών προκλήσεων στα φωσφινικά πεπτίδια27
Εικόνα 11: Παραδείγματα φωσφινικών βιοδραστικών ενώσεων που έχουν προκύψει με τη χρήση της σύνθεσης φωσφινικών πεπτιδίων με το Fmoc πρωτόκολλο40
Εικόνα 12: Σχηματισμός παραγώγου 24 κατά την αντίδραση των 6α + 13α με BSA σε 45-50 °C και σύγκριση με την αντίδραση των 5α + 13α52
Εικόνα 13: Ενώσεις-στόχοι για την διερεύνηση της ευρύτητας της προτεινόμενης μεθοδολογίας
Εικόνα 14: Ενώσεις-στόχοι για την διερεύνηση της ευρύτητας της προτεινόμενης μεθοδολογίας60
Εικόνα 15: Δομές ακρυλικών οξέων 8γ και 8γ΄63
Εικόνα 16: Δομές ακρυλικών οξέων 8γ και 8γ΄65
Εικόνα 17: Λεπτομέρεια φάσματος <sup>13</sup> C-NMR της ένωσης 26α
Εικόνα 18: Λεπτομέρεια φάσματος <sup>13</sup> C-NMR της ένωσης 26α
Εικόνα 19: Φάσμα <sup>1</sup> Η-ΝΜR της ένωσης 29α79
Εικόνα 20: Φάσματα <sup>13</sup> C-NMR <sup>31</sup> P-NMR της ένωσης 29α

# ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Διερεύνηση αντίδρασης αδαμαντυλίωσης του παραγώγου 18α	.55
Πίνακας 2: Διερεύνηση αντίδρασης Horner-Wadsworth-Emmons του παραγώγου 50.	.71

# ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα ερευνητική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Διαπανεπιστημιακού Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών «*Οργανική Σύνθεση και Εφαρμογές στη Χημική Βιομηχανία*» που οργανώνει το Τμήμα Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών υπό την επίβλεψη του Επίκουρου Καθηγητή *κ. Δ. Γεωργιάδη.* Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών, το Ακαδημαϊκό Έτος 2017 – 2018.

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΦΩΣΦΙΝΙΚΑ ΠΕΠΤΙΔΙΑ ΩΣ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΑΣΩΝ ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΥ

#### 1.1 Μεταλλοπρωτεάσες ψευδαργύρου

Κατά τη διεργασία της πρωτεόλυσης, δηλαδή του αρχικού σταδίου του καταβολισμού των πρωτεϊνών, τα ένζυμα τα οποία είναι υπεύθυνα για τη διάσπαση των πεπτιδικών δεσμών σε μια πολυπεπτιδική αλυσίδα, ονομάζονται πρωτεϊνάσες. Τα ένζυμα αυτά βρίσκονται σε όλους τους ιστούς και τα κύτταρα ενός οργανισμού. Πρόκειται για μια πολύ σημαντική κατηγορία βιολογικών μορίων, καθώς ελέγχουν τη βιολογική δραστηριότητα πρωτεϊνών και πεπτιδίων και συμμετέχουν σε πολλές φυσιολογικές πορείες του ανθρώπινου οργανισμού δρώντας ως μοριακοί διακόπτες. Ωστόσο, η διαταραχή της φυσιολογικής λειτουργίας τους έχει συσχετιστεί με πολλές επίκτητες ή κληρονομικές παθολογικές καταστάσεις, όπως μολύνσεις του αναπνευστικού συστήματος, αυξημένη αρτηριακή πίεση και ανάπτυξη καρκινικών Μεταξύ πρωτεϊνασών εξέχουσα θέση καταλαμβάνουν όγκων. των OI μεταλλοπρωτεϊνάσες ψευδαργύρου οι οποίες αποτελούν και την πολυπληθέστερη οικογένεια πρωτεϊνασών [1]. Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες ψευδαργύρου είναι υδρολυτικά ένζυμα τα οποία περιέχουν ένα δισθενές ιόν ψευδαργύρου στο ενεργό τους κέντρο με άμεση συμμετοχή στην καταλυτική τους δράση [2]. Διακρίνονται σε τριάντα περίπου οικογένειες (clans), βάσει συσχετισμών στη δομή και την αλληλουχία, σύμφωνα την έως σήμερα αποδεκτή κατάταξη που προτάθηκε από τους Rawlings και Barett το 1995 [3]. Δεκαοκτώ από τις οικογένειες μεταλλοπρωτεϊνασών περιέχουν την αλληλουχία HEXXH (His-Glu-X-X-His) στο ενεργό κέντρο του ενζύμου (X ή Xaa μπορεί να είναι οποιοδήποτε κατάλοιπο). Από κρυσταλλογραφικές μελέτες έχει διαπιστωθεί ότι οι δύο His συμπλέκουν το δισθενές κατιόν του ψευδαργύρου ενώ το Glu συμμετέχει στην κατάλυση. Η αύξηση του αριθμού των μεταλλοπρωτεϊνασών ψευδαργύρου που εντοπίζονται σε βιολογικά συστήματα σε συνδυασμό με τη συμμετοχή τους σε πλήθος παθολογικών και φυσιολογικών καταστάσεων έχει κινητοποιήσει τους ερευνητές τις τελευταίες δεκαετίες να διερευνήσουν λεπτομερώς το βιολογικό τους ρόλο και να αναπτύξουν εξωγενείς ρυθμιστές της λειτουργίας τους. Έτσι, η ανάπτυξη ισχυρών και εκλεκτικών αναστολέων τους είναι πρωταρχικής σπουδαιότητας στόχος στη φαρμακευτική έρευνα.

#### 1.2 Φωσφινικά πεπτίδια ως αναστολείς μεταλλοπρωτεϊνασών Ζη

Είναι γνωστό ότι η καταλυτική δράση των ενζύμων σχετίζεται με τις ισχυρές και εξειδικευμένες αλληλεπιδράσεις μεταξύ ενζύμου – υποστρώματος στη μεταβατική κατάσταση [4]. Ενώσεις που διατηρούν όλα τα διαμορφωτικά και ηλεκτρονιακά χαρακτηριστικά που λαμβάνει το υπόστρωμα ενός ενζύμου στη μεταβατική κατάσταση και δεν είναι επιδεκτικές στην ενζυμική δράση, μπορούν να αποτελέσουν ισχυρούς ενζυμικούς αναστολείς και αναφέρονται ως **ανάλογα μεταβατικής κατάστασης** (transition state analogues) [5]. Προφανώς, οι γωνίες, τα σθένη και ο διαχωρισμός των φορτίων, όπως και τα μήκη των δεσμών που διασπώνται ή σχηματίζονται κατά τη μεταβατική κατάσταση δεν είναι σταθερό οργανικό μόριο. Εν τούτοις, η ανασταλτική δράση είναι έκδηλη σε ανάλογα τα οποία διαθέτουν έστω και ένα μέρος των δομικών χαρακτηριστικών που διαφοροποιούν το σύμπλοκο της μεταβατικής κατάστασης από

Ως ανάλογα μεταβατικής κατάστασης για την αναστολή μεταλλοπρωτεασών Zn έχουν μελετηθεί ιδιαίτερα οργανοφωσφορικά ανάλογα φυσικών πεπτιδίων [6]. Οι ενώσεις αυτές προκύπτουν από την αντικατάσταση του πεπτιδικού δεσμού των κλασικών πεπτιδίων από τη *φωσφοναμιδική*, τη *φωσφονική* ή την *φωσφινική* ομάδα (Εικόνα 1), η οποία κατά τη διάρκεια της πρόσδεσης στο ενεργό κέντρο του ενζύμου υιοθετεί μια τετραεδρική γεωμετρία προσομοιάζοντας στη δομή του διασπώμενου πεπτιδικού δεσμού.



Εικόνα 1: Φωσφονικοί (Ι), φωσφοναμιδικοί (ΙΙ) και φωσφινικοί (ΙΙΙ) αναστολείς που προκύπτουν με αντικαταστάση του πεπτιδικού δεσμού.

Μεταξύ των πλεονεκτημάτων που παρουσιάζουν τα οργανοφωσφορικά παράγωγα και τα καθιστούν μια εξαιρετική τάξη αναστολέων, είναι η ικανότητα ισχυρής πρόσδεσης λόγω της αθροιστικής συνεισφοράς αφ'ενός της σύμπλεξης του φωσφορικού οξυανιόντος με το ιόν ψευδαργύρου των ενζύμων και αφ'ετέρου των δευτεροταγών αλληλεπιδράσεων του ψευδοπεπτιδικού σκελετού με τις αντίστοιχες περιοχές του ενεργού κέντρου και η χαμηλή τοξικότητά τους. [7, 8, 9, 10, 11]. Εξ' αυτών, τα φωσφινικά παράγωγα εμφανίζουν πολύ μεγαλύτερη χημική και *in vivo* σταθερότητα σε σχέση με τα αντίστοιχα φωσφονικά και φωσφοναμιδικά ανάλογα και για το λόγο αυτό η πλειονότητα των οργανοφωσφορικών αφορούν κυρίως φωσφινικές δομές.





Σε σύγκριση με άλλες κατηγορίες αναστολέων, αναστολείς μεταλλοπρωτεασών ψευδαργύρου όπως τα υδροξαμικά οξέα, τα βορονικά οξέα, οι ένυδρες αλδεΰδες και οι θειόλες, τα φωσφινικά πεπτίδια υπερέχουν καθώς η φωσφινική ομάδα αποτελεί ασθενέστερη χηλική ομάδα για το ιον Zn [8, 11]. Η σχετικά χαμηλότερη συμπλεκτική ικανότητά τους με το ιόν ψευδαργύρου αποτελεί σημαντικό πλεονέκτημα κατά την αντιμετώπιση της βασικής πρόκλησης στο σχεδιασμό συνθετικών αναστολέων των μεταλλοπρωτεασών Zn, δηλαδή τη διάκριση μεταξύ δομικά και λειτουργικά αναλόγων μελών αυτής της ενζυμικής οικογένειας. Συγκεκριμένα, οι κατάλληλα σχεδιασμένες δομικές βελτιώσεις των φωσφινικών παραγώγων μπορούν να ενισχύσουν τη συνεισφορά δευτεροταγών αλληλεπιδράσεων μεταξύ ενζύμου και πλευρικών αλυσίδων του ψευδοπεπτιδικού κορμού του αναστολέα και να οδηγήσουν σε αύξηση της ισχύος σύμπλεξης. Έτσι, η αναστολή δεν στηρίζεται αποκλειστικά στην ικανότητα σύμπλεξης με το ιόν Zn αλλά κυρίως στη βελτιστοποιημένη συμπληρωματικότητα αναστολέα/ενεργού κέντρου. Δεδομένου λοιπόν ότι η δράση τους οφείλεται κυρίως σε μη ομοιοπολικές, ασθενείς αλληλεπιδράσεις, οι φωσφινικοί αναστολείς είναι από τις ελάχιστες περιπτώσεις αναστολέων που μπορούν να οδηγήσουν σε υψηλό βαθμό εξειδίκευσης για το ένζυμο-στόχο [8]. Επιπλέον τα φωσφινικά παράγωγα αποτελούν αναστολείς αμφίπλευρης σύμπλεξης, μπορούν δηλαδή να αλληλεπιδράσουν ταυτόχρονα με την S και την S΄ περιοχή του ενεργού κέντρου σε αντίθεση με τα υδροξαμικά παράγωγα και τις θειόλες που είναι γενικά αναστολείς μόνο αριστερής ή μόνο δεξιάς σύμπλεξης (Εικόνα 2) [8, 12]. Το γεγονός αυτό αυξάνει τις δυνατότητες βελτιστοποίησης της ισχύος και εκλεκτικότητας των αναστολέων καθώς επιτρέπει την ανίχνευση ευνοϊκών αλληλεπιδράσεων σε μεγαλύτερο μέρος του ενεργού κέντρου του ενζύμου με κατάλληλη διαφοροποίηση των Ρ και Ρ΄ θέσεών τους. Τέλος, πληρούν τα περισσότερα χαρακτηριστικά που απαιτούνται για έναν αποτελεσματικό αναστολέα με φαρμακευτικό ενδιαφέρον, όπως μικρό μοριακό βάρος, μη πεπτιδική χημική δομή, υψηλή σταθερότητα σε μη εκλεκτική πρωτεόλυση, μεγάλο χρόνο ημιζωής στα κύτταρα και στο αίμα και καλή βιοδιαθεσιμότητα [8, 10].

#### 1.2.1 Παραδείγματα φωσφινικών αναστολέων με βιολογική δράση

Οι φωσφινικές δομές έχουν μελετηθεί ως αναστολείς σε δύο κυρίως κατηγορίες πρωτεολυτικών ενζύμων, τις μεταλλοπρωτεϊνάσες ψευδαργύρου και τις πρωτεάσες ασπαρτικού οξέος [7]. Στη συνέχεια θα αναφερθούμε σε κάποια επιλεγμένα παραδείγματα φωσφινικών αναστολέων μεταλλοπρωτεϊνασών Zn, με έμφαση στην εξειδίκευση που παρουσιάζουν για το ένζυμο-στόχο.

#### 1.2.2 Φωσφινικοί αναστολείς ματριξινών (MMPs)

Οι ματριξίνες είναι μια υποοικογένεια Ζη-μεταλλοπρωτεϊνασών που αποικοδομούν ποικίλα πρωτεϊνικά υποστρώματα του συνδετικού ιστού [13]. Στα θηλαστικά έχουν βρεθεί πάνω από 25 μέλη ματριξινών, τα οποία μπορούν να ταξινομηθούν

περαιτέρω ως κολλαγονάσες, ζελατινάσες, στρομελυσίνες και ματριξίνες μεμβρανικού τύπου [14]. Οι MMPs, που στην πλειοψηφία τους εκκρίνονται ως ζυμογόνα, συνδέονται με πλήθος φυσιολογικών καταστάσεων αλλά και παθολογικών διαταραχών που συνήθως αφορούν σε υπερέκφραση των ενζύμων και ανεξέλεγκτη πρωτεολυτική τους δράση [15]. Η αναποτελεσματικότητα των ενδογενών ιστικών αναστολέων μεταλλοπρωτεϊνασών (TIMPs) να εξισορροπήσουν την υπερέκφραση αυτή, οδήγησε στην ανάγκη ανάπτυξης ισχυρών και εκλεκτικών αναστολέων [16]. Η εκλεκτικότητα είναι άμεσα συνδεδεμένη με τη φύση των πλευρικών αλυσίδων στις θέσεις P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>1</sub>΄ και P<sub>2</sub>΄. Έτσι, με κατάλληλες διαφοροποιήσεις, βρέθηκε ότι η ένωση **1** στην Εικόνα 3 είναι ισχυρός αναστολέας της MMP-13, όχι όμως της MMP-1 [17].



MMP-13: IC<sub>50</sub> = 30 nM MMP-1: IC<sub>50</sub> > 30000 nM

Εικόνα 3: Φωσφινικός αναστολέας με εκλεκτικότητα για συγκεκριμένα μέλη των MMPs.

Το 2003, αναπτύχθηκε από το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας μια συνθετική μεθοδολογία για την εισαγωγή ετεροκυκλικών δακτυλίων και συγκεκριμένα ισοξαζολικών δακτυλίων στην Ρ1΄ θέση ενός φωσφινικού μορίου-κορμού [18]. Η εισαγωγή αυτών των ετεροκυκλικών δακτυλίων πραγματοποιήθηκε με εφαρμογή 1,3διπολικής κυκλοπροσθήκης (1,3-DCRs) οξειδίων νιτριλίου (1,3 δίπολα) σε κατάλληλο ψευδοπεπτιδικό ακόρεστο σύστημα, οδηγώντας στον τοποεκλεκτικό σχηματισμό 3,5δισυποκατεστημένων ισοξαζολών. Η εφαρμογή της τεχνικής αυτής ήταν άμεση στην περίπτωση των ματριξινών. Συγκεκριμένα, δοκιμασίες in vitro αναστολής φωσφινικών πεπτιδίων με ενσωματωμένο δακτύλιο ισοξαζόλης, όπως οι ενώσεις 2 και 3 (Εικόνα 4) έδειξαν ότι δρουν ως ισχυροί αναστολείς των MMPs υπερτερώντας σε σχέση με προηγούμενα φωσφινικά πεπτίδια. Μάλιστα, η ισχυρή δράση της ένωσης 2 (R,S,S) (Εικόνα 4) αποδεικνύει ότι η στερεοχημεία και τα ηλεκτρονιακά χαρακτηριστικά του ισοξαζολικού δακτυλίου είναι ιδανικά για την αλληλεπίδραση με την S1' κοιλότητα των MMPs, όπως αναγνωρίστηκε αργότερα σε αρκετές κρυσταλλογραφικές μελέτες [19, 20, 21]. Η ένωση 3 είναι ένας από τους πιο ισχυρούς φωσφινικούς αναστολείς της ΜΜΡ-14. Επιπλέον, το γεγονός ότι είναι τουλάχιστον 100 φορές πιο ισχυρή από την ένωση **2** (*R*,*R*,*S*) (Εικόνα 4) δείχνει ότι η στερεοχημεία της πλευρικής αλυσίδας P<sub>1</sub>' είναι κρίσιμη για τη δραστικότητα [18].



Εικόνα 4: Φωσφινικοί αναστολείς των MMPs με ισοξαζολικό δακτύλιο.

Η εύκολη διαφοροποίηση της Ρ1΄ θέσης με ισοξαζολικούς δακτυλίους έδωσε πρόσβαση τα επόμενα χρόνια σε ποικιλία ενώσεων με βελτιωμένη δραστικότητα και εκλεκτικότητα σε διάφορες κατηγορίες δομικά και λειτουργικά παρεμφερών μεταλλοπρωτεασών, όπως οι MMPs. Προς αυτήν την κατεύθυνση, το 2006, τα αποτελέσματα αξιολόγησης μιας σειράς φωσφινικών ενώσεων με ισοξαζολικό δακτύλιο στην Ρ1΄ θέση οδήγησαν στην ανάπτυξη εξαιρετικά ισχυρών και εκλεκτικών αναστολέων της ΜΜΡ-12 [22]. Επιπλέον, οι ενώσεις αυτές δεν αναστέλλουν άλλες πρωτεάσες, όπως τις TACE, ACE και NEP. Αντιπροσωπευτικό παράδειγμα αποτελεί η ένωση RXP470.1 (Εικόνα 5) η οποία είναι ένας από τους πρώτους ισχυρούς και εκλεκτικούς αναστολείς της MMP-12. Λίγα χρόνια αργότερα, ο ίδιος αναστολέας βρέθηκε ότι επιβραδύνει την ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης in vivo [23] ενώ πρόσφατα χρησιμοποιήθηκε για την διερεύνηση του ρόλου της φλεγμονής στην καρδιακή λειτουργία μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου [24]. Ακόλουθες κρυσταλλογραφικές μελέτες, καθώς και θερμοχημικές μελέτες αποκάλυψαν ότι ο συγκεκριμένος αναστολέας σχηματίζει πολλαπλές αλληλεπιδράσεις με το ενεργό κέντρο της ΜΜΡ-12, χάρη στην μακρά P1΄ πλευρική αλυσίδα που καταλαμβάνει το μεγαλύτερο μέρος της S<sub>1</sub> κοιλότητας [19]. Πρόσφατα, βρέθηκε ότι ο RXP470.1 μπορεί να διεγείρει την ανοσολογική απόκριση σε μία ποικιλία ιογενών λοιμώξεων μέσω ενός νέου μηχανισμού δράσης [25]. Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι λόγω της εξαιρετικής ενζυμικής συγγένειας των ισοξαζολυλο-φωσφινικών πεπτιδίων για τις MMPs, αυτά

ενσωματώθηκαν ως δομικά τμήματα σε ανιχνευτές φωτοσυγγενείας [26, 27, 28, 29]. Πολύ πρόσφατα το RXP470.1 αποτέλεσε την «κεφαλή» αναγνώρισης σε ανιχνευτές που βασίζονται μόνο στην ενζυμική συγγένεια [30], χωρίς να απαιτείται φωτοενεργοποιούμενη ομοιοπολική σύνδεση [31]. Έτσι, καθίσταται δυνατή η εξαιρετικά ευαίσθητη ανίχνευση μόνο των δραστικών μορφών των MMPs σε πολύπλοκα πρωτεώματα.



Εικόνα 5: Δομή και ανασταλτική δράση του φωσφινικού αναστολέα RXP470.1 .

# 1.2.3 Φωσφινικοί αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης-Ι (ACE)

Το ACE είναι μια τύπου Ι μεμβρανική διπεπτιδυλο-καρβοξυπεπτιδάση που εκφράζεται στην επιφάνεια των επιθηλιακών, ενδοθηλιακών και νευροεπιθηλιακών κυττάρων [32]. Η πιο γνωστή λειτουργία του ACE αφορά στην *in vivo* μετατροπή του βιολογικά ανενεργού δεκαπεπτιδίου Ang Ι προς το ισχυρό αγγειοσυσταλτικό οκταπεπτίδιο Ang ΙΙ. Επιπροσθέτως, το ACE απομακρύνει το διπεπτίδιο Phe-Arg από το C-τελικό άκρο του εννεαπεπτιδίου βραδυκινίνη [33], οδηγώντας σε απενεργοποίησή της και απώλεια της αγγειοδιασταλτικής της δράσης. Συνεπώς, η συνολική επίδραση του ACE στην πίεση του αίματος είναι η αύξησή της.

Η διαπίστωση ότι το ACE έχει δύο ενεργά κέντρα (το N- και το C-ενεργό κέντρο), εκ των οποίων μόνο το C-ενεργό κέντρο είναι υπεύθυνο για τη ρύθμιση της πίεσης του αίματος, οδήγησε τη φαρμακευτική έρευνα στην ανάπτυξη νέων C-εκλεκτικών αναστολέων, καθώς οι έως τότε γνωστοί αναστολείς απενεργοποιούσαν εξίσου και τα δύο ενεργά κέντρα. Σ' αυτή την κατεύθυνση, το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας σε συνεργασία με το Γαλλικό Ερευνητικό Ινστιτούτο DIEP/CEA, περιέγραψε δύο *in vivo* σταθερούς, εκλεκτικούς, φωσφινοπεπτιδικούς αναστολείς του ACE, το N-εκλεκτικό (*K*<sub>i</sub>=7 nM) **RXP407** [34] και το C-εκλεκτικό (*K*<sub>i</sub>=3 nM) **RXPA380** [35] (Εικόνα 6). Η εκλεκτικότητα αυτών των αναστολέων, είναι εξαιρετική και η μεγαλύτερη που έχει επιτευχθεί έως σήμερα, από οποιοδήποτε φυσικό ή συνθετικό μόριο.



Εικόνα 6: Δομές των φωσφινικών αναστολέων του ACE, RXP407 και RXPA380

# 1.2.4 Φωσφινικοί αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της ενδοθηλίνης-1 (ECE-1)

Ένα ακόμα ένζυμο με κεντρικό ρόλο στη διαδικασία της ρύθμισης της αρτηριακής πίεσης είναι το ECE-1 (ή ECE). Το ECE-1 είναι το πλέον μελετημένο ένζυμο της κατηγορίας των μετατρεπτικών ενζύμων της ενδοθηλίνης, τα οποία ευθύνονται για тην πρωτεολυτική ενεργοποίηση των μεγάλων ενδοθηλινών, ισχυρών αγγειοσυσταλτικών παραγόντων που σχετίζονται με πλήθος παθολογικών καταστάσεων όπως η αθηροσκλήρωση και η υπέρταση [36]. Οι αλληλοεξαρτώμενες δράσεις των ενζύμων ΑCE, ΝΕΡ και ΕCE, λόγω της ομοιότητας των ενεργών τους κέντρων, έχουν οδηγήσει στην ανάγκη για ανάπτυξη μικτών (τριπλών) αναστολέων αυτών των ενζύμων. Το φωσφινικό παράγωγο 4 έχει εμφανίσει τα καλύτερα αποτελέσματα ως προς την τριπλή αυτή αναστολή (Εικόνα 7) [37].



 $\begin{array}{l} {\sf ECE: 70 \ IC_{50} \ nM} \\ {\sf ACE: 2.5 \ IC_{50} \ nM} \\ {\sf NEP: 90 \ IC_{50} \ nM} \end{array}$ 



#### 1.2.5 Φωσφινικοί αναστολείς αμινοπεπτιδασών

Η ΑΡΝ είναι μια διαμεμβρανική εξωπεπτιδάση που μεταξύ άλλων ελέγχει τον καταβολισμό των Met- και Leu-εγκεφαλινών (οπιοειδών πεπτιδίων) διασπώντας τον πεπτιδικό δεσμό Tyr-Gly. Λόγω της συμπληρωματικής της δράσης με μια άλλη μεταλλοπρωτεάση Zn, την NEP (ουδέτερη ενδοπεπτιδάση), αλλά και της συνύπαρξης των δύο αυτών ενζύμων στους ιστούς [38], ο Roques και οι συνεργάτες του ανέπτυξαν μία σειρά μικτών φωσφινικών αναστολέων των δύο αυτών ενζύμων με στόχο την αναλγητική τους δράση [39]. Από τα παράγωγα αυτά, την ισχυρότερη διπλή ανασταλτική δράση *in vitro* έδωσαν οι ενώσεις **5**, **6** και **7** (οι σταθερές αναστολής τους *K*<sub>i</sub> είναι της τάξεως των nM) (Εικόνα 8). Όμως, *in vivo* η δράση περιορίζεται σημαντικά, λόγω της υψηλής πολικότητας των αναστολή της ΑΡΑ, μίας μεμβρανικής γλυκοπρωτεΐνης που διασπά εξειδικευμένα *N*-τελικό ασπαρτικό ή γλουταμινικό οξύ από υποστρώματα, όπως η αγγειοτενσίνη ΙΙ του εγκεφάλου [40]. Το φωσφινικό πεπτίδιο **8** αποτελεί ισχυρό (*K*<sub>i</sub> = 0.8 nM) και εκλεκτικό αναστολέα της ΑΡΑ, σε σχέση με τα άλλα ομόλογα ένζυμα ΑΡΝ, ΝΕΡ και ΑCE (Εικόνα 8) [41].



Εικόνα 8: Δομές φωσφινικών αναστολέων αμινοπεπτιδασών ΑΡΝ και ΑΡΑ

Οι αμινοπεπτιδάσες Zn του ενδοπλασματικού δικτύου ERAP1, ERAP2 και IRAP συνιστούν την υποοικογένεια ωκυτοκινασών και διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην παραγωγή των αντιγονικών πεπτιδίων, συνεπώς έμμεσα ρυθμίζουν την ανθρώπινη επίκτητη ανοσολογική απόκριση. Αυτά τα τρία ένζυμα έχουν αναδειχθεί τα τελευταία χρόνια ως ελκυστικοί στόχοι για την ανοσοθεραπεία του καρκίνου και τον έλεγχο των αυτοάνοσων αντιδράσεων, τροφοδοτώντας το ενδιαφέρον για την ανάπτυξη ισχυρών

και εκλεκτικών αναστολέων τους [42, 43]. Το 2013 δημοσιεύτηκε από το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας σε συνεργασία με το ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος» μια πολύ σημαντική εργασία που περιγράφει τον ορθολογικό σχεδιασμό του ισχυρού αναστολέα **DG013A** (Εικόνα 9) [44]. Περαιτέρω μελέτες προς αυτήν την κατεύθυνση ανέδειξαν τις σχέσεις δομής δραστικότητας, που διέπουν την αναστολή των ενζύμων αυτών και οδήγησαν και σε άλλους φωσφινικούς αναστολείς με ενδιαφέρον προφίλ ισχύος και εκλεκτικότητας, όπως φαίνεται στην Εικόνα 9 [45]. Έτσι, η ένωση **9** εμφανίζει υψηλή εκλεκτικότητα για τον ERAP2, ενώ η ένωση **10** είναι εκλεκτική για τον IRAP. Επίσης, το παράγωγο **11** αποτελεί τον ισχυρότερο αναστολέα για τον IRAP που έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία με IC<sub>50</sub> = 2nM. Τα αποτελέσματα των μελετών αυτών δείχνουν ότι αυτή η κατηγορία ενώσεων μπορεί να είναι χρήσιμη για τη στοχευμένη ρύθμιση των ανοσοαποκρίσεων και ενθαρρύνουν την προκλινική αξιολόγησή τους για εφαρμογές στην ανοσοθεραπεία καρκίνου ή στον έλεγχο της αυτοανοσίας



Εικόνα 9: Δομή φωσφινικών αναστολέων των ER αμινοπεπτιδασών

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

## ΣΥΝΘΕΤΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ ΦΩΣΦΙΝΙΚΩΝ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ

#### 2.1 Γενικές συνθετικές μέθοδοι

Από συνθετικής άποψης, τα φωσφινικά πεπτίδια είναι δομές με μεγάλο βαθμό πολυπλοκότητας που αυξάνεται με την παρουσία επιπρόσθετων λειτουργικών ομάδων στις πλευρικές τους αλυσίδες. Η σύνθεση των μορίων αυτών αποτελεί ερευνητικό πεδίο έντονης δραστηριότητας εδώ και 30 χρόνια. Οι συνθετικές προσεγγίσεις των φωσφινικών πεπτιδίων έχουν περιγραφεί αναλυτικά σε άρθρα ανασκόπησης [8, 11, 46] και η συζήτηση που ακολουθεί αποσκοπεί σε μια συνοπτική περιγραφή των βασικών συνθετικών μεθόδων φωσφινικών πεπτιδίων. Στην Εικόνα 10 συνοψίζονται οι κύριες προκλήσεις που εμφανίζει η σύνθεση ενός φωσφινικού πεπτιδικού κορμού.



Εικόνα 10: Σχηματική αναπαράσταση των συνθετικών προκλήσεων στα φωσφινικά πεπτίδια.

Σύμφωνα με μια προτεινόμενη κατηγοριοποίηση [11, 12], η συναρμολόγηση του σκελετού των ψευδοπεπτιδίων μπορεί να πραγματοποιηθεί με δύο διαφορετικές προσεγγίσεις:

 την NP+C μεθοδολογία, που περιλαμβάνει τη σύνθεση της βασικής ψευδοπεπτιδικής μονάδας, εφαρμόζοντας αντιδράσεις προσθήκης αμινοφωσφορικών ενώσεων σε κατάλληλα C-υποστρώματα, και  την N+PC μεθοδολογία (λιγότερο συνηθισμένη), που περιλαμβάνει την ενσωμάτωση αμινοτελικών τμημάτων μέσω σχηματισμού δεσμού P-C σε φωσφοπροπιονικά παράγωγα.

Αυτές οι δύο συμπληρωματικές στρατηγικές προσφέρουν ευελιξία όσον αφορά τις ανάγκες διαφοροποίησης σε φαρμακευτικές εφαρμογές, δεδομένου ότι η στρατηγική ΝΡ+C διευκολύνει την διαφοροποίηση της Ρ1΄ θέσης ενώ η στρατηγική Ν+ΡC είναι καταλληλότερη για την ταχεία διαφοροποίηση της Ρ1 θέσης. Εκτός από αυτήν τη θεώρηση, η επιλογή της στρατηγικής εξαρτάται συχνά από τις ειδικές απαιτήσεις σχετικά με τη φύση των R και R' (Εικόνα 10). Πέρα από τη στρατηγική που ακολουθείται για την κατασκευή του σκελετού, πολλές πρόσφατες αναφορές έχουν ασχοληθεί με την διαφοροποίηση ομάδων της πλευρικής αλυσίδας μέσω τελικής τροποποίησης κατάλληλων πρόδρομων ενώσεων. Ένα άλλο ζήτημα που συνδέεται άμεσα με την ορθογωνική προστασία του φωσφινικού ΟΗ, είναι η εύκολη ενσωμάτωση των φωσφινοδιπεπτιδικων δομικών μονάδων μέσα σε μεγαλύτερες πεπτιδικες δομές μέσω Ν- και/ή C-επιμήκυνσης. Επιπλέον, έχουν ενταθεί οι προσπάθειες για τον στερεοχημικό έλεγχο των στερεογονικών κέντρων των P1 και Ρ1΄ θέσεων των φωσφινικών διπεπτιδίων, δεδομένου ότι οι περισσότερες κλασικές συνθετικές πορείες (NP+C & N+PC) προσφέρουν περιορισμένες δυνατότητες. Τέλος, οι πρόσφατες συνθέσεις φωσφινικών πεπτιδίων τα οποία υπόκεινται σε διαμορφωτικό περιορισμό ή διαθέτουν άλλα μη κλασικά δομικά χαρακτηριστικά [δηλαδή, θειοφωσφινικές ενώσεις, ανάλογα εκτεταμένης μεταβατικής κατάστασης (TSAs)], έχουν εμπλουτίσει τις δομικές δυνατότητες που είναι διαθέσιμες στους συνθετικούς χημικούς για την αποτελεσματική βελτιστοποίηση των φωσφινικών αναστολέων.

#### 2.1.1 Η ΝΡ+C προσέγγιση

Η **NP+C** προσέγγιση (Σχήμα 1) είναι αναμφίβολα η κύρια στρατηγική για την παρασκευή των βασικών ψευδοδιπεπτιδικών μονάδων. Συνήθως, η μεθοδολογία αυτή περιλαμβάνει την ήπια αντίδραση μεταξύ πυρηνόφιλων φωσφόρου (**13** ή **14**), που παράγονται *in situ* από προστατευμένα αμινοφωσφινικά οξέα και ηλεκτρονιόφιλα υποστρώματα, πχ ακρυλικά παράγωγα (**15**) ή προπιονικά που φέρουν αποχωρούσα ομάδα (LG) σε β θέση (**16**).



Σχήμα 1: Κύριες συνθετικές πορείες σχηματισμού φωσφινικών ψευδοδιπεπτιδίων από την NP+C στρατηγική.

Σύμφωνα με το Σχήμα 1, η μετατροπή των αμινοφωσφινικων οξέων σε τρισθενή πυρηνόφιλα μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε με αποπρωτονίωση αμινοφωσφινικών εστέρων σε ήπιες βάσεις (RONa, NaH) είτε με σιλυλιωτικά αντιδραστήρια, όπως το εξαμεθυλοδισιλαζάνιο (HMDS), το τριμεθυλοσιλυλοχλωρίδιο (TMSCI)/Et<sub>3</sub>N ή το *N*,*O*δις(τριμεθυλοσιλυλο)ακεταμίδιο (BSA), οδηγούν στους δραστικούς που δις(τριμεθυλοσιλυλο)φωσφονίτες 14 [47]. Η χρήση ακρυλικών παραγώγων του τύπου 15 πλεονεκτεί σημαντικά έναντι των προπιονικών ηλεκτρονιόφιλων τύπου 16, γιατί συμβαδίζει με μια πληθώρα R´ ομάδων. Τα ηλεκτρονιόφιλα 16 φαίνεται να υπόκεινται σε σημαντικούς στερεοχημικούς περιορισμούς. Πράγματι, με εξαίρεση μόνο μια αντίδραση που έχει αναφερθεί βιβλιογραφικά [37], η αντίδραση δεν είναι αποδοτική όταν R'≠H [48]. Ένα άλλο σημαντικό πλεονέκτημα της NP+C στρατηγικής είναι η διαθεσιμότητα των α-αμινοφωσφινικών οξέων με ευρεία ποικιλία ομάδων R και η δυνατότητα σύνθεσής τους σε στερεοχημικά καθαρή μορφή αλλά και σε μεγάλες ποσότητες.

#### 2.1.2 Η Ν+ΡC προσέγγιση

Η σύνθεση φωσφινικών πεπτιδίων με μια αντίστροφη σειρά αντιδράσεων σχηματισμού του P-C δεσμού (N+PC μεθοδολογία), αν και εφαρμόζεται σπανιότερα μπορεί να προσφέρει σημαντικές δυνατότητες δομικής διαφοροποίησης. Συγκεκριμένα, η συμπυκνωτική αντίδραση αμιδοαλκυλίωσης μεταξύ αμιδίων, αλδεϋδών και αλκυλοφωσφινικών οξέων (η αντίδραση τριών συστατικών Kabachnik-Fields) οδηγεί σε ένα μόνο στάδιο στον βασικό ψευδοπεπτιδικό κορμό, επιτρέποντας την γρήγορη μελέτη της φύσης της θέσης P<sub>1</sub>. Το 1996, οι Chen και Coward

παρατήρησαν ότι μίγμα καρβαμικού βενζυλεστέρα, αλδεΰδης και αλκυλοφωσφινικού οξέος (**17**) σε AcCl, οδηγεί σε Cbz-προστατευμένα φωσφινικά ψευδοπεπτίδια (**18**) (Σχήμα 2α) [49]. Η μέθοδος αυτή προσαρμόστηκε αργότερα με στόχο τη σύνθεση Fmoc-προστατευμένων φωσφινικών δομικών μονάδων και πεπτιδίων (Σχήμα 2β) [50].



Σχήμα 2: Εφαρμογή της στρατηγικής N+PC στη σύνθεση φωσφινικών ψευδοδιπεπτιδίων απο (α) Chen et al. και (β) Matziari et al.

Ο Ragulin και οι συνεργάτες του, προσπαθώντας να πετύχουν ηπιότερες συνθήκες για την αντίδραση αμιδοαλκυλίωσης κατάφεραν να πραγματοποιήσουν την αντίδραση σε διαλύτη οξικό ανυδρίτη με καταλυτική ποσότητα *p*-TsOH (Σχήμα 3, μέθοδος A) [51]. Δύο χρόνια αργότερα, οι ίδιοι συγγραφείς παρουσίασαν μια ηπιότερη εκδοχή της αντίδρασης, όπου τα δις(καρβαμιδικά) υποστρωματα **20** αντιδρούν με αλκυλοφωσφινικά οξέα (**21**) σε τολουόλιο ή διχλωρομεθάνιο με στοιχειομετρικές ποσότητες τριφθοροξικού ανυδρίτη (Σχήμα 3, μέθοδος B) [52].



Σχήμα 3: Βελτιστοποίηση της αντίδρασης αμιδοαλκυλίωσης από την ερευνητική ομάδα του Ragulin.

Πρόσφατα, ερευνητικές προσπάθειες από το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του ΕΚΠΑ οδήγησαν σε ένα πρωτόκολλο για την αντίδραση που κάνει χρήση ιδιαίτερα

ήπιων συνθηκών που επιτρέπουν την χρήση τον ευαίσθητων σε όξινες συνθήκες Boc-αμιναλών **24** (Σχήμα 4) [53]. Στην εργασία αυτή, η ενεργοποίηση των φωσφινικών διοξέων **22** γίνεται με καρβοδιιμίδια, ενώ η αμιδοαλκυλίωση απαιτεί μόλις 20% BF<sub>3</sub> για να πραγματοποιηθεί εντός λίγων ωρών. Σημαντική επίσης είναι και η διαπίστωση ότι τα ενεργά ενδιάμεσα της αντίδρασης είναι οι ιδιαίτερα δραστικοί κυκλικοί ανυδρίτες του τύπου **23**.



Σχήμα 4: Αντίδραση Βος-αμιναλών με φωσφινικά διοξέα του τύπου 22 από Εργαστήριο Οργανικής Χημείας ΕΚΠΑ.

#### 2.2 Διαφοροποίηση φωσφινικών πεπτιδίων σε τελικό στάδιο

Η ανάγκη διαφοροποίησης των πλευρικών αλυσίδων φωσφινικών ψευδοδιπεπτιδίων σε τελικό στάδιο απορρέει από δύο βασικούς λόγους. Ο πρώτος αφορά στην ανάγκη σύνθεσης φωσφινικών δομών με πλευρικές αλυσίδες οι οποίες δεν μπορούν να είναι εξ'αρχής παρούσες στα αντιδρώντα. Για το λόγο αυτό, το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας ανέπτυξε μια στρατηγική διαφοροποίησης σε τελικό στάδιο για την παρασκευή ψευδοδιπεπτίδιων με όξινες πλευρικές αλυσίδες στη θέση P1, δεδομένου ότι η κλασική NP+C μεθοδολογία με ασπαρτυλο-αμινοφωσφινικά οξέα απέτυχε [54]. Н **Σοδοθ**3μ βασίζεται στη σύνθεση παραγώγων φαινυλαλανίνης και ομοφαινυλαλανίνης (26), ακολουθούμενη από την οξειδωτική αποικοδόμηση των φαινυλομάδων (Σχήμα 5). Στο ίδιο πνεύμα, ο Kende και η ομάδα του παρασκευάσαν ψευδοπεπτιδικά ανάλογα Arg (27), εισάγοντας ομάδες γουανιδίνης στις κατάλληλες αλκυλοάζιδο P1' πλευρικές αλυσίδες 28 [55].



Σχήμα 5: Σύνθεση αναλόγων φωσφινικών διπεπτιδίων μετά από τροποποιήση τελικού σταδίου των θέσεων (α) Ρ<sub>1</sub> και (β) Ρ<sub>1</sub>΄.

Ο δεύτερος και πιο σημαντικός λόγος αφορά στη δυνατότητα ευρείας διαφοροποίησης των ψευδοπεπτιδικών πλευρικών αλυσίδων σε μεταγενέστερο στάδιο της σύνθεσης, με αποτέλεσμα την ταχύτερη ανακάλυψη βιοδραστικών ενώσεων με πιθανή φαρμακολογική δράση. Στο πνεύμα αυτό, αναφέρθηκε από το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας η παρασκευή μιας σειράς ψευδοδιπεπτιδιων δεϋδροαλανίνης μέσω αντίδρασης αλλυλικής υποκατάστασης του 2-βρωμομεθυλο ακρυλικού αιθυλεστέρα με αμινοφωσφινικά οξέα και η δυνατότητα συζυγούς προσθήκης ποικίλων πυρηνόφιλων θείου, αζώτου και άνθρακα (Σχήμα 6α) [56, 57]. Επιπλέον, σε δύο ξεχωριστές εργασίες διερευνήθηκε η σύνθεση μηλονικών παραγώγων τύπου **29** ή **30** και η συμμετοχή τους είτε σε αντιδράσεις Κnoevenagel, είτε σε αντιδράσεις αλκυλίωσης / αποκαρβοξυλίωσης (Σχήμα 6β) [55, 58].



Σχήμα 6: Χρήση των (α) δεϋδροδιπεπτιδίων και (β) μηλονικών παραγώγων στην στρατηγική τελικής τροποποίησης.

Όπως αναφέρθηκε και στο Κεφάλαιο 1, μία από τις πιο εύχρηστες τεχνικές παραγοντοποίησης της P<sub>1</sub>' θέσης παρουσιάστηκε το 2003 από το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας και αφορά στην αντίδραση 1,3 διπολικής κυκλοπροσθήκης φωσφινικών ψευδοδιπεπτιδίων με την προπάργυλο ομάδα στην P<sub>1</sub>' πλευρική αλυσίδα (**31**) και *in situ* παρασκευασμένων οξειδίων του νιτριλίου (Σχήμα 7) [18].



Σχήμα 7: Τροποποίηση τελικού σταδίου βασισμένη σε αντίδραση διπολικής κυκλοπροσθήκης.

Στην ίδια κατεύθυνση, αναφέρθηκε το 2009 μία ενδιαφέρουσα προσέγγιση που βασίζεται σε μια μετάθεση Ireland-Claisen που πραγματοποιείται κατά την *P*-Michael προσθήκη σιλυλοφωσφονιτών σε ακρυλικούς αλλυλεστέρες (Σχήμα 8) [59]. Εξέλιξη της αρχικής πορείας οδήγησε σε μια αντίδραση one-pot μεταξύ φωσφινικών οξέων, ακρυλοϋλοχλωριδίων και αλλυλικών αλκοολών, επιτρέποντας έτσι την ταχεία σύνθεση ποικίλων φωσφινικών δομών, χρησιμοποιώντας απλά υλικά σε ένα μόνο στάδιο (Σχήμα 8). Η μέθοδος μπορεί επίσης να οδηγήσει σε ανάλογα φωσφινικών δομών με τεταρτοταγή άνθρακα στην P<sub>1</sub>´ θέση, τα οποία αποτελούν μια ενδιαφέρουσα τάξη διαμορφωτικά περιορισμένων φωσφινικών πεπτιδίων.



Σχήμα 8: Τροποποίηση τελικού σταδίου φωσφινικών δομών βασισμένη σε μια μετάθεση Ireland-Claisen.

Τέλος, πολύ πρόσφατα παρουσιάστηκε στη βιβλιογραφία μια εξαιρετικά ευέλικτη μεθοδολογία διαφοροποίησης της P<sub>1</sub>΄ θέσης φωσφινικών πεπτιδίων σε τελικό στάδιο η οποία βασίζεται στην συζυγή προσθήκη ριζών σε ηλεκτρονιακά ελλειματικούς διπλούς δεσμούς, η επονομαζόμενη αντίδραση Giese (Σχήμα 9) [60]. Κατά την

αντίδραση πραγματοποιείται σχηματισμός δεσμού C-C με ιδιαίτερη ευκολία (ανοιχτή φιάλη, περιορισμένη ανάγκη προστασίας, συμβατή με λειτουργικές ομάδες σε πλευρικές αλυσίδες, μικροί χρόνοι αντίδρασης, υψηλές αποδόσεις), επιτρέποντας την προέκταση της P<sub>1</sub>΄ θέσης φωσφινικών διπεπτιδίων ή και μεγαλύτερων πεπτιδίων με αλκυλομάδες, γεγονός ανέφικτο πριν την εισαγωγή της ανωτέρω μεθόδου.



Σχήμα 9: Τροποποίηση σε τελικό στάδιο με χρήση της αντίδρασης Giese.

# 2.3 Ορθογωνική προστασία φωσφινικών διπεπτιδίων και η σημασία της κατά την πεπτιδική επιμήκυνση

Η παρουσία της υδροξυφωσφινυλομάδας εντός του φωσφινοπεπτιδικού σκελετού, προκαλεί ένα πρόσθετο πρόβλημα που σχετίζεται με τη συμπεριφορά της κατά τη διάρκεια των αντιδράσεων σύζευξης και επομένως την ανάγκη για την προστασία της τόσο κατά τη σύνθεση σε στερεή φάση, όσο και κατά τη σύνθεση σε διάλυμα. Αρκετές μελέτες έχουν αναφερθεί για το θέμα αυτό, οι οποίες αντιμετωπίζουν το πρόβλημα της ορθογωνικότητας από τρεις διαφορετικές οπτικές γωνίες (Σχήμα 10):



Σχήμα 10: Προσεγγίσεις κατά την εισαγωγή φωσφινικών διπεπτιδίων σε πεπτιδικές δομές: ορθογωνικότητα των προστατευτικών ομάδων.

- Προσαρμογή των συνθετικών πορειών στις άλκυλο προστατευτικές ομάδες που χρησιμοποιούνται κατά τη διάρκεια των αντιδράσεων σχηματισμού δεσμού P-C (Προσέγγιση Α, Σχήμα 10).
- Ανάπτυξη συνθηκών πεπτιδικής σύζευξης που να είναι συμβατές με ελεύθερα φωσφινικά υδροξύλια (Προσέγγιση **B**, Σχήμα 10).
- Εισαγωγή μιας κατάλληλης προστατευτικής ομάδας μετά τις αντιδράσεις σχηματισμού δεσμού P-C (Προσέγγιση Γ, Σχήμα 10).

Σχετικά με την προσέγγιση Α, η προστασία της φωσφινικής ομάδας είναι συνήθως μεθυλο/αλκυλο και απαιτείται κατάλληλη προστασία του καρβοξυλικού άκρου που να μπορεί να απομακρυνθεί εκλεκτικά πριν την C-επιμήκυνση. Μέθοδοι για την εκλεκτική αποπροστασία των καρβοξυλικών εστέρων παρουσία των άλκυλο φωσφινικών εστέρων περιλαμβάνει ενζυμική υδρόλυση καρβοξυλικών μεθυλεστέρων [61, 62], ελεγχόμενη αλκαλική υδρόλυση καρβοξυλικών αιθυλεστέρων [63, 64], όξινη διάσπαση καρβοξυλικών 3,4-διμεθοξυβενζυλεστέρων [65] και υδρογονόλυση καρβοξυλικών βενζυλεστέρων [17]. Όξινη διάσπαση καρβοξυλικών tertβουτυλεστέρων με TFA έχει επίσης χρησιμοποιηθεί [66], αλλά σε κάποιες περιπτώσεις παρατηρείται ταυτόχρονη διάσπαση του φωσφινικού εστέρα πιθανώς λόγω ενδομοριακής υποβοήθησης από το καρβοξυλικό οξύ που απελευθερώνεται [67]. Για την τελική αποπροστασία των άλκυλο φωσφινικών εστέρων μετά την πεπτιδική ανάπτυξη απαιτούνται συνήθως ισχυρά αλκαλικές ή πυρηνόφιλες συνθήκες (TMSBr, n-PrSLi) [64, 66, 67].

Αναφορικά με την προσέγγιση **B**, πολλές μελέτες έχουν ασχοληθεί με τη δυνατότητα χρήσης φωσφινικών ψευδοδιπεπτιδικών δομικών μονάδων σε αντιδράσεις πεπτιδικής σύζευξης όπου τόσο το φωσφινικό όσο και το καρβοξυλικό οξύ είναι απροστάτευτα. Μεταξύ των αντιδραστηρίων σύζευξης που έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για τέτοιους μετασχηματισμούς είναι τα: CDI [55, 68, 69], BOP [70, 71], pyBOP [72, 73] και EDC [18, 39, 50, 74]. Ο Campagne και οι συνεργάτες του μελέτησαν την πεπτιδική επιμήκυνση με BOP ή pyBOP τόσο από το C- όσο και από το N-τελικό άκρο και επιβεβαίωσαν ότι αυτή η διαδικασία διεξάγεται χωρίς επιμερείωση και ότι είναι κατάλληλη για σύνθεση πεπτιδίων σε στερεή φάση [70]. Ωστόσο, κανένα από αυτά τα παραπάνω πρωτόκολλα δεν έχει χρησιμοποιηθεί σε

σύνθεση φωσφινοπεπτιδικών βιβλιοθηκών με αυτοματοποιημένες συνθετικές μεθόδους.

Όμως, ίσως η πιο επιτυχημένη προσέγγιση έως σήμερα είναι η προσέγγιση **Γ**, κυρίως λόγω της συμβατότητάς της με το Fmoc πρωτόκολλο πεπτιδικής σύζευξης. Σημαντική ήταν η συμβολή του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας, με την εισαγωγή της 1-αδαμαντυλο ομάδας (Ad) ως προστατευτική ομάδα του φωσφινικού υδροξυλίου (Σχήμα 11) [75]. Η Ad ομάδα είναι απόλυτα συμβατή με τα πρωτόκολλα σύνθεσης Fmoc σε στερεά φάση και απομακρύνεται εύκολα υπό όξινες συνθήκες αποπροστασίας (TFA). Οι συνθετικές πορείες των Fmoc-προστατευμένων δομικών μονάδων **32** και οι εφαρμογές τους θα συζητηθούν παρακάτω.



Σχήμα 11: Fmoc-προστατευμένες δομικές μονάδες 32, κατάλληλες για πεπτιδική σύνθεση σε στερεά φάση.

# 2.4 Συνθετικές πορείες και εφαρμογές Fmoc-προστατευμένων δομικών μονάδων 32

Στο Σχήμα 12 παρουσιάζεται η πρώτη συνθετική πορεία που εμφανίστηκε στη βιβλιογραφία για τη σύνθεση των Fmoc-προστατευμένων δομικών μονάδων **32** και περιλαμβάνει πέντε συνθετικά στάδια [75]. Ξεκινώντας από την αντίδραση P-Michael Cbz-προστατευμένων αμινοφωσφινικών οξέων **33** και ακρυλικούς αιθυλεστέρες, παραλαμβάνονται τα ψευδοδιπεπτίδια **34** τα οποία υποβάλλονται σε προστασία με την Ad ομάδα. Συγκεκριμένα, η αδαμαντυλίωση των φωσφινικών διπεπτιδίων **34** διεξάγεται με αντίδραση του φωσφινικού οξέος με 1-AdBr παρουσία Ag<sub>2</sub>O σε αναρρέον CHCl<sub>3</sub>. Παρά την υψηλή αποτελεσματικότητα αυτού του πρωτοκόλλου, αργότερα μελετήθηκαν και άλλες μέθοδοι ώστε να αποφευχθεί το υψηλό κόστος του Ag<sub>2</sub>O, όπως η κατεργασία του *in situ* παραγόμενου φωσφινοϋλο χλωρίδίου με το μετα νατρίου άλας της αδαμαντανόλης (Σχήμα 9γ) [76, 77, 78], αλλά στις
περισσότερες περιπτώσεις το πρωτόκολλο AdBr/Ag<sub>2</sub>O αποδείχθηκε ανώτερο [76, 78].



Σχήμα 11: Σύνθεση Fmoc-προστατευμένων ψευδοδιπεπτιδικών δομικών μονάδων από Yiotakis et al.

Στην παραπάνω μέθοδο, η απομάκρυνση της Cbz ομάδας με υδρογονόλυση των Adπροστατευμένων ενώσεων **36** και η επαναπροστασία της αμινομάδας από Fmoc είναι το προβληματικό στάδιο που περιορίζει τις αποδόσεις σε 33-40% λόγω μερικής αποπροστασίας της φωσφινικής ομάδας. Γι'αυτόν το λόγο, ακολούθησε ένα βελτιωμένο πρωτόκολλο από ο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας (Σχήμα 13) [79]. Στο πρωτόκολλο αυτό, για το στάδιο της προσθήκης Michael χρησιμοποιήθηκαν τα Fmoc-αμινοφωσφινικά οξέα **37** και ακρυλικοί βενζυλεστέρες με χρήση TMSCI/DIPEA. Ακολούθησε αδαμαντυλίωση του **38** και υδρογονόλυση του βενζυλεστέρα, δίνοντας τα μόρια στόχους **32** σε διπλάσια σχεδόν συνολική απόδοση, σε σύγκριση με την πρωτότυπη μέθοδο.



Σχήμα 12: Σύνθεση Fmoc-προστατευμένων ψευδοδιπεπτιδικών δομικών μονάδων από Georgiadis et al.

Μια ακόμα τροποποίηση παρουσιάστηκε από τον Lepore και τους συνεργάτες του οι οποίοι εφήρμοσαν επιτυχώς την αντίδραση μετατροπής των φωσφινικών οξέων **40** στα αντίστοιχα χλωρίδια με ακόλουθη υποκατάσταση από το μετά νατρίου άλας της 1-αδαμαντανόλης, ώστε να εισαχθεί η Ad προστατευτική ομάδα [76, 77]. Στη

συνέχεια, βασισμένοι σε προηγούμενη εργασία των Meldal και των συνεργατών του [78], πραγματοποήσαν ταυτόχρονη υδρογονόλυση των Bn και Cbz ομάδων των ενώσεων **41** και *in situ* επαναπροστασία χρησιμοποιώντας FmocOSu σε μία *one-pot* διαδικασία (Σχήμα 14).



Σχήμα 13: Σύνθεση Fmoc-προστατευμένων ψευδοδιπεπτιδικών δομικών μονάδων από Lepore et al.

Το 2006, παρουσίαστηκε μια μέθοδος με την οποία είναι δυνατή η διάκριση των δύο όξινων ομάδων σε Fmoc διοξέα του τύπου **42** χρησιμοποιώντας τη φαινάκυλο (Pac) ομάδα, η οποία μπορεί να απομακρυνθεί εκλεκτικά από το φωσφινικό τμήμα με θέρμανση με TFA (Σχήμα 15) [80]. Αφού προηγηθεί Ad προστασία του φωσφινικού υδροξυλίου, οι Pac καρβοξυλικοί εστέρες μπορούν εύκολα να διασπαστούν με αναγωγή παρουσία μετάλλου παρέχοντας τα μόρια στόχους **32** σε μέτριες συνολικές αποδόσεις. Σημαντικό μειονέκτημα της μεθόδου αποτελεί ο βρασμός με TFA που αποκλείει τη χρήση ευαίσθητων σε οξέα πλευρικών αλυσίδων.



Σχήμα 14: Σύνθεση Fmoc-προστατευμένων ψευδοδιπεπτιδικών δομικών μονάδων από Nasopoulou et al.

Τέλος, σε μια εντελώς διαφορετική προσέγγιση, το 2019 δημοσιεύτηκε από το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας η δυνατότητα εισαγωγής πλευρικών αλυσίδων σε κατάλληλα προστατευμένες μονάδες **46** οι οποίες φέρουν ένα συζυγιακό σύστημα στην P<sub>1</sub>' θέση (Σχήμα 16) [60]. Εφαρμογή της αντίδρασης προσθήκης αλκυλο ριζών τύπου Giese στην μονάδα **46** παρέχει μια εναλλακτική που συνδυάζει την αποτελεσματική πρόσβαση στις επιθυμητές Fmoc-προστατευμένες δομικές μονάδες με τις αρχές της τεχνικής διαφοροποίησης σε τελικό στάδιο (Late-Stage Functionalization, LSF).



Σχήμα 15: Σύνθεση Fmoc-προστατευμένων ψευδοδιπεπτιδικών δομικών μονάδων από Voreakos et al.

Η χρήση των Fmoc-προστατευμένων δομικών μονάδων ως στρατηγική για τη σύνθεση φωσφινικών πεπτιδίων έχει πια εδραιωθεί λόγω του σημαντικού της ρόλου στην ανάπτυξη μεγάλων συνδυασμικών βιβλιοθηκών, οι οποίες επιτρέπουν την ταυτοποίηση ισχυρών και εκλεκτικών αναστολέων των μεταλλοπρωτεασών-Zn. Από τα πολυάριθμα παραδείγματα χρήσης αυτών των ενώσεων στη βιβλιογραφία, αξίζει να αναφερθεί η ανακάλυψη εκλεκτικών αναστολέων των ενδοπεπτιδασών 24-15, 24-16 [81, 82], του ενεργού κέντρου της Ν-περιοχής του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειστενσίνης με τη χρήση της συνδυασμικής τεχνικής mix-and-split [34] και η ανακάλυψη αναστολέων των ΜΜΡ2/ΜΜΡ9 που μιμούνται την τριπλή έλικα κολλαγόνου, από την ερευνητική ομάδα του Fields (Εικόνα 11) [83, 84, 85]. Ενδιαφέρον επίσης παρουσιάζει η σύνθεση μιας βιβλιοθηκης 165.000 φωσφινικών πεπτιδίων από τον Meldal και τους συνεργάτες του, της μορφής XX, που κάνει εφικτή την ανίχνευση αναστολέων επάνω στο στερεό υπόστρωμα, καθώς σε κάθε σφαιρίδιο στερεας φάσης ο αναστολέας συνυπάρχει με ένα φθορίζον υπόστρωμα (one-beadtwo-compound library) [78, 86, 87]. Τέλος, με την στρατηγική συντέθηκαν ενζυμικοί ιχνηθέτες (probes) συγγενείας, δηλαδή μόρια που βασίζονται σε πολύ ισχυρούς μη ομοιοπολικούς αναστολείς της τάξης των pM, και φέρουν βιοτίνη ως ομάδαανταποκριτή [31]. Επώαση των ενώσεων αυτών με πολύπλοκα πρωτεώματα μπορεί

39

να ανιχνεύσει τις MMPs 2, 8 και 12 χωρίς να είναι απαραίτητη η χημική τους τροποποίηση, όπως συμβαίνει με άλλους ιχνηθέτες ομοιοπολικής σύνδεσης.



Εικόνα 12: Παραδείγματα φωσφινικών βιοδραστικών ενώσεων που έχουν προκύψει με τη χρήση της σύνθεσης φωσφινικών πεπτιδίων με το Fmoc πρωτόκολλο.

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ

#### 3.1 Στόχος της εργασίας

Όπως αναφέρθηκε στην παράγραφο 2.4, η χρήση τεχνικών συνδυασμικής χημείας για την ανακάλυψη βιοδραστικών φωσφινικών πεπτιδίων αποτελεί ένα εξαιρετικά αποτελεσματικό εργαλείο που ĺ3χŝ οδηγήσει σε ισχυρούς αναστολείς μεταλλοπρωτεασών Ζη καθώς και σε πολύτιμες ενώσεις-ιχνηθέτες για την διεξαγωγή βιοχημικών μελετών [11]. Στην προσπάθεια αυτή, η διαθεσιμότητα Fmocπροστατευμένων φωσφινικών δομικών μονάδων, κατάλληλα προστατευμένων για τις ανάγκες της σύνθεσης σε στερεά φάση, είναι κομβικής σημασίας και άμεσα συναρτώμενη από τις υπάρχουσες συνθετικές δυνατότητες. Σημαντική προϋπόθεση στην ανάπτυξη ενός ιδανικού πρωτοκόλλου για τη σύνθεση τέτοιων ενώσεων είναι η μέγιστη δυνατή ορθογωνικότητα μεταξύ των προστατευτικών ομάδων TOU αμινοτελικού καρβοξυτελικού φωσφινικού, και άκρου της ένωσης. των προστατευτικών ομάδων των πλευρικών αλυσίδων αλλά και η παρουσία λειτουργικών ομάδων στις πλευρικές αλυσίδες που μπορεί να είναι ευαίσθητες στις συνθήκες αποπροστασίας. Στο Σχήμα 17 παρουσιάζονται συνοπτικά οι υπάρχουσες μεθοδολογίες για την σύνθεση των ενώσεων-στόχων Ι:



Σχήμα 16: Συγκριτική παρουσίαση συνθετικών μεθοδολογιών προς τις δομές |

Από την συγκριτική εξέταση των συνθηκών που χρησιμοποιούνται στις παραπάνω μεθόδους, γίνεται φανερό ότι καμία δεν μπορεί να χαρακτηριστεί ως «ιδανική». Συγκεκριμένα, οι προσεγγίσεις Α, Β και Γ συμπεριλαμβάνουν όλες ένα βήμα καταλυτικής υδρογόνωσης, το οποίο ασφαλώς σημαίνει ότι οι μέθοδοι δεν μπορούν να είναι συμβατές με προστατευτικές ή λειτουργικές ομάδες που είναι ευαίσθητες σε υδρογόνωση/υδρογονόλυση (π.χ βενζυλο προστατευτικές ομάδες, διπλοί/τριπλοί δεσμοί κλπ). Αντίθετα, η προσέγγιση Δ δεν περιλαμβάνει βήμα υδρογόνωσης, επομένως θα μπορούσε να αποτελέσει μια καλή εναλλακτική για τις περιπτώσεις που προαναφέρθηκαν. Όμως, η προσέγγιση Δ υπόκειται σε σημαντικούς περιορισμούς λόγω της παρατεταμένης θέρμανσης με 80% TFA/DCM που αποκλείει τη χρήση όλων των ευαίσθητων σε οξέα προστατευτικών ομάδων (π.χ. <sup>κ</sup>Bu, Boc) που αποτελούν δημοφιλείς επιλογές στην πεπτιδική σύνθεση. Επιπλέον, η προσέγγιση Δ περιλαμβάνει ένα βήμα αναγωγικής διάσπασης με χρήση Mg/MeOH. Σε ορισμένες περιπτώσεις, οι συνθήκες αυτές μπορεί να δημιουργήσουν προβλήματα καθώς είναι γνωστό από τη βιβλιογραφία ότι ανάγουν συζυγιακούς πολλαπλούς δεσμούς και άλλες ομάδες όπως τα σουλφοξείδια, προάγουν την μεθανόλυση εστέρων και εκκινούν ριζικές αντιδράσεις [88, 89].

Οι προβληματισμοί που προαναφέρθηκαν αποτέλεσαν το έναυσμα για την ανάπτυξη μιας συνθετικής μεθοδολογίας που να μην υπόκειται στους περιορισμούς που θέτουν οι συνθήκες υδρογόνωσης ή οι έντονα όξινες συνθήκες. Σημειο κλειδί στην ανάπτυξη της μεθόδου αποτέλεσε η επιλογή κατάλληλης προστατευτικής ομάδας του καρβοξυλικού άκρου η οποία να απομακρύνεται σε ήπιες συνθήκες, διαφορετικές της συνήθους υδρογονόλυσης, και ορθογωνικά ως προς τις Fmoc και Ad. Επιπλέον, η ομάδα αυτή θα πρέπει να έχει χαμηλό κόστος ή να προσεγγίζεται εύκολα συνθετικά και τα αντιδραστήρια εισαγωγής και απομάκρυνσής της να έχουν χαμηλό κόστος ώστε να είναι ελκυστική η χρήση της σε συνθέσεις μεγάλης κλίμακας. Έτσι, επιλέξαμε να διερευνήσουμε την καταλληλότητα της 2,4-διμεθοξυβενζυλικής (DMB) ομάδας για τον σκοπό αυτό.

Η DMB ομάδα έχει μακρά ιστορία στην πεπτιδική χημεία και το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας έχει σημαντική συμβολή σε αυτό. Το 1980, οι Stelakatos et al. χρησιμοποίησαν τις 2,4- και 3,4-διμεθοξυβενζυλομάδες για την προστασία αμινοξέων και συνέκριναν την ευαισθησία τους σε όξινες συνθήκες [90]. Το 1991, ο McMurray χρησιμοποίησε τα προστατευμένα παράγωγα Fmoc-Asp-DMB και Fmoc-Glu-ODMB

42

για τη σύνθεση κυκλικών πεπτιδίων σε στερεά φάση όπου παρατήρησε ότι η απομάκρυνση της DMB ομάδας μπορεί να πραγματοποιηθεί με μόλις 1% TFA ορθογωνικά ως προς *tert*-βουτυλεστέρες [91]. Η χρήση της 2,4-DMB-ομάδας στη χημεία των φωσφινικών πεπτιδίων δεν έχει αναφερθεί ποτέ στη βιβλιογραφία, ενώ το μόνο σχετικό παράδειγμα αφορά τη χρήση της μακράν σταθερότερης σε όξινες συνθήκες 3,4-διμεθοξυβενζυλομάδας από τον Chackalamannil και τους συνεργάτες του (Σχήμα 18) [65]. Σε αυτήν τη συνθετική πορεία, γίνεται χρήση TFA/ανισόλης 5:2 για τη διάσπαση του 3,4-διμεθοξυβενζυλεστέρα, συνθήκες που είναι απαγορευτικές για την επιδιωκόμενη χημειοεκλεκτικότητα στη δική μας περίπτωση.



Σχήμα 17 Σύνθεση της ένωσης 4 από Chackalamannil et al.

Βάσει του περιγράμματος του Σχήματος 19, βλέπουμε ότι η εύρεση συνθηκών που να είναι κατάλληλες για την αρχική αντίδραση P-Michael, κατά την οποία σχηματίζεται ο δεσμός P-C, είναι κομβικής σημασίας. Λόγω της ευαισθησίας της Fmoc ομάδας σε βασικές συνθήκες και της DMB ομάδας σε όξινες συνθήκες, θα πρέπει να επιλεγεί η κατάλληλη μεθοδολογία για την αντίδραση P-Michael που να αφήνει ανεπηρέαστες τις παραπάνω ομάδες. Οι συνθήκες που χρησιμοποιήθηκαν στο παρελθόν από τον Chackalamannil και τους συνεργάτες του για την αντίδραση αυτή απαιτούσαν τη χρήση ενός φωσφινικού μεθυλεστέρα (ένωση 1) και βάσης NaH. Οι συνθήκες αυτές είναι ακατάλληλες για τη δική μας περίπτωση γιατί δεν υπάρχει μέθοδος σύνθεσης αντίστοιχων αδαμαντυλεστέρων στη βιβλιογραφία (παλαιότερες προσπάθειες από την ερευνητική μας ομάδα απέβησαν άκαρπες) και το NaH δεν είναι συμβατό με την παρουσία της Fmoc-ομάδας. Συνεπώς, μόνη διέξοδο αποτελεί η χρήση ελεύθερων φωσφινικών οξέων και αντίδραση P-Michael σε σιλυλιωτικές συνθήκες, όπως θα περιγραφεί παρακάτω.



Σχήμα 18: Περίγραμμα της προτεινόμενης μεθοδολογίας, προκλήσεις και πλεονεκτήματα

Ερωτηματικά επίσης δημιουργεί και η δυνατότητα απομόνωσης των ενώσεων τύπου ΙV καθώς η συνύπαρξη μιας ισχυρά όξινης ομάδας, όπως είναι το φωσφινικό οξύ, με την DMB ομάδα ενδεχομένως να οδηγεί σε μειωμένη σταθερότητα και περιορισμένη δυνατότητα χειρισμών (Σχήμα 19). Η μειωμένη σταθερότητα των ενώσεων τύπου ΙV μπορεί να αποτελέσει πρόβλημα και στις έντονες συνθήκες θέρμανσης της επόμενης αντίδρασης (αναρροή σε διαλύτη CHCl<sub>3</sub>). Τέλος, η χημειοεκλεκτική διάσπαση της DMB ομάδας στις ενώσεις τύπου V παρουσία του φωσφινικού αδαμαντυλεστέρα, αλλά και Boc ή Bu ομάδων που μπορεί να υπάρχουν στη δομή της ένωσης, θα αποτελέσει βασικό σημείο διερεύνησης 3ų στόχο тпу μέγιστη δυνατή ορθογωνικότητα.

#### 3.2 Διερεύνηση της αντίδρασης P-Michael

#### 3.2.1 Σύνθεση υποστρωμάτων για την αρχική διερεύνηση.

Για τnv αρχική διερεύνηση тпс αντίδρασης P-Michael επιλέξαμε να χρησιμοποιήσουμε Fmoc-προστατευμένο αμινοφωσφινικό то ανάλονο тпс φαινυλογλυκίνης 6α. Η ένωση 6α χρησιμοποιήθηκε ως ρακεμικό μίγμα και παρασκευάστηκε από το Cbz-προστατευμένο ανάλογο 5α, το οποίο ήταν διαθέσιμο στο εργαστήριο, μέσω μιας πορείας δύο σταδίων (Σχήμα 20). Συγκεκριμένα, το παράγωγο 5α, αρχικά υποβλήθηκε σε συνθήκες όξινης διάσπασης της Cbz ομάδας με χρήση διαλύματος HBr/AcOH 33%. Το ενδιάμεσο υδροβρωμικό άλας παρελήφθη με συμπύκνωση και έπειτα από ρύθμιση του pH με υδατικό διάλυμα Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 10% σε τιμή ~9-10, αντέδρασε με το 9-φλουορενυλομεθοξυκαρβονυλο χλωρίδιο (FmocCl) για να οδηγήσει στο τελικό προϊόν 6α σε συνολική απόδοση 2 σταδίων 73%.



Σχήμα 19: Σύνθεση του Fmoc-προστατευμένου αμινοφωσφινικού παραγώγου 6α.

Ως δέκτης Michael για τις αντιδράσεις διερεύνησης χρησιμοποιήθηκε το παράγωγο 13α το οποίο φέρει μια αλλυλομάδα ως πλευρική αλυσίδα (Σχήμα 21). Για τη σύνθεσή του απαιτήθηκε η παρασκευή του ακρυλικού οξέος 8α, για την οποία ακολουθήθηκε η μέθοδος του μηλονικού διαιθυλεστέρα, με δύο διαφορετικές τροποποιήσεις με στόχο να αποφευχθούν οι ενδιάμεσοι καθαρισμοί. Συγκεκριμένα, αρχικά επιχειρήθηκε αλκυλίωση του μηλονικού διαιθυλεστέρα με τη χρήση αλλυλοβρωμιδίου και βάση EtONa. Το τελικό προϊόν που περιείχε και διαλκυλιωμένο μηλονικό διαιθυλεστέρα υποβλήθηκε σε πλήρη σαπωνοποίηση. Δυστυχώς, από την αντίδραση σαπωνοποίησης εκτός από την ένωση 7α παρελήφθη και το παραπροϊόν 7α΄, δηλαδή υδρολύθηκε και ο αντίστοιχος διαλκυλιωμένος εστέρας, σε αντίθεση με άλλα υποστρώματα παρόμοιου τύπου που έχουν συντεθεί στο εργαστήριο όπου τα διαλκυλιωμένα παραπροϊόντα ανθίστανται στην υδρόλυση και απομακρύνονται με υδατική κατεργασία. Το μίγμα υποβλήθηκε σε συμπύκνωση τύπου Knoevenagel με φορμαλδεΰδη και Et<sub>2</sub>NH ως βάση όπου η ένωση **7α** μετατράπηκε στην **8α**, ενώ η **7α**΄ παρέμεινε ανέπαφη. Δυστυχώς, ο διαχωρισμός των **8α** και **7α**΄ με χρωματογραφία στήλης δεν ήταν αποτελεσματικός και για τον λόγο αυτό αναγκαστήκαμε να τροποποιήσουμε τη μέθοδο.



Σχήμα 20: Σύνθεση του ακρυλικού παραγώγου 13α.

Συγκεκριμένα, όπως περιγράφεται και στο Σχήμα 21, το μίγμα που προκύπτει από την αλκυλίωση του μηλονικού διαιθυλεστέρα αντέδρασε με 1 equiv KOH ώστε να παραληφθεί η ένωση **9α**. Σε αυτές τις ελεγχόμενες συνθήκες σαπωνοποίησης, ο διαλκυλιωμένος μηλονικός διαιθυλεστέρας δεν υδρολύεται και διαχωρίζεται από την **9α** με υδατική κατεργασία. Στη συνέχεια ακολουθεί αντίδραση τύπου Knoevenagel από την οποία προκύπτει ο ακρυλικός εστέρας **10α**. Σαπωνοποίηση του εστέρα **10α** οδηγεί στο επιθυμητό ακρυλικό οξύ **8α**, σε καθαρή μορφή, χωρίς την ανάγκη χρωματογραφικού καθαρισμού. Για την ολοκλήρωση της σύνθεσης του **13α** απαιτήθηκε η σύνθεση της 2,4-διμεθοξυβενζυλικής αλκοόλης (**12**) καθώς δείγματα εμπορικά διαθέσιμης ένωσης **12** περιείχαν πολλές προσμείξεις, γεγονός που οφείλεται στην μικρή σταθερότητα της ένωσης κατά την παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου. Έτσι, η αλκοόλη **12** παρασκευάστηκε από την ποσοτική αναγωγή της φθηνής, εμπορικά διαθέσιμης αλδεΰδης **11** με NaBH<sub>4</sub> σε MeOH και χρησιμοποιήθηκε κατευθείαν για την επόμενη αντίδραση. Δείγματα της αλκοόλης **12** αποδείχθηκαν σταθερά σε θερμοκρασία -20°C για αρκετούς μήνες.

Στο τελευταίο στάδιο της σύνθεσης, το οξύ **8α** αντέδρασε με την αλκοόλη **12** σε συνθήκες εστεροποίησης τύπου Steglich, δηλαδή με χρήση *N*,*N*-δικυκλοεξυλοκαρβοδιιμιδίου (DCC) και *N*,*N*-διμεθυλαμινοπυριδίνης (DMAP) σε διαλύτη CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> [92]. Η τελική ένωση **13α** παρελήφθη σε καθαρή μορφή έπειτα από χρωματογραφικό καθαρισμό σε απόδοση 73%.

#### 3.2.2 Πειράματα βελτιστοποίησης της αντίδρασης P-Michael.

Στο Σχήμα 22 παρουσιάζονται συνοπτικά τα στάδια που πραγματοποιούνται κατά τη διαδικασία μιας αντίδρασης P-Michael υπό σιλυλιωτικές συνθήκες και τα ερωτήματα που θελήσαμε να απαντήσουμε κατά την διερεύνηση που ακολουθεί:



Σχήμα 21: Στάδια της αντίδρασης P-Michael και ερωτήματα προς διερεύνηση.

Συγκεκριμένα, στο πρώτο στάδιο της διαδικασίας πραγματοποιείται διπλή σιλυλίωση του φωσφινικού οξέος **6α** στον δις(τριμεθυλοσιλυλο)φωσφονίτη **14**. Η επιλογή των συνθηκών σε αυτό το στάδιο θα πρέπει να εξασφαλίζει τη σταθερότητα των Fmoc και DMB ομάδων, επομένως είτε βασικές, είτε όξινες συνθήκες θα πρέπει να αποφευχθούν. Στη βιβλιογραφία αναφέρονται 3 τρόποι ενεργοποίησης σε αντίστοιχες αντιδράσεις σιλυλίωσης με: α) εξαμεθυλοδισιλαζάνιο (HMDS), β) TMSCI/DIPEA και γ) *Ν*,Ο-δις(τριμεθυλοσιλυλο)ακεταμίδιο (BSA) [11, 12, 46]. Ο συνηθέστερος τρόπος σιλυλίωσης αφορά στη χρήση HMDS, όμως αυτή η μέθοδος είναι εντελώς ακατάλληλη για τη δική μας περίπτωση, καθώς κατά την αντίδραση εκλύεται αέρια NH<sub>3</sub> που θα προκαλούσε άμεση διάσπαση της Fmoc ομάδας. Μεταξύ των δύο τελευταίων μεθόδων, επιλέχθηκε η μέθοδος με το BSA καθώς το προϊόν που παράγεται μετά τη σιλυλίωση είναι το παράγωγο ακεταμιδίου **19**, ενώ με τη χρήση TMSCI/DIPEA παράγεται κατά τη σιλυλίωση το υδροχλωρικό άλας της αμίνης, το οποίο έχει όξινο χαρακτήρα και θα μπορούσε να προκαλέσει τη διάσπαση της ομάδας DMB (Σχήμα 23).



Σχήμα 22: Σιλυλίωση με BSA και με TMSCI/DIPEA.

Στα πρώτα πειράματα χρησιμοποιήθηκε το Cbz-προστατευμένο παράγωγο **5α** και το ακρυλικό παράγωγο **13α** (Σχήμα 24). Γνωρίζοντας την πλήρη σταθερότητα της Cbz ομάδας σε αυτές τις συνθήκες, με την επιλογή αυτή θελήσαμε α) να ελέγξουμε τη σταθερότητα της DMB ομάδας και β) να παρακολουθήσουμε την ταχύτητα της μετατροπής με χρήση φασματοσκοπίας <sup>31</sup>P-NMR.

Όπως αναλύεται στο Σχήμα 24, αρχικά το αμινοφωσφινικό οξύ **5α** μετατρέπεται στο φωσφονίτη **20** λόγω της δράσης του BSA. Στο φάσμα <sup>31</sup>P-NMR, η ένωση **20** εμφανίζεται αρχικά ως μια κορυφή στα 142.3 ppm που μετατρέπεται αργά σε μια απλή στα 147.1 ppm. Εικάζεται ότι πρόκειται για δύο στροφομερή (διαμορφωμερή) της ένωσης **20** τα οποία αντιδρούν και τα δύο προς το προϊόν P-Michael. Με την πάροδο του χρόνου, εμφανίζονται 2 κορυφές σε 42.8 και 44.1 ppm οι οποίες αντιστοιχούν στον ενδιάμεσο ενολικό σιλυλαιθέρα **21**. Οι δύο κορυφές εξηγούνται από την ύπαρξη δύο στερεογονικών κέντρων που παράγουν 2 διαστερεοϊσομερικά ζεύγη εναντιομερών (συνολικά 4 στερεοϊσομερή). Τελικά, απαιτήθηκαν 17 d αντίδρασης για να επιτευχθεί μετατροπή 97%. Στο διάστημα αυτό παρατηρήθηκε ότι οι δύο κορυφές της ένωσης **21** μετατρέπονταν αργά σε ένα σετ 4 κορυφών το οποίο αντιστοιχεί στο παράγωγο **22** που έχει 3 στερεογονικά κέντρα και επομένως παράγει 4 διαστερεοϊσομερικά ζεύγη εναντιομερών. Για τον σχηματισμό της ένωσης **22** 

απαιτείται μια πηγή πρωτονίων και πιστεύεται ότι η πιο διαθέσιμη πηγή πρωτονίων είναι τα αμιδικά πρωτόνια της ένωσης **19**.



Σχήμα 23: Παρακολούθηση της αντίδρασης των 5α και 13α με BSA σε θερμοκρασία δωματίου, με χρήση φασματοσκοπίας <sup>31</sup>P-NMR.

Η αποτίμηση της τετραπλής κορυφής στον σιλυλεστέρα 22 ενισχύεται και από την ταχύτατη μετατροπή της 21 σε 22 με την προσθήκη EtOH. Γίνεται φανερό ότι ο σιλυλαιθέρας της ένωσης 21 είναι πολύ πιο ευαίσθητος από τον φωσφινικό σιλυλεστέρα ο οποίος χρειάστηκε 12 μέρες για να διασπαστεί μετά την προσθήκη της EtOH και να δώσει το τελικό προϊόν 23. Η ένωση 23 εμφανίζεται ως δύο κορυφές με αναλογία 84:16 σε χημικές μετατοπίσεις 42.6 και 42.9 ppm. Αυτό σημαίνει ότι η αντίδραση χαρακτηρίζεται από υψηλή διαστερεοεκλεκτικότητα. Η παρατήρηση αυτή

συμφωνεί με προηγούμενες παρατηρήσεις από την ερευνητική μας ομάδα όπου η χρήση βενζυλεστέρων των ακρυλικών παραγώγων μπορεί να επηρεάσει την διαστερεοεκλεκτικότητα της αντίδρασης P-Michael [93]. Με δεδομένο ότι το κύριο διαστερεοϊσομερές αντιστοιχεί στη σχετική στερεοχημεία που έχουν τα φυσικά πεπτίδια, η μέθοδος χαρακτηρίζεται από ένα επιπλέον πλεονέκτημα σε σχέση με τις υπάρχουσες μεθόδους.

Αν και στη βιβλιογραφία αναφέρεται εκτενώς ότι η προσθήκη ΕtOH στο μίγμα της αντίδρασης P-Michael είναι ικανή να διασπάσει τους φωσφινικούς σιλυλεστέρες, εμείς παρατηρήσαμε μια ισχυρή ανθεκτικότητα καθώς 12 ημέρες μετά την προσθήκη της EtOH η διάσπαση προχώρησε ~70%. Έτσι, προκειμένου να επιτευχθεί πλήρης διάσπαση του σιλυλεστέρα διερευνήθηκε η δυνατότητα έκπλυσης με υδατικό διάλυμα HCl 1M και διαπιστώθηκε, έπειτα από χρωματογραφικό έλεγχο, ότι ο DMB εστέρας παραμένει σταθερός, αρκεί οι εκπλύσεις να γίνουν σε σύντομο χρονικό διάστημα. Συγκεκριμένα, παραμονή του προϊόντος **23** σε ένα διφασικό σύστημα AcOEt/HCl 1M αρχίζει να προκαλεί αποικοδόμηση σε ~1h, στις 3h η διάσπαση εκτιμάται από TLC ~50%, ενώ έπειτα από 3 d η αποικοδόμηση είναι ποσοτική.

Ιδιαίτερα εντυπωσιακή ήταν και η αργή μετατροπή που παρατηρήθηκε κατά την αντίδραση του **5α** προς το προϊόν **23**. Είναι ενδιαφέρον ότι στις λιγοστές βιβλιογραφικές αναφορές που εντοπίστηκαν να γίνεται χρήση του BSA για ανάλογες αντιδράσεις, οι χρόνοι αντίδρασης κυμαίνονταν μεταξύ 24-48 h [39, 94, 95]. Στη δική μας περίπτωση, όπως φαίνεται στο Σχήμα 24, τέτοιοι χρόνοι αντίδρασης είναι ανεπαρκείς για πλήρη μετατροπή. Επίσης, οι Chen et al. αναφέρουν ότι η αντίδραση με BSA μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε σε θερμοκρασία δωματίου είτε στους 70°C [39], έτσι αποφασίσαμε να ελέγξουμε το ρόλο της θερμοκρασίας στη δυνατότητα επιτάχυνσης της αντίδρασης. Για την αντίδραση χρησιμοποιήθηκε το Cbz-προστατευμένο παράγωγο **5α**, για λόγους σύγκρισης με την αντίδραση του Σχήματος 24, αλλά και το Fmoc-προστατευμένο παράγωγο **6α** ώστε να ελεγχθεί η σταθερότητα της Fmoc-ομάδας σε αυτές τις συνθήκες (Σχήμα 25). Πρέπει να αναφερθεί ότι στις βιβλιογραφικές αναφορές που γίνεται χρήση BSA χρησιμοποιούνται αποκλειστικά Cbz-προστατευμένα αμινοφωσφινικά ανάλογα, επομένως η διερεύνηση της σταθερότητας της Fmoc ομάδας στις συνθήκες αντίδρασης είναι ιδιαίτερης σημασίας.

50



Σχήμα 24: Αντιδράσεις των 5α/13α και 6α/13α με BSA σε 45-50 °C.

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε η αντίδραση του **5**α σε διαλύτη CDCl<sub>3</sub> ώστε να παρακολουθήσουμε την εξέλιξή της με φασματοσκοπία <sup>31</sup>P-NMR (Σχήμα 25). Παρατηρήθηκε ότι με ήπια θέρμανση (45-50°C) μπορεί να επιτευχθεί 80% μετατροπή σε διάστημα 2 d, ενώ πλήρης μετατροπή διαπιστώθηκε σε 6 d, δηλαδή σε διάστημα σαφώς μικρότερο από αυτό που απαιτήθηκε για πλήρη μετατροπή σε θερμοκρασία δωματίου. Έπειτα από διακοπή της αντίδρασης και υδατική κατεργασία, επιχειρήθηκε το τελικό προϊόν σε απόδοση 46%. Η χαμηλή απόδοση αποδόθηκε στην μικρή κλίμακα που εκτελέστηκε το πείραμα (20 mg της ένωσης **5**α).

Στη συνέχεια, εφαρμόστηκαν οι ίδιες συνθήκες στην αντίδραση του Fmocπαραγώγου **6α**, όπου παρατηρήσαμε διαφορετική συμπεριφορά από το Cbzπαράγωγο **5α**. Αν και διαπιστώθηκε πλήρης μετατροπή του φωσφονίτη σε διάστημα 3 d, δεν ήταν δυνατός ο εντοπισμός προϊόντος στο μίγμα της αντίδρασης είτε από NMR, είτε από TLC. Επανάληψη της αντίδρασης, αυτήν τη φορά σε  $CH_2CI_2$ , οδήγησε σε μίγμα από το οποίο απομονώθηκε σε μικρό ποσοστό με χρωματογραφία στήλης ένα προϊόν που δεν αντιστοιχούσε στην επιθυμητή ένωση **18α**. Λόγω της δυσδιαλυτότητας του παραπροϊόντος δεν ήταν εφικτός ο χαρακτηρισμός του με φασματομετρία MS, όμως από το φάσμα <sup>1</sup>H-NMR διαπιστώθηκε ότι η δομή του αντιστοιχεί στο παραπροϊόν **25** (Σχήμα 26). Το παραπροϊόν αυτό προϋποθέτει διάσπαση της Fmoc ομάδας και παραγωγή 9-μεθυλενοφλουορενίου, γεγονός που επιβεβαιώνεται από την παρουσία μια απλής κορυφής σε ~6.0 ppm στο φάσμα <sup>1</sup>H-NMR του μίγματος αντίδρασης (d<sub>6</sub>-DMSO) που αντιστοιχεί στα μεθυλενικά πρωτόνια του 9-μεθυλενοφλουορένιου (**24**). Η διάσπαση πραγματοποιείται κατά τη διάρκεια της

51

αντίδρασης, όπως προέκυψε από εξέταση των φασμάτων <sup>1</sup>Η NMR που ελήφθησαν κατά την παρακολούθηση της αντίδρασης όπου εντοπίζεται η απλή κορυφή των μεθυλενικών πρωτονίων του **24**. Η λεπτομέρεια του φάσματος <sup>1</sup>Η NMR δίνεται στην Εικόνα 12 και παρατίθεται συγκριτικά με το αντίστοιχο φάσμα της αντίδρασης με το Cbz-παράγωγο **5α** που ασφαλώς δεν μπορεί να εμφανιστεί η αντίστοιχη κορυφή.



Σχήμα 25: Σχηματισμός του παραπροϊόντος 25.



Εικόνα 13: Σχηματισμός παραγώγου 24 κατά την αντίδραση των 6α + 13α με BSA σε 45-50 °C και σύγκριση με την αντίδραση των 5α + 13α.

Προκειμένου να διαπιστωθεί το ποσοστό απομάκρυνσης της Fmoc ομάδας από το BSA σε ένα απλούστερο μοντέλο αντίδρασης, πραγματοποιήθηκε η αντίδραση του **6α** με τον εμπορικά διαθέσιμο μεθακρυλικό αιθυλεστέρα. Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε στους 45-50 °C και σε θερμοκρασία δωματίου και διαπιστώθηκε ότι η διάσπαση της Fmoc ομάδας είναι εμφανής σε μόλις 24h και σε θερμοκρασία δωματίου, αν και σε πολύ μικρότερο ποσοστό απ'ότι σε συνθήκες θέρμανσης (Σχήμα 27).



Σχήμα 26: Σχηματισμός παραγώγου 24 κατά την αντίδραση του 6α με μεθακρυλικό αιθυλεστέρα με χρήση BSA σε 45-50 °C και 25 °C.

Μετά από τις ανωτέρω αποτυχημένες προσπάθειες, αποφασίσαμε να ελέγξουμε το σιλυλιωτικό σύστημα TMSCI/DIPEA που ήταν η 2<sup>η</sup> επιλογή μας καθώς αρχικά υποθέσαμε ότι το υδροχλωρικό άλας της DIPEA, που παράγεται κατά τη σιλυλίωση (Σχήμα 23), είναι ενδεχομένως αρκετά όξινο ώστε να διασπάσει τον DMB εστέρα της ένωσης **13α**. Προς μεγάλη μας έκπληξη, δεν παρατηρήθηκε καθόλου διάσπαση της DMB ομάδας, αντίθετα διαπιστώθηκε και σ'αυτήν την περίπτωση ο σχηματισμός του 9-μεθυλενοφλουορενίου **24** που υποδηλώνει διάσπαση της Fmoc ομάδας. Σε σχέση με το BSA, η χρήση TMSCI/DIPEA βελτίωσε σημαντικά την ταχύτητα μετατροπής καθώς σε 3 d ήταν 90%, ενώ η αντίδραση ολοκληρώθηκε σε 5 d. Με βάση τη θετική επίδραση στην ταχύτητα της αντίδρασης που παρατηρήσαμε με τη χρήση του TMSCI, θελήσαμε να δούμε εάν ο συνδυασμός του BSA με το TMSCI θα μπορούσε να παράγει ένα αντίστοιχο αποτέλεσμα. Πράγματι, και σε αυτήν την περίπτωση η αντίδραση ολοκληρώθηκε σε 5 d. Αυτό, όμως, που ήταν ιδιαιτέρως ευχάριστο, ήταν ότι δεν παρατηρήθηκε καθόλου διάσπαση της Fmoc ομάδας, όπως φαίνεται χαρακτηριστικά στα φάσματα <sup>1</sup>Η NMR του Σχήματος 28.



11 (μρπ)

Σχήμα 27: Φάσματα <sup>1</sup>Η NMR των μιγμάτων αντίδρασης των 6α + 13α με χρήση TMSCI/DIPEA (Συνθήκες Α) και BSA/TMSCI (Συνθήκες Β).

Έπειτα από αναζήτηση στη βιβλιογραφία, δεν εντοπίστηκε ανάλογο παράδειγμα χρήσης συνδυασμού BSA/TMSX σε αντιδράσεις σχηματισμού P-C, εντούτοις το 1997 ερευνητές από τη φαρμακευτική εταιρία Bristol-Myers-Squibb δημοσίευσαν μια βελτιωμένη συνθετική πορεία του φωσφινικού αντιυπερτασικού Monopril όπου χρησιμοποίησαν τον συνδυασμό HMDS/TMSCI για τον σχηματισμό του δεσμού P-C μέσω μιας αντίδρασης Arbuzov [96]. Μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί στο εργαστήριό μας, από τον υποψήφιο διδάκτορα Κωνσταντίνο Βορεάκο, έχουν δείξει ότι η χρήση οξέων Lewis μπορεί να επιταχύνει την αντίδραση P-Michael σε σιλυλιωτικές συνθήκες. Είναι γνωστό ότι το TMSCI συμπεριφέρεται ως οξύ Lewis [97], επομένως πιστεύουμε ότι ο ρόλος του TMSCI στην αντίδραση δεν είναι σιλυλιωτικός, αλλά δρα ως οξύ Lewis επιταχύνοντας το βήμα της sila-Arbuzov μετάθεσης (π.χ. 15  $\rightarrow$  16, Σχήμα 22). Εξ'άλλου η επιτάχυνση αντιδράσεων Arbuzov από οξέα Lewis έχει αναφερθεί βιβλιογραφικά στο παρελθόν [98, 99]. Επιπλέον, ως οξύ Lewis το TMSCI φαίνεται να μην επιτρέπει τη δημιουργία βασικών συνθηκών (λόγω του BSA) που προκαλούν τη διάσπαση της Fmoc ομάδας. Έτσι, σε συνδυασμό με το γεγονός ότι η παρουσία TMSCI δεν προκάλεσε διάσπαση της DMB ομάδας, η χρήση BSA/TMSCI φαίνεται να αποτελεί την κατάλληλη επιλογή για την υπό μελέτη αντίδραση P-Michael.

### 3.3 Ολοκλήρωση της σύνθεσης του 18α - Βελτιστοποίηση

Κατά την διερεύνηση της αντίδρασης P-Michael διαπιστώθηκε ότι το προϊόν της αντίδρασης **18α** παρουσιάζει αυξημένη αστάθεια λόγω διάσπασης του DMB εστέρα. Το φαινόμενο αυτό παρατηρήθηκε ακόμα και κατά τη διάρκεια της συμπύκνωσης του προϊόντος με ήπια θέρμανση μετά την κατεργασία και αποδόθηκε στην οξύτητα της φωσφινικής ομάδας η οποία επάγει την απομάκρυνση της DMB προστασίας. Με αυτό το δεδομένο, θεωρήσαμε ότι η προσπάθεια απομόνωσης του προϊόντος **18α** με χρωματογραφία στήλης θα οδηγούσε σε απώλειες λόγω της παρατεταμένης επαφής με την όξινη silica, της αναγκαστικής χρήσης AcOH στο σύστημα έκλουσης και της θέρμανσης για την απομάκρυνση των διαλυτών κατά τη συλλογή των κλασμάτων. Εξετάσαμε λοιπόν το ενδεχόμενο της απευθείας χρήσης του ακαθάριστου προϊόντος **18α** μετά την κατεργασία στην αντίδραση αδαμαντυλίωσης. Τα αποτελέσματα της διερεύνησης συνοψίζονται στον Πίνακα 1:

Πίνακας 1: Διερεύνηση αντίδρασης αδαμαντυλίωσης του παραγώγου 18α.

Fmoc <sup>-N</sup> PhOH OH OH OH	1-AdBr, Ag <sub>2</sub> O	Fmoc N P ODMB Ph ODMB	Fmoc <sup>-N</sup> PhOAd PhOAd OAd
18α		26α	·;

(ακαθάριστο προϊόν)

	1-AdBr (equiv)	Ag₂O (equiv)	Χρόνος	Παρατηρήσεις
1	-	-	1h	πλήρης διάσπαση DMB
2	-	1.2	1h	καμία αντίδραση
3	1.2	1.2 (προσθήκη επί 1h)	8h	μερική διάσπαση Fmoc (εντοπισμός <b>24</b> , από <sup>1</sup> Η NMR), σχηματισμός <b>27</b> , από MS
4	1.2 + 0.8(έπειτα από 40 min)	1.2 + 0.8(έπειτα από 40 min, προσθήκη επί 1h)	5h	μερικός σχηματισμός <b>27</b> (TLC)
5	1.2 + 0.8(έπειτα από 40 min)	1.2 + 0.8(έπειτα από 40 min)	2h	πλήρης μετατροπή, δεν ανιχνεύονται παραπροϊόντα

Αρχικά, προκειμένου να ελεγχθεί η σταθερότητα της ένωσης **18α** στις συνθήκες θέρμανσης που επικρατούν κατά την αντίδραση εισαγωγής της αδαμαντυλομάδας, με βάση το κλασικό πρωτόκολλο που έχει αναπτυχθεί στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας, το ακαθάριστο προϊόν **18α** τέθηκε σε βρασμό με αναρροή σε διαλύτη CHCl<sub>3</sub> όπου διαπιστώθηκε η πλήρης διάσπαση της ομάδας DMB έπειτα από 1 h (Πίνακας 1, καταχώρηση 1). Προφανώς, σε αυτές τις συνθήκες, η διάσπαση της ομάδας DMB προάγεται από την ομάδα του φωσφινικού οξέος της ένωσης 18α. Κατά την επανάληψη του πειράματος παρουσία Ag<sub>2</sub>O (βρασμός επί 1 h) η ένωση 18α αποδειχθηκε σταθερή, καθώς σε αυτές τις συνθήκες το μετά αργύρου φωσφινικό άλας που δημιουργείται "προστατεύει" την ομάδα DMB από αποικοδόμηση (Πίνακας 1, καταχώρηση 2). Προσπάθεια εφαρμογής της κλασικής διαδικασίας που περιλαμβάνει αρχικά προσθήκη του 1-AdBr και στη συνέχεια σταδιακή προσθήκη του Aq<sub>2</sub>O σε διάστημα 1h, οδήγησε στο επιθυμητό προϊόν με ταυτόχρονο σχηματισμό παραπροϊόντων (Πίνακας 1, καταχώρηση 3). Συγκεκριμένα, στο φάσμα <sup>1</sup>H-NMR διαπιστώθηκε η ύπαρξη της χαρακτηριστικής κορυφής των μεθυλενικών πρωτονίων της ένωσης 24 που φανερώνει την μερική διάσπαση της Fmoc ομάδας. Ταυτόχρονα, από φάσμα MS παρατηρήθηκε ο σχηματισμός της ένωσης 27, η οποία προέρχεται από διάσπαση της DMB ομάδας και ακόλουθη προσθήκη της Ad ομάδας. Ο σχηματισμός των παραπροϊόντων έγινε αντιληπτός και κατά τον έλεγχο της αντίδρασης με TLC, έως την πλήρη κατανάλωση του 18α που απαίτησε 8h. Έτσι, προκειμένου να μειώσουμε τον χρόνο αντίδρασης, αυξήσαμε τις ποσότητες των αντιδραστηρίων σε 2 equiv (1.2 equiv αρχικά, και 0.8 equiv έπειτα από 40 min με σταδιακή προσθήκη για την περίπτωση του Ag<sub>2</sub>O). Μετά από 5 h δεν παρατηρήθηκε διάσπαση του Fmoc, όμως, σε μικρό ποσοστό, σχηματίστηκε το παραπροϊόν 27 (Πίνακας 1, καταχώρηση 4). Ο σχηματισμός του τελευταίου φαίνεται να αναστέλλεται εάν δεν γίνει σταδιακή προσθήκη του Aq2O (προσθήκη σε 2 δόσεις, 1.2 equiv εξ'αρχής και 0.8 equiv έπειτα από 40 min), οπότε η αντίδραση ολοκληρώνεται σε 2 h και αποφεύγεται ο παρατεταμένος βρασμός.

Παρακάτω, παρατίθεται ο μηχανισμός της αντίδρασης αδαμαντυλίωσης (Σχήμα 29). Πρόκειται για μια αντίδραση  $S_N$ 1 μέσω του μη επίπεδου καρβοκατιόντος **28** το οποίο σταθεροποιείται λόγω της αλληλεπίδρασης του κενού ρ τροχιακού που εκτείνεται στο κέντρο του αδαμαντανίου με τους πίσω λοβούς των sp<sup>3</sup> τροχιακών των δεσμών C-H, όπως έχει προταθεί από τους Fort και Schleyer [100].

56



Σχήμα 28: Μηχανισμός αντίδρασης αδαμαντυλίωσης.

Στο επόμενο στάδιο διερευνήθηκε απομάκρυνσης της ομάδας DMB με χρήση 2% TFA σε διαλύτη CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, όπως φαίνεται στο Σχήμα 30.



Σχήμα 29: Αντίδραση απομάκρυνσης της ομάδας DMB.

Με παρακολούθηση της αντίδρασης με TLC διαπιστώθηκε ότι 20 min ανάδευσης του DMB παραγώγου 26α με 2% TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ήταν αρκετά για να απομακρύνουν την DMB ομάδα με πλήρη εκλεκτικότητα σε σχέση με την Ad ομάδα. Προκειμένου να αποφευχθούν πιθανές παράπλευρες αντιδράσεις, εξετάστηκε η χρήση H<sub>2</sub>O ή τριισοπροπυλοσιλανίου (TIS) ως ένωση παγίδας των 2,4-διμεθοξυβενζυλικών κατιόντων (scavenger). Αν και στην συγκεκριμένη αντίδραση δεν παρατηρήθηκε κάποια διαφορά της αντίδρασης με ή χωρίς scavenger, εν τούτοις η χρήση της κρίθηκε απαραίτητη ώστε η μέθοδος να μπορεί να εφαρμοστεί και σε περιπτώσεις που μπορεί να είναι προβληματικές. Παρατηρήθηκε όμως διαφορά στην εικόνα του μίγματος αντίδρασης σε ό,τι αφορά τα παραπροϊόντα που προέρχονται από το DMB καθώς στην περίπτωση που χρησιμοποιήθηκε H<sub>2</sub>O παρατηρήθηκε ο σχηματισμός στερεών, ενώ με TIS δημιουργήθηκαν μόνο ευδιάλυτα άπολα παραπροϊόντα. Προσπάθεια απομόνωσης του τελικού προϊόντος 29α είτε με χρωματογραφία στήλης είτε με καταβυθίσεις με ΡΕ, χωρίς να έχει προηγηθεί καθαρισμός στο στάδιο της αδαμαντυλίωσης, απέβησαν άκαρπες. Το μίγμα της αντίδρασης αδαμαντυλίωσης ήταν ήδη επιβαρυμένο καθώς δεν είχε προηγηθεί καθαρισμός και στο στάδιο της Ρ-

Michael. Έτσι, κρίθηκε αναγκαίος ο καθαρισμός στο στάδιο της αδαμαντυλίωσης, οπότε η απομόνωση του τελικού προϊόντος **29α** με χρωματογραφία στήλης μετά την αποπροστασία κατέστη εφικτή χωρίς προβλήματα.

### 3.4 Διερεύνηση της μεθοδολογίας – Επιλογή ενώσεων-στόχων

Οι ενώσεις τύπου **29** που επιλέχθησαν για την διερεύνηση της ευρύτητας της μεθόδου της προτεινόμενης μεθοδολογίας παρατίθενται στην Εικόνα 13:



Εικόνα 14: Ενώσεις-στόχοι για την διερεύνηση της ευρύτητας της προτεινόμενης μεθοδολογίας.

Η επιλογή των ενώσεων-στόχων τύπου 29 έγινε με γνώμονα τις δυσκολίες που περιλαμβάνει η σύνθεσή τους με τις υπάρχουσες συνθετικές μεθοδολογίες. Έτσι, οι ενώσεις 29α, ζ και η περιέχουν στη δομή τους έναν πολλαπλό δεσμό, γεγονός που αποκλείει την χρήση οποιουδήποτε συνθετικού σχήματος που περιέχει συνθήκες υδρογόνωσης, όπως είναι οι υπάρχουσες μεθοδολογίες που παρουσιάστηκαν στην Παράγραφο 2.4. Ευπαθή σε συνθήκες υδρογόνωσης μπορεί να είναι και τα αρυλοαλογονίδια (π.χ. ένωση 29β) και ιδιαίτερα τα βρωμοπαράγωγα, όπως αναφέρεται σε πρόσφατη κινητική μελέτη από τον Μα και τους συνεργάτες του [101]. Το ίδιο ισχύει και για τους ισοξαζολικούς δακτυλίους (π.χ. ένωση 29δ) που μπορεί να υποστούν αναγωγή του δεσμού Ν-Ο. Αν και συνήθως απαιτούνται εντονότερες συνθήκες γι' αυτήν τη μετατροπή ή χρήση καταλύτη Raney Ni, εντούτοις έχουν αναφερθεί περιπτώσεις που μπορεί να συμβεί με καταλύτη Pd/C [102]. Επίσης, απαγορευτική είναι η χρήση συνθηκών υδρογόνωσης και στην περίπτωση του βενζυλο προστατευμένου αιθερικού παραγώγου 29γ και εστερικού παραγώγου 29ε, καθιστώντας την προτεινόμενη μέθοδο κατάλληλη για τέτοιες ενώσεις. Επίσης, η χρήση καταλύτη Pd/C δεν είναι συμβατή με την παρουσία θειοαιθέρων, όπως στην ένωση-στόχο 29θ, καθώς είναι γνωστό ότι αυτές οι ομάδες δηλητηριάζουν τον καταλύτη. Ενδιαφέρον παρουσιάζουν και οι περιπτώσεις των ενώσεων 29ι, 29κ και 29λ καθώς περιλαμβάνουν στη δομή τους ομάδες ευαίσθητες σε όξινες συνθήκες, με την Βος ομάδα να είναι η περισσότερο ευαίσθητη. Οι ενώσεις αυτές αποτελούν κατάλληλα υποστρώματα για να ελεγχθεί η δυνατότητα ορθογωνικότητας της μεθόδου που αναπτύσσουμε σε σχέση με τις συνήθεις προστατευτικές ομάδες <sup>t</sup>Bu και Boc που χρησιμοποιούνται ευρέως στην πεπτιδική σύνθεση σε στερεά φάση με την Fmoc στρατηγική.

#### 3.5 Σύνθεση των αρχικών ακρυλικών και φωσφινικών υποστρωμάτων

Οι δομές των αρχικών ακρυλικών DMB-εστέρων και Fmoc-προστατευμένων φωσφινικών οξέων που απαιτήθηκαν για τη σύνθεση των ενώσεων στόχων της Εικόνας 13, φαίνονται συνοπτικά στην Εικόνα 14:

59



Εικόνα 15: Ενώσεις-στόχοι για την διερεύνηση της ευρύτητας της προτεινόμενης μεθοδολογίας.

Για τη σύνθεση των ακρυλικών παραγώγων τύπου **13** ήταν απαραίτητη η σύνθεση των αντίστοιχων ακρυλικών οξέων τύπου **8** ώστε να χρησιμοποιηθούν σε μια αντίδραση σύζευξης με την αλκόολη **12**, όπως ήδη περιγράφηκε για τη σύνθεση του **13α**. Ο στόχος αυτός δεν κατέστη εφικτός μόνο για την ένωση **13η**, όπως θα περιγραφεί παρακάτω. Για την ένωση **13ζ**, το αντίστοιχο ακρυλικό οξύ **8ζ** ήταν διαθέσιμο στο εργαστήριο, ενώ το μεθακρυλικό οξύ που χρειάστηκε για τη σύνθεση της ένωσης **13θ** ήταν εμπορικά διαθέσιμο.

#### 3.5.1 Σύνθεση των ακρυλικών οξέων 8β, 8δ και 8ι.

Για τα ακρυλικά οξέα **8β**, **8δ** και **8ι** χρησιμοποιήθηκε το πρωτόκολλο του μηλονικού διαιθυλεστέρα, όπως ήδη περιγράφηκε για την ένωση **8α** (Σχήμα 21), προσαρμοσμένο στις απαιτήσεις της κάθε περίπτωσης [103]. Έτσι, για τη σύνθεση του **8β**, πραγματοποιήθηκε αρχικά αλκυλίωση του μηλονικού διαιθυλεστέρα με το 4-βρωμοβενζυλοβρωμίδιο με χρήση EtONa ως βάση ώστε να παραληφθεί το αλκυλιωμένο παράγωγο **6β** (Σχήμα 31). Για τη σύνθεση του **6ι**, η αρχική αποπρωτονίωση του μηλονικού διαιθυλεστέρα ΝαΗ

μετεστεροποίηση εάν ως βάση χρησιμοποιούσαμε το EtONa [104]. Τα παράγωγα **6β** και **6ι** υπεβλήθησαν χωρίς περαιτέρω καθαρισμό σε πλήρη σαπωνοποίηση χρησιμοποιώντας 5 equiv KOH για το **6β** και 3 equiv KOH για το πιο ευαίσθητο σε συνθήκες σαπωνοποίησης υπόστρωμα **6ι** λόγω του πλευρικού *tert*-βουτυλεστέρα. Εφαρμογή της αντίδρασης Knoevenagel με χρήση παραφορμαλδεΰδης οδήγησε στα τελικά καρβοξυλικά οξέα **8β** και **8ι** σε αποδόσεις 57% και 84%, αντίστοιχα (Σχήμα 31).



Σχήμα 30: Σύνθεση των ακρυλικών οξέων 8β και 8ι.

Για τη σύνθεση του ακρυλικού οξέος **6δ** εφαρμόστηκε μια αντίδραση 1,3-διπολικής κυκλοπροσθήκης (1,3-DCR) της ένωσης **6ζ**, η οποία ήταν διαθέσιμη στο εργαστήριό μας, με το οξείδιο του βενζονιτριλίου ως δίπολο (Σχήμα 32) [30]. Το τελευταίο σχηματίζεται *in situ* από την χλωρίωση με NCS και ακόλουθη αφυδραλογόνωση της οξίμης της βενζαλδεϋδης (**30**) παρουσία βάσης. Το προϊόν **6δ** απομονώθηκε με χρωματογραφία στήλης όπου διαχωρίστηκε εύκολα από τον πιο άπολο μηλονικό διαιθυλεστέρα. Ακολούθησε πλήρης σαπωνοποίηση και εφαρμογή της αντίδρασης Κnoevenagel, όμοια με τη μέθοδο που ακολουθήθηκε κατά την παρασκευή των ενώσεων **8α** και **8ι**. Το τελικό προϊόν **8δ** απομονώθηκε χωρίς χρωματογραφικό καθαρισμό σε απόδοση 2 σταδίων 71%.



Σχήμα 31: Σύνθεση του ακρυλικού οξέος 8δ.

#### 3.5.2 Σύνθεση των ακρυλικού οξέος 8λ.

Για τη σύνθεση του ακρυλικού οξέος **8λ** ακολουθήθηκε ένα διαφορετικό συνθετικό πρωτόκολλο το οποίο περιγράφεται στο Σχήμα 33 [105]. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε ο μεθανοτρικαρβοξυλικός τριαιθυλεστέρας (**34**, TMT) για την αρχική αλκυλίωση, αντί του μηλονικού διαιθυλεστέρα, καθώς σε προηγούμενη εργασία του εργαστηρίου, στις ισχυρότερες συνθήκες που απαιτεί η αποπρωτονίωση του μηλονικού διαιθυλεστέρα έχει παρατηρηθεί κυκλοποίηση (λακταμοποίηση) με την πλευρική αλυσίδα.



Σχήμα 32: Σύνθεση του ακρυλικού οξέος 8λ.

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε προστασία της αμινομάδας της 3-βρωμοπροπυλαμίνης με την Boc ομάδα, με χρήση Boc<sub>2</sub>O/Et<sub>3</sub>N σε DCM. Ακολούθησε αποπρωτονίωση του τρικαρβοξυλικού αιθυλεστέρα **34** με την επίδραση K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> σε μίγμα DMF/τολουολίου και *in situ* αλκυλίωση από το βρωμίδιο **33**. Σαπωνοποίηση του τριεστέρα **35λ** παρουσία KOH/EtOH και συμπύκνωση Knoevenagel του παραγόμενου διοξέος **7λ** οδήγησε στο ακρυλικό οξύ **8λ** σε απόδοση 4 σταδίων 49%.

# 3.5.3 Σύνθεση του ακρυλικού οξέος 13γ και ανεπιτυχείς προσπάθειες σύνθεσης του αναλόγου 13γ΄.

Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 14, ένας από τους συνθετικούς στόχους μας ήταν η σύνθεση ενός παραγώγου που να φέρει έναν βενζυλαιθέρα στην πλευρική αλυσίδα. Έτσι, συντέθηκε το ακρυλικό οξύ **8γ** το οποίο φέρει πλευρική αλυσίδα που αντιστοιχεί στο βενζυλο-προστατευμένο ανάλογο της ομοσερίνης (hSer) (Εικόνα 15). Αρχικά όμως, προσπαθήσαμε να συνθέσουμε το παράγωγο **8γ**΄ που αντιστοιχεί στο βενζυλο-προστατευμένο ανάλογο της σερίνης (Ser), χωρίς επιτυχία (Εικόνα 15).



Εικόνα 16: Δομές ακρυλικών οξέων 8γ και 8γ΄.

Συγκεκριμένα, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 34, με στόχο τη σύνθεση του **8γ**΄ επιχειρήθηκε η εφαρμογή της μεθόδου του μηλονικού διαιθυλεστέρα ξεκινώντας από την αλκυλίωση του τελευταίου από το χλωρίδιο **36**. Όμως, η αντίδραση οδήγησε σε ένα πολύπλοκο μίγμα, είτε όταν διεξήχθη σε θερμοκρασία δωματίου είτε στους 50-60 °C, από το οποίο δεν καταφέραμε να απομονώσουμε την επιθυμητή ένωση. Στη συνέχεια στραφήκαμε στην μέθοδο αλκυλίωσης του τριεστέρα TMT όπου και σε αυτήν την περίπτωση δεν παρελήφθη το προϊόν **7γ**΄ μετά και το στάδιο της σαπωνοποίησης.



Σχήμα 33: Προσπάθειες σύνθεσης των 6γ΄ και 7γ΄.

Θεωρώντας ότι αυτή η συμπεριφορά μπορεί να οφείλεται στην απόσταση της αιθερικής ομάδας από το μηλονικό παράγωγο, εγκαταλείψαμε τις προσπάθειες σύνθεσης του αναλόγου της σερίνης **8**γ΄ και στραφήκαμε στο ανάλογο της ομοσερίνης **8**γ. Η σύνθεση του τελευταίου πραγματοποιήθηκε επιτυχώς, όπως περιγράφεται στο Σχήμα 35.



Σχήμα 34: Σύνθεση του ακρυλικού οξέος 8γ.

Έτσι, ξεκινώντας από αιθυλενογλυκόλη πραγματοποιήθηκε μονοαιθεροποίηση με βενζυλοβρωμίδιο [106] και η αλκοόλη **38** που προέκυψε υποβλήθηκε σε βρωμίωση

με χρήση NBS/PPh<sub>3</sub>, δηλαδή μια παραλλαγή της αντίδρασης Appel [107]. Με την παραπάνω πορεία 2 σταδίων το βρωμίδιο **39** παρελήφθη σε απόδοση 70% και εν συνεχεία χρησιμοποιήθηκε επιτυχώς σε αντίδραση αλκυλίωσης του τριεστέρα TMT. Ακολούθησε σαπωνοποίηση με ταυτόχρονη αποκαρβοξυλίωση και αντίδραση συμπύκνωσης Knoevenagel, όπως είδαμε και στην περίπτωση του οξέος **8λ**, και το επιθυμητό ακρυλικό οξύ **8γ** παρελήφθη σε απόδοση 73% (Σχήμα 35).

#### 3.5.4 Σύνθεση του ακρυλικού οξέος 8ε.

Επόμενο στόχο αποτέλεσε η σύνθεση του ακρυλικού οξέος **8ε** που είναι απαραίτητο για τη σύνθεση του ακρυλικού εστέρα **13ε**. Και σε αυτήν την περίπτωση, το **8ε** του οποίου η πλευρική αλυσίδα αντιστοιχεί σε αυτήν ενός βενζυλο-προστατευμένου παραγώγου γλουταμικού οξέος (Glu) δεν ήταν ο αρχικός μας στόχος, όμως καταλήξαμε εκεί λόγω αδυναμίας σύνθεσης των DMB-εστέρων των ακρυλικών οξέων **Bn-8ε**΄ και **PMB-8ε**΄, δηλαδή παραγώγων που φέρουν προστατευμένες πλευρικές αλυσίδες οι οποίες αντιστοιχούν σε ανάλογα του ασπαρτικού οξέος (Asp) (Εικόνα 16).



Εικόνα 17: Δομές ακρυλικών οξέων 8γ και 8γ΄.

Η αρχική μας επιλογή (ανάλογα Asp) βασίστηκε στην αμεσότητα της ρετροσυνθετικής ανάλυσης που περιγράφεται στο Σχήμα 36 και περιλαμβάνει την τοποεκλεκτική διάνοιξη του ιτακονικού ανυδρίτη, μιας γνωστής «βιώσιμης» χημικής δομικής μονάδας, είτε από την βενζυλική αλκοόλη, για την περίπτωση του **Bn-8ε**<sup>′</sup>, είτε από την 4-μεθοξυ βενζυλική αλκοόλη, για την περίπτωση του **PMB-8ε**<sup>′</sup>.



Σχήμα 35: Ρετροσυνθετική ανάλυση για τα παράγωγα Asp Bn-8ε΄ και PMB-8ε΄.

Στη βιβλιογραφία έχει αναφερθεί στο παρελθόν η σύνθεση των **Bn-8ε** [108] και **PMB-8ε** [109] με βάση την ρετροσύνθεση του Σχήματος 36, αναφέρεται όμως ότι η αντίδραση δεν είναι τοποειδική και σε μικρό ποσοστό λαμβάνονται παραπροϊόντα λόγω της προσβολής της αλκοόλης στο συζυγιακό καρβονύλιο του ιτακονικού ανυδρίτη. Έτσι, η απομόνωση των τελικών προϊόντων βασίζεται σε μεγάλο βαθμό στις φυσικές ιδιότητές τους.



Σχήμα 36: Προσπάθειες σύνθεσης των παραγώγων Bn-8ε΄ και PMB-8ε΄.

Συγκεκριμένα, η απομόνωση της ένωσης **PMB-8ε**΄ πραγματοποιήθηκε χωρίς πρόβλημα καθώς καταβυθίζεται ως κρυσταλλικό στερεό από το μίγμα της αντίδρασης, όπως ακριβώς αναφέρεται και στη βιβλιογραφία [109] (Σχήμα 37). Αντίθετα, για το **Bn-8ε**΄ διαπιστώθηκε διαφορετική συμπεριφορά σε συνθήκες

κρυστάλλωσης καθώς αποδείχτηκε πιο ευδιάλυτο, ενώ το στερεό που απομονώθηκε σε χαμηλό ποσοστό με αργή εξάτμιση από Et<sub>2</sub>O περιείχε εκτός από την επιθυμητή ουσία και το τοποϊσομερές **40**. Παρόμοια δυσκολία στην απομόνωση του **Bn-8ε**' από το τοποϊσομερές **40** αναφέρθηκε πρόσφατα και από την ερευνητική ομάδα του Hoye, όπου τελικά απομόνωσαν σε μικρό μόνο ποσοστό την ένωση **Bn-8ε**' έπειτα από χρωματογραφία MPLC [108]. Δυστυχώς, προσπάθεια εστεροποίησης με DMB-OH είτε της ένωσης **PMB-8ε**', είτε του μίγματος των **Bn-8ε**' + **40** (με στόχο των διαχωρισμό των τοποϊσομερών μετά την εστεροποίηση) αποδείχτηκαν ανεπιτυχείς καθώς, παρόλο που διαπιστώθηκε ο σχηματισμός των επιθυμητών ενώσεων με φασματοσκοπία NMR, δεν κατέστη δυνατή η απομόνωσή τους από το μίγμα της αντίδρασης.

Πρέπει να αναφερθεί ότι οι προσπάθειες εστεροποίησης των παραγώγων **PMB-8ε**΄ και **Bn-8ε**΄ με την DMB-OH δεν είχαν την ομαλή συμπεριφορά που παρουσίασαν όλες οι υπόλοιπες αντιδράσεις εστεροποίησης της DMB-OH με τα οξέα τύπου **8**, όπως θα αναλυθεί παρακάτω. Μια ενδιαφέρουσα παρατήρηση που έγινε σε αυτές τις προσπάθειες εστεροποίησης είναι ότι το μίγμα της αντίδρασης έγινε σε 1 h ροζ και σε 24h σκούρο καφέ. Χωρίς να γνωρίζουμε τον ακριβή λόγο για την παραπάνω συμπεριφορά, θεωρήσαμε ότι η σχετική θέση του καρβοξυλικού εστέρα της πλευρικής αλυσίδας σε σχέση με το συζυγιακό καρβοξυλικό οξύ πιθανώς να ευθύνεται για την ιδιαίτερη δραστικότητα αυτών των παραγώγων. Έτσι, επιχειρήσαμε να απομακρύνουμε τον πλευρικό καρβοξυλικό εστέρα κατά ένα ανθρακοάτομο, στοχεύοντας στο ακρυλικό οξύ **8ε** (Εικόνα 16). Επίσης, χρησιμοποιήσαμε ένα εναλλακτικό συνθετικό πρωτόκολλο με στόχο να αποφευχθεί το βήμα της τελικής εστεροποίησης.

Συγκεκριμένα, αρχικά παρασκευάστηκε το μηλονικό παράγωγο **42** έπειτα από σύντηξη του οξέος Meldrum **41** και βενζυλικής αλκοόλης [110] (Σχήμα 38). Το προϊόν χρησιμοποιήθηκε σε μια αντίδραση σύζευξης με οξύ Meldrum χρησιμοποιώντας DCC ως συζευκτικό αντιδραστήριο παρουσία DMAP. Το προϊόν που βρίσκεται σε ταυτομερική ισορροπία (δομές **43** και **44**) υφίσταται αναγωγή με NaBH<sub>4</sub> σε AcOH και η ένωση **45** παρελήφθη σε απόδοση 3 σταδίων 28% έπειτα από χρωματογραφία στήλης. Στη συνέχεια, θελήσαμε να εφαρμόσουμε τη μέθοδο του Hin και των συνεργατών του οι οποίοι το 2002 χρησιμοποίησαν υποκατεστημένα οξέα Meldrum, το άλας Eschenmoser και αλκοόλες για να παραλάβουν υποκατεστημένους

67

ακρυλικούς εστέρες σε ένα βήμα [111]. Δυστυχώς, με χρήση της DMB-OH σε αυτό το πρωτόκολλο δεν κατέστη δυνατός ο σχηματισμός του επιθυμητού προϊόντος **13ε**.



Σχήμα 37: Σύνθεση του παραγώγου 45 και αποτυχία μετατροπής στον εστέρα 13ε.

Έτσι, επιστρέψαμε στη μέθοδο των μηλονικών παραγώγων, μόνο που αυτήν τη φορά το απαραίτητο μηλονικό οξύ **7ε** παρελήφθη με ήπια υδρόλυση του υποκατεστημένου οξέος Meldrum **45** (Σχήμα 39). Η ένωση **7ε** υπέστη συμπύκνωση Knoevenagel με (HCHO)<sub>n</sub>, και χρησιμοποιήθηκε ακολούθως σε αντίδραση εστεροποίησης, όπως θα αναφερθεί στην επόμενη παράγραφο.



Σχήμα 38: Σύνθεση του ακρυλικού οξέος 8ε.

## 3.5.5 Σύνθεση των ακρυλικών εστέρων τύπου 13.

Έχοντας παρασκευάσει τα ακρυλικά οξέα τύπου **8**, προχωρήσαμε στη σύνθεση των ακρυλικών DMB-εστέρων χρησιμοποιώντας το ίδιο πρωτόκολλο που αναφέρθηκε στο Σχήμα 21 για τη σύνθεση του εστέρα **13α**. Το πρωτόκολλο βασίζεται στην

εστεροποίηση τύπου Steglich με την DMB-OH **12** και χρήση DCC/DMAP σε διαλύτη CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (Σχήμα 40) [92]. Όλα τα τελικά προϊόντα τύπου **13** παρελήφθησαν σε καθαρή μορφή μετά από χρωματογραφία στήλης σε αποδόσεις από 54% έως 97%.



Σχήμα 39: Σύνθεση των ακρυλικών εστέρων τύπου 13.

#### 3.5.6 Σύνθεση του ακρυλικού DMB-εστέρα 13η.

Για τη σύνθεση του ακρυλικού παράγωγου **13η** αρχικά διερευνήθηκε η ρετροσυνθετική πορεία που παρατίθεται στο Σχήμα 41. Έτσι, η ένωση **13η** θα μπορούσε να προέλθει από αντίδραση Baylis-Hillman του ακρυλικού εστέρα **46** με φορμαλδεΰδη και ακόλουθη ακετυλίωση. Ο εστέρας **46** μπορεί να παραληφθεί από τη σύζευξη του ακρυλικού οξέος με την DMB-OH. Πράγματι, ο εστέρας **46** παρελήφθη σε απόδοση 68% έπειτα από σύζευξη του ακρυλικού οξέος με την αλκοόλη **12**, όμως αντίδραση του **46** με υδατική φορμαλδεΰδη παρουσία βάσης DABCO (1,4-διαζα-δικυκλο[2.2.2]οκτάνιο) σε μίγμα διοξανίου/H<sub>2</sub>O έδωσε πολύπλοκο μίγμα προϊόντων και η μέθοδος εγκαταλείφθηκε [112].



Σχήμα 40: Ρετροσυνθετική προσέγγιση για τον DMB-εστέρα 13η και αποτυχία εφαρμογής της

Έτσι σχεδιάστηκε μια εναλλακτική ρετροσυνθετική προσέγγιση (Σχήμα 42) σύμφωνα με την οποία η ενωση **13η** θα μπορούσε να προκύψει από την ακετυλίωση του προϊόντος της αντίδρασης Horner-Wadsworth-Emmons (HWE) της ένωσης **50** με φορμαλδεΰδη. Η ένωση **50** μπορεί να προέλθει από την εστεροποίηση της αλκοόλης **12** με την ένωση **49**.



Σχήμα 41: Ρετροσυνθετική προσέγγιση του DMB-εστέρα 13η και σύνθεση του ενδιαμέσου 50

Αρχικά, παρασκευάστηκε το καρβοξυλικό οξύ **49** από την σαπωνοποίηση του φωσφονοοξικού τριαιθυλεστέρα **48**, σύμφωνα με βιβλιογραφική πορεία (Σχήμα 42) [113]. Ακολούθως, η εστεροποίηση του **49** με την αλκοόλη **12** πραγματοποιήθηκε χωρίς προβλήματα οδηγώντας στον φωσφονικό εστέρα **50** σε απόδοση 2 σταδίων 86%. Το επόμενο βήμα, δηλαδή η αντίδραση συμπύκνωσης HWE του **50** με την

φορμαλδεΰδη διερευνήθηκε ως προς τις βέλτιστες συνθήκες, όπως φαίνεται στον Πίνακα 2 [112].

O O OMe	30% υδ. НСНО кор. К <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ,	O OMe	(+ παραπροϊόν)
OEt OMe	H <sub>2</sub> O/διοξάνιο, rt		Me

Πίνακας 2: Διερεύνηση αντίδρασης Horner-Wadsworth-Emmons του παραγώγου 50.

	HCHO (equiv)	K₂CO₃ (equiv)	Η₂Ο/Διοξάνιο	Χρόνος (h)	47: παραπροϊόν
1	20	2	1:0	24	1:3
2	20	1.2	0:1	24	0.8:1
3	5	1.2	1:2	24	4:1 (με διάσπαση της DMB)
4	5	2α	0:1	1	1:1
5	5	1.1	1:2	1	1:1
6	5	5	2:1	1	1.7:1 (πλήρης μετατροπή, καθόλου διάσπαση της DMB)

<sup>α</sup> προστέθηκε πριν την ΗCHO

Н προσθήκη μεγάλης περίσσειας ΗCHO, αναλογίας ΗCHO/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> και παρατεταμένων χρόνων αντίδρασης φάνηκε να ευνοεί ένα παραπροϊόν του οποίου η δομή δεν ταυτοποιήθηκε (Πίνακας 2, καταχωρήσεις 1 & 2). Με βάση το φάσμα <sup>1</sup>Η NMR των μιγμάτων αντίδρασης, το παραπροϊόν διαθέτει ένα ζευγος βινυλικών πρωτονίων που εμφανίζονται ως απλές κορυφές σε 5.85 και 6.30 ppm, δηλαδή σε ελαφρώς χαμηλότερα πεδία σε σχέση με τα βινυλικά πρωτόνια του προϊόντος (5.77 και 6.24 ppm). Μείωση της ποσότητας HCHO δεν φάνηκε να έχει επίπτωση στην μετατροπή της αντίδρασης, όμως παρατηρήθηκε εκτεταμένη διάσπαση της DMB ομάδας (Πίνακας 2, καταχώρηση 3). Αυτή η παράπλευρη αντίδραση αντιμετωπίστηκε με μείωση του χρόνου αντίδρασης από 24 h σε 1 h, χωρίς να επηρεαστεί η μετατροπή της αντίδρασης (Πίνακας 2, καταχώρηση 4). Τα βέλτιστα αποτελέσματα ελήφθησαν με χρήση 5 equiv HCHO και 5 equiv K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> σε διαλύτη H<sub>2</sub>O/διοξάνιο 2:1 και 1h ανάδευση σε rt, όπου το επιθυμητό προϊόν ευνοήθηκε έναντι του παραπροϊόντος με αναλογία 1.7:1 (Πίνακας 2, καταχώρηση 6). Ο μηχανισμός της αντίδρασης περιγράφεται στο Σχήμα 43.



Σχήμα 43: Μηχανισμός διπλής αντίδρασης τύπου Horner-Wadsworth-Emmons

Έπειτα από χρωματογραφικό καθαρισμό, η ένωση **47** παρελήφθη σε απόδοση 60%. Η ακετυλίωση του προϊόντος **47** προς το τελικό προϊόν **13η** πραγματοποιήθηκε με κλασικές συνθήκες ακετυλίωσης, δηλαδή με χρήση AcCl και πυριδίνης ως βάση, χωρίς την ανάγκη χρωματογραφικού καθαρισμού (Σχήμα 44) [114].



Σχήμα 42: Ακετυλίωση της αλκοόλης 47 προς τον εστέρα 13η

#### 3.5.7 Σύνθεση φωσφινικού παραγώγου 6θ.

Για όλες τις ενώσεις-στόχους που φαίνονται στην Εικόνα 13, θα χρησιμοποιηθεί το αμινοφωσφινικο οξύ **6α** (ή το Cbz-προστατευμένο ανάλογο του **5α**) του οποίου η σύνθεση έχει ήδη περιγραφεί στο Σχήμα 20. Μοναδική εξαίρεση αποτελεί η ένωση **29θ** η οποία απαιτεί του χρήση του Fmoc-προστατευμένου αμινοφωσφινικού αναλόγου **6θ**. Για τη σύνθεση αυτής της ένωσης ακολουθήθηκε η πορεία που περιγράφεται στο Σχήμα 45.


Σχήμα 43: Σύνθεση του φωσφινικού παραγώγου 6θ

Σύμφωνα με τη συνθετική πορεία του Σχήματος 45, αρχικά παρασκευάστηκε η αλδεΰδη 51 με αντίδραση συζυγιακής προσθήκης της θειοφαινόλης στην ακρολεΐνη με χρήση καταλυτικής ποσότητας Et<sub>3</sub>N [115]. Το προϊόν 51 παρελήφθη σχεδόν ποσοτικά με απλή κατεργασία και χρησιμοποιήθηκε απευθείας στο επόμενο βήμα, δηλαδή αντίδραση τριών συστατικών, αλδεΰδης 51, μια της της διφαινυλομεθυλαμινης (DPMNH<sub>2</sub>) και H<sub>3</sub>PO<sub>2</sub>, με βάση το πρωτόκολλο του Baylis και των συνεργατών του [116]. Η αντίδραση πραγματοποιείται σε όξινες συνθήκες και περιλαμβάνει τον σχηματισμό μιας ιμίνης μεταξύ της αλδεΰδης 51 και της DPMNH<sub>2</sub> πυρηνόφιλη προσβολή τρισθενή και ακόλουθη από тην μορφή TOU υποφωσφορώδους οξέος. Η συνεχής προσθήκη της τρισθενούς μορφής στην ιμίνη, μετατοπίζει την ισορροπία προς τον σχηματισμό ρακεμικού μίγματος του DPMπροστατευμένου αμινοφωσφινικού παραγώγου 52 σε απόδοση 51% (Σχήμα 45).

Εν συνεχεία, η ένωση **52** αντέδρασε με TFA παρουσία ανισόλης με στόχο τη διάσπαση της DPM-ομάδας και την απομόνωση της ένωσης **53**, σύμφωνα με τα αποτελέσματα διερεύνησης που πραγματοποιήθηκε σε προηγούμενη εργασία του εργαστηρίου μας [117]. Οι συνθήκες αυτές εξασφαλίζουν την απενεργοποίηση των διφαινυλομεθυλο κατιόντων που μπορεί να προσβληθούν από το πυρηνόφιλο άτομο S του θειοαιθέρα. Τέλος, η ένωση **52** υποβλήθηκε σε αντίδραση προστασίας της

73

αμινομάδας με χρήση Fmoc-Cl, όπως ακριβώς έχει ήδη περιγραφεί για την ένωση **6α**, και το τελικό προϊόν **6θ** παρελήφθη σε απόδοση 91%.

## 3.6 Σύνθεση των τελικών υποστρωμάτων 29

Έχοντας παρασκευάσει όλες τις απαραίτητες αρχικές ύλες για τη σύνθεση των ενώσεων στόχων **29α-λ**, εφαρμόσαμε την μεθοδολογία που αναπτύξαμε, όπως περιγράφηκε στις Παραγράφους 3.2. και 3.3. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 46, αρχικά εφαρμόστηκε η πορεία δύο σταδίων (P-Michael + αδαμαντυλίωση) για τη σύνθεση των DMB-εστέρων τύπου **26**. Σε όλες τις περιπτώσεις, τα τελικά προϊόντα παρελήφθησαν έπειτα από χρωματογραφία στήλης σε μέτριες έως καλές αποδόσεις (2 σταδίων), με εξαίρεση την ένωση **26ζ** η οποία απομονώθηκε σε ποσοστό 38%. Ο λόγος σχετίζεται με την ασυμβατότητα του τριπλού δεσμού με τις συνθήκες αδαμαντυλίωσης, όπως έχει διαπιστώθει σε προηγούμενη εργασία ΜΔΕ από την Δρ Σοφία Τσουκαλίδου [118], γεγονός που απαίτησε τον βρασμό του μίγματος αντίδρασης επί 16h προκειμένου να έχουμε καλή μετατροπή του **13ζ** στο **26ζ**.



\*βρασμός για 16h κατά την αδαμαντυλίωση



Πρέπει να αναφερθεί ότι η NMR φασματοσκοπική ανάλυση των παραπάνω ενώσεων αποδείχτηκε ιδιαιτέρως δύσκολη υπόθεση, όχι μόνο γιατί οι ενώσεις είναι μίγματα 4 διαστερεοϊσομερικών ζευγών εναντιομερών αλλά και λόγω της σταθεροποίησης διαμορφωμερών που αυξάνουν τα παρατηρούμενα σήματα. Τα διαμορφωμερή αυτά θα μπορούσαν να διακριθούν σε δύο κατηγορίες α) σε αυτά που οφείλονται στην συνύπαρξη στο μόριο του διαμορφωτικά «δυσκίνητου» αμινοφωσφινικού αναλόγου της φαινυλογλυκίνης στην P<sub>1</sub> θέση, της ογκώδους αδαμαντυλομάδας και της επίσης ογκώδους 2,4-διμεθοξυβενζυλομάδας, και β) σε αυτά που οφείλονται στον σχηματισμό ενδομοριακών δεσμών Η μεταξύ του ατόμου Η του N-Η της P<sub>1</sub> θέσης και του ατόμου οξυγόνου του P=O δεσμού. Για την πρώτη κατηγορία, είναι χαρακτηριστικό ότι στην περίπτωση του **26θ** που δεν φέρει φαινύλιο στην P<sub>1</sub> θέση αλλά μια περισσότερο διαμορφωτικά ευκίνητη ομάδα, δεν παρατηρούνται ανάλογα διαμορφωμερή. Επίσης, ανάλογα διαμορφωμερή δεν παρατηρούνται σε καμία περίπτωση των ενώσεων τύπου **29**, δηλαδή όταν διασπάστηκε η DMB ομάδα. Η ύπαρξη τέτοιων διαμορφωμερών γίνεται περισσότερο εμφανής στο φάσμα <sup>13</sup>C-NMR και εντοπίζεται συστηματικά σε παρόμοιες μετατοπίσεις κοντά σε κορυφές που σχετίζονται με την DMB ομάδα και την Ad αλυσίδα. Στην Εικόνα 17 φαίνεται η περιοχή από το φάσμα <sup>13</sup>C-NMR της ένωσης **26α** στην οποία φαίνονται όλες οι κορυφές που σχετίζονται στην DMB ομάδα, καθώς και ακριβώς δίπλα οι κορυφές της DMB ομάδας που σχετίζονται με διαμορφωμερή (σημειώνονται με αστερίσκο). Είναι χαρακτηριστικό ότι μόνο το άτομο C-ζ της DMB ομάδας δεν επηρεάζεται από διαμορφωμερή και αυτό επαναλαμβάνεται χωρίς εξαίρεση σε όλες τις ενώσεις που μελετήθηκαν.



#### Εικόνα 18: Λεπτομέρεια φάσματος <sup>13</sup>C-NMR της ένωσης 26α.

Επίσης, στην Εικόνα 18 φαίνεται η περιοχή από το φάσμα <sup>13</sup>C-NMR της ένωσης **26α** στην οποία φαίνονται όλες οι κορυφές που οφείλονται στην Ad ομάδα, καθώς και

ακριβώς δίπλα οι κορυφές της Ad ομάδας που σχετίζονται με διαμορφωμερή (σημειώνονται με αστερίσκο). Στην περίπτωση αυτή, δεν παρατηρείται κορυφή διαμορφωμερούς για την κορυφή του 4<sup>γους</sup> ατόμου C-α.



Εικόνα 19: Λεπτομέρεια φάσματος <sup>13</sup>C-NMR της ένωσης 26α.

Τελικό βήμα για την ολοκλήρωση των συνθετικών μας στόχων αποτέλεσε η διάσπαση της DMB-ομάδας των ενώσεων **26α-λ** με βάση το πρωτόκολλο που αναπτύξαμε και περιγράφεται στην παράγραφο 3.3 (Σχήμα 47). Βέλτιστος χρόνος αντίδρασης ήταν τα 20 λεπτά, ωστόσο κάθε αντίδραση παρακολουθήθηκε με TLC και ανάλογα την πλευρική αλυσίδα οι χρόνοι παραμονής ποικίλουν χωρίς να ξεπερνούν τα 40 λεπτά. Σε καμία περίπτωση δεν παρατηρήθηκε σχηματισμός παραπροϊόντων λόγω διάσπασης της Ad ομάδας ή των προστατευτικών ομάδων <sup>1</sup>Bu και Boc των πλευρικών αλυσίδων. Για την περίπτωση του **26θ**, χρησιμοποιήθηκαν 10 equiv Me<sub>2</sub>S ως ένωση-scavenger για να αποφευχθεί πιθανή παγίδευση των DMB-κατιόντων από το άτομο S της P<sub>1</sub> πλευρικής αλυσίδας. Όλες οι ενώσεις απομονώθηκαν έπειτα από χρωματογραφία στήλης με χρήση συστήματος έκλουσης PE/AcOEt/AcOH, το οποίο αποδείχτηκε το βέλτιστο για αποτελεσματικότερο καθαρισμό. Τα τελικά προϊόντα παρελήφθησαν σε στερεή μορφή έπειτα από διάλυση σε ελάχιστη ποσότητα CHCl<sub>3</sub> και καταβύθιση με ψυχρό PE.



\*χρήση 10 equiv Me<sub>2</sub>S ως ένωση-scavenger



Όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα, στις ενώσεις δεν εμφανίζεται το πρόβλημα των διαμορφωμερών που συναντήσαμε στην περίπτωση των ενώσεων τύπου **26**, γεγονός που συνδέει το φαινόμενο αυτό με την παρουσία της DMB ομάδας. Αυτας γίνεται εμφανές από τα απλούστερα φάσματα <sup>13</sup>C-NMR, παρόλο που και σε αυτήν την περίπτωση τα προϊόντα περιλαμβάνουν 4 διαστερεοϊσομερικά ζεύγη εναντιομερών. Εντούτοις, τα διαμορφωμερή που οφείλονται στον ενδομοριακό δεσμό Η της P<sub>1</sub> θέσης εξακολουθούν να υπάρχουν και εμφανίζονται ως μικρές κορυφές στο φάσμα <sup>31</sup>P-NMR, γεγονός που είναι σύνηθες στα φάσματα των φωσφινικών

πεπτιδίων. Χαρακτηριστικά, στις Εικόνες 19 και 20 παρουσιάζονται τα φάσματα <sup>1</sup>Η-NMR και <sup>13</sup>C/<sup>31</sup>P-NMR, αντίστοιχα, της ένωσης **29α**.



Εικόνα 21: Φάσματα <sup>13</sup>C-NMR <sup>31</sup>P-NMR της ένωσης 29α.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ – ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΙ ΕΝΩΣΕΩΝ

### 4.1 Γενικό πειραματικό μέρος

### 4.1.1 Αντιδραστήρια

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των ενώσεων που περιγράφονται σ' αυτήν την εργασία ήταν εμπορικά προϊόντα των εταιρειών Aldrich, Fluka, Merck, Acros και Alfa Aeasar. Η καθαρότητα των αντιδραστηρίων ήταν 99% και άνω και χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω καθαρισμό. Οι διαλύτες ήταν υψηλής καθαρότητας (99%) των εταιρειών LabScan και Merck. Στις περιπτώσεις που απαιτήθηκε η χρήση ξηρών διαλυτών, οι εμπορικοί διαλύτες υπέστησαν περαιτέρω επεξεργασία (THF: απόσταξη υπεράνω μεταλλικού νατρίου, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: ανάδευση με ενεργοποιημένα μοριακά κόσκινα MS 4Å). Οι χλωριωμένοι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν στις αντιδράσεις είχαν ως σταθεροποιητή αμυλένιο.

## 4.1.2 Χρωματογραφική ανάλυση και χρωματογραφικός καθαρισμός

Για τον έλεγχο της πορείας των αντιδράσεων χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της χρωματογραφίας λεπτής στιβάδος (thin layer chromatography, TLC). Οι χρωματογραφικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε πλάκες πάχους 0.25mm επιστρωμένες με silica gel και φθορίζον υλικό που απορροφά στα 254nm της εταιρείας Merck (Silica gel 60 F254).

Για την εμφάνιση των χρωματογραφιών χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω μέθοδοι, ανάλογα με την περίπτωση:

α) Υπεριώδης ακτινοβολία (254nm)

β) Έκθεση σε ατμούς ιωδίου

γ) Ψεκασμός με υδατικό διάλυμα 1% θειϊκού δημητρίου [Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>], 5% μολυβδαινικού αμμωνίου [(NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>x4H<sub>2</sub>O] και 10% π. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και θέρμανση

Η εμφάνιση κοντινών αλλά διακριτών κηλίδων στην χρωματογραφία λεπτής στιβάδος (TLC) κάποιων εκ των ενώσεων αυτής της εργασίας οφείλεται στη συνύπαρξη διαστερεοϊσομερών. Οι τιμές *R*<sub>f</sub> που αναφέρονται στις πειραματικές μεθόδους αντιστοιχούν στο μέσο όρο των *R*<sub>f</sub> των διαστερεοϊσομερών.

Οι ενώσεις που περιγράφηκαν σ'αυτήν την εργασία καθαρίστηκαν με χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιώντας ως υλικό πλήρωσης Silica gel 60 (0.063-0.200mm) της εταιρείας Merck. Τα συστήματα έκλουσης που χρησιμοποιήθηκαν αναφέρονται στις πειραματικές μεθόδους για κάθε ένωση ξεχωριστά.

## 4.1.1 Χαρακτηρισμοί ενώσεων

Σημείο τήξεως: Τα σημεία τήξεως των ενώσεων που περιγράφονται στην παρούσα εργασία μετρήθηκαν σε συσκευή Electrothermal. Πριν τη μέτρηση, τα δείγματα ξηράνθηκαν σε υψηλό κενό υπεράνω P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> στους 40°C σε συσκευή Statotherm (ξηραντικό πιστόλι).

**Φασματομετρία μάζας**: Τα φάσματα μάζας ελήφθησαν σε όργανο φασματομετρίας μαζών ThermoFinnigan Surveyor MSQ που διαθέτει το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας, είτε με τη μέθοδο APCI (χημικός ιονισμός σε ατμοσφαιρική πίεση) είτε με τη μέθοδο ESI (ιονισμός μέσω ηλεκτροψεκασμού). Τα φάσματα HRMS ελήφθησαν σε φασματογράφο μαζών QTOF Maxis Impact (Bruker), ή σε 4800 MALDI-TOF φασματογράφο μαζών (Applied Biosystems, Foster City, USA)

Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR): Όλες οι ενώσεις που συντέθηκαν στην παρούσα εργασία χαρακτηρίστηκαν και ταυτοποιήθηκαν με <sup>1</sup>Η, <sup>13</sup>C και <sup>31</sup>P φασματοσκοπία NMR. Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε όργανο 200 MHz Varian τύπου Mercury. Τα φάσματα <sup>13</sup>C και <sup>31</sup>P είναι πλήρως αποσυζευγμένα. Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των δειγμάτων ήταν CDCl<sub>3</sub>,  $D_2O_1$ ,  $CD_3OD$  και d<sup>6</sup>-DMSO της εταιρείας Euroisotop. Η κλίμακα των χημικών μετατοπίσεων στα φάσματα <sup>1</sup>H-NMR είναι βαθμονομημένη σύμφωνα με τη χημική μετατόπιση του πρωτονιωμένου συστατικού που βρίσκεται ως πρόσμιξη στους δευτεριωμένους διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν. Οι τιμές αυτές ορίστηκαν βάσει βιβλιογραφικών δεδομένων και είναι: α) CDCl<sub>3</sub> (7.26 ppm, χημική μετατόπιση πρόσμιξης CHCl<sub>3</sub>), β) CD<sub>3</sub>OD : 3.31 ppm – μέσος όρος χημικών μετατοπίσεων όλων των πιθανών πρωτονιωμένων μορφών του μεθυλίου του CD<sub>3</sub>OD γ) D<sub>2</sub>O (4.79 ppm, χημική μετατόπιση πρόσμιξης HDO) και δ) d<sub>6</sub>-DMSO (2.50, μέσος όρος χημικών μετατοπίσεων όλων των πιθανών πρωτονιωμένων μορφών του (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO) [119]. Η βαθμονόμηση της κλίμακας στα φάσματα <sup>31</sup>Ρ έγινε βάσει εξωτερικού προτύπου που περιέχει διάλυμα H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 85% όπου η χημική μετατόπιση του H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> ορίζεται κατά σύμβαση να βρίσκεται στην αρχή της κλίμακας (δ = 0 ppm). Η αποτίμηση που έχει

επιχειρηθεί στα φάσματα <sup>1</sup>Η NMR και <sup>13</sup>C NMR άγνωστων ενώσεων βασίζεται σε συσχετισμούς με αποτιμήσεις παρόμοιων ενώσεων που αναφέρονται στη βιβλιογραφία και με εκτιμήσεις λογισμικών πρόβλεψης φασμάτων (ChemBioDraw Ultra). Οι τιμές χημικής μετατόπισης που σημειώνονται με αστερίσκο (\*) αντιστοιχούν σε διαμορφωμερή.

## 4.2 Συνθετικές μέθοδοι – Χαρακτηρισμοί

## 4.2.1 Σύνθεση αμινοφωσφινικών παραγώγων 6α και 6β.

# (9*Η*-Φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβονυλαμινο)(φαινυλο)μεθυλο φωσφινικό οξύ (6α)



Σε αιώρημα του Cbz-προστατευμένου φωσφινικού οξέος **5α** (6.00 g, 19.7 mmol) σε οξικό οξύ (12 ml) προστίθεται διάλυμα 33% HBr/AcOH (12 ml) υπό ψύξη στους 0°C. Έπειτα από ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 2 ώρες, το μίγμα συμπυκνώνεται και ακολουθεί αζεοτροπική απομάκρυνση του AcOH με προσθήκη τολουολίου και

συμπύκνωση (×3). Το υπόλειμμα ψύχεται και προστίθεται υδατικό Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (έως pH 8-9) οπότε διαλύεται πλήρως. Στη συνέχεια, προστίθεται στάγδην και υπό ψύξη στους 0°C διάλυμα FmocCl (5.59 g, 21.6 mmol) σε διοξάνιο (18 ml) σε διάρκεια 1 h. To pH ελέγχεται συνεχώς ώστε να παραμένει 8-9. Η αντίδραση αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες οπότε καταβυθίζεται στερεό. Ακολουθεί προσθήκη H<sub>2</sub>O και Et<sub>2</sub>O και το μίγμα διηθείται. Το διήθημα εκπλένεται με AcOEt και στη συνέχεια διηθείται ξανά. Το διήθημα ψύχεται, οξινίζεται με 6M HCl υπό ψύξη και το στερεό που καταβυθίζεται διηθείται υπό κενό και ξηραίνεται υπεράνω P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Παραλαμβάνονται 5.63 g της ένωσης **6α** ως λευκό στερεό (2 στάδια, 73%).

**ΣT:** 193-196 °C

**TLC**  $R_f$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH 7:2:1) = 0.36

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) δ 4.14 – 4.41 (m, 3H, C*H*C*H*<sub>2</sub>O), 4.84 (dd, J = 9.5, 18.8 Hz, 1H, C*H*P), 6.84 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PH</sub> = 546 Hz, 1H, P*H*), 7.20 – 7.50 & 7.68 – 7.96 (m, 13H, Ar), 8.49 (dd, J = 3.3, 9.5 Hz, 1H, N*H*).

<sup>13</sup>**C NMR** (50 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) δ 46.6, 55.6 (d,  ${}^{1}J_{PC}$  = 98.8 Hz), 66.1, 120.2, 125.3, 125.4, 127.1, 127.4, 127.5, 127.7, 127.9, 128.0, 128.3, 128.3, 135.5, 140.7, 143.7, 143.8, 156.2 (d,  ${}^{3}J_{PC}$  = 8.6 Hz).

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) δ 26.4.

**HRMS** (m/z): [M - H]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>P<sup>-</sup> 392.1057, βρέθηκε 392,1050.

#### 4.2.2 Σύνθεση ακρυλικών οξέων τύπου 8.

## <u>Γενική μέθοδος σύνθεσης ακρυλικών οξέων τύπου 8 μέσω αλκυλίωσης</u> μηλονικού διαιθυλεστέρα (Μέθοδος Α)

Σε διάλυμα Na (1.0 equiv) σε απ. EtOH (1.1 ml/mmol), προστίθεται μηλονικός διαιθυλεστέρας (1.0 equiv) στάγδην. Το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 30 min και στη συνέχεια προστίθεται διάλυμα του κατάλληλου βρωμιδίου (1.0 equiv) σε ποσότητα EtOH (0.2 ml/mmol), στάγδην και υπό ψύξη. Το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 24 h. Έπειτα συμπυκνώνεται και το υπόλειμμα που προκύπτει αραιώνεται με H<sub>2</sub>O και εκχυλίζεται με Et<sub>2</sub>O (×3). Οι οργανικές στιβάδες εκπλένονται με κορ. διάλυμα NaCl, ξηραίνονται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και συμπυκνώνονται. Το άχρωμο υγρό που παραλαμβάνεται διαλύεται σε μέρος της EtOH EtOH (0.2 ml/mmol) και προστίθεται διάλυμα KOH (5 equiv) σε EtOH (1.8 ml/mmol) στάγδην και υπό ψύξη. Το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 24h. Ακολουθεί συμπύκνωση, διάλυση του υπολείμματος σε H<sub>2</sub>O και εκπλύσεις με Et<sub>2</sub>O (×3). Η υδατική φάση οξινίζεται υπό ψύξη με διάλυμα 2M HCI έως pH 1 και ακολουθούν εκχυλίσεις με AcOEt (×3). Η οργανική φάση ξηραίνεται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, συμπυκνώνεται μέχρι ξηρού και το υπόλειμμα (θεωρείται ότι όλη η ποσότητα η οποία ζυγίζεται αποτελεί το υποκατεστημένο μηλονικό οξύ) διαλύεται σε AcOEt (1.8 ml/mmol) και προστίθεται στάγδην και υπό ψύξη Et<sub>2</sub>NH (1.15 equiv). Προστίθεται (HCHO)<sub>n</sub> (1.4 equiv) και το προκύπτον μίγμα βράζεται με αναρροή για 4 ώρες. Οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό, το στερεό υπόλειμμα που προκύπτει διαλύεται σε H<sub>2</sub>O και 5% NaHCO<sub>3</sub> (έως pH>8) και εκπλένεται με Et<sub>2</sub>O (×3). Η υδατική φάση οξινίζεται υπό ψύξη με 2M HCl (έως pH 1) και εκχυλίζεται με AcOEt (×3). Ακολουθεί ξήρανση με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και συμπύκνωση.

## 2-Μεθυλενοπεντ-4-ενοϊκό οξύ (8α)



Η ένωση **8α** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο Α σύνθεσης ακρυλικών οξέων σε κλίμακα 60.9 mmol (9.75 g) μηλονικού διαιθυλεστέρα. Χρησιμοποιήθηκαν 60.9 mmol (1.40 g) Na και 60.9 mmol (7.37 g) αλλυλοβρωμιδίου. Εφαρμόστηκαν οι παρακάτω τροποποιήσεις: Στο στάδιο της σαπωνοποίησης χρησιμοποιήθηκε 1 equiv KOH ώστε να πραγματοποιηθεί

μονοσαπωνοποίηση. Επίσης, μετά την αντίδραση συμπύκνωσης Knoevenagel, το βήμα της σαπωνοποίησης επαναλήφθηκε. Παραλαμβάνονται 1.80 g της ένωσης **8α** ως υποκίτρινο ελαιώδες υγρό (4 στάδια, 26%).

**TLC**  $R_{\rm f}$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH: 7/2/1) = 0.37

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 3.06 (d, J = 6.6 Hz, 2H, C $H_2$ CH=CH<sub>2</sub>), 5.04 - 5.10 (m, 1H, CH=CHH), 5.11 - 5.17 (m, 1H, CH=CHH), 5.71 (q, J = 1.4 Hz, 1H, C=CHH), 5.87 (ddt, J = 17.6, 9.6, 6.6 Hz, 1H, CH=CH<sub>2</sub>), 6.36 (s, 1H, C=CHH), 11.41(s, 1H, OH).

<sup>13</sup>**C NMR** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 35.5, 117.2, 128.2, 134.9, 138.5, 172.8.

**HRMS** (m/z): [M - H]<sup>-</sup> υπολογίστηκε για C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub><sup>-</sup> 111.0452, βρέθηκε 111.0449.

## 2-(4-Βρωμοβενζυλο)ακρυλικό οξύ (8β)



Η ένωση **8β** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο Α σύνθεσης ακρυλικών οξέων σε κλίμακα 10 mmol (1.6 g) μηλονικού διαιθυλεστέρα. Χρησιμοποιήθηκαν 10 mmol (0.23 g) Να και 10 mmol (2.5 g) 4-βρωμοβενζυλοβρωμιδίου. Παραλαμβάνονται χωρίς χρωματογραφικό καθαρισμό 1.39 g της ένωσης **8β** ως λευκό κρυσταλλικό στερεό (3 στάδια, 57%).

**ΣT:** 122-124 °C (119 °C, [120])

TLC R<sub>f</sub> (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH: 7/0.5/0.5) = 0.31

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  3.58 (s, 2H, C*H*<sub>2</sub>Ar), 5.61 (dd, *J* = 1.1, 1.4 Hz, 1H, C=C*H*H), 6.40 (s, 1H, C=CH*H*), 7.09 & 7.42 (2 × d, *J* = 8.4 Hz, 4H, Ar), 11.45 (s, 1H, O*H*).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 37.2, 120.5, 129.2, 130.9, 131.7, 137.5, 139.1, 172.5.

HRMS (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για  $C_{10}H_9BrO_2Na^+$  262.9678, βρέθηκε 262.9678.

#### 4-(tert-Bouτoξυ)-2-μεθυλενο-4-οξοβουτανοϊκό οξύ (8ι)



Μηλονικός διαιθυλεστέρας (2.4 g, 15 mmol) διαλύεται σε άνυδρο DMF (12 ml) και προστίθεται στάγδην 60% διασπορά σε ορυκτέλαιο NaH (0.60 g, 15 mmol) στους 0°C. Έπειτα από 15min ανάδευση, προστίθεται 2-βρωμοοξικός *tert*-βουτυλεστέρας στους 0°C και για διάστημα 2 h. Το μίγμα αναδεύεται για 24h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και στη συνέχεια αραιώνεται με Et<sub>2</sub>O και H<sub>2</sub>O. Η οργανική φάση εκπλένεται με H<sub>2</sub>O (×5), ξηραίνεται με

Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και συμπυκνώνεται. Το υπόλειμμα διαλύεται σε EtOH (20 ml) και ακολουθεί αργή προσθήκη δ/τος KOH (2.52 g, 45 mmol) σε EtOH (32 ml) στους 0°C και για διάστημα 2 h. Έπειτα από ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 24 h, το μίγμα συμπυκνώνεται, το υπόλειμμα διαλύεται σε H<sub>2</sub>O και εκπλένεται με Et<sub>2</sub>O (×3). Η υδατική φάση οξινίζεται υπό ψύξη με διάλυμα 2M HCl έως pH 1 και ακολουθούν εκχυλίσεις με AcOEt (×3). Η οργανική φάση ξηραίνεται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, συμπυκνώνεται μέχρι ξηρού. Το υπόλειμμα υφίσταται αντίδραση Knoevenagel, όπως περιγράφεται στην γενική μέθοδο A σύνθεσης ακρυλικών οξέων. Παραλαμβάνονται χωρίς χρωματογραφικό καθαρισμό 2.34 g της ένωσης **8**ι ως λευκό κρυσταλλικό στερεό (3 στάδια, 84%).

**ΣT:** 74-77 °C

TLC R<sub>f</sub> (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH: 7/0.5/0.5) = 0.47

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.44 [s, 9H, OC(C $H_3$ )<sub>3</sub>], 3.25 (d, J = 0.7 Hz, 2H, C $H_2$ CO), 5.78 (q, J = 1.1 Hz, 1H, C=CHH), 6.42 (d, J = 1.1 Hz, 1H, C=CHH).

<sup>13</sup>**C NMR** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 27.9, 38.6, 81.3, 130.0, 134.0, 170.0, 171.6.

**HRMS** (m/z):  $[M + Na]^+$  υπολογίστηκε για C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>Na<sup>+</sup> 209.0784, βρέθηκε 209.0787.

## Οξίμη της βενζαλδεΰδης (30)



Σε διάλυμα βενζαλδεϋδης (2.0 g, 18.8 mmol) σε αιθανόλη (38 ml), προστίθεται υδροχλωρική υδροξυλαμίνη (1.96 g, 28.2 mmol) και πυριδίνη (0.56 ml, 34.6 mmol). Το μίγμα βράζεται υπό αναρροή για 2 h. Στη συνέχεια, συμπυκνώνεται και το υπόλειμμα αραιώνεται σε Et<sub>2</sub>O. Η οργανική φάση εκπλένεται με H<sub>2</sub>O (×3), HCl, H<sub>2</sub>O.

Συλλέγεται, ξηραίνεται υπεράνω Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και συμπυκνώνεται. Παραλαμβάνονται 2.21 g της ένωσης **30** ως υποκίτρινο παχύρευστο έλαιο (97%).

**TLC**  $R_f$  (Et<sub>2</sub>O) = 0.73

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) *δ* 7.34 - 7.51 & 7.55 - 7.67 (m, 5H, Ph), 8.22 (s, 1H, N=C*H*), 9.10 (br s, 1H, O*H*).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 127.2, 128.9, 130.2, 150.5.

## 2-[(3-Φαινυλοϊσοξαζολ-5-υλο)μεθυλο]μηλονικός διαιθυλεστέρας (6δ)



Σε διάλυμα οξίμης της βενζαλδεϋδης (**30**) (2.21 g, 18.2 mmol) σε CHCl<sub>3</sub> (13 ml), προστίθεται πυριδίνη (1.27 ml, 15.8 mmol) και στη συνέχεια αργά και υπό ψύξη NCS (3.0 g, 22.8 mmol). Ακολουθεί θέρμανση του μίγματος στους 40–45 °C για 3 ώρες. Έπειτα, προστίθεται το μηλονικό παράγωγο **6ζ** (2.58 g, 13.0 mmol) και Et<sub>3</sub>N (1.8 ml, 20.9 mmol) σε διάστημα 1.5 h και το τελικό μίγμα θερμαίνεται στους 40-45 °C για 3d. Στη συνέχεια το μίγμα συμπυκνώνεται και το υπόλειμμα

αραιώνεται με AcOEt. Η οργανική φάση εκπλένεται με 1M HCl (×2) και H<sub>2</sub>O, ξηραίνεται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και συμπυκνώνεται. Στο υπόλειμμα πραγματοποιείται επανάληψη της αντίδρασης με καταλυτική ποσότητα πυριδίνης (3 στγ). Έπειτα από κατεργασία, όπως περιγράφηκε παραπάνω, το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60)/AcOEt 95/5  $\rightarrow$  8/2. Παραλαμβάνονται 833 mg της ένωσης **6δ** ως υποκίτρινο παχύρευστο έλαιο (20%).

**TLC**  $R_f$  [PE(40-60)/AcOEt 4:1] = 0.32

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.20 (t, J = 7.1 Hz, 6H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.37 (d, J = 7.7 Hz, 2H, CHCH<sub>2</sub>), 3.80 (t, J = 7.7 Hz, 1H, CHCH<sub>2</sub>), 4.17 (dq, J = 1.0, 7.1 Hz, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 6.36 (s, 1H, HC=CON), 7.33-7.42 (m, 3H, Ph), 7.68-7.76 (m, 2H, Ph).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 13.9, 25.9, 50.0, 61.9, 100.3, 126.6, 128.8, 128.8, 129.9, 162.3, 167.8, 169.6.

#### 2-[(3-Φαινυλοϊσοξαζολ-5-υλο)μεθυλο]ακρυλικό οξύ (8δ)



Το μηλονικό παράγωγο **6δ** (833 mg, 2.63 mmol) διαλύεται σε EtOH (12 ml) και προστίθεται διάλυμα KOH (1.5 g, 26.3 mmol) σε EtOH (10 ml) στάγδην και υπό ψύξη. Το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 24 h και ακολουθεί συμπύκνωση, διάλυση του υπολείμματος σε H<sub>2</sub>O και εκπλύσεις με Et<sub>2</sub>O (×3). Η υδατική φάση οξινίζεται υπό ψύξη με διάλυμα 2M HCl έως pH 1 και ακολουθούν εκχυλίσεις με AcOEt (×3). Η οργανική φάση ξηραίνεται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και συμπυκνώνεται μέχρι ξηρού. Το υπόλειμμα που παραλαμβάνεται

(460 mg) διαλύεται σε AcOEt (5 ml) και προστίθεται στάγδην και υπό ψύξη Et<sub>2</sub>NH (148 mg, 2.03 mmol). Έπειτα, προστίθεται παραφορμαλδεΰδη (74 mg, 2.46 mmol) και το προκύπτον μίγμα βράζεται με αναρροή για 4 ώρες. Ακολουθεί συμπύκνωση, διάλυση του υπολείμματος σε H<sub>2</sub>O και εκπλύσεις με Et<sub>2</sub>O (×2). Η υδατική φάση οξινίζεται υπό ψύξη με διάλυμα 2M HCl έως pH 1 και ακολουθούν εκχυλίσεις με AcOEt (×3). Η οργανική φάση ξηραίνεται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και συμπυκνώνεται. Παραλαμβάνονται 427 mg της ένωσης **8δ** ως υποκίτρινο στερεό (71%).

**ΣT:** 102-104 °C

**TLC**  $R_f$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 9.5:0.5) = 0.23

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 3.84 (br s, 2H, =CC*H*<sub>2</sub>), 5.89 (s, 1H, C=C*H*H), 6.39 (s, 1H, C*H*C=N), 6.54 (s, 1H, C=CH*H*), 7.38 – 7.48 & 7.74 – 7.83 (m, 5H, Ph).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 29.2, 100.5, 126.9, 129.0, 130.1, 130.9, 134.7, 162.7, 170.4, 171.3.

**ES-MS m/z** υπολογίζεται για C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>NO<sub>3</sub> (M-H)<sup>-</sup> 228.07, βρέθηκε 228.16.

**HRMS** (m/z):  $[M + H]^+$  υπολογίστηκε για C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>NO<sub>3</sub><sup>+</sup> 230.0812, βρέθηκε 230.0820.

# <u>Γενική μέθοδος σύνθεσης ακρυλικών οξέων τύπου 8 μέσω αλκυλίωσης</u> μεθανοτρικαρβοξυλικού τριαιθυλεστέρα (Μέθοδος Β)

Σε διάλυμα του κατάλληλου αλογονιδίου (1.0 equiv) σε DMF/τολουόλιο (1:1, 4.8 ml/mmol), προστίθεται TMT (1.1 equiv) και K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.3 equiv). Το μίγμα βράζεται υπό αναρροή για 2 h. Στη συνέχεια, προστίθεται AcOEt και η οργανική φάση εκπλένεται με H<sub>2</sub>O (×7) προς πλήρη απομάκρυνση του DMF, συλλέγεται, ξηραίνεται υπεράνω Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και συμπυκνώνεται υπό κενό. Ο υποκατεστημένος τριαιθυλεστέρας τύπου 35 που προκύπτει (1 equiv) διαλύεται σε απόλυτη EtOH (2.5 ml/mmol) και προστίθεται διάλυμα KOH (10 equiv) σε απόλυτη EtOH (2 ml/mmol) στάγδην και υπό ψύξη. Το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 18 h και ακολουθεί συμπύκνωση, διάλυση του υπολείμματος σε H<sub>2</sub>O και εκπλύσεις με Et<sub>2</sub>O (×3). Η υδατική φάση οξινίζεται υπό ψύξη με διάλυμα 2M HCI έως pH 1 και ακολουθούν εκχυλίσεις με AcOEt (×3). Έπειτα, οι οργανικές φάσεις ξηραίνονται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και συμπυκνώνονται μέχρι ξηρού. Το ακάθαρτο μηλονικό παράγωγο τύπου ΧΧ διαλύεται σε AcOEt (1.8 ml/mmol) και προστίθεται στάγδην και υπό ψύξη Et<sub>2</sub>NH (1.15 equiv). Έπειτα, προστίθεται (HCHO)<sub>n</sub> (1.4 equiv) και το προκύπτον μίγμα βράζεται με αναρροή για 4 ώρες. Στη συνέχεια, συμπυκνώνεται υπό κενό και το υπόλειμμα διαλύεται σε 5% NaHCO<sub>3</sub> και εκπλένεται με μικρές ποσότητές Et<sub>2</sub>O (×3). Η υδατική φάση οξινίζεται υπό ψύξη με 2M HCl και εκχυλίζεται με AcOEt (×3). Οι οργανικές φάσεις συλλέγονται, ξηραίνονται υπεράνω Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και συμπυκνώνονται.

## [(2-Βρωμοαιθοξυ)μεθυλο]βενζόλιο (39) [107]



Σε αιώρημα 60% διασποράς NaH σε ορυκτέλαιο (84 mg, 2.1 mmol) σε THF (3.6 ml) προστίθεται αιθυλενογλυκόλη (543 mg, 8.75 mmol) στάγδην και υπό ψύξη στους 0°C. Στη συνέχεια προστίθεται βενζυλοβρωμίδιο (300 mg, 1.75 mmol) σε διάστημα 1 h και το μίγμα βράζεται με αναρροή για 12 h. Ακολουθεί ψύξη του μίγματος στους 0°C, αργή προσθήκη 1M HCl και ανάδευση για 15 min. Το μίγμα εκχυλίζεται με Et<sub>2</sub>O και η οργανική φάση εκπλένεται με H<sub>2</sub>O

(×3) και κορ. NaCl, ξηραίνεται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και συμπυκνώνεται. Το υπόλειμμα διαλύεται σε CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 ml) εντός σφαιρικής φιάλης καλυμμένης με αλουμινόχαρτο, ψύχεται στους 0°C και ακολουθεί προσθήκη NBS (440 mg, 2.47 mmol). Έπειτα,

προστίθεται αργά PPh<sub>3</sub> (648 mg, 2.47 mmol), το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 2 h και ακολουθεί αργή προσθήκη MeOH (1 ml). Το μίγμα συμπυκνώνεται και καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60)/Et<sub>2</sub>O 96:4. Παραλαμβάνονται 263 mg της ένωσης **39** ως άχρωμο υγρό (2 στάδια, 70%).

**TLC**  $R_f$  [PE(40-60):Et<sub>2</sub>O 2:1] = 0.59

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  3.50 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, BrC*H*<sub>2</sub>), 3.79 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, BnOC*H*<sub>2</sub>), 4.60 (s, 2H, PhC*H*<sub>2</sub>), 7.23 – 7.41 (m, 5H, Ph).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 30.6, 69.9, 73.0, 127.7, 127.8, 128.4, 137.7.

## 4-(Βενζυλοξυ)-2-μεθυλενοβουτανοϊκό οξύ (8γ)



Η ένωση **8γ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο B σύνθεσης ακρυλικών οξέων σε κλίμακα 2.76 mmol (300 mg) TMT. Ως αλογονίδιο χρησιμοποιήθηκε το [(2βρωμοαιθοξυ)μεθυλο]βενζόλιο (**39**) (2.50 mmol, 540 mg). Παραλαμβάνονται 378 mg της ένωσης **8γ** ως άχρωμο κολλώδες στερεό (3 στάδια, 73%).

**TLC**  $R_f$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH 7:0.5:0.5) = 0.54

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2.69 (t, J = 6.5 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.68 (t, J = 6.5 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 4.57 (s, 2H, PhCH<sub>2</sub>), 5.81 (q, J = 1.1 Hz, 1H, C=CHH), 6.42 (d, J = 1.1 Hz, 1H, C=CHH), 7.20 – 7.44 (m, 5H, Ph).

<sup>13</sup>**C NMR** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 31.9, 68.5, 72.9, 127.7, 127.7, 128.4, 129.2, 136.8, 138.1, 172.3.

## 5-(*tert*-Βουτοξυκαρβονυλαμινο)-2-μεθυλενο πεντανοϊκό οξύ (8λ)



Η ένωση **8λ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο B σύνθεσης ακρυλικών οξέων σε κλίμακα 12 mmol (2.78 g) TMT. Ως αλογονίδιο χρησιμοποιήθηκε ο (3-βρωμοπροπυλο)καρβαμικός *tert*βουτυλεστέρας (**33**) (2.7 g, 11 mmol) (2.7 g, 11 mmol). Παραλαμβάνονται 1.23 g της ένωσης **8λ** ως λευκό κρυσταλλικό στερεό (3 στάδια, 49%).

Για τη σύνθεση του βρωμιδίου **33**, ακολουθήθηκε η εξής πορεία: Σε διάλυμα του υδροβρωμικού άλατος της βρωμοπροπυλαμίνης (2.4 g, 11 mmol) και (Boc)<sub>2</sub>O (4.8 g, 22 mmol) σε CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (6 ml) προστίθεται Et<sub>3</sub>N (6.2 ml, 44 mmol) στάγδην και υπό ψύξη. Έπειτα από ανάδευση της αντίδρασης για 24h σε θερμοκρασία δωματίου, το μίγμα συμπυκνώνεται, αραιώνεται με Et<sub>2</sub>O και η οργανική φάση εκπλένεται με H<sub>2</sub>O (×3), 2M HCl (×2) και κορ. NaCl, ξηραίνεται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και συμπυκνώνεται. Παραλαμβάνονται 2.7 g της ένωσης **33** που χρησιμοποιήθηκαν απ'ευθείας στο επόμενο στάδιο.

**ΣT:** 68-70 °C

**TLC**  $R_f$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH 7:0.5:0.5) = 0.49

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1.42 [s, 9H, C(C*H*<sub>3</sub>)<sub>3</sub>], 1.66 (quint, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>C*H*<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 2.31 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H, CC*H*<sub>2</sub>), 3.11 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>), 5.64 (s, 1H, C=C*H*H), 6.27 (s, 1H, C=CH*H*).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 28.5, 28.8, 40.1, 41.0, 79.4, 127.3, 139.6, 156.2, 171.9.
HRMS (m/z): [M - H]<sup>-</sup> υπολογίστηκε για C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>4</sub><sup>-</sup> 228.1241, βρέθηκε 228.1237.

## 4-[(4-Μεθοξυβενζυλο)οξυ]-2-μεθυλεν-4-οξοβουτανοϊκό οξύ (ΡΜΒ-8ε΄)



Ιτακονικός ανυδρίτης (432 mg, 3.86 mmol) και 4-μεθοξυ βενζυλική αλκοόλη (500 mg, 3.67 mmol) διαλύονται σε μίγμα PE(40-60)/τολουολίου 1/1 (4.30 ml). Το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση στους 60°C για 36 ώρες και στη συνέχεια ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου. Το σχηματιζόμενο ίζημα, συλλέγεται, εκπλένεται με PE(40-60) και ανακρυσταλλώνεται από Et<sub>2</sub>O. Παραλαμβάνονται 580 mg της ένωσης **PMB-8ε**΄ ως λευκό κρυσταλλικό στερεό (63%).

**ΣT:** 80-81 °C (82 °C, [109])

**TLC**  $R_f$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH 7:0.5:0.5) = 0.15

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 3.41 (s, 2H, C*H*<sub>2</sub>CO), 3.80 (s, 3H, OC*H*<sub>3</sub>), 5.13 (s, 2H, OC*H*<sub>2</sub>), 5.85 (s, 1H, C=C*H*H), 6.49 (s, 1H, C=CH*H*), 6.81 – 6.97 & 7.21 – 7.33 (m, 4H, Ar).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 37.4, 55.3, 66.7, 113.4, 114.0, 120.4, 129.7, 131.2, 133.2, 137.2, 159.7, 170.5, 171.8.

#### 3-(2,2-Διμεθυλο-4,6-διοξο-1,3-διοξαν-5-υλο)προπανοϊκός βενζυλεστέρας (45)



Σε αυτόκλειστο σωλήνα υψηλής πίεσης αναμιγνύονται οξύ Meldrum (2.66 g, 18.5 mmol) και βενζυλική αλκοόλη (2.0 g, 18.5 mmol). Το μίγμα θερμαίνεται στους 120 °C για 3 h και στη συνέχεια ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου, διαλύεται σε 5% NaHCO<sub>3</sub> και η υδατική φάση εκπλένεται με Et<sub>2</sub>O (×2), οξινίζεται υπό ψύξη με 1M HCl και εκχυλίζεται με AcOEt (×3). Η οργανική φάση συλλέγεται, ξηραίνεται υπεράνω Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και συμπυκνώνεται. Το υπόλειμμα διαλύεται σε ξηρό DCM (16 ml)

και προστίθενται οξύ Meldrum (1.95 g, 13.5 mmol), DMAP (472 mg, 3.86 mmol) και διάλυμα DCC (2.59 g, 13.5 mmol) σε ξηρό DCM (4 ml). Η αντίδραση αναδεύεται για 24 ώρες και στη συνέχεια ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου, διηθείται και το διήθημα συμπυκνώνεται. Το υπόλειμμα διαλύεται σε ΑcOEt και εκπλένεται με 5% HCl, H<sub>2</sub>O και κορ. NaCl. Η οργανική φάση ξηραίνεται υπεράνω Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, συμπυκνώνεται και το υπόλειμμα διαλύεται σε ξηρό DCM (46 ml) και ψύχεται στους 0 °C. Προστίθεται AcOH (16 ml) και NaBH<sub>4</sub> (1.75 g, 46.2 mmol) σε δόσεις για διάστημα 1 h. Έπειτα από ανάδευση 24 h σε θερμοκρασία δωματίου, προστίθεται H<sub>2</sub>O και συρανική φάση εκπλένεται με H<sub>2</sub>O (×2) και κορ. NaCl. Η οργανική φάση απομακρύνεται και η οργανική φάση εκπλένεται με H<sub>2</sub>O (×2) και κορ. NaCl. Η οργανική φάση απομακρύνεται και η στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60)/Et<sub>2</sub>O 96:4. Παραλαμβάνονται 1.60 g της ένωσης **45** ως λευκό στερεό (3 στάδια, 28%).

**Σ.т.** 62-65 °C

**TLC**  $R_f$  [PE(40-60):Et<sub>2</sub>O 2:1] = 0.30

91

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.73 [2 × s, 6H, C(C*H*<sub>3</sub>)<sub>2</sub>], 2.38 (m, 2H, CHC*H*<sub>2</sub>), 2.67 (d, J = 7.2 Hz, 2H, C*H*<sub>2</sub>CO), 3.88 (t, J = 5.5 Hz, 1H, C*H*), 5.09 (s, 2H, OC*H*<sub>2</sub>), 7.21 – 7.41 (m, 5H, Ph).

<sup>13</sup>**C NMR** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 21.2, 26.3, 28.5, 30.4, 44.8, 66.5, 105.2, 128.3, 128.3, 128.6, 135.7, 165.2, 172.6.

#### 5-(Βενζυλοξυ)-2-μεθυλενο-5-οξοπεντανοϊκό οξύ (8ε)



Διάλυμα της ένωσης **45** (817 mg, 2.67 mmol) σε AcOH (6 ml) και H<sub>2</sub>O (1.5 ml) θερμαίνεται υπό αναρροή για 3.5 h και στη συνέχεια ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου και αραιώνεται με 5% NaHCO<sub>3</sub>. Η υδατική φάση εκπλένεται με Et<sub>2</sub>O οξινίζεται με 1M HCI και εκχυλίζεται με AcOEt. Η οργανική φάση συλλέγεται, ξηραίνεται υπεράνω Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και συμπυκνώνεται. Το υπόλειμμα (554 mg, 2.08 mmol) διαλύεται σε AcOEt (4 ml) και ακολουθεί στάγδην προσθήκη Et<sub>2</sub>NH (175 mg, 2.39 mmol) στους 0 °C. Το μίγμα αφήνεται σε

θερμοκρασία δωματίου, προστίθεται παραφορμαλδεΰδη (87 mg, 2.9 mmol), βράζεται με αναρροή για 4 h και έπειτα συμπυκνώνεται. Το υπόλειμμα διαλύεται σε 5% NaHCO<sub>3</sub> και η υδατική φάση εκπλένεται με Et<sub>2</sub>O (×2), οξινίζεται με 1M HCl και εκχυλίζεται με AcOEt (×3). Η οργανική φάση συλλέγεται, ξηραίνεται υπεράνω Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και συμπυκνώνεται. Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60):Et<sub>2</sub>O:AcOH 5:1:0.05  $\rightarrow$  5:3:0.05. Παραλαμβάνονται 400 mg της ένωσης **8ε** ως λευκό στερεό (2 στάδια, 64%).

**Σ.т.** 46-48 °C

**TLC**  $R_f$  (Et<sub>2</sub>O) = 0.30

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  2.53 – 2.74 (m, 4H, C*H*<sub>2</sub>C*H*<sub>2</sub>), 5.12 (s, 2H, OC*H*<sub>2</sub>), 5.70 (d, *J* = 0.8 Hz, 1H, C=C*H*H), 6.32 (s, 1H, C=CH*H*), 7.24 – 7.42 (m, 5H, Ar).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 26.8, 32.9, 66.2, 128.1, 128.1, 128.2, 128.4, 135.7, 138.1, 171.8, 172.5.

**HRMS** (m/z):  $[M + Na]^+$  υπολογίστηκε για C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>Na<sup>+</sup> 257.0784, βρέθηκε 257.0785.

## <u>Γενική μέθοδος σύνθεσης ακρυλικών DMB-εστέρων</u>

Σε διάλυμα του ακρυλικού οξέος τύπου **8** (1.1 eq) σε άνυδρο CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4.6 ml/mmol) προστίθεται 2,4-διμεθοξυβενζυλική αλκοόλη ή DMB-OH (1.0 eq). Το διάλυμα ψύχεται στους 0 °C, ακολουθεί προσθήκη διαλύματος DCC (1.1 eq) σε άνυδρο CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> και καταλυτικής ποσότητας DMAP (0.1 eq). Το μίγμα αναδεύεται στους 0°C για 1h και σε rt για 24h. Ακολούθως, διηθείται υπό κενό, το διήθημα συμπυκνώνεται και το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης.

## 2-Μεθυλενοπεντ-4-ενοϊκός 2,4-διμεθοξυβενζυλεστέρας (13α)



Η ένωση **13α** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης ακρυλικών εστέρων σε κλίμακα 2.67 mmol (300 mg) ακρυλικού οξέος **8α**. Χρησιμοποιήθηκαν 2.43 mmol (409 mg) DMB-OH, 2.67 mmol (513 mg) DCC και 0.24 mmol (30 mg) DMAP. Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-

60)/AcOEt 98/2→ 95/5. Παραλαμβάνονται 496 mg της ένωσης **13α** ως άχρωμο έλαιο (78%).

**TLC** *R<sub>f</sub>* [PE (40-60°C):AcOEt 2:1] = 0.63

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 3.05 (d, J = 6.7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.79 (s, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>), 4.96 - 5.13 (m, 2H, CH=CH<sub>2</sub>), 5.16 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>), 5.53 (s, 1H, C=CHH), 5.73 - 5.95 (m, 1H, CH=CH<sub>2</sub>), 6.19 (s, 1H, C=CHH), 6.39 - 6.49 (m, 2H, 3-H & 5-H της DMB), 7.14 - 7.25 (m, 1H, 6-H της DMB).

 $^{13}\mathbf{C}$  NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  36.1, 55.5, 55.5 , 62.1, 98.6, 104.0, 116.9, 116.9, 125.47, 131.1, 135.3, 139.3, 159.0, 161.2, 167.1.

**HRMS** (m/z):  $[M + Na]^+$  υπολογίστηκε για C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>O<sub>4</sub>Na<sup>+</sup> 285.1097, βρέθηκε 285.1085.

## 2-(4-Βρωμοβενζυλο)ακρυλικός 2,4-διμεθοξυβενζυλεστέρας (13β)



Η ένωση **13β** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης ακρυλικών εστέρων σε κλίμακα 1.35 mmol (326 mg) ακρυλικού οξέος **8β**. Χρησιμοποιήθηκαν 1.23 mmol

(207 mg) DMB-OH, 1.23 mmol (207 mg) DCC ка 0.12 mmol (15 mg) DMAP. To υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60)/AcOEt 98/2→8/2. Παραλαμβάνονται 330 mg της ένωσης 13β ως λευκό κρυσταλλικό στερεό (68%).

**Σ.т.** 53-55 °C

**TLC**  $R_f$  [PE (40-60°C):AcOEt 2:1] = 0.70

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  3.59 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ar), 3.76 & 3.80 (2 × s, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>), 5.18 (s, 2H, OC $H_2$ ), 5.48 (d, J = 1.4 Hz, 1H, C=CHH), 6.27 (s, 1H, C=CHH), 6.42 – 6.49 (m, 2H, 3-H & 5-H tnc DMB), 7.00 – 7.42 (m, 5H, 6-H tnc DMB, Ar).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 37.6, 55.2, 55.2, 61.9, 98.3, 103.9, 116.5, 120.0, 126.3, 130.7, 131.0, 131.3, 137.8, 139.8, 158.8, 161.1, 166.5.

**HRMS** (m/z):  $[M + Na]^+$  υπολογίστηκε για C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>BrNaO<sub>8</sub><sup>+</sup> 413.0359, βρέθηκε 413.0354.

## 4-(Βενζυλοξυ)-2-μεθυλενοβουτανοϊκός 2,4-διμεθοξυβενζυλεστέρας (13γ)



Η ένωση 13γ παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης ακρυλικών εστέρων σε κλίμακα 1.45 mmol (300 mg) του ακρυλικού οξέος 8γ. Χρησιμοποιήθηκαν 1.45 mmol (244 mg) DMB-OH, 1.59 mmol (306 mg) DCC ка 0.15 mmol (18 mg) DMAP. Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60)/AcOEt 95/5→7/3. Παραλαμβάνονται 500mg της ένωσης 13γ ως λευκό κρυσταλλικό στερεό (97%).

**Σ.τ.** 55-57 °C

**TLC**  $R_f$  (PE(40-60)/AcOEt 1:1) = 0.51

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  2.65 (t, J = 6.7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.62 (t, J = 6.7 Hz, 2H,  $CH_2CH_2O$ ), 3.80 & 3.81 (2 × s, 6H, 2 ×  $CH_3$ ), 4.50 (s, 2H, Ph $CH_2$ ), 5.16 (s, 2H,  $CO_2CH_2$ ), 5.64 (q, J = 1.3 Hz, 1H, C=CHH), 6.24 (d, J = 1.3 Hz, 1H, C=CHH), 6.42 – 6.49 (m, 2H, 3-H & 5-H της DMB), 7.18 – 7.35 (m, 6H, Ph, 6-H της DMB).

<sup>13</sup>**C NMR** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 32.4, 55.5, 62.1, 68.8, 72.9, 98.6, 104.0, 116.9, 126.8, 127.6, 127.7, 128.5, 131.2, 137.6, 138.5, 159.0, 161.2, 167.2.

HRMS (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>NaO<sub>5</sub><sup>+</sup> 379.1624, βρέθηκε 379.1518

# 2-((3-Φαινυλοϊσοξαζολ-5-υλο)μεθυλο)ακρυλικός 2,4-διμεθοξυβενζυλεστέρας (13δ)



Η ένωση **13δ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης ακρυλικών εστέρων σε κλίμακα 1.96 mmol (450 mg) του ακρυλικού οξέος **8δ**. Χρησιμοποιήθηκαν 1.96 mmol (330 mg) DMB-OH, 2.16 mmol (413 mg) DCC και 0.20 mmol (24 mg) DMAP. Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60)/AcOEt 87/13→6/4. Παραλαμβάνονται 654 mg της ένωσης **13δ** ως άχρωμο έλαιο

(88%).

**TLC**  $R_f$  [PE(40-60)/AcOEt 2:1] = 0.68

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2.65 (t, J = 6.7 Hz, 2H,  $CH_2CH_2O$ ), 3.62 (t, J = 6.7 Hz, 2H,  $CH_2CH_2O$ ), 3.76 & 3.77 (2 × s, 6H, 2 ×  $CH_3$ ), 3.83 (s, 2H,  $CCH_2$ ), 5.19 (s, 2H,  $OCH_2$ ), 5.73 (q, J = 1.2 Hz, 1H, C=CHH), 6.27 (s, 1H, C=CHH), 6.35 – 6.47 (m, 3H, 3-H & 5-H της DMB, N=C=CH), 7.16 – 7.25 (m, 1H, 6-H της DMB), 7.38 - 7.48 & 7.68 - 7.79 (m, 5H, Ph).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 29.7, 55.3, 62.4, 98.4, 100.2, 104.0, 116.3, 126.7, 128.2, 128.8, 129.1, 129.8, 131.3, 135.4, 159.0, 161.3, 162.4, 165.9, 170.6.

HRMS (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για  $C_{22}H_{21}NNaO_5^+$  402.1312, βρέθηκε 402.1320.

#### 5-Βενζυλο 1-(2,4-διμεθοξυβενζυλο) 2-μεθυλενοπεντανοδιεστέρας (13ε)



Η ένωση **13ε** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης ακρυλικών εστέρων σε κλίμακα 2.09 mmol (489 mg) του ακρυλικού οξέος **8ε**. Χρησιμοποιήθηκαν 2.30 mmol (386 mg) DMB-OH, 2.30 mmol (434 mg) DCC και 0.2 mmol (26 mg) DMAP. Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60):AcOEt 9:1→7:3. Παραλαμβάνονται 434 mg της ένωσης **13ε** ως έλαιο (54%).

### TLC R<sub>f</sub> (PE(40-60)/AcOEt 1:1) = 0.75

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2.51 – 2.74 [m, 4H, (C $H_2$ )<sub>2</sub>], 3.79 & 3.81 (2 × s, 6H, 2 × C $H_3$ ), 3.80 (d, J = 3.9 Hz, 6H, OC $H_3$ ), 5.10 (s, 2H, OC $H_2$  της Bn), 5.16 (s, 2H, OC $H_2$  της DMB), 5.55 (q, J = 1.3 Hz, 1H, C=CHH), 6.18 (d, J = 1.3 Hz, 1H, C=CHH), 6.42 – 6.49 (m, 2H, 3-H & 5-H της DMB), 7.20 – 7.38 (m, 6H, Ph, 6-H της DMB).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 27.5, 33.1, 55.4, 55.4, 62.1, 66.2, 98.6, 104.0, 116.7, 125.9, 128.2, 128.5, 131.1, 136.0, 139.1, 159.0, 161.2, 166.7, 172.5.

HRMS (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>NaO<sub>6</sub><sup>+</sup> 407.1573, βρέθηκε 407.1468

#### 2-Μεθυλενοπεντ-4-υνοϊκός 2,4-διμεθοξυβενζυλεστέρας (13ζ)



Η ένωση **13ζ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο Β σύνθεσης ακρυλικών εστέρων σε κλίμακα 2.17 mmol (239 mg) ακρυλικού οξέος **8ζ**. Χρησιμοποιήθηκαν 1.97 mmol (331 mg) DMB-OH, 2.17 mmol (416 mg) DCC και 0.20 mmol (24 mg) DMAP. Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία

στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60)/AcOEt 98/2→9/1. Παραλαμβάνονται 344 mg της ένωσης **13ζ** ως άχρωμο κολλώδες στερεό (67%).

**TLC**  $R_f$  [PE (40-60°C):AcOEt 2:1] = 0.69

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  2.22 (t, *J* = 2.6 Hz, 1H, C≡C*H*), 3.24 (dt, *J* = 1.8, 2.6 Hz, 2H, C*H*<sub>2</sub>C≡CH), 3.78 & 3.79 (2 × s, 6H, 2 × C*H*<sub>3</sub>), 5.17 (s, 2H, OC*H*<sub>2</sub>), 6.02 (dt, *J* = 1.2, 1.9 Hz, 1H, C=C*H*H), 6.34 (dd, *J* = 1.2, 2.8 Hz, 1H, C=CH*H*), 6.41 – 6.49 (m, 2H, 3-H & 5-H της DMB), 7.18 – 7.28 (m, 1H, 6-H της DMB).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 21.5, 55.2, 62.2, 72.1, 80.1, 98.4, 103.9, 116.4, 126.1, 131.1, 135.2, 158.9, 161.2, 165.9.

HRMS (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>NaO<sub>4</sub><sup>+</sup> 283.0941, βρέθηκε 283.0941

#### Μεθακρυλικός 2,4-διμεθοξυβενζυλεστέρας (13ζ)



Η ένωση **13ζ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο Β σύνθεσης ακρυλικών εστέρων σε κλίμακα 2.9 mmol (450 mg) μεθακρυλικού οξέος. Χρησιμοποιήθηκαν 2.64 mmol (444 mg) DMB-OH, 2.9 mmol (556 mg) DCC και 0.26 mmol (33 mg) DMAP. Το υπόλειμμα καθαρίζεται με

χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60)/AcOEt 98/2→9/1. Παραλαμβάνονται 511mg της ένωσης **13ζ** ως άχρωμο έλαιο (82%).

**TLC**  $R_f$  [PE (40-60°C):AcOEt 2:1] = 0.71

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1.95 (s, 3H, CC*H*<sub>3</sub>), 3.79 & 3.80 (2 × s, 6H, 2 × C*H*<sub>3</sub>), 5.18 (s, 2H,OC*H*<sub>2</sub>), 5.54 (dq, *J* = 1.6, 1.6 Hz, 1H, C=C*H*H), 6.12 (br s, 1H, C=CH*H*), 6.42 – 6.50 (m, 2H, 3-H & 5-H της DMB), 7.22 – 7.29 (m, 1H, 6-H της DMB).

<sup>13</sup>**C NMR** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) *δ* 18.3, 55.2, 55.3, 61.7, 98.4, 103.9, 116.8, 125.2, 130.8, 136.4, 158.8, 161.1, 167.3.

HRMS (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>NaO<sub>4</sub><sup>+</sup> 259.1049, βρέθηκε 259.0948

#### 2-Μεθυλενο ηλεκτρικός 1-(2,4 διμεθοξυβενζυλο) 4-tert-βουτυλεστέρας (13ι)



Η ένωση **13**ι παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο B σύνθεσης ακρυλικών εστέρων σε κλίμακα 2.69 mmol (500 mg) ακρυλικού οξέος **8**ι. Χρησιμοποιήθηκαν 2.50 mmol (420 mg) DMB-OH, 2.96 mmol (610 mg) DCC και 0.27 mmol (33 mg) DMAP. Η αντίδραση διήρκησε 2 d. Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε

σύστημα έκλουσης PE(40-60)/AcOEt 95/5→8/2. Παραλαμβάνονται 730 mg της ένωσης **13ι** ως άχρωμο έλαιο (80%).

**TLC**  $R_f$  [PE (40-60°C):AcOEt 2:1] = 0.63

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.40 [s, 9H, OC(C*H*<sub>3</sub>)<sub>3</sub>], 3.25 (d, *J* = 1.1 Hz, 2H, C*H*<sub>2</sub>CO), 3.80 (s, 6H, 2 × C*H*<sub>3</sub>), 5.18 (s, 2H, OC*H*<sub>2</sub>), 5.64 (dd, *J* = 1.2, 2.4 Hz, 1H, C=C*H*H), 6.29 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, C=CH*H*), 6.42 – 6.49 (m, 2H, 3-H & 5-H της DMB), 7.21 – 7.30 (m, 1H, 6-H της DMB).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 27.9, 39.0, 55.4, 62.1, 80.9, 98.5, 104.1, 116.7, 127.7, 131.0, 134.7, 158.9, 161.2, 166.4, 169.9.

HRMS (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>NaO<sub>8</sub><sup>+</sup> 359.1573, βρέθηκε 359.1477

# 5-[(*tert*-Βουτοξυκαρβονυλο)αμινο]-2-μεθυλενοπεντανοϊκός 2,4διμεθοξυβενζυλεστέρας (13λ)



Η ένωση **13λ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο Β σύνθεσης ακρυλικών εστέρων σε κλίμακα 3.38 mmol (775 mg) του ακρυλικού οξέος **8λ**. Χρησιμοποιήθηκαν 3.72 mmol (626 mg) DMB-OH, 3.72 mmol (713 mg) DCC και 0.34 mmol (42 mg) DMAP. Το στερεό υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60)/AcOEt 95/5 → 60/40. Παραλαμβάνονται 736 mg της

ένωσης 13λ ως άχρωμο έλαιο (57%).

TLC R<sub>f</sub> (PE(40-60)/AcOEt 1:2) = 0.54

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.40 [s, 9H, OC(C*H*<sub>3</sub>)<sub>3</sub>], 1.62 (quint, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>C*H*<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.30 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C*H*<sub>2</sub>), 3.08 (q, *J* = 6.6 Hz, 2H, NC*H*<sub>2</sub>), 3.77 & 3.78 (2 × s, 6H, 2 × C*H*<sub>3</sub>), 4.70 (br s, 1H, NH), 5.13 (s, 2H, OC*H*<sub>2</sub>), 5.51 (q, *J* = 1.4 Hz, 1H, C=C*H*H), 6.14 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H, C=CH*H*), 6.39 – 6.47 (m, 2H, 3-H & 5-H της DMB), 7.16 – 7.28 (m, 1H, 6-H της DMB).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 28.4, 28.9, 29.1, 39.9, 55.3, 55.4, 62.0, 79.0, 98.5, 104.1, 116.8, 125.2, 131.0, 140.1, 156.0, 158.9, 161.2, 167.2.

HRMS (m/z): [M + H]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>NO<sub>6</sub><sup>+</sup> 380.1995, βρέθηκε 380.2056

#### 2-(Διαιθοξυφωσφορυλο)οξικός 2,4-διμεθοξυβενζυλεστέρας (50)



2-(Διαιθοξυφωσφορυλο)οξικός αιθυλεστέρας (1.83 g, 8.0 mmol) διαλύεται σε EtOH (1.5 ml) και προστίθεται αργά διάλυμα NaOH (0.55 g, 9.78 mmol) σε H<sub>2</sub>O (0.5 ml) υπό ψύξη στους 0 °C. Έπειτα από 3 h, το μίγμα συμπυκνώνεται και αραιώνεται με H<sub>2</sub>O. Η υδατική φάση

εκπλένεται με Et<sub>2</sub>O (×3), οξινίζεται υπό ψύξη με 2M HCl και αφού γίνει κορεσμός της υδατικής φάσης με NaCl, αυτή εκχυλίζεται με CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (×7). Η οργανική φάση ξηραίνεται υπεράνω Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και συμπυκνώνεται. Το στερεό προϊόν που

παραλαμβάνεται (1.25 g) διαλύεται σε ξηρό CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 ml), ψύχεται στους 0 °C και προστίθεται στάγδην διάλυμα DCC (1.49 g, 7.87 mmol) σε ξηρό CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 ml). Ακολουθεί η προσθήκη DMAP (78 mg, 0.64 mmol) και DMB-OH (1.16 g, 7.87 mmol) στην ίδια θερμοκρασία. Το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 2 h και ακολουθεί διήθηση και συμπύκνωση του διηθήματος. Στο υπόλειμμα προστίθεται PE(40-60) και το στερεό που καταβυθίζεται διηθείται και εκπλένεται με PE(40-60). Τα διηθήματα συμπυκνώνονται και παραλαμβάνονται 2.17 g της ένωσης **50** ως άχρωμο παχύρευστο έλαιο (86%).

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.28 (dt, J = 0.5, 7.1 Hz, 6H, 2 × CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.97 (d, J = 21.4 Hz, 2H, PCH<sub>2</sub>), 3.76 & 3.76 (2 × s, 6H, 2 × OCH<sub>3</sub>), 4.11 (dq, J = 7.1, 8.1 Hz, 4H, 2 × CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 5.14 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>), 6.39 – 6.49 (m, 2H, 3-H & 5-H της DMB), 7.20 – 7.29 (m, 1H, 6-H της DMB).

<sup>13</sup>**C NMR** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  16.2 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 6.3 Hz), 34.2 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 134.1 Hz), 55.3, 55.3, 62.5, 62.6 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 6.0 Hz), 98.2, 103.9, 115.9, 131.5, 158.8, 161.3, 165.7 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 6.0 Hz).

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 20.84.

**HRMS** (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>NaO<sub>7</sub>P<sup>+</sup> 369.1074, βρέθηκε 369.1069

#### 2-(Υδροξυμεθυλο)ακρυλικός 2,4-διμεθοξυβενζυλεστέρας (47)



Το φωσφονικό παράγωγο **50** (1.71 g, 4.9 mmol) αναμιγνύεται με 30% HCHO (2.46 ml, 24.6 mmol), H<sub>2</sub>O (3.4 ml) και διοξάνιο (3.4 ml). Το μίγμα ψύχεται στους 0  $^{\circ}$ C και προστίθεται σε ένα διάστημα 10 min ένα ψυχρό διάλυμα K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3.4 g, 24.6 mmol) σε H<sub>2</sub>O (3.4 ml). Έπειτα από έντονη

ανάδευση για 1 h σε θερμοκρασία δωματίου, η αντίδραση διακόπτεται με την προσθήκη κορ. διαλύματος NH<sub>4</sub>Cl. Ακολουθεί αραίωση με H<sub>2</sub>O και Et<sub>2</sub>O και οξίνιση υπό ψύξη με 1M HCl έως pH ~1. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et<sub>2</sub>O (×3) και οργανικές φάσεις εκπλένονται με κορ. NaCl, ξηραίνονται υπεράνω Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και συμπυκνώνονται. Το στερεό υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60)/Et<sub>2</sub>O/<sup>*i*</sup>PrOH 6/3/0.2. Παραλαμβάνονται 747 mg της ένωσης **47** ως άχρωμο έλαιο (60%).

**TLC R<sub>f</sub>**: 0.32 [PE(40-60)/Et<sub>2</sub>O 1:1]

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 3.81 & 3.82 (2 × s, 6H, 2 × OC*H*<sub>3</sub>), 4.29 – 4.32 (m, 2H, C*H*<sub>2</sub>OH), 5.18 (s, 2H, OC*H*<sub>2</sub>Ar), 5.76 – 5.80 (m, 1H, C=C*H*H), 6.24 – 6.27 (m, 1H, C=CH*H*), 6.42 – 6.50 (m, 2H, 3-H & 5-H της DMB), 7.19 – 7.28 (m, 1H, 6-H της DMB).

<sup>13</sup>**C NMR** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) *δ* 55.2, 55.3, 61.8, 62.1, 98.4, 103.9, 116.2, 125.3, 131.1, 139.6, 158.8, 161.2, 166.1.

HRMS (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>NaO<sub>5</sub><sup>+</sup> 275.0890, βρέθηκε 275.0881

#### 2-(Ακετοξυμεθυλο)ακρυλικός 2,4-διμεθοξυβενζυλεστέρας (13η)



Διάλυμα ακετυλοχλωριδίου (0.334 ml, 4.71 mmol) σε  $CH_2CI_2$ (5 ml) ψύχεται στους 0 °C και προστίθεται πυριδίνη (0.448 ml, 5.53 mmol). Έπειτα από 5 min, προστίθεται ένα διάλυμα της ένωσης **47** (697 mg, 2.77 mmol) σε  $CH_2CI_2$  (5 ml) και το μίγμα αναδεύεται στους 0 °C για 1 h. Ακολουθεί προσθήκη

μερικών σταγόνων H<sub>2</sub>O, αραίωση με Et<sub>2</sub>O και διαδοχικές εκπλύσεις της οργανικής φάσης με H<sub>2</sub>O (×1), 1M HCI (×2), NaHCO<sub>3</sub> 5% (×1) και κορ. NaCI (×1). Η οργανική φάση ξηραίνεται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και συμπυκνώνεται. Παραλαμβάνονται 715 mg της ένωσης **13η** ως άχρωμο έλαιο (88%).

TLC R<sub>f</sub>: 0.67 [PE(40-60)/Et<sub>2</sub>O 1:1]

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2.06 (s, 3H, C $H_3$ CO), 3.79 & 3.80 (2 × s, 6H, 2 × OC $H_3$ ), 4.78 – 4.81 (m, 2H, C $H_2$ OAc), 5.18 (s, 2H, OC $H_2$ Ar), 5.78 – 5.83 (m, 1H, C=CHH), 6.33 – 6.37 (m, 1H, C=CHH), 6.41 – 6.49 (m, 2H, 3-H & 5-H της DMB), 7.19 – 7.27 (m, 1H, 6-H της DMB).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 20.6, 55.2, 55.2, 62.0, 62.4, 98.3, 103.9, 116.2, 127.0, 131.0, 135.4, 158.8, 161.2, 165.1, 170.2.

HRMS (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για  $C_{15}H_{18}NaO_6^+$  317.0996, βρέθηκε 317.1000

#### 3-Θειοφαινυλο προπανάλη (51)



Σε σφαιρική φιάλη προστίθεται θειοφαινόλη (1.67 g, 14 mmol) και CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 mL). Το διάλυμα ψύχεται στους 0°C και υπό συνεχή ανάδευση προστίθεται τριαιθυλαμίνη (552 mg, 0.5mmol) και στάγδην ακρολεΐνη (846 mg, 14 mmol). Το μίγμα αφήνεται υπό συνεχή ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 90 min. Ακολουθεί συμπύκνωση του διαλύματος, προσθήκη

Et<sub>2</sub>O και έκπλυση της οργανικής φάσης με 5% NaHCO<sub>3</sub>, 0.1M HCI, και H<sub>2</sub>O. Η οργανική φάση ξηραίνεται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, διηθείται και ακολουθεί συμπύκνωση μέχρι ξηρού. Παραλαμβάνονται 2.33 g της ένωσης **51** ως υποκίτρινο ελαιώδες υγρό (98%).

TLC R<sub>f</sub>: 0.50 (PE 40-60°C/AcOEt 1:1).

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2.76 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, C*H*<sub>2</sub>CHO), 3.18 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, PhSC*H*<sub>2</sub>), 7.10 - 7.52 (m, 5H, αρωματικά), 9.76 (s, 1H, C*H*O).

<sup>13</sup>**C NMR** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) *δ* 26.4, 43.2, 126.7, 129.1, 129.9, 135.1, 200.3.



## 1-(Διφαινυλομεθυλο)αμινο)-3-(θειοφαινυλο)προπυλο φωσφινικό οξύ (52)

Σε αιώρημα του υδροχλωρικού άλατος της διφαινυλομεθυλαμίνης (3.1 g, 14 mmol) σε αιθανόλη 90% (20 mL) προστίθεται υδατικό διάλυμα υποφωσφορώδους οξέος 50% (3 mL, 14 mmol), προσαρμόζεται ψυκτήρας και σταγονομετρικό χωνί και το μίγμα θερμαίνεται στους 85-90°C, οπότε και διαλύεται πλήρως. Στη θερμοκρασία αυτή αρχίζει η

στάγδην προσθήκη του διαλύματος της αλδεΰδης **1** (2.33 g, 14 mmol) σε αιθανόλη 90% (4 mL), η οποία διαρκεί 3.5 h. Έπειτα αφήνεται υπό ανάδευση στην ίδια θερμοκρασία για 3 h και μετά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος μέχρι την επόμενη ημέρα. Το στερεό που σχηματίζεται, διηθείται, εκπλένεται με αιθανόλη και Et<sub>2</sub>O. Παραλαμβάνονται 2.86 g της ένωσης **52** ως λευκό στερεό (51%).

TLC R<sub>f</sub>: 0.39 (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH 7:0.5:0.5).

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) δ 1.74-2.00 (m, 2H, SCH<sub>2</sub>C*H*<sub>2</sub>), 2.55-2.75 (m, 1H, C*H*NH), 2.97-3.16 (m, 2H, SC*H*<sub>2</sub>), 5.50 (s, 1H, C*H*Ph<sub>2</sub>), 6.91 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PH</sub> = 516 Hz, 1H, P*H*), 7.09 – 7.55 (m, 15H, Ph).

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 26.91.

## [1-Αμινο-3-(θειοφαινυλο)προπυλο] φωσφινικό οξύ (53)



Σε σφαιρική φιάλη προστίθεται η ένωση **52 (**2.86 g, 7.19 mmol), τριφθοροξικό οξύ (7 ml) και ανισόλη (1.1ml). Μετά την προσθήκη των αντιδραστηρίων το μίγμα τίθεται σε ήπιο βρασμό με αναρροή για 30 min. Στη συνέχεια, το μίγμα της αντίδρασης συμπυκνώνεται και το υπόλειμμα διαλύεται σε H<sub>2</sub>O, Et<sub>2</sub>O και τολουόλιο, μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη και η οργανική φάση απομακρύνεται. Η υδατική φάση εκπλένεται με Et<sub>2</sub>O (×3) και

συμπυκνώνεται μέχρι ξηρού. Παραλαμβάνονται 1.1 g της ένωσης 53 ως λευκό στερεό (86%).

**ΣT:** 230-233 °C

TLC R<sub>f</sub>: 0.32 (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH 7:2:1)

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 1.78 - 2.20 (m, 2H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.93 - 3.35 (m, 3H, SCH<sub>2</sub>, C*H*NH), 6.91 (d, <sup>1</sup>J<sub>PH</sub> = 535 Hz, 1H, P*H*), 7.12 – 7.71 (m, 5H, Ph).

 $^{13}\mathbf{C}$  NMR (50 MHz, D<sub>2</sub>O)  $\delta$  25.9, 29.2, 29.4, 49.1 (d,  $^{1}J_{PC}$  = 91 Hz), 127.0, 129.4, 130.0, 133.8.

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 20.14.

# 1-[(9*Η*-Φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβονυλαμινο)-3-

## (φαινυλοθειο)προπυλο]φωσφινικό οξύ (6θ)



Σε διάλυμα του αμινοφωσφινικού οξέος **53** σε υδατικό διάλυμα 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (έως pH 8-9) προστίθεται στάγδην και υπό ψύξη στους 0°C διάλυμα FmocCl (728 mg, 2.81 mmol) σε διοξάνιο (5 ml) σε διάρκεια 1 h. To pH ελέγχεται συνεχώς ώστε να παραμένει 8-9. Η αντίδραση αναδεύεται στους 0°C για 2 h και σε θερμοκρασία δωματίου για 24 h. Έπειτα, το μίγμα οξινίζεται με 6M HCl

υπό ψύξη και το στερεό που καταβυθίζεται διηθείται υπό κενό, εκπλένεται με 1M HCI

(×2), H<sub>2</sub>O (×2) και AcOEt (×2) και ξηραίνεται υπεράνω P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Παραλαμβάνονται 890 mg της ένωσης 6θ ως λευκό στερεό (91%). Λόγω της εξαιρετικής δυσδιαλυτότητάς της, η ένωση 6θ δεν χαρακτηρίστηκε με φασματοσκοπία NMR.

**ΣT:** 98-99 °C

**TLC R**<sub>f</sub>: 0.36 (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH 7:2:1)

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO+5%TFA) δ 1.68-2.03 (m, 2H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.78-3.15 (m, 2H, SCH<sub>2</sub>), 3.68-3.89 (m, 1H, C*H*NH), 4.13 – 4.45 (m, 3H, C*H*CH<sub>2</sub>O), 6.79 (d, <sup>1</sup>J<sub>PH</sub> = 537 Hz, 1H, P*H*), 7.09 – 7.49 & 7.58 – 7.93 (m, 14H, αρωματικά, N*H*).

<sup>13</sup>**C NMR** (50 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO+5%TFA) δ 26.5 (d,  $J_{PC}$  = 4.0 Hz), 28.8 (d,  $J_{PC}$  = 13.4 Hz), 46.8, 49.6 (d, <sup>1</sup> $J_{PC}$  = 104.8 Hz), 65.8, 120.3, 125.4, 125.9, 127.2, 127.8, 128.3, 129.2, 136.8, 140.9, 143.8, 143.9, 135.5, 140.7, 143.7, 143.8, 156.3 (d, <sup>3</sup> $J_{PC}$  = 3.3 Hz).

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO+5%TFA) δ 28.4.

**HRMS** (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για C<sub>24</sub>H<sub>24</sub>NNaO<sub>4</sub>PS<sup>+</sup> 476.1056, βρέθηκε 476.1050

# <u>Γενική μέθοδος σύνθεσης ενώσεων τύπου 26 μέσω πορείας δύο σταδίων Ρ-</u> <u>Michael/αδαμαντυλίωσης (Μέθοδος Γ)</u>

Διάλυμα του ακρυλικού εστέρα τύπου **13** (1.2 equiv) και του φωσφινικού οξέος τύπου **6** (1.0 equiv) σε άνυδρο CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4.3 ml/mmol) ψύχεται στους -78°C υπό αδρανή ατμόσφαιρα αργού. Έπειτα, προστίθενται TMSCI (3 equiv) και BSA (3 equiv) και το μίγμα αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 5 d. Στη συνέχεια προστίθεται στάγδην δ/μα 5% NaHCO<sub>3</sub> (1 ml/mmol) στους 0°C. Το μίγμα συμπυκνώνεται, στο υπόλειμμα προστίθεται AcOEt και η οργανική στιβάδα εκπλένεται με 1M HCl (×3) και brine, ξηραίνεται υπεράνω Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και συμπυκνώνεται μέχρι ξηρού. Το υπόλειμμα που προκύπτει διαλύεται σε CHCl<sub>3</sub> και προστίθεται Ag<sub>2</sub>O (1.2 equiv) και AdBr (1.2 equiv). Το μίγμα βράζεται υπό αναρροή. Μετά από 40 λεπτά προστίθενται Ag<sub>2</sub>O (0.8 equiv) και AdBr (0.8 equiv). Καθ'όλη τη διάρκεια της αντίδρασης λαμβάνονται TLC σε σύστημα CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH 7/0.05/0.05 έως ότου διαπιστωθεί η πλήρης κατανάλωση της αρχικής ύλης (~2-3 h). Ακολουθεί συμπύκνωση του μίγματος και προσθήκη Et<sub>2</sub>O To μίγμα διηθείται από cellite και στη συνέχεια συμπυκνώνεται. Το προϊόν τύπου **26** παραλαμβάνεται έπειτα από χρωματογραφικό καθαρισμό.

# 2-({[(9*Η*-Φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβονυλαμινο)(φαινυλο)μεθυλο] (αδαμανταν-1-υλοξυ)φωσφορυλο}μεθυλο)πεντ-4-ενοϊκός 2,4-διμεθοξυβενζυλεστέρας (26α)



Η ένωση **26α** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο 2 σταδίων P-Michael/αδαμαντυλίωσης (μέθοδος Γ). Χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό οξύ **6α** σε κλίμακα 0.53 mmol (208 mg) και ο ακρυλικός εστέρας **13α** σε κλίμακα 0.64 mmol (167 mg). Το

υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60)/AcOEt 75/25 → 5/5. Παραλαμβάνονται 306 mg της ένωσης **26α** ως κολλώδες στερεό (δυο στάδια, 73%).

**TLC**  $R_f$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH 7:0.5:0.5) = 0.71

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.36 – 2.45 (m, 19H, Ad, PC*H*<sub>2</sub>CHC*H*<sub>2</sub>), 2.54 – 2.76 & 2.80 – 3.06 (m, 1H, C*H*CO), 3.74 – 3.88 (m, 6H, 2 × OC*H*<sub>3</sub>), 4.09 – 4.48 (m, 3H, C*H*C*H*<sub>2</sub>O), 4.80 – 5.30 (m, 5H, ArC*H*<sub>2</sub>O, CH=C*H*<sub>2</sub>, NC*H*), 5.32 – 5.83 (m, 1H, C*H*=CH<sub>2</sub>), 5.89 – 6.32 (m, 1H, N*H*), 6.35 – 6.58 (m, 2H, 3-H & 5-H της DMB), 7.05 – 7.86 (m, 14H, Ar).

<sup>13</sup>**C** NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 29.1\*, 29.5 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 94.2 Hz), 30.1 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 95.4 Hz), 30.8\*, 31.2, 31.3, 35.5, 35.7, 36.3\*, 37.1\*, 37.8 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 11.1 Hz), 38.0 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 11.1 Hz), 39.1, 39.8 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.9 Hz), 40.8\*, 43.7 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.3 Hz), 44.3 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.4 Hz), 47.1, 55.2\*, 55.4, 55.5\*, 55.6 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 97.6 Hz), 57.4, 62.3, 62.4, 62.7\*, 63.0\*, 67.4, 84.1 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.5 Hz), 84.4 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.5 Hz), 96,0\*, 98.4, 103.9, 114.6\*, 114.7\*, 116.4, 116.4, 118.1, 118.3, 120.0, 125.0, 125.1, 127.1, 127.7, 127.8, 127.9, 128.1, 128.2, 128.4, 128.6, 128.8, 129.3, 130.4\*, 130.4\*, 131.5, 131.7, 133.8. 134.0, 135.5, 136.0, 141.2, 143.8, 156.0 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 9.2 Hz), 156.1 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 6.9 Hz), 157.0\*, 157.1\*, 158.9, 159.0, 160.1\*, 160.1\*, 161.3, 161.4, 174.1 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 5.7 Hz), 174.7 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 5.4 Hz).

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 44.3, 45.1\*, 45.6\*, 46.4, 46.7, 46.8\*.

**HRMS** (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για C<sub>47</sub>H<sub>52</sub>NNaO<sub>8</sub>P<sup>+</sup> 812.3323, βρέθηκε 812.3301

# 3-{[(9*Η*-Φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβονυλαμινο)(φαινυλο)μεθυλο] (αδαμανταν-1υλοξυ)φωσφορυλο}-2-(4-βρωμοβενζυλο)προπανοϊκός 2,4διμεθοξυβενζυλεστέρας (26β)



Η ένωση **26β** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο 2 σταδίων P-Michael/αδαμαντυλίωσης (μέθοδος Γ). Χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό οξύ **6α** σε κλίμακα 0.97 mmol (385 mg) και ο ακρυλικός εστέρας **13β** σε κλίμακα 1.22 mmol (460 mg). Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε

σύστημα έκλουσης PE(40-60)/AcOEt 85/15 →6/4. Παραλαμβάνονται 544 mg της ένωσης **26β** ως κολλώδες στερεό (δυο στάδια, 61%).

**TLC**  $R_f$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH 7:0.5:0.5) = 0.72

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1.29 – 2.17 (m, 16H, Ad, PC*H*H), 2.19 – 2.44 (m, 1H, PCH*H*), 2.57 – 3.19 (m, 3H, ArC*H*<sub>2</sub>C*H*CO), 3.59 – 3.89 (m, 6H, 2 × OC*H*<sub>3</sub>), 4.02 – 4.48 (m, 3H, C*H*C*H*<sub>2</sub>O), 4.86 – 5.23 (m, 3H, ArC*H*<sub>2</sub>O, NC*H*), 6.07 – 6.33 (m, 1H, N*H*), 6.35 – 6.48 (m, 2H, 3-H & 5-H της DMB), 6.73 – 6.97 & 6.99 – 7.46 & 7.49 – 7.82 (m, 19H, Ar).

<sup>13</sup>**C** NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 29.0\*, 29.3, 30.8, 31.1, 31.2, 35.4, 35.6, 36.2\*, 37.1\*, 38.7, 38.9, 39.1, 40.8\*, 41.2, 41.7 (d,  ${}^{2}J_{PC} = 3.7$  Hz), 43.6 (d,  ${}^{3}J_{PC} = 3.3$  Hz), 44.2 (d,  ${}^{3}J_{PC} = 2.8$  Hz), 47.0, 55.1\*, 55.3, 55.5\*, 55.5 (d,  ${}^{1}J_{PC} = 97.2$  Hz), 57.1, 62.2, 62.3, 62.8\*, 62.9\*, 67.3, 84.2 (d,  ${}^{2}J_{PC} = 10.0$  Hz), 84.4 (d,  ${}^{2}J_{PC} = 10.0$  Hz), 95.9\*, 98.3, 103.9, 114.4\*, 116.1, 119.9, 120.4, 120.4, 120.5, 125.0, 125.1, 127.0, 127.6, 127.8, 127.9, 128.1, 128.2, 128.3, 128.9, 129.7, 130.2\*, 130.2\*, 130.9, 131.3, 131.4, 131.5, 131.9, 135.3, 135.9 136.7, 141.2, 141.2, 143.7, 143.8, 156.0, 156.0 (d,  ${}^{3}J_{PC} = 11.7$  Hz), 157.1\*, 158.8, 158.9, 160.1\*, 160.1\*, 161.2, 161.3, 173.8 (d,  ${}^{3}J_{PC} = 6.0$  Hz), 173.9\*, 174.0\*, 174.2 (d,  ${}^{3}J_{PC} = 6.0$  Hz)

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, CDCl<sub>3</sub>) *δ* 44.1, 44.2\*, 44.6\*, 44.8\*, 44.9\*, 45.8\*, 45.9.

HRMS (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για  $C_{51}H_{53}BrNNaO_8P^+$  940.2584, βρέθηκε 940.2610

# 2-({[(9*Η*-Φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβονυλαμινο)(φαινυλο)μεθυλο] (αδαμανταν-1-υλοξυ)φωσφορυλο}μεθυλο)-4-(βενζυλοξυ)βουτανοϊκός 2,4διμεθοξυβενζυλεστέρας (26γ)



Η ένωση **26γ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο 2 σταδίων P-Michael/αδαμαντυλίωσης (μέθοδος Γ). Χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό οξύ **6α** σε κλίμακα 0.98 mmol (386 mg) και ο ακρυλικός εστέρας **13γ** σε κλίμακα 1.20 mmol (420 mg). Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60)/AcOEt 9/1 → 7/3.

Παραλαμβάνονται 615 mg της ένωσης **26γ** ως κολλώδες στερεό (δυο στάδια, 71%).

**TLC**  $R_f$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH 7:0.5:0.5) = 0.78

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1.34 – 2.23 (m, 18H, Ad, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O, PCHH), 2.30 – 2.55 (m, 1H, PCHH), 2.71 – 2.95 & 2.98 – 3.18 (m, 1H, CHCO), 3.22 – 3.54 (m, 2H, CH<sub>2</sub>OBn), 3.59 – 3.89 (m, 6H, 2 × OCH<sub>3</sub>), 4.06 – 4.54 (m, 5H, CHCH<sub>2</sub>O, PhCH<sub>2</sub>), 4.94 – 5.33 (m, 3H, ArCH<sub>2</sub>O, NCH), 5.90 – 6.10 & 6.59 – 6.79 (m, 1H, NH), 6.32 – 6.52 (m, 2H, 3-H & 5-H της DMB), 7.09 – 7.85 (m, 19H, Ar)

<sup>13</sup>**C NMR** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 29.0\*, 30.5 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 93.4 Hz), 30.7 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 91.7 Hz), 30.7\*, 31.1, 31.2, 33.6 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.6 Hz), 33.7 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 9.5 Hz), 35.4, 35.6, 36.2\*, 36.6 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 2.6 Hz), 37.0\*, 37.4 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 4.4 Hz), 40.7\*, 40.8\*, 43.6 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.1 Hz), 44.2 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.1 Hz), 47.1, 55.1\*, 55.2, 55.3, 55.4\*, 55.6 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 96.3 Hz), 56.4 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 88.7 Hz), 62.1, 62.3, 62.6\*, 62.9\*, 67.2, 72.8, 84.1 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.0 Hz), 84.3 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.0 Hz), 95.8\*, 98.3, 103.8, 114.5\*, 114.7\*, 116.3, 116.4, 119.9, 125.0, 125.1, 127.0, 127.5, 127.5, 127.6, 127.8, 128.0, 128.1, 128.8, 129.2, 130.2\*, 131.5, 131.6, 135.4, 135.9, 138.2, 141.2, 143.8, 155.9 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 9.5 Hz), 156.0 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 11.3 Hz), 157.0\*, 158.8, 158.9, 160.0\*, 161.1, 161.2, 174.6 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 6.0 Hz), 175.2 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 5.6 Hz)

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  44.1, 44.8\*, 45.1\*, 46.1\*, 46.3, 46.5\*.

**HRMS** (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για C<sub>53</sub>H<sub>58</sub>NNaO<sub>9</sub>P<sup>+</sup> 906.3741, βρέθηκε 906.3777

# 3-{[(9*Η*-Φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβονυλαμινο)(φαινυλο)μεθυλο] (αδαμανταν-1υλοξυ)φωσφορυλο}-2-[(3-φαινυλοϊσοξαζο-5-υλο)μεθυλο]προπανοϊκός 2,4διμεθοξυβενζυλεστέρας (26δ)



Η ένωση **26δ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο 2 σταδίων P-Michael/αδαμαντυλίωσης (μέθοδος Γ). Χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό οξύ **6α** σε κλίμακα 0.88 mmol (346 mg) και ο ακρυλικός εστέρας **13δ** σε κλίμακα 1.20 mmol (400 mg). Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα

έκλουσης PE(40-60):AcOEt 8:2→4:6. Παραλαμβάνονται 639 mg της ένωσης **26δ** ως κολλώδες στερεό (δυο στάδια, 80%).

**TLC**  $R_f$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH 7:0.5:0.5) = 0.56

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1.40 – 2.58 (m, 18H, Ad, PC*H*<sub>2</sub>), 2.77 – 3.45 (m, 3H, ArC*H*<sub>2</sub>C*H*CO), 3.58 – 3.91 (m, 6H, 2 × OC*H*<sub>3</sub>), 4.05 – 4.53 (m, 3H, C*H*C*H*<sub>2</sub>O), 4.92 - 5.32 (m, 3H, ArC*H*<sub>2</sub>O, NHC*H*), 6.05 – 6.50 (m, 4H, 3-H & 5-H της DMB, NC*H*, N*H*), 7.09 – 7.49 & 7.52 – 7.83 (m, 19H, Ar).

<sup>13</sup>**C** NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  29.3, 29.8 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 93.3 Hz), 29.9 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.0 Hz), 30.1 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 9.2 Hz), 31.1, 31.2, 35.4, 35.5, 38.3, 38.7 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 2.9 Hz), 43.7 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.2 Hz), 44.2 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.1 Hz), 47.0, 55.2, 55.3, 55.8 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 98.9 Hz), 57.1, 62.6, 62.8, 67.3, 84.5 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.3 Hz), 84.7 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.3 Hz), 98.4, 100.4, 100.5, 103.9, 115.9, 119.9, 124.9, 125.1, 126.6, 126.7, 127.0, 127.6, 127.8, 127.9, 127.9, 128.3, 128.7, 128.7, 128.9, 128.9, 129.8, 129.8, 131.6, 131.8, 135.1, 135.6, 141.2, 143.7, 155.8, 155.9, 156.1, 158.9, 159.0, 161.3, 161.3, 162.1, 162.2, 169.8, 169.8, 172.9 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 8.2 Hz), 173.2 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 8.6 Hz)

<sup>31</sup>P NMR (81 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 43.3\*, 43.7, 44.0\*, 45.1, 45.4\*.

HRMS (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για  $C_{54}H_{55}N_2NaO_9P^+$  929.3543, βρέθηκε 929.3527

# 2-({[(9*Η*-Φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβονυλαμινο)(φαινυλο)μεθυλο] (αδαμανταν-1-υλοξυ)φωσφορυλο}μεθυλο)-5-(βενζυλοξυ)-5-οξο πεντανοδιοϊκός 1-(2,4 διμεθοξυβενζυλο) 5-βενζυλεστέρας (26ε)



Η ένωση **26ε** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο 2 σταδίων P-Michael/αδαμαντυλίωσης (μέθοδος Γ). Χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό οξύ **6α** σε κλίμακα 0.94 mmol (370 mg) και ο ακρυλικός εστέρας **13ε** σε κλίμακα 1.13 mmol (434 mg). Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60):AcOEt 8/2→5/5.

Παραλαμβάνονται 617 mg της ένωσης 26ε ως κολλώδες στερεό (δυο στάδια, 72%).

**TLC**  $R_f$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH 7:0.5:0.5) = 0.75

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1.36 – 2.45 (m, 21H, Ad, PC*H*<sub>2</sub>, C*H*<sub>2</sub>C*H*<sub>2</sub>CO), 2.53 – 2.75 & 2.78 – 3.01 (m, 1H, C*H*CO), 3.56 – 3.88 (m, 6H, 2 × OC*H*<sub>3</sub>), 4.04 – 4.51 (m, 3H, C*H*C*H*<sub>2</sub>O), 4.87 - 5.32 (m, 5H, ArC*H*<sub>2</sub>O, PhC*H*<sub>2</sub>, NC*H*), 6.09 – 6.28 (m, 1H, N*H*), 6.29 – 6.51 (m, 2H, 3-H & 5-H της DMB), 7.06 – 7.85 (m, 19H, Ar).

<sup>13</sup>**C** NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 28.8, 28.8, 29.0, 29.1, 29.1\*, 30.7 (d,  ${}^{1}J_{PC}$  = 92.5 Hz), 31.1 (d,  ${}^{1}J_{PC}$  = 91.8 Hz), 31.2, 31.3, 35.6, 35.7, 36.3\*, 36.3\*, 37.2\*, 38.8, 39.5 (d, J = 4.0 Hz), 40.9\*, 43.7\*, 43.8 (d,  ${}^{3}J_{PC}$  = 3.3 Hz), 44.3 (d,  ${}^{3}J_{PC}$  = 3.3 Hz), 47.2, 55.2\*, 55.3, 55.4, 55.7 (d,  ${}^{1}J_{PC}$  = 95.7 Hz), 57.2, 62.6, 62.8, 63.2\*, 63.5\*, 66.3, 66.4, 67.4, 84.4 (d,  ${}^{2}J_{PC}$  = 10.2 Hz), 84.6 (d,  ${}^{2}J_{PC}$  = 10.2 Hz), 96,0\*, 98.5, 103.9, 114.4\*, 114.5\*, 116.2, 116.2, 120.0, 125.1, 125.2, 127.1, 127.7, 127.9, 128.0, 128.1, 128.1, 128.2, 128.2, 128.3, 128.3, 128.5, 128.5, 128.6, 128.9, 129.4, 129.5, 130.4\*, 131.7, 131.8, 135.4, 135.9, 135.9, 136.0, 141.3, 143.9, 156.0 (d,  ${}^{3}J_{PC}$  = 10.6 Hz), 156.0 (d,  ${}^{3}J_{PC}$  = 11.5 Hz), 157.1\*, 157.2\*, 159.0, 159.1, 160.3\*, 160.3\*, 161.4, 161.5, 172.4, 174.2 (d,  ${}^{3}J_{PC}$  = 5.9 Hz), 174.7 (d,  ${}^{3}J_{PC}$  = 5.7 Hz)

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, CDCl<sub>3</sub>) *δ* 43.6\*, 43.9, 44.6\*, 45.0\*, 45.7\*, 46.0.

HRMS (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για  $C_{54}H_{58}NNaO_{10}P^+$  934.3691, βρέθηκε 934.3654.
### 2-({[(9*Η*-Φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβονυλαμινο)(φαινυλο)μεθυλο] (αδαμανταν-1-υλοξυ)φωσφορυλο}μεθυλο)πεντ-4-υνοϊκός 2,4-διμεθοξυβενζυλεστέρας (26ζ)



Η ένωση **26ζ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο 2 σταδίων P-Michael/αδαμαντυλίωσης (μέθοδος Γ). Χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό οξύ **6α** σε κλίμακα 1.02 mmol (400 mg) και ο ακρυλικός εστέρας **13ζ** σε κλίμακα 1.22 mmol (317 mg). Η αντίδραση

αδαμαντυλίωσης διακόπτεται μετά από 16 ώρες βρασμού. Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60):AcOEt 8:2→4:6. Παραλαμβάνονται 305 mg της ένωσης **26ζ** ως κολλώδες στερεό (δυο στάδια, 38%).

#### **TLC** *R<sub>f</sub>* [PE(40-60):AcOEt 1:1] = 0.56

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1.34 – 2.25 (m, 17H, Ad, PC*H*<sub>2</sub>, C*H*HC≡C*H*), 2.30 – 2.71 (m, 2H, CH*H*C≡C*H*), 2.92 – 3.17 (m, 1H, C*H*CO), 3.62 – 3.92 (m, 6H, 2 × OC*H*<sub>3</sub>), 4.07 – 4.52 (m, 3H, C*H*C*H*<sub>2</sub>O), 4.92 – 5.32 (m, 3H, ArC*H*<sub>2</sub>O, NC*H*), 6.11– 6.26 (m, 1H, N*H*), 6.33 – 6.53 (m, 2H, 3-H & 5-H της DMB), 7.08 – 7.85 (m, 14H, Ar).

<sup>13</sup>**C** NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  22.5 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 9.5 Hz), 22.7 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 9.5 Hz), 29.0 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 94.5 Hz), 29.1\*, 29.6 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 92.2 Hz), 30.8\*, 31.1, 31.2, 35.5, 35.6, 36.3\*, 37.1\*, 38.5, 39.1 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.1 Hz), 40.8\*, 41.6\*, 43.7 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.2 Hz), 44.3 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.2 Hz), 47.1, 55.1\*, 55.3, 55.5\*, 55.9 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 96.5 Hz), 56.1 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 98.1 Hz), 62.5, 62.7, 63.1\*, 63.2\*, 67.3, 71.0, 71.1\*, 71.2\*, 71.3, 80.1, 80.1, 84.2 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.2 Hz), 84.5 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.2 Hz), 96,1\*, 98.4, 103.9, 114.6\*, 114.6\*, 116.3, 116.3, 119.9, 125.0, 125.1, 127.0, 127.6, 127.8, 127.9, 128.3, 128.7, 129.2, 130.4\*, 131.3, 131.5, 135.35, 135.7, 141.2, 143.8, 143.8, 155.8, 156.0, 156.1, 156.2 157.0\*, 157.0\*, 158.9, 159.0, 160.1\*, 161.3, 161.3, 172.8 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 8.7 Hz), 173.2 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 8.4 Hz)

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 43.7\*, 44.1, 44.3\*, 44.7\*, 45.6, 45.9\*.

**HRMS** (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για C<sub>47</sub>H<sub>50</sub>NNaO<sub>8</sub>P<sup>+</sup> 810.3172, βρέθηκε 810.3160

#### 3-({[(9*Η*-Φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβονυλαμινο)(φαινυλο)μεθυλο](αδαμανταν-1υλοξυ)φωσφορυλο}μεθυλο)ακρυλικός 2,4-διμεθοξυβενζυλεστέρας (26η)



Η ένωση **26η** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο 2 σταδίων P-Michael/ αδαμαντυλίωσης (μέθοδος Γ). Χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό οξύ **6α** σε κλίμακα 1.02 mmol (400 mg) και ο ακρυλικός εστέρας **13η** σε κλίμακα 1.32 mmol

(389 mg). Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60):AcOEt 8/2→4/6. Παραλαμβάνονται 497 mg της ένωσης 26η ως κολλώδες στερεό (δυο στάδια, 64%).

**TLC**  $R_f$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH 7:0.5:0.5) = 0.77

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.33 – 2.20 (m, 15H, Ad), 2.63 & 2.87 (2 × t, J = 15.5 Hz, 1H, PC*H*H), 3.03 (d J = 16.3 Hz, 1H, PC*H*H), 3.79 (s, 6H, 2 × OC*H*<sub>3</sub>), 4.08 – 4.53 (m, 3H, C*H*C*H*<sub>2</sub>O), 5.00 – 5.25 (m, 1H, NC*H*), 5.18 & 5.22 (2 × s, 6H, 2 × OC*H*<sub>3</sub>), 5.70 & 5.81 (2 × d, J = 4.7 Hz, C=C*H*H), 6.15 – 6.28 (br s, 1H, N*H*), 6.31 & 6.36 (2 × d, J = 4.7 Hz, C=CH*H*), 6.40 – 6.58 (m, 2H, 3-H & 5-H της DMB), 7.09 – 7.86 (m, 14H, Ar).

<sup>13</sup>**C NMR** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  28.9\*, 30.6\*, 30.9, 31.0, 31.6 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 86.7 Hz), 32.3 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 88.4 Hz), 35.3, 35.4, 36.1\*, 36.9\*, 40.6\*, 43.3 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.0 Hz), 44.0 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.1 Hz), 47.0, 53.1, 54.9\*, 55.1, 55.2, 55.3 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 98.6 Hz), 55.4\*, 62.2, 62.8\*, 67.0, 67.1, 83.8 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.5 Hz), 84.3 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.5 Hz), 95,9\*, 98.3, 103.8, 114.6\*, 116.2, 116.3, 119.7, 124.8, 124.9, 126.8, 127.5, 127.6, 128.0, 128.5, 130.1\*, 131.0, 131.2, 131.4 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 9.7 Hz), 132.0 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 9.5 Hz), 135.1, 135.2, 135.6, 141.0, 143.6, 155.8 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 8.5 Hz), 156.0 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 12.2 Hz), 156.9\*, 158.7, 159.8, 161.0, 166.0 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 4.1 Hz), 166.2 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.0 Hz).

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 41.5\*, 41.8\*, 42.3, 43.4, 43.5\*.

HRMS (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για  $C_{45}H_{48}NNaO_8P^+$  784.3010, βρέθηκε 784.3017.

## 3-{[(9*Η*-Φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβονυλαμινο)-3-(φαινυλοθειο)προπυλο](αδαμανταν-1-υλοξυ)φωσφορυλο}-2μεθυλοπροπανοϊκός 2,4-διμεθοξυβενζυλεστέρας (26θ)



Η ένωση **26θ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο 2 σταδίων P-Michael/ αδαμαντυλίωσης (μέθοδος Γ). Χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό οξύ **6θ** σε κλίμακα 1.02 mmol (461 mg) και ο ακρυλικός εστέρας **13θ** σε κλίμακα 1.11 mmol

(434 mg). Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60):AcOEt 8/2→5/5. Παραλαμβάνονται 387 mg της ένωσης 26θ ως κολλώδες στερεό (δυο στάδια, 46%).

**TLC**  $R_f$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH 7:0.5:0.5) = 0.76

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1.09 – 1.33 (m, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.39 – 2.50 (m, 19H, Ad, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, PCH<sub>2</sub>), 2.70 – 3.14 (m, 3H, SCH<sub>2</sub>, CHCO), 3.59 – 3.84 (m, 6H, 2 × OCH<sub>3</sub>), 3.93 – 4.26 (m, 2H, CHCH<sub>2</sub>O, NCH), 4.29 – 4.57 (m, 2H, CHCH<sub>2</sub>O), 4.93 - 5.23 (m, 2H, ArCH<sub>2</sub>O), 5.66 (br d, J = 10.7 Hz, 1H, NH), 6.31 – 6.48 (m, 2H, 3-H & 5-H της DMB), 7.09 – 7.47 & 7.53 – 7.83 (m, 14H, Ar).

<sup>13</sup>**C NMR** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 19.0 (d,  ${}^{3}J_{PC} = 7.1$  Hz), 28.1, 29.0, 30.0, 30.2, 30.5, 31.1, 32.9, 34.1, 34.3 (d,  ${}^{2}J_{PC} = 2.0$  Hz), 35.5, 44.1 (d,  ${}^{3}J_{PC} = 2.6$  Hz), 44.3 (d,  ${}^{3}J_{PC} = 2.9$  Hz), 47.1, 47.2, 49.7 (d,  ${}^{1}J_{PC} = 103.1$  Hz), 49.9 (d,  ${}^{1}J_{PC} = 108.5$  Hz), 55.2, 62.1, 66.9, 67.1, 83.3 (d,  ${}^{2}J_{PC} = 10.3$  Hz), 83.6 (d,  ${}^{2}J_{PC} = 10.3$  Hz), 98.3, 103.8, 103.8, 116.4, 119.9, 124.9, 125.1, 126.0, 126.1, 127.0, 127.6, 128.9, 128.9, 129.4, 129.8, 129.9, 130.9, 131.0, 135.6, 135.7, 141.2, 141.2, 143.6, 143.7, 143.8, 156.1 (d,  ${}^{3}J_{PC} = 4.6$  Hz), 156.5 (d,  ${}^{3}J_{PC} = 5.9$  Hz), 158.7, 161.0, 175.4 (d,  ${}^{3}J_{PC} = 9.7$  Hz), 175.5 (d,  ${}^{3}J_{PC} = 10.7$  Hz).

 $^{31}P$  NMR (81 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  47.1\*, 47.3, 47.6\*, 48.1, 48.5\*.

**HRMS** (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για C<sub>47</sub>H<sub>54</sub>NNaO<sub>8</sub>PS<sup>+</sup> 846.3200, βρέθηκε 846.3166.

# 2-({[(Βενζυλοξυκαρβονυλαμινο)(φαινυλο)μεθυλο] (αδαμανταν-1υλοξυ)φωσφορυλο}μεθυλο)ηλεκτρικός 1-(2,4-διμεθοξυβενζυλο)-4-*tert*βουτυλεστέρας (26ι)



Η ένωση **26ι** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο 2 σταδίων P-Michael/

αδαμαντυλίωσης (μέθοδος Γ). Χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό οξύ **5α** σε κλίμακα 1.02 mmol (310 mg) και ο ακρυλικός εστέρας **13ι** σε κλίμακα 1.22 mmol (410 mg). Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60):AcOEt 7/3→5/5. Παραλαμβάνονται 459 mg της ένωσης **26ι** ως κολλώδες στερεό (δυο στάδια, 58%).

**TLC**  $R_f$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH 7:0.5:0.5) = 0.76

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.18 & 2.15 [m, 25H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, Ad, PCHH], 2.17 – 2.41 (m, 1H, PCHH), 2.50 – 2.87 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 2.97 – 3.29 (m, 1H, CHCO), 3.61 – 3.92 (m, 6H, 2 × OCH<sub>3</sub>), 4.86 – 5.22 (m, 5H, PhCH<sub>2</sub>, ArCH<sub>2</sub>O, NCH), 5.83 – 6.22 (m, 1H, NH), 6.34 – 6.51 (m, 2H, 3-H & 5-H της DMB), 7.04 – 7.51 (m, 11H, Ar).

<sup>13</sup>**C NMR** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 27.8, 28.9\*, 29.5 (d,  ${}^{1}J_{PC} = 92.5$  Hz), 30.6\*, 31.0, 31.0, 35.3, 35.4, 35.7, 35.9, 36.1\*, 36.9\*, 37.2, 37.3, 40.6\*, 40.9\*, 43.5 (d,  ${}^{3}J_{PC} = 3.2$  Hz), 44.0 (d,  ${}^{3}J_{PC} = 3.2$  Hz), 55.0\*, 55.2, 55.3\*, 55.8 (d,  ${}^{1}J_{PC} = 96.5$  Hz), 57.0, 62.1, 62.3, 62.7\*, 62.9\*, 66.9, 80.5\*, 80.6, 80.6, 80.8\*, 83.9 (d,  ${}^{2}J_{PC} = 10.3$  Hz), 84.0 (d,  ${}^{2}J_{PC} = 10.3$  Hz), 95,9\*, 98.2, 103.8, 114.5\*, 114.6\*, 116.2, 127.7, 127.8, 127.9, 128.1, 128.2, 128.4, 129.0, 130.1\*, 131.1, 131.2, 135.1, 135.3, 136.2, 155.7, 155.9, 156.1, 156.8\*, 156.9\*, 158.6, 158.7, 159.9\*, 159.9\*, 161.0, 161.1, 170.1, 170.1, 170.2\*, 173.2 (d,  ${}^{3}J_{PC} = 12.0$  Hz), 173.6 (d,  ${}^{3}J_{PC} = 12.0$  Hz).

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 43.8\*, 44.4, 44.5\*, 45.5, 45.7\*.

HRMS (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για  $C_{43}H_{54}NNaO_{10}P^+$  798.3378, βρέθηκε 798.3391.

## 2-({[(9*Η*-Φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβονυλαμινο)(φαινυλο)μεθυλο] (αδαμανταν-1-υλοξυ)φωσφορυλο}μεθυλο)ηλεκτρικός 1-(2,4-διμεθοξυβενζυλο)-4-*tert*βουτυλεστέρας (26κ)



Η ένωση **26κ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο 2 σταδίων P-Michael/ αδαμαντυλίωσης (μέθοδος Γ). Χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό οξύ **6α** σε κλίμακα 1.02 mmol (400 mg) και ο ακρυλικός εστέρας **13ι** σε κλίμακα 1.22 mmol (410 mg). Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε

σύστημα έκλουσης PE(40-60):AcOEt 9/1→65/35. Παραλαμβάνονται 467 mg της ένωσης **26κ** ως κολλώδες στερεό (δυο στάδια, 53%).

#### **TLC** $R_f$ (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH 7:0.5:0.5) = 0.55

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1.19 & 2.23 [m, 25H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, Ad, PCHH], 2.23 – 2.49 (m, 1H, PCHH), 2.52 – 2.90 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 3.01 – 3.36 (m, 1H, CHCO), 3.63 – 3.93 (m, 6H, 2 × OCH<sub>3</sub>), 4.03 – 4.47 (m, 3H, CHCH<sub>2</sub>O), 4.90 – 5.23 (m, 3H, ArCH<sub>2</sub>O, NCH), 6.18–6.57 (m, 3H, 3-H & 5-H της DMB, NH), 7.09 – 7.84 (m, 14H, Ar).

<sup>13</sup>**C NMR** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 27.9, 28.9, 29.1\*, 29.7 (d,  ${}^{1}J_{PC}$  = 93.9 Hz), 30.8\*, 31.1, 31.2, 35.5, 35.6, 36.3\*, 37.1\*, 36.0 (d,  ${}^{3}J_{PC}$  = 7.1 Hz), 36.2, 37.5 (d,  ${}^{2}J_{PC}$  = 6.1 Hz), 37.7 (d,  ${}^{2}J_{PC}$  = 6.8 Hz), 40.8\*, 41.1\*, 43.7 (d,  ${}^{3}J_{PC}$  = 3.2 Hz), 44.3 (d,  ${}^{3}J_{PC}$  = 3.1 Hz), 47.1, 55.1\*, 55.3, 55.5\*, 56.0 (d,  ${}^{1}J_{PC}$  = 101.7 Hz), 56.1 (d,  ${}^{1}J_{PC}$  = 101.7 Hz), 62.3, 62.5, 62.9\*, 63.1\*, 67.3, 80.8, 80.8\*, 80.9\*, 80.9, 84.2 (d,  ${}^{2}J_{PC}$  = 10.4 Hz), 84.5 (d,  ${}^{2}J_{PC}$  = 10.4 Hz), 96,1\*, 98.4, 104.0, 114.6\*, 114.7\*, 116.3, 116.4, 119.9, 125.1, 127.0, 127.6, 127.9, 128.2, 128.2, 128.3, 128.3, 128.7, 129.1, 130.4\*, 131.2, 131.3, 135.3, 135.7, 141.2, 143.8, 155.9 (d,  ${}^{3}J_{PC}$  = 10.8 Hz), 157.0\*, 157.0\*, 158.8, 158.9, 160.0\*, 160.1\*, 161.2, 161.2, 170.1, 170.2\*, 173.4 (d,  ${}^{3}J_{PC}$  = 11.2 Hz), 173.8 (d,  ${}^{3}J_{PC}$  = 10.7 Hz)

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 43.8\*, 44.5, 45.6, 46.1\*.

HRMS (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για  $C_{50}H_{58}NNaO_{10}P^+$  886.3691, βρέθηκε 886.3690.

# 2-({[(9*Η*-Φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβονυλαμινο)(φαινυλο)μεθυλο] (αδαμανταν-1-υλοξυ)φωσφορυλο}μεθυλο)-5-(*tert*-βουτοξυκαρβονυλαμινο)πεντανοϊκός 2,4διμεθοξυβενζυλεστέρας (26λ)



Η ένωση **26λ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο 2 σταδίων P-Michael/ αδαμαντυλίωσης (μέθοδος Γ). Χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό οξύ **6α** σε κλίμακα 1.02 mmol (400 mg) και ο ακρυλικός εστέρας **13λ** σε κλίμακα 1.22 mmol (463 mg). Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60):AcOEt 7/3→4/6. Παραλαμβάνονται 611 mg της ένωσης **26λ** ως κολλώδες στερεό (δυο στάδια, 66%).

#### **TLC** $R_f$ (PE:AcOEt 2:1) = 0.40

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1.31 – 2.20 [m, 31H, C(C*H*<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, Ad, PC*H*<sub>2</sub>C*H*C*H*<sub>2</sub>C*H*<sub>2</sub>), 2.72 – 3.15 (m, 2H, C*H*<sub>2</sub>NH), 3.66 – 3.91 (m, 6H, 2 × OC*H*<sub>3</sub>), 4.03 – 4.47 (m, 3H, C*H*C*H*<sub>2</sub>O), 4.48 – 4.66 (m, 1H, N*H*CH<sub>2</sub>), 4.90 – 5.30 (m, 3H, ArC*H*<sub>2</sub>O, NC*H*), 6.18 – 6.27 (m, 1H, N*H*), 6.31 – 6.52 (m, 2H, 3-H & 5-H της DMB), 7.06 –7.83 (m, 14H, Ar).

<sup>13</sup>**C NMR** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 26.7, 26.8, 26.9, 28.4, 29.0\*, 30.7 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 94.0 Hz), 30.8\*, 30.9 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 92.1 Hz), 31.1, 31.2, 35.5, 35.6, 36.2\*, 37.0\*, 38.8, 39.4 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.8 Hz), 39.8, 40.8\*, 41.7\*, 43.6\*, 43.7 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.3 Hz), 44.2 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.2 Hz), 47.1, 55.1\*, 55.3, 55.5\*, 55.5 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 97.1 Hz), 57.2, 62.2, 62.4, 62.7\*, 63.0\*, 67.3, 78.8, 79.0, 84.2 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 9.9 Hz), 84.3 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 9.9 Hz), 96,0\*, 98.4, 103.9, 114.6\*, 114.7\*, 116.3, 116.3, 119.9, 125.0, 125.1, 125.2, 127.0, 127.6, 127.9, 127.9, 128.2, 128.3, 128.6, 128.8, 129.3, 130.3\*, 131.6, 131.7, 135.3, 135.8, 135.9, 141.2, 143.7, 143.7, 155.5, 155.9, 155.9, 156.1, 157.0\*, 157.0\*, 158.9, 159.0, 160.1\*, 160.1\*, 161.3, 161.3, 174.4 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 6.4 Hz), 175.0 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 7.1 Hz)

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 44.1, 44.8\*, 45.2\*, 45.9\*, 46.2, 46.3\*.

HRMS (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για  $C_{52}H_{63}N_2NaO_{10}P^+$  929.4118, βρέθηκε 929.4121

#### <u>Γενική μέθοδος Δ αποπροστασίας των DMB προστατευμένων καρβοξυλικών</u> <u>άκρων σε φωσφινικά ψευδοδιπεπτίδια τύπου 26.</u>

Διάλυμα του DMB-προστατευμένου φωσφινικού διπεπτιδίου τύπου **26** σε (1.0 equiv) σε CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (12.5 ml/mmol) ψύχεται στους 0 °C και προστίθεται TIPS (2.0 eq) και 2% TFA (12.5 ml δ/τος/mmol). Η ψύξη διατηρείται, η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με TLC και τερματίζεται στα 20-40 λεπτά, ανάλογα με την περίπτωση. Το μίγμα της αντίδρασης συμπυκνώνεται και στη συνέχεια διαλύεται σε AcOEt και εκπλένεται με 1M HCl και κορ. NaCl. Η οργανική φάση συλλέγεται, ξηραίνεται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και συμπυκνώνεται. Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης. Ακολουθεί καταβύθιση του προϊόντος τύπου **29** με παγωμένο PE(40-60) και διήθηση.

#### 2-({[(9*Η*-Φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβονυλαμινο)(φαινυλο)μεθυλο](αδαμανταν-1υλοξυ)φωσφορυλο}μεθυλο)πεντ-4-ενοϊκό οξύ (29α)



Η ένωση **29α** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο αποπροστασίας Δ. Χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό ψευδοδιπεπτίδιο **26α** σε κλίμακα 0.24 mmol (190 mg). Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60)/AcOEt/AcOH 80:20:0.2 → PE(40-60)/AcOEt/AcOH 50:50:0.2. Ακολουθεί διάλυση σε ελάχιστη

ποσότητα CHCl<sub>3</sub> και καταβύθιση με ψυχρό PE(40-60). Παραλαμβάνονται 137 mg της ένωσης **29α** ως λευκό στερεό (89%).

TLC R<sub>f</sub> (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 9.5/0.5)=0.33

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 1.44 – 2.15 (m, 16H, Ad, PC*H*H), 2.16 – 2.45 (m, 3H, PCH*H*, C*H*<sub>2</sub>CHCO), 2.52 – 2.84 (m, 1H, C*H*CO), 4.14 – 4.27 (m, 1H, C*H*CH<sub>2</sub>O), 4.28 – 4.48 (m, 2H, CHC*H*<sub>2</sub>O), 4.97 – 5.24 (m, 3H, CH=C*H*<sub>2</sub>, NC*H*), 5.47 – 5.76 (m, 1H, C*H*=CH<sub>2</sub>), 7.10 – 7.50 & 7.59 – 7.83 (m, 13H, Ar), 8.05 & 8.24 (2 × br d, J = 10.0 Hz, 1H, N*H*).

<sup>13</sup>**C** NMR (50 MHz, 20% CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  29.5 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 93.7 Hz), 30.1 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 92.7 Hz), 32.1, 32.2, 36.3, 36.4, 38.5 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 11.5 Hz), 38.6 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.9 Hz), 40.0, 44.6 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.2 Hz), 44.9 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.1 Hz), 47.9, 56.5 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 99.8 Hz), 57.6 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 101.8 Hz), 68.1, 85.4 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.7 Hz), 118.4, 118.5, 120.6, 125.8, 128.5, 128.8, 128.8, 128.9, 129.1, 129.2, 129.4, 134.9, 135.0, 136.0, 136.2, 142.1, 144.6, 157.8 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 9.6 Hz), 177.0 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 5.4 Hz), 177.4 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 5.8 Hz).

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 45.9\*, 46.7, 47.0\*, 47.4\*, 47.9\*, 48.0.

**HRMS** (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για C<sub>38</sub>H<sub>42</sub>NNaO<sub>6</sub>P<sup>+</sup> 662.2642, βρέθηκε 662.2653

#### 3-{[(9*Η*-Φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβονυλαμινο)(φαινυλο)μεθυλο](αδαμανταν-1υλοξυ)φωσφορυλο}-2-(4-βρωμοβενζυλο)προπανοϊκό οξύ (29β)

Η ένωση **29β** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο αποπροστασίας Δ. Χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό ψευδοδιπεπτίδιο **26β** σε κλίμακα 0.20 mmol (179 mg). Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης



PE(40-60)/AcOEt/AcOH 80:20:0.2 → PE(40-60)/AcOEt/AcOH 50:50:0.2. Ακολουθεί διάλυση σε ελάχιστη ποσότητα CHCl<sub>3</sub> και καταβύθιση με ψυχρό PE(40-60). Παραλαμβάνονται 129 mg της ένωσης **29β** ως λευκό στερεό (84%).

**TLC**  $R_f$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 9.5:0.5) = 0.29

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  1.42 – 2.07 (m, 16H, Ad, PC*H*H), 2.08 – 2.39 (m, 1H, PCH*H*), 2.53 – 3.05 (m, 3H, ArC*H*<sub>2</sub>C*H*CO), 4.10 – 4.25 (m, 1H, C*H*CH<sub>2</sub>O), 4.26 – 4.46 (m, 2H, CHC*H*<sub>2</sub>O), 4.99 – 5.22 (m, 1H, NC*H*), 6.93 – 7.09 & 7.18 – 7.46 & 7.59 – 7.83 (m, 17H, Ar), 7.99 & 8.21 (2 × br d, *J* = 9.9 Hz, 1H, N*H*).

<sup>13</sup>**C** NMR (50 MHz, 20% CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  29.5 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 93.5 Hz), 29.7 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 91.4 Hz), 32.1, 32.2, 36.3, 39.4 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 12.3 Hz), 39.7, 42.1 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.7 Hz), 42.4 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 2.6 Hz), 44.5 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.2 Hz), 44.8 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.4 Hz), 47.9, 56.5 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 101.1 Hz), 57.4 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 100.9 Hz), 68.1, 85.4 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.5 Hz), 85.4 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.6 Hz), 120.6, 121.2, 121.3, 125.8, 125.8, 127.8, 128.5, 128.8, 129.1, 129.2, 129.3, 129.4, 131.8, 132.3, 136.0, 136.0, 138.0, 138.1, 142.1, 144.6, 157.7 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 9.2 Hz), 176.8 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 4.5 Hz), 177.1 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 5.7 Hz).

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 45.4\*, 46.2\*, 46.4, 46.7\*, 47.3.

HRMS (m/z): [M + H]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για C<sub>42</sub>H<sub>44</sub>BrNO<sub>6</sub>P<sup>+</sup> 768.2084, βρέθηκε 768.2057

#### 2-({[(9*Η*-Φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβονυλαμινο)(φαινυλο)μεθυλο](αδαμανταν-1υλοξυ)φωσφορυλο}μεθυλο)-4-(βενζυλοξυ)βουτανοϊκό οξύ (29γ)



Η ένωση **29γ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο αποπροστασίας Δ. Χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό ψευδοδιπεπτίδιο **26γ** σε κλίμακα 0.24 mmol (209 mg). Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60)/AcOEt/AcOH 80:20:0.2  $\rightarrow$  PE(40-60)/AcOEt/AcOH 50:50:0.2. Ακολουθεί διάλυση σε ελάχιστη ποσότητα CHCl<sub>3</sub> και καταβύθιση με ψυχρό PE(40-60).

Παραλαμβάνονται 158 mg της ένωσης **29γ** ως λευκό στερεό (91%).

**TLC**  $R_f$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 9.5:0.5) = 0.29

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 1.40 – 2.10 (m, 18H, Ad, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O, PC*H*H), 2.13 – 2.46 (m, 1H, PCH*H*), 2.67 – 3.00 (m, 1H, C*H*CO), 3.43 (t, J = 6.0 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>OBn), 4.10 – 4.25 (m, 1H, C*H*CH<sub>2</sub>O), 4.26 – 4.46 (m, 4H, CHCH<sub>2</sub>O, PhCH<sub>2</sub>), 5.01 – 5.26 (m, 1H, NC*H*), 7.12 – 7.49 & 7.56 – 7.81 (m, 18H, Ar), 8.01 & 8.19 (2 × br d, J = 9.8 Hz, 1H, N*H*).

<sup>13</sup>**C** NMR (50 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  30.6 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 90.3 Hz), 31.2 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 92.1 Hz), 32.6, 32.7, 34.6 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 11.1 Hz), 34.7 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 11.1 Hz), 36.6, 36.7, 38.2 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 4.2 Hz), 38.0 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 2.9 Hz), 44.9 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.4 Hz), 45.2 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.3 Hz), 48.3, 57.0 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 100.5 Hz), 58.0 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 101.5 Hz), 68.3, 68.6, 68.7, 73.9, 85.5 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.6 Hz), 120.9, 126.2, 128.2, 128.5, 128.6, 128.7, 128.7, 128.8, 129.1, 129.1, 129.3, 129.3, 129.4, 129.6, 136.6, 136.6, 139.7, 142.5, 145.1, 158.2, 158.2, 158.4, 178.0 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 4.5 Hz), 178.1 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 5.7 Hz).

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 45.7\*, 46.4, 46.7\*, 46.8\*, 47.0\*, 47.6\*, 47.7.

HRMS (m/z): [M + H]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για C<sub>44</sub>H<sub>49</sub>NO<sub>7</sub>P<sup>+</sup> 734.3241, βρέθηκε 734.3229

#### 3-{[(9*Η*-Φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβονυλαμινο)(φαινυλο)μεθυλο](αδαμανταν-1υλοξυ)φωσφορυλο}-2-(4-βρωμοβενζυλο)προπανοϊκό οξύ (29δ)



Η ένωση **29δ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο αποπροστασίας Δ. Χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό ψευδοδιπεπτίδιο **26δ** σε κλίμακα 0.28 mmol (251 mg). Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60)/AcOEt/AcOH 80:20:0.2  $\rightarrow$  PE(40-60)/AcOEt/AcOH 50:50:0.2. Ακολουθεί διάλυση σε ελάχιστη ποσότητα CHCl<sub>3</sub> και καταβύθιση με ψυχρό PE(40-60).

Παραλαμβάνονται 170 mg της ένωσης **29δ** ως λευκό στερεό (81%).

**TLC**  $R_f$  (PE/AcOEt/AcOH 6:3:0.2) = 0.22

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  1.38 – 2.12 (m, 16H, Ad, PC*H*H), 2.19 – 2.56 (m, 1H, PCH*H*), 2.88 – 3.25 (m, 3H, ArC*H*<sub>2</sub>C*H*CO), 4.06 – 4.23 (m, 1H, C*H*CH<sub>2</sub>O), 4.23 – 4.46 (m, 2H, CHC*H*<sub>2</sub>O), 5.04 - 5.27 (m, 1H, NHC*H*), 6.42 & 6.54 (2 × s, 1H, NC*H*), 7.09 – 7.49 & 7.52 – 7.83 (m, 18H, Ar), 8.05 & 8.26 (2 × br d, *J* = 9.6 Hz, 1H, N*H*).

<sup>13</sup>**C** NMR (50 MHz, 20% CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  28.9, 30.1 (d, <sup>1</sup> $J_{PC}$  = 91.0 Hz), 30.5, 30.7, 30.9, 32.3, 36.3, 39.5, 44.7 (d, <sup>3</sup> $J_{PC}$  = 3.3 Hz), 44.9 (d, <sup>3</sup> $J_{PC}$  = 3.3 Hz), 48.0, 48.0, 56.7 (d, <sup>1</sup> $J_{PC}$  = 101.7 Hz), 57.6 (d, <sup>1</sup> $J_{PC}$  = 104.4 Hz), 68.2, 85.6 (d, <sup>2</sup> $J_{PC}$  = 10.8 Hz), 85.7 (d, <sup>2</sup> $J_{PC}$  = 10.4 Hz), 101.7, 101.9, 120.8, 126.0, 127.5, 128,0, 128.6, 129.0, 129.1, 129.3, 129.4, 129.8, 129.8, 131.0, 131.0, 136.0, 136.0, 142.2, 144.8, 157.9 (d, <sup>3</sup> $J_{PC}$  = 9.0 Hz), 163.5, 171.5, 171.6, 175.9 (d, <sup>3</sup> $J_{PC}$  = 7.2 Hz), 176.1 (d, <sup>3</sup> $J_{PC}$  = 7.8 Hz).

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  45.1\*, 45.8\*, 46.0, 46.1\*, 46.9.

**HRMS** (m/z): [M + H]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για C<sub>45</sub>H<sub>45</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>7</sub>P<sup>+</sup> 779.2857, βρέθηκε 779.2852

#### 2-({[(9*Η*-Φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβονυλαμινο)(φαινυλο)μεθυλο](αδαμανταν-1υλοξυ)φωσφορυλο}μεθυλο)-5-(βενζυλοξυ)-5-οξοπεντανοϊκό οξύ (29ε)



Η ένωση **29ε** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο αποπροστασίας Δ. Χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό ψευδοδιπεπτίδιο **26ε** σε κλίμακα 0.66 mmol (505 mg). Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60)/AcOEt/AcOH 80:20:0.2 → PE(40-60)/AcOEt/AcOH 50:50:0.2. Ακολουθεί διάλυση σε ελάχιστη ποσότητα CHCl<sub>3</sub> και καταβύθιση με ψυχρό PE(40-

60). Παραλαμβάνονται 372 mg της ένωσης 29ε ως λευκό στερεό (74%).

**TLC**  $R_f$  (PE/AcOEt/AcOH 6:3:0.2) = 0.18

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  1.42 – 2.10 (m, 18H, Ad, PC*H*H, C*H*<sub>2</sub>CO), 2.10 – 2.48 (m, 3H, PCH*H*, COCHC*H*<sub>2</sub>), 2.55 – 2.85 (m, 1H, C*H*CO), 4.13 – 4.25 (m, 1H, C*H*CH<sub>2</sub>O), 4.26 – 4.49 (m, 2H, CHC*H*<sub>2</sub>O), 4.97 - 5.30 (m, 3H, PhC*H*<sub>2</sub>, NC*H*), 7.09 – 7.50 & 7.57 – 7.81 (m, 18H, Ar), 8.04 & 8.21 (2 × br d, *J* = 9.7 Hz, 1H, N*H*).

<sup>13</sup>**C** NMR (50 MHz, 20% CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  29.2, 29.4, 29.9, 30.1, 32.0, 32.0, 36.1, 36.2, 39.3 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 2.7 Hz), 39.7 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 4.2 Hz), 44.4 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.3 Hz), 44.7 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.2 Hz), 47.7, 56.4 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 100.0 Hz), 57.1 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 103.3 Hz), 68.0, 66.9, 85.5 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.6 Hz), 120.5, 125.7, 125.7, 125.9, 127.7, 128.4, 128.7, 128.9, 129.1, 129.4, 129.5, 135.7, 136.1, 136.6, 142.0, 144.5, 144.5, 157.6 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.2 Hz), 173.4, 176.8 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 6.5 Hz), 177.2 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 6.1 Hz)

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 45.3\*, 46.2, 46.4\*, 46.9\*, 47.4.

HRMS (m/z): [M + H]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για  $C_{45}H_{48}NNaO_8P^+$  784.3010, βρέθηκε 784.3003

### 2-({[(9*Η*-Φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβονυλαμινο)(φαινυλο)μεθυλο](αδαμανταν-1υλοξυ)φωσφορυλο}μεθυλο)πεντ-4-υνοϊκό οξύ (29ζ)



Η ένωση **29ζ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο αποπροστασίας Δ. Χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό ψευδοδιπεπτίδιο **26ζ** σε κλίμακα 0.31 mmol (200 mg). Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60)/AcOEt/AcOH 80:20:0.2 → PE(40-60)/AcOEt/AcOH 50:50:0.2. Ακολουθεί διάλυση σε ελάχιστη

ποσότητα CHCl<sub>3</sub> και καταβύθιση με ψυχρό PE(40-60). Παραλαμβάνονται 140 mg της ένωσης **29ζ** ως λευκό στερεό (71%).

**TLC**  $R_f$  (PE/AcOEt/AcOH 6:3:0.2) = 0.16

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  1.44 – 2.14 (m, 16H, Ad, PC*H*H), 2.23 – 2.98 (m, 5H, PCH*H*C*H*C*H*<sub>2</sub>C≡C*H*), 4.11 – 4.26 (m, 1H, C*H*CH<sub>2</sub>O), 4.27 – 4.50 (m, 2H, CHC*H*<sub>2</sub>O), 5.02 - 5.28 (m, 1H, NC*H*), 7.15 – 7.51 & 7.60 – 7.83 (m, 13H, Ar), 8.07 & 8.25 (2 × br d, *J* = 9.5 Hz, 1H, N*H*).

<sup>13</sup>**C** NMR (50 MHz, 20% CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  23.1 (d, <sup>3</sup>J<sub>PC</sub> = 10.3 Hz), 23.1 (d, <sup>3</sup>J<sub>PC</sub> = 9.5 Hz), 29.5 (d, <sup>1</sup>J<sub>PC</sub> = 91.2 Hz), 29.3 (d, <sup>1</sup>J<sub>PC</sub> = 93.5 Hz), 32.1, 32.2, 36.3, 36.3, 39.5, 39.5, 44.5 (d, <sup>3</sup>J<sub>PC</sub> = 3.4 Hz), 44.9 (d, <sup>3</sup>J<sub>PC</sub> = 3.3 Hz), 47.9, 56.6 (d, <sup>1</sup>J<sub>PC</sub> = 100.8 Hz), 57.2 (d, <sup>1</sup>J<sub>PC</sub> = 102.7 Hz), 68.1, 72.0, 72.1, 85.4 (d, <sup>2</sup>J<sub>PC</sub> = 10.4 Hz), 85.5 (d, <sup>2</sup>J<sub>PC</sub> = 10.4 Hz), 120.6, 125.8, 127.8, 128.4, 128.8, 128.8, 128.9, 128.9, 129.0, 129.1, 129.1, 129.3, 129.3, 135.7, 135.9, 142.1, 144.6, 157.8 (d, <sup>3</sup>J<sub>PC</sub> = 9.4 Hz), 175.7 (d, <sup>3</sup>J<sub>PC</sub> = 8.1 Hz), 176.0 (d, <sup>3</sup>J<sub>PC</sub> = 8.6 Hz).

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, CD<sub>3</sub>OD, 20%CDCl<sub>3</sub>) δ 45.77, 46.46, 46.66, 47.51.

**HRMS** (m/z): [M + H]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για C<sub>38</sub>H<sub>40</sub>NNaO<sub>6</sub>P<sup>+</sup> 660.2485, βρέθηκε 660.2481

### 3-({[(9*Η*-Φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβονυλαμινο)(φαινυλο)μεθυλο](αδαμανταν-1υλοξυ)φωσφορυλο}μεθυλο)ακρυλικό οξύ (29η)



Η ένωση **29η** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο αποπροστασίας Δ. Χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό ψευδοδιπεπτίδιο **26η** σε κλίμακα 0.66 mmol (505 mg). Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60)/AcOEt/AcOH 80:20:0.2 → 50:50:0.2. Ακολουθεί διάλυση σε ελάχιστη

ποσότητα CHCl<sub>3</sub> και καταβύθιση με ψυχρό PE(40-60). Παραλαμβάνονται 372 mg της ένωσης **29η** ως λευκό στερεό (92%).

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  1.35 – 2.13 (m, 15H, Ad), 2.64 – 3.09 (m, 2H, PC*H*<sub>2</sub>), 4.08 – 4.25 (m, 1H, C*H*CH<sub>2</sub>O), 4.27 – 4.57 (m, 2H, CHC*H*<sub>2</sub>O), 5.11 (dt, *J* = 10.0, 16.7 Hz, 1H, NC*H*), 5.72 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H, C=C*H*H), 6.31 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H, C=CH*H*), 7.13 – 7.49 & 7.58 – 7.81 (m, 13H, Ar), 7.97 – 8.12 (m, 1H, N*H*).

<sup>13</sup>**C** NMR (50 MHz, 20% CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD) δ 32.0 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 88.8 Hz), 32.3 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 88.2 Hz), 32.1, 32.2, 36.3, 36.3, 44.3 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.4 Hz), 44.8 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.4 Hz), 48.0, 55.6 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 104.6 Hz), 56.2 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 101.4 Hz), 67.3, 67.4, 85.7 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.7 Hz), 85.3 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 11.0 Hz), 120.6, 125.8, 127.8, 128.5, 128.8, 128.8, 128.9, 129.1, 129.3, 129.3, 129.4, 129.4, 129.5, 132.7 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 9.7 Hz), 133.1 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.1 Hz), 135.8, 135.9, 142.1, 144.5, 144.7, 157.7 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.4 Hz), 157.7 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 11.4 Hz), 169.0 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.6 Hz), 169.1 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.1 Hz)

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 43.1\*, 43.8\*, 44.1, 44.8.

HRMS (m/z): [M - H]<sup>-</sup> υπολογίστηκε για C<sub>36</sub>H<sub>37</sub>NO<sub>6</sub>P<sup>-</sup>610.2364, βρέθηκε 610.2350

#### 3-{[(9*Η*-Φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβονυλαμινο)-3-(φαινυλοθειο)προπυλο] (αδαμανταν-1-υλοξυ)φωσφορυλο}-2-μεθυλοπροπανοϊκό οξύ (29θ)



Η ένωση **29θ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο αποπροστασίας Δ. Χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό ψευδοδιπεπτίδιο **26θ** σε κλίμακα 0.34 mmol (280 mg). Στο μίγμα της αντίδρασης προστίθεται Me<sub>2</sub>S (3.4 mmol, 211mg). Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε

σύστημα έκλουσης PE(40-60)/AcOEt/AcOH 80:20:0.2 → PE(40-60)/AcOEt/AcOH 50:50:0.2. Ακολουθεί διάλυση σε ελάχιστη ποσότητα CHCl<sub>3</sub> και καταβύθιση με ψυχρό PE(40-60). Παραλαμβάνονται 185 mg της ένωσης **29θ** ως λευκό στερεό (81%).

**TLC**  $R_f$  (PE/AcOEt/AcOH 6:3:0.2) = 0.21

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, 50% CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD) δ 1.23 (dd, J = 5.5, 7.1 Hz, 3H,  $CH_3$ ), 1.42 – 2.15 (m, 18H, Ad, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, PCHH), 2.16 – 2.48 (m, 1H, PCHH), 2.64 – 2.90 & 2.91 – 3.10 (m, 3H, SCH<sub>2</sub>, CHCO), 3.96 – 4.25 (m, 2H, CHCH<sub>2</sub>O, NCH), 4.29 – 4.57 (m, 2H, CHCH<sub>2</sub>O), 6.72 & 7.07 (2 × br d, J = 9.9 Hz, 1H, NH), 7.08 – 7.42 & 7.55 – 7.78 (m, 14H, Ar).

<sup>13</sup>**C** NMR (50 MHz, 50% CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  28.2 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.6 Hz), 28.7 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 4.7 Hz), 30.5 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 13.6 Hz), 30.6 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 13.4 Hz), 31.8, 31.8 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 89.8 Hz), 31.9 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 89.4 Hz), 32.7, 32.8, 34.4, 34.6 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.6 Hz), 36.0, 44.6 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.5 Hz), 44.7 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.5 Hz), 50.3 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 104.5 Hz), 50.6 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 110.4 Hz), 67.3, 67.4, 84.4 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.6 Hz), 84.5 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.6 Hz), 120.4, 125.4, 125.5, 125.7, 127.7, 128.4, 128.7, 128.9, 129.1, 129.4, 129.5, 135.7, 135.9, 136.0, 144.1, 144.3, 157.5 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 4.8 Hz), 157.6 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 5.5 Hz), 178.2 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 9.8 Hz), 178.3 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.0 Hz)

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, 50% CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD) δ 49.3\*, 50.1, 50.2, 50.9\*.

HRMS (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για  $C_{38}H_{44}NNaO_6PS^+$  696.2519, βρέθηκε 696.2517.

## 2-({[(Βενζυλοξυκαρβονυλαμινο)(φαινυλο)μεθυλο](αδαμανταν-1υλοξυ)φωσφορυλο}μεθυλο)-4-(*tert*-βουτοξυ)-4-οξοβουτανοϊκό οξύ (29ι)



Η ένωση **29ι** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο αποπροστασίας Δ. Χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό ψευδοδιπεπτίδιο **26ι** σε κλίμακα 0.47 mmol (366 mg). Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60)/AcOEt/AcOH 80:20:0.2 → PE(40-60)/AcOEt/AcOH 50:50:0.2. Ακολουθεί διάλυση σε ελάχιστη

ποσότητα CHCl<sub>3</sub> και καταβύθιση με ψυχρό PE(40-60). Παραλαμβάνονται 203 mg της ένωσης **29ι** ως λευκό στερεό (69%)

**TLC**  $R_f$  (PE/AcOEt/AcOH 6:3:0.2) = 0.20

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 1.40 & 1.42 & 1.43 [3 × s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>], 1.50 – 2.20 (m, 16H, Ad, PC*H*H), 2.30 – 2.79 (m, 3H, PCH*H*CHCH<sub>2</sub>), 2.82 – 3.21 (m, 1H, C*H*CO), 4.97 - 5.30 (m, 3H, PhCH<sub>2</sub>, NC*H*), 7.05 – 7.52 (m, 10H, Ar), 8.01 & 8.22 (2 × br d, J = 9.8 Hz, 1H, N*H*).

<sup>13</sup>**C** NMR (50 MHz, 20% CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  28.3, 29.9 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 93.0 Hz), 30.0 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 92.4 Hz), 32.2, 32.2, 36.3, 36.3, 36.4, 36.5, 38.3 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 5.2 Hz), 44.6 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.4 Hz), 44.9 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.3 Hz), 47.9, 56.6 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 100.9 Hz), 57.3 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 102.1 Hz), 67.9, 81.9, 85.4 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.5 Hz), 128.7, 128.8, 128.8, 128.9, 129.0, 129.1, 129.2, 129.3, 129.3, 135.7, 135.9, 137.3, 137.4, 157.8 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 9.4 Hz), 171.7, 171.8, 176.3 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 11.2 Hz), 176.6 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 12.3 Hz).

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 46.4\*, 46.7, 47.6\*, 47.7.

HRMS (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για  $C_{38}H_{44}NNaO_8P^+$  648.2697, βρέθηκε 648.2697.

#### 2-({[(9*Η*-Φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβονυλαμινο)(φαινυλο)μεθυλο](αδαμανταν-1υλοξυ)φωσφορυλο}μεθυλο)-4-(*tert*-βουτοξυ)-4-οξοβουτανοϊκό οξύ (29κ)



Η ένωση **29**κ παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο αποπροστασίας Δ. Χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό ψευδοδιπεπτίδιο **26**κ σε κλίμακα 0.30 mmol (262 mg). Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60)/AcOEt/AcOH 80:20:0.2  $\rightarrow$  PE(40-60)/AcOEt/AcOH 50:50:0.2. Ακολουθεί διάλυση σε ελάχιστη

ποσότητα CHCl<sub>3</sub> και καταβύθιση με ψυχρό PE(40-60). Παραλαμβάνονται 160 mg της ένωσης **29κ** ως λευκό στερεό (75%).

**TLC**  $R_f$  (PE/AcOEt/AcOH 6:3:0.2) = 0.25

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 1.39 & 1.41 [2 × s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>], 1.45 – 2.15 (m, 16H, Ad, PC*H*H), 2.26 – 2.80 (m, 3H, PCH*H*CHC*H*<sub>2</sub>), 2.81 – 3.22 (m, 1H, C*H*CO), 4.12 – 4.25 (m, 1H, C*H*CH<sub>2</sub>O), 4.26 – 4.53 (m, 2H, CHC*H*<sub>2</sub>O), 5.01 - 5.31 (m, 1H, NC*H*), 7.11 – 7.51 & 7.56 – 7.82 (m, 13H, Ar), 8.08 & 8.25 (2 × br d, J = 9.7 Hz, 1H, N*H*).

<sup>13</sup>**C** NMR (50 MHz, 20% CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  28.2, 29.5 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 93.0 Hz), 30.1 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 92.8 Hz), 32.1, 32.2, 36.2, 36.3, 36.5 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 4.1 Hz), 38.3 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 5.4 Hz), 44.5 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.4 Hz), 44.9 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.3 Hz), 47.9, 56.6 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 100.9 Hz), 57.2 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 102.2 Hz), 68.0, 68.0, 81.9, 85.5 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 10.4 Hz), 120.6, 125.8, 127.8, 128.4, 128.8, 128.9, 129.0, 129.1, 129.2, 129.3, 129.3, 135.7, 135.9, 142.1, 144.6, 144.6, 157.7 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 9.9 Hz), 171.7, 171.8, 176.3 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 11.0 Hz), 176.6 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 12.1 Hz).

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, CD<sub>3</sub>OD, 20%CDCl<sub>3</sub>) δ 45.9\*, 46.3\*, 46.5\*, 46.9, 47.7.

**HRMS** (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για C<sub>41</sub>H<sub>48</sub>NNaO<sub>8</sub>P<sup>+</sup> 736.3010, βρέθηκε 736.3007.

## 2-({[(9*Η*-Φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβονυλαμινο)(φαινυλο)μεθυλο](αδαμανταν-1υλοξυ)φωσφορυλο}μεθυλο)-5-(*tert*-βουτοξυκαρβονυλαμινο)πεντανοϊκό οξύ (29λ)



Η ένωση **29λ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο αποπροστασίας Δ. Χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό ψευδοδιπεπτίδιο **26λ** σε κλίμακα 0.57 mmol (434 mg). Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60)/AcOEt/AcOH 80:20:0.2  $\rightarrow$  PE(40-60)/AcOEt/AcOH 50:50:0.2. Ακολουθεί διάλυση σε ελάχιστη

ποσότητα CHCl<sub>3</sub> και καταβύθιση με ψυχρό PE(40-60). Παραλαμβάνονται 332 mg της ένωσης **29λ** ως λευκό στερεό (77%)

**TLC**  $R_f$  (PE/AcOEt/AcOH 6:3:0.2) = 0.16

<sup>1</sup>**H NMR** (200 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 1.40 & 1.42 [2 × s, 9H, (C $H_3$ )<sub>3</sub>], 1.46 – 2.46 (m, 21H, Ad, PC $H_2$ CHC $H_2$ CH<sub>2</sub>), 2.47 – 2.76 (m, 1H, CHCO), 2.84 – 3.08 (m, 2H, C $H_2$ NH), 4.13 – 4.27 (m, 1H, CHCH<sub>2</sub>O), 4.29 – 4.50 (m, 2H, CHC $H_2$ O), 4.99 - 5.24 (m, 1H, NCH), 7.13 – 7.52 & 7.59 – 7.83 (m, 14H, Ar, NHCH<sub>2</sub>), 8.04 & 8.23 (2 × br d, J = 9.4 Hz, 1H, NHCH).

<sup>13</sup>**C NMR** (50 MHz, 20% CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD) δ 28.0, 28.8, 30.5, 30.5 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 93.4 Hz), 31.9\*, 32.3, 32.3, 36.4, 36.4, 37.0\*, 40.1 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.0 Hz), 40.7, 42.6\*, 44.6 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.4 Hz), 44.9 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>PC</sub> = 3.2 Hz), 48.0, 56.7 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 99.1 Hz), 57.7 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>PC</sub> = 100.7

Hz), 68.0, 68.2, 79.5, 85.4 (d,  ${}^{2}J_{PC}$  = 10.5 Hz), 85.5 (d,  ${}^{2}J_{PC}$  = 10.4 Hz), 120.7, 126.0, 127.9, 128.6, 128.8, 129.0, 129.2, 129.5, 136.1, 136.4, 142.2, 144.7, 144.8, 157.6, 157.6, 157.8, 158.0, 177.6 (d,  ${}^{3}J_{PC}$  = 5.8 Hz), 177.9 (d,  ${}^{3}J_{PC}$  = 5.9 Hz).

<sup>31</sup>**P NMR** (81 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 45.6\*, 46.5, 46.7\*, 47.2\*, 47.7.

HRMS (m/z): [M + Na]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για  $C_{43}H_{53}N_2NaO_8P^+$  779.3432, βρέθηκε 779.3423

# ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

# Ακρωνύμια και ανάπτυξή τους

Ac	ακέτυλο
ACE	Μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτενσίνης
Ad	αδαμάντυλο
Arg	Αργινίνη
Ang	Αγγειστενσίνη
APA	Αμινοπεπτιδάση Α ή ασπαρτική αμινοπεπτιδάση
APN	Αμινοπεπτιδάση Ν ή ουδέτερη αμινοπεπτιδάση
Asp	Ασπαραγίνη
Boc	tert-Βουτυλοξυκαρβόνυλο
Вор	Βενζοτριαζολ-1-υλοξυτρις(διμεθυλαμινο)φωσφονικός εξαφλουοροφωσφορικός εστέρας
Bn	Βένζυλο
BSA	δις(τριμεθυλοσιλυλο)ακεταμίδιο
Bu	Βούτυλο
Cbz	Βενζυλοξυκαρβόνυλο
CDI	Καρβονυλιδιιμιδαζόλιο
DABCO	1,4-διαζα-δικυκλο(2.2.2)οκτάνιο
DCC	Ν,Ν΄-δικυκλοεξυλοκαρβοδιϊμίδιο
DCM	μεθυλενοχλωρίδιο ή διχλωρομεθάνιο
DIPEA	Διϊσοπροπυλοαιθυλαμίνη
DMAP	4-(διμεθυλαμινο)πυριδίνη
DMB	Διμεθόξυβενζυλο
DME	Διμεθοξυ αιθάνιο
DMF	Ν,Ν΄-Διμεθυλοφορμαμίδιο
DMSO	Διμέθυλοσουλφοξείδιο
DPM	Διφαινυλομέθυλο
ECE	μετατρεπτικό ένζυμο ενδοθηλίνης
EDC.HCI	υδροχλωρικό Ν-αιθυλο-Ν'-διμεθυλαμινο-προπυλο-καρβοδιϊμίδιο
ERAP	αμινοπεπτιδάση ενδοπλασματικού δικτύου

Et	Αίθυλο
Fmoc	9-φλουορενυλομεθυλοξυκαρβονυλο
Glu	γλουταμικό οξύ
Gly	Γλυκίνη
His	Ιστιδίνη
HMDS	δις(τριμεθυλοσιλυλο)αμίνη
hSer	ομοσερίνη
iBuCF	χλωροφορμικός ισοβουτυλεστέρας
IRAP	αμινοπεπτιδάση που ρυθμίζεται από την ινσουλίνη
Leu	Λευκίνη
Me	Μέθυλο
MeCN	Ακετονιτρίλιο
Met	Μεθειονίνη
MPLC	Μέσης πίεσης υγρή χρωματογραφία
MS	φασματοσκοπία μάζας
NBS	Ν- βρωμοσουκινιμίδιο
NEP	ουδέτερη ενδοπεπτιδάση
NCS	Ν-χλωροηλεκτριμίδιο
NMR	πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός
N-PrSLi	1-προπανοθειολικό λίθιο
Pac	Φαινακυλο
PE	πετρελαϊκός αιθέρας
Ph	Φαίνυλο
Phe	Φαινυλαλανίνη
PMB	ρ- μεθοξυβένζυλο
p-Pr	Ισοπρόπυλο
p-Ts	παρα-τολουολοσουλφονυλο
РуВОР	Βενζοτριαζολ-1-υλο-οξυτριπυρρολιδινοφωσφονικό εξαφλουοροφωσφορικός εστέρας
Pyr	Πυριδίνη
TACE	μετατρεπτικό ένζυμο του παράγοντα TNF-α
<i>t</i> -Bu	τριτοταγές βούτυλο

TFA	τριφθοροξικό οξύ
THF	Τετραυδροφουράνιο
TIS	Τριισοπροπυλοσιλάνιο
TLC	χρωματογραφία λεπτής στιβάδας
TMS	Τριμεθυλοσίλυλο
ТМТ	Μεθανοτρικαρβοξυλικός τριαιθυλεστέρας
Tol	Τολουόλιο
Ts	Τόζυλο
Tyr	Τυροσίνη

# ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι: Φάσματα NMR χαρακτηριστικών ενώσεων













#### ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- [1] Puente, X. S., Sanchez, L. M., Overall, C. M., and Lopez-Otin, C. Human and mouse proteases: a comparative genomic approach, *Nat. Rev. Genet.*, **2003**, *4*, 544-558.
- [2] Stocker, W., Grams, F., Baumann, U., Reinemer, P., Gomis-Ruth, F. X., McKay, D. B., and Bode, W. The metzincins--topological and sequential relations between the astacins, adamalysins, serralysins, and matrixins (collagenases) define a superfamily of zinc-peptidases, *Protein Sci.*, **1995**, *4*, 823-840.
- [3] Rawlings, N. D., and Barrett, A. J. Evolutionary families of metallopeptidases, *Methods Enzymol.*, **1995**, *248*, 183-228.
- [4] Wolfenden, R. Transition state analogues for enzyme catalysis, *Nature*, **1969**, 223, 704-705.
- [5] Lienhard, G. E. Enzymatic catalysis and transition-state theory, *Science*, **1973**, *180*, 149-154.
- [6] Grams, F., Dive, V., Yiotakis, A., Yiallouros, I., Vassiliou, S., Zwilling, R., Bode, W., and Stocker, W. Structure of astacin with a transition-state analogue inhibitor, *Nat. Struct. Biol.*, **1996**, *3*, 671-675.
- [7] Collinsova, M., and Jiracek, J. Phosphinic Acid Compounds in Biochemistry, Biology and Medicine, *Curr. Med. Chem.*, **2000**, *7*, 629-647.
- [8] Dive, V., Georgiadis, D., Matziari, M., Makaritis, A., Beau, F., Cuniasse, P., and Yiotakis, A. Phosphinic peptides as zinc metalloproteinase inhibitors, *Cell. Mol. Life Sci.*, **2004**, *61*, 2010-2019.
- [9] Dive, V., Lucet-Levannier, K., Georgiadis, D., Cotton, J., Vassiliou, S., Cuniasse, P., and Yiotakis, A. Phosphinic peptide inhibitors as tools in the study of the function of zinc metallopeptidases, *Biochem. Soc. Trans.*, **2000**, *28*, 455-460.
- [10] Mucha, A., Kafarski, P., and Berlicki, L. Remarkable potential of the alphaaminophosphonate/phosphinate structural motif in medicinal chemistry, *J. Med. Chem.*, **2011**, *54*, 5955-5980.
- [11] Georgiadis, D., and Dive, V. Phosphinic Peptides as Potent Inhibitors of Zinc-Metalloproteases, *Top. Curr. Chem.*, **2015**, *360*, 1-38.
- [12] Yiotakis, A., Georgiadis, D., Matziari, M., Makaritis, A., and Dive, V. Phosphinic peptides: Synthetic approaches and biochemical evaluation as Zn-metalloprotease inhibitors, *Curr. Org. Chem.*, **2004**, *8*, 1135-1158.
- [13] Visse, R., and Nagase, H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry, *Circ. Res.*, **2003**, *92*, 827-839.
- [14] Overall, C. M., and Lopez-Otin, C. Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations for the post-trial era, *Nat. Rev. Cancer*, **2002**, *2*, 657-672.
- [15] Malemud, C. J. Matrix metalloproteinases (MMPs) in health and disease: an overview, *Front. Biosci.*, **2006**, *11*, 1696-1701.
- [16] Whittaker, M., Floyd, C. D., Brown, P., and Gearing, A. J. Design and therapeutic application of matrix metalloproteinase inhibitors, *Chem. Rev.*, **1999**, *99*, 2735-2776.

- [17] Reiter, L. A., Rizzi, J. P., Pandit, J., Lasut, M. J., McGahee, S. M., Parikh, V. D., Blake, J. F., Danley, D. E., Laird, E. R., Lopez-Anaya, A., Lopresti-Morrow, L. L., Mansour, M. N., Martinelli, G. J., Mitchell, P. G., Owens, B. S., Pauly, T. A., Reeves, L. M., Schulte, G. K., and Yocum, S. A. Inhibition of MMP-1 and MMP-13 with phosphinic acids that exploit binding in the S2 pocket, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1999**, *9*, 127-132.
- [18] Makaritis, A., Georgiadis, D., Dive, V., and Yiotakis, A. Diastereoselective solution and multipin-based combinatorial array synthesis of a novel class of potent phosphinic metalloprotease inhibitors, *Chem. Eur. J.*, **2003**, *9*, 2079-2094.
- [19] Czarny, B., Stura, E. A., Devel, L., Vera, L., Cassar-Lajeunesse, E., Beau, F., Calderone, V., Fragai, M., Luchinat, C., and Dive, V. Molecular determinants of a selective matrix metalloprotease-12 inhibitor: Insights from crystallography and thermodynamic studies, *J. Med. Chem.*, **2013**, *56*, 1149-1159.
- [20] Tochowicz, A., Maskos, K., Huber, R., Oltenfreiter, R., Dive, V., Yiotakis, A., Zanda, M., Bode, W., and Goettig, P. Crystal Structures of MMP-9 Complexes with Five Inhibitors: Contribution of the Flexible Arg424 Side-chain to Selectivity, J. Mol. Biol., 2007, 371, 989-1006.
- [21] Vera, L., Czarny, B., Georgiadis, D., Dive, V., and Stura, E. A. Practical use of glycerol in protein crystallization published as part of the crystal growth & design virtual special issue on the 13th international conference on the crystallization of biological macromolecules (ICCBM13), *Cryst. Growth Des.*, 2011, 11, 2755-2762.
- [22] Devel, L., Rogakos, V., David, A., Makaritis, A., Beau, F., Cuniasse, P., Yiotakis, A., and Dive, V. Development of selective inhibitors and substrate of matrix metalloproteinase-12, *J. Biol. Chem.*, **2006**, *281*, 11152-11160.
- [23] Johnson, J. L., Devel, L., Czarny, B., George, S. J., Jackson, C. L., Rogakos, V., Beau, F., Yiotakis, A., Newby, A. C., and Dive, V. A selective matrix metalloproteinase-12 inhibitor retards atherosclerotic plaque development in apolipoprotein E-knockout mice, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **2011**, *31*, 528-535.
- [24] Iyer, R. P., Patterson, N. L., Zouein, F. A., Ma, Y., Dive, V., de Castro Brás, L. E., and Lindsey, M. L. Early matrix metalloproteinase-12 inhibition worsens post-myocardial infarction cardiac dysfunction by delaying inflammation resolution, *Int. J. Cardiol.*, **2015**, *185*, 198-208.
- [25] Marchant, D. J., Bellac, C. L., Moraes, T. J., Wadsworth, S. J., Dufour, A., Butler, G. S., Bilawchuk, L. M., Hendry, R. G., Robertson, A. G., Cheung, C. T., Ng, J., Ang, L., Luo, Z., Heilbron, K., Norris, M. J., Duan, W., Bucyk, T., Karpov, A., Devel, L., Georgiadis, D., Hegele, R. G., Luo, H., Granville, D. J., Dive, V., McManus, B. M., and Overall, C. M. A new transcriptional role for matrix metalloproteinase-12 in antiviral immunity, *Nat. Med.*, **2014**, *20*, 493-502.
- [26] Dabert-Gay, A. S., Czarny, B., Lajeunesse, E., Thai, R., Nagase, H., and Dive, V. Covalent modification of matrix metalloproteinases by a photoaffinity probe: Influence of nucleophilicity and flexibility of the residue in position 241, *Bioconjug. Chem.*, **2009**, *20*, 367-375.
- [27] David, A., Steer, D., Bregant, S., Devel, L., Makaritis, A., Beau, F., Yiotakis, A., and Dive, V. Cross-linking yield variation of a potent matrix metalloproteinase photoaffinity probe and consequences for functional proteomics, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2007**, *46*, 3275-3277.

- [28] Nury, C., Bregant, S., Czarny, B., Berthon, F., Cassar-Lajeunesse, E., and Dive, V. Detection of Endogenous Matrix Metalloprotease-12 Active Form with a Novel Broad Spectrum Activity-based Probe, *J. Biol. Chem.*, **2013**, *288*, 5636-5644.
- [29] Nury, C., Czarny, B., Cassar-Lajeunesse, E., Georgiadis, D., Bregant, S., and Dive, V. A Pan Photoaffinity Probe for Detecting Active Forms of Matrix Metalloproteinases, *ChemBioChem*, **2013**, *14*, 107-114.
- [30] Bordenave, T., Helle, M., Beau, F., Georgiadis, D., Tepshi, L., Bernes, M., Ye, Y., Levenez, L., Poquet, E., Nozach, H., Razavian, M., Toczek, J., Stura, E. A., Dive, V., Sadeghi, M. M., and Devel, L. Synthesis and in Vitro and in Vivo Evaluation of MMP-12 Selective Optical Probes, *Bioconjug. Chem.*, **2016**, *27*, 2407-2417.
- [31] Bregant, S., Huillet, C., Devel, L., Dabert-Gay, A. S., Beau, F., Thai, R., Czarny, B., Yiotakis, A., and Dive, V. Detection of matrix metalloproteinase active forms in complex proteomes: Evaluation of affinity versus photoaffinity capture, *J. Proteome Res.*, **2009**, *8*, 2484-2494.
- [32] Soffer, R. L. Angiotensin converting enzyme and the regulation of vasoactive peptides, *Annu. Rev. Biochem.*, **1976**, *Vol. 45*, 73-94.
- [33] Turner, A. J., and Hooper, N. M. The angiotensin-converting enzyme gene family: Genomics and pharmacology, *Trends Pharmacol. Sci.*, **2002**, *23*, 177-183.
- [34] Dive, V., Cotton, J., Yiotakis, A., Michaud, A., Vassiliou, S., Jiracek, J., Vazeux, G., Chauvet, M. T., Cuniasse, P., and Corvol, P. RXP 407, a phosphinic peptide, is a potent inhibitor of angiotensin I converting enzyme able to differentiate between its two active sites, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1999**, 96, 4330-4335.
- [35] Georgiadis, D., Cuniasse, P., Cotton, J., Yiotakis, A., and Dive, V. Structural determinants of RXPA380, a potent and highly selective inhibitor of the angiotensin-converting enzyme C-domain, *Biochemistry*, **2004**, *43*, 8048-8054.
- [36] Doherty, A. M. Endothelin: A new challenge, *J. Med. Chem.*, **1992**, *35*, 1493-1508.
- [37] McKittrick, B. A., Stamford, A. W., Weng, X., Ma, K., Chackalamannil, S., Czarniecki, M., Cleven, R. M., and Fawzi, A. B. Design and synthesis of phosphinic acids that triply inhibit endothelin converting enzyme, angiotensin converting enzyme and neutral endopeptidase 24.11, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1996**, *6*, 1629-1634.
- [38] Roques, B. P., Noble, F., Dauge, V., Fournie-Zaluski, M. C., and Beaumont, A. Neutral endopeptidase 24.11: structure, inhibition, and experimental and clinical pharmacology, *Pharmacol. Rev.*, **1993**, *45*, 87-146.
- [39] Chen, H., Noble, F., Mothé, A., Meudal, H., Coric, P., Danascimento, S., Roques, B. P., George, P., and Fournié-Zaluski, M. C. Phosphinic derivatives as new dual enkephalin-degrading enzyme inhibitors: Synthesis, biological properties, and antinociceptive activities, *J. Med. Chem.*, **2000**, *43*, 1398-1408.
- [40] Zini, S., Fournie-Zaluski, M. C., Chauvel, E., Roques, B. P., Corvol, P., and Llorens-Cortes, C. Identification of metabolic pathways of brain angiotensin II and III using specific aminopeptidase inhibitors: Predominant role of angiotensin III in the control of vasopressin release, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1996**, *93*, 11968-11973.

- [41] Georgiadis, D., Vazeux, G., Llorens-Cortes, C., Yiotakis, A., and Dive, V. Potent and selective inhibition of zinc aminopeptidase A (EC 3.4.11.7, APA) by glutamyl aminophosphinic peptides: Importance of glutamyl aminophosphinic residue in the P1 position, *Biochemistry*, **2000**, *39*, 1152-1155.
- [42] Stratikos, E. Modulating antigen processing for cancer immunotherapy, *Oncoimmunology*, **2014**, 3, e27568.
- [43] Stratikos, E. Regulating adaptive immune responses using small molecule modulators of aminopeptidases that process antigenic peptides, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2014**, *23C*, 1-7.
- [44] Zervoudi, E., Saridakis, E., Birtley, J. R., Seregin, S. S., Reeves, E., Kokkala, P., Aldhamen, Y. A., Amalfitano, A., Mavridis, I. M., James, E., Georgiadis, D., and Stratikos, E. Rationally designed inhibitor targeting antigentrimming aminopeptidases enhances antigen presentation and cytotoxic T-cell responses, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2013**, *110*, 19890-19895.
- [45] Kokkala, P., Mpakali, A., Mauvais, F. X., Papakyriakou, A., Daskalaki, I., Petropoulou, I., Kavvalou, S., Papathanasopoulou, M., Agrotis, S., Fonsou, T. M., van Endert, P., Stratikos, E., and Georgiadis, D. Optimization and Structure-Activity Relationships of Phosphinic Pseudotripeptide Inhibitors of Aminopeptidases That Generate Antigenic Peptides, *J. Med. Chem.*, **2016**, *59*, 9107-9123.
- [46] Mucha, A. Synthesis and modifications of phosphinic dipeptide analogues, *Molecules*, **2012**, *17*, 13530-13568.
- [47] Thottathil, J. K., Ryono, D. E., Przybyla, C. A., Moniot, J. L., and Neubeck, R. Preparation of phosphinic acids: Michael additions of phosphonous acids/esters to conjugated systems, *Tetrahedron Lett.*, **1984**, *25*, 4741-4744.
- [48] Miller, D. J., Hammond, S. M., Anderluzzi, D., and Bugg, T. D. H. Aminoalkylphosphinate inhibitors of D-Ala-D-Ala adding enzyme, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1998**, 131-142.
- [49] Chen, S., and Coward, J. K. A general method for the synthesis of N-protected α-aminoalkylphosphinic acids, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 4335-4338.
- [50] Matziari, M., and Yiotakis, A. Shortcut to Fmoc-protected phosphinic pseudodipeptidic blocks, *Org. Lett.*, **2005**, *7*, 4049-4052.
- [51] Dmitriev, M. E., and Ragulin, V. V. New opinions on the amidoalkylation of hydrophosphorylic compounds, *Tetrahedron Lett.*, **2010**, *51*, 2613-2616.
- [52] Dmitriev, M. E., and Ragulin, V. V. Arbuzov-type reaction of acylphosphonites and N-alkoxycarbonylimine cations generated in situ with trifluoroacetic anhydride, *Tetrahedron Lett.*, **2012**, *53*, 1634-1636.
- [53] Κοκκάλα, Π., Διδακτορική Διατριβή thesis, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (Αθήνα), **2019**.
- [54] Georgiadis, D., Matziari, M., Vassiliou, S., Dive, V., and Yiotakis, A. A convenient method to synthesize phosphinic peptides containing an aspartyl or glutamyl aminophosphinic acid. Use of the phenyl group as the carboxyl synthon, *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 14635-14648.
- [55] Kende, A. S., Dong, H. Q., Liu, X., and Ebetino, F. H. A useful synthesis of the Phe-Arg phosphinic acid dipeptide isostere, *Tetrahedron Lett.*, **2002**, *43*, 4973-4976.

- [56] Matziari, M., Beau, F., Cuniasse, P., Dive, V., and Yiotakis, A. Evaluation of P1'-Diversified Phosphinic Peptides Leads to the Development of Highly Selective Inhibitors of MMP-11, *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 325-336.
- [57] Matziari, M., Georgiadis, D., Dive, V., and Yiotakis, A. Convenient synthesis and diversification of dehydroalaninyl phosphinic peptide analogues, *Org. Lett.*, **2001**, *3*, 659-660.
- [58] Matziari, M., Nasopoulou, M., and Yiotakis, A. Active methylene phosphinic peptides: A new diversification approach, *Org. Lett.*, **2006**, *8*, 2317-2319.
- [59] Rogakos, V., Georgiadis, D., Dive, V., and Yiotakis, A. A modular rearrangement approach toward medicinally relevant phosphinic structures, *Org. Lett.*, **2009**, *11*, 4696-4699.
- [60] Voreakos, K., Devel, L., and Georgiadis, D. Late-Stage Diversification of Phosphinic Dehydroalanine Pseudopeptides Based on a Giese-Type Radical C-Alkylation Strategy, *Org. Lett.*, **2019**, *21*, 4397-4401.
- [61] Morgan, B. P., Scholtz, J. M., Ballinger, M. D., Zipkin, I. D., and Bartlett, P. A. Differential binding energy: A detailed evaluation of the influence of hydrogenbonding and hydrophobic groups on the inhibition of thermolysin by phosphorus-containing inhibitors, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, 297-307.
- [62] Ross, F. C., Botting, N. P., and Leeson, P. D. Synthesis of phosphinic acid transition state analogues for the reaction catalysed by kynureninase, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1996**, *6*, 2643-2646.
- [63] Bertenshaw, S. R., Rogers, R. S., Stern, M. K., Norman, B. H., Moore, W. M., Jerome, G. M., Branson, L. M., McDonald, J. F., McMahon, E. G., and Palomo, M. A. Phosphorus-containing inhibitors of endothelin converting enzyme: Effects of the electronic nature of phosphorus on inhibitor potency, *J. Med. Chem.*, **1993**, *36*, 173-176.
- [64] Štrancar, K., Boniface, A., Blanot, D., and Gobec, S. Phosphinate inhibitors of UDP-N-acetylmuramoyl-L-alanyl-D-glutamate: L-lysine ligase (MurE), *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **2007**, *340*, 127-134.
- [65] Chackalamannil, S., Chung, S., Stamford, A. W., McKittrick, B. A., Wang, Y., Tsai, H., Cleven, R., Fawzi, A., and Czarniecki, M. Highly potent and selective inhibitors of endothelin converting enzyme, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1996**, *6*, 1257-1260.
- [66] Goulet, J. L., Kinneary, J. F., Durette, P. L., Stein, R. L., Harrison, R. K., Izquierdo-Martin, M., Kuo, D. W., Lin, T. Y., and Hagmann, W. K. Inhibition of stromelysin-1 (MMP-3) by peptidyl phosphinic acids, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1994**, *4*, 1221-1224.
- [67] Georgiadis, D., Dive, V., and Yiotakis, A. Synthesis and comparative study on the reactivity of peptidyl-type phosphinic esters: Intramolecular effects the alkaline and acidic cleavage of methyl Ξ<sup>2</sup>-carboxyphosphinates, *J. Org. Chem.*, **2001**, *66*, 6604-6610.
- [68] Krapcho, J., Turk, C., Cushman, D. W., Powell, J. R., DeForrest, J. M., Spitzmiller, E. R., Karanewsky, D. S., Duggan, M., Rovnyak, G., Schwartz, J., Natarajan, S., Godfrey, J. D., Ryono, D. E., Neubeck, R., Atwal, K. S., and Petrillo Jr, E. W. Angiotensin-converting enzyme inhibitors. Mercaptan, carboxyalkyl dipeptide, and phosphinic acid inhibitors incorporating 4substituted prolines, *J. Med. Chem.*, **1988**, *31*, 1148-1160.

- [69] Yiotakis, A., Lecog, A., Vassiliou, S., Raynal, I., Cuniasse, P., and Dive, V. Cyclic peptides with a phosphinic bond as a potent inhibitors of a zinc bacterial collagenase, *J. Med. Chem.*, **1994**, *37*, 2713-2720.
- [70] Campagne, J. M., Coste, J., Guillou, L., Heitz, A., and Jouin, P. Solid phase synthesis of phosphinic peptides, *Tetrahedron Lett.*, **1993**, *34*, 4181-4184.
- [71] Chen, H., Noble, F., Coric, P., Fournie-Zaluski, M. C., and Roques, B. P. Aminophosphinic inhibitors as transition state analogues of enkephalindegrading enzymes: A class of central analgesics, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1998**, *95*, 12028-12033.
- [72] Manzenrieder, F., Frank, A. O., Huber, T., Dorner-Ciossek, C., and Kessler, H. Synthesis and biological evaluation of phosphino dipeptide isostere inhibitor of human β-secretase (BACE1), *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, *15*, 4136-4143.
- [73] Reiter, L. A., Mitchell, P. G., Martinelli, G. J., Lopresti-Morrow, L. L., Yocum, S. A., and Eskra, J. D. Phosphinic acid-based MMP-13 inhibitors that spare MMP-1 and MMP-3, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, *13*, 2331-2336.
- [74] Jullien, N., Makritis, A., Georgiadis, D., Beau, F., Yiotakis, A., and Dive, V. Phosphinic tripeptides as dual angiotensin-converting enzyme C-domain and endothelin-converting enzyme-1 inhibitors, *J. Med. Chem.*, **2010**, *53*, 208-220.
- [75] Yiotakis, A., Vassiliou, S., Jiráček, J., and Dive, V. Protection of the hydroxyphosphinyl function of phosphinic dipeptides by adamantyl. Application to the solid-phase synthesis of phosphinic peptides, *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 6601-6605.
- [76] Bhowmick, M., and Fields, G. B. Synthesis of fmoc-gly-ile phosphinic pseudodipeptide: Residue specific conditions for construction of matrix metalloproteinase inhibitor building blocks, *Int. J. Pept. Res. Ther.*, **2012**, *18*, 335-339.
- [77] Bhowmick, M., Sappidi, R. R., Fields, G. B., and Lepore, S. D. Efficient synthesis of Fmoc-protected phosphinic pseudodipeptides: Building blocks for the synthesis of matrix metalloproteinase inhibitors, *Biopolymers*, **2011**, *96*, 1-3.
- [78] Buchardt, J., Ferreras, M., Krog-Jensen, C., Delaissé, J. M., Foged, N. T., and Meldal, M. Phosphinic peptide matrix metalloproteinase-9 inhibitors by solid-phase synthesis using a building block approach, *Chem. Eur. J.*, **1999**, *5*, 2877-2884.
- [79] Georgiadis, D., Matziari, M., and Yiotakis, A. A highly efficient method for the preparation of phosphinic pseudodipeptidic blocks suitably protected for solid-phase peptide synthesis, *Tetrahedron*, **2001**, *57*, 3471-3478.
- [80] Nasopoulou, M., Matziari, M., Dive, V., and Yiotakis, A. Chemoselective protection of solid-phase compatible Fmoc-phosphinic building blocks, *J. Org. Chem.*, **2006**, *71*, 9525-9527.
- [81] Jirácek, J., Yiotakis, A., Vincent, B., Checler, F., and Dive, V. Development of the first potent and selective inhibitor of the zinc endopeptidase neurolysin using a systematic approach based on combinatorial chemistry of phosphinic peptides, *J. Biol. Chem.*, **1996**, *271*, 19606-19611.
- [82] Jiracek, J., Yiotakis, A., Vincent, B., Lecoq, A., Nicolaou, A., Checler, F., and Dive, V. Development of highly potent and selective phosphinic peptide inhibitors of zinc endopeptidase 24-15 using combinatorial chemistry, *J. Biol. Chem.*, **1995**, *270*, 21701-21706.

- [83] Bhowmick, M., Stawikowska, R., Tokmina-Roszyk, D., and Fields, G. B. Matrix Metalloproteinase Inhibition by Heterotrimeric Triple-Helical Peptide Transition State Analogues, *ChemBioChem*, **2015**, *16*, 1084-1092.
- [84] Bhowmick, M., Tokmina-Roszyk, D., Onwuha-Ekpete, L., Harmon, K., Robichaud, T., Fuerst, R., Stawikowska, R., Steffensen, B., Roush, W., Wong, H. R., and Fields, G. B. Second Generation Triple-Helical Peptide Inhibitors of Matrix Metalloproteinases, *J. Med. Chem.*, **2017**, *60*, 3814-3827.
- [85] Lauer-Fields, J., Brew, K., Lauer-Fields, J., Hammer, R. P., Li, S., Whitehead, J. K., and Fields, G. B. Triple-helical transition state analogues: A new class of selective matrix metalloproteinase inhibitors, *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 10408 10417.
- [86] Buchardt, J., Schiødt, C. B., Krog-Jensen, C., Delaissé, J. M., Foged, N. T., and Meldal, M. Solid phase combinatorial library of phosphinic peptides for discovery of matrix metalloproteinase inhibitors, *J. Com. Chem.*, **2000**, *2*, 624-638.
- [87] Christensen, C., Groth, T., Schiødt, C. B., Foged, N. T., and Meldal, M. Automated Sorting of Beads from a "One-Bead-Two-Compounds" Combinatorial Library of Metalloproteinase Inhibitors, *QSAR Comb. Sci.*, **2003**, *22*, 737-744.
- [88] Lee, G. H., Youn, I. K., Choi, E. B., Lee, H. K., Yon, G. H., Yang, H. C., and Pak, C. S. Magnesium in Methanol (Mg / MeOH) in Organic Syntheses, *Curr. Org. Chem.*, **2004**, *8*, 1263-1287.
- [89] Xu, Y.-C., Lebeau, E., and Walker, C. Selective deprotection of esters using magnesium and methanol, *Tetrahedron Lett.*, **1994**, *35*, 6207-6210.
- [90] Stelakatos, C. G., Solomos-Aravidis, C., Karayannakis, P., Kolovos, M. G., and Photaki, I., in *16th European Peptide Symposium* (Ed.: K. Brunfeldt), Scriptor, **1980**, pp. 133-139.
- [91] McMurray, J. S. Solid phase synthesis of a cyclic peptide using fmoc chemistry, *Tetrahedron Lett.*, **1991**, *32*, 7679-7682.
- [92] Neises, B., and Steglich, W. Simple Method for the Esterification of Carboxylic Acids, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1978**, *17*, 522-524.
- [93] Λέλης, Α., Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών **2017**.
- [94] Chen, H., Roques, B. P., and Fournié-Zaluski, M. C. Design of the first highly potent and selective aminopeptidase N (EC 3.4.11.2) inhibitor, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1999**, *9*, 1511-1516.
- [95] Vassiliou, S., Weglarz-Tomczak, E., Berlicki, L., Pawelczak, M., Nocek, B., Mulligan, R., Joachimiak, A., and Mucha, A. Structure-guided, single-point modifications in the phosphinic dipeptide structure yield highly potent and selective inhibitors of neutral aminopeptidases, *J. Med. Chem.*, **2014**.
- [96] Anderson, N. G., Ciaramella, B. M., Feldman, A. F., Lust, D. A., Moniot, J. L., Moran, L., Polomski, R. E., and Wang, S. S. Y. Process Development for the Preparation of a Monopril Intermediate by a Trimethylsilyl-Modified Arbuzov Reaction, *Org. Process Res. Dev.*, **1997**, *1*, 211-216.
- [97] Deng, W.-H., Ye, F., Bai, X.-F., Li, L., Song, T., Wei, Y.-L., and Xu, L.-W. Chlorotrimethylsilane (TMSCI): an efficient silicon-based Lewis acid mediator in allylic alkylation using a diethylzinc reagent, *RSC Advances*, **2014**, *4*, 479-483.

- [98] Rajeshwaran, G. G., Nandakumar, M., Sureshbabu, R., and Mohanakrishnan, A. K. Lewis Acid-Mediated Michaelis–Arbuzov Reaction at Room Temperature: A Facile Preparation of Arylmethyl/Heteroarylmethyl Phosphonates, *Org. Lett.*, 2011, 13, 1270-1273.
- [99] Renard, P.-Y., Vayron, P., Leclerc, E., Valleix, A., and Mioskowski, C. Lewis Acid Catalyzed Room-Temperature Michaelis–Arbuzov Rearrangement, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **2003**, *42*, 2389-2392.
- [100] Fort, R. C., and Schleyer, P. v. R. Adamantane: Consequences of the Diamondoid Structure, *Chem. Rev.*, **1964**, *64*, 277-300.
- [101] Ma, X., Liu, S., Liu, Y., Gu, G., and Xia, C. Comparative study on catalytic hydrodehalogenation of halogenated aromatic compounds over Pd/C and Raney Ni catalysts, *Sci. Rep.*, **2016**, *6*, 25068.
- [102] Vorobyeva, D. V., Karimova, N. M., Odinets, I. L., Röschenthaler, G.-V., and Osipov, S. N. Click-chemistry approach to isoxazole-containing α-CF3substituted α-aminocarboxylates and α-aminophosphonates, Org. Biomol. Chem., 2011, 9, 7335-7342.
- [103] Kummer, D. A., Chain, W. J., Morales, M. R., Quiroga, O., and Myers, A. G. Stereocontrolled alkylative construction of quaternary carbon centers, *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 13231-13233.
- [104] Goh, K. K., Kim, S., and Zard, S. Z. Free-Radical Variant for the Synthesis of Functionalized 1,5-Diketones, *Org. Lett.*, **2013**, *15*, 4818-4821.
- [105] Devel, L., Garcia, S., Czarny, B., Beau, F., LaJeunesse, E., Vera, L., Georgiadis, D., Stura, E., and Dive, V. Insights from selective non-phosphinic inhibitors of MMP-12 tailored to fit with an S1' loop canonical conformation, *J. Biol. Chem.*, **2010**, 285, 35900-35909.
- [106] Archambeau, A., Miege, F., Meyer, C., and Cossy, J. Highly Efficient Stereoselective Catalytic C(sp3) H Insertions with Donor Rhodium Carbenoids Generated from Cyclopropenes, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **2012**, *51*, 11540-11544.
- [107] Chellat, M. F., Proust, N., Lauer, M. G., and Stambuli, J. P. Synthesis of Key Fragments of Leiodelide A, *Org. Lett.*, **2011**, *13*, 3246-3249.
- [108] Pehere, A. D., Xu, S., Thompson, S. K., Hillmyer, M. A., and Hoye, T. R. Diels– Alder Reactions of Furans with Itaconic Anhydride: Overcoming Unfavorable Thermodynamics, Org. Lett., 2016, 18, 2584-2587.
- [109] Biel, M., Kretsovali, A., Karatzali, E., Papamatheakis, J., and Giannis, A. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of a Small-Molecule Inhibitor of the Histone Acetyltransferase Gcn5, Angew. Chem., Int. Ed. Engl., 2004, 43, 3974-3976.
- [110] Felder, D., Gutiérrez Nava, M., del Pilar Carreón, M., Eckert, J.-F., Luccisano, M., Schall, C., Masson, P., Gallani, J.-L., Heinrich, B., Guillon, D., and Nierengarten, J.-F. Synthesis of Amphiphilic Fullerene Derivatives and Their Incorporation in Langmuir and Langmuir-Blodgett Films, *Helv. Chim. Acta*, 2002, *85*, 288-319.
- [111] Hin, B., Majer, P., and Tsukamoto, T. Facile Synthesis of α-Substituted Acrylate Esters, *J. Org. Chem.*, **2002**, *67*, 7365-7368.
- [112] Pautigny, C., Jeulin, S., Ayad, T., Zhang, Z., Genêt, J.-P., and Ratovelomanana-Vidal, V. Convenient General Asymmetric Synthesis of Roche

Ester Derivatives through Catalytic Asymmetric Hydrogenation: Steric and Electronic Effects of Ligands, *Adv. Synth. Catal.*, **2008**, *350*, 2525-2532.

- [113] Patel, D. V., Schmidt, R. J., Biller, S. A., Gordon, E. M., Robinson, S. S., and Manne, V. Farnesyl Diphosphate-Based Inhibitors of Ras Farnesyl Protein Transferase, *J. Med. Chem.*, **1995**, 38, 2906-2921.
- [114] Kalyva, M., Zografos, A. L., Kapourani, E., Giambazolias, E., Devel, L., Papakyriakou, A., Dive, V., Lazarou, Y. G., and Georgiadis, D. Probing the Mechanism of Allylic Substitution of Morita–Baylis–Hillman Acetates (MBHAs) by using the Silyl Phosphonite Paradigm: Scope and Applications of a Versatile Transformation, *Chem. Eur. J.*, **2015**, *21*, 3278-3289.
- [115] Chen, F., Mudryk, B., and Cohen, T. Tandem reductive lithiations Carbanionic cyclizations yielding sulfur stabilized cyclopropyl- and cyclobutylcarbinyllithiums, *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 3291-3304.
- [116] Baylis, E. K., Campbell, C. D., and Dingwall, J. G. 1-Aminoalkylphosphonous acids. Part 1. Isosteres of the protein amino acids, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1984**, 2845-2853.
- [117] Γρηγόρη, Α., and Τσιρώνη-Τζίνιους, Ι.-Α., Διπλωματική Εργασία thesis, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών **2017**.
- [118] Τσουκαλίδου, Σ., Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης thesis, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών **2012**.
- [119] Gottlieb, H. E., Kotlyar, V., and Nudelman, A. NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities, *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 7512-7515.
- [120] Mathur, K. B. L., Krishnamurti, M., and Pandit, U. K. Coupling1 of Aconitic Acid and Itaconic Acid with Certain Diazonium Chlorides, *J. Am. Chem. Soc.*, **1953**, 75, 3240-3241.