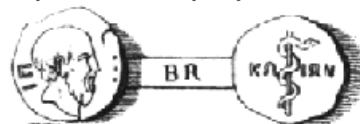


1837
2017
YEARS



"ωφελέειν, εἰ μὴ βλάπτειν"



'benefit and do not harm'

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ

ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ ΝΕΩΝ ΣΠΕΙΡΑΝΙΚΩΝ ΚΑΡΒΟΚΥΚΛΙΚΩΝ
2,5-ΔΙΚΕΤΟΪΜΙΔΑΖΟΛΙΔΙΝΟ-1-ΑΚΕΤΟΎΔΡΟΞΑΜΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ ΜΕ
In Vitro ΑΝΤΙΤΡΥΠΑΝΟΣΩΜΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ

Μια διατριβή για την απόκτηση Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης
από την

ΠΑΡΔΑΛΗ ΒΑΣΙΛΙΚΗ
ΦΑΡΜΑΚΟΠΟΙΟ

Υπό την επίβλεψη του

Δρ ΖΩΙΔΗ ΓΡΗΓΟΡΗ
ΕΠΙΚΟΥΡΟΥ ΚΑΘΗΓΗΤΗ
ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ

ΑΘΗΝΑ 2017

Στη μητέρα μου

Κατερίνα

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΥ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**ΤΣΟΤΙΝΗΣ ΑΝΔΡΕΑΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΕΚΠΑ
ΠΟΥΛΗ ΝΙΚΟΛΑΪΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΕΚΠΑ
ΖΩΙΔΗΣ ΓΡΗΓΟΡΗΣ, ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΕΚΠΑ**

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους βρίσκονται δίπλα μου και στήριξαν με κάθε τρόπο την πραγματοποίησή της.

Ιδιαίτερα, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντά μου, Επίκουρο Καθηγητή κ. Ζωΐδη Γρηγόρη για την ευκαιρία την οποία μου έδωσε να ασχοληθώ με τη Συνθετική Φαρμακευτική Χημεία, αναθέτοντάς μου την υλοποίηση της ιδέας του. Ήταν εκείνος, ο οποίος πριν από τέσσερα χρόνια, μου προκάλεσε το ενδιαφέρον ενασχόλησης με την έρευνα. Επιπρόσθετα στάθηκε δίπλα μου με τεράστια ανοχή όλο αυτό το διάστημα και ενθάρρυνε κάθε προσπάθειά μου. Με τα σχόλια, την κριτική και τις γνώσεις του συνέβαλε τα μέγιστα στην εκπόνηση της μεταπτυχιακής μου εργασίας και παρά τις όποιες δυσκολίες, πιστεύει στη συνέχιση της συνεργασίας μας.

Συνεχίζοντας, οφείλω ένα τεράστιο ευχαριστώ στην υποψήφια διδάκτορα και φίλη πλέον Γιαννακοπούλου Ερωφίλη, η οποία με βοήθησε τόσο στο πειραματικό μέρος όσο και στη συγγραφή της παρούσας εργασίας. Ακόμη περισσότερο την ευχαριστώ, καθώς μου έδωσε τη δυνατότητα να αποκομίσω δίπλα της πολύτιμες γνώσεις στις εργαστηριακές τεχνικές, τις οποίες εξασκεί άριστα. Επίσης, οι πολύωρες συζητήσεις μας, οι επίμονες παροτρύνσεις της και η έμπρακτη υποστήριξή της σε κάθε δύσκολη στιγμή υπήρξαν καθοριστικές κι ως εκ τούτου είναι ιδιαίτερη η χαρά μου για τη μεταξύ μας συνεργασία.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα άλλα δύο μέλη της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής, την Καθηγήτρια κ. Πουλή Νικολαΐδα και τον Καθηγητή κ. Τσοτίνη Ανδρέα που αποδέχθηκαν με χαρά να αξιολογήσουν την παρούσα εργασία.

Δε θα μπορούσα εδώ να παραλείψω τον Ομότιμο Καθηγητή κ. Φυτά Γεώργιο, ο οποίος πάντοτε με προθυμία και γενναιοδωρία μου παρείχε τις γνώσεις του και υπήρξε αρωγός στην εργαστηριακή μου έρευνα.

Ευχαριστώ επίσης τον καθηγητή John M. Kelly από τη Σχολή Υγιεινής και Τροπικής Ιατρικής του Λονδίνου για την αξιολόγηση της αντιτρυπανοσωμιακής δράσης των ενώσεων, τις οποίες συνέθεσα κατά την άσκησή μου στο εργαστήριο και τις μελέτες κυτταροτοξικότητας, τις οποίες πραγματοποίησε.

Ευχαριστώ θερμά τη Δρ. Μπενάκη Δήμητρα για την εκτέλεση ορισμένων πειραμάτων NMR, όταν κατέστη ανάγκη και για τη γενικότερη υποστήριξή της.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις από καρδιάς ευχαριστίες μου στους γονείς μου Κατερίνα και Γιάννη, την αδερφή μου Ματίνα-Μαρία και τις φίλες μου Ελένη και Δήμητρα για την αδιάλειπτη στήριξή τους στον προσωπικό μου «αγώνα». Είναι πάντοτε συμπαραστάτες σε κάθε προσπάθεια επίτευξης των στόχων μου.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ABBREVIATIONS	17
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	21
ABSTRACT	22
GRAPHICAL ABSTRACT	23
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	25
1.1 Εισαγωγή στην έννοια του παρασιτισμού και τις παραμελημένες τροπικές νόσους	27
1.2 Ανθρώπινη Αφρικανική Τρυπανοσωμίαση - Προσδιορισμός του αιτιολογικού παράγοντα	27
1.3 Ταξινόμηση του <i>T. brucei</i> και άλλα είδη	28
1.4 Προσδιορισμός των παθολογικών καταστάσεων της HAT	28
1.5 Επιδημιολογικά στοιχεία για την HAT	28
1.5.1 Ανθρώπινες επιδημίες	28
1.5.2 Γεωγραφική κατανομή της νόσου	29
1.5.3 Τρέχουσα κατανομή της νόσου	30
1.6 Περιγραφή του αιτιολογικού παράγοντα	30
1.6.1 Δομικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά	30
1.6.2 Γονιδίωμα	31
1.6.3 Μαστίγιο	31
1.6.4 Γλυκοπρωτεΐνες μεταβλητής επιφανείας-αντιγονική μεταλλαγή	32
1.7 Μορφές του παρασίτου	33
1.8 Κύκλος ζωής	34
1.9 Κυτταρική διαίρεση	36
1.9.1 Μίτωση	36
1.9.2 Μείωση	37
1.10 Μηχανισμοί του οργανισμού για τη λύση του παρασίτου	37
1.11 Μηχανισμοί ανοχής του παρασίτου έναντι της λύσης	38
1.12 Χαρακτηριστικά της HAT	39
1.12.1 Μετάδοση της νόσου	39
1.12.2 Κλινικά χαρακτηριστικά της νόσου	39
1.12.2.1 gHAT	39
1.12.2.2 rHAT	40
1.12.3 Διάγνωση της νόσου	40
1.12.3.1 gHAT	40
1.12.3.2 rHAT	41
1.12.4 Θεραπευτική αντιμετώπιση της νόσου	41
1.12.4.1 Pentamidine	41
1.12.4.2 Suramin	42
1.12.4.3 Eflornithine	42
1.12.4.4 Melarsoprol	42
1.12.4.5 Eflornithine-Nifurtimox	42
1.12.4.6 Μελλοντικοί χημειοθεραπευτικοί παράγοντες	43

Περιεχόμενα

1.13	Εν δυνάμει στόχοι της αντιτρυπανοσωμιακής θεραπείας	44
1.13.1	Αποκαρβοξυλάση της ορνιθίνης	44
1.13.2	Μεταλλοένζυμα	46
1.13.2.1	Εναλλακτική οξειδάση του τρυπανοσώματος	46
1.13.2.2	Απακετυλάσες των ιστονών	46
1.13.2.3	Μουτάση του φωσφογλυκερικού οξέος	47
1.13.2.4	Υπεροξειδικές δισμουτάσες	47
81.13.2.5	<i>N</i> -ακετυλο- <i>D</i> -γλυκοσαμινοφωσφατιδυλινοσιτολ- <i>N</i> -απακετυλάση	48
1.13.2.6	Πρωτεϊνική φαρνεζυλοτρανσφεράση	48
1.14	Μελλοντικές προοπτικές για την εξάλειψη της νόσου	48
2.	ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ	51
2.1	Σχεδιασμός ενώσεων της παρούσας εργασίας	53
3.	ΧΗΜΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	63
3.1	Σύνθεση των ενώσεων της παρούσας εργασίας	65
3.1.1	Σύνθεση των ακετοϋδροξαμικών οξέων 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 46, 47	65
3.1.2	Σύνθεση των ακετοϋδροξαμικών οξέων 54, 61, 68, 75, 79, 83	66
3.2	Μηχανισμοί χημικών αντιδράσεων	69
3.2.1	Αντίδραση <i>Bucherer-Bergs</i>	69
3.2.2	Αντίδραση <i>Strecker</i> -Σχηματισμός ουρείδο νιτριλίων	70
3.2.3	Κύκλωση ουρείδο νιτριλίων-υδρόλυση ιμίνης	71
3.2.4	Σχηματισμός αμιδίων	71
3.2.5	Απομεθυλίωση αρυλ μεθυλ αιθέρων	73
3.3	Χημεία των υδροξαμικών οξέων	75
3.4	Ανάλυση φασμάτων NMR	77
3.4.1	Φάσματα ¹ H NMR υδαντοϊνών και μεθυλιωμένων αναλόγων υδαντοϊνών	77
3.4.2	Φάσματα ¹ H NMR και ¹³ C NMR του 4-φαινυλο-κυκλοεξανο υποκατεστημένου αναλόγου 21	79
3.4.3	Φάσμα NOESY του βενζυλεστέρα 39	83
3.4.4	Φάσματα ¹ H NMR και ¹³ C NMR ακετοϋδροξαμικών οξέων	84
3.4.4.1	Διαφορές μεθυλενικών πρωτονίων και ανθράκων των <i>E,Z</i> ισομερών	84
3.4.4.2	Διαφορές πρωτονίων και ανθράκων της καρβοϋδροξαμικής ομάδας και του δικετοϊμιδαζολιδινικού σκελετού	86
4.	ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	89
4.1	<i>In vitro</i> έλεγχος της αντιτρυπανοσωμιακής δράσης των τελικών ακετοϋδροξαμικών οξέων	91
4.1.1	Αποτελέσματα του ελέγχου της αντιτρυπανοσωμιακής δράσης-Σχολιασμός	91
4.1.2	Συμπεράσματα-Εξαγωγή σχέσεων δομής-δράσης	93
5.	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	95
5.1	Γενικές πειραματικές λεπτομέρειες	97
5.2	Πειραματικές πορείες	98

5.2.1	Γενική μέθοδος για τη σύνθεση των 2,4-δικετοϊμιδαζολιδινών 2, 8, 14, 20, 26, 32, 38	98
	2' <i>H</i> ,5' <i>H</i> -σπειρο[φλουορεν-9,4'-ιμιδαζολιδινο]-2',5'-διόνη 2	98
	5,5-διφαινυλιμιδαζολιδινο-2,4-διόνη 8	98
	5-μεθυλο-5-(τρικυκλο[3.3.1.1 ^{3,7}]δεκ-1-υλ)ιμιδαζολιδινο-2,4-διόνη 14	99
	8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκανο-2,4-διόνη 20	99
	6,7,8,9-τετραϋδρο-2' <i>H</i> ,5' <i>H</i> -σπειρο[βενζο[7]αννουλεν-5,4'-ιμιδαζολιδινο]-2',5'-διόνη 26	99
	6'-μεθοξυ-3',4'-διυδρο-2 <i>H</i> ,2' <i>H</i> ,5 <i>H</i> -σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλινο]-2,5-διόνη 32	100
	4'-μεθυλο-3',4'-διυδρο-2 <i>H</i> ,2' <i>H</i> ,5 <i>H</i> -σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλινο]-2,5-διόνη 38	100
5.2.2	Γενική μέθοδος για τη σύνθεση των βενζυλεστέρων 3, 9, 15, 21, 27, 33, 39, 43	100
	(2',5'-διοξοσπειρο[φλουορεν-9,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλ) οξικός βενζυλεστέρας 3	101
	(2,5-διοξο-4,4-διφαινυλιμιδαζολιδιν-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας 9	101
	(2,5-διοξο-4-μεθυλο-4-(τρικυκλο[3.3.1.1 ^{3,7}]δεκ-1-υλ)ιμιδαζολιδιν-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας 15	101
	(2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλ) οξικός βενζυλεστέρας 21	102
	(2',5'-διοξο-6,7,8,9-τετραϋδροσπειρο[βενζο[7]αννουλεν-5,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλ) οξικός βενζυλεστέρας 27	102
	(6'-μεθοξυ-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2' <i>H</i> -σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας 33	103
	((4 <i>R</i> ,4' <i>S</i>)/(4 <i>S</i> ,4' <i>R</i>)-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2' <i>H</i> -σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας 39	103
	((4 <i>R</i> ,4' <i>R</i>)/(4 <i>S</i> ,4' <i>S</i>)-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2' <i>H</i> -σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας 43	103
5.2.3	Γενική μέθοδος για τη σύνθεση των καρβοξυλικών οξέων 4, 10, 16, 22, 28, 34, 40, 44	104
	(2',5'-διοξοσπειρο[φλουορεν-9,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλ) οξικό οξύ 4	104
	(2,5-διοξο-4,4-διφαινυλιμιδαζολιδιν-1-υλ) οξικό οξύ 10	104
	(2,5-διοξο-4-μεθυλο-4-(τρικυκλο[3.3.1.1 ^{3,7}]δεκ-1-υλ)ιμιδαζολιδιν-1-υλ) οξικό οξύ 16	104
	(2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλ) οξικό οξύ 22	105
	(2',5'-διοξο-6,7,8,9-τετραϋδροσπειρο[βενζο[7]αννουλεν-5,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλ) οξικό οξύ 28	105
	(6'-μεθοξυ-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2' <i>H</i> -σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικό οξύ 34	105
	((4 <i>R</i> ,4' <i>S</i>)/(4 <i>S</i> ,4' <i>R</i>)-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2' <i>H</i> -σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικό οξύ 40	105
	((4 <i>R</i> ,4' <i>R</i>)/(4 <i>S</i> ,4' <i>S</i>)-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2' <i>H</i> -σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικό οξύ 44	106
5.2.4	Γενική μέθοδος για τη σύνθεση των <i>N</i>-(φαινυλομεθοξυ) ακεταμιδίων 5,	106

	11, 17, 23, 29, 35, 41, 45	
	<i>N</i> -(φαινυλομεθοξυ)-2-(2',5'-διοξοσπειρο[φλουορεν-9,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλ) ακεταμίδιο 5	106
	<i>N</i> -(φαινυλομεθοξυ)-2-(2,5-διοξο-4,4-διφαινυλιμιδαζολιδιν-1-υλ) ακεταμίδιο 11	106
	<i>N</i> -(φαινυλομεθοξυ)-2-(2,5-διοξο-4-μεθυλο-4-(τρικυκλο[3.3.1.1 ^{3,7}]δεκ-1-υλ)ιμιδαζολιδιν-1-υλ) ακεταμίδιο 17	107
	<i>N</i> -(φαινυλομεθοξυ)-2-(2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλ) ακεταμίδιο 23	107
	<i>N</i> -(φαινυλομεθοξυ)-2-(2',5'-διοξο-6,7,8,9-τετραϋδροσπειρο[βενζο[7]αννουλεν-5,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλ) ακεταμίδιο 29	108
	<i>N</i> -(φαινυλομεθοξυ)-2-(6'-μεθοξυ-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2' <i>H</i> -σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο 35	108
	<i>N</i> -(φαινυλομεθοξυ)-2-((4 <i>R</i> ,4' <i>S</i>)/(4 <i>S</i> ,4' <i>R</i>)-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2' <i>H</i> -σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο 41	108
	<i>N</i> -(φαινυλομεθοξυ)-2-((4 <i>R</i> ,4' <i>R</i>)/(4 <i>S</i> ,4' <i>S</i>)-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2' <i>H</i> -σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο 45	109
5.2.5	Γενική μέθοδος για τη σύνθεση των ακετοϋδροξαμικών οξέων 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 46	109
	<i>N</i> -υδροξυ-2-(2',5'-διοξοσπειρο[φλουορεν-9,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλ) ακεταμίδιο 6	109
	<i>N</i> -υδροξυ-2-(2,5-διοξο-4,4-διφαινυλιμιδαζολιδιν-1-υλ) ακεταμίδιο 12	110
	<i>N</i> -υδροξυ-2-(2,5-διοξο-4-μεθυλο-4-(τρικυκλο[3.3.1.1 ^{3,7}]δεκ-1-υλ)ιμιδαζολιδιν-1-υλ) ακεταμίδιο 18	110
	<i>N</i> -υδροξυ-2-(2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλ) ακεταμίδιο 24	110
	<i>N</i> -υδροξυ-2-(2',5'-διοξο-6,7,8,9-τετραϋδροσπειρο[βενζο[7]αννουλεν-5,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλ) ακεταμίδιο 30	111
	<i>N</i> -υδροξυ-2-(6'-μεθοξυ-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2' <i>H</i> -σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο 36	111
	<i>N</i> -υδροξυ-2-((4 <i>R</i> ,4' <i>S</i>)/(4 <i>S</i> ,4' <i>R</i>)-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2' <i>H</i> -σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο 42	111
	<i>N</i> -υδροξυ-2-((4 <i>R</i> ,4' <i>R</i>)/(4 <i>S</i> ,4' <i>S</i>)-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2' <i>H</i> -σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο 46	112
5.2.6	Σύνθεση του ακετοϋδροξαμικού οξέος 47	112
	<i>N</i> -υδροξυ-2-(6'-υδροξυ-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2' <i>H</i> -σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο 47	113
5.2.7	Γενική μέθοδος για τη σύνθεση των <i>N</i> -1-μεθυλο-2,4-δικετοϊμιδαζολιδινών 50, 57, 64, 71 και των ενδιαμέσων τους	113
	9-(μεθυλαμινο)-9 <i>H</i> -φλουορενο-9-καρβονιτρίλιο, υδροχλωρικό 48	113
	1-(9-κυανο-9 <i>H</i> -φλουορεν-9-υλ)-1-μεθυλουρία 49	113
	3'-μεθυλο-2' <i>H</i> ,5' <i>H</i> -σπειρο[φλουορεν-9,4'-ιμιδαζολιδινο]-2',5'-διόνη 50	113
	2-(μεθυλαμινο)-2,2-διφαινυλοακετονιτρίλιο, υδροχλωρικό 55	114
	1-(κυανοδιφαινυλομεθυλο)-1-μεθυλουρία 56	114

	1-μεθυλο-5,5-διφαινυλιμιδαζολιδινο-2,4-διόνη 57	114
	1-(μεθυλαμινο)-4-φαινυλοκυκλοεξανο-1-καρβονιτρίλιο, υδροχλωρικό 62	114
	1-(1-κυανο-4-φαινυλοκυκλοεξανο)-1-μεθυλουρία 63	114
	1-μεθυλο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκανο-2,4-διόνη 64	115
	5-(μεθυλαμινο)-6,7,8,9-τετραϋδρο-5 <i>H</i> -βενζο[7]αννουλενο-5-καρβονιτρίλιο, υδροχλωρικό 69	115
	1-(5-κυανο-6,7,8,9-τετραϋδρο-5 <i>H</i> -βενζο[7]αννουλενο-5-υλο)-1-μεθυλουρία 70	115
	3'-μεθυλο-6,7,8,9-τετραϋδρο-2' <i>H</i> ,5' <i>H</i> -σπειρο[βενζο[7]αννουλενο-5,4'-ιμιδαζολιδινο]-2',5'-διόνη 71	115
5.2.8	Γενική μέθοδος για τη σύνθεση των <i>N</i> -3-μεθυλο-βενζυλεστέρων 51, 58, 65, 72	116
	(3'-μεθυλο-2',5'-διοξοσπειρο[φλουορεν-9,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλο) οξικός βενζυλεστέρας 51	116
	(3-μεθυλο-2,5-διοξο-4,4-διφαινυλιμιδαζολιδιν-1-υλο) οξικός βενζυλεστέρας 58	116
	(1-μεθυλο-2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλο) οξικός βενζυλεστέρας 65	116
	(3'-μεθυλο-2',5'-διοξο-6,7,8,9-τετραϋδροσπειρο[βενζο[7]αννουλενο-5,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλο) οξικός βενζυλεστέρας 72	117
5.2.9	Γενική μέθοδος για τη σύνθεση των <i>N</i> -3-μεθυλο-καρβοξυλικών οξέων 52, 59, 66, 73	117
	(3'-μεθυλο-2',5'-διοξοσπειρο[φλουορεν-9,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλο) οξικό οξύ 52	117
	(3-μεθυλο-2,5-διοξο-4,4-διφαινυλιμιδαζολιδιν-1-υλο) οξικό οξύ 59	118
	(1-μεθυλο-2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλο) οξικό οξύ 66	118
	(3'-μεθυλο-2',5'-διοξο-6,7,8,9-τετραϋδροσπειρο[βενζο[7]αννουλενο-5,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλο) οξικό οξύ 73	118
5.2.10	Γενική μέθοδος για τη σύνθεση των <i>N</i> -(φαινυλομεθοξυ)- <i>N</i> -3-μεθυλο ακεταμίδιων 53, 60, 67, 74	118
	<i>N</i> -(φαινυλομεθοξυ)-2-(3'-μεθυλο-2',5'-διοξοσπειρο[φλουορεν-9,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλο) ακεταμίδιο 53	118
	<i>N</i> -(φαινυλομεθοξυ)-2-(3-μεθυλο-2,5-διοξο-4,4-διφαινυλιμιδαζολιδιν-1-υλο) ακεταμίδιο 60	119
	<i>N</i> -(φαινυλομεθοξυ)-2-(2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλο) ακεταμίδιο 67	119
	<i>N</i> -(φαινυλομεθοξυ)-2-(3'-μεθυλο-2',5'-διοξο-6,7,8,9-τετραϋδροσπειρο[βενζο[7]αννουλενο-5,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλο) ακεταμίδιο 74	119
5.2.11	Γενική μέθοδος για τη σύνθεση των ακετοϋδροξαμικών οξέων 54, 61, 68, 75	120
	<i>N</i> -υδροξυ-2-(3'-μεθυλο-2',5'-διοξοσπειρο[φλουορεν-9,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλο) ακεταμίδιο 54	120
	<i>N</i> -υδροξυ-2-(3-μεθυλο-2,5-διοξο-4,4-διφαινυλιμιδαζολιδιν-1-υλο) ακεταμίδιο 61	120
	<i>N</i> -υδροξυ-2-(1-μεθυλο-2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλο) ακεταμίδιο 68	121

Περιεχόμενα

	<i>N</i> -υδροξυ-2-(3'-μεθυλο-2',5'-διοξο-6,7,8,9-τετραϋδροσπειρο [βενζο [7] αννουλεν-5,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλ) ακεταμίδιο 75	121
5.2.12	Γενική μέθοδος για τη σύνθεση των <i>N</i> -3-μεθυλο-βενζυλεστέρων 76, 80 (2,5-διοξο-3,4-διμεθυλο-4-(τρικυκλο[3.3.1.1 ^{3,7}]δεκ-1-υλ)ιμιδαζολιδιν-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας 76	121
	(6'-μεθοξυ-3-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2' <i>H</i> -σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας 80	122
5.2.13	Γενική μέθοδος για τη σύνθεση των <i>N</i> -3-μεθυλο-καρβοξυλικών οξέων 77, 81 (2,5-διοξο-3,4-διμεθυλο-4-(τρικυκλο[3.3.1.1 ^{3,7}]δεκ-1-υλ)ιμιδαζολιδιν-1-υλ) οξικό οξύ 77	122
	(6'-μεθοξυ-3-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2' <i>H</i> -σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικό οξύ 81	123
5.2.14	Γενική μέθοδος για τη σύνθεση των <i>N</i> -(φαινυλομεθοξυ)- <i>N</i> -3-μεθυλο-ακεταμιδίων 78, 82 <i>N</i> -(φαινυλομεθοξυ)-2-(2,5-διοξο-3,4-διμεθυλο-4-(τρικυκλο[3.3.1.1 ^{3,7}]δεκ-1-υλ)ιμιδαζολιδιν-1-υλ) ακεταμίδιο 78	123
	<i>N</i> -(φαινυλομεθοξυ)-2-(6'-μεθοξυ-3-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2' <i>H</i> -σπειρο [ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο 82	123
5.2.15	Γενική μέθοδος για τη σύνθεση των ακετοϋδροξαμικών οξέων 79, 83 <i>N</i> -υδροξυ-2-(2,5-διοξο-3,4-διμεθυλο-4-(τρικυκλο[3.3.1.1 ^{3,7}]δεκ-1-υλ)ιμιδαζολιδιν-1-υλ) ακεταμίδιο 79	124
	<i>N</i> -υδροξυ-2-(6'-μεθοξυ-3-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2' <i>H</i> -σπειρο [ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο 83	124
6.	Βιβλιογραφία	125
	Παράρτημα	131
	Τελικές ενώσεις και ενδιάμεσα ανάλογα της παρούσας εργασίας	133
	Δοκιμασίες για τον έλεγχο της αντιτρυπανοσωμιακής δράσης	145

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΕΣ ΕΙΚΟΝΕΣ

EIKONA 1	Εννοιολογική εικόνα του φορέα μύγα τσε-τσε δίπλα στα παράσιτα <i>T. brucei</i> μεταξύ ερυθρών αιμοσφαιρίων.	27
EIKONA 2	Ο Άτλας της HAT για την περίοδο 2000-2009.	29
EIKONA 3	Δομή του <i>T. brucei</i> . Μια απλοποιημένη αναπαράσταση της θέσης των μεγάλων διαρθρωτικών χαρακτηριστικών του κυττάρου του τρυπανοσώματος.	31
EIKONA 4	Επισκόπηση της μορφολογίας του μαστιγίου του <i>T. brucei</i> . Απεικόνιση του μαστιγίου που αναδύεται από το FP και εκτείνεται στο οπίσθιο άκρο του κυττάρου.	32
EIKONA 5	Σχηματική αναπαράσταση της αντιγονικής μεταβολής.	33
EIKONA 6	Μορφές του <i>T. brucei</i> και βασικά μορφολογικά χαρακτηριστικά αυτών.	34
EIKONA 7	Εικονογράφιση του κύκλου ζωής του <i>T. brucei</i> .	34
EIKONA 8	Σχηματική αναπαράσταση των κύκλων πολλαπλασιασμού του παρασίτου στους σιελογόνους αδένες.	36
EIKONA 9	Διάγραμμα που απεικονίζει τη συμμετοχή του μαστιγίου και των δομών που σχετίζονται με το μαστίγιο σε βασικά στάδια του κύκλου της κυτταρικής διαίρεσης σε PC μορφές.	37
EIKONA 10	Μοντέλο της τρυπανολυτικής διαδικασίας από την APOL1.	38
EIKONA 11	Δομές των φαρμάκων που χρησιμοποιούνται στην τρέχουσα χημειοθεραπεία της HAT.	43
EIKONA 12	Μεταβολισμός ενεργοποίησης του fexinidazole.	44
EIKONA 13	Δομή του υπό ανάπτυξη χημειοθεραπευτικού παράγοντα SCYX-7158 (AN5568).	44
EIKONA 14	Ευαισθησία των BSF του <i>T. brucei</i> στη δράση των αντικών φαρμάκων αμανταδίνη I και ριμανταδίνη II.	53
EIKONA 15	Ευαισθησία των BSF του <i>T. brucei</i> στη δράση των αναλόγων III-V.	53
EIKONA 16	Ευαισθησία των BSF του <i>T. brucei</i> στη δράση των αναλόγων VI-IX.	54
EIKONA 17	Αδαμαντανικός δικετοπιπεραζινικός σκελετός υποκατεστημένος με υδρογόνο ή μεθύλιο στο αμινικό άζωτο.	54
EIKONA 18	Σύνταξη της καρβουδροξαμικής ομάδας με το μεταλλικό ιόν.	55
EIKONA 19	Αδαμαντανικός δικετοπιπεραζινικός σκελετός υποκατεστημένος με την ακετοϋδροξαμική ομάδα στο ιμιδικό άζωτο και υδρογόνο ή μεθύλιο επί του αμινικού αζώτου.	55
EIKONA 20	Κυκλοοκτανικός και κυκλοεπτανικός δικετοπιπεραζινικός σκελετός υποκατεστημένος με την ακετοϋδροξαμική ομάδα στο ιμιδικό άζωτο και υδρογόνο ή μεθύλιο επί του αμινικού αζώτου.	55
EIKONA 21	Αδαμαντανικός δικετοπιπεραζινικός σκελετός υποκατεστημένος με την ακετοϋδροξαμική ομάδα στο ιμιδικό άζωτο, βενζυλο ομάδα στη θέση 5 και υδρογόνο ή μεθύλιο επί του αμινικού αζώτου.	56
EIKONA 22	Αδαμαντανικά δικετοπιπεραζινικά ανάλογα υποκατεστημένος με την ακετοϋδραζιδική, την ακεταμιδική και την O-(μεθοξυ) ακεταμιδική ομάδα επί του ιμιδικού αζώτου.	56
EIKONA 23	Αντικατάσταση του δικετοπιπεραζινικού σκελετού από το δικετοϊμιδαζολιδινικό.	57
EIKONA 24	Φάρμακα που χρησιμοποιούνται στη θεραπευτική και διαθέτουν τον υδαντοϊνικό σκελετό.	57
EIKONA 25	Ενσωμάτωση της ακετοϋδροξαμικής ομάδας στο ιμιδικό άζωτο του δικετοϊμιδαζολιδινικού σκελετού.	57
EIKONA 26	Δικετοϊμιδαζολιδινικά ανάλογα υποκατεστημένα με την ακετοϋδροξαμική ομάδα και σπειρανικούς καρβοκυκλικούς κορεσμένους ή αρωματικούς δακτυλίους στη θέση 5.	58
EIKONA 27	Σπειρανικά δικετοϊμιδαζολιδινικά ανάλογα ακετοϋδροξαμικών οξέων.	59

Περιεχόμενα

EIKONA 28	Σπειρανικά δικετοϊμιδαζολιδινικά ανάλογα ακετούδροξαμικών οξέων υποκατεστημένα με μεθύλιο στο αμιδικό άζωτο.	60
EIKONA 29	Πιθανές αλληλεπιδράσεις των νέων αναλόγων στο ενεργό κέντρο του ενζύμου στόχου.	61
EIKONA 30	Καρβοδιμίδια που χρησιμοποιούνται για την ενεργοποίηση καρβοξυλικής ομάδας.	72
EIKONA 31	Πυρηνόφιλες ενώσεις που αντιδρούν με O-ακυλισσουρίες προς σχηματισμό αμιδίων και επιταχύνουν αποτελεσματικά τη διαδικασία σύζευξης.	72
EIKONA 32	Δομή πρωτοταγών και δευτεροταγών υδροξαμικών οξέων.	75
EIKONA 33	Ταυτομέρεια αμιδικής-ιμιδικής μορφής ακετούδροξαμικών οξέων.	75
EIKONA 34	Αμιδικές και ιμιδικές μορφές των <i>Z</i> και <i>E</i> διαμορφομερών.	75
EIKONA 35	Ενδομοριακός δεσμός H του <i>Z</i> ροταμερούς, διαμοριακός δεσμός H του <i>Z</i> ροταμερούς με ένα μόριο νερού και διαμοριακός δεσμός H του <i>E</i> ροταμερούς με ένα μόριο νερού.	76
EIKONA 36	Δομές ανιόντων των <i>Z</i> και <i>E</i> ροταμερών.	76
EIKONA 37	Πρωτονιωμένες μορφές των υδροξαμικών οξέων.	77
EIKONA 38	Σκελετός και αρίθμηση του δακτυλίου της υδαντοΐνης.	77
EIKONA 39	Φάσμα ¹ H NMR (2.45-11.5 ppm) της ένωσης 2 (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).	78
EIKONA 40	Φάσμα ¹ H NMR (2.00-11.55 ppm) της ένωσης 50 (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).	79
EIKONA 41	1,3-διαξονικές αλληλεπιδράσεις σε αξονικά υποκατεστημένο ανάκλιτρο.	79
EIKONA 42	Κύρια προϊόντα των αντιδράσεων <i>Bucherer-Bergs</i> και <i>Strecker</i> της 4-tert-βουτυλοκυκλοεξανόνης.	79
EIKONA 43	Διαμορφομερή του βενζυλεστέρα 21 .	81
EIKONA 44	Φάσμα ¹ H NMR (1.50-9.0 ppm) της ένωσης 21 (400 MHz, CDCl ₃). Διεύρυνση της περιοχής 4.30-5.17 ppm του φάσματος ¹ H NMR της ένωσης 21 .	81
EIKONA 45	Φάσμα ¹³ C NMR (22.5-180.0 ppm) της ένωσης 21 (150 MHz, CDCl ₃). Διεύρυνση της περιοχής 166.97-167.22 ppm, 126.37-127.15 ppm και 39.0-43.0 ppm του φάσματος ¹³ C NMR της ένωσης 21 .	82
EIKONA 46	<i>Cis</i> και <i>trans</i> διάταξη της ένωσης 20 . Σχηματική αναπαράσταση των 1,3 διαξονικών αλληλεπιδράσεων.	82
EIKONA 47	Διαμόρφωση ημιανακλίντρου του 1,2,3,4-τετραϋδροναφθαλινικού δακτυλίου.	83
EIKONA 48	Σχηματική αναπαράσταση των συζεύξεων NOE.	83
EIKONA 49	Περιοχή του φάσματος 2D NOESY (400 MHz, CDCl ₃) της ένωσης 39 .	83
EIKONA 50	Περιοχή του φάσματος 2D NOESY (400 MHz, CDCl ₃) της ένωσης 39 .	84
EIKONA 51	Δομές του ζεύγους εναντιομερών 4 <i>R</i> ,4' <i>S</i> /4 <i>S</i> ,4' <i>R</i> .	84
EIKONA 52	Περιοχή 3.86-4.32 ppm του φάσματος ¹ H NMR της ένωσης 36 .	85
EIKONA 53	Περιοχή 37.2-41.7 ppm του φάσματος ¹³ C NMR (50 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) της ένωσης 36 . Περιοχή του φάσματος 2D HSQC (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) της ένωσης 36 .	85
EIKONA 54	Περιοχή 8.05-10.80 ppm του φάσματος ¹ H NMR της ένωσης 30 (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).	86
EIKONA 55	Περιοχή 155.5-176.5 ppm του φάσματος ¹³ C NMR της ένωσης 30 (150 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).	87
EIKONA 56	Περιοχή του φάσματος 2D HMBC (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) της ένωσης 30 .	87

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΣΧΗΜΑΤΑ

ΣΧΗΜΑ 1	Πορεία βιοσύνθεσης των πολυαμινών σπερμιδίνη, σπερμίνη, τρυπανοθειόνη.	45
ΣΧΗΜΑ 2	Ρετροσυνθετική πορεία για τη λήψη των αναλόγων 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 46, 47.	65
ΣΧΗΜΑ 3	Συνθετική πορεία για τη λήψη των αναλόγων 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 46, 47.	66
ΣΧΗΜΑ 4	Ρετροσυνθετική πορεία για τη λήψη των αναλόγων 54, 61, 68, 75, 79, 83.	67
ΣΧΗΜΑ 5	Συνθετική πορεία για τη λήψη των αναλόγων 54, 61, 68, 75, 79, 83.	68
ΣΧΗΜΑ 6	Μηχανισμός σχηματισμού υδαντοϊνών μέσω εφαρμογής της αντίδρασης <i>Bucherer-Bergs</i> .	69
ΣΧΗΜΑ 7	Μηχανισμός αντίδρασης <i>Strecker</i> και σχηματισμού ουρεΐδο νιτριλίων.	69
ΣΧΗΜΑ 8	Μηχανισμός κύκλωσης ουρεΐδο νιτριλίων και υδρόλυσης ιμινών προς σχηματισμό <i>N</i> -1-μεθυλο υδαντοϊνών.	71
ΣΧΗΜΑ 9	Πορείες σχηματισμού αμιδίων με τη μεσολάβηση καρβοδιμιδίου.	72
ΣΧΗΜΑ 10	Μηχανισμός σχηματισμού αμιδίων με τη μεσολάβηση EDCI και HOBT.	73
ΣΧΗΜΑ 11	Μονομοριακός μηχανισμός απομεθυλίωσης αρυλ μεθυλ αιθέρων.	74
ΣΧΗΜΑ 12	Διμοριακός μηχανισμός απομεθυλίωσης αρυλ μεθυλ αιθέρων.	74
ΣΧΗΜΑ 13	Βασικές δομές του μηχανισμού της αντίδρασης <i>Bucherer-Bergs</i> .	80
ΣΧΗΜΑ 14	Βασικές δομές του μηχανισμού της αντίδρασης <i>Strecker</i> .	80

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΙ ΠΙΝΑΚΕΣ

ΠΙΝΑΚΑΣ 1	Συνοπτική επισκόπηση των φαρμάκων που χρησιμοποιούνται στην τρέχουσα χημειοθεραπεία της HAT.	41
ΠΙΝΑΚΑΣ 2	Αντιτρυπανοσωμιακή δράση των ενώσεων XIa-XIVc έναντι καλλιέργειας των BSF του <i>T. brucei</i> και κυτταροτοξικότητα των ενώσεων έναντι καλλιέργειας L6 κυτταρικών σειρών σκελετικών μυοβλαστών επιμύων.	56
ΠΙΝΑΚΑΣ 3	Αντιτρυπανοσωμιακή δράση των ενώσεων XVIII-XXI έναντι καλλιέργειας των BSF του <i>T. brucei</i> και κυτταροτοξικότητα των ενώσεων έναντι καλλιέργειας L6 κυτταρικών σειρών σκελετικών μυοβλαστών επιμύων.	58
ΠΙΝΑΚΑΣ 4	Αντιτρυπανοσωμιακή δράση των τελικών ακετοϋδροξιαμικών οξέων έναντι καλλιέργειας των BSF του <i>T. brucei</i> και κυτταροτοξικότητα των ενώσεων έναντι καλλιέργειας L6 κυτταρικών σειρών σκελετικών μυοβλαστών επιμύων.	91
ΠΙΝΑΚΑΣ 5	Χρόνοι ακτινοβολήσης των κετονών για τη σύνθεση των 2,4-δικετοϊμιδαζολιδινών.	98
ΠΙΝΑΚΑΣ 6	Τελικές ενώσεις και ενδιάμεσα ανάλογα της παρούσας εργασίας.	133

ABBREVIATIONS

AE	Ανεπιθύμητες Ενέργειες
ΑΕΦ	Αιματοεγκεφαλικός Φραγμός
ENY	Εγκεφαλονωτιαίο υγρό
ΚΝΣ	Κεντρικό Νευρικό Σύστημα
μg	Microgram
μL	microliter
μM	micromolar
μm	micrometer
A	Adenine
AcOH	Acetic acid
APOL1	Apolipoprotein-L1
Ar	Argon
ATP	Adenosine triphosphate
bp	base pairs
BSF	Bloodstream Forms
d	day
DCC	<i>N,N'</i> -dicyclohexylcarbodiimide
DIC	<i>N,N</i> -diisopropylcarbodiimide
dcSAM	decarboxylated S-adenosylmethionine
DMF	Dimethylformamide
DMSO	Dimethylsulfoxide
DNA	Deoxyribonucleic Acid
<i>E</i>	<i>Entgegen</i>
E	Epimastigote
EDCI	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide
eq	equivalent
ESI	Electrospray Ionization
EtOAc	Ethyl acetate
EtOH	Ethanol
FAZ	Flagellum Attachment Zone
FC	Fragellar Connector
FP	Flagellar Pocket
g	gram
<i>G. species</i>	<i>Glossina species (palpalis, gambiensis, morsitans, centralis, swynnertoni, pallidipes)</i>
G ₁	Gap I (of mitosis)
G ₂	Gap II (of mitosis)
gHAT	gambiense Human African Trypanosomiasis
GPI	Glycophosphatidylinositol
GSH	Glutathione
GTPase	Guanosine Triphosphate-ase
h	hour
HA	Hydroxamic Acid

Abbreviations

HAT	Human African Trypanosomiasis
HB	Hemoglobin
HDAC	Histone Deacetylase
HDL	High Density Lipoprotein
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation Spectroscopy
HOAt	1-Hydroxy-7-azabenzotriazole
HOBt	1-Hydroxybenzotriazole
HRMS	High Resolution Mass Spectrometry
HRP	Haptoglobin Related Protein
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy
Hz	Hertz
IC ₅₀	Concentration required to inhibit growth by 50%
IC ₉₀	Concentration required to inhibit growth by 90%
IFN-	Interferon-
IgM	Immunoglobulin M
IL-	Interleukin-
i.m	intramuscular
ISGs	Invariant Surface Glycoproteins
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
i.v	intravenous
kb	kilo base pairs
kcal	kilocalorie
kDa	kilodalton
kDNA	kinetoplast Deoxyribonucleic Acid
LE	Long Epimastigotes
LS	Long Slender Trypomastigote
M	Mitotic phase
M	Molar
Mb	mega base pairs
MeOH	Methanol
mg	milligram
MHz	Megahertz
min	minute
mL	milliliter
mmol	millimole
mp	melting point
MS	Mesocyclic Trypomastigote
MT	Metacyclic Trypomastigote
NADH	Nicotinamide Adenine Dinucleotide
NECT	Nifurtimox-eflornithine combination therapy
nM	nanomolar
nm	nanometer
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
NTD	Neglected Tropical Disease
ODC	Ornithine Decarboxylase

PC	Procyclic Trypomastigote
Pd/C	Palladium on carbon
PFT	Protein Farnesyltransferase
PGAM	Phosphoglycerate Mutase
PGGT	Protein Geranylgeranyl Transferase
pH	potential of hydrogen
ppm	part per million
psi	pound per square inch
R _f	Retention factor
rHAT	rhodesiense Human African Trypanosomiasis
RNA	Ribonucleic Acid
rRNA	ribosomal Ribonucleic Acid
rt	room temperature
S	Synthesis (of mitosis)
s	second
SAM	S-adenosylmethionine
SAR	Structure-Activity Relationship
SE	Short Epimastigotes
SI	Selectivity Index
SIRT1	Sirtuin 1
SOD	Superoxide Dismutase
SRA	Serum Resistance Associated
ST	Short Stumpy Trypomastigote
T	Thymine
<i>T. b.</i>	<i>Trypanosoma brucei</i>
<i>T. species</i>	<i>Trypanosoma species (brucei, cruzi, congolense, equiperdum, evansi, simiae, suis, vivax)</i>
TAO	Trypanosome Alternative Oxidase
TbAT1	<i>Trypanosoma brucei</i> Adenosine Transporter
TbHpHbR	Trypanosome Haptoglobin-Hemoglobin Receptor
TbMRPA	<i>Trypanosoma brucei</i> Multidrug Resistance Protein A
TbSIR2RP1	<i>Trypanosoma brucei</i> SIR2-Related Protein 1
TEA	Triethylamine
TLF	Trypanolytic Factor
TgsGP	<i>T. b. gambiense</i> -specific Glycoprotein
THF	Tetrahydrofuran
TNF	Tumor Necrosis Factor
VSGs	Variable Surface Glycoproteins
W	Watt
WHO	World Health Organization
Z	<i>Zusammen</i>
°C	degree Celsius

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η Ανθρώπινη Αφρικανική Τρυπανοσωμίαση (Human African Trypanosomiasis), επίσης γνωστή ως ασθένεια του ύπνου, είναι μια παρασιτική νόσος, μεταδιδόμενη από φορείς, η οποία εμφανίζεται μετά τη μόλυνση από μαστιγοφόρα μονοκυττάρια παράσιτα του είδους *T. brucei*. Περίπου 65 εκατομμύρια άνθρωποι σε 36 χώρες στην υποσαχάρια Αφρική διατρέχουν τον κίνδυνο μόλυνσης και η ΗΑΤ έχει αναγνωριστεί από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας ως μια από τις Παραμελημένες Τροπικές Νόσους. Σήμερα, λίγα μόνο φάρμακα είναι διαθέσιμα για κλινική χρήση, τα οποία εμφανίζουν όμως σοβαρές παρενέργειες. Η κατάσταση επιδεινώνεται από την ανησυχητικά αυξημένη συχνότητα αποτυχίας της θεραπείας, σε συνδυασμό με την ανάπτυξη ανθεκτικότητας έναντι της τρέχουσας χημειοθεραπείας και την αδυναμία εμβολιασμού, λόγω του φαινομένου της αντιγονικής μεταλλαγής. Επομένως, η έρευνα έχει επικεντρωθεί στην ανακάλυψη νέων φαρμάκων και την ταυτοποίηση νέων στόχων στο *T. brucei*.

Με βάση προηγούμενα ευρήματα της ερευνητικής μας ομάδας, σύμφωνα με τα οποία σπειρανικές καρβοκυκλικές 2,6-δικετοπιπεραζιλικές δομές με την ενσωμάτωση της ακετοϋδροξαμικής ομάδας επί του ιμιδικού αζώτου παρέχουν ανάλογα με ισχυρή δράση έναντι του *T. brucei*, μια σειρά νέων ενώσεων σχεδιάστηκε, συντέθηκε και αξιολογήθηκε για την αντιτρυπανοσωμιακή τους δράση. Τα νέα ανάλογα προήλθαν από την αντικατάσταση του δακτυλίου της 2,6-δικετοπιπεραζίνης από το δακτύλιο της 2,4-δικετοϊμιδαζολιδίνης, επίσης γνωστός ως υδαντοΐνη, ο οποίος είναι υποκατεστημένος στο ιμιδικό άζωτο με την ομάδα του ακετοϋδροξαμικού οξέος, η οποία δρα ως παράγοντας συμπλοκοποίησης μεταλλικών ιόντων διαφόρων μεταλλοενζύμων του *T. brucei*. Τα υδροξαμικά οξέα συνδέονται δισχιδώς με το M^{2+} ιόν στο ενεργό κέντρο των μεταλλοπρωτεϊνών. Η καρβοϋδροξαμική ομάδα συντάσσεται μέσω του καρβονυλικού οξυγόνου και του οξυγόνου του υδροξυλίου με το M^{2+} . Οι μεταλλοπρωτεΐνες είναι ένζυμα, τα οποία περιέχουν μεταλλικά ιόντα ως συμπαράγοντες και χρησιμεύουν ως ρυθμιστές σε ένα ευρύ φάσμα λειτουργιών του παρασίτου. Δεδομένης της σημασίας των μεταλλοενζύμων για την επιβίωση του *T. brucei*, η αναστολή τους αποτελεί μια ελκυστική προσέγγιση στη θεραπεία της νόσου. Ποικιλία λιπόφιλων καρβοκυκλικών δακτυλίων έχουν χρησιμοποιηθεί ως σπειρανικοί υποκαταστάτες στη θέση 5, προκειμένου να αυξηθεί η συγγένεια για το στόχο μέσω Van der Waals και υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων. Μια περαιτέρω δομική τροποποίηση πραγματοποιήθηκε με την εισαγωγή ενός επιπλέον μεθυλίου επί του αμιδικού αζώτου, έτσι ώστε να αυξηθεί η ικανότητα σύνδεσης των αναλόγων στο ενεργό κέντρο.

Οι νέες ενώσεις εμφάνισαν ισχυρή δράση έναντι του *T. brucei* με τιμές IC_{50} στην υπομικρομοριακή περιοχή. Η κυτταροτοξικότητα των ενώσεων ήταν εξαιρετικά μικρή για τα κύτταρα των θηλαστικών και οι δείκτες εκλεκτικότητας ήταν ιδιαίτερα ικανοποιητικοί. Το ανάλογο, το οποίο έχει σπειρανικός ενωμένο φλουορενικό δακτύλιο στη θέση 5 και μεθύλιο στο αμιδικό άζωτο, ήταν το πιο δραστικό με αξιοσημείωτο δείκτη εκλεκτικότητας. Η ενσωμάτωση της μεθυλομάδας επί του αμιδικού αζώτου, είχε ως αποτέλεσμα τη βελτίωση της δράσης για όλες σχεδόν τις ενώσεις. Από τα αποτελέσματα του φαρμακολογικού ελέγχου, παρατηρήθηκε μια θετική συσχέτιση μεταξύ της λιποφιλίας και της αντιτρυπανοσωμιακής δράσης και, κατά συνέπεια, ογκώδεις και λιπόφιλοι υποκαταστάτες φαίνεται να είναι πιο ευνοϊκοί για την εκδήλωση της δράσης.

Συμπερασματικά, ο σχεδιασμός μορίων και η σύνθεση αναλόγων που φέρουν κατάλληλη ομάδα, ικανή να δράσει ως δισχιδής χηλικός υποκαταστάτης στο ενεργό κέντρο μεταλλοενζύμων, αποτελεί ένα πολλά υποσχόμενο πεδίο στην ανακάλυψη φαρμάκων. Στο πλαίσιο αυτό, ο σπειρο-καρβοκυκλικός-2,4-δικετοϊμιδαζολιδινικός σκελετός φαίνεται ότι αποτελεί κατάλληλο δομικό υπόστρωμα, το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί είτε για την ανάπτυξη αντιτρυπανοσωμιακών παραγόντων είτε παραγόντων δραστικών έναντι άλλων ασθενειών μέσω εισαγωγής ενός τέτοιου υποκαταστάτη.

ABSTRACT

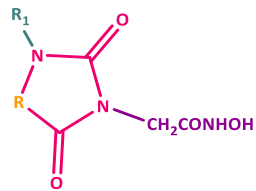
Human African Trypanosomiasis (HAT) or sleeping sickness, as it is also known, is a vector borne-parasitic disease, resulting from infections with flagellated unicellular parasites of the species *T. brucei*. Approximately, 65 million people in 36 countries in sub-Saharan Africa are at risk of infection, and HAT has been recognized by World Health Organization as a Neglected Tropical Disease. Nowadays, only a few clinically useful drugs are available which suffer from severe side effects. The situation is aggravated by the alarming increased incidence of treatment failure in conjunction with the development of resistance against current chemotherapy and the inability of vaccination due to antigenic variation. HAT draws the attention of WHO, which aims to eliminate the disease and implements sustained surveillance in all countries. Thus, the research has been focused on the discovery of new drugs and the identification of new drug-targets in *T. brucei*.

Based on previous findings, according to which spiro carbocyclic derivatives of 2,6-diketopiperazine core with the incorporation of the acetohydroxamic group at the imidic nitrogen showed high potency against *T. brucei*, a series of novel compounds were designed, synthesized and evaluated for their trypanocidal activity. The new analogues were derived from the replacement of the 2,6-diketopiperazine ring by the 2,4-diketoimidazolidine scaffold, also known as hydantoin, attached by the acetohydroxamic acid moiety at the imidic nitrogen, which acts a metal ion chelating functional group of *T. brucei* metalloenzymes. Hydroxamic acids bind bidentately with the M^{2+} ion to the catalytic site of metalloproteins. The acetohydroxamate acid moiety coordinates through the carbonyl oxygen and the deprotonated hydroxyl oxygen with the M^{2+} . Metalloproteins are enzymes that contain metal ions as cofactors and serve as regulators of a wide range of functions, including antioxidant metabolism, glycolysis, DNA transcription and DNA repair. Given the importance of these metalloenzymes for the survival of *T. brucei*, their inhibition offers an attractive approach to HAT treatment. A variety of lipophilic carbocyclic rings have been used as spiro substituents at position 5, in order to increase the affinity for the target through Van der Waals and hydrophobic interactions. A further structural modification was accomplished by attaching an additional methyl group at the amidic nitrogen, so as to increase the binding capacity of the derivatives.

The new compounds exhibited considerable potent activity against *T. brucei* with IC_{50} values in low nanomolar range. The cytotoxicity of the newly synthesized analogues was extremely small for mammalian cells and the selectivity indices were significantly high. The derivative substituted with the fluorene core and the additional methyl moiety was the most potent with a notable selectivity index. The incorporation of a methyl group at the amidic nitrogen, led to an increased activity for almost all compounds. Interestingly, it was observed a positive correlation between lipophilicity and trypanocidal activity, and consequently, bulky and lipophilic substituents seem to be favorable.

In conclusion, the design and synthesis of new analogues that bear a suitable group, capable of chelating metal ions in the catalytic site of metalloenzymes, is a promising field in drug discovery for the treatment of HAT. The novel 2,5-spiro carbocyclic diketoimidazolidine scaffold emerge as valuable platform either for the development of antitrypanosomal agents or agents against other diseases by introducing an appropriate substituent.

GRAPHICAL ABSTRACT



R	R ₁	R	R ₁
	H		H
	H		CH ₃
	H		CH ₃
	H		CH ₃
	H		CH ₃
	H		CH ₃
	H		CH ₃
	H		

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΕΝΝΟΙΑ ΤΟΥ ΠΑΡΑΣΙΤΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΤΙΣ ΠΑΡΑΜΕΛΗΜΕΝΕΣ ΤΡΟΠΙΚΕΣ ΝΟΣΟΥΣ

Ο όρος παρασιτισμός χαρακτηρίζει τη σχέση συμβίωσης δύο οργανισμών διαφορετικού είδους, η οποία είναι βιολογικά ωφέλιμη για τον έναν οργανισμό, το παράσιτο, βλαβερή ή μη για τον έτερο οργανισμό, τον ξενιστή και μπορεί να είναι συνεχής ή κατά τη διάρκεια κάποιας φάσης του βιολογικού τους κύκλου. Το παράσιτο ζει και αναπτύσσεται σε βάρος του ξενιστή, χωρίς όμως να προκαλεί άμεσο θάνατο σε αυτόν. Ωστόσο, ο ξενιστής δύναται είτε να αποβιώσει από δευτερογενή προσβολή είτε να καθυστερήσει ή να παρεμποδιστεί η ανάπτυξη του.¹ Η λοίμωξη, η οποία οφείλεται σε κάποιο παράσιτο και συνοδεύεται από εκδήλωση κλινικών συμπτωμάτων, καλείται παρασιτική νόσος ή παρασίτωση.

Οι Παραμελημένες Τροπικές Νόσοι (Neglected Tropical Diseases, NTDs) συνιστούν μια ομάδα ικτών, παρασιτικών και βακτηριακών λοιμώξεων, οι οποίες επικρατούν σε αγροτικές και αστικές περιοχές, σε χώρες χαμηλού και μεσαίου εισοδήματος της υποσαχάριας Αφρικής, της Ασίας και της Λατινικής Αμερικής. Επηρεάζουν περίπου το ένα έκτο του παγκόσμιου πληθυσμού και πλήττουν κυρίως τους πληθυσμούς που ζουν σε συνθήκες φτώχειας, χωρίς επαρκείς εγκαταστάσεις υγιεινής και οι οποίοι βρίσκονται σε στενή επαφή με μολυσματικούς φορείς και οικόσιτα ζώα.^{2,3} Εξέχουσα θέση μεταξύ των υφιστάμενων NTDs κατέχουν η λειψμανίαση, η ασθένεια του ύπνου, η νόσος του Chagas και η ελονοσία, οι οποίες ευθύνονται σχεδόν για το 50% όλων των θανάτων από NTDs κάθε χρόνο. Και οι τέσσερις ασθένειες προκαλούνται από πρωτόζωα, τα οποία είναι από τα πιο διαδεδομένα παθογόνα σε όλο τον κόσμο.⁴

1.2 ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΑΦΡΙΚΑΝΙΚΗ ΤΡΥΠΑΝΟΣΩΜΙΑΣΗ-ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ

Η Ανθρώπινη Αφρικανική Τρυπανοσωμίαση (Human African Trypanosomiasis, HAT) ή ασθένεια του ύπνου (sleeping sickness) είναι νόσος, η οποία προκαλείται έπειτα από μόλυνση με το πρωτοζωικό παράσιτο *Trypanosoma brucei* (Εικ. 1) και μεταδίδεται στον άνθρωπο μέσω της μύγας τσε-τσε (Εικ. 1) του γένους *Glossina*, της οικογένειας *Glossinidae*.



ΕΙΚΟΝΑ 1 | Εννοιολογική εικόνα του φορέα μύγα τσε-τσε (δεξιά) δίπλα στα παράσιτα *T. brucei* μεταξύ ερυθρών αιμοσφαιρίων (αριστερά). Adapted from: sciencepicture.co

Εισαγωγή

Περίπου 65 εκατομμύρια άνθρωποι αντιμετωπίζουν τον κίνδυνο της λοίμωξης και 36 χώρες της υποσαχάριας Αφρικής πλήττονται από την ασθένεια, η οποία έχει αναγνωριστεί από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (World Health Organization, WHO) ως μια NTD.⁵ Η HAT συγκεντρώνει την προσοχή του WHO, ο οποίος στοχεύει στην εξάλειψη της νόσου, ως πρόβλημα δημόσιας υγείας, μέχρι το 2020 και στην εφαρμογή παρατεταμένης επιτήρησης σε όλες τις χώρες, στις οποίες ενδημεί η ασθένεια. Επομένως, η έρευνα έχει στραφεί στην ανακάλυψη νέων φαρμάκων, διαγνωστικών εργαλείων και μεθόδων ελέγχου των φορέων μετάδοσης, με απώτερο στόχο την πλήρη διακοπή μετάδοσης της νόσου μέχρι το 2030.⁶

1.3 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΟΥ *T. brucei* ΚΑΙ ΑΛΛΑ ΕΙΔΗ

Το *Trypanosoma brucei* είναι ένας μαστιγοφόρος πρωτοζωικός οργανισμός, ο οποίος ανήκει στο γένος *Trypanosoma*, στην οικογένεια των Τρυπανοσωμιδών, στην τάξη των Κινητοπλαστιδίων και περιλαμβάνει τρία υποείδη: το *Trypanosoma brucei gambiense*, το *Trypanosoma brucei rhodesiense* και το *Trypanosoma brucei brucei*. Τα πρώτα δύο υποείδη είναι παθογόνα για τον άνθρωπο και προκαλούν την HAT, ενώ το τρίτο υποείδος είναι παθογόνο για τα ζώα και υπεύθυνο για την τρυπανοσωμίαση άγριων και οικόσιτων ζώων. Στα βοοειδή, η ασθένεια είναι γνωστή ως Nagana. Επίσης, το *T. congolense*, το *T. equiperdum*, το *T. evansi*, το *T. simiae*, το *T. suis* και το *T. vivax* είναι μερικά από τα είδη που προκαλούν ασθένειες σε άγρια και οικόσιτα ζώα.^{7,8}

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το είδος *T. cruzi*, το οποίο προκαλεί την Αμερικανική Τρυπανοσωμίαση ή νόσο Chagas, μια ακόμη NTD. Η ασθένεια είναι ενδημική στην Κεντρική και κυρίως τη Νότια Αμερική, σε χώρες όπου έχει εντοπιστεί ο φορέας του *T. cruzi*, τα αιματοφάγα έντομα *Triatominae*, της οικογένειας *Reduviidae*. Έχει υπολογιστεί ότι 6 με 7 εκατομμύρια άτομα έχουν μολυνθεί με *T. cruzi*, και 10 000 έως 14 000 θάνατοι προκαλούνται από τη νόσο του Chagas ετησίως.^{9,10}

1.4 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΩΝ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΩΝ ΤΗΣ HAT

Τα δύο υποείδη του *T. brucei*, τα οποία ευθύνονται για την εμφάνιση της νόσου στον άνθρωπο, προκαλούν διαφορετικές παθολογικές καταστάσεις, οι οποίες εμφανίζουν διαφορετικά επιδημιολογικά και κλινικά χαρακτηριστικά, ενώ ακολουθείται ξεχωριστή θεραπευτική προσέγγιση για καθεμία από αυτές.¹¹ Το *Trypanosoma brucei gambiense* μεταδίδεται από τη μύγα του υπογένους *Nemorhina* ή *palpalis* του γένους *Glossina*, με κύριους φορείς τη *G. palpalis palpalis* και τη *G. gambiensis*¹² και προκαλεί χρόνια λοίμωξη, την επονομαζόμενη *gambiense* HAT, η οποία συναντάται στη δυτική και κεντρική Αφρική.⁸ Πρόκειται για μια ανθρωπονόσο (anthropoanotic disease ή anthroponosis όπως αναφέρεται ο όρος στη διεθνή βιβλιογραφία), η οποία μεταδίδεται από άνθρωπο σε άνθρωπο, ωστόσο οι χοίροι και κάποια άγρια ζώα έχουν αναφερθεί ως πηγές της ασθένειας.¹³

Το *Trypanosoma brucei rhodesiense* μεταδίδεται από τη μύγα του υπογένους *Glossina sensu stricto* ή *morsitans* του γένους *Glossina*, με κύριους φορείς τη *G. morsitans morsitans*, τη *G. morsitans submorsitans*, τη *G. morsitans centralis*, τη *G. swynnertoni* και τη *G. pallidipes*.¹² Προκαλεί μια οξεία και ταχέως εξελισσόμενη μορφή της νόσου, γνωστή ως *rhodesiense* HAT, η οποία εμφανίζεται στην ανατολική και νότια Αφρική.⁸ Είναι μια ζωονόσος (zoonotic disease ή zoonosis όπως αναφέρεται ο όρος στη διεθνή βιβλιογραφία), στην οποία η μολύνουσα μορφή του παρασίτου μεταδίδεται άμεσα ή έμμεσα από τα ζώα στον άνθρωπο.¹³

1.5 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΗΑΤ

1.5.1 ΑΝΘΡΩΠΙΝΕΣ ΕΠΙΔΗΜΙΕΣ

Η πρώτη αναφορά στην ασθένεια του ύπνου έγινε το 14^ο αιώνα, ενώ στις αρχές του 18^{ου} αιώνα, δημοσιεύτηκε η πρώτη ακριβής ιατρική έκθεση για την ΗΑΤ. Περί τα τέλη του 19^{ου} αιώνα και στις αρχές του επόμενου, ο μικροβιολόγος David Bruce προσδιόρισε το τρυπανόσωμα ως αιτιολογικό παράγοντα και τη μύγα τσε-τσε ως φορέα της νόσου.¹⁴

Συνολικά κατεγράφησαν τρεις μεγάλες επιδημίες της τρυπανοσωμίας στην Αφρική. Η πρώτη σημειώθηκε μεταξύ 1896 και 1906 με απώλειες 800 000 ανθρώπινες ζωές και συνέπεσε χρονικά με την ταυτοποίηση του παρασίτου. Η δεύτερη επιδημία ξεκίνησε το 1920, κορυφώθηκε το 1930 με 70 000 καταγεγραμμένες περιπτώσεις και έληξε στα τέλη της δεκαετίας του 1940. Την περίοδο μεταξύ 1940 και 1960, ο αριθμός καταγεγραμμένων περιπτώσεων μειώθηκε σημαντικά από σχεδόν 60 000 περιπτώσεις ανά έτος σε 5 000. Η πιο πρόσφατη επιδημία έλαβε χώρα το 1970 και τέθηκε υπό έλεγχο στα τέλη της δεκαετίας του 1990.^{5,15}

1.5.2 ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Η γεωγραφική κατανομή της ΗΑΤ δεν είναι σταθερή σε όλη την Αφρικανική ήπειρο (**Εικ. 2**), αλλά περιορίζεται σε οριοθετημένες περιοχές, οι οποίες ονομάζονται "εστίες" (foci). Κάθε εστία ορίζεται από τον WHO ως μια ζώνη μετάδοσης της νόσου, στην οποία δίνεται μια γεωγραφική ονομασία. Στην περιοχή αυτή, ζει και αναπτύσσεται ο φορέας του παρασίτου και το περιβάλλον είναι κατάλληλο για την επιβίωση του ξενιστή. Οι εστίες είναι συνήθως σταθερές με το πέρασμα του χρόνου, ενώ παρατηρούνται μικρές αυξομειώσεις στα γεωγραφικά τους όρια. Ωστόσο μεγαλύτερες μεταβολές οφείλονται σε περιβαλλοντικές αλλαγές και πληθυσμιακές μετακινήσεις τόσο των ανθρώπων, όσο και των ζώων.

Μέχρι σήμερα, έχουν περιγραφεί 360 εστίες της ασθένειας του ύπνου, εκ των οποίων 300 αφορούν τη gHAT και έχουν εντοπιστεί σε 24 χώρες της δυτικής και κεντρικής υποσαχάριας Αφρικής. Ανάλογα με την ένταση μετάδοσης της νόσου, οι εστίες ταξινομούνται σε τρεις κατηγορίες:

- Εστίες με υψηλό έως πολύ υψηλό βαθμό μετάδοσης της νόσου. Ορίζονται ως εκείνες οι περιοχές, όπου ο μέσος ετήσιος αριθμός των περιπτώσεων τρυπανοσωμίας που αναφέρθηκαν, είναι τουλάχιστον μία ανά 1 000 κατοίκους κατά τη διάρκεια των τελευταίων 5 ετών.
- Εστίες με μέτριο βαθμό μετάδοσης της νόσου. Ορίζονται ως οι περιοχές στις οποίες έχει καταγραφεί τουλάχιστον μία περίπτωση της ασθένειας του ύπνου ανά 10 000 κατοίκους (αλλά λιγότερη από μία ανά 1 000 κατοίκους) ετησίως κατά τα τελευταία 5 χρόνια.
- Εστίες με μικρό έως πολύ μικρό βαθμό μετάδοσης της νόσου. Ορίζονται οι περιοχές εκείνες, όπου τουλάχιστον μία περίπτωση τρυπανοσωμίας ανά 1 000 000 κατοίκους ετησίως (αλλά λιγότερο από μία περίπτωση ανά 10 000 κατοίκους) έχει παρατηρηθεί κατά τα τελευταία 5 χρόνια.

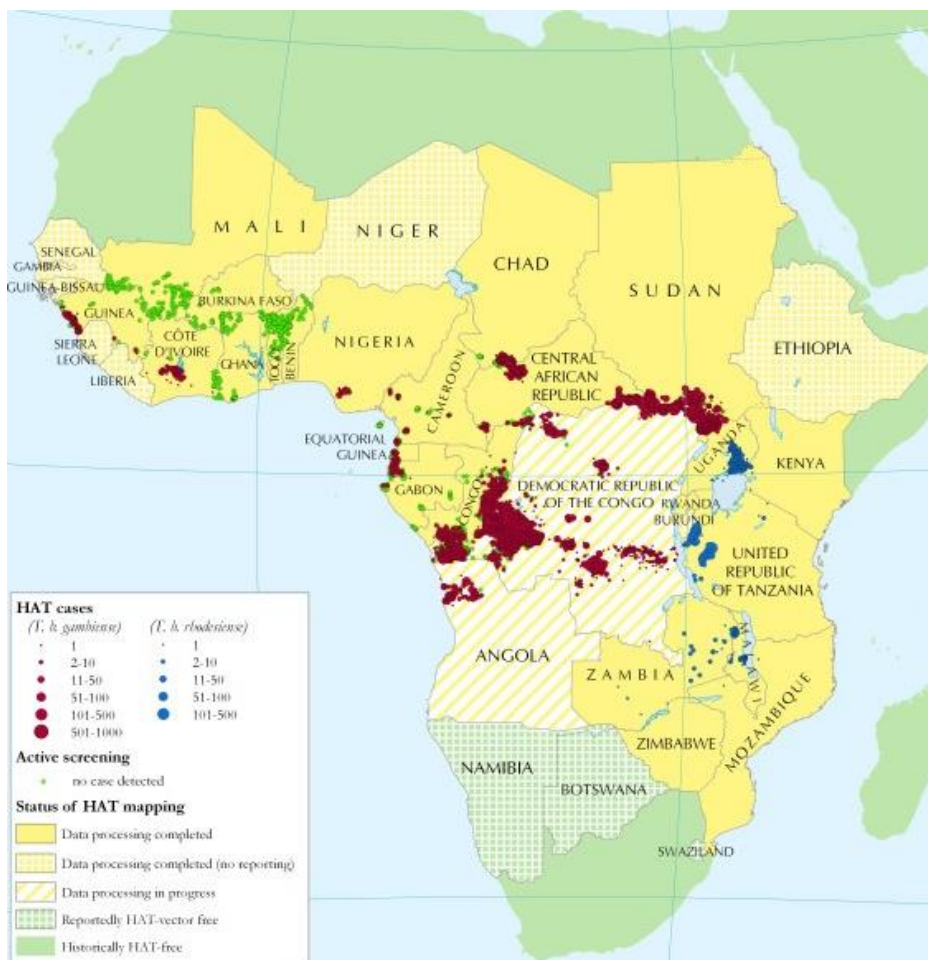
Το *T. b. gambiense* προκαλεί περισσότερο από το 97% των κρουσμάτων της ασθένειας του ύπνου, με το 82% αυτών να ανιχνεύονται στη Λαϊκή Δημοκρατία του Κονγκό.

Όσον αφορά τη rHAT, μέχρι σήμερα, έχουν εντοπιστεί 60 εστίες στην ανατολική και νότια υποσαχάρια Αφρική, οι οποίες ταξινομούνται σύμφωνα με το φορέα-μεταδότη:

- Εστίες, όπου τα άγρια ζώα είναι ο κύριος φορέας-μεταδότης.
- Εστίες όπου ο κύριος φορέας-μεταδότης του παρασίτου είναι τα βοοειδή.

Το *T. b. rhodesiense* είναι υπεύθυνο για το 3% περίπου των περιπτώσεων της νόσου.^{5,11}

Εισαγωγή



ΕΙΚΟΝΑ 2| Ο Άτλας της HAT για την περίοδο 2000-2009. Adapted from: Simarro PP et al. *International Journal of Health Geographics*, 2010, 9:57.

1.5.3 ΤΡΕΧΟΥΣΑ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Το 2009, μετά από συνεχείς προσπάθειες ελέγχου, σημειώθηκαν λιγότερες από 10 000 περιπτώσεις για πρώτη φορά σε 50 χρόνια και η πτωτική πορεία του αριθμού αναφερόμενων περιστατικών, συνεχίστηκε το 2014, με λιγότερα από 4 000 κρούσματα.

Σε 14 χώρες όπως η Αγκόλα, το Καμερούν, το Τσαντ, η Ακτή Ελεφαντοστού, η Γκαμπόν, η Γουινέα και η Ουγκάντα, έχουν αναφερθεί λιγότερες από 100 νέες περιπτώσεις ετησίως, ενώ σε 20 χώρες μεταξύ των οποίων το Μπενίν, η Γκάμπια, η Γκάνα, το Μάλι, η Σενεγάλη, η Σιέρα Λεόνε και το Τόγκο δεν έχουν αναφερθεί νέες περιπτώσεις για πάνω από μια δεκαετία. Ωστόσο, υπάρχουν ορισμένες περιοχές, στις οποίες καθίσταται δύσκολο να εκτιμηθεί η ακριβής κατάσταση και να προσδιοριστεί ο αριθμός των νέων κρουσμάτων.^{5,16}

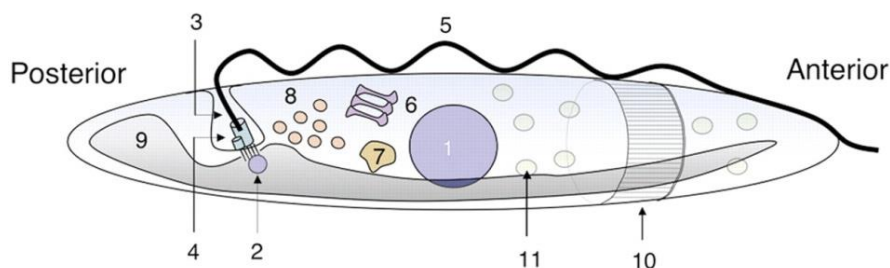
Την περίοδο μεταξύ 1999 και 2015, ο καταγεγραμμένος αριθμός των νέων κρουσμάτων της χρόνιας μορφής της HAT μειώθηκε κατά 90% και για την οξεία μορφή της ασθένειας, υπήρξε μείωση της τάξεως του 89%.

Παρά το γεγονός ότι, την τελευταία δεκαετία έχουν καταγραφεί σημαντικά στατιστικά επιδημιολογικά στοιχεία για την ασθένεια του ύπνου, δεν υπάρχει απόλυτη αξιοπιστία στον αριθμό των περιστατικών που δηλώθηκαν και των πραγματικών. Σύμφωνα με τον WHO, ο αριθμός των πραγματικών περιπτώσεων εκτιμάται μικρότερος από 20 000, και με δεδομένα τα ενθαρρυντικά ποσοστά των νέων κρουσμάτων, ο WHO έχει θέσει ως στόχο την εξάλειψη της HAT μέχρι το 2020, ορίζοντας την, ως λιγότερο από 1 περίπτωση ανά 10 000 άτομα ανά έτος.^{5,11}

1.6 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ

1.6.1 ΔΟΜΙΚΑ ΚΑΙ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Το τρυπανόσωμα είναι ένας μονοκύτταρος ευκαρυωτικός οργανισμός, μεγέθους 8-50 μm. Έχει σχήμα επίμηκες με το κυτταρικό του σώμα να είναι σχεδόν κυλινδρικό, μήκους 10-20 μm, ενώ τα δύο του άκρα έχουν κωνικό σχήμα (Εικ. 3).



- | | |
|----------------------------------|------------------------------|
| 1. Nucleus | 7. Lysosome |
| 2. Kinetoplast | 8. Endosomes |
| 3. Flagellar pocket | 9. Mitochondrion |
| 4. Basal body and probasal body | 10. Microtubule cytoskeleton |
| 5. Axoneme and paraflagellar rod | 11. Glycosomes |
| 6. Golgi | |

ΕΙΚΟΝΑ 3 | Δομή του *T. brucei*. Μια απλοποιημένη αναπαράσταση της θέσης των μεγάλων διαρθρωτικών χαρακτηριστικών του κυττάρου του τρυπανοσώματος. Adapted from: Matthews K.R. *Journal of Cell Science*, 2005, **118**:283-90.

Το κύτταρο περιβάλλεται από ένα εξωτερικό προστατευτικό στρώμα, που ονομάζεται κυτταρική μεμβράνη ή περικυτταρικό υμένιο. Η κυτταρική μεμβράνη είναι όσο πρέπει εύκαμπτη, ενώ ταυτόχρονα διατηρεί το σχήμα του παρασίτου. Καθοριστικό ρόλο για τη διατήρηση του σχήματος έχει ο εξαιρετικά πολυμέσος κυτταροσκελετός που διαθέτει, αποτελούμενος από υπο-μεμβρανώδεις υμενοειδείς μικροσωληνίσκους.¹⁷ Οι μικροσωληνίσκοι είναι διατεταγμένοι σε καθορισμένη σειρά, ισαπέχουν μεταξύ τους και έχουν ταυτόσημη πολικότητα, με τα θετικά άκρα να εναποτίθενται στο οπίσθιο τμήμα του κυττάρου και τα αρνητικά άκρα στο πρόσθιο τμήμα του. Εξάιρεση αποτελεί μια τετράδα μικροσωληνίσκων, οι οποίοι βρίσκονται κοντά στο βασικό σώμα και το θετικό τους άκρο εκτείνεται στο πρόσθιο τμήμα.¹⁸ Το μήκος και ο αριθμός των μικροσωληνίσκων ποικίλλει ανάλογα με τη διάμετρο του τρυπανοσώματος από το ένα άκρο προς το άλλο, με αποτέλεσμα κοντότεροι μικροσωληνίσκοι να παρεμβάλλονται μεταξύ μεγαλύτερων, όπου αυτό είναι απαραίτητο.¹⁷

Εισαγωγή

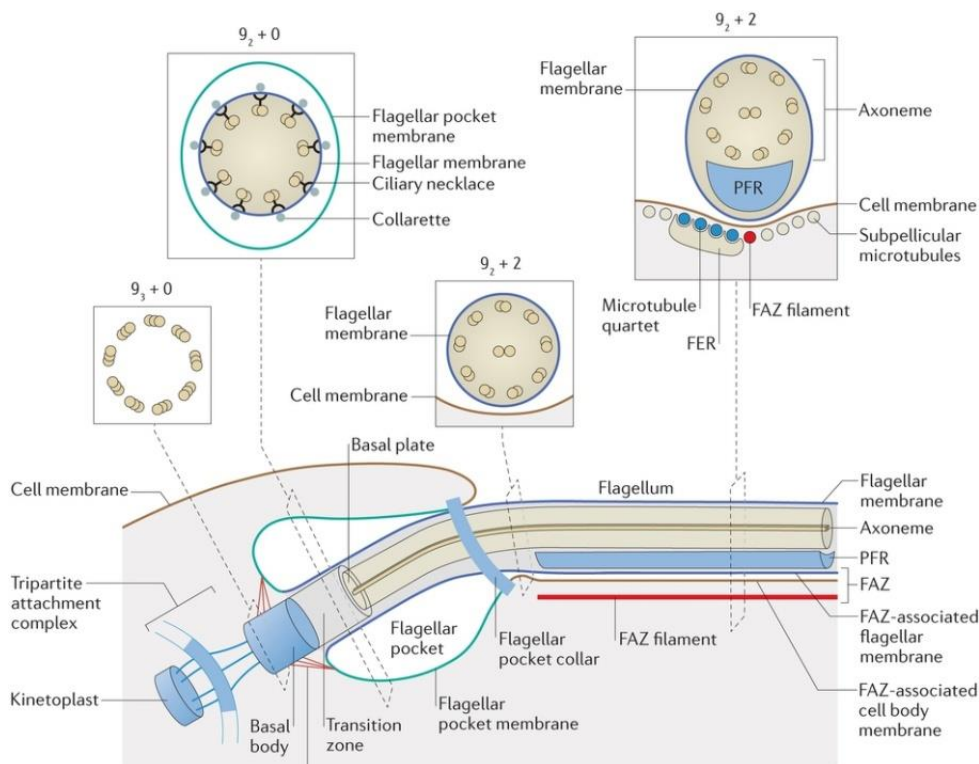
Τα οργανίδια του κυττάρου, όπως ο πυρήνας, το μιτοχόνδριο, το σύμπλεγμα Golgi εντοπίζονται σε καθορισμένες θέσεις μεταξύ του κέντρου και του οπίσθιου άκρου του κυτταρικού σώματος.¹⁸ Ακόμη στο εσωτερικό του κυττάρου βρίσκονται τα γλυκοσωμάτια, τα οποία περιέχουν τα περισσότερα από τα γλυκολυτικά ένζυμα, τα οποία συμμετέχουν στις μεταβολικές οδούς του παρασίτου. Η διαμερισματοποίηση της γλυκόλυσης σε αυτά τα οργανίδια φαίνεται ότι είναι απαραίτητη για τη ρύθμιση της διαδικασίας και επιτρέπει στο κύτταρο να επιβιώσει υπό αναερόβιες συνθήκες.¹⁹

1.6.2 ΓΟΝΙΔΙΩΜΑ

Το *T. brucei* διαθέτει πυρηνικό και μιτοχονδριακό γονιδίωμα, με συνολικό εκτιμώμενο μέγεθος 35 Mb. Ο πυρήνας εντοπίζεται στο κέντρο του κυτταρικού σώματος και στο πυρηνικό γονιδίωμα διακρίνονται 11 ζεύγη μεγάλων χρωμοσωμάτων (0.9 – 5.7 Mb), χρωμοσώματα ενδιάμεσου μεγέθους (300-900 kb) και μικρού μεγέθους (50-100 kb). Επίσης, μια τμηματική επικάλυψη μεγέθους ~ 0.5 Mb μεταξύ των χρωμοσωμάτων 4 και 8, οδηγεί στη δημιουργία 75 γονιδιακών αντιγραφών, μοναδικά του είδους του *T. brucei*.²⁰ Το μιτοχόνδριο έχει ενιαία επιμήκη δομή και εκτείνεται από το οπίσθιο προς το πρόσθιο άκρο του κυττάρου. Εντός του μιτοχονδρίου εντοπίζεται ο κινητοπλάστης, ο οποίος περιέχει συμπυκνωμένο το μιτοχονδριακό DNA (kinetoplast DNA). Το kDNA αποτελείται από περίπου 50 μεγάλα κυκλικά μόρια DNA (maxicircles) (23 kb), τα οποία κωδικοποιούν γονίδια για μιτοχονδριακές πρωτεΐνες και για rRNA και από περίπου 10 000 μικρά κυκλικά μόρια DNA (minicircles) (~1 kb), που κωδικοποιούν μερικές εκατοντάδες RNAs.^{18,21}

1.6.3 ΜΑΣΤΙΓΙΟ

Ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του τρυπανοσώματος αποτελεί το μαστίγιο του, το οποίο διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην κινητικότητα του παρασίτου, τη μορφογένεση και την κυτταρική διαίρεση και είναι απαραίτητο για την προσκόλληση του στους ιστούς του ξενιστή και τη δημιουργία πρωτεϊνών σηματοδότησης.²² Το μαστίγιο εκφύεται από το βασικό κυτταρικό σώμα, πλησίον του οπίσθιου άκρου του παρασίτου, εξέρχεται από ένα θύλακα (Flagellar Pocket, FP) στο εξωτερικό του κυττάρου, ωστόσο παραμένει συνδεδεμένο με την κυτταρική μεμβράνη μέσω της ζώνης προσάρτησης μαστιγίου (Flagellum Attachment Zone, FAZ), φτάνει στο πρόσθιο άκρο και συνεχίζει ελεύθερο (Εικ. 4). Το μαστίγιο τυλίγεται σε όλο το μήκος του κυτταρικού σώματος με μία αριστερόστροφη έλικα, οπότε δημιουργείται μια κυματοειδής σπείρα. Λόγω αυτής της σπείρας, το παράσιτο περιστρέφεται προς τα εμπρός, με μια κίνηση όμοια με αυτή του τρυπανιού, στην οποία οφείλεται το όνομα του τρυπανοσώματος και κινείται στο κυκλοφορικό σύστημα και τους ιστούς του ξενιστή. Βασικό δομικό χαρακτηριστικό του μαστιγίου είναι ένας κυλινδρικός άξονας ή νημάτιο (axoneme) αποτελούμενος από 9 ζεύγη μικροσωληνίσκων, οι οποίοι είναι διατεταγμένοι περιφερικά γύρω από δύο μονούς κεντρικούς μικροσωληνίσκους, μια διάταξη γνωστή σαν "9+2", που διατηρείται καθ' όλη την εξέλιξη. Παράλληλο στον κυλινδρικό άξονα είναι ένα πρωτεϊνικό πλέγμα διαμέτρου 150 nm. Στη βάση του μαστιγίου βρίσκεται το βασικό σώμα (basal body) ή βλεφαροπλάστης, ο οποίος σχηματίζεται από ένα κεντρίδιο (centriole), δηλαδή μια κυλινδρική συστοιχία 9 τριπλετών μικροσωληνίσκων ("9+0" διάταξη). Ο βλεφαροπλάστης βρίσκεται κοντά στον κινητοπλάστη και συνδέονται μεταξύ τους με ένα τριμερές σύμπλοκο πρόσδεσης (Tripartite Attachment Complex), το οποίο αποτελείται από λεπτές ίνες.^{23,24}



ΕΙΚΟΝΑ 4| Επισκόπηση της μορφολογίας του μαστιγίου του *T. brucei*. Απεικόνιση του μαστιγίου που αναδύεται από το FP και εκτείνεται στο οπίσθιο άκρο του κυττάρου. Adapted from: Langousis G et al. *Nature Reviews Microbiology*, 2014, **12**:505-18.

1.6.4 ΓΛΥΚΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΗΣ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ-ΑΝΤΙΓΟΝΙΚΗ ΜΕΤΑΛΛΑΓΗ

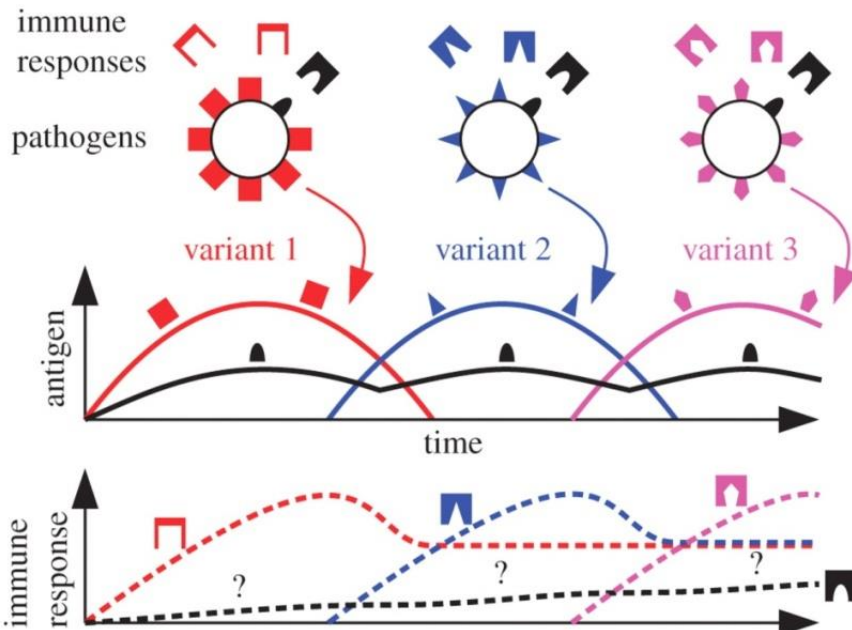
Τα παράσιτα, προκειμένου να επιβιώσουν στα εξωκυττάρια διαμερίσματα του ξενιστή, τροποποιούν την επιφάνεια της μεμβράνης τους, η οποία καλύπτεται από ένα στρώμα γλυκοπρωτεϊνών μεταβλητής επιφάνειας (Variable Surface Glycoproteins, VSGs), πάχους περίπου 12-15 nm. Οι VSGs είναι εγκατεστημένες μέσω μιας γλυκοφωσφατιδυλινοσιτόλης (Glycophosphatidylinositol-anchored Glycoproteins) στην κυτταρική επιφάνεια, στην οποία εντοπίζονται 10^7 μόρια. Κάθε γλυκοπρωτεΐνη έχει μέγεθος 60 kDa, αποτελείται από περίπου 500 αμινοξέα και η επικάλυψη αντιπροσωπεύει το 20% της συνολικής κυτταρικής πρωτεΐνης. Οι VSGs κωδικοποιούνται από ένα εύρος περισσότερων από 1 000 γονιδίων, εκ των οποίων το 80% είναι σιωπηλά ή ψευδογονίδια.^{25,26}

Το παράσιτο εκμεταλλεύεται την αφθονία και την ανοσογονικότητα των VSGs και υφίσταται αντιγονική μεταλλαγή, για την αποφυγή της ανοσολογικής απόκρισης του ξενιστή. Κατά τη διάρκεια της λοίμωξης, ενεργά γονίδια τα οποία κωδικοποιούν τις γλυκοπρωτεΐνες, ανασυνδυάζονται και οδηγούν στο σχηματισμό νέων μοναδικών ενεργών γονιδίων. Αυτή η διαδικασία επιτρέπει στο παράσιτο να αλλάζει συνεχώς την εμφάνισή του και να περνά απαρατήρητο. Ακόμη και όταν το ανοσοποιητικό σύστημα το αναγνωρίσει και ο οργανισμός είναι έτοιμος να αντιδράσει, το παράσιτο έχει σιγήσει την έκφραση του γονιδίου, που κωδικοποιεί για τη συγκεκριμένη VSG, και αρχίζει να εκφράζει ένα νέο γονίδιο (Εικ. 5). Επίσης η πυκνότητα του στρώματος των VSGs και η στερική παρεμπόδιση που προκαλούν αποτελεί φραγμό στη σύνδεση των παραγόμενων αντισωμάτων με τις αμετάβλητες γλυκοπρωτεΐνες επιφάνειας

Εισαγωγή

(Invariant Surface Glycoproteins). Ωστόσο ορισμένες ISGs διαπερνούν το στρώμα των VSGs, λειτουργούν ως επίτοποι και συνδέονται με αντισώματα.

Οι γλυκοπρωτεΐνες επιφανείας ακολουθούν το μοντέλο του "ρευστού μωσαϊκού", παρέχοντας τη δυνατότητα επιλεκτικής ενδοκύττωσης ειδικών VSG-αντισωμάτων. Κατά τη διάρκεια μιας λοίμωξης παράγονται ανοσοσφαιρίνες M (Immunoglobulin M), οι οποίες αποτελούν τον πρώτο ισότυπο αντισωμάτων που παράγονται ως απόκριση στις VSGs. Οι VSGs εγκολλώνονται στο FP, ακολουθεί η σύνδεση των αντισωμάτων και η απομάκρυνσή τους από την επιφάνεια. Σε υψηλούς τίτλους αντισωμάτων, το παράσιτο υποβάλλεται σε αντιγονική μεταλλαγή, όπως περιγράφεται παραπάνω για να ξεφύγει από την ειδική ανοσολογική απόκριση του ξενιστή.²⁶⁻²⁸



ΕΙΚΟΝΑ 5 | Σχηματική αναπαράσταση της αντιγονικής μεταβολής. Μεταβλητά κυρίαρχα αντιγόνα (έγχρωμα) προκαλούν ειδική ανοσολογική απόκριση και αμετάβλητα δευτερεύοντα αντιγόνα (μαύρα) προκαλούν διασταυρούμενη ανοσοαπόκριση. Καθώς η ειδική ανοσολογική απόκριση εξαλείφει το παθογόνο, μια νέα παραλλαγή προκύπτει, η οποία αποφεύγει αυτή την ανοσολογική αντίδραση και το μοτίβο επαναλαμβάνεται διαρκώς. Τα αμετάβλητα αντιγόνα παραμένουν σταθερά σε όλες τις παραλλαγές του παθογόνου. Adapted from: Johnson P et al. *Proceedings of the Royal Society B*, 2012, **279**:2777-85.

1.7 ΜΟΡΦΕΣ ΤΟΥ ΠΑΡΑΣΙΤΟΥ

Το *T. brucei* παρουσιάζει πολύπλοκο κύκλο ζωής, με σκοπό να προσαρμόζεται είτε στην κυκλοφορία του αίματος των θηλαστικών ή στα διάφορα διαμερίσματα εντός του σώματος της μύγας τσε-τσε και για το λόγο αυτό αποκτά διάφορες μορφές (Εικ. 6) κατά τη διάρκεια της ζωής του. Παρακάτω παρουσιάζονται οι μορφές του παρασίτου στο σώμα της μύγας και οι αιματικές μορφές (bloodstream forms, BSFs) του εντός του θηλαστικού-ξενιστή.

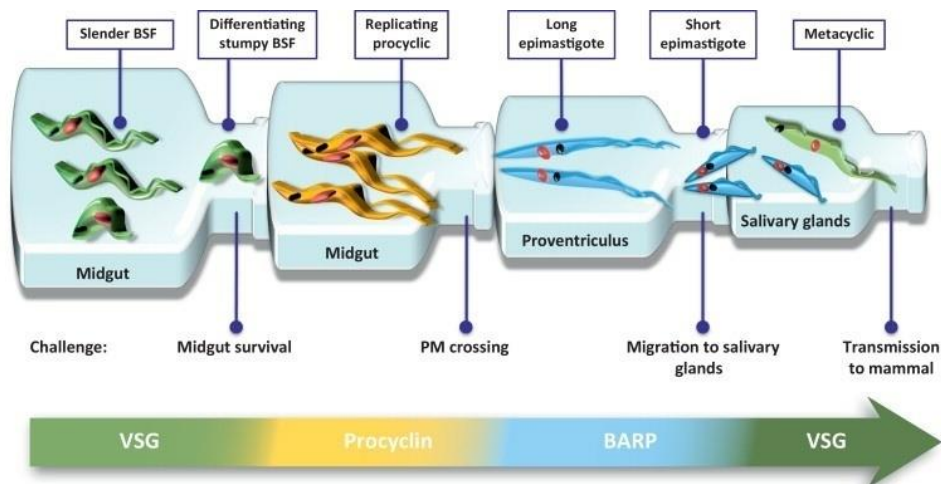
Αιματικές μορφές

1. Λεπτή τρυπομαστιγωτή μορφή (Long Slender Trypomastigote, LS): το κυτταρικό σώμα είναι επίμηκες, 29-37 μm με ελεύθερο μαστίγιο και η επιφάνειά του καλύπτεται από ειδική επίστρωση VSGs. Ο κινητοπλάστης είναι τοποθετημένος στο οπίσθιο άκρο και ο πυρήνας στο κέντρο του κυττάρου. Τα παράσιτα διαθέτουν πολλαπλασιαστική ικανότητα και η μιτοχονδριακή τους δραστηριότητα καταστέλλεται.
2. Ενδιάμεση τρυπομαστιγωτή μορφή: το κυτταρικό σώμα έχει μήκος μεταξύ 23 και 28 μm και υπάρχει ελεύθερο μαστίγιο. Ο κινητοπλάστης εντοπίζεται στο οπίσθιο άκρο και ο πυρήνας στο κέντρο.
3. Κοντόχοντρη τρυπομαστιγωτή μορφή (Short Stumpy Trypomastigote, ST): το κυτταρικό σώμα είναι βραχύ, μήκους 14-22 μm, ενώ δεν υπάρχει ελεύθερο μαστίγιο. Ο κινητοπλάστης βρίσκεται στο οπίσθιο τμήμα, ο πυρήνας στο κέντρο του σώματος και η επιφάνεια καλύπτεται από VSGs. Το παράσιτο υπό τη μορφή αυτή δεν πολλαπλασιάζεται και τα μιτοχονδριακά ένζυμα εκφράζονται μερικώς.

Μορφές εντός του σώματος της μύγας

1. Προκυκλική τρυπομαστιγωτή μορφή (Procyclic Trypomastigote, PC): το κυτταρικό σώμα έχει μήκος 16-34 μm. Ο κινητοπλάστης βρίσκεται κοντά στον πυρήνα στο οπίσθιο άκρο του κυτταρικού σώματος και ο πυρήνας έχει ελλειψοειδές σχήμα. Η επιφάνεια του παρασίτου καλύπτεται από ένα πυκνό στρώμα πρωτεϊνών, τις προκυκλίνες, οι οποίες προστατεύουν το τρυπανόσωμα από τις πρωτεάσες του εντέρου. Το παράσιτο μπορεί να πολλαπλασιαστεί υπό αυτή τη μορφή.
2. Μεσοκυκλική τρυπομαστιγωτή μορφή (Mesocyclic Trypomastigote, MS): το κυτταρικό σώμα έχει μήκος 30-38 μm και το μαστίγιο επιμηκύνεται κατά 8 μm περίπου. Ο κινητοπλάστης βρίσκεται κοντά στον πυρήνα στο οπίσθιο άκρο του κυτταρικού σώματος και ο πυρήνας αποκτά ένα πεπλατυσμένο σχήμα. Η επιφάνεια του παρασίτου καλύπτεται από προκυκλίνες.
3. Επιμαστιγωτή μορφή (Epimastigote, E): το κυτταρικό σώμα είναι επίμηκες, μεγέθους 10-35 μm και διαθέτει μακρύ μαστίγιο. Ο κινητοπλάστης βρίσκεται μεταξύ του πυρήνα και του πρόσθιου άκρου και πιο κοντά στον πυρήνα. Η μορφή αυτή διαθέτει πολλαπλασιαστική ικανότητα.
 - 3.1. Λεπτή επιμαστιγωτή (Long Epimastigote, LE): το κυτταρικό σώμα είναι επίμηκες, μεγέθους 24-37 μm και διαθέτει μακρύ μαστίγιο. Ο κινητοπλάστης βρίσκεται μεταξύ του πυρήνα και του πρόσθιου άκρου. Ο πυρήνας εντοπίζεται πιο κοντά στο οπίσθιο άκρο και έχει πεπλατυσμένο σχήμα.
 - 3.2. Βραχεία επιμαστιγωτή (Short Epimastigote, SE): το κυτταρικό σώμα είναι κοντόχοντρο, μεγέθους 7-13 μm και δε διαθέτει ελεύθερο μαστίγιο. Ο κινητοπλάστης βρίσκεται μεταξύ του πυρήνα και του πρόσθιου άκρου. Ο πυρήνας εντοπίζεται πιο κοντά στο οπίσθιο άκρο και έχει ελλειψοειδές σχήμα.
4. Μετακυκλική τρυπομαστιγωτή μορφή (Metacyclic Trypomastigote, MT): το κυτταρικό σώμα έχει μήκος 10-20 μm. Ο κινητοπλάστης τοποθετείται εκ νέου στο οπίσθιο άκρο, ο πυρήνας έχει ελλειψοειδές σχήμα και η επιφάνεια του τρυπανοσώματος καλύπτεται από VSGs. Το παράσιτο υπό τη μορφή αυτή δε διαθέτει πολλαπλασιαστική ικανότητα.^{18,23,29,30}

Εισαγωγή



ΕΙΚΟΝΑ 6] Μορφές του *T. brucei* και βασικά μορφολογικά χαρακτηριστικά αυτών. Ο πυρήνας και ο κινητοπλάστης εντοπίζονται με κόκκινο και μαύρο χρώμα αντίστοιχα. Στο βέλος αναγράφονται οι πρωτεΐνες επιφανείας κάθε μορφής. Adapted from: Dyer NA et al. *Trends in Parasitology*, 2013, **29**:188-96.

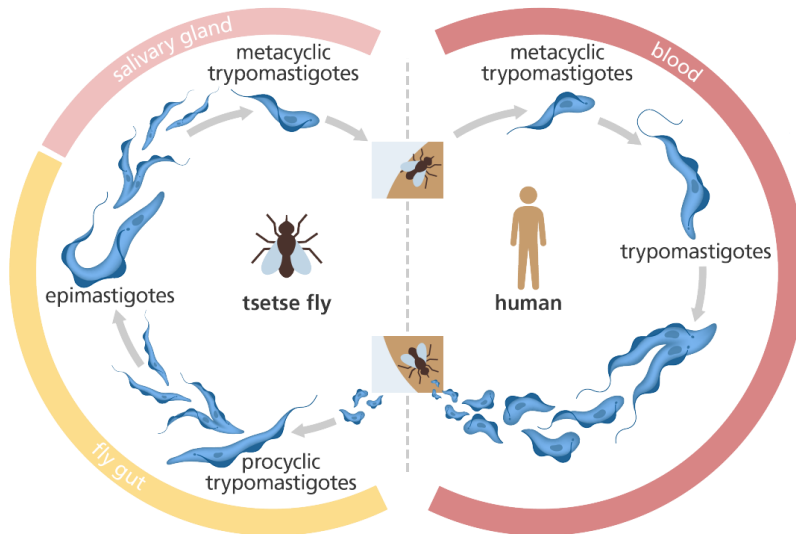
1.8 ΚΥΚΛΟΣ ΖΩΗΣ

Το *T. brucei* ολοκληρώνει τον κύκλο ζωής του (Εικ. 7) μεταξύ της πεπτικής οδού και των σιελογόνων αδένων της μύγας τσε-τσε (φορέας) και του αίματος και των ιστών του ανθρώπου (ξενιστής). Τα παράσιτα υποβάλλονται σε πολλές σημαντικές μορφολογικές και μεταβολικές αλλαγές, οι οποίες είναι προγραμματισμένες, ώστε να προσαρμοστούν στο μικροπεριβάλλον που κατοικούν. Στις αλλαγές αυτές περιλαμβάνονται η προσαρμογή του μεταβολισμού, η αναδιοργάνωση των οργανιδίων του τρυπανοσώματος, καθώς και οι βιοχημικές και διαρθρωτικές μεταβολές, οι οποίες συνοδεύονται από αλλαγές στη γονιδιακή έκφραση και την πολλαπλασιαστική ικανότητα.

Η μόλυνση του ξενιστή ξεκινά μετά από ένα δήγμα της μύγας τσε-τσε, κατά το οποίο τα τρυπανοσώματα εισέρχονται στον ιστό του δέρματος υπό τη μορφή. Τα παράσιτα, αφού εισέλθουν στο λεμφικό σύστημα και περάσουν στην κυκλοφορία του αίματος, διαφοροποιούνται σε LS μορφές. Ακολούθως, διεισδύουν στο ενδοθήλιο των αγγείων και εισβάλλουν σε εξωαγγειακούς ιστούς, συμπεριλαμβανομένου του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ), ενώ συνεχίζουν να πολλαπλασιάζονται μέσω δυαδικής σχάσης. Στην κυκλοφορία του αίματος, οι LS διαφοροποιούνται σε ST μορφές.²² Μεταξύ αυτών των δύο τύπων, έχουν ανιχνευτεί μεταβατικές μορφές, οι οποίες περιγράφονται ως "ενδιάμεσες" μορφές. Κατά τη διάρκεια της μόλυνσης, υπάρχει μια δυναμική ισορροπία μεταξύ των δύο μορφών, η οποία διέπεται από την πληθυσμιακή πυκνότητα των παρασίτων στο αίμα και τη μετάδοση του τρυπανοσώματος στη μύγα τσε-τσε. Κατά αυτό τον τρόπο, ο πολλαπλασιασμός των LS μορφών συμβάλλει στη διατήρηση υψηλής παρασιταιμίας, σε αντίθεση με τις ST μορφές, οι οποίες δε διαθέτουν πολλαπλασιαστική ικανότητα και παρατείνουν την επιβίωση του παρασίτου στον ξενιστή και την επακόλουθη μόλυνση της μύγας, αυξάνοντας την πιθανότητα μετάδοσης της νόσου.³⁰

Όταν μια μύγα σιμπήσει κάποιον άνθρωπο, φορέα του παρασίτου, οι BSF εισέρχονται στο μέσο έντερο της μύγας, όπου οι ST μορφές μετατρέπονται σε PC και πολλαπλασιάζονται με διαίρεση, ενώ οι LS δε μπορούν να μετασηματιστούν προς PC και πιθανότατα αποβιώνουν. Σε κάποιο σημείο της μολυσματικής διαδικασίας, συνήθως 3 ημέρες μετά τη μόλυνση, τα παράσιτα μεταναστεύουν στο

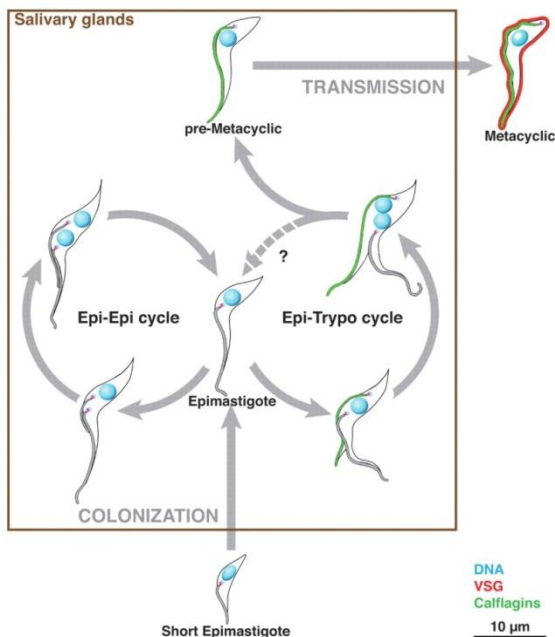
πρόσθιο τμήμα του εντέρου, όπου απαντώνται υπό τη MS μορφή. Στον αυλό του εντέρου, τα MS παράσιτα αποκτούν Ε μορφή και υφίστανται ασύμμετρη κυτταρική διαίρεση, οπότε προκύπτουν δύο άνισα διπλοειδή θυγατρικά κύτταρα, το ένα με LE μορφή και το άλλο με SE μορφή. Οι SE μορφές μετακινούνται στους σιελογόνους αδένες, προσκολλώνται στα επιθηλιακά κύτταρα των αδένων, πολλαπλασιάζονται και μετατρέπονται σε MT μορφές.^{22,23}



ΕΙΚΟΝΑ 7 | Εικονογράφηση του κύκλου ζωής του *T. brucei*. Adapted from: Genome Research Limited.

Στους σιελογόνους αδένες λαμβάνουν χώρα δύο διαφορετικοί κύκλοι πολλαπλασιασμού του τρυπανοσώματος (**Εικ. 8**). Κατά τον πρώτο κύκλο ("eri-eri" cycle), σε αρχική φάση της μόλυνσης, παράγονται δύο ισοδύναμα κύτταρα, τα οποία είναι συνδεδεμένα με το επιθήλιο, γεγονός που συμβάλλει στο γρήγορο αποικισμό των αδένων. Ο δεύτερος κύκλος ("eri-tryro" cycle), λαμβάνει χώρα σε μεταγενέστερο στάδιο και περιλαμβάνει μια ασύμμετρη κατανομή, η οποία οδηγεί στη δημιουργία πρώιμων MT μορφών, οι οποίες απελευθερώνονται στο έκκριμα των σιελογόνων αδένων. Οι Ε μορφές, οι οποίες παράγονται από τον κύκλο "eri-tryro" είτε συμπεριφέρονται σαν ένα είδος βλαστοκυττάρων και επαναλαμβάνουν τη διαδικασία, εξασφαλίζοντας κατά αυτό τον τρόπο την επικράτηση του παρασίτου στην επιφάνεια του επιθηλίου και τη συνεχή παραγωγή των προ-MT μορφών, είτε αποβιώνουν μετά την ασύμμετρη διαίρεση.^{31,32}

Εισαγωγή



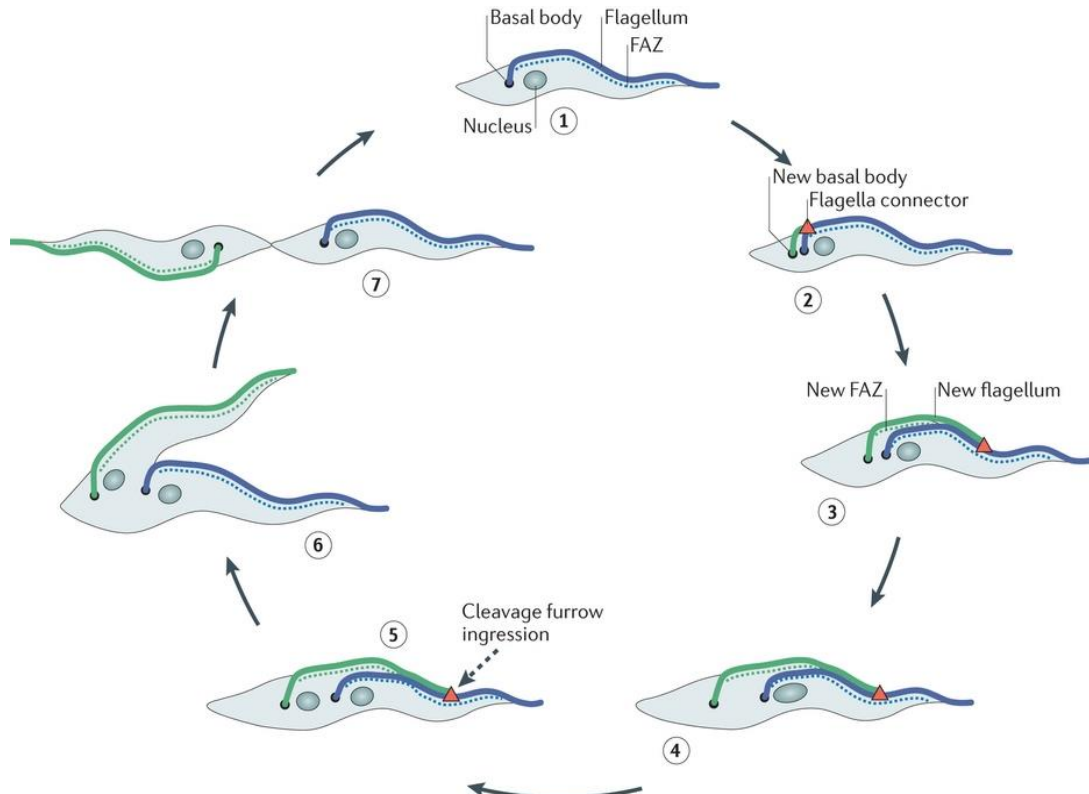
ΕΙΚΟΝΑ 8 | Σχηματική αναπαράσταση των κύκλων πολλαπλασιασμού του παρασίτου στους σιελογόνους αδένες. Adapted from: Rotureau B. *Development*, 2012, **139**:1842-50.

1.9 ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΔΙΑΙΡΕΣΗ

1.9.1 ΜΙΤΩΣΗ

Η οργάνωση της δομής του κυττάρου του *T. brucei* είναι θεμελιώδους σημασίας σε όλο τον κύκλο ζωής του. Κατά την κυτταρική διαίρεση, η οποία λαμβάνει χώρα σε καθορισμένες χρονικές περιόδους, πραγματοποιείται η αντιγραφή των χρωμοσωμάτων, ο διαχωρισμός του κινητοπλάστη, η πυρηνική διαίρεση και η κυτταροκίνηση, καθώς και η τοποθέτηση των οργανιδίων στην ακριβή τους θέση στο εσωτερικό του κυττάρου. Η διαδικασία της κυτταρικής διαίρεσης (Εικ. 9) αρχίζει με ένα κύτταρο στη φάση G1, το οποίο διαθέτει έναν κινητοπλάστη, ένα μαστίγιο και έναν πυρήνα ①. Το παράσιτο εισέρχεται, ακολούθως, στη φάση S του κυτταρικού κύκλου, προκειμένου να αντιγραφεί το γενετικό υλικό του παρασίτου.²³ Στην πραγματικότητα πρόκειται για δύο διακριτές S φάσεις, στη μία εκ των οποίων αντιγράφεται το πυρηνικό DNA και στη δεύτερη το μιτοχονδριακό DNA.¹⁷ Ο κινητοπλάστης αυξάνεται σε μέγεθος και αλλάζει το σχήμα του, καθώς επίσης, τροποποιείται το σχήμα του πυρήνα και οι αδελφές χρωματίδες συγκρατούνται από ένα σύμπλεγμα πρωτεϊνών, τις κοχεσίνες. Το προ-βασικοκυτταρικό σώμα, το οποίο βρίσκεται δίπλα από το βασικό σώμα, ωριμάζει και σχηματίζεται ένα δεύτερο, νέο βασικό σώμα, από το οποίο ξεκινά η ανάπτυξη του νέου μαστιγίου ②. Όταν η ανάπτυξη του μαστιγίου φτάνει στο σημείο όπου, το άκρο του εξέρχεται από το FP, μια εγκόλπωση στη βάση του μητρικού και του νεοσύστατου μαστιγίου εμφανίζεται, ώστε να σχηματιστεί ένας καινούριος θύλακας. Το απώτατο άκρο του νέου μαστιγίου συνδέεται με το μητρικό με ένα σύνδεσμο-βύσμα (Fragellar Connector, FC) και επιμηκύνει παράλληλα με μια νέα FAZ ③.²³ Η επιμήκυνση συνεχίζεται μέχρι ο FC να φτάσει σε ένα ειδικό σημείο διακοπής, το οποίο αντιστοιχεί στο 50-60% του μήκους του παλιού μαστιγίου ④ και συμπίπτει χρονικά με το σημείο διαχωρισμού του βασικού σώματος και του

κινητοπλάστη, οπότε εξασθενεί και η πρόσδεση του βασικού σώματος από τη FAZ ⑤.^{23,24} Στη συνέχεια, το κύτταρο εισέρχεται στην φάση G2, κατά την οποία διακρίνονται δύο κινητοπλάστες, δύο μαστίγια και ένας πυρήνας. Ακολουθεί η φάση M του κυτταρικού κύκλου, όπου οι αδελφές χρωματίδες ανεξαρτητοποιούνται η μία από την άλλη και αποχωρίζονται μεταξύ τους, καθώς οι κοχσείνες εξαφανίζονται. Πλέον υπάρχουν δύο πυρήνες, ο FC χάνεται και η διαδικασία ολοκληρώνεται με την κυτταροκίνηση ⑥, η οποία ξεκινά από το πρόσθιο άκρο, καταλήγοντας στο οπίσθιο τμήμα του κυτταρικού σώματος και επέρχεται ο τελικός διαχωρισμός των κυττάρων ⑦. Οι BSF του παρασίτου διαιρούνται με τον ίδιο τρόπο, δεν παρατηρείται όμως η δομή του FC.²³



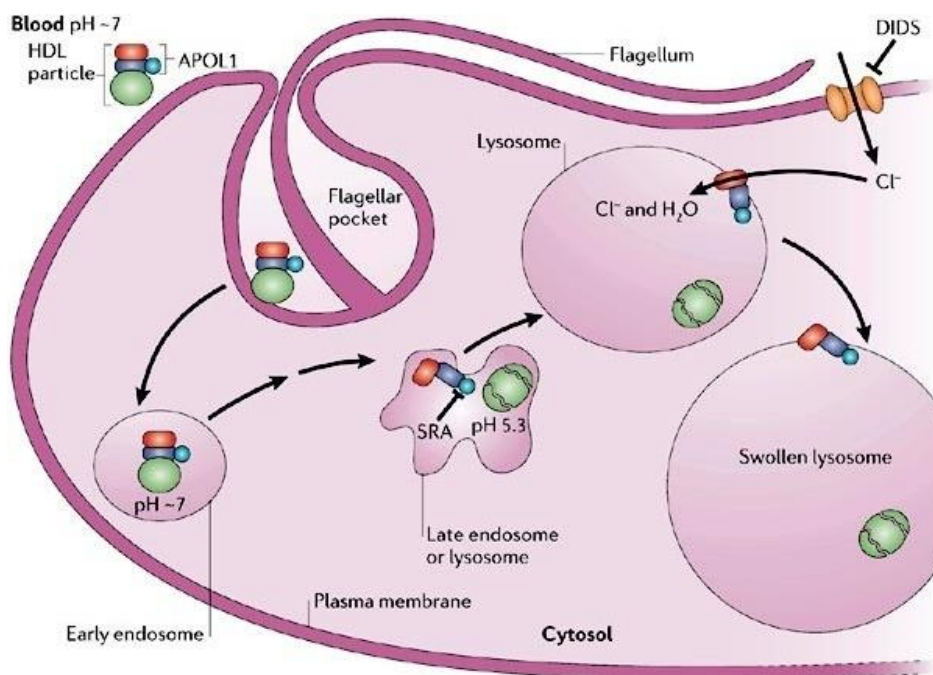
ΕΙΚΟΝΑ 9| Διάγραμμα που απεικονίζει τη συμμετοχή του μαστιγίου και των δομών που σχετίζονται με το μαστίγιο σε βασικά στάδια του κύκλου της κυτταρικής διαίρεσης σε PC μορφές. Adapted from: Langousis G et al. *Nature Reviews Microbiology*, 2014, **12**:505-18.

1.9.2 ΜΕΙΩΣΗ

Το *T. brucei* έχει επίσης τεκμηριωθεί, ότι μπορεί να υποστεί μείωση και γενετική ανταλλαγή, όταν το παράσιτο βρίσκεται στους σιελογόνους αδένες της μύγας τσε-τσε. Αν και δεν έχουν ταυτοποιηθεί μειωτικά κύτταρα, στο γονιδίωμα του παρασίτου έχουν βρεθεί ομόλογα γονίδια, τεσσάρων ειδικών για τη μείωση γονιδίων, τα οποία κωδικοποιούν πρωτεΐνες, οι οποίες σχετίζονται με τη σύναψη των ομολόγων χρωμοσωμάτων, τον ανασυνδυασμό μεταξύ μη αδελφών χρωματίδων κατά την πρόφαση I και το διαχωρισμό των ομολόγων χρωμοσωμάτων στην πρώτη μειωτική διαίρεση.³³

1.10 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ ΓΙΑ ΤΗ ΛΥΣΗ ΤΟΥ ΠΑΡΑΣΙΤΟΥ

Στο φυσιολογικό ορό του ξενιστή έχουν εντοπιστεί τρυπανολυτικοί παράγοντες (Trypanolytic Factors, TLF), οι οποίοι προσδίδουν ανθεκτικότητα στη μόλυνση από το *T. brucei*. Σε αυτούς συμπεριλαμβάνονται ο TLF-1, ο οποίος αποτελεί μέλος της οικογένειας των λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας (High Density Lipoprotein, HDL) και συγκεκριμένα είναι το πυκνότερο υποκλάσμα HDL3 και ο TLF-2, ο οποίος αποτελεί ένα σύμπλεγμα πρωτεϊνών υψηλού μοριακού βάρους. Η πρωτεΐνη που σχετίζεται με αποσφαιρίνη (Haptoglobin Related Protein, HRP) και η απολιποπρωτεΐνη L-1 (Apolipoprotein-L1, APO1) συνιστούν τα πρωτεϊνικά συστατικά των TLF-1 και TLF-2. Μετά την απελευθέρωση της από καταστραμμένα ερυθροκύτταρα, η αιμοσφαιρίνη (Hemoglobin, HB) συμπλοκοποιείται με την HPR του TLF-1 και το σύμπλεγμα HPR-HB επιτρέπει την αναγνώριση και τη σύνδεση του TLF-1 με τον υποδοχέα αποσφαιρίνης-αιμοσφαιρίνης του τρυπανοσώματος (Trypanosome Haptoglobin-Hemoglobin Receptor, TbHrHbR), ο οποίος εντοπίζεται στο FP. Αντιθέτως, ο TLF-2 εισέρχεται στο παράσιτο ανεξάρτητα από τη δημιουργία του TbHrHbR, ωστόσο έχει αναφερθεί η παρουσία ενός υποδοχέα χαμηλής συγγένειας, καθώς και ενός πιθανού υποδοχέα-καθαριστή, χωρίς ωστόσο να παρέχονται επαρκείς πληροφορίες που θα επιτρέπουν την πλήρη κατανόηση της λειτουργίας του TLF-2, ενώ πρόσφατα προτάθηκε ότι προσδέεται μη ειδικά με τις VSGs μέσω πλευρικών αλυσίδων μαννόζης.^{34,35}



ΕΙΚΟΝΑ 10 | Μοντέλο της τρυπανολυτικής διαδικασίας από την APO1. Adapted from: Pays E et al. *Nature Reviews Microbiology*, 2006, 4:477-86.

Ο μηχανισμός θανάτωσης του παρασίτου (**Εικ. 10**) ξεκινά με τη σύνδεση των TLFs στον TbHrHbR και την επακόλουθη ενδοκύττωση τους μέσω επικαλυμμένων κυστιδίων. Στη συνέχεια, οι TLFs διακινούνται από τα ενδοσώματα, τα οποία έχουν ουδέτερο pH, στα λυσοσώματα, τα οποία έχουν όξινο pH (~ 5). Αυτή η αλλαγή στο pH επάγει μια διαμορφωτική αλλαγή στην περιοχή σύνδεσης της APO1 με τον TLF, με συνέπεια τη διάσπασή της από το σωματίδιο HDL και τη δέσμευσή της στη λυσοσωματική μεμβράνη.

Ακολούθως, η APO1 σχηματίζει πόρους στη μεμβράνη, και αυτό οδηγεί σε συνεχή ροή ιόντων χλωρίου από το κυτταρόπλασμα στον αυλό του λυσοσώματος. Αυτή η ιοντική ροή πιθανώς συνοδεύεται από δευτερογενείς κατιονικές κινήσεις και ενεργοποιεί την κυκλοφορία νερού, με αποτέλεσμα την ωσμωτική διόγκωση του λυσοσώματος. Η ανεξέλεγκτη διόγκωση των λυσοσωμάτων αυξάνει την ενδοκυτταρική πίεση και οδηγεί σε βλάβη της πλασματικής μεμβράνης, η οποία είναι τελικά η αιτία θανάτου του παρασίτου.^{36,37}

1.11 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΤΟΧΗΣ ΤΟΥ ΠΑΡΑΣΙΤΟΥ ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ ΛΥΣΗΣ

Εντούτοις, τα δύο υποείδη του *T. brucei*, *T. b. rhodesiense* και *T. b. gambiense* δύνανται να αντισταθούν στη λύση μέσω μηχανισμών που έχουν αναπτύξει. Η αντίσταση του *T. b. rhodesiense* δεν είναι ιδιосуστατική, αλλά επάγεται από την ενεργοποίηση της μεταγραφής ενός γονιδίου που κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη η οποία συνδέεται με την ανθεκτικότητα στον ορό (Serum Resistance Associated, SRA). Η αλληλεπίδραση της APO1 με την SRA μπορεί να πραγματοποιηθεί τόσο σε ουδέτερες όσο και σε όξινες συνθήκες (δηλαδή, μεταξύ pH 7.5 και 5.0), γεγονός που υποδεικνύει ότι, η εξουδετέρωση του τρυπανολυτικού παράγοντα μπορεί να λάβει χώρα στα ενδοσώματα.³⁸

Το *T. b. gambiense* εκφράζει μια συγκεκριμένη γλυκοπρωτεΐνη (*T. b. gambiense*-specific Glycoprotein) ιδιαίτερης σημασίας για την αντίσταση στην APO1, καθώς ελαττωμένη έκφραση του γονιδίου της TgsGP καθιστά το παράσιτο επιρρεπές στη δράση των τρυπανολυτικών παραγόντων. Επίσης, μια πρωτεάση κυστεΐνης συμβάλλει στην καταστροφή της APO1, καθώς επιτείνει την πρωτεόλυση της. Τέλος, η μειωμένη πρόσληψη του TLF-1, η οποία οφείλεται στην αντικατάσταση ενός αμινοξέος στον TbHrHbR (αντικατάσταση λευκίνης από σερίνη-L210S) αποτελεί τον τρίτο μηχανισμό αντίστασης του παρασίτου στη λύση.³⁹ Επιπροσθέτως, η οικογένεια γονιδίων ESAG4 φαίνεται να συμβάλλει στην επιβίωση του παρασίτου εντός του ξενιστή, καθώς εμποδίζει την ενεργοποίηση φλεγμονωδών κυτοκινών. Τα ESAG4, ανήκουν σε μια μεγάλη υποοικογένεια γονιδίων, τα οποία κωδικοποιούν περίπου 80 αδενυλικές κυκλάσες του *T. brucei*, οι οποίες αναστέλλουν την παραγωγή του παράγοντα νέκρωσης όγκων (Tumor Necrosis Factor). Η αναστολή σύνθεσης και απελευθέρωσης του TNF οδηγεί σε υψηλά ποσοστά παρασιταϊμίας. Έχει ακόμη αναφερθεί, ότι το παράσιτο για να εξασφαλίσει την επιβίωσή του, επάγει μακροφάγα, τα οποία παράγουν μόρια-τελεστές όπως οι προσταγλανδίνες προκειμένου να ανασταλεί ο πολλαπλασιασμός των VSG-ειδικών T-κυττάρων.³⁸

Το δέρμα του ξενιστή αποτελεί κρίσιμο ανατομικό εμπόδιο για το παράσιτο, το οποίο πρέπει να ξεπεραστεί προκειμένου να διαπιστωθεί η μόλυνση. Μέσα σε αυτό το μικροπεριβάλλον, λαμβάνουν χώρα ανοσολογικές διαδικασίες με στόχο την πρόληψη της ανάπτυξης των παρασίτων, κατά τις οποίες λεμφοκύτταρα, μυελοειδή φαγοκύτταρα και κερατινοκύτταρα ανιχνεύουν την παρουσία μοριακών μοτίβων κινδύνου (danger ή damage-associated molecular patterns), τα οποία απελευθερώνονται από νεκρωτικά ή θνήσκοντα κύτταρα, καθώς και μοριακών μοτίβων των μικροβίων (pathogen-associated molecular patterns), τα οποία εκφράζονται από μικροβιακά αντιγόνα, με αποτέλεσμα την έκκριση προ-φλεγμονωδών κυτοκινών, IFN τύπου I, χημειοκινών, μορφών ενεργού οξυγόνου και αζώτου. Ωστόσο, τα συστατικά των εκκρίσεων των σιελογόνων αδένων της μύγας επιτρέπουν την ταχύτερη έναρξη της νόσου και σχετίζονται με τη μειωμένη επαγωγή των φλεγμονωδών μεσολαβητών στη θέση της μόλυνσης. Τα συστατικά των εκκρίσεων παρεμβαίνουν στην ανοσολογική απόκριση του ξενιστή και συμβάλλουν στην εισβολή των παρασίτων στην κυκλοφορία του αίματος, καταστέλλοντας την αγγειοσυστολή, τη συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων και την πήξη. Μεταξύ αυτών, ένα ανοσοκατασταλτικό πεπτίδιο, το Gloss 2 φαίνεται να αναστέλλει την έκκριση τρυπανολυτικών παραγόντων και συγκεκριμένα την IL-6 στο αρχικό στάδιο μόλυνσης και την IL-10, 3-6 ημέρες μετά τη μόλυνση.⁴⁰

1.12 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΗΑΤ

1.12.1 ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Η τρυπανοσωμίαση μεταδίδεται κυρίως από μολυσμένες μύγες τσε-τσε, οι οποίες θεωρούνται κυκλικοί φορείς, καθώς για να πραγματοποιηθεί η μετάδοση απαιτείται μια διαδικασία μετασχηματισμού του παρασίτου στη μύγα. Έχει, επίσης, αναφερθεί κάθετη μετάδοση της λοίμωξης σε περιπτώσεις όπου, η διάγνωση της ΗΑΤ έχει γίνει λίγες ημέρες μετά τη γέννηση του βρέφους και σε μολυσμένα παιδιά τα οποία γεννήθηκαν σε μη ενδημικές χώρες από μολυσμένες μητέρες.^{5,11,41} Η μετάδοση του παρασίτου μέσω σεξουαλικής επαφής είναι πιθανή, καθώς έχει περιγραφεί σε μια γυναίκα, η οποία δεν επισκέφθηκε χώρα, όπου ενδημεί η νόσος και δεν είχε εκτεθεί σε τυχόν άλλους παράγοντες κινδύνου, αλλά ο σύντροφός της ήταν φορέας της ασθένειας του ύπνου.⁴² Ακόμη, έχει αναφερθεί μηχανική μετάδοση μέσω άλλων εντόμων, τα οποία απομυζούν μολυσμένο αίμα. Σπάνια, έχει παρατηρηθεί τυχαία μηχανική μετάδοση σε εργαστήρια ή μόλυνση μέσω μετάγγισης αίματος.⁵

1.12.2 ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Η ΗΑΤ εξελίσσεται σε δύο διαδοχικά στάδια, το πρώιμο αιμολεμφικό στάδιο, κατά το οποίο το παράσιτο περιορίζεται στο αίμα και τη λέμφο και το δεύτερο μηνιγγο-εγκεφαλιτιδικό στάδιο, το οποίο χαρακτηρίζεται από την εισβολή του τρυπανοσώματος στο ΚΝΣ.⁴³ Ωστόσο, η μετάβαση από το ένα στάδιο στο άλλο, δεν είναι πάντοτε διακριτή, ιδιαίτερα μετά από μόλυνση από το *T. b. rhodesiense*. Η gHAT χαρακτηρίζεται από μια χρόνια προοδευτική πορεία που διαρκεί μήνες έως χρόνια, σε αντίθεση με τη rHAT, κατά την οποία η λοίμωξη εξελίσσεται ταχέως και η εισβολή του παρασίτου στο ΚΝΣ εμφανίζεται μέσα σε λίγους μήνες μετά την αρχική μόλυνση.⁴⁴

1.12.2.1 gHAT

Μετά το δήγμα από τη μύγα, ξεκινά αμέσως η μόλυνση, καθώς οι ΜΤ μορφές του παρασίτου μετασχηματίζονται σε LS μορφές, οι οποίες πολλαπλασιάζονται και στην περιοχή του νύμφατος δημιουργείται ένα οζίδιο ή τρυπανοσωμικό έλκος (trypanome), το οποίο παρατηρείται στο 20% των ασθενών με gHAT, ενώ σπάνια ανιχνεύεται σε φορείς του *T. b. gambiense*.⁴³

Μετά από μια αρχική, μεγάλη, ασυμπτωματική περίοδο, οι ασθενείς με gHAT παρουσιάζουν μη ειδικά συμπτώματα όπως πυρετό, κόπωση, πονοκεφάλους, αρθραλγία, οίδημα προσώπου, κνησμό και σε μικρότερο βαθμό εμφανίζουν σπληνομεγαλία ή ακόμη πιο σπάνια ηπατομεγαλία. Η διόγκωση των τραχηλικών λεμφαδένων γνωστή ως ένδειξη Winterbottom αποτελεί τυπικό χαρακτηριστικό των ασθενών με gHAT. Καθώς η νόσος εξελίσσεται, παρατηρούνται διαταραχές στην ενδοκρινική λειτουργία, συμπεριλαμβανομένων ανωμαλιών κατά την έμμηνο ρύση στις γυναίκες, ανικανότητα και γυναικομαστία στους άνδρες και προβλήματα γονιμότητας.⁴⁵ Μετά την παρέλευση μηνών ή ετών, επέρχεται το νευρολογικό στάδιο της ασθένειας εξαιτίας της εισβολής του παρασίτου στο ΚΝΣ διαμέσου του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (ΑΕΦ). Στο ΚΝΣ παρατηρούνται ψυχιατρικές, κινητικές, αισθητικές και διαταραχές του ύπνου. Στις ψυχιατρικές διαταραχές περιλαμβάνονται ευερεθιστότητα, αιφνίδιες αλλαγές στην προσωπικότητα, παραισθήσεις και ψύχωση. Οι κινητικές διαταραχές εκδηλώνονται με συμπτώματα από το πυραμιδικό σύστημα (εστιακή παράλυση), το εξωπυραμιδικό (ακαμψία και τρόμος άκρων) και το παρεγκεφαλιδικό (δυσαρθρία και αταξία). Χαρακτηριστικό των αισθητικών διαταραχών αποτελεί η καθυστερημένη αλλά και αυξημένη αίσθηση του πόνου (ένδειξη Kerandel). Η νόσος προκαλεί επίσης, απορρύθμιση του κερκάρδιου ρυθμού του ύπνου, για το λόγο αυτό είναι γνωστή και ως ασθένεια του ύπνου, με αποτέλεσμα οι ασθενείς να εμφανίζουν λήθαργο κατά τη διάρκεια της ημέρας και νυχτερινές αϋπνίες. Κατά την τελική φάση της νόσου, παρατηρείται απομυελίνωση και ατροφία του

ΚΝΣ, συνοδευόμενες από διαταραχές στη συνείδηση και προοδευτική άνοια. Ο ασθενής πέφτει σε βαθύ κώμα και πεθαίνει σε κατάσταση καχεξίας.⁴⁴

1.12.2.2 rHAT

Οι φορείς του *T. b. rhodesiense* εμφανίζουν μια οξεία εμπύρετη κατάσταση 1-3 εβδομάδες μετά τη μόλυνση. Τα εμπύρετα επεισόδια είναι έντονα και συχνά, ενώ χαρακτηριστική είναι η διόγκωση των μασχαλιαίων και βουβωνικών λεμφαδένων. Η εμφάνιση συμπτωμάτων από το ΚΝΣ μπορεί να περιοριστεί στην υπνηλία και τον τρόμο καθώς βλάβες από το καρδιαγγειακό σύστημα όπως συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, αρρυθμίες, μυοκαρδίτιδα ή περικαρδίτιδα, δύνανται να σκοτώσουν τον ασθενή πριν από την εμφάνιση έντονων συμπτωμάτων από το ΚΝΣ. Οι περισσότεροι θάνατοι επέρχονται εντός 6 μηνών από την έναρξη της νόσου.^{43,45,46}

1.12.3 ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Το κρίσιμο ζήτημα κατά τη διάγνωση της HAT, το οποίο θα καθορίσει και τη μετέπειτα θεραπευτική προσέγγιση που θα ακολουθηθεί, έγκειται στον προσδιορισμό του σταδίου της νόσου. Εσφαλμένος προσδιορισμός θα οδηγήσει στο θάνατο του ασθενούς, είτε σε περίπτωση που έχει προσβληθεί το ΚΝΣ αλλά λανθασμένα διαγνωστεί ότι βρίσκεται στο πρώτο στάδιο, οπότε η θεραπεία κρίνεται αποτυχημένη, είτε αν λάβει φάρμακα για το δεύτερο στάδιο ενώ τα παράσιτα δεν έχουν διέλθει του ΑΕΦ, οπότε ο ασθενής κινδυνεύει λόγω της μεγάλης τους τοξικότητας. Η διάγνωση δε μπορεί να βασιστεί εξ' ολοκλήρου στα κλινικά συμπτώματα, καθώς δεν είναι ειδικά και δεν αποκλείονται από άλλες λοιμώξεις.⁴⁴

1.12.3.1 gHAT

Η διάγνωση της gHAT ακολουθεί μια πορεία τριών σταδίων στα οποία συμπεριλαμβάνονται ο έλεγχος, η επιβεβαίωση της παρουσίας του παρασίτου και ο προσδιορισμός του σταδίου της νόσου. Ο έλεγχος πραγματοποιείται με γρήγορες ορολογικές εξετάσεις για τη μαζική επιτήρηση του πληθυσμού, για τον οποίο υπάρχει υποψία μόλυνσης με *T. b. gambiense*. Η επιβεβαίωση της παρουσίας του παρασίτου επιτυγχάνεται με μικροσκοπική εξέταση των τραχηλικών λεμφαδένων των ασθενών ή ανίχνευση των τρυπανοσωμάτων στο αίμα, η οποία όμως δεν είναι πάντοτε εφικτή καθώς η gHAT χαρακτηρίζεται από χαμηλή παρασιταίμια. Τέλος, ο καθορισμός του σταδίου βασίζεται στην εξέταση του εγκεφαλονωτιαίου υγρού (ENY), το οποίο λαμβάνεται με οσφυϊκή παρακέντηση. Αυξημένος αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων, παρουσία τρυπανοσωμάτων και αυξημένη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη στη σύσταση του ENY, υποδεικνύουν ότι ο ασθενής βρίσκεται στο μηνιγγο-εγκεφαλιτιδικό στάδιο.

1.12.3.2 rHAT

Η διάγνωση της rHAT ακολουθεί γενικά τις ίδιες αρχές με αυτές που αναφέρθηκαν για τη gHAT. Ωστόσο ο έλεγχος βασίζεται στην αναγνώριση μη ειδικών κλινικών συμπτωμάτων σε συνδυασμό με τη λήψη ιστορικού από τον ασθενή. Η παρουσία του τρυπανοσωμικού έλκους είναι χαρακτηριστική της μόλυνσης με *T. b. rhodesiense*. Επίσης, δοκιμαστικοί ορολογικοί έλεγχοι δεν πραγματοποιούνται ευρέως, καθώς η μικροσκοπική ανίχνευση του παρασίτου στο αίμα είναι ευκολότερη λόγω της υψηλής παρασιταίμιας συγκριτικά με τη gHAT. Το παράσιτο μπορεί ακόμα να ανιχνευτεί στο τρυπανοσωμικό έλκος λίγες ημέρες νωρίτερα από την ανίχνευσή του στο αίμα.^{43,46}

Εισαγωγή

1.12.4 ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Η χημειοθεραπευτική αγωγή για την αντιμετώπιση της ασθένειας του ύπνου περιλαμβάνει τέσσερα βασικά φάρμακα και ένα συνδυαστικό θεραπευτικό σχήμα. Το στάδιο της νόσου, στο οποίο βρίσκεται ο ασθενής και το είδος του παρασίτου που τον έχει προσβάλλει, είναι καθοριστικά για την επιλογή της θεραπείας που πρόκειται να λάβει χώρα (**Πίνακας 1**).

ΠΙΝΑΚΑΣ 1 Συνοπτική επισκόπηση των φαρμάκων που χρησιμοποιούνται στην τρέχουσα χημειοθεραπεία της HAT.					
Φάρμακο	Φάσμα Δράσης	Ένδειξη	Οδός χορήγησης	Χρόνος Ημιζωής	Ανεπιθύμητες Ενέργειες
Pentamidine	<i>T. b. gambiense</i>	Στάδιο 1	i.m	6.5-9.5 h	Υπόταση, υπογλυκαιμία, γαστρεντερικές διαταραχές
Suramin	<i>T. b. rhodesiense</i>	Στάδιο 1	i.v	35-60 d	Αναφυλακτικό σοκ, νεφρική ανεπάρκεια, δερματικές βλάβες, νευρολογικές επιπτώσεις
Eflornithine	<i>T. b. gambiense</i>	Στάδιο 2	i.v	3.3 h	Τοξικότητα μυελού των οστών, γαστρεντερικές διαταραχές, αλωπεκία, επιληπτικές κρίσεις
Melarsoprol	<i>T. b. gambiense</i> <i>T. b. rhodesiense</i>	Στάδιο 2	i.v	35 h	Εγκεφαλοπάθεια, καρδιακές αρρυθμίες, δερματίτιδα, ακοκκιοκυτταραιμία
NECT	<i>T. b. gambiense</i>	Στάδιο 2	<i>per os + i.v</i>	~3 h	Γαστρεντερικές διαταραχές

1.12.4.1 PENTAMIDINE

Η pentamidine (**Εικ. 11**) είναι το φάρμακο εκλογής για τη θεραπεία του πρώτου σταδίου της λοίμωξης από *T. b. gambiense*. Χορηγείται υπό τη μορφή άλατος και είναι γενικά καλώς ανεκτή. Το φάρμακο συνδέεται στη μικρή αύλακα του DNA σε περιοχές πλούσιες σε A-T, όπου η χαρακτηριστική ομάδα της αμιδίνης σχηματίζει δεσμό υδρογόνου με το N-3 δύο αδενινών με αποτέλεσμα το μόριο της pentamidine να καταλαμβάνει μια θέση στην αύλακα, η οποία εκτείνεται σε 4-5 bp. Επίσης, αναστέλλει την τοποϊσομεράση II των μιτοχονδρίων του παρασίτου, ενώ έχει βρεθεί ότι αλληλεπιδρά με το RNA, και αλλάζει τη διαμόρφωσή του, αναστέλλοντας βασικές βιολογικές λειτουργίες του. Έχει ακόμη προταθεί, ότι οι διαμιδίνες μπορεί να ασκήσουν την τρυπανοκτόνο δράση τους μέσω άλλων μηχανισμών, όπως μέσω αναστολής της αποκαρβοξυλάσης της S-αδενοσυλομεθειονίνης ή της Ca²⁺-ΑΤΡάσης, επηρεάζοντας το δυναμικό της μιτοχονδριακής μεμβράνης, ή μέσω αποσύζευξης της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Οι πιο συχνές ανεπιθύμητες ενέργειες (ΑΕ) που έχουν αναφερθεί, είναι η υπογλυκαιμία και οι γαστρεντερικές διαταραχές.^{8,47, 48}

1.12.4.2 SURAMIN

Η suramin (**Εικ. 11**) χορηγείται με ενδοφλέβια ένεση στο πρώτο στάδιο της λοίμωξης από *T. b. rhodesiense*. Αναστέλλει τα γλυκολυτικά ένζυμα του παρασίτου και είναι 100 φορές περισσότερο δραστική έναντι των BSF του τρυπανοσώματος. Φαίνεται ακόμη, ότι επηρεάζει τα ένζυμα του βιοχημικού μονοπατιού της φωσφορικής πεντόζης, την κινάση της θυμιδίνης και τη διυδροφολική αναγωγή. Το μόριο της suramin διαθέτει έξι αρνητικά φορτία και συνδέεται μέσω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων με τα ένζυμα του παρασίτου. Στις ΑΕ συμπεριλαμβάνονται νεφροτοξικότητα και περιφερική νευροπάθεια.^{8,49}

1.12.4.3 EFLORNITHINE

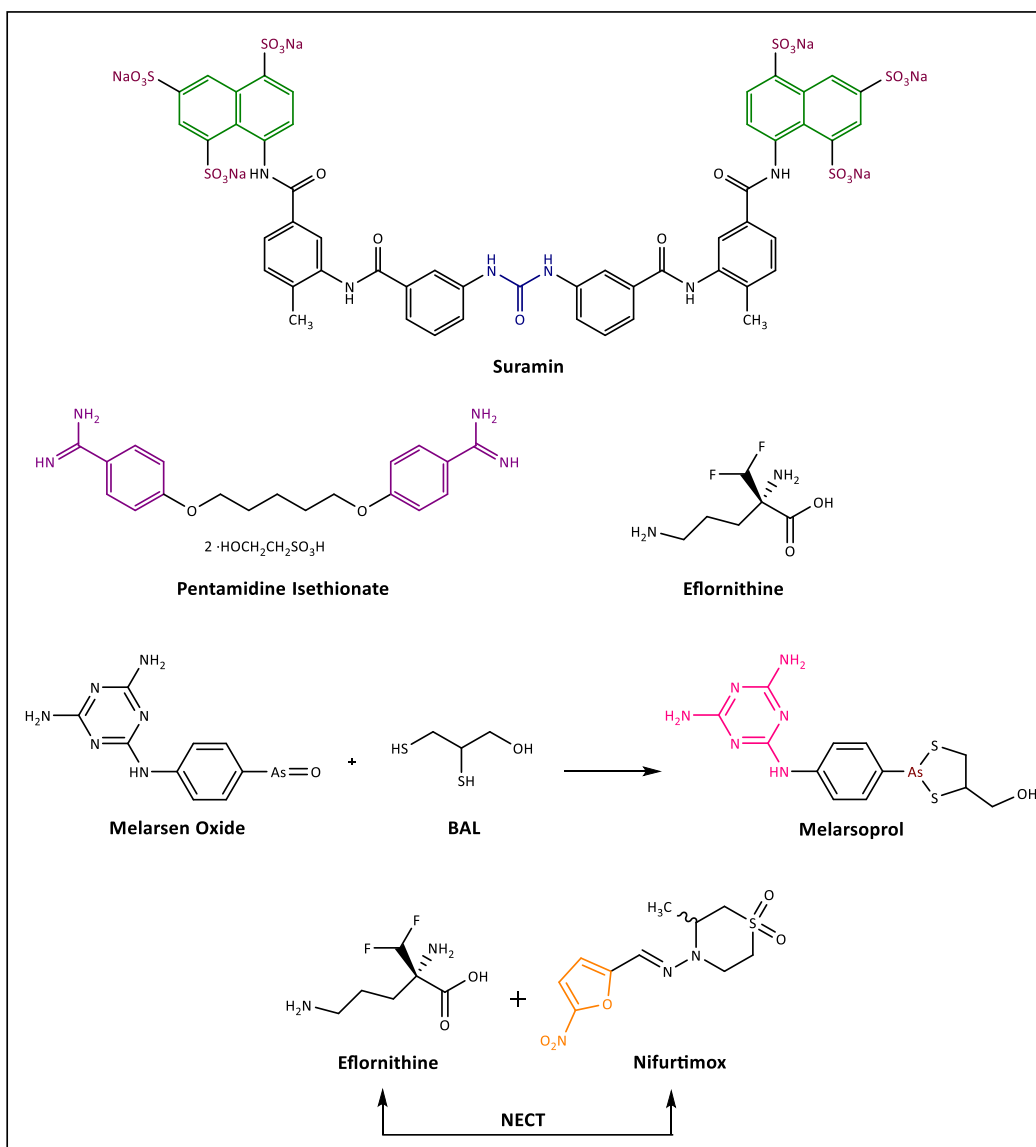
Η eflornithine (**Εικ. 11**) αναπτύχθηκε αρχικά ως αντικαρκινικό φάρμακο, ωστόσο αργότερα αποδείχτηκε αποτελεσματική θεραπευτική εναλλακτική λύση για το δεύτερο στάδιο της gHAT. Αποτελεί έναν ειδικό και μη αντιστρεπτό αναστολέα της αποκαρβοξυλάσης της ορνιθίνης (Ornithine Decarboxylase, ODC), του πρώτου ενζύμου που συμμετέχει στη σύνθεση των πολυαμινών (πουτρεσκίνη, σπερμιδίνη, σπερμίνη). Οι πολυαμίνες εμπλέκονται στην ανάπτυξη, τη διαφοροποίηση και την αντιγραφή των κυττάρων, καθώς συμμετέχουν στη σύνθεση του DNA, του RNA και των πρωτεϊνών. Η αναστολή του ενζύμου οδηγεί στην εξάντληση των πολυαμινών με αποτέλεσμα την επιβράδυνση του πολλαπλασιασμού των κυττάρων. Επίσης, το φάρμακο προκαλεί μείωση των επιπέδων της τρυπανοθειόνης, ενός αντιοξειδωτικού μεταβολίτη, ο οποίος αποτελείται από δύο μόρια γλουταθειόνης συνδεδεμένα με μια σπερμιδίνη και απαντάται μόνο στο παράσιτο και όχι στον ξενιστή, γεγονός που μπορεί να συμβάλλει στην εκλεκτική δράση της εφλορνιθίνης. Οι κύριες ΑΕ που έχουν αναφερθεί, είναι η προσωρινή καταστολή του μυελού οστών, γαστρεντερικά συμπτώματα και, σπανιότερα επιληπτικές κρίσεις.⁵⁰

1.12.4.4 MELARSOPROL

Το melarsoprol (**Εικ. 11**) αποτελεί το μόνο αποτελεσματικό φάρμακο για το δεύτερο στάδιο και των δύο μορφών της Αφρικανικής τρυπανοσωμίας και μπορεί να διέλθει του ΑΕΦ. Χορηγείται ενδοφλεβίως και πρόκειται για προφάρμακο, το οποίο μεταβολίζεται προς το δραστικό οξύ melarsen. Το τρισθενές αρσενικό του οξειδίου melarsen έχει συζευχθεί με τη διμερκαπρόλη, που χρησιμοποιείται ως ειδικό αντίδοτο σε δηλητηριάσεις από αρσενικό, με σκοπό την ελάττωση της τοξικότητας του φαρμάκου. Ο δραστικός μεταβολίτης πιστεύεται ότι, εμφανίζει υψηλή συγγένεια με τις σουλφιδρυλικές ομάδες ενζύμων του παρασίτου, τις δεσμεύει και προκαλεί την αδρανοποίησή τους. Συγκεκριμένα, αναστέλλει την τρυπανοθειονική αναγωγή και άλλα ένζυμα της οδού της γλυκόλυσης με αποτέλεσμα την αναστολή της σύνθεσης του ATP. Απόρροια αυτού είναι η θανάτωση του παρασίτου, λόγω της μειωμένης παραγωγής ενέργειας. Επίσης, το οξύ melarsen σχηματίζει σύμπλοκο με την τρυπανοθειόνη, με συνέπεια τη διαταραχή της οξειδοαναγωγικής ισορροπίας του κυττάρου του τρυπανοσώματος. Το φάρμακο είναι αποτελεσματικό στο 95% των περιπτώσεων τελικού σταδίου, ωστόσο παραμένει αρκετά τοξικό και ευθύνεται για την εμφάνιση αντιδραστικής εγκεφαλοπάθειας περίπου στο ένα πέμπτο των ασθενών, η οποία μπορεί να αποβεί θανατηφόρος, με ποσοστό θνησιμότητας που αγγίζει το 5%. Σε ασθενείς, οι οποίοι έλαβαν ταυτόχρονα melarsoprol και πρεδνιζολόνη, σημειώθηκε μειωμένος κίνδυνος θανάτου, ωστόσο η συγχορήγηση δε συσχετίστηκε με μείωση του ποσοστού εμφάνισης υποτροπής μετά από θεραπεία με melarsoprol.^{44,50} Εκτός της τοξικότητας, η χρήση του melarsoprol συνοδεύεται και από την εμφάνιση ανθεκτικών στελεχών του *T. brucei*, έναντι της δραστικότητας του φαρμάκου. Η ανάπτυξη αντοχής συσχετίζεται με μειωμένη πρόσληψη φαρμάκου από τον μεταφορέα πουρίνης P2, που κωδικοποιείται από το TbAT1. Ο P2 λειτουργεί ως μεταφορέας αδενosίνης και αδενίνης, ενώ αρσενικούχες ενώσεις και διαμιδίνες εισάγονται στα παράσιτα από τον ίδιο μεταφορέα. Στους μηχανισμούς ανθεκτικότητας

Εισαγωγή

συμπεριλαμβάνεται επίσης, η αυξημένη αποβολή του φαρμάκου, η οποία πραγματοποιείται από την TbMRPA πρωτεΐνη.⁴⁸



ΕΙΚΟΝΑ 11 | Δομές των φαρμάκων που χρησιμοποιούνται στην τρέχουσα χημειοθεραπεία της HAT. Τα κρίσιμα δομικά μοτίβα των φαρμάκων έχουν χρωματιστεί έντονα. Η eflornithine είναι μη αντιστρεπτός αναστολέας της ODC και έχει δομικές ομοιότητες με το φυσικό υπόστρωμα, ορνιθίνη.

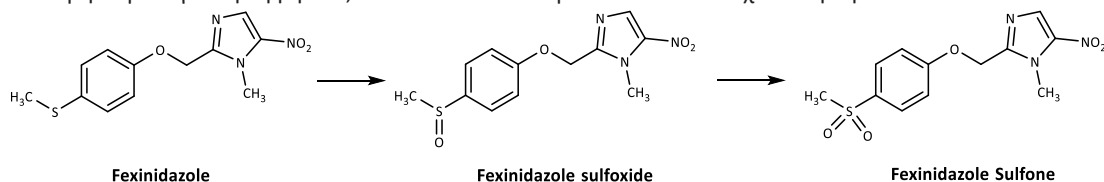
1.12.4.5 EFLORNITHINE-NIFURTIMOX

Τα αυξημένα ποσοστά αποτυχίας της θεραπείας με melarsoprol, η σπανιότητα των διαθέσιμων φαρμάκων και η ανάγκη για την επιβράδυνση της ανάπτυξης αντίστασης πυροδότησαν την κλινική έρευνα για χορήγηση συνδυαστικών θεραπευτικών σχημάτων. Μελετήθηκαν τρεις πιθανοί συνδυασμοί

του melarsoprol και της eflornithine με το nifurtimox (**Εικ. 11**). Το τελευταίο χορηγείται κατά της Αμερικανικής Τρυπανοσωμίας και είναι ένα προφάρμακο, το οποίο βιοενεργοποιείται μέσω μιας αναγωγής, αποδίδοντας τοξικά είδη ανιόντος υπεροξειδίου, τα οποία οδηγούν στο σχηματισμό ελευθέρων ριζών, με αποτέλεσμα την πρόκληση οξειδωτικού stress στο *T. cruzi*.⁵¹ Ο συνδυασμός nifurtimox-eflornithine (nifurtimox-eflornithine combination therapy - NECT) κατέστη πολύ πιο αποτελεσματικός και κυρίως ασφαλής έναντι του συνδυασμού melarsoprol-eflornithine και melarsoprol-nifurtimox. Η επιτυχία του σχήματος NECT έγκειται στην ικανότητα του nifurtimox να επάγει κατάσταση οξειδωτικού stress και αυτήν της eflornithine να μειώνει τα επίπεδα της τρυπανοθειόνης και την αντοχή στο οξειδωτικό stress. Το σχήμα NECT συνδέεται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης σοβαρών ΑΕ, σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία με eflornithine, ενώ υπάρχουν περισσότερες πιθανότητες να εκδηλωθούν γαστρεντερικές διαταραχές.^{49,50}

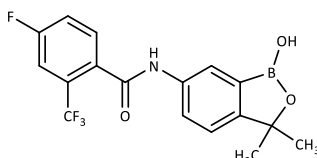
1.12.4.6 ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Δύο νέα φάρμακα έχουν τεθεί υπό αξιολόγηση σε κλινικές δοκιμές για τη θεραπεία της HAT. Το fexinidazole είναι ένα προφάρμακο, το οποίο μεταβολίζεται ταχέως *in vivo* - μέσω δύο διαφορετικών οδών, του κυτοχρώματος P450 και μιας μονοοξυγενάσης - σε δύο μεταβολίτες, ένα σουλφοξείδιο και μια σουλφόνη (**Εικ. 12**). Πρόκειται για ένα φάρμακο που χορηγείται *per os* και φαίνεται να είναι αποτελεσματικό έναντι και των δύο σταδίων της HAT, η οποία προκαλείται τόσο από *T. b. gambiense* όσο και από *T. b. rhodesiense*. Παρά το γεγονός ότι το fexinidazole επιδεικνύει μέτρια *in vitro* δραστηριότητα κατά του παρασίτου, φαίνεται να είναι πολλά υποσχόμενο φάρμακο, λόγω των καλών *in vivo* αποτελεσμάτων που έχουν προσδιοριστεί σε μοντέλα ποντικών. Εάν οι κλινικές μελέτες του fexinidazole ολοκληρωθούν επιτυχώς, το φάρμακο θα αποτελέσει μια πραγματική επανάσταση για τον έλεγχο της HAT, καθώς θα είναι το πρώτο που χορηγείται *per os*, καλώς ανεκτό και αποτελεσματικό για τα δύο στάδια της HAT και η θεραπεία θα είναι μικρής διάρκειας. Επιπρόσθετα, με βάση την απλή και σύντομη πορεία για τη λήψη του, το fexinidazole αναμένεται να είναι σχετικά φθηνό.⁵²



ΕΙΚΟΝΑ 12 | Μεταβολισμός ενεργοποίησης του fexinidazole.

Το δεύτερο φάρμακο, το οποίο βρίσκεται σε κλινικές δοκιμές για τη θεραπεία του δευτέρου σταδίου της HAT, είναι το SCYX-7158 (AN5568), ένα μικρό μόριο που περιέχει βόριο, ανήκει στις benzoxaboroles (**Εικ. 13**) και χορηγείται *per os*. Μετά τις επιτυχημένες προκλινικές μελέτες, η ένωση έχει περάσει σε φάση κλινικής ανάπτυξης.⁵⁰



SCYX-7158 (AN5568)

ΕΙΚΟΝΑ 13 | Δομή του υπό ανάπτυξη χημειοθεραπευτικού παράγοντα SCYX-7158 (AN5568).

1.13 ΕΝ ΔΥΝΑΜΕΙ ΣΤΟΧΟΙ ΤΗΣ ΑΝΤΙΤΡΥΠΑΝΟΣΩΜΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Η συγκριτικά μικρή επικάλυψη μεταξύ του πρωτεώματος του τρυπανοσώματος και του ανθρώπου δημιουργεί πρόσφορο έδαφος για την ανάπτυξη θεραπευτικών παραγόντων, οι οποίοι στοχεύουν ειδικά και εκλεκτικά το παράσιτο. Πράγματι, στο τρυπανόσωμα έχουν βρεθεί ορισμένα μοναδικά οργανίδια, τα οποία είναι απαραίτητα για τη λειτουργία και τη βιωσιμότητα του κυττάρου, όπως τα γλυκοσωμάτια και ο κινητοπλάστης, τα οποία απουσιάζουν από τον ξενιστή. Ωστόσο, δεν είναι απαραίτητο ο στόχος να είναι μοναδικός για το παράσιτο, αντιθέτως δύναται να είναι κοινός στο τρυπανόσωμα και τον ξενιστή, αλλά η δράση του φαρμάκου έγκειται στη διαφορετική ρύθμιση των στόχων.

1.13.1 ΑΠΟΚΑΡΒΟΞΥΛΑΣΗ ΤΗΣ ΟΡΝΙΘΙΝΗΣ

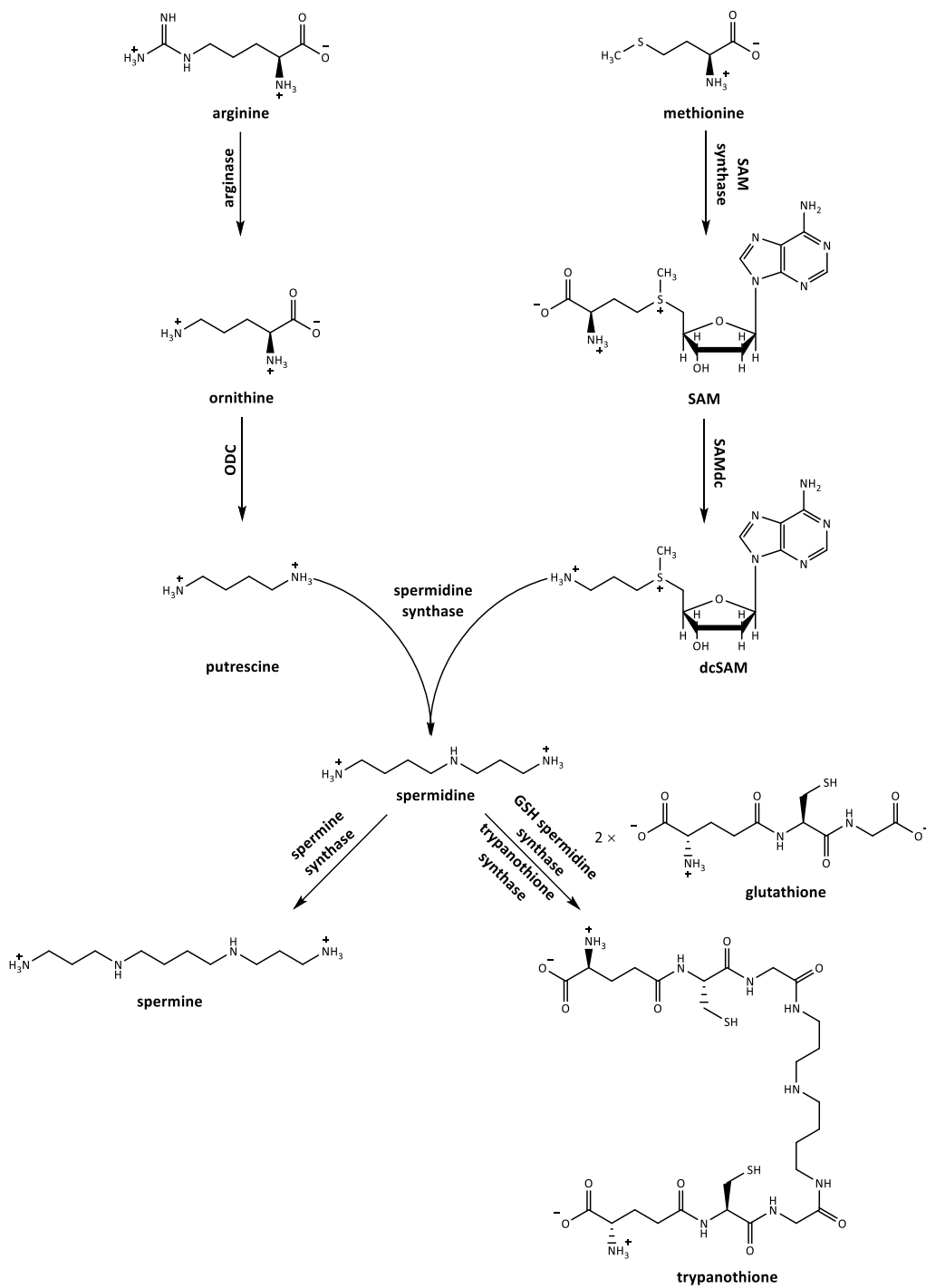
Η ODC είναι το ένζυμο το οποίο καταλύει την αποκαρβοξυλίωση της ορνιθίνης προς μια πολυαμίνη, την πουτρεσκίνη. Οι πολυαμίνες, όπως αναφέρεται παραπάνω αποτελούνται από υδρογονανθρακικές αλυσίδες, οι οποίες περιέχουν δύο ή περισσότερες αμινομάδες και είναι απαραίτητες για την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των ευκαρυωτικών κυττάρων, με καταλυτικό ρόλο στη μεταγραφή, τη μετάφραση, τη δομή της χρωματίνης, και τη λειτουργία των ιοντικών διαύλων.⁵³ Οι δομικές μονάδες για τη σύνθεση των πολυαμινών είναι τα αμινοξέα αργινίνη και μεθειονίνη. Η αργινίνη υδρολύεται προς σχηματισμό ορνιθίνης και ουρίας, και η ορνιθίνη μεταβολίζεται περαιτέρω σε πουτρεσκίνη, δύο αντιδράσεις, οι οποίες καταλύονται από την αργινάση και την ODC, αντίστοιχα. Η μεθειονίνη μετατρέπεται προς την S-αδενοσυλομεθειονίνη (S-adenosylmethionine, SAM), η οποία με τη σειρά της μεταβολίζεται προς το αποκαρβοξυλιωμένο ανάλογο (decarboxylated S-adenosylmethionine, dcSAM), με τη μεσολάβηση των ενζύμων συνθετάση της SAM και αποκαρβοξυλάση της SAM, αντίστοιχα. Ακολούθως, η συνθετάση της σπερμιδίνης (Spermidine Synthase) καταλύει τη μεταφορά μιας αμινοπροπυλομάδας από την dcSAM στην πουτρεσκίνη, η οποία οδηγεί στη βιοσύνθεση της σπερμιδίνης. Η σπερμιδίνη είτε μετατρέπεται προς σπερμίνη μέσω της συνθετάσης της σπερμίνης (Spermine Synthase) με τη μεταφορά μιας ακόμη αμινοπροπυλομάδας από την dcSAM, είτε συζεύγνυται με δύο μόρια γλουταθειόνης (Glutathione) προς σχηματισμό της τρυπανοθειόνης, η οποία είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό του τρυπανοσώματος και τη διατήρηση της οξειδοαναγωγικής ισορροπίας. Η πορεία της βιοσύνθεσης απεικονίζεται στο Σχ. 1.

Ο μεταβολισμός των πολυαμινών στο *T. brucei* έχει ορισμένα βασικά χαρακτηριστικά, τα οποία τον διακρίνουν από το μεταβολισμό των πολυαμινών στα θηλαστικά. Οι μείζονες διαφορές οφείλονται στην εξειδίκευση των μεταβολιτών και των ενζύμων, καθώς και στη ρύθμιση αυτών. Πιο συγκεκριμένα, η dcSAM ενεργοποιείται μέσω διμερισμού με ένα ενζυματικά ανενεργό ομόλογο, το οποίο ονομάζεται προζύμη. Επιπλέον, η σπερμιδίνη, όπως αναφέρεται παραπάνω, στα τρυπανοσώματα, συνδέεται με δύο μόρια GSH, οδηγώντας στο σχηματισμό της τρυπανοθειόνης.

Τα τρυπανοσώματα είναι ευαίσθητα στην αναστολή της πορείας βιοσύνθεσης των πολυαμινών. Η eflornithine αναστέλλει μη αναστρέψιμα την ODC και ασκεί κατά αυτό τον τρόπο την αντιτρυπανοσωμιακή της δράσης. Οι πολυαμίνες είναι επίσης απαραίτητες για τα ανθρώπινα κύτταρα και η ODC του ξενιστή έχει μεγαλύτερη συγγένεια σύνδεσης με την eflornithine από το αντίστοιχο ένζυμο του παρασίτου, ωστόσο, το φάρμακο θανατώνει επιλεκτικά το *T. brucei*. Η αποτελεσματικότητα της eflornithine οφείλεται στα ακόλουθα γεγονότα: (i) το ένζυμο του ξενιστή έχει χρόνο ημιζωής 15-20 min και όταν δεσμεύεται ομοιοπολικά από την eflornithine, το σύμπλοκο κατευθύνεται προς το πρωτεάσωμα, αποικοδομείται ταχέως και αντικαθίσταται από νεοσυντιθέμενο ένζυμο, αντιθέτως, η ODC του τρυπανοσώματος έχει χρόνο ημιζωής 18 h, το σύμπλοκο φαρμάκου-ένζυμου παραμένει εντός του παρασίτου και αντικαθίσταται βραδέως, (ii) τα εξωκυτταρικά παράσιτα δε δύνανται να προσλάβουν πολυαμίνες από το αίμα του ξενιστή τους, (iii) απουσία σπερμιδίνης, τα παράσιτα δεν παράγουν τρυπανοθειόνη, και ως εκ τούτου διαταράσσεται η αντιοξειδωτική τους ισορροπία, (iv) τα παράσιτα, στα

οποία τα επίπεδα των πολυαμινών είναι εξαντλημένα, παρουσιάζουν αξιοσημείωτη μείωση της πρωτεϊνικής σύνθεσης, ειδικότερα των VSGs, v) η SAM και η dcSAM συσσωρεύονται δραματικά και προκαλούν μη επιθυμητή μεθυλίωση, (vi) τα παράσιτα διαφοροποιούνται μη αναστρέψιμα σε ST μορφές, οι οποίες δεν υφίστανται δυαδική σχέση και χάνουν τη μολυσματικότητά τους για τον ξενιστή και (vii) δεδομένου ότι αυτά τα παράσιτα περνούν εξ' ολόκληρου τον κύκλο ζωής τους εξωκυτταρικά, είναι πιο άμεσα εκτεθειμένα στη δράση του φαρμάκου. Ως συνέπεια, διακόπτεται ο σχηματισμός της πουτρεσκίνης και τελικά, το παράσιτο σταματά να αναπτύσσεται και τα μη διαιρούμενα κύτταρα εκκαθαρίζονται από το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή.^{54,55}

Εισαγωγή



ΣΧΗΜΑ 1 | Πορεία βιοσύνθεσης των πολυαμινών σπερμιδίνη, σπερμίνη, τρυπανοθειόνη.

1.13.2 ΜΕΤΑΛΛΟΕΝΖΥΜΑ

Η πιο ορθολογική προσέγγιση για την ανάπτυξη αποτελεσματικής χημειοθεραπείας έναντι της HAT βασίζεται στη μελέτη των μεταβολικών διεργασιών του παρασίτου και στις διαφορές αυτών με τις αντίστοιχες των κυττάρων του ξενιστή. Η διαδικασία αυτή εξυπηρετεί τη στόχευση των μεταβολικών διεργασιών του παρασίτου για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων κατά του *T. brucei*.⁵⁴

1.13.2.1 ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΗ ΟΞΕΙΔΑΣΗ ΤΟΥ ΤΡΥΠΑΝΟΣΩΜΑΤΟΣ

Η παραγωγή ενέργειας στις PC μορφές του *T. brucei* πραγματοποιείται μέσω της εξαρτώμενης από το κυτόχρωμα αναπνευστικής αλυσίδας, σε αντίθεση με τις BSF, οι οποίες στερούνται του συστήματος του κυτοχρώματος και της κλασικής αναπνευστικής αλυσίδας και το ATP παράγεται μέσω της γλυκολυτικής οδού στα γλυκοσώματα. Μόλις τα παράσιτα εισβάλλουν στην κυκλοφορία του αίματος του ξενιστή, τόσο η λειτουργία της αναπνευστικής αλυσίδας όσο και η οξειδωτική φωσφορυλίωση αντικαθίστανται από την εναλλακτική οξειδάση του τρυπανοσώματος-ανθεκτικής σε αναστολή από κυανιούχα (Trypanosome Alternative Oxidase, TAO). Το ένζυμο μεταφέρει τέσσερα ηλεκτρόνια από δύο μόρια ουβικινόλης για την αναγωγή του οξυγόνου σε νερό και είναι υπεύθυνο για την επανοξείδωση του NADH, το οποίο συσσωρεύεται κατά τη διάρκεια της γλυκόλυσης, μια διαδικασία απαραίτητη για την επιβίωση του παρασίτου. Η TAO είναι μια μιτοχονδριακή διισιδηρο-πρωτεΐνη 33 kDa και αποτελείται από τέσσερα μονομερή, τα οποία συνδέονται για να σχηματίσουν ομοδιμερή. Κάθε μονομερές αποτελείται από ένα μακρύ *N*-τελικό άκρο, έξι μακριές α έλικες ($\alpha 1$ - $\alpha 6$) και τέσσερις βραχείες (S1-S4). Οι μακριές έλικες διατάσσονται με αντιπαράλληλο τρόπο, με αποτέλεσμα, τέσσερις από αυτές ($\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 5$, και $\alpha 6$) να σχηματίζουν μια δέσμη που φιλοξενεί ένα κέντρο με δύο ιόντα σιδήρου, το οποίο είναι μέρος του ενεργού κέντρου (active site) του ενζύμου. Λόγω της απουσίας της εναλλακτικής οξειδάσης από τα κύτταρα των θηλαστικών, η αναστολή του ενζύμου αποτελεί έναν πολλά υποσχόμενο στόχο για την αντιτρυπανοσωμιακή θεραπεία. Η γνώση σχετικά με τη δομή του ενεργού κέντρου επιτρέπει την ανάπτυξη ειδικών αναστολέων που αλληλεπιδρούν με το κέντρο δισιδήρου και αναστέλλουν το ένζυμο, το οποίο εμπλέκεται στην κυτταρική οξειδοαναγωγική ισορροπία και τον έλεγχο του κυτταρικού θανάτου.^{56,57}

1.13.2.2 ΑΠΑΚΕΤΥΛΑΣΕΣ ΤΩΝ ΙΣΤΟΝΩΝ

Το ευκαρυωτικό DNA είναι οργανωμένο σε νουκλεοσώματα, τα οποία είναι νουκλεοπρωτεϊνικά σύμπλοκα, αποτελούνται δηλαδή από DNA τυλιγμένο γύρω από ένα οκταμερές πρωτεϊνών, που καλούνται ιστόνες. Οι ιστόνες υπόκεινται σε πολλές μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις σε συγκεκριμένα αμινοξικά κατάλοιπα στα *N*-τελικά άκρα των ουρών τους, που προεξέχουν από το νουκλεόσωμα, και οι οποίες διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην οργάνωση της χρωματίνης, την αντιγραφή και την επιδιόρθωση του DNA και τη μεταγραφή. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν η ακετυλίωση και η απακετυλίωση τους, οι οποίες καταλύονται από ακετυλοτρανσφεράσες (Histone Acetylases) και απακετυλάσες (Histone Deacetylases) αντίστοιχα. Η ακετυλίωση ελέγχει τη σταθερότητα των πρωτεϊνών και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους, ρυθμίζοντας κατά αυτό τον τρόπο ένα ευρύ φάσμα κυτταρικών λειτουργιών και οι απακετυλάσες συμβάλλουν στη διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ ακετυλιωμένων και απακετυλιωμένων μορφών. Στο *T. brucei* έχουν βρεθεί τέσσερις ισομορφές των HDACs και ένα ομόλογο του SIR2-το αντίστοιχο ομόλογο στα θηλαστικά είναι το SIRT1, το οποίο κωδικοποιεί ένα ένζυμο που απακετυλιώνει πρωτεΐνες-το TbSIR2RP1. Οι TbDAC1 και TbDAC3 εντοπίζονται στον πυρήνα και είναι απαραίτητες για την ανάπτυξη των αιματικών μορφών, ενώ οι TbDAC2 και TbDAC4 εμφανίζονται κυρίως στο κυτταρόπλασμα και δεν κρίνονται απαραίτητες για τη βιωσιμότητα του παρασίτου. Παρά το γεγονός ότι το TbSIR2rp1 χαρακτηρίστηκε ασήμαντο για το τρυπανόσωμα, φαίνεται ότι ρυθμίζει την επιδιόρθωση του DNA, όταν το παράσιτο εκτίθεται σε

Εισαγωγή

γενετοξικό stress. Οι TbDAC1 και TbDAC3 σχετίζονται με τη σίγηση γονιδίων, που κωδικοποιούν VSGs και συμμετέχουν στη διαδικασία της αντιγονικής μεταλλαγής της κυτταρικής μεμβράνης του παρασίτου. Οι απακετυλάσες των ιστονών διαθέτουν μια θέση σύνδεσης ψευδαργύρου στο καταλυτικό κέντρο τους. Τα ένζυμα αυτά έχουν αναδειχθεί ως νέοι φαρμακευτικοί στόχοι κατά του τρυπανοσώματος, δεδομένου ότι οι HDACs των θηλαστικών δεν φαίνεται να έχουν ομολογία με τις TbDAC1 και TbDAC3. Εκλεκτικοί αναστολείς που δεσμεύουν το ιόν Zn^{2+} , εμποδίζουν τη λειτουργικότητα του ενζύμου με αποτέλεσμα τη συσσώρευση ακετυλιωμένων ιστονών που θα οδηγήσουν στη διακοπή ανάπτυξης του παρασίτου και στον κυτταρικό θάνατο.⁵⁸⁻⁶⁰

1.13.2.3 ΜΟΥΤΑΣΗ ΤΟΥ ΦΩΣΦΟΓΛΥΚΕΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

Η μετατροπή του 3-φωσφογλυκερικού σε 2-φωσφογλυκερικό οξύ, κατά την γλυκολυτική πορεία, αλλά και η αντίστροφη ισομερίωση κατά τη γλυκονογένεση καταλύονται από δύο τύπους του ενζύμου μουτάση του φωσφογλυκερικού οξέος (Phosphoglycerate Mutase, PGAM). Ο πρώτος τύπος (dPGAM) υπάρχει στα σπονδυλωτά και σε ορισμένα ασπόνδυλα όπως ζυμομύκητες, μύκητες και μερικά βακτήρια και χρησιμοποιεί το 2,3-διφωσφογλυκερικό οξύ, ως συμπαράγοντα. Ο δεύτερος τύπος (iPGAM) βρίσκεται σε φυτά, μερικά βακτήρια και στο *T. brucei* και είναι ανεξάρτητος από το 2,3-διφωσφογλυκερικό οξύ. Οι dPGAMs ανήκουν στις όζινες φωσφατάσες και χρησιμοποιούν ως ενδιάμεσο για τη μεταφορά της φωσφορικής ομάδας μια ιστιδίνη. Οι iPGAMs είναι μεταλλοένζυμα με συγγένεια για δισθενή μέταλλα, κυρίως Mg^{2+} και Zn^{2+} και ανήκουν στην υπεροικογένεια των αλκαλικών φωσφατασών. Χρησιμοποιούν μια φωσφοσερίνη, ως ενδιάμεσο, και διαθέτουν μια περιοχή με δράση φωσφατάσης, η οποία περιέχει θέσεις σύνδεσης με μεταλλικά ιόντα και μια δεύτερη με δράση τρανσφεράσης. Τα ένζυμα αυτά αποτελούν έναν ιδιαίτερα ελκυστικό στόχο για την ανάπτυξη φαρμάκων κατά του τρυπανοσώματος, καθώς είναι δυνατή η εκλεκτική αναστολή τους μέσω συμπλοκοποίησης του μεταλλικού ιόντος, χωρίς να βλάπτεται ο ξενιστής, ο οποίος διαθέτει dPGAMs.⁶¹

1.13.2.4 ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΚΕΣ ΔΙΣΜΟΥΤΑΣΕΣ

Μια σημαντική βιοχημική διεργασία για την επιβίωση του *T. brucei* είναι ο αντιοξειδωτικός μεταβολισμός, ο οποίος επιτελείται από την τρυπανοθειόνη, την τρυπανοθειονική αναγωγάση και τις υπεροξειδικές δισμουτάσες (Superoxide Dismutases, SODs). Οι SODs είναι μεταλλοένζυμα, τα οποία εξαλείφουν τις ρίζες οξυγόνου, που παράγονται κατά τη διάρκεια αυτο-οξειδωσης διαφόρων βιομορίων στους υποχρεωτικά και προαιρετικά αναερόβιους οργανισμούς, καταλύοντας τη μετατροπή δύο ριζών σε μοριακό οξυγόνο και υπεροξείδιο του υδρογόνου. Οι SODs, ανάλογα με το μεταλλικό ιόν τους, διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες: ένζυμα με χαλκό/ψευδάργυρο (Cu/ZnSODs), ένζυμα με μαγγάνιο (MnSODs) και τέλος ένζυμα με σίδηρο (FeSODs). Στα θηλαστικά έχουν βρεθεί τρεις SODs, εκ των οποίων οι δύο είναι Cu/ZnSODs, και η τρίτη είναι MnSOD. Στο *T. brucei* έχουν βρεθεί FeSODs σε τέσσερις ισομορφές. Τα δύο ισοένζυμα TbSODB εντοπίζονται στο κυτταρόπλασμα και το γλυκόσωμα, με το TbSODB2 κυρίως στο γλυκόσωμα και το TbSODB1 κυρίως στο κυτταρόπλασμα, ενώ οι άλλες δύο ισομορφές TbSODA και TbSODC βρίσκονται στο μιτοχόνδριο. Τα επίπεδα των TbSODs αυξάνονται κατά τη διαφοροποίηση των ST σε PC μορφές. Στις BSF έχει ανιχνευτεί δραστηριότητα των SODs και το μόνο ισοένζυμο που έχει προσδιοριστεί είναι το TbSODB. Στις LS μορφές, στις οποίες η μιτοχονδριακή ικανότητα καταστέλλεται, τα γλυκοσώματα καταναλώνουν μεγάλες ποσότητες γλυκόζης, μέσω αερόβιας γλυκόλυσης, με ταυτόχρονη μεγάλη κατανάλωση οξυγόνου. Η υψηλή κατανάλωση οξυγόνου σε συνδυασμό με μια ΤΑΟ, μπορούν να προκαλέσουν οξειδωτικό stress και έτσι η παρουσία των SODs είναι σημαντική για την επιβίωση του παρασίτου, καθώς σαρώνουν τις ρίζες οξυγόνου. Η ύπαρξη διαφορετικών ισομορφών των SODs μεταξύ θηλαστικών και παρασίτου δίνει τη δυνατότητα ανάπτυξης φαρμάκων τα οποία αλληλεπιδρούν με το σίδηρο των ενζύμων και αναστέλλουν τη δράση τους.^{62,63}

1.13.2.5 Ν-ΑΠΑΚΕΤΥΛΑΣΗ ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟ-D-ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΥΛΟΦΩΣΦΑΤΙΔΥΛΟΪΝΟΣΙΤΟΛΗΣ

Η ικανότητα του τρυπανοσώματος να αποφεύγει την ανοσολογική απόκριση του ξενιστή, οφείλεται στη λεπτή και ομοιόμορφη προστατευτική επίστρωση από VSGs της μεμβράνης του παρασίτου, όπως προαναφέρθηκε. Οι γλυκοπρωτεΐνες αυτές είναι εγκατεστημένες στην κυτταρική επιφάνεια, μέσω μιας GPI. Βασικό πρώιμο στάδιο για τη σύνθεση της GPI είναι η Ν-απακετυλίωση της 2-ακεταμιδο-2-δεοξυ-α-D-γλυκοκυρανοζυλο(1→6)φωσφατιδυλοϊννοσιτόλης προς σχηματισμό της D-γλυκοζαμινυλοφωσφατιδυλοϊννοσιτόλης, μια διαδικασία που καταλύεται από τη Ν-απακετυλάση της Ν-ακετυλο-D-γλυκοζαμινυλοφωσφατιδυλοϊννοσιτόλης. Τη διαδικασία της Ν-απακετυλίωσης ακολουθεί μαννοζυλίωση και ακετυλίωση, ενώ στα θηλαστικά η σειρά των διαδικασιών αυτών αντιστρέφεται. Η διακοπή σύνθεσης της GPI μπορεί να αποβεί μοιραία για τις BSF του παρασίτου, καθώς οι VSGs αδυνατούν να συνδεθούν στην κυτταρική μεμβράνη. Η Ν-απακετυλίωση είναι ένα μεταλλοένζυμο ψευδαργύρου. Δεδομένου ότι τα κύτταρα των θηλαστικών διαθέτουν κυρίως διαμεμβρανικές και περιφερικές γλυκοπρωτεΐνες και λιγότερες συνδεδεμένες μέσω GPI, και σε συνδυασμό με την ύπαρξη του μεταλλικού ιόντος στο ένζυμο, διευκολύνεται ο σχεδιασμός ειδικών αναστολέων που δεσμεύουν το ιόν Zn^{2+} με στόχο τη θεραπεία της τρυπανοσωμίας.⁶⁴⁻⁶⁶

1.13.2.6 ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΗ ΦΑΡΝΕΖΥΛΟΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗ

Η διαδικασία της πρωτεϊνικής πρενυλίωσης περιλαμβάνει την προσάρτηση μονάδων ισοπρενοειδών και συγκεκριμένα φαρνεζυλομάδας (C15) ή γερανυλογερανυλομάδας (C20) σε κυτταρικές πρωτεΐνες. Παραδείγματα πρενυλιωμένων πρωτεϊνών αποτελούν μικρές GTPases όπως είναι οι Ras, Rab, Rac και Rho, οι οποίες διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην κυτταρική μεταγωγή σήματος, τον πολλαπλασιασμό και την απόπτωση. Η πρενυλίωση πραγματοποιείται με τη μεσολάβηση τριών ενζύμων, της πρωτεϊνικής φαρνεζυλοτρανσφεράσης (Protein Farnesyltransferase), της γερανυλο-γερανυλοτρανσφεράσης I (Protein Geranylgeranyl Transferase I) και της PGGT II. Η PFT είναι ένα μεταλλοένζυμο ψευδαργύρου και αποτελείται από δύο μη ταυτόσημες υπομονάδες. Το ένζυμο δεσμεύεται στο καρβοξυτελικό άκρο ενός τετραπεπτιδίου CaaX της πρωτεΐνης, όπου C είναι η κυστεΐνη, το aa είναι συνήθως, αλλά όχι απαραίτητα, ένα αλειφατικό αμινοξύ και το X μπορεί να είναι μεθειονίνη, σερίνη, αλανίνη, γλουταμίνη, ή κυστεΐνη. Καταλύει τη μεταφορά φαρνεζυλομάδας από το φαρνεζυλοπυροφωσφορικό στην ελεύθερη ομάδα της θειόλης του υπολείμματος κυστεΐνης στο τετραπεπτίδιο CaaX. Οι υπομονάδες της PFT του τρυπανοσώματος είναι μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες του ενζύμου του ξενιστή και αυτό έχει ως αποτέλεσμα την παρουσία πολυάριθμων ενθέσεων σε ορισμένη απόσταση από το ενεργό κέντρο. Επίσης, το ένζυμο του παρασίτου παρουσιάζει εξειδίκευση για το υπόστρωμά του και στο τετραπεπτίδιο CaaX στη θέση X υπάρχει μεθειονίνη ή γλουταμίνη, ενώ ακόμη, έχουν βρεθεί διαφορές σε τέσσερα υπολείμματα που έρχονται σε επαφή με το υπόστρωμα στο ενεργό κέντρο της PFT του *T. brucei*. Οι ανωτέρω διαφορές στην εξειδίκευση του ενζύμου του παρασίτου έναντι του αντίστοιχου του ξενιστή παρέχουν τη δυνατότητα για επιλεκτική αναστολή του πρώτου. Το μεταλλικό ιόν στο ενεργό κέντρο θα μπορούσε να αποτελέσει στόχο για το σχεδιασμό εκλεκτικών αναστολέων που θα αδρανοποιήσουν το ένζυμο και θα θανατώσουν το παράσιτο.^{67,68}

1.14 ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΞΑΛΕΙΨΗ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Η τρυπανοσωμία είναι μια θανατηφόρα ασθένεια, συνήθως χαμηλού επιπολασμού, η οποία πρέπει και μπορεί να εξαλειφθεί με την αξιοποίηση των διαθέσιμων μέσων και την αναζήτηση νέων φθηνών και απλών στη χρήση διαγνωστικών εργαλείων και μη τοξικών θεραπειών. Το σχέδιο αυτό απαιτεί ριζικές αλλαγές στον τομέα της έρευνας και της ανάπτυξης και είναι αναγκαίο να τεθεί σε προτεραιότητα για

Εισαγωγή

χρηματοδότηση. Το πλέον βέλτιστο, θεραπευτικό, συνδυαστικό σχήμα nifurtimox-eflornithine καθίσταται σταδιακά μη βιώσιμο λόγω του κόστους του και συνεχώς αναδεικνύεται η ανάγκη για νέα φάρμακα, τα οποία θα είναι πιο εύκολα διαχειρίσιμα και προσιτά από τα υπάρχοντα. Η επίλυση του προβλήματος της ανθεκτικότητας στα φάρμακα αποτελεί ίσως το πιο δύσκολο έργο, που πρέπει να αντιμετωπιστεί, δεδομένης της σπανιότητας των νέων θεραπειών που έχουν εμφανιστεί τα τελευταία 50 χρόνια. Σε περίπτωση που η ανεύρεση νέας θεραπευτικής αγωγής δεν πραγματοποιηθεί άμεσα, εγκυμονεί ο κίνδυνος, η τρέχουσα πτωτική τάση του επιπολασμού της νόσου, να αντιστραφεί και, όπως έχει συμβεί και στο παρελθόν, η ασθένεια να αναζωπυρωθεί, μόνο που αυτή τη φορά σε κάποια μορφή, η οποία θα αντιστέκεται στα διαθέσιμα φάρμακα. Όσον αφορά τις διαγνωστικές μεθόδους, αν και η έρευνα υπήρξε πολύ παραγωγική, η πιο ευκόλως χρησιμοποιούμενη και αξιόπιστη διαγνωστική τεχνική παραμένει η μικροσκοπική παρατήρηση του παρασίτου στα σωματικά υγρά, καθώς στην πράξη, οι διαγνωστικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την επιβεβαίωση της λοίμωξης, είναι πολύπλοκες και ανακριβείς λόγω χαμηλής ευαισθησίας και ειδικότητας. Επίσης η HAT εμφανίζεται κυρίως σε αγροτικές και δύσκολα προσβάσιμες περιοχές της υποσαχάριας Αφρικής και κατανέμεται σε μέρη όπου κυριαρχεί η φτώχεια, η κοινωνική αστάθεια, η ανασφάλεια και η αδυναμία των συστημάτων υγείας να ανταπεξέλθουν για την περίθαλψη των ασθενών.⁶⁹

Ο WHO έχει θέσει ως στόχο την εξάλειψη της ασθένειας του ύπνου και προκειμένου να στεφθεί με επιτυχία το πρόγραμμα ελέγχου και επιτήρησης της νόσου, επικεντρώνεται στα ακόλουθα:

- Την παροχή ευρείας πρόσβασης στη διάγνωση και τη θεραπεία στον πληθυσμό που βρίσκεται σε κίνδυνο. Η έλλειψη καθολικής μεθοδολογίας για τον έλεγχο της HAT, υπαγορεύει ότι κάθε κατάσταση πρέπει να αξιολογείται ξεχωριστά με σκοπό να αναπτυχθούν κατάλληλες στρατηγικές για την κάλυψη των τοπικών αναγκών.
- Την ενίσχυση του ελέγχου και της εποπτείας. Ο έλεγχος και η επιτήρηση της νόσου περιλαμβάνουν την εύρεση όλων των περιστατικών της HAT, τη διάγνωση, τη θεραπεία, την παρακολούθηση των ασθενών και τον έλεγχο του φορέα και μπορεί να περιλαμβάνει κινητές ομάδες, σταθερές θέσεις, ή και τα δύο, ενώ ο συντονισμός μπορεί να είναι κεντρικός ή αποκεντρωμένος, κάθετος ή να ενσωματώνεται στις υπάρχουσες υπηρεσίες υγείας.
- Την υποστήριξη της έρευνας για τη βελτίωση της διάγνωσης και των θεραπευτικών εργαλείων.
- Την ανάπτυξη μιας βάσης δεδομένων με πληροφορίες για την επιδημιολογική ανάλυση της νόσου.
- Την κατάρτιση εξειδικευμένου προσωπικού
- Την προώθηση της συνεργασίας με τον Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας (Food and Agriculture Organization), ο οποίος είναι υπεύθυνος για την τρυπανοσωμίαση των ζώων και με το Διεθνή Οργανισμό Ατομικής Ενέργειας (International Atomic Energy Agency), ο οποίος ασχολείται με τον έλεγχο των φορέων
- Τις δραστηριότητες για την καταπολέμηση της νόσου και του φορέα σε συνεργασία με την Παναφρικανική Εκστρατεία Εκρίζωσης της μύγας τσε-τσε και της τρυπανοσωμίασης της Αφρικανικής Ένωσης.

Ο WHO έχει εκχωρήσει δύο κύριους δείκτες, οι οποίοι πρέπει να παρακολουθούνται ετησίως, για την αξιολόγηση της προόδου του σχεδίου εξάλειψης της g-HAT:

1. τον αριθμό των περιπτώσεων που αναφέρθηκαν σε ετήσια βάση, και
2. τον αριθμό των εστιών που έχουν επισήμως εξαλειφθεί, δηλαδή έχει γίνει αναφορά για λιγότερο από 1 κρούσμα ανά 10 000 κατοίκους ετησίως.

Ακόμη έχουν οριστεί ορισμένοι δευτερογενείς δείκτες, με σκοπό να εκτιμηθεί η ένταση και η αποτελεσματικότητα των δραστηριοτήτων για την εξάλειψη της νόσου, στους οποίους συμπεριλαμβάνονται η γεωγραφική κατανομή της ασθένειας, οι περιοχές και οι πληθυσμοί που βρίσκονται σε διαφορετικά επίπεδα κινδύνου και το ποσοστό του πληθυσμού που καλύπτεται από το σχέδιο ελέγχου και επιτήρησης.⁵

Ιδιαίτερη βαρύτητα έχει δοθεί στην ανακάλυψη νέων φαρμάκων, τα οποία πρέπει να πληρούν ορισμένες προϋποθέσεις, προκειμένου να συνεισφέρουν στην εξάλειψη της HAT και την ίαση των ασθενών. Τα νέα φάρμακα θα πρέπει να διαθέτουν την ικανότητα να διασχίζουν τον ΑΕΦ ώστε να είναι αποτελεσματικά κατά το αιματοεγκεφαλικό στάδιο της νόσου, όπου η ανάγκη για νέους θεραπευτικούς παράγοντες κρίνεται επιτακτική. Η ύπαρξη ενός ασφαλούς, αποτελεσματικού φαρμάκου για το δεύτερο στάδιο θα μπορούσε να μεταμορφώσει τη θεραπεία αυτής της θανατηφόρας ασθένειας, καθώς θα μπορούσε να εξαλείψει τη δύσκολη διαδικασία καθορισμού του σταδίου για κάθε ασθενή με τη χρήση οσφυϊκής παρακέντησης. Για τη θεραπεία των ασθενών του πρώτου σταδίου, η *per os* χορήγηση θα ήταν προτιμότερη, ώστε να αποφευχθούν οι ανεπιθύμητες ενέργειες που συνοδεύουν την ενδομυϊκή και την ενδοφλέβια χορήγηση. Επίσης, ιδανική θα ήταν η ανακάλυψη φαρμάκων, τα οποία θα είναι δραστικά έναντι του *T. b. gambiense*, του *T. b. rhodesiense* αλλά και των μορφών του παρασίτου που εμφανίζουν ανθεκτικότητα στο melarsoprol.⁷⁰

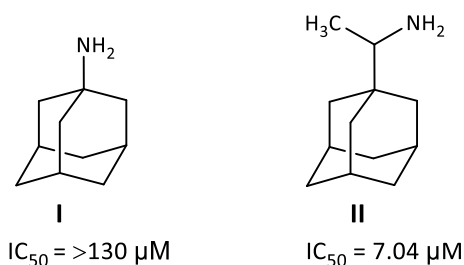
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ

2.1 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΕΝΩΣΕΩΝ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

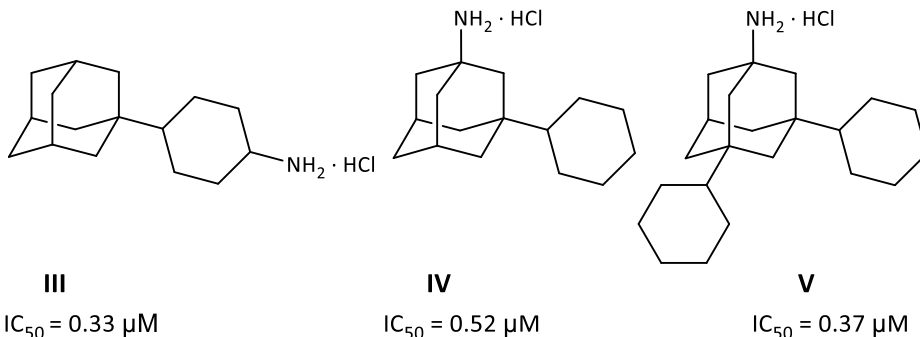
Δεδομένων των περιορισμένων επιλογών για διαθέσιμα φάρμακα, η τρέχουσα χημειοθεραπεία για την καταπολέμηση της HAT παρουσιάζει πολλά προβλήματα. Η χορήγηση των φαρμάκων απαιτεί νοσηλεία των ασθενών, είναι μακράς διάρκειας, ενώ η θεραπεία με το πλέον αποτελεσματικό σχήμα NECT έχει υψηλό κόστος και ορισμένες φορές δεν εξαλείφεται επιτυχώς η παρασιταϊμία. Επίσης, τα φάρμακα, κυρίως του δεύτερου σταδίου, εμφανίζουν μεγάλη τοξικότητα και σε συνδυασμό με την ανάπτυξη αντοχής έναντι του melarsorol και του pentamidine και την αδυναμία εμβολιασμού λόγω της αντιγονικής μεταλλαγής, καθίσταται αναγκαία η έρευνα και η ανάπτυξη νέων φαρμάκων κατά του *T. brucei*.⁵⁴

Ο καθηγητής John M. Kelly και οι συνεργάτες του ανακάλυψαν ότι οι BSF του *T. brucei* είναι ιδιαίτερα ευαίσθητες στα αντικά φάρμακα αμανταδίνη I, και σε μεγαλύτερο βαθμό στην ριμανταδίνη II (Εικ. 14). Επιπλέον, απέδειξαν ότι η τρυπανοκτόνος δράση του φαρμάκου εξαρτάται από το pH και ενισχύεται σε αλκαλικό περιβάλλον. Το γεγονός αυτό, υποδεικνύει ότι ο μηχανισμός δράσης της ριμανταδίνης κατά του τρυπανοσώματος προσομοιάζει με αυτόν κατά του ιού της γρίπης, μπλοκάροντας μια διαμεμβρανική αντλία πρωτονίων, η οποία φυσιολογικά διατηρεί σταθερό το ενδοκυτταρικό pH, με αποτέλεσμα η βιωσιμότητα του παρασίτου να καθίσταται αδύνατη σε αλκαλικό περιβάλλον.⁷¹



ΕΙΚΟΝΑ 14| Ευαισθησία των BSF του *T. brucei* στη δράση των αντικών φαρμάκων αμανταδίνη I και ριμανταδίνη II.

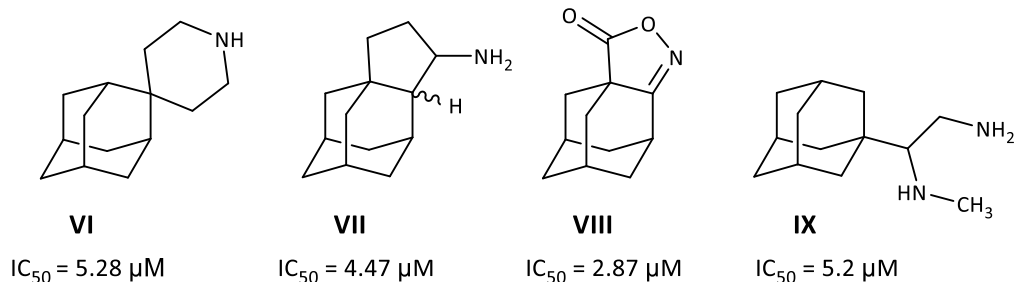
Οι ίδιοι ερευνητές προχώρησαν στην εξέταση της δραστηριότητας ορισμένων αναλόγων της ριμανταδίνης και της αμανταδίνης, τα οποία φέρουν δομικές τροποποιήσεις, και τρία ανάλογα από αυτά (III, IV, V) εμφάνισαν αντιτρυπανοσωμιακή δράση σε υπομικρομοριακή κλίμακα. Πρόκειται για αμινοαμαντανικές ενώσεις με κοινό δομικό χαρακτηριστικό την παρουσία του κυκλοεξανικού δακτυλίου (Εικ. 15).⁷²



ΕΙΚΟΝΑ 15| Ευαισθησία των BSF του *T. brucei* στη δράση των αναλόγων III-V.

Σχεδιασμός

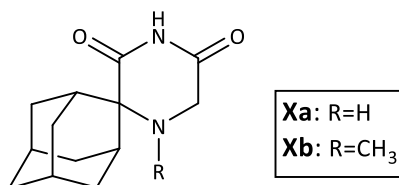
Υπό το πρίσμα των ανωτέρω αποτελεσμάτων και λαμβάνοντας υπόψη ότι το αδαμαντάνιο αποτελεί έναν ιδιαίτερα δραστικό πυρήνα, χαμηλού κόστους, η ερευνητική μας ομάδα σχεδίασε και συνέθεσε μια σειρά αζωτούχων αδαμαντανικών αναλόγων (**Εικ. 16**), εκ των οποίων ορισμένα επέδειξαν ισχυρή αντιτρυπανοσωμιακή δράση συγκρινόμενα με τη ριμανταδίνη και την αμανταδίνη. Γενικώς, ο αδαμαντανικός πυρήνας αποτελεί δομικό στοιχείο πολλών ενώσεων με ευρύ φάσμα θεραπευτικών εφαρμογών. Επίσης, ο αδαμαντανικός πυρήνας έχει χρησιμοποιηθεί για τη διευθέτηση στο χώρο των λειτουργικών ομάδων, οι οποίες σχηματίζουν τη φαρμακοφόρο δομή των μορίων.⁷³ Η μελέτη των σχέσεων δομής-δράσης (Structure-Activity Relationship) αποκάλυψε μια συσχέτιση μεταξύ της αύξησης της λιποφιλίας και της αυξημένης δραστικότητας έναντι του παρασίτου.



ΕΙΚΟΝΑ 16 | Ευαισθησία των BSF του *T. brucei* στη δράση των αναλόγων **VI-IX**.

Οι ενώσεις **VI** και **VII** επέδειξαν τόσο αντική όσο και αντιτρυπανοσωμιακή δράση, ωστόσο τα ανάλογα **VIII** και **IX** εμφάνισαν σημαντική δραστικότητα έναντι του *T. brucei*, αλλά ως αντικοί παράγοντες ήταν σχετικά αναποτελεσματικοί. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι ο μηχανισμός δράσης αυτών των παραγώγων του αδαμαντανίου έναντι του τρυπανοσώματος, διαφέρει πιθανότατα από τον αντίστοιχο κατά του ιού της γρίπης και αναδύεται η ιδέα για την ύπαρξη ενός νέου στόχου.⁷⁴⁻⁷⁶

Για την περαιτέρω διερεύνηση των SARs και δεδομένης της δράσης που επέδειξαν τα ανάλογα **VI** και **VIII**, στα οποία το άζωτο έχει ενσωματωθεί σε ετεροκυκλικό δακτύλιο καθώς και το παράγωγο **IX**, που φέρει δύο άζωτα, σχεδιάστηκαν και συντέθηκαν τα σπειροαδαμαντανικά 2,6-δικετοπιπεραζινικά ανάλογα **Xa** και **Xb** (**Εικ. 17**), τα οποία εξετάστηκαν σε συγκέντρωση 5 $\mu g/mL$, στους 37 °C pH=7.4, έναντι των BSF του *T. brucei*. Η ένωση **Xa** ήταν αδρανής ενώ το αντίστοιχο παράγωγο **Xb** που φέρει μεθυλο-ομάδα στη θέση 4, είχε οριακές επιπτώσεις στην ανάπτυξη του παρασίτου, προκαλώντας 40% αναστολή. Παρά τα αποτελέσματα που ελήφθησαν, η ερευνητική μας ομάδα συνέχισε τη διερεύνηση για τη βελτίωση της αντιτρυπανοσωμιακής δράσης των σπειροκαρβοκυκλικών 2,6-δικετοπιπεραζινών.

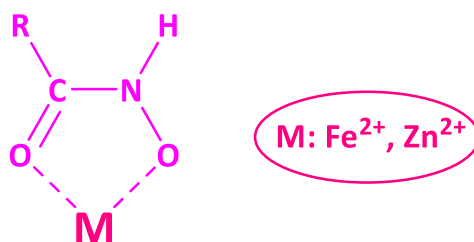


ΕΙΚΟΝΑ 17 | Σπειροαδαμαντανικός δικετοπιπεραζινικός σκελετός υποκατεστημένος με υδρογόνο ή μεθύλιο στο αμινικό άζωτο.

Έκτοτε, το ενδιαφέρον στράφηκε στο σχεδιασμό και τη σύνθεση ενώσεων, οι οποίες έχουν ορισμένες δομικές ομοιότητες με τις προηγούμενες, δρουν όμως σε διαφορετικό στόχο στο τρυπανόσωμα.⁷⁷ Οι γνώσεις για τη μορφολογία του παρασίτου και τις μεταβολικές διεργασίες που επιτελούνται στον πρωτοζωικό αυτό οργανισμό, υπήρξαν καθοριστικές στην αναζήτηση νέων στόχων. Στο *T. brucei* έχουν εντοπιστεί αρκετά μεταλλοένζυμα, που περιέχουν Zn²⁺ ή Fe²⁺ στο καταλυτικό τους κέντρο, η αναστολή

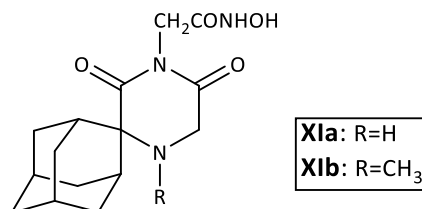
των οποίων αποτελεί μια νέα προσέγγιση στην ανάπτυξη χημειοθεραπευτικών παραγόντων για την αντιμετώπιση της HAT. Ο σχεδιασμός μορίων, τα οποία φέρουν κατάλληλη ομάδα, ικανή να δεσμεύει μεταλλικά ιόντα στο καταλυτικό κέντρο των μεταλλοενζύμων, αποτελεί ένα πολλά υποσχόμενο πεδίο στην ανακάλυψη φαρμάκων.

Τα υδροξαμικά οξέα (Hydroxamic Acids) αποτελούν μια κατηγορία οργανικών ενώσεων, τα οποία φέρουν τη λειτουργική ομάδα R-CO-NH-OH και διαθέτουν την ικανότητα να στοχεύουν και να αναστέλλουν μεταλλοένζυμα μέσω σχηματισμού ισχυρού χηλικού συμπλόκου. Το καρβονυλικό οξυγόνο και το οξυγόνο του υδροξυλίου έπειτα από αποπρωτονίωση, συμπλοκοποιούνται με τα μεταλλικά ιόντα (**Εικ. 18**), ενώ η υδροξαμική ομάδα διαθέτει και άλλες θέσεις, δότες και δέκτες δεσμών υδρογόνου, οι οποίοι ενισχύουν τη σύνδεση και προσδίδουν εκλεκτικότητα για το στόχο. Ο αμιδικός δεσμός της καρβουδροξαμικής ομάδας πρέπει να λάβει τη Z διαμόρφωση, προκειμένου να πραγματοποιηθεί η συμπλοκοποίηση.^{78,79}



ΕΙΚΟΝΑ 18 | Σύνταξη της καρβουδροξαμικής ομάδας με το μεταλλικό ιόν.

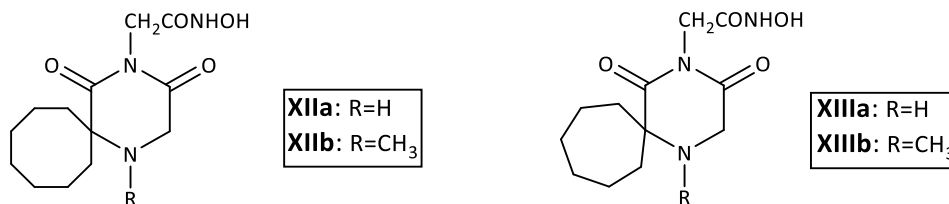
Με βάση τις ανωτέρω παρατηρήσεις, η ερευνητική μας ομάδα εισήγαγε στο ιμιδικό άζωτο των προηγούμενων σπειρατικών 2,6-δικετοπιπεραζινικών αναλόγων **Xa** και **Xb** την ακετούδροξαμική ομάδα (**Εικ. 19**), με σκοπό τη δημιουργία ισχυρών αναστολέων έναντι του *T. brucei*. Από την προσπάθεια αυτή, προέκυψαν τα δραστικά ανάλογα **XIa** και **XIb** (**Εικ. 19**), τα οποία αναστέλλουν 100% την ανάπτυξη του παρασίτου σε συγκέντρωση 5 µg/mL, στους 37 °C σε pH=7.4 και προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις που προκαλούν αναστολή της ανάπτυξης του παρασίτου κατά 50% και 90% (IC₅₀ και IC₉₀ αντίστοιχα) με την ένωση **XIa** να είναι η πιο δραστική με IC₅₀ = 90 nM (**Πίνακας 2**).



ΕΙΚΟΝΑ 19 | Σπειροαδαμαντανικός δικετοπιπεραζινικός σκελετός υποκατεστημένος με την ακετούδροξαμική ομάδα στο ιμιδικό άζωτο και υδρογόνο ή μεθύλιο επί του αμινικού αζώτου.

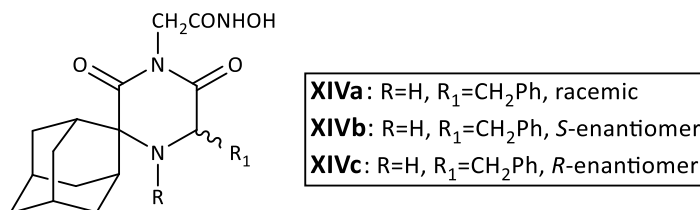
Προκειμένου να μελετηθεί η σχέση λιποφιλίας-δραστικότητας, ο αδαμαντανικός δακτύλιος αντικαταστάθηκε από λιγότερο ογκώδεις και λιποφίλους δακτυλίους, όπως τον κυκλοοκτανικό και τον κυκλοεπτανικό (**Εικ. 20**). Οι ενώσεις οι οποίες προέκυψαν, εμφάνισαν σημαντική αντιτρυπανοσωμιακή δράση, αλλά συγκρινόμενες με το αδαμαντανικό ανάλογο **XIa**, ήταν 3.3 και 21 φορές λιγότερο δραστικές αντίστοιχα. Αυτή η σημαντική απώλεια στη δραστικότητα υπέδειξε την αρνητική επίπτωση που έχει στη δράση, η ελάττωση του όγκου και της λιποφιλίας του υποκαταστάτη της 2,6-δικετοπιπεραζίνης. Επίσης, τα μεθυλιωμένα στο αμινικό άζωτο κυκλοοκτανικά και κυκλοεπτανικά ανάλογα **XIIb** και **XIIIb** επέδειξαν ~1.9 και 6.5 φορές αντίστοιχα, μεγαλύτερη δράση από τα μη μεθυλιωμένα παράγωγα (**Πίνακας 2**).

Σχεδιασμός



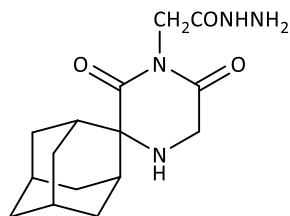
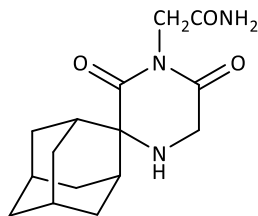
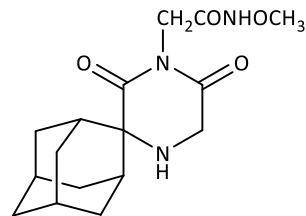
ΕΙΚΟΝΑ 20 | Κυκλοοκτανικός (αριστερά) και κυκλοεπτανικός (δεξιά) δικετοπιπεραζινικός σκελετός υποκατεστημένος με την ακετουδροξαμική ομάδα στο ιμιδικό άζωτο και υδρογόνο ή μεθύλιο επί του αμινικού αζώτου.

Σε επόμενο στάδιο, σχεδιάστηκαν και συντέθηκαν ακετουδροξαμικά οξέα, τα οποία φέρουν μια βενζυλομάδα στη θέση 5 του δικετοπιπεραζινικού δακτυλίου (**Εικ. 21**), με απώτερο σκοπό τη δημιουργία περισσότερων αλληλεπιδράσεων στο καταλυτικό κέντρο του ενζύμου. Επίσης, η εισαγωγή του υποκαταστάτη, οδήγησε στη δημιουργία ενός ασύμμετρου κέντρου στη θέση 5, οπότε πραγματοποιήθηκε έλεγχος της αντιτρυπανοσωμιακής δράσης για το ρακεμικό μείγμα **XIVa**, αλλά και για τα δύο εναντιομερή **XIVb** και **XIVc** ξεχωριστά. Τα εναντιομερή όπως και το ρακεμικό μίγμα τους επέδειξαν ακόμη πιο ισχυρή δράση, συγκρινόμενα με την αδαμαντανική ένωση **XIa** (**Πίνακας 2**), δείχνοντας ότι η συγκεκριμένη ομάδα ευνοεί το σχηματισμό επιπρόσθετων αλληλεπιδράσεων μέσω του αρωματικού δακτυλίου, αυξάνοντας έτσι τη συνδυαστική ικανότητα των αναλόγων με το στόχο.



ΕΙΚΟΝΑ 21 | Αδαμαντανικός δικετοπιπεραζινικός σκελετός υποκατεστημένος με την ακετουδροξαμική ομάδα στο ιμιδικό άζωτο, βενζυλο ομάδα στη θέση 5 και υδρογόνο ή μεθύλιο επί του αμινικού αζώτου.

Στην ίδια εργασία σχεδιάστηκαν και συντέθηκαν τα ανάλογα **XV**, **XVI** και **XVII** (**Εικ. 22**), προκειμένου να αξιολογηθεί η αντιτρυπανοσωμιακή δράση απουσία της υδροξαμικής ομάδας και να μελετηθεί η σημασία της για την εκδήλωση της δράσης. Η αντικατάσταση της ακετουδροξαμικής ομάδας στην ένωση **XIa** από την ακετουδραζιδική επέφερε μείωση στη δράση κατά 1 300 φορές, ενώ το αμιδικό παράγωγο **XVI** και το *O*-μεθυλοακετουδροξαμικό παράγωγο **XVII** ήταν 2 200 και 6 000 φορές λιγότερο δραστικά, αντίστοιχα. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι η ακετουδροξαμική ομάδα είναι απαραίτητη και καθοριστική για τη δράση και ο ισχυρισμός ότι τα ανάλογα αυτά δρουν αναστέλλοντας ένα ζωτικό μεταλλοένζυμο του παρασίτου, μέσω δέσμευσης του μεταλλικού ιόντος, επιβεβαιώνεται κατά κύριο λόγο. Συμπερασματικά, προκύπτει ότι η σπειρανικώς υποκατεστημένη 2,6-δικετοπιπεραζινική δομή αποτελεί κατάλληλο δομικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη αντιτρυπανοσωμιακών παραγόντων μέσω υποκατάστασης του ιμιδικού αζώτου με την ακετουδροξαμική ομάδα, και οδηγεί σε ανάλογα με ισχυρή δράση κατά του *T. brucei*.⁷⁷

**XV**IC₅₀ = 118 μM**XVI**IC₅₀ = 200 μM**XVII**IC₅₀ = 542 μM

ΕΙΚΟΝΑ 22 | Αδαμαντανικά δικετοπιπεραζινικά ανάλογα υποκατεστημένοι με την ακετουδραζιδική, την ακεταμιδική και την *O*-μεθυλοακετουδροξαμική ομάδα επί του ιμιδικού αζώτου.

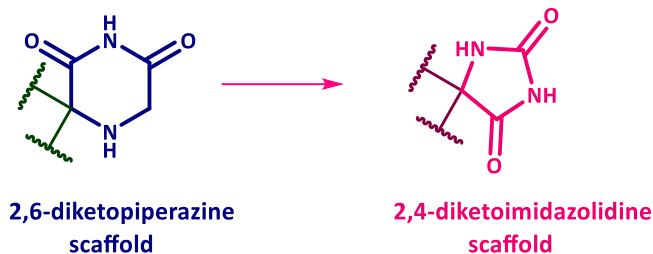
ΠΙΝΑΚΑΣ 2 | Αντιτρυπανοσωμιακή δράση των ενώσεων **XIa-XIc** έναντι καλλιέργειας των BSF του *T. brucei* και κυτταροτοξικότητα των ενώσεων έναντι καλλιέργειας της L6 κυτταρικής σειράς σκελετικών μυοβλαστών επιμύων.

Ένωση	Δραστικότητα		Κυτταροτοξικότητα	
	IC ₅₀ (nM) ^a	IC ₉₀ (nM) ^a	IC ₅₀ (μM) ^b	SI ^c
XIa	90±16	155±7	>325	>3600
XIb	193±28	328±28	40.4±5.6	210
XIIa	300±25	635±14		
XIIb	158±34	300±34		
XIIIa	1870±80	2530±290		
XIIIb	285±9	673±56		
XIVa	17±1	26±3	23.7±0.4	1400
XIVb	6.8±1.4	11.5±2	10.4±0.9	1500
XIVc	9.1±0.2	14±1	11.6±1.5	1300

^aΣυγκεντρώσεις που απαιτούνται για την αναστολή της ανάπτυξης του *T. brucei* κατά 50% και 90%, αντίστοιχα. Οι τιμές IC₅₀ και IC₉₀ είναι ο μέσος όρος τριών πειραμάτων ± SEM. ^bΗ κυτταροτοξικότητα προσδιορίσθηκε ως η συγκέντρωση που απαιτείται για την αναστολή της ανάπτυξης καλλιεργούμενων L6 κυττάρων κατά 50% (IC₅₀). Οι τιμές IC₅₀ είναι ο μέσος όρος τριών πειραμάτων ± SEM. ^cΟι δείκτες εκλεκτικότητας προέκυψαν από το λόγο της τιμής IC₅₀ για τα L6 κύτταρα προς την τιμή IC₅₀ για το *T. brucei*.

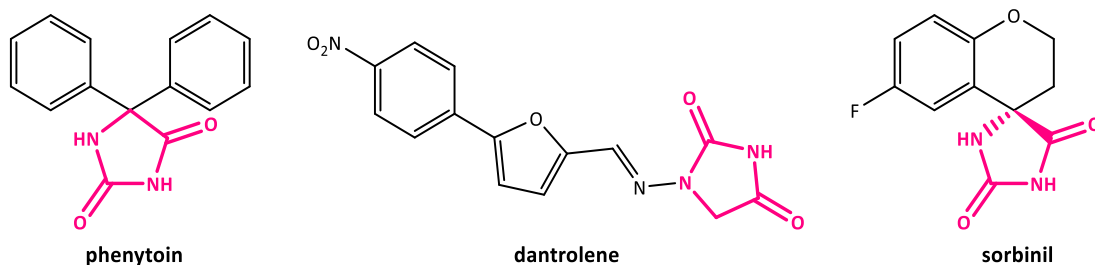
Στην παρούσα εργασία, με δεδομένη την αντιτρυπανοσωμιακή δράση των ενώσεων, που προαναφέρθηκαν, σχεδιάστηκαν και συντέθηκαν ανάλογα, στα οποία ο δικετοπιπεραζινικός δακτύλιος έχει αντικατασταθεί από αυτόν της 2,4-δικετοϊμιδαζολιδίνης ή υδαντοΐνης, όπως είναι το κοινόχρηστο του όνομα (**Εικ. 23**). Η αλλαγή αυτή πραγματοποιήθηκε με σκοπό τα νεοσυντιθέμενα ανάλογα να λάβουν την κατάλληλη θέση στο ενεργό κέντρο του ενζύμου, η οποία θα συμβάλλει στην ενίσχυση των σταθεροποιητικών αλληλεπιδράσεων με το ένζυμο-στόχο.

Σχεδιασμός



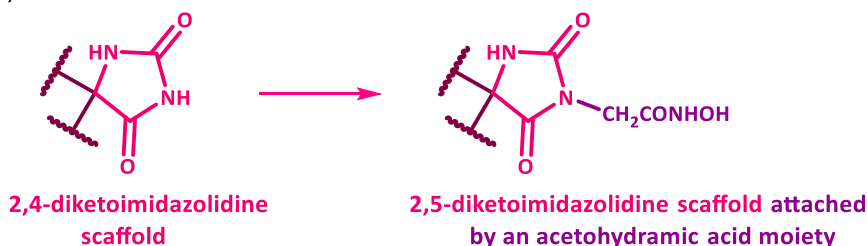
ΕΙΚΟΝΑ 23 | Αντικατάσταση του δικετοπιπεραζιτικού σκελετού από το δικετοϊμιδαζολιδινικό. Ο δικετοπιπεραζιτικός και ο δικετοϊμιδαζολιδινικός δακτύλιος επισημαίνονται με μπλε και ροζ χρώμα αντίστοιχα.

Τα τελευταία χρόνια, οι υδαντοΐνες, οι οποίες αποτελούν οξειδωμένες μορφές των ιμιδαζολιδινών, έχουν βρει ευρεία χρήση στο σχεδιασμό και τη σύνθεση ενώσεων που εξετάζονται έναντι διαφόρων ασθενειών. Ο ίδιος ο δακτύλιος της υδαντοΐνης δεν εμφανίζει καμιά βιολογική δράση, σε αντίθεση με τα 5-υποκατεστημένα και 5,5-δισυποκατεστημένα ανάλογά του, τα οποία έχουν ευρύ φάσμα θεραπευτικών εφαρμογών. Ανάλογα υδαντοϊνών έχουν χρησιμοποιηθεί ως αντισπασμωδικά (π.χ φαινυτοΐνη), μυοχαλαρωτικά (π.χ δαντρολένη) και για την αντιμετώπιση διαβητικών επιπλοκών (π.χ σορβινίλη) (**Εικ. 24**).^{80,81}



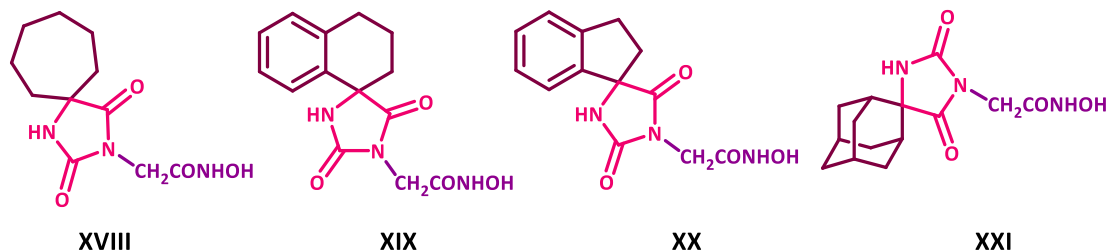
ΕΙΚΟΝΑ 24 | Φάρμακα που χρησιμοποιούνται στη θεραπευτική και διαθέτουν τον υδαντοϊνικό σκελετό.

Στην παρούσα εργασία, το ιμιδικό άζωτο της 2,4-ιμιδαζολιδινοδίωνης είναι υποκατεστημένο με την ακετούδροξαμική ομάδα (**Εικ. 25**), η οποία, όπως φαίνεται, είναι απαραίτητη, προκειμένου να επιτευχθεί η αναστολή μεταλλοενζύμων του παρασίτου, μέσω σχηματισμού χηλικού συμπλόκου. Η θέση 5 του σκελετού της ιμιδαζολιδινοδίωνης είναι σπειρανικώς υποκατεστημένη με καρβοκυκλικούς δακτύλιους.



ΕΙΚΟΝΑ 25 | Ενσωμάτωση της ακετούδροξαμικής ομάδας στο ιμιδικό άζωτο του δικετοϊμιδαζολιδινικού σκελετού. Ο δικετοϊμιδαζολιδινικός σκελετός και η ακετούδροξαμική ομάδα επισημαίνονται με ροζ και μωβ χρώμα, αντίστοιχα.

Η ερευνητική μας ομάδα έχει ήδη συνθέσει μια σειρά σπειρανικών καρβοκυκλικών κορεσμένων ή αρωματικών αναλόγων των 2,4-ιμιδαζολιδινοδίωνων, τα οποία φέρουν ακετοϋδροξαμική ομάδα στο ιμιδικό τους άζωτο (**Εικ. 26**). Οι ενώσεις αυτές εξετάστηκαν έναντι της αιματικής μορφής του *T. brucei* σε συγκέντρωση 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ στους 37 °C σε pH=7.4, όπου διαπιστώθηκε ότι αναστέλλουν 100% την ανάπτυξη του παρασίτου και προσδιορίστηκαν περαιτέρω οι τιμές IC₅₀ και IC₉₀.



ΕΙΚΟΝΑ 26 | Δικετοϊμιδαζολιδινικά ανάλογα υποκατεστημένα με την ακετοϋδροξαμική ομάδα και σπειρανικούς καρβοκυκλικούς κορεσμένους ή αρωματικούς δακτυλίους στη θέση 5.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3 | Αντιτρυπανοσωμιακή δράση των ενώσεων **XVIII-XXI** έναντι καλλιέργειας των BSF του *T. brucei* και κυτταροτοξικότητα των ενώσεων έναντι καλλιέργειας της L6 κυτταρικής σειράς σκελετικών μυοβλαστών επιμύων.

Ένωση	Δραστικότητα		Κυτταροτοξικότητα	
	IC ₅₀ ^a	IC ₉₀ ^a	IC ₅₀ ^b	SI ^c
Συγκέντρωση σε μM				
XVIII	1.45±0.31	2.39±0.31	753±24	519
XIX	0.71±0.12	1.27±0.02	419±55	590
XX	0.44±0.08	0.08±0.02	268±9	609
XXI	0.13±0.02	0.019±0.01	130±10	1000

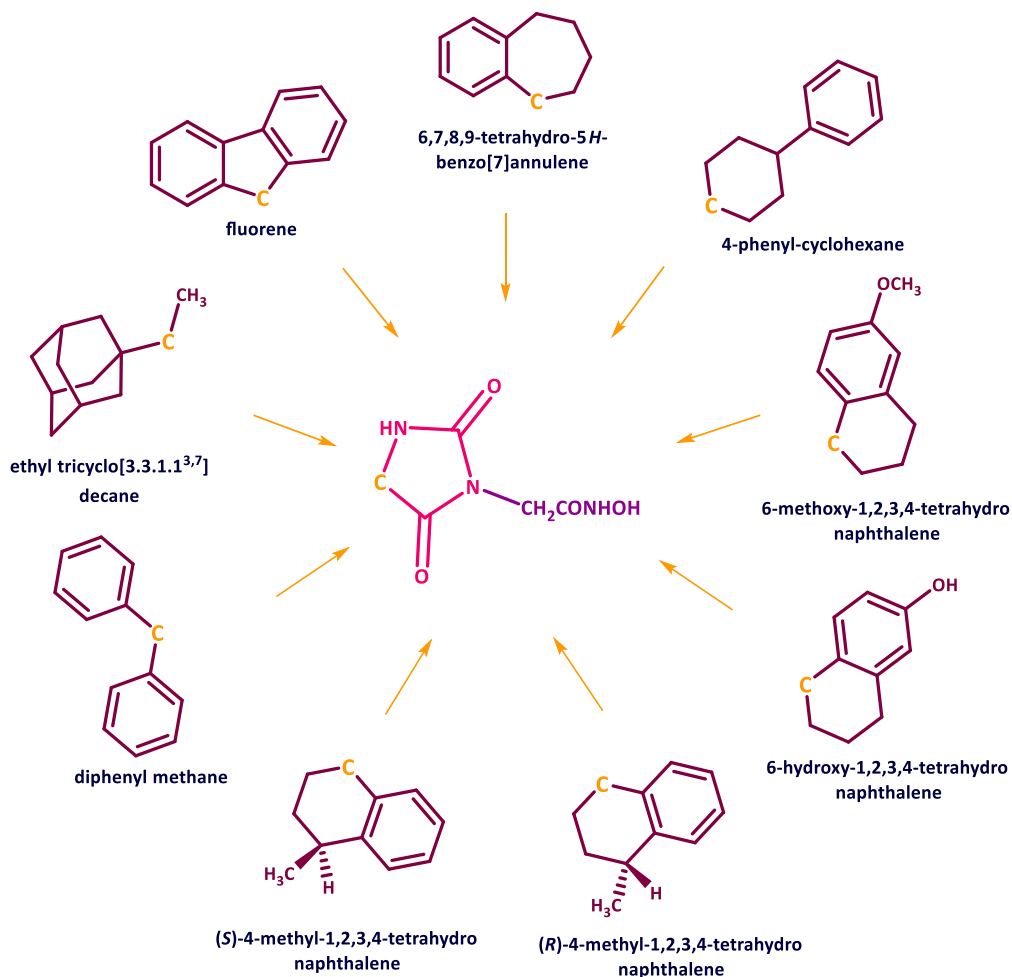
^aΣυγκεντρώσεις που απαιτούνται για την αναστολή της ανάπτυξης του *T. brucei* κατά 50% και 90%, αντίστοιχα. Οι τιμές IC₅₀ και IC₉₀ είναι ο μέσος όρος τριών πειραμάτων ± SEM. ^bΗ κυτταροτοξικότητα προσδιορίστηκε ως η συγκέντρωση που απαιτείται για την αναστολή της ανάπτυξης καλλιεργούμενων L6 κυττάρων κατά 50% (IC₅₀). Οι τιμές IC₅₀ είναι ο μέσος όρος τριών πειραμάτων ± SEM. ^cΟι δείκτες εκλεκτικότητας προέκυψαν από το λόγο της τιμής IC₅₀ για τα L6 κύτταρα προς την τιμή IC₅₀ για το *T. brucei*.

Όπως φαίνεται στον **Πίνακα 3**, η αντικατάσταση του σκελετού της 2,6-δικετοπιπεραζίνης του αναλόγου **XIIIa** από το δικετοϊμιδαζολιδινικό, οδήγησε στην ένωση **XVIII**, η οποία είναι 1.3 φορές πιο δραστική. Το ανάλογο **XIX**, το οποίο φέρει ως υποκαταστάτη τον περισσότερο λιπόφιλο 1,2,3,4-τετραϋδρωναφθαλινικό δακτύλιο, είναι 2 φορές δραστικότερο από το παράγωγο **XVIII**. Ομοίως, στο ανάλογο **XX**, η επιλογή του 2,3-διυδρο-1*H*-ινδανίου ως υποκαταστάτη, ο οποίος είναι πιο ογκώδης και λιπόφιλος από τον κυκλοεπτανικό δακτύλιο, επέφερε αύξηση της δράσης κατά 3.3 φορές. Αυτή η αύξηση για τα ανάλογα **XIX** και **XX**, συγκριτικά με την ένωση **XVIII**, καταδεικνύει τη θετική επίδραση που επιφέρει η αύξηση του όγκου και της λιποφιλίας του σπειρανικού υποκαταστάτη και αντανακλά τη θετική συσχέτιση μεταξύ λιποφιλίας και δραστικότητας. Το ανάλογο **XXI**, υποκατεστημένο με τον ογκώδη σκελετό του αδαμαντανίου, είναι το πιο δραστικό της σειράς με IC₅₀ μόλις 0.13 μM . Από τα αποτελέσματα της φαρμακολογικής αξιολόγησης των ενώσεων, αναδύεται η νέα, πολλά υποσχόμενη, σπειρανικώς υποκατεστημένη 2,6-δικετοπιπεραζική δομή, η οποία υποκατεστημένη με τη

Σχεδιασμός

φαρμακοφόρο ακετοϋδροξαμική ομάδα, μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη νέων ισχυρών αντιτρυπανοσωμιακών παραγόντων. Η κυτταροτοξικότητα των ενώσεων προσδιορίστηκε σε καλλιέργειες της L6 κυτταρικής σειράς σκελετικών μυοβλαστών επιμύων και τα αποτελέσματα υπέδειξαν ότι τα κύτταρα των θηλαστικών ήταν ανθεκτικά στη δράση των υπο εξέταση ενώσεων, οι οποίες συνοδεύονται από υψηλούς δείκτες εκλεκτικότητας.

Με βάση τα παραπάνω, σχεδιάστηκαν και συντέθηκαν σπειρανικές 2,4-δικετοϊμιδαζολιδίνες με ποικιλία καρβοκυκλικών δακτυλίων (**Εικ. 27**), που φέρουν την ακετοϋδροξαμική ομάδα, με στόχο τη βελτίωση της αντιτρυπανοσωμιακής δράσης και την εξαγωγή επιπροσθέτων SARs, οι οποίες θα συμβάλλουν στη σκιαγράφηση του ενεργού κέντρου του μεταλλοενζύμου που πιθανώς αναστέλλεται και στην προσέγγιση του στόχου.



ΕΙΚΟΝΑ 27 | Σπειρανικά δικετοϊμιδαζολιδινικά ανάλογα ακετοϋδροξαμικών οξέων. Η θέση με την οποία συνδέεται ο σπειρανικός υποκαταστάτης επισημαίνεται με πορτοκαλί χρώμα. Ο υδαντοϊνικός σκελετός και η ακετοϋδροξαμική ομάδα επισημαίνονται με ροζ και μωβ χρώμα, αντίστοιχα.

Ο σχεδιασμός των νέων ενώσεων βασίστηκε στα ακόλουθα:

1. Μελέτη της επίδρασης διαφόρων υποκαταστατών επί του δακτυλίου του 1,2,3,4-τετραϋδروναφθαλινίου
2. Διερεύνηση της αύξησης του όγκου και της λιποφιλίας των υπάρχοντων υποκαταστατών με την ενσωμάτωση αρωματικών δακτυλίων
3. Διερεύνηση της αύξησης του όγκου και της λιποφιλίας των μορίων καθώς και μείωση της δυσκαμψίας τους μέσω αλλαγής του τρόπου σύνδεσης των υποκαταστατών (μη σπειριανική σύνδεση) με τον 2,4-δικετοϊμιδαζολιδινικό δακτύλιο

Η ενσωμάτωση υποκατεστημένου 1,2,3,4-τετραϋδροναφθαλινικού δακτυλίου στο δικετοϊμιδαζολιδινικό σκελετό, πραγματοποιήθηκε προκειμένου να μελετηθεί εάν η παρουσία υποκαταστατών δύναται να αυξήσει τη συνδετική ικανότητα της ένωσης με το στόχο, μέσω ανάπτυξης επιπρόσθετων αλληλεπιδράσεων και να βρεθεί η θέση στην οποία η υποκατάσταση είναι ευνοϊκότερη για την εκδήλωση της δράσης. Η ύπαρξη μεθοξυομάδας στη θέση 6 του τετραϋδροναφθαλινικού δακτυλίου θα μπορούσε να ενισχύσει τη σύνδεση μέσω δημιουργίας δύο δεσμών, ενός δεσμού υδρογόνου του οξυγόνου της μεθοξυ ομάδας (θέση δέκτης) και Van der Waals αλληλεπιδράσεων του μεθυλίου, ενώ η παρουσία υδροξυ ομάδας οδηγεί στο σχηματισμό ενός μόνο δεσμού υδρογόνου (θέση δέκτης) και στη μείωση της λιποφιλίας του μορίου. Η μεθυλομάδα στη θέση 4 του ίδιου δακτυλίου έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός στερεογονικού κέντρου και σε συνδυασμό με την ύπαρξη του χειρόμορφου σπειριανικού άνθρακα, προκύπτει ένα μείγμα διαστερομερών, τα οποία διαχωρίστηκαν με χρωματογραφία στήλης και μελετήθηκαν ως προς τη δράση τους.

Τα ανάλογα που φέρουν ως υποκαταστάτη το 6,7,8,9-τετραϋδρο-5*H*-βενζο[7]αννουλένιο και το φλουορένιο σχεδιάστηκαν με το σκεπτικό να βελτιωθεί η δράση των αναλόγων **XVIII** και **XX** αντίστοιχα, καθώς το εκτεταμένο αρωματικό σύστημα των πρώτων, ευνοεί το σχηματισμό π-αλληλεπιδράσεων (π-effect). Σε τέτοιου τύπου μη-ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις, ένα πλούσιο σε ηλεκτρόνια π σύστημα μπορεί να αλληλοεπιδράσει με ένα μεταλλικό κατιόν, ένα ανιόν, ένα άλλο μόριο, ακόμη και ένα άλλο π σύστημα.

Το γεγονός ότι, το αδαμαντάνιο συνιστά μια προνομιούχο δομή για την ανάπτυξη παραγόντων κατά του *T. brucei*, αποτέλεσε εφελκυστικό για τη σύνθεση του 4-αδαμαντυλο-4-μεθυλο-2,5-δικετοϊμιδαζολιδινο-1-ακετοϋδροξαμικού οξέος, προκειμένου να καταδειχθεί αν ο συνδυασμός του αδαμαντανίου υποκατεστημένου στη θέση 1 με το 2,4-δικετοϊμιδαζολιδινικό σκελετό είναι επιτυχής, ενισχυμένος από μια επιπλέον αλληλεπίδραση της μεθυλο ομάδας.

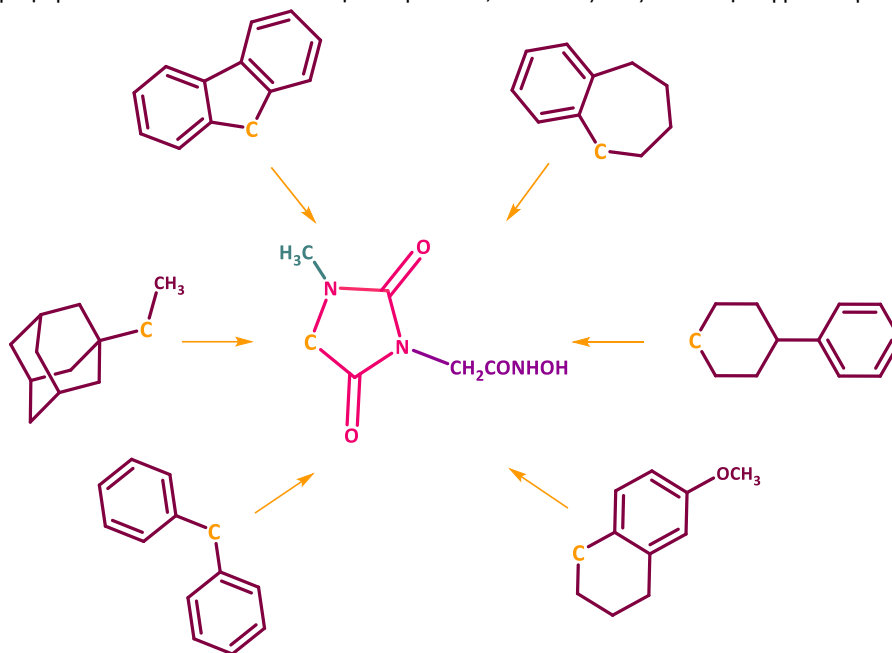
Η 5,5-δισυποκατάσταση με φαινύλιο στον υδαντοϊνικό δακτύλιο πραγματοποιήθηκε προκειμένου να μελετηθεί η δράση του αντίστοιχου ακετοϋδροξαμικού παραγώγου συγκριτικά με το φλουορενικό ανάλογο. Απώτερος σκοπός ήταν, να διερευνηθεί εάν η ελεύθερη περιστροφή γύρω από το σπειριανικό άνθρακα είναι ευνοϊκή ή εάν είναι επιθυμητή μια περισσότερο άκαμπτη σκελετική διάταξη, καθώς το μόριο μπορεί να λάβει μεγάλο αριθμό διαμορφώσεων, ορισμένες εκ των οποίων έχουν ελαφρώς υψηλότερο ενεργειακό περιεχόμενο, λόγω της απόθησης μεταξύ των ατόμων ή μεταξύ ομάδων συνδεδεμένων σε παρακείμενα άτομα άνθρακα καθώς πλησιάζουν το ένα το άλλο εξαιτίας αυτής της περιστροφής.

Λαμβάνοντας υπόψη τη δράση των καρβοκυκλικών αναλόγων των 2,6-δικετοπιπεραζινών **XIIa** και **XIIIa**, του καρβοκυκλικού παραγώγου της 2,4-δικετοϊμιδαζολιδίνης **XVIII** και σε συνδυασμό με τη δράση της προκαταρκτικής ένωσης **III**, σχεδιάστηκε το ανάλογο που φέρει την 4-φαινυλο-κυκλοεξυλο ομάδα ως υποκατάσταση. Το σκεπτικό ήταν να διατηρηθεί η παρουσία του καρβοκυκλικού δακτυλίου, όπου στην περίπτωση αυτή ήταν το κυκλοεξάνιο και να αυξηθεί η συνδετική ικανότητα από την ύπαρξη αρωματικού πυρήνα, ο οποίος μπορεί να συνδεθεί στο στόχο μέσω σχηματισμού συμπλόκων μεταφοράς φορτίων, όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Επίσης, για την εξαγωγή ασφαλέστερων SAR, το ανάλογο αυτό μπορεί να συγκριθεί με την ένωση **XIX**, όπου ο κυκλοεξανικός και ο βενζολικός δακτύλιος δεν είναι

Σχεδιασμός

πλέον συμπυκνωμένοι, και να μελετηθεί η επίδραση στη θέση κατάληψης, καθώς η διευθέτηση του μορίου στο χώρο έχει αλλάξει και η ελεύθερη περιστροφή γύρω από το δεσμικό άξονα του σ δεσμού είναι δυνατή.

Επιπλέον, στηριζόμενοι στο γεγονός ότι οι κυκλοεπτανικές και κυκλοοκτανικές 2,6-δικετοπιπεραζίνες, οι οποίες είναι υποκατεστημένες με μεθυλομάδα στο βασικό άζωτο της θέσης 4, έχουν καλύτερη δράση από τα αντίστοιχα μη μεθυλιωμένα παράγωγα, προχωρήσαμε σε μια επιπρόσθετη δομική τροποποίηση με την εισαγωγή ενός μεθυλίου στο αμιδικό άζωτο της σκελετικής διάταξης της 2,4-δικετοϊμιδαζολιδίνης (**Εικ. 28**). Τα μεθυλιωμένα στο αμιδικό άζωτο ανάλογα που προκύπτουν, σταθεροποιούνται περαιτέρω μέσω υδρόφοβων και Van der Waals αλληλεπιδράσεων, οι οποίες αυξάνουν τη συγγένεια για το στόχο.

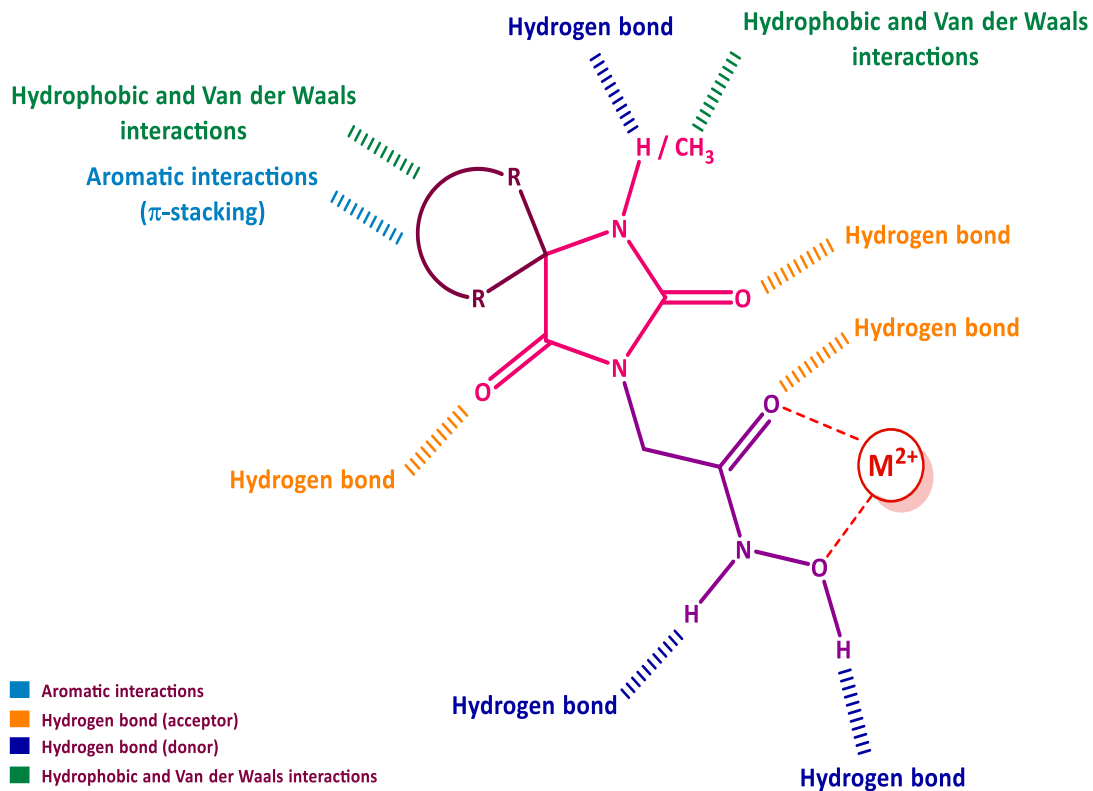


ΕΙΚΟΝΑ 28 | Σπειρανικά δικετοϊμιδαζολιδινικά ανάλογα ακετοϋδροξαμικών οξέων υποκατεστημένα με μεθύλιο στο αμιδικό άζωτο. Η θέση σύνδεσης του σπειρανικού υποκαταστάτη επισημαίνεται με πορτοκαλί χρώμα. Ο υδαντοϊνικός σκελετός και η ακετοϋδροξαμική ομάδα επισημαίνονται με ροζ και μωβ χρώμα, αντίστοιχα.

Οι πιθανές αλληλεπιδράσεις (**Εικ. 29**) κατά την πρόσδεση των μορίων στην καταλυτική θέση είναι οι ακόλουθες:

1. Δεσμοί υδρογόνου του υδροξυλικού ή του αμιδικού υδρογόνου της ακετοϋδροξαμικής ομάδας (θέσεις δότες δεσμών H)
2. Δεσμός υδρογόνου του καρβονυλικού οξυγόνου της ακετοϋδροξαμικής ομάδας (θέση δέκτης δεσμού H)
3. Δεσμοί υδρογόνου των καρβονυλικών οξυγόνων του δικετοϊμιδαζολιδινικού σκελετού (θέσεις δέκτες δεσμών H)
4. Δεσμός υδρογόνου του αμιδικού υδρογόνου του δικετοϊμιδαζολιδινικού σκελετού
5. Υδρόφοβη αλληλεπίδραση του μεθυλίου στο αμιδικό άζωτο της ιμιδαζολιδινοδίνης
6. Υδρόφοβες και αρωματικές αλληλεπιδράσεις των καρβοκυκλικών δακτυλίων

7. Χηλικό σύμπλοκο του δισθενούς μεταλλοϊόντος με την καρβοϋδροξαμική ομάδα



ΕΙΚΟΝΑ 29 | Πιθανές αλληλεπιδράσεις των νέων αναλόγων στο ενεργό κέντρο του ενζύμου στόχου.

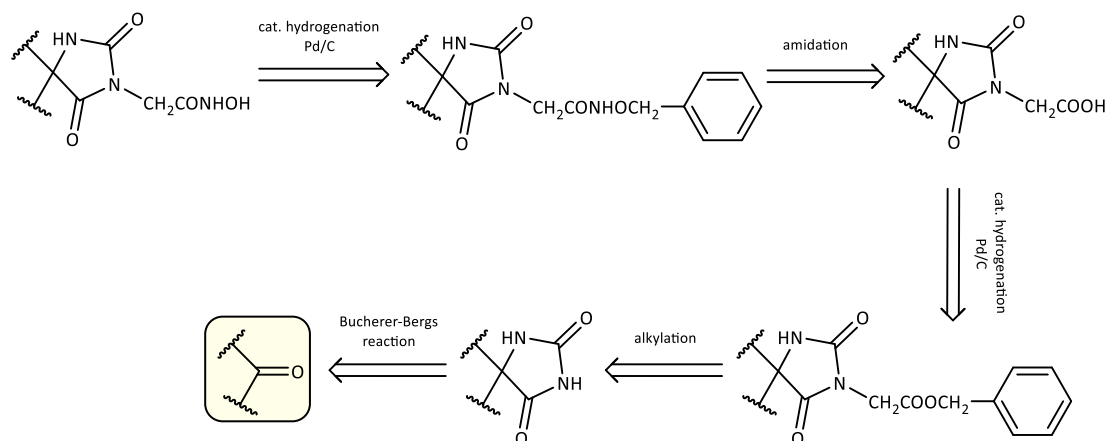
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΧΗΜΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1 ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

3.1.1 ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΑΚΕΤΟΪΔΡΟΞΑΜΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 46, 47

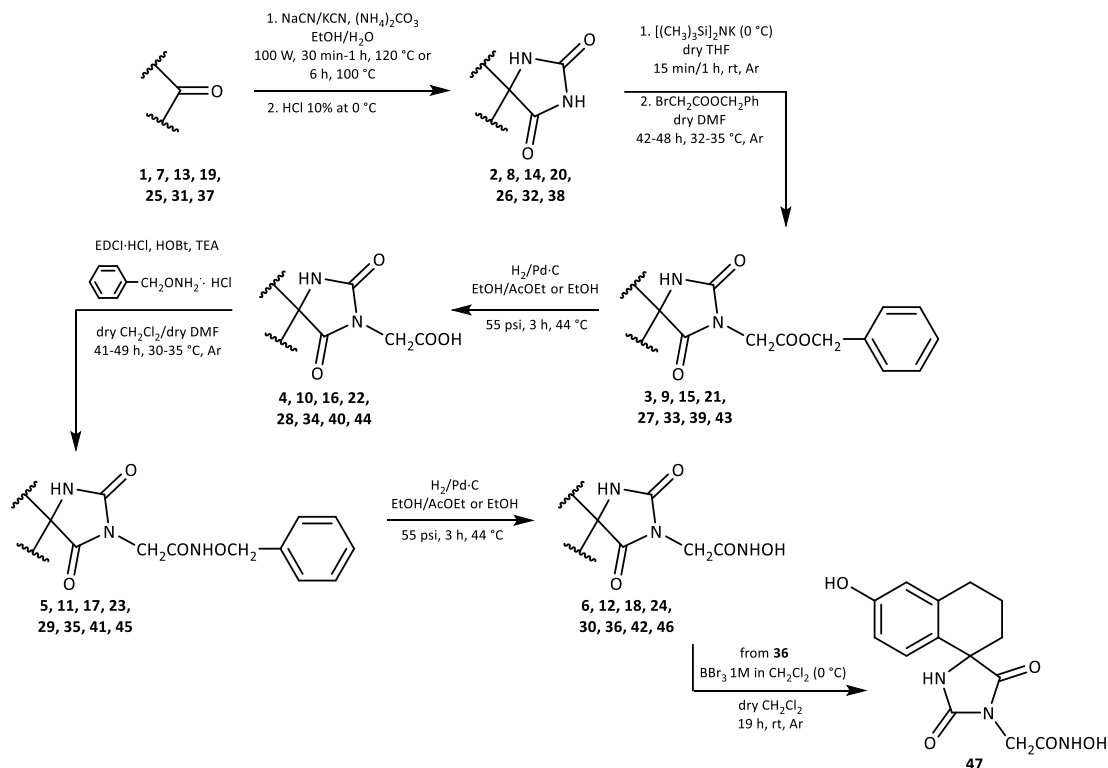
Η ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση των αναλόγων **6**, **12**, **18**, **24**, **30**, **36**, **42**, **46**, **47** απεικονίζεται στο **Σχ. 2**. Τα τελικά *N*-υδροξυακεταμίδια λαμβάνονται από τα αντίστοιχα *N*-(φαινυλομεθοξυ)ακεταμίδια μετά από αποβενζυλίωση με καταλυτική υδρογόνωση. Τα τελευταία προκύπτουν από τη σύζευξη των καρβοξυλικών οξέων με την *O*-βενζυλοϋδροξυλαμίνη, παρουσία παραγόντων ενεργοποίησης του καρβοξυλίου για τη δημιουργία του αμιδικού δεσμού. Ο σχηματισμός των καρβοξυλικών οξέων πραγματοποιείται με καταλυτική υδρογόνωση των βενζυλεστέρων, οι οποίοι είναι προϊόντα της πυρηνόφιλης προσβολής του βρωμοξικού βενζυλεστέρα στο ιμιδικό άζωτο των δικετοϊμιδαζολιδινών (υδαντοΐνες), έπειτα από αποπρωτονίωση. Ο υδαντοϊνικός σκελετός σχηματίζεται μετά από επίδραση ανθρακικού αμμωνίου $[(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3]$ και ενός κυανιούχου άλατος επί των αντίστοιχων κετονών, μέσω της αντίδρασης *Bucherer-Bergs*.⁸¹⁻⁸⁴



ΣΧΗΜΑ 2 | Ρετροσυνθετική πορεία για τη λήψη των αναλόγων **6**, **12**, **18**, **24**, **30**, **36**, **42**, **46**, **47**.

Η συνθετική πορεία για τη λήψη των ενώσεων **6**, **12**, **18**, **24**, **30**, **36**, **42**, **46**, **47** φαίνεται στο **Σχ. 3**. Ως πρώτες ύλες για τη σύνθεση των αναλόγων, χρησιμοποιούνται οι αντίστοιχες κετόνες. Επίδραση κυανιούχου νατρίου/καλίου (NaCN/KCN) και $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ επί των κετονών **1**, **7**, **13**, **19**, **25**, **31**, **37** και επακόλουθη οξίνιση, οδηγεί στο σχηματισμό των 2,4-δικετοϊμιδαζολιδινών **2**, **8**, **14**, **20**, **26**, **32**, **38**. Ακολούθως, οι λαμβανόμενες υδαντοΐνες κατεργάζονται με κάλιο δις(τριμεθυλοσιλυλο)αμίδιο ($[(\text{CH}_3)_3\text{Si}]_2\text{NK}$) σε άνυδρο τετραϋδροφουράνιο (THF), σχηματίζονται τα αντίστοιχα μετά καλίου ιμιδικά άλατα, τα οποία με επίδραση βρωμοξικού βενζυλεστέρα σε άνυδρο διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF) μετατρέπονται προς τους βενζυλεστέρες **3**, **9**, **15**, **21**, **27**, **33**, **39**, **43**. Καταλυτική υδρογόνωση αυτών παρουσία παλλαδίου επί άνθρακος (Pd/C), οδηγεί στα αντίστοιχα καρβοξυλικά οξέα **4**, **10**, **16**, **22**, **28**, **34**, **40**, **44**. Τα τελευταία μετατρέπονται προς τα *N*-(φαινυλομεθοξυ)ακεταμίδια **5**, **11**, **17**, **23**, **29**, **35**, **41**, **45** μετά από σύζευξη με *O*-βενζυλοϋδροξυλαμίνη παρουσία 1-(3-διμεθυλαμινοπροπυλ)-3-αιθυλοκαρβοδιιμιδίου (EDCI), 1-υδροξυβενζοτριζολίου (HOBt) και τριαιθυλαμίνης (TEA) σε μείγμα άνυδρου διχλωρομεθανίου (CH_2Cl_2)/άνυδρου DMF. Αποβενζυλίωση των *O*-βενζυλοξυακεταμιδίων με καταλυτική υδρογόνωση οδηγεί στο σχηματισμό των ακετοϋδροξιαμικών οξέων **6**, **12**, **18**, **24**, **30**, **36**, **42**, **46**, **47**. Το υδροξυ-παράγωγο **47** λαμβάνεται από το αντίστοιχο μεθοξυ-παράγωγο μετά από κατεργασία με τριβρωμιούχο βόριο (BBr_3 1M σε άνυδρο CH_2Cl_2) σε άνυδρο CH_2Cl_2 .

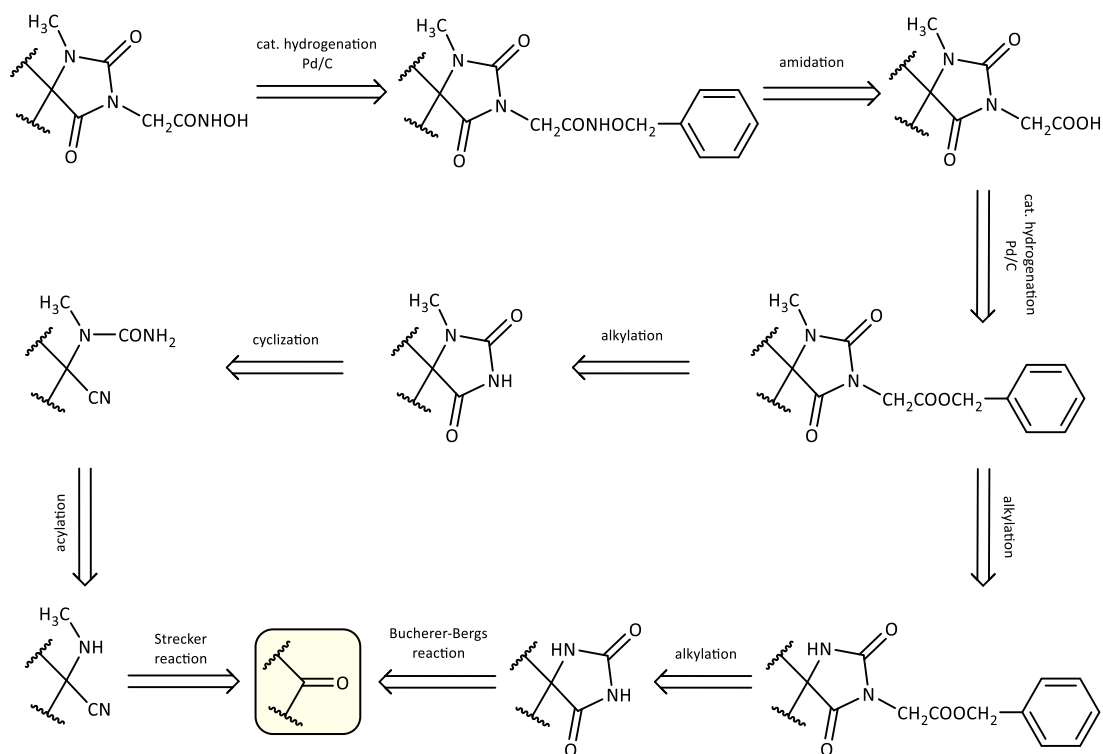
Χημικό Μέρος



ΣΧΗΜΑ 3 | Συνθετική πορεία για τη λήψη των αναλόγων 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 46, 47.

3.1.2 ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΑΚΕΤΟΪΔΡΟΞΑΜΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ 54, 61, 68, 75, 79, 83

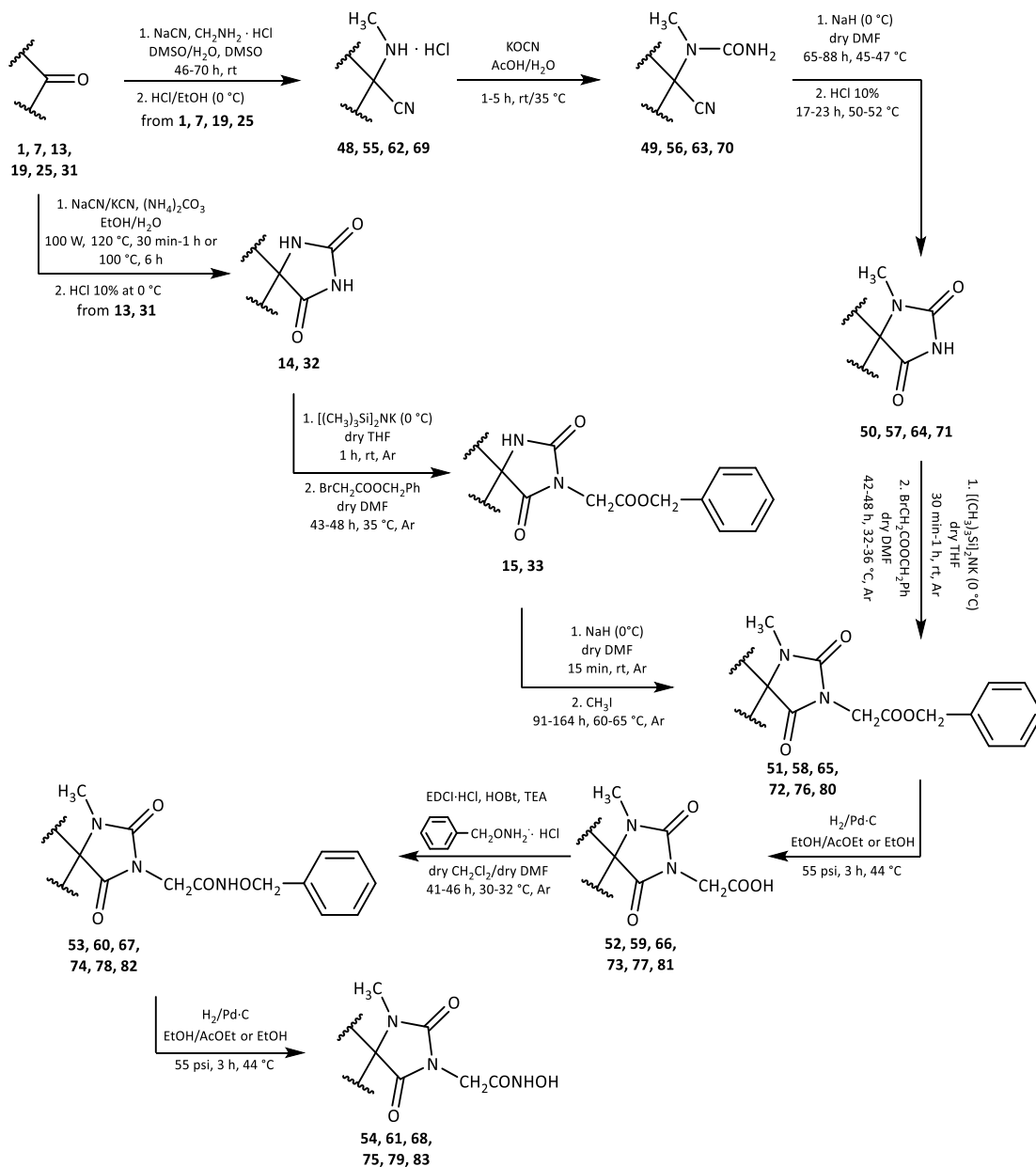
Η ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση των ενώσεων απεικονίζεται στο Σχ. 4. Τα τελικά μεθυλιωμένα επί του αμιδικού αζώτου ακετοϋδροξαμικά οξέα λαμβάνονται με καταλυτική υδρογονόλυση των *O*-βενζυλοϋδροξαμικών αναλόγων, των οποίων η σύνθεση πραγματοποιείται με επίδραση *O*-βενζυλοϋδροξυλαμίνης στα αντίστοιχα καρβοξυλικά οξέα, παρουσία παραγόντων ενεργοποίησης της καρβοξυλικής ομάδας. Τα καρβοξυλικά οξέα λαμβάνονται μετά από αποπροστασία με καταλυτική υδρογονόλυση των *N*-3-μεθυλιωμένων βενζυλεστέρων. Για το σχηματισμό αυτών, είτε πραγματοποιείται μεθυλίωση στο αμιδικό άζωτο των αντίστοιχων βενζυλεστέρων με μεθυλοϊωδίδιο (CH_3I), είτε οι πρόδρομες *N*-1-μεθυλο-2,4-δικετοϊμιδαζολιδίνες κατεργάζονται με μια βάση και ακολούθως με βρωμοξικό βενζυλεστέρα. Η εισαγωγή μεθυλομάδας στο αμιδικό άζωτο των υδαντοϊνών επιτυγχάνεται μέσω της αντίδρασης *Strecker*, κατά την οποία οι κετόνες μετατρέπονται αρχικά προς α -αμινονιτρίλια και κατόπιν προς τα αντίστοιχα ουρεϊδονιτρίλια, τα οποία υφίστανται κύκλωση για το σχηματισμό των *N*-1-μεθυλο υδαντοϊνών.⁸⁵⁻⁸⁸



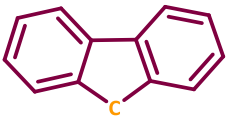
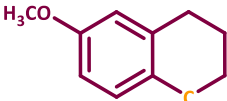
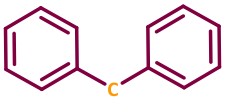
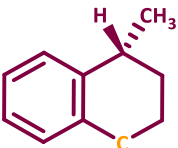

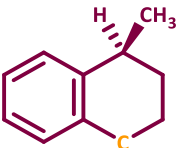
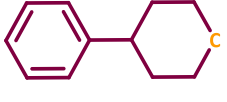
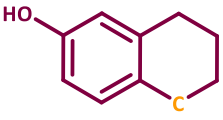
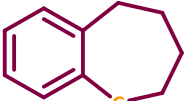
ΣΧΗΜΑ 4 | Ρετροσυνθετική πορεία για τη λήψη των αναλόγων **54, 61, 68, 75, 79, 83**.

Τα μεθυλιωμένα επί του αμιδικού αζώτου του υδαντοϊνικού δακτυλίου *N*-υδροξυακεταμίδια **54, 61, 68, 75, 79, 83** λαμβάνονται σύμφωνα με τη συνθετική πορεία που απεικονίζεται στο **Σχ. 5**. Επίδραση NaCN και υδροχλωρικής μεθυλαμίνης σε μείγμα διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO)/H₂O επί της αντίστοιχης κετόνης σε DMSO και οξίνιση με κορεσμένο αιθανολικό διάλυμα αέριου υδροχλωρικού οξέος (HCl/EtOH) οδηγεί στο σχηματισμό των αμιμονιτριλίων **48, 55, 62, 69**. Ακολούθως, τα αμιμονιτριλία κατεργάζονται με κυανικό κάλιο (KOCN) σε οξικό οξύ (AcOH), οπότε σχηματίζονται τα αντίστοιχα ουρείδο παράγωγα **49, 56, 63, 70**. Κυκλοποίηση των τελευταίων παρουσία υδριδίου του νατρίου (NaH 60% σε ορυκτέλαιο) σε άνυδρο DMF και μετέπειτα όξινη υδρόλυση οδηγεί στις 1-μεθυλο-2,4-δικετοϊμιδαζολιδίνες **50, 57, 64, 71**. Στη συνέχεια, οι μεθυλιωμένοι βενζυλεστέρες **51, 58, 65, 72** παραλαμβάνονται μετά από επίδραση του [(CH₃)₃Si]₂NK επί των 1-μεθυλοϋδαντοϊνών **50, 57, 64, 71** και επακόλουθη προσθήκη βρωμοξικού βενζυλεστέρα. Για τη σύνθεση των *N*-μεθυλοϋποκατεστημένων βενζυλεστέρων **76, 80**, οι βενζυλεστέρες **15, 33**, οι οποίοι παρασκευάστηκαν προηγουμένως, κατεργάζονται με NaH και ακολούθως με CH₃I. Οι μεθυλιωμένοι βενζυλεστέρες **51, 58, 65, 72, 76, 80** με καταλυτική υδρογονόλυση παρέχουν τα αντίστοιχα καρβοξυλικά οξέα **52, 59, 66, 73, 77, 81**, τα οποία μετατρέπονται τα *N*-(φαινυλομεθοξυ) ακεταμίδια **53, 60, 67, 74, 78, 82** με επίδραση *O*-βενζυλοϋδροξυλαμίνης παρουσία EDCI, HOBT και TEA. Καταλυτική υδρογονόλυση των αναλόγων **53, 60, 67, 74, 78, 82** οδηγεί στη σύνθεση των τελικών ακετοϋδροξαμικών οξέων **54, 61, 68, 75, 79, 83**.

Χημικό Μέρος



ΣΧΗΜΑ 5 | Συνθετική πορεία για τη λήψη των αναλόγων **54, 61, 68, 75, 79, 83**.

R	Compounds	R	Compounds
	1, 2, 3, 4, 5, 6, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54		31, 32, 33, 34, 35, 36, 33, 80, 81, 82, 83
	7, 8, 9, 10, 11, 12, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61		37, 38, 39, 40, 41, 42
	13, 14, 15, 16, 17, 18, 15, 76, 77, 78, 79		37, 38, 43, 44, 45, 46
	19, 20, 21, 22, 23, 24, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68		47
	25, 26, 27, 28, 29, 30, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75		

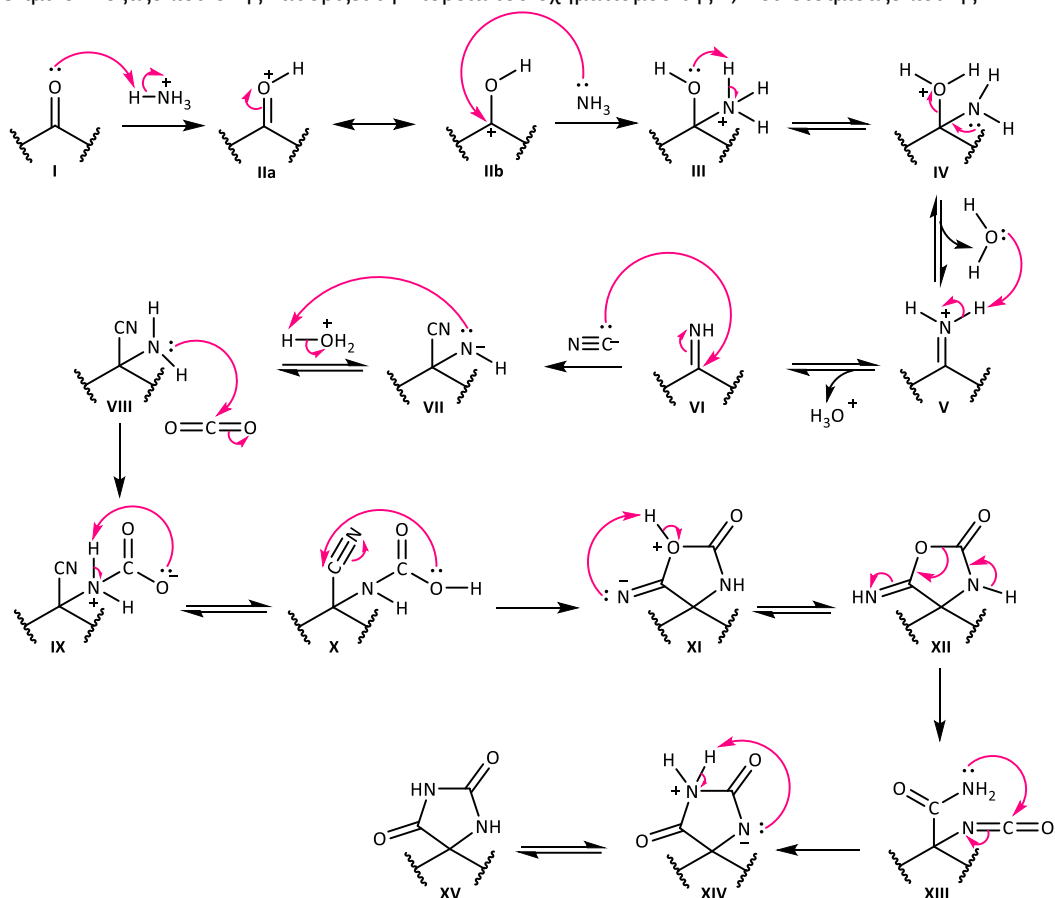
3.2 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΧΗΜΙΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΩΝ

3.2.1 ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ *Bucherer-Bergs*

Η αντίδραση *Bucherer-Bergs* περιγράφει τη σύνθεση υδαντοϊνών μετά από κατεργασία της αντίστοιχης κετόνης ή αλδεΐδης με KCN ή NaCN και $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$. Σε θερμοκρασία δωματίου το $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ αποσυντίθενται προς αμμωνία (NH_3) και όξινο ανθρακικό αμμώνιο (NH_4HCO_3) και σε θερμοκρασία μεγαλύτερη των 36°C το NH_4HCO_3 αποσυντίθενται προς NH_3 , CO_2 και H_2O . Ο Hans Theodor Bucherer-του οποίου το όνομα έχει δοθεί στην αντίδραση-πρότεινε ότι ο μηχανισμός της αντίδρασης ξεκινά μέσω του σχηματισμού μιας κυανυδρίνης (Σχ. 6). Αργότερα ο Commergas και οι συνεργάτες του απέδειξαν με θερμοδυναμικές και κινητικές μελέτες, ότι η διαδικασία αρχίζει με το σχηματισμό μιας ιμίνης.⁸⁹ Αρχικά το καρβονυλικό οξυγόνο πρωτονιώνεται (IIa) και το ασύζευκτο ζεύγος ηλεκτρονίων του αζώτου της NH_3 πραγματοποιεί πυρηνόφιλη προσβολή στον ηλεκτρονιόφιλο καρβονυλικό άνθρακα (III). Στη συνέχεια, η αποπρωτονιωμένη αλκυλοαμίνη (IV) μετατρέπεται στην ιμίνη (VI) μέσω αποβολής ενός μορίου H_2O . Ακολούθως, η ιμίνη υφίσταται πυρηνόφιλη προσβολή από το κυανιούχο ανιόν και σχηματίζεται ένα α-αμιμονιτρίλιο (VIII). Πυρηνόφιλη προσθήκη του τελευταίου στο CO_2 οδηγεί στο σχηματισμό

Χημικό Μέρος

κυανοκαρβαμδικού οξέος (**X**). Σε επόμενο στάδιο, ακολουθεί ενδομοριακή κύκλωση οπότε προκύπτει η 5-ιμινο-2-οξαζολιδινόνη (**XII**), η οποία αναδιατάσσεται προς ένα ισοκυανικό ενδιάμεσο (**XIII**). Αυτό το ενδιάμεσο, στη συνέχεια, υφίσταται εκ νέου κύκλωση προς σχηματισμό είτε 5-υποκατεστημένων ή 5,5-δισυποκατεστημένων υδαντοϊνών (**XV**). Η σύνθεση του α-αμινονιτριλίου θεωρείται ότι αποτελεί το γρήγορο στάδιο της αντίδρασης, το οποίο ακολουθείται από το βραδύ σχηματισμό του υδαντοϊνικού σκελετού. Σε τιμές $pH < 9$, η κύκλωση του κυανοκαρβαμδικού οξέος απεδείχθη ότι είναι το καθοριστικό για την αντίδραση στάδιο, ωστόσο, σε υψηλότερες τιμές pH , η διάνοιξη του δακτυλίου της 5-ιμινο-2-οξαζολιδινόνης καθορίζει την πορεία του σχηματισμού της 2,4-δικετοϊμιδαζολιδίνης.

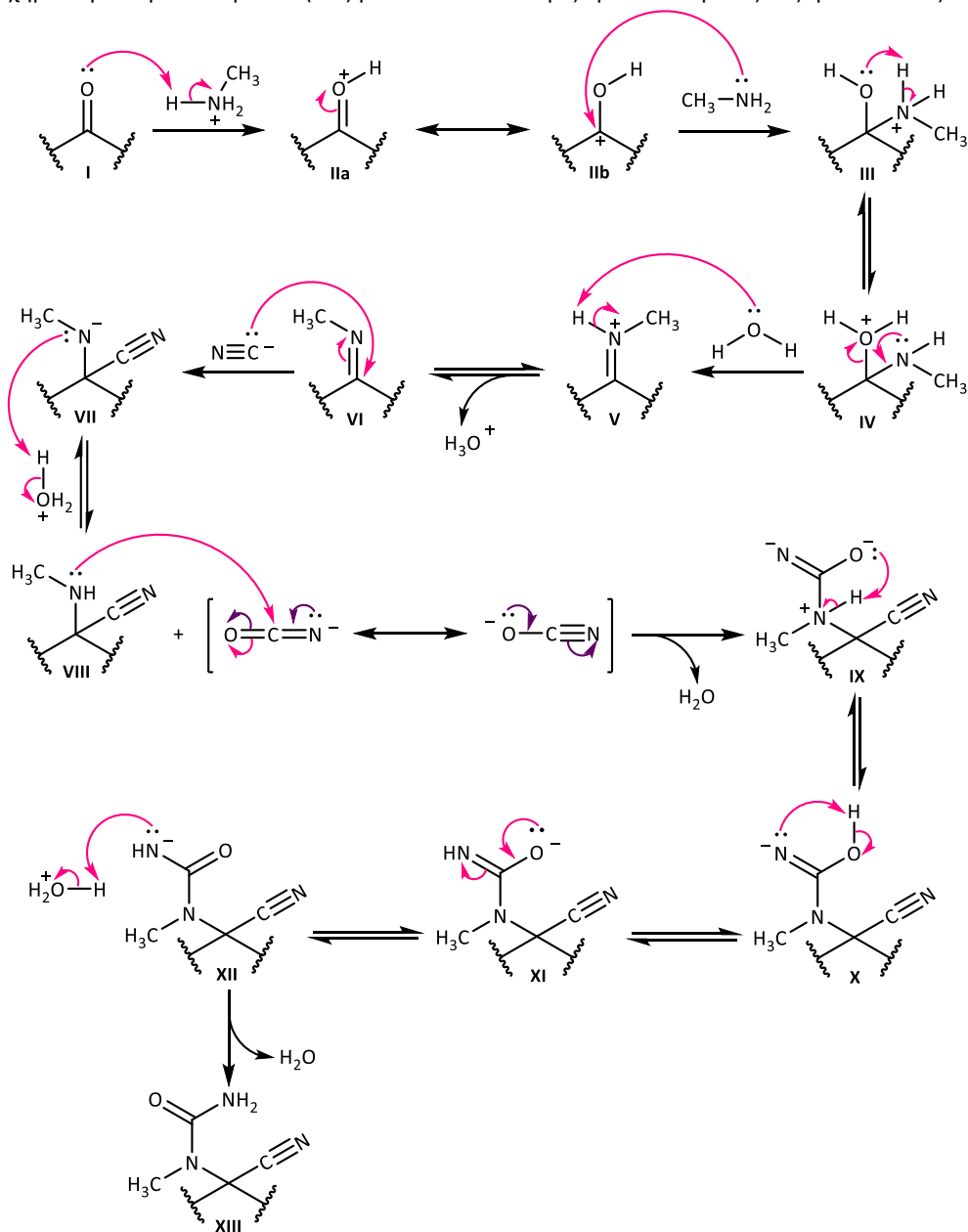


ΣΧΗΜΑ 6 | Μηχανισμός σχηματισμού υδαντοϊνών μέσω εφαρμογής της αντίδρασης *Bucherer-Bergs*.

3.2.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ *Strecker* - ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΟΥΡΕΪΔΟΝΙΤΡΙΛΙΩΝ

Η αντίδραση *Strecker* περιλαμβάνει τη συμπύκνωση μιας αλδεΐδης ή κετόνης με NH_3 και μια πηγή κυανίου προς σχηματισμό ενός α-αμινονιτριλίου και συνδέεται στενά με την αντίδραση *Bucherer-Bergs*. Για τη σύνθεση των 1-μεθυλο-2,4-δικετοϊμιδαζολιδινών, η κατάλληλη κετόνη (I) κατεργάζεται με κυανιούχο άλας και υδροχλωρική μεθυλαμίνη. Ο μηχανισμός της αντίδρασης *Strecker* και ο μηχανισμός σχηματισμού των ουρεΐδονιτριλίων απεικονίζεται στο Σχ. 7. Κατά το πρώτο στάδιο της αντίδρασης, το καρβονυλικό οξυγόνο πρωτονώνεται (IIa) και στη συνέχεια το ασύζευκτο ζεύγος ηλεκτρονίων του αζώτου της μεθυλαμίνης πραγματοποιεί πυρηνόφιλη προσβολή στον ηλεκτρονιόφιλο καρβονυλικό

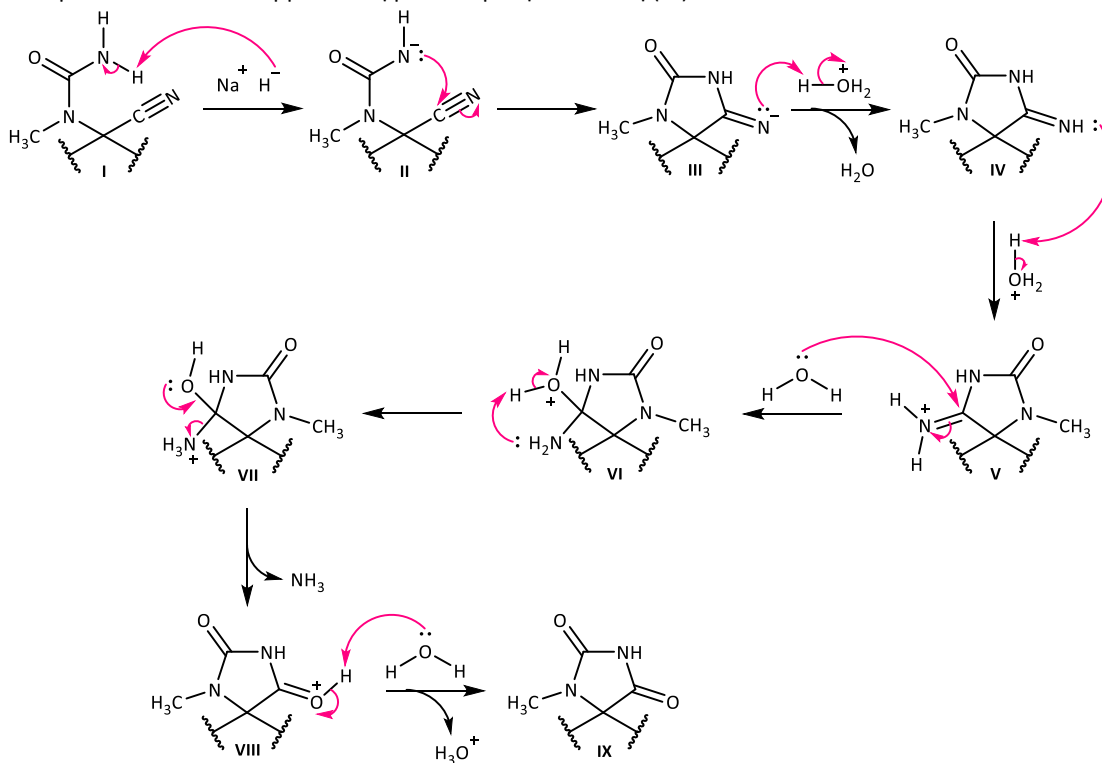
άνθρακα (III). Ο μηχανισμός προχωρά με την αποπρωτονίωση του αζώτου (IV) και τον επακόλουθο σχηματισμό μιας δευτεροταγούς κετιμίνης (VI), ενώ ταυτόχρονα αποβάλλεται ένα μόριο H₂O. Μια δεύτερη πυρηνόφιλη προσβολή πραγματοποιείται, αυτή τη φορά από το κυανιούχο ιόν στην ιμίνη και σχηματίζεται ένα α-αμινονιτρίλιο (VIII). Πυρηνόφιλη προσβολή του ασύζευκτου ζεύγους ηλεκτρονίων του αζώτου της αμινομάδας στο κυανικό ιόν, το οποίο σταθεροποιείται με δομές συντονισμού, οδηγεί στο σχηματισμό ουρείδονιτριλίων (XIII) μετά από ανταλλαγές πρωτονίων μεταξύ οξυγόνου και αζώτου.



ΣΧΗΜΑ 7 | Μηχανισμός αντίδρασης Strecker και σχηματισμού ουρείδονιτριλίων.

3.2.3 ΚΥΚΛΩΣΗ ΟΥΡΕΪΔΟΝΙΤΡΙΛΙΩΝ-ΥΔΡΟΛΥΣΗ ΙΜΙΝΗΣ

Σύμφωνα με το Σχ. 8, η κύκλωση για το σχηματισμό του υδαντοϊνικού σκελετού πραγματοποιείται μέσω της πυρηνόφιλης προσβολής του ανιόντος της ουρεΐδο ομάδας επί του ηλεκτρονιόφιλου άνθρακα του νιτριλίου. Το ανιόν (II) σχηματίζεται υπό την επίδραση βάσης επί των ουρεΐδονιτριλίων (I), καθώς τα ανιονικά πυρηνόφιλα στο σύνολό τους, είναι πολύ ισχυρότερα από τα αντίστοιχα ουδέτερα. Προϊόν της κύκλωσης είναι η 4-μινο-1-μεθυλοϊμιδαζολιδιν-2-όνη (IV), η οποία υδρολύεται σε όξινες συνθήκες προς σχηματισμό της 1-μεθυλο-2,4-δικετοϊμιδαζολιδίνης (IX). Ο μηχανισμός της υδρόλυσης περιλαμβάνει την πρωτονίωση του αζώτου της ιμίνης με αποτέλεσμα το σχηματισμό του ιόντος ιμινίου (V), το οποίο υποβάλλεται σε 1,2-προσθήκη H₂O (VI). Ακολουθεί μεταφορά ενός πρωτονίου από το ιόν οξωνίου στο άζωτο (VII) και απομακρύνεται ένα μόριο NH₃. Το ιόν οξωνίου (VIII), το οποίο προκύπτει, αποπρωτονιώνεται και λαμβάνεται η μεθυλιωμένη υδαντοΐνη (IX).

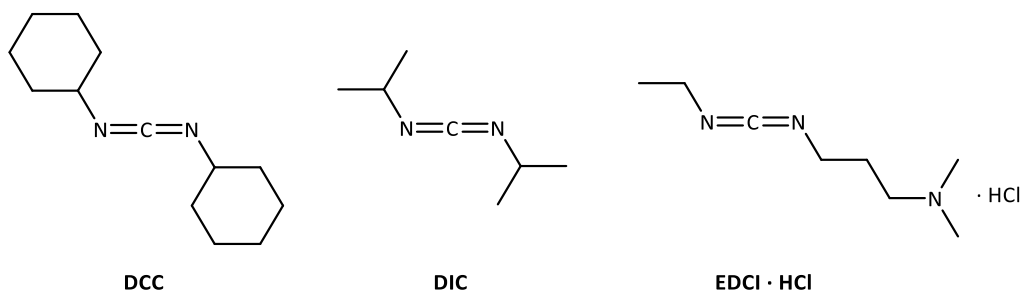


ΣΧΗΜΑ 8| Μηχανισμός κύκλωσης ουρεΐδονιτριλίων και υδρόλυσης ιμινών προς σχηματισμό 1-μεθυλο υδαντοϊνών.

3.2.4 ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΑΜΙΔΙΩΝ

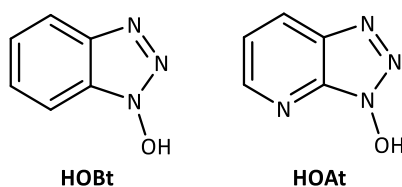
Όπως προαναφέρθηκε, για τη σύνθεση των *N*-(φαινυλομεθοξυ) ακεταμιδίων, τα καρβοξυλικά οξέα συζεύγνυνται με *O*-βενζυλοϋδροξυλαμίνη παρουσία EDCI και HOBT για την ενεργοποίηση της καρβοξυλικής ομάδας. Τα καρβοδιμίδια αποτελούν μια εξαιρετικά σημαντική κατηγορία ενώσεων για τον αποτελεσματικό σχηματισμό των αμιδικών δεσμών, με γενικό τύπο R-N=C-N-R και σε αυτά περιλαμβάνονται το *N,N'*-δικυκλοεξυλοκαρβοδιμίδιο (DCC), το *N,N'*-δισοπροπυλοκαρβοδιμίδιο (DIC)

και το 1-(3-διμεθυλαμινοπροπυλ)-3-αιθυλοκαρβοδιμιδίο (EDC ή EDCI) (**Εικ. 30**). Πρωταρχικό μέλημα κατά την επιλογή ενός καρβοδιμιδίου αποτελεί η μέθοδος για την απομάκρυνση της ουρίας η οποία προκύπτει ως παραπροϊόν. Η δικυκλοεξυλουρία (παραπροϊόν του DCC) έχει περιορισμένη διαλυτότητα στους περισσότερους οργανικούς διαλύτες, η διισοπροπυλουρία (παραπροϊόν του DIC) έχει ικανοποιητική διαλυτότητα σε CH_2Cl_2 και απομακρύνεται με υδατική έκπλυση του οργανικού διαλύματος και τέλος, η αντίστοιχη ουρία από το EDCI είναι υδατοδιαλυτή και μπορεί να απομακρυνθεί με υδατική κατεργασία. Το EDCI χρησιμοποιείται υπό τη μορφή υδροχλωρικού άλατος και η ελεύθερη βάση απελευθερώνεται με τη χρήση TEA, η οποία απομακρύνει το HCl.



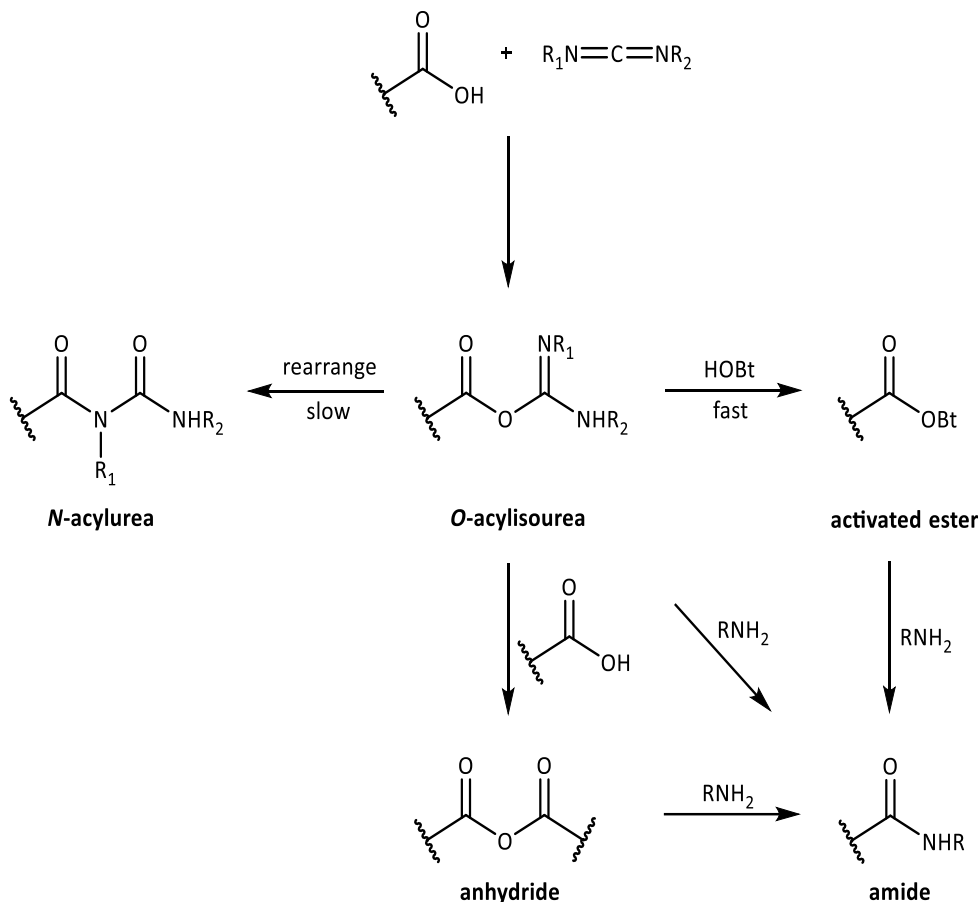
ΕΙΚΟΝΑ 30 | Καρβοδιμιδία που χρησιμοποιούνται για την ενεργοποίηση καρβοξυλικής ομάδας.

Ο μηχανισμός της σύζευξης (**Σχ. 9**) μέσω καρβοδιμιδίου είναι πολύπλοκος και αρχίζει με τη μεταφορά πρωτονίου από το καρβοξυλικό οξύ στο ασθενώς βασικό άζωτο του καρβοδιμιδίου, που οδηγεί στο σχηματισμό ενός ζεύγους ιόντων. Η προσθήκη του προκύπτοντος καρβοξυλικού ανιόντος στον ηλεκτρονιόφιλο άνθρακα οδηγεί στην *O*-ακυλισσοουρία, η οποία είναι άκρως δραστική και συζεύγνυται ταχέως με μια αμίνη για να δώσει το επιθυμητό αμίδιο. Εναλλακτικά, περίσσεια καρβοξυλικού οξέος μπορεί να αντιδράσει με την *O*-ακυλισσοουρία προς σχηματισμό του συμμετρικού ανυδρίτη, ο οποίος είναι επίσης καλός παράγοντας ακυλίωσης, ενώ μπορεί να αναδιαταχθεί προς την αντίστοιχη *N*-ακυλουρία. Η χρήση βοηθητικών πυρηνόφιλων παραγώγων, όπως το 1-υδροξυβενζοτριάζολιο (HOBT) και το 1-υδροξυ-7-αζαβενζοτριάζολιο (HOAt) (**Εικ. 31**), είναι μια κοινή πρακτική για τη μείωση της σύνθεσης της *N*-ακυλουρίας.



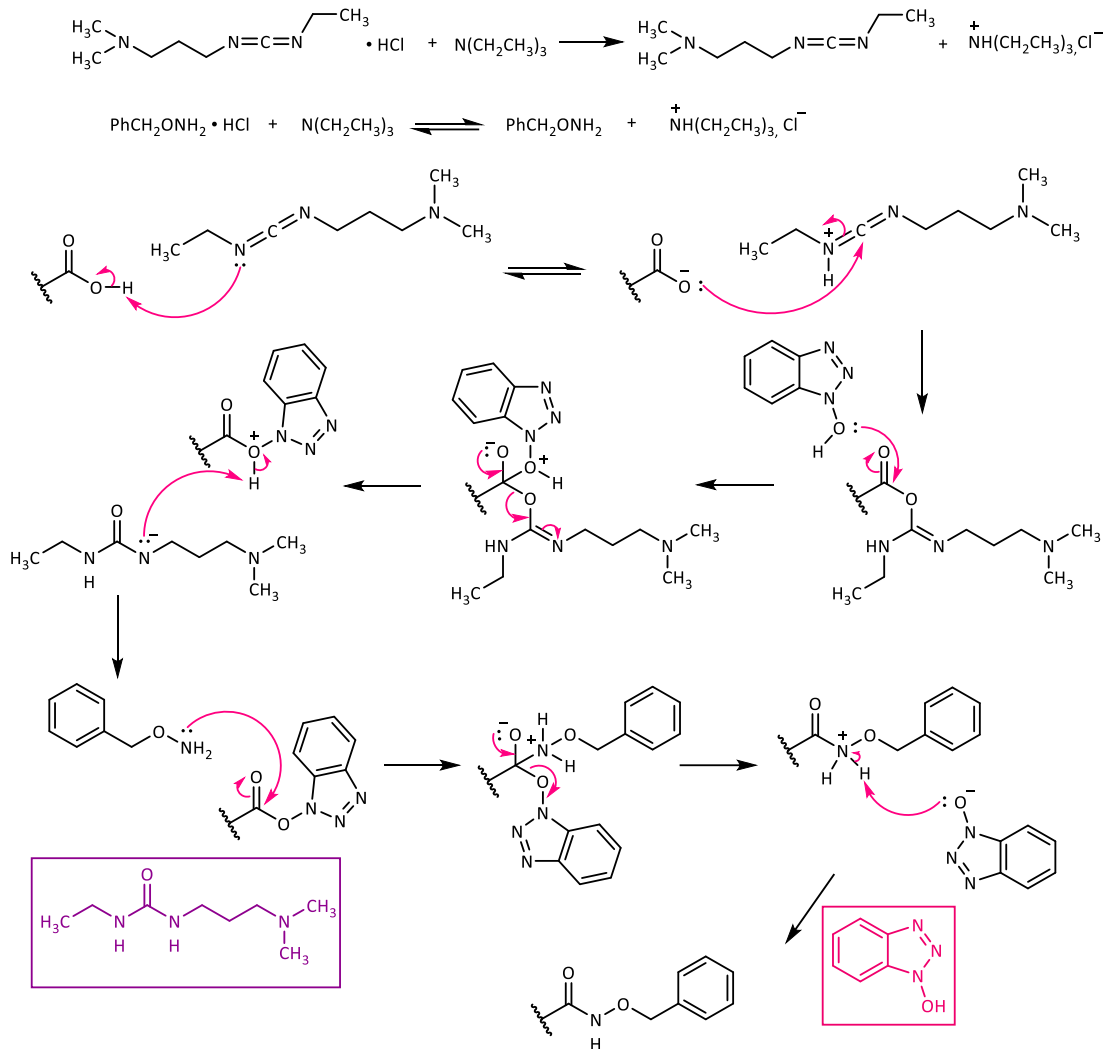
ΕΙΚΟΝΑ 31 | Πυρηνόφιλες ενώσεις οι οποίες αντιδρούν με *O*-ακυλισσοουρίες προς σχηματισμό αμιδίων και επιταχύνουν αποτελεσματικά τη διαδικασία σύζευξης.

Χημικό Μέρος



ΣΧΗΜΑ 9 | Πορείες σχηματισμού αμιδίων με τη μεσολάβηση καρβοδιιμιδίου.

Το HOBt είναι το συνηθέστερα χρησιμοποιούμενο παράγωγο για αντιδράσεις με τη μεσολάβηση καρβοδιιμιδίου, αν και το HOAt είναι πιο σταθερό αλλά πολύ πιο ακριβό. Ο μηχανισμός για το σχηματισμό του αμιδικού δεσμού απεικονίζεται στο **Σχ. 10**. Το ασύζευκτο ζεύγος του οξυγόνου του HOBt πραγματοποιεί πυρηνόφιλη προσβολή στον καρβονυλικό άνθρακα και σχηματίζεται ο υδροξυβενζοτριαζολυλεστέρας με ταυτόχρονη απομάκρυνση της 1-(3-διμεθυλαμινοπροπυλ)-3-αιθυλουρίας. Τέλος, η πυρηνόφιλη προσβολή του καρβονυλίου του εστέρα από την *O*-βενζυλοϋδροξυλαμίνη, οδηγεί στο επιθυμητό αμίδιο, ενώ ταυτόχρονα αναγεννιέται το HOBt.^{90,91}



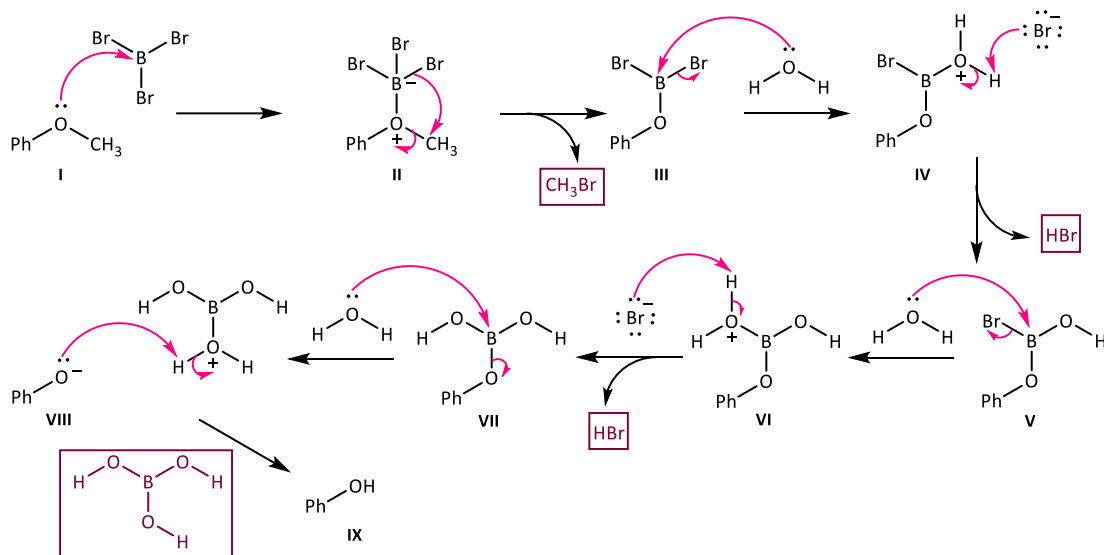
ΣΧΗΜΑ 10| Μηχανισμός σχηματισμού αμιδίων με τη μεσολάβηση EDCI και HOBT.

3.2.5 ΑΠΟΜΕΘΥΛΙΩΣΗ ΑΡΥΛΟΜΕΘΥΛΑΙΘΕΡΩΝ

Το τριβρωμιούχο βόριο αποτελεί ένα κλασικό αντιδραστήριο για την απομεθυλίωση αρυλομεθυλαιθέρων. Δύο μηχανισμοί έχουν προταθεί για την αντίδραση της απομεθυλίωσης, ένας μονομοριακός τύπου S_N1 και ένας διμοριακός τύπου S_N2 . Ο μονομοριακός μηχανισμός της αντίδρασης (Σχ. 11) ξεκινά μέσω του σχηματισμού ενός συμπλόκου μεταξύ του βορίου και του αιθερικού οξυγόνου (II) και προχωρά με την απομάκρυνση μεθυλοβρωμιδίου (CH_3Br) και τη δημιουργία ενός διβρωμο(οργανο)βορανίου (III). Στη συνέχεια, το ενδιάμεσο αυτό υφίσταται υδρόλυση, με δύο διαδοχικές 1,2-προσθήκες H_2O επί του βορίου (IV, VI), ενώ ταυτόχρονα αποσπάται ιόν βρωμίου, το οποίο αποχωρεί ως υδροβρώμιο (HBr). Στο προτελευταίο στάδιο, πραγματοποιείται μια ακόμη

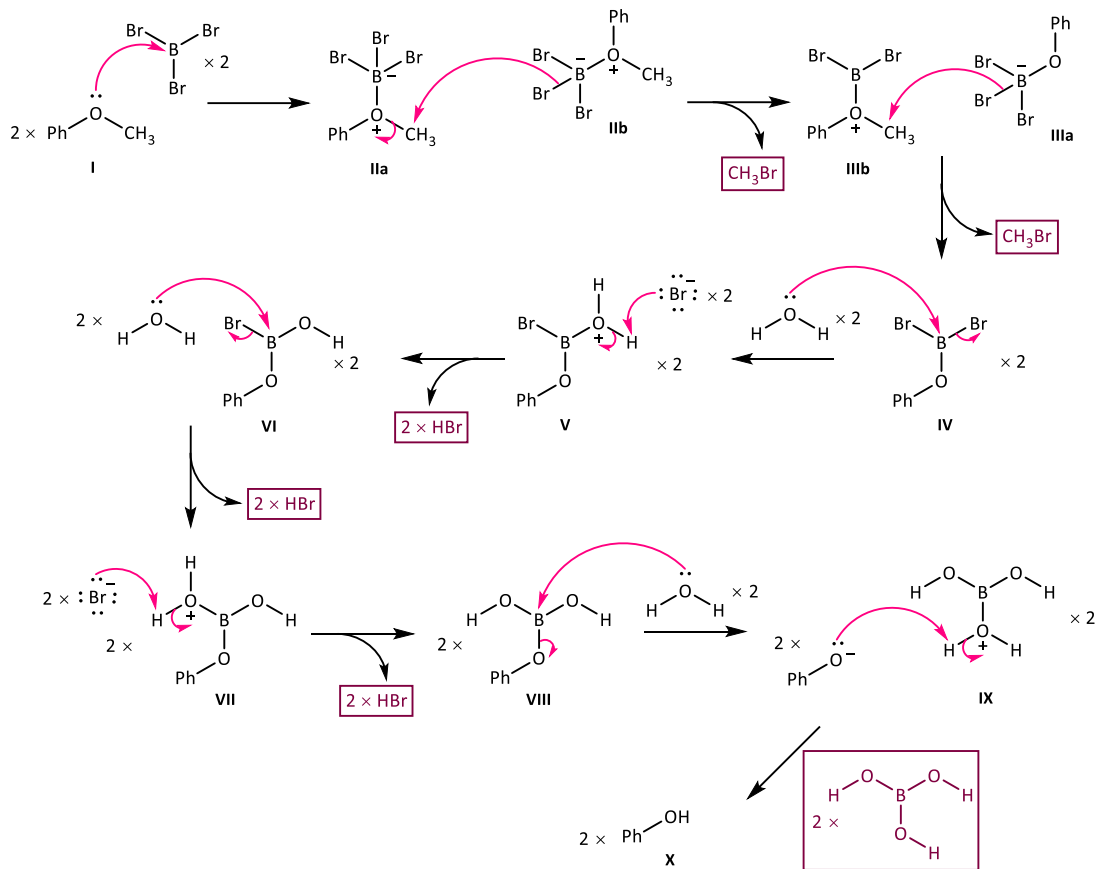
Χημικό Μέρος

προσθήκη H_2O στο βόριο, συνοδευόμενη από απομάκρυνση του αρυλοξυ ανιόντος (**VIII**), το οποίο αποσπά ένα πρωτόνιο, οπότε σχηματίζεται το μη μεθυλιωμένο ανάλογο (**IX**) και βορικό οξύ (H_3BO_3).



ΣΧΗΜΑ 11 | Μονομοριακός μηχανισμός απομεθυλίωσης αρυλομεθυλαιθέρων.

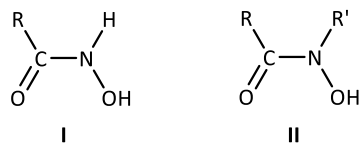
Κατά το διμοριακό μηχανισμό (**Σχ. 12**), σχηματίζονται δύο σύμπλοκα (**IIa**, **IIb**) και το βρώμιο του ενός συμπλόκου πραγματοποιεί πυρηνόφιλη προσβολή στη μεθυλο ομάδα του δεύτερου συμπλόκου. Από τη διαδικασία αυτή προκύπτει CH_3Br και δύο έντονα φορτισμένα ενδιάμεσα (**IIIa**, **IIIb**), τα οποία υποβάλλονται εκ νέου σε μια παρόμοια διμοριακή αντίδραση, προς σχηματισμό δύο ισοδυνάμων (equivalent) διβρωμο(οργανο)βορανίου (**IV**). Τα ανάλογα υδρολύονται και απελευθερώνονται δύο eq του απομεθυλιωμένου παραγώγου (**X**), έξι eq HBr και δύο eq H_3BO_3 .^{92,93}



ΣΧΗΜΑ 12| Διμοριακός μηχανισμός απομεθυλίωσης αρυλομεθυλαιθέρων.

3.3 ΧΗΜΕΙΑ ΤΩΝ ΥΔΡΟΞΑΜΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ

Τα υδροξαμικά οξέα όπως προαναφέρθηκε, αποτελούν μια ομάδα ασθενών οργανικών οξέων του γενικού τύπου R-CO-N(R')-OH και θεωρούνται παράγωγα είτε των υδροξυλαμινών είτε των καρβοξυλικών οξέων. Ανάλογα με τον υποκαταστάτη R', χαρακτηρίζονται ως πρωτοταγή, αν πρόκειται για υδρογόνο ή δευτεροταγή (Εικ. 32) αν είναι οποιοσδήποτε άλλος οργανικός υποκαταστάτης.

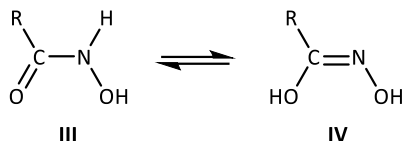


ΕΙΚΟΝΑ 32| Δομή πρωτοταγών (I) και δευτεροταγών (II) υδροξαμικών οξέων.

Τα HA εμφανίζουν το φαινόμενο της ταυτομέρειας αμιδίου-ιμιδίου (Εικ. 33). Η ταυτομέρεια είναι μια ειδική περίπτωση συντακτικής ισομέρειας, κατά την οποία τα ισομερή διαφέρουν ως προς τη θέση ενός ατόμου H και ενός διπλού δεσμού. Τα ταυτομερή βρίσκονται σε χημική ισορροπία και

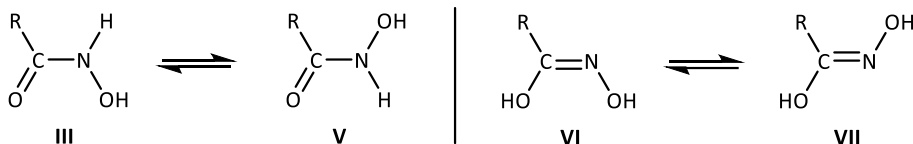
Χημικό Μέρος

αλληλομετατρέπονται ταχύτατα με μετακίνηση ενός ατόμου Η μεταξύ δύο θέσεων και ταυτόχρονη ανταλλαγή της θέσης ενός διπλού και ενός γειτονικού απλού δεσμού. Στην περίπτωση των ΗΑ, ένα πρωτόνιο εναλλάσσεται από το άτομο αζώτου στο καρβονύλιο της αμιδικής ομάδας ενός αμιδίου, μετατοπίζοντας τον διπλό δεσμό από C=O σε N=C.



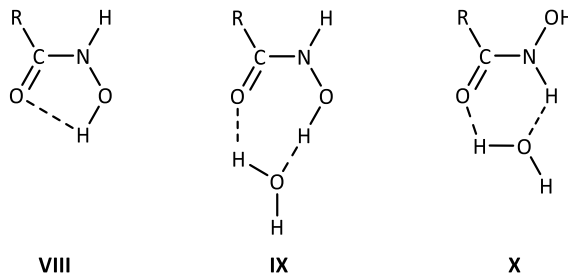
ΕΙΚΟΝΑ 33 | Ταυτομέρεια αμιδικής (III)-ιμιδικής (IV) μορφής ακετούδροξαμικών οξέων.

Η αμιδική μορφή των ΗΑ κυριαρχεί σε όξινο περιβάλλον και συμπεριφέρεται ως μονοβασικό οξύ ενώ η ιμιδική μορφή είναι επικρατέστερη σε αλκαλικές συνθήκες.⁷⁸ Επίσης, καθεμιά από τις δύο ταυτομερείς μορφές λαμβάνει δύο διαμορφώσεις τη *Z* (*zusammen*) και την *E* (*entgegen*) (**Εικ. 34**), λόγω της εσωτερικής περιστροφής γύρω από το δεσμό C-N. Ο δεσμός C-N έχει μερικό χαρακτήρα διπλού δεσμού, όπως αποδείχτηκε, καθώς η αλληλομετατροπή του *Z* διαμορφομερούς προς το *E* έχει ένα σταθερό ρυθμό περίπου 3.0 s^{-1} , μια τιμή, πολύ χαμηλότερη από την αναμενόμενη για περιστροφή γύρω από έναν απλό δεσμό.⁹⁴



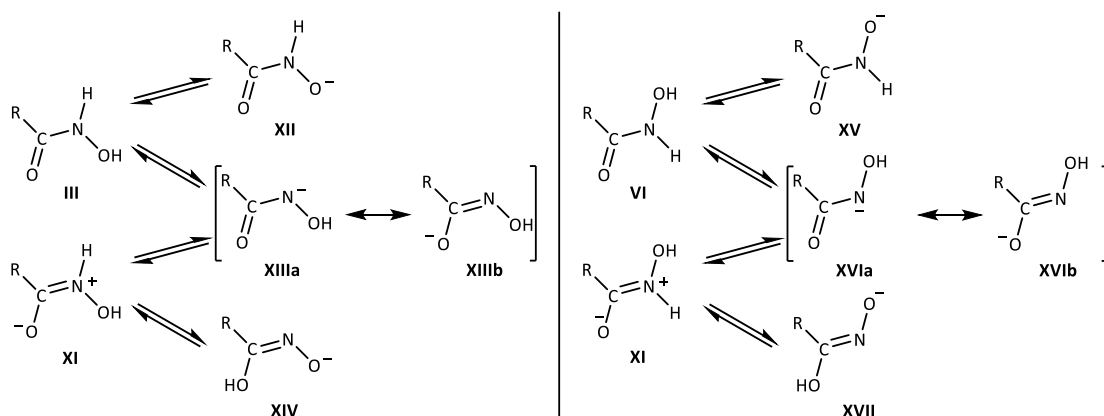
ΕΙΚΟΝΑ 34 | Αμιδικές (αριστερά) και ιμιδικές (δεξιά) μορφές των *Z* (III, VI) και *E* (V, VII) διαμορφώσεων.

Στην αέρια φάση, οι *Z* και *E* μορφές έχουν σχετικά παρόμοια σταθερότητα αλλά η αλληλομετατροπή τους παρεμποδίζεται από ένα ενεργειακό φράγμα της τάξεως των 25 kcal/mol . Σε στερεά κατάσταση το *E* ισομερές έχει αποδειχθεί ότι είναι πιο σταθερό, ενώ αντίθετα σε υδατικό διάλυμα πιο σταθερό είναι το *Z* λόγω δημιουργίας δεσμού Η με ένα μόριο H_2O .⁹⁵ Πράγματι, η αλληλομετατροπή των δύο διαμορφομερών επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από το διαλύτη και έχει βρεθεί ότι σε πρωτικούς διαλύτες σταθεροποιείται η *Z* διαμόρφωση εξαιτίας του σχηματισμού διαμοριακών δεσμών Η. Επίσης, το *Z* ροταμερές μπορεί να σταθεροποιηθεί με τη δημιουργία ενδομοριακού δεσμού Η (**Εικ. 35**). Ωστόσο, αξίζει να αναφερθεί ότι και η *E* διαμόρφωση διαθέτει την ικανότητα σχηματισμού διαμοριακού δεσμού Η με ένα μόριο H_2O , αλλά η σύνδεση του υδρογόνου με το νερό φαίνεται ότι σταθεροποιεί το *Z* διαμορφομερές σε μεγαλύτερο βαθμό συγκριτικά με το *E*.⁷⁸



ΕΙΚΟΝΑ 35 | Ενδομοριακός δεσμός Η του *Z* ροταμερούς (VIII), διαμοριακός δεσμός Η του *Z* ροταμερούς με ένα μόριο H_2O (IX) και διαμοριακός δεσμός Η του *E* ροταμερούς με ένα μόριο H_2O (X).

Πέραν των δύο ροταμερών της αμιδικής μορφής και των άλλων δύο της ιμιδικής μορφής, τα HA μπορούν να υπάρχουν ως αμφοτερικές ιμιδικές μορφές (zwitterions).⁶⁷ Τυπικά, τα HA σε υδατικό διάλυμα έχουν pKa ~ 9 αλλά η τιμή της μπορεί να ποικίλει, ανάλογα με τις ηλεκτρονικές ιδιότητες των υποκαταστατών. Η οξύτητα των HA αποτέλεσε αμφιλεγόμενο ζήτημα και διάφορες μελέτες έχουν διεξαχθεί για τη θέση της αποπρωτονίωσης, η οποία φαίνεται ότι εξαρτάται από τον υποκαταστάτη, την κατάσταση στην οποία βρίσκονται τα HA (στερεή, υγρή ή αέρια) ή τη φύση του διαλύτη. Οι πιθανές δομές των ανιόντων απεικονίζονται στην παρακάτω εικόνα (**Εικ. 36**).^{67,78}



ΕΙΚΟΝΑ 36 | Δομές ανιόντων των Z (αριστερά) και E (δεξιά) ροταμερών.

Όπως προαναφέρθηκε, πέντε ουδέτερες μορφές των HA πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά τη μελέτη της αποπρωτονίωσης, λόγω της ταυτομέρειας αμιδίου-ιμιδίου, τη συνύπαρξη των Z και E διαμορφωμάτων και την ύπαρξη εσωτερικού άλατος.

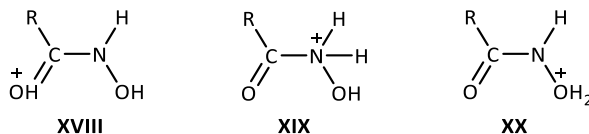
Οι πιθανές θέσεις αποπρωτονίωσης είναι είτε η OH ομάδα, είτε η NH ομάδα. Η αποπρωτονίωση της NH ομάδας οδηγεί στα ανιόντα **XIIIa** και **XVIa** για τα Z και E ισομερή, τα οποία εμφανίζουν τις δομές συντονισμού **XIIIb** και **XVIb** αντίστοιχα. Από τον ιονισμό της OH ομάδας προκύπτουν τα ανιόντα **XII** και **XIV** της αμιδικής και της ιμιδικής μορφής της Z διαμόρφωσης αντίστοιχα και τα ανιόντα **XV** και **XVII** της αμιδικής και της ιμιδικής μορφής της E διαμόρφωσης αντίστοιχα. Διπλή αποπρωτονίωση δεν έχει παρατηρηθεί ποτέ ακόμη και σε υψηλές συγκεντρώσεις ιόντων OH⁻.

Αρχικά, θεωρήθηκε ότι τα HA ήταν O-οξέα με πιθανές δομές ιονισμού τις **XII** και **XIV** ενώ μεταγενέστερες μελέτες υποστηρίζουν ότι το πρωτόνιο, το οποίο συνδέεται με το άζωτο είναι το πιο όξινο και ο ιονισμός οδηγεί στα N ανιόντα, και συγκεκριμένα στη δομή **XIIIa**. Ωστόσο, για τον καθορισμό της πιο σταθερής ανιονικής μορφής πρέπει να λαμβάνεται υπόψη και η επίδραση του διαλύτη. Σύμφωνα με πειραματικά δεδομένα, τα υδροξαμικά οξέα παρουσιάζουν μια N-οξύτητα σε DMSO, ενώ για ορισμένα βενζουδροξαμικά οξέα και παράγωγά τους έχει παρατηρηθεί ιονισμός της OH ομάδας. Αντίθετα σε υδατικά διαλύματα, τα HA εμφανίζουν O-οξύτητα.^{95,96} Γενικά, η N αποπρωτονίωση της Z αμιδικής μορφής είναι η πιο πιθανή διαδικασία, καθώς το ανιόν **XIIIa** σταθεροποιείται με δομή συντονισμού και με τη δημιουργία ενδομοριακού δεσμού H. Επίσης, εξετάζοντας συνολικά την πιθανότητα σχηματισμού των ανιόντων, η O-αποπρωτονίωση του Z αμιδικού ροταμερούς φαίνεται να είναι περισσότερο πιθανή σε σχέση με τη N- και O- αποπρωτονίωση της E αμιδικής μορφής.^{67,78,95}

Σε όξινο περιβάλλον π.χ παρουσία ανόργανων οξέων σε συγκέντρωση τουλάχιστον 1 M, οι ουδέτερες μορφές των HA δύνανται να δεχθούν ένα πρωτόνιο, και αποκτούν κάποιο βασικό χαρακτήρα. Τα HA παρουσιάζουν δύο θέσεις πρωτονίωσης (**Εικ. 37**), το καρβονυλικό οξυγόνο και το άτομο του αζώτου,

Χημικό Μέρος

ενώ έχει προβλεφθεί η ύπαρξη ενός τρίτου κατιόντος (**Εικ. 37**), στο οποίο πρωτονιώνεται η OH ομάδα και είναι χαμηλής σταθερότητας.



ΕΙΚΟΝΑ 37 | Πρωτονιωμένες μορφές των υδροξαμικών οξέων.

Οι θεωρητικοί υπολογισμοί απέδειξαν ότι η πρωτονίωση καθίσταται εξίσου εφικτή στο καρβονυλικό οξυγόνο και το άζωτο, ωστόσο η δομή **XVIII** είναι πιθανότερη τόσο σε διάλυμα όσο και σε αέρια φάση όπως προέκυψε από πειραματικά δεδομένα.^{95,97}

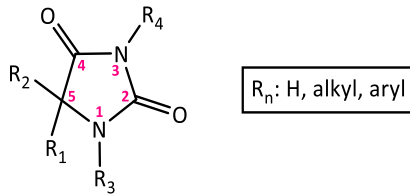
Τα HA σχηματίζουν οκταεδρικά σύμπλοκα με έναν αριθμό μεταλλικών ιόντων μέσω του καρβονυλικού οξυγόνου και του αποπρωτονιωμένου οξυγόνου της υδροξαμικής ομάδας ({O, O} συντονισμός). Ωστόσο, ορισμένα αμινοϋδροξαμικά οξέα συμπλέκονται με μεταλλικά ιόντα μέσω του αποπρωτονιωμένου τους αζώτου ({N,O} συντονισμός).^{79,98} Προκειμένου να πραγματοποιηθεί η συμπλοκοποίηση του μεταλλικού ιόντος, το HA θα πρέπει να υιοθετήσει την απαιτούμενη Z διαμόρφωση. Το γεγονός αυτό προϋποθέτει την περιστροφή γύρω από το δεσμό C-N για την αλληλομετατροπή μεταξύ των αμιδικών και των ιμιδικών Z, E διαμορφωμένων. Στην περίπτωση των ιμιδικών μορφών, το ενεργειακό φράγμα αποτελεί εμπόδιο καθώς είναι υψηλό, ωστόσο για τις αμιδικές μορφές, η αλληλομετατροπή του E προς το Z ισομερές καθίσταται πιο εύκολη, γεγονός που επιτρέπει τη σύνδεση του ιόντος με την υδροξαμική ομάδα.⁶⁷ Τα HA αποκτούν μια παραμορφωμένη γεωμετρία τριγωνική διπυραμίδας γύρω από το μεταλλικό ιόν.⁷⁹ Μελέτες έχουν δείξει ότι η αύξηση του αρνητικού φορτίου στο άτομο του οξυγόνου, ευνοεί τη σταθερότητα των συμπλόκων των HA με τα μεταλλικά ιόντα.⁴

Κινητικές μελέτες υποδεικνύουν ότι οι δομές **III** και **XII** δρουν ως δισχιδαίες χηλικοί συμπλοκοποιητές, αλλά ενώ το ανιόν συμπλέκεται με μια " φυσιολογική " ταχύτητα, ο ρυθμός της συμπλοκοποίησης με το μεταλλικό ιόν στη Z αμιδική μορφή είναι μικρότερος. Η παρατήρηση αυτή θα μπορούσε να ερμηνευθεί ως εξής: (α) η αποπρωτονίωση του HA πραγματοποιείται με αργό ρυθμό, (β) η αλληλομετατροπή του E διαμορφομερούς προς το Z είναι βραδεία ή (γ) το Z αμιδικό ροταμερές σε υδατικό διάλυμα εμπλέκεται σε μια ισορροπία ανάμεσα σε μια " ανοικτή " (ενεργή) Z μορφή και μια " κλειστή " Z μορφή, η οποία υπερτερεί και είναι αδρανής καθώς η θέση σύνδεσης μπλοκάρεται από τον ενδομοριακό δεσμό υδρογόνου.⁹⁵

3.4 ΑΝΑΛΥΣΗ ΦΑΣΜΑΤΩΝ NMR

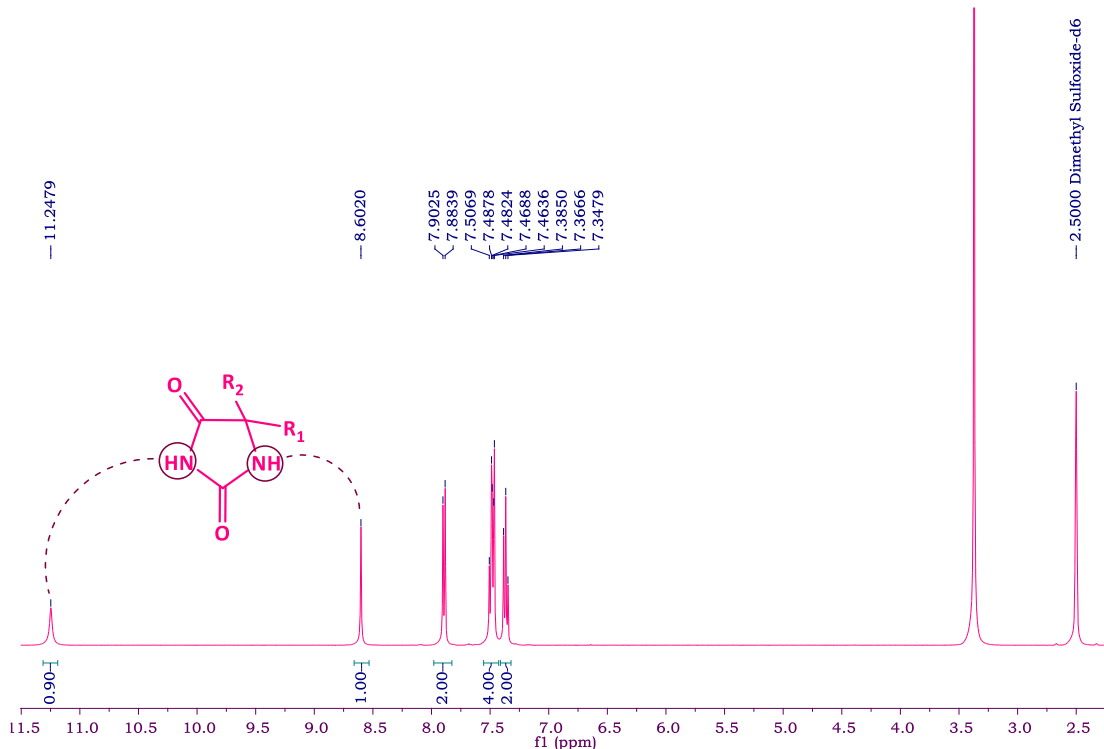
3.4.1 ΦΑΣΜΑΤΑ ¹H NMR ΥΔΑΝΤΟΪΝΩΝ ΚΑΙ ΜΕΘΥΛΙΩΜΕΝΩΝ ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΥΔΑΝΤΟΪΝΩΝ

Οι υδαντοΐνες ή 2,4-δικετοϊμιδαζολιδίνες-ονοματολογία κατά IUPAC-συνιστούν πενταμελείς άκαμπτους και επίπεδους ετεροκυκλικούς δακτυλίους, με δύο άτομα αζώτου και δύο καρβονύλια, ένα εκ των οποίων βρίσκεται μεταξύ των δύο ατόμων αζώτου. Ο δακτύλιος αριθμείται όπως φαίνεται στην **Εικ. 38** και οι θέσεις 1, 3, 5 είναι χημικά λειτουργικές ως προς την υποκατάσταση. Με την εισαγωγή δύο διαφορετικών λειτουργικών ομάδων στη θέση 5, ο αντίστοιχος άνθρακας καθίσταται χειρόμορφος, ενώ τα άτομα στις θέσεις 1-4 βρίσκονται στο ίδιο επίπεδο.



ΕΙΚΟΝΑ 38 | Σκελετός και αρίθμηση του δακτυλίου της υδαντοΐνης.

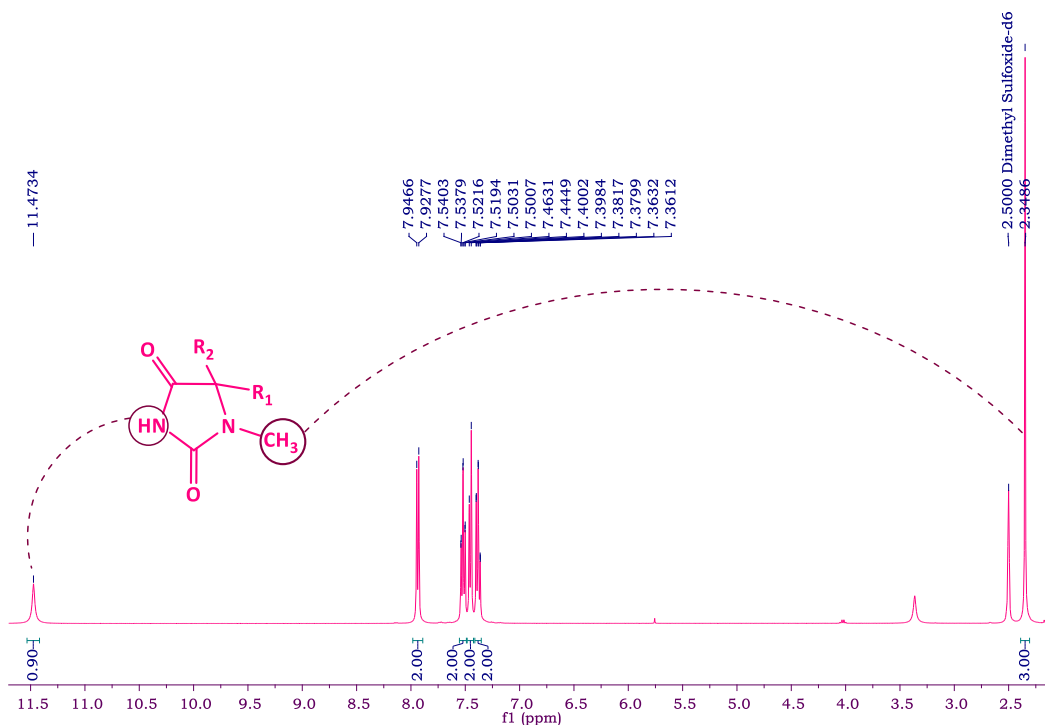
Η προσθήκη της χαρακτηριστικής ομάδας της υδαντοΐνης σε ένα μόριο τείνει να αυξήσει τη συνολική πολικότητα του, κυρίως σε περιπτώσεις όπου τα δύο άζωτα είναι μη υποκατεστημένα και φέρουν υδρογόνα. Το γεγονός αυτό οφείλεται στην ικανότητα σχηματισμού δεσμών H των καρβονυλικών οξυγόνων και των υδρογόνων των NH ομάδων της υδαντοΐνης, οι οποίοι αυξάνουν τη διαλυτότητα της σε πολικούς διαλύτες. Το μιδικό H της θέσης 3 είναι περισσότερο όξινο από αυτό της θέσης 1, καθώς τα καρβονύλια εκατέρωθεν του αζώτου σταθεροποιούν το αντίστοιχο ανιόν μέσω του επαγωγικού $-I$ φαινομένου και του φαινομένου $-R$ του συντονισμού. Το φορτίο αποεντοπίζεται από το άζωτο, μειώνεται η συνολική ηλεκτρονική πυκνότητα και δημιουργείται έλλειμμα ηλεκτρονίων με αποτέλεσμα να αυξάνεται η οξύτητά του.⁷⁹ Στο φάσμα 1H NMR των υδαντοΐνων, το όξινο πρωτόνιο του *N*-3 είναι περισσότερο "αποθωρακισμένο" από το αμιδικό υδρογόνο του *N*-1, εφόσον η ηλεκτρονιακή πυκνότητα γύρω του είναι ελαττωμένη, με συνέπεια να εμφανίζεται σε χαμηλότερες τιμές πεδίου (downfield). Στην **Εικ. 39** παρατίθεται το φάσμα 1H NMR του αναλόγου **2**, στο οποίο διακρίνονται οι χαρακτηριστικές κορυφές των πρωτονίων του υδαντοϊνικού σκελετού.



ΕΙΚΟΝΑ 39 | Φάσμα 1H NMR (2.45-11.5 ppm) της ένωσης **2** (400 MHz, $DMSO-d_6$).

Χημικό Μέρος

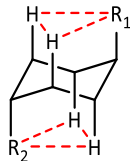
Στα φάσματα ^1H NMR των 1-μεθυλιωμένων αναλόγων, η απουσία της κορυφής δεξιά του ιμιδικού πρωτονίου, υποδηλώνει ότι η εισαγωγή μεθυλίου στη θέση 1 ήταν επιτυχής. Τα μεθυλικά πρωτόνια συντονίζονται ως απλή κορυφή σε υψηλές τιμές πεδίου (upfield). Στην **Εικ. 40** απεικονίζεται το φάσμα ^1H NMR του μεθυλιωμένου αναλόγου της ένωσης **2**.



ΕΙΚΟΝΑ 40 | Φάσμα ^1H NMR (2.00-11.55 ppm) της ένωσης **50** (400 MHz, DMSO- d_6).

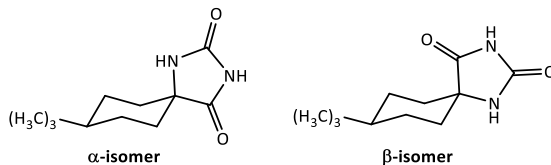
3.4.2 ΦΑΣΜΑΤΑ ^1H NMR ΚΑΙ ^{13}C NMR 4-ΦΑΙΝΥΛΟΚΥΚΛΟΞΑΝΟ ΥΠΟΚΑΤΕΣΤΗΜΕΝΟΥ ΑΝΑΛΟΓΟΥ **21**

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα φάσματα των αναλόγων τα οποία φέρουν 4 φαινυλοκυκλοεξανό υποκατάσταση. Στη διαμόρφωση ανακλίντρου του κυκλοεξανίου, οι υποκαταστάτες μπορούν να βρεθούν σε αξονικές και ισημερινές θέσεις. Παρόλα αυτά, δε διακρίνονται δύο ισομερείς δομές, λόγω της ταχείας αλληλομετατροπής από τη μια διαμόρφωση στην άλλη, με συνέπεια την εναλλαγή αξονικών και ισημερινών θέσεων. Στην περίπτωση των 1,4-δισυποκατεστημένων κυκλοεξανίων, τα δύο διαμορφομερή δεν είναι εξίσου σταθερά και το διαμορφομερές στο οποίο οι υποκαταστάτες βρίσκονται σε ισημερινή θέση, εμφανίζει μεγαλύτερη σταθερότητα από το αξονικό. Αυτό οφείλεται στην ύπαρξη στερεοχημικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των αξονικών υποκαταστατών των C-1 και C-4 και των δύο αξονικών υδρογόνων των C-3 και C-5, τις λεγόμενες 1,3-διαξονικές αλληλεπιδράσεις (**Εικ. 41**).⁹⁹



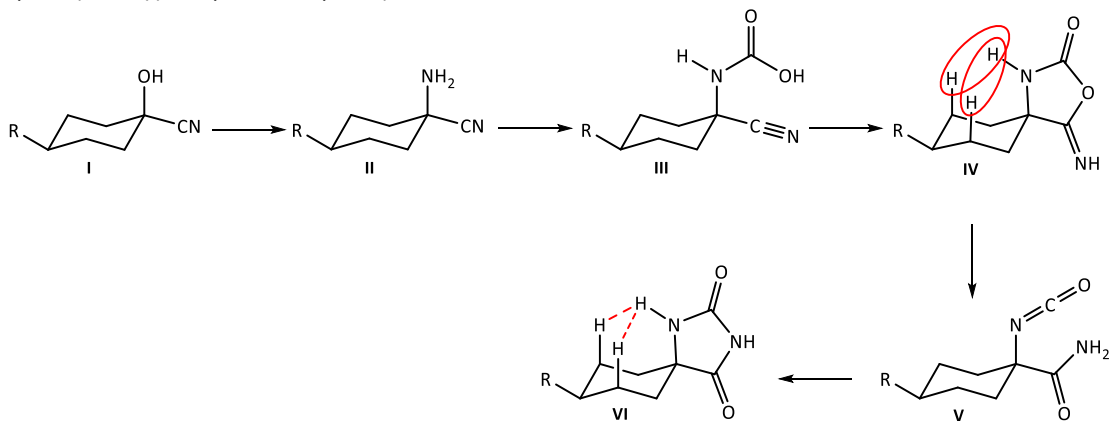
ΕΙΚΟΝΑ 41 | 1,3-διαξονικές αλληλεπιδράσεις σε αξονικά υποκατεστημένο ανάκλιτρο.

Η στερεοχημεία των αντιδράσεων *Bucherer-Bergs* και *Strecker* για υποκατεστημένα κυκλοεξάνια έχει μελετηθεί εκτενώς και διαπιστώθηκε αρχικά ότι, στην περίπτωση της αντίδρασης *Bucherer-Bergs* για την 4-*tert*-βουτυλοκυκλοεξανόνη λαμβάνεται κυρίως η μία από τις στερεοϊσομερείς υδαντοΐνες, ενώ το άλλο στερεοϊσομερές σε ίχνη. Κύριο προϊόν της αντίδρασης *Bucherer-Bergs* είναι το α-ισομερές, ενώ της αντίδρασης *Strecker* το β-ισομερές (**Εικ. 42**).



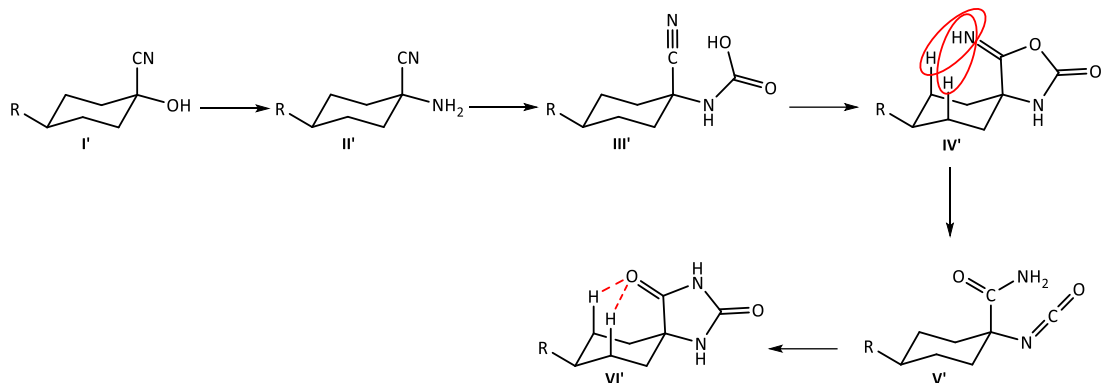
ΕΙΚΟΝΑ 42 | Κύρια προϊόντα των αντιδράσεων *Bucherer-Bergs* και *Strecker* της 4-*tert*-βουτυλοκυκλοεξανόνης.

Το περιοριστικό για την αντίδραση στάδιο είναι η κύκλωση του κυανοκαρβαμιδικού οξέος προς 5-ιμινο-2-οξαζολιδινόνη (**Σχ. 13, Σχ. 14**). Η σύνθεση του α-διαμορφομερούς ως κύριου προϊόντος είναι αποτέλεσμα της στερεοχημικής παρεμπόδισης μεταξύ της ιμινικής ομάδας (C=NH) και των 3,5-αξονικών υδρογόνων στο περιοριστικό στάδιο του μηχανισμού, το οποίο οδηγεί στη *cis* διευθέτηση της ιμινο ομάδας και της *tert*-βουτυλο ομάδας.



ΣΧΗΜΑ 13 | Βασικές δομές του μηχανισμού της αντίδρασης *Bucherer-Bergs*. Στη δομή **IV** και **VI** επισημαίνονται οι 1,3-διαξονικές αλληλεπιδράσεις.

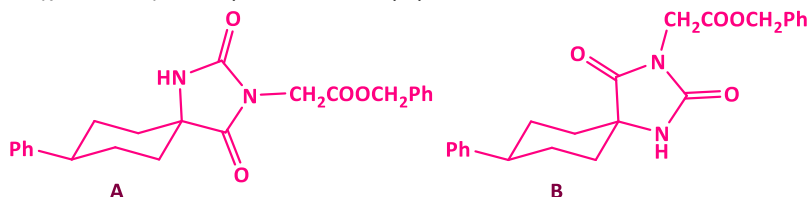
Χημικό Μέρος



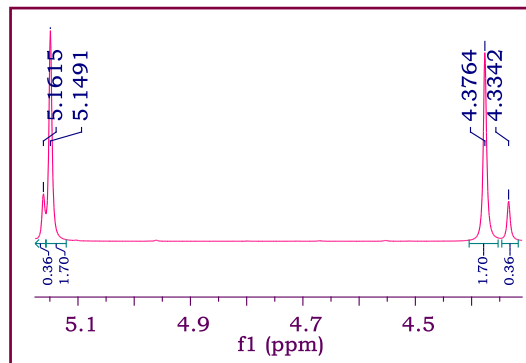
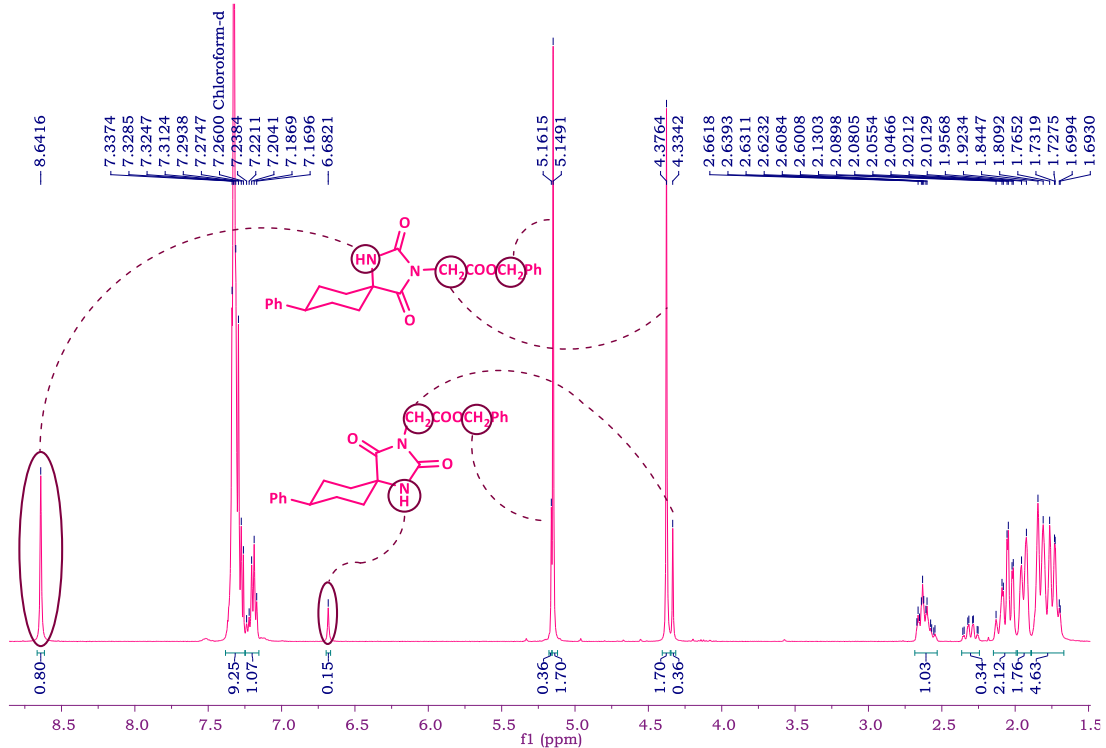
ΣΧΗΜΑ 14 | Βασικές δομές του μηχανισμού της αντίδρασης *Strecker*. Στη δομή **IV'** και **VI'** επισημαίνονται οι 1,3-διαξονικές αλληλεπιδράσεις.

Μετρήσεις των αποστάσεων μεταξύ των αξονικών υδρογόνων και του υδρογόνου του *N*-1' της δομής **VI'**, καθώς και των αξονικών υδρογόνων και οξυγόνου του C-4' της δομής **VI'**, έδειξαν ότι η στερεοχημική τάση είναι μεγαλύτερη στη δεύτερη περίπτωση, γεγονός που αποδεικνύει ότι ευνοείται ο σχηματισμός του ισομερούς, στο οποίο η αμινομάδα είναι σε *cis* διάταξη με τον υποκαταστάτη R. Το γεγονός ότι το α-διαμορφομερές σχηματίζεται κατά προτίμηση έναντι του β, υποδεικνύει ότι, η πρώτη πορεία περικλείει ένα χαμηλότερο συνολικό ενεργειακό φράγμα, κατά τη μετάβαση από τα αντιδρώντα στην υδαντοΐνη. Στην πρώτη πορεία, η δομή **III** είναι λιγότερο ευνοϊκή σε σχέση με την **III'**, ωστόσο η στερεοχημική παρεμπόδιση στις δομές **IV'**, **V'** και **IV'** είναι μεγαλύτερη συγκριτικά με τις **IV**, **V** και **IV** και το συνολικό ενεργειακό άθροισμα είναι μεγαλύτερο στην περίπτωση της δεύτερης πορείας.^{100,101} Επίσης, κατά την εφαρμογή της αντίδρασης *Bucherer-Bergs* στην 4-βενζουόλοξυκυκλοεξανόνη, σχηματίστηκαν κατά αντιστοιχία με τα παραπάνω τα δύο διαμορφομερή σε αναλογία 3:1 για το ισομερές στο οποίο η NH ομάδα είναι σε *cis* διάταξη με τον 4-βενζουόλοξυ υποκαταστάτη ως προς το ισομερές, στο οποίο οι δύο ομάδες είναι σε *trans* διάταξη.^{102,103}

Στα φάσματα των 4-φαινυλοκυκλοεξανο υποκατεστημένων αναλόγων διακρίνονται διαφορετικές κορυφές, οι οποίες αντιστοιχούν στα δύο διαμορφομερή, σύμφωνα με όσα αναφέρθηκαν παραπάνω. Στη συνέχεια παρατίθενται τα φάσματα ¹H NMR και ¹³C NMR του βενζυλεστέρα **21** (Εικ. 43, Εικ. 44) της σειράς των 4-φαινυλοκυκλοεξανο υποκατεστημένων αναλόγων. Η κορυφή του αμιδικού πρωτονίου για το **A** διαμορφομερές, όπου η NH ομάδα βρίσκεται σε *cis* διάταξη με το φαινύλιο, εμφανίζεται σε χαμηλότερες τιμές πεδίου σε σχέση με το **B**. Τα μεθυλενικά πρωτόνια της βενζυλομάδας του **A** ισομερούς συντονίζονται σε υψηλότερες τιμές πεδίου λόγω της θωράκισης τους σε σχέση με αυτά του **B**, ενώ τα μεθυλενικά πρωτόνια της ακετοξυ-ομάδας του **A** διαμορφομερούς αποθωρακίζονται περισσότερο από αυτά του **B** και εμφανίζονται σε χαμηλότερες τιμές πεδίου. Οι σχετικές ολοκληρώσεις των κορυφών δείχνουν ότι η αναλογία των δύο ισομερών **A** και **B** είναι 5:1.



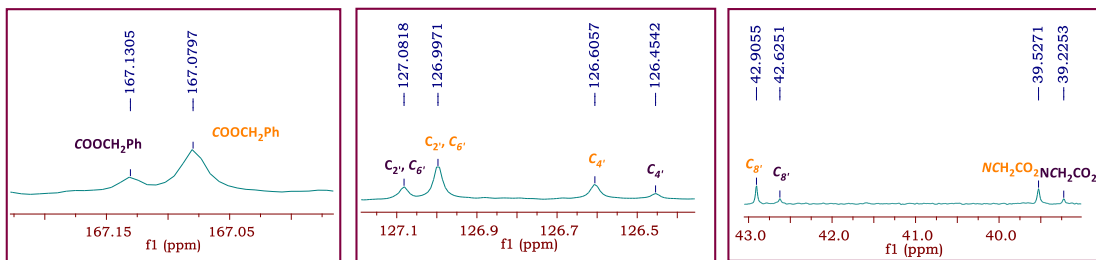
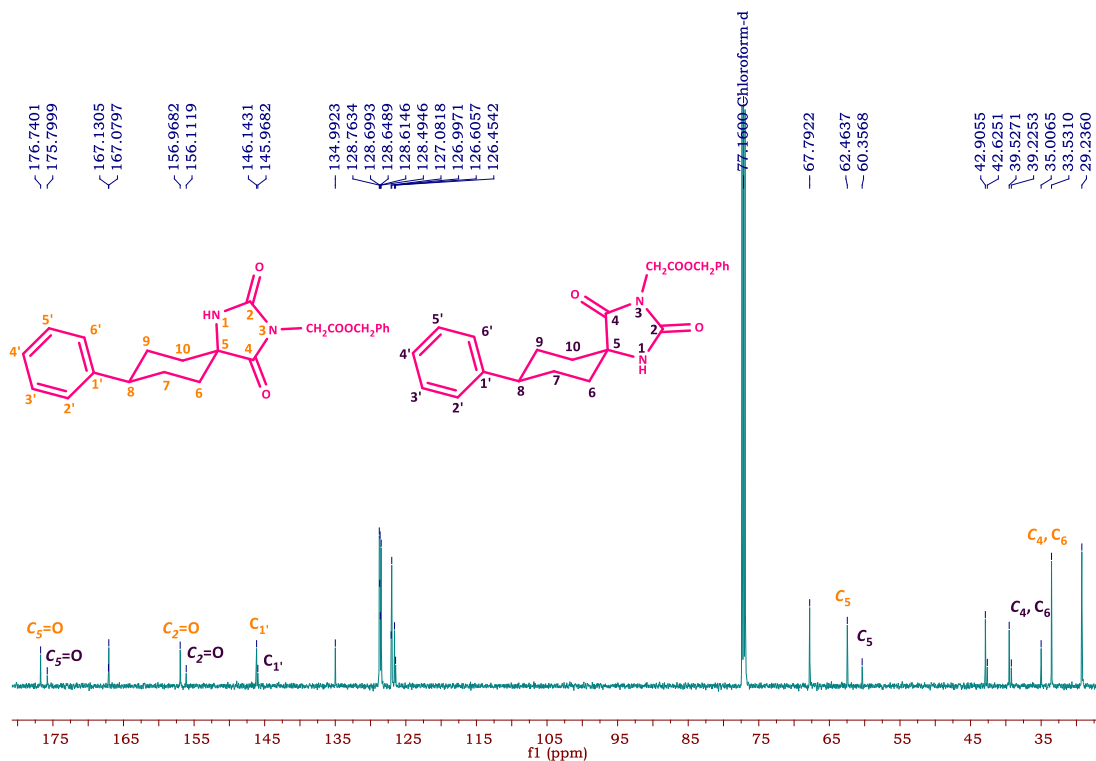
ΕΙΚΟΝΑ 43 | Διαμορφομερή του βενζυλεστέρα **21**



ΕΙΚΟΝΑ 44 | Επάνω: Φάσμα ^1H NMR (1.50-9.0 ppm) της ένωσης **21** (400 MHz, CDCl_3), όπου επισημαίνονται οι χαρακτηριστικές κορυφές που αντιστοιχούν στα δύο διαμορφομερή **A** και **B**. Κάτω: Διεύρυνση της περιοχής 4.30-5.17 ppm του φάσματος ^1H NMR της ένωσης **21**. Δεξιά εμφανίζονται οι δύο κορυφές για τα μεθυλενικά πρωτόνια της ακετοξυομάδας και αριστερά τα μεθυλενικά πρωτόνια της βενζυλο ομάδας.

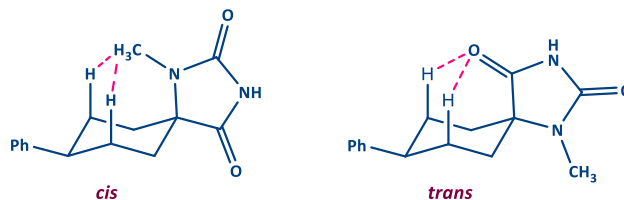
Στο φάσμα του ^{13}C NMR (**Εικ. 45**), παρατηρούνται διαφορές για τα δύο διαμορφομερή στους κυκλοεξανικούς άνθρακες C-5, C-6/10, C-8, στους αρωματικούς άνθρακες του 4-φαινυλο υποκαταστάτη C-1' και C-2'/6', στους τρεις καρβονυλικούς άνθρακες και στο μεθυλενικό άνθρακα της ακετοξυομάδας.

Χημικό Μέρος



ΕΙΚΟΝΑ 45| Επάνω: Φάσμα ^{13}C NMR (22.5-180.0 ppm) της ένωσης **21** (150 MHz, CDCl_3). Οι άνθρακες της *cis* διάταξης επισημαίνονται με πορτοκαλί χρώμα και οι αντίστοιχοι της *trans* διάταξης με μωβ χρώμα. Κάτω (από αριστερά προ τα δεξιά): Διεύρυνση της περιοχής 166.97-167.22 ppm, 126.37-127.15 ppm και 39.0-43.0 ppm του φάσματος ^{13}C NMR της ένωσης **21**. Οι άνθρακες της *cis* διάταξης επισημαίνονται με πορτοκαλί χρώμα και οι αντίστοιχοι της *trans* διάταξης με μωβ χρώμα.

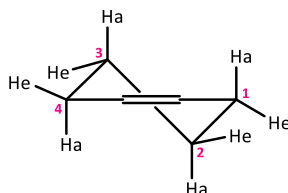
Στην περίπτωση των μεθυλιωμένων αναλόγων, εξαιτίας των εντονότερων 1,3-διαξονικών αλληλεπιδράσεων της *N*-μεθυλομάδας και των αξονικών υδρογόνων των C-3 και C-5 της *cis* διάταξης (Εικ. 46), σχηματίζεται αποκλειστικά (>99%) το διαμορφομερές, στο οποίο το μεθυλιωμένο άζωτο και ο 4-φαινυλο υποκαταστάτης είναι σε *trans* διευθέτηση μεταξύ τους.



ΕΙΚΟΝΑ 46 | *Cis* και *trans* διάταξη της ένωσης **20**. Σχηματική αναπαράσταση των 1,3 διαξονικών αλληλεπιδράσεων.

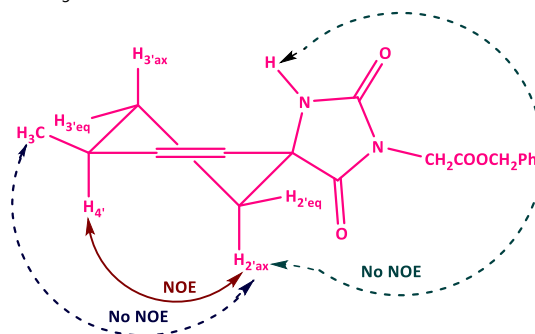
3.4.3 ΦΑΣΜΑ NOESY ΤΟΥ ΒΕΝΖΥΛΕΣΤΕΡΑ 39

Όπως προαναφέρθηκε, κατά το χτίσιμο της σκελετικής διάταξης της 2,4-δικετοϊμιδαζολιδίνης στο δακτύλιο του 4-μεθυλο-1,2,3,4-τετραϋδروναφθαλινίου, δημιουργήθηκε ένα επιπλέον ασύμμετρο κέντρο και προέκυψαν δύο διαστερομερή (4 στερεοϊσομερή), τα οποία διαχωρίστηκαν στο στάδιο της υποκατάστασης με βρωμοξικό βενζυλεστέρα. Για τον προσδιορισμό κάθε ζεύγους εναντιομερών, πραγματοποιήθηκε εκτέλεση πειράματος δύο διαστάσεων NOESY, προκειμένου να μελετηθούν οι συζεύξεις των πυρηνικών σπιν στο χώρο. Στο σκελετό του 1,2,3,4-τετραϋδροναφθαλινίου, ο κυκλοεξανικός δακτύλιος υιοθετεί τη διαμόρφωση ημιανακλίντρου, η οποία απεικονίζεται στην **Εικ. 47**.^{104,105}

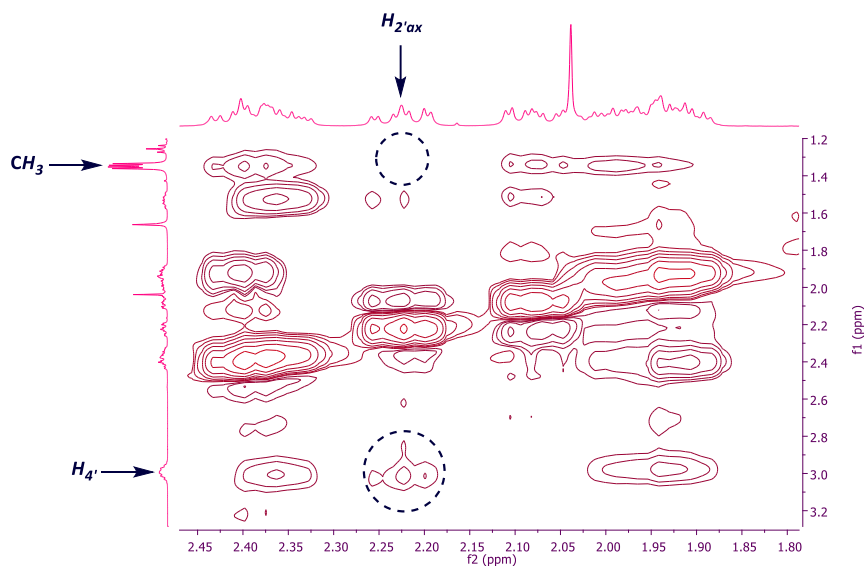


ΕΙΚΟΝΑ 47 | Διαμόρφωση ημιανακλίντρου του 1,2,3,4-τετραϋδροναφθαλινικού δακτυλίου.

Από το φάσμα NOESY του βενζυλεστέρα **39** (**Εικ. 49**), παρατηρείται ένα σήμα στην περιοχή 2.17-2.28 ppm (οριζοντίως) και 2.93-3.05 ppm (καθέτως), στις οποίες συντονίζονται το αξονικό πρωτόνιο $H_{2'}$ και το πρωτόνιο $H_{4'}$, ενώ απουσιάζει κορυφή συντονισμού στην περιοχή 1.31-1.40 ppm (καθέτως), η οποία αντιστοιχεί στα πρωτόνια του CH_3 . Η παρατηρούμενη σύζευξη μεταξύ του αξονικού πρωτονίου $H_{2'}$ και του $H_{4'}$ οδηγεί στο συμπέρασμα ότι βρίσκονται σε *cis* διεύθεση μεταξύ τους, με το $H_{2'ax}$ να βρίσκεται κάτω από το επίπεδο ενώ το CH_3 πάνω από το ίδιο επίπεδο.

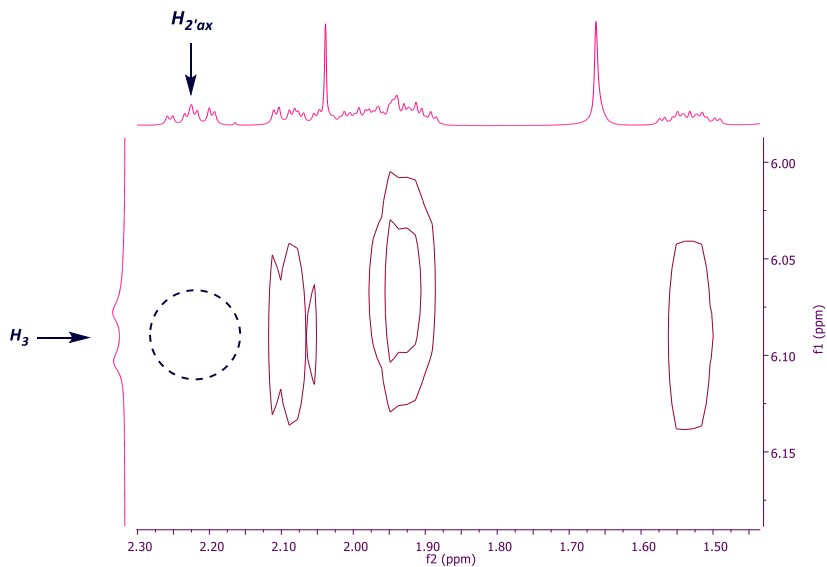


ΕΙΚΟΝΑ 48 | Σχηματική αναπαράσταση των συζεύξεων NOE.



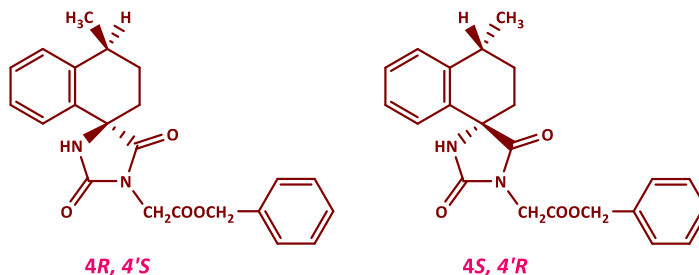
ΕΙΚΟΝΑ 49 | Περιοχή του φάσματος 2D NOESY (400 MHz, CDCl₃) της ένωσης **39**.

Επίσης από το φάσμα NOESY (Εικ. 50), η απουσία σύζευξης μεταξύ του αξονικού πρωτονίου $H_{2'}$ και του H_3 της NH ομάδας υποδεικνύει ότι βρίσκονται σε *trans* διευθέτηση μεταξύ τους.



ΕΙΚΟΝΑ 50 | Περιοχή του φάσματος 2D NOESY (400 MHz, CDCl₃) της ένωσης **39**.

Από τα δεδομένα του πειράματος NOESY για την ένωση **39**, διαπιστώνεται ότι πρόκειται για το ζεύγος εναντιομερών $4R,4'S/4S,4'R$.



ΕΙΚΟΝΑ 51 | Δομές του ζεύγους εναντιομερών 4R,4'S/4S,4'R.

3.4.4 ΦΑΣΜΑΤΑ ^1H NMR ΚΑΙ ^{13}C NMR ΑΚΕΤΟΥΔΡΟΞΑΜΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ

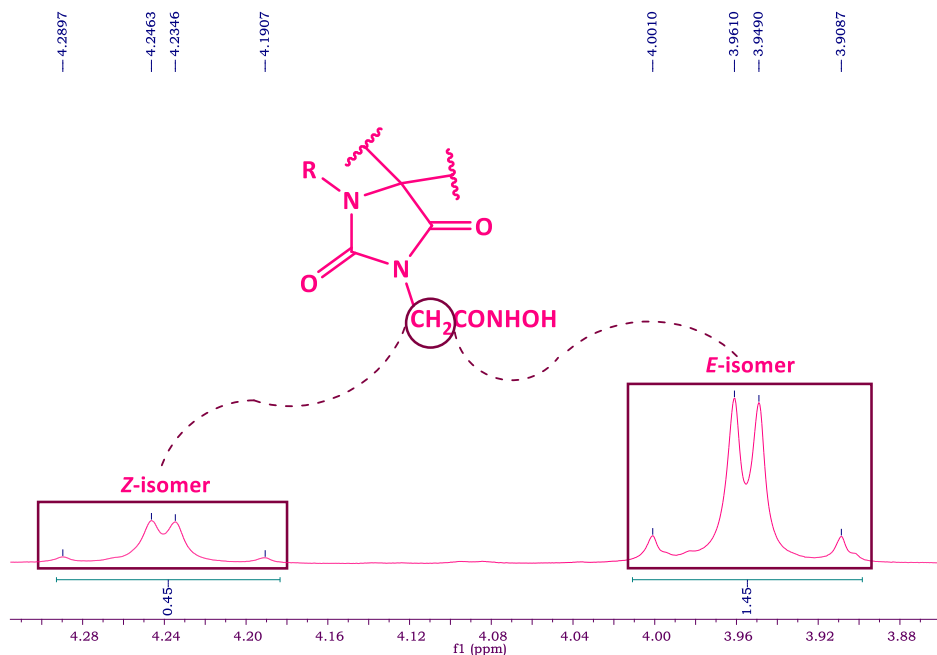
3.4.4.1 ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΜΕΘΥΛΕΝΙΚΩΝ ΠΡΩΤΟΝΙΩΝ ΚΑΙ ΑΝΘΡΑΚΩΝ ΤΩΝ *E*, *Z* ΙΣΟΜΕΡΩΝ

Όπως προαναφέρθηκε, τα υδροξαμικά οξέα (R-CO-NH-OH) εμφανίζονται ως ταυτομερείς μορφές αμιδίου-ιμιδίου και καθένα από τα δύο ταυτομερή λαμβάνει δύο διαμορφώσεις τη *Z* και την *E*, λόγω της εσωτερικής περιστροφής γύρω από το δεσμό C-N. Σε μορφή διαλύματος, οι ιμιδικές μορφές απουσιάζουν, ενώ φαίνεται ότι η *Z* διαμόρφωση είναι αυτή που υπερισχύει εξαιτίας της σταθεροποίησής της μέσω του σχηματισμού δεσμών υδρογόνου. Στα φάσματα ^1H NMR των υδροξαμικών οξών εντοπίζονται τέσσερις διακριτές κορυφές για τα πρωτόνια **NH** και **OH** της υδροξαμικής ομάδας, οι οποίες αντιστοιχούν στα *Z* και *E* ισομερή. Η αναλογία των *Z/E* ισομερών ποικίλλει ανάλογα με τη φύση του υποκαταστάτη R, το διαλύτη, τη συγκέντρωση του οξέος και τη θερμοκρασία.

Στα φάσματα ^1H NMR και ^{13}C NMR των ακετούδροξαμικών οξέων που συντέθηκαν, διακρίνονται διαφορές στα μεθυλενικά πρωτόνια, το αμιδικό πρωτόνιο και το πρωτόνιο του υδροξυλίου της ακετούδροξαμικής ομάδας και στο μεθυλενικό άνθρακα και τον καρβονυλικό άνθρακα της ακετούδροξαμικής ομάδας, καθώς επίσης και στους δύο καρβονυλικούς άνθρακες του δικετοϊμιδαζολιδινικού σκελετού.

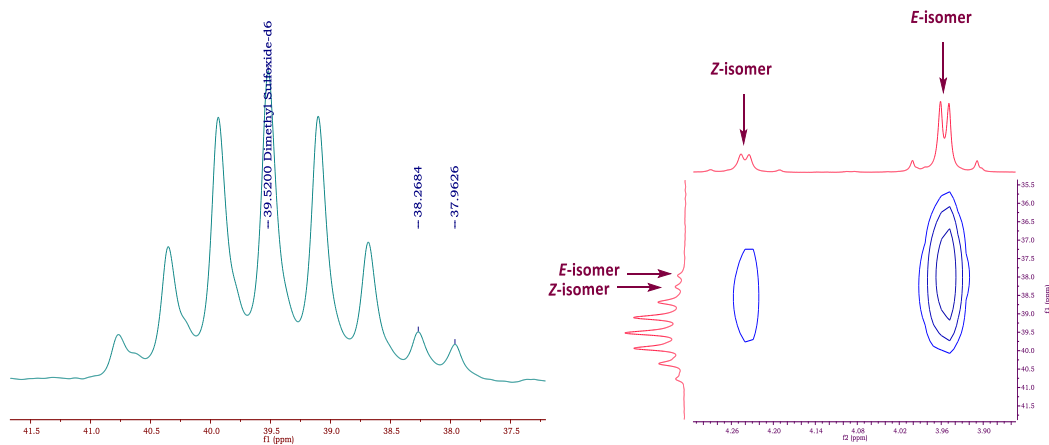
Στην **Εικ. 52** απεικονίζεται η περιοχή του φάσματος της ένωσης **36**, στην οποία συντονίζονται τα μεθυλενικά πρωτόνια της ακετούδροξαμικής ομάδας. Τα πρωτόνια του *E* ισομερούς εμφανίζονται σε υψηλότερες τιμές πεδίου με τη μορφή τετραπλής κορυφής συστήματος AB (AB spin system) συγκριτικά με τα αντίστοιχα πρωτόνια του *Z* ισομερούς, τα οποία συντονίζονται ομοίως ως τετραπλή κορυφή. Για τα υδροξαμικά οξέα που συντέθηκαν, τα μεθυλενικά πρωτόνια εμφανίζονται με τη μορφή τετραπλής κορυφής τύπου AB, κυρίως όταν στη θέση 5 του υδαντοϊνικού σκελετού έχει δημιουργηθεί χειρόμορφο κέντρο από την εισαγωγή του υποκαταστάτη, ενώ στην περίπτωση όπου ο υποκαταστάτης έχει κάποιον άξονα συμμετρίας όπως στα ανάλογα **6**, **12**, **24**, **54**, **61** και **68**, τα μεθυλενικά πρωτόνια συντονίζονται ως απλές κορυφές. Για όλα τα ανάλογα, τα μεθυλενικά πρωτόνια του *E* διαμορφομερούς συντονίζονται στην περιοχή 3.70-4.20 ppm, ενώ τα αντίστοιχα του *Z*, στην περιοχή 4.20-4.50 ppm.

Χημικό Μέρος



ΕΙΚΟΝΑ 52| Περιοχή 3.86-4.32 ppm του φάσματος ^1H NMR της ένωσης **36**, στην οποία διακρίνονται οι κορυφές των δύο διαμορφομερών για τα μεθυλικά πρωτόνια της $-\text{CH}_2\text{CONHOH}$ ομάδας.

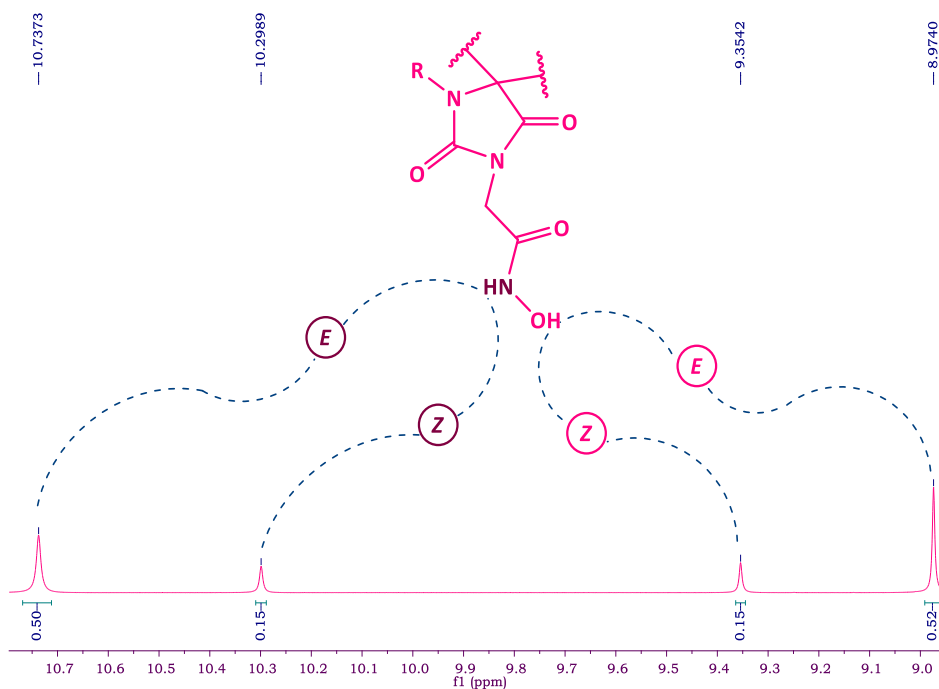
Κατά αντιστοιχία με τα μεθυλικά πρωτόνια, και οι μεθυλικοί άνθρακες (**Εικ. 53**) για τα δύο ισομερή συντονίζονται σε διαφορετικές τιμές πεδίου, όπως αποδεικνύεται από το φάσμα δύο διαστάσεων HSQC (**Εικ. 53**), όπου καθεμιά από τις δύο τετραπλές κορυφές εμφανίζουν συζεύξεις με δύο διαφορετικούς άνθρακες. Ο άνθρακας του *E* διαμορφομερούς εμφανίζεται σε υψηλότερες τιμές πεδίου από τον αντίστοιχο του *Z* διαμορφομερούς.



ΕΙΚΟΝΑ 53| Αριστερά: Περιοχή 37.2-41.7 ppm του φάσματος ^{13}C NMR (50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) της ένωσης **36**, στην οποία διακρίνονται οι κορυφές συντονισμού των δύο διαμορφομερών για τους μεθυλικούς άνθρακες. Δεξιά: Περιοχή του φάσματος 2D HSQC (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) της ένωσης **36**, στην οποία απεικονίζονται οι συζεύξεις των μεθυλικών πρωτονίων με τους άνθρακες τους.

3.4.4.2 ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΠΡΩΤΟΝΙΩΝ ΚΑΙ ΑΝΘΡΑΚΩΝ ΤΗΣ ΚΑΡΒΟΪΔΡΟΞΑΜΙΚΗΣ ΟΜΑΔΑΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΔΙΚΕΤΟΪΜΙΔΑΖΟΛΙΔΙΝΙΚΟΥ ΣΚΕΛΕΤΟΥ

Στη συνέχεια παρατίθεται η περιοχή του φάσματος ^1H NMR για το αμιδικό πρωτόνιο και το πρωτόνιο του υδροξυλίου της ένωσης **30** (Εικ. 54). Η παρουσία τεσσάρων διακριτών κορυφών για τα πρωτόνια NH και OH είναι χαρακτηριστική για τα τελικά ακετοϋδροξαμικά οξέα στα φάσματα ^1H NMR, τα οποία ελήφθησαν σε $\text{DMSO-}d_6$. Εξαιτίας του φαινομένου της μαγνητικής ανισοτροπίας του καρβονυλίου της ακετοϋδροξαμικής ομάδας, το αμιδικό H βρίσκεται στον κώνο αποπροστασίας και αποθωρακίζεται, ενώ το H του υδροξυλίου υφίσταται θωράκιση, καθώς εμφανίζεται εντός του κώνου προστασίας του καρβονυλίου. Το πρωτόνιο του υδροξυλίου της *E* διαμόρφωσης συντονίζεται ως απλή κορυφή στην περιοχή 8.94-9.36 ppm, ενώ το αντίστοιχο πρωτόνιο του *Z* διαμορφομερούς εμφανίζεται σε χαμηλότερες τιμές πεδίου στην περιοχή 9.31-9.45 ppm. Το αμιδικό πρωτόνιο συντονίζεται στην περιοχή 10.20-10.43 ppm για τη *Z* διαμόρφωση και στην περιοχή 10.67-10.81 ppm για το *E* διαμορφομερές.

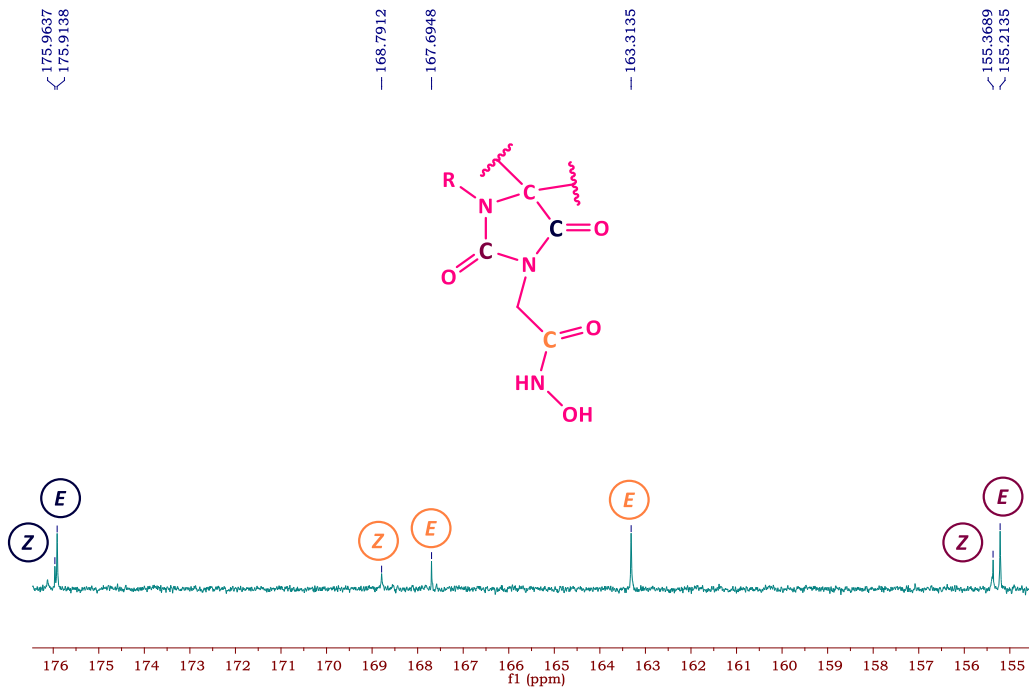


ΕΙΚΟΝΑ 54 | Περιοχή 8.05-10.80 ppm του φάσματος ^1H NMR της ένωσης **30** (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), στην οποία διακρίνονται οι κορυφές των δύο διαμορφομερών για το αμιδικό και το υδροξυλικό πρωτόνιο της $-\text{CH}_2\text{CONHOH}$ ομάδας.

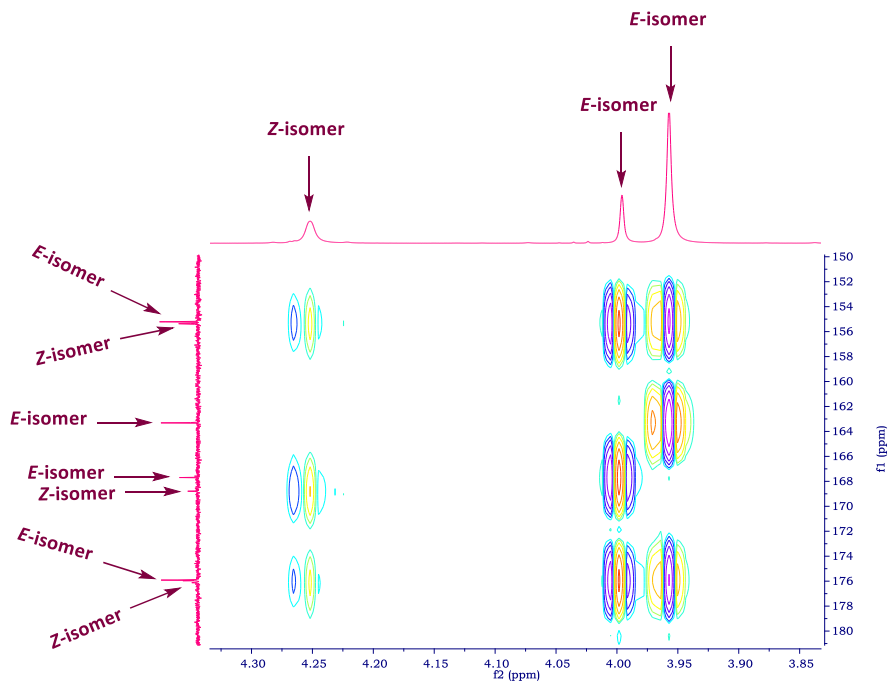
Σε διαφορετικές μετατοπίσεις εμφανίζονται οι καρβονυλικοί άνθρακες του υδαντοϊνικού σκελετού για τα *E* και *Z* διαμορφομερή (Εικ. 55). Ο καρβονυλικός άνθρακας ο οποίος βρίσκεται μεταξύ των δύο αζώτων, συντονίζεται σε υψηλότερες τιμές πεδίου από τον καρβονυλικό άνθρακα που βρίσκεται μεταξύ του αζώτου και της σπειρατικά υποκατεστημένης θέσης. Και στις δύο περιπτώσεις, ο άνθρακας του *Z* ισομερούς εμφανίζεται σε χαμηλότερες τιμές πεδίου από αυτόν του *E* ισομερούς. Ο καρβονυλικός άνθρακας της ακετοϋδροξαμικής ομάδας του *Z* διαμορφομερούς συντονίζεται στην περιοχή 166.2-171.1 ppm, ενώ ο αντίστοιχος άνθρακας της *E* διαμόρφωσης είναι μετατοπισμένος σε υψηλότερες τιμές

Χημικό Μέρος

πεδίου στην περιοχή των 163.1-167.7 ppm. Η ύπαρξη διαφορετικών μετατοπίσεων για τους καρβονυλικούς άνθρακες των δύο διαμορφομερών, επιβεβαιώνεται από τις συζεύξεις των μεθυλενικών υδρογόνων με τους άνθρακες αυτούς από το φάσμα δύο διαστάσεων HMBC (Εικ. 56).



ΕΙΚΟΝΑ 55 | Περιοχή 155.5-176.5 ppm του φάσματος ^{13}C NMR της ένωσης **30** (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$). Οι καρβονυλικοί άνθρακες του δικετοϊμιδαζολιδινικού σκελετού και ο καρβονυλικός άνθρακας της $-\text{CH}_2\text{CONHOH}$ ομάδας επισημαίνονται με διαφορετικά χρώματα στο μόριο της ένωσης και επάνω στο φάσμα. Στο φάσμα διακρίνονται δύο κορυφές για τον καρβονυλικό άνθρακα της $-\text{CH}_2\text{CONHOH}$ του *E* διαμορφομερούς εξαιτίας των διαμορφώσεων του κυκλοεπτανικού δακτυλίου.



ΕΙΚΟΝΑ 56 | Περιοχή του φάσματος 2D HMBC (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) της ένωσης **30**, στην οποία απεικονίζονται οι συζεύξεις των μεθυλενικών πρωτονίων με τους καρβονυλικούς άνθρακες.

Από τις σχετικές ολοκληρώσεις των κορυφών τόσο των αμιδικών όσο και των υδροξυλικών πρωτονίων διαπιστώνεται ότι η αναλογία *E/Z* ισομερούς είναι 3:1, όπως έχει μελετηθεί και αποδειχθεί από την ερευνητική μας ομάδα με εκτενή πειράματα NMR και θεωρητικές *in silico* μελέτες.¹⁰⁶

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

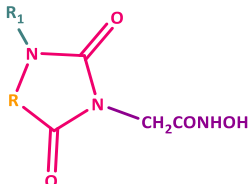
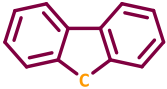
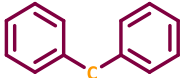


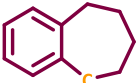
4.1 *In vitro* ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΤΡΥΠΑΝΟΣΩΜΙΑΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ

4.1.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ ΤΗΣ ΑΝΤΙΤΡΥΠΑΝΟΣΩΜΙΑΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ

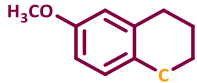
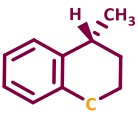
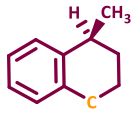
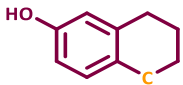
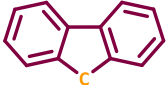
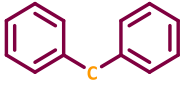

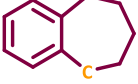
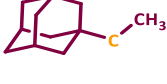
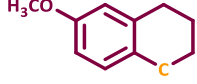
Ο έλεγχος της αντιτρυπανοσωμιακής δράσης των τελικών ακετούδροξαμικών οξέων πραγματοποιήθηκε στον Τομέα Μοριακής Βιολογίας Παθογένειας του Τμήματος Λοιμωδών και Τροπικών Νόσων στη Σχολή Υγιεινής και Τροπικής Ιατρικής του Λονδίνου υπό την καθοδήγηση του καθηγητή John M. Kelly.

Αρχικά οι ενώσεις εξετάστηκαν έναντι των BSF του *T. brucei* σε συγκέντρωση 5 µg/mL, σε καλλιέργειες στους 37 °C και pH=7.4. Μετρήθηκε η % αναστολή της ανάπτυξης του παρασίτου παρουσία των υπό έλεγχο ενώσεων και διαπιστώθηκε ότι τα ακετούδροξαμικά οξέα αναστέλλουν 100% την ανάπτυξη του παρασίτου. Στη συνέχεια, προσδιορίστηκαν οι τιμές IC₅₀ και IC₉₀ για το *T. brucei* και οι συγκεντρώσεις που απαιτούνται για την αναστολή της ανάπτυξης της L6 κυτταρικής σειράς σκελετικών μυοβλαστών επιμύων κατά 50% για τον προσδιορισμό της κυτταροτοξικότητας, καθώς και οι δείκτες εκλεκτικότητας (Selectivity Index, SI). Τα αποτελέσματα των μετρήσεων παρατίθενται στον Πίνακα 4.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4| Αντιτρυπανοσωμιακή δράση των τελικών ακετούδροξαμικών οξέων έναντι καλλιέργειας των BSF του *T. brucei* και κυτταροτοξικότητα των ενώσεων έναντι καλλιέργειας της L6 κυτταρικής σειράς σκελετικών μυοβλαστών επιμύων.

						
Ένωση	R	R ₁	Δραστικότητα		Κυτταροτοξικότητα	
			<i>T. brucei</i> IC ₅₀ ^a	<i>T. brucei</i> IC ₉₀ ^a	L6 cells IC ₅₀ ^b	SI ^c
Συγκεντρώσεις σε µM						
6		H	0.23 ± 0.03	0.29 ± 0.01	71 ± 3	310
12		H	0.62 ± 0.03	0.89 ± 0.18	154 ± 12	250
18		H	0.28 ± 0.09	0.44 ± 0.03	22 ± 1	80
24		H	0.88 ± 0.10	1.18 ± 0.04	61 ± 8	70
30		H	0.40 ± 0.04	0.52 ± 0.05	125 ± 12	310

Φαρμακολογικό Μέρος

36		H	1.94 ± 0.09	2.97 ± 0.38	276 ± 40	140
42		H	0.67 ± 0.09	0.92 ± 0.23	224 ± 20	335
46		H	0.56 ± 0.07	0.86 ± 0.19	224 ± 7	400
47		H	12.6 ± 1.1	20.6 ± 3.6	362 ± 15	40
54		CH ₃	0.042 ± 0.009	0.065 ± 0.006	47 ± 2	1100
61		CH ₃	0.36 ± 0.03	0.44 ± 0.02	25 ± 2	70
68		CH ₃	0.10 ± 0.01	0.14 ± 0.01	22 ± 4	220
75		CH ₃	0.23 ± 0.01	0.30 ± 0.01	16 ± 1	70
79		CH ₃	0.47 ± 0.02	0.65 ± 0.11	4 ± 1	6
83		CH ₃	0.61 ± 0.09	0.85 ± 0.03	59 ± 15	95

^aΣυγκεντρώσεις που απαιτούνται για την αναστολή της ανάπτυξης του *T. brucei* κατά 50% και 90%, αντίστοιχα. Οι τιμές IC₅₀ και IC₉₀ είναι ο μέσος όρος τριών πειραμάτων ±SEM. ^bΗ κυτταροτοξικότητα προσδιορίστηκε ως η συγκέντρωση που απαιτείται για την αναστολή της ανάπτυξης καλλιεργούμενων L6 κυττάρων κατά 50% (IC₅₀). Οι τιμές IC₅₀ είναι ο μέσος όρος τριών πειραμάτων ±SEM. ^cΟι δείκτες εκλεκτικότητας υπολογίσθηκαν ως ο λόγος της τιμής IC₅₀ για τα L6 κύτταρα προς την τιμή IC₅₀ για το *T. brucei*.

Τα ακετούδροξαμικά οξέα, τα οποία μελετήθηκαν, επέδειξαν ισχυρή δράση έναντι του *T. brucei* με τιμές IC₅₀ να κυμαίνονται από 0.042 μΜ έως 1.94 μΜ. Μοναδική εξαίρεση αποτέλεσε το ανάλογο **47** με IC₅₀ = 12.6 μΜ.

Η ενσωμάτωση βενζολικού πυρήνα στις ενώσεις **XX** και **XVIII**, που οδήγησε στα περισσότερο ογκώδη και λιπόφιλα ανάλογα **6** και **30**, αντίστοιχα, επέφερε σημαντική βελτίωση στην αντιρυπανοσωμιακή δράση. Το ανάλογο **6** είναι 2 φορές δραστικότερο από το **XX**, αλλά και η ένωση **30** είναι 3.6 φορές πιο δραστική από το ανάλογο **XVIII**, ενώ μικρή διαφορά ως προς τη δράση παρατηρείται σε σχέση με το δικετοπιπεραζινικό ανάλογο **XIIIa**.

Η αντικατάσταση του άκαμπτου φλουορενικού σπειρανικού υποκαταστάτη της ένωσης **6** με δύο φαινύλια οδηγεί στο ανάλογο **12**, στο οποίο καθίσταται δυνατή η ελεύθερη περιστροφή, επέφερε μείωση στη δράση περίπου κατά 2.7 φορές.

Το ακετούδροξαμικό παράγωγο **18**, τα οποίο φέρει μη σπειρανικώς ενωμένο αδαμαντανικό δακτύλιο και ένα μεθύλιο στη θέση 5 του δικετοϊμιδαζολιδινικού σκελετού, παρουσιάζει 2 φορές μικρότερη δράση από το δικετοϊμιδαζολινικό ανάλογο **XXI**, το οποίο φέρει σπειρανικώς ενωμένο αδαμαντανικό δακτύλιο στην ίδια θέση, ενώ 3 φορές μικρότερη δράση από το αντίστοιχο δικετοπιπεραζινικό ανάλογο **XIa**.

Αλλαγή του καρβοκυκλικού δακτυλίου από κυκλοεπτάνιο της ένωσης **XVIII** σε κυκλοεξάνιο και επιπλέον 4-φαινυλοϋποκατάσταση επί του κυκλοεξανικού σκελετού ενίσχυσε τη δράση της ένωσης **24** κατά 1.6 φορές. Αντιθέτως, παρατηρείται ελάττωση της δράσης 1.2 φορές συγκριτικά με το ανάλογο **IXI**, το οποίο εμφανίζει περισσότερο άκαμπτη δομή καθώς ο κυκλοεξανικός δακτύλιος είναι συμπυκνωμένος με βενζολικό πυρήνα.

Από την υποκατάσταση του 1,2,3,4-τετραϋδρόναφθαλινικού δακτυλίου με μεθοξυ ομάδα στη θέση 6, προκύπτει το ανάλογο **36**, το οποίο είναι 2.7 φορές λιγότερο δραστικό από μη υποκατεστημένο παράγωγο **XIX**. Δραματική μείωση διαπιστώθηκε για το προϊόν απομεθυλίωσης **47**, το οποίο είναι 6.5 φορές λιγότερο δραστικό από το ανάλογο **36** και περίπου 18 φορές από το παράγωγο **XIX**. Αντιθέτως, η παρουσία του 4-μεθυλο υποκαταστάτη στον 1,2,3,4-τετραϋδρόναφθαλινικό δακτύλιο βελτιώνει ελαφρώς τη δράση της ένωσης **XIX**. Με την εισαγωγή μεθυλίου στη θέση 4, εκτός του χειρόμορφου σπειρανικού άνθρακα, δημιουργείται ένας επιπλέον χειρόμορφος άνθρακας και προκύπτουν τέσσερα στερεοϊσομερή. Το ζεύγος εναντιομερών (4*R*,4'*S*/4*S*,4'*R*), το οποίο αντιστοιχεί στην ένωση **42**, έχει παραπλήσια, ελαφρώς αυξημένη δράση από το ανάλογο **XIX**, και το έτερο ζεύγος (4*R*,4'*R*/4*S*,4'*S*) **46**, είναι 1.3 φορές πιο δραστικό από την ένωση **XIX**. Μικρή διαφορά παρατηρείται μεταξύ των διαστερομερών, καθώς η δραστικότητα του **42** είναι μικρότερη εκείνης του **46** κατά 1.2 φορές.

Η εισαγωγή μεθυλίου στο αμιδικό άζωτο του δικετοϊμιδαζολιδινικού σκελετού ευνόησε σημαντικά την αντιρυπανοσωμιακή δράση, καθώς τα μεθυλιωμένα ανάλογα επέδειξαν καλύτερη δράση από τα αντίστοιχα μη μεθυλιωμένα, με μοναδική εξαίρεση την ένωση **79** που φέρει τον 5-αδαμαντυλο-5-μεθυλο υποκαταστάτη.

Η υποκατάσταση του αμιδικού αζώτου των ενώσεων **6** και **24** με μεθυλομάδα βελτίωσε εξαιρετικά τη δράση, καθώς τα μεθυλιωμένα ανάλογα **54** και **68** ήταν περίπου 5.5 και 9 φορές, αντίστοιχα δραστικότερα από τα μη υποκατεστημένα.

Σημαντική ήταν η αύξηση της δράσης του μεθυλιωμένου 6-μεθοξυ-1,2,3,4-τετραϋδρόναφθαλινικού αναλόγου **83**, το οποίο είναι 3.2 φορές περισσότερο δραστικό από το παράγωγο **36** και ελαφρώς δραστικότερο της ένωσης **XIX**.

Η εισαγωγή μεθυλομάδας επέφερε όμοια αύξηση στη δράση κατά 1.7 φορές για τα δύο ανάλογα **75** και **61**, σε σχέση με τα μη μεθυλιωμένα **30** και **12**, αντίστοιχα.

Η υποκατάσταση του αμιδικού αζώτου του αναλόγου **18** με μεθύλιο, διαπιστώθηκε ότι έχει αρνητική επίδραση στη δραστικότητα κατά του *T. brucei*, με την ένωση **79** να είναι 1.7 φορές λιγότερο δραστική από την ένωση **18**.

Φαρμακολογικό Μέρος

Από τα πειράματα που διεξήχθησαν για τη μελέτη της κυτταροτοξικής δράσης, βρέθηκε ότι τα νέα ανάλογα έχουν χαμηλή έως αμελητέα τοξική δράση στα κύτταρα των θηλαστικών, με τις τιμές των SI να κυμαίνονται από 6 έως 1100.

4.1.2 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΕΞΑΓΩΓΗ ΣΧΕΣΕΩΝ ΔΟΜΗΣ-ΔΡΑΣΗΣ

Η αύξηση του όγκου και της λιποφιλίας των μητρικών ενώσεων **XX** και **XVIII** με την εισαγωγή αρωματικού δακτυλίου οδήγησε σε ανάλογα με εξαιρετικά βελτιωμένη αντιτρυπανοσωμιακή δράση, γεγονός που υποδεικνύει ότι οι νέες ενώσεις δύνανται να σταθεροποιηθούν στο ενεργό κέντρο του ενζύμου-στόχου μέσω επιπρόσθετων π-αλληλεπιδράσεων, οι οποίες είναι πιθανώς ευνοϊκές για τη σύνδεση. Ομοίως, το γεγονός ότι, το ανάλογο **24**, στο οποίο ο καρβοκυκλικός κυκλοεπτανικός δακτύλιος μπορεί μεν να έχει αντικατασταθεί από το μικρότερο σε μέγεθος κυκλοεξανικό σε σχέση με την ένωση **XVIII**, ωστόσο είναι υποκατεστημένος με έναν επιπλέον αρωματικό δακτύλιο, είναι δραστικότερο της ένωσης **XVIII**, έρχεται να συμπληρώσει την ανωτέρω παρατήρηση για τη σημασία των αλληλεπιδράσεων των αρωματικών πυρήνων για την αύξηση της δράσης.

Η αντικατάσταση άκαμπτων σπειρανικών δακτυλίων, όπως του φλουορενικού και του 1,2,3,4-τετραϋδροναφθαλινικού από υποκαταστάτες στους οποίους επιτρέπεται η ελεύθερη περιστροφή γύρω από το σ δεσμό, οδήγησε στα ανάλογα **12** και **24**, τα οποία εμφάνισαν ελαττωμένη δράση. Τα αποτελέσματα αυτά καταδεικνύουν ότι υπάρχει άμεση συσχέτιση μεταξύ της ακαμψίας των μορίων και της βιολογικής δράσης. Έτσι, η εισαγωγή υποκαταστατών οι οποίοι συμβάλλουν στην ακαμψία των μορίων, ευνοούν τη δράση των ενώσεων κατά του τρυπανοσώματος.

Η αλλαγή του τρόπου σύνδεσης του αδαμαντανικού σκελετού με το δικετοϊμιδαζολιδινικό δακτύλιο από το σπειρανικώς ενωμένο ανάλογο **XXI**, στη μη σπειρανική ένωση **18** ελάττωσε τη δράση.

Η υποκατάσταση του 1,2,3,4-τετραϋδροναφθαλινικού δακτυλίου μετέβαλλε ποικιλοτρόπως τη δράση. Εισαγωγή υποκαταστάτη στη θέση 6 προκάλεσε απώλεια της δραστικότητας, κυρίως στην περίπτωση της υδροξυομάδας στην ένωση **47**, όπου η μείωση ήταν δραματική. Αντιθέτως, η υποκατάσταση της θέσης 4 με μεθύλιο οδήγησε σε ελαφρώς αυξημένη δράση έναντι του *T. brucei*.

Η υποκατάσταση του αμιδικού άζωτου του δικετοϊμιδαζολιδινικού σκελετού με μεθύλιο αποδείχτηκε ότι έχει θετική επίδραση, με τα μεθυλιωμένα ανάλογα να εμφανίζουν εξαιρετική δράση, πιθανώς λόγω της αύξησης της λιποφιλίας των ενώσεων ή αύξησης της συνδετικής ικανότητάς τους στο ενεργό κέντρο μέσω επιπρόσθετων υδρόφοβων και Van der Waals αλληλεπιδράσεων του μεθυλίου. Ιδιαίτερως, τα ανάλογα **54** και **68** εμφάνισαν εντυπωσιακή δράση με IC₅₀ = 0.042 μM και IC₅₀ = 0.10 μM, αντίστοιχα.

Το ανάλογο **18**, υποκατεστημένο με μεθύλιο στο αμιδικό άζωτο του υδαντοϊνικού σκελετού, βρέθηκε ότι είναι λιγότερο δραστικό από το αντίστοιχο μη μεθυλιωμένο. Παρόλο που η αύξηση της λιποφιλίας και του όγκου έχει θετική επίδραση στη δράση κατά του *T. brucei*, η παρατήρηση σχετικά με την ένωση **18** οδηγεί στην υπόθεση ότι, υπάρχει ένα κατώφλι για τη λιποφιλία και τον όγκο των μορίων, το οποίο αν ξεπεραστεί μεταβάλλει αρνητικά τη δράση.

Αν και το Z διαμορφομερές βρίσκεται σε μικρότερη αναλογία από ως το E, όπως προέκυψε και από τις μελέτες NMR, συμπλέκεται με το μεταλλικό ιόν στο ενεργό κέντρο του ενζύμου, με αποτέλεσμα η ισορροπία να μετατοπίζεται συνεχώς προς το δραστικό Z διαμορφομερές.¹⁰⁶

Η εξαιρετική δράση των ακετουδροξαμικών αναλόγων που συντέθηκαν σε συνδυασμό με την ελάχιστη κυτταροτοξικότητα σε κύτταρα θηλαστικών και τους υψηλούς SI, καταδεικνύει ότι ο λιπόφιλος σπειρανικώς ή μη 5,5-δισυποκατεστημένος δικετοϊμιδαζολιδινικός σκελετός αποτελεί πολύτιμο δομικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη χημειοθεραπευτικών παραγόντων κατά του *T. brucei* μέσω της ενσωμάτωσης της ακετουδροξαμικής ομάδας στο ιμιδικό άζωτο του σκελετού.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5.1 ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΛΕΠΤΟΜΕΡΕΙΕΣ

Οι διαλύτες και τα αντιδραστήρια ελήφθησαν από τους εμπορικούς προμηθευτές AlfaAesar, Sigma-Aldrich και Merck και χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω καθαρισμό εκτός από το βρωμοξικό βενζυλεστέρα. Το αντιδραστήριο αυτό καθαρίστηκε με κλασματική απόσταξη υπό κενό πριν από τη χρήση. Η βάση $[(\text{CH}_3)_3\text{Si}]_2\text{NK}$ που χρησιμοποιήθηκε είναι 95% καθαρότητας, το HOBt είναι $\geq 97\%$ καθαρότητας και 80% μονοϋδρικό, το NaH είναι 60% διεσπαρμένο σε ορυκτέλαιο, το BBr_3 χρησιμοποιήθηκε υπό τη μορφή διαλύματος συγκέντρωσης 1M σε CH_2Cl_2 και το κορεσμένο αιθανολικό διάλυμα αέριου HCl έχει συγκέντρωση 2.5 M. Το EDCI και η *O*-βενζυλο υδροξυλαμίνη χρησιμοποιήθηκαν υπό τη μορφή των υδροχλωρικών τους αλάτων. Η TEA καθαρίστηκε με απόσταξη παρουσία σφαιριδίων υδροξειδίου του καλίου (KOH pellets). Το υδατικό διάλυμα HCl 10% παρασκευάστηκε με αραιώση πυκνού HCl 37%.

Οι οργανικοί διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν είχαν την υψηλότερη καθαρότητα και όταν χρειάστηκε ξηράθηκαν με τους ακόλουθους τρόπους. Το THF υποβλήθηκε σε βρασμό με επαναρροή παρουσία λιθίου αλουμινο υδριδίου (LiAlH_4) και ασβεστίου υδριδίου (CaH_2) και το άνυδρο THF συλλέχθηκε μετά από απόσταξη. Το άνυδρο DMF και ο άνυδρος Et_2O ελήφθησαν μετά από προσθήκη CaH_2 στους αντίστοιχους καθαρούς διαλύτες. Το άνυδρο CH_2Cl_2 ελήφθη μετά από προσθήκη CaCl_2 σε καθαρό CH_2Cl_2 . Για τις αντιδράσεις σε μικροκύματα, χρησιμοποιήθηκε συσκευή μικροκυμάτων MILESTONE START E, ATC-FO.

Οι υδρογονώσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση παλλαδίου επί άνθρακος (Pd/C) 10% ως καταλύτη σε συσκευή υδρογόνωσης Paar με τη χρήση θερμαντικού μανδύα.

Οι αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν υπο ατμόσφαιρα αργού, όταν απαιτήθηκαν αδρανείς συνθήκες. Για τη χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) χρησιμοποιήθηκαν πλάκες silicagel 60 F_{254} , πάχους στιβάδας 0.2 mm και η ανίχνευση των προϊόντων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια ατμών ιωδίου και ορατού φωτός ($\lambda = 254 \text{ nm}$).

Για τις χρωματογραφίες στήλης χρησιμοποιήθηκε silicagel 60, 0.063-0.200 mm με CH_2Cl_2 , EtOAc , MeOH ως διαλύτες έκλουσης.

Τα σημεία τήξεως των ενώσεων που παρασκευάστηκαν, μετρήθηκαν σε τριχοειδείς σωληνίσκους σε συσκευή Büchi.

Τα φάσματα ^1H NMR και ^{13}C NMR ελήφθησαν σε φασματογράφους: Bruker AVANCEIII 600 (600 MHz ^1H , 150 MHz ^{13}C), Bruker MSL 400 (400 MHz ^1H , 100 MHz ^{13}C) και Bruker AVANCE 200 (50 MHz ^{13}C), με τη χρήση δευτεριωμένου χλωροφορμίου (CDCl_3), δευτεριωμένου διμεθυλοσουλφοξειδίου ($\text{DMSO}-d_6$) και δευτεριωμένης μεθανόλης ($\text{MeOD}-d_4$). Οι χημικές μετατοπίσεις αναφέρονται σε τιμές χημικής μετατόπισης δ (ppm), με το τριμεθυλοσιλάνιο ή το διαλύτη $\text{DMSO}-d_6$ ως εσωτερικό πρότυπο. Οι πολλαπλότητες των κορυφών ορίζονται ως s (singlet), brs (broad singlet), d (doublet), t (triplet), q (quartet), m (multiplet), dd (doublet of doublets), ddd (doublet of doublets of doublets), ddd (doublet of doublets of doublets of doublets), td (triplet of doublets), tt (triplet of triplets). Οι σταθερές σύζευξης J εκφράζονται σε μονάδες Hertz (Hz). Τα φάσματα ελήφθησαν στους 293 K (20 °C). Η ερμηνεία των φασμάτων ^1H NMR και ^{13}C NMR για την αποσαφήνιση της δομής των νεοσυνθετημένων ενώσεων, πραγματοποιήθηκε με τη χρήση πειραμάτων δύο διαστάσεων (2D NMR): COSY, HSQC, HMBC και NOESY. Η επεξεργασία των φασμάτων πραγματοποιήθηκε μέσω του προγράμματος MestReNova.

Η λήψη των φασμάτων μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (HRMS) πραγματοποιήθηκε σε φασματογράφο μάζας LTQ-OrbitrapDiscovery (Thermo, Bremen, Germany) με τεχνική ESI^+ και διακριτική ικανότητα 30 000.

Οι στοιχειακές αναλύσεις έγιναν στο Τμήμα Μικροαναλύσεων του Centre National de la Recherche Scientifique της Γαλλίας και στο Τμήμα Μικροαναλύσεων ΕΚΕΦΕ, Δημόκριτος. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων είχαν μέγιστη απόκλιση $\pm 0,4 \%$

5.2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΠΟΡΕΙΕΣ

5.2.1 ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ 2,4-ΔΙΚΕΤΟΪΜΙΔΑΖΟΛΙΔΙΝΩΝ 2, 8, 14, 20, 26, 32, 38

Για τη σύνθεση των 2,4-δικετοΐμιδαζολιδινών, 5.0 mmol της κετόνης διαλύονται σε 7 mL EtOH 50%. Στο διάλυμα αυτό προστίθενται 6.5 mmol KCN και 25.0 mmol (NH₄)₂CO₃, διαλυμένα σε 7 mL H₂O. Το μείγμα υποβάλλεται σε μικροκυματική ακτινοβολία 100 W στους 120 °C για καθορισμένο χρονικό διάστημα, όπως υποδεικνύεται στον Πίνακα 5. Στη συνέχεια, το μείγμα της αντίδρασης οξινίζεται με διάλυμα HCl 10% (pH≈2-3) υπό ψύξη και η EtOH απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Το προϊόν ψύχεται στους 5 °C, διηθείται υπό κενό και το ίζημα εκπλένεται με μικρές ποσότητες H₂O. Ακολουθεί ξήρανση του προϊόντος υπεράνω πεντοξειδίου του φωσφόρου (P₂O₅) και ανακρυστάλλωσή του.

Πίνακας 5 Χρόνοι ακτινοβολήσης των κετονών για τη σύνθεση των 2,4-δικετοΐμιδαζολιδινών.	
2	25 min
8	1 h
14	1 h
20	25 min
26	32 min
32	30 min

Εναλλακτικά, 5.0 mmol της κετόνης διαλύονται σε 4.6 mL abs EtOH και 4.2 mL H₂O. Στο διάλυμα αυτό προστίθενται 11.36 mmol NaCN και 30.3 mmol (NH₄)₂CO₃. Το μείγμα τίθεται σε βρασμό με επαναρροή (reflux) για 6 h υπό ανάδευση. Ακολούθως, αποχύνεται σε H₂O και οξινίζεται με πυκνό HCl (pH≈2-3) υπό ψύξη. Η υδαντοΐνη καταβυθίζεται μετά από ψύξη στους 5 °C και συλλέγεται με διήθηση υπό κενό.

2'H,5'H-σπειρο[φλουορεν-9,4'-ιμιδαζολιδινο]-2',5'-διόνη⁸³ (2)

Σε διάλυμα της 9H-φλουορεν-9-όνης (1) (1.0 g, 5.55 mmol) σε abs EtOH (11.6 mL), προστίθεται διάλυμα KCN (470 mg, 7.22 mmol) και (NH₄)₂CO₃ (2.67 g, 27.75 mmol) σε H₂O (11.6 mL) και το μείγμα υποβάλλεται σε μικροκυματική ακτινοβολία 100 W στους 120 °C και πίεση 10 bar για 25 min. Ακολούθως, οξινίζεται με διάλυμα HCl 10% (pH≈2-3) υπό ψύξη και η EtOH απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Το εναπομείναν μείγμα ψύχεται στους 5 °C, διηθείται υπό κενό και το ίζημα εκπλένεται με μικρές ποσότητες H₂O. Λαμβάνεται κίτρινο κρυσταλλικό προϊόν κατόπιν ξηράνσεως υπεράνω P₂O₅. (1.14 g, 82%), *R*_f 0.36 (CH₂Cl₂/AcOEt 4:1), mp >250 °C (MeOH/dry Et₂O).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 7.37 (t, 2H, *J*=7.5 Hz, H₂, H₇), 7.47 (d, 2H, *J*=7.5 Hz, H₁, H₈), 7.49 (t, 2H, *J*=7.6 Hz, H₃, H₆), 7.89 (d, 2H, *J*=7.5 Hz, H₄, H₅), 8.60 (s, 1H, H_{3'}), 11.25 (s, 1H, H_{1'}); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 72.4 (C₉), 120.7 (C₄, C₅), 123.6 (C₁, C₈), 128.3 (C₂, C₇), 129.8 (C₃, C₆), 140.7 (C_{4a}, C_{4b}), 142.9 (C_{8a}, C_{9a}), 157.6 (C_{2'}=O), 174.1 (C_{5'}=O). Anal. Calcd for C₁₅H₁₀N₂O₂: C, 71.99; H, 4.03; N, 11.19. Found: C, 72.24; H, 4.10; N, 11.36.

Η σύνθεση του αναλόγου 2 πραγματοποιήθηκε επίσης με βρασμό με επαναρροή για 6 h. Χρησιμοποιήθηκαν 1.0 g (5.55 mmol) 9H-φλουορεν-9-όνης, 618 mg (12.62 mmol) NaCN, 4.9 g (51.0 mmol) (NH₄)₂CO₃ και 10 mL EtOH/H₂O (1:1). Μετά από κατεργασία, όπως περιγράφεται στην ανωτέρω μέθοδο, παραλαμβάνονται 69 mg του αναλόγου 6 (5%).

5,5-διφαινυλιμιδαζολιδινο-2,4-διόνη⁸³ (8)

Παρασκευάζεται όπως η υδαντοΐνη **2**. Χρησιμοποιήθηκαν 1.0 g (5.49 mmol) διφαινυλοκετόνης (**7**), 464 mg (7.13 mmol) KCN, 2.64 g (27.45 mmol) (NH₄)₂CO₃ και 36 mL EtOH/H₂O (1:2). Το μείγμα υποβάλλεται σε μικροκυματική ακτινοβολία για 1 h και μετά από κατεργασία όπως περιγράφεται ανωτέρω για τη λήψη του αναλόγου **2**, το προκύπτον λευκό στερεό χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με διαλύτη έκλουσης CH₂Cl₂/AcOEt 20:1 και AcOEt οπότε λαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν. (280 mg, 20%), *R_f* 0.26 (CH₂Cl₂/AcOEt 4:1), mp >250 °C (EtOH/*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 7.28-7.47 (m, 10H, *Ar-H*), 9.31 (s, 1H, *H*₁), 11.11 (s, 1H, *H*₃); ¹³C (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 70.5 (*C*₅), 126.6 (*C*_{2'}, *C*_{6'}, *C*_{8'}, *C*_{12'}), 128.0 (*C*_{4'}, *C*_{10'}), 128.5 (*C*_{3'}, *C*_{5'}, *C*_{9'}, *C*_{11'}), 139.9 (*C*_{1'}, *C*_{7'}), 156.0 (*C*₂=O), 174.8 (*C*₄=O). Anal. Calcd for C₁₅H₁₂N₂O₂: C, 71.42; H, 4.79; N, 11.10. Found: C, 71.61; H, 4.91; N, 11.41.

Η σύνθεση του αναλόγου (**8**) πραγματοποιήθηκε επίσης με βρασμό με επαναρροή για 6 h. Χρησιμοποιήθηκαν 1.0 g (5.49 mmol) διφαινυλοκετόνης, 611 mg (12.47 mmol) NaCN, 8.21 g (85.47 mmol) (NH₄)₂CO₃ και 24 mL EtOH/H₂O (1:1). Μετά από κατεργασία, όπως περιγράφεται στην ανωτέρω μέθοδο, παραλαμβάνονται ίχνη της 5,5-διφαινυλιμιδαζολιδινο-2,4-διόνης.

5-μεθυλο-5-(τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκ-1-υλ)ιμιδαζολιδινο-2,4-διόνη (14)

Παρασκευάζεται όπως η υδαντοΐνη **2**. Χρησιμοποιήθηκαν 1.0 g (5.61 mmol) 1-αδαμαντυλο-μεθυλοκετόνης (**13**), 475 mg (7.29 mmol) KCN και 2.70 g (28.05 mmol) (NH₄)₂CO₃ σε 28 mL EtOH/H₂O (9:5). Το μείγμα υποβάλλεται σε μικροκυματική ακτινοβολία για 1 h και μετά από κατεργασία όπως περιγράφεται ανωτέρω για τη λήψη του αναλόγου **2**, παραλαμβάνεται υπόλευκο χνουδωτό προϊόν. (864 mg, 62%), *R_f* 0.15 (CH₂Cl₂/AcOEt 5:1), mp >250 °C (EtOH/*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 1.19 (s, 3H, CH₃), 1.42, 1.74 (d₁ + d₂, 6H, *J*₁=11.8 Hz, *J*₂=12.1 Hz, *H*_{2'}, *H*_{8'}, *H*_{9'}), 1.54, 1.63 (d₁ + d₂, 6H, *J*₁=11.7 Hz, *J*₂=11.8 Hz, *H*_{4'}, *H*_{6'}, *H*_{10'}), 1.94 (s, 3H, *H*_{3'}, *H*_{5'}, *H*_{7'}), 7.89 (s, 1H, *H*₁), 10.46 (s, 1H, *H*₃); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 17.4 (CH₃), 27.6 (*C*_{3'}, *C*_{5'}, *C*_{7'}), 35.5 (*C*_{2'}, *C*_{8'}, *C*_{9'}), 36.3 (*C*_{4'}, *C*_{6'}, *C*_{10'}), 37.6 (*C*_{1'}), 67.0 (*C*₅), 156.8 (*C*₂=O), 177.8 (*C*₄=O). Anal. Calcd for C₁₄H₂₀N₂O₂: C, 67.72; H, 8.12; N, 11.28. Found: C, 67.90; H, 8.30; N, 11.06.

8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκανο-2,4-διόνη (20)

Παρασκευάζεται με ακτινοβόληση για 25 min, όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αναλόγου **2**. Χρησιμοποιήθηκαν 1.0 g (5.74 mmol) 4-φαινυλο κυκλοεξαν-1-όνης (**19**), 486 mg (7.46 mmol) KCN, 2.76 g (28.7 mmol) (NH₄)₂CO₃ και 16.7 mL EtOH/H₂O (7:8). Λαμβάνεται υπόλευκο χνουδωτό προϊόν. (1.26 g, 90%), *R_f* 0.22 (CH₂Cl₂/AcOEt 5:1), mp >250 °C (EtOH/*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 1.63 (d, 2H, *J*=9.4 Hz, *H*_{6a}, *H*_{10a}, *cis*), 1.67-1.84 (m, 6H, *H*_{6e}, *H*₇, *H*₉, *H*_{10e}, *cis*), 1.90 (d, 0.45H, *J*=12.7 Hz, *H*₆, *H*₁₀, *trans*), 2.11 (q, 0.4H, *J*=12 Hz, *H*₇, *H*₉, *trans*), 2.45-2.61 (m, 1H, *H*₈, *cis*), 7.14 (t, 1H, *J*=6.4 Hz, *H*₄, *cis*), 7.24 (d, 0.4H, *J*=7.8 Hz, *H*₂, *H*₆, *trans*), 7.28 (t, 0.45H, *J*=7.6 Hz, *H*₃, *H*₅, *trans*), 7.29 (d, 2H, *J*=7.2 Hz, *H*₂, *H*₆, *cis*), 7.31 (t, 2H, *J*=6.9 Hz, *H*₃, *H*₅, *cis*), 7.92 (s, 0.18H, *H*₁, *trans*), 8.69 (s, 0.85H, *H*₁, *cis*), 10.58 (s, 1H, *H*₃); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 28.5 (*C*₇, *C*₉, *cis*), 33.4 (*C*₆, *C*₁₀, *cis*), 34.0 (*C*₆, *C*₁₀, *trans*), 41.3 (*C*₈, *trans*), 42.3 (*C*₈, *cis*), 59.6 (*C*₅, *trans*), 61.8 (*C*₅, *cis*), 126.0 (*C*₄, *cis*), 126.7 (*C*₂, *C*₆, *trans*), 127.0 (*C*₂, *C*₆, *cis*), 128.2 (*C*₃, *C*₅, *cis*), 146.2 (*C*₁, *trans*), 146.7 (*C*₁, *cis*), 156.0 (*C*₂=O, *trans*), 156.4 (*C*₂=O, *cis*), 178.4 (*C*₄=O, *trans*), 178.6 (*C*₄=O, *cis*). Anal. Calcd for C₁₄H₁₆N₂O₂: C, 68.83; H, 6.60; N, 11.47. Found: C, 68.55; H, 6.50; N, 11.68.

Πειραματικό Μέρος

6,7,8,9-τετραϋδρο-2'H,5'H-σπειρο[βενζο[7]αννουλεν-5,4'-ιμιδαζολιδινο]-2',5'-διόνη (26)

Παρασκευάζεται όπως η υδαντοΐνη **2**. Χρησιμοποιήθηκαν 1.0 g (6.24 mmol) 6,7,8,9-τετραϋδρο-5H-βενζοκυκλοεπταν-5-όνης, 528 mg (8.11 mmol) KCN, 3.0 g (31.2 mmol) (NH₄)₂CO₃ και 16 mL EtOH/H₂O (3:5). Μετά από ακτινοβόληση του μείγματος για 32 min, οξίνιση και απομάκρυνση της EtOH, προκύπτει πορτοκαλόχρωμο διάλυμα, το οποίο εκχυλίζεται με AcOEt (3×60 mL). Οι συνενωμένες οργανικές στιβάδες πλένονται με κορεσμένο διάλυμα χλωριούχου νατρίου (brine) (3×60 mL) και ξηραίνονται με άνυδρο θειικό νάτριο (Na₂SO₄). Εξατμίζεται ο διαλύτης υπό κενό, οπότε προκύπτει ημιστερεό προϊόν, το οποίο κρυσταλλώνει προς υπόλευκο στερεό κατόπιν κατεργασίας με άνυδρο Et₂O/*n*-pentane. (200 mg, 14%), *R*_f 0.34 (CH₂Cl₂/AcOEt 5:1), mp >250 °C (EtOH/dry Et₂O-*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 1.54-1.66 (m, 1H, H₈), 1.67-1.82 (m, 2H, H₇, H₈), 1.87 (~d, 2H, *J*=11.2 Hz, H₆, H₇), 2.07 (~t, 1H, *J*=12.7 Hz, H₆), 2.94 (dd, 1H, *J*₁=13.1 Hz, *J*₂=9.1 Hz, H₉), 3.04 (dd, 1H, *J*₁=14.7, *J*₂=8.1 Hz, H₉), 7.18 (s, 4H, H₁₋₄), 8.62 (s, 1H, H₃), 10.86 (s, 1H, H₁); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 23.9 (C₇), 26.7 (C₈), 34.4 (C₉), 36.1 (C₆), 69.0 (C₅), 126.3 (C₃), 127.1 (C₄), 128.0 (C₂), 131.4 (C₁), 138.3 (C_{4a}), 142.2 (C_{9a}), 156.2 (C_{2'}=O), 177.5 (C_{5'}=O). Anal. Calcd for C₁₃H₁₄N₂O₂: C, 67.81; H, 6.13; N, 12.17. Found: C, 67.98; H, 6.36; N, 12.25.

6'-μεθοξυ-3',4'-διυδρο-2H,2'H,5H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλινο]-2,5-διόνη (32)

Παρασκευάζεται όπως η υδαντοΐνη **2**. Χρησιμοποιήθηκαν 1.0 g (5.67 mmol) 6-μεθοξυ-3,4-διυδρο-2H-ναφθαλεν-1-όνης (**31**), 480 mg (7.37 mmol) KCN, 2.72 g (28.35 mmol) (NH₄)₂CO₃ και 16 mL EtOH/H₂O (1:1). Μετά από ακτινοβόληση του μείγματος για 30 min, οξίνιση και απομάκρυνση της EtOH, προκύπτει καστανόχρωμο διάλυμα, το οποίο εκχυλίζεται με AcOEt (3×30 mL). Οι συνενωμένες οργανικές στιβάδες πλένονται με brine (3×30 mL) και ξηραίνονται με άνυδρο Na₂SO₄. Εξατμίζεται ο διαλύτης υπό κενό, οπότε προκύπτει παχύρρευστο, ελαιώδες, καστανόχρωμο προϊόν, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με CH₂Cl₂/AcOEt 5:1 και AcOEt/MeOH 20:1 ως διαλύτες έκλουσης. Λαμβάνεται υποκίτρινο κρυσταλλικό προϊόν. (165 mg, 12%), *R*_f 0.125 (CH₂Cl₂/AcOEt 5:1), mp 215-217 °C (EtOH/*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 1.68-1.82 (m, 1H, H₃), 1.82-1.94 (m, 1H, H₂), 1.96-2.16 (m, 1H, H₂, H₃), 2.73 (s, 2H, H₄), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 6.70 (s, 1H, H₅), 6.78 (d, 1H, *J*=7.3 Hz, H₇), 6.96 (d, 1H, *J*=8.4 Hz, H₈), 8.46 (s, 1H, H₃), 10.68 (s, 1H, H₁); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 18.5 (C₃), 28.8 (C₄), 33.7 (C₂), 55.1 (OCH₃), 62.8 (C₄), 113.2 (C₅, C₇), 126.5 (C_{8a}), 127.9 (C₈), 139.2 (C_{4a}), 156.4 (C₂=O), 158.7 (C₆), 178.1 (C₅=O). Anal. Calcd for C₁₃H₁₄N₂O₃: C, 63.40; H, 5.73; N, 11.38. Found: C, 63.11; H, 5.58; N, 11.12.

Η σύνθεση του αναλόγου πραγματοποιήθηκε επίσης με βρασμό με επαναροή για 8 h. Χρησιμοποιήθηκαν 1.0 g (5.67 mmol) 6-μεθοξυ-3,4-διυδρο-2H-ναφθαλεν-1-όνης (**31**), 632 mg (12.89 mmol) NaCN, 5.8 g (60.36 mmol) (NH₄)₂CO₃ και 12.6 mL EtOH/H₂O (11:10). Το μείγμα της αντίδρασης αποχύνεται σε 36 mL H₂O και οξινίζεται με HCl 37% μέχρι pH≈2-3, υπό ψύξη. Το εναπομείναν μείγμα ψύχεται στους 5 °C, διηθείται υπό κενό και το ίζημα εκπλένεται με μικρές ποσότητες H₂O. Λαμβάνεται κίτρινο στερεό προϊόν, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με CH₂Cl₂/AcOEt 5:1, 2:1 και AcOEt ως διαλύτες έκλουσης. Λαμβάνεται υποκίτρινο κρυσταλλικό προϊόν, ομοίως με απόδοση 12%.

4'-μεθυλο-3',4'-διυδρο-2H,2'H,5H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλινο]-2,5-διόνη (38)

Παρασκευάζεται όπως η υδαντοΐνη **2**. Χρησιμοποιήθηκαν 1.0 g (6.24 mmol) 4-μεθυλο-3,4-διυδρο-2H-ναφθαλεν-1-όνης (**37**), 695 mg (14.18 mmol) NaCN, 6.16 g (64.11 mmol) (NH₄)₂CO₃ και 13 mL EtOH/H₂O

(6:7). Το μείγμα τίθεται σε βρασμό με επαναροή για 6 h, αποχύνεται σε H₂O, οξινίζεται ως ανωτέρω και λαμβάνεται μείγμα κρυσταλλικού στερεού και προϊόντος μαστιχωτής υφής, το οποίο εκχυλίζεται με AcOEt (3×60 mL). Οι συνενωμένες οργανικές στιβάδες πλένονται με H₂O (2×60 mL) και brine (2×60 mL), ξηραίνονται με άνυδρο Na₂SO₄ και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση. Λαμβάνεται ελαιώδες, παχύρρευστο, κίτρινο προϊόν, το οποίο κατεργάζεται με άνυδρο Et₂O/*n*-pentane. Το υπόλειμμα χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με διαλύτη έκλουσης CH₂Cl₂/AcOEt 10:1, 5:1 και τέλος AcOEt. Παραλαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν. (432 mg, 30%), *R_f* 0.21 (CH₂Cl₂/AcOEt 5:1), mp 196-198 °C (EtOH/dry Et₂O-*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 1.26 (dd, 3H, *J*₁=3.7 Hz, *J*₂=7.0 Hz, CH₃), 1.52-1.62 (m, 0.55H, H_{3'}), 1.77-1.90 (m, 1H, H_{2'}, H_{3'}), 1.91-2.06 (complex m, 1.5H, H_{2'}, H_{3'}), 2.13-2.27 (complex m, 1H, H_{2'}, H_{3'}), 2.85-2.96 (m, 1H, H_{4'}), 7.05 (d, 1H, *J*=7.7 Hz, H_{8'}), 7.20 (td, 1H, *J*₁=7.3 Hz, *J*₂=2.0 Hz, H_{7'}), 7.27 (td, 1H, *J*₁=7.8 Hz, *J*₂=1.2 Hz, H_{6'}), 7.30 (d, 1H, *J*=7.4 Hz, H_{5'}), 8.51, 8.53 (s + s, 1H, H₃), 10.83 (s, 1H, H₁); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 22.2 (CH₃), 25.8, 26.3 (C_{3'}), 30.3, 30.6 (C_{2'}), 31.3, 31.6 (C_{4'}), 63.3 (C₄), 126.4 (C₇, C₈), 128.1, 128.2, 128.4 (C_{5'}, C_{6'}), 133.9 (C_{8'a}), 142.6, 142.8 (C_{4'a}), 156.5 (C₂=O), 177.8 (C₅=O). Anal. Calcd for C₁₃H₁₄N₂O₂: C, 67.81; H, 6.13; N, 12.17. Found: C, 68.16; H, 6.25; N, 12.34.

5.2.2 ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΒΕΝΖΥΛΕΣΤΕΡΩΝ 3, 9, 15, 21, 27, 33, 39, 43

Σε αναδεύσιμο διάλυμα 5.0 mmol υδαντοΐνης σε 50 mL άνυδρο THF, προστίθενται σταδιακά 5.1 mmol [(CH₃)₃Si]₂NK, υπό ψύξη. Το μείγμα της αντίδρασης αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου (rt) για 15 min/1 h υπό ατμόσφαιρα αργού (Ar). Εξατμίζεται ο διαλύτης υπό κενό, το στερεό υπόλειμμα (άλας ιμιδικού καλίου) διαλύεται σε 50 mL άνυδρο DMF και στο διάλυμα προστίθενται 5.25 mmol βρωμοξικού βενζυλεστέρα. Το μείγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 42-48 h υπό ατμόσφαιρα Ar στους 32-35 °C και, ακολούθως, για 1-2 h στους 45 °C, υπό ατμόσφαιρα Ar. Στη συνέχεια, αποχύνεται σε 250 ml H₂O και εκχυλίζεται με AcOEt (3×150 mL). Οι συνενωμένες οργανικές στιβάδες πλένονται με H₂O (150 mL), brine (3×150 mL) και ξηραίνονται με άνυδρο Na₂SO₄. Ο διαλύτης εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση και το προϊόν λαμβάνεται μετά από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης.

(2',5'-διοξοσπειρο[φλουορεν-9,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλ) οξικός βενζυλεστέρας (3)

Σε αναδεύσιμο διάλυμα 500 mg (2.0 mmol) της υδαντοΐνης **2** σε 20 mL άνυδρο THF προστίθενται σταδιακά 428 mg (2.04 mmol, 95% καθαρότητας) [(CH₃)₃Si]₂NK, υπό ψύξη. Το μείγμα της αντίδρασης αναδεύεται σε rt για 1 h υπό ατμόσφαιρα Ar. Εξατμίζεται ο διαλύτης υπό κενό, το στερεό υπόλειμμα (άλας ιμιδικού καλίου) διαλύεται σε 20 mL άνυδρο DMF και στο διάλυμα προστίθενται 481 mg (2.10 mmol) βρωμοξικού βενζυλεστέρα. Το μείγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 42 h υπό ατμόσφαιρα Ar στους 33 °C και, ακολούθως, για 1 h στους 45 °C, υπό ατμόσφαιρα Ar. Εν συνεχεία, το μείγμα αποχύνεται σε 100 ml H₂O και εκχυλίζεται με AcOEt (4×60 mL). Οι συνενωμένες οργανικές στιβάδες πλένονται με H₂O (60 mL), brine (3×60 mL) και ξηραίνονται με άνυδρο Na₂SO₄. Μετά την εξάτμιση του διαλύτη, το ελαιώδες, κίτρινο υπόλειμμα χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με διαλύτη έκλουσης CH₂Cl₂/AcOEt 20:1. Λαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν. (685 mg, 86%), *R_f* 0.52 (CH₂Cl₂/AcOEt 20:1), mp 214-216 °C (EtOH/*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 4.45 (s, 2H, NCH₂COO), 5.21 (s, 2H, COOCH₂Ph), 5.72 (s, 1H, H_{3'}), 7.28 (t, 2H, *J*=7.3 Hz, H₂, H₇), 7.33-7.42 (m, 7H, H₁, H₈, H_{2''-6''}), 7.44 (t, 2H, *J*=7.3 Hz, H₃, H₆), 7.69 (d, 2H, *J*=7.6 Hz, H₄, H₅); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 40.2 (NCH₂COO), 68.1 (COOCH₂Ph), 71.8 (C₉), 120.9 (C₄, C₅), 124.0 (C₁, C₈), 128.7, 128.9 (C₂, C₇, C_{2''-6''}), 130.5 (C₃, C₆), 134.8 (C_{1''}), 141.3 (C_{4a}, C_{4b}), 141.5 (C_{8a}, C_{9a}), 156.5 (C₂'=O), 167.0 (COOCH₂Ph), 172.1 (C₅'=O). Anal. Calcd for C₂₄H₁₈N₂O₄: C, 72.35; H, 4.55; N, 7.03. Found: C, 72.48; H, 4.68; N, 7.33.

(2,5-διοξο-4,4-διφαινυλιμιδαζολιδιν-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας (9)

Παρασκευάζεται από την υδαντοΐνη **8**, όπως περιγράφεται για την παρασκευή του βενζυλεστέρα **3**. Χρησιμοποιήθηκαν 220 mg (0.87 mmol) της υδαντοΐνης **8** σε 14 mL άνυδρο THF, 186 mg (0.89 mmol, 95% καθαρότητας) [(CH₃)₃Si]₂NK και 209 mg (0.91 mmol) βρωμοξικού βενζυλεστέρα σε 13 mL άνυδρο DMF. Το μείγμα της υδαντοΐνης με τη βάση αναδεύεται για 1 h σε rt υπό ατμόσφαιρα Ar και μετά την εξάτμιση του THF και την προσθήκη του βρωμοξικού βενζυλεστέρα, η αντίδραση συνεχίζει να αναδεύεται για 42 h στους 35 °C και, ακολούθως για 1 h στους 45 °C. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, λαμβάνεται λευκό στερεό, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με διαλύτη έκλουσης CH₂Cl₂, CH₂Cl₂/AcOEt 9:1 και 5:1. Λαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν. (260 mg, 75%), *R_f* 0.87 (CH₂Cl₂/AcOEt 4:1), mp 180-182 °C (AcOEt/*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 4.36 (s, 2H, NCH₂COO), 5.20 (s, 2H, COOCH₂Ph), 6.55 (s, 1H, H₃), 7.28-7.44 (complex m, 15H, *Ar-H*); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 40.0 (NCH₂COO), 67.9 (COOCH₂Ph), 70.9 (C₄), 127.3, 128.5, 128.9, 129.0 (*Ar-C*), 135.0 (C_{1'}), 138.8 (C₁, C₇), 155.4 (C₂=O), 166.9 (COOCH₂Ph), 173.2 (C₅=O). Anal. Calcd for C₂₄H₂₀N₂O₄: C, 71.99; H, 5.03; N, 7.00. Found: C, 72.35; H, 5.31; N, 7.21.

(2,5-διοξο-4-μεθυλο-4-(τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκ-1-υλ)ιμιδαζολιδιν-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας (15)

Παρασκευάζεται από την υδαντοΐνη **14**, όπως περιγράφεται για την παρασκευή του βενζυλεστέρα **3**. Χρησιμοποιήθηκαν 415 mg (1.67 mmol) της υδαντοΐνης **14** σε 17 mL άνυδρο THF, 358 mg (1.70 mmol, 95% καθαρότητας) [(CH₃)₃Si]₂NK και 402 mg (1.75 mmol) βρωμοξικού βενζυλεστέρα σε 17 mL άνυδρο DMF. Το μείγμα της υδαντοΐνης με τη βάση αναδεύεται για 1 h σε rt υπό ατμόσφαιρα Ar και μετά την εξάτμιση του THF και την προσθήκη του βρωμοξικού βενζυλεστέρα, η αντίδραση συνεχίζει να αναδεύεται για 43 h στους 35 °C και, ακολούθως για 2 h στους 45 °C. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, λαμβάνεται λευκό στερεό, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με διαλύτη έκλουσης CH₂Cl₂/AcOEt 50:1, 10:1 και 5:1. Λαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν. (510 mg, 77%), *R_f* 0.46 (CH₂Cl₂/AcOEt 8:1), mp 200-202 °C (AcOEt/*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.36 (s, 3H, CH₃), 1.48, 1.85 (d₁ + d₂, 6H, *J*₁=11.7 Hz, *J*₂=11.7 Hz, H₂, H₈, H₉), 1.59, 1.67 (d₁ + d₂, 6H, *J*₁=11.9 Hz, *J*₂=12.1 Hz, H₄, H₆, H₁₀), 1.98 (s, 3H, H₃, H₅, H₇), 4.20-4.33 (q, AB, 2H, *J*_{AB}=17.4 Hz, NCH₂COO), 5.16 (s, 2H, COOCH₂Ph), 6.33 (s, 1H, H₃), 7.28-7.40 (m, 5H, *Ar-H*); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 18.2 (CH₃), 28.2 (C₃, C₅, C₇), 36.0 (C₂, C₈, C₉), 36.7 (C₄, C₆, C₁₀), 38.5 (C₁), 39.3 (NCH₂COO), 67.6 (COOCH₂Ph), 67.9 (C₄), 128.5 (C₂, C₆), 128.6 (C₄), 128.7 (C₃, C₅), 135.0 (C₁), 156.4 (C₂=O), 167.1 (COOCH₂Ph), 175.8 (C₅=O). Anal. Calcd for C₂₃H₂₈N₂O₄: C, 69.68; H, 7.12; N, 7.07. Found: C, 69.95; H, 7.30; N, 7.15.

(2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλ) οξικός βενζυλεστέρας (21)

Παρασκευάζεται από την υδαντοΐνη **20**, όπως περιγράφεται για την παρασκευή του βενζυλεστέρα **3**. Χρησιμοποιήθηκαν 300 mg (1.23 mmol) της υδαντοΐνης **20** σε 21 mL άνυδρο THF, 263 mg (1.25 mmol, 95% καθαρότητας) [(CH₃)₃Si]₂NK και 296 mg (1.29 mmol) βρωμοξικού βενζυλεστέρα σε 15 mL άνυδρο DMF. Το μείγμα της υδαντοΐνης παρουσία της βάσης αναδεύεται για 30 min σε rt υπό ατμόσφαιρα Ar και μετά την εξάτμιση του THF και την προσθήκη του βρωμοξικού βενζυλεστέρα, η αντίδραση συνεχίζει να αναδεύεται για 46 h στους 32 °C. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, παραλαμβάνεται λευκό στερεό, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με διαλύτη έκλουσης CH₂Cl₂/AcOEt 10:1 και 5:1. Λαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν, το οποίο όπως προκύπτει από το φάσμα ¹H NMR, πρόκειται για μείγμα διαμορφομερών, οφειλόμενων στις διαμορφώσεις του

κυκλοεξανικού δακτυλίου. (390 mg, 81%), R_f 0.70, 0.49 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 6:1), mp 193-195 °C (CHCl_3/n -pentane).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1.67-1.78 [dd, 2H, H_{7e} , H_{9a} , 1.71 (dd, $J_1=2.2$ Hz, $J_2=13.4$ Hz, H_{7e} , H_{9a} , *trans*), 1.75 (dd, $J_1=1.8$ Hz, $J_2=13.3$ Hz, H_{7e} , H_{9a} , *cis*)], 1.83 (d, 2H, $J=14.2$ Hz, H_{6a} , H_{10a}), 1.94 (d, 2H, $J=13.0$ Hz, H_{7a} , H_{9e}), 2.05 (td, 2H, $J_1=3.5$ Hz, $J_2=13.6$ Hz, H_{6e} , H_{10e}), 2.30 (qd, 0.35H, $J_1=2.5$ Hz, $J_2=13.2$ Hz, H_{7a} , H_{9e} , *trans*), 2.53-2.68 [2tt, 1H, H_8 , 2.58 (tt, $J_1=3.2$ Hz, $J_2=11.9$ Hz, H_8 , *trans*), 2.63 (tt, $J_1=3.3$ Hz, $J_2=12.2$ Hz, H_8 , *cis*)], 4.33 (s, 0.36H, NCH_2COO , *trans*), 4.48 (s, 1.7H, NCH_2COO , *cis*), 5.15 (s, 1.7H, COOCH_2Ph , *cis*), 5.16 (s, 0.36H, COOCH_2Ph , *trans*), 6.68 (s, 0.15H, H_1 , *trans*), 7.19 (t, 1H, $J=6.9$ Hz, H_4' , *cis*), 7.23 (d, 0.2H, $J=6.9$ Hz, H_2' , H_6' , *trans*), 7.25-7.38 (m, 9H, *Ar-H*), 8.64 (s, 0.85H, H_1 , *cis*); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 29.2 (C_7 , C_9 , *cis*), 33.5 (C_6 , C_{10} , *cis*), 35.0 (C_6 , C_{10} , *trans*), 39.2 (NCH_2COO , *trans*), 39.5 (NCH_2COO , *cis*), 42.6 (C_8 , *trans*), 42.9 (C_8 , *cis*), 60.4 (C_5 , *trans*), 62.5 (C_5 , *cis*), 67.8 (COOCH_2Ph), 126.4 (C_4' , *trans*), 126.6 (C_4' , *cis*), 127.0 (C_2' , C_6' , *cis*), 127.1 (C_2' , C_6' , *trans*), 128.5 (C_2'' , C_6''), 128.61 (C_3' , C_5' , *trans*), 128.65 (C_3' , C_5' , *cis*), 128.7 (C_4''), 128.8 (C_3'' , C_5''), 135.0 (C_1''), 146.0 (C_1' , *trans*), 146.1 (C_1' , *cis*), 156.1 ($C_2=\text{O}$, *trans*), 157.0 ($C_2=\text{O}$, *cis*), 167.1 (COOCH_2Ph), 175.8 ($C_4=\text{O}$, *trans*), 176.7 ($C_4=\text{O}$, *cis*). Anal. Calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$: C, 70.39; H, 6.16; N, 7.14. Found: C, 70.05; H, 5.98; N, 7.35.

(2',5'-διοξο-6,7,8,9-τετραϋδροσπειρο[βενζο[7]αννουλεν-5,4'-μιδαζολιδιν]-1'-υλ) οξικός βενζυλεστέρας (27)

Παρασκευάζεται από την υδαντοΐνη **26**, όπως περιγράφεται για την παρασκευή του βενζυλεστέρα **3**. Χρησιμοποιήθηκαν 180 mg (0.78 mmol) της υδαντοΐνης **26** σε 17 mL άνυδρο THF, 168 mg (0.80 mmol, 95% καθαρότητας) $[(\text{CH}_3)_3\text{Si}]_2\text{NK}$ και 188 mg (0.82 mmol) βρωμοξικού βενζυλεστέρα σε 9 mL άνυδρο DMF. Το μείγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 1 h σε rt υπό ατμόσφαιρα Ar και μετά την εξάτμιση του THF και την προσθήκη του βρωμοξικού βενζυλεστέρα, η ανάδευση πραγματοποιείται για 48 h στους 32 °C και, ακολούθως για 2 h στους 37 °C. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, λαμβάνεται παχύρρευστο, ελαιώδες, κίτρινο προϊόν, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με διαλύτη έκλουσης $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 10:1. Λαμβάνεται υποκίτρινο αφρώδες προϊόν, το οποίο κρυσταλλώνει προς υπόλευκο στερεό κατόπιν ψύξης. (260 mg, 88%), R_f 0.83 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 6:1), mp 139-141 °C (AcOEt/n -pentane).

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1.67-1.76 (m, 1H, H_8), 1.80-1.91 (m, 2H, H_7 , H_8), 2.02 (~d, 2H, $J=11.2$ Hz, H_6 , H_7), 2.26 (~t, 1H, $J=12.2$ Hz, H_6), 2.79 (dd, 1H, $J_1=14.6$ Hz, $J_2=10.7$ Hz, H_9), 3.12 (dd, 1H, $J_1=14.9$, $J_2=8.3$ Hz, H_9), 4.36 (s, 2H, NCH_2COO), 5.19 (s, 2H, COOCH_2Ph), 6.46 (s, 1H, H_3'), 7.11 (t, 1H, $J=7.5$ Hz, H_3), 7.14 (d, 1H, $J=7.3$ Hz, H_1), 7.19 (t, 1H, $J=7.3$ Hz, H_2), 7.29 (d, 1H, $J=7.8$ Hz, H_4), 7.31-7.40 (m, 5H, $H_{2''-6''}$); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 25.2 (C_7), 27.2 (C_8), 36.2 (C_9), 36.5 (C_6), 39.6 (NCH_2COO), 67.8 (COOCH_2Ph), 69.3 (C_5), 127.0 (C_3), 127.4 (C_4), 128.5, 128.8 (C_2 , $C_{2''-6''}$), 131.9 (C_1), 135.0 (C_1''), 137.0 (C_{4a}), 142.0 (C_{9a}), 155.6 ($C_2'=\text{O}$), 167.0 (COOCH_2Ph), 175.4 ($C_5'=\text{O}$). Anal. Calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$: C, 69.83; H, 5.86; N, 7.40. Found: C, 69.67; H, 5.49; N, 7.15.

(6'-μεθοξυ-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'H-σπειρο[μιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας (33)

Παρασκευάζεται από την υδαντοΐνη **32**, όπως περιγράφεται για την παρασκευή του βενζυλεστέρα **3**. Χρησιμοποιήθηκαν 260 mg (1.06 mmol) της υδαντοΐνης **32** σε 17 mL άνυδρο THF, 226 mg (1.08 mmol, 95% καθαρότητας) $[(\text{CH}_3)_3\text{Si}]_2\text{NK}$ και 255 mg (1.11 mmol) βρωμοξικού βενζυλεστέρα σε 11 mL άνυδρο DMF. Το μείγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 1 h σε rt υπό ατμόσφαιρα Ar και μετά την εξάτμιση του THF και την προσθήκη του βρωμοξικού βενζυλεστέρα, η ανάδευση πραγματοποιείται για 45 h στους 35 °C και, ακολούθως για 1 h στους 45 °C. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, λαμβάνεται

Πειραματικό Μέρος

παχύρρευστο ελαιώδες, κιτρινωπό προϊόν, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με διαλύτη έκλουσης $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 10:1 και 8:1. Λαμβάνεται λευκό υαλώδες στερεό, το οποίο κρυσταλλώνει υπό ψύξη. (388 mg, 93%), R_f 0.36 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 8:1), mp 131-133 °C ($\text{AcOEt}/\text{dry Et}_2\text{O}-n\text{-pentane}$).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1.71-1.82 (complex m, 1H, H_3), 1.98, 1.99 (dd + dd, 1H, $J_1=13.8$ Hz, $J_2=8.6$ Hz, $J_1=13.1$ Hz, $J_2=8.0$ Hz, H_2), 2.18-2.31 (complex m, 2H, H_2 , H_3), 2.76-2.90 (complex m, 2H, H_4), 3.76 (s, 3H, OCH_3), 4.31-4.43 (q, AB, 2H, $J_{AB}=17.4$ Hz, NCH_2COO), 5.16-5.25 (q, AB, 2H, $J_{AB}=12.1$ Hz, COOCH_2Ph), 5.82 (s, 1H, H_3), 6.63 (s, 1H, H_5), 6.64 (dd, 1H, $J_1=2.6$ Hz, $J_2=8.3$ Hz, H_7), 7.16 (d, 1H, $J=8.4$ Hz, H_8), 7.30-7.42 (m, 5H, $H_{2''-6''}$); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 19.3 (C_3), 29.3 (C_4), 34.5 (C_2), 39.7 (NCH_2COO), 55.4 (OCH_3), 63.3 (C_4), 67.9 (COOCH_2Ph), 113.7 (C_7), 114.0 (C_5), 124.8 ($C_{8'a}$), 128.6, 128.7, 128.8 ($C_{8'}$, $C_{2''-6''}$), 135.0 ($C_{1''}$), 139.7 ($C_{4'a}$), 155.6 ($C_2=\text{O}$), 159.8 (C_6), 167.2 (COOCH_2Ph), 175.9 ($C_5=\text{O}$). Anal. Calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 66.99; H, 5.62; N, 7.10. Found: C, 66.70; H, 5.35; N, 7.00.

(4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας (39, 43)

Παρασκευάζεται από την υδαντοΐνη **38**, όπως περιγράφεται για την παρασκευή του βενζυλεστέρα **3**. Χρησιμοποιήθηκαν 760 mg (3.30 mmol) της υδαντοΐνης **38** σε 33 mL άνυδρο THF, 707 mg (3.37 mmol, 95% καθαρότητας) $[(\text{CH}_3)_3\text{Si}]_2\text{NK}$ και 794 mg (3.46 mmol) βρωμοξικού βενζυλεστέρα σε 33 mL άνυδρο DMF. Το μείγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 1 h σε rt υπό ατμόσφαιρα Ar και μετά την εξάτμιση του THF και την προσθήκη του βρωμοξικού βενζυλεστέρα, η ανάδευση πραγματοποιείται για 64 h στους 35 °C. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, λαμβάνεται παχύρρευστο ελαιώδες κίτρινο προϊόν, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με διαλύτη έκλουσης $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 20:1 και 10:1. Λαμβάνονται δύο διαστερεοϊσομερή σε αναλογία 70/30. (1.08 g, 86%).

((4R,4'S)/(4S,4'R)-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας (39)

Λευκό αφρώδες στερεό. R_f 0.07 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 8:1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1.35 (dd, 3H, $J_1=3.6$ Hz, $J_2=7.0$ Hz, CH_3), 1.53 (ddd, 0.55H, $J_1=2.9$ Hz, $J_2=10.0$ Hz, $J_3=20.8$ Hz, H_3), 1.87-2.03 (complex m, 1.55H, H_2 , H_3), 2.08 (ddd, 0.58H, $J_1=2.9$ Hz, $J_2=8.8$ Hz, $J_3=13.6$ Hz, H_2), 2.22 (ddd, 0.53H, $J_1=2.9$ Hz, $J_2=10.0$ Hz, $J_3=13.6$ Hz, H_2), 2.32-2.45 (complex m, 1H, H_2 , H_3), 2.93-3.05 (m, 1H, H_4), 4.29-4.43 (2q, AB, 2H, $J_{1AB}=J_{2AB}=17.4$ Hz, NCH_2COO), 5.14-5.25 (q, AB, 2H, $J_1=12.2$ Hz, COOCH_2Ph), 6.08, 6.10 (s + s, 1H, H_3), 7.09 (td, 1H, $J_1=1.9$ Hz, $J_2=8.1$ Hz, H_7), 7.18-7.29 (complex m, 3H, H_5 , H_6 , H_8), 7.31-7.44 (complex m, 5H, $H_{2''-6''}$); ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 22.4 (CH_3), 26.6, 27.2 (C_3), 31.2, 31.7 (C_2), 32.0, 32.1 (C_4), 39.7 (NCH_2COO), 63.7, 63.8 (C_4), 67.8 (COOCH_2Ph), 127.1, 127.3 (C_7), 128.6, 128.8, 129.0, 129.1 (C_5 , C_6 , C_8 , $C_{2''-6''}$), 132.3 ($C_{8'a}$), 135.0 ($C_{1''}$), 143.0, 143.1 ($C_{4'a}$), 155.7 ($C_2=\text{O}$), 167.1 (COOCH_2Ph), 175.7 ($C_5=\text{O}$). HRMS/ESI⁺ (m/z): Calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$: 378.1580; Found: 378.1584.

((4R,4'R)/(4S,4'S)-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας (43)

Λευκό αφρώδες στερεό. R_f 0.078 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 8:1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1.33 (dd, 3H, $J_1=4.1$ Hz, $J_2=7.0$ Hz, CH_3), 1.55 (ddd, 0.6H, $J_1=3.0$ Hz, $J_2=10.1$ Hz, $J_3=20.5$ Hz, H_3), 1.83-1.99 (complex m, 1.45H, H_2 , H_3), 2.05 (ddd, 0.45H, $J_1=2.5$ Hz, $J_2=8.6$ Hz, $J_3=13.5$ Hz, H_2), 2.18 (ddd, 0.5H, $J_1=2.8$ Hz, $J_2=9.7$ Hz, $J_3=13.2$ Hz, H_2), 2.27-2.42 (complex m, 1H, H_2 , H_3), 2.90-3.04 (m, 1H, H_4), 4.23-4.40 (2q, AB, 2H, $J_{1AB}=J_{2AB}=17.4$ Hz, NCH_2COO), 5.11-5.24 (q, AB, 2H, $J_{1AB}=12.2$

Hz, COOCH₂Ph), 6.84, 6.89 (s + s, 1H, H₃), 7.07 (t, 1H, J=7.2Hz, H₇), 7.14-7.28 (complex m, 3H, H₅, H₆, H₈), 7.30-7.46 (complex m, 5H, H₂'-6'); ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 22.1 (CH₃), 26.2, 26.8 (C₃), 30.7, 31.2 (C₂), 31.7, 31.9 (C₄), 39.3 (NCH₂COO), 63.4, 63.5 (C₄), 67.5 (COOCH₂Ph), 126.7 (C₇), 127.0, 128.3, 128.4, 128.5 (C₅, C₆, C₈, C₂'-6'), 132.2 (C_{8a}), 134.8 (C₁'), 142.8, (C_{4a}), 155.8 (C₂=O), 167.0 (COOCH₂Ph), 175.7 (C₅=O). HRMS/ESI⁺ (m/z): Calcd for C₂₂H₂₂N₂O₄: 378.1580; Found: 378.1586.

5.2.3 ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΚΑΡΒΟΞΥΛΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ 4, 10, 16, 22, 28, 34, 40, 44

Διάλυμα του βενζυλεστέρα σε μείγμα abs EtOH/AcOEt ή σε abs EtOH υποβάλλεται σε καταλυτική υδρογόνωση παρουσία Pd/C 10-12%, για 3 h στους 44 °C και πίεση 55 psi. Ακολούθως διηθείται ο καταλύτης, πλένεται με θερμή EtOH και τα συνενωμένα διηθήματα εξατμίζονται μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση.

(2',5'-διοξοσπειρο[φλουορεν-9,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλ) οξικό οξύ (4)

Διάλυμα του βενζυλεστέρα **3** (300 mg, 0.75 mmol) σε 30 mL μείγματος abs EtOH/AcOEt (4:1) υποβάλλεται σε καταλυτική υδρογόνωση παρουσία Pd/C (36 mg), για 3 h στους 44 °C και πίεση 55 psi. Ακολούθως, διηθείται ο καταλύτης, πλένεται με θερμή EtOH (3×10 mL) και τα συνενωμένα διηθήματα εξατμίζονται μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Λαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν. (230 mg, σχεδόν ποσοτική), R_f 0.05 (CH₂Cl₂/AcOEt 10:1), mp >250 °C (EtOH/dry Et₂O-*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 3.00-4.85 (vbrs, 1H, CH₂COOH, under DMSO water peak), 4.22 (s, 2H, NCH₂COOH), 7.39 (~t, 2H, J=7.5 Hz, H₂, H₇), 7.50 (d, 2H, J=7.9 Hz, H₁, H₈), 7.51 (t, 2H, J=7.8 Hz, H₃, H₆), 7.92 (d, 2H, J=7.4 Hz, H₄, H₅), 9.04 (s, 1H, H₃); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 39.9 (NCH₂COOH), 71.2 (C₉), 120.8 (C₄, C₅), 123.9 (C₁, C₈), 128.4 (C₂, C₇), 130.0 (C₃, C₆), 140.8 (C_{4a}, C_{4b}), 142.5 (C_{8a}, C_{9a}), 156.4 (C₂'=O), 168.8 (NCH₂COOH), 172.3 (C₅'=O). Anal. Calcd for C₁₇H₁₂N₂O₄: C, 66.23; H, 3.92; N, 9.09. Found: C, 66.50; H, 4.04; N, 9.36.

(2,5-διοξο-4,4-διφαινυλιμιδαζολιδιν-1-υλ) οξικό οξύ (10)

Διάλυμα του βενζυλεστέρα **9** (240 mg, 0.60 mmol) σε 34 mL abs EtOH/AcOEt (12:5) υδρογώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (29 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του καρβοξυλικού οξέος **4**. Λαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν. (190 mg, σχεδόν ποσοτική), R_f 0.02 (CH₂Cl₂/AcOEt 4:1), mp >250 °C (EtOH/dry Et₂O-*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 3.09-3.63 (vbrs, NCH₂COOH, under DMSO water peak), 4.15 (s, 2H, NCH₂COOH), 7.27-7.45 (complex m, 10H, Ar-H), 9.72 (s, 1H, H₃); ¹³C (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 39.1 (NCH₂COOH), 69.5 (C₅), 129.6 (C₂', C₆', C₈', C₁₂'), 128.2 (C₄', C₁₀'), 128.5 (C₃', C₅', C₉', C₁₁'), 139.5 (C₁', C₇'), 154.7 (C₂'=O), 168.6 (NCH₂COOH), 173.1 (C₅'=O). Anal. Calcd for C₁₇H₁₄N₂O₄: C, 65.80; H, 4.55; N, 9.03. Found: C, 65.62; H, 4.78; N, 9.34.

(2,5-διοξο-4-μεθυλο-4-(τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκ-1-υλ)ιμιδαζολιδιν-1-υλ) οξικό οξύ (16)

Διάλυμα του βενζυλεστέρα **15** (460 mg, 1.16 mmol) σε 55 mL abs EtOH/AcOEt (8:3) υδρογώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (56 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του καρβοξυλικού οξέος **4**. Λαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν. (355 mg, σχεδόν ποσοτική), R_f 0.05 (CH₂Cl₂/AcOEt 5:1), mp >250 °C (EtOH/*n*-pentane).

Πειραματικό Μέρος

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 1.23 (s, 3H, CH_3), 1.47, 1.75 ($d_1 + d_2$, 6H, $J_1=J_2=11.8$ Hz, H_2 , H_8 , H_9), 1.55, 1.64 ($d_1 + d_2$, 6H, $J_1=J_2=11.7$ Hz, H_4 , H_6 , H_{10}), 1.94 (s, 3H, H_3 , H_5 , H_7), 3.04-3.68 (vbrs, NCH_2COOH , under DMSO water peak), 3.93-4.04 (q, AB, 2H, $J_{AB}=17.4$ Hz, NCH_2COOH), 8.30 (s, 1H, H_3); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 17.5 (CH_3), 27.6 (C_3 , C_5 , C_7), 35.4 (C_2 , C_8 , C_9), 36.3 (C_4 , C_6 , C_{10}), 37.7 (C_1), 38.8 (NCH_2COOH), 66.5 (C_4), 155.7 ($\text{C}_2=\text{O}$), 168.8 (NCH_2COOH), 175.8 ($\text{C}_5=\text{O}$). Anal. Calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$: C, 62.73; H, 7.24; N, 9.14. Found: C, 62.95; H, 7.01; N, 9.32.

(2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλ) οξικό οξύ (22)

Διάλυμα του βενζυλεστέρα **21** (310 mg, 0.79 mmol) σε 45 mL abs EtOH/AcOEt (2:1) υδρογονώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (37 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του καρβοξυλικού οξέος **4**. Λαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν. (240 mg, σχεδόν ποσοτική), R_f 0.05 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 5:1), mp >250 °C (EtOH/*n*-pentane).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 1.64 (d, 2H, $J=11.3$ Hz, H_{6a} , H_{10a}), 1.68-1.93 (complex m, 6H, H_{6e} , H_{10e} , H_7 , H_9), 2.54-2.69 (m, 1H, H_8), 3.13-3.62 (brs, NCH_2COOH , under DMSO water peak), 4.02, 4.06 (s + s, 2H, NCH_2COOH), 7.18 (t, 1H, $J=7.1$ Hz, H_4 , *cis*), 7.29 (t, 2H, $J=7.7$ Hz, H_3 , H_5 ; *cis*), 7.33 (d, 2H, $J=7.3$ Hz, H_2 , H_6 ; *cis*), 9.12 (s, 1H, H_1 ; *cis*); ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 28.4 (C_7 , C_9), 33.4 (C_6 , C_{10} ; *cis*), 39.0 (NCH_2COOH), 42.2 (C_8 ; *cis*), 61.1 (C_5 ; *cis*), 126.1 (C_4 ; *cis*), 126.9 (C_2 , C_6 ; *cis*), 128.2 (C_3 , C_5 ; *cis*), 146.6 (C_1 ; *cis*), 155.2 ($\text{C}_2=\text{O}$; *cis*), 168.8 (NCH_2COOH), 176.5 ($\text{C}_4=\text{O}$; *cis*). Anal. Calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4$: C, 63.56; H, 6.00; N, 9.27. Found: C, 63.79; H, 6.32; N, 9.40.

(2',5'-διοξο-6,7,8,9-τετραϋδροσπειρο[βενζο[7]αννουλεν-5,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλ) οξικό οξύ (28)

Διάλυμα του βενζυλεστέρα **27** (240 mg, 0.63 mmol) σε 18 mL abs EtOH/AcOEt (7:2) υδρογονώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (26 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του καρβοξυλικού οξέος **4**. Λαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν. (182 mg, σχεδόν ποσοτική), R_f 0.02 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 6:1), mp 216-218 °C (dry Et₂O).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 1.55-1.68 (complex m, 1H, H_8), 1.71-1.98 (complex m, 4H, H_6 , H_7 , H_8), 2.04-2.16 (complex m, 1H, H_6), 2.93-3.06 (m, 2H, H_9), 4.12 (s, 2H, NCH_2COOH), 7.12-7.27 (complex m, 4H, H_{1-4}), 9.04 (s, 1H, H_3), 13.28 (vbrs, 1H, NCH_2COOH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 23.8 (C_7), 26.5 (C_9), 34.3 (C_9), 35.8 (C_6), 39.1 (NCH_2COOH), 68.1 (C_5), 126.3 (C_3), 127.8 (C_4), 128.2 (C_2), 131.3 (C_1), 137.8 (C_{4a}), 142.3 (C_{9a}), 155.0 ($\text{C}_2'=\text{O}$), 168.9 (NCH_2COOH), 175.6 ($\text{C}_5'=\text{O}$). Anal. Calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4$: C, 62.49; H, 5.59; N, 9.72. Found: C, 62.31; H, 5.70; N, 9.45.

(6'-μεθοξυ-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικό οξύ (34)

Διάλυμα του βενζυλεστέρα **33** (660 mg, 1.67 mmol) σε 40 mL abs EtOH/AcOEt (4:1) υδρογονώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (80 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του καρβοξυλικού οξέος **4**. Λαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν. (508 mg, σχεδόν ποσοτική), R_f 0.02 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 4:1), mp 246-248 °C (EtOH/dry Et₂O-*n*-pentane).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 1.75-1.86 (m, 1H, H_3), 1.86-1.96 (complex m, 1H, H_2), 1.97-2.11 (complex m, 2H, H_2 , H_3), 2.76 (~t, 2H, $J=5.7$, 5.9 Hz, H_4), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 4.05-4.19 (q, AB, 2H, $J_{AB}=17.5$ Hz, NCH_2COOH), 6.71 (d, 1H, $J=2.4$ Hz, H_5), 6.76 (dd, 1H, $J_1=2.5$ Hz, $J_2=8.6$ Hz, H_7), 7.13 (d, 1H, $J=8.6$ Hz, H_8), 8.91 (s, 1H, H_3), 13.21 (vbrs, 1H, NCH_2COOH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 18.5 (C_3), 28.8 (C_4), 33.8 (C_2), 39.1 (NCH_2COOH), 55.1 (OCH_3), 62.1 (C_4), 113.1 (C_5 , C_7), 126.1 (C_{8a}), 128.5 (C_8), 139.3

(C_{4'a}), 155.0 (C₂=O), 158.8 (C₆), 168.9 (NCH₂COOH), 176.2 (C₅=O). Anal. Calcd for C₁₅H₁₆N₂O₅: C, 59.21; H, 5.30; N, 9.21. Found: C, 59.46; H, 5.67; N, 9.38.

((4R,4'S)/(4S,4'R)-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικό οξύ (40)

Διάλυμα του βενζυλεστέρα **39** (730 mg, 1.93 mmol) σε 40 mL abs EtOH/AcOEt (4:1) υδρογονώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (87 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του καρβοξυλικού οξέος **4**. Λαμβάνεται λευκό αφρώδες προϊόν, το οποίο μετά από ξήρανση υπό υψηλό κενό, μετατρέπεται σε υαλώδες στερεό. (556 mg, σχεδόν ποσοτική), R_f 0.06 (CH₂Cl₂/AcOEt 4:1).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 1.28 (dd, 3H, J₁=7.1 Hz, J₂=10.3 Hz, CH₃), 1.56-1.67 (m, 0.5H, H₃), 1.77-1.90 (m, 1H, H₂, H₃), 1.94-2.10 (m, 1.55H, H₂, H₃), 2.12-2.29 (m, 1H, H₂, H₃), 2.86-3.02 (m, 1H, H₄), 4.05-4.21 (2q, AB, 2H, J_{1AB}=17.5 Hz, J_{2AB}=17.6 Hz, NCH₂COOH), 7.18 (t, 1H, J=7.6 Hz, H₇), 7.22 (dd, 1H, J₁=2.0 Hz, J₂=7.8 Hz, H₈), 7.26-7.31 (m, 1H, H₆), 7.33 (d, 1H, J=7.6 Hz, H₅), 8.96, 8.97 (s + s, 1H, H₃), 13.26 (s, 1H, NCH₂COOH); ¹³C (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 22.0, 22.3 (CH₃), 25.6, 26.4 (C₃), 30.1, 31.0 (C₂), 31.2, 31.6 (C₄), 39.2, 39.3 (NCH₂COOH), 62.5, 62.6 (C₄), 126.4 (C₇), 127.1 (C₈), 128.0, 128.3, 128.5 (C₅, C₆), 133.5, 133.6 (C_{8'a}), 142.6, 142.7 (C_{4'a}), 155.1 (C₂=O), 168.9 (NCH₂COOH), 175.9 (C₅=O). HRMS/ESI⁺ (m/z): Calcd for C₁₅H₁₆N₂O₄: 288.1110; Found: 288.1114.

((4R,4'R)/(4S,4'S)-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικό οξύ (44)

Διάλυμα του βενζυλεστέρα **43** (320 mg, 0.85 mmol) σε 28 mL abs EtOH/AcOEt (7:1) υδρογονώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (38 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του καρβοξυλικού οξέος **4**. Λαμβάνεται λευκό αφρώδες προϊόν, το οποίο μετά από ξήρανση υπό υψηλό κενό, μετατρέπεται σε υαλώδες στερεό. (245 mg, σχεδόν ποσοτική), R_f 0.02 (CH₂Cl₂/AcOEt 4:1).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.35 (dd, 3H, J₁=7.0 Hz, J₂=10.0 Hz, CH₃), 1.54 (ddd, 0.6H, J₁=2.8 Hz, J₂=9.9 Hz, J₃=20.6 Hz, H₃), 1.89-2.04 (complex m, 1.2H, H₂, H₃), 2.11 (ddd, 0.6H, J₁=2.7 Hz, J₂=8.7 Hz, J₃=13.2 Hz, H₂), 2.24 (ddd, 0.6H, J₁=2.8 Hz, J₂=9.9 Hz, J₃=13.4 Hz, H₂), 2.31-2.46 (complex m, 1H, H₂, H₃), 2.94-3.06 (m, 1H, H₄), 4.26-4.42 (2q, AB, 2H, J₁=17.6 Hz, J₂=18.0 Hz, CH₂COOH), 6.58, 6.60 (s + s, 1H, H₃), 7.11 (td, 1H, J₁=2.2 Hz, J₂=8.0 Hz, H₇), 7.21 (d, 1H, J=7.7 Hz, H₈), 7.23-7.33 (m, 2H, H₅, H₆); ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 22.4 (CH₃), 26.6, 27.2 (C₃), 31.1, 31.6 (C₂), 32.0, 32.1 (C₄), 39.4 (CH₂COOH), 63.9, 64.0 (C₄), 127.1 (C₇), 127.2 (C₈), 128.6, 128.9 (C₆), 129.2 (C₅), 132.0 (C_{8'a}), 143.1 (C_{4'a}), 156.6 (C₂=O), 171.2 (NCH₂COOH), 175.7 (C₅=O). HRMS/ESI⁺ (m/z): Calcd for C₁₅H₁₆N₂O₄: 288.1110; Found: 288.1113.

5.2.4 ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ Ν-(ΦΑΙΝΥΛΟΜΕΘΟΞΥ) ΑΚΕΤΑΜΙΔΙΩΝ **5**, **11**, **17**, **23**, **29**, **35**, **41**, **45**

Σε αναδευόμενο διάλυμα 5.0 mmol καρβοξυλικού οξέος σε 50 mL άνυδρο CH₂Cl₂/άνυδρο DMF (4:1), προστίθενται διαδοχικά, 6.05 mmol EDCI·HCl, 6.05 mmol HOBt, 6.05 mmol υδροχλωρικής Ο-βενζυλο υδροξυλαμίνης και τέλος 27.82 mmol TEA. Το διάλυμα αναδεύεται για 41-49 h στους 30-35 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Μετά το πέρας της αντίδρασης, το CH₂Cl₂ εξατμίζεται υπό κενό, το υπόλειμμα αποχύνεται σε 50 mL H₂O και εκχυλίζεται με AcOEt (40 mL). Οι συνενωμένες οργανικές στιβάδες πλένονται με brine (3x40 mL), ξηραίνονται με άνυδρο Na₂SO₄ και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό κενό μέχρι ξηρού. Το προϊόν παραλαμβάνεται μετά από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης.

Πειραματικό Μέρος

***N*-(φαινυλομεθοξυ)-2-(2',5'-διοξοπειρο[φλουορεν-9,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλ) ακεταμίδιο (5)**

Σε αναδευόμενο διάλυμα του καρβοξυλικού οξέος **4** (190 mg, 0.62 mmol) σε 6.25 mL άνυδρο CH_2Cl_2 /άνυδρο DMF (4:1), προστίθενται διαδοχικά, το EDCI·HCl (144 mg, 0.75 mmol), το HOBt (127 mg, 0.75 mmol, 80% σε νερό), η υδροχλωρική *O*-βενζυλο υδροξυλαμίνη (120 mg, 0.75 mmol) και τέλος η TEA (349 mg, 3.45 mmol). Το διάλυμα αναδεύεται για 48 h στους 32 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Μετά το πέρας της αντίδρασης, το CH_2Cl_2 εξατμίζεται υπό κενό, το υπόλειμμα αποχύνεται σε 20 mL H_2O και εκχυλίζεται με AcOEt (3x30 mL). Οι συνενωμένες οργανικές στιβάδες πλένονται με brine (3x30 mL), ξηραίνονται με άνυδρο Na_2SO_4 και εξατμίζονται υπό κενό μέχρι ξηρού. Λαμβάνεται παχύρρευστο ελαιώδες κίτρινο υπόλειμμα, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με CH_2Cl_2 /AcOEt 8:1, 7:1, 5:1 και AcOEt ως διαλύτες έκλουσης. Παραλαμβάνεται ελαιώδες, άχρωμο προϊόν, το οποίο κρυσταλλώνει υπό ψύξη. (170 mg, 66%), R_f 0.20 (CH_2Cl_2 /AcOEt 7:1), mp 197-199 °C (AcOEt/*n*-pentane).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 4.07 (s, 1.5H, NCH_2CO), 4.34 (s, 0.3H, NCH_2CO), 4.82, 4.88 (s + s, 2H, OCH_2Ph), 7.30-7.47 (complex m, 7H, H_2 , H_7 , H_7 , $H_{2''-6'}$), 7.51 (t, 2H, $J=7.5$ Hz, H_3 , H_6), 7.55 (d, 2H, $J=7.5$ Hz, H_1 , H_8), 7.91 (d, 2H, $J=7.5$ Hz, H_4 , H_5), 8.99 (s, 1H, H_3'), 11.11 (s, 0.1H, $\text{CONHOCH}_2\text{Ph}$), 11.46 (s, 0.7H, $\text{CONHOCH}_2\text{Ph}$); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 38.7, 39.1 (NCH_2CO), 71.1 (C_9), 77.0, 78.5 (OCH_2Ph), 120.7 (C_4 , C_5), 124.0 (C_1 , C_8), 128.4, 128.8 (C_2 , C_7 , $\text{C}_{2''-6''}$), 130.0 (C_3 , C_6), 135.8 ($\text{C}_{1''}$), 140.7 (C_{4a} , C_{4b}), 142.6 (C_{8a} , C_{9a}), 156.4 ($\text{C}_{2'}=\text{O}$), 163.5 ($\text{CONHOCH}_2\text{Ph}$), 172.4 ($\text{C}_{5'}=\text{O}$). Anal. Calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4$: C, 69.72; H, 4.63; N, 10.16. Found: C, 69.47; H, 4.50; N, 10.38.

***N*-(φαινυλομεθοξυ)-2-(2,5-διοξο-4,4-διφαινυλιμιδαζολιδιν-1-υλ) ακεταμίδιο (11)**

Σε αναδευόμενο διάλυμα 170 mg (0.55 mmol) του καρβοξυλικού οξέος **10** σε 13 mL άνυδρο CH_2Cl_2 /άνυδρο DMF (11:2), προστίθενται διαδοχικά 127 mg (0.66 mmol) EDCI·HCl, 113 mg (0.67 mmol) HOBt (80% σε νερό), 107 mg (0.67 mmol) υδροχλωρικής *O*-βενζυλο υδροξυλαμίνης και τέλος 320 mg (3.16 mmol) TEA. Το διάλυμα αναδεύεται για 44 h στους 33 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αναλόγου **5**, λαμβάνεται παχύρρευστο ελαιώδες κίτρινο υπόλειμμα, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με CH_2Cl_2 /AcOEt 50:1, 30:1, 10:1 και AcOEt ως διαλύτες έκλουσης. Λαμβάνεται λευκό αφρώδες στερεό, το οποίο μετά από ξήρανσή του υπό υψηλό κενό, μετατρέπεται σε υαλώδες στερεό. (130 mg, 57%), R_f 0.125 (CH_2Cl_2 /AcOEt 8:1).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 3.99 (s, 1.5H, NCH_2CO), 4.28 (s, 0.3H, NCH_2CO), 4.80, 4.85 (s + s, 2H, OCH_2Ph), 7.28-7.49 (m, 15H, *Ar-H*), 9.68 (s, 1H, H_3), 11.06 (s, 0.1H, $\text{CONHOCH}_2\text{Ph}$), 11.45 (s, 0.65H, $\text{CONHOCH}_2\text{Ph}$); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 38.3, 38.4 (NCH_2CO), 65.9 (C_4), 77.0 (OCH_2Ph), 127.0 (C_2 , C_6 , C_8 , C_{12}), 128.2 (C_4' , C_{10}' , C_4''), 128.4 (C_3' , C_5' , C_9' , C_{11}' , C_3'' , C_5''), 128.8 (C_2'' , C_6''), 135.8 ($\text{C}_{1''}$), 139.6 (C_1' , C_7'), 154.8 ($\text{C}_2=\text{O}$), 163.4 ($\text{CONHOCH}_2\text{Ph}$), 173.3 ($\text{C}_5=\text{O}$). HRMS/ESI⁺ (*m/z*): Calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_4$: 415.1532; Found: 415.1530.

***N*-(φαινυλομεθοξυ)-2-(2,5-διοξο-4-μεθυλο-4-(τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}])δεκ-1-υλ)ιμιδαζολιδιν-1-υλ) ακεταμίδιο (17)**

Σε αναδευόμενο διάλυμα 310 mg (1.01 mmol) του καρβοξυλικού οξέος **16** σε 12 mL άνυδρο CH_2Cl_2 /άνυδρο DMF (5:1), προστίθενται διαδοχικά 234 mg (1.22 mmol) EDCI·HCl, 206 mg (1.22 mmol) HOBt (80% σε νερό), 195 mg (1.22 mmol) υδροχλωρικής *O*-βενζυλο υδροξυλαμίνης και τέλος 570 mg (5.63 mmol) TEA. Το διάλυμα αναδεύεται για 49 h στους 33 °C υπό Ar. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αναλόγου **5**, λαμβάνεται υποκίτρινο στερεό υπόλειμμα, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με CH_2Cl_2 /AcOEt 30:1,

10:1 και AcOEt ως διαλύτες έκλουσης. Λαμβάνεται λευκό στερεό προϊόν. (260 mg, 63%), R_f 0.09 (CH₂Cl₂/AcOEt 8:1), mp 195-197 °C (AcOEt/*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 1.24 (s, 3H, CH₃), 1.48, 1.75 (d₁ + d₂, 6H, $J_1=11.8$ Hz, $J_2=11.6$ Hz, H₂, H₈, H₉), 1.55, 1.64 (d₁ + d₂, 6H, $J_1=J_2=11.6$ Hz, H₄, H₆, H₁₀), 1.95 (s, 3H, H₃, H₅, H₇), 3.84 (s, 1.5H, NCH₂CO), 4.16 (s, 0.35H, NCH₂CO), 4.78, 4.84 (s + s, 2H, OCH₂Ph), 7.39 (s, 5H, *Ar-H*), 8.27 (s, 1H, H₃), 10.94 (s, 0.12, CONHOCH₂Ph), 11.34 (s, 0.7H, CONHOCH₂Ph); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 17.5 (CH₃), 27.6 (C₃, C₅, C₇), 35.4 (C₂, C₈, C₉), 36.3 (C₄, C₆, C₁₀), 37.7 (NCH₂CO, C₁), 66.5 (C₄), 77.0 (OCH₂Ph), 128.3 (C₃, C₄, C₅), 128.8 (C₂, C₄), 135.8 (C₁), 155.8 (C₂=O), 163.6 (CONHOCH₂Ph), 175.9 (C₅=O). Anal. Calcd for C₂₃H₂₉N₃O₄: C, 67.13; H, 7.10; N, 10.21. Found: C, 67.02; H, 7.28; N, 10.47.

***N*-(φαινυλομεθοξυ)-2-(2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλ) ακεταμίδιο (23)**

Σε αναδευόμενο διάλυμα 200 mg (0.66 mmol) του καρβοξυλικού οξέος **22** σε 10 mL άνυδρο CH₂Cl₂/άνυδρο DMF (4:1), προστίθενται διαδοχικά 153 mg (0.80 mmol) EDCI·HCl, 136 mg (0.80 mmol) HOBT (80% σε νερό), 128 mg (0.80 mmol) υδροχλωρικής *O*-βενζυλο υδροξυλαμίνης και τέλος 372 mg (3.68 mmol) TEA. Το διάλυμα αναδεύεται για 40 h στους 32 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αναλόγου **5**, λαμβάνεται ελαιώδες άχρωμο υπόλειμμα, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με CH₂Cl₂/AcOEt 20:1, 10:1 και AcOEt ως διαλύτες έκλουσης. Λαμβάνεται λευκό ημιστερεό προϊόν, το οποίο στερεοποιείται πλήρως υπό ψύξη. (150 mg, 56%), R_f 0.29 (CH₂Cl₂/AcOEt 8:1), mp 193-195 °C (EtOH-AcOEt/*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 1.52-2.02 (complex m, 8H, H₆, H₇, H₉, H₁₀), 2.12 (q, 0.4H, $J=12.0$ Hz, H₇, H₉, *trans*), 2.54-2.69 (m, 1H, H₈), 3.88, 3.92 (s + s, 1.6H, NCH₂CO), 4.20 (s, 0.35H, NCH₂CO), 4.79, 4.86 (s + s, 2H, OCH₂Ph), 7.13 (t, 1H, $J=6.9$ Hz, H₄, *cis*), 7.26 (d, 0.4H, $J=7.7$ Hz, H₂, H₆, *trans*), 7.30 (t, 0.40H, $J=7.7$ Hz, H₃, H₅, *trans*), 7.31 (d, 2H, $J=7.3$ Hz, H₂, H₆, *cis*), 7.33 (t, 2H, $J=7.5$ Hz, H₃, H₅, *cis*), 7.40 (s, 5H, H₂^{''}, 6^{''}), 8.32 (s, 0.05H, H₁, *trans*), 9.09 (s, 0.30H, H₁, *cis*), 11.03 (s, 0.05H, CONHOCH₂Ph), 11.39 (s, 0.25H, CONHOCH₂Ph); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 28.4 (C₇, C₉, *cis*), 28.7 (C₇, C₉, *trans*), 33.4 (C₆, C₁₀, *cis*), 34.0 (C₆, C₁₀, *trans*), 37.6, 37.9 (NCH₂CO), 41.3 (C₈, *trans*), 42.2 (C₈, *cis*), 61.0 (C₅, *trans*), 61.1 (C₅, *cis*), 77.0 (OCH₂Ph), 126.0 (C₄, *cis*), 126.7 (C₂, C₆, *trans*), 126.9 (C₂, C₆, *cis*), 128.2 (C₃, C₅, *cis*), 128.3 (C₃^{''}, C₅^{''}), 128.8 (C₂^{''}, C₆^{''}), 129.2 (C₄^{''}), 135.8 (C₁^{''}), 146.2 (C₁, *trans*), 146.6 (C₁, *cis*), 155.0 (C₂=O, *trans*), 155.4 (C₂=O, *cis*), 163.6 (CONHOCH₂Ph), 176.3 (C₄=O, *trans*), 176.7 (C₄=O, *cis*). Anal. Calcd for C₂₃H₂₅N₃O₄: C, 67.80; H, 6.18; N, 10.31. Found: C, 67.60; H, 5.90; N, 10.10.

***N*-(φαινυλομεθοξυ)-2-(2',5'-διοξο-6,7,8,9-τετραϋδροσπειρο[βενζο[7]αννουλεν-5,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλ) ακεταμίδιο (29)**

Σε αναδευόμενο διάλυμα 160 mg (0.55 mmol) του καρβοξυλικού οξέος **28** σε 6.25 mL άνυδρο CH₂Cl₂/άνυδρο DMF (4:1), προστίθενται διαδοχικά 128 mg (0.67 mmol) EDCI·HCl, 113 mg (0.66 mmol) HOBT (80% σε νερό), 107 mg (0.67 mmol) υδροχλωρικής *O*-βενζυλο υδροξυλαμίνης και τέλος 321 mg (3.17 mmol) TEA. Το διάλυμα αναδεύεται για 65 h στους 35 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αναλόγου **5**, λαμβάνεται υποκίτρινο στερεό υπόλειμμα, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με CH₂Cl₂, CH₂Cl₂/AcOEt 8:1, 2:1 και AcOEt ως διαλύτες έκλουσης. Λαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν. (140 mg, 65%), R_f 0.17 (CH₂Cl₂/AcOEt 8:1), mp 203-205 °C (AcOEt/*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 1.56-1.69 (m, 1H, H₈), 1.73-2.02 (complex m, 4H, H₆, H₇, H₈), 2.04-2.18 (m, 1H, H₆), 2.93-3.08 (m, 2H, H₉), 3.97 (s, 1.5H, NCH₂CO), 4.28 (s, 0.35H, NCH₂CO), 4.80, 4.87 (s + s,

Πειραματικό Μέρος

2H, OCH₂Ph), 7.10-7.24 (m, 3H, H₁₋₃), 7.26 (d, 1H, J=7.3 Hz, H₄), 7.32-7.51 (m, 5H, H_{2''-6''}), 9.01 (s, 1H, H_{3'}), 11.07 (s, 0.1H, CONHOCH₂Ph), 11.45 (s, 0.7H, CONHOCH₂Ph); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 23.8 (C₇), 26.5 (C₈), 34.3 (C₉), 35.8 (C₆), 38.0, 38.3 (NCH₂CO), 68.1 (C₅), 77.0, 78.6 (OCH₂Ph), 126.2 (C₃), 128.0 (C₄), 128.1 (C₂), 128.4 (C_{3''}, C_{4''}, C_{5''}), 128.9 (C_{2''}, C_{6''}), 131.2 (C₁), 135.8 (C_{1''}), 137.8 (C_{4a}), 142.2 (C_{9a}), 155.1 (C₂=O), 163.6 (CONHOCH₂Ph), 175.8 (C_{5'}=O). Anal. Calcd for C₂₂H₂₃N₃O₄: C, 67.16; H, 5.89; N, 10.68. Found: C, 67.00; H, 5.69; N, 10.43.

***N*-(φαινυλομεθοξυ)-2-(6'-μεθοξυ-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'*H*-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο (35)**

Σε αναδεύόμενο διάλυμα 450 mg (1.48 mmol) του καρβοξυλικού οξέος **34** σε 15 mL άνυδρο CH₂Cl₂/άνυδρο DMF (4:1), προστίθενται διαδοχικά 343 mg (1.79 mmol) EDCI·HCl, 303 mg (1.79 mmol) HOBT (80% σε νερό), 286 mg (1.79 mmol) υδροχλωρικής *O*-βενζυλο υδροξυλαμίνης και τέλος 834 mg (8.24 mmol) TEA. Το διάλυμα αναδεύεται για 43 h στους 35 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αναλόγου **5**, λαμβάνεται ελαιώδες υποκίτρινο υπόλειμμα, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με CH₂Cl₂/AcOEt 20:1, 10:1, 4:1 και AcOEt ως διαλύτες έκλουσης. Λαμβάνεται λευκό αφρώδες στερεό, το οποίο μετά από ξήρασή του υπό υψηλό κενό, μετατρέπεται σε υαλώδες στερεό. (390 mg, 64%), *R*_f 0.05 (CH₂Cl₂/AcOEt 8:1).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.73 (s, 1H, H_{3'}), 1.94 (s, 1H, H_{2'}), 2.16 (d, 2H, J=6.2 Hz, H₂, H₃), 2.68-2.84 (m, 2H, H₄), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 3.95-4.15 (q, AB, 0.9H, J_{AB}=17.5 Hz, NCH₂CO), 4.36 (s, 0.9H, NCH₂CO), 4.85 (s, 2H, OCH₂Ph), 6.52, 6.54 (s + s, 1H, H₃), 6.57 (d, 1H, J=2.0 Hz, H_{5'}), 6.70 (s, 1H, H_{7'}), 7.14-7.45 (complex m, 6H, H_{8'}, H_{2''-6''}), 8.85 (vbrs, 0.22H, CONHOCH₂Ph), 9.47 (s, 0.4H, CONHOCH₂Ph); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 19.2 (C_{3'}), 29.2 (C_{4'}), 34.3 (C_{2'}), 38.9 (NCH₂CO), 55.3 (OCH₃), 63.3 (C₄), 78.4, 79.6 (OCH₂Ph), 113.6 (C_{7'}), 113.8 (C_{5'}), 125.0 (C_{8'a}), 128.6 (C_{8'}, C_{4''}), 128.7 (C_{3''}, C_{5''}), 128.8 (C_{2''}, C_{6''}), 134.3, 135.2 (C_{1''}), 139.6 (C_{4'a}), 156.2 (C₂=O), 159.6 (C_{6'}), 167.4 (CONHOCH₂Ph), 175.9 (C₅=O). HRMS/ESI⁺ (m/z): Calcd for C₂₂H₂₃N₃O₅: 409.1638; Found: 409.1635.

***N*-(φαινυλομεθοξυ)-2-((4*R*,4'*S*)/(4*S*,4'*R*))-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'*H*-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο (41)**

Σε αναδεύόμενο διάλυμα 520 mg (1.80 mmol) του καρβοξυλικού οξέος **40** σε 18 mL άνυδρο CH₂Cl₂/άνυδρο DMF (4:1), προστίθενται διαδοχικά 418 mg (2.18 mmol) EDCI·HCl, 368 mg (2.18 mmol) HOBT (80% σε νερό), 348 mg (2.18 mmol) υδροχλωρικής *O*-βενζυλο υδροξυλαμίνης και τέλος 1.02 g (10 mmol) TEA. Το διάλυμα αναδεύεται για 41 h στους 30°C υπό ατμόσφαιρα Ar. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αναλόγου **5**, λαμβάνεται ελαιώδες υποκίτρινο υπόλειμμα, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με CH₂Cl₂/AcOEt 50:1, 30:1, 3:1 και AcOEt ως διαλύτες έκλουσης. Λαμβάνεται λευκό αφρώδες στερεό, το οποίο μετά από ξήρασή του υπό υψηλό κενό, μετατρέπεται σε υαλώδες στερεό. (390 mg, 55%), *R*_f 0.08 (CH₂Cl₂/AcOEt 8:1).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 1.28 (dd, 3H, J₁=7.0 Hz, J₂=12.1 Hz, CH₃), 1.57-1.67 (m, 0.45H, H₃), 1.77-1.90 (m, 1H, H₂, H₃), 1.97-2.11 (m, 1.3H, H₂, H₃), 2.12-2.29 (m, 1H, H₂, H₃), 2.87-3.01 (m, 1H, H₄), 3.91-4.08 (2q, AB, 1.3H, J_{1AB}=16.1 Hz, J_{2AB}=16.2 Hz, NCH₂CO), 4.27 (s, 0.35H, NCH₂CO), 4.81, 4.87 (s + s, 2H, OCH₂Ph), 7.21 (t, 1H, J=7.6 Hz, H₇), 7.25-7.31 (m, 2H, H₆, H₈), 7.33 (d, 1H, J=7.2 Hz, H₅), 7.35-7.53 (complex m, 5H, H_{2''-6''}), 8.94 (s, 1H, H₃), 11.06 (s, 0.12H, CONHOCH₂Ph), 11.44 (s, 0.7H, CONHOCH₂Ph); ¹³C (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 21.9, 22.4 (CH₃), 25.6, 26.5 (C₃), 30.0, 31.1 (C₂), 31.2, 31.7 (C₄), 38.0, 38.3 (NCH₂CO), 62.6, 62.7 (C₄), 77.0 (OCH₂Ph), 126.4 (C₇), 127.4 (C₈), 127.9 (C₅), 128.4 (C₆, C_{3''}, C_{4''}, C_{5''}), 128.8

(C₂'', C₆''), 133.6, 133.7 (C₈'a), 135.8 (C₁''), 142.6 (C₄'a), 155.2 (C₂=O), 163.7 (CONHOCH₂Ph), 176.1 (C₅=O). HRMS/ESI⁺ (m/z): Calcd for C₂₂H₂₃N₃O₄: 393.1689; Found: 393.1691.

N-(φαινυλομεθοξυ)-2-((4R,4'R)/(4S,4'S)-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο (45)

Σε αναδεύόμενο διάλυμα 220 mg (0.76 mmol) του καρβοξυλικού οξέος **44** σε 10 mL άνυδρο CH₂Cl₂/άνυδρο DMF (4:1), προστίθενται διαδοχικά 176 mg (0.92 mmol) EDCl·HCl, 155 mg (0.92 mmol) HOBT (80% σε νερό), 147 mg (0.92 mmol) υδροχλωρικής *O*-βενζυλο υδροξυλαμίνης και τέλος 430 mg (4.25 mmol) TEA. Το διάλυμα αναδεύεται για 41 h στους 33 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αναλόγου **5**, λαμβάνεται ελαιώδες υποκίτρινο υπόλειμμα, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με CH₂Cl₂/AcOEt 50:1, 30:1, 10:1 και AcOEt διαλύτες έκλουσης. Λαμβάνεται λευκό αφρώδες στερεό, το οποίο μετά από ξήρανσή του υπό υψηλό κενό, μετατρέπεται σε υαλώδες στερεό. (180 mg, 60%), R_f 0.09 (CH₂Cl₂/AcOEt 8:1).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 1.28 (dd, 3H, J₁=7.0 Hz, J₂=12.0 Hz, CH₃), 1.57-1.68 (m, 0.55H, H₃'), 1.78-1.90 (m, 0.8H, H₂', H₃'), 1.95-2.11 (m, 1.5H, H₂', H₃'), 2.12-2.29 (m, 1H, H₂', H₃'), 2.87-3.01 (m, 1H, H₄'), 3.90-4.07 (2q, AB, 1.5H, J_{1AB}=16.2 Hz, J_{2AB}=16.3 Hz, NCH₂CO), 4.27 (s, 0.35H, NCH₂CO), 4.81, 4.87 (s + s, 2H, OCH₂Ph), 7.21 (t, 1H, J=7.4 Hz, H₇'), 7.25-7.35 (m, 3H, H₅', H₆', H₈'), 7.36-7.52 (m, 5H, H₂'', 6''), 8.94 (s, 1H, H₃'), 11.06 (s, 0.12H, CONHOCH₂Ph), 11.44 (s, 0.75H, CONHOCH₂Ph); ¹³C (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 21.9, 22.4 (CH₃), 25.6, 26.5 (C₃'), 30.0, 31.1 (C₂'), 31.2, 31.7 (C₄'), 38.0 (NCH₂CO), 62.6, 62.7 (C₄'), 77.0 (OCH₂Ph), 126.4 (C₇'), 127.4 (C₈'), 127.9 (C₅'), 128.4 (C₆', C₃'', C₄'', C₅''), 128.8 (C₂'', C₆''), 133.6, 133.7 (C₈'a), 135.8 (C₁''), 142.6 (C₄'a), 155.3 (C₂=O), 163.7 (CONHOCH₂Ph), 176.1 (C₅=O). HRMS/ESI⁺ (m/z): Calcd for C₂₂H₂₃N₃O₄: 393.1689; Found: 393.1687.

5.2.5 ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΑΚΕΤΟΪΔΡΟΞΑΜΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ **6, **12**, **18**, **24**, **30**, **36**, **42**, **46****

Διάλυμα του *O*-βενζυλοϋδροξαμικού αναλόγου σε μείγμα abs EtOH/AcOEt ή abs EtOH, υποβάλλεται σε καταλυτική υδρογόνωση παρουσία Pd/C 10-12%, για 3 h στους 44 °C και πίεση 55 psi. Ακολούθως διηθείται ο καταλύτης, πλένεται με θερμή EtOH και τα συνενωμένα διηθήματα εξατμίζονται μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση.

N-υδροξυ-2-(2',5'-διοξοσπειρο[φλουορεν-9,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλ) ακεταμίδιο (6)

Διάλυμα του *O*-βενζυλοϋδροξαμικού αναλόγου **5** (160 mg, 0.39 mmol) σε 22 mL μείγματος abs EtOH/AcOEt (6:5) υποβάλλεται σε καταλυτική υδρογόνωση παρουσία Pd/C (20 mg), για 3 h στους 44 °C και πίεση 55 psi. Ακολούθως διηθείται ο καταλύτης, πλένεται με θερμή EtOH (3×10 mL) και τα συνενωμένα διηθήματα εξατμίζονται μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Λαμβάνεται άχρωμο, ελαιώδες προϊόν, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με AcOEt ως διαλύτη έκλουσης. Τελικώς, λαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν. (120 mg, σχεδόν ποσοτική), R_f 0.45 (AcOEt), mp 208-210 °C (EtOH/*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 4.07 (s, 1.5H, NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 4.35 (s, 0.5H, NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 7.38 (t, 2H, J=7.5 Hz, H₂, H₇), 7.50 (t, 2H, J=7.5 Hz, H₃, H₆), 7.55 (d, 2H, J=7.3 Hz, H₁, H₈), 7.89 (d, 2H, J=7.6 Hz, H₄, H₅), 8.97 (s, 1H, H₃'), 9.07 (s, 0.7H, NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 9.45 (s, 0.23H, NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 10.40 (s, 0.23H, NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 10.81 (s, 0.7H, NCH₂CONHOH, *E*-isomer); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 38.7 (NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 39.5 (NCH₂CONHOH, *Z*-

Πειραματικό Μέρος

isomer), 71.2 (C_9), 120.8 (C_4, C_5), 124.2 (C_{11}, C_8), 128.4 (C_2, C_7), 130.1 (C_3, C_6), 140.8 (C_{4a}, C_{4b}), 142.7 (C_{8a}, C_{9a}), 156.7 ($C_{2'}=O, E$ -isomer), 156.8 ($C_{2'}=O, Z$ -isomer), 163.4 ($NCH_2CONHOH, E$ -isomer), 168.7 ($NCH_2CONHOH, Z$ -isomer), 172.7 ($C_5'=O, E$ -isomer), 172.9 ($C_5'=O, Z$ -isomer). Anal. Calcd for $C_{17}H_{13}N_3O_4$: C, 63.16; H, 4.05; N, 13.00. Found: C, 63.20; H, 4.19; N, 13.16.

***N*-υδροξυ-2-(2,5-διοξο-4,4-διφαινυλιμιδαζολιδιν-1-υλ) ακεταμίδιο (12)**

Διάλυμα του *O*-βενζυλοϋδροξαμικού αναλόγου **11** (110 mg, 0.26 mmol) σε 20 mL abs EtOH/AcOEt (3:1) υδρογονώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (13 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αντίστοιχου ακετοϋδροξαμικού οξέος **6**. Λαμβάνεται άχρωμο, ελαιώδες προϊόν, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με AcOEt ως διαλύτη έκλουσης. Λαμβάνεται λευκό αφρώδες στερεό προϊόν, το οποίο συγκρατεί ισχυρά το διαλύτη έκλουσης. Μετά από ξήρανσή του υπό υψηλό κενό, μετατρέπεται σε υαλώδες στερεό, το οποίο κρυσταλλώνει πλήρως μετά από ψύξη. (85 mg, σχεδόν ποσοτική), R_f 0.39 (AcOEt), mp 197-199 °C (EtOH/dry Et₂O-*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 3.98, 4.02 (s + s, 1.5H, $NCH_2CONHOH, E$ -isomer), 4.27 (s, 0.4H, $NCH_2CONHOH, Z$ -isomer), 7.29-7.46 (m, 10H, *Ar-H*), 9.02 (s, 0.62H, $NCH_2CONHOH, E$ -isomer), 9.38 (s, 0.18H, $NCH_2CONHOH, Z$ -isomer), 9.62, 9.63 (s + s, 1H, H_3), 10.34 (s, 0.18H, $NCH_2CONHOH, Z$ -isomer), 10.78 (s, 0.6H, $NCH_2CONHOH, E$ -isomer); ¹³C (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 38.3 ($NCH_2CONHOH, E$ -isomer), 38.5 ($NCH_2CONHOH, Z$ -isomer), 69.4 (C_5), 127.0 (C_2, C_6', C_8, C_{12}'), 128.2 (C_4, C_{10}'), 128.4 ($C_3', C_5', C_9', C_{11}'$), 139.6 ($C_{1'}, C_7'$), 154.9 ($C_{2'}=O, E$ -isomer), 155.1 ($C_{2'}=O, Z$ -isomer), 163.1 ($NCH_2CONHOH, E$ -isomer), 168.6 ($NCH_2CONHOH, Z$ -isomer), 173.4 ($C_5'=O, E$ -isomer), 173.6 ($C_5'=O, Z$ -isomer). Anal. Calcd for $C_{17}H_{15}N_3O_4$: C, 62.76; H, 4.65; N, 12.92. Found: C, 62.90; H, 4.81; N, 12.78.

***N*-υδροξυ-2-(2,5-διοξο-4-μεθυλο-4-(τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκ-1-υλ)ιμιδαζολιδιν-1-υλ) ακεταμίδιο (18)**

Διάλυμα του *O*-βενζυλοϋδροξαμικού αναλόγου **17** (190 mg, 0.46 mmol) σε 30 mL abs EtOH/AcOEt (4:1) υδρογονώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (23 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αντίστοιχου ακετοϋδροξαμικού οξέος **6**. Λαμβάνεται λευκό ημιστερεό προϊόν, το οποίο κατεργάζεται με dry Et₂O/*n*-pentane. Τελικώς, λαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν. (148 mg, σχεδόν ποσοτική), R_f 0.35 (AcOEt), mp 212-214 °C (EtOH/dry Et₂O-*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 1.23 (s, 3H, CH_3), 1.47, 1.74 ($d_1 + d_2$, 6H, $J_1=11.9$ Hz, $J_2=11.7$ Hz, $H_{2'}, H_{8'}, H_{9'}$), 1.54, 1.64 ($d_1 + d_2$, 6H, $J_1=11.8$ Hz, $J_2=11.9$ Hz, $H_{4'}, H_{6'}, H_{10}'$), 1.94 (s, 3H, H_3, H_5', H_7'), 3.76-3.89 (q, AB, 1.5H, $J_{AB}=16.1$ Hz, $NCH_2CONHOH, E$ -isomer), 4.06-4.17 (q, AB, 0.35H, $J_{AB}=17.6$ Hz, $NCH_2CONHOH, Z$ -isomer), 8.22, 8.24 (s + s, 1H, H_3) 8.94 (s, 0.62H, $NCH_2CONHOH, E$ -isomer), 9.31 (s, 0.18H, $NCH_2CONHOH, Z$ -isomer), 10.20 (s, 0.18H, $NCH_2CONHOH, Z$ -isomer), 10.67 (s, 0.6H, $NCH_2CONHOH, E$ -isomer); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 17.4 (CH_3), 27.6 (C_3', C_5', C_7'), 35.4 (C_2', C_8', C_9'), 36.3 (C_4', C_6', C_{10}'), 37.6 ($C_{1'}, NCH_2CONHOH, E$ -isomer), 38.0 ($NCH_2CONHOH, Z$ -isomer), 66.4 (C_4), 155.9 ($C_{2'}=O, E$ -isomer), 156.0 ($C_{2'}=O, Z$ -isomer), 163.3 ($NCH_2CONHOH, E$ -isomer), 168.8 ($NCH_2CONHOH, Z$ -isomer), 176.0 ($C_5'=O, E$ -isomer), 176.2 ($C_5'=O, Z$ -isomer). Anal. Calcd for $C_{16}H_{23}N_3O_4$: C, 59.80; H, 7.21; N, 13.08. Found: C, 59.69; H, 7.40; N, 13.22.

***N*-υδροξυ-2-(2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλ) ακεταμίδιο (24)**

Διάλυμα του *O*-βενζυλοϋδροξαμικού αναλόγου **23** (100 mg, 0.24 mmol) σε 21 mL abs EtOH/AcOEt (3:2) υδρογονώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (12 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αντίστοιχου

ακετουδροξαμικού οξέος **6**. Τελικώς, λαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν. (80 mg, σχεδόν ποσοτική), R_f 0.62 (AcOEt), mp 211-213 °C (MeOH/dry Et₂O-*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 1.60-1.99 (complex m, 8H, H₆, H₇, H₉, H₁₀), 2.05-2.17 (m, 0.35H, H₇, H₉, *trans*), 2.54-2.64 (m, 1H, H₈), 3.85, 3.88 (s + s, 1.45H, NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 4.15, 4.18 (s + s, 0.5H, NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 7.18 (t, 1H, *J*=6.9 Hz, H₄, *cis*), 7.25 (d, 0.4H, *J*=7.3 Hz, H₂, H₆, *trans*), 7.29 (t, 0.40H, *J*=7.6 Hz, H₃, H₅, *trans*), 7.30 (d, 2H, *J*=7.4 Hz, H₂, H₆, *cis*), 7.32 (t, 2H, *J*=7.3 Hz, H₃, H₅, *cis*), 8.28 (s, 0.12H, H₁, *trans*) 8.94 (s, 0.68H, NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 9.05 (s, 0.82H, H₁, *cis*), 9.33 (s, 0.2H, NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 10.29 (s, 0.20H, NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 10.70 (s, 0.62H, NCH₂CONHOH, *E*-isomer); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 28.4 (C₇, C₉, *cis*), 28.7 (C₇, C₉, *trans*), 33.3 (C₆, C₁₀, *cis*), 33.9 (C₆, C₁₀, *trans*), 37.9 (NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 38.2 (NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 42.2 (C₈, *cis*), 60.9 (C₅, *cis*), 126.0 (C₄, *cis*), 126.9 (C₂, C₆, *cis*), 128.2 (C₃, C₅, *cis*), 146.5 (C₁, *cis*), 155.5 (C₂=O, *cis*), 163.3 (NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 168.8 (NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 176.7 (C₄=O, *cis*). Anal. Calcd for C₁₆H₁₉N₃O₄: C, 60.56; H, 6.04; N, 13.24. Found: C, 60.65; H, 6.26; N, 13.44.

***N*-υδροξυ-2-(2',5'-διοξο-6,7,8,9-τετραϋδροσπειρο[βενζο[7]αννουλεν-5,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλ) ακεταμίδιο (30)**

Διάλυμα του *O*-βενζυλοϋδροξαμικού αναλόγου **29** (120 mg, 0.30 mmol) σε 18 mL μείγματος abs EtOH/AcOEt (2:1) υδρογονώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (14 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αντίστοιχου ακετουδροξαμικού οξέος **6**. Λαμβάνεται λευκό αφρώδες προϊόν, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με AcOEt ως διαλύτη έκλουσης. Τελικώς, λαμβάνεται υαλώδες στερεό, το οποίο κρυσταλλώνει προς λευκό κρυσταλλικό προϊόν. (90 mg, σχεδόν ποσοτική), R_f 0.33 (AcOEt), mp 184-186 °C (dry Et₂O-*n*-pentane).

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 1.59-1.67 (complex m, 1H, H₈), 1.74-1.91 (complex m, 3H, H₇, H₈), 1.92-1.98 (ddd, 1H, *J*₁=3.1 Hz, *J*₂=6.2 Hz, *J*₃=14.1 Hz, H₆), 2.08-2.14 (ddd, 1H, *J*₁=3.3 Hz, *J*₂=10.8 Hz, *J*₃=14.1 Hz, H₆), 2.95-3.02 (m, 2H, H₉), 3.96, 4.00 (s + s, 1.5H, NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 4.25 (s, 0.4H, NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 7.15 (td, 1H, *J*₁=1.9 Hz, *J*₂=7.0 Hz, H₃), 7.18 (d, 1H, *J*=6.9 Hz, H₁), 7.20 (td, 1H, *J*₁=1.3 Hz, *J*₂=7.1 Hz, H₂), 7.29 (dd, 1H, *J*₁=7.7 Hz, *J*₂=16.1 Hz, H₃), 8.89 (s, 0.15H, H₃), 8.92, 8.93 (s + s, 0.8H, H₃), 8.97 (s, 0.55H, CH₂CONHOH, *E*-isomer), 9.35 (s, 0.15H, NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 10.30 (s, 0.15H, NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 10.74 (s, 0.5H, NCH₂CONHOH, *E*-isomer); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 23.7 (C₇), 26.5 (C₈), 34.2 (C₉), 35.6, 35.7 (C₆), 37.9 (NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 38.4 (NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 40.0 (NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 68.0 (C₅), 126.2 (C₃), 128.0 (C₂, C₄), 131.1 (C₁), 137.9 (C_{4a}), 142.2 (C_{9a}), 155.2 (C₂'=O, *E*-isomer), 155.4 (C₂'=O, *Z*-isomer), 163.3, 167.7 (NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 168.8 (NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 175.9 (C₅'=O, *E*-isomer), 176.0 (C₅'=O, *Z*-isomer). Anal. Calcd for C₁₅H₁₇N₃O₄: C, 59.40; H, 5.65; N, 13.85. Found: C, 59.58; H, 5.79; N, 13.97.

***N*-υδροξυ-2-(6'-μεθοξυ-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'*H*-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1'-υλ) ακεταμίδιο (36)**

Διάλυμα του *O*-βενζυλοϋδροξαμικού αναλόγου **35** (340 mg, 0.83 mmol) σε 20 mL abs EtOH, υδρογονώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (40 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αντίστοιχου ακετουδροξαμικού οξέος **6**. Λαμβάνεται λευκό αφρώδες προϊόν, το οποίο συγκρατεί ισχυρά το διαλύτη έκλουσης. Μετά από ξήρασή του υπό υψηλό κενό, μετατρέπεται σε υαλώδες στερεό και στερεοποιείται πλήρως υπό ψύξη. (265 mg, σχεδόν ποσοτική), R_f 0.68 (AcOEt), mp gradual degradation from 139 °C to 153 °C (MeOH/dry Et₂O).

Πειραματικό Μέρος

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 1.80-1.86 (m, 1H, H_3), 1.86-1.95 (complex m, 1H, H_2), 1.95-2.10 (m, 2H, H_2 , H_3), 2.75 (~t, 2H, $J=5.3, 5.7$ Hz, H_4), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.90-4.01 (q, AB, 1.45H, $J_{AB}=16.0$ Hz, NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 4.18-4.29 (q, AB, 0.45H, $J_{AB}=17.4$ Hz, NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 6.697 (d, 1H, $J=2.4$ Hz, H_5), 6.75 (dd, 1H, $J_1=2.6$ Hz, $J_2=8.6$ Hz, H_7), 7.22-7.33 [2d, 1H, 7.25 (d₁, $J_1=8.6$ Hz), 7.30 (d₂, $J_2=8.6$ Hz), H_8], 8.83, 8.85 (s + s, 1H, H_3), 9.00 (s, 0.65H, NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 9.37 (s, 0.2H, NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 10.32 (s, 0.2H, NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 10.76 (s, 0.65H, NCH₂CONHOH, *E*-isomer); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 18.5 (C_3), 28.8 (C_4), 33.8 (C_2), 38.0 (NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 38.6 (NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 55.1 (OCH₃), 62.1 (C_4), 112.9 (C_5), 113.2 (C_7), 126.3 ($C_{8'o}$), 128.9 (C_8), 139.2 ($C_{4'o}$), 155.2 ($C_2=O$), 158.8 (C_6), 163.4 (NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 168.9 (NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 176.4 ($C_5=O$). Anal. Calcd for C₁₅H₁₇N₃O₅: C, 56.42; H, 5.37; N, 13.16. Found: C, 56.53; H, 5.61; N, 13.30.

***N*-υδροξυ-2-((4*R*,4'*S*)/(4*S*,4'*R*))-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'*H*-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο (42)**

Διάλυμα του *O*-βενζυλοϋδροξαμικού αναλόγου **41** (370 mg, 0.94 mmol) σε 25 mL abs EtOH, υδρογονώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (44 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αντίστοιχου ακετοϋδροξαμικού οξέος **6**. Λαμβάνεται υαλώδες προϊόν, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με CH₂Cl₂/AcOEt 5:1, AcOEt και AcOEt/MeOH 20:1 ως διαλύτες έκλουσης. Τελικώς, μετά από κατεργασία με dry Et₂O, λαμβάνεται λευκό αφρώδες προϊόν, το οποίο συγκρατεί ισχυρά το διαλύτη έκλουσης. (285 mg, σχεδόν ποσοτική), R_f (AcOEt) 0.38.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 1.28 (dd, 3H, $J_1=6.9$ Hz, $J_2=13.2$ Hz, CH₃), 1.56-1.66 (m, 0.5H, H_3), 1.77-1.89 (m, 1H, H_2 , H_3), 2.03 (td, 1.4H, $J_1=3.1$ Hz, $J_2=10.5$ Hz, H_2 , H_3), 2.11-2.19 (m, 0.55H, H_3), 2.23 (t, 0.5H, $J=10.4$ Hz, H_2), 2.86-3.00 (m, 1H, H_4), 3.90-4.05 (2q, AB, 1.5H, $J_{1AB}=16.1$ Hz, $J_{2AB}=16.4$ Hz, NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 4.19-4.32 (2q, AB, 0.5H, $J_{1AB}=17.5$ Hz, $J_{2AB}=17.2$ Hz, NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 7.18 (t, 1H, $J=7.9$ Hz, H_7), 7.24-7.41 (complex m, 3H, H_5 , H_6 , H_8), 8.90 (s, 1H, H_3), 9.01 (s, 0.75H, NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 9.37 (s, 0.23H, NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 10.33 (s, 0.22H, NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 10.76 (s, 0.72H, NCH₂CONHOH, *E*-isomer); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 21.9, 22.4 (CH₃), 25.6, 26.6 (C_3), 29.9 (C_2), 31.2 (C_2 , C_4), 31.7 (C_4), 38.0 (NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 38.3 (NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 62.5, 62.7 (C_4), 126.4 (C_7), 127.5, 127.8 (C_6 , C_8), 128.3, 128.5 (C_5), 133.7, 133.8 ($C_{8'o}$), 142.6 ($C_{4'o}$), 155.4 ($C_2=O$), 163.4 (NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 168.9 (NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 176.2 ($C_5=O$). HRMS ESI⁺ (m/z): Calcd for C₁₅H₁₇N₃O₄: 303.1219; Found: 303.1217.

***N*-υδροξυ-2-((4*R*,4'*R*)/(4*S*,4'*S*))-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'*H*-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο (46)**

Διάλυμα του *O*-βενζυλοϋδροξαμικού αναλόγου **45** (150 mg, 0.38 mmol) σε 15 mL abs EtOH, υδρογονώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (18 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αντίστοιχου ακετοϋδροξαμικού οξέος **6**. Λαμβάνεται υαλώδες προϊόν, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με AcOEt ως διαλύτη έκλουσης. Τελικώς, μετά από κατεργασία με dry Et₂O και *n*-pentane, λαμβάνεται λευκό αφρώδες προϊόν, το οποίο συγκρατεί ισχυρά το διαλύτη έκλουσης. (115 mg, σχεδόν ποσοτική), R_f (AcOEt) 0.40.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 1.28 (dd, 3H, $J_1=7.0$ Hz, $J_2=13.4$ Hz, CH₃), 1.56-1.67 (m, 0.55H, H_3), 1.77-1.89 (m, 0.8H, H_2 , H_3), 2.03 (td, 1.6H, $J_1=2.8$ Hz, $J_2=10.1$ Hz, H_2 , H_3), 2.11-2.29 (m, 1H, H_2 , H_3), 2.86-3.00 (m, 1H, H_4), 3.89-4.08 (2q, AB, 1.5H, $J_1=16.1$ Hz, $J_2=16.5$ Hz, NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 4.19-4.32 (2q, AB, 0.5H, $J_1=17.5$ Hz, $J_2=17.2$ Hz, NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 7.18 (t, 1H, $J=7.7$ Hz, H_7), 7.23-7.42 (complex m, 3H, H_5 , H_6 , H_8), 8.86, 8.91 (s + s, 1H, H_3), 9.02 (s, 0.65H, CH₂CONHOH, *E*-isomer), 9.39 (s, 0.2H, CH₂CONHOH, *Z*-isomer), 10.34 (s, 0.2H, CH₂CONHOH, *Z*-isomer), 10.76 (s, 0.63H, CH₂CONHOH, *E*-isomer);

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 21.9, 22.4 (CH_3), 25.6, 26.5 (C_3), 29.0, 29.9 (C_2), 31.2, 31.7 (C_4), 38.2 ($\text{NCH}_2\text{CONHOH}$, *E*-isomer), 39.9 ($\text{NCH}_2\text{CONHOH}$, *Z*-isomer), 62.5, 62.7 (C_4), 126.3 (C_7), 127.5, 127.8 (C_6 , C_8) 128.3, 128.5 (C_5), 133.6, 133.8 ($\text{C}_{8\text{O}}$), 142.6 ($\text{C}_{4\text{O}}$), 155.4 ($\text{C}_2=\text{O}$), 163.4 ($\text{NCH}_2\text{CONHOH}$, *E*-isomer), 168.9 ($\text{NCH}_2\text{CONHOH}$, *Z*-isomer), 176.2 ($\text{C}_5=\text{O}$). HRMS ESI $^+$ (m/z): Calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4$: 303.1219; Found: 303.1215.

5.2.6 ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΑΚΕΤΟΪΔΡΟΞΑΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ 47

N-υδροξυ-2-(6'-υδροξυ-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'*H*-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο (47)

Σε αναδευόμενο διάλυμα 2 mL άνυδρου CH_2Cl_2 στους 0 °C, απαιωρούνται 110 mg (0.34 mmol) του *N*-υδροξυ) ακεταμιδίου **36**. Ακολούθως, προστίθενται στάγδην και με συνεχή διαβίβαση Ar, 1.3 mL (1.3 mmol) BBr_3 1.0 M in CH_2Cl_2 και το μείγμα αναδεύεται για 19 h σε rt υπό ατμόσφαιρα Ar. Μετά το πέρας της αντίδρασης, το μείγμα αποχύνεται σε 20 mL και το CH_2Cl_2 απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Το υπόλειμμα εκχυλίζεται με AcOEt (3x15 mL). Οι συνενωμένες οργανικές στιβάδες πλένονται με H_2O (2x15 mL) και brine (2x15 mL), ξηραίνονται με άνυδρο Na_2SO_4 και εξατμίζονται υπό κενό μέχρι ξηρού. Λαμβάνεται υπόλευκο κρυσταλλικό προϊόν. (50 mg, 48%), R_f 0.13 (AcOEt), mp 196-198 °C (EtOH/dry Et $_2$ O-*n*-pentane).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 1.72-1.83 (m, 1H, H_3), 1.84-1.92 (complex m, 1H, H_2), 1.93-2.09 (complex m, 2H, H_2 , H_3), 2.08 (~t, 2H, $J=4.8$, 5.2 Hz, H_4), 3.87-4.02 (q, AB, 1.45H, $J_{AB}=16.0$ Hz, $\text{NCH}_2\text{CONHOH}$, *E*-isomer), 4.17-4.28 (q, AB, 0.40H, $J_{AB}=17.6$ Hz, $\text{NCH}_2\text{CONHOH}$, *Z*-isomer), 6.50 (d, 1H, $J=1.8$ Hz, H_5), 6.57 (dd, 1H, $J_1=2.4$ Hz, $J_2=8.4$ Hz, H_7), 7.08-7.21 [2d, 1H, 7.12 (d, $J_1=8.5$ Hz), 7.17 (d, $J_2=8.5$ Hz), H_8], 8.78, 8.80 (s + s, 1H, H_3), 9.00 (s, 0.75H, $\text{NCH}_2\text{CONHOH}$, *E*-isomer), 9.36 (s, 0.25H, $\text{NCH}_2\text{CONHOH}$, *Z*-isomer), 9.44 (s, 1H, OH), 10.31 (s, 0.25H, $\text{NCH}_2\text{CONHOH}$, *Z*-isomer), 10.74 (s, 0.74H, $\text{NCH}_2\text{CONHOH}$, *E*-isomer); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 18.5 (C_3), 28.7 (C_4), 33.9 (C_2), 37.9 ($\text{NCH}_2\text{CONHOH}$, *E*-isomer), 38.3 ($\text{NCH}_2\text{CONHOH}$, *Z*-isomer), 62.2 (C_4), 114.1 (C_7), 114.6 (C_5), 124.6 ($\text{C}_{8\text{O}}$), 128.9 (C_8), 139.0 ($\text{C}_{4\text{O}}$), 155.2 ($\text{C}_2=\text{O}$), 156.9 (C_6), 163.5 ($\text{NCH}_2\text{CONHOH}$, *E*-isomer), 169.0 ($\text{NCH}_2\text{CONHOH}$, *Z*-isomer), 176.6 ($\text{C}_5=\text{O}$). Anal. Calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_5$: C, 55.08; H, 4.95; N, 13.76. Found: C, 54.90; H, 4.78; N, 13.60.

5.2.7 ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ *N*-1-ΜΕΘΥΛΟ-2,4-ΔΙΚΕΤΟΪΜΙΔΑΖΟΛΙΔΙΝΩΝ 50, 57, 64, 71 ΚΑΙ ΤΩΝ ΕΝΔΙΑΜΕΣΩΝ ΤΟΥΣ

Σε αναδευόμενο διάλυμα 5.0 mmol NaCN και 5.0 mmol υδροχλωρικής μεθυλαμίνης σε μείγμα 4 mL DMSO/ H_2O (9:1), προστίθενται 5.0 mmol κετόνης σε 6.8 mL DMSO. Το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 46-70 h σε rt. Ακολουθεί απόχωση του μείγματος της αντίδρασης σε 80 mL νερού-πάγου και εκχύλιση με Et $_2$ O (3x50 mL). Οι συνενωμένες αιθερικές στιβάδες πλένονται με brine (3x50 mL) και ξηραίνονται με άνυδρο Na_2SO_4 . Το προϊόν καταβυθίζεται στην αιθερική στιβάδα με κορεσμένο αιθανολικό διάλυμα αέριου HCl και αφήνεται υπό ψύξη. Το αποβαλλόμενο στερεό προϊόν διηθείται υπό κενό και το ίζημα εκπλένεται με μικρές ποσότητες άνυδρου Et $_2$ O. Το προϊόν, το οποίο λαμβάνεται, χρησιμοποιείται σε επόμενο στάδιο χωρίς επιπρόσθετο καθαρισμό.

Σε αναδευόμενο διάλυμα 5.0 mmol του καρβονιτριλίου σε 8 mL AcOH, προστίθενται 9.86 mmol KO-CN διαλυμένα σε 1 mL H_2O και το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 1-5 h σε rt/35 °C. Το αποβαλλόμενο προϊόν αποχύνεται σε 30 mL H_2O και εκχυλίζεται με AcOEt/ CHCl_3 (3x40 mL). Οι συνενωμένες οργανικές στιβάδες πλένονται με H_2O (40 mL) και brine (3x40 mL), ξηραίνονται με άνυδρο Na_2SO_4 και ο διαλύτης

Πειραματικό Μέρος

εξατμίζεται μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Το προϊόν, το οποίο λαμβάνεται, χρησιμοποιείται σε επόμενο στάδιο χωρίς επιπρόσθετο καθαρισμό.

Σε αναδευόμενο διάλυμα 5.0 mmol μεθουλαρίας σε 23 mL άνυδρο DMF, προστίθενται 6.5 mmol NaH βραδέως και υπό ψύξη, και το μείγμα αναδύεται για 65-88 h στους 45-47 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Στο ίδιο διάλυμα, προστίθεται άπαξ υδατικό διάλυμα HCl 10% (42 mL) και εξακολουθεί να αναδύεται για 17-23 h στους 50-52 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Το μείγμα της αντίδρασης αποχύνεται σε 90 mL H₂O και εκχυλίζεται με AcOEt/CH₂Cl₂/CHCl₃ (3×70 mL). Οι συνενωμένες οργανικές στιβάδες πλένονται με H₂O (70 mL) και brine (3×70 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό κενό. Το προϊόν παραλαμβάνεται μετά από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης.

9-(μεθυλαμινο)-9H-φλουορενο-9-καρβονιτριλιο, υδροχλωρικό (48)

Σε αναδευόμενο διάλυμα 544 mg (11.1 mmol) NaCN και 749 mg (11.1 mmol) υδροχλωρικής μεθυλαμίνης σε μείγμα 10 mL DMSO/H₂O (9:1), προστίθενται 2.0 g (11.1 mmol) 9H-φλουορενόν-9-ης (**1**) σε 15 mL DMSO. Το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 48 h σε rt. Ακολουθεί απόχωση του μείγματος της αντίδρασης σε 180 mL νερού-πάγου και εκχύλιση με Et₂O (3×80 mL). Οι συνενωμένες αιθερικές στιβάδες πλένονται με brine (3×80 mL) και ξηραίνονται με άνυδρο Na₂SO₄. Το προϊόν καταβυθίζεται στην αιθερική στιβάδα με κορεσμένο αιθανολικό διάλυμα αέριου HCl και αφήνεται υπό ψύξη. Το αποβαλλόμενο στερεό προϊόν διηθείται υπό κενό και το ίζημα εκπλένεται με μικρές ποσότητες άνυδρου Et₂O. Λαμβάνεται πορτοκαλόχρωμο κρυσταλλικό προϊόν, το οποίο χρησιμοποιείται σε επόμενο στάδιο χωρίς επιπρόσθετο καθαρισμό.

1-(9-κυανο-9H-φλουορεν-9-υλ)-1-μεθουλαρία (49)

Σε αναδευόμενο διάλυμα του καρβονιτριλίου **48** (1.8 g, 7.0 mmol) σε 11 mL AcOH, προστίθεται το KOCN (1.12 g, 13.8 mmol) σε 2.5 mL H₂O και το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 1 h σε rt. Το αποβαλλόμενο στερεό προϊόν αποχύνεται σε 40 mL H₂O και εκχυλίζεται με AcOEt (3×60 mL). Οι συνενωμένες οργανικές στιβάδες πλένονται με H₂O (40 mL) και brine (3×40 mL), ξηραίνονται με άνυδρο Na₂SO₄ και ο διαλύτης εξατμίζεται μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Λαμβάνεται κίτρινο κρυσταλλικό προϊόν, το οποίο χρησιμοποιείται σε επόμενο στάδιο χωρίς επιπρόσθετο καθαρισμό.

3'-μεθυλο-2'H,5'H-σπειρο[φλουορεν-9,4'-ιμιδαζολιδινο]-2',5'-διόνη (50)

Σε αναδευόμενο διάλυμα της μεθουλαρίας **49** (1.4 g, 5.31 mmol) σε 21 mL άνυδρο DMF, προστίθεται NaH (277 mg, 6.91 mmol, 60% σε ορυκτέλαιο) βραδέως και υπό ψύξη, και το μείγμα αναδύεται για 69 h στους 45 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Στο ίδιο διάλυμα, προστίθεται άπαξ υδατικό διάλυμα HCl 10% (45 mL) και εξακολουθεί να αναδύεται για 17 h στους 50 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Το μείγμα της αντίδρασης αποχύνεται σε 90 mL H₂O και εκχυλίζεται με CH₂Cl₂ (3×70 mL). Οι συνενωμένες οργανικές στιβάδες πλένονται με H₂O (70 mL) και brine (3×70 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό κενό. Το κίτρινο στερεό υπόλειμμα κατεργάζεται με dry Et₂O και χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με διαλύτη έκλουσης CH₂Cl₂/AcOEt 15:1, 5:1 και AcOEt. Λαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν. (1.2 g, 44%), *R*_f 0.40 (CH₂Cl₂/AcOEt 5:1), mp >250 °C (MeOH/*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 2.35 (s, 3H, CH₃), 7.38 (td, 2H, *J*₁=0.7 Hz, *J*₂=7.4 Hz, H₂, H₇), 7.45 (d, 2H, *J*=7.3 Hz, H₁, H₈), 7.52 (td, 2H, *J*₁=1.0 Hz, *J*₂=7.5 Hz, H₃, H₆), 7.94 (d, 2H, *J*=7.5 Hz, H₄, H₅), 11.47 (s, 1H, H_{1'}); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 25.0 (CH₃), 75.7 (C₉), 121.1 (C₄, C₅), 123.6 (C₁, C₈), 128.5 (C₂, C₇), 130.3 (C₃, C₆), 140.0 (C_{8a}, C_{4b}), 141.2 (C_{8a}, C_{9a}), 156.5 (C_{2'}=O), 172.6 (C_{5'}=O). Anal. Calcd for C₁₆H₁₂N₂O₂: C, 72.72; H, 4.58; N, 10.60. Found: C, 72.51; H, 4.32; N, 10.87.

2-(μεθυλαμινο)-2,2-διφαινυλοακετονιτρίλιο, υδροχλωρικό (55)

Παρασκευάζεται όπως το καρβονιτρίλιο **48**. Χρησιμοποιήθηκαν 2.0 g (10.98 mmol) διφαινυλοκετόνης (**7**) σε 15 mL DMSO, 538 mg (10.98 mmol) NaCN και 741 mg (10.98 mmol) υδροχλωρικής μεθυλαμίνης σε 10 mL μείγματος DMSO/H₂O (9:1). Το μείγμα αναδεύεται για 70 h σε rt και μετά από κατεργασία του, όπως περιγράφεται ανωτέρω, παραλαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν, το οποίο χρησιμοποιείται σε επόμενο στάδιο χωρίς επιπρόσθετο καθαρισμό.

1-(κυανοδιφαινυλομεθυλο)-1-μεθυλουρία (56)

Παρασκευάζεται όπως η μεθυλουρία **49**. Χρησιμοποιήθηκαν 410 mg (1.58 mmol) του καρβονιτρίλιου **55** σε 4 mL AcOH και 253 mg (3.12 mmol) KOCN σε 0.5 mL H₂O και το μείγμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 5 h σε rt. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, λαμβάνεται ελαιώδες άχρωμο προϊόν, το οποίο χρησιμοποιείται σε επόμενο στάδιο χωρίς επιπρόσθετο καθαρισμό.

1-μεθυλο-5,5-διφαινυλιμιδαζολιδινο-2,4-διόνη (57)

Παρασκευάζεται όπως η υδαντοΐνη **50**. Σε αναδευόμενο διάλυμα της μεθυλουρίας **56** (50 mg, 0.19 mmol) σε 1 mL άνυδρο DMF, προστίθεται το NaH (10 mg, 0.25 mmol, 60% σε ορυκτέλαιο) βραδέως και υπό ψύξη, και το μείγμα αναδεύεται για 67 h στους 45 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Στο ίδιο διάλυμα, προστίθεται άπαξ υδατικό διάλυμα HCl 10% (2 mL) και εξακολουθεί να αναδεύεται για 22 h στους 52 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, λαμβάνεται λευκό στερεό προϊόν, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με διαλύτη έκλυσης CH₂Cl₂/AcOEt 15:1 και 5:1. Λαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν. (42 mg, 1.4%), *R_f* 0.43 (CH₂Cl₂/AcOEt 5:1), mp 215-217 °C (AcOEt/*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 2.78 (s, 3H, CH₃), 7.25-7.32 (m, 4H, H_{2'}, H_{6'}, H_{8'}, H_{12'}), 7.36-7.44 (m, 6H, H_{3'}, H_{4'}, H_{5'}, H_{9'}, H_{10'}, H_{11'}), 9.64, 9.66 (s + s, 1H, H₃); ¹³C (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 26.5 (CH₃), 75.8 (C₅), 128.3 (C_{2'}, C_{6'}, C_{8'}, C_{12'}), 128.9 (C_{3'}, C_{5'}, C_{9'}, C_{11'}), 129.0 (C_{4'}, C_{10'}), 136.2 (C_{1'}, C_{7'}), 156.3 (C₂=O), 174.4 (C₄=O). Anal. Calcd for C₁₆H₁₄N₂O₂: C, 72.17; H, 5.30; N, 10.52. Found: C, 72.30; H, 5.61; N, 10.60.

1-(μεθυλαμινο)-4-φαινυλοκυκλοεξαν-1-καρβονιτρίλιο, υδροχλωρικό (62)

Παρασκευάζεται όπως το καρβονιτρίλιο **48**. Χρησιμοποιήθηκαν 2.0 g (11.48 mmol) 4-φαινυλοκυκλοεξαν-1-όνης (**19**) σε 15 mL DMSO, 563 mg (11.48 mmol) NaCN και 775 mg (11.48 mmol) υδροχλωρικής μεθυλαμίνης σε 8 mL μείγματος DMSO/H₂O (9:1). Το μείγμα αναδεύεται για 46 h σε rt. Ακολουθεί απόχυση του μείγματος της αντίδρασης σε 180 mL νερού-πάγου και εκχύλιση με AcOEt (3×80 mL). Οι συνενωμένες αιθερικές στιβάδες πλένονται με brine (3×80 mL) και ξηραίνονται με άνυδρο Na₂SO₄. Το προϊόν καταβυθίζεται στην αιθερική στιβάδα με κορεσμένο αιθανολικό διάλυμα αέριου HCl και αφήνεται υπό ψύξη. Το αποβαλλόμενο στερεό προϊόν διηθείται υπό κενό και το ίζημα εκπλένεται με μικρές ποσότητες άνυδρου Et₂O. Λαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν, το οποίο χρησιμοποιείται σε επόμενο στάδιο χωρίς επιπρόσθετο καθαρισμό.

1-(1-κυανο-4-φαινυλοκυκλοεξαν)-1-μεθυλουρία (63)

Παρασκευάζεται όπως η μεθυλουρία **49**. Χρησιμοποιήθηκαν 2.13 g (8.49 mmol) του καρβονιτρίλιου **62** σε 14 mL AcOH και 1.36 g (16.74 mmol) KOCN σε 2 mL H₂O και το μείγμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 1 h στους 35 °C. Το αποβαλλόμενο στερεό προϊόν αποχύνεται σε 45 mL H₂O και εκχυλίζεται με CHCl₃ (3×30 mL). Οι συνενωμένες οργανικές στιβάδες πλένονται με H₂O (30 mL) και brine (3×30 mL), ξηραίνονται με

Πειραματικό Μέρος

άνυδρο Na_2SO_4 και ο διαλύτης εξατμίζεται μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Λαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν, το οποίο χρησιμοποιείται σε επόμενο στάδιο χωρίς επιπρόσθετο καθαρισμό.

1-μεθυλο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκανο-2,4-διόνη (64)

Σε αναδευόμενο διάλυμα της μεθουρίας **63** (2.00 g, 7.89 mmol) σε 33 mL άνυδρο DMF, προστίθεται το NaH (411 mg, 10.27 mmol, 60% σε ορυκτέλαιο) βραδέως και υπό ψύξη, και το μείγμα αναδύεται για 88 h στους 47 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Στο ίδιο διάλυμα, προστίθεται άπαξ υδατικό διάλυμα HCl 10% (67 mL) και εξακολουθεί να αναδύεται για 23 h στους 50 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Το μείγμα της αντίδρασης αποχύνεται σε 160 mL H_2O και εκχυλίζεται με CHCl_3 (3×70 mL). Οι συνενωμένες οργανικές στιβάδες πλένονται με H_2O (70 mL) και brine (3×70 mL), ξηραίνονται με Na_2SO_4 και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό κενό. Το κίτρινο στερεό υπόλειμμα κατεργάζεται με *n*-pentane, οπότε παραλαμβάνεται υποκίτρινο κρυσταλλικό προϊόν. (1.55 g, 52%), R_f 0.34 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 5:1), mp 211-214 °C (CHCl_3/n -pentane).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1.80-1.94 (complex m, 6H, H_6 , H_7 , H_9 , H_{10}), 2.31-2.44 (m, 2H, H_7 , H_9), 2.53 (t, 1H, $J=12.2$ Hz, H_8), 2.87 (s, 3H, CH_3), 7.22 (td, 1H, $J_1=1.9$ Hz, $J_2=6.5$ Hz, H_4), 7.30 (d, 2H, $J=7.1$ Hz, H_2 , H_6), 7.32 (t, 2H, $J=7.9$ Hz, H_3 , H_5), 9.27 (s, 1H, H_3); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 23.6 (CH_3), 28.7 (C_7 , C_9), 31.0 (C_6 , C_{10}), 43.0 (C_8), 62.8 (C_5), 126.4 (C_4), 127.0 (C_2 , C_6), 128.5 (C_3 , C_5), 146.0 (C_1), 155.7 ($\text{C}_2=\text{O}$), 177.0 ($\text{C}_4=\text{O}$). Anal. Calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$: C, 69.74; H, 7.02; N, 10.84. Found: C, 69.90; H, 7.30; N, 10.50.

5-(μεθυλαμινο)-6,7,8,9-τετραϋδρο-5H-βενζο[7]αννουλενο-5-καρβονιτρίλιο, υδροχλωρικό (69)

Παρασκευάζεται όπως το καρβονιτρίλιο **48**. Χρησιμοποιήθηκαν 2.0 g (12.48 mmol) 6,7,8,9-τετραϋδρο-5H-βενζοκυκλοεπταν-5-όνης (**25**) σε 17 mL DMSO, 612 mg (12.48 mmol) NaCN και 843 mg (12.48 mmol) υδροχλωρικής μεθυλαμίνης σε 11.2 mL μείγματος DMSO/ H_2O (9:1). Το μείγμα αναδύεται για 70 h σε rt και μετά από κατεργασία του, όπως περιγράφεται ανωτέρω, παραλαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν, το οποίο χρησιμοποιείται σε επόμενο στάδιο χωρίς επιπρόσθετο καθαρισμό.

1-(5-κυανο-6,7,8,9-τετραϋδρο-5H-βενζο[7]αννουλεν-5-υλ)-1-μεθουρία (70)

Παρασκευάζεται όπως η μεθουρία **49**. Χρησιμοποιήθηκαν 1.95 g (8.24 mmol) του καρβονιτρίλιου **69** σε 13 mL AcOH και 1.32 g (16.26 mmol) KOCN σε 3 mL H_2O και το μείγμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 3.5 h σε rt. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, λαμβάνεται υποκίτρινο ημιστερεό προϊόν, το οποίο χρησιμοποιείται σε επόμενο στάδιο χωρίς επιπρόσθετο καθαρισμό.

3'-μεθυλο-6,7,8,9-τετραϋδρο-2'H,5'H-σπειρο[βενζο[7]αννουλεν-5,4'-ιμιδαζολιδινο]-2',5'-διόνη (71)

Παρασκευάζεται όπως η υδαντοΐνη **50**. Σε αναδευόμενο διάλυμα της μεθουρίας **70** (1.24 g, 5.10 mmol) σε 24 mL άνυδρο DMF, προστίθεται το NaH (266 mg, 6.65 mmol, 60% σε ορυκτέλαιο) βραδέως και υπό ψύξη, και το μείγμα αναδύεται για 65 h στους 45 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Στο ίδιο διάλυμα, προστίθεται άπαξ υδατικό διάλυμα HCl 10% (43 mL) και εξακολουθεί να αναδύεται για 20 h στους 50 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, λαμβάνεται παχύρρευστο καστανόχρωμο προϊόν, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με διαλύτη έκλουσης CH_2Cl_2 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 40:1 και 6:1. Λαμβάνεται υποκίτρινο κρυσταλλικό προϊόν. (180 mg, 6%), R_f 0.33 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 5:1), mp 190-192 °C (AcOEt/n -pentane).

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 1.53-1.70 (complex m, 1H, H_7 , H_8), 1.77-1.96 (complex m, 2H, H_7 , H_8), 2.10-2.26 (m, 2H, H_6), 2.68 (s, 3H, CH_3), 2.75 (ddd, 1H, $J_1=3.9$ Hz, $J_2=5.8$ Hz, $J_3=14.3$ Hz, H_9), 3.30 (dd,

^1H , $J_1=3.9$, $J_2=10.3$ Hz, H_9), 6.92 (dd, 1H, $J_1=3.7$ Hz, $J_2=5.1$ Hz, H_4), 7.19-7.29 (m, 3H, H_1 , H_2 , H_3), 10.95 (s, 1H, $H_{1'}$); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 20.8 (C_7), 24.8 (CH_3), 25.9 (C_8), 32.2 (C_6), 32.3 (C_9), 71.3 (C_5), 126.9 (C_2 , C_4), 128.4 (C_3), 131.6 ($C_{1'}$), 134.9 (C_{4a}), 141.6 (C_{9a}), 155.3 ($C_{2'=\text{O}}$), 176.0 ($C_{5'=\text{O}}$). Anal. Calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$: C, 68.83; H, 6.60; N, 11.47. Found: C, 68.59; H, 6.87; N, 11.23.

5.2.8 ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ *N*-3-ΜΕΘΥΛΟ-ΒΕΝΖΥΛΕΣΤΕΡΩΝ **51**, **58**, **65**, **72**

Η γενική μέθοδος για τη σύνθεση των *N*-3-μεθυλο-βενζυλεστέρων **51**, **58**, **65**, **72** είναι όμοια με τη μέθοδο που περιγράφηκε προηγουμένως για τη σύνθεση των βενζυλεστέρων **3**, **9**, **15**, **21**, **27**, **33**, **39**, **43**.

(3'-μεθυλο-2',5'-διοξοσπειρο[φλουορεν-9,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλ) οξικός βενζυλεστέρας (**51**)

Παρασκευάζεται από την υδαντοΐνη **50**, όπως περιγράφεται για την παρασκευή του βενζυλεστέρα **3**. Σε αναδεύσιμο διάλυμα 450 mg (1.70 mmol) της υδαντοΐνης **50** σε 46 mL άνυδρο THF προστίθενται σταδιακά 364 mg (1.73 mmol, 95% καθαρότητας) $[(\text{CH}_3)_3\text{Si}]_2\text{NK}$, υπό ψύξη. Το μείγμα της αντίδρασης αναδεύεται σε rt για 30 min υπό ατμόσφαιρα Ar. Εξατμίζεται ο διαλύτης υπό κενό και το στερεό υπόλειμμα διαλύεται σε 19 mL άνυδρο DMF και στο διάλυμα προστίθενται 408 mg (1.78 mmol) βρωμοξικού βενζυλεστέρα. Το μείγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 44 h υπό ατμόσφαιρα Ar στους 32 °C και, ακολούθως, για 2 h στους 45 °C. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, λαμβάνεται υποκίτρινο, ελαιώδες υπόλειμμα το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με διαλύτη έκλουσης $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 20:1 και 5:1. Λαμβάνεται άχρωμο, ελαιώδες προϊόν, το οποίο κρυσταλλώνει προς λευκό προϊόν υπό ψύξη. (650 mg, 93%), R_f 0.85 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 8:1), mp 134-136 °C ($\text{AcOEt}/\text{dry Et}_2\text{O}$).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 2.55 (s, 3H, CH_3), 4.48 (s, 2H, NCH_2COO), 5.23 (s, 2H, COOCH_2Ph), 7.29 (td, 2H, $J_1=0.8$ Hz, $J_2=7.0$ Hz, H_2 , H_7), 7.33 (dd, 2H, $J_1=0.5$ Hz, $J_2=6.9$ Hz, H_1 , H_8), 7.35-7.42 (m, 5H, $H_{2'-6'}$), 7.46 (td, 2H, $J_1=1.4$ Hz, $J_2=7.3$ Hz, H_3 , H_6), 7.73 (d, 2H, $J=7.6$ Hz, H_4 , H_5); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 25.7 (CH_3), 40.4 (NCH_2COO), 68.0 (COOCH_2Ph), 75.4 (C_9), 121.0 (C_4 , C_5), 124.1 (C_1 , C_8), 128.7, 128.8 (C_2 , C_7 , $C_{2'-6'}$), 130.6 (C_3 , C_6), 134.9 ($C_{1'}$), 139.6 (C_{8a} , C_{9a}), 141.9 (C_{4a} , C_{4b}), 156.0 ($C_{2'=\text{O}}$), 167.2 (COOCH_2Ph), 171.7 ($C_{5'=\text{O}}$). Anal. Calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4$: C, 72.80; H, 4.89; N, 6.79. Found: C, 72.68; H, 4.60; N, 6.92.

(3-μεθυλο-2,5-διοξο-4,4-δифαινυλιμιδαζολιδιν-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας (**58**)

Παρασκευάζεται από την υδαντοΐνη **57**, όπως περιγράφεται για την παρασκευή του βενζυλεστέρα **3**. Χρησιμοποιήθηκαν 100 mg (0.38 mmol) της υδαντοΐνης **57** σε 5 mL άνυδρο THF, 81 mg (0.39 mmol, 95% καθαρότητας) $[(\text{CH}_3)_3\text{Si}]_2\text{NK}$ και 91 mg (0.40 mmol) βρωμοξικού βενζυλεστέρα σε 4 mL άνυδρο DMF. Το μείγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 1 h σε rt και μετά την εξάτμιση του THF, η ανάδευση πραγματοποιείται για 42 h στους 32 °C και, ακολούθως, για 1 h στους 45 °C. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, λαμβάνεται παχύρρευστο ελαιώδες υποκίτρινο προϊόν, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με διαλύτη έκλουσης $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 50:1 και 5:1. Λαμβάνεται άχρωμο ελαιώδες προϊόν, το οποίο κατεργάζεται με $\text{dry Et}_2\text{O}$ -*n*-pentane και κρυσταλλώνει προς λευκό στερεό. (110 mg, 70%), R_f 0.25 ($\text{Hexane}/\text{AcOEt}$ 3:1), mp 141-143 °C ($\text{AcOEt}/\text{dry Et}_2\text{O}$ -*n*-pentane).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 2.80 (CH_3), 4.39 (s, 2H, NCH_2COO), 5.22 (s, 2H, COOCH_2Ph), 7.28-7.43 (complex m, 15H, *Ar-H*); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 26.9 (CH_3), 40.3 (NCH_2COO), 67.9 (COOCH_2Ph), 75.0 (C_4), 128.5, 128.7, 128.9, 129.0 (*Ar-C*), 135.0 ($C_{1'}$), 136.2 ($C_{1'}$, C_7), 155.3 ($C_2=\text{O}$), 167.2 (COOCH_2Ph), 173.5 ($C_5=\text{O}$). Anal. Calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$: C, 72.45; H, 5.35; N, 6.76. Found: C, 72.11; H, 5.23; N, 6.98.

(1-μεθυλο-2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλ) οξικός βενζυλεστέρας (65)

Παρασκευάζεται από την υδαντοΐνη **64**, όπως περιγράφεται για την παρασκευή του βενζυλεστέρα **3**. Χρησιμοποιήθηκαν 400 mg (1.55 mmol) της υδαντοΐνης **64** σε 18 mL άνυδρο THF, 332 mg (1.58 mmol, 95% καθαρότητας) $[(\text{CH}_3)_3\text{Si}]_2\text{NK}$ και 372 mg (1.63 mmol) βρωμοξικού βενζυλεστέρα σε 16 mL άνυδρο DMF. Το μείγμα της υδαντοΐνης παρουσία της βάσης αναδεύεται για 1 h σε rt υπό ατμόσφαιρα Ar και μετά την εξάτμιση του THF, η αντίδραση συνεχίζει να αναδεύεται για 48 h στους 34°C. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, λαμβάνεται κίτρινο, ελαιώδες υπόλειμμα, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με διαλύτη έκλουσης $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 30:1 και 10:1. Λαμβάνεται κίτρινο ελαιώδες προϊόν, το οποίο όπως προκύπτει από το φάσμα ^1H NMR, πρόκειται για μείγμα διαμορφομερών, οφειλόμενων στις διαμορφώσεις του κυκλοεξανικού δακτυλίου. (500 mg, 79%), R_f 0.60, 0.30 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 10:1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1.76-1.95 (complex m, 6H, H_6 , H_7 , H_9 , H_{10}), 2.31-2.44 (complex m, 2H, H_7 , H_9), 2.53 (t, 1H, $J=12.2$ Hz, H_8), 2.90 (s, 3H, CH_3), 4.34 (s, 2H, NCH_2COO), 5.18, 5.21 (s + s, 2H, COOCH_2Ph), 7.23 (td, 1H, $J_1=2.6$ Hz, $J_2=6.2$ Hz, H_4), 7.28-7.40 (complex m, 9H, *Ar-H*); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 23.8 (CH_3), 28.8 (C_7 , C_9 , *trans*), 30.8 (C_6 , C_{10} , *trans*), 39.2 (NCH_2COO), 42.8 (C_8 , *trans*), 61.9 (C_5 , *trans*), 67.4 (COOCH_2Ph), 126.3 (C_4 , *trans*), 126.7 (C_2 , C_6 , *cis*), 126.9 (C_2 , C_6 , *trans*), 128.3 (C_2'' , C_6''), 128.4 (C_3 , C_5 , *trans*), 128.45 (C_4''), 128.5 (C_3'' , C_5''), 134.9 (C_1''), 146.0 (C_1 , *trans*), 154.5 ($C_2=\text{O}$, *trans*), 167.1 (COOCH_2Ph), 175.3 ($C_4=\text{O}$, *trans*). HRMS ESI⁺ (m/z): Calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4$: 406.1893; Found: 406.1897.

(3'-μεθυλο-2',5'-διοξο-6,7,8,9-тетраϋδροσπειρο[βενζο[7]αννουλεν-5,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλ) οξικός βενζυλεστέρας (72)

Παρασκευάζεται από την υδαντοΐνη **71**, όπως περιγράφεται για την παρασκευή του βενζυλεστέρα **3**. Χρησιμοποιήθηκαν 250 mg (1.02 mmol) της υδαντοΐνης **71** σε 10.2 mL άνυδρο THF, 218 mg (1.04 mmol, 95% καθαρότητας) $[(\text{CH}_3)_3\text{Si}]_2\text{NK}$ και 246 mg (1.07 mmol) βρωμοξικού βενζυλεστέρα σε 10.2 mL άνυδρο DMF. Το μείγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 105 min σε rt και μετά την εξάτμιση του THF, η ανάδευση πραγματοποιείται για 43 h στους 36 °C. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, λαμβάνεται παχύρρευστο ελαιώδες κίτρινο προϊόν, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με διαλύτη έκλουσης $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 30:1. Λαμβάνεται άχρωμο ελαιώδες προϊόν. (280 mg, 70%), R_f 0.70 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 8:1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1.68-1.80 (m, 2H, H_7 , H_8), 1.89-2.08 (m, 2H, H_7 , H_8), 2.16-2.30 (m, 2H, H_6), 2.82 (ddd, 1H, $J_1=3.9$ Hz, $J_2=7.0$ Hz, $J_3=14.9$ Hz, H_9), 2.87 (s, 3H, CH_3), 3.36 (ddd, 1H, $J_1=4.2$, $J_2=10.1$ Hz, $J_3=14.5$ Hz, H_9), 4.26-4.39 (q, AB, 2H, $J_{AB}=17.4$ Hz, NCH_2COO), 5.10-5.21 (q, AB, 2H, $J_{AB}=12.2$ Hz, COOCH_2Ph), 7.04 (d, 1H, $J=7.6$ Hz, H_4), 7.13 (td, 1H, $J_1=1.7$ Hz, $J_2=8.0$ Hz, H_3), 7.19 (d, 1H, $J=7.5$ Hz, H_1), 7.21 (td, 1H, $J_1=1.0$ Hz, $J_2=7.7$ Hz, H_2), 7.28-7.39 (m, 5H, $H_{2''-H_6''}$); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 21.2 (C_7), 25.7 (CH_3), 26.2 (C_8), 33.1 (C_6), 33.2 (C_1), 39.8 (NCH_2COO), 67.7 (COOCH_2Ph), 71.6 (C_5), 127.1 (C_3), 127.9 (C_4), 128.5 (C_2'' , C_6''), 128.6 (C_3'' , C_5''), 128.7 (C_2), 129.0 (C_4''), 132.0 (C_1), 133.9 (C_{4a}), 135.0 ($C_{1''}$), 142.1 (C_{9a}), 154.9 ($C_2=\text{O}$), 167.2 (COOCH_2Ph), 174.7 ($C_5=\text{O}$). HRMS ESI⁺ (m/z): Calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$: 392.1736; Found: 392.1739.

5.2.9 ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ Ν-3-ΜΕΘΥΛΟ-ΚΑΡΒΟΞΥΛΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ 52, 59, 66, 73

Η γενική μέθοδος για τη σύνθεση των Ν-3-μεθυλο-καρβοξυλικών οξέων 52, 59, 66, 73 είναι όμοια με τη μέθοδο που περιγράφηκε προηγουμένως για τη σύνθεση των καρβοξυλικών οξέων 4, 10, 16, 22, 28, 34, 40, 44.

(3'-μεθυλο-2',5'-διοξοσπειρο[φλουορεν-9,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλ) οξικό οξύ (52)

Διάλυμα του βενζυλεστέρα 51 (590 mg, 1.43 mmol) σε 58 mL abs EtOH/AcOEt (20:9) υδρογονώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (70 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του καρβοξυλικού οξέος 4. Λαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν. (460 mg, σχεδόν ποσοτική), R_f 0.05 (CH₂Cl₂/AcOEt 8:1), mp >250 °C (EtOH/*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 2.40 (s, 3H, CH₃), 4.27 (s, 2H, NCH₂COOH), 7.40 (td, 2H, $J_1=0.9$ Hz, $J_2=7.4$ Hz, H₂, H₇), 7.47 (d, 2H, $J=7.2$ Hz, H₁, H₈), 7.54 (td, 2H, $J_1=1.2$ Hz, $J_2=7.4$ Hz, H₃, H₆), 7.96 (d, 2H, $J=7.6$ Hz, H₄, H₅), 13.28 (vbrs, 1H, NCH₂COOH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 25.3 (CH₃), 40.3 (NCH₂COOH), 74.6 (C₉), 121.2 (C₄, C₅), 123.9 (C₁, C₈), 128.6 (C₂, C₇), 130.5 (C₃, C₆), 139.6 (C_{8a}, C_{9a}), 141.3 (C_{4a}, C_{4b}), 155.4 (C_{2'}=O), 168.7 (C₂COOH), 171.1 (C_{5'}=O). Anal. Calcd for C₁₈H₁₄N₂O₄: C, 67.08; H, 4.38; N, 8.69. Found: C, 67.30; H, 4.09; N, 8.90.

(3-μεθυλο-2,5-διοξο-4,4-διφαινυλιμιδαζολιδιν-1-υλ) οξικό οξύ (59)

Διάλυμα του βενζυλεστέρα 58 (110 mg, 0.25 mmol) σε 20 mL abs EtOH/AcOEt (3:1) υδρογονώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (17 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του καρβοξυλικού οξέος 4. Λαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν. (81 mg, σχεδόν ποσοτική), R_f 0.03 (CH₂Cl₂/AcOEt 4:1), mp >250 °C (EtOH/*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, MeOH-*d*₄) δ (ppm): 2.77 (s, 3H, CH₃), 4.30 (s, 2H, NCH₂COOH), 7.32-7.39 (m, 4H, H₂, H₆, H₈, H₁₂), 7.40-7.47 (m, 6H, H₃, H₄, H₅, H₉, H₁₀, H₁₁); ¹³C (50 MHz, MeOH-*d*₄) δ (ppm): 27.1 (CH₃), 41.0 (NCH₂COOH), 76.2 (C₄), 129.6 (C₂, C₆, C₈, C₁₂), 129.8 (C₃, C₅, C₉, C₁₁), 130.1 (C₄, C₁₀), 137.6 (C₁, C₇), 156.8 (C₂=O), 170.4 (NCH₂COOH), 175.2 (C₅=O). Anal. Calcd for C₁₈H₁₆N₂O₄: C, 66.66; H, 4.97; N, 8.64. Found: C, 66.79; H, 5.23; N, 8.78.

(1-μεθυλο-2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλ) οξικό οξύ (66)

Διάλυμα του βενζυλεστέρα 65 (450 mg, 1.11 mmol) σε 41 mL abs EtOH υδρογονώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (54 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του καρβοξυλικού οξέος 4. Λαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν. (350 mg, σχεδόν ποσοτική), R_f 0.03 (CH₂Cl₂/AcOEt 4:1), mp 234-236°C (MeOH/*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 1.71 (d, 2H, $J=12.9$ Hz, H₆, H₁₀), 1.78 (d, 2H, $J=12.4$ Hz, H₇, H₉), 2.02 (td, 2H, $J_1=3.4$ Hz, $J_2=13.2$ Hz, H₆, H₁₀), 2.10-2.23 [2dd, 2H, H₇, H₉, 2.13 (dd, $J_1=1.6$ Hz, $J_2=12.2$ Hz), 2.20 (dd, $J_1=2.8$ Hz, $J_2=13.2$ Hz)], 2.57-2.68 (m, 1H, H₈), 2.82 (s, 3H, CH₃), 4.08 (s, 2H, NCH₂COOH), 7.20 (t, 1H, $J=7.0$ Hz, H₄), 7.25 (d, 2H, $J=7.3$ Hz, H₂, H₆), 7.31 (t, 2H, $J=7.4$ Hz, H₃, H₅), 13.1 (brs, 1H, NCH₂COOH); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 23.6 (CH₃), 28.6 (C₇, C₉), 30.0 (C₆, C₁₀), 39.0 (NCH₂COOH), 41.4 (C₈), 61.3 (C₅), 126.1 (C₄), 126.6 (C₂, C₆), 128.4 (C₃, C₅), 146.3 (C₁), 154.2 (C₂=O), 168.8 (NCH₂COOH), 175.2 (C₄=O). Anal. Calcd for C₁₇H₂₀N₂O₄: C, 64.54; H, 6.37; N, 8.86. Found: C, 64.80; H, 6.52; N, 9.00.

(3'-μεθυλο-2',5'-διοξο-6,7,8,9-τετραϋδροσπειρο[βενζο[7]αννουλεν-5,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλ) οξικό οξύ (73)

Διάλυμα του βενζυλεστέρα **72** (250 mg, 0.64 mmol) σε 35 mL abs EtOH/AcOEt (4:3) υδρογονώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (30 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του καρβοξυλικού οξέος **4**. Λαμβάνεται λευκό υαλώδες προϊόν, το οποίο κρυσταλλώνει υπό ψύξη. (190 mg, σχεδόν ποσοτική), R_f 0.05 (CH₂Cl₂/AcOEt 8:1), mp >250 °C (EtOH/*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 1.60-1.75 (m, 2H, *H*₇, *H*₈), 1.76-1.96 (m, 2H, *H*₇, *H*₈), 2.10 (dd, 1H, $J_1=7.3$ Hz, $J_2=14.5$ Hz, *H*₆), 2.31 (dd, 1H, $J_1=10.3$ Hz, $J_2=14.4$ Hz, *H*₆), 2.82-2.97 (m, 2H, *H*₉), 3.13-3.23 (m, 2H, *H*₉), 4.05-4.18 (q, AB, 2H, $J=17.5$ Hz, CH₂COOH), 7.05 (dd, 1H, $J_1=1.6$ Hz, $J_2=7.8$ Hz, *H*₄), 7.18-7.29 (m, 3H, *H*₁, *H*₂, *H*₃), 13.18 (vbrs, 1H, CH₂COOH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 20.3 (*C*₇), 25.2 (CH₃), 25.6 (*C*₈), 31.7 (*C*₆), 32.2 (*C*₉), 39.5 (CH₂COOH), 70.7 (*C*₅), 126.9 (*C*₂), 127.9 (*C*₄), 128.7 (*C*₃), 131.5 (*C*₁), 134.3 (*C*_{4a}), 141.7 (*C*_{9a}), 154.2 (*C*_{2'}=O), 168.7 (CH₂COOH), 174.1 (*C*_{5'}=O). Anal. Calcd for C₁₆H₁₈N₂O₄: C, 63.56; H, 6.00; N, 9.27. Found: C, 63.39; H, 5.89; N, 9.41.

5.2.10 ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ *N*-(ΦΑΙΝΥΛΟΜΕΘΟΞΥ)-*N*-3-ΜΕΘΥΛΟ-ΑΚΕΤΑΜΙΔΙΩΝ **53, **60**, **67**, **74****

Η γενική μέθοδος για τη σύνθεση των *N*-(φαινυλομεθοξυ)-*N*-3-μεθυλο-ακεταμιδίων **53**, **60**, **67**, **74** είναι όμοια με τη μέθοδο που περιγράφηκε προηγουμένως για τη σύνθεση των *N*-(φαινυλομεθοξυ) ακεταμιδίων **5**, **11**, **17**, **23**, **29**, **35**, **41**, **45**.

***N*-(φαινυλομεθοξυ)-2-(3'-μεθυλο-2',5'-διοξοσπειρο[φλουορεν-9,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλ) ακεταμίδιο (53)**

Σε αναδευόμενο διάλυμα 400 mg (1.24 mmol) του καρβοξυλικού οξέος **52** σε 12.5 mL άνυδρο CH₂Cl₂/άνυδρο DMF (11:2), προστίθενται διαδοχικά 288 mg (1.50 mmol) EDCI·HCl, 254 mg (1.50 mmol) HOBt (80% σε νερό), 239 mg (1.50 mmol) υδροχλωρικής *O*-βενζυλο υδροξυλαμίνης και τέλος 706 mg (6.98 mmol) TEA. Το διάλυμα αναδεύεται για 45 h στους 32 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αναλόγου **5**, λαμβάνεται παχύρρευστο, ελαιώδες, κίτρινο υπόλειμμα, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με CH₂Cl₂/AcOEt 30:1, 30:1, 10:1 και 5:1 ως διαλύτες έκλουσης. Λαμβάνεται άχρωμο υαλώδες στερεό. (170 mg, 32%), R_f 0.17 (CH₂Cl₂/AcOEt 8:1).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2.55 (s, 3H, CH₃), 4.20 (s, 0.55H, NCH₂CO), 4.52 (s, 0.9H, NCH₂CO), 4.91 (s, 2H, OCH₂Ph), 7.34 (t, 2H, $J=7.5$ Hz, *H*₂, *H*₇), 7.39 (s, 5H, *H*_{2''-6''}), 7.47 (t, 2H, $J=7.4$ Hz, *H*₃, *H*₆), 7.47 (d, 2H, $J=7.4$ Hz, *H*₁, *H*₈), 7.73 (d, 2H, $J=7.5$ Hz, *H*₄, *H*₅), 8.16 (s, 0.35H, CONHOCH₂Ph), 8.65 (s, 0.2H, CONHOCH₂Ph); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 25.8 (CH₃), 40.0 (NCH₂CO), 75.5 (*C*₉), 78.7, 79.8 (OCH₂Ph), 121.0 (*C*₄, *C*₅), 124.3 (*C*₁, *C*₈), 128.7 (*C*₂, *C*₇), 128.8, 129.0 (*C*_{3''}, *C*_{4''}, *C*_{5''}), 129.5 (*C*_{2''}, *C*_{6''}), 130.6 (*C*₃, *C*₆), 135.0 (*C*_{1''}), 139.7 (*C*_{8a}, *C*_{9a}), 142.0 (*C*_{4a}, *C*_{4b}), 156.3 (*C*_{2'}=O), 162.7 (CONHOCH₂Ph), 172.1 (*C*_{5'}=O). HRMS ESI⁺ (m/z): Calcd for C₂₅H₂₁N₃O₄: 427.1532; Found: 427.1537.

***N*-(φαινυλομεθοξυ)-2-(3-μεθυλο-2,5-διοξο-4,4-διφαινυλιμιδαζολιδιν-1-υλ) ακεταμίδιο (60)**

Σε αναδευόμενο διάλυμα 90 mg (0.28 mmol) του καρβοξυλικού οξέος **59** σε 3 mL άνυδρο CH₂Cl₂/άνυδρο DMF (4:1), προστίθενται διαδοχικά 65 mg (0.34 mmol) EDCI·HCl, 57 mg (0.34 mmol) HOBt (80% σε νερό), 54 mg (0.34 mmol) υδροχλωρικής *O*-βενζυλο υδροξυλαμίνης και τέλος 155 mg (1.53 mmol) TEA. Το διάλυμα αναδεύεται για 46 h στους 32 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Μετά την κατεργασία του μείγματος της

αντίδρασης, όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αναλόγου **5**, λαμβάνεται ελαιώδες κίτρινο υπόλειμμα, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με CH₂Cl₂/AcOEt 30:1 και 5:1 ως διαλύτες έκλουσης. Λαμβάνεται άχρωμο, υαλώδες στερεό προϊόν. (50 mg, 42%), *R_f* 0.19 (CH₂Cl₂/AcOEt 8:1).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2.78 (s, 3H, CH₃), 4.11 (s, 0.8H, NCH₂CO), 4.43 (s, 0.8H, NCH₂CO), 4.89 (s, 2H, OCH₂Ph), 7.27-7.43 (m, 15H, Ar-H), 8.33 (s, 0.25H, CONHOCH₂Ph), 8.88 (s, 0.25H, CONHOCH₂Ph); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 26.9 (CH₃), 39.7 (NCH₂CO), 75.1 (C₄), 78.6, 79.7 (OCH₂Ph), 128.6, 128.9, 129.0, 129.4 (Ar-C) 134.6 (C_{1'}), 136.3 (C_{1'}, C_{7'}), 155.6 (C₂=O), 164.5, 169.7 (CONHOCH₂Ph), 173.8 (C₅=O). HRMS ESI⁺ (m/z): Calcd for C₂₅H₂₃N₃O₄: 429.1689; Found: 429.1693.

***N*-(φαινυλομεθοξυ)-2-(2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλ) ακεταμίδιο (67)**

Σε αναδευόμενο διάλυμα 280 mg (0.88 mmol) του καρβοξυλικού οξέος **66** σε 10 mL άνυδρο CH₂Cl₂/άνυδρο DMF (4:1), προστίθενται διαδοχικά 205 mg (1.07 mmol) EDCI·HCl, 181 mg (1.07 mmol) HOBt (80% σε νερό), 171 mg (1.07 mmol) υδροχλωρικής *O*-βενζυλο υδροξυλαμίνης και τέλος 502 mg (4.96 mmol) TEA. Το διάλυμα αναδεύεται για 40 h στους 32 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, λαμβάνεται ελαιώδες, υποκίτρινο υπόλειμμα, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με CH₂Cl₂/AcOEt 20:1, 10:1 και AcOEt ως διαλύτες έκλουσης. Λαμβάνεται υαλώδες στερεό, το οποίο κρυσταλλώνει προς λευκό στερεό, μετά από κατεργασία με άνυδρο Et₂O-*n*-pentane. (170 mg, 46%), *R_f* 0.27 (CH₂Cl₂/AcOEt 7:1), mp 153-155 °C (AcOEt/dry Et₂O-*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.77-1.99 (m, 6H, H₆, H₇, H₉, H₁₀), 2.27-2.44 (m, 2H, H₇, H₉), 2.52 (t, 1H, *J*=12.5 Hz, H₈), 2.89 (s, 3H, CH₃), 4.09 (s, 0.8H, NCH₂CO), 4.40 (s, 0.8H, NCH₂CO), 4.92 (s, 2H, OCH₂Ph), 7.21 (t, 1H, *J*=6.6 Hz, H_{4'}), 7.26-7.34 (m, 4H, H_{2'}, H_{3'}, H_{5'}, H_{6'}), 7.34-7.45 (m, 5H, H_{2''-6''}), 8.22 (s, 0.35H, CONHOCH₂Ph), 8.94 (s, 0.4H, CONHOCH₂Ph); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 24.0 (CH₃), 28.9 (C₇, C₉, *trans*), 31.1 (C₆, C₁₀, *trans*), 38.9, 39.2 (NCH₂CO), 43.1 (C₈, *trans*), 62.2 (C₅, *trans*), 78.4, 79.8 (OCH₂Ph), 126.4 (C_{4'}, *trans*), 126.9 (C_{2'}, C_{6'}, *cis*), 127.1 (C_{2'}, C_{6'}, *trans*), 128.6 (C_{3'}, C_{5'}, *trans*), 128.7 (C_{3''}, C_{4''}, C_{5''}), 129.4 (C_{2''}, C_{6''}), 134.3 (C_{1''}), 146.1 (C_{1'}, *trans*), 155.0 (C₂=O, *trans*), 164.5 (CONHOCH₂Ph), 175.6 (C₄=O, *trans*). Anal. Calcd for C₂₄H₂₇N₃O₄: C, 68.39; H, 6.46; N, 9.97. Found: C, 68.05; H, 6.30; N, 10.16.

***N*-(φαινυλομεθοξυ)-2-(3'-μεθυλο-2',5'-διοξο-6,7,8,9-τετραϋδροσπειρο[βενζο[7]αννουλεν-5,4'-μιδαζολιδιν]-1'-υλ) ακεταμίδιο (74)**

Σε αναδευόμενο διάλυμα 160 mg (0.53 mmol) του καρβοξυλικού οξέος **73** σε 7.8 mL άνυδρο CH₂Cl₂/άνυδρο DMF (4:1), προστίθενται διαδοχικά 123 mg (0.64 mmol) EDCI·HCl, 110 mg (0.64 mmol) HOBt (80% σε νερό), 104 mg (0.64 mmol) υδροχλωρικής *O*-βενζυλο υδροξυλαμίνης και τέλος 299 mg (2.95 mmol) TEA. Το διάλυμα αναδεύεται για 41 h στους 30 °C υπό Ar. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αναλόγου **5**, λαμβάνεται παχύρρευστο, ελαιώδες, κίτρινο υπόλειμμα, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με CH₂Cl₂/AcOEt 30:1 και 5:1 ως διαλύτες έκλουσης. Λαμβάνεται άχρωμο, υαλώδες προϊόν, το οποίο κρυσταλλώνει υπό ψύξη. (110 mg, 51%), *R_f* 0.43 (CH₂Cl₂/AcOEt 4:1), mp 203-205 °C (AcOEt/*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.65-1.80 (m, 1H, H₇, H₈), 1.82-2.09 (m, 2H, H₇, H₈), 2.16-2.35 (m, 2H, H₆), 2.79 (dd, 1H, *J*₁=3.9 Hz, *J*₂=7.0 Hz, H₉), 2.84 (s, 3H, CH₃), 3.35 (ddd, 1H, *J*₁=3.8 Hz, *J*₂=9.4 Hz, *J*₃=14.3 Hz, H₉), 4.05 (s, 0.8H, NCH₂CO), 4.36 (s, 0.8H, NCH₂CO), 4.86 (s, 2H, OCH₂Ph), 6.99-7.24 (m, 4H, H₁₋₄), 7.36 (s, 5H, H_{2''-6''}), 8.48 (s, 0.35H, CONHOCH₂Ph), 9.14 (s, 0.4H, CONHOCH₂Ph); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

Πειραματικό Μέρος

21.1 (C_7), 25.7 (CH_3), 26.2 (C_8), 33.0 (C_6), 33.2 (C_9), 39.3 (NCH_2CO), 71.7 (C_5), 78.5, 79.6 (OCH_2Ph), 127.2 (C_2), 127.9 (C_4), 128.8 (C_3 , C_4'), 129.0 (C_3'' , C_5''), 129.4 (C_2'' , C_6''), 131.9 (C_1), 134.0 (C_{4a}) 135.2 ($C_{1''}$), 142.1 (C_{9a}), 155.2 ($C_2'=O$), 164.4 ($CONHOCH_2Ph$), 175.0 ($C_5'=O$). Anal. Calcd for $C_{23}H_{25}N_3O_4$: C, 67.80; H, 6.18; N, 10.31. Found: C, 67.59; H, 6.37; N, 10.48.

5.2.11 ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΑΚΕΤΟΥΔΡΟΞΑΜΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ 54, 61, 68, 75

Η γενική μέθοδος για τη σύνθεση των ακετούδροξαμικών οξέων **54**, **61**, **68**, **75** είναι όμοια με τη μέθοδο που περιγράφηκε προηγουμένως για τη σύνθεση των ακετούδροξαμικών οξέων **6**, **12**, **18**, **24**, **30**, **36**, **42**, **46**.

***N*-υδροξυ-2-(3'-μεθυλο-2',5'-διοξοσπειρο[φλουορεν-9,4'-ιμιδαζολιδιν]-1'-υλ) ακεταμίδιο (54)**

Διάλυμα του *O*-βενζυλοϋδροξαμικού αναλόγου **53** (140 mg, 0.33 mmol) σε 24 mL μείγματος abs EtOH/AcOEt (3:1) υποβάλλεται σε καταλυτική υδρογόνωση παρουσία Pd/C (18 mg), για 3 h στους 44 °C και πίεση 55 psi, όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αντίστοιχου ακετούδροξαμικού οξέος **6**. Λαμβάνεται λευκό, αφρώδες προϊόν, το οποίο κατεργάζεται με άνυδρο Et₂O-*n*-pentane και κρυσταλλώνει προς λευκό στερεό. (110 mg, σχεδόν ποσοτική), *R_f* 0.53 (AcOEt), mp 202-214 °C (EtOH/dry Et₂O-*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 2.39 (s, 3H, CH₃), 4.11, 4.14 (s + s, 1.45H, NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 4.38 (s, 0.5H, NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 7.40 (t, 2H, *J*=7.5 Hz, H₂, H₇), 7.54 (~t, 4H, *J*=7.5, 5.2 Hz, H₁, H₃, H₆, H₈), 7.95 (d, 2H, *J*=7.7 Hz, H₄, H₅), 9.06 (s, 0.65H, NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 9.43 (s, 0.22H, NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 10.43 (s, 0.22H, NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 10.81 (s, 0.63H, NCH₂CONHOH, *E*-isomer); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 25.2 (CH₃), 39.1 (NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 39.5 (NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 74.6 (C₉), 121.1 (C₄, C₅), 124.2 (C₁, C₈), 128.5 (C₂, C₇), 130.4 (C₃, C₆), 139.7 (C_{8a}, C_{9a}), 141.3 (C_{4a}, C_{4b}), 155.7 (C_{2'}=O, *E*-isomer), 155.8 (C_{2'}=O, *Z*-isomer), 163.1 (NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 168.4 (NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 171.4 (C_{5'}=O, *E*-isomer), 171.6 (C_{5'}=O, *Z*-isomer). Anal. Calcd for C₁₈H₁₅N₃O₄: C, 64.09; H, 4.48; N, 12.46. Found: C, 63.80; H, 4.23; N, 12.19.

***N*-υδροξυ-2-(3-μεθυλο-2,5-διοξο-4,4-δифαινυλιμιδαζολιδιν-1-υλ) ακεταμίδιο (61)**

Διάλυμα του *O*-βενζυλοϋδροξαμικού αναλόγου **60** (50 mg, 0.12 mmol) σε 14 mL abs EtOH/AcOEt (5:2) υδρογονώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (8 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αντίστοιχου ακετούδροξαμικού οξέος **6**. Λαμβάνεται άχρωμο, υαλώδες στερεό, το οποίο μετατρέπεται προς λευκό κρυσταλλικό προϊόν μετά από ψύξη. (40 mg, σχεδόν ποσοτική), *R_f* 0.57 (AcOEt), mp 209-211 °C (EtOH/*n*-pentane).

¹H NMR (600 MHz, MeOD-*d*₄) δ (ppm): 2.79 (s, 3H, CH₃), 4.20 (s, 1.5H, NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 4.54 (s, 0.4H, NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 7.38-7.46 (m, 10H, *Ar-H*); ¹³C (50 MHz, MeOD-*d*₄) δ (ppm): 27.2 (CH₃), 39.8 (NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 40.4 (CH₂CONHOH, *Z*-isomer), 76.2 (C₅), 129.6 (C₃, C₅, C₉, C₁₁'), 129.8 (C₂, C₆, C₈, C₁₂'), 130.0 (C₄, C₁₀'), 137.6 (C₁, C₇), 157.1 (C_{2'}=O, *E*-isomer), 157.3 (C_{2'}=O, *Z*-isomer), 166.0 (NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 171.1 (CH₂CONHOH, *Z*-isomer), 173.4 (C_{5'}=O, *E*-isomer), 175.7 (C_{5'}=O, *Z*-isomer). Anal. Calcd for C₁₈H₁₇N₃O₄: C, 63.71; H, 5.05; N, 12.38. Found: C, 63.92; H, 5.31; N, 12.04.

N-υδροξυ-2-(1-μεθυλο-2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλ) ακεταμίδιο (68)

Διάλυμα του *O*-βενζυλοϋδροξαμικού αναλόγου **67** (100 mg, 0.24 mmol) σε 22 mL abs EtOH υδρογονώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (14 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αντίστοιχου ακετοϋδροξαμικού οξέος **6**. Τελικώς, λαμβάνεται λευκό κρυσταλλικό προϊόν. (79 mg, σχεδόν ποσοτική), R_f 0.50 (AcOEt), mp gradual degradation from 195 °C to 200 °C (MeOH/dry Et₂O-*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 1.74 (d, 4H, $J=9.9$ Hz, H_6, H_7, H_9, H_{10}), 1.99 (td, 2H, $J_1=3.1$ Hz, $J_2=13.1$ Hz, H_6, H_{10}), 2.16 (qd, 2H, $J_1=1.6$ Hz, $J_2=12.5$ Hz, H_7, H_9), 2.60 (t, 1H, $J=12.4$ Hz, H_8), 2.81 (s, 3H, CH_3), 3.91, 3.94 (s + s, 1.50H, $NCH_2CONHOH$, *E*-isomer), 4.20 (s, 0.45H, $NCH_2CONHOH$, *Z*-isomer), 7.19 (t, 1H, $J=7.0$ Hz, H_4'), 7.24 (d, 2H, $J=7.5$ Hz, H_2', H_6'), 7.31 (t, 2H, $J=7.6$ Hz, H_3', H_5'), 8.96 (s, 0.69H, $NCH_2CONHOH$, *E*-isomer), 9.35 (s, 0.19H, $NCH_2CONHOH$, *Z*-isomer), 10.31 (s, 0.19H, $NCH_2CONHOH$, *Z*-isomer), 10.72 (s, 0.62H, $NCH_2CONHOH$, *E*-isomer); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 23.6 (CH_3), 28.6 (C_7, C_9), 30.0 (C_6, C_{10}), 38.1 ($NCH_2CONHOH$, *E*-isomer), 38.3 ($NCH_2CONHOH$, *Z*-isomer), 41.4 (C_8), 61.2 (C_5), 126.1 (C_4'), 126.6 (C_2', C_6'), 128.4 (C_3', C_5'), 146.4 (C_1'), 154.4 ($C_2=O$, *E*-isomer), 154.6 ($C_2=O$, *Z*-isomer), 163.3 ($NCH_2CONHOH$, *E*-isomer), 168.7 ($NCH_2CONHOH$, *Z*-isomer), 175.4 ($C_4=O$, *E*-isomer), 175.7 ($C_4=O$, *Z*-isomer). Anal. Calcd for C₁₇H₂₁N₃O₄: C, 61.62; H, 6.39; N, 12.68. Found: C, 61.70; H, 6.55; N, 12.90.

N-υδροξυ-2-(3'-μεθυλο-2',5'-διοξο-6,7,8,9-τετραϋδροσπειρο[βενζο[7]αννουλεν-5,4'-μιδαζολιδιν]-1'-υλ) ακεταμίδιο (75)

Διάλυμα του *O*-βενζυλοϋδροξαμικού αναλόγου **74** (110 mg, 0.27 mmol) σε 18 mL μείγματος abs EtOH/AcOEt (2:1) υδρογονώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (13 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αντίστοιχου ακετοϋδροξαμικού οξέος **6**. Λαμβάνεται υαλώδες προϊόν, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με CH₂Cl₂/AcOEt 2:1 και AcOEt ως διαλύτες έκλουσης. Τελικώς, λαμβάνεται υαλώδες στερεό, το οποίο κατεργάζεται με άνυδρο Et₂O-*n*-pentane και μετατρέπεται προς λευκό, ημιστερεό προϊόν. (86 mg, σχεδόν ποσοτική), R_f 0.57 (AcOEt), mp προοδευτική τήξη από τους 85 °C (EtOH/*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 1.61-1.75 (m, 2H, H_7, H_8), 1.76-1.95 (m, 2H, H_7, H_8), 2.11 (dd, 1H, $J_1=6.2$ Hz, $J_2=13.8$ Hz, H_6), 2.31 (dd, 1H, $J_1=10.7$ Hz, $J_2=13.6$ Hz, H_6), 2.72 (s, 3H, CH_3), 2.84-2.94 (m, 1H, H_9), 3.09-3.19 (m, 1H, H_9), 3.89-4.01 (q, AB, 1.5H, $J_{AB}=16.1$ Hz, $NCH_2CONHOH$, *E*-isomer), 4.18-4.30 (q, AB, 0.5H, $J_{AB}=17.6$ Hz, $NCH_2CONHOH$, *Z*-isomer), 7.14 (dd, 1H, $J_1=7.0$ Hz, $J_2=16.8$ Hz, H_4), 7.19-7.28 (m, 3H, H_1, H_2, H_3), 8.98 (s, 0.7H, $NCH_2CONHOH$, *E*-isomer), 9.36 (s, 0.22H, $NCH_2CONHOH$, *Z*-isomer), 10.33 (s, 0.22H, $NCH_2CONHOH$, *Z*-isomer), 10.74 (s, 0.68H, $NCH_2CONHOH$, *E*-isomer); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 20.2 (C_7), 25.2 (CH_3), 25.5 (C_8), 31.5 (C_6), 32.1 (C_9), 38.3 ($NCH_2CONHOH$, *E*-isomer), 38.7 ($NCH_2CONHOH$, *Z*-isomer), 70.6 (C_5), 126.9 (C_2), 128.2 (C_4), 128.6 (C_3), 131.3 (C_1), 134.4 (C_{4a}), 141.7 (C_{9a}), 154.4 ($C_2=O$, *E*-isomer), 154.6 ($C_2=O$, *Z*-isomer), 163.2 ($NCH_2CONHOH$, *E*-isomer), 168.6 ($NCH_2CONHOH$, *Z*-isomer), 174.8 ($C_5'=O$, *E*-isomer), 175.0 ($C_5'=O$, *Z*-isomer). HRMS ESI⁺ (m/z): Calcd for C₁₆H₁₉N₃O₄: 317.1376; Found: 317.1379.

5.2.12 ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ N-3-ΜΕΘΥΛΟ-ΒΕΝΖΥΛΕΣΤΕΡΩΝ 76, 80

Σε διάλυμα 5.0 mmol του βενζυλεστέρα σε 14 mL άνυδρο DMF, προστίθενται 5.71 mmol NaH, υπό ψύξη, και το μείγμα αναδεύεται για 15 min σε rt υπό ατμόσφαιρα Ar. Στη συνέχεια προστίθενται 6.08 mmol CH₃I και η ανάδευση συνεχίζει για 91-164 h στους 60-65 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Το μείγμα της αντίδρασης αποχύνεται σε 70 mL H₂O και εκχυλίζεται με AcOEt (3×40 mL). Οι συνενωμένες οργανικές

Πειραματικό Μέρος

στιβάδες πλένονται με brine (3×40 mL), ξηραίνονται με άνυδρο Na₂SO₄ και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό κενό. Το προϊόν παραλαμβάνεται μετά από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης.

(2,5-διοξο-3,4-διμεθυλο-4-(τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκ-1-υλ)ιμιδαζολιδιν-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας (76)

Σε διάλυμα 435 mg (1.10 mmol) του βενζυλεστέρα **15** σε 13 mL άνυδρο DMF, προστίθενται 50 mg (1.26 mmol, 60% σε ορυκτέλαιο) NaH, υπό ψύξη, και το μείγμα αναδεύεται για 15 min σε rt υπό ατμόσφαιρα Ar. Στη συνέχεια προστίθενται 83 μL (1.34 mmol) CH₃I και η ανάδευση συνεχίζει για 91 h στους 60 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Το μείγμα της αντίδρασης αποχύνεται σε 70 mL H₂O και εκχυλίζεται με AcOEt (3×40 mL). Οι συνενωμένες οργανικές στιβάδες πλένονται με brine (3×40 mL), ξηραίνονται με άνυδρο Na₂SO₄ και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό κενό. Το κίτρινο ελαιώδες υπόλειμμα χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με διαλύτη έκλουσης CH₂Cl₂/AcOEt 15:1 και 12:1. Τελικώς, λαμβάνεται υποκίτρινο ελαιώδες προϊόν. (275 mg, 61%), *R*_f 0.83 (CH₂Cl₂/AcOEt 8:1).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.35 (s, 3H, CH₃-4), 1.54, 1.87 (dd₁ + dd₂, 3H + 3H, *J*₁=1.4 Hz, *J*₂=11.9 Hz, *J*₃=1.6 Hz, *J*₄=11.9 Hz, *H*₂, *H*₈, *H*₉), 1.59, 1.67 (d₁ + d₂, 3H + 3H, *J*₁=11.6 Hz, *J*₂=12.2 Hz, *H*₄, *H*₆, *H*₁₀), 1.98 (s, 3H, *H*₃, *H*₅, *H*₇), 2.97 (s, 3H, CH₃-3), 4.22-4.32 (q, AB, 2H, *J*_{AB}=17.3 Hz, NCH₂COO), 5.13-5.18 (q, AB, 2H, *J*_{AB}=12.2 Hz, COOCH₂Ph), 7.32 (dd, 2H, *J*₁=2.6 Hz, *J*₂=7.2 Hz, *H*₂, *H*₆), 7.34 (t, 1H, *J*=7.2 Hz, *H*₄), 7.35 (tt, 2H, *J*₁=1.6 Hz, *J*₂=7.6 Hz, *H*₃, *H*₅); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 14.5 (CH₃-4), 28.4 (*C*₃, *C*₅, *C*₇), 29.8 (CH₃-3), 36.5 (*C*₂, *C*₈, *C*₉), 36.7 (*C*₄, *C*₆, *C*₁₀), 39.7 (NCH₂COO), 39.3 (*C*₁), 67.6 (COOCH₂Ph), 70.9 (*C*₄), 128.5 (*C*₃, *C*₅), 128.6 (*C*₄), 128.7 (*C*₂, *C*₆), 135.1 (*C*₁), 156.9 (*C*₂=O), 167.2 (COOCH₂Ph), 175.6 (*C*₅=O). HRMS ESI⁺ (*m/z*): Calcd for C₂₄H₃₀N₂O₄: 410.2206; Found: 410.2209.

(6'-μεθοξο-3-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας (80)

Παρασκευάζεται όπως το ανάλογο **76** από τον αντίστοιχο βενζυλεστέρα **33**. Χρησιμοποιήθηκαν 370 mg (0.94 mmol) του βενζυλεστέρα **33** σε 7 mL άνυδρο DMF, 43 mg (1.08 mmol, 60% σε ορυκτέλαιο) NaH και 70 μL (1.13 mmol) CH₃I. Το μείγμα του βενζυλεστέρα με το NaH αναδεύεται για 15 min σε rt υπό ατμόσφαιρα Ar, ακολουθεί η προσθήκη του CH₃I και η ανάδευση συνεχίζει για 164 h στους 64 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, λαμβάνεται ελαφρώς κόκκινο ελαιώδες προϊόν, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με διαλύτη έκλουσης CH₂Cl₂/AcOEt 15:1. Τελικώς, λαμβάνεται κίτρινο ελαιώδες προϊόν. (302 mg, 79%), *R*_f 0.68 (CH₂Cl₂/AcOEt 8:1).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.81-1.91 (complex m, 1H, *H*₃), 1.99 (ddd, 1H, *J*₁=3.2 Hz, *J*₂=11.0 Hz, *J*₃=13.4 Hz, *H*₂), 2.08 (ddd, 1H, *J*₁=3.2 Hz, *J*₂=6.2 Hz, *J*₃=13.6 Hz, *H*₂), 2.36 (dddd, 1H, *J*₁=3.4 Hz, *J*₂=5.8 Hz, *J*₃=10.8 Hz, *J*₄=22.6 Hz, *H*₃), 2.71 (s, 3H, CH₃), 2.76-2.86 (m, 2H, *H*₄), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 4.27-4.39 (q, AB, 2H, *J*_{AB}=17.4 Hz, NCH₂COO), 5.10-5.20 (q, AB, 2H, *J*_{AB}=12.2 Hz, COOCH₂Ph), 6.61 (dd, 1H, *J*₁=2.5 Hz, *J*₂=8.6 Hz, *H*₇), 6.65 (d, 1H, *J*=2.6 Hz, *H*₅), 6.93 (d, 1H, *J*=8.6 Hz, *H*₈), 7.28-7.37 (m, 5H, *H*₂'-6'); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 19.3 (*C*₃), 25.2 (CH₃), 29.3 (*C*₄), 31.0 (*C*₂), 39.6 (NCH₂COO), 55.1 (OCH₃), 65.6 (*C*₄), 67.5 (COOCH₂Ph), 113.4 (*C*₇), 114.1 (*C*₅), 122.1 (*C*₈'_a), 127.8 (*C*₈'), 128.4 (*C*₃', *C*₅'), 128.5 (*C*₄'), 128.6 (*C*₂', *C*₆'), 135.0 (*C*₁'_a), 141.0 (*C*₄'_a), 155.2 (*C*₂=O), 159.5 (*C*₆'), 167.2 (COOCH₂Ph), 175.2 (*C*₅=O). HRMS ESI⁺ (*m/z*): Calcd for C₂₃H₂₄N₂O₅: 408.1675; Found: 408.1679

5.2.13 ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ *N*-3-ΜΕΘΥΛΟ-ΚΑΡΒΟΞΥΛΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ **77**, **81**

Η γενική μέθοδος για τη σύνθεση των *N*-3-μεθυλο-καρβοξυλικών οξέων **77**, **81** είναι όμοια με τη μέθοδο που περιγράφηκε προηγουμένως για τη σύνθεση των καρβοξυλικών οξέων **4**, **10**, **16**, **22**, **28**, **34**, **40**, **44**.

(2,5-διοξο-3,4-διμεθυλο-4-(τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκ-1-υλ)μιδαζολιδιν-1-υλ) οξικό οξύ (**77**)

Διάλυμα του βενζυλεστέρα **76** (235 mg, 0.57 mmol) σε 30 mL abs EtOH/AcOEt (2:1) υδρογονώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (28 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του καρβοξυλικού οξέος **4**. Λαμβάνεται αφρώδες προϊόν, το οποίο μετά από ξήρανση υπό υψηλό κενό, μετατρέπεται σε υαλώδες στερεό. (180 mg, σχεδόν ποσοτική). *R_f* 0.05 (CH₂Cl₂/AcOEt 8:1).

¹H NMR (600 MHz, MeOD-*d*₄) δ (ppm): 1.41 (s, 3H, CH₃-4), 1.62, 1.93 (dd₁ + dd₂, 3H + 3H, *J*₁= 1.4 Hz, *J*₂=12.0 Hz, *J*₃= 1.6 Hz, *J*₄=12.0 Hz, *H*₂, *H*₈, *H*₉), 1.66, 1.73 (d₁ + d₂, 3H + 3H, *J*₁= 11.7 Hz, *J*₂=12.2 Hz, *H*₄, *H*₆, *H*₁₀), 2.00 (s, 3H, *H*₃, *H*₅, *H*₇), 2.98 (s, 3H, CH₃-3), 4.17 (s, 2H, CH₂COOH); ¹³C NMR (150 MHz, MeOD-*d*₄) δ (ppm): 14.5 (CH₃-4), 29.8 (C₃, C₅, C₇), 30.1 (CH₃-3) 37.4 (C₂, C₈, C₉), 37.7 (C₄, C₆, C₁₀), 40.2 (CH₂COOH), 41.4 (C₁), 72.2 (C₄), 158.8 (C₂=O), 170.3 (CH₂COOH), 177.1 (C₅=O). HRMS ESI⁺ (m/z): Calcd for C₁₇H₂₄N₂O₄: 320.1736; Found: 320.1739.

(6'-μεθοξυ-3-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικό οξύ (**81**)

Διάλυμα του βενζυλεστέρα **80** (260 mg, 0.64 mmol) σε 15 mL abs EtOH/AcOEt (4:1) υδρογονώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (31 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του καρβοξυλικού οξέος **4**. Λαμβάνεται υαλώδες προϊόν, το οποίο μετά από κατεργασία με άνυδρο Et₂O-*n*-pentane, μετατρέπεται σε λευκό κρυσταλλικό προϊόν. (200 mg, σχεδόν ποσοτική). *R_f* 0.03 (CH₂Cl₂/AcOEt 8:1), mp 159-161 °C (MeOH/dry Et₂O-*n*-pentane).

¹H NMR (600 MHz, MeOD-*d*₄) δ (ppm): 1.76 (ddd, 1H, *J*₁=4.9 Hz, *J*₂=10.0 Hz, *J*₃=18.3 Hz, *H*₃), 1.98 (ddd, 2H, *J*₁=3.8 Hz, *J*₂=13.7 Hz, *J*₃=22.4 Hz, *H*₂), 2.15-2.23 (m, 1H, *H*₃), 2.58 (s, 3H, CH₃), 2.63-2.74 (m, 2H, *H*₄), 3.62 (s, 3H, OCH₃), 4.06-4.17 (q, AB, 2H, *J*_{AB}=17.5 Hz, NCH₂COOH), 6.62 (s, 1H, *H*₅), 6.63 (dd, 1H, *J*₁=2.6 Hz, *J*₂=8.2 Hz, *H*₇), 6.91 (d, 1H, *J*=8.4 Hz, *H*₈); ¹³C NMR (150 MHz, MeOD-*d*₄) δ (ppm): 20.4 (C₃), 25.6 (CH₃), 30.2 (C₄), 31.8 (C₂), 40.3 (NCH₂COOH), 55.7 (OCH₃), 67.0 (C₄), 114.4 (C₇), 114.9 (C₅), 123.4 (C_{8*a*}), 129.0 (C₈), 142.6 (C_{4*a*}), 157.0 (C₂=O), 161.1 (C₆), 170.4 (NCH₂COOH), 177.2 (C₅=O). Anal. Calcd for C₁₆H₁₈N₂O₅: C, 60.37; H, 5.70; N, 8.80. Found: C, 60.59; H, 5.96; N, 9.03.

5.2.14 ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ *N*-(ΦΑΙΝΥΛΟΜΕΘΟΞΥ)-*N*-3-ΜΕΘΥΛΟ-ΑΚΕΤΑΜΙΔΙΩΝ **78**, **82**

Η γενική μέθοδος για τη σύνθεση των *N*-(φαινυλομεθοξυ)-*N*-3-μεθυλο-ακεταμιδίων **78**, **82** είναι όμοια με τη μέθοδο που περιγράφηκε προηγουμένως για τη σύνθεση των *N*-(φαινυλομεθοξυ) ακεταμιδίων **5**, **11**, **17**, **23**, **29**, **35**, **41**, **45**.

N-(φαινυλομεθοξυ)-2-(2,5-διοξο-3,4-διμεθυλο-4-(τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκ-1-υλ)μιδαζολιδιν-1-υλ) ακεταμίδιο (**78**)

Σε αναδευόμενο διάλυμα του καρβοξυλικού οξέος **77** (150 mg, 0.47 mmol) σε 7.5 mL άνυδρο CH₂Cl₂/άνυδρο DMF (4:1), προστίθενται διαδοχικά, EDCl·HCl (111 mg, 0.58 mmol), το HOBt (98 mg, 0.58

Πειραματικό Μέρος

mmol 80% σε νερό), η υδροχλωρική *O*-βενζυλο υδροξυλαμίνη (93 mg, 0.58 mmol) και τέλος η TEA (268 mg, 2.65 mmol). Το διάλυμα αναδεύεται για 47 h στους 30 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Στη συνέχεια, το CH₂Cl₂ εξατμίζεται υπό κενό, το υπόλειμμα αποχύνεται σε 25 mL H₂O και εκχυλίζεται με AcOEt (3x20 mL). Οι συνενωμένες οργανικές στιβάδες πλένονται με brine (3x20 mL), ξηραίνονται με άνυδρο Na₂SO₄ και εξατμίζονται υπό κενό μέχρι ξηρού. Λαμβάνεται παχύρρευστο ελαιώδες κίτρινο υπόλειμμα, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με CH₂Cl₂/AcOEt 20:1 και AcOEt ως διαλύτες έκλουσης. Παραλαμβάνεται λευκό, αφρώδες προϊόν, το οποίο μετατρέπεται σε υαλώδες στερεό μετά από ξήρανση υπό υψηλό κενό. (90 mg, 45%), *R*_f 0.20 (CH₂Cl₂/AcOEt 8:1).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.36 (s, 3H, CH₃-4), 1.53, 1.86 (brs₁ + brs₂, 3H + 3H, H₂, H₈, H₉), 1.60, 1.66 (d₁ + d₂, 3H + 3H, *J*₁= 11.9 Hz, *J*₂=12.2 Hz, H₄, H₆, H₁₀), 2.00 (s, 3H, H₃, H₅, H₇), 2.94 (s, 3H, CH₃-3), 4.01, 4.06 (s + s, 1H, NCH₂CO), 4.33 (s, 0.7H, NCH₂CO), 4.88 (s, 2H, OCH₂Ph), 7.27-7.42 (m, 5H, Ar-H), 8.51 (s, 0.1H, CONHOCH₂Ph), 9.14 (s, 0.4H, CONHOCH₂Ph); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 14.5 (CH₃-4), 28.3 (C₃, C₅, C₇), 29.8 (CH₃-3), 36.4 (C₂, C₈, C₉), 36.6 (C₄, C₆, C₁₀), 39.0, 39.3 (NCH₂CO), 40.4 (C₁), 71.0 (C₄), 78.4, 79.6 (OCH₂Ph), 128.7 (C₃, C₄, C₅), 129.3 (C₂, C₄), 135.3 (C₁), 157.2 (C₂=O), 164.4 (CONHOCH₂Ph), 175.6 (C₅=O). HRMS ESI⁺ (m/z): Calcd for C₂₄H₃₁N₃O₄: 425.2315; Found: 425.2319.

***N*-(φαινυλομεθοξυ)-2-(6'-μεθοξυ-3-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'*H*-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο (82)**

Σε αναδευόμενο διάλυμα 165 mg (0.52 mmol) του καρβοξυλικού οξέος **81** σε 7 mL άνυδρο CH₂Cl₂/άνυδρο DMF (4:1), προστίθενται διαδοχικά 121 mg (0.63 mmol) EDCI-HCl, 106 mg (0.63 mmol) HOBt (80% σε νερό), 101 mg (0.63 mmol) υδροχλωρικής *O*-βενζυλο υδροξυλαμίνης και τέλος 293 mg (2.90 mmol) TEA. Το διάλυμα αναδεύεται για 45 h στους 30 °C υπό ατμόσφαιρα Ar. Μετά την κατεργασία του μείγματος της αντίδρασης, όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αναλόγου **78**, λαμβάνεται ελαιώδες υποκίτρινο υπόλειμμα, το οποίο χρωματογραφείται σε στήλη οξειδίου του πυριτίου με CH₂Cl₂/AcOEt 20:1 και AcOEt ως διαλύτες έκλουσης. Λαμβάνεται λευκό αφρώδες στερεό, το οποίο μετά από ξήρανσή του υπό υψηλό κενό, μετατρέπεται σε υαλώδες στερεό. (110 mg, 64%), *R*_f 0.18 (CH₂Cl₂/AcOEt 8:1).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.84-1.91 (m, 1H, H₃), 1.97-2.07 (m, 1H, H₂), 2.14 (s, 1H, H₂), 2.31-2.41 (m, 1H, H₃), 2.71 (s, 3H, CH₃), 2.75-2.86 (m, 2H, H₄), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 4.04, 4.07 (s + s, 1H, NCH₂CO), 4.36, 4.39 (s + s, 0.8H, NCH₂CO), 4.85 (s, 2H, OCH₂Ph), 6.67 (d, 1H, *J*=2.5 Hz, H₅), 6.73 (dd, 1H, *J*₁=2.4 Hz, *J*₂=8.6 Hz, H₇), 6.97-7.14 [2d, 1H, 7.04 (d₁, *J*₁=8.6 Hz), 7.08 (d₂, *J*₂=8.6 Hz), H₈], 7.27-7.40 (m, 5H, H₂'-6'), 8.77 (s, 0.2H, CONHOCH₂Ph), 9.41 (s, 0.4H, CONHOCH₂Ph); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 19.4 (C₃), 25.4 (CH₃), 29.3 (C₄), 31.1 (C₂), 39.0 (NCH₂CO), 55.2 (OCH₃), 65.7 (C₄), 78.2, 79.6 (OCH₂Ph), 113.5 (C₇), 114.2 (C₅), 122.2 (C₈'), 128.1 (C₈), 128.6 (C₃'', C₅''), 128.8 (C₄''), 129.3 (C₂'', C₆''), 135.3 (C₁''), 141.0 (C₄'), 155.6 (C₂=O), 159.6 (C₆'), 164.5, 169.8 (CONHOCH₂Ph), 175.7, 175.8 (C₅=O). HRMS ESI⁺ (m/z): Calcd for C₂₃H₂₅N₃O₅: 423.1794; Found: 423.1799.

5.2.15 ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΑΚΕΤΟΥΔΡΟΞΑΜΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ **79**, **83**

Η γενική μέθοδος για τη σύνθεση των ακετούδροξαμικών οξέων **79**, **83** είναι όμοια με τη μέθοδο που περιγράφηκε προηγουμένως για τη σύνθεση των ακετούδροξαμικών οξέων **6**, **12**, **18**, **24**, **30**, **36**, **42**, **46**.

***N*-υδροξυ-2-(2,5-διοξο-3,4-διμεθυλο-4-(τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]*δεκ*-1-υλ)ιμιδαζολιδιν-1-υλ)ακεταμίδιο (79)**

Διάλυμα του *O*-βενζυλοϋδροξαμικού αναλόγου **78** (60 mg, 0.14 mmol) σε 12 mL abs EtOH/AcOEt (3:1) υδρογονώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (8 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αντίστοιχου ακετοϋδροξαμικού οξέος **6**. Λαμβάνεται λευκό αφρώδες προϊόν, το οποίο μετά από κατεργασία με άνυδρο Et₂O/*n*-pentane, κρυσταλλώνει προς λευκό ημιστερεό προϊόν. (47 mg, σχεδόν ποσοτική), *R*_f 0.46 (AcOEt), mp 179-181 °C (EtOH/dry Et₂O-*n*-pentane).

¹H NMR (600 MHz, MeOD-*d*₄) δ (ppm): 1.45 (s, 3H, CH₃-4), 1.65, 1.96 (d₁ + d₂, 3H + 3H, *J*₁=11.4 Hz, *J*₂=11.0 Hz, H₂, H₈, H₉), 1.70, 1.77 (d₁ + d₂, 3H + 3H, *J*₁=11.8 Hz, *J*₂=11.7 Hz, H₄, H₆, H₁₀), 2.04 (s, 3H, H₃, H₅, H₇), 3.02 (s, 3H, CH₃-3), 4.08 (s, 1.5H, NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 4.43 (s, 0.4H, NCH₂CONHOH, *Z*-isomer); ¹³C NMR (150 MHz, MeOD-*d*₄) δ (ppm): 14.4 (CH₃-4), 29.8 (C₃, C₅, C₇), 30.1 (CH₃-3), 37.4 (C₂, C₈, C₉), 37.7 (C₄, C₆, C₁₀), 39.2 (NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 39.6 (NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 41.5 (C₁), 72.1 (C₄), 158.9 (C₂=O), 166.1 (NCH₂CONHOH), 177.3 (C₅=O). Anal. Calcd for C₁₇H₂₅N₃O₄: C, 60.88; H, 7.51; N, 12.53. Found: C, 60.70; H, 7.19; N, 12.35.

***N*-υδροξυ-2-(6'-μεθοξυ-3-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'*H*-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ)ακεταμίδιο (83)**

Διάλυμα του *O*-βενζυλοϋδροξαμικού αναλόγου **82** (80 mg, 0.19 mmol) σε 6 mL abs EtOH υδρογονώνεται καταλυτικά παρουσία Pd/C (10 mg), όπως περιγράφεται για τη σύνθεση του αντίστοιχου ακετοϋδροξαμικού οξέος **6**. Λαμβάνεται λευκό αφρώδες προϊόν, το οποίο μετά από κατεργασία με άνυδρο Et₂O/*n*-pentane, υπό ψύξη, κρυσταλλώνει προς λευκό στερεό προϊόν. (80 mg, σχεδόν ποσοτική), *R*_f 0.46 (AcOEt), mp 168-170 °C (MeOH/dry Et₂O-*n*-pentane).

¹H NMR (400 MHz, MeOD-*d*₄) δ (ppm): 1.84-1.96 (m, 1H, H₃), 2.06-2.21 (m, 2H, H₂), 2.24-2.39 (m, 1H, H₃), 2.71 (s, 3H, CH₃), 2.76-2.90 (m, 2H, H₄), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 4.04-4.19 (q, AB, 1.55H, *J*=16.2 Hz, NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 4.39-4.53 (q, AB, 0.45H, *J*_{AB}=17.4 Hz, NCH₂CONHOH), 6.75 (s, 1H, H₅), 6.77 (dd, 1H, *J*₁=2.2 Hz, *J*₂=8.8 Hz, H₇), 7.03-7.15 [2d, 1H, 7.06 (d₁, *J*₁=8.5 Hz), 7.11 (d₂, *J*₂=8.5 Hz), H₈]; ¹³C NMR (150 MHz, MeOD-*d*₄) δ (ppm): 20.5 (C₃), 25.6 (CH₃), 30.2 (C₄), 32.0 (C₂), 39.3 (NCH₂CONHOH, *E*-isomer), 39.8 (NCH₂CONHOH, *Z*-isomer), 55.7 (OCH₃), 67.1 (C₄), 114.5 (C₇), 114.9 (C₅), 123.5 (C_{8a}), 129.2 (C₈), 142.7 (C_{4a}), 157.2 (C₂=O), 161.2 (C₆), 166.2 (NCH₂CONHOH), 177.6 (C₅=O). Anal. Calcd for C₁₆H₁₉N₃O₅: C, 57.65; H, 5.75; N, 12.61 Found: C, 57.48; H, 5.60; N, 12.85.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. A. Stevens, *Nature Education Knowledge*, 2010, **3**, 36.
2. P. Procolo, C. Jommi, *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2011, **8**, e3092.
3. P. Hotez, A. Kamath, *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2009, **3**, e412.
4. G. C. Rodrigues, F. A. Gomes de Souza, W. Oh Lin, A. B. Vermelho, *Hydroxamic Acids*, 2013, 255-279.
5. World Health Organization, Trypanosomiasis, human African (sleeping sickness), 2017, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs259/en/>
6. C. S. Sutherland, J. Yukich, R. Goeree, F. Tediosi, *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2015, **9**, e0003397.
7. W. Gibson, *International Journal for Parasitology*, 2007, **37**, 829-838.
8. R. Brun, J. Blum, F. Chappuis, C. Burri, *Lancet*, 2010, **375**, 148-159.
9. World Health Organization, Chagas Disease (American Trypanosomiasis), 2016, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>
10. A. Rassi Jr, A. Rassi, J. Marcondes de Rezende, *Infectious Disease Clinics of North America*, 2012, **26**, 275-291.
11. J. R. Franco, P. P. Simarro, A. Diarra, J. G. Jannin, *Clinical Epidemiology*, 2014, **6**, 257-275.
12. E. S. Krafur, *Infection, Genetics, Evolution*, 2009, **9**, 124-141.
13. Z. Hubálek, *Emerging Infectious Diseases*, 2003, **9**, 403-404.
14. **D. Steverding**, *Parasites & Vectors*, 2008, **1**, 3.
15. World Health Organization, WHO Report on Global Surveillance of Epidemic-prone Infectious Diseases, 2000, http://www.who.int/csr/resources/publications/surveillance/a_tryps.pdf?ua=1
16. P. P. Simarro, G. Cecchi, M. Paone, J. R. Franco, A. Diarra, J. A. Ruiz, E. M. Fèvre, F. Courtin, R. C. Mattioli, J. G. Jannin, *International Journal of Health Geographics*, 2010, **9**, 57.
17. S. Vaughan, K. Gull, *Biochemical Society Transactions*, 2008, **36**, 421-424.
18. K. Matthews, *Journal of Cell Science*, 2005, **118**, 283-90.
19. P. A. M. Michels, F. Bringaud, M. Herman, V. Hannaert, *Biochimica et Biophysica Acta*, 2006, **1763**, 1463-1477.
20. M. Berriman, E. Ghedin, C. Hertz-Fowler, G. Blandin, H. Renauld, D. C. Bartholomeu, N. J. Lennard, E. Caler, N. E. Hamlin, B. Haas, U. Bohme, L. Hannick, M. A. Aslett, J. Shallom, L. Marcello, L. Hou, B. Wickstead, U. C. M. Alsmark, C. Arrowsmith, R. J. Atkin, A. J. Barron, F. Bringaud, K. Brooks, M. Carrington, I. Cherevach, T.-J. Chillingworth, C. Churcher, L. N. Clark, C. H. Corton, A. Cronin, R. M. Davies, J. Doggett, A. Djikeng, T. Feldblyum, M. C. Field, A. Fraser, I. Goodhead, Z. Hance, D. Harper, B. R. Harris, H. Hauser, J. Hostetler, A. Ivens, K. Jagels, D. Johnson, J. Johnson, K. Jones, A. X. Kerhornou, H. Koo, N. Larke, S. Landfear, C. Larkin, V. Leech, A. Line, A Lord, A. MacLeod, P. J. Mooney, S. Moule, D. M. A. Martin, G. W. Morgan, K. Mungall, H. Norbertczak, D. Ormond, G. Pai, C. S. Peacock, J. Peterson, M. A. Quail, E. Rabinowitsch, M.-A. Rajandream, C. Reitter, S. L. Salzberg, M. Sanders, S. Schobel, S. Sharp, M. Simmonds, A. J. Simpson, L. Tallon, C. M. R. Turner, A. Tait, A. R. Tivey, S. Van Aken, D. Walker, D. Wanless, S. Wang, B. White, O. White, S. Whitehead, J. Woodward, J. Wortman, M. D. Adams, T. M. Embley, K. Gull, E. Ullu, J. D. Barry, A. H. Fairlamb, F. Opperdoes, B. G. Barrell, J. E. Donelson, N. Hall, C. M. Fraser, S. E. Melville, N. M. El-Sayed, *Science*, 2005, **309**, 416-422.
21. E. Gluenz, M. L. Povelones, P. T. Englund, K. Gull, *Molecular and cellular Biology*, 2011, **31**, 1012-1021.
22. G. Langousis, K. Hill, *Nature Reviews Microbiology*, 2014, **12**, 505-518.

Βιβλιογραφία

23. C-P. Ooi, P. Bastin, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2013, **3**, 71.
24. J. Sunter, K. Gull, *Trends in Parasitology*, 2016, **32**, 309-324.
25. M. E. Dubois, K. P. Demick, J. M. Mansfield, *Infection and Immunity*, 2005, **73**, 2690-2697.
26. M. R. Mugnier, C. E. Stebbins, F. N. Papavasiliou, *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2016, **12**, e1005784.
27. D. Horn, *Molecular and Biochemical Parasitology*, 2014, **195**, 123-129.
28. P. Overath, M. Chaudhri, D. Steverding, K. Ziegelbauer, *Parasitology Today*, 1994, **10**, 53-58.
29. R. Sharma, E. Gluenz, L. Peacock, W. Gibson, K. Gull, M. Carrington, *Trends in Parasitology*, 2009, **25**, 517-524.
30. P. Mac Gregor, K. R. Matthews, *Journal of Molecular Medicine*, 2010, **88**, 865-871.
31. B. Rotureau, I. Subota, J. Buisson, P. Bastin, *Development*, 2012, **139**, 1842-1850.
32. B. Rotureau, J. Van Den Abbeele, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2013, **3**, 53.
33. L. Peacock, V. Ferrisa, R. Sharmac, J. Sunter, M. Bailey, M. Carrington, W. Gibson, *PNAS*, 2011, **108**, 3671-3676.
34. L. Lecordier, P. Uzureau, P. Tebabi, D. Pérez-Morga, D. Nolan, G. Schumann Burkard, I. Roditi, E. Pays, *Molecular Microbiology*, 2014, **94**, 625-636.
35. B. Stijlemans, G. Caljon, J. van den Abbeele, J. A. van Ginderachter, S. Magez, C. de Trez, *Frontiers in Immunology*, 2016, **7**, 233.
36. E. Pays, B. Vanhollebeke, L. Vanhamme, F. Paturiaux-Hanocq, D. P. Nolan, D. Pérez-Morga, *Nature Reviews Microbiology*, 2006, **4**, 477-486.
37. D. Pérez-Morga, B. Vanhollebeke, F. Paturiaux-Hanocq, D. P. Nolan, L. Lins, F. Homblé, L. Vanhamme, P. Tebabi, A. Pays, P. Poelvoorde, A. Jacquet, R. Brasseur, E. Pays, *Science*, 2005, **309**, 469-472.
38. J. Cnops, S. Magez, C. de Trez, *Parasitology*, 2015, **142**, 417-427.
39. P. Uzureau, S. Uzureau, L. Lecordier, F. Fontaine, P. Tebabi, F. Homblé, A. Grélard, V. Zhendre, D. P. Nolan, L. Lins, J-M. Crowet, A. Pays, C. Felu, P. Poelvoorde, B. Vanhollebeke, S. K. Moestrup, J. Lyngso, J. Skov Pedersen, J. C. Mottram, E. J. Dufourc, D. Pérez-Morga, E. Pays, *Nature*, 2013, **501**, 430-434.
40. X. Bai, H. Yao, C. Du, Y. Chen, R. Lai, M. Rong, *Biochimie*, 2015, **118**, 123-128.
41. A. K. Lindner, G. Priotto, *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2010, **4**, e783.
42. S. J. Migchelsen, P. Büscher, A. I. M. Hoepelman, H. D. Schallig, E. R. Adams, *International Journal of Infectious Diseases*, 2011, **15**, e517-e524.
43. D. Malvy, F. Chappuis, *Clinical Microbiology and Infection*, 2011, **17**, 986-995.
44. P. G. Kennedy, *The Journal of Clinical Investigation*, 2004, **113**, 496-504.
45. P. G. Kennedy, *Lancet Neurology*, 2013, **12**, 18-194.
46. F. Chappuis, L. Loutan, P. Simarro, V. Lejon, P. Büscher, *Clinical Microbiology Reviews*, 2005, **18**, 133-146.
47. Y. Zhang, Z. Li, D. S. Pilch, M. J. Leibowitz, *Nucleic Acids Research*, 2002, **30**, 2961-2971.
48. S. R. Wilkinson, J. M. Kelly, *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 2009, **11**, e31.
49. J. Rodgers, *Journal of Neuroimmunology*, 2009, **211**, 16-22.
50. G. Eperon M. Balasegaram, J. Potet, C. Mowbray, O. Valverde, F. Chappuis, *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 2014, **12**, 1407-1417.
51. H. Cerecetto, M. González, *Future Microbiology*, 2011, **6**, 847-850.
52. E. Torreele, B. Bourdin Trunz, D. Tweats, M. Kaiser, R. Brun, G. Mazué, M. A. Bray, B. Pécoul, *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2010, **4**, e923.

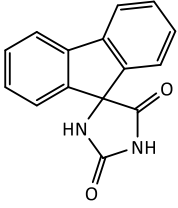
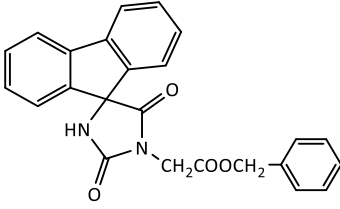
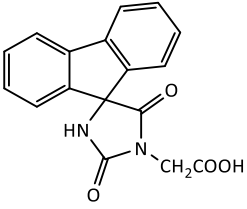
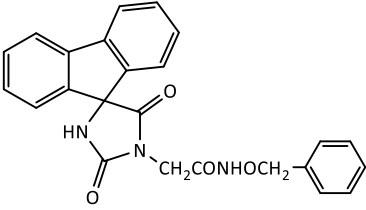
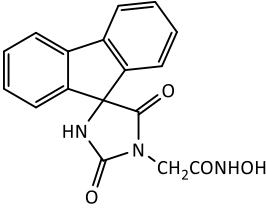
53. C. Pratt, S. Nguyen, M. A. Phillips, *Eucaryotic Cell*, 2014, **13**, 614-624.
54. A. Lüscher, H.P. de Koning, P. Mäser, *Current Pharmaceutical Design*, 2007, **13**, 555-567.
55. M. C. Taylor, H. Kaur, B. Blessington, J. M. Kelly, S. R. Wilkinson, *Biochemical Journal*, 2008, **409**, 563-569.
56. M. Chaudhuri, R. D. Ott, G. C. Hill, *Trends in Parasitology*, 2006, **22**, 484-491.
57. T. Shiba, Y. Kido, K. Sakamoto, D. K. Inaoka, C. Tsuge, R. Tatsumi, R. Takahashi, E. O. Balogun, T. Nara, T. Aoki, T. Honma, A. Tanaka, M. Inoue, S. Matsuoka, H. Saimoto, A. Moore, S. Harada, K. Kita, *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, 2013, **110**, 4580-4585.
58. A. K. Carrillo, W. A. Guiguemde, R. K. Guy, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2015, **23**, 5151- 5155.
59. Q-P. Wang, T. Kawahara, D. Horn, *Molecular Microbiology*, 2010, **77**, 1237–1245.
60. J. M. Kelly, M. C. Taylor, D. Horn, E. Loza, I. Kalvinsh, F. Björkling, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2012, **22**, 1886-1890.
61. G. F. Mercaldi, H. M. Pereira, A. T. Cordeiro, P. A. Michels, O. H. Thiemann, *The FEBS Journal*, 2012, **279**, 2012-2021.
62. S. R. Wilkinson, S. R. Prathalingam, M. C. Taylor, A. Ahmed, D. Horn, J. M. Kelly, *Free Radical Biology and Medicine*, 2006, **40**, 198-209.
63. F. Dufernez, C. Yernaux, D. Gerbod, C. Noël, M. Chauvenet, R. Wintjens, V. P. Edgcomb, M. Capron, F. R. Opperdoes, E. Viscogliosi, *Free Radical Biology and Medicine*, 2006, **40**, 210-225.
64. M. D. Urbaniak, A. Crossman, T. Chang, T. K. Smith, D. M. F. van Aalten, M. A. J. Ferguson, *The Journal of Biological Chemistry*, 2005, **280**, 22831–22838.
65. N. Z. Abdelwahab, M. D. Urbaniak, M. A. J. Ferguson, A. T. Crossman, *Carbohydrate Research*, 2011, **346**, 708-714.
66. R. Kakkar, *Hydroxamic Acids*, 2013, 19-53.
67. F. S. Buckner, R. T. Eastman, K. Yokoyama, M. H. Gelb, W.C. van Voorhis, *Current Opinion in Investigational Drugs*, 2005, **6**, 791-797.
68. J. Ohkanda, F. S. Buckner, J. W. Lockman, K. Yokoyama, D. Carrico, R. Eastman, K. de Luca-Fradley, W. Davies, S. L. Croft, W. C. van Voorhis, M. H. Gelb, S. M. Sebti, A. D. Hamilton, *Journal of Medicinal Chemistry*, 2004, **47**, 432-445.
69. S.C. Welburn, I. Maudlin, *Advances in Parasitology*, 2012, **79**, 299-337.
70. S. C. Welburn, D. H. Molyneux, I. Maudlin, *Trends in Parasitology*, 2016, **32**, 230-241.
71. J. M. Kelly, M. A. Miles, A. C. Skinner, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1999, **43**, 985-987.
72. J. M. Kelly, G. Quack, M. M. Miles, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2001, **45**, 1360-1366.
73. G. Lamoureux, G. Artavia, *Current Medicinal Chemistry*, 2010, **17**, 2967-2978.
74. N. Kolocouris, G. Zoidis, G. B. Foscolos, G. Fytas, S. R. Prathalingam, J. M. Kelly, L. Naesens, Erik De Clercq, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2007, **17**, 4358-4362.
75. G. Zoidis, A. Tsotinis, N. Kolocouris, J. M. Kelly, S. R. Prathalingam, L. Naesens, E. De Clercq, *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2008, **6**, 3177-3185.
76. G. Zoidis, N. Kolocouris, J. M. Kelly, S. R. Prathalingam, L. Naesens, E. De Clercq, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2010, **45**, 5022-5030.
77. C. Fytas, G. Zoidis, N. Tzoutzas, M. C. Taylor, G. Fytas, J. M. Kelly, *Journal of Medicinal Chemistry*, 2011, **54**, 5250-5254.

Βιβλιογραφία

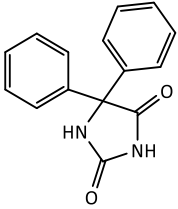
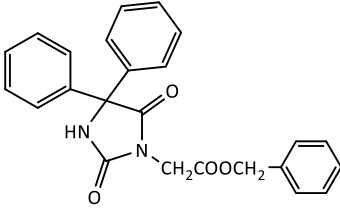
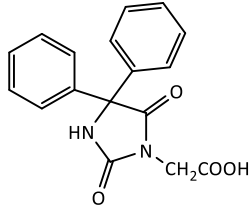
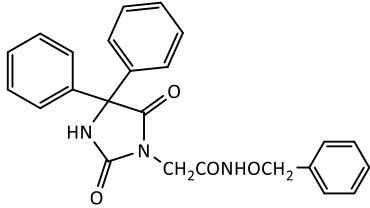
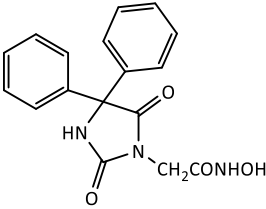
78. C. J. Marmion, J. P. Parker, K. B. Nolan, *Comprehensive Inorganic Chemistry II*, 684-708.
79. S. P. Gupta, A. Sharma, *Hydroxamic Acids*, 2013, 1-17.
80. M. Meusel, M. Gütschow, *Organic Preparations and Procedures International*, 2004, **36**, 391-443.
81. L. K. Abdulrahman, M. M. Al-Mously, M. L. Al-Mosuli, K. K. Al-Azzawii, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2013, **5**, 494-504.
82. E. D. Naydenova, P. T. Todorov, K.D. Troev, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 2010, **185**, 1315-1320.
83. J. Safari, S. Gandomi-Ravandi, L. Javadian, *Synthetic communications*, 2013, **43**, 3115-3120.
84. H. T. Bucherer, V. A. Lieb, *Journal für Praktische Chemie*, 1934, **141**, 5-43.
85. W. T. Read, *Journal of the American Chemical Society*, 1922, **44**, 1746-1755.
86. J. R. Bailey, W. T. Read, *Journal of the American Chemical Society*, 1915, **37**, 1884-1893.
87. M. J. Meyers, E. J. Anderson, S. A. Mc Nitt, T. M. Krenning, M. Singh, J. Xu, W. Zeng, L. Qin, W. Xu, S. Zhao, L. Qin, C. S. Eickhoff, J. Oliva, M. A. Campbell, S. D. Arnett, M. J. Prinse, D. W. Griggs, P. G. Ruminski, D. E. Goldberg, K. Ding, X. Liu, Z. Tu, M. D. Tortorella, F. M. Sverdrup, X. Chen, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2015, **23**, 5144-5150.
88. M. W. Rowbottom, T. D. Vickers, J. Tamiya, M. Zhang, B. Dyck, J. Grey, D. Schwarz, C. E. Heise, M. Hedrick, J. Wen, H. Tang, H. Wang, A. Fisher, A. Aparicio, J. Saunders, V. S. Goodfellow, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2007, **17**, 2171-2178.
89. A. Rousset, M. Lasperas, J. Taillades, A. Commeyras, *Tetrahydron*, 1978, **34**, 2275-2281.
90. J. R. Dunetz, J. Magano, G. A. Weisenburger, *Organic Process Research & Development*, 2016, **20**, 140-177.
91. E. Valeur, M. Bradley, *Chemical Society Reviews*, 2009, **38**, 606-631.
92. C. Sousa, P. J. Silva, *European Journal of Organic Chemistry*, 2013, **2013**, 5195-5199.
93. T. M. Kosak, H. A. Conrad, A. L. Korich, R. L. Lord, *European Journal of Organic Chemistry*, 2015, **2015**, 7460-7467.
94. N. Singha, Y. Karpichev, R. Sharma, B. Gupta, A. K. Sahu, M. L. Satnami, K. K. Ghosh, *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2015, **13**, 2827-2848.
95. N. Mora-Diez, M. L. Senent, B. García, *Chemical Physics*, 2006, **324**, 350-358.
96. O. N. Ventura, J. B. Rama, L. Turi, J. J. Dannenberg, *Journal of the American Chemical Society*, 1993, **115**, 5754-576.
97. B. García, S. Ibeas, F. L. Hoyuelos, J. M. Leal, F. Secco, M. Venturini, *The Journal of Organic Chemistry*, 2001, **66**, 7986-7993.
98. B. Kurzak, H. Kozłowski, E. Farkas, *Coordination Chemistry Reviews*, 1992, **114**, 169-200.
99. N. C. Franklin, H. Feltkamp, *Angewandte Chemie International Edition*, 1965, **4**, 774-782.
100. J. T. Edward, C. Jitrangsri, *Canadian Journal of Chemistry*, 1975, **53**, 3339-3350.
101. Y. Maki, T. Masugi, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 1973, **21**, 685-691.
102. B. V. Unkovskii, M. Yu. D'yakov, G. V. Cherkaev, T. D. Sokolova, *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 1994, **30**, 696-700.
103. X-J. Chu, D. Bartkovitz, W. Danho, J. Swistok, A. W-H. Cheung, G. Kurylko, K. Rowan, M. Yeon, L. Franco, L. Qi, L. Chen, K. Yagaloff, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2005, **15**, 4910-4914.
104. K. Bergesen, M. J. Cook, T. K. Hock, *Organic Magnetic Resonance*, 1976, **8**, 513-517.
105. H-J. Schneider, P. K. Agrawal, *Organic Magnetic Resonance*, 1984, **22**, 180-186.
106. A. Tsatsaroni, G. Zoidis, P. Zoumpoulakis, A. Tsoinisi, Ma. C. Taylor, J. M. Kelly, G. Fytas, *Tetrahedron Letters*, 2013, **54**, 3238-3240.

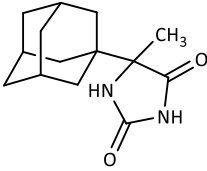
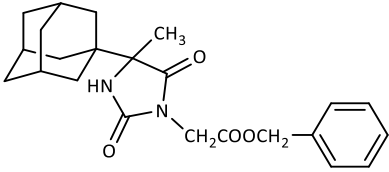
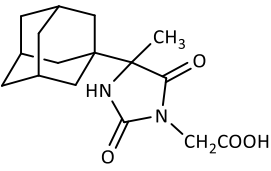
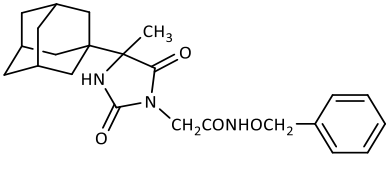
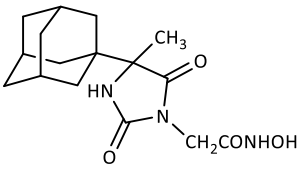
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΠΙΝΑΚΑΣ ΤΕΛΙΚΩΝ ΚΑΙ ΕΝΔΙΑΜΕΣΩΝ ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

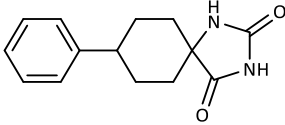
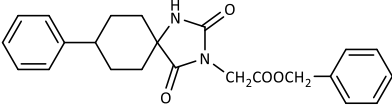
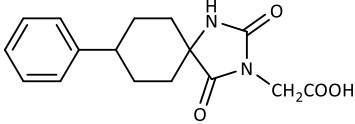
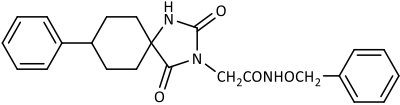
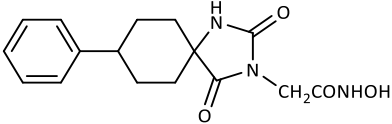
No	Name	Structure	Chemical Formula	MW	Yield Form
2	2',5'-H-σπειρο [φλουορεν-9,4'- μιδαζολιδιν]-2',5'- διόνη		C ₁₅ H ₁₀ N ₂ O ₂	250.2570	82% Crystalline solid
3	(2',5'-διοξοσπειρο [φλουορεν-9,4'- μιδαζολιδιν]-1'-υλ) οξικός βενζυλεστέρας		C ₂₄ H ₁₈ N ₂ O ₄	398.4180	86% Crystalline solid
4	(2',5'-διοξοσπειρο [φλουορεν-9,4'- μιδαζολιδιν]-1'-υλ) οξικό οξύ		C ₁₇ H ₁₂ N ₂ O ₄	308.2930	Almost quant/tive Crystalline solid
5	N-(φαινυλομεθοξυ)-2- (2',5'-διοξοσπειρο [φλουορεν-9,4'- μιδαζολιδιν]-1'-υλ) ακεταμίδιο		C ₂₄ H ₁₉ N ₃ O ₄	413.4330	66% Crystalline solid
6	N-υδροξυ-2-(2',5'- διοξοσπειρο [φλουορεν-9,4'- μιδαζολιδιν]-1'-υλ) ακεταμίδιο		C ₁₇ H ₁₃ N ₃ O ₄	323.3080	Almost quant/tive Crystalline solid

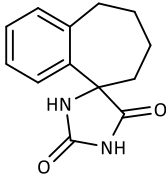
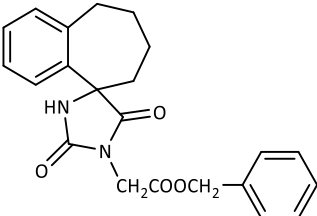
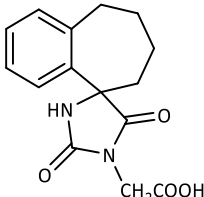
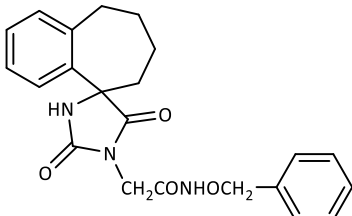
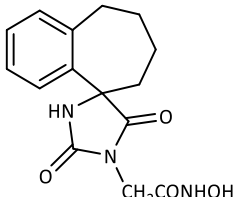
Παράρτημα

8	5,5- διφαινυλιμιδαζολιδινο- 2,4-διόνη		$C_{15}H_{12}N_2O_2$	252.2730	20% Crystalline solid
9	(2,5-διοξο-4,4- διφαινυλιμιδα ζολιδιν-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας		$C_{24}H_{20}N_2O_4$	400.4340	75% crystalline solid
10	(2,5-διοξο-4,4- διφαινυλιμιδαζολιδιν- 1-υλ) οξικό οξύ		$C_{17}H_{14}N_2O_4$	310.3090	Almost quant/tive Crystalline solid
11	N-(φαινυλομεθοξυ)-2- (2,5-διοξο-4,4- διφαινυλιμιδαζολιδιν- 1-υλ) ακεταμίδιο		$C_{24}H_{21}N_3O_4$	415.4490	57% Glass solid
12	N-υδροξυ-2-(2,5-διοξο- 4,4- διφαινυλιμιδαζολιδιν- 1-υλ) ακεταμίδιο		$C_{17}H_{15}N_3O_4$	325.3240	Almost quant/tive Crystalline solid

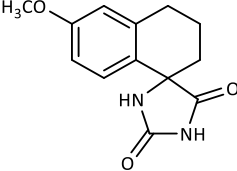
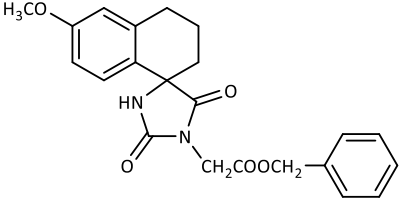
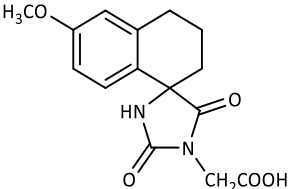
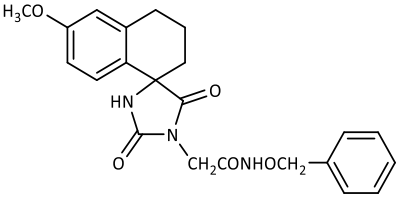
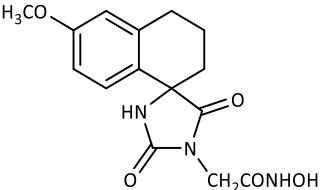
14	5-μεθυλο-5-(τρικυκλο [3.3.1.1 ^{3,7}]δεκ-1-υλ)ιμιδαζολιδινο-2,4-διόνη		C ₁₄ H ₂₀ N ₂ O ₂	248.3260	62% Fluffy solid
15	(2,5-διοξο-4-μεθυλο-4-(τρικυκλο [3.3.1.1 ^{3,7}]δεκ-1-υλ)ιμιδαζολιδιν-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας		C ₂₃ H ₂₈ N ₂ O ₄	396.4870	77% Crystalline solid
16	(2,5-διοξο-4-μεθυλο-4-(τρικυκλο [3.3.1.1 ^{3,7}]δεκ-1-υλ)ιμιδαζολιδιν-1-υλ) οξικό οξύ		C ₁₆ H ₂₂ N ₂ O ₄	306.3620	Almost quant/tive Crystalline solid
17	N-(φαινυλομεθοξυ)-2-(2,5-διοξο-4-μεθυλο-4-(τρικυκλο [3.3.1.1 ^{3,7}]δεκ-1-υλ)ιμιδαζολιδιν-1-υλ) ακεταμίδιο		C ₂₃ H ₂₉ N ₃ O ₄	411.5020	63% Crystalline solid
18	N-υδροξυ-2-(2,5-διοξο-4-μεθυλο-4-(τρικυκλο[3.3.1.1 ^{3,7}]δεκ-1-υλ) ιμιδαζολιδιν-1-υλ) ακεταμίδιο		C ₁₆ H ₂₃ N ₃ O ₄	321.3770	Almost quant/tive Crystalline solid

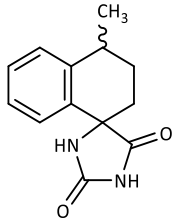
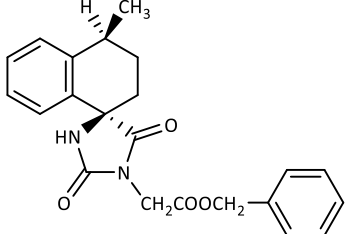
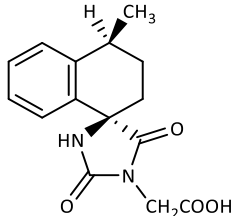
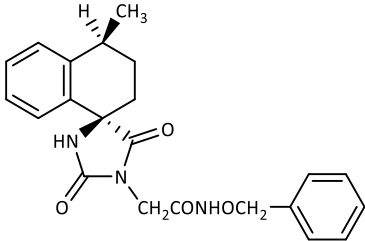
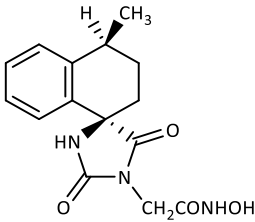
Παράρτημα

20	8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-ο-2,4-διόνη		$C_{14}H_{16}N_2O_2$	244.2940	90% Fluffy solid
21	(2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλ) οξικός βενζυλεστέρας		$C_{23}H_{24}N_2O_4$	392.4550	81% crystalline solid
22	(2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλ) οξικό οξύ		$C_{16}H_{18}N_2O_4$	302.3300	Almost quant/tive Crystalline solid
23	N-(φαινυλομεθοξυ)-2-(2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλ) ακεταμίδιο		$C_{23}H_{25}N_3O_4$	407.4700	56% Crystalline solid
24	N-υδροξυ-2-(2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλ) ακεταμίδιο		$C_{16}H_{19}N_3O_4$	317.3450	Almost quant/tive Crystalline solid

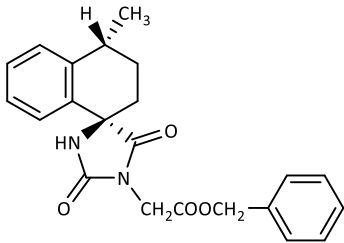
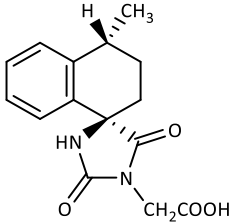
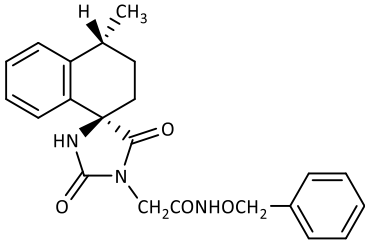
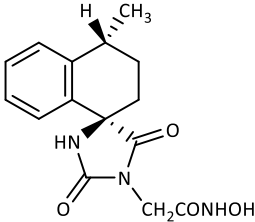
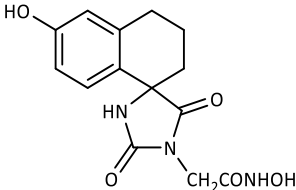
26	6,7,8,9-τετραϋδρο-2'H,5'H-σπειρο[βενζο[7]αννουλεν-5,4'-μιδαζολιδινο]-2',5'-διόνη		C ₁₃ H ₁₄ N ₂ O ₂	230.2670	14% Crystalline solid
27	(2',5'-διοξο-6,7,8,9-τετραϋδροσπειρο[βενζο[7]αννουλεν-5,4'-μιδαζολιδιν]-1'-υλ) οξικός βενζυλεστέρας		C ₂₂ H ₂₂ N ₂ O ₄	378.4280	88% Crystalline solid
28	(2',5'-διοξο-6,7,8,9-τετραϋδροσπειρο [βενζο[7]αννουλεν-5,4'-μιδαζολιδιν]-1'-υλ) οξικό οξύ		C ₁₅ H ₁₆ N ₂ O ₄	288.3030	Almost quant/tive Crystalline solid
29	N-(φαινυλομεθοξυ)-2-(2',5'-διοξο-6,7,8,9-τετραϋδροσπειρο [βενζο[7]αννουλεν-5,4'-μιδαζολιδιν]-1'-υλ) ακεταμίδιο		C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₄	393.4430	65% Crystalline solid
30	N-υδροξυ-2-(2',5'-διοξο-6,7,8,9-τετραϋδροσπειρο [βενζο[7]αννουλεν-5,4'-μιδαζολιδιν]-1'-υλ) ακεταμίδιο		C ₁₅ H ₁₇ N ₃ O ₄	303.3180	Almost quant/tive Crystalline solid

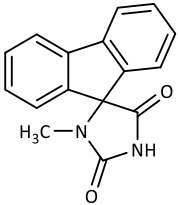
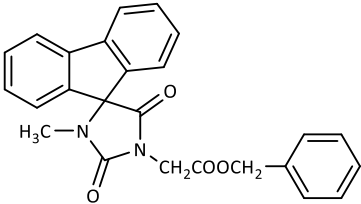
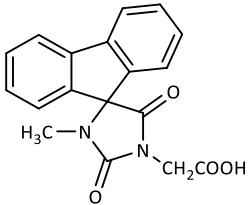
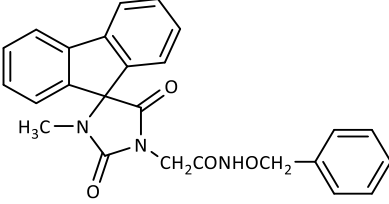
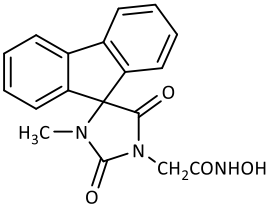
Παράρτημα

32	<p>6'-μεθοξυ-3',4'-διυδρο-2H,2'H,5H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλινο]-2,5-διόνη</p>		C ₁₃ H ₁₄ N ₂ O ₃	246.2660	12% Crystalline solid
33	<p>(6'-μεθοξυ-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας</p>		C ₂₂ H ₂₂ N ₂ O ₅	394.4270	93% Crystalline solid
34	<p>(6'-μεθοξυ-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικό οξύ</p>		C ₁₅ H ₁₆ N ₂ O ₅	304.3020	Almost quant/tive Crystalline solid
35	<p>N-(φαινυλομεθοξυ)-2-(6'-μεθοξυ-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο</p>		C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₅	409.4420	64% Glass solid
36	<p>N-υδροξυ-2-(6'-μεθοξυ-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο</p>		C ₁₅ H ₁₇ N ₃ O ₅	319.3170	Almost quant/tive Crystalline solid

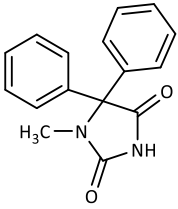
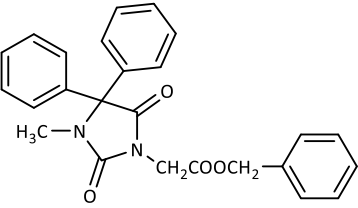
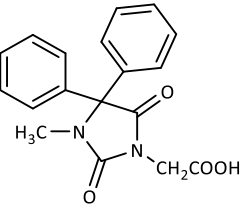
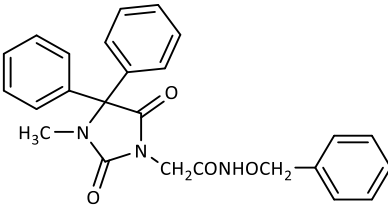
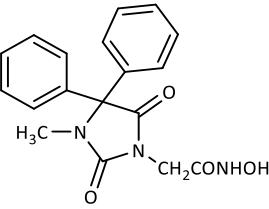
38	4'-μεθυλο-3',4'-διυδρο-2H,2'H,5H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-2,5-διόνη		C ₁₃ H ₁₄ N ₂ O ₂	230.2670	30% Crystalline solid
39	((4R,4'S)/(4S,4'R))-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας		C ₂₂ H ₂₂ N ₂ O ₄	378.4280	60% Foamy product
40	((4R,4'S)/(4S,4'R))-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικό οξύ		C ₁₅ H ₁₆ N ₂ O ₄	288.3030	Almost quant/tive Glass solid
41	N-(φαινυλομεθοξυ)-2-((4R,4'S)/(4S,4'R))-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο		C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₄	393.4430	55% Glass solid
42	N-υδροξυ-2-((4R,4'S)/(4S,4'R))-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο		C ₁₅ H ₁₇ N ₃ O ₄	303.3180	Almost quant/tive Foamy product

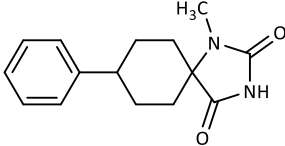
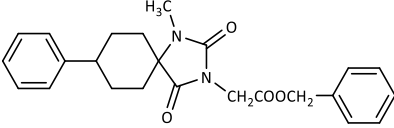
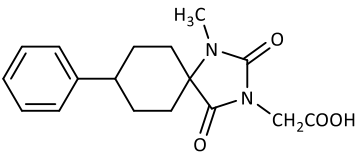
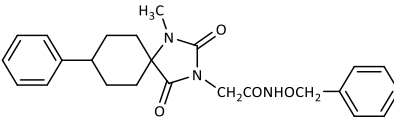
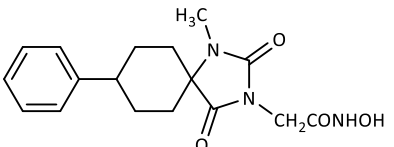
Παράρτημα

43	((4<i>R</i>,4'<i>R</i>)/(4<i>S</i>,4'<i>S</i>)-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'<i>H</i>-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας		$C_{22}H_{22}N_2O_4$	378.4280	26% Foamy product
44	((4<i>R</i>,4'<i>R</i>)/(4<i>S</i>,4'<i>S</i>)-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'<i>H</i>-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικό οξύ		$C_{15}H_{16}N_2O_4$	288.3030	Almost quant/tive Glass solid
45	<i>N</i>-(φαινυλομεθοξυ)-2-((4<i>R</i>,4'<i>R</i>)/(4<i>S</i>,4'<i>S</i>)-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'<i>H</i>-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο		$C_{22}H_{23}N_3O_4$	393.4430	60% Glass solid
46	<i>N</i>-υδροξυ-2-((4<i>R</i>,4'<i>R</i>)/(4<i>S</i>,4'<i>S</i>)-4'-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'<i>H</i>-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο		$C_{15}H_{17}N_3O_4$	303.3180	Almost quant/tive Foamy product
47	<i>N</i>-υδροξυ-2-(6'-υδροξυ-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'<i>H</i>-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο		$C_{14}H_{15}N_3O_5$	305.2900	48% Crystalline solid

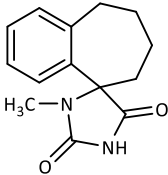
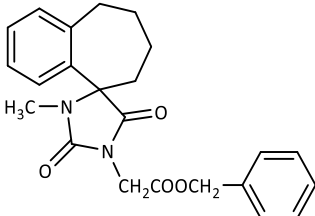
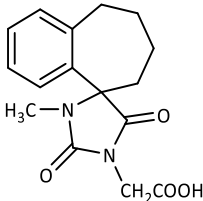
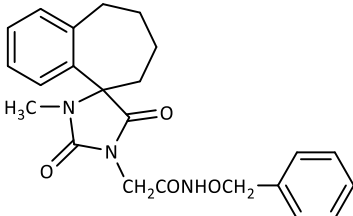
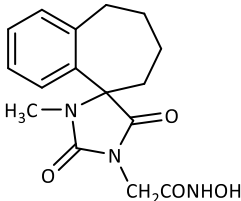
50	3'-μεθυλο-2',5'-σπειρο[φλουορεν-9,4'-μιδαζολιδιν]-2',5'-διόνη		C ₁₆ H ₁₂ N ₂ O ₂	264.2840	44% Crystalline solid
51	(3'-μεθυλο-2',5'-διοξοσπειρο [φλουορεν-9,4'-μιδαζολιδιν]-1'-υλ) οξικός βενζυλεστέρας		C ₂₅ H ₂₀ N ₂ O ₄	412.4450	93% Crystalline solid
52	(3'-μεθυλο-2',5'-διοξοσπειρο [φλουορεν-9,4'-μιδαζολιδιν]-1'-υλ) οξικό οξύ		C ₁₈ H ₁₄ N ₂ O ₄	322.3200	Almost quant/tive Crystalline solid
53	N-(φαινυλομεθοξυ)-2-(3'-μεθυλο-2',5'-διοξοσπειρο [φλουορεν-9,4'-μιδαζολιδιν]-1'-υλ) ακεταμίδιο		C ₂₅ H ₂₁ N ₃ O ₄	427.4600	32% Glass solid
54	N-υδροξυ-2-(3'-μεθυλο-2',5'-διοξοσπειρο[φλουορεν-9,4'-μιδαζολιδιν]-1'-υλ) ακεταμίδιο		C ₁₈ H ₁₅ N ₃ O ₄	337.3350	Almost quant/tive Crystalline solid

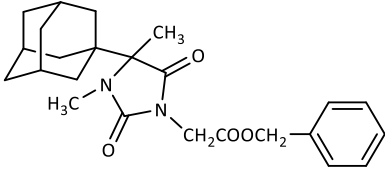
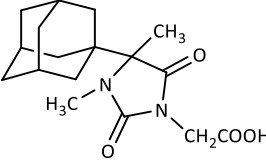
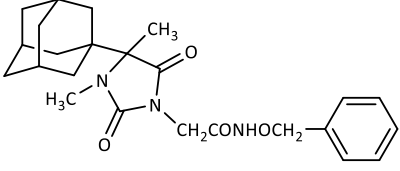
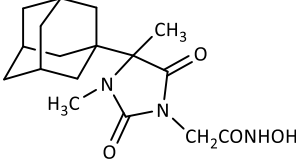
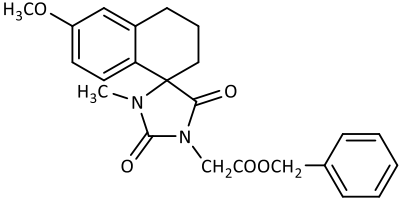
Παράρτημα

57	1-μεθυλο-5,5-διφαινυλιμιδαζολιδινο-2,4-διόνη		$C_{16}H_{14}N_2O_2$	266.3000	1.4% Crystalline solid
58	(3-μεθυλο-2,5-διοξο-4,4-διφαινυλιμιδαζολιδιν-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας		$C_{25}H_{22}N_2O_4$	414.4610	70% Crystalline solid
59	(3-μεθυλο-2,5-διοξο-4,4-διφαινυλιμιδαζολιδιν-1-υλ) οξικό οξύ		$C_{18}H_{16}N_2O_4$	324.3360	Almost quant/tive Crystalline solid
60	N-(φαινυλομεθοξυ)-2-(3-μεθυλο-2,5-διοξο-4,4-διφαινυλιμιδαζολιδιν-1-υλ) ακεταμίδιο		$C_{25}H_{23}N_3O_4$	429.4760	42% Glass solid
61	N-υδροξυ-2-(3-μεθυλο-2,5-διοξο-4,4-διφαινυλιμιδαζολιδιν-1-υλ) ακεταμίδιο		$C_{18}H_{17}N_3O_4$	339.3510	Almost quant/tive Crystalline solid

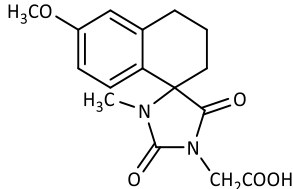
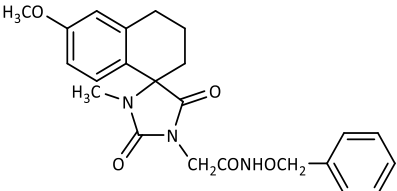
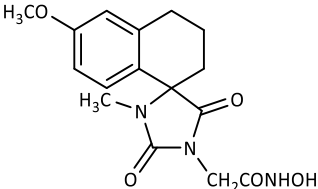
64	1-μεθυλο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκανο-2,4-διόνη		C ₁₅ H ₁₈ N ₂ O ₂	258.3210	52% Crystalline solid
65	(1-μεθυλο-2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλ) οξικός βενζυλεστέρας		C ₂₄ H ₂₆ N ₂ O ₄	406.4820	79% Viscous oil
66	(1-μεθυλο-2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλ) οξικό οξύ		C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O ₄	316.3570	Almost quant/tive Crystalline solid
67	N-(φαινυλομεθοξυ)-2-(2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλ) ακεταμίδιο		C ₂₄ H ₂₇ N ₃ O ₄	421.4970	46% Crystalline solid
68	N-υδροξυ-2-(1-μεθυλο-2,4-διοξο-8-φαινυλο-1,3-διαζασπειρο[4,5]δεκαν-3-υλ) ακεταμίδιο		C ₁₇ H ₂₁ N ₃ O ₄	331.3720	Almost quant/tive Crystalline solid

Παράρτημα

71	3'-μεθυλο-6,7,8,9- τετραϋδρο-2'H,5'H- σπειρο[βενζο[7] αννουλεν-5,4'- μιδαζολιδινο]-2',5'- διόνη		$C_{14}H_{16}N_2O_2$	244.2940	6% Crystalline solid
72	(3'-μεθυλο-2',5'-διοξο- 6,7,8,9,- τετραϋδροσπειρο [βενζο[7]αννουλεν-5,4'- μιδαζολιδιν]-1'-υλ) οξικός βενζυλεστέρας		$C_{23}H_{25}N_2O_4$	392.4550	70% Glass solid
73	(3'-μεθυλο-2',5'-διοξο- 6,7,8,9,- τετραϋδροσπειρο [βενζο[7]αννουλεν-5,4'- μιδαζολιδιν]-1'-υλ) οξικό οξύ		$C_{16}H_{18}N_2O_4$	302.3300	Almost quant/tive Crystalline solid
74	N-(φαινυλομεθοξυ)-2- (3'-μεθυλο-2',5'-διοξο- 6,7,8,9,- τετραϋδροσπειρο [βενζο[7]αννουλεν-5,4'- μιδαζολιδιν]-1'-υλ) ακεταμίδιο		$C_{23}H_{25}N_3O_4$	407.4700	51% Crystalline solid
75	N-υδροξυ-2-(3'-μεθυλο- 2',5'-διοξο-6,7,8,9,- τετραϋδροσπειρο [βενζο[7]αννουλεν-5,4'- μιδαζολιδιν]-1'-υλ) ακεταμίδιο		$C_{16}H_{19}N_3O_4$	317.3450	Almost quant/tive Semi-solid

76	(2,5-διοξο-3,4-διμεθυλο-4-(τρικυκλο[3.3.1.1 ^{3,7}]δεκ-1-υλ)ιμιδαζολιδιν-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας		C ₂₄ H ₃₀ N ₂ O ₄	410.5140	Viscous oil
77	(2,5-διοξο-3,4-διμεθυλο-4-(τρικυκλο[3.3.1.1 ^{3,7}]δεκ-1-υλ)ιμιδαζολιδιν-1-υλ) οξικό οξύ		C ₁₇ H ₂₄ N ₂ O ₄	320.3890	Almost quant/tive Glass solid
78	N-(φαινυλομεθοξυ)-2-(2,5-διοξο-3,4-διμεθυλο-4-(τρικυκλο[3.3.1.1 ^{3,7}]δεκ-1-υλ)ιμιδαζολιδιν-1-υλ) ακεταμίδιο		C ₂₄ H ₃₁ N ₃ O ₄	425.5290	45% Glass solid
79	N-υδροξυ-2-(2,5-διοξο-3,4-διμεθυλο-4-(τρικυκλο[3.3.1.1 ^{3,7}]δεκ-1-υλ)ιμιδαζολιδιν-1-υλ) ακεταμίδιο		C ₁₇ H ₂₅ N ₃ O ₄	335.4040	Almost quant/tive Semi-solid
80	(6'-μεθοξυ-3-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διυδρο-2'H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικός βενζυλεστέρας		C ₂₃ H ₂₄ N ₂ O ₅	408.4540	Viscous oil

Παράρτημα

81	<p>(6'-μεθοξυ-3-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διωδρο-2'H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) οξικό οξύ</p>		C ₁₆ H ₁₈ N ₂ O ₅	318.3290	Almost quant/tive Crystalline solid
82	<p>N-(φαινυλομεθοξυ)-2-(6'-μεθοξυ-3-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διωδρο-2'H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο</p>		C ₂₃ H ₂₅ N ₃ O ₅	423.4690	64% Glass solid
83	<p>N-υδροξυ-2-(6'-μεθοξυ-3-μεθυλο-2,5-διοξο-3',4'-διωδρο-2'H-σπειρο[ιμιδαζολιδινο-4,1'-ναφθαλιν]-1-υλ) ακεταμίδιο</p>		C ₁₆ H ₁₉ N ₃ O ₅	333.3440	Almost quant/tive Crystalline solid

ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΤΗΣ ΑΝΤΙΤΡΥΠΑΝΟΣΩΜΙΑΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ

Οι καλλιέργειες της αιματικής μορφής του *T. brucei* (στέλεχος 427) διατηρήθηκαν στους 37 °C σε τροποποιημένο μέσο Iscove (pH=7.4). Η αντιτρυπανοσωμιακή δράση αξιολογήθηκε μετά από ανάπτυξη των παρασίτων για 48 h, παρουσία διαφόρων συγκεντρώσεων του φαρμάκου, για τον προσδιορισμό των επιπέδων που αναστέλλουν την ανάπτυξη κατά 50% (IC₅₀) και 90% (IC₉₀). Στην περίπτωση καλλιιεργειών, οι οποίες δεν περιείχαν το φάρμακο (όγκος 4 mL), οι κυτταρικές πυκνότητες αυξήθηκαν από 0.5×10^4 σε 1×10^6 κύτταρα mL⁻¹ κατά την περίοδο αυτή. Οι τιμές IC₅₀ και IC₉₀ είναι ο μέσος όρος τριών πειραμάτων. Οι πυκνότητες κυττάρων σε κάθε συγκέντρωση φαρμάκου προσδιορίστηκαν χρησιμοποιώντας αιμοκυτόμετρο (Weber Scientific International Ltd), και η ευαισθησία του φαρμάκου εκφράστηκε ως ποσοστό της ανάπτυξης των κυττάρων ελέγχου.