



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ
ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ**

**ΨΑΡΡΑ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ
ΧΗΜΙΚΟΣ**

ΑΘΗΝΑ

ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2018

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Ανάπτυξη Μεθόδων για τη σύνθεση αναστολέων ενζύμων

ΨΑΡΡΑ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ

A.M.: 001304

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΚΟΚΟΤΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ, Καθηγητής ΕΚΠΑ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ:

ΚΟΚΟΤΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ, Καθηγητής ΕΚΠΑ

ΜΑΓΚΡΙΩΤΗ ΒΙΚΤΩΡΙΑ, Επικ. Καθηγήτρια ΕΚΠΑ

ΒΑΣΙΛΕΙΟΥ ΣΤΑΜΑΤΙΑ, Επικ. Καθηγήτρια ΕΚΠΑ

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΚΟΚΟΤΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ, Καθηγητής ΕΚΠΑ

ΜΟΥΤΕΒΕΛΗ – ΜΗΝΑΚΑΚΗ ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ, Καθηγήτρια ΕΚΠΑ

ΓΕΩΡΓΙΑΔΗΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ, Αναπλ. Καθηγητής ΕΚΠΑ

ΜΑΓΚΡΙΩΤΗ ΒΙΚΤΩΡΙΑ, Επικ. Καθηγήτρια ΕΚΠΑ

ΒΑΣΙΛΕΙΟΥ ΣΤΑΜΑΤΙΑ, Επικ. Καθηγήτρια ΕΚΠΑ

ΤΣΟΤΙΝΗΣ ΑΝΔΡΕΑΣ, Καθηγητής ΕΚΠΑ

ΧΙΟΥ ΑΝΤΩΝΙΑ, Αναπλ. Καθηγήτρια ΧΠ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ /09/2018

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι φωσφολιπάσες A_2 είναι μια πολυμελής οικογένεια υδρολυτικών ενζύμων που καταλύουν την υδρόλυση του εστερικού *sn*-2 δεσμού των φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης. Αποτέλεσμα της υδρόλυσης αυτής είναι η απελευθέρωση λιπαρών οξέων, συμπεριλαμβανομένου του αραχιδονικού οξέος (AA). Το αραχιδονικό οξύ μέσω διαφόρων ενζύμων μετατρέπεται σε πλήθος εικοσανοειδών ενώσεων, όπως οι προσταγλανδίνες που αποτελούν βασικούς μεσολαβητές της φλεγμονής, καθώς και άλλων παθοφυσιολογικών καταστάσεων, όπως τα αυτοάνοσα νοσήματα, η σκλήρυνση κατά πλάκας και ο καρκίνος. Επομένως, ισχυροί αναστολείς των φωσφολιπασών A_2 μπορεί να αποτελέσουν νέα μέσα για την καταπολέμηση της φλεγμονής και του πόνου.

Οι προσταγλανδίνες αποτελούν μία κατηγορία λιπιδίων που συμμετέχουν τόσο σε φυσιολογικές (προστασία του πεπτικού και καρδιαγγειακού συστήματος) όσο και σε παθολογικές καταστάσεις. Παράγονται από το AA έπειτα από δράση διαφόρων ενζύμων, με σημαντικότερο τη μικροσωμική συνθάση της προσταγλανδίνης E_2 (PGE-S). Πιο συγκεκριμένα η mPGES-1 αυξάνεται σημαντικά σε ιστούς με φλεγμονή, ενώ υπερεκφράζεται σε όγκους. Θεωρείται λοιπόν ένζυμο-κλειδί για την αντιμετώπιση φλεγμονωδών καταστάσεων όπως η αρθρίτιδα, η αθηροσκλήρωση, το εγκεφαλικό και ο καρκίνος. Για το λόγο αυτό, αναστολείς της mPGES-1 μπορούν να αποτελέσουν νέου τύπου θεραπευτικά μέσα για καταστάσεις οξείων και χρόνιων φλεγμονωδών καταστάσεων, χωρίς τις παρενέργειες των μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων.

Στην παρούσα εργασία περιγράφονται ο σχεδιασμός και η σύνθεση ενώσεων με ανασταλτική δράση ως προς ορισμένες φωσφολιπάσες, συγκεκριμένα των GIVA cPLA₂ και GVIA iPLA₂. Συντέθηκαν και μελετήθηκαν *in vitro* 2-οξοαμίδια που ενσωματώνουν άτομο θείου σε β-θέση ως προς το ενεργοποιημένο καρβονύλιο. Επίσης συντέθηκαν νέοι 2-οξοεστέρες και ανάλογα τους με ισχυρότατη ανασταλτική δράση έναντι της GIVA cPLA₂ και διερευνήθηκε η μεταβολική τους σταθερότητα. Εν συνεχεία, και στην προσπάθεια ανάπτυξης νέων ενώσεων ικανών να αναστέλλουν την παραγωγή PGE₂ σε κυτταρικό επίπεδο, συντέθηκαν και μελετήθηκαν α-κετοβενζοθειαζολικές ενώσεις και ανάλογά τους. Μεταξύ αυτών ανευρέθηκαν ενώσεις ικανές να αναστέλλουν την παραγωγή PGE₂ σε μεσεγχυματικά κύτταρα σε υπομικρομοριακό επίπεδο.

ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: Φαρμακοχημεία, αναστολείς ενζύμων

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Αναστολείς, αντιφλεγμονώδη, προσταγλανδίνη E_2 , σύνθεση, φωσφολιπάση A_2

ABSTRACT

Phospholipases A_2 are a superfamily of hydrolytic enzymes that catalyze the hydrolysis of the sn-2 ester bond of the membrane phospholipids. The result of this hydrolysis is the release of fatty acids, including arachidonic acid (AA). Arachidonic acid through various enzymes is converted into a number of eicosanoids, such as prostaglandins, that are key mediators of inflammation, as well as other pathophysiological conditions such as autoimmune diseases, multiple sclerosis and cancer. Therefore, potent inhibitors of phospholipases A_2 may be new agents to treat inflammation and pain.

Prostaglandins are a class of lipids that participate in both physiological (protection of the digestive and cardiovascular systems) and pathological conditions. They are produced by AA after the action of various enzymes, most notably the microsomal synthase-1 of prostaglandin E_2 (mPGES-1). In particular, mPGES-1 is significantly increased in inflammatory tissues, and overexpressed in tumors. It is therefore considered a key enzyme for treating inflammatory conditions such as arthritis, atherosclerosis, stroke and cancer. For this reason, inhibitors of mPGES-1 may be new therapeutic agents for acute and chronic inflammatory conditions without the side effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs.

In this thesis, the design and synthesis of compounds with inhibitory activity towards certain phospholipases A_2 , in particular GIVA cPLA $_2$ and GVIA iPLA $_2$, are described. 2-Oxoamides incorporating a sulfur atom in the β -position to the activated carbonyl were synthesized and studied *in vitro* for their inhibitory potency. Also, new 2-oxoesters and analogues were synthesized exhibiting potent inhibitory activity against GIVA cPLA $_2$ and their metabolic stability was investigated. Subsequently, and in attempting to develop new compounds capable of inhibiting PGE $_2$ production at cellular level, α -keto-benzothiazole compounds and their analogs were synthesized and studied. Among them, compounds able to inhibit the formation of PGE $_2$ in mesangial cells at a submicromolar level were identified.

SUBJECT AREA: Medicinal Chemistry, Enzyme Inhibitors

KEYWORDS: Anti-inflammatory, inhibitors, prostaglandin E_2 , synthesis, phospholipases A_2

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Καθηγητή κ. Γεώργιο Κόκοτο για την ανάθεση του θέματος, το συνεχές ενδιαφέρον και την επιστημονική καθοδήγησή του καθόλη την διάρκεια της εργαστηριακής μου έρευνας και της συγγραφής της διδακτορικής μου διατριβής.

Θα ήθελα επιπλέον να ευχαριστήσω τα μέλη της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής, την Επίκουρη Καθηγήτρια κα. Μαγκριώτη Βικτωρία και την Επίκουρη Καθηγήτρια κα. Βασιλείου Σταματία για τις εύστοχες υποδείξεις και παρατηρήσεις τους με σκοπό την ολοκλήρωση και την αρτιότερη παρουσίαση της εργασίας.

Επιπροσθέτως θα ήθελα να ευχαριστήσω και τα μέλη της επταμελούς επιτροπής για τα σχόλια και τις διορθώσεις τους.

Ευχαριστώ ιδιαιτέρως την Δρ. Μαρούλα Κόκοτου για την άριστη συνεργασία και τη βοήθειά της τόσο στην ταυτοποίηση των ενώσεων, όσο και στις μελέτες σταθερότητας σε πλάσμα με χρήση φασματογραφίας μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας. Θα ήθελα να ευχαριστήσω τη Δρ. Ευφροσύνη Μπαρμπαγιάννη για τον συμβουλευτικό χαρακτήρα που επέδειξε κατά το πειραματικό μέρος της εργασίας καθώς και τον Δρ. Δημήτριο Λημιό για την άψογη συνεργασία και τη βοήθειά του όλα αυτά τα χρόνια.

Ένα εξίσου μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω σε όλα τα παλαιά και νέα μέλη της ομάδας του κ. Γεώργιου Κόκοτου, με τα οποία είχα την ευτυχία να συνεργαστώ και να συνυπάρξω στο εργαστήριο, καθώς και σε ολόκληρη την ομάδα του κ. Χριστόφορου Κόκοτου για το υπέροχο κλίμα στο εργαστήριο.

Τέλος, ευχαριστώ ολόψυχα τη μητέρα μου και τον σύζυγό μου, Αντώνη Καμπανάκη για την ηθική συναισθηματική και οικονομική υποστήριξη που μου προσέφεραν, αποτελώντας τον σημαντικότερο παράγοντα για την μέχρι τώρα πορεία μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	23
ΦΩΣΦΟΛΙΠΑΣΕΣ A₂, ΠΡΟΣΤΑΓΛΑΝΔΙΝΗ E₂ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗ	23
1. Εισαγωγή	23
2. Φωσφολιπάσες A₂	25
2.1 Η ομάδα GIVA cPLA ₂	28
2.1.1 Δομή και δραστηριότητα GIVA cPLA ₂	28
2.1.2 Νόσοι που σχετίζονται με την GIVA cPLA ₂	30
2.2 Η ομάδα GVIA iPLA ₂	30
2.2.1 Δομή και λειτουργία της GVIA iPLA ₂	31
2.2.2 Νόσοι που σχετίζονται με την GVIA iPLA ₂	33
2.3 Αναστολείς των GIVA cPLA ₂ και GVIA iPLA ₂	34
3. Λιποξυγενάσες (LOX)	38
4. Κυκλοοξυγενάσες COX 1/2	40
5. Προσταγλανδίνες	42
5.1 Προσταγλανδίνη E ₂ (PGE ₂)	44
5.1.1 Βιοσύνθεση της PGE ₂	44
5.1.2 Υποδοχείς της PGE ₂	46
5.1.3 Ο ρόλος της PGE ₂ στην εξέλιξη της φλεγμονής.....	47
5.2 Μικροσωμική Συνθάση -1 της Προσταγλανδίνης E ₂ (mPGES-1).....	48
5.2.1. Δομή της mPGES-1	49
5.2.2 Μηχανισμός δράσης της mPGES-1	50
5.2.3 Νόσοι που σχετίζονται με την mPGES-1	52

5.2.4 Αναστολείς της mPGES-1.....	54
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2.....	62
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	62
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.....	63
ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ 2-ΟΞΟΑΜΙΔΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ.....	63
3.1 Σχεδιασμός 2-οξοαμιδίων.....	63
3.2 Σύνθεση 2-οξοαμιδίων.....	64
3.2.1 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης.....	64
3.2.2 Σύνθεση του 2-υδροξυ-3-((4-μεθοξυφαινυλο)θειο)προπανοϊκού οξέος ...	65
3.2.3 Σύνθεση του αιθυλ 4-(3-(δωδεκυλοθειο)-2-οξοπροπαναμιδο)βουτυλεστέρα	69
3.3 Μελέτη της δραστηριότητας των 2-οξοαμιδίων έναντι των PLA ₂	71
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4.....	72
ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ 2-ΟΞΟΕΣΤΕΡΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΛΟΓΩΝ.....	72
4.1 Σχεδιασμός 2-οξοεστέρων και αναλόγων.....	72
4.2 Σύνθεση 2-οξοεστέρων και αναλόγων.....	73
4.2.1 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης.....	73
4.2.2 Σύνθεση του 5-((6-(4-βουτοξυφαινυλο)-2-οξοεξανουyl)οξυ)πεντανοϊκού οξέος.....	74
4.2.3 Σύνθεση του 6-(4-βουτοξυφαινυλ)-2-οξοεξανοϊκού οξέος.....	76
4.2.4 Σύνθεση του 5-((6-(4-βουτοξυφαινυλο)-2-φθοροεξανουyl)οξυ)πεντανοϊκού οξέος.....	76
4.2.5 Σύνθεση του 5-((6-(4-βουτοξυφαινυλ)εξανουyl)οξυ)πεντανοϊκού οξέος ..	77
4.3 Μελέτη της δραστηριότητας των 2-οξοεστερικών αναλόγων έναντι των PLA ₂	78
4.4 Μελέτη σταθερότητας των 2-οξοεστερικών αναλόγων σε πλάσμα.....	79
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5.....	81

ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ ΘΕΙΑΖΟΛΥΛΟ ΚΕΤΟΝΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΤΟΥΣ	81
5.1 Σχεδιασμός θειαζόλυλο κετονών και αναλόγων τους.....	81
5.2 Σύνθεση θειαζολυλο-κετονών και αναλόγων τους.....	83
5.2.1 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης.....	83
5.2.2 Σύνθεση του θειοαιθερικού α-κετοθειαζολικού παραγώγου	85
5.2.3 Σύνθεση του αιθερικού οξαδιαζολικού παραγώγου	86
5.2.4 Σύνθεση βενζοξαζολικών παραγώγων	87
5.2.5 Σύνθεση θειοαιθερικού βενζοθειαζολικού παραγώγου	88
5.2.5 Σύνθεση των αιθερικών θειαζόλυλο κετονικών παραγώγων.....	89
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6	92
ΣΥΝΘΕΣΗ α-ΚΕΤΟ-BENZOΘΕΙΑΖΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΠΟΥ ΑΝΑΣΤΕΛΛΟΥΝ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ PGE₂ EX VIVO	92
6.1 Σχεδιασμός α-κετο-βενζοθειαζολικών ενώσεων και αναλόγων	92
6.2 Σύνθεση α-κετο-βενζοθειαζολικών ενώσεων και αναλόγων	94
6.2.1 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης.....	94
6.2.2 Σύνθεση α-κετο-βενζοθειαζολικών παραγώγων.....	95
6.2.3 Σύνθεση α-υδροξυ-βενζοθειαζολικών παραγώγων	99
6.2.4 Σύνθεση α-κετο-βενζο-ετεροκυκλικών αναλόγων του GK181.....	101
6.3 Μελέτη ex vivo της αναστολής παραγωγής PGE ₂ από α-κετο-βενζοθειαζολικές ενώσεις και ανάλογα τους.....	102
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7	105
ΣΥΝΘΕΣΗ ΑΜΙΝΟΒΕΝΖΟΘΕΙΑΖΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΠΟΥ ΑΝΑΣΤΕΛΛΟΥΝ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ PGE₂ EX VIVO.....	105
7.1 Σχεδιασμός αμινο-βενζοθειαζολικών παραγώγων	105
7.2 Σύνθεση αμινο-βενζοθειαζολικών παραγώγων	106
7.2.1 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης.....	106

7.2.2	Σύνθεση του βενοθειαζολυλο-καβοξαμινικού αναλόγου του αναστολέα GK181	107
7.2.3	Σύνθεση αμιδο-βενζοθειαζολικών αναλόγων του αναστολέα GK181	108
7.2.4	Σύνθεση των αμιδο-βενζοξαζολικών παραγώγων	109
7.2.5	Σύνθεση των 2-αμινο-βενζοθειαζολικών παραγώγων και των αντίστοιχων ημιαμιναλών	110
7.3	Μελέτη <i>ex vivo</i> της αναστολής παραγωγής PGE ₂ από αμινοβενζοθειαζολικές ενώσεις	113
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8	115
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	115
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9	116
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	116
ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ	186
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	188

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1 : Στόχοι αντιφλεγμονωδών-αναλγητικών φαρμάκων στην πορεία σηματοδότησης της PGE ₂	24
Σχήμα 2 : Η δράση της PLA ₂ σε φωσφολιπίδια και τα προϊόντα υδρόλυσής τους.....	25
Σχήμα 3 : Εικοσανοειδή που παράγονται από τον μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος.....	26
Σχήμα 4 : Οι πρώτοι αναστολείς iPLA ₂ και cPLA ₂ που αναφέρθηκαν.....	34
Σχήμα 5 : Πολυφθοροκετονικοί αναστολείς των PLA ₂	35
Σχήμα 6 : Πιο πρόσφατοι αναστολείς που περιέχουν S.....	35
Σχήμα 7 : Αναστολείς ινδολίου για την cPLA ₂	36
Σχήμα 8 : Οξοαμιδικοί αναστολείς cPLA ₂ και iPLA ₂	37
Σχήμα 9 : 2-Οξοεστερικοί αναστολείς της cPLA ₂ και iPLA ₂	37
Σχήμα 10 : Δράση Λιποξυγενασών.....	38
Σχήμα 11 : Απεικόνιση των δράσεων των COX-1,2.....	41
Σχήμα 12 : Βιοσύνθεση της PGE ₂	44
Σχήμα 13 : Προτεινόμενος καταλυτικός μηχανισμός της mPGES-1.....	51
Σχήμα 14 : Ο πρώτος συνθετικός αναστολέας mPGES-1.....	55
Σχήμα 15 : Παράγωγα φαιναθρεν-ιμιδαζολίου, διαρυλ-ιμιδαζολίου και ουρίας... ..	56
Σχήμα 16 : Παράγωγα βενζιμιδαζολίου.....	57
Σχήμα 17 : Παραδείγματα βενζαμιδικών αναστολέων.....	58
Σχήμα 18 : Βενζαμιδικά παράγωγα.....	58
Σχήμα 19 : Γνωστοί αναστολείς iPLA ₂	63

Σχήμα 20 : 2-Οξοαμίδια που σχεδιάστηκαν.....	64
Σχήμα 21 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης 2-οξοαμιδίων.....	64
Σχήμα 22 : Πετροσύνθεση θειο-αιθερικών αλκοολών.....	64
Σχήμα 23 : Σύνθεση της ένωσης 49	65
Σχήμα 24 : Σύνθεση της ένωσης 55	65
Σχήμα 25 : Σύνθεση του 2-οξοαμιδίου 57	66
Σχήμα 26 : Σύνθεση της ένωσης 63	67
Σχήμα 27 : Σύνθεση του 2-οξοαμιδίου 65	68
Σχήμα 28 : Σύνθεση της ένωσης 69	68
Σχήμα 29 : Σύνθεση του 2-οξοαμιδίου 71	69
Σχήμα 30 : Σύνθεση του 2-οξοαμιδίου 77	69
Σχήμα 31 : 2-Οξοεστερικοί αναστολείς που φέρουν ελεύθερο καρβοξύλιο	72
Σχήμα 32 : 2-Υποκατεστημένα παράγωγα με ελεύθερο καρβοξύλιο που σχεδιάστηκαν	72
Σχήμα 33 : Πετροσυνθετική πορεία 2-οξοεστέρα που φέρει ελεύθερο καρβοξύλιο.	73
Σχήμα 34 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης του 2-οξο οξέος.....	73
Σχήμα 35 : Πετροσυνθετική πορεία 2-φθορο-εστέρα που φέρει ελεύθερο καρβοξύλιο.....	73
Σχήμα 36 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης του εστέρα που φέρει ελεύθερο καρβοξύλιο.....	74
Σχήμα 37 : Σύνθεση του 2-οξοεστέρα 90	74
Σχήμα 38 : Σύνθεση του 2-οξο-οξέος 92	76
Σχήμα 39 : Σύνθεση του 2-φθορο-εστέρα 96	77

Σχήμα 40 : Σύνθεση του εστέρα 104	77
Σχήμα 41 : Γνωστοί θειαζόλυλο κετονικοί αναστολείς PLA ₂	81
Σχήμα 42 : Οξαδιαζολικά παράγωγα.....	82
Σχήμα 43 : Κετο-ετεροκυκλικά παράγωγα που σχεδιάστηκαν.....	83
Σχήμα 44 : Ρετροσυνθετική πορεία θειοαιθερικού α-κετο-θειαζολικού παραγώγου	83
Σχήμα 45 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης κετο-οξαδιαζολικού αναλόγου	84
Σχήμα 46 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης βενζοξαζολικών ενώσεων.....	84
Σχήμα 47 : Ρετροσυνθετική πορεία του θειοαιθερικού βενζοθειαζολικού παραγώγου	85
Σχήμα 48 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης αιθερικών α-κετο-θειαζολικών παραγώγων.....	85
Σχήμα 49 : Σύνθεση του κετοθειαζολικού παραγώγου 117	86
Σχήμα 50 : Σύνθεση του οξαδιαζολικού παραγώγου 125	87
Σχήμα 51 : Σύνθεση του βενζοθειαζολικού παραγώγου 128	87
Σχήμα 52 : Σύνθεση του βενζοξαζολικού παραγώγου 133	88
Σχήμα 53 : Σύνθεση του βενζοθειαζολικού παραγώγου 136	88
Σχήμα 54 : Σύνθεση του κετοθειαζολικού παραγώγου 144	89
Σχήμα 55 : Σύνθεση της ένωσης 150	90
Σχήμα 56 : Σύνθεση του θειαζόλυλο παραγώγου 153	91
Σχήμα 57 : Αναστολείς παραγωγής της PGE ₂ σε μεσεγχυματικά κύτταρα	92
Σχήμα 58 : Αναστολείς της παραγωγής PGE ₂ (αδημοσίευτα αποτελέσματα).....	93
Σχήμα 59 : α-Κετο-βενζοθειαζολικά ανάλογα που σχεδιάστηκαν για την παρούσα μελέτη	93

Σχήμα 60 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης αιθερικού βενζοθειαζολικού παραγώγου.....	94
Σχήμα 61 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης α-κετο βενζοθειαζολικών ενώσεων....	94
Σχήμα 62 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεση α-υδροξυ βενζοθειαζολικών παραγώγων.....	95
Σχήμα 63 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης βενζοξαζολικού και βενζιμιδαζολικού αναλόγου.....	95
Σχήμα 64 : Σύνθεση του αιθερικού α-κετοβενζοθειαζολικού παραγώγου 164	96
Σχήμα 65 : Σύνθεση του α-κετοβενζοθειαζολικού παραγώγου 170	96
Σχήμα 66 : Σύνθεση του α-κετοβενζοθειαζολικού παραγώγου 176	97
Σχήμα 67 : Σύνθεση του α-υδροξυβενζοθειαζολικού παραγώγου 180	99
Σχήμα 68 : Σύνθεση του α-υδροξυβενζοθειαζολικού παραγώγου 185	99
Σχήμα 69 : Σύνθεση του α-κετοβενζοξαλικού παραγώγου 188	102
Σχήμα 70 : Σύνθεση του α-κετοβενζιμιδαζολικού παραγώγου 190	102
Σχήμα 71 : Αναστολείς παραγωγής PGE ₂ <i>ex vivo</i>	105
Σχήμα 72 : Αμινοβενζοθειαζολικά παράγωγα που σχεδιάστηκαν στην παρούσα διατριβή.....	105
Σχήμα 73 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης αμιδικού παραγώγου.....	106
Σχήμα 74 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης αμιδικών παραγώγων.....	106
Σχήμα 75 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης αμινο-βενζοθειαζολικών ενώσεων και αμινο-ακεταλών.....	107
Σχήμα 76 : Σύνθεση του οξέος 192	107
Σχήμα 77 : Σύνθεση της αμίνης 196	107
Σχήμα 78 : Σύνθεση του παραγώγου 197	108
Σχήμα 79 : Σύνθεση του παραγώγου 201	108

Σχήμα 80 : Σύνθεση του παραγώγου 202	109
Σχήμα 81 : Σύνθεση του παραγώγου 203	109
Σχήμα 82 : Σύνθεση του παραγώγου 204	109
Σχήμα 83 : Σύνθεση του παραγώγου 205	109
Σχήμα 84 : Σύνθεση του παραγώγου 206	110
Σχήμα 85 : Σύνθεση του παραγώγου 208	110
Σχήμα 86 : Σύνθεση του παραγώγου 211	112
Σχήμα 87 : Σύνθεση του παραγώγου 216	112

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1 : Κρυσταλλική δομή της GIVA cPLA ₂	29
Εικόνα 2 : Σχηματική απεικόνιση του μονομερούς της GVIA iPLA ₂	31
Εικόνα 3 : Κρυσταλλική δομή του διμερούς της GVIA iPLA ₂	32
Εικόνα 4 : Μοντέλο του μηχανισμού της εξαρτώμενης από τη συγκέντρωση δραστηρότητας δύο φάσεων του AA, που εμπλέκονται στη ρύθμιση της φλεγμονής των ιστών και της υποχώρησής της.....	47
Εικόνα 5: Γενική δομή της mPGES-1.....	49
Εικόνα 6 : Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 57 σε CDCl ₃ , στα 200 MHz.....	66
Εικόνα 7: Φάσμα ¹³ C NMR της ένωσης 57 σε CDCl ₃ , στα 50 MHz.....	67
Εικόνα 8 : Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 77 σε CDCl ₃ , στα 200 MHz.....	70
Εικόνα 9 : Φάσμα ¹³ C NMR της ένωσης 77 σε CDCl ₃ , στα 50 MHz.....	70
Εικόνα 10 : Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 90 σε CDCl ₃ , στα 200 MHz.....	75
Εικόνα 11: Φάσμα ¹³ C NMR της ένωσης 90 σε CDCl ₃ , στα 50 MHz.....	76
Εικόνα 12 : Χρονοεξαρτώμενη μείωση των ενώσεων 90 (GK504) και 104 (GK505) σε ανθρώπινο πλάσμα.....	79
Εικόνα 13 : Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 176 σε CDCl ₃ , στα 200 MHz.....	98
Εικόνα 14 : Φάσμα ¹³ C NMR της ένωσης 176 σε CDCl ₃ , στα 50 MHz.....	98
Εικόνα 15: Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 185 σε CDCl ₃ , στα 200 MHz.....	100
Εικόνα 16 : Φάσμα ¹³ C NMR της ένωσης 185 σε CDCl ₃ , στα 50 MHz.....	101
Εικόνα 17 : Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 208 σε CDCl ₃ , στα 200 MHz.....	111
Εικόνα 18 : Φάσμα ¹³ C NMR της ένωσης 208 σε CDCl ₃ , στα 50 MHz.....	111
Εικόνα 19 : Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 216 σε CDCl ₃ , στα 200 MHz.....	113
Εικόνα 20 : Φάσμα ¹³ C NMR της ένωσης 216 σε CDCl ₃ , στα 50 MHz.....	114

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Η υπεροικογένεια των φωσφολιπασών A_2	27
Πίνακας 2 : <i>In vitro</i> ανασταλτική ισχύς 2-οξοαμιδίων έναντι στις PLA_2	71
Πίνακας 3 : <i>In vitro</i> ανασταλτική ισχύς 2-οξοεστερικών αναλόγων έναντι στις PLA_2	78
Πίνακας 4 : Επιλεγμένα αποτελέσματα αναστολής PLA_2 από κετο-ετεροκυκλικές ενώσεις ²²²	82
Πίνακας 5: Αποτελέσματα <i>ex vivo</i> μελετών των βενζοθειαζολικών ενώσεων για την αναστολή παραγωγής PGE_2 σε συγκέντρωση 3 μM	103
Πίνακας 6: Αποτελέσματα <i>ex vivo</i> μελετών των αμινοβενζοθειαζολικών ενώσεων για την αναστολή παραγωγής PGE_2 σε συγκέντρωση 3 μM	114

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε από το Φεβρουάριο του 2014 έως τον Ιούλιο του 2018 στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Τμήματος Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, υπό την επίβλεψη του Καθηγητή κ. Γεώργιου Κόκοτου.

Ευχαριστώ θερμά το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών για την υποτροφία που μου χορήγησε από τις 15/05/2017 έως και τις 15/05/2018. Η διδακτορική διατριβή υλοποιήθηκε με την υποτροφία που χρηματοδοτήθηκε από την Πράξη «Πρόγραμμα χορήγησης υποτροφιών για μεταπτυχιακές σπουδές δεύτερου κύκλου σπουδών» από πόρους του ΕΠ «Ανάπτυξη Ανθρώπινου Δυναμικού, Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» 2014 – 2020 με τη συγχρηματοδότηση του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου (Ε. Κ. Τ.) και του Ελληνικού Δημοσίου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΦΩΣΦΟΛΙΠΑΣΕΣ A₂, ΠΡΟΣΤΑΓΛΑΝΔΙΝΗ E₂ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗ

1. Εισαγωγή

Η φλεγμονή αποτελεί μέρος της ανοσολογικής απόκρισης του οργανισμού, είναι ένας προστατευτικός μηχανισμός που στοχεύει στην απομάκρυνση επιβλαβών παραγόντων ή ερεθισμάτων ώστε να ξεκινήσει η διαδικασία της επούλωσης ¹. Ουσιαστικά, αποτελεί την απάντηση του ανοσοποιητικού συστήματος στις λοιμώξεις και τους τραυματισμούς και έχει εμπλακεί σε παθολογίες όπως η αρθρίτιδα, ο καρκίνος, το ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο, καθώς και σε νευροεκφυλιστικές και καρδιαγγειακές παθήσεις. Η φλεγμονή είναι ένα εγγενώς ευεργετικό γεγονός που οδηγεί στην απομάκρυνση των επιβλαβών παραγόντων και στην αποκατάσταση της δομής των ιστών και της φυσιολογικής λειτουργίας. Η οξεία φάση της φλεγμονής χαρακτηρίζεται από αγγειοδιαστολή και αύξηση της ροής του αίματος με σκοπό την ταχεία εισροή κοκκιοκυττάρων αίματος, τυπικά ουδετερόφιλων, ακολουθούμενη από μονοκύτταρα που ωριμάζουν σε φλεγμονώδη μακροφάγα. Αυτή η διαδικασία προκαλεί τα κλινικά σημεία της οξείας φλεγμονής που είναι η υπεραιμία (ερυθρότητα), υπερθερμία (πυρετός), το οίδημα (πρήξιμο) και το άλγος (πόνος). Μόλις απομακρυνθεί το αρχικό βλαβερό ερέθισμα μέσω της φαγοκυττάρωσης, η φλεγμονώδης αντίδραση μπορεί να μειωθεί και τελικώς να ανασταλεί. Κατά την υποχώρηση της φλεγμονής, τα κοκκιοκύτταρα απομακρύνονται, ενώ τα μακροφάγα και τα λεμφοκύτταρα επιστρέφουν στους κανονικούς, προ-φλεγμονής αριθμούς και φαινοτύπους. Η συνηθισμένη έκβαση της οξείας φλεγμονώδους απόκρισης είναι η επιτυχής αντιμετώπιση της λοίμωξης ή του τραύματος και η επιδιόρθωση της βλάβης των ιστών, σε αντίθεση με τη χρόνια φλεγμονή, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε μόνιμες διαταραχές ². Επομένως, μπορεί να αναμένεται ότι η αποτυχία να υποχωρήσει η οξεία φλεγμονή μπορεί να προκαλέσει αυτοάνοσες, χρόνιες δυσπλαστικές ασθένειες ³.

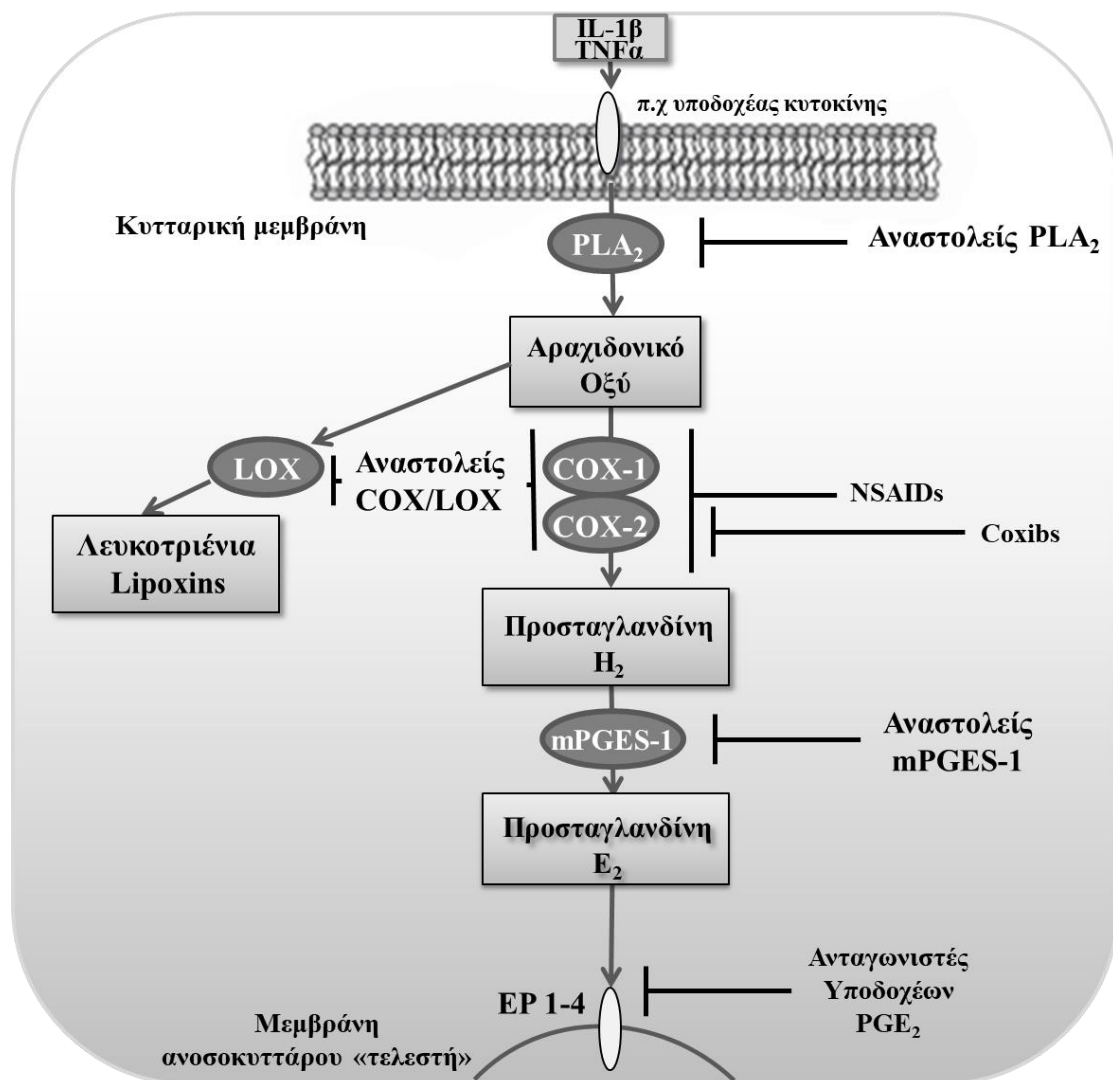
Η φλεγμονή είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη πολλών σύνθετων ασθενειών και διαταραχών που περιλαμβάνουν αυτοάνοσα νοσήματα, μεταβολικά σύνδρομα, νευροεκφυλιστικές και καρδιαγγειακές ασθένειες, όπως και διαφόρων ειδών καρκίνους. Η οξεία φλεγμονή, αποτελεί μία αυτορυθμιζόμενη μορφή, ενώ η χρόνια, ορίζεται ως μη ρυθμιζόμενη μορφή φλεγμονής. Λόγω του ιδιαίτερου ρόλου της στις προαναφερθείσες ασθένειες, η καθιέρωση μεθόδων για τον έλεγχο της χρόνιας φλεγμονής είναι σημαντική για την ανάπτυξη θεραπειών κατά διάφορων ασθενειών και διαταραχών ⁴.

Οι προσταγλανδίνες (PGs) παίζουν βασικό ρόλο στην εκκίνηση της φλεγμονώδους αντίδρασης, στην εξέλιξη και την υποχώρησή της. Η βιοσύνθεσή τους αυξάνεται σημαντικά στον υπό φλεγμονή ιστό και συμβάλλουν στην ανάπτυξη των κλινικών συμπτωμάτων της οξείας φλεγμονής. Ενώ οι προ-φλεγμονώδεις ιδιότητες

των μεμονωμένων προσταγλανδινών κατά τη διάρκεια της οξείας φλεγμονώδους απόκρισης είναι καλά καθορισμένες, ο ρόλος τους στην υποχώρηση της φλεγμονής είναι αμφιλεγόμενος³.

Η βιοσύνθεση των προσταγλανδινών ξεκινά όταν το αραχιδονικό οξύ (AA), ένα ακόρεστο λιπαρό οξύ, 20 ατόμων άνθρακα, απελευθερώνεται από την κυτταρική μεμβράνη από τις φωσφολιπάσες (PLA) και μεταβολίζεται με τις διαδοχικές δράσεις της κυκλοοξυγενασών (COX) και των αντίστοιχων συνθασών.

Για τους λόγους αυτούς έχουν καταβληθεί μεγάλες προσπάθειες τις τελευταίες δεκαετίες για να βρεθούν τρόποι καταπολέμησης της φλεγμονής και αποτελεσματικά φάρμακα για το σκοπό αυτό. Ένα αποτελεσματικό αντιφλεγμονώδες φάρμακο θα πρέπει να είναι σε θέση να αναστέλλει την επαγωγή της φλεγμονής χωρίς παρεμβολές στη φυσιολογική ομοιόσταση⁵. Τα αντιφλεγμονώδη φάρμακα που έχουν μέχρι στιγμής αναπτυχθεί, ουσιαστικά αποτελούν αναστολείς ενζύμων, μεσολαβητών στον μηχανισμό εκδήλωσης της φλεγμονής, οι κύριες κατηγορίες των οποίων συνοψίζονται στο σχήμα που ακολουθεί.

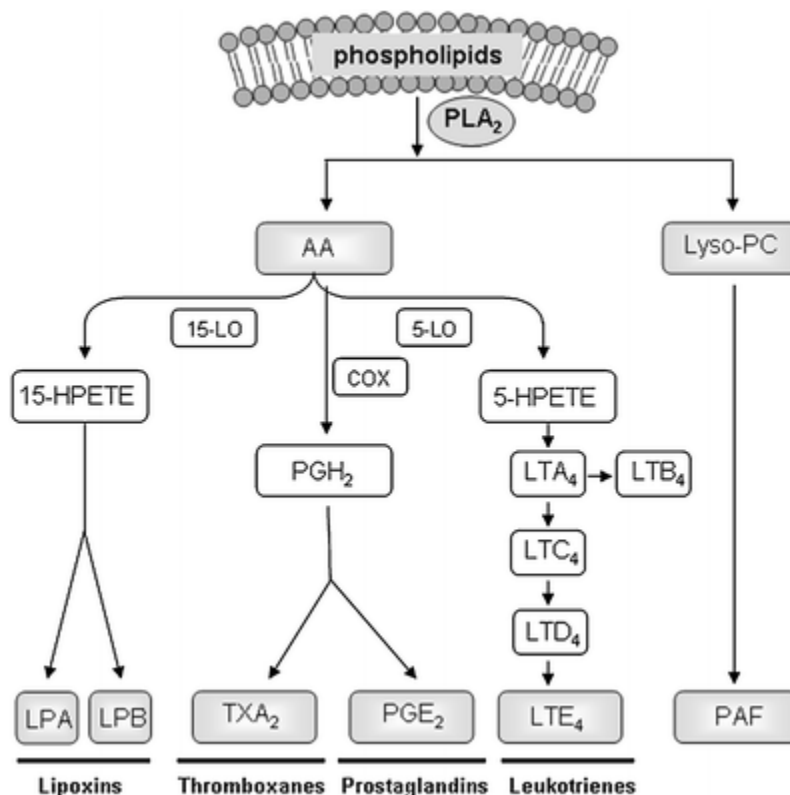


Σχήμα 1 : Στόχοι αντιφλεγμονωδών-αναλγητικών φαρμάκων στην πορεία σηματοδότησης της PGE₂

διαδικασία της φλεγμονής, στη φυσιολογία διαφόρων ασθενειών, όπως η ανάπτυξη καρκίνου, οι καρκινικές μεταστάσεις και οι καρδιακές διαταραχές.

Σε βάθος αρκετών δεκαετιών, πλήθος διαφορετικών φωσφολιπασών A_2 έχει απομονωθεί, χαρακτηριστεί, κλωνοποιηθεί και ταξινομηθεί σε έξι κύριες κατηγορίες βάσει του καταλυτικού μηχανισμού, των λειτουργικών και δομικών χαρακτηριστικών τους (μοριακό βάρος, αλληλουχία) και την εξάρτηση ή μη από τα ιόντα Ca^{2+} . Έτσι λοιπόν οι PLA_2 διακρίνονται ως εξής: στις εκκριτικές ($sPLA_2$), τις κυτοσολικές ($cPLA_2$), τις ανεξάρτητες ιόντων Ca^{2+} ($iPLA_2$), τις ακετυλοϋδρολάσες του παράγοντα ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (PAF-AH), τις λυσοσωμικές ($LPLA_2$) και τις φωσφολιπάσες AdPLA, όπως φαίνεται στον **Πίνακα 1**^{7,8}.

Οι PAF ακετυλοϋδρολάσες περιλαμβάνουν ένζυμα που υδρολύουν οξειδωμένα λιπίδια (έως 9 ατόμων άνθρακα) από διακυλογλυκερόλες και τριακυλογλυκερόλες ($LpPLA_2$) και ένζυμα που υδρολύουν την ακετυλομάδα της sn-2 θέσης του PAF (PAF-AH II). Τα ένζυμα αυτά περιέχουν την καταλυτική τριάδα Ser/His/Asp χωρίς να εξαρτώνται από την συγκέντρωση ιόντων Ca^{2+} . Οι PAF ακετυλοϋδρολάσες φαίνεται να συνδέονται με το άσθμα και αλλεργικές αντιδράσεις, όπως το αναφυλακτικό σοκ⁹, ενώ συγκεκριμένα η $LpPLA_2$ αποτελεί δείκτη εμφάνισης στεφανιαίας νόσου¹⁰.



Σχήμα 3 : Εικοσανοειδή που παράγονται από τον μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος

Η λυσοσωμική φωσφολιπάση A₂ (LPLA₂) είναι εκκρινόμενη ακυλοτρανσφεράση που μεταφέρει ένα λιπαρό οξύ κατά προτίμηση από τη θέση *sn*-2 των γλυκεροφωσφολιπιδίων σε λιπόφιλες αλκοόλες. Φέρει στο ενεργό της κέντρο μία καταλυτική τριάδα Ser/Asp/His, ενώ έχει συσχετιστεί με τον ερυθματώδη λύκο και την ανοσοαπόκριση κατά τη μόλυνση από μυκοβακτηρίδια ¹¹.

Οι sPLA₂ είναι εκκρινόμενες πρωτεΐνες μικρού μοριακού βάρους (14-18 kDa) που συνήθως περιέχουν 6-8 δισουλφιδικούς δεσμούς. Στο ενεργό τους κέντρο περιέχουν μία δυάδα His-Asp και απαιτούν συγκέντρωση ασβεστίου της τάξης των mM για την καταλυτική τους δραστηριότητα. Εμφανίζουν μια πληθώρα κυτταρικών λειτουργιών, ενώ εμπλέκονται στην εκδήλωση διαφόρων ασθενειών, όπως η αθηροσκλήρωση, φλεγμονώδεις παθήσεις όπως εκείνες του εντέρου ή του αναπνευστικού στρες και αυτοάνοσα νοσήματα, όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα και το άσθμα ¹².

Πίνακας 1: Η υπερικογένεια των φωσφολιπασών A₂.

Κατηγορία	Ομάδα	Υποομάδα	Μοριακή βάρους (kDa)	Καταλυτικός μηχανισμός
sPLA ₂	GI	A, B	13-15	His/Asp
	GII	A, B, C, D, E, F	13-17	
	GIII		15-18	
	GV		14	
	GIX		14	
	GX		14	
	GXI	A, B	12-13	
	GXII	A, B	19	
	GXIII		<10	
	GXIV		13-19	
cPLA ₂	GIV	A(α), B(β), C(γ), D(δ), E(ε), F(ζ)	60-114	Ser/Asp
iPLA ₂	GVI	A(β), B(γ), C(δ), D(ε), E(ζ), F(η)	84-90	Ser/Asp
PAF-AH	GVII	A(Lp-PLA ₂), B(PAF-AH II)	40-45	Ser/His/Asp
LpLA ₂	GVIII	A(α ₁), B(α ₂), β	26-40	Ser/His/Asp
	GXV		45	
AdPLA	GXVI		18	His/Cys

Οι iPLA₂ είναι ένζυμα ανεξάρτητα ιόντων ασβεστίου, τα οποία χρησιμοποιούν μια καταλυτική δυάδα Ser-Asp στο ενεργό τους κέντρο. Ο ρόλος των iPLA₂ στη διαδικασία της φλεγμονής δεν είναι απόλυτα ξεκάθαρος, ωστόσο φαίνεται ότι το ένζυμο αυτό είναι η βασική PLA₂ για όλες τις μεταβολικές λειτουργίες εντός του κυττάρου, συμπεριλαμβανομένης της μεμβρανικής ομοίωσης και της ρύθμισης του καναλιού ιόντων ασβεστίου ¹³.

Οι κυτοσολικές φωσφολιπάσες cPLA₂ είναι μεγάλες πρωτεΐνες με μεταβλητά μεγέθη (61-114 kDa), το καταλυτικό κέντρο των οποίων περιλαμβάνει την δυάδα Ser/Asp και απαιτούν παρουσία ιόντων Ca²⁺ για τη μεταφορά τους στις ενδοκυτταρικές μεμβράνες. Εμφανίζουν επίσης ιδιότητες λυσοφωσφολιπάσης και τρανσακυλάσης, ενώ φέρονται να εμπλέκονται σε φλεγμονώδεις εντερικές διαταραχές, το πνευμονικό οίδημα, το ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο όπως και στη διαδικασία του τοκετού¹⁴.

Σύμφωνα με τα όσα αναφέρθηκαν παραπάνω, η δράση των φωσφολιπασών θεωρείται ότι είναι σημαντική στην καταπολέμηση διαφόρων παθήσεων και ως εκ τούτου ο ρόλος των PLA₂ στα βιολογικά συστήματα είναι πολύ σημαντικός. Επιπλέον, παθολογικά αίτια μπορούν να οδηγήσουν στην υπερέκφραση των ενζύμων αυτών και ως απόρροια, στην επιζήμια λειτουργία τους. Για τον λόγο αυτό, κρίνεται απαραίτητη η σύνθεση εκλεκτικών και αντιστρεπτών αναστολέων των διαφόρων ομάδων PLA₂.

2.1 Η ομάδα GIVA cPLA₂

Η κυτοσολική φωσφολιπάση A₂ (GIVA cPLA₂) είναι η μόνη PLA₂ που παρουσιάζει έντονη προτίμηση για την υδρόλυση φωσφολιπιδικών υποστρωμάτων που περιέχουν αραχιδονικό οξύ, απελευθερώνοντας ελεύθερο αραχιδονικό οξύ και λυσοφωσφολιπίδια. Παρόλο που δεν χρησιμοποιούν ιόντα Ca²⁺ στον καταλυτικό τους μηχανισμό, υπομικρομοριακές συγκεντρώσεις ιόντων Ca²⁺ απαιτούνται για τη δέσμευση τους στη μεμβράνη^{7,15}.

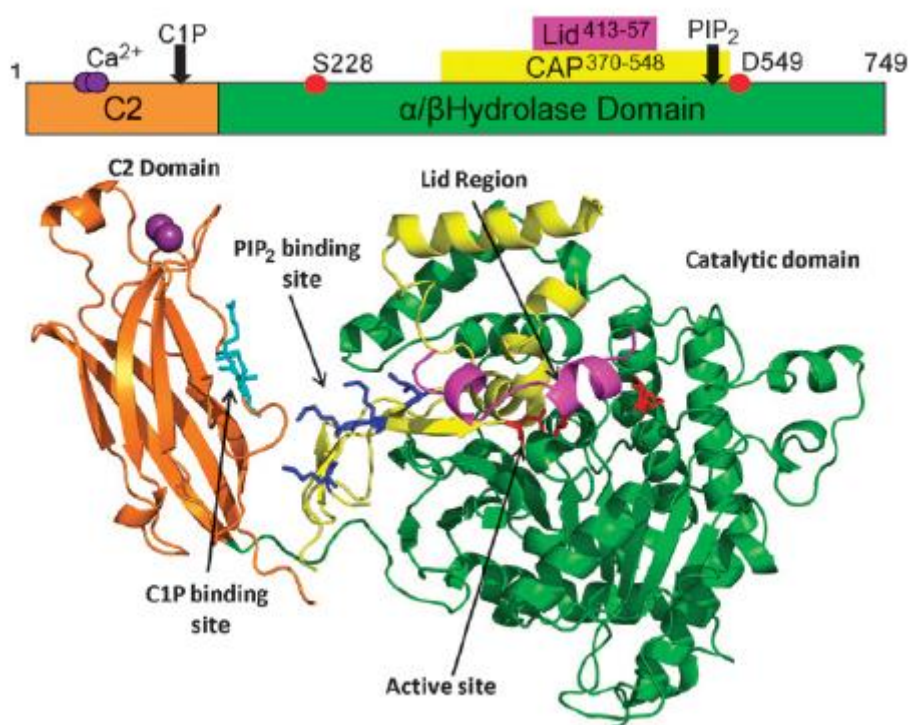
2.1.1 Δομή και δραστηριότητα GIVA cPLA₂

Η GIVA cPLA₂ αποτελεί την πιο μελετημένη cPLA₂. Το ενεργό της κέντρο αποτελείται από την καταλυτική δυάδα Ser/Asp, ενώ απαραίτητη είναι και η παρουσία ιόντων Ca²⁺ για την πρόσδεσή της στην κυτταρική μεμβράνη¹⁶. Επιπλέον, είναι η μόνη PLA₂ με προτίμηση για το αραχιδονικό οξύ στη θέση sn-2 των φωσφολιπιδίων⁷. Η GIVA PLA₂ έχει τόσο δράση λυσοφωσφολιπάσης, όπως και δράση τρανσακυλάσης^{17,18}. Η κρυσταλλική της δομή περιγράφηκε το 1999 από την επιστημονική ομάδα της Dessen, η οποία αποτελείται από δύο ελλειψοειδή τμήματα, όπως φαίνεται στην **Εικόνα 1**¹⁹. Η N-τελική περιοχή του ενζύμου αποτελείται από 8 αντιπαράλληλες β-πτυχώσεις που αλληλοσυνδέονται με 6 βρόγχους. Επιπλέον, δύο ιόντα Ca²⁺ προσδέονται στη μια άκρη της C2 περιοχής μέσω μιας Asn και ενός Asp. Ένα μικρό πεπτίδιο αποτελεί τον σύνδεσμο μεταξύ της C2 περιοχής και της καταλυτικής περιοχής.

Ο κεντρικός πυρήνας της καταλυτικής περιοχής περιλαμβάνει ένα β-φύλλο 10 κλώνων και 9 α-έλικες. Οι πρώτοι 8 β-κλώνοι είναι συνεχόμενοι, αλλά ο αντίστοιχος β9 απέχει 180 αμινοξέα από τον κεντρικό πυρήνα δημιουργώντας το λεγόμενο «κάλυμμα» της καταλυτικής περιοχής. Ακόμη τα αμινοξέα 413 – 457 συνιστούν το

«βλέφαρο», μια ευκίνητη δηλαδή περιοχή, η οποία μετακινείται κατά την ενεργοποίηση του ενζύμου.

Στο ενεργό κέντρο του ενζύμου βρίσκεται η Ser228 και το Asp549 που αποτελούν την καταλυτική του δυάδα. Έχει προταθεί ακόμη ότι η Arg200 επηρεάζει σημαντικά την καταλυτική δράση του ενζύμου, αφού σύμφωνα με πειράματα η έλλειψη αυτού του αμινοξέος οδηγεί σε πολύ χαμηλή δραστηριότητα της cPLA₂²⁰. Λαμβάνοντας όμως υπόψη ότι η Arg200 βρίσκεται μακριά από το καταλυτικό κέντρο διαπιστώνουμε ότι ο ρόλος της πιθανόν να περιορίζεται στην πρόσδεση των φορτισμένων περιοχών του φωσφολιπιδικού υποστρώματος.



Εικόνα 1 : Κρυσταλλική δομή της GIVA cPLA₂. Η C2 περιοχή εμφανίζεται με πορτοκαλί χρώμα και τα ιόντα Ca²⁺ με μωβ χρώμα. Η καταλυτική περιοχή φαίνεται στα δεξιά. Με κόκκινο χρώμα τονίζονται τα καταλυτικά αμινοξέα Ser228, Asp549, Arg200, ενώ τα σημεία πρόσδεσης της C1P και PIP₂ τονίζονται με γαλάζιο και σκούρο μπλε χρώμα αντίστοιχα.

Το ένζυμο αυτό ενεργοποιείται με πολλούς διαφορετικούς μηχανισμούς. Ένας προτεινόμενος μηχανισμός δράσης του ενζύμου, βασισμένος στην πρόσδεση της 4,5-διφωσφορικής φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης (PIP₂) ως αγγελιοφόρου, υποδεικνύει ότι τόσο η μετακίνηση του «βλεφάρου», η οποία επάγεται από την αύξηση της συγκέντρωσης των Ca²⁺, όσο και η εσωτερική πρόσδεση της PIP₂ οδηγούν στην έκθεση υδροφοβικών αμινοξέων στο χείλος του ενεργού κέντρου, τα οποία διεισδύουν μερικώς στον υδροφοβικό πυρήνα της μεμβράνης και με τον τρόπο αυτό, ένα μόριο υποστρώματος εισέρχεται στο ενεργό κέντρο και υφίσταται μετατροπή²¹. Η πρόσδεση του ενζύμου στη μεμβράνη γίνεται μέσω μετατόπισης της περιοχής C2, η οποία εξαρτάται από ιόντα Ca²⁺, ενώ έχει επίσης εντοπιστεί και η επιφάνεια δέσμευσης των λιπιδίων στο ένζυμο, παρουσία Ca²⁺^{22,23}.

2.1.2 Νόσοι που σχετίζονται με την GIVA cPLA₂

Η κυτοσολική φωσφολιπάση A₂, πέρα από τη συμμετοχή της στη διαδικασία πρόκλησης της φλεγμονής, φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο και στη μεταγωγή σήματος του πόνου²⁴. Επιπλέον μελέτες έχουν συσχετίσει τον βιολογικό ρόλο της GIVA cPLA₂ με την φυσιολογία του εγκεφάλου. Σύμφωνα με έρευνες, η cPLA₂ φαίνεται να εμπλέκεται τόσο στη διάσπαση της μυελίνης και τον αξονικό εκφυλισμό έπειτα από τραυματισμό των ισχιακών νεύρων όσο και στη δράση των φαγοκυττάρων στα περιφερειακά νεύρα κατά την εκφύλιση Wallerian²⁵. Μία σειρά μελετών υποδεικνύουν επίσης την cPLA₂ ως εμπλεκόμενο ένζυμο στην εγκεφαλική ισχαιμία και τη χρήση αναστολέων της για την αντιμετώπιση της εν λόγω παθολογικής κατάστασης. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η cPLA₂ συμβάλλει στους νευροεκφυλιστικούς μηχανισμούς της νόσου Alzheimer και θα μπορούσε να αποτελέσει θεραπευτικό μέσο για την αντιμετώπιση της^{26, 27}. Έπειτα από μελέτες σε πειραματικά μοντέλα της νόσου Parkinson έχει παρατηρηθεί αύξηση των επιπέδων της cPLA₂ στις αλλοιωμένες περιοχές του εγκεφάλου²⁸. Αυξημένα επίπεδα της cPLA₂, μεταξύ άλλων ενζύμων που σχετίζονται με την εκδήλωση της φλεγμονής, έχουν επίσης παρατηρηθεί σε ασθενείς που πάσχουν από διπολική διαταραχή²⁹ και σχιζοφρένεια³⁰. Η cPLA₂ φαίνεται να διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην εμφάνιση και εξέλιξη της πειραματικής αυτοάνοσης εγκεφαλομυελίτιδας (EAE), μιας εκφυλιστικής απομυελωτικής νόσου του κεντρικού νευρικού συστήματος, η οποία μελετάται ως πειραματικό μοντέλο της σκλήρυνσης κατά πλάκας στα ζώα^{31, 32}. Ακόμη, η κυτοσολική φωσφολιπάση A₂ φαίνεται να συμμετέχει στην παθοφυσιολογία και άλλων αυτοάνοσων ασθενειών όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα³³.

Τέλος, η GIVA cPLA₂ έχει συνδεθεί και με την παθογένεση του καρκίνου καθώς αρκετές μελέτες έχουν καταγράψει μεταβολές στα επίπεδα και στη λειτουργική δραστηριότητά της κατά την εμφάνιση κακοήθειας. Η GIVA cPLA₂, φαίνεται από μελέτες να συμμετέχει στην εντερική ογκογένεση³⁴ και στην ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων σε περιπτώσεις καρκίνου του μαστού³⁵.

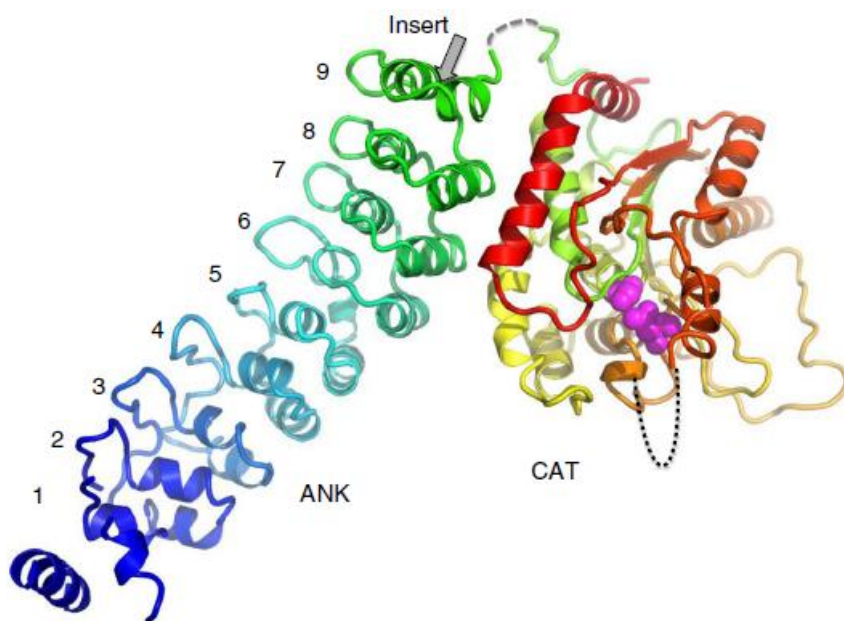
2.2 Η ομάδα GVIA iPLA₂

Η GVIA iPLA₂ (ή αλλιώς iPLA₂β) εμφανίζει αρκετά ειδικά χαρακτηριστικά, όπως η ανεξάρτητη ιόντων Ca²⁺ δραστηριότητα, η προτίμηση για πλασμαλογόνα φωσφολιπίδια (plasmalogens, φέρουν αιθερικό δεσμό στην sn-1 θέση μιας αλκένυλο ομάδας) με εστέρες του AA στη sn-2 θέση, η αλληλεπίδραση με ATP³⁶ και η αναστολή της από την καλμοδουλίνη (CaM) παρουσία ιόντων Ca²⁺³⁷. Οι μηχανισμοί δράσης της στις διαφορετικές πορείες σηματοδότησης όπως και ο ρόλος της στην παθογένεια παραμένουν ελάχιστα κατανοητοί. Για την κατανόηση των διαφόρων λειτουργιών της iPLA₂β απαιτείται ο προσδιορισμός του χρονικού και χωρικού εντοπισμού της, που κατά πάσα πιθανότητα καθορίζονται από αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης που δεν έχουν μέχρι σήμερα διαλευκανθεί.

2.2.1 Δομή και λειτουργία της GVIA iPLA₂

Η κρυσταλλική δομή της iPLA₂β, δημοσιεύτηκε πολύ πρόσφατα (Φεβρουάριος 2018) από την ομάδα του Korolev και έχει αποκαλύψει αρκετά απροσδόκητα χαρακτηριστικά που αποτελούν τη βάση για την επεξήγηση της ενζυμικής δράσης και των μηχανισμών λειτουργίας της³⁸.

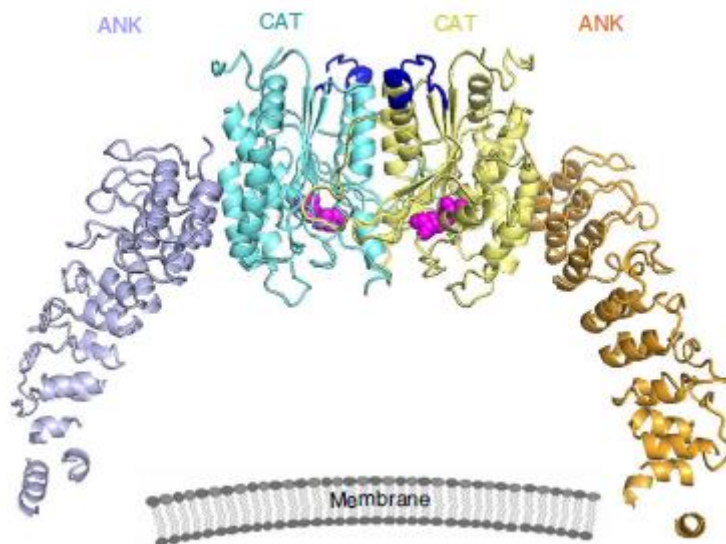
Περισσότερο από το ήμισυ της δομής της iPLA₂β αποτελείται από περιοχές και μοτίβα που θεωρείται ότι συμμετέχουν σε αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών με άλλες πρωτεΐνες. Η αλληλουχία μπορεί να διαιρεθεί σε τρία τμήματα: το N-τελικό τμήμα, μία περιοχή αντιπαράλληλων αναδιπλούμενων α-ελίκων (ANK) που χαρακτηρίζεται από 9 επαναλαμβανόμενες αγκυρίνες (AR) και την καταλυτική περιοχή (CAT)³⁹. Η υδρόλυση λιπιδίων εκτελείται από την καταλυτική διάδα Ser-Asp σε στενή χωρική εγγύτητα με μία πλούσια σε γλυκίνη περιοχή. Η AR είναι ένα μοτίβο 33 αμινοξέων που αποτελείται από μια δομή έλικας-στροφής-έλικας, ακολουθούμενη από έναν βρόχο τύπου φουρκέτας που σχηματίζει μια σταθερή δομή σχήματος L. Οι ARs βρίσκονται σε χιλιάδες πρωτεΐνες και έχουν εξελιχθεί σε ένα εξειδικευμένο δομικό χαρακτηριστικό για την αναγνώριση των πρωτεϊνών και συνιστούν περιοχές των ενζύμων που σχετίζονται με μηχανισμούς εξειδικευμένης πρόσδεσης (binding specificity) και πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων⁴⁰. Σε διαφορετικές πρωτεΐνες, 4 έως 24 ARs μπορούν να στοιχίζονται δίπλα-δίπλα σχηματίζοντας επιμήκεις γραμμικές δομές. Πέντε καθορισμένα αμινοξέα σχηματίζουν έναν υδρόφοβο πυρήνα που συγκρατεί μαζί τις ελικοειδείς επαναλήψεις. Τα υπόλοιπα αμινοξέα μπορούν να είναι μεταβλητά, αλλά η τρισδιάστατη δομή της AR διατηρείται.



Εικόνα 2 : Σχηματική απεικόνιση του μονομερούς της GVIA iPLA₂. Το N-τελικό άκρο εμφανίζεται με μπλε χρώμα και το C-τελικό άκρο με κόκκινο χρώμα. Η καταλυτική διάδα εμφανίζεται ως φούξια σφαίρα. Η θέση του αδόμητου βρόχου μεταξύ των περιοχών ANK και CAT υποδεικνύεται από τη διακεκομμένη γκριζα γραμμή και του βρόχου αλληλεπίδρασης με τη μεμβράνη από τη μαύρη διακεκομμένη γραμμή. Η θέση της πλούσιας σε προλίνη περιοχής φαίνεται από το γκρι βέλος.

Η $iPLA_2\beta$ στερείται διαμεμβρανικών περιοχών, αλλά είναι πλούσια σε μοτίβα που σχετίζονται με πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις. Αυτά, εκτός από την ANK περιοχή, περιλαμβάνουν και ένα πλούσιο σε προλίνη, βρόχο, 54 αμινοξέων, που ενώνει τις δύο έλικες της AR_9 και που μπορεί να αλληλεπιδρά με άλλες πρωτεΐνες. Ένας αδόμητος βρόχος συνδέει τις περιοχές ANK και CAT, ενώ ταυτόχρονα επιτρέπει την αλλαγή του προσανατολισμού της ANK, μεταβάλλοντας έτσι τη διαμόρφωση του ενζύμου. Τέλος η πρόσδεση κι η αλληλεπίδραση με τη μεμβράνη, δεν λαμβάνει χώρα στην ANK περιοχή, όπως αναμενόταν, αλλά στην CAT περιοχή (**Εικόνα 2**).

Η πρωτεΐνη σχηματίζει ένα σταθερό διμερές (**Εικόνα 3**) στο οποίο μεσολαβούν οι CAT περιοχές με τα δύο ενεργά σε στενή χωρική εγγύτητα, ώστε να μπορούν να αλληλεπιδρούν συνεργατικά για να επιτελούν τρανσακυλίωσεις ή άλλες πιθανές αντιδράσεις μεταφοράς. Η δομή προτείνει έναν αλλοστερικό μηχανισμό αναστολής από την καλμοδουλίνη (CaM) όπου ένα μόριο CaM αλληλεπιδρά με τις δύο CAT περιοχές του διμερούς, μεταβάλλοντας τη διαμόρφωση της διεπιφάνειας του διμερούς και των ενεργών κέντρων. Προηγούμενες μελέτες υπολογιστικών μοντέλων, πρότειναν έναν μηχανισμό διεπιφανειακής ενεργοποίησης κατά την οποία, η αλληλεπίδραση με τη μεμβράνη οδηγεί στο άνοιγμα ενός κλειστού ενεργού κέντρου⁴¹. Στην κρυσταλλική δομή της $iPLA_2\beta$, το ενεργό κέντρο υιοθετεί μία ανοικτή διαμόρφωση απουσία αλληλεπίδρασης με τη μεμβράνη. Και οι δύο δραστικές θέσεις του διμερούς είναι ευρέως ανοικτές και παρέχουν αρκετό χώρο για την πρόσβαση των φωσφολιπιδίων στα καταλυτικά κέντρα. Μία ανοικτή διαμόρφωση της δραστικής θέσης εξηγεί την ικανότητα της $iPLA_2\beta$ να υδρολύει αποτελεσματικά τα μονομερή υποστρώματα³⁷ και την έλλειψη μιας ισχυρής διεπιφανειακής ενεργοποίησης, όπως παρατηρήθηκε με τη $cPLA_2$, όπου η δέσμευση της μεμβράνης αυξάνει τη δραστηριότητα αρκετές τάξεις μεγέθους²³.



Εικόνα 3 : Κρυσταλλική δομή του διμερούς της GVIA $iPLA_2\beta$. Η σχηματική απεικόνιση της μεμβράνης παρουσιάζει τον προσανατολισμό της επιφάνειας πρόσδεσής της με το διμερές της $iPLA_2\beta$. Οι περιοχές CAT και ANK ενός διμερούς παρουσιάζονται με γαλάζιο και μωβ αντίστοιχα, στο μονομερές A και με κίτρινο και πορτοκαλί στο μονομερές B. Υποθετικά μοντέλα πρόσδεσης της κινάσης CaM και στα δύο μονομερή παρουσιάζονται με σκούρο μπλε χρώμα. Οι καταλυτικές δυάδες φαίνονται ως σφαίρες χρώματος φούξια.

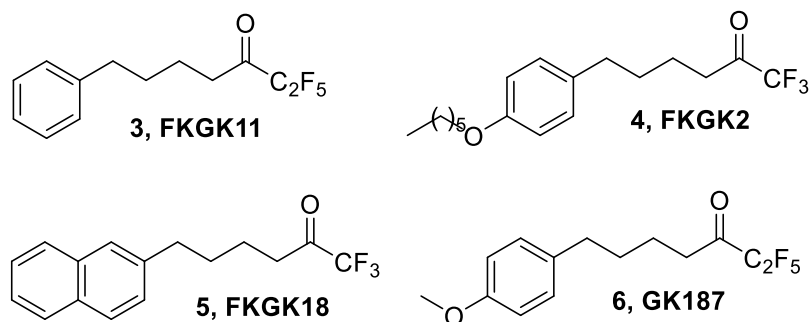
Απροσδόκητα, οι περιοχές ANK στην κρυσταλλική δομή προσανατολίζονται προς τη διεπιφάνεια πρόσδεσης με τη μεμβράνη και είναι ιδανικά τοποθετημένες, ώστε να μπορούν να αλληλεπιδρούν με μεμβρανικές πρωτεΐνες. Αυτό το εύρημα θα μπορούσε να εξηγήσει πώς η iPLA₂β είναι δυνατόν να εντοπίζεται σε διαφορετικά σημεία του κυττάρου, με συγκεκριμένο όμως τρόπο για κάθε ιστό, γεγονός που αποτελεί μία εύλογη απορία. Τα δομικά δεδομένα υποδεικνύουν επίσης μια θέση πρόσδεσης ATP στην AR και προτείνουν έναν πιθανό ρόλο της ATP στη ρύθμιση της πρωτεϊνικής δραστηριότητας. Αυτά τα δομικά χαρακτηριστικά και οι υποθέσεις που βασίζονται στη δομή θα βοηθήσουν στην αποκρυπτογράφηση των μηχανισμών λειτουργίας της iPLA₂β στις διαφορετικές πορείες σηματοδότησης και στις συσχετιζόμενες με αυτές ασθένειες. Η χαρτογράφηση της θέσης των νευροεκφυλιστικών μεταλλάξεων στη διμερή δομή αναμένεται να διαλευκάνει την επίδρασή τους στην λειτουργία και τη ρύθμιση των πρωτεϊνών, βελτιώνοντας την κατανόηση της λειτουργίας της iPLA₂β στον εγκέφαλο ³⁸.

2.2.2 Νόσοι που σχετίζονται με την GVIA iPLA₂

Η iPLA₂ αποτελεί την βασική φωσφολιπάση για όλες τις μεταβολικές λειτουργίες εντός του κυττάρου, συμπεριλαμβανομένης της μεμβρανικής ομοιόστασης και της ρύθμισης του καναλιού ιόντων ασβεστίου. Όπως συνοψίζεται σε μια πρόσφατη ανασκόπηση, αυξημένη ή μειωμένη έκφραση των iPLA₂ μπορεί να επηρεάσει τη μεταβολική κατάσταση, τη λειτουργία του ΚΝΣ, την καρδιαγγειακή απόδοση και την κυτταρική επιβίωση και ως εκ τούτου, η δυσλειτουργία των iPLA₂ μπορεί να διαδραματίσει κρίσιμο ρόλο στην ανάπτυξη πολλών νοσών ⁴².

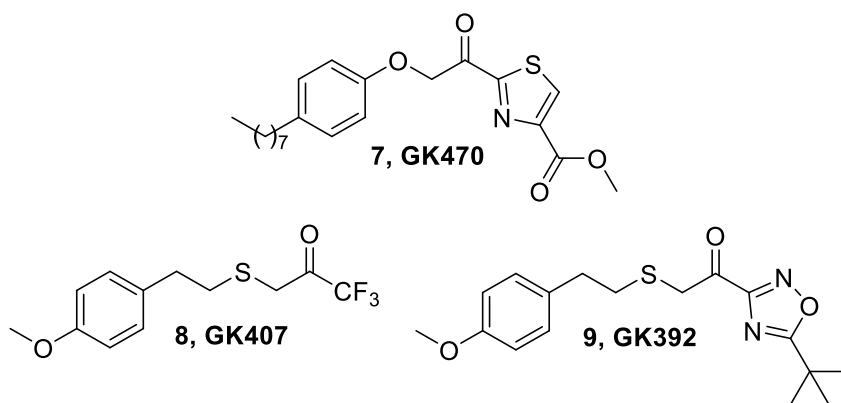
Μία σειρά ερευνών, αποδεικνύουν την συσχέτιση της δράσης της GVIA iPLA₂ με το σύνδρομο Barth και υποστηρίζουν ότι αναστολή του εν λόγω ενζύμου ή ακόμη και γενετική αδρανοποίηση του μπορεί να αποτελέσει πιθανή θεραπεία γι'αυτή την ασθένεια ⁴³. Όπως και η ενδοκυτταρική cPLA₂, έτσι και η iPLA₂ φαίνεται επίσης να σχετίζεται με την εκφύλιση Wallerian ²⁵, ενώ αποτελεί σημαντικό μεσολαβητή στην εκδήλωση και εξέλιξη EAE και MS ⁴⁴. Κυτταρικές μελέτες μαρτυρούν την συμμετοχή της GVIA iPLA₂ στην απόπτωση των β-κυττάρων καθώς και στην εμφάνιση και εξέλιξη σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και 2 ⁴⁵, ενώ έχει διατυπωθεί και η εμπλοκή της στην κατάθλιψη ⁴⁶ και τη σχιζοφρένεια ⁴⁷.

Αξιοσημείωτο αποτελεί το γεγονός ότι σε αντίθεση με την αύξηση της cPLA₂, μείωση της iPLA₂ φαίνεται να έχει επιζήμια επίδραση στο εγκεφαλικό τραύμα, με την αποκατάσταση της έκφρασής της να επιφέρει ανάρρωση από τον τραυματισμό ⁴⁸. Ομοίως, η μειωμένη έκφραση της iPLA₂, φαίνεται ότι εμπλέκεται σε ορισμένες περιπτώσεις της νόσου Parkinson, όπου αντίθετα παρατηρείται αύξηση της cPLA₂ ⁴⁹. Τέλος, διάφορες παθολογικές καταστάσεις όπως είναι η συσσώρευση σιδήρου στον εγκέφαλο, ο νευροεκφυλισμός ⁵⁰ και η νηπιακή νευροαξονική δυστροφία ⁵¹ συνδέονται με μεταλλάξεις που έχουν συμβεί στο μελετούμενο ένζυμο. Ακόμη, υπάρχουν ενδείξεις ότι η GVIA iPLA₂ σχετίζεται με την απώλεια βραχυπρόθεσμης και μακροπρόθεσμης μνήμης ⁵².



Σχήμα 5 : Πολυφθοροκετονικοί αναστολείς των PLA₂.

Σε συνέχεια της έρευνας πάνω στις φθοροκετόνες, οι Κόκοτος και Dennis έχουν αναφέρει πλείστα παραδείγματα πολυφθο-κετονών ως αναστολείς PLA₂⁶⁴⁻⁶⁶. Η πενταφθοροαιθυλοκετόνη **3 (FKGK11, Σχήμα 5)** βρέθηκε να είναι ένας εκλεκτικός αναστολέας της iPLA₂ ($X_I(50)=0,0014$)⁶⁵, ενώ η τριφθορομεθυλοκετόνη **4 (FKGK2)** θεωρείται ένας «παν-αναστολέας» PLA₂ καθώς αναστέλλει τόσο την iPLA₂ ($X_I(50)=0,0169$) και την cPLA₂ ($X_I(50)=0,0098$) όσο και την sPLA₂ (Inhibition>85%) σε 0.091 mole fraction⁶⁴. Μελέτες σχέσης δομής-δραστικότητας οδήγησαν στον ισχυρό αναστολέα της iPLA₂ **5 (FKGK18)** ($X_I(50)=0,0002$), ο οποίος είναι 195 φορές πιο ισχυρός για την iPLA₂ από ότι είναι για τη cPLA₂⁶⁵. Το 2013, η πενταφθοροαιθυλοκετόνη **6 (GK187)** αναπτύχθηκε ως ισχυρότατος αναστολέας της iPLA₂ ($X_I(50)=0,0001$)⁶⁶. Αυτοί οι αναστολείς έχουν χρησιμοποιηθεί για να μελετηθεί ο ρόλος του ενζύμου *ex vivo* και *in vivo*, ιδιαίτερα σε αυτοάνοσες ασθένειες. Η **FKGK11** έδειξε ισχυρή μείωση της κλινικής σοβαρότητας και εξέλιξης της πειραματικής αυτοάνοσης εγκεφαλομυελίτιδας⁴⁴ ενώ, χορήγηση της **FKGK18** σε μη παχύσαρκα άτομα (NOD), μείωσε σημαντικά τη συχνότητα εμφάνισης του διαβήτη σε συνδυασμό και με ρύθμιση άλλων παραμέτρων⁶⁷.

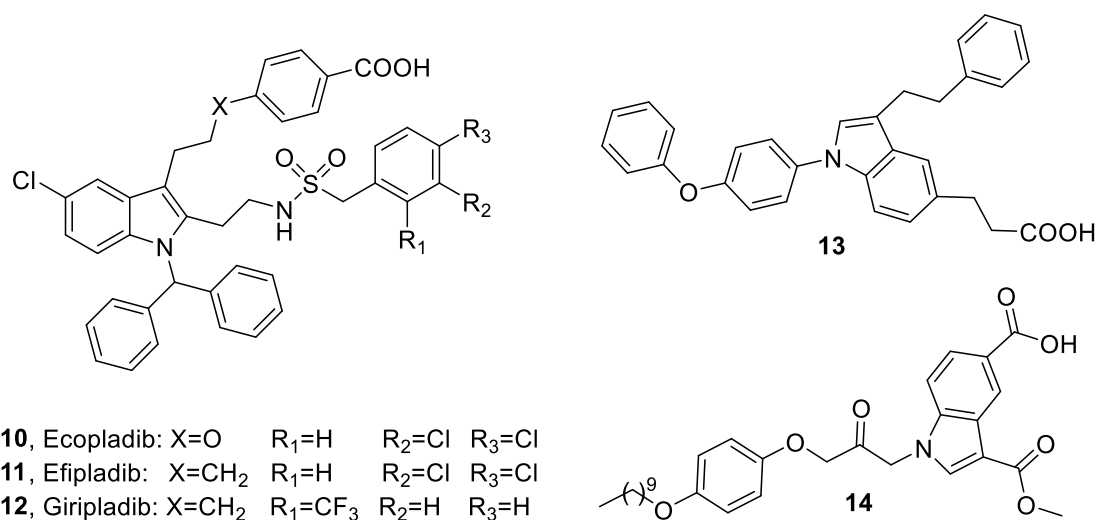


Σχήμα 6 : Πιο πρόσφατοι αναστολείς που περιέχουν S.

Το 2014, αναφέρθηκε μία νέα σειρά θειαζολυλο-κετονών, με αποτελεσματικότερη την ένωση **7 (Σχήμα 6)**, ως αναστολέας της GIVA cPLA₂ με $X_I(50)=0,011$ ⁶⁸. Δομικές αλλαγές στις ήδη γνωστές ενώσεις, οδήγησαν το 2016, στον πολύ ισχυρό φθοροκετονικό αναστολέα της GIVA iPLA₂ **8 (GK407)** που περιέχει θείο και στην ανάπτυξη του καινοτόμου οξοδιαζολικού αναστολέα **9 (GK392)** για το

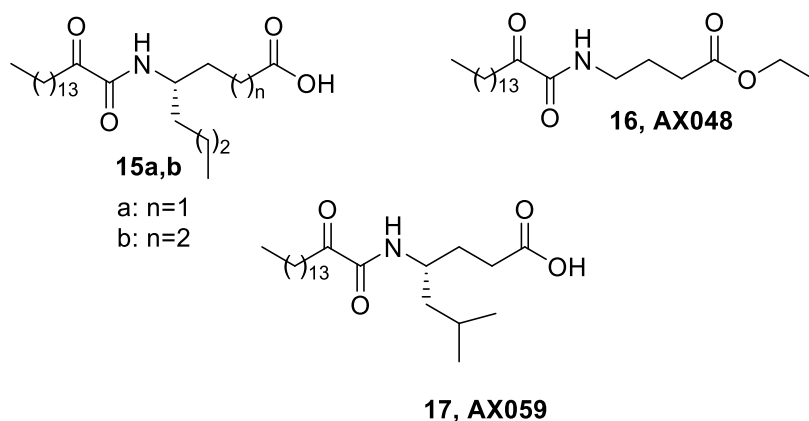
ίδιο ένζυμο (Σχήμα 7) ⁶⁹. Οι τιμές $X_I(50)$ των **FKGK18**, **GK407** και **GK392** ήταν 0.0002, 0.00009, και 0.0057, αντίστοιχα, γεγονός που καταδεικνύει τη σημασία εισαγωγής του ατόμου θείου στην ανθρακική αλυσίδα για την ανασταλτική δραστηριότητα της ένωσης.

Μια άλλη κατηγορία αναστολέων της cPLA₂ αποτελούν τα παράγωγα ινδολίου. Στην εταιρία Wyeth, έχουν καταβληθεί σημαντικές προσπάθειες για την ανάπτυξη καινοτόμων αναστολέων της cPLA₂, όπως οι ενώσεις ecopladiib (**10**, Σχήμα 5), efipladiib (**11**, Σχήμα 5) και giripladiib (**12**, Σχήμα 5) με βάση το ινδόλιο ^{70, 71}. Η ένωση **12** αποδείχθηκε η πιο αποτελεσματική ανάμεσά τους και ενώ προχώρησε στη φάση II κλινικών δοκιμών για την αντιμετώπιση της οστεοαρθρίτιδας, το 2007, η διαδικασία τερματίστηκε λόγω γαστρεντερικών παρενεργειών ⁷². Παράλληλα, προτάθηκε από τον Tomoo και τους συνεργάτες του μία νέα σειρά αναστολέων της cPLA₂ με βάση το ινδόλιο, όπως ο αναστολέας **13** ⁷³, ενώ η ομάδα του Lehr ανέπτυξε μια ποικιλία ινδολ-1-υλ-προπαν-2-ονών, όπως η ένωση **14**, που περιέχει μια ποικιλία υποκαταστατών στον ετεροκυκλικό δακτύλιο για να βελτιστοποιήσει τη σύνδεση



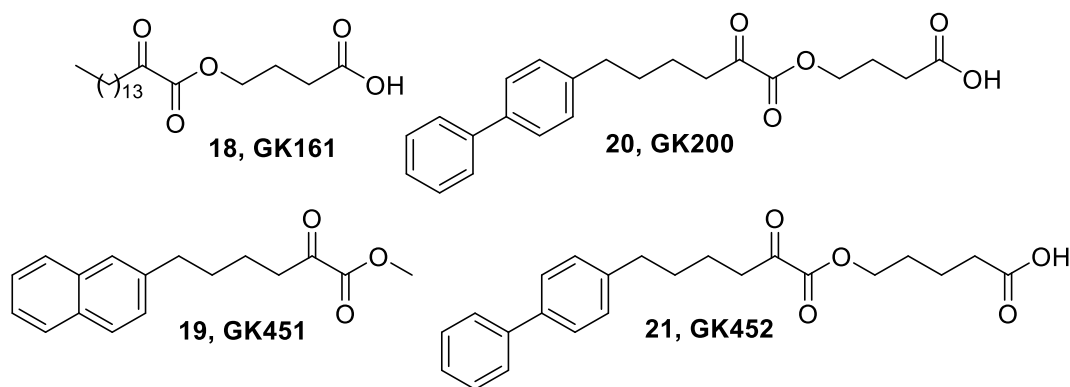
Σχήμα 7 : Αναστολείς ινδολίου για την cPLA₂

του αναστολέα με το ένζυμο ⁷⁴⁻⁷⁸. Περαιτέρω μελέτες της τελευταίας ομάδας, ώστε να αποφεύγεται ο γρήγορος μεταβολισμός των ενώσεων που περιέχουν κετονικό καρβονύλιο προς τις αντίστοιχες αλκοόλες, με δομικές αλλαγές στις ενώσεις, κατέδειξαν τη σημασία του καρβονυλίου αλλά και του αιθερικού οξυγόνου ⁷⁶⁻⁸⁰.



Σχήμα 8 : Οξοαμιδικοί αναστολείς cPLA₂ και iPLA₂

Τα 2-οξοαμίδια σχεδιάστηκαν αρχικά για να στοχεύσουν την Ser του ενεργού κέντρου της GIVA cPLA₂⁸¹. 2-Οξοαμίδια μακράς αλυσίδας με βάση γ- ή δ-αμινοξέα (**15a,b**, **Σχήμα 8**) που περιέχουν ελεύθερο καρβοξύλιο είναι ισχυροί και εκλεκτικοί αναστολείς της cPLA₂, ενώ οι αντίστοιχοι εστέρες αναστέλλουν τόσο τη cPLA₂ όσο και την iPLA₂⁸²⁻⁸⁴. Ο αναστολέας **16 (AX048, Σχήμα 8)** ($X_I(50)=0.022$ για τη cPLA₂ και $X_I(50)=0.027$ για την iPLA₂) παρουσιάζει ισχυρή αναλγητική δράση αναστέλλοντας την απελευθέρωση της PGE₂⁸⁵. Επιπροσθέτως, ο αναστολέας **17 (AX059)** επιδεικνύει εκλεκτική ανασταλτική δραστηριότητα ως προς την cPLA₂ ($X_I(50)=0,008$) και ρυθμίζει τη φλεγμονή και τον εκφυλισμό προωθώντας ρυθμιστικά T κύτταρα σε αρουραίους με πειραματική αυτοάνοση εγκεφαλομυελίτιδα (EAE)^{44, 86}.



Σχήμα 9 : 2-Οξοεστερικοί αναστολείς της cPLA₂ και iPLA₂

Μία νέα κατηγορία αναστολέων της cPLA₂ προτάθηκε το 2017 από την ομάδα του κ. Κόκοτου που αφορά σε 2-οξοεστερικά παράγωγα. 2-Οξοεστέρες που αποτελούνται από μια αρκετά μακρά αλυσίδα (είτε αλειφατική ή ενσωματώνουν και αρωματικά συστήματα όπως αυτό του διφαινυλίου), σε συνδυασμό με μία ελεύθερη καρβοξυλομάδα σε απόσταση τεσσάρων ή τριών ατόμων άνθρακα από τη λειτουργική ομάδα του οξοεστέρα αποδείχθηκαν πολύ ισχυροί και εκλεκτικοί αναστολείς της GIVA cPLA₂, όπως ο **18 (GK161, Σχήμα 9)** με $X_I(50)=0.00008$. Παρατηρήθηκε επίσης, ότι μείωση του μεγέθους της ένωσης και η αφαίρεση της ελεύθερης καρβοξυλομάδας μπορεί να αλλάξει την εκλεκτικότητα της ένωσης-αναστολέα καθώς βρέθηκε ότι ο μεθυλο-2-οξοεστέρας **19 GK451**, βασισμένος σε μια

Οι LOX των θηλαστικών είναι πρωτεΐνες απλής πολυπεπτιδικής αλυσίδας που διπλώνουν σε μια δομή δύο περιοχών. Η μικρή N-τελική περιοχή αποτελείται από πολλά παράλληλα και αντιπαράλληλα β-φύλλα και έχει εμπλακεί στη ρύθμιση της δραστηριότητας και στη πρόσδεση του ενζύμου με τη μεμβράνη. Η C-τελική καταλυτική περιοχή αποτελείται από αρκετές έλικες και περιέχει αλληλουχίες που δεσμεύουν ιόντα σιδήρου, τοποθετημένες στην «τσέπη» πρόσδεσης του υποστρώματος.

Ο καταλυτικός κύκλος της αντίδρασης LOX περιλαμβάνει τέσσερις διαδοχικές αντιδράσεις^{89, 90}: i) απόσπαση υδρογόνου από ένα δισαλλυλικό μεθυλένιο που σχηματίζει μια ανθρακική ρίζα λιπαρού οξέος, ii) αναδιάταξη της ρίζας λιπαρού οξέος, iii) εισαγωγή μοριακού οξυγόνου σχηματίζοντας μια ρίζα οξυγόνου, iv) αναγωγή της υπερόξυ ρίζας στο αντίστοιχο ανιόν. Η απόσπαση υδρογόνου φαίνεται να είναι το βήμα που περιορίζει το ρυθμό του καταλυτικού κύκλου^{91, 92}.

Ακολουθώντας τη γενική ιδέα της πορείας του αραχιδονικού οξέος οι LOXs δρουν σχηματίζοντας λιπιδικούς μεσολαβητές που ρυθμίζουν τον λειτουργικό φαινότυπο ενός δεδομένου κυτταρικού πληθυσμού. Εντούτοις, έχουν προταθεί δύο εναλλακτικές για την επεξήγηση της λειτουργικότητας τους: i) Πολλές ισομορφές της LOX είναι ικανές να οξειδώσουν πολύπλοκους εστέρες λιπαρών οξέων, ακόμη και σύμπλοκα λιπιδίων-πρωτεϊνών (βιομεμβράνες, λιποπρωτεΐνες) τροποποιώντας τις δομικές και λειτουργικές τους παραμέτρους. Αυτή η γενική ιδέα είναι εν μέρει εφαρμόσιμη για τους ρόλους των διαφόρων ισομορφών LOX στην ερυθροποίηση, την επιδερμική διαφοροποίηση και την αθηρογένεση. ii) Οι LOXs με τον σχηματισμό υπεροξειδίων λιπιδίων που επιτελούν, τροποποιούν την οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου. Δεδομένου ότι η ισορροπία της κυτταρικής οξειδοαναγωγικής κατάστασης είναι ένας σημαντικός ρυθμιστής του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της γονιδιακής έκφρασης, η ενδοκυτταρική δράση των LOX μπορεί να επηρεάσει τη λειτουργικότητα των κυττάρων. Φυσικά, οι LOXs δεν είναι τα μόνα ένζυμα που τροποποιούν την κυτταρική οξειδοαναγωγική κατάσταση, αφού υπάρχει μεγάλος αριθμός προ- και αντιοξειδωτικών ενζύμων στα κύτταρα των θηλαστικών. Ωστόσο, η καταλυτική τους δραστηριότητα συμβάλλει σαφώς στην ομοίωση της οξειδοαναγωγικής κατάστασης του κυττάρου.

Οι νευρώνες είναι ιδιαίτερα ευάλωτοι στο οξειδωτικό στρες και η παθολογία που σχετίζεται με αυτό είναι χαρακτηριστικό γνώρισμα αρκετών ασθενειών του ΚΝΣ, συμπεριλαμβανομένου του εγκεφαλικού επεισοδίου, της νόσου του Πάρκινσον και της νόσου του Alzheimer. Οι LOXs και ενεργοποιούνται από το οξειδωτικό στρες, αλλά και συμβάλλουν σε αυτό, οπότε πιθανότατα αποτελούν σημαντικούς παράγοντες για αυτές τις παθολογίες⁸⁸.

4. Κυκλοοξυγενάσες COX 1/2

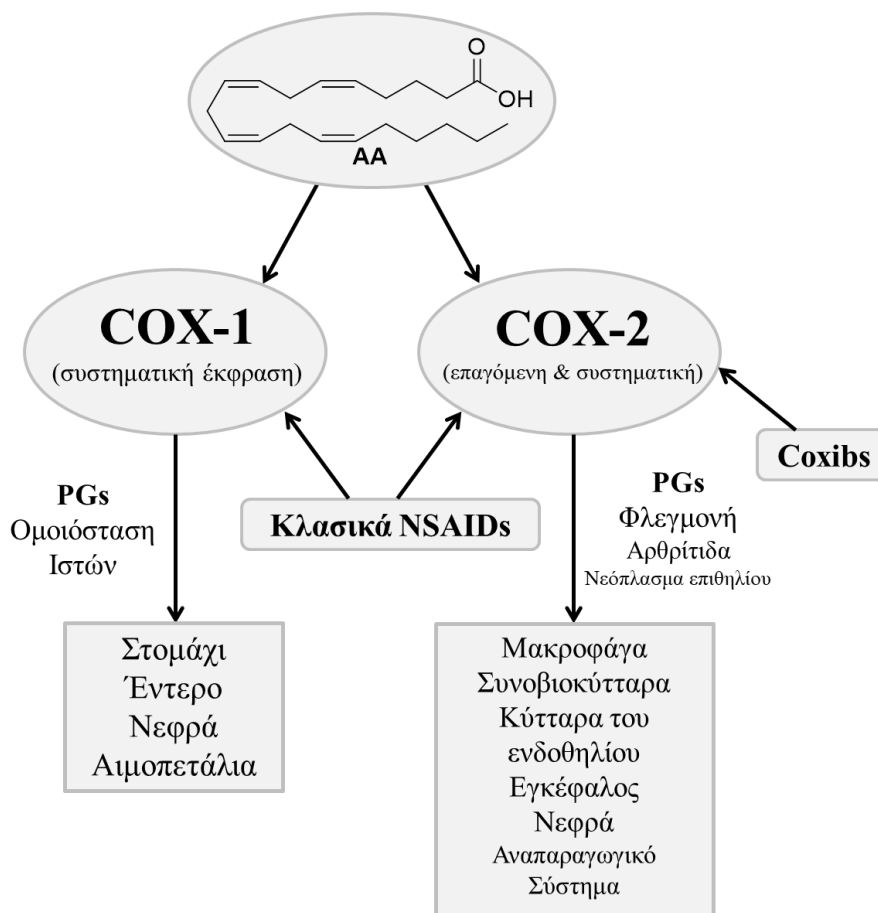
Η βιοσύνθεση των προστανοειδών, τα οποία περιλαμβάνουν τις προσταγλανδίνες (PGs) και τα θρομβοξανία (TX₂), λαμβάνει χώρα σε τρία στάδια: (α) την απελευθέρωση του αραχιδονικού οξέος (AA), από μεμβρανικά φωσφολιπίδια μέσω της δράσης φωσφολιπάσης A₂, (β) τη βιομετατροπή του AA μέσω της δράσης των διλειτουργικών κυκλοοξυγενασών, η οποία οδηγεί στη δημιουργία της ασταθούς PGG₂ με την ιδιότητα της κυκλοοξυγενάσης, ακολούθως στην άμεση μετατροπή της σε PGH₂ από το ίδιο ένζυμο με την ιδιότητα της υπεροξειδάσης, (γ) και τη μετατροπή της PGH₂ σε συγκεκριμένα προστανοειδή μέσω της δράσης συνθασών και ειδικών ισομερασών. Τα δομικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά των δύο ισομορφών COX, οι μηχανισμοί δράσης, η εμπλοκή τους σε παθοφυσιολογικές καταστάσεις καθώς και οι αναστολείς τους συνοψίζονται σε άρθρα ανασκόπησης^{93,94}.

Οι ανθρώπινες κυκλοοξυγενάσες, COX-1 και COX-2, είναι δύο ομοδιμερή 576 και 581 αμινοξέων, αντίστοιχα. Και τα δύο ένζυμα περιέχουν τρεις ολιγοσακχαρίτες πλούσιους σε μαννόζη, ο ένας εκ των οποίων διευκολύνει την αναδίπλωση των πρωτεϊνών. Ένας τέταρτος ολιγοσακχαρίτης, που υπάρχει μόνο στην COX-2, ρυθμίζει την αποικοδόμησή της. Λαμβάνοντας υπόψη την κατά 60% ταυτόσημη αλληλουχία των COX-1 και COX-2, δεν προκαλεί έκπληξη το γεγονός ότι οι τρισδιάστατες δομές τους είναι σχεδόν πανομοιότυπες. Κάθε υπομονάδα του διμερούς αποτελείται από τρεις περιοχές, τον τομέα επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (αμινοξέα 34-72), την περιοχή δέσμευσης με τη μεμβράνη (αμινοξέα 73-116) και την καταλυτική περιοχή που περιλαμβάνει τον κύριο όγκο του ενζύμου και η οποία περιέχει τις δραστικές θέσεις κυκλοοξυγενάσης και υπεροξειδάσης σε κάθε πλευρά μιας προσθετικής ομάδας πορφυρίνης-ιόντων σιδήρου⁹⁵⁻⁹⁷.

Η COX-1 εκφράζεται συστηματικά στους περισσότερους ιστούς όπου εντοπίζεται (π.χ στομάχι, αιμοπετάλια) σε αντίθεση με την έκφραση της COX-2 που ενεργοποιείται από μια ευρεία ποικιλία ερεθισμάτων φλεγμονής και πολλαπλασιασμού (π.χ. βακτηριακή ενδοτοξίνη). Η διαφορά στην έκφραση των δύο COX εξηγεί την ύπαρξη των δύο ισομορφών, ενώ υποδηλώνει ότι η COX-1 παρέχει PGs που απαιτούνται για ομοιοστατικές λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένης της γαστρικής προστασίας και αιμόστασης, ενώ η COX-2 παίζει τον κύριο ρόλο στον σχηματισμό PG κατά τη εκδήλωση παθοφυσιολογικών καταστάσεων, όπως η φλεγμονή και η ογκογένεση. Η υπόθεση αυτή ήταν που οδήγησε στην ταχεία ανάπτυξη εκλεκτικών αναστολέων της COX-2, τα αναφερόμενα και ως Coxibs, εκτός των κλασικών μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων (Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs, NSAIDs)⁹³.

Τα κλασικά μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (NSAIDs) είναι από τα πλέον ευρέως χρησιμοποιούμενα θεραπευτικά μέσα και αναστέλλουν τη δράση και των δύο ισομορφών COX-1 και COX-2. Οι αντιφλεγμονώδεις, αντιτυρετικές και αναλγητικές τους ιδιότητες τα καθιστούν ως θεραπευτική επιλογή σε διάφορες φλεγμονώδεις ασθένειες όπως η αρθρίτιδα, οι ρευματισμοί και η ανακούφιση του πόνου. Το πρώτο και χαρακτηριστικότερο παράδειγμα NSAID είναι η ασπιρίνη, η οποία χρησιμοποιείται για περισσότερα από 100 χρόνια. Οι κυκλοοξυγενάσες

αναγνωρίστηκαν ως θεραπευτικοί στόχοι των NSAIDs το 1971 από τον Vane, που υπέδειξε ότι οι ουσίες αυτές αναστέλουν τη βιοσύνθεση των προσταγλανδινών (PGs) που συμβάλλουν σε μια ποικιλία φυσιολογικών και μη λειτουργιών ⁹⁸.



Σχήμα 11 : Απεικόνιση των δράσεων των COX-1,2

Ωστόσο η αποτελεσματικότητα των NSAIDs εκδηλώνεται μέσω της αναστολής της βιοσύνθεσης PG που εξαρτάται από την COX-2 και ταυτόχρονα προκαλούν γαστρεντερικές διαταραχές μέσω της αναστολής της COX-1. Για την μείωση της γαστρεντερικής τοξικότητας, αναπτύχθηκαν εκλεκτικοί αναστολείς για την COX-2 (coxibs). Η χρήση των coxibs αποκάλυψε τον προστατευτικό ρόλο της COX-2 στο καρδιαγγειακό σύστημα, κυρίως μέσω της δημιουργίας της προστακυκλίνης (PGI₂). Η χρήση των Coxibs, αποδείχθηκε ότι αυξάνει τους κινδύνους εκδήλωσης εγκεφαλικού επεισοδίου ^{99, 100}, συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας ¹⁰¹, εμφράγματος του μυοκαρδίου ¹⁰² καθώς και τον αιφνίδιο καρδιακό θάνατο που οφείλονται στην ανισορροπία μεταξύ της PGI₂ (αντι-θρομβωτικής προστακυκλίνης) και της TxA₂ (προ-θρομβωτικής) ¹⁰³.

Τόσο η μακρόχρονη χρήση των NSAIDs όσο και εκείνη των Coxibs που παρουσίασαν γαστρεντερικές και καρδιαγγειακές παρενέργειες αντίστοιχα, οδήγησε στην αναζήτηση άλλων τρόπων αντιμετώπισης της φλεγμονής και των συσχετιζόμενων ασθενειών καθώς και στην ανεύρεση ενώσεων-στόχων, η αναστολή των οποίων να επηρεάζει λιγότερο τη φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού.

5. Προσταγλανδίνες

Τα προστανοειδή είναι μια ομάδα εικοσανοειδών που αποτελείται από τέσσερα είδη προσταγλανδινών (PGs) και τα θρομβοξανία (TXs). Οι προσταγλανδίνες (PGs) αποτελούν μια κρίσιμη κατηγορία λιπιδικών μεσολαβητών στενά συνδεδεμένες με φλεγμονώδεις διαταραχές και φυσιολογικές μεταβολικές διεργασίες¹⁰⁴. Η βιοσύνθεσή τους ξεκινά όταν το αραχιδονικό οξύ (AA) απελευθερώνεται από τα φωσφολιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης από τις φωσφολιπάσες και μεταβολίζεται από τις διαδοχικές δράσεις της κυκλοοξυγενάσης και των αντίστοιχων συνθασών των προσταγλανδινών.

Υπάρχουν τέσσερις κύριες βιοδραστικές προσταγλανδίνες που παράγονται *in vivo*: η προσταγλανδίνη E₂ (PGE₂), η προστακυκλίνη (PGI₂), προσταγλανδίνη D₂ (PGD₂) και προσταγλανδίνη F_{2α} (PGF_{2α}). Παράγονται παντού, συνήθως κάθε κυτταρικός τύπος παράγει ένα ή δύο κύρια είδη και δρουν ως αυτοκρινείς ή παρακρινείς μεσολαβητές λιπιδίων για να διατηρούν την ομοιοστατική λειτουργία του οργανισμού. Κατά τη διάρκεια μιας φλεγμονώδους απόκρισης, τόσο το επίπεδο όσο και το προφίλ της παραγωγής των προσταγλανδινών αλλάζουν δραματικά. Η παραγωγή των προσταγλανδινών είναι γενικά πολύ χαμηλή σε μη φλεγμονώδεις ιστούς, αλλά αυξάνεται αμέσως σε οξεία φλεγμονή πριν από την επιστράτευση των λευκοκυττάρων και τη δράση των ανοσοκυττάρων³.

Όπως αναφέρθηκε εκτενώς στην προηγούμενη ενότητα, η παραγωγή των προσταγλανδινών εξαρτάται από την παραγωγή της PGH₂ με τη δράση των διλειτουργικών COXs (συνθάσες της προσταγλανδίνης G/H), που εκφράζονται συστηματικά στα περισσότερα κύτταρα, είναι η κύρια πηγή προστανοειδών που σχετίζονται με τη φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού, όπως η προστασία των κυττάρων του γαστρικού επιθηλίου και η ομοιόσταση. Η COX-2, η έκφραση της οποίας επάγεται από φλεγμονώδεις διεγέρτες, ορμόνες και αυξητικούς παράγοντες, είναι η πιο σημαντική πηγή σχηματισμού των προστανοειδών κατά την εκδήλωση της φλεγμονής και σε πολλαπλασιαστικές ασθένειες, όπως ο καρκίνος¹⁰⁵. Ωστόσο, και τα δύο ένζυμα, COX-1 και COX-2 συμβάλλουν στη δημιουργία αυτορυθμιστικών και ομοιοστατικών προστανοειδών και μπορούν αμφότερα να συμβάλλουν στην απελευθέρωση προστανοειδών κατά τη διάρκεια της φλεγμονής. Η PGH₂ παράγεται και από τις δύο COX και είναι το κοινό υπόστρωμα για μια σειρά ειδικών ισομερασών και συνθασών που παράγουν τις PGE₂, PGI₂, PGD₂, PGF_{2α} και τα TXA₂. Η COX-1 συζευγνύεται λειτουργικά, κατά προτίμηση, αλλά όχι αποκλειστικά, με τη συνθάση της θρομβοξανίας (TBXAS1), τη συνθάση της προσταγλανδίνης F και την κυτοσολική συνθάση της προσταγλανδίνης E (cPGES). Η COX-2 προτιμά την συνθάση της προσταγλανδίνης I (PGIS) και τα ισοένζυμα της μικροσωμικής συνθάσης της προσταγλανδίνης E, 1 και 2 (mPGES-1 και mPGES-2), η έκφραση των οποίων επάγεται, όπως και της COX-2, από κυτοκίνες και αυξητικούς παράγοντες¹⁰⁶.

Το προφίλ της παραγωγής των προστανοειδών προσδιορίζεται από τη διαφορική έκφραση αυτών των ενζύμων μέσα στα κύτταρα που υπάρχουν στις περιοχές της φλεγμονής. Για παράδειγμα, τα μαστοκύτταρα παράγουν κατά κύριο λόγο PGD₂ ενώ τα μακροφάγα παράγουν PGE₂ και TXA₂. Επίσης, μεταβολές στο

προφύλ της σύνθεσης των προστανοειδών μπορούν να συμβούν και κατά την κυτταρική ενεργοποίηση. Ενώ τα μακροφάγα σε κατάσταση ηρεμίας παράγουν TXA_2 περισσότερο από την PGE_2 , η αναλογία αυτή μεταβάλλεται για να ευνοήσει την παραγωγή της PGE_2 έπειτα από ενεργοποίηση από βακτηριακό λιποπολυσακχαρίτη (LPS) ¹⁰⁷.

Η προστακυκλίνη (PGI_2) είναι ένας ισχυρός αγγειοδιασταλτικός παράγοντας, αναστολέας της συσσωμάτωσης των αιμοπεταλίων, της προσκόλλησης των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο και του πολλαπλασιασμού των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων. Εκφράζεται συστηματικά στα ενδοθηλιακά κύτταρα, ενώ η κύρια πηγή της είναι η COX-2 ^{108, 109}. Η PGI_2 παράγεται ταχέως μετά από τραυματισμό ή φλεγμονή και είναι παρούσα σε υψηλές συγκεντρώσεις στον υπό φλεγμονή ιστό. Εκτός από τις καρδιαγγειακές επιδράσεις της, η PGI_2 είναι ένας σημαντικός μεσολαβητής του οίδηματος και του πόνου που συνοδεύουν την οξεία φλεγμονή λόγω των αντιθρομβωτικών, αγγειοπροστατευτικών και αγγειοδιασταλτικών ιδιοτήτων της ¹¹⁰.

Η PGD_2 είναι ένα σημαντικό εικοσανοειδές που συντίθεται τόσο στο ΚΝΣ όσο και στους περιφερικούς ιστούς και φαίνεται ότι δρα τόσο με φλεγμονώδη και με ομοιοστατικό τρόπο. Στον εγκέφαλο, η PGD_2 εμπλέκεται στη ρύθμιση του ύπνου και άλλων δραστηριοτήτων του ΚΝΣ, όπως και στην αντίληψη του πόνου. Παράγεται κυρίως από τα μαστοκύτταρα και άλλα λευκοκύτταρα. Ο υποδοχέας DP1 εκφράζεται στο βρογχικό επιθήλιο οδηγώντας σε φλεγμονή των αεραγωγών και την υπερδραστηριότητα που παρατηρείται στο άσθμα, ενώ ο υποδοχέας DP2 συμβάλλει σε μεγάλο βαθμό στις παθολόνες αποκρίσεις επάγοντας τη διακίνηση των φλεγμονοδών κυττάρων. Αυξημένη έκφραση του DP2 έχει παρατηρηθεί σε ορισμένες περιπτώσεις ατοπικής δερματίτιδας ¹¹¹.

Η $\text{PGF}_{2\alpha}$, που παράγεται κυρίως από την COX-1 στο θηλυκό αναπαραγωγικό σύστημα, παίζει σημαντικό ρόλο στην ωορρηξία, τη συστολή του λείου μυός της μήτρας και την έναρξη του τοκετού ¹¹². Μελέτες έχουν δείξει ότι η $\text{PGF}_{2\alpha}$ διαδραματίζει επίσης σημαντικό ρόλο στη νεφρική λειτουργία, τη συστολή των αρτηριών, τη μυοκαρδιακή δυσλειτουργία, την εγκεφαλική βλάβη και τον πόνο. Ανταγωνιστές των υποδοχέων της $\text{PGF}_{2\alpha}$ (FP) χρησιμοποιούνται ευρέως για τη μείωση της ενδοφθάλμιας πίεσης στη θεραπεία του γλαυκώματος ³.

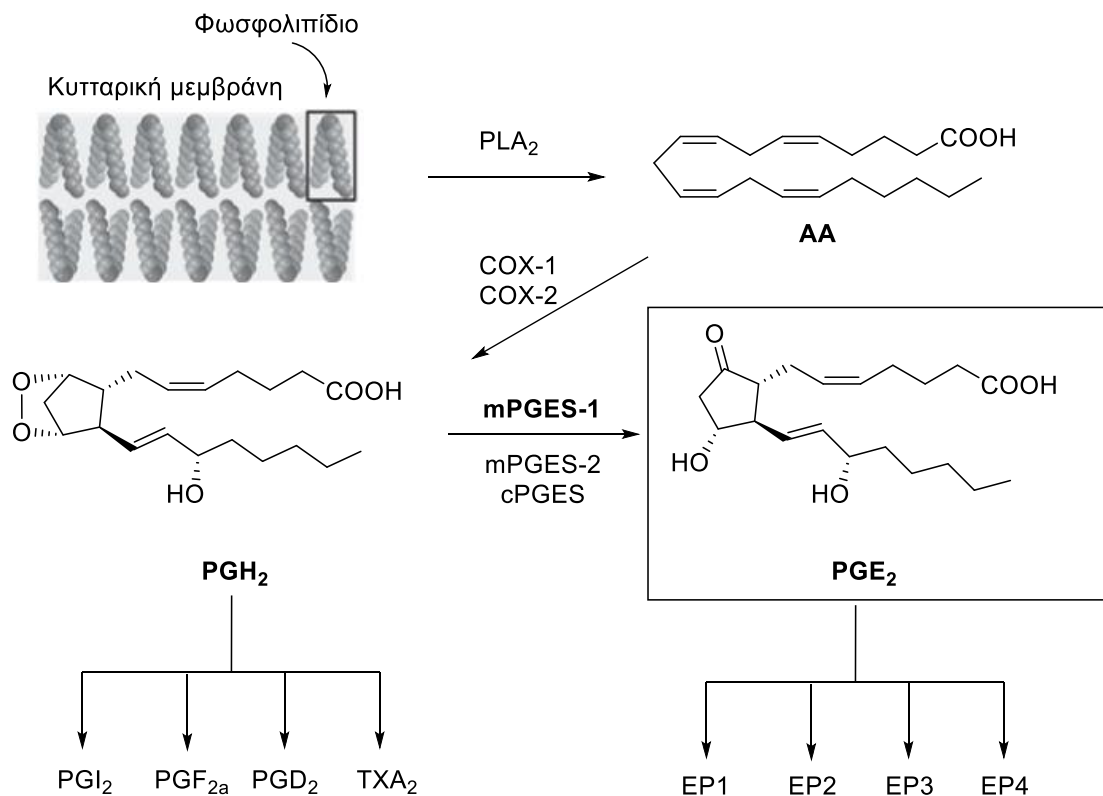
Η προσταγλανδίνη E_2 (PGE_2) σχετίζεται τόσο με φυσιολογικές όσο και με παθολογικές καταστάσεις. Είναι ο βασικότερος, μεταξύ των προσταγλανδινών, μεσολαβητής της φλεγμονής, του πόνου και του πυρετού, αλλά είναι επίσης σημαντική για την προστασία του γαστρεντερικού βλεννογόνου, τη νεφρικής λειτουργίας, και την ωορρηξία. Η PGE_2 εκκρίνεται από τα κύτταρα και ασκεί τις ποικίλες δράσεις της μέσω δέσμευσης σε συγκεκριμένους G-πρωτεϊνικούς υποδοχείς, EP1-EP4 , οι οποίοι θα συζητηθούν αναλυτικά στην ενότητα που ακολουθεί ⁵.

5.1 Προσταγλανδίνη E₂ (PGE₂)

Η PGE₂ είναι μία από τις PGs που παράγονται πιο άφθονα στο σώμα και παρουσιάζει ποικίλες βιολογικές δράσεις. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η PGE₂ είναι ένας σημαντικός μεσολαβητής πολλών βιολογικών λειτουργιών, όπως η ρύθμιση των ανοσολογικών αποκρίσεων, η αρτηριακή πίεση, η γαστρεντερική ακεραιότητα και η γονιμότητα. Η μη ρυθμισμένη έκφραση ή αποικοδόμηση της PGE₂ έχει συσχετιστεί με ένα ευρύ φάσμα παθολογικών καταστάσεων³. Στη φλεγμονή, η PGE₂ παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον επειδή εμπλέκεται σε όλες τις διεργασίες που οδηγούν στα κλινικά σημάδια της φλεγμονής, ερυθρότητα, πρήξιμο και πόνο. Η ερυθρότητα και το οίδημα οφείλονται σε αυξημένη ροή αίματος στον υπό φλεγμονή ιστό, μέσω αύξησης της αρτηριακής διαστολής και της μικροαγγειακής διαπερατότητας με τη μεσολάβηση της PGE₂. Ο πόνος προκύπτει από τη δράση της PGE₂ στους περιφερειακούς αισθητήριους νευρώνες και στις κεντρικές θέσεις του νωτιαίου μυελού και του εγκεφάλου¹¹³.

5.1.1 Βιοσύνθεση της PGE₂

Η παραγωγή της PGE₂ ρυθμίζεται απευθείας από τρία ένζυμα: την κυτοσολική συνθάση, cPGES και τις μικροσωμικές συνθάσες mPGES-1 και mPGES-2¹¹⁴. Η cPGES συζευγνύεται λειτουργικά με την COX-1 για την παραγωγή PGE₂, η mPGES-1 συνδυάζεται κυρίως με την COX-2, ενώ η mPGES-2 αλληλεπιδρά και με τις δύο COX¹⁰⁴.



Σχήμα 12 : Βιοσύνθεση της PGE₂

Η cPGES εκφράζεται συστηματικά και άφθονα στο κυτοσόλιο διαφόρων ιστών και κυττάρων και απαιτεί γλουταθειόνη (GSH) ως συμπαραγόνα για την καταλυτική της δράση. Η cPGES φαίνεται ικανή να μετατρέπει την προερχόμενη από την COX-1 PGH₂, αλλά όχι εκείνη που παράγεται από τη δράση της COX-2, ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια της άμεσης PGE₂ βιοσυνθετικής απόκρισης που προκαλείται από ερεθιστικούς παράγοντες. Ο εντοπισμός της cPGES στο κυτοσόλιο επιτρέπει τη σύζευξη με την χωρικά εγγύτερη COX-1 του ενδοπλασματικού δικτύου (ER), εν αντιθέσει με την COX-2 που βρίσκεται στην περιπυρηνική περιοχή του ενδοπλασματικού δικτύου ¹¹⁵. Η συστηματικά εκφραζόμενη cPGES είναι υπεύθυνη για την παραγωγή PGE₂ που συνδέεται με την ομοίωση του κυττάρου ¹¹⁴.

Η mPGES-1 είναι μέλος της υπεροικογένειας MAPEG (σχετιζόμενων με τη μεμβράνη πρωτεϊνών που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των εικοσανοειδών και της γλουταθειόνης) και όπως η cPGES, απαιτεί GSH ως συμπαραγόνα ¹¹⁶. Η mPGES-1 είναι μια περιπυρηνική πρωτεΐνη, η έκφραση της οποίας επάγεται σημαντικά από κυτοκίνες και αυξητικούς παράγοντες, ενώ υποχωρεί με τη δράση αντιφλεγμονωδών γλυκοκορτικοειδών, όπως και στην περίπτωση της COX-2 ^{117, 118}. Είναι λειτουργικά συζευγμένη με τη COX-2 ¹¹⁹, ενώ εκφράζεται και συστηματικά σε ορισμένους ιστούς και κυτταρικούς τύπους ¹²⁰. Η επαγόμενη mPGES-1 είναι η συνθάση που ρυθμίζει την σύνθεση PGE₂ κατά τη διάρκεια οξείας και χρόνιας φλεγμονής, για παράδειγμα, στην αρθρίτιδα, στην αθηροσκλήρωση και στον καρκίνο ^{120, 121}.

Η mPGES-2 εμπλέκεται τόσο στην παραγωγή PGE₂ που συνδέεται με την ομοίωση, όσο και στην παραγωγή PGE₂ που σχετίζεται με ασθένειες, γι' αυτό και έχει την ικανότητα να συζευχθεί λειτουργικά και με τις δύο COXs ¹¹³. Η mPGES-2 εκφράζεται συστηματικά στο ήπαρ, τα νεφρά, την καρδιά και τον εγκέφαλο και δεν αυξάνεται σημαντικά ούτε υπό φυσιολογικές συνθήκες αλλά ούτε και σε φλεγμονώδεις καταστάσεις ¹²². Είναι μια μεμβρανική πρωτεΐνη που, αντίθετα με τις cPGES και mPGES-1, είναι ανεξάρτητη γλουταθειόνης (GSH). Ενώ το ένζυμο αυτό μπορεί να χρησιμοποιήσει τη GSH ως συμπαραγόνα, έχει τη δυνατότητα χρήσης και άλλων θειολών (όπως το φυσικό υπόστρωμα της κυστεΐνης) εντός του ενεργού κέντρου, προκειμένου να καταλύσει την ισομερείωση της PGH₂ προς PGE₂. Ο βιολογικός της ρόλος παραμένει ακόμα ελάχιστα κατανοητός ^{114, 123}.

Υπό φυσιολογικές συνθήκες, και τα τρία αυτά ένζυμα συμβάλλουν στη δημιουργία της PGE₂ για τη ρύθμιση των μεταβολικών και φυσιολογικών λειτουργιών. Ωστόσο, υπό παθολογικές συνθήκες, η mPGES-1 είναι εκείνη που ενεργοποιείται σημαντικά οδηγώντας σε υπερπαραγωγή της PGE₂. Ως εκ τούτου, η mPGES-1 θεωρείται, όπως η COX-2, ως επαγόμενο ένζυμο και εκφράζεται σπάνια, απλά αρκετά και μόνο για τη διατήρηση των φυσιολογικών συνθηκών. Όταν διεγείρεται με προ-φλεγμονώδεις ή καρκινικούς παράγοντες, η mPGES-1 εκφράζεται άφθονα σε ινοβλάστες, μακροφάγα και αρθρικά κύτταρα για να μετατρέψει περισσότερη PGH₂ σε PGE₂, οδηγώντας στην επιδείνωση των ασθενειών ¹⁰⁴.

5.1.2 Υποδοχείς της PGE₂

Η PGE₂ είναι μία από τις πιο άφθονες στους οργανισμούς προσταγλανδίνες, υπό φυσιολογικές συνθήκες και παίζει σημαντικό ρόλο σε μια ποικιλία οργάνων και ιστών, όπως το γαστρεντερικό σύστημα^{124, 125}, τα νεφρά¹²⁶, το ανοσοποιητικό σύστημα¹²⁷ και το κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ)¹²⁸. Η PGE₂ δεν προστατεύει μόνο το γαστρεντερικό επιθήλιο από το έλκος, αλλά επίσης, ως μεσολαβητής της φλεγμονής, του πόνου και του πυρετού, συμμετέχει στην παθοφυσιολογική διαδικασία των φλεγμονωδών διαταραχών. Οι λειτουργίες που επιτελεί η PGE₂ εκδηλώνονται μετά τη σύνδεση της σε μία σειρά τεσσάρων G-μεμβρανικών πρωτεϊνικών υποδοχέων (EP1-4). Επομένως εκτός από την διακοπή της πορείας σύνθεσής της στην μεταβολική οδό του AA, άλλος ένας τρόπος αναστολής της δράσης της PGE₂ θα ήταν η ανάπτυξη ανταγωνιστών των υποδοχέων της¹²⁹. Μελέτες έχουν επιβεβαιώσει ότι η PGE₂ ασκεί τις βιολογικές της λειτουργίες με τη σύνδεσή της σε τέσσερις υποτύπους G-πρωτεϊνικών υποδοχέων PGE₂ (EP1-EP4), οι οποίοι κωδικοποιούνται από τέσσερα είδη γονιδίων σε διαφορετικούς ιστούς¹³⁰. Λόγω των διαφορετικών δομών και βιοχημικών ιδιοτήτων των υποδοχέων EP, η PGE₂ εκδηλώνει ποικίλους βιολογικούς ρόλους¹⁰⁴.

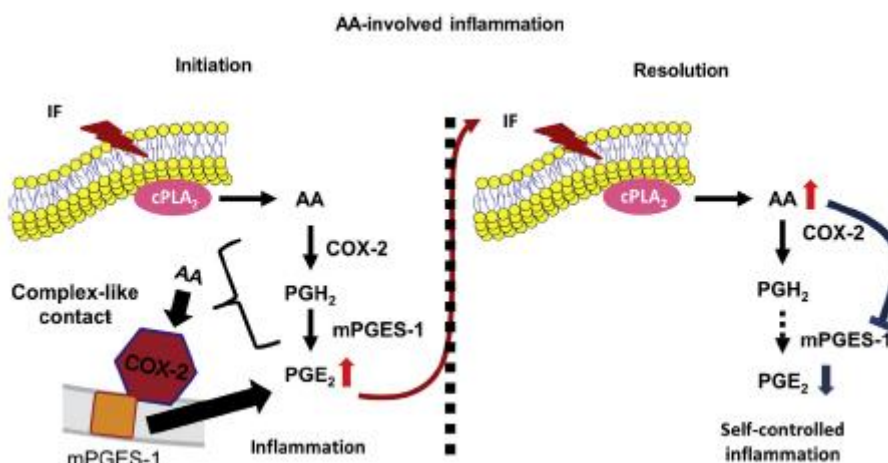
Μια σειρά πειραμάτων έδειξε ότι η διαγραφή των υποτύπων EP2 και EP3 μείωσε τον σχηματισμό των εξιδρωμάτων σε ένα επαγόμενο από καραγενάνη μοντέλο ποντικού¹³¹. Η διαγραφή του υποτύπου του υποδοχέα EP3 μείωσε την δερματική φλεγμονή και ανακούφιζε την υπεραλγησία σε ένα διεγερμένο από λιποπολυσακχαρίτη μοντέλο¹³². Διαγραφή των υποτύπων υποδοχέων EP2 και EP4 εξασθένησε σημαντικά την αρθρίτιδα σε μοντέλα που επάγονται από κολλαγόνο και αντισώματα κολλαγόνου¹³³. Ο Jaime-Félix Dilmé και η ομάδα του ανέφεραν ότι τα αυξημένα επίπεδα mPGES-1/EP4 σχετίζονται κυρίως με μικροαγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα και ότι ο EP4 διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη ανευρύσματος κοιλιακής αορτής (AAA) που προκαλείται από το κάπνισμα, υποδεικνύοντας την mPGES-1 και τον EP4 ως θεραπευτικούς στόχους για τη θεραπεία της AAA¹³⁴. Παρόλα αυτά, η PGE₂ είχε ανοσοκατασταλτικά αποτελέσματα που συμβάλλουν στην υποχώρηση της φλεγμονής ρυθμίζοντας την έκφραση των EP2, EP3 και EP4¹³⁵. Περαιτέρω μελέτες έδειξαν ότι η PGE₂ προστατεύει τον γαστρεντερικό βλεννογόνο και ρυθμίζει τη νατριούρηση, και την αρτηριακή πίεση μεταβάλλοντας την έκφραση των EP1 και EP2¹³⁶. Η υπερέκφραση του υποδοχέα EP2 μπορεί να παρατηρηθεί σε όλα τα στάδια διαφόρων τύπων καρκίνου στα διάφορα μέρη του γαστρεντερικού συστήματος (οισοφαγικό αδενοκαρκίνωμα, αδενωματώδης πολύποδες καρκίνο του παχέος εντέρου και των νεφρών)¹³⁷.

Οι αναστολείς της mPGES-1 είναι ευρέως αποδεκτοί, έχοντας ένα ευνοϊκό προφίλ ασφάλειας σε σύγκριση με άλλα αντιφλεγμονώδη και αναλγητικά θεραπευτικά μέσα, όπως τα NSAIDs και οι Coxibs. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι οι αναστολείς της mPGES-1 παρεμβαίνουν στη σύνθεση της PGE₂, χωρίς όμως να μειώνουν τη βιοσύνθεση των φυσιολογικά παραγόμενων PGs¹²¹. Επιπλέον, δεν καταργούν εντελώς την σηματοδότηση της PGE₂, αλλά κατά προτίμηση καταστέλλουν την υπερβολική παραγωγή της PGE₂ που σχετίζεται με τη φλεγμονή

διατηρώντας ταυτόχρονα τα βασικά επίπεδα PGE₂ που απαιτούνται για τις ομοιοστατικές διεργασίες¹²¹. Στην περίπτωση της αναστολής της mPGES-1 παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων της PGI₂ των TxA₂ και της PGD₂, από τη συσσώρευση και ανακατεύθυνση του μεταβολισμού της PGH₂, χωρίς κάποιο ανεπιθύμητο αποτέλεσμα. Αντιθέτως, η αύξηση της PGI₂ θα μπορούσε να θεωρηθεί ευνοϊκή για το καρδιαγγειακό σύστημα¹²⁹. Από αυτή την άποψη, η αναστολή της mPGES-1 μπορεί να είναι ανώτερη από τη στόχευση των EP υποδοχέων, μια άλλη αναδυόμενη στρατηγική για επιλεκτική παρεμβολή στη σηματοδότηση PGE₂. Συγκεκριμένα, οι EP4 και EP2 θεωρούνται ως πολλά υποσχόμενοι στόχοι φαρμάκου^{138, 139}. Ωστόσο, οι υποδοχείς EP δεν μπορούν απλά να διακριθούν σε εκείνους που σχετίζονται με νόσο και σε εκείνους που σχετίζονται με την ομοιόσταση, πράγμα που αντανακλάται στις τρέχουσες προσπάθειες για την ανάπτυξη αγωνιστών και ανταγωνιστών του EP4 ανάλογα με την αντίστοιχη ασθένεια. Συγκριτικές μελέτες αναστολέων mPGES-1, αγωνιστών και ανταγωνιστών υποδοχέων EP αναφορικά με την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια ως φαρμακευτικά μέσα θα είχαν εξαιρετικό ενδιαφέρον, δυστυχώς όμως δεν έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα¹¹⁰.

5.1.3 Ο ρόλος της PGE₂ στην εξέλιξη της φλεγμονής.

Το 2016 δημοσιεύτηκε μία μελέτη σχετικά με το ρόλο της PGE₂ και του AA στην φλεγμονώδη απόκριση και στον αυτο-έλεγχό της¹⁴⁰. Το μοντέλο αυτό διατυπώνει την εξάρτηση της συγκέντρωσης της PGE₂ με εκείνη του AA και μπορεί να βοηθήσει στην επεξήγηση των μηχανισμών της οξείας και χρόνιας φλεγμονής, καθώς και το ρόλο που διαδραματίζει η PGE₂ σε καθεμία από τις δύο αυτές περιπτώσεις.



Εικόνα 4 : Μοντέλο του μηχανισμού της εξαρτώμενης από τη συγκέντρωση δραστηριότητας δύο φάσεων του AA, που εμπλέκονται στη ρύθμιση της φλεγμονής των ιστών και της υποχώρησής της. Όταν τα κύτταρα διεγείρονται από φλεγμονώδεις παράγοντες (IF), η cPLA₂ ενεργοποιείται για να απελευθερώσει το AA. Η επαγόμενη παραγωγή COX-2 και mPGES-1, οι οποίες υφίστανται μια μετα-μεταφραστική διάταξη σε μια σύμπλοκη λειτουργική μορφή (<14A) στη μεμβράνη ER, μετατοπίζουν τον μεταβολισμό του AA, από μια ισορροπημένη παραγωγή PGE₂, σε μια μη ισορροπημένη παραγωγή PGE₂,

που μεσολαβεί στην αγγειακή φλεγμονή. Η υπερβολική παραγωγή PGE₂ γίνεται επιπλέον IF και διεγείρει περαιτέρω τη cPLA₂, απελευθερώνοντας περισσότερο AA (> 2 mM), το οποίο δεσμεύεται απευθείας με mPGES-1 για να αναστείλει την παραγωγή της PGE₂, οδηγώντας έτσι στην υποχώρηση της φλεγμονής των ιστών στα αγγειακά κύτταρα ¹⁴⁰.

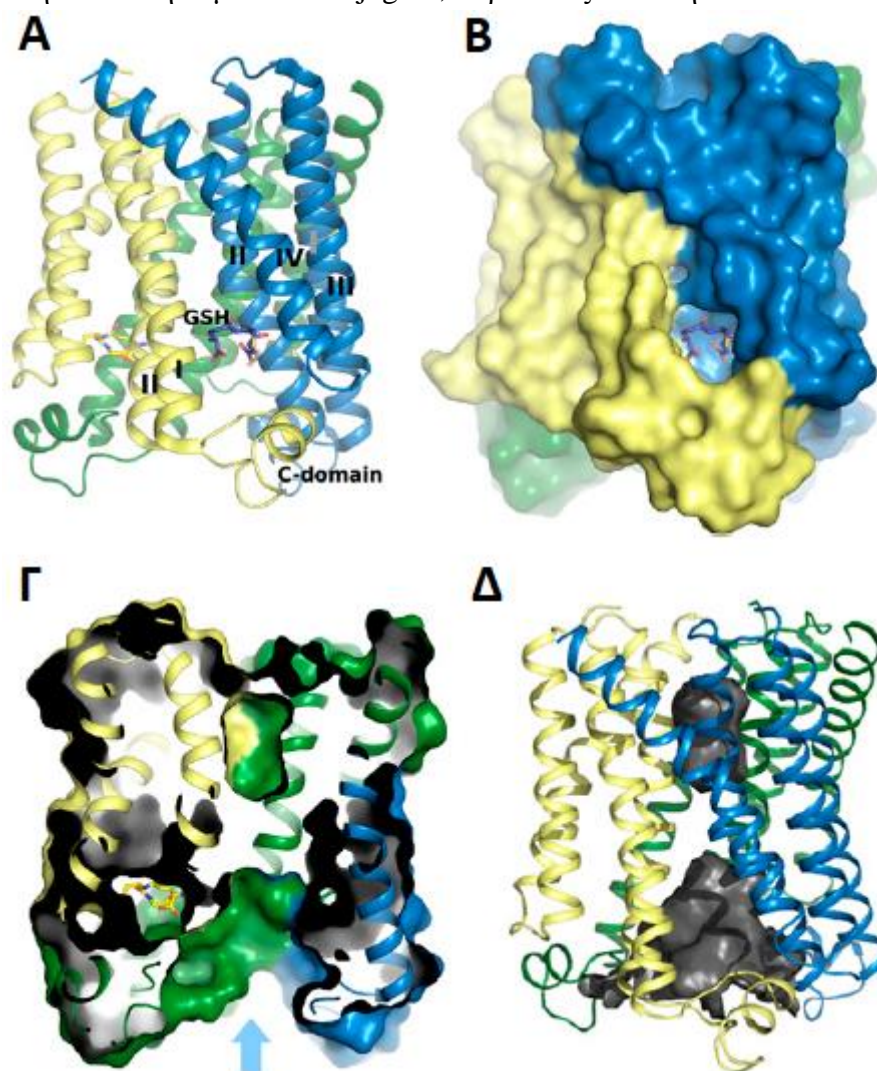
Όταν οι ιστοί και τα κύτταρα λαμβάνουν κάποιο σοβαρό ερέθισμα, π.χ από τραυματισμό, προκαλείται οξεία φλεγμονή και παράγεται μεγάλη ποσότητα PGE₂ με την άμεση ενεργοποίηση των PLA₂/COX-2/mPGES-1. Εν συντομία, το μοντέλο αυτό υποστηρίζει ότι η παραγόμενη PGE₂ διεγείρει περαιτέρω την απελευθέρωση AA δρώντας ως επιπλέον φλεγμονώδης παράγοντας (**Εικόνα 4**). Η αύξηση της συγκέντρωσης του AA στη συνέχεια αναστέλλει απ'ευθείας την mPGES-1 για να μειώσει γρήγορα τη βιοσύνθεση της PGE₂ και έτσι συμβάλλει στην υποχώρηση της φλεγμονής. Έτσι, η οξεία φλεγμονή λαμβάνει χώρα μόνο για μικρό χρονικό διάστημα. Σε χρόνιες όμως φλεγμονές, η συγκέντρωση της PGE₂ που παράγεται από τις COX-2 και mPGES-1 δεν είναι αρκετά υψηλή ώστε να διεγείρει την επιπλέον απελευθέρωση AA, σε τόσο υψηλά επίπεδα ώστε να μπορεί να αναστείλει την mPGES-1. Αυτό το μοντέλο αποτελεί μια πιθανή εξήγηση για την παρατεταμένη διάρκεια της χρόνιας φλεγμονής καθώς και την έλλειψη ικανότητας αυτοέλεγχου ¹⁴⁰.

5.2 Μικροσωμική Συνθάση -1 της Προσταγλανδίνης E₂ (mPGES-1)

Η mPGES-1 είναι το ένζυμο που καταλύει το τελευταίο στάδιο της σύνθεσης της PGE₂ από το AA και είναι μέλος της υπεροικογένειας των MAPEG (συσχετιζόμενων με μεμβράνη πρωτεϊνών που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των εικοσανοειδών και της γλουταθειόνης), μαζί με την πρωτεΐνη που ενεργοποιεί την 5-λιποξυγενάση (FLAP), τη συνθάση του λευκοτριενίου C₄, και τις μικροσωμικές γλουταθειονοτρανσφεράσες (MGSTs) ¹¹⁰. Είναι ένα ένζυμο συνδεδεμένο στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου, που αν και εκφράζεται συστηματικά σε χαμηλό επίπεδο σε ορισμένα όργανα (π.χ. το αναπαραγωγικό σύστημα, οι πνεύμονες, ο γαστρικός βλεννογόκος και τα νεφρά), σε φλεγμονώδεις ιστούς και όγκους επάγεται η υπερέκφρασή του. Η mPGES-1 δεσμεύει κατά προτίμηση την PGH₂ που προέρχεται από τη δράση της COX-2 με την οποία συνήθως εκφράζονται ταυτόχρονα ¹²⁰. Η mPGES-1 είναι η πρώτη ισομορφή PGES που αναγνωρίστηκε και κλωνοποιήθηκε από τον Jakobsson το 1999 ως ένα ένζυμο επαγόμενο και εξαρτώμενο από γλουταθειόνη (GSH) ¹¹⁶.

5.2.1. Δομή της mPGES-1

Η mPGES-1 είναι μια μεμβρανική πρωτεΐνη μεγέθους 16 kDa, η οποία στον άνθρωπο αποτελείται από 153 αμινοξέα ¹⁴¹. Η πρώτη δομή αναφέρθηκε το 2008 με 3D-ηλεκτρονική κρυσταλλογραφία σε χαμηλή ανάλυση ενώ, μία δομή ακτίνων Χ υψηλής ανάλυσης της mPGES-1 συμπλοκοποιημένη με το βασικό συμπαράγοντα γλουταθειόνη αναφέρθηκε το 2013. Η κρυσταλλική δομή της mPGES-1, όπως αποτυπώθηκε από την ομάδα του Sjogren, παρουσιάζεται στην **Εικόνα 5** ¹⁴².



Εικόνα 5: Γενική δομή της mPGES-1. **A:** Δομή του τριμερούς της mPGES-1. Το ασύμμετρο στοιχείο περιέχει ένα μονομερές: το συνολικό τριμερές δημιουργήθηκε εφαρμόζοντας την κρυσταλλογραφική συμμετρία. Τα μονομερή φαίνονται με μπλέ, κίτρινο και πράσινο. Το συνδεδεμένο μόριο GSH φαίνεται με μοντέλο ράβδων. **B:** Χωροπληρωτικό μοντέλο του τριμερούς, χρησιμοποιώντας την ίδια διαμόρφωση με το A. **Γ:** Οριζόντια τομή, όπου φαίνεται η κεντρική κωνική κοιλότητα της κυτοσολικής πλευράς του mPGES. Το άνοιγμα της κοιλότητας επισημαίνεται με το βέλος. **Δ:** Η κεντρική κοιλότητα της mPGES-1.

Η δομή της mPGES-1 περιέχει ένα τμήμα 20-αμινοξέων μεταξύ των ελίκων I και II που σχηματίζει ένα μικρό θετικά φορτισμένο πεδίο αποτελούμενο από δύο δομημένους βρόχους και μία σύντομη έλικα, που στο εξής αναφέρεται ως C-περιοχή.

Το θετικό φορτίο συμφωνεί με την προτεινόμενη τοπολογία για την mPGES-1, όπου τα N- και C-τελικά άκρα βρίσκονται στον αυλό του ενδοπλασματικού δικτύου. Οι έλικες II και IV περιέχουν έντονες συστροφές που προκαλούνται από την παρουσία δύο προλινών (Pro81 και Pro136) που διαταράσσουν το δίκτυο των δεσμών υδρογόνου της έλικας. Η συστροφή στην έλικα II προκαλεί ανύψωση μίας μεγάλης κυτταροπλασματική κοιλότητας κωνικού σχήματος στο κέντρο του τριμερούς, με το στενό άκρο του κώνου να βρίσκεται καλά τοποθετημένο μέσα στην περιοχή της μεμβράνης. Κάθε δέσμη τεσσάρων ελίκων σταθεροποιείται από ένα σύμπλεγμα αμινοξέων που περιλαμβάνουν τις Lys26, Asn74, Asp75, Arg110 και Thr114, γεφυρωμένα από δύο ενδομεμβρανικά μόρια νερού που συνδέουν τις έλικες I, II και III. Τα N-τελικά άκρα των ελίκων II και IV, μαζί με το C-τελικό άκρο της έλικας I και την κυτταροπλασματική περιοχή, σχηματίζουν μια κοιλότητα, με αποτέλεσμα το τριμερές της mPGES-1 να περιέχει τρεις τέτοιες κοιλότητες, μια από κάθε μονομερές.

Η GSH προσανατολίζεται από δεσμούς υδρογόνου με τις πλευρικές ομάδες των Arg73, Asn74, Glu77, His113, Tyr117, Arg126 και Ser127 των ελίκων II και IV και την πλευρική αλυσίδα της Arg38 από την έλικα I σε ένα σχετικά συμμετρικό μόριο. Εκτός από τους δεσμούς υδρογόνου, η πλευρική φαινόλη της Tyr130 δημιουργεί π-αλληλεπιδράσεις με το δεσμό κυστεΐνης-γλουταμινικού της GSH. Η C-περιοχή δεν φαίνεται να συνεισφέρει άμεσα στις αλληλεπιδράσεις με τον συμπαράγοντα. Ωστόσο, η πλευρική αλυσίδα της Asp49 εμπλέκεται σε στενή γέφυρα άλατος με την Arg126, συμβάλλοντας έτσι έμμεσα στο περιβάλλον της γλουταθειόνης¹⁴².

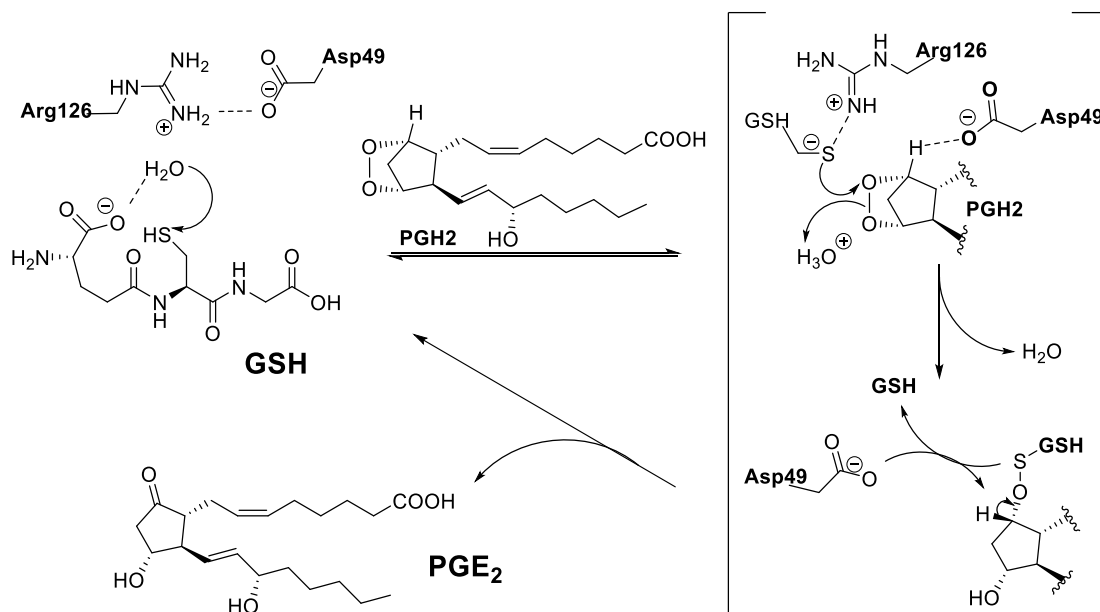
Ο υπόλοιπος όγκος της κοιλότητας δέσμευσης με τη GSH σχηματίζει μία μικρή «τσέπη». Το υπόστρωμα για την mPGES-1, η PGH₂, αποτελείται από μία σφαιρικού σχήματος κεφαλή με δύο ουρές. Η σφαιρική κεφαλή μπορεί να εφαρμόσει στην «τσέπη» αυτή με τις δύο εύκαμπτες ουρές είτε να εισχωρούν στη λιπιδική διπλοστοιβάδα ή στη διεπιφάνεια μεμβράνης-κυτοσόλης όπου θα αναμενόταν ποικίλες αλληλεπιδράσεις με την πρωτεΐνη. Με βάση το μέγεθος, το σχήμα και την εμφανή προοπτική για ευνοϊκές αλληλεπιδράσεις με το υπόστρωμα, προτείνεται πως η κοιλότητα αυτή αποτελεί και το ενεργό κέντρο του ενζύμου¹⁴².

Χάρη στην πρόσφατα δημοσιευμένη, υψηλής ανάλυσης κρυσταλλική δομή της mPGES-1, προσεγγίσεις που βασίζονται τόσο στους υποκαταστάτες όσο και στη δομή της, υπόσχονται καινοτόμα φαρμακολογικά προϊόντα, με πολύ καλή ανασταλτική δράση έναντι της mPGES-1. Ο συνδυασμός τρισδιάστατων βιβλιοθηκών και μεθόδων ισχυρής πρόσδεσης, αναμένεται να επιφέρει ραγδαία αύξηση στην ανάπτυξη δομικά διαφορετικών υποψήφιων αναστολέων για την mPGES-1 στο εγγύς μέλλον¹¹⁰.

5.2.2 Μηχανισμός δράσης της mPGES-1

Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει πολλές υποθέσεις και απόπειρες εξήγησης του μηχανισμού δράσης της mPGES-1 με την καταλυτική συνεισφορά της GSH ως συμπαράγοντα. Αρχικά, θεωρούταν ότι η Ser127 ενεργοποιεί τη θειόλη της GSH, ώστε να ξεκινήσει ο καταλυτικός κύκλος και πάνω σε αυτή την υπόθεση

διατυπώθηκαν μηχανισμοί κατά τους οποίους η Ser127 συμμετείχε στον καταλυτικό μηχανισμό σχηματίζοντας μία γέφυρα υδρογόνου με την GSH η οποία δρα είτε ως βάση είτε ως πυρηνόφιλο ¹⁴². Το 2016 όμως, αποδείχθηκε τελικά ότι η Ser127 δεν απαιτείται για την καταλυτική δράση της mPGES-1, σε αντίθεση με την αλληλεπίδραση μεταξύ της Arg126 και της Asp49 που κρίνεται απαραίτητη για την κατάλυση ¹⁴³. Έχει προταθεί ένας μηχανισμός ισομερείωσης της PGH₂ από την mPGES-1, ο οποίος επιτρέπει μια διαμεσολαβούμενη αλληλεπίδραση νερού με το θειολικό ανιόν της GSH και τη σταθεροποίηση του θειολικού άλατος μέσω αλληλεπίδρασης με την Arg126 του ενζύμου.



Σχήμα 13 : Προτεινόμενος καταλυτικός μηχανισμός της mPGES-1

Το μόριο νερού μπορεί να λειτουργήσει ως η, προς το παρόν μη-προσδιορισμένη, βάση που δέχεται ένα πρωτόνιο από την GSH κατά τη διάρκεια σχηματισμού ενός θειολικού ανιόντος, σχηματίζοντας παράλληλα ένα ενδιάμεσο ιόν οξωνίου, ή μεταφέροντας το πρωτόνιο στο α-καρβοξυλικό ανιόν. Αφού σχηματιστεί και σταθεροποιηθεί, μέσω αλληλεπίδρασης με την Arg126, αναμένεται η προσβολή θειολικού ανιόντος της GSH στο ενδοϋπεροξειδικό δακτύλιο, στη θέση C-9, της PGH₂, με αποτέλεσμα διάσπαση του δεσμού O-O και παραλαβή των πρωτονίων από το ιόν υδρονίου. Η Asp49, απελευθερωμένη πλέον από την αλληλεπίδρασή της με την Arg126, μπορεί να λειτουργήσει ως βάση κατά την προκύπτουσα μεταβατική κατάσταση, διευκολύνοντας τη μείωση του pK_a του C-9 πρωτονίου, ώστε αυθόρμητη διάσπαση να οδηγήσει στο προϊόν, την PGE₂, και στην αναγέννηση του καταλύτη, GSH (Σχήμα 13). Αν και ένας εναλλακτικός μηχανισμός στον οποίο το θειολικό ανιόν θα δρα ως βάση που αφαιρεί το πρωτόνιο του C-9 έχει επίσης προταθεί ως περισσότερο ευνοϊκός ενεργειακά στα συστήματα μοντελοποίησης ¹⁴⁴, η πιθανότητα οποιασδήποτε οδού τελικά θα καθοριστεί από τον ακριβή προσανατολισμό του υποστρώματος σε σχέση με τον συμπάραγοντα εντός του ενεργού κέντρου του ενζύμου ¹⁴³.

5.2.3 Νόσοι που σχετίζονται με την mPGES-1

Η mPGES-1 εκφράζεται φυσιολογικά σε ποικίλους ιστούς σε χαμηλές συγκεντρώσεις, αλλά είναι αξιοσημείωτο ότι υπερεκφράζεται ως απόκριση σε φλεγμονώδη ερεθίσματα ¹⁴⁵. Θεωρείται ένα ένζυμο κλειδί για την φλεγμονή, τον πυρετό, τον πόνο και τις ασθένειες που σχετίζονται με φλεγμονώδεις παράγοντες, όπως η αρθρίτιδα, η αθηροσκλήρωση και ο καρκίνος. Η mPGES-1 έχει βρεθεί αυξημένη σε μία ποικιλία ιστών υπό φλεγμονή που περιλαμβάνουν, μεταξύ άλλων, το ήπαρ ασθενών με ηπατίτιδα, καρδιακό ιστό έπειτα από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου και ιστό αρθρώσεων ασθενών με ρευματοειδή αρθρίτιδα ^{121,123}.

Οι μελέτες απενεργοποίησης της mPGES-1 υποστήριξαν το ρόλο της στη φλεγμονώδη απόκριση, τον πυρετό και τον πόνο. Για παράδειγμα, ποντίκια με έλλειψη mPGES-1 δεν παρουσίασαν πυρετό και καμία κεντρική σύνθεση PGE₂ μετά από περιφερειακή έγχυση με λιποπολυσακχαρίτη βακτηρίου, που προκαλεί πυρετό στο συγκεκριμένο πειραματικό μοντέλο, ενώ η ικανότητα εκδήλωσης πυρετού έπειτα από χορήγηση PGE₂ παρουσιάστηκε αλώβητη ¹⁴⁶. Επιπρόσθετα, τα ποντίκια με έλλειψη mPGES-1, εμφάνισαν μειωμένη αντίληψη του πόνου, όπως εκτιμήθηκε με απόκριση οξικού οξέος ¹⁴⁷, και δεν εμφάνισαν μηχανική αλλοδυνία και θερμική υπεραλγησία σε μοντέλο νευροπαθητικού πόνου που προκλήθηκε με διατομή του L5 νωτιαίου νεύρου ¹⁴⁸.

Η mPGES-1 είναι ένας βασικός μεσολαβητής του πόνου στη ρευματοειδή αρθρίτιδα και στην οστεοαρθρίτιδα. Στις αρθρώσεις ασθενών με ρευματοειδή αρθρίτιδα, η mPGES-1 έχει ανιχνευθεί σε γραμμωτά μονοκύτταρα και κύτταρα ινοβλαστών, σε ενδοθηλιακά κύτταρα, σε αρθρικά μακροφάγα και ινοβλάστες, ενώ υψηλή έκφραση παρατηρείται στα γραμμωτά αρθρικά κύτταρα ¹⁴⁹. Η έλλειψη της mPGES-1 έχει αποδειχθεί ότι μειώνει τη σφοδρότητα της αρθρίτιδας, στον τύπο αρθρίτιδας που προκαλείται από κολλαγόνο τύπου II, ένα αντιπροσωπευτικό ζωικό μοντέλο ρευματοειδούς αρθρίτιδας, με μειωμένη αρθρική υπερπλασία, αλλοιώσεις του ιστού και διεύρυνση φλεγμονωδών κυττάρων, καθώς και μειωμένη αντίληψη πόνου μετά από μηχανική διέγερση ¹⁵⁰. Η mPGES-1 έχει επίσης βρεθεί υπερεκφρασμένη σε ανθρώπινους χόνδρους και χόνδροκύτταρα ασθενών με οστεοαρθρίτιδα, υποδηλώνοντας ότι το mPGES-1 μπορεί να είναι σημαντικό στην παθογένεση της νόσου ¹⁵¹.

Η mPGES-1 επίσης υπερεκφράζεται στην αθηρωματική πλάκα ασθενών με αθηροσκλήρωση της καρωτίδας, που υποδηλώνει την εμπλοκή της mPGES-1 στην ασθένεια. Μελέτες σε ζωικά μοντέλα έδειξαν ότι απενεργοποίηση της mPGES-1 επιβραδύνει την αθηρογένεση και μειώνει την ευαισθησία για εκδήλωση αθηροσκλήρωσης ¹⁵².

Η mPGES-1 εμπλέκεται σε νευρολογικές διαταραχές, όπως το ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο, η νόσος Αλτσχάιμερ, η σκλήρυνση κατά πλάκας, η αμυοτροφική πλάγια σκλήρυνση, η νόσος Creutzfeldt-Jakob και η σχετιζόμενη με τον ιό HIV άνοια ^{153, 154}. Σε πειραματικό μοντέλο ισχαιμίας, mPGES-1 knock-out ποντίκια, στα οποία απουσιάζει πλήρως η μετισχαιμική παραγωγή PGE₂ στον φλοιό, εμφάνισαν μειωμένη απόφραξη, οίδημα, αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο και

ενεργοποίηση κασπάσης-3 στον φλοιό μετά από ισχαιμία, σε σύγκριση με το φυσιολογικό μοντέλο. Τα knockout ποντίκια δεν εμφάνισαν τόσο σοβαρές νευρολογικές δυσλειτουργίες όπως παρατηρήθηκαν στα κανονικά ποντίκια μετά το ισχαιμικό επεισόδιο, ενώ η ενδοεγκεφαλοκοιλιακή χορήγηση PGE₂ μείωσε τη σφοδρότητα των συμπτωμάτων⁹⁹. Η mPGES-1 έχει επίσης αποδειχθεί ότι συμβάλλει στην ισχαιμική διεγερτοτοξικότητα¹⁵⁵. Στον ανθρώπινο εγκέφαλο, η mPGES-1 εκφράζεται συστηματικά σε νευρώνες, μικρογλοία, αστροκύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα, αλλά βρέθηκε σημαντικά αυξημένη σε πάσχοντες από νόσο Alzheimer ιστούς¹⁵⁶.

Αναφορικά με τη σκλήρυνση κατά πλάκας, ο Kihara και οι συνεργάτες του ανέφεραν ότι η mPGES-1 διαδραματίζει βασικό ρόλο στην πειραματική αυτοάνοση εγκεφαλομυελίτιδα (EAE), καθώς mPSES-1 knockout ποντίκια παρουσίασαν λιγότερο σοβαρά συμπτώματα της EAE, ενώ η ανοσοϊστοχημεία του ΚΝΣ EAE ποντικών και MS ασθενών αποκάλυψε την υπερέκφραση της mPGES-1 σε μικρογλοία και μακροφάγα¹⁵⁷.

Όπως συνοψίζονται σε πρόσφατες ανασκοπήσεις βιβλιογραφίας, έχουν ανιχνευθεί αυξημένα επίπεδα mPGES-1 σε διάφορους τύπους καρκίνου, όπως ο καρκίνος του οισοφάγου, του θυρεοειδούς, του πνεύμονα, του νεφρού, του παχέος εντέρου, του ήπατος, του παγκρέατος, του μαστού, του γαστρεντερικού, του προστάτη^{104, 110, 158}.

Έπειτα από μελέτες του Kamei και των συνεργατών του σε κύτταρα πνευμονικού καρκινώματος Lewis, παρατηρήθηκε πως κύτταρα στα οποία υπερεκφράζεται η mPGES-1 παρουσιάζουν αυξημένους ρυθμούς πολλαπλασιασμού και μετάστασης, ενώ κύτταρα στα οποία επετεύχθει σίγαση του siRNA για την mPGES-1 εμφάνισαν μείωση στον πολλαπλασιασμό, και την επιθετικότητα του καρκίνου¹⁵⁹. Έρευνες της ομάδας του Seo έδειξαν ότι η έκφραση του mPGES-1 και της mPGES-2 στον καρκίνο του παχέος εντέρου σχετίζεται σημαντικά με κλινικοπαθολογικούς παράγοντες, υποδηλώνοντας ένα ρόλο για αυτά τα ένζυμα στη διαμόρφωση της εξέλιξης του καρκίνου του εντέρου¹⁶⁰. Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι αφαίρεση ή αναστολή της mPGES-1 σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα του προστάτη καταστέλλει την ογκογένεση¹⁶¹.

Πολύ πρόσφατα, η οδός COX-2/mPGES-1/PGE₂ αποδείχθηκε ότι ρυθμίζει τον πρωτεϊνικό υποδοχέα -1 του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (ο οποίος παίζει σημαντικό ρόλο στην καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος κατά τη διάρκεια της προόδου του καρκίνου) στα μακροφάγα που σχετίζονται με τον όγκο και μυελοειδή κατασταλτικά κύτταρα. Ως αποτέλεσμα, ο επαναπρογραμματισμός του μεταβολισμού της PGE₂ στο μικροπεριβάλλον του όγκου θα μπορούσε να προσφέρει την ευκαιρία μείωσης της ανοσοκαταστολής στον ξενιστή του όγκου¹⁶². Οι Larsson και Jakobsson έχουν επισημάνει την αναστολή της mPGES-1 ως στοχευμένη θεραπεία κατά του καρκίνου¹⁶³.

Η PGE₂ έχει επίσης εμπλακεί στον οξύ τραυματισμό των νεφρών¹⁶⁰. Η ερευνητική ομάδα του Jia συζητά το ρόλο της μεταβολικής οδού COX-2/mPGES/PGE₂ στη νεφρική βλάβη¹⁶⁴, ενώ μια πολύ πρόσφατη ανασκόπηση συνοψίζει τον ρόλο της PGE₂ στα προβλήματα που απορρέουν από νόσο των νεφρών,

που επιταχύνουν την καρδιαγγειακή νόσο και τονίζει το ρόλο της σηματοδότησης COX-2/mPGES/PGE₂ στην υπέρταση και διαβήτη¹⁶⁵.

Δεδομένου του ρόλου της σε διάφορες ασθένειες, η αναστολή της mPGES-1 μπορεί να αποδειχθεί ζωτικής σημασίας για τη θεραπεία διαφόρων φλεγμονωδών καταστάσεων, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου.

5.2.4 Αναστολείς της mPGES-1

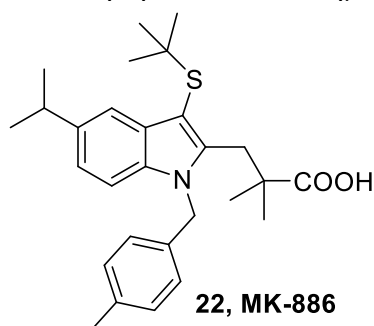
Η καταστολή της μαζικής βιοσύνθεσης PGE₂ με αναστολή της mPGES-1 είναι μια νέα φαρμακολογική στρατηγική για την αντιμετώπιση πολλών ασθενειών στις οποίες η PGE₂ υπερπαράγεται από την υπερέκφραση της mPGES-1. Συνεπώς, τα φάρμακα που στοχεύουν στην mPGES-1 θεωρούνται πολύτιμες εναλλακτικές λύσεις έναντι των NSAIDs και Coxibs με βελτιωμένη εκλεκτικότητα. Μπορούν να προσφέρουν τη δυνατότητα ενός καλύτερου προφίλ ασφάλειας και, συνεπώς, χαμηλότερο κίνδυνο εκδήλωσης παρενεργειών που συνήθως συνδέονται με τα NSAIDs και τα coxibs, αλλά αυτό επιδέχεται εκτεταμένη αξιολόγηση στον ανθρώπινο οργανισμό¹¹⁰.

Οι ιδιότητες που πρέπει να πληρεί ένας ιδανικός αναστολέας της mPGES-1 προκειμένου να είναι ελκυστικός για περαιτέρω έρευνες, είναι οι εξής:

- i. Υψηλή δραστικότητα στην mPGES-1, αλλά παράλληλα εκλεκτικότητα απέναντι σε COX ένζυμα και άλλες PG συνθάσες.
- ii. Υψηλή δραστικότητα όχι μόνο έναντι στο απομονωμένο ένζυμο, αλλά και μεγάλη αποδοτικότητα στο αίμα.
- iii. Έλλειψη διαφορών ανάμεσα στα είδη, ώστε να είναι αξιόπιστες *in vivo* έρευνες σε ποντίκια και αρουραίους, για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητάς τους και την απόδειξη της θεωρίας.
- iv. Επιθυμητές φυσικοχημικές ιδιότητες (για παράδειγμα όχι μεγάλη λιποφιλικότητα), ώστε να εξασφαλιστεί η απαραίτητη βιοδιαθεσιμότητα για την επιτυχία των *in vivo* δοκιμών⁵.

Μέχρι σήμερα, δεν υπάρχει εκλεκτικός αναστολέας της mPGES-1 σε κλινική χρήση, ενώ μόλις πρόσφατα αναφέρθηκαν ενώσεις που εισήλθαν στη διαδικασία κλινικών δοκιμών ως αναστολείς της mPGES-1. Σε αυτό το σημείο αξίζει να σημειωθεί ότι έχουν αναπτυχθεί διάφοροι τρόποι προσδιορισμού της ανασταλτικής δραστικότητας μιας συνθετικής ένωσης ενάντια στην mPGES-1. Μπορούν να ταξινομηθούν σε δοκιμασίες ανίχνευσης χωρίς κύτταρα και δοκιμασίες που βασίζονται σε κύτταρα. Πρέπει να υπογραμμιστεί ότι μπορεί να παρατηρηθούν τεράστιες αποκλίσεις χρησιμοποιώντας έναν διαφορετικό τύπο ανάλυσης. Αρκετές ενώσεις που παρουσιάζουν υψηλή ισχύ σε μια δοκιμασία χωρίς κύτταρα έχουν δείξει μια δραματική απώλεια (έως 1000 φορές) απόδοσης σε έναν προσδιορισμό βασισμένο σε κύτταρα, οπότε και τα μεγέθη αναστολής δεν είναι απολύτως συγκρίσιμα μεταξύ τους⁵.

Ο πρώτος συνθετικός αναστολέας mPGES-1 ήταν ένα καρβοξυλικό οξύ βασιζόμενο σε ινδολίο (**22, MK-886**)¹¹⁷, το οποίο είχε αναφερθεί νωρίτερα ως αναστολέας FLAP¹⁶⁶, παρουσιάζοντας χαμηλή ισχύ σε μία δοκιμασία χωρίς κύτταρα (ανθρώπινη mPGES-1 IC₅₀ 1.6 μM). Μελέτες έχουν επίσης αποκαλύψει ορισμένες περιπτώσεις ενδογενών λιπαρών οξέων που παρουσιάζουν ασθενή αναστολή mPGES-1 (αραχιδονικό οξύ, δοκοσαεξανοϊκό οξύ) και αντίστοιχα εικοσανοειδή όπως τα λευκοτριένια C4, PGJ₂ και 15-deoxy-Δ12,14-PGJ₂¹⁶⁷. Μέχρι σήμερα, μία ποικιλία, δομικά διαφορετικών συνθετικών ενώσεων έχουν αναγνωρισθεί ως αναστολείς της mPGES-1, οι περισσότεροι εκ των οποίων αναφέρονται σε διπλώματα ευρεσιτεχνίας, μία πρόσφατη ανασκόπηση των οποίων δημοσιεύσαμε πρόσφατα⁵.



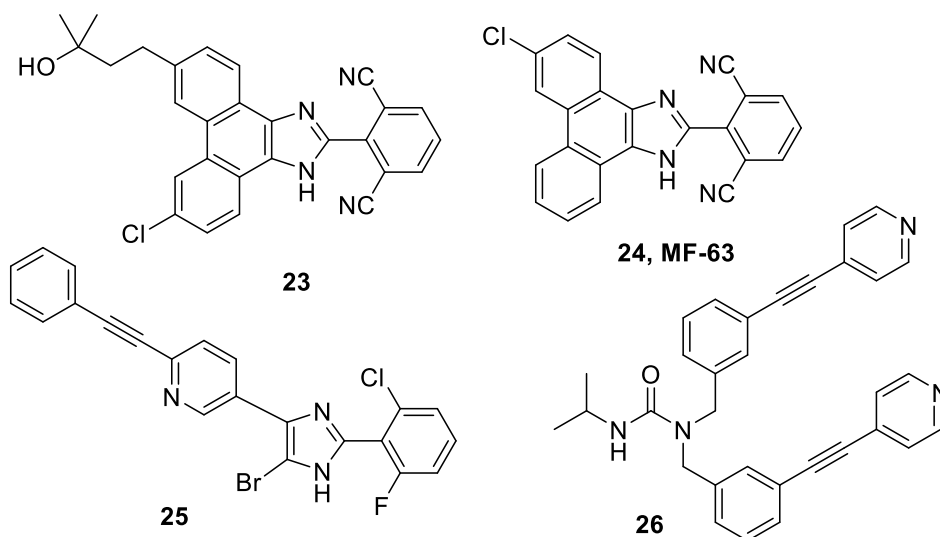
Σχήμα 14 : Ο πρώτος συνθετικός αναστολέας mPGES-1

5.2.4.1 Φαιναθρεν-ιμιδαζόλια

Από το 2006, σε μια σειρά διπλωμάτων ευρεσιτεχνίας¹⁶⁸⁻¹⁷⁰, η εταιρία Merck Frost ανέφερε ως αναστολείς mPGES-1 φαιναθρεν-ιμιδαζόλια (Σχήμα **15**), όπως η ένωση **23**, παρουσιάζοντας IC₅₀ 0,7 nM σε δοκιμές χωρίς κύτταρα. Αυτού του τύπου οι ενώσεις φέρουν έναν 2,6-δικυανο-υποκατεστημένο φαινολικό δακτύλιο στη θέση-2 του ιμιδαζολίου. Εκτός από την αντιφλεγμονώδη δράση τους, οι εν λόγω αναστολείς φέρονται επίσης να έχουν πιθανή χρήση στη θεραπεία και πρόληψη της νεοπλασίας. Λόγω του γεγονότος ότι η παραγωγή PGE₂ πιστεύεται ότι προάγει τον σχηματισμό, την ανάπτυξη ή και τη μετάσταση των νεοπλασιών και καθώς η mPGES-1 συχνά εκφράζεται ταυτόχρονα με την COX-2 σε καλοήθεις και καρκινικές νεοπλασίες, η αναστολή της mPGES-1 (και όχι της COX-2) μπορεί να προκαλέσει τη μείωση της PGE₂ και συνεπώς μπορεί να είναι χρήσιμη ως θεραπεία καλοήθων ή κακοήθων νεοπλασιών.

Η ένωση MF-63 (**24**, Σχήμα **15**) είναι ένας ισχυρός, εκλεκτικός και ενεργός με στοματική χορήγηση αναστολέας της mPGES-1¹⁷¹. Έχει την ικανότητα να αναστέλλει ανασυνδυασμένη ανθρώπινη mPGES-1 με δοσοεξαρτώμενο τρόπο (IC₅₀ 1,3 nM) και 1000 φορές περισσότερο από τις υπόλοιπες συνθάσες προστανοειδών (mPGES-2, και τις συνθάσες των PGI₂, PGD₂ και TX). Δοκιμάστηκε επίσης για την αναστολή των COX-1, COX-2, 5-λιποξυγενάσης (5-LO) και διαφόρων υποδοχέων προστανοειδών και λευκοτριενίων που εμφανίζουν παρόμοιο βαθμό εκλεκτικότητας. Ο MF-63 αναστέλλει επίσης ισχυρά το ένζυμο ινδικού χοιριδίου (IC₅₀ 0,9 nM), έδειξε καλή φαρμακοκινητική, επέδειξε αναλγητική δράση σε ινδικά χοιρίδια μετά από στοματική χορήγηση σε δόση 30-100 mg/kg και βρέθηκε να ανακουφίζει τον πυρετό

και τον πόνο σε προκλινικό μοντέλο φλεγμονής, ενώ στερείται των γαστρεντερικών παρενεργειών των NSAIDs¹⁷². Παρόλο που αναφέρθηκαν ισχυρότερες ενώσεις τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*¹⁷³, δεν είναι γνωστά περαιτέρω δεδομένα σχετικά με αυτή τη σειρά αναστολέων.



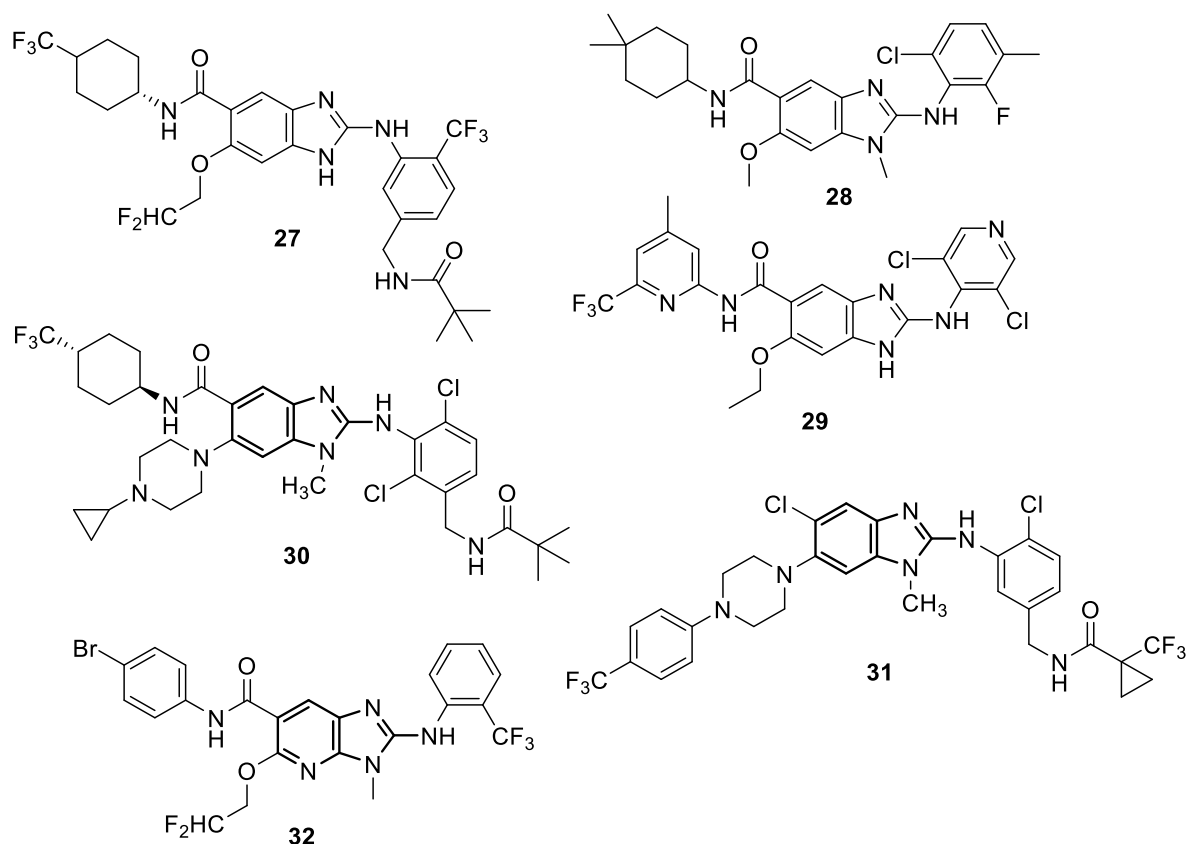
Σχήμα 15 : Παράγωγα φαιναθρεν-ιμιδαζολίου, διαρυλ-ιμιδαζολίου και ουρίας

Η Merck Frost έχει επίσης αναφέρει 2,4-διαρυλιμιδαζόλια και τρι-υποκατεστημένες ουρίες. Η ένωση **25** αναστέλλει την ανθρώπινη mPGES-1 σε κυτταρικές δοκιμές με IC_{50} 1 nM, ενώ σε δοκιμασία πλήρους αίματος παρουσιάζει IC_{50} 1600 nM¹⁷⁴. Η ουρία **26** αναστέλλει την ανθρώπινη mPGES-1 βάσει ενζυμικών δοκιμών (IC_{50} 1-3 nM), ενώ παρουσιάζει σημαντική απώλεια δραστηριότητας σε κυτταρικές δοκιμές (IC_{50} 2,1 μ M)¹⁷⁵.

5.2.4.2 Παράγωγα βενζιμιδαζολίου

Από το 2010, η Boehringer Ingelheim κατοχύρωσε μια ευρεία κατηγορία 2-αρυλαμινο-βενζιμιδαζολο-καρβοξαμιδίων που παρουσιάζουν ανασταλτική δράση για την mPGES-1. Οι υποκαταστάτες αρυλαμινο-ομάδας παρουσίασαν ποικιλότητα και η ένωση **27** (Σχήμα 16), για παράδειγμα, εμφάνισε IC_{50} 1 nM στην ενζυμική δοκιμή¹⁷⁶. Δομικές αλλαγές στην αρυλάμινο-υποκατάσταση του καρβοξαμιδίου οδήγησαν σε μία σειρά ενώσεων όπως η **28**, η οποία εμφάνισε αναστολή 100% mPGES-1 σε συγκέντρωση 1 μ M χρησιμοποιώντας δοκιμή ανασυνδυασμένου ενζύμου¹⁷⁷. Αντικατάσταση της NH-υποκατάστασης από την ομάδα 3,5-διχλωροπυριδίνης και αλλαγή του καρβοξαμιδικού υποκαταστάτη, οδήγησαν σε ενώσεις όπως την **29**^{178, 179}. Το 2012, αξιολογήθηκαν επιλεγμένες ενώσεις σε κυτταρικές δοκιμές οι οποίες έδειξαν ότι ενώσεις με παρόμοια αποτελέσματα στις ενζυμικές δοκιμές μπορεί να έχουν διαφορετικές δραστηριότητες στις κυτταρικές μελέτες. Συνεχίζοντας τις προσπάθειές τους, παρουσίασαν άλλο ένα ευρύ φάσμα βενζιμιδαζολικών παραγώγων που εμπεριέχουν την 2,4-διχλωροβενζυλο-πιβλαμιδική ομάδα, όπως η ένωση **30**, που επέδειξε IC_{50} 1 nM στις ενζυμικές δοκιμές και IC_{50} μικρότερη από 1 nM στις κυτταρικές δοκιμές¹⁸⁰. Άλλα υποκατεστημένα βενζιμιδαζόλια, χωρίς την ομάδα του

καρβοξαμίδιο, έχουν επίσης αναφερθεί από την Boehringer Ingelheim ως αποτελεσματικοί αναστολείς mPGES-1, όπως για παράδειγμα, η ένωση **31**¹⁸¹.



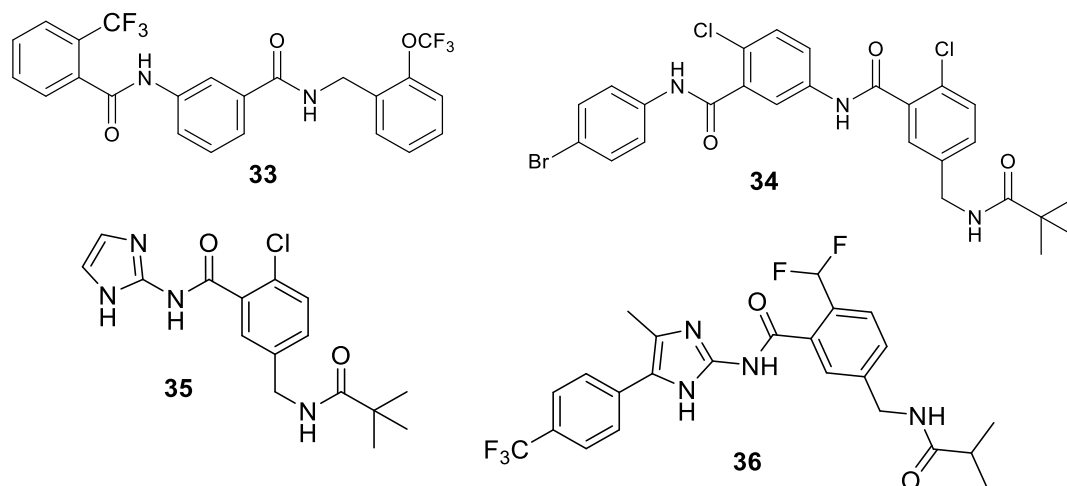
Σχήμα 16 : Παράγωγα βενζιμιδαζολίου

Ακολουθώντας την ίδια λογική, η Boehringer Ingelheim ισχυρίστηκε επίσης ότι ένας αριθμός ιμιδαζοπυριδινικών καρβοξαμιδίων παρουσιάζουν αντιφλεγμονώδη δράση^{182, 183}, όπως η ένωση **32** με 100% αναστολή της ανασυνδυασμένης mPGES-1 σε 1μM συγκέντρωση¹⁸⁴.

5.2.4.3 Βενζαμιδικά παράγωγα

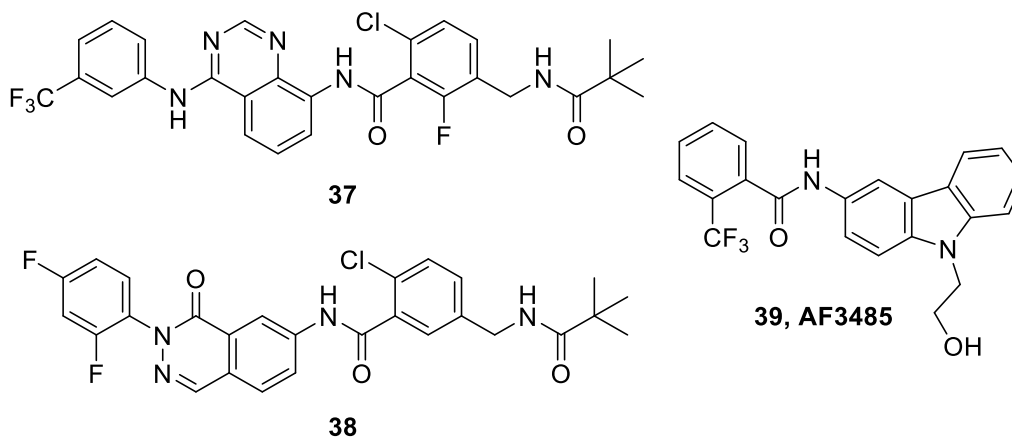
Μια ευρεία ποικιλία βενζαμιδικών παραγώγων που παρουσιάζουν δομική πολυμορφία έχουν αναπτυχθεί από πολλές φαρμακευτικές εταιρείες κατά την τελευταία δεκαετία. Το 2009, η Novasaid ισχυρίστηκε ότι παράγωγα βενζαμιδίου, αναστέλλουν την mPGES-1 με την ένωση **33** (Σχήμα 17) να παρουσιάζει IC₅₀ 0,11 μM¹⁸⁵. Το 2011, η Boehringer συνέθεσε μεταξύ άλλων την ένωση **34** υποστηρίζοντας ισχυρή ανασταλτική δράση ενάντια στην mPGES-1 (IC₅₀ 1 nM στις ενζυμικές δοκιμές)¹⁸⁶. Η Eli Lilly, το 2012, πρότεινε 2-βενζαμιδο-ιμιδαζολικές ενώσεις ως αποτελεσματικούς αναστολείς της mPGES-1, επικεντρώνοντας τις έρευνες της στην οστεοαρθρίτιδα. Μεταξύ άλλων, οι **35**¹⁸⁷ και **36**¹⁸⁸ αξιολογήθηκαν

ως υποψήφιοι για κλινικές μελέτες. Η ένωση **35**, που δεν φέρει το λιπόφιλο τμήμα της **36**, εμφάνισε βιοδιαθεσιμότητα με στοματική χορήγηση με ισχυρή αναστολή σε σχέση με το coxib (celecoxib)¹⁸⁹, ενώ η ένωση **36** δοκιμάστηκε *in vivo*, σε πειραματικό μοντέλο για τον πόνο του γόνατος σε σύγκριση με ένα γνωστό αντιφλεγμονώδες και αναλγητικό φάρμακο (diclofenac), όπου μείωσε σημαντικά τον πόνο με τρόπο εξαρτώμενο από τη δόση παρουσιάζοντας επιθυμητή ισχύ (IC_{50} 12 nM *ex vivo*), απορρόφηση, κατανομή, μεταβολισμό και ιδιότητες απέκκρισης¹⁸⁹.



Σχήμα 17 : Παραδείγματα βενζαμιδικών αναστολέων

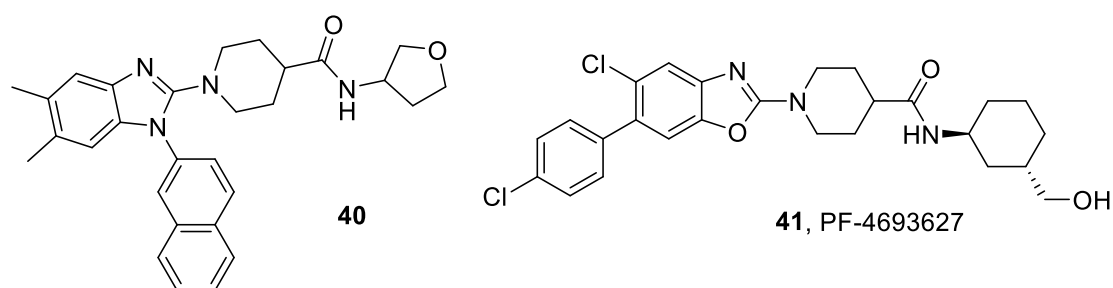
Το 2013, η Glenmark Pharmaceuticals συνέθεσε μια σειρά από δικυκλικά (quinazolines) υποκατεστημένα βενζαμιδικά παράγωγα (**37**)^{190, 191} και ανάλογα φθαλαζινόνης (**38**) ως αναστολείς της mPGES-1.



Σχήμα 18 : Βενζαμιδικά παράγωγα

Η Acraf ανέπτυξε βενζοϋλο παράγωγα 3-αμινοκαρβαζόλης¹⁹², με την ένωση AF3485 (**39**) να παρουσιάζει ανασταλτική δράση κατά της mPGES-1 τόσο στις ενζυμικές δοκιμές (IC_{50} 2,55 μ M και pIC_{50} 5,59) όσο και στις κυτταρικές δοκιμές (IC_{50} 0.438 μ M και pIC_{50} 6.36)¹⁹³, ενώ δεν επηρέασε καθόλου τη βιοσύνθεση της $PGF_{2\alpha}$. *In vivo*, ο αναστολέας AF3485 βρέθηκε ότι μειώνει τον αριθμό των θρόμβων με τρόπο εξαρτώμενο από τη δόση. Στις μελέτες μεταβολικής σταθερότητας, παρέμεινε μη

μεταβολισμένος κατά 81% και 58% στα ηπατικά μικροσώματα ανθρώπου και αρουραίου, αντίστοιχα, ενώ η απορρόφηση του από τον εντερικό φραγμό αποδείχθηκε υψηλή. Ο αναστολέας εξετάστηκε επίσης ως προς την βιοδιαθεσιμότητα *in vivo*, παρουσιάζοντας θετικά χαρακτηριστικά ¹⁹². Ο AF3485 επίσης αποδείχθηκε ότι επηρεάζει την ανάπτυξη όγκου που σχετίζεται με την PGE₂, καθώς μείωσε σημαντικά τα επίπεδα της PGE₂ στα καρκινικά κύτταρα αλλά δεν επηρέασε τα επίπεδα της PGE₂ στα μη καρκινικά κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων των ινοβλαστών και των ενδοθηλιακών κυττάρων. Επιπλέον, μείωσε το μέγεθος του όγκου σε πειραματικό μοντέλο ποντικών με δόσοεξαρτώμενο τρόπο, με πλήρη αναστολή της ανάπτυξης του όγκου σε δόση 20 mg/kg. Επιπλέον, η αναστολή της mPGES-1 από την ένωση **39** σε κύτταρα είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR), υποδηλώνοντας ότι η αντικαρκινική δράση της ένωσης μπορεί να σχετίζεται με την αναστολή της σηματοδότησης του EGFR, τουλάχιστον σε αυτό το μοντέλο επιθηλιακού όγκου ¹⁹³.

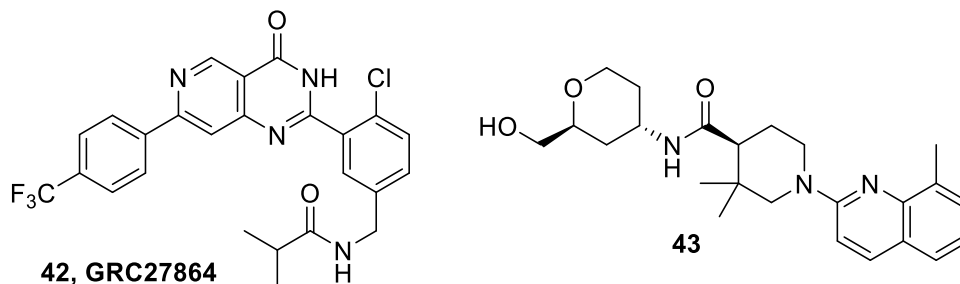


Το 2011, η Novasaid ανέπτυξε μια σειρά από 4-καρβοξαμίδια πιπεριδίνης ως αναστολείς του mPGES-1 όπως η ένωση **40** (IC₅₀ 0,011 μM και IC₅₀ 0,037 μM στις ενζυμικές δοκιμές mPGES-1 ανθρώπου και αρουραίου αντίστοιχα και IC₅₀ 0,050 μM στις κυτταρικές δοκιμές ¹⁹⁴, ενώ περαιτέρω μελέτες έδειξαν ότι τείνει να μειώσει τα επίπεδα και άλλων προστανοειδών ¹⁹⁵. Η Pfizer ανέπτυξε μια σειρά από βενζοξαζολυλο-πιπεριдино καρβοξαμίδια ως αναστολείς mPGES-1, με την ένωση **41** (PF-4693627) να παρουσιάζει τον καλύτερο συνδυασμό *in vitro* δραστηριότητας και αποτελεσματικότητας, φαρμακοκινητικών και φαρμακευτικών ιδιοτήτων, αλλά και ευκολία σύνθεσης, με αποτέλεσμα να έχει προχωρήσει σε κλινικές μελέτες για τη θεραπεία ρευματοειδους αρθρίτιδας και οστεοαρθρίτιδας ¹⁹⁶.

5.2.4.4 Πολυκυκλικά παράγωγα

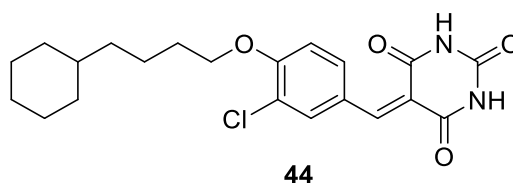
Η Glenmark Pharmaceuticals έχει επίσης συμβάλει στην έρευνα για νέους αναστολείς mPGES-1 με αρκετές υποκατεστημένες δικυκλικές και τρικυκλικές ενώσεις να παρουσιάζουν ισχυρή ανασταλτική επίδραση έναντι της mPGES-1 ¹⁹⁷ για τη θεραπεία μιας ευρείας ποικιλίας φλεγμονωδών ασθενειών ¹⁹⁸. Η Novasaid ανέπτυξε παράγωγα πυραζολίου χαμηλού μοριακού βάρους για τη θεραπεία ασθενειών που σχετίζονται με την mPGES-1 χωρίς όμως αξιοσημείωτα αποτελέσματα ¹⁹⁹. Έχουν επίσης αναπτυχθεί καρβοξυλικοί εστέρες ινδολίου χωρίς περαιτέρω ενδιαφέρον ²⁰⁰, ενώ η Glenmark Pharmaceuticals συνέθεσε παράγωγα

τριαζολόνης²⁰¹ και υποκατεστημένες πυριμιδίνες²⁰² με στόχο τη χρήση τους ως αναστολείς της mPGES-1. α-Υποκατεστημένα παράγωγα του πρινιξικού οξέος, όπως και εστέρες αυτού έχουν επίσης αναφερθεί ως αναστολείς mPGES-1²⁰³ με κάποια από αυτά να παρουσιάζουν διπλή αναστολή έναντι 5-LO και mPGES-1²⁰⁴. Η Astra Zeneca, στοχεύοντας στη μυοσίτιδα και στην αρτηριοσκλήρωση, ανέπτυξε δι-σουλφονυλαμινο παράγωγα που παρουσιάζουν ανασταλτική δράση έναντι του mPGES-1²⁰⁵⁻²⁰⁷. Έχουν επίσης αναφερθεί ορισμένα φυσικά προϊόντα, όπως κάποια τερπενοειδή^{208,209} και ακυλο-φλορογλυκινόλες ως αναστολείς της mPGES-1²¹⁰⁻²¹².



Η ένωση **42** (GRC27864) απεδείχθη ικανή να ρυθμίσει αποτελεσματικά τη βιοσύνθεση PGE₂ σε αρθρικούς ινοβλάστες και χονδροκύτταρα που προέρχονται από ασθενείς που πάσχουν από ρευματοειδή αρθρίτιδα και οστεοαρθρίτιδα²¹³. Ο αναστολέας GRC27864 δοκιμάστηκε ως προς την εκλεκτικότητα του *in vitro* και σε κυτταρικές δοκιμές που αποδείχθηκε επιλεκτική (>1000 φορές) έναντι των COX-1, COX-2, mPGES-2, cPGES, PGI₂, PGD₂ και TXA₂ ενώ δεν ανέστειλε την cPLA₂, η οποία απελευθερώνει το αραχιδονικό οξύ, ώστε να χρησιμοποιηθεί ως υπόστρωμα των COXs. Επιπλέον, επέδειξε σταθερότητα σε μικροσώματα ήπατος ανθρώπου, αρουραίου και ινδικού χοιριδίου²¹³. Ο GRC27864 εισήχθη σε κλινικές δοκιμές προκειμένου να αξιολογηθεί η ασφάλεια, η ανεκτικότητα και η φαρμακοκινητική του σε υγιή άτομα²¹⁴. Μία πρώτη εκτίμηση και μελέτη πολλαπλών αυξανόμενων δόσεων έχει ολοκληρωθεί στο Ηνωμένο Βασίλειο χωρίς ανησυχίες για την ασφάλεια²¹⁵.

Πρόσφατα, η Eli Lilly ανέφερε νέες ενώσεις μεθυλο-πιπεριδίνης, όπως η ένωση **43**²¹⁶, και παράγωγα καρβοξυλικού οξέος με ετεροκυκλικούς υποκαταστάτες²¹⁷ που θα μπορούσαν να είναι χρήσιμα για την αναστολή της mPGES-1. Στοχεύοντας στη θεραπεία της φλεγμονής και του πόνου στην αρθρίτιδα, η ένωση **43** βρέθηκε να εμφανίζει IC₅₀ 0,00193 μM στις ενζυμικές και IC₅₀ 0,00471 μM στις κυτταρικές δοκιμές.



Το 2018 δημοσιεύθηκε ο αναστολέας **44** στην παρουσίαση μίας μελέτης για την ανάπτυξη αναστολέων που θα έχουν την ικανότητα να αναστείλουν την mPGES-1 τόσο στον άνθρωπο όσο και σε πειραματικά μοντέλα ποντικών. Ο αναστολέας **44**

εμφάνισε την ικανότητα να αναστέλλει τη παραγωγή της PGE₂ και επίσης εμφάνισε βιοδιαθεσιμότητα κατά τη χορήγηση από το στόμα²¹⁸.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η διαδικασία της φλεγμονής, έπειτα από την έκθεση του οργανισμού σε κάποιο βλαβερό ερέθισμα, αποτελεί μέρος της ανοσολογικής απόκρισης. Η οξεία φλεγμονή υποχωρεί έπειτα από την αντιμετώπιση του ερεθίσματος και την αποκατάσταση της φυσιολογικής λειτουργίας του οργανισμού. Σε περιπτώσεις αδυναμίας υποχώρησης της φλεγμονής, η κατάσταση μετατρέπεται σε χρόνια με αποτέλεσμα την ανάπτυξη πολλών σύνθετων νόσων και διαταραχών που περιλαμβάνουν αυτοάνοσα νοσήματα, μεταβολικά σύνδρομα, νευροεκφυλιστικές και καρδιαγγειακές ασθένειες, όπως και διάφορα είδη καρκίνων.

Βασικότερο ρόλο στην εκκίνηση, στην εξέλιξη και στην υποχώρηση της φλεγμονώδους απόκρισης διαδραματίζουν οι προσταγλανδίνες, η βιοσύνθεση των οποίων ξεκινά με τη δράση των φωσφολιπασών A_2 (PLA_2), που απελευθερώνουν το αραχιδονικό οξύ (AA) από τα μεμβρανικά φωσφολιπίδια. Το AA στη συνέχεια, μέσω των κυκλοοξυγενασών μετατρέπεται στην προσταγλανδίνη H_2 (PGH_2) η οποία με τη δράση της μικροσωμικής συνθάσης της προσταγλανδίνης ($mPGES-1$) παράγει την προσταγλανδίνη E_2 (PGE_2). Τέλος, η PGE_2 συνδέεται με ειδικούς πρωτεϊνικούς υποδοχείς (EP-R) που σηματοδοτούν τη φλεγμονώδη απόκριση.

Τα αντιφλεγμονώδη φάρμακα που έχουν μέχρι στιγμής αναπτυχθεί, αποτελούν αναστολείς των ενζύμων, μεσολαβητών στον μηχανισμό εκδήλωσης της φλεγμονής και ουσιαστικά μπλοκάρουν κάποιο από τα στάδια της πορείας σύνθεσης της προσταγλανδίνης E_2 .

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν η ανάπτυξη μεθόδων για τη σύνθεση αναστολέων ενζύμων που εμπλέκονται στην παραγωγή της PGE_2 . Με στόχο τη σύνθεση ενώσεων με φαρμακολογικό ενδιαφέρον και ιδιότητες αναλγητικές και αντιφλεγμονώδεις, εστίασαμε αρχικά στην ανάπτυξη συνθετικών μεθόδων για την επέκταση των μελετών δομής – ανασταλτικής δράσης έναντι των ενζύμων GIVA $cPLA_2$ και GVIA $iPLA_2$. Πιο συγκεκριμένα, σχεδιάστηκαν:

- 2-οξοαμίδια που ενσωματώνουν άτομο θείου σε β-θέση ως προς το ενεργοποιημένο καρβονύλιο προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση του θείου στην ανασταλτική ισχύ ενάντια στην GVIA $iPLA_2$,
- 2-οξοεστέρες, στοχεύοντας σε ενώσεις με ισχυρότατη ανασταλτική ισχύ έναντι της GIVA $cPLA_2$.

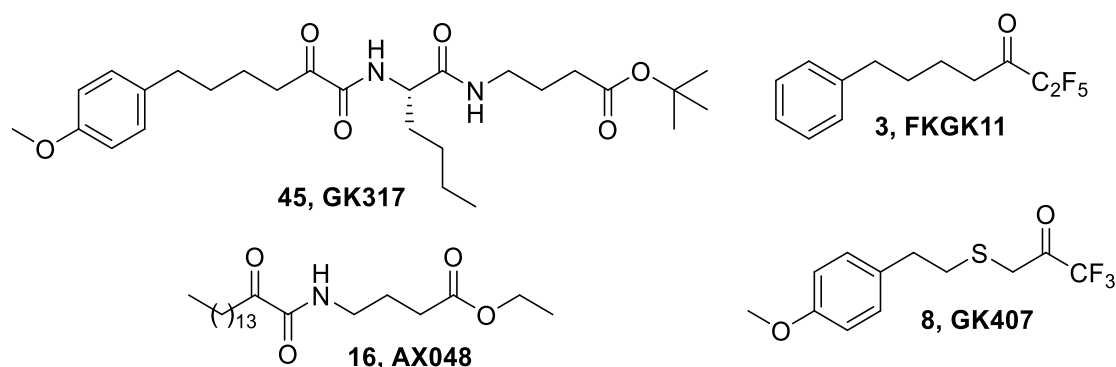
Στη συνέχεια στόχος μας ήταν η ανάπτυξη νέων ενώσεων ικανών να αναστέλλουν την παραγωγή της PGE_2 σε κυτταρικό επίπεδο. Βασισμένοι σε προηγούμενα αποτελέσματα του εργαστηρίου μας, σχεδιάστηκαν νέα α-κετοβενζοθειαζολικά παράγωγα καθώς και ενώσεις συναφούς δομής που περιέχουν άλλους ετεροκυκλικούς δακτυλίους. Τελικός στόχος ήταν η μελέτη της ικανότητας αυτών των ενώσεων να αναστέλλουν την παραγωγή PGE_2 σε μεσεγχυματικά κύτταρα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ 2-ΟΞΟΑΜΙΔΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

3.1 Σχεδιασμός 2-οξοαμιδίων

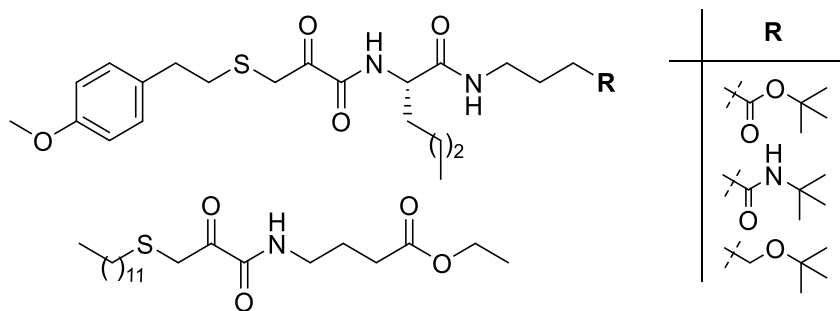
Από το 2002, στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του ΕΚΠΑ, η ομάδα του καθηγητή Γ. Κόκοτου, έχει αναπτύξει μία σειρά 2-οξοαμιδικών αναστολέων που έχουν την ικανότητα να αναστέλουν εκλεκτικά είτε την cPLA₂ είτε την iPLA₂^{81-86, 219}. Το 2017, ανακοινώθηκε μια ποικιλία 2-οξοαμιδίων, βασισμένων σε αιθερικά και μη διπεπτίδια, που έδειξε πως το διπεπτίδιο φαίνεται να συμβάλλει στην εκλεκτικότητα των ενώσεων για την αναστολή της GVIA iPLA₂. Οι μελέτες σχέσεων δομής-δραστικότητας αποκάλυψαν τον πρώτο εκλεκτικό 2-οξοαμιδικό αναστολέα για την GVIA iPLA₂, την ένωση **45** (GK317, Σχήμα **19**)⁸⁴, που παρουσιάζει περίπου 13 φορές ισχυρότερη αναστολή για την GVIA iPLA₂ από ότι για την GIVA cPLA₂. Αυτός ο αναστολέας έχει την ίδια τάξης μεγέθους αναστολή για την GVIA iPLA₂ με τον φθοροκετονικό αναστολέα **3**, **FKGK11** (X_I(50) 0.0014)⁶⁵, παρουσιάζοντας X_I(50) 0.007⁶⁴.



Σχήμα 19 : Γνωστοί αναστολείς iPLA₂

Παράλληλα, η εισαγωγή ενός ατόμου θείου στην ανθρακική αλυσίδα του αναστολέα **3**, από την οποία προέκυψε η ένωση **8**⁶⁹, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της ανασταλτικής δράσης της ένωσης (X_I(50) 0.00009), οπότε θελήσαμε να εξετάσουμε εάν μία τέτοιου είδους αλλαγή θα λειτουργήσει το ίδιο ευνοϊκά και στην περίπτωση του 2-οξοαμιδικού αναστολέα **45**. Επιπλέον, θελήσαμε να επεκτείνουμε τις έρευνες δομής-δραστικότητας αλλάζοντας την ομάδα του εστέρα, με μία αιθερική ή αμιδική ομάδα (Σχήμα **20**).

Μία ακόμα σύνθεση 2-οξοαμιδίου σχεδιάστηκε, αυτή τη φορά με βάση την ένωση **16** (AX048) η οποία παρουσίασε παραπλήσια ανασταλτική δράση για την GIVA cPLA₂ (X_I(50) 0.022) και την GVIA iPLA₂ (X_I(50) 0.027)⁸⁵. Η εισαγωγή ενός ατόμου θείου σε μία ένωση με αυτή τη χαρακτηριστική δράση θα συνήγαγε χρήσιμα συμπεράσματα αναφορικά με τη σχέση δομής-δραστικότητας αυτού του τύπου ενώσεων (Σχήμα **20**).

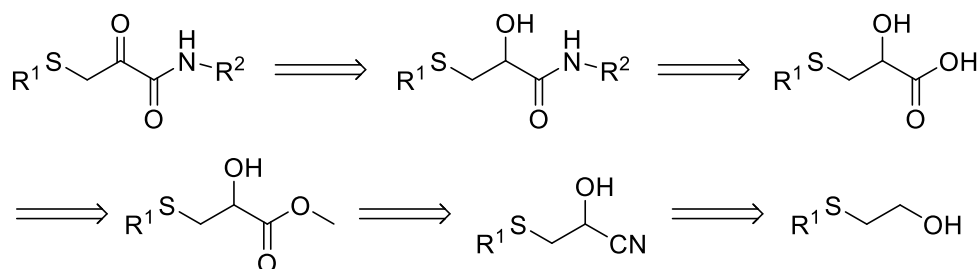


Σχήμα 20 : 2-Οξοαμίδια που σχεδιάστηκαν

3.2 Σύνθεση 2-οξοαμιδίων

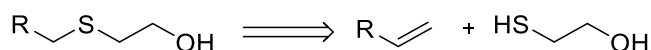
3.2.1 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης

Η ρετροσυνθετική πορεία σύνθεσης των 2-οξοαμιδίων απεικονίζεται στο γενικό, Σχήμα 21, που ακολουθεί.



Σχήμα 21 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης 2-οξοαμιδίων

Παρατηρούμε ότι τα επιθυμητά 2-οξοαμίδια μπορούν να παρασκευαστούν από τα αντίστοιχα 2-υδροξυ παράγωγα, τα οποία με τη σειρά τους προκύπτουν από αντίδραση σύζευξης του υδροξυ-οξέος με την αμινομάδα ενός κατάλληλου διπεπτιδίου. Το υδροξυ-οξύ μπορεί να προέλθει από τον υδροξυ-μεθυλεστέρα, ο οποίος παράγεται από την αντίστοιχη κυανυδρίνη. Οξείδωση της αλκοόλης προς την ενδιάμεση αλδεΐδη, με επακόλουθη κυανυδρινική σύνθεση, παρέχει το επιθυμητό υδροξυ-νιτρίλιο.

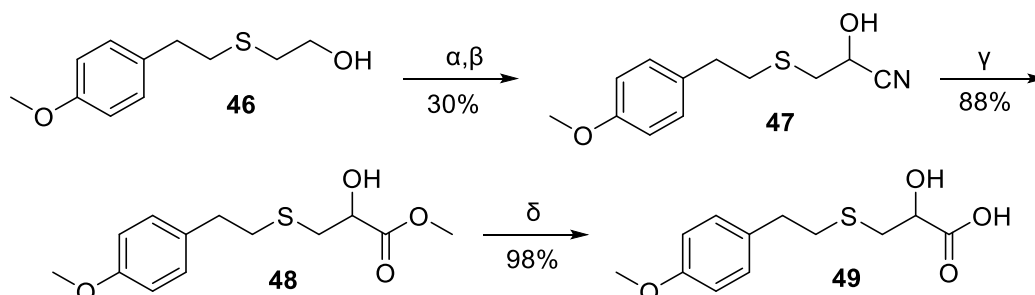


Σχήμα 22 : Ρετροσύνθεση θειο-αιθερικών αλκοολών

Καίριο σημείο στη σύνθεση των 2-οξοαμιδίων ήταν η σύνθεση της κατάλληλης θειο-αιθερικής αλκοόλης, η οποία στο στάδιο αυτό πραγματοποιήθηκε με επιτυχία από τον μεταδιδακτορικό ερευνητή Δημήτρη Λημιό. Η σύνθεση πραγματοποιήθηκε με την οργανοκαταλυτική αντίδραση που αναπτύχθηκε στο εργαστήριο του Επίκουρου Καθηγητή Χ. Κόκοτου, κατά την οποία ένα ακραίο αλκένιο με την αντίστοιχη θειόλη, παρουσία καταλυτικής ποσότητας φαινυλο-γλυοξυλικού οξέος και ακτινοβόληση με οικιακές λάμπες, παρέχει την επιθυμητή θειοαιθερική αλκοόλη σχεδόν ποσοτικά ²²⁰.

3.2.2 Σύνθεση του 2-υδροξυ-3-((4-μεθοξυφαινυλο)θειο)προπανοϊκού οξέος

Η σύνθεση των τριών από τα τέσσερα συνολικά 2-οξοαμίδια που παρασκευάστηκαν, ξεκινά από το 2-υδροξυ-3-((4-μεθοξυφαινυλο)θειο)προπανοϊκό οξύ, η πορεία σύνθεσης του οποίου παρουσιάζεται στο **Σχήμα 23**. Ξεκινώντας από την αλκοόλη **46**, με αντίδραση οξειδωσης Dess-Martin και επακόλουθη κυανυδρινική σύνθεση, παρελήφθη το υδροξυ-νιτρίλιο **47**.

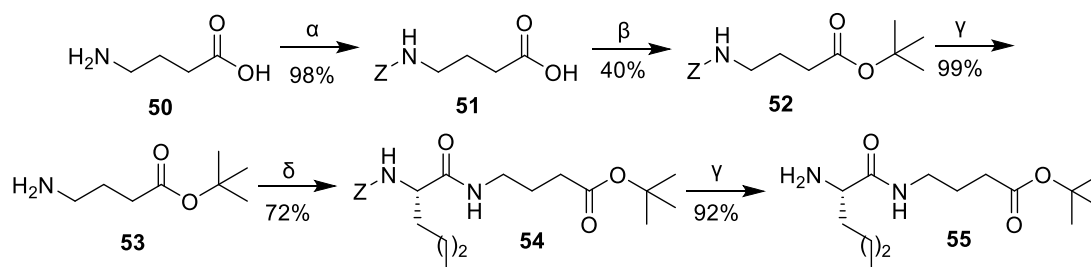


Σχήμα 23 : α) Αντιδραστήριο Dess-Martin, ξηρό CH_2Cl_2 , β) i) NaHSO_3 , CH_2Cl_2 , ii) KCN , H_2O , γ) 4N HCl/MeOH , δ) 2N NaOH , 1,4-διοξάνη.

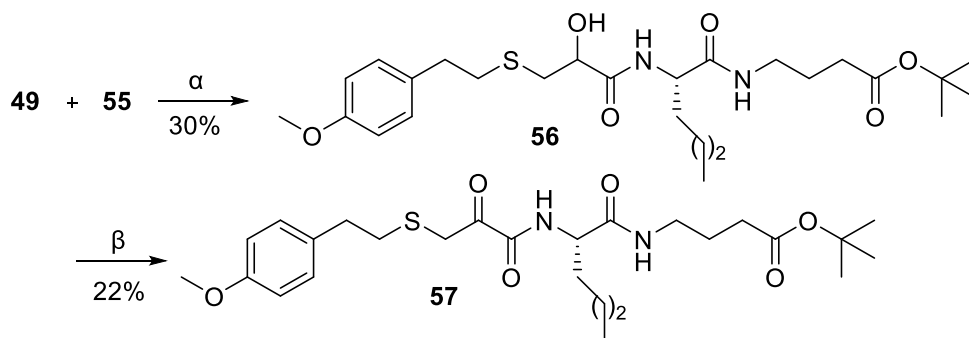
Οξινική υδρόλυση της κυανυδρίνης **47** παρείχε τον 2-υδρομεθυλεστέρα **48**, σαπωνοποίηση του οποίου κατέληξε στο 2-υδροξυ-οξύ **49** με εξαιρετική απόδοση. Σύζευξη της ένωσης **49** με τα κατάλληλα διπεπτιδικά παράγωγα, ακολουθούμενη από οξείδωση, έδωσε τα επιθυμητά προϊόντα.

3.2.2.1 Σύνθεση του 2-οξοαμιδίου που βασίζεται στο διπεπτίδιο Nle-GABA-OBu^t

Πρώτη ένωση στόχος ήταν η ένωση **57**, η οποία αποτελεί ανάλογο της ένωσης **45**, με τη διαφορά ότι περιέχει ένα άτομο θείου στην ανθρακική αλυσίδα. Η σύνθεση του διπεπτιδικού μέρους του επιθυμητού προϊόντος (**Σχήμα 24**), ξεκίνησε από το εμπορικά διαθέσιμο γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA) **50**, η αμινομάδα του οποίου προστατεύτηκε με τη Z-ομάδα (**51**). Προστασία του ελεύθερου καρβοξυλίου με *tert*-βουτυλεστέρα (**52**) και αποπροστασία της αμινομάδας οδήγησε στο παράγωγο **53**. Σύζευξη με την εμπορικά διαθέσιμη Z-Nle-OH έδωσε το προστατευμένο διπεπτίδιο **54** και υδρογόνωση της τελευταίας, οδήγησε στην αμίνη **55**.



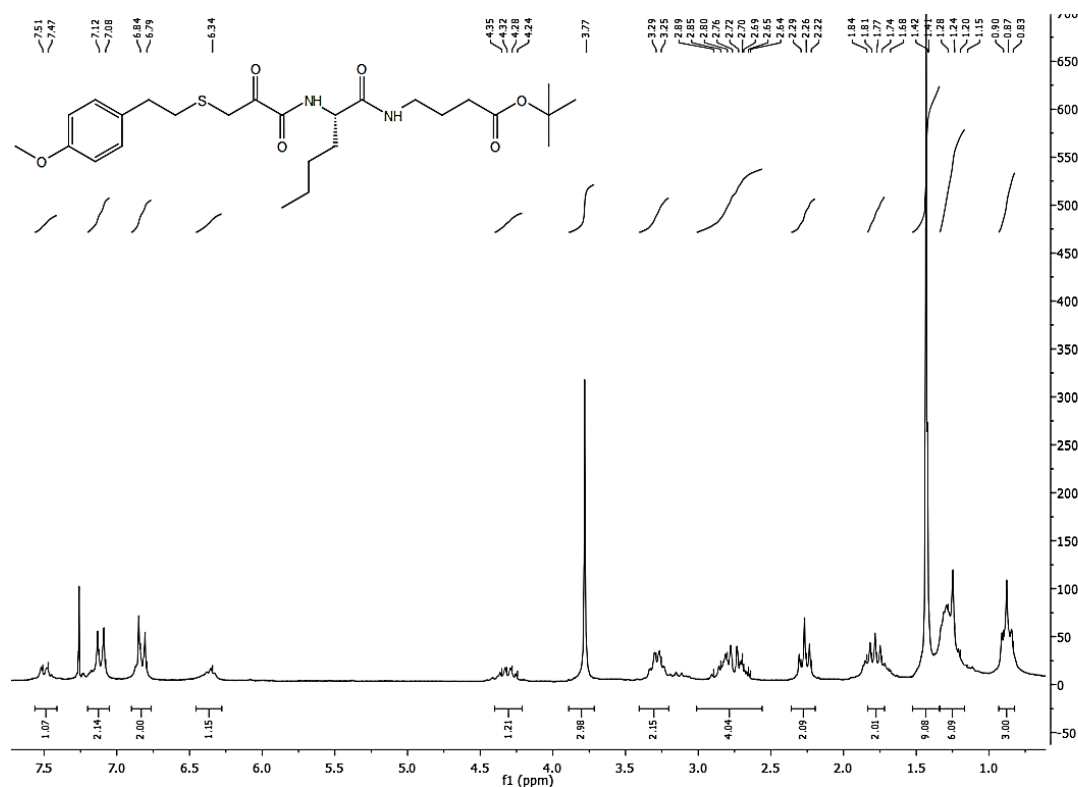
Σχήμα 24 : α) ZCl , NaOH , β) Bu^tOH , DCC, DMAP, ξηρό CH_2Cl_2 , γ) H_2 , 10% Pd/C , EtOH , δ) WSCl , HOBT , Et_3N , Z-Nle-OH, ξηρό CH_2Cl_2 .



Σχήμα 25 : α) WSCI, HOBt, Et₃N, ξηρό CH₂Cl₂, β) Αντιδραστήριο Dess-Martin, ξηρό CH₂Cl₂

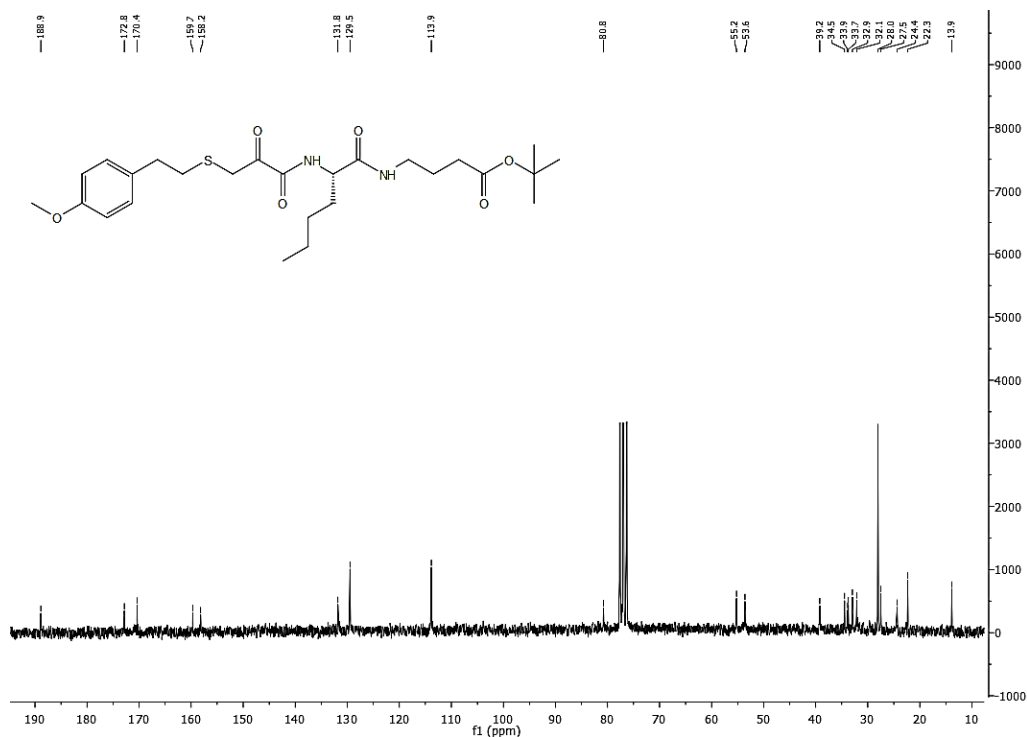
Σύζευξη του διπεπτιδικού αναλόγου **55** με το 2-υδροξυ-οξύ **49**, παρείχε το 2-υδροξυ-αμίδιο **56**, η οξείδωση του οποίου κατέληξε στο επιθυμητό 2-οξοαμίδιο **57**.

Στις εικόνες **6**, **7** παρατίθενται ενδεικτικά, τα φάσματα ¹H και ¹³C NMR αντίστοιχα του 2-οξοαμιδίου **57**. Παρατηρούμε τον συντονισμό του ενός αμιδικού πρωτονίου στα 7.49 ppm, των αρωματικών πρωτονίων, στα 7.10 και 6.81 ppm και του δεύτερου NH στα 6.34. Σε χαμηλότερα ppm, συντονίζεται το πρωτόνιο του στερεογονικού κέντρου της Nle-OH (4.3 ppm) καθώς και τα πρωτόνια της μεθόξυ-ομάδας. Στην περιοχή 3.29-3.25 ppm συντονίζονται τα πρωτόνια του μεθυλενίου που βρίσκεται μεταξύ της θειοαιθερικής και της 2-οξοαμιδικής ομάδας, ενώ ακολουθούν τα πρωτόνια των μεθυλενίων που βρίσκονται δίπλα στο αμίδιο και τον φαινολικό δακτύλιο σε μία πολλαπλή κορυφή στα 2.89-2.64 ppm. Ακολουθούν τα πρωτόνια του μεθυλενίου δίπλα στο άτομο S (1.84-1.68 ppm) και τα υπόλοιπα αλειφατικά πρωτόνια, όπως και εκείνα του *tert*-βουτυλεστέρα στα 1.41 ppm.



Εικόνα 6 : Φάσμα ¹H NMR της ένωσης **57** σε CDCl₃, στα 200 MHz

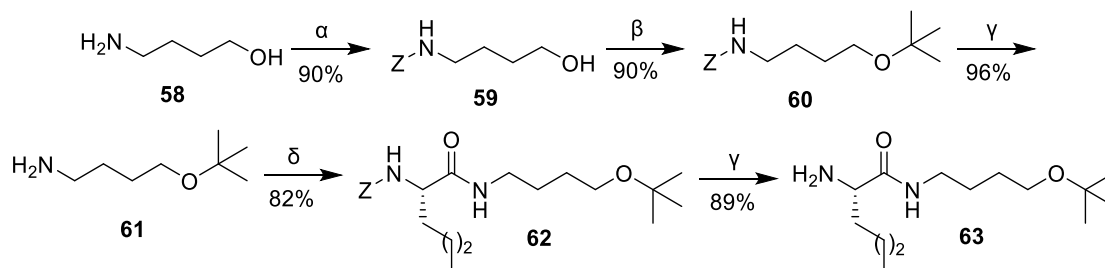
Συνοπτικά, στο φάσμα άνθρακα που ακολουθεί παρατηρούμε τις κορυφές στην περιοχή από 189.9-159.9 ppm που αντιστοιχούν στα τέσσερα καρβονύλια της ένωσης, ενώ στην περιοχή 158.2-113.9 συντονίζονται οι άνθρακες του αρωματικού δακτυλίου. Ακολουθεί η κορυφή που αντιστοιχεί στον τεταρτοταγή άνθρακα του *tert*-βουτυλεστέρα στα 80.8 ppm, ενώ σε χαμηλότερα ppm συντονίζονται ο άνθρακας της *p*-μεθόξυ ομάδας (55.2) και του μεθινίου της Nle-OH (53.6 ppm). Οι κορυφές στην περιοχή 39.2-13.9 ppm αντιστοιχούν στους εναπομείναντες αλειφατικούς άνθρακες.



Εικόνα 7: Φάσμα ¹³C NMR της ένωσης 57 σε CDCl₃, στα 50 MHz

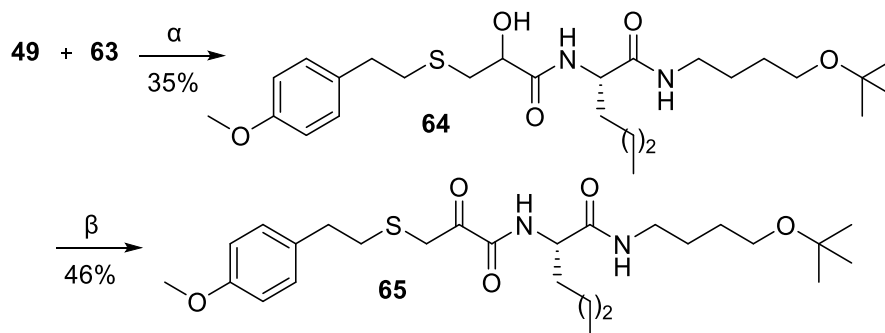
3.2.2.2 Σύνθεση του 2-οξοαμιδίου που βασίζεται στο διπεπτίδιο Nle-NH(CH₂)₄OBu^t

Ακολουθώντας την ίδια λογική, θελήσαμε να συνθέσουμε την ένωση **65**, η οποία φέρει στο άκρο της έναν *tert*-βουτυλαιθέρα, αντί του *tert*-βουτυλεστέρα της ένωσης **57**.



Σχήμα 26 : α) Z-Cl, NaOH, β) 2% H₂SO₄, ισοβουτυλένιο, ξηρό CH₂Cl₂, γ) H₂, 10% Pd/C, EtOH, δ) WSCI, HOBT, Et₃N, Z-Nle-OH, ξηρό CH₂Cl₂

Ξεκινώντας με προστασία της γ -αμινοβουτανόλης με τη Z-ομάδα (**59**) και σύνθεση του επιθυμητού *tert*-βουτυλαιθέρα **60**, καταλήξαμε έπειτα από την αποπροστασία της αμινομάδας στο παράγωγο **61**. Σύζευξη με τη Z-Nle-OH οδήγησε στο προστατευμένο διπεπτιδικό ανάλογο **62**, η αποπροστασία του οποίου παρείχε την αμίνη **63** (Σχήμα 26).

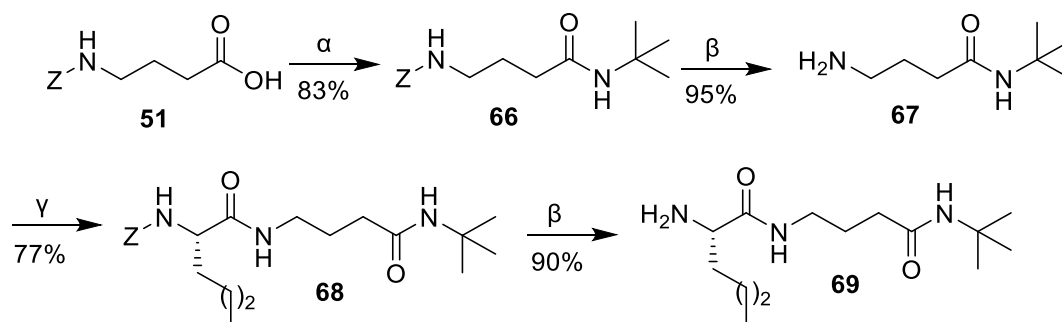


Σχήμα 27 : α) WSCI, HOBt, Et₃N, ξηρό CH₂Cl₂, β) Αντιδραστήριο Dess-Martin, ξηρό CH₂Cl₂

Σύζευξη της αμίνης **63** και του υδροξυ-οξέος **49**, οδήγησε στο 2-υδροξυ-αμίδιο **64** που έπειτα από οξείδωση κατέληξε στο επιθυμητό προϊόν **65** (Σχήμα 27).

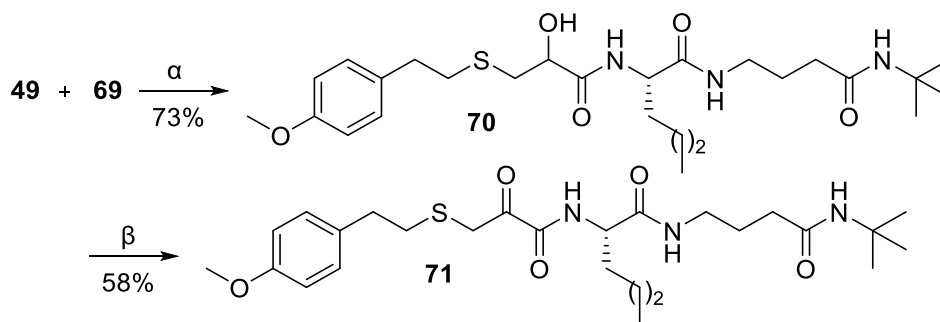
3.2.2.3 Σύνθεση του 2-οξοαμιδίου που βασίζεται στο διπεπτιδίο Nle-GABA-NHBu^t

Προκειμένου να συνεχίσουμε τη διερεύνηση δομής-δραστηκότητας προχωρήσαμε στη σύνθεση του 2-οξοαμιδίου **71**, που φέρει *tert*-βουτυλαμίδιο αντί του *tert*-βουτυλεστέρα της ένωσης **57**. Το Z-GABA (**51**) συζεύχθηκε με την *tert*-βουτυλαμίνη παράγοντας το προστατευμένο παράγωγο **66**, η αποπροστασία του οποίου οδήγησε στην αμίνη **67**. Η σύζευξη της **67** με την Z-Nle έδωσε το προστατευμένο διπεπτιδίο **68**, ενώ η απομάκρυνση της Z-προστατευτικής ομάδας την ένωση **69** (Σχήμα 28).



Σχήμα 28 : α) WSCI, HOBt, Et₃N, NH₂Bu^t, ξηρό CH₂Cl₂, β) H₂, 10% Pd/C, EtOH, γ) WSCI, HOBt, Et₃N, ξηρό CH₂Cl₂.

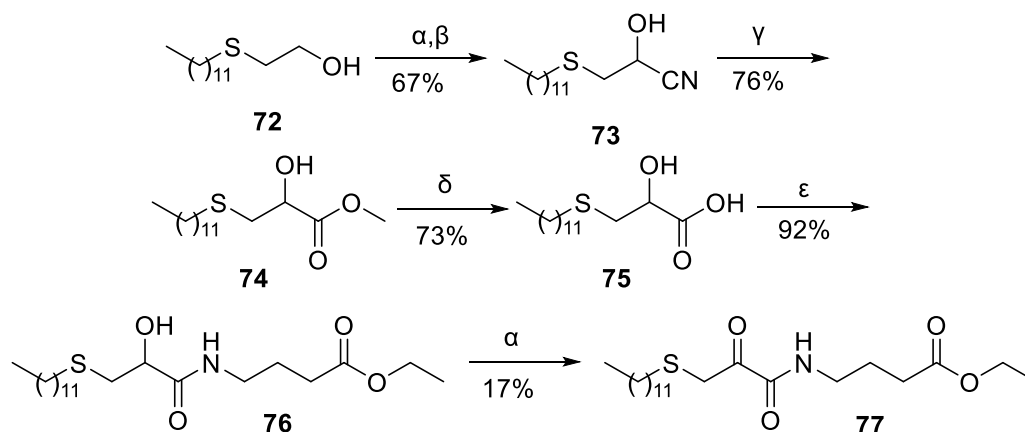
Ομοίως με τις προηγούμενες συνθετικές πορείες, η σύζευξη της αμίνης **69** και του 2-υδροξυ-οξέος **49** έδωσε το 2-υδροξυ-αμίδιο **70**, οξείδωση του οποίου οδήγησε τελικά στο επιθυμητό 2-οξοαμίδιο **71** (Σχήμα 29).



Σχήμα 29 : α) WSCI, HOBT, Et₃N, ξηρό CH₂Cl₂, β) Αντιδραστήριο Dess-Martin, ξηρό CH₂Cl₂

3.2.3 Σύνθεση του αιθυλ 4-(3-(δωδεκυλοθειο)-2-οξοπροπαναμιδο)βουτυρικού αιθυλεστέρα

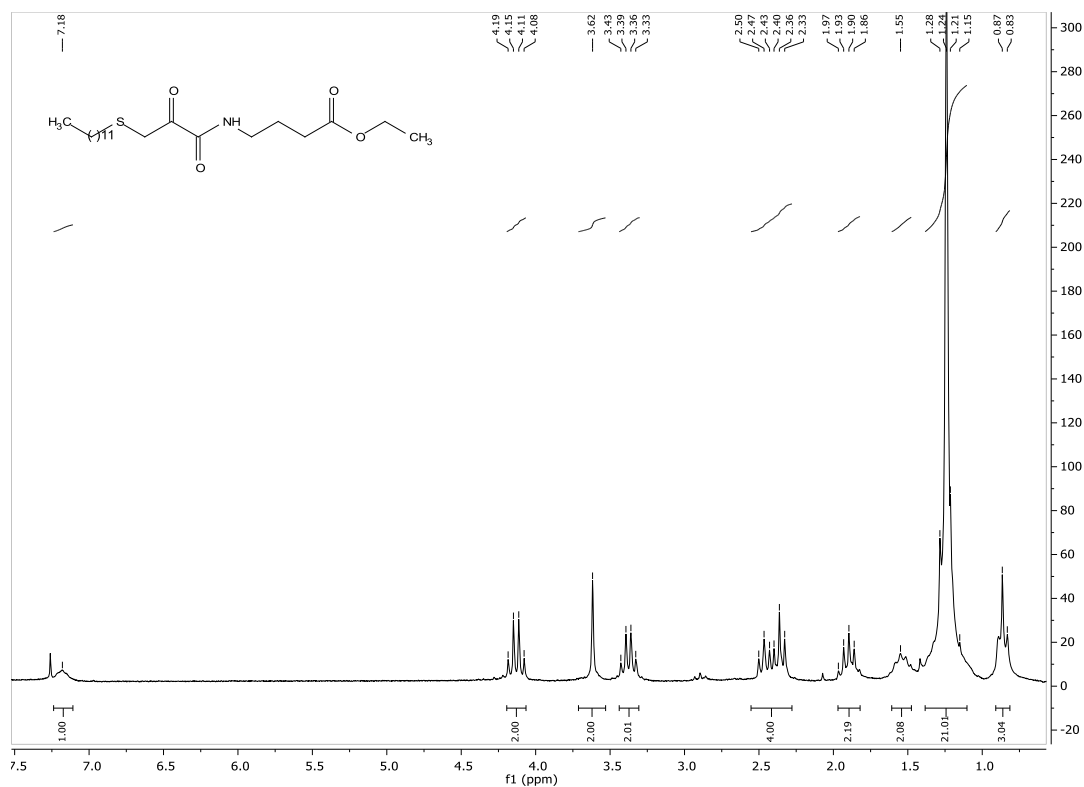
Για τη σύνθεση του θειοαιθερικού αναλόγου του αναστολέα AX048 ακολουθήθηκε παρόμοια συνθετική διαδικασία. Από την κατάλληλη αλκοόλη **72** με οξείδωση και απ'ευθείας κυανυδρινική σύνθεση παρελήφθη το υδροξυ-νιτρίλιο **73**. Οξινη υδρόλυση της ένωσης **73** προς τον 2-υδροξυ-μεθυλεστέρα **74** και σαπωνοποίηση του, κατέληξε στο 2-υδροξυ-οξύ **75**. Η σύζευξη του 2-υδροξυ-οξέος με το υδροχλωρικό άλας του αιθυλεστέρα του GABA, έδωσε το 2-υδροξυ-αμιδικό παράγωγο **76**, η οξείδωση του οποίου οδήγησε τελικώς στο επιθυμητό προϊόν **77**.



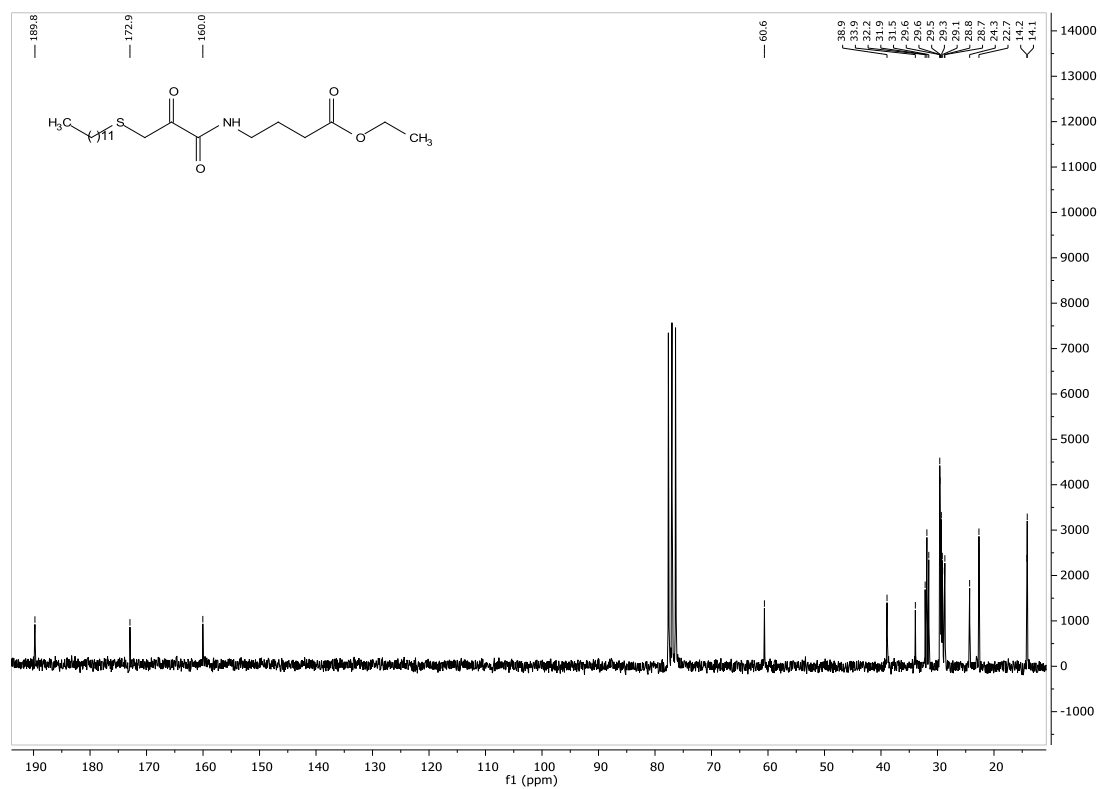
Σχήμα 30 : α) Αντιδραστήριο Dess-Martin, ξηρό CH₂Cl₂, β) i) 4N NaHSO₃, CH₂Cl₂, ii) 4N KCN, H₂O, γ) 4N HCl/MeOH δ) 2N NaOH, 1,4-διοξάνη, ε) WSCI, HOBT, Et₃N, GABA-OEt·HCl, ξηρό CH₂Cl₂

Στις εικόνες **8**, **9** παρατίθενται τα φάσματα ¹H και ¹³C NMR αντίστοιχα της ένωσης **77**. Στο φάσμα ¹H NMR (Εικόνα **8**) παρατηρείται η κορυφή του αμιδικού πρωτονίου στα 7.18 ppm. Στην περιοχή 4.19-4.08 ppm συντονίζονται τα πρωτόνια του μεθυλενίου του αιθυλεστέρα και αμέσως μετά σε μία απλή κορυφή (3.62 ppm) τα πρωτόνια του μεθυλενίου μεταξύ θείου και 2-οξοαμιδικού καρβονυλίου. Ακολουθεί μία πολλαπλή κορυφή που αντιστοιχεί στα πρωτόνια των μεθυλενίων που βρίσκονται δίπλα στην αμιδική ομάδα, ενώ οι κορυφές που εμφανίζονται σε χαμηλότερα ppm αφορούν τα υπόλοιπα αλειφατικά πρωτόνια της ένωσης. Στο φάσμα ¹³C NMR (Εικόνα **9**) παρατηρούνται χαρακτηριστικά οι κορυφές των καρβονυλίων (189.2-

160.0 ppm), η κορυφή του άνθρακα του αιθυλεστέρα (60.6 ppm) και οι κορυφές των υπόλοιπων αλειφατικών ανθράκων στην περιοχή 38.9-14.1 ppm.



Εικόνα 8 : Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 77 σε CDCl_3 , στα 200 MHz



Εικόνα 9 : Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 77 σε CDCl_3 , στα 50 MHz

3.3 Μελέτη της δραστηριότητας των 2-οξοαμιδίων έναντι των PLA₂

Τα 2-οξοαμίδια που συντέθηκαν στην παρούσα εργασία αξιολογήθηκαν με *in vitro* πειράματα ως προς την ανασταλτική τους δράση έναντι των iPLA₂, cPLA₂ και sPLA₂. Ο έλεγχος της ανασταλτικής δράσης των ενώσεων πραγματοποιήθηκε στο University of California, San Diego, από την ερευνητική ομάδα του Prof. Edward A. Dennis, με τη χρήση βιβλιογραφικά γνωστών τεχνικών και καθορισμένων μεθόδων⁸⁴. Τα αποτελέσματα των μελετών παρατίθενται στον Πίνακα 2 ως επί τοις εκατό ποσοστό αναστολής για κάθε ένζυμο. Οι ενώσεις **GK317 (45)** και **AX048 (16)** συμπεριλαμβάνονται συγκριτικά στον πίνακα, ως ενώσεις αναφοράς.

Πίνακας 2 : *In vitro* ανασταλτική ισχύς 2-οξοαμιδίων έναντι στις PLA₂

Κωδικός	Δομή	GVIA	GIVA	GV
		iPLA ₂	cPLA ₂	sPLA ₂
		% Αναστολή	% Αναστολή	% Αναστολή
GK317		99.9 ± 0.3	52.6 ± 2.5	44.8 ± 4.5
57 (GK404)		71.4 ± 3.6	53.5 ± 3.1	11.9 ± 8.8
65 (GK405)		63.4 ± 2.7	42.0 ± 5.2	12.3 ± 7.8
71 (GK406)		38.3 ± 5.4	25.5 ± 5.4	15.1 ± 3.8
AX048		>85% X _I (50) 0.027 ± 0.009	>85% X _I (50) 0.022 ± 0.009	<25%
77 (GK434)		61.0 ± 3.4	<25%	<25%

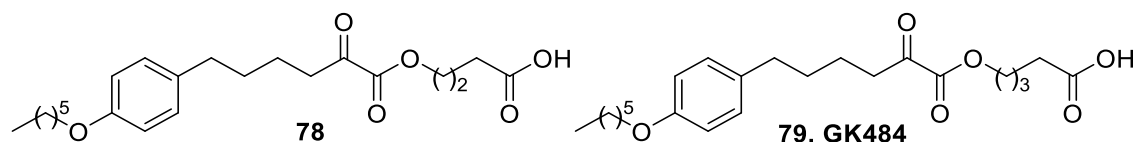
Στον Πίνακα 2, παρατηρούμε ότι η εισαγωγή του ατόμου θείου στην ένωση **GK317** δεν επέφερε τα αναμενόμενα θετικά αποτελέσματα για την ένωση **57**, όπως στην περίπτωση των φθοροκετονών. Επιπλέον, η αντικατάσταση του εστερικού άκρου από τον *tert*-βουτυλαιθέρα, στην ένωση **65**, ή το *tert*-βουτυλαμίδιο, στην ένωση **71**, επιδείνωσε περαιτέρω την ανασταλτική δράση της ένωσης. Στην περίπτωση της εισαγωγής του ατόμου θείου στη μακρά αλειφατική αλυσίδα της ένωσης **AX048** από την οποία προέκυψε η ένωση **77**, παρατηρήθηκε επίσης μείωση της ανασταλτικής ισχύος έναντι τόσο της iPLA₂, όσο και της cPLA₂.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ 2-ΟΞΟΕΣΤΕΡΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΛΟΓΩΝ

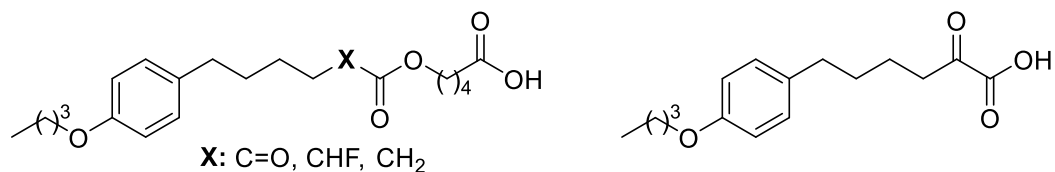
4.1 Σχεδιασμός 2-οξοεστέρων και αναλόγων

Το 2017, όπως αναφέρθηκε και στην ενότητα 2.3, η ομάδα του καθηγητή Γεώργιου Κόκοτου, επεκτείνοντας την έρευνά της για τους αναστολείς της GIVA cPLA₂, παραλλάζοντας τη δομή των 2-οξοαμιδίων που προαναφέρθηκαν, ανέπτυξε μία σειρά καινοτόμων 2-οξοεστερικών ενώσεων. Από αυτή την ερευνητική εργασία προέκυψαν 2-οξοεστέρες που φέρουν ελεύθερο καρβοξύλιο και έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν ισχυρά και εκλεκτικά την GIVA cPLA₂⁸⁷. Σε αυτή την ερευνητική εργασία παρατηρήθηκε ότι η βέλτιστη ανασταλτική δράση αυτού του τύπου ενώσεων, επιτυγχάνεται όταν η απόσταση του ελεύθερου καρβοξυλίου από την οξοεστερική ομάδα, αντιστοιχεί σε τέσσερα ανθρακοάτομα. Μεταξύ άλλων, αναφέρθηκε και η ένωση **78** της οποίας τα αποτελέσματα ήταν ενθαρρυντικά αλλά όχι ικανοποιητικά καθώς εμφάνισε $X_1(50)=0.00289$ και υψηλή λιποφιλικότητα ($ClogP=5.46$). Αδημοσίευτα αποτελέσματα σε συνέχεια αυτής της μελέτης, με τη σύνθεση της ένωσης **79** (**GK484**, **Σχήμα 31**, Γ. Γαλιατσάτου), όπου αυξήθηκε η απόσταση του ελεύθερου καρβοξυλίου από την οξοεστερική ομάδα κατά ένα ανθρακοάτομο (όπως στην περίπτωση των ενώσεων **20** και **21**, ενότητα 2.3, **Σχήμα 9**), κατέδειξαν έναν ακόμα ισχυρό και εκλεκτικό αναστολέα της GIVA cPLA₂ ($X_1(50)=0.000019$), που όμως εξακολουθεί να παρουσιάζει αυξημένη λιποφιλικότητα ($ClogP=5.37$).



Σχήμα 31 : 2-Οξοεστερικοί αναστολείς που φέρουν ελεύθερο καρβοξύλιο

Ο δείκτης κατανομής $ClogP$ αποτελεί έναν πολύ σημαντικό παράγοντα για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων, καθώς αποτελεί μέτρο της κατανομής της ένωσης σε νερό/οκτανόλη.



Σχήμα 32 : 2-Υποκατεστημένα παράγωγα με ελεύθερο καρβοξύλιο που σχεδιάστηκαν

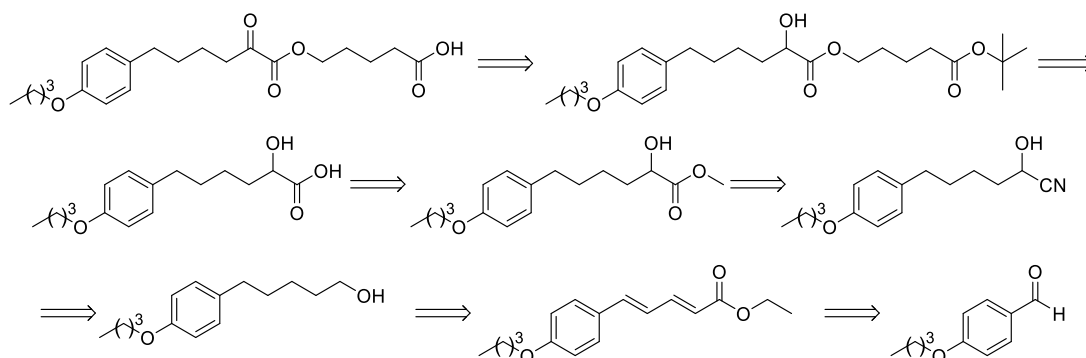
Σε μία προσπάθεια μείωσης της λιποφιλικότητας της ένωσης **79**, αποφασίσαμε να μειώσουμε το μήκος της αλυσίδας της αλκοξυ-ομάδας του φαινολικού δακτυλίου. Επιπλέον, σε συνέχεια της διερεύνησης της σχέσης δομής-δραστικότητας αντικαταστήσαμε την υποκατάσταση στην θέση-2 ως προς την ομάδα του εστέρα

προκειμένου να παρατηρήσουμε τυχόν μεταβολές στην ανασταλτική δράση της ένωσης. Τέλος, προκειμένου να εξετάσουμε το ρόλο της εστερικής ομάδας, σχεδιάστηκε και το αντίστοιχο 2-οξοοξύ.

4.2 Σύνθεση 2- οξοεστέρων και αναλόγων

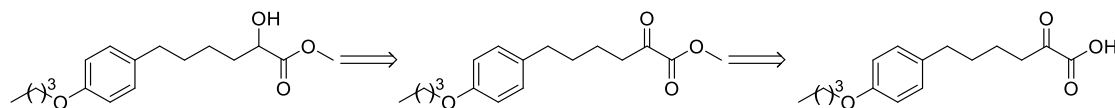
4.2.1 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης

Η πρώτη ένωση που θελήσαμε να συνθέσουμε, ήταν ανάλογη της ένωσης **79**, με τη διαφορά στην υποκατάσταση του φαινολικού δακτυλίου, όπου αντικαταστήσαμε την *n*-εξυλόξυ ομάδα με την *n*-βουτόξυ. Η ρετροσυνθετική πορεία του *α*-κετοεστέρα που φέρει ελεύθερο καρβοξύλιο παρουσιάζεται στο Σχήμα 33. Καθοριστικό στάδιο για την σύνθεση του τελικού προϊόντος ήταν η σύζευξη του 2-υδροξυ οξέος με τον *tert*-βουτυλ-εστέρα του βρωμο-πεντανικού οξέος. Για τη σύνθεση του 2-υδροξυ-οξέος απαιτείται η σύνθεση της αντίστοιχης κυανυδρίνης, που μπορεί να προέλθει από την αντίστοιχη αλκοόλη. Η κατάλληλη αλκοόλη μπορεί να παραχθεί από τον αντίστοιχο εστέρα που μπορεί με τη σειρά του να συντεθεί από την αρχική 4-*n*-βουτοξυβενζαλδεΐδη.



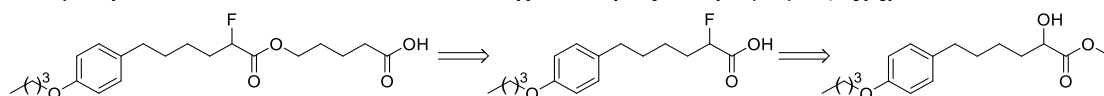
Σχήμα 33 : Ρετροσυνθετική πορεία 2-οξοεστέρα που φέρει ελεύθερο καρβοξύλιο

Η σύνθεση του 2-οξοοξέος (Σχήμα 34) θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί μέσω του αντίστοιχου 2-οξο-μεθυλεστέρα ο οποίος μπορεί να προκύψει από τον 2-υδροξυ-μεθυλεστέρα της προηγούμενης συνθετικής πορείας.



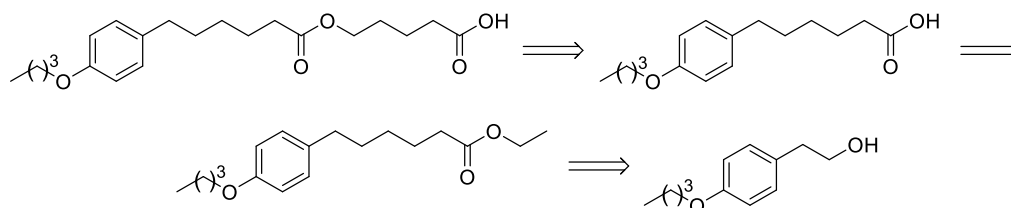
Σχήμα 34 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης του 2-οξο οξέος

Με παρόμοια λογική, ο 2-φθορο-εστέρας που φέρει ελεύθερο καρβοξύλιο, μπορεί να προκύψει από το αντίστοιχο 2-φθορο-οξύ, μέσω του 2-φθορο-μεθυλεστέρα που μπορεί να συντεθεί από το αντίστοιχο 2-υδρόξυ παράγωγο (Σχήμα 35).



Σχήμα 35 : Ρετροσυνθετική πορεία 2-φθορο-εστέρα που φέρει ελεύθερο καρβοξύλιο

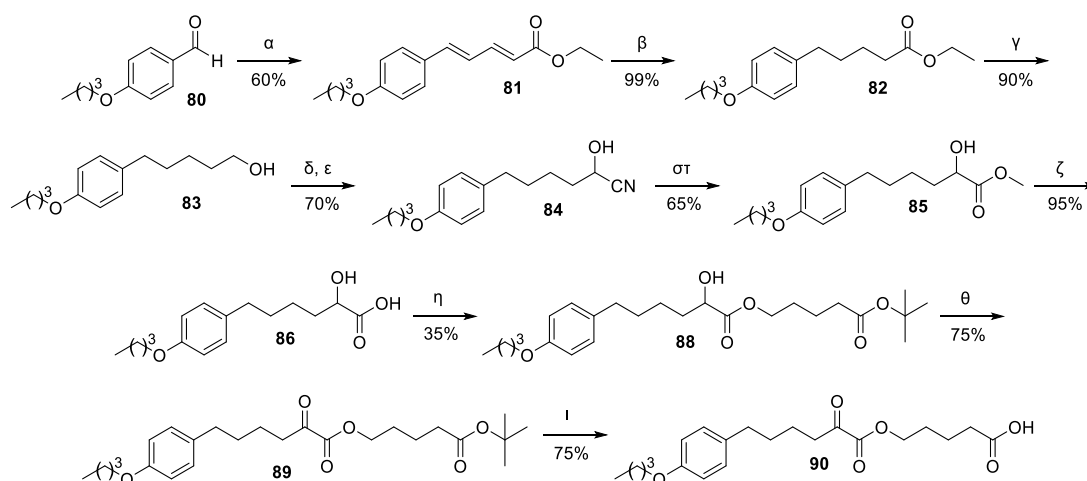
Τέλος, για τη σύνθεση του εστέρα που φέρει ελεύθερο καρβοξύλιο, απαραίτητη ήταν η σύνθεση του αντίστοιχου οξέος το οποίο μπορούσε να προκύψει από την κατάλληλη αλκοόλη με αντιδράσεις ολεφινοποίησης και υδρογόνωσης (Σχήμα 36).



Σχήμα 36 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης του εστέρα που φέρει ελεύθερο καρβοξύλιο

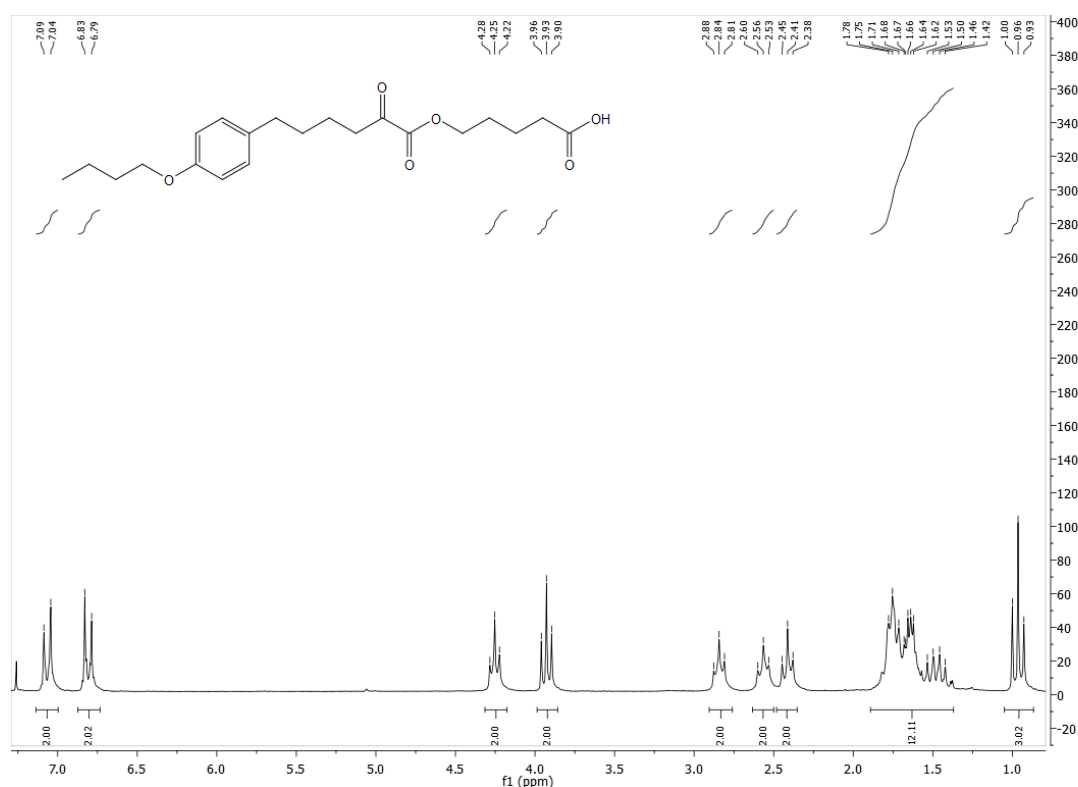
4.2.2 Σύνθεση του 5-((6-(4-βουτοξυφαινυλο)-2-οξοεξανόυλ)οξύ)πεντανοϊκού οξέος

Ξεκινώντας από την εμπορικά διαθέσιμη *n*-βουτοξυ βενζαλδεΐδη **80**, με αντίδραση ολεφινοποίησης Horner-Emmons, παρελήφθη ο ακόρεστος εστέρας **81**, υδρογόνωση του οποίου οδήγησε στο κορεσμένο παράγωγο **82**. Η αναγωγή του εστέρα **82** έδωσε την αλκοόλη **83**, η οξείδωση της οποίας στην ενδιάμεση αλδεΐδη και κυανυδρινική σύνθεση κατέληξε στο υδροξυ-νιτρίλιο **84**. Όξινη υδρόλυση προς τον 2-υδροξυ μεθυλεστέρα **85** και σαπωνοποίηση του έδωσε το επιθυμητό 2-υδρόξυ οξύ **86**. Καθοριστικό στάδιο της συνθετικής πορείας ήταν η εστεροποίηση του 2-υδροξυ-οξέος με τον *tert*-βουτυλ-εστέρα του βρωμο-πεντανοϊκού οξέος (**87**), απ' όπου και προέκυψε ο 2-υδροξυ-εστέρας **88**. Οξείδωση του **88** προς τον αντίστοιχο 2-οξοεστέρα **89** και τελικώς διάσπαση του *tert*-βουτυλεστέρα παρείχε το επιθυμητό προϊόν **90** (Σχήμα 37).



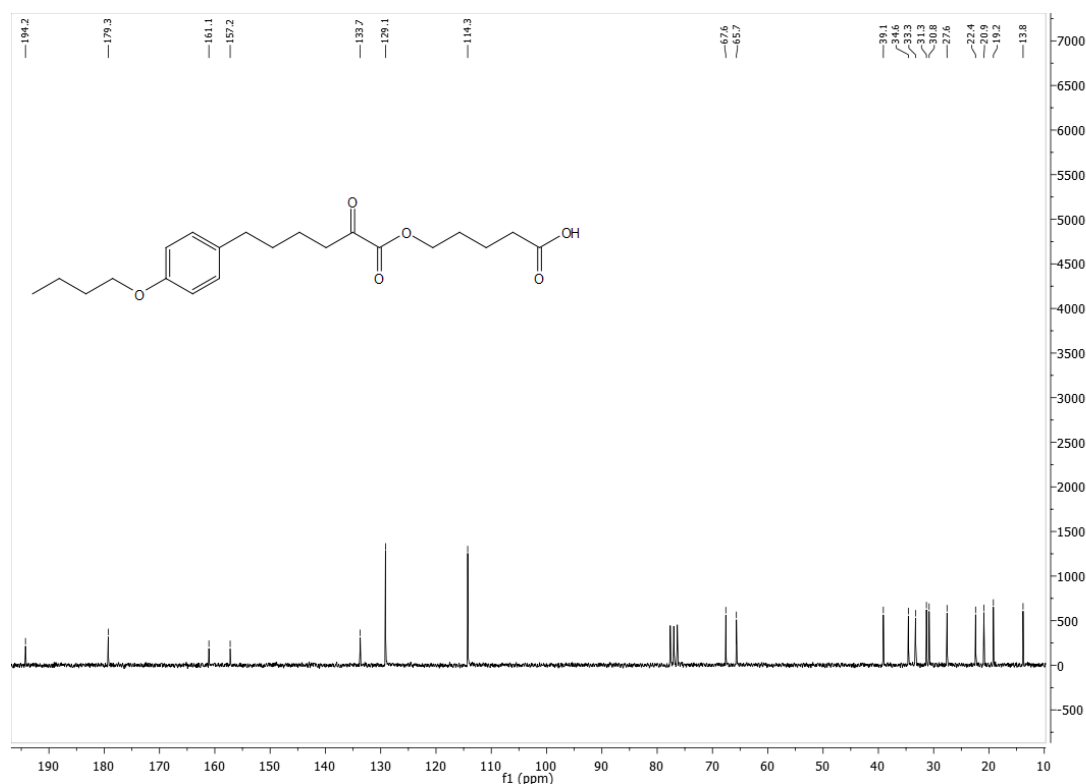
Σχήμα 37 : α) $(C_2H_5O)_2P(O)CH_2CH=CHCO_2C_2H_5$, $LiOH \cdot H_2O$, THF, mol. sieves, β) H_2 , 10% Pd/C, EtOH, γ) DIBALH, άνυδρο Et_2O , δ) $C_6H_5I(O_2CCH_3)_2$, κατ. TEMPO, CH_2Cl_2 , ε) (i) 4N $NaHSO_3$, CH_2Cl_2 (ii) 4N KCN, στ) 4N HCl/MeOH, ζ) 50% υδ. NaOH, 1,4-διοξάνη, η) 20% υδ. Cs_2CO_3 , $Br(CH_2)_4COOBu^t$ (**87**), DMF, θ) Αντιδραστήριο Dess-Martin, ξηρό CH_2Cl_2 , ι) 50% TFA/ CH_2Cl_2 .

Στις εικόνες που ακολουθούν, παρατίθενται ενδεικτικά τα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR της ένωσης **90**. Στο φάσμα ^1H NMR (**Εικόνα 10**) παρατηρούμε τον συντονισμό των αρωματικών πρωτονίων στην περιοχή 7.09-6.79 ppm, ενώ οι κορυφές στα 4.25 και 3.93 ppm αντιστοιχούν στα πρωτόνια που βρίσκονται δίπλα στα οξυγόνα του εστέρα και της p-μεθόξυ ομάδας. Στα 2.84, 2.57 και 2.41 ppm συντονίζονται τα πρωτόνια που βρίσκονται δίπλα στην 2-οξοεστερική ομάδα, τον φαινολικό δακτύλιο και το καρβοξύλιο. Τέλος, τα υπόλοιπα αλειφατικά πρωτόνια τη ένωσης συντονίζονται στην περιοχή 1.83-1.38 ppm, ενώ τα πρωτόνια του ακραίου μεθυλίου στα 0.96 ppm.



Εικόνα 10 : Φάσμα ^1H NMR της ένωσης **90** σε CDCl_3 , στα 200 MHz

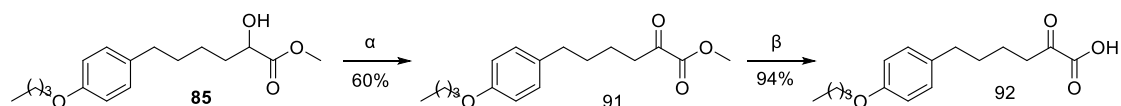
Στο φάσμα ^{13}C NMR (**Εικόνα 11**) μπορούμε να διακρίνουμε τις κορυφές που αντιστοιχούν στα τρία $\text{C}=\text{O}$ της ένωσης, στα 194.2, 179.3 και 161.4 ppm. Στην περιοχή 157.2-114.3 ppm συντονίζονται οι αρωματικοί άνθρακες, ενώ στα 67.6 και 65.7 ppm οι άνθρακες που βρίσκονται δίπλα στα οξυγόνα της p-μεθόξυ και της εστερικής ομάδας. Τέλος, οι κορυφές που εμφανίζονται στην περιοχή 39.1 έως 13.8 αντιστοιχούν στους αλειφατικούς άνθρακες της ένωσης.



Εικόνα 11: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης **90** σε CDCl_3 , στα 50 MHz

4.2.3 Σύνθεση του 6-(4-βουτοξυφαινυλ)-2-οξοεξανοϊκού οξέος

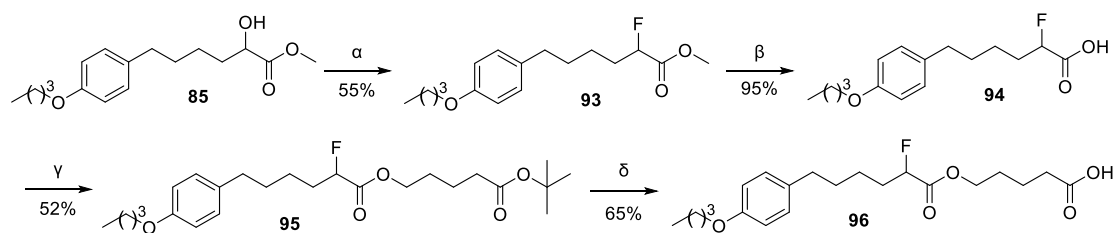
Η σύνθεση του επιθυμητού 2-οξο-οξέος (**Σχήμα 38**), ξεκίνησε από το 2-υδροξυ-μεθυλεστέρα **85**, οξείδωση του οποίου οδήγησε στον 2-οξοεστέρα **91**. Τέλος, βασική υδρόλυση του μεθυλεστέρα σε ήπιες συνθήκες με χρήση Cs_2CO_3 οδήγησε στο 2-οξο οξύ **92**.



Σχήμα 38 : α) Αντιδραστήριο Dess-Martin, β) 20% υδ. Cs_2CO_3 , MeOH.

4.2.4 Σύνθεση του 5-((6-(4-βουτοξυφαινυλο)-2-φθοροεξανοϋλ)οξύ)πεντανοϊκού οξέος

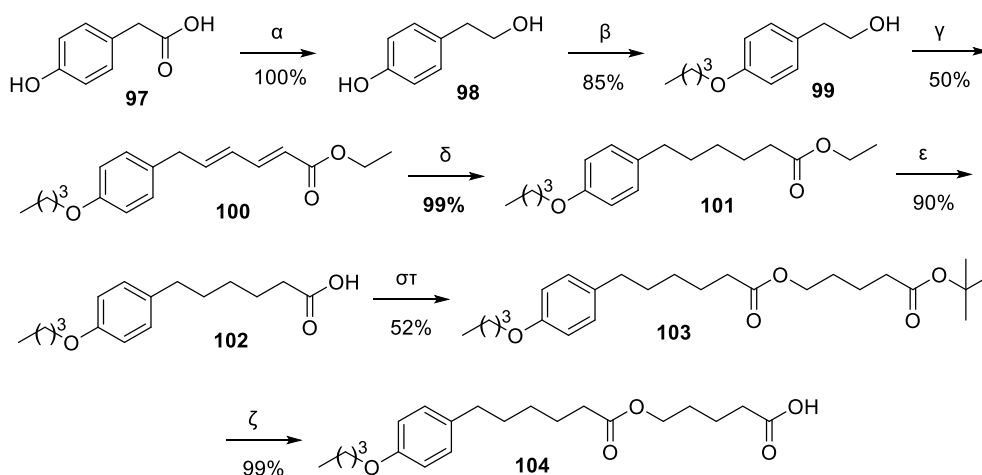
Για τη σύνθεση του 2-φθορο-υποκατεστημένου παραγώγου (**Σχήμα 39**) ξεκινήσαμε από τον 2-υδροξυ-μεθυλεστέρα **85**, ο οποίος με χρήση του αντιδραστηρίου DAST²²¹, οδήγησε στον 2-φθορο μεθυλεστέρα **93**. Σαπωνοποίηση του εστέρα προς το 2-φθορο-οξύ **95** και εστεροποίηση του με τον *tert*-βουτυλ-εστέρα του βρωμο-πεντανοϊκού οξέος (**87**) έδωσε το παράγωγο **95**. Διάσπαση του *tert*-βουτυλεστέρα σε όζινες συνθήκες κατέληξε στο επιθυμητό 2-φθορο-υποκατεστημένο παράγωγο **96**.



Σχήμα 39 : α) DAST, CH₂Cl₂, β) 50% υδ. NaOH, 1,4-διοξάνη, γ) 20% υδ. Cs₂CO₃, DMF, BrCH₂CH₂CH₂CH₂COOBu^t, δ) 50% TFA/CH₂Cl₂.

4.2.5 Σύνθεση του 5-((6-(4-βουτοξυφαινυλ)εξανουyl)οξυ)πεντανοϊκού οξέος

Η σύνθεση του 2-οξοεστέρα που φέρει ελεύθερο καρβοξύλιο, ξεκίνησε από το 4-υδροξυφαινυλ-οξικό οξύ (**97**) το οποίο ανήχθη προς την αντίστοιχη αλκοόλη **98**. Προστασία της 4-υδρόξυ ομάδας του φαινυλίου με χρήση K₂CO₃ και *n*-βουτυλο βρωμιδίου οδήγησε στην επιθυμητή αλκοόλη **99**. Από εκεί, με αντίδραση οξειδωσης προς την ενδιάμεση αλδεύδη και ακόλουθη ολεφίνοποίηση παραλάβαμε τον ακόρεστο εστέρα **100**. Υδρογόνωση προς το κορεσμένο παράγωγο **101** και σαπωνοποίηση έδωσε το οξύ **102**, η εστεροποίηση του οποίου με τον *tert*-βουτυλ-βρωμο πεντανοϊκό εστέρα (**87**) οδήγησε στον εστέρα **103**. Τέλος, με υδρόλυση σε όξινες συνθήκες παρελήφθη το επιθυμητό προϊόν **104**.



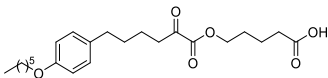
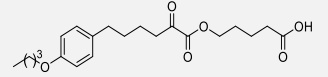
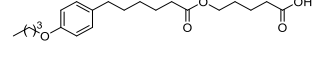
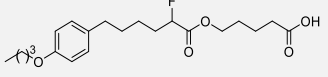
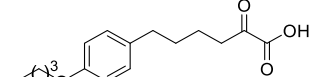
Σχήμα 40 : α) LiAlH₄, ξηρό THF, β) K₂CO₃, *n*-βουτυλο βρωμίδιο, γ) i) C₆H₅I(O₂CCH₃)₂, κατ. TEMPO, CH₂Cl₂, ii) (C₂H₅O)₂P(O)CH₂CH=CHCO₂C₂H₅, LiOH·H₂O, THF, mol. sieves, δ) H₂, 10% Pd/C, EtOH, ε) DIBALH, άνυδρο Et₂O, στ) 20% υδ. Cs₂CO₃, DMF, BrCH₂CH₂CH₂CH₂COOBu^t, ζ) 50% TFA/CH₂Cl₂.

4.3 Μελέτη της δραστηριότητας των 2-οξοεστερικών αναλόγων έναντι των PLA₂

Όλα τα 2-οξοεστερικά παράγωγα που συντέθηκαν στην παρούσα εργασία ελέγχθηκαν για την αναστολή της ανθρώπινης GIVA cPLA₂, της GVIA iPLA₂ και της GV sPLA₂. Οι *in vitro* μελέτες πραγματοποιήθηκαν στο University of California, San Diego, από την ερευνητική ομάδα του Prof. Edward A. Dennis. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον **Πίνακα 3**, είτε ως ποσοστό αναστολής, είτε ως τιμές X_I(50). Αρχικά, προσδιορίστηκε το ποσοστό αναστολής για κάθε PLA₂ σε υψηλή συγκέντρωση κάθε αναστολέα (0,091 γραμμομοριακό κλάσμα) από κάθε αναστολέα. Στη συνέχεια, μετρήθηκαν οι τιμές X_I(50) για τις ενώσεις εκείνες που εμφάνισαν αναστολή μεγαλύτερη από 95%. Το X_I(50) είναι το γραμμομοριακό κλάσμα του αναστολέα στη διεπιφάνεια του υποστρώματος που απαιτείται για την αναστολή του ενζύμου κατά 50%. Η ένωση **GK484 (79)** συμπεριλαμβάνεται στον πίνακα συγκριτικά, ως ένωση αναφοράς.

Δεδομένου ότι η τιμή ClogP είναι μια σημαντική ιδιότητα για κάθε αναστολέα, περιλαμβάνονται επίσης στον **Πίνακα 3** και οι τιμές ClogP για όλες τις ενώσεις που μελετήθηκαν, υπολογισμένες από το ChemDraw. Η τιμή ClogP είναι ένα μέτρο της υδροφοβικότητας και αντιπροσωπεύει τον υπολογιζόμενο συντελεστή κατανομής σε οκτανόλη / νερό σε λογαριθμική κλίμακα.

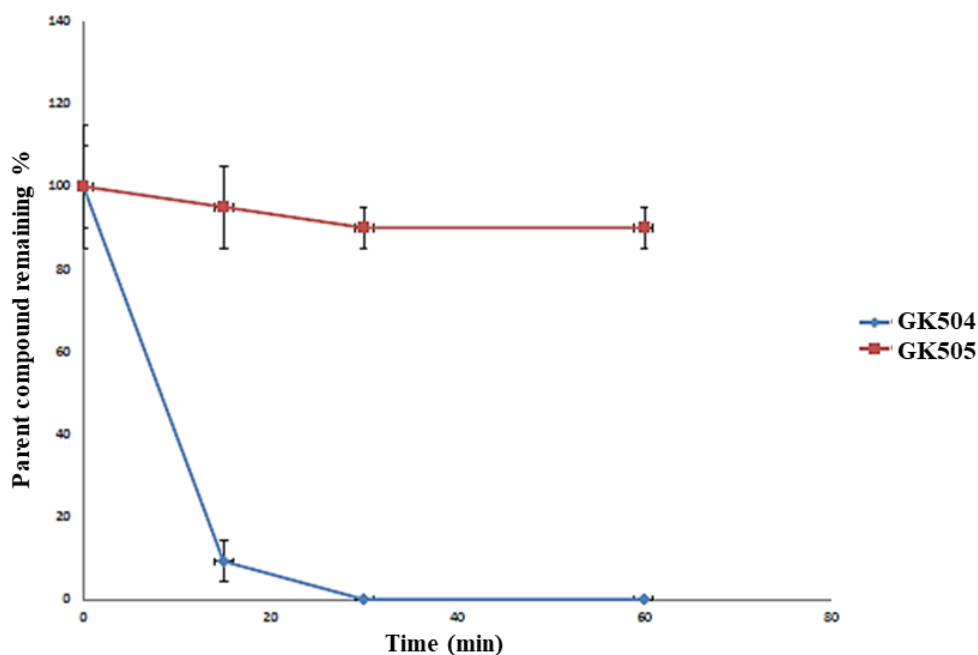
Πίνακας 3 : *In vitro* ανασταλτική ισχύς 2-οξοεστερικών αναλόγων έναντι στις PLA₂

Κωδικός	Δομή	ClogP	GIVA cPLA ₂		GVIA iPLA ₂	GV sPLA ₂
			X _I (50)	% Αναστολή	% Αναστολή	% Αναστολή
GK484		5.37	0.000019 ± 0.000002	>95	86±2	<25
90 (GK504)		4.31	0.000066 ± 0.000003	>95	77±2	29±2
104 (GK505)		5.39	-	42±1	68±5	<25
96 (GK506)		5.06	-	28±2	81±3	<25
92 (GK511)		3.27	-	55±3	28±3	28±6

Όπως μπορούμε να δούμε στον **Πίνακα 3**, η μείωση του μήκους της ανθρακικής αλυσίδας της πλευρικής ομάδας του φαινυλίου, από 6 σε 4 ανθρακοάτομα, μείωσε, αν και ελάχιστα, την ανασταλτική δράση της ένωσης, ενώ παράλληλα επέφερε τα αναμενόμενα αποτελέσματα αναφορικά με τη μείωση της λιποφιλικότητας, καθώς η ένωση **90** εμφάνισε μικρότερο ClogP από την **GK484**. Επίσης η ένωση **90** εμφάνισε μειωμένη αναστολή σε σχέση με την iPLA₂ και κανένα αξιοσημείωτο αποτέλεσμα για την sPLA₂. Η μείωση της ανασταλτικής ισχύος με την πλήρη απομάκρυνση του εστερικού άκρου, με τη σύνθεση της ένωσης **92**, καταδεικνύει την αναγκαιότητα της ύπαρξης της 2-οξοεστερικής ομάδας για την αναστολή της GIVA PLA₂. Αντιστοίχως, μπορούμε να αντιληφθούμε και τη σημασία της ύπαρξης της 2-οξο-εστερικής ομάδας, καθώς τόσο η αντικατάστασή της, στην ένωση **96**, αλλά και η απομάκρυνση της, στην ένωση **104**, μείωσε άρδην την ανασταλτική δράση των δύο ενώσεων.

4.4 Μελέτη σταθερότητας των 2-οξοεστερικών αναλόγων σε πλάσμα.

Ο προσδιορισμός της σταθερότητας των νέων χημικών ενώσεων στο πλάσμα είναι σημαντικός, καθώς οι ενώσεις (με εξαίρεση τα προ-φάρμακα) που αποικοδομούνται ταχέως στο πλάσμα, παρουσιάζουν γενικώς κακή *in vivo* απόδοση. Για το λόγο αυτό, μελετήθηκε η σταθερότητα των ενώσεων **90** (**GK504**) και **104** (**GK505**) στο ανθρώπινο πλάσμα σε σχέση με τον χρόνο. Στόχος μας ήταν να παρατηρήσουμε τη διαφορά μεταξύ του ισχυρού 2-οξοεστερικού αναστολέα της GIVA cPLA₂, **90** με την ένωση **104** που στερείται της ενεργοποιημένης καρβονυλομάδας. Τα αποτελέσματα αποικοδόμησης συνοψίζονται στην **Εικόνα 12**.



Εικόνα 12 : Χρονοεξαρτώμενη μείωση των ενώσεων **90** (**GK504**) και **104** (**GK505**) σε ανθρώπινο πλάσμα

Για τον προσδιορισμό των επιπέδων των ενώσεων στο πλάσμα χρησιμοποιήθηκε μέθοδος LC-HRMS. Όλα τα φάσματα ελήφθησαν στον αρνητικό ιοντισμό, ενώ το ιόν του κύριου θραύσματος και για τις δύο ενώσεις, προέρχεται από τη διάσπαση του εστερικού δεσμού.

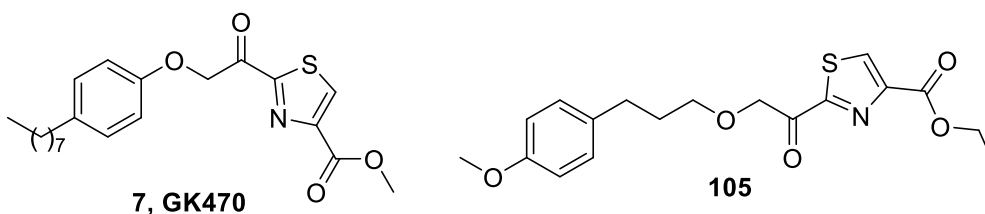
Στην **Εικόνα 12**, παρουσιάζεται το επί τοις εκατό ποσοστό της ένωσης που παραμένει αδιάσπαστη σε κάθε χρονικό σημείο. Ο αναστολέας **90 (GK504)**, που περιέχει την 2-οξοεστερική ομάδα, δεν ανιχνεύεται σε δείγματα πλάσματος μετά από 30 λεπτά, σε αντίθεση με την ένωση **104 (GK505)**, το ποσοστό της οποίας παραμένει κοντά στο 100% ακόμα και μετά το πέρας μίας ώρας. Τα αποτελέσματα αυτά, υποδεικνύουν ότι η ενεργοποιημένη καρβονυλομάδα, η οποία είναι απαραίτητη για την αναστολή του ενζύμου, καθιστά τις ενώσεις ευαίσθητες στην ταχεία αποικοδόμηση στο ανθρώπινο πλάσμα. Μία ένωση όπως η **GK505**, που στερείται της ενεργοποιημένης καρβονυλομάδας, είναι μάλλον σταθερή στο πλάσμα, ωστόσο στερείται ανασταλτικών ιδιοτήτων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ ΘΕΙΑΖΟΛΥΛΟ ΚΕΤΟΝΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΤΟΥΣ

5.1 Σχεδιασμός θειαζόλυλο κετονών και αναλόγων τους

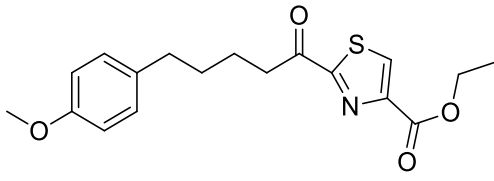
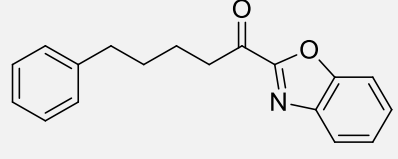
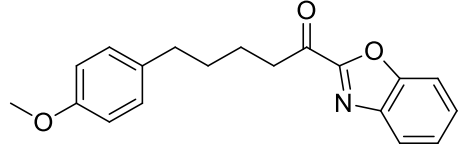
Το 2014, η ερευνητική ομάδα του Γ. Κόκοτου ανέπτυξε μία σειρά θειαζολυλο-κετονών ικανών να αναστέλλουν την δράση των PLA₂⁶⁸. Κοινό δομικό χαρακτηριστικό των ενώσεων ήταν ένα υποκατεστημένο ή μη κετοθειαζόλιο που χωριζόταν μέσω ενός μεθυλενίου από ένα αιθερικό οξυγόνο, όπως στην περίπτωση της ένωσης **GK470**, όπου το θειαζόλιο φέρει έναν καρβοξυ-μεθυλεστερά. Οι ενώσεις αυτού του τύπου έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν ισχυρά αλλά όχι εκλεκτικά την cPLA₂, καθώς παρουσιάζουν ανασταλτική δράση, χαμηλότερη μεν, αλλά υπολογίσιμη και για την iPLA₂, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις ακόμα και για την sPLA₂. Η **GK470** ξεχώρισε μεταξύ άλλων ενώσεων, καθώς βρέθηκε ότι αναστέλλει τη cPLA₂ (>90%), παρουσιάζοντας X_I(50) 0.011, επέδειξε όμως και σημαντικό ποσοστό αναστολής και για την iPLA₂, της τάξης του 86% σε υψηλή συγκέντρωση (0.091 γραμμομοριακό κλάσμα). Δομικές αλλαγές στην ένωση **7** (**GK470**, **Σχήμα 41**), όπως η αλλαγή της υποκατάστασης του φαινολικού δακτυλίου ή της απόστασης αυτού από την αιθερική ομάδα, διατηρώντας σταθερή την απόσταση του αιθερικού οξυγόνου από το κετονικό καρβονύλιο, οδήγησε σε μία σειρά ενώσεων (αδημοσίευτα αποτελέσματα Μ. Μερτύρη)²²², όπως για παράδειγμα η ένωση **105**, η οποία παρουσίασε 95.7% αναστολή για την iPLA₂ και μόλις 35% για την cPLA₂ σε 0.091 mole fraction. Φαίνεται λοιπόν, πως ακόμα και κρατώντας σταθερό τον τύπο ενεργοποιημένου καρβονυλίου της ένωσης, απλές δομικές αλλαγές μπορούν να αλλάξουν άρδην την ανασταλτική της ισχύ και την εκλεκτικότητα σε σχέση με τις PLA₂.



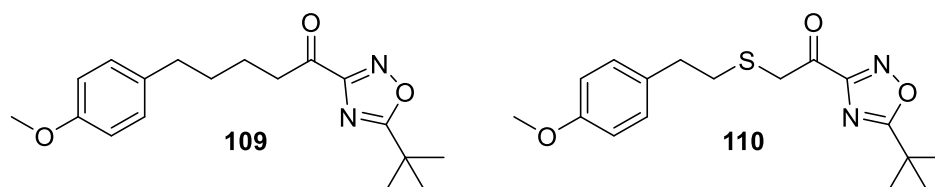
Σχήμα 41 : Γνωστοί θειαζόλυλο κετονικοί αναστολείς PLA₂

Η μελέτη σχέσης δομής-δραστηριότητας αυτού του είδους των ενώσεων παρουσιάζει εξαιρετικό ενδιαφέρον, ιδιαίτερα αναφορικά με τον τρόπο αλληλεπίδρασης τους με το ενεργό κέντρο καθενός από τα δύο αυτά ένζυμα. Στον **Πίνακα 2** που ακολουθεί, μπορούμε να δούμε μερικά επιπλέον παραδείγματα ενώσεων (αδημοσίευτα αποτελέσματα Μ. Μερτύρη), με ανασταλτική δράση έναντι των GIVA cPLA₂ και GVIA iPLA₂ τα οποία συνέβαλαν σημαντικά στον σχεδιασμό των ενώσεων που συντέθηκαν στην παρούσα διατριβή.

Πίνακας 4 : Επιλεγμένα αποτελέσματα αναστολής PLA₂ από κετο-ετεροκυκλικές ενώσεις²²²

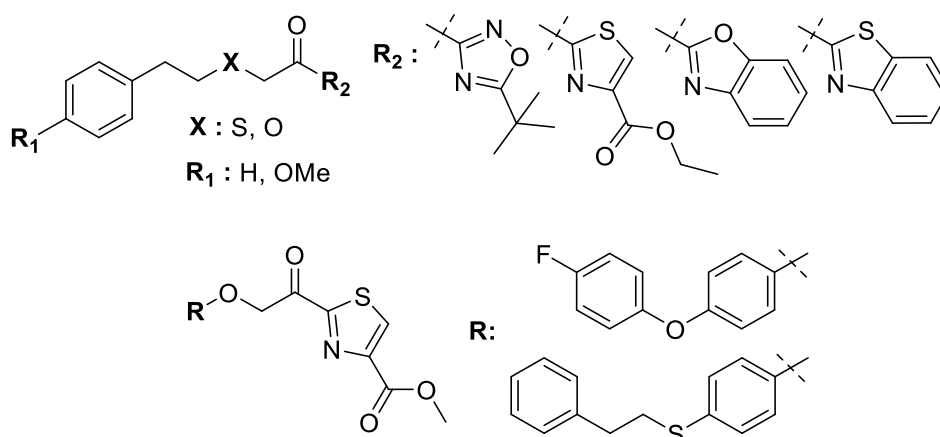
Ένωση	Δομή	% Αναστολή (0.091 mole fraction)	
		iPLA ₂	cPLA ₂
106		92.6	81.2
107		90.7	82.6
108		90.3	85.1

Εντείνοντας τις προσπάθειες ανεύρεσης ισχυρών και εκλεκτικών αναστολέων για την GVIA iPLA₂, το 2016, αναφέρθηκε η ένωση **109**, όπου με την αντικατάσταση ενός ατόμου άνθρακα από ένα άτομο θείου προέκυψε η θειοαιθερική κετο-οξαδιαζολική ένωση **110**. Η δομική αυτή αλλαγή φάνηκε να βελτιώνει την ανασταλτική δράση της ένωσης ενάντια στην iPLA₂ (με ποσοστό αναστολής από 64% σε 98%,) αλλά και ενάντια στη cPLA₂ (από 52% σε 70%)⁶⁹.



Σχήμα 42 : Οξαδιαζολικά παράγωγα

Βάσει όλων των παραπάνω δεδομένων, συνεχίσαμε τις μελέτες σχέσης δομής δραστηριότητας, με δομικές αλλαγές στις ενώσεις **105-109**, όπως φαίνεται στο Σχήμα **43**. Θελήσαμε λοιπόν να αντικαταστήσουμε το αιθερικό οξυγόνο της ένωσης **105** με ένα άτομο θείου, το οποίο εισήχθη επίσης και στην ένωση **106** δημιουργώντας ένα ακόμα θειοαιθερικό ανάλογο. Στην ένωση **107** θελήσαμε να ελέγξουμε εκτός από την επίδραση της εισαγωγής μιας θειοαιθερικής ομάδας, και την αντικατάσταση του βενζοξαζολικού δακτυλίου από το βενζοθειαζόλιο σε συνδυασμό με την θειοαιθερική ομάδα οπότε προέκυψαν δύο διαφορετικές ενώσεις.



Σχήμα 43 : Κετο-ετεροκυκλικά παράγωγα που σχεδιάστηκαν

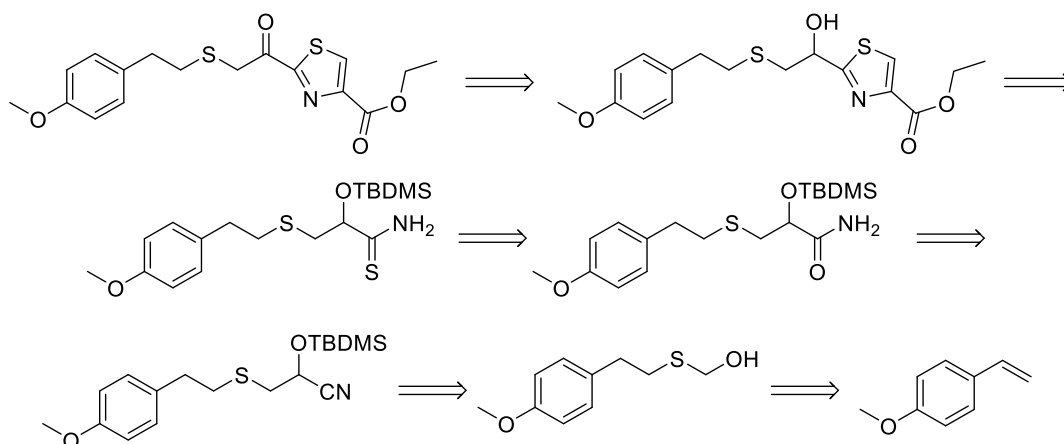
Την επίδραση ενός αιθερικού οξυγόνου, θελήσαμε να εξετάσουμε στις περιπτώσεις των ενώσεων **108** και **109** (Σχήμα 43). Το αλειφατικό παράγωγο **109**, το αντίστοιχο θειο-αιθερικό παράγωγο **110** και το νέο αιθερικό παράγωγο που θελήσαμε να συνθέσουμε θα συνήγαγαν χρήσιμα συμπεράσματα σχετικά με την ανασταλτική δράση των ενώσεων ενάντια στις GVIA iPLA₂ και GIVA cPLA₂.

Τέλος, βασιζόμενοι στον αναστολέα **GK470**, θελήσαμε να αντικαταστήσουμε την αλειφατική όκτυλο ομάδα με έναν βενζολικό δακτύλιο που φέρει ένα άτομο φθορίου που μπορεί να συμβάλει στο σχηματισμό επιπλέον δεσμών στο ενεργό κέντρο του ενζύμου και έπειτα με την παρουσία ενός ατόμου θείου (Σχήμα 43).

5.2 Σύνθεση θειαζολυλο-κετονών και αναλόγων τους

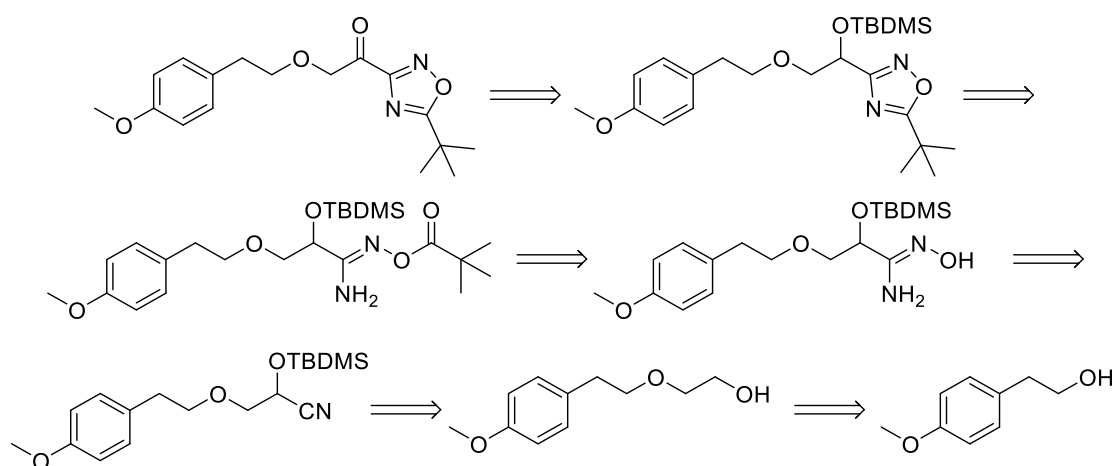
5.2.1 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης

Η συνθετικές πορείες για καθεμία από τις ενώσεις που θελήσαμε να συνθέσουμε προέκυψαν από την αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης, που σε κάθε περίπτωση εξαρτάται από τη φύση του ετεροκυκλικού δακτυλίου και ενίοτε και της υποκατάστασης που φέρει.



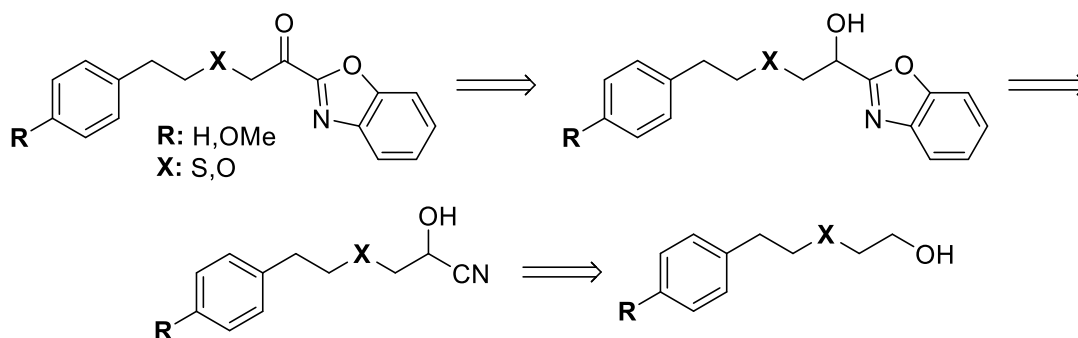
Σχήμα 44 : Ρετροσυνθετική πορεία θειοαιθερικού α-κετο-θειαζολικού παραγώγου

Στο **Σχήμα 44** περιγράφεται η αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης του υποκατεστημένου με αιθυλεστέρα επιθυμητού α-κετοθειαζολικού παραγώγου, το οποίο προκύπτει από το α-υδροξύ παράγωγο, για την παρασκευή του οποίου απαιτείται η σύνθεση του αντίστοιχου προστατευμένου θειαμιδίου. Το προστατευμένο θειαμίδιο μπορεί να προέλθει από το αντίστοιχο αμίδιο που συντίθεται μέσω της προστατευμένης κυανυδρίνης, που μπορεί τελικώς να προκύψει από την κατάλληλη θειοαιθερική αλκοόλη.



Σχήμα 45 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης κετο-οξαδιαζολικού αναλόγου

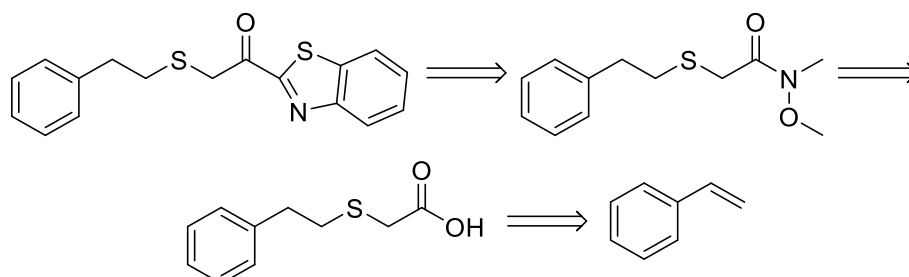
Όπως φαίνεται από τη ρετροσυνθετική πορεία του **Σχήματος 45**, για την σύνθεση του επιθυμητού α-κετο-οξαδιαζολικού αναλόγου, απαιτείται η σύνθεση της N'-tert-βουτοξυ-αμιδοξίμης, η οποία μπορεί να προκύψει από την αντίστοιχη αμιδοξίμη. Η αμιδοξίμη μπορεί να συντεθεί από το προστατευμένο υδροξύ-νιτρίλιο, το οποίο με τη σειρά του μπορεί να προέλθει από την κατάλληλη αλκοόλη.



Σχήμα 46 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης βενζοξαζολικών ενώσεων

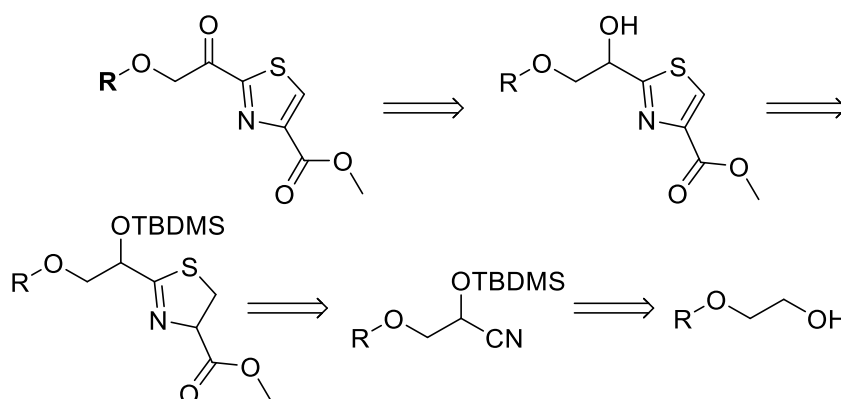
Η σύνθεση των α-κετο-βενζοξαζολικών παραγώγων μπορεί να επιτευχθεί από τα αντίστοιχα α-υδροξύ παράγωγα, που με τη σειρά τους προκύπτουν από τα πρόδρομα υδροξύ-νιτρίλια μέσω των κατάλληλων αλκοολών (**Σχήμα 46**).

Όπως φαίνεται στο **Σχήμα 47**, όπου απεικονίζεται η αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης του θειοαιθερικού βενζοθειαζολικού παραγώγου, αυτό μπορεί να προκύψει από το αντίστοιχο Weinreb αμίδιο, η σύνθεση του οποίου απαιτεί το κατάλληλο οξύ. Το θειοαιθερικό οξύ μπορεί να προκύψει από το ακραίο αλκένιο και το θειογλυκολικό οξύ.



Σχήμα 47 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης του θειοαιθερικού βενζοθειαζολικού παραγώγου

Τέλος, στο **Σχήμα 48** περιγράφεται η ρετροσυνθετική πορεία των υποκατεστημένων με μεθυλεστέρα αιθερικών α-κετοθειαζολικών παραγώγων, όπου φαίνεται ότι μπορούν να προέλθουν από τα προστατευμένα α-υδροξυ-διυδροθειαζολικά ανάλογα. Τα τελευταία μπορούν να συντεθούν από τα προστατευμένα υδροξυ-νιτρίλια που προέρχονται από τις κατάλληλες αιθερικές αλκοόλες.

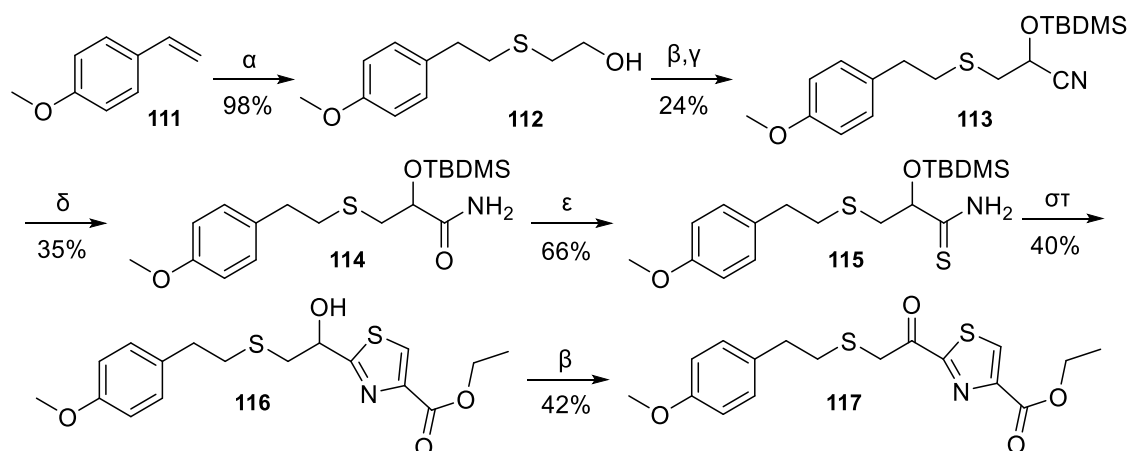


Σχήμα 48 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης αιθερικών α-κετο-θειαζολικών παραγώγων

5.2.2 Σύνθεση του θειοαιθερικού α-κετοθειαζολικού παραγώγου

Όπως φαίνεται στο **Σχήμα 49**, η σύνθεση του επιθυμητού θειοαιθερικού α-κετοθειαζολικού παραγώγου ξεκίνησε με την παρασκευή του θειοαιθερικού σκελετού. Έτσι, από το εμπορικά διαθέσιμο p-μεθοξυ-στυρένιο (**111**) και τη θειογλυκόλη, με χρήση του φαινυλογλυοξυλικού οξέος ως καταλύτη υπό ακτινοβολία με οικιακές λάμπες παραλάβαμε την ένωση **112**. Αντίδραση οξειδωσίας Dess-Martin και κυανυδρινική σύνθεση έδωσε το προστατευμένο υδροξυ-νιτρίλιο **113**, το οποίο έπειτα μετατράπηκε στο αμίδιο **114**, ενώ με χρήση του αντιδραστήριου Lawesson's²²³ παρελήφθη το αντίστοιχο θειαμίδιο **115**. Επόμενο στάδιο αποτέλεσε η σύζευξη του θειαμιδίου με το βρωμοπυρουβικό αιθυλεστέρα και η ταυτόχρονη

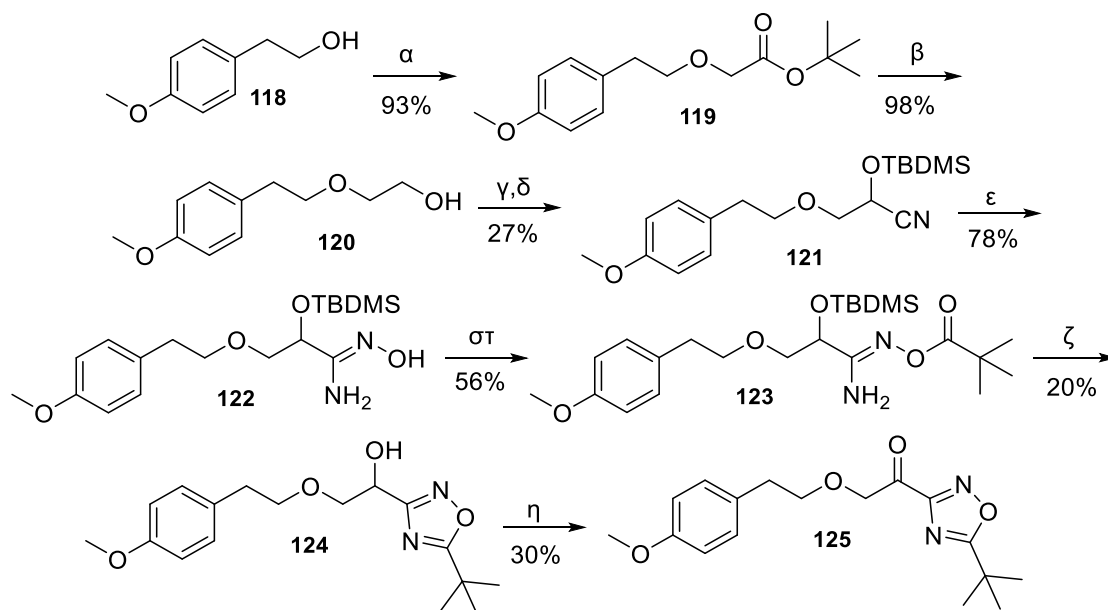
κυκλοποίηση του. Οι όξινες συνθήκες της αντίδρασης οδήγησαν στην ταυτόχρονη απομάκρυνση της προστατευτικής TBDMS-ομάδας και έτσι προέκυψε το α -υδροξυ-θειαζόλυλο παράγωγο **116**. Οξείδωση Dess-Martin έδωσε το τελικό προϊόν **117**.



Σχήμα 49 : α) $\text{HS}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$, κατ. PhCOCOOH , ξηρό THF, $h\nu$ β) αντιδραστήριο Dess-Martin, ξηρό CH_2Cl_2 , γ) TBDMSCN , KCN , 18-crown-6, ξηρό CH_2Cl_2 , δ) H_2O_2 30%, NaOH 0.5N, Bu_4NHSO_4 , CH_2Cl_2 , ε) αντιδραστήριο Lawesson, THF, στ) $\text{BrCH}_2\text{COCOOEt}$, $\pi.\text{H}_2\text{SO}_4$, EtOH.

5.2.3 Σύνθεση του αιθερικού οξαδιαζολικού παραγώγου

Η συνθετική πορεία του αιθερικού οξαδιαζολικού παραγώγου ξεκινά με την σύνθεση του επιθυμητού αιθερικού σκελετού (**Σχήμα 50**). Έτσι λοιπόν, αντίδραση μεταξύ της εμπορικά διαθέσιμης 1-(4-μεθοξυφαινυλο)αιθανόλης (**118**) με το κατάλληλο αλκυλοβρωμίδιο, παρουσία καταλύτη μεταφοράς φάσης και 50% υδατικού διαλύματος NaOH , έδωσε το αιθερικό παράγωγο **119**, αναγωγή του οποίου παρείχε στην αλκοόλη **120**. Η TBDMS-προστατευμένη κυανυδρίνη **121**, προήλθε από οξείδωση της αλκοόλης **120** και επακόλουθη κυανυδρινική σύνθεση. Η ένωση **121**, παρουσία υδατικού διαλύματος υδροξυλαμίνης έδωσε την αντίστοιχη αμιδοξίμη **122**, η οποία στη συνέχεια, με μία απλή αντίδραση σύζευξης με το τριμεθυλ-οξικό οξύ, παρείχε την ένωση **123**. Παρουσία μικροκυματικής ακτινοβολίας και TBAF, παρελήφθη το α -υδρόξυ παράγωγο **124**, η οξείδωση του οποίου, με χρήση του αντιδραστήριου Dess-Martin, παρείχε τελικά το επιθυμητό προϊόν **125**.

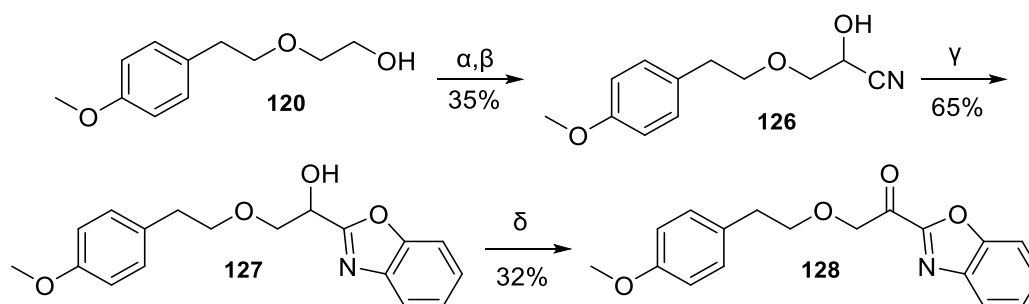


Σχήμα 50 : α) 50% υδατικό διάλυμα NaOH, τολουόλιο, κατ. Bu₄NI, BrCH₂COOBu^t, β) LiAlH₄, ξηρό THF, γ) TEMPO, NaOCl, NaHCO₃, NaBr, AcOEt, τολουόλιο, H₂O, δ) TBDMSCN, KCN, 18-crown-6, ξηρό CH₂Cl₂, ε) 50% υδ. NH₂OH, EtOH, στ) (CH₃)₃CCOOH, DCC, CH₂Cl₂, ζ) TBAF, ξηρό THF, η) αντιδραστήριο Dess-Martin, ξηρό CH₂Cl₂.

5.2.4 Σύνθεση βενζοξαζολικών παραγώγων

5.2.4.1 Σύνθεση αιθερικού βενζοξαζολικού παραγώγου

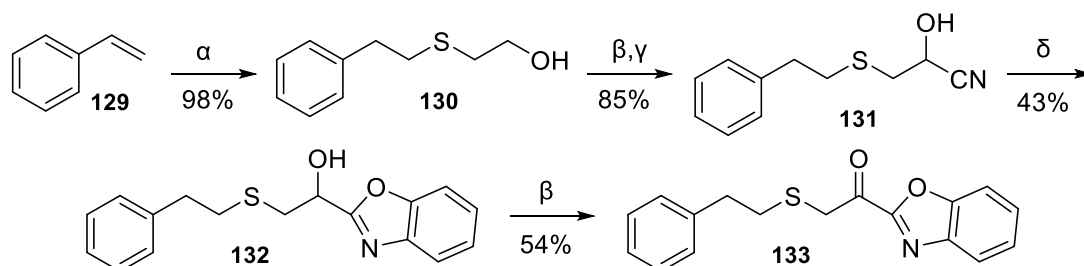
Όπως απεικονίζεται στο **Σχήμα 51**, η σύνθεση του αιθερικού βενζοξαζολικού παραγώγου ξεκινά από την αιθερική αλκοόλη **120**, η παρασκευή της οποίας περιγράφεται παραπάνω (**Σχήμα 50**). Οξειδωση και κυανυδρική σύνθεση της **120**, έδωσε το υδροξυ-νιτρίλιο **126** που στη συνέχεια συζευχθηκε με την ο-αμινοφαινόλη παρουσία ακετυλοχλωριδίου για να δώσει το α-υδροξυ-βενζοξαζόλιο **127**. Το επιθυμητό α-κετο-βενζοξαζόλιο, παρελήφθη έπειτα από οξείδωση Dess-Martin.



Σχήμα 51 : α) TEMPO, NaOCl, NaHCO₃, NaBr, AcOEt, τολουόλιο, H₂O, β) i) NaHSO₃, CH₂Cl₂, ii) KCN, H₂O, γ) i) CH₃COCl, CHCl₃/ EtOH, ii) ο-αμινοφαινόλη, EtOH, δ) αντιδραστήριο Dess-Martin, ξηρό CH₂Cl₂.

5.2.4.1 Σύνθεση θειοαιθερικού βενζοξαζολικού παραγώγου

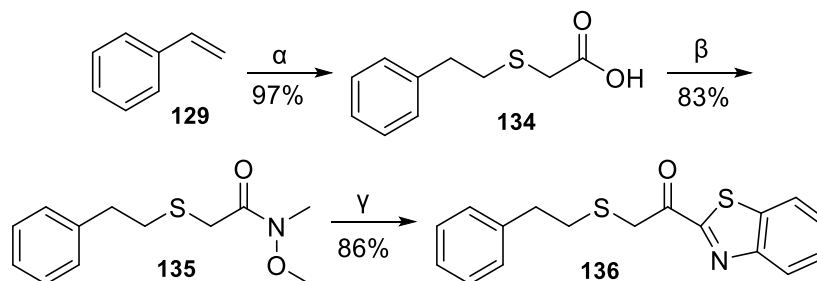
Για τη σύνθεση του θειοαιθερικού βενζοξαζολικού παραγώγου (**Σχήμα 52**), ξεκινήσαμε από το εμπορικά διαθέσιμο στυρένιο (**129**) και τη θειογλυκόλη, παρουσία καταλυτικής ποσότητας φαινυλογλυοξυλικού οξέος και ακτινοβόληση με οικιακές λάμπες, παραλάβαμε την αλκοόλη **130**. Μέσω αντίδρασης οξειδωσης και κυανυδρινικής σύνθεσης, παρελήφθη το παράγωγο **131**, το οποίο έπειτα από σύζευξη με την ο-αμινοφαινόλη παρουσία ακετυλοχλωριδίου έδωσε το α-υδρο-βενζοξαζόλιο **132**. Με οξείδωση Dess-Martin παραλάβαμε τελικά το επιθυμητό προϊόν **133**.



Σχήμα 52 : α) $\text{HS}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$, κατ. PhCOCOOH , ξηρό THF, hv, β) Αντιδραστήριο Dess-Martin, ξηρό CH_2Cl_2 , γ) i) CH_3COCl , $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$, ii) ο-αμινοφαινόλη, EtOH , δ) i) NaHSO_3 , CH_2Cl_2 , ii) KCN , H_2O .

5.2.5 Σύνθεση θειοαιθερικού βενζοθειαζολικού παραγώγου

Στο **Σχήμα 53** που ακολουθεί, περιγράφεται η πορεία σύνθεσης του θειοαιθερικού βενζοθειαζολικού αναλόγου που ξεκίνησε από την παρασκευή του κατάλληλου θειοαιθερικού σκελετού. Έτσι, από το εμπορικά διαθέσιμο στυρένιο (**129**) και το θειογλυκόλιο οξύ, παρουσία καταλυτικής ποσότητας φαινυλογλυοξυλικού οξέος και ακτινοβόληση με οικιακές λάμπες, παραλάβαμε το οξύ **134**. Χρησιμοποιώντας την N,O-διμεθυλο-υδροχλωρική υδροξυλαμίνη, συντέθηκε το Weinreb αμίδιο **135**, το οποίο έπειτα από προσβολή από το λιθιωμένο στην 2-θέση βενζοθειαζόλιο, έδωσε το επιθυμητό προϊόν **136**.

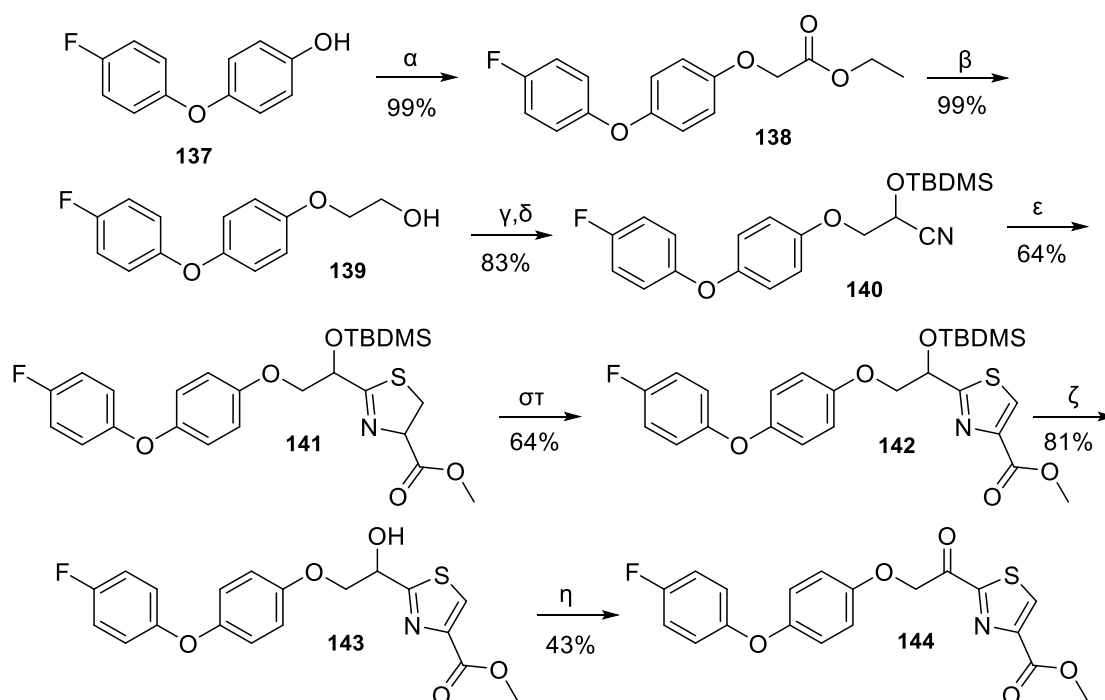


Σχήμα 53 : α) HSCH_2COOH , κατ. PhCOCOOH , ξηρό THF, hv, β) $\text{HN}(\text{OMe})\text{Me}\cdot\text{HCl}$, NMM, $\text{WSCI}\cdot\text{HCl}$, DMAP, CH_2Cl_2 , γ) βενζοθειαζόλιο, $n\text{-BuLi}$, άνυδρο Et_2O , δ) αντιδραστήριο Dess-Martin, ξηρό CH_2Cl_2 .

5.2.5 Σύνθεση των αιθερικών θειαζόλυλο κετονικών παραγώγων

5.2.5.1 Σύνθεση του αιθερικού θειαζόλυλο κετονικού αναλόγου που βασίζεται στην p-F-PhO-PhOH

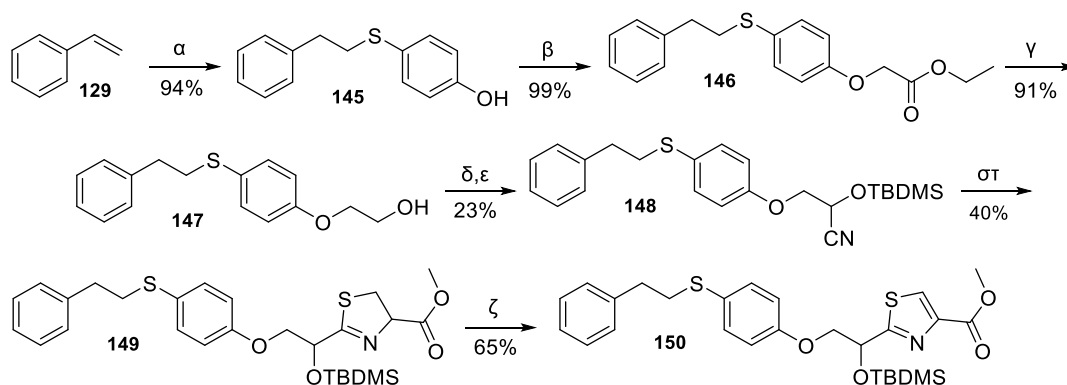
Η σύνθεση του αιθερικού θειαζόλυλο κετονικού αναλόγου που βασίζεται στην p-φθορο-φαινοξυ-φαινόλη, περιγράφεται στο **Σχήμα 54** που ακολουθεί. Αρχικά, έλαβε χώρα προστασία υδροξυλομάδας της p-φθορο-φαινοξυ-φαινόλης (**137**) με τον αιθυλεστέρα του βρωμο-οξικού οξέος, απ'όπου και παρελήφθη το παράγωγο **138**. Αναγωγή με DIBAL-H προς την αλκοόλη **139**, η οποία ακολούθως οξειδώθηκε και υπέστη κατεργασία με TBDMS-κυάνιο, έδωσε το TBDMS-προστατευμένο υδροξυ-νιτρίλιο **140**. Αντίδραση με το υδροχλωρικό άλας του μεθυλεστέρα της κυστεΐνης σε υψηλή θερμοκρασία παρείχε το α-υδροξυ-διυδρο-θειαζολικό παράγωγο **141**, που έπειτα από οξείδωση με χρήση βρωμο-τριχλωρομεθανίου και DBU έδωσε το παράγωγο **142**. Αποπροστασία παρουσία TBAF, προς το α-υδροξυ-θειαζόλυλο παράγωγο **143** και τέλος αντίδραση οξείδωσης Dess-Martin, παρείχε το επιθυμητό προϊόν **144**.



Σχήμα 54 : α) K_2CO_3 , ακετόνη $BrCH_2COOEt$, β) DIBAL-H, άνυδρο Et_2O , γ) TEMPO, $NaOCl$, $NaHCO_3$, $NaBr$, $AcOEt$, τολουόλιο, H_2O , δ) i) $4N NaHSO_3$, CH_2Cl_2 , ii) $4N KCN$, H_2O , ε) L-Cys-OMe-HCl, NMM, MeOH, στ) $BrCCl_3$, DBU, ζ) TBAF, ξηρό CH_2Cl_2 , η) αντιδραστήριο Dess-Martin, ξηρό CH_2Cl_2 .

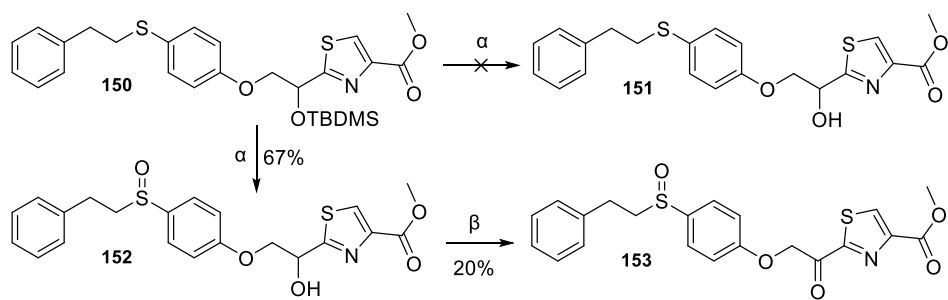
5.2.5.2 Σύνθεση του αιθερικού θειαζόλυλο κετονικού αναλόγου που βασίζεται στην p-Ph-(CH₂)₂S-PhOH

Βάσει των όσων αναφέρθηκαν στην ενότητα 5.1 σχετικά με τον σχεδιασμό των θειαζόλυλο κετονικών παραγώγων, επιχειρήθηκε η σύνθεση του αιθερικού θειαζόλυλο-κετονικού αναλόγου που βασίζεται στην p-(φαινυλαιθυλοθειο)φαινόλη. Ξεκινώντας από το εμπορικά διαθέσιμο στυρένιο (**129**) και την 4-υδροξυ-θειοφαινόλη, παρουσία καταλυτικής ποσότητας φαινυλογλυοξυλικού οξέος και ακτινοβόληση με οικιακές λάμπες, παραλάβαμε την αλκοόλη **145**, η οποία αντιδρώντας με BrCH₂COOEt παρουσία K₂CO₃ έδωσε το αιθερικό παράγωγο **146**. Αναγωγή προς την αλκοόλη **147**, οξείδωση και κυανυδρινική σύνθεση κατέληξαν στο TDMS-προστατευμένο υδροξυ-νιτρίλιο **148**. Αντίδραση με το υδροχλωρικό άλας του μεθυλεστερά της κυστεΐνης έδωσε το α-υδροξυ-διυδρο-θειαζολικό παράγωγο **149**, το οποίο έπειτα από οξείδωση με χρήση βρωμο-τριχλωρο-μεθανίου και DBU μετατράπηκε στο αρωματικό παράγωγο **150**.



Σχήμα 55 : α) HSC₆H₄OH, κατ. PhCOCOOH, ξηρό THF, hv, β) K₂CO₃, BrCH₂COOEt, γ) DIBAL-H, άνυδρος Et₂O, δ) TEMPO, NaOCl, NaHCO₃, NaBr, AcOEt, τολουόλιο, H₂O, ε) i) 4N NaHSO₃, CH₂Cl₂, ii) 4N KCN, H₂O, στ) L-Cys-OMe-HCl, NMM, MeOH, ζ) BrCCl₃, DBU.

Αποπροστασία παρουσία TBAF, όπως στην προηγούμενη περίπτωση, αναμενόταν να καταλήξει στο α-υδροξυ-θειαζόλυλο παράγωγο **151** κάτι που όμως δεν συνέβη. Πιθανότατα λόγω του ευοξειδωτού χαρακτήρα του συστήματος, υπό τις όξινες συνθήκες της αποπροστασίας της TBDMS-ομάδας, παρελήφθη το οξειδωμένο στο θείο παράγωγο **152**. Παρόλαυτα, η πορεία συνεχίστηκε, περισσότερο για διερευνητικούς σκοπούς, με την οξείδωση Dess-Martin, να δίνει τελικά την ένωση **153**.



Σχήμα 56 : α) TBAF, ξηρό CH_2Cl_2 , β) αντιδραστήριο Dess-Martin, ξηρό CH_2Cl_2 .

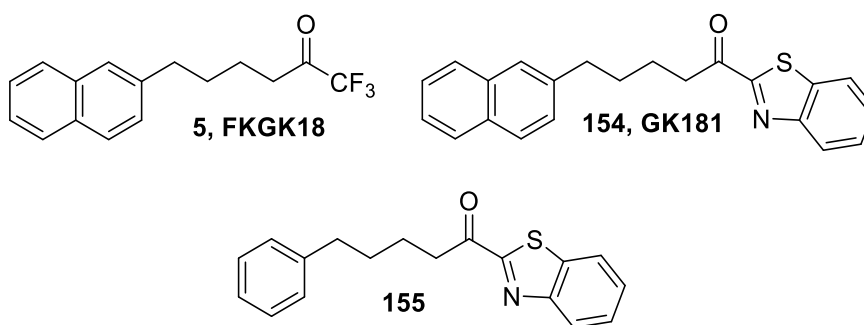
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΣΥΝΘΕΣΗ α -ΚΕΤΟ-BENZOΘΕΙΑΖΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΠΟΥ ΑΝΑΣΤΕΛΛΟΥΝ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ PGE₂ EX VIVO

6.1 Σχεδιασμός α -κετο-βενζοθειαζολικών ενώσεων και αναλόγων

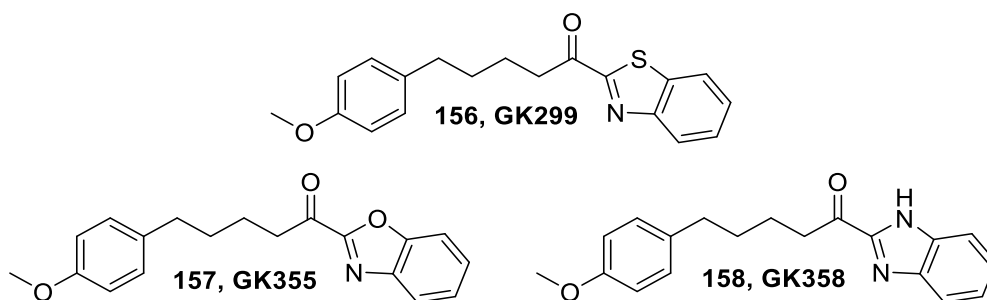
Σε αυτή την ενότητα, περιγράφεται ο σχεδιασμός και η σύνθεση α -κετο-βενζοθειαζολικών ενώσεων και άλλων αναλόγων, στόχος των οποίων αποτελεί η αναστολή της παραγωγής της PGE₂ σε κυτταρικό επίπεδο. Όπως αναφέρθηκε αναλυτικά στο **Κεφάλαιο 1** (ενότητα **5.2.4**), οι μελέτες ανεύρεσης αναστολέων της mPGES-1 βρίσκονται ακόμα σε πρώιμο στάδιο. Ένα από τα προβλήματα που αντιμετωπίζονται κατά τη διαδικασία εύρεσης αναστολέων του συγκεκριμένου ενζύμου, είναι ότι ενώσεις που παρουσιάζουν ισχυρή ανασταλτική δράση *in vitro* μπορεί να μην παρουσιάζουν την ανάλογη δράση σε κυτταρικό επίπεδο αλλά και *in vivo*. Αποτελεί λοιπόν επιτακτική ανάγκη η αξιολόγηση της δράσης νέων ενώσεων-υποψήφιων αναστολέων σε κυτταρικό επίπεδο προκειμένου να εξαχθούν ασφαλέστερα συμπεράσματα.

Αδημοσίευτα αποτελέσματα της ομάδας του Καθ. Γ. Κόκοτου έχουν δείξει ότι ο ισχυρός αναστολέας της GVIA iPLA₂ **FKGK18**, έχει βρεθεί να αναστέλλει σε κυτταρικό επίπεδο την παραγωγή της PGE₂. Όταν η τριφθορομέθυλο ομάδα αντικαταστάθηκε από έναν βενζοθειαζολικό δακτύλιο, προέκυψε η ένωση **GK181**, που έχει την ικανότητα να αναστέλλει ισχυρά την παραγωγή της PGE₂ σε νεφρικά μεσεγχυματικά κύτταρα (renal mesangial cells)(αδημοσίευτα αποτελέσματα).



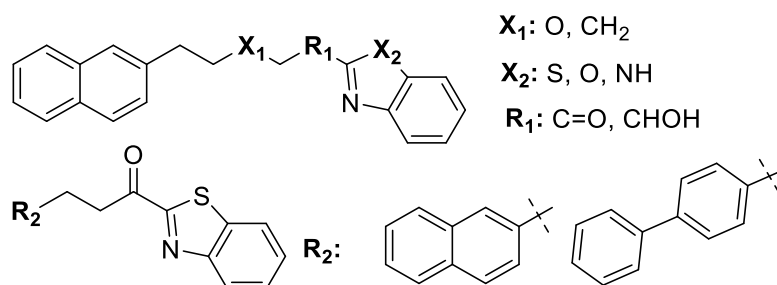
Σχήμα 57 : Αναστολείς παραγωγής της PGE₂ σε μεσεγχυματικά κύτταρα

Περαιτέρω μελέτες με δομικές τροποποιήσεις στην ένωση **GK181**, έδωσαν μία σειρά αναλόγων που συνοψίζονται στο **Σχήμα 58** που ακολουθεί. Αρχικά, έγινε αντικατάσταση του ναφθαλινικού δακτυλίου με τον *p*-μεθοξυ-φαινολικό δακτύλιο και έπειτα, διερευνήθηκε ο ρόλος διαφόρων ετεροατόμων στον ετεροκυκλικό δακτύλιο.



Σχήμα 58 : Αναστολείς της παραγωγής PGE₂ (αδημοσίευτα αποτελέσματα)

Σε συνέχεια των παραπάνω μελετών, σχεδιάζοντας ορισμένα ανάλογα της ένωσης **154 (GK181)**, σε κάποια από τα οποία είτε εισάγαμε ένα αιθερικό οξυγόνο στην ανθρακική αλυσίδα, είτε αντικαταστήσαμε το κετονικό καρβονύλιο με την ομάδα CHOH. Επιπλέον, αντικαταστήσαμε το βενζοθειαζόλιο με άλλους ετεροκυκλικούς δακτυλίους, ενώ θελήσαμε να εξετάσουμε και τι αποτελέσματα θα επιφέρει αυτούσια η μείωση του μήκους της ανθρακικής αλυσίδας κατά ένα ανθρακοάτομο και σε συνδυασμό με την αντικατάσταση του ναφθαλινίου από διφαινύλιο. Αντικατάσταση του καρβονυλίου με ένα υδροξύλιο πραγματοποιήσαμε και στην περίπτωση του **GK299 (156)**, ενώ για την αναστολή της παραγωγής της PGE₂ μελετήθηκαν επιπλέον, το αιθερικό ανάλογο του **GK355 (157)**, η ένωση **128** και το θειοαιθερικό παράγωγο του **155**, ένωση **136**, οι αντίστροφες αναλύσεις σύνθεσης και οι συνθετικές πορείες των οποίων περιγράφηκαν ενδελεχώς στο προηγούμενο κεφάλαιο.

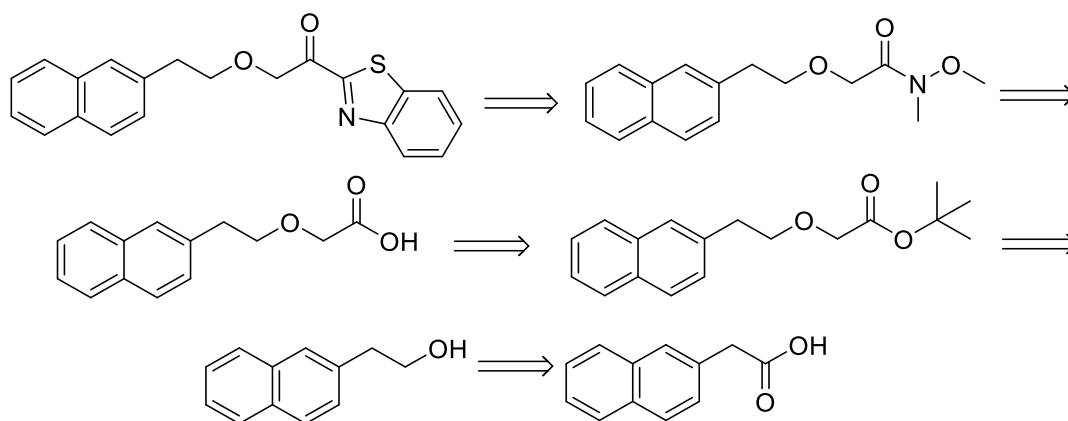


Σχήμα 59 : α-Κετο-βενζοθειαζολικά ανάλογα που σχεδιάστηκαν για την παρούσα μελέτη

6.2 Σύνθεση α-κετο-βενζοθειαζολικών ενώσεων και αναλόγων

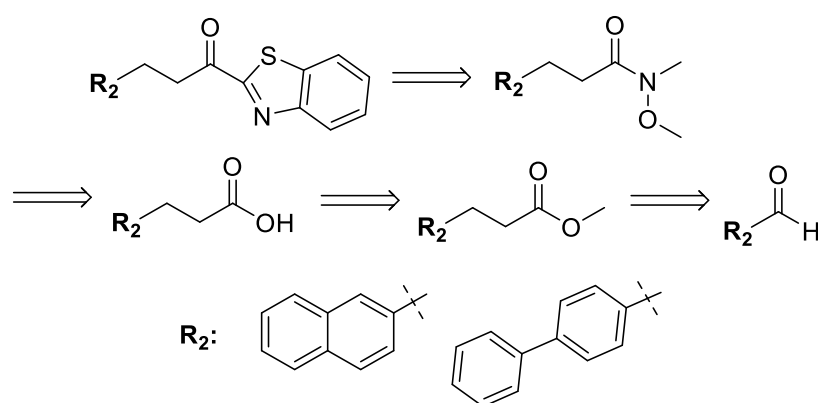
6.2.1 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης

Όπως φαίνεται και στο **Σχήμα 60**, η σύνθεση του επιθυμητού αιθερικού α-κετο-βενζοθειαζολικού παραγώγου θα μπορούσε να επιτευχθεί μέσω του πρόδρομου αμιδίου Weinreb, το οποίο θα μπορούσε να προέλθει από το αντίστοιχο αιθερικό οξύ που με τη σειρά του θα μπορούσε να παραληφθεί από τον αιθερικό εστέρα. Το επιθυμητό αιθερικό αυτό παράγωγο θα μπορούσε να προκύψει από την κατάλληλη αλκοόλη που μπορεί να παραληφθεί από το αντίστοιχο οξύ.



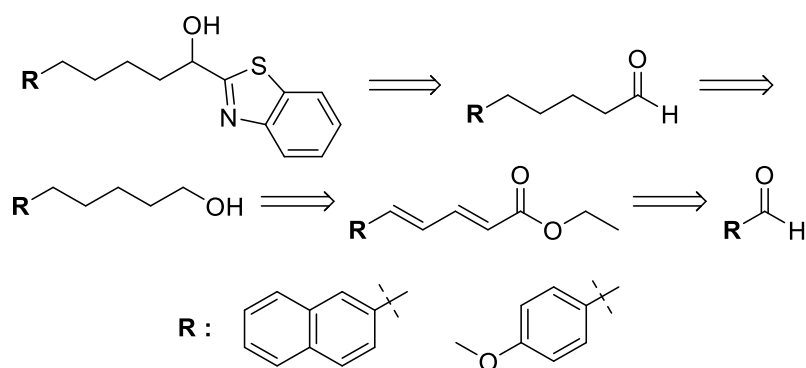
Σχήμα 60 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης αιθερικού βενζοθειαζολικού παραγώγου

Παρόμοια λογική ακολουθήθηκε και στο σχεδιασμό της σύνθεσης των υπόλοιπων α-κετοθειαζολικών ενώσεων (**Σχήμα 61**), τα οποία μπορούν να παρασκευαστούν από τα αντίστοιχα αμιδία Weinreb, που προκύπτουν από τα, προερχόμενα από τους κατάλληλους εστέρες, καρβοξυλικά οξέα. Οι εστέρες μπορούν να συντεθούν από αρχικές αλκοόλες ή αλδεΐδες.



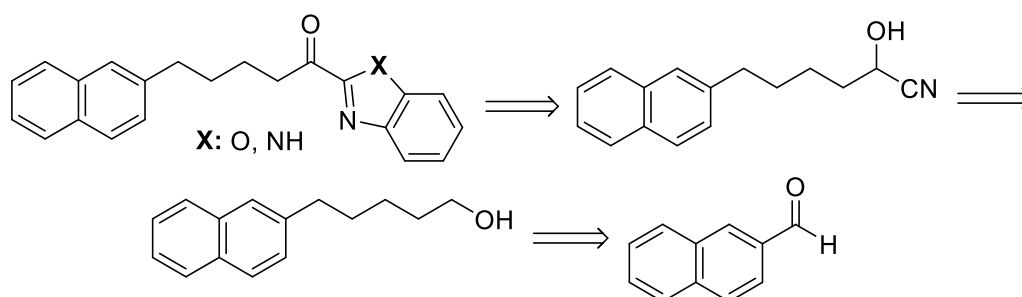
Σχήμα 61 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης α-κετο βενζοθειαζολικών ενώσεων

Για τη σύνθεση των α-υδροξυ-βενζοθειαζολικών παραγώγων θα μπορούσαμε να ξεκινήσουμε από την κατάλληλη αλδεΐδη και διαμέσου του εστέρα να παραλάβουμε την κατάλληλη αλκοόλη η οποία θα μπορούσε δώσει την ενδιάμεση αλδεΐδη ώστε να προκύψει το επιθυμητό προϊόν (**Σχήμα 62**).



Σχήμα 62 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεση α-υδροξυ βενζοθειαζολικών παραγώγων

Τέλος, τα α-κετο-βενζοξαζολικά και α-κετο-βενζιμιδαζολικά παράγωγα μπορούν να συντεθούν από τις αντίστοιχες κυανυδρίνες. Τα υδροξυ-νιτρίλια με τη σειρά τους μπορούν να προέλθουν από τις κατάλληλες αλδεύδες, διαμέσου των αντίστοιχων αλκοολών, όπως φαίνεται στο **Σχήμα 63**.

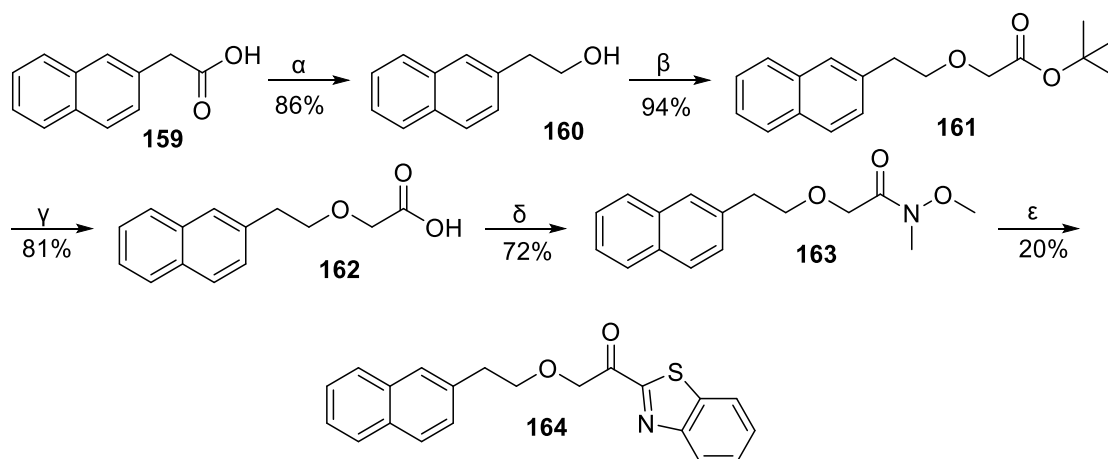


Σχήμα 63 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης βενζοξαζολικού και βενζιμιδαζολικού αναλόγου

6.2.2 Σύνθεση α-κετο-βενζοθειαζολικών παραγώγων

6.2.2.1 Σύνθεση αιθερικού α-κετο-βενζοθειαζολικού αναλόγου του GK181

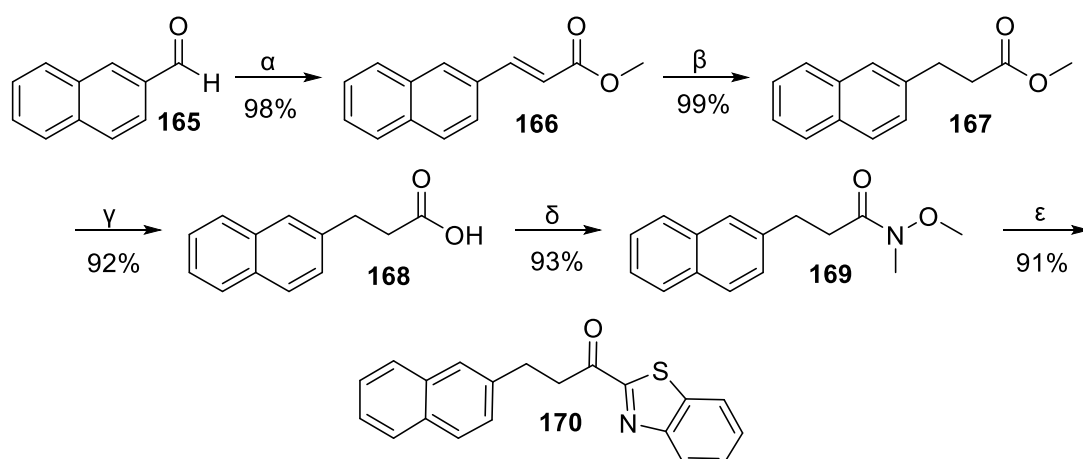
Όπως απεικονίζεται στο **Σχήμα 64**, η σύνθεση του αναλόγου του GK181 στο οποίο το μήκος της ανθρακικής αλυσίδας είναι μειωμένο κατά ένα ανθρακοάτομο ξεκίνησε από το εμπορικά διαθέσιμο 2-ναφθαλινυλ-οξικό οξύ (**159**) που ανήχθη προς την αλκοόλη **160**. Αιθεροποίηση της τελευταίας με τον *tert*-βουτυλεστέρα του βρωμο-οξικού οξέος έδωσε τον αιθερικό εστέρα **161**, αποπροστασία του οποίου οδήγησε στο επιθυμητό οξύ **162**. Σύζευξη του **162** με την N,O-διμεθυλο-υδροχλωρική υδροξυλαμίνη έδωσε το Weinreb αμίδιο **163**, η προσβολή του οποίου από τον πυρηνόφιλο άνθρακα του οργανολιθιακού άλατος του βενζοθειαζολίου παρείχε το τελικό προϊόν **164**.



Σχήμα 64 : α) LiAlH_4 , ξηρό THF, β) $\text{BrCH}_2\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$, Bu_4NHSO_4 , 50% NaOH, τολουόλιο, γ) 50% TFA, ξηρό DCM, δ) WSCI, DMAP, HCl HN(OMe)Me, ξηρό DCM, ε) βενζοθειαζόλιο, BuLi, άνυδρο Et_2O , -78°C

6.2.2.2 Σύνθεση α-κετο-βενζοθειαζολικού αναλόγου του GK181

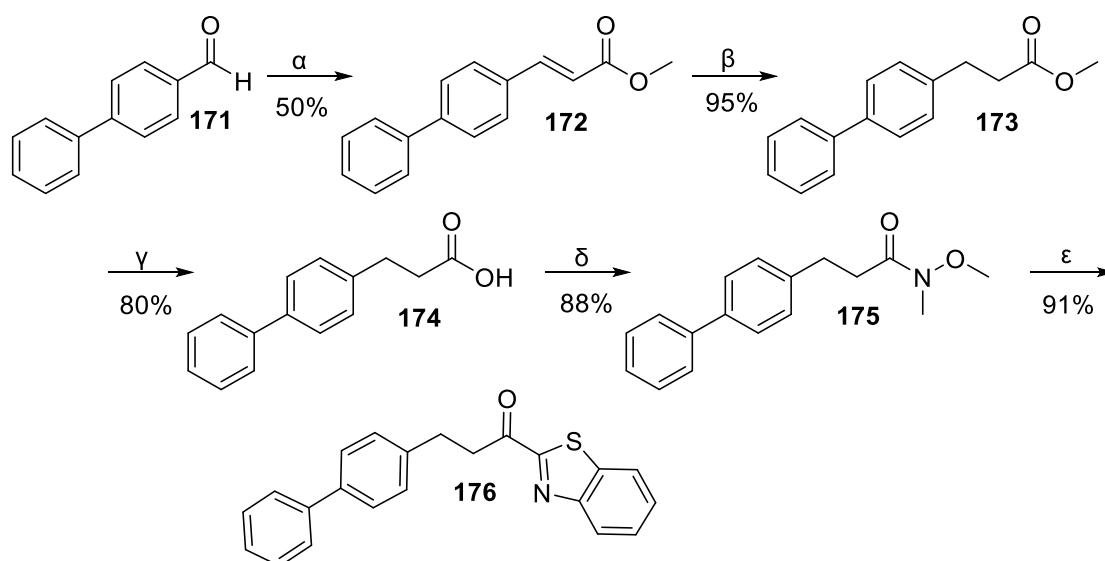
Με παρόμοια λογική, για τη σύνθεση του μικρότερης ανθρακικής αλυσίδας αναλόγου του **GK181**, ξεκινήσαμε από την εμπορικά διαθέσιμη 2-ναφθαλδεΐδη **165**, η οποία έπειτα από αντίδραση Wittig με το κατάλληλο σταθεροποιημένο υλίδιο φωσφόρου, έδωσε τον ακόρεστο μεθυλεστέρα **166**, υδρογόνωση του οποίου οδήγησε στο κορεσμένο παράγωγο **167**. Με σαπωνοποίηση παρελήφθη το οξύ **168**, που απαιτούνταν για τη σύνθεση του Weinreb αμιδίου **169**, ώστε τελικά, με προσθήκη του λιθιωμένου βενζοθειαζολίου, να παρασκευαστεί απευθείας το επιθυμητό προϊόν **170** (Σχήμα 65).



Σχήμα 65 : α) $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCOOCH}_3$, ξηρό THF, β) H_2 , 10% Pd/C EtOH, γ) 2N NaOH, 1,4-διοξάνιο, δ) WSCI, DMAP, HCl HN(OMe)Me, ξηρό CH_2Cl_2 , ε) βενζοθειαζόλιο, BuLi/ξηρό Et_2O , -78°C .

6.2.2.3 Σύνθεση α-κετο-βενζοθειαζολικού παραγώγου που περιέχει τη διφαινυλομάδα

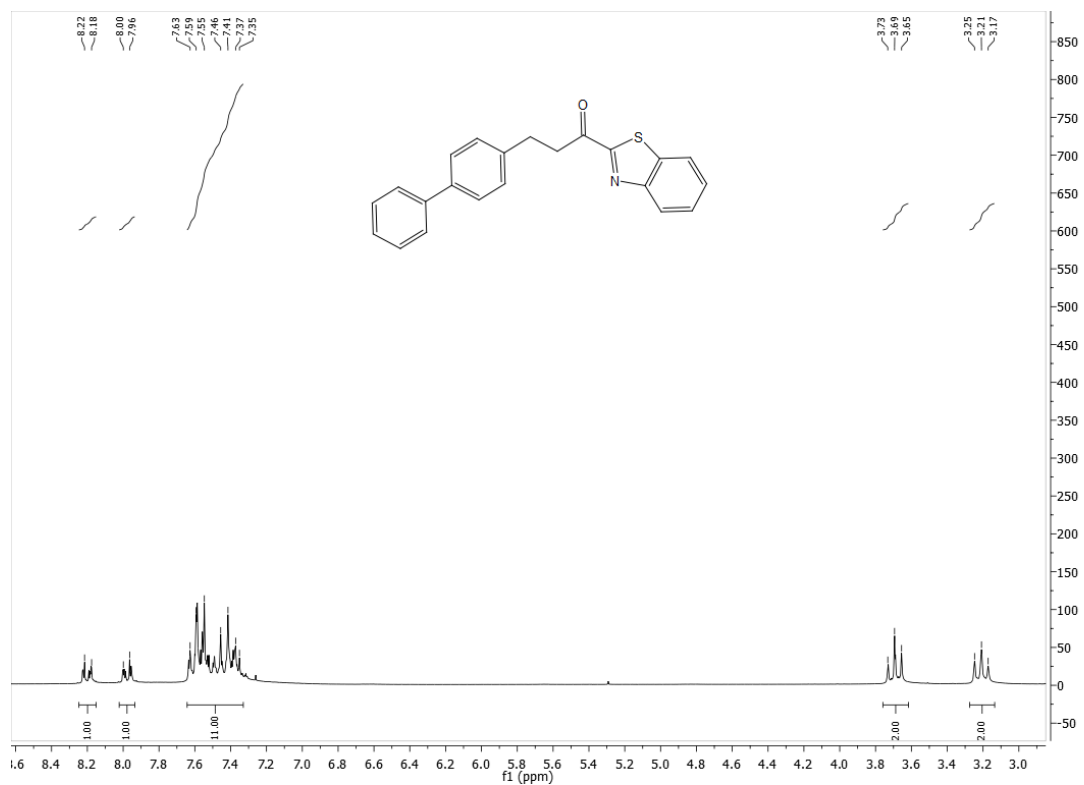
Η ίδια ακριβώς συνθετική πορεία, με εκείνη που περιγράφηκε για την ένωση **170**, εφαρμόστηκε και για τη σύνθεση της ένωσης **176**, ξεκινώντας όμως αυτή τη φορά από την διφαινυλο-4-καρβοξυ-αλδεΐδη **171** (Σχήμα 66). Με υδρογόνωση του ακόρεστου παραγώγου **172**, και αλκαλική υδρόλυση του εστέρα **173**, παρασκευάστηκε το καρβοξυλικό οξύ **174**. Σύζευξη με την N,O-διμεθυλο-υδροχλωρική υδροξυλαμίνη, προς το αμίδιο **175**, ακολουθούμενη από οργανολιθιακή αντίδραση έδωσε το τελικό προϊόν **176**.



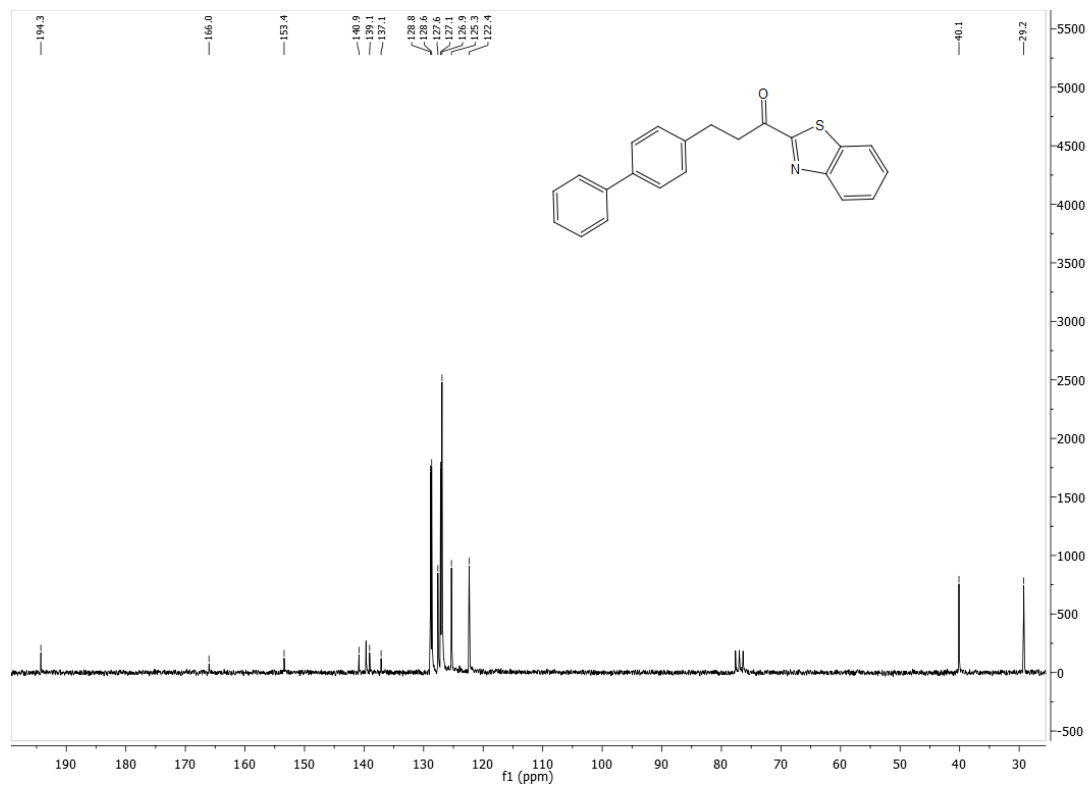
Σχήμα 66 : α) $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCOOCH}_3$, ξηρό THF, β) H_2 , 10% Pd/C EtOH, γ) 2N NaOH, 1,4-διοξάνιο, δ) WSCI, DMAP, HCl HN(OMe)Me, ξηρό CH_2Cl_2 , ε) βενζοθειαζόλιο, BuLi/ξηρό Et_2O , -78°C .

Στην Εικόνα 13, απεικονίζεται το φάσμα ^1H NMR της ένωσης **176**, όπου παρατηρούμε στην περιοχή από 8.22 έως 7.35 ppm τον συντονισμό των αρωματικών πρωτονίων της ένωσης, ενώ οι δύο τριπλές κορυφές στα 3.69 και στα 3.21 ppm αντιστοιχούν στα πρωτόνια των μεθυλενίων που βρίσκονται δίπλα στον αρωματικό δακτύλιο και δίπλα στο καρβονύλιο αντίστοιχα.

Στην Εικόνα 14, όπου παρατίθεται το φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης **176**, παρατηρούμε την κορυφή στα 194.3 ppm που αντιστοιχεί στο καρβονύλιο της ένωσης, ενώ στην περιοχή 166.0 έως τα 122.4 ppm συντονίζονται οι αρωματικοί άνθρακες της ένωσης. Οι κορυφές στα 40.1 ppm και στα 29.2 ppm αντιστοιχούν στους άνθρακες των μεθυλενίων που βρίσκονται δίπλα στον αρωματικό δακτύλιο και το καρβονύλιο.



Εικόνα 13 : Φάσμα ¹H NMR της ένωσης 176 σε CDCl₃, στα 200 MHz

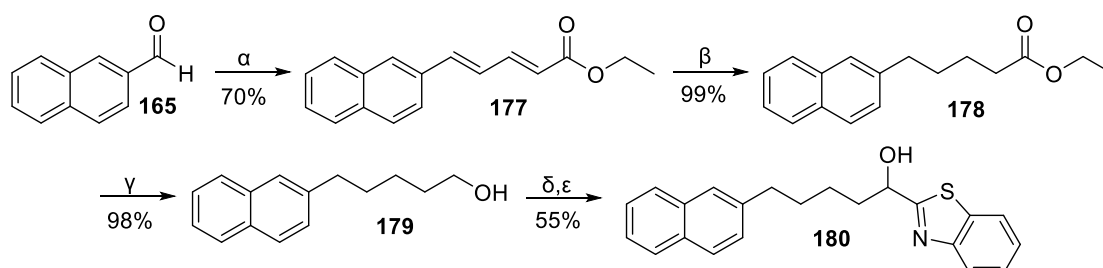


Εικόνα 14 : Φάσμα ¹³C NMR της ένωσης 176 σε CDCl₃, στα 50 MHz

6.2.3 Σύνθεση α-υδροξυ-βενζοθειαζολικών παραγώγων

6.2.3.1 Σύνθεση α-υδροξυ-βενζοθειαζολικού αναλόγου του GK181

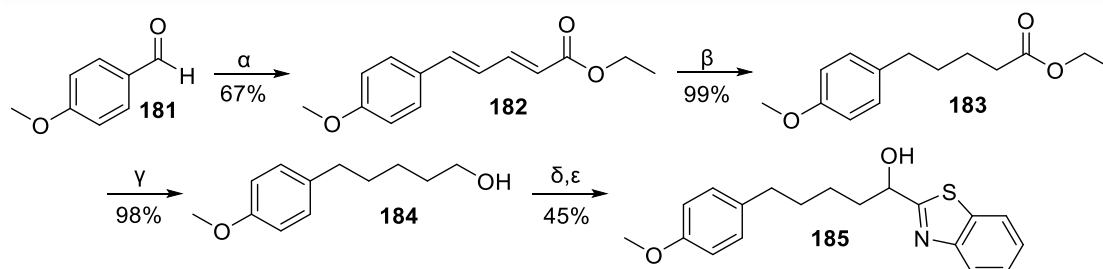
Για τη σύνθεση του α-υδροξυ-βενζοθειαζολικού παραγώγου του αναστολέα **GK181**, ξεκινήσαμε με μία αντίδραση Horner–Wadsworth–Emmons από την εμπορικά διαθέσιμη 2-ναφθαλδεΐδη **165**, απ' όπου και παραλάβαμε τον επιμηκυμένο κατά τέσσερα ανθρακοάτομα ακόρεστο εστέρα **177**. Υδρογόνωση προς το κορεσμένο παράγωγο **178** και αναγωγή του τελευταίου, οδήγησε στην αλκοόλη **179**. Αντίδραση οξείδωσης, προς την ενδιάμεση αλδεΐδη, και επακόλουθη οργανολιθιακή αντίδραση, παρείχε το τελικό προϊόν **180** (Σχήμα 67).



Σχήμα 67 : α) $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCO}_2\text{C}_2\text{H}_5$, $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$, THF, β) H_2 , 10% Pd/C EtOH, γ) LiAlH_4 , ξηρό THF, δ) $\text{C}_6\text{H}_5\text{I}(\text{O}_2\text{CCH}_3)_2$, ξηρό CH_2Cl_2 , ε) βενζοθειαζόλιο, BuLi, άνυδρο Et_2O , $-78\text{ }^\circ\text{C}$.

6.2.3.2 Σύνθεση α-υδροξυ-βενζοθειαζολικού αναλόγου του GK299

Ομοίως, όπως περιγράφεται στο Σχήμα 68, η p-ανισαλδεΐδη **181**, έπειτα από ολεφίνοποίηση Horner–Wadsworth–Emmons προς την ένωση **182**, υδρογόνωση της οποίας κατέληξε στον εστέρα **183**. Αναγωγή του εστέρα **183** έδωσε την αλκοόλη **184**, οξείδωση της οποίας και επακόλουθη προσθήκη του λιθωμένου βενζοθειαζολίου έδωσε τελικά το παράγωγο **185**.



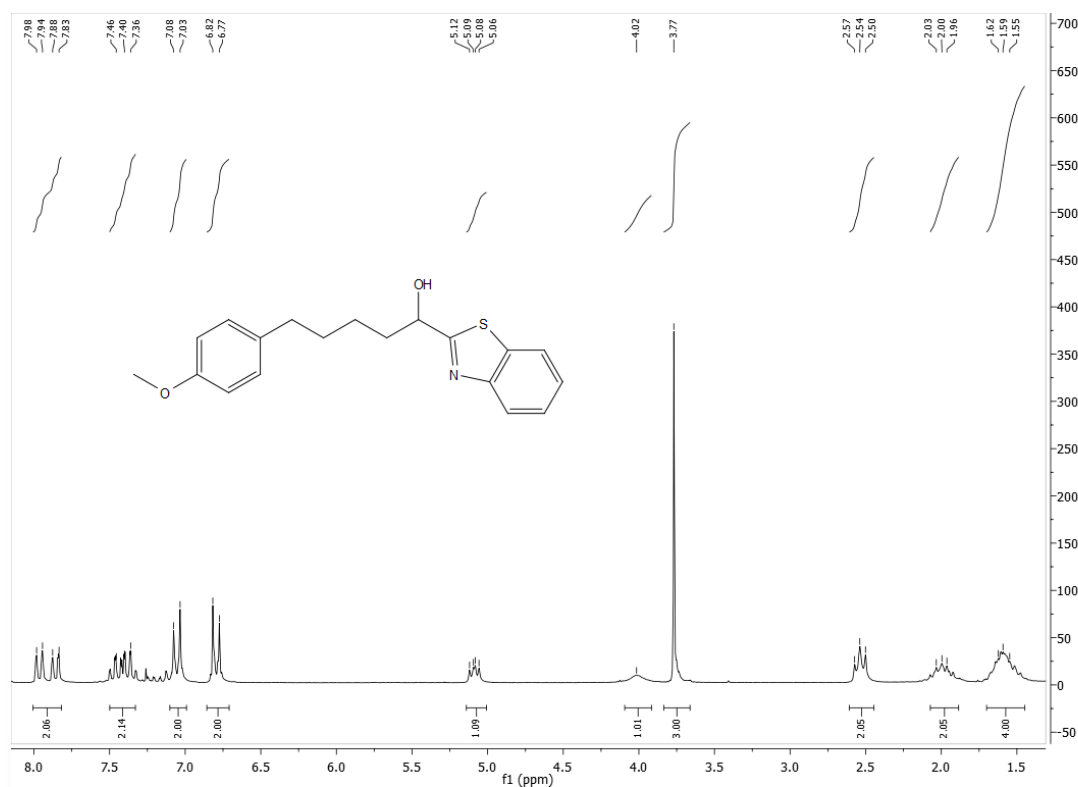
Σχήμα 68 : α) $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCO}_2\text{C}_2\text{H}_5$, $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$, ξηρό THF, β) H_2 , 10% Pd/C EtOH, γ) LiAlH_4 , ξηρό THF, δ) $\text{C}_6\text{H}_5\text{I}(\text{O}_2\text{CCH}_3)_2$, ξηρό CH_2Cl_2 , ε) βενζοθειαζόλιο, BuLi, άνυδρο Et_2O , $-78\text{ }^\circ\text{C}$.

Στις εικόνες που ακολουθούν, παρατίθενται ενδεικτικά τα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR της ένωσης **185**. Στο φάσμα ^1H NMR (Εικόνα 15) παρατηρούμε τον συντονισμό των αρωματικών πρωτονίων στην περιοχή 7.98 – 6.77 ppm, το πρωτόνιο

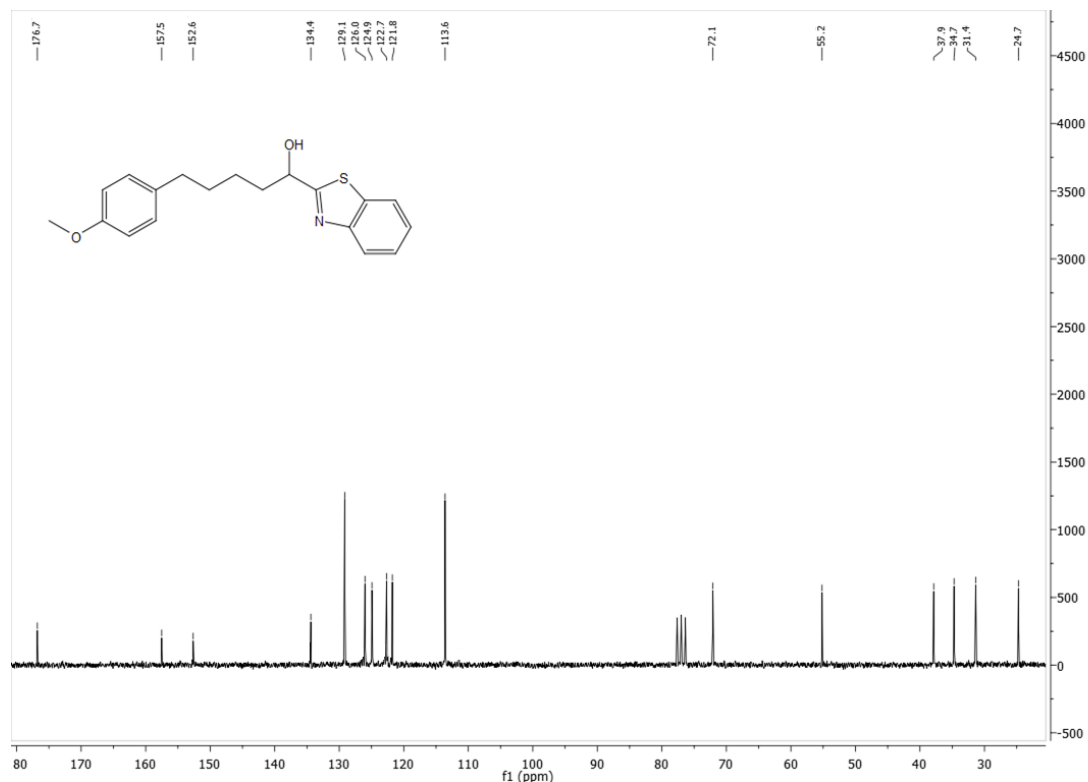
του ενεργού κέντρου εμφανίζεται ως μία τετραπλή κορυφή στα 5.9 ppm, ενώ το πρωτόνιο του υδροξυλίου, λίγο χαμηλότερα ως μία ευρεία απλή κρυφή στα 4.02 ppm.

Ακολουθούν, η απλή κορυφή στα 3.77 ppm που αντιστοιχεί στα πρωτόνια της μεθόξυ ομάδας, τα πρωτόνια του μεθυλενίου δίπλα στον αρωματικό δακτύλιο, που συντονίζονται στα 2.54 ppm, καθώς και δύο πολλαπλές κορυφές, στις περιοχές 2.03 – 1.96 και 1.62 – 1.55 που οφείλονται στα υπόλοιπα αλειφατικά πρωτόνια.

Στο φάσμα ^{13}C NMR (Εικόνα 16) μπορούμε να διακρίνουμε τις κορυφές που αντιστοιχούν στους τεταρτοταγείς άνθρακες της ένωσης στα 176.8, 157.5 και 152.6 ppm, ενώ στην περιοχή 134.4 – 113.6 ppm συντονίζονται οι υπόλοιποι αρωματικοί άνθρακες. Στα 72.1 ppm συντονίζεται ο άνθρακα του ασύμμετρου κέντρου, στα 55.2 ο άνθρακας του μεθυλίου της μεθόξυ ομάδας ενώ οι κορυφές που εμφανίζονται σε χαμηλότερα ppm αντιστοιχούν στους υπόλοιπους αλειφατικούς άνθρακες.



Εικόνα 15: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 185 σε CDCl_3 , στα 200 MHz

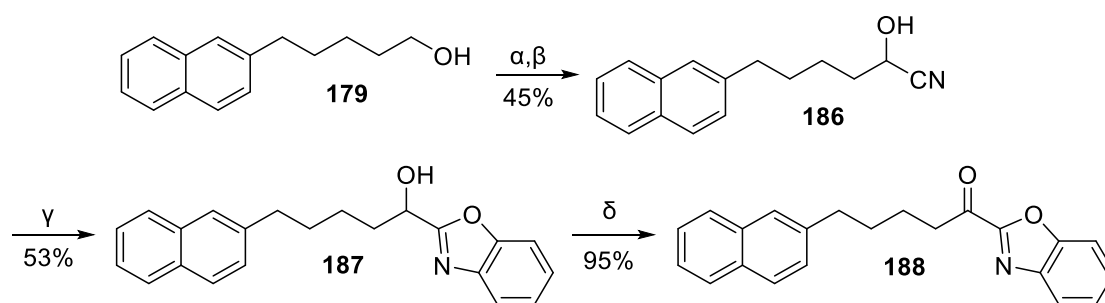


Εικόνα 16 : Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 185 σε CDCl_3 , στα 50 MHz

6.2.4 Σύνθεση α -κετο-βενζο-ετεροκυκλικών αναλόγων του GK181.

6.2.4.1 Σύνθεση α -κετο-βενζοξαζολικού αναλόγου του GK181

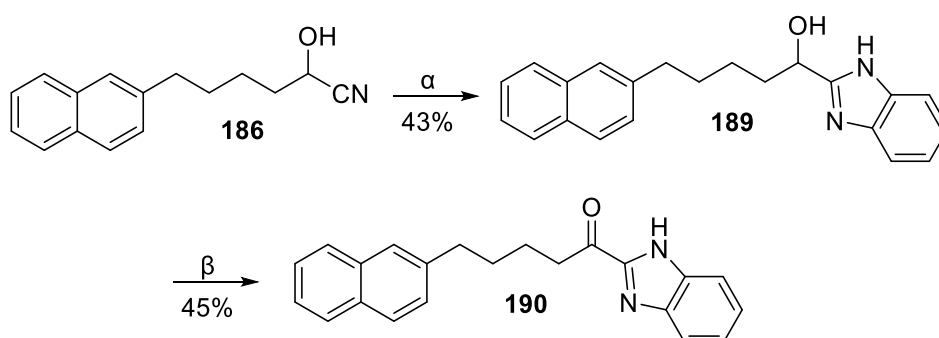
Για τη σύνθεση του α -κετο-βενζοξαζολικού αναλόγου του αναστολέα **GK181**, από την αλκοόλη **179**, η σύνθεση της οποίας περιγράφεται στο **Σχήμα 67**, μέσω οξείδωσης με διακετοξυ-βενζόλιο και κυανυδρινική σύνθεση, προέκυψε το υδροξυ-νιτρίλιο **186**. Κατεργασία της κυανυδρίνης **186** με ακετυλο-χλωρίδιο και ο-αμινοφαινόλη παρείχε το α -υδροξυ-βενζοξαζολικό παράγωγο **187**, η οξείδωση Dess-Martin του οποίου παρείχε την επιθυμητή α -κετο-βενζοξαζολική ένωση **188** (**Σχήμα 69**).



Σχήμα 69 : α) $C_6H_5I(O_2CCH_3)_2$, κατ. TEMPO, ξηρό CH_2Cl_2 , β) i) $NaHSO_3$, CH_2Cl_2 , ii) KCN , H_2O , γ) i) CH_3COCl , $CHCl_3$, απόλυτη $EtOH$, ii) $H_2NC_6H_4OH$, απόλυτη $EtOH$, δ) αντιδραστήριο Dess-Martin, ξηρό CH_2Cl_2 .

6.2.4.2 Σύνθεση α-κετο-βενζιμιδαζολικού αναλόγου του αναστολέα GK181

Όπως και προηγουμένως, έτσι και για τη σύνθεση του α-κετο-βενζιμιδαζολικού αναλόγου του αναστολέα **GK181**, χρησιμοποιήθηκε το υδροξυ-νιτρίλιο **186**, το οποίο, έπειτα από κατεργασία με ακετυλο-χλωρίδιο και ο-φαινυλενοδιαμίνη έδωσε το α-υδρόξυ-βενζιμιδαζολικό παράγωγο **189**, η οξείδωση του οποίου οδήγησε στο επιθυμητό ανάλογο **190**.



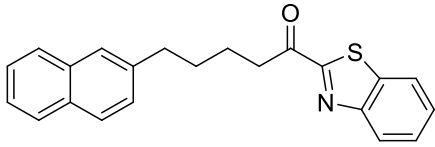
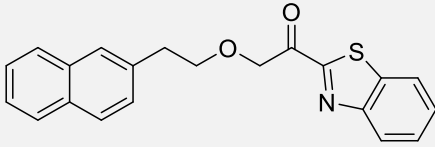
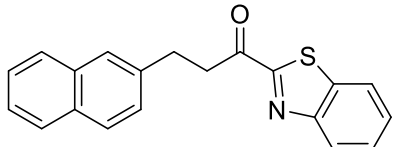
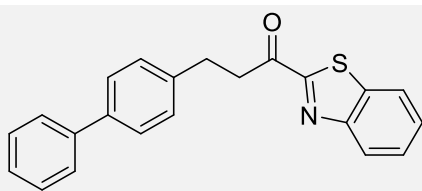
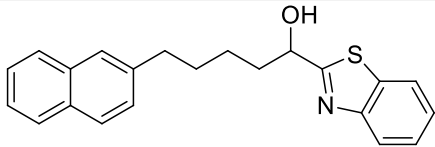
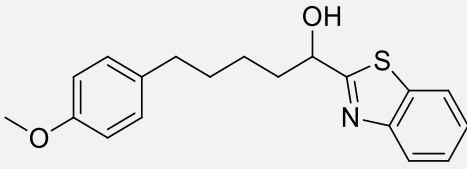
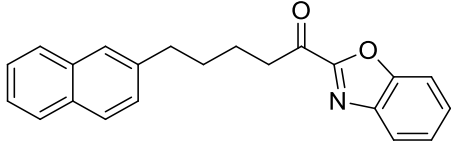
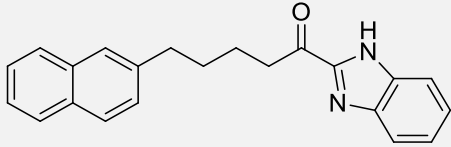
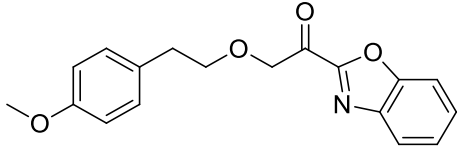
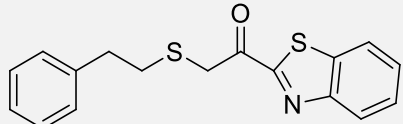
Σχήμα 70 : α) i) CH_3COCl , $CHCl_3$, απόλυτη $EtOH$, ii) $H_2NC_6H_4NH_2$, απόλυτη $EtOH$, β) αντιδραστήριο Dess-Martin, ξηρό CH_2Cl_2 .

6.3 Μελέτη ex vivo της αναστολής παραγωγής PGE_2 από α-κετο-βενζοθειαζολικές ενώσεις και ανάλογα τους

Η μελέτη της ανασταλτικής δράσης των α-κετοβενζοθειαζολικών ενώσεων πραγματοποιήθηκε στο Ινστιτούτο Φαρμακολογίας του Πανεπιστημίου της Βέρνης και την ερευνητική ομάδα της Prof. Andrea Huwiler.

Καλλιέργειες νεφρικών μεσεγγυματικών κυττάρων αρουραίων (rat renal mesangial cells) κατεργάστηκαν με ιντερλευκίνη-1 και φορσκολίνη προκειμένου να προκληθεί σημαντική παραγωγή της PGE_2 . Στη συνέχεια τα κύτταρα κατεργάστηκαν με τους συνθετικούς αναστολείς σε συγκέντρωση 3 μM . Το υπερκείμενο χρησιμοποιήθηκε για την ποσοτικοποίηση της PGE_2 με το κατάλληλο kit ELISA. Τα αποτελέσματα παρατίθενται στον **Πίνακα 5** που ακολουθεί.

Πίνακας 5: Αποτελέσματα *ex vivo* μελετών των βενζοθειαζολικών ενώσεων για την αναστολή παραγωγής PGE₂ σε συγκέντρωση 3 μΜ

Κωδικός	Δομή	% Αναστολή (3 μΜ)
GK181		85%
164 (GK489)		0%
170 (GK486)		0%
176 (GK485)		66%
180 (GK490)		0%
185 (GK507)		78%
188 (GK491)		50%
190 (GK492)		30%
128 (GK453)		0%
136 (GK455)		0%

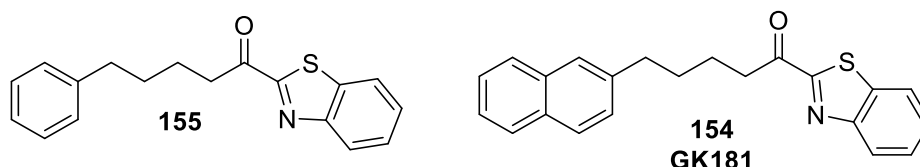
Παρατηρούμε πως η ένωση **GK181**, στην οποία βασίστηκε η σύνθεση των ενώσεων που συντέθηκαν, παρέμεινε η πιο αποτελεσματική ως προς την μείωση της παραγωγής της PGE₂. Η αντικατάσταση του βενζοθειαζολικού δακτυλίου από βενζοξαζόλιο (**188**) ή βενζιμιδαζόλιο (**190**) είχε ως αποτέλεσμα την μείωση της δράσης της ένωσης στο 50% και 30%, αντίστοιχα. Τόσο η προσθήκη του αιθερικού οξυγόνου (**164**), όσο και η αντικατάσταση του καρβονιλίου από υδροξύλιο (**180**) εξάλειψε την δράση της ένωσης. Ωστόσο, η αντικατάσταση της ναφθαλινομάδας από την p-μεθόξυ ομάδα άλλαξε άρδην τα αποτελέσματα της ένωσης **185** η οποία μείωσε την παραγωγή της PGE₂ σε νεφρικά μεσεγχυματικά κύτταρα κατά 78%,. Η ένωση **170**, στην οποία η απόσταση μεταξύ του ναφθαλινικού δακτυλίου και του ενεργοποιημένου καρβονιλίου μειώθηκε κατά δύο ανθρακόατομα σε σχέση με την ένωση **GK181**, όπως και οι ενώσεις **128** και **136** που δεν παρουσιάζουν καμία δράση. Όταν όμως το ναφθαλίνιο της ένωσης **170** αντικαταστάθηκε από την διφαινυλομάδα στην ένωση **176** παρατηρήθηκε μείωση της παραγωγής PGE₂ κατά 66%.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

ΣΥΝΘΕΣΗ ΑΜΙΝΟΒΕΝΖΟΘΕΙΑΖΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΠΟΥ ΑΝΑΣΤΕΛΛΟΥΝ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ PGE₂ EX VIVO

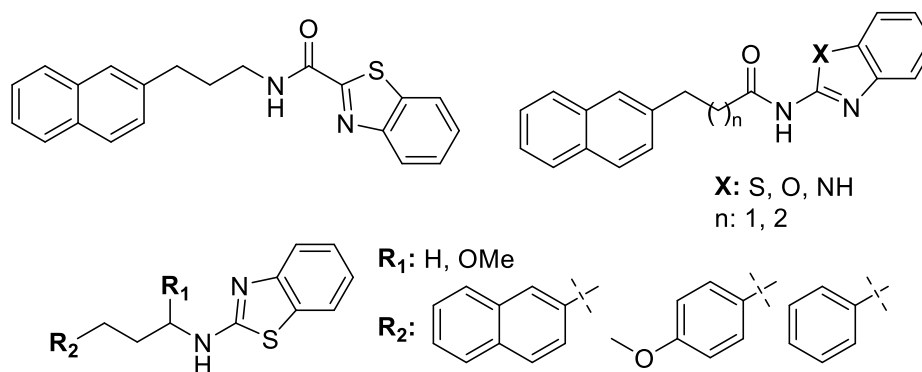
7.1 Σχεδιασμός αμινο-βενζοθειαζολικών παραγώγων

Συνεχίζοντας τη μελέτη σχέσης δομής-δραστικότητας των ενώσεων που αναστέλλουν την παραγωγή PGE₂, βασιζόμενοι στη δράση της ένωσης **GK181** και στα δομικά χαρακτηριστικά της, όπως οι ογκώδεις ομάδες του ναφθαλινίου και του βενζοθειαζολίου, η απόσταση μεταξύ των δύο αυτών αρωματικών συστημάτων, όπως και η καρβονυλομάδα, θελήσαμε να πραγματοποιήσουμε διάφορες δομικές αλλαγές, συνθέτοντας μία νέα σειρά ενώσεων-πιθανών αναστολέων παραγωγής PGE₂.



Σχήμα 71 : Αναστολείς παραγωγής PGE₂ *ex vivo*

Αρχικά θελήσαμε να παραλλάξουμε την α-κετο-ομάδα προσθέτοντας μία αμίνη, μετατρέποντας ουσιαστικά το κετονικό καρβονύλιο σε αμιδικό. Παράλληλα θελήσαμε να εξετάσουμε τι αλλαγές μπορεί να επιφέρει στην ένωση η αλλαγή θέσης του καρβονυλίου και της αμίνης, ενώ συνθέσαμε επίσης και μία σειρά αναλόγων με διαφορετικό ετεροκυκλικό δακτύλιο. Εν συνεχεία, μειώσαμε την απόσταση μεταξύ των δύο αρωματικών συστημάτων, διερευνώντας παράλληλα και τη φύση του ετεροκυκλικού δακτυλίου. Τέλος, θελήσαμε να εξετάσουμε τον ρόλο του καρβονυλίου, είτε απομακρύνοντας το εντελώς, σε μία σειρά αμινών είτε αντικαθιστώντας το με μία μεθόξυ ομάδα, στις αντίστοιχες ημιαμινάλες.

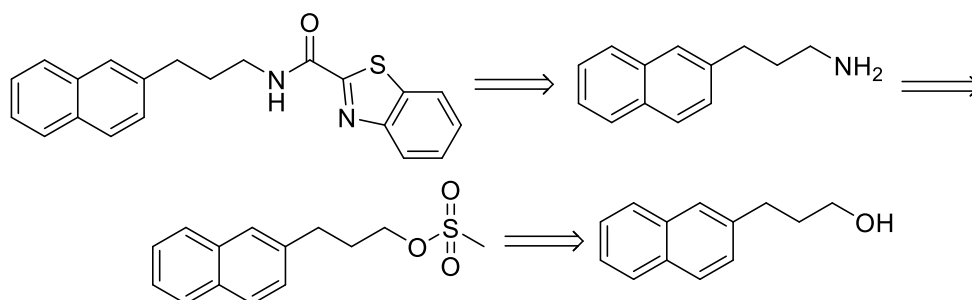


Σχήμα 72 : Αμινοβενζοθειαζολικά παράγωγα που σχεδιάστηκαν στην παρούσα διατριβή

7.2 Σύνθεση αμινο-βενζοθειαζολικών παραγώγων

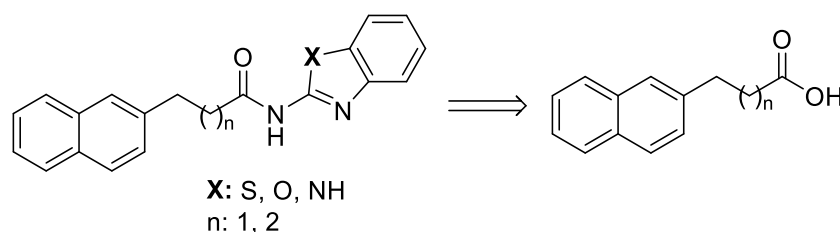
7.2.1 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης

Η ρετροσυνθετική πορεία για βενζοθειαζολυλο-καρβοξαμίδιο παράγωγο (το αμιδικό παράγωγο στο οποίο το καρβονύλιο συνδέεται απευθείας με τον ετεροκυκλικό δακτύλιο), φαίνεται στο **Σχήμα 73**. Το επιθυμητό προϊόν θα μπορούσε να προέλθει από τη σύζευξη της αμίνης με το κατάλληλο καρβοξυλικό οξύ. Η αμίνη μπορεί να παρασκευαστεί δια μέσου του μεθανοσουλφονικού εστέρα, που με τη σειρά του μπορεί να προκύψει από την αντίστοιχη αλκοόλη.



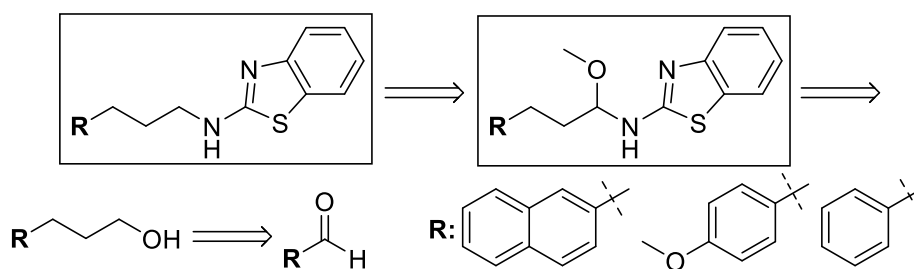
Σχήμα 73 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης αμιδικού παραγώγου

Η αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης των αμιδικών παραγώγων, στα οποία ο ετεροκυκλικός δακτύλιος συνδέεται απευθείας με το άζωτο του αμιδίου, απεικονίζεται στο **Σχήμα 74**. Το επιθυμητό αμίδιο μπορεί να προκύψει από τη σύζευξη του κατάλληλου οξέος με το εκάστοτε 2-αμινο-ετεροκυκλικό παράγωγο.



Σχήμα 74 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης αμιδικών παραγώγων

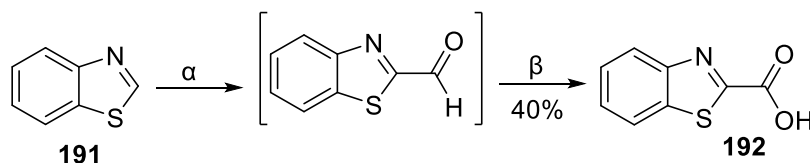
Στο **Σχήμα 75**, περιγράφεται η ρετροσυνθετική ανάλυση των αμινο-βενζοθειαζολικών παραγώγων, η οποία περιλαμβάνει και εκείνη των αντίστοιχων αμινο-ακεταλών. Οι επιθυμητές αμινο-βενζοθειαζολικές ενώσεις, μπορούν να προκύψουν από αναγωγή των πρόδρομων αμινο-ακεταλών, οι οποίες μπορούν να προκύψουν από την αναγωγική αμίνωση των κατάλληλων αλδευδών που μπορούν να προέλθουν από οξείδωση των αντίστοιχων αλκοολών, ενώ οι τελευταίες μπορούν να συντεθούν από τις αρχικές αλδεύδες.



Σχήμα 75 : Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης αμινο-βενζοθειαζολικών ενώσεων και ημισιμαναλών

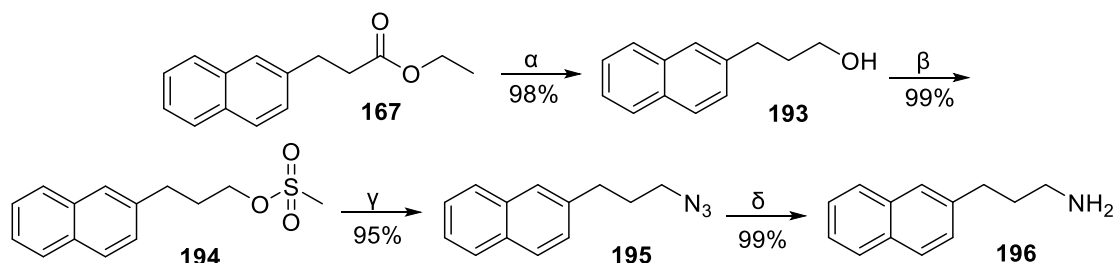
7.2.2 Σύνθεση του βενθοθειαζολυλο-καρβοξαμιδικού αναλόγου του αναστολέα GK181

Το πρώτο στάδιο για τη σύνθεση της επιθυμητής ένωσης ήταν η σύνθεση του 2-βενζοθειαζόλυλο καρβοξυλικού οξέος του, η οποία επετεύχθη με τον τρόπο που φαίνεται στο **Σχήμα 76**. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε κατεργασία του βενζοθειαζολίου (**191**) με βουτυλο-λίθιο, ώστε να σχηματιστεί το λιθιακό άλας του βενζοθειαζολίου και με χρήση διμεθυλοφορμαμίδιου, προέκυψε η ενδιάμεση αλδεΰδη, η οποία απ'ευθείας, μέσω οξειδωσης Pinnick μας έδωσε το καρβοξυλικό οξύ του βενζοθειαζολίου **192**²²⁴.



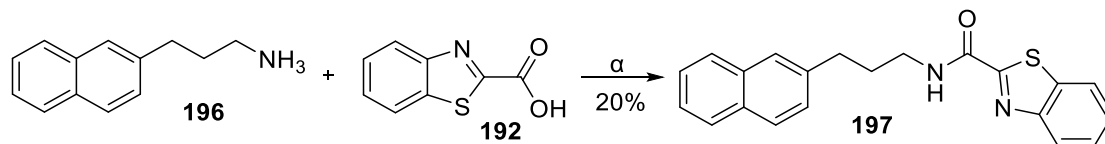
Σχήμα 76 : α) i) BuLi, άνυδρο Et₂O, ii) DMF, β) ^tBuOH, NaH₂PO₄, NaClO₂, Na₂SO₃, CH₃CN

Επόμενο στάδιο, ήταν η σύνθεση της κατάλληλης αμίνης (**Σχήμα 77**). Ξεκινώντας από τον εστέρα **167**, η σύνθεση του οποίου περιγράφεται στο **Σχήμα 65**, με αντίδραση αναγωγής, παραλάβαμε την αλκοόλη **193**. Από αυτή, με χρήση μεθανοσουλφονυλο-χλωριδίου σε βασικές συνθήκες προέκυψε ο μεθανοσουλφονικός εστέρας **194**, ο οποίος στη συνέχεια με NaN₃ παρείχε το αζίδιο **195**. Αντίδραση Staudinger με τριφαινυλο-φωσφίνη και υδατική κατεργασία έδωσε τελικά την αμίνη **196**.



Σχήμα 77 : α) LiAlH₄, ξηρό THF, β) CH₃SO₂Cl, DIPEA, ξηρό DCM, γ) NaN₃, DMF, δ) i) PPh₃, ξηρό THF, ii) H₂O

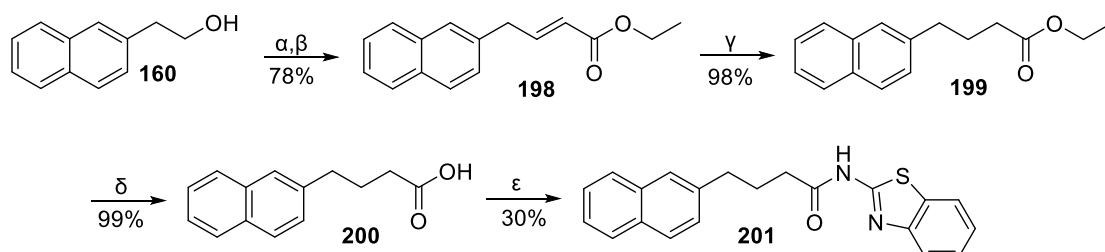
Τελευταίο στάδιο της συνθετικής αυτής πορείας ήταν η σύζευξη της αμίνης **196** με το καρβοξυλικό οξύ **192**, απ' όπου και παρελήφθη τελικά το επιθυμητό παράγωγο **197**.



Σχήμα 78 : α) WSCI, HOBT, ξηρό CH₂Cl₂

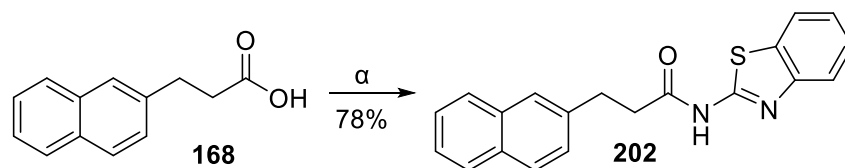
7.2.3 Σύνθεση αμιδο-βενζοθειαζολικών αναλόγων του αναστολέα GK181

Η συνθετική πορεία για την παραλαβή του αμιδο-βενζοθειαζολικού αναλόγου του αναστολέα **GK181**, απεικονίζεται στο Σχήμα 79. Η αλκοόλη **160**, του Σχήματος **64**, έπειτα από οξείδωση με διακετοξυ-ιωδο-βενζόλιο και χρήση του ριζικού αντιδραστήριου TEMPO ως καταλύτη, με επακόλουθη αντίδραση Wittig με το κατάλληλο σταθεροποιημένο υλίδιο φωσφόρου, έδωσε τον ακόρεστο εστέρα **198**. Υδρογόνωση προς το ακόρεστο παράγωγο **199** και σαπωνοποίηση, οδήγησε στη συνέχεια στο καρβοξυλικό οξύ **200**. Τέλος, σύζευξη του οξέος **200** με το εμπορικά διαθέσιμο 2-αμινοβενζοθειαζόλιο κατέληξε στο επιθυμητό παράγωγο **201**.



Σχήμα 79 : α) C₆H₅I(O₂CCH₃)₂, κατ. TEMPO, ξηρό CH₂Cl₂, β) Ph₃P=CHCOOCH₃, ξηρό THF, γ) H₂, 10% Pd/C, EtOH, δ) 2N NaOH, 1,4-διοξάνη, 3) 2-αμινοβενζοθειαζόλιο, WSCI, HOBT, ξηρό CH₂Cl₂

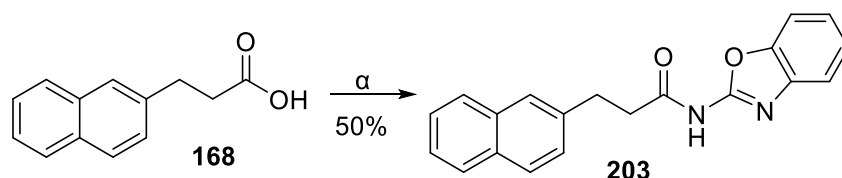
Με τον ίδιο τρόπο, όπως φαίνεται στο **Σχήμα 80**, από το καρβοξυλικό οξύ **168**, έπειτα από σύζευξη με το 2-αμινοβενζοθειαζόλιο, απομονώθηκε η ένωση **202**.



Σχήμα 80 : α) 2-αμινοβενζοθειαζόλιο, WSCI, HOBt, ξηρό CH₂Cl₂

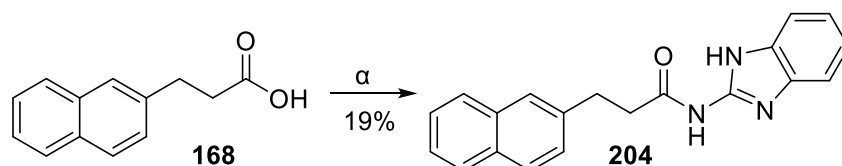
7.2.4 Σύνθεση των αμιδο-βενζοξαζολικών παραγώγων

Όπως και στην περίπτωση των αμιδο-βενζοθειαζολικών ενώσεων, έτσι και τα αμιδο-βενζοξαζολικά παράγωγα, καθώς και τα αμιδο-βενζιμιδαζολικά προέκυψαν από τη σύζευξη του κατάλληλου οξέος με το αντίστοιχο εμπορικά διαθέσιμο 2-άμινο ετεροκυκλικό παράγωγο.



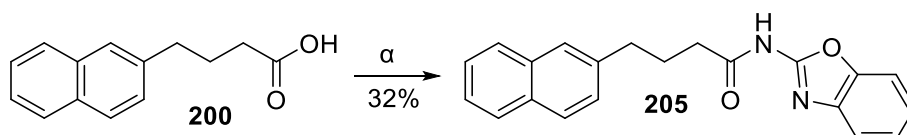
Σχήμα 81 : α) 2-αμινοβενζοξαζόλιο, WSCI, HOBt, ξηρό CH₂Cl₂

Έτσι, από το οξύ **168** και σύζευξη με το 2-αμινοβενζοξαζόλιο, προέκυψε η ένωση **203** (**Σχήμα 81**), ενώ με η ίδια αντίδραση με το 2-αμινοβενζιμιδαζόλιο, έδωσε το παράγωγο **204** (**Σχήμα 82**).



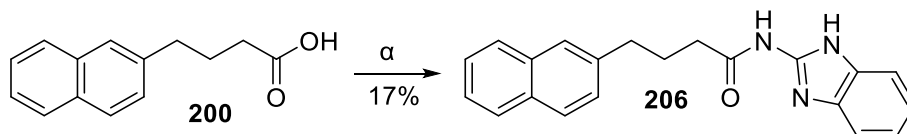
Σχήμα 82 : α) 2-αμινοβενζιμιδαζόλιο, WSCI, HOBt, ξηρό CH₂Cl₂

Ομοίως, σύζευξη του οξέος **200** με το 2-αμινοβενζοξαζόλιο, οδήγησε στην ένωση **205**, όπως φαίνεται στο **Σχήμα 83**.



Σχήμα 83 : α) 2-αμινοβενζοξαζόλιο, WSCI, HOBt, ξηρό CH₂Cl₂

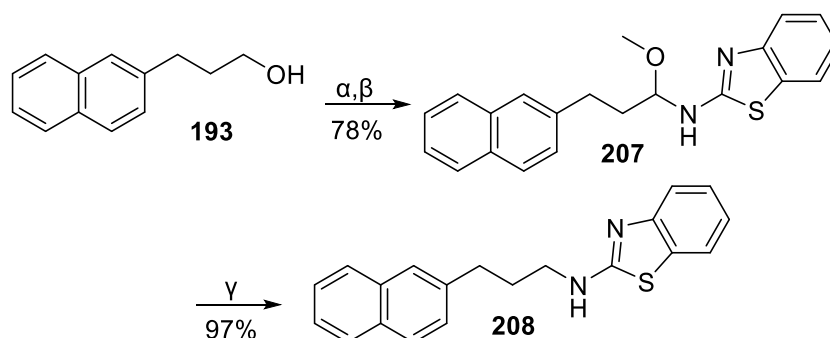
Τέλος, στο **Σχήμα 84**, βλέπουμε τη συνθετική πορεία του προϊόντος **206**, το οποίο προήλθε από τη σύζευξη του καρβοξυλικού οξέος **200** με το 2-αμινοβενζιμιδαζόλιο.



Σχήμα 84 : α) 2-αμινοβενζιμιδαζόλιο, WSCI, HOBt, ξηρό CH₂Cl₂.

7.2.5 Σύνθεση των 2-αμινο-βενζοθειαζολικών παραγώγων και των αντίστοιχων ημιαμιναλών

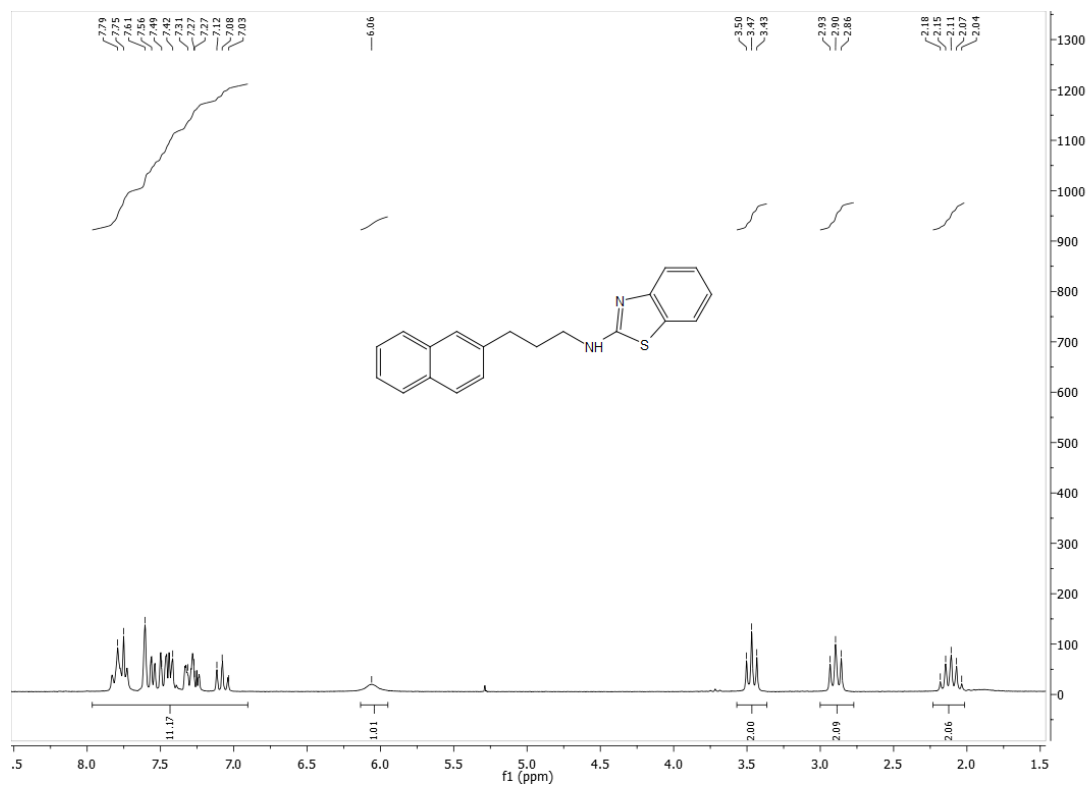
Για τη σύνθεση των 2-αμινο-βενζοθειαζολικών αναλόγων, ξεκινώντας από την αλκοόλη **193** έπειτα από αντίδραση οξείδωσης με χρήση διακετοξυ-ιωδοβενζολίου και ακόλουθη αναγωγική αμίνωση σε άνδρες συνθήκες και θερμοκρασία περιβάλλοντος, με χρήση NaBH₄, παρελήφθη η ημιαμιναλή **207**. Πιο δραστικές συνθήκες, με θέρμανση στους 80 °C σε αυτόκλειστο δοχείο, οδήγησαν στην αμίνη **208** (**Σχήμα 85**).



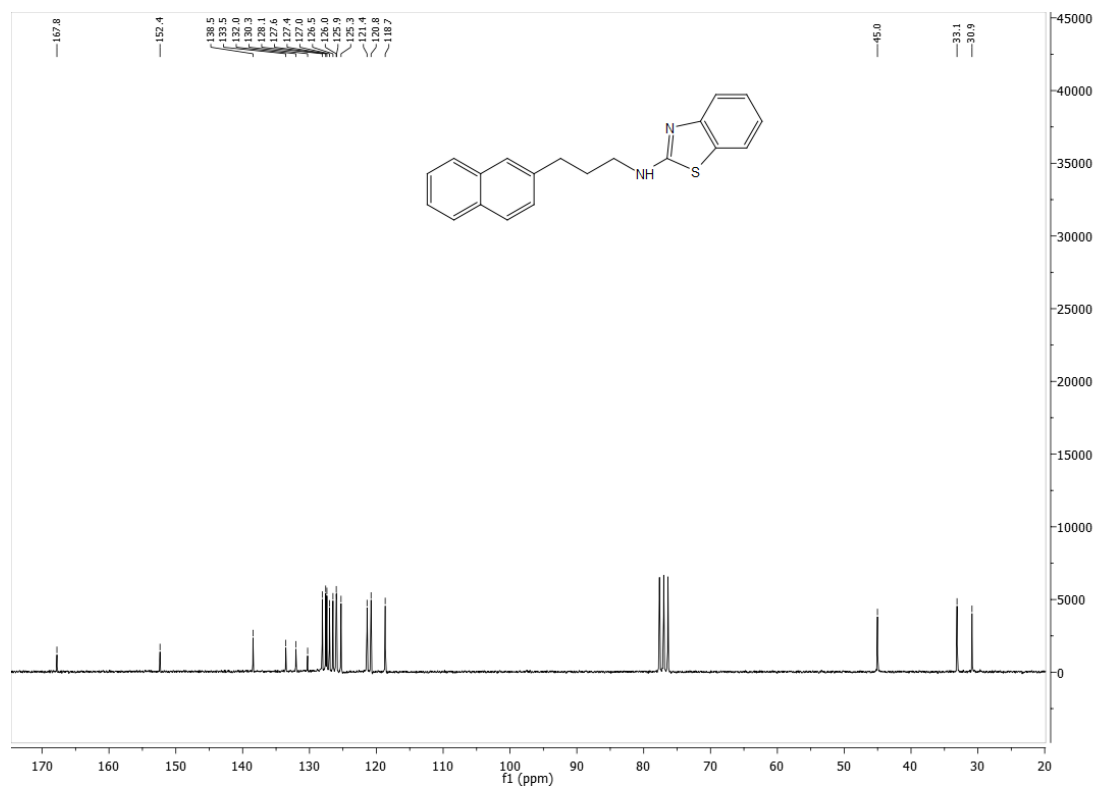
Σχήμα 85 : α) C₆H₅I(O₂CCH₃)₂, κατ. TEMPO, ξηρό CH₂Cl₂, ξηρό CH₂Cl₂, β) Na₂SO₄, 2-αμινοβενζοθειαζόλιο, NaBH₄, απόλυτη MeOH, γ) NaBH₄, απόλυτη MeOH, 80 °C.

Στο φάσμα ¹H NMR της ένωσης **208**, που φαίνεται στην **Εικόνα 17**, παρατηρούμε αρχικά μία πολλαπλή κορυφή στην περιοχή 7.79 – 7.03 ppm όπου συντονίζονται τα αρωματικά πρωτόνια και στη συνέχεια, στα 6.06 ppm την κορυφή που αντιστοιχεί στο NH της ένωσης. Στα 3.47 ppm συντονίζονται τα πρωτόνια του μεθυλενίου δίπλα στο NH, ενώ τέλος, οι δύο τριπλές κορυφές στα 3.03 ppm και στα 2.35 ppm αντιστοιχούν στα πρωτόνια των υπόλοιπων μεθυλενίων.

Στην **Εικόνα 18**, απεικονίζεται το φάσμα ¹³C NMR της ένωσης **208**, στο οποίο διακρίνουμε τον συντονισμό των αρωματικών ανθράκων στην περιοχή 167.8 – 118.7 ppm. Σε χαμηλότερα ppm και πιο συγκεκριμένα στα 45.0 ppm συντονίζεται ο άνθρακας του μεθυλενίου δίπλα στο NH, ενώ οι κορυφές στα 33.1 και 30.9 ppm αντιστοιχούν στους άνθρακες των υπόλοιπων μεθυλενίων.

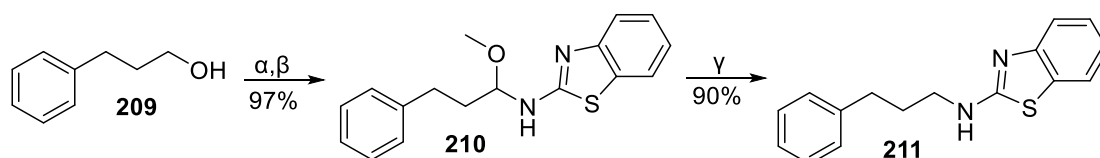


Εικόνα 17 : Φάσμα ¹H NMR της ένωσης 208 σε CDCl₃, στα 200 MHz



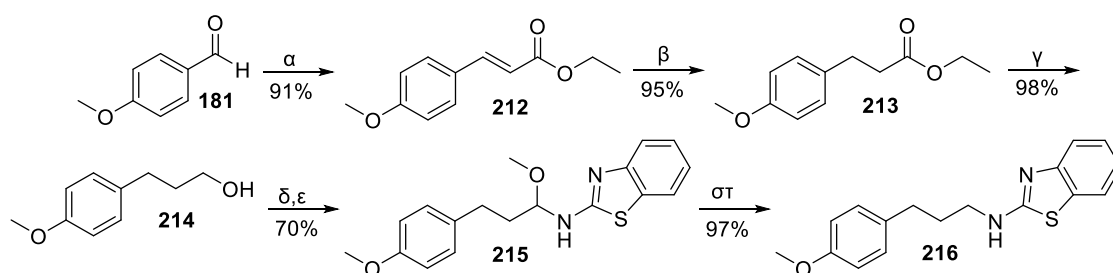
Εικόνα 18 : Φάσμα ¹³C NMR της ένωσης 208 σε CDCl₃, στα 50 MHz

Συνεχίζοντας με τον ίδιο τρόπο, όπως φαίνεται στο **Σχήμα 86**, από την εμπορικά διαθέσιμη 3-φαινυλο-1-προπανόλη (**209**), με οξείδωση και αναγωγική αμίνωση, απομονώσαμε την ημιαμινάλη **210**, ενώ περαιτέρω αναγωγή της τελευταίας, παρείχε το αμινο-παράγωγο **211**.



Σχήμα 86 : α) $C_6H_5I(O_2CCH_3)_2$, κατ. TEMPO, ξηρό CH_2Cl_2 , β) Na_2SO_4 , 2-αμινοβενζοθειαζόλιο, $NaBH_4$, απόλυτη $MeOH$, γ) $NaBH_4$, απόλυτη $MeOH$, $80\text{ }^\circ C$.

Τα τελευταία αμινο-παράγωγα που συντέθηκαν (**Σχήμα 87**), η ημιαμινάλη **215** και η αμίνη **216**, αποτελούν ανάλογα του αναστολέα **185**. Από την *p*-ανισαλδεΰδη **181**, με αντίδραση ολεφινοποίησης Wittg προς τον ακόρεστο εστέρα **212** και υδρογόνωση, παρελήφθη το κορεσμένο παράγωγο **213**. Αναγωγή του τελευταίου με DIBAL-H έδωσε την αλκοόλη **214**, η οποία ομοίως με προηγουμένως, οξειδώθηκε προς την αντίστοιχη αλδεΰδη της οποίας η αναγωγή σε ήπιες συνθήκες παρείχε την αμινο-ακετάλη **215**. Περαιτέρω αναγωγή της ένωσης **215**, οδήγησε στην απομόνωση του επιθυμητού παραγώγου **216**.



Σχήμα 87 : α) $Ph_3P=CHCOOCH_3$, ξηρό THF, β) H_2 , 10% Pd/C EtOH, γ) DIBALH, άνυδρο Et_2O , δ) $C_6H_5I(O_2CCH_3)_2$, κατ. TEMPO, ξηρό CH_2Cl_2 , ε) Na_2SO_4 , 2-αμινοβενζοθειαζόλιο, $NaBH_4$, απόλυτη $MeOH$, στ) $NaBH_4$, απόλυτη $MeOH$, $80\text{ }^\circ C$.

7.3 Μελέτη *ex vivo* της αναστολής παραγωγής PGE₂ από αμινοβενζοθειαζολικές ενώσεις

Η μελέτη της ανασταλτικής δράσης των αμινοβενζοθειαζολικών ενώσεων ενάντια στην παραγωγή PGE₂ πραγματοποιήθηκε στο Ινστιτούτο Φαρμακολογίας του Πανεπιστημίου της Βέρνης από την ερευνητική ομάδα της Prof. Andrea Huwiler.

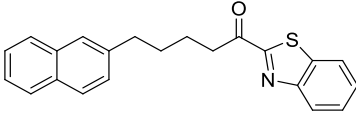
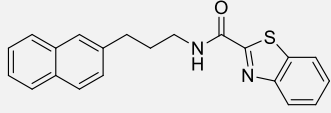
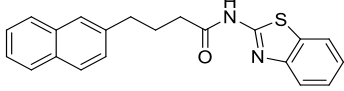
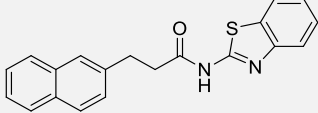
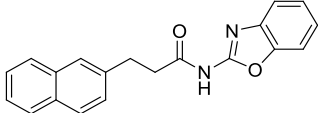
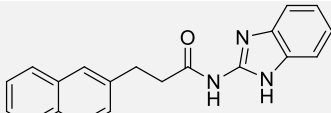
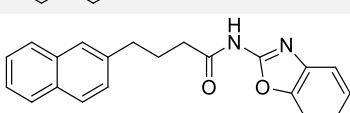
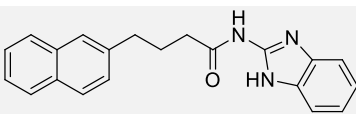
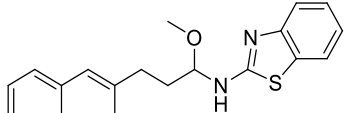
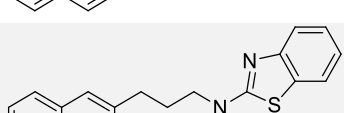
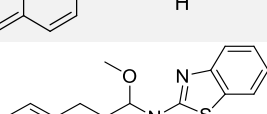
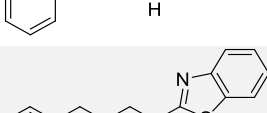
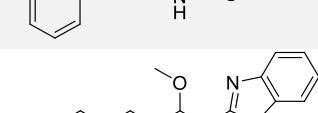
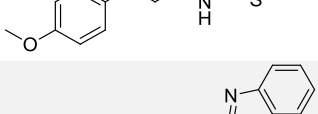
Καλλιέργειες νεφρικών μεσεγγυματικών κυττάρων αρουραίων (rat renal mesangial cells) κατεργάστηκαν με ιντερλευκίνη-1 και φορσκολίνη προκειμένου να προκληθεί σημαντική παραγωγή της PGE₂. Στη συνέχεια τα κύτταρα κατεργάστηκαν με τους συνθετικούς αναστολείς αρχικά σε συγκέντρωση 3 μΜ. Το υπερκείμενο χρησιμοποιήθηκε για την ποσοτικοποίηση της PGE₂ με το κατάλληλο kit ELISA. Τα αποτελέσματα των *ex vivo* μελετών των ενώσεων που συντέθηκαν συγκεντρώνονται στον **Πίνακα 6** που ακολουθεί.

Όπως μπορούμε να παρατηρήσουμε στον **Πίνακα 6**, η μετατροπή του καρβονυλίου της ένωσης **GK181** σε αμίδιο, στην ένωση **197** είχε ως αποτέλεσμα την μείωση της ανασταλτικής δράσης της ένωσης στην παραγωγή PGE₂, ενώ ακόμα χαμηλότερη αναστολή παρουσίασε και το ισομερές της **197**, η ένωση **201**. Με την αλλαγή του ετεροκυκλικού δακτυλίου από βενζοθειαζολικό (**201**) σε βενζιμιδαζολικό (**ένωση 206**), τα αποτελέσματα βελτιώθηκαν κατά ένα μικρό ποσοστό. Υψηλή όμως αναστολή παρουσιάστηκε όταν ο βενζοθειαζολικός δακτύλιος της **201** αντικαταστάθηκε από βενζοξαζόλιο και η ένωση **205** μείωσε *ex vivo* την παραγωγή της PGE₂ κατά 93%. Το ίδιο υψηλό ποσοστό αναστολής πετύχαμε και με την ένωση **202**, όπου μειώσαμε την απόσταση μεταξύ του ναφθαλινίου και του καρβονυλίου, ενώ η αντικατάσταση του βενζοθειαζολίου σε αυτή την περίπτωση, μείωσε (**203**) ή και εξάλειψε (**204**) την ικανότητα της ένωσης να αναστέλλει την παραγωγή της PGE₂. Η αντικατάσταση του καρβονυλίου της ένωσης **202** με μία μεθόξυ ομάδα, οδήγησε στην ένωση **207** που σημείωσε 84% αναστολή. Με την αντικατάσταση του ναφθαλινίου από βενζολικό (**210**) και p-μεθόξυ βενζολικό δακτύλιο (**215**), η ανασταλτική δράση της ένωσης μηδενίστηκε.

Η πλήρης απομάκρυνση του καρβονυλίου/μεθόξυ ομάδας, έδωσε την ένωση **208** η οποία μείωσε την παραγωγή PGE₂ κατά 98%, καταγράφοντας το υψηλότερο ποσοστό από τις ενώσεις που συντέθηκαν. Αντικατάσταση του ναφθαλινίου σε αυτή την περίπτωση, επέφερε μία μικρή μείωση στην περίπτωση του p-μεθόξυ βενζολικού δακτυλίου (**216**) και λίγο σημαντικότερη στην περίπτωση της ένωσης **211**.

Συμπερασματικά, οι ενώσεις **208**, **216**, **202** και **205** σε συγκέντρωση 3 μΜ σημείωσαν αναστολή παραγωγής της PGE₂ σε ποσοστό >90%, αποτελώντας μια νέα τάξη ενώσεων που έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν ισχυρά την παραγωγή της PGE₂ σε κυτταρικό επίπεδο.

Πίνακας 6: Αποτελέσματα *ex vivo* μελετών των αμινοβενζοθειαζολικών ενώσεων για την αναστολή παραγωγής PGE₂ σε συγκέντρωση 3 μM

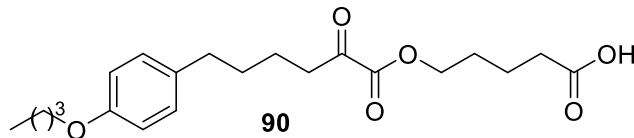
Κωδικός	Δομή	%Αναστολή (3 μM)
GK181		85%
197 (GK508)		64%
201 (GK509)		50%
202 (GK510)		93%
203 (GK538)		70%
204 (GK539)		0%
205 (GK540)		93%
206 (GK541)		56%
207 (GK542)		84%
208 (GK543)		98%
210 (GK561)		0%
211 (GK562)		88%
215 (GK559)		0%
216 (GK560)		96%

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συνοψίζοντας την παρούσα ερευνητική εργασία, αναπτύχθηκαν μέθοδοι για τη σύνθεση αναστολέων ενζύμων που εμπλέκονται στην παραγωγή της PGE₂. Πιο συγκεκριμένα, συντέθηκαν:

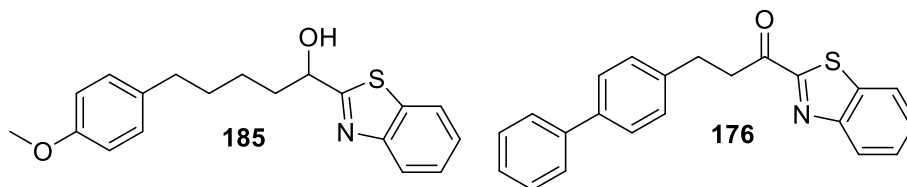
- νέα 2-οξοαμίδια με άτομο θείου σε β-θέση ως προς το ενεργοποιημένο καρβονύλιο. Η προσθήκη του S στη δομή της ένωσης είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της ανασταλτικής δράσης των ενώσεων ενάντια στην iPLA₂, σε αντίθεση ότι είχε παρατηρηθεί για τους πολυφθοροκετονικούς αναστολείς.
- νέοι 2-οξοεστέρες και ανάλογά τους, από τα οποία ξεχώρισε η ένωση **90**, η οποία επέδειξε ισχυρότατη ανασταλτική δράση έναντι της cPLA₂ με X_I(50)=0.000066 και κατάλληλη λιποφιλικότητα, με ClogP=4.31.



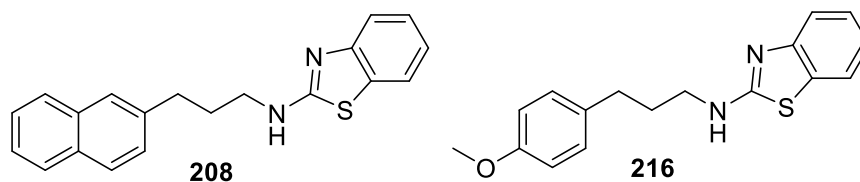
- νέες θειαζόλυλο κετονικές ενώσεις, των οποίων οι μελέτες της *in vitro* δραστηριότητας βρίσκονται ακόμα σε εξέλιξη.

Επιπροσθέτως, αναπτύχθηκαν μέθοδοι για τη σύνθεση καινοτόμων ενώσεων που αναστέλλουν την παραγωγή της PGE₂ σε κυτταρικό επίπεδο. Αναλυτικότερα, συντέθηκαν:

- α-κετο-βενζοθειαζολικές ενώσεις και ανάλογά τους, με τις ενώσεις **185** και **176** να παρουσιάζουν τα καλύτερα αποτελέσματα μεταξύ των ενώσεων που συντέθηκαν με ποσοστό αναστολής 78% και 66% αντίστοιχα, σε συγκέντρωση 3 μM.



- κενοτόμες αμινοβενζοθειαζολικές ενώσεις και παράγωγά τους, μερικές από τις οποίες επέδειξαν ισχυρότατη ικανότητα αναστολής της παραγωγής της PGE₂ *ex vivo*, με ποσοστα μεγαλύτερα του 90% σε συγκέντρωση 3 μM. Ιδιαίτερως ξεχώρισαν, οι ενώσεις **208** και **216** παρουσιάζοντας 98% και 96% αναστολή, αντίστοιχα.



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Αντιδραστήρια, διαλύτες

Οι διαλύτες και τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των ενώσεων που περιγράφονται σε αυτήν την εργασία ήταν εμπορικά διαθέσιμα από τις εταιρίες Sigma-Aldrich, Fluka, Merck, Alfa. Η καθαρότητα των αντιδραστηρίων ήταν 98% και άνω και χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω καθαρισμό. Το ξηρό CH_2Cl_2 , όπως και η άνυδρη ακετόνη, παρασκευάστηκαν και φυλάχθηκαν πάνω από μοριακά κόσκινα. Το THF ξηράθηκε με οξείδιο του αργιλίου, αποστάχθηκε με προσθήκη CaH_2 και φυλάχθηκε πάνω από μοριακά κόσκινα. Ο ξηρός Et_2O παρασκευάστηκε με προσθήκη μεταλλικού νατρίου, παρουσία του οποίου και φυλάχθηκε.

Χρωματογραφικός έλεγχος αντιδράσεων

Για τον έλεγχο της πορείας των αντιδράσεων χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (thin layer chromatography, TLC). Οι χρωματογραφικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε πλάκες αλουμινίου πάχους 0.25 mm, επιστρωμένες με silica gel και φθορίζον υλικό που απορροφά στα 256 nm, της εταιρίας Merck (silica gel 60 F254).

Για τον χρωματογραφικό χαρακτηρισμό των ενώσεων μετρήθηκαν οι συντελεστές ανάσχεσης (Rf) σε συστήματα ανάπτυξης με διαφορετική αναλογία διαλυτών, ανάλογα με την πολικότητα του εκάστοτε προϊόντος.

Για την παρατήρηση της εικόνας των ανεπτυγμένων χρωματογραφικών πλακιδίων χρησιμοποιήθηκε λάμπα υπεριώδους ακτινοβολίας (254 nm), ενώ για την χρώση τους, εμβαπτίστηκαν σε κατάλληλο διάλυμα ανάλογα με τη φύση των ενώσεων μεταξύ των οποίων:

Διάλυμα φωσφομολυβδαινικού οξέος 7.5% σε αιθανόλη.

Διάλυμα νινυδρίνης 0.5% σε αιθανόλη.

Σε περιπτώσεις αδυναμίας χρήσης των παραπάνω διαλυμάτων, οι ενώσεις σημάνθηκαν έπειτα από τοποθέτηση του πλακιδίου σε θάλαμο ιωδίου.

Καθαρισμός και απομόνωση

Όλες οι ενώσεις που παρασκευάστηκαν, καθαρίστηκαν και απομονώθηκαν με κάποια από τις ακόλουθες τεχνικές ή συνδυασμό αυτών: χρωματογραφία στήλης, εκχυλίσεις, καταβύθιση ή ανακρυστάλλωση.

Για τη χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιήθηκε ως υλικό πλήρωσης είτε silica gel60 (0.063 - 0.200 mm) (gravity) ή silica gel60 (0.040 - 0.063 mm) (flash) της εταιρίας Merck. Η έκλυση έγινε με εφαρμογή πίεσης στο πάνω μέρος της στήλης (flash) ή

απλά με την δύναμη της βαρύτητας (gravity). Η χρησιμοποιούμενη ποσότητα silica διαφοροποιείται σε κάθε περίπτωση ανάλογα με την ποσότητα του μίγματος της αντίδρασης. Τα συστήματα έκλουσης που χρησιμοποιήθηκαν αναφέρονται ξεχωριστά για κάθε ένωση στις αντίστοιχες πειραματικές μεθόδους. Οι συμπυκνώσεις των διαλυτών έγιναν υπό ελαττωμένη πίεση σε θερμοκρασία 20- 80 °C ανάλογα με την πολικότητα του διαλύτη.

Χαρακτηρισμός των προϊόντων

Η ταυτοποίηση των ενώσεων, που συντέθηκαν στην παρούσα εργασία, έγινε με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR), φασματομετρία μάζας (MS) ή φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (HRMS), μετρήθηκαν επίσης γωνίες στροφής και σημεία τήξεως όπου ήταν αναγκαίο.

Τα φάσματα NMR ελήφθησαν σε όργανο 200 MHz Varian τύπου Mercury σε κατάλληλο κατά περίπτωση δευτεριωμένο διαλύτη ή σύστημα δευτεριωμένων διαλυτών (CDCl₃, CD₃OD, DMSO) της εταιρίας Aldrich. Οι συχνότητες συντονισμού ήταν για το ¹H 200 MHz, για τον ¹³C 50 MHz, ενώ για το ¹⁹F 188 MHz. Οι χημικές μετατοπίσεις εκφράζονται σε ppm και οι σταθερές σύζευξης σε Hz.

Τα φάσματα μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (HRMS) ελήφθησαν σε Bruker Maxis Impact QTOF, με πηγή ιοντισμού ηλεκτροψεκασμού (ESI) και δίδονται ως: θεωρητική τιμή και προσδιορισθείσα τιμή.

Τα φάσματα μάζας ελήφθησαν σε όργανο φασματομετρίας μαζών Finnigan, Surveyor MSQ Plus με την τεχνική του ιοντισμού μέσω ηλεκτροψεκασμού (electron spray ionization EMI-MS).

Τα σημεία τήξεως μετρήθηκαν σε συσκευή Buchi 530 και δεν είναι διορθωμένα.

Γενικές πειραματικές πορείες

Γενική μέθοδος σύνθεσης υδροξυ-νιτριλίων

Η σύνθεση των υδροξυ-νιτριλίων από τις αντίστοιχες αλκοόλες πραγματοποιήθηκε σε δύο στάδια. Το πρώτο στάδιο ήταν η οξείδωση των αλκοολών προς τις ενδιάμεσες αλδεΐδες, οι οποίες λόγω της ευαισθησίας και της τάσης τους προς αποσύνθεση, χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω απομόνωση ή καθαρισμό στο επόμενο στάδιο, το οποίο ήταν η κυανυδρινική σύνθεση. Η μέθοδος οξείδωσης ποικίλει ανάλογα με τη φύση του επιθυμητού παραγώγου ή από τη διαθεσιμότητα των αντιδραστηρίων και αναφέρεται στο συνθετικό σχήμα του αντίστοιχου κεφαλαίου. Ακολουθεί η κυανυδρινική σύνθεση.

Μέθοδοι οξείδωσης πρωτοταγών αλκοολών προς αλδεΐδες

Οξείδωση TEMPO

Σε αναδευόμενο διάλυμα της αλκοόλης (1 mmol) σε AcOEt (3 mL) και τολουόλιο (3 mL) προστίθενται H₂O (0.5 mL) και NaBr (1.1 mmol, 112.1 mg). Το μίγμα ψύχεται στους -5 °C και υπό έντονη ανάδευση γίνεται η προσθήκη του καταλύτη 4-AcNH-TEMPO (0.1 mmol, 15.6 mg). Ακολουθεί, μέσα σε διάστημα μίας ώρας και πάντα στους -5 °C, προσθήκη υδατικού διαλύματος 0.5M σε NaOCl (1.1 mmol), NaHCO₃ (3 mmol) και H₂O (0.94 mL). Μετά το τέλος της αντίδρασης η υδατική φάση εκχυλίζεται με AcOEt. Οι οργανικές φάσεις συλλέγονται και εκπλένονται με τα εξής κατά σειρά υδατικά διαλύματα: 1% KI σε 5% κιτρικό οξύ, 10% Na₂S₂O₃ και κορεσμένο διάλυμα NaCl. Η οργανική φάση ξηραίνεται με άνυδρο Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Οι αλδεΐδες χρησιμοποιούνται απευθείας στο επόμενο βήμα, χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

Οξείδωση Dess-Martin

Σε σφαιρική φιάλη η αλκοόλη (1 mmol) διαλύεται σε ξηρό CH₂Cl₂ (10 mL). Κατόπιν προστίθενται Dess-Martin periodinane (1.2 mmol) και το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση σε r.t. για 1 h. Το μίγμα της αντίδρασης μεταφέρεται σε διαχωριστική φιάλη όπου εκπλένεται με μίγμα ίσων όγκων διαλυμάτων 10% Na₂S₂O₃ και 10% NaHCO₃ (15mL). Η οργανική στιβάδα απομονώνεται και η υδατική εκχυλίζεται εκ νέου με CH₂Cl₂. Οι οργανικές φάσεις ενώνονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται υπό κενό σε χαμηλή θερμοκρασία. Οι αλδεΐδες χρησιμοποιούνται απευθείας στο επόμενο βήμα, χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

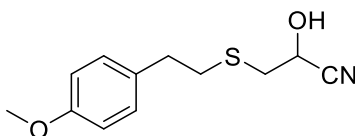
Οξείδωση με χρήση διακετοξυ-ιωδοβενζολίου

Σε αναδευόμενο διάλυμα της αλκοόλης (1.00 mmol) σε άνυδρο CH₂Cl₂ (1.5 mL), προστίθεται TEMPO (0.01 mmol, 1.56 mg) και έπειτα προστίθεται το διακετόξυ ιωδοβενζόλιο (1.2 mmol, 0.36 g). Το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση σε r.t για 30 min. Ακολουθεί κατεργασία με διαδοχικές εκχυλίσεις με AcOEt (2x2 mL). Οι οργανικές φάσεις συγκεντρώνονται και εκπλένονται με κορεσμένο NaHCO₃ (2 mL) και 10% Na₂S₂O₃ (2 mL), ξηραίνονται με άνυδρο Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Οι αλδεΐδες χρησιμοποιούνται απευθείας στο επόμενο βήμα, χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

Κυανυδρινική Σύνθεση

Η αλδεΰδη (1.00 mmol) διαλύεται σε CH₂Cl₂ (1.5 mL) και 4N NaHSO₃ (0.25 mL, 1.5 mmol), και αφήνεται υπό ανάδευση για 30 min. Το CH₂Cl₂ απομακρύνεται με συμπύκνωση υπό κενό, το υπόλειμμα διαλύεται σε H₂O (3 mL) και ψύχεται στους 0 °C. Στο αναδεδυμένο διάλυμα προστίθεται στάγδην 4N KCN (0.25 mL, 1.5 mmol) σε διάστημα 2 h. Μετά το πέρας της προσθήκης το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση σε r.t. για μια νύχτα. Το προϊόν απομονώνεται έπειτα από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης P.E.-AcOEt σε διάφορες αναλογίες.

2-Υδροξυ-3-(4-μεθοξυφαινυλοθειο)προπανονιτρίλιο (47)



M.T. : C₁₂H₁₅NO₂S

M.B. : 237.32

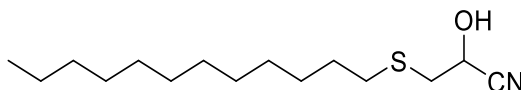
Απόδοση: 30%, κτρινωπό έλαιο.

Σύστημα έκλουσης P.E.-AcOEt 8:2. R_f(8:2)=0.2, R_f(6:4)=0.35.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.18 – 7.04 (m, 2H, Ar), 6.93 – 6.73 (m, 2H, Ar), 4.59-4.40 (m, 1H, CH), 4.19-4.04 (m, 1H, OH), 3.87 – 3.70 (s, 3H, OCH₃), 2.95 – 2.74 (m, 6H, 3xCH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 158.4, 132.2, 129.8, 119.7, 114.23, 61.4, 55.6, 37.0, 35.5, 35.0.

3-(Δωδεκυλοθειο)-2-υδροξυπροπανονιτρίλιο (73)



M.T. : C₁₅H₂₉NOS

M.B. : 271.46

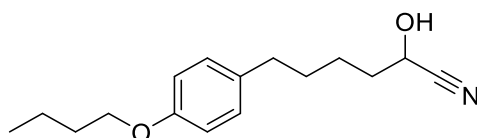
Απόδοση: 67%, κτρινωπό έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 9:1, R_f(9:1)=0.35

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 4.57 (t, J = 6.0 Hz, 1H, CH), 3.72 (bs, 1H, OH), 2.97 – 2.81 (m, 2H, CH₂CH), 2.70 – 2.42 (m, 2H, CH₂S), 1.70 – 1.47 (m, 2H, CH₂), 1.26 (m, 18H, 9xCH₂), 0.86 (t, J = 6.3 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 119.5, 60.8, 37.1, 33.2, 32.1, 29.9, 29.8, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 28.9, 22.9, 14.4.

6-(4-Βουτοξυφαινυλο)-2-υδροξυεξανονιτρίλιο (84)



M.T. : C₁₆H₂₃NO₂

M.B. : 261.37

Απόδοση: 71%, άχρωμο έλαιο.

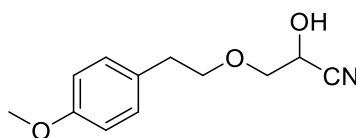
Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt: 7:3, R_f (7:3)= 0.5, R_f (9:1)= 0.2

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 7.08 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, Ar), 6.83 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, Ar), 4.53-4.38 (m, 1H, CH), 3.95 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH₂O), 2.58 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, PhCH₂), 1.93-1.38 (m, 10H, 5xCH₂), 0.98 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 157.5, 134.2, 129.5, 120.4, 114.7, 68.0, 61.4, 35.3, 35.0, 31.6, 31.3, 24.4, 19.5, 14.2.

MS (ESI) *m/z* (%): 279 ([M + NH₄]⁺, 100).

2- Υδροξυ -3-(4-μεθοξυφαινοιθοξυ)προπανονιτρίλιο (121)



M.T. : C₁₂H₁₅NO₃

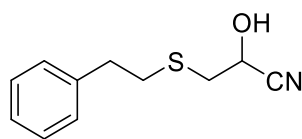
M.B. : 221.26

Απόδοση: 40%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f (8:2)=0.28

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.14 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 6.86 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, Ar), 4.56 – 4.45 (m, 1H, CH), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.77 – 3.65 (m, 4H, CH₂CH, CH₂O), 2.86 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H, PhCH₂).

2- Υδροξυ -3-(φαινυλοθειο)προπανονιτρίλιο (131)



M.T. : C₁₁H₁₃NOS

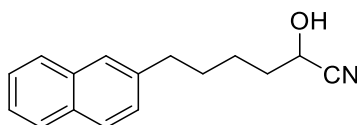
M.B. : 207.29

Απόδοση: 85%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 6:4, R_f (6:4)=0.6

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.40 – 7.17 (m, 5H, Ar), 4.52 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H, CH), 3.96 (bs, 1H, OH), 2.99 – 2.82 (m, 6H, 3xCH₂).

2-Υδροξυ-6-(ναφθαλιν-2-υλο)εξανονιτρίλιο (186)



M.T. : C₁₆H₁₇NO

M.B. : 239.32

Απόδοση: 45%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλυσης: P.E.-AcOEt 6:4, R_f (6:4)= 0.61

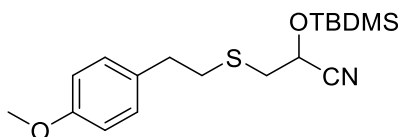
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.93 – 7.28 (m, 7H, Ar), 4.39 (q, *J* = 6.2 Hz, 1H, CH), 3.41 (bs, 1H, OH), 2.81 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, PhCH₂), 1.80 (m, 4H, 2xCH₂), 1.57 (m, 2H, CH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 139.4, 133.4, 131.8, 127.8, 127.5, 127.3, 127.1, 126.25, 125.9, 125.1, 120.0, 60.9, 35.6, 34.8, 30.4, 24.1.

Γενική μέθοδος σύνθεσης TBDMS-προστατευμένων υδροξυ-νιτριλίων

Διάλυμα της αλδεΐδης (1.00 mmol) σε ξηρό CH₂Cl₂ (1 mL) προστίθενται υπό αδρανή ατμόσφαιρα Ar σε σφαιρική φιάλη που περιέχει *tert*-βουτυλοδιμεθυλοσιλοκυανίδιο (0.1 mmol, 6.5 mg), KCN (0.1 mmol, 6.5 mg) και 1,4,7,10,13,16-εξανοξακυκλοοκταδεκάνιο (18-crown-6) (0.4 mmol, 105.7 mg) διαλυμένα σε ξηρό CH₂Cl₂ (2 mL). Η αντίδραση αφήνεται υπό αδρανή ατμόσφαιρα Ar και σε r.t. για 1 h. Το μίγμα της αντίδρασης συμπυκνώνεται υπό κενό και το προϊόν καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης.

2-Υδροξυ-3-((4-μεθοξυφαινυλ)θειο)προπανονιτρίλιο (113)



M.T. : C₁₈H₂₉NO₂SSi

M.B. : 351.58

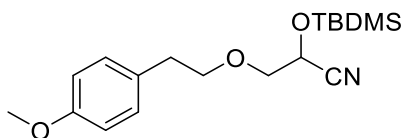
Απόδοση: 24%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλυσης: P.E.-AcOEt 95:5, R_f (7:3)=0.56

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.12 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, Ar), 6.84 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 4.45 (t, *J* = 6.7 Hz, 1H, CH), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 2.92 – 2.77 (m, 6H, 3xCH₂), 0.92 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.20 (s, 3H, CH₃Si), 0.16 (s, 3H, CH₃Si).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 158.3, 131.9, 129.5, 119.3, 113.9, 63.3, 55.2, 37.8, 35.4, 35.1, 25.5, 18.1, -5.2, -5.3.

2-(*tert*-Βουτυλοδιμεθυλοσιλυλοξυ)-3-(4-μεθοξυφαιναιθοξυ)προπανονιτρίλιο (121)



M.T. : C₁₈H₂₉NO₃Si

M.B. : 335.52

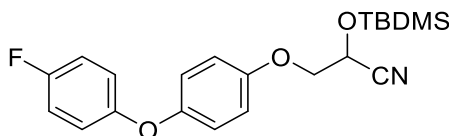
Απόδοση: 27%, πορτοκαλί έλαιο.

Σύστημα έκλυσης: P.E.- Et₂O 9:1, R_f (9:1)=0.44

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.21 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, Ar), 6.90 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, Ar), 4.60 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H, CH), 3.93 – 3.62 (m, 7H, OCH₃, 2xCH₂), 2.91 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, PhCH₂), 0.99 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.25 (s, 3H, CH₃Si), 0.21 (s, 3H, CH₃Si).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 156.8, 129.1, 128.5, 117.3, 112.5, 71.9, 71.4, 60.7, 53.9, 33.9, 24.2, 16.7, -6.6, -6.6.

2-((*tert*-Βουτυλοδιμεθυλοσιλυλ)οξυ)-3-(4-(4-φθοροφαινοξυ)φαινοξυ)προπανονιτρίλιο (140)



M.T. : C₂₁H₂₆FNO₃Si

M.B. : 387.53

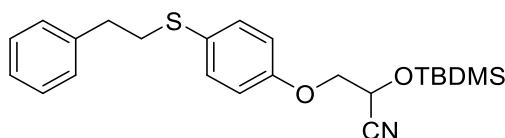
Απόδοση: 53%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλυσης: P.E.- Et₂O 9:1, R_f (9:1)=0.4

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.09 - 6.79 (m, 8H, Ar), 4.79 (s, 1H, CH), 4.17 (s, 2H, CH₂), 0.94 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.23 (s, 3H, CH₃Si), 0.19 (s, 3H, CH₃Si).

¹⁹F NMR (188 MHz, CDCl₃) δ -121.3.

2-((*tert*-Βουτυλοδιμεθυλοσιλυλ)οξυ)-3-(4-(φαιναιθελο)φαινοξυ)προπανονιτρίλιο (148)



M.T. : C₂₃H₃₁NO₂SSi

M.B. : 413.65

Απόδοση: 23%, άχρωμο έλαιο.

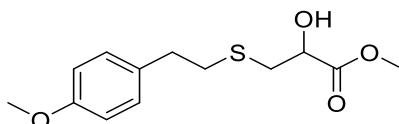
Σύστημα έκλυσης: P.E.-AcOEt 95:5, R_f (95:5)=0.52

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.27 (m, 7H, Ar), 6.92 – 6.79 (m, 2H, Ar), 4.86 – 4.70 (m, 1H, CH), 4.16 (dd, $J = 6.1, 2.8$ Hz, 2H, OCH_2), 3.15 – 3.00 (m, 2H, CH_2S), 2.86 (m, 2H, PhCH_2), 0.92 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.22 (s, 3H, CH_3Si), 0.17 (s, 3H, CH_3Si).
 ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 156.8, 140.1, 132.8, 128.4, 126.3, 117.9, 115.2, 69.5, 61.3, 36.8, 35.7, 25.8, 25.4, 18.1, -5.3.

Όξινη υδρόλυση 2-υδροξυ-νιτριλίων προς 2-υδροξυ-μεθυλεστέρες

Το 2-υδροξυ-νιτρίλιο (1 mmol) διαλύεται σε 4N HCl/MeOH (10 mL) και αφήνεται υπο ανάδευση σε r.t. για 24-72 h. Το μίγμα της αντίδρασης συμπυκνώνεται υπό κενό, το υπόλειμμα διαλύεται σε Et_2O (2 mL) και επανασυμπυκνώνεται, διαδικασία που επαναλαμβάνεται τέσσερις φορές προς απομάκρυνση του HCl. Απομονώνεται ο μεθυλεστέρας έπειτα από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης P.E.-AcOEt σε διάφορες αναλογίες.

2-Υδροξυ-3-((4-μεθοξυφαινυλο)θειο)προπιονικός μεθυλεστέρας (48)



M.T.: $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_4\text{S}$

M.B.: 270.34

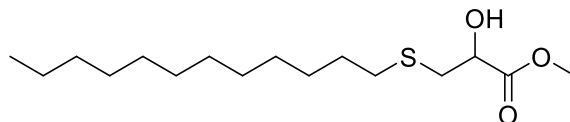
Απόδοση: 88%, κιτρινωπό έλαιο.

Σύστημα έκλουσης P.E.-AcOEt 6:4, $R_f(6:4)=0.51$.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.18 – 6.98 (m, 2H, Ar), 6.91 – 6.69 (m, 2H, Ar), 4.44 – 4.33 (m, 1H, CH), 3.85 – 3.61 (m, 5H, OCH_3 , CH_2CH), 3.36 (bs, 1H, OH), 3.01 – 2.83 (m, 4H, $2 \times \text{CH}_2$), 2.77 (s, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 173.8, 158.3, 132.5, 129.7, 114.06, 70.8, 55.4, 52.9, 36.6, 35.5, 34.9.

3-(Δωδεκυλοθειο)-2-υδροξυπροπανοϊκός μεθυλεστέρας(74)



M.T. : $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_3\text{S}$

M.B. : 304.49

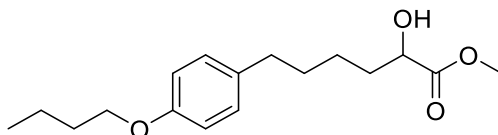
Απόδοση: 73%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 9:1, $R_f(9:1)=0.2$

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 4.40 (t, $J = 4.1$ Hz, 1H, CH), 3.80 (s, 3H, OCH_3), 3.01 (bs, 1H, OH), 2.91 – 2.79 (m, 2H, CH_2CH), 2.61 – 2.51 (m, 2H, CH_2S), 1.61 – 1.47 (m, 2H, CH_2), 1.36 - 1.13 (m, 18H, $9 \times \text{CH}_2$), 0.86 (t, $J = 6.4$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 173.9, 70.5, 52.9, 36.6, 33.2, 32.2, 29.8, 29.8, 29.6, 29.5, 29.0, 22.9, 14.4.

6-(4-Βουτοξυφαινυλ)-2-υδροξυεξανοϊκός μεθυλεστέρας (85)



M.T. : $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_4$

M.B. : 294.39

Απόδοση: 65%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 8:2, Rf (8:2)=0.3

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 7.07 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, Ar), 6.81 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, Ar), 4.25-4.10 (m, 1H, CH), 3.93 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H, CH_2O), 3.77 (s, 3H, OCH_3), 2.83 (bs, 1H, OH), 2.63-2.48 (m, 2H, PhCH_2), 1.93-1.37 (m, 10H, CH_2), 0.97 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H, CH_3).

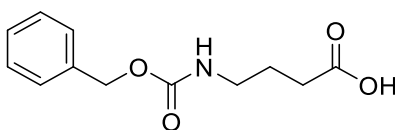
^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 176.0, 157.4, 134.5, 129.4, 114.5, 70.6, 67.9, 52.8, 35.3, 35.0, 34.5, 31.6, 24.6, 19.5, 14.1.

MS (ESI) m/z (%): 312 ($[\text{M} + \text{NH}_4]^+$, 100)

Γενική μέθοδος Z-προστασίας αμινομάδας

Σε διάλυμα του οξέος (1.00 mmol) σε 2N NaOH (13 mL), υπό ψύξη στους 0 °C, προστίθεται συνολικά Z-Cl (1.2 mmol) και 4N NaOH (1.2 mmol) σε 4 δόσεις ανά 10 min εναλλάξ. Το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση σε r.t. για 2 h. Το pH ελέγχεται ώστε $\text{pH} > 12$. Το μίγμα της αντίδρασης μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη όπου εκχυλίζεται με Et_2O (2 x 10 mL) προς απομάκρυνση του Z-Cl. Η υδατική φάση οξινίζεται με 2N HCl και εκχυλίζεται με AcOEt (3 x 10 mL). Οι οργανικές φάσεις ενώνονται, εκπλένονται με κορεσμένο διάλυμα NaCl, ξηραίνονται με Na_2SO_4 και συμπυκνώνονται υπό ελαττωμένη πίεση. Τα προϊόντα απομονώνονται έπειτα από χρωματογραφία στήλης.

4-(((Βενζυλοξυ)καρβονυλ)αμινο)βουτυρικό οξύ (51) ²²⁵



M.T. : C₁₂H₁₅NO₄

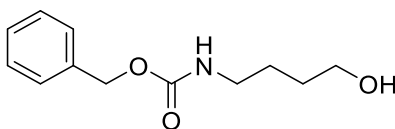
M.B. : 237.26

Απόδοση: 96%, λευκό στερεό. Σ.Τ.= 82-85 °C

Σύστημα έκλυσης: P.E.-AcOEt 95:5, R_f (9:1)=0.26 (διπλή ανάπτυξη)

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.44 – 7.28 (m, 5H, Ar), 5.09 (s, 2H, PhCH₂), 4.94 (s, 1H, NH), 3.26 (qt, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH₂N), 2.40 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂CO), 1.92-1.71 (m, 2H, CH₂).

4-(((Βενζυλοξυ)καρβονυλ)αμινο)βουτανόλη (59)



M.T. : C₁₂H₁₇NO₃

M.B. : 223.27

Απόδοση: 59%, λευκό στερεό, Σ.Τ.= 75-76 °C, Σ.Τ._{ββλ}= 76-78 °C ²²⁶

Σύστημα έκλυσης: P.E.-AcOEt 5:5, R_f (5:5)=0.5

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.41 – 7.25 (m, 5H, Ar), 5.08 (s, 2H, PhCH₂), 4.90 (bs, 1H, NH), 3.74 – 3.55 (m, 2H, CH₂OH), 3.30 – 3.12 (m, 2H, CH₂N), 1.78 (bs, 1H, OH), 1.64 – 1.44 (m, 4H, 2xCH₂).

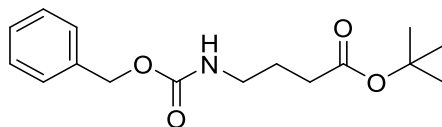
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 156.8, 136.8, 128.7, 128.3, 66.9, 62.5, 41.0, 29.8, 26.7.

Μέθοδοι παρασκευής *tert*-βούτυλο παραγώγων

Μέθοδος με χρήση Bu^tOH/DMAP

Σε διάλυμα του οξέος (1.00 mmol) σε ξηρό CH₂Cl₂ (2 mL), υπό ψύξη στους 0 °C προστίθενται Bu^tOH (3.00 mmol), DCC (1.2 mmol) και DMAP (0.10 mmol). Η αντίδραση αφήνεται υπό ανάδευση σε r.t για μια νύχτα. Το μίγμα της αντίδρασης διηθείται υπό celite. Το διήθημα μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη όπου εκπλένεται διαδοχικά με H₂O, 1N HCl, H₂O, 10% NaHCO₃, H₂O. Το προϊόν απομονώνεται με χρωματογραφία στήλης και σύστημα έκλυσης P.E.-AcOEt σε κατάλληλη αναλογία.

***tert*-Βουτυλεστέρας του 4-(((βενζυλοξυ)καρβονυλ)αμινο)βουτυρικού οξέος (52)** ²²⁷



M.T. : C₁₆H₂₃NO₄

M.B. : 293.36

Απόδοση:40%, Άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης P.E.-AcOEt 95:5. R_f(9:1)=0.2 (διπλή ανάπτυξη)

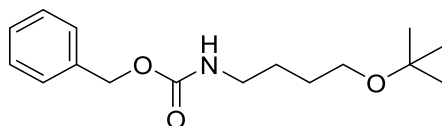
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.37 – 7.27 (m, 5H, Ar), 5.07 (s, 2H, PhCH₂), 5.01 (s, 1H, NH), 3.20 (q, *J* = 6.7 Hz, 2H, CH₂N), 2.24 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH₂), 1.78 (qt, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH₂), 1.47 [s, 9H, C(CH₃)₃].

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 172.9, 156.7, 136.8, 128.7, 128.3, 80.7, 66.8, 40.7, 33.0, 28.3, 25.4.

Μέθοδος με χρήση ισοβουτυλενίου

Σε δοχείο πίεσης ζυγίζεται το οξύ ή η αλκοόλη (1.00 mmol), διαλύεται σε ξηρό CH₂Cl₂ (1 mL) και πυκνό H₂SO₄ (0.1 mL). Στο δοχείο κατόπιν προστίθενται 1 mL ισοβουτυλενίου, υγροποιημένου στους -78 °C (με υγρό άζωτο και ακετόνη), και το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση σε r.t. για μια νύχτα. Το δοχείο πίεσης ψύχεται στους -20 °C και το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται, υπό ανάδευση, να έρθει σε r.t.. Το μίγμα της αντίδρασης μεταφέρεται ακολούθως σε διαχωριστική χοάνη, όπου προστίθεται 10% NaHCO₃ και εκχυλίζεται με CH₂Cl₂ (2 x 2 mL). Η οργανική στιβάδα εκπλένεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl, ξηραίνεται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Απομονώνεται ο *tert*-βουτυλεστέρας ή ο *tert*-βουτυλαιθέρας αντίστοιχα, έπειτα από χρωματογραφία στήλης με κατάλληλο σύστημα έκλουσης.

4-*tert*-Βουτοξυβουτυλοκαρβαμιδικός βενζυλαιθέρας (60)



M.T. : C₁₆H₂₅NO₃

M.B. : 279.38

Απόδοση: 90%, κιτρινωπό έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 6:4, R_f (6:4)=0.55

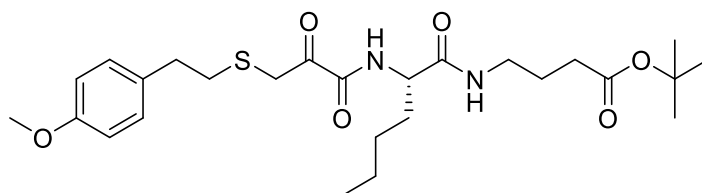
^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.36 – 7.21 (m, 5H, Ar), 5.35-5.19 (m, 1H, NH), 5.04 (d, J = 4.9 Hz, 2H, PhCH_2), 3.31 (t, J = 5.9 Hz, 2H, CH_2), 3.15 (t, J = 6.6 Hz, 2H, CH_2), 1.58 – 1.44 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$), 1.19 – 1.07 [s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$].

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 156.8, 136.9, 128.7, 128.2, 73.0, 66.7, 61.3, 41.2, 28.0, 27.7, 27.1.

Οξείδωση 2-υδροξυ-παραγώγων προς 2-οξο-παράγωγα

Σε διάλυμα του 2-υδροξυ-παραγώγου (1 mmol) σε ξηρό CH_2Cl_2 (10 mL) προστίθενται το αντιδραστήριο Dess-Martin (1.2 mmol) και το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση σε r.t. για 1 h. Το μίγμα της αντίδρασης μεταφέρεται σε διαχωριστική φιάλη όπου εκπλένεται με μίγμα ίσων όγκων διαλυμάτων 10% $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ και 10% NaHCO_3 (15 mL). Η οργανική στιβάδα απομονώνεται και η υδατική εκχυλίζεται εκ νέου με CH_2Cl_2 . Οι οργανικές φάσεις ενώνονται, ξηραίνονται με Na_2SO_4 και συμπυκνώνονται υπό κενό. Απομονώνεται το 2-οξο-παράγωγο έπειτα από χρωματογραφία στήλης με σύστημα P.E.-AcOEt ή P.E.-Et₂O σε διάφορες αναλογίες.

4-(2-(3-(4-Μεθοξυφαινυλοθειο)-2-οξοπροπαναμιδο)εξαναμιδο)βουτρικός (S)-tert-βουτυλεστέρας (57)



M.T. : $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$

M.B. : 508.67

Απόδοση: 22%, κίτρινωπό έλαιο. $[\alpha]_D^{25} = -1.6^\circ$ ($c=1$ σε CHCl_3)

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 7:3, R_f (7:3)=0.2

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.49 (d, J = 7.6 Hz, 1H, NH), 7.10 (d, J = 8.7 Hz, 2H, Ar), 6.82 (d, J = 8.7 Hz, 2H, Ar), 6.34 (s, 1H, NH), 4.43 - 4.20 (m, 1H, CH), 3.77 (s, 3H, OCH_3), 3.60 (s, 2H, SCH_2CO), 3.33 - 3.20 (m, 2H, CH_2NH), 2.90 – 2.62 (m, 4H, PhCH_2 , CH_2S), 2.26 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2CO), 1.90 – 1.68 (m, 2H, CH_2CH), 1.42 (m, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.34 - 1.21 (m, 6H, $3\times\text{CH}_2$), 0.87 (t, J = 6.7 Hz, 3H, CH_3).

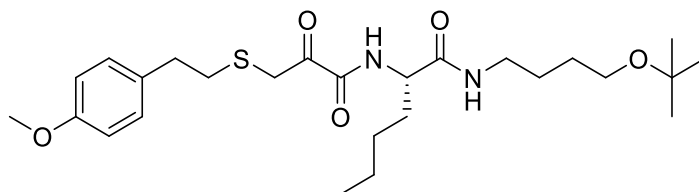
^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 189.1, 173.1, 170.6, 159.9, 158.4, 132.1, 129.7, 114.1, 81.0, 55.5, 53.8, 39.5, 34.7, 34.1, 34.0, 33.2, 32.4, 28.3, 27.8, 24.6, 22.6, 14.1.

HRMS $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ Exact Mass: 507.2534

$\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 507.2534, found 507.2510

$\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_6\text{SNa}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 531.2499, found 531.2503

(S)-N-(4-(*tert*-Βουτοξυ)βουτυλο)-2-(3-((4-μεθοξυφαινυλο)θειο)-2-οξοπροπαναμιδο)εξαναμίδιο (65)



M.T. : C₂₆H₄₂N₂O₅S

M.B. : 494.69

Απόδοση: 46%, κιτρινωπό έλαιο. $[\alpha]_D^{25} = -0.9^\circ$ (c=1 σε CHCl₃)

Σύστημα έκλυσης: P.E.-AcOEt 3:7, R_f (3:7)=0.55

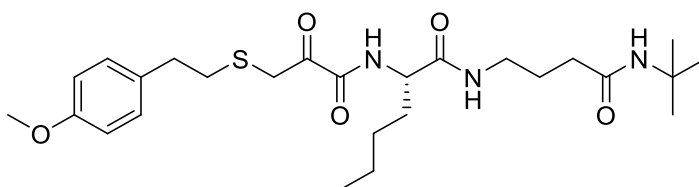
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.54 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, NH), 7.11 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, Ar), 6.83 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, Ar), 6.30 (s, 1H, NH), 4.41 – 4.19 (m, 1H, CH), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 3.60 (s, 2H, SCH₂CO), 3.35-3.19 (m, 6H, 3xCH₂), 2.76-2.66 (m, 4H, 2xCH₂), 1.95 – 1.48 (m, 6H, 3xCH₂), 1.37 – 1.20 (m, 4H, 2xCH₂), 1.18 [s, 9H, C(CH₃)₃], 0.87 (t, *J* = 6.6 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 188.9, 170.2, 159.6, 158.2, 131.8, 129.5, 113.8, 72.9, 61.0, 55.2, 53.6, 39.4, 34.4, 33.9, 33.7, 32.4, 27.5, 26.3, 22.4, 13.9.

HRMS C₂₆H₃₉N₂O₆S Exact Mass: 494.2814

C₂₆H₃₇N₂O₆S⁻ [M-H]⁻ 493.2742, found 493.2732

(S)-N-(4-(*tert*-Βουτυλαμινο)-4-οξοβουτυλο)-2-(3-(4-μεθοξυφαινυλοθειο)-2-οξοπροπαναμιδο)εξαναμίδιο (71)



M.T. : C₂₆H₄₁N₃O₅S

M.B. : 507.69

Απόδοση: 58%, υποκίτρινο έλαιο. $[\alpha]_D^{25} = -2.4^\circ$ (c=1 σε CHCl₃)

Σύστημα έκλυσης: Et₂O-AcOEt 4:6, R_f (4:6)=0.35

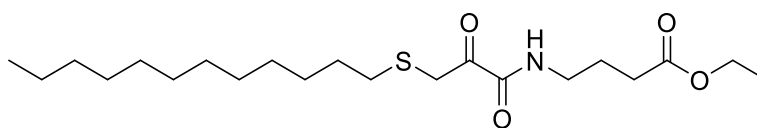
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.64 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, NH), 7.32 – 7.21 (m, 1H, NH), 7.08 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 6.79 (d, *J* = 9.1, 2.5 Hz, 2H, Ar), 5.91 (s, 1H, NH), 4.36 (q, *J* = 7.7 Hz, 1H, CH), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 3.59 (s, 2H, SCH₂CO), 3.30 – 3.16 (m, 2H, CH₂N), 2.84 – 2.59 (m, 4H, PhCH₂, CH₂S), 2.12 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH₂CO), 1.87 – 1.62 (m, 4H, 2xCH₂), 1.37 – 1.15 (m, 13H, C(CH₃)₃, 2xCH₂), 0.84 (t, *J* = 6.3 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 189.3, 172.5, 171.2, 160.0, 158.4, 132.1, 129.7, 114.1, 55.5, 53.9, 51.5, 39.3, 34.9, 34.7, 34.2, 33.9, 32.6, 28.9, 27.7, 25.4, 22.6, 14.1.

HRMS: C₂₆H₄₁N₃O₅S Exact Mass: 507.2767

C₂₆H₄₀N₃O₅S⁻ [M-H]⁻ 506.2694 found 506.2697

4-(3-(Δωδεκυλοθειο)-2-οξοπροπαναμιδο)βουτυρικός αιθυλεστέρας (77)



M.T. : C₂₁H₃₉NO₄S

M.B. : 401,60

Απόδοση: 17%, υποκίτρινο στερεό. Σ.Τ.= 40-45 °C

Σύστημα έκλυσης: P.E.- Et₂O 7:3, R_f (7:3)=0.13

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.18 (s, 1H, NH), 4.13 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH₂OCO), 3.62 (s, 2H, SCH₂CO), 3.38 (q, *J* = 6.7 Hz, 2H, NCH₂), 2.41 (m, 4H, CH₂S, CH₂COO), 1.97 – 1.81 (m, 2H, CH₂), 1.65 – 1.45 (m, 2H, CH₂), 1.39 – 1.10 (m, 21H, 9xCH₂, CH₃), 0.85 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 190.0, 173.2, 160.3, 60.9, 39.2, 34.2, 32.4, 32.1, 31.8, 29.9, 29.8, 29.7, 29.6, 29.4, 29.0, 29.0, 24.6, 22.9, 14.4, 14.4.

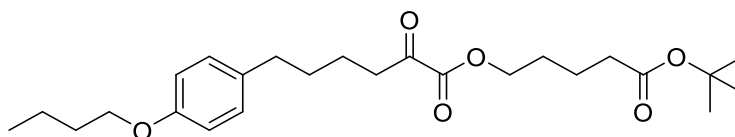
HRMS: C₂₁H₃₉NO₄S Exact Mass: 401.2600

C₂₁H₃₈NO₄S⁻ [M-H]⁻ 400.2527 found 400.2524

C₂₁H₄₀NO₄S⁺ [M+H]⁺ 402.2673 found 402.2680

C₂₁H₄₀NNaO₄S⁺ [M+Na]⁺ 424.2492 found 424.2502

5-(tert-Βουτοξυ)-5-οξοπέντυλο 6-(4-βουτοξυφαινυλο)-2-οξοεξανοϊκός εστέρας (89)



M.T. : C₂₅H₃₈O₆

M.B. : 434.57

Απόδοση: 75%, υποκίτρινο έλαιο.

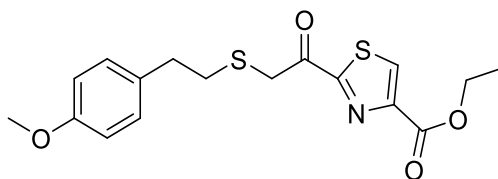
Σύστημα έκλυσης: P.E.- Et₂O 7:3, R_f (7:3)= 0.35

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 7.05 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 6.79 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 4.23 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H, CH₂OCOCO), 3.91 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH₂O), 2.83 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH₂COCO), 2.55 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, PhCH₂), 2.25 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH₂COO), 1.82-1.23 [m, 21H, 6xCH₂, C(CH₃)₃], 0.95 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, CH₃)

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 194.6, 172.7, 161.4, 157.5, 134.0, 129.4, 114.5, 80.6, 67.8, 66.1, 39.4, 35.0, 34.9, 31.6, 31.1, 28.3, 28.0, 22.7, 21.6, 19.5, 14.1.

MS (ESI) *m/z* (%): 452 ([M + NH₄]⁺, 100).

2-(2-(4-Μεθοξυφαινυλοθειο)ακετυλο)θειαζολυλο-4-καρβοξυλικός αιθυλεστέρας (117)



M.T. : C₁₇H₁₉NO₄S₂

M.B. : 365.46

Απόδοση: 42%, υποκίτρινο έλαιο.

Σύστημα έκλυσης: P.E.-AcOEt 7:3, R_f (7:3)=0.4

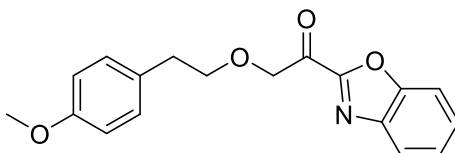
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.44 (s, 1H, CH), 7.13 (d, J = 8.7 Hz, 2H, Ar), 6.82 (d, J = 8.7 Hz, 2H, Ar), 4.44 (q, J = 7.1 Hz, 2H, CH₂OCO), 4.01 (s, 2H, CH₂CO), 3.78 (s, 3H, CH₃), 2.85 (s, 4H, PhCH₂, CH₂S), 1.41 (t, J = 7.1 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 187.3, 177.4, 166.2, 158.2, 133.6, 132.0, 129.51, 113.0, 111.8, 61.9, 55.2, 36.1, 34.7, 34.1, 14.3.

HRMS: C₁₇H₁₉NO₄S₂ Exact Mass: 365.0755

C₁₇H₁₉NNaO₄S₂⁺ [M+Na]⁺ 388.0648 found 388.0637

1-(Βενζο[d]οξαζολ-2-υλο)-2-(4-μεθοξυφαιναιθοξυ)αιθανόνη (128)



M.T. : C₁₈H₁₇NO₄

M.B. : 311.34

Απόδοση: 35%, υποκίτρινο στερεό χαμηλού σημείου τήξεως.

Σύστημα έκλυσης: P.E.-AcOEt 7:3, R_f (7:3)=0.45

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.89 (d, J = 6.6 Hz, 1H, Ar), 7.68 (d, J = 6.8 Hz, 1H, Ar), 7.61 – 7.54 (m, 1H, Ar), 7.49 (dd, J = 14.3, 7.0 Hz, 1H, Ar), 7.21 (d, J = 8.4 Hz, 2H, Ar), 6.85 (t, J = 7.4 Hz, 2H, Ar), 5.03 (s, 2H, CH₂CO), 3.86 (t, J = 6.4 Hz, 2H, CH₂O), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 2.96 (t, J = 7.0 Hz, 2H, PhCH₂).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 186.1, 158.1, 155.3, 150.4, 140.1, 130.2, 129.7, 128.7, 125.8, 122.2, 113.8, 111.9, 73.5, 73.1, 55.1, 35.1.

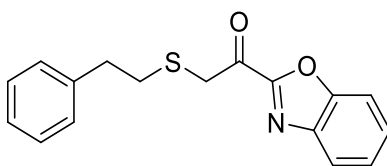
HRMS: C₁₈H₁₇NO₄ Exact Mass: 311.1158

[M+H]⁺ 312.1230 found 312.1230

[M+Na]⁺ 334.1050 found 334.1051

[M+MeOH+Na]⁺ 366.1312 found 366.1311

1-(Βενζο[d]οξαζολ-2-υλο)-2-(φαιναιθυλοθειο)αιθανόνη (133)



M.T. : C₁₇H₁₅NO₂S

M.B. : 297.37

Απόδοση: 54%, κίτρινο στερεό. Σ.Τ.= 58-60 °C

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 7:3, R_f (7:3)=0.62

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.92 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, Ar), 7.69 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, Ar), 7.57 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H, Ar), 7.49 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H, Ar), 7.37 – 7.27 (m, 2H, Ar), 7.26 – 7.22 (m, 4H, Ar), 3.99 (s, 2H, CH₂CO), 3.01 – 2.87 (m, 4H, PhCH₂, CH₂S).

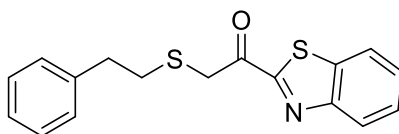
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 182.8, 156.7, 151.0, 140.5, 139.8, 128.6, 128.5, 128.5, 126.5, 125.8, 122.3, 111.9, 36.9, 35.4, 33.7.

HRMS: C₁₇H₁₅NO₂S Exact Mass: 297.0823

C₁₇H₁₆NO₂S⁺ [M+H]⁺ 298.0896 found 298.0895

C₁₇H₁₅N Na O₂S⁺ [M+Na]⁺ 320.0716 found 320.0716

1-(Βενζο[d]θειαζολ-2-υλο)-2-(φαιναιθυλοθειο)αιθανόνη (136)



M.T. : C₁₇H₁₅NOS₂

M.B. : 313.43

Απόδοση: 86%, πορτοκαλί στερεό. Σ.Τ.=63-65°C

Σύστημα έκλουσης: P.E.-Et₂O 8:2, R_f (8:2)=0.43

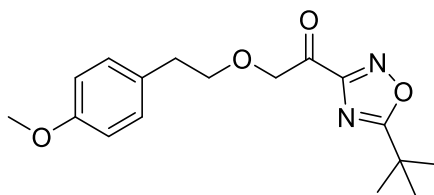
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.22 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, Ar), 8.00 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, Ar), 7.61 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H, Ar), 7.56 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, Ar), 7.36 – 7.31 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H, Ar), 7.28 – 7.24 (m, 2H, Ar), 4.11 (s, 2H, CH₂CO), 2.97 (m, 4H, PhCH₂, CH₂S).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 188.7, 165.2, 153.3, 139.9, 137.5, 128.5, 128.4, 127.7, 127.0, 126.3, 125.5, 122.3, 36.0, 35.6, 33.7.

HRMS: C₁₇H₁₅NOS₂ Exact Mass: 313.0595

C₁₇H₁₅N Na OS₂⁺ [M+Na]⁺ 336.0487, found 336.0484

**1-(5-(*tert*-Βουτυλο)-1,2,4-οξαδιαζολ-3-υλο)-2-(4-μεθοξυφαινοξυ)αιθανόνη
(125)**



M.T. : C₁₇H₂₂N₂O₄

M.B. : 318.37

Απόδοση: 30%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-Et₂O 7:3, R_f (7:3)=0.25

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.17 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, Ar), 6.84 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, Ar), 4.81 (s, 2H, CH₂CO), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 3.54 – 3.40 (m, 2H, PhCH₂), 2.94 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH₂O), 1.48 [s, 9H, C(CH₃)₃].

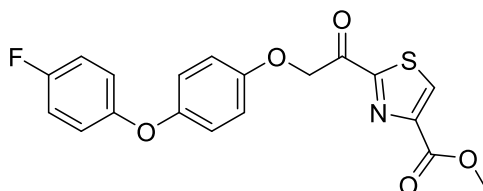
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 188.3, 158.1, 156.0, 155.0, 154.7, 130.7, 130.2, 129.8, 113.8, 113.7, 74.3, 73.2, 55.2, 35.2, 29.7, 28.3, 15.3, 14.1.

HRMS: C₁₇H₂₂N₂O₄ Exact Mass: 318.1580

C₁₇H₂₃N₂O₄⁺ [M+H]⁺ 319.1652, found 319.1656

C₁₇H₂₂N₂NaO₄⁺ [M+Na]⁺ 341.1472, found 341.1476

**2-(2-(4-(4-Φθοροφαινοξυ)φαινοξυ)ακετυλο)θειαζολυλο-4-καρβοξυλικός
μεθυλεστέρας (144)**



M.T. : C₁₉H₁₄FNO₅S

M.B. : 387.38

Απόδοση: 43% , Σ.Τ.= 77-79 °C.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.52 (s, 1H, Ar), 7.03 – 6.88 (m, 8H, Ar), 5.58 (s, 2H, CH₂CO), 4.00 (s, 3H, OCH₃).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 187.5, 164.4, 161.0, 158.5 (*J*= 478.8 Hz), 153.9, 153.8, 150.2 (*J*=386.25 Hz), 133.7, 120.0, 119.556, 119.4, 116.3, 116.0, 70.8.3, 52.8.

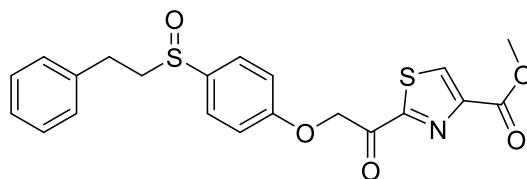
¹⁹F NMR (188 MHz, CDCl₃) δ -121.4.

HRMS: C₁₉H₁₄FNO₅S Exact Mass: 387.0577

C₁₉H₁₅FNO₅S⁺ [M+H]⁺ 388.0649 found 388.0650

C₁₉H₁₄FNNaO₅S⁺ [M+Na]⁺ 410.0469 found 410.0471

2-(2-(4-(Φαιλαιθυλοσουλφοξειδυλο)φαινοξυ)ακετυλο)θειαζολυλο-4-καρβοξυλικός μεθυλεστερας (153)



M.T. : C₂₁H₁₉NO₅S₂

M.B. : 429.50

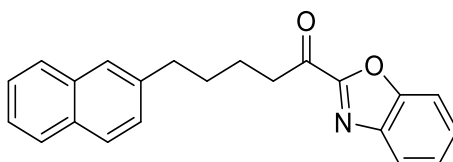
Απόδοση: 20% , λευκό στερεό. Σ.Τ.= 82-84 °C

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.55 (s, 1H, Ar), 7.88 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, Ar), 7.26-7.19 (m, 3H, Ar), 7.14 – 7.09 (m, 4H, Ar), 5.69 (s, 2H, CH₂O), 4.02 (s, 3H, OCH₃), 3.48 – 3.24 (m, 2H, CH₂SO), 3.13 – 2.94 (m, 2H, PhCH₂).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 186.3, 163.9, 161.8, 148.8, 137.5, 133.9, 131.8, 130.4, 128.8, 128.3, 126.9, 115.4, 70.0, 57.8, 52.9, 28.8.

C₂₁H₁₉NO₅S₂ Exact Mass: 429.0705

1-(Βενζο[d]οξαζολ-2-υλ)-5-(ναφθαλιν-2-υλο)πενταν-1-ονη (188)



M.T. : C₂₂H₁₉NO₂

M.B. : 329.40

Απόδοση: 96%, Λευκό στερεό, Σ.Τ.=77-82 °C.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f(8:2)=056

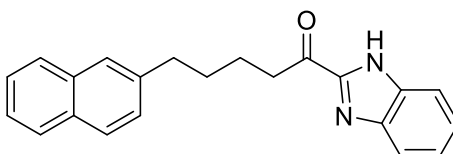
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.99 – 7.23 (m, 11H, Ar), 3.27 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH₂CO), 2.85 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, PhCH₂), 2.02 – 1.72 (m, 4H, 2xCH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 190.0, 157.1, 150.6, 140.4, 139.4, 133.5, 131.9, 128.45, 127.8, 127.5, 127.3, 127.2, 126.4, 125.8, 125.7, 125.0, 122.2, 111.9, 39.2, 35.7, 30.6, 23.4.

HRMS: C₂₂H₁₉NO₂ Exact Mass: 329,1416

C₂₂H₂₀NO₂⁺ [M+H]⁺ 330.1489, found 330.1499

1-(1H-Βενζο[d]ιμιδαζολ-2-υλο)-5-(ναφθαλιν-2-υλο)πενταν-1-όνη (190)



M.T. : C₂₂H₂₀N₂O

M.B. : 328.42

Απόδοση: 45%, λευκό στερεό. Σ.Τ.=127-132 °C

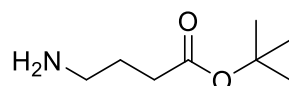
Σύστημα έκλουσης: P.E.-Et₂O-CH₂Cl₂ 7:2:1, R_f(:)=1.25

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 10.19 (s, 1H, NH), 7.99 – 7.28 (m, 11H, Ar), 3.35 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, CH_2CO), 2.85 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, PhCH_2), 1.90 – 1.76 (m, 4H, $2 \times \text{CH}_2$).
 ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 194.2, 147.4, 143.4, 139.6, 133.6, 133.4, 131.9, 127.8, 127.6, 127.4, 127.3, 126.5, 126.4, 125.8, 125.1, 123.8, 122.0, 112.1, 38.0, 35.8, 30.8, 23.6.

Γενική μέθοδος υδρογόνωσης

Η αρχική ένωση (ακόρεστο ή *Z*-προστατευμένο παράγωγο) (1 mmol) διαλύεται σε μεθανόλη ή αιθανόλη (10 mL). Το σύστημα απασφώνεται με κενό και Ar κι έπειτα προστίθεται καταλυτική ποσότητα (10%), 10% Pd σε ενεργό άνθρακα. Τέλος διοχετεύεται H_2 και το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση για 2 h. Το προϊόν απομονώνεται καθαρό έπειτα από διήθηση του μίγματος της αντίδρασης από celite και συμπύκνωση του διηθήματος υπό κενό.

tert-Βουτυλεστέρας του 4-αμινο βουτυρικού οξέος (53)²²⁸



M.T. : $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{NO}_2$

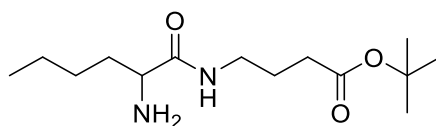
M.B. : 159.23

Απόδοση: 99%, Άχρωμο έλαιο.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 2.59 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H, CH_2N), 2.15 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, CH_2CO), 1.70 – 1.51 (m, 2H, CH_2), 1.32 [s, 4H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1.24 (s, 2H, NH_2).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 172.7, 79.9, 41.3, 32.7, 28.8, 27.8.

tert-Βουτυλεστέρας του 4-(2-αμινοεξαναμιδο)βουτυρικού οξέος (55)⁸⁴



M.T. : $\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_3$

M.B. : 272.39

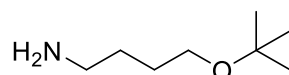
Απόδοση: 98%, Υποκίτρινο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης P.E.-AcOEt 6:4. Rf (6:4)=0.48

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 8.34 (d, $J = 16.3$ Hz, 3H, NH_2 , NH), 4.33 – 4.15 (s, 1H, CH), 3.37 – 3.18 (s, 2H, CH_2N), 2.29 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, CH_2CO), 2.06 – 1.72 (m, 4H, $2 \times \text{CH}_2$), 1.53-1.24 (m, 13H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$, $2 \times \text{CH}_2$), 0.88 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 172.8, 169.0, 80.5, 38.9, 32.7, 31.2, 27.9, 26.7, 24.5, 22.2, 13.7.

4-*tert*-Βουτοξυβουτυλ-1-αμίνη (61)



M.T. : C₈H₁₉NO

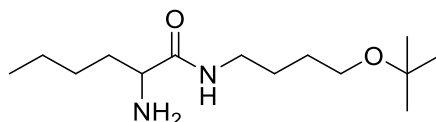
M.B. : 145.25

Απόδοση: 96%, κιτρινωπό έλαιο.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.17 (bs, 2H, NH₂), 3.31 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H, CH₂OH), 2.96 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH₂N), 1.86 – 1.69 (m, 2H, CH₂), 1.60-1.52 (m, 2H, CH₂), 1.10 [s, 9H, C(CH₃)₃]

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 73.2, 60.7, 39.7, 27.5, 27.3, 24.7.

2-Αμινο-N-(4-*tert*-βουτοξυβουτυλο)εξαναμίδιο (63)



M.T. : C₁₄H₃₀N₂O₂

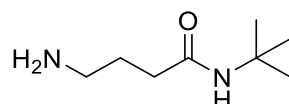
M.B. : 258.41

Απόδοση: 89%, κιτρινωπό έλαιο.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.29 (s, 1H, NH), 3.37 – 3.10 (m, 5H, CH, CH₂N, CH₂O), 1.70 (s, 2H, NH₂), 1.57 – 1.21 (m, 10H, 5xCH₂), 1.13 [s, 9H, C(CH₃)₃], 0.85 (t, *J* = 5.9 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 175.0, 72.5, 60.9, 55.2, 38.7, 34.8, 27.89, 27.8, 27.4, 26.4, 22.4, 13.9.

4-Αμινο-N-(*tert*-βουτυλο)βουτυλαμίδιο (67)



M.T. : C₈H₁₈N₂O

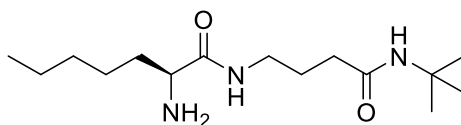
M.B. : 158.25

Απόδοση: 95%, άχρωμο έλαιο.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 6.28 (s, 1H, NH), 2.82 – 2.64 (s, 2H, CH₂N), 2.63 – 2.44 (s, 2H, CH₂CO), 2.10 – 1.89 (m, 2H, CH₂), 1.64 – 1.51 (m, 2H, NH₂), 1.15 [s, 9H, C(CH₃)₃].

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 172.1, 50.5, 40.7, 34.2, 28.5, 28.3.

(S)-2-Αμινο-N-(4-(tert-βουτλαμινο)-4-οξοβουτυλ)εξαναμίδιο (69)



M.T. : C₁₅H₃₁N₃O₂

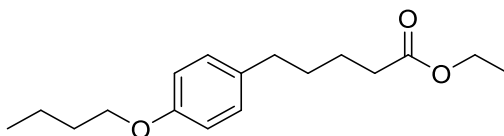
M.B. : 285.43

Απόδοση: 90%, άχρωμο σιρόπι.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.85 (s, 1H, NH), 6.94 (s, 1H, NH), 4.16 (s, 1H, CH), 3.65 - 3.14 (m, 2H, CH₂N), 2.40 - 2.14 (s, 2H, CH₂CO), 2.00-1.68 (m, 4H, 2xCH₂), 1.58 - 1.00 (m, 15H, C(CH₃)₃, 3xCH₂), 0.86 (t, *J* = 6.4 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 173.1, 169.2, 53.7, 51.2, 38.6, 34.3, 31.1, 28.5, 26.8, 25.7, 22.3, 13.7.

5-(4-Βουτοξυφαινυλο)πεντανικός αιθυλεστέρας (81)



M.T. : C₁₇H₂₆O₃

M.B. : 278.39

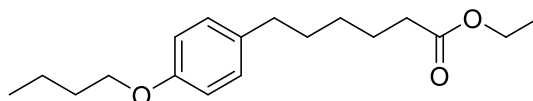
Απόδοση: 99%, άχρωμο έλαιο.

P.E.-AcOEt 9:1, R_f (9:1)=0.43

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 7.07 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 6.81 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 4.12 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂OCO), 3.92 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H, CH₂O), 2.56 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, PhCH₂), 2.31 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂CO), 1.84-1.70 (m, 2H, CH₂), 1.69-1.56 (m, 4H, CH₂), 1.56-1.38 (m, 2H, CH₂), 1.24 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₃CH₂O), 0.97 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, CH₃)

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 173.8, 157.5, 134.2, 129.4, 114.5, 67.8, 60.4, 34.9, 34.4, 31.7, 31.4, 24.8, 19.5, 14.5, 14.1;

6-(4-Βουτοξυφαινυλο)εξανοϊκός αιθυλεστέρας (101)



M.T. : C₁₈H₂₈O₃

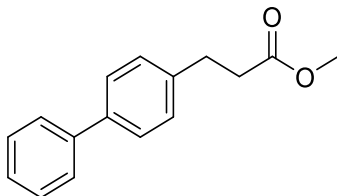
M.B. : 292.42

Απόδοση: 99%, άχρωμο έλαιο.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 7.08-6.94 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, Ar), 6.85-6.67 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 4.43-4.10 (m, 2H, CH₂OCO), 3.87 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH₂O), 2.64-2.39 (m, 2H, PhCH₂), 2.33-2.18 (m, 2H, CH₂CO), 1.86-1.30 (m, 10H, 5xCH₂), 1.22 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, CH₃CH₂O), 0.94 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, CH₃)

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 173.5, 157.0, 134.1, 129.0, 114.3, 67.3, 59.9, 34.6, 34.0, 31.3, 29.6, 28.4, 24.6, 19.1, 14.0, 13.7.

3-([1,1'-Διφαινυλο]-4-υλο)προπανοϊκός μεθυλεστέρας (173)



M.T. : $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_2$

M.B. : 240.30

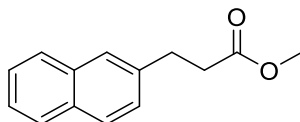
Απόδοση: 95%, λευκό στερεό. Σ.Τ.= 58-60 °C, Σ.Τ._{βλβλ}= 57.5 - 58.3 °C ²²⁹

Σύστημα έκλυσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f (8:2)=0.57

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.69 – 7.26 (m, 9H, Ar), 3.73 (s, 3H, CH_3), 3.06 (t, J = 7.8 Hz, 2H, CH_2CO), 2.72 (dd, J = 8.2, 7.2 Hz, 2H, PhCH_2).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 173.1, 140.7, 139.4, 139.0, 128.5, 128.5, 127.0, 126.9, 126.8, 60.2, 51.4, 35.4, 30.3, 20.8, 14.0.

3-(Ναφθαλενυλ-2-υλο)προπανοϊκός μεθυλεστέρας (167) ²³⁰



M.T. : $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_2$

M.B. : 214.26

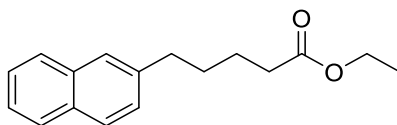
Απόδοση: 98%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλυσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f (8:2)=0.62

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.93 – 7.32 (m, 7H, Ar), 3.72 (s, 3H, CH_3), 3.17 (t, J = 7.8 Hz, 2H, CH_2CO), 2.77 (t, J = 7.7 Hz, 2H, Ph CH_2).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 173.0, 137.7, 133.3, 131.9, 127.9, 127.4, 127.3, 127.2, 126.7, 126.6, 126.2, 125.8, 125.1, 51.4, 35.3, 30.8.

5-(Ναφθαλενυλο-2-υλο)πεντανοϊκός αιθυλεστέρας (178) ²³¹



M.T. : $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_2$

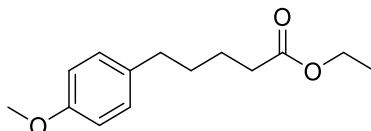
M.B. : 256.34

Απόδοση: 99%, υποκίτρινο έλαιο.

Σύστημα έκλυσης: P.E.-AcOEt 9:1, R_f (9:1)=0.67

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.90 – 7.21 (m, 7H, Ar), 4.21 – 4.00 (m, 2H, CH_2OCO), 2.80 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, PhCH_2), 2.35 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H, CH_2CO), 1.86 – 1.60 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$), 1.25 (t, $J = 6.4$ Hz, 3H, CH_3)
 ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 173.0, 139.2, 133.3, 131.7, 127.5, 127.2, 127.0, 126.9, 126.0, 125.5, 124.7, 59.7, 35.3, 33.7, 30.3, 24.2, 13.9.

5-(4-Μεθοξυφαινυλο)πεντανοϊκός αιθυλεστερες (183) ⁶⁶



M.T. : $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_3$

M.B. : 236.31

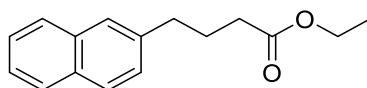
Απόδοση: 99%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f (8:2)=0.52

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.08 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, Ar), 6.81 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, Ar), 4.11 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2OCO), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 2.56 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H, PhCH_2), 2.31 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, CH_2CO), 1.63 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$), 1.24 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 173.2, 157.5, 133.8, 128.9, 113.4, 59.8, 54.8, 34.3, 33.8, 30.9, 24.2, 13.9.

4-(Ναφθαλιν-2-υλο)βουτανοϊκός αιθυλεστερας (199)



M.T. : $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_2$

M.B. : 242.32

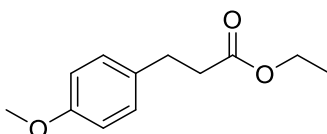
Απόδοση: 98%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 7:3, R_f (7:3)= 0.63

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.89-7.37 (m, 7H, Ar), 4.20 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2OCO), 2.92 – 2.82 (m, 2H, PhCH_2), 2.41 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, CH_2CO), 2.21 – 2.00 (m, 2H, CH_2), 1.31 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 173.24, 138.72, 133.40, 131.88, 127.78, 127.41, 127.24, 127.04, 126.40, 125.73, 125.01, 60.05, 35.04, 33.40, 26.19, 14.06.

3-(4-Μεθοξυφαινυλο)προπανοϊκός αιθυλεστέρας (213) ²³²



M.T. : C₁₂H₁₆O₃

M.B. : 208.25

Απόδοση: 95%, αχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f (8:2)=0.54

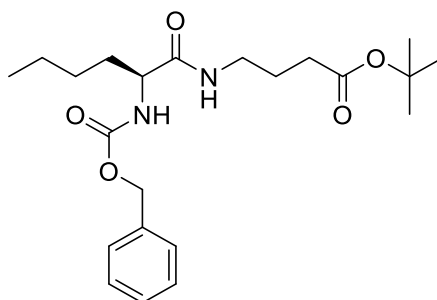
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.11 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 6.82 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 4.11 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂OCO), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 2.89 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, PhCH₂), 2.57 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H, CH₂), 1.22 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 172.7, 157.8, 132.4, 129.0, 113.6, 60.1, 54.9, 36.0, 29.9, 14.0.

Γενική μέθοδος σύνθεσης αμιδίων

Σφαιρική φιάλη που περιέχει το οξύ (1.00 mmol) διαλυμένο σε ξηρό CH₂Cl₂ (10 mL) και Et₃N (0.1 mL) ψύχεται στους 0 °C. Στο διάλυμα προστίθενται HOBt (1.00 mmol, 135.13 mg), αμίνη (1.2 mmol) και WSCI·HCl (1.2 mmol, 230 mg). Το μίγμα της αντίδρασης παραμένει στους 0 °C για 1 h και στη συνέχεια σε r.t. για μια νύχτα. Το μίγμα της αντίδρασης συμπυκνώνεται υπό κενό, διαλύεται σε AcOEt και κατόπιν μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη όπου εκχυλίζεται διαδοχικά με H₂O, 1N HCl, H₂O, 5% NaHCO₃ και κορεσμένο διάλυμα NaCl. Το προϊόν απομονώνεται έπειτα από χρωματογραφία στήλης σε κατάλληλο σύστημα διαλυτών.

tert-Βουτυλεστέρας του (*S*)-4-(2-(((βενζυλοξυ)καρβονυλ)αμινο)εξαναμιδο)βουτυρικού οξέος (54)



M.T. : C₂₂H₃₄N₂O₅

M.B. : 406.52

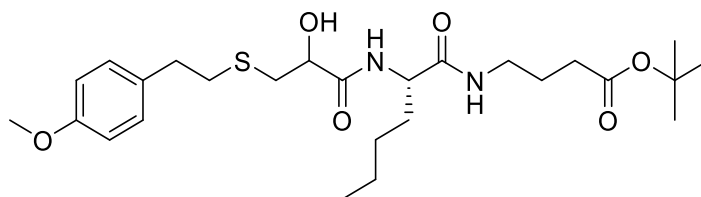
Απόδοση: 72%, ημιδιαφανές κολλώδες έλαιο. [α]_D²⁵ = -3.4 ° (c=1 σε MeOH)

Σύστημα έκλουσης P.E.-AcOEt 2:8. R_f (2:8)=0.6

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.33 (s, 5H, Ar), 6.45 (bs, 1H, NH), 5.43 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, NH), 5.09 (s, 2H, PhCH_2), 4.11 (q, $J = 7.1$ Hz, 1H, CH), 3.35 – 3.16 (m, 2H, CH_2N), 2.25 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, CH_2CO), 1.78 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$), 1.43 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.39 – 1.17 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$), 0.93 – 0.80 (m, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 172.6, 171.8, 156.1, 136.1, 128.4, 128.1, 127.9, 80.5, 66.9, 55.0, 38.9, 32.8, 32.5, 28.0, 27.5, 24.5, 22.3, 13.8.

***tert*-Βουτυλεστέρας του 4-((2*S*)-2-(2-υδροξυ-3-(4-μεθοξυφαινυλοθειο)προπαναμιδο)εξαναμιδο)βουτυρικού οξέος (56)**



M.T. : $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$

M.B. : 510.28

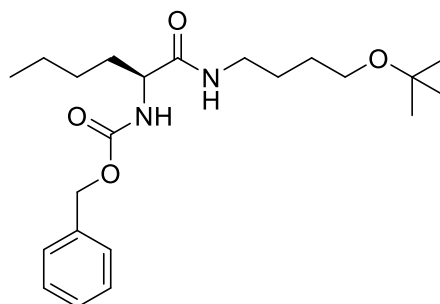
Απόδοση: 30%, κιτρινωπό έλαιο. $[\alpha]_D^{25} = -2.9^\circ$ ($c=1$ σε MeOH)

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 3:7, Rf (3:7)= 0.55

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.30 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, NH), 7.09 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, Ar), 6.86 – 6.76 (m, 2H, Ar), 6.70 (t, $J = 5.5$ Hz, 1H, NH), 4.33 (q, $J = 7.8$ Hz, 1H, CH), 4.20 (q, $J = 4.1$ Hz, 1H, CH), 3.77 (s, 3H, OCH_3), 3.23 (m, 2H, CH_2N), 3.03 (m, 3.9 Hz, 1H, SCHHCH), 2.85 (m, 1H, SCHHCH), 2.82 – 2.73 (m, 4H, PhCH_2 , CH_2S), 2.24 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, CH_2CO), 1.92 – 1.53 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$), 1.42 [s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1.28 (d, $J = 7.3$ Hz, 4H, $2\times\text{CH}_2$), 0.85 (t, $J = 6.4$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 172.8, 172.4, 171.5, 158.1, 132.1, 129.4, 113.8, 80.7, 70.3, 55.2, 53.0, 39.0, 36.9, 35.1, 34.0, 32.9, 32.0, 28.0, 27.6, 24.5, 22.3, 13.9.

(*S*)-1-(4-*tert*-Βουτοξυβουτυλαμινο)-1-οξοεξανο-2-υλοκαρβαμιδικός βενζυλεστέρας (62)



M.T. : $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_4$

M.B. : 392.54

Απόδοση: 82%, λευκό στερεό χαμηλού σημείου τήξεως.

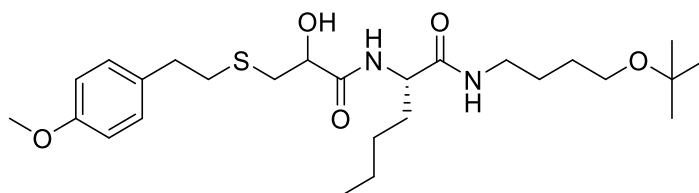
$[\alpha]_D^{25} = -13.4^\circ$ (c=1 σε MeOH)

Σύστημα έκλυσης: P.E.-AcOEt 5:5, R_f (5:5)= 0.55

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.34 – 7.15 (m, 5H, Ar), 6.70 (s, 1H, NH), 5.74 (d, J = 8.2 Hz, 1H, NH), 5.10 – 4.94 (m, 2H, PhCH₂), 4.13 – 4.08 (m, 1H, CH), 3.28 – 3.16 (m, 8.6 Hz, 4H, CH₂N, CH₂O), 1.88 - 1.60 (m, 2H, CH₂) 1.57 – 1.37 (m, 4H, 2xCH₂), 1.29 – 1.19 (m, 4H, 2xCH₂), 1.11 [s, 9H, C(CH₃)₃], 0.84 (t, J = 6.1 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 171.7, 156.0, 136.1, 128.3, 127.9, 127.8, 72.5, 66.6, 60.8, 54.9, 39.1, 32.6, 27.6, 27.4, 26.2, 22.3, 13.8.

(2S)-N-(4-(tert-βουτοξυ)βουτυλ)-2-((4-μεθοξυφαινυλο)θειο)προπαναμιδο)εξαναμίδιο (64)



M.T. : C₂₆H₄₄N₂O₅S

M.B. : 496.71

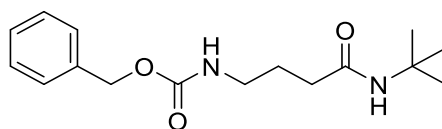
Απόδοση: 35%, κιτρινωπό έλαιο. $[\alpha]_D^{25} = -6.1^\circ$ (c=1 σε MeOH)

Σύστημα έκλυσης: P.E.-AcOEt 3:7, R_f (3:7)=0.45.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.37 (d, J = 8.4 Hz, 1H, NH), 7.08 (d, J = 8.7 Hz, 2H, Ar), 6.80 (d, J = 8.7 Hz, 2H, Ar), 6.73 (d, J = 5.7 Hz, 1H, NH), 4.39 – 4.15 (m, 3H, CHOH, CH, OH), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 3.33 – 2.71 (m, 10H, 5xCH₂), 1.92 – 1.42 (m, 6H, 3xCH₂), 1.32 – 1.20 (m, 4H, 2xCH₂), 1.15 [s, 9H, C(CH₃)₃], 0.86 (t, J = 6.4 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 172.2, 171.2, 158.0, 132.0, 129.3, 113.8, 72.7, 70.2, 60.9, 55.1, 53.0, 39.2, 36.9, 35.1, 33.9, 32.0, 27.6, 27.4, 26.2, 22.3, 13.8.

(4-(tert-Βουτυλαμινο)-4-οξοβουτυλο)καρβαμιδικός βενζυλεστέρας (66)



M.T. : C₁₆H₂₄N₂O₃

M.B. : 292.38

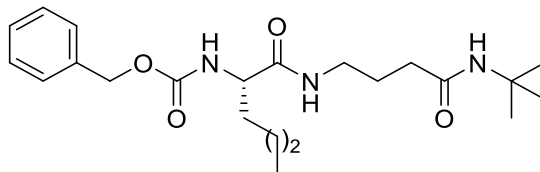
Απόδοση: 83%, λευκό στερεό, Σ.Τ.= 99-103 °C

Σύστημα έκλυσης: P.E.-AcOEt 6:4, R_f (6:4)= 0.6

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.32 (s, 5H), 5.76 (s, 1H, NH), 5.27 (s, 1H, NH), 5.07 (s, 1H, PhCH₂), 3.29 – 3.11 (m, 2H, CH₂NH), 2.11 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 1.87 – 1.67 (m, 2H, CH₂), 1.31 [s, 9H, C(CH₃)₃].

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 171.9, 156.7, 136.5, 128.4, 128.0, 66.5, 51.1, 40.3, 34.5, 28.7, 25.9.

(S)-1-((4-(tert-Βουτυλαμινο)-4-οξοβουτυλ)αμινο)-1-οξοπεντανο-2-υλο)καρβαμιδικός βενζυλεστέρας (68)



M.T. : C₂₃H₃₇N₃O₄

M.B. : 419.57

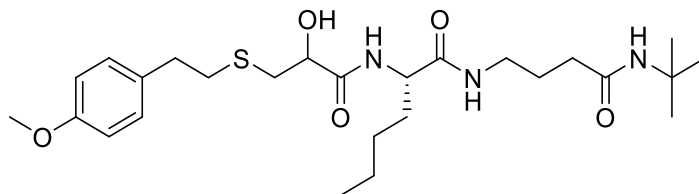
Απόδοση: 77%, λευκό στερεό. Σ.Τ.= 109-111 °C [α]_D²⁵ = -12.5 ° (c=1 σε MeOH)

Σύστημα έκλουσης: CHCl₃-MeOH 9:1, R_f (9:1)=0.38

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.29 (s, 5H, Ar), 7.20 (s, 1H, NH), 6.07 (s, 1H, NH), 5.79 (d, J = 7.9 Hz, 1H, NH), 5.05 (s, 2H, CH₂), 4.19 – 4.07 (m, 1H, CH), 3.29 – 3.15 (m, 2H, CH₂N), 2.15 – 1.98 (m, 2H, CH₂), 1.86 – 1.65 (s, 2H, CH₂), 1.58 – 1.41 (m, 2H, CH₂), 1.30 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.20 – 1.03 (m, 4H, 2xCH₂), 0.85 (t, J = 5.8 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 172.4, 172.1, 156.2, 136.2, 128.4, 128.1, 127.9, 66.8, 51.1, 41.3, 28.6, 27.6, 25.5, 22.5, 22.3, 20.4, 14.2.

(2S)-N-(4-(tert-Βουτυλαμινο)-4-οξοβουτυλο)-2-(2-υδροξυ-3-(4-μεθοξυφαινυλοθειο)προπαναμιδο)εξαναμίδιο (70)



M.T. : C₂₆H₄₃N₃O₅S

M.B. : 509.71

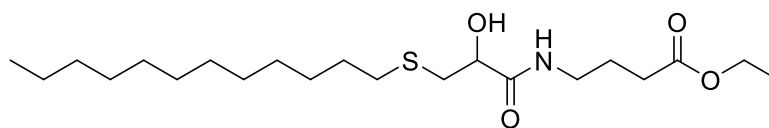
Απόδοση: 73%, υποκίτρινο έλαιο. [α]_D²⁵ = -8.2 ° (c=1 σε MeOH)

Σύστημα έκλουσης: AcOEt-MeOH 9:1, R_f (9:1)=0.6

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.60 – 7.28 (m, 2H, 2xNH), 7.03 (d, J = 6.7 Hz, 2H, Ar), 6.74 (d, J = 6.7 Hz, 2H, Ar), 6.31 (s, 1H, NH), 5.00 (bs, 1H, OH), 4.39 – 4.19 (m, 2H, 2xCH), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.25 – 3.06 (s, 2H, CH₂N), 2.99 – 2.80 (m, 2H, PhCH₂), 2.75 – 2.66 (m, 4H, CH₂S), 2.14 – 2.00 (m, 2H, CH₂), 1.83 – 1.52 (m, 4H, 2xCH₂), 1.24 [s, 9H, C(CH₃)₃], 1.22 – 1.12 (m, 4H, 2xCH₂), 0.80 (s, 3H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 173.3, 173.0, 172.7, 172.3, 172.1, 171.5, 158.3, 132.56, 132.4, 129.6, 114.0, 60.6, 55.4, 51.4, 35.5, 34.6, 28.9, 27.9, 22.5, 21.3, 14.4, 14.1.

4-(3-(Δωδεκυλθειο)-2-υδροξυπροπαναμιδο)βουτυρικός αιθυλεστέρας (76)



M.T. : C₂₁H₄₁NO₄S

M.B. : 403,62

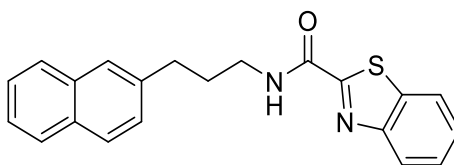
Απόδοση: 92%, άχρωμο έλαιο.

Απομονώθηκε καθαρό από τις εκχυλίσεις. AcOEt-MeOH 8:2 + 0,5 mL οξικό οξύ
R_f=0.7

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.10 (s, 1H, NH), 5.46 (bs, 1H, OH), 4.10 – 3.98 (m, 3H, CH, CH₂OCO), 3.23 (q, *J* = 12.7, 6.3 Hz, 2H, CH₂N), 2.97 (dd, *J* = 14.0, 3.6 Hz, 1H, SCHHCH), 2.67 (dd, *J* = 14.0, 7.7 Hz, 1H, SCHHCH), 2.43 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH₂S), 2.27 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH₂), 1.84 – 1.68 (m, 2H, CH₂), 1.56 – 1.34 (m, 2H, CH₂), 1.24 – 1.06 (m, 21H, 9xCH₂, CH₃), 0.77 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 173.1, 172.6, 69.7, 60.4, 38.3, 37.0, 31.9, 31.7, 31.4, 29.4, 29.2, 29.1, 28.7, 24.4, 22.5, 14.0.

N-(3-(Ναφθαλιν-2-υλο)προπυλο)βενζο[d]θειαζολυλο-2-καρβοξαμίδιο (197)



M.T. : C₂₁H₁₈N₂OS

M.B. : 346.44

Απόδοση: 20%, λευκό στερεό Σ.Τ.= 48-50 °C

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 85:15, R_f (7:3)=0.32

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.11 – 7.30 (m, 12H, Ar, NH), 3.59 (q, *J* = 6.0 Hz, 2H, CH₂N), 2.93 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H, PhCH₂), 2.23 – 1.98 (m, 2H, CH₂).

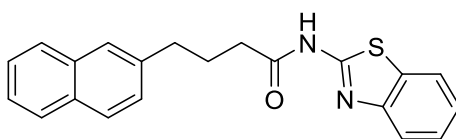
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 163.9, 159.9, 152.8, 138.6, 137.1, 133.6, 128.1, 127.6, 127.4, 127.0, 126.7, 126.6, 126.5, 126.0, 125.2, 124.2, 122.4, 39.5, 33.4, 30.9.

HRMS C₂₁H₁₈N₂OS Exact Mass: 346.1140

C₂₁H₁₉N₂OS⁺ [M+H]⁺ 347.1213, found 347.1216

C₂₁H₁₈N₂NaOS⁺ [M+Na]⁺ 369.1032, found 369.1037

N-(Βενζο[d]θειαζολ-2-υλο)-4-(ναφθαλιν-2-υλο)βουταναμίδιο (201)



M.T. : C₂₁H₁₈N₂OS

M.B. : 346.44

Απόδοση: 30%, λευκό στερεό. Σ.Τ.= 53-55 °C

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 7:3, R_f (7:3)=0.5

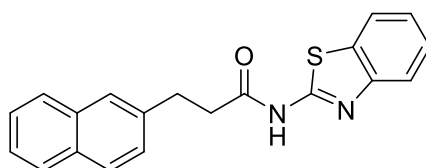
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.72 – 7.04 (m, 11H, Ar), 4.13 (s, 1H, NH), 2.73 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, PhCH₂), 2.41 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH₂CO), 2.13 – 1.90 (m, 2H, CH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 172.1, 152.9, 147.5, 138.3, 133.3, 131.8, 131.4, 127.7, 127.2, 127.1, 126.8, 126.3, 126.0, 125.6, 124.9, 123.6, 121.1, 120.0, 34.8, 25.9.

HRMS C₂₁H₁₈N₂OS Exact Mass: 346.1140

C₂₁H₁₇N₂OS⁻ [M-H]⁻ 345.1067, found 345.1058

N-(Βενζο[d]θειαζολ-2-υλο)-3-(ναφθαλιν-2-υλο)προπαναμίδιο (202)



M.T. : C₂₀H₁₆N₂OS

M.B. : 332.42

Απόδοση: 35%, λευκό στερεό. Σ.Τ.= 46-48 °C

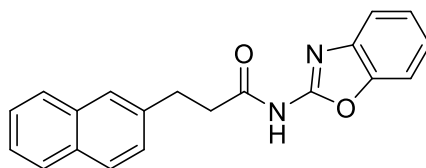
Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 7:3, R_f (7:3)=0.47

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.81 – 7.11 (m, 11H, Ar), 3.13 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, PhCH₂), 2.82 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂CO).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 171.4, 165.7, 147.5, 137.4, 133.3, 131.9, 131.5, 128.0, 127.4, 127.27, 126.6, 126.3, 126.1, 125.9, 125.3, 123.8, 121.3, 120.1, 37.4, 30.8.

C₂₀H₁₆N₂OS Exact Mass: 332.0983

N-(Βενζο[d]οξαζολ-2-υλο)-3-(ναφθαλιν-2-υλο)προπαναμίδιο (203)

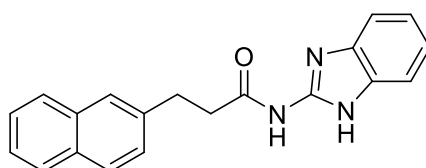


M.T. : C₂₀H₁₆N₂O₂

M.B. : 316.36

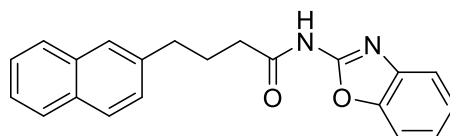
Απόδοση: 50%, λευκό στερεό. Σ.Τ.= 49-51 °C
Σύστημα έκλυσης: P.E.-AcOEt 5:5, R_f (5:5)=0.52
 ^1H NMR (200 MHz, DMSO) δ 7.92 – 7.09 (m, 11H, Ar), 3.13 – 2.97 (m, 2H, PhCH₂),
2.96 – 2.81 (m, 2H, CH₂CO).
 ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 169.9, 158.1, 138.0, 137.7, 133.4, 131.9, 127.9, 127.8,
127.3, 127.2, 126.7, 126.3, 125.8, 125.1, 124.5, 123.5, 118.1, 109.8, 37.9, 30.7.
HRMS C₂₀H₁₆N₂O₂ Exact Mass: 316.1212
C₂₀H₁₆N₂NaO₂⁺ [M+Na]⁺ 339.1104, found 339.1106

N-(1H-Βενζ[*d*]ιμιδαζολ-2-υλο)-3-(ναφθαλιν-2-υλο)προπαναμίδιο (204)



M.T. : C₂₀H₁₇N₃O
M.B. : 315.38
Απόδοση: 15%, λευκό στερεό. Σ.Τ.= 47-49 °C
Σύστημα έκλυσης: P.E.-AcOEt 4:6, R_f (4:6)=0.19
 ^1H NMR (200 MHz, DMSO) δ 8.01 – 6.93 (m, 11H, Ar), 3.34 (s, 2H, 2xNH), 3.13 (t,
 J = 7.5 Hz, 2H, PhCH₂), 2.99 – 2.74 (m, 2H, CH₂CO).
 ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO) δ 171.7, 146.6, 138.5, 133.2, 131.7, 127.9, 127.5, 127.4,
127.3, 126.3, 126.1, 125.4, 37.0, 30.7.
HRMS: C₂₀H₁₇N₃O Exact Mass: 315.1372
C₂₀H₁₈N₃O⁺ [M+H]⁺ 316.1444, found 316.1470
C₂₀H₁₇N₃NaO⁺ [M+Na]⁺ 338.1264, found 338.1263

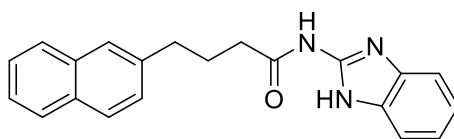
N-(Βενζ[*d*]οξαζολ-2-υλο)-4-(ναφθαλιν-2-υλο)βουταναμίδιο (205)



M.T. : C₂₁H₁₈N₂O₂
M.B. : 330.39
Απόδοση: 32%, λευκό στερεό. Σ.Τ.= 52-26 °C
Σύστημα έκλυσης: P.E.-AcOEt 4:6, R_f (4:6)=0.52
 ^1H NMR (200 MHz, DMSO) δ 7.99 – 7.15 (m, 11H, Ar), 2.89 – 2.71 (m, 2H, PhCH₂),
2.59 (d, J = 6.8 Hz, 2H, CH₂CO), 2.10 – 1.91 (m, 2H, CH₂).
 ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO) δ 170.8, 155.2, 147.6, 140.7, 139.2, 133.2, 131.7, 127.8,
127.5, 127.4, 126.3, 126.0, 125.3, 124.5, 123.5, 118.2, 110.0, 35.3, 34.5, 25.9.
HRMS: C₂₁H₁₈N₂O₂ Exact Mass: 330.1368

$C_{21}H_{17}N_2O_2^-$ [M-H]⁻ 329.1296, found 329.1298

N-(1H-βενζο[d]ιμιδαζολυλο-2-yl)-4-(ναφθαλεν-2-υλο)βουταναμίδιο (206)



M.T. : $C_{21}H_{19}N_3O$

M.B. : 329.40

Απόδοση: 17%, λευκό στερεό. Σ.Τ.= 56-58 °C

Σύστημα έκλουσης: Et_2O , $R_f = 0.5$

1H NMR (200 MHz, DMSO) δ 7.94 – 7.39 (m, 4H, Ar), 7.56 – 7.39 (m, 4H, Ar), 7.14 – 7.0 (m, 3H, Ar), 2.80 – 2.64 (m, 2H, $PhCH_2$), 2.61 – 2.40 (m, 2H, CH_2O), 2.17 – 1.89 (m, 2H, CH_2).

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO) δ 171.8, 146.1, 138.7, 132.7, 131.2, 131.1, 127.4, 127.3, 127.0, 126.9, 126.9, 126.8, 125.7, 125.7, 125.6, 125.5, 124.8, 124.7, 120.5, 34.4, 25.8, 19.1.

HRMS: $C_{21}H_{19}N_3O$ Exact Mass: 329.1528

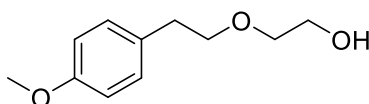
$C_{21}H_{18}N_3O^-$ [M-H]⁻ 328.1455, found 328.1423

Μέθοδοι Αναγωγής

Γενική μέθοδος αναγωγής οξέων/εστέρων προς αλκοόλες με χρήση $LiAlH_4$

Σε αναδευόμενο διάλυμα της ένωσης (εστέρα ή οξέος) (1 mmol) σε άνυδρο THF (5 mL) υπό αδρανή ατμόσφαιρα αργού, προστίθεται στάγδην το αναγωγικό αντιδραστήριο $LiAlH_4$ 2.0M (1.1 eq). Η αντίδραση αφήνεται υπό αναρροή για 3 h. Ακολούθως, η αντίδραση ψύχεται στους 0 °C όπου προστίθεται στάγδην HCl 2N (2 mL) ενώ, ακολουθούν εκχύλισεις με AcOEt (2 x 15 mL). Οι οργανικές φάσεις συγκεντρώνονται, εκπλένονται με νερό και κορεσμένο διάλυμα NaCl, ξηραίνονται με Na_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Το τελικό προϊόν καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης.

2-(4-Μεθοξυφαινοξυ)αιθαν-1-ολη (120)



M.T. : $C_{11}H_{16}O_3$

M.B. : 196.25

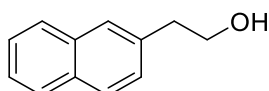
Απόδοση: 98%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 5:5, R_f (5:5)=0.3

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.16 – 7.05 (m, 2H, Ar), 6.87 – 6.76 (m, 2H, Ar), 3.78 – 3.72 (s, 3H, OCH_3), 3.72 – 3.59 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2\text{O}$), 3.52 (m, 2H, CH_2OH), 3.04 (s, 1H, OH), 2.82 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, PhCH_2).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 157.9, 130.6, 129.6, 113.6, 72.2, 71.8, 61.4, 55.0, 35.1.

2-(Ναφθαλιν-2-υλο)αιθαν-1-ολη (160)



M.T. : $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}$

M.B. : 172.22

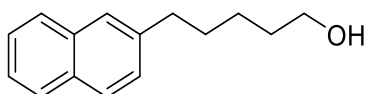
Απόδοση: 86%, λευκό στερεό χαμηλού σημείου τήξεως.

Σύστημα έκλουσης: CH_2Cl_2 , $R_f = 0.17$

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.90 – 7.31 (m, 7H, Ar), 3.93 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H, CH_2O), 3.02 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H, PhCH_2).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 135.9, 133.5, 132.2, 128.2, 127.6, 127.4, 127.3, 126.0, 125.4, 63.4, 39.2.

5-(Ναφθαλιν-2-υλο)πενταν-1-ολη (179) ²³¹



M.T. : $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}$

M.B. : 214.14

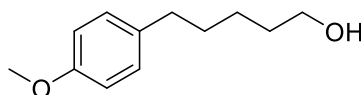
Απόδοση: 98%, υποκίτρινο στερεό χαμηλού σημείου τήξεως.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 5:5, $R_f(5:5)=0.7$

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.99 – 7.29 (m, 7H, Ar), 3.65 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H, CH_2OH), 3.32 (brs, 1H, OH), 2.85 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, PhCH_2), 1.83 – 1.43 (m, 6H, $3\times\text{CH}_2$).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 139.9, 133.4, 131.7, 127.6, 127.4, 127.2, 126.1, 125.6, 124.8, 62.3, 35.8, 32.3, 31.0, 25.3.

5-(4-Μεθοξυφαινυλο)πενταν-1-ολη (184) ²³³



M.T. : C₁₂H₁₈O₂

M.B. : 194.27

Απόδοση: 98%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 7:3, R_f (7:3)=0.26

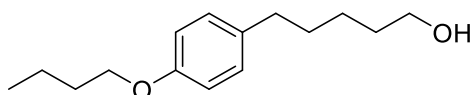
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.11 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, Ar), 6.84 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, Ar), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.61 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH₂OH), 3.09 (brs, 1H, OH), 2.65 – 2.48 (m, 2H, PhCH₂), 1.71 – 1.48 (m, 4H, 2xCH₂), 1.48 – 1.25 (m, 2H, CH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 157.4, 134.5, 129.1, 113.5, 62.5, 55.0, 34.8, 32.4, 31.4, 25.2.

Αναγωγή εστέρων προς πρωτοταγείς αλκοόλες με χρήση DIBALH

Διάλυμα του εστέρα (1.00 mmol) σε άνυδρο Et₂O (10 mL) ψύχεται υπό Ar στους 0 °C. Προστίθεται στάγδην διάλυμα DIBALH (1.2 mmol) και η αντίδραση αφήνεται r.t για 30 min – 1 h. Η αντίδραση διακόπτεται με προσθήκη πάγου στους 0 °C όπου και αφήνεται υπό ανάδευση για 30 min. Το μίγμα της αντίδρασης διηθείται υπό κενό από cellite και έπειτα από συμπύκνωση υπό κενό. Η αλκοόλη απομονώνεται έπειτα από χρωματογραφία στήλης με κατάλληλο σύστημα έκλουσης.

5-(4-Βουτοξυφαινυλο)πενταν-1-ολη (83)



M.T. : C₁₅H₂₄O₂

M.B. : 236,18

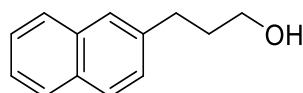
Απόδοση: 90%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 3:7, R_f (3:7)= 0.45

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 7.07 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, Ar), 6.81 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 3.93 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH₂O), 3.60 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH₂OH), 2.50 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, PhCH₂), 2.08 (brs, 1H, OH), 1.86-1.30 (m, 10H, 5xCH₂), 0.97 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 157.4, 134.7, 129.4, 114.5, 67.9, 63.0, 35.2, 32.8, 31.8, 31.6, 25.6, 19.5, 14.1.

3-(Ναφθαλιν-2-υλο)προπαν-1-όλη (193)²³³



M.T. : C₁₃H₁₄O

M.B. : 186.25

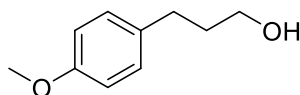
Απόδοση: 98%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f (8:2)=0.19

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.00 – 7.39 (m, 7H, Ar), 3.77 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH₂OH), 3.37 (s, 1H, OH), 3.02 – 2.89 (m, 2H, PhCH₂), 2.17 – 1.95 (m, 2H, CH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 139.2, 133.4, 131.8, 127.7, 127.4, 127.2, 127.1, 126.2, 125.7, 124.9, 61.7, 33.8, 31.9.

3-(4- Μεθοξυφαινυλο)προπαν-1-όλη (214)²³⁴



M.T. : C₁₀H₁₄O₂

M.B. : 166.22

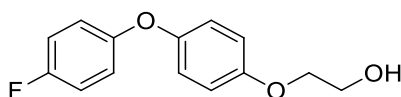
Απόδοση: 98%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f (8:2)=0.1

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.12 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 6.84 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 3.64 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH₂OH), 2.65 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, PhCH₂), 1.94 – 1.75 (m, 2H, CH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 157.5, 133.8, 129.2, 113.6, 61.9, 55.1, 34.3, 31.0.

2-(4-(4-Φθοροφαινοξυ)φαινοξυ)αιθανόλη (139)



M.T. : C₁₄H₁₃FO₃

M.B. : 248.25

Απόδοση: 99%, καστανό στερεό χαμηλού σημείου τήξεως.

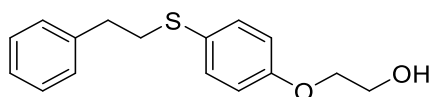
Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f (8:2)=0.67

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.05 – 6.76 (m, 8H, Ar), 4.09 – 3.86 (m, 4H, 2xCH₂O), 2.90 (brs, 1H, OH).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 158.2 (d, *J* = 240 Hz, CF), 154.6, 153.9, 153.9, 150.2, 149.1, 120.0, 119.1 (d, *J* = 8.0 Hz), 116.2 (d, *J* = 23.5), 115.5, 69.6, 61.2.

¹⁹F NMR (188 MHz, CDCl₃) δ -121.4.

2-(4-(Φαινυλοθειο)φαινοξυ)αιθανόλη (147)



M.T. : C₁₆H₁₈O₂S

M.B. : 274.38

Απόδοση: 91%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλυσης: P.E.-AcOEt 7:3, R_f (7:3)=0.44

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.42 – 7.12 (m, 7H, Ar), 6.87 (d, J = 8.8, 2H, Ar), 4.11 – 4.01 (m, 2H, CH₂O), 3.95 (m, 2H, CH₂OH), 3.14 – 3.01 (m, 2H, CH₂S), 2.94 – 2.81 (m, 2H, CH₂), 2.30 (brs, 1H, OH).

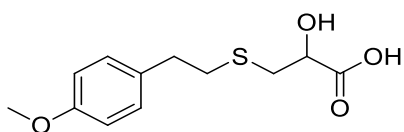
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 157.8, 140.2, 133.0, 128.4, 128.4, 126.8, 126.3, 115.1, 69.2, 61.3, 37.0, 35.8.

Μέθοδοι υδρόλυσης εστέρων προς οξέα

Βασική υδρόλυση με χρήση NaOH

Διάλυμα του εστέρα (1 mmol) σε 1,4-διοξάνη (5 mL) και 2N NaOH (5 mL) αφήνεται υπό ανάδευση σε r.t για μια νύχτα. Το μίγμα της αντίδρασης συμπυκνώνεται υπό κενό προς απομάκρυνση της διοξάνης, το υπόλειμμα διαλύεται σε H₂O (5 mL) και εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 10 mL). Η υδατική στιβάδα οξινίζεται με 1N HCl και εκχυλίζεται επανειλημμένως με AcOEt (3 x 15 mL). Οι οργανικές φάσεις ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται υπό κενό δίνοντας το επιθυμητό οξύ.

2-Υδροξυ-3-((4-μεθοξυφαινυλο)θειο)προπιονικό οξύ (49)



M.T. : C₁₂H₁₅NO₂S

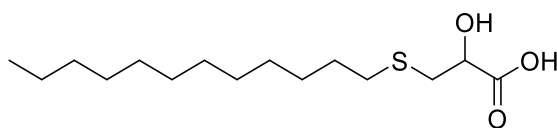
M.B. : 237.32

Απόδοση: 30%, υποκίτρινο στερεό. Σ.Τ.= 62-65 °C

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.12 – 7.01 (m, 2H, Ar), 6.86 – 6.68 (m, 2H, Ar) 4.41 (m, 1H, CH), 3.80 – 3.67 (m, 3H, OCH₃), 3.04 – 2.79 (m, 6H, 3xCH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 176.0, 157.9, 132.1, 129.3, 113.7, 69.9, 55.1, 36.0, 35.1, 34.5.

3-(Δωδεκυλοθειο)-2-υδροξυπροναοϊκό οξύ (75)



M.T. : C₁₅H₃₀O₃S

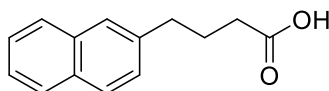
M.B. : 290,46

Απόδοση: 73%, υποκίτρινο στερεό. Σ.Τ.= 72-75 °C

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 4.50 – 4.38 (m, 1H, CH), 3.74 (brs, 1H, OH), 3.07 (dd, *J* = 14.3, 5.3 Hz, 1H, SCHH), 2.89 (dd, *J* = 14.3, 6.2 Hz, 1H, SCHH) 2.58 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH₂S), 1.67 – 1.47 (m, 2H, CH₂), 1.24 (s, 18H, 9xCH₂), 0.87 (t, *J* = 6.2 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 173.6, 70.2, 36.1, 32.8, 31.8, 29.5, 29.4, 29.2, 29.1, 28.7, 22.5, 14.0.

4-(Ναφθαλιν-2-υλο)βουτανοϊκό οξύ (200) ²³⁵



M.T. : C₁₄H₁₄O₂

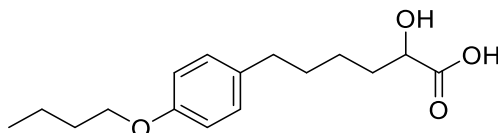
M.B. : 214.26

Απόδοση: 99%, λευκό στερεό. Σ.Τ.= 54-57 °C

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 11.44 (s, 1H, COOH), 7.58 (m, 7H, Ar), 3.01 – 2.59 (m, 2H, PhCH₂), 2.47 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH₂CO), 2.24 – 1.78 (m, 2H, CH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 180.1, 138.6, 133.5, 132.0, 127.9, 127.5, 127.4, 127.1, 126.5, 125.9, 125.2, 35.0, 33.3, 25.9.

6-(4- Βουτοξυφαινυλο)-2- υδροξυεξανοϊκό οξύ (86)



M.T. : C₁₆H₂₄O₄

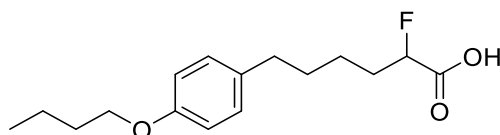
M.B. : 280.36

Απόδοση: 95%, υποκίτρινο στερεό. Σ.Τ.= 88-90 °C

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 7.06 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 6.81 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 4.28-4.22 (m, 1H, CH), 3.93 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH₂O), 2.55 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, PhCH₂), 1.95-1.37 (m, 10H, 5xCH₂), 0.97 (t, *J* = 6.4 Hz, 3H, CH₃).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 180.0, 157.4, 134.5, 129.4, 114.6, 70.4, 68.0, 35.0, 34.2, 31.6, 24.7, 19.5, 14.1.

6-(4-Βουτοξυφαινυλο)-2-φθοροεξανοϊκό οξύ (94)



M.T. : $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{FO}_3$

M.B. : 282.36

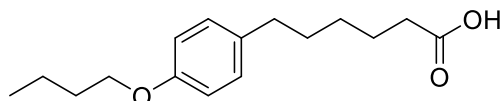
Απόδοση: 95%, υποκίτρινο στερεό. Σ.Τ.= 65-67 °C.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 9.90 (s, 1H, COOH), 7.08 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, Ar), 6.83 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, Ar), 4.95 (dt, $J = 48.6$ Hz, 6.4 Hz, 1H, CHF), 3.95 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H, CH_2O), 2.58 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, PhCH_2), 2.06-1.36 (m, 10H, $5 \times \text{CH}_2$), 0.98 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 175.4 (d, $J = 2.5$ Hz), 2, 157.1, 133.9, 129.1, 114.3, 88.2 (d, $J = 185$ Hz), 70.1, 67.6, 34.6, 32.0 (d, $J = 20.0$ Hz), 31.3, 31.0, 23.9, 19.2, 13.8.

^{19}F NMR (188 MHz, CDCl_3): δ -150.4 (qt, $J = 24.4$ Hz).

6-(4-Βουτοξυφαινυλο)εξανοϊκό οξύ (102)



M.T. : $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_3$

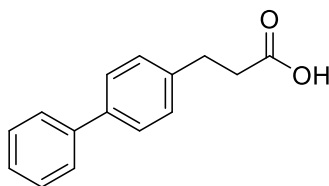
M.B. : 264.37

Απόδοση: 95%, υποκίτρινο στερεό. Σ.Τ.= 198-200 °C

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 7.01 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H, Ar), 6.76 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, Ar), 3.90 (m, 2H, CH_2O), 2.70-2.33 (m, 2H, PhCH_2), 2.15 (d, $J = 6.6$ Hz, 2H, CH_2CO), 1.85-1.10 (m, 10H, CH_2), 0.99 (t, $J = 5.6$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 180.7, 156.9, 134.4, 128.9, 114.0, 67.5, 36.8, 34.7, 31.2, 29.1, 25.7, 19.0, 13.6.

3-([1,1'-Διφαινυλο]-4-υλο)προπανοϊκό οξύ (174)²³⁶



M.T. : C₁₅H₁₄O₂

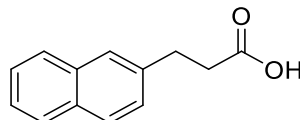
M.B. : 226.28

Απόδοση: 80%, λευκό στερεό. Σ.Τ.= 58-60 °C

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.67 – 7.25 (m, 9H, Ar), 5.93 (s, 1H, COOH), 3.03 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, PhCH₂), 2.72 (t, *J* = 8.1 Hz, 2H, CH₂CO).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 177.0, 140.8, 139.4, 139.1, 128.6, 128.6, 127.1, 127.0, 126.9, 35.4, 30.2.

3-(Ναφθαλιν-2-υλο)προπανοϊκό οξύ (168)²³⁷



M.T. : C₁₃H₁₂O₂

M.B. : 200.24

Απόδοση: 92%, λευκό στερεό. Σ.Τ.= 49-52 °C

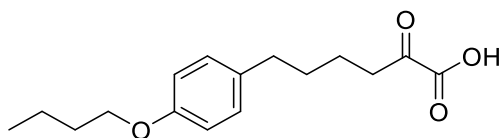
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.73 – 7.15 (m, 7H, Ar), 5.32 (brs, 1H, OH), 3.14 – 2.97 (m, 2H, PhCH₂), 2.76 – 2.58 (m, 2H, CH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 176.1, 137.8, 133.4, 131.9, 127.9, 127.4, 127.3, 126.7, 126.2, 125.8, 125.2, 35.3, 30.7.

Βασική υδρόλυση με χρήση Cs₂CO₃

Σε διάλυμα του 2-οξοεστέρα (1.00 mmol) σε MeOH (2 mL), προστίθεται 20% υδατικό διάλυμα Cs₂CO₃ (3 eq) και η αντίδραση αφήνεται σε r.t. για μια νύχτα. Το μίγμα της αντίδρασης συμπυκνώνεται προς απομάκρυνση της MeOH, το υπόλειμμα διαλύεται σε H₂O και Et₂O και μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη όπου η υδατική στιβάδα εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 5 mL). Η υδατική στιβάδα οξινίζεται με HCl προς pH=1 και εκχυλίζεται με AcOEt (3 x 5 mL). Οι οργανικές φάσεις συγκεντρώνονται, ξηραίνονται και συμπυκνώνονται υπό κενό παρέχοντας το επιθυμητό 2-οξοξύ.

6-(4-Βουτοξυφαινυλο)-2-οξοεξανοϊκό οξύ (92)



M.T. : C₁₆H₂₂O₄

M.B. : 278.35

Απόδοση: 94%, λευκό στερεό. Σ.Τ.= 67-70 °C

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 8.44 (s, 1H, COOH), 7.07 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, Ar), 6.82 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, Ar), 3.94 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH₂O), 2.94-2.61 (m, 1H, CHH), 2.57-2.21 (m, 3H, PhCH₂, CHH), 1.83-1.18 (m, 8H, 4xCH₂), 0.97 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H).

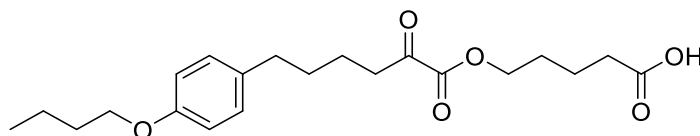
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 195.4, 157.3, 133.6, 129.2, 114.3, 114.3, 67.6, 37.6, 34.5, 31.3, 30.8, 22.4, 19.2, 13.9.

HRMS (ESI/QTOF) *m/z*: [M - H]⁻ Calcd for C₁₆H₂₁O₄⁻ 277.1445; Found: 277.1444

Όξινη υδρόλυση *tert*-βουτυλεστέρων προς οξέα με χρήση τριφθοροοξικού οξέος

Σε σφαιρική φιάλη ζυγίζεται ο *tert*-βουτυλεστέρας (1 mmol) και διαλύεται ξηρό CH₂Cl₂ (2 mL). Το σύστημα απαερώνεται με κενό και Ar και σε αυτό προστίθεται TFA (2 mL). Η αντίδραση ολοκληρώνεται μετά από 2 h. Στο μίγμα της αντίδρασης προστίθεται τολουόλιο (2 mL) και συμπυκνώνεται υπό κενό. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται τρεις φορές έως ότου απομακρυνθεί το TFA. Το υπόλειμμα διαλύεται σε H₂O και Et₂O και μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη όπου προστίθεται 5% NaHCO₃ (5 mL), η υδατική φάση οξινίζεται με κιτρικό οξύ 5% (5 mL) και εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 5 mL). Παραλαβάνεται το οξύ έπειτα από συμπύκνωση υπό κενό.

5-((6-(4-Βουτοξυφαινυλο)-2-οξοεξανοϋλ)οξύ)πεντανοϊκό οξύ (90)



M.T. : C₂₁H₃₀O₆

M.B. : 378.47

Απόδοση: 72%, λευκό στερεό. Σ.τ.= 55-58 °C

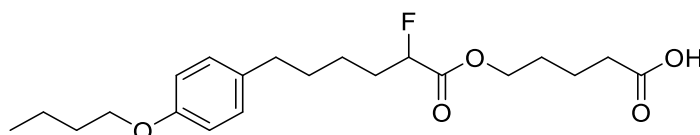
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 7.07 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 6.81 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 4.25 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H, CH₂OCO), 3.93 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH₂O), 2.84 (t, *J* =

6.8 Hz, 2H, CH₂COCO), 2.57 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, PhCH₂), 2.41 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH₂COOH), 1.83-1.38 (m, 12H, 6xCH₂), 0.96 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H)

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 194.2, 179.3, 161.1, 157.2, 133.7, 129.1, 114.3, 67.6, 65.7, 39.1, 34.6, 33.3, 31.3, 30.8, 27.6, 22.4, 20.9, 19.2, 13.8.

HRMS (ESI) calcd for C₂₁H₂₉O₆ [M-H]⁻: 377.1970. Found: 377.1961

5-((6-(4-Βουτοξυφαινυλο)-2-φθοροεξανοϋλ)οξυ) πεντανοϊκό οξύ (96)



M.T. : C₂₁H₃₁FO₅

M.B. : 382.47

Απόδοση: 72%, Κιτρινωπό στερεό χαμηλού σημείου τήξεως.

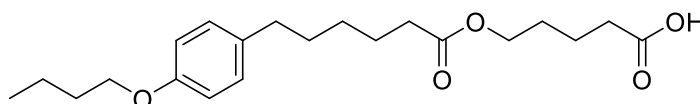
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 7.07 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 6.81 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 4.88 (dt, *J* = 48.0 Hz, *J* = 6.4 Hz, 1H, CHF), 4.20 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H, CH₂OCO), 3.93 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH₂O), 2.56 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, PhCH₂), 2.40 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, CH₂COOH), 2.07-1.35 (m, 14H, 7xCH₂), 0.97 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 179.3, 170.1 (d, *J* = 23.9 Hz), 157.2, 133.9, 129.1, 114.2, 88.8 (d, *J* = 184.1 Hz), 67.6, 64.8, 34.6, 33.3, 32.2 (d, *J* = 21.0 Hz), 31.3, 31.1, 27.7, 23.9 (d, *J* = 3 Hz), 20.9, 19.2, 13.8.

¹⁹F NMR (188 MHz, CDCl₃) δ -149.9 (qt, *J* = 24.4 Hz).

HRMS (ESI) calcd for C₂₁H₃₀FO₅ [M-H]⁻: 381.2083. Found: 381.2080

5-((6-(4-Βουτοξυφαινυλο)εξανοϋλ)οξυ) πεντανοϊκό οξύ (104)



M.T. : C₂₁H₃₂O₅

M.B. : 364.48

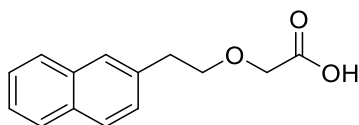
Απόδοση: 99% , Κιτρινωπό στερεό χαμηλού σημείου τήξεως.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 11.05 (s, 1H, COOH), 7.07 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 6.81 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 4.08 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H, CH₂OCO), 3.93 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH₂O), 2.56 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H, PhCH₂), 2.45-2.22 (m, 4H, 2xCH₂), 1.85-1.20 (m, 14H, 7xCH₂), 0.97 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 179.4, 173.9, 157.1, 134.2, 129.1, 114.1, 67.5, 63.6, 34.7, 34.1, 33.4, 31.3, 31.2, 28.6, 27.8, 24.7, 21.1, 19.2, 13.8.

HRMS (ESI) calcd for C₂₁H₃₁O₅ [M-H]⁻: 363.2177. Found: 363.2174

2-(2-(Ναφθαλιν-2-υλο)εθοξυ)οξικό οξύ (162)



M.T. : C₁₄H₁₄O₃

M.B. : 230.26

Απόδοση: 81%, λευκό στερεό. Σ.Τ.= 63-67 °C

¹H NMR (200 MHz, CD₃OD) δ 7.67 – 7.19 (m, 7H, Ar), 5.43 (bs, 1H, COOH), 4.02 – 3.88 (m, 2H, CH₂), 3.71 – 3.56 (m, 2H, CH₂O), 2.93 (m, 2H, PhCH₂).

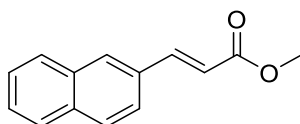
¹³C NMR (50 MHz, CD₃OD) δ 174.1, 137.3, 134.9, 133.5, 128.8, 128.4, 128.1, 126.8, 126.2, 73.1, 68.6, 36.9.

Μέθοδοι Ολεφινοποίησης

Ολεφινοποίηση Wittig

Σε φιάλη που έχει ξηρανθεί με φλόγα, διαλύεται η αλδεΐδη (1 mmol) σε άνυδρο THF (10 mL) υπό αδρανή ατμόσφαιρα Ar. Κατόπιν προστίθεται το σταθεροποιημένο υλίδιο φωσφόρου (1.5 mmol) και το μίγμα αναδεύεται υπό αναρροή για 24 h. Ακολουθεί προσθήκη Et₂O (5 mL) και το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση στους 0 °C για 1 ώρα. Το μίγμα της αντίδρασης διηθείται υπό κενό και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Το προϊόν παραλαμβάνεται με χρωματογραφία στήλης με συστημα έκλουσης P.E.-AcOEt σε διάφορες αναλογίες

(E)-3-(Ναφθαλιν-2-υλο)ακρλικός μεθυλεστέρας (166) ²³⁸



M.T. : C₁₄H₁₂O

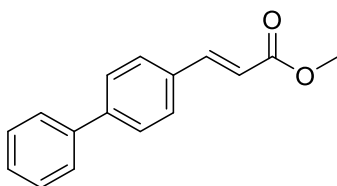
M.B. : 212.25

Απόδοση: 96%, λευκό στερεό. Σ.Τ.= 62 – 64 °C

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.83 – 7.37 (m, 8H, Ar, CH), 6.49 (d, J = 16.0 Hz, 1H, =CH), 3.87 – 3.73 (s, 3H, OCH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 167.0, 144.5, 133.8, 132.9, 131.4, 129.7, 128.3, 128.2, 127.4, 126.9, 126.3, 123.0, 117.5, 51.3.

(E)-3-([1,1'-Διφαινυλο]-4-υλο)ακρυλικός μεθυλεστέρας (172) ²²⁹



M.T. : C₁₆H₁₄O₂

M.B. : 238.29

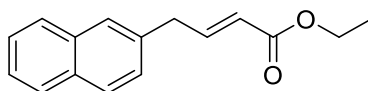
Απόδοση: 50%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 9:1, R_f (9:1)=0.72

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.75 (δ, J = 16 Hz, =CH), 7.65 – 7.55 (m, 5H, Ar), 7.52 – 7.36 (m, 4H, Ar), 6.49 (d, J = 16.0 Hz, 1H, =CH), 3.83 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 167.4, 144.3, 142.9, 140.0, 133.2, 130.4, 128.8, 128.5, 127.8, 127.4, 126.9, 117.5, 51.7.

(E)-4-(Ναφθαλιν-2-υλο)βουταν-2-οϊκός αιθυλεστέρας (198) ²³⁹



M.T. : C₁₆H₁₆O₂

M.B. : 240.30

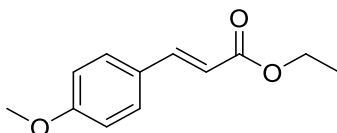
Απόδοση: 78%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 9:1, R_f (9:1)= 0.43

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.88 – 7.00 (m, 8H, Ar, CH), 5.94 (d, J = 15.6 Hz, 1H, CH), 4.26 (q, J = 7.1 Hz, 2H, CH₂OCO), 3.64 (d, J = 8.0 Hz, 2H, PhCH₂), 1.32 (t, J = 7.1 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 166.0, 146.8, 137.1, 134.8, 129.9, 128.0, 127.3, 127.2, 127.1, 126.8, 125.8, 125.3, 122.3, 59.9, 38.1 14.0.

(E)-3-(4-Μεθοξυφαινυλ)ακρυλικός αιθυλεστέρας (212) ²⁴⁰



M.T. : C₁₂H₁₄O₃

M.B. : 206.24

Απόδοση: 91%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f (8:2)=0.38

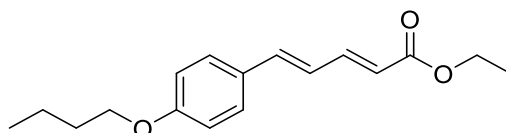
^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.54 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H, CH), 7.34 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, Ar), 6.77 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H, Ar), 6.20 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H, CH), 4.23 – 4.06 (m, 2H, CH_2OCO), 3.68 (s, 3H, OCH_3), 1.23 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 166.8, 160.9, 143.8, 129.3, 126.7, 115.2, 113.9, 59.8, 54.8, 14.0.

Ολεφινοποίηση Horner–Wadsworth–Emmons

Σε σφαιρική φιάλη που έχει ξηρανθεί με φλόγα, και περιέχει κονιοποιημένα mol. sieves (1g) υπό αδρανή ατμόσφαιρα Ar, προστίθεται διάλυμα της αλδεΐδης (1 mmol) σε ξηρό THF (10 mL), LiOH (1.5 mmol, 36 mg) και τριαίθυλο 4-φωσφορικός εστέρας (1.5 mmol, 375 mg) και η αντίδραση αφήνεται υπό αναρροή για μία νύχτα. Το μίγμα της αντίδρασης διηθείται υπό κενό από cellite και συμπυκνώνεται υπό κενό. Τα προϊόντα απομονώνονται έπειτα από χρωματογραφία στήλης με κατάλληλο σύστημα διαλυτών είτε κατόπιν καταβύθισης με MeOH.

(2E,4E)-5-(4-Βουτοξυφαινυλο)πεντα-2,4-διενικός αιθυλεστέρας (81)



M.T. : $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_3$

M.B. : 274,36

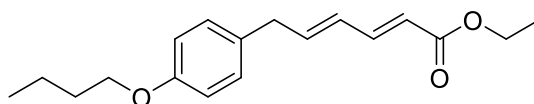
Απόδοση: 60%, λευκό στερεό. Σ.τ.= 57-60 °C

Καταβύθιση με MeOH

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 7.49-7.18 (m, 3H, Ar, =CH), 6.89-6.50 (m, 4H, Ar, 2x=CH), 5.87 (d, $J = 15.2$ Hz, 1H, =CH), 4.17 (q, $J = 14.2, 7.1$ Hz, 2H, CH_2OCO), 3.87 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H, CH_2O), 1.82-1.60 (m, 2H, CH_2), 1.47-1.33 (m, 2H, CH_2), 1.25 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCO}$), 0.92 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 167.3, 160.2, 145.3, 140.4, 128.9, 128.7, 124.1, 120.1, 114.9, 67.9, 60.3, 31.5, 19.4, 14.6, 14.1.

(2E,4E)-6-(4-Βουτοξυφαινυλο)εξα-2,4-διενικός αιθυλεστέρας (100)



M.T. : $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_3$

M.B. : 288,39

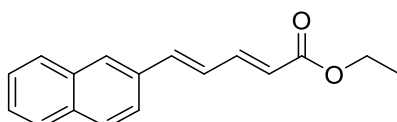
Απόδοση: 50%, λευκό στερεό. Σ.τ.= 62-65 °C

Καταβύθιση με MeOH

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 7.36-7.17 (m, 2H, 2x =CH), 7.03 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, Ar) 6.81 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, Ar), 6.15 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, 2x=CH), 5.79 (d, $J = 15.3$ Hz, 1H, =CH), 4.16 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2OCO), 3.89 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H, CH_2O), 3.59-3.30 (m, 2H, PhCH_2), 1.81-1.63 (m, 2H, CH_2), 1.45 (m, 2H, CH_2), 1.25 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCO}$), 0.96 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H, CH_3)

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 166.3, 157.2, 143.9, 142.2, 129.9, 128.9, 128.4, 119.5, 66.9, 59.5, 113.9, 37.8, 30.8, 18.7, 13.7, 13.3.

(2E,4E)-5-(Ναφθαλιν-2-υλο)πεντα-2,4-διενοϊκός αιθυλεστέρας (177)



M.T. : $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_2$

M.B. : 252.31

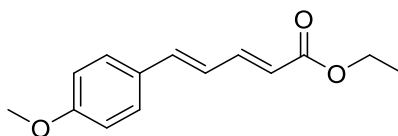
Απόδοση: 70%, λευκό στερεό. Σ.Τ.= 63-66 °C

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 95:5, R_f (95:5)=0.32

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.89 – 7.38 (m, 8H, Ar, CH), 7.00 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2x=CH), 6.03 (d, $J = 15.3$ Hz, 1H, =CH), 4.26 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2OCO), 1.34 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 167.0, 144.5, 140.4, 133.4, 133.4, 128.4, 128.2, 128.1, 127.7, 126.6, 126.5, 126.4, 123.3, 121.2, 60.3, 14.3.

(2E,4E)-5-(4-Μεθοξυφαινυλο)πεντα-2,4-διενοϊκός αιθυλεστέρας (182)



M.T. : $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_3$

M.B. : 232.28

Απόδοση: 67%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 7:3, R_f (7:3)=0.62

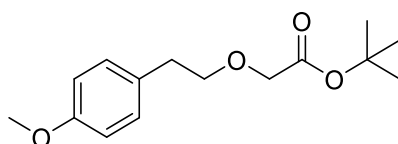
^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.57 – 7.28 (m, 3H, Ar, =CH), 6.98 – 6.56 (m, 4H, Ar, 2x=CH), 5.93 (d, $J = 15.2$ Hz, 1H, =CH), 4.30 – 4.13 (m, 2, CH_2OCO), 3.81 (s, 3H, OCH_3), 1.31 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 167.2, 160.3, 144.9, 140.0, 130.7, 128.6, 124.1, 119.9, 114.2, 60.1, 55.2, 14.3.

Μέθοδος αιθεροποίησης με χρήση καταλύτη μεταφοράς φάσης

Σε σφαιρική φιάλη ζυγίζεται η αλκοόλη (1 mmol), ο *tert*-βουτυλεστέρας του βρομοξικού οξέος (1.2 mmol, 170 mg), Bu₄NHSO₄ (0.20 mmol, 68 mg) και διαλύονται σε Βενζόλιο (1 mL) και 50% NaOH (1 mL). Η αντίδραση αφήνεται σε r.t., για μία νύχτα. Το μίγμα της αντίδρασης μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη όπου η οργανική στιβάδα εκπλένεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl, ξηραίνεται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται υπό κενό. Παραλαμβάνεται το αιθεροποιημένο παράγωγο έπειτα από χρωματογραφία στήλης με κατάλληλο σύστημα έκλουσης.

tert-Βουτυλεστέρας του 2-(4-μεθοξυφαινοξυ)οξικού οξέος (119)



M.T. : C₁₅H₂₂O₄

M.B. : 266.34

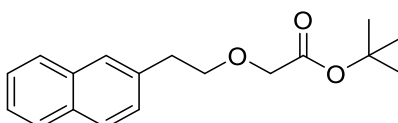
Απόδοση: 93%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 9:1, R_f (9:1)=0.57

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.13 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, Ar), 6.80 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 3.94 (s, 2H, OCH₂CO), 3.77 – 3.60 (m, 5H, OCH₃, CH₂O), 2.86 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, PhCH₂), 1.45 [s, 9H, C(CH₃)₃].

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 169.5, 157.9, 130.3, 129.6, 113.6, 81.2, 72.5, 68.6, 54.9, 35.1, 27.9.

tert-Βουτυλεστέρας του 2-(2-(ναφθαλιν-2-υλο)αιθοξυ)οξικού οξέος (161)



M.T. : C₁₈H₂₂O₃

M.B. : 286.37

Απόδοση: 94%, άχρωμο έλαιο

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f (8:2)=0.54

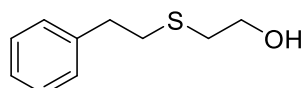
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.90 – 7.31 (m, 7H, Ar), 4.01 (s, 2H, CH₂CO), 3.85 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH₂O), 3.14 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, PhCH₂), 1.50 (s, 9H, C(CH₃)₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 169.6, 136.0, 133.5, 132.1, 127.8, 127.5, 127.4, 127.1, 125.8, 125.2, 81.5, 72.3, 68.8, 36.3, 28.0.

Μέθοδος σύνθεσης θειοαιθερικών παραγώγων

Διάλυμα του αλκενίου (1.00 mmol), του κατάλληλου σουλφιδίου (1.2 mmol) και καταλυτικής ποσότητας φαινυλο-γλυοξυλικού οξέος (0.1 mmol, 22 mg), σε THF (0.2 mL) αφήνεται υπό ανάδευση και ακτινοβολήση με οικιακές λάμπες για μία νύχτα. Το μίγμα της αντίδρασης μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη όπου εκπλένεται διαδοχικά με H₂O, 1N NaOH, H₂O, 1N HCl και τέλος κορεσμένο διάλυμα NaCl. Το προϊόν καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης.

2-(Φαιναιθυλοθειο)αιθανόλη (130)



M.T. : C₁₀H₁₄OS

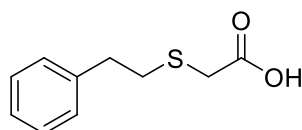
M.B. : 182.28

Απόδοση: 98%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 6:4, R_f (6:4)=0.46

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.40 – 7.07 (m, 5H, Ar), 3.77 – 3.61 (m, 2H, CH₂O), 3.00 – 2.63 (m, 6H, 3xCH₂), 2.30 (bs, 1H, OH).

2-(Φαιναιθυλοθειο)οξικό οξύ (134)



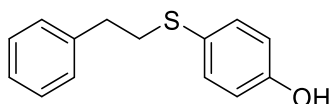
M.T. : C₁₀H₁₂O₂S

M.B. : 196.26

Απόδοση: 98%, άχρωμο έλαιο.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.32 – 7.17 (m, 5H, Ar), 3.24 (s, 2H, CH₂CO), 2.96 – 2.85 (m, 4H, PhCH₂, CH₂S).

4-(Φαιναιθυλοθειο)φαινόλη (146)



M.T. : C₁₄H₁₄OS

M.B. : 230.33

Απόδοση: 94%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 9:1, R_f (9:1)= 0.37

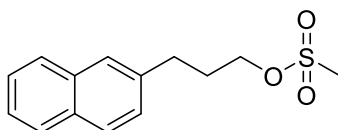
^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.36-7.13 (m, 7H, Ar), 6.82-6.78 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, Ar), 5.26 (brs, 1H, OH), 3.12-3.05 (m, 2H, PhCH_2), 2.92-2.84 (m, 2H, CH_2)
 ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 154.8, 140.2, 133.4, 128.4, 128.4, 126.3, 116.1, 37.1, 35.7.

Μέθοδος παρασκευής αμινών από αλκοόλες

Η παρασκευή αμινών από αλκοόλες μπορεί να επιτευχθεί σε τρία βήματα. Το πρώτο αποτελεί την παρασκευή ενός ενδιάμεσου μεθυλεστέρα ώστε σε επόμενο στάδιο να προκύψει το αντίστοιχο αζίδιο, από την αναγωγή του οποίου, προκύπτει τελικά η επιθυμητή αλκοόλη (αντίδραση Staudinger)

3-(Ναφθαλιν-2-υλο)πρόπυλο μεθανοσουλφονικός εστέρας (194)

Διάλυμα της αλκοόλης (1.00 mmol) σε ξηρό CH_2Cl_2 (20 mL) ψύχεται στους 0 °C. Προστίθενται DIPEA (3.00 mmol, 0.52 mL) και στάγδην MsCl (1.20 mmol, 140 mg). Το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται στους 0 °C για 30 min και έπειτα σε r.t για μία νύχτα. Το μίγμα της αντίδρασης μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη όπου η οργανική στιβάδα εκπλένεται με H_2O . Η οργανική φάση ξηραίνεται με Na_2SO_4 και συμπυκνώνεται υπό κενό παρέχοντας τον αιθέρα.



M.T. : $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_3\text{S}$

M.B. : 264.34

Απόδοση: 99%, πορτοκαλί στερεό.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 8:2, $R_f(8:2)=0.15$

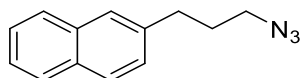
^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.92 – 7.17 (m, 7H, Ar), 4.24 (s, 2H, CH_2O), 3.05 – 2.77 (m, 5H, CH_3 , PhCH_2), 2.12 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H, CH_2).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 137.6, 133.3, 131.9, 128.0, 127.4, 127.2, 126.8, 126.5, 125.9, 125.2, 69.1, 37.0, 31.4, 30.3.

2-(3-Αζιδοπροπυλο)ναφθαλίνιο (195)

Σε διάλυμα του μεθανοσουλφονυλεστέρα (1.00 mmol) σε DMF (10 mL) προστίθεται NaN_3 (5.00 mmol, 325 mg) και το διάλυμα αφήνεται για μία νύχτα στους 60 °C. Το μίγμα της αντίδρασης συμπυκνώνεται υπό κενό προς απομάκρυνση του μεγαλύτερου όγκου DMF και το υπόλειμμα μεταφέρεται διαχωριστική χοάνη με ταυτόχρονη διήθηση από βαμβάκι, προς απομάκρυνση του στερεού που προκύπτει, αραιώνεται με νερό και AcOEt. Η υδατική στιβάδα εκχυλίζεται με Et_2O (3 x 10 mL), οι οργανικές φάσεις ενώνονται, ξηραίνονται με Na_2SO_4 και συμπυκνώνονται υπό κενό. Το

επιθυμητό αζίδιο παραλαμβάνεται καθαρό έπειτα από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης P.E. – AcOEt.



M.T. : C₁₃H₁₃N₃

M.B. : 211.27

Απόδοση: 95%, άχρωμο έλαιο.

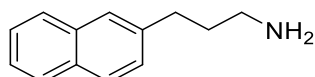
Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 9:1, R_f (9:1)=0.61

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.03 – 7.34 (m, 7H, Ar), 3.35 (t, J = 6.8 Hz, 2H, PhCH₂), 3.02 – 2.86 (m, 2H, CH₂), 2.06 (m, 2H, CH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 138.1, 133.4, 131.9, 127.9, 127.4, 127.2, 126.8, 126.4, 125.8, 125.1, 50.3, 32.6, 30.0.

3-(Ναφθαλιν-2-υλο)προπαν-1-αμίνη (196) ²⁴¹

Διάλυμα του αζιδίου (1.00 mmol) σε άνυδρο THF (10 mL) με Ph₃P (1.4 eq) αφήνεται υπό ανάδευση στους 65 °C για μία νύχτα. Στο μίγμα της αντίδρασης προστίθεται H₂O (2.5 mL) και το διάλυμα αφήνεται υπό ανάδευση στους 65 °C για μία νύχτα. Το διάλυμα συμπυκνώνεται υπό κενό προς απομάκρυνση του THF. Το υπόλειμμα διαλύεται σε AcOEt (10 mL) και μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη όπου προστίθεται 10% κιτρικό οξύ. Η υδατική στοιβάδα εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 10 mL). Κατόπιν προστίθενται NaHCO₃ και NaOH προς pH=9 και η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 15 mL). Η αμίνη παραλαμβάνεται καθαρή έπειτα από συμπύκνωση υπό κενό.



M.T. : C₁₃H₁₅N

M.B. : 185.27

Απόδοση: 90%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 6:4, R_f (6:4)= 0.15

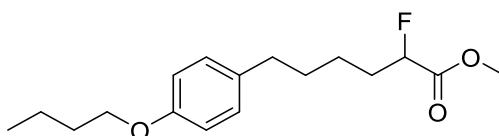
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.88 – 7.11 (m, 7H, Ar), 2.87 – 2.54 (m, 2H, PhCH₂), 1.77 (m, 4H, 2xCH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 131.9, 131.6, 128.3, 128.0, 127.5, 127.2, 127.0., 126.0, 125.6, 124.8, 41.4, 34.8, 33.0.

Μέθοδος παρασκευής 2-φθορο-παραγώγων από 2-υδροξυ-παραγωγα

Σε φιάλη που έχει ξηρανθεί με φλόγα, υπό αδρανή ατμόσφαιρα Ar μεταφέρεται διάλυμα DAST (1.1 mmol, 0.15 mL) αραιωμένο με CH₂Cl₂ (0.25 mL) και ψύχεται στους -78 °C. Προστίθεται διάλυμα του υδροξυ-μεθυλεστέρα (1 mmol, 0.29 g) σε άνυδρο CH₂Cl₂ (0.3 mL) και η αντίδραση αφήνεται στους -78 °C για 2 h και κατόπιν σε r.t για μία νύχτα. Ο 2-φθορο-μεθυλεστέρας απομονώνεται έπειτα από χρωματογραφία στήλης.

6-(4-Βουτοξυφαινυλο)-2-φθοροεξανοϊκός μεθυλεστέρας (93)



M.T. : C₁₇H₂₅FO₃

M.B. : 296.38

Απόδοση: 55%, κιτρινωπό έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f (8:2)=0.57

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 7.09 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, Ar), 6.83 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, Ar), 4.90 (dt, *J* = 49.0 Hz, *J* = 6.1 Hz, 1H, CHF), 3.94 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH₂O), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 2.58 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, PhCH₂), 1.94-1.40 (m, 10H, CH₂), 0.99 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 170.3 (d, *J* = 23.9 Hz), 157.1, 133.7, 129.0, 114.1, 88.7 (d, *J* = 184.0 Hz), 67.4, 52.02, 34.5, 32.1 (d, *J* = 21.0 Hz), 31.2, 31.0, 23.8 (d, *J* = 3 Hz), 19.1, 13.7.

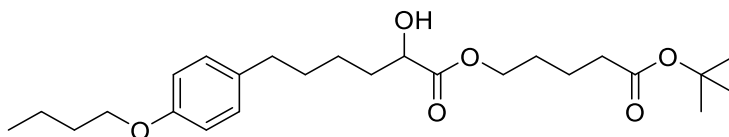
¹⁹F NMR (188 MHz, CDCl₃): δ -150.03 (qt, *J* = 24.4 Hz).

MS (ESI) *m/z* (%): 314 ([M + NH₄]⁺, 100).

Γενική μέθοδος εστεροποίησης

Σε διάλυμα οξέος (1 mmol) σε THF (5 mL) προστίθεται 20% διάλυμα Cs₂CO₃ (1.1 mmol, 1.8 mL) και το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 10 min. Το διάλυμα συμπυκνώνεται προς απομάκρυνση του THF, το υπόλειμμα διαλύεται σε DMF (15 mL), προστίθεται ο *tert*-βουτυλο-βρωμο-εστέρας (1.2 mmol) και το μίγμα αφήνεται υπό αναροή για 72 h. Το μίγμα της αντίδρασης συμπυκνώνεται υπό κενό και έπειτα από χρωματογραφία στήλης με κατάλληλο σύστημα έκλουσης απομονώνεται ο εστέρας.

**6-(4-Βουτοξυφαινυλο)-2-υδροξεξανοϊκός 5-(tert-βουτοξυ)-5-οξοπέντυλεστέρας
(88)**



M.T. : C₂₅H₄₀O₆

M.B. : 436.59

Απόδοση: 35%, κίτρινωπό έλαιο.

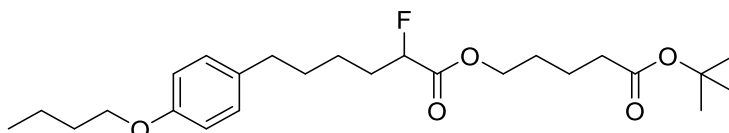
Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 7:3, R_f (7:3)= 0.47

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 7.06 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, Ar), 6.79 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 4.19-4.11 (m, 3H, CH, CH₂OCO), 3.92 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH₂O), 2.81 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H, OH), 2.60-2.48 (m, 2H, PhCH₂), 2.24 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH₂CO), 1.86-1.36 [m, 23H, 7xCH₂, C(CH₃)₃], 0.95 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 175.6, 172.8, 157.4, 134.5, 129.4, 114.5, 80.6, 70.6, 67.9, 65.5, 35.1, 34.5, 31.7, 31.6, 28.3, 28.1, 24.7, 21.7, 19.5, 14.1.

MS (ESI) *m/z* (%): 459 ([M + Na]⁺,100).

**6-(4-Βουτοξυφαινυλο)-2-φθοροξεξανοϊκός 5-(tert-βουτοξυ)-5-οξοπέντυλεστέρας
(95)**



M.T. : C₂₅H₃₉FO₅

M.B. : 438.58

Απόδοση: 52%, κίτρινωπό έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 7:3, R_f (7:3)=0.63

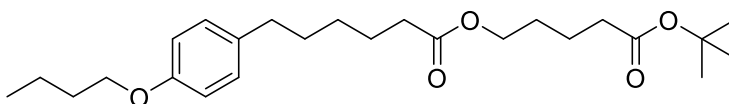
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 7.06 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 6.80 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, Ar), 5.03-4.71 (dt, *J* = 48.0 Hz, *J* = 6.4 Hz, 1H, CHF), 4.20-4.06 (m, 2H, CH₂OCO), 3.92 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H, CH₂O), 2.60-2.45 (m, 1H, PhCH₂), 2.24 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, CH₂CO), 2.01-1.23 [m, 23H, 7xCH₂, C(CH₃)₃], 0.96 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 172.4, 169.9 (d, *J* = 23.9 Hz), 157.2, 133.8, 129.1, 114.19, 88.8 (d, *J* = 184.1 Hz), 80.2, 67.5, 64.9, 34.8, 34.6, 32.2 (d, *J* = 20.9 Hz), 31.3, 31.1, 28.0, 27.8, 23.9, 21.3, 19.2, 13.8.

¹⁹F NMR (188 MHz, CDCl₃): δ -149.9 (qt, *J* = 24.4 Hz).

MS (ESI) *m/z* (%): 456 ([M + NH₄]⁺,100).

6-(4-Βουτοξυφαινυλο)εξανοϊκός 5-(*tert*-βουτοξυ)-5-οξοπεντυλεστέρας (104)



M.T. : C₂₅H₄₀O₅

M.B. : 420.59

Απόδοση: 52% , κιτρινωπό έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f (8:2)=0.57

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 7.03 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, Ar), 6.78 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 4.05 (m, 2H, CH₂OCO), 3.89 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH₂O), 2.51 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, PhCH₂), 2.33-2.10 (m, 4H, 2xCH₂CO), 1.81-1.16 [m, 23H, 7xCH₂, C(CH₃)₃], 0.94 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, CH₃).

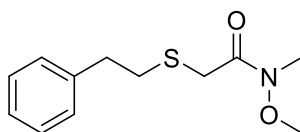
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 173.4, 172.3, 157.0, 134.0, 128.9, 114.0, 79.8, 67.3, 63.5, 34.7, 34.5, 33.9, 31.2, 31.1, 28.4, 27.8, 27.8, 24.6, 21.3, 19.0, 13.6.

MS (ESI) *m/z* (%): 443 ([M + Na]⁺, 100)

Γενική μέθοδος σύνθεσης Weineb αμιδίων

Σε διάλυμα οξέος (1.00 mmol) σε ξηρό CH₂Cl₂ (6 mL), προστίθενται κατά σειρά DMAP (1.2 mmol, 150 mg), HCl·HN(OMe)Me (1.00 mmol, 100 mg), NMM (2.2 mmol, 0.5mL) και WSCI·HCl (1.00 mmol, 198 mg). Η αντίδραση αφήνεται σε r.t για 2 νύχτες. Το μίγμα της αντίδρασης μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη όπου εκχυλίζεται με H₂O, 1N HCl, H₂O, 5% NaHCO₃ και τέλος κορεσμένο διάλυμα NaCl. Απομονώνεται το Weinreb-αμίδιο έπειτα από χρωματογραφία στήλης με σύστημα P.E.-AcOEt σε διάφορες αναλογίες.

N-Μεθοξυ-N-μεθυλο-2-(φαινυλοθειο)ακεταμίδιο (135)



M.T. : C₁₂H₁₇NO₂S

M.B. : 239.33

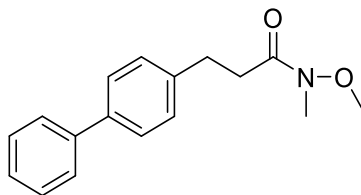
Απόδοση: 83%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 6:4, R_f (6:4)=0.66

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.31 – 7.10 (m, 5H, Ar), 3.63 (s, 3H, OCH₃), 3.31 (s, 2H, CH₂CO), 3.16 – 3.04 (m, 4H, PhCH₂, CH₂S), 2.87 (s, 3H, CH₃N).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 159.2, 156.7, 128.1, 128.0, 125.9, 61.1, 35.3, 33.3, 31.2.

3-([1,1'-Διφαινυλο]-4-υλο)-N-μεθοξυ-N-μεθυλοπροπαναμίδιο (175)



M.T. : C₁₇H₁₉NO₂

M.B. : 269.34

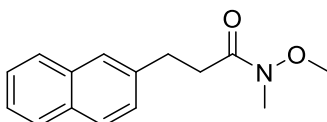
Απόδοση: 88%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 6:4, R_f (6:4)=0.32

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.60 – 7.23 (m, 9H, Ar), 3.63 (s, 3H, CH₃O), 3.19 (s, 3H, CH₃N), 3.00 (d, J = 8.1 Hz, 2H, CH₂CO), 2.81 (d, J = 8.2 Hz, 2H, PhCH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 140.9, 140.4, 139.0, 128.8, 128.7, 127.1, 127.0, 126.9, 61.2, 33.7, 32.2, 30.2.

N-Μεθοξυ-N-μεθυλο-3-(ναφθαλιν-2-υλο)προπαναμίδιο (186)



M.T. : C₁₅H₁₇NO₂

M.B. : 243.30

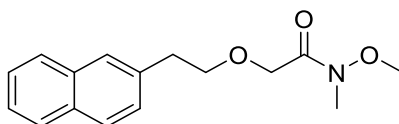
Απόδοση: 93%, Άχρωμο έλαιο

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 6:4, R_f (6:4)=0.31

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.82 – 7.32 (m, 7H, Ar), 3.59 (s, 3H, OCH₃), 3.23 – 3.07 (m, 5H, NCH₃, CH₂CO), 2.91 – 2.76 (m, 2H, PhCH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 173.4, 138.7, 133.4, 131.9, 127.9, 127.5, 127.3, 127.1, 126.4, 125.8, 125.1, 61.1, 33.5, 32.0, 30.7.

N-Μεθοξυ-N-μεθυλο2-(2-(ναφθαλιν-2-υλο)αιθοξυ)ακεταμίδιο (163)



M.T. : C₁₆H₁₉NO₃

M.B. : 273.33

Απόδοση: 72%, άχρωμο έλαιο.

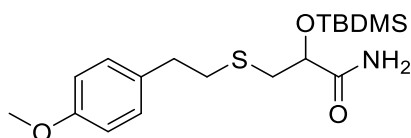
Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 3:7, R_f (3:7)=0.43

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.83 – 7.35 (m, 7H, Ar), 4.24 (s, 2H, CH₂CO), 3.85 (t, J = 7.1 Hz, 2H, CH₂O), 3.52 (s, 3H, CH₃O), 3.17 – 3.03 (m, 5H, CH₃N, CH₂).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 170.7, 135.9, 133.2, 131.8, 127.6, 127.3, 127.2, 127.2, 126.9, 125.6, 125.0, 72.2, 68.1, 61.0, 36.0, 31.9.

2-(*tert*-Βουτυλοδιμεθυλοσιλυλοξυ)-3-(4-μεθοξυφαινοθυλοθειο)προπαναμίδιο (114)

Διάλυμα OTBDMS-νιτριλίου (1.00 mmol) σε CH_2Cl_2 (20 mL) ψύχεται στους 0 °C και σε αυτό προστίθενται 30% H_2O_2 (4.00 mmol, 0.6 mL) 0.5 M NaOH (3 mL) και Bu_4NHSO_4 (0.20 mmol, 60 mg). Η αντίδραση αφήνεται σε r.t για 4. Το μίγμα της αντίδρασης μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη όπου εκχυλίζεται με CH_2Cl_2 (3 x 10 mL). Το επιθυμητό αμίδιο απομονώνεται έπειτα από χρωματογραφία στήλης με σύστημα CHCl_3 -MeOH σε κατάλληλη αναλογία.



M.T. : $\text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{NO}_3\text{Si}$

M.B. : 369.60

Απόδοση: 32%, άχρωμο έλαιο.

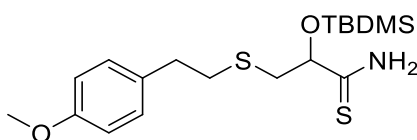
Σύστημα έκλουσης: CH_2Cl_2 -MeOH 95:5, R_f (95:5)=0.34

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.13 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, Ar), 6.84 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, A2), 6.59 (s, 1H, NH), 6.10 (s, 1H, NH), 4.32 (dd, $J = 5.5, 3.8$ Hz, 1H, CH), 3.80 (s, 3H, OCH_3), 2.93 (m, 2H, CH_2CH), 2.82 (s, 4H, PhCH_2 , CH_2S), 0.95 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 0.17 (s, 3H, CH_3), 0.14 (s, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 175.4, 158.1, 132.6, 129.5, 113.9, 73.5, 55.3, 37.8, 35.4, 35.0, 25.8, 18.1, -4.7, -5.2.

2-(*tert*-Βουτυλοδιμεθυλοσιλυλοξυ)-3-(4-μεθοξυφαινοθυλοθειο)προπαναμίδιο (115)

Σε αναδευόμενο διάλυμα του αμιδίου (1 mmol) σε ξηρό CH_2Cl_2 (10 mL) προστίθεται, υπό αδρανή ατμόσφαιρα Ar, το αντιδραστήριο Lawesson (1.5 mmol, 606.7 mg). Η αντίδραση αφήνεται υπό ανάδευση σε r.t για 24 ώρες. Το μίγμα της αντίδρασης μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη όπου εκχυλίζεται με H_2O . Η οργανική στιβάδα εκπλένεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl, ξηραίνεται με Na_2SO_4 και συμπυκνώνεται υπό κενό. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση και το θειαμίδιο απομονώνεται έπειτα από χρωματογραφία στήλης.



M.T. : C₁₈H₃₁NO₂S₂Si

M.B. : 385.66

Απόδοση: 65%, υποκίτρινο έλαιο.

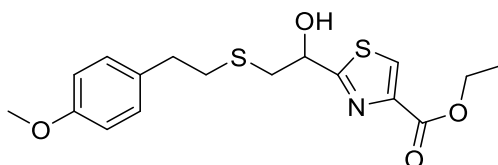
Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 7:3, R_f (7:3)=0.63

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.00 (s, 1H, NH), 7.79 (s, 1H, NH), 7.11 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, Ar), 6.82 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 4.71 (dd, *J* = 5.3, 3.6 Hz, 1H, CH), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 3.22 – 2.97 (m, 2H, CH₂CO), 2.88 – 2.70 (m, 4H, PhCH₂, CH₂S), 0.92 (s, 9H, C(CH₃)₃), 0.15 (s, 3H, CH₃), 0.10 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 207.5, 158.1, 132.5, 129.5, 113.8, 79.6, 55.2, 40.4, 35.4, 35.1, 25.7, 18.1, -4.8, -5.2.

2-(1-Υδροξυ-2-(4-μεθοξυφαινηθυλοθειο)αιθυλο)θειαζολυλο-4-καρβοξυλικός αιθυλεστέρας (116)

Σε δοχείο πίεσης μεταφέρεται το θειαμίδιο (1.00 mmol) διαλυμένο σε απόλυτη EtOH (1 mL). Στο διάλυμα υπό Ar προστίθεται βρωμοπυρουβικός αιθυλεστέρας (1.50 mmol, 0.2 mL) και μία σταγόνα π. H₂SO₄. Το δοχείο ασφαλίζεται και αφήνεται 24-72 h υπό αναρροή στους 90 °C. Το μίγμα της αντίδρασης συμπυκνώνεται και το υδροξυ-θειαζολικό παράγωγο καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης.



M.T. : C₁₇H₂₁NO₄S₂

M.B. : 367.48

Απόδοση: 40%, πορτοκαλί έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 7:3, R_f (7:3)=0.21

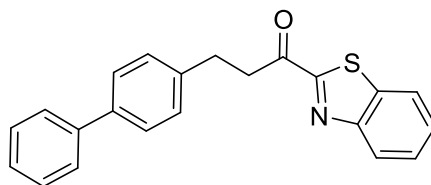
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.13 (s, 1H, Ar), 7.09 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, Ar), 6.83 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, Ar), 5.10 (dd, *J* = 8.2, 3.8 Hz, 1H, CH), 4.41 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂OCO), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 3.54 – 3.21 (m, 3H, CH₂, OH) 2.88 – 2.64 (m, 4H, PhCH₂, CH₂S), 1.39 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 174.3, 161.3, 157.2, 147.1, 131.7, 129.4, 127.6, 113.9, 69.6, 65.8, 61.5, 55.2, 40.2, 35.2, 33.9, 29.7, 15.2, 14.3.

Γενική μέθοδος σύζευξης βενζοθειαζολίου με Weinreb αμίδια

Σε αναδευόμενο διάλυμα βενζοθειαζολίου (1.2 mmol) σε ξηρό Et₂O (6.5 mL), στους -78 °C και υπό αδρανή ατμόσφαιρα Ar, προστίθεται στάγδην n-BuLi 1.6 M (1 eq) και το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση για 1 h. Ακολουθεί προσθήκη διαλύματος του αμιδίου Weinreb (1.00 mmol) σε ξηρό Et₂O (1.5 mL) και αφήνεται για ακόμη 1 h υπό ανάδευση στους -78 °C. Έπειτα, η αντίδραση αφήνεται σε r.t. για μία νύχτα. Μετά το τέλος της αντίδρασης προστίθεται κορεσμένο διάλυμα NH₄Cl και η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et₂O (2 x 10 mL). Η οργανική φάση εκπλένεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl, ξηραίνεται με άνυδρο Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Το προϊόν παραλαμβάνεται καθαρό μετά από χρωματογραφία στήλης.

3-([1,1'-Διφαινυλο-4-yl]-1-(βενζο[d]θειαζολ-2-υλο)προπαν-1-ονη (176)



M.T. : C₂₂H₁₇NOS

M.B. : 343.44

Απόδοση: 91%, κιτρινωπό στερεό. Σ.Τ.= 44-46 °C

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f (8:2)=0.61

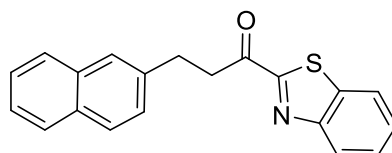
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.20 (d, J = 7.8 Hz, 1H, Ar), 7.98 (d, J = 7.0 Hz, 1H, Ar), 7.68 – 7.32 (m, 11H, Ar), 3.69 (t, J = 7.7 Hz, 2H, CH₂CO), 3.21 (t, J = 7.6 Hz, 2H, PhCH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 194.3, 166.0, 153.4, 140.9, 139.7, 139.1, 137.1, 128.8, 128.7, 127.6, 127.2, 127.0, 126.9, 125.3, 124.0, 122.4, 40.1, 29.2, 2.

HRMS : C₂₂H₁₇NOS Exact Mass: 343.1031

C₂₂H₁₇NNaOS⁺ [M+Na]⁺ 366.0923, found 366.0934

1-(βενζο[d]θειαζολ-2-υλο)-3-(ναφθαλιν-2-υλο)προπαν-1-ονη (170)



M.T. : C₂₀H₁₅NOS

M.B. : 317.41

Απόδοση: 91%, κιτρινωπό στερεό χαμηλού σημείου τήξεως.

Σύστημα έκλυσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f (8:2)=0.61

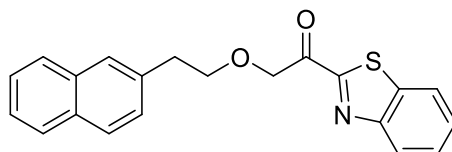
^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 8.26 – 7.29 (m, 11H, Ar), 3.69 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, CH_2CO), 3.27 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, PhCH_2).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 194.4, 166.0, 153.3, 137.9, 137.0, 133.4, 132.0, 128.0, 127.6, 127.5, 127.4, 127.0, 126.9, 126.5, 125.8, 125.2, 122.3, 40.0, 29.7.

HRMS: $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{NOS}$ Exact Mass: 317.0874

$\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{NNaOS}^+ [\text{M}+\text{Na}]^+$ 340.0767, found 340.0779

1-(Βενζο[d]θειαζολ-2-υλο)-2-(2-(ναφθαλιν-2-υλο)αιθοξυ)αιθαν-1-ονη (164)



M.T. : $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{NO}_2\text{S}$

M.B. : 347.43

Απόδοση: 20%, πορτοκαλί Στερεο. Σ.Τ.=57-59 °C

Σύστημα έκλυσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f (8:2)=0.52

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 8.15 (m, 1H, Ar), 8.03 – 7.95 (m, 1H, Ar), 7.78 (m, 4H, Ar), 7.62 – 7.37 (m, 5H, Ar), 5.15 (s, 2H, CH_2CO), 3.99 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, CH_2O), 3.21 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, PhCH_2).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 191.1, 163.8, 153.4, 136.8, 135.8, 134.0, 133.5, 132.2, 128.0, 127.9, 127.6, 127.5, 127.4, 127.3, 127.2, 125.9, 125.3, 122.4, 73.5, 72.8, 36.3.

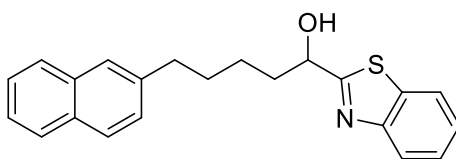
HRMS: $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{NO}_2\text{S}$ Exact Mass: 347.0980

$\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{NNaO}_2\text{S}^+ [\text{M}+\text{Na}]^+$ 370.0872, found 370.0883

Γενική μέθοδος σύζευξης βενζοθειαζολίου με αλδεΐδες

Ξεκινώντας από τις κατάλληλες πρωτοταγείς αλκοόλες, με χρήση κάποιας από τις μεθόδους οξειδωσης που περιγράφηκαν παραπάνω, παραλαμβάνουμε τις επιθυμητές αλδεΐδες. Σε αναδευόμενο διάλυμα βενζοθειαζολίου (1.2 mmol) σε ξηρό Et_2O (6.5 mL), στους -78 °C και υπό αδρανή ατμόσφαιρα Ar, προστίθεται στάγδην n-BuLi 1.6 M (1 eq) και το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση στους -78 °C για 1 h. Ακολουθεί προσθήκη διαλύματος της αλδεΐδης (1.00 mmol) σε ξηρό Et_2O (1.5 mL) και αφήνεται υπό ανάδευση στους -78 °C για ακόμη 1 h. Έπειτα, η αντίδραση αφήνεται σε r.t για μία νύχτα. Μετά το τέλος της αντίδρασης προστίθεται κορεσμένο διάλυμα NH_4Cl και η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et_2O (2 x 10 mL). Η οργανική φάση εκπλένεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl , ξηραίνεται με Na_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Το προϊόν παραλαμβάνεται καθαρό μετά από χρωματογραφία στήλης.

1-(Βενζο[d]θειαζολ-2-υλο)-5-(ναφθαλιν-2-υλο)πενταν-1-όλη (180)



M.T. : C₂₂H₂₁NOS

M.B. : 347.48

Απόδοση: 55%, πορτοκαλί στερεό χαμηλού σημείου τήξεως

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 7:3, R_f(7:3)=0.48

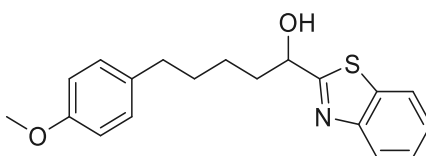
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.06 – 7.18 (m, 11H, Ar), 5.16 – 5.01 (m, 1H, CH), 4.62 (brs, 1H, OH), 2.74 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, PhCH₂), 2.15 – 1.91 (m, 2H, CH₂CH), 1.63 (m, 4H, 2xCH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 177.3, 152.5, 139.8, 134.5, 133.4, 131.8, 127.7, 127.5, 127.3, 127.2, 126.2, 126.0, 125.7, 124.9, 124.9, 122.5, 121.7, 71.9, 37.8, 35.7, 30.9, 24.9.

HRMS: C₂₂H₂₁NOS Exact Mass: 347.1344

C₂₂H₂₂NOS⁺ [M+H]⁺ 348.1417, found 348.1425

1-(Βενζο[d]θειαζολ-2-υλο)-5-(4-μεθοξυφαινυλο)πενταν-1-όλη (185)



M.T. : C₁₉H₂₁NO₂S

M.B. : 327.44

Απόδοση: 45%, πορτοκαλί στερεό.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f(8:2)=0.43

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.00 – 7.81 (m, 2H, Ar), 7.53 – 7.31 (m, 2H, Ar), 7.06 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, Ar), 6.80 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, Ar), 5.16 – 5.00 (m, 1H, CH), 4.02 (bs, 1H, OH), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 2.54 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH₂), 2.08 – 1.89 (m, 2H, CH₂), 1.72 – 1.43 (m, 4H, 2xCH₂).

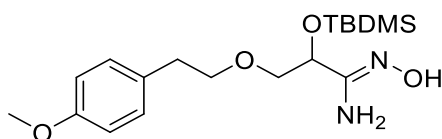
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 176.8, 157.5, 152.6, 134.3, 134.4, 129.2, 126.3, 126.0, 124.9, 123.1, 122.7, 122.5, 121.8, 113.6, 111.5, 72.1, 55.2, 37.9, 34.7, 31.4, 24.7.

HRMS C₁₉H₂₁NO₂S 327.1293

C₁₉H₂₂NO₂S⁺ [M+H]⁺ 328,1366, found 328.1371

(Z)-2-(tert-Βουτυλοδιμεθυλοσιλυλοξυ)-N'-υδροξυ-3-(4-μεθοξυφαινοιθοξυ)προπανιμιδαμίδιο (122)

Σε σωλήνα της συσκευής σύνθεσης μικροκυμάτων ζυγίζεται το OTBDMS-νιτρίλιο (1.00 mmol) και προστίθεται 50% υδ. H₂NOH (4.00 mmol, 0.1 mL). Η αντίδραση τοποθετείται στα μικροκύματα που ρυθμίζονται στα 50 Watts, στους 120 °C για 40 min. Το μίγμα της αντίδρασης αραιώνεται με H₂O και CH₂Cl₂ και μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη όπου εκχυλίζεται επανειλημμένως με CH₂Cl₂ (3 x 5 mL). Η αμιδοξίμη απομονώνεται έπειτα από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης PE-AcOEt 8:2.



M.T. : C₁₈H₃₂N₂O₄Si

M.B. : 368.55

Απόδοση: 78%, άχρωμο έλαιο

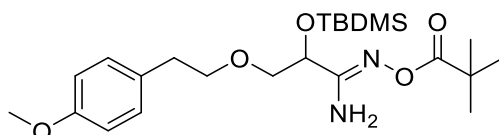
Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f (8:2)=0.52

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.13 (d, J = 8.0 Hz, 2H, Ar), 6.85 (d, J = 8.0 Hz, 2H, Ar), 4.81 (s, 2H, NH₂), 4.30 (t, J = 5.3 Hz, 1H, CH), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 3.69 – 3.51 (m, 4H, 2xCH₂O), 2.82 (t, J = 7.1 Hz, 2H, PhCH₂), 0.90 [s, 9H, C(CH₃)₃], 0.10 (s, 3H, SiCH₃), 0.09 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 157.9, 154.0, 130.9, 129.8, 113.7, 74.8, 72.7, 70.3, 55.1, 35.3, 25.7, 18.1, -5.0, -5.3.

(Z)-2-(tert-βουτυλοδιμεθυλοσιλυλοξυ)-3-(4-μεθοξυφαινοιθοξυ)-N'-(πιβαλουλοξυ)προπανιμιδαμίδιο (123)

Σε διάλυμα της αμιδοξίμης **122** (1.00 mmol) σε CH₂Cl₂ (20 mL) προστίθεται DCC (1.5 mmol, 230 mg) και πιβαλικό οξύ (1.00 mmol, 90 mg). Η αντίδραση αφήνεται για μια νύχτα σε r.t. Το μίγμα της αντίδρασης συμπυκνώνεται υπό κενό και καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης με σύστημα P.E.-AcOEt 8:2 απ'όπου απομονώνεται το επιθυμητό παράγωγο.



M.T. : C₂₃H₄₀N₂O₅Si

M.B. : 452.67

Απόδοση: 56%, λευκό στερεό χαμηλού σημείου τήξεως.

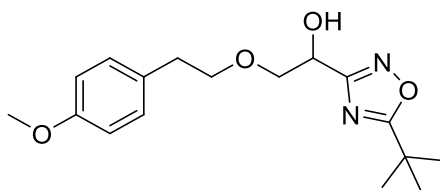
Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f (8:2)=0.27

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.09 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, Ar), 6.82 – 6.74 (m, 2H, Ar), 4.96 (s, 2H, NH_2), 4.50 – 4.43 (m, 1H, CH), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 3.67 – 3.52 (m, 4H, $2 \times \text{CH}_2\text{O}$), 2.78 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, PhCH_2), 1.25 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 0.87 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.07 (s, 3H, SiCH_3), 0.06 (s, 3H, SiCH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 174.8, 158.2, 157.9, 130.8, 129.7, 113.6, 75.1, 72.7, 69.8, 55.1, 38.7, 35.2, 27.4, 25.6, 18.0, -5.0, -5.3.

1-(5-(*tert*-Βουτυλο)-1,2,4-οξαδιαζολ-3-υλο)-2-(4-μεθοξυφαιναιθοξυ)αιθανόλη (124)

Σε διάλυμα του εστέρα **123** (1.00 mmol) σε ξηρό THF (10 mL), προστίθεται 1M διάλυμα TBAF (1.00 mmol, 1 mL) και τοποθετείται στη συσκευή σύνθεσης μικροκυμάτων, στα 90 watts, στους 120 °C για 1 h. Το μίγμα της αντίδρασης συμπυκνώνεται υπό κενό. Απομονώνεται το προϊόν έπειτα από χρωματογραφία στήλης με σύστημα PE-AcOEt.



M.T. : $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$

M.B. : 320.39

Απόδοση: 20%, κιτρινωπό έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 7:3, R_f (7:3)=0.38

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.10 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, Ar), 6.81 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, Ar), 5.03 – 4.93 (m, 1H, CH), 3.85 – 3.79 (m, 2H, CH_2O), 3.77 (s, 3H, OCH_3), 3.74 – 3.65 (m, 2H, CH_2O), 2.91 (brs, 1H, OH), 2.87 – 2.74 (m, 2H, PhCH_2), 1.42 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

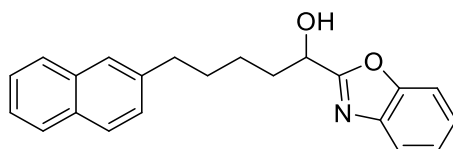
^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 169.2, 158.2, 158.1, 130.8, 129.9, 129.8, 114.0, 113.8, 72.6, 72.5, 66.2, 63.8, 55.2, 52.0, 38.2, 35.1, 33.6, 28.3, 27.5, 26.6, 20.5, 13.9.

Γενική μέθοδος σύνθεσης βενζοξασολικών δακτυλίων

Σε αναδευόμενο μίγμα χλωροφορμίου (0.5 M) και απόλυτης αιθανόλης (0.5 M) υπό αδρανή ατμόσφαιρα Ar, όπου έχουν ψυχθεί στους 0 °C, προστίθεται στάγδην το ακετυλοχλωρίδιο (0.46 mL) σε διάστημα 15 λεπτών. Έπειτα προστίθεται η κυανυδρίνη (1 mmol) διαλυμένη σε χλωροφόρμιο (0.5 M) και το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση στους 0 °C για 1 h. Ακολουθεί συμπύκνωση του διαλύτη σε θερμοκρασία μικρότερη των 25 °C. Το μίγμα της αντίδρασης διαλύεται σε απόλυτη αιθανόλη (1.2 M) και προστίθεται η ο-αμινοφαινόλη (1.1 mmol). Η αντίδραση αφήνεται υπό αναρροή και υπό αδρανή ατμόσφαιρα Ar για 16 h. Ο

διαλύτης συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση και το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται μετά από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης.

1-(Βενζο[d]οξαζολ-2-υλο)-5-(ναφθαλιν-2-υλο)πενταν-1-όλη (187)



M.T. : C₂₂H₂₁NO₂

M.B. : 331.42

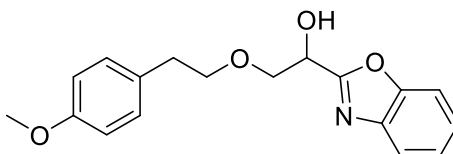
Απόδοση: 53%, πορτοκαλί έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f (8:2)=0.25

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.94 – 7.20 (m, 11H, Ar), 5.08 – 4.93 (m, 1H, CH), 4.45 (brs, 1H, OH), 2.79 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, PHCH₂), 2.10 (m, 2H, CH₂), 1.89 – 1.49 (m, 4H, 2xCH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 168.0, 150.5, 140.2, 139.8, 133.5, 131.8, 127.7, 127.5, 127.3, 127.2, 126.2, 125.8, 125.1, 125.0, 124.4, 119.8, 110.7, 67.8, 35.8, 35.2, 30.9, 24.7.

1-(Βενζο[d]οξαζολ-2-υλο)-2-(4-μεθοξυφαινηθοξυ)αιθανόλη (127)



M.T. : C₁₈H₁₉NO₄

M.B. : 313.35

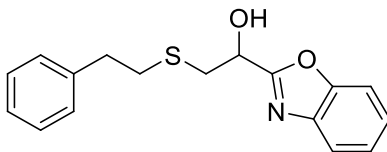
Απόδοση: 65%, υποκίτρινο στερεό, χαμηλού σημείου τήξης

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 2:8, R_f (2:8)=0.76

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.80 – 7.69 (m, 1H, Ar), 7.56 – 7.47 (m, 1H, Ar), 7.38 – 7.30 (m, 2H, Ar), 7.03 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, Ar), 6.71 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 5.12 (t, *J* = 4.9 Hz, 1H, CH), 4.01 – 3.91 (m, 2H, CH₂CH), 3.81 – 3.59 (m, 5H, OCH₃, CH₂O), 2.79 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, PhCH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 165.0, 158.0, 157.6, 140.5, 130.5, 129.7, 125.2, 124.5, 120.1, 113.7, 110.8, 72.7, 72.5, 67.5, 55.1, 35.0.

1-(Βενζο[d]οξαζολ-2-υλο)-2-(φαιλαιθυλοθειο)αιθανόλη (132)



M.T. : C₁₇H₁₇NO₂S

M.B. : 299.39

Απόδοση: 43%, άχρωμο έλαιο.

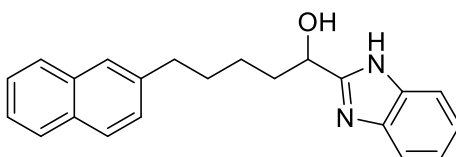
Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f(8:2)=0.35

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.79 – 7.69 (m, 1H, Ar), 7.58 – 7.47 (m, 1H, Ar), 7.44 – 6.97 (m, 7H, Ar), 5.20 – 5.05 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H, CH), 3.25 – 3.11 (m, 2H, PhCH₂), 2.89 – 2.74 (m, 4H, 2xSCH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 156.9, 148.6, 128.9, 128.4, 126.5, 126.4, 125.4, 124.6, 120.1, 110.8, 67.1, 37.6, 36.0, 34.1.

1-(1H-Βενζο[d]ιμιδαζολ-2-υλο)-5-(ναφθαλιν-2-υλο)πενταν-1-όλη (189)

Σε αναδευόμενο μίγμα χλωροφορμίου (0.5 M) και απόλυτης αιθανόλης (0.5 M) υπό αδρανή ατμόσφαιρα αργού, όπου έχουν ψυχθεί στους 0 °C, προστίθεται στάγδην το ακετυλοχλωρίδιο (0.46 mL) σε διάστημα 15 λεπτών. Έπειτα προστίθεται η κυανυδρίνη (1 mmol) διαλυμένη σε χλωροφόρμιο (0.5 M) και το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση στους 0 °C για 1 ώρα. Ακολουθεί συμπύκνωση του διαλύτη σε θερμοκρασία μικρότερη των 25 °C. Το μίγμα της αντίδρασης διαλύεται σε απόλυτη αιθανόλη (1.2 M) και προστίθεται η ο-φαιλυλεν-διαμίνη (1.1 mmol). Η αντίδραση αφήνεται υπό αναρροή και υπό αδρανή ατμόσφαιρα αργού για 16 ώρες. Ο διαλύτης συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση και το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται μετά από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης.



M.T. : C₂₂H₂₂N₂O

M.B. : 330.43

Απόδοση: 43%, λευκό στερεό.

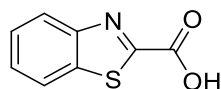
Σύστημα έκλουσης: CHCl₃-MeOH 9:1, R_f(9:1)=0.64

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.82 – 7.03 (m, 11H, Ar), 4.85 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H, CH), 4.41 (brs, 1H, OH), 2.65 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, PhCH₂), 2.03 – 1.76 (m, 2H, CH₂CH), 1.74 – 1.25 (m, 4H, 2xCH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 157.4, 139.8, 137.6, 133.4, 131.7, 127.5, 127.4, 127.2, 127.1, 126.1, 125.6, 124.8, 122.3, 114.7, 68.1, 36.3, 35.7, 30.9, 24.7.

Βενζο[d]θιαζολυλο-2-καρβοξυλικού οξέος (192)

Σε σφαιρική φιάλη που έχει ξηρανθεί υπό αδρανή ατμόσφαιρα Ar εισάγεται διάλυμα βενζοθειαζολίου (1.00 mmol) σε ξηρό Et₂O (15 mL) και ψύχεται στους -78 °C. Κατόπιν προστίθεται στάγδην διάλυμα BuLi 1 M σε εξάνιο (1 eq) και το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση στους -78 °C για 1 h. Έπειτα προστίθεται στάγδην ξηρό DMF και αφήνεται για 1 h στους -78 °C και σε r.t. για μια νύχτα. Το μίγμα της αντίδρασης ψύχεται στους 0 °C και σε αυτό προστίθεται NH₄Cl. Ακολουθώς μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη όπου η οργανική στιβάδα εκχυλίζεται με Et₂O (3x20 mL). Οι οργανικές φάσεις ενώνονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται υπό ελαττωμένη πίεση. Το υπόλειμμα που περιέχει την αλδεΐδη (1.00 mmol) αραιώνεται με DMF (2 mL) και στο υπό ανάδευση διάλυμα προστίθενται κατά σειρά tBuOH (2 mL), H₂O (0.5 mL), NaH₂PO₄ (0.3 mmol, 0.04 g), NaClO₂ (1.50 mmol, 0.14 g) H₂O (1.5 mL) το οποίο αφήνεται για 1 h σε r.t. Ακολουθώς, προστίθεται στερεό Na₂SO₃ προς εξουδετέρωση των οξειδωτικών. Το μίγμα της αντίδρασης μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη όπου προστίθεται 10% NaHCO₃ ώστε pH>7 και η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et₂O (3x10 mL). Η υδατική στιβάδα οξινίζεται με 10% κιτρικό οξύ και εκχυλίζεται εκ νέου με AcOEt (3x15 mL). Η οργανική φάση ξηραίνεται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση παρέχοντας το βενζοθειαζολυλο-2-καρβοξυλικό οξύ.



M.T. : C₈H₅NO₂S

M.B. : 179.19

Απόδοση: 40%, πορτοκαλί στερεό.

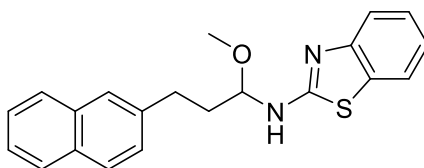
¹H NMR (200 MHz, CD₃OD) δ 8.14 - 7.79 (m, 4H, Ar)

¹³C NMR (50 MHz, CD₃OD) δ 162.6, 161.1, 156.8, 153.8, 137.9, 128.6, 125.5, 123.7, 123.1.

Γενική μέθοδος σύνθεσης ημιαμιναλών

Σε αναδευόμενο διάλυμα του 2-αμινοβενζοθειαζολίου (1.00 mmol) σε απόλυτη MeOH (1 mL) προστίθενται Na₂SO₄ (2.00 mmol, 284 mg) και η αλδεΐδη (1.00 mmol) και το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση για μια νύχτα. Το σύστημα ψύχεται στους 0 °C, προστίθεται πολύ αργά NaBH₄ και αφήνεται υπό ανάδευση για τουλάχιστον 4 h. Μετά το πέρας της αντίδρασης, προστίθεται H₂O και το μίγμα συμπυκνώνεται προς απομάκρυνση της MeOH. Το υπόλειμμα διαλύεται σε H₂O και AcOEt και μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη, με ταυτόχρονη διήθηση από βαμβάκι προς απομάκρυνση της περισσειας του Na₂SO₄, όπου εκχυλίζεται με AcOEt (3 x 10 mL). Η ημιαμινάλη απομονώνεται έπειτα από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης P.E.-AcOEt σε διάφορες αναλογίες.

N-(1-Μεθοξυ-3-(ναφθαλιν-2-υλο)προπυλο)βενζο[d]θειαζολ-2-αμίνη (207)



M.T. : C₂₁H₂₀N₂OS

M.B. : 348.46

Απόδοση: 63%, άχρωμο σιρόπι.

Σύστημα έκλυσης: P.E.-AcOEt 7:3, R_f (7:3)=0.49

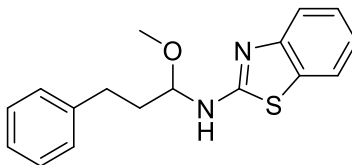
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.31 (s, 1H, NH), 7.99 – 7.12 (m, 11H, Ar), 5.09 – 4.89 (s, 1H, CH), 3.55 (s, 3H, OCH₃), 3.03 (t, J = 7.0 Hz, 2H, PhCH₂), 2.52 – 2.18 (m, 2H, CH₂CH).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 167.1, 151.3, 137.9, 133.2, 131.7, 129.8, 127.7, 127.3, 127.1, 126.7, 126.2, 125.8, 125.6, 124.9, 121.5, 120.5, 118.6, 87.3, 54.8, 36.4, 31.1.

C₂₁H₂₀N₂OS Exact Mass: 348.1296

C₂₁H₁₉N₂OS⁻ [M-H]⁻ 347.1224, found 347.1219

N-(1-Μεθοξυ-3-φαινυλοπροπυλο)βενζο[d]θειαζολ-2-αμίνη (210)



M.T. : C₁₇H₁₈N₂OS

M.B. : 298.40

Απόδοση: 97%, πορτοκαλί έλαιο.

Σύστημα έκλυσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f (8:2)=0.15

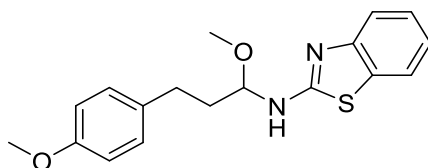
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.68 – 7.59 (m, 2H, Ar), 7.39 – 7.07 (m, 7H, Ar), 4.88 (t, J = 6.2 Hz, 1H, CH), 3.45 (s, 3H, OCH₃), 2.79 (t, J = 7.8 Hz, 2H, PhCH₂), 2.29 – 2.02 (m, 2H, CH₂CH).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 151.4, 140.8, 130.0, 128.4, 128.3, 126.1, 126.0, 121.9, 120.8, 118.9, 87.3, 55.1, 36.9, 31.2.

HRMS: C₁₇H₁₈N₂OS Exact Mass: 298.1140

C₁₇H₁₉N₂OS⁺ [M+H]⁺ 299.1213, found 299.1200

N-(1-Μεθοξυ-3-(4-μεθοξυφαινυλο)προπυλο)βενζο[d]θειαζολ-2-αμίνη (215)



M.T. : C₁₈H₂₀N₂O₂S

M.B. : 328.43

Απόδοση: 70%, κιτρινωπό έλαιο

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f (8:2)=0.23

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.36 – 7.85 (m, 1H, NH), 7.65 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, Ar), 7.42 – 7.29 (m, 1H, Ar), 7.21 – 7.05 (m, 3H, Ar), 6.84 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 4.96 – 4.83 (tm, 1H, CH), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 3.48 (s, 3H, OCH₃), 2.76 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, PhCH₂), 2.34 – 2.01 (m, 2H, CH₂CH).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 167.2, 157.7, 151.4, 132.7, 129.9, 129.2, 126.0, 121.7, 120.7, 118.7, 113.7, 87.3, 55.1, 54.9, 37.0, 30.2.

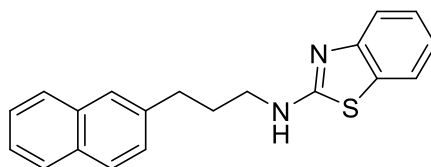
HRMS C₁₈H₂₀N₂O₂S Exact Mass: 328.1245

C₁₈H₂₁N₂O₂S⁺ [M+H]⁺ 329.1318, found 329.1309.

Μέθοδος αναγωγής ημιαμιναλών προς αμίνες

Η ημιαμινάλη (1.00 mmol) μεταφέρεται σε δοχείο πίεσης, διαλύεται σε απόλυτη MeOH (1 mL) και στο υπό ανάδευση διάλυμα προστίθεται NaBH₄ (2.00 mmol). Το δοχείο σφραγίζεται και αφήνεται στους 80 °C για 1 h. Το μίγμα της αντίδρασης συμπυκνώνεται, το υπόλειμμα διαλύεται σε H₂O και μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη όπου εκχυλίζεται με AcOEt (3 x 5 mL). Η αμίνη καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης P.E.-AcOEt σε διάφορες αναλογίες.

N-(3-(Ναφθαλιν-2-υλο)προπυλο)βενζο[d]θειαζολ-2-αμίνη (208)



M.T. : C₂₀H₁₈N₂S

M.B. : 318.44

Απόδοση: 97%, λευκό στερεό, Σ.Τ.= 112 – 114 °C

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 7:3, R_f (7:3)=0.66

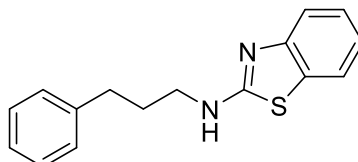
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.92 – 6.97 (m, 11H, Ar), 6.06 (bs, 1H, NH), 3.47 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂N), 2.90 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, PhCH₂), 2.11 (m, 2H, CH₂).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 167.8, 152.4, 138.5, 133.5, 132.0, 130.3, 128.1, 127.6, 127.4, 127.0, 126.5, 126.0, 125.9, 125.3, 121.4, 120.8, 118.8, 45.0, 33.1, 30.9.

HRMS: $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{S}$ Exact Mass: 318.1191

$\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{S}^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 317.1118, found 317.1112

N-(3-φαινυλοπροπυλο)βενζο[d]θειαζολ-2-αμίνη (211)



M.T. : $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{S}$

M.B. : 268.38

Απόδοση: 90%, λευκό στερεό, ΣT : 99 – 102 °C

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f (7:3)=0.48

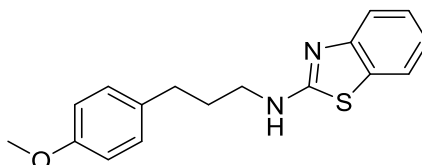
^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.68 – 7.42 (m, 2H, Ar), 7.39 - 7.00 (m, 7H, Ar), 3.43 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, CH_2N), 2.79 – 2.68 (m, 2H, PhCH_2), 2.19 – 1.91 (m, 2H, CH_2).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 168.3, 152.1, 140.9, 130.0, 128.4, 128.3, 126.0, 125.9, 121.2, 120.8, 118.3, 45.1, 32.9, 30.9.

HRMS: $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{S}$ Exact Mass: 268.1034

$\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{S}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 269.1107, found 269.112

N-(3-(4-Μεθοξυφαινυλο)προπυλο)βενζο[d]θειαζολ-2-αμίνη (216)



M.T. : $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{OS}$

M.B. : 298.40

Απόδοση: 97%, λευκό στερεό, ΣT . =104 – 106 °C

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 7:3, R_f (7:3)=0.63

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.52 - 6.80 (m, 9H, Ar, NH), 3.76 (s, 3H, OCH_3), 3.39 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, CH_2NH), 2.65 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H, PhCH_2), 2.08 – 1.86 (m, 2H, CH_2).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 168.2, 157.8, 152.1, 132.9, 130.0, 129.2, 125.9, 121.2, 120.8, 118.3, 113.7, 55.1, 45.0, 32.0, 31.1.

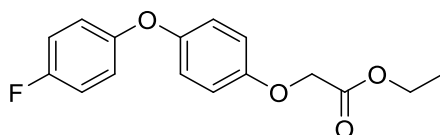
HRMS: $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{OS}$ Exact Mass: 298.1140

$\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{OS}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 299.1213, found 299.1203

Προστασία της 4-υδροξύ ομάδας φαινυλίου

Μίγμα p-OH-φαινολικής ένωσης (1.00 mmol) και K₂CO₃ (1.2 mmol, 146 mg), σε άνυδρη ακετόνη (10 mL) και αφήνεται υπό ανάδευση σε r.t. για 15 min. Κατόπιν προστίθεται στάγδην βρωμοξικός αιθυλεστέρας (1.2 mmol, 0.13 mL) και η αντίδραση αφήνεται σε r.t. για μία νύχτα. Το μίγμα της αντίδρασης συμπυκνώνεται υπό κενό. Το υπόλειμμα διαλύεται σε H₂O και μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη όπου οξινίζεται με κιτρικό οξύ 5% και στη συνέχεια η υδατική φάση εκχυλίζεται επανειλημμένως με AcOEt (3 x 10 mL). Οι οργανικές φάσεις συγκεντρώνονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται υπό κενό. Το επιθυμητό παράγωγο απομονώνεται έπειτα από χρωματογραφία στήλης.

2-(4-(4-Φθοροφαινοξυ)φαινοξυ)οξικός αιθυλεστέρας (138)



M.T. : C₁₆H₁₅FO₄

M.B. : 290.29

Απόδοση: 99% , πορτοκαλί έλαιο.

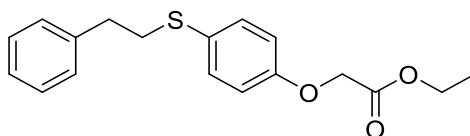
Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 8:2, R_f (8:2)=0.77

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.06 – 6.79 (m, 8H, Ar), 4.58 (s, 2H, CH₂OCO), 4.25 (q, J = 7.1 Hz, 2H, CH₂CO), 1.28 (t, J = 7.1 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 168.8, 157.5 (d, J = 239.5 Hz), 153.9, 151.5, 119.9, 119.4 (d, J = 8 Hz), 119.3, 116.3, 115.9 (d, J = 22.5), 65.9, 61.3, 14.1.

¹⁹F NMR (188 MHz, CDCl₃) δ -121.33.

2-(4-(Φαιναιθυλοθειο)φαινοξυ)οξικός αιθυλεστέρας (146)



M.T. : C₁₈H₂₀O₃S

M.B. : 316.42

Απόδοση: 99%, υποκίτρινο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 85:15, R_f (85:15)=0.75

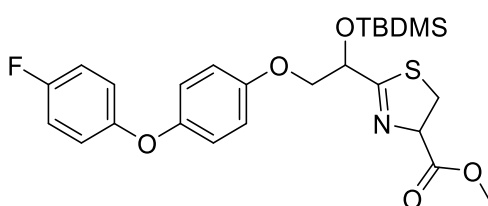
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.40 – 7.09 (m, 7H, Ar), 6.91 – 6.79 (m, 2H, Ar), 4.59 (s, 2H, CH₂OCO), 4.31 – 4.17 (q, J = 7 Hz, 2H, CH₂CO), 3.12 – 3.01 (m, 2H, PhCH₂), 2.91 – 2.80 (m, 2H, CH₂S), 1.28 (t, J = 7.2 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 167.6, 155.8, 139.1, 132.0, 127.3, 127.3, 126.7, 125.2, 114.2, 64.3, 60.2, 35.7, 34.6, 13.0.

Σύνθεση α-υδροξυ-διυδρο-θειαζολικών παραγώγων

Διάλυμα TBDMSO-νιτριλίου (1.00 mmol) και CH₃COONH₄ (4.00 mmol) σε MeOH (2 mL), θερμαίνεται στους 85 °C και κατόπιν προστίθεται σε αυτό L-Cys-OMe·HCl (2.5 mmol, 430 mg) και η αντίδραση αφήνεται για 1.5 h υπό ήπια αναρροή (στους 85 °C). Το επιθυμητό παράγωγο απομονώνεται έπειτα από χρωματογραφία στήλης με κατάλληλο σύστημα έκλουσης.

2-(1-((*tert*-Βουτυλοδιμεθυλοσιλυλ)οξυ)-2-(4-(4-φθοροφαινοξυ)φαινοξυ)αιθυλο)-4,5-διυδροθειαζολυλο-4-καρβοξυλικός μεθυλεστέρας (141)



M.T. : C₂₅H₃₂FNO₅SSi

M.B. : 505.68

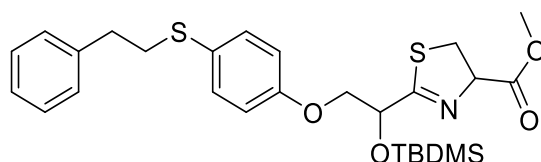
Απόδοση: 67%, κιτρινωπό έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 9:1, R_f(9:1)=0.38

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.05 – 6.81 (m, 8H, Ar), 5.29 – 5.11 (m, 1H, OCHH), 5.02 - 4.92 (m, 1H, OCHH), 4.32 – 4.16 (m, 1H, OCH), 4.07 – 4.00 (m, 1H, CH), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 3.67 – 3.31 (m, 2H, SCH₂), 0.93 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.20 – 0.05 (s, 6H, 2xSiCH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 178.2, 171.1, 154.7, 150.8, 120.1, 119.0, 116.0 (d, J = 25.0 Hz), 115.6, 78.2, 72.4, 72.0, 52.8, 33.7, 25.7, 18.3, -4.7, -5.2.

2-(1-((*tert*- Βουτυλοδιμεθυλοσιλυλ)οξυ)-2-(4-(φαιλαιθυλοθειο)φαινοξυ)αιθυλο)-4,5- διυδροθειαζολυλο-4-καρβοξυλικός μεθυλεστέρας(149)



M.T. : C₂₇H₃₇NO₄S₂Si

M.B. : 531.80

Απόδοση: 40%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 95:5, R_f (95:5)=0.18

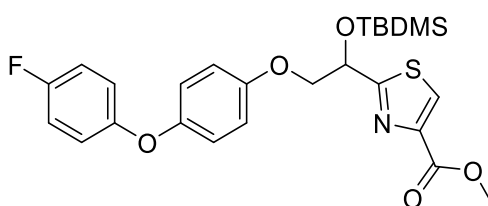
^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.43 – 7.06 (m, 7H, Ar), 6.85 (m, 2H, Ar), 5.25 – 5.09 (m, 1H, OCHH), 5.03 – 4.92 (m, 1H, OCHH), 4.25 (m, 1H, CHOTBDMS), 4.13 – 4.03 (m, 1H, CHCO), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 3.57 – 3.37 (m, 2H, SCH₂), 3.13 – 2.98 (m, 2H, PhCH₂), 2.91 – 2.77 (m, 2H, SCH₂), 0.91 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.16 (s, 3H, SiCH₃), 0.14 (s, 3H, SiCH₃).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 180.6, 163.1, 155.7, 150.8, 140.4, 127.2, 125.6, 123.6, 119.0, 114.3, 79.1, 72.0, 52.8, 37.8, 35.3, 33.7, 25.7, 18.3, -4.7, -5.2.

Αρωματοποίηση διυδροθειαζολυλο-παραγώγων

Αναδεδυμένο διάλυμα του διυδροθειαζολυλο-παραγώγου (1.00 mmol) σε ξηρό CH_2Cl_2 , ψύχεται στους 0 °C. Κατόπιν προστίθενται BrCCl_3 (6.00 mmol, 1.2 g) και DBU (6.00 mmol, 5.3 mL) και το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται στους 0 °C για 1 h και r.t για μια νύχτα. Το αρωματοποιημένο παράγωγο απομονώνεται έπειτα από χρωματογραφία στήλης με κατάλληλο σύστημα έκλουσης.

2-(1-((*tert*-Βουτυλοδιμεθυλοσιλυλ)οξυ)-2-(4-(4-φθοροφαινοξυ)φαινοξυ)αιθυλο)θειαζολο-4-καρβοξυλικός μεθυλεστέρας (142)



M.T. : $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{FNO}_5\text{SSi}$

M.B. : 503.66

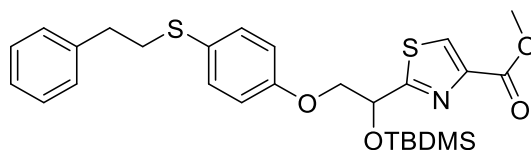
Απόδοση: 96%, κίτρινωπό έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.- Et_2O 8:2, R_f (8:2)=0.61

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 8.16 (s, 1H, CHS), 7.03 – 6.62 (m, 8H, Ar), 5.52 - 5.36 (m, 1H, CH), 4.53 – 4.29 (m, 1H, OCHH), 4.07 – 3.97 (m, 1H, OCHH), 3.92 (s, 3H, OCH₃), 0.93 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.15 (s, 3H, SiCH₃), 0.13 (s, 3H, SiCH₃).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 174.2, 161.8, 160.6, 154.5, 150.8, 146.8, 128.0, 120.1, 119.0 (d, J = 8 Hz), 116.8 (d, J = 23 Hz), 115.8, 115.5, 73.1, 72.4, 52.4, 25.6, 18.2, -4.6, -5.2.

2-(1-((*tert*-Βουτυλοδιμεθυλοσιλνυλ)οξυ)-2-(4-(φαινοιθυλοθειο)φαινοξυ)αιθυλο)θειαζολο-4-καρβοξυλικός μεθυλεστέρας (160)
242



M.T. : C₂₇H₃₅NO₄S₂Si

M.B. : 529.79

Απόδοση: 65%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 5:5, R_f (5:5)=0.53

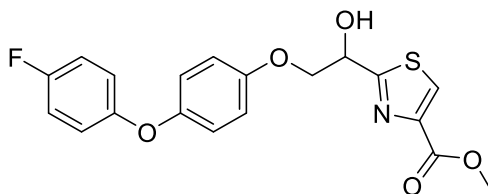
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.18 (s, 1H, Ar), 7.08 – 6.70 (m, 9H, Ar), 5.51 – 5.38 (m, 1H, OCHH), 4.53 - 3.6 (m, 1H, OCHH), 4.13 – 3.98 (m, 1H, CH), 4.05 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 3.95 (s, 3H, OCH₃), 3.16 – 2.97 (m, 2H, CH₂), 2.91 – 2.77 (m, 2H, CH₂), 0.93 [s, 3H, 2x SiCH₃], 0.15 (s, 3H, SiCH₃), 0.14 (s, 3H, SiCH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 174.2, 161.8, 157.6, 146.8, 140.2, 133.0, 128.4, 128.0, 126.3, 115.1, 72.7, 72.4, 52.5, 37.0, 35.8, 25.6, 18.2, -4.5, -5.2.

Αποπροστασία TBDMS

Σε διάλυμα του TBDMS-προστατευμένου παραγώγου (1.00 mmol) σε ξηρό THF (5 mL) προστίθεται στάγδην διάλυμα TBAF (1.00 mmol, 1 mL) και η αντίδραση αφήνεται σε r.t. για 1 h. Το μίγμα της αντίδρασης συμπυκνώνεται υπό κενό και το προϊόν απομονώνεται έπειτα από χρωματογραφία στήλης.

2-(2-(4-(4-Φθοροφαινοξυ)φαινοξυ)-1-υδροξυαιθυλο)θειαζολο-4-καρβοξυλικό μεθυλεστέρας(143)



M.T. : C₁₉H₁₆FNO₅S

M.B. : 389.39

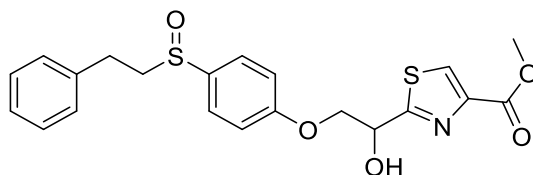
Απόδοση: 81%, άχρωμο έλαιο.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 5:5, R_f (5:5)=0.61

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.18 (s, 1H, Ar), 7.03 – 6.75 (m, 8H, Ar), 5.51 – 5.37 (m, 1H, CH), 4.45 (dd, J = 4.0, 10.0 Hz, 1H, OCHH), 4.19 (dd, J = 6.0, 10.0 Hz, 1H, OCHH), 4.04 (bs, 1H, OH), 3.91 (s, 3H, OCH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 172.6, 162.0, 161.0, 154.3, 151.7, 146.8, 128.5, 120.3, 119.2 (d, J = 8 Hz), 119.5, 116.1 (d, J = 23 Hz), 115.8, 72.1, 71.0, 52.8.

**2-(1-Υδροξυ-2-(4-(φαιλαιθυλοσουλφινυλο)φαινοξυ)αιθυλο)θειαζολο-4-
καρβοξυλικός μεθυλεστέρας (162)**



M.T. : C₂₁H₂₁NO₅S₂

M.B. : 431.52

Απόδοση: 98%, άχρωμο σιρόπι.

Σύστημα έκλουσης: P.E.-AcOEt 5:5, R_f (5:5)=0.38

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.18 (s, 1H, Ar), 7.55 – 7.46 (m, 2H, Ar), 7.31 – 6.88 (m, 7H, Ar), 5.50 – 5.39 (m, 1H, CH), 4.57 – 4.46 (m, 1H, OCHH), 4.34 – 4.18 (m, 1H, OCHH), 3.92 (s, 3H, OCH₃), 3.16 – 2.77 (m, 4H, 2xCH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 172.6, 160.6, 146.5, 138.3, 134.1, 130.2, 128.7, 128.5, 128.3, 126.7, 126.2, 115.6, 71.5, 70.4, 58.1, 52.6, 28.4.

Μελέτες σταθερότητας σε ανθρώπινο πλάσμα

Οι αντιδράσεις ξεκίνησαν με την προσθήκη της εξεταζόμενης ένωσης σε 200 μL προθερμασμένου (37 °C) ανθρώπινου πλάσματος ώστε να επιτευχθεί τελική συγκέντρωση 1 mg/mL. Δείγματα (50 μL) ελήφθησαν στα 0, 15, 30 και 60 λεπτά και προστέθηκε ακετονιτρίλιο (200 μL). Τα δείγματα υποβλήθηκαν σε ανάμιξη στροβιλισμού και στη συνέχεια σε φυγοκέντρηση για 5 λεπτά. Τα διαυγή υπερκείμενα αναλύθηκαν με LC-HRMS χρησιμοποιώντας όργανο AB Sciex 4600 Triple TOF σε συνδυασμό με micro-LC Eksigent και αυτόματο δειγματολήπτη.

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

AA	Αραχιδονικό οξύ
BEL	Βρωμοένολο λακτόνη
COX	Κυκλοοξυγενάσες
Coxibs	Εκλεκτικοί αναστολείς κυκλοοξυγενάσης - 2
cPGES	Κυτοσολική συνθάση της προσταγλανδίνης E ₂
cPLA ₂	Κυτοσολική φωσφολιπάση A ₂
DAST	Τριφθοροδιμεθυλαμινοθείο τριφθορίδιο
DBU	Διαζαδικυκλοενδεκένιο
DCC	N,N'-Δικυκλοεξυλοκαρβοδιμίδιο
DMAP	Διμεθυλαμινοπυριδίνη
DMP	Dess Martin Periodinane
EAE	Πειραματική αυτοάνοση εγκεφαλομυελίτιδα
EP-R	Πρωτεϊνικοί υποδοχείς προσταγλανδινών
GSH	Γλουταθειόνη
HNE	Ανθρώπινη ουδετερόφιλη ελαστάση
iPLA ₂	Φωσφολιπάση A ₂ ανεξάρτητη ιόντων ασβεστίου
LOX	Λιποξυγενάσες
LPA	Λυσοφωσφατιδικό οξύ
LTs	Λευκοτριένια
lysoPC	Λυσοφωσφατιδυλοχολίνη
mPGES-1	Μικροσωμική Συνθάση-1 της προσταγλανδίνης E ₂
mPGES-2	Μικροσωμική Συνθάση-2 της προσταγλανδίνης E ₂
MS	Σκλήρυνση κατά πλάκας
NMM	N-Μεθυλομορφολίνη
NSAIDs	Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα
PAF	Παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων
PAF-AH	Ακετυλοϋδρολάσες του παράγοντα ενεργοποίησης αιμοπεταλίων
PGs	Προσταγλανδίνες
PGD ₂	Προσταγλανδίνη D ₂
PGE ₂	Προσταγλανδίνη E ₂

PGF _{2α}	Προσταγλανδίνη F _{2α}
PGI ₂	Προστακυκλίνη
PIP ₂	4,5-Διφωσφορική φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη
PLA ₂	Φωσφολιπάση A ₂
sPLA ₂	Εκκριτική φωσφολιπάση A ₂
TBAF	Τετραβουτυλαμμώνιο φθορίδιο
TEMPO	2,2,6,6-Τετραμεθυλοπιπεριδινονιτρόξυλο ρίζα
TBXAS1	Συνθάση της θρομβοξάνης
TXA ₂	Θρομβοξάνη
TXs	Θρομβοξάνια
WSCl	Υδροχλωρικό N-(3-διμεθυλοαμινοπροπυλο)-N'-αιθυλοκαρβοδιμίδιο

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Dhingra, A.K.; Chopra, B.; Dass, R.; Mittal, S.K. An update on Anti-inflammatory Compounds: A Review. *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem*, **2015**, *14* (2), 81-97.
2. Nathan, C. Points of control in inflammation. *Nature*, **2002**, *420* (6917), 846-852.
3. Ricciotti, E.; FitzGerald, G.A. Prostaglandins and Inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2011**, *31* (5), 986-1000.
4. Murakami, M.; Hirano, T. The molecular mechanisms of chronic inflammation development. *Front Immunol*, **2012**, *3*, 323.
5. Psarra, A.; Nikolaou, A.; Kokotou, M.G.; Linnios, D.; Kokotos, G. Microsomal prostaglandin E₂ synthase-1 inhibitors: a patent review. *Expert Opin Ther Pat*, **2017**, *27* (9), 1047-1059.
6. Grosch, S.; Niederberger, E.; Geisslinger, G. Investigational drugs targeting the prostaglandin E₂ signaling pathway for the treatment of inflammatory pain. *Expert Opin Investig Drugs*, **2017**, *26* (1), 51-61.
7. Dennis, E.A.; Cao, J.; Hsu, Y.H.; Magrioti, V.; Kokotos, G. Phospholipase A₂ enzymes: physical structure, biological function, disease implication, chemical inhibition, and therapeutic intervention. *Chem Rev*, **2011**, *111* (10), 6130-6185.
8. Schaloske, R.H.; Dennis, E.A. The phospholipase A₂ superfamily and its group numbering system. *Biochim Biophys Acta*, **2006**, *1761* (11), 1246-1259.
9. Samanta, U.; Bahnson, B.J. Crystal structure of human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase: structural implication to lipoprotein binding and catalysis. *J Biol Chem*, **2008**, *283* (46), 31617-31624.
10. Lerman, A.; McConnell, J.P. Lipoprotein-associated phospholipase A₂: a risk marker or a risk factor? *Am J Cardiol*, **2008**, *101* (12A), 11F-22F.
11. Glukhova, A.; Hinkovska-Galcheva, V.; Kelly, R.; Abe, A.; Shayman, J.A.; Tesmer, J.J.G. Structure and function of lysosomal phospholipase A₂ and lecithin:cholesterol acyltransferase. *Nat Commun*, **2015**, *6* 6250.
12. Murakami, M.; Sato, H.; Miki, Y.; Yamamoto, K.; Taketomi, Y. A new era of secreted phospholipase A₂. *J Lipid Res*, **2015**, *56* (7), 1248-1261.
13. Larsson, P.K.; Claesson, H.E.; Kennedy, B.P. Multiple splice variants of the human calcium-independent phospholipase A₂ and their effect on enzyme activity. *J Biol Chem*, **1998**, *273* (1), 207-214.
14. Leslie, C.C. Cytosolic phospholipase A₂: physiological function and role in disease. *J Lipid Res*, **2015**, *56* (8), 1386-1402.
15. Burke, J.E.; Dennis, E.A. Phospholipase A₂ structure/function, mechanism, and signaling. *J Lipid Res*, **2009**, *50* (Suppl), S237-S242.
16. Clark, J.D.; Lin, L.L.; Kriz, R.W.; Ramesha, C.S.; Sultzman, L.A.; Lin, A.Y.; Milona, N.; Knopf, J.L. A novel arachidonic acid-selective cytosolic PLA₂ contains a Ca²⁺-dependent translocation domain with homology to PKC and GAP. *Cell*, **1991**, *65* (6), 1043-1051.
17. Ghosh, M.; Tucker, D.E.; Burchett, S.A.; Leslie, C.C. Properties of the Group IV phospholipase A₂ family. *Prog Lipid Res*, **2006**, *45* (6), 487-510.
18. Reynolds, L.J.; Hughes, L.L.; Louis, A.I.; Kramer, R.M.; Dennis, E.A. Metal ion and salt effects on the phospholipase A₂, lysophospholipase, and

- transacylase activities of human cytosolic phospholipase A₂. *Biochim Biophys Acta, Lipids Lipid Metab*, **1993**, 1167 (3), 272-280.
19. Dessen, A.; Tang, J.; Schmidt, H.; Stahl, M.; Clark, J.D.; Seehra, J.; Somers, W.S. Crystal structure of human cytosolic phospholipase A₂ reveals a novel topology and catalytic mechanism. *Cell*, **1999**, 97 (3), 349-360.
 20. Pickard, R.T.; Chiou, X.G.; Striffler, B.A.; DeFelippis, M.R.; Hyslop, P.A.; Tebbe, A.L.; Yee, Y.K.; Reynolds, L.J.; Dennis, E.A.; Kramer, R.M.; Sharp, J.D. Identification of essential residues for the catalytic function of 85-kDa cytosolic phospholipase A₂. Probing the role of histidine, aspartic acid, cysteine, and arginine. *J Biol Chem*, **1996**, 271 (32), 19225-19231.
 21. Das, S.; Cho, W. Roles of Catalytic Domain Residues in Interfacial Binding and Activation of Group IV Cytosolic Phospholipase A₂. *J Biol Chem*, **2002**, 277 (26), 23838-23846.
 22. Burke, J.E.; Hsu, Y.H.; Deems, R.A.; Li, S.; Woods, V.L., Jr.; Dennis, E.A. A phospholipid substrate molecule residing in the membrane surface mediates opening of the lid region in group IVA cytosolic phospholipase A₂. *J Biol Chem*, **2008**, 283 (45), 31227-31236.
 23. Six, D.A.; Dennis, E.A. Essential Ca²⁺-independent role of the Group IVA Cytosolic Phospholipase A₂ C2 domain for interfacial activity. *J Biol Chem*, **2003**, 278 (26), 23842-23850.
 24. Ma, M.T.; Yeo, J.F.; Shui, G.; Wenk, M.R.; Ong, W.Y. Systems wide analyses of lipids in the brainstem during inflammatory orofacial pain - evidence of increased phospholipase A₂ activity. *Eur J Pain*, **2012**, 16 (1), 38-48.
 25. Lopez-Vales, R.; Ghasemlou, N.; Redensek, A.; Kerr, B.J.; Barbayianni, E.; Antonopoulou, G.; Baskakis, C.; Rathore, K.I.; Constantinou-Kokotou, V.; Stephens, D.; Shimizu, T.; Dennis, E.A.; Kokotos, G.; David, S. Phospholipase A₂ superfamily members play divergent roles after spinal cord injury. *FASEB J*, **2011**, 25 (12), 4240-4252.
 26. Gentile, M.T.; Reccia, M.G.; Sorrentino, P.P.; Vitale, E.; Sorrentino, G.; Puca, A.A.; Colucci-D'Amato, L. Role of cytosolic calcium-dependent phospholipase A₂ in Alzheimer's disease pathogenesis. *Mol Neurobiol*, **2012**, 45 (3), 596-604.
 27. Sundaram, J.R.; Chan, E.S.; Poore, C.P.; Pareek, T.K.; Cheong, W.F.; Shui, G.; Tang, N.; Low, C.M.; Wenk, M.R.; Kesavapany, S. Cdk5/p25-induced cytosolic PLA₂-mediated lysophosphatidylcholine production regulates neuroinflammation and triggers neurodegeneration. *J Neurosci*, **2012**, 32 (3), 1020-1034.
 28. Lee, H.J.; Bazinet, R.P.; Rapoport, S.I.; Bhattacharjee, A.K. Brain arachidonic acid cascade enzymes are upregulated in a rat model of unilateral Parkinson disease. *Neurochem Res*, **2010**, 35 (4), 613-619.
 29. Kim, H.W.; Rapoport, S.I.; Rao, J.S. Altered arachidonic acid cascade enzymes in postmortem brain from bipolar disorder patients. *Mol Psychiatry*, **2011**, 16 (4), 419-428.
 30. Rao, J.S.; Kim, H.W.; Harry, G.J.; Rapoport, S.I.; Reese, E.A. Retracted: Increased neuroinflammatory and arachidonic acid cascade markers, and reduced synaptic proteins, in the postmortem frontal cortex from schizophrenia patients. *Schizophr Res*, **2013**, 147 (1), 24-31.
 31. Kalyvas, A.; David, S. Cytosolic phospholipase A₂ plays a key role in the pathogenesis of multiple sclerosis-like disease. *Neuron*, **2004**, 41 (3), 323-335.

32. Marusic, S.; Leach, M.W.; Pelker, J.W.; Azoitei, M.L.; Uozumi, N.; Cui, J.; Shen, M.W.; DeClercq, C.M.; Miyashiro, J.S.; Carito, B.A.; Thakker, P.; Simmons, D.L.; Leonard, J.P.; Shimizu, T.; Clark, J.D. Cytosolic phospholipase A₂ alpha-deficient mice are resistant to experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Exp Med*, **2005**, *202* (6), 841-851.
33. Hegen, M.; Sun, L.; Uozumi, N.; Kume, K.; Goad, M.E.; Nickerson-Nutter, C.L.; Shimizu, T.; Clark, J.D. Cytosolic Phospholipase A₂α-deficient mice are resistant to collagen-induced arthritis. *J Exp Med*, **2003**, *197* (10), 1297-1302.
34. Ilsley, J.N.; Nakanishi, M.; Flynn, C.; Belinsky, G.S.; De Guise, S.; Adib, J.N.; Dobrowsky, R.T.; Bonventre, J.V.; Rosenberg, D.W. Cytoplasmic phospholipase A₂ deletion enhances colon tumorigenesis. *Cancer Res*, **2005**, *65* (7), 2636-2643.
35. Caiazza, F.; Harvey, B.J.; Thomas, W. Cytosolic phospholipase A₂ activation correlates with HER₂ overexpression and mediates estrogen-dependent breast cancer cell growth. *Mol Endocrinol*, **2010**, *24* (5), 953-968.
36. Hazen, S.L.; Gross, R.W. ATP-dependent regulation of rabbit myocardial cytosolic calcium-independent phospholipase A₂. *Expert Opin Ther Pat*, **1991**, *266* (22), 14526-14534.
37. Wolf, M.J.; Gross, R.W. Expression, purification, and kinetic characterization of a recombinant 80-kDa intracellular Calcium-independent Phospholipase A₂. *J Biol Chem*, **1996**, *271* (48), 30879-30885.
38. Malley, K.R.; Koroleva, O.; Miller, I.; Sanishvili, R.; Jenkins, C.M.; Gross, R.W.; Korolev, S. The structure of iPLA₂β reveals dimeric active sites and suggests mechanisms of regulation and localization. *Nat Commun*, **2018**, *9* (1), 765.
39. Tang, J.; Kriz, R.W.; Wolfman, N.; Shaffer, M.; Seehra, J.; Jones, S.S. A novel Cytosolic Calcium-independent Phospholipase A₂ contains eight ankyrin motifs. *J Biol Chem*, **1997**, *272* (13), 8567-8575.
40. Li, J.; Mahajan, A.; Tsai, M.D. Ankyrin repeat: a unique motif mediating protein-protein interactions. *Biochemistry*, **2006**, *45* (51), 15168-15178.
41. Hsu, Y.-H.; Bucher, D.; Cao, J.; Li, S.; Yang, S.-W.; Kokotos, G.; Woods, V.L.; McCammon, J.A.; Dennis, E.A. Fluoroketone inhibition of Ca²⁺-Independent Phospholipase A₂ through binding pocket association defined by hydrogen/deuterium exchange and molecular dynamics. *Journal of the American Chemical Society*, **2013**, *135* (4), 1330-1337.
42. Ramanadham, S.; Ali, T.; Ashley, J.W.; Bone, R.N.; Hancock, W.D.; Lei, X. Calcium-independent phospholipases A₂ and their roles in biological processes and diseases. *J Lipid Res*, **2015**, *56* (9), 1643-1668.
43. Malhotra, A.; Edelman-Novemsky, I.; Xu, Y.; Plesken, H.; Ma, J.; Schlame, M.; Ren, M. Role of Calcium-independent Phospholipase A₂ in the pathogenesis of Barth syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2009**, *106* (7), 2337-2341.
44. Kalyvas, A.; Baskakis, C.; Magrioti, V.; Constantinou-Kokotou, V.; Stephens, D.; López-Vales, R.; Lu, J.-Q.; Yong, V.W.; Dennis, E.A.; Kokotos, G.; David, S. Differing roles for members of the phospholipase A₂ superfamily in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain*, **2009**, *132* (5), 1221-1235.
45. Lei, X.; Barbour, S.E.; Ramanadham, S. Group VIA Ca²⁺-independent Phospholipase A₂ (iPLA₂β) and its role in β-cell programmed cell death. *Biochimie*, **2010**, *92* (6), 627-637.

46. Lee, L.H.-W.; Tan, C.-H.; Shui, G.; Wenk, M.R.; Ong, W.-Y. Role of prefrontal cortical calcium independent phospholipase A₂ in antidepressant-like effect of maprotiline. *Int J Neuropsychopharmacol*, **2012**, *15* (8), 1087-1098.
47. Kim, H.W.; Cheon, Y.; Modi, H.R.; Rapoport, S.I.; Rao, J.S. Effects of chronic clozapine administration on markers of arachidonic acid cascade and synaptic integrity in rat brain. *Psychopharmacology (Berl)*, **2012**, *222* (4), 663-674.
48. Sharma, S.; Ying, Z.; Gomez-Pinilla, F. A pyrazole curcumin derivative restores membrane homeostasis disrupted after brain trauma. *Exp Neurol*, **2010**, *226* (1), 191-199.
49. Yoshino, H.; Tomiyama, H.; Tachibana, N.; Ogaki, K.; Li, Y.; Funayama, M.; Hashimoto, T.; Takashima, S.; Hattori, N. Phenotypic spectrum of patients with PLA₂G6 mutation and PARK14-linked parkinsonism. *Neurology*, **2010**, *75* (15), 1356-1361.
50. Kurian, M.A.; Morgan, N.V.; MacPherson, L.; Foster, K.; Peake, D.; Gupta, R.; Philip, S.G.; Hendriksz, C.; Morton, J.E.; Kingston, H.M.; Rosser, E.M.; Wassmer, E.; Gissen, P.; Maher, E.R. Phenotypic spectrum of neurodegeneration associated with mutations in the PLA₂G6 gene (PLAN). *Neurology*, **2008**, *70* (18), 1623-1629.
51. Tonelli, A.; Romaniello, R.; Grasso, R.; Cavallini, A.; Righini, A.; Bresolin, N.; Borgatti, R.; Bassi, M.T. Novel splice-site mutations and a large intragenic deletion in PLA₂G6 associated with a severe and rapidly progressive form of infantile neuroaxonal dystrophy. *Clin Genet*, **2010**, *78* (5), 432-440.
52. Schaeffer, E.L.; Gattaz, W.F. Inhibition of calcium-independent Phospholipase A₂ activity in rat hippocampus impairs acquisition of short- and long-term memory. *Psychopharmacology (Berl)*, **2005**, *181* (2), 392-400.
53. Ong, W.-Y.; Farooqui, T.; Kokotos, G.; Farooqui, A.A. Synthetic and Natural Inhibitors of Phospholipases A₂: Their Importance for Understanding and Treatment of Neurological Disorders. *ACS Chem Neurosci*, **2015**, *6* (6), 814-831.
54. Kokotou, M.G.; Limnios, D.; Nikolaou, A.; Psarra, A.; Kokotos, G. Inhibitors of phospholipase A₂ and their therapeutic potential: an update on patents (2012-2016). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, **2017**, *27* (2), 217-225.
55. Magrioti, V.; Kokotos, G. Phospholipase A₂ inhibitors as potential therapeutic agents for the treatment of inflammatory diseases. *Expert Opin Ther Pat*, **2010**, *20* (1), 1-18.
56. Magrioti, V.; Kokotos, G. Phospholipase A₂ inhibitors for the treatment of inflammatory diseases: a patent review (2010-present). *Expert Opin Ther Pat*, **2013**, *23* (3), 333-344.
57. Ackermann, E.J.; Conde-Frieboes, K.; Dennis, E.A. Inhibition of Macrophage Ca²⁺-independent Phospholipase A₂ by Bromoenol Lactone and Trifluoromethyl Ketones. *J Biol Chem*, **1995**, *270* (1), 445-450.
58. Jenkins, C.M.; Han, X.; Mancuso, D.J.; Gross, R.W. Identification of Calcium-independent Phospholipase A₂ (iPLA₂) β, and not iPLA₂γ, as the mediator of arginine Vasopressin-induced Arachidonic Acid release in A-10 smooth muscle cells: Enantioselective mechanism-based discrimination of mammalian iPLA₂s. *J Biol Chem*, **2002**, *277* (36), 32807-32814.
59. Balsinde, J.; Dennis, E.A. Bromoenol lactone inhibits magnesium-dependent phosphatidate phosphohydrolase and blocks triacylglycerol biosynthesis in

- mouse P388D1 macrophages. *Journal of Biological Chemistry*, **1996**, 271 (50), 31937-31941.
60. Trimble, L.A.; Street, I.P.; Perrier, H.; Tremblay, N.M.; Weech, P.K.; Bernstein, M.A. NMR structural studies of the tight complex between a trifluoromethyl ketone inhibitor and the 85-kDa human phospholipase A₂. *Biochemistry*, **1993**, 32 (47), 12560-12565.
61. Street, I.P.; Lin, H.K.; Laliberte, F.; Ghomashchi, F.; Wang, Z.; Perrier, H.; Tremblay, N.M.; Huang, Z.; Weech, P.K.; Gelb, M.H. Slow and tight binding inhibitors of the 85-kDa human phospholipase A₂. *Biochemistry*, **1993**, 32 (23), 5935-5940.
62. Ghomashchi, F.; Loo, R.; Balsinde, J.; Bartoli, F.; Apitz-Castro, R.; Clark, J.D.; Dennis, E.A.; Gelb, M.H. Trifluoromethyl ketones and methyl fluorophosphonates as inhibitors of group IV and VI Phospholipases A₂: structure-function studies with vesicle, micelle, and membrane assays. *Biochim Biophys Acta*, **1999**, 1420 (1-2), 45-56.
63. Conde-Frieboes, K.; Reynolds, L.J.; Lio, Y.-C.; Hale, M.R.; Wasserman, H.H.; Dennis, E.A. Activated ketones as inhibitors of Intracellular Ca²⁺-Dependent and Ca²⁺-Independent Phospholipase A₂. *J Am Chem Soc*, **1996**, 118 (24), 5519-5525.
64. Baskakis, C.; Magrioti, V.; Cotton, N.; Stephens, D.; Constantinou-Kokotou, V.; Dennis, E.A.; Kokotos, G. Synthesis of polyfluoro ketones for selective inhibition of human Phospholipase A₂ enzymes. *J Med Chem*, **2008**, 51 (24), 8027-8037.
65. Kokotos, G.; Hsu, Y.-H.; Burke, J.E.; Baskakis, C.; Kokotos, C.G.; Magrioti, V.; Dennis, E.A. Potent and selective fluoroketone inhibitors of Group VIA Calcium-Independent Phospholipase A₂. *J Med Chem*, **2010**, 53 (9), 3602-3610.
66. Magrioti, V.; Nikolaou, A.; Smyrniotou, A.; Shah, I.; Constantinou-Kokotou, V.; Dennis, E.A.; Kokotos, G. New potent and selective polyfluoroalkyl ketone inhibitors of GVIA Calcium-Independent phospholipase A₂. *Bioorg Med Chem*, **2013**, 21 (18), 5823-5829.
67. Bone, R.N.; Gai, Y.; Magrioti, V.; Kokotou, M.G.; Ali, T.; Lei, X.; Tse, H.M.; Kokotos, G.; Ramanadham, S. Inhibition of Ca²⁺-independent phospholipase A₂β (iPLA₂β) ameliorates islet infiltration and incidence of diabetes in NOD mice. *Diabetes*, **2015**, 64 (2), 541.
68. Kokotos, G.; Feuerherm, A.J.; Barbayianni, E.; Shah, I.; Sæther, M.; Magrioti, V.; Nguyen, T.; Constantinou-Kokotou, V.; Dennis, E.A.; Johansen, B. Inhibition of Group IVA Cytosolic Phospholipase A₂ by Thiazolyl Ketones in Vitro, ex Vivo, and in Vivo. *J Med Chem*, **2014**, 57 (18), 7523-7535.
69. Mouchlis, V.D.; Linnios, D.; Kokotou, M.G.; Barbayianni, E.; Kokotos, G.; McCammon, J.A.; Dennis, E.A. Development of potent and selective inhibitors for Group VIA Calcium-Independent Phospholipase A₂ guided by molecular dynamics and structure–activity relationships. *J Med Chem*, **2016**, 59 (9), 4403-4414.
70. Lee, K.L.; Behnke, M.L.; Foley, M.A.; Chen, L.; Wang, W.; Vargas, R.; Nunez, J.; Tam, S.; Mollova, N.; Xu, X.; Shen, M.W.H.; Ramarao, M.K.; Goodwin, D.G.; Nickerson-Nutter, C.L.; Abraham, W.M.; Williams, C.; Clark, J.D.; McKew, J.C. Benzenesulfonamide indole inhibitors of cytosolic phospholipase A₂α: Optimization of in vitro potency and rat pharmacokinetics for oral efficacy. *Bioorg Med Chem*, **2008**, 16 (3), 1345-1358.

71. McKew, J.C.; Lee, K.L.; Shen, M.W.; Thakker, P.; Foley, M.A.; Behnke, M.L.; Hu, B.; Sum, F.W.; Tam, S.; Hu, Y.; Chen, L.; Kirincich, S.J.; Michalak, R.; Thomason, J.; Ipek, M.; Wu, K.; Wooder, L.; Ramarao, M.K.; Murphy, E.A.; Goodwin, D.G.; Albert, L.; Xu, X.; Donahue, F.; Ku, M.S.; Keith, J.; Nickerson-Nutter, C.L.; Abraham, W.M.; Williams, C.; Hegen, M.; Clark, J.D. Indole cytosolic phospholipase A₂ alpha inhibitors: discovery and in vitro and in vivo characterization of 4-{3-[5-chloro-2-(2-[(3,4-dichlorobenzyl)sulfonyl]amino)ethyl)-1-(diphenylmethyl)-1H-indol-3-yl]propyl}benzoic acid, efipladib. *J Med Chem*, **2008**, *51* (12), 3388-3413.
72. Wyeth Pharmaceuticals Inc. A study comparing 4 dose regimens of PLA-695, Naproxen, and placebo in subjects with osteoarthritis of the knee. <http://clinicaltrials.gov>. Identifier: NCT00396955. **2007**.
73. Tomoo, T.; Nakatsuka, T.; Katayama, T.; Hayashi, Y.; Fujieda, Y.; Terakawa, M.; Nagahira, K. Design, synthesis, and biological evaluation of 3-(1-Aryl-1H-indol-5-yl)propanoic acids as new indole-based cytosolic phospholipase A₂ alpha inhibitors. *J Med Chem*, **2014**, *57* (17), 7244-7262.
74. Ludwig, J.; Bovens, S.; Brauch, C.; Elfringhoff, A.S.; Lehr, M. Design and synthesis of 1-Indol-1-yl-propan-2-ones as inhibitors of human Cytosolic Phospholipase A₂α. *J Med Chem*, **2006**, *49* (8), 2611-2620.
75. Hess, M.; Schulze Elfringhoff, A.; Lehr, M. 1-(5-Carboxy- and 5-carbamoylindol-1-yl)propan-2-ones as inhibitors of human cytosolic phospholipase A₂α: Bioisosteric replacement of the carboxylic acid and carboxamide moiety. *Bioorg Med Chem*, **2007**, *15* (8), 2883-2891.
76. Fritsche, A.; Elfringhoff, A.S.; Fabian, J.; Lehr, M. 1-(2-Carboxyindol-5-yloxy)propan-2-ones as inhibitors of human cytosolic phospholipase A₂α: Synthesis, biological activity, metabolic stability, and solubility. *Bioorg Med Chem*, **2008**, *16* (7), 3489-3500.
77. Bovens, S.; Schulze Elfringhoff, A.; Kaptur, M.; Reinhardt, D.; Schäfers, M.; Lehr, M. 1-(5-Carboxyindol-1-yl)propan-2-one inhibitors of human Cytosolic Phospholipase A₂α: Effect of substituents in position 3 of the indole scaffold on inhibitory potency, metabolic stability, solubility, and bioavailability. *J Med Chem*, **2010**, *53* (23), 8298-8308.
78. Drews, A.; Bovens, S.; Roebrock, K.; Sunderkötter, C.; Reinhardt, D.; Schäfers, M.; van der Velde, A.; Schulze Elfringhoff, A.; Fabian, J.; Lehr, M. 1-(5-Carboxyindol-1-yl)propan-2-one inhibitors of human Cytosolic Phospholipase A₂α with reduced lipophilicity: Synthesis, biological activity, metabolic stability, solubility, bioavailability, and topical *in vivo* activity. *J Med Chem*, **2010**, *53* (14), 5165-5178.
79. Fabian, J.; Hanekamp, W.; Thomas, M.H.; Olivier, J.L.; Lehr, M. Investigations on the metabolic stability of Cytosolic Phospholipase A₂ alpha inhibitors with 1-indolylpropan-2-one structure. *Chem Biol Interact*, **2013**, *206* (2), 356-363.
80. Sundermann, T.; Fabian, J.; Hanekamp, W.; Lehr, M. 1-Heteroaryl-3-phenoxypropan-2-ones as inhibitors of cytosolic phospholipase A₂ alpha and fatty acid amide hydrolase: Effect of the replacement of the ether oxygen with sulfur and nitrogen moieties on enzyme inhibition and metabolic stability. *Bioorg Med Chem*, **2015**, *23* (10), 2579-2592.
81. Kokotos, G.; Kotsovolou, S.; Six, D.A.; Constantinou-Kokotou, V.; Beltzner, C.C.; Dennis, E.A. Novel 2-oxoamide inhibitors of human Group IVA phospholipase A₂. *J Med Chem*, **2002**, *45* (14), 2891-2893.

82. Kokotos, G.; Six, D.A.; Loukas, V.; Smith, T.; Constantinou-Kokotou, V.; Hadjipavlou-Litina, D.; Kotsovolou, S.; Chiou, A.; Beltzner, C.C.; Dennis, E.A. Inhibition of Group IVA Cytosolic Phospholipase A₂ by novel 2-oxoamides in vitro, in cells, and *in vivo*. *J Med Chem*, **2004**, *47* (14), 3615-3628.
83. Stephens, D.; Barbayianni, E.; Constantinou-Kokotou, V.; Peristeraki, A.; Six, D.A.; Cooper, J.; Harkewicz, R.; Deems, R.A.; Dennis, E.A.; Kokotos, G. Differential inhibition of Group IVA and Group VIA Phospholipases A₂ by 2-oxoamides. *J Med Chem*, **2006**, *49* (9), 2821-2828.
84. Smyrniotou, A.; Kokotou, M.G.; Mouchlis, V.D.; Barbayianni, E.; Kokotos, G.; Dennis, E.A.; Constantinou-Kokotou, V. 2-Oxoamides based on dipeptides as selective Calcium-Independent Phospholipase A₂ inhibitors. *Bioorg Med Chem*, **2017**, *25* (3), 926-940.
85. Yaksh, T.L.; Kokotos, G.; Svensson, C.I.; Stephens, D.; Kokotos, C.G.; Fitzsimmons, B.; Hadjipavlou-Litina, D.; Hua, X.-Y.; Dennis, E.A. Systemic and intrathecal effects of a novel series of Phospholipase A₂ inhibitors on hyperalgesia and spinal Prostaglandin E₂ Release. *J Pharmacol Exp Ther*, **2006**, *316* (1), 466.
86. Six, D.A.; Barbayianni, E.; Loukas, V.; Constantinou-Kokotou, V.; Hadjipavlou-Litina, D.; Stephens, D.; Wong, A.C.; Magrioti, V.; Moutevelis-Minakakis, P.; Baker, S.F.; Dennis, E.A.; Kokotos, G. Structure–activity relationship of 2-oxoamide inhibition of Group IVA Cytosolic Phospholipase A₂ and Group V Secreted Phospholipase A₂. *J Med Chem*, **2007**, *50* (17), 4222-4235.
87. Kokotou, M.G.; Galiatsatou, G.; Magrioti, V.; Koutoulogenis, G.; Barbayianni, E.; Limnios, D.; Mouchlis, V.D.; Satpathy, B.; Navratil, A.; Dennis, E.A.; Kokotos, G. 2-Oxoesters: A novel class of potent and selective inhibitors of Cytosolic Group IVA Phospholipase A₂. *Sci Rep*, **2017**, *7* (1), 7025.
88. Kuhn, H.; Banthiya, S.; van Leyen, K. Mammalian lipoxygenases and their biological relevance. *Biochim Biophys Acta*, **2015**, *1851* (4), 308-330.
89. Ivanov, I.; Heydeck, D.; Hofheinz, K.; Roffeis, J.; O'Donnell, V.B.; Kuhn, H.; Walther, M. Molecular enzymology of lipoxygenases. *Arch Biochem Biophys*, **2010**, *503* (2), 161-174.
90. Haeggström, J.Z.; Funk, C.D. Lipoxygenase and leukotriene pathways: Biochemistry, biology, and roles in disease. *Chem Rev*, **2011**, *111* (10), 5866-5898.
91. Klinman, J.P. Importance of protein dynamics during enzymatic C–H bond cleavage catalysis. *Biochemistry*, **2013**, *52* (12), 2068-2077.
92. Hatcher, E.; Soudackov, A.V.; Hammes-Schiffer, S. Proton-coupled electron transfer in soybean lipoxygenase: Dynamical behavior and temperature dependence of kinetic isotope effects. *J Am Chem Soc*, **2007**, *129* (1), 187-196.
93. Rouzer, C.A.; Marnett, L.J. Cyclooxygenases: structural and functional insights. *J Lipid Res*, **2009**, *50* (Suppl), S29-S34.
94. Perrone, M.G.; Scilimati, A.; Simone, L.; Vitale, P. Selective COX-1 inhibition: A therapeutic target to be reconsidered. *Curr Med Chem*, **2010**, *17* (32), 3769-3805.
95. Smith, W.L.; DeWitt, D.L.; Garavito, R.M. Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology. *Annu Rev Biochem*, **2000**, *69* 145-182.

96. Rouzer, C.A.; Marnett, L.J. Mechanism of free radical oxygenation of polyunsaturated fatty acids by cyclooxygenases. *Chem Rev*, **2003**, *103* (6), 2239-2304.
97. Mbonye, U.R.; Yuan, C.; Harris, C.E.; Sidhu, R.S.; Song, I.; Arakawa, T.; Smith, W.L. Two distinct pathways for cyclooxygenase-2 protein degradation. *J Biol Chem*, **2008**, *283* (13), 8611-8623.
98. Vane, J.R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Biol*, **1971**, *231* 232.
99. Ikeda-Matsuo, Y.; Ota, A.; Fukada, T.; Uematsu, S.; Akira, S.; Sasaki, Y. Microsomal prostaglandin E synthase-1 is a critical factor of stroke-reperfusion injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2006**, *103* (31), 11790-11795.
100. Chalouhi, N.; Points, L.; Pierce, G.L.; Ballas, Z.; Jabbour, P.; Hasan, D. Localized increase of chemokines in the lumen of human cerebral aneurysms. *Stroke*, **2013**, *44* (9), 10.1161/strokeaha.1113.002361.
101. Fitzgerald, G.A. Coxibs and cardiovascular disease. *N Engl J Med*, **2004**, *351* (17), 1709-1711.
102. Iyer, J.P.; Srivastava, P.K.; Dev, R.; Dastidar, S.G.; Ray, A. Prostaglandin E₂ synthase inhibition as a therapeutic target. *Expert Opin Ther Targets*, **2009**, *13* (7), 849-865.
103. McGettigan, P.; Henry, D. Cardiovascular risk and inhibition of cyclooxygenase: a systematic review of the observational studies of selective and nonselective inhibitors of cyclooxygenase 2. *JAMA*, **2006**, *296* (13), 1633-1644.
104. Chen, Y.-Q.; Liu, H.; Xu, S.; Wang, T.; Li, W. Targeting microsomal prostaglandin E₂ synthase-1 (mPGES-1): The development of inhibitors as an alternative to non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). *MedChemComm*, **2015**, *6* 2081-2123.
105. Dubois, R.N.; Abramson, S.B.; Crofford, L.; Gupta, R.A.; Simon, L.S.; Van De Putte, L.B.; Lipsky, P.E. Cyclooxygenase in biology and disease. *FASEB J*, **1998**, *12* (12), 1063-1073.
106. Smyth, E.M.; Grosser, T.; Wang, M.; Yu, Y.; FitzGerald, G.A. Prostanoids in health and disease. *J Lipid Res*, **2009**, *50* Suppl S423-428.
107. Tilley, S.L.; Coffman, T.M.; Koller, B.H. Mixed messages: modulation of inflammation and immune responses by prostaglandins and thromboxanes. *J Clin Invest*, **2001**, *108* (1), 15-23.
108. Kawabe, J.; Ushikubi, F.; Hasebe, N. Prostacyclin in vascular diseases. Recent insights and future perspectives. *Circ J*, **2010**, *74* (5), 836-843.
109. Miyata, A.; Hara, S.; Yokoyama, C.; Inoue, H.; Ullrich, V.; Tanabe, T. Molecular cloning and expression of human prostacyclin synthase. *Biochem Biophys Res Commun*, **1994**, *200* (3), 1728-1734.
110. Koeberle, A.; Laufer, S.A.; Werz, O. Design and development of Microsomal Prostaglandin E₂ Synthase-1 inhibitors: Challenges and future directions. *J Med Chem*, **2016**, *59* (13), 5970-5986.
111. Iwasaki, M.; Nagata, K.; Takano, S.; Takahashi, K.; Ishii, N.; Ikezawa, Z. Association of a new-type prostaglandin D₂ receptor CRTH₂ with circulating T helper 2 cells in patients with atopic dermatitis. *J Invest Dermatol*, **2002**, *119* (3), 609-616.
112. Saito, O.; Guan, Y.; Qi, Z.; Davis, L.S.; Komhoff, M.; Sugimoto, Y.; Narumiya, S.; Breyer, R.M.; Breyer, M.D. Expression of the prostaglandin F

- receptor (FP) gene along the mouse genitourinary tract. *Am J Physiol Renal Physiol*, **2003**, 284 (6), 1164-1170.
113. Funk, C.D. Prostaglandins and leukotrienes: Advances in eicosanoid biology. *Science*, **2001**, 294 (5548), 1871-1875.
 114. Hara, S.; Kamei, D.; Sasaki, Y.; Tanemoto, A.; Nakatani, Y.; Murakami, M. Prostaglandin E synthases: Understanding their pathophysiological roles through mouse genetic models. *Biochimie*, **2010**, 92 (6), 651-659.
 115. Tanioka, T.; Nakatani, Y.; Semmyo, N.; Murakami, M.; Kudo, I. Molecular identification of cytosolic Prostaglandin E₂ synthase that is functionally coupled with cyclooxygenase-1 in immediate Prostaglandin E₂ biosynthesis. *J Biol Chem*, **2000**, 275 (42), 32775-32782.
 116. Jakobsson, P.J.; Thoren, S.; Morgenstern, R.; Samuelsson, B. Identification of human prostaglandin E synthase: a microsomal, glutathione-dependent, inducible enzyme, constituting a potential novel drug target. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **1999**, 96 (13), 7220-7225.
 117. Mancini, J.A.; Blood, K.; Guay, J.; Gordon, R.; Claveau, D.; Chan, C.C.; Riendeau, D. Cloning, expression, and up-regulation of inducible rat prostaglandin E synthase during lipopolysaccharide-induced pyresis and adjuvant-induced arthritis. *J Biol Chem*, **2001**, 276 (6), 4469-4475.
 118. Thoren, S.; Jakobsson, P.J. Coordinate up- and down-regulation of glutathione-dependent prostaglandin E synthase and cyclooxygenase-2 in A549 cells. Inhibition by NS-398 and leukotriene C₄. *Eur J Biochem*, **2000**, 267 (21), 6428-6434.
 119. Murakami, M.; Naraba, H.; Tanioka, T.; Semmyo, N.; Nakatani, Y.; Kojima, F.; Ikeda, T.; Fueki, M.; Ueno, A.; Oh, S.; Kudo, I. Regulation of Prostaglandin E₂ biosynthesis by inducible membrane-associated Prostaglandin E₂ synthase that acts in concert with Cyclooxygenase-2. *J Biol Chem*, **2000**, 275 (42), 32783-32792.
 120. Samuelsson, B.; Morgenstern, R.; Jakobsson, P.J. Membrane prostaglandin E synthase-1: A novel therapeutic target. *Pharmacol Rev*, **2007**, 59 (3), 207-224.
 121. Koeberle, A.; Werz, O. Inhibitors of the microsomal Prostaglandin E₂ synthase-1 as alternative to non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)-A critical review. *Curr Med Chem*, **2009**, 16 (32), 4274-4296.
 122. Chaudhry, U.; Zhuang, H.; Doré, S. Microsomal Prostaglandin E Synthase-2: Cellular distribution and expression in Alzheimer's disease. *Exp Neurol*, **2010**, 223 (2), 359-365.
 123. Koeberle, A.; Werz, O. Perspective of microsomal Prostaglandin E₂ Synthase-1 as drug target in inflammation-related disorders. *Biochem Pharmacol*, **2015**, 98 (1), 1-15.
 124. Murakami, M.; Kudo, I. New phospholipase A₂ isozymes with a potential role in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*, **2003**, 14 (5), 431-436.
 125. Boulet, L.; Ouellet, M.; Bateman, K.P.; Ethier, D.; Percival, M.D.; Riendeau, D.; Mancini, J.A.; Méthot, N. Deletion of Microsomal Prostaglandin E₂ (PGE₂) Synthase-1 reduces inducible and basal PGE₂ production and alters the gastric prostanoid profile. *J Biol Chem*, **2004**, 279 (22), 23229-23237.
 126. Hao, C.M.; Breyer, M.D. Physiologic and pathophysiologic roles of lipid mediators in the kidney. *Kidney Int*, **2007**, 71 (11), 1105-1115.
 127. Matsuoka, T.; Narumiya, S. Prostaglandin receptor signaling in disease. *Sci World J*, **2007**, 7 1329-1347.

128. Guay, J.; Bateman, K.; Gordon, R.; Mancini, J.; Riendeau, D. Carrageenan-induced paw edema in rat elicits a predominant Prostaglandin E₂ (PGE₂) response in the central nervous system associated with the induction of Microsomal PGE₂ Synthase-1. *J Biol Chem*, **2004**, *279* (23), 24866-24872.
129. Wang, M.; FitzGerald, G.A. Cardiovascular biology of microsomal prostaglandin E synthase-1. *Trends Cardiovasc Med*, **2010**, *20* (6), 189-195.
130. Sugimoto, Y.; Narumiya, S. Prostaglandin E receptors. *J Biol Chem*, **2007**, *282* (16), 11613-11617.
131. Yuhki, K.-i.; Ueno, A.; Naraba, H.; Kojima, F.; Ushikubi, F.; Narumiya, S.; Oh-ishi, S. Prostaglandin receptors EP2, EP3, and IP mediate exudate formation in carrageenin-induced mouse pleurisy. *J Pharmacol Exp Ther*, **2004**, *311* (3), 1218-1224.
132. Ueno, A.; Matsumoto, H.; Naraba, H.; Ikeda, Y.; Ushikubi, F.; Matsuoka, T.; Narumiya, S.; Sugimoto, Y.; Ichikawa, A.; Oh-ishi, S. Major roles of prostanoid receptors IP and EP3 in endotoxin-induced enhancement of pain perception. *Biochem Pharmacol*, **2001**, *62* (2), 157-160.
133. Honda, T.; Segi-Nishida, E.; Miyachi, Y.; Narumiya, S. Prostacyclin-IP signaling and Prostaglandin E₂-EP2/EP4 signaling both mediate joint inflammation in mouse collagen-induced arthritis. *J Exp Med*, **2006**, *203* (2), 325-335.
134. Dilme, J.F.; Sola-Villa, D.; Bellmunt, S.; Romero, J.M.; Escudero, J.R.; Camacho, M.; Vila, L. Active smoking increases microsomal PGE₂-synthase-1/PGE-receptor-4 axis in human abdominal aortic aneurysms. *Mediators Inflamm*, **2014**, *2014* 316150.
135. Aronoff, D.M.; Canetti, C.; Peters-Golden, M. Prostaglandin E₂ inhibits alveolar macrophage phagocytosis through an E-Prostanoid 2 Receptor-mediated increase in intracellular cyclic AMP. *J Immunol*, **2004**, *173* (1), 559-565.
136. Schober, L.J.; Khandoga, A.L.; Dwivedi, S.; Penz, S.M.; Maruyama, T.; Brandl, R.; Siess, W. The role of PGE₂ in human atherosclerotic plaque on platelet EP3 and EP4 receptor activation and platelet function in whole blood. *Journal Thromb Thrombolysis*, **2011**, *32* (2), 158-166.
137. Millanta, F.; Asproni, P.; Cancedda, S.; Vignoli, M.; Bacci, B.; Poli, A. Immunohistochemical expression of COX-2, mPGES and EP2 receptor in normal and reactive canine bone and in canine osteosarcoma. *J Comp Pathol*, **2012**, *147* (2-3), 153-160.
138. Konya, V.; Marsche, G.; Schuligoi, R.; Heinemann, A. E-type prostanoid receptor 4 (EP4) in disease and therapy. *Pharmacol Ther*, **2013**, *138* (3), 485-502.
139. Ganesh, T. Prostanoid receptor EP2 as a therapeutic target. *J Med Chem*, **2014**, *57* (11), 4454-4465.
140. Akasaka, H.; Ruan, K.-H. Identification of the two-phase mechanism of arachidonic acid regulating inflammatory prostaglandin E₂ biosynthesis by targeting COX-2 and mPGES-1. *Arch Biochem Biophys*, **2016**, *603* 29-37.
141. Jakobsson, P.J.; Morgenstern, R.; Mancini, J.; Ford-Hutchinson, A.; Persson, B. Membrane-associated proteins in eicosanoid and glutathione metabolism (MAPEG). A widespread protein superfamily. *Am J Respir Crit Care Med*, **2000**, *161* (2 Pt 2), 20-24.
142. Sjogren, T.; Nord, J.; Ek, M.; Johansson, P.; Liu, G.; Geschwindner, S. Crystal structure of microsomal prostaglandin E₂ synthase provides insight into

- diversity in the MAPEG superfamily. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2013**, *110* (10), 3806-3811.
143. Brock, J.S.; Hamberg, M.; Balagunaseelan, N.; Goodman, M.; Morgenstern, R.; Strandback, E.; Samuelsson, B.; Rinaldo-Matthis, A.; Haeggstrom, J.Z. A dynamic Asp-Arg interaction is essential for catalysis in microsomal prostaglandin E₂ synthase. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2016**, *113* (4), 972-977.
 144. Yamaguchi N., N.T., Kohzuma T., Sakata F., Mori S. Theoretical studies on model reaction pathways of Prostaglandin H₂ isomerization to Prostaglandin D₂/E₂. *Theor Chem Acc*, **2011**, *128* (2), 191-206.
 145. Stichtenoth, D.O.; Thorén, S.; Bian, H.; Peters-Golden, M.; Jakobsson, P.-J.; Crofford, L.J. Microsomal Prostaglandin E Synthase is regulated by proinflammatory cytokines and glucocorticoids in primary rheumatoid synovial cells. *J Immunol*, **2001**, *167* (1), 469-474.
 146. Engblom, D.; Saha, S.; Engström, L.; Westman, M.; Audoly, L.P.; Jakobsson, P.-J.; Blomqvist, A. Microsomal prostaglandin E synthase-1 is the central switch during immune-induced pyresis. *Nat Neurosci*, **2003**, *6* 1137-1138.
 147. Kamei, D.; Yamakawa, K.; Takegoshi, Y.; Mikami-Nakanishi, M.; Nakatani, Y.; Oh-Ishi, S.; Yasui, H.; Azuma, Y.; Hirasawa, N.; Ohuchi, K.; Kawaguchi, H.; Ishikawa, Y.; Ishii, T.; Uematsu, S.; Akira, S.; Murakami, M.; Kudo, I. Reduced pain hypersensitivity and inflammation in mice lacking microsomal prostaglandin e synthase-1. *J Biol Chem*, **2004**, *279* (32), 33684-33695.
 148. Mabuchi, T.; Kojima, H.; Abe, T.; Takagi, K.; Sakurai, M.; Ohmiya, Y.; Uematsu, S.; Akira, S.; Watanabe, K.; Ito, S. Membrane-associated prostaglandin E synthase-1 is required for neuropathic pain. *Neuroreport*, **2004**, *15* (9), 1395-1398.
 149. Westman, M.; Korotkova, M.; af Klint, E.; Stark, A.; Audoly, L.P.; Klareskog, L.; Ulfgren, A.K.; Jakobsson, P.J. Expression of microsomal prostaglandin E synthase 1 in rheumatoid arthritis synovium. *Arthritis Rheum*, **2004**, *50* (6), 1774-1780.
 150. Kojima, F.; Kapoor, M.; Yang, L.; Fleishaker, E.L.; Ward, M.R.; Monrad, S.U.; Kottangada, P.C.; Pace, C.Q.; Clark, J.A.; Woodward, J.G.; Crofford, L.J. Defective generation of a humoral immune response is associated with a reduced incidence and severity of collagen-induced arthritis in microsomal prostaglandin E synthase-1 null mice. *J Immunol*, **2008**, *180* (12), 8361-8368.
 151. Li, X.; Afif, H.; Cheng, S.; Martel-Pelletier, J.; Pelletier, J.P.; Ranger, P.; Fahmi, H. Expression and regulation of microsomal prostaglandin E synthase-1 in human osteoarthritic cartilage and chondrocytes. *J Rheumatol*, **2005**, *32* (5), 887-895.
 152. Gomez-Hernandez, A.; Martin-Ventura, J.L.; Sanchez-Galan, E.; Vidal, C.; Ortego, M.; Blanco-Colio, L.M.; Ortego, L.; Tunon, J.; Egido, J. Overexpression of COX-2, Prostaglandin E synthase-1 and prostaglandin E receptors in blood mononuclear cells and plaque of patients with carotid atherosclerosis: regulation by nuclear factor-kappaB. *Atherosclerosis*, **2006**, *187* (1), 139-149.
 153. Bahia, M.S.; Katare, Y.K.; Silakari, O.; Vyas, B.; Silakari, P. Inhibitors of Microsomal Prostaglandin E₂ Synthase-1 enzyme as emerging anti-inflammatory candidates. *Med Res Rev*, **2014**, *34* (4), 825-855.
 154. Korotkova, M.; Jakobsson, P.J. Characterization of microsomal prostaglandin E synthase 1 inhibitors. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, **2014**, *114* (1), 64-69.

155. Ikeda-Matsuo, Y.; Tanji, H.; Ota, A.; Hirayama, Y.; Uematsu, S.; Akira, S.; Sasaki, Y. Microsomal prostaglandin E synthase-1 contributes to ischaemic excitotoxicity through prostaglandin E₂ EP3 receptors. *Br J Pharmacol*, **2010**, *160* (4), 847-859.
156. Chaudhry, U.A.; Zhuang, H.; Crain, B.J.; Dore, S. Elevated microsomal prostaglandin-E synthase-1 in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, **2008**, *4* (1), 6-13.
157. Kihara, Y.; Matsushita, T.; Kita, Y.; Uematsu, S.; Akira, S.; Kira, J.; Ishii, S.; Shimizu, T. Targeted lipidomics reveals mPGES-1 - PGE₂ as a therapeutic target for multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2009**, *106* (51), 21807-21812.
158. Khurana, P.; Jachak, S.M. Chemistry and biology of Microsomal Prostaglandin E₂ synthase-1 (mPGES-1) inhibitors as novel anti-inflammatory agents: recent developments and current status. *RSC Advances*, **2016**, *6* (34), 28343-28369.
159. Kamei, D.; Murakami, M.; Sasaki, Y.; Nakatani, Y.; Majima, M.; Ishikawa, Y.; Ishii, T.; Uematsu, S.; Akira, S.; Hara, S.; Kudo, I. Microsomal Prostaglandin E synthase-1 in both cancer cells and hosts contributes to tumour growth, invasion and metastasis. *Biochem J*, **2010**, *425* (Pt 2), 361-371.
160. Seo, T.; Tatsuguchi, A.; Shinji, S.; Yonezawa, M.; Mitsui, K.; Tanaka, S.; Fujimori, S.; Gudis, K.; Fukuda, Y.; Sakamoto, C. Microsomal prostaglandin E synthase protein levels correlate with prognosis in colorectal cancer patients. *Virchows Arch*, **2009**, *454* (6), 667-676.
161. Finetti, F.; Terzuoli, E.; Giachetti, A.; Santi, R.; Villari, D.; Hanaka, H.; Radmark, O.; Ziche, M.; Donnini, S. mPGES-1 in prostate cancer controls stemness and amplifies epidermal growth factor receptor-driven oncogenicity. *Endocr Relat Cancer*, **2015**, *22* (4), 665-678.
162. Prima, V.; Kaliberova, L.N.; Kaliberov, S.; Curiel, D.T.; Kusmartsev, S. COX-2/mPGES-1/PGE₂ pathway regulates PD-L1 expression in tumor-associated macrophages and myeloid-derived suppressor cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2017**, *114* (5), 1117-1122.
163. Larsson, K.; Jakobsson, P.J. Inhibition of microsomal prostaglandin E synthase-1 as targeted therapy in cancer treatment. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, **2015**, *120* 161-165.
164. Jia, Z.; Zhang, Y.; Ding, G.; Heiney, K.M.; Huang, S.; Zhang, A. Role of COX-2/mPGES-1/Prostaglandin E₂ cascade in kidney injury. *Mediators Inflamm*, **2015**, *2015* 8.
165. Nasrallah, R.; Hassouneh, R.; Hebert, R.L. PGE₂, kidney disease, and cardiovascular risk: Beyond hypertension and diabetes. *J Am Soc Nephrol*, **2016**, *27* (3), 666-676.
166. Gillard, J.; Ford-Hutchinson, A.W.; Chan, C.; Charleson, S.; Denis, D.; Foster, A.; Fortin, R.; Leger, S.; McFarlane, C.S.; Morton, H.; et al. L-663,536 (MK-886) (3-[1-(4-chlorobenzyl)-3-t-butyl-thio-5-isopropylindol-2-yl]-2,2-dimethylpropanoic acid), a novel, orally active leukotriene biosynthesis inhibitor. *Can J Physiol Pharmacol*, **1989**, *67* (5), 456-464.
167. Quraishi, O.; Mancini, J.A.; Riendeau, D. Inhibition of inducible Prostaglandin E₂ synthase by 15-deoxy-Delta(12,14)-Prostaglandin J₂ and polyunsaturated fatty acids. *Biochem Pharmacol*, **2002**, *63* (6), 1183-1189.

168. Merk Frost Canada LTD. 2-(Phenyl or heterocyclic)-1H-phenanthro[9,10-d]imidazoles as mPGES-1 inhibitors. WO2006063466A1. **2006**.
169. Merk Frost Canada LTD. 2-(Phenyl or heterocyclic)-1H-phenanthro[9,10-d]imidazoles as mPGES-1 inhibitors. WO2007059610A1. **2007**.
170. Merk Frost Canada LTD. Methods for treating or preventing neoplasias. WO2007124589A1. **2007**.
171. Cote, B.; Boulet, L.; Brideau, C.; Claveau, D.; Ethier, D.; Frenette, R.; Gagnon, M.; Giroux, A.; Guay, J.; Guiral, S.; Mancini, J.; Martins, E.; Masse, F.; Methot, N.; Riendeau, D.; Rubin, J.; Xu, D.; Yu, H.; Ducharme, Y.; Friesen, R.W. Substituted phenanthrene imidazoles as potent, selective, and orally active mPGES-1 inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, **2007**, *17* (24), 6816-6820.
172. Xu, D.; Rowland, S.E.; Clark, P.; Giroux, A.; Cote, B.; Guiral, S.; Salem, M.; Ducharme, Y.; Friesen, R.W.; Methot, N.; Mancini, J.; Audoly, L.; Riendeau, D. MF63 [2-(6-chloro-1H-phenanthro[9,10-d]imidazol-2-yl)-isophthalonitrile], a selective microsomal prostaglandin E synthase-1 inhibitor, relieves pyresis and pain in preclinical models of inflammation. *J Pharmacol Exp Ther*, **2008**, *326* (3), 754-763.
173. Giroux, A.; Boulet, L.; Brideau, C.; Chau, A.; Claveau, D.; Cote, B.; Ethier, D.; Frenette, R.; Gagnon, M.; Guay, J.; Guiral, S.; Mancini, J.; Martins, E.; Masse, F.; Methot, N.; Riendeau, D.; Rubin, J.; Xu, D.; Yu, H.; Ducharme, Y.; Friesen, R.W. Discovery of disubstituted phenanthrene imidazoles as potent, selective and orally active mPGES-1 inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, **2009**, *19* (20), 5837-5841.
174. Wu, T.Y.; Juteau, H.; Ducharme, Y.; Friesen, R.W.; Guiral, S.; Dufresne, L.; Poirier, H.; Salem, M.; Riendeau, D.; Mancini, J.; Brideau, C. Biarylimidazoles as inhibitors of microsomal prostaglandin E₂ synthase-1. *Bioorg Med Chem Lett*, **2010**, *20* (23), 6978-6982.
175. Chiasson, J.F.; Boulet, L.; Brideau, C.; Chau, A.; Claveau, D.; Cote, B.; Ethier, D.; Giroux, A.; Guay, J.; Guiral, S.; Mancini, J.; Masse, F.; Methot, N.; Riendeau, D.; Roy, P.; Rubin, J.; Xu, D.; Yu, H.; Ducharme, Y.; Friesen, R.W. Trisubstituted ureas as potent and selective mPGES-1 inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, **2011**, *21* (5), 1488-1492.
176. Boehringer Ingelheim International GMBH. 3H-Imidazo[4,5-c] pyridine-6-carboxamides as anti-inflammatory agents. WO2010100249A1. **2010**.
177. Boehringer Ingelheim International GMBH. 1H-Benzimidazole-5-carboxamides as anti-inflammatory agents. WO2010034796A1. **2010**.
178. Boehringer Ingelheim International GMBH. 1H-Benzimidazole-5-carboxamides as anti-inflammatory agents. WO2010034797A1. **2010**.
179. Boehringer Ingelheim International GMBH. New compounds. WO2012022793A1. **2012**.
180. Boehringer Ingelheim International GMBH. 6-Amino-2-phenylamino-1H-benzimidazole-5-carboxamide derivatives and their use as microsomal prostaglandin E₂ synthase-1 inhibitors. WO2012076673A1. **2012**.
181. Boehringer Ingelheim International GMBH. Novel compounds. US2012309738A1. **2012**.
182. Boehringer Ingelheim International GMBH. 3H-Imidazo[4,5-c]pyridine-6-carboxamides as anti-inflammatory agents. WO2010034798A1. **2010**.

183. Boehringer Ingelheim International GMBH. 2-(Arylamino)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine-6-carboxamide derivatives and their use as mPGES-1 inhibitors. WO2012022792A1. **2012**.
184. Boehringer Ingelheim International GMBH. 3H-Imidazo[4,5-b]pyridine-6-carboxamides as anti-inflammatory agents. WO2010034799A1. **2010**.
185. Novasaid AB. Compounds and methods. WO2009103778A1. **2009**.
186. Boehringer Ingelheim International GMBH. Inhibitors of microsomal prostaglandin E₂ synthase-1. WO2011048004A1. **2011**.
187. Eli Lilly and Company. Novel imidazole 2-benzamide compounds useful for the treatment of osteoarthritis. WO2012087771A1. **2012**.
188. Eli Lilly and Company. Novel imidazole derivatives useful for the treatment of arthritis. WO2012161965A1. **2012**.
189. Schiffler, M.A.; Antonysamy, S.; Bhattachar, S.N.; Campanale, K.M.; Chandrasekhar, S.; Condon, B.; Desai, P.V.; Fisher, M.J.; Groshong, C.; Harvey, A.; Hickey, M.J.; Hughes, N.E.; Jones, S.A.; Kim, E.J.; Kuklish, S.L.; Luz, J.G.; Norman, B.H.; Rathmell, R.E.; Rizzo, J.R.; Seng, T.W.; Thibodeaux, S.J.; Woods, T.A.; York, J.S.; Yu, X.-P. Discovery and characterization of 2-acylaminoimidazole Microsomal Prostaglandin E Synthase-1 inhibitors. *J Med Chem*, **2016**, 59 (1), 194-205.
190. Glenmark Pharmaceuticals S.A. Tricyclic compounds as mPGES-1 inhibitors. US2013210844A1. **2013**.
191. Glenmark Pharmaceuticals S.A. Substituted bicyclic compounds as mPGES-1 inhibitors. WO2014167444A1. **2014**.
192. Aziende Chimiche Riunite Angelini Francesco A.C.R.A.F. S.P.A. 3-Aminocarbazole compound, pharmaceutical composition containing it and preparation method thereof. WO2009138376A1. **2009**.
193. Finetti, F.; Terzuoli, E.; Bocci, E.; Coletta, I.; Polenzani, L.; Mangano, G.; Alisi, M.A.; Cazzolla, N.; Giachetti, A.; Ziche, M.; Donnini, S. Pharmacological inhibition of microsomal prostaglandin E synthase-1 suppresses epidermal growth factor receptor-mediated tumor growth and angiogenesis. *PLoS One*, **2012**, 7 (7), e40576.
194. Novasaid AB. Microsomal prostaglandin E synthase-1 (mPGES1) inhibitors. WO2011023812A1. **2011**.
195. Leclerc, P.; Idborg, H.; Spahiu, L.; Larsson, C.; Nekhotiaeva, N.; Wannberg, J.; Stenberg, P.; Korotkova, M.; Jakobsson, P.-J. Characterization of a human and murine mPGES-1 inhibitor and comparison to mPGES-1 genetic deletion in mouse models of inflammation. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, **2013**, 107 26-34.
196. Arhancet, G.B.; Walker, D.P.; Metz, S.; Fobian, Y.M.; Heasley, S.E.; Carter, J.S.; Springer, J.R.; Jones, D.E.; Hayes, M.J.; Shaffer, A.F.; Jerome, G.M.; Baratta, M.T.; Zweifel, B.; Moore, W.M.; Masferrer, J.L.; Vazquez, M.L. Discovery and SAR of PF-4693627, a potent, selective and orally bioavailable mPGES-1 inhibitor for the potential treatment of inflammation. *Bioorg Med Chem Lett*, **2013**, 23 (4), 1114-1119.
197. Glenmark Pharmaceuticals S.A. Tricyclic compounds as mPGES-1 inhibitors. WO2012110860A1. **2012**.
198. Glenmark Pharmaceuticals S.A. Tricyclic compounds as mPGES-1 inhibitors. WO2013153535A1. **2013**.
199. Novasaid AB. Low molecular weight derivatives and use thereof in treatment of prostaglandin E synthase related diseases. WO2009130242A1. **2009**.

200. University of Tübingen, Friedrich Alexander University Erlangen Nuremberg. Use of indole-3-carboxylates for inhibiting microsomal prostaglandin E₂ synthase. WO2009146696A1. **2009**.
201. Glenmark Pharmaceuticals S.A. Triazolone compounds as mPGES-1 inhibitors. WO2013186692A1. **2013**.
202. Glenmark Pharmaceuticals S.A. Substituted pyrimidine compounds as mPGES-1 inhibitors. WO2015059618A1. **2015**.
203. Medeon pharmaceuticals GMBH and University of Tübingen. Pirinixic acid derivatives as prostaglandin E₂ synthesis inhibitors for treating inflammatory diseases. WO2009117985A1. **2009**.
204. Hanke, T.; Dehm, F.; Liening, S.; Popella, S.D.; Maczewsky, J.; Pillong, M.; Kunze, J.; Weinigel, C.; Barz, D.; Kaiser, A.; Wurglics, M.; Lammerhofer, M.; Schneider, G.; Sautebin, L.; Schubert-Zsilavec, M.; Werz, O. Aminothiazole-featured pirinixic acid derivatives as dual 5-lipoxygenase and microsomal prostaglandin E₂ synthase-1 inhibitors with improved potency and efficiency in vivo. *J Med Chem*, **2013**, 56 (22), 9031-9044.
205. Astra Zeneca AB. Bis-sulfonylamino derivatives in therapy 065. WO2009064250A1. **2009**.
206. Astra Zeneca AB. Bis-sulfonylamino derivatives in therapy 066. WO2009064251A1. **2009**.
207. Astra Zeneca AB Pharmaceuticals. Bis-sulfonylamino derivatives in therapy 205. US2009163586A1. **2009**.
208. AureliaSan GBH. Verwendung einer Tirucallensaure, einer Luoansaure oder einer Robursaure als Arzneimittel. DE102009004436A1. **2009**.
209. University of Tübingen, Medeon Pharmaceuticals GMBH. Use of Boswellia acids and synthetic Boswellia acid derivatives for inhibiting microsomal Prostaglandin E₂ Synthase and Cathepsin G. WO2009117987A2. **2009**.
210. Eberhard Karls Univeristy of Tübingen. Preparations for inhibiting prostaglandin E₂ synthesis. WO2008071173A1. **2008**.
211. Koeberle, A.; Pollastro, F.; Northoff, H.; Werz, O. Myrtucommulone, a natural acylphloroglucinol, inhibits microsomal Prostaglandin E₂ synthase-1. *Br J Pharmacol*, **2009**, 156 (6), 952-961.
212. Koeberle, A.; Rossi, A.; Bauer, J.; Dehm, F.; Verotta, L.; Northoff, H.; Sautebin, L.; Werz, O. Hyperforin, an anti-inflammatory constituent from St. John's Wort, inhibits microsomal Prostaglandin E₂ Synthase-1 and suppresses Prostaglandin E₂ formation in vivo. *Front Pharmacol*, **2011**, 2 7.
213. Banerjee, A.; Pawar, M.Y.; Patil, S.; Yadav, P.S.; Kadam, P.A.; Kattige, V.G.; Deshpande, D.S.; Pednekar, P.V.; Pisat, M.K.; Gharat, L.A. Development of 2-aryl substituted quinazolin-4(3H)-one, pyrido[4,3-d]pyrimidin-4(3H)-one and pyrido[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-one derivatives as microsomal prostaglandin E₂ synthase-1 inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, **2014**, 24 (20), 4838-4844.
214. Glenmark Pharmaceuticals S.A. To evaluate safety, tolerability and pharmacokinetics of GRC 27864 in healthy subjects and elderly healthy subjects. <http://clinicaltrials.gov>. Identifier: NCT02361034. **2015**.
215. Glenmark Pharmaceuticals. <http://www.glenmarkpharma.com/novel-molecular-entities/research-pipeline>. **2017**.
216. Eli Lilly and Company. Novel methyl-piperidine compounds useful for inhibiting microsomal prostaglandin E₂ synthase-1. WO2016069376A1. **2016**.

217. Eli Lilly and Company. Novel carboxylic acid compounds useful for inhibiting microsomal prostaglandin E₂ synthase-1. WO2016069374A1. **2016**.
218. Ding, K.; Zhou, Z.; Hou, S.; Yuan, Y.; Zhou, S.; Zheng, X.; Chen, J.; Loftin, C.; Zheng, F.; Zhan, C.-G. Structure-based discovery of mPGES-1 inhibitors suitable for preclinical testing in wild-type mice as a new generation of anti-inflammatory drugs. *Sci Rep*, **2018**, 8 (1), 5205-5214.
219. Antonopoulou, G.; Magrioti, V.; Kokotou, M.G.; Nikolaou, A.; Barbayianni, E.; Mouchlis, V.D.; Dennis, E.A.; Kokotos, G. 2-Oxoamide inhibitors of cytosolic group IVA phospholipase A₂ with reduced lipophilicity. *Bioorg Med Chem*, **2016**, 24 (19), 4544-4554.
220. Limnios, D.; Kokotos, C.G. Photoinitiated thiol-ene “click” reaction: An organocatalytic alternative. *Adv Synth Catal*, **2017**, 359 (2), 323-328.
221. Markovskij, L.N.; Pashinnik, V.E.; Kirsanov, A.V. Application of dialkylaminosulfur trifluorides in the synthesis of fluoroorganic compounds. *Synthesis*, **1973**, 1973 (12), 787-789.
222. Μ. Μερτόρη, Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης, ΕΚΠΑ, Αθήνα, **2014**.
223. Scheibye, S.P., B. S.; Lawesson, S.-O. *Bull Soc Chim Belg*, **1978**, 87 229-231.
224. Abbott Laboratories. Heterocyclic renin inhibitors. US4994477A. **1991**.
225. Barbayianni, E.; Fotakopoulou, I.; Schmidt, M.; Constantinou-Kokotou, V.; Bornscheuer, U.T.; Kokotos, G. Enzymatic removal of carboxyl protecting groups. 2. Cleavage of the benzyl and methyl moieties. *J Org Chem*, **2005**, 70 (22), 8730-8733.
226. Babu, K.S.; Rao, V.R.S.; Rao, R.R.; Babu, S.S.; Rao, J.M. A mild and efficient chemoselective N-benzyloxycarbonylation of amines using TBAB as a catalyst under solvent-free conditions. *Can J Chem*, **2008**, 87 (2), 393-396.
227. Dijols, S.; Perollier, C.; Lefevre-Groboillot, D.; Pethe, S.; Attias, R.; Boucher, J.-L.; Stuehr, D.J.; Mansuy, D. Oxidation of N^ω-hydroxyarginine analogues by NO-Synthase: The simple, non amino acid N-butyl N^ω-hydroxyguanidine is almost as efficient an NO precursor as N^ω-hydroxyarginine. *J Med Chem*, **2001**, 44 (20), 3199-3202.
228. Burghardt, S.; Hirsch, A.; Schade, B.; Ludwig, K.; Böttcher, C. Switchable supramolecular organization of structurally defined micelles based on an amphiphilic fullerene. *Angew Chem Int Ed*, **2005**, 44 (19), 2976-2979.
229. Alectos Therapeutics INC. Merck Sharp and Dohme CORP. Glycosidase inhibitors and uses thereof. WO2014032188. **2014**.
230. Wang, Q.-D.; Yang, J.-M.; Fang, D.; Ren, J.; Dong, B.; Zhou, B.; Zeng, B.-B. Chemoselective Cu(I) catalyzed bis(pinacolato)diboron conjugate addition and reduction onto α,β -unsaturated carbonyl compounds. *Tetrahedron Lett*, **2016**, 57 (24), 2587-2590.
231. Vasilakaki, S.; Barbayianni, E.; Leonis, G.; Papadopoulos, M.G.; Mavromoustakos, T.; Gelb, M.H.; Kokotos, G. Development of a potent 2-oxoamide inhibitor of secreted phospholipase A₂ guided by molecular docking calculations and molecular dynamics simulations. *Bioorg Med Chem Lett*, **2016**, 24 (8), 1683-1695.
232. Takeda Pharmaceutical Company Limited Patent. GSK-3Beta Inhibitor. US2011039893 A1. **2011**.
233. Meka, B.; Ravada, S.R.; Muthyala, M.K.K.; Kurre, P.N.; Golakoti, T. Synthesis, in vitro and in silico evaluation of diaryl heptanones as potential 5LOX enzyme inhibitors. *Bioorg Chem*, **2018**, 80 408-421.

234. Thuaud, F.; Kojima, S.; Hirai, G.; Oonuma, K.; Tsuchiya, A.; Uchida, T.; Tsuchimoto, T.; Sodeoka, M. RE12 derivatives displaying Vaccinia H1-related phosphatase (VHR) inhibition in the presence of detergent and their anti-proliferative activity against HeLa cells. *Bioorg Med Chem*, **2014**, *22* (9), 2771-2782.
235. Zhang, X.; Yao, X.-T.; Dalton, J.T.; Shams, G.; Lei, L.; Patil, P.N.; Feller, D.R.; Hsu, F.-L.; George, C.; Miller, D.D. Medetomidine analogs as α_2 -adrenergic ligands. 2. Design, synthesis, and biological activity of conformationally restricted naphthalene derivatives of medetomidine. *J Med Chem*, **1996**, *39* (15), 3001-3013.
236. Van Veldhoven, J.P.D.; Liu, R.; Thee, S.A.; Wouters, Y.; Verhoork, S.J.M.; Mooiman, C.; Louvel, J.; Ijzerman, A.P. Affinity and kinetics study of anthranilic acids as HCA2 receptor agonists. *Bioorg Med Chem*, **2015**, *23* (14), 4013-4025.
237. Newcomb, L.F.; Haque, T.S.; Gellman, S.H. Searching for minimum increments of hydrophobic collapse: Flexible dinaphthyl carboxylates. *J Am Chem Soc*, **1995**, *117* (24), 6509-6519.
238. Nani, R.R.; Reisman, S.E. α -Diazo- β -ketonitriles: Uniquely reactive substrates for arene and alkene cyclopropanation. *J Am Chem Soc*, **2013**, *135* (19), 7304-7311.
239. El-Batta, A.; Jiang, C.; Zhao, W.; Anness, R.; Cooksy, A.L.; Bergdahl, M. Wittig reactions in water media employing stabilized ylides with aldehydes. Synthesis of α,β -unsaturated esters from mixing aldehydes, α -bromoesters, and Ph_3P in aqueous NaHCO_3 . *J Org Chem*, **2007**, *72* (14), 5244-5259.
240. Shimojoh, N.; Imura, Y.; Moriyama, K.; Togo, H. Wittig reaction with ion-supported Ph_3P . *Tetrahedron*, **2011**, *67* (5), 951-957.
241. Nomura, T.; Iwaki, T.; Yasukata, T.; Nishi, K.; Narukawa, Y.; Uotani, K.; Hori, T.; Miwa, H. A new type of ketolides bearing an N-aryl-alkyl acetamide moiety at the C-9 iminoether synthesis and structure-activity relationships. *Bioorg Med Chem*, **2005**, *13* (24), 6615-6628.
242. Kessler, S.N.; Wegner, H.A. Lewis acid catalyzed inverse electron-demand Diels-Alder reaction of 1,2-diazines. *Org Lett*, **2010**, *12* (18), 4062-4065.