



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ, ΤΜΗΜΑ
ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ, ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ**

**ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
"ΟΡΓΑΝΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗ ΧΗΜΙΚΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ"**

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**Σχεδιασμός, Σύνθεση και Αντιμυκοβακτηριδιακή
Δράση Υδροξαμικών Οξέων και Αναλόγων τους**

**Αλέξανδρος Παγώνης
ΧΗΜΙΚΟΣ**

Επιβλέπουσα: Βικτωρία Μαγκριώτη, Επίκουρη Καθηγήτρια

ΑΘΗΝΑ

ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ 2018

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

Σχεδιασμός, Σύνθεση και Αντιμυκοβακτηριδιακή Δράση Υδροξαμικών Οξέων
και Αναλόγων τους

Αλέξανδρος Παγώνης

A.M.: 161508

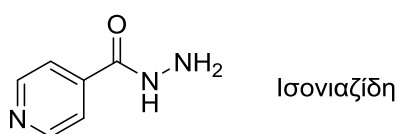
ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Βικτωρία Μαγκριώτη, Επίκουρη Καθηγήτρια (επιβλέπουσα)
Γεώργιος Κόκοτος, Καθηγητής
Δημήτριος Γεωργιάδης, Αναπληρωτής Καθηγητής

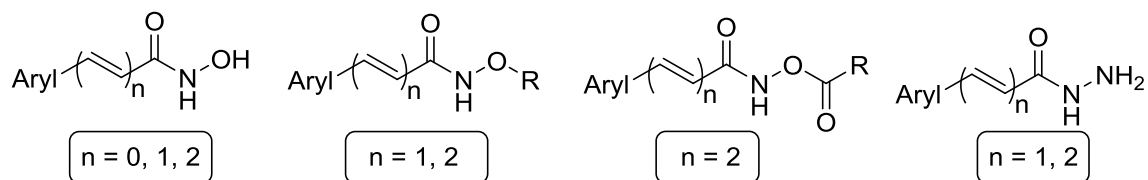
ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ 12/10/2018

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η φυματίωση (Tuberculosis, TB) αποτελεί μία μολυσματική νόσο, που οφείλεται κυρίως στο μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης (*Mycobacterium Tuberculosis*, Mtb) και σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, είναι η πιο θανατηφόρα μολυσματική ασθένεια σε όλο τον κόσμο. Ένα από τα φάρμακα πρώτης γραμμής για την θεραπεία της είναι η ισονιαζίδη, το υδραζίδιο του ισονικοτινικού οξέος. Τα υδροξαμικά οξέα είναι αμίδια, όπου το άζωτο φέρει μία υδροξυλομάδα ως υποκαταστάτη, αντί για ένα άτομο υδρογόνου και αποτελούν ικανούς αναστολείς έναντι ποικίλων ενζύμων, όπως είναι οι ουρεάσες, οι υπεροξειδάσες και οι μεταλλοπρωτεϊνάσες.



Στην παρούσα εργασία αναλύεται ο σχεδιασμός και η σύνθεση νέων υδροξαμικών οξέων, παραγώγων τους, αλλά και αναλόγων υδραζιδίων για τη μελέτη της δράσης τους ενάντια στην φυματίωση. Περιγράφεται το μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης, οι μέθοδοι διάγνωσης και θεραπείας της, καθώς και οι νέες ανθεκτικές μορφές της που έχουν προκύψει, ενώ γίνεται αναφορά στα αντιβιοτικά κατά της φυματίωσης. Επίσης, αναφέρονται οι βιολογικές δράσεις και οι μέθοδοι σύνθεσης των υδροξαμικών οξέων, των κινναμωμικών οξέων και των υδραζιδίων. Στο δεύτερο μέρος παρουσιάζεται η σύνθεση οργανικών ενώσεων αναλόγων της ισονιαζίδης που πραγματοποιήθηκε. Οι ενώσεις που συντέθηκαν είναι υδροξαμικά οξέα, υδραζίδια καθώς και υποκατεστημένα υδροξαμικά οξέα.

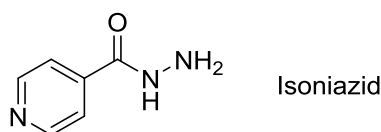


ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων και αναλόγων τους

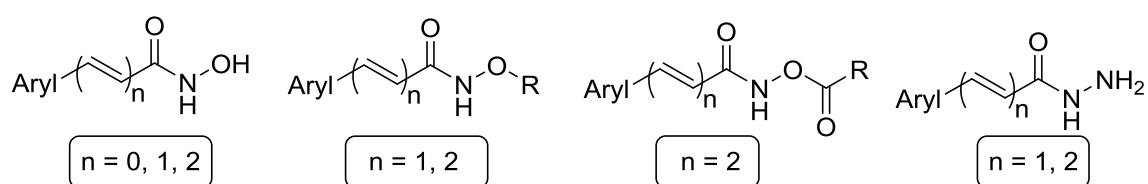
ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: αντιμυκοβακτηριδιακή δράση, υδραζίδια, υδροξαμικά οξέα, φυματίωση

ABSTRACT

Tuberculosis (TB) is an infectious disease mainly caused by the *Mycobacterium Tuberculosis* (Mtb) and, according to the World Health Organization (WHO), it is the leading cause of death due to a single infectious agent. One of the first-line drugs for treating TB is isoniazid, the hydrazide of isonicotinic acid. Hydroxamic acids are amides, where the nitrogen bears a hydroxyl group, instead of a hydrogen atom and they are capable inhibitors of various enzymes, such as ureases, peroxidases and metalloproteinases.



In the present thesis, we analyze the design and the synthesis of novel hydroxamic acids, their derivatives and hydrazide analogues for the study of their action against TB. The *Mycobacterium tuberculosis* properties, the diagnosis and treatment methods of TB, as well as the new emerging, resistant forms of the disease are analyzed, while reference is made to the antibiotics prescribed against TB. Moreover, the biological activity and the synthetic methodologies of hydroxamic acids, cinnamic acids and hydrazides are reported. In the second part we present the synthesis of novel isoniazid analogues, which are hydroxamic acids, hydrazides as well as substituted hydroxamic acids.



SUBJECT AREA: Synthesis of hydroxamic acids and analogues

KEYWORDS: Antimycobacterial activity, Hydrazides, Hydroxamic acids, Tuberculosis

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για την διεκπεραίωση της παρούσας ερευνητικής εργασίας, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα Επίκουρη Καθηγήτρια Μαγκριώτη Βικτωρία για τη συνεργασία και την πολύτιμη συμβολή της στην ολοκλήρωση της, καθώς και για την ανάθεση του θέματος, την καθοδήγηση, την υποστήριξη και τις πολύτιμες συμβουλές καθ' ολη τη διάρκεια.

Θα ήθελα επιπλέον να ευχαριστήσω τα μέλη της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής, τον Καθηγητή Κόκοτο Γεώργιο και τον Αναπληρωτή Καθηγητή Γεωργιάδη Δημήτριο για τις εύστοχες υποδείξεις τους και παρατηρήσεις τους με σκοπό την ολοκλήρωση και την αρτιότερη παρουσίαση της εργασίας αυτής.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα επίσης όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας με τα οποία συνεργάστηκα και ιδιαίτερα τα μέλη του εργαστηρίου μου, τις Υποψήφιες Διδάκτορες Δεδάκη Χριστίνα και Παπαδάκη Ευανθία, καθώς και τον μεταπτυχιακό φοιτητή Αθανασούλη Αλέξανδρο για την πολύτιμη βοήθεια τους και το ευχάριστο και κυρίως φιλικό κλίμα εντός του εργαστηρίου.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και τους δικούς μου ανθρώπους για όλη την στήριξη και την συμπαράσταση τους όλο αυτό το διάστημα.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα ερευνητική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών κατά την περίοδο Μαρτίου 2017 - Ιουλίου 2018, υπό την επίβλεψη της Επίκουρης Καθηγήτριας Βικτωρίας Μαγκριώτη.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	8
1. ΦΥΜΑΤΙΩΣΗ.....	21
1.1 Εισαγωγή.....	21
1.2 Ιστορική Αναδρομή.....	22
1.3 Μυκοβακτηρίδιο της Φυματίωσης.....	23
1.3.1 Γενικά για τα μυκοβακτηρίδια.....	23
1.3.2 Το γονιδίωμα του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης.....	24
1.3.3 Το κυτταρικό τοίχωμα του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης.....	25
1.3.4 Τα λιπίδια του κυτταρικού τοιχώματος και η βιολογική τους σημασία για το μυκοβακτηρίδιο.....	28
1.4 Λανθάνουσα Φυματίωση.....	30
1.5 Παθογένεση της ενεργού φυματίωσης.....	31
1.6 Κλινικά χαρακτηριστικά της φυματίωσης.....	33
1.7 Διάγνωση.....	34
1.7.1 Διάγνωση της λανθάνουσας φυματίωσης.....	34
1.7.2 Διάγνωση της ενεργού φυματίωσης.....	36
1.8 Το εμβόλιο M. Bovis var BCG.....	36
1.9 Βασική θεραπεία της φυματίωσης και αντιβιοτικά.....	37
1.9.1 Ισονιαζίδη.....	38
1.9.2 Ριφαμπικίνη.....	39
1.9.3 Πυραζιναμίδη.....	41
1.9.4 Εθαμβουτόλη.....	43
1.9.5 Στρεπτομυκίνη.....	44
1.9.6 Αντιβιοτικά δεύτερης γενιάς.....	44

1.10	Ανθεκτικότητα του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης.....	48
1.10.1	Κατηγορίες ανθεκτικών μορφών φυματίωσης.....	48
1.10.2	Δημιουργία Ανθεκτικότητας.....	49
1.10.3	Διάγνωση ανθεκτικών μορφών φυματίωσης.....	50
1.10.4	Θεραπεία ανθεκτικών μορφών φυματίωσης.....	50
1.11	Ανάγκη εύρεσης νέων φαρμάκων.....	51
2.	ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΥΔΡΑΞΑΜΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ.....	52
2.1	Υδροξαμικά οξέα (Hydroxamic acids).....	52
2.1.1	Οξύτητα των υδροξαμικών οξέων.....	52
2.1.2	Τα υδροξαμικά οξέα ως υποκαταστάτες.....	53
2.1.3	Δεσμοί υδρογόνου στα υδροξαμικά οξέα.....	54
2.2	Φαρμακευτικές ιδιότητες των υδροξαμικών οξέων.....	54
2.2.1	Τα υδροξαμικά οξέα ως αναστολείς της ιστόνης των αποακετυλασών.....	55
2.2.2	Τα υδροξαμικά οξέα ως αντιελονοσιακά.....	56
2.3	Γενικές μέθοδοι σύνθεσης υδροξαμικών οξέων.....	56
2.3.1	Σύνθεση υδροξαμικών οξέων από καρβοξυλικά οξέα.....	57
2.3.2	Σύνθεση υδροξαμικών οξέων από εστέρες.....	58
2.3.3	Σύνθεση υδροξαμικών οξέων μέσω αντίδρασης σύζευξης με προστατευτική ομάδα.....	58
2.3.4	Σύνθεση υδροξαμικών οξέων από αλδεΐδες.....	59
2.4	Κινναμωμικά οξέα (cinnamic acids).....	60
2.5	Βιολογικές δράσεις των παραγώγων των κινναμωμικών οξέων.....	61
2.5.1	Αντιοξειδωτικές δράσεις.....	61
2.5.2	Αντιβακτηριδιακές δράσεις.....	62
2.5.3	Αντιικές δράσεις.....	62
2.5.4	Αντικαρκινικές δράσεις.....	62

2.6	Γενικές μέθοδοι σύνθεσης κινναμωμικών οξέων.....	63
2.6.1	Αντίδραση συμπύκνωσης Knoevenagel.....	63
2.6.2	Αντίδραση Knoevenagel στα μικροκύματα.....	63
2.6.3	Αντίδραση σαπωνοποίησης εστέρων.....	64
2.6.4	Αντίδραση Perkin	64
2.6.5	Αντίδραση σύζευξης Heck προς σχηματισμό κινναμωμικών παραγώγων	64
2.6.6	Αλοφορμική Αντίδραση	65
2.7	Υδραζίδια (Hydrazides).....	65
2.8	Συνθέσεις Υδραζιδίων.....	66
2.8.1	Σύνθεση υδραζιδίων με σύζευξη της υδραζίνης	66
2.8.2	Σύνθεση υδραζιδίων με ενεργοποίηση με θειονυλοχλωρίδιο και υδατική υδροξυλαμίνη.....	66
3.	ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	67
4.	ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ ΥΔΡΟΞΑΜΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΤΟΥΣ ΜΕ ΠΙΘΑΝΗ ΑΝΤΙΦΥΜΑΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ.....	68
4.1	Σχεδιασμός ακόρεστων υδροξαμικών οξέων	68
4.1.1	Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης.....	68
4.1.2	Σύνθεση των καρβοξυλικών οξέων με ένα διπλό δεσμό	69
4.1.3	Σύνθεση προστατευμένων υδροξαμικών οξέων με NH ₂ OTHP... ..	74
4.1.4	Σύνθεση υδροξαμικών οξέων με αποπροστασία	77
4.1.5	Σύνθεση υδροξαμικού οξέος ανάλογου της ισονιαζίδης	80
4.1.6	Σύνθεση ακόρεστων μεθυλεστέρων από καρβοξυλικά οξέα	80
4.1.7	Σύνθεση ακόρεστων υδροξαμικών οξέων με έναν διπλό δεσμό από τους αντίστοιχους μεθυλεστέρες.....	83
4.1.8	Σύνθεση κορεσμένων υδροξαμικών οξέων	86

4.1.9	Σύνθεση αιθυλεστέρων με δύο διπλούς δεσμούς από τις αντίστοιχες αρωματικές αλδεΐδες.....	87
4.1.10	Σύνθεση ακόρεστων υδροξαμικών οξέων με δύο διπλούς δεσμούς από τους αντίστοιχους αιθυλεστέρες.....	90
4.1.11	Σύνθεση κορεσμένων υδροξαμικών οξέων με 4 άνθρακες	93
4.1.12	Σύνθεση ακόρεστου υδροξαμικού οξέος με 4 άτομα άνθρακα με τη μέθοδο της προστασίας και αποπροστασίας	94
4.2	Σχεδιασμός ακόρεστων υδραζιδίων.....	94
4.2.1	Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης υδραζιδίων	94
4.2.2	Σύνθεση ακόρεστων οξέων με διπλό δεσμό.....	95
4.2.3	Σύνθεση ακόρεστων υδραζιδίων	98
4.3	Σύνθεση υποκατεστημένων υδροξαμικών παραγώγων.....	101
4.3.1	Σύνθεση υποκατεστημένων υδροξαμικών οξέων με μία αντίδραση με μηχανισμό S_N2 με βάση και ένα βρωμίδιο	102
4.3.2	Σύνθεση υποκατεστημένων υδροξαμικών οξέων με μία αντίδραση σύζευξης.....	105
5.	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ-ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΙ ΕΝΩΣΕΩΝ	107
5.1	Γενικό Πειραματικό Μέρος	107
5.1.1	Αντιδραστήρια	107
5.1.2	Χρωματογραφικός Έλεγχος Αντιδράσεων.....	107
5.1.3	Χρωματογραφικός καθαρισμός ενώσεων.....	108
5.1.4	Χαρακτηρισμός ενώσεων	108
5.2	Συνθετικές μέθοδοι – Χαρακτηρισμοί ενώσεων	109
5.2.1	Γενική μέθοδος συμπύκνωσης Knoevenagel τροποποιημένη από τους Verley-Doebner.....	109
5.2.2	Γενική μέθοδος σύνθεσης προστατευμένων υδροξαμικών οξέων – Αντίδραση σύζευξης	111

5.2.3	Γενική μέθοδος αποπροστασίας THP-προστατευμένων υδροξαμικών οξέων	116
5.2.4	Γενική μέθοδος σύνθεσης μεθυλεστέρων (ή αιθυλεστέρων) από καρβοξυλικά οξέα	120
5.2.5	Γενική μέθοδος σύνθεσης υδροξαμικών οξέων από εστέρες ...	123
5.2.6	Γενική μέθοδος ολεφिनιοποίησης Horner-Wadsworth-Emmons	131
5.2.7	Γενική μέθοδος σαπωνοποίησης	135
5.2.8	Γενική μέθοδος σύνθεσης υδραζιδίων από καρβοξυλικά οξέα .	137
5.2.9	Γενική μέθοδος σύνθεσης υποκατεστημένων υδροξαμικών οξέων με μηχανισμό S _N 2	142
5.2.10	Γενική μέθοδος σύνθεσης υποκατεστημένων υδροξαμικών οξέων με αντίδραση σύζευξης	143
5.2.11	Σύνθεση του (E)-3-(πυριδιν-2-υλο) ακρυλικού αιθυλεστέρα..	145
5.2.12	Σύνθεση της 4-(επτυλοξυ) βενζαλδεΐδης (117)	146
5.2.13	Σύνθεση του ενδιάμεσου Ο-εξυλοϋδροξυλαμίνης (146).....	146
6.	ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ.....	148
7.	ΑΝΑΦΟΡΕΣ	149

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1: Τα άλφα-, μεθόξυ- και κέτο μυκολικά οξέα του κυτταρικού τοιχώματος.....	29
Σχήμα 2: Μονομυκολική Τρεαλόζη (Trehalose monomycolate, TMM)	29
Σχήμα 3: Η ισονιαζίδη (5) και τα προϊόντα αντίδρασης της με την katG.....	38
Σχήμα 4: Ιδιαίτερα δραστικές ενδιάμεσες ρίζες της ισονιαζίδης	39
Σχήμα 5: Ριφαμπικίνη (Rifampicin)	40
Σχήμα 6: Η πυραζιναμίδη (13) και το νικοτιναμίδιο (14).....	42
Σχήμα 7: Μετατροπή της πυραζιναμίδης σε πυραζινοϊκό οξύ	43
Σχήμα 8: (+)-Εθαμβουτόλη [(+)-Ethambutol].....	44
Σχήμα 9: Στρεπτομυκίνη (Streptomycin)	44
Σχήμα 10: Γενικός τύπος φθοροκινολονών (18) και τα κυριότερα αντιβιοτικά της κατηγορίας (οφλοξασίνη (19), λεβοφλοξασίνη (20), σιπροφλοξασίνη (21), μοξιφλοξασίνη (22) και γατιφλοξασίνη (23)).....	46
Σχήμα 11: Καναμυκίνη (kanamycin) (24), αμικασίνη (amikacin) (25) και καπρεομυκίνη (capreomycin) (26)	46
Σχήμα 12: Η ενεργοποίηση της εθειονιαμίδης.....	47
Σχήμα 13: D-κυκλοσερίνη (29) και D-αλανίνη (30).....	48
Σχήμα 14: Παρα-αμινοσαλικυλικό οξύ (p-aminosalicylic acid)	48
Σχήμα 15: Οξαλοϋδροξαμικό οξύ.....	52
Σχήμα 16: Ταυτομέρεια κετο-ενόλης στα υδροξαμικά οξέα.....	52
Σχήμα 17: Σύμπλοκα μετάλλων με υδροξαμικά οξέα.....	54
Σχήμα 18: Δεσμοί υδρογόνου στα υδροξαμικά οξέα	54
Σχήμα 19: Βορινοστάτη (39), Βελινοστάτη (40), Τριχοστατίνη Α (41) και Πανομπινοστάτη (42).....	56
Σχήμα 20: Φοσμιδικίνη (fosmidycin)	56
Σχήμα 21: Γενικός Τύπος Υδροξαμικών οξέων.....	56

Σχήμα 22: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων από καρβοξυλικά οξέα μέσω ενδιάμεσου χλωριδίου.....	57
Σχήμα 23: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων από καρβοξυλικά οξέα μέσω ενδιάμεσου ανυδρίτη.....	57
Σχήμα 24: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων μέσω ενεργοποίησης με βενζοτριαζόλιο	57
Σχήμα 25: Το Κυανουρικό χλωρίδιο (48) και ο κυκλικός πολυφωσφινικός ανυδρίτης PPAΑ (49)	58
Σχήμα 26: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων από εστέρες με $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$	58
Σχήμα 27: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων από καρβοξυλικά οξέα μέσω προστατευμένου ενδιάμεσου με NHOTHP ομάδα	59
Σχήμα 28: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων από καρβοξυλικά οξέα μέσω προστατευμένου ενδιάμεσου με βενζυλομάδα.....	59
Σχήμα 29: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων από αλδεΐδες	60
Σχήμα 30: Κινναμωμικό οξύ (54), p-κουμαρικό οξύ (55), καφεϊκό οξύ (56), φερουλικό οξύ (57), σιναπτικό οξύ (58) και χλωρογενικό οξύ (59)	61
Σχήμα 31: Ροσμαρινικό οξύ (rosmarinic acid) (60) και L-chicoric οξύ (61).....	62
Σχήμα 32: Φαινυλαιθυλεστέρας του καφεϊκού οξέος.....	63
Σχήμα 33: Αντίδραση συμπύκνωσης Knoevenagel	63
Σχήμα 34: Αντίδραση Knoevenagel στα μικροκύματα	64
Σχήμα 35: Σαπωνοποίηση μεθυλεστέρα προς σχηματισμό παράγωγου του κινναμωμικού οξέος	64
Σχήμα 36: Αντίδραση Perkin για σύνθεση παραγώγων του κινναμωμικού οξέος.....	64
Σχήμα 37: Αντίδραση σύζευξης Heck	65
Σχήμα 38: Σύνθεση κινναμωμικών οξέων από κετόνες	65
Σχήμα 39: Γενικός τύπος Υδραζιδίων (70) και το αντιβιοτικό negamycin (71)	66

Σχήμα 40: Σύνθεση υδραζιδίων με σύζευξη της υδραζίνης.....	66
Σχήμα 41: Σύνθεση υδραζιδίων με SOCl ₂ και υδραζίνη.....	66
Σχήμα 42: Η ισονιαζίδη (5) και οι γενικοί τύποι ακόρεστων υδροξαμικών οξέων και υδραζιδίων που συντέθηκαν.....	67
Σχήμα 43: Δομή ισονιαζίδης και γενική δομή των ακόρεστων υδροξαμικών οξέων που συνετέθησαν	68
Σχήμα 44: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης υδροξαμικών οξέων με έναν διπλό δεσμό.....	69
Σχήμα 45: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης υδροξαμικών οξέων με δύο διπλούς δεσμούς.....	69
Σχήμα 46: Καρβοξυλικά οξέα με έναν διπλό δεσμό	70
Σχήμα 47: Σύνθεση ακόρεστων καρβοξυλικών οξέων μέσω της τροποποιημένης από τους Verley-Doebner συμπύκνωσης Knoevenagel	70
Σχήμα 48: Μηχανισμός τροποποιημένης συμπύκνωσης Knoevenagel	71
Σχήμα 49: Φάσμα ¹ H NMR του (E)-3-(πυριδιν-3-υλο) ακρυλικού οξέος.....	72
Σχήμα 50: Φάσμα ¹³ C NMR του (E)-3-(πυριδιν-3-υλο) ακρυλικού οξέος	73
Σχήμα 51: Σύνθεση του (E)-3-(πυριδιν-2-υλο) ακρυλικού οξέος	73
Σχήμα 52: Τα προστατευμένα υδροξαμικά οξέα που συντέθηκαν στο εργαστήριο.....	74
Σχήμα 53: Αντίδραση σύζευξης καρβοξυλικών οξέων με την NH ₂ OTHP προστατευτική ομάδα	74
Σχήμα 54: Μηχανισμός σύζευξης της προστατευτικής στο καρβοξυλικό οξύ	75
Σχήμα 55: Φάσμα ¹ H του (E)-3-(πυριδιν-4-υλο)-1-((τετραϋδρο-2H-πυραν-2-υλο) οξυ)ακρυλαμιδίου.....	76
Σχήμα 56: Φάσμα ¹³ C NMR του (E)-3-(πυριδιν-4-υλο)-1-((τετραϋδρο-2H-πυραν-2-υλο) οξυ)ακρυλαμιδίου	77
Σχήμα 57: Υδροξαμικά οξέα που συντέθηκαν με αποπροστασία	77
Σχήμα 58: Αντίδραση αποπροστασίας και σύνθεση υδροξαμικών οξέων.....	78

Σχήμα 59: Μηχανισμός αποπροστασίας υδροξαμικών οξέων	78
Σχήμα 60: Φάσμα ^1H NMR του (<i>E</i>)- <i>N</i> -υδροξυ-3-(4-μεθοξυφαινυλο) ακρυλαμιδίου	79
Σχήμα 61: Φάσμα ^{13}C NMR του (<i>E</i>)- <i>N</i> -υδροξυ-3-(4-μεθοξυφαινυλο) ακρυλαμιδίου	80
Σχήμα 62: Σύνθεση <i>N</i> -υδροξυ υδροχλωρικό ισονικοτιναμίδιο.....	80
Σχήμα 63: Ακόρεστοι μεθυλεστέρες που συντέθηκαν στο εργαστήριο	81
Σχήμα 64: Αντίδραση σύνθεσης μεθυλεστέρων.....	81
Σχήμα 65: Μηχανισμός σύνθεσης μεθυλεστέρων από καρβοξυλικά οξέα	81
Σχήμα 66: Φάσμα ^1H NMR του (<i>E</i>)-3-(4-μεθοξυφαινυλο) ακρυλικού μεθυλεστέρα	82
Σχήμα 67: Φάσμα ^{13}C NMR του (<i>E</i>)-3-(4-μεθοξυφαινυλο) ακρυλικού μεθυλεστέρα	83
Σχήμα 68: Υδροξαμικά οξέα που συντέθηκαν στο εργαστήριο	83
Σχήμα 69: Σύνθεση ακόρεστων υδροξαμικών οξέων από τους αντίστοιχους ακόρεστους εστέρες.....	84
Σχήμα 70: Πιθανός μηχανισμός σύνθεσης υδροξαμικών οξέων από υδροξυλαμίνη.....	84
Σχήμα 71: Φάσμα ^1H NMR του (<i>E</i>)-3-(βενζο [d][1,3] διοξολ-5-υλο)- <i>N</i> -υδροξυακρυλαμιδίου	85
Σχήμα 72: Φάσμα ^{13}C NMR του (<i>E</i>)-3-(βενζο [d][1,3] διοξολ-5-υλο)- <i>N</i> -υδροξυακρυλαμιδίου	86
Σχήμα 73: Σύνθεση κορεσμένων υδροξαμικών οξέων.....	86
Σχήμα 74: Ακόρεστοι αιθυλεστέρες που συντέθηκαν στον εργαστήριο.....	87
Σχήμα 75: Αρωματικές αλδεΐδες που χρησιμοποιήθηκαν	87
Σχήμα 76: Μετατροπή της αλδεΐδης στον αντίστοιχο ακόρεστο εστέρα μέσω της αντίδρασης Horner-Wadsworth-Emmons	88
Σχήμα 77: Μηχανισμός της αντίδρασης Horner-Wadsworth-Emmons.....	88

Σχήμα 78: Φάσματα ^1H NMR του (2 <i>E</i> , 4 <i>E</i>)-5-(πυριδιν-4-υλο) πεντα-2,4-διενοϊκού αιθυλεστέρα.....	89
Σχήμα 79: Φάσμα ^{13}C NMR του (2 <i>E</i> , 4 <i>E</i>)-5-(πυριδιν-4-υλο) πεντα-2,4-διενοϊκού αιθυλεστέρα.....	90
Σχήμα 80: Αντίδραση σύνθεση 4-(επτυλοξυ) βενζαλδεΐδης.....	90
Σχήμα 81: Υδροξαμικά οξέα με δύο διπλούς δεσμούς στην ενδιάμεση ανθρακική αλυσίδα, τα οποία συντέθηκαν στο εργαστήριο.....	91
Σχήμα 82: Αντίδραση σύνθεσης υδροξαμικών οξέων με υδροξυλαμίνη	91
Σχήμα 83: Φάσμα ^1H NMR του (2 <i>E</i> ,4 <i>E</i>)- <i>N</i> -υδροξυ-5-(πυριδιν-4-υλο) πεντα-2,4-διεναμιδίου.....	92
Σχήμα 84: Φάσμα ^{13}C NMR του (2 <i>E</i> ,4 <i>E</i>)- <i>N</i> -υδροξυ-5-(πυριδιν-4-υλο) πεντα-2,4-διεναμιδίου.....	93
Σχήμα 85: Σύνθεση κορεσμένων υδροξαμικών οξέων με 4 ενδιάμεσους άνθρακες.....	93
Σχήμα 86: Σύνθεση του (2 <i>E</i> , 4 <i>E</i>)- <i>N</i> -υδροξυ-5-φαινυλοπεντα-2,4-διεναμιδίου	94
Σχήμα 87: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης υδραζιδίων	95
Σχήμα 88: Καρβοξυλικά οξέα, που χρησιμοποιήθηκαν ως πρώτες ύλες για τη σύνθεση υδραζιδίων	95
Σχήμα 89: Αντίδραση σαπωνοποίησης εστέρων προς σχηματισμό οξέων...	95
Σχήμα 90: Μηχανισμός της σαπωνοποίησης.....	96
Σχήμα 91: Φάσμα ^1H NMR του ((2 <i>E</i> , 4 <i>E</i>)-5-(4-οκτυλφαινυλο) πεντα-2,4-διενοϊκού οξέος	97
Σχήμα 92: Φάσμα ^{13}H NMR του ((2 <i>E</i> , 4 <i>E</i>)-5-(4-οκτυλφαινυλο) πεντα-2,4-διενοϊκού οξέος	98
Σχήμα 93: Υδραζίδια που συντέθηκαν στο εργαστήριο	98
Σχήμα 94: Αντίδραση σύζευξης υδραζίνης σε οξύ για σχηματισμό υδραζιδίων	99

Σχήμα 95: Μηχανισμός σύζευξης υδραζίνης σε οξύ προς σχηματισμό υδραζιδίων	99
Σχήμα 96: Φάσματα ^1H NMR του κινναμωμικού υδραζιδίου	100
Σχήμα 97: Φάσματα ^{13}C NMR του κινναμωμικού υδραζιδίου	101
Σχήμα 98: Υποκατεστημένα υδροξαμικά οξέα που συντέθηκαν στο εργαστήριο.....	102
Σχήμα 99: Αντίδραση σύνθεσης υποκατεστημένων υδροξαμικών με βάση και βρωμίδιο	102
Σχήμα 100: Μηχανισμός $\text{S}_{\text{N}}2$ για τη σύνθεση των υποκατεστημένων υδροξαμικών οξέων	103
Σχήμα 101: Φάσμα ^1H NMR του (2 <i>E</i> , 4 <i>E</i>)-5-(4-φθοροφαινυλο)- <i>N</i> -(εξυλοξυ) πεντα-2,4-διεναμιδίου	104
Σχήμα 102: Φάσμα ^{13}C NMR του (2 <i>E</i> , 4 <i>E</i>)-5-(4-φθοροφαινυλο)- <i>N</i> -(εξυλοξυ) πεντα-2,4-διεναμιδίου	105
Σχήμα 103: Σύνθεση υποκατεστημένων υδροξαμικών οξέων με μία αντίδραση σύζευξης.....	105
Σχήμα 104: Σύνθεση του <i>N</i> -(εξυλοξυ) κινναμαμιδίου	106
Σχήμα 105: Σύνθεση του ενδιάμεσου <i>O</i> -εξυλοϋδροξυλαμίνης.....	106

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Το κυτταρικό τοίχωμα του βακτηρίου της φυματίωσης σε σχέση με οποιοδήποτε άλλο βακτηρίου.....	26
Εικόνα 2: Δομή του κυτταρικού τοιχώματος ⁹	27
Εικόνα 3: Ο κύκλος ζωής του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης ¹³	33
Εικόνα 4: Βακτηριακός πληθυσμός ανθεκτικός στην ισονιαζίδη και τη ριφαμπικίνη. ³⁵	50

ΦΥΜΑΤΙΩΣΗ

1.1 Εισαγωγή

Η φυματίωση (Tuberculosis, TB) είναι μία κοινή και σε πολλές περιπτώσεις μολυσματική νόσος, που οφείλεται κυρίως στο μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης (*Mycobacterium Tuberculosis*, Mtb). Αυτή τη στιγμή είναι η πιο θανατηφόρα μολυσματική ασθένεια σε όλο τον κόσμο, καθώς σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (World Health Organization, WHO) το 2016 αναφέρθηκαν 10.4 εκατομμύρια νέες περιπτώσεις και 1.8 εκατομμύρια θάνατοι¹. Η φυματίωση προσβάλλει κυρίως τους πνεύμονες (πνευμονική φυματίωση - 70% των περιπτώσεων), αλλά μπορεί να διαδοθεί και σε άλλα όργανα όπως οι λεμφαδένες, τα οστά και οι μήνιγγες του εγκεφάλου (εξωπνευμονική νόσος). Συμπτώματα της φυματίωσης είναι ο πυρετός, η απώλεια βάρους και οι νυχτερινές εφιδρώσεις καθώς και τοπικές συνέπειες της λοίμωξης όπως βήχας και αιμόπτυση κατά την πνευμονική νόσο. Επίσης, έχουν παρατηρηθεί και ακτινολογικές ανωμαλίες όπως θωρακική λεμφαδενοπάθεια και κοιλότητες ή πυκνότητες στους πνεύμονες². Η φυματίωση μεταδίδεται μέσω του αέρα κατά τη διάρκεια του βήχα, του φτερνίσματος και της ομιλίας μόνο από άτομα που πάσχουν από πνευμονική ή λαρυγγική φυματίωση. Οι μολυσματικοί πυρήνες, που απελευθερώνονται από τα άτομα αυτά και φέρουν το βακτήριο της φυματίωσης, έχουν διάμετρο σταγονιδίου περίπου 1-5 μm. Λόγω του μικρού τους μεγέθους, τα σωματίδια μπορούν να παραμείνουν στον αέρα από μερικά λεπτά έως και ώρες³. Το ένα τρίτο του παγκόσμιου πληθυσμού φιλοξενεί το μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης σε μία αδρανή ή λανθάνουσα μορφή, χωρίς να παρουσιάζει συμπτώματα και με κίνδυνο να νοσήσει κάποια στιγμή κατά τη διάρκεια της ζωής του⁴.

Μεγαλύτερο πρόβλημα παρουσιάζεται στην υποσαχάρια Αφρική, τη Ρωσία και την Ανατολική Ευρώπη, ενώ στις ανεπτυγμένες χώρες η νόσος οφείλεται κυρίως στις μετακινήσεις πληθυσμών¹. Ακόμη, αυξημένος κίνδυνος παρουσιάζεται σε ασθενείς, οι οποίοι πάσχουν ταυτόχρονα και από τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας ή από διαβήτη. Επιπλέον, τα τελευταία 20

περίπου χρόνια με την εξέλιξη του ίδιου του μυκοβακτηριδίου παρουσιάστηκαν νέες μορφές φυματίωσης όπως είναι η πολυανθεκτική (multidrug-resistant TB, MDR-TB) και η υπερανθεκτική (extensively drug-resistant TB, XTR-TB) με ανθεκτικότητα στις υπάρχουσες θεραπείες⁴. Επομένως, για όλους τους παραπάνω λόγους οδηγούμαστε στο συμπέρασμα ότι η φυματίωση είναι ξανά επίκαιρη και είναι επιτακτική ανάγκη η ανεύρεση νέων φαρμάκων για την αντιμετώπιση της.

1.2 Ιστορική Αναδρομή

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, εκτός από την πνευμονική μορφή της φυματίωσης, υπάρχει και η εξωπνευμονική, η οποία μπορεί να προσβάλει και τα οστά. Επιπλέον, τα οστά ως σκληροί ιστοί μπορούν να διατηρηθούν για χιλιάδες χρόνια. Το γεγονός αυτό, οδήγησε στην αναγνώριση παραμορφωμένων σκελετών, οι οποίοι πέθαναν ή νοσούσαν από φυματίωση στα οστά 4.000 χρόνια πριν. Η συχνότητα σημάδιων φυματίωσης στα οστά σκελετών, που ανακαλύφθηκαν τόσο στην αρχαία Αίγυπτο όσο και σε άλλες νεολιθικές πόλεις στην Ιταλία, τη Δανία και τη Μέση Ανατολή, υποδεικνύει ότι η ασθένεια ήταν κοινή για τους πληθυσμούς αυτούς. Ακόμα, ασσυριακοί πήλινοι δίσκοι περιγράφουν ασθενείς που βήχουν αίμα τον 7^ο αιώνα π.Χ., ενώ ο Ιπποκράτης τον 5^ο αιώνα π.Χ. γράφει για ασθενείς με πόνο στο στήθος και που βήχουν, συνήθως με αίμα στα πύελα. Επίσης, είναι πιθανό η φυματίωση να μεταφέρθηκε σε αυτές τις περιοχές μέσω της μετανάστευσης Ινδο-Ευρωπαϊών κτηνοτρόφων κοπαδιών βοοειδών, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για την εξάπλωση της νόσου στην Ευρώπη και την Ασία.

Η Ευρώπη, με τη ραγδαία αύξηση των πληθυσμών τη δεύτερη χιλιετία μ.Χ. και με τη δημιουργία μεγάλων πόλεων, έγινε επίκεντρο πολλών επιδημιών φυματίωσης από τον 16^ο-17^ο αιώνα και έπειτα. Η νόσος κορυφώθηκε το πρώτο μισό του 19^{ου} αιώνα, όπου υπολογίζεται ότι το ένα τέταρτο των Ευρωπαίων πέθαναν από φυματίωση. Το επόμενο μισό του ίδιου αιώνα τα κρούσματα από τη φυματίωση μειώθηκαν λόγω της βελτίωσης της υγιεινής των πόλεων καθώς και λόγω της καλύτερης στέγασης των ασθενών. Επιπλέον, μετανάστες μετέφεραν την ασθένεια στον Νέο κόσμο από την Ευρώπη, χωρίς ωστόσο τα ποσοστά θνησιμότητας να φτάσουν αυτά της

Ευρώπης. Συγκεκριμένα, σε μεγάλα αστικά κέντρα όπως η Βοστώνη και η Νέα Υόρκη, 6 ή 7 στους 1000 πολίτες πέθαναν από φυματίωση το 1800, ενώ τη δεκαετία 1860-1870 ο αριθμός αυτός μειώθηκε σε 4 στους 1000 χάρη σε μέτρα που λήφθηκαν για καλύτερη δημόσια υγεία. Κατά τη διάρκεια του 20^{ου} αιώνα, τα ποσοστά κρουσμάτων και θανάτων από φυματίωση μειώθηκαν σταθερά, αφενός εξαιτίας του εμβολίου BCG (*Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guerin*) και αφετέρου λόγω της ανάπτυξης αντιβιοτικών ενάντια στη φυματίωση τη δεκαετία του 1950⁵.

1.3 Μυκοβακτηρίδιο της Φυματίωσης

Το 1882, ο Γερμανός φυσικός και μικροβιολόγος Robert Koch αναγνώρισε το μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης ως κύρια αιτία της φυματίωσης⁴. Βασικό χαρακτηριστικό του βακτηρίου αυτού είναι το περίπλοκο και πλούσιο σε λιπίδια κυτταρικό τοίχωμα του. Έτσι, το μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης διαφέρει από άλλα βακτήρια και έχει την ικανότητα να αποφεύγει τους αμυντικούς μηχανισμούς του ξενιστή και να καθιερώνει μια χρόνια και επίμονη μόλυνση¹.

1.3.1 Γενικά για τα μυκοβακτηρίδια

Τα μέλη του γένους των μυκοβακτηριδίων χαρακτηρίζονται από ένα περίπλοκο κυτταρικό τοίχωμα, που είναι υπεύθυνο για την αξιοσημείωτα χαμηλή διαπερατότητα των κυττάρων τους καθώς και για την ιδιαίτερη διαδικασία χρώσης τους (γνωστή ως Zhiel-Neelsen acid-fast stain), που χρωματίζει ειδικά όλα τα μέλη του γένους αυτού. Και τα δύο αυτά χαρακτηριστικά οφείλονται στα μακριάς αλυσίδας α-άλκυλο και β-υδρόξυ λιπαρά οξέα. Βάσει του ρυθμού ανάπτυξης τους τα μυκοβακτηρίδια χωρίζονται σε δυο βασικές ομάδες: τα αργά-αναπτυσσόμενα είδη όπως είναι τα *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis* και *Mycobacterium leprae* (υπευθινά για την ανθρώπινη φυματίωση, τη φυματίωση των βοοειδών και τη λέπρα, αντίστοιχα), και το *Mycobacterium marinum* και τα ταχεία-αναπτυσσόμενα είδη όπως το *Mycobacterium smegmatis*⁶, ένα γενικά μη-παθογόνο βακτήριο⁷ και το *Mycobacterium abscessus*.

Η ομάδα του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης (*Mycobacterium tuberculosis* complex, MTBC) αποτελείται από το *Mycobacterium Tuberculosis*, το

Mycobacterium canettii, το *Mycobacterium africanum*, το *Mycobacterium microti*, το *Mycobacterium bovis*, το *Mycobacterium caprae* και το *Mycobacterium pinnipedii*, τα οποία είναι πολύ παρόμοια γενετικά. Από αυτά το *M. canettii* και *M. africanum*, παρουσιάζουν μεγάλη συγγένεια με το μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης, μπορούν επίσης να προκαλέσουν την νόσο και έχουν απομονωθεί από ασθενείς στην Αφρική ή με αφρικανική καταγωγή.

Το *M. Bovis* μπορεί να προσβάλει ανθρώπους, άγρια ή όχι βοοειδή και κασίκες, ενώ μία μετάλλαξη του στο εργαστήριο απομονώθηκε από τους Calmette και Guérin και αποτελεί το μόνο γνωστό εμβόλιο για την πρόληψη της φυματίωσης στην πρώιμη παιδική ηλικία. Εν συνεχεία, το *M. caprae* έχει απομονωθεί μόνο από αιγοειδή, το *M. microti* είναι ένα παθογόνο τρωκτικών, που μπορεί επίσης να προκαλέσει νόσο σε ανοσοκατεσταλμένους ανθρώπους, ενώ τέλος το *M. pinnipedii* μολύνει τις φώκιες.

Επιπροσθέτως, υποστηρίζεται ότι όλα τα μέλη της ομάδας έχουν προέλθει από ένα κοινό πρόγονο και εξελίχθηκαν μέσω προσθήκης και αφαίρεσης DNA. Με αυτό τον τρόπο δημιουργήθηκαν ελαφρώς διαφορετικά μυκοβακτηρίδια και εξηγούνται οι διαφορές στην παθογένεια. Με γονιδιωματική ανάλυση και με στέλεχος αναφοράς στο εργαστήριο το *M. tuberculosis* H37Rv εντοπίστηκαν 14 περιοχές (περιοχές διαφοράς ή RD1-14), οι οποίες υπάρχουν όλες στο στέλεχος αναφοράς. Το σημαντικό είναι ότι αυτές οι περιοχές απουσιάζουν όλες από το στέλεχος *M.bovis* var BCG, δηλαδή από το στέλεχος του εμβολίου της φυματίωσης. Τα υπόλοιπα μέλη της ομάδας είτε έχουν μερικές ή όλες από τις περιοχές διαφοράς RD1-14, είτε έχουν περιοχές που δεν έχει το MtB H37Rv. Τέλος, πιστεύεται ότι το γονιδίωμα του *M. Canettii* παρουσιάζει τη μεγαλύτερη συγγένεια με αυτό του κοινού προγόνου⁶.

1.3.2 Το γονιδίωμα του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης

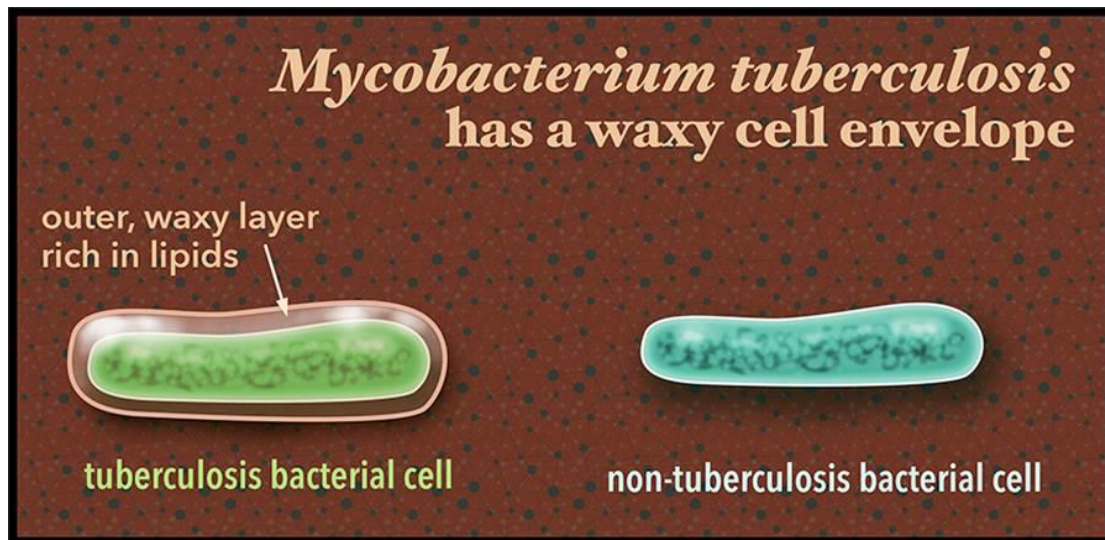
Το 1905, απομονώθηκε το γονιδίωμα H37Rv του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης. Το γονιδίωμα περιλαμβάνει μία σύνθετη αλληλουχία 4.411.529 ζευγών βάσεων με υψηλή περιεκτικότητα σε γουανίνη και κυτοσίνη (65.6%). Πρόκειται για τη δεύτερη μεγαλύτερη αλληλουχία βακτηριακού γονιδιώματος που είναι γνωστή, μετά από εκείνη της *Escherichia Coli*. Το γονιδίωμα είναι

πλούσιο σε επαναλαμβανόμενο DNA, ενώ η περιεκτικότητα γουανίνης και κυτοσίνης είναι σχετικά σταθερή καθ'όλη τη διάρκεια του γονιδιώματος. Ωστόσο, έχουν ανιχνευθεί αρκετές περιοχές που παρουσιάζουν περιεκτικότητα γουανίνης και κυτοσίνης ανώτερη του μέσου όρου και αντιστοιχούν σε αλληλουχίες που ανήκουν σε μια μεγάλη οικογένεια γονιδίων που περιλαμβάνει τις πλούσιες σε γουανίνη και κυτοσίνη πολυμορφικές ακολουθίες (PGRS)⁸.

Επιπλέον, το γονιδίωμα περιέχει περίπου 4.000 γονίδια. Μελετώντας το γονιδίωμα και τα γονίδια προκύπτουν κάποια μοναδικά χαρακτηριστικά του βακτηρίου. Υπάρχουν περισσότερα από 200 γονίδια που κωδικοποιούν ένζυμα για το μεταβολισμό των λιπαρών οξέων (το 6% των συνολικών), ενώ για παράδειγμα η *Escherichia Coli* διαθέτει περίπου 50. Αυτός ο μεγάλος αριθμός γονιδίων για τον μεταβολισμό των λιπαρών οξέων σχετίζεται με την ικανότητα του παθογόνου μυκοβακτηριδίου να επιβιώνει και να αναπτύσσεται στους ιστούς του μολυσμένου ξενιστή, όπου τα λιπαρά οξέα είναι η κύρια πηγή άνθρακα. Επιπλέον, υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός γονιδίων, που κωδικοποιούν πρωτεΐνες PE και PPE (όξινες και πλούσιες σε γλυκίνη οικογένειες πρωτεϊνών με αλληλουχίες Pro-Glu και Pro-Pro-Glu αντίστοιχα στα N-τελικά άκρα τους), οι οποίες έχει διαπιστωθεί ότι βρίσκονται τόσο στο κυτταρικό τοίχωμα, όσο και στην κυτταρική μεμβράνη. Η λειτουργία των πρωτεϊνών αυτών δεν είναι ακόμα γνωστή, αλλά πιστεύεται ότι παίζουν ρόλο στην αποφυγή της ανοσολογικής απόκρισης του ξενιστή κατά τη διάρκεια της μόλυνσης^{5,8}.

1.3.3 Το κυτταρικό τοίχωμα του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης

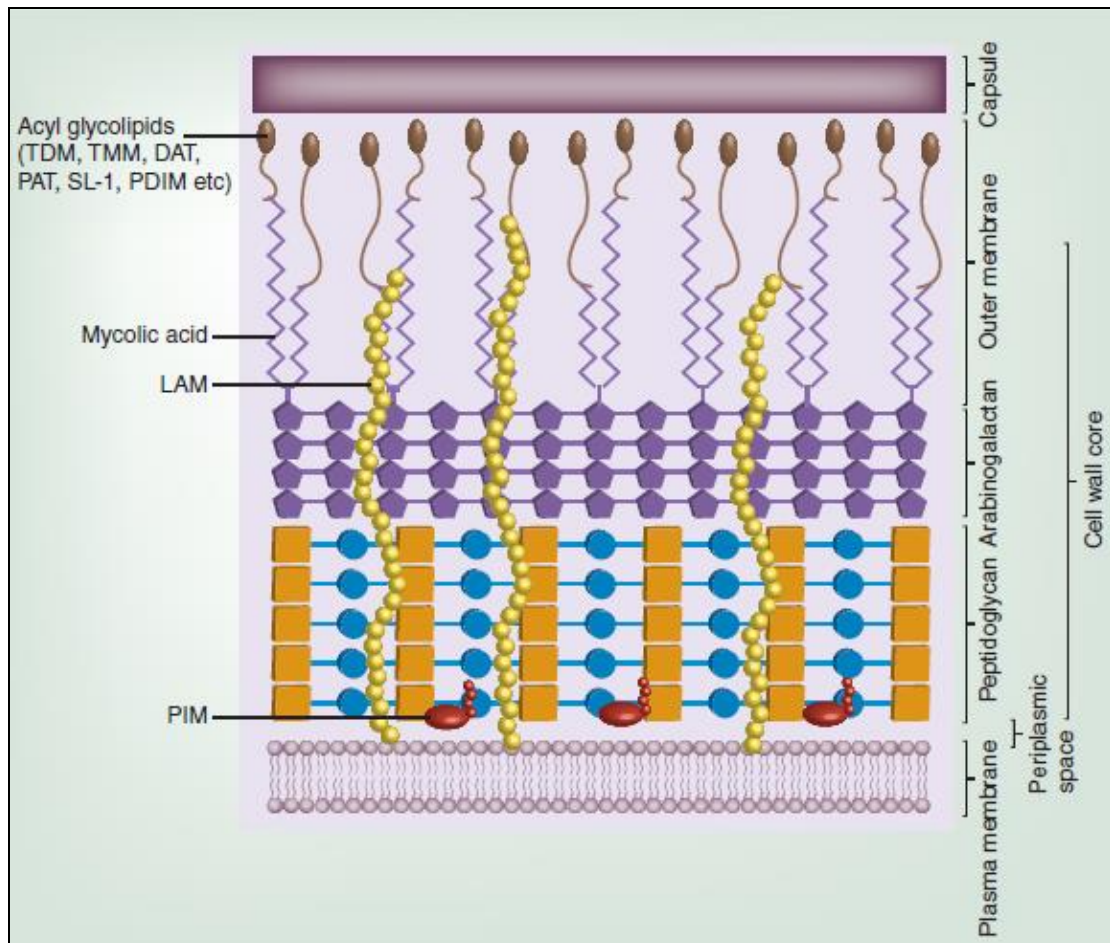
Το μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης διαθέτει ένα ασυνήθιστο και περίπλοκο κυτταρικό τοίχωμα πλούσιο σε λιπίδια, το οποίο διαφέρει σημαντικά από τα κυτταρικά τοιχώματα των άλλων βακτηρίων. Η μυκοβακτηριδιακή κηρώδης επικάλυψη είναι απαραίτητη για τη βιωσιμότητα και την παθογένεια του βακτηρίου (Εικόνα 1)¹.



Εικόνα 1: Το κυτταρικό τοίχωμα του βακτηρίου της φυματίωσης σε σχέση με οποιουδήποτε άλλου βακτηρίου

Το 60% της υγρής μάζας της κυτταρικής μεμβράνης του μυκοβακτηριδίου αποτελείται από έναν μεγάλο αριθμό πολύπλοκων λιπιδίων, τα οποία προσδίδουν τεράστια υδροφοβικότητα στην εξωτερική επιφάνεια του κυττάρου. Αυτό το μεγάλο φράγμα λιπιδίων αντιστέκεται στην αποικοδόμηση του βακτηρίου από τα ένζυμα του ξενιστή, ενώ περιορίζει ιδιαίτερα τη διαπερατότητα προστατεύοντας το κύτταρο από τοξικά μόρια και αντιβιοτικά.

Όσον αφορά στη δομή αυτού του ασυνήθιστα ισχυρού κυτταρικού τοιχώματος, αυτό αποτελείται από μία πλασματική μεμβράνη, ένα περιπλασματικό χώρο, το κυτταρικό τοίχωμα και ένα ακόμα εξωτερικό στρώμα παρόμοιο με κάψουλα (Εικόνα 2)



Εικόνα 2: Δομή του κυτταρικού τοιχώματος⁹

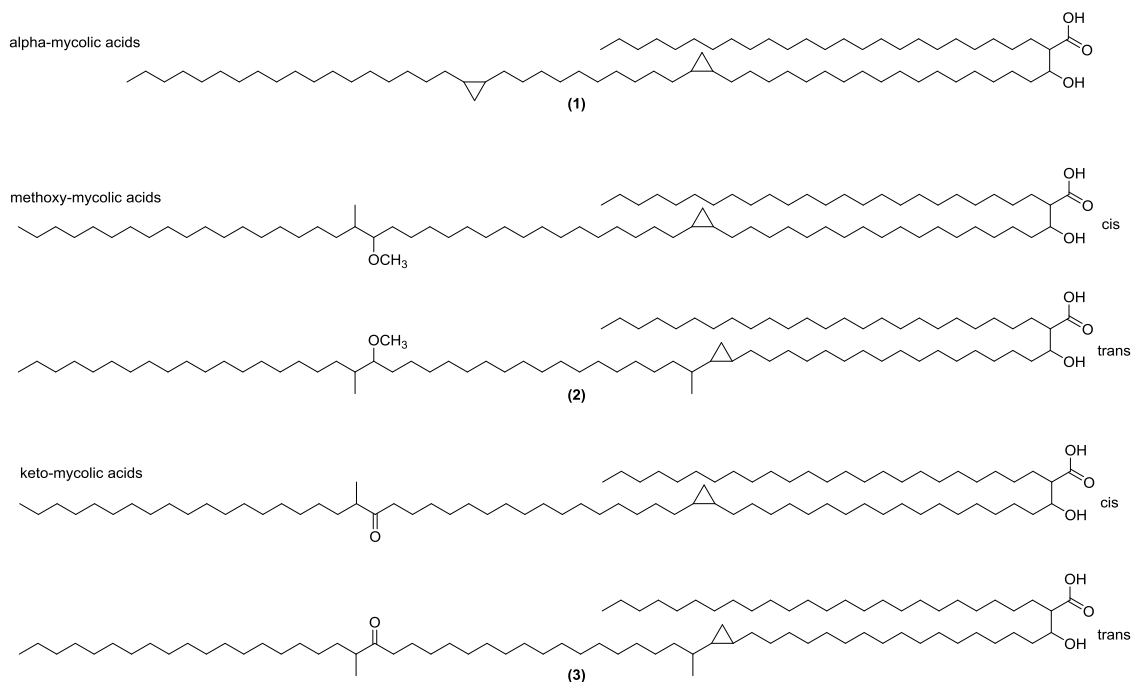
Αρχικά, το κύτταρο περιβάλλεται από την κυτταροπλασματική μεμβράνη, που είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της οσμωτικής ισορροπίας καθώς και τη ρύθμιση της κυκλοφορίας συγκεκριμένων διαλυμένων ουσιών μεταξύ του κυτταροπλάσματος και του περιβάλλοντος του βακτηρίου. Τη μεμβράνη και τον περιπλασματικό χώρο περιβάλλει το κυτταρικό τοίχωμα, το οποίο είναι πλούσιο σε λιπίδια (πάνω από 60% της σύστασης του). Το κυτταρικό τοίχωμα παρέχει μηχανική υποστήριξη, την ιδιότητα να σχηματίζεται το βακτήριο καθώς και κατασκευαστική ακεραιότητα, ενώ αποτελείται από ένα εσωτερικό και με πολλές διασταυρώσεις στρώμα πεπτιδογλυκανών (Peptidoglycans, PG), ενδιάμεσους διακλαδισμένους πολυσακχαρίτες αραβινογαλακτανών (Arabinogalactans, AG) και μία εξωτερική μυκοβακτηριδιακή μεμβράνη. Το στρώμα πεπτιδογλυκανών είναι μοναδικό ανάμεσα στους προκαρυωτικούς οργανισμούς, καθώς ο βαθμός των διασταυρώσεων αγγίζει το 70-80%, ενώ στην *Escherichia Coli* είναι μόλις 20-50%. Οι πεπτιδογλυκάνες συνδέονται με ομοιοπολικούς δεσμούς με τους ενδιάμεσους πολυσακχαρίτες (AG), των

οποίων τα εξωτερικά τελικά άκρα σχηματίζουν εστερικούς δεσμούς με τα μυκολικά οξέα της εξωτερικής μεμβράνης. Η εξωτερική μεμβράνη αποτελείται από δύο μέρη: ένα εσωτερικό, που κυρίως περιέχει μυκολικά οξέα και ένα εξωτερικό, το οποίο αποτελείται από διάφορα γλυκολιπίδια, μονομυκολικές τρεαλόζες (trehalose monomycolate, TMM), 6,6-διμυκολικές τρεαλόζες (trehalose 6,6-dimycolate, TDM), φωσφολιπίδια, γλυκοπεπτιδολιπίδια, διμυκοκεροζατικές φθιοσερόλες (Phthiocerol dimycocerosate, PDIM/DIM) και σουλφολιπίδια (SLs). Τέλος, το κυτταρικό περίβλημα φέρει επίσης και άλλα λιπίδια όπως λιπίδια που περιέχουν τρεαλόζη (διακυλοτρεαλόζη [diacyltrehalose, DAT], τριακυλοτρεαλόζη [triacyltrehalose, TAT], πολυακυλοτρεαλόζη [polyacyltrehalose, PAT], PIM, LM, LAM και φαινολικά γλυκολιπίδια [PGLs])⁹⁻¹⁰

1.3.4 Τα λιπίδια του κυτταρικού τοιχώματος και η βιολογική τους σημασία για το μυκοβακτηρίδιο

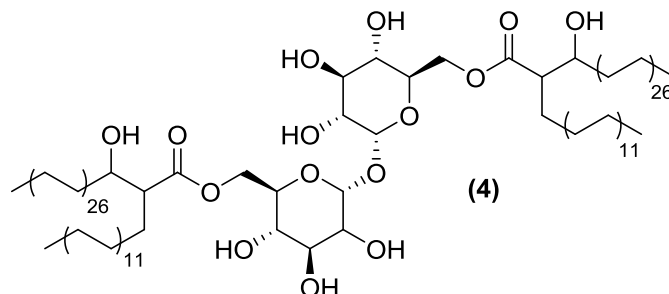
Τα μυκολικά οξέα είναι το κύριο συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος των μυκοβακτηριδίων, όπως ήδη αναφέρθηκε. Γενικά, τα μυκολικά οξέα στο μυκοβακτηρίδιο συμμετέχουν στη δομική ακεραιότητα του κυτταρικού τοιχώματος, συνεισφέρουν στη βιωσιμότητα του και λειτουργούν ως φράγμα διαπερατότητας για την προστασία του μυκοβακτηριδίου. Σχετικά με τον ξενιστή τα μυκολικά οξέα προκαλούν τη διαφοροποίηση των μακροφάγων.

Το κυτταρικό τοίχωμα περιέχει κυρίως τρεις κατηγορίες μυκολικών οξέων: τα άλφα- **(1)**, τα κέτο- **(2)** και τα μεθόξυ-μυκολικά παράγωγα **(3)** (Σχήμα 1). Τα δύο τελευταία είναι οι δύο σημαντικότερες κατηγορίες μυκολικών οξέων που περιέχουν οξυγόνο, ενώ ειδικά τα μεθόξυ-παράγωγα είναι χαρακτηριστικά των αργά-αναπτυσσόμενων ειδών. Τα *trans*-μυκολικά οξέα παίζουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση του ιξώδους κάτω από φυσιολογικές συνθήκες. Επιλέον, τα άλφα-μυκολικά οξέα περιέχουν δύο κυκλοπροπανικούς δακτυλίους σε *cis* διαμόρφωση και συνεισφέρουν στην προστασία του βακτηρίου μέσα στα κύτταρα του ξενιστή⁹.



Σχήμα 1: Τα άλφα-, μεθόξυ- και κέτο μυκολικά οξέα του κυτταρικού τοιχώματος.

Μία άλλη μεγάλη κατηγορία λιπιδίων του κυτταρικού τοιχώματος είναι οι εστέρες της τρεαλόζης όπως είναι τα γλυκολιπίδια: μονομυκολικές τρεαλόζες (TMM) και 6,6-διμυκολικές τρεαλόζες (TDM) καθώς και οι ακυλοτρεαλόζες: διακυλοτρεαλόζη (DAT), τριακυλοτρεαλόζη (TAT) και πολυακυλοτρεαλόζη (PAT). Οι μονομυκολικές τρεαλόζες (TMM ή cord factor) **(4)** συνίσταται από ένα σάκχαρο τρεαλόζης και δύο μόρια μυκολικού οξέος (Σχήμα 2) χαλαρά συνδεδεμένα με την εξωτερική μυκοβακτηριδιακή μεμβράνη⁹, ενώ προκαλούν τη διάταξη των κυττάρων του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης σε λεπτούς, μακριούς και ελικοειδής σχηματισμούς.



Σχήμα 2: Μονομυκολική Τρεαλόζη (Trehalose monomycolate, TMM)

Οι διμυκοκερασικές φθοισερόλες (PDIM/DIM) αποτελούνται από μια μακράς αλυσίδας β-διόλη εστεροποιημένη από πολυμεθυλο-διακλαδισμένα λιπαρά

οξέα, που ονομάζονται μυκοκερασικά οξέα¹¹. Οι μαννοζίτες φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης (phosphatidylinositol mannoside, PIMs) είναι γλυκολιπίδια που εκκρίνονται στο εξωκυτταρικό περιβάλλον ή εκτίθενται στη μυκοβακτηριδιακή επιφάνεια. Η λιπομαννάνη (lipomannan, LM) είναι ένας ανοσο-αγωνιστής του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης, απαραίτητος για τη βιογένεση του κυτταρικού τοιχώματος και την επιβίωση του μυκοβακτηριδίου μέσα στον ξενιστή. Η λιποαραβονομαννανη (Lipoarabinomannan, LAM) είναι γλυκολιπίδιο, αποτελεί κύριο συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος και παίζει σημαντικό ρόλο στις αλληλεπιδράσεις του ξενιστή με το παθογόνο. Έτσι, αναστέλλει τη βακτηριοκτόνο δράση των μακροφάγων και άλλων αποκρίσεων, ενώ συμβάλει στην τοξικότητα του μυκοβακτηριδίου. Τελευταία θα αναφερθούν τα φαινολικά γλυκολιπίδια (Phenolic glycolipids, PGLs), που είναι φαινολικά παράγωγα των PDIMs/DIMs και βρίσκονται κοντά στην επιφάνεια του μυκοβακτηριδίου⁹.

1.4 Λανθάνουσα Φυματίωση

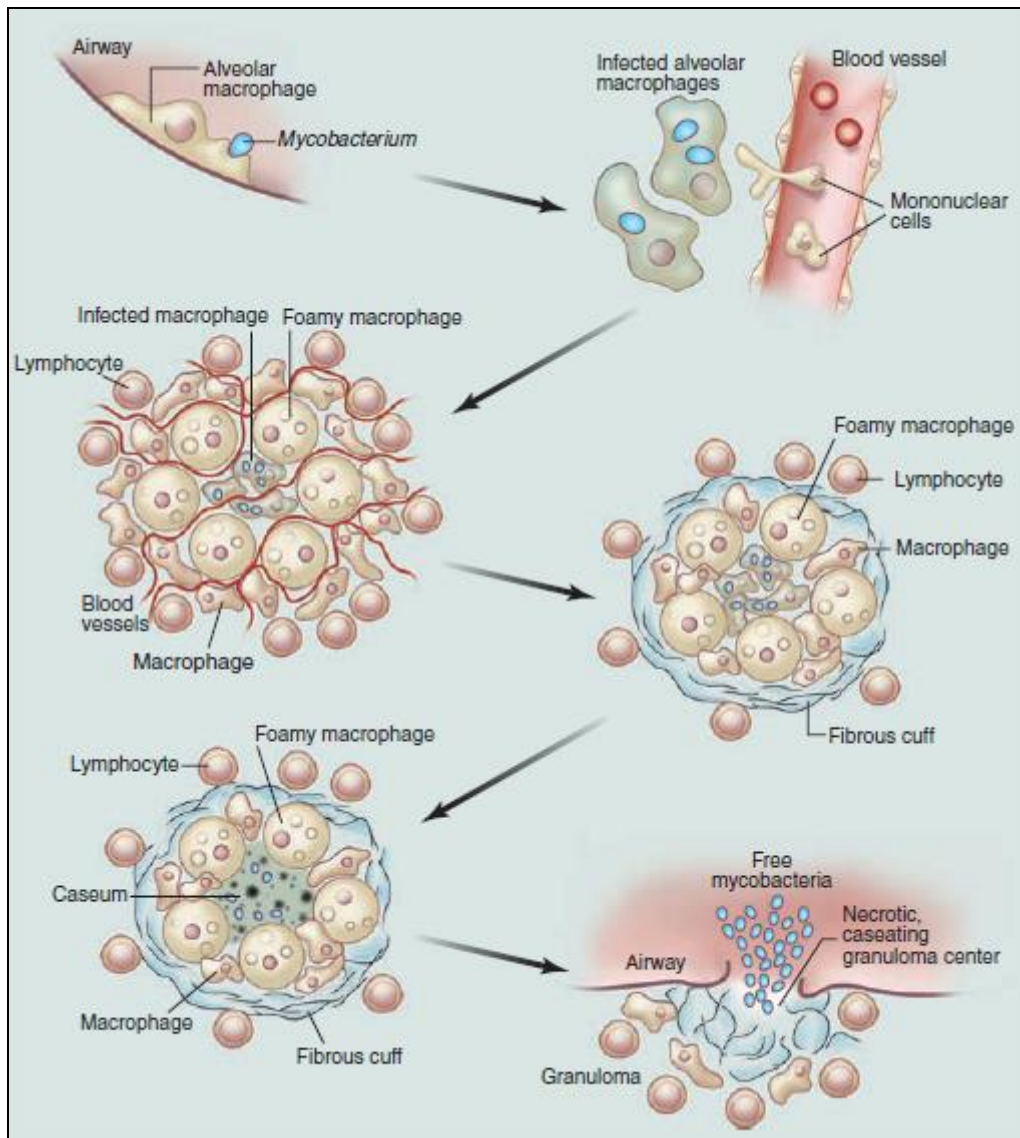
Λανθάνουσα φυματίωση (Latent Tuberculosis, LTB) είναι η κατάσταση κατά την οποία το άτομο έχει μολυνθεί, αλλά δεν νοσεί και είναι πλήρως ασυμπτωματικό, χωρίς ικανότητα μετάδοσης της νόσου. Περίπου το ένα τρίτο του παγκόσμιου πληθυσμού φέρει το μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης σε αυτή την λανθάνουσα μορφή, ενώ το 5-10% των φορέων θα αναπτύξει τελικά την ενεργή μορφή της φυματίωσης κατά τη διάρκεια της ζωής τους. Ο κίνδυνος είναι μεγαλύτερος για όσους μολύνονται στην αρχή της ενήλικης ζωής τους και μειώνεται κάθε χρόνο που περνάει μετά τη μόλυνση. Επιπλέον, ο κίνδυνος είναι σημαντικά μεγαλύτερος για όσους φορείς έχουν επιβαρυσμένο ανοσοποιητικό σύστημα, όπως οι πάσχοντες από τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV) ή και από διαβήτη, αλλά μπορεί να μειωθεί με παρατεταμένη θεραπεία με ισονιαζίδη (isoniazid)^{2,12}. Το τι ακριβώς συμβαίνει ανάμεσα στο μυκοβακτηρίδιο και τον ξενιστή σε αυτή την ασυμπτωματική κατάσταση δεν είναι ακόμα πλήρως κατανοητό. Θεωρείται ότι είναι μία κατάσταση επίμονης ανοσολογικής απόκρισης στα αντιγόνα του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης και ότι μόλις οι συνθήκες ή η ανοσοβιολογική κατάσταση του φορέα αλλάξουν, το μυκοβακτηρίδιο αντιγράφεται, πολλαπλασιάζεται και προκαλεί τη νόσο και τα συμπτώματα

της². Πιθανότατα, τα μυκοβακτηρίδια εκτός από τα αμυντικά συστήματα του ξενιστή, έχουν να αντιμετωπίσουν επιπρόσθετα τη στέρηση διαφόρων θρεπτικών συστατικών, καθώς και την υποξία. Έτσι, θεωρείται ότι η λανθάνουσα φυματίωση είναι μια δεξαμενή οργανισμών που είναι έγκλειστοι υπό συνθήκες υποξίας, ενώ η ενεργός φυματίωση χαρακτηρίζεται από βακτήρια που αναδιπλασιάζονται αερόβια στο περιθώριο των υγροποιημένων κοιλοτήτων¹². Μοριακά επιδημιολογικά στοιχεία υποδηλώνουν ότι το αρχικό μολυσματικό στέλεχος μπορεί να οδηγήσει σε επανενεργοποίηση της φυματίωσης έως και 30 χρόνια μετά την αρχική μόλυνση. Ένα ακόμα επιχείρημα υπέρ αυτής της υπόθεσης είναι ότι, σύμφωνα με προηγούμενες αναφορές, μπορούν να ανακτηθούν ζωντανά και βιώσιμα μυκοβακτηρίδια της φυματίωσης είτε από άτομα που συμπτωματικά ανακαλύφθηκαν οργανικές βλάβες από φυματίωση και πέθαναν από άλλες αιτίες είτε από μεταθανάτιες βλάβες ατόμων σε λανθάνουσα κατάσταση².

1.5 Παθογένεση της ενεργού φυματίωσης

Η φυματίωση μεταδίδεται, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, μέσω μολυσματικών σωματιδίων μικρής διαμέτρου, τα οποία μπορούν να παραμείνουν στην ατμόσφαιρα για αρκετές ώρες. Εισπνέονται από τον ξενιστή και στους πνεύμονες απορροφούνται μέσα σε κυψελιδικά μακροφάγα⁶. Έπειτα, εισβάλλουν στην επιθηλιακή στοιβάδα, προκαλώντας μία τοπική φλεγμονώδη απόκριση, που οδηγεί στην στρατολόγηση μονοπύρηνων κυττάρων από γειτονικά αιμοφόρα αγγεία, παρέχοντας φρέσκα κύτταρα-ξενιστές για τον αναπτυσσόμενο βακτηριακό πληθυσμό. Αυτά τα κύτταρα είναι τα δομικά στοιχεία του κοκκιώματος (granuloma), το οποίο είναι το καθοριστικό παθολογικό χαρακτηριστικό αυτής της ασθένειας. Αρχικά, το κοκκίωμα σχηματίζεται ως μία άμορφη μάζα από μακροφάγα, μονοκύτταρα και ουδετερόφιλα, όμως καθώς τα μακροφάγα διαφοροποιούνται σε πολλούς εξειδικευμένους τύπους κυττάρων (πολυπυρηνικά γιγαντιαία κύτταρα, αφρώδη μακροφάγα και επιθηλιοειδή μακροφάγα) αναπτύσσεται μία επίκτητη ανοσοαπόκριση. Εν συνεχεία, καταφθάνουν τα λεμφοκύτταρα και το κοκκίωμα αποκτά μία πιο οργανωμένη, στρωματοποιημένη δομή. Τελικά, προκύπτει ένα πλούσιο από μακροφάγα κέντρο, που περιβάλλεται από λεμφοκύτταρα και από ένα ινώδες περίβλημα, το οποίο σηματοδοτεί την περιοχή. Περίπου 2-3

εβδομάδες μετά τη μόλυνση, εμφανίζονται ειδικά για το μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης λεμφοκύτταρα, οπότε φτάνει στο τέλος της η φάση της ταχείας βακτηριακής αντιγραφής και ξεκινά μία κατάσταση περιορισμού της νόσου. Σε αυτό το σημείο, το κοκκίωμα είναι εκτενώς αγγειοποιημένο, καθώς στρατολογούνται συνεχώς νέα κύτταρα στο σημείο μόλυνσης, το ινώδες περίβλημα γίνεται ακόμα πιο έντονο και ο αριθμός των αιμοφόρων αγγείων, τα οποία εισέρχονται στη δομή, μειώνεται. Σε αυτά τα τελευταία στάδια, το τυρώδες (caseous) τμήμα του κοκκιώματος γίνεται υποξικό. Τελικά το ενεργό κοκκίωμα διασπάται και διαχέει χιλιάδες βιώσιμα μολυσματικά μυκοβακτηρίδια στους αεραγωγούς του ξενιστή, προκαλώντας έναν παραγωγικό βήχα. Με αυτόν το βήχα εξαπλώνονται τα μολυσματικά βακτήρια στον αέρα και μεταδίδεται η νόσος (Εικόνα 3). Στους μολυσμένους ιστούς ανοσοκατεσταλμένων ασθενών με ενεργή φυματίωση ανακαλύφθηκαν κοκκιώματα σε όλες τις καταστάσεις ανάπτυξης, δηλαδή από περιορισμό (λανθάνουσα φυματίωση) έως την ενεργή νόσο. Αυτή η παρατήρηση υποδηλώνει ότι η τύχη κάθε κοκκιώματος προσδιορίζεται τοπικά και όχι με κάποιο συστηματικό τρόπο¹³.



Εικόνα 3: Ο κύκλος ζωής του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης¹³

1.6 Κλινικά χαρακτηριστικά της φυματίωσης

Από τα κοινά συμπτώματα που δεν αφορούν κάποιο συγκεκριμένο όργανο, ο πυρετός είναι το πιο συχνό στη φυματίωση. Το 21% των ασθενών δεν θα παρουσιάσει ποτέ πυρετό, ενώ από όσους παρουσιάσουν, το 34% εμφανίζει πυρετό μόνο την πρώτη εβδομάδα μετά την έναρξη της θεραπείας και το 64% μόνο τις δύο πρώτες. Μετά την έναρξη της θεραπείας, ο μέσος όρος διάρκειας του πυρετού είναι 10 μέρες, ενώ έχουν παρατηρηθεί περιπτώσεις από 1 έως 109 μέρες πυρετού. Η απώλεια της όρεξης, η απώλεια βάρους, η αδυναμία, οι νυχτερινές εφιδρώσεις και η αδιαθεσία είναι επίσης κοινά συμπτώματα, αλλά είναι πιο δύσκολο να ποσοτικοποιηθούν και μπορεί να σχετίζονται και με συνυπάρχουσες ασθένειες. Αιματολογικά έχει παρατηρηθεί αύξηση των

λευκοκυττάρων του περιφερικού αίματος, αναιμία, υπονατριαιμία και λευκοπενία^{2,14}.

Στην πνευμονική φυματίωση έχουν παρατηρηθεί συμπτώματα όπως βήχας, αιμόπτυση, πόνος στα πλευρά καθώς και σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια. Στις ακτινογραφίες παρατηρούνται ανωμαλίες στο στήθος, ενώ όσοι πάσχουν και από τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας συνήθως έχουν καθαρές ακτινογραφίες. Επιπλέον, σε ασθενείς που η νόσος ενεργοποιείται από την λανθάνουσα κατάσταση της μπορεί να παρουσιαστούν ανωμαλίες στους άνω λοβούς του ενός ή και των δύο πνευμόνων, σπηλαιώση ή ακόμα και βρογχοπνευμονία.

Στην εξωπνευμονική φυματίωση περιλαμβάνονται διάφορα μη προσβάσιμα σημεία του σώματος με αποτέλεσμα μικρός αριθμός μυκοβακτηριδίων να κάνει μεγαλύτερη ζημιά. Εδώ ανήκουν η διαδεδομένη φυματίωση (σε πολλά όργανα), η φυματίωση των λεμφαδένων, των γεννητικών οργάνων, του υπεζωκότα, του περιτοναίου, των οστών, του κεντρικού νευρικού συστήματος και η περικαρδιακή φυματίωση¹⁴.

1.7 Διάγνωση

Η επιλογή του διαγνωστικού εργαλείου για τη φυματίωση εξαρτάται από το σκοπό της δοκιμασίας, δηλαδή αν ο σκοπός είναι η ανίχνευση της λανθάνουσας φυματίωσης, της ενεργού φυματίωσης ή κάποιας ανθεκτικής σε αντιβιοτικά μορφή της (για τις οποίες θα γίνει αναφορά παρακάτω).

1.7.1 Διάγνωση της λανθάνουσας φυματίωσης

Στο εμπόριο διατίθενται δύο δοκιμασίες για την αναγνώριση της λανθάνουσας φυματίωσης: μία *in vivo* δοκιμή, η Δερματική Δοκιμασία Αντίδρασης Φυματίνης (Tuberculin Skin Test, TST) και μια *in vitro* δοκιμασία απελευθέρωσης ιντερφερόνης γάμμα (interferon gamma release assays, IGRAs).

Για περισσότερα από 100 χρόνια, η φυματίνη, ένα μείγμα πρωτεϊνών από το αποστειρωμένο υπερκείμενο υγρό των υγρών καλλιέργειών του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης, ήταν το μόνο διαθέσιμο αντιγόνο για ενδοδερμική χρήση (ένεση 0.1 ml του μείγματος στο κοιλιακό αντιβράχιο –

τεχνική Mantoux). Σε περίπτωση προηγούμενης έκθεσης στο μυκοβακτηρίδιο, πραγματοποιείται μία καθυστερημένη αντίδραση υπερευαισθησίας στη φυματίνη μετά από 48 έως 72 ώρες και ο βαθμός της επαγόμενης σκληρίας μετριέται και αξιολογείται (μέτρηση σε mm)¹⁵. Η δοκιμασία χρησιμοποιείται ευρύτατα ιδιαίτερα σε χώρες με μειωμένους πόρους, γιατί έχει χαμηλό κόστος αντιδραστηρίων και εξοπλισμού, ενώ δεν απαιτούνται ειδικές εργαστηριακές δεξιότητες. Μειονέκτημα της είναι ότι μπορεί να προκύψουν ψευδώς θετικά αποτελέσματα γεγονός που οφείλεται είτε σε προηγούμενο καθυστερημένο (μετά τη βρεφική ηλικία) ή συμπληρωματικό εμβολιασμό με το εμβόλιο *M. Bovis* var BCG, είτε σε λιγότερες περιπτώσεις στην έκθεση σε μυκοβακτηρίδιο που δεν ανήκει σε αυτά της φυματίωσης. Ακόμα, η δοκιμασία παραμένει ψευδώς θετική όταν η μόλυνση έχει θεραπευτεί είτε αυθόρμητα από τον οργανισμό, είτε από προληπτική θεραπεία. Επιπλέον, παρουσιάζει πολύ χαμηλή ευαισθησία σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα, όπως ασθενείς του AIDS δίνοντας αρνητική αντίδραση σε ποσοστό πάνω από 50%. Τέλος, τα αποτελέσματα της δοκιμασίας δεν είναι αξιόπιστα για βρέφη μικρότερα από 6 μηνών¹⁶⁻¹⁷.

Στις αρχές του 21^{ου} αιώνα, παρουσιάστηκε η δοκιμασία απελευθέρωσης ιντερφερόνης γάμμα με την ελπίδα ότι θα αντικαθιστούσε τη δοκιμασία TST. Πρόκειται για δοκιμασίες που μετρούν *in vitro* αποκρίσεις T-κυττάρων ή των μονοπύρηνων κυττάρων του περιφερικού αίματος με αντιγόνα του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης. Μετρά την απελευθέρωση της ιντερφερόνης μετά από διέγερση από αντιγόνα που κωδικοποιούνται στην περιοχή διαφοράς 1 (RD1) του γονιδιώματος του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης. Αυτή η περιοχή απουσιάζει τόσο από το στέλεχος *M. bovis* var BCG όσο και από τα περισσότερα μυκοβακτηρίδια που δεν ανήκουν σε αυτά της φυματίωσης, οπότε η δοκιμασία αυτή δεν δίνει ψευδώς θετικά αποτελέσματα σε αυτές τις περιπτώσεις, όπως η TST δοκιμασία. Ωστόσο, τα αρνητικά τους είναι ότι είναι πιο ακριβές δοκιμασίες, απαιτούν εργαστηριακό εξοπλισμό και όπως και η TST έχουν χαμηλή προβλεπτική αξία. Τέλος, όπως και η TST δοκιμασία, και η δοκιμασία IGRA δε μπορεί να αναγνωρίσει ότι η μόλυνση καθαρίστηκε και παραμένει θετική¹⁵⁻¹⁶.

1.7.2 Διάγνωση της ενεργού φυματίωσης

Για την ανίχνευση της ασθένειας της ενεργού φυματίωσης χρησιμοποιούνται τέσσερις κύριες τεχνολογίες: 1) τεχνικές απεικόνισης (ακτινογραφίες θώρακος και PET-CT), 2) μικροσκοπία (μικροσκοπική εξέταση πτυέλων), 3) μέθοδοι βασισμένοι στις καλλιέργειες και 4) μοριακές δοκιμασίες. Αν και συνήθως οι ακτινογραφίες θώρακα είναι χρήσιμες για παρακολούθηση, η φυματίωση απαιτεί μικροβιολογική διάγνωση.

Οι ακτινογραφίες θώρακος απεικονίζουν τους πνεύμονες και έχουν περίπου 90% ευαισθησία και εξειδίκευση. Παρατηρώντας ανωμαλίες στις ακτινογραφίες μπορεί να γίνει μία αρχική εκτίμηση, ωστόσο χρειάζεται μικροσκοπική εξέταση των πτυέλων, είτε άμεσα, είτε μετά από καλλιέργεια. Η μικροσκοπική εξέταση των πτυέλων άμεσα παρουσιάζει το πλεονέκτημα ότι γίνεται αμέσως, όμως η καλλιέργεια είναι πιο ευαίσθητη και ειδική σε σχέση με την άμεση εξέταση. Το μεγαλύτερο μειονέκτημα της είναι η καθυστέρηση στα αποτελέσματα καθώς απαιτούνται κατά μέσο όρο δύο εβδομάδες¹⁶.

Μία νέα αυτοματοποιημένη μοριακή διαγνωστική δοκιμασία, που ονομάζεται δοκιμασία Xpert MTB/RIF, ανιχνεύει το μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης εντός 2 ωρών με ευαισθησία και ακρίβεια διάγνωσης πολύ υψηλότερη από εκείνη της μικροσκοπικής εξέτασης πτυέλων. Επιπλέον, σε ασθενείς που έχουν μολυνθεί με HIV, η δοκιμασία έχει ένα ποσοστό ανίχνευσης περιπτώσεων μεγαλύτερο κατά 45% σε σύγκριση με τη μικροσκοπία. Για αυτούς τους λόγους, από το 2010 ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας συνιστά το Xpert MTB/RIF ως διαγνωστικό τεστ πρώτης γραμμής σε όλους τους ενήλικες ή τα παιδιά που είναι ύποπτα ότι έχουν την ενεργή νόσο της φυματίωσης. Τέλος, το πρόγραμμα αυτό έχει τη δυνατότητα να βελτιώσει το παγκόσμιο πρόγραμμα ενάντια στη φυματίωση και εφαρμόζεται σε περιφερειακά εργαστήρια σε 67 χώρες που κινδυνεύουν περισσότερο από την νόσο^{16,18}.

1.8 Το εμβόλιο *M. Bovis var BCG*

Το εμβόλιο *M. Bovis var BCG* (βακτήριο Calmette-Guérin) είναι το μόνο διαθέσιμο εμβόλιο κατά της φυματίωσης και δόθηκε για πρώτη φορά στον άνθρωπο το 1921. Πρόκειται για το πλέον ευρέως χρησιμοποιούμενο εμβόλιο σε παγκόσμιο επίπεδο, καθώς έχει δοθεί σε 4 δισεκατομμύρια ανθρώπους

έως τώρα και σε περισσότερο από το 90% των παιδιών στον κόσμο. Ωστόσο, έχει κάνει λίγα ώστε να περιορισθεί η σημερινή πανδημία της φυματίωσης. Παρά την αποδεδειγμένη αποτελεσματικότητα του εμβολίου ενάντια στη φυματιώδη μηνιγγίτιδα κατά την παιδική ηλικία και στην κεχροειδή φυματίωση, έχει βρεθεί ότι η προστασία από το εμβόλιο αρχίζει και εξασθενεί μέσα σε μία δεκαετία και συνεπώς η αποτελεσματικότητα απέναντι στην πνευμονική φυματίωση στους ενήλικες είναι μεταβλητή. Επιπλέον, σε κλινικές δοκιμές η αποτελεσματικότητα του εμβολίου BCG κατά της πνευμονικής φυματίωσης σε ενήλικες έχει αναφερθεί ότι είναι 0-80%, ενώ οι λόγοι για το τόσο μεγάλο εύρος είναι ακόμα άγνωστοι^{16,19}.

1.9 Βασική θεραπεία της φυματίωσης και αντιβιοτικά

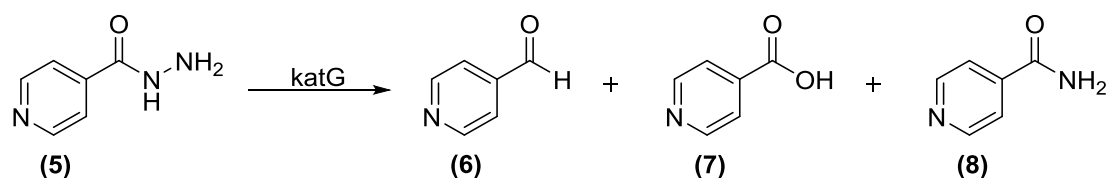
Στη θεραπεία της φυματίωσης χρησιμοποιούνται αντιβιοτικά για την εξόντωση των βακτηρίων. Η αποτελεσματική θεραπεία της νόσου δεν είναι εύκολη λόγω της ασυνήθιστης δομής και χημικής σύστασης του κυτταρικού τοιχώματος του μυκοβακτηριδίου. Το κυτταρικό τοίχωμα εμποδίζει την απορρόφηση των φαρμάκων και καθιστά τα αντιβιοτικά αναποτελεσματικά¹. Τα δύο βασικά αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται είναι η ισονιαζίδη (isoniazid) και η ριφαμπικίνη (rifampicin).

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας συνιστά για φορείς της λανθάνουσας φυματίωσης είτε 6 ή 9 μήνες ισονιαζίδη, είτε 3 μήνες εβδομαδιαία ριφαπεντίνη και ισονιαζίδη, είτε 3-4 μήνες ριφαμπικίνη και ισονιαζίδη, είτε 3-4 μήνες ριφαμπικίνη μόνο¹⁵. Για την ενεργή φυματίωση, που δεν είναι ανθεκτική σε κανένα αντιβιοτικό, η συνιστώμενη θεραπεία διαρκεί τουλάχιστον 6 μήνες και πετυχαίνει ποσοστά θεραπείας μεγαλύτερα από 95% κάτω από άμεσα παρακολουθούμενη θεραπεία. Η θεραπεία απαιτεί το ελάχιστο 6 μήνες σε δύο φάσεις: μία εντατική δύο μηνών με λήψη των τεσσάρων αντιβιοτικών πρώτης γραμμής (ισονιαζίδη, ριφαμπικίνη, πυραζιναμίδη και εθαμβουτόλη) και μια φάση συνέχισης για τουλάχιστον 4 μήνες με δύο αντιβιοτικά (ισονιαζίδη και ριφαμπικίνη)²⁰. Επιπλέον, συνιστάται και συμπλήρωμα πυριδοξίνης για την πρόληψη της προκαλούμενης από την ισονιαζίδη νευροπάθειας¹⁸. Η αποτελεσματικότητα και η πρόοδος της θεραπείας παρακολουθούνται συνήθως με επαναλαμβανόμενες εξετάσεις πτυέλων, καλλιέργειες και

ακτινογραφίες του θώρακα. Ένα σημαντικό μειονέκτημα της θεραπείας αυτής είναι η μεγάλη διάρκειά της, εξαιτίας της οποίας ένα μεγάλο ποσοστό των ασθενών μπορεί να αναπτύξει τοξικότητα. Συχνές παρενέργειες είναι οι ήπιες αυξήσεις στο επίπεδο των υπατικών ενζύμων, γαστρεντερική δυσανεξία, νευροπάθεια και αρθραλγία, που μπορούν να αντιμετωπιστούν χωρίς διακοπή των φαρμάκων. Από την άλλη υπάρχουν και σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες όπως η σοβαρή ηπατίτιδα, η ανοσολογική θρομβοκυτταροπενία, η ακοκκιοκυτταραιμία, η αιμόλυση, η νεφρική ανεπάρκεια, η οπτική νευρίτιδα και η ωτοτοξικότητα¹⁶.

1.9.1 Ισονιαζίδη

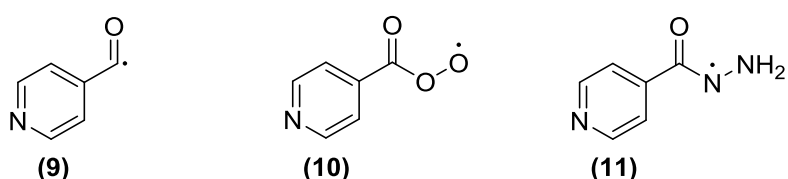
Η ισονιαζίδη (Isoniazid ή Isonicotinic acid hydrazide, INH) **(5)** είναι ένα πολύ εξειδικευμένο αντιβιοτικό πρώτης γραμμής, που παρουσιάζει ισχυρή δράση ενάντια στα μυκοβακτηρίδια (Σχήμα 3). Η δράση της κατά της φυματίωσης ανακαλύφθηκε περίπου το 1950 και αρχικά χρησιμοποιήθηκε μαζί με την στρεπτομυκίνη και το παρα-αμινοσαλικυλικό οξύ, έναν αποτελεσματικό συνδυασμό που απαιτούσε όμως θεραπεία διάρκειας 18 μηνών. Ο ακριβής μηχανισμός δράσης της δεν είναι ακόμα γνωστός. Ωστόσο, γενικά πιστεύεται ότι είναι ένα προφάρμακο, που μετατρέπεται στην ενεργή του μορφή από το μυκοβακτηριακό ένζυμο katG, μία καταλάση-υπεροξειδάση. Βιοχημικές και γενετικές μελέτες υποδεικνύουν ότι η ενεργή μορφή του φαρμάκου στοχεύει την πρωτεΐνη inhA, μία ενόυλο αναγωγάση (ρεδουκτάση – reductase), που συμμετέχει στη βιοσύνθεση λιπαρών οξέων. Έτσι, η ισονιαζίδη πιστεύεται ότι δρα αναστέλλοντας τη σύνθεση των μυκολικών οξέων²¹.



Σχήμα 3: Η ισονιαζίδη **(5)** και τα προϊόντα αντίδρασης της με την katG

Πιο συγκεκριμένα στον πιθανό μηχανισμό δράσης, αρχικά το προφάρμακο περνά στο κύτταρο του μυκοβακτηριδίου με παθητική διάχυση. Σε αυτό το σημείο δεν είναι τοξικό για το μυκοβακτηρίδιο, αλλά λειτουργεί σαν προφάρμακο και ενεργοποιείται από το ένζυμο katG μέσω αντιδράσεων

οξειδωσης. Προϊόντα της οξειδωσης είναι η ισονικωτική αλδεύδη **(6)**, το ισονικωτικό οξύ **(7)** και το ισονικωτικό αμίδιο **(8)** (Σχήμα 3) και η σύνθεση τους γίνεται μέσω ενδιάμεσων και ιδιαίτερα δραστικών ριζών ισονικωτινουιλίου **(9)**, ισονικωτικού υπεροξειδίου **(10)** ή ισονικωτικού υδραζιλίου **(11)** (Σχήμα 4). Τα παράγωγα προϊόντα της ισονιαζίδης φαίνεται ότι δεν είναι σημαντικά για την αντιμυκοβακτηριδιακή δράση της, η οποία οφείλεται στις δραστικές ενδιάμεσες ρίζες, που παίζουν ενεργό ρόλο κατά της φυματίωσης, χωρίς ωστόσο να είναι πλήρως κατανοητός ο τρόπος δράσης τους.²²⁻²³.



Σχήμα 4: Ιδιαίτερα δραστικές ενδιάμεσες ρίζες της ισονιαζίδης

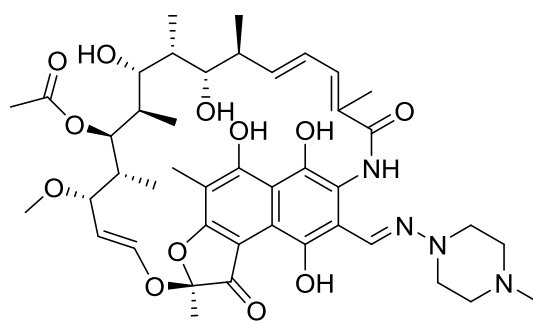
Η ενεργοποιημένη από την καταλάση-υπεροξειδάση ισονιαζίδη πιστεύεται ότι εμπλέκεται με ένα τμήμα του ενζύμου inhA, το οποίο συμμετέχει στη βιοσύνθεση των μυκολικών οξέων. Το ένζυμο inhA, που παράγεται υπό τον έλεγχο του γονιδίου inhA, εξαρτάται από το ανηγμένο νικοτιναμιδο-αδενινουκλεοτίδιο NADH και πιθανότατα συμμετέχει στην αναγωγή των διπλών δεσμών κατά τη διάρκεια της επιμήκυνσης των λιπαρών οξέων. Έτσι, έχει προταθεί ότι το ενεργοποιημένο ηλεκτρονιόφιλο παράγωγο της ισονιαζίδης ακυλιώνει την τέταρτη θέση του NADH. Αυτό, ακυλιωμένο πλέον, δεν είναι ικανό να καταλύσει την αναγωγή των ακόρεστων λιπαρών οξέων, τα οποία είναι απαραίτητα για τη σύνθεση των μυκολικών οξέων²³.

Η ισονιαζίδη απορροφάται εύκολα μετά από στοματική χορήγηση. Το φαγητό καθυστερεί και μειώνει την απορρόφηση του φαρμάκου, επομένως συνίσταται η λήψη του με άδειο στομάχι²⁴. Τέλος, η ισονιαζίδη έχει συνδεθεί με την υψηλή συχνότητα ηπατοτοξικότητας. Ωστόσο, πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι για ασθενείς ηλικίας κάτω των 35 ετών, αν χρησιμοποιείται κάτω από κλινική παρακολούθηση, ο ρυθμός ηπατοτοξικότητας είναι αρκετά χαμηλός²³.

1.9.2 Ριφαμπικίνη

Η ριφαμπικίνη (Rifampicin ή Rifampin, RIF) **(12)** ανήκει στις ριφαμικίνες, που είναι μέλη της οικογενείας των ανσαμυκινών και είναι φυσικά προϊόντα

παραγόμενα από το βακτήριο *Streptomyces mediterranei*. Χαρακτηριστικό των ανσαμυκινών είναι η αλειφατική αλυσίδα τους, που σχηματίζει μία γέφυρα ανάμεσα σε δύο σχετικά απομακρυσμένες θέσεις ενός αρωματικού τμήματος. Έτσι και η ριφαμπικίνη διαθέτει μία πολυυποκατεστημένη ναφθαλενική ομάδα καθώς και τη γέφυρα που προαναφέρθηκε με 4 εξαιρετικά χρήσιμες ομάδες υδροξυλίου (Σχήμα 5)²³. Η ριφαμπικίνη κυκλοφόρησε το 1967 και είχε ως αποτέλεσμα να μειωθεί σημαντικά η διάρκεια της θεραπείας της φυματίωσης (από 18 μήνες σε 9 μήνες). Η ριφαμπικίνη έχει την ικανότητα να διαχέεται ελεύθερα στους ιστούς, στα ζωντανά κύτταρα και στα βακτήρια και για αυτήν την ικανότητα είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική ενάντια σε ενδοκυτταρικά παθογόνα, όπως το μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης²⁵, ενώ ένα ακόμα αξιοσημείωτο χαρακτηριστικό της είναι ότι δρα και ενάντια στα ενεργά και ταχέως διαιρούμενα βακτήρια, αλλά και κατά των βραδέως αναπτυσσόμενων ανθεκτικών βακτηρίων, που μένουν ανενεργά για μεγάλες περιόδους, ώστε να αποφύγουν την αντιβιοτική δραστηριότητα²⁶.



(12)

Σχήμα 5: Ριφαμπικίνη (Rifampicin)

Η δραστηριότητα της ριφαμπικίνης, αλλά και των υπολοίπων ριφαμυκινών, οφείλεται στην ικανότητα τους να δεσμεύονται με πάρα πολύ υψηλή συγγένεια με τη βακτηριακή RNA πολυμεράση (RNA Polymerase, RNAP) και να επιτυγχάνουν την αναστολή της λειτουργίας της²⁷. Έτσι, αναστέλλει τη βακτηριακή DNA-εξαρτώμενη RNA πολυμεράση, καθώς δεσμεύεται στη β-υπομονάδα του ενζύμου και παρεμποδίζει την έναρξη του σχηματισμού αλυσίδας στην σύνθεση του RNA. Αυτή η ιδιότητα της ριφαμπικίνης την καθιστά ένα εξαιρετικά δραστικό φάρμακο ενάντια σε ταχέως διαιρούμενα βακτήρια. Σχετικά με τον μηχανισμό της αναστολής, έχει προταθεί ότι το ναφθαλένιο της ριφαμπικίνης σχηματίζει π δεσμούς με τον αρωματικό

δακτύλιο του αμινοξέος της πρωτεΐνης. Επιπλέον, η RNA πολυμεράση είναι ένα μεταλλοένζυμο που περιέχει δύο άτομα ψευδαργύρου, ενώ υποστηρίζεται ότι τα οξυγόνα του ναφθαλενίου μπορούν να χηλικοποιηθούν με ένα από αυτά τα άτομα ψευδαργύρου. Με τη σειρά τους τα πιο απομακρυσμένα οξυγόνα της γέφυρας του φαρμάκου σχηματίζουν ισχυρούς δεσμούς υδρογόνου με την RNA πολυμεράση με αποτέλεσμα τη δέσμευση του ενζύμου και την αναστολή της λειτουργίας του. Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι η ριφαμπικίνη συνδέεται στην πολυμεράση μετά την έναρξη της διαδικασίας επιμήκυνσης της αλυσίδας κατά τη μεταγραφή, δηλαδή δεν παρεμβάλλεται στην έναρξη της μεταγραφής και δεν παρατηρείται καμία επίδραση στη βιοσύνθεση²³.

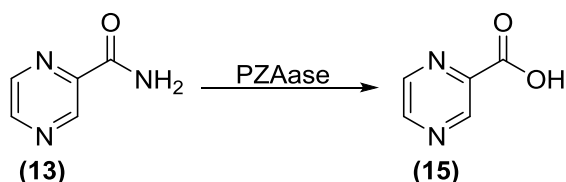
1.9.3 Πυραζιναμίδη

Η πυραζιναμίδη (pyrazinamide, PZA) **(13)** συντέθηκε πρώτη φορά το 1936, αλλά η δράση της κατά του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης ανακαλύφθηκε 16 χρόνια αργότερα, το 1952. Η ανακάλυψη της βασίστηκε στην σύνθεση αναλόγων του νικοτιναμιδίου **(14)** (Σχήμα 6), το οποίο παρουσιάζει σημαντική αντιμυκοβακτηριδιακή δράση σε μοντέλα ζώων. Αρχικά, πριν το 1970 χρησιμοποιούταν ως δεύτερης γραμμής αντιβιοτικό, καθώς προκαλεί τοξικότητα του ήπατος σε υψηλές δόσεις και σε θεραπείες αυξημένης διάρκειας. Ωστόσο, από μελέτες σε ποντικούς και κλινικές δοκιμές βρέθηκε ότι έχει παρόμοια δράση με αυτή της ριφαμπικίνης ενάντια στα ανθεκτικά μη αναπτυσσόμενα βακτήρια, ενώ με περαιτέρω μελέτες ανακαλύφθηκε ότι τα αποτελέσματα της πυραζιναμίδης και της ριφαμπικίνης είναι συνεργατικά. Έτσι, η πυραζιναμίδη όπως και η ριφαμπικίνη μπορεί να μειώσει τη διάρκεια της θεραπείας από 12 μήνες και πάνω σε μόλις 9, ενώ, εάν τα δύο φάρμακα συνδυαστούν μαζί, η διάρκεια της θεραπείας μειώνεται στους 6 μήνες²⁸. Σε αυτή την εξάμηνη θεραπεία, η πυραζιναμίδη χορηγείται μόνο τους δύο πρώτους (εντατική φάση), όπως αναφέρθηκε παραπάνω, με αποτέλεσμα να μην είναι σημαντικά ηπατοτοξική. Έτσι, από το 1985 και έπειτα θεωρείται το τρίτο πιο σημαντικό φάρμακο κατά της φυματίωσης²⁹.



Σχήμα 6: Η πυραζιναμίδη (13) και το νικοτιναμίδιο (14)

Η πυραζιναμίδη είναι ένα προφάρμακο, το οποίο περνάει στο μυκοβακτηρίδιο με παθητική διάχυση. Στην συνέχεια, μετατρέπεται στην ενεργή της μορφή, το πυραζινοϊκό οξύ (pyrazinoic acid, POA) **(15)** ενδοκυτταρικά μέσω μιας πυραζιναμινάσης (pyrazinamidase, PZAase) (Σχήμα 7). Η πυραζιναμινάση είναι ένζυμο του κυτοπλάσματος, το οποίο κωδικοποιείται από το γονίδιο PncA του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης (Σχήμα 7). Το πυραζινοϊκό οξύ, που είναι ένα μέτρια ισχυρό οξύ με pK_a περίπου 2.9, εξέρχεται με παθητική διάχυση και με ένα μηχανισμό εκροής, ο οποίος ωστόσο είναι ανεπαρκής. Μόλις εξέλθει από το κύτταρο το πυραζινοϊκό οξύ και εάν το εξωκυτταρικό pH είναι όξινο (πχ. 5.5), τότε ένα μικρό ποσοστό του θα πρωτονιωθεί προς το μη φορτισμένο, ελεύθερο οξύ (Η-πυραζινοϊκό οξύ, ΗΡΟΑ) και εύκολα μπορεί να διαπεράσει ξανά τη μεμβράνη. Έτσι, τα πρωτονιωμένα οξέα εισέρχονται πολύ πιο εύκολα από ότι εξέρχονται τα μη πρωτονιωμένα οπότε προκαλείται συσσώρευση πυραζινοϊκού οξέος στα μυκοβακτηριακά κύτταρα σε περιόδους που το pH είναι όξινο. Επιπλέον, εισέρχονται στο κύτταρο πρωτόνια με αποτέλεσμα τέτοια κυτταροπλασματική οξύτητα που τα ζωτικά ένζυμα μπορεί να ανασταλούν. Επιπλέον, απενεργοποιείται η μεμβράνη εξαιτίας των πρωτονίων, επηρεάζεται η διαμεμβρανική μεταφορά και αναστέλλεται η σύνθεση πρωτεϊνών και RNA. Τελικό αποτέλεσμα είναι ο θάνατος του κυττάρου, ειδικά για βραδέως αναπτυσσόμενα κύτταρα με χαμηλό μεταβολισμό σε όξινο pH. Από τον παραπάνω μηχανισμό προκύπτει ότι σε ουδέτερο ή αλκαλικό pH, το πυραζινοϊκό οξύ έχει τη μορφή του φορτισμένου ανιόντος του και δεν εισέρχεται στο κύτταρο, με αποτέλεσμα να μην έχουμε κάποια αντιβιοτική δράση^{28,30}.

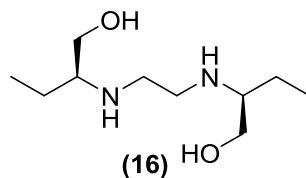


Σχήμα 7: Μετατροπή της πυραζιναμίδης σε πυραζινοϊκό οξύ

1.9.4 Εθαμβουτόλη

Η Εθαμβουτόλη (Ethambutol, EMB) **(16)** είναι ένα εύκολα απορροφούμενο υδατοδιαλυτό αντι-μυκοβακτηριακό φάρμακο που ανακαλύφθηκε πρώτη φορά το 1961 και συνταγογραφήθηκε για τη θεραπεία της φυματίωσης το 1961. Χρησιμοποιείται παγκοσμίως για τη θεραπεία της φυματίωσης μαζί με την ισονιαζίδη, τη ριφαμπικίνη και την πυραζιναμίδα³¹. Το (+)-εναντιομερές (Σχήμα 8) είναι από 200 έως και 500 φορές πιο δραστικό από το (-)-εναντιομερές, μία σημαντική διαφορά δραστηριότητας που υποδεικνύει ότι υπάρχει κάποιος ειδικός υποδοχέας για τη δράση του φαρμάκου²³.

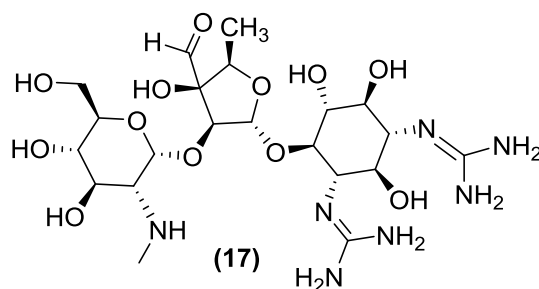
Ο μηχανισμός δράσης της εθαμβουτόλης δεν είναι ακόμα γνωστός. Είναι κοινά αποδεκτό ότι το φάρμακο επηρεάζει τη σύνθεση του κυτταρικού τοιχώματος, άλλα το κυτταρικό τοίχωμα είναι εξαιρετικά πολύπλοκο με αποτέλεσμα να καθιστά ιδιαίτερα δύσκολο τον εντοπισμό της θέσης δράσης του φαρμάκου και τον πλήρη μηχανισμό του. Γνωρίζουμε επίσης ότι το κυτταρικό τοίχωμα διαθέτει ένα στρώμα αραβινογαλακτανών (AGs), το οποίο σχηματίζει ομοιοπολικό δεσμό εσωτερικά με τις πεπτιδογλυκάνες του εσωτερικού στρώματος πεπτιδογλυκανών και εστερικό δεσμό με τα μυκολικά οξέα του επόμενου στρώματος. Έχει διαπιστωθεί ότι η εθαμβουτόλη αναστέλλει το ένζυμο αραβινόζυλο τρανσφεράση (arabinosyl transferase), που καταλύει τον πολυμερισμό των d-αραβινοφουρανοζών οδηγώντας στις αραβινογαλακτάνες. Με αυτή τη διαδικασία εμποδίζεται η βιοσύνθεση των αραβινογαλακτανών, άρα και του κυτταρικού τοιχώματος. Επιπλέον, έχει διαπιστωθεί ότι και η εθαμβουτόλη έχει συνεργατική δράση με άλλα ενδοκυτταρικά αντιβιοτικά, όπως η ριφαμπικίνη, καθώς η ζημιά που προκαλεί στο κυτταρικό τοίχωμα έχει ως αποτέλεσμα την καλύτερη διείσδυση των αντιβιοτικών αυτών στο κυτταρικό τοίχωμα και την ενίσχυση της λειτουργίας τους.^{23,26}



Σχήμα 8: (+)-Εθαμβουτόλη [(+)-Ethambutol]

1.9.5 Στρεπτομυκίνη

Η στρεπτομυκίνη (streptomycin, STM) (17) απομονώθηκε πρώτη φορά από τον Waksman και την ομάδα του, παράγεται από το *Streptomyces griseus* και αποτέλεσε την πρώτη βιολογικά ενεργή αμινογλυκοσίδη (Σχήμα 9). Η υψηλή λιποφιλία, που παρουσιάζει η στρεπτομυκίνη, έχει ως αποτέλεσμα τη χαμηλή απορρόφηση της από τον οργανισμό. Συνεπώς, η χαμηλή βιολογική δράση οφείλεται σε κακή απορρόφηση του φαρμάκου. Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι πλέον η στρεπτομυκίνη κατατάσσεται από πολλούς στα δεύτερης γενιάς αντιβιοτικά, κυρίως εξαιτίας της δράσης της εθαμβουτόλης.

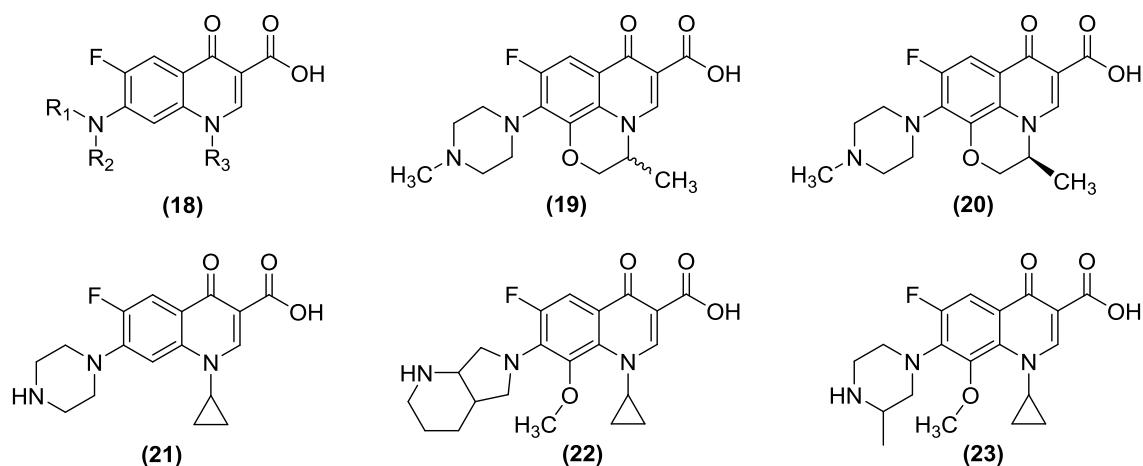


Σχήμα 9: Στρεπτομυκίνη (Streptomycin)

1.9.6 Αντιβιοτικά δεύτερης γενιάς

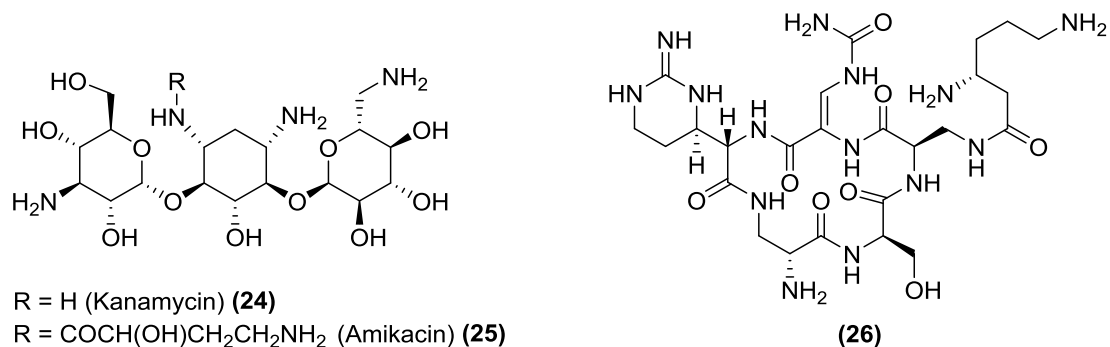
Τα δεύτερης γενιάς αντιβιοτικά είναι ενεργοί αντιμυκοβακτηριακοί παράγοντες. Ταξινομούνται ως δεύτερης γενιάς και ξεχωρίζουν από τα αντιβιοτικά της πρώτης διότι είτε δεν είναι τόσο αποτελεσματικά (π.χ. p-αμινοσαλικυλικό οξύ), είτε παρουσιάζουν τοξικές παρενέργειες (π.χ. κυκλοσερίνη), είτε είναι μεν αποτελεσματικά αλλά δεν είναι διαθέσιμα σε πολλές αναπτυσσόμενες χώρες (π.χ. φθοροκινολόνες). Χρησιμοποιούνται σε περιπτώσεις ανθεκτικότητας του μυκοβακτηριδίου ή δυσανεξίας του οργανισμού στα πρώτης γραμμής αντιβιοτικά²³. Τα πιο σημαντικά είναι οι φθοροκινολόνες, οι αμινογλυκοσίδες, οι οξαζολιδινόνες (κυκλοσερίνη), η εθειοναμίδη και το p-αμινοσαλικυλικό οξύ.

Οι φθοροκινολόνες (fluoroquinolones) **(19)** αποτελούνται από δύο ενωμένους αρωματικούς δακτύλιους, από τους οποίους ο ένας είναι αζωτούχος. Ο ετεροκυκλικός δακτύλιος περιέχει μια καρβονυλική και μια καρβοξυλική ομάδα, ενώ ο απλός δακτύλιος είναι πάντα υποκατεστημένος από ένα φθόριο (Σχήμα 10). Οι φθοροκινολόνες εισήχθησαν για κλινική πρακτική τη δεκαετία του 1980, παρουσιάζουν ένα εκτενές φάσμα αντιμικροβιακής δράσης και πλέον χρησιμοποιούνται ευρέως για τη θεραπεία βακτηριακών λοιμώξεων των αναπνευστικών, γαστρεντερικών και ουροφόρων οδών, καθώς και ενάντια των σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων, αλλά και της χρόνιας οστεομυελίτιδας³². Είναι ιδιαίτερα σημαντικές καθώς είναι δραστικές σε χαμηλές συγκεντρώσεις, συγκεντρώνονται στα μακροφάγα και δεν παρουσιάζουν σημαντικές παρενέργειες. Κυριότερα αντιβιοτικά αυτής της κατηγορίας είναι η οφλοξασίνη (ofloxacin) **(19)**, λεβοφλοξασίνη (levofloxacin) **(20)**, σιπροφλοξασίνη (ciprofloxacin) **(21)**, μοξιφλοξασίνη (moxifloxacin) **(22)** και γατιφλοξασίνη (gatifloxacin) **(23)** (Σχήμα 10). Από αυτές την καλύτερη δράση ενάντια της φυματίωσης φαίνεται να παρουσιάζουν η οξοφλοξασίνη, η λεβοφλοξασίνη και η μοξιφλοξασίνη.²³ Σχετικά με τον μηχανισμό δράσης τους γενικά οι φθοροκινολόνες δεσμεύονται στα ATP εξαρτώμενα ένζυμα, DNA γυράση (τοποϊσομεράση II) και τοποϊσομεράση IV. Ωστόσο στο μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης συναντάται μόνο η DNA γυράση, στην οποία δεσμεύονται οι φθοροκινολόνες, αναστέλλουν τη λειτουργία της με αποτέλεσμα να εμποδίζουν την σύνθεση και τον πολλαπλασιασμό του βακτηριακού DNA^{29,32}.



Σχήμα 10: Γενικός τύπος φθοροκινολονών (18) και τα κυριότερα αντιβιοτικά της κατηγορίας (οφλοξασίνη (19), λεβοφλοξασίνη (20), σιπροφλοξασίνη (21), μοξιφλοξασίνη (22) και γατιφλοξασίνη (23))

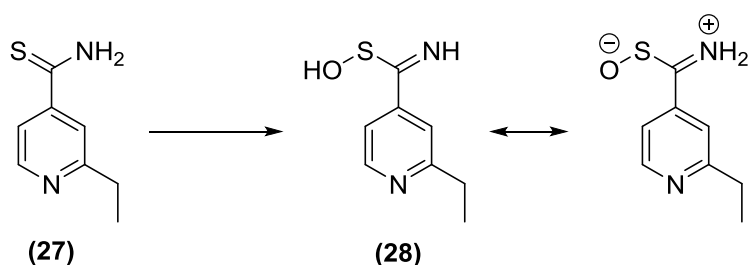
Η καναμικίνη (kanamycin) **(24)** και η αμικασίνη (amikacin) **(25)** μαζί με την στρεπτομικίνη είναι οι κυριότεροι εκπρόσωποι των αμινογλυκοσιδών (aminoglycosides) (Σχήμα 11). Οι δύο τους μαζί με το κυκλικό πολυπεπτιδίο καπρεομικίνη (capreomycin) **(26)** έχουν παρόμοιες δράσεις, καθώς αναστέλλουν την πρωτεϊνοσύνθεση και μάλιστα η δράση τους σχετίζεται με την υπομονάδα 30S του ριβοσώματος. Συγκεκριμένα η καπρεομικίνη στοχεύει την ενδιάμεση γέφυρα μεταξύ της 30S και 50S ριβοσωμικής υπομονάδας, ενώ οι δύο πρώτες φαίνεται να στοχεύουν απευθείας την 30S ριβοσωμική υπομονάδα²⁰. Και τα τρία παρουσιάζουν τοξικότητα, ειδικά σε περιπτώσεις μακροχρόνιας χρήσης τους²³.



Σχήμα 11: Καναμικίνη (kanamycin) (24), αμικασίνη (amikacin) (25) και καπρεομικίνη (capreomycin) (26)

Η εθειοναμίδη (ethionamide) **(27)** ανακαλύφθηκε το 1956²⁶ σε μία προσπάθεια σύνθεσης αναλόγων της ισονιαζίδης. Εκτός από παρόμοια δομή

τα δύο φάρμακα έχουν και παρόμοιο μηχανισμό δράσης καθώς αναστέλλουν την σύνθεση μυκολικών οξέων. Έτσι, εκτιμάται ότι η εθειονιαμίδη είναι ένα προφάρμακο, που μετατρέπεται στην ενεργή του μορφή από μία καταλάση-υπεροξειδάση. Η οξειδωση της ένωσης συνθέτει ένα πολύ δραστικό οξείδιο του θείου, πιθανότατα ένα σουλφινικό οξείδιο **(28)** (Σχήμα 12) ^{23,33}. Έτσι, όμοια με την ισονιαζίδη απενεργοποιείται το ένζυμο ενόυλο ρεδουκτάση inhA, με τη διαφορά ότι δεν συμμετέχει το ένζυμο katG ως ένζυμο οξειδωσης, αλλά κάποιος άλλος, ο μηχανισμός του οποίου είναι άγνωστος. Αυτό φαίνεται και από το γεγονός ότι μεταλλάξεις, οι οποίες κάνουν ανθεκτικά τα βακτήρια στην ισονιαζίδη δεν επηρεάζουν εξίσου την εθειονιαμίδη, καθώς και το αντίθετο³³.



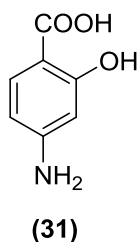
Σχήμα 12: Η ενεργοποίηση της εθειονιαμίδης

Η κυκλοσερίνη (cycloserine) είναι η πιο σημαντική ένωση της ομάδας των οξαζολιδινονών, οι οποίες διαθέτουν έναν ετεροκυκλικό πενταμελή δακτύλιο με υποκαταστάτες ένα οξυγόνο, ένα άζωτο και μια καρβονυλική ομάδα. Η κυκλοσερίνη είναι φυσικό προϊόν, που απομονώθηκε από το βακτήριο *Streptomyces orchidaceus*. Η δραστική μορφή της είναι το D-(+)-εναντιομερές (D-κυκλοσερίνη) **(29)** (Σχήμα 13). Θεωρείται ότι το φάρμακο αναστέλλει δύο πολύ σημαντικά βακτηριακά ένζυμα, την D-αλανίνη ρακεμάση και την D-αλανίνη λιγάση. Η D-αλανίνη **(30)** είναι συστατικό των πεπτιδογλυκανών και επομένως βασικό συστατικό για το κυτταρικό τοίχωμα του μυκοβακτηριδίου. Η D-αλανίνη ρακεμάση μπορεί να μετατρέψει στο μυκοβακτηρίδιο την L-αλανίνη, που συναντάται στη φύση σε D-αλανίνη, ενώ η D-αλανίνη λιγάση καταλύει τον σχηματισμό ενός διμερούς D-αλανίνη- D-αλανίνη, το οποίο ενσωματώνεται σε μία πεπτιδογλυκάνη του κυτταρικού τοιχώματος. Η D-κυκλοσερίνη διαθέτει δομή ανάλογη της δομής της D-αλανίνης (Σχήμα 13), με αποτέλεσμα να εμποδίζει την σύνδεση της στα παραπάνω δύο ένζυμα και να αναστέλλει τη σύνθεση πεπτιδογλυκανών²³.



Σχήμα 13: D-κυκλοσερίνη (29) και D-αλανίνη (30)

Το 1946 ο Σουηδός Jörgen Lehmann ανακάλυψε ότι το παρα-αμινοσαλικυλικό οξύ (p-aminosalicylic acid, PAS) **(31)** (Σχήμα 14) μπορεί να λειτουργήσει ως φάρμακο για τη θεραπεία της μυκοβακτηριδιακής φυματίωσης. Αρχικά, υπήρξε από τα πιο σημαντικά φάρμακα ενάντια της φυματίωσης, όμως η ανάπτυξη ανθεκτικότητας από το μυκοβακτηρίδιο και οι σοβαρές παρενέργειες οδήγησαν σε σημαντική μείωση της αξίας του. Ο μηχανισμός δράσης του δεν είναι γνωστός, ωστόσο πιστεύεται ότι δρα ως αντιμεταβολίτης και παρεμβαίνει στην ενσωμάτωση του p-αμινοβενζοϊκού οξέος στο φολικό οξύ²³.



Σχήμα 14: Παρα-αμινοσαλικυλικό οξύ (p-aminosalicylic acid)

1.10 Ανθεκτικότητα του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης

Το φαινόμενο της ανθεκτικότητας του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1948 κατά τη διάρκεια των πρώτων ανθρώπινων δοκιμών για τη θεραπεία της φυματίωσης¹⁶. Υπολογίζεται ότι το 2011 περίπου 310 χιλιάδες από τους ασθενείς με φυματίωση, έπασχαν από την πολυανθεκτική της μορφή και ότι το 60% των περιπτώσεων αυτών ήταν στην Κίνα, στην Ινδία, στη Ρωσία, στο Πακιστάν και στη Νότιο Αφρική. Επιπλέον, σε 84 χώρες αναφέρθηκαν περιπτώσεις υπερανθεκτικής στα αντιβιοτικά φυματίωσης¹⁸.

1.10.1 Κατηγορίες ανθεκτικών μορφών φυματίωσης

Η πολυανθεκτική φυματίωση (MultiDrug-Resistance Tuberculosis, MDR-TB) προκύπτει όταν το μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης αναπτύξει ανθεκτικότητα

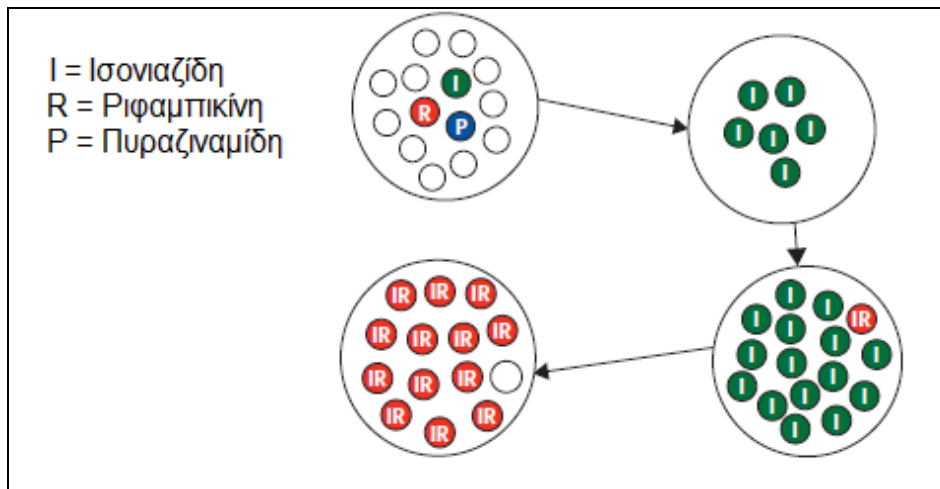
τουλάχιστον στην ισονιαζίδη και τη ριφαμπικίνη, δηλαδή στα δύο πιο σημαντικά πρώτης γραμμής αντιβιοτικά. Τα ποσοστά θεραπείας της πολυανθεκτικής φυματίωσης είναι χαμηλά με θνησιμότητα στο 50-70% των περιπτώσεων.

Όταν το μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης είναι ανθεκτικό στην ισονιαζίδη, στη ριφαμπικίνη, σε οποιαδήποτε φθοροκινολόνη, αλλά και σε οποιοδήποτε δεύτερης γραμμής ενέσιμο αντιβιοτικό (καναμυκίνη, αμικασίνη ή καπρεομυκίνη), τότε έχουμε την υπερανθεκτική φυματίωση (Extensively Drug-Resistant Tuberculosis, XDR-TB). Αυτή η μορφή έχει πολύ υψηλά ποσοστά θνησιμότητας⁴.

Τελευταία και πιο πρόσφατη είναι η ολικά ανθεκτική φυματίωση (Totally Drug-Resistant Tuberculosis, TDR-TB), η οποία είναι ανθεκτική σε όλα τα πρώτης και δεύτερης γραμμής διαθέσιμα αντιβιοτικά κατά της φυματίωσης. Περιπτώσεις ολικά ανθεκτικής φυματίωσης έχουν εντοπιστεί στην Ινδία, το Ιράν και την Νότιο Αφρική³⁴.

1.10.2 Δημιουργία Ανθεκτικότητας

Η ανθεκτικότητα στα αντιμυκοβακτηριακά αντιβιοτικά είναι αποτέλεσμα αυθόρμητων μεταλλάξεων. Με αυτόν τον τρόπο σε ασθενείς με ενεργή φυματίωση εμφανίζονται αυθόρμητα ανθεκτικά μυκοβακτηρίδια, τα οποία σταδιακά γίνονται πλειοψηφία, καθώς είναι τα μόνα που επιβιώνουν από τη θεραπεία. Για αυτό τον λόγο η ανθεκτική φυματίωση θεωρείται αποτέλεσμα ενεργειών του ανθρώπου. Με την επιλογή, οι ανθεκτικοί σε φάρμακα οργανισμοί πολλαπλασιάζονται για να καταστούν το κυρίαρχο στέλεχος. Για παράδειγμα, σε μία μονοθεραπεία με ισονιαζίδη επιλέγονται να επιβιώσουν μόνο τα βακτήρια, που είναι ανθεκτικά στην ισονιαζίδη (Εικόνα 4). Για να αντιμετωπιστεί η φυματίωση, ξεκινάει θεραπεία με ριφαμπικίνη και με την ίδια λογική θα επιβιώσουν μόνο μυκοβακτηρίδια ανθεκτικά στη ριφαμπικίνη. Επομένως, προκύπτει ένας πληθυσμός μυκοβακτηριδίων της φυματίωσης που είναι ανθεκτικός στα δύο ισχυρότερα αντιβιοτικά κατά της φυματίωσης. Τα ανθεκτικά στελέχη, που δημιουργούνται, μπορούν να μεταδοθούν σε υγιή άτομα, όπως ακριβώς μεταδίδεται η αρχική μορφή του μυκοβακτηριδίου³⁵.



Εικόνα 4: Βακτηριακός πληθυσμός ανθεκτικός στην ισονιαζίδη και τη ριφαμπικίνη.³⁵

Υπάρχει ένας πολύ μεγάλος κατάλογος γονιδίων, τα οποία φαίνεται ότι έχουν συνδεθεί με την ανθεκτικότητα της φυματίωσης, ωστόσο πειραματικά δεδομένα δείχνουν ότι η ανθεκτικότητα οφείλεται στην πραγματικότητα σε ένα μόνο συγκεκριμένο υποσύνολο μεταλλάξεων. Σε αυτά τα γονίδια, ο κύριος μηχανισμός που οδηγεί σε ανθεκτικότητα φαίνεται να είναι είτε κάποια μετάλλαξη που τροποποιεί τον στόχο του φαρμάκου (για παράδειγμα, μία μετάλλαξη στη βακτηριακή RNA πολυμεράση, που της επιτρέπει να διαφεύγει τη δράση της ριφαμπικίνης), είτε κάποια μετάλλαξη που έχει ως αποτέλεσμα ένα ελαττωματικό ένζυμο που αδυνατεί να μετατρέψει ένα προφάρμακα στην ενεργή μορφή του (για παράδειγμα, μία μετάλλαξη βακτηριακής καταλάσης που δεν καταφέρνει να ενεργοποιήσει την ισονιαζίδη)¹⁶.

1.10.3 Διάγνωση ανθεκτικών μορφών φυματίωσης

Για τη διάγνωση των ανθεκτικών μορφών της φυματίωσης υπάρχουν δύο ειδών μέθοδοι. Η πρώτη μέθοδος βασίζεται σε καλλιέργειες, οι οποίες εξετάζουν την ικανότητα των μυκοβακτηριδίων να αναπτύσσονται παρουσία αντι-μυκοβακτηριακών φαρμάκων. Ενώ, η δεύτερη μέθοδος έχει μοριακή βάση καθώς ανιχνεύει γενετικές μεταλλάξεις στο μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης, που οδηγούν σε ανθεκτικότητα^{16,35}.

1.10.4 Θεραπεία ανθεκτικών μορφών φυματίωσης

Η θεραπεία της πολυανθεκτικής και της υπερανθεκτικής φυματίωσης μπορεί να είναι επιτυχημένη για κάποιους ασθενείς. Η επιτυχία της θεραπείας

εξαρτάται από το πόσο ανθεκτική είναι η φυματίωση, δηλαδή σε πόσα αντιβιοτικά είναι ανθεκτικό το μυκοβακτηρίδιο. Το ποσοστό επιτυχούς θεραπείας για την πολυανθεκτική φυματίωση είναι 83%, ενώ για ασθενείς που πάσχουν επίσης από HIV το ποσοστό πέφτει στο 60%. Γενικά, οι ασθενείς υποβάλλονται σε θεραπεία με 4 ως 6 αντιβιοτικά, στα οποία είναι πιθανό ή γνωστό ότι είναι ευαίσθητο το μυκοβακτηρίδιο. Σε αυτά τα φάρμακα περιλαμβάνεται οποιοδήποτε αντιβιοτικό πρώτης γραμμής παρουσιάζει δράση (συνήθως πυραζιναμίδα ή εθαμβουτόλη), μία φθοροκινολόνη και ένα δεύτερης γραμμής ενέσιμο αντιβιοτικό. Ωστόσο, η μορφή και η διάρκεια της θεραπείας εξαρτώνται από το ποσοστό ανθεκτικότητας της ασθένειας σε αντιβιοτικά, μεταβάλλεται ανάλογα με τις συνθήκες και συχνά είναι στην κρίση και την εμπειρία των γιατρών. Επιπλέον, οι θεραπείες αυτών των μορφών φυματίωσης παρουσιάζουν αυξημένο ρίσκο τοξικότητας για τον ασθενή³⁵.

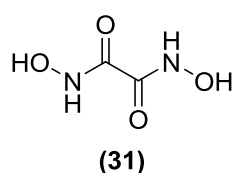
1.11 Ανάγκη εύρεσης νέων φαρμάκων

Η εξάμηνη θεραπεία των τεσσάρων αντιβιοτικών, η οποία χρησιμοποιείται αυτή τη στιγμή κατά της φυματίωσης, εισήχθη το 1970 περίπου, δηλαδή 40 χρόνια πριν²⁰. Το τελευταίο φάρμακο με ένα καινούργιο μηχανισμό δράσης κατά της φυματίωσης που εγκρίθηκε ήταν η ριφαμπικίνη το 1963⁴. Η φυματίωση είναι ξανά επίκαιρη προκαλώντας χιλιάδες θανάτους και νέες περιπτώσεις ασθενών, ειδικά σε ασθενείς με εξασθενημένο ανοσοποιητικό σύστημα δηλαδή σε συνδυασμό με τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας. Επιπλέον, οι ανθεκτικές μορφές φυματίωσης με αρκετά υψηλά ποσοστά θνησιμότητας απειλούν να γίνουν οι μόνιμες μορφές της, ενώ παρουσιάστηκε πρόσφατα και ένας νέος κίνδυνος, η ολικά ανθεκτική φυματίωση. Όλα αυτά κάνουν την ανάγκη εύρεσης νέων φαρμάκων επιτακτική. Χρειάζονται νέα αντιβιοτικά να καταπολεμούν όλες τις μορφές φυματίωσης, στη μικρότερη δυνατή χρονική διάρκεια και με τη μικρότερη τοξικότητα.

ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΥΔΡΑΞΑΜΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ

2.1 Υδροξαμικά οξέα (Hydroxamic acids)

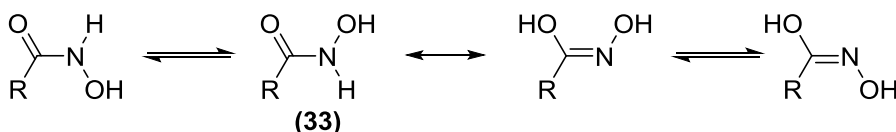
Τα υδροξαμικά οξέα είναι κατηγορία οργανικών ενώσεων, οι οποίες περιέχουν ένα άζωτο, το οποίο συνδέεται με ένα καρβονύλιο και ένα υδροξύλιο. Είναι αμίδια, όπου το κεντρικό άζωτο έχει μία υδροξυλομάδα ως υποκαταστάτη, αντί για ένα άτομο υδρογόνου. Ο Γερμανός χημικός Wilhelm Lossen το 1869 ανακάλυψε το πρώτο υδροξαμικό οξύ, το οξαλοϋδροξαμικό οξύ (oxalohydroxamic acid) **(31)** (Σχήμα 15)³⁶.



Σχήμα 15: Οξαλοϋδροξαμικό οξύ

2.1.1 Οξύτητα των υδροξαμικών οξέων

Τα υδροξαμικά οξέα θεωρούνται παράγωγα και των υδροξυλαμινών, αλλά και των καρβοξυλικών οξέων, ενώ μέσα σε διάλυμα υπάρχουν σε δύο ταυτομερείς μορφές. Η κετο-μορφή **(33)** διαθέτει ένα όξινο πρωτόνιο και κυριαρχεί σε όξινο pH, ενώ η ενολο-μορφή διαθέτει δύο όξινα πρωτόνια και κυριαρχεί σε αλκαλικό pH³⁷. Και στις δύο μορφές υπάρχουν *E* και *Z* ισομερή (Σχήμα 16).



Σχήμα 16: Ταυτομέρεια κετο-ενόλης στα υδροξαμικά οξέα

Γενικά, η *Z*-κετο-μορφή **(33)** είναι πιο σταθερή για τα υδροξαμικά οξέα σε αέρια φάση, για τα υδατικά διαλύματα υδροξαμικών οξέων και για τα περισσότερα μη υδατικά διαλύματα τους³⁸.

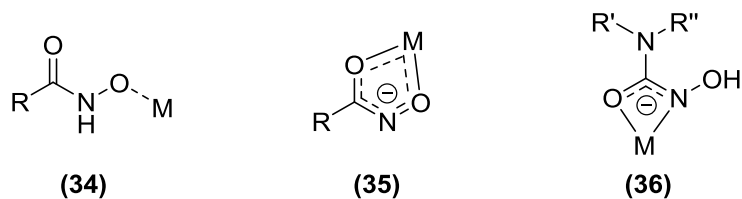
Τα υδροξαμικά οξέα είναι αρκετά ασθενέστερα οξέα από τα παρόμοια σε δομή καρβοξυλικά οξέα. Σε υδατικά διαλύματα συμπεριφέρονται ως ασθενή οξέα. Για παράδειγμα, η σταθερά διάστασης του ακετοϋδροξαμικού οξέος (για $R = \text{CH}_3$) είναι 2.8×10^{-8} . Ωστόσο, δεν είναι ακόμα γνωστό αν

αποπρωτονιώνεται το άζωτο ή το οξυγόνο της υδροξαμικής ομάδας, δηλαδή ποιο είναι το πιο όξινο. Αξίζει να σημειωθεί ότι έχουν αναπτυχθεί θεωρίες υπέρ και των δύο πλευρών. Γενικά, είναι γνωστό ότι το υδροξύλιο αποπρωτονιώνεται πιο εύκολα, καθώς το ηλεκτραρνητικότερο οξυγόνο σταθεροποιεί καλύτερα το αρνητικό φορτίο από το άζωτο. Όμως, υπάρχουν ενδείξεις και προς τις δύο πλευρές και είναι πιθανό να συμβαίνουν και οι δυο αποπρωτονιώσεις ταυτόχρονα, ενώ το ποιά από τις δύο υπερισχύει εξαρτάται από τη φύση του διαλύτη, τον υποκαταστάτη της ένωσης, καθώς και από τη θερμοκρασία της αντίδρασης^{36,39}. Για το ακετουδροξαμικό οξύ συγκεκριμένα πιστεύεται ότι σε αέρια φάση και για μη υδατικά διαλύματα αποπρωτονιώνεται το άζωτο της υδροξαμικής ομάδας, ενώ σε υδατικά διαλύματα αυξάνεται το ποσοστό αποπρωτονίωσης της υδροξυλομάδας²⁷.

Τέλος, όσον αφορά στη βασικότητα τους, το άζωτο των υδροξαμικών οξέων παρουσιάζει τις πιο βασικές ιδιότητες. Ωστόσο, τα υδροξαμικά οξέα είναι πάρα πολύ ασθενείς βάσεις³⁹.

2.1.2 Τα υδροξαμικά οξέα ως υποκαταστάτες

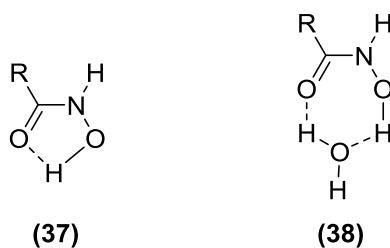
Τα ανιόντα των υδροξαμικών οξέων αποτελούν πολύ καλούς υποκαταστάτες μεταλλικών ιόντων δημιουργώντας σύμπλοκα με μέταλλα όπως ο σίδηρος(III), το κοβάλτιο(II), ο χαλκός(II), το νικέλιο(II) και ο ψευδάργυρος(II). Τα υδροξαμικά οξέα μπορούν να λειτουργήσουν είτε ως μονοσχιδεΐς **(34)** είτε ως δυσχιδεΐς υποκαταστάτες **(35)** δημιουργώντας χηλικά σύμπλοκα. Και στις δύο περιπτώσεις, το μεταλλικό ιόν ενώνεται με τα οξυγόνα του υδροξαμικού οξέος, στην πρώτη με αυτό του υδροξυλίου και στη δεύτερη με αυτό του υδροξυλίου καθώς και με το καρβονυλικό. Αυτή η δεύτερη περίπτωση με τη δημιουργία ενός σταθερού πενταμελή δακτυλίου είναι και η πιο συνηθισμένη για τα σύμπλοκα υδροξαμικών οξέων με μεταλλικά ιόντα. Τέλος, έχουν παρατηρηθεί και σύμπλοκα με μέταλλα μετά από αποπρωτονίωση του αζώτου **(36)**, αλλά κυρίως σε άμινο υδροξαμικά οξέα (Σχήμα 17)



Σχήμα 17: Σύμπλοκα μετάλλων με υδροξαμικά οξέα

2.1.3 Δεσμοί υδρογόνου στα υδροξαμικά οξέα

Οι δεσμοί υδρογόνου παίζουν σημαντικό ρόλο στη χημεία των υδροξαμικών οξέων. Βασικό τους στοιχείο είναι ότι ωθούν τα υδροξαμικά οξέα να λάβουν την Z-κετο-μορφή **(32)**. Αυτό επιτυγχάνεται είτε μέσα στο ίδιο το μόριο με ενδομοριακούς δεσμούς υδρογόνου **(37)**, είτε με διαμοριακούς δεσμούς υδρογόνου παρουσία ενός πρωτικού διαλύτη όπως είναι το νερό **(38)** (Σχήμα 18).



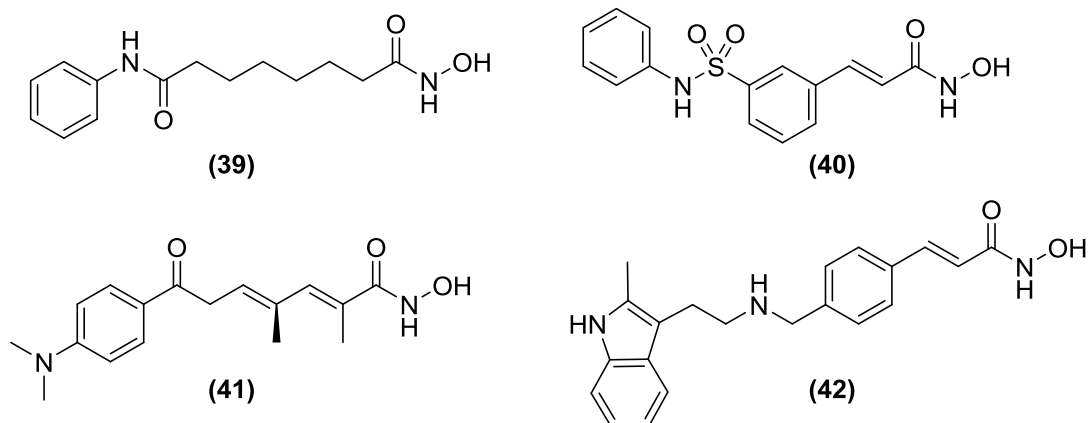
Σχήμα 18: Δεσμοί υδρογόνου στα υδροξαμικά οξέα

2.2 Φαρμακευτικές ιδιότητες των υδροξαμικών οξέων

Τα υδροξαμικά οξέα είναι ικανά να αναστείλλουν μεγάλη ποικιλία ενζύμων, όπως οι ουρεάσες, οι υπεροξειδάσες και οι μεταλλοπρωτεϊνάσες της εξωκυττάριας ουσίας. Επίσης, ως σιδηροφόρα μπορούν να ανταγωνίζονται για τον σίδηρο. Στις βιοϊατρικές επιστήμες έχουν χρησιμοποιηθεί και χρησιμοποιούνται τμήματα υδροξαμικών οξέων στον σχεδιασμό φαρμάκων με στόχο τον καρκίνο, τις καρδιαγγειακές παθήσεις, τον ιό του HIV, την ασθένεια του Αλτσχάιμερ, την ελονοσία, διάφορες αλλεργίες, τη φυματίωση, δηλητηριάσεις από μέταλλα και την συσσώρευση σιδήρου στον οργανισμό. Επιπλέον, τα υδροξαμικά οξέα έχουν χρησιμοποιηθεί και ως εντομοκτόνα, αντιμικροβιακά καθώς και ρυθμιστές ανάπτυξης φυτών⁴⁰.

2.2.1 Τα υδροξυμικά οξέα ως αναστολείς της ιστόνης των αποακετυλασών

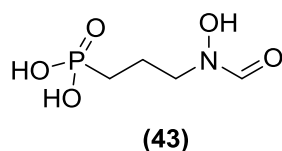
Η ακετυλίωση και η αποακετυλίωση των ιστονών παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της μεταγραφής των ευκαρυωτικών κυττάρων. Η ακετυλίωση των ιστονών και των μη ιστονικών πρωτεϊνών καθορίζεται από τις αποακετυλάσες των ιστονών (histone deacetylases, HDACs) και από τις ακετυλοτρανσφεράσες των ιστονών (histone acetyl-transferases, HATs). Οι HATs προσθέτουν ακετυλομάδες σε κατάλοιπα λυσίνης, ενώ οι HDACs τα αφαιρούν. Γενικά, η ακετυλίωση των ιστονών προάγει μια πιο χαλαρή δομή χρωματίνης και ενεργοποιείται η μεταγραφή. Οι HDACs δρουν ως καταστολείς της μεταγραφής, καθώς αποακετυλιώνουν τις ιστόνες και συμπυκνώνουν τις χρωματίνες⁴¹. Οι HDACs επηρεάζουν αρκετές κυτταρικές διεργασίες, οι οποίες απορυθμίζονται στα νεοπλασματικά κύτταρα. Έτσι, η ενεργοποίηση της διαφοροποίησης, η αναστολή του κυτταρικού κύκλου και η επαγωγή της απόπτωσης είναι οι βασικές αντικαρκινικές δράσεις των αναστολέων των HDACs. Επιπλέον δράσεις είναι η ενεργοποίηση της ανοσοαπόκρισης του ξενιστή καθώς και η αναστολή της αγγειογένεσης⁴². Διάφορα υδροξυμικά οξέα όπως η βορινοστάτη **(39)** (Vorinostat, SAHA), η βελινοστάτη **(40)** (Belinostat, Beleodaq, PXD101), η τριχοστατίνη A (Trichostatin A, TSA) **(41)** και η πανομπινοστάτη (Panobinostat, Farydak) **(42)** λειτουργούν ως αναστολείς των αποακετυλασών των ιστονών αλλάζοντας τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης συγκεκριμένων γονιδίων και επάγοντας τελικά την απόπτωση. Τα φάρμακα αυτά δοκιμάζονται κυρίως ως αντικαρκινικοί παράγοντες (Σχήμα 19)⁴³.



Σχήμα 19: Βορινοστάτη (39), Βελινοστάτη (40), Τριχοστατίνη Α (41) και Πανομπινοστάτη (42)

2.2.2 Τα υδροξαμικά οξέα ως αντιελονοσιακά

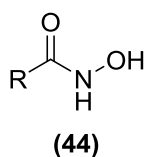
Η φοσμιδικίνη (fosmidycin) (43) είναι παράγωγο υδροξαμικού οξέος και είναι φυσικό αντιβιοτικό. Πρόκειται για παράγωγο του φωσφονικού οξέος με ισχυρή δράση ενάντια σε gram-αρνητικά βακτήρια (Σχήμα 20). Πρόκειται για ισχυρό αναστολέα της ρεδουκτοϊσομεράσης της 1-δεοξυ-5-D-φωσφορικής ξυλουλόζης (1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase ή DXP reductoisomerase). Μέσω της αναστολής αυτής λειτουργεί ως φάρμακο ενάντια στην ελονοσία⁴⁴.



Σχήμα 20: Φοσμιδικίνη (fosmidycin)

2.3 Γενικές μέθοδοι σύνθεσης υδροξαμικών οξέων

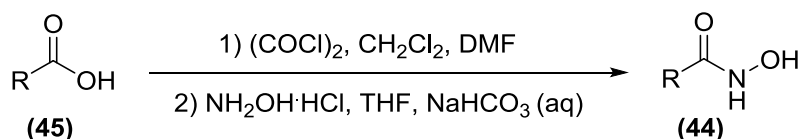
Στη συνέχεια θα αναφερθούν οι βασικότεροι τρόποι σύνθεσης υδροξαμικών οξέων (44) (Σχήμα 21).



Σχήμα 21: Γενικός Τύπος Υδροξαμικών οξέων

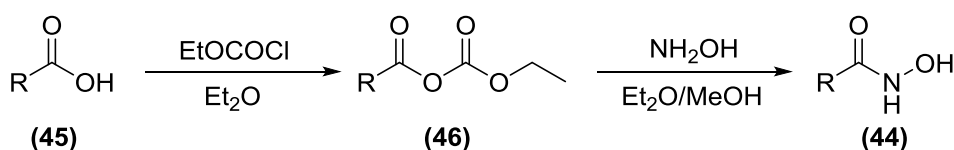
2.3.1 Σύνθεση υδροξαμικών οξέων από καρβοξυλικά οξέα

Υδροξαμικά οξέα μπορούν να προκύψουν από καρβοξυλικά οξέα μέσω μίας αντίδρασης δύο σταδίων. Στο πρώτο στάδιο το καρβοξυλικό οξύ **(45)** μετατρέπεται στο αντίστοιχο ακυλοχλωρίδιο με οξαλυλοχλωρίδιο και καταλυτικά διμεθυλοφορμαμίδιο και στη συνέχεια προστίθεται σε διάλυμα υδροχλωρικής υδροξυλαμίνης (Σχήμα 22)⁴⁵.



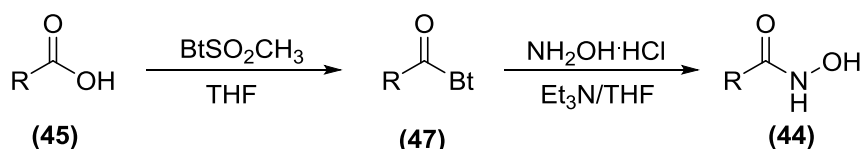
Σχήμα 22: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων από καρβοξυλικά οξέα μέσω ενδιάμεσου χλωριδίου

Το 2000 ο Reddy και οι συνεργάτες του παρουσίασαν μία παρόμοια αντίδραση με την προηγούμενη σε ουδέτερο pH μόνο που αυτή τη φορά η ενεργοποίηση του οξέος έγινε μέσω χλωροφορμικού αιθυλεστέρα και με ενδιάμεσο τον ανυδρίτη του καρβοξυλικού οξέος **(46)**(Σχήμα 23)³⁹.



Σχήμα 23: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων από καρβοξυλικά οξέα μέσω ενδιάμεσου ανυδρίτη

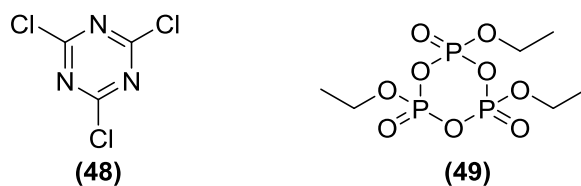
Με την ίδια λογική η ενεργοποίηση του οξέος γίνεται και με βενζοτρίαζόλιο (Bt), σχηματίζοντας ένα δραστικό ενδιάμεσο **(47)** το οποίο αντιδρά με υδροχλωρική υδροξυλαμίνη και δίνει το τελικό υδροξαμικό οξύ **(44)** (Σχήμα 24)³⁹.



Σχήμα 24: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων μέσω ενεργοποίησης με βενζοτρίαζόλιο

Τέλος, ως ενεργοποιητικοί παράγοντες για την παραπάνω αντίδραση υδροξαμικού οξέος από καρβοξυλικό οξύ μπορεί να χρησιμοποιηθούν το

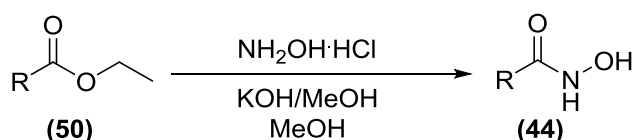
κυανουρικό χλωρίδιο (cyanuric chloride) **(48)** καθώς και ο κυκλικός πολυφωσφινικός ανυδρίτης PPA **(49)**(Σχήμα 25)³⁹.



Σχήμα 25: Το Κυανουρικό χλωρίδιο **(48)** και ο κυκλικός πολυφωσφινικός ανυδρίτης PPA **(49)**

2.3.2 Σύνθεση υδροξαμικών οξέων από εστέρες

Το 1983 ο Tanaka και οι συνεργάτες του συνέθεσαν ακόρεστα υδροξαμικά οξέα **(44)** από πρώτη ύλη εστέρες **(50)** και υδροχλωρική υδροξυλαμίνη παρουσία ισχυρής βάσης όπως είναι το υδροξείδιο του καλίου (Σχήμα 26)⁴⁶.



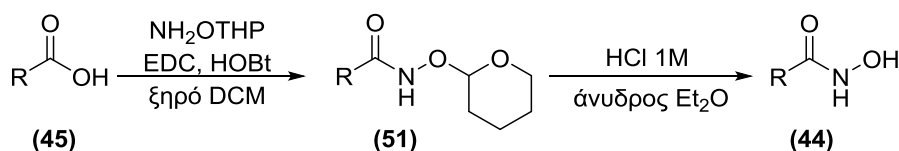
Σχήμα 26: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων από εστέρες με NH₂OH·HCl

Αυτή η αντίδραση ακυλίωσης της υδροξυλαμίνης μπορεί να προκύψει και με διαφορετικές βάσεις, όπως έκανε ο Wang το 2011 με βάση το μεθοξείδιο του νατρίου⁴⁷. Επιπλέον, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και υδατική υδροξυλαμίνη με βάση το DBU, αλλά και με διαφορετικό διαλύτη⁴⁸.

2.3.3 Σύνθεση υδροξαμικών οξέων μέσω αντίδρασης σύζευξης με προστατευτική ομάδα

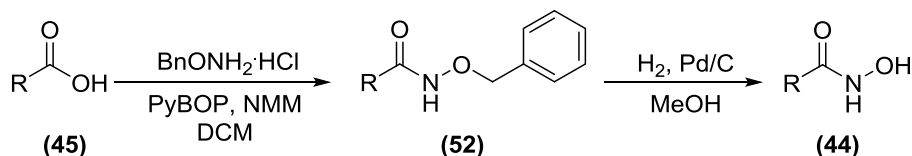
Τα υδροξαμικά οξέα παρουσιάζουν μεγάλη πολικότητα, ώστε να είναι ιδιαίτερα δύσκολη η απομόνωση και ο καθαρισμός τους. Ο Florian Thaler το 2010 παρουσίασε τη σύνθεση υδροξαμικών οξέων από καρβοξυλικά οξέα **(45)** με ενδιάμεση χρήση της προστατευτικής ομάδας O-(τετραϋδρο-2H-πυραν-2-υλο)υδροξυλαμίνης (NH₂OTHP). Συγκεκριμένα, γίνεται μία κλασική αντίδραση σύζευξης με συζευκτικό το υδατοδιαλυτό υδροχλωρικό 1-αιθυλ-3-(3-διμεθυλαμινοπροπυλο)καρβοδιιμίδιο (EDC) και την παρουσία του υδροξυβενζοτριάζολιου (HOBt). Με αυτόν τον τρόπο προκύπτει το

προστατευμένο ενδιάμεσο (**51**), το οποίο ύστερα από επεξεργασία με υδροχλωρίο 1M σε άνυδρο διαιθυλαιθέρα δίνει το υδροξαμικό οξύ (**44**) (Σχήμα 27). Η μέθοδος αυτή παρουσιάζει το πλεονέκτημα ότι το προϊόν παραλαμβάνεται με διήθηση και ο καθαρισμός γίνεται στο προστατευμένο ενδιάμεσο, το οποίο εξαιτίας της προστατευτικής ομάδας είναι λιγότερο πολικό και ευκολότερο να καθαριστεί⁴⁹.



Σχήμα 27: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων από καρβοξυλικά οξέα μέσω προστατευμένου ενδιάμεσου με NHOTHP ομάδα

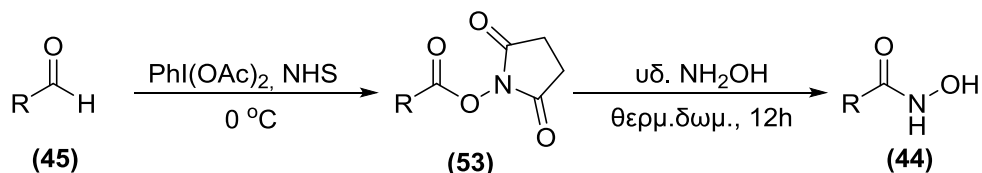
Το 2009 ο Giuseppe Giannini και οι συνεργάτες του πραγματοποίησαν τη σύνθεση υδροξαμικών οξέων (**44**) από καρβοξυλικά οξέα (**45**) μέσω προστασίας με βενζυλομάδα (**52**) και αποπροστασία με καταλυτική υδρογόνωση παλλαδίου 10% σε ενεργό άνθρακα (Σχήμα 28)⁵⁰.



Σχήμα 28: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων από καρβοξυλικά οξέα μέσω προστατευμένου ενδιάμεσου με βενζυλομάδα

2.3.4 Σύνθεση υδροξαμικών οξέων από αλδεΐδες

Τα υδροξαμικά οξέα μπορούν να συντεθούν και από αλδεΐδες, με μία αντίδραση που πραγματοποίησε το 2014 η Giovanna Dettori με τους συνεργάτες της. Αρχικά γίνεται ενεργοποίηση με *N*-υδροξυσουκινιμίδιο (*N*-hydroxysuccinimide, NHS) και οξειδωτικό το (διακετοξυ)ιωδοβενζολίο [(diacetoxyiodo)benzene, $\text{PhI}(\text{OAc})_2$] και στη συνέχεια αντίδραση με υδατική υδροξυλαμίνη (Σχήμα 29).⁵¹



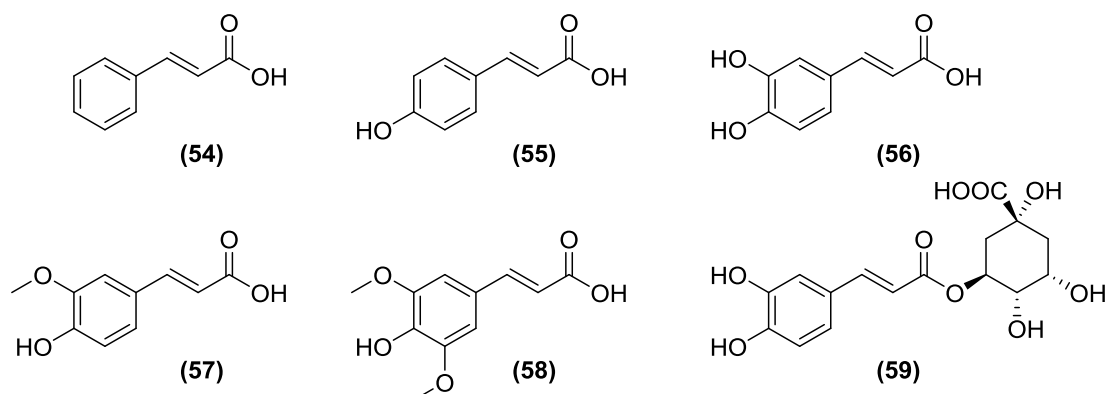
Σχήμα 29: Σύνθεση υδροξαμικών οξέων από αλδεΐδες

Η αντίδραση σύνθεσης υδροξαμικών οξέων από αρωματικές αλδεΐδες έχει πραγματοποιηθεί και στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Εθνικού Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών από την ομάδα του Επίκουρου Καθηγητή Χριστόφορου Κόκοτου το 2016⁵² με χρήση φωτοοργανοκατάλυσης.

2.4 Κινναμωμικά οξέα (cinnamic acids)

Τα κινναμωμικά οξέα (*trans*-φαινύλ-3-προπενικά οξέα) **(54)** και τα παράγωγα τους είναι, μαζί με τα βενζοϊκά οξέα, η μία από τις δύο μεγάλες ομάδες φαινολικών οξέων, που υπάρχουν στα φυτά. Εκτός από τα φυτά, βρίσκονται και σε φρούτα, λαχανικά και ποτά (τσάι, καφές, κρασί) σε ένα ευρύ φάσμα συγκεντρώσεων⁵³. Το κινναμωμικό οξύ έχει μακρά ιστορία ανθρώπινης χρήσης ως συστατικό αρωμάτων, τα οποία προέρχονται από φυτά. Ανήκει στην κατηγορία των αυξινών, οι οποίες είναι φυτικές ορμόνες που ρυθμίζουν την κυτταρική ανάπτυξη και διαφοροποίηση⁵⁴. Ο βενζολικός δακτύλιος και η μικρή ακόρεστη ανθρακική αλυσίδα καθορίζουν τη χαμηλή πολικότητα και υδατοδιαλυτότητα του κινναμωμικού οξέος, ωστόσο με κατάλληλη υποκατάσταση επιτυγχάνεται η κατάλληλη πολικότητα και υδατοδιαλυτότητα, συνήθως ως υδροξυκινναμωμικά οξέα, αλλά και ως άλλα παράγωγα. Τα πιο σημαντικά και γνωστά κινναμωμικά οξέα με υποκαταστάτη στον αρωματικό δακτύλιο είναι το *p*-κουμαρικό οξύ (*p*-coumaric acid) **(55)**, το καφεϊκό οξύ (caffeic acid) **(56)**, το φερουλικό οξύ (ferulic acid) **(57)** και το σιναπικό οξύ (sinaric acid) **(58)** (Σχήμα 30). Ωστόσο, αυτά τα οξέα σπάνια βρίσκονται σε ελεύθερη μορφή και είναι γενικά εστεροποιημένα με κιννοϊκά τρυγικά οξέα αλλά και παράγωγα υδατανθράκων. Ένα τέτοιο παράδειγμα εστεροποιημένου κινναμωμικού παραγώγου είναι το χλωρογενικό οξύ ή 3-καφεοϋλ-κινικό οξύ (chlorogenic acid ή 3-caffeoylquinic acid) **(59)**. Τα παράγωγα των κινναμωμικών οξέων ως κοινά συστατικά των φυτών και λόγω της χαμηλής τοξικότητάς τους έχουν αξιολογηθεί ως φαρμακολογικά δραστικές ενώσεις. Επιπλέον, δείχνουν μία αξιοσημείωτη ποικιλία βιολογικών δραστηριοτήτων

και συχνά χρησιμοποιούνται ως αρχικές δομές για την ανάπτυξη νέων αποτελεσματικών φαρμάκων⁵³.



Σχήμα 30: Κινναμωμικό οξύ (54), p-κουμαρικό οξύ (55), καφεϊκό οξύ (56), φερουλικό οξύ (57), σιναιπικό οξύ (58) και χλωρογενικό οξύ (59)

2.5 Βιολογικές δράσεις των παραγώγων των κινναμωμικών οξέων

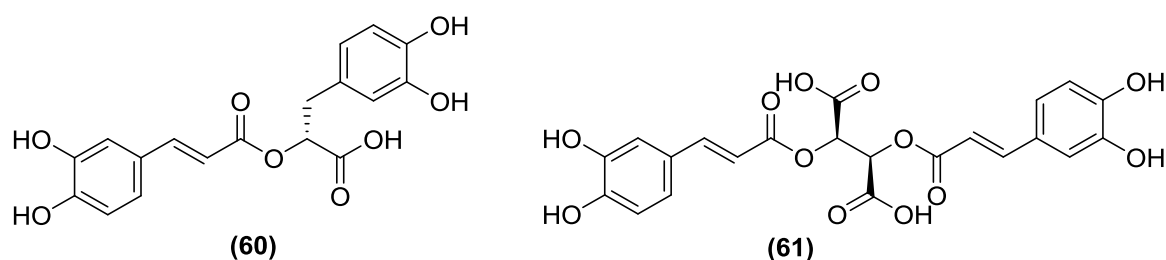
Τα κινναμωμικά οξέα παρουσιάζουν αντιοξειδωτική, αντιβακτηριδιακή, αντιική και αντιμυκητιακή δράση, ενώ θεωρούνται αντικαρκινικοί παράγοντες. Επιπλέον, έχουν ξεχωριστή θέση στην παραδοσιακή κινέζικη ιατρική καθώς πιστεύεται ότι διατηρούν τα νιάτα, προωθούν τη μακροζωία και διατηρούν την ισορροπία του σώματος για την πρόληψη ασθενειών⁵³⁻⁵⁴.

2.5.1 Αντιοξειδωτικές δράσεις

Τα υδροξυκινναμωμικά οξέα είναι πολύ ισχυροί αναγωγικοί παράγοντες. Οι ισχυρές αντιοξειδωτικές ικανότητες τους οφείλονται στο φαινολικό υδροξύλιο, το οποίο αντιδρά με οξειδωτικά και ελεύθερες ρίζες για να σχηματίσει σταθεροποιημένες ρίζες φαινοξυλίου, οι οποίες σταθεροποιούνται με δομές συντονισμού τόσο από το φαινύλιο, όσο και από την ενδιάμεση ακόρεστη ανθρακική αλυσίδα. Η αντιοξειδωτική αποτελεσματικότητα των μονοφαινολών ενισχύεται ισχυρά με την εισαγωγή μιας δεύτερης ομάδας υδροξυλίου (διφαινόλες) και μίας μεθόξυ-ομάδας ως υποκαταστάτη στην ορθο-θέση. Η ακόμα μεγαλύτερη οξειδωτική δράση των διυδροξυκινναμωμικών οξέων μπορεί να εξηγηθεί από ενδομοριακούς δεσμούς υδρογόνου που προσφέρει το δεύτερο υδροξύλιο σε ορθο-υποκατεστημένες φαινόλες. Έτσι, το καφεϊκό οξύ (56) είναι ένας πάρα πολύ ισχυρός αντιοξειδωτικός παράγοντας⁵³.

2.5.2 Αντιβακτηριδιακές δράσεις

Το κινναμωμικό οξύ διαθέτει αντιβακτηριδιακές ιδιότητες, ωστόσο η χρήση του είναι δύσκολη λόγω της χαμηλής υδατοδιαλυτότητας, την οποία παρουσιάζει. Αντιβακτηριδιακές δράσεις παρουσιάζουν όλα τα παράγωγα του κινναμωμικού οξέος, όμως την καλύτερη δράση παρουσιάζει το φερουλικό οξύ. Από αυτή την παρατήρηση συμπεραίνουμε ότι η προσθήκη μιας ακόμα υδροξυλομάδας δεν προσδίδει αντιβακτηριδιακή δράση, όπως συμβαίνει στα αντιοξειδωτικά. Επιπλέον, ισχυρή αντιβακτηριδιακή δράση βρέθηκε να διαθέτει το ροσμαρινικό οξύ (rosmarinic acid) **(60)**, που απομονώθηκε από το δενδρολίβανο (rosemary) και έχει εντοπισθεί σε πληθώρα φυτών (Σχήμα 31)⁵³.



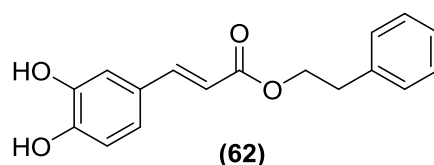
Σχήμα 31: Ροσμαρινικό οξύ (rosmarinic acid) **(60)** και L-chicoric οξύ **(61)**

2.5.3 Αντιικές δράσεις

Το ροσμαρινικό οξύ καθώς και το L-chicoric οξύ **(61)** δρουν ως αναστολείς της ιντεγκράσης HIV-1, ενός ενζύμου που είναι ιδιαίτερα απαραίτητο για την αντιγραφή του ιού (Σχήμα 24). Τα δύο υδροξυκινναμωμικά παράγωγα δεν αναμένεται να αντικαταστήσουν την πραγματική αντιρετροϊκή θεραπεία, αλλά θα μπορούσαν να την ολοκληρώσουν ή και να την ενισχύσουν με την κατάλληλη διατροφή⁵³.

2.5.4 Αντικαρκινικές δράσεις

Τα παράγωγα του κινναμωμικού οξέος παρουσιάζουν και αντικαρκινικές ιδιότητες. Συγκεκριμένα, ο φαινυλαιθυλεστέρας του καφεϊνικού οξέος (caffeic acid phenethyl ester, CAPE) **(62)** φαίνεται να παρουσιάζει σημαντική αντικαρκινική δράση (Σχήμα 32)⁵⁴.



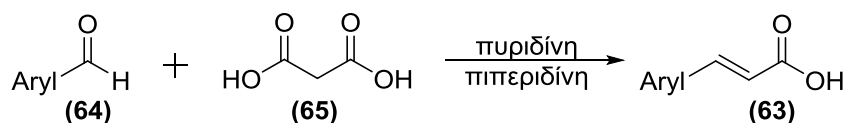
Σχήμα 32: Φαινυλαιθυλεστέρας του καφεϊκού οξέος

2.6 Γενικές μέθοδοι σύνθεσης κινναμωμικών οξέων

Τα κινναμωμικά οξέα (63) είτε υποκατεστημένα είτε όχι είναι εξαιρετικές πρώτες ύλες για τη σύνθεση ακόρεστων υδροξαμικών οξέων. Οι κυριότερες μέθοδοι για τη σύνθεση των κινναμωμικών οξέων είναι:

2.6.1 Αντίδραση συμπύκνωσης Knoevenagel

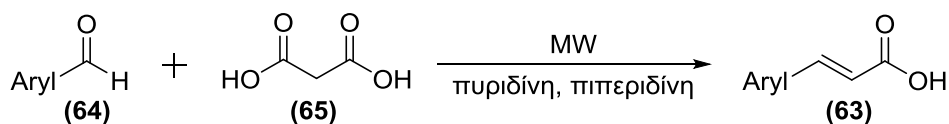
Η αντίδραση συμπύκνωσης Knoevenagel πραγματοποιείται ανάμεσα σε μία αλδεΐδη (64) και μία καρβονυλική ένωση, που να διαθέτει τουλάχιστον μία δραστική μεθυλενομάδα. Συνήθως η καρβονυλική ένωση είναι το μηλονικό οξύ (malonic acid) (65), ενώ η αντίδραση είναι πιο αποτελεσματική σε αρωματικές, παρά σε αλειφατικές αλδεΐδες. Πρόκειται για μία αντίδραση συμπύκνωσης, που καταλύεται από μία βάση, όμως δεν χρειάζεται πολύ ισχυρή βάση όπως με την αλδολική συμπύκνωση καθώς τα δύο καρβοξύλια του μηλονικού οξέος ενεργοποιούν την αντίδραση. Η πιο συνηθισμένη μέθοδος είναι η θέρμανση υπό αναρροή διαλύματος του μηλονικού οξέος και της αντίστοιχης αλδεΐδης σε πυριδίνη και καταλυτική ποσότητα πιπεριδίνης (Σχήμα 33)⁵⁵.



Σχήμα 33: Αντίδραση συμπύκνωσης Knoevenagel

2.6.2 Αντίδραση Knoevenagel στα μικροκύμματα

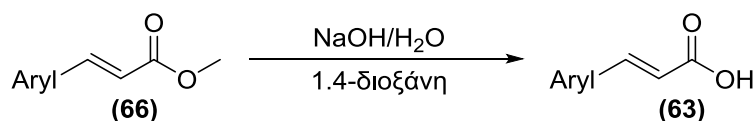
Η αντίδραση Knoevenagel μπορεί να πραγματοποιηθεί και στα μικροκύμματα. Πρόκειται για τα ίδια αντιδρώντα με την ίδια πορεία, ωστόσο χωρίς τη θέρμανση υπό αναρροή και με την ακτινοβολία παρατηρούνται καλύτερα και πιο γρήγορα αποτελέσματα (Σχήμα 34)⁵⁶.



Σχήμα 34: Αντίδραση Knoevenagel στα μικροκύμματα

2.6.3 Αντίδραση σαπωνοποίησης εστέρων

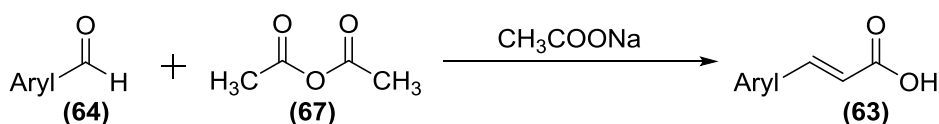
Τα κινναμωμικά οξέα μπορούν να προκύψουν και από τη σαπωνοποίηση των αντίστοιχων εστέρων τους (66) παρουσία ισχυρής βάσης όπως είναι το υδροξείδιο του νατρίου (Σχήμα 28)⁵⁷.



Σχήμα 35: Σαπωνοποίηση μεθυλεστέρα προς σχηματισμό παράγωγου του κινναμωμικού οξέος

2.6.4 Αντίδραση Perkin

Η αντίδραση Perkin αναπτύχθηκε το 1968 από τον Άγγλο Perkin για τη σύνθεση κινναμωμικών οξέων και παραγώγων τους. Παρέχει ένα α,β-ακόρεστο αρωματικό οξύ με την αλδολική συμπύκνωση μιας αρωματικής αλδεΐδης και ενός ανυδρίτη οξέος, παρουσία αλκαλικού άλατος του οξέος. Το αλκαλικό άλας δρα ως βασικός καταλύτης και μπορούν να χρησιμοποιηθούν άλλες βάσεις. Τα παράγωγα των κινναμωμικών οξέων (63) παρασκευάζονται εύκολα με βενζαλδεΐδες (64), οξικό ανυδρίτη (67) και άνυδρο οξικό νάτριο ως βάση (Σχήμα 29). Βασικό μειονέκτημα της αντίδρασης είναι τυχόν παραπροϊόντα της αλδεΐδης παρουσία βάσεως⁵⁸.

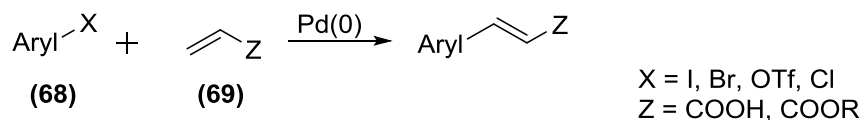


Σχήμα 36: Αντίδραση Perkin για σύνθεση παραγώγων του κινναμωμικού οξέος

2.6.5 Αντίδραση σύζευξης Heck προς σχηματισμό κινναμωμικών παραγώγων

Η αντίδραση Heck είναι μία καταλυόμενη από παλλάδιο αντίδραση υποκατάστασης στον βινυλικό δεσμό και διεξάγεται συνήθως με αλκένια και

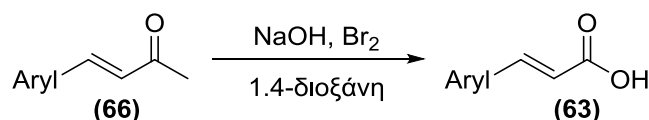
αρυλαλογονίδια ή ψευδοαλογονίδια ως αντιδρώντα. Για τη σύνθεση κινναμωμικών οξέων χρησιμοποιούνται αρυλαλογονίδια με υποκαταστάτη μια καλή αποχωρούσα ομάδα **(68)** και αλκένια με υποκαταστάτη μια καρβοξυλομάδα ή έναν καρβοξυλικό εστέρα **(69)**, ώστε να προκύψει ένα οξύ ή ένας εστέρας παράγωγο του κινναμωμικού οξέος (Σχήμα 30)⁵⁹.



Σχήμα 37: Αντίδραση σύζευξης Heck

2.6.6 Αλοφορμική Αντίδραση

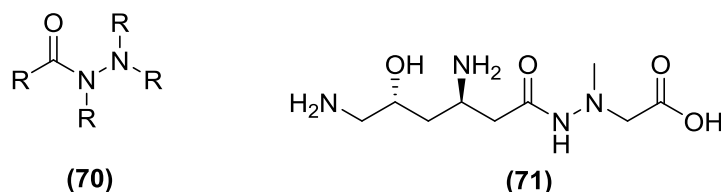
Κινναμωμικά οξέα **(63)** συντίθενται και μέσω της αλοφορμικής αντίδρασης, όπου μία μεθυλοκετόνη **(66)** αντιδρά με ένα αλογονίδιο και υδροξείδιο του νατρίου και δίνει ένα καρβοξυλικό οξύ (Σχήμα 38)⁶⁰.



Σχήμα 38: Σύνθεση κινναμωμικών οξέων από κετόνες

2.7 Υδραζίδια (Hydrazides)

Τα υδραζίδια **(70)** είναι χημικές ενώσεις με δύο άτομα αζώτου συνδεδεμένα μεταξύ τους με ομοιοπολικό δεσμό και ένας υποκαταστάτης του είναι άκυλο ομάδα (Σχήμα 39). Συνήθως, οι υπόλοιποι υποκαταστάτες είναι υδρογόνα. Το σημαντικότερο υδραζίδιο που γνωρίζουμε είναι το υδραζίδιο του ισοτινικού οξέος, δηλαδή το αντιβιοτικό ισονιαζίδιο **(5)**. Πολλά φυσικά υδραζίδια με αντιβακτηριδιακές και αντιμυκητιακές δράσεις έχουν απομονωθεί από το βακτήριο *Streptomyces*. Ενδεικτικά, το 1970, απομονώθηκε το αντιβιοτικό negamycin **(71)** που αναστέλλει τα ανθεκτικά Gram-αρνητικά βακτήρια και αργότερα βρέθηκε ότι δρα ενάντια στη μυϊκή δυστροφία Duchenne, ενώ ακολούθησαν πολλά ακόμα. Ακόμα, έχουν απομονωθεί υδραζίδια από νηματώδεις μύκητες και μανιτάρια, από φυτά, αλλά και θαλάσσιους οργανισμούς^{53,61}.



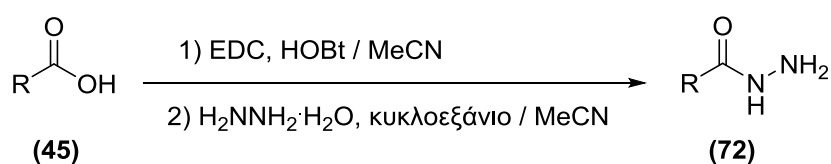
Σχήμα 39: Γενικός τύπος Υδραζιδίων (70) και το αντιβιοτικό pegamycin (71)

2.8 Συνθέσεις Υδραζιδίων

Στη βιβλιογραφία, για τη σύνθεση υδραζιδίων αναφέρονται δύο μέθοδοι σύνθεσης:

2.8.1 Σύνθεση υδραζιδίων με σύζευξη της υδραζίνης

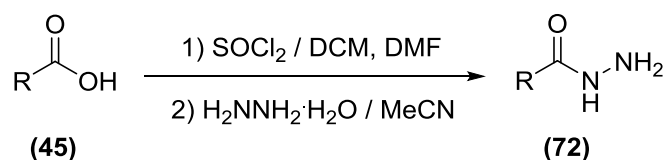
Το 2012 ο Carvalho και οι συνεργάτες του συνέθεσαν υδραζίδια (72) από ακόρεστα καρβοξυλικά οξέα (45). Στο πρώτο στάδιο το καρβοξυλικό οξύ ενεργοποιείται με EDC και HOBT σε διαλύτη ακετονιτρίλιο. Το μίγμα αυτό προστίθεται σε διάλυμα μονουδατικής υδραζίνης με λίγες σταγόνες κυκλοεξανίου σε ακετονιτρίλιο και προκύπτει το υδραζίδιο (Σχήμα 40)⁶².



Σχήμα 40: Σύνθεση υδραζιδίων με σύζευξη της υδραζίνης

2.8.2 Σύνθεση υδραζιδίων με ενεργοποίηση με θειονυλοχλωρίδιο και υδατική υδροξυλαμίνη

Το ακόρεστο καρβοξυλικό οξύ (40) ενεργοποιείται με θειονυλοχλωρίδιο σε διχλωρομεθάνιο και *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο. Το διάλυμα προστίθεται κι αντιδρά σε διάλυμα υδατικής υδραζίνης σε ακετονιτρίλιο (Σχήμα 41)⁶³.

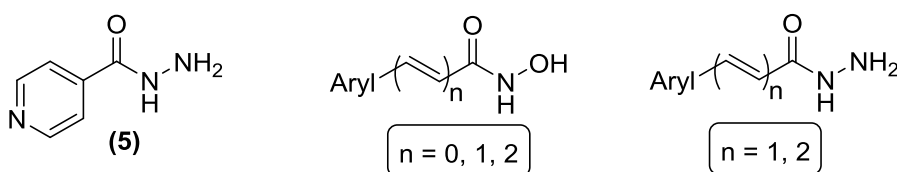


Σχήμα 41: Σύνθεση υδραζιδίων με SOCl₂ και υδραζίνη

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

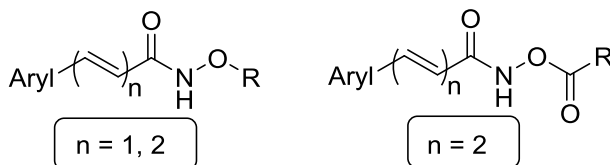
Η φυματίωση είναι μία κοινή μολυσματική νόσος, η οποία οφείλεται στο μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης. Αποτελεί την πιο θανατηφόρα μολυσματική νόσο και μόνο το 2016 παρουσιάστηκαν 10.4 εκατομμύρια νέες περιπτώσεις και 1.8 εκατομμύρια θάνατοι. Η φυματίωση είχε επίκεντρο κυρίως τις οικονομικά ασθενέστερες και μη ανεπτυγμένες χώρες, ενώ οι νέες ανθεκτικές μορφές φυματίωσης, καθώς και ο αυξημένος κίνδυνος μόλυνσης ασθενών με τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας κάνουν την ασθένεια ιδιαίτερα επικίνδυνη και για τις ανεπτυγμένες χώρες. Για αυτό τον λόγο είναι επιτακτική ανάγκη η ανεύρεση νέων φαρμάκων για τις ανθεκτικές μορφές, αλλά και για τη βελτίωση της θεραπείας της μη ανθεκτικής μορφής της.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η σύνθεση ενώσεων, οι οποίες θα αποτελούν ανάλογα της ισονιαζίδης **(5)**, του σημαντικότερου φαρμάκου κατά της φυματίωσης μέχρι σήμερα. Έτσι, συντέθηκαν υδροξαμικά οξέα παρόμοια με την ισονιαζίδα με μία ακόρεστη ανθρακική αλυσίδα ανάμεσα στη λειτουργική ομάδα και τον αρωματικό δακτύλιο. Επιπλέον, συντέθηκαν υδραζίδια ανάλογα αυτής της ένωσης (Σχήμα 42).



Σχήμα 42: Η ισονιαζίδα **(5)** και οι γενικοί τύποι ακόρεστων υδροξαμικών οξέων και υδραζιδίων που συντέθηκαν.

Τέλος, συντέθηκαν και υποκατεστημένα υδροξαμικά οξέα με σκοπό τη μείωση της τοξικότητας που παρουσιάζουν τα υδροξαμικά οξέα.



ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ ΥΔΡΟΞΑΜΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΤΟΥΣ ΜΕ ΠΙΘΑΝΗ ΑΝΤΙΦΥΜΑΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

4.1 Σχεδιασμός ακόρεστων υδροξαμικών οξέων

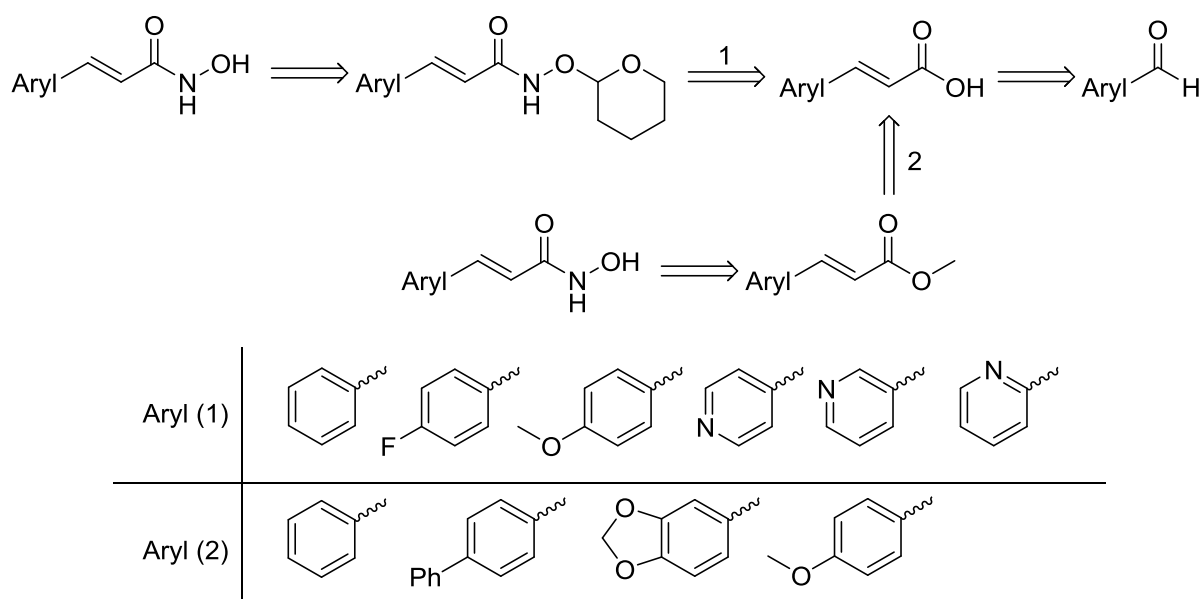
Στην παρούσα εργασία παρουσιάζονται μία σειρά υδροξαμικών οξέων με έναν αρωματικό δακτύλιο, υποκατεστημένο ή όχι. Ανάμεσα στον αρωματικό δακτύλιο και στην ομάδα του υδροξαμικού οξέος παρεμβάλλεται μία ακόρεστη ανθρακική αλυσίδα με έναν ή δύο διπλούς δεσμούς (Σχήμα 43). Με αυτόν τον τρόπο δημιουργούνται ενώσεις ανάλογες με την ισονιαζίδη **(5)**, οι οποίες διαθέτουν ως δραστική ομάδα αυτήν του υδροξαμικού οξέος. Επιπλέον, διαθέτουν έναν ή δύο ακόρεστους δεσμούς, ώστε να διατηρηθεί η συζυγία. Όσον αφορά στον αρωματικό δακτύλιο, συνετέθησαν δακτύλιοι με υποκαταστάτη ένα φθόριο, μία μεθόξυ ομάδα, ετεροκυκλικοί με άζωτο σε διάφορες θέσεις, μακρυές άλκυλο ή αλκόξυ ομάδες ως υποκαταστάτες, καθώς και πιο πολύπλοκα συστήματα.



Σχήμα 43: Δομή ισονιαζίδης και γενική δομή των ακόρεστων υδροξαμικών οξέων που συνετέθησαν

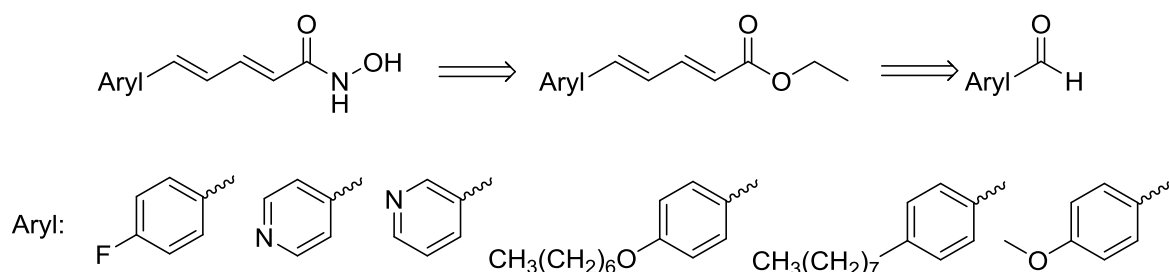
4.1.1 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης

Όπως φαίνεται και από τη ρετροσυνθετική ανάλυση (Σχήμα 44), τα υδροξαμικά οξέα, όταν παρεμβάλλεται ένας διπλός δεσμός μπορούν να προκύψουν από δύο πορείες ανάλογα με την υποκατάσταση στον αρωματικό δακτύλιο. Στην πρώτη περίπτωση τα ακόρεστα οξέα προστατεύονται και μετά την αποπροστασία τους, συντίθεται το αντίστοιχο υδροξαμικό οξύ. Στη δεύτερη περίπτωση τα υδροξαμικά οξέα μπορούν να παραχθούν από τους αντίστοιχους ακόρεστους εστέρες, οι οποίοι μπορούν να προκύψουν με εστεροποίηση των αντίστοιχων ακόρεστων οξέων. Τα ακόρεστα καρβοξυλικά οξέα μπορούν να παραχθούν από τις αντίστοιχες εμπορικά διαθέσιμες αρωματικές αλδεΐδες.



Σχήμα 44: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης υδροξαμικών οξέων με έναν διπλό δεσμό

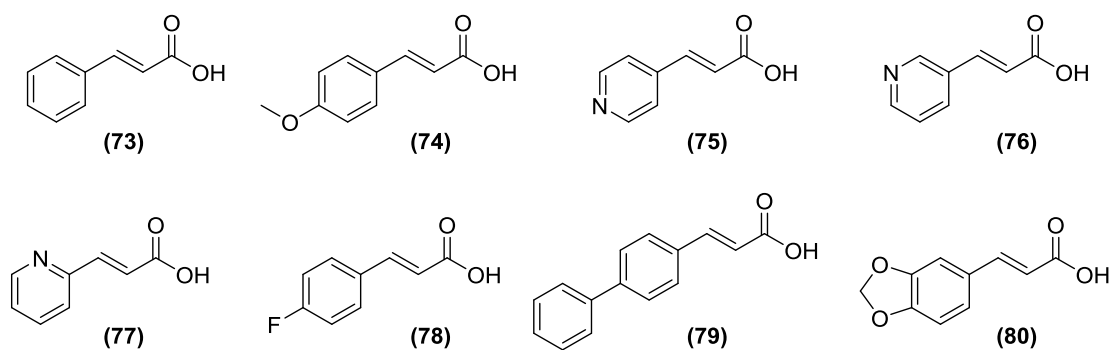
Τα ακόρεστα υδροξαμικά οξέα με δύο διπλούς δεσμούς στην ενδιάμεση ανθρακική αλυσίδα προκύπτουν από τους αντίστοιχους ακόρεστους εστέρες, οι οποίοι με τη σειρά τους μπορούν να προέλθουν από τις αντίστοιχες εμπορικά διαθέσιμες αρωματικές αλδεΐδες (Σχήμα 45).



Σχήμα 45: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης υδροξαμικών οξέων με δύο διπλούς δεσμούς

4.1.2 Σύνθεση των καρβοξυλικών οξέων με ένα διπλό δεσμό

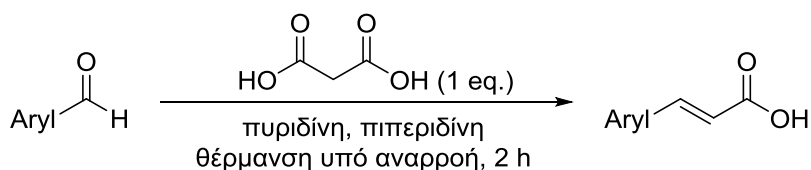
Τα καρβοξυλικά οξέα που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία για τη σύνθεση των υδροξαμικών οξέων με έναν διπλό δεσμό ανάμεσα στο αρωματικό σύστημα και στην υδροξαμική ομάδα είναι προπενικά οξέα με διπλό δεσμό στη 2-θέση και ένα αρωματικό σύστημα στη 3-θέση (Σχήμα 46).



Σχήμα 46: Καρβοξυλικά οξέα με έναν διπλό δεσμό

Από αυτά, το κινναμωμικό (**73**) και το παρα-μεθοξυ-κινναμωμικό οξύ (**74**) είναι εμπορικά διαθέσιμα, ενώ το 4'-διφαινυλο-κινναμωμικό οξύ (**79**) και το κινναμωμικό οξύ της ηλιοτροπίνης (**80**) είχαν συντεθεί παλιότερα στο εργαστήριο. Το παρα-φθορο- (**78**), το (*E*)-3-(πυριδιν-4-υλο) (**75**) και το (*E*)-3-(πυριδιν-3-υλο) ακρυλικό οξύ (**76**) παρασκευάστηκαν στο εργαστήριο από τις αντίστοιχες εμπορικά διαθέσιμες αλδεΐδες μέσω της τροποποιημένης από τους Verley-Doebner συμπύκνωσης Knoevenagel. Εξαιρέση αποτέλεσε το (*E*)-3-(πυριδιν-2-υλο) ακρυλικό οξύ (**77**) που συντέθηκε με σαπωνοποίηση του αντίστοιχου εστέρα, που προέκυψε από την αντίστοιχη εμπορικά διαθέσιμη αλδεΐδη με μία αντίδραση Wittig.

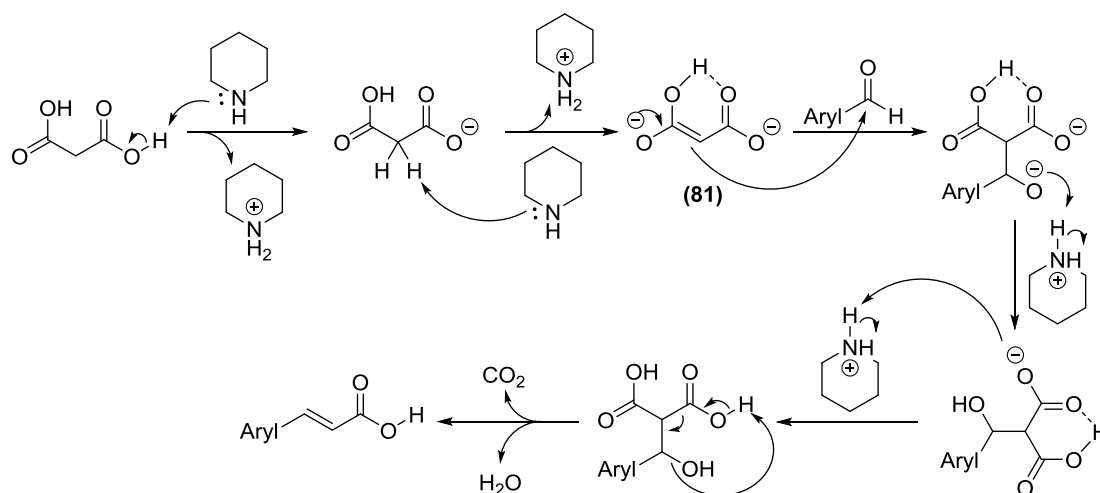
Οι αρωματικές αλδεΐδες μετατρέπονται σε ακόρεστα καρβοξυλικά οξέα μέσω της τροποποιημένης από τους Verley-Doebner συμπύκνωσης Knoevenagel, όπου αντιδρούν με το μηλονικό οξύ παρουσία πυριδίνης και καταλυτική ποσότητα πιπεριδίνης και με θέρμανση υπό αναρροή (Σχήμα 47).



Σχήμα 47: Σύνθεση ακόρεστων καρβοξυλικών οξέων μέσω της τροποποιημένης από τους Verley-Doebner συμπύκνωσης Knoevenagel

Η αντίδραση Knoevenagel χρησιμοποιεί ασθενείς αμινικές βάσεις, όπως η πιπεριδίνη. Η τροποποίηση των Verley-Doebner χρησιμοποιεί πυριδίνη ως διαλύτη και με την υψηλή θέρμανση προκαλείται αποκαρβοξυλίωση. Συγκεκριμένα στον προτεινόμενο μηχανισμό της αντίδρασης, αρχικά η πιπεριδίνη ως βάση αποσπά ένα από τα δύο όξινα πρωτόνια του μηλονικού

οξέος ελευθερώνοντας ένα ενδιάμεσο ανιόν. Με μία δεύτερη απόσπαση πρωτονίου σχηματίζεται ένα ενδιάμεσο διανιόν **(81)**, το οποίο μπορεί και σταθεροποιείται μέσω δεσμών υδρογόνου. Το διανιόν προσβάλλει τον καρβονυλικό άνθρακα της αρωματικής αλδεΐδης και μετά από δύο διαδοχικές πρωτονιώσεις και αποκαρβοξυλίωση σε υψηλή θερμοκρασία, παραλαμβάνεται το ανάλογο του κινναμωμικού οξέως (Σχήμα 48)⁶⁴⁻⁶⁵.

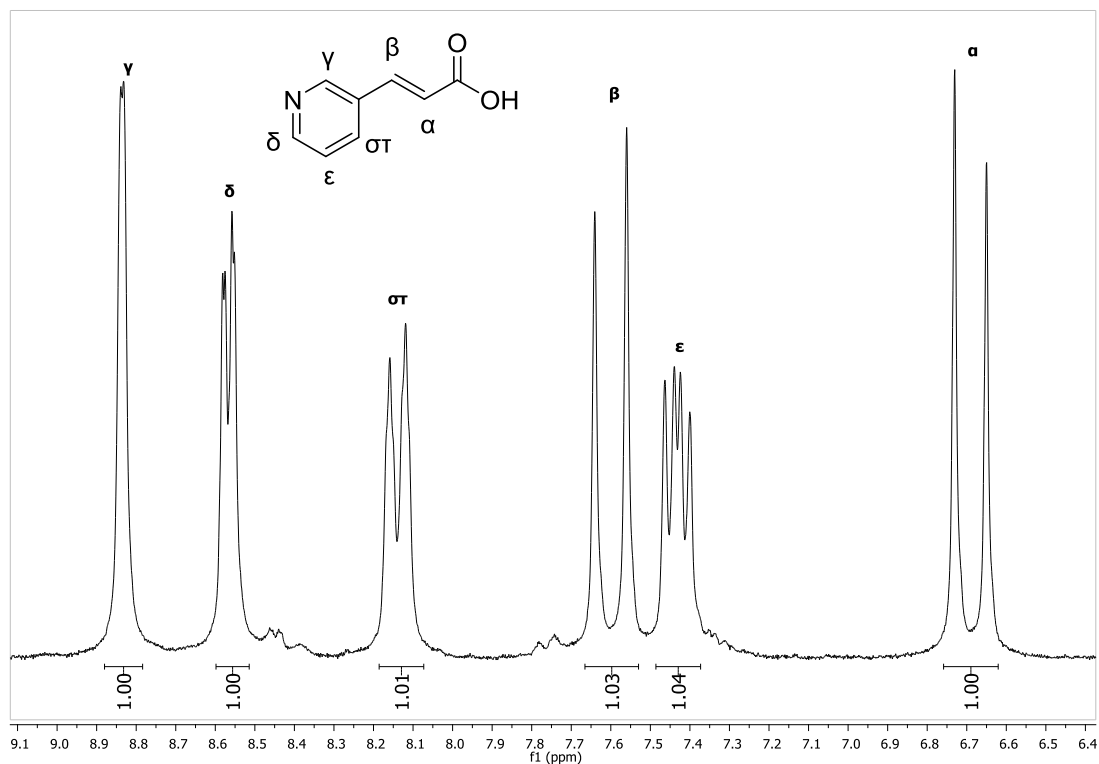


Σχήμα 48: Μηχανισμός τροποποιημένης συμπύκνωσης Knoevenagel

Στα φάσματα ^1H NMR των ενώσεων αυτών είναι χαρακτηριστική η εμφάνιση δύο διπλών κορυφών, μίας κορυφής στα 7.60 ppm περίπου και με $J=16$ Hz καθώς και μίας στα 6.60 ppm περίπου και με $J=16$ Hz, που οφείλονται στα πρωτόνια του διπλού δεσμού. Στα φάσματα ^{13}C NMR των ενώσεων αυτών χαρακτηριστική κορυφή είναι αυτή στα 167 ppm περίπου, που οφείλεται στον καρβονυλικό άνθρακα και άλλες δύο στα 140 και 120 ppm περίπου, που ανήκουν στους άνθρακες του διπλού δεσμού.

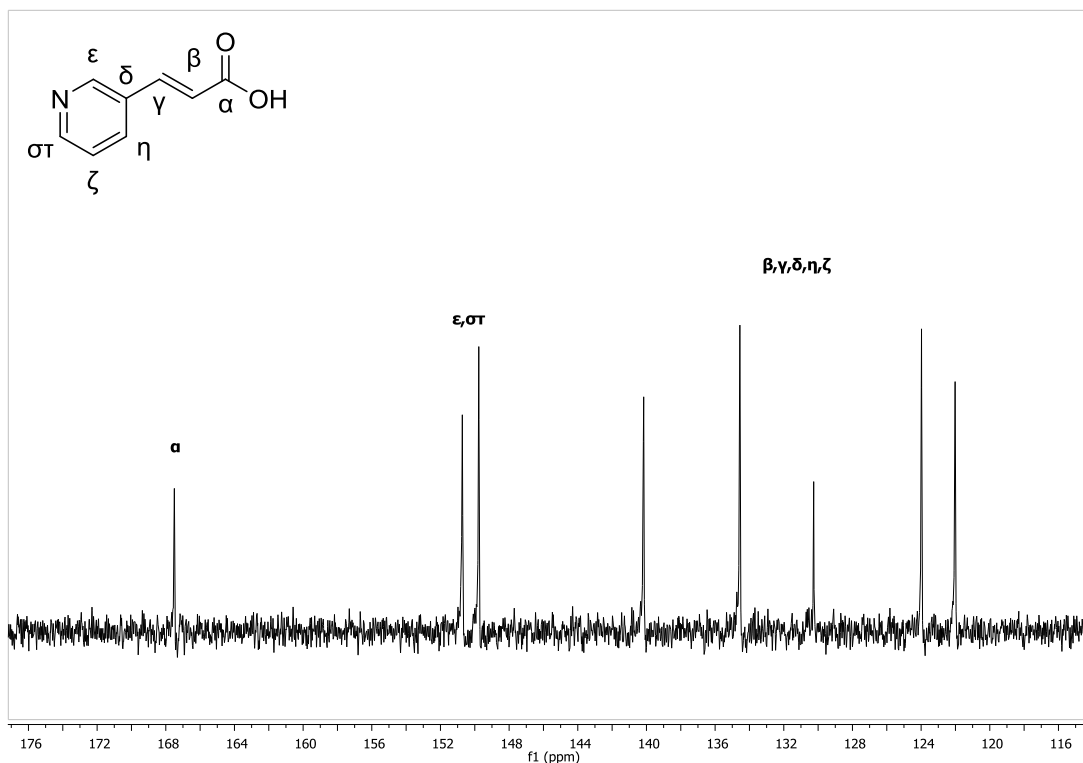
Παρακάτω παρατίθενται τα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR του (*E*)-3-(πυριδιν-3-υλο) ακρυλικού οξέος **(76)**. Στο φάσμα ^1H NMR διακρίνονται οι δύο χαρακτηριστικές διπλές κορυφές των πρωτονίων του διπλού δεσμού, που προαναφέρθηκαν. Επιπλέον, στα 8.57 ppm διακρίνεται η χαρακτηριστική μετατόπιση του πρωτονίου στη 2-θέση του αρωματικού δακτυλίου δίπλα στο άζωτο ως διπλή κορυφή, που σχάζεται ελάχιστα από το πρωτόνιο στην 4-θέση. Στα 8.14 ppm διακρίνεται ως διπλή διπλών μία κορυφή από το δεύτερο αρωματικό πρωτόνιο δίπλα στο άζωτο. Τέλος, στα 8.14 και στα 7.43 ppm,

διακρίνονται δύο κορυφές, μία διπλή και μία διπλή διπλών, που οφείλονται στα υπόλοιπα δύο αρωματικά πρωτονία (Σχήμα 49).



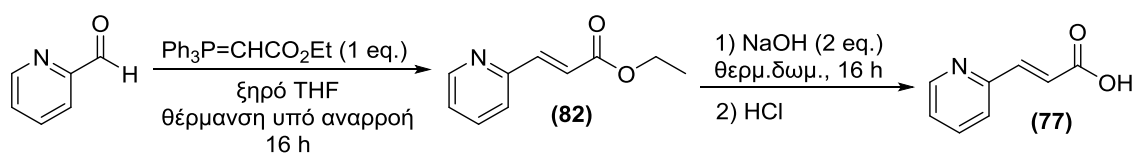
Σχήμα 49: Φάσμα ¹H NMR του (E)-3-(πυριδιν-3-υλο) ακρυλικού οξέος

Στο φάσμα ¹³C NMR διακρίνονται οι χαρακτηριστικές κορυφές που προαναφέρθηκαν, του καρβοξυλικού οξέος στα 167.5 ppm, στα 140.2 και στα 122,0 ppm για τον άνθρακα δίπλα στον αρωματικό δακτύλιο και στην καρβοξυλομάδα, αντίστοιχα. Στα 150.7 και 149.8 ppm διακρίνονται οι κορυφές των δύο υπόλοιπων αρωματικών ανθράκων, ενώ στα 130.3 ppm διακρίνεται ο τεταρτοταγής άνθρακας. Τέλος, οι κορυφές στα 134.6 και 124.0 ppm οφείλονται στους άλλους δύο αρωματικούς άνθρακες (Σχήμα 50).



Σχήμα 50: Φάσμα ^{13}C NMR του (*E*)-3-(πυριδιν-3-υλο) ακρυλικού οξέος

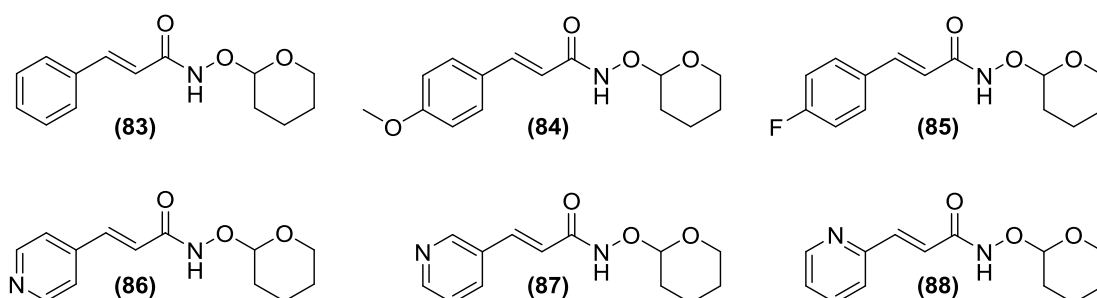
Η συμπύκνωση Knoevenagel λειτούργησε εξαιρετικά για τα παραπάνω οξέα που αναφέρθηκαν, ωστόσο εξαίρεση αποτέλεσε το (*E*)-3-(πυριδιν-2-υλο) ακρυλικό οξύ, καθώς η αντίδραση Knoevenagel δεν προχώρησε με την 2-πυριδινυλοκαρβοξυαλδεΐδη. Για αυτό τον λόγο για τη σύνθεση του (*E*)-3-(πυριδιν-2-υλο) ακρυλικού οξέος από την αντίστοιχη αλδεΐδη δοκιμάστηκε μία άλλη πορεία. Αρχικά, από την 2-πυριδινυλοκαρβοξυαλδεΐδη και με μία αντίδραση ολεφίνοποίησης Wittig με σταθεροποιημένο υλίδιο του φωσφόρου σε διαλύτη άνυδρο τετραϋδροφουράνιο και με θέρμανση υπό αναρροή συντέθηκε ο (*E*)-3-(πυριδιν-2-υλο) ακρυλικός αιθυλεστέρας (**82**). Στη συνέχεια, ο εστέρας σαπωνοποιήθηκε με υδατικό διάλειμμα υδροξειδίου του νατρίου και προέκυψε το (*E*)-3-(πυριδιν-2-υλο) ακρυλικό οξύ (**77**). Και για τους δύο τύπους αντιδράσεων θα γίνει αναφορά στη συνέχεια (Σχήμα 51).



Σχήμα 51: Σύνθεση του (*E*)-3-(πυριδιν-2-υλο) ακρυλικού οξέος

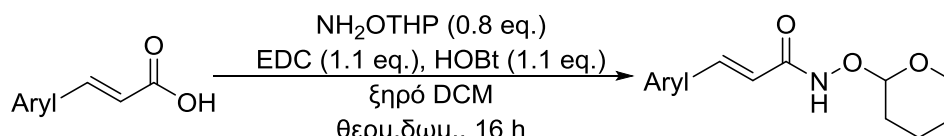
4.1.3 Σύνθεση προστατευμένων υδροξαμικών οξέων με NH₂OTHP

Το κινναμωμικό οξύ (**73**), το παρα-μεθοξυ-κινναμωμικό οξύ (**74**), το παρα-φθορο-κινναμωμικό οξύ (**75**), το (*E*)-3-(πυριδιν-4-υλο)ακρυλικό οξύ (**76**), το (*E*)-3-(πυριδιν-3-υλο)ακρυλικό οξύ (**77**) και το (*E*)-3-(πυριδιν-2-υλο)ακρυλικό οξύ (**78**) με μία αντίδραση σύζευξης προστατεύονται με την NH₂OTHP και δίνουν τα προστατευμένα παράγωγά τους (Σχήμα 52).



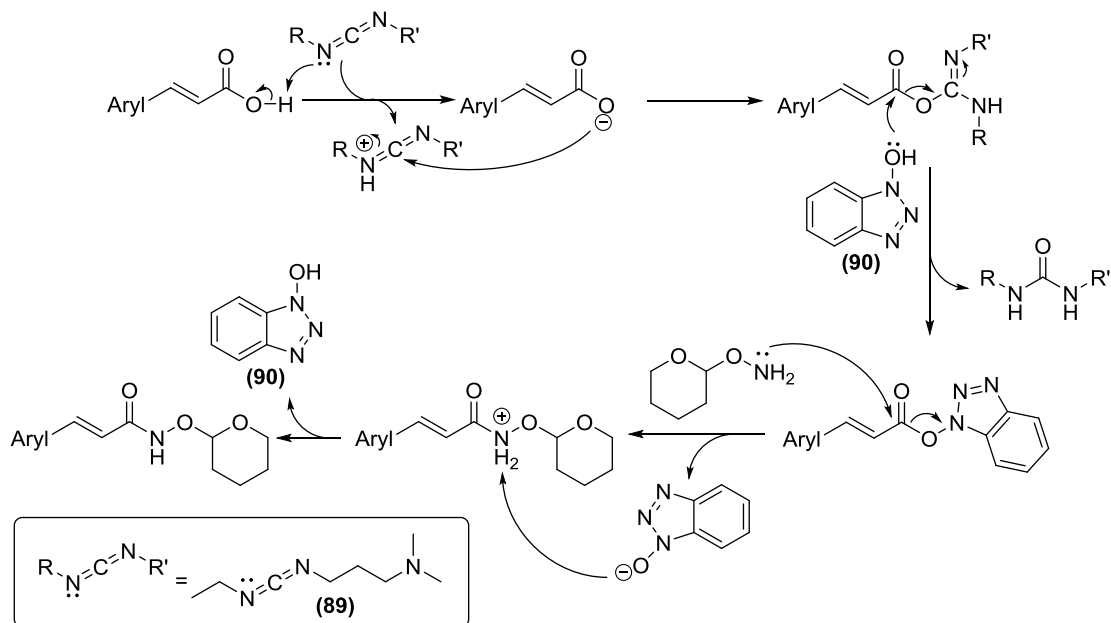
Σχήμα 52: Τα προστατευμένα υδροξαμικά οξέα που συντέθηκαν στο εργαστήριο

Τα καρβοξυλικά οξέα προστατεύονται με μία αντίδραση σύζευξης με την NH₂OTHP με τη επίδραση του EDC (**89**) και παρουσία HOBt (**90**) υπό κανονικές συνθήκες (Σχήμα 53).



Σχήμα 53: Αντίδραση σύζευξης καρβοξυλικών οξέων με την NH₂OTHP προστατευτική ομάδα

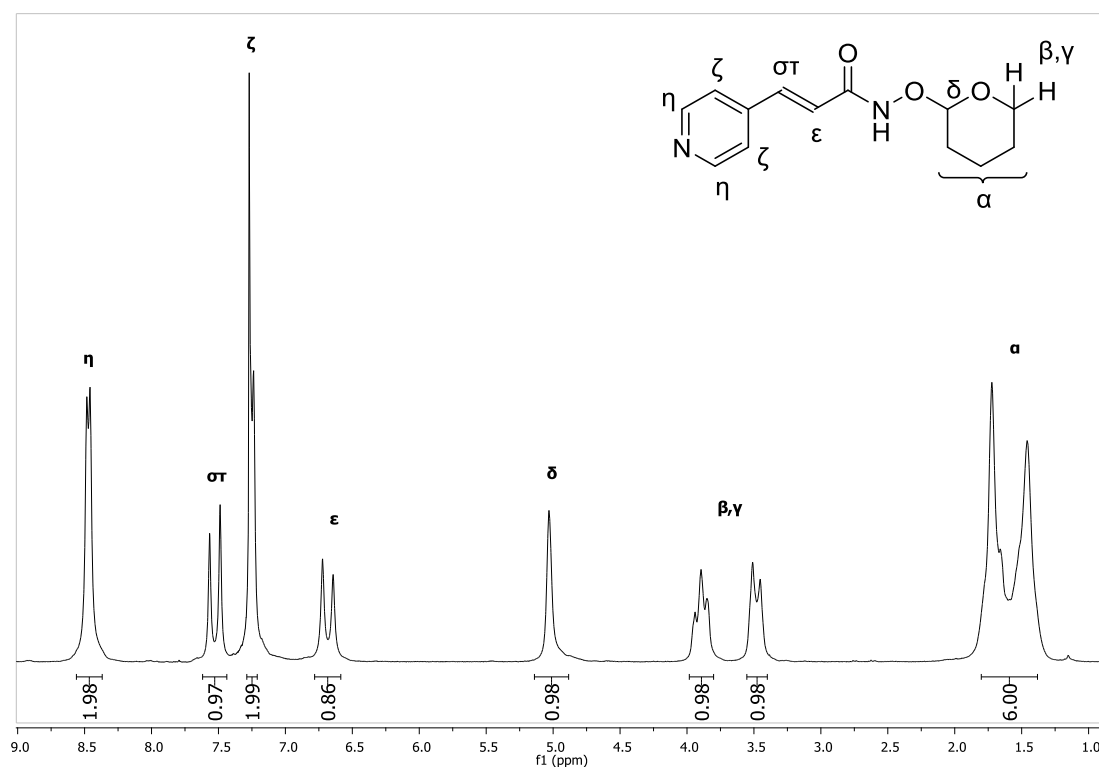
Στον μηχανισμό της αντίδρασης, αρχικά το EDC (**89**) προσβάλλει το καρβοξυλικό οξύ παίρνοντας ένα πρωτόνιο. Έτσι, σχηματίζεται ένα καρβοξυλικό ανιόν που αντιδρά με το κατιόν καρβοδιιμιδίου σχηματίζοντας μία πολύ δραστήρια O-ακυλοϊσοουρία. Το HOBt (**90**) προσβάλλει τον καρβονυλικό άνθρακα, απελευθερώνεται η αντίστοιχη ουρία και δημιουργείται ένας βενζολοτριαζολο εστέρας. Αυτόν προσβάλλει η NH₂OTHP και ελευθερώνεται ένα ανιόν του βενζοτριαζολίου, που αποσπά το πρωτόνιο του θετικά φορτισμένου αζώτου. Έτσι σχηματίζεται το προστατευμένο υδροξαμικό οξύ (Σχήμα 54).



Σχήμα 54: Μηχανισμός σύζευξης της προστατευτικής στο καρβοξυλικό οξύ

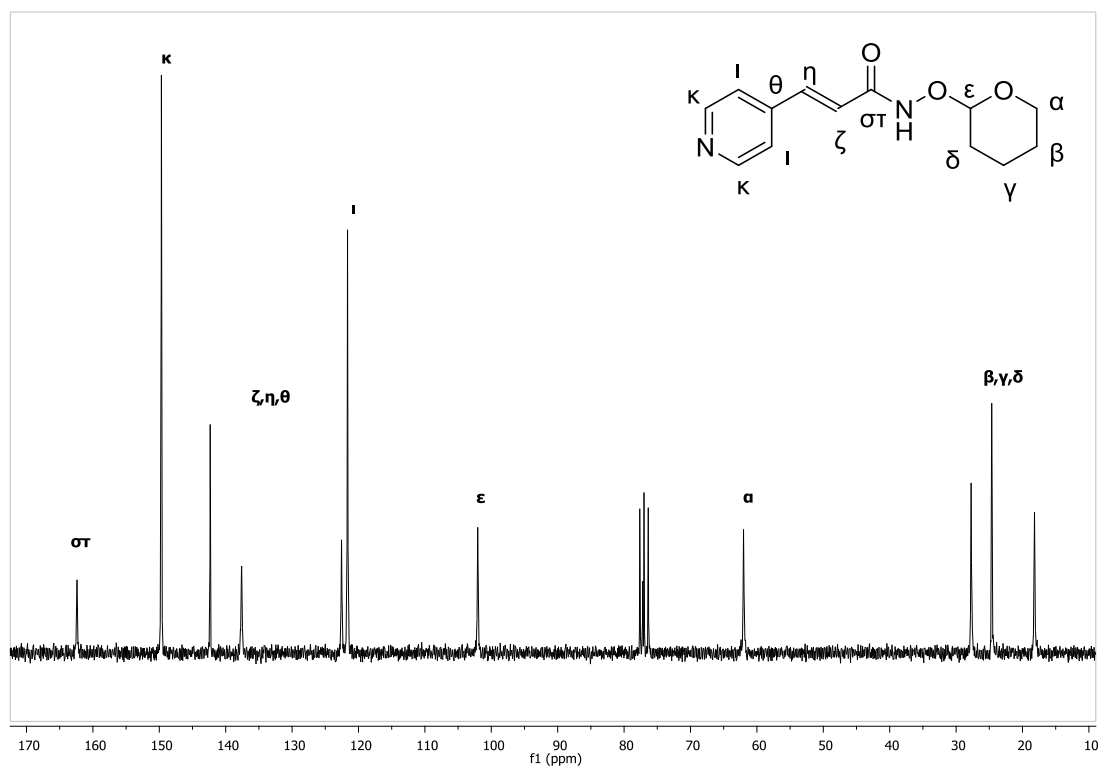
Στα φάσματα 1H NMR των ενώσεων αυτών είναι χαρακτηριστική η εμφάνιση μίας απλής κορυφής στα 5.00 ppm περίπου, που ανήκει στο πρωτόνιο ανάμεσα στα δύο οξυγόνα του τετραϋδροπυρανίου. Επιπλέον, είναι χαρακτηριστικές δύο πολλαπλές κορυφές στην περιοχή 4.00-3.50 ppm περίπου, που οφείλονται στα δύο χημικώς μη ισοδύναμα πρωτόνια δίπλα στο οξυγόνο του τετραϋδροπυρανίου καθώς και μια πολλαπλή κορυφή στα 1.50 ppm περίπου, που οφείλονται στα υπόλοιπα έξι πρωτόνια της προστατευτικής ομάδας. Στα φάσματα ^{13}C NMR διακρίνονται οι χαρακτηριστικές μετατοπίσεις στα 100 και στα 65 ppm περίπου, που οφείλονται στους άνθρακες δίπλα στα δύο οξυγόνα και στο ένα οξυγόνο αντίστοιχα, ενώ υπάρχουν και τρεις κορυφές στην αλειφατική περιοχή από την προστατευτική ομάδα. Επιπλέον, για αυτήν την κατηγορία ενώσεων αξίζει να αναφερθεί ότι σε πολλές περιπτώσεις στα φάσματα ^{13}C NMR ο καρβονυλικός άνθρακας καθώς και οι άνθρακες των διπλών δεσμών έδωσαν μία ευρεία και μικρής έντασης κορυφή, που είναι δύσκολο να παρατηρηθεί. Τέλος, κάτι παρόμοιο παρατηρήθηκε σε κάποιες περιπτώσεις και στα φάσματα 1H NMR με την θεωρητικά διπλή κορυφή στα 6.00 ppm να εμφανίζεται ως ευρεία και μειωμένης έντασης απλή κορυφή.

Παρακάτω παρατίθενται τα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR του (*E*)-3-(πυριδιν-4-υλο)-1-((τετραϋδρο-2H-πυραν-2-υλο) οξυ)ακρυλαμιδίου (**86**). Στο φάσμα του ^1H NMR, εκτός από τις προαναφερθείσες χαρακτηριστικές κορυφές, διακρίνονται στα 8.47 και στα 7.25 ppm οι δύο διπλές κορυφές των αρωματικών πρωτονίων, ενώ στα 7.53 και στα 6.68 ppm διακρίνονται οι μετατοπίσεις των πρωτονίων του διπλού δεσμού. (Σχήμα 55).



Σχήμα 55: Φάσμα ^1H του (*E*)-3-(πυριδιν-4-υλο)-1-((τετραϋδρο-2H-πυραν-2-υλο) οξυ)ακρυλαμιδίου

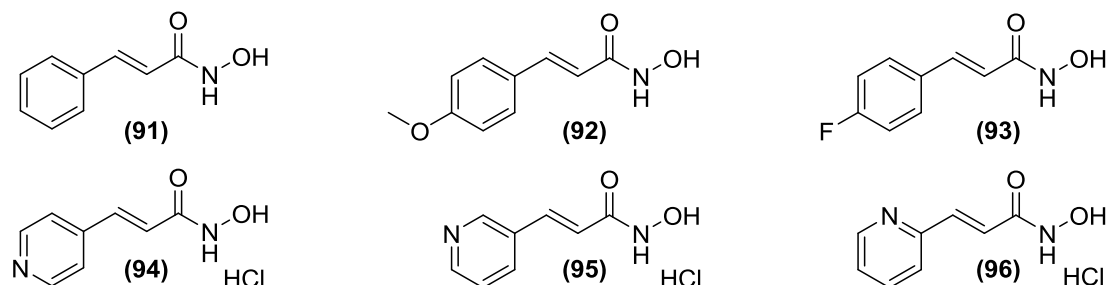
Στο φάσμα ^{13}C NMR διακρίνεται πιο απομακρυσμένη η κορυφή του άνθρακα στα 162.4 ppm, που οφείλεται στον καρβονυλικό άνθρακα. Στα 149.7, στα 137.6 και στα 121.7 ppm διακρίνονται οι χημικές μετατοπίσεις των αρωματικών ανθράκων. Οι άνθρακες του διπλού δεσμού εμφανίζονται στα 142.3 ppm και στα 122.6 ppm. Τέλος, στα 102.0 ppm, στα 62.0 ppm και στην αλειφατική περιοχή στα 28-18 ppm διακρίνονται οι χαρακτηριστικές κορυφές των ανθράκων της προστατευτικής ομάδας (Σχήμα 56).



Σχήμα 56: Φάσμα ^{13}C NMR του (*E*)-3-(πυριδιν-4-υλο)-1-((τετραϋδρο-2H-πυραν-2-υλο)οξυ)ακρυλαμιδίου

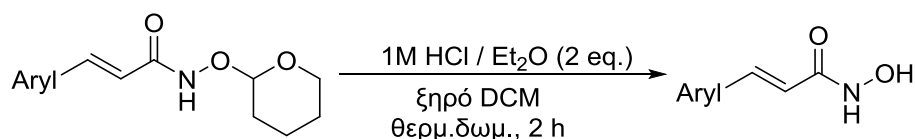
4.1.4 Σύνθεση υδροξαμικών οξέων με αποπροστασία

Από τα προστατευμένα υδροξαμικά οξέα με αποπροστασία συντέθηκαν το *N*-υδροξικινναμίδιο (**91**), το (*E*)-*N*-υδροξυ-3-(4-μεθοξυφαινυλο) ακρυλαμίδιο (**92**), το (*E*)-3-(4-φθοροφαινυλο)-*N*-υδροξυακρυλαμίδιο (**93**), το (*E*)-*N*-υδροξυ-3-(πυριδιν-4-υλο) υδροχλωρικό ακρυλαμίδιο (**94**), (*E*)-*N*-υδροξυ-3-(πυριδιν-3-υλο) υδροχλωρικό ακρυλαμίδιο (**95**) και το (*E*)-*N*-υδροξυ-3-(πυριδιν-2-υλο) υδροχλωρικό ακρυλαμίδιο (**96**) (Σχήμα 57).



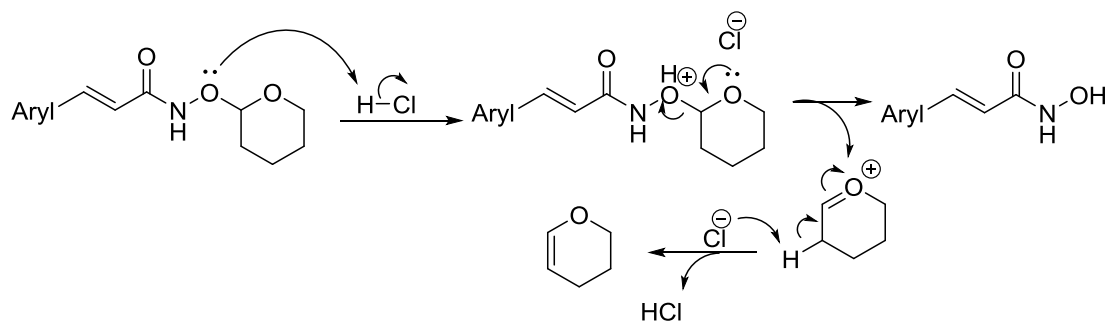
Σχήμα 57: Υδροξαμικά οξέα που συντέθηκαν με αποπροστασία

Η αντίδραση αποπροστασίας γίνεται με υδροχλωρίο 1M σε άνυδρο αιθέρα, όπου σπάει ο δεσμός με την προστατευτική ομάδα στο άζωτο και ελευθερώνεται το υδροξαμικό οξύ (Σχήμα 58).



Σχήμα 58: Αντίδραση αποπροστασίας και σύνθεση υδροξαμικών οξέων

Το οξυγόνο της προστατευτικής πρωτονιώνεται σε όξινες συνθήκες, φορτίζεται θετικά με αποτέλεσμα να σπάει ο δεσμός με την προστατευτική ομάδα ελευθερώνοντας το υδροξαμικό οξύ (Σχήμα 59).



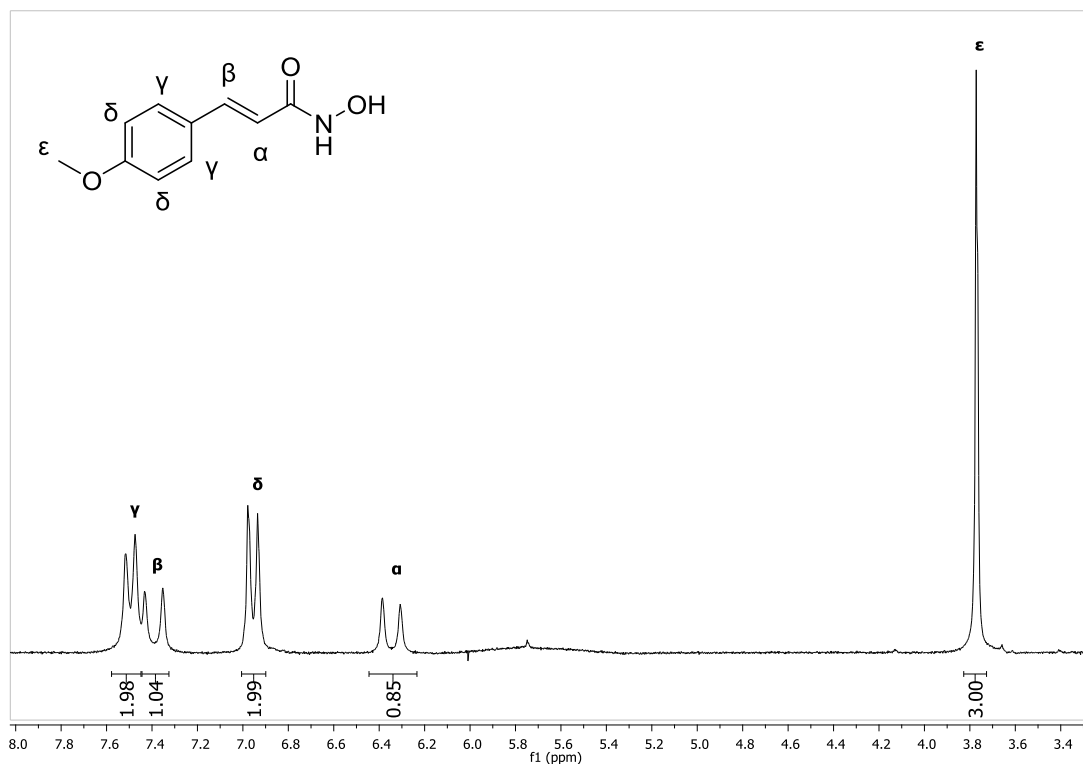
Σχήμα 59: Μηχανισμός αποπροστασίας υδροξαμικών οξέων

Αξίζει να σημειωθεί ότι τα υδροξαμικά οξέα με δακτύλιο πυριδίνης με αυτή τη μέθοδο δεν λαμβάνονται ελεύθερα, αλλά με τη μορφή υδροχλωρικού άλατος, πιθανότατα εξαιτίας του αζώτου της πυριδίνης που στις όξινες συνθήκες της αποπροστασίας πρωτονιώνεται και σχηματίζει άλας με το ανιόν του χλωρίου.

Στα φάσματα ^1H NMR των ενώσεων αυτών έχουν εξαφανιστεί οι κορυφές της προστατευτικής ομάδας, ενώ αξίζει να σημειωθεί ότι με αυτή τη μέθοδο δεν διακρίνονται τα υδροξαμικά πρωτόνια δίπλα στο άζωτο και το οξυγόνο. Στα φάσματα του ^{13}C NMR των ενώσεων αυτών διακρίνεται ο καρβονυλικός άνθρακας στα 163 ppm περίπου ανάλογα με την υποκατάσταση του αρωματικού δακτυλίου.

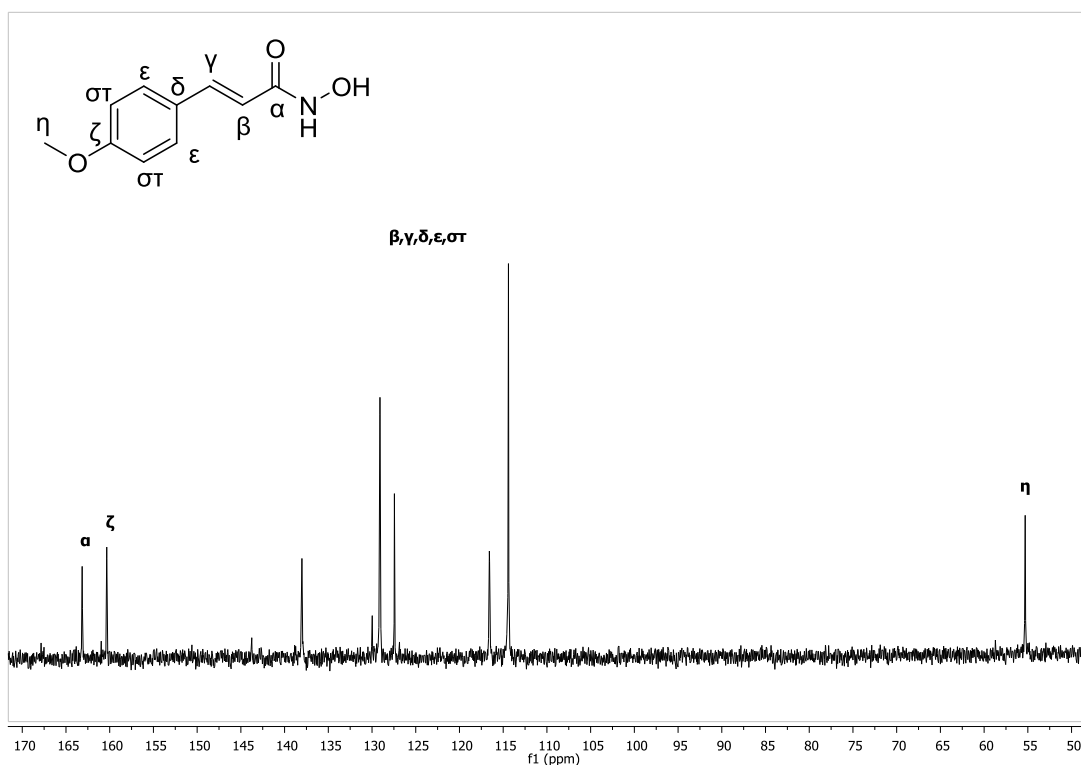
Παρακάτω παρατίθενται τα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR του (*E*)-*N*-υδροξυ-3-(4-μεθοξυφαινυλο) ακρυλαμιδίου (**92**). Στο φάσμα ^1H NMR στα 7.50 και στα 6.96 ppm διακρίνονται οι δύο διπλές κορυφές των αρωματικών πρωτονίων, στα 7.39 και στα 6.35 ppm συντονίζονται τα πρωτόνια του διπλού δεσμού, ενώ μία

απλή κορυφή στα 3.77 ppm είναι χαρακτηριστική για τα πρωτόνια της μεθοξυομάδας (Σχήμα 60).



Σχήμα 60: Φάσμα ¹H NMR του (E)-N-υδροξυ-3-(4-μεθοξυφαινυλο) ακρυλαμιδίου

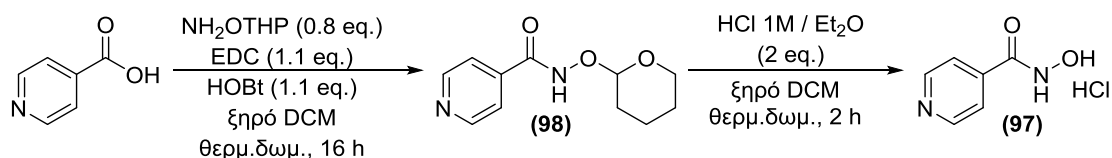
Στο φάσμα του ¹³C NMR της ένωσης, στα 163.2 ppm συντονίζεται ο άνθρακας του καρβονυλίου. Στα 160.3 ppm και στην περιοχή 140-115 ppm περίπου εντοπίζονται οι κορυφές από τους άνθρακες του αρωματικού δακτυλίου και τους άνθρακες του διπλού δεσμού., ενώ στα 55.3 ppm συντονίζεται ο άνθρακας της μεθόξυ ομάδας.(Σχήμα 61).



Σχήμα 61: Φάσμα ^{13}C NMR του (*E*)-*N*-υδροξυ-3-(4-μεθοξυφαινυλο) ακρυλαμιδίου

4.1.5 Σύνθεση υδροξαμικού οξέος ανάλογου της ισονιαζίδης

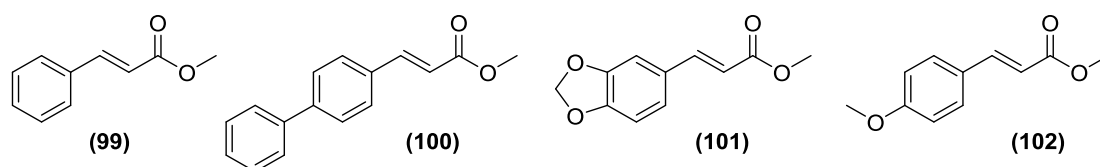
Από το ισονικωτικό οξύ, το οποίο είναι εμπορικά διαθέσιμο, με τη μέθοδο της προστασίας και αποπροστασίας μπορεί να συντεθεί το *N*-υδροξυ υδροχλωρικό ισονικωτιναμίδιο (**97**)(Σχήμα 62).



Σχήμα 62: Σύνθεση *N*-υδροξυ υδροχλωρικού ισονικωτιναμίδιου

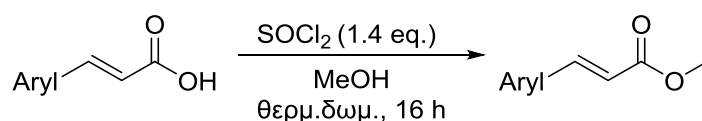
4.1.6 Σύνθεση ακόρεστων μεθυλεστέρων από καρβοξυλικά οξέα

Σε μία δεύτερη περίπτωση τα ακόρεστα καρβοξυλικά οξέα μπορούν να δώσουν ακόρεστους μεθυλεστέρες με μία απλή αντίδραση εστεροποίησης. Στο εργαστήριο συντέθηκαν ο κινναμωμικός μεθυλεστέρας (**99**), ο (*E*)-3-([1,1'-διφαινυλ]-4-υλο) ακρυλικός μεθυλεστέρας (**100**), ο (*E*)-3-(βενζο [d][1,3] διοξολ-5-υλο) ακρυλικός μεθυλεστέρας (**101**) και ο (*E*)-3-(4-μεθοξυφαινυλο) ακρυλικός μεθυλεστέρας (**102**) (Σχήμα 63).



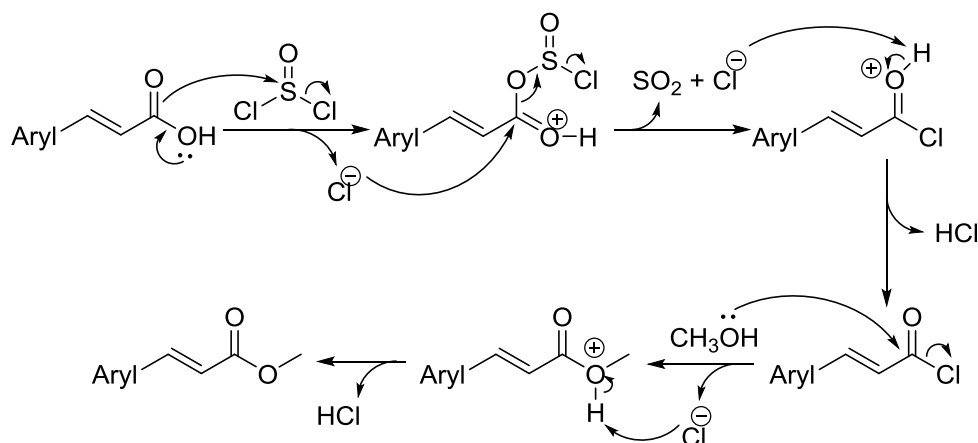
Σχήμα 63: Ακόρεστοι μεθυλεστέρες που συντέθηκαν στο εργαστήριο

Τα καρβοξυλικά οξέα εστεροποιούνται με τη βοήθεια του θειονυλοχλωριδίου αντιδρώντας με τη μεθανόλη, που είναι και διαλύτης για την αντίδραση (Σχήμα 64).



Σχήμα 64: Αντίδραση σύνθεσης μεθυλεστέρων

Στον μηχανισμό της αντίδρασης, αρχικά το θειονυλοχλωρίδιο προσβάλλεται από το οξυγόνο του καρβονυλίου, χάνοντας ένα ανιόν χλωρίου. Το ανιόν αυτό προσβάλλει τον καρβονυλικό άνθρακα, ελευθερώνεται αέριο διοξείδιο του θείου και υδροχλώριο και σχηματίζεται ένα δραστικό ενδιάμεσο χλωρίδιο. Το οξυγόνο της μεθανόλης (διαλύτης και αντιδραστήριο) προσβάλλει το καρβονύλιο, απελευθερώνει ένα ανιόν χλωρίου (πολύ καλή αποχωρούσα ομάδα) και σχηματίζεται τελικά ο ακόρεστος εστέρας και αέριο υδροχλώριο (Σχήμα 65).

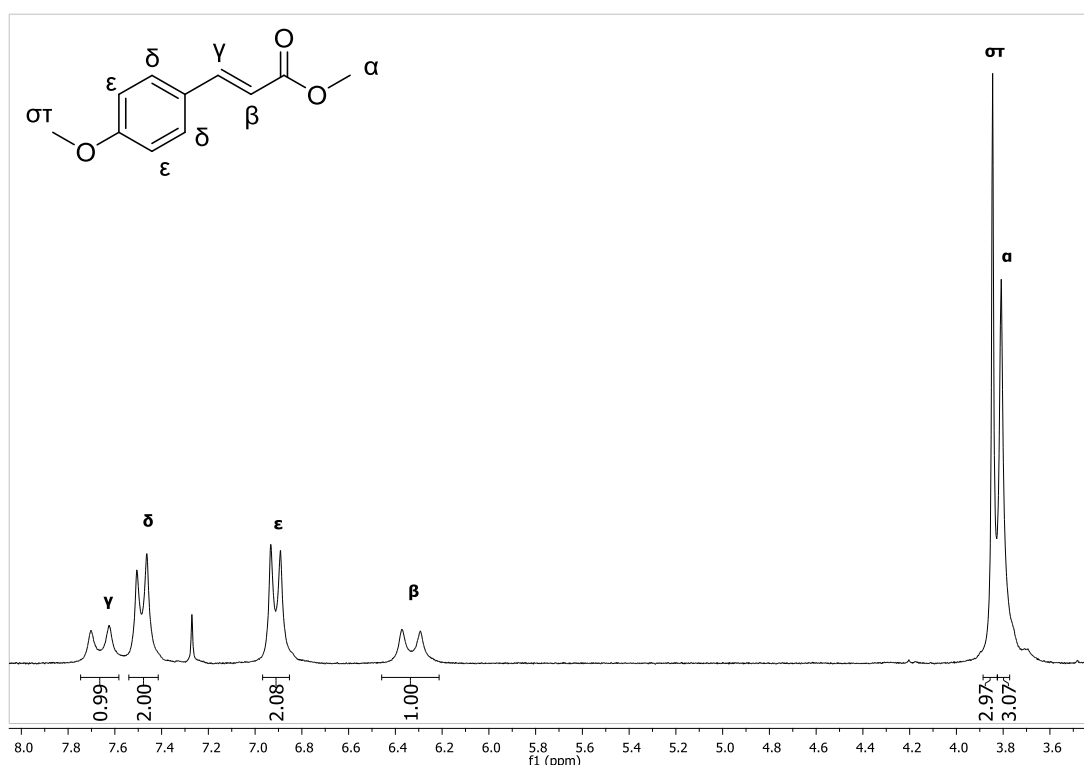


Σχήμα 65: Μηχανισμός σύνθεσης μεθυλεστέρων από καρβοξυλικά οξέα

Στα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR των ενώσεων αυτών ισχύουν όσα ήδη έχουν αναφερθεί για τα σήματα από τα πρωτόνια και τους άνθρακες των διπλών δεσμών. Διαφορετική είναι η χημική μετατόπιση που οφείλεται στη

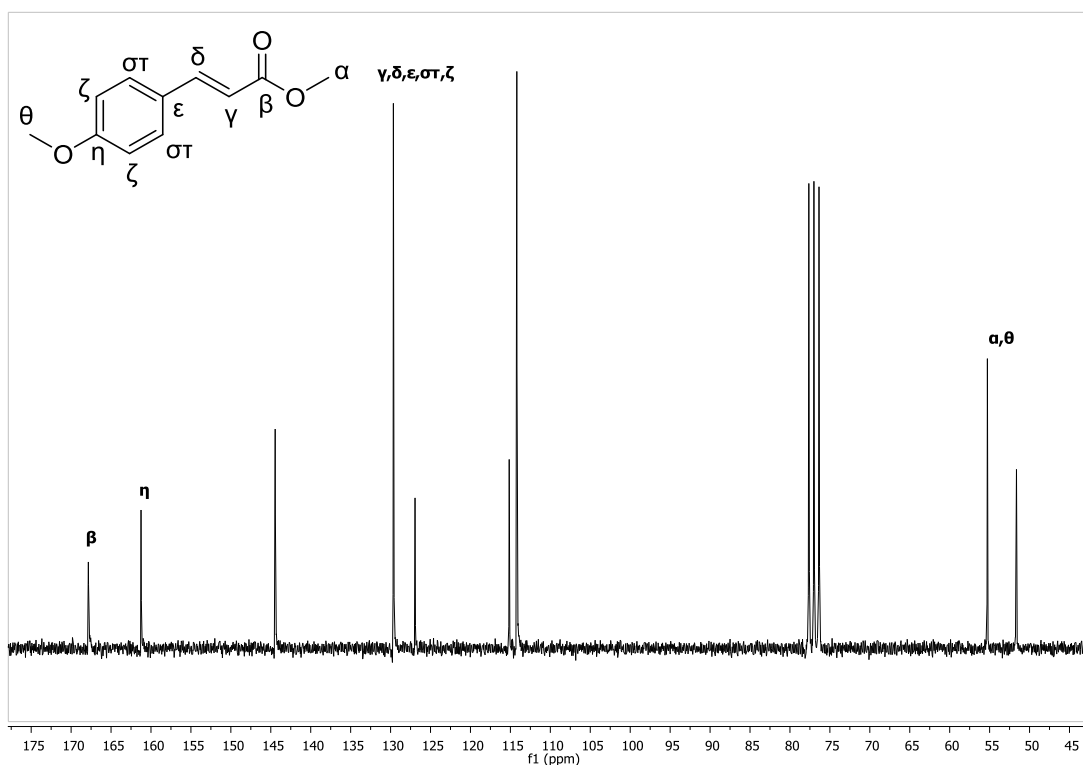
μεθυλομάδα του εστέρα. Έτσι στα φάσματα ^1H NMR διακρίνεται μία απλή κορυφή στα 3.8 ppm περίπου, ενώ στα φάσματα ^{13}C NMR εντοπίζεται μία κορυφή στα 51 ppm περίπου.

Στη συνέχεια παρατίθενται τα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR του (*E*)-3-(4-μεθοξυφαινυλο) ακρυλικού μεθυλεστέρα (**102**). Στο φάσμα ^1H NMR διακρίνεται εκτός από την παραπάνω κορυφή και άλλη μία χαρακτηριστική απλή στα 3.85 ppm από τα μεθύλια της μεθοξυ-ομάδας. Στα 7.66 ppm, στα 6.33 ppm, στα 7.49 ppm στα 6.99 ppm διακρίνονται 4 διπλές κορυφές των αρωματικών πρωτονίων και του διπλού δεσμού (Σχήμα 66).



Σχήμα 66: Φάσμα ^1H NMR του (*E*)-3-(4-μεθοξυφαινυλο) ακρυλικού μεθυλεστέρα

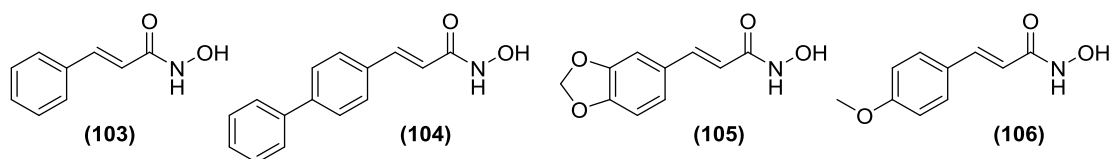
Στο φάσμα του ^{13}C NMR της ένωσης, στα 51.6 και στα 55.3 ppm διακρίνονται οι άνθρακες των δύο μεθυλομάδων. Ο καρβονυλικός άνθρακας εντοπίζεται στα 167.8 ppm και αυτός δίπλα στην μεθόξυ ομάδα στα 161 ppm. Οι υπόλοιποι ακόρεστοι άνθρακες του αρωματικού δακτυλίου και του διπλού δεσμού συντονίζονται στην περιοχή 145-112 ppm. (Σχήμα 67).



Σχήμα 67: Φάσμα ^{13}C NMR του (*E*)-3-(4-μεθοξυφαινυλο) ακρυλικού μεθυλεστέρα

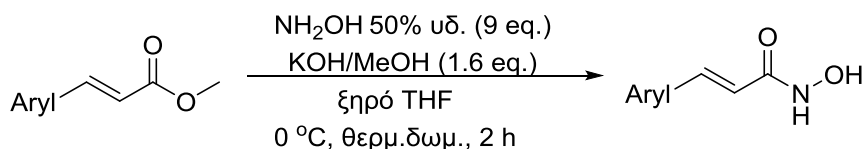
4.1.7 Σύνθεση ακόρεστων υδροξαμικών οξέων με έναν διπλό δεσμό από τους αντίστοιχους μεθυλεστέρες

Τα ακόρεστα υδροξαμικά οξέα που συντέθηκαν με τη μέθοδο αυτή είναι το *N*-υδροξυκινναμίδιο (**103**), το (*E*)-3-([1,1'-διφαινυλ]-4-υλο)-*N*-υδροξακρυλαμίδιο (**104**), το (*E*)-3-(βενζο [d][1,3] διοξολ-5-υλο)-*N*-υδροξακρυλαμίδιο (**105**) και το (*E*)-*N*-υδροξυ-3-(4-μεθοξυφαινυλο) ακρυλαμίδιο (**106**) (Σχήμα 68).



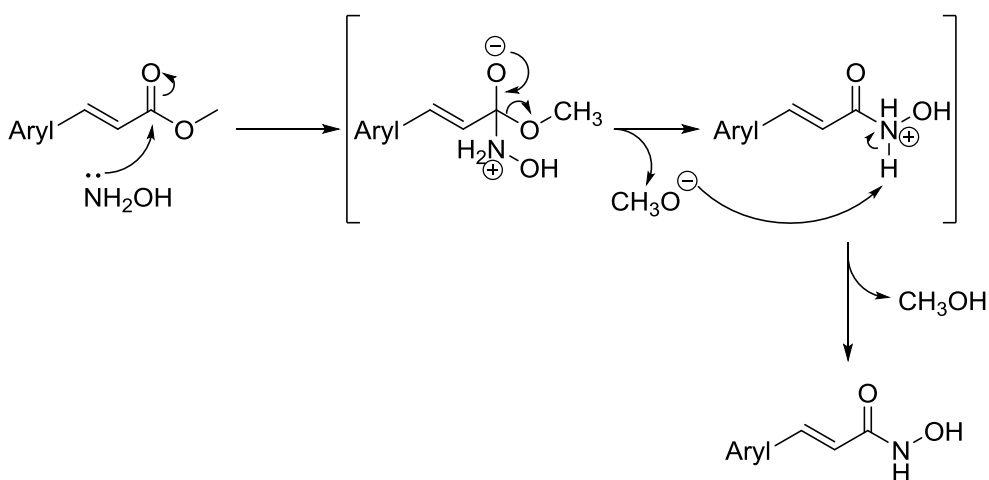
Σχήμα 68: Υδροξαμικά οξέα που συντέθηκαν στο εργαστήριο

Για να συντεθούν τα υδροξαμικά οξέα, πραγματοποιείται μία πυρηνόφιλη αντίδραση, όπου η υδροξυλαμίνη παρουσία βάσης προστίθεται στο καρβονύλιο του εστέρα (Σχήμα 69).



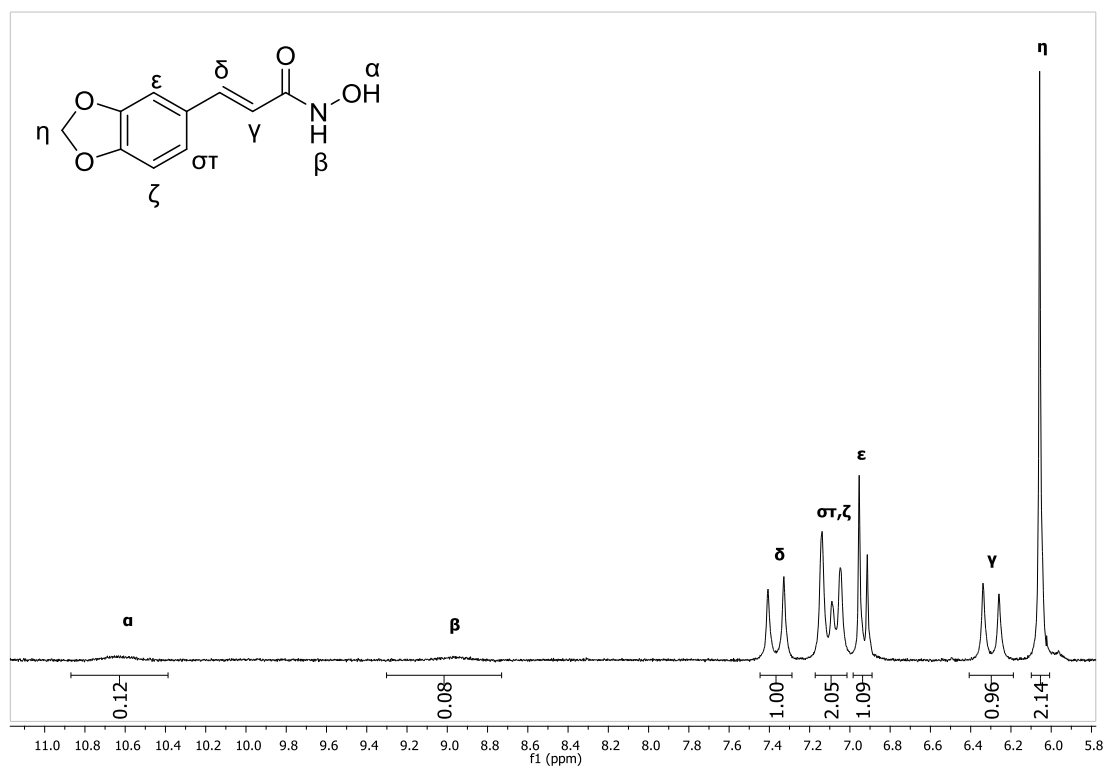
Σχήμα 69: Σύνθεση ακόρεστων υδροξαμικών οξέων από τους αντίστοιχους ακόρεστους εστέρες

Παρακάτω παρατίθεται ο πιθανός μηχανισμός της αντίδρασης. Το άζωτο της υδροξυλαμίνης προσβάλλει τον καρβονυλικό άνθρακα του εστέρα και αποχωρεί ως καλή αποχωρούσα ομάδα ένα μεθοξυ-ανιόν, το οποίο αποσπά ένα πρωτόνιο από το άζωτο και σχηματίζει ένα μόριο μεθανόλης (Σχήμα 70).



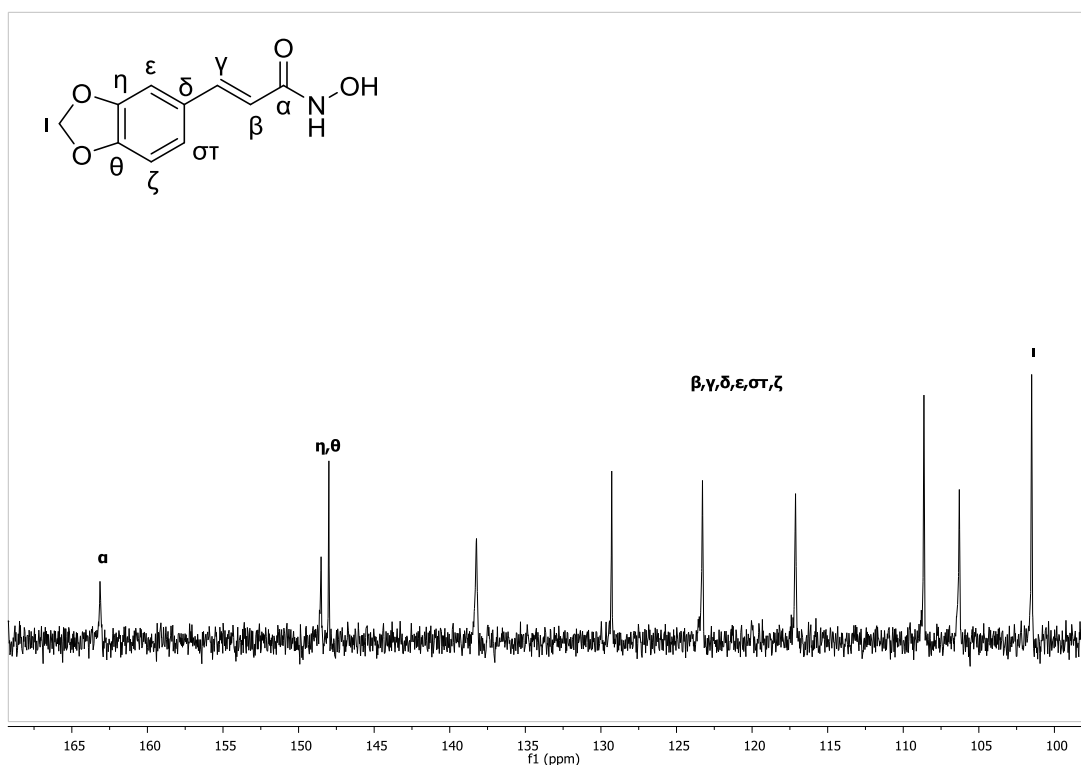
Σχήμα 70: Πιθανός μηχανισμός σύνθεσης υδροξαμικών οξέων από υδροξυλαμίνη

Για τα φάσματα ^1H NMR των υδροξαμικών οξέων έγινε αναφορά ήδη παραπάνω, ωστόσο είναι σημαντικό ότι με αυτή τη μέθοδο κάποιες φορές διακρίνονται και τα υδροξαμικά πρωτόνια δίπλα στο οξυγόνο και δίπλα στο άζωτο ως απλές κορυφές στα 10.6 και στα 8.9 ppm περίπου αντίστοιχα. Στα φάσματα ^{13}C NMR ισχύουν όσα αναφέρθηκαν ήδη για τα υδροξαμικά οξέα. Παρακάτω παρατίθενται τα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR του (*E*)-3-(βενζο [d][1,3] διοξολ-5-υλο)-*N*-υδροξακρυλαμιδίου (**105**). Στο φάσμα ^1H NMR διακρίνονται ελάχιστα δυο κορυφές στα 10.64 και στα 8.97 ppm, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως. Στα 7.37 ppm και στα 6.30 ppm δύο διπλές κορυφές, μία πολλαπλή στην περιοχή 7.19-6.98 ppm και μία διπλή στα 6.93 ppm ανήκουν στα πρωτόνια του διπλού δεσμού και στα αρωματικά. Τέλος, μία απλή κορυφή στα 6.06 ppm είναι η χαρακτηριστική μετατόπιση των δύο πρωτονίων ανάμεσα στα οξυγόνα του πενταμελή δακτυλίου (Σχήμα 71).



Σχήμα 71: Φάσμα ¹H NMR του (E)-3-(βενζο [d][1,3] διοξολ-5-υλο)-N-υδροξυακρυλαμιδίου

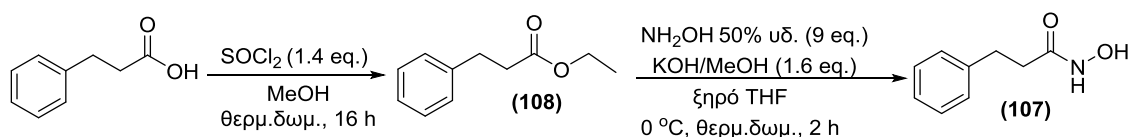
Στο φάσμα ¹³C NMR της ένωσης, στα 163.1 ppm διακρίνεται η χαρακτηριστική μετατόπιση του άνθρακα του καρβονυλίου. Στα 148.5 και στα 148.0 ppm συντονίζονται οι άνθρακες που ενώνουν τον αρωματικό δακτύλιο με τον ετεροκυκλικό πενταμελή, ενώ ο άνθρακας ανάμεσα στα οξυγόνα του πενταμελή δακτυλίου δίνει σήμα στα 101.5 ppm. Στην περιοχή 140-105 ppm εντοπίζονται οι μετατοπίσεις των υπόλοιπων αρωματικών ανθράκων και των ανθράκων του διπλού δεσμού, όπως έχει ήδη περιγραφεί (Σχήμα 72).



Σχήμα 72: Φάσμα ^{13}C NMR του (*E*)-3-(βενζο [d][1,3] διοξολ-5-υλο)-*N*-υδροξυακρυλαμιδίου

4.1.8 Σύνθεση κορεσμένων υδροξαμικών οξέων

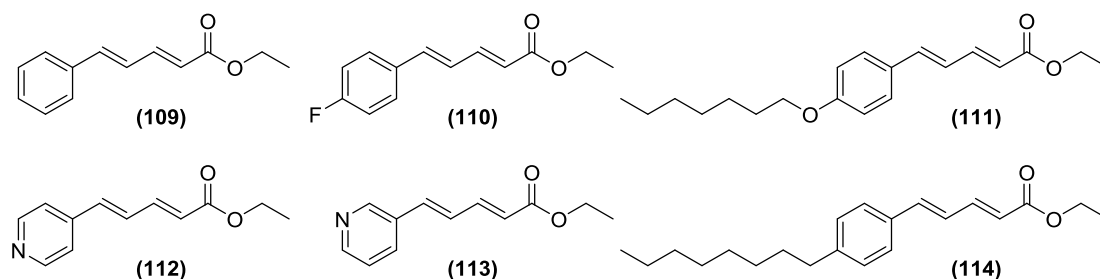
Για να εξεταστεί η αποτελεσματικότητα του διπλού δεσμού συντέθηκε το κορεσμένο υδροξαμικό οξύ *N*-υδροξυ-3-φαινυλοπροπαναμίδιο (**107**), το οποίο μπορεί να προέλθει από τον αντίστοιχο αιθυλεστέρα με μία αντίδραση με υδροξυλαμίνη και διάλυμα βάσης. Ο 3-φαινυλοπροπανοϊκός αιθυλεστέρας (**108**) παρασκευάζεται εύκολα στο εργαστήριο από το εμπορικά διαθέσιμο 3-φαινυλοπροπανοϊκό οξύ με την αντίδραση με θειονυλοχλωρίδιο και αιθανόλη (Σχήμα 73).



Σχήμα 73: Σύνθεση κορεσμένων υδροξαμικών οξέων

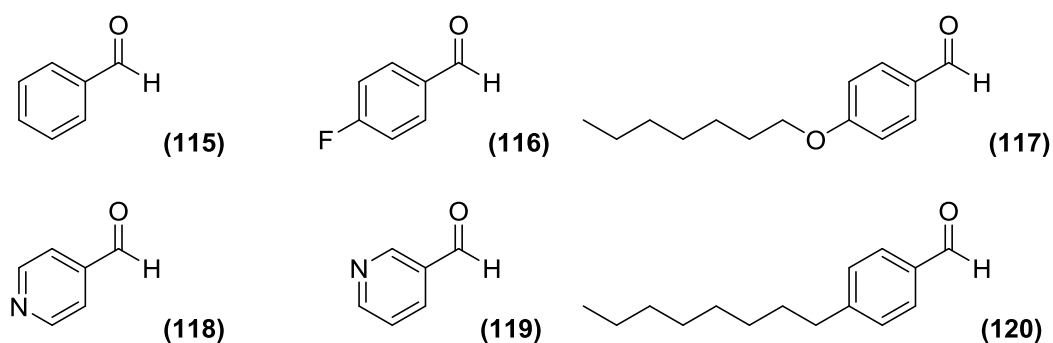
4.1.9 Σύνθεση αιθυλεστέρων με δύο διπλούς δεσμούς από τις αντίστοιχες αρωματικές αλδεΐδες

Οι ακόρεστοι εστέρες που συντέθηκαν στο εργαστήριο για τη σύνθεση υδροξαιμικών οξέων με δύο διπλούς δεσμούς στην ανθρακική αλυσίδα και ένα αρωματικό δακτύλιο στην άκρη τους είναι ο (2*E*, 4*E*)-5-φαινυλοπεντα-2,4-διενοϊκός (**109**), ο (2*E*, 4*E*)-5-(4-φθοροφαινυλο) πεντα-2,4-διενοϊκός (**110**), ο (2*E*, 4*E*)-5-(πυριδιν-4-υλο) πεντα-2,4-διενοϊκός (**111**), ο (2*E*, 4*E*)-5-(πυριδιν-3-υλο) πεντα-2,4-διενοϊκός (**112**), ο (2*E*, 4*E*)-5-(4-(επτυλοξυ) φαινυλο) πεντα-2,4-διενοϊκός (**113**) και ο (2*E*, 4*E*)-5-(4-οκτυλφαινυλο) πεντα-2,4-διενοϊκός αιθυλεστέρας (**114**) (Σχήμα 74).



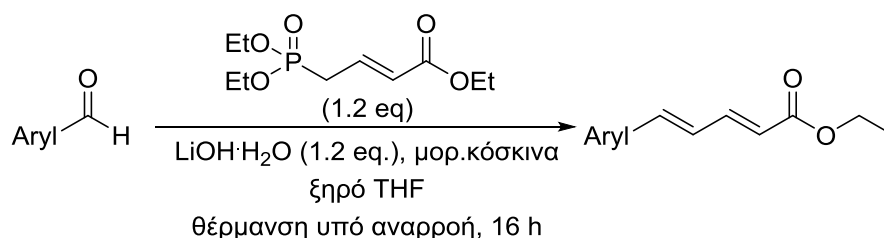
Σχήμα 74: Ακόρεστοι αιθυλεστέρες που συντέθηκαν στον εργαστήριο

Οι αιθυλεστέρες αυτοί συντέθηκαν από τις αντίστοιχες αρωματικές αλδεΐδες, τη βενζαλδεΐδη (**115**), την 4-φθοροβενζαλδεΐδη (**116**), την ισονικοτιναλδεΐδη (**118**), την νικοτιναλδεΐδη (**119**), την 4-(επτυλοξυ) βενζαλδεΐδη (**117**) και την 4-(οκτυλο)βενζαλδεΐδη (**120**) (Σχήμα 75). Από αυτές ήταν όλες εμπορικά διαθέσιμες και υπήρχαν στο εργαστήριο, εκτός από την 4-(επτυλοξυ) βενζαλδεΐδη (**117**), η οποία συντέθηκε από την παρα-υδροξυβενζαλδεΐδη με μία αντίδραση που θα περιγραφεί παρακάτω.



Σχήμα 75: Αρωματικές αλδεΐδες που χρησιμοποιήθηκαν

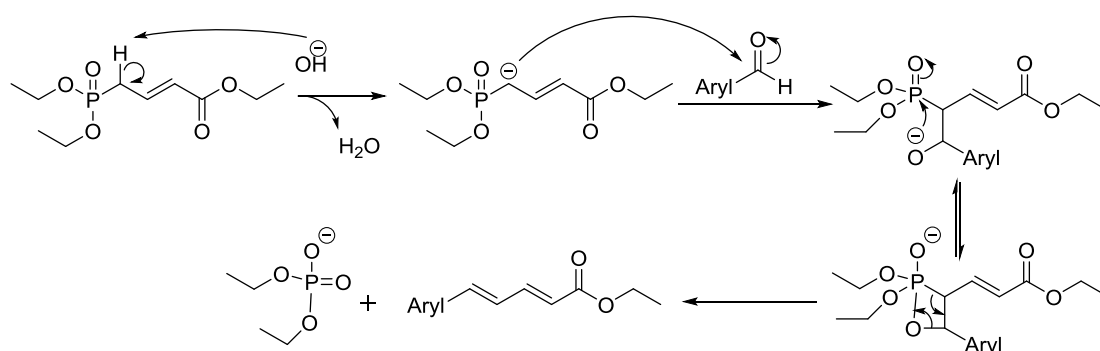
Οι αλδεΐδες μέσω της αντίδρασης Horner-Wadsworth-Emmons και με τη βοήθεια μιας βάσης (LiOH) και του κατάλληλου φωσφονικού εστέρα (4-φωσφονοκροτονικός τριαιθυλεστέρας) μετατρέπονται στους αντίστοιχους ακόρεστους εστέρες (Σχήμα 76).



Σχήμα 76: Μετατροπή της αλδεΐδας στον αντίστοιχο ακόρεστο εστέρα μέσω της αντίδρασης Horner-Wadsworth-Emmons

Η Horner-Emmons είναι τροποποίηση της αντίδρασης Wittig, που είναι μία πυρηνόφιλη προσθήκη υλιδίων του φωσφόρου σε αλδεΐδες και κετόνες για τη σύνθεση ακόρεστων εστέρων. Οι αντιδράσεις Wittig χρησιμοποιούνται βιομηχανικά σε διάφορες φαρμακευτικές εφαρμογές.

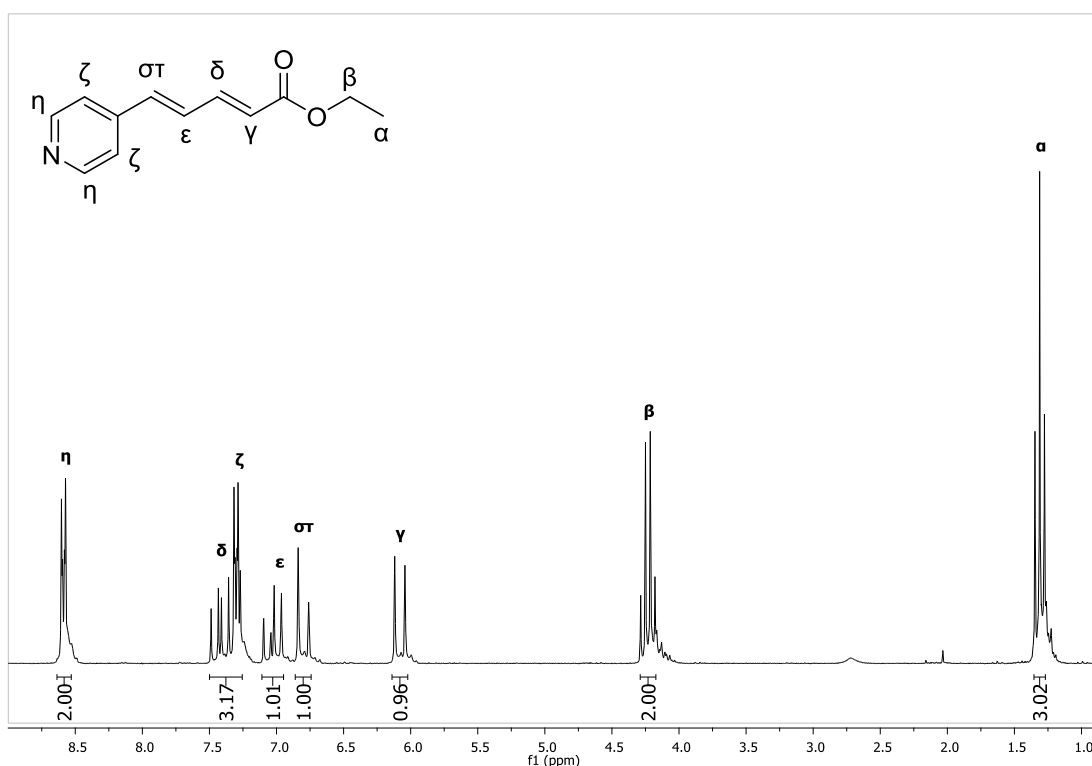
Αρχικά, το LiOH ως βάση αποσπά ένα πρωτόνιο από τον άνθρακα του φωσφονικού εστέρα, με αποτέλεσμα να τον φορτίσει αρνητικά. Το φωσφονικό ανιόν, που προκύπτει, είναι ισχυρό πυρηνόφιλο και αντιδρά με τις καρβονυλικές ενώσεις, προσβάλλοντας τον καρβονυλικό άνθρακα της αλδεΐδας. Το αποτέλεσμα είναι ο σχηματισμός ενός κυκλικού ενδιάμεσου, το οποίο τελικά αποσυντίθεται και δίνει τον ακόρεστο αιθυλεστέρα (Σχήμα 77).



Σχήμα 77: Μηχανισμός της αντίδρασης Horner-Wadsworth-Emmons

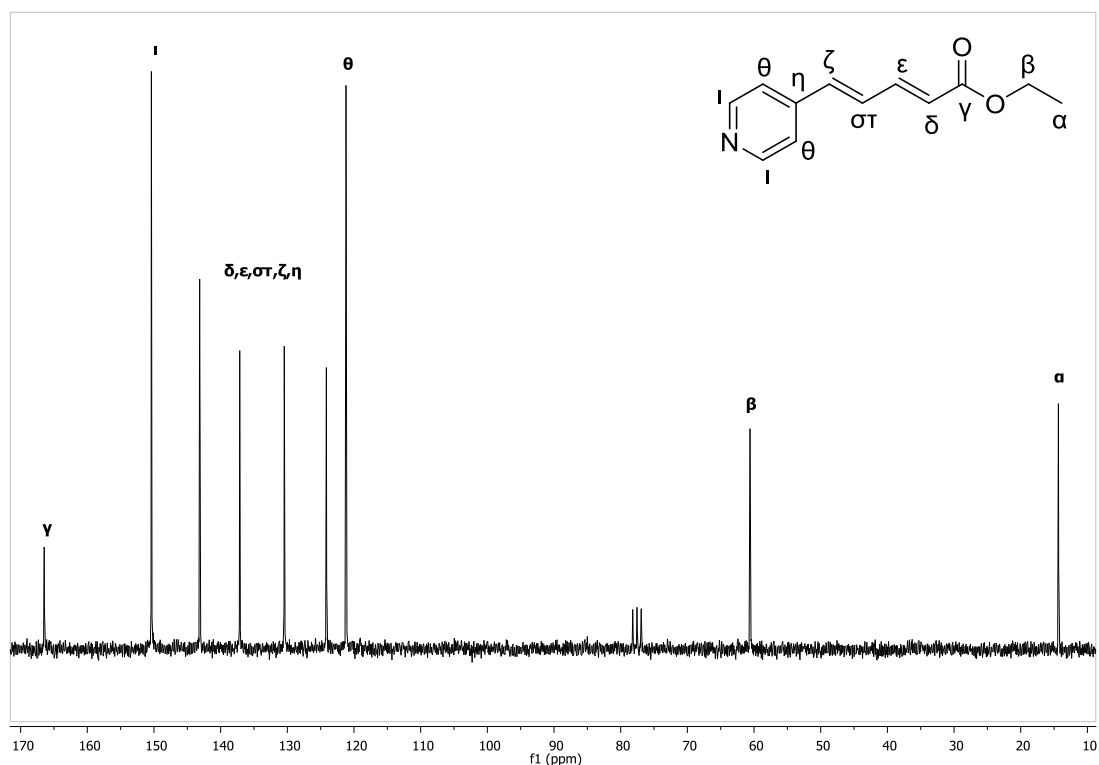
Οι ακόρεστοι αιθυλεστέρες στα φάσμα του ^1H NMR δίνουν χαρακτηριστικά μία τετραπλή κορυφή στα 4.0 ppm και μία τριπλή στα 1.2 ppm περίπου, που οφείλονται στα πρωτόνια του μεθυλενίου και της μεθυλομάδας του εστέρα.. Στο φάσμα ^{13}C NMR διακρίνονται στα 60 ppm περίπου οι χαρακτηριστικές

κορυφές για το μεθυλένιο και στα 15 ppm περίπου για το μεθύλιο του αιθυλεστέρα. Παρακάτω παρατίθενται τα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR του (2*E*, 4*E*)-5-(πυριδιν-4-υλο) πεντα-2,4-διενοϊκού αιθυλεστέρα (**112**). Στο φάσμα του ^1H NMR της ένωσης, εκτός από τα πρωτόνια του αιθυλεστέρα, διακρίνονται στα 8.59 και στα 7.30 ppm δύο διπλές των αρωματικών πρωτονίων. Μια διπλή κορυφή στα 6.08 ppm, μία στα 6.80 ppm και δύο διπλές διπλών στα 7.03 και στα 7.42 ppm ανήκουν στα ακόρεστα πρωτόνια της ανθρακικής αλυσίδας (Σχήμα 78).



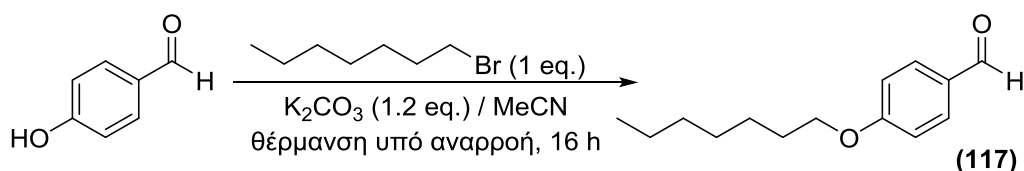
Σχήμα 78: Φάσματα ^1H NMR του (2*E*, 4*E*)-5-(πυριδιν-4-υλο) πεντα-2,4-διενοϊκού αιθυλεστέρα

Στο φάσμα ^{13}C NMR της ίδιας ένωσης διακρίνονται οι χαρακτηριστικές μετατοπίσεις των ανθράκων του αιθυλεστέρα. Στα 166.5, στα 150.4 και στα 121.2 ppm συντονίζονται οι άνθρακες του καρβονυλίου και οι 4 αρωματικοί άνθρακες. Στα 143.1 ppm, στα 124.4 ppm, στα 137.1 ppm και στα 130.5 ppm συντονίζονται οι υπόλοιποι ακόρεστοι άνθρακες (Σχήμα 79).



Σχήμα 79: Φάσμα ^{13}C NMR του (2*E*, 4*E*)-5-(πυριδιν-4-υλο) πεντα-2,4-διενοϊκού αιθυλεστέρα

Η σύνθεση της 4-(επτυλοξυ) βενζαλδεΐδης (**117**) είναι μία αντίδραση $\text{S}_{\text{N}}2$ μεταξύ της παρα-υδροξυβενζαλδεΐδης και του 1-βρωμοεπτανίου παρουσία βάσης (Σχήμα 80).



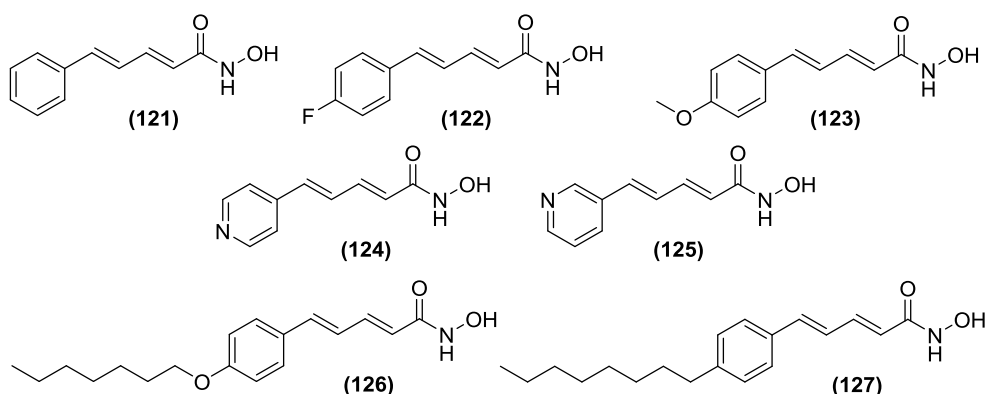
Σχήμα 80: Αντίδραση σύνθεση 4-(επτυλοξυ) βενζαλδεΐδης

Ο μηχανισμός της αντίδρασης $\text{S}_{\text{N}}2$ με αλκυλοβρωμίδια και βάση θα συζητηθεί στο υποκεφάλαιο 4.3.1.

4.1.10 Σύνθεση ακόρεστων υδροξαμικών οξέων με δύο διπλούς δεσμούς από τους αντίστοιχους αιθυλεστέρες

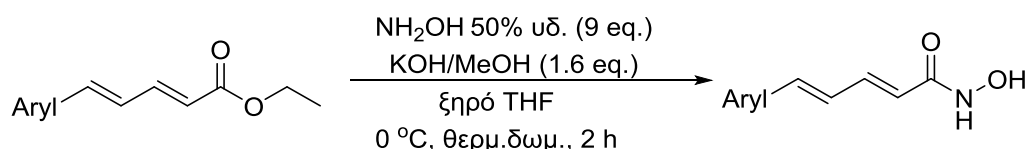
Η αντίδραση που περιγράφηκε στο κεφάλαιο 4.1.6. χρησιμοποιήθηκε για να συντεθούν ακόρεστα υδροξαμικά οξέα με δύο διπλούς δεσμούς από τους αντίστοιχους ακόρεστους αιθυλεστέρες του προηγούμενου βήματος. Το μόνο που αλλάζει είναι ότι οι ενώσεις είχαν έναν επιπλέον διπλό δεσμό και ότι η

πρώτη ύλη ήταν αιθυλεστέρας και όχι μεθυλεστέρας. Συγκεκριμένα, στο εργαστήριο συντέθηκαν το (2*E*, 4*E*)-*N*-υδροξυ-5-φαινυλοπεντα-2,4-διεναμίδιο (**121**), το (2*E*, 4*E*)-5-(4-φθοροφαινυλο)-*N*-υδροξυπεντα-2,4-διεναμίδιο (**122**), το (2*E*, 4*E*)-*N*-υδροξυ-5-(4-μεθοξυφαινυλο) πεντα-2,4-διεναμίδιο (**123**), το (2*E*, 4*E*)-*N*-υδροξυ-5-(πυριδιν-4-υλο) πεντα-2,4-διεναμίδιο (**124**), το (2*E*, 4*E*)-*N*-υδροξυ-5-(πυριδιν-3-υλο) πεντα-2,4-διεναμίδιο (**125**), το (2*E*, 4*E*)-5-(4-(επτυλοξυ) φαινυλο)-*N*-υδροξυπεντα-2,4-διεναμίδιο (**126**) και το (2*E*, 4*E*)-*N*-υδροξυ-5-(4-οκτυλφαινυλο) πεντα-2,4-διεναμίδιο (**127**) (Σχήμα 81).



Σχήμα 81: Υδροξαμικά οξέα με δύο διπλούς δεσμούς στην ενδιάμεση ανθρακική αλυσίδα, τα οποία συντέθηκαν στο εργαστήριο

Η αντίδραση πραγματοποιείται με περίσσεια υδροξυλαμίνης και διαλύματος υδροξειδίου του καλίου και μεθανόλης (Σχήμα 82).

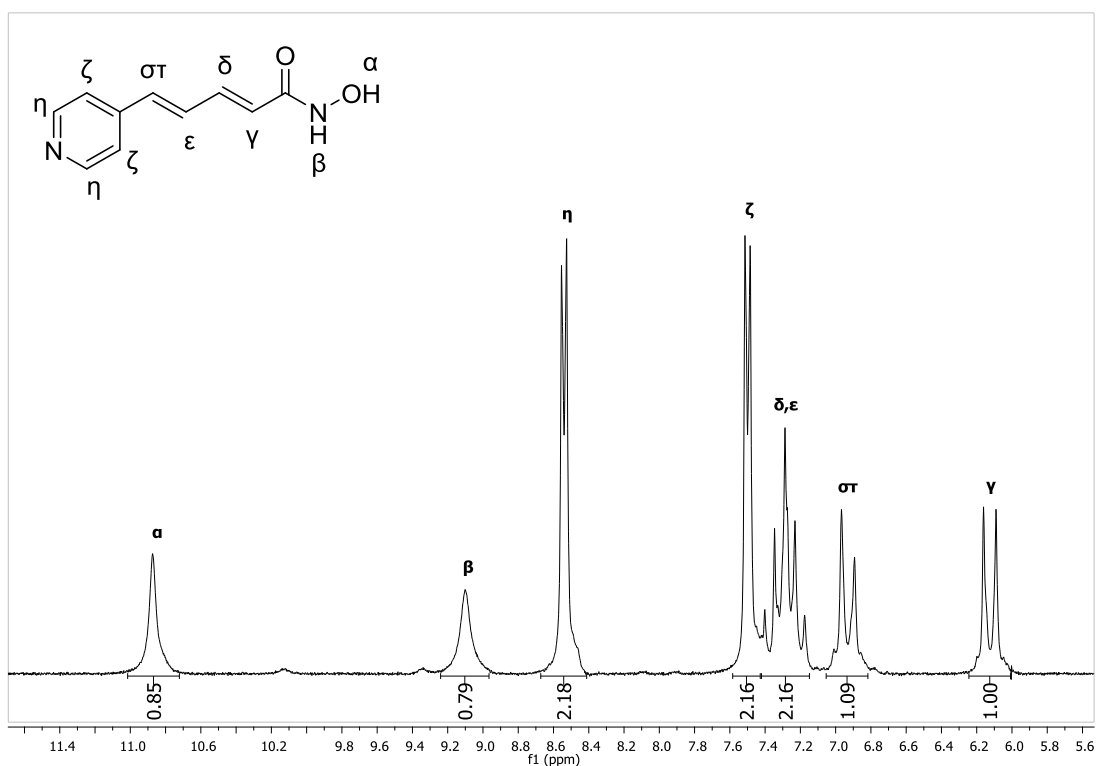


Σχήμα 82: Αντίδραση σύνθεσης υδροξαμικών οξέων με υδροξυλαμίνη

Στα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR έχουν εξαφανιστεί οι κορυφές του εστέρα στα αλειφατικά, ενώ στο φάσμα ^1H NMR διακρίνονται σε ορισμένες περιπτώσεις τα πρωτόνια του αζώτου και του οξυγόνου της υδροξαμικής ομάδας.

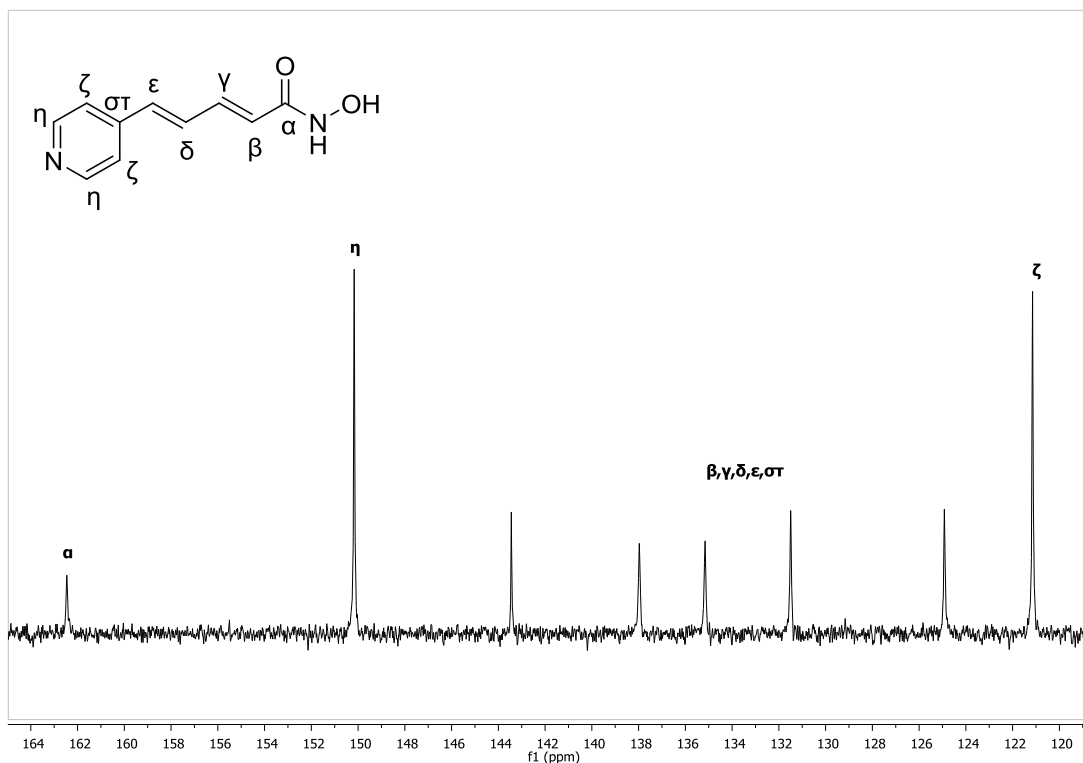
Παρακάτω παρατίθενται τα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR του (2*E*, 4*E*)-*N*-υδροξυ-5-(πυριδιν-4-υλο) πεντα-2,4-διεναμίδιου (**124**). Στο φάσμα ^1H NMR διακρίνονται οι απλές κορυφές στα 10.87 και στα 9.10 ppm των υδροξαμικών πρωτονίων δίπλα στο οξυγόνο και δίπλα στο άζωτο, αντίστοιχα. Δύο διπλές κορυφές στα 8.54 και στα 7.50 ppm είναι χαρακτηριστικές των δύο ομάδων

αρωματικών πρωτονίων, ενώ στα 6.13 και στα 6.93 ppm δύο διπλές και στην περιοχή 7.40-7.15 ppm μια πολλαπλή κορυφή ανήκουν στα πρωτόνια των δύο διπλών δεσμών (Σχήμα 83).



Σχήμα 83: Φάσμα ¹H NMR του (2E,4E)-N-υδροξυ-5-(πυριδιν-4-υλο) πεντα-2,4-διεναμιδίου

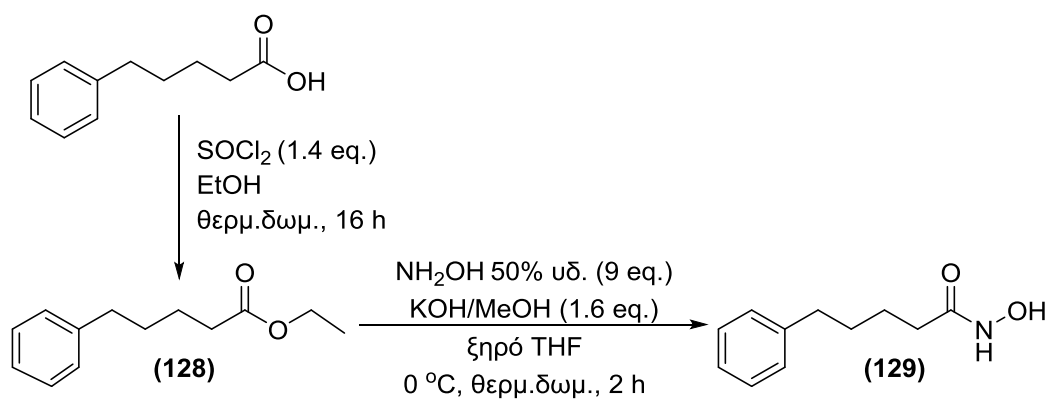
Στο φάσμα ¹³C NMR της ίδιας ένωσης, διακρίνεται στα 162.5 ppm η κορυφή του άνθρακα του καρβονυλίου. Στην περιοχή 150-121 ppm διακρίνονται οι αρωματικοί άνθρακες και οι ακόρεστοι των διπλών δεσμών (Σχήμα 84).



Σχήμα 84: Φάσμα ^{13}C NMR του (2*E*,4*E*)-*N*-υδροξυ-5-(πυριδιν-4-υλο) πεντα-2,4-διεναμιδίου

4.1.11 Σύνθεση κορεσμένων υδροξαμικών οξέων με 4 άνθρακες

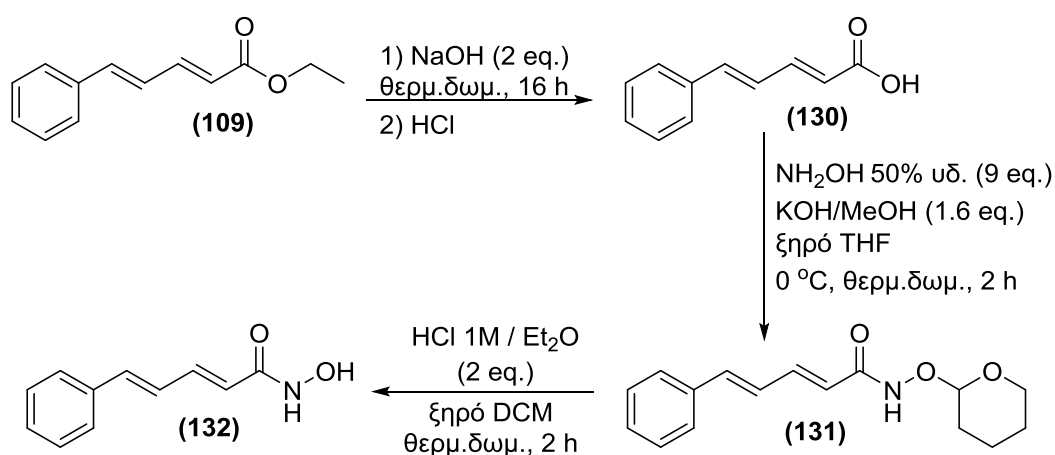
Με την ίδια πορεία όπως με τα κορεσμένα υδροξαμικά με 2 ενδιάμεσους άνθρακες συντίθενται και κορεσμένα υδροξαμικά οξέα με 4 ενδιάμεσους άνθρακες. Από το 5-φαινυλοβαλερικό οξύ συντίθενται ο 5-φαινυλοπεντανοϊκός αιθυλεστέρας (**128**), ο οποίος με υδροξυλαμίνη δίνει το *N*-υδροξυ-5-φαινυλοπενταναμίδιο (**129**) (Σχήμα 85).



Σχήμα 85: Σύνθεση κορεσμένων υδροξαμικών οξέων με 4 ενδιάμεσους άνθρακες

4.1.12 Σύνθεση ακόρεστου υδροξαμικού οξέος με 4 άτομα άνθρακα με τη μέθοδο της προστασίας και αποπροστασίας

Για λόγους σύγκρισης το (2*E*, 4*E*)-*N*-υδροξυ-5-φαινυλοπεντα-2,4-διεναμίδιο (**132**) συντέθηκε και με τη μέθοδο της προστασίας και αποπροστασίας. Έτσι, από τον ακόρεστο αιθυλεστέρα (**109**), η σύνθεση του οποίου περιγράφηκε προηγουμένως, παρασκευάστηκε το αντίστοιχο οξύ (**130**) με σαπωνοποίηση και μετά μέσω του αντίστοιχου προστατευμένου υδροξαμικού οξέος (**131**) συντέθηκε το (2*E*, 4*E*)-*N*-υδροξυ-5-φαινυλοπεντα-2,4-διεναμίδιο (**132**) (Σχήμα 86).



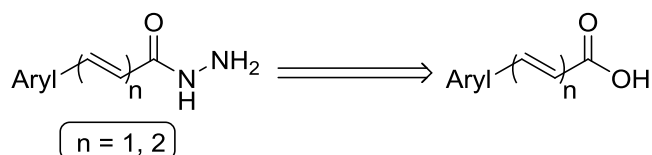
Σχήμα 86: Σύνθεση του (2*E*, 4*E*)-*N*-υδροξυ-5-φαινυλοπεντα-2,4-διεναμιδίου

4.2 Σχεδιασμός ακόρεστων υδραζιδίων

Εκτός από τα υδροξαμικά οξέα, στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν και ακόρεστα υδραζίδια με έναν ή δύο διπλούς δεσμούς και διαφορετικά αρωματικά συστήματα, τα οποία παρουσιάζουν δομή παρόμοια με αυτή της υδραζίνης.

4.2.1 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης υδραζιδίων

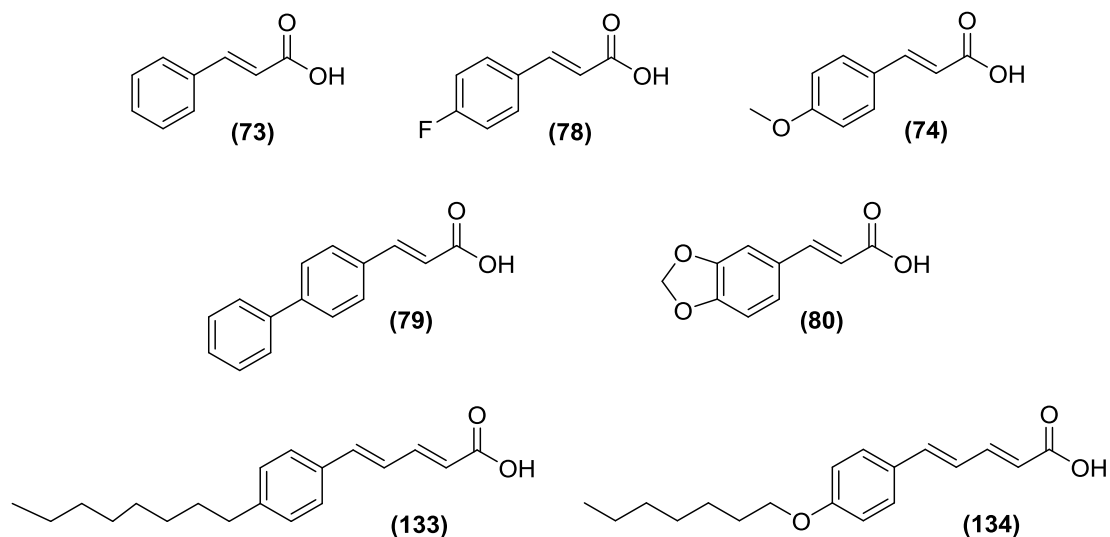
Τα ακόρεστα υδραζίδια με έναν ή δύο διπλούς δεσμούς μπορούν να προέλθουν από τα αντίστοιχα καρβοξυλικά οξέα με μία αντίδραση σύζευξης με υδροξυλαμίνη (Σχήμα 87).



Σχήμα 87: Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης υδραζιδίων

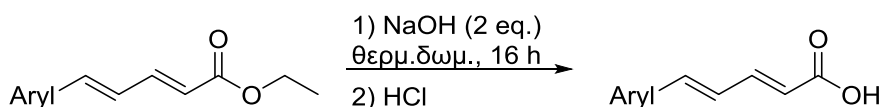
4.2.2 Σύνθεση ακόρεστων οξέων με διπλό δεσμό

Τα καρβοξυλικά οξέα που χρησιμοποιήθηκαν για τις συνθέσεις αυτές είναι το κινναμωμικό (**73**), το (*E*)-3-(4-φθοροφαινυλο) ακρυλικό (**78**), το πάρα-μεθόξυκινναμωμικό (**74**), το (*E*)-3-([1,1'-διφαινυλ]-4-υλο) ακρυλικό οξύ (**79**), το (*E*)-3-(βενζο [ά] [1,3] διοξολ-5-υλο) ακρυλικό οξύ (**80**), το (2*E*, 4*E*)-5-(4-οκτυλφαινυλο) πεντα-2,4-διενοϊκό (**133**) και το (2*E*, 4*E*)-5-(4-(επτυλοξυ)φαινυλο) πεντα-2,4-διενοϊκό οξύ (**134**) (Σχήμα 88)



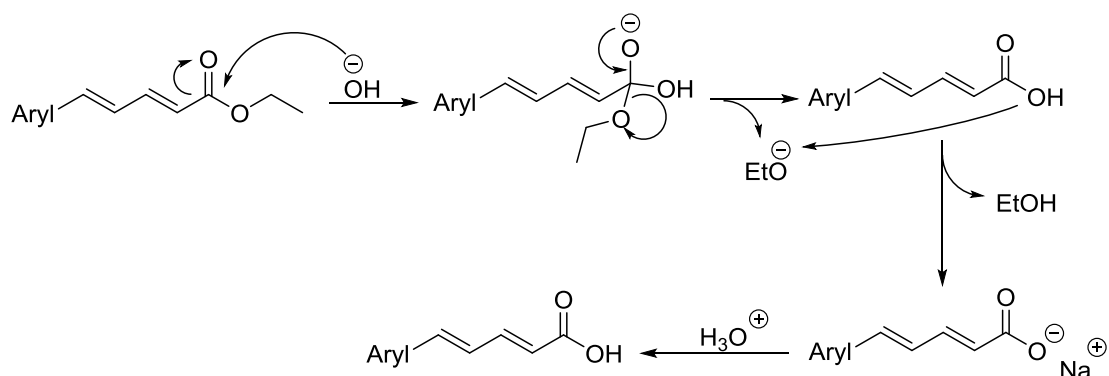
Σχήμα 88: Καρβοξυλικά οξέα, που χρησιμοποιήθηκαν ως πρώτες ύλες για τη σύνθεση υδραζιδίων

Για τα 5 πρώτα έχει γίνει ήδη αναφορά. Τα δύο τελευταία συντέθηκαν από τους αντίστοιχους αιθυλεστέρες, τον (2*E*, 4*E*)-5-(4-(επτυλοξυ)φαινυλο) πεντα-2,4-διενοϊκό (**111**) και τον (2*E*, 4*E*)-5-(4-οκτυλφαινυλο) πεντα-2,4-διενοϊκός αιθυλεστέρα (**114**) με μία αντίδραση σαπωνοποίησης. Οι εστέρες υδρολύονται σε υδατικό διάλυμα καυστικού νατρίου (Σχήμα 89).



Σχήμα 89: Αντίδραση σαπωνοποίησης εστέρων προς σχηματισμό οξέων

Η διαδικασία της σαπωνοποίησης είναι μια πυρηνόφιλη άκυλο υποκατάσταση. Αρχικά, το ιόν του υδροξειδίου προερχόμενο από τη βάση, προσβάλλει τον καρβονυλικό άνθρακα του εστέρα, σχηματίζοντας ένα τετραεδρικό αλκοξειδικό ενδιάμεσο. Στη συνέχεια, το ιόν του αλκοξειδίου αποσπάται σχηματίζοντας το καρβοξυλικό οξύ. Το αλκοξειδικό ιόν αποσπά το όξινο πρωτόνιο του καρβοξυλικού οξέος, σχηματίζοντας έτσι ένα καρβοξυλικό ανιόν, ενώ με προσθήκη τελικά υδατικού διαλύματος ανόργανου οξέος, το καρβοξυλικό ανιόν πρωτονιώνεται, σχηματίζοντας το ελεύθερο καρβοξυλικό οξύ (Σχήμα 90).

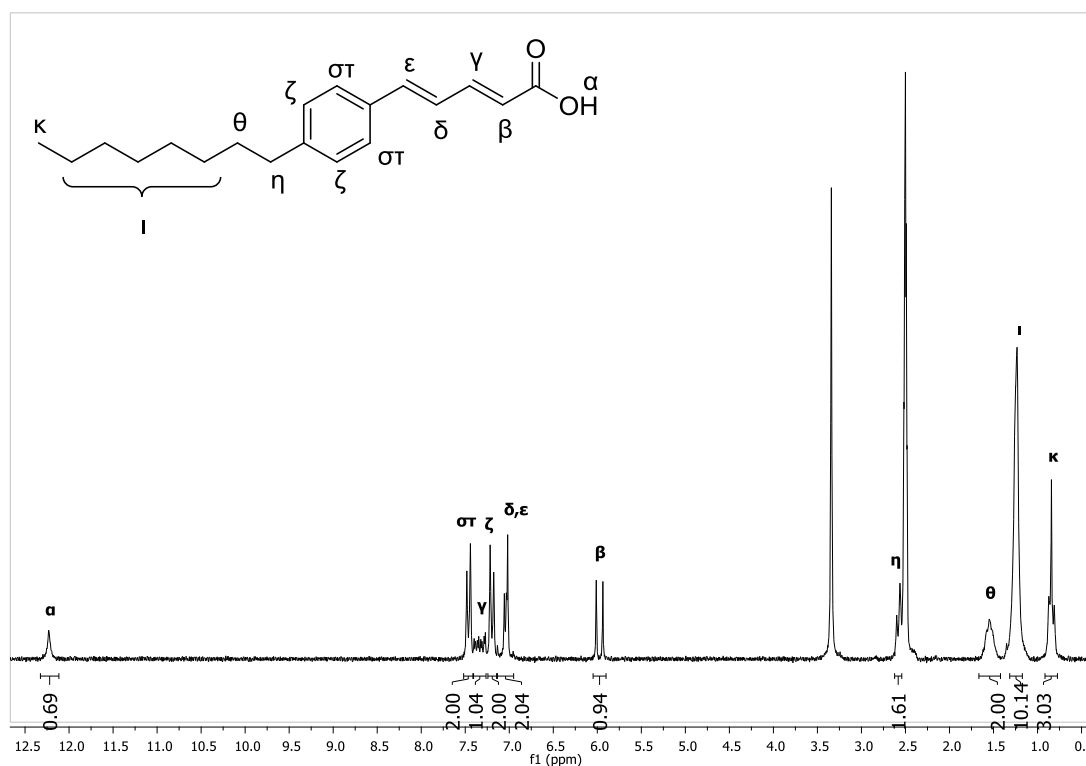


Σχήμα 90: Μηχανισμός της σαπωνοποίησης

Για τα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR των ενώσεων αυτών ισχύουν τα ίδια γενικά χαρακτηριστικά που έχουν περιγραφεί ήδη. Το πιο χαρακτηριστικό των φασμάτων ^1H NMR είναι μία απλή κορυφή στα 12.2 ppm περίπου, η οποία είναι η χαρακτηριστική μετατόπιση του πρωτονίου της καρβοξυλικής ομάδας. Η κορυφή αυτή τις περισσότερες φορές δεν εμφανίζεται διότι τα πρωτόνια είναι ανταλλάξιμα.

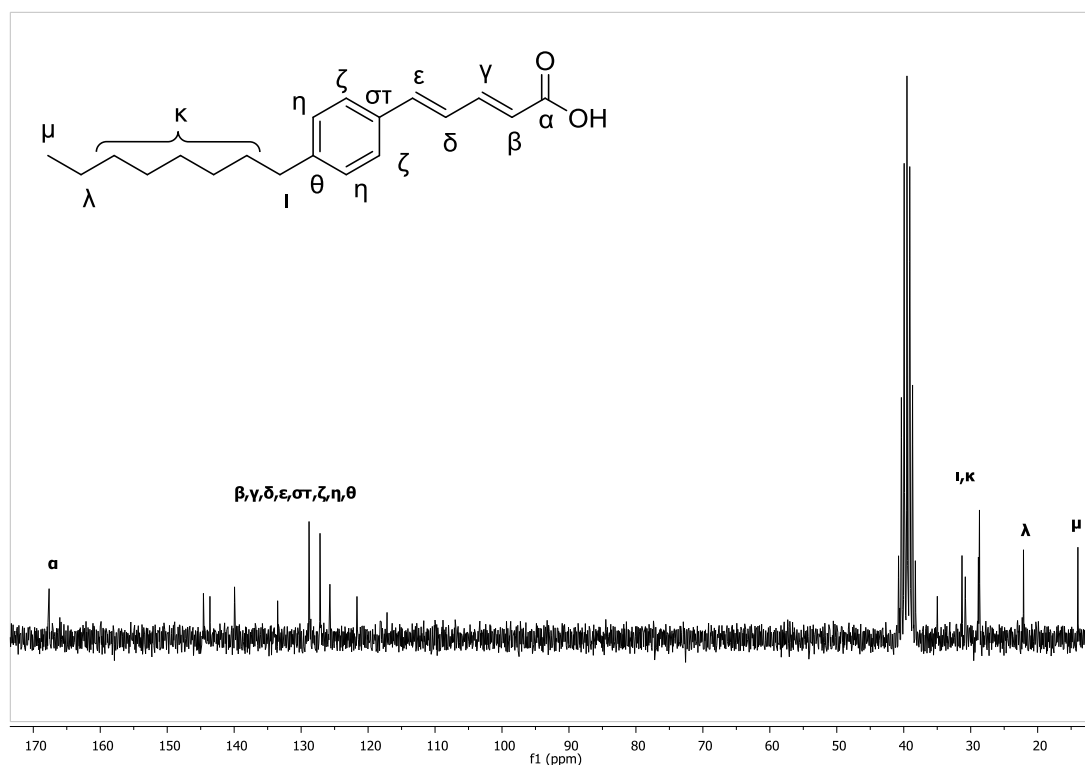
Παρακάτω παρατίθενται τα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR του ((2*E*, 4*E*)-5-(4-οκτυλφαινυλο) πεντα-2,4-διενοϊκού οξέος (**133**). Στο φάσμα του ^1H NMR, εκτός από την κορυφή του πρωτονίου της καρβοξυλομάδας, διακρίνονται δύο διπλές κορυφές στα 7.46 και στα 7.20 ppm των αρωματικών πρωτονίων, ενώ δύο πολλαπλές κορυφές στις περιοχές 7.40-7.35 και 7.15-6.95 ppm καθώς και μία διπλή στα 5.98 ppm αντιστοιχούν στα πρωτόνια των δύο διπλών δεσμών. Επιπλέον, μια πολλαπλή κορυφή στα 2.65-2.55 ppm δεν είναι πλήρως διακριτή εξαιτίας της κορυφής του δευτεριωμένου διαλύτη (DMSO) και ανήκει στα πρωτόνια του πρώτου άνθρακα της αλυσίδας του οκτανίου

στην πάρα θέση του δακτυλίου. Τέλος, στην αλειφατική περιοχή διακρίνονται τα υπόλοιπα πρωτόνια του υποκαταστάτη του αρωματικού δακτυλίου (Σχήμα 91).



Σχήμα 91: Φάσμα ¹H NMR του ((2E, 4E)-5-(4-οκτυλφαινυλο) πεντα-2,4-διενοϊκού οξέος

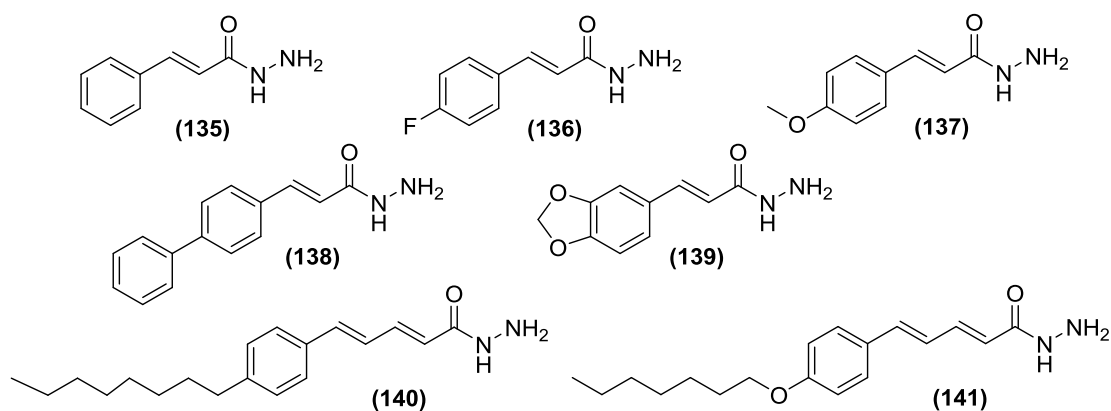
Στο φάσμα ¹³C NMR της ένωσης διακρίνεται στα 167.6 η χαρακτηριστική κορυφή του καρβοξυλικού άνθρακα. Στην περιοχή 145-120 ppm διακρίνονται 8 κορυφές που ανήκουν στους 4 άνθρακες των δύο διπλών δεσμών και στους 6 αρωματικούς, όπως έχουν περιγραφεί και σε προηγούμενα φάσματα. Στην αλειφατική περιοχή συντονίζονται οι άνθρακες του υποκαταστάτη του αρωματικού δακτυλίου, ωστόσο δεν φαίνεται ο άνθρακας δίπλα ακριβώς από τον αρωματικό δακτύλιο διότι εμφανίζεται πάνω στην επταπλή κορυφή του δευτεριωμένου διμεθυλοσουλφοξειδίου (Σχήμα 92).



Σχήμα 92: Φάσμα ^{13}C NMR του ((2*E*, 4*E*)-5-(4-οκτυλφαινυλο) πεντα-2,4-διενοϊκού οξέος

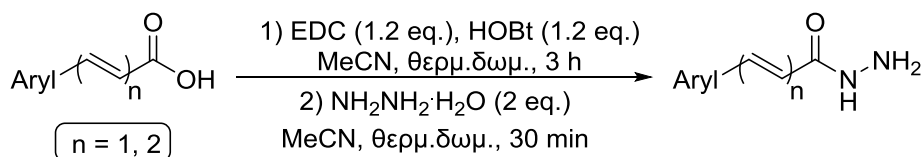
4.2.3 Σύνθεση ακόρεστων υδραζιδίων

Στο εργαστήριο παρασκευάστηκαν το κινναμωμικό υδραζίδιο (**135**), το (*E*)-3-(4-φθοροφαινυλο) ακρυλο-υδραζίδιο (**136**), το (*E*)-3-(4-μεθοξυφαινυλο) ακρυλο-υδραζίδιο (**137**), το (*E*)-3-([1,1'-διφαινυλ]-4-υλο) ακρυλο-υδραζίδιο (**138**), το (*E*)-3-(βενζο [d][1,3] διοξολ-5-υλο) ακρυλο-υδραζίδιο (**139**), το (2*E*, 4*E*)-5-(4-οκτυλφαινυλο) πεντα-2,4-διενοϋδραζίδιο (**140**) και το (2*E*, 4*E*)-5-(4-(επτυλοξυ) φαινυλο) πεντα-2,4-διενοϋδραζίδιο (**141**) (Σχήμα 93).



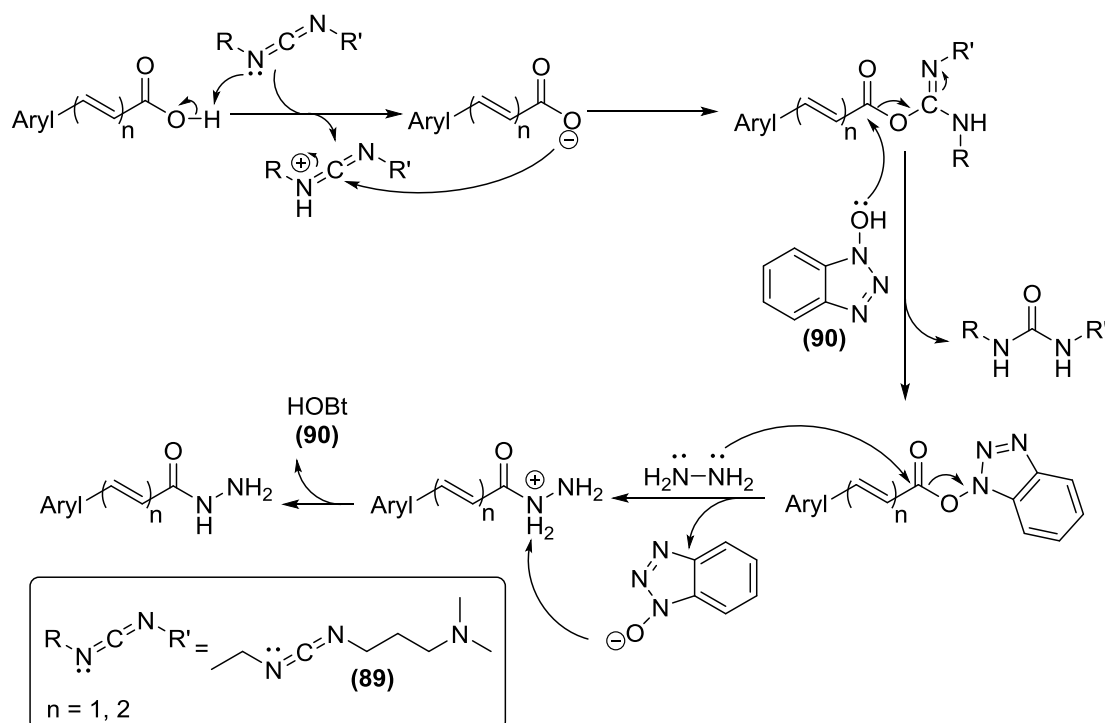
Σχήμα 93: Υδραζίδια που συντέθηκαν στο εργαστήριο

Η αντίδραση σύζευξης πραγματοποιείται με συζευκτικό αντιδραστήριο το EDC **(89)** παρουσία του HOBT **(90)** (Σχήμα 94).



Σχήμα 94: Αντίδραση σύζευξης υδραζίνης σε οξύ για σχηματισμό υδραζιδίων

Ο μηχανισμός είναι ο ίδιος με εκείνον της προστασίας των καρβοξυλικών οξέων για σχηματισμό υδροξαμικών, μόνο που σε αυτήν την αντίδραση χρησιμοποιείται υδραζίνη (Σχήμα 95).

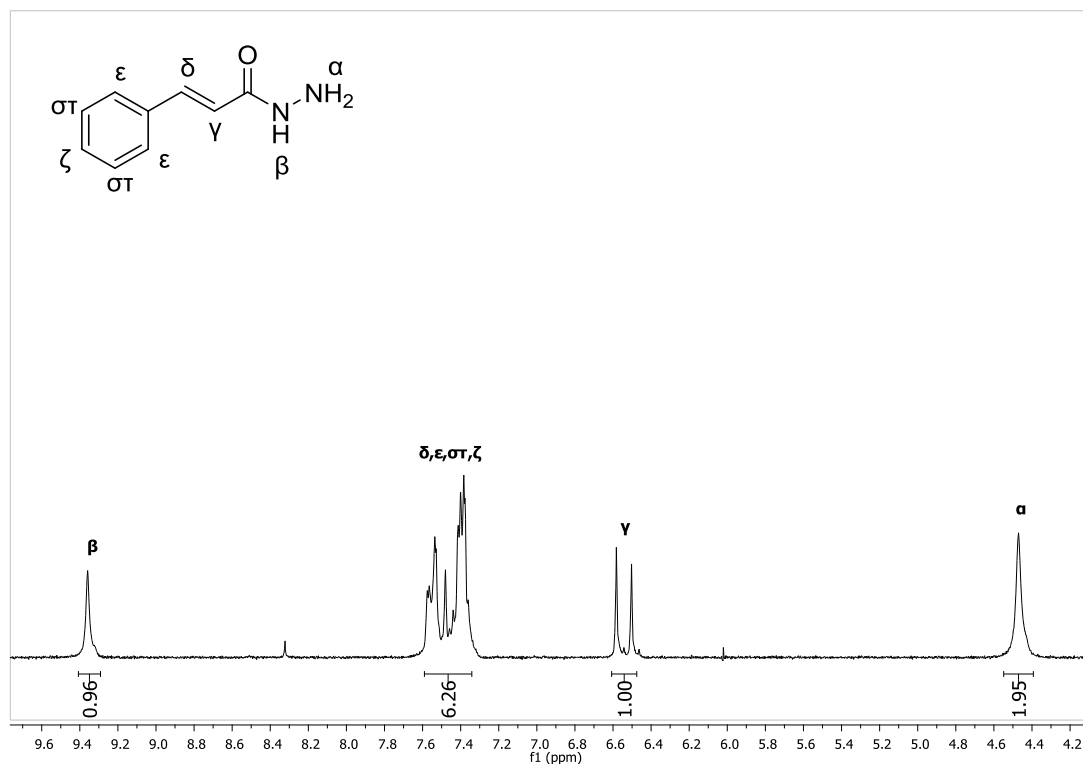


Σχήμα 95: Μηχανισμός σύζευξης υδραζίνης σε οξύ προς σχηματισμό υδραζιδίων

Στο φάσμα ^1H NMR αυτών των ενώσεων διακρίνονται δύο χαρακτηριστικές απλές κορυφές. Η πρώτη στα 9.3 ppm είναι η χαρακτηριστική μετατόπιση του πρωτονίου του αζώτου δίπλα ακριβώς στο καρβονύλιο, ενώ η δεύτερη αντιστοιχεί στα δύο πρωτόνια του τελικού αζώτου της χαρακτηριστικής ομάδας των υδραζιδίων και συντονίζεται στα 4.5 ppm.

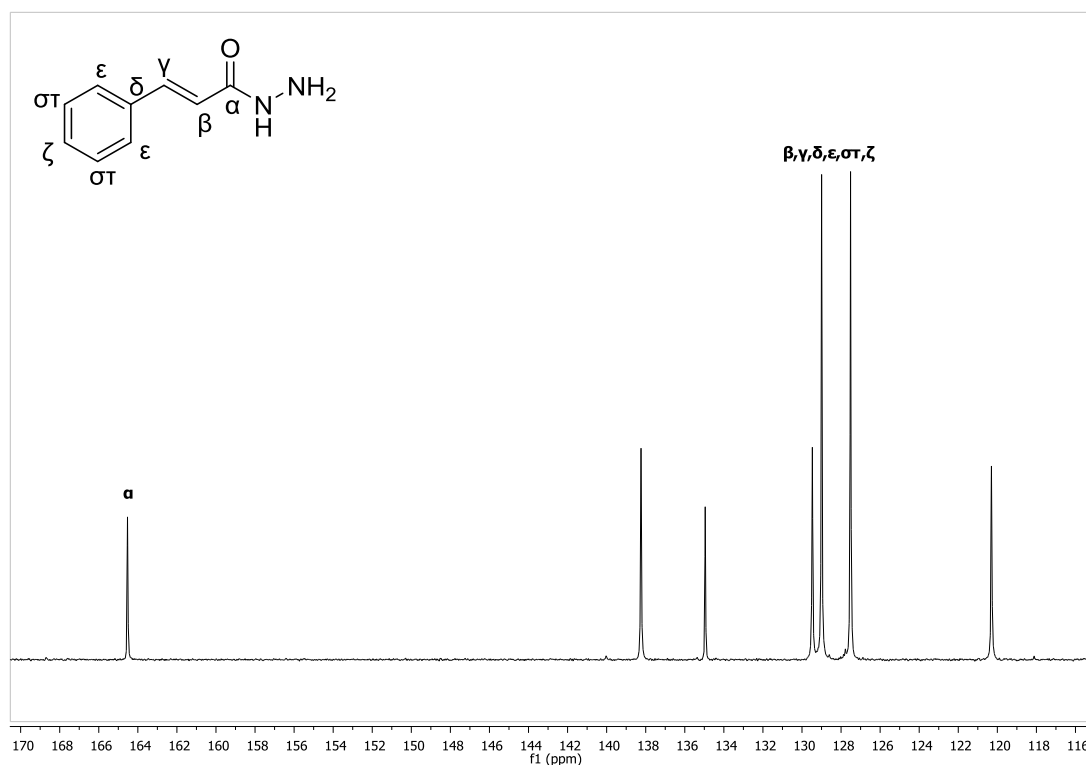
Στη συνέχεια, παρατίθενται τα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR του κινναμωμικού υδραζιδίου **(135)**. Στο ^1H NMR της ένωσης διακρίνονται οι δύο χαρακτηριστικές για τα υδραζίδια κορυφές, οι οποίες αναφέρθηκαν

παραπάνω. Η διπλή κορυφή στα 6.54 ppm και η πολλαπλή στην περιοχή 7.60-7.35 ppm οφείλεται στα υπόλοιπα ακόρεστα πρωτόνια (Σχήμα 96).



Σχήμα 96: Φάσματα ¹H NMR του κινναμωμικού υδραζιδίου

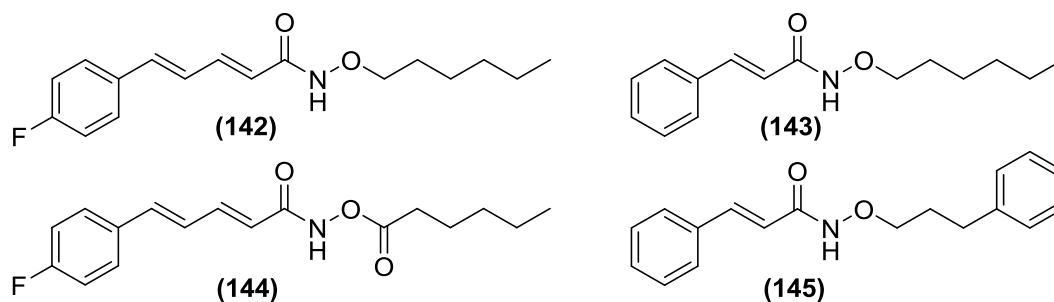
Στο φάσμα ¹³C NMR του κινναμωμικού υδραζιδίου (135) διακρίνεται στα 164.5 ppm η χαρακτηριστική κορυφή του καρβονυλίου της ένωσης. Στην περιοχή 138-120 ppm συντονίζονται οι άνθρακες του διπλού δεσμού της ακόρεστης αλυσίδας καθώς και οι αρωματικοί άνθρακες (Σχήμα 97).



Σχήμα 97: Φάσματα ^{13}H NMR του κινναμωμικού υδραζιδίου

4.3 Σύνθεση υποκατεστημένων υδροξαμικών παραγώγων

Επειδή όπως αναφέρθηκε τα υδροξαμικά οξέα ως κατηγορία ενώσεων παρουσιάζουν αυξημένη τοξικότητα, δοκιμάστηκε η σύνθεση και η μελέτη υποκατεστημένων υδροξαμικών οξέων. Έτσι, προστέθηκε ένας υποκαταστάτης στο τελικό οξυγόνο. Ο υποκαταστάτης αυτός ήταν είτε μια απλή κορεσμένη αλκυλομάδα είτε μια κορεσμένη αλκυλομάδα με ένα αρωματικό δακτύλιο στο τελικό άκρο της είτε μια κορεσμένη αλκυλομάδα. Τα υποκατεστημένα υδροξαμικά οξέα που παρασκευάστηκαν είναι το (2*E*, 4*E*)-5-(4-φθοροφαινυλο)-*N*-(εξυλοξυ) πεντα-2,4-διεναμίδιο (**142**), το *N*-(εξυλοξυ) κινναμαμίδιο (**143**), το (2*E*, 4*E*)-5-(4-φθοροφαινυλο)-*N*-(εξανουλοξυ) πεντα-2,4-διεναμίδιο (**144**) και το *N*-(3-φαινυλοπροποξυ) κινναμαμίδιο (**145**) (Σχήμα 98).

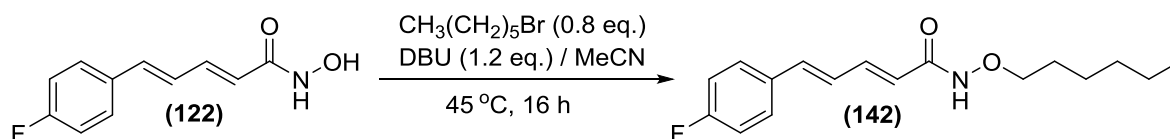


Σχήμα 98: Υποκατεστημένα υδροξαμικά οξέα που συντέθηκαν στο εργαστήριο

Τα υποκατεστημένα υδροξαμικά οξέα συντέθηκαν με δύο αντιδράσεις, η πρώτη για το (2*E*, 4*E*)-5-(4-φθοροφαινυλο)-*N*-(εξυλοξυ) πεντα-2,4-διεναμίδιο (**142**) και για το *N*-(3-φαινυλοπροποξυ) κινναμαμίδιο (**145**) περιλαμβάνει μια αντίδραση με ένα αλκυλαλοβρωμίδιο παρουσία μιας βάσης, ενώ η δεύτερη για το *N*-(εξυλοξυ) κινναμαμίδιο (**143**) και το (2*E*, 4*E*)-5-(4-φθοροφαινυλο)-*N*-(εξανοϋλοξυ) πεντα-2,4-διεναμίδιο (**144**) είναι μια αντίδραση σύζευξης με EDC (**89**) παρουσία του HOBt (**90**).

4.3.1 Σύνθεση υποκατεστημένων υδροξαμικών οξέων με μία αντίδραση με μηχανισμό S_N2 με βάση και ένα βρωμίδιο

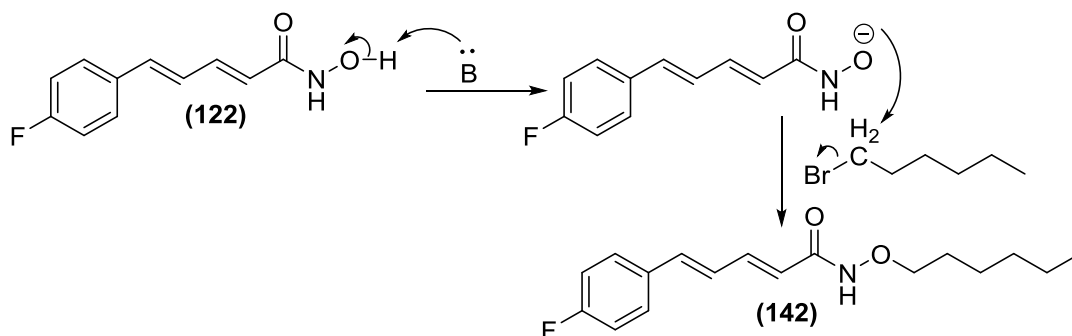
Στη συνέχεια παρατίθεται η αντίδραση του (2*E*, 4*E*)-5-(4-φθοροφαινυλο)-*N*-υδροξυπεντα-2,4-διεναμιδίου (**122**) με βάση το DBU και βρωμίδιο ως χαρακτηριστικό παράδειγμα αντιδράσεων αυτού του τύπου. Για το *N*-(3-φαινυλοπροποξυ) κινναμαμίδιο (**145**) χρησιμοποιείται η ίδια βάση και αντιδρώντα είναι το *N*-υδροξυκινναμαμίδιο (**91**) και το 3-φαινυλο-1-βρωμοπροπάνιο (Σχήμα 99).



Σχήμα 99: Αντίδραση σύνθεσης υποκατεστημένων υδροξαμικών με βάση και βρωμίδιο

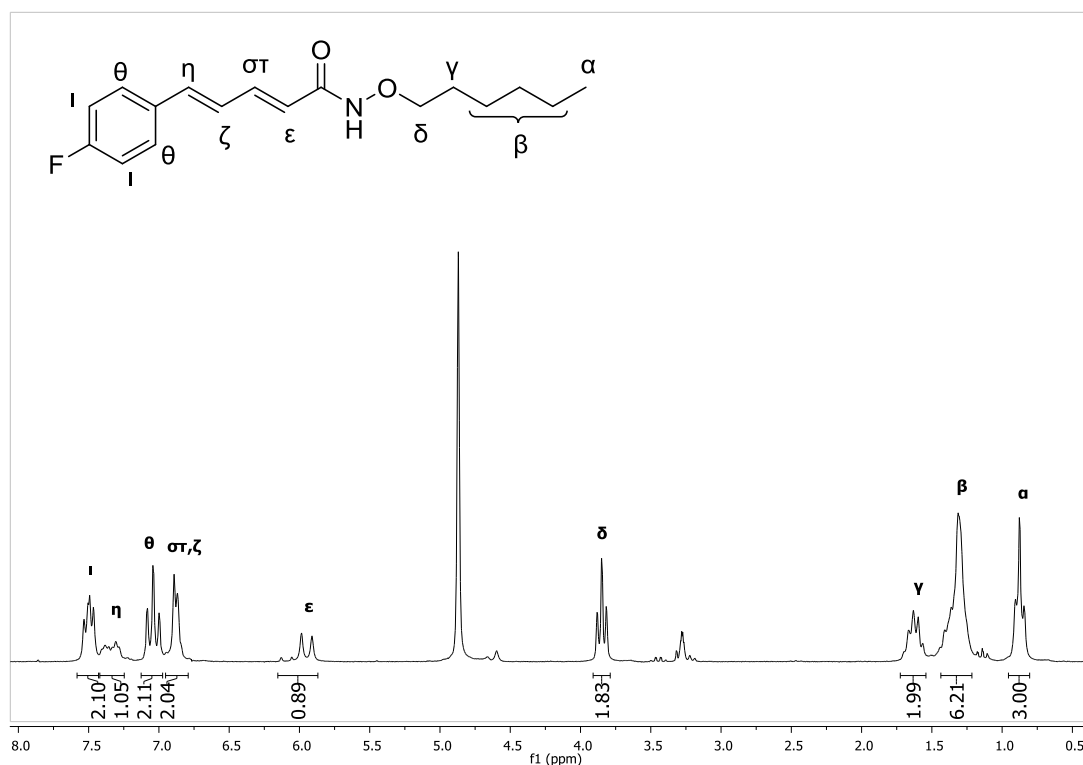
Στον μηχανισμό της αντίδρασης, αρχικά η βάση αποσπά το πρωτόνιο του υδροξαμικού οξέος αφήνοντας ένα ανιόν οξυγόνου. Το ανιόν του οξυγόνου αντιδρά μέσω ενός S_N2 μηχανισμού με τον άνθρακα του βρωμιδίου. Το

βρώμιο φεύγει ως καλή αποχωρούσα ομάδα και ελευθερώνεται το υποκατεστημένο υδροξαμικό οξύ (Σχήμα 100).



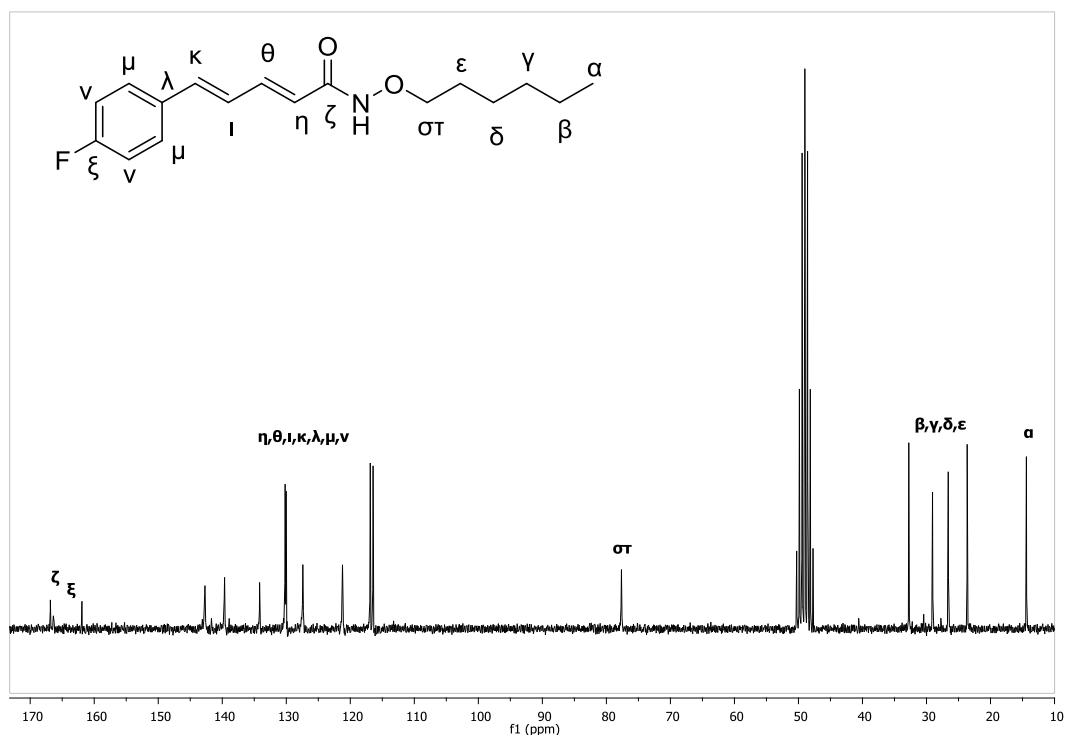
Σχήμα 100: Μηχανισμός S_N2 για τη σύνθεση των υποκατεστημένων υδροξαμικών οξέων

Στο φάσμα ^1H NMR του (2*E*, 4*E*)-5-(4-φθοροφαινυλο)-*N*-(εξυλοξυ) πεντα-2,4-διεναμιδίου (**142**) στα 7.50 ppm μια διπλή διπλών, στην περιοχή 7.45-6.85 δύο πολλαπλές και στα 5.95 ppm μία διπλή ανήκουν στα αρωματικά πρωτόνια και σε αυτά των 4 διπλών δεσμών. Τα πρωτόνια δίπλα στο οξυγόνο και τα γειτονικά τους εμφανίζονται στα 3.85 ppm ως μία τριπλή κορυφή και στα 1.63 ppm ως μία πενταπλή κορυφή. Τέλος, μία πολλαπλή κορυφή στα 1.45-1.20 ppm ανήκει στα ενδιάμεσα κορεσμένα πρωτόνια ενώ το τελικό μεθύλιο συντονίζεται στα 0.90 ppm ως τριπλή κορυφή (Σχήμα 101).



Σχήμα 101: Φάσμα ^1H NMR του (2*E*, 4*E*)-5-(4-φθοροφαινυλο)-*N*-(εξυλοξυ) πεντα-2,4-διεναμιδίου

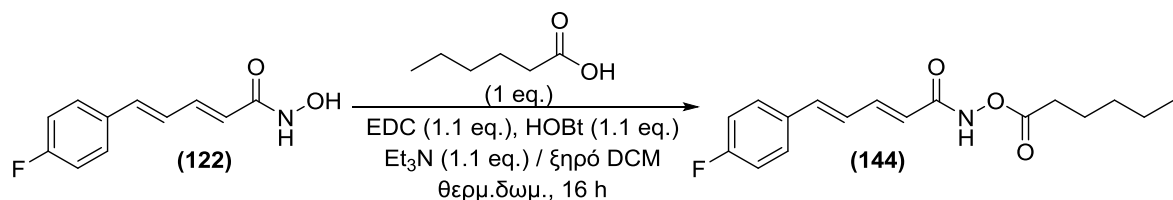
Στο φάσμα ^{13}C NMR της ίδιας ένωσης στα 166.4 ppm διακρίνεται η χαρακτηριστική μετατόπιση του άνθρακα του καρβονυλίου. Στα 164.4 ppm εντοπίζεται μία διπλή κορυφή με $J=247$ Hz που ανήκει στον αρωματικό άνθρακα δίπλα στο φθόριο και σχάζεται ισχυρά από αυτό. Σχάση παρουσιάζουν και οι υπόλοιποι αρωματικοί άνθρακες, η ένταση της οποίας μειώνεται όσο απομακρύνεται ο άνθρακας από το φθόριο. Συγκεκριμένα οι άνθρακες σε θέση 2 ως προς το φθόριο συντονίζονται στα 116.7 ppm με $J=22$ Hz, αυτός σε θέση 3 στα 130.1 ppm και $J=8$ Hz και ο πιο απομακρυσμένος τεταρτοταγής στα 134.1 ppm και $J=4$ Hz. Οι ακόρεστοι άνθρακες των διπλών δεσμών εντοπίζονται στην περιοχή 140-120 ppm χωρίς να παρουσιάζουν σχάση από το φθόριο. Στα 77.7 ppm συντονίζεται ο άνθρακας του μεθυλίου δίπλα στα οξυγόνο της κορεσμένης ανθρακικής αλυσίδας. Τέλος, στην περιοχή 33-23 και στα 14.4 ppm διακρίνονται οι χαρακτηριστικές μετατοπίσεις των υπόλοιπων κορεσμένων ανθράκων και του άνθρακα του μεθυλίου, αντίστοιχα (Σχήμα 102).



Σχήμα 102: Φάσμα ^{13}C NMR του $(2E, 4E)$ -5-(4-φθοροφαινυλο)- N -(εξυλοξυ) πεντα-2,4-διεναμιδίου

4.3.2 Σύνθεση υποκατεστημένων υδροξαμικών οξέων με μία αντίδραση σύζευξης

Τα υδροξαμικά οξέα μπορούν να αντιδράσουν με καρβοξυλικά οξέα με μία αντίδραση σύζευξης και να δώσουν ακυλο-υποκατεστημένα υδροξαμικά οξέα όπως το $(2E, 4E)$ -5-(4-φθοροφαινυλο)- N -(εξανούλοξυ) πεντα-2,4-διεναμίδιο **(144)** που σχηματίζεται από τη σύζευξη του εξανοϊκού οξέος με το $(2E, 4E)$ -5-(4-φθοροφαινυλο)- N -υδροξυπεντα-2,4-διεναμίδιο **(122)** με EDC **(89)** παρουσία του HOBt **(90)** (Σχήμα 103).



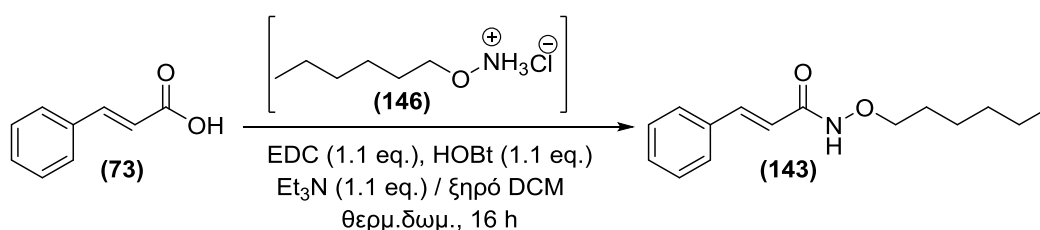
Σχήμα 103: Σύνθεση υποκατεστημένων υδροξαμικών οξέων με μία αντίδραση σύζευξης

Ο μηχανισμός της αντίδρασης είναι ο ίδιος που περιγράφηκε στην παράγραφο 4.1.3 και στο Σχήμα 45. Η μόνη διαφορά είναι ότι αντί για το

άζωτο της υδροξυλαμίνης της προστατευτικής ομάδας αντιδρά το οξυγόνο του υδροξαμικού οξέος με το ενεργοποιημένο καρβοξυλικό οξύ.

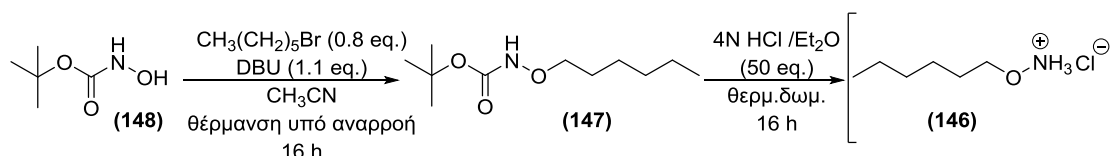
Το φάσμα ^1H NMR του (2*E*, 4*E*)-5-(4-φθοροφαινυλο)-*N*-(εξανουόλοξυ) πεντα-2,4-διεναμιδίου (**144**) διαφέρει από αυτό του (**142**) που περιγράφηκε διότι διαθέτει δύο πρωτόνια λιγότερα, ενώ η χαρακτηριστική τριπλή κορυφή δίπλα στο οξυγόνο στα 3.85 ppm μετατοπίζεται στα 2.53 ppm λόγω της επίδρασης του καρβονυλίου αντί για το οξυγόνο. Οι υπόλοιπες κορυφές δεν παρουσιάζουν διαφορές. Στο φάσμα ^{13}C NMR της ίδιας ένωσης διακρίνεται μία κορυφή στα 171.8 ppm που οφείλεται στο δεύτερο καρβονύλιο της ένωσης.

Τέλος, μια άλλη μέθοδος για τη σύνθεση υποκατεστημένων υδροξαμικών οξέων είναι η σύζευξη ενός οξέος με κατάλληλη *O*-υποκατεστημένη υδροξυλαμίνη. Για τη σύνθεση του *N*-(εξυλοξυ) κινναμαμιδίου (**143**) χρησιμοποιήθηκε αντίδραση σύζευξης αυτής της λογικής με οξύ το κινναμωμικό οξύ (**73**) και αμίνη το υδροχλωρικό αλάτι της *O*-εξυλοϋδροξυλαμίνης (**146**) (Σχήμα 104).



Σχήμα 104: Σύνθεση του *N*-(εξυλοξυ) κινναμαμιδίου

Το υδροχλωρικό αλάτι της *O*-εξυλοϋδροξυλαμίνης (**146**) συντέθηκε σε δύο στάδια. Από την *Boc* προστατευμένη υδροξυλαμίνη γίνεται μία αντίδραση υποκατάστασης με το κατάλληλο βρωμίδιο και τέλος αποπροστασία από την *Boc* ομάδα σε όξινες συνθήκες (Σχήμα 105).



Σχήμα 105: Σύνθεση του ενδιάμεσου *O*-εξυλοϋδροξυλαμίνης

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ-ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΙ ΕΝΩΣΕΩΝ

5.1 Γενικό Πειραματικό Μέρος

5.1.1 Αντιδραστήρια

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των ενώσεων ήταν εμπορικά διαθέσιμα προϊόντα των εταιριών Sigma-Aldrich, Fluka, Merck, Alfa και Acros. Η καθαρότητα των αντιδραστηρίων ήταν 99% και άνω και χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

5.1.2 Χρωματογραφικός Έλεγχος Αντιδράσεων

Για να ελέγξουμε την πορεία μιας αντίδρασης και την καθαρότητα του τελικού προϊόντος χρησιμοποιούμε τη χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC, Thin Layer Chromatography). Οι χρωματογραφικές αναλύσεις έγιναν σε πλάκες αλουμινίου πάχους 0.25 mm επιστρωμένες με silica gel και φθορίζον υλικό που απορροφά στα 254 nm της εταιρίας Merck.

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

1. Πετρελαϊκός αιθέρας/οξικός αιθυλεστέρας (PE/AcOEt) 95:5
2. Πετρελαϊκός αιθέρας/οξικός αιθυλεστέρας (PE/AcOEt) 9:1
3. Πετρελαϊκός αιθέρας/οξικός αιθυλεστέρας (PE/AcOEt) 8:2
4. Πετρελαϊκός αιθέρας/οξικός αιθυλεστέρας (PE/AcOEt) 7:3
5. Χλωροφόρμιο/Μεθανόλη ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$) 95:5
6. Χλωροφόρμιο/Μεθανόλη ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$) 9:1
7. Χλωροφόρμιο/Μεθανόλη ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$) 8:2

Για την εμφάνιση των TLC χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω μέθοδοι:

- A. Λάμπα Υπεριώδους ακτινοβολίας (254 nm)
- B. PMA (διάλυμα 7. 5% φωσφομολυβδαινικού οξέος σε αιθανόλη), για ενώσεις που περιέχουν οξυγόνο.

C. Νινυδρίνη (διάλυμα 0. 5% νινυδρίνης σε αιθανόλη), για ενώσεις που περιέχουν άζωτο.

5.1.3 Χρωματογραφικός καθαρισμός ενώσεων

Για τον καθαρισμό του προϊόντος μιας αντίδρασης χρησιμοποιήσαμε χρωματογραφία στήλης και ως υλικό πληρώσεως silica gel 60 (στατική φάση) συνήθως σε αναλογία 1:20. Για κάθε ένωση χρησιμοποιήθηκαν και διαφορετικά συστήματα έκλουσης, ανάλογα με την πολικότητα της ουσίας μας, τα οποία αναφέρονται στις πειραματικές μεθόδους για κάθε ένωση ξεχωριστά.

5.1.4 Χαρακτηρισμός ενώσεων

Για τον χαρακτηρισμό και την ταυτοποίηση των ενώσεων χρησιμοποιήθηκε η Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) και η Φασματομετρία μάζας.

Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR):

Οι ενώσεις που συνετέθησαν χαρακτηρίστηκαν και ταυτοποιήθηκαν με φασματοσκοπία ^1H και ^{13}C NMR σε όργανο 200 MHz Varian τύπου Mercury. Τα φάσματα ^{13}C είναι αποσυζευγμένα (proton decoupled). Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των δειγμάτων ήταν κυρίως CDCl_3 . Η κλίμακα των χημικών μετατοπίσεων στα φάσματα ^1H NMR είναι βαθμονομημένη σύμφωνα με τη χημική μετατόπιση του πρωτονιωμένου συστατικού, που βρίσκεται ως πρόσμιξη στους δευτεριωμένους διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν. Οι τιμές αυτές ορίστηκαν βάσει βιβλιογραφικών δεδομένων και είναι 7.27 ppm η χημική μετατόπιση πρόσμιξης για το CHCl_3 στο ^1H NMR και 77.0 ppm στον ^{13}C NMR. Η βαθμονόμηση της κλίμακας στα φάσματα ^{19}F έγινε βάσει εξωτερικού προτύπου που περιέχει CHF_3 σε διαλύτη CDCl_3 , όπου η χημική μετατόπιση του CHF_3 ορίζεται, κατά σύμβαση, να βρίσκεται στην αρχή της κλίμακας ($\delta = 0$ ppm). Οι αποδόσεις των κορυφών δίνονται με επιφύλαξη βάσει θεωρητικών γνώσεων και υπολογιστικών μεθόδων.

Φασματομετρία μάζας:

Τα φάσματα μάζας ελήφθησαν σε όργανο φασματομετρίας μαζών Finnigan, Surveyor MSQ Plus με την τεχνική του ιονισμού μέσω ηλεκτροψεκασμού (electron spray ionization, ESI-MS), στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

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

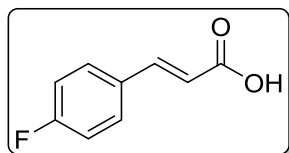
Επιπλέον, μετρήθηκαν τα σημεία τήξης των στερεών ενώσεων σε συσκευή Buchi 530 και δεν δίνονται διορθωμένα.

5.2 Συνθετικές μέθοδοι – Χαρακτηρισμοί ενώσεων

5.2.1 Γενική μέθοδος συμπύκνωσης Knoevenagel τροποποιημένη από τους Verley-Doebner

Σε αναδευόμενο διάλυμα της κατάλληλης αλδεΐδης (1 mmol) σε πυριδίνη (0.1 ml) και πιπεριδίνη (2-3 σταγόνες), προστίθεται μηλονικό οξύ (1 mmol, 104 mg) και το μίγμα θερμαίνεται υπό αναρροή (110 °C) για δύο ώρες.

(E)-3-(4-Φθοροφαινυλο) ακρυλικό οξύ (78)⁶⁶



M.T.: C₉H₇O₂F

M.W.: 166,15

Λευκό στερεό. Απόδοση: 65% (1,0 g). R_f(6) = 0.45 σ.τ.: 205-207 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 200-202 °C⁶⁶.

Παρατήρηση: Το διάλυμα εξουδετερώθηκε με υδατικό διάλυμα HCl 2M, αφέθηκε να κρυώσει σε θερμοκρασία του δωματίου και έγινε διήθηση και έκπλυση με διαιθυλαιθέρα. Πραγματοποιήθηκε ανακρυστάλλωση με αιθανόλη.

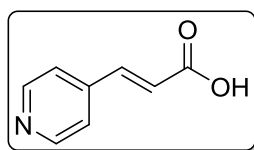
Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

^1H NMR (200 MHz, DMSO) δ 7.76 (dd, 2H, $J_1 = 9$ Hz, $J_2 = 6$ Hz, Ar), 7.59 (d, 1H, $J = 16$ Hz, Ar-CH), 7.24 (t, 2H, $J = 9$ Hz, Ar), 6.49 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CHC=O).

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO) δ 168.2 (C=O), 163.8 (d, $J_{CF} = 247$ Hz, Ar C-F), 143.4 (CH), 131.5 (d, $J_{CF} = 3$ Hz, Ar), 131.2 (d, $J_{CF} = 9$ Hz, Ar), 119.7 (CHC=O), 116.5 (d, $J_{CF} = 22$ Hz, Ar).

^{19}F NMR (188 MHz, DMSO) δ 106.1.

(E)-3-(Πυριδιν-4-υλο) ακρυλικό οξύ (75)⁶⁷



M.T.: $\text{C}_8\text{H}_7\text{NO}_2$

M.W.: 149,15

Υποκίτρινο στερεό. Απόδοση: 91% (1,27 g) . $R_f(6)=0.38$. σ.τ.: 279-281 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 277-280 °C⁶⁷.

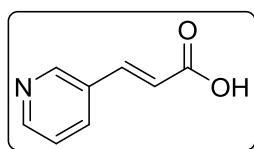
Παρατήρηση: Διήθηση και έκπλυση με διαιθυλαιθέρα

Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

^1H NMR (200 MHz, DMSO) δ 8.61 (d, 2H, $J = 6$ Hz, Ar), 7.65 (d, 2H, $J = 6$ Hz, Ar), 7.53 (d, 1H, $J = 16$ Hz, Ar-CH), 6.79 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CHC=O).

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO) δ 167.3 (C=O), 150.3 (Ar), 141.7 (Ar), 140.7 (CH), 124.8 (CHC=O), 122.1 (Ar).

(E)-3-(Πυριδιν-3-υλο) ακρυλικό οξύ (76)⁶⁸



M.T.: $\text{C}_8\text{H}_7\text{NO}_2$

M.W.: 149,15

Υποκίτρινο στερεό. Απόδοση: 95% (1,32 g). $R_f(6)=0.32$. σ.τ.: 223-225 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 232 °C⁶⁹

Παρατήρηση: Διήθηση και έκπλυση με διαιθυλαιθέρα.

Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

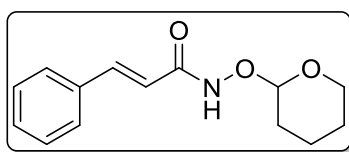
^1H NMR (200 MHz, DMSO): δ 8.84 (d, 1H, $J = 1$ Hz, Ar), 8.57 (dd, 1H, $J_1 = 5$ Hz, $J_2 = 1$ Hz, Ar), 8.14 (d, 1H, $J = 8$ Hz, Ar), 7.60 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CH), 7.43 (dd, $J_1 = 8$ Hz, $J_2 = 5$ Hz, 1H, Ar), 6.69 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CHC=O).

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): δ 167.5 (C=O), 150.7 (Ar), 149.8 (Ar), 140.2 (CH), 134.6 (Ar), 130.3 (Ar), 124.0 (Ar), 122.0 (CHC=O).

5.2.2 Γενική μέθοδος σύνθεσης προστατευμένων υδροξαμικών οξέων – Αντίδραση σύζευξης

Το καρβοξυλικό οξύ (1 mmol) διαλύεται (σε κάποιες περιπτώσεις παραμένει αδιάλυτο) σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (5 ml) και ύστερα προστίθεται το EDC (1.1 mmol, 171 mg), το HOBT (1.1 mmol, 149 mg) και η NH_2OTHP (0.8 mmol, 94 mg). Το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες. Ύστερα, προστίθεται διαλύτης διχλωρομεθάνιο, γίνεται έκπλυση με NaHCO_3 10% και brine, ξήρανση και απομακρύνεται ο διαλύτης υπό ελαττωμένη πίεση. Τέλος, γίνεται καθαρισμός του προϊόντος με χρωματογραφία στήλης.

***N* -((Τετραϋδρο-2H-πυραν-2-υλο) οξύ) κινναμαμίδιο (83)**



M.T.: $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NO}_3$

M.W.: 247,12

Λευκό τσιχλώδες στερεό. Απόδοση: 72% (142 mg). $R_f(6)=0.62$.

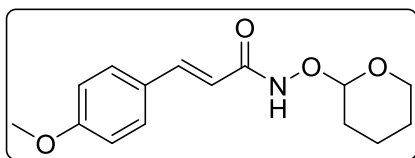
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 95/5.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 8.89 (br s, 1H, NH), 7.75 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CH), 7.55-7.20 (m, 5H, Ar), 6.55-6.25 (m, 1H, CHC=O), 5.03 (s, 1H, OCHO), 4.07-3.85 (m, 1H, OCHH), 3.75-3.55 (m, 1H, OCHH), 1.90-1.45 (m, 6H, CH_2).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 164.1 (C=O), 141.6 (CH), 134.6 (Ar), 129.7 (Ar), 128.7 (Ar), 127.8 (Ar), 117.0 (CHC=O), 102.4 (OCHO), 62.4 (OCH₂), 28.0 (CH₂), 24.8 (CH₂), 18.5 (CH₂).

HRMS: 270.1106 (M+H)⁺, (Calc. 270.1101).

**(E)-3-(4-Μεθοξυφαινυλο)-N-((τετραϋδρο-2H-πυραν-2-υλο)οξυ)
ακρυλαμίδιο (84)**



M.T.: $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{NO}_4$

M.W.: 277,32

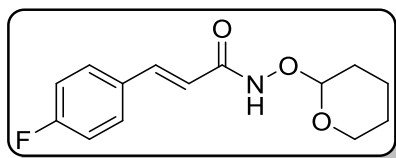
Λευκό τσιχλώδες στερεό. Απόδοση: 22% (120 mg). $R_f(6)=0.68$.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία σήλης: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 95/5.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 7.67 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CH), 7.41 (d, 2H, $J = 8$ Hz, Ar), 6.80 (d, 2H, $J = 8$ Hz, Ar), 6.60-6.25 (m, 1H, CHC=O), 5.03 (s, 1H, OCHO), 4.10-3.90 (m, 1H, OCHH), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 3.65-3.55 (m, 1H, OCHH), 1.85-1.45 (m, 6H, CH₂).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 164.6 (C=O), 160.8 (Ar), 141.4 (CH), 129.4 (Ar), 127.3 (Ar), 114.2 (CHC=O), 114.1 (Ar), 102.5 (OCHO), 62.3 (OCH₂), 55.2 (OCH₃), 28.0 (CH₂), 24.9 (CH₂), 18.5 (CH₂).

**(E)-3-(4-Φθοροφαινυλο)-N-((τετραϋδρο-2H-πυραν-2-υλο)οξυ)
ακρυλαμίδιο (85)**



M.T.: $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{FNO}_3$

M.W.: 265.28

Λευκό τσιχλώδες στερεό. Απόδοση: 73% (311 mg). $R_f(6)=0.69$.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: CHCl₃/MeOH 95/5 και PE/AcOEt 8/2 έως 5/5.

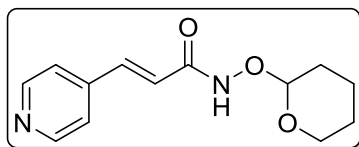
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.96 (br s, 1H, NH), 7.70 (d, 1H, *J* = 16 Hz, CH), 7.50 (dd, 2H, *J*₁ = 8 Hz, *J*₂ = 6 Hz, Ar), 7.05 (t, 2H, *J* = 8 Hz, Ar), 6.55-6.25 (m, 1H, CHC=O), 5.03 (s, 1H, OCHO), 4.10-3.90 (m, 1H, OCHH), 3.72-3.60 (m, 1H, OCHH), 1.90-1.55 (m, 6H, CH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 164.1 (C=O), 163.4 (d, *J*_{CF} = 249 Hz, Ar C-F), 140.2 (CH), 130.8 (d, *J*_{CF} = 3 Hz, Ar), 129.5 (d, *J*_{CF} = 9 Hz, Ar), 117.0 (CHC=O), 115.7 (d, *J*_{CF} = 22 Hz, Ar), 102.3 (OCHO), 62.2 (OCH₂), 27.9 (CH₂), 24.8 (CH₂), 18.4 (CH₂).

¹⁹F NMR (188 MHz, CDCl₃) δ 110.6.

HRMS: 288.1008 (M+H)⁺, (Calc. 288.1006).

**(E)-3-(Πυριδιν-4-υλο)-1-((τετραϋδρο-2H-πυραν-2-υλο)οξυ)ακρυλαμίδιο
(86)**



M.T.: C₁₃H₁₅N₂O₃

M.W.: 247.27

Λευκό τσιχλώδες στερεό. Απόδοση: 38% (204 mg). R_f(5)=0.37.

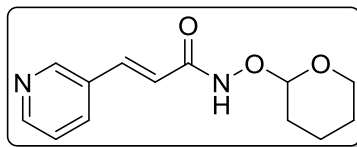
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: CHCl₃/MeOH 95/5.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.47 (d, 2H, *J* = 6 Hz, Ar), 7.53 (d, 1H, *J* = 16 Hz, CH), 7.25 (d, 2H, *J* = 6 Hz, Ar), 6.68 (d, 1H, *J* = 16 Hz, CHC=O), 5.03 (s, 1H, OCHO), 4.00-3.80 (m, 1H, OCHH), 3.55-3.40 (m, 1H, OCHH), 1.850-1.35 (m, 6H, CH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 162.4 (C=O), 149.7 (Ar), 142.3 (Ar), 137.6 (CH), 122.6 (CHC=O), 121.7 (Ar), 102.0 (OCHO), 62.0 (OCH₂), 27.7 (CH₂), 24.6 (CH₂), 18.2 (CH₂).

HRMS: 249.1232 (M+Na)⁺, (Calc. 249.1234).

**(E)-3-(Πυριδιν-3-υλο)-N-((τετραϋδρο-2H-πυραν-2-υλο)οξυ) ακρυλαμίδιο
(87)**



M.T.: C₁₃H₁₆N₂O₃

M.W.: 248,28

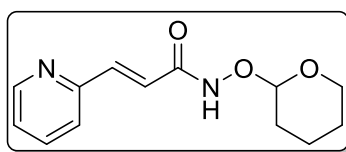
Υποκίτρινο τσιχλώδες στερεό. Απόδοση: 34% (417 mg). R_f(6)=0.63. σ.τ.: 126-128 °C.

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

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 8.60-8.50 (m, 1H, ArCN), 8.45-8.30 (m, 1H, ArCN), 7.70-7.60 (m, 1H, Ar), 7.54 (d, 1H, J = 16 Hz, ArCH), 7.20-7.05 (m, 1H, Ar), 6.57 (d, 1H, J = 16 Hz, CHC=O), 4.97 (s, 1H, OCHO), 3.95-3.75 (m, 1H, OCH₂), 3.45-3.30 (m, 1H, OCH₂), 1.75-1.25 (m, 6H, CH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 162.9 (C=O), 149.5 (Ar), 148.4 (Ar), 136.7 (CH), 134.1 (Ar), 130.4 (Ar), 123.4 (CHC=O), 119.8 (Ar), 101.8 (OCHO), 61.7 (OCH₂), 27.6 (CH₂), 24.5 (CH₂), 18.0 (CH₂).

**(E)-3-(Πυριδιν-2-υλο)-N-((τετραϋδρο-2H-πυραν-2-υλο) οξυ) ακρυλαμίδιο
(88)**



M.T.: C₁₃H₁₆N₂O₃

M.W.: 248,28

Κόκκινο τσιχλώδες στερεό. Απόδοση: 44% (132 mg). R_f(6)=0.59.

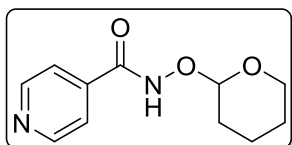
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία σήλης: CHCl₃/MeOH 95/5.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 9.77 (br s, 1H, NH), 8.56 (d, 1H, J = 4 Hz, Ar), 7.75-7.60 (m, 2H, Ar, CH), 7.40-7.15 (m, 2H, Ar), 7.05-6.85 (m, 1H, CHC=O),

5.05 (s, 1H, OCHO), 4.05-3.85 (m, 1H, OCHH), 3.65-3.55 (m, 1H, OCHH), 1.95-1.45 (m, 6H, CH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 163.5 (C=O), 152.9 (Ar), 149.8 (Ar), 140.0 (CH), 136.9 (Ar), 124.6 (Ar), 124.0 (Ar), 121.4 (CHC=O), 102.5 (OCHO), 62.4 (OCH₂), 28.0 (CH₂), 25.0 (CH₂), 18.5 (CH₂).

***N* -((Τετραϋδρο-2H-πυραν-2-υλο) οξυ) ισονικοτιναμίδιο (98)**



M.T.: C₁₁H₁₄N₂O₃

M.W.: 222.24

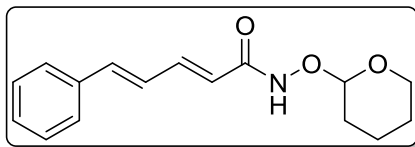
Λευκό τσιχλώδες στερεό. Απόδοση: 39% (347 mg). R_f(6)=0.27. σ.τ.: 150-154 °C.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία σήλης: CHCl₃/MeOH 9/1.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 9.86 (s, 1H, NH), 8.68 (d, 2H, *J* = 6 Hz, Ar), 7.64 (d, 2H, *J* = 6 Hz, Ar), 5.10 (s, 1H, OCHO), 4.05-3.90 (m, 1H, OCHH), 3.70-3.55 (m, 1H, OCHH), 1.95-1.50 (m, 6H, CH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 163.4 (C=O), 149.5 (Ar), 139.7 (Ar), 121.4 (Ar), 102.2 (OCHO), 62.2 (OCH₂), 27.8 (CH₂), 24.7 (CH₂), 18.2 (CH₂).

(2*E*, 4*E*)-5-Φαινυλο-*N* -((τετραϋδρο-2H-πυραν-2-υλο) οξυ) πεντα-2,4-διεναμίδιο (131)



M.T.: C₁₆H₁₉NO₃

M.W.: 273,33

Λευκό τσιχλώδες στερεό. Απόδοση: 48% (92 mg). R_f(6)=0.50.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία σήλης: CHCl₃/MeOH 97/3.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 7.60-7.25 (m, 6H, Ar, CH), 7.00-6.80 (m, 2H, CH), 6.25-5.90 (m, 1H, CH), 5.01 (s, 1H, OCHO), 4.10-3.90 (m, 1H, OCHH), 3.70-3.55 (m, 1H, OCHH), 1.95-1.50 (m, 6H, CH_2).

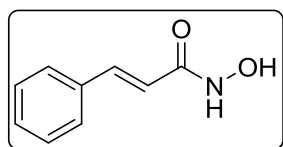
^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 164.6 (C=O), 141.7 (CH), 139.7 (CH), 136.0 (Ar), 128.7 (Ar), 128.6 (Ar), 127.0 (Ar), 126.3 (CH), 120.0 (CH), 102.5 (OCHO), 62.4 (OCH_2), 28.0 (CH_2), 24.9 (CH_2), 18.5 (CH_2).
HRMS: 248.1640 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, (Calc. 248.1645).

HRMS: 296.1258 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$, (Calc 296.1263).

5.2.3 Γενική μέθοδος αποπροστασίας ΤΗΡ-προστατευμένων υδροξαμικών οξέων

Τα προστατευμένα υδροξαμικά οξέα (1 mmol) διαλύονται σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (2 ml) και προστίθεται διάλυμα HCl 1M σε άνυδρο διαιθυλαιθέρα (2 ml) για 2 ώρες. Σχηματίζεται στερεό, το οποίο παραλαμβάνεται με διήθηση και εκπλένεται με άνυδρο διχλωρομεθάνιο. Όταν υπάρχει δακτύλιος πυριδίνης, το υδροξαμικό οξύ έχει τη μορφή υδροχλωρικού αλατος, ενώ στις άλλες περιπτώσεις είναι στην ελεύθερη μορφή του.

***N*-Υδροξυκινναμίδιο (91)⁷⁰**



M.T.: $\text{C}_9\text{H}_9\text{NO}_2$

M.W.: 163,18

Μπεζ στερεό. Απόδοση: 56% (52 mg). $R_f(6)=0.30$. σ.τ.: 109-111 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 109-112 °C⁵¹.

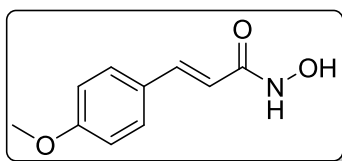
Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

^1H NMR (200 MHz, DMSO) δ 7.59-7.35 (m, 6H, Ar, CH), 6.49 (d, 1H, $J = 16$ Hz, $\text{CHC}=\text{O}$).

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO) δ 162.7 (C=O), 138.1 (CH), 134.9 (Ar), 129.5 (Ar), 129.0 (Ar), 127.6 (Ar), 119.2 ($\text{CHC}=\text{O}$).

MS (ESI) m/z (%): 162.1 [(M-H)⁻, 100].

(E)-N-Υδροξυ-3-(4-μεθοξυφαινυλο) ακρυλαμίδιο (92)⁷¹



M.T.: C₁₀H₁₁NO₃

M.W.: 193,20

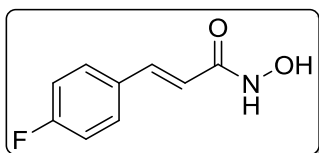
Υποκίτρινο στερεό. Απόδοση: 71% (55 mg). R_f(6)=0.26. σ.τ.: 136-138 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 141-142 °C⁷¹.

Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

¹H NMR (200 MHz, DMSO): δ 7.50 (d, 2H, *J* = 8 Hz, Ar), 7.39 (d, 1H, *J* = 16 Hz, CH), 6.69 (d, 1H, *J* = 8 Hz, Ar), 6.35 (d, 1H, *J* = 16 Hz, CH), 3.77 (s, 3H, OCH₃).

¹³C NMR (50 MHz, DMSO): δ 163.2 (C=O), 160.3 (Ar C-O), 138.0 (CH), 129.0 (Ar), 127.4 (Ar), 116.6 (CHC=O), 114.4 (Ar), 55.3 (CH₃).

(E)-3-(4-Φθοροφαινυλο)-N-υδροξυακρυλαμίδιο (93)⁷²



M.T.: C₉H₈FNO₂

M.W.: 181.17

Λευκό στερεό. Απόδοση: 69% (125 mg). R_f(6)=0.31. σ.τ.: 122-124 °C.

Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

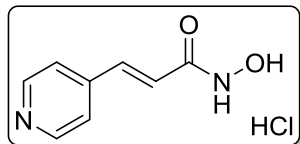
¹H NMR (200 MHz, DMSO) δ 7.62 (t, 2H, *J* = 8 Hz, Ar C-F), 7.45 (d, 1H, *J* = 16 Hz, CH), 7.24 (t, 2H, *J* = 8 Hz, Ar), 6.44 (d, 1H, *J* = 16 Hz, CHC=O).

¹³C NMR (50 MHz, DMSO) δ 162.8 (d, *J*_{CF} = 246 Hz, Ar C-F), 162.7 (C=O), 137.1 (CH), 131.5 (d, *J*_{CF} = 3 Hz, Ar), 129.7 (d, *J*_{CF} = 8 Hz, Ar), 119.1 (CHC=O), 116.0 (d, *J*_{CF} = 22 Hz, Ar).

^{19}F NMR (188 MHz, DMSO) δ 107.3.

MS (ESI) m/z (%): 180.1 [(M-H) $^-$, 100].

(E)-N-Υδροξυ-3-(πυριδιν-4-υλο) υδροχλωρικό ακρυλαμίδιο (94)⁴⁹



M.T.: $\text{C}_8\text{H}_9\text{ClN}_2\text{O}_2$

M.W.: 200.62

Κίτρινο στερεό. Απόδοση: 80% (109 mg). $R_f(6)=0.25$. σ.τ.: 200-203 °C

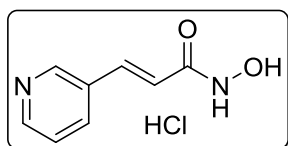
Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

^1H NMR (200 MHz, DMSO) δ 8.89 (d, 2H, $J = 6$ Hz, Ar), 8.15 (d, 2H, $J = 6$ Hz, Ar), 7.61 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CH), 7.07 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CHC=O).

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO) δ 160.5 (C=O), 150.9 (Ar), 142.6 (CH), 133.1 (Ar), 129.7 (CHC=O), 124.6 (Ar).

MS (ESI) m/z (%): 163.1 [(M-H) $^-$, 100].

(E)-N-Υδροξυ-3-(πυριδιν-3-υλο) ακρυλαμίδιο (95)⁴⁹



M.T.: $\text{C}_8\text{H}_9\text{ClN}_2\text{O}_2$

M.W.: 200.62

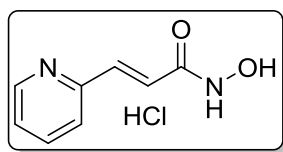
Υποκίτρινο στερεό. Απόδοση: 71% (200 mg). $R_f(6)=0.28$. σ.τ.: 198 – 200 °C.

Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

^1H NMR (200 MHz, DMSO): δ 9.11 (s, 1H, Ar), 8.85 (d, 1H, $J = 6$ Hz, Ar), 8.70 (d, 1H, $J = 8$ Hz, Ar), 8.04 (dd, 1H, $J = 8$ Hz, $J = 6$ Hz, Ar), 7.60 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CH), 6.88 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CHC=O).

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): δ 161.3 (C=O), 142.1 (Ar), 142.0 (Ar), 141.6 (CH), 134.2 (Ar), 132.2 (Ar), 127.2 (Ar), 125.3 (CHC=O).

(E)-N-Υδροξυ-3-(πυριδιν-2-υλο) ακρυλαμίδιο (96)⁴⁹



M.T.: C₈H₉ClN₂O₂

M.W.: 200.62

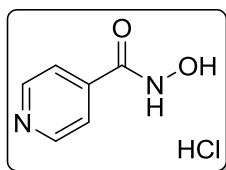
Λευκό στερεό. Απόδοση: 71% (76 mg). R_f(6)=0.24. σ.τ.: 199-/202 °C.

Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

¹H NMR (200 MHz, DMSO): δ 8.75 (d, 1H, *J* = 6 Hz, Ar), 8.27 (t, 1H, *J* = 6 Hz, Ar), 8.00 (d, 1H, *J* = 6 Hz, Ar), 7.72 (t, 1H, *J* = 6 Hz, Ar), 7.60 (d, 1H, *J* = 16 Hz, CH), 7.10 (d, 1H, *J* = 16 Hz, CHC=O).

¹³C NMR (50 MHz, DMSO): δ 160.7 (C=O), 149.5 (Ar), 144.7 (Ar), 143.1 (CH), 131.4 (Ar), 127.9 (CHC=O), 125.7 (Ar), 124.7 (Ar).

N-Υδροξυ υδροχλωρικό ισονικοτιναμίδιο (97)⁷³



M.T.: C₆H₇ClN₂O₂

M.W.: 174.58

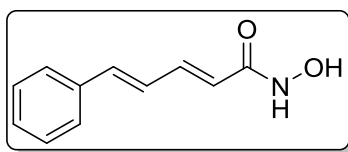
Λευκό στερεό. Απόδοση: 91% (222 mg). R_f(6)=0.17. σ.τ.: 200-203 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 206-207 °C⁷³

Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

¹H NMR (200 MHz, DMSO): δ 8.97 (d, 2H, *J* = 6 Hz, Ar), 8.17 (d, 2H, *J* = 6 Hz, Ar).

¹³C NMR (50 MHz, DMSO): δ 159.0 (C=O), 146.7 (Ar), 143.7 (Ar), 124.3 (Ar).

(2E, 4E)-N-Υδροξυ-5-φαινυλοπεντα-2,4-διεναμίδιο (132)



M.T.: C₁₁H₁₁NO₂

M.W.: 189,21

Λευκό στερεό. Απόδοση: 86% (48 mg). R_f(6)=0.30. σ.τ.: 126-130 °C.

Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

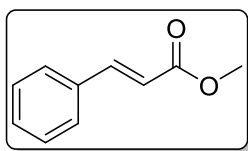
¹H NMR (200 MHz, CD₃OD): δ 7.60-7.20 (m, 6H, Ar, CH), 7.15-6.90 (m, 2H, CH), 6.07 (d, J = 16 Hz, 1H, CHC=O).

¹³C NMR (50 MHz, CD₃OD): δ 166.2 (C=O), 143.6 (CH), 141.8 (CH), 137.5 (Ar), 130.1 (CH), 129.9 (Ar), 128.3 (Ar), 127.3 (Ar), 119.2 (CHC=O).

5.2.4 Γενική μέθοδος σύνθεσης μεθυλεστέρων (ή αιθυλεστέρων) από καρβοξυλικά οξέα

Σε μεθανόλη (ή αιθανόλη για αιθυλεστέρα) (0.7M) και σε θερμοκρασία -10 °C (πάγος και αλάτι) προστίθεται στάγδην και υπό ανάδευση το θειονυλοχλωρίδιο (1.4 mmol, 0.1 ml). Μετά από 10 λεπτά προστίθεται και το καρβοξυλικό οξύ (1 mmol) και το μίγμα αφήνεται με σωλήνα χλωριούχου ασβεστίου υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες. Μετά από αρκετές συμπυκνώσεις παραλαμβάνεται το προϊόν.

Κινναμωμικός μεθυλεστέρας (99)⁷⁴



M.T.: C₁₀H₁₀O₂

M.W.: 162.19

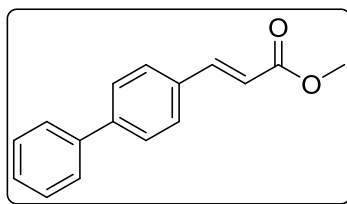
Λευκό στερεό. Απόδοση: 99% (3215 mg). R_f(3)=0.72. σ.τ.: 32-35 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 36-38 °C⁷⁴.

Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 7.69 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CH), 7.55-7.45 (m, 2H, Ar), 7.40-7.30 (m, 3H, Ar), 6.44 (d, 1H, $J = 16$ Hz, $\text{CHC}=\text{O}$), 3.80 (s, 3H, OCH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 167.0 ($\text{C}=\text{O}$), 144.5 (CH), 134.0 (Ar), 130.0 (Ar), 128.5 (Ar), 127.8 (Ar), 117.4 ($\text{CHC}=\text{O}$), 51.3 (CH_3).

(E)-3 -([1,1'-Διφαινυλο] -4-υλο) ακρυλικός μεθυλεστέρας (100)⁷⁵



M.T.: $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_2$

M.W.: 238.29

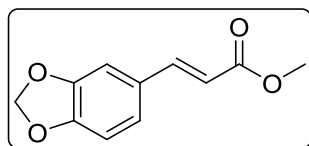
Λευκό στερεό. Απόδοση: 98% (352 mg). $R_f(6)=0.73$. σ.τ.: 140-143 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 147-148 °C.⁷⁶

Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 7.75 (d, 1H, $J=16$ Hz, CH), 7.68-7.57 (m, 6H, Ar), 7.53-7.33 (m, 3H, Ar), 6.49 (d, 1H, $J=16$ Hz, $\text{CHC}=\text{O}$), 3.84 (s, 3H, OCH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 167.4 ($\text{C}=\text{O}$), 144.3 (CH), 143.0 (Ar), 140.1 (Ar), 133.3 (Ar), 128.9 (Ar), 128.5 (Ar), 127.8 (Ar), 127.5 (Ar), 127.0 (Ar), 117.6 ($\text{CHC}=\text{O}$), 51.7 (CH_3).

(E)-3-(Βενζο [d][1,3] διοξολ-5-υλο) ακρυλικός μεθυλεστέρας (101)⁷⁷



M.T.: $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_4$

M.W.: 206.20

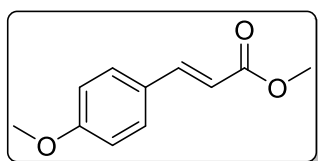
Λευκό στερεό. Απόδοση: 94% (250 mg). $R_f(6)=0.82$. σ.τ.: 128-130 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 132-136 °C⁷⁷.

Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 7.61 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CH), 7.01 (m, 2H, Ar), 6.86-6.78 (m, 1H, Ar), 6.27 (d, 1H, $J = 16$ Hz, $\text{CHC}=\text{O}$), 6.01 (s, 2H, OCH_2O), 3.80 (s, 3H, OCH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 167.5 ($\text{C}=\text{O}$), 149.5 (Ar), 148.2 (Ar), 144.4 (CH), 128.7 (Ar), 124.3 (Ar), 115.6 ($\text{CHC}=\text{O}$), 108.4 (Ar), 106.4 (Ar), 101.5 (OCH_2O), 51.5 (OCH_3).

(E)-3-(4-Μεθοξυφαινυλο) ακρυλικός μεθυλεστέρας (102)⁷⁸



M.T.: $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_3$

M.W.: 192.21

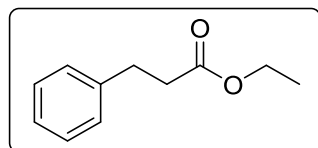
Λευκό στερεό. Απόδοση: 92% (530 mg). $R_f(6)=0.84$. σ.τ.: 83-86 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 85-88 °C⁷⁸.

Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 7.66 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CH), 7.49 (d, 2H, $J = 8$ Hz, Ar), 6.91 (d, 2H, $J = 8$ Hz, Ar), 6.33 (d, 1H, $J = 16$ Hz, $\text{CHC}=\text{O}$), 3.85 (s, 3H, OCH_3), 3.81 (s, 3H, OCH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 167.8 ($\text{C}=\text{O}$), 161.3 (Ar), 144.5 (CH), 129.7 (Ar), 126.9 (Ar), 115.2 ($\text{CHC}=\text{O}$), 114.2 (Ar), 55.3 (OCH_3), 51.6 (OCH_3).

3-Φαινυλοπροπανοϊκός αιθυλεστέρας (108)



M.T.: $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_2$

M.W.: 178,23

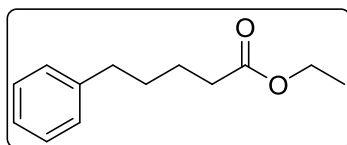
Υποκίτρινο έλαιο. Απόδοση: 98% (878 mg). $R_f(3)=0.69$

Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 7.37-7.14 (m, 5H, Ar), 4.20-4.07 (m, 2H, OCH_2), 3.02-2.89 (m, 2H, CH_2), 2.69-2.56 (m, 2H, CH_2), 1.30-1.20 (m, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 172.8 (C=O), 140.4 (Ar), 128.3 (Ar), 128.2 (Ar), 126.1 (Ar), 60.3 (OCH_2), 35.8 (CH_2), 30.8 (CH_2), 14.1 (CH_3).

5-Φαινυλοπεντανοϊκός αιθυλεστέρας (128)



M.T.: $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_2$

M.W.: 206,29

Άχρωμο έλαιο. Απόδοση: 95% (1,04 g). $R_f(2)=0.56$.

Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

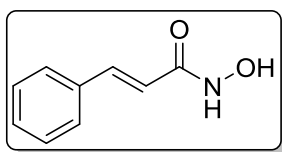
^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 7.35-7.15 (m, 5H, Ar), 4.14 (q, 2H, $J = 7$ Hz, OCH_2), 2.65 (d, 2H, $J = 7$ Hz, ArCH_2), 2.40-2.25 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 1.75-1.60 (m, 4H, CH_2), 1.26 (t, 3H, $J = 7$ Hz, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 173.5 (C=O), 142.0 (Ar), 128.2 (Ar), 128.2 (Ar), 125.6 (Ar), 60.1 (OCH_2), 35.5 (CH_2), 34.1 (CH_2), 30.8 (CH_2), 24.5 (CH_2), 14.1 (CH_3).

5.2.5 Γενική μέθοδος σύνθεσης υδροξαμικών οξέων από εστέρες

Σε διάλυμα του εστέρα (1 mmol) σε άνυδρο τετραϋδροφουράνιο (5 ml), προστίθεται η 50% υδατική υδραξυλαμίνη (9 mmol, 306 mg, 0.54 ml) και στους 0 °C γίνεται αργή στάγδην προσθήκη του διαλύματος υδροξειδίου του καλίου (1.6 mmol, 90 mg) σε μεθανόλη (1 M). Το μίγμα αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για ακόμα 1 ώρα, ύστερα προστίθεται νερό, γίνεται ρύθμιση του pH να είναι περίπου 6 με υδατικό διάλυμα HCl 1M και πραγματοποιούνται εκχυλίσσεις με οξικό αιθυλεστέρα. Μετά από ξήρανση και συμπύκνωση της οργανικής στοιβάδας παραλαμβάνεται το στερεό υδροξαμικό οξύ.

***N*-Υδροξυκινναμαμίδιο (103)⁷⁰**



M.T.: C₉H₉NO₂

M.W.: 163,18

Λευκό στερεό. Απόδοση: 77% (748 mg). R_f(6)=0.33. σ.τ.: 109-111 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 109-112 °C⁵¹.

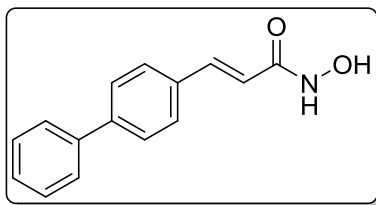
Παρατήρηση: Ανακρυστάλλωση από οξικό αιθυλεστέρα σε διχλωρομεθάνιο.

Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

¹H NMR (200 MHz, DMSO) δ 10.80 (s, 1H, OH) 9.10 (s, 1H, NH) .

Τα υπόλοιπα φασματοσκοπικά δεδομένα του ¹H και ¹³C NMR ταυτίζονται με το (79).

***(E)*-3-([1,1'-Διφαινυλ]-4-υλο)-*N*-υδροξυακρυλαμίδιο (104)⁷⁹**



M.T.: C₁₅H₁₃NO₂

M.W.: 239.27

Σομόν Στερεό. Απόδοση: 66% (157 mg). R_f(6)=0.28. σ.τ.: 163-166 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 168 °C⁷⁹.

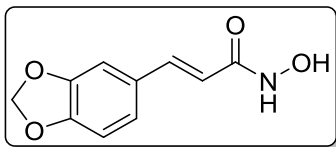
Παρατήρηση: Ανακρυστάλλωση από μεθανόλη σε διχλωρομεθάνιο.

Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

¹H NMR (200 MHz, DMSO): δ 7.81-7.60 (m, 6H, Ar, CH), 7.57-7.32 (m, 4H, Ar), 6.52 (d, 1H, J=16 Hz, CHC=O).

¹³C NMR (50 MHz, DMSO): δ 162.8 (C=O), 141.0 (CH), 139.4 (Ar), 137.9 (Ar), 134.0 (Ar), 129.1 (Ar), 128.2 (Ar), 127.9 (Ar), 127.2 (Ar), 126.7 (Ar), 119.2 (CHC=O).

(E)-3-(Βενζο [d][1,3] διοξολ-5-υλο)-N-υδροξυακρυλαμίδιο (105)



M.T.: C₁₀H₉NO₄

M.W.: 207.19

Λευκό στερεό. Απόδοση: 58% (105 mg). R_f(6)=0.28. σ.τ.: 144-146 °C

Παρατήρηση: Ανακρυστάλλωση από μεθανόλη σε διχλωρομεθάνιο.

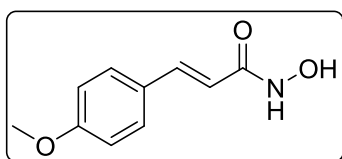
Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

¹H NMR (200 MHz, DMSO): δ 10.64 (s, 1H, OH), 8.97 (s, 1H, NH), 7.37 (d, 1H, J = 16 Hz, ArCH), 7.19-6.98 (m, 2H, Ar), 6.93 (d, 1H, J = 8 Hz, Ar), 6.30 (d, 1H, J=16 Hz, CHC=O), 6.06 (s, 2H, OCH₂O).

¹³C NMR (50 MHz, DMSO): δ 163.1 (C=O), 148.5 (Ar), 148.0 (Ar), 138.2 (CH), 129.3 (Ar), 123.3 (Ar), 117.1 (CHC=O), 108.6 (Ar), 106.3 (Ar), 101.5 (OCH₂O).

HRMS: 230,0421 (M+Na)⁺, (Calc 230,0430).

(E)-N-Υδροξυ-3-(4-μεθοξυφαινυλο) ακρυλαμίδιο (106)⁷¹



M.T. : C₁₀H₁₁NO₃

M.W.: 193.20

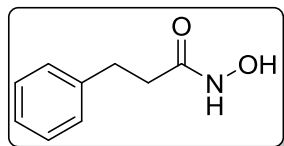
Υποκίτρινο στερεό. Απόδοση: 71% (300 mg). R_f(6)=0.29. σ.τ.: 137-140 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 141-142 °C⁷¹.

Παρατήρηση: Ανακρυστάλλωση από μεθανόλη σε διχλωρομεθάνιο.

Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

Τα φασματοσκοπικά δεδομένα ταυτίζονται με αυτά της ένωσης **(83)**.

***N*-Υδροξυ-3-φαινυλοπροπαναμίδιο (107)⁴⁹**



M.T.: C₉H₁₁NO₂

M.W.: 165,19

Λευκό στερεό. Απόδοση: 45% (74 mg). R_f(5)=0.46. σ.τ.: 70-72 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 73-74 °C⁸⁰

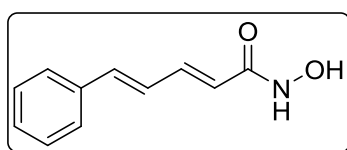
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: CHCl₃/MeOH 95/5 έως 9/1.

¹H NMR (200 MHz, DMSO) δ 10.39 (s, 1H, OH), 8.74 (s, 1H, NH), 7.35-7.15 (m, 5H, Ar), 2.80 (t, 2H, *J* = 8 Hz, CH₂), 2.25 (t, *J* = 8 Hz, 2H, CH₂C=O).

¹³C NMR (50 MHz, DMSO) δ 168.3 (C=O), 141.1 (Ar), 128.4 (Ar), 128.3 (Ar), 126.0 (Ar), 34.0 (CH₂), 31.0 (CH₂C=O).

MS (ESI) m/z (%): 164.1 [(M-H)⁻, 80].

***(2E, 4E)*-N-Υδροξυ-5-φαινυλοπεντα-2,4-διεναμίδιο (121)**



M.T.: C₁₁H₁₁NO₂

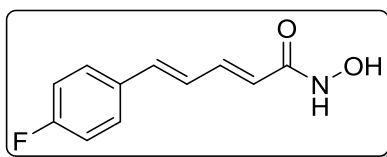
M.W.: 189,21

Λευκό στερεό. Απόδοση: 37% (90 mg). R_f(6)=0.30. σ.τ.: 126-130 °C

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: CHCl₃/MeOH 9/1

Τα φασματοσκοπικά δεδομένα ταυτίζονται με αυτά της ένωσης **(120)**.

(2E, 4E)-5-(4-Φθοροφαινυλο)-N-υδροξυπεντα-2,4-διεναμίδιο (122)



M.T.: C₁₁H₁₀FNO₂

M.W.: 207.20

Μπεζ στερεό. Απόδοση: 55% (91 mg). R_f(5)=0.15. σ.τ.: 124-126 °C.

Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

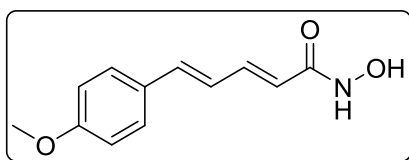
¹H NMR (200 MHz, DMSO) δ 7.61 (dd, 2H, J₁ = 8 Hz, J₂ = 6 Hz, Ar), 7.30-7.10 (m, 3H, Ar, CH), 7.10-6.85 (m, 2H, CH), 6.01 (d, 1H, J = 16 Hz, CHC=O).

¹³C NMR (50 MHz, DMSO) δ 162.8 (C=O), 162.2 (d, J_{CF} = 245 Hz, Ar C-F), 138.7 (CH), 136.7 (CH), 133.0 (d, J_{CF} = 3 Hz, Ar), 129.1 (d, J_{CF} = 8 Hz, Ar), 127.0 (CH), 122.3 (CHC=O), 115.8 (d, J_{CF} = 22 Hz, Ar)

¹⁹F NMR (188 MHz, DMSO) δ 108.5.

HRMS: 208.0764 (M+H)⁺, (Calc. 208.0769).

(2E, 4E)-N-Υδροξυ-5-(4-μεθοξυφαινυλο) πεντα-2,4-διεναμίδιο (123)



M.T.: C₁₂H₁₃NO₃

M.W.: 219.24

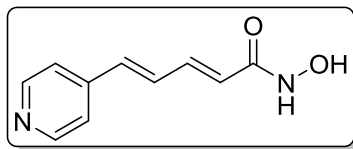
Μπεζ στερεό. Απόδοση: 72% (31 mg). R_f(6)=0.31. σ.τ.: 142-144 °C

Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

¹H NMR (200 MHz, DMSO): δ 10.73 (s, 1H, OH), 7.50 (d, 2H, J = 8 Hz, Ar), 7.35-7.05 (m, 1H, CH), 7.05-6.80 (m, 4H, Ar, CH), 5.94 (d, 1H, J = 16 Hz, CHC=O), 3.77 (s, 3H, CH₃).

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): δ 163.0 (C=O), 159.6 (Ar), 138.9 (CH), 137.7 (CH), 129.0 (Ar), 128.4 (Ar), 124.8 (CH), 120.8 (CHC=O), 114.3 (Ar), 55.2 (CH₃).

(2E, 4E)-N-Υδροξυ-5-(πυριδιν-4-υλο) πεντα-2,4-διεναμίδιο (124)



M.T.: C₁₀H₁₀N₂O₂

M.W.: 190,20

Κίτρινο στερεό. Απόδοση: 47% (72 mg). R_f(7)=0.28. σ.τ.: 170-172 °C

Παρατήρηση: Ανακρυστάλλωση από μεθανόλη.

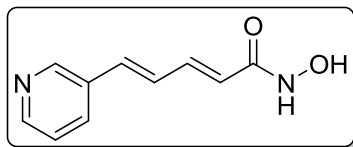
Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

^1H NMR (200 MHz, DMSO): δ 10.87 (s, 1H, OH), 9.10 (s, 1H, NH), 8.54 (d, 2H, $J = 6$ Hz, Ar), 7.50 (d, 2H, $J = 6$ Hz, Ar), 7.40-7.15 (m, 2H, CH), 6.93 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CH), 6.13 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CHC=O).

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): δ 162.5 (C=O), 150.2 (Ar), 143.5 (CH), 138.0 (Ar), 135.2 (CH), 131.5 (CH), 124.9 (CHC=O), 121.2 (Ar).

HRMS: 191.0816 (M+H)⁺, (Calc. 191.0815).

(2E, 4E)-N-Υδροξυ-5-(πυριδιν-3-υλο) πεντα-2,4-διεναμίδιο (125)



M.T.: C₁₀H₁₀N₂O₂

M.W.: 190,20

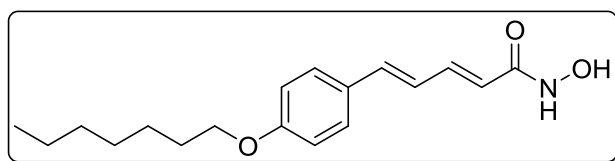
Καφέ στερεό. Απόδοση: 59% (90 mg). R_f(7)=0.32. σ.τ.: 175-177 °C.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: CHCl₃/MeOH 9/1 έως 7/3.

^1H NMR (200 MHz, DMSO): δ 10.80 (s, 1H, OH), 9.03 (s, 1H, NH), 8.72 (d, 1H, $J = 1$ Hz, Ar), 8.47 (dd, 1H, $J = 1$ Hz, $J = 5$ Hz, Ar), 8.01 (d, 1H, $J = 8$ Hz, Ar), 7.58 (dd, 1H, $J = 8$ Hz, $J = 5$ Hz, Ar), 7.30-7.10 (m, 2H, CH), 7.08-6.88 (m, 1H, CH), 6.05 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CHC=O).

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): δ 165.0 (C=O), 148.3 (Ar), 147.9 (Ar), 139.9 (CH), 134.6 (Ar), 134.3 (CH), 133.1 (Ar), 129.2 (CH), 124.3 (Ar), 122.2 (CHC=O).

(2E, 4E)-5-(4-(Επτυλοξυ) φαινυλο)-N-υδροξυπεντα-2,4-διεναμίδιο (126)



M.T.: $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{NO}_3$

M.W.: 303.40

Μπεζ στερεό. Απόδοση: 42% (63 mg). $R_f(6)=0.28$. σ.τ.: 132-134 °C

Παρατήρηση: Ανακρυστάλλωση από οξικό αιθυλεστέρα.

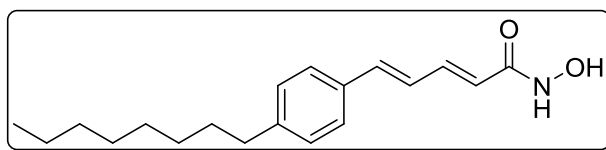
Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

^1H NMR (200 MHz, DMSO): δ 10.73 (s, 1H, OH), 8.98 (s, 1H, NH), 7.47 (d, 2H, $J = 8$ Hz, Ar), 7.28-7.10 (m, 1H, CH), 7.00-6.85 (m, 4H, Ar, CH), 5.94 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CHC=O), 3.96 (t, 2H, $J = 6$ Hz, OCH_2), 1.80-1.60 (m, 2H, CH_2), 1.45-1.25 (m, 8H, CH_2), 0.95-0.75 (m, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): δ 163.1 (C=O), 159.2 (Ar), 139.2 (CH), 137.9 (CH), 128.8 (Ar), 128.5 (Ar), 124.7 (CH), 120.9 (CHC=O), 114.8 (Ar), 67.6 (OCH_2), 31.3 (CH_2), 28.7 (CH_2), 28.5 (CH_2), 25.5 (CH_2), 22.1 (CH_2), 14.0 (CH_3).

HRMS: 326.1720 ($\text{M}+\text{Na}^+$), (Calc 326.1726).

(2E, 4E)-N-Υδροξυ-5-(4-οκτυλφαινυλο) πεντα-2,4-διεναμίδιο (127)



M.T.: C₁₉H₂₇NO₂

M.W.: 301.43

Βαθύ πορτοκαλί στερεό. Απόδοση: 52% (86 mg). R_f(6)=0.29. σ.τ.: 126 °C

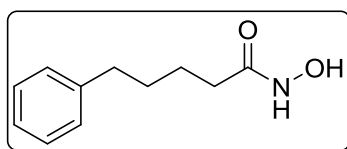
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: CHCl₃/MeOH 97/3.

¹H NMR (200 MHz, DMSO): δ 10.67 (s, 1H, OH), 8.91 (s, 1H, NH), 7.41 (d, 2H, J = 8 Hz, Ar), 7.25-6.75 (m, 5H, Ar, CH), 5.95 (d, 1H, J = 16 Hz, CHC=O), 2.60-2.50 (m, 2H, CH₂), 1.60-1.40 (m, 2H, CH₂), 1.35-1.10 (m, 10H, CH₂), 0.90-0.70 (m, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, DMSO): δ 163.0 (C=O), 143.1 (CH), 139.1 (Ar), 138.0 (CH), 133.8 (Ar), 128.7 (Ar), 126.9 (Ar), 126.1 (CH), 121.8 (CHC=O), 35.0 (CH₂), 31.3 (CH₂), 30.8 (CH₂), 28.9 (CH₂), 28.7 (CH₂), 22.1 (CH₂), 14.0 (CH₃).

HRMS: 302.2117 (M+H)⁺, (Calc 302.2115).

N-Υδροξυ-5-φαινυλοπενταναμίδιο (129)⁵²



M.T.: C₁₁H₁₅NO₂

M.W.: 193,25

Πορτοκαλί στερεο. Απόδοση: 88% (95 mg). R_f(6)=0.34. σ.τ.: 68-70 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 74 °C⁷⁹

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: CHCl₃/MeOH 95/5 έως 9/1

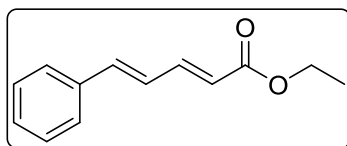
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 10.30 (s, 1H, OH), 8.62 (s, 1H, NH), 7.30-7.05 (m, 5H, Ar), 2.60-2.50 (m, 2H, CH₂), 2.00-1.85 (m, 2H, CH₂C=O), 1.55-1.40 (m, 4H, CH₂).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 169.3 (C=O), 142.3 (Ar), 128.5 (Ar), 128.4 (Ar), 125.9 (Ar), 35.0 (CH_2), 32.3 (CH_2), 30.8 (CH_2), 25.0 (CH_2).

5.2.6 Γενική μέθοδος ολεφινοποίησης Horner-Wadsworth-Emmons

Σε αναδευόμενο διάλυμα της αλδεΐδης (1 mmol) σε άνυδρο τετραϋδροφουράνιο (10 ml) προστίθενται 4-φωσφονοκροτονικός τριαιθυλεστέρας (1.2 mmol, 300 mg), κονιορτοποιημένα μοριακά κόσκινα (800 mg) και $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (1.2 mmol, 50 mg). Το μίγμα αναδεύεται και τίθεται σε θέρμανση υπό αναρροή, τοποθετείται σωλήνας χλωριούχου ασβεστίου στον ψυκτήρα και αφήνεται υπό ανάδευση 24 ώρες. Ελέγχεται η πορεία της αντίδρασης με TLC και εφόσον υπάρχει ακόμα αλδεΐδη (πρώτη ύλη) προστίθεται επιπλέον 4-φωσφονοκροτονικός τριαιθυλεστέρας (0.3 mmol, 75 mg) και $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (0.3 mmol, 13 mg) και το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση και αναρροή άλλες 24 ώρες. Ακολουθεί διήθηση υπό κενό από Celite για να απομακρυνθούν τα μοριακά κόσκινα και συμπύκνωση για να απομακρυνθεί ο διαλύτης. Τέλος, γίνεται καθαρισμός του προϊόντος με χρωματογραφία στήλης.

(2E, 4E)-5-Φαινυλοπεντα-2,4-διενοϊκός αιθυλεστέρας (109)⁷⁸



M.T.: $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{O}_2$

M.W.: 202,25

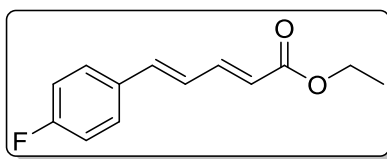
Άχρωμο έλαιο. Απόδοση: 74% (299 mg). $R_f(1)=0.25$.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: PE/AcOEt 95/5.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): 7.55-7.25 (m, 6H, Ar, CH), 7.00-6.80 (m, 2H, CH), 6.00 (d, 1H, $J = 16$ Hz, $\text{CHC}=\text{O}$), 4.24 (q, 2H, $J = 7$ Hz, OCH_2), 1.33 (t, 3H, $J = 7$ Hz, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 167.0 (C=O), 144.5 (CH), 140.3 (CH), 136.0 (Ar), 129.0 (Ar), 128.8 (Ar), 127.1 (Ar), 126.2 (CH), 121.3 ($\text{CHC}=\text{O}$), 60.3 (OCH_2), 14.3 (CH_3).

(2E, 4E)-5-(4-Φθοροφαινυλο) πεντα-2,4-διενοϊκός αιθυλεστέρας (110)



M.T.: C₁₃H₁₃FO₂

M.W.: 220.24

Λευκό στερεό. Απόδοση: 75% (331 mg). R_f(3)=0.56. σ.τ.: 108-110 °C.

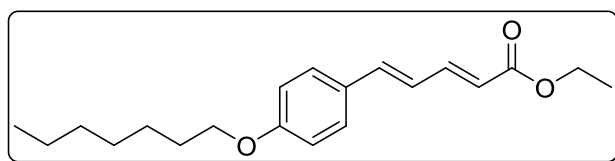
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία σήλης: PE/AcOEt 9/1 έως 7/3.

¹H NMR (200 MHz, DMSO) δ 7.50-7.35 (m, 3H, Ar, CH), 7.04 (t, 2H, J = 8 Hz, Ar), 6.90-6.70 (m, 2H, CH), 5.98 (d, 2H, J = 16 Hz, CHC=O), 4.22 (q, 2H, J = 7 Hz, OCH₂), 1.31 (t, 3H, J = 7 Hz, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, DMSO) δ 166.9 (C=O), 162.9 (d, J_{CF} = 248 Hz, Ar C-F), 144.2 (CH), 138.8 (CH), 132.1 (d, J_{CF} = 3 Hz, Ar), 128.7 (d, J_{CF} = 8 Hz, Ar), 125.8 (CH), 121.1 (CHC=O), 115.7 (d, J_{CF} = 22 Hz, Ar), 60.2 (OCH₂), 14.2 (CH₃).

¹⁹F NMR (188 MHz, DMSO) δ 111.97.

**(2E, 4E)-5-(4-(Επτυλοξυ) φαινυλο) πεντα-2,4-διενοϊκός αιθυλεστέρας
(111)**



M.T.: C₂₀H₂₈O₃

M.W.: 316.44

Λευκό Στερεό. Απόδοση: 46% (970 mg). R_f(3)=0.72. σ.τ.: 138-140 °C

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία σήλης: PE/AcOEt 95/5

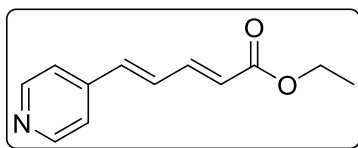
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): 7.55-7.35 (m, 3H, Ar, CH), 6.95-6.65 (m, 4H, Ar, CH), 5.94 (d, 1H, J = 16 Hz, CHC=O), 4.23 (q, 2H, J = 7 Hz, OCH₂CH₃), 3.98

(t, 2H, $J = 7$ Hz, OCH_2CH_2), 1.90-1.70 (m, 2H, OCH_2CH_2), 1.45-1.20 (m, 11H, OCH_2CH_3 , CH_2), 0.95-0.80 (m, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 167.3 (C=O), 160.0 (Ar), 145.0 (CH), 140.2 (CH), 130.7 (Ar), 128.6 (Ar), 124.0 (CH), 119.9 (CHC=O), 114.8 (Ar), 68.1 (OCH_2), 60.2 (OCH_2), 31.8 (CH_2), 29.2 (CH_2), 29.0 (CH_2), 26.0 (CH_2), 22.6 (CH_2), 14.3 (CH_3), 14.1 (CH_3).

HRMS: 339.1931 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺, (Calc 319,1936).

(2E, 4E)-5-(Πυριδιν-4-υλο) πεντα-2,4-διενοϊκός αιθυλεστέρας (112)⁸¹



M.T.: $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{NO}_2$

M.W.: 203,24

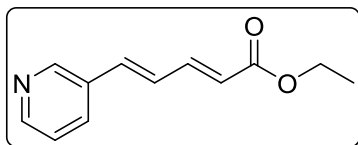
Λευκό στερεό. Απόδοση: 52% (490 mg). $R_f(5)=0.58$. σ.τ.: 87-91 °C.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία σήλης: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 95/5 και PE/AcOEt 5/5 έως 4/6.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 8.59 (d, 2H, $J = 6$ Hz, Ar), 7.42 (dd, 1H, $J = 16$ Hz, $J = 11$ Hz, CH), 7.30 (d, 2H, $J = 6$ Hz, Ar), 7.03 (dd, 1H, $J = 16$ Hz, $J = 11$ Hz, CH), 6.80 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CH), 6.08 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CHC=O) 4.23 (q, 2H, $J = 7$ Hz, OCH_2), 1.31 (t, 3H, $J = 7$ Hz, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3); δ 166.5 (C=O), 150.4 (Ar), 143.2 (CH), 143.1 (CH), 137.1 (CH), 130.5 (CH), 124.1 (CHC=O), 121.2 (Ar), 60.6 (OCH_2), 14.4 (CH_3).

(2E, 4E)-5-(Πυριδιν-3-υλο) πεντα-2,4-διενοϊκός αιθυλεστέρας (113)



M.T.: $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{NO}_2$

M.W.: 203,24

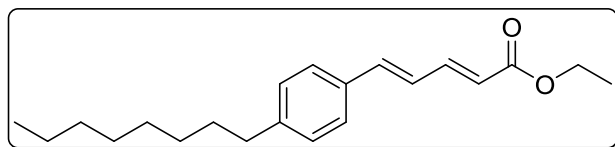
Υποκίτρινο έλαιο. Απόδοση: 73% (688 mg). $R_f(6)=0.58$.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία σήλης: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 95/5 και PE/AcOEt 5/5.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 8.59 (d, 1H, $J = 2$ Hz, Ar), 8.43 (dd, 1H, $J = 2$ Hz, $J = 5$ Hz, Ar), 7.75-7.65 (m, 1H, Ar), 7.45-7.25 (m, 1H, CH), 7.20 (dd, 1H, $J = 8$ Hz, $J = 5$ Hz, Ar), 7.00-6.70 (m, 2H, CH), 5.95 (d, 1H, $J = 16$ Hz, $\text{CHC}=\text{O}$), 4.15 (q, 2H, $J = 7$ Hz, OCH_2), 1.23 (t, 3H, $J = 7$ Hz, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 166.5 (C=O), 149.4 (Ar), 148.7 (Ar), 143.4 (CH), 136.0 (Ar), 133.0 (CH), 131.5 (Ar), 127.9 (CH), 123.4 (Ar), 122.4 ($\text{CHC}=\text{O}$), 60.2 (OCH_2), 14.1 (CH_3).

(2E, 4E)-5-(4-Οκτυλφαινυλο) πεντα-2,4-διενοϊκός αιθυλεστέρας (114)



M.T.: $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_2$

M.W.: 314.47

Λευκό στερεό. Απόδοση: 47% (521 mg). $R_f(2)=0.31$. σ.τ.: 60-64 °C

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία σήλης: PE/DCM 8/2 έως 5/5

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 7.50-7.30 (m, 3H, Ar, CH), 7.17 (d, 2H, $J = 8$ Hz, Ar), 6.95-6.75 (m, 2H, CH), 5.97 (d, 1H, $J = 16$ Hz, $\text{CHC}=\text{O}$), 4.24 (q, 2H, $J = 7$ Hz, OCH_2), 2.61 (t, 2H, $J = 8$ Hz, CH_2), 1.70-1.50 (m, 2H, CH_2), 1.40-1.25 (m, 13H, CH_2 , OCH_2CH_3), 0.88 (t, 3H, $J = 7$ Hz, CH_3).

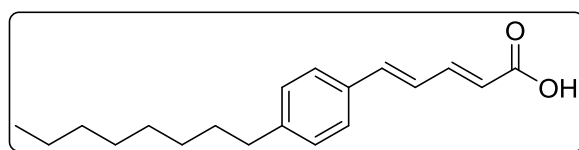
^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 167.1 (C=O), 144.8 (CH), 144.3 (Ar), 140.4 (CH), 133.4 (Ar), 128.8 (Ar), 127.1 (Ar), 125.3 (CH), 120.6 ($\text{CHC}=\text{O}$), 60.2 (OCH_2), 35.8 (CH_2), 31.8 (CH_2), 31.3 (CH_2), 29.4 (CH_2), 29.3 (CH_2), 29.2 (CH_2), 22.6 (CH_2), 14.3 (CH_3), 14.1 (CH_3).

HRMS: 337,2137 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺, (Calc 337,2144).

5.2.7 Γενική μέθοδος σαπωνοποίησης

Ο εστέρας (1 mmol) διαλύεται σε 1,4-διοξάνη (2 mL) και κατόπιν προστίθεται υδατικό διάλυμα NaOH 1N (2 mmol, 80 mg σε 2 mL νερό). Το μίγμα σε κλειστή φιάλη αφήνεται υπό ανάδευση επί 24 ώρες. Ακολουθεί απομάκρυνση του διαλύτη, οξίνιση με HCl 1N και τρεις εκχυλίσεις με Et₂O. Οι αιθερικές φάσεις συλλέγονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄, συμπυκνώνονται και παραλαμβάνονται τα καρβοξυλικά οξέα ως στερεά σε υψηλές αποδόσεις.

(2*E*, 4*E*)-5-(4-Οκτυλαιθυλο) πεντα-2,4-διενοϊκό οξύ (133)



M.T.: C₁₉H₂₆O₂

M.W.: 286.42

Λευκό στερεό. Απόδοση: 90% (252 mg). R_f(6)= 0,25. σ.τ.: 138-140 °C.

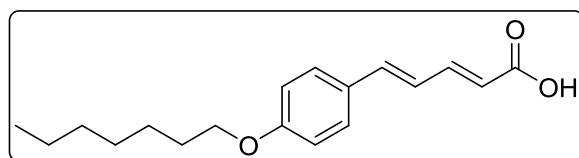
Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία σήλης.

¹H NMR (200 MHz, DMSO): δ 12.23 (s, 1H, OH), 7.46 (d, 2H, *J* = 8 Hz, Ar), 7.40-7.35 (m, 1H, CH), 7.20 (d, 2H, *J* = 8 Hz, Ar), 7.15-6.95 (m, 2H, CH), 5.98 (d, 1H, *J* = 16 Hz, CHC=O), 2.65-2.55 (m, 2H, CH₂), 1.65-1.45 (m, 2H, CH₂), 1.35-1.15 (m, 10H, CH₂), 0.95-0.75 (m, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, DMSO): δ 167.6 (C=O), 144.6 (CH), 143.6 (Ar), 139.9 (CH), 133.5 (Ar), 128.8 (Ar), 127.2 (Ar), 125.7 (CH), 121.7 (CHC=O), 35.0 (CH₂), 31.3 (CH₂), 30.8 (CH₂), 28.8 (CH₂), 28.7 (CH₂), 22.1 (CH₂), 14.0 (CH₃).

HRMS: 309,1826 (M+Na)⁺, (Calc 309,1831).

(2*E*, 4*E*)-5-(4-(επτυλοξυ) φαιθυλο) πεντα-2,4-διενοϊκό οξύ (134)



M.T.: C₁₈H₂₄O₃

M.W.: 288.39

Κίτρινο στερεό. Απόδοση: 55% (158 mg). $R_f(6)=0,25$. σ.τ.: 148-150 °C

Παρατήρηση: Ανακρυστάλλωση από οξικό αιθυλεστέρα σε πετρελαϊκό αιθυλεστέρα.

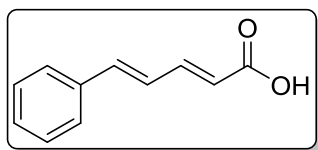
Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

^1H NMR (200 MHz, DMSO): δ 7.49 (d, 2H, $J = 9$ Hz, Ar), 7.39-7.24 (m, 1H, CH), 7.05-6.80 (m, 4H, Ar, CH), 5.93 (d, 1H, $J = 16$ Hz, $\text{CHC}=\text{O}$), 3.97 (t, 2H, $J = 6$ Hz, OCH_2), 1.80-1.60 (m, 2H, CH_2), 1.45-1.20 (m, 8H, CH_2), 0.95-0.80 (m, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): δ 167.7 (C=O), 159.5 (Ar), 144.9 (CH), 139.8 (CH), 128.8 (Ar), 128.5 (Ar), 124.2 (CH), 120.8 ($\text{CHC}=\text{O}$), 114.8 (Ar), 67.6 (OCH_2), 31.3 (CH_2), 28.7 (CH_2), 28.5 (CH_2), 25.5 (CH_2), 22.1 (CH_2), 14.0 (CH_3).

HRMS: 311,1618 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺, (Calc 311,1623).

(2E, 4E)-5-Φαινυλοπεντα-2,4-διενοϊκό οξύ (130)⁸²



M.T.: $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_2$

M.W.: 174,20

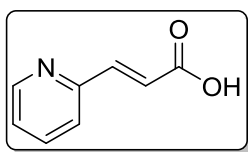
Λευκό στερεό. Απόδοση: 85% (155 mg). $R_f(6)=0,58$ σ.τ.: 168-171 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 165-166 °C⁸²

Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 7.65-7.30 (m, 6H, Ar, CH), 7.05-6.85 (m, 2H, CH), 6.02 (d, 1H, $J = 16$ Hz, $\text{CHC}=\text{O}$).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 172.5 (C=O), 147.0 (CH), 141.7 (CH), 135.8 (Ar), 129.3 (Ar), 128.8 (Ar), 127.3 (Ar), 125.9 (CH), 120.2 ($\text{CHC}=\text{O}$).

(E)-3-(Πυριδιν-2-υλο) ακρυλικό οξύ (77)⁸³



M.T.: C₈H₇NO₂

M.W.: 149,15

Λευκό στερεό. Απόδοση: 65% (97 mg). R_f(6)=0.30. σ.τ.: 195-198 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 198-200 °C⁸³

Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

¹H NMR (200 MHz, CD₃OD): δ 8.60 (d, 1H, J = 12 Hz, Ar), 7.95-7.80 (m, 1H, Ar), 7.75-7.60 (m, 2H, Ar, CH), 7.45-7.35 (m, 1H, Ar), 6.84 (d, 1H, J = 16 Hz, CHC=O).

¹³C NMR (50 MHz, CD₃OD): δ 169.7 (C=O), 154.2 (Ar), 150.8 (Ar), 144.3 (CH), 138.9 (Ar), 125.9 (Ar), 125.4 (Ar), 124.1 (CHC=O).

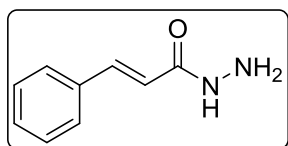
5.2.8 Γενική μέθοδος σύνθεσης υδραζιδίων από καρβοξυλικά οξέα

Το καρβοξυλικό οξύ (1 mmol) διαλύεται εν μέρει ή πλήρως στο ακετονιτρίλιο (2 ml) και προστίθεται το EDC (1.1 mmol, 171 mg) και το HOBT (1.1 mmol, 149 mg). Το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι από TLC να διαπιστωθεί η κατανάλωση ολόκληρης της ποσότητας του καρβοξυλικού οξέος. Ύστερα, σε ξεχωριστή φιάλη αναμιγνύεται η μονοϋδατική υδραζίνη (2 mmol, 100 mg), ακετονιτρίλιο (1ml) και το κυκλοεξένιο (2-3 σταγόνες). Το μίγμα τίθεται στους 0 ° C και γίνεται στάγδην προσθήκη του πρώτου μίγματος με το ενεργοποιημένο οξύ. Μετά το πέρας της προσθήκης η αντίδραση αφήνεται για μισή ώρα ακόμα, προστίθεται νερό και γίνονται εκχυλίσεις με οξικό αιθυλεστέρα. Η οργανική στοιβάδα εκπλένεται με NaHCO₃ 10% και πραγματοποιείται ξήρανση και συμπύκνωση της. Τέλος, γίνεται καθαρισμός του προϊόντος με χρωματογραφία στήλης.

Για αυτήν τη σειρά αντιδράσεων αξίζει να σημειωθεί ότι κατά το έλεγχο των πορειών με TLC, η ένωση φαίνεται να σπάει σε δύο κηλίδες, μία για R_f(6)=0.3 περίπου και μία πιο ψηλά για R_f(6)=0.7 περίπου. Το σπάσιμο αυτό

παρατηρήθηκε σε όλα τα υδραζίδια που συντέθηκαν. Επιπλέον, το φαινόμενο αυτό παρατηρείται μόνο στις πλάκες αλουμινίου, καθώς από τα προϊόντα διαπιστώνεται ότι με υλικό πληρώσεως silica gel 60 κατά τη χρωματογραφία στήλης το προϊόν δεν σπάει και μάλιστα η κάτω κηλίδα είναι εκείνη που αντιστοιχεί στο προϊόν.

Κινναμωμικό υδραζίδιο (135)⁶²



M.T.: C₉H₁₀N₂O

M.W.: 162.19

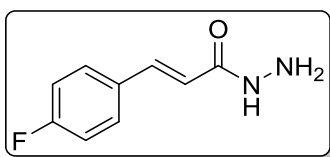
Μπεζ στερεό. Απόδοση: 37% (120 mg). R_f(6)=0.35. σ.τ.: 116-118 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 116-117 °C⁶²

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: CHCl₃/MeOH 95/5 έως 9/1

¹H NMR (200 MHz, DMSO): δ 9.36 (s, 1H, NH), 7.60-7.35 (m, 6H, Ar, CH), 6.54 (d, 1H, J = 16 Hz, CHC=O), 4.47 (s, 2H, NH₂).

¹³C NMR (50 MHz, DMSO): δ 164.5 (C=O), 138.2 (CH), 135.0 (Ar), 129.5 (Ar), 129.0 (Ar), 127.5 (Ar), 120.3 (CHC=O).

(E)-3-(4-Φθοροφαινυλο) ακρυλο-υδραζίδιο (136)



M.T.: C₉H₉FN₂O

M.W.: 180.18

Λευκό στερεό. Απόδοση: 50% (179 mg). R_f(6)=0.33. σ.τ.: 134-136 °C

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

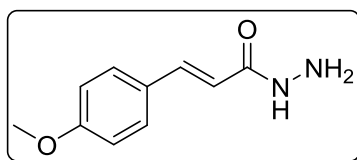
^1H NMR (200 MHz, DMSO): δ 9.34 (s, 1H, NH), 7.62 (dd, 2H, $J = 8$ Hz, $J = 6$ Hz, Ar), 7.44 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CH), 7.24 (t, 2H, $J = 8$ Hz, Ar), 6.48 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CHC=O), 4.46 (s, 2H, NH₂).

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): δ 164.6 (C=O), 162.8 (d, $J_{CF} = 246$ Hz, Ar C-F), 137.2 (CH), 131.6 (d, $J_{CF} = 3$ Hz, Ar), 129.8 (d, $J_{CF} = 9$ Hz, Ar), 120.2 (CHC=O), 116.0 (d, $J_{CF} = 22$ Hz, Ar).

^{19}F NMR (188 MHz, DMSO) δ 107.3.

HRMS: 203,0586 (M+Na)⁺, (Calc 203,0597).

(E)-3-(4-Μεθοξυφαινυλο) ακρυλο-υδραζίδιο (137)⁸⁴



M.T.: C₁₀H₁₂N₂O₂

M.W.: 192.22

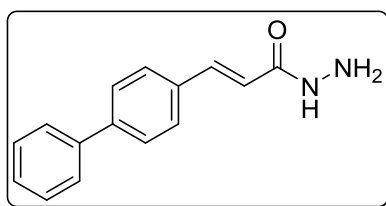
Λευκό στερεό. Απόδοση: 63% (240 mg). R_f(6)=0.39. σ.τ.: 135-137 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 135-136 °C⁸⁴

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

^1H NMR (200 MHz, DMSO): δ 9.25 (s, 1H, NH), 7.49 (d, 2H, $J = 8$ Hz, Ar), 7.39 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CH), 6.96 (d, 2H, $J = 8$ Hz, Ar), 6.40 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CHC=O), 4.43 (s, 2H, NH₂), 3.77 (s, 3H, OCH₃).

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): δ 165.0 (C=O), 160.3 (Ar), 137.9 (CH), 129.1 (Ar), 127.5 (Ar), 117.8 (CHC=O), 114.4 (Ar), 55.3 (CH₃).

(E)-3-([1,1'-Διφαινυλ]-4-υλο) ακρυλο-υδραζίδιο (138)⁸⁵



M.T.: C₁₅H₁₄N₂O

M.W.: 238.29

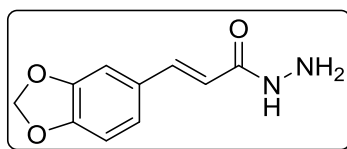
Υποκίτρινο Στερεό. Απόδοση: 35% (124 mg). $R_f(6) = 0.22$, σ.τ.: 205-208 °C, σ.τ. της βιβλιογραφίας: 207-209 °C⁸⁵

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

^1H NMR (200 MHz, DMSO): δ 9.37 (s, 1H, NH) 7.80-7.60 (m, 6H, Ar, CH), 7.55-7.33 (m, 4H, Ar), 6.59 (d, 1H, $J=16$ Hz, $\text{CHC}=\text{O}$), 4.54 (s, 2H, NH_2).

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): δ 164.5 (C=O), 140.9 (CH), 139.4 (Ar), 137.7 (Ar), 134.1 (Ar), 129.0 (Ar), 128.1 (Ar), 127.8 (Ar), 127.1 (Ar), 126.6 (Ar), 120.3 ($\text{CHC}=\text{O}$).

(E)-3-(Βενζο [d][1,3] διοξολ-5-υλο) ακρυλο-υδραζίδιο (139)



M.T.: $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3$

M.W.: 206.20

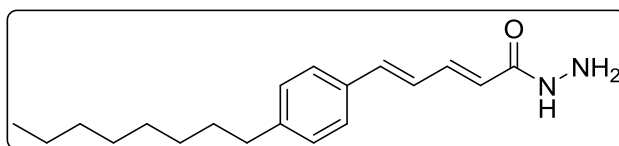
Λευκό στερεό. Απόδοση: 53% (110 mg). $R_f(6)=0.26$. σ.τ.: 144-146 °C

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

^1H NMR (200 MHz, DMSO): δ 9.22 (s, 1H, NH), 7.36 (d, 1H, $J = 16$ Hz, CH), 7.15-7.01 (m, 2H, Ar), 6.93 (d, 1H, $J = 8$ Hz, Ar), 6.38 (d, 1H, $J = 16$ Hz, $\text{CHC}=\text{O}$), 6.05 (s, 2H, OCH_2O), 4.41 (s, 2H, NH_2).

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): δ 164.8 (C=O), 148.4 (Ar), 147.9 (Ar), 138.0 (CH), 129.3 (Ar), 123.1 (Ar), 118.4 ($\text{CHC}=\text{O}$), 108.6 (Ar), 106.2 (Ar), 101.4 (OCH_2O).

(2E, 4E)-5-(4-Οκτυλφαινυλο) πεντα-2,4-διενοϋδραζίδιο (140)



M.T.: $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}$

M.W.: 300.45

Κίτρινο στερεό. Απόδοση: 75% (158 mg). $R_f(6)=0.36$. σ.τ.: 135-137 °C.

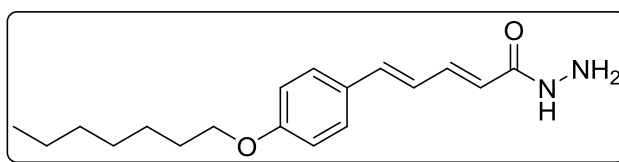
Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: CHCl₃/MeOH 97/3.

¹H NMR (200 MHz, DMSO): δ 9.29 (s, 1H, NH), 7.45 (d, 2H, *J* = 7 Hz, Ar), 7.30-6.80 (m, 5H, Ar, CH), 6.04 (d, 1H, *J* = 14 Hz, CHC=O), 2.60-2.53 (m, 2H, CH₂), 1.65-1.45 (m, 2H, CH₂), 1.35-1.10 (m, 10H, CH₂), 0.90-0.75 (m, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, DMSO): δ 164.7 (C=O), 143.0 (CH), 138.9 (Ar), 137.9 (CH), 133.8 (Ar), 128.7 (Ar), 126.9 (Ar), 126.1 (CH), 123.0 (CHC=O), 35.0 (CH₂), 31.3 (CH₂), 30.8 (CH₂), 28.9 (CH₂), 28.7 (CH₂), 22.1 (CH₂), 14.0 (CH₃).

HRMS: 301.2269 (M+H)⁺, (Calc 301.2275).

(2*E*, 4*E*)-5-(4-(Επτυλοξυ) φαινυλο) πεντα-2,4-διενοϋδραζίδιο (138)



M.T.: C₁₈H₂₆N₂O₂

M.W.: 302.42

Κίτρινο στερεό. Απόδοση: 81% (86 mg). R_f(6)=0.31. σ.τ.: 125-127 °C.

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

¹H NMR (200 MHz, DMSO): δ 9.27 (s, 1H, NH), 7.48 (d, 2H, *J* = 9 Hz, Ar), 7.25-7.10 (m, 1H, CH), 7.00-6.85 (m, 4H, Ar, CH), 6.01 (d, 1H, *J* = 16 Hz, CHC=O), 3.96 (t, 2H, *J* = 6 Hz, OCH₂), 1.80-1.60 (m, 2H, CH₂), 1.45-1.15 (m, 8H, CH₂), 0.95-0.80 (m, 3H, CH₃).

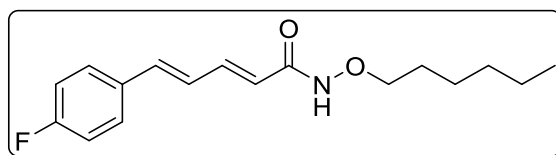
¹³C NMR (50 MHz, DMSO): δ 164.8 (C=O), 159.1 (Ar), 139.1 (CH), 137.8 (CH), 128.8 (Ar), 128.4 (Ar), 124.7 (CH), 122.2 (CHC=O), 114.7 (Ar), 67.5 (OCH₂), 31.3 (CH₂), 28.7 (CH₂), 28.5 (CH₂), 25.5 (CH₂), 22.1 (CH₂), 14.0 (CH₃)

HRMS: 303.2063 (M+H)⁺, (Calc 303.2067).

5.2.9 Γενική μέθοδος σύνθεσης υποκατεστημένων υδροξαμικών οξέων με μηχανισμό S_N2

Σε ένα μίγμα υδροξαμικού οξέος (1 mmol) σε ακετονιτρίλιο (1 ml) προστίθεται διάλυμα βρωμιδίου (0.8 mmol) σε ακετονιτρίλιο (1 ml) καθώς και διάλυμα DBU (1.2 mmol, 239 mg) σε ακετονιτρίλιο (1 mmol). Το μίγμα θερμαίνεται στους 45 °C, χωρίς να βράζει υπό αναρροή και αφήνεται υπό ανάδευση για 24 ώρες. Η αντίδραση διακόπτεται, γίνεται συμπύκνωση και προστίθεται νερό. Πραγματοποιούνται δύο εκχυλίσεις με οξικό αιθυλεστέρα. Τέλος, γίνεται καθαρισμός του προϊόντος με χρωματογραφία στήλης.

(2E, 4E)-5-(4-Φθοροφαινυλο)-N-(εξυλοξυ) πεντα-2,4-διεναμίδιο (142)



M.T.: C₁₇H₂₂FNO₂

M.W.: 291.36

Κίτρινο στερεό. Απόδοση: 25% (57 mg). R_f(4)=0.25. σ.τ.: 120-122 °C

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: PE/AcOEt 9/1

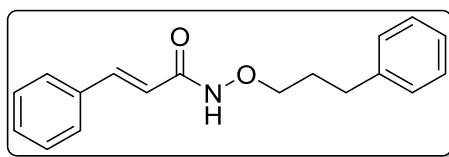
¹H NMR (200 MHz, CD₃OD): δ 7.50 (dd, 2H, J₁ = 8 Hz, J₂ = 6 Hz, Ar), 7.45-7.25 (m, 1H, CH), 7.04 (t, 2H, J = 8 Hz, Ar), 6.95-6.85 (m, 2H, CH), 5.95 (d, 1H, J = 16 Hz, CHC=O), 3.85 (d, 2H, J = 6 Hz, OCH₂), 1.63 (quintet, 2H, J = 6 Hz, CH₂), 1.45-1.20 (m, 6H, CH₂), 0.95-0.80 (m, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, DMSO) δ 166.4 (C=O), 164.4 (d, J_{CF} = 247 Hz, Ar C-F), 142.7 (CH), 139.6 (CH), 134.1 (d, J_{CF} = 4 Hz, Ar), 130.1 (d, J_{CF} = 8 Hz, Ar), 127.4 (CH), 121.2 (CHC=O), 116.7 (d, J_{CF} = 22 Hz, Ar), 77.7 (OCH₂), 32.8 (CH₂), 29.1 (CH₂), 26.6 (CH₂), 23.7 (CH₂), 14.4 (CH₃).

¹⁹F NMR (188 MHz, DMSO) δ 110.8.

HRMS: 292.1704 (M+H)⁺, (Calc. 292.1708).

***N*-(3-Φαινυλοπροποξυ) κινναμαμίδιο (145)**



M.T.: C₁₈H₁₉NO₂

M.W.: 281.36

Λευκό στερεό. Απόδοση: 25% (70 mg). R_f(4)=0.24. σ.τ.: 85-87 °C.

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

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 7.70-7.10 (m, 11H, Ar, CH), 6.46 (d, 1H, *J* = 16 Hz, CHC=O), 3.91 (t, 2H, *J* = 6 Hz, OCH₂), 2.73 (t, 2H, *J* = 7 Hz, CH₂), 1.97 (m, 2H, CH₂).

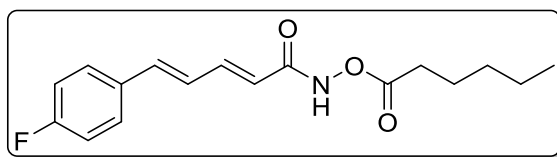
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 166.0 (C=O), 142.8 (Ar), 142.5 (CH), 135.9 (Ar), 131.0 (Ar), 130.0 (Ar), 129.5 (Ar), 129.4 (Ar), 128.9 (Ar), 126.9 (Ar), 118.1 (CHC=O), 76.7 (OCH₂), 32.9 (CH₂), 30.9 (CH₂).

5.2.10 Γενική μέθοδος σύνθεσης υποκατεστημένων υδροξαμικών οξέων με αντίδραση σύζευξης

Το καρβοξυλικό οξύ (εξανοϊκό οξύ ή κινναμωμικό οξύ) (1 mmol) διαλύεται εν μέρει ή πλήρως σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (5 ml) και στους 0 °C προστίθεται το EDC (1.1 mmol, 171 mg), το HOBt (1.1mmol, 149 mg) και η τριαιθυλαμίνη (1.1mmol, 111 mg). Το μίγμα αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου και υπό ανάδευση για μισή ώρα και μετά ξανα στους 0 °C προστίθεται το υδροξαμικό οξύ. Το μίγμα αφήνεται για 24 ώρες υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου. Προστίθεται διχλωρομεθάνιο και γίνονται εκχυλίσεις με NaHCO₃ 10% και brine. Πραγματοποιείται ξήρανση και συμπύκνωση της οργανικής στοιβάδας και τέλος το προϊόν καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης.

Για το *N*-(εξυλοξυ) κινναμαμίδιο (**143**), το οποίο αντιδρά με το υδροχλωρικό αλάτι της *O*-εξυλοϋδροξυλαμίνης (**146**) χρησιμοποιείται επιπλέον τριαιθυλαμίνη (1.1 + 1 = 2.1 mmol, 214 mg) για να εξουδετερωθεί το αλάτι και να αντιδράσει η αμίνη.

(2E, 4E)-5-(4-Φθοροφαινυλο)-N-(εξανοϋλοξυ) πεντα-2,4-διεναμίδιο (144)



M.T.: C₁₇H₂₀FNO₃

M.W.: 305.35

Κίτρινο στερεό. Απόδοση: 43% (129 mg). R_f(6)=0.6. σ.τ.: 91-93 °C.

Παρατήρηση: Ανακρυστάλλωση από οξικό αιθυλεστέρα σε πετρελαϊκό αιθυλεστέρα.

Σύστημα έκλουσης κατά τη χρωματογραφία στήλης: CHCl₃/MeOH 96/4.

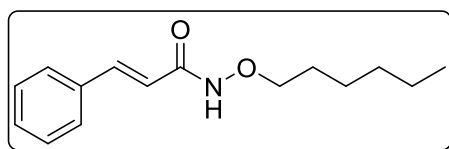
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 9.20 (s, 1H, NH), 7.60-7.35 (m, 3H, Ar, CH), 7.05 (t, 2H, J = 8 Hz, Ar), 6.95-6.70 (m, 2H, CH), 6.06 (d, 1H, J = 13 Hz, CHC=O), 2.53 (t, 2H, J = 8 Hz, CH₂C=O), 1.85-1.60 (m, 2H, CH₂), 1.45-1.25 (m, 4H, CH₂), 1.00-0.80 (m, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, DMSO) δ 171.8 (C=O), 165.1 (C=O), 162.9 (d, J_{CF} = 247 Hz, Ar C-F), 143.2 (CH), 139.3 (CH), 132.1 (d, J_{CF} = 4 Hz, Ar), 128.7 (d, J_{CF} = 8 Hz, Ar), 125.7 (CH), 118.7 (CHC=O), 115.6 (d, J_{CF} = 22 Hz, Ar), 31.5 (CH₂C=O), 31.0 (CH₂), 24.2 (CH₂), 22.1 (CH₂), 13.7 (CH₃).

¹⁹F NMR (188 MHz, DMSO) δ 111.8.

HRMS: 306.1493 (M+H)⁺, (Calc. 306.1500).

N-(Εξυλοξυ) κινναμίδιο (143)



M.T.: C₁₅H₂₁NO₂

M.W.: 247.34

Άχρωμο έλαιο. Απόδοση: 56% (55 mg). R_f(5)=0.67.

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

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 7.73 (d, 1H, *J* = 16 Hz, CH), 7.60-7.45 (m, 2H, Ar), 7.40-7.25 (m, 3H, Ar), 6.65-6.35 (m, 1H, CHC=O), 3.98 (t, 2H, *J* = 6 Hz, OCH₂), 1.80-1.60 (m, 2H, CH₂), 1.45-1.15 (m, 6H, CH₂), 0.95-0.75 (m, 3H, CH₃).

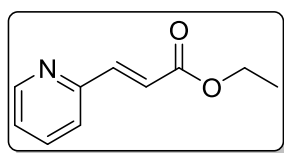
¹³C NMR (50 MHz, DMSO) δ 164.3 (C=O), 141.1 (CH), 134.6 (Ar), 129.9 (Ar), 128.7 (Ar), 127.9 (Ar), 116.9 (CHC=O), 31.5 (OCH₂), 27.9 (CH₂), 25.5 (CH₂), 22.5 (CH₂), 14.0 (CH₃).

HRMS: 248.1640 (M+H)⁺, (Calc. 248.1645).

5.2.11 Σύνθεση του (*E*)-3-(πυριδιν-2-υλο) ακρυλικού αιθυλεστέρα

Σε pressure vessel προστίθεται η αλδεΐδη (1 mmol) σε άνυδρο τετραϋδροφουράνιο (2.5 mL) και υπό αδρανή ατμόσφαιρα αργού και ανάδευση προστίθεται το σταθεροποιημένο υλίδιο Rh₃P=CHCOOCH₂CH₃ (1 mmol, 348 mg). Το μίγμα θερμαίνεται υπό αναρροή σε ελαιόλουτρο για 24 ώρες. Ακολουθεί συμπύκνωση και προσθήκη Et₂O στους 0 °C. Καταβυθίζεται λευκό στερεό, διηθείται και εκπλένεται με Et₂O και ύστερα γίνεται καθαρισμός του προϊόντος με χρωματογραφία στήλης.

(*E*)-3-(Πυριδιν-2-υλο) ακρυλικός αιθυλεστέρας (82)



M.T.: C₁₀H₁₁NO₂

M.W.: 177,20

Κίτρινο έλαιο. Απόδοση: 78% (1186 mg). R_f(6)=0.77.

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

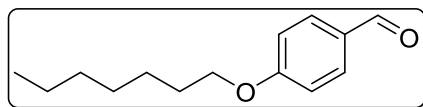
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 8.55 (d, 1H, *J* = 4 Hz, Ar), 7.65-7.55 (m, 2H, Ar, CH), 7.33 (d, 1H, *J* = 8 Hz, Ar), 7.20-7.25 (m, 1H, Ar), 6.83 (d, 1H, *J* = 16 Hz, CHC=O), 4.18 (q, 2H, *J* = 7 Hz, OCH₂) 1.24 (t, 3H, *J* = 7 Hz, CH₃).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 166.4 (C=O), 152.7 (Ar), 150.0 (Ar), 143.1 (CH), 137.0 (Ar), 124.0 (Ar), 123.8 (Ar), 122.2 (CHC=O), 60.4 (OCH_2), 14.0 (CH_3).

5.2.12 Σύνθεση της 4-(επτυλοξυ)βενζαλδεΐδης (117)

Σε pressure vessel προστίθεται η παρα-υδροξυαλδεΐδη (1 mmol, 122 mg), το βρωμοεπτάνιο (1 mmol, 179 mg), το ανθρακικό κάλιο (1.2 mmol, 166 mg) και το ακετονιτρίλιο (1.7 ml). Το μίγμα θερμαίνεται υπό αναρροή και ανάδευση για 24 ώρες. Προστίθεται νερό και γίνεται μία εκχύλιση με πετρελαϊκό αιθυλεστέρα, καθώς και άλλες δύο με διαιθυλαιθέρα. Συλλέγονται οι οργανικές στοιβάδες, ξηραίνονται και συμπυκνώνονται όλες μαζί. Τέλος, γίνεται καθαρισμός του προϊόντος με χρωματογραφία στήλης.

4-(Επτυλοξυ)βενζαλδεΐδη (117)



M.T.: $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_2$

M.W.: 220.31

Άχρωμο έλαιο. Απόδοση: 86% (1524 mg). $R_f(3)=0.72$.

Δεν πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 9.89 (s, 1H, CHO), 7.85-7.80 (m, 2H, Ar), 7.05-6.95 (m, 2H, Ar), 4.05 (d, 2H, $J = 8$ Hz, OCH_2), 1.82 (quintet, 2H, $J = 7$ Hz, CH_2), 1.55-1.20 (m, 8H, CH_2), 0.91 (t, 3H, $J = 7$ Hz, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 190.4 (C=O), 164.0 (Ar), 131.7 (Ar), 129.5 (Ar), 114.5 (Ar), 68.1 (OCH_2), 31.5 (CH_2), 28.9 (CH_2), 28.8 (CH_2), 25.7 (CH_2), 22.4 (CH_2), 13.8 (CH_3).

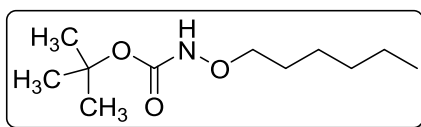
5.2.13 Σύνθεση του ενδιάμεσου Ο-εξυλοϋδροξυλαμίνης (146)

Ο (*E*)-υδροξυκαρβαμικός τριτοταγής βουτυλεστέρας (**148**) (1 mmol, 133 mg) προστίθεται σε pressure vessel μαζί με βρωμοεξάνιο (0.8 mmol, 132 mg), DBU (1.1 mmol, 167 mg) και ακετονιτρίλιο (1 ml). Το μίγμα θερμαίνεται υπό αναρροή και ανάδευση για 24 ώρες. Γίνεται συμπύκνωση να φύγει ο διαλύτης, προστίθεται νερό και γίνεται εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο. Η οργανική

στοιβάδα ξηραίνεται, συμπυκνώνεται και μετά από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης λαμβάνεται ο εξυλοξυ-καρβαμικός τριτοταγής βουτυλεστέρας (**147**).

Στον προστατευμένο εστέρα (1 mmol, 217 mg) προστίθεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου υδροχλωρικό 4N σε άνυδρο διαιθυλαιθέρα (13 ml). Μετά από μία ώρα έχει καταβυθιστεί λευκό στερεό, πραγματοποιούνται τρεις συμπυκνώσεις και το υδροχλωρικό αλάτι της Ο-εξυλοϋδροξυλαμίνης (**146**) είναι έτοιμο για την αντίδραση σύζευξης που περιγράφηκε προηγουμένως.

Εξυλοξυ-καρβαμικός τριτοταγής βουτυλεστέρας (**147**)



M.T.: C₁₁H₂₃NO₃

M.W.: 217.31

Άχρωμο έλαιο. Απόδοση: 46% (121 mg). R_f(3)=0.61.

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

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 3.70 (t, 2H, J = 6 Hz, OCH₂), 1.55-1.40 (m, 2H, CH₂), 1.34 [s, 9H, C(CH₃)₃], 1.25-1.05 (m, 6H, CH₃), 0.74 (t, 3H, J = 6 Hz, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 156.9 (C=O), 81.3 [OC(CH₃)₃], 76.7 (OCH₂), 31.5 (CH₂), 28.1 (CH₃), 27.9 (CH₂), 25.4 (CH₂), 22.4 (CH₃), 13.9 (CH₃).

HRMS: 240.1580 (M+Na)⁺, (Calc 240.1576).

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

Ακρωνύμια και ανάπτυξή τους

AcOEt	Οξικός Αιθυλεστέρας
DCM	Διχλωρομεθάνιο
DMF	<i>N,N</i> -διμεθυλοφορμαμίδιο
DMSO	Διμεθυλοσουλφοξείδιο
EDC	Υδροχλωρικό 1-αιθυλ-3-(3-διμεθυλαμινοπρωπυλο)καρβοδιιμίδιο
HOBt	Υδροξυβενζοτριαζόλιο
KatG	Ένζυμο καταλάση-υπεροξειδάση
MW	Μικροκύματα
NH ₂ OTHP	O-(τετραϋδρο-2H-πυραν-2-υλο)υδροξυλαμίνη
PE	Πετρελαϊκός Αιθέρας
THF	Τετραϋδροφουράνιο

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Nguyen, P. C.; Delorme, V.; Bénarouche, A.; Martin, B. P.; Paudel, R.; Gnawali, G. R.; Madani, A.; Puppo, R.; Landry, V.; Kremer, L.; Brodin, P.; Spilling, C. D.; Cavalier, J.-F.; Canaan, S. Cyclipostins and cyclophostin analogs as promising compounds in the fight against tuberculosis. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 11751.
2. O'Garra, A.; Redford, P. S.; McNab, F. W.; Bloom, C. I.; Wilkinson, R. J.; Berry, M. P. R., The immune response in tuberculosis. *Annu. Rev. Immunol.*, **2013**, *31*, 475-527.
3. Frieden, T. R.; Sterling, T. R.; Munsiff, S. S.; Watt, C. J.; Dye, C. Tuberculosis. *Lancet* **2003**, *362*, 887-899.
4. Koul, A.; Arnoult, E.; Lounis, N.; Guillemont, J.; Andries, K. The challenge of new drug discovery for tuberculosis. *Nature* **2011**, *469*, 483-490.
5. Smith, I. Mycobacterium tuberculosis pathogenesis and molecular determinants of virulence. *Clin. Microbiol. Rev.* **2003**, *16*, 463-496.
6. Forrellad, M. A.; Klepp, L. I.; Gioffré, A.; García, J. S.; Morbidoni, H. R.; de la Paz Santangelo, M.; Cataldi, A. A.; Bigi, F. Virulence factors of the mycobacterium tuberculosis complex. *Virulence* **2013**, *4*, 3-66.
7. Reyrat, J.-M.; Kahn, D. Mycobacterium smegmatis: an absurd model for tuberculosis? *Trends. Microbiol.* **2001**, *9*, 472-473.
8. Cole, S. T.; Brosch, R.; Parkhill, J.; Garnier, T.; Churcher, C.; Harris, D.; Gordon, S. V.; Eiglmeier, K.; Gas, S.; Barry Iii, C. E.; Tekaiia, F.; Badcock, K.; Basham, D.; Brown, D.; Chillingworth, T.; Connor, R.; Davies, R.; Devlin, K.; Feltwell, T.; Gentles, S.; Hamlin, N.; Holroyd, S.; Hornsby, T.; Jagels, K.; Krogh, A.; McLean, J.; Moule, S.; Murphy, L.; Oliver, K.; Osborne, J.; Quail, M. A.; Rajandream, M. A.; Rogers, J.; Rutter, S.; Seeger, K.; Skelton, J.; Squares, R.; Squares, S.; Sulston, J. E.; Taylor, K.; Whitehead, S.; Barrell, B. G. Deciphering the biology of mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence. *Nature* **1998**, *393*, 537-544.

9. Singh, P.; Rameshwaram, N. R.; Ghosh, S.; Mukhopadhyay, S. Cell envelope lipids in the pathophysiology of *Mycobacterium tuberculosis*. *Fut. Microbiol.* **2018**, *13*, 689-710.
10. Brennan, P. J.; Nikaido, H., The envelope of mycobacteria. *Annu. Rev. Biochem.* **1995**, *64*, 29-63.
11. Astarie-Dequeker, C.; Le Guyader, L.; Malaga, W.; Seaphanh, F.-K.; Chalut, C.; Lopez, A.; Guilhot, C. Phthiocerol dimycocerosates of *M. tuberculosis* participate in macrophage invasion by inducing changes in the organization of plasma membrane lipids. *PLoS Pathog.* **2009**, *5*, e1000289.
12. Barry, C. E., 3rd; Boshoff, H. I.; Dartois, V.; Dick, T.; Ehrt, S.; Flynn, J.; Schnappinger, D.; Wilkinson, R. J.; Young, D. The spectrum of latent tuberculosis: rethinking the biology and intervention strategies. *Nat. Rev. Microbiol.* **2009**, *7*, 845-855.
13. Russell, D. G.; Barry Iii, C. E.; Flynn, J. L. Tuberculosis: What we don't know can, and does, hurt us. *Science* **2010**, *328*, 852-856.
14. Dunlap, N. E.; Bass, J.; Fujiwara, P.; Hopewell, P.; Horsburgh Jr, C. R.; Salfinger, M.; Simone, P. M. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2000**, *161*, 1376-1395.
15. Matteelli, A.; Sulis, G.; Capone, S.; D'Ambrosio, L.; Migliori, G. B.; Getahun, H. Tuberculosis elimination and the challenge of latent tuberculosis. *Presse Med.* **2017**, *46*, 13-21.
16. Pai, M.; Behr, M. A.; Dowdy, D.; Dheda, K.; Divangahi, M.; Boehme, C. C.; Ginsberg, A.; Swaminathan, S.; Spigelman, M.; Getahun, H.; Menzies, D.; Raviglione, M. Tuberculosis. *Nat. Rev. Dis. Primers* **2016**, *2*.
17. Andersen, P.; Munk, M. E.; Pollock, J. M.; Doherty, T. M. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet.* **2000**, *356*, 1099-1104.
18. Zumla, A.; Raviglione, M.; Hafner, R.; Fordham von Reyn, C. Tuberculosis. *N. Engl. J. Med.* **2013**, *368*, 745-755.
19. Lawn, S. D.; Zumla, A. I. Tuberculosis. *Lancet.* **2011**, *378*, 57-72.

20. Zumla, A.; Nahid, P.; Cole, S. T. Advances in the development of new tuberculosis drugs and treatment regimens. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2013**, *12*, 388-404.
21. Böttger, E., *Chapter 14: Drug resistance in Mycobacterium tuberculosis: Molecular mechanisms and laboratory susceptibility testing. Prog. Respir. Res. Basel*, Karger, **2011**, *40*, 128-144 .
22. Timmins, G. S.; Deretic, V. Mechanisms of action of isoniazid. *Mol. Microbiol.* **2006**, *62*, 1220-1227.
23. Lemke, T. L., Antimycobacterial agents. In *Foye's Principles of Medicinal Chemistry: Seventh Edition*, **2013**, 1175-1198.
24. Peloquin, C. A. Therapeutic drug monitoring in the treatment of tuberculosis. *Drugs.* **2002**, *62*, 2169-2183.
25. Campbell, E. A.; Korzheva, N.; Mustaev, A.; Murakami, K.; Nair, S.; Goldfarb, A.; Darst, S. A. Structural mechanism for rifampicin inhibition of bacterial RNA polymerase. *Cell* **2001**, *104*, 901-912.
26. Zhang, Y., The magic bullets and tuberculosis drug targets. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2005**, *45*, 529-564.
27. Feklistov, A.; Mekler, V.; Jiang, Q.; Westblade, L. F.; Irschik, H.; Jansen, R.; Mustaev, A.; Darst, S. A.; Ebright, R. H. Rifamycins do not function by allosteric modulation of binding of Mg(2+) to the RNA polymerase active center. *PNAS.* **2008**, *105*, 14820-14825.
28. Zhang, Y.; Shi, W.; Zhang, W.; Mitchison, D. Mechanisms of pyrazinamide action and resistance. *Microbiol. Spectr.* **2014**, *2*.
29. Janin, Y. L. Antituberculosis drugs: Ten years of research. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 2479-2513.
30. Zhang, Y.; Wade, M. M.; Scorpio, A.; Zhang, H.; Sun, Z. Mode of action of pyrazinamide: Disruption of Mycobacterium tuberculosis membrane transport and energetics by pyrazinoic acid. *J. Antimicrob. Chemother.* **2003**, *52*, 790-795.

31. Goude, R.; Amin, A. G.; Chatterjee, D.; Parish, T. The arabinosyltransferase EmbC is inhibited by ethambutol in Mycobacterium tuberculosis. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *53*, 4138-4146.
32. Ginsburg, A. S.; Grosset, J. H.; Bishai, W. R. Fluoroquinolones, tuberculosis, and resistance. *Lancet Infect. Dis.* **2003**, *3*, 432-442.
33. Baulard, A. R.; Betts, J. C.; Engohang-Ndong, J.; Quan, S.; McAdam, R. A.; Brennan, P. J.; Locht, C.; Besra, G. S. Activation of the pro-drug ethionamide is regulated in mycobacteria. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 28326-28331.
34. Dheda, K.; Gumbo, T.; Gandhi, N. R.; Murray, M.; Theron, G.; Udwadia, Z.; Migliori, G. B.; Warren, R. Global control of tuberculosis: From extensively drug-resistant to untreatable tuberculosis. *Lancet Respir. Med.* **2014**, *2*, 321-338.
35. Gandhi, N. R.; Nunn, P.; Dheda, K.; Schaaf, H. S.; Zignol, M.; van Soolingen, D.; Jensen, P.; Bayona, J. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: a threat to global control of tuberculosis. *Lancet* **2010**, *375*, 1830-1843.
36. Satya P. Gupta, A. S., *Hydroxamic Acids: A Unique Family of Chemicals with Multiple Biological Activities*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg: **2013**.
37. Kurzak, B.; Kozłowski, H.; Farkas, E. Hydroxamic and aminohydroxamic acids and their complexes with metal ions. *Coord. Chem. Rev.* **1992**, *114*, 169-200.
38. García, B.; Ibeas, S.; Leal, J. M.; Secco, F.; Venturini, M.; Senent, M. L.; Niño, A.; Muñoz, C. Conformations, protonation sites, and metal complexation of benzohydroxamic acid. A theoretical and experimental study. *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 2908-2919.
39. Zvi Rappoport, J. F. L., *The Chemistry of Hydroxylamines, Oximes and Hydroxamic Acids*. Wiley: **2009**, 1064.
40. Muri, E.; Nieto, M.; D Sindelar, R.; Williamson, J., Hydroxamic acids as pharmacological agents. *Curr. Med. Chem.* **2002**, *9* 1631-1653.

41. Xu, W. S.; Parmigiani, R. B.; Marks, P. A. Histone deacetylase inhibitors: Molecular mechanisms of action. *Oncogene* **2007**, *26*, 5541-5552.
42. Johnstone, R. W. Histone-deacetylase inhibitors: novel drugs for the treatment of cancer. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2002**, *1*, 287.
43. Vanhaecke, T.; Papeleu, P.; Elaut, G.; Rogiers, V. Trichostatin A - like hydroxamate histone deacetylase inhibitors as therapeutic agents: Toxicological point of view. *Curr. Med. Chem.* **2004**, *11*, 1629-1643.
44. Lell, B.; Ruangweerayut, R.; Wiesner, J.; Missinou, M. A.; Schindler, A.; Baranek, T.; Hintz, M.; Hutchinson, D.; Jomaa, H.; Kremsner, P. G. Fosmidomycin, a novel chemotherapeutic agent for malaria. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**, *47*, 735-738.
45. Finn, P. W.; Bandara, M.; Butcher, C.; Finn, A.; Hollinshead, R.; Khan, N.; Law, N.; Murthy, S.; Romero, R.; Watkins, C.; Andrianov, V.; Bokaldere, R. M.; Dikovska, K.; Gailite, V.; Loza, E.; Piskunova, I.; Starchenkov, I.; Vorona, M.; Kalvinsh, I. Novel sulfonamide derivatives as inhibitors of histone deacetylase. *Helv. Chim. Acta* **2005**, *88*, 1630-1657.
46. Tanaka, K.; Matsuo, K.; Nakanishi, A. I.; Hatano, T.; Izeki, H.; Ishida, Y.; Mori, W. Syntheses and anti-inflammatory and analgesic activities of hydroxamic acids and acid hydrazides. *Chem. Pharm. Bull.* **1983**, *31*, 2810-2819.
47. Wang, H.; Yu, N.; Chen, D.; Lee, K. C. L.; Lye, P. L.; Chang, J. W. W.; Deng, W.; Ng, M. C. Y.; Lu, T.; Khoo, M. L.; Poulsen, A.; Sangthongpitag, K.; Wu, X.; Hu, C.; Goh, K. C.; Wang, X.; Fang, L.; Goh, K. L.; Khng, H. H.; Goh, S. K.; Yeo, P.; Liu, X.; Bonday, Z.; Wood, J. M.; Dymock, B. W.; Kantharaj, E.; Sun, E. T. Discovery of (2E)-3-{2-butyl-1-[2-(diethylamino)ethyl]-1H-benzimidazol-5-yl}-N-hydroxyacrylamide (SB939), an orally active histone deacetylase inhibitor with a superior preclinical profile. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 4694-4720.
48. Beillard, A.; Bhurruth-Alcor, Y.; Bouix-Peter, C.; Bouquet, K.; Chambon, S.; Clary, L.; Harris, C. S.; Millois, C.; Mouis, G.; Ouvry, G.; Pierre, R.; Reitz, A.; Tomas, L. A facile and rapid preparation of hydroxamic acids by

hydroxylaminolysis using DBU as base. *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 2165-2170.

49. Thaler, F.; Colombo, A.; Mai, A.; Amici, R.; Bigogno, C.; Boggio, R.; Cappa, A.; Carrara, S.; Cataudella, T.; Fusar, F.; Gianti, E.; Di Ventimiglia, S. J.; Moroni, M.; Munari, D.; Pain, G.; Regalia, N.; Sartori, L.; Vultaggio, S.; Dondio, G.; Gagliardi, S.; Minucci, S.; Mercurio, C.; Varasi, M. Synthesis and biological evaluation of N-hydroxyphenylacrylamides and N-hydroxypyridin-2-ylacrylamides as novel histone deacetylase inhibitors. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 822 - 839.

50. Giannini, G.; Marzi, M.; Marzo, M. D.; Battistuzzi, G.; Pezzi, R.; Brunetti, T.; Cabri, W.; Vesce, L.; Pisano, C. Exploring bis-(indolyl)methane moiety as an alternative and innovative CAP group in the design of histone deacetylase (HDAC) inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 2840-2843.

51. Dettori, G.; Gaspa, S.; Porcheddu, A.; De Luca, L. One-pot synthesis of hydroxamic acids from aldehydes and hydroxylamine. *Adv. Synth. Catal.* **2014**, *356*, 2709-2713.

52. Papadopoulos, G. N.; Kokotos, C. G. Photoorganocatalytic one-pot synthesis of hydroxamic acids from aldehydes. *Chem. Eur. J.* **2016**, *22*, 6964-6967.

53. Sova, M. Antioxidant and antimicrobial activities of cinnamic acid derivatives. *Mini Rev. Med. Chem.* **2012**, *12*, 749-767.

54. De, P.; Baltas, M.; Bedos-Belval, F. Cinnamic acid derivatives as anticancer agents-A review. *Curr. Med. Chem.* **2011**, *18*, 1672-1703.

55. Giancotti, G.; Cancellieri, M.; Balboni, A.; Giustiniano, M.; Novellino, E.; Delang, L.; Neyts, J.; Leyssen, P.; Brancale, A.; Bassetto, M. Rational modifications on a benzylidene-acrylohydrazide antiviral scaffold, synthesis and evaluation of bioactivity against Chikungunya virus. *European J. Med. Chem.* **2018**, *149*, 56-68.

56. Mitra, A. K.; De, A.; Karchaudhuri, N. Application of microwave irradiation techniques for the syntheses of cinnamic acids by Doebner condensation. *Synth. Commun.* **1999**, *29*, 573-581.

57. Miert, S. V.; Dyck, S. V.; Schmidt, T. J.; Brun, R.; Vlietinck, A.; Lemière, G.; Pieters, L. Antileishmanial activity, cytotoxicity and QSAR analysis of synthetic dihydrobenzofuran lignans and related benzofurans. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 661-669.
58. Pawar, P. M.; Jarag, K. J.; Shankarling, G. S. Environmentally benign and energy efficient methodology for condensation: An interesting facet to the classical Perkin reaction. *Green Chem.* **2011**, *13*, 2130-2134.
59. Kamal, A.; Srinivasulu, V.; Seshadri, B. N.; Markandeya, N.; Alarifi, A.; Shankaraiah, N. Water mediated Heck and Ullmann couplings by supported palladium nanoparticles: importance of surface polarity of the carbon spheres. *Green Chem.* **2012**, *14*, 2513-2522.
60. Anzaldi, M.; Viale, M.; Macciò, C.; Castagnola, P.; Oliveri, V.; Rosano, C.; Balbi, A. Synthesis of short retinoidal amides related to fenretinide: antioxidant activities and differentiation-inducing ability. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2017**, *79*, 725-736.
61. Le Goff, G.; Ouazzani, J. Natural hydrazine-containing compounds: Biosynthesis, isolation, biological activities and synthesis. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 6529-6544.
62. Carvalho, S. A.; Feitosa, L. O.; Soares, M.; Costa, T. E. M. M.; Henriques, M. G.; Salomão, K.; de Castro, S. L.; Kaiser, M.; Brun, R.; Wardell, J. L.; Wardell, S. M. S. V.; Trossini, G. H. G.; Andricopulo, A. D.; da Silva, E. F.; Fraga, C. A. M. Design and synthesis of new (E)-cinnamic N-acylhydrazones as potent antitrypanosomal agents. *European J. Med. Chem.* **2012**, *54*, 512-521.
63. Fregnan, A. M.; Brancaglioni, G. A.; Galvão, A. F. C.; D'Sousa Costa, C. O.; Moreira, D. R. M.; Soares, M. B. P.; Bezerra, D. P.; Silva, N. C.; de Souza Morais, S. M.; Oliver, J. C.; Dias, A. L. T.; Coelho, L. F. L.; Carvalho, D. T.; Dias, D. F.; de Souza, T. B. Synthesis of piplartine analogs and preliminary findings on structure–antimicrobial activity relationship. *Med. Chem. Res.* **2017**, *26*, 603-614.

64. Knoevenagel, E. Condensation von malonsäure mit aromatischen aldehyden durch ammoniak und amine. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1898**, *31*, 2596-2619.
65. Kolb, K. E.; Field, K. W.; Schatz, P. F. A one-step synthesis of cinnamic acids using malonic acid: The Verley-Doebner modification of the Knoevenagel condensation. *J. Chem. Educ.* **1990**, *67*, A304.
66. Sathyanarayana, P.; Ravi, O.; Muktapuram, P. R.; Bathula, S. R. Copper catalyzed oxygen assisted C(CNOH)-C(alkyl) bond cleavage: A facile conversion of aryl/alkyl/vinyl ketones to aromatic acids. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 9681 - 9685.
67. Tetsuhashi, M.; Ishikawa, M.; Hashimoto, M.; Hashimoto, Y.; Aoyama, H. Development of tryptase inhibitors derived from thalidomide. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 5323 - 5338.
68. Wang, D.; Wang, Y.; Zhao, J.; Shen, M.; Hu, J.; Liu, Z.; Li, L.; Xue, F.; Yu, P. Strategic approach to 8-azacoumarins. *Org. Lett.* **2017**, *19*, 984-987.
69. Garai, M.; Santra, R.; Biradha, K. Tunable plastic films of a crystalline polymer by single-crystal-to-single-crystal photopolymerization of a diene: Self-templating and shock-absorbing two-dimensional hydrogen-bonding layers. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 5548-5551.
70. Flipo, M.; Charton, J.; Hocine, A.; Dassonneville, S.; Deprez, B.; Deprez-Poulain, R. Hydroxamates: Relationships between structure and plasma stability. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 6790-6802.
71. Sainsbury, P. D.; Mineyeva, Y.; Mycroft, Z.; Bugg, T. D. H. Chemical intervention in bacterial lignin degradation pathways: Development of selective inhibitors for intradiol and extradiol catechol dioxygenases. *Bioorg. Chem.* **2015**, *60*, 102-109.
72. Boldt, G. E.; Kennedy, J. P.; Janda, K. D. Identification of a potent botulinum neurotoxin A protease inhibitor using in situ lead identification chemistry. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 1729-1732.

73. Gardner, T. S.; Wenis, E.; Smith, F. A. The synthesis of compounds for the chemotherapy of tuberculosis. ii. Hydroxamic acid derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 5455-5456.
74. Sun, P.; Zhu, Y.; Yang, H.; Yan, H.; Lu, L.; Zhang, X.; Mao, J. The ligand and base-free Pd-catalyzed oxidative Heck reaction of arylboronic acids and olefins. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 4512-4515.
75. Youn, S. W.; Kim, B. S.; Jagdale, A. R. Pd-Catalyzed sequential C–C bond formation and cleavage: Evidence for an unexpected generation of arylpalladium(ii) species. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 11308-11311.
76. Imashiro, R.; Seki, M. A catalytic asymmetric synthesis of chiral glycidic acid derivatives through chiral dioxirane-mediated catalytic asymmetric epoxidation of cinnamic acid derivatives. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 4216-4226.
77. Saavedra, D. I.; Rencher, B. D.; Kwon, D.-H.; Smith, S. J.; Ess, D. H.; Andrus, M. B. Synthesis and computational studies demonstrate the utility of an intramolecular styryl Diels–Alder reaction and di-*t*-butylhydroxytoluene assisted [1,3]-shift to construct anticancer dl-deoxypodophyllotoxin. *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 2018-2026.
78. Dakarapu, U. S.; Bokka, A.; Asgari, P.; Trog, G.; Hua, Y.; Nguyen, H. H.; Rahman, N.; Jeon, J. Lewis base activation of silyl acetals: Iridium-catalyzed reductive Horner–Wadsworth–Emmons olefination. *Org. Lett.* **2015**, *17*, 5792-5795.
79. Hermant, P.; Bosc, D.; Piveteau, C.; Gealageas, R.; Lam, B.; Ronco, C.; Roignant, M.; Tolojanahary, H.; Jean, L.; Renard, P.-Y.; Lemdani, M.; Bourotte, M.; Herledan, A.; Bedart, C.; Biela, A.; Leroux, F.; Deprez, B.; Deprez-Poulain, R. Controlling plasma stability of hydroxamic acids: A MedChem toolbox. *J. Med. Chem.* **2017**, *60*, 9067-9089.
80. Lassalas, P.; Gay, B.; Lasfargeas, C.; James, M. J.; Tran, V.; Vijayendran, K. G.; Brunden, K. R.; Kozlowski, M. C.; Thomas, C. J.; Smith, A. B.; Huryn, D. M.; Ballatore, C. Structure property relationships of carboxylic acid isosteres. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 3183-3203.

81. Parameswarappa, S. G.; Pigge, F. C. Intramolecular cyclization manifolds of 4-alkylpyridines bearing ambiphilic side chains: Construction of spirodihydropyridines or benzylic cyclization via anhydrobase intermediates. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 8038-8048.
82. 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*, 3602-3610.
83. Alcalde, E.; Dinarés, I.; Pérez-García, L.; Roca, T. An advantageous synthesis of 2-substituted benzimidazoles using polyphosphoric acid. 2-(Pyridyl)-1H-benzimidazoles, 1-alkyl-(1H-benzimidazol-2-yl)pyridinium salts, their homologues and vinylogues. *Synth.* **1992**, *1992*, 395-398.
84. Zhang, X.; Breslav, M.; Grimm, J.; Guan, K.; Huang, A.; Liu, F.; Maryanoff, C. A.; Palmer, D.; Patel, M.; Qian, Y.; Shaw, C.; Sorgi, K.; Stefanick, S.; Xu, D. A new procedure for preparation of carboxylic acid hydrazides. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 9471-9474.
85. Musso, L.; Cincinelli, R.; Zuco, V.; Zunino, F.; Nurisso, A.; Cuendet, M.; Giannini, G.; Vesci, L.; Pisano, C.; Dallavalle, S. Investigation on the ZBG-functionality of phenyl-4-yl-acrylohydroxamic acid derivatives as histone deacetylase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 4457-4460.