ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών
ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ

Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας

Σχεδιασμός, σύνθεση και μελέτη της φαρμακολογικής δράσης νέων ινδολικών και αδαμαντανικών αμιδικών παραγώγων.

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

ΚΑΡΟΥΤΖΟΥ ΟΛΓΑΣ

ΦΑΡΜΑΚΟΠΟΙΟΥ

ΔΕΚΕΜΒΡΗΣ 2018

ΑΘΗΝΑ

Επιβλέπων

Ιωάννης Παπαναστασίου, Επικ.Καθηγητής ΕΚΠΑ

Τριμελής επιτροπή Μ.Δ.Ε.

Ανδρέας Τσοτίνης, Καθηγητής ΕΚΠΑ

Νικολαΐς Πουλή, Καθηγήτρια ΕΚΠΑ

Ιωάννης Παπαναστασίου, Επικ.Καθηγητής ΕΚΠΑ

Ευχαριστίες

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Φαρμακευτικής Χημείας του Τμήματος Φαρμακευτικής του ΕΚΠΑ, υπό την επίβλεψη του Επίκουρου Καθηγητή κ. Ιωάννη Παπαναστασίου.

Προς τον επιβλέποντα κ. Ιωάννη Παπαναστασίου θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες μου για την ανάθεση του θέματος, την καθοδήγηση και την βοηθειά του κατά την εκπόνηση της παρούσας εργασίας.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής της παρούσας εργασίας, Καθηγητές κ. Ανδρέα Τσοτίνη και Νικολαΐδα Πουλή.

Ευχαριστώ επίσης την Δρ. κ. Δήμητρα Μπενάκη για τη βοήθειά της στη λήψη των φασμάτων NMR.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Stewart T. Cole. (Global Health Institute) και την Καθηγήτρια Margarita L. Dubocovich (Jacobs School of Medicine & Biomedical Sciences) για την εκτέλεση των φαρμακολογικών ελέγχων των ενώσεων που συντέθηκαν στα πλαίσια της παρούσας εργασίας.

Περιεχόμενα

Περίληψη 6
Summary 7
Α.ΕΙΣΑΓΩΓΗ 8
Μελατονίνη 9
Μελατονίνη και Παράσιτα 12
Μελατονίνη και Ελονοσία 12
Μελατονίνη και Φυματίωση 14
Αντιφυματικά παράγωγα με αζωτούχους ετερόκυκλους. 15
ATPάση P97 και ινδολικοί αλλοστερικοί συνδέτες 17
Σχεδιασμός των ενώσεων της παρούσας εργασίας 20
Β. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ 23
Γ.ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ 32
1.ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΦΥΜΑΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ 32
2.ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΕΡΓΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ 35
Συμπεράσματα και προοπτικές από τη φαρμακολογική αξιολόγηση 37
Δ. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ 38
Δ1.ΧΗΜΕΙΑ 38
4-Υδροξυ(πιπεριδιν-1-υλο)καρβοξυλικός *τερτ*-βουτυλεστέρας (2) 39
{4-[4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ]πιπεριδιν-1-υλο}καρβοξυλικός *τερτ*-βουτυλεστέρας (3) 40
4-[4-(τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ]πιπεριδίνη (4) 41
4-{4-[4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ]πιπεριδιν-1-υλο}βενζονιτρίλιο (5) 42
4-{4-[4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ]πιπεριδιν -1-υλο}βενζοϊκό οξύ (6) 43
2-(1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθαναμίνη (9) 44
2-(5-Μεθοξυ-1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθαναμίνη (10) 45
N-[2-(1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθυλ]-4-{4-[4-(τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ]πιπεριδιν-1-υλο}βενζαμίδιο (11) 46
N-[2-(5-Μεθοξυ-1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθυλο]-4-{4-[4-(τριφθορομεθοξυ) φαινοξυ]πιπεριδιν-1-υλ}βενζαμίδιο (12) 47
6-[4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινυλο]νικοτινονιτρίλιο (14) 48
6-[4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινυλο]νικοτινικό οξύ (15) 49
N-[2-(1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθυλο]-6-[4-(τριφθορομεθοξυ) φαινυλο]νικοτιναμίδιο (16) 50
N-[2-(5-Μεθοξυ-1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθυλο]-6-[4-(τριφθορομεθοξυ) φαινυλο] νικοτιναμίδιο (17) 51
4-Φθοροβενζοϊκό οξύ (19) 52
N-(2-(1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθυλο)-4-φθοροβενζαμίδιο (20) 53

4-Φθορο-*N*-[2-(5-μεθοξυ -1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθυλο]βενζαμιδιο (21) 54

{4-[4-(4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ)πιπεριδιν-1-υλο]φαινυλο} μεθαναμίνη (22) 55

2-(1*H*-ινδολ-3-υλ)-*N*-{4-[4-(4-(τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ)πιπεριδιν-1-υλο]βενζυλ}ακεταμίδιο (23) 56

N-{4-[4-(4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ)πιπεριδιν-1-υλ]βενζυλ}-1*H*-ινδολο-2-καρβοξαμίδιο (24) 57

{6-[4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινυλο]πυριδιν-3-υλ}μεθαναμίνη (25) 58

2-(1*H*-ινδολ-3-υλο)-*N*-[{6-(4-(τριφθορομεθοξυ)φαινυλο)πυριδιν-3-υλο]μεθυλ}ακεταμίδιο (26) 59

N-{[6-(4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινυλο)πυριδιν-3-υλο)μεθυλ)-1*H*-ινδολο-2-καρβοξαμίδιο (27) 60

N-{4-[4-(4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ)πιπεριδιν-1-υλο] βενζυλο}τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκανο-1-καρβοξαμίδιο (28) 61

N-{[6-(4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινυλ)πυριδιν-3-υλο]μεθυλο} τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκανο -1-καρβοξαμίδιο (29) 62

Σπειρο[οξιρανο-2(2’)-τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκάνιο] (30) 63

2-Τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκανοκαρβοξαλδεΰδη (31) 64

2-Τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκανοκαρβοξυλικό οξύ (32) 65

N-{4-[4-(4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ)πιπεριδιν-1-υλο]βενζυλο} τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκανο-2-καρβοξαμίδιο (33) 66

N-{[6-(4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινυλ)πυριδιν-3-υλο]μεθυλο} τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκανο-2-καρβοξαμίδιο (34) 67

Δ2. Παράρτημα: Χαρακτηριστικά Φάσματα NMR 68

Βιβλιογραφία 91

Περίληψη

Σχεδιασμός, σύνθεση και μελέτη της φαρμακολογικής δράσης νέων ινδολικών και αδαμαντανικών αμιδικών παραγώγων

Η παρούσα διπλωματική εργασία αναφέρεται στο σχεδιασμό, τη σύνθεση και το φαρμακλογικό έλεγχο νέων ινδολικών και αδαμαντανικών αμιδικών παραγώγων.

Ο σχεδιασμός βασίστηκε στην ενσωμάτωση των ακόλουθων πλάγιων αλυσίδων σε ετεροκυκλικούς και καρβοκυκλικούς δακτυλίους: 4-{4-[4-(τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ]-πιπεριδιν-1-υλο}ομάδα,{2-[4-(τριφθορομεθοξυ)φαινυλο]πυριδιν-5-υλο} αλυσίδα και 4-(φθορο)φαινυλομάδα. Αυτές οι πλάγιες αλυσίδες έχουν χρησιμοποιηθεί σε φάρμακα που βρίσκονται σε στάδια κλινικών δοκιμών. Η ενσωμάτωση των αλυσίδων έγινε στην 2-(1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθαναμίνη και 5-μεθοξυ-2-(1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθαναμίνη, το 2-(1*H*-ινδολ-3-υλ)οξικό οξύ και 1*H*-ινδολο-2-καρβοξυλικό οξύ, όπως επίσης στο 1- και 2-αδαμαντανοκαρβοξυλικό οξύ.

Τα ινδολικά παράγωγα ελέγχονται αρχικά ως προς την ικανότητα σύνδεσής τους με τους μελατονινεργικούς υποδοχείς και ακολούθως όλες οι ενώσεις της παρούσας εργασίας εξετάζονται ως προς τη δράση τους έναντι της φυματίωσης, της ελονοσίας, καθώς και της τρυπανοσωμίασης. Από τα μέχρι τώρα φαρμακολογικά αποτελέσματα η ένωση **21** εμφανίζει εκλεκτική συγγένεια για τον *h*MT_2 υποδοχέα (K_i= 267±53nM) και οι ενώσεις **12** και **24** αντιμυκοβακτηριακή δράση με MIC 30.7 μg/mLκαι 24.7μg/mL αντίστοιχα. Οι ινδολικές ενώσεις με τις μακρύτερες αλυσίδες, θα εξεταστούν και ως προς την ανασταλτική δράση τους στην ATPάση p97.

Summary

Design, synthesis and pharmacological evaluation of novel indole and adamantane amide derivatives

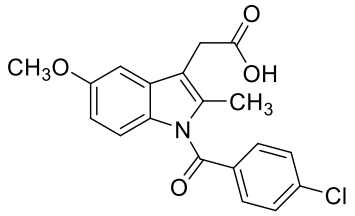
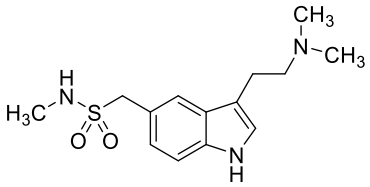
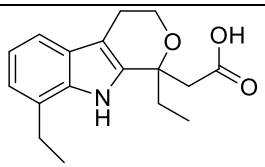
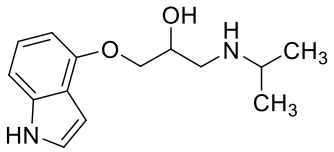
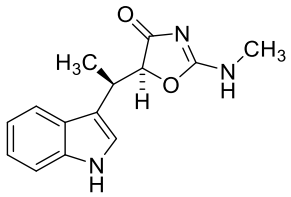
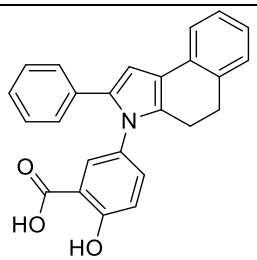
The present dissertation refers to the design, synthesis and pharmacological evaluation of novel indole and adamantane amide derivatives.

The design was based on the incorporation of the following side chains into various heterocyclic and carbocyclic scaffolds: the 4-{4-[4-(trifluoromethoxy)phenoxy]piperidin-1-yl), the {2-[4-(trifluoromethoxy)phenyl] pyridin-5-yl} and 4-(trifluoro)phenyl groups. These functional moieties are part of promising drug candidates, currently in clinical phase. The aforementioned scaffold couplings refer to 2-(1*H*-indol-3-yl)ethanamine, 5-methoxy-2-(1*H*-indol-3-yl)ethanamine, 2-(1*H*-indol-3-yl)acetic acid and 2-(1*H*-indol-2-yl)carboxylic acid, as well as, to the 1- and 2-adamantanecarboxylic acid.

The new indole-based compounds were evaluated for their ability to bind to the melatonin receptors, and all the new derivatives were tested against *Mycobacterium tuberculosis*, *Plasmodium falciparum* and *Trypanosoma spp.* The up-to-now pharmacological results have shown that compound **21** is selectively bound to hMT_2 receptor (Ki = 267±53 nM) and derivatives **12** and **24** have antitubercular activity with MIC 30.7 μg/mL και 24.7 μg/mL, respectively. Moreover, the indole compounds attached to longer side chains, will be tested for ATPase p97 inhibition.

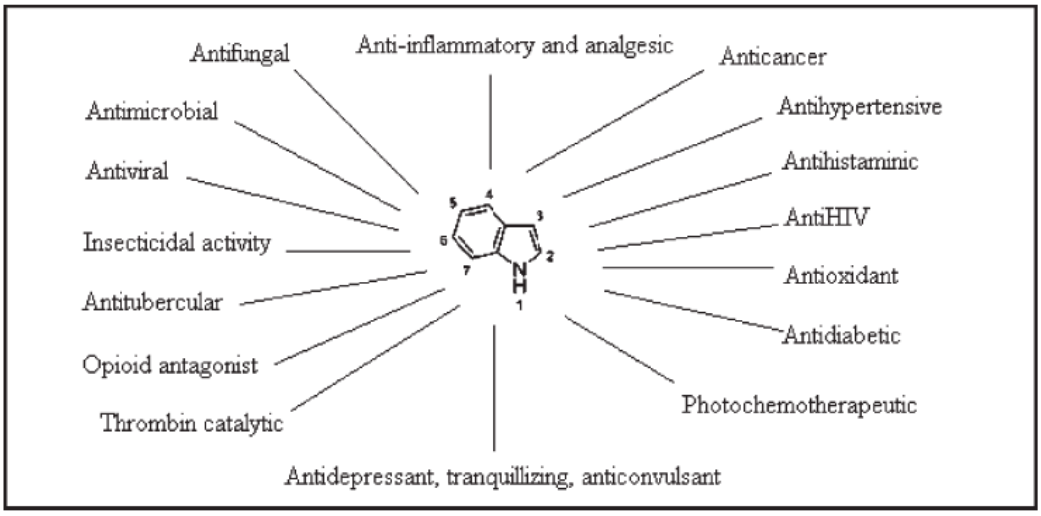
Α.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ενώσεις που περιέχουν ετεροκυκλικούς πυρήνες, εμπλέκονται στις σημαντικότερες βιοχημικές διαδικασίες της ζωής[1]. Μεταξύ των ετερόκυκλων που περιέχουν άζωτο, το ινδόλιο κατέχει εξέχουσα θέση. Ο ινδολικός πυρήνας είναι θεμελιώδες στοιχείο πολλών φυσικών και συνθετικών μορίων με σημαντική βιολογική δραση. Στον οργανισμό το ινδόλιο απαντάται ως συστατικό πρωτεϊνών στο αμινοξύ τρυπτοφάνη, αλλά και σε βιογενείς αμίνες και ορμόνες όπως η σεροτονίνη και η μελατονίνη, γεγονός που αποδεικνύει την μεγάλη σημασία του στις βιολογικές λειτουργίες. Ο σκελετός του ινδολίου βρίσκεται σε πολλά φυσικά προϊόντα υπό την μορφή αλκαλοειδών ινδολίου, όπως για παράδειγμα το λυσεργικό οξυ, η στρυχνίνη, η ψιλοκυβίνη, τα παράγωγα β-καρβολίνης κ.α. Το ινδόλιο αποτελεί βάση για πολλά συνθετικά φάρμακα, μερικά εκ των οποίων φαίνονται στον **Πίνακα 1**.

Παράγωγο Ινδολίου	**Χημική Δομή**	**Χρήση**
Ινδομεθακίνη		Αναλγητικό-Αντιφλεγμονώδες
Σουματριπτάνη		Θεραπεία Ημικρανίας
Ετοδολάκη		Αντιαρθριτικό
Πινδολόλη		Αντιυπερτασικό
Indolmycin		Αντιβιοτικό
Fendosal		Αναλγητικό

Πίνακας 1.

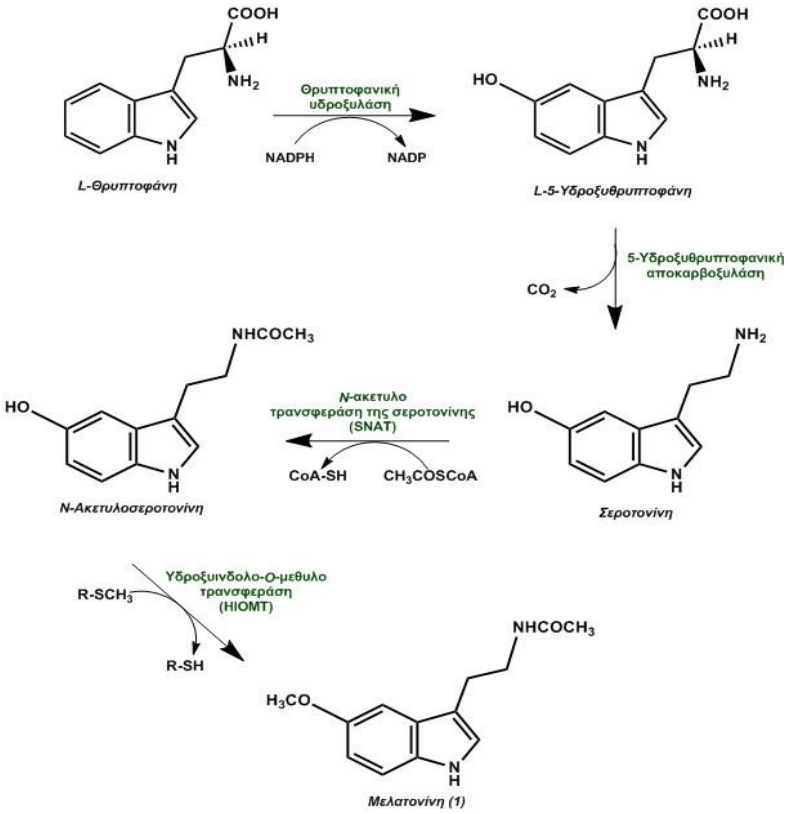
Παράγωγα ινδολίου ασκούν αντιφλεγμονώδη και αναλγητική δράση, αντιμικροβιακή, αντιιϊκή, αντιμυκησιακή, αντιφυματική, παρασιτοκτόνο, αντικαταθλιπτική, ηρεμιστική, αντιοξειδωτική και αντικαρκινική δράση[2]. **(Σχήμα 1)**



Σχήμα 1. Βιολογικές Δράσεις Ινδολικών Παραγώγων[2]

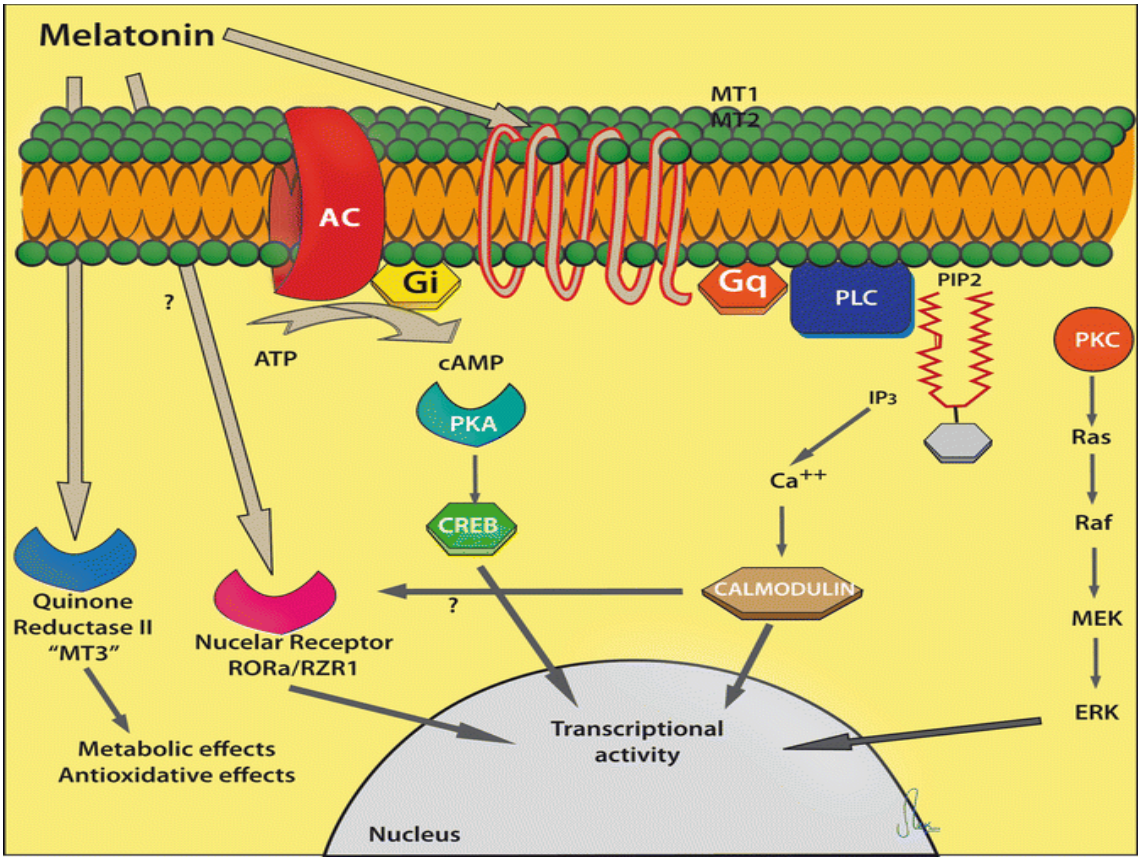
Μελατονίνη

Η ινδολαμίνη μελατονίνη (*N*-ακετυλο-5-μεθοξυτρυπταμίνη) είναι μία νευροορμόνη που παράγεται πρωτίστως στην επίφυση , και σε μικρότερο βαθμό στον αμφιβληστροειδή χιτώνα του οφθαλμού, ακολουθώντας κιρκάδιο ρυθμό[3]. Η πρώτη απομόνωση και χαρακτηρισμός της μελατονίνης έγινε το 1959[4]. Η βιοσύνθεση της μελατονίνης αρχίζει από το αμινοξύ τρυπτοφάνη[5], και χωρεί μέσω του σχηματισμού των ενδιαμέσων προϊόντων, 5-υδρόξυτρυπτοφάνης, σεροτονίνης , *N*-ακετυλο-σεροτονίνης[6] **(Σχήμα 2)**.

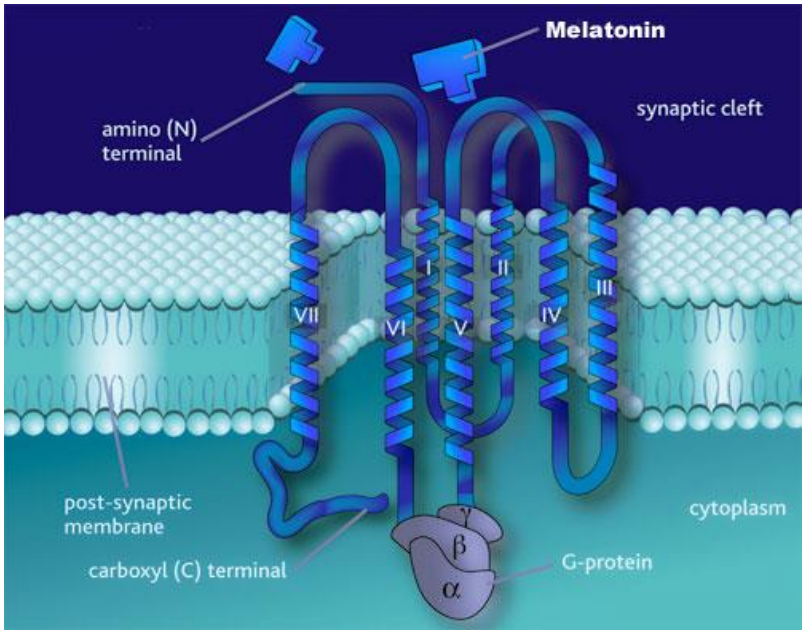


Σχήμα 2. Βιοσύνθεση μελατονίνης

Η σύνθεση και απελευθέρωση της ορμόνης ενεργοποιείται στο σκοτάδι ,ενώ καταστέλλεται από το φως, γεγονός που συνδέεται με τη ρύθμιση πολλών φυσιολογικών λειτουργιών του οργανισμού. Οι σημαντικότερες από τις βιολογικές δράσεις της αφορούν στην ρύθμιση του κύκλου ύπνου-εγρήγορσης, τη ρύθμιση των κιρκάδιων ρυθμών[7], του καρδιαγγειακού[8] ,αναπαραγωγικού και του πεπτικού σύστηματος, καθώς και τη φυσιολογία του αμφιβληστροειδούς. Συνεπώς, η μελατονίνη χρησιμοποιείται θεραπευτικά σε μια ποικιλία παθολογικών καταστάσεων όπως οι διαταραχές ύπνου, η κατάθλιψη, ο καρκίνος , η επιληψία[9]. Η ορμόνη μπορεί να διαχέεται ελεύθερα σε όλες τις βιολογικές μεμβράνες[10] και δρα και μέσω των ειδικών υποδοχέων της **(Εικόνα 1)**. Οι υποδοχείς μελατονίνης διακρίνονται στους υψηλής συγγένειας ML1 και τους χαμηλής συγγένειας ML2. Οι υποδοχείς ML1 διακρίνονται επιμέρους σε δύο υποτύπους , τον MT-1 και τον MT-2, και βρίσκονται σε μεγάλες ποσότητες στον υποθάλαμο[11,12]. Ο ML2 υποδοχέας καλείται επίσης και MT3 και ο ρόλος του δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως μέχρι στιγμής. Οι μελατονινεργικοί υποδοχείς MT-1 και MT-2 είναι υποδοχείς GPCR (G-protein coupled receptors) [13] **(Εικόνα 2)** , ενώ ο υποδοχέας MT-3 ανήκει στην οικογένεια υποδοχέων αναγωγασών κινόνης. Τέλος, έχουν αναφερθεί και πυρηνικοί υποδοχείς μελατονίνης[14].



Εικόνα 1.Υποδοχείς Μελατονίνης

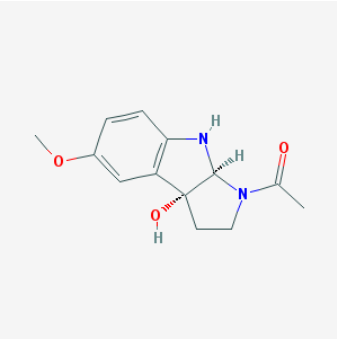


Εικόνα 2. Μελατονινεργικος υποδοχέας GPCR.

Πέραν του φυσιολογικού της ρόλου, η μελατονίνη διαθέτει και ανοσορυθμιστικές, αντιοξειδωτικές και νευροπροστατευτικές ιδιότητες[15]. Επομένως το συγκεκριμένο ινδολικό παράγωγο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ένα εναλλακτικό θεραπευτικό μέσο για την καταπολέμηση βακτηριακών και παρασιτικών λοιμώξεων μέσω μιας πληθώρας μηχανισμών[16].

Αντιοξειδωτική Δράση

Η μελατονίνη έιναι πολύ ισχυρός δέκτης ελευθέρων ριζών και γενικός αντιοξειδωτικός παράγοντας, καθώς δεσμεύει ισχυρά τις τοξικές ρίζες υδροξυλίου και υπεροξειδίου[17, 18]. Επιπλέον, μειώνει την συσσώρευση των κύριων προϊόντων της λιπιδικής υπεροξείδωσης και μπορεί να επιδιορθώσει τις ρίζες γουανοσινης του DNA (G•) μέσω μεταφοράς ηλεκτρονίων[19]. Η αντιοξειδωτική δράση της ορμόνης επιτελείται και από τους μεταβολίτες της (κυκλική 3-υδροξυμελατονίνη) **(Εικόνα 3)**, γεγονός που την καθιστά πολύ αποτελεσματική για την θεραπεία του οξειδωτικού στρες[20].



Εικόνα 3. Κυκλική 3-υδροξυμελατονίνη

Ανοσορρυθμιστική Δράση[21]

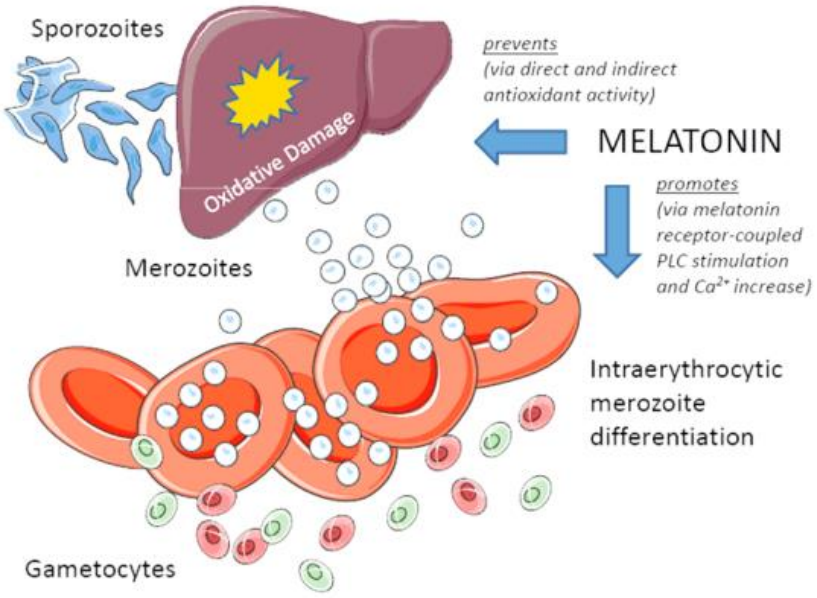
Η μελατονίνη επηρεάζει το ανοσοποιητικό σύστημα μέσω των μεμβρανικών αλλά και των πυρηνικών υποδοχέων της, ρυθμίζοντας την παραγωγή κυτταροκινών και τον πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων[22]. Επιπλέον, διεγείρει την αντιγονοπαρουσίαση, την φαγοκυττάρωση, την παραγωγή μονοκυττάρων και Τ φονικών κυττάρων (NK, Natural Killers)[23].

Μελατονίνη και Παράσιτα

Ο ρόλος της μελατονίνης έχει χαρακτηριστεί σε παρασιτικές λοιμώξεις που προκαλούνται από πρωτόζωα όπως *Toxoplasma gondii*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia duodenalis*, *Plasmodium spp*., *Leishmania spp*., and *Trypanosoma spp*. Η ορμόνη επιδρά στην κυτταρική βιολογία του πρωτοζωικού παρασίτου, αλλά και στο ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή. Ενδεικτικά , στην τοξοπλάσμωση και την τρυπανοσωμίαση , η μελατονίνη ενισχύει την ανοσοαπάντηση του ξενιστή ενάντια στο παράσιτο, ρυθμίζοντας την έκκριση μεσολαβητών φλεγμονής. Στην αμοιβάδωση , η ορμόνη αυξάνει την λευκοφαγοκυττάρωση και τον αριθμό των νεκρών αμοιβάδων, ενώ παράλληλα μειώνει τις οργανικές βλάβες. Στην λεϊσμανίαση, η μελατονίνη εμποδίζει την αντιγραφή του παρασίτου[24].

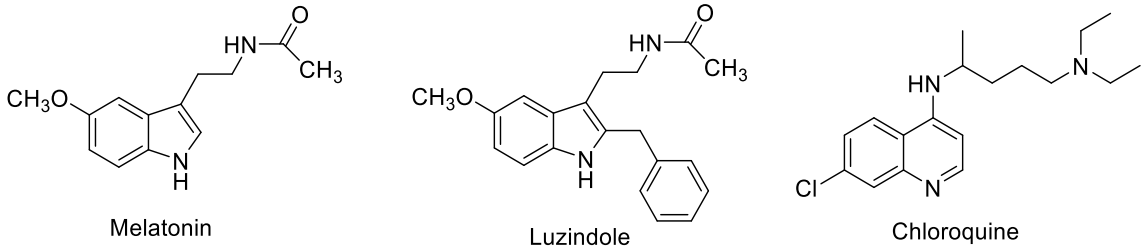
Μελατονίνη και Ελονοσία

Η ελονοσία προκαλείται από το παράσιτο *Plasmodium spp*. και θεωρείται η σοβαρότερη παρασιτική λοίμωξη παγκοσμίως. Αν και η θεραπεία της ασθένειας τα παλαιότερα χρόνια κρινόταν ικανοποιητική, πλέον το παράσιτο έχει αναπτύξει σημαντική αντοχή στα κλασσικά ανθελονοσιακά φάρμακα, καθιστώντας αναγκαία την εύρεση νέων θεραπειών [25].Η δράση της μελατονίνης στον κυτταρικό κύκλο του *Plasmodium falciparum* ακολουθεί ένα περίπλοκο μονοπάτι σηματοδότησης που περιλαμβάνει την αύξηση του κυττοσολικού ασβεστίου, την αύξηση του cAMP, την ενεργοποίηση πρωτεασών και της πρωτεϊνικής κινάσης A (PKA)[26, 27]. Η μελατονίνη παίζει σημαντικό ρόλο στην αντιγραφή του παρασίτου και στην δημιουργία παρασιταιμίας. Η μελατονίνη *in vitro* διεγείρει την ανάπτυξη του παρασίτου μέσω της αύξησης του ενδοκυττάριου ασβεστίου, γεγονός σημαντικό για την μετατροπή του παρασίτου από τροφοζωίτη σε σχιστοζωίτη, το τελικό δηλαδή στάδιο του πλασμωδίου κατά τον ερυθροκυτταρικό κύκλο. Με αυτόν τον τρόπο, η μελατονίνη προωθεί την αύξηση της παρασιταιμίας. Ωστόσο, θα πρέπει να αναφερθεί ότι η εξωγενής χορήγηση μελατονίνης προστατεύει από την ηπατική δυσλειτουργία που προκύπτει εξαιτίας της ελονοσίας. Λόγω της αντιοξειδωτικής δράσης της, εμποδίζει την απόπτωση και την βλάβη των ηπατοκυττάρων που οφείλονται στο οξειδωτικό στρες.[28, 29] **(Εικόνα 4)**

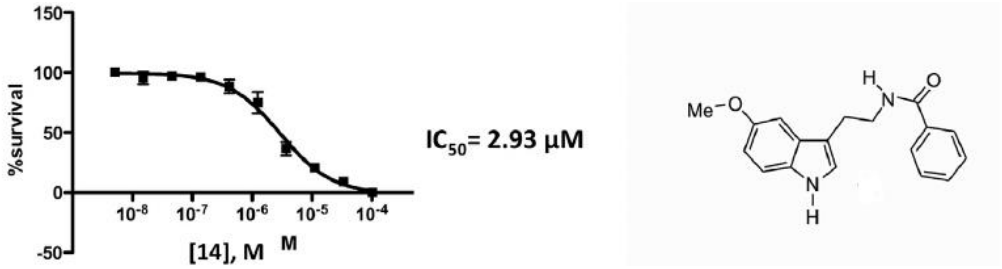


Εικόνα 4. Επίδραση μελατονίνης στον κύκλο ζωής του *Plasmodium falciparum*.[29]

Ανταγωνιστές των υποδοχέων μελατονίνης όπως το Luzindole, φαίνεται ότι ενισχύουν την δράση αντιπαρασιτικών φαρμάκων όπως η χλωροκίνη **(Εικόνα 5)** [29,30]. Το Luzindole εμποδίζει την δράση της μελατονίνης στους μεμβρανικούς υποδοχείς και συνεπώς την δημιουργία παρασιταιμίας, αλλά έχει και ισχυρή αντιοξειδωτική δράση [31].



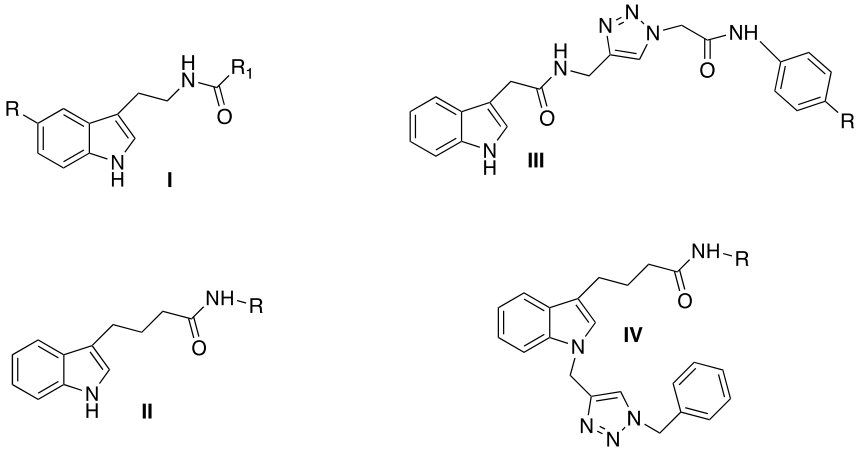
Εικόνα 5. Μελατονίνη, Luzindole, Χλωροκίνη



Εικόνα 6. Ανθελονοσιακή δράση ανταγωνιστή μελατονίνης.Καμπύλη δόσης-ανταπόκρισης με διαφορετικές συγκεντρώσεις του ανταγωνιστή μελατονίνης για τον υπολογισμό της τιμής IC_{50} μετά από 48ωρη επώαση με το *P.falciparum*[32]

Από τη μελέτη των συνθετικών παραγώγων της μελατονίνης (Ένωση **I**, **Σχημα 3**) για την καταπολέμηση του *Plasmodium falciparum* προέκυψε ότι η εισαγωγή της 5-μεθοξυομάδας στον ινδολικό πυρήνα ενισχύει την παρασιτική δράση. Επιπλέον, η αμιδική αλυσίδα αυτών των ενώσεων δεν θα πρέπει να έχει μήκος μεγαλύτερο από δυο άτομα άνθρακα, έτσι ώστε τα παράγωγα αυτά να διατηρούν τη συνδεσιμότητα τους με τους μελατονινεργικούς υποδοχείς.

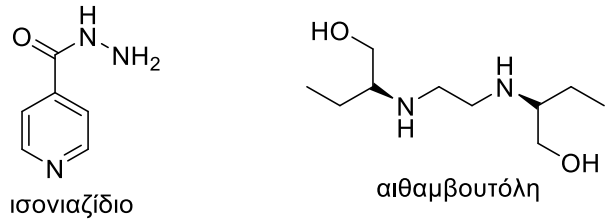
Άλλη κατηγορία ανθελονοσιακών ενώσεων με βάση τον ινδολικό πυρήνα είναι οι υβριδικές ενώσεις **II**, **III** και **IV**. Σε αυτές τις ενώσεις οι πλάγιες αλυσίδες περιλαμβάνουν αρωματικούς και ετεροκυκλικούς πυρήνες, χωρίς να τηρούνται οι σχέσεις δομής-δράσης για τη σύνδεση με τους μελατονινεργικούς υποδοχείς.



Σχήμα 3. Ινδολαμιδικά παράγωγα με ανθελονοσιακή δράση.

Μελατονίνη και Φυματίωση

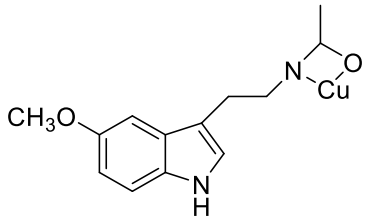
Η φυματίωση αποτελεί μια σημαντική αιτία θανάτου παγκοσμίως. Περίπου 100 εκατομμύρια άνθρωποι μολύνονται από φυματίωση κάθε χρόνο , ενώ αναφέρονται 3 εκατομμύρια θάνατοι από την ασθένεια ετησίως από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας.[33] Ο σημαντικός αριθμός αύξησης των περιπτώσεων φυματίωσης τα τελευταία χρόνια, οφείλεται κατά κύριο λόγο σε δύο παράγοντες : την αύξηση των μολυνσμένων από HIV ασθενών και την ανάπτυξη φαρμακοαντοχής από ορισμένα στελέχη του *Mycobacterium*. Η ανάπτυξη αντοχής αφορά πρώτης γραμμής αντιφυματικά φάρμακα, όπως το ισονιαζίδιο και η αιθαμβουτόλη**(Εικόνα 7).**



Εικόνα 7. Χημικές Δομές Ισονιαζιδίου και Αιθαμβουτόλης

Η μελατονίνη δρα συνεργικά με το ισονιαζίδιο, ενισχύοντας την δράση του, καθώς συνδυασμοί των δύο επιφέρουν μεγαλύτερη αναστολή του *Mycobacterium Tuberculosis (Mtb*).[34] Επιπλέον, η μελατονίνη, σε επίπεδα υψηλότερα από τα φυσιολογικά, αναστέλλει την βακτηριακή ανάπτυξη με δοσοεξαρτώμενο τρόπο[35]. Είναι πιθανό η δράση της μελατονίνης στο *Mtb* να οφείλεται στις προ-οξειδωτικές της ιδιότητες.[36]

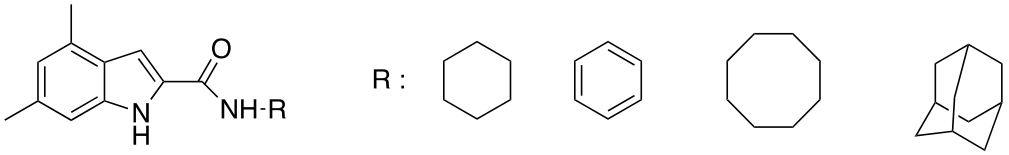
Η υδρόφοβη ορμόνη εγκαθίσταται στο μυκοβακτηριακό κυτταρικό τοίχωμα, αποσταθεροποιώντας το και ενισχύοντας την είσοδο αντιφυματικών μέσων όπως το ισονιαζιδίο. Επιπροσθέτως, η μελατονίνη και οι μεταβολίτες της διαθέτουν αυξημένη ικανότητα σύνδεσης για μεταλλοϊόντα **(Εικόνα 8)**, όπως ο σίδηρος (III), ο ψευδάργυρος και ο χαλκός και συνεπώς, μειώνουν την διαθεσιμότητα τους στο κυτταρόπλασμα[37]. Τα βακτήρια εξαρτώνται από τα ελέυθερα αυτά ιόντα, και κυρίως από τα σίδηροϊόντα, για την ανάπτυξη τους.[38]



Εικόνα 8. Σύμπλοκο Μελατονίνης-Cu(II)

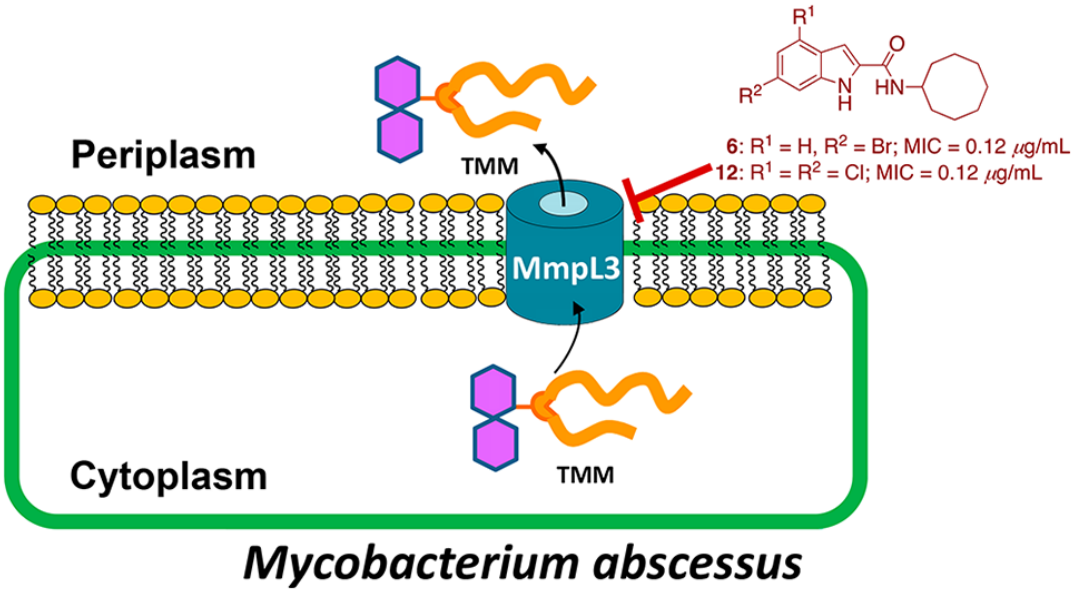
Αντιφυματικά παράγωγα με αζωτούχους ετερόκυκλους.

Πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι παράγωγα που φέρουν ινδολικό πυρήνα παρουσιάζουν ισχυρή αντιμυκοβακτηριακή δράση. Συγκεκριμένα 2-ινδολοκαρβοξαμίδια του γενικού τύπου **I (Εικόνα 9)** παρουσιάζουν ισχυρή δράση έναντι φαρμακοάντοχων στελεχών του *Mycobacterium Tuberculosis*, αναστέλλωντας τον μεταφορέα μυκολικών οξέων MmpL3 **(Εικόνα 10)**[39,40,41]. Τα μυκολικά οξέα είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη του *Mtb* και συμβάλλουν στην διαπερατότητα του κυτταρικού τοιχώματος από θρεπτικά συστατικά και αντιβιοτικά.



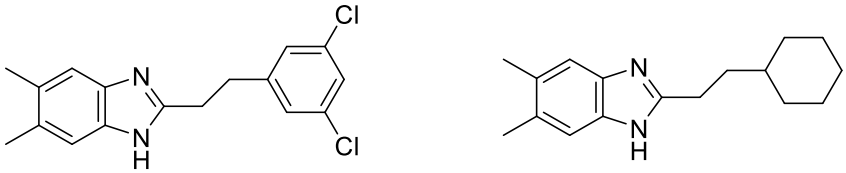
I

Εικόνα 9 . 2-Ινδολοκαρβοξαμίδια γενικού τύπου **I**



Εικόνα 10. Αναστολή MmpL3 και μεταφοράς μυκολικών οξέων.

Μία άλλη κατηγορία παραγώγων με αντιμυκοβακτηριακή δράση είναι τα 1 *H*-βενζο[d]ιμιδαζόλια όπως τα μόρια **I** και **II (Εικόνα 11)** .Οι συγκεκριμένες ενώσεις διαθέτουν δράση έναντι ενός στελέχους *Mtb* ανθεκτικού στο p-αμινοσαλικιλικό οξύ (PAS),το ισονιαζίδιο (INH), την αιθαμβουτόλη (ETB) και τη ριφαμπικίνη(RMP). [42]



MIC_{90}= 5μm

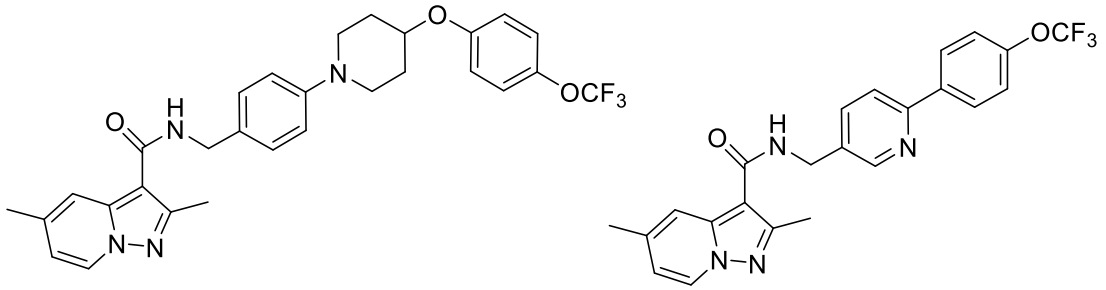
I

MIC_{90}= 0.75μm

II

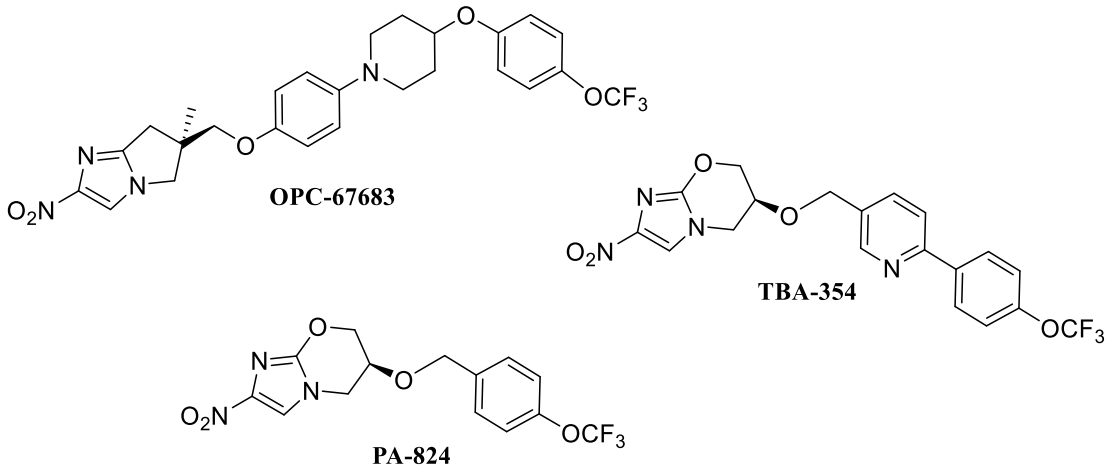
Εικόνα 11. 1 *H*-βενζο[d]ιμιδαζολια **I** και **II**.

Καρβοξαμιδικά παράγωγα του συμπυκνωμένου πυραζολο[1,5-α]πυριδινο-πυρήνα έχουν ισχυρές αντιμυκοβακτηριακές ιδιότητες **(Εικόνα 12)**. Αυτές οι ενώσεις φέρουν μια μακριά λιπόφιλη αλυσίδα.



Εικόνα 12 . Πυραζολο[1,5-α]πυριδινο καρβοξαμιδία [43]

Ενδεικτικά, οι ενώσεις OPC-67683 (Delamanid)[44], TBA-354 και PA-824 **(Εικόνα 13)** βρίσκονται σε φάση κλινικών μελετών. Το Delamanid (OPC-67683) έλαβε έγκριση το 2014 για την θεραπεία της φαρμακοανθεκτικής φυματίωσης και ανήκει στον Πρότυπο Κατάλογο Βασικών Φαρμάκων του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας. Ο μηχανισμός δράσης αυτού του φαρμάκου στηρίζεται στην αποσταθεροποίηση του κυτταρικού τοιχώματος του *Mtb* και εμποδίζοντας την παραγωγή μυκολικών οξέων.[45]

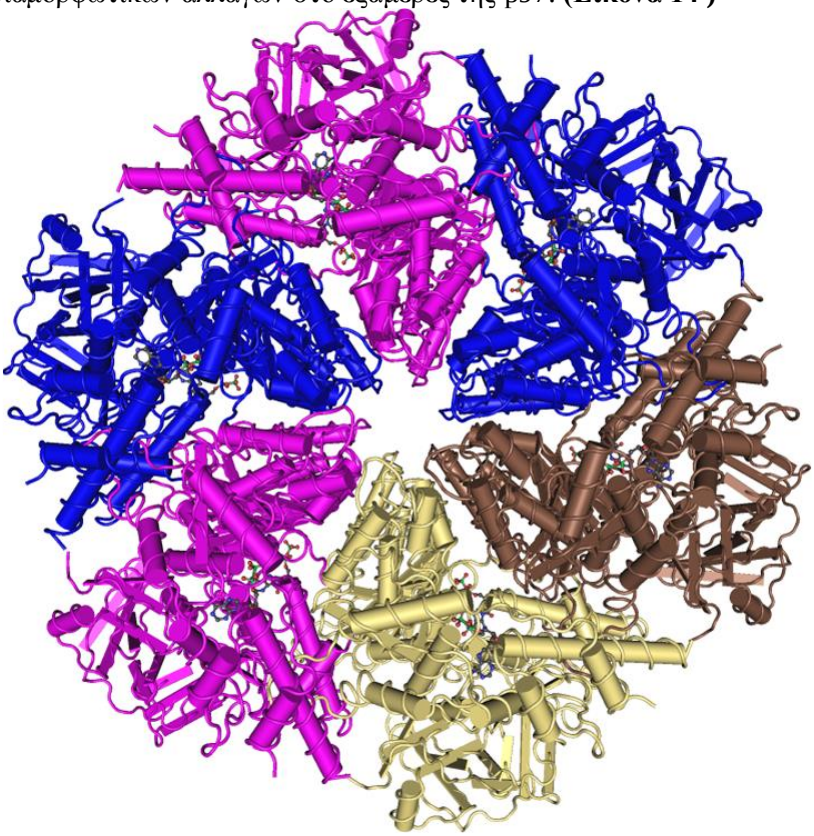


Εικόνα 13. Κλινικά αντιφυματικά φάρμακα με λιπόφιλες αλυσίδες.

Η πλευρική αλυσίδα των παραπάνω ενώσεων αποτελείται από μια σειρά από αρωματικούς και ετεροκυκλικούς δακτύλιους που έχουν σαν υποκαταστάτες τριφθορομεθόξυ-ομάδες. Η εισαγωγή μίας τέτοιας λιπόφιλης μακριάς αλυσίδας βελτιώνει την δράστικότητα έναντι του *Mtb* και προσδίδει μεταβολική σταθερότητα στα μόρια, καθώς η τριφθορομεθόξυ ομάδα αποτρέπει την πάρα-υδροξυλίωση στον οργανισμό.[46, 47]

ATPάση P97 και ινδολικοί αλλοστερικοί συνδέτες

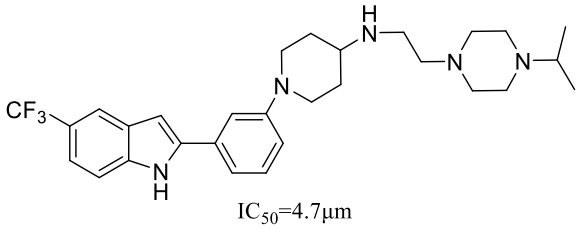
Οι ATPάσες που σχετίζεται με πολλές κυτταρικές λειτουργίες (AAA: ATPase associated with various cellular Activities) αποτελούν μια οικογένεια ενζύμων με καθοριστικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό και την ομοιόσταση των κυττάρων [48]. Η αναστολή των ενζύμων AAA, χρήζει μεγάλου ενδιαφέροντος για την ανάπτυξη νέων χημειοθεραπειών. Μέχρι στιγμής, οι περισσότερες έρευνες έχουν επικεντρωθεί στην ATPάση p97 καθώς ρυθμίζει τις κυτταρικές διαδικασίες που εμπλέκονται στην πρωτεϊνική ομοιόσταση αλλά και παίζει σημαντικό ρόλο στο σύστημα ουμπικιτίνης-πρωτεασώματος (UPS) .Πιο συγκεκριμένα, η p97 ρυθμίζει τον κυτταρικό κύκλο, την ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων που βρίσκονται στις μεμβράνες , την αυτοφαγία, την αποδόμηση που συσχετίζεται με τα μιτοχόνδρια και το ενδοπλασματικό δίκτυο, την αποδόμηση του πρωτεασώματος, την τήξη της μεμβράνης και της ουμπικιτίνης [49,50]. Το ένζυμο σχηματίζει ένα ομοεξαμερές σύμπλοκο και η κάθε υπομονάδα του φέρει δύο γειτονικές πρωτεϊνικές περιοχές (domains) με λειτουργία ATPάσης (D1 και D2) [51]. Μόλις συνδεθεί το ATP , υδρολύεται σε ADP, και ξεκινά μια μαζική διαδικασία διαμορφωτικών αλλαγών στο εξαμερές της p97. **(Εικόνα 14)**



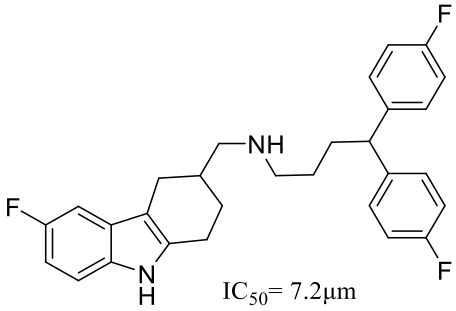
Εικόνα 14. Κρυσταλλική δομή του εξαμερούς της p97.[52]

Η ανάπτυξη αναστολέων της p97 θα μπορούσε να συνεισφέρει στην θεραπεία του καρκίνου.[53] Σε διάφορες μορφές καρκίνου όπως ο καρκίνος του πνεύμονα, του μαστού, του παγκρέατος παρατηρείται αύξηση της δραστηριότητας της p97 (upregulation), ως απάντηση στον αυξημένο πολλαπλασιασμό και τον εκφυλισμένο πρωτεϊνικό έλεγχο.[54, 55] Λόγω αυτού, τα καρκινικά κύτταρα παρουσιάζουν μεγαλύτερη ευαισθησία για τους αναστολείς της p97.

Ινδόλια που φέρουν μακριές λιπόφιλες πλευρικές αλυσίδες δρουν ως καλοί αλλοστερικοί αναστολείς της p97 [56,57, 58] **(Εικόνα 15)**.



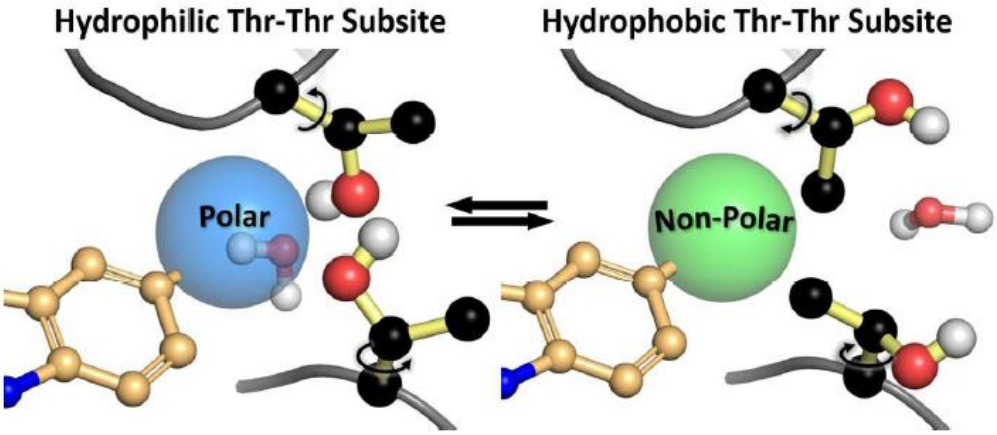
IC_{50}=4.7μm



IC_{50}= 7.2μm

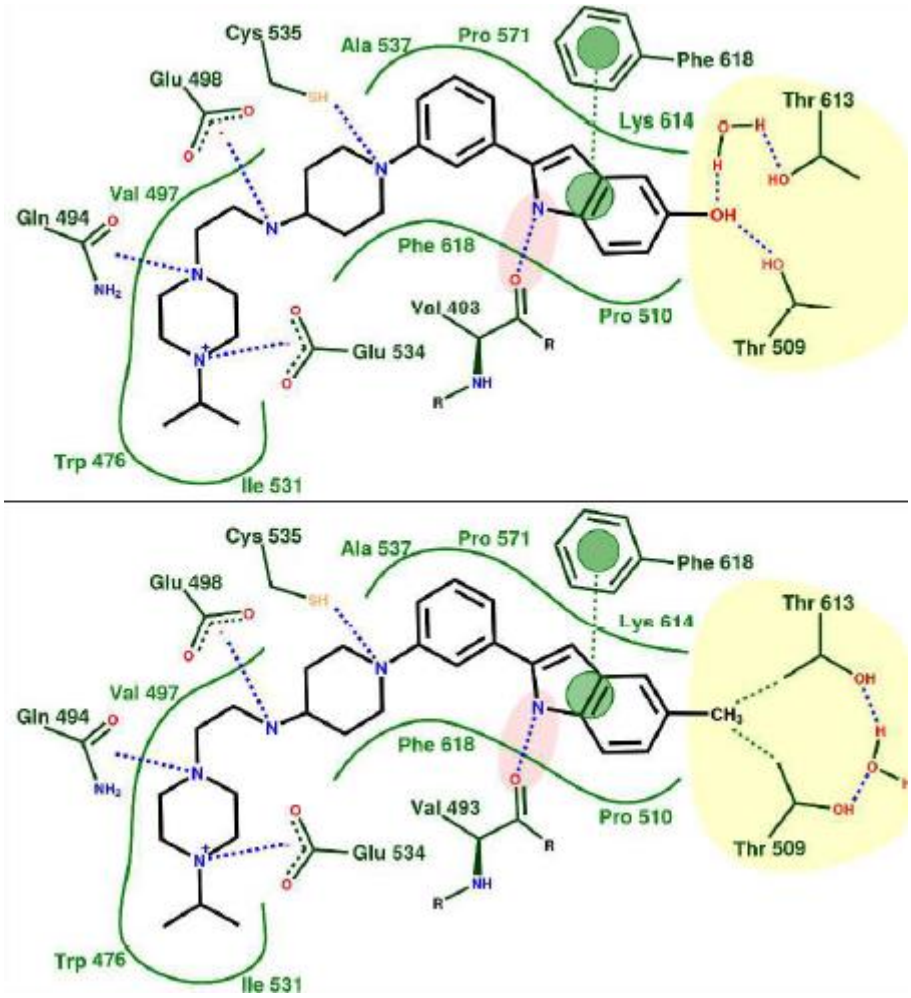
Εικόνα 15.Αλλοστερικοί Αναστολείς της p97 [56]

Στο αλλοστερικό σημείο σύνδεσης της p97 βρίσκονται δύο γειτονικά κατάλοιπα θρεονίνης τα οποία φαίνεται να εκτελούν μια περιστροφική κίνηση. Το γεγονός αυτό δημιουργεί μία δυναμική αλληλεπίδραση μεταξύ πλευρικής αλυσίδας-ετεροκυκλικού προσδέτη, η οποία ευνοεί την εισαγωγή αρκετά πολικών αλλά και άπολων ομάδων **(Εικόνα 16).**



Εικόνα 16.[59]

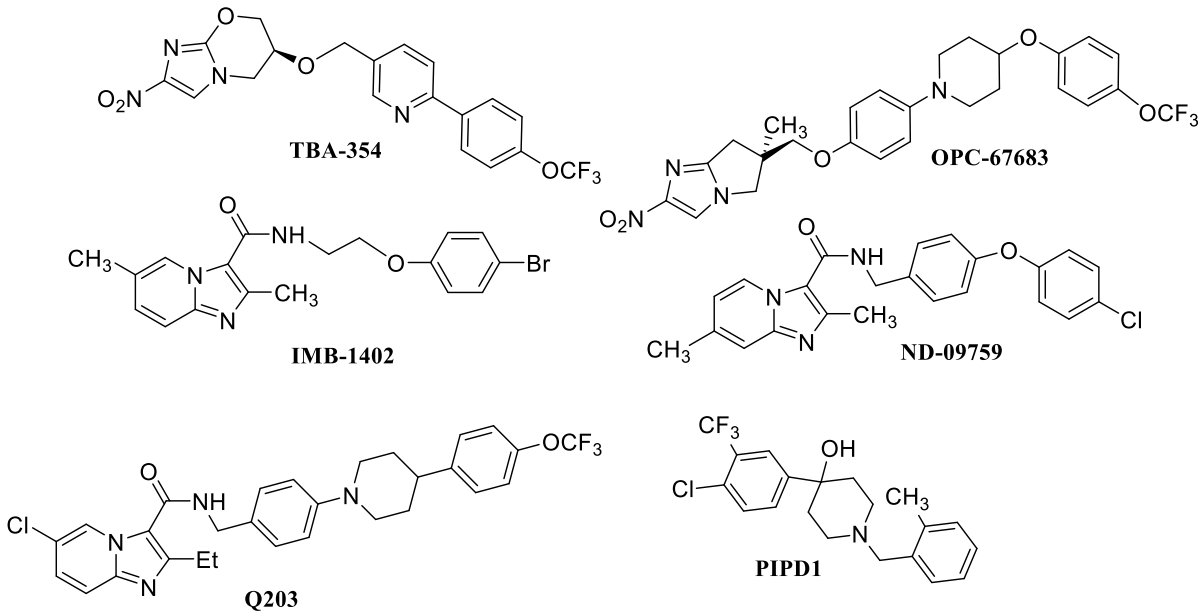
Σημαντικές αλληλεπιδράσεις του ενζύμου με τους ινδολικούς αλλοστερικούς συνδέτες αποτελούν: Ο δεσμός υδρογόνου μεταξύ του καρβονυλίου της Val 493 και της NH ομάδας του ινδολίου, οι π-αλληλεπιδράσεις μεταξύ της Phe 618 και του ινδολικού αρωματικού πυρήνα, ο δεσμός διπόλου-διπόλου μεταξύ της Cys 535 και του πιπεριδινικού αζώτου **(Εικόνα 17)**.[59]



Εικόνα 17. Πολικός (πάνω) και μη πολικός (κάτω) αναστολέας και σημεία σύνδεσης αυτών.

Σχεδιασμός των ενώσεων της παρούσας εργασίας

Ο σχεδιασμός των ενώσεων της παρούσας εργασίας εστιάζεται στην αντιμικροβιακή δράση νέων ινδολικών παραγώγων. Ενώσεις-οδηγοί για τη συγκεκριμένη μελέτη απετέλεσαν οι ενώσεις **TBA-354** και **OPC-67683**, οι οποίες βρίσκονται σε στάδιο κλινικών δοκιμών[60,61] για την αντιφυματική τους δράση, καθώς και οι ενώσεις **Q203** και **ND-09759**, που παρουσιάζουν ισχυρή δράση κατά των ανθεκτικών στελεχών μυκοβακτηριδίων[62]. Επιπλέον, η ένωση **PIPD1**, 4-(4-χλωρο-3-(τριφλορομεθυλο)φαινυλο)-1-(2-μεθυλοβενζυλο)πιπεριδινυλ-4-όλη είναι αναστολέας μεταφορέα μυκολικών οξέων στο πολυανθεκτικό μυκοβακτηρίδιο *Mycobacterium abscessus,* που σχετίζεται με τη Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια και την Κυστική Ίνωση[63].



Σχήμα 4. Νέα αντιφυματικά φάρμακα με χαρακτηριστικές πλευρικές αλυσίδες.

Οι πλευρικές αλυσίδες των παραπάνω ενώσεων, 4-{4-[4-(τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ]πιπεριδιν-1-υλο}ομάδα, {2-[4-(τριφθορομεθοξυ)φαινυλο]πυριδιν-5-υλο}ομάδα και 4-(τριφθορο- μεθοξυ)φαινυλομάδα σχετίζονται με την αντιφυματική δράση . Επιπλέον, προσδίδουν μεταβολική σταθερότητα στις παράγωγες ενώσεις, καθώς η τριφθορομεθόξυ ομάδα στην πάρα θέση του φαινολικού δακτυλίου εμποδίζει την πάρα-υδροξυλίωση κατά τον μεταβολισμό. Η εισαγωγή μιας τέτοιας λιπόφιλης μακριάς αλυσίδας αυξάνει τη δραστικότητα έναντι του *Mtb* και βελτιώνει τις φαρμακοκινητικές ιδιότητες της δραστικής ένωσης[60].

Ο αρχικός σχεδιασμός στηρίζεται στην εισαγωγή αυτών των αλυσίδων στην 3-θέση του 1*H*-ινδολίου. Ανάμεσα στον ινδολικό πυρήνα και τις πλάγιες αλυσίδες χρησιμοποιήθηκε ένας αιθανικός συνδέτης, εφόσον υπήρχε σχετική βιβλιογραφική αναφορά[64] για αντιμικροβιακή δράση 1*H*-(ινδολ-3-υλ)αιθανικών παραγώγων. Επιπλέον, επειδή στο σκελετό των νέων ενώσεων ικανοποιούνται τα κριτήρια για μελατονινεργική σύνδεση, ο σχεδιασμός προχώρησε και στη διερεύνηση της επίδρασης της 5-μεθοξυομάδας στον ινδολικό δακτύλιο,

θέμα ευρέως ανεπτυγμένο στους μελατονινεργικούς συνδέτες. Η πρακτική αυτή έχει εφαρμοστεί και έναντι της ανθελονοσιακής δράσης[65]. Από τα προηγούμενα προέκυψαν οι ενώσεις **11**, **12**, **16** και **17** του **Πίνακα 2**.

Ακολούθως, θεωρήθηκε σκόπιμο να διερευνηθεί η επίδραση της αντίστροφης αμιδικής σύνδεσης της πλάγιας αλυσίδας με τον ινδολικό δακτύλιο στη φαρμακολογική δράση των νέων ενώσεων, οπότε σχεδιάστηκαν και οι ενώσεις **23** και **26** του **Πίνακα 2**.

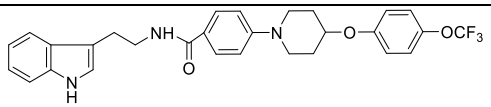
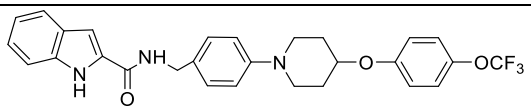
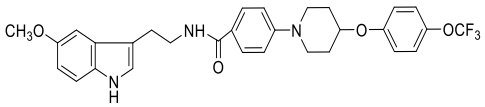
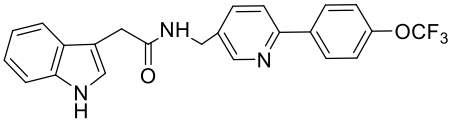
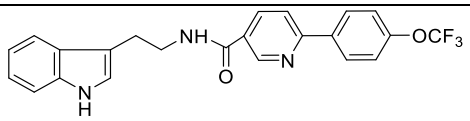
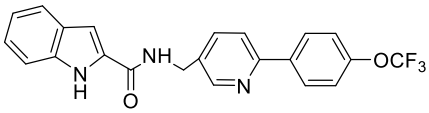
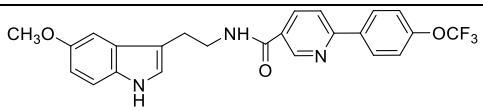
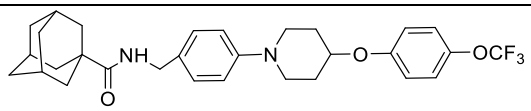
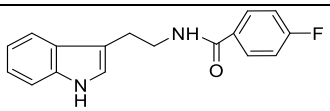
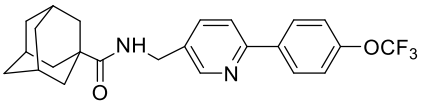
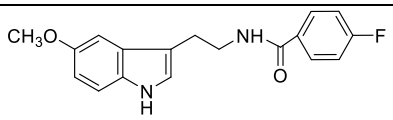
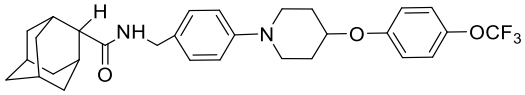
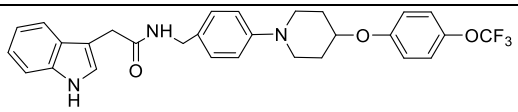
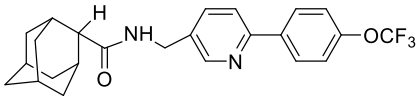
Η αντιμυκοβακτηριακή δράση των 2-ινδολαμιδίων[66], που διαμεσολαβείται με την αναστολή της μεταφοράς των μυκολικών οξέων μέσω του μεταφορέα MmpL3 στο βακτηριακό τοίχωμα, μας ώθησε στην εισαγωγή της 4-{4-[4-(τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ]πιπεριδιν-1-υλο}φαινυλο-και {2-[4-(τριφθορομεθοξυ)φαινυλο]πυριδιν-5-υλο}-πλάγιας αλυσίδας στη 2-θέση και τη σύνθεση των ενώσεων **24** και **27** του **Πίνακα 2**.

Συνοψίζοντας το σχεδιασμό των ινδολικών παραγώγων επισημαίνεται ότι τα κριτήρια για τη μελατονινεργική σύνδεση δεν εφαρμόστηκαν πλήρως για όλες τις ενώσεις, πρακτική που έχει εφαρμοστεί στη βιβλιογραφία, ως προς την ανθελονοσιακή δράση[65,67].

Οι προηγούμενες αλυσίδες συνδέθηκαν με τον αδαμαντανικό σκελετό σε δύο διαφορετικές θέσεις πρόσδεσης, οπότε προέκυψαν οι ενώσεις **28**, **29**, **33** και **34** του **Πίνακα 2**. Η επιλογή του αδαμαντανικού σκελετού έγινε με σκοπό την αύξηση της λιποφιλίας, άλλωστε υπάρχει και το αδαμαντανικό παράγωγο, SQ109[68], σε κλινική φάση III για την αντιφυματική δράση, η οποία πραγματοποιείται με αναστολή του μεταφορέα των μυκολικών οξέων MmpL3 στο *M. tuberculosis*.

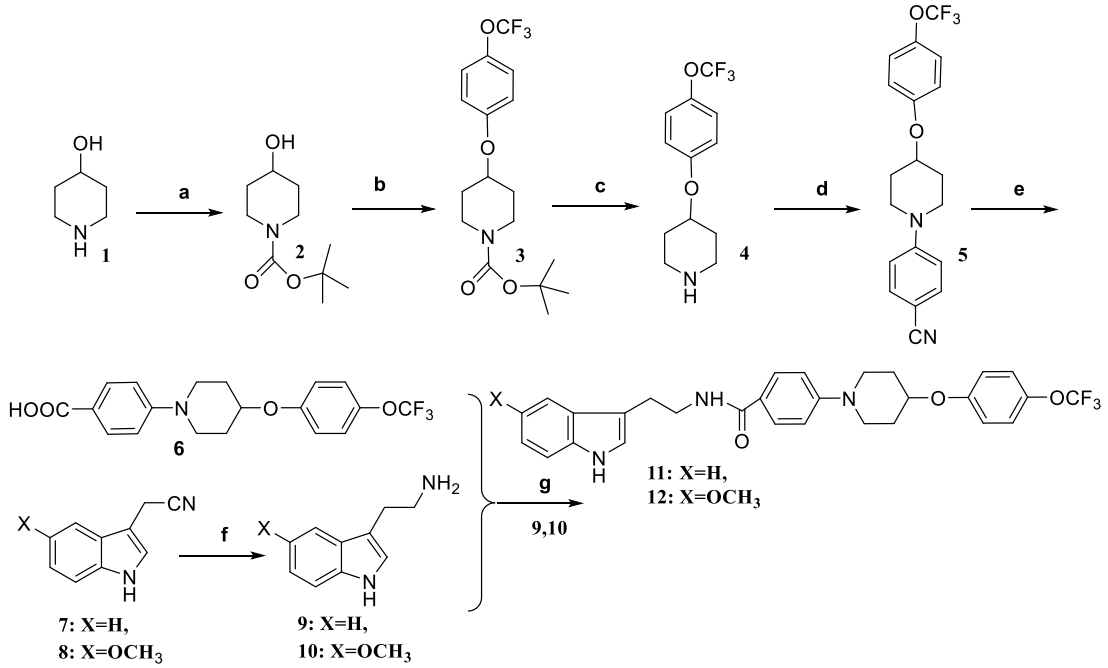
Επίσης, αξίζει να σημειωθεί ότι οι ινδολικές ενώσεις **11**, **12**, **16**, **17**, **23**, **24**, **26** και **27** καλύπτουν τα κριτήρια για σύνδεση με την ATPάση p97, εξαιτίας του ότι η θέση πρόσδεσης στην ATPάση είναι ανεκτή σε μακριές πλάγιες αλυσίδες που περιέχουν αρωματικούς και ετεροκυκλικούς δακτύλιους[69].

Πίνακας 2. Νέες ενώσεις-στόχοι της παρούσας εργασίας

‘Ενωση	Δομή	‘Ενωση	Δομή
11		**24**	
12		**26**	
16		**27**	
17		**28**	
20		**29**	
21		**33**	
23		**34**	

Β. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Για την παρασκευή των 4-{4-[4-(τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ]πιπεριδιν-1-υλο}βενζαμιδίων **11** και **12** ακολουθήθηκε η αλληλουχία των αντιδράσεων που απεικονίζονται στο **Σχήμα 5.**

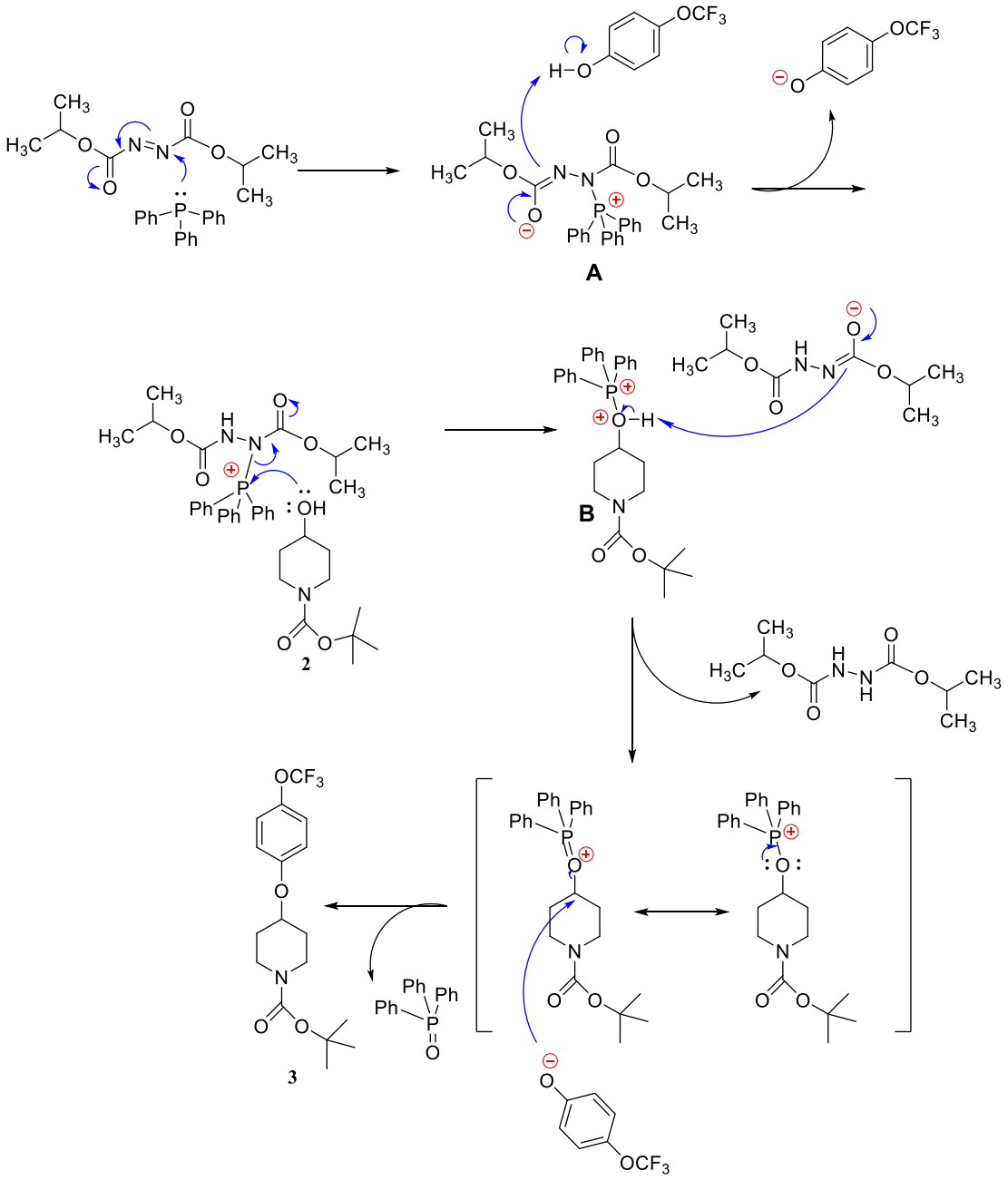


Σχημα 5. Αντιδραστήρια και συνθήκες: **a)** Boc_2O, DMAP, DCM, rt, 3.5h, 80 %; **b)** 4-trifluoromethoxyphenol, PPh_3, DIAD,THF, rt,18h 70 % ; **c)** TFA, DCM, 0°C to rt, 3h; **d)** 4-fluorobenzonitrile, K_2CO_3, DMSO, 120°C, 6h, 69 %; **e)**HCl conc., reflux, 7h, 71 %; **f)** LAH, anhydrousbenzene/Et_2O, rt, 30min, 96 %; **g)** EDC·HCl, HOBt, Et_3N, anhydrous DCM/DMF, rt, overnight, **11:**51, **12:**57%

Τα βενζαμιδικά παράγωγα **11** και **12** προέκυψαν από τη σύζευξη του βενζοϊκού οξέος **6** με τις αντίστοιχες ινδολικές αιθανολαμίνες **9** και **10** με τη βοήθεια των συμπλεκτικών αντιδραστηρίων, του υδροχλωρικού άλατος του 1-αιθυλο-3-(3-διμεθυλαμινο-προπυλοκαρβοδιιμιδίου (EDC·HCl), και του υδροξυβενζαζοτριαζολίου (HOBt), παρουσία τριαιθυλαμίνης. Η εμπορικά διαθέσιμη 4-πιπεριδινόλη (**1)** μετατρέπεται, κατόπιν αντίδρασης με Boc_2O, προς την προστατευμένη αλκοόλη **2**, παρουσία της 4-διμεθυλαμινοπυριδίνης (DMAP)**.** Στη συνέχεια, η προστατευμένη πιπεριδινόλη **2** αιθεροποιείται προς τον 4-(τριφθορομεθοξυ)φαινυλαιθέρα **3**, υπό συνθήκες αντίδρασης Mitsunobu με τη βοήθεια της 4-τριφθορομεθοξυφαινόλης. Αποπροστασία του καρβαμιδεστέρα **3** με τριφθοροξικό οξύ οδηγεί στην πιπεριδίνη **4**, η οποία με αντίδραση πυρηνόφιλης υποκατάστασης στο 4-φθοροβενζονιτρίλιο οδηγεί στο βενζονιτρίλιο **5**, το οποίο υδρολύεται υπό όξινες συνθήκες προς το βενζοϊκό οξύ **6**, που χρησιμοποιήθηκε για τη σύνθεση των αμιδίων **11** και **12**.

Οι αμίνες **9** και **10** προέκυψαν με αναγωγή με λιθιοαργιλιοϋδρίδιο (LAH) των εμπορικά διαθέσιμων νιτριλίων, ινδολο-3-ακετονιτρίλιο (**7)** και 2-(5-μεθοξυ-1*H*-ινδολ-3-υλ)ακετονιτρίλιο (**8)**, αντίστοιχα.

Ο μηχανισμός της αντίδρασης Mitsunobu[70,71,72], που χρησιμοποιείται για την μετατροπή της πιπεριδινόλης **2** προς τον 4-(τριφθορομεθοξυ)φαινυλαιθέρα **3** απεικονίζεται στο **Σχήμα 6**.

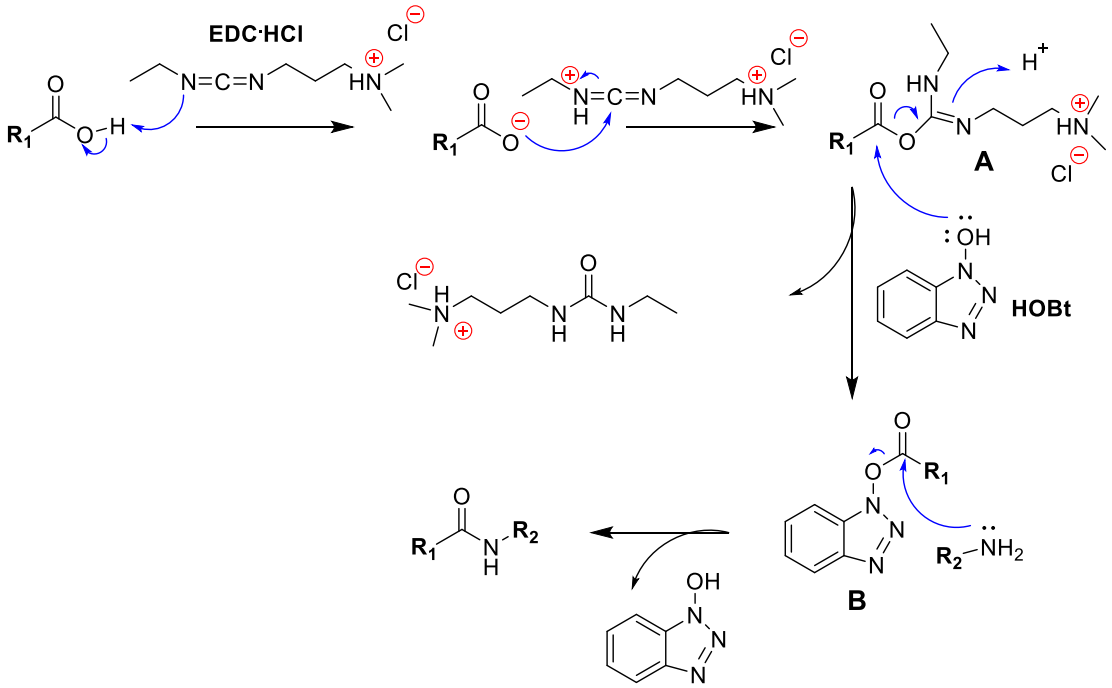


Σχήμα 6. Μηχανισμός της αντίδρασης Mitsunobu

Ο μηχανισμός περιλαμβάνει αρχικά την προσβολή του διισοπροπυλο αζωδικαρβοξυλικού εστέρα (DIAD) από την τριφαινυλοφωσφίνη και το σχηματισμό ενός διπολικού ιόντος **A** (zwitterion), ως ενδιαμέσου. Το ενδιάμεσο **A** αποπρωτονιώνει την 4-τριφθορομεθοξυφαινόλη, με αποτέλεσμα τη δημιουργία του αντίστοιχου ανιόντος. Στη συνέχεια, η πιπεριδινόλη **2** συνδέεται με το φωσφονικό ιόν

σχηματίζοντας το ενδιάμεσο **B** επί του οποίου το ανιόν της φαινόλης πραγματοποιεί μια S_N2 υποκατάσταση για να δώσει το τελικό υποκατεστημένο προϊόν **3** με αναστροφή της στερεοχημείας. Η δημιουργία ενός ισχυρού P=O δεσμού στο παραπροϊόν της αντίδρασης ευνοεί την μετατόπιση της ισορροπίας προς τα δεξιά.

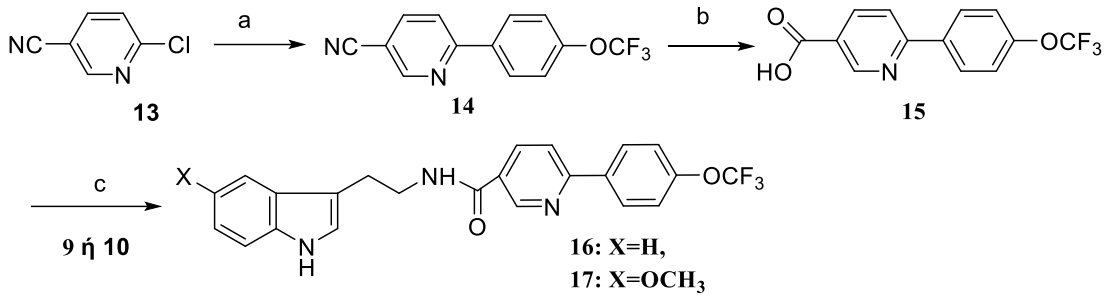
Ο γενικός μηχανισμός καρβονυλικής ενεργοποίησης κατά την αμιδική σύζευξη παρουσιάζεται στο **Σχήμα 7.**



Σχήμα 7. Μηχανισμός σχηματισμού αμιδικού δεσμού με τα συμπλεκτικά αντιδραστήρια EDC·HCl / HOBt.

Το πρώτο βήμα περιλαμβάνει την αντίδραση του καρβοξυλικού οξέος με το υδροχλωρικό 1-[3-(διμεθυλαμινο)προπυλο]-3-αιθυλοκαρβοδιιμίδιο (EDC) για το σχηματισμό της *O*-ακυλουρίας **A**. Ακολούθως, το 1-υδρόξυ-1*H*-βενζοτριαζόλιο (HOBt) προσβάλει την *O*-ακυλουρία **A** σχηματίζοντας τον ενεργοποιημένο εστέρα **B**, ο οποίος ευνοεί και παράλληλα σταθεροποιεί την προέγγιση της αμίνης μέσω δεσμού υδρογόνου.

Η σύνθεση των 6-[4-(τριφθορομεθοξυ)φαινυλο]νικοτιναμιδικών 3-ινδολικών παραγώγων **16** και **17** πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις αντιδράσεις του **Σχήματος 8.**



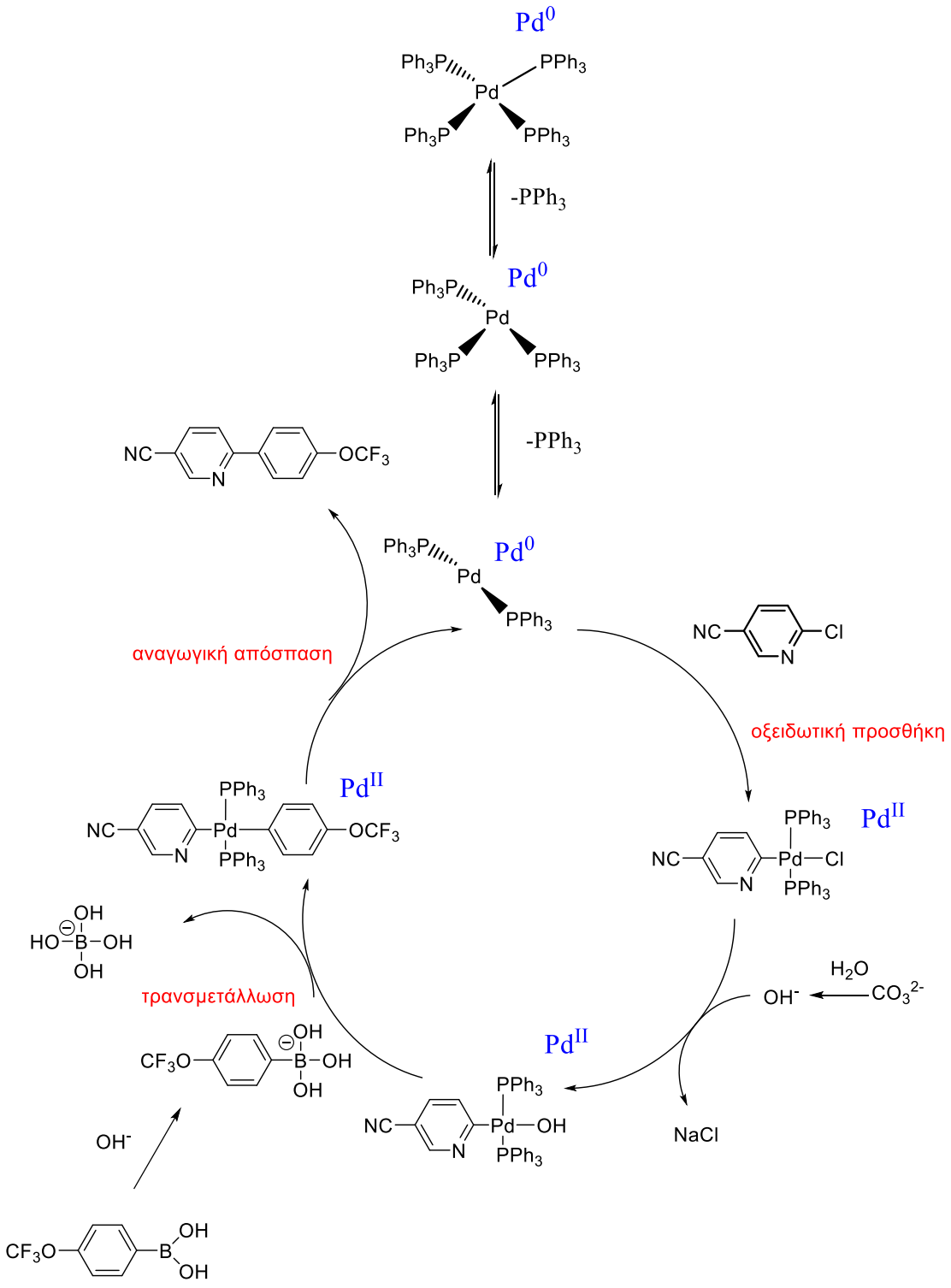
Σχήμα 8. Αντιδραστήρια και συνθήκες: **a)** (4-(trifluoromethoxy)phenyl)boronic acid, $Pd(PPh_3)_4$, 2M Na_2CO_3 (a.q.), toluene,110°C, overnight, 70 %; **b)** HClconc., reflux, 7h, 92%; **c)** EDC·HCl, HOBt, Et_3N, anhydrous DCM/DMF, rt, overnight, **16**:42 %, **17:**52%.

Για τη σύνθεση των νικοτιναμιδίων **16** και **17**, η 2-χλωρο-5-κυανοπυριδίνη (**13**) συζεύγνυται με το 4-(τριφθορομεθοξυ)φαινυλο)βορονικό οξύ υπό συνθήκες αντίδρασης Suzuki παρουσία καταλύτη τετρακις(τριφαινυλοφωσφινο)παλλαδίου (0) ($Pd(PPh_3)_4$) και ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3). Το προκύπτον υποκατεστημένο πυριδινοκαρβονιτρίλιο **14** υδρολύεται υπό όξινες συνθήκες προς το πυριδινοκαρβοξυλικό οξύ **15,** το οποίο συμπλέκεται με τις αμίνες **9** και **10,** όπως και προηγουμένως, για να οδηγήσει στα αντίστοιχα αμίδια **16** και **17**.

Η αντίδραση Suzuki [73] είναι μία αντίδραση διασταυρούμενης σύζευξης (cross-coupling reaction), καταλυόμενη από Pd. Ο κύκλος της αντιδρασης αποτελείται από τρία στάδια.

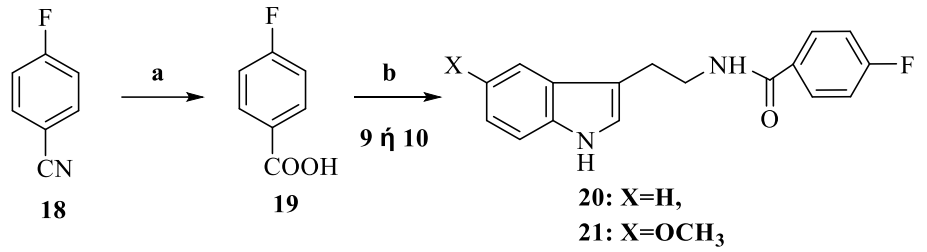
- Οξειδωτική προσθήκη (oxidative addition) του καταλύτη στο αλογονοπαράγωγο (Pd^0=> Pd^{II}) και συναρμογή του R με το μέταλλο.
- Τρανσμετάλλωση (transmetallation)[74] και συναρμογή και του R΄ με το μέταλλο.
- Αναγωγική απόσπαση (reductive elimination), σχηματισμός του δεσμού C-C και αναγέννηση του καταλύτη (Pd^{II} => Pd^0)

Στο **Σχήμα 9** απεικονίζεται ο καταλυτικός κύκλος της αντίδρασης Suzuki για τον σχηματισμό του υποκατεστημένου πυριδινοκαρβονιτριλίου **14**.



Σχήμα 9.Μηχανισμός αντίδρασης Suzuki.

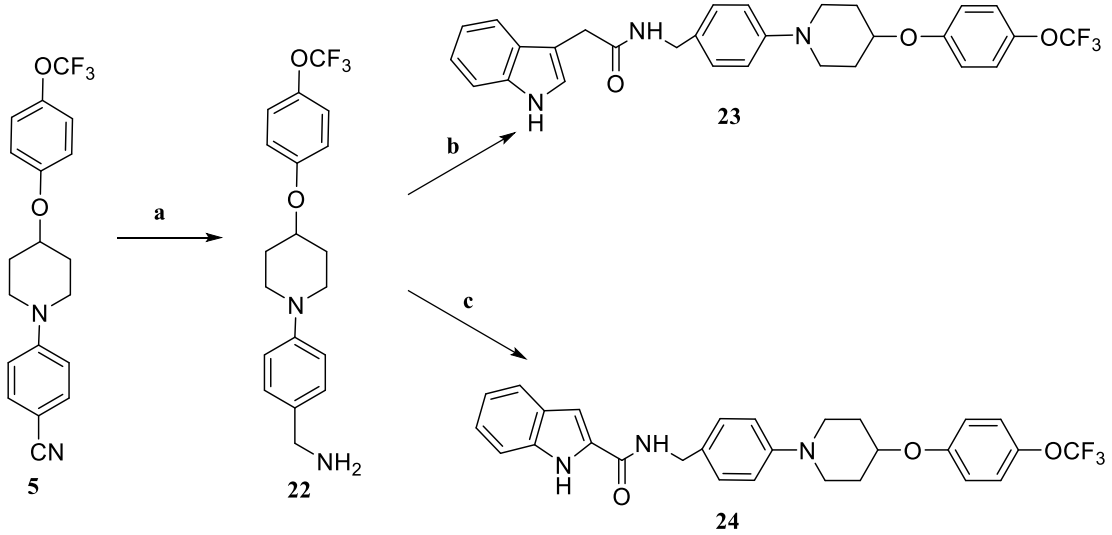
Τα 4-φθοροβενζαμιδικά 3-ινδολικά παράγωγα **20** και **21** παρασκευάστηκαν, όπως φαίνεται στο **Σχήμα 10.**



Σχήμα 10. Αντιδραστήρια και συνθήκες: **a)** 2.5M NaOH, 110°C, 1h, 71%; **b)** EDC·HCl, HOBt, Et_3N,anhydrous DCM/DMF, rt, overnight, **20**:78 %,**21**:81 %.

Το 4-φθοροβενζονιτρίλιο (**18**) υδρολύεται υπό αλκαλικές συνθήκες προς το 4-φθοροβενζοϊκό οξύ **19**, το οποίο συμπλέκεται κατά τα γνωστά με τις αμίνες **9** και **10** για να οδηγήσει στα παράγωγα **20** και **21**, αντιστοίχως.

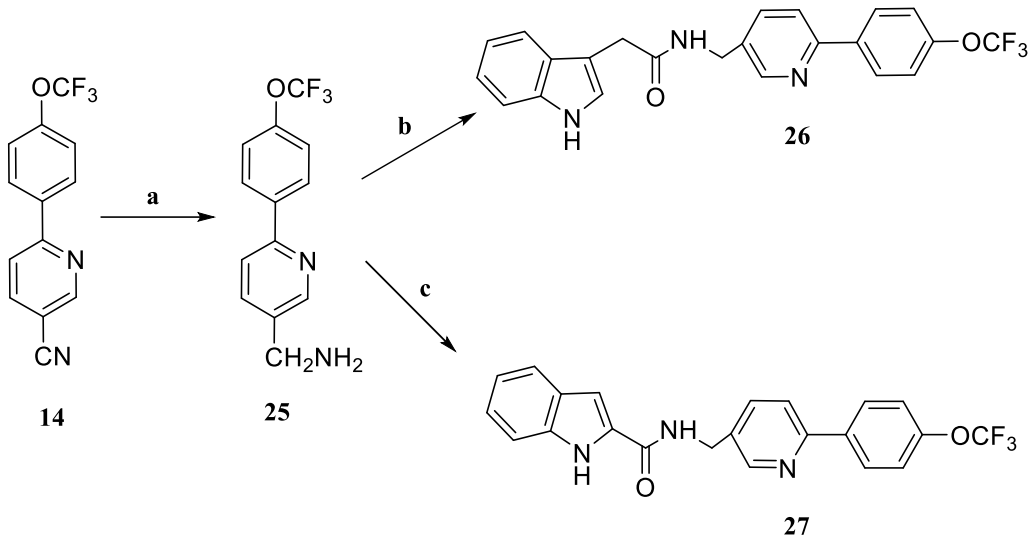
Για τη σύνθεση των αντίστροφων 4-[4-(4-(τριφθορομεθοξυ)φαινοξυπιπεριδιν-1-υλοβενζυλ]αμιδίων **23** και **24** ακολουθήθηκαν οι αντιδράσεις που απεικονίζονται στο **Σχήμα 11**.



Σχήμα 11. Αντιδραστήρια και συνθήκες: **a)** LAH, anhydrous THF,0°C to rt 30min/reflux 2h, 98%; **b)** 2-(1*H*-indol-3-yl)acetic acid, EDC·HCl, HOBt, Et_3N, anhydrous DCM/DMF, rt, 4 days, 62%; **c)** 1*H*-indole-2-carboxylic acid, EDC·HCl, HOBt, Et_3N, anhydrous DCM/DMF, rt,4 days, 58%.

Για την παρασκευή των αντίστροφων αμιδίων **23** και **24** χρησιμοποιήθηκαν τα αντίστοιχα εμπορικώς διαθέσιμα ινδολικά οξέα, 2-(1*H*-ινδολ-3-υλ)οξικό οξύ και 1*H*-ινδολο-2-καρβοξυλικό οξύ. Αυτά τα οξέα συμπλέκονται με τη βενζυλαμίνη **22** σύμφωνα με τη μέθοδο που έχει προαναφερθεί. Η βενζυλαμίνη **22** προέρχεται από την αναγωγή του νιτριλίου **5** με LAH.

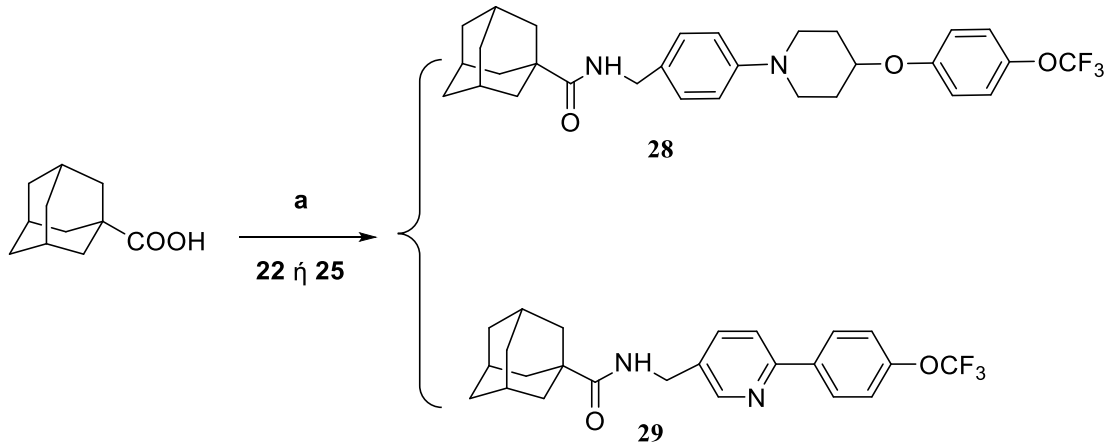
Η παρασκευή των [{6-(4-(τριφθορομεθοξυ)φαινυλο)πυριδιν-3-υλο]μεθυλ}αμιδίων **26** και **27** πραγματοποιήθηκε, όπως απεικονίζεται στο **Σχήμα 12**.



Σχήμα 12. Αντιδραστήρια και συνθήκες : **a)** H_2/ Raney Nickel (50% in water), methanol, rt, 3.5h, 80 %, **b)** 2-(1*H*-indol-3-yl)acetic acid, EDC·HCl, HOBt, Et_3N, anhydrous DCM/DMF, rt, 4 days, 45% ; **c)** 1*H*-indole-2-carboxylic acid, EDC·HCl, HOBt, Et_3N, anhydrous DCM/DMF, rt,4 days, 37%.

Για την παρασκευή των αντίστροφων αμιδίων **26** και **27** χρησιμοποιήθηκαν τα αντίστοιχα εμπορικώς διαθέσιμα ινδολικά οξέα, 2-(1*H*-ινδολ-3-υλ)οξικό οξύ και 1*H*-ινδολο-2-καρβοξυλικό οξύ. Αυτά τα οξέα συμπλέκονται με την 3-πυριδινομεθαναμίνη **25** σύμφωνα με τη μέθοδο που έχει προαναφερθεί. Η αμίνη **25** προέρχεται από την καταλυτική υδρογόνωση του 3-πυριδινοκαρβονιτριλίου **14** με νικέλιο του Raney.

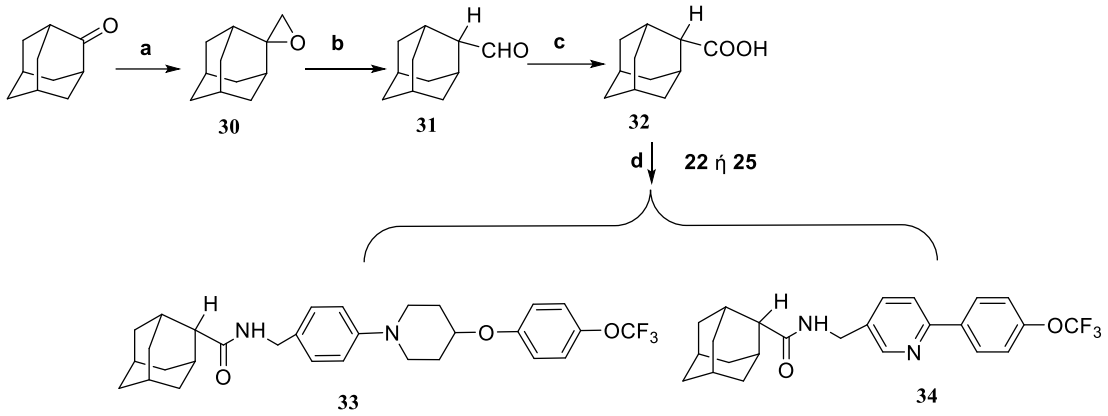
Η σύνθεση των 1-αδαμαντανοκαρβοξαμιδικών παραγώγων **28** και **29** πραγματοποιήθηκε, όπως απεικονίζεται στο **Σχήμα 13**.



Σχήμα 13. Αντιδραστήρια και συνθήκες: **a)** EDC·HCl, HOBt, Et_3N, anhydrous DCM/DMF, rt, overnight, **28**: 61% , **29**: 43 %.

Για την παρασκευή των 1-υποκατεστημένων αδαμαντανικών προϊόντων **28** και **29** χρησιμοποιήθηκαν οι αμίνες **22** και **25**, αντιστοίχως και το εμπορικώς διαθεσιμο 1-αδαμαντανοκαρβοξυλικό οξύ. Η σύνθεση των αδαμαντανικών αμιδίων **28** και **29** έγινε με τη μέθοδο που έχει προαναφερθεί.

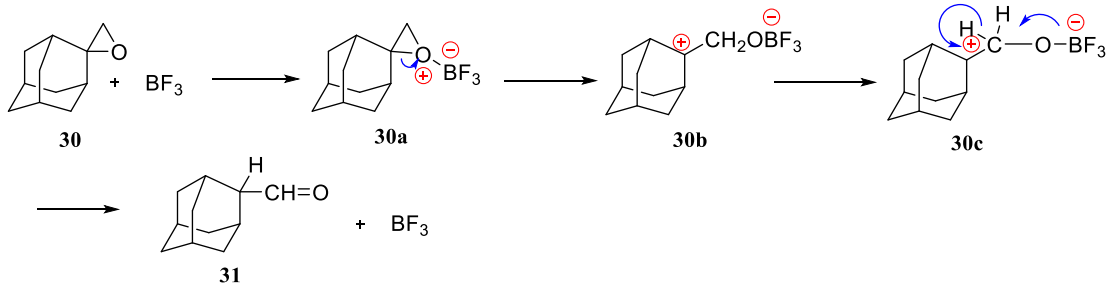
Η παρασκευή των 2-αδαμαντανοκαρβοξαμιδικών προϊόντων **33** και **34** πραγματοποιήθηκε μέσω των αντιδράσεων του **Σχήματος 14**.



Σχήμα 14. Αντιδραστήρια και συνθήκες: **a)** NaH, anhydrous DMSO, Trimethyl-sulfoxonium iodide, rt,1.5h, 82% ; **b)** $BF_3 \cdot Et_2O$, anhydrous benzene, rt; **c)** 8N Jones reagent, acetone, 20°C, 2h; 71%; **d)** EDC·HCl, HOBt, Et_3N,anhydrous DCM/DMF, rt, 2 days, **33**: 61%,**34:** 43%.

Για τη σύνθεση των προϊόντων **33** και **34** χρησιμοποιήθηκαν οι πρωτοταγείς αμίνες **22** και **25**, αντιστοίχως και το 2-αδαμαντανοκαρβοξυλικό οξυ **32**. Ως πρώτη ύλη χρησιμοποιείται η 2-αδαμαντανόνη, η οποία κατά την επίδραση του μεθυλιδίου του διμεθυλοσουλφοξωνίου[75] (που σχηματίζεται με επίδραση νατριοϋδριδίου επί του ιωδιούχου τριμεθυλοσουλφοξωνίου σε DMSO) μετατρέπεται προς το σπειρο[αδαμαντανο-2 (2')-οξιράνιο] (**30**)[76] . Κατά την επίδραση του αιθερικού συμπλόκου του τριφθοριούχου βορίου επί του σπειρανικού εποξειδίου **30** και μετά από υδρόλυση σχηματίζεται η 2-αδαμαντανοκαρβοξαλδεΰδη (**31**)[77,78], η οποία οξειδώνεται, με το αντιδραστήριο Jones, προς το 2-αδαμαντανοκαρβοξυλικό οξύ (**32**)[78].

Η μετατροπή του εποξειδίου **30** προς την καρβοξαλδεΰδη **31** πραγματοποιείται σύμφωνα με το μηχανισμό που απεικονίζεται στο **Σχήμα 15**.



Σχήμα 15. Μηχανισμός σχηματισμού της 2-αδαμαντανοκαρβοξαλδεΰδης (**31**)

Σε πρώτο στάδιο σχηματίζεται το σύμπλοκο **30a** μεταξύ του οξιρανικού οξυγόνου και του βορίου και ακολουθεί διάνοιξη του οξιρανικού δακτυλίου προς το τριτοταγές καρβοκατιόν **30b**. Το κατιόν **30b**, μέσω του μη κλασσικού καρβοκατιόντος **30c**, υφίσταται ενδομοριακή μετάθεση υδριδίου μετατρεπόμενο προς την αλδεΰδη **30**.

Από τη σύγκριση των αντιδράσεων αμιδοποίησης μπορούν να εξαχθούν τα ακόλουθα συμπεράσματα.

Τα 5-μεθοξυϊνδόλια παρουσιάζουν καλύτερη απόδοση από τα μη υποκατεστημένα ινδόλια. Τα ινδολικά αμίδια **12**, **17** και **21** έχουν υψηλότερες αποδόσεις σχηματισμού σε σχέση με τα αντίστοιχα αμίδια **11**, **16** και **20**. Η διαφοροποίηση αυτή θα μπορούσε να αποδοθεί στο +R φαινόμενο της 5-μεθοξυομάδας που ασκεί στον ινδολικό πυρήνα.

Τα 3-ακετοξυϊνδόλια έχουν καλύτερη απόδοση από 2-καρβοξυϊνδόλια . Τα αμίδια **23** και **26** έχουν υψηλότερες αποδόσεις σχηματισμού σε σχέση με τα αντίστοιχα αμίδια **24** και **26**. Είναι γνωστό ότι η 3-θέση του ινδολίου είναι η πιο ενεργοποιημένη.

Από τη σύγκριση σχηματισμού των αιθαναμικών ινδολικών αμιδίων **11** και **16** και των αντιστρόφων τους, ακετοξικών αμιδίων **23** και **26**, προκύπτει ότι η ενεργοποίηση του ακετοξικού ινδολικού καρβονυλίου υπολείπεται από την ενεργοποίηση του βενζυλικού και νικοτινικού καρβονυλίου και επομένως η απόδοση σχηματισμού των αμιδίων **11** και **16** είναι μικρότερη απ΄ ό,τι των **23** και **26**.

Τέλος, η καλύτερη απόδοση αμιδοποίησης του 1-αδαμαντανοκαρβοξυλικού οξέος σε σχέση με την αμιδοποίηση του 2-αδαμαντανοκαρβοξυλικού οξέος θα πρέπει να αποδοθεί σε λόγους στερεοχημικής παρεμπόδισης από τον αδαμαντανικό κλωβό.

Γ.ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Ο φαρμακολογικός έλεγχος, μέρος του οποίου είναι σε εξέλιξη, αφορά στην αντιφυματική δράση και τη μελατονινεργική σύνδεση.

1.ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΦΥΜΑΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ

Ο έλεγχος της αντιφυματικής δράσης των αμιδικών παραγώγων της παρούσης εργασίας, έναντι του αναπαραγόμενου στελέχους H37Rv *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο του Global Health Institute του Πολυτεχνείου της Λωζάνης στην Ελβετία, υπό τη διεύθυνση του Καθηγητή Stewart T. Cole.

Υλικά και μέθοδοι

Βακτηριακά στελέχη και συνθήκες καλλιέργειας

Το στέλεχος του *Mycobacterium tuberculosis* που χρησιμοποιήθηκε είναι το H37Rv. Αναπτύχθηκε στους 37 ^{o}C υπό ανάδευση σε θρεπτικό υλικό 7H9 (Difco) εμπλουτισμένο με 10% αλβουμίνη-δεξτρόζη-καταλάση (ADC), 0,2% γλυκερόλη και 0,05% Tween 80. Το H37Rv αναπτύχθηκε στο μέσο έως την ημι-λογαριθμική φάση ανάπτυξης. Τα τελικά βακτηριακά σφαιρίδια του H37Rv επαναιωρήθηκαν στο παραπάνω μέσο και ψύχθηκαν σε γλυκερόλη 15% στους -80 ^{o}C σε κλάσματα των 0.5 ml. Ακολούθησε απόψυξη ενός από τα κλάσματα των H37Rv και έγινε ο εμβολιασμός τους στο θρεπτικό υλικό 7H9.

Αντιμικροβιακά. Η αιθαμβουτόλη (EMB) και η ριφαμπικίνη (RIF) αγοράσθηκαν από τη Sigma-Aldrich. Τα φάρμακα,οι εξεταζόμενες ενώσεις, η EMB και η RIF, για τα *in vitro* πειράματα διαλύθηκαν ή απαιωρήθηκαν σε DMSO.

Resazurin reduction microplate assay (REMA). Δοκιμασία με αναγωγή της ρεσαζουρίνης

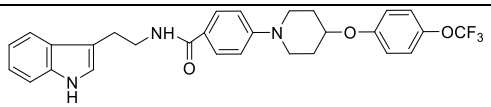
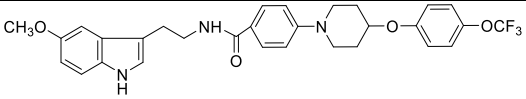
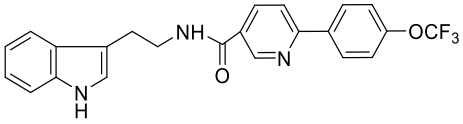
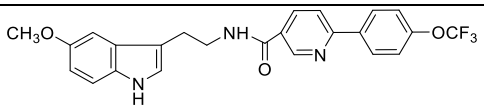
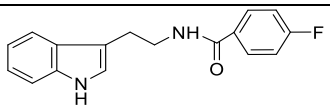
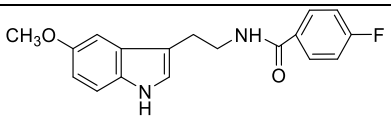
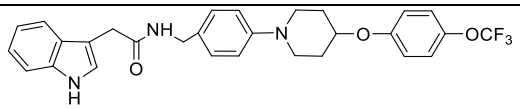
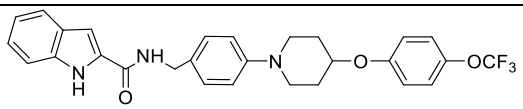
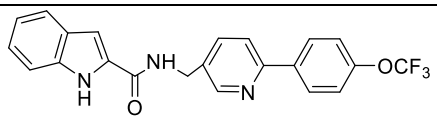
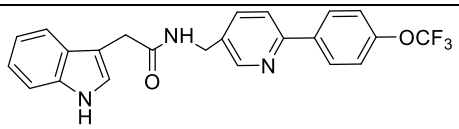
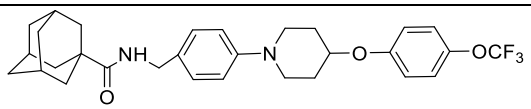
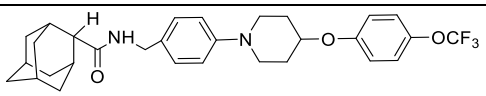
Για την αξιολόγηση της *in vitro* αποτελεσματικότητας των ενώσεων της παρούσας εργασίας χρησιμοποιήθηκε καλλιέργεια του H37Rv (OD600 = 0,0001)με τη μέθοδο REMA[79,80]. Δύο διαδοχικές διαλύσεις κάθε εξεταζόμενου αναλόγου παρασκευάστηκαν σε λευκές μικροπλάκες 96 κυψελών που περιείχαν το βάκιλλο σε συνολικό όγκο 100 μL και στη συνέχεια επωάστηκαν για 6 ημέρες στους 37 ^{o}C πριν την προσθήκη 10 μL 0,025% ρεσαζουρίνης. Μετά από ολονύκτια επώαση, προσδιορίστηκε ο φθορισμός της ρεσορουφίνης, μεταβολίτη της ρεσαζουρίνης, (διέργερση 560 nm, εκπομπή 590 nm, ενίσχυση σήματος 70) με τη χρήση ενός αναλυτή μικροπλακών Tecan Infinite M200.

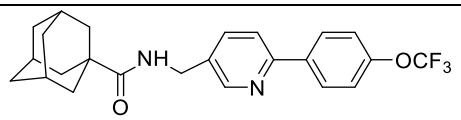
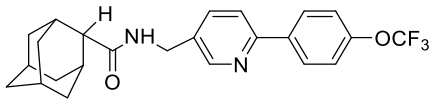
Στατιστική ανάλυση. Η επεξεργασία των δεδομένων και ο σχεδιασμός των γραφημάτων έγινε με πρόγραμμα Prism version 5.0 (GraphPad).

Ανάλυση φαρμακολογικών αποτελεσμάτων

Από τον παραπάνω προκαταρκτικό έλεγχο προέκυψε ότι οι ενώσεις της παρούσας εργασίας δεν είναι δραστικές κατά της φυματίωσης, ωστόσο ξεχώρισαν οι ενώσεις **12** και **24** που παρουσίασαν οριακή δράση, όπως απεικονίζεται στον **Πίνακα 1**.

Πίνακας 1. Αποτέλεσματα της δράσης κατά του στελέχους H37Rv του *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb)

'Ενωση	**Δομή**	**H37Rv** ***MIC(μg/mL)**
11		>100
12		30.7
16		>100
17		>100
20		100
21		>100
23		>100
24		24.7
27		>100
26		>100
28		>100
33		>100

29		>100
34		>100

*MIC: MinimumInhibitionConcentration, ελάχιστη συγκέντρωση αναστολής.

Από τον παραπάνω Πίνακα προκύπτει ότι οι ενώσεις **12** και **24**, οι οποίες διαθέτουν την 4-{4-[4-(τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ]πιπεριδιν-1-υλο}φαινυλο-πλευρική αλυσίδα, η οποία ενώνεται με αμιδικό δεσμό με τον ινδολικό πυρήνα και με τους δυο τρόπους, όπως έχει παρουσιαστεί στην παρούσα εργασία, εμφανίζουν αντιφυματική δράση. Ενδιαφέρον έχει ότι η ένωση **11,** που δεν διαθέτει την 5-μεθοξυομάδα στον ινδολικό πυρήνα και διατηρεί την ίδια υποκατάσταση στη θέση-3, στερείται αντιφυματικής δράσης. Αντίθετα, η αντικατάσταση της πλευρικής αλυσίδας με μικρότερες αλυσίδες ή η αντικατάσταση του ινδολικού πυρήνα με τον αδαμαντανικό σκελετό δεν ευνοεί την αντιφυματική δράση.

Μια ακόμη παρατήρηση από τη σύγκριση των ινδολικών αμιδίων είναι ότι, όταν η μακριά πλευρική αλυσίδα συνδεθεί στη θέση-2 του ινδολικού πυρήνα της ένωσης **24,** φαίνεται ότι επάγει την αντιφυματική δράση, παρά την απουσία της 5-μεθοξυ-ομάδας. Θα πρέπει επίσης να σημειωθεί στη σύγκριση των δυο ενώσεων ότι έχει μειωθεί η απόσταση μεταξύ του ινδολικού πυρήνα και της πλευρικής αλυσίδας και έχει αντιστραφεί ο αμιδικός δεσμός.

Επιπλέον, η επιλογή του αδαμαντανικού σκελετού σε συνδυασμό με τις πλευρικές αλυσίδες της παρούσας εργασίας δεν συνέβαλλε στην αντιφυματική δράση.

2.ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΕΡΓΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

Η μελατονινεργική αξιολόγηση των αμιδικών παραγώγων της παρούσης εργασίας πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο του Τμήματος Φαρμακολογίας και Τοξικολογίας του Jacobs School of Medicine & Biomedical Sciences στο Πανεπιστήμιο του Buffalo, στις ΗΠΑ υπό τη διεύθυνση της Καθηγήτριας Margarita L. Dubocovich.

Υλικά και μέθοδοι

Μελέτες πρόσδεσης έναντι της 2-[^{125}I]-Ιωδομελατονίνης

Οι μελέτες πρόσδεσης, όπως και τα πειράματα μέτρησης του GTP (GTP Shift assay) πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με το πειραματικό πρωτόκολλο, που περιγράφεται αναλυτικά από την Popovska-Gorevsk[81]. Περιληπτικά, τα κύτταρα τύπου CHO (Chinese Hamster Ovarian cells) που εκφράζουν τους ανθρώπινους υποδοχείς MT_1 και MT_2, αναπτύχθηκαν ως μονοστοιβάδες σε θρεπτικό μέσο Hem's F12 που περιείχε 10% ορό εμβρυικού μόσχου, 1% πενικιλίνη (10,000 IU/mL)/στρεπτομυκίνη (10,000 μg/mL) σε 5% CO_2 στους 37 ^oC, όπου επωάστηκαν για 4 ημέρες, μέχρι συγκεντρώσεως 90-95%. Στη συνέχεια οι κυτταρικές σειρές CHO-*h*MT_1 και CHO-*h*MT_2 εκπλύθηκαν με PBS υπό ψύξη και μεταφέρθηκαν σε buffer φωσφορικού καλίου (10 mMpH 7,4) που περιείχε σουκρόζη, 0,25 M και EDTA, 1 mM. Τέλος, έλαβε χώρα φυγοκέντριση (4000 rpm, 5 min), όπου τα διαμορφωθέντα κύτταρα απομονώθηκαν ως εναιώρημα και αποθηκεύτηκαν στους -80 ^oC, μέχρι να χρησιμοποιηθούν.

Τα κύτταρα αυτά, επαναδιαλύθηκαν σε 50mM Tris-HCl (pH 7.4; 10mM $MgCl_2$), ομογενοποιήθηκαν και εκπλύθηκαν με φυγοκέντριση (20,000–30,000g). Οι αντιδράσεις πρόσδεσης της 2-[^{125}I]-ιωδομελατονίνης εκκινούν με την προσθήκη των κυτταρικών μεμβρανών (5-15 μg protein/assay) σε σωληνάρια που περιέχουν το buffer πρόσδεσης (50 mM Tris-HCl, pH 7.4, 10mM $MgCl_2$), μαζί με 2-[^{125}I]-ιωδομελατονίνη (~100 pM). Ακολουθεί επώαση των κυττάρων (25°C για 1h) απουσία (controls) και παρουσία των προς έλεγχο ενώσεων (20 μL, σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 10 pM έως 100 μM). Οι αντιδράσεις τερματίζονται με διήθηση υπό κενό, μέσω φίλτρων από μικροΐνες υάλου, προ-εμποτισμένες με 0,5% πολυαιθυλαμίνη. Τα φίλτρα εκπλένονται εις διπλούν και μετράται η γ-ακτινοβολία, μέσω γ-counter.

Οι τιμές K_i υπολογίσθηκαν με χρήση του λογισμικού Graph Pad Prism 7^{TM} σύμφωνα με την εξίσωση Cheng-Prusoff. Τα παρακάτω αποτελέσματα εκφράζονται μέσω της εξίσωσης:

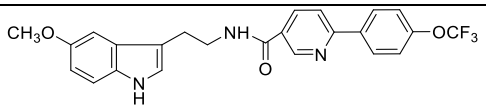
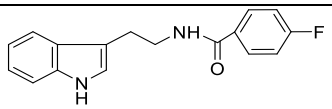
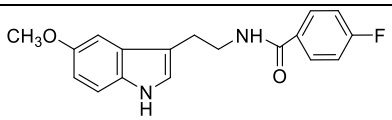
$$K_i = \frac{IC_{50}}{1 + \frac{[L]}{K_D}}$$

όπου, [L] εκφράζει τη συγκέντρωση της 2-[^{125}I]-ιωδομελατονίνης που χρησιμοποιήθηκε στο πείραμα και K_Dτη σταθερά διάστασης (dissociation constant) της 2-[^{125}I]-ιωδομελατονίνης, όπως προσδιορίστηκε κατά το χαρακτηρισμό των κυτταρικών μεμβρανών.

Ανάλυση φαρμακολογικών αποτελεσμάτων

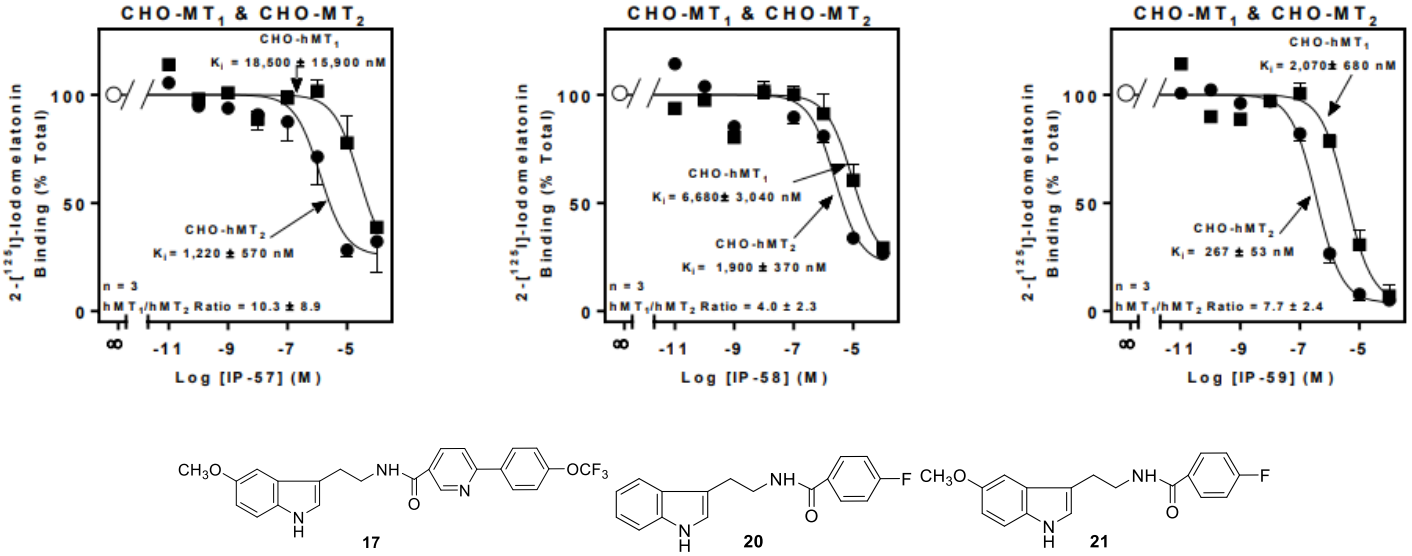
Από τον έλεγχο της μελατονινεργικής δράσης των ενώσεων της παρούσης εργασίας, που πληρούν τα κριτήρια σύνδεσης με τους MT-υποδοχείς, δηλαδή των 2-(1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθαναμιδικών παραγώγων **11**, **12**, **16**, **17**, **20** και **21** προέκυψαν τα αποτελέσματα που συνοψίζονται στον **Πίνακα 2**.

Πίνακας 2. Φαρμακολογικά αποτελέσματα σύνδεσης με τους υποδοχείς hMT_1 και hMT_2

Ένωση	Δομή	hMT_1 *K_i (nM)	hMT_2 *K_i (nM)	Ratio K_{iMT1}/K_{iMT2}
17		18500 ± 15900	1220 ± 570	10.3±8.9
20		6680 ± 3040	1900± 370	4.0±2.3
21		2070 ± 680	267 ± 53	7.7±2.4

***K_i:** Σταθερά σύνδεσης με τον υποδοχέα

Στο **Σχήμα 1** παρουσιάζονται ενδεικτικά τα γραφήματα της φαρμακολογικής δράσης των ενώσεων **17**,**20** και **21**.



Σχήμα 1. Γραφήματα της φαρμακολογικής δράσης των ενώσεων **17**, **20** και **21**.

Από τον παραπάνω έλεγχο καθίσταται εμφανές ότι η υποκατάσταση με μακριά αλυσίδα δεν είναι ανεκτή από τους μελατονινεργικούς υποδοχείς. Γι΄ αυτό το λόγο, οι ενώσεις που εμφάνισαν σύνδεση με τους υποδοχείς ήταν οι ενώσεις **20** και **21**, οι οποίες διαθέτουν 6-[4-(τριφθορομεθοξυ)φαινυλ]νικοτιναμιδο- και 4-φθοροβενζαμιδο-υποκατάσταση, αντίστοιχα.

Επιπλέον, οι προηγούμενες ενώσεις εμφάνισαν εκλεκτικότητα ως προς τον *h*MT_2 υποδοχέα έναντι του *h*MT_1. Σε αυτό το σημείο αξίζει να σημειωθεί ότι οι στερεοηλεκτρονικές απαιτήσεις που τίθενται από τον *h*MT_1 υποδοχέα, ως προς την προσέγγιση ενώσεων στα ενεργά κέντρα δράσης του, είναι πολύ πιο αυστηρές απ' ό,τι του υποδοχέα *h*MT_2.

Η παρουσία της 5-μεθοξυομάδας επηρεάζει καθοριστικά και αυξάνει το βαθμό σύνδεσης με τους μελατονινεργικούς υποδοχείς. Έτσι, η ένωση **21** συνδέεται 7 και πλέον φορές πιο ισχυρά σε σχέση με την ένωση **20**. Αντίστοιχη διαφορά παρατηρείται και για την ένωση **17** σε σχέση με την ένωση **16**, η οποία δεν εμφανίζει σύνδεση με τους εν λόγω υποδοχείς.

Συμπεράσματα και προοπτικές από τη φαρμακολογική αξιολόγηση

Από τα μέχρι τώρα φαρμακολογικά αποτελέσματα μπορούν να εξαχθούν τα ακόλουθα συμπεράσματα.

Οι ενώσεις **17**, **20** και **21**, που συνδέονται με τον *h*MT_2 υποδοχέα δεν εμφανίζουν αντιμυκοβακτηριακή δράση, και αντίστροφα, οι ενώσεις **12** και **24**, που διαθέτουν έστω και οριακή αντιφυματική δράση, δεν παρουσιάζουν σύνδεση με τους μελατονινεργικούς υποδοχείς.

Η αύξηση της απόστασης των πλευρικών αλυσίδων από τους 3-υποκατεστημένους ινδολικούς πυρήνες σε τρία ή τέσσερα μεθυλένια, θα μπορούσε να είναι μια πιθανή τροποποίηση που να οδηγεί σε αύξηση της αντιμικροβιακής δράσης, όπως αντίστοιχα φαίνεται να ισχύει στην περίπτωση της ανθελονοσιακής δράσης, από βιβλιογραφικές αναφορές[66,68]

Επιπλέον, η εισαγωγή της 5-μεθοξυομάδας στον ινδολικό πυρήνα των αντίστροφων καρβαμιδικών **24**, **27** και ακετοξικών **23**, **26** παραγώγων θα μπορούσε να έχει την ίδια επίδραση στη φαρμακολογική δράση, όπως και στο παράγωγο **12**.

Δ. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Δ1.ΧΗΜΕΙΑ

Για τη χρωματογραφία στήλης υπό πίεση (flash) χρησιμοποιήθηκε ενεργοποιημένο διοξείδιο του πυριτίου (silicagel). (Silice 60 AC.C 40-63 μm). Το μέγεθος των σωματιδίων της silicagel είναι 40-63 μm και η ειδική επιφάνεια των σωματιδίων Sm=550 m^2/g. Για τη χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) χρησιμοποιήθηκαν φύλλα αργιλίου 5x10 cm επιστρωμένα με λεπτή στιβάδα διοξειδίου του πυριτίου (silicagel 60). Το άνυδρο THF, που χρησιμοποιήθηκε, ελήφθη με βρασμό του εμπορικά διαθέσιμου διαλύτη, παρουσία CaH_2, $LiAlH_4$ και στη συνέχεια απόσταξη υπό ατμόσφαιρα αργού. Το τολουόλιο ξηραίνεται υπεράνω CaH_2 ενώ το διχλωρομεθάνιο ξηραίνεται με μοριακά κόσκινα 4Å.

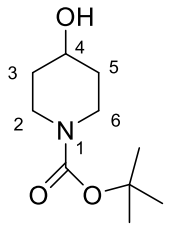
Τα σημεία τήξεως ελήφθησαν σε συσκευή Büchi και δεν είναι διορθωμένα.

Τα φάσματα ^{1}H-NMR ελήφθησαν σε φασματογράφο BrukerMSL 600 MHz, BrukerMSL 400 MHz και BrukerMSL 200 MHz, ενώ τα φάσματα ^{13}C-NMR ελήφθησαν σε φασματογράφο BrukerMSL 600 MHz και BrukerMSL 200 MHz. Η αποτίμηση των κορυφών στα φάσματα έγινε με τη βοήθεια ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, DEPT, 2D-HSQC και 2D-COSY. Ως διαλύτες χρησιμοποιήθηκαν το DMSO-d_6 και το C*D*Cl_3 . Οι τιμές των χημικών μετατοπίσεων *δ* εκφράζονται σε ppm.

4-Υδροξυ(πιπεριδιν-1-υλο)καρβοξυλικός *τερτ*-βουτυλεστέρας (2)

Μοριακός Τύπος: $C_{10}H_{19}NO_3$

Μοριακό Βάρος: 201.27

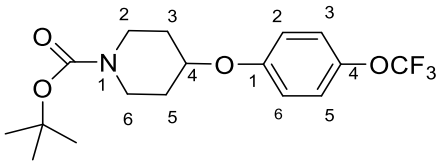


Σε αναδευόμενο διάλυμα της 4-πιπεριδινόλης (2.023 g , 20 mmol) σε DCM (20 mL) και DMAP (2.443 g, 20 mmol) προστίθεται διάλυμα Boc_2O (4.365 g, 20 mmol), στάγδην και υπό ψύξη. Το διάλυμα της αντίδρασης αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 3.5 ώρες. Ακολούθως το διάλυμα αποχύνεται σε παγόνερο και η υδατική στιβάδα εκχυλίζεται με DCM. Οι συνενωμένες οργανικές φάσεις πλένονται κατά σειρά με υδατικό δ/μα HCl 10%, κορ. δ/μα $NaHCO_3$ και νερό. Η οργανική φάση ξηραίνεται υπεράνω Na_2SO_4 και εξατμίζεται, οπότε λαμβάνονται 3,23 g (80% απόδοση) ελαιώδους προϊόντος που κρυστάλλωσε στο ψυγείο.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 3.92-3.75 (complex m, 3H, 4-H,2-Heq,6-Heq), 3.02 (ddd, *J* = 13.5, 9.9, 3.2 Hz, 2H, 2-Hax,6-Hax), 1.92 – 1.78 (m, 2H, 3-Heq,5-Heq), 1.51 – 1.40 (m, 2H, 3-Hax,5-Hax), 1.46 (s, 9H, $C(CH_3)_3$)

{4-[4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ]πιπεριδιν-1-υλο}καρβοξυλικός *τερτ*-βουτυλεστέρας (3)

Μοριακός Τύπος: $C_{17}H_{22}F_3NO_4$
Μοριακό Βάρος: 361.36



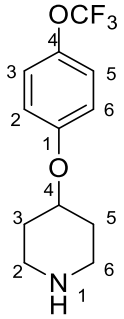
Σε αναδευόμενο διάλυματης 4-τριφθορομεθόξυφαινόλης (1.05 g, 5.90 mmol) σε THF (25mL) προστίθενται κατά σειρά η πιπεριδινόλη **2** (2.37 g, 11.80 mmol) , η τριφαινυλοφωσφίνη (2.32 g, 8.85 mmol), ο αζωδικαρβοξυλικός ισοπρόπυλοεστέρας DIAD (1.79 g, 8.85 mmol) και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 18 ώρες. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης, το μίγμα συμπυκνώνεται υπό πίεση για να παραληφθεί το ακατέργαστο προϊόν, το οποίο αραιώνεται με DCM (50 mL). Η οργανική στιβάδα πλένεται με νερό (3 x 100 mL), ξηραίνεται υπεράνω Na_2SO_4, διηθείται και συμπυκνώνεται μέχρι να παραληφθεί το ακατέργαστο προϊόν, το οποίο καθαρίζεται με χρωματογραφική στήλη DCM αυξανόμενης πολικότητας με MeOH εώς 2% για να ληφθεί το επιθυμητό προϊόν (1.5 g, 70% απόδοση) ως κίτρινο έλαιο.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.13 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2,6-Har),6.89 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H, 3,5-Har), 4.48-4.37 (m, 1H, 4-Hp), 3.78 – 3.57 (m, 2H,2,6-Hp_{eq}), 3.39 – 3.27 (m, 2H, 2,6-Hp_{ax}), 1.98 – 1.84 (m, 2H,3,5-Hp_{eq}), 1.80-1.67 (m, 2H,3,5-Hp_{ax}), 1.46 (s, 9H,$C(CH_3)_3$).

4-[4-(τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ]πιπεριδίνη (4)

Μοριακός Τύπος: $C_{12}H_{14}F_3NO_2$

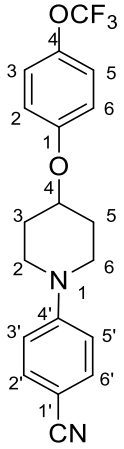
Μοριακό Βάρος: 261.24



Σε διάλυμα του καρβαμιδικού παραγώγου **3** (0.5 g, 1.38 mmol) σε άνυδρο DCM (6 mL) προστίθεται το τριφθοροξεικό οξύ (2 mL) στους 0 ^oC και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 3 ώρες. Μετά το πέρας της αντίδρασης, ο διαλυτης συμπυκνώνεται υπό κενό και το υπόλειμμα επαναδιαλύεται σε οξεικό αιθυλεστέρα. Το προκύπτον διάλυμα πλένεται με κορεσμένο υδατικό διάλυμα $NaHCO_3$ μέχρι pH=8 . Η οργανική στιβάδα διαχωρίζεται, πλένεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl και συμπυκνώνεται μέχρι ξηρού. Το προκύπτον ακατέργαστο προϊόν (0.5 g) χρησιμοποιείται ως έχει στο επόμενο στάδιο , χωρίς επιπλέον καθαρισμό.

4-{4-[4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ]πιπεριδιν-1-υλο}βενζονιτρίλιο (5)

Μοριακός Τύπος: $C_{19}H_{17}F_3N_2O_2$
Μοριακό Βάρος: 362.35

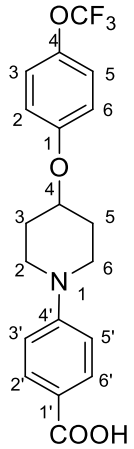


Σε μίγμα της πιπεριδίνης **4** (0.5 g) και ανύδρου K_2CO_3 (0.58 g , 4.19 mmol) σε DMSO (8.5 mL) προστίθεται το 4-φθοροβενζονιτρίλιο (0.42 g , 3.47 mmol). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται στους 120 ^oC για 6 ώρες. Μετά το πέρας της αντιδράσεως, το μίγμα αποχύνεται σε νερό (40 mL) υπό ανάδευση και το στερεό που σχηματίζεται , διηθείται και καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης και διαλύτη έκλουσης EtOAc/Hexane 1:4 για να παραληφθεί το προϊόν **5** (0.4 g , 69% απόδοση) ως λευκό στερεό.

^{1}H NMR (400 MHz, C*D*Cl_3) δ 7.50 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, 2’,6’-Har), 7.15 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, 2,6-Har), 6.90 (complex m, 4H, 3’,5’-Har, 3,5-Har), 4.59 – 4.45 (m, 1H, 4-Hp), 3.67 – 3.54 (m, 2H, , 2,6-Hp_{eq}), 3.38 – 3.28 (m, 2H, 2,6-Hp_{ax}), 2.12 – 1.99 (m, 2H, 3,5-Hp_{eq}), 1.98 – 1.83 (m, 2H, 3,5-Hp_{ax}).

4-{4-[4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ]πιπεριδιν -1-υλο}βενζοϊκό οξύ (6)

Μοριακός Τύπος: $C_{19}H_{18}F_3NO_4$
Μοριακό Βάρος: 381.35

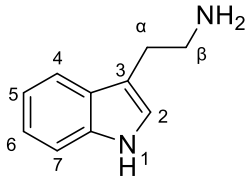


Πυκνό υδροχλωρικό οξύ (2.4 mL, 24.11 mmol) προστίθεται στο νιτρίλιο **5** (0.40 g , 1.10 mmol) και το μίγμα της αντίδρασης βράζεται για 7 ώρες. Στη συνέχεια, η περίσσεια του οξέος εξουδετερώνεται με όξινο ανθρακικό νάτριο στους 0 °C. Ακολουθεί επανοξίνιση τους μίγματος στους 0 °C με οξικό οξύ και διήθηση. Το λαμβανόμενο στερεό πλένεται με νερό και στη συνέχεια ξηραίνεται σε ξηραντήρα με P_2O_5 υπό κενό, οπότε λαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν ως λευκό κρυσταλλικό στερεό (300 mg, 71 % απόδοση).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6)δ 12.27 (s, 1H,COOH), 7.76 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, 2’,6’-Har), 7.29 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, 2,6-Har), 7.09 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H, 3,5-Har), 6.99 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, 3’,5’-Har), 4.73 – 4.56 (m, 1H,4-Hp), 3.75-3.62(m, 2H,2,6-Hp_{eq}), 3.28 – 3.17 (m, 2H, 2,6-Hp_{ax}), 2.07-1.96 (m, 2H,3,5-Hp_{eq}), 1.73 – 1.59 (m, 2H,3,5-Hp_{ax})

2-(1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθαναμίνη (9)

Μοριακός Τύπος: $C_{10}H_{12}N_2$
Μοριακό Βάρος: 160.22

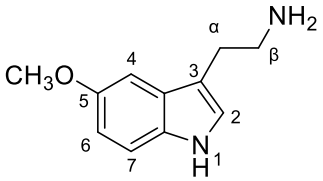


Διάλυμα του ινδολο-3-ακετονιτριλίου (207 mg, 1.33 mmol) σε άνυδρο βενζόλιο (2.6 mL) προστίθεται στάγδην και στους 0 ^{o}C σε εναιώρημα λιθιοαργιλιοϋδριδίου (152 mg, 3.99 mmol) σε άνυδρο διαιθυλαιθέρα (6.3 mL). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά και ακολούθως υδρολύεται στους 0 ^{o}C. Στη συνέχεια το μίγμα αραιώνεται με οξικό αιθυλεστέρα (15 mL), διηθείται από γη διατόμων (celite) και το ίζημα πλένεται με οξικό αιθυλεστέρα (30 mL). Το διήθημα ξηραίνεται υπεράνω Na_2SO_4 και ο οργανικός διαλύτης εξατμίζεται υπό κενό και σε ατμόσφαιρα αργού για να ληφθεί η αμίνη **9** (205 mg, 96% απόδοση) ως κίτρινοι λαδοκρύσταλλοι, οι οποίοι χρησιμοποιούνται στο επόμενο στάδιο αμέσως χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

2-(5-Μεθοξυ-1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθαναμίνη (10)

Μοριακός Τύπος : $C_{11}H_{14}N_2O$

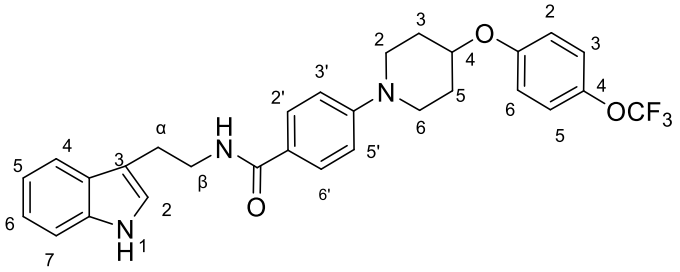
Μοριακό Βάρος : 190.24



Διάλυμα του 2-(5-μεθόξυ-1*H*-ίνδολο-3-υλ)ακετονιτριλίου (250 mg , 1.34 mmol) σε άνυδρο βενζόλιο (2.6 mL) προστίθεται στάγδην και στους 0 ^oC σε εναιώρημα λιθιοαργιλιοϋδριδίου (152 mg, 3.99 mmol) σε άνυδρο διαιθυλαιθέρα (7 mL). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά και ακολούθως υδρολύεται στους 0 ^oC. Στη συνέχεια το μίγμα αραιώνεται με οξικό αιθυλεστέρα (15 mL), διηθείται από γη διατόμων (celite) και το ίζημα πλένεται με οξικό αιθυλεστέρα (30 mL). Το διήθημα ξηραίνεται υπεράνω Na_2SO_4 και ο οργανικός διαλύτης εξατμίζεται υπό κενό και σε ατμόσφαιρα αργού για να ληφθεί η αμίνη **10** (240 mg, 94% απόδοση) ως κίτρινο έλαιο, το οποίο χρησιμοποιείται στο επόμενο στάδιο αμέσως χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

N-[2-(1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθυλ]-4-{4-[4-(τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ]πιπεριδιν-1-υλο}βενζαμίδιο (11)

Μοριακός Τύπος : $C_{29}H_{28}F_3N_3O_3$
Μοριακό Βάρος : 523.56



Σε διάλυματης αμίνης **9** (126 mg, 0.79 mmol) σε άνυδρο DCM (4 mL)και άνυδρο DMF (2 mL) προστίθεται το βενζοϊκό οξύ **6** (300 mg, 0.79 mmol) και το μίγμα ψύχεται στους 0 ^oC. Στη συνέχεια προστίθεται η τριαιθυλαμίνη (0.3 mL) , το EDC·HCl (167 mg, 0.87 mmol) ,το HOBt (107 mg, 0.79 mmol). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται αρχικά 1 ώρα στους 0 ^oC και έπειτα για 20 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί προσθήκη νερού και εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα. Η οργανική στιβάδα πλένεται με κορεσμένο διάλυμα χλωριούχου νατρίου και ξηραίνεται υπεράνω Na_2SO_4. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και το υπόλειμμα που προκύπτει καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης και διαλύτη έκλουσης EtOAc/Hexane 2:1 για να παραληφθούν 210 mg (51% απόδοση) του επιθυμητού προϊόντος **11** ως λευκό στερεό.. Σ.τ. 169-171 ^oC (EtOAc).

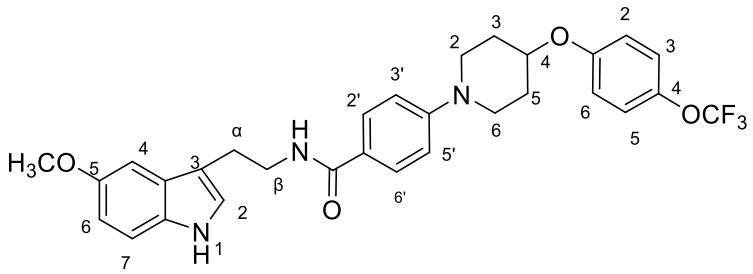
^{1}H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 8.34 (s, 1H, NHind), 7.65 (d, *J* = 7.9Hz, 1H, 4-Hind), 7.61 (d, *J* = 8.4Hz, 2H, 2’,6’-Har), 7.37 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, 7-Hind), 7.21 (t, *J*=8.1Hz , 1H, 6-Hind), 7.15(d , *J* = 8.9 Hz, 2H, 2,6-Har) , 7.12(t, *J* = 7.7Hz, 1H, 5-Hind), 7.04 (s, 1H,2-Hind), 6.94-6.84 (m, 4H, 3’,5’-Har,3,5-Har), 6.20 (s, 1H, NHamide), 4.52-4.44 (m, 1H , 4-Hp), 3.78 (q,*J* = 6.4 Hz, 2H, β-H), 3.62-3.52 (m, 2H, 2,6-Hp_{eq}), 3.27-3.17 (m, 2H, 2,6-Hp_{ax}), 3.08 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H,α-H), 2.15-2.00(m, 2H, 3,5-Hp_{eq}),1.97-1.85 (m, 2H , 3, 5-Hp_{ax}).

^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ 167.2(C=O), 155.8(4’-Car),153.1(4-Car), 143.0(1-Car),136.6(7a-Cind), 128.5(2’,6’-Car), 127.5(3a-Cind), 124.4(1’-Car),122.7(2,6-Car), 122.3(2,6-Cind), 120.1(q, *J* = 256,5 Hz,OCF_3) ,119.6(5-Cind), 118.9(4-Cind), 117.0(3’,5’-Car), 114.7(3,5-Car), 113.2(3-Cind), 111.5(7-Cind), 72.2(4-Cp), 45.5(CH_2, 2,6-Cp), 40.33(β-C), 30.0(3,5-Cp), 25.6(α-C).

N-[2-(5-Μεθοξυ-1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθυλο]-4-{4-[4-(τριφθορομεθοξυ) φαινοξυ]πιπεριδιν-1-υλ}βενζαμίδιο (12)

Μοριακός Τύπος : $C_{30}H_{30}F_3N_3O_4$

Μοριακό Βάρος : 553.58



Σε διάλυματης αμίνης **10** (145 mg, 0.79 mmol) σε άνυδρο DCM (4 mL)και άνυδρο DMF (2 mL) προστίθεται το βενζοϊκό οξύ **5** (300 mg, 0.79 mmol) και το μίγμα ψύχεται στους 0 ^oC. Στη συνέχεια προστίθεται η τριαιθυλαμίνη (0.3 mL) , το EDC·HCl (167 mg, 0.87 mmol) ,το HOBt (107 mg, 0.79 mmol). Το μίγμα της αντιδρασης αναδεύεται αρχικά 1 ώρα στους 0 ^oC και έπειτα για 20 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί προσθήκη νερού και εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα. Η οργανική στιβάδα πλένεται με κορεσμένο διάλυμα χλωριούχου νατρίου και ξηραίνεται υπεράνω Na_2SO_4. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και το υπόλειμμα που προκύπτει καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης και διαλύτη έκλουσης EtOAc/Hexane 2:1 για να παραληφθούν 250 mg (57% απόδοση) του επιθυμητού προϊόντος **12** ως λευκό στερεό. Σ.τ. 143-145 ^oC (Et_2O).

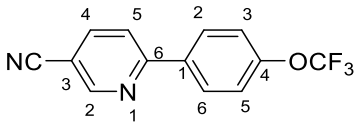
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.02 (s, 1H, NHind), 7.52 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2’,6’-Har), 7.19 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, 7-Hind), 7.07 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, 2,6-Har), 6.97 (s, 2H, 2,6-Hind), 6.82 (complex m, *J*= 15.1, 8.8 Hz, 5H, 3,5,3’,5’-Har,4-Hind), 6.09 (s, 1H , NHamide), 4.41 (br. s, 1H,4-Hp), 3.73 – 3.65 (m, 5H,OC*H*$_3$,β-H), 3.54 – 3.45 (m, 2H, 2,6-Hp_{eq}), 3.22-3.08 (m, 2H, 2,6-Hp_{ax}), 2.97 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, α-H), 2.09-1.93 (br. s,2H, 3,5-Hp_{eq}), 1.91-1.77 (br. s, 2H, 3,5-Hp_{ax}).

^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 167.2 (C=O), 155.9 (4’-Car), 154.3 (5-Cind), 153.1 (4-Car), 143.0 (1-Car), 131.7 (7a-Cind), 128.5 (2’,6’-Car), 128.0 (3a-Cind), 124.4 (1’-Car), 123.0 (2-Cind), 122.7 (2,6-Car), 120.1 (q, *J* = 256.5 Hz, OCF_3), 117.0 (3’,5’-Car), 114.7 (3,5-Car), 113.3 (3-Cind), 112.8 (7-Cind), 112.2 (6-Cind), 100.6 (4-Cind), 72.7 (4-Cp), 56.0 (OCH_3), 45.4 (2,6-Cp), 40.4 (β-C), 30.1 (3,5-Cp), 25.6 (α-C)

6-[4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινυλο]νικοτινονιτρίλιο (14)

Μοριακός Τύπος : $C_{13}H_7F_3N_2O$

Μοριακό Βάρος : 264.20



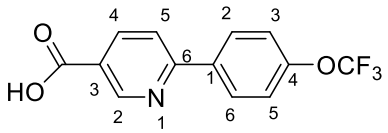
Σε μίγμα της 2-χλώρο-5-κύανο-πυριδίνης (1 g, 7.22 mmol) σε υδατικό διάλυμα Na_2CO_3 2M (8 mL) και άνυδρο τολουόλιο (20 mL) προστίθεται το (4-(τριφθορομεθόξυ)φαίνυλο)βορονικό οξύ (2.22 g, 10.8 mmol) και η $Pd(PPh_3)_4$ (100 mg, 0.087 mmol). Το μίγμα της αντίδρασης εκκενώνεται και γεμίζεται με αργό (3 κύκλοι) και στη συνέχεια αναδεύεται στους 110 ^oC overnight. Μετά το πέρας της αντίδρασης, το μίγμα διηθείται από γη διατόμων (celite) και συμπυκνώνεται. Το υπόλειμμα που παραλαμβάνεται (2.6 g) καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης και διαλύτη έκλουσης Hexane με βαθμιδωτή αύξηση της πολικότητας με οξεικό αιθυλεστέρα εώς 30 % για να ληφθεί 1.8 g λευκού στερεού. Επειδή δεν καθάρισε πλήρως έγινε ανακρυστάλλωση με οξεικό αιθυλεστέρα/ πεντάνιο για να παραληφθεί το προϊόν **14** ως λευκό κρυσταλλικό στερεό (1.34 g, 70% απόδοση).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.96 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H, 2-Hpy), 8.11 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2,6-Har), 8.05 (dd, *J* = 8.3, 2.1 Hz, 1H, 4-Hpy), 7.85 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, 5-Hpy) , 7.37 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 3,5-Har)

6-[4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινυλο]νικοτινικό οξύ (15)

Μοριακός Τύπος : $C_{13}H_8F_3NO_3$

Μοριακό Βάρος : 283.20

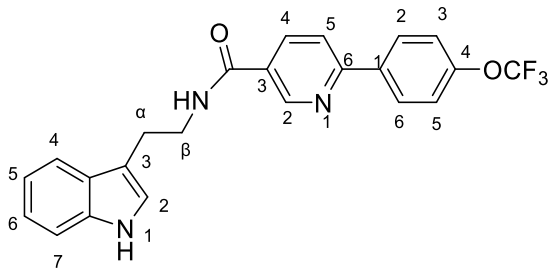


Πυκνό υδροχλωρικό οξύ (13 mL, 156 mmol) προστίθεται στο νικοτινονιτρίλιο **14** (1.3 g , 4.92 mmol) και το μίγμα της αντίδρασης βράζεται για 7 ώρες. Στη συνέχεια, η περίσσεια του οξέος εξουδετερώνεται με όξινο ανθρακικό νάτριο στους 0 °C. Ακολουθεί επανοξίνιση τους μίγματος στους 0 °C με υδροχλωρικό οξύ και διήθηση. Το λαμβανόμενο στερεό πλένεται με νερό και στην συνέχεια ξηραίνεται σε ξηραντήρα υπό κενό, οπότε λαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **15** ως λευκό κρυσταλλικό στερεό (1.286 g, 92 % απόδοση).

N-[2-(1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθυλο]-6-[4-(τριφθορομεθοξυ) φαινυλο]νικοτιναμίδιο (16)

Μοριακός Τύπος : $C_{23}H_{18}F_3N_3O_2$

Μοριακό Βάρος : 425.40



Σε διάλυμα της αμίνης **9** (205 mg, 1.28 mmol) σε άνυδρο DCM (7 mL) και άνυδρο DMF (3.5 mL) προστίθεται το νικοτινικό οξύ **15** (363 mg, 1.28 mmol) και το μίγμα ψύχεται στους 0 ºC. Στη συνέχεια προστίθεται η τριαιθυλαμίνη (142 mg, 1.40 mmol) , το EDC·HCl (268 mg, 1.40 mmol) ,το HOBt (173 mg, 1.28 mmol). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται αρχικά 1 ώρα στους 0 ºC και έπειτα για 20 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί προσθήκη νερού και εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα. Η οργανική στιβάδα πλένεται με κορεσμένο διάλυμα χλωριούχου νατρίου και ξηραίνεται υπεράνω Na_2SO_4. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και το υπόλειμμα που προκύπτει καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης και διαλύτη έκλουσης EtOAc/hexane 2:1 για να παραληφθούν 230 mg (42% απόδοση) του επιθυμητού προϊόντος **16**. Σ.τ.205-207°C ($EtOH/Et_2O$).

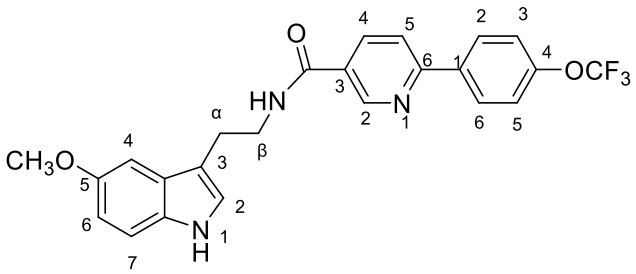
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.92 (s,1H, 2-Hpy), 8.14 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, 4-Hpy), 8.12(s,1H, NHind), 8.05 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, 2,6-Har),7.76 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, 5-Hpy), 7.66 (d, *J* = 7.9 Hz,1H,4-Hind), 7.40 (d, *J* = 8.1 Hz,1H,7-Hind), 7.33 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 3,5-Har),7.23(t, *J* = 7.8 Hz, 6-Hind), 7.15 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, 5-Hind),7.11(s, 1H, 2-Hind), 6.35 (br. s, 1H, NHamide), 3.85 (q, *J* =5.6 Hz, 2H, β-H), 3.14 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H,α-H).

^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ 165.3 (C=O), 158.3 (6-Cpy), 150.6 (4-Car), 147.8 (2-Cpy), 137.4 (1-Car), 136.7 (4-Cpy), 136.5 (7a-Cind), 129.0 (3-Cpy), 128.9 (2,6-Car), 127.4 (3a-Cind), 122.6 (2-Cind), 122.3 (6-Cind), 121.3 (3,5-Car), 120.2 (5-Cpy), 120.1 (q, *J* = 256 Hz, OCF_3), 119.9 (5-Cind), 118.9 (4-Cind), 113.0 (3-Cind), 111.6 (7-Cind), 40.5 (β-C), 25.4 (α-C).

N-[2-(5-Μεθοξυ-1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθυλο]-6-[4-(τριφθορομεθοξυ) φαινυλο] νικοτιναμίδιο (17)

Μοριακός Τύπος : $C_{24}H_{20}F_3N_3O_3$

Μοριακό Βάρος : 455.43



Σε διάλυμα της αμίνης **10** (240 mg, 1.28 mmol) σε άνυδρο DCM (7 mL) και άνυδρο DMF (3.5 mL) προστίθεται το οξύ **15** (363 mg, 1.28 mmol) και το μίγμα ψύχεται στους 0 ^oC. Στην συνέχεια προστίθεται η τριαιθυλαμίνη (142 mg, 1.40 mmol) , το EDC·HCl (268 mg, 1.40 mmol) ,το HOBt (173 mg, 1.28 mmol). Το μίγμα αναδεύεται αρχικά 1 ώρα στους 0 ^oC και έπειτα για 20 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί προσθήκη νερού και εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα. Η οργανική στιβάδα πλένεται με κορεσμένο διάλυμα χλωριούχου νατρίου και ξηραίνεται με Na_2SO_4. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και το υπόλειμα που προκύπτει καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης EtOAc/Hexane 2:1 για να παραληφθούν 300 mg (52% απόδοση) του επιθυμητού προϊόντος **17**. Σ.τ.185-187 °C ($EtOH/Et_2O$).

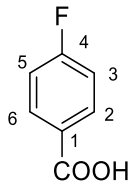
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.93 (s,1H, 2-Hp), 8.15 (d, 1H, *J* = 6.8 Hz, 4-Hp), 8.05 (d, 3H,*J* = 8.4 Hz, NHind, 2,6-Har), 7.76 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H, 5-Hp),7.33 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, 3,5-Har),7.28(d, *J* = 8.8 Hz, 1H, 7H-ind) 7.08(s,1H, 2-Hind),7.06 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H, 4H-ind), 6.88 (dd, *J* = 8.6, 1.8 Hz, 1H,6-Hind), 6.45 (s, 1H, NHamide), 3.81(br.s, 5H,CH_3,β-H), 3.10 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H, α-H).

^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ 165.2 (C=O), 158.3 (6-Cpy), 154.4 (5-Cind), 150.7 (4-Car), 147.7 (2-Cpy), 136.7 (4-Cpy), 136.7 (1-Car), 131.8 (7a-Cind), 129.2 (3-Cpy), 129.0 (2,6-Car), 127.8 (3a-Cind), 123.1 (2-Cind), 121.3 (3,5-Car), 120.3 (5-Cpy), 120.1(q, *J* = 256.5 Hz, OCF_3), 112.9 (7-Cind), 112.7 (3-Cind), 112.3 (6-Cind), 100.7 (4-Cind), 56.1 (OCH_3), 40.4 (β-C), 25.4 (α-C).

4-Φθοροβενζοϊκό οξύ (19)

Μοριακός Τύπος : $C_7H_5FO_2$

Μοριακό Βάρος : 140.12

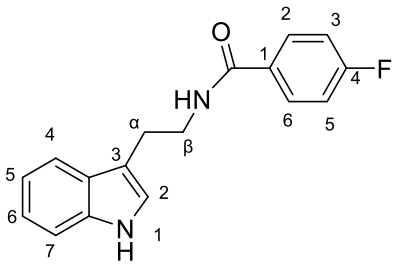


Το 4-φθόροβενζονιτρίλιο (350 mg, 2.9 mmol) θερμαίνεται στους 110 ^oC με 6 mL NaOH 2.5M και αφήνεται για 1 ώρα. Μετά το πέρας της αντίδρασης, τα πιθανά ίχνη του αρχικού προϊόντος απομακρύνονται με εκχύλιση με $CHCl_3$. Η υδατική στιβάδα παραλαμβάνεται και προστίθεται HCl (12 M) μέχρι το pH να γίνει όξινο. Το λευκό στερεό που σχηματίζεται, διηθείται και πλένεται με νερό. Στην συνέχεια ξηραίνεται υπό κενό σε ξηραντήρα για την απομάκρυνση του νερού για να παραληφθούν 290 mg (71% απόδοση) του οξέος **19.**

N-(2-(1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθυλο)-4-φθοροβενζαμίδιο (20)

Μοριακός Τύπος : $C_{17}H_{15}FN_2O$

Μοριακό Βάρος : 282.31



Σε διάλυμα της αμίνης **9** (160 mg, 1 mmol) σε άνυδρο DCM (5.6 mL) και άνυδρο DMF (2.8 mL) προστίθεται το οξύ **19** (140 mg, 1 mmol) και το μίγμα ψύχεται στους 0 ^{o}C. Στη συνέχεια προστίθεται η τριαιθυλαμίνη (111 mg, 1.1 mmol) , το EDC·HCl (211 mg, 1.1 mmol) ,το HOBt (135 mg, 1 mmol). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται αρχικά 1 ώρα στους 0 °C και έπειτα για 20 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί προσθήκη νερού και εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα. Η οργανική στιβάδα πλένεται με κορεσμένο διάλυμα χλωριούχου νατρίου και ξηραίνεται υπεράνω Na_2SO_4. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και το υπόλειμα που προκύπτει καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης EtOAc/hexane 35:65 βαθμιδωτής έκλουσης για να παραληφθούν 220 mg (0.78 mmol , 78% απόδοση) του επιθυμητού προϊόντος **20.** Σ.τ. 148-150 °C (EtOH/n-pentane).

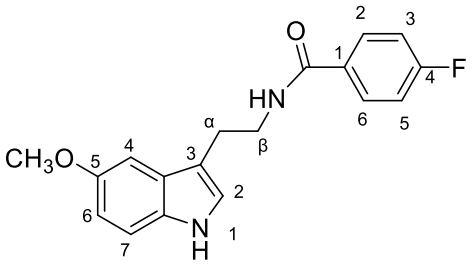
^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 8.26 (br s, 1H, NHind), 7.69-7.64 (m, 2H, 2,6-Har), 7.63 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, 4-Hind), 7.38 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, 7-Hind), 7.22 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H, 6-Hind), 7.13 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, 5-Hind), 7.06-7.01 (m, 3H, 3,5-Har, 2-Hind), 6.23 (br s, 1H, NHamide), 3.79 (q, *J* =6.6 Hz, 2H, β-H), 3.09 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, α-H).

^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ 166.6 (C=O), 164.7 (d, $J_{1\ C,F}$ = 251.5 Hz, 4-Car), 136.6 (7α-Cind), 130.9 (d, $J_{4\ C,F}$ = 3.1 Hz,1-Car), 129.2 (d, $J_{3\ C,F}$ = 8.9 Hz, 2,6-Car), 127.4 (3α-Cind) , 122.4 (2-Cind), 122.2 (6-Cind), 119.7 (5-Cind), 118.8 (4-Cind), 115.6 (d, $J_{2\ C,F}$ = 21.9 Hz,3,5-Car), 113.0 (3-Cind), 111.5(7-Cind), 40.5 (β-C), 25.3 (α-C).

4-Φθορο-*N*-[2-(5-μεθοξυ -1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθυλο]βενζαμιδιο (21)

Μοριακός Τύπος : $C_{18}H_{17}FN_2O_2$

Μοριακό Βάρος : 312.34



Σε διάλυμα της αμίνης **10** (150 mg, 0.79 mmol) σε άνυδρο DCM (4 mL) και άνυδρο DMF (2 mL) προστίθεται το οξύ **19** (111 mg, 0.79 mmol) και το μίγμα ψύχεται στους 0 °C . Στη συνέχεια προστίθεται η τριαιθυλαμίνη (88 mg, 0.87 mmol) , το EDC·HCl (167 mg, 0.87 mmol) ,το HOBt (107 mg, 0.79 mmol). Το μίγμα αναδεύεται αρχικά 1 ώρα στους 0 °C και έπειτα για 22 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί προσθήκη νερού και εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα. Η οργανική στιβάδα πλένεται με κορεσμένο διάλυμα χλωριούχου νατρίου και ξηραίνεται υπεράνω Na_2SO_4. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και το υπόλειμμα που προκύπτει καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης EtOAc/Hexane 35:65 βαθμιδωτής έκλουσης για να παραληφθούν 200 mg (81% απόδοση) του αφρώδους προϊόντος **21**, που κατεργάζεται με κρύο πεντάνιο.

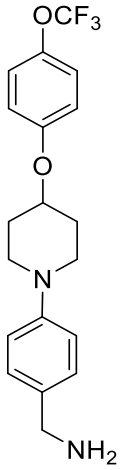
^{1}H NMR (200 MHz, DMSO) δ 10.86 (s, 1H ,NHind), 8.61 (t, *J* = 5.4 Hz,1H, NHamide), 7.92 (dd, *J* = 8.7, 5.6 Hz, 2H, 2,6-Har), 7.37-7.17 (m, 3H, 3,5-Har, 7-Hind), 7.13 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, 2-Hind), 7.05 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, 4-Hind), 6.71 (dd, *J* = 8.7, 2.3 Hz, 1H,6-Hind), 3.72 (s, 3H, OCH_3), 3.53 (q, *J* = 6.8 Hz, 2H, β-H), 2.92 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, α-H).

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO) δ 164.6 (C=O), 163.3 (d, $J_{1\ C,F}$= 246.7 Hz,4-Car), 152.6 (5-Cind), 131.0 (7α-Cind), 130.7 (d, $J_{4\ C,F}$ = 2.9 Hz,1-Car), 129.3 (d, $J_{3\ C,F}$ = 9.0 Hz, 2,6-Car), 127.2 (3α-Cind), 122.9 (2-Cind), 114.7 (d, $J_{2\ C,F}$ = 21.7 Hz, 3,5-Car), 111.6 (3-Cind), 111.3 (7-Cind), 110.6 (6-Cind), 99.8 (4-Cind), 54.8 (OCH_3), 39.7(β-C), 24.7 (α-C).

{4-[4-(4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ)πιπεριδιν-1-υλο]φαινυλο} μεθαναμίνη (22)

Μοριακός Τύπος :$C_{19}H_{21}F_3N_2O_2$

Μοριακό Βάρος : 366.38

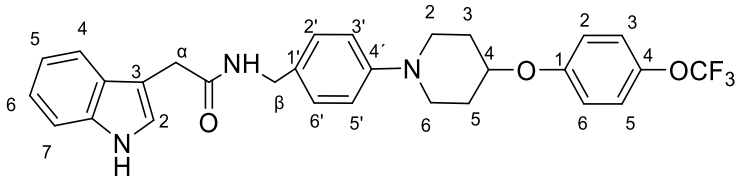


Διάλυμα του βενζονιτριλίου **5** (500 mg, 1.38 mmol) σε άνυδρο THF (20 mL) προστίθεται σε εναιώρημα $LiAlH_4$ (200 mg) σε άνυδρο THF (15 mL) στους 0 ^oC. Μετά από ανάδευση για 30 λεπτά, το μίγμα της αντίδρασης βράζεται για 2 ώρες. Στη συνέχεια η περίσσεια του THF υδρολύεται με προσθήκη υδατικού διαλύματος NaOH 2M και το μίγμα της αντίδρασης διηθείται από γη διατόμων. Το διήθημα συμπυκνώνεται υπό κενό, επαναδιαλύεται σε οξικό αιθυλεστέρα και πλένεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl. Η οργανική στιβάδα διαχωρίζεται και συμπυκνώνεται υπό κενό για να παραληφθούν 540 mg (98% απόδοση) της αμίνης **22** ως κίτρινο έλαιο που χρησιμοποιείται απευθείας στο επόμενο στάδιο.

2-(1*H*-ινδολ-3-υλ)-*N*-{4-[4-(4-(τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ)πιπεριδιν-1-υλο]βενζυλ}ακεταμίδιο (23)

Μοριακός Τύπος : $C_{29}H_{28}F_3N_3O_3$

Μοριακό Βάρος : 523.55



Σε διάλυμα της αμίνης **22** (249 mg, 0.68 mmol) σε άνυδρο DCM (4 mL) και άνυδρο DMF (2 mL) προστίθεται το 2-(1*H*-ινδολ-3-υλ)οξικό οξύ (119 mg, 0.68 mmol) και το μίγμα ψύχεται στους 0°C. Στην συνέχεια προστίθεται η τριαιθυλαμίνη (0.3 mL) , το EDC·HCl (144 mg, 0.75 mmol) ,το HOBt (92 mg, 0.68 mmol). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται αρχικά 1 ώρα στους 0 °C και έπειτα για 4 μέρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί προσθήκη νερού και εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα. Η οργανική στιβάδα πλένεται με κορεσμένο διάλυμα χλωριούχου νατρίου και ξηραίνεται υπεράνω Na_2SO_4. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και το υπόλειμμα που προκύπτει καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης EtOAc/Hexane 2 : 1 για να παραληφθούν 220 mg (62% απόδοση) του επιθυμητού προϊόντος **23** ως λευκό στερεό . Σ.τ. 169-171°C (EtOAc/ n-pentane).

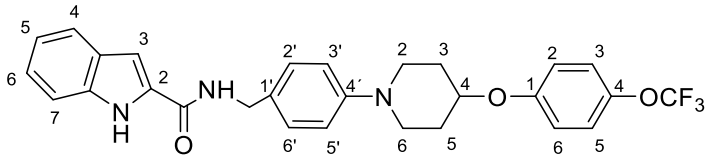
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.86 (s, 1H,NHind), 8.28 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H,NHamide), 7.54 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H,4-Hind), 7.33 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H,7-Hind), 7.28 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, 2,6-Har), 7.18 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, 2-Hind), 7.11-7.03(m, 5H, 2',3,5,6'-Har,6-Hind), 6.96 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H, 5-Hind), 6.88 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H,3',5'-Har), 4.63- 4.49 (m, 1H, 4-Hp), 4.15 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H, β-H), 3.54 (s, 1H, α-H), 3.51-3.43 (m, 2H,2,6-Hp_{eq}), 3.07 -2.93 (m, 2H, 2,6-Hp_{ax}), 2.08-1.96 (br s, 2H, 3,5-Hp_{eq},), 1.77-1.63 (m, 2H, 3,5-Hp_{ax}).

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO-d_6) δ 170.5 (C=O), 155.9 (4'-Car), 149.7 (4-Car), 141.7 (1-Car), 136.1 (7a-Cind), 129.7 (1'-Car), 128.2 (2',6'-Car), 127.2 (3a-Cind), 123.7 (2-Cind), 122.5 (2,6-Car), 120.9 (6-Cind), 120.1 (q, *J* = 256.5 Hz, OCF_3), 118.7 (4-Cind), 118.2 (5-Cind), 117.0 (3,5-Car), 115.7 (3',5'-Car) , 111.3 (7-Cind), 108.9 (3-Cind), 72.7 (4-Cp), 45.8 (2,6-Cp), 41.8 (β-C), 32.7 (α-C), 29.9 (3,5-Cp).

N-{4-[4-(4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ)πιπεριδιν-1-υλ]βενζυλ}-1*H*-ινδολο-2-καρβοξαμίδιο (24)

Μοριακός Τύπος : $C_{28}H_{26}F_3N_3O_3$

Μοριακό Βάρος : 509.52



Σε διάλυμα της αμίνης **22** (249 mg, 0.68 mmol) σε άνυδρο DCM (4 mL) και άνυδρο DMF (2 mL) προστίθεται το 1*H*-ίνδολο-2-καρβοξυλικό οξύ (110 mg, 0.68 mmol) και το μίγμα ψύχεται στους 0°C. Στην συνέχεια προστίθεται η τριαιθυλαμίνη (0.3mL) , το EDC·HCl (144 mg, 0.75 mmol) ,το HOBt (92 mg, 0.68 mmol). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται αρχικά 1 ώρα στους 0 °C και έπειτα για 4 μέρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί προσθήκη νερού και εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα. Η οργανική στιβάδα πλένεται με κορεσμένο διάλυμα χλωριούχου νατρίου και ξηραίνεται υπεράνω Na_2SO_4. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και το υπόλειμμα που προκύπτει καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης EtOAc /Hexane 40 : 60 για να παραληφθούν 200 mg (58% απόδοση) του επιθυμητού προϊόντος **24** ως λευκό στερεό. Σ.τ. 182-184°C (EtOAc/Hexane).

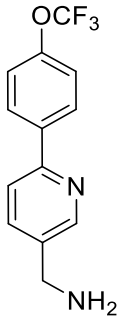
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*) δ 11.60 (s, 1H,NHind), 8.93 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H, NHamide), 7.60 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H,4-Hind), 7.43 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H,7-Hind), 7.27 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, 2,6-Har*)*, 7.24-7.13 (m, 4H, 2',6'-Har, 2,6-Hind), 7.12 – 6.99 (m, 3H,3,5-Har ,5-Hind), 6.93 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, 3',5'-Har), 4.55 (m, 1H, 4-Hp), 4.42 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H, CH_2), 3.54 – 3.41 (m, 2H, 2,6-Hp_{eq}), 3.08-2.94 (m, 2H, 2,6-Hp_{ax}), 2.08-1.95 (br s, 2H, 3,5-Hp_{eq}), 1.78 – 1.21 (m, 2H, 3,5-Hp_{ax}).

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO-*d6*) δ 161.0 (C=O), 155.9 (4'-Car), 149.8 (4-Car), 141.7 (1-Car), 136.4 (7α-Cind), 131.8 (2-Cind), 129.7 (1'-Car), 128.2 (2',6'-Car), 127.2 (3a-Cind), 123.2 (6-Cind), 122.6 (2,6-Car), 121.5 (4-Cind), 120.1(q, J = 256 Hz, OCF_3), 119.7 (5-Cind), 117.0 (3,5-Car), 115.8 (3',5'-Car), 112.3 (7-Cind), 102.5 (3-Cind), 72.7 (4-Cp), 46.1 (2,6-Cp), 41.7 (CH_2), 29.9 (3,5-Cp).

{6-[4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινυλο]πυριδιν-3-υλ}μεθαναμίνη (25)

Μοριακός Τύπος : $C_{13}H_{11}F_3N_2O$

Μοριακό Βάρος : 268.23

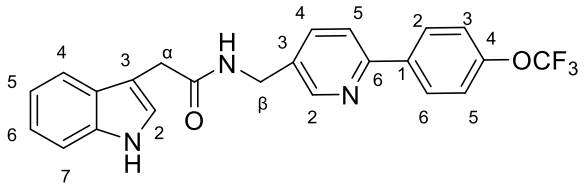


Σε αναδευόμενο διάλυμα του νιτριλίου **14** (850 mg, 3.22 mmol) σε μεθανόλη (30 mL) προστίθεται νικέλιο του Raney(1 mL). Το μίγμα της αντίδρασης εκκενώνεται και γεμίζεται με υδρογόνο(3 κύκλοι) και στη συνέχεια αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 3.5 ώρες. Μετά το πέρας της αντίδρασης, το μίγμα διηθείται από γη διατόμων (celite) και συμπυκνώνεται για να παραληφθεί η αμίνη **25** (700 mg, 80% απόδοση) ως ανοιχτό πράσινο έλαιο, η οποία χρησιμοποιείται απευθείας στο επόμενο στάδιο.

2-(1*H*-ινδολ-3-υλο)-*N*-[{6-(4-(τριφθορομεθοξυ)φαινυλο)πυριδιν-3-υλο]μεθυλ}ακεταμίδιο (26)

Μοριακός Τύπος : $C_{23}H_{18}F_3N_3O_2$

Μοριακό Βάρος : 425.40



Σε διάλυμα της αμίνης **25** (350 mg, 1.30 mmol) σε άνυδρο DCM (8 mL) και άνυδρο DMF (4 mL) προστίθεται το 2-(1*H*-ινδόλ-3-υλ)οξικό οξύ (230 mg, 1.30 mmol) και το μίγμα ψύχεται στους 0 °C. Στην συνέχεια προστίθεται η τριαιθυλαμίνη (0.6 mL) , το EDC·HCl (275 mg,1.43 mmol) ,το HOBt (176 mg, 1.30 mmol). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται αρχικά 1 ώρα στους 0 °C και έπειτα για 4 μέρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί προσθήκη νερού και εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα. Η οργανική στιβάδα πλένεται με κορεσμένο διάλυμα χλωριούχου νατρίου και ξηραίνεται υπεράνω Na_2SO_4. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και το υπόλειμμα που προκύπτει καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης EtOAc/Hexane 2: 1 για να παραληφθούν 250 mg (45% απόδοση) επιθυμητού προϊόντος ως λευκό στερεό. Σ.τ. 177-179°C (EtOAc/Hexane).

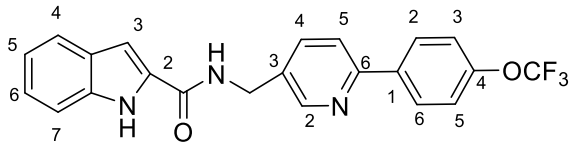
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.45 (s, 1H, 2-Hpy), 8.28 (br.s, 1H, NHind), 7.97 (d, J = 8.8 Hz, 2H, 2,6-Har), 7.59 (br.d, 2H, 4,5-Hpy), 7.56 (d, J = 8.0 Hz, 1H,4-Hind), 7.40 (d, J = 8.1 Hz, 1H, 7-Hind), 7.30 (d, J = 8.2 Hz, 2H, 3,5-Har), 7.25 (t, J=7.3 Hz,1H, 6-Hind), 7.19-7.13(m, 2H, 2,5-Hind), 6.12 (s, 1H, NHamide), 4.42 (d, J = 6.1 Hz, 2H, β-H), 3.82 (s, 2H,α-H).

^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 171.9 (C=O), 157.2 (6-Cpy), 148.8 (2-Cpy), 148.7 (4-Car), 136.7 (4-Cpy), 136.6 (7a-Cind), 136.6 (1-Car), 133.0 (3-Cpy), 128.5 (2,6-Car), 127.4 (3a-Cind), 124.0 (2-Cind), 123.0 (6-Cind), 121.2 (3,5-Car), 120.4 (5-Cpy), 120.4 (5-Cind), 120.1 (q, *J* = 256.5 Hz, OCF_3), 118.8 (CH,4-Cind), 113.4 (3-Cind), 111.7 (7-Cind), 40.8 (β-C), 33.5 (α-C).

N-{[6-(4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινυλο)πυριδιν-3-υλο)μεθυλ)-1*H*-ινδολο-2-καρβοξαμίδιο (27)

Μοριακός Τύπος : $C_{22}H_{16}F_3N_3O_2$

Μοριακό Βάρος : 411.38



Σε διάλυμα της αμίνης **25** (350 mg, 1.30 mmol) σε άνυδρο DCM (8 mL) και άνυδρο DMF (4 mL) προστίθεται το 1*H*-ίνδολο-2-καρβοξυλικό οξύ (210 mg, 1.30 mmol) και το μίγμα ψύχεται στους 0 °C. Στην συνέχεια προστίθεται η τριαιθυλαμίνη (0.6 mL) , το EDC·HCl (275 mg, 1.43 mmol) ,το HOBt (176mg, 1.30 mmol). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται αρχικά 1 ώρα στους 0 °C και έπειτα για 4 μέρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί προσθήκη νερού και εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα. Η οργανική στιβάδα πλένεται με κορεσμένο διάλυμα χλωριούχου νατρίου και ξηραίνεται υπεράνω Na_2SO_4. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και το υπόλειμμα που προκύπτει καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης Hexane /DCM/Et_2O 1 : 2 : 2 για να παραληφθούν 200 mg (37% απόδοση) του επιθυμητού προϊόντος **27** ως λευκό στερεό. Σ.τ 241-243 °C (EtOAc/Hexane).

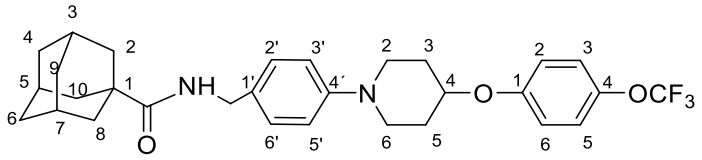
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.29 (s, 1H, NHind), 8.70 (s, 1H,2-Hpy), 8.01 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, 2,6-Har), 7.82 (d, *J* = 7.8 Hz,1H,4-Hpy), 7.69 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H,5-Hpy), 7.64 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H,4-Hind), 7.44 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, 7-Hind), 7.38 – 7.21 (m, 3H, 3,5-Har,6-Hind), 7.16 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H,5-Hind), 6.89 (s, 1H,3-Hind), 6.68 (s, 1H,NHamide), 4.74 (d, *J* = 5.5 Hz, 2H,CH_2).

^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 161.0 (C=O), 157.2 (6-Cpy), 150.1 (2-Cpy), 148.7 (4-Car), 137.7 (4-Cpy), 136.6 (7a-Cind), 136.6 (1-Car), 133.0 (3-Cpy), 131.8 (2-Cind), 129.3 (2,6-Car), 127.4 (3a-Cind), 126.0 (6-Cind), 122.9 (4-Cind), 122.2 (3,5-Car), 122.1 (5-Cind), 121.4 (5-Cpy), 120.1 (q, *J* = 256.5 Hz, OCF_3), 113.0 (7-Cind), 103.3 (3-Cind), 41.9 (CH_2) .

N-{4-[4-(4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ)πιπεριδιν-1-υλο] βενζυλο}τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκανο-1-καρβοξαμίδιο (28)

Μοριακός Τύπος : $C_{30}H_{35}F_3N_2O_3$

Μοριακό Βάρος : 528.61



Σε διάλυμα της αμίνης **22** (249 mg, 0.68 mmol) σε άνυδρο DCM (4 mL) και άνυδρο DMF (2 mL) προστίθεται το 1-Τρικυκλο[3.3.1.1.^{3,7}]δεκανοκαρβοξυλικό οξύ (123 mg, 0.68 mmol) και το μίγμα ψύχεται στους 0 °C. Στην συνέχεια προστίθεται η τριαιθυλαμίνη (0.3 mL), το EDC·HCl (144 mg, 0.75 mmol) ,το HOBt (92 mg, 0.68 mmol). Το μίγμα αναδεύεται αρχικά 1 ώρα στους 0 °C. και έπειτα για 1 ημέρα σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί προσθήκη νερού και εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα. Η οργανική στιβάδα πλένεται με κορεσμένο διάλυμα χλωριούχου νατρίου και ξηραίνεται υπεράνω Na_2SO_4. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και το υπόλειμμα που προκύπτει καθαρίζεται σε χρωματογραφία στήλης EtOAc/Hexane 2 : 1 για να παραληφθούν 220 mg (61 % απόδοση) του επιθυμητού προϊόντος **28** ως λευκό στερεό. Σ.τ 152-154 °C (EtOAc/Hexane).

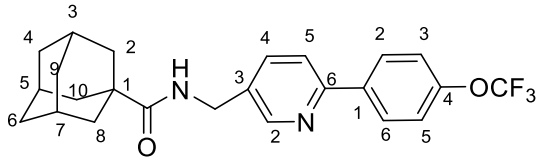
^{1}H NMR (200 MHz, DMSO-*d6*) δ 7.81 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H,NHamide), 7.27 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, 2,6-Har), 7.13-6.99(complex m, 4H, 3,5,2’,6’-Har), 6.89 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H,3’,5’-Har), 4.66-4.46 (m, 1H, 4-Hp), 4.15 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H,CH_2), 3.57-3.36 (m,2H, 2,6-Hp_{eq}), 3.11-2.90 (m, 2H, 2,6-Hp_{ax}), 1.96 (br s, 5H,3,5,7-Had, 3,5-Hp_{eq}), 1.86-1.56 (complex m,14H, 2,4,6,8,9,10-Had, 3,5-Hp_{ax}).

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO-*d6*) δ 176.7 (C=O), 155.9 (4’-C), 149.5 (4-Car), 141.8 (1-Car), 130.4 (1’-Car), 127.6 (2’,6’-Car), 122.5 (2,6-Car), 120.1 (q, *J* = 256.5 Hz, OCF_3), 117.0 (3,5-Car), 115.7 (3’,5’-Car), 72.7 (4-Cp), 46.1 (2,6-Cp), 41.3 (CH_2), 39.8 (1-Cad), 38.8 (2,8,9-Cad) , 36.2 (4,6,10-Cad), 29.91 (3,5-Cp), 27.7 (3,5,7-Cad).

N-{[6-(4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινυλ)πυριδιν-3-υλο]μεθυλο} τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκανο -1-καρβοξαμίδιο (29)

Μοριακός Τύπος : $C_{24}H_{25}F_3N_2O_2$

Μοριακό Βάρος : 430.46



Σε διάλυμα της αμίνης **25** (350 mg, 1.30 mmol) σε άνυδρο DCM (8 mL) και άνυδρο DMF (4 mL) προστίθεται το 1-Τρικυκλο[3.3.1.1.^{3,7}]δεκανοκαρβοξυλικό οξύ (235 mg, 1.30 mmol) και το μίγμα ψύχεται στους 0 °C. Στην συνέχεια προστίθεται η τριαιθυλαμίνη (0.6 mL), το EDC·HCl (275 mg, 143 mmol) ,το HOBt (176 mg, 1.30 mmol). Το μίγμα αναδεύεται αρχικά 1 ώρα στους 0 °C και έπειτα για 1 ημέρα σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί προσθήκη νερού και εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα. Η οργανική στιβάδα πλένεται με κορεσμένο διάλυμα χλωριούχου νατρίου και ξηραίνεται υπεράνω Na_2SO_4. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και το υπόλειμμα που προκύπτει καθαρίζεται σε χρωματογραφία στήλης EtOAc/Hexane 2 : 1 για να παραληφθούν 240 mg (43% απόδοση) του επιθυμητού προϊόντος **29** ως λευκό στερεό. Σ.τ 192-194°C (EtOAc/Hexane).

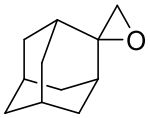
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.58 (s, 1H ,2-Hpy), 8.00 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H,2,6-Har), 7.77 – 7.58 (m, 2H,4,5-Hpy), 7.31 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H,3,5-Har), 6.01 (br. s, 1H,NHamide), 4.50 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H,CH_2), 2.06 (br. s, 3H,3,5,7-Had,), 1.89 (br.d, *J* = 2.4 Hz, 6H, 2,8,9-Had), 1.79-1.66 (br.q, 6H, 4,6,10-Had).

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO-*d6*) δ 177.1 (C=O), 153.0 (6-Cpy),148.8 (4-Car), 148.5 (2-Cpy), 137.7 (1-Car) , 135.9 (4-Cpy), 134.9 (3-Cpy) , 128.3 (2,6-Car), 121.1 (3,5-Car), 120.1 (q, *J* = 256.5 Hz, OCF_3) , 120.0 (5-Cpy), 40.1 (CH_2), 39.8 (1-Cad), 38.7 (2,8,9-Cad), 36.1 (4,6,10-Cad), 27.6 (3,5,7-Cad).

Σπειρο[οξιρανο-2(2’)-τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκάνιο] (30)

Μοριακός Τύπος : $C_{11}H_{16}O$

Μοριακό Βάρος : 164.24

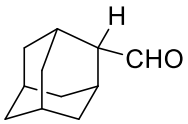


Σε εναιώρημα NaH (190 mg, 7.92 mmol, 60% διασπορά σε παραφινέλαιο [317 mg]) σε άνυδρο DMSO (13.3 mL) και σε ατμόσφαιρα αργού, προστίθεται ύπο ανάδευση και σε διάστημα 5 λεπτών, το στερεό ιωδιουχο τριμεθυλοσουλφοξώνιο (1.666 mg , 7.60 mmol). Το μίγμα αναδεύεται μέχρις ότου ολοκληρωθεί ο σχηματισμός H_2 (παύση έκλυσης υδρογόνου, περίπου 15 λεπτά) και στην συνέχεια προστίθεται η 2-αδαμαντανόνη (1000 mg , 6.657 mmol) εντός 5 λεπτών . Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται υπό αργό για 1.5 ωρα και στην συνέχεια αποχύνεται σε μίγμα νερού-πάγου. Το κατέργασμα ανακινείται ελαφρά σε διαχωριστική χοάνη με n-εξάνιο. Η υδατική στιβάδα εκχυλίζεται (με ελαφριά ανακίνηση) με n-εξάνιο και οι συνενωμένες οργανικές στιβάδες ξηραίνονται υπό Na_2SO_4 και εξατμίζονται υπό κενό για να παραληφθούν 900 mg (82% απόδοση) εποξειδίου ως λευκό στερεό.

2-Τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκανοκαρβοξαλδεΰδη (31)

Μοριακός Τύπος : $C_{11}H_{16}O$

Μοριακό Βάρος : 164.24

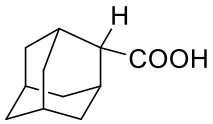


Σε διαχωριστική χοάνη φέρεται το εποξείδιο **30** (900 mg , 5.48 mmol) διαλυμένο σε άνυδρο βενζόλιο (15-20 mL) και γίνεται άπαξ προσθήκη αιθεριούχου τριφθοριούχου βορίου (600 mg, 4.23 mmol) και το μίγμα ανακινείται έντονα. Μετά από άφεση σε ηρεμία για 1 λεπτό προστίθεται ψυχρό παγόνερο (10-15 mL) και το μίγμα ανακινείται έντονα. Παραλαμβάνεται η βενζολική στιβάδα και η υδατική εκχυλίζεται με βενζόλιο (x2). Οι συνενωμένες βενζολικές στιβάδες ξηραίνονται υπεράνω Na_2SO_4 και εξατμίζονται υπό κενό σε θερμοκρασία χαμηλότερη των 25 °C μέχρι όγκου 10 mL. Το λαμβανόμενο βενζολικό διάλυμα αλδεϋδης χρησιμοποιείται χωρίς καθυστέρηση στο επόμενο στάδιο.

2-Τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκανοκαρβοξυλικό οξύ (32)

Μοριακός Τύπος : $C_{11}H_{16}O_2$

Μοριακό Βάρος : 180.24

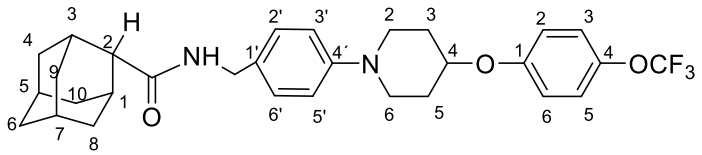


Το βενζολικό διάλυμα της αλδεϋδης **31** που προέρχεται από το εποξείδιο **30** (900 mg , 5.48 mmol) εξατμίζεται υπό κενό και σε θερμοκρασία χαμηλότερη των 25 °C μέχρι όγκου 10 mL. Το βενζόλιο αντικαθιστάται σταδιακά από ακετόνη και όταν ο όγκος του ακετονικού διαλύματος φθάσει στα 10 mL, προστίθεται στάγδην και υπό ανάδευση , στους 20 °C, αντιδραστήριο Jones 8N (7.23 mL) σε διάστημα 40 λεπτών. Μετά το τέλος της προσθήκης η ανάδευση συνεχίζεται για 2 ώρες ,ενώ κατά καιρούς τα τοιχώματα της φιάλης πλένονται με ακετόνη (<10 mL). Το μίγμα της αντίδρασης αποχύνεται σε νερό (80 mL) και το κατέργασμα εκχυλίζεται με χλωροφόρμιο. Τα συνενωμένα χλωροφορμικά εκχυλίσματα εξατμίζονται υπό κενό και το υπόλειμμα κατεργάζεται με NaOH 1N στους 50°C για 0.5 ώρα και αραιώνονται με διάλυμα NaOH 0.5N. Το κατέργασμα διηθείται και το διήθημα οξινίζεται με στάγδην προσθήκη πυκνού HCl. Το λαμβανόμενο όξινο κατέργασμα εκχυλίζεται με χλωροφόρμιο και οι συνενωμένες οργανικές στιβάδες πλένονται με νερό, ξηραίνονται υπεράνω Na_2SO_4 και εξατμίζονται υπό κενό για να παραληφθούν 700 mg (3.88 mmol, 71% απόδοση) του οξέος **32** ως λευκό στερεό.

N-{4-[4-(4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ)πιπεριδιν-1-υλο]βενζυλο} τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκανο-2-καρβοξαμίδιο (33)

Μοριακός Τύπος : $C_{30}H_{35}F_3N_2O_3$

Μοριακό Βάρος : 528.61



Σε διάλυμα της αμίνης **22** (249 mg, 0.68 mmol) σε άνυδρο DCM (4 mL) και άνυδρο DMF (2 mL) προστίθεται το οξύ **32** (123 mg, 0.68 mmol) και το μίγμα ψύχεται στους 0 °C. Στην συνέχεια προστίθεται η τριαιθυλαμίνη (0.3 mL) , το EDC·HCl (144 mg, 0.87 mmol) ,το HOBt (92 mg, 0.68 mmol). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται αρχικά 1 ώρα στους 0 °C και έπειτα για 1 ημέρα σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί προσθήκη νερού και εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα. Η οργανική στιβάδα πλένεται με κορεσμένο διάλυμα χλωριούχου νατρίου και ξηραίνεται υπεράνω Na_2SO_4. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και το υπόλειμμα που προκύπτει καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης EtOAc/Hexane 1 : 1 για να παραληφθούν 220 mg (61 %απόδοση) του επιθυμητού προϊόντος **33** ως λευκό στερεό. Σ.τ. 131-133°C (EtOAc/Hexane).

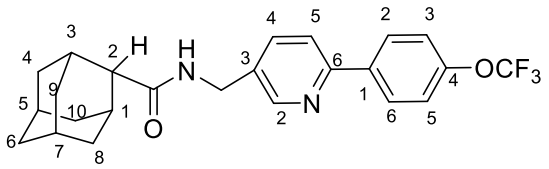
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*) δ 8.01 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H,NHamide), 7.28 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, 2’,6’-Har), 7.13-7.02 (complex m, 4H, 3,5,2,6-Har), 6.90 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, 3’,5’-Har), 4.63-4.50 (m, 1H, 4-Hp), 4.17 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H,CH_2), 3.54-3.40 (m, 2H, *2,6-Hp$_{eq}$*), 3.06-2.93 (m, 2H, *2,6-Hp$_{ax}$*), 2.43 (br. s, 1H, 2-Had), 2.19 (br. s, 2H, 1,3-Had), 2.07-1.91(complex m, 4H, 3,5-Hp$_{eq}$, 4,9-Had $_{ax}$), 1.88 – 1.63 (m, 10H, 3,5-Hp$_{ax}$, 5,6,7,8,10-Had), 1.50 (dm, 2H, 4,9-Had$_{eq}$)

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO-*d6*) δ 173.4 (C=O), 155.9 (4’-Car), 149.6 (4-Car), 142.2 (1-Car), 130.3 (1’-Car), 127.9 (2,6-Car), 122.5 (2’,6’-Car), 120.1 (q, *J*= 256.5 Hz, OCF_3), 117.0 (3,5-Car), 115.7 (3’,5’-Car), 72.7 (4-Cp), 48.8 (2-Cad), 46.1 (2,6-Cp), 41.3 (CH_2), 37.9 (4,10-Cad), 37.1 (6-Cad), 32.8 (8,9-Cad), 29.9 (CH_2,3,5-Cp), 29.3 (1,3-Cad), 27.1 (7-Cad) , 26.9 (5-Cad).

N-{[6-(4-(Τριφθορομεθοξυ)φαινυλ)πυριδιν-3-υλο]μεθυλο} τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκανο-2-καρβοξαμίδιο (34)

Μοριακός Τύπος : $C_{24}H_{25}F_3N_2O_2$

Μοριακό Βάρος : 430.46

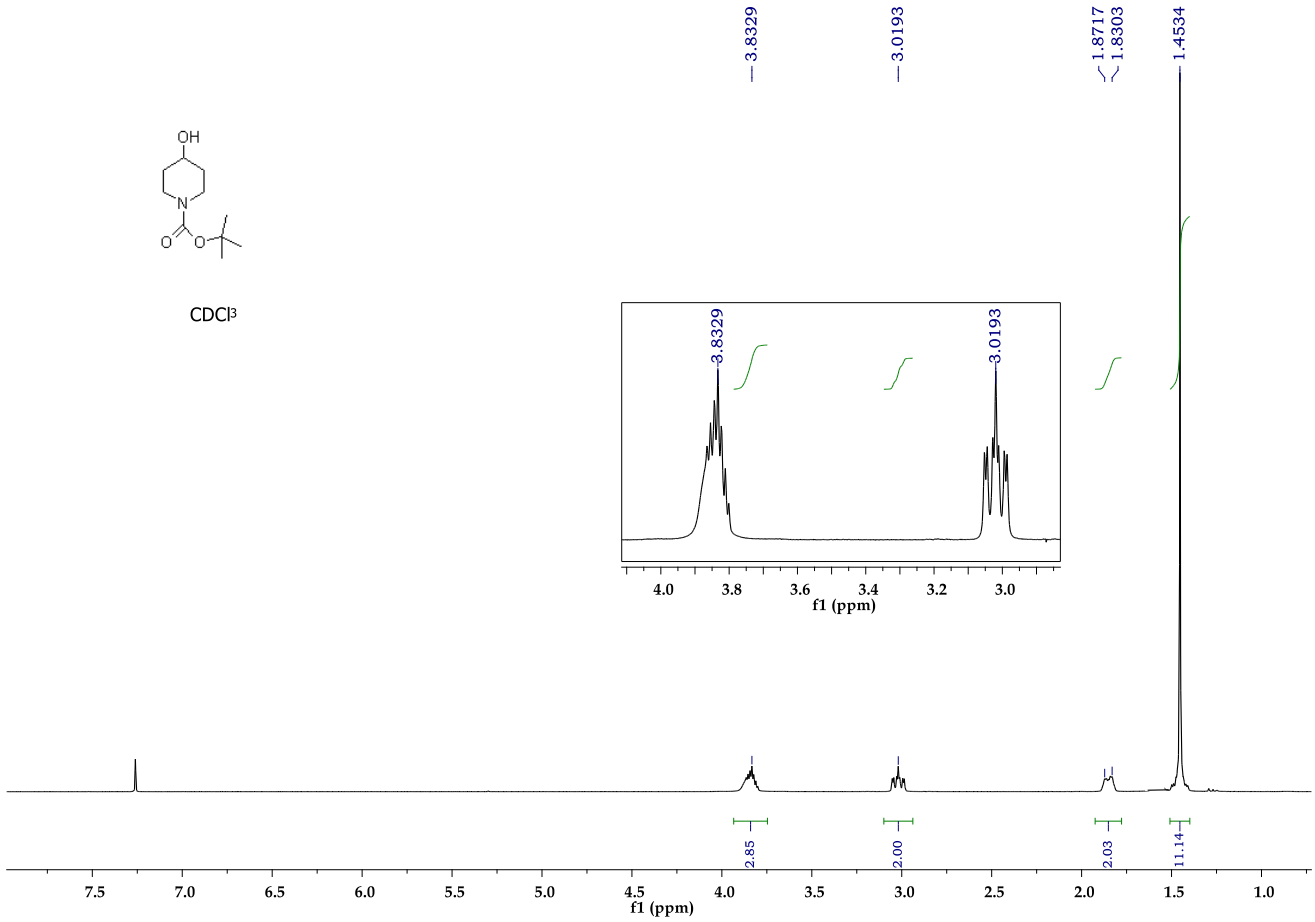


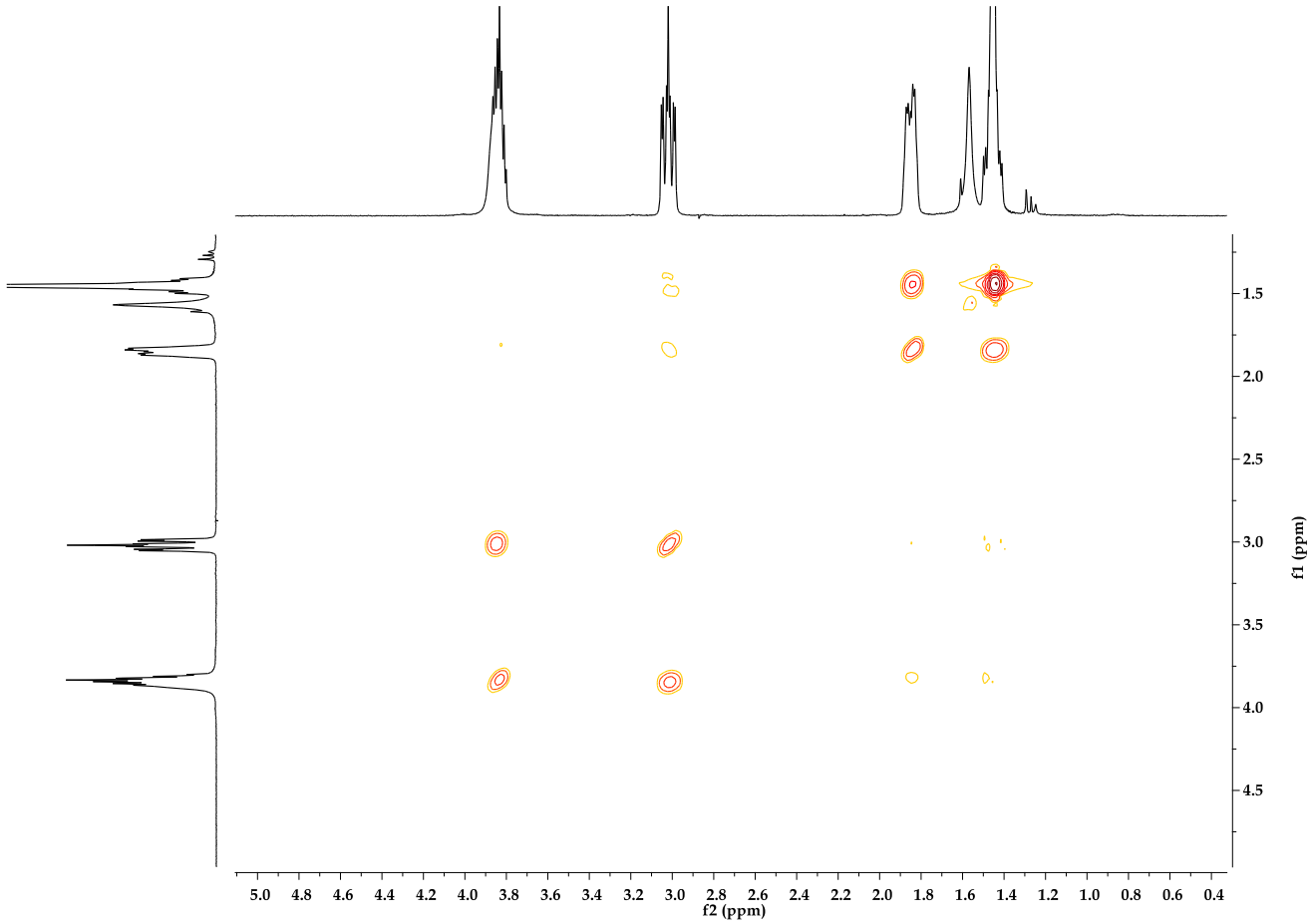
Σε διάλυμα της αμίνης **25** (350 mg, 1.30 mmol) σε άνυδρο DCM (8 mL) και άνυδρο DMF (4 mL) προστίθεται οξύ **32** (235 mg, 1.30 mmol) και το μίγμα ψύχεται στους 0 °C. Στην συνέχεια προστίθεται η τριαιθυλαμίνη (0.6 mL), το EDC·HCl (275 mg, 143 mmol) ,το HOBt (176 mg, 1.30 mmol). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται αρχικά 1 ώρα στους 0 °C και έπειτα για 2 ημέρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί προσθήκη νερού και εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα. Η οργανική στιβάδα πλένεται με κορεσμένο διάλυμα χλωριούχου νατρίου και ξηραίνεται υπεράνω Na_2SO_4. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και το υπόλειμμα που προκύπτει καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης EtOAc/Hexane 2 : 1 για να παραληφθούν 240 mg (43% απόδοση) του επιθυμητού προϊόντος **34** ως λευκό στερεό, που κατεργάζεται με Et_2O. Σ.τ. 176-178 °C (EtOAc/Hexane).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*) δ 8.56 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H, 2-Hpy), 8.26 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H, NHamide), 8.19 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2,6-Har), 7.96 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, 5-Hpy), 7.74 (dd, *J* = 8.2, 2.1 Hz, 1H, 4-Hpy), 7.47 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 3,5-Har), 4.34 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H, CH_2), 2.48(br. s, 1H, 2-Had), 2.22 (br. s, 2H, 1,3-Had), 1.93 (dm, 2H, 4,9-Had$_{ax}$), 1.88 – 1.62 (complex m, 8H, 5,6,7,8,10-Had), 1.51 (dm, 2H, 4,9-Had$_{eq}$).

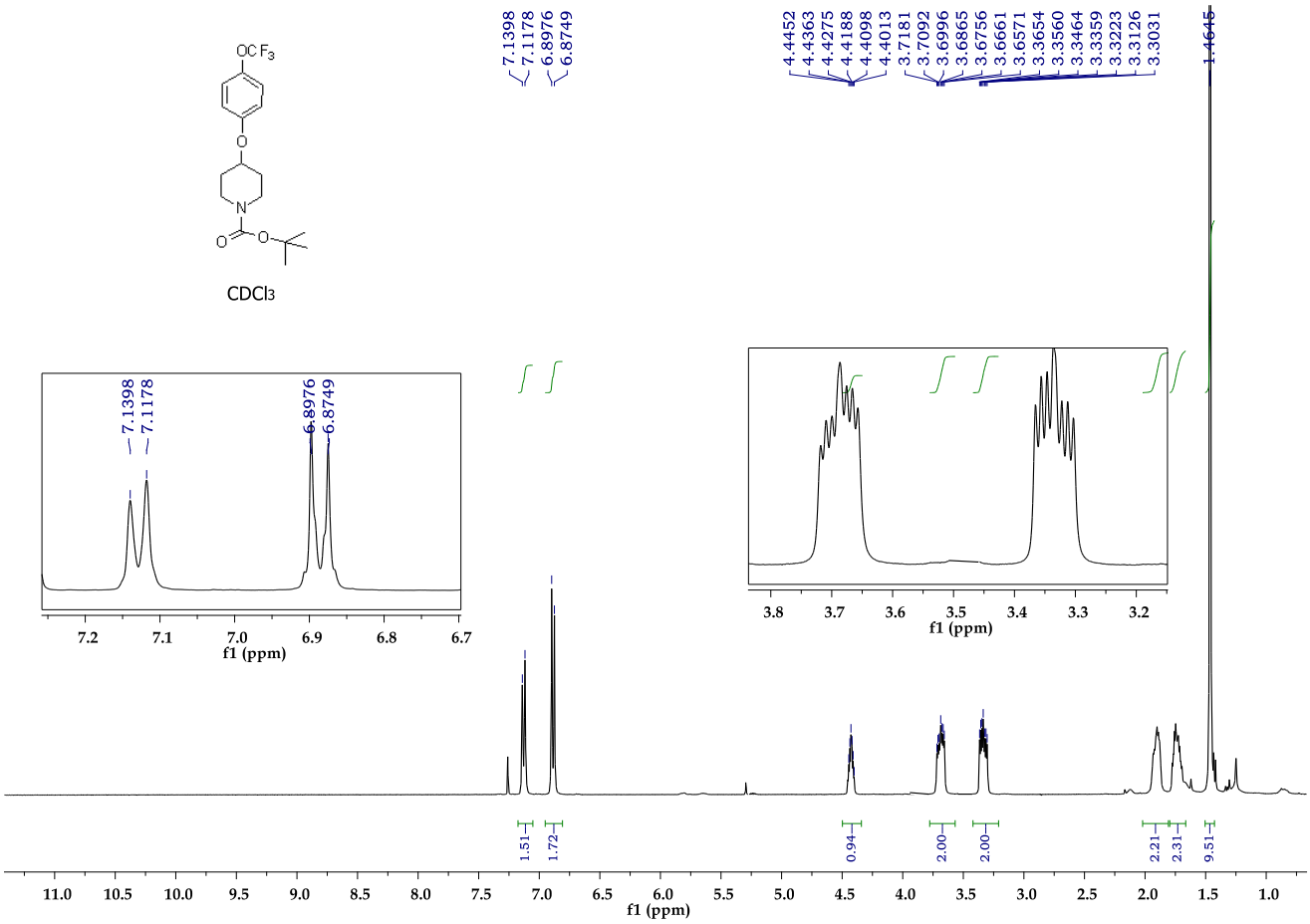
^{13}C NMR (150 MHz, DMSO-*d6*) δ 173.8 (C=O), 153.6 (6-Cpy), 148.8 (4-Car), 148.6 (2-Cpy), 137.7 (1-Car), 136.1 (4-Cpy), 134.9 (3-Cpy), 128.3 (2,6-Car), 121.1 (3,5-Car), 120.1(q, *J* = 256.5 Hz, OCF_3), 120.0 (5-Cpy), 48.8 (2-Cad), 40.1 (CH_2), 37.9 (4,10-Cad), 37.0 (6-Cad), 32.8 (8,9-Cad), 29.3 (1,3-Cad), 27.0 (7-Cad), 26.9 (5-Cad).

Δ2. Παράρτημα: Χαρακτηριστικά Φάσματα NMR

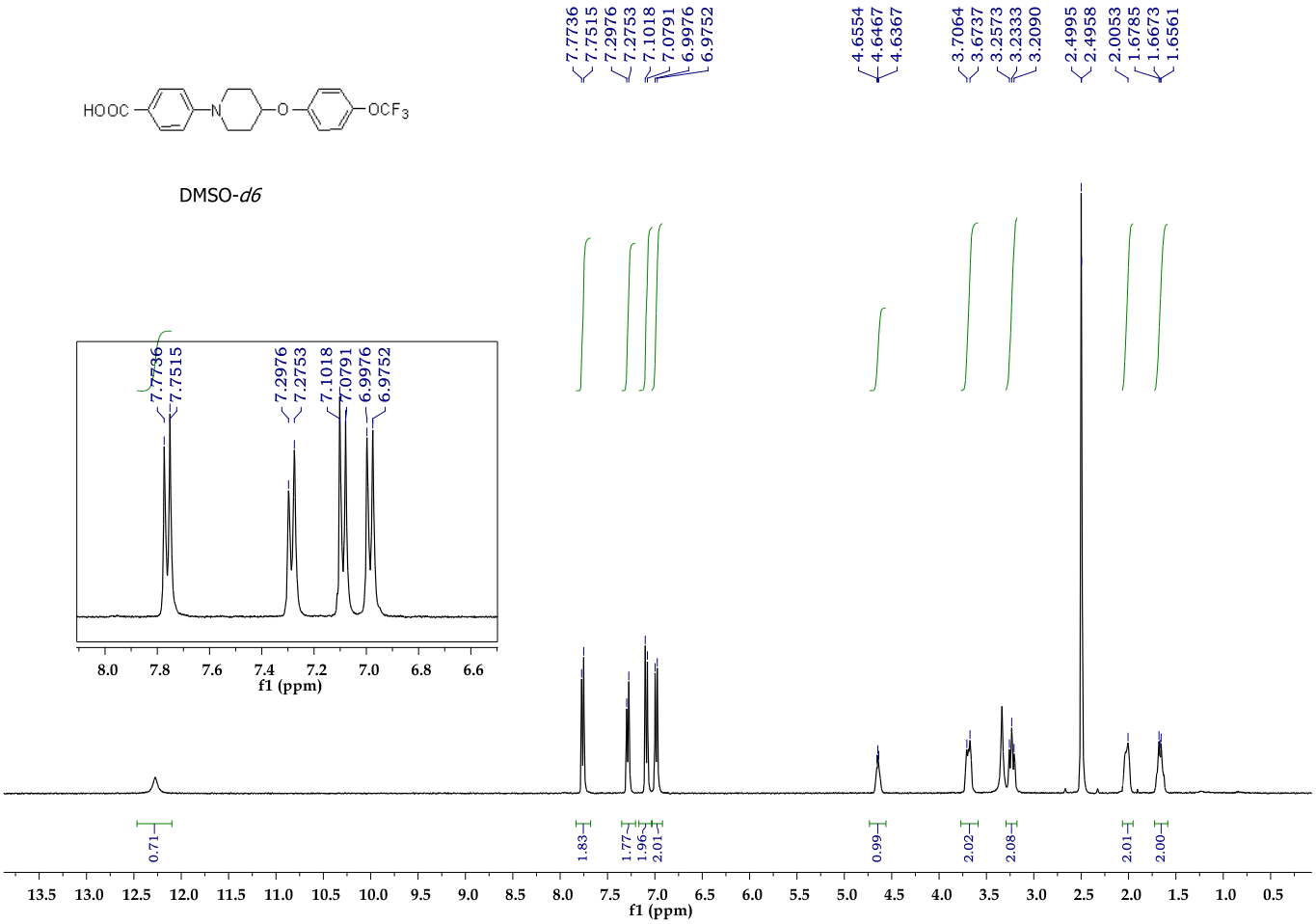




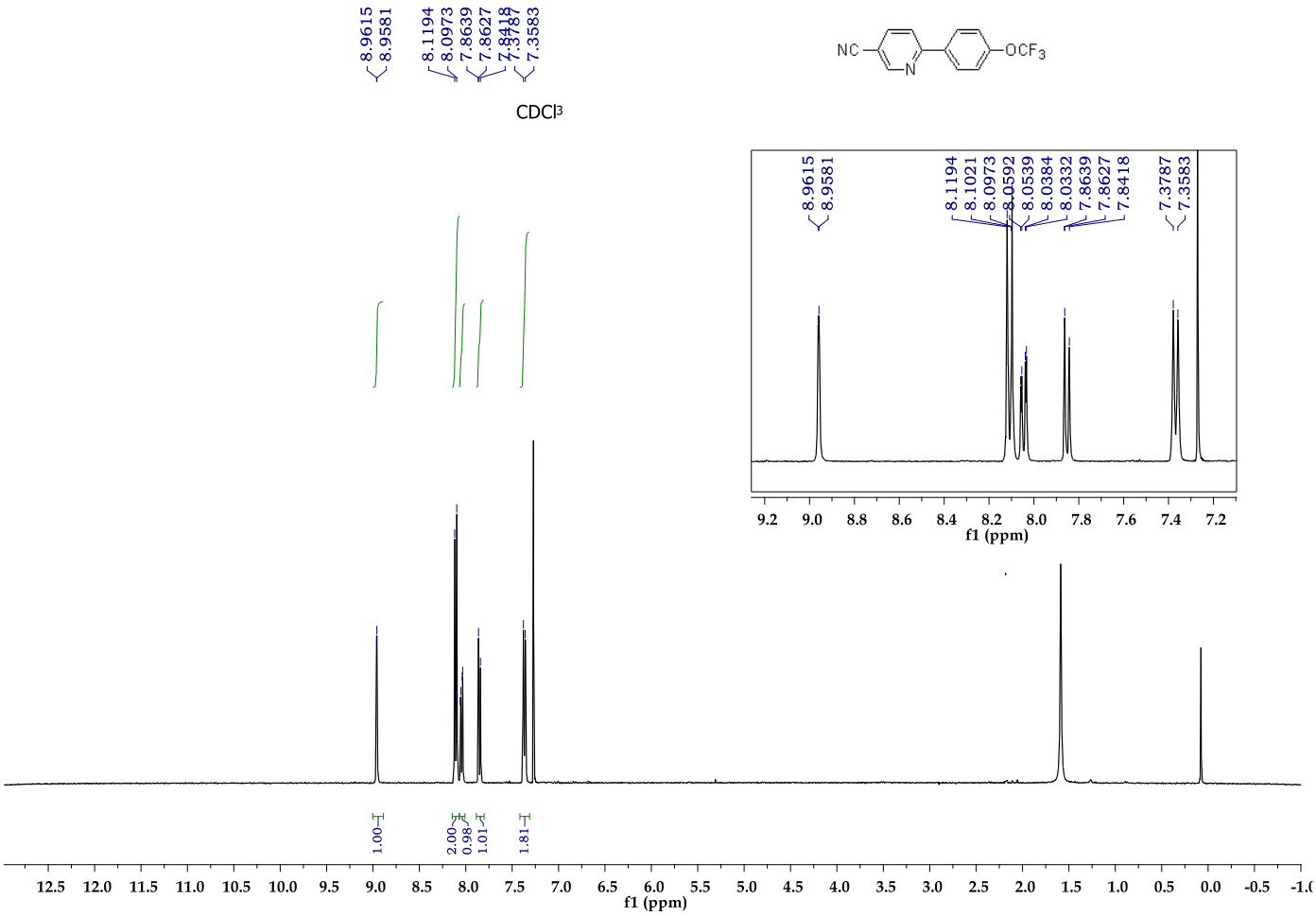
Φάσμα ^{1}H και COSY του 4-υδροξυ(πιπεριδιν-1-υλο)καρβοξυλικού *τερτ*-βουτυλεστέρα (2). 400MHz.

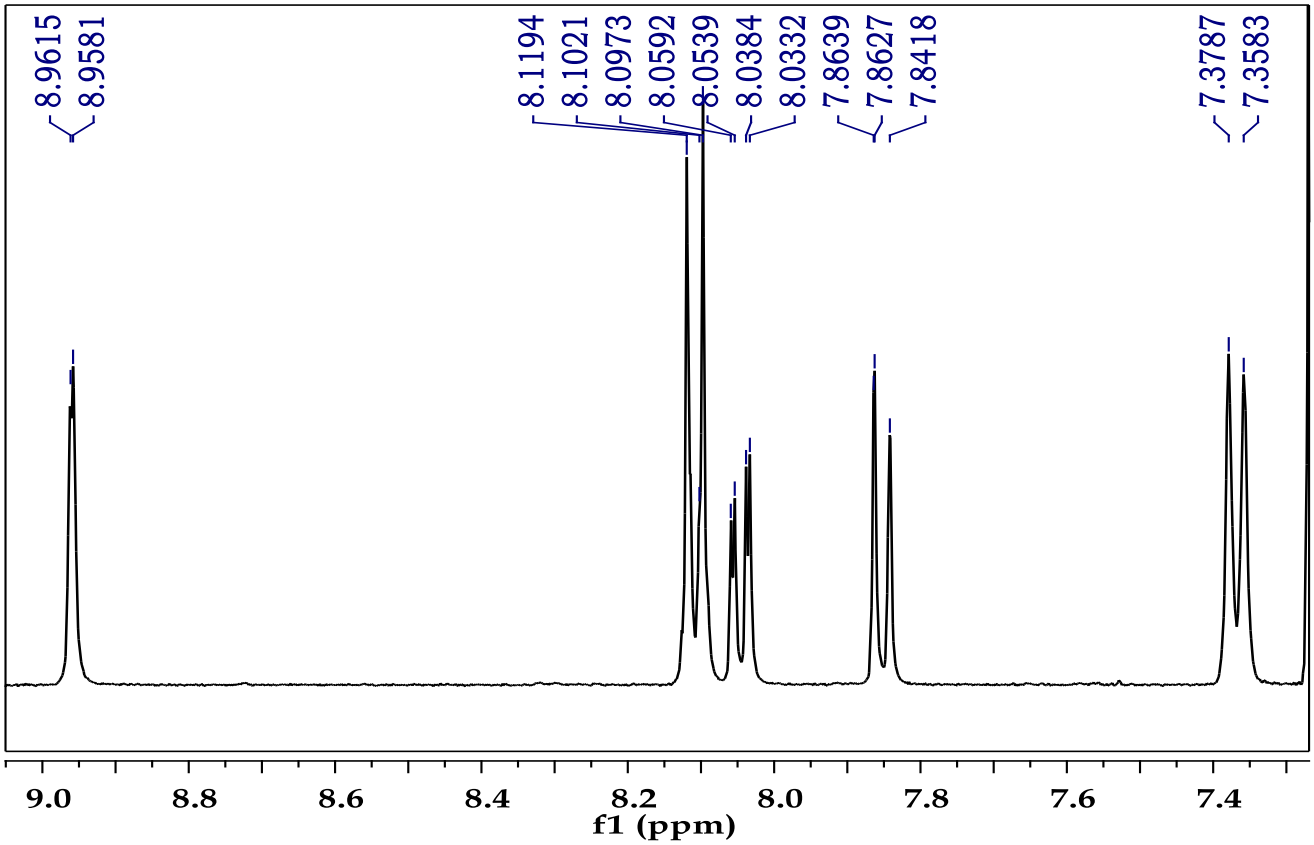


Φάσμα ^{1}H του {4-[4-(τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ]πιπεριδιν-1-υλο}καρβοξυλικού *τερτ*-βουτυλεστέρα (3). 400MHz

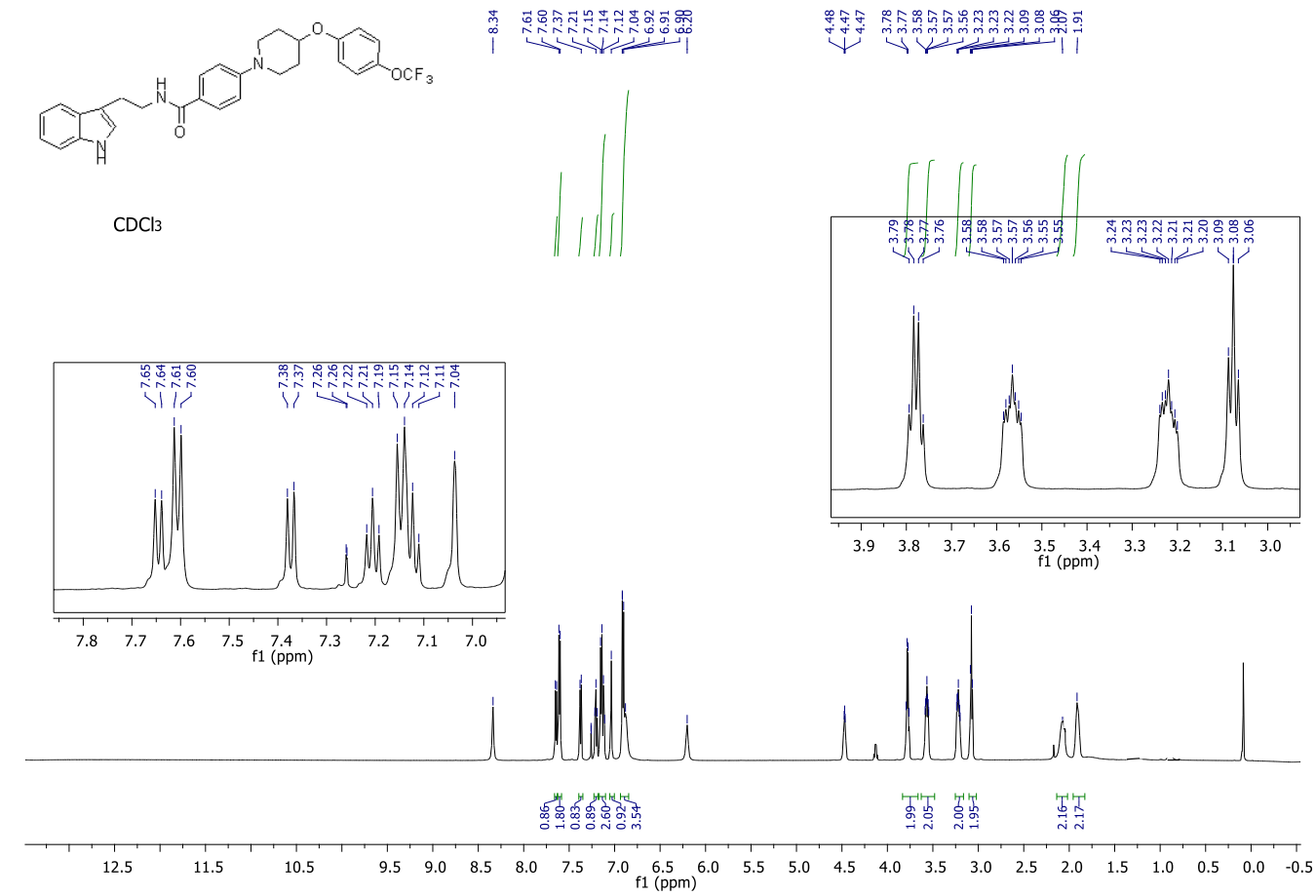


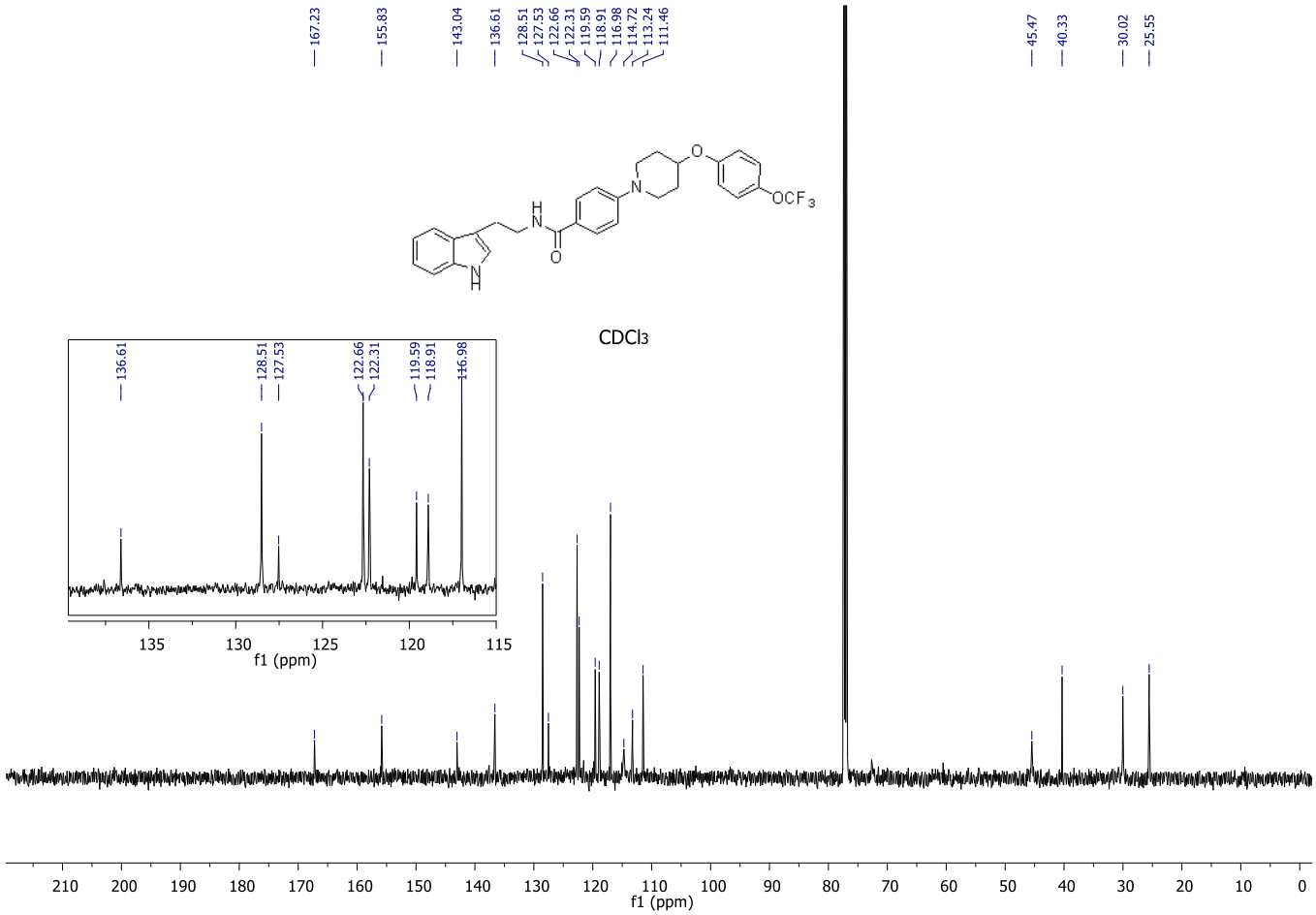
Φάσμα ^{1}H του 4-{4-[4-(τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ]πιπεριδιν -1-υλο}βενζοϊκού οξέος (6) . 400MHz



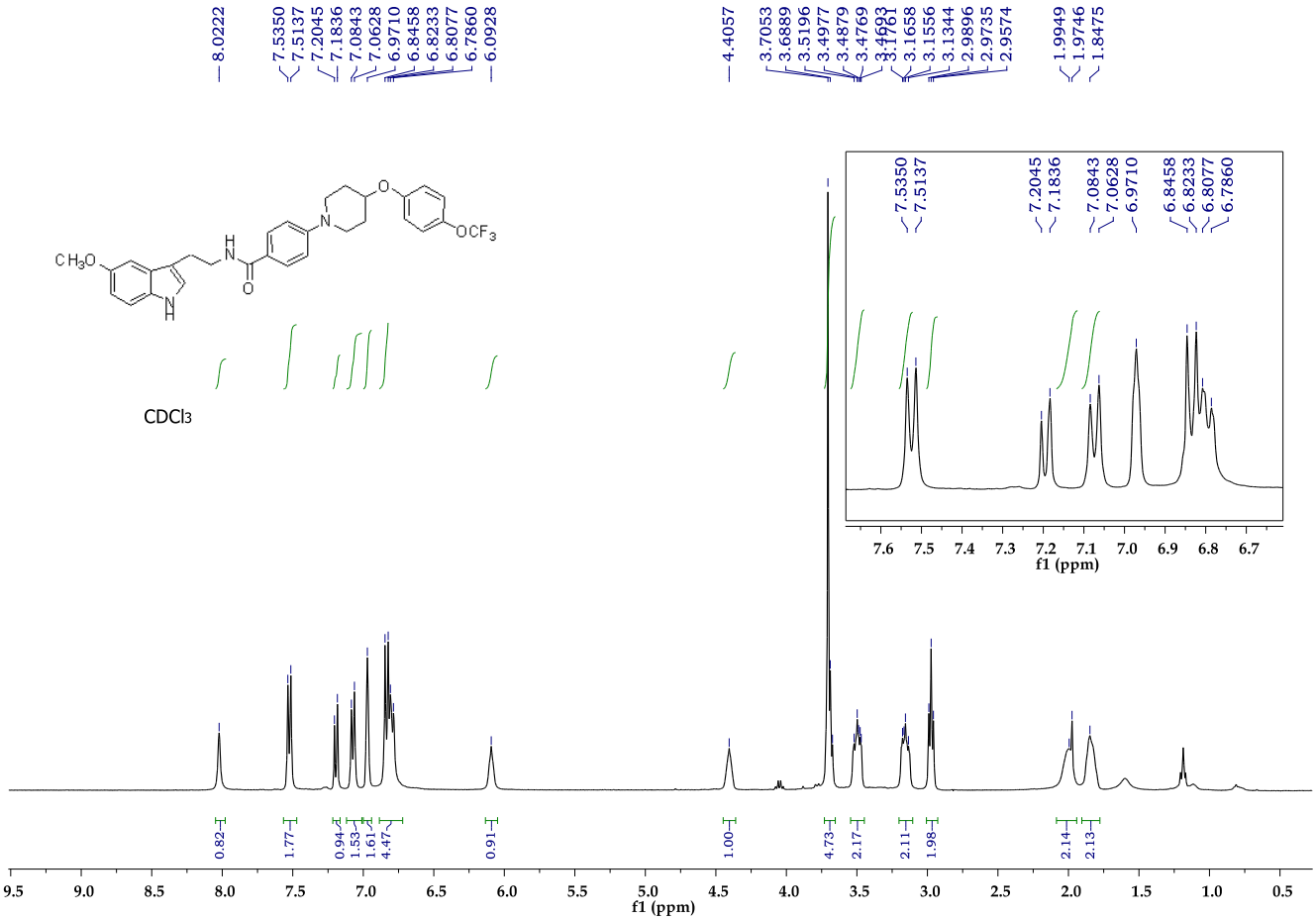


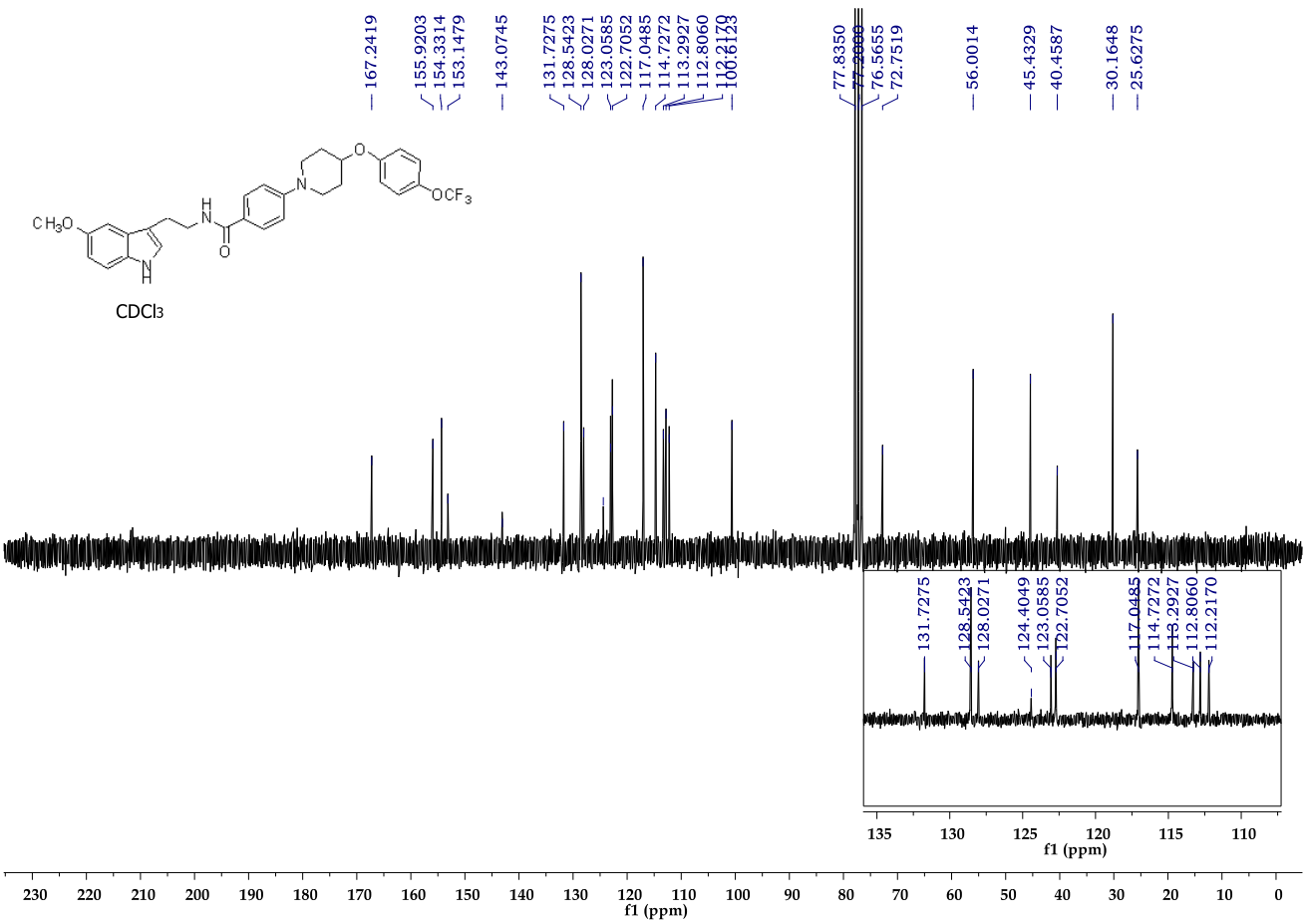
Φάσμα ^{1}H του 6-[4-(τριφθορομεθοξυ)φαινυλο]νικοτινονιτριλίου (14) . 400MHz



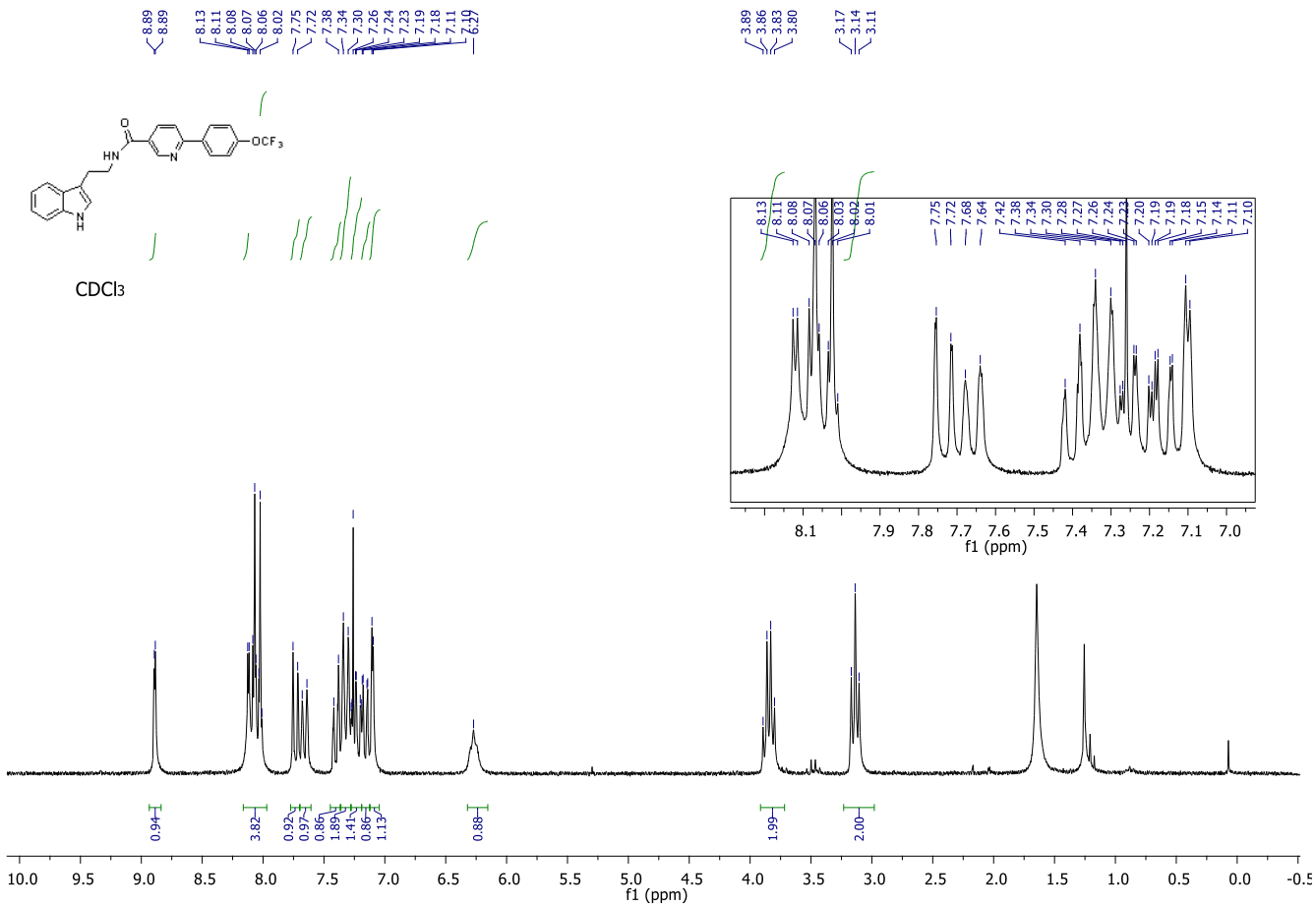


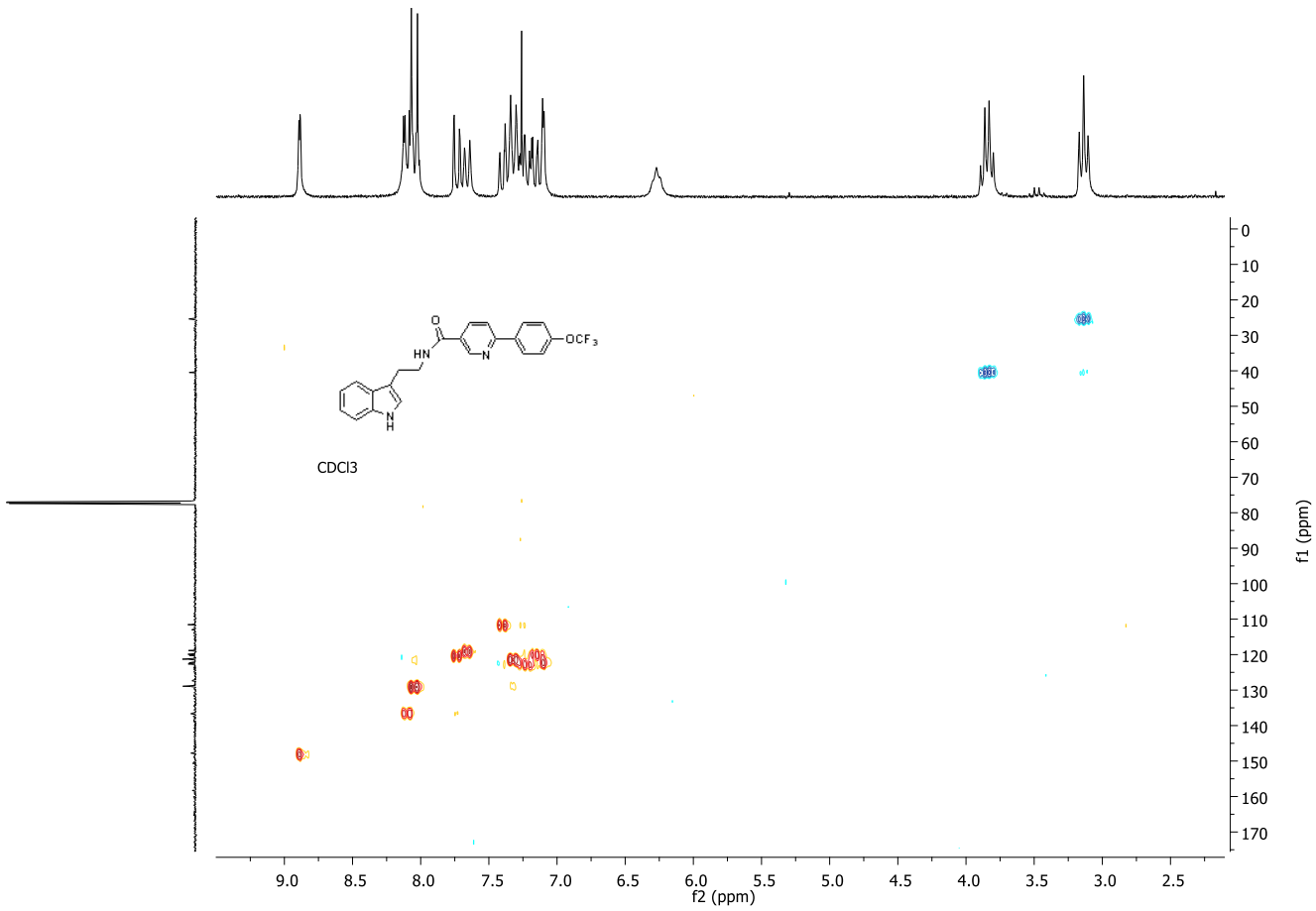
Φάσμα ^{1}H (200 MHz) και ^{13}C (150 MHz) του *N*-[2-(1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθυλ]-4-{4-[4-(τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ]πιπεριδιν-1-υλο}βενζαμιδίου (11).



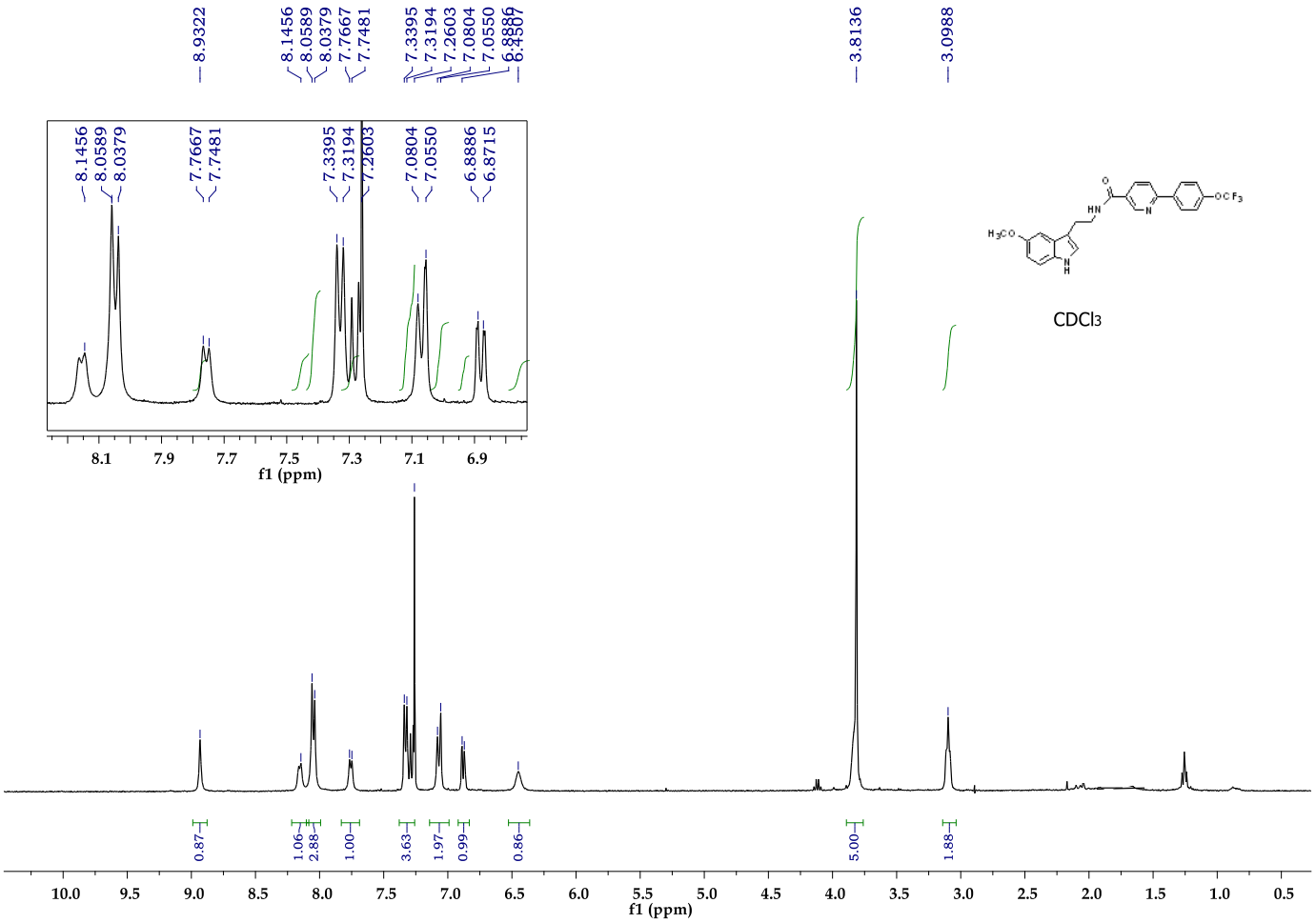


Φάσμα ^{1}H (400 MHz) και ^{13}C (50 MHz) του *N*-[2-(5-μεθοξυ-1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθυλο]-4-{4-[4-(τριφθορομεθοξυ) φαινοξυ]πιπεριδιν-1-υλ}βενζαμιδιου (12)

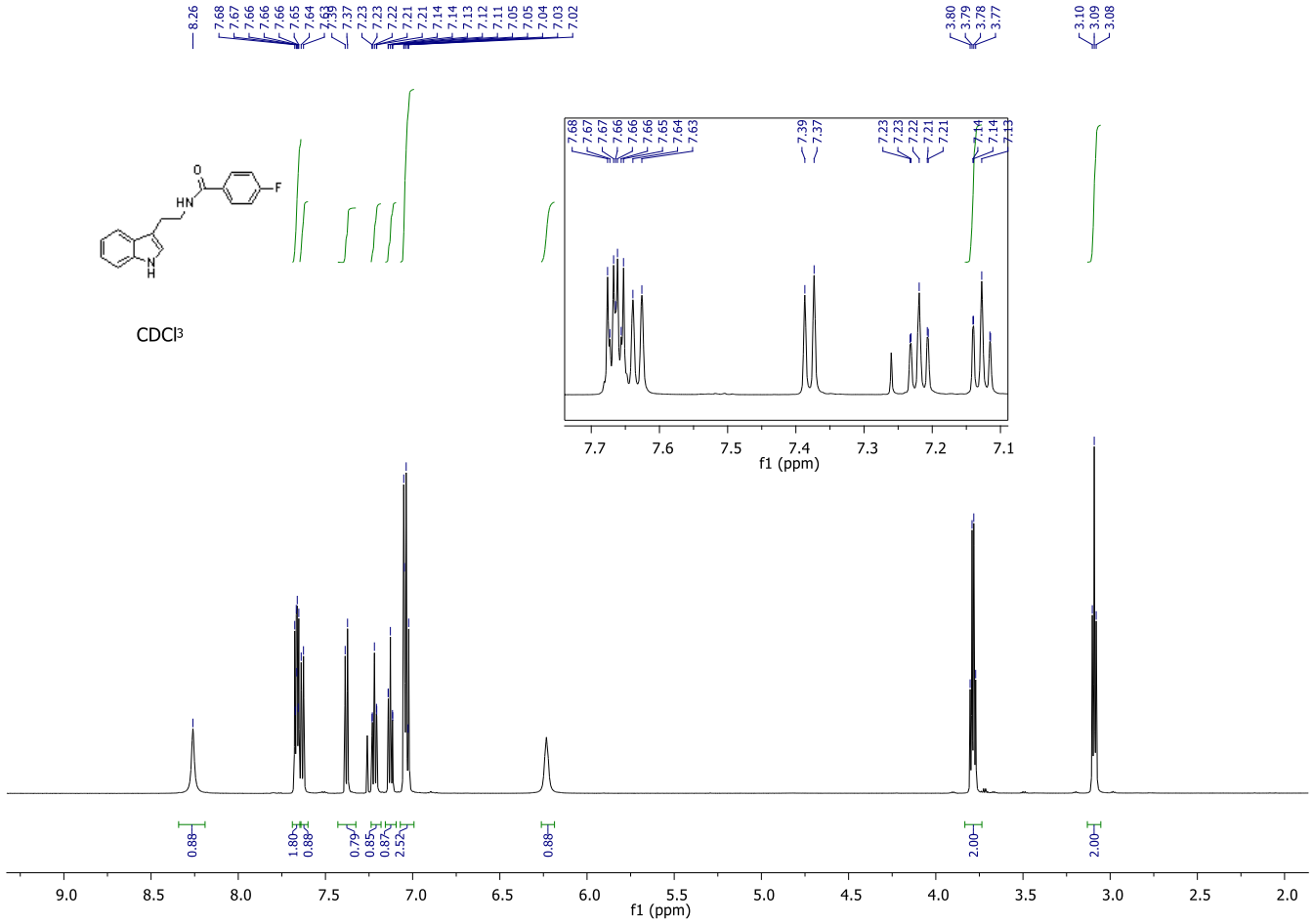


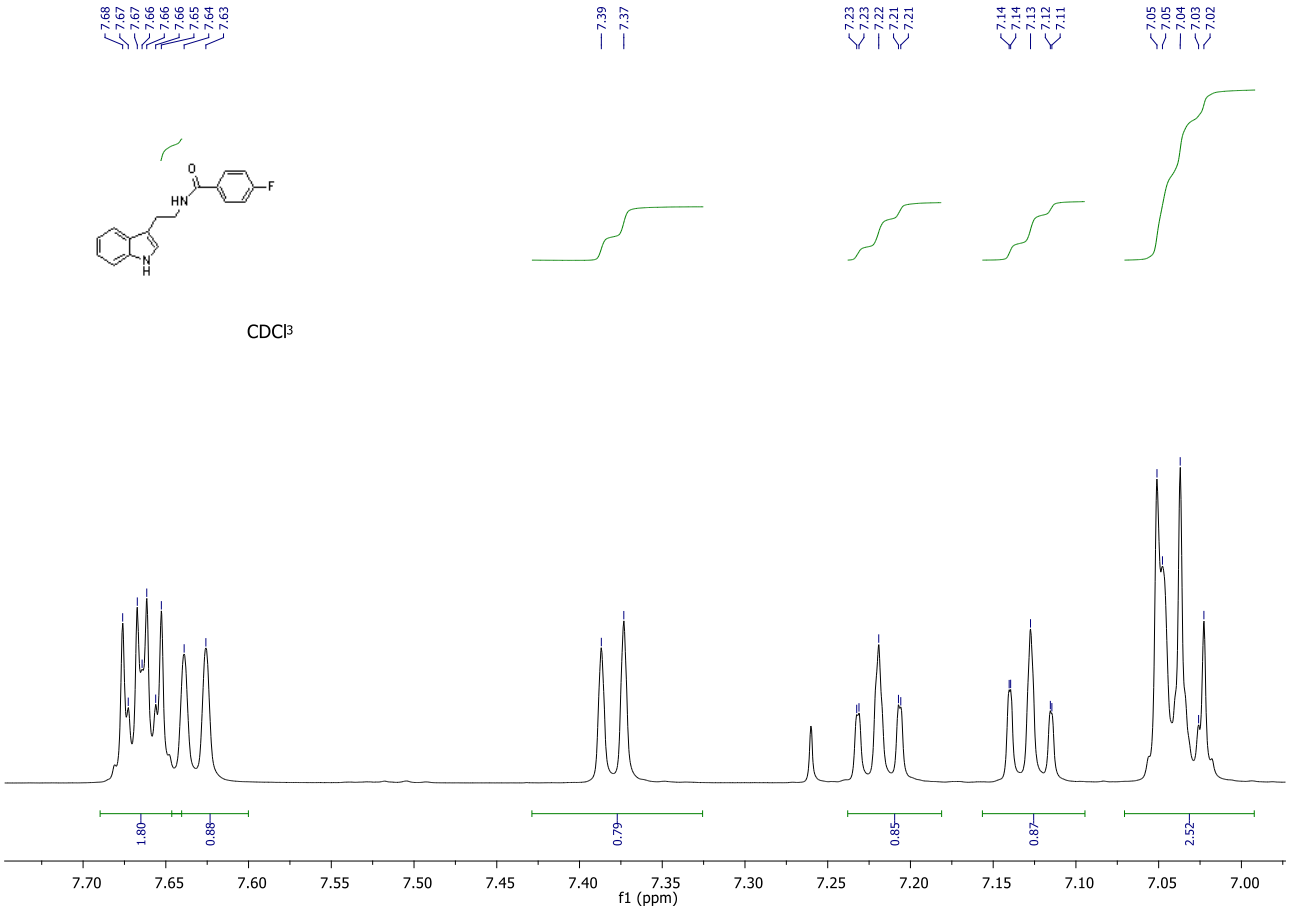


Φάσμα ^{1}H (400 MHz) και HSQC (400 MHz) του *N*-[2-(1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθυλο]-6-[4-(τριφθορομεθοξυ) φαινυλο]νικοτιναμιδιου (16)

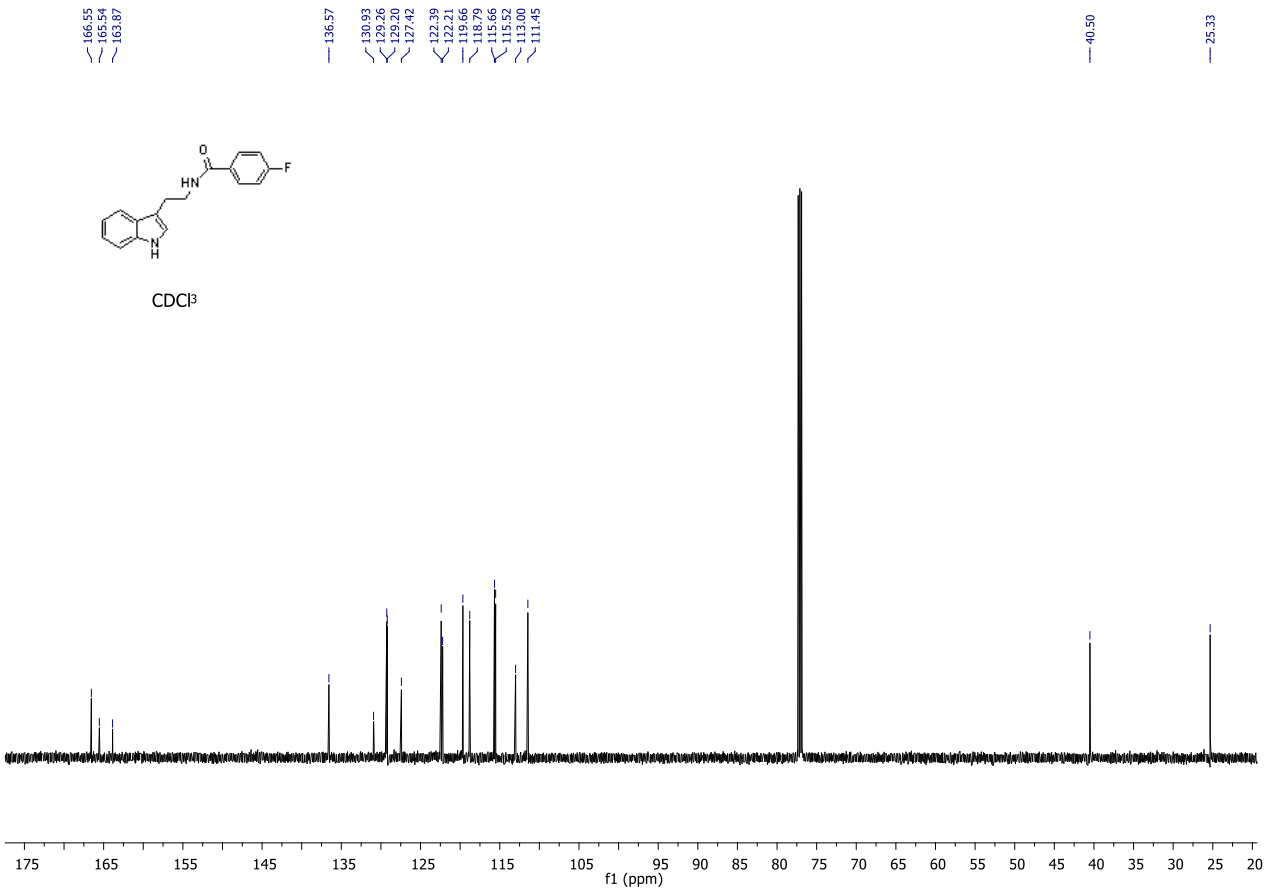


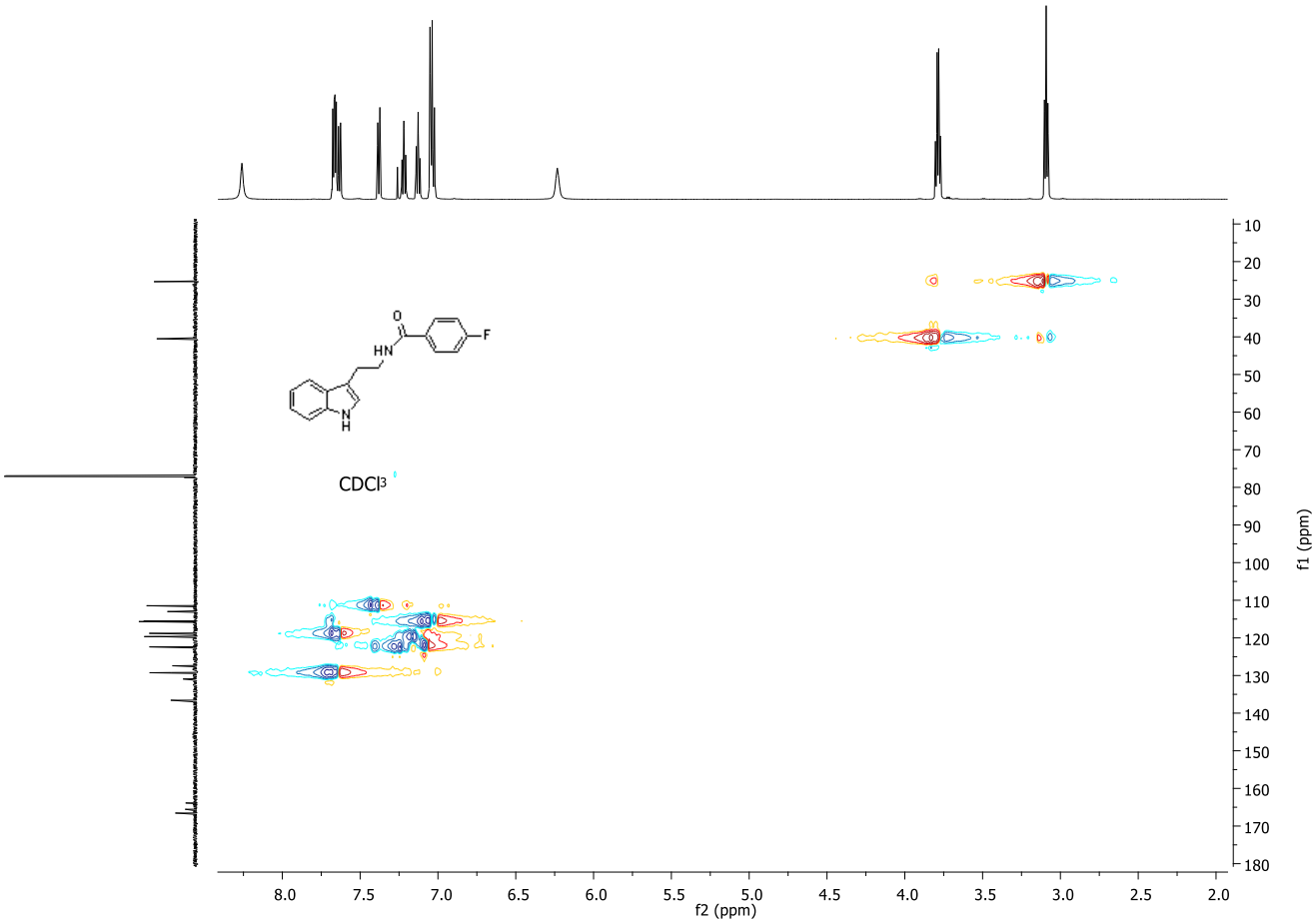
Φάσμα ^{1}H (400 MHz) του *N*-[2-(5-μεθοξυ-1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθυλο]-6-[4-(τριφθορομεθοξυ) φαινυλο] νικοτιναμιδίου (17)



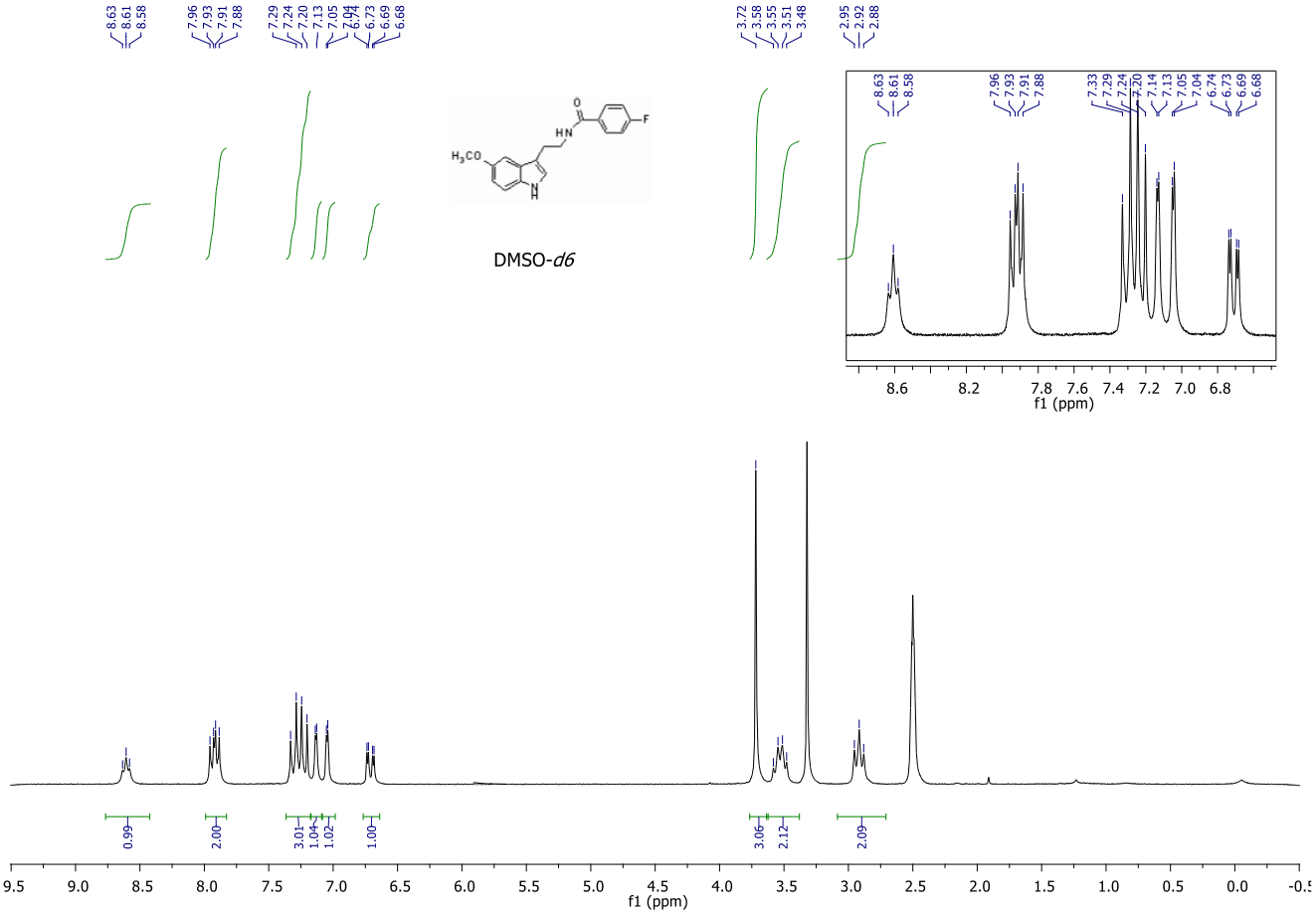


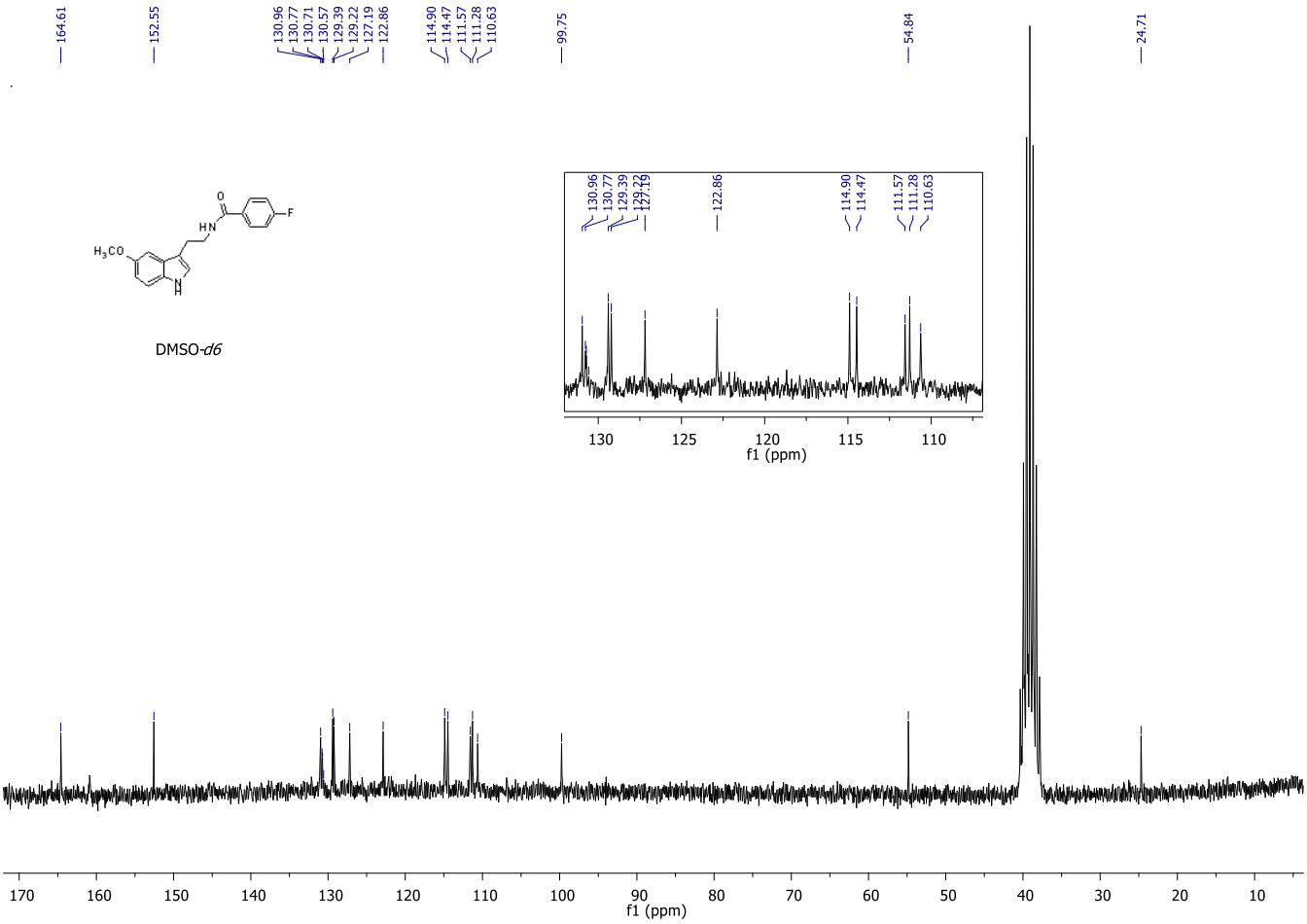
Φάσμα ^{1}H (600 MHz) του *N*-(2-(1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθυλο)-4-φθοροβενζαμιδιου (20)



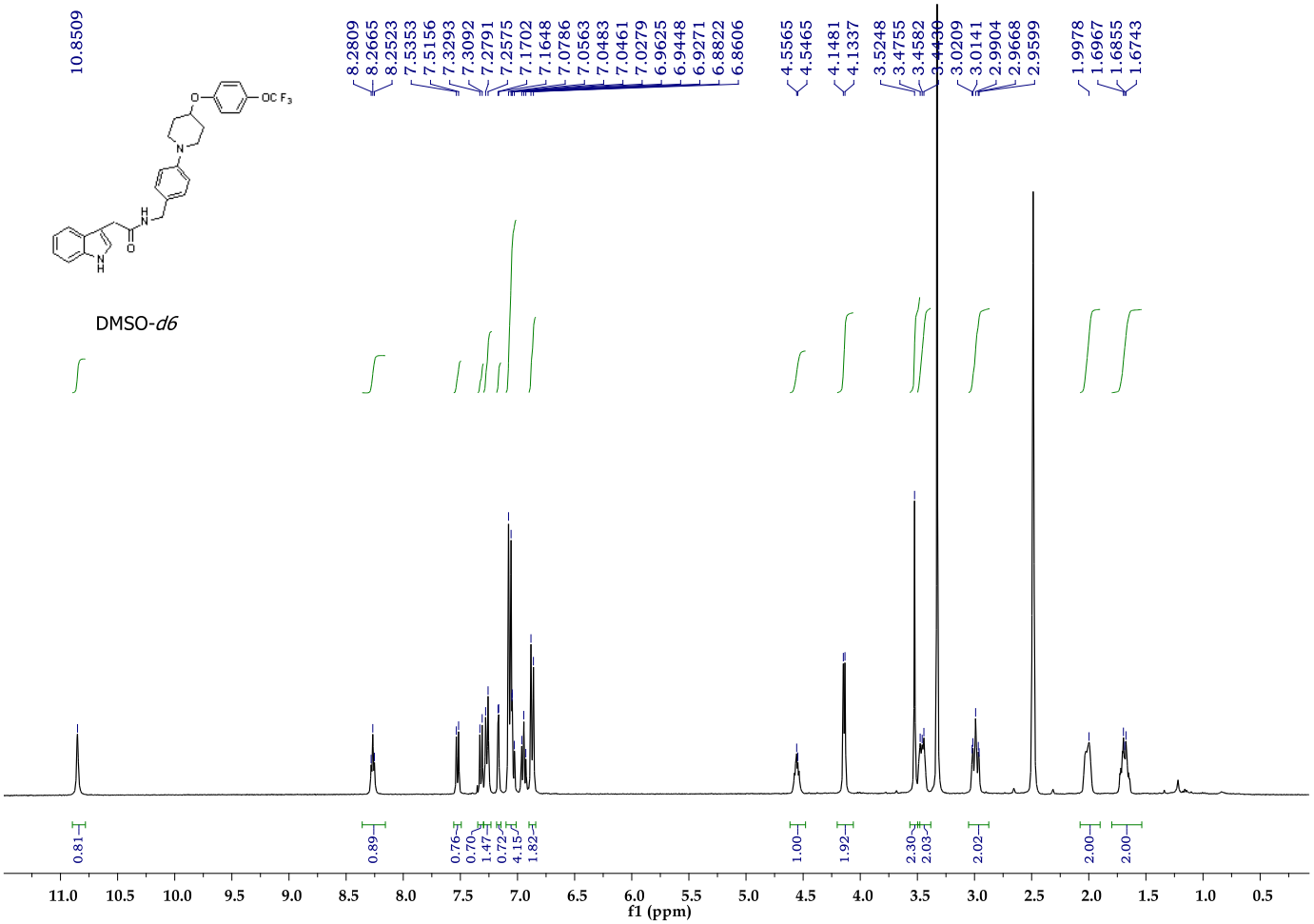


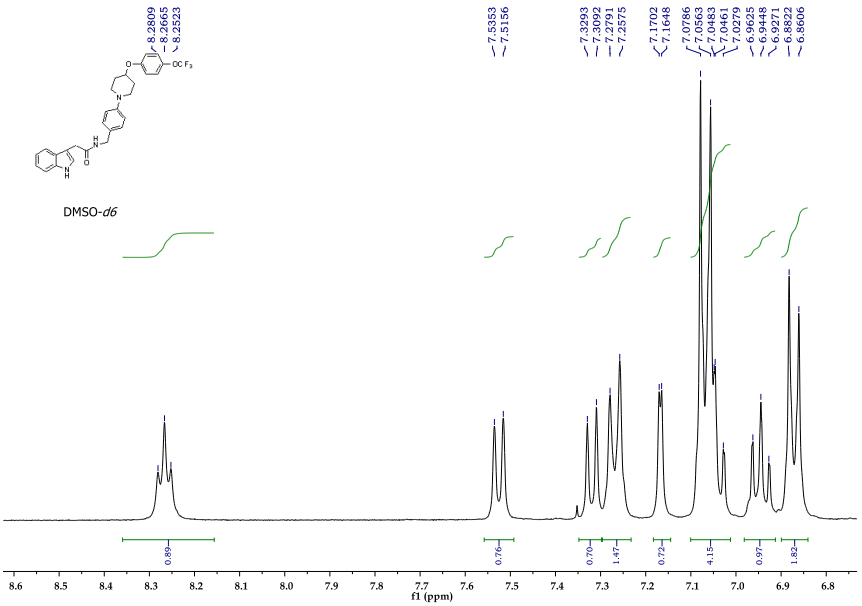
Φάσμα ^{13}C (600 MHz) και HSQC (600 MHz) του *N*-(2-(1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθυλο)-4-φθοροβενζαμιδιου (20)



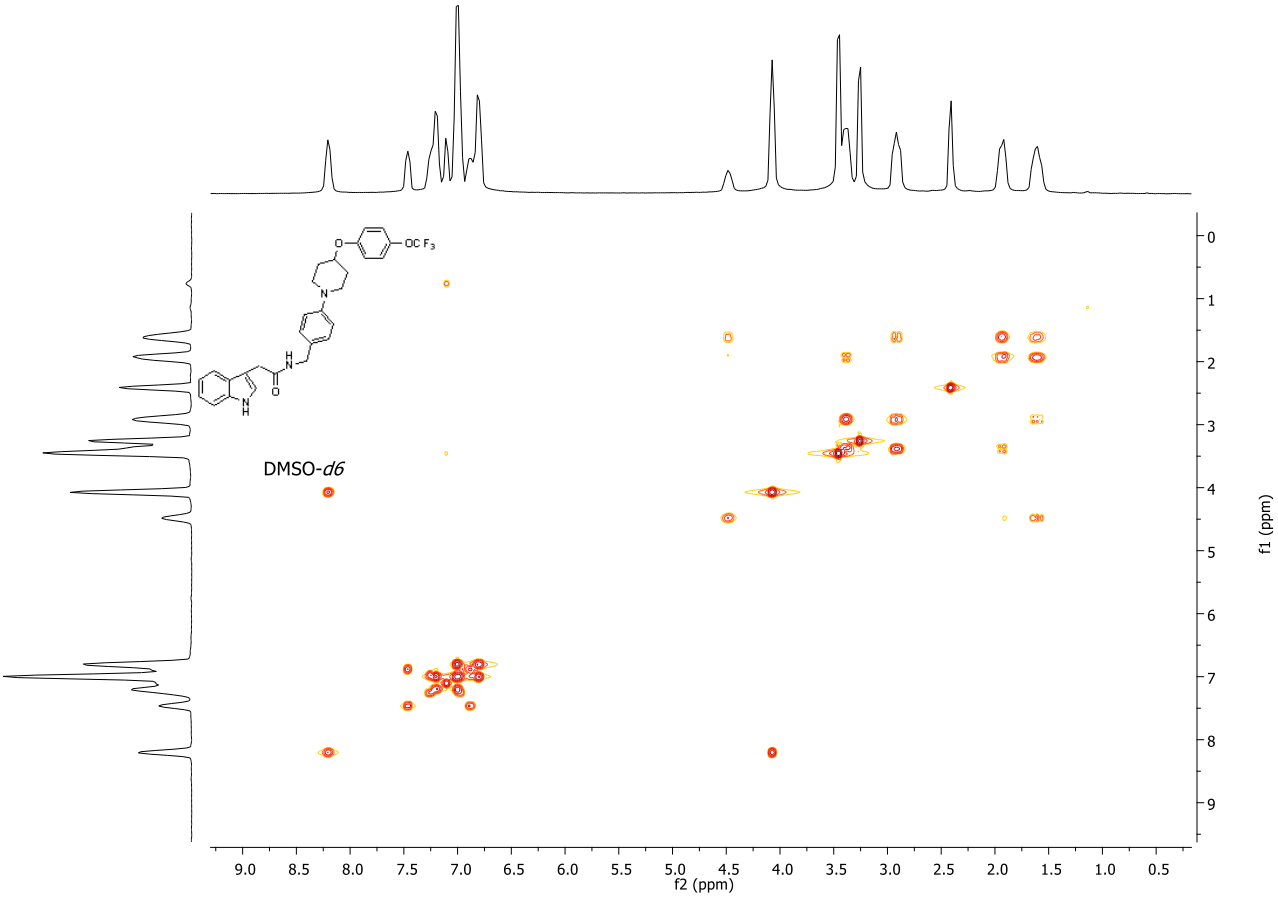


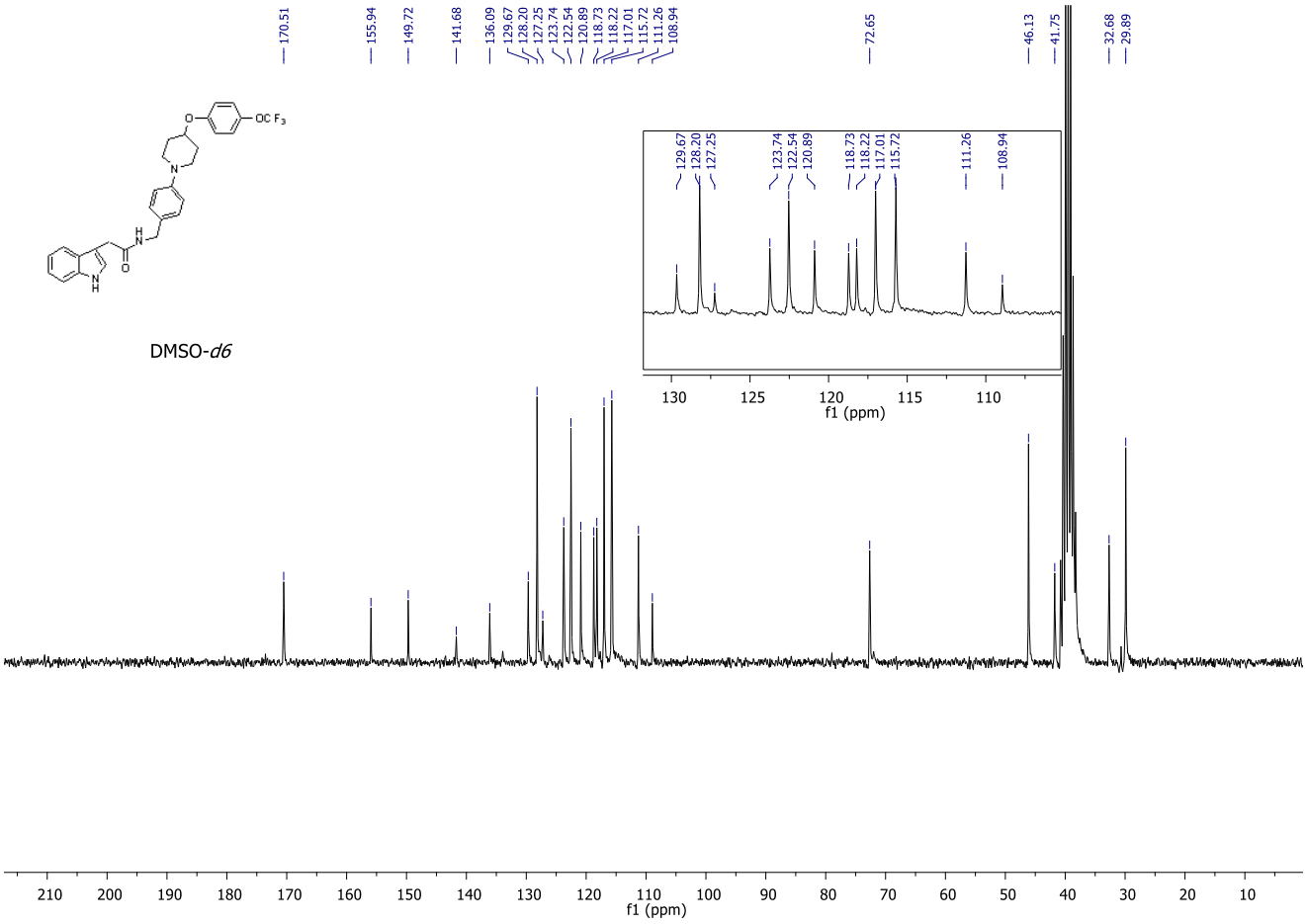
Φάσμα ^{1}H (200 MHz) και ^{13}C (50 MHz) του 4-φθορο-*N*-[2-(5-μεθοξυ -1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθυλο]βενζαμιδιου (21)



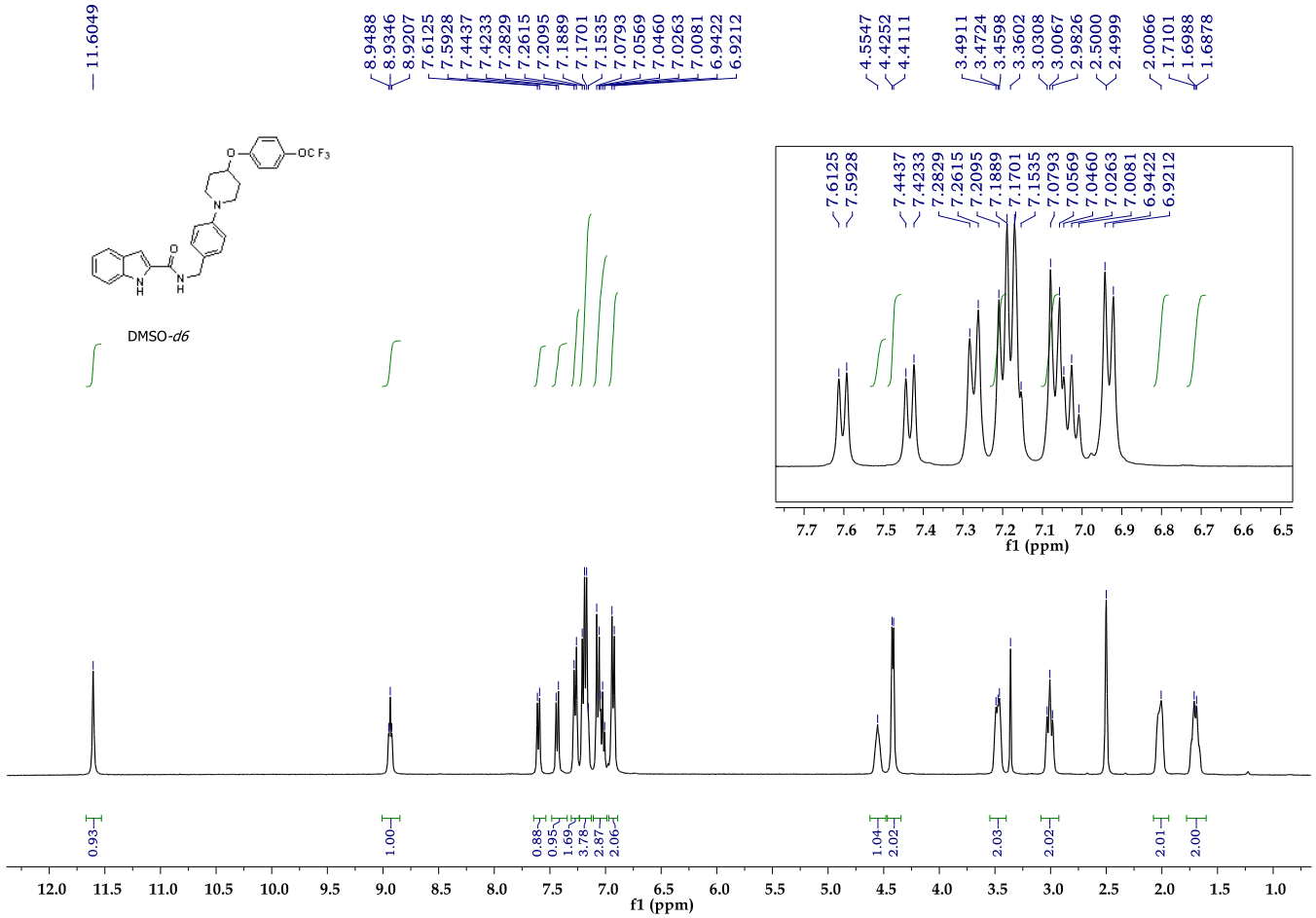


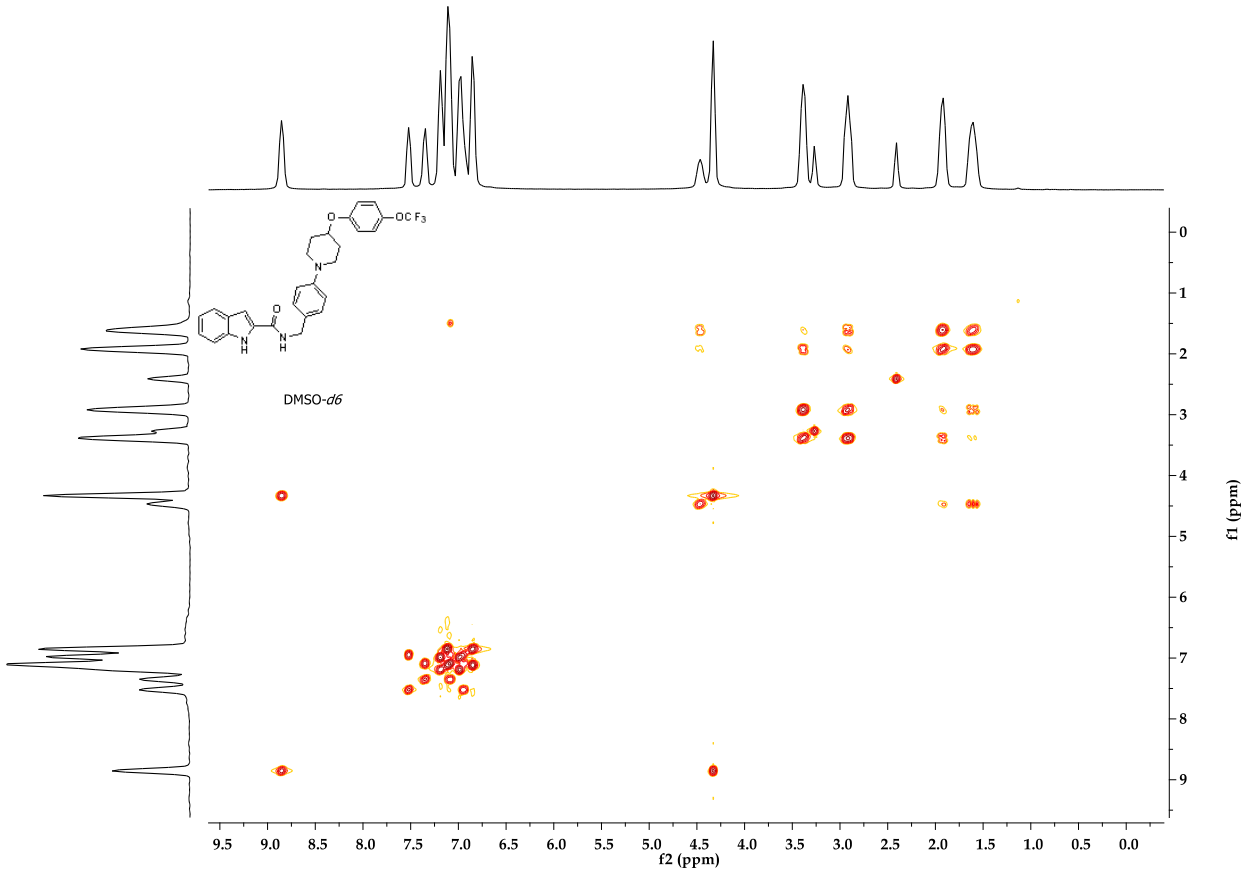
Φάσμα ^{1}H (400 MHz) του 2-(1*H*-ινδολ-3-υλ)-*N*-{4-[4-(4-(τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ)πιπεριδιν-1-υλο]βενζυλ}ακεταμίδιου (23)



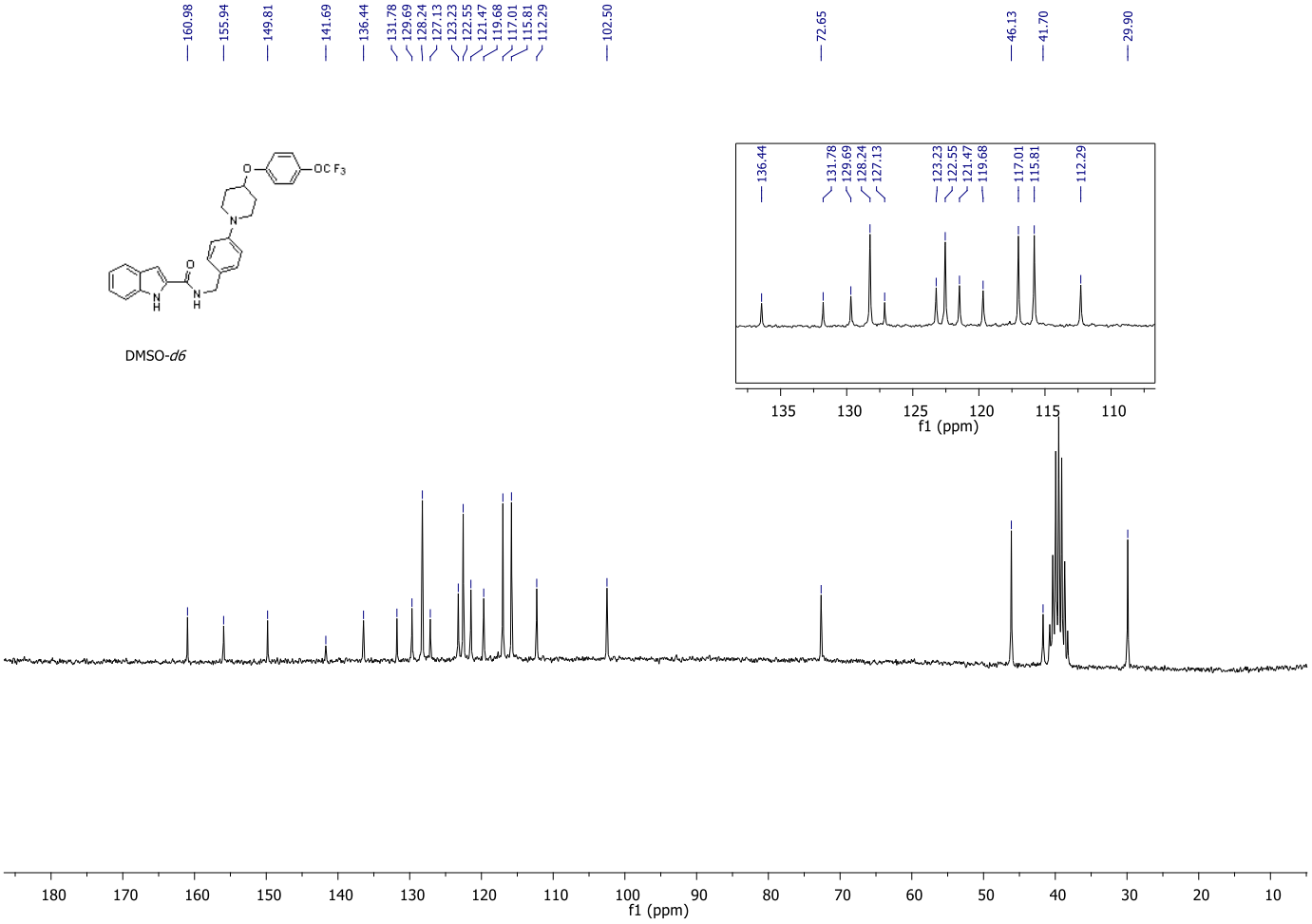


Φάσμα COSY (400 MHz) και ^{13}C (50 MHz) του 2-(1*H*-ινδολ-3-υλ)-*N*-{4-[4-(4-(τριφθοτομεθοξυ)φαινοξυ)πιπεριδιν-1-υλο]βενζυλ}ακεταμίδιου (23)

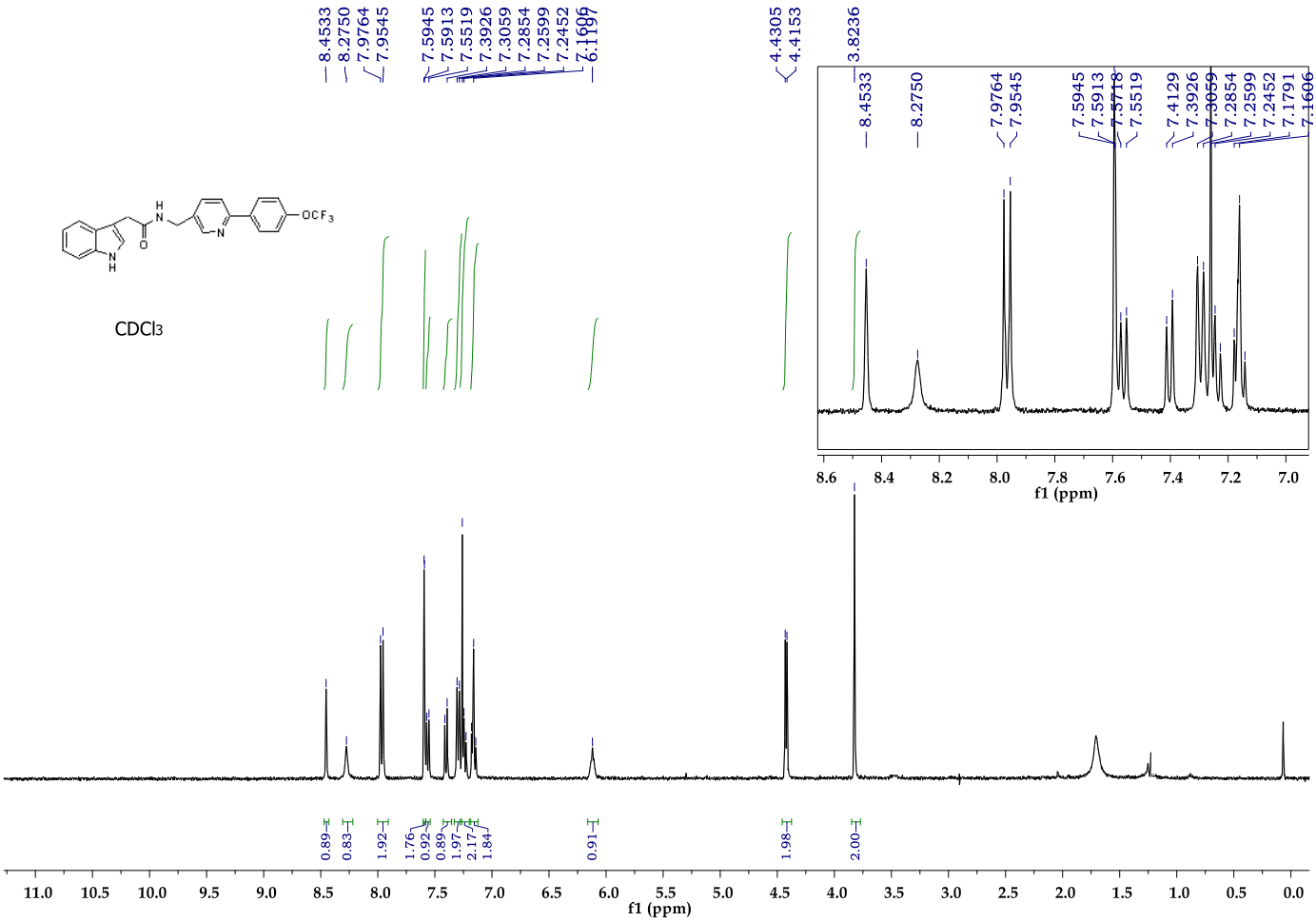




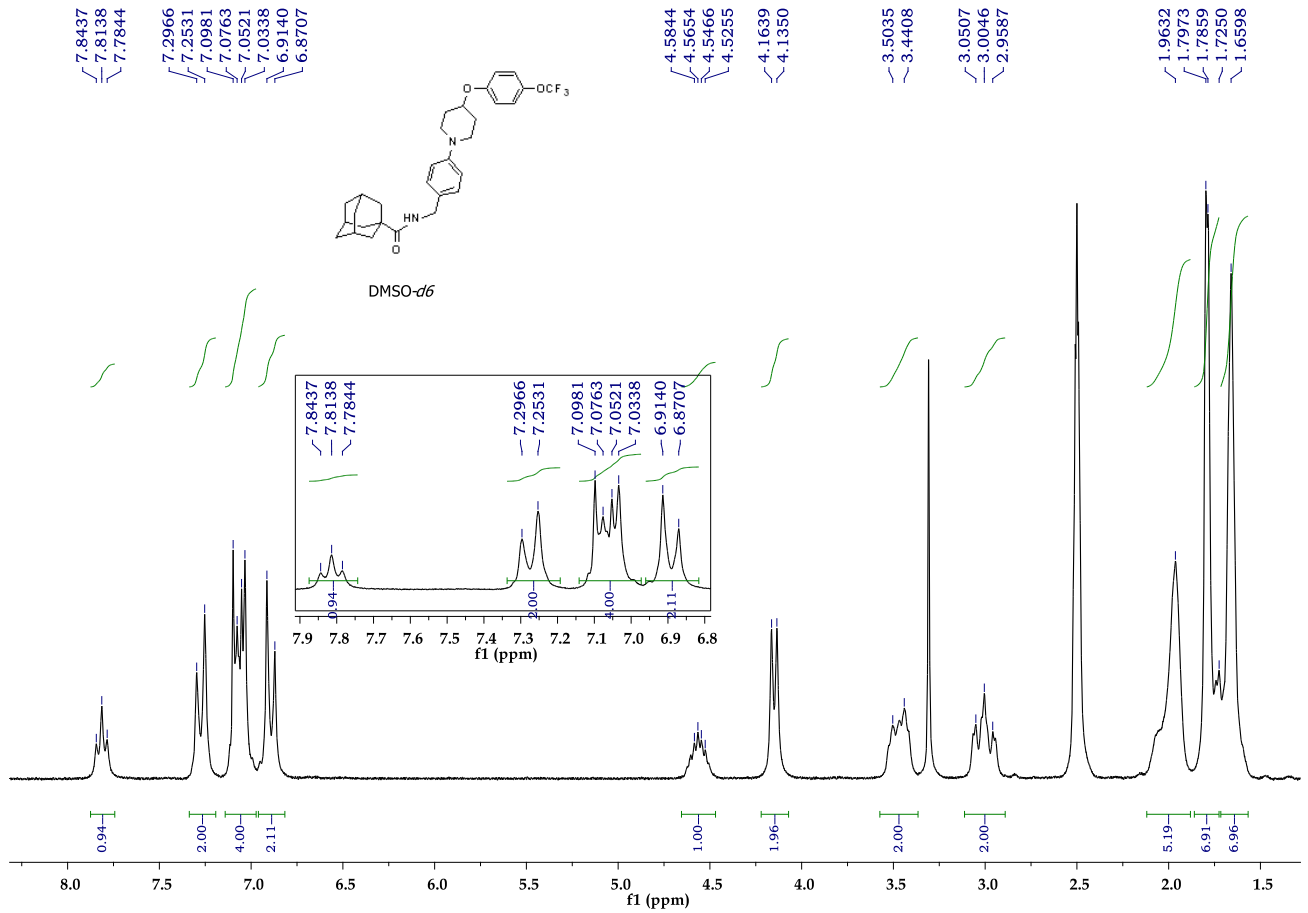
Φάσμα ^{1}H (400 MHz) και COSY (400 MHz) του *N*-{4-[4-(4-(τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ)πιπεριδιν-1-υλ]βενζυλ}-1*H*-ινδολο-2-καρβοξαμιδιου (24)

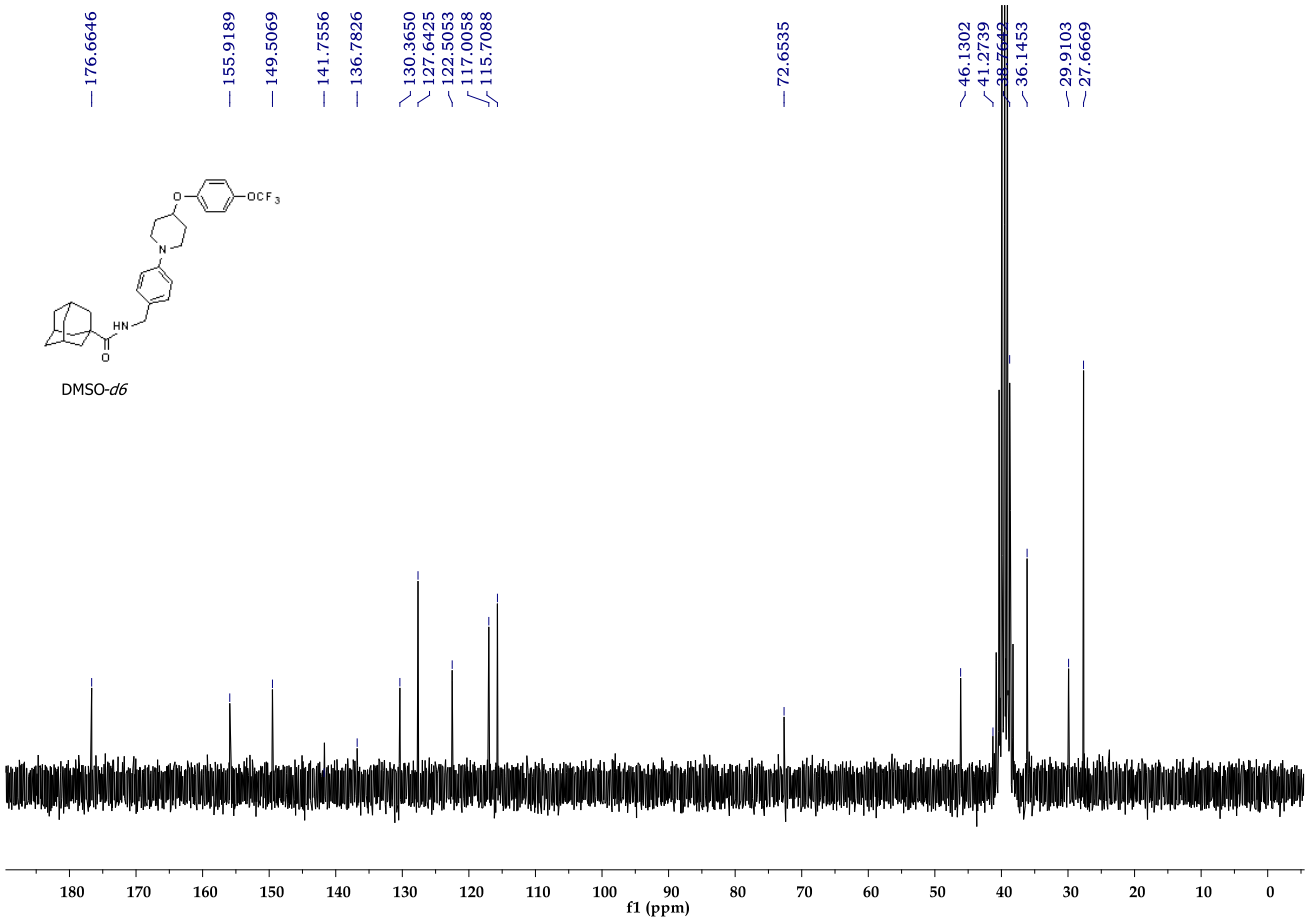


Φάσμα ^{13}C (50 MHz) του *N*-{4-[4-(4-(τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ)πιπεριδιν-1-υλ]βενζυλ}-1*H*-ινδολο-2-καρβοξαμιδιου (24)

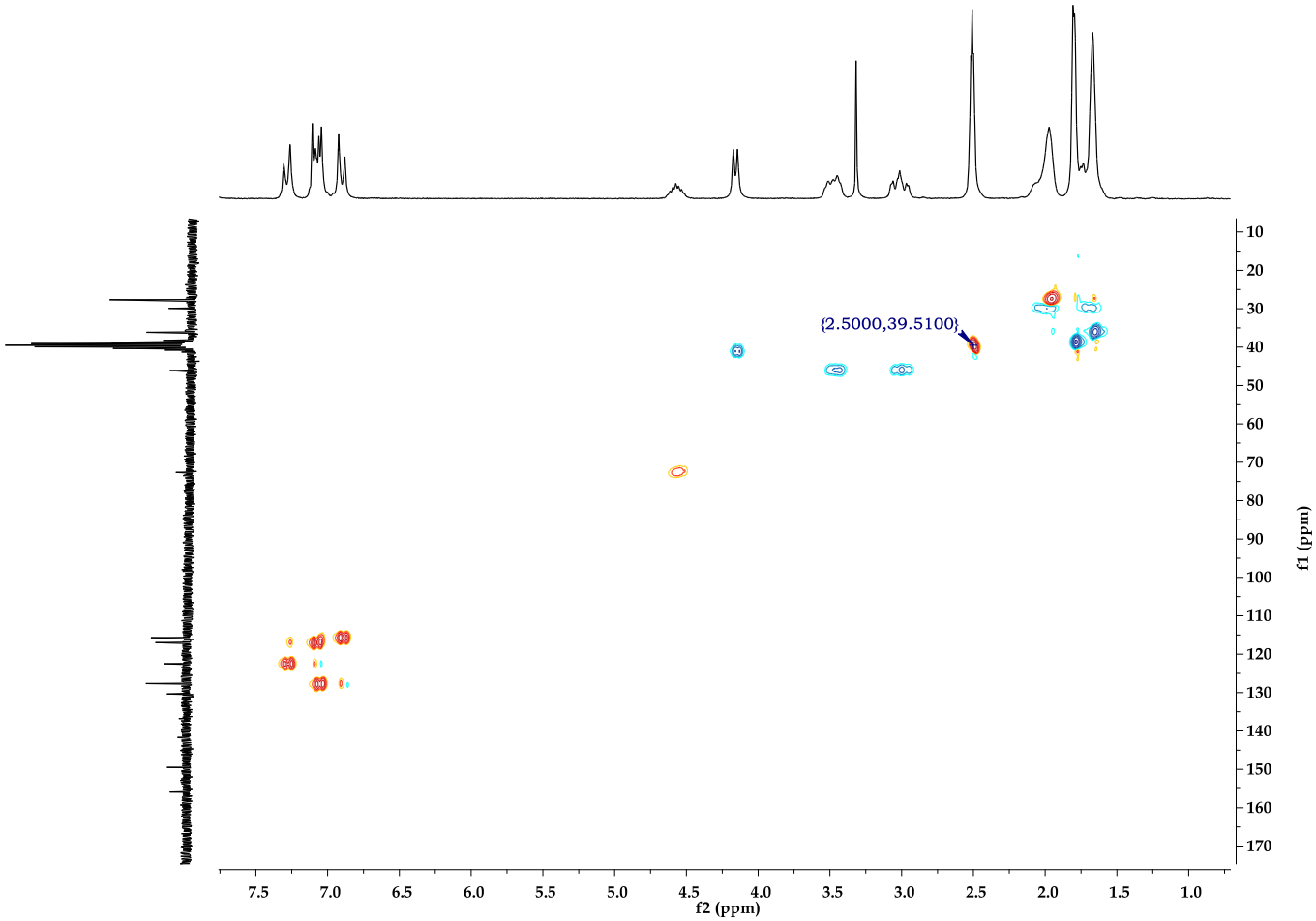


Φάσμα ^{1}H (400 MHz) του 2-(1*H*-ινδολ-3-υλο)-*N*-[{6-(4-(τριφθορομεθοξυ)φαινυλο)πυριδιν-3-υλο]μεθυλ}ακεταμιδίου (26)

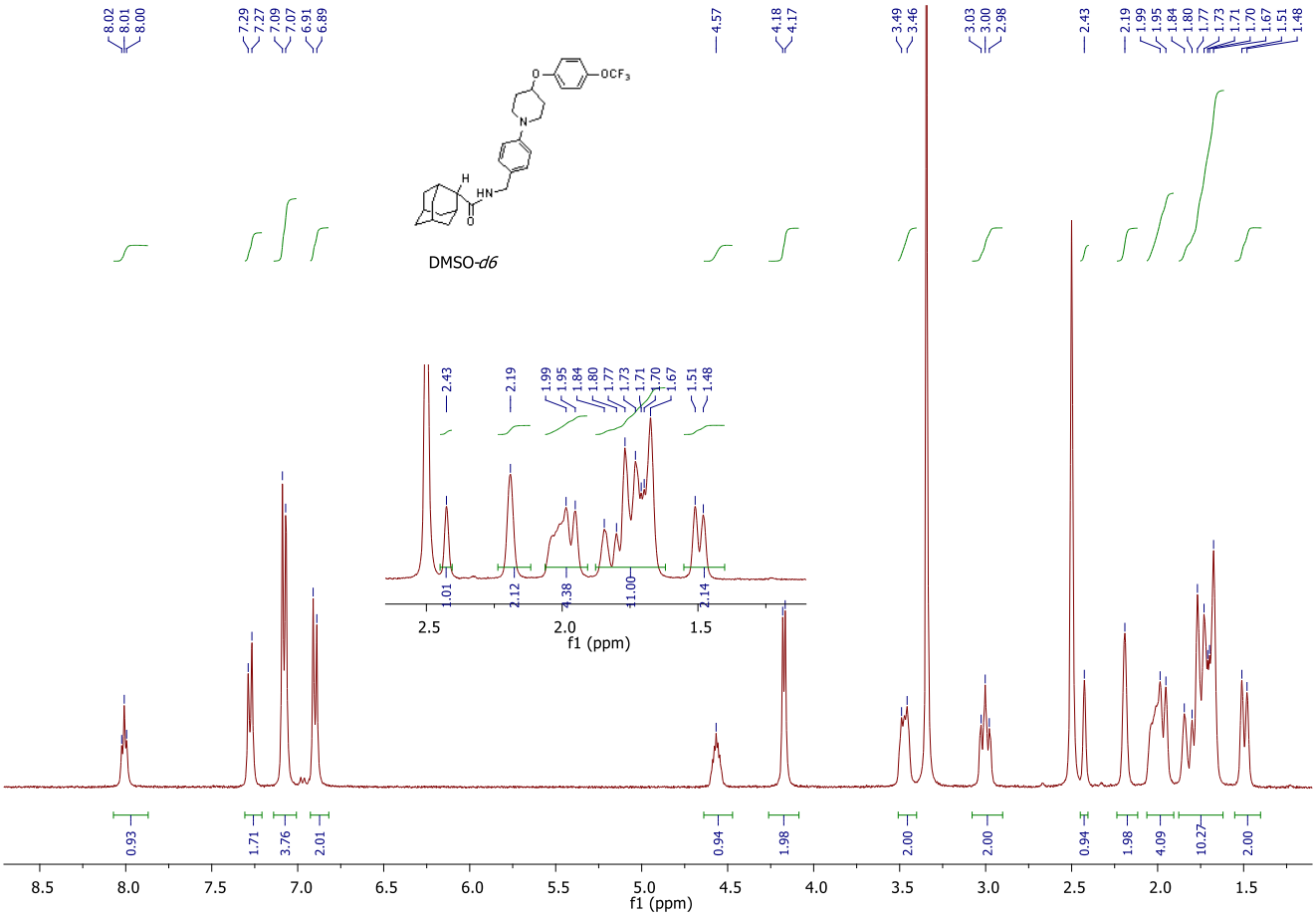


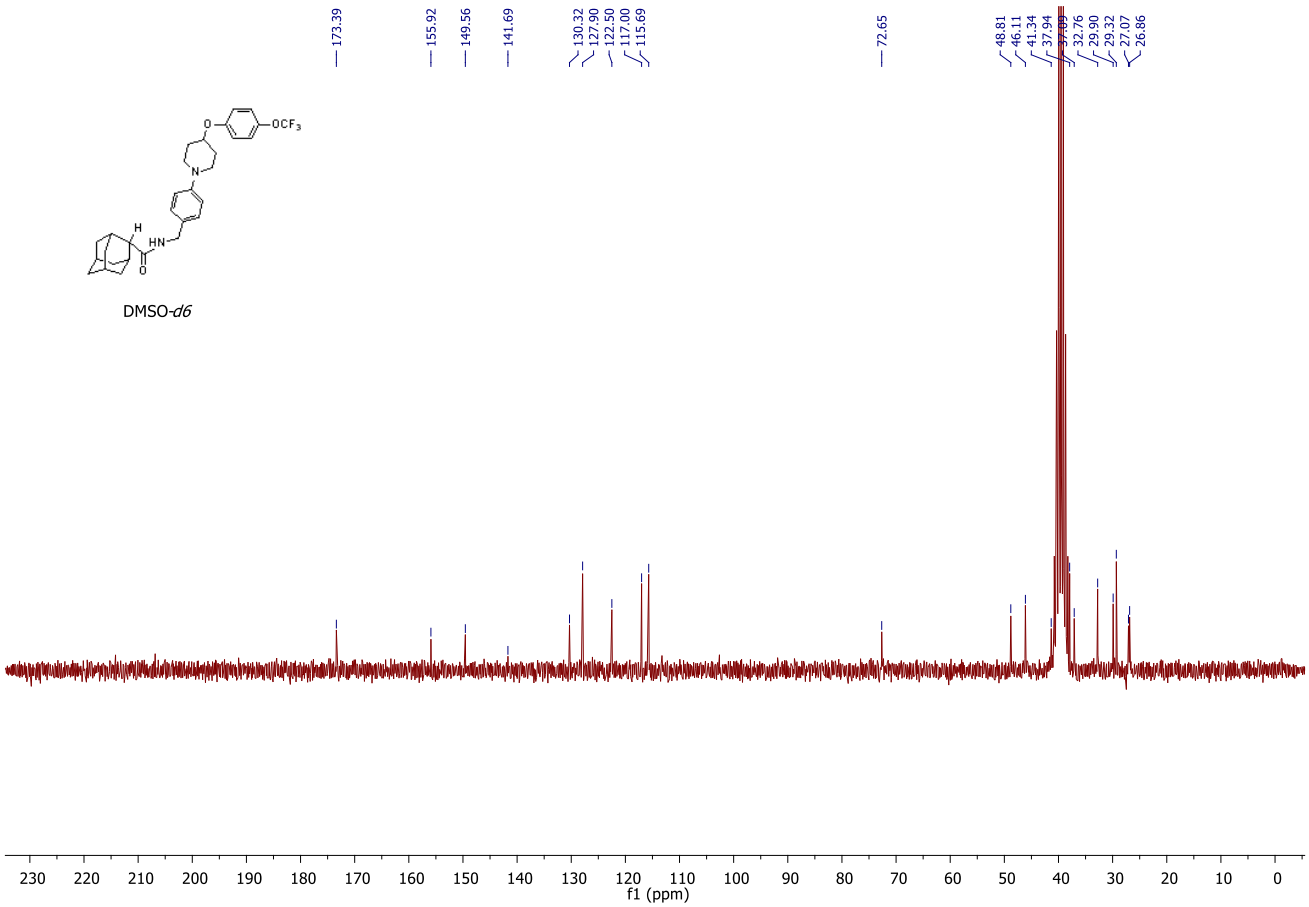


Φάσμα ^{1}H (200 MHz) και ^{13}C (50 MHz) του *N*-{4-[4-(4-(τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ)πιπεριδιν-1-υλο] βενζυλο}τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκανο-1-καρβοξαμιδίου (28)

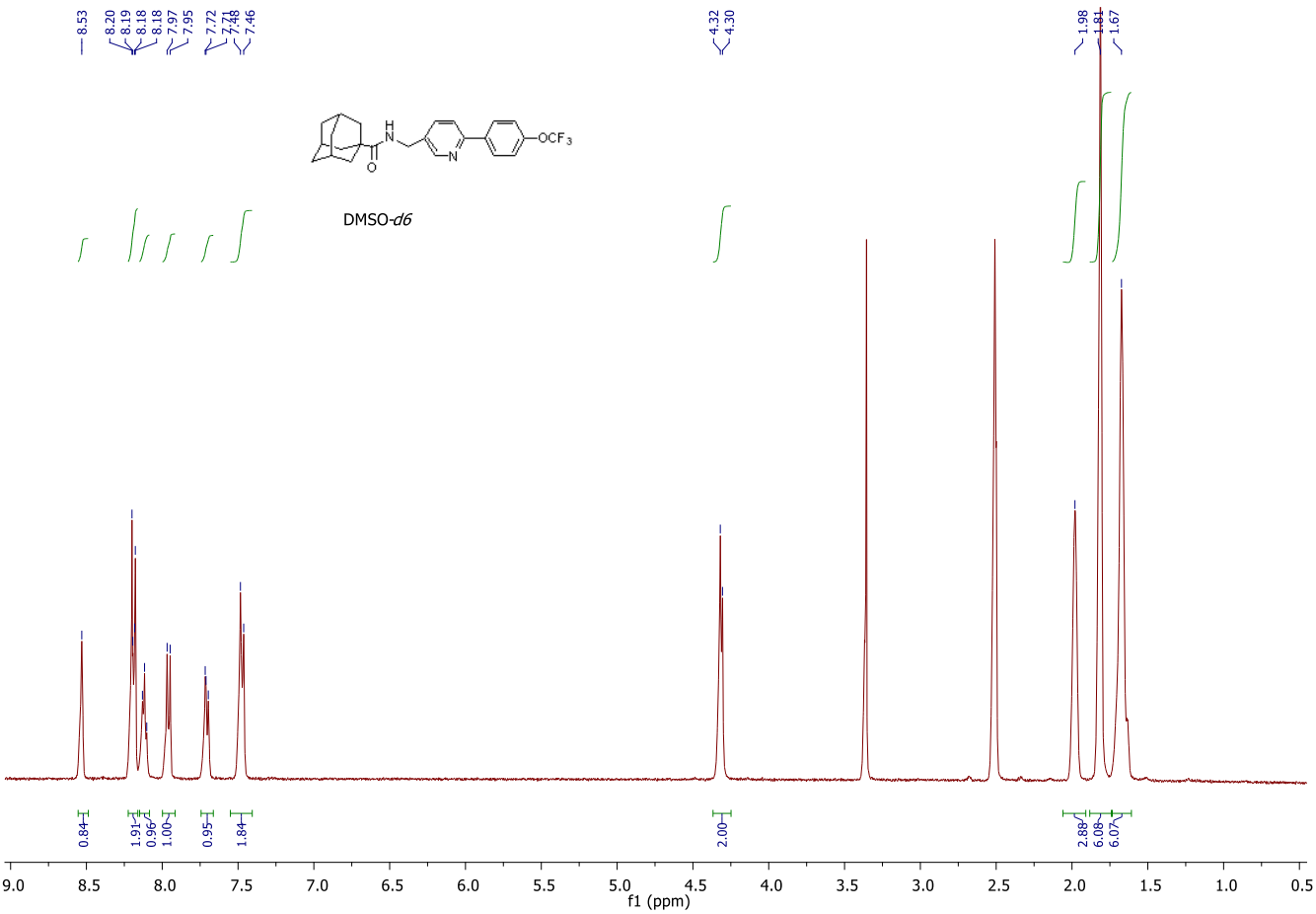


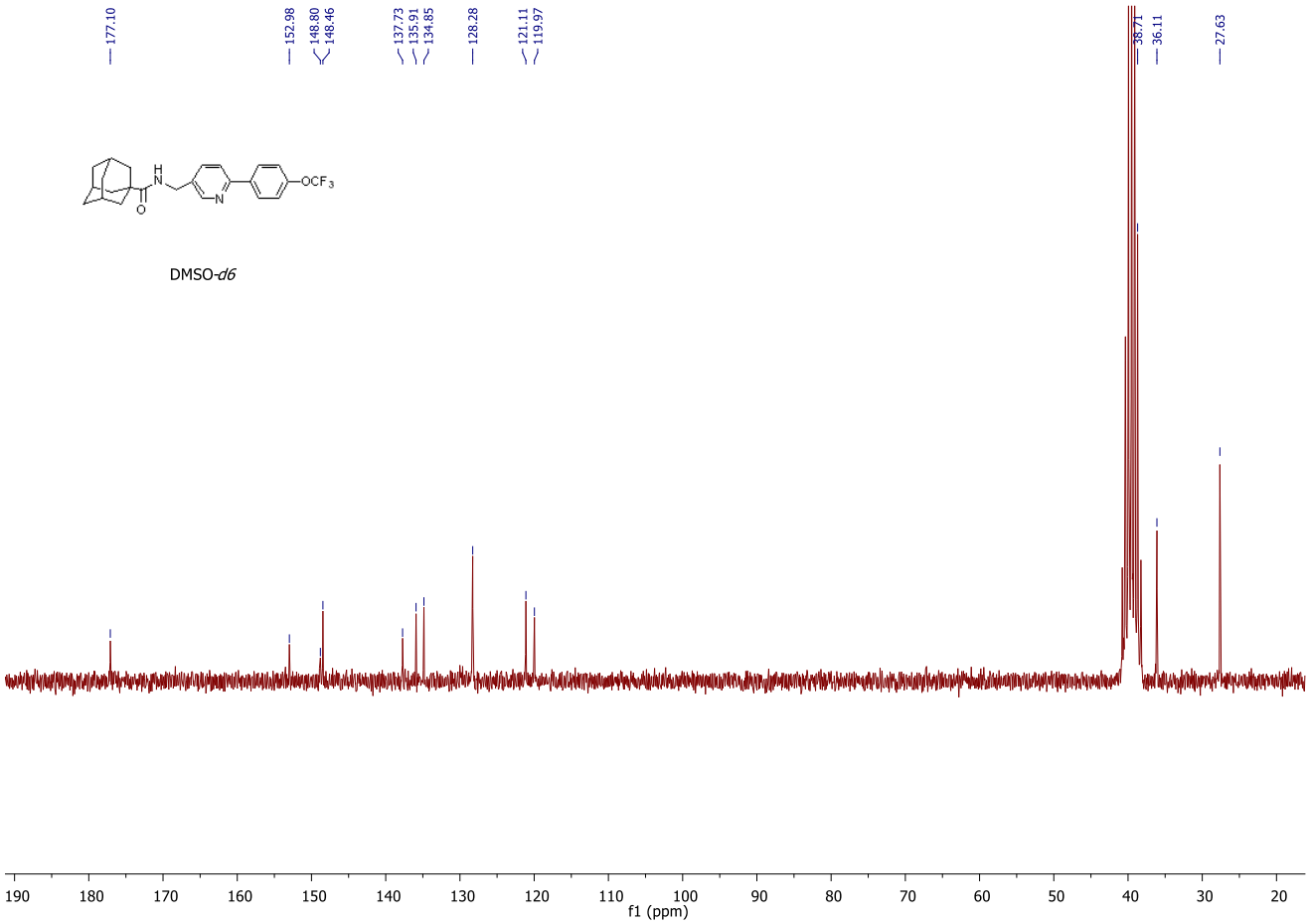
Φάσμα HSQC (200 MHz) του *N*-{4-[4-(4-(τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ)πιπεριδιν-1-υλο] βενζυλο}τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκανο-1-καρβοξαμιδίου (28)



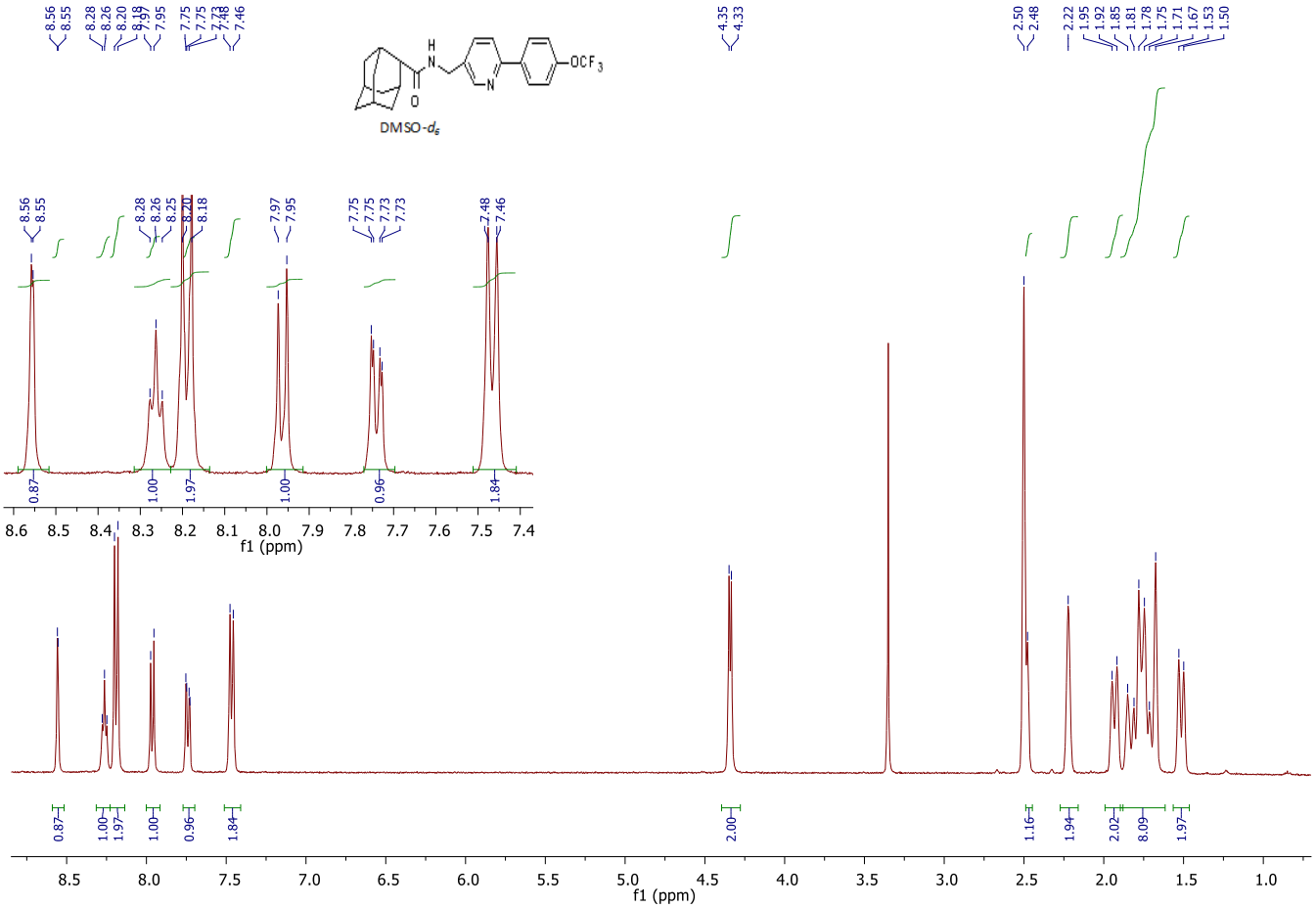


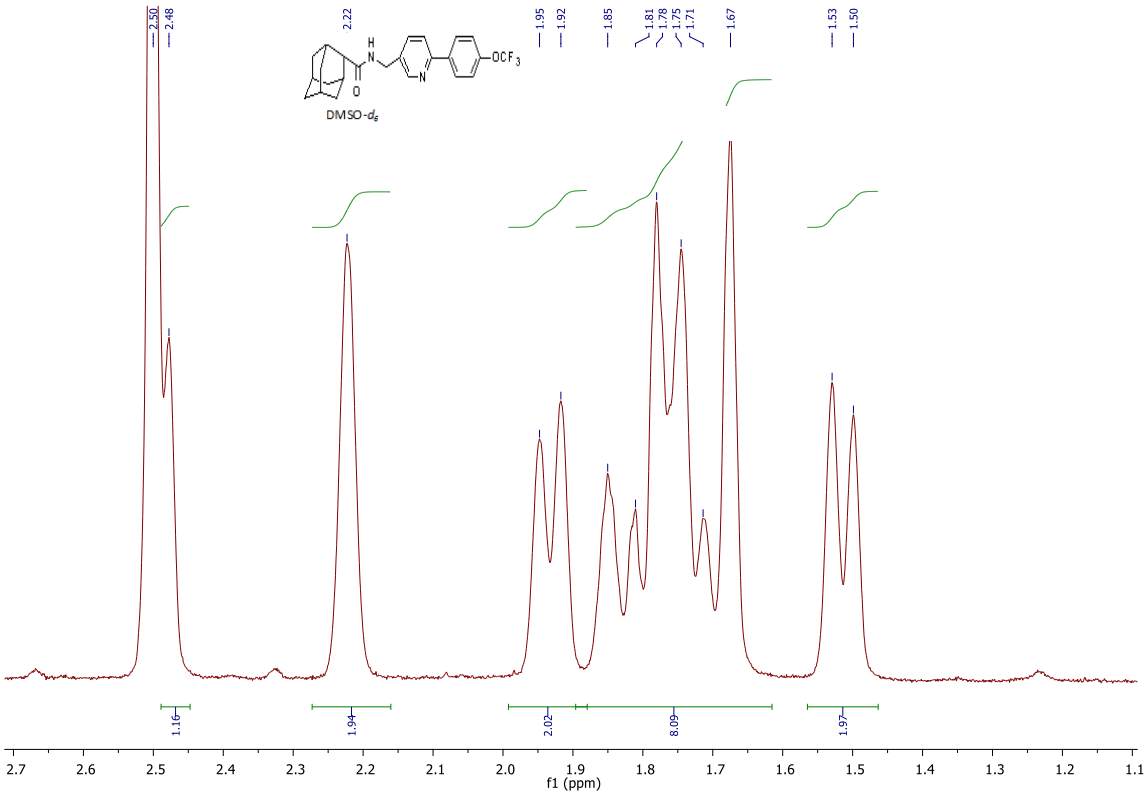
Φάσμα ^{1}H (200 MHz) και ^{13}C (50 MHz) του *N*-{4-[4-(4-(τριφθορομεθοξυ)φαινοξυ)πιπεριδιν-1-υλο]βενζυλο} τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκανο-2-καρβοξαμιδίου (33)



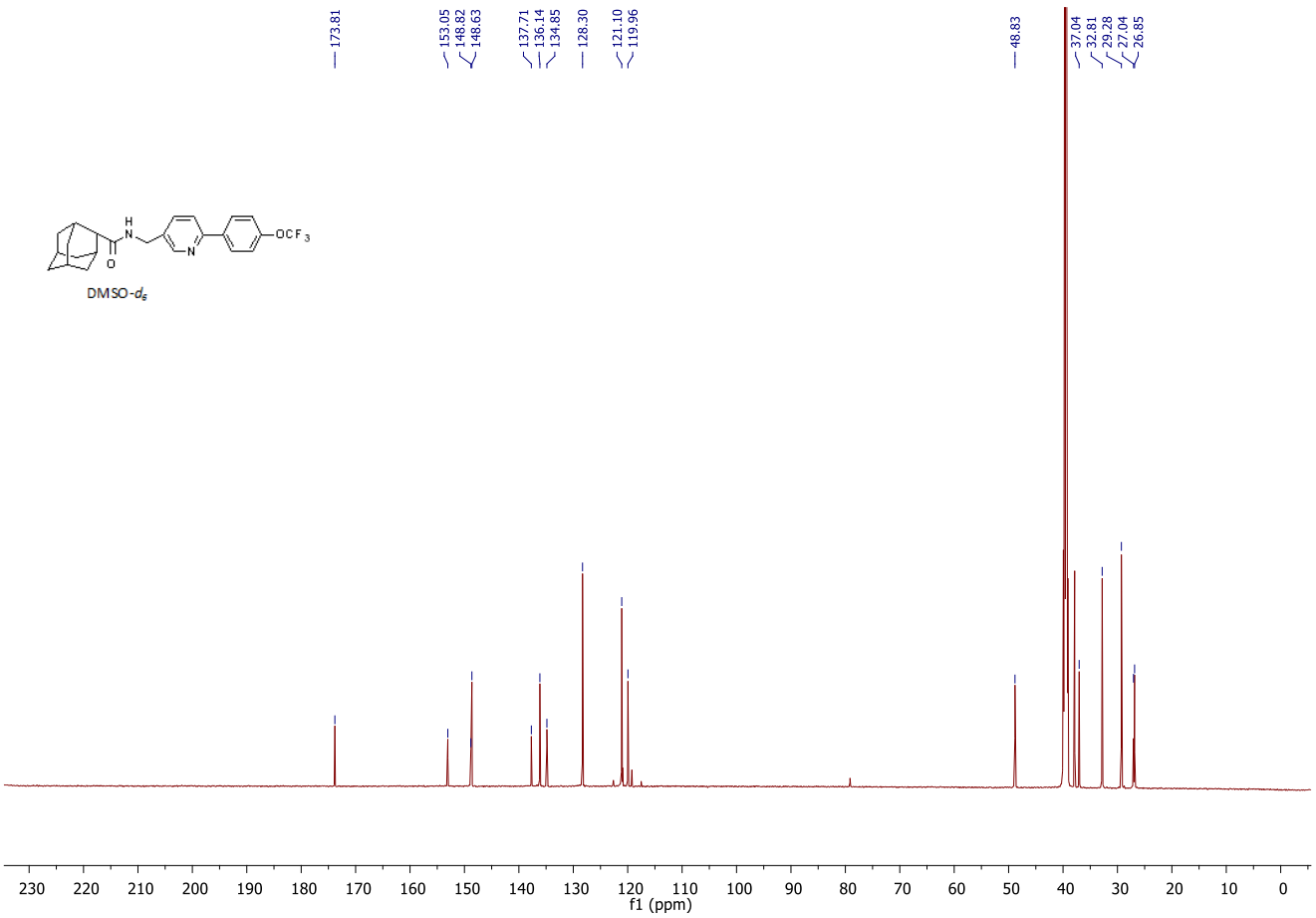


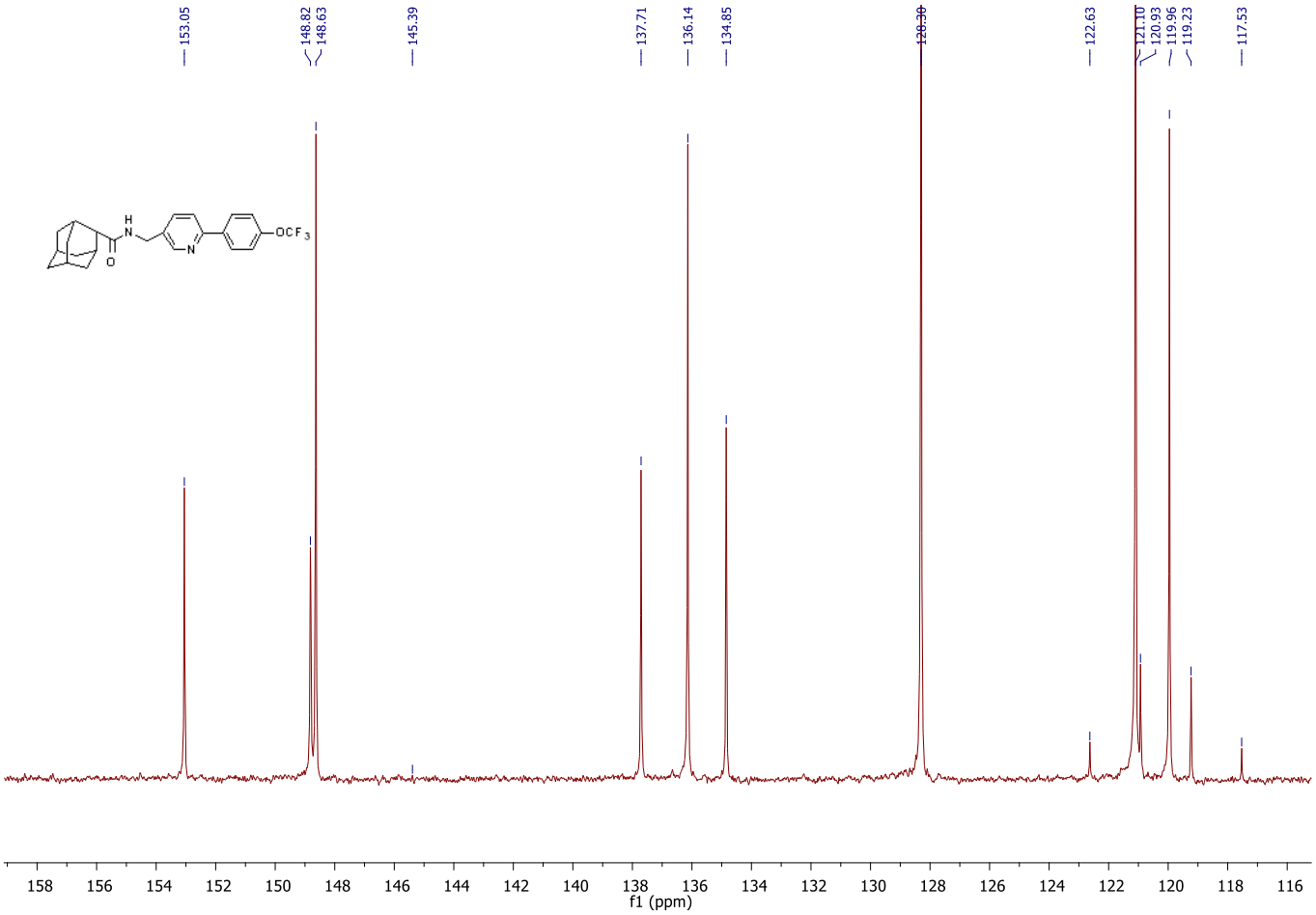
Φάσμα ^{1}H (200 MHz) και ^{13}C (50 MHz) του *N*-{[6-(4-(τριφθορομεθοξυ)φαινυλ)πυριδιν-3-υλο]μεθυλο} τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκανο -1-καρβοξαμιδίου (29)





Φάσμα ^{1}H (400 MHz) του *N*-{[6-(4-(τριφθορομεθοξυ)φαινυλ)πυριδιν-3-υλο]μεθυλο}τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκανο-2-καρβοξαμιδιου (34)





Φάσμα ^{13}C (150 MHz) του *N*-{[6-(4-(τριφθορομεθοξυ)φαινυλ)πυριδιν-3-υλο]μεθυλο}τρικυκλο[3.3.1.1^{3,7}]δεκανο-2-καρβοξαμιδιου (34)

Βιβλιογραφία

1. Al-Mulla, A. A Review: Biological Importance of Heterocyclic Compounds. *Der Pharma Chemica* **2017**, *9*(13),141-147.
2. Sharma, V.; Kumar, P.; Pathak, D. Biological Importance of the Indole Nucleus in Recent Years: A Comprehensive Review. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2010**, *47* (3), 491–502. https://doi.org/10.1002/jhet.349.
3. Reiter, R. J. Pineal Melatonin: Cell Biology of Its Synthesis and of Its Physiological Interactions. *Endocr. Rev.* **1991**, *12* (2), 151–180. https://doi.org/10.1210/edrv-12-2-151.
4. Lerner, A. B.; Case, J. D.; Heinzelman, R. V. STRUCTURE OF MELATONIN1. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81* (22), 6084–6085. https://doi.org/10.1021/ja01531a060.
5. Lerner, A. B.; Case, J. D.; Takahashi, Y.; Lee, T. H.; Mori, W. ISOLATION OF MELATONIN, THE PINEAL GLAND FACTOR THAT LIGHTENS MELANOCYTES1. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80* (10), 2587–2587. https://doi.org/10.1021/ja01543a060.
6. Ribelayga, C.; Pévet, P.; Simonneaux, V. HIOMT Drives the Photoperiodic Changes in the Amplitude of the Melatonin Peak of the Siberian Hamster. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **2000**, *278* (5), R1339–R1345. https://doi.org/10.1152/ajpregu.2000.278.5.R1339.
7. Lewy, A. J.; Ahmed, S.; Jackson, J. M.; Sack, R. L. Melatonin Shifts Human Circadian Rhythms According to a Phase-Response Curve. *Chronobiol. Int.* **1992**, *9* (5), 380–392.
8. Arangino, S.; Cagnacci, A.; Angiolucci, M.; Vacca, A. M.; Longu, G.; Volpe, A.; Melis, G. B. Effects of Melatonin on Vascular Reactivity, Catecholamine Levels, and Blood Pressure in Healthy Men. *Am. J. Cardiol.* **1999**, *83* (9), 1417–1419.
9. Sánchez-Barceló, E.J., Mediavilla, M.D., Tan, D.X., Reiter, R.J., Clinical Uses Of melatonin: Evaluation of Human Trials. *Curr. Med. Chem*. **2010**, *17*, 2070–2095.
10. Costa, E. J.; Lopes, R. H.; Lamy-Freund, M. T. Permeability of Pure Lipid Bilayers to Melatonin. *J. Pineal Res.* **1995**, *19* (3), 123–126.
11. von Gall, C.; Stehle, J. H.; Weaver, D. R. Mammalian Melatonin Receptors: Molecular Biology and Signal Transduction. *Cell Tissue Res.* **2002**, *309* (1), 151–162. https://doi.org/10.1007/s00441-002-0581-4.
12. Reppert, S. M.; Weaver, D. R.; Ebisawa, T. Cloning and Characterization of a Mammalian Melatonin Receptor That Mediates Reproductive and Circadian Responses. *Neuron* **1994**, *13* (5), 1177–1185.
13. (13) Chan, A. S. L.; Lai, F. P. L.; Lo, R. K. H.; Voyno-Yasenetskaya, T. A.; Stanbridge, E. J.; Wong, Y. H. Melatonin Mt1 and MT2 Receptors Stimulate C-Jun N-Terminal Kinase via Pertussis Toxin-Sensitive and -Insensitive G Proteins. *Cell. Signal.* **2002**, *14* (3), 249–257.
14. Acuña-Castroviejo, D.; Reiter, R. J.; Menendez-Pelaez, A.; Pablos, M. I.; Burgos, A. Characterization of High-Affinity Melatonin Binding Sites in Purified Cell Nuclei of Rat Liver. *Journal of Pineal Research* **1994**, *16* (2), 100–112. https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.1994.tb00089.x.
15. Mor, M.; Silva, C.; Vacondio, F.; Plazzi, P. V.; Bertoni, S.; Spadoni, G.; Diamantini, G.; Bedini, A.; Tarzia, G.; Zusso, M.; et al. Indole-Based Analogs of Melatonin: In Vitro Antioxidant and Cytoprotective Activities. *J. Pineal Res.* **2004**, *36* (2), 95–102.
16. (16) Vielma, J. R.; Bonilla, E.; Chacín-Bonilla, L.; Mora, M.; Medina-Leendertz, S.; Bravo, Y. Effects of Melatonin on Oxidative Stress, and Resistance to Bacterial, Parasitic, and Viral Infections: A Review. *Acta Tropica* **2014**, *137*, 31–38. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.04.021.
17. Reiter, R. J. Melatonin: Lowering the High Price of Free Radicals. *Physiology* **2000**, *15* (5), 246–250. https://doi.org/10.1152/physiologyonline.2000.15.5.246.
18. Vijayalaxmi; Meltz, M. L.; Reiter, R. J.; Herman, T. S.; Kumar K, S. Melatonin and Protection from Whole-Body Irradiation: Survival Studies in Mice. *Mutation*

Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis **1999**, *425* (1), 21–27. https://doi.org/10.1016/S0027-5107(98)00246-2.
19. Pryor, W., Squadrito, G., The Chemistry of Peroxynitrite: A Product from the Reaction of Nitric Oxide with the Superoxide Anion. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* **1995**. 268, L699–L722.
20. López-Burillo, S.; Tan, D.-X.; Rodriguez-Gallego, V.; Manchester, L. C.; Mayo, J. C.; Sainz, R. M.; Reiter, R. J. Melatonin and Its Derivatives Cyclic 3-Hydroxymelatonin, N1-Acetyl-N2-Formyl-5-Methoxykynuramine and 6-Methoxymelatonin Reduce Oxidative DNA Damage Induced by Fenton Reagents. *Journal of Pineal Research* **2003**, *34* (3), 178–184. https://doi.org/10.1034/j.1600-079X.2003.00025.x.
21. Carrillo-Vico, A. ; Reiter, R.J. ; Lardone, P.J. ; Herrera, J.L.; Fernández-Montesinos, R.; Guerrero, J.M. ; Pozo, D. The Modulatory Role of Melatonin on Immune Responsiveness, *Curr Opin Investig Drugs* **2006**, *7* ,423–431.
22. Carrillo-Vico, A.; Lardone, P. J.; Alvarez-Sánchez, N.; Rodríguez-Rodríguez, A.; Guerrero, J. M. Melatonin: Buffering the Immune System. *Int J Mol Sci* **2013**, *14* (4), 8638–8683. https://doi.org/10.3390/ijms14048638.
23. Hosseinzadeh, A.; Kamrava, S. K.; Joghataei, M. T.; Darabi, R.; Shakeri-Zadeh, A.; Shahriari, M.; Reiter, R. J.; Ghaznavi, H.; Mehrzadi, S. Apoptosis Signaling Pathways in Osteoarthritis and Possible Protective Role of Melatonin. *Journal of Pineal Research* **2016**, *61* (4), 411–425. https://doi.org/10.1111/jpi.12362.
24. Daryani, A.; Montazeri, M.; Pagheh, A. S.; Sharif, M.; Sarvi, S.; Hosseinzadeh, A.; Reiter, R. J.; Hadighi, R.; Joghataei, M. T.; Ghaznavi, H.; et al. The Potential Use of Melatonin to Treat Protozoan Parasitic Infections: A Review. *Biomed. Pharmacother.* **2018**, *97*, 948–957. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.11.007.
25. Mu, J.; Myers, R. A.; Jiang, H.; Liu, S.; Ricklefs, S.; Waisberg, M.; Chotivanich, K.; Wilairatana, P.; Krudsood, S.; White, N. J.; et al. *Plasmodium Falciparum* Genome-Wide Scans for Positive Selection, Recombination Hot Spots and Resistance to Antimalarial Drugs. *Nature Genetics* **2010**, *42* (3), 268–271. https://doi.org/10.1038/ng.528.
26. Alves, E.; Bartlett, P. J.; Garcia, C. R. S.; Thomas, A. P. Melatonin and IP_3-Induced Ca^{2+} Release from Intracellular Stores in the Malaria Parasite *Plasmodium Falciparum* within Infected Red Blood Cells. *Journal of Biological Chemistry* **2011**, *286* (7), 5905–5912. https://doi.org/10.1074/jbc.M110.188474.
27. Gazarini, M. L.; Beraldo, F. H.; Almeida, F. M.; Bootman, M.; Silva, A. M. D.; Garcia, C. R. S. Melatonin Triggers PKA Activation in the Rodent Malaria Parasite Plasmodium Chabaudi. *Journal of Pineal Research* **2011**, *50* (1), 64–70. https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2010.00810.x.
28. Guha, M.; Maity, P.; Choubey, V.; Mitra, K.; Reiter, R. J.; Bandyopadhyay, U. Melatonin Inhibits Free Radical-mediated Mitochondrial-dependent Hepatocyte Apoptosis and Liver Damage Induced during Malarial Infection. *Journal of Pineal Research* **2007**, *43* (4), 372–381. https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2007.00488.x.
29. Srinivasan, V.; Spence, D. W.; Moscovitch, A.; Pandi-Perumal, S. R.; Trakht, I.; Brown, G. M.; Cardinali, D. P. Malaria: Therapeutic Implications of Melatonin. *Journal of Pineal Research* **2010**, *48* (1), 1–8. https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2009.00728.x.
30. Srinivasan, V.; Ahmad, A. H.; Zakaria, M. M. and R. Melatonin Effects on Plasmodium Life Cycle: New Avenues for Therapeutic Approach. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov.* **2012,** *6*(2),139-147
31. Mathes, A. M.; Wolf, B.; Rensing, H. Melatonin Receptor Antagonist Luzindole Is a Powerful Radical Scavenger in Vitro. *Journal of Pineal Research* **2008**, *45* (3), 337–338. https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2008.00583.x.
32. Schuck, D. C.; Jordão, A. K.; Nakabashi, M.; Cunha, A. C.; Ferreira, V. F.; Garcia, C. R. S. Synthetic Indole and Melatonin Derivatives Exhibit Antimalarial Activity on the Cell Cycle of the Human Malaria Parasite Plasmodium Falciparum. *European*

Journal of Medicinal Chemistry **2014**, *78*, 375–382. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.03.055.
33. WHO | Global tuberculosis report 2018 http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/ (accessed Nov 7, 2018).
34. Jasim, T. M.; Alabbassi, M. G.; Almuqdadi, S. F. H.; Kamel, J. K. Anti-Bacterial Properties of Melatonin against Mycobacterium Tuberculosis in Vitro. *Iraqi J Pharm Sci*.**2010**,*19 (*2): 59-63
35. Wiid, I.; Hoal-van Helden, E.; Hon, D.; Lombard, C.; van Helden, P. Potentiation of Isoniazid Activity against Mycobacterium Tuberculosis by Melatonin. *Antimicrob Agents Chemother* **1999**, *43* (4), 975–977.
36. Maestroni, G.J.M.; Conti, A.; Reiter, R.J.; Therapeutic Potential of Melatonin.Front Horm Res. Basel, Karger, **1997**, *23*, 72-80. Doi: 10.1159/000060977.
37. Limson, J.; Nyokong, T.; Daya, S. The Interaction of Melatonin and Its Precursors with Aluminium, Cadmium, Copper, Iron, Lead, and Zinc: An Adsorptive Voltammetric Study. *J. Pineal Res.* **1998**, *24* (1), 15–21.
38. Bullen, J. J.; Rogers, H. J.; Spalding, P. B.; Ward, C. G. Iron and Infection: The Heart of the Matter. *FEMS Immunol Med Microbiol* **2005**, *43* (3), 325–330. https://doi.org/10.1016/j.femsim.2004.11.010.
39. Franz, N. D.; Belardinelli, J. M.; Kaminski, M. A.; Dunn, L. C.; Calado Nogueira de Moura, V.; Blaha, M. A.; Truong, D. D.; Li, W.; Jackson, M.; North, E. J. Design, Synthesis and Evaluation of Indole-2-Carboxamides with Pan Anti-Mycobacterial Activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2017**, *25* (14), 3746–3755. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.05.015.
40. Kozikowski, A. P.; Onajole, O. K.; Stec, J.; Dupont, C.; Viljoen, A.; Richard, M.; Chaira, T.; Lun, S.; Bishai, W.; Raj, V. S.; et al. Targeting Mycolic Acid Transport by Indole-2-Carboxamides for the Treatment of Mycobacterium Abscessus Infections. *J. Med. Chem.* **2017**, *60* (13), 5876–5888. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b00582.
41. Lun, S.; Guo, H.; Onajole, O. K.; Pieroni, M.; Gunosewoyo, H.; Chen, G.; Tipparaju, S. K.; Ammerman, N. C.; Kozikowski, A. P.; Bishai, W. R. Indoleamides Are Active against Drug-Resistant Mycobacterium Tuberculosis. *Nat Commun* **2013**, *4*, 2907. https://doi.org/10.1038/ncomms3907.
42. Gobis, K.; Foks, H.; Serocki, M.; Augustynowicz-Kopeć, E.; Napiórkowska, A. Synthesis and Evaluation of in Vitro Antimycobacterial Activity of Novel 1H-Benzo[d]Imidazole Derivatives and Analogues. *Eur J Med Chem* **2015**, *89*, 13–20. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.10.031.
43. Lu, X.; Tang, J.; Cui, S.; Wan, B.; Franzblauc, S. G.; Zhang, T.; Zhang, X.; Ding, K. Pyrazolo[1,5-a]Pyridine-3-Carboxamide Hybrids: Design, Synthesis and Evaluation of Anti-Tubercular Activity. *Eur J Med Chem* **2017**, *125*, 41–48. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.09.030.
44. Matsumoto, M.; Hashizume, H.; Tomishige, T.; Kawasaki, M.; Tsubouchi, H.; Sasaki, H.; Shimokawa, Y.; Komatsu, M. OPC-67683, a Nitro-Dihydro-Imidazooxazole Derivative with Promising Action against Tuberculosis In Vitro and In Mice. *PLOS Medicine* **2006**, *3* (11), 2131-2144. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030466.
45. Thakare, R.; Soni, I.; Dasgupta, A.; Chopra, S. Delamanid for the Treatment of Pulmonary Multidrug Resistant Tuberculosis. *Drugs of Today* **2015**, *51* (2), 117-123. https://doi.org/10.1358/dot.2015.51.2.2245645.
46. Kang, S.; Kim, R. Y.; Seo, M. J.; Lee, S.; Kim, Y. M.; Seo, M.; Seo, J. J.; Ko, Y.; Choi, I.; Jang, J.; et al. Lead Optimization of a Novel Series of Imidazo[1,2-a]Pyridine Amides Leading to a Clinical Candidate (Q203) as a Multi- and Extensively-Drug-Resistant Anti-Tuberculosis Agent. *J. Med. Chem.* **2014**, *57* (12), 5293–5305. https://doi.org/10.1021/jm5003606.
47. Kang, S.; Kim, Y. M.; Kim, R. Y.; Seo, M. J.; No, Z.; Nam, K.; Kim, S.; Kim, J. Synthesis and Structure-Activity Studies of Side Chain Analogues of the Anti-

Tubercular Agent, Q203. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2017**, *125*, 807–815. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.09.082.
48. Brandvold, K. R.; Morimoto, R. I. The Chemical Biology of Molecular Chaperones--Implications for Modulation of Proteostasis. *J. Mol. Biol.* **2015**, *427* (18), 2931–2947. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.05.010.
49. Woodman, P. G. P97, a Protein Coping with Multiple Identities. *Journal of Cell Science* **2003**, *116* (21), 4283–4290. https://doi.org/10.1242/jcs.00817.
50. Xia, D.; Tang, W. K.; Ye, Y. Structure and Function of the AAA+ ATPase P97/Cdc48p. *Gene* **2016**, *583* (1), 64–77. https://doi.org/10.1016/j.gene.2016.02.042.
51. DeLaBarre, B.; Brunger, A. T. Complete Structure of P97/Valosin-Containing Protein Reveals Communication between Nucleotide Domains. *Nat. Struct. Biol.* **2003**, *10* (10), 856–863. https://doi.org/10.1038/nsb972.
52. Davies, J. M.; Brunger, A. T.; Weis, W. I. Improved Structures of Full-Length P97, an AAA ATPase: Implications for Mechanisms of Nucleotide-Dependent Conformational Change. *Structure* **2008**, *16* (5), 715–726. https://doi.org/10.1016/j.str.2008.02.010.
53. Chapman, E.; Maksim, N.; de la Cruz, F.; La Clair, J. J. Inhibitors of the AAA+ Chaperone P97. *Molecules* **2015**, *20* (2), 3027–3049. https://doi.org/10.3390/molecules20023027.
54. Haines, D. S. P97-Containing Complexes in Proliferation Control and Cancer. *Genes Cancer* **2010**, *1* (7), 753–763. https://doi.org/10.1177/1947601910381381.
55. Vekaria, P. H.; Home, T.; Weir, S.; Schoenen, F. J.; Rao, R. Targeting P97 to Disrupt Protein Homeostasis in Cancer. *Front Oncol* **2016**, *6*:181 https://doi.org/10.3389/fonc.2016.00181.
56. Pöhler, R.; Krahn, J. H.; van den Boom, J.; Dobrynin, G.; Kaschani, F.; Eggenweiler, H.-M.; Zenke, F. T.; Kaiser, M.; Meyer, H. A Non-Competitive Inhibitor of VCP/P97 and VPS4 Reveals Conserved Allosteric Circuits in Type I and II AAA ATPases. *Angewandte Chemie International Edition* **2018**, *57* (6), 1576–1580. https://doi.org/10.1002/anie.201711429.
57. Alverez, C.; Arkin, M. R.; Bulfer, S. L.; Colombo, R.; Kovaliov, M.; LaPorte, M. G.; Lim, C.; Liang, M.; Moore, W. J.; Neitz, R. J.; et al. Structure–Activity Study of Bioisosteric Trifluoromethyl and Pentafluorosulfanyl Indole Inhibitors of the AAA ATPase P97. *ACS Med Chem Lett* **2015**, *6* (12), 1225–1230. https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.5b00364.
58. LaPorte, M. G.; Burnett, J. C.; Colombo, R.;Bulfer, S. L.; Alverez, C.; Chou, T. F.; Neitz, R. J.; Green, N.; Moore, W. J.; Yue, Z., Li, S.; Arkin, M. R.; Wipf, P.; Huryn, D. M. Optimization of Phenyl Indole Inhibitors of the AAA+ ATPase p97. *ACS medicinal chemistry letters* **2018** , *9*(11), 1075-1081.
59. Burnett, J. C.; Lim, C.; Peyser, B. D.; Samankumara, L. P.; Kovaliov, M.; Colombo, R.; Bulfer, S. L.; LaPorte, M. G.; Hermone, A. R.; McGrath, C. F.; et al. A Threonine Turnstile Defines a Dynamic Amphiphilic Binding Motif in the AAA ATPase P97 Allosteric Binding Site. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15* (19), 4096–4114. https://doi.org/10.1039/C7OB00526A.
60. Sotgiu, G.; Pontali, E.; Centis, R.; D'Ambrosio, L.; Migliori, G. B. Delamanid (OPC-67683) for Treatment of Multi-Drug-Resistant Tuberculosis. *Expert Rev Anti Infect Ther* **2015**, *13* (3), 305–315. https://doi.org/10.1586/14787210.2015.1011127.
61. Matsumoto, M.; Hashizume, H.; Tomishige, T.; Kawasaki, M.; Tsubouchi, H.; Sasaki, H.; Shimokawa, Y.; Komatsu, M. OPC-67683, a Nitro-Dihydro-Imidazooxazole Derivative with Promising Action against Tuberculosis In Vitro and In Mice. *PLOS Medicine* **2006**, *3* (11), e466. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030466.
62. Lv, K.; Li, L.; Wang, B.; Liu, M.; Wang, B.; Shen, W.; Guo, H.; Lu, Y. Design, Synthesis and Antimycobacterial Activity of Novel Imidazo[1,2-a]Pyridine-3-

Carboxamide Derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2017**, *137*, 117–125. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.05.044.
63. Dupont, C.; Viljoen, A.; Dubar, F.; Blaise, M.; Bernut, A.; Pawlik, A.; Bouchier, C.; Brosch, R.; Guérardel, Y.; Lelièvre, J.; et al. A New Piperidinol Derivative Targeting Mycolic Acid Transport in Mycobacterium Abscessus. *Mol. Microbiol.* **2016**, *101* (3), 515–529. https://doi.org/10.1111/mmi.13406.
64. Gobis, K.; Foks, H.; Serocki, M.; Augustynowicz-Kopeć, E.; Napiórkowska, A. Synthesis and Evaluation of in Vitro Antimycobacterial Activity of Novel 1H-Benzo[d]Imidazole Derivatives and Analogues. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, *89*, 13–20. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.10.031.
65. Schuck, D. C.; Jordão, A. K.; Nakabashi, M.; Cunha, A. C.; Ferreira, V. F.; Garcia, C. R. S. Synthetic Indole and Melatonin Derivatives Exhibit Antimalarial Activity on the Cell Cycle of the Human Malaria Parasite Plasmodium Falciparum. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, *78*, 375–382. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.03.055.
66. Kozikowski, A. P.; Onajole, O.K. ; Stec, J.; Dupont, C.; Viljoen, A.; Richard, M.; Chaira, T.; Lun, S.; Bishai, W.; Raj, V. S.; Ordway, D.; Kremer, L.; Targeting Mycolic Acid Transport by Indole-2-carboxamides for the Treatment of Mycobacterium abscessus Infections**.** *Journal of Medicinal Chemistry* **2017** *60* (13), 5876-5888
67. Devender, N.; Gunjan, S.; Tripathi, R.; Tripathi, R. P. Synthesis and Antiplasmodial Activity of Novel Indoleamide Derivatives Bearing Sulfonamide and Triazole Pharmacophores. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2017**, *131*, 171–184. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.03.010.
68. Tahlan, K.; Wilson, R.; Kastrinsky, D. B.; Arora, K.; Nair, V.; Fischer, E.; Barnes, S. W.; Walker, J. R.; Alland, D.; Barry, C. E.; et al. SQ109 Targets MmpL3, a Membrane Transporter of Trehalose Monomycolate Involved in Mycolic Acid Donation to the Cell Wall Core of Mycobacterium Tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother* **2012**, *56* (4), 1797–1809. https://doi.org/10.1128/AAC.05708-11.
69. LaPorte, M. G.; Burnett, J. C.; Colombo, R.; Bulfer, S. L.; Alverez, C.; Chou, T.-F.; Neitz, R. J.; Green, N.; Moore, W. J.; Yue, Z.; et al. Optimization of Phenyl Indole Inhibitors of the AAA+ ATPase P97. *ACS Med. Chem. Lett.* **2018**, *9* (11), 1075–1081. https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.8b00372.
70. Mitsunobu, O.; Yamada, M. Preparation of Esters of Carboxylic and Phosphoric Acid via Quaternary Phosphonium Salts. *BCSJ* **1967**, *40* (10), 2380–2382. https://doi.org/10.1246/bcsj.40.2380.
71. Mitsunobu, O. The Use of Diethyl Azodicarboxylate and Triphenylphosphine in Synthesis and Transformation of Natural Products. *Synthesis* **1981**, *1981* (1), 1–28. https://doi.org/10.1055/s-1981-29317.
72. But, T. Y. S.; Toy, P. H. The Mitsunobu Reaction: Origin, Mechanism, Improvements, and Applications. *Chemistry – An Asian Journal* **2007**, *2* (11), 1340–1355. https://doi.org/10.1002/asia.200700182.
73. Miyaura, N.; Suzuki, A. Stereoselective Synthesis of Arylated (E)-Alkenes by the Reaction of Alk-1-Enylboranes with Aryl Halides in the Presence of Palladium Catalyst. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, *0* (19), 866–867. https://doi.org/10.1039/C39790000866.
74. Matos, K.; Soderquist, J. A. Alkylboranes in the Suzuki−Miyaura Coupling: Stereochemical and Mechanistic Studies. *J. Org. Chem.* **1998**, *63* (3), 461–470. https://doi.org/10.1021/jo971681s.
75. Corey, E. J.; Chaykovsky, M. Dimethylsulfoxonium Methylide. *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84* (5), 867–868. https://doi.org/10.1021/ja00864a040.
76. House, H. O. The Acid-Catalyzed Rearrangement of the Stilbene Oxides. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77* (11), 3070–3075. https://doi.org/10.1021/ja01616a041.
77. Reif, D. J.; House, O. H. ; Diphenylacetaldehyde.*Org. Synth. Coll.* **1963**, 4 , 375-376.

78. Färcaşiu, D. ; Synthesis of 2-Epoxymethyleneadamantans and Adamantane-2-Carboxylic Acid.*Synthesis* **1972**, 615–616.
79. Vocat, A.; Hartkoorn, R. C.; Lechartier, B.; Zhang, M.; Dhar, N.; Cole, S. T.; Sala, C. Bioluminescence for Assessing Drug Potency against Nonreplicating Mycobacterium Tuberculosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2015**, *59* (7), 4012–4019. https://doi.org/10.1128/AAC.00528-15.
80. Palomino, J.-C.; Martin, A.; Camacho, M.; Guerra, H.; Swings, J.; Portaels, F. Resazurin Microtiter Assay Plate: Simple and Inexpensive Method for Detection of Drug Resistance in Mycobacterium Tuberculosis. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, *46* (8), 2720–2722.
81. Popovska-Gorevski, M.; Dubocovich, M. L.; Rajnarayanan, R. V. Carbamate Insecticides Target Human Melatonin Receptors. *Chem. Res. Toxicol.* **2017**, *30* (2), 574–582. https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.6b00301.