

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

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

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**Διερεύνηση της Καταλυόμενης από οξύ Lewis
Στερεοεκλεκτικής *P*-Mannich Αντίδρασης για τη Σύνθεση
Φωσφινोδιπεπτιδίων**

**ΕΛΕΝΗ ΚΑΛΟΥΜΕΝΟΥ
ΧΗΜΙΚΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ
ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ 2020**

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

Διερεύνηση της Καταλυόμενης από οξύ Lewis Στερεοεκλεκτικής *P*-Mannich Αντίδρασης για τη Σύνθεση Φωσφινोδιπεπτιδίων.

ΕΛΕΝΗ ΚΑΛΟΥΜΕΝΟΥ

A.M.: 181509

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:

Δημήτριος Γεωργιάδης, Καθηγητής ΕΚΠΑ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Δημήτριος Γεωργιάδης, Καθηγητής ΕΚΠΑ

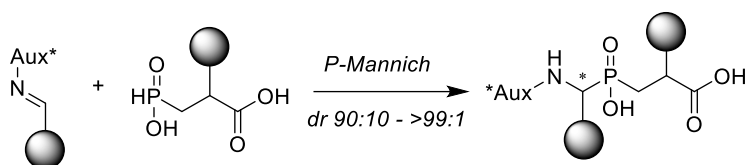
Βικτωρία Μαγκριώτη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΕΚΠΑ

Χριστόφορος Κόκοτος, Αναπληρωτής Καθηγητής ΕΚΠΑ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ 8/10/2020

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η αντίδραση *P*-Mannich αποτελεί ένα εξαιρετικά χρήσιμο συνθετικό εργαλείο στο πεδίο των σύνθεσης οργανοφωσφορικών ενώσεων αναλόγων αμινοξέων. Η επιτυχής έκβαση της αντίδρασης εξαρτάται από τη δραστικότητα των πυρηνόφιλων φωσφόρου, από την κατάσταση σθένους τους [P(III) ή P(V)] και από τον χρησιμοποιούμενο τύπο κατάλυσης ο οποίος θα πρέπει να είναι συμβατός με τη σταθερότητα των συχνά ευαίσθητων *P*-πυρηνόφιλων. Επιπροσθέτως, η στερεοεκλεκτική σύνθεση οργανοφωσφορικών αναλόγων αμινοφωσφινικών οξέων αποτελεί μια από μεγαλύτερες προκλήσεις στο πεδίο λόγω της σημασίας αυτών των ενώσεων ως δομικά τμήματα βιοδραστικών ενώσεων.



Πρόσφατα, αναπτύχθηκε από το εργαστήριο μας μια καταλυόμενη από οξύ μέθοδο σύνθεσης αμινοφωσφινικών οξέων, η οποία

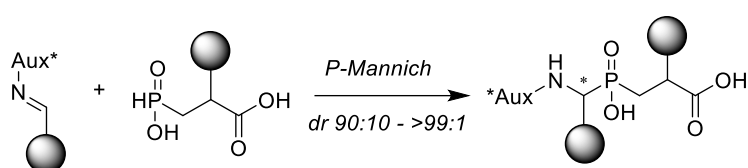
κάνει χρήση κυκλικών μικτών ανυδριτών, *in situ* παραγόμενων από β-φωσφινυλο προπιονικά οξέα. Η υψηλή δραστικότητα αυτών των ενδιάμεσων τα καθιστά εξαιρετικά συνθετικά ενδιάμεσα για τη σύνθεση αμινοφωσφινικών παραγώγων, και στη συγκεκριμένη περίπτωση φωσφινικών διπεπτιδίων, μιας τάξης ενώσεων που έχουν βρει ευρεία εφαρμογή στη σύνθεση φωσφινοπεπτιδικών ενζυμικών αναστολέων. Ως επέκταση της προαναφερθείσας μεθοδολογίας, στην παρούσα εργασία εξετάζεται η χρήση αυτών των ενδιάμεσων στη στερεοεκλεκτική αντίδραση *P*-Mannich με χειρόμορφες ιμίνες. Η μέθοδος οδηγεί σε υψηλές στερεοεκλεκτικότητες (d.r. 90:10 έως >99:1) και επιτρέπει σε ένα βήμα την στερεοεκλεκτική συναρμογή του αμινοφωσφινικού τμήματος της P₁ θέσης φωσφινικών διπεπτιδίων, με βάση τις αρχές διαφοροποίησης τελικού-σταδίου. Τα προκαταρκτικά αποτελέσματα της παρούσας εργασίας αναμένεται να αποτελέσουν τη βάση για μια γενική και αξιόπιστη μέθοδο στερεοεκλεκτικής διαφοροποίησης τελικού σταδίου των αμινοφωσφινικών τμημάτων φωσφινοπεπτιδίων.

ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: ΟΡΓΑΝΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Οργανική Σύνθεση, Διαφοροποίηση τελικού σταδίου, Φωσφινικό οξύ, Mannich, Ιμίνη

ABSTRACT

The *P*-Mannich reaction is an extremely useful synthetic tool in the field of organophosphorus analogues of amino acids. The successful outcome of this reaction is highly dependent on the reactivity of phosphorus nucleophiles, their valence state [P(III) or P(V)] and the applied type of catalysis which must be compatible with the stability of the often sensitive *P*-nucleophiles. In addition, the stereoselective synthesis of organophosphorus amino acid analogues constitutes one of the main challenges in the field due to their significance as structural units of bioactive compounds.



Recently, our research team developed an acid-catalyzed protocol for the synthesis of α -aminophosphinic acids that is

based on cyclic mixed anhydrides, *in situ* formed from β -phosphinyl propionic acids. The high reactivity of these derivatives renders them extremely useful synthetic intermediates for the assembly of aminophosphinic acids and, in particular phosphinic peptides, a class of compounds that has found wide application to the synthesis of phosphinopeptidic enzyme inhibitors. As an extension of the aforementioned methodology, the use of these intermediates to the stereoselective *P*-Mannich reaction with chiral imines is studied in the present thesis. The proposed methodology leads to high stereoselectivities (d.r. 90:10 up to >99:1) and allows the one-step stereoselective assembly of the aminophosphinic unit found in the P₁ position of phosphinic dipeptides, according to the principles of late-stage diversification. These preliminary results are expected to form the basis for a general and reliable methodology towards the stereoselective late-stage diversification of aminophosphinic units within phosphinopeptidic building blocks.

SUBJECT AREA: Organic Chemistry

KEYWORDS: Organic Synthesis, Late-stage diversification, Phosphinic Acid, Mannich, Imine

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Το συγκεκριμένο πόνημα αποτελεί το προϊόν της διетуός μου εργασίας στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας, μια προσπάθεια που συνέβαλε στην ευρύτερη κατανόηση από μέρους μου τόσο της οργανικής σύνθεσης επιστημονικό επίπεδο όσο και των μεθόδων σχεδιασμού και εφαρμογής συνθετικών στόχων καθώς και ερμηνείας των αποτελεσμάτων.

Φθάνοντας στο τέλος της συγγραφής της παρούσας διατριβής θα ήθελα να εκφράσω ξεχωριστά τις θερμές μου ευχαριστίες στον επιβλέποντα Καθηγητή **κ. Δημήτριο Γεωργιάδη** για την ανάθεση του θέματος της παρούσας εργασίας και την πολύτιμη συνεισφορά του κατά τη διάρκεια της συγκεκριμένης μεταπτυχιακής εργασίας. Τον ευχαριστώ για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου, το αμείωτο ενδιαφέρον, την αμέριστη βοήθεια και τις εύστοχες υποδείξεις του σε ζητήματα τόσο θεωρητικής και όσο και πρακτικής φύσεως κατά τη διάρκεια της διεξαγωγής του πειραματικού μέρους καθώς και την πολύ σημαντική του βοήθεια στη συγγραφή της παρούσας εργασίας. Υπήρξε πολύ καλός καθηγητής, με την ικανότητά του να μεταδίδει τις γνώσεις που διαθέτει καθώς και τις εύστοχες αναλύσεις αποτελεσμάτων και του θεωρητικού υποβάθρου, αλλά πέραν της αρωγής του σε επιστημονικό επίπεδο θα ήθελα να τον ευχαριστήσω και για όσα μου προσέφερε σε επίπεδο ανθρωπίνων σχέσεων.

Ευχαριστώ επίσης τα άλλα δύο μέλη που απαρτίζουν την τριμελή εξεταστική επιτροπή, την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια **κα. Μαγκριώτη Βικτώρια** και τον Αναπληρωτή Καθηγητή **κ. Κόκοτο Χριστόφορο**, για τις διορθώσεις τους και τη συμβολή τους στην αρτιότερη παρουσίαση της εργασίας αυτής.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους Δρ. Μιχάλη Τσάκο και Δρ. Βανέσσα Παπαδάκη, τους υποψήφιους διδάκτορες Άγγελο Λέλη και Κωνσταντίνο Πατηνιώτη, και τις μεταπτυχιακές φοιτήτριες Κέλλυ Ζιωτοπούλου, Τόνια Παπασάββα και Μαριάννα Στόλη για τη συνεργασία, την παρέα, τις ενδιαφέρουσες συζητήσεις και το ευχάριστο κλίμα στο εργαστήριο.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	
1. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΦΩΣΦΙΝΙΚΑ ΠΕΠΤΙΔΙΑ ΩΣ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΑΣΩΝ ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΥ	1
1.1 Μεταλλοπρωτεάσες ψευδαργύρου	1
1.2 Φωσφινικά πεπτίδια ως αναστολείς μεταλλοπρωτεϊνών Zn	2
1.3 Παραδείγματα φωσφινικών αναστολέων με βιολογική δράση	4
1.3.1 Φωσφινικοί αναστολείς ματριξινών (MMPs)	4
1.3.2 Φωσφινικοί αναστολείς των μετατρεπτικών ενζύμων της αγγειοτενσίνης-I (ACE) και της ενδοθηλίνης (ECE)	6
1.3.3 Φωσφινικοί αναστολείς αμινοπεπτιδασών	8
1.4 Συνθετική χημεία φωσφινικών πεπτιδίων	12
1.4.1 Γενικές συνθετικές μέθοδοι	12
1.4.2 Η NP+C προσέγγιση	13
1.4.3 Η N+PC προσέγγιση	14
2. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΣΤΕΡΕΟΕΚΛΕΚΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΕΣΕΙΣ α-ΑΜΙΝΟΦΩΣΦΙΝΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ	16
2.1 Προσθήκη ενώσεων φωσφόρου σε ιμίνες	16
2.1.1 Με χρήση χειρόμορφων ιμινών	16
2.1.2 Με χρήση χειρόμορφου καταλύτη	18
2.2 Αντίδραση τριών συστατικών με χειρόμορφα αμίδια	19
2.3 Αναγωγή διπλού δεσμού στους α,β -δεϋδροαμινοφωσφινικούς εστέρες	20
2.4 Διαστερεοεκλεκτική αλκυλίωση των ιμινομεθυλοφωσφινικών εστέρων	21
2.5 Διαχωρισμός ισομερών	21
2.5.1 Διαχωρισμός εναντιομερών με τη χρήση διαστερεοϊσομερικών αλάτων ..	21
2.5.2 Διαχωρισμός ισομερών μέσω εκλεκτικής κρυστάλλωσης	22

2.5.3	Διαχωρισμός εναντιομερών μέσω χειρόμορφων χρωματογραφικών τεχνικών	23
2.5.4	Ενζυμικός διαχωρισμός εναντιομερών	23
2.6	Χρήση χειρόμορφων α-αμινοφωσφονικών εστέρων ως αρχικά υποστρώματα	24
3.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ	25
3.1	Στόχος της εργασίας	25
3.2	Βιβλιογραφική ανασκόπηση για τη σύνθεση βασικών ψευδοπεπτιδικών κορμών με έλεγχο της στεreoχημείας στη θέση P ₁ - Καθορισμός του συνθετικού στόχου	26
3.3	Χειρόμορφοι φορείς αζώτου	30
3.3.1	Καμφοροσουλφοναμιδικά παράγωγα καρβαμιδίων 5	30
3.3.2	<i>N-tert</i> -βουτυλοσουλφιναμίδιο 14	32
3.4	Σύνθεση υποστρωμάτων	33
3.4.1	Σύνθεση <i>H</i> -φωσφινικού διοξέος 2	33
3.4.2	Προσπάθειες σύνθεσης του καρβαμιδικού εστέρα 5	35
3.4.3	Σύνθεση των <i>N-tert</i> -βουτανοσουλφινυλο ιμινών 7α και 7β	37
3.5	Διερεύνηση αντίδρασης <i>P</i> -Mannich με την <i>N-tert</i> -βουτανοσουλφινυλο ιμίνη 7α	39
3.6	Εναλλακτικές προσπάθειες	41
3.7	Διερεύνηση αντίδρασης <i>P</i> -Mannich με την <i>N-tert</i> -βουτανοσουλφινυλο ιμίνη 7β	42
3.7.1	Βελτιστοποίηση της αντίδρασης - Κινητική παρακολούθηση	44
3.7.2	Πρόβλεψη στεreoχημικού αποτελέσματος της αντίδρασης <i>P</i> -Mannich του φωσφινικού διοξέος 2 με τις χειρόμορφες <i>N-tert</i> -βουτυλοσουλφινυλο ιμίνες	51
3.7.3	Μηχανιστικές υποθέσεις	53
3.8	Σύγκριση δραστηριότητας των ιμινών 7γ και 7δ	54
3.9	Αποικοδόμηση των προϊόντων της αντίδρασης <i>P</i> -Mannich τύπου 8	56

3.10	Προσπάθειες απομόνωσης της ένωσης 8β	58
3.10.1	Μέσω εστεροποίησης και καθαρισμού με χρωματογραφία στήλης.....	58
3.10.2	Αντικατάσταση της <i>N-tert</i> -βουτυλοσουλφινυλομάδας από την Fmoc-ομάδα 60	
3.11	Ευρύτητα της μεθόδου	64
3.11.1	Σύνθεση ιμινών	64
3.11.2	Σύνθεση φωσφινικών πεπτιδίων με στερεοχημικά καθορισμένη τη θέση P1 67	
4.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ – ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΙ ΕΝΩΣΕΩΝ.....	71
4.1	Γενικό πειραματικό μέρος.....	71
4.1.1	Αντιδραστήρια	71
4.1.2	Χρωματογραφική ανάλυση και χρωματογραφικός καθαρισμός.....	71
4.1.1	Χαρακτηρισμοί ενώσεων	72
4.2	Συνθετικές μέθοδοι – Χαρακτηρισμοί	74
4.2.1	Σύνθεση και χαρακτηρισμός του <i>H</i> -φωσφινικού διοξέος 2	74
4.2.2	Σύνθεση και χαρακτηρισμοί των <i>N-tert</i> -βουτυλοσουλφινυλο ιμινών τύπου 7 76	
4.2.3	Σύνθεση και χαρακτηρισμοί των φωσφινικών διπεπτιδίων τύπου 53	83
	ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ	92
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι: Φάσματα NMR χαρακτηριστικών ενώσεων	94
	ΑΝΑΦΟΡΕΣ	103

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1: Κύριες συνθετικές πορείες σχηματισμού φωσφινικών ψευδοδιπεπτιδίων από τη NP+C στρατηγική.....	14
Σχήμα 2: Εφαρμογή της στρατηγικής N+PC στη σύνθεση φωσφινικών ψευδοδιπεπτιδίων από (α) Chen et al. [57], (β) Matziari et al. [58].....	15
Σχήμα 3: Βελτιστοποίηση της αντίδρασης αμιδοαλκυλίωσης από την ερευνητική ομάδα του Ragulin [60, 61].	15
Σχήμα 4: Στερεοεκλεκτική σύνθεση α-αμινοφωσφινικών οξέων με χρήση χειρόμορφης ιμίνης από την ερευνητική ομάδα του (α) Petneházy [65], (β) τους Goldeman και Boduszek [67]......	17
Σχήμα 5: Χρήση χειρόμορφων βοηθημάτων του Ellman στην ασύμμετρη σύνθεση (α) φωσφινικών εστέρων 30 από τους Zhang και Yuan [68], (β) α-αμινοφωσφινικών οξέων 33 από τους Yuan και Yao [69]......	18
Σχήμα 6: Στερεοεκλεκτική σύνθεση α-αμινο-C-φωσφινικών εστέρων μέσω οργανοκαταλύτη [70].	19
Σχήμα 7: Στερεοεκλεκτική παραλλαγή της αντίδρασης τριών συστατικών με χειρόμορφα αμίδια [71]......	20
Σχήμα 8: Σύνθεση α-αμινο-φαινυλοφωσφινικών εστέρων (α) μέσω ασύμμετρης καταλυτικής υδρογόνωσης των α, β-δεϋδροαμινοφωσφινικών εστέρων από τον Dwars et al. [74], (β) ασύμμετρης καταλυτικής προσθήκης του φαινυλοβορονικού παραγώγου σε α, β-δεϋδροαμινοφωσφινικούς εστέρες από τον Lefevre et al. [76].	20
Σχήμα 9: Διαστερεοεκλεκτική σύνθεση α-αμινοφωσφινικών οξέων από τον Yamagishi et al. [77]......	21
Σχήμα 10: (α) Κρυστάλλωση ρακεμικού μίγματος με χρήση χειρόμορφης αμίνης για την απομόνωση του οπτικά καθαρού α-αμινοφωσφινικού οξέος, (β) εκλεκτική κρυστάλλωση του ισομερούς (R, S)- 53 από μίγμα διαστερεοϊσομερών.	22
Σχήμα 11: Ενζυμικός διαχωρισμός εναντιομερών ρακεμικού μίγματος.	23
Σχήμα 12: Μετατροπή των χειρόμορφων φωσφινικών εστέρων σε φωσφινικούς εστέρες και οξέα από τον Kim και τους συνεργάτες του [87, 88].	24

Σχήμα 13: Στόχος της παρούσας εργασίας.	25
Σχήμα 14: Γενικό σχήμα σύνθεσης φωσφινικών ψευδοδιπεπτιδίων τύπου V μέσω αντίδρασης <i>P</i> -Michael χρησιμοποιώντας χειρόμορφα α-αμινοφωσφινικά οξέα τύπου III	26
Σχήμα 15: Γενικό σχήμα σύνθεσης φωσφινικών ψευδοδιπεπτιδικών κορμών V μέσω αντίδρασης τριών συστατικών.	27
Σχήμα 16: Παραλλαγές της αντίδρασης τριών συστατικών για τη σύνθεση στερεοχημικά καθορισμένων φωσφινικών δομών.	28
Σχήμα 17: (α) Αντίδραση <i>P</i> -Mannich φωσφινικού διοξέος 2 με Boc-αμινάλες 1 , (β) ενεργοποίηση του φωσφινικού διοξέος από DIC και σχηματισμός του μικτού ανυδρίτη 4	29
Σχήμα 18: Χρήση χειρόμορφων φορέων αζώτου για τη σύνθεση φωσφινικών πεπτιδίων με στερεοχημικά καθορισμένη τη θέση P ₁	30
Σχήμα 19: Αντίδραση αμιδοακυλίωσης τριών συστατικών με το χειρόμορφο καμφοροσουλφοναμιδικό παράγωγο 5 από τους Chung και Kang [99].	31
Σχήμα 20: Πρώτη μέθοδος σύνθεσης ενατιομερικά καθαρού <i>N</i> -tert-βουτυλοσουλφιναμίδου από τον Ellman και τους συνεργάτες του [100, 101].	32
Σχήμα 21: (α) Αντίδραση αζα-Diels-Alder με οξέα Lewis από τον Gautum και τους συνεργάτες του [109, 110], (β) αντίδραση τύπου Mannich καταλυόμενη από οξέα Lewis από τους Jacobsen και Skrydstrup [111].	33
Σχήμα 22: Ρетроσυνθετική πορεία για τη σύνθεση του <i>H</i> -φωσφινικού διοξέος 2	34
Σχήμα 23: Σύνθεση ακρυλικού οξέος 22	34
Σχήμα 24: (α) Αντίδραση <i>P</i> -Michael για τη σύνθεση του <i>H</i> -φωσφινικού διοξέος 2 , (β) δομή διυποκατεστημένου παραπροϊόντος της αντίδρασης <i>P</i> -Michael.	35
Σχήμα 25: Βιβλιογραφική πορεία σύνθεσης του καρβαμιδικού εστέρα 5	36
Σχήμα 26: Σύνθεση των ιμινών 7α και 7β	38
Σχήμα 27: Πορεία σύνθεσης της Boc-ιμίνης 33	40
Σχήμα 28: Αντίδραση <i>P</i> -Mannich του 2 με την Boc-βενζυλιμίνη 33	41
Σχήμα 29: Προσπάθεια σύνθεσης της αμινάλης 34	41

Σχήμα 30: Ενεργοποίηση των α-αμιδοσουλφονών 35 και πυρηνόφιλη προσβολή.	42
Σχήμα 31: Προσπάθεια σύνθεσης των ενώσεων 39 και 40	42
Σχήμα 32: Αντίδραση του φωσφινικού διοξέος 2 με την ιμίνη 7β	42
Σχήμα 33: Προτεινόμενα ενδιάμεσα της αντίδρασης <i>P</i> -Mannich του 2 με την ιμίνη 7β και φάσματα ³¹ P-NMR κατά την εξέλιξη της αντίδρασης.	46
Σχήμα 34: (α) Ασύμμετρη σύνθεση παραγώγων του ασπαρτικού οξέος 19 από τους Jacobsen και Skrydstrup[111], (β) ασύμμετρη αλκυλίωση Friedel-Crafts από τον Xie et al. [124].	52
Σχήμα 35: Πιθανή στερεοχημεία του προϊόντος της αντίδρασης <i>P</i> -Mannich.	52
Σχήμα 36: Πιθανός μηχανισμός αντίδρασης <i>P</i> -Mannich του φωσφινικού διοξέος με ιμίνες.	54
Σχήμα 37: Σύνθεση ιμινών 7γ και 7δ	55
Σχήμα 38: Αντίδραση του φωσφινικού διοξέος 2 με τις ιμίνες 7γ και 7δ	56
Σχήμα 39: Πιθανός μηχανισμός αποικοδόμησης της ένωσης 8	57
Σχήμα 40: Παραγωγοποίηση και καθαρισμός της 8β	58
Σχήμα 41: Σαπωνοποίηση της 51β	60
Σχήμα 42: Απομάκρυνση της <i>N-tert</i> -βουτυλοφουλφινυλομάδας σε όξινες συνθήκες. ...	60
Σχήμα 43: Εισαγωγή Fmoc-προστατευτικής ομάδας.	61
Σχήμα 44: Δομές ιμινών 7β , 7ε-v	64
Σχήμα 45: Σύνθεση της αλδεΐδης 30λ	65
Σχήμα 46: Σύνθεση της ιμίνης 7ε	66
Σχήμα 47: Σύνθεση και δομές των διπεπτιδίων 53β , ε-v.	68

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Φωσφονικοί (I), φωσφοναμιδιικοί (II) και φωσφινικοί (III) αναστολείς που προκύπτουν με αντικατάσταση του πεπτιδικού δεσμού.	2
Εικόνα 2: Γενική κατηγοριοποίηση αναστολέων μεταλλοπρωτεασών Zn.	3
Εικόνα 3: Ισχύς πρόσδεσης του φωσφινικού τριπεπτιδίου RXP03 σε διάφορες ματριξίνες.....	5
Εικόνα 4: Φωσφινικοί αναστολείς των ματριξινών με ισοξαζολικό δακτύλιο.	6
Εικόνα 5: Δομές των φωσφινικών αναστολέων του ACE, RXP407 και RXPA380	7
Εικόνα 6: Δομή του διπλού φωσφινικού αναστολέα των ενζύμων ACE και ECE.	8
Εικόνα 7: Δομές φωσφινικών αναστολέων των ενζύμων APN και LAP.....	9
Εικόνα 8: Δομή ψευδοτριπεπτιδικού αναστολέα της APN.	9
Εικόνα 9: Δομές φωσφινικών αναστολέων των αμινοπεπτιδασών M1 και M17 του <i>P. Falciparium</i>	10
Εικόνα 10: Δομή ψευδοτριπεπτιδικού αναστολέα της LTA4H.....	10
Εικόνα 11: Δομές φωσφινικών αναστολέων των ER αμινοπεπτιδασών.....	11
Εικόνα 12: Σχηματική αναπαράσταση των συνθετικών προκλήσεων στα φωσφινικά πεπτίδια.....	12
Εικόνα 13: Καμφοροσουλφοναμιδικό παράγωγο 9	30
Εικόνα 14: Φάσμα ³¹ P-NMR (DMSO) και MS της ένωσης 8β	43
Εικόνα 15: Δομή οξειδωμένου φωσφονικού ανυδρίτη 42	47
Εικόνα 16: Κινητική παρακολούθηση των αντιδράσεων <i>P</i> -Mannich μεταξύ των ενώσεων 2 και 7β με μία προσθήκη και με δύο προσθήκες BF ₃ ·OEt ₂	49
Εικόνα 17: Κινητική παρακολούθηση των αντιδράσεων <i>P</i> -Mannich του 2 με την 7β με καταγραφή της κατανάλωσης της ιμίνης 7β με χρήση φασματοσκοπίας ¹ H-NMR. Α) σύγκριση ενός και δύο ισοδυνάμων 7β , Β) σύγκριση αντιδράσεων με διαφορετικές συγκεντρώσεις.....	51

Εικόνα 18: Πιθανό ποιοτικό διάγραμμα ενεργειών σχηματισμού των ιμινιακών ιόντων 46γ και 46δ	55
Εικόνα 19: Φάσμα ¹ H-NMR (DMSO + 4% TFA) της ένωσης 8β	62
Εικόνα 20: Φάσμα ¹³ C-NMR (DMSO), ³¹ P-NMR (DMSO + 4% TFA) της ένωσης 8β	63
Εικόνα 21: Υπολογισμός του d.r. της 8ζ από την ολοκλήρωση του φάσματος ³¹ P-NMR (DMSO) του μίγματος αντίδρασης.	69
Εικόνα 22: Κινητική παρακολούθηση των αντιδράσεων <i>P</i> -Mannich του 2 με τις ιμίνες 7β , ε-θ , λ-ν	70

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Σύνθεση του χλωριδίου 28 και προσπάθειες βελτιστοποίησης της αντίδρασης σχηματισμού του καμφοροσουλφοναμιδίου 27	37
Πίνακας 2: Διερεύνηση όξινων καταλυτών στην αντίδραση <i>P</i> -Mannich του 2 με την ιμίνη 7α	39
Πίνακας 3: Προσπάθειες βελτιστοποίησης της διαστερεοεκλεκτικότητας της αντίδρασης <i>P</i> -Mannich.....	44
Πίνακας 4: Διερεύνηση ισοδυνάμων $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ στη διαστερεοεκλεκτικότητα της αντίδρασης.....	47
Πίνακας 5: Σύγκριση αντιδράσεων <i>P</i> -Mannich με ένα και δύο ισοδύναμα φωσφινικού διοξειδίου 2	50
Πίνακας 6: Σύγκριση μεθόδων εστεροποίησης της 8β	59
Πίνακας 7: Σύνθεση των ιμινών 7στ-v	65

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα ερευνητική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Διαπανεπιστημιακού Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών «*Οργανική Σύνθεση και Εφαρμογές στη Χημική Βιομηχανία*» που οργανώνει το Τμήμα Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών υπό την επίβλεψη του Καθηγητή **κ. Δ. Γεωργιάδη**. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών, το Ακαδημαϊκό Έτος 2019 – 2020.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΦΩΣΦΙΝΙΚΑ ΠΕΠΤΙΔΙΑ ΩΣ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΑΣΩΝ ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΥ

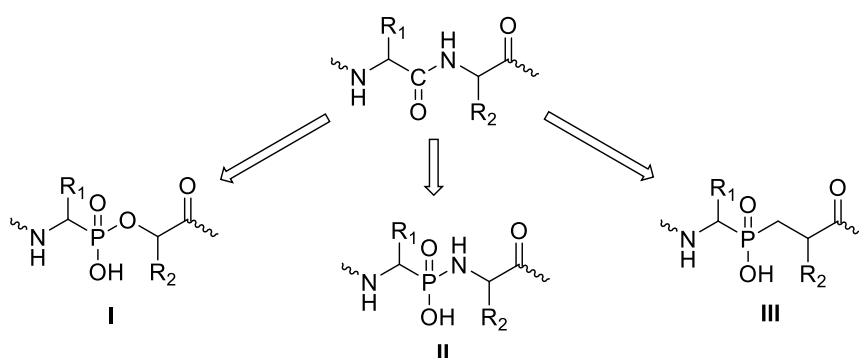
1.1 Μεταλλοπρωτεάσες ψευδαργύρου

Ο καταβολισμός των πρωτεϊνών αρχίζει με την υδρόλυση των πεπτιδικών δεσμών οι οποίοι συνδέουν γειτονικά αμινοξέα σε μια πολυπεπτιδική αλυσίδα. Αυτή η διεργασία ονομάζεται **πρωτεόλυση** και τα ένζυμα που είναι υπεύθυνα για τη διάσπαση των πεπτιδικών δεσμών ονομάζονται **πρωτεϊνάσες**. Τα ένζυμα αυτά βρίσκονται σε όλους τους ιστούς και τα κύτταρα ενός οργανισμού. Οι πρωτεϊνάσες αποτελούν μια από τις πιο σημαντικές κατηγορίες βιολογικών μορίων καθώς δρουν ως μοριακοί διακόπτες. Ελέγχουν τη βιολογική δραστικότητα πρωτεϊνών και πεπτιδίων και εμπλέκονται σε πλήθος φυσιολογικών πορειών. Επίσης πολλές επίκτητες ή κληρονομικές παθολογικές καταστάσεις, όπως μολύνσεις του αναπνευστικού συστήματος, αυξημένη αρτηριακή πίεση και ανάπτυξη καρκινικών όγκων, οφείλονται σε διαταραχή της φυσιολογικής λειτουργίας των πρωτεϊνών. Μεταξύ των πρωτεϊνών εξέχουσα θέση καταλαμβάνουν οι μεταλλοπρωτεϊνάσες ψευδαργύρου, οι οποίες αποτελούν και την πολυπληθέστερη οικογένεια πρωτεϊνών [1]. Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες ψευδαργύρου είναι υδρολυτικά ένζυμα τα οποία περιέχουν ένα δισθενές ιόν ψευδαργύρου στο ενεργό τους κέντρο, με άμεση συμμετοχή στην καταλυτική τους δράση [2]. Το 1995 οι Rawlings και Barrett πρότειναν τη μέχρι σήμερα αποδεκτή κατάταξη των μεταλλοπρωτεϊνών ψευδαργύρου σε τριάντα περίπου οικογένειες (*clans*), βάσει συσχετισμών στη δομή και την αλληλουχία. Δεκαοκτώ από τις οικογένειες μεταλλοπρωτεϊνών περιέχουν την αλληλουχία HEXXH (His-Glu-X-X-His) στο ενεργό κέντρο του ενζύμου (X μπορεί να είναι οποιοδήποτε κατάλοιπο). Οι δύο His συμπλέκουν το δισθενές κατιόν του ψευδαργύρου, ενώ το Glu συμμετέχει στην κατάλυση [3]. Η αύξηση του αριθμού των μεταλλοπρωτεϊνών ψευδαργύρου που εντοπίζονται σε βιολογικά συστήματα, σε συνδυασμό με την εμπλοκή τους σε μία τεράστια ποικιλία παθολογικών και φυσιολογικών καταστάσεων, έχει κινητοποιήσει τους ερευνητές τις τελευταίες δεκαετίες να διερευνήσουν λεπτομερώς τον βιολογικό τους ρόλο και να αναπτύξουν εξωγενείς ρυθμιστές της λειτουργίας τους. Έτσι, η ανάπτυξη ισχυρών και εκλεκτικών αναστολέων τους είναι πρωταρχικής σπουδαιότητας στόχος στη φαρμακευτική έρευνα.

1.2 Φωσφινικά πεπτιδία ως αναστολείς μεταλλοπρωτεϊνών Zn

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

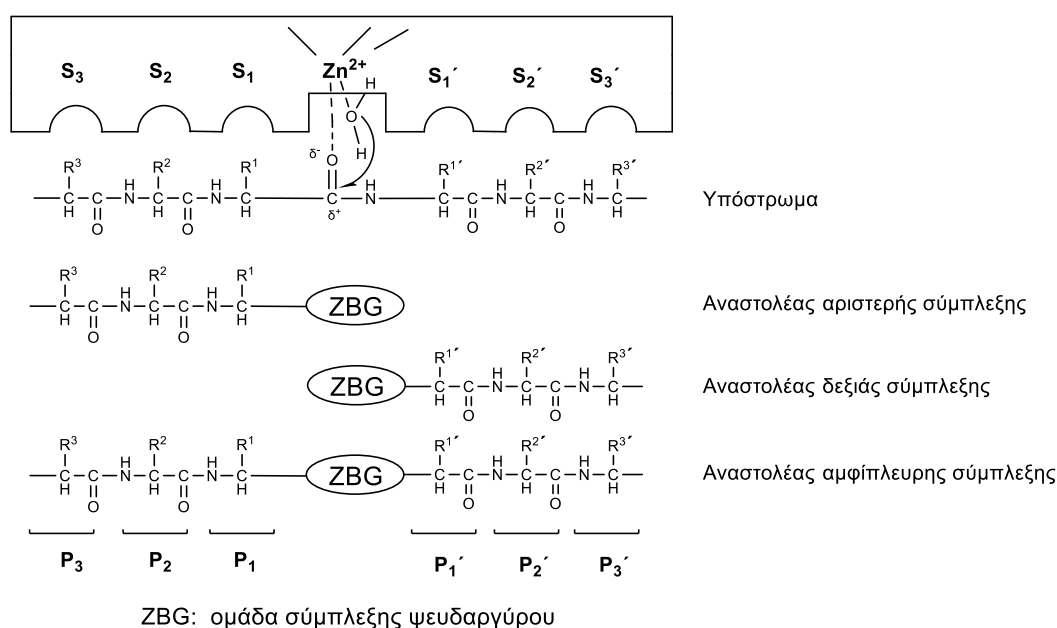
Μεταξύ πολλών διαφορετικών τύπων αναστολέων, μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα οργανοφωσφορικά ανάλογα των φυσικών πεπτιδίων, λόγω της ικανότητας τους να συμπεριφέρονται ως ανάλογα μεταβατικής κατάστασης [6]. Οι ενώσεις αυτές προκύπτουν από την αντικατάσταση του πεπτιδικού δεσμού των κλασικών πεπτιδίων με τη **φωσφοναμιδική**, τη **φωσφονική** ή την **φωσφινική** ομάδα (Εικόνα 1) η οποία κατά τη διάρκεια της πρόσδεσης στο ενεργό κέντρο του ενζύμου υιοθετεί μια τετραεδρική γεωμετρία προσομοιάζοντας στη δομή του διασπώμενου πεπτιδικού δεσμού.



Εικόνα 1: Φωσφονικοί (I), φωσφοναμιδικοί (II) και φωσφινικοί (III) αναστολείς που προκύπτουν με αντικατάσταση του πεπτιδικού δεσμού.

Η ικανότητα ισχυρής σύμπλεξης του φωσφορικού οξυανιόντος με το καταλυτικό ιόν ψευδαργύρου των μεταλλοπρωτεϊνών ψευδαργύρου, σε συνδυασμό με τις

αλληλεπιδράσεις του ψευδοπεπτιδικού σκελετού με τις αντίστοιχες περιοχές του ενεργού κέντρου, καθώς και η *in vivo* σταθερότητα και η χαμηλή τους τοξικότητα, καθιστούν τα οργανοφωσφορικά παράγωγα μια ιδιαίτερα σημαντική τάξη αναστολέων αυτής της κατηγορίας μεταλλοπρωτεασών [7, 8, 9, 10, 11]. Εξ αυτών, τα φωσφονικά παράγωγα δεν είναι τόσο δραστικά έναντι των πρωτεϊνών σε σχέση με τα φωσφινικά τα οποία εμφανίζουν πολύ μεγαλύτερη σταθερότητα σε όλο το εύρος pH σε σχέση με τα αντίστοιχα φωσφοναμιδικά ανάλογα [12, 13, 14]. Για αυτούς τους λόγους η πλειοψηφία των οργανοφωσφορικών αναστολέων που έχουν αναπτυχθεί για τις μεταλλοπρωτεάσες ψευδαργύρου αφορούν κυρίως φωσφινικές δομές.



Εικόνα 2: Γενική κατηγοριοποίηση αναστολέων μεταλλοπρωτεασών Zn.

Σε αντίθεση με άλλες κατηγορίες αναστολέων μεταλλοπρωτεασών Zn (υδροξαμικά οξέα, βορονικά οξέα, ένυδρες αλδεΐδες, θειόλες κ.α.), τα φωσφινικά πεπτίδια εμφανίζουν μικρότερη συγγένεια με το ιόν Zn, καθώς η φωσφινική ομάδα είναι σχετικά ασθενέστερη χηλική ομάδα για τον ψευδάργυρο [9]. Η διαφορά αυτή μεταξύ φωσφινικών και άλλων αναστολέων που βασίζονται στην ισχυρή σύμπλεξη με το ιόν Zn αποτελεί ένα σημαντικό πλεονέκτημα των πρώτων ως προς την αντιμετώπιση της βασικής πρόκλησης στο σχεδιασμό συνθετικών αναστολέων των μεταλλοπρωτεασών Zn, δηλαδή τη διάκριση μεταξύ δομικά και λειτουργικά αναλόγων μελών αυτής της ενζυμικής οικογένειας. Συγκεκριμένα, οι κατάλληλα σχεδιασμένες δομικές βελτιώσεις των φωσφινικών παραγώγων μπορούν να ενισχύσουν τη συνεισφορά δευτεροταγών αλληλεπιδράσεων μεταξύ ενζύμου και πλευρικών

αλυσίδων του ψευδοπεπτιδικού κορμού του αναστολέα και να οδηγήσουν σε αύξηση της ισχύος σύμπλεξης. Έτσι, η ισχυρή σύμπλεξη είναι συνυφασμένη με την καλή συμπληρωματικότητα, η οποία διαφοροποιείται από ένζυμο σε ένζυμο, και όχι με την ισχυρή αλληλεπίδραση με τον ψευδάργυρο που είναι κοινός σε όλα τα ένζυμα. Δεδομένου λοιπόν ότι η δράση τους οφείλεται κυρίως σε μη ομοιοπολικές, ασθενείς αλληλεπιδράσεις, οι φωσφινικοί αναστολείς είναι από τις ελάχιστες περιπτώσεις αναστολέων που μπορούν να οδηγήσουν σε υψηλό βαθμό εξειδίκευσης για το ένζυμο-στόχο. Επιπλέον, η χημεία αναστολέων, όπως τα υδροξαμικά παράγωγα και οι θειόλες, δίνει πρόσβαση σε αναστολείς είτε μόνο αριστερής είτε μόνο δεξιάς σύμπλεξης, επιτρέποντας διερεύνηση είτε μόνο της S είτε μόνο της S' περιοχής του ενεργού κέντρου, αντίστοιχα (Εικόνα 2). Αντίθετα, η χημεία των φωσφινικών πεπτιδίων δίνει τη δυνατότητα σύνθεσης αναστολέων **αμφίπλευρης σύμπλεξης**, ικανών να αλληλεπιδράσουν ταυτόχρονα με την S και την S' περιοχή του ενεργού κέντρου, επιτρέποντας βελτιστοποίηση της εκλεκτικότητας με κατάλληλη διαφοροποίηση των P και P' θέσεων τους [9, 15]. Τέλος, πληρούν τα περισσότερα χαρακτηριστικά που απαιτούνται για έναν αποτελεσματικό αναστολέα με φαρμακευτικό ενδιαφέρον, όπως μικρό μοριακό βάρος, μη πεπτιδική χημική δομή, υψηλή σταθερότητα σε μη εκλεκτική πρωτεόλυση, μεγάλο χρόνο ημιζωής στα κύτταρα και στο αίμα και καλή βιοδιαθεσιμότητα [8, 9].

1.3 Παραδείγματα φωσφινικών αναστολέων με βιολογική δράση

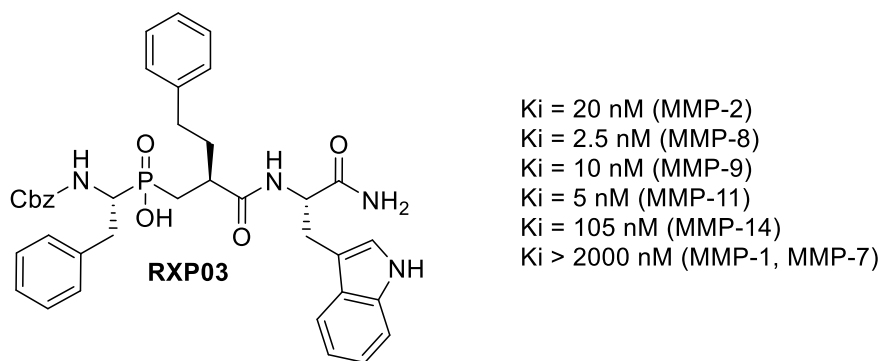
Οι φωσφινικές δομές χρησιμοποιούνται ως αναστολείς σε δύο κυρίως κατηγορίες πρωτεολυτικών ενζύμων, τις μεταλλοπρωτεϊνάσες ψευδαργύρου και τις πρωτεάσες ασπαρτικού οξέος. Παρακάτω παρατίθενται κάποια επιλεγμένα παραδείγματα φωσφινικών αναστολέων μεταλλοπρωτεϊνασών Zn, με έμφαση στην εξειδίκευση που παρουσιάζουν για το ένζυμο-στόχο.

1.3.1 Φωσφινικοί αναστολείς ματριξινών (MMPs)

Οι ματριξίνες είναι μια υποοικογένεια Zn-μεταλλοπρωτεϊνασών που αποικοδομούν ποικίλα πρωτεϊνικά υποστρώματα του συνδετικού ιστού [16]. Στα θηλαστικά έχουν βρεθεί πάνω από 25 μέλη ματριξινών, τα οποία μπορούν να ταξινομηθούν περαιτέρω ως κολλαγονάσες, ζελατινάσες, στρομελυσίνες και ματριξίνες

μεμβρανικού τύπου [17]. Οι MMPs, που στην πλειοψηφία τους εκκρίνονται ως ζυμογόνα, συνδέονται με πλήθος φυσιολογικών καταστάσεων, όμως η υπερέκφραση των ενζύμων και η ανεξέλεγκτη πρωτεολυτική τους δράση μπορεί να οδηγήσει σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις όπως οστεοαρθρίτιδα, ρευματοειδή αρθρίτιδα και φλεγμονή. Κυρίως όμως συνδέεται με τον καρκίνο. Η εξισορρόπηση της υπερέκφρασης των ματριξινών αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση για τη θεραπεία του καρκίνου [18, 19, 20, 21, 22].

Η εκλεκτικότητα των αναστολέων των ματριξινών είναι άμεσα συνδεδεμένη με τη φύση των πλευρικών αλυσίδων στις θέσεις P₁, P₂, P₁' και P₂'. Μελέτες δομής δραστηριότητας έχουν δείξει πως στις περισσότερες ματριξίνες ο θύλακας S₁' σχηματίζει μια βαθιά κοιλότητα με αποτέλεσμα μια μη φυσική πλευρική ομάδα, όπως φαινυλοπρόπυλο [(CH₂)₃(C₆H₅)], στη θέση P₁' να οδηγεί σε πιο ισχυρή σύμπλεξη (Εικόνα 3). Εξαιρεση αποτελούν οι MMP-1 και MMP-7 καθώς στο θύλακα S₁' υπάρχει μεγαλύτερη στερεοχημική παρεμπόδιση, λόγω ενός καταλοίπου αργινίνης και τυροσίνης αντίστοιχα, αντί της λευκίνης που υπάρχει συνήθως. Επιπλέον υπάρχει προτίμηση για ογκώδεις ομάδες στις θέσεις P₁ και P₂', χωρίς να είναι τόσο καθοριστικές για την εκλεκτικότητα όπως η P₁' [23].

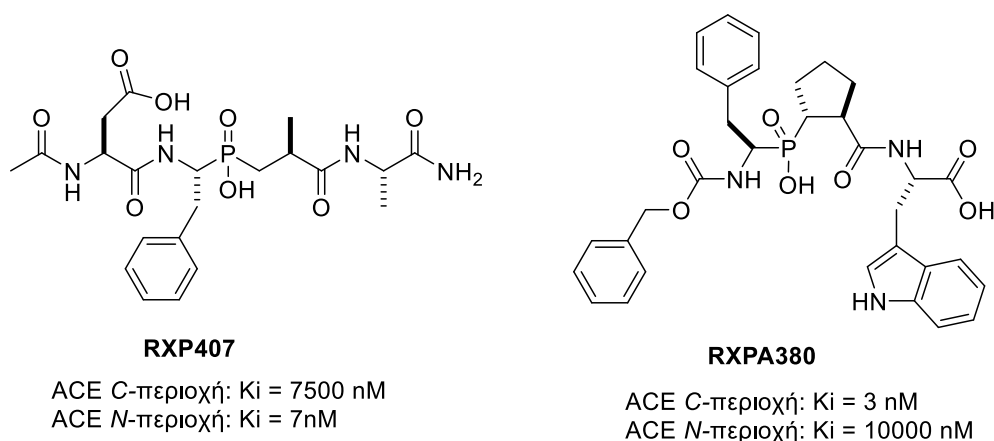


Εικόνα 3: Ισχύς πρόσδεσης του φωσφινικού τριπεπτιδίου RXP03 σε διάφορες ματριξίνες.

Το 2003, αναπτύχθηκε από το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας, για πρώτη φορά, η εισαγωγή ετεροκυκλικών δακτυλίων και συγκεκριμένα ισοξαζολικών δακτυλίων στην P₁' θέση ενός φωσφινικού μορίου-κορμού [24]. Η εισαγωγή αυτών των ετεροκυκλικών δακτυλίων πραγματοποιήθηκε με εφαρμογή 1,3-διπολικής κυκλοπροσθήκης (1,3-DCRs) οξειδίων νιτριλίου (1,3 δίπολα) σε κατάλληλο ψευδοπεπτιδικό ακόρεστο σύστημα, οδηγώντας στον τοποεκλεκτικό σχηματισμό 3,5-δισυποκατεστημένων ισοξαζολών. Η εφαρμογή της τεχνικής αυτής ήταν άμεση στην περίπτωση των ματριξινών. Συγκεκριμένα, δοκιμασίες *in vitro* αναστολής

αγγειοδιασταλτικής της δράσης. Συνεπώς, η συνολική επίδραση του ACE στην πίεση του αίματος είναι η αύξησή της.

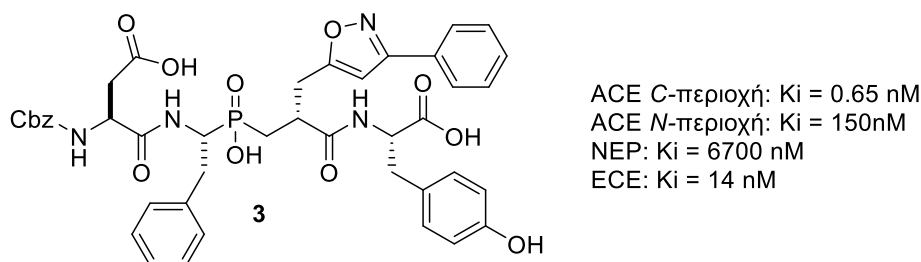
Η διαπίστωση ότι το ACE έχει δύο ενεργά κέντρα (το *N*- και το *C*-ενεργό κέντρο), εκ των οποίων μόνο το *C*-ενεργό κέντρο είναι υπεύθυνο για τη ρύθμιση της πίεσης του αίματος, οδήγησε τη φαρμακευτική έρευνα στην ανάπτυξη νέων *C*-εκλεκτικών αναστολέων, καθώς οι έως τότε γνωστοί αναστολείς απενεργοποιούσαν εξίσου και τα δύο ενεργά κέντρα. Σ' αυτή την κατεύθυνση, το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας σε συνεργασία με το Γαλλικό Ερευνητικό Ινστιτούτο DIEP/CEA, περιέγραψε δύο *in vivo* σταθερούς, εκλεκτικούς, φωσφινोπεπτιδικούς αναστολείς του ACE, το *N*-εκλεκτικό ($K_i = 7 \text{ nM}$) **RXP407** [30] και το *C*-εκλεκτικό ($K_i = 3 \text{ nM}$) **RXPA380** (Εικόνα 5) [31]. Η εκλεκτικότητα του **RXP407** για το *N*-ενεργό κέντρο οφείλεται μάλλον στα κατάλοιπα Tyr369 και Arg381 που βρίσκονται στο θύλακα πρόσδεσης S_2 [32]. Αντιθέτως η *C*-εκλεκτικότητα που εμφανίζει ο **RXPA380** οφείλεται στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των υδρόφοβων αμινοξέων του θύλακα S_2' και του ινδολικού δακτυλίου της θρυπτοφάνης [31, 33, 34]. Η εκλεκτικότητα αυτών των αναστολέων είναι εξαιρετική και η μεγαλύτερη που έχει επιτευχθεί έως σήμερα από οποιοδήποτε φυσικό ή συνθετικό μόριο.



Εικόνα 5: Δομές των φωσφινικών αναστολέων του ACE, RXP407 και RXPA380.

Ένα ακόμα ένζυμο με κεντρικό ρόλο στη διαδικασία της ρύθμισης της αρτηριακής πίεσης είναι το ECE-1 (ή ECE). Το ECE είναι το πλέον μελετημένο ένζυμο της κατηγορίας των μετατρεπτικών ενζύμων της ενδοθηλίνης, τα οποία ευθύνονται για την πρωτεολυτική ενεργοποίηση των μεγάλων ενδοθηλινών, ισχυρών αγγειοσυσταλτικών παραγόντων που σχετίζονται με πλήθος παθολογικών καταστάσεων όπως η αθηροσκλήρωση και η υπέρταση [35].

Επιπλέον μελέτες της δομής του **RXPA380** οδήγησαν σε έναν διπλό αναστολέα του ACE (C-ενεργό κέντρο) και του ECE-1 (Εικόνα 6). Η στεreoχημεία στην P1' θέση παίζει σημαντικό ρόλο στην εκλεκτικότητα του αναστολέα [36].



Εικόνα 6: Δομή του διπλού φωσφινικού αναστολέα των ενζύμων ACE και ECE.

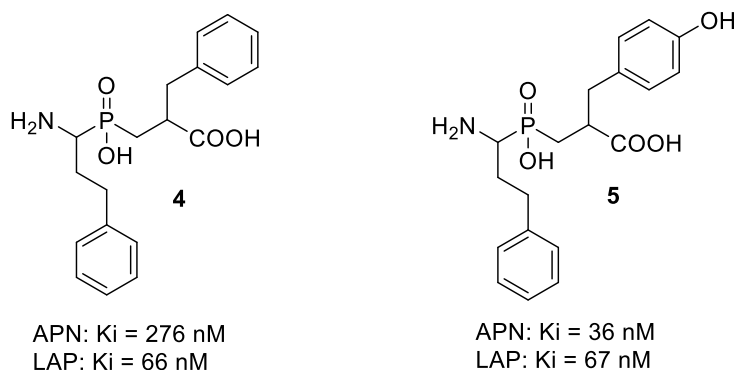
1.3.3 Φωσφινικοί αναστολείς αμινοπεπτιδασών

Η M17 κυτοσολική αμινοπεπτιδάση λευκίνης (LAP) και η M1 αμινοπεπτιδάση N (APN) είναι δύο εξωπεπτιδάσες, οι οποίες έχουν πρωταρχικό ρόλο στον μεταβολισμό πρωτεϊνών και βιοδραστικών πεπτιδίων και βρίσκονται σε πολλούς ιστούς και όργανα θηλαστικών αλλά και σε κατώτερους οργανισμούς όπως φυτά και βακτήρια. Αν και ανήκουν σε διαφορετικές οικογένειες (clans), εμφανίζουν παρόμοια εξειδίκευση ως προς το υπόστρωμα. Και οι δύο αμινοπεπτιδάσες απομακρύνουν υδρόφοβα αμινοξέα από το N-τελικό άκρο πεπτιδίων ή πρωτεϊνών, ενώ η APN εμφανίζει μια προτίμηση για βασικά κατάλοιπα [37, 38, 39, 40].

Στα θηλαστικά συμμετέχουν στην αντιγονική παρουσίαση, στον μεταβολισμό βιοδραστικών, κυρίως ορμονικών και νευροδραστικών πεπτιδίων, στον έλεγχο της αγγειογένεσης και σε άλλες λειτουργίες. Λειτουργίες που σχετίζονται με την καρκινογένεση και την καρκινική διήθηση καθιστούν αυτά τα ένζυμα ως ιδανικούς στόχους για την ανάπτυξη πιθανών αντικαρκινικών φαρμάκων. Επιπλέον, η APN σχετίζεται με την παθογένεση της υπέρτασης, επομένως η ανάπτυξη αναστολέων με σκοπό τη ρύθμιση της ενεργότητας του ενζύμου αποτελεί μια καλή προσέγγιση στη βελτίωση της αρτηριακής πίεσης [37, 38, 39, 40].

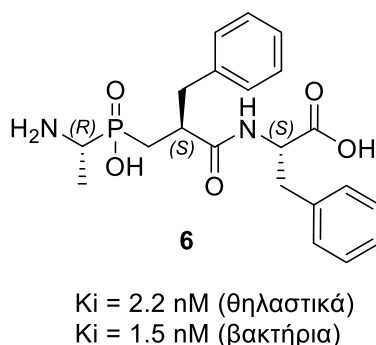
Τα φωσφινικά ανάλογα **4** και **5** (Εικόνα 7) εμφάνισαν παρόμοια δράση έναντι της LAP, ενώ η **5** αποτελεί ισχυρό αναστολέα μόνο για την APN ($K_i = 36$ nM) [41]. Η εκλεκτικότητα της ένωσης **5** για την APN οφείλεται στο σχηματισμό ενός δεσμού

υδρογόνου μεταξύ του υδροξυλίου της *p*-υδροξυβενζυλομάδας της **5** και του καρβονυλίου του Glu413 που βρίσκεται στο θύλακα πρόσδεσης S₁' της APN [42].



Εικόνα 7: Δομές φωσφινικών αναστολέω των ενζύμων APN και LAP.

Μια σειρά από τριπεπτιδικά ανάλογα, που περιλαμβάνουν και κατάλοιπα στη θέση S₂', παρουσιάζουν αναστολή της τάξης των nM για την APN. Η **6** (Εικόνα 8) παρουσιάζει μια $K_i = 2.2$ και 1.5 nM για ένζυμα θηλαστικών και βακτηρίων αντίστοιχα [37].

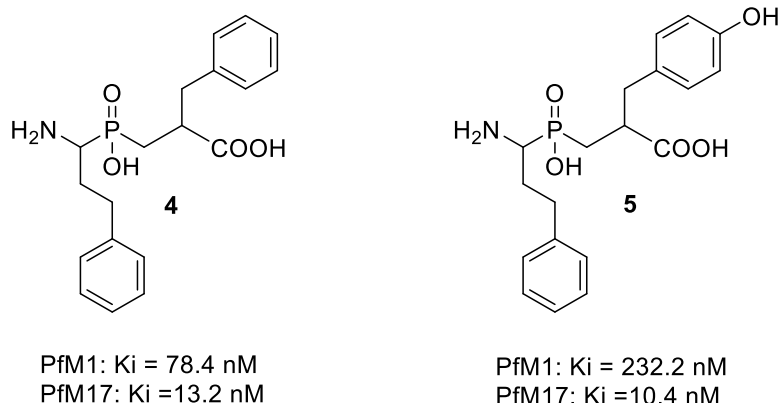


Εικόνα 8: Δομή ψευδοτριπεπτιδικού αναστολέα της APN.

Στους μονοκύτταρους οργανισμούς, οι αμινοπεπτιδάσες είναι υπεύθυνες για την πρωτεολυτική πέψη. Συγκεκριμένα οι M1 και M17 στο *Plasmodium falciparum* (PfM1 και PfM17) συμμετέχουν στην αποικοδόμηση της αιμογλοβίνης στα ερυθροκύτταρα του ξενιστή και συνδέονται με τα κλινικά συμπτώματα της ελονοσίας [43, 44].

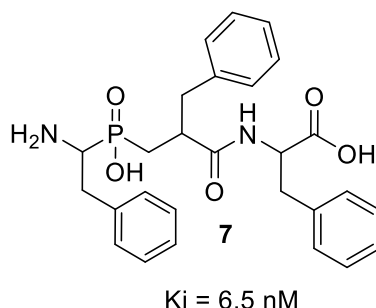
Οι ενώσεις **4** και **5** καταστέλλουν τη δράση των ανασυνδυασμένων ενζύμων και εμφανίζουν ιδιαίτερα ισχυρή πρόσδεση στην PfM17, $K_i = 13.2$ και 10.4 nM για τις ενώσεις **4** και **5** αντίστοιχα (Εικόνα 9). Και τα δύο φωσφινικά ανάλογα περιόρισαν την ανάπτυξη του *P. falciparum* σε καλλιέργειες, συμπεριλαμβανομένων των κυτταρικών σειρών ελονοσίας, οι οποίες είναι ανθεκτικές στη χλωροκινίνη. Η IC₅₀ των **4** και **5**

κυμαίνεται γύρω στα 13-75 μM και είναι παρόμοια με αυτή του φυσικού αναστολέα των αμινοπεπτιδασών, της μπεστατίνης ($\text{IC}_{50} = 8\text{-}21 \mu\text{M}$) [45].



Εικόνα 9: Δομές φωσφινικών αναστολέων των αμινοπεπτιδασών M1 και M17 του *P. falciparum*.

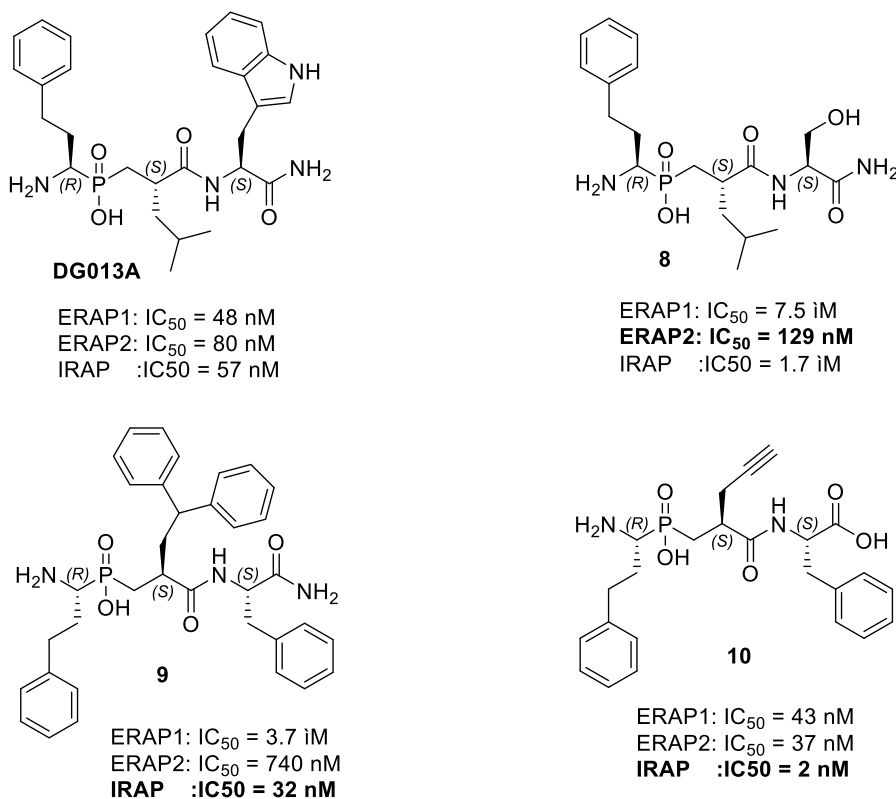
Η υδρολάση A4 του λευκοτριενίου (LTA₄H) ανήκει στην οικογένεια των M1 αμινοπεπτιδασών και είναι ένα δι-δραστικό ένζυμο που αφαιρεί εκλεκτικά κατάλοιπα αργινίνης από το *N*-τελικό άκρο διαφόρων τριπεπτιδίων και καταλύει το καθοριστικό για το ρυθμό βήμα στη βιοσύνθεση του LTB₄ [46], ενός ισχυρού χημειοελκτικού λιπιδίου που σχετίζεται με φλεγμονές, την ανοσοαπόκριση, την άμυνα κατά των μολύνσεων, το επαγόμενο από τον παράγοντα ενεργοποίησης αιμοπεταλίων σοκ και την ομοιόσταση των λιπιδίων. Η κρυσταλλική του δομή έχει δείξει ότι και οι δύο λειτουργίες λαμβάνουν χώρα στο ίδιο ενεργό κέντρο, το οποίο διαθέτει τα δομικά χαρακτηριστικά των αμινοπεπτιδασών ψευδαργύρου [47]. Το ένζυμο αυτό αναστέλλεται ισχυρά από την ένωση **7** ($K_i = 6.5 \text{ nM}$) (Εικόνα 10) [48].



Εικόνα 10: Δομή ψευδοτριπεπτιδικού αναστολέα της LTA₄H.

Οι αμινοπεπτιδάσες Zn του ενδοπλασματικού δικτύου ERAP1, ERAP2 και IRAP ανήκουν στην υποοικογένεια ωκυτοκινασών. Διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην παραγωγή των αντιγονικών πεπτιδίων και ως εκ τούτου έμμεσα ρυθμίζουν την

ανθρώπινη επίκτητη ανοσολογική απόκριση. Αυτά τα τρία ένζυμα έχουν αναδειχθεί τα τελευταία χρόνια ως ελκυστικοί στόχοι για την ανοσοθεραπεία του καρκίνου και τον έλεγχο των αυτοάνοσων αντιδράσεων, τροφοδοτώντας το ενδιαφέρον για την ανάπτυξη ισχυρών και εκλεκτικών αναστολέων τους [49, 50]. Το 2013 δημοσιεύτηκε από το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας σε συνεργασία με το ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος» μια πολύ σημαντική εργασία που περιγράφει τον ορθολογικό σχεδιασμό του ισχυρού αναστολέα **DG013A** (Εικόνα 11) [51]. Περαιτέρω μελέτες προς αυτήν την κατεύθυνση ανέδειξαν τις σχέσεις δομής δραστηριότητας που διέπουν την αναστολή των ενζύμων αυτών και οδήγησαν και σε άλλους φωσφινικούς αναστολείς με ενδιαφέρον προφίλ ισχύος και εκλεκτικότητας, όπως φαίνεται στην Εικόνα 11 [52]. Έτσι, η ένωση **8** εμφανίζει υψηλή εκλεκτικότητα για τον ERAP2, ενώ η ένωση **9** είναι εκλεκτική για τον IRAP. Επίσης, το παράγωγο **10** αποτελεί τον ισχυρότερο αναστολέα για τον IRAP που έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία, με $IC_{50} = 2$ nM. Τα αποτελέσματα των μελετών αυτών δείχνουν ότι η συγκεκριμένη κατηγορία ενώσεων μπορεί να είναι χρήσιμη για τη στοχευμένη ρύθμιση των ανοσοαποκρίσεων και ενθαρρύνουν την προκλινική αξιολόγησή τους για εφαρμογές στην ανοσοθεραπεία καρκίνου ή στον έλεγχο της αυτοανοσίας.

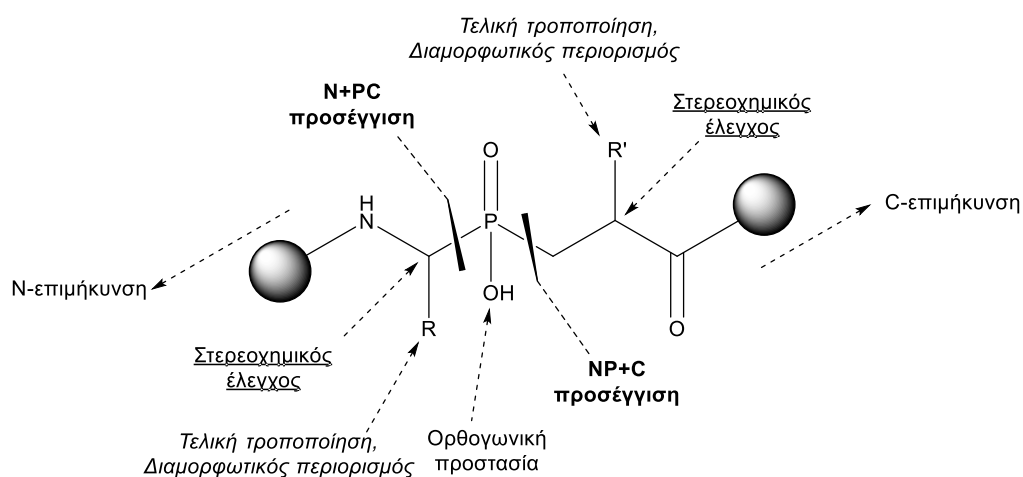


Εικόνα 11: Δομές φωσφινικών αναστολέων των ER αμινοπεπτιδασών.

1.4 Συνθετική χημεία φωσφινικών πεπτιδίων

1.4.1 Γενικές συνθετικές μέθοδοι

Από συνθετική άποψη, τα φωσφινικά πεπτιδία είναι δομές με μεγάλο βαθμό πολυπλοκότητας που εξαρτάται από την παρουσία επιπρόσθετων λειτουργικών ομάδων στις πλευρικές τους αλυσίδες. Η σύνθεση των μορίων αυτών αποτελεί ερευνητικό πεδίο έντονης δραστηριότητας εδώ και σχεδόν 30 χρόνια. Οι συνθετικές προσεγγίσεις των φωσφινικών πεπτιδίων έχουν περιγραφεί αναλυτικά σε άρθρα ανασκόπησης [7, 9, 53] και η συζήτηση που ακολουθεί αποσκοπεί σε μια συνοπτική περιγραφή των βασικών συνθετικών μεθόδων φωσφινικών πεπτιδίων. Στην Εικόνα 12 συνοψίζονται οι κύριες προκλήσεις που εμφανίζει η σύνθεση ενός φωσφινικού πεπτιδικού κορμού. Σύμφωνα με μια προτεινόμενη κατηγοριοποίηση [7, 15], η συναρμολόγηση του σκελετού των ψευδοπεπτιδίων μπορεί να πραγματοποιηθεί με δύο διαφορετικές προσεγγίσεις:



Εικόνα 12: Σχηματική αναπαράσταση των συνθετικών προκλήσεων στα φωσφινικά πεπτιδία.

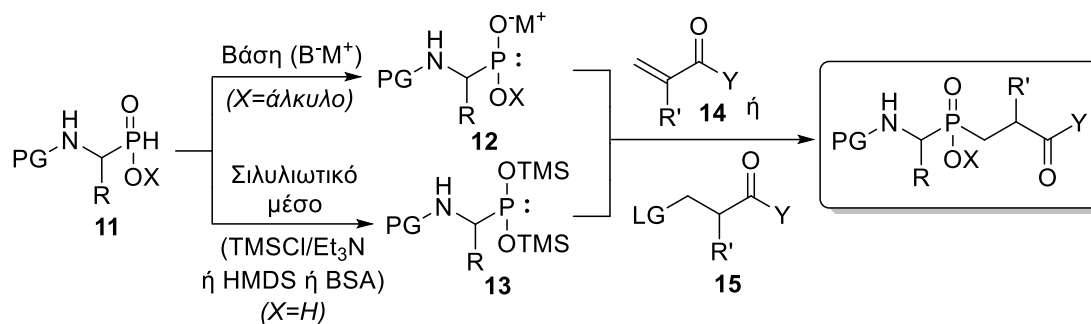
- τη NP+C μεθοδολογία, που περιλαμβάνει τη σύνθεση της βασικής ψευδοπεπτιδικής μονάδας, εφαρμόζοντας αντιδράσεις προσθήκης αμινοφωσφορικών ενώσεων σε κατάλληλα C-υποστρώματα, και
- τη N+PC μεθοδολογία (λιγότερο συνηθισμένη), που περιλαμβάνει την ενσωμάτωση αμινοτελικών τμημάτων μέσω σχηματισμού δεσμού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

Αυτές οι δύο συμπληρωματικές στρατηγικές προσφέρουν ευελιξία όσον αφορά τις ανάγκες διαφοροποίησης σε εφαρμογές φαρμακευτικής χημείας, δεδομένου ότι η στρατηγική NP+C διευκολύνει τη διαφοροποίηση της P1' θέσης, ενώ η στρατηγική

N+PC είναι καταλληλότερη για την ταχεία διαφοροποίηση της P₁ θέσης. Εκτός από αυτήν τη θεώρηση, η επιλογή της στρατηγικής εξαρτάται συχνά από τις ειδικές απαιτήσεις σχετικά με τη φύση των R και R' (Εικόνα 12). Πέρα από τη στρατηγική που ακολουθείται για την κατασκευή του σκελετού, πολλές πρόσφατες αναφορές έχουν ασχοληθεί με τη διαφοροποίηση ομάδων της πλευρικής αλυσίδας, μέσω τελικής τροποποίησης κατάλληλων πρόδρομων ενώσεων. Ένα άλλο ζήτημα που συνδέεται άμεσα με την ορθογωνική προστασία του φωσφινικού υδροξυλίου είναι η εύκολη ενσωμάτωση των φωσφινοδιπεπτιδικών δομικών μονάδων μέσα σε μεγαλύτερες πεπτιδικές δομές μέσω N- και/ή C-επιμήκυνσης. Επιπλέον, έχουν ενταθεί οι προσπάθειες για το στερεοχημικό έλεγχο των στερεογονικών κέντρων των P₁ και P₁' θέσεων των φωσφινικών διπεπτιδίων, δεδομένου ότι οι περισσότερες κλασικές συνθετικές πορείες (NP+C & N+PC) προσφέρουν περιορισμένες δυνατότητες. Τέλος, οι πρόσφατες συνθέσεις φωσφινικών πεπτιδίων τα οποία υπόκεινται σε διαμορφωτικό περιορισμό ή διαθέτουν άλλα μη κλασικά δομικά χαρακτηριστικά [δηλαδή, θειοφωσφινικές ενώσεις ανάλογα εκτεταμένης μεταβατικής κατάστασης (TSAs)] έχουν εμπλουτίσει τις δομικές δυνατότητες που είναι διαθέσιμες στους συνθετικούς χημικούς για την αποτελεσματική βελτιστοποίηση των φωσφινικών αναστολέων.

1.4.2 Η NP+C προσέγγιση

Η NP+C προσέγγιση (Σχήμα 1) είναι αναμφίβολα η κύρια στρατηγική για την παρασκευή των βασικών ψευδοδιπεπτιδικών μονάδων. Συνήθως, η μεθοδολογία αυτή περιλαμβάνει την ήπια αντίδραση μεταξύ πυρηνόφιλων φωσφόρου (**12** ή **13**), που παράγονται *in situ* από προστατευμένα αμινοφωσφινικά οξέα **11** και ηλεκτρονιόφιλα υποστρώματα, π.χ. ακρυλικά παράγωγα (**14**) ή προπιονικά που φέρουν αποχωρούσα ομάδα (LG) σε β θέση (**15**).



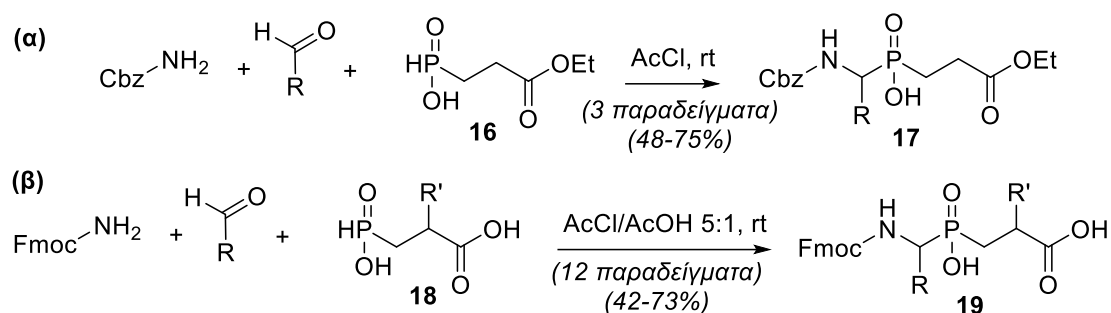
Σχήμα 1: Κύριες συνθετικές πορείες σχηματισμού φωσφινικών ψευδοδιπεπτιδίων από τη NP+C στρατηγική.

Σύμφωνα με το Σχήμα 1, η μετατροπή των αμινοφωσφινικών οξέων **11** σε τρισθενή πυρηνόφιλα μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε με αποπρωτονίωση αμινοφωσφινικών εστέρων με ήπιες βάσεις (RONa, NaH), είτε με σιλυλιωτικά αντιδραστήρια, όπως το εξαμεθυλοδισιλαζάνιο (HMDS), το τριμεθυλοσιλυλοχλωρίδιο (TMSCl)/Et₃N ή το *N,O*-δισ(τριμεθυλοσιλυλο)ακεταμίδιο (BSA), που οδηγούν στους δραστικούς δισ(τριμεθυλοσιλυλο)φωσφονίτες **13** [54]. Η χρήση ακρυλικών παραγώγων του τύπου **14** πλεονεκτεί σημαντικά έναντι των προπιονικών ηλεκτρονιόφιλων τύπου **15** γιατί συμβαδίζει με μια πληθώρα R' ομάδων. Τα ηλεκτρονιόφιλα **15** φαίνεται να υπόκεινται σε σημαντικούς στερεοχημικούς περιορισμούς. Πράγματι, με εξαίρεση μόνο μία αντίδραση που έχει αναφερθεί βιβλιογραφικά [55], η αντίδραση δεν είναι αποδοτική όταν R'≠H [56]. Ένα άλλο σημαντικό πλεονέκτημα της NP+C στρατηγικής είναι η διαθεσιμότητα των α -αμινοφωσφινικών οξέων **11** με ευρεία ποικιλία ομάδων R και η δυνατότητα σύνθεσής τους σε στερεοχημικά καθαρή μορφή αλλά και σε μεγάλες ποσότητες.

1.4.3 Η N+PC προσέγγιση

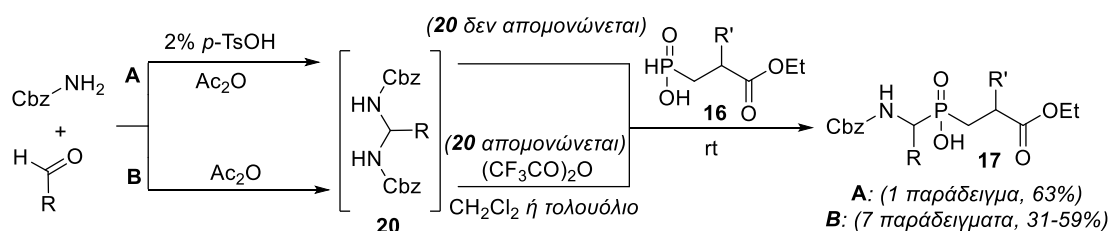
Η σύνθεση φωσφινικών πεπτιδίων με μια αντίστροφη σειρά αντιδράσεων σχηματισμού του P-C δεσμού (N+PC μεθοδολογία), αν και εφαρμόζεται σπανιότερα μπορεί να προσφέρει σημαντικές δυνατότητες δομικής διαφοροποίησης. Συγκεκριμένα, η συμπυκνωτική αντίδραση αμιδοαλκυλίωσης μεταξύ αμιδίων, αλδεϋδών και αλκυλοφωσφινικών οξέων (ή αντίδραση τριών συστατικών Kabachnik-Fields) οδηγεί σε ένα μόνο στάδιο στον βασικό ψευδοπεπτιδικό κορμό, επιτρέποντας τη γρήγορη μελέτη της φύσης της θέσης P₁. Το 1996, οι Chen και Coward παρατήρησαν ότι μίγμα καρβαμικού βενζυλεστέρα, αλδεϋδης και του αλκυλοφωσφινικού οξέος **16** σε AcCl οδηγεί σε Cbz-προστατευμένα φωσφινικά

ψευδοπεπτιδία τύπου **17** (Σχήμα 2α) [57]. Η μέθοδος αυτή προσαρμόστηκε πρόσφατα με στόχο τη σύνθεση Fmoc-προστατευμένων φωσφινικών δομικών μονάδων και πεπτιδίων τύπου **19** (Σχήμα 2β) [58].



Σχήμα 2: Εφαρμογή της στρατηγικής N+PC στη σύνθεση φωσφινικών ψευδοδιπεπτιδίων από (α) Chen et al. [57], (β) Matziari et al. [58].

Ο Ragulin και οι συνεργάτες του παρατήρησαν ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί οξικός ανυδρίτης σε αντιδράσεις αμιδοαλκυλίωσης με ακεταμίδιο ως αμίδιο και θέλησαν να εφαρμόσουν τις ίδιες συνθήκες και για καρβαμίδια [59]. Έτσι, βρέθηκε ότι η αντίδραση επιταχύνεται με *p*-TsOH σε διαλύτη οξικό ανυδρίτη (Σχήμα 3, Μέθοδος A) [60]. Τέλος, παρουσιάστηκε μια ηπιότερη εκδοχή της αντίδρασης, όπου τα δις(καρβαμιδικά) υποστρώματα **20** αντιδρούν με αλκυλοφωσφινικά οξέα **21** σε τολουόλιο ή διχλωρομεθάνιο με στοιχειομετρικές ποσότητες τριφθοροξικού ανυδρίτη (Σχήμα 3, Μέθοδος B) [61].



Σχήμα 3: Βελτιστοποίηση της αντίδρασης αμιδοαλκυλίωσης από την ερευνητική ομάδα του Ragulin [60, 61].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΣΤΕΡΕΟΕΚΛΕΚΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΕΣΕΙΣ α -ΑΜΙΝΟΦΩΣΦΙΝΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ

Βασικός στόχος στη σύνθεση φωσφινικών ψευδοπεπτιδίων με στερεοχημικά καθορισμένη τη θέση P_1 είναι η ανάπτυξη στερεοεκλεκτικών πορειών που οδηγούν σε οπτικά καθαρά α -αμινοφωσφινικά οξέα. Στην ενότητα αυτή παρουσιάζονται ορισμένες στερεοεκλεκτικές προσεγγίσεις για τη σύνθεση α -αμινοφωσφινικών οξέων και παραγώγων τους.

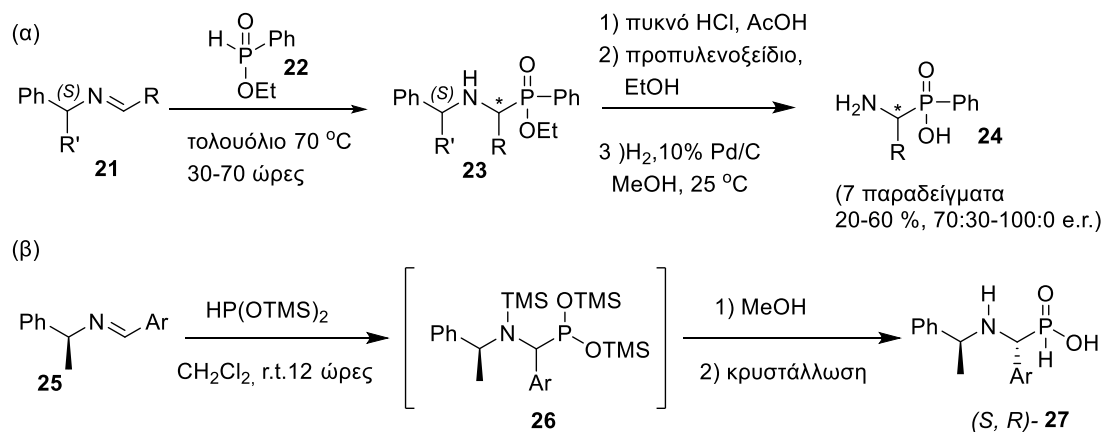
2.1 Προσθήκη ενώσεων φωσφόρου σε ιμίνες.

Η πυρηνόφιλη προσθήκη ενώσεων που περιέχουν φώσφορο (αλκυλο ή αρυλο φωσφινικοί εστέρες, υποφωσφορώδες οξύ, τριμεθυλοσιλυλο φωσφονίτες) σε ιμίνες, μια παραλλαγή της αντίδρασης Pudovik, είναι μια αποτελεσματική μέθοδος για το σχηματισμό α -αμινοφωσφινικών εστέρων και οξέων [62, 63]. Η μέθοδος αυτή έχει το πλεονέκτημα πως το ένα ή και τα δύο αντιδρώντα μπορούν να φέρουν ένα χειρόμορφο βοήθημα, ωστόσο η αντίδραση μπορεί να πραγματοποιηθεί χρησιμοποιώντας μη χειρόμορφα υποστρώματα, παρουσία ενός χειρόμορφου καταλύτη [64]. Η επαγόμενη ασυμμετρία στον α -άνθρακα, οφείλεται στις στερικές ή υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των διάφορων υποκαταστατών που φέρουν τα υποστρώματα.

2.1.1 Με χρήση χειρόμορφων ιμινών

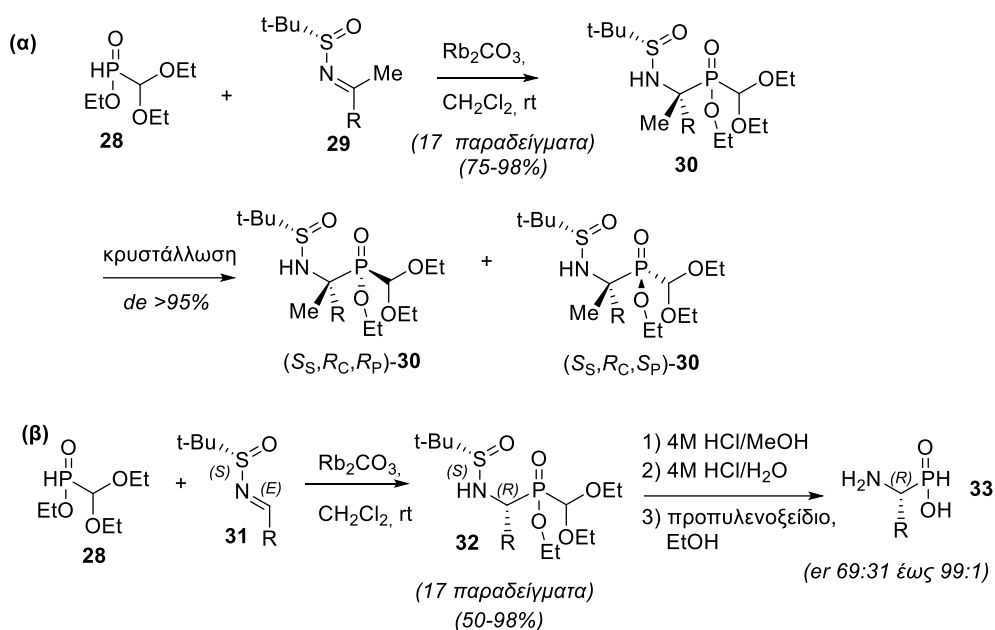
Ο Retneházy και οι συνεργάτες του ανέπτυξαν την πρώτη εναντιοεκλεκτική σύνθεση α -αμινο- C -φωσφινικών οξέων και εστέρων, σύμφωνα με την οποία γίνεται προσθήκη φαινυλοφωσφινικών αιθυλεστέρων στις χειρόμορφες ιμίνες (S)- α -μεθυλοβενζυλιμίνη και (S)- α -μεθοξυμεθυλοβενζυλιμίνη, απουσία καταλύτη, σε τολουόλιο και θέρμανση στους 70 °C. Παραλαμβάνονται τα οπτικώς ενεργά α -αμινο- C -φωσφινικά οξέα με πολύ καλά έως εξαιρετικά e.r. (Σχήμα 4α) [65]. Για το σχηματισμό α -αμινο- H -φωσφινικών οξέων το υποφωσφορώδες οξύ μπορεί να δράσει ως πυρηνόφιλο [66], ενώ μια εναλλακτική μέθοδο πρότειναν οι Goldeman και Boduszek οι οποίοι, χρησιμοποιώντας έναν πιο ήπιο φωσφοριλιωτικό παράγοντα, το δις(τριμεθυλοσιλυλο)φωσφονίτη (BTSP), και τις χειρόμορφες ιμίνες **25** ως

ηλεκτρονιόφιλα, πραγματοποίησαν την αντίδραση σε CH₂Cl₂ σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Τα κύρια διαστερεοϊσομερή (*S,R*)-**27** απομονώθηκαν μετά από κρυστάλλωση με ακετόνη ή μίγμα ακετόνης-διαιθυλαιθέρα (Σχήμα 4β) [67].



Σχήμα 4: Στερεοεκλεκτική σύνθεση α-αμινοφωσφινικών οξέων με χρήση χειρόμορφης ιμίνης από την ερευνητική ομάδα του (α) Petneházy [65], (β) τους Goldman και Boduszek [67].

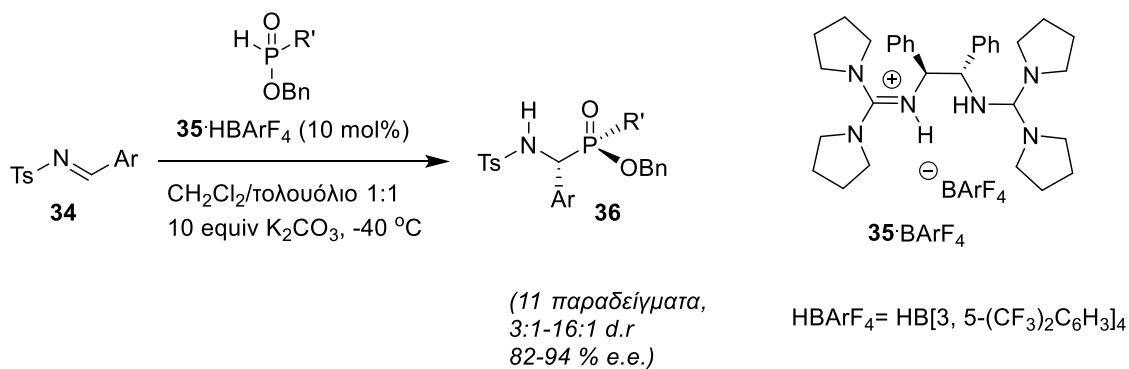
Το 2008, οι Zhang και Yuan περιέγραψαν τη σύνθεση των οπτικά καθαρών α-αμινοφωσφινικών εστέρων **30** μέσω της αντίδρασης του *H*-φωσφινικού εστέρα **28** και *N*-(*tert*-βουτανοσουλφινυλο)κετιμινών του Ellman **29** ως ηλεκτρονιόφιλα, χρησιμοποιώντας Rb₂CO₃ ως βάση, και σε όλες τις περιπτώσεις παρατηρήθηκε *de*>95%. Παραλαμβάνονται δύο διαστερεοϊσομερή [τα (*S_S*, *R_C*, *R_P*) και (*S_S*, *R_C*, *S_P*) καθώς ελέγχεται στερεοχημικά πλήρως το α-άτομο άνθρακα], τα οποία μπορούν να διαχωριστούν επιτυχώς με κρυστάλλωση, δίνοντας τη δυνατότητα να ελεγχθεί και το κέντρο του φωσφόρου (Σχήμα 5α) [68]. Οι Yuan and Yao, χρησιμοποιώντας ως ηλεκτρονιόφιλα τις *N*-(*tert*-βουτανοσουλφινυλο)αλδιμίνες **31**, συνέθεσαν τα οπτικά καθαρά α-αμινο-*H*-φωσφινικά οξέα **32** που έφεραν πλευρικές αλυσίδες από φυσικά αμινοξέα (Σχήμα 5β). Αυτό το πρωτόκολλο επιδεικνύει ανοχή σε ένα ευρύ φάσμα παραγωγοποιημένων ιμινών και παρέχει τα τελικά προϊόντα τύπου **33** σε υψηλή έως πολύ υψηλή οπτική καθαρότητα [69].



Σχήμα 5: Χρήση χειρόμορφων βοηθημάτων του Ellman στην ασύμμετρη σύνθεση (α) φωσφινικών εστέρων 30 από τους Zhang και Yuan [68], (β) α-αμινοφωσφινικών οξέων 33 από τους Yuan και Yao [69].

2.1.2 Με χρήση χειρόμορφου καταλύτη

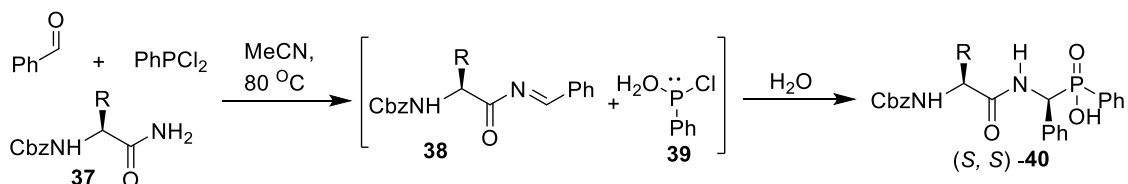
Όπως αναφέρθηκε στην αρχή αυτής της ενότητας, η σύνθεση οπτικά ενεργών α-αμινο-C-φωσφινικών εστέρων και οξέων μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω μιας πυρηνόφιλης προσβολής σε μια μη χειρόμορφη ιμίνη με τη χρήση ενός κατάλληλου καταλύτη. Σε αυτήν την προσέγγιση, ανάλογα γουανιδίνης και γουανιδικών αλάτων έχουν αποδειχτεί αποτελεσματικοί οργανοκαταλύτες. Ο Tan και οι συνεργάτες του πραγματοποίησαν τη στερεοεκλεκτική αντίδραση αμιδοαλκυλίωσης των αρυλο ή αλκυλο φωσφινικών εστέρων με τοζυλιμίνες **34**, παρουσία καταλυτικής ποσότητας του γουανιδινιακού άλατος **35**·HBArF₄, όπως φαίνεται στο Σχήμα 6. Τα προϊόντα παραλαμβάνονται σε καλές αποδόσεις, με μέτρια έως καλά d.r. και φαίνεται να σχηματίζονται σε μεγαλύτερο ποσοστό τα διαστεροεισομερή (*R*_C, *S*_P)-**36** [70].



Σχήμα 6: Στερεοεκλεκτική σύνθεση α -αμινο-C-φωσφινικών εστέρων μέσω οργανοκαταλύτη [70].

2.2 Αντίδραση τριών συστατικών με χειρόμορφα αμίδια

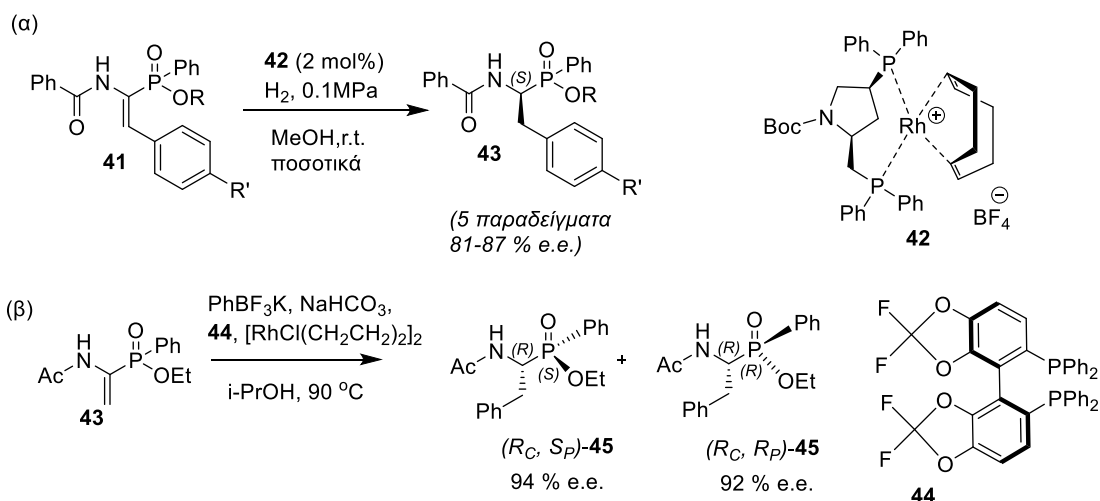
Όπως έχει αναφερθεί προηγουμένως η συμπυκνωτική αντίδραση αμιδοαλκυλίωσης τριών συστατικών αποτελεί μια βασική μέθοδο για το σχηματισμό του βασικού ψευδοπεπτιδικού κορμού [57, 58]. Αντικαθιστώντας τα καρβαμίδια με χειρόμορφα αμίδια μπορούν να σχηματιστούν απευθείας φωσφινικά πεπτίδια με καθορισμένη στερεοχημεία στη θέση P₁. Οι Meng και Xu ανέπτυξαν μια μέθοδο για την απευθείας σύνθεση φωσφινικών πεπτιδίων τα οποία φέρουν στο C-τελικό άκρο ένα αμινοαλκυλο-C-φωσφινικό οξύ. (Σχήμα 7) Τα *N*-Cbz προστατευμένα παράγωγα αμινοξέων **37** σε συνδυασμό με βενζαλδεΐδη και διχλωροφαινυλοφωσφίνες, σχηματίζουν την ηλεκτρονιόφιλη ιμίνη **38** και και το τρισθενές φαινυλοχλωροφωσφινικό παράγωγο **39**, το οποίο προσβάλλει την ιμίνη από τη λιγότερο παρεμποδισμένη πλευρά. Τέλος μετά από υδρόλυση του ενδιάμεσου αμινοαλκυλο φωσφινικού χλωριδίου παραλαμβάνονται τα (*S*, *S*)-**40** φωσφινικά πεπτίδια ως το κύριο διαστεροϊσομερές [71]. Στο στάδιο της υδρόλυσης, αν χρησιμοποιηθούν α -υδροξυ εστέρες ή αιθανόλη παράγονται οι αντίστοιχοι φωσφινικοί εστέρες (αντίδραση συμπύκνωσης ψευδο-τεσσάρων συστατικών) [72]. Αν και η συγκεκριμένη μέθοδος αμιδοαλκυλίωσης είναι η πιο απλή μέθοδος για τη σύνθεση οπτικά ενεργών α -αμινοφωσφινικών παραγώγων, η διαστεροϊσομερική αναλογία των προϊόντων δεν είναι καλή [71, 72].



Σχήμα 7: Στερεοεκλεκτική παραλλαγή της αντίδρασης τριών συστατικών με χειρόμορφα αμίδια [71].

2.3 Αναγωγή διπλού δεσμού στους α,β -δεϋδροαμινοφωσφινικούς εστέρες

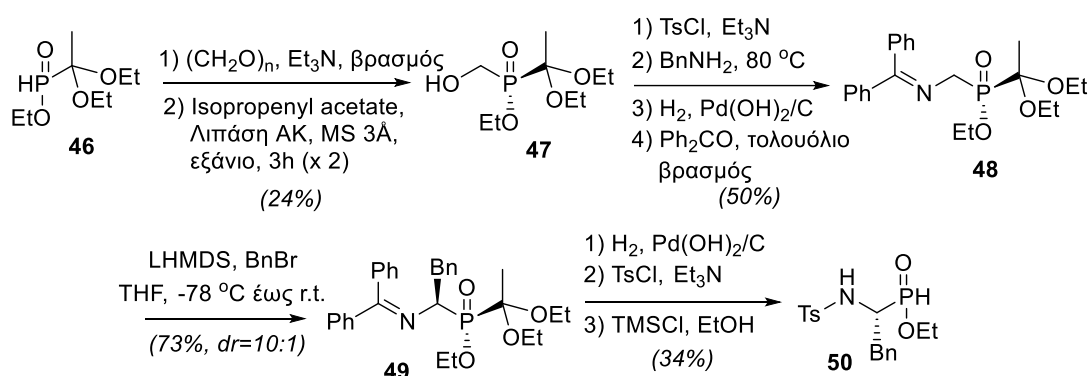
Μια άλλη μέθοδος για τη σύνθεση οπτικά ενεργών α -αμινο-*C*-φωσφινικών οξέων και παραγώγων είναι η ασύμμετρη καταλυτική υδρογόνωση των α,β -δεϋδροαμινοφωσφινικών εστέρων. Ο Druuz και οι συνεργάτες του ανέπτυξαν την πρώτη μέθοδο ασύμμετρης υδρογόνωσης των α,β -δεϋδροαμινοφωσφινικών εστέρων τύπου **41** [73], χρησιμοποιώντας το σύμπλοκο ροδίου **42** για καταλύτη (Σχήμα 8α) [74]. Μια εναλλακτική προσέγγιση αποτελεί η καταλυτική προσθήκη οργανοβορονικών παραγώγων σε α,β -δεϋδροαμινοφωσφινικούς εστέρες **43** [75] παρουσία του $[\text{RhCl}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2]_2$ ως προκαταλύτη και του χειρόμορφου υποκαταστάτη (*S*)-DifluorPhos **44** (Σχήμα 8β) [76].



Σχήμα 8: Σύνθεση α -αμινο-φαινυλοφωσφινικών εστέρων (α) μέσω ασύμμετρης καταλυτικής υδρογόνωσης των α,β -δεϋδροαμινοφωσφινικών εστέρων από τον Druuz et al. [74], (β) ασύμμετρης καταλυτικής προσθήκης του φαινυλοβορονικού παραγώγου σε α,β -δεϋδροαμινοφωσφινικούς εστέρες από τον Lefevre et al. [76].

2.4 Διαστερεοεκλεκτική αλκυλίωση των ιμινομεθυλοφωσφινικών εστέρων

Μια εναλλακτική πορεία για τη σύνθεση α -αμινοαλκυλο-*H*-φωσφινικών οξέων περιλαμβάνει τη διαστερεοεκλεκτική αλκυλίωση των ιμινομεθυλοφωσφινικών εστέρων **48**. Μια τέτοια πορεία, που σχεδιάστηκε από τον Yamagishi και τους συνεργάτες του, περιλαμβάνει την προσθήκη παραφορμαλδεΐδης σε έναν φωσφινικό 1,1-δισαιθοξυαιθυλεστέρα (**46**) και κατόπιν διαχωρισμό της προκύπτουσας ρακεμικής αλκοόλης προς λήψη της ένωσης **47**, η οποία στη συνέχεια μετατρέπεται στο υπόστρωμα **48** μέσω μιας διαδικασίας 4 σταδίων, με το τελικό προϊόν να είναι κατάλληλο για αλκυλίωση με χρήση LHMDS, η οποία πραγματοποιείται διαστερεοεκλεκτικά (d.r. = 10:1) (Σχήμα 9) [77].



Σχήμα 9: Διαστερεοεκλεκτική σύνθεση α -αμινοφωσφινικών οξέων από τον Yamagishi et al. [77].

2.5 Διαχωρισμός ισομερών

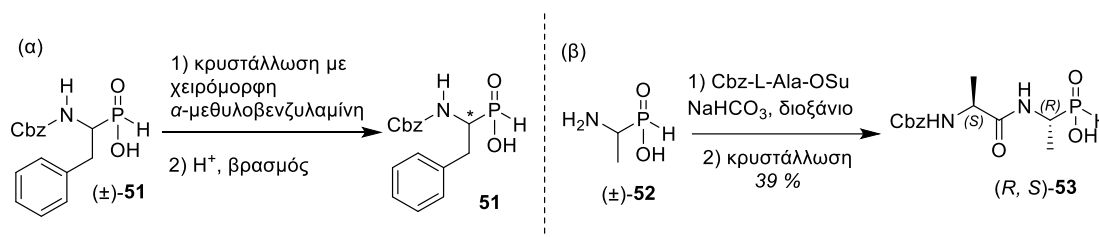
2.5.1 Διαχωρισμός εναντιομερών με τη χρήση διαστερεοϊσομερικών αλάτων

Με τη μέθοδο αυτή ουσιαστικά γίνεται διαχωρισμός των δύο εναντιομερών φωσφινικών οξέων ενός ρακεμικού μίγματος μετατρέποντας αυτά σε διαστερεοϊσομερικά άλατα με τη χρήση χειρόμορφων αμινών, κρυσταλλώνοντας εκλεκτικά το ένα εκ των δύο και τελικά ανακτώντας το επιθυμητό φωσφινικό οξύ με οξίνιση. Η μέθοδος αυτή αποτελεί την κλασική μέθοδο απομόνωσης οπτικά καθαρών αμινοφωσφινικών οξέων που αναπτύχθηκε από τον Baylis και τους συνεργάτες του, και κάνει χρήση αλάτων της α -μεθυλοβενζυλαμίνης (Σχήμα 10α). Τα α -αμινο-*H*-φωσφινικά οξέα μπορούν να παραχθούν σε μεγάλες ποσότητες και επιπλέον είναι δυνατόν να φέρουν πλευρικές αλυσίδες, οι οποίες αντιστοιχούν στα περισσότερα

φυσικά αμινοξέα [78]. Η συγκεκριμένη μέθοδος, αν και έχει βρει ευρεία εφαρμογή, δεν είναι ιδανική για στρατηγικές διαφοροποίησης τελικού σταδίου καθώς για τη σύνθεση διαφορετικών υποστρωμάτων ψευδοπεπτιδικού τύπου απαιτείται η ξεχωριστή σύνθεση των απαραίτητων φωσφινικών οξέων, γεγονός που την καθιστά αρκετά χρονοβόρα και επίπονη διαδικασία για τη σύνθεση πλήθους υποστρωμάτων, ενώ δεν είναι εφικτό να απομονωθούν φωσφινικά οξέα με πλευρικές ομάδες που είναι ευαίσθητες σε βρασμό με οξύ.

2.5.2 Διαχωρισμός ισομερών μέσω εκλεκτικής κρυστάλλωσης

Μια παρόμοια μέθοδος διαχωρισμού των διαστερεοϊσομερών ενός μίγματος αποτελεί η κρυστάλλωση κατά την οποία συνήθως ένα από τα δύο ισομερή κρυσταλλώνει εκλεκτικά. Για παράδειγμα, ο Khomutov συνέθεσε το Cbz- προστατευμένο διπεπτιδίο **53** ως μίγμα δύο διαστερεοϊσομερών και μετά από κρυστάλλωση παραλήφθηκε το οπτικά ενεργό (*S*, *R*)-**53** με 39% απόδοση (Σχήμα 10β) [79]. Ο διαχωρισμός φωσφινικών ψευδοπεπτιδίων μέσω κρυστάλλωσης έχει υλοποιηθεί με επιτυχία σε αρκετές περιπτώσεις σε επίπεδο διπεπτιδίου και τριπεπτιδίου [24, 36, 80, 81]. Αξίζει όμως να αναφερθεί ότι αυτή η μέθοδος διαχωρισμού ισομερών δεν μπορεί να εφαρμοστεί σε οποιοδήποτε φωσφινικό υπόστρωμα, διότι δεν κρυσταλλώνουν όλα εύκολα, ενώ όταν η κρυστάλλωση είναι εφικτή απαιτείται σχολαστική διερεύνηση των βέλτιστων συνθηκών (διαλυτής, θερμοκρασία, κλπ) καθιστώντας τη μέθοδο χρονοβόρα και δύσχρηστη.



Σχήμα 10: (α) Κρυστάλλωση ρακεμικού μίγματος με χρήση χειρόμορφης αμίνης για την απομόνωση του οπτικά καθαρού α-αμινοφωσφινικού οξέος, (β) εκλεκτική κρυστάλλωση του ισομερούς (*R*, *S*)-**53** από μίγμα διαστερεοϊσομερών.

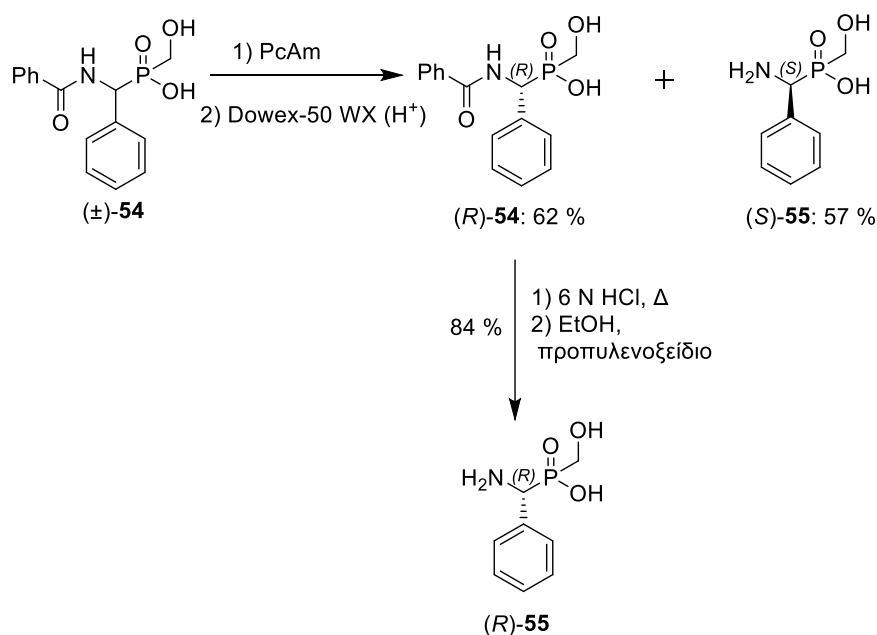
2.5.3 Διαχωρισμός εναντιομερών μέσω χειρόμορφων χρωματογραφικών τεχνικών

Ένας άλλος τρόπος για το διαχωρισμό των οπτικά ενεργών ισομερών από τα μίγματά τους είναι με χρήση διαφόρων χρωματογραφικών τεχνικών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η χειρόμορφη HPLC [41, 82], όμως υπάρχουν και άλλες πιο εξειδικευμένες μέθοδοι [83]. Χρωματογραφικοί καθαρισμοί μπορούν να πραγματοποιηθούν σε επίπεδο φωσφινικού ψευδοπεπτιδίου αλλά και στα πρόδρομα α -αμινο-*H*-φωσφινικά οξέα. Η μέθοδος αυτή δεν έχει ευρεία εφαρμογή καθώς ο χρωματογραφικός διαχωρισμός είναι επίπονος και απαιτούνται εξειδικευμένες χρωματογραφικές τεχνικές.

2.5.4 Ενζυμικός διαχωρισμός εναντιομερών

Επειδή τα φωσφινικά ανάλογα εκδηλώνουν τη μέγιστη βιολογική τους δράση ως καθαρά στερεοϊσομερή, είναι δυνατόν να πραγματοποιηθεί ενζυμικός διαχωρισμός των διαφορετικών διαστερεοϊσομερών [84, 85]. Ωστόσο, η μέθοδος αυτή έχει χρησιμοποιηθεί για το διαχωρισμό περιορισμένου αριθμού φωσφινικών ενώσεων μέχρι σήμερα.

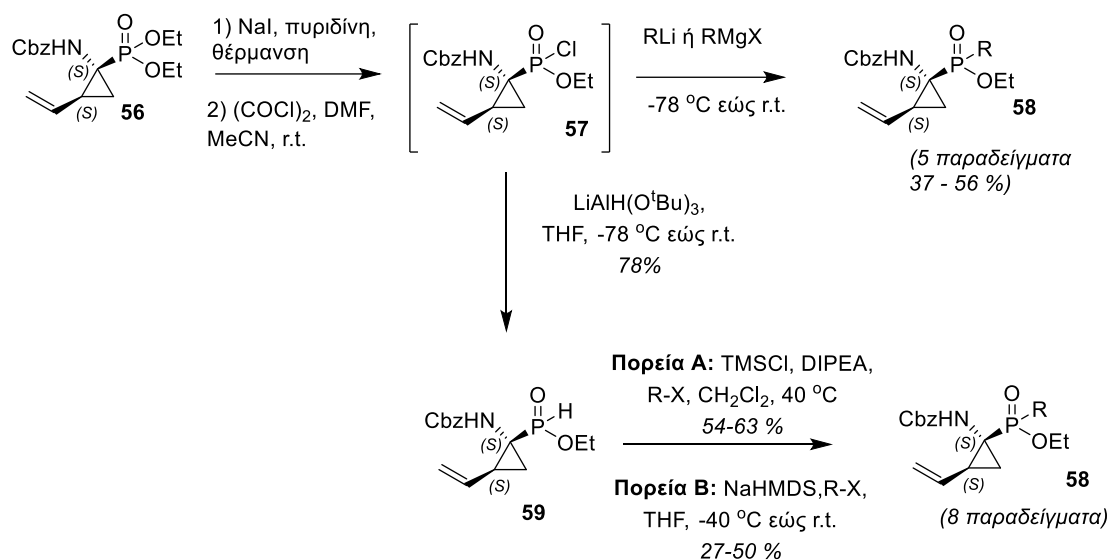
Στο Σχήμα 11 φαίνεται ένα παράδειγμα χρήσης ενός υδρολυτικού ενζύμου, της αμιδάσης πενικιλίνης (PcAm), που υδρολύει τον αμιδικό δεσμό του (*S*)- α -αμινοφωσφινικού οξέος **54**, ενώ το διαστερεοϊσομερές μένει ανέπαφο [84].



Σχήμα 11: Ενζυμικός διαχωρισμός εναντιομερών ρακεμικού μίγματος.

2.6 Χρήση χειρόμορφων α-αμινοφωσφονικών εστέρων ως αρχικά υποστρώματα

Αναμφίβολα μια χρήσιμη, αλλά όχι ιδιαίτερα μελετημένη, μέθοδος για τη σύνθεση οπτικά ενεργών α-αμινοφωσφονικών οξέων είναι η μετατροπή των χειρόμορφων α-αμινοφωσφονικών εστέρων στα αντίστοιχα φωσφονικά ανάλογα [86]. Ο Kim και οι συνεργάτες του πραγματοποίησαν τη μετατροπή του χειρόμορφου φωσφονικού εστέρα (1*S*, 2*S*)-**56** στους αντίστοιχους *C*- ή *H*-φωσφονικούς εστέρες **58** και **59**, όπως φαίνεται στο Σχήμα 12 [87, 88]. Οι συγκεκριμένοι φωσφονικοί εστέρες έχουν χρησιμοποιηθεί στη σύνθεση αναστολέων της πρωτεάσης NS3 του ιού της ηπατίτιδας C [88].



Σχήμα 12: Μετατροπή των χειρόμορφων φωσφονικών εστέρων σε φωσφονικούς εστέρες και οξέα από τον Kim και τους συνεργάτες του [87, 88].

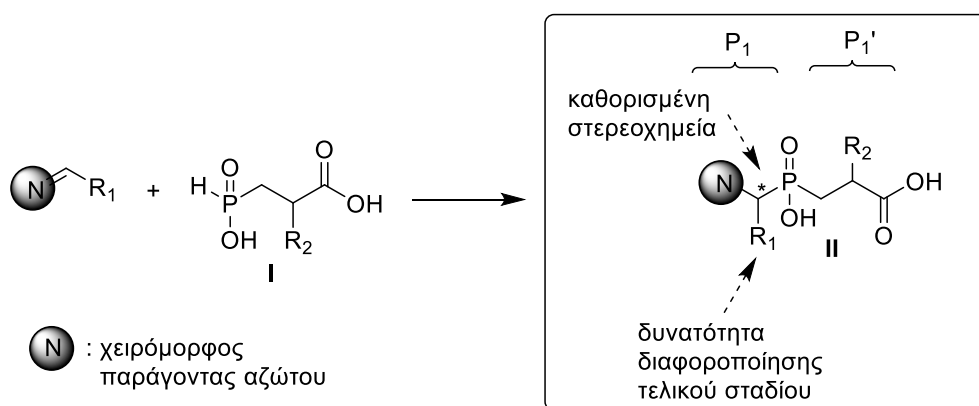
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ

3.1 Στόχος της εργασίας

Όπως αναφέρθηκε στην Ενότητα 1.3, η σύνθεση στερεοχημικά καθορισμένων φωσφινικών ψευδοδιπεπτιδικών ενώσεων έχει μεγάλη σημασία καθώς οι συγκεκριμένες ενώσεις βρίσκουν πολλές εφαρμογές ως αναστολείς ενζύμων όπου η καθορισμένη στερεοχημική απεικόνιση είναι συνυφασμένη με τη βιολογική δράση και κατ'επέκταση με τη χρήση τους ως φαρμακευτικών εργαλείων [7].

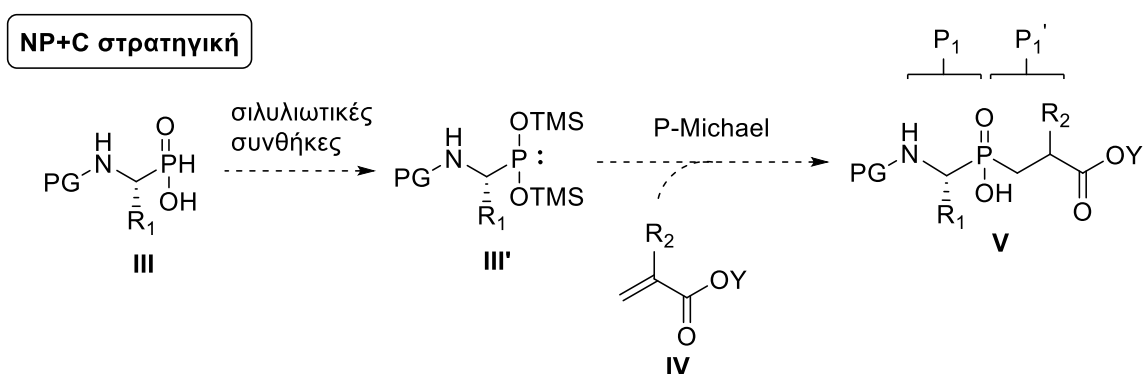
Τα τελευταία χρόνια έχουν αυξηθεί οι προσπάθειες εύρεσης μιας στερεοεκλεκτικής μεθόδου για τη σύνθεση στερεοχημικά καθαρών φωσφινικών πεπτιδίων, όμως το πεδίο δεν έχει μελετηθεί αρκετά, καθώς υπάρχουν ακόμα διάφορες προκλήσεις που πρέπει να αντιμετωπιστούν και που αναλύονται παρακάτω. Συνεπώς, στόχος της παρούσας εργασίας είναι η ανάπτυξη ενός στερεοεκλεκτικού συνθετικού πρωτοκόλλου για τη διαφοροποίηση της θέσης P_1 φωσφινικών ψευδοδιπεπτιδικών αναλόγων. Με αυτό το πρωτόκολλο αποσκοπούμε στο να σχηματίζεται ο διπεπτιδικός κορμός και να εισάγεται με στερεοεκλεκτικό τρόπο ποικιλία πλευρικών αλυσίδων στη θέση P_1 σε μία αντίδραση.



Σχήμα 13: Στόχος της παρούσας εργασίας.

3.2 Βιβλιογραφική ανασκόπηση για τη σύνθεση βασικών ψευδοπεπτιδικών κορμών με έλεγχο της στεreoχημείας στη θέση P₁ - Καθορισμός του συνθετικού στόχου

Με βάση το επικρατέστερο συνθετικό πρωτόκολλο, για το σχηματισμό του βασικού ψευδοπεπτιδικού κορμού με στεreoχημικά καθορισμένη τη θέση P₁ πραγματοποιείται μια προσθήκη P-Michael χειρόμορφων α-αμινο-*H*-φωσφινικών οξέων τύπου **III** σε ακρυλικά υποστρώματα τύπου **IV** (Σχήμα 14). Επομένως, βασικός στόχος στη σύνθεση φωσφινικών ψευδοπεπτιδίων είναι συχνά η ανάπτυξη στερεοεκλεκτικών πορειών που οδηγούν σε οπτικά καθαρά αμινοφωσφινικά οξέα τύπου **III**.



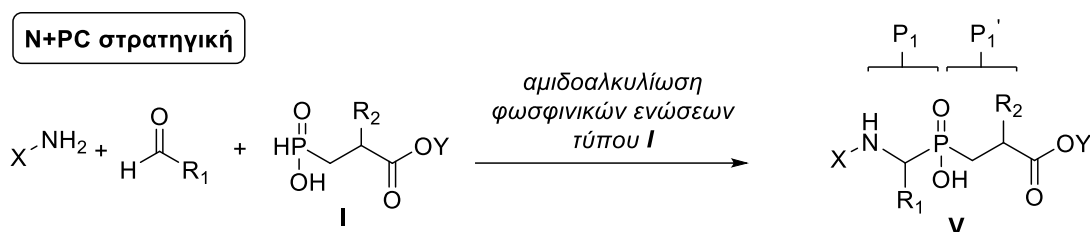
Σχήμα 14: Γενικό σχήμα σύνθεσης φωσφινικών ψευδοδιπεπτιδίων τύπου **V** μέσω αντίδρασης P-Michael χρησιμοποιώντας χειρόμορφα α-αμινοφωσφινικά οξέα τύπου **III**.

Τα οπτικά ενεργά α-αμινο-*H*-φωσφινικά οξέα τύπου **III** συντίθενται με τις στερεοεκλεκτικές μεθόδους που παρουσιάστηκαν στο Κεφάλαιο 2, όμως, όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι περισσότερες από τις παραπάνω μεθόδους έχουν σημαντικούς περιορισμούς. Στο σημείο αυτό αξίζει να σημειωθεί πως η επικρατέστερη μέθοδος στη βιβλιογραφία για την επίτευξη καθαρής στεreoχημείας στη θέση P₁ είναι η εκλεκτική κρυστάλλωση διαστεροεισομερικών αλάτων ενός ρακεμικού αμινοφωσφινικού οξέος με χειρόμορφες αμίνες (Σχήμα 10α, Ενότητα 2.5.1) [78]. Αν και η συγκεκριμένη μέθοδος είναι αρκετά απλή και επιτρέπει την παραγωγή α-αμινοφωσφινικών οξέων τύπου **III** σε μεγάλες ποσότητες, δεν είναι προβλέψιμη, καθώς το ισομερές που κρυσταλλώνει κάθε φορά δεν εξαρτάται από τη στεreoχημεία της χειρόμορφης αμίνης.

Ο σχηματισμός του πεπτιδικού σκελετού με τη NP+C στρατηγική (Σχήμα 14) δεν μπορεί όμως να αποτελέσει μέθοδο επιλογής στο πλαίσιο της διαφοροποίησης σε τελικό στάδιο της θέσης P₁ των ενώσεων τύπου **V**. Συγκεκριμένα, η σύνθεση

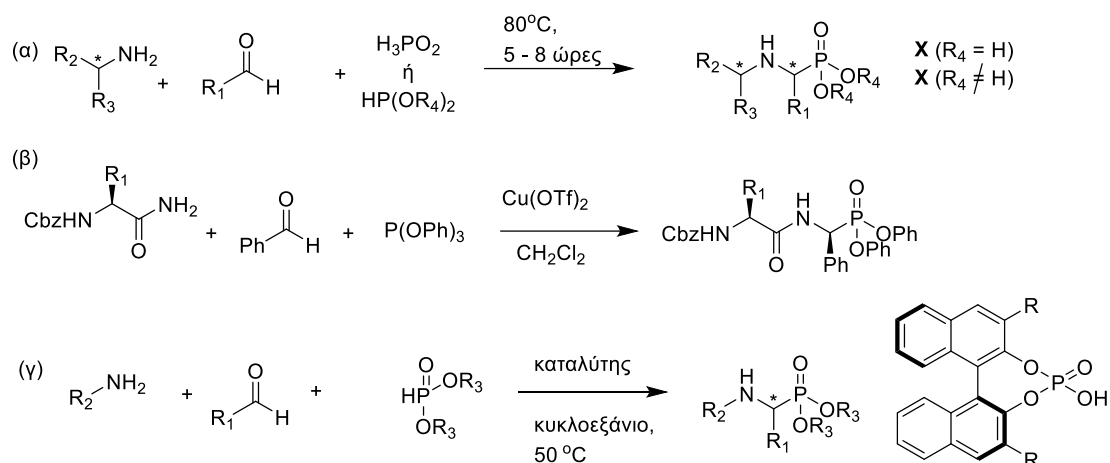
φωσφινικών ψευδοπεπτιδικών κορμών με ποικιλία πλευρικών αλυσίδων στην θέση P_1 προϋποθέτει τη σύνθεση πολλών κατάλληλα προστατευμένων α -αμινοφωσφινικών οξέων, γεγονός που αποτελεί μια ιδιαίτερα χρονοβόρα διαδικασία καθώς η πορεία της σύνθεσης θα πρέπει να διαφοροποιείται από την αρχή για κάθε διαφορετικό α -αμινοφωσφινικό οξύ τύπου **III**.

Μια άλλη προσέγγιση για το σχηματισμό φωσφινικών πεπτιδίων τύπου **V** μπορεί να προσφέρει η αντίδραση τριών συστατικών μεταξύ αμινών ή αμιδίων, αλδευδών και H -φωσφινικών διοξέων τύπου **I**. Αυτή η μεθοδολογία έχει το πλεονέκτημα της διαφοροποίησης της θέσης P_1 σε τελικό στάδιο της σύνθεσης και ενδείκνυται για τη σύνθεση ψευδοπεπτιδικών κορμών με ποικιλία πλευρικών αλυσίδων στη θέση P_1 .



Σχήμα 15: Γενικό σχήμα σύνθεσης φωσφινικών ψευδοδιπεπτιδικών κορμών **V** μέσω αντίδρασης τριών συστατικών.

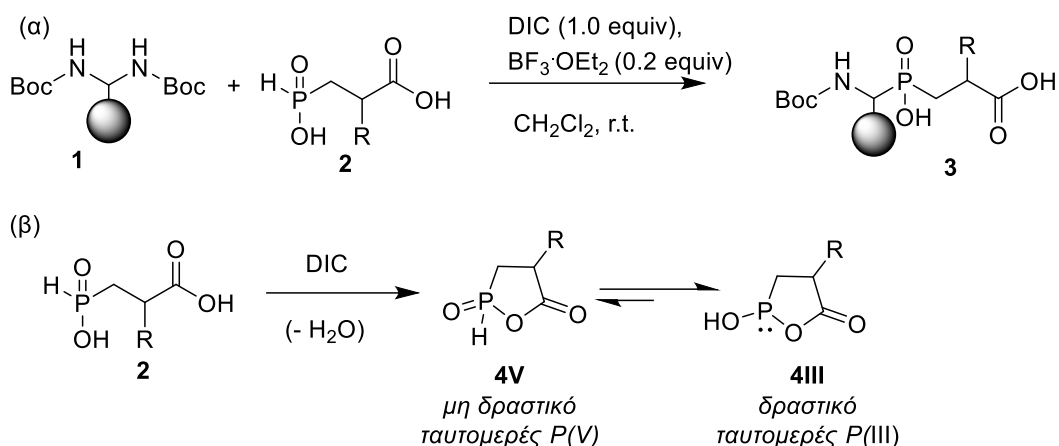
Οι αντιδράσεις τριών συστατικών έχουν μελετηθεί ιδιαίτερα τα τελευταία χρόνια και έχουν βρεθεί πολλοί συνδυασμοί αντιδρώντων και συνθηκών για τη στερεοεκλεκτική σύνθεση κυρίως φωσφονικών δομών. Στις περισσότερες ασύμμετρες μεθόδους τριών συστατικών χρησιμοποιούνται χειρόμορφες αμίνες για την επαγωγή της ασυμμετρίας και υποφωσφορώδες οξύ ή H -φωσφονικοί εστέρες, ως φορείς φωσφόρου, και μετά από υδρόλυση των προϊόντων παράγονται τα οπτικά ενεργά αμινοφωσφονικά οξέα (Σχήμα 16α) [89]. Ο Skoreński και οι συνεργάτες του ανέπτυξαν μια μέθοδο με φαινυλοφωσφονίτες και αλδεύδες, και για την επαγωγή της ασυμμετρίας χρησιμοποίησαν παράγωγα αμινοξέων (Σχήμα 16β) [90]. Επιπλέον, υπάρχουν αναφορές όπου η αμιδοαλκυλίωση πραγματοποιείται μεταξύ αλδευδών, μη χειρόμορφων αμινών και H -φωσφονικών εστέρων, και η ασυμμετρία επάγεται μέσω ενός χειρόμορφου καταλύτη (Σχήμα 16γ) [91, 92, 93]. Ενώ οι αντιδράσεις τριών συστατικών έχουν χρησιμοποιηθεί στην ασύμμετρη σύνθεση φωσφονικών παραγώγων, δεν υπάρχει κάποια αντίστοιχη μεθοδολογία για τη σύνθεση φωσφινικών διπεπτιδίων με στερεοχημικά καθορισμένη τη θέση P_1 .



Σχήμα 16: Παραλλαγές της αντίδρασης τριών συστατικών για τη σύνθεση στεreoχημικά καθορισμένων φωσφονικών δομών.

Επίσης, στο Κεφάλαιο 2 οι περισσότερες μεθοδολογίες που παρουσιάστηκαν για την ασύμμετρη σύνθεση α -αμινο-*C*-φωσφινικών οξέων και παραγώγων αφορούσαν χρήση *H*-αρυλοφωσφινικών αρχικών δομών (Σχήμα 4α, 7, 8) [65, 71, 73]. Όμως τα *P*-αρυλιωμένα προϊόντα αυτών των αντιδράσεων δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν περαιτέρω σε συνθετικά πλάνα για επιμήκυνση του ψευδοπεπτιδικού κορμού. Όλα αυτά καθιστούν σαφή την ανάγκη εύρεσης μιας νέας μεθοδολογίας για τη διαφοροποίηση της θέσης P_1 στη σύνθεση φωσφινικών πεπτιδίων με ταυτόχρονο έλεγχο της στεreoχημείας.

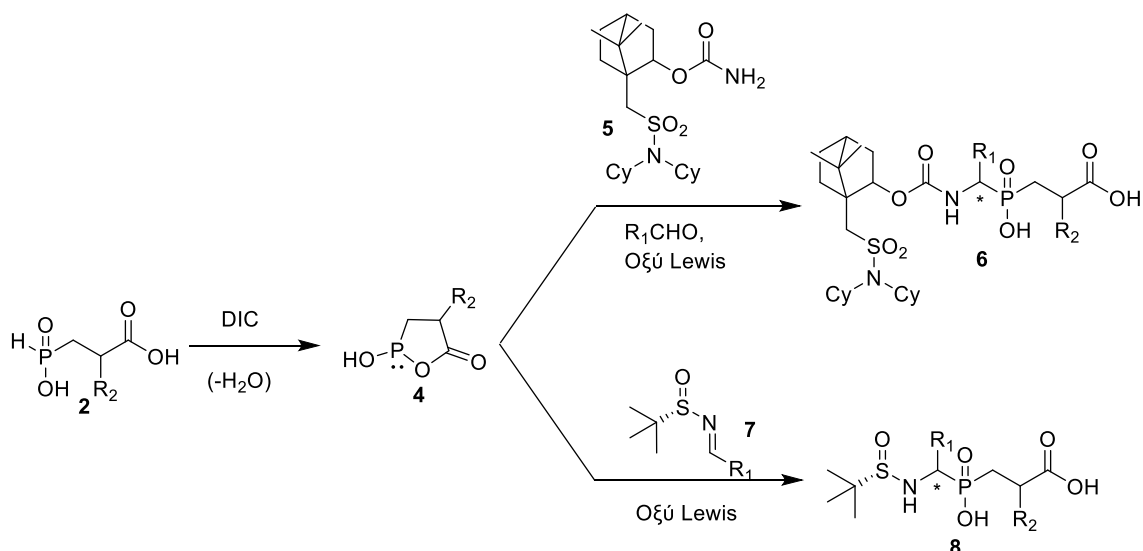
Πρόσφατα, η ερευνητική μας ομάδα και συγκεκριμένα η Δρ. Παρασκευή Κοκκάλα, στο πλαίσιο της διδακτορικής της διατριβής, ανέπτυξε μια συνθετική μεθοδολογία για τη διαφοροποίηση της P_1 θέσης φωσφινικών ψευδοπεπτιδικών αναλόγων [94]. Πρόκειται για μια νέα συνθετική μεθοδολογία για το σχηματισμό δεσμού C-P μέσω μιας καταλυόμενης από οξέα αντίδρασης *P*-Mannich, ανάμεσα σε μια ηλεκτρονιόφιλη *N*-Boc-αμινάλη **1** και *H*-φωσφινικών διοξέων **2** (Σχήμα 17α). Σημαντικά χαρακτηριστικά αυτής της μεθόδου είναι ότι η αντίδραση πραγματοποιείται μέσω της ανάπτυξης των ενεργοποιημένων φωσφινικών ενδιάμεσων **4**, τα οποία σχηματίζονται με χρήση ενός αφυδατικού μέσου, όπως το DIC (Σχήμα 17β), και ότι η παρουσία του οξέος Lewis είναι καθοριστική για την επιτάχυνση της αντίδρασης.



Σχήμα 17: (α) Αντίδραση *P*-Mannich φωσφινικού διοξέος **2** με Boc-αμινάλες **1**, (β) ενεργοποίηση του φωσφινικού διοξέος από DIC και σχηματισμός του μικτού ανυδρίτη **4**.

Μια αξιοσημείωτη παρατήρηση που προέκυψε κατά την ανάπτυξη της παραπάνω μεθοδολογίας είναι το γεγονός ότι ο σχηματισμός του νέου στερεογονικού κέντρου στη θέση P₁ δεν επηρεάζεται από τη στεreoχημεία του *H*-φωσφινικού διοξέος καθώς τα δύο διαστερεοϊσομερή της ένωσης **3** ελήφθησαν σε όλες τις περιπτώσεις σε αναλογία ~1:1. Με βάση αυτήν την παρατήρηση σκεφτήκαμε πως η χρήση χειρόμορφων φορέων αζώτου αντί των αμιναλών θα μπορούσε να οδηγήσει σε έλεγχο της στεreoχημείας στη θέση P₁ χωρίς να υπάρχουν φαινόμενα μη ταύτισης (mismatch) από το στερεογονικό κέντρο της ένωσης **2**, ενώ παράλληλα θα είχαμε τη δυνατότητα να εκμεταλλευτούμε την υψηλή δραστικότητα του φωσφινικού ενδιάμεσου **4** για το σχηματισμό του βασικού ψευδοπεπτιδικού κορμού.

Τέτοιοι χειρόμορφοι φορείς για την αντίδραση *P*-Mannich του *H*-φωσφινικού διοξέος θα μπορούσαν να είναι είτε τα καμφοροσουλφοναμιδικά παράγωγα καρβαμιδίων **5** είτε τα παράγωγα *N*-(*tert*-βουτανοσουλφινυλο)ιμινών τύπου **7**, όπως φαίνεται στις συνθετικές πορείες που περιγράφονται στο Σχήμα 18.



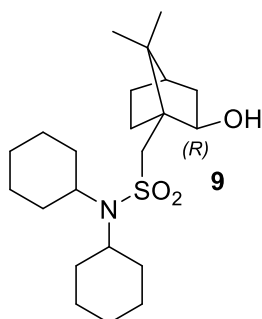
Σχήμα 18: Χρήση χειρόμορφων φορέων αζώτου για τη σύνθεση φωσφινικών πεπτιδίων με στερεοχημικά καθορισμένη τη θέση P₁.

3.3 Χειρόμορφοι φορείς αζώτου

Πριν από την περιγραφή των πειραματικών αποτελεσμάτων κρίναμε σκόπιμο να περιγράψουμε τα κύρια χαρακτηριστικά των παραγώγων **5** και **7** και τις εφαρμογές που έχουν βρει στη σύνθεση οργανοφωσφορικών παραγώγων.

3.3.1 Καμφοροσουλφοναμιδικά παράγωγα καρβαμιδίων **5**

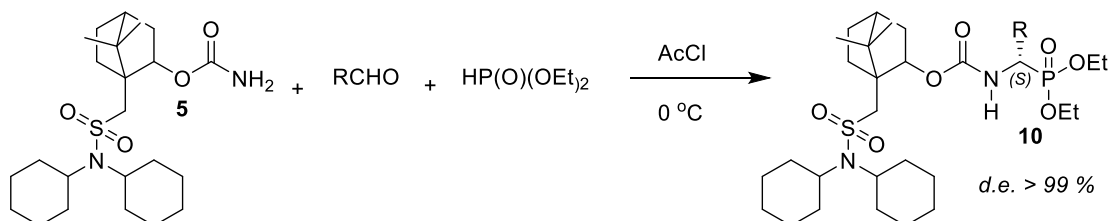
Η διαθεσιμότητα και η χαμηλή τιμή των δύο εναντιομερών του 10-καμφοροσουλφονικού οξέος οδήγησαν στην ανάπτυξη πρακτικών χειρόμορφων βοηθημάτων από τον Orrolzner και τους συνεργάτες του. Ένα από αυτά αποτελεί το (1*S*)- ή (1*R*)-καμφοροσουλφοναμιδικό παράγωγο **9** (Εικόνα 13) [95].



Εικόνα 13: Καμφοροσουλφοναμιδικό παράγωγο **9**.

Τα χειρόμορφα βοηθήματα (1*S*)- και (1*R*)-**9** παρέχουν καλή έως εξαιρετική τοποεκλεκτικότητα στις αντιδράσεις των ενολικών τους παραγώγων. Μεγάλη εφαρμογή έχουν βρει οι ακρυλικοί εστέρες του **9** σε στερεοεκλεκτικές αντιδράσεις, όπως στην ασύμμετρη κυκλοπροσθήκη Diels-Alder με το κυκλοπενταδιένιο, σε διπολικές κυκλοπροσθήκες, στη συζυγή προσθήκη οργανοχαλκικών ενώσεων, σε αλδολικές και άλλες αντιδράσεις. Τα χειρόμορφα προϊόντα των αντιδράσεων παραλαμβάνονται με εναντιομερική περίσσεια μεγαλύτερη του 90 %, ενώ σε πολλές περιπτώσεις μπορούν να παραληφθούν σε στερεοχημικά καθαρή μορφή μέσω ανακρυστάλλωσης. Τα χειρόμορφα βοηθήματα **9** μπορούν να απομακρυνθούν εύκολα από τα προϊόντα με υδρόλυση ή αναγωγή χωρίς φαινόμενα επιμερίωσης [95, 96, 97, 98].

Οι Chung και Kang χρησιμοποίησαν διάφορα καμφοροσουλφοναμιδικά παράγωγα καρβαμιδίων ως χειρόμορφα βοηθήματα στην αντίδραση αμιδοαλκυλίωσης φωσφονικών εστέρων, και τα καλύτερα αποτελέσματα προέκυψαν με το χειρόμορφο *N,N*-δικυκλοεξυλο παράγωγο **5**, το οποίο σχημάτισε τους οπτικά ενεργούς αμινοφωσφονικούς εστέρες **10** με πολύ καλή διαστερομερική αναλογία (Σχήμα 19) [99].

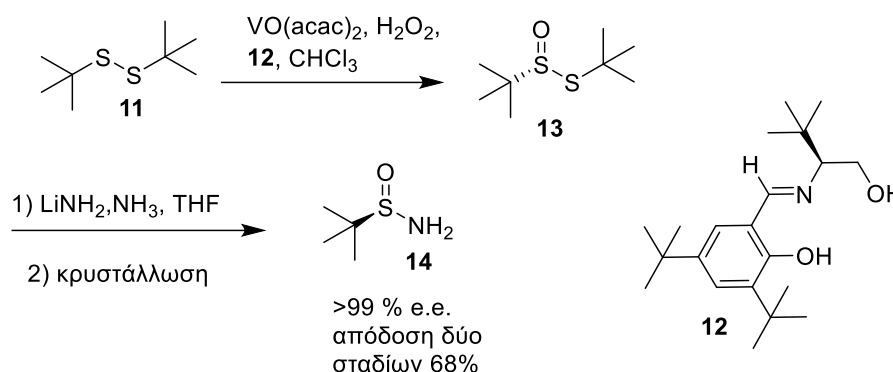


Σχήμα 19: Αντίδραση αμιδοαλκυλίωσης τριών συστατικών με το χειρόμορφο καμφοροσουλφοναμιδικό παράγωγο **5 από τους Chung και Kang [99].**

Οι όξινες συνθήκες που απαιτούνται στις αντιδράσεις τριών συστατικών του Σχήματος 19 ομοιάζουν με τις συνθήκες της αντίδρασης *P*-Mannich του *H*-φωσφονικού διοξέος **2** (Σχήμα 17α), καθώς και η εξαιρετική διαστεροϊσομερική αναλογία των προϊόντων **10** της αντίδρασης που φαίνεται στο Σχήμα 19 καθιστούν το χειρόμορφο βοηθήματα **5** ως μια αρκετά υποσχόμενη επιλογή για την επαγωγή της ασυμμετρίας κατά τον σχηματισμό του ψευδοπεπτιδικού κορμού.

3.3.2 *N-tert*-βουτυλοσουλφιναμίδιο 14

Η σύνθεση και απομόνωση του χειρόμορφου *N-tert*-βουτανοσουλφιναμιδίου **14** πραγματοποιήθηκε πρώτη φορά το 1997 από τον Ellman και την ερευνητική του ομάδα, μέσω μιας πορείας δύο βημάτων με σημαντικότερο στάδιο την ασύμμετρη καταλυτική οξειδωση του αρχικού *tert*-βουτυλοδισουλφιδίου **11** (Σχήμα 20) [100, 101].

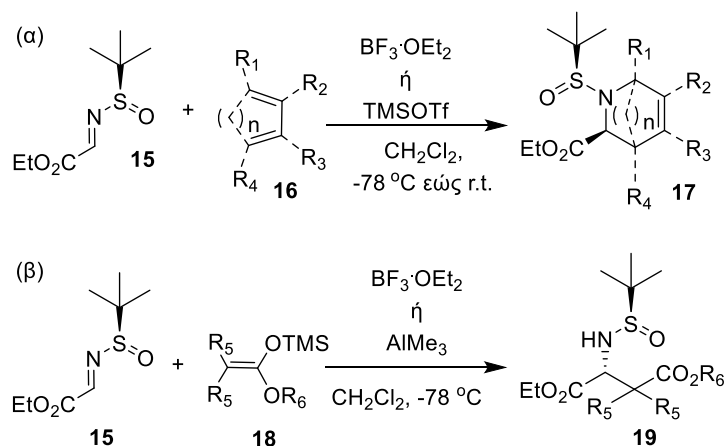


Σχήμα 20: Πρώτη μέθοδος σύνθεσης εναντιομερικά καθαρού *N-tert*-βουτυλοσουλφιναμιδίου από τον Ellman και τους συνεργάτες του [100, 101].

Το *N-tert*-βουτανοσουλφιναμίδιο **14** είναι ένα σταθερό κρυσταλλικό στερεό, μπορεί να παρασκευαστεί σε μεγάλη κλίμακα και έχει χαρακτηριστεί ως χειρόμορφο χημικό ισοδύναμο της αμμωνίας καθώς οι πρώτες του εφαρμογές αφορούσαν τη σύνθεση χειρόμορφων πρωτοταγών αμινών και β-αμινοξέων, μέσω σχηματισμού ενδιάμεσων σουλφινιμινών [101, 102, 103]. Από τότε, οι *N*-(*tert*-βουτανοσουλφινυλο)αλδιμίνες και κετιμίνες που προέρχονται από την συμπύκνωση του σουλφιναμιδίου **14** με αλδεύδες και κετόνες, αντίστοιχα, αποτελούν πολύ χρήσιμα ενδιάμεσα στην ασύμμετρη σύνθεση και έχουν βρει πολλές εφαρμογές [104, 105].

Στη βιβλιογραφία, οι ασύμμετρες συνθέσεις α-αμινοφωσφονικών/φωσφινικών οξέων και παραγώγων με *N*-(*tert*-βουτανοσουλφινυλο) αλδιμίνες και κετιμίνες πραγματοποιούνται μόνο σε βασικές συνθήκες (Σχήμα 5, Ενότητα 2.1.1) [68, 69, 106, 107, 108]. Εντούτοις, αντιδράσεις άλλων τύπων, όπως τα παραδείγματα που παρουσιάζονται στο Σχήμα 21, δείχνουν πως οι *N-tert*-βουτανοσουλφινυλιμίνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν παρουσία οξέων Lewis οδηγώντας σε αυξημένο στερεοχημικό έλεγχο και υψηλές στερεοεκλεκτικότητες. Έτσι, ο Gautun και οι συνεργάτες του πραγματοποίησαν την αντίδραση αζα-Diels-Alder μεταξύ του διενόφιλου ιμινοεστέρα **15** και διενίων τύπου **16** παρουσία $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ ή TMSOTf

(Σχήμα 21α) [109, 110]. Οι Jacobsen και Skrydstrup ανέπτυξαν μια μεθοδολογία για την ασύμμετρη σύνθεση παραγώγων του ασπαρτικού οξέος, μέσω μιας καταλυόμενης από οξέα Lewis αντίδρασης Mannich μεταξύ του ιμινοεστέρα **15** και κετενών ακετάλης **18** (Σχήμα 21β) [111]. Επειδή η σύνθεση οργανοφωσφορικών ενώσεων με τις ιμίνες του Ellman δεν έχει πραγματοποιηθεί σε όξινες συνθήκες, η αντίδραση *P*-Mannich του *H*-φωσφινικού διοξέος **2** παρουσία οξέος Lewis αποτελεί μία πιθανή εναλλακτική μέθοδο στη σύνθεση α -αμινοφωσφινικών παραγώγων.

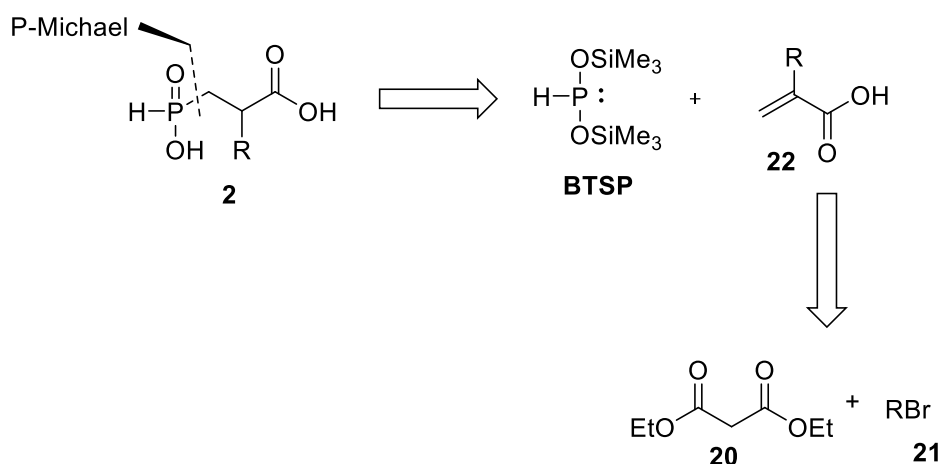


Σχήμα 21: (α) Αντίδραση αζα-Diels-Alder με οξέα Lewis από τον Gautum και τους συνεργάτες του [109, 110], (β) αντίδραση τύπου Mannich καταλυόμενη από οξέα Lewis από τους Jacobsen και Skrydstrup [111].

3.4 Σύνθεση υποστρωμάτων

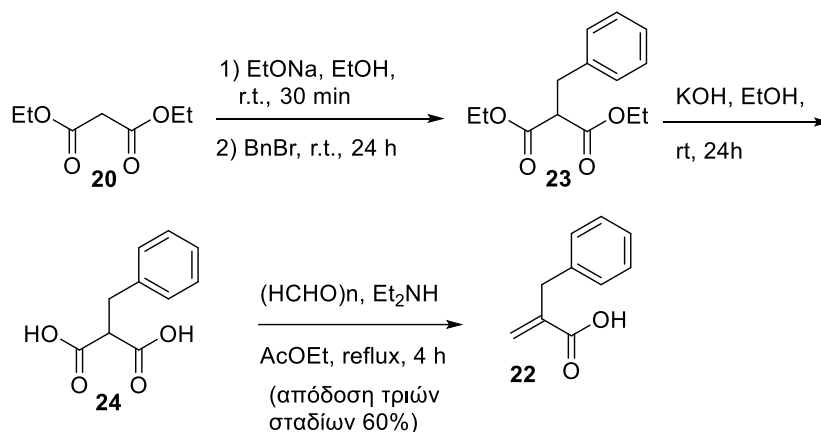
3.4.1 Σύνθεση *H*-φωσφινικού διοξέος **2**

Η σύνθεση του διοξέος **2** βασίστηκε στη ρετροσυνθετική πορεία που φαίνεται στο Σχήμα 22 και περιλαμβάνει μια αντίδραση *P*-Michael μεταξύ ενός *P*-πυρηνόφιλου, του δις(τριμεθυλοσιλυλο) φωσφονίτη (BTSP), με ένα ακρυλικό υπόστρωμα **22**, το οποίο μπορεί να προέλθει από τον εμπορικά διαθέσιμο μηλονικό διαιθυλεστέρα και το κατάλληλο βρωμίδιο [58, 112].



Σχήμα 22: Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση του *H*-φωσφινικού διοξέος 2.

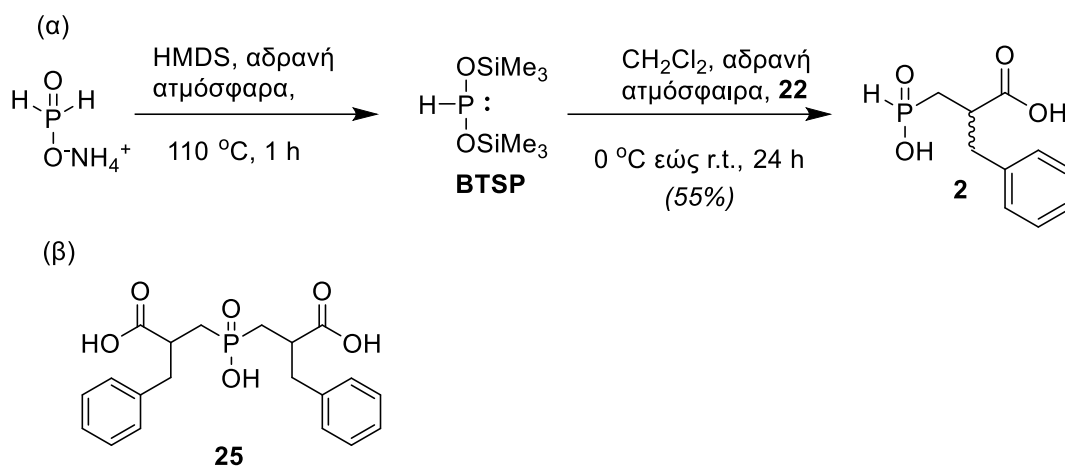
Αρχικά πραγματοποιήθηκε αποπρωτονίωση του μηλονικού διαιθυλεστέρα χρησιμοποιώντας EtONa ως βάση και διαλύτη EtOH. Ακολούθησε η αργή προσθήκη του βενζυλοβρωμιδίου και ανάδευση για 24 ώρες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Το προϊόν της αντίδρασης **23** υποβλήθηκε σε σαπωνοποίηση προς το διοξύ **24** με χρήση KOH/EtOH. Έπειτα από συμπύκνωση τύπου Knoevenagel με HCHO και Et₂NH, παραλήφθηκε το προϊόν **22** ως λευκό στερεό σε καθαρή μορφή και συνολική απόδοση 3 σταδίων 60% (Σχήμα 23) [112].



Σχήμα 23: Σύνθεση ακρυλικού οξέος 22.

Κατά την αντίδραση *P*-Michael παράγεται *in situ* το ενεργοποιημένο τρισθενές ενδιάμεσο BTSP από σύντηξη ξηρού άλατος H₂PO₂NH₄ με HMDS σε θερμοκρασία 110 °C και σε αδρανή ατμόσφαιρα, καθώς ο φωσφονίτης είναι ιδιαίτερα δραστικός και αντιδρά βίαια με το O₂ [113]. Στη συνέχεια, στο μίγμα της αντίδρασης προστίθεται CH₂Cl₂, ακολουθεί προσθήκη του ακρυλικού οξέος **22** στους 0 °C και η αντίδραση αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες (Σχήμα 24α). Αν και η μετατροπή σε

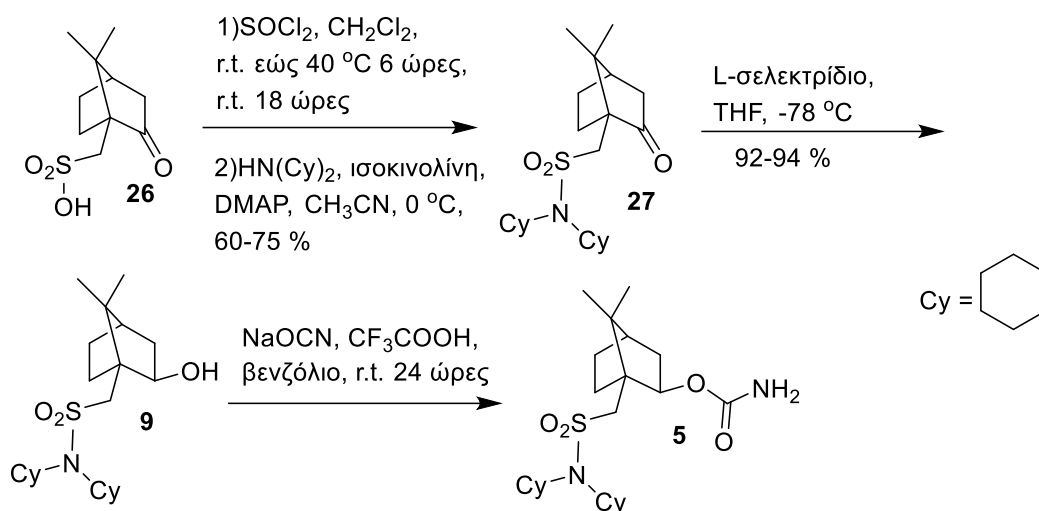
προϊόν είναι ποσοτική, η τελική απόδοση εξαρτάται από την υδατοδιαλυτότητα του διοξέος (55%). Επίσης, αξίζει να αναφερθεί ότι η χρήση μεγάλης ποσότητας BTSP (6 equiv) ως προς το ακρυλικό οξύ (1 equiv) στοχεύει στην αποφυγή σχηματισμού διυποκατεστημένων παραπροϊόντων, όπως το **25** (Σχήμα 24β) [58].



Σχήμα 24: (α) Αντίδραση P-Michael για τη σύνθεση του *H*-φωσφινικού διοξέος **2**, (β) δομή διυποκατεστημένου παραπροϊόντος της αντίδρασης P-Michael.

3.4.2 Προσπάθειες σύνθεσης του καρβαμιδικού εστέρα **5**

Το συνθετικό πλάνο που αποφασίσαμε να δοκιμάσουμε αρχικά για τη σύνθεση του καρβαμιδίου **5** παρουσιάζεται στο Σχήμα 25. Το **5** παράγεται μέσω μιας πορείας τεσσάρων βημάτων από το εμπορικά διαθέσιμο (1*S*) ή (1*R*) 10-καμφοροσουλφονικό οξύ, μέσω μετατροπής του δεύτερου στο καμφοροσουλφονυλο χλωρίδιο με SOCl₂, και στη συνέχεια προσθήκη της δικυκλοεξυλαμίνης για την παραλαβή του υποστρώματος **27** [95, 114]. Ασύμμετρη αναγωγή του καρβονυλίου του άνθρακα-1 από L-σελεκτρίδιο οδηγεί στην ένωση **9** [95], η οποία στη συνέχεια μπορεί να μετατραπεί στο επιθυμητό καρβαμιδικό εστέρα με NaOCN και τριφθοροξικό οξύ, σύμφωνα με την πορεία σχηματισμού του *tert*-βουτυλοκαρβαμιδίου που προτείνεται στη βιβλιογραφία [115].

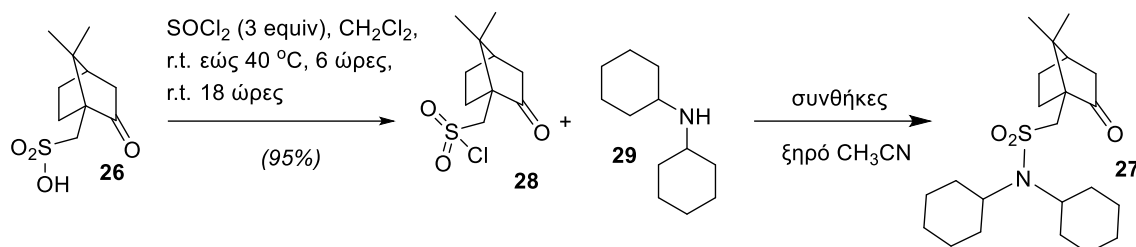


Σχήμα 25: Βιβλιογραφική πορεία σύνθεσης του καρβαμιδικού εστέρα 5.

Η μετατροπή του καφοροσουλφονικού οξέος σε χλωρίδιο πραγματοποιήθηκε χωρίς κανένα πρόβλημα και το επιθυμητό χλωρίδιο παραλήφθηκε με απόδοση 95 % (Πίνακας 1). Για το σχηματισμό του σουλφοναμιδίου **27** αρχικά ακολουθήθηκε η βιβλιογραφική πορεία που παρουσιάστηκε στο Σχήμα 25, με 2 ισοδύναμα δικυκλοεξυλαμίνης και ισοκινολίνης και 20% DMAP. Το επιθυμητό προϊόν παραλήφθηκε μόνο σε ίχνη, ενώ μετά την κατεργασία φαινόταν να έχουν παραχθεί επίσης αρκετά παραπροϊόντα, όπως διαπιστώθηκε μέσω χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC) (Καταχώρηση 1, Πίνακας 1). Για τη βελτιστοποίηση της αντίδρασης πραγματοποιήθηκε μία αντίδραση με μεγαλύτερη ποσότητα DMAP και μία με 5 ισοδύναμα δικυκλοεξυλαμίνης (Καταχωρήσεις 2 και 3, Πίνακας 1). Και οι δύο προσπάθειες παρουσίασαν την ίδια εικόνα με την αρχική αντίδραση. Μια υπόθεση είναι πως η αντίδραση δεν προχωράει σε μεγάλο βαθμό, λόγω της μεγάλης στερεοχημικής παρεμπόδισης των δύο κυκλοεξυλο ομάδων, και αποφασίσαμε να πραγματοποιηθεί η αντίδραση σε υψηλότερες θερμοκρασίες και χωρίς ισοκινολίνη, καθώς θεωρήσαμε πως συμβάλλει στο σχηματισμό κάποιων έγχρωμων παραπροϊόντων. Μετά από λίγες ώρες σε θερμοκρασία δωματίου, δεν είχε αυξηθεί η μετατροπή σε προϊόν **27**, οπότε η αντίδραση θερμάνθηκε στους $70\text{ }^\circ\text{C}$ για τρεις ημέρες χωρίς να αυξηθεί η μετατροπή σε **27** (Καταχώρηση 4, Πίνακας 1). Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε μία αντίδραση προσθέτοντας μια τριτοταγή αμίνη (DIPEA), αντί της ισοκινολίνης, για τη δέσμευση του υδροχλωρίου που παράγεται κατά την αντίδραση και μία μόνο με δύο ισοδύναμα δικυκλοεξυλαμίνης με σκοπό να

δράσει ταυτόχρονα ως βάση και ως πυρηνόφιλο. Και οι δύο αντιδράσεις παρουσίασαν πολύ μικρή μετατροπή σε προϊόν (Καταχωρήσεις 5 και 6, Πίνακας 1).

Πίνακας 1: Σύνθεση του χλωριδίου 28 και προσπάθειες βελτιστοποίησης της αντίδρασης σχηματισμού του καμφοροσουλφοναμιδίου 27.



	29 (equiv)	DMAP (equiv)	Ισοκινολίνη (equiv)	DIPEA (equiv)	Θερμοκρασία (°C)	Χρόνος (h)	Παρατηρήσεις^α
1	2	0.2	2	–	0	24	Ίχνη 27, πολλά παραπροϊότα
2	2	0.5	2	–	0	24	Ίχνη 27, πολλά παραπροϊότα
3	5	0.2	2	–	0	24	Ίχνη 27, πολλά παραπροϊότα
4	2	0.25	–	–	70	72	Ίχνη 27
5	2	–	–	1.2	70	48	Ίχνη 27
6	2	–	–	–	70	48	Ίχνη 27

^α Από TLC κατά τη διάρκεια της αντίδρασης και μετά την κατεργασία του μίγματος, και φασματοσκοπία $^1\text{H-NMR}$ μετά την κατεργασία του μίγματος.

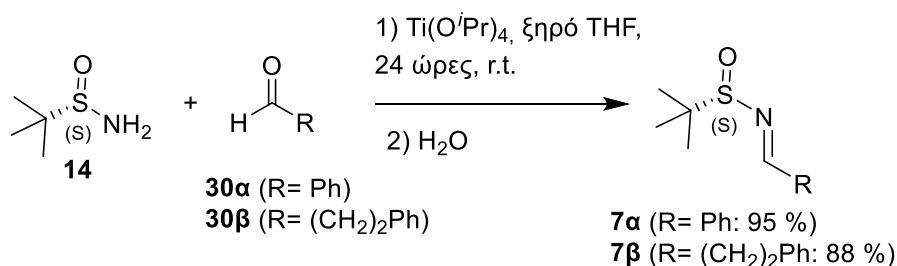
Πραγματοποιήθηκε μία συγκριτική δοκιμαστική αντίδραση με τη λιγότερο παρεμποδισμένη βενζυλαμίνη και μετά από θέρμανση στους 70 °C παρουσία DMAP για 24 ώρες παραλήφθηκε το αντίστοιχο σουλφοναμίδιο με απόδοση 97% επιβεβαιώνοντας την υπόθεσή μας πως η αμίνη 29 δεν αντιδρά, λόγω της μεγάλης στερεοχημικής παρεμπόδισης των δύο κυκλοεξυλο ομάδων. Έτσι, λόγω της αδυναμίας μας να πραγματοποιήσουμε την παραπάνω αντίδραση, η χρήση των καμφοροσουλφονικών παραγώγων 5 ως χειρόμορφα βοηθήματα στην υπό μελέτη συμπύκνωση τριών συστατικών εγκαταλείφθηκε.

3.4.3 Σύνθεση των *N-tert*-βουτανοσουλφινυλο ιμινών 7α και 7β

Για τη διερεύνηση της δεύτερης συνθετικής εναλλακτικής (Σχήμα 18) που κάνει χρήση χειρόμορφων *N*-(*tert*-βουτανοσουλφινυλο)ιμινών, απαιτήθηκε η σύνθεση των υποστρωμάτων 7α και 7β μέσω μιας συμπύκνωσης του *N-tert*-

βουτανοσουλφιναμιδίου **14** με τη βενζαλδεΐδη (**30α**) και φαινυλοπροπιοναλδεΐδη (**30β**), αντίστοιχα. Προκειμένου να πραγματοποιηθεί η συμπύκνωση, είναι απαραίτητη η χρήση ενός οξέος Lewis ως αφυδατικό μέσο, όπως MgSO_4 , CuSO_4 , ή $\text{Ti}(\text{OEt})_4$ [105]. Με το MgSO_4 ως οξύ Lewis είναι απαραίτητη η χρήση μεγάλης περίσσειας αλδεΐδης για την παραλαβή του προϊόντος σε υψηλή απόδοση. Αντίθετα μικρή περίσσεια αλδεΐδης (1.1 equiv.) χρειάζεται όταν χρησιμοποιείται το πιο ισχυρό οξύ CuSO_4 . Το συγκεκριμένο αφυδατικό μέσο είναι αποτελεσματικό για τη σύνθεση ενός εύρους ιμινών και μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη σύνθεση ιμινών από στερεοχημικά απαιτητικές και ηλεκτρονιακά πλούσιες αλδεΐδες όπως την ισοβουτυραλδεΐδη και την *p*-ανισαλδεΐδη αντίστοιχα. Τα ακόμα πιο ισχυρά οξέα Lewis $\text{Ti}(\text{OEt})_4$ και $\text{Ti}(\text{O}^i\text{Pr})_4$ μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη σύνθεση ιμινών από ιδιαίτερα αδρανείς αλδεΐδες, όπως την πιβαλαλδεΐδη [105]. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία και σε αναλογία με άλλες ιμίνες που η δομή τους είναι γνωστή από κρυσταλλογραφικές μελέτες, θεωρείται πως σχηματίζεται αποκλειστικά το *E* ισομερές των *N-tert*-βουτανοσουλφινυλο ιμινών [116, 117].

Για τη σύνθεση των χειρόμορφων ιμινών **7α** και **7β** που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη των αντιδράσεων *P*-Mannich του φωσφινικού διοξέος γίνεται προσθήκη της εκάστοτε αλδεΐδης σε διάλυμα του σουλφιναμιδίου **14** σε ξηρό THF και κατόπιν προσθήκη του οξέος Lewis $\text{Ti}(\text{O}^i\text{Pr})_4$. Η αντίδραση διακόπτεται μετά από 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου με προσθήκη νερού και το μίγμα διηθείται από celite [118, 119]. Οι ιμίνες **7α** και **7β** παραλαμβάνονται σε απόδοση 95% και 88% αντίστοιχα (Σχήμα 26).



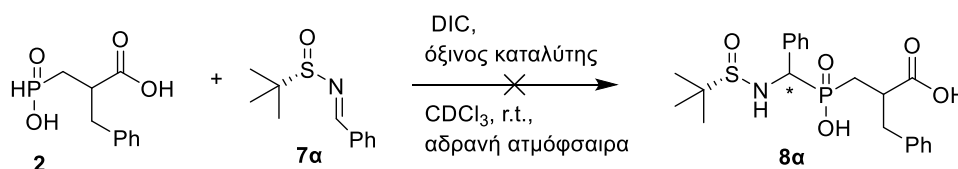
Σχήμα 26: Σύνθεση των ιμινών 7α και 7β.

3.5 Διερεύνηση αντίδρασης *P*-Mannich με την *N*-*tert*-βουτανοσουλφινυλο ιμίνη 7α

Οι πρώτες προσπάθειες αντίδρασης *P*-Mannich του φωσφινικού διοξέος πραγματοποιήθηκαν με την ιμίνη 7α, που σχηματίστηκε από τη βενζαλδεΐδη, χρησιμοποιώντας τις συνθήκες που βρέθηκαν από την Δρ. Παρασκευή Κοκκάλα στο πλαίσιο της διδακτορικής της διατριβής (Παράγραφος 3.2) [94]. Επειδή η αντίστοιχη Βοc-αμινάλη είναι ιδιαίτερα δραστική στις συνθήκες της *P*-Mannich θεωρήσαμε πως παρόμοια δραστικότητα θα εμφανίσει και η ιμίνη 7α.

Οι αρχικές αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν σε CDCl_3 και μελετήθηκαν με ^{31}P -NMR για 24 ώρες. Αρχικά προστέθηκαν 0.2 ισοδύναμα $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, όμως στο φάσμα ^{31}P -NMR δεν φάνηκε να έχει παραχθεί προϊόν και πραγματοποιήθηκε μια προσθήκη 0.8 ισοδυνάμων οξέος Lewis (Καταχώρηση 1, Πίνακας 2). Παρά το ένα ισοδύναμο οξέος Lewis δεν παρατηρήθηκε καμία μετατροπή στο επιθυμητό προϊόν. Με βάση τα παραπάνω δεδομένα χρησιμοποιήσαμε ως οξύ Lewis το TMSOTf αλλά η αντίδραση δεν προχώρησε καθόλου (Καταχώρηση 2, Πίνακας 2). Όπως έγινε φανερό, τα οξέα Lewis δεν προώθησαν καθόλου το σχηματισμό του προϊόντος 8α και αποφασίσαμε σε επόμενο στάδιο να δοκιμαστεί ένα πρωτικό οξύ $[(\text{PhO})_2\text{POOH}]$, χωρίς να υπάρξει θετικό αποτέλεσμα (Καταχώρηση 3, Πίνακας 2).

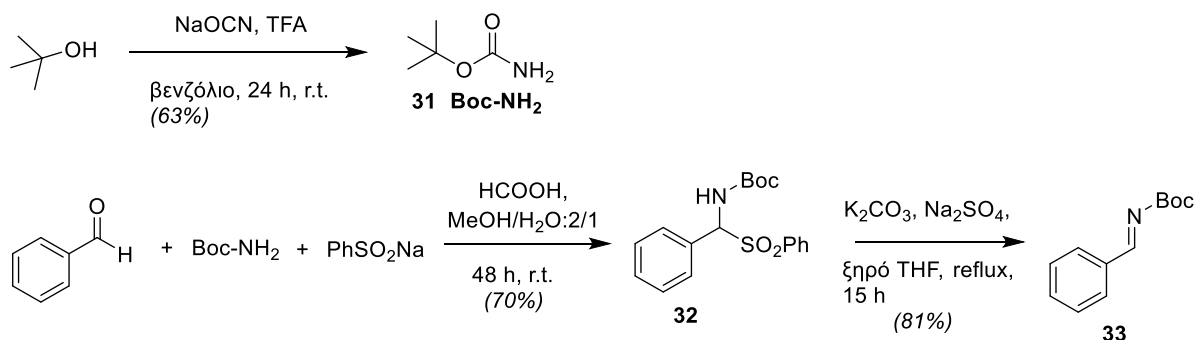
Πίνακας 2: Διερεύνηση οξίνων καταλυτών στην αντίδραση *P*-Mannich του 2 με την ιμίνη 7α.



	Όξινος καταλύτης	Ποσότητες (equiv)	8α (%)
1	$\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$	0.2	-
		1.0	
2	TMSOTf	0.2	-
		0.4	
3	$(\text{PhO})_2\text{POOH}$	0.2	-

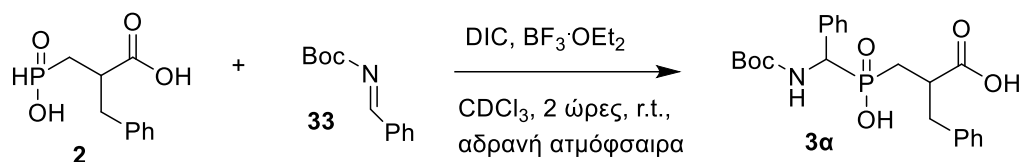
Το γεγονός πως καμία προσπάθεια αντίδρασης με την ιμίνη **7a** δεν προχώρησε μας έκανε ιδιαίτερη εντύπωση, αφού η αντίστοιχη Boc-αμινάλη είναι ιδιαίτερα δραστική. Γι' αυτό θελήσαμε να διερευνήσουμε αν υπάρχει κάποια διαφορά στη δραστηριότητα μεταξύ της αντίστοιχης Boc-ιμίνης **33**, η οποία θεωρητικά θα οδηγούσε στο ίδιο ενδιάμεσο ιμινιακό ιόν με την Boc-αμινάλη, και της *N-tert*-βουτυλοσουλφινυλο ιμίνης **7a**.

Για το σχηματισμό της ιμίνης απαραίτητη είναι η παρασκευή του Boc-NH₂ (**31**) από *t*-BuOH και κυανικό νάτριο παρουσία περίσσειας TFA. Στις συνθήκες αυτές, το τριτοταγές βούτυλο κατιόν που σχηματίζεται από την *t*-BuOH παρουσία TFA προσβάλλεται από το πυρηνόφιλο κυανικό άλας και με την παρουσία ιχνών H₂O οδηγείται προς το προϊόν **31** [115]. Μίξη βενζαλδεΐδης, Boc-NH₂ και βενζοσουλφινικού νατρίου παρουσία μυρμηγκικού οξέος σε μίγμα μεθανόλης-νερού δίνουν τη σουλφόνη **32**, η οποία παραλαμβάνεται ως στερεό μετά από διήθηση του μίγματος. Η ενδιάμεση σουλφόνη παρουσία βάσης σε άνυδρες συνθήκες και σε βράσιμο με αναροή δίνει την επιθυμητή ιμίνη **33** (Σχήμα 27) [120].



Σχήμα 27: Πορεία σύνθεσης της Boc-ιμίνης **33**.

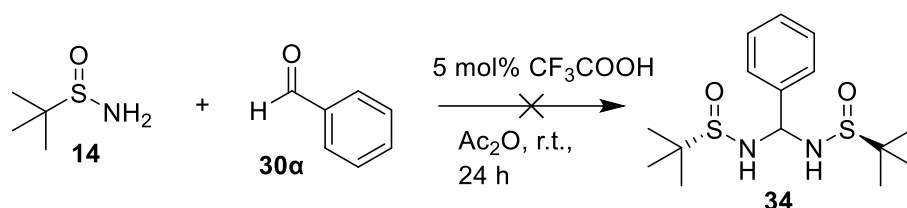
Η αντίδραση του **2** με την Boc-ιμίνη χρησιμοποιώντας BF₃·OEt₂ ολοκληρώθηκε σε λιγότερο από δύο ώρες, όπως φάνηκε από φασματοσκοπία ³¹P-NMR (Σχήμα 28). Με βάση αυτή τη μεγάλη διαφορά δραστηριότητας μεταξύ των ενώσεων **7a** και **33** μπορούμε να θεωρήσουμε πως η *N-tert*-βουτυλοσουλφινυλομάδα δεν προσδίδει χαρακτήρα αμιδίου στην ιμίνη, όπως η Boc ομάδα, και είναι περισσότερο ηλεκτρονιοδοτική. Αυτό ενισχύεται από το γεγονός πως στη βιβλιογραφία το *N-tert*-βουτυλοσουλφιναμίδιο έχει χαρακτηριστεί ως χειρόμορφο ισοδύναμο της αμμωνίας [102]. Το γεγονός αυτό πιθανώς να επηρεάζει τη δραστηριότητα των ενδιάμεσων ιμινιακών ιόντων και να εξηγεί την παρατηρούμενη συμπεριφορά.



Σχήμα 28: Αντίδραση *P*-Mannich του 2 με την Boc-βενζυλιμίνη 33.

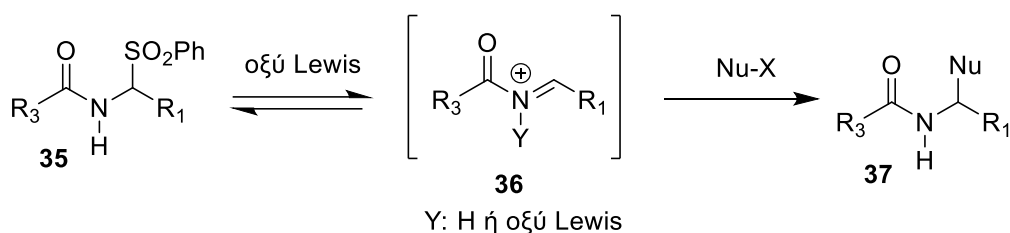
3.6 Εναλλακτικές προσπάθειες

Επειδή η Boc-αμινάλη της βενζαλδεΐδης ήταν ιδιαίτερα δραστική, θελήσαμε να δοκιμάσουμε την αντίδραση *P*-Mannich με την αντίστοιχη αμινάλη του *N*-*tert*-βουτυλοσουλφιναμίδιου. Έγινε μια προσπάθεια σύνθεσης της χειρόμορφης ένωσης **34** σύμφωνα με τη μέθοδο σύνθεσης των Boc-αμιναλών που υπάρχει στη βιβλιογραφία [121], αντικαθιστώντας το Boc-NH₂ με το χειρόμορφο σουλφιναμίδιο **14**. Από τη φασματοσκοπία ¹H-NMR διαπιστώσαμε πως δεν παράχθηκε το επιθυμητό προϊόν **34**, αλλά σχηματίστηκε η αντίστοιχη *N*-*tert*-βουτυλοσουλφινυλο ιμίνη **7a** (Σχήμα 29).



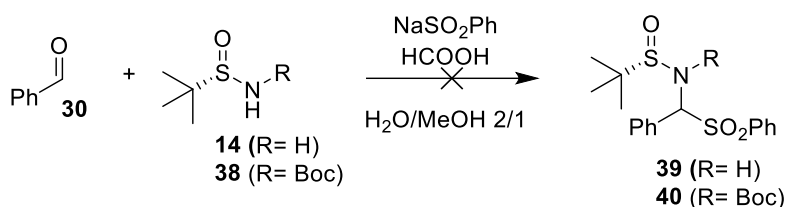
Σχήμα 29: Προσπάθεια σύνθεσης της αμινάλης **34**.

Καθώς η πρώτη προσπάθεια δεν ήταν επιτυχής θελήσαμε να δοκιμάσουμε να αυξήσουμε τη δραστικότητα του ηλεκτρονιόφιλου της αντίδρασης *P*-Mannich. Ένας τρόπος για να συμβεί αυτό είναι να υπάρχει μια αποχωρούσα ομάδα στον άνθρακα όπου πραγματοποιείται η πυρηνόφιλη προσβολή από τον φώσφορο. Αποφασίσαμε να χρησιμοποιήσουμε τη βενζυλοσουλφονυλομάδα, καθώς στη βιβλιογραφία οι α -αμιδοσουλφόνες τύπου **35** είναι σταθερές ενώσεις και με οξέα Lewis σχηματίζεται ένα ιμινιακό κατιόν **36**, στον άνθρακα του οποίου μπορεί να πραγματοποιηθεί πυρηνόφιλη προσβολή (Σχήμα 30) [122].



Σχήμα 30: Ενεργοποίηση των α -αμιδοσουλφονών **35** και πυρηνόφιλη προσβολή.

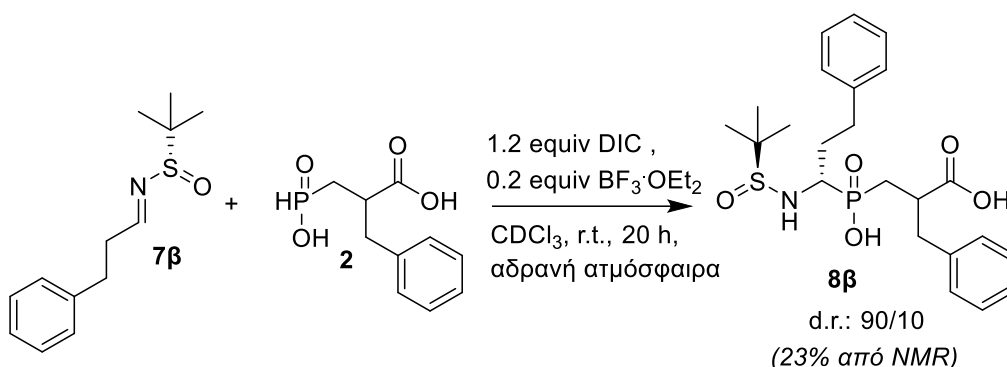
Ταυτόχρονα με την εισαγωγή της αποχωρούσας ομάδας θέλουμε να διατηρήσουμε το χειρόμορφο βοήθημα για την επαγωγή της στεreoχημείας. Επομένως, πραγματοποιήθηκαν δύο προσπάθειες σύνθεσης σουλφονών, όπως φαίνεται στο Σχήμα 31, χωρίς επιτυχία. Στη πρώτη έγινε αντικατάσταση του Boc-NH₂ από το *N*-*tert*-βουτανοσουλφιναμίδιο **14**, ενώ στη δεύτερη από το **38** [123].



Σχήμα 31: Προσπάθεια σύνθεσης των ενώσεων **39** και **40**.

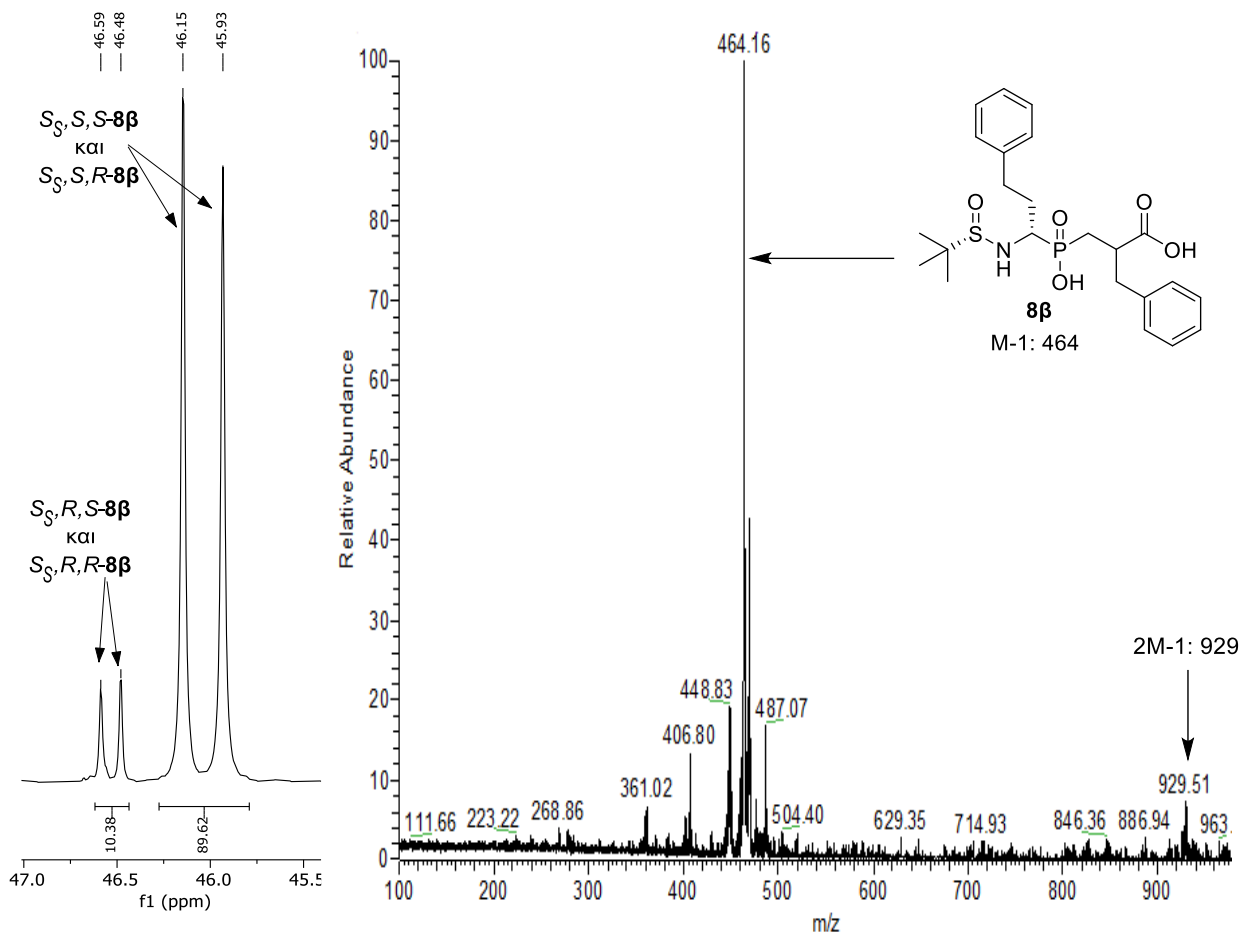
3.7 Διερεύνηση αντίδρασης *P*-Mannich με την *N*-*tert*-βουτανοσουλφινυλο ιμίνη **7β**

Παρόλο που οι Boc-αμινάλες αλειφατικών αλδεύδων είναι λιγότερο δραστικές από αυτές των αρωματικών αλδεύδων, θελήσαμε να δοκιμάσουμε την αλειφατική ιμίνη **7β** στην αντίδραση *P*-Mannich του *H*-φωσφινικού διοξέος **2** και να διερευνήσουμε εάν επαναλαμβάνεται το ίδιο προφίλ δραστικότητας.



Σχήμα 32: Αντίδραση του φωσφινικού διοξέος **2** με την ιμίνη **7β**.

Αρχικά ακολουθήσαμε τις συνθήκες που αναφέρθηκαν νωρίτερα και φαίνονται στο Σχήμα 32, και παραλήφθηκε το επιθυμητό προϊόν **8β**, όπως διαπιστώθηκε από φασματοσκοπία MS (M: 465) και ³¹P-NMR. Η διαστερεοϊσομερική αναλογία (d.r.) του προϊόντος υπολογίστηκε 90/10 μέσω ολοκλήρωσης των κορυφών στη φασματοσκοπία ³¹P-NMR, μετά από διακοπή της αντίδρασης και όξινης κατεργασίας (Εικόνα 14). Θεωρούμε πως η στερεοχημεία του παραγόμενου προϊόντος είναι η *S*, υπόθεση που θα αναλυθεί περισσότερο στη Παράγραφο 3.7.2.



Εικόνα 14: Φάσμα ³¹P-NMR (DMSO) και MS της ένωσης **8β**.

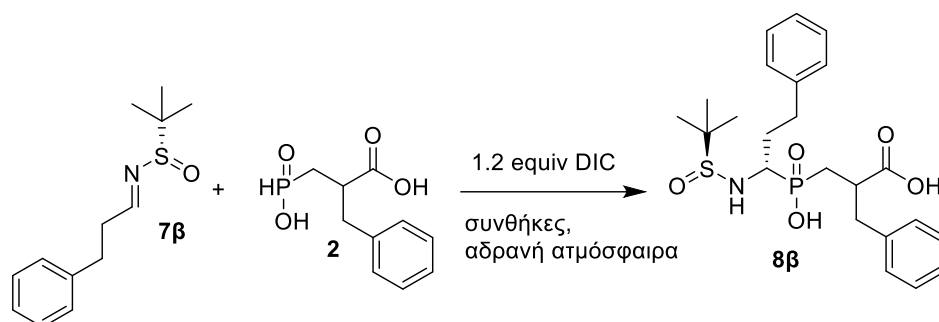
Μια υπόθεση που μπορούμε να κάνουμε για τη διαφορά στη δραστηκότητα ανάμεσα στις αρωματικές και αλειφατικές ιμίνες είναι πως το ιμινιακό κατιόν που σχηματίζεται κατά την ενεργοποίηση της ιμίνης (Παράγραφος 3.7.3) σταθεροποιείται, λόγω συζυγίας με τον αρωματικό δακτύλιο στη περίπτωση της ιμίνης της βενζαλδεΐδης, και τη καθιστά πιο αδρανή στην πυρηνόφιλη προσβολή σε σχέση με το ιμινιακό κατιόν μιας αλειφατικής ιμίνης, κάτι που δεν συμβαίνει στη περίπτωση των αμιναλών.

Όσον αφορά τη σύγκριση της δραστηκότητας ανάμεσα στην αντίστοιχη αλειφατική Boc-αμινάλη και *N-tert*-βουτυλοσουλφινυλο ιμίνη **7β**, δεν γίνεται να πραγματοποιηθεί

συγκριτικό πείραμα με την αντίστοιχη Boc-ιμίνη, καθώς η τελευταία δεν είναι σταθερή. Παρ' όλα αυτά υπάρχει μια εμφανής αντιστροφή της δραστηριότητας ανάμεσα στις Boc-αμινάλες και τις σουλφινυλο ιμίνες και ο ακριβής λόγος δεν είναι ακόμα κατανοητός. Πιθανόν σχετίζεται με τη διαφορά ηλεκτρονιοελκτικής ικανότητας μεταξύ των ομάδων Boc και *N-tert*-βουτυλοσουλφινυλο, η οποία ενδέχεται να επηρεάζει τα χαρακτηριστικά της μεταβατικής κατάστασης. Το άζωτο των Boc-ιμίνων είναι λιγότερο βασικό από των αντίστοιχων σουλφινιμινών, επομένως η δεύτερη ενεργοποιείται καλύτερα από το οξύ Lewis. Πιθανόν η μεταβατική κατάσταση της ενεργοποίησης της σουλφινυλο ιμίνης να έχει μεγαλύτερο χαρακτήρα προϊόντος, ενώ αυτή της Boc-ιμίνης να έχει περισσότερο χαρακτήρα αντιδρώντος. Ίσως αυτά τα φαινόμενα να παίζουν ρόλο στην παρατηρούμενη αντιστροφή της δραστηριότητας.

3.7.1 Βελτιστοποίηση της αντίδρασης - Κινητική παρακολούθηση

Πίνακας 3: Προσπάθειες βελτιστοποίησης της διαστερεοεκλεκτικότητας της αντίδρασης *P*-Mannich.



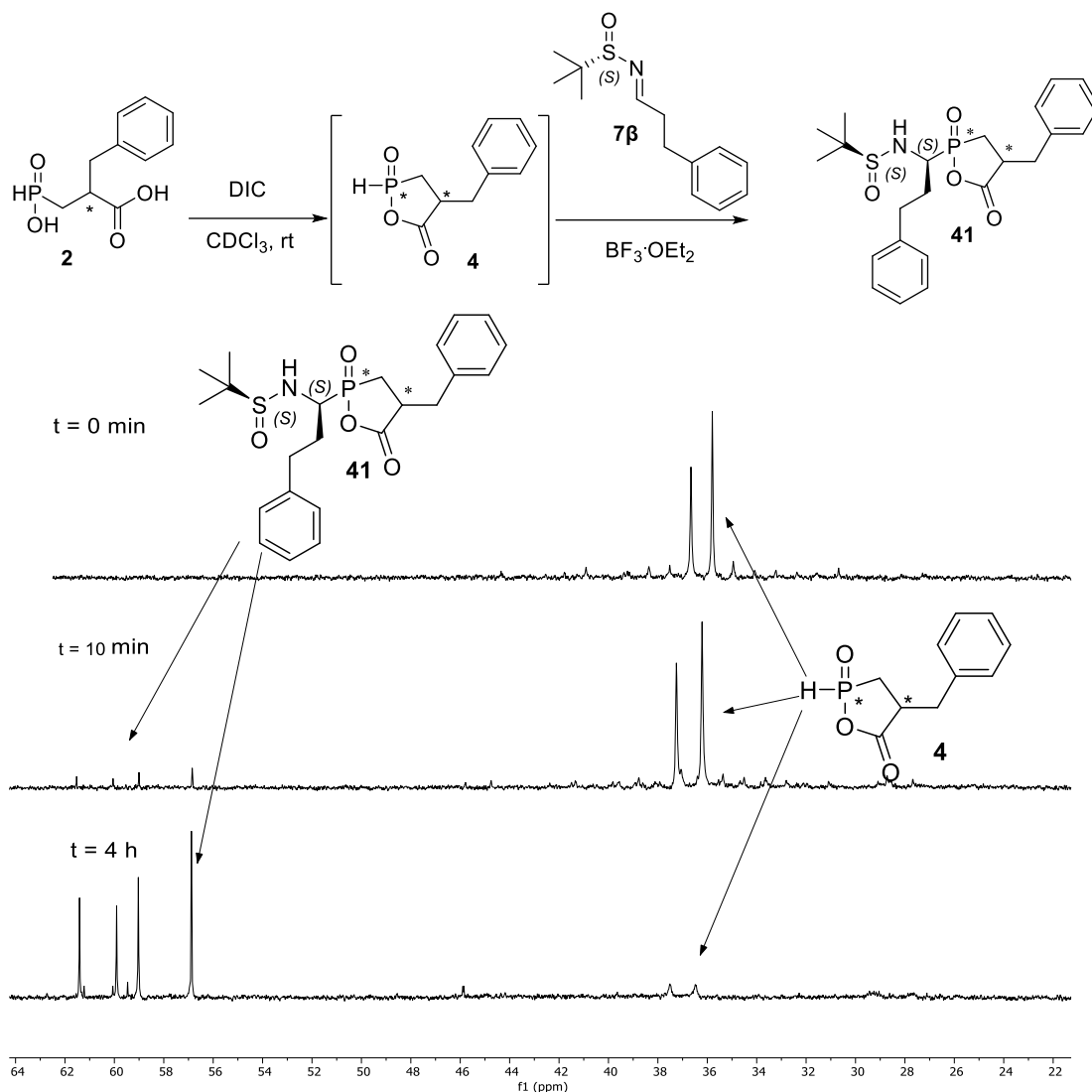
	Οξύ Lewis (0.2 equiv)	Διαλύτης	Χρόνος (h)	Θερμοκρασία (°C)	d.r. ^a
1	BF ₃ OEt ₂	CHCl ₃	20	r.t.	90/10
2	ⁿ Bu ₂ BOTf	CHCl ₃	22	r.t.	80/20
3	BF ₃ OEt ₂	τολουόλιο	3	r.t.	88/12
4	BF ₃ OEt ₂	ξηρό CH ₃ CN	4	r.t.	92/8
5	BF ₃ OEt ₂	CHCl ₃	18	-30	δεν προχώρησε
6	BF ₃ OEt ₂	CHCl ₃	23	0	84/16

^a Ολοκληρώσεις κορυφών στο φάσμα ³¹P-NMR του μίγματος αντίδρασης έπειτα από διακοπή με τριαιθυλαμίνη, κατεργασία με H₂O και 1M HCl, και συμπύκνωση της οργανικής φάσης.

Πραγματοποιήθηκαν οι δοκιμαστικές αντιδράσεις που αναγράφονται στον Πίνακα 3 με σκοπό να βελτιστοποιηθεί το διαστερεοεκλεκτικό αποτέλεσμα της αντίδρασης.

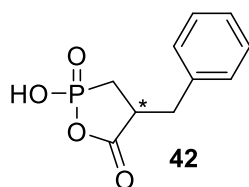
Αρχικά έγινε μια προσπάθεια χρησιμοποιώντας το $^n\text{Bu}_2\text{BOTf}$, καθώς είναι πιο ήπιο οξύ Lewis από το $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$. Η διαστερεοεκλεκτικότητα της αντίδρασης όμως βρέθηκε 80/20, και είχαν αυξηθεί τα παραπροϊόντα όπως διαπιστώθηκε από τη φασματοσκοπία $^{31}\text{P-NMR}$ (Καταχώρηση 2, Πίνακας 3). Αποφασίσαμε εν τέλει να μην αλλάξουμε το οξύ Lewis, γιατί το $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ δίνει αρκετά καλά αποτελέσματα, και να γίνει μια διερεύνηση της επίδρασης του διαλύτη στη διαστερεοεκλεκτικότητα της αντίδρασης. Πραγματοποιήθηκαν δύο δοκιμές σε τολουόλιο και ξηρό ακετρονιτρίλιο και στις δύο περιπτώσεις η διαστερεοεκλεκτικότητα της αντίδρασης χειροτέρευσε (Καταχωρήσεις 3 και 4, Πίνακας 3). Στη συνέχεια, η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε χαμηλότερες θερμοκρασίες για να έχουμε καλύτερο έλεγχο της διαστερεοεκλεκτικότητας, όμως δεν παρατηρήθηκε βελτίωση του d.r. στους $0\text{ }^\circ\text{C}$, ενώ στους $-30\text{ }^\circ\text{C}$ η αντίδραση δεν προχώρησε καθόλου (Καταχωρήσεις 4 και 5, Πίνακας 3). Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα αποφασίστηκε να χρησιμοποιηθούν οι αρχικές συνθήκες (Καταχώρηση 1, Πίνακας 3) και να γίνει διερεύνηση του καταλυτικού φορτίου.

Οι δοκιμαστικές αντιδράσεις που αναγράφονται στη συνέχεια πραγματοποιήθηκαν σε σωληνάκι NMR και η πορεία της αντίδρασης μελετήθηκε με φασματοσκοπία $^{31}\text{P-NMR}$. Στο Σχήμα 33 φαίνεται η εξέλιξη της αντίδρασης *P*-Mannich, όπως αποτυπώνεται στα φάσματα $^{31}\text{P-NMR}$.



Σχήμα 33: Προτεινόμενα ενδιάμεσα της αντίδρασης *P*-Mannich του **2** με την ιμίνη **7β** και φάσματα ³¹P-NMR κατά την εξέλιξη της αντίδρασης.

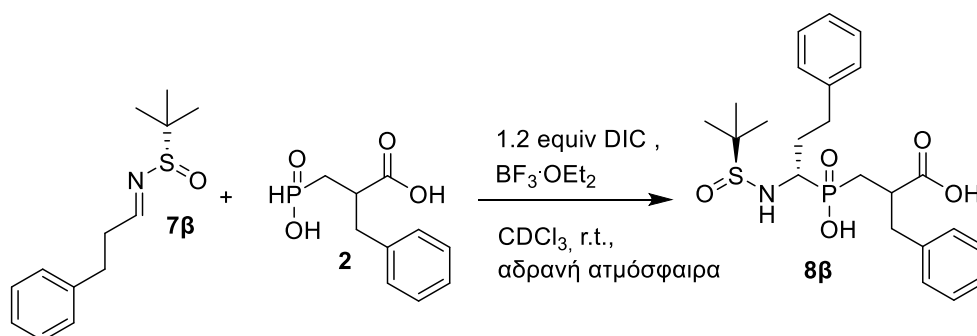
Συγκεκριμένα, σε μίγμα των δύο αντιδρώντων σε CDCl₃ σε αδρανή ατμόσφαιρα προστίθενται 1.2 ισοδύναμα DIC για την κυκλοποίηση και ταυτόχρονη ενεργοποίηση του φωσφινικού διοξέος. Παρατηρήθηκε πως χρειάζεται μία μικρή περίσσεια καρβοδιιμίδιου, διότι, όταν προστίθεται σε στοιχειομετρική αναλογία, δεν κυκλοποιείται όλη η ποσότητα του φωσφινικού διοξέος. Το ενεργοποιημένο φωσφινικό ενδιάμεσο **4** εμφανίζεται ως μια διπλή κορυφή στα 36 - 37 ppm (2 στερεογονικά κέντρα, 4 διαστεροϊσομερή ανά 2 ζεύγη εναντιομερών). Πρέπει να σημειωθεί πως το κυκλικό ενδιάμεσο είναι πολύ ευαίσθητο στο οξειγόνο και το οξειδωμένο υπόστρωμα **42** εμφανίζεται στα 32 ppm. Για να μειώσουμε το ποσοστό του ανυδρίτη που οξειδώνεται διατηρείται συνεχώς θετική πίεση στη φιάλη αντίδρασης με αδρανές αέριο.



Εικόνα 15: Δομή οξειδωμένου φωσφονικού ανυδρίτη 42.

Κατά την έναρξη της αντίδρασης μετά τη προσθήκη του οξέος Lewis, παρατηρούμε ένα προφίλ τεσσάρων κορυφών στα 56 - 62 ppm που αντιστοιχούν στο προϊόν **41** (4 στερεογονικά κέντρα, 4 διαστεροϊσομερή). Οι αρχικές αντιδράσεις εμφάνισαν ένα πολύπλοκο προφίλ στη φασματοσκοπία ^{31}P -NMR και υποθέσαμε πως η κακή εξέλιξη των πειραμάτων μπορεί να οφειλόταν στη μορφή της αρχικής ύλης. Το φωσφονικό διοξύ ήταν με τη μορφή παχρυστού λαδιού και παρόλο που φασματοσκοπικά φαινόταν καθαρό, προχωρήσαμε σε κρυστάλλωση της ουσίας, γιατί υποθέσαμε πως μπορεί να έχει εγκλωβίσει υγρασία. Οι αντιδράσεις που πραγματοποιήθηκαν με το στερεό φωσφονικό διοξύ είχαν καλύτερη εξέλιξη και στη φασματοσκοπία ^{31}P -NMR διακρίναμε πολύ λιγότερα παραπροϊόντα.

Πίνακας 4: Διερεύνηση ισοδυνάμων $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ στη διαστεροεκλεκτικότητα της αντίδρασης.



	$\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (equiv)	Χρόνος (h)	d.r. ^α	8β (%) ^{β, γ}	Παρατηρήσεις
1	0.2	20	90/10	22	Πολλά παραπροϊόντα, το 2 ήταν παχύρευστο λάδι
2	0.1	22	89/11	24	Μεγάλο ποσοστό οξειδωσης
3	1.0	4	85/15	76	Δεν υπήρχε οξειδωμένο 42
4	0.5	8	91/9	36	-
5	0.3 + 0.2	6.5	97/3	39	Η προσθήκη των 0.2 equiv $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ έγινε στις 3 h

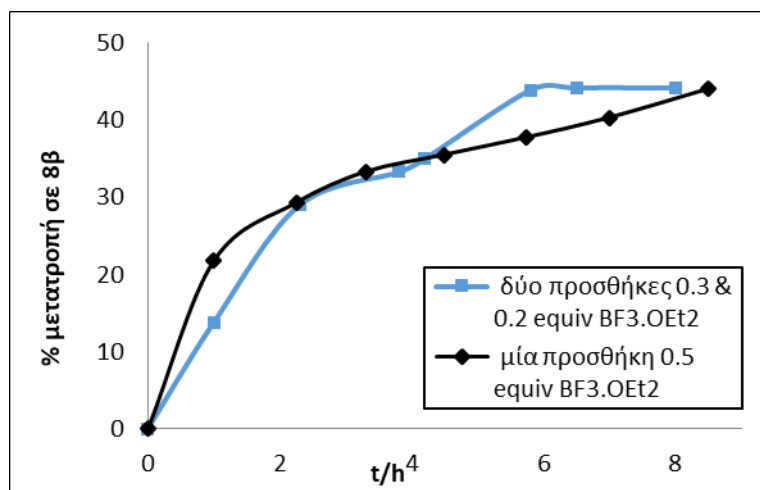
^α Ολοκληρώσεις κορυφών στο φάσμα ³¹P-NMR του μίγματος αντίδρασης έπειτα από διακοπή με τριαιθυλαμίνη, κατεργασία με H₂O και 1M HCl και συμπύκνωση της οργανικής φάσης. ^β Ολοκληρώσεις κορυφών στο φάσμα ³¹P-NMR του μίγματος αντίδρασης πριν τη διακοπή της αντίδρασης. ^γ Το ποσοστό του προϊόντος δεν μπορεί να αναχθεί στην πλήρη μετατροπή σε προϊόν καθώς δεν λαμβάνεται υπόψη στην πραγματική απόδοση το ποσοστό του οξειδωμένου.

Στις αντιδράσεις που παρουσιάζονται στον Πίνακα 4 τα ποσοστά οξείδωσης ήταν περίπου 10-15 %, εκτός από τις περιπτώσεις που αναφέρεται κάτι άλλο Η οξείδωση πραγματοποιείται κατά τους χειρισμούς.

Αρχικά θεωρήσαμε πως λιγότερη ποσότητα BF₃·OEt₂ θα βελτιώνει τη διαστερεοεκλεκτικότητα της αντίδρασης, καθώς η μετατροπή σε προϊόν θα ήταν πιο αργή και ελεγχόμενη. Η αντίδραση με 0.1 ισοδύναμο καταλύτη παρουσίασε μικρό ποσοστό μετατροπής σε προϊόν **8β** και η διαστερεοεκλεκτικότητα ήταν ελαφρώς χειρότερη από την αντίδραση με 0.2 ισοδύναμο καταλύτη (Καταχώρησεις 1 και 2, Πίνακας 4). Έπειτα, με στόχο την αύξηση του ρυθμού μετατροπής σε προϊόν και τη μείωση του χρόνου αντίδρασης που πιθανώς συνδέεται με την εμφάνιση παραπροϊόντων, επιχειρήθηκε η εφαρμογή εντονότερων συνθηκών για μικρότερο χρόνο. Έτσι χρησιμοποιήθηκε ένα ισοδύναμο BF₃·OEt₂ και το ποσοστό μετατροπής σε προϊόν ήταν 76 %, και επίσης ο λόγος d.r. ήταν 85/15 (Καταχώρηση 3, Πίνακας 4).

Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα υποθέσαμε πως η βέλτιστη ποσότητα καταλύτη θα είναι ~0.5 ισοδύναμο θεωρώντας πως ο σχηματισμός του προϊόντος θα έχει προχρήσει σημαντικά πριν αρχίσει η εμφάνιση των παραπροϊόντων και ταυτόχρονα θα έχουμε ένα αρκετά καλό στερεοχημικό αποτέλεσμα. Μεταξύ των άλλων, στη φασματοσκοπία ³¹P-NMR παρατηρήσαμε πως η μετατροπή σε προϊόν πραγματοποιείται γρήγορα στην αρχή της αντίδρασης και μετά τις 3.5 ώρες με αρκετά αργό ρυθμό (Εικόνα 16). Έτσι πραγματοποιήθηκαν δύο συγκριτικές αντιδράσεις με 0.5 ισοδύναμο BF₃·OEt₂. Στην πρώτη αντίδραση έγινε μία προσθήκη όλης της ποσότητας (0.5 equiv) του οξέος Lewis, και στη δεύτερη πραγματοποιήθηκαν δύο προσθήκες των 0.3 και 0.2 ισοδυνάμων στην αρχή και στις 3 ώρες αντίδρασης αντίστοιχα (Καταχώρησεις 4 και 5, Πίνακας 4). Και οι δύο αντιδράσεις παρουσίασαν βελτιωμένη εικόνα σε σύγκριση με τις προηγούμενες, καθώς αυξήθηκε το ποσοστό μετατροπής και παρουσίασαν καλή διαστερεοεκλεκτική αναλογία. Μάλιστα στη δεύτερη αντίδραση λάβαμε την καλύτερη διαστερεοεκλεκτικότητα που έχουμε παρατηρήσει για τη συγκεκριμένη ιμίνη (97/3).

Όπως φαίνεται στο διάγραμμα της Εικόνας 16, όσον αφορά την αντίδραση που η προσθήκη του $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ πραγματοποιήθηκε σε δύο δόσεις, ο ρυθμός μετατροπής του προϊόντος αυξάνεται για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα με μικρότερη ταχύτητα σε σχέση με την αντίδραση όπου πραγματοποιείται μία προσθήκη όλης της ποσότητας του καταλύτη. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η αντίδραση με τις δύο προσθήκες να ολοκληρώνεται σε συντομότερο χρονικό διάστημα και με καλύτερο έλεγχο της στερεοχημείας του παραγόμενου προϊόντος.

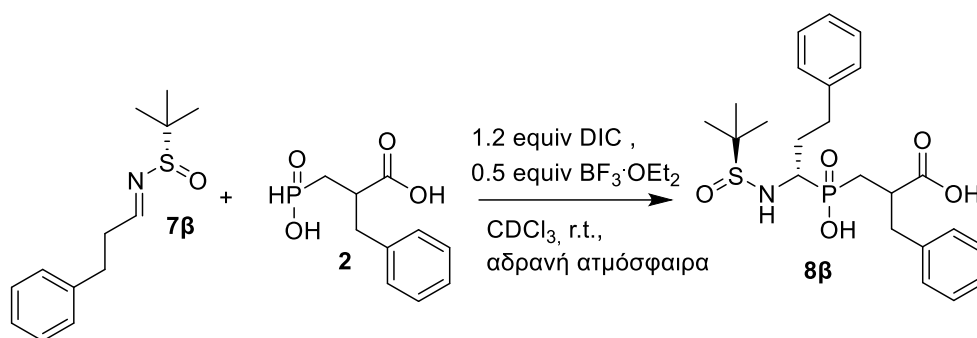


Εικόνα 16: Κινητική παρακολούθηση των αντιδράσεων *P*-Mannich μεταξύ των ενώσεων **2** και **7β** με μία προσθήκη και με δύο προσθήκες $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$.

Επόμενο βήμα στη βελτιστοποίηση της αντίδρασης αποτέλεσε η αύξηση της απόδοσης σε προϊόν **8β**. Παρόλο που στη φασματοσκοπία ^{31}P -NMR στο τέλος της αντίδρασης φαινόταν να έχει καταναλωθεί όλη η ποσότητα του φωσφινικού διοξειδίου, μετά τη διακοπή και την όξινη κατεργασία της αντίδρασης φαινόταν να υπάρχουν αρκετά έντονες κορυφές στην περιοχή του αρχικού. Επιπλέον, η φασματοσκοπία μάζας έδειξε πως υπήρχε φωσφινικό διοξύ **2** μετά τη διακοπή της αντίδρασης. Έτσι θεωρήσαμε πως στο μίγμα της αντίδρασης ο ανυδρίτης **4** ενδέχεται να λαμβάνει κάποια διαμόρφωση, η οποία να μην είναι δραστική. Ενδεχομένως σε αυτές τις διαμορφώσεις να οφείλονται οι πολύ φαρδιές κορυφές που εντοπίζονται στα 25 - 29 ppm στη φασματοσκοπία ^{31}P -NMR κατά τη διάρκεια της αντίδρασης. Πραγματοποιήσαμε μία αντίδραση με 3 ισοδύναμα μίνης υποθέτοντας πως η μεγάλη περίσσεια θα μετατοπίσει την ισορροπία αναμεσα στον ανυδρίτη και στις διάφορες διαμορφώσεις που υιοθετεί στο μίγμα της αντίδρασης, οδηγώντας σε μεγαλύτερη μετατροπή σε προϊόν. Η παρακολούθηση της αντίδρασης μέσω φασματοσκοπίας ^{31}P -NMR έδειξε πως η ποσότητα του φωσφινικού διοξειδίου **2** είχε καταναλωθεί στις 2.5

ώρες αντίδρασης, και πως το ποσοστό του προϊόντος δεν αυξήθηκε όταν η αντίδραση αφέθηκε για άλλες 20 ώρες, ενώ οι φαρδιές κορυφές στα 25 - 29 ppm υπήρχαν σε όλη τη διάρκεια της αντίδρασης. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν πως η υπόθεση μας δεν ευσταθεί και θα πρέπει να βρούμε μια εναλλακτική για να αυξηθεί το ποσοστό του προϊόντος.

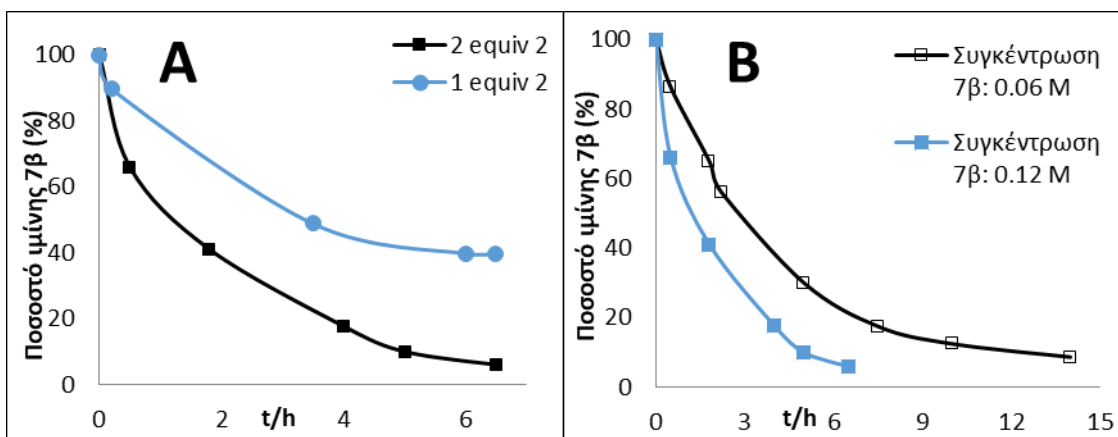
Πίνακας 5: Σύγκριση αντιδράσεων P-Mannich με ένα και δύο ισοδύναμα φωσφινικού διοξείος 2.



	Ιμίνη 7β (equiv)	Φωσφινικό διοξύ 2 (equiv)	BF ₃ ·OEt ₂ (equiv)	d.r. ^α	Ποσοστό κατανάλωσης της ιμίνης 7β (%) ^β
1	1	1	0.5	97/3	60
2	1	2	0.5	97/3	94

^α Ολοκληρώσεις κορυφών στο φάσμα ³¹P-NMR του μίγματος αντίδρασης έπειτα από διακοπή με τριαιθυλαμίνη, κατεργασία με H₂O και 1M HCl και συμπύκνωση της οργανικής φάσης. ^β Ολοκληρώσεις κορυφών στο φάσμα ¹H-NMR του μίγματος αντίδρασης πριν από τη διακοπή της αντίδρασης.

Όπως διαπιστώθηκε από τη φασματοσκοπία ¹H-NMR παρέμενε ένα σημαντικό ποσοστό ιμίνης μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης (Καταχώρηση 1, Πίνακας 5). Έτσι, αποφασίσαμε να διπλασιάσουμε τα ισοδύναμα του φωσφινικού διοξείος 2 ώστε να καταναλωθεί πλήρως η ιμίνη 7β. Στην αντίδραση με δύο ισοδύναμα φωσφινικού διοξείος και 0.5 BF₃·OEt₂, η ιμίνη καταναλώθηκε σε μεγαλύτερο ποσοστό σε σχέση με την αντίδραση με ένα ισοδύναμο φωσφινικού οξέος και ίδια ποσότητα οξέος Lewis (Καταχώρησεις 1 και 2, Πίνακας 5) και επιπλέον φαίνεται να αυξήθηκε και η ταχύτητα της αντίδρασης (Διάγραμμα A, Εικόνα 17).

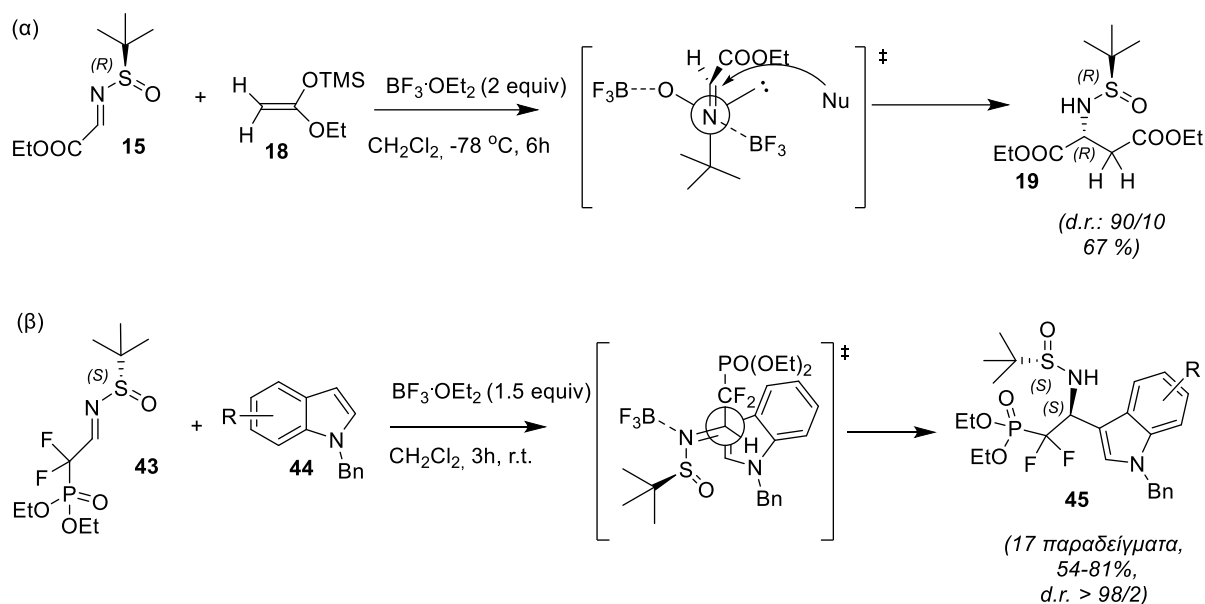


Εικόνα 17: Κινητική παρακολούθηση των αντιδράσεων *P*-Mannich του **2** με την **7β** με καταγραφή της κατανάλωσης της ιμίνης **7β** με χρήση φασματοσκοπίας $^1\text{H-NMR}$. Α) σύγκριση ενός και δύο ισοδυνάμων **7β**, Β) σύγκριση αντιδράσεων με διαφορετικές συγκεντρώσεις.

Επιπροσθέτως, πραγματοποιήθηκε μία αντίδραση με αραίωση του μίγματος αντίδρασης και παρατηρήσαμε πως η ταχύτητα της αντίδρασης εξαρτάται από τη συγκέντρωση, όπως ήταν αναμενόμενο (Διάγραμμα Β, Εικόνα 17).

3.7.2 Πρόβλεψη στερεοχημικού αποτελέσματος της αντίδρασης *P*-Mannich του φωσφινικού διοξέος **2** με τις χειρόμορφες *N*-*tert*-βουτυλοσουλφινυλο ιμίνες

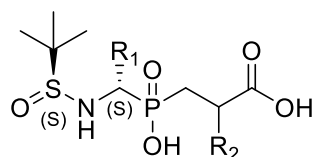
Έπειτα από μια βιβλιογραφική επισκόπηση των αντιδράσεων με *N*-*tert*-βουτυλοσουλφινυλο ιμίνες παρουσία του οξέος Lewis $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ και ποικιλία πυρηνόφιλων, φάνηκε να υπάρχει μια σαφής τάση ως προς το στερεοχημικό αποτέλεσμα. Ένα παράδειγμα αποτελεί η προσθήκη κετενών ακετάλης **18** στις *N*-*tert*-βουτυλοσουλφινυλο ιμινοεστέρα **15** για τη σύνθεση παραγώγων του ασπαρτικού οξέος [111]. Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε με χρήση διάφορων οξέων Lewis και τα καλύτερα αποτελέσματα ως προς τη διαστεροεκλεκτικότητα ελήφθησαν με 2 ισοδύναμα $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ στους $-78\text{ }^\circ\text{C}$. Στην αντίδραση αυτή ο Jacobsen και ο Skrydstrup προτείνουν ένα ανοιχτό μοντέλο μεταβατικής κατάστασης σύμφωνα με το οποίο η προσβολή γίνεται από τη Re πλευρά του διπλού δεσμού, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 34α. Το ένα ισοδύναμο του οξέος Lewis συνδέεται με το οξυγόνο της σουλφινυλομάδας εμποδίζοντας της προσβολή από την Si πλευρά της ιμίνης, ενώ το δεύτερο ισοδύναμο του οξέος συνδέεται με το άζωτο ενεργοποιώντας το ως προς την πυρηνόφιλη προσβολή.



Σχήμα 34: (α) Ασύμμετρη σύνθεση παραγώγων του ασπαρτικού οξέος **19** από τους Jacobsen και Skrydstrup[111], (β) ασύμμετρη αλκυλίωση Friedel-Crafts από τον Xie et al. [124].

Άλλο ένα παράδειγμα αποτελεί η αντίδραση Friedel-Crafts ανάμεσα στη *N-tert*-βουτυλοσουλφινυλο ιμίνη **43** και παράγωγα ινδολίων με χρήση ενός ισοδύναμου $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$. Έχουν προταθεί διάφορες μεταβατικές καταστάσεις για την αντίδραση αυτή, η πιο πιθανή όμως είναι αυτή που παρουσιάζεται στο Σχήμα 34β, διότι εμφανίζει τις λιγότερες στερεοχημικές παρεμποδίσεις [124].

Κατά τη βιβλιογραφική αναζήτηση δεν βρέθηκε κάποια αντίδραση που να χρησιμοποιεί πυρηνόφιλα φωσφόρου σε όξινες συνθήκες ώστε να μπορούμε να βγάλουμε ένα πιο σχετικό συμπέρασμα για τη στερεοχημεία της αντίδρασης. Επομένως, με βάση τα παραπάνω, μπορούμε να υποθέσουμε πως το στερεοχημικό αποτέλεσμα της αντίδρασης του φωσφινικού διοξέος θα ακολουθεί τη προαναφερθείσα τάση. Το πραγματικό στερεοχημικό αποτέλεσμα της αντίδρασης αναμένεται να επιβεβαιωθεί μελλοντικά με πειράματα σύγκρισης φασματοσκοπικών δεδομένων με στερεοχημικά γνωστές ενώσεις. Παρ'όλα αυτά, για λόγους διευκόλυνσης της συζήτησης, στη συνέχεια του κειμένου οι δομές των προϊόντων θα φέρουν τη στερεοχημεία που βασίζεται σε αυτήν την υπόθεση.



Σχήμα 35: Πιθανή στερεοχημεία του προϊόντος της αντίδρασης *P*-Mannich.

Το γεγονός πως η αυτή η πρόβλεψη είναι αντίθετη από τη στερεοχημεία που προκύπτει σε βασικές συνθήκες με πυρηνόφιλα φωσφόρου (Παράγραφος 2.1.1. Σχήμα 5) είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρον, καθώς η συγκεκριμένη η αντίδραση θα μπορούσε να λειτουργήσει συμπληρωματικά με τις μεθόδους που υπάρχουν στη βιβλιογραφία [69, 106, 108].

3.7.3 Μηχανιστικές υποθέσεις

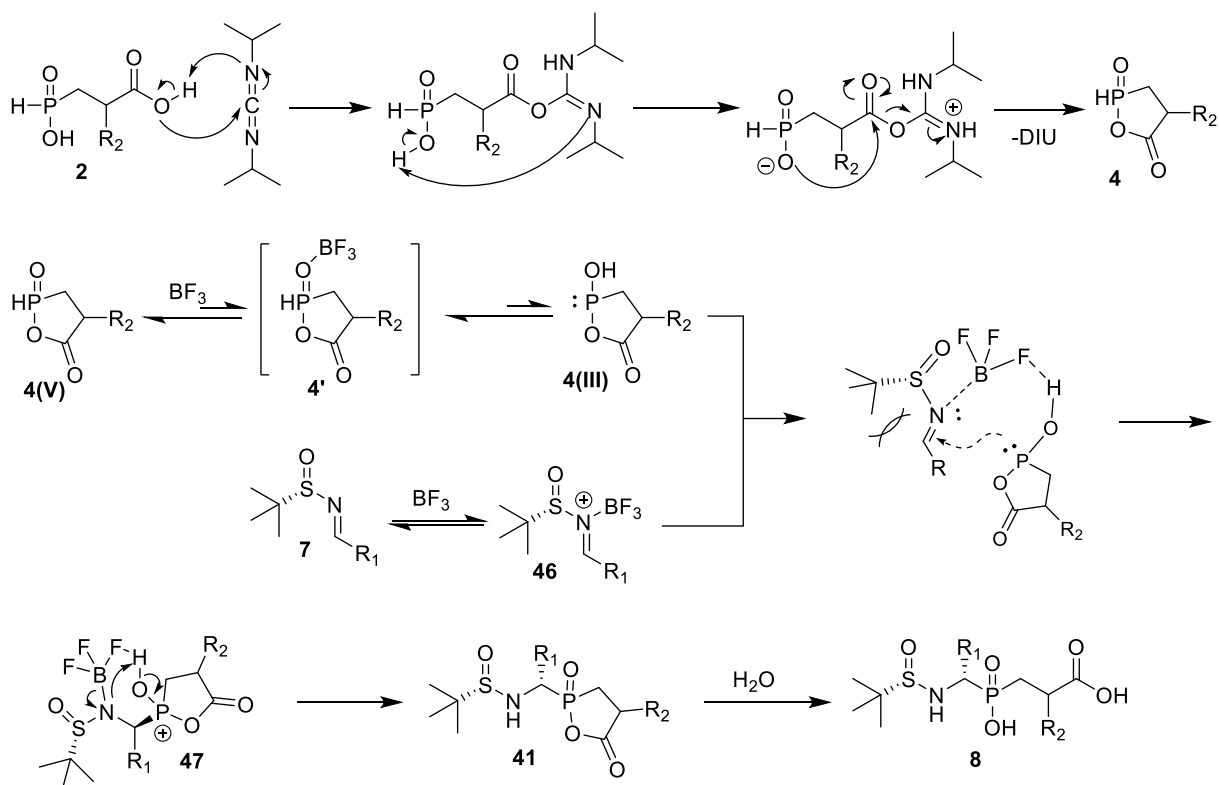
Στο πρώτο στάδιο της αντίδρασης πραγματοποιείται κυκλοποίηση του φωσφινικού διοξέος **2** και σχηματίζεται ο ενδιάμεσος μικτός ανυδρίτης **4** σύμφωνα με τον μηχανισμό που φαίνεται στο Σχήμα 36. Το υδροξύλιο του καρβοξυλικού οξέος προσβάλλει τον άνθρακα του καρβοδιιμιδίου και σχηματίζεται η ενδιάμεση Ο-ακυλοϊσουρία. Ακολουθεί πρωτονίωσή της και πυρηνόφιλη προσβολή από το ανιόν του φωσφινικού οξέος στο καρβονύλιο με παράλληλη αποβολή διισοπροπυλουρίας (DIU).

Απαραίτητο στάδιο της αντίδρασης αποτελεί ο σχηματισμός της δραστικής μορφής του P(III), μέσω της οποίας πραγματοποιείται η πυρηνόφιλη προσβολή. Υπολογιστικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν από τον Dr Rajeshkumar Thayalan, μέλους της ερευνητικής ομάδας του Επικ. Καθηγητή του Πανεπιστημίου του Tennessee, Knoxville, έδειξαν πως το ενεργειακό φράγμα του καταλυόμενου από BF₃ μηχανισμού ταυτομερίωσης είναι χαμηλότερο από αυτό που είναι χωρίς την επίδραση του BF₃ [94]. Επομένως, θεωρούμε πως σχηματίζεται ένα σύμπλοκο μεταξύ του ανυδρίτη και του BF₃, μέσω του οποίου καταλύεται η ταυτομερίωση P(V) σε P(III).

Σε επόμενο βήμα του μηχανισμού πρέπει να πραγματοποιηθεί ενεργοποίηση της ιμίνης προς το σχηματισμό ιμινιακού κατιόντος **46**. Η ενεργοποίηση της ιμίνης μπορεί να πραγματοποιηθεί με δύο τρόπους. Είτε από το BF₃ είτε από το πρωτόνιο του φωσφινικού υδροξυλίου του ανυδρίτη **4**. Το δεύτερο είναι λιγότερο πιθανό να συμβαίνει, διότι, όταν δοκιμάσαμε να πραγματοποιήσουμε την αντίδραση απουσία οξέος Lewis, η αντίδραση δεν προχώρησε. Επομένως υποθέτουμε πως το BF₃ ενεργοποιεί την ιμίνη, παρόλο που στο τέλος το πρωτόνιο του φωσφινικού υδροξυλίου καταλήγει στην αμινομάδα.

Ένας πιθανός μηχανισμός της πυρηνόφιλης προσβολής στον άνθρακα του ιμινιακού ιόντος παρουσιάζεται στο Σχήμα 36, σύμφωνα με τον οποίο το πρωτόνιο του

υδροξυλίου του **4(III)** αλληλεπιδρά με το BF_3 του ιμινιακού ιόντος **46** κατευθύνοντας την πυρηνόφιλη προσβολή από τη λιγότερο παρεμποδισμένη πλευρά της ιμίνης και σχηματίζοντας το ενδιάμεσο **47**. Ακολουθεί πρωτονίωση του αζώτου ταυτόχρονα με το σχηματισμό του διπλού δεσμού και ανακύκλωση του οξέος Lewis στο μίγμα της αντίδρασης. Το προϊόν **8** παραλαμβάνεται μετά από προσθήκη νερού για την υδρόλυση του ανυδρίτη **41**.

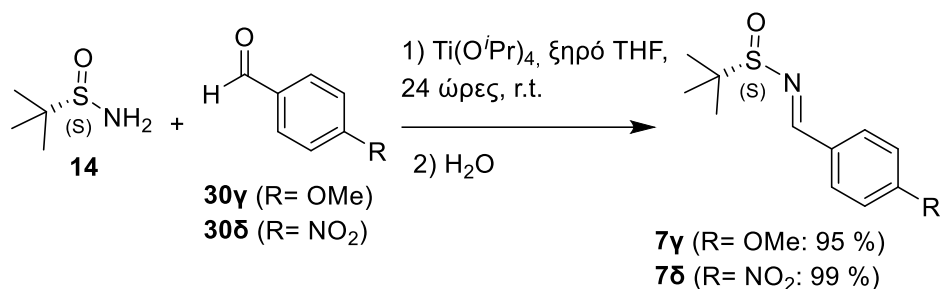


Σχήμα 36: Πιθανός μηχανισμός αντίδρασης *P*-Mannich του φωσφινικού διοξέος με ιμίνες.

3.8 Σύγκριση δραστηριότητας των ιμινών 7γ και 7δ

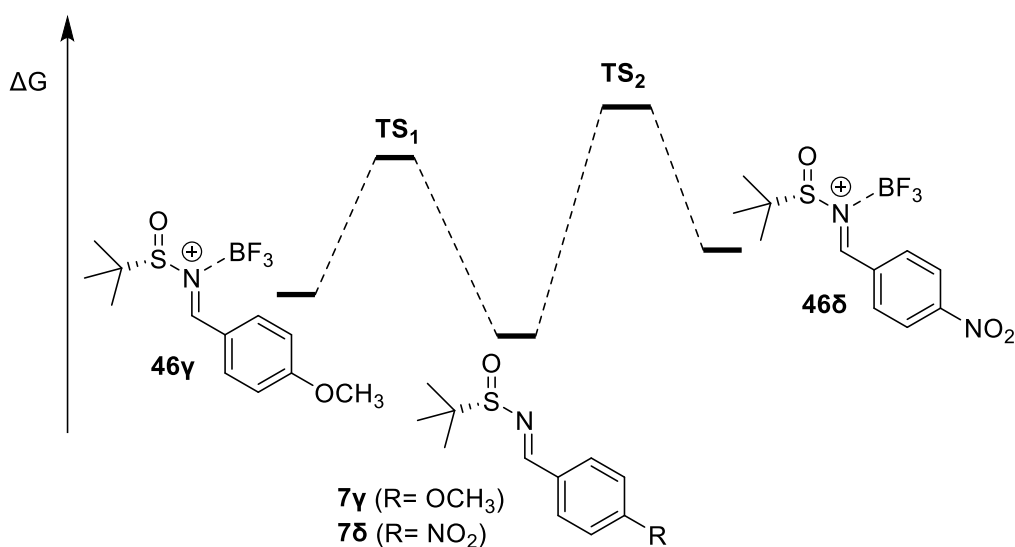
Αφού βρήκαμε πως οι βέλτιστες συνθήκες της αντίδρασης είναι 2 ισοδύναμα φωσφινικού διοξέος **2** και δύο προσθήκες των 0.3 και 0.2 ισοδυνάμων $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, θελήσαμε να προσπαθήσουμε να επαναλάβουμε την αντίδραση με μια αρωματική ιμίνη. Επειδή θεωρήσαμε πως η διαφορά δραστηριότητας ανάμεσα στην αρωματική και την αλειφατική ιμίνη οφείλεται στη σταθεροποίηση του ιμινιακού κατιόντος από τον αρωματικό δακτύλιο, αποφασίσαμε να διερευνήσουμε την επίδραση μιας ηλεκτρονιοδοτικής και μιας ηλεκτρονιοελκτικής ομάδας στη δραστηριότητα του ιμινιακού ιόντος. Επιλέξαμε να δοκιμάσουμε τις ιμίνες **7γ** και **7δ** οι οποίες σχηματίστηκαν με

συμπύκνωση του (S)-σουλφιναμιδίου **14** και της κατάλληλης αλδεύδης με τη χρήση $\text{Ti}(\text{O}^i\text{Pr})_4$ (Σχήμα 37).



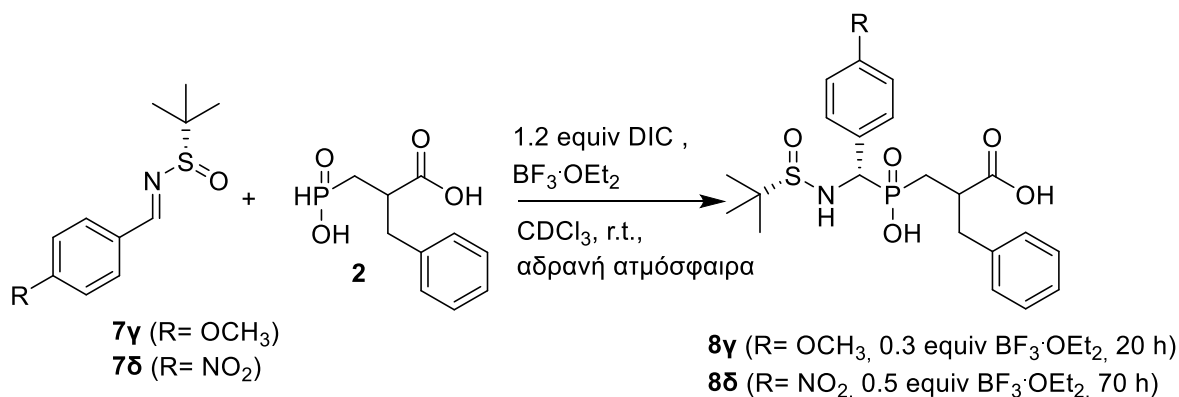
Σχήμα 37: Σύνθεση ιμινών **7γ** και **7δ**.

Είναι πιθανό το ιμινιακό ιόν **46γ** να σταθεροποιείται λόγω του ηλεκτρονιοδοτικού χαρακτήρα της μεθοξυ ομάδας, ενώ το **46δ** να αποσταθεροποιείται από την ηλεκτρονιοελκτική νιτρο ομάδα και αντίστοιχα η ενέργεια της μεταβατικής κατάστασης σχηματισμού του ιμινιακού ιόντος της ιμίνης **7γ** (TS_1) να είναι χαμηλότερη από την ενέργεια της μεταβατικής κατάστασης σχηματισμού του ιμινιακού ιόντος της **7δ** (TS_2) (Εικόνα 18). Επομένως το ιμινιακό ιόν **46δ** είναι μεν πιο δραστικό, αλλά σχηματίζεται πιο αργά σε σχέση με το **46γ**. Αν στην αντίδραση η κατανάλωση του ιμινιακού ιόντος είναι γρήγορη, αναμένουμε το ιμινιακό κατιόν **46δ** να αντιδράσει γρηγορότερα από το **46γ**. Αντίθετα, αν το ιμινιακό κατιόν δεν καταναλώνεται γρήγορα στην αντίδραση, καθοριστικός παράγοντας γίνεται ο σχηματισμός του. Σε αυτήν την περίπτωση, η χαμηλότερη ενέργεια της μεταβατικής κατάστασης TS_1 κάνει το ιμινιακό ιόν **46γ** να αντιδρά γρηγορότερα από το **46δ**.



Εικόνα 18: Πιθανό ποιοτικό διάγραμμα ενεργειών σχηματισμού των ιμινιακών ιόντων **46γ** και **46δ**.

Για να ελέγξουμε ποια από τις δύο περιπτώσεις ισχύει, πραγματοποιήθηκαν οι αντιδράσεις σε σωληνάκι NMR, και η εξέλιξη της κάθε αντίδρασης παρακολούθηθηκε μέσω φασματοσκοπίας ^{31}P -NMR.



Σχήμα 38: Αντίδραση του φωσφινικού διοξέος 2 με τις ιμίνες 7γ και 7δ.

Στην αντίδραση με την ιμίνη **7γ** παρατηρήθηκε σχηματισμός προϊόντος **8γ** από την πρώτη ώρα αντίδρασης και σχηματισμός πολλών μη ταυτοποιημένων παραπροϊόντων. Στις 12 ώρες αντίδρασης διακρίνονται πολλές κορυφές στο φάσμα ^{31}P -NMR. Ο σχηματισμός του προϊόντος **8δ** φαίνεται να ξεκίνησε μετά τις 12 ώρες, και στις 70 ώρες που διακόπηκε η αντίδραση διακρίνονται οι χαρακτηριστικές κορυφές του προϊόντος σε μικρότερη αναλογία σε σχέση με τα κορυφές των μη ταυτοποιημένων παραπροϊόντων. Από την παρακολούθηση της πορείας της αντίδρασης, ήταν φανερό ότι ο σχηματισμός των παραπροϊόντων γινόταν με γρηγορότερο ρυθμό από αυτόν του επιθυμητού προϊόντος **8δ**.

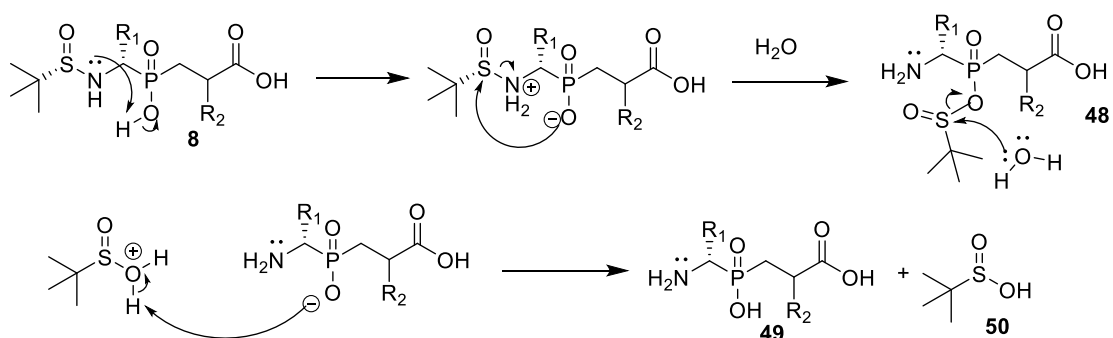
Επειδή η αντίδραση με την ιμίνη **7γ** είχε ξεκινήσει ταχύτερα, είναι πιθανό πως η σταθεροποίηση του ιμινιακού ιόντος έχει σημαντικότερη επίδραση στην αντίδραση και καθιστά την αντίστοιχη ιμίνη περισσότερο δραστική στην αμιδοαλκυλίωση του φωσφινικού διοξέος. Λόγω όμως του πολύπλοκου προφίλ κορυφών που εμφάνισε η αντίδραση με την ιμίνη **7γ** και της χαμηλής δραστηριότητας της ιμίνης **7δ**, αποφασίσαμε πως δεν αξίζει να πραγματοποιηθεί περαιτέρω διερεύνηση.

3.9 Αποικοδόμηση των προϊόντων της αντίδρασης *P*-Mannich τύπου 8

Στα μίγματα των αντιδράσεων που παραλάβαμε μετά την κατεργασία, παρατηρήσαμε πως το προϊόν **8β** είναι ιδιαίτερα ευαίσθητο και αποικοδομείται. Μάλιστα στη προσπάθεια καθαρισμού με σήλη παραλάβαμε ίχνη του προϊόντος. Το γεγονός μας φάνηκε περίεργο καθώς άλλες οργανοφωσφορικές ενώσεις οι οποίες

φέρουν την *N-tert*-βουτυλοσουλφινυλο ομάδα και δεν έχουν ελεύθερο φωσφινικό οξύ είναι σταθερές και μπορούν να καθαριστούν με χρωματογραφία στήλης, όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία αλλά και από προηγούμενη εμπειρία του εργαστηρίου μας [69]. Είναι λοιπόν πιθανόν η αστάθεια της ένωσης **8β** να οφείλεται στην ύπαρξη του ελεύθερου φωσφινικού οξέος σε γειτονική θέση.

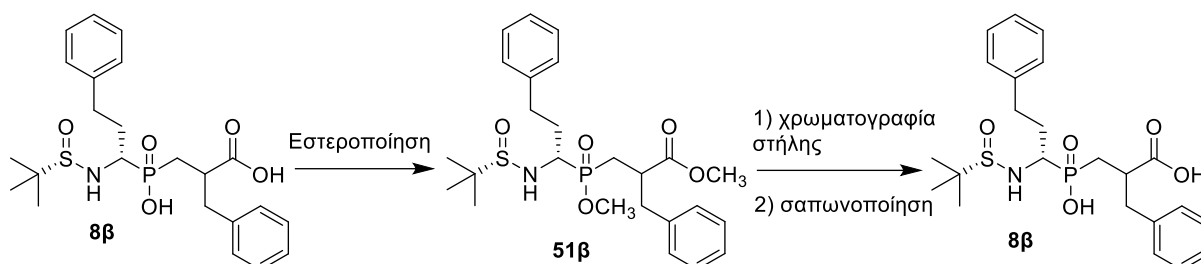
Είναι γνωστή η ευαισθησία της *N-tert*-βουτυλοσουλφινυλο αμινομάδας σε όξινες συνθήκες, όμως η αστάθεια των ενώσεων **8** χωρίς την επίδραση εξωτερικού παράγοντα είναι ιδιαίτερα ασυνήθιστη και θεωρούμε πως αυτή η μη αναμενόμενη συμπεριφορά οφείλεται ίσως σε κάποια ενδομοριακή αλληλεπίδραση μεταξύ φωσφινικού υδροξυλίου και αμινομάδας. Ένας πιθανός μηχανισμός που προτείνουμε για την αποικοδόμηση του μορίου παρουσιάζεται στο Σχήμα 39. Αρχικά πρωτονιώνεται το άζωτο της αμινομάδας και το φωσφινικό ανιόν που σχηματίζεται προσβάλλει το θείο και διασπάται η *N-tert*-βουτυλοσουλφινυλο αμινομάδα. Η ενδιάμεση ένωση **48** που σχηματίζεται είναι τύπου ανυδρίτη και θεωρούμε πως μπορεί να υδρολύεται από την υγρασία της ατμόσφαιρας σχηματίζοντας την **49** και το *tert*-βουτυλοσουλφινικό οξύ **50**.



Σχήμα 39: Πιθανός μηχανισμός αποικοδόμησης της ένωσης **8**.

3.10 Προσπάθειες απομόνωσης της ένωσης 8β

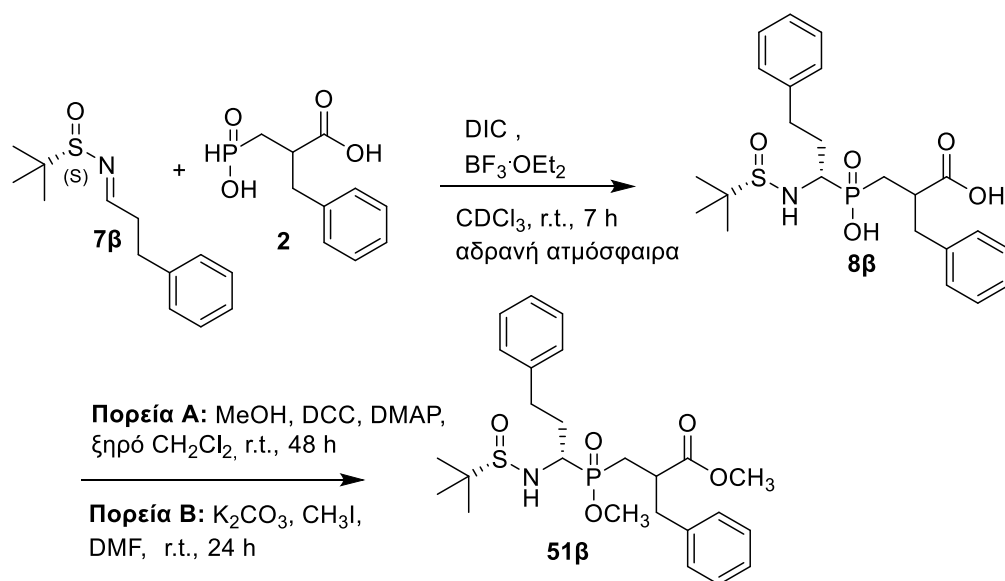
3.10.1 Μέσω εστεροποίησης και καθαρισμού με χρωματογραφία στήλης



Σχήμα 40: Παραγωγή και καθαρισμός της 8β.

Εφόσον θεωρήσαμε πως η αυξημένη αστάθεια της ένωσης **8β** οφείλεται στην ύπαρξη του ελεύθερου φωσφινικού υδροξυλίου, αποφασίσαμε να το εστεροποιήσουμε και να πραγματοποιηθεί καθαρισμός της ένωσης στη φάση του διεστέρα **51β** (Σχήμα 40). Από παλαιότερες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί από την ερευνητική μας ομάδα, γνωρίζουμε πως δεν πραγματοποιείται επιμερίωση του στερεογονικού κέντρου της θέσης P1' στις βασικές συνθήκες, συνεπώς είναι εφικτή η εστεροποίηση των δύο οξέων, ο καθαρισμός της **51β** και η ακόλουθη σαπωνοποίηση για την απομόνωση της τελικής ένωσης **8β**.

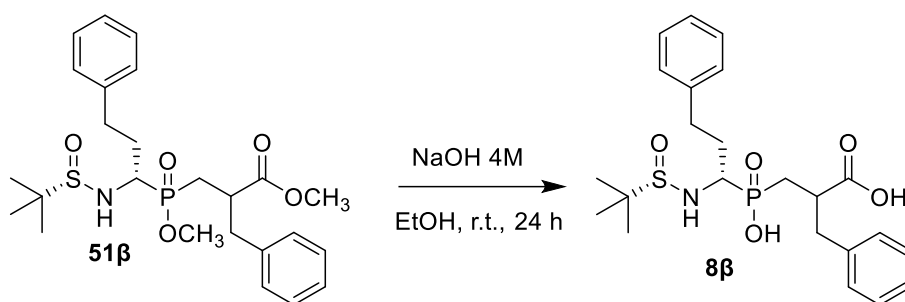
Πίνακας 6: Σύγκριση μεθόδων εστεροποίησης της **8β**.



	Μέθοδος	Απόδοση δύο σταδίων (%) ^α	Παρατηρήσεις ^β
1	Πορεία A	2.5	Σχηματισμός πολλών παραπροϊόντων κατά την εστεροποίηση
2	Πορεία B	15.3	Δεν καθάρισε εντελώς μετά τη στήλη
3	Πορεία B	6.5	Δεν καθάρισε εντελώς μετά τη στήλη

^α Μετά από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης. ^β Από τη φασματοσκοπία ³¹P- NMR.

Η πρώτη δοκιμή εστεροποίησης της **8β** πραγματοποιήθηκε με MeOH παρουσία DCC/DMAP και, μετά τον καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης, η ένωση **51β** παραλήφθηκε με πολύ χαμηλή απόδοση (Καταχώρηση 1, Πίνακας 6). Η επόμενη προσπάθεια εστεροποίησης πραγματοποιήθηκε με MeI και K₂CO₃, και η **51β** παραλήφθηκε με λίγο καλύτερη απόδοση, ενώ μειώθηκαν τα παραπροϊόντα σε σχέση με τη πορεία A (Καταχώρηση 2, Πίνακας 6). Έγινε άλλη μια προσπάθεια με την ίδια μέθοδο σε μεγαλύτερη κλίμακα και η **51β** παραλήφθηκε σε πολύ μικρή απόδοση (Καταχώρηση 3, Πίνακας 6). Από τη σύγκριση των φασμάτων ³¹P-NMR πριν και μετά τη στήλη φαίνεται πως η **51β** καθάρισε σε μεγάλο βαθμό, όχι όμως εντελώς.

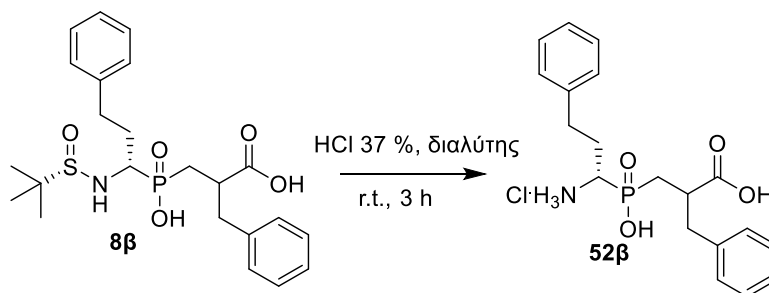


Σχήμα 41: Σαπωνοποίηση της 51β.

Στη συνέχεια ακολούθησε προσπάθεια σαπωνοποίησης της **51β**, όπως φαίνεται στο Σχήμα 41, με σκοπό να χαρακτηρίσουμε γρήγορα την ένωση **8β** πριν αποικοδομηθεί. Προς έκπληξή μας, μετά τη σαπωνοποίηση παραλάβαμε ένα μίγμα πολλών παραπροϊόντων. Η αδυναμία επιτυχούς καθαρισμού της **8β**, καθώς και η χαμηλή αποδόση του προϊόντος μας οδήγησαν στην εύρεση μιας εναλλακτικής μεθόδου για την απομόνωση του προϊόντος της αντίδρασης *P*-Mannich.

3.10.2 Αντικατάσταση της *N*-*tert*-βουτυλοσουλφινυλομάδας από την *Fmoc*-ομάδα

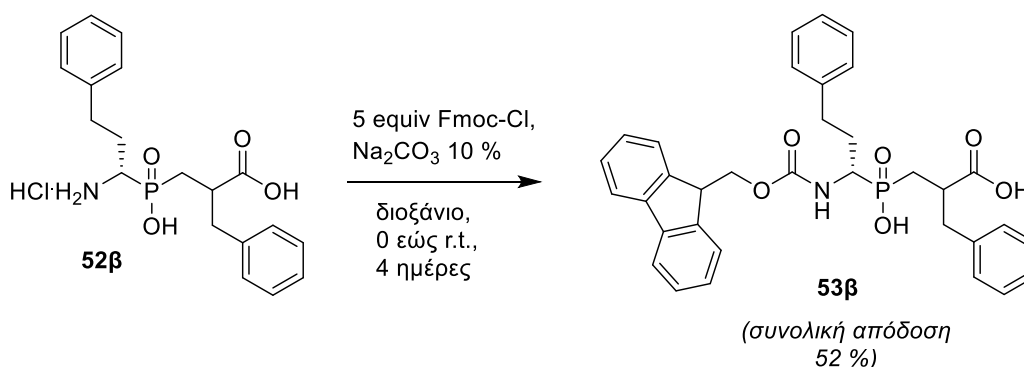
Αποφασίσαμε να εκμεταλλευτούμε την εγγενή αστάθεια της ένωσης **8β** και να απομακρύνουμε την *N*-*tert*-βουτυλοσουλφινυλομάδα, και επίσης να δοκιμάσουμε να απομονώσουμε το αποπροστατευμένο διπεπτίδιο. Μια μέθοδος διάσπασης της *N*-*tert*-βουτυλοσουλφινυλομάδας από τις *N*-*tert*-βουτυλοσουλφινυλο αμίνες είναι με χρήση ενός ή περισσότερων ισοδυνάμων του εμπορικά διαθέσιμου 4M HCl σε διοξάνιο παρουσία MeOH [101]. Ενώ η μεθανόλη είναι ο πιο συχνά χρησιμοποιούμενος πυρηνόφιλος διαλύτης για την αποπροστασία, υπάρχουν αναφορές στη βιβλιογραφία που κάνουν χρήση HCl σε νερό ή άλλες αλκοόλες [125, 126].



Σχήμα 42: Απομάκρυνση της *N*-*tert*-βουτυλοσουλφινυλομάδας σε όξινες συνθήκες.

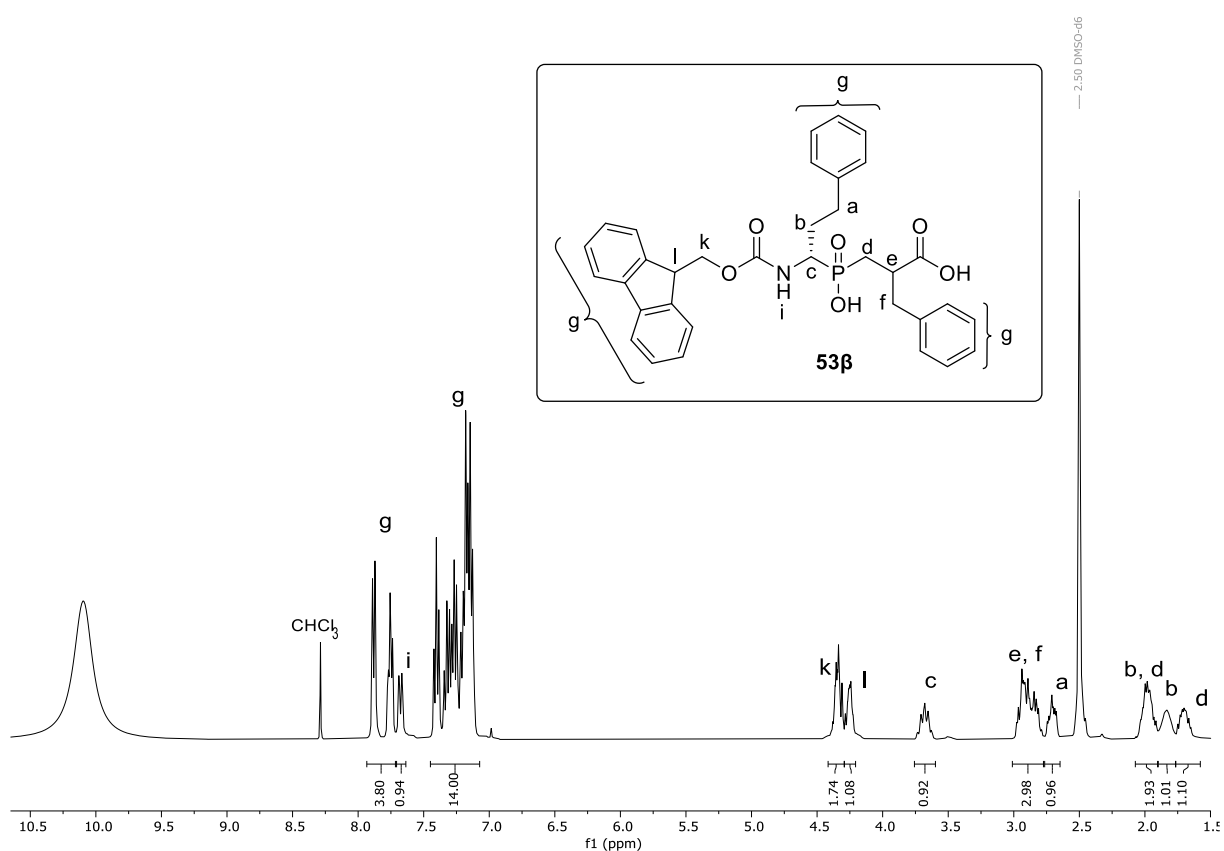
Στη περίπτωση της ένωσης **8β** δεν μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε μεθανόλη, καθώς το υδροξύλιο του φωσφινικού οξέος μπορεί να μετατραπεί υπό αυτές τις συνθήκες στον αντίστοιχο μεθυλεστέρα. Συνεπώς, η πρώτη δοκιμή για την απομάκρυνση της *N-tert*-βουτυλοσουλφινυλομάδας πραγματοποιήθηκε με 37 % HCl σε διοξάνιο. Από φασματοσκοπία MS μετά τη συμπύκνωση του μίγματος, διαπιστώσαμε ότι περιέχεται σε μικρό ποσοστό η **52β** και ότι η κύρια κορυφή αντιστοιχεί στη μοριακή μάζα της **52β** + 44. Μια υπόθεση που κάναμε για το παραπροϊόν αυτό είναι πως ενδεχομένως να οφείλεται σε εστεροποίηση με προϊόντα διάσπασης του διοξανίου τα οποία μπορεί να περιέχονται στο εμπορικά διαθέσιμο αντιδραστήριο (π.χ. αιθυλενογλυκόλη). Άλλο ένα στοιχείο που υποστηρίζει την υπόθεσή μας είναι πως στη φασματοσκοπία ¹H-NMR παρατηρήθηκαν σήματα στα 4.0 - 4.5 ppm, που η **52β** δεν αναμένεται να εμφανίζει και πιθανώς να αποδίδονται σε ομάδες αιθυλενογλυκόλης. Επομένως, αλλάξαμε τις συνθήκες απομάκρυνσης της *N-tert*-βουτυλοσουλφινυλομάδας και χρησιμοποιήσαμε υδατικό 37 % HCl. Πράγματι, στο φάσμα μάζας δεν παρατηρήσαμε την κορυφή που αντιστοιχεί στο μοριακό βάρος της ένωσης **52β** + 44. Πρέπει να τονίσουμε πως η **8β** δεν διαλύεται στο νερό, συνεπώς η αντίδραση είναι ετερογενής γεγονός που θα πρέπει να λαμβάνεται υπ' όψη κατά την προετοιμασία του μίγματος αντίδρασης ώστε να είναι επιτυχής η αποπροστασία.

Επειδή η **52β** είναι με τη μορφή υδροχλωρικού άλατος, έγινε μια προσπάθεια καθαρισμού σε αυτό το στάδιο. Αρχικά πραγματοποιήθηκε καταβύθιση της ουσίας σε PE, όμως το στερεό που σχηματίστηκε δεν ήταν καθαρό. Ακολούθησε μια δεύτερη προσπάθεια καθαρισμού με εκχυλίσες, χωρίς αποτέλεσμα, και αποφασίσαμε να εισαγάγουμε απευθείας την Fmoc-προστατευτική ομάδα και να επιχειρήσουμε απομόνωση των προϊόντων σε αυτό το στάδιο.



Σχήμα 43: Εισαγωγή Fmoc-προστατευτικής ομάδας.

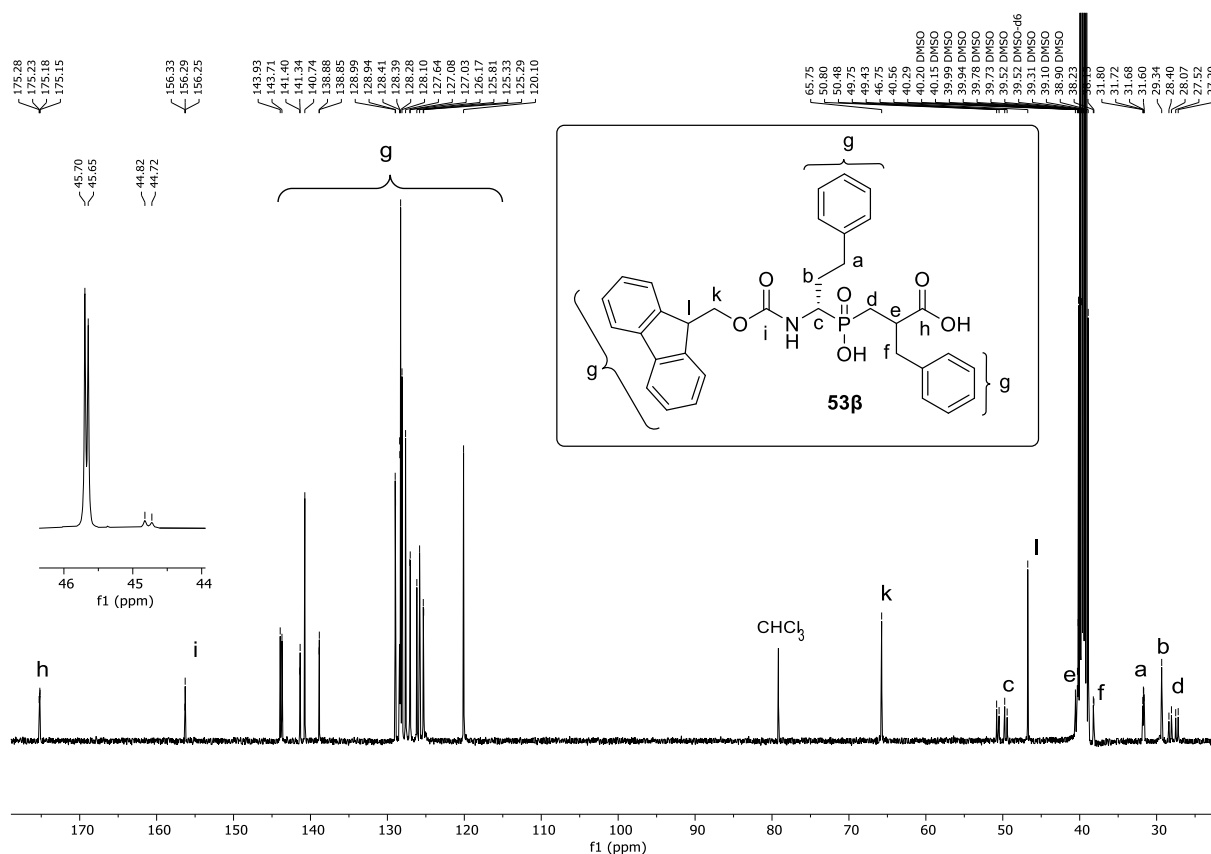
Η προστασία της **52β** πραγματοποιήθηκε με Fmoc-Cl σε Na₂CO₃ 10% και διοξάνιο (Σχήμα 43). Όπως διαπιστώθηκε από TLC κατά τη διάρκεια της αντίδρασης, ο σχηματισμός του προϊόντος **53β** γινόταν με αργό ρυθμό και χρειάστηκαν σταδιακές προσθήκες επιπλέον ποσότητας Fmoc-Cl και βάσης, για τη ρύθμιση του pH. Η ένωση **53β** παρελήφθη ως μίγμα δύο διαστερεοϊσομερών έπειτα από χρωματογραφικό καθαρισμό και καταβύθιση σε κρύο PE με απόδοση τριών σταδίων 52%, και χαρακτηρίστηκε πλήρως με φασματοσκοπία NMR και HRMS. Για αναλυτικούς λόγους, πραγματοποιήθηκε παραιτέρω καθαρισμός μικρής ποσότητας της ένωσης **53β** με ημιπαρασκευαστική RP-HPLC.



Εικόνα 19: Φάσμα ¹H-NMR (DMSO + 4% TFA) της ένωσης **8β**.

Η αποτίμηση των φασμάτων NMR έγινε με χρήση φασμάτων COSY και HSQC, και για τη λήψη των φασμάτων ¹H και ³¹P προστέθηκε TFA 4%. Στο φάσμα ¹H NMR (Εικόνα 19) της ένωσης **53β** φαίνονται τα τρία χαρακτηριστικά πρωτόνια της Fmoc ομάδας σε 4.17 - 4.29 ppm (CH) και 4.29 - 4.42 ppm (CH₂). Στην ένωση υπάρχουν 4 ομάδες διαστερεοτοπικών πρωτονίων (CH₂). Σε τρεις εξ αυτών τα 2 πρωτόνια συντονίζονται σε διαφορετικές συχνότητες: [b (1.77 - 1.89 ppm & 1.90 - 2.07 ppm), d (1.61 - 1.77 ppm & 1.90 - 2.07 ppm)] και a (2.43 - 2.53 ppm, εμφανίζεται μέσα στην

κορυφή του διαλύτη, & 2.63 - 2.76 ppm), ενώ στην τρίτη δεν παρατηρείται ανισοτροπία [f (2.77 - 3.00 ppm)]. Το πρωτόνιο e εμφανίζεται σε 2.77 - 3.00 ppm, ενώ το c αποπροασπίζεται λόγω του ατόμου N (3.59 - 3.79 ppm) και σχάζει το γειτονικό NH σε διπλή με $J \sim 10$ Hz (7.71 ppm). Τέλος, στην περιοχή 7.07 - 7.45 ppm & 7.73 - 7.94 ppm συντονίζονται τα αρωματικά πρωτόνια της βενζυλομάδας.



Εικόνα 20: Φάσμα ¹³C-NMR (DMSO), ³¹P-NMR (DMSO + 4% TFA) της ένωσης 8β.

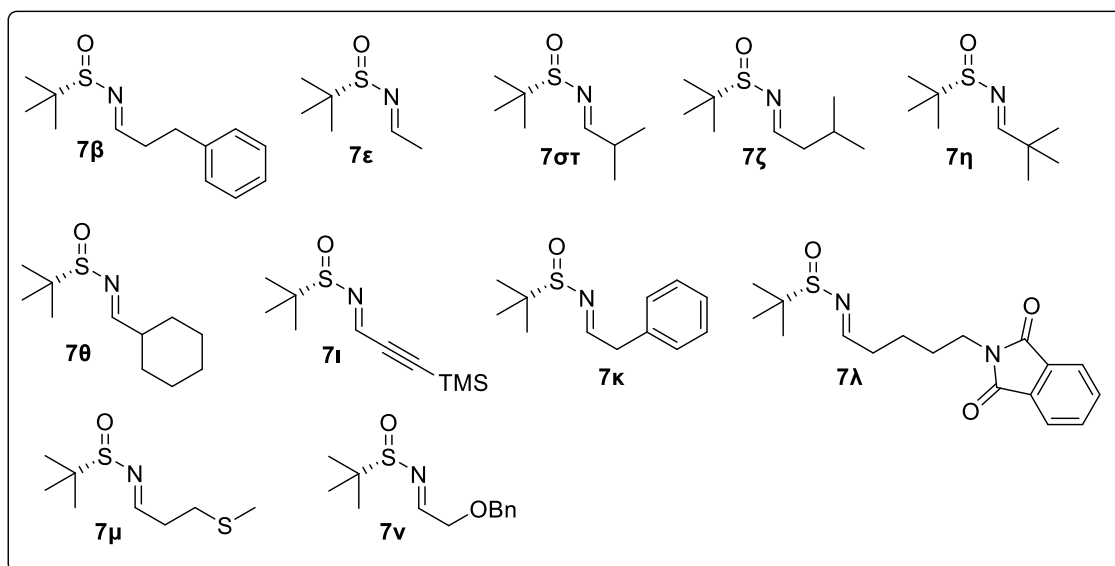
Στο φάσμα ¹³C NMR (Εικόνα 20) της ένωσης **53β** διακρίνονται άνθρακες και από τα δύο διαστερεοϊσομερή της ένωσης. Τα άτομα C των δύο διαστερεοϊσομερών που βρίσκονται δίπλα στο άτομο P φαίνονται ως d με χαρακτηριστικά υψηλές τιμές ¹J_{PC}: το d συντονίζεται σε ~28 ppm με $J \sim 88$ Hz και το c συντονίζεται σε ~50 ppm με $J \sim 105$ Hz. Η Fmoc ομάδα εμφανίζεται σε 46.7 (CH) και 65.7 ppm (CH₂), ενώ τα άτομα C των δύο καρβονυλομάδων εμφανίζονται σε ~158 και 176 ppm. Στην περιοχή 119 - 145 ppm συντονίζονται οι αρωματικοί άνθρακες. Ο άνθρακας του μεθυλενίου b συντονίζεται στα 29.3 ppm, ενώ οι υπόλοιποι μεθυλενικοί άνθρακες a και f, οι οποίοι σχάζονται σε διπλές, λόγω του γειτονικού ατόμου P, συντονίζονται σε ~31.7 ppm με ³J_{PC} ~11.5 Hz και ~38.0 με ³J_{PC} ~7.5 Hz αντίστοιχα. Τέλος, σε λίγο χαμηλότερα πεδία

εμφανίζεται το άτομο ϵ (~ 42 ppm) και σχάζεται από το γειτονικό άτομο P ($^2J_{PC} \sim 3$ Hz). Στο φάσμα ^{31}P NMR εμφανίζονται οι κορυφές των δύο ισομερών της **53β** (45.65 & 45.70 ppm), ενώ σε λίγο υψηλότερα πεδία εμφανίζονται και δύο μικρότερα σήματα που αντιστοιχούν στα διαμορφωμερή τους.

3.11 Ευρύτητα της μεθόδου

3.11.1 Σύνθεση ιμινών

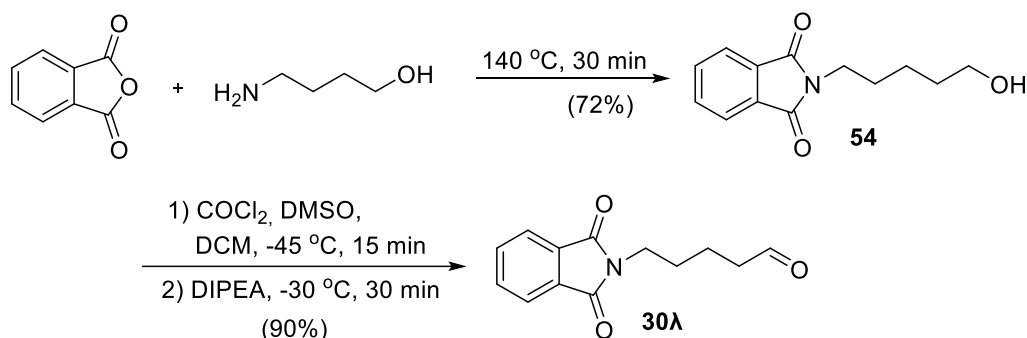
Οι ιμίνες που επιλέχθηκαν για τη σύνθεση των φωσφινικών διπεπτιδίων με στερεοχημικά καθορισμένη τη θέση P_1 φαίνονται στο Σχήμα 44. Επιλέχθηκαν ιμίνες με αλειφατικές αλυσίδες, καθώς η αντίδραση με αρωματικές ιμίνες παρουσιάζει πολλά προβλήματα. Η επιλογή των συγκεκριμένων ιμινών βασίστηκε κυρίως στην επίτευξη ποικιλίας πλευρικών ομάδων αμινοξέων, στη μελέτη της στερεοχημικής παρεμπόδισης και του βαθμού υποκατάστασης στην αντίδραση, και στην ύπαρξη μιας ομάδας που μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε στρατηγικές διαφοροποίησης τελικού σταδίου.



Σχήμα 44: Δομές ιμινών **7β**, **7ε-v**.

Η επιλογή της μεθόδου σύμφωνα με την οποία συντέθηκε η κάθε ιμίνη καθορίστηκε από την περισσότερο χρησιμοποιούμενη μέθοδο στη βιβλιογραφία για την κάθε ένωση χωριστά. Για τη σύνθεση των ιμινών **7ε-κ**, **7μ**, και **7ν** χρησιμοποιήθηκαν οι εμπορικά διαθέσιμες αλδεΐδες. Όσον αφορά τη σύνθεση της ιμίνης **7λ**, χρειάστηκε να

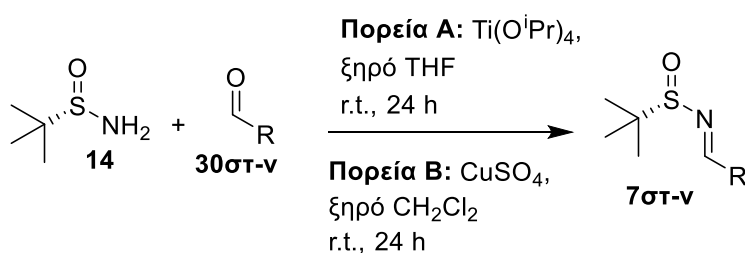
παρασκευαστεί η φθαλόουλο (Phth) προστατευμένη 5-αμινοπεντανάλη **30λ** (Σχήμα 45). Η σύνθεση της **30λ** ξεκίνησε από τη σύντηξη της 5-αμινοπεντανόλης με φθαλικό ανυδρίτη στους 140 °C και ακολούθησε οξείδωση Swern της παραγόμενης Phth-προστατευμένης αμινοαλκοόλης **54** [127]. Η αλδεΐδη **30λ** παρελήφθη σε απόδοση 90% χωρίς χρωματογραφικό καθαρισμό.

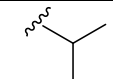
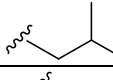
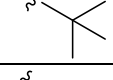
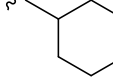
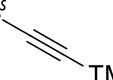
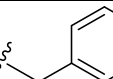
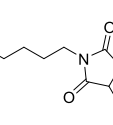
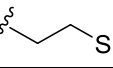
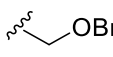


Σχήμα 45: Σύνθεση της αλδεΐδης 30λ.

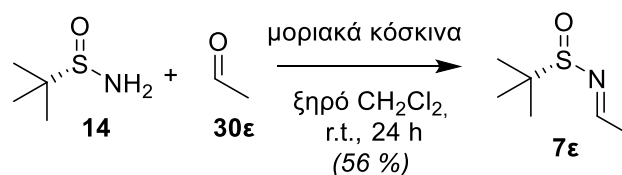
Η σύνθεση της ιμίνης **7β** έχει περιγραφεί στην ενότητα 3.4.3. Για τη σύνθεση των ιμίνων **7στ-λ** έγινε συμπύκνωση του (*S*)-*tert*-βουτυλοσουλφιναμιδίου με την αντίστοιχη αλδεΐδη με $\text{Ti}(\text{O}^i\text{Pr})_4$ σε ξηρό THF [69, 119, 128, 129, 130, 131]. Οι ιμίνες **7στ**, **7ζ** και **7θ-λ** παραλήφθηκαν μετά από χρωματογραφία στήλης με αποδόσεις που φαίνονται στον Πίνακα 7. Για τη σύνθεση των ιμινών **7μ** και **7ν** χρησιμοποιήθηκε άνυδρος CuSO_4 σε ξηρό CH_2Cl_2 [132, 133]. Έγιναν τρεις προσπάθειες καθαρισμού της **7ν** με χρωματογραφία στήλης, καθώς παραλαβάναμε κυρίως μίγμα ιμίνης και αλδεΐδης. Εν τέλει τα μίγματα ξαναμπήκαν για αντίδραση με (*S*)-*tert*-βουτυλοσουλφιναμίδιο και η επιθυμητή ιμίνη παραλήφθηκε με συνολική απόδοση 92%.

Πίνακας 7: Σύνθεση των ιμινών 7στ-ν.



	Αλδεΐδη		Μέθοδος	Ιμίνη	Απόδοση (%)	Παρατηρήσεις
		R				
1	30στ		A	7στ	60	
2	30ζ		A	7ζ	28	
3	30η		A	7η	93	Δεν χρειάστηκε καθαρισμός με στήλη
4	30θ		A	7θ	83	
5	30ι		A	7ι	83	
6	30κ		A	7κ	35	
7	30λ		A	7λ	55	
8	30μ		B	7μ	61	
9	30ν		B	7ν	92	Δυσκολία στην απομόνωση

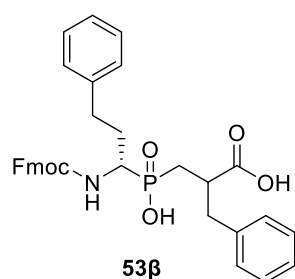
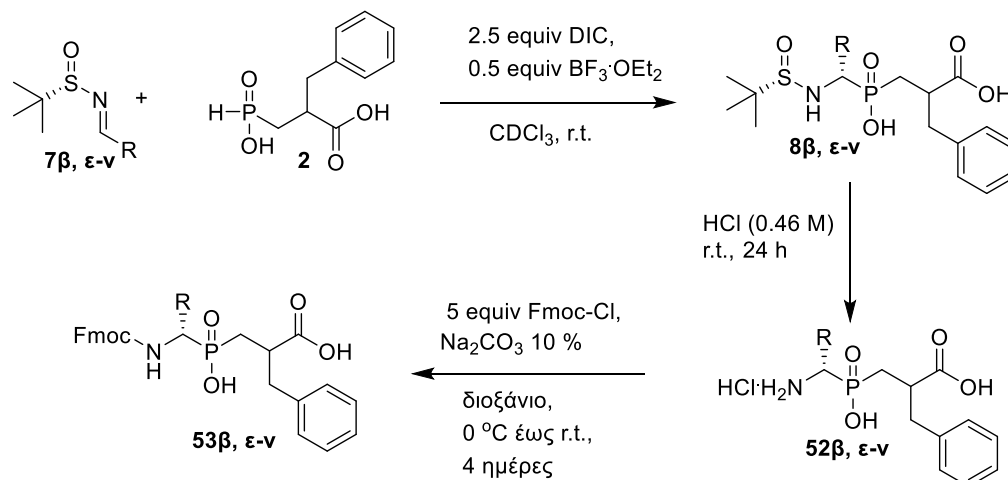
Η σύνθεση της ιμίνης **7ε** πραγματοποιήθηκε και με τις τρεις μεθόδους που αναφέρονται στην ενότητα 3.4.3 [134, 135, 136]. Από TLC φάνηκε πως οι αντιδράσεις δεν προχωρούσαν και χρειάστηκαν πολλά ισοδύναμα ακεταλδεΐδης για να καταναλωθεί το σουλφιναμίδιο **14**. Μετά την κατεργασία των μιγμάτων της αντίδρασης, η ιμίνη **7ε** ήταν σε πολλή μικρή αναλογία. Τελικά διαπιστώσαμε πως η συγκεκριμένη ιμίνη είναι ευαίσθητη και υδρολύεται από την υγρασία του αέρα όταν υπάρχει ίχνος οξέος Lewis. Η ιμίνη **7ε** συντέθηκε εν τέλει μέσω μιας πορείας κατά την οποία δεν χρησιμοποιείται κάποιο οξύ Lewis αλλά μοριακά κόσκινα ως αφυδατικός παράγοντας και παραλήφθηκε το επιθυμητό προϊόν με απόδοση 56 % μετά από καθαρισμό με στήλη [137].



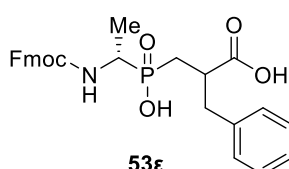
Σχήμα 46: Σύνθεση της ιμίνης **7ε**.

3.11.2 Σύνθεση φωσφινικών πεπτιδίων με στερεοχημικά καθορισμένη τη θέση

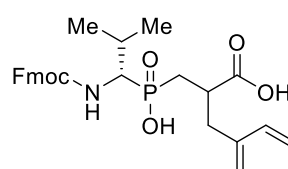
P1



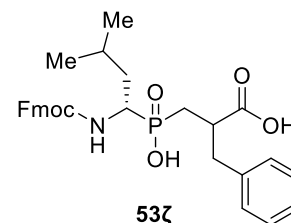
χρόνος αντίδρασης: 7h
απόδοση 3 σταδίων, 52%,
d.r. = 93:7



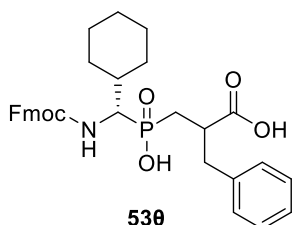
χρόνος αντίδρασης: 4h^γ
απόδοση 3 σταδίων, 61%,
d.r. = 90:10



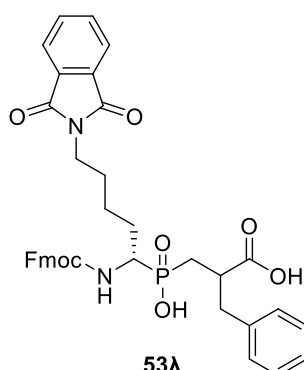
χρόνος αντίδρασης: 7h
απόδοση 3 σταδίων, 46%,
d.r. = 99:1



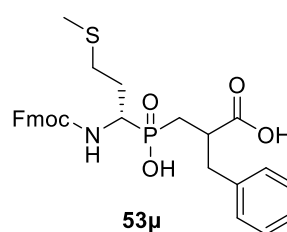
χρόνος αντίδρασης: 6.5h
απόδοση 3 σταδίων, 54%,
d.r. = 97:3



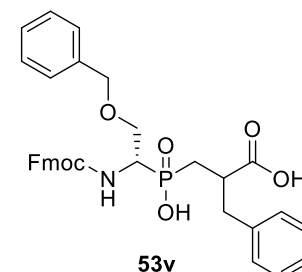
χρόνος αντίδρασης: 6h
απόδοση 3 σταδίων, 53%,
d.r. = >99:1



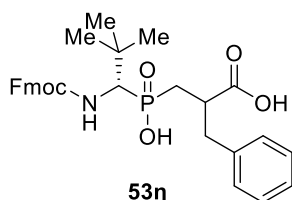
χρόνος αντίδρασης: 7.5h
απόδοση 3 σταδίων, 46%,
d.r. = 93:7



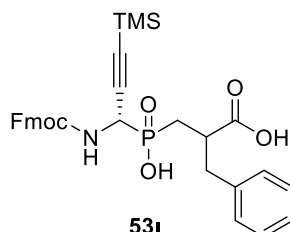
χρόνος αντίδρασης: 8h^ε
απόδοση 3 σταδίων, 15%,
d.r. = >99:1



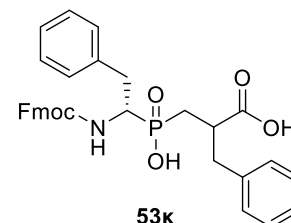
χρόνος αντίδρασης: 7.5h
απόδοση 3 σταδίων, 42%,
d.r. = 92:8



χρόνος αντίδρασης: 22h
d.r. = 99:1
16% μετατροπή από NMR^δ



δεν προχώρησε



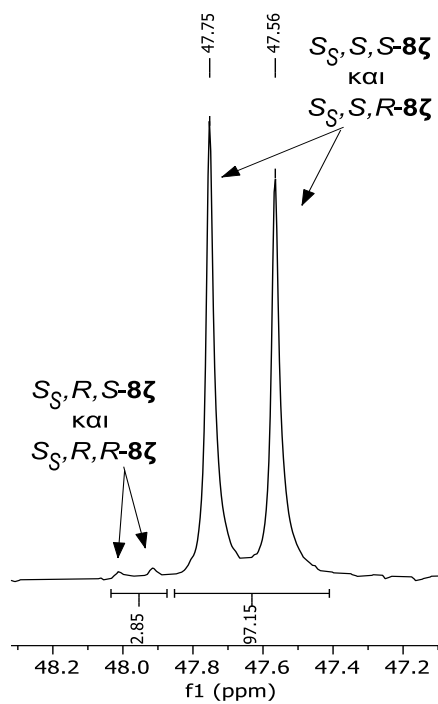
χρόνος αντίδρασης: 3.5h
d.r. = 94:6
14% μετατροπή από NMR^δ

^α Ολοκληρώσεις κορυφών στο φάσμα ³¹P-NMR του μίγματος αντίδρασης έπειτα από διακοπή με κορ. NH₄Cl και κατεργασία. ^β Ολοκληρώσεις κορυφών στο φάσμα ³¹P-NMR του μίγματος αντίδρασης πριν από τη διακοπή της αντίδρασης. ^γ Προσθήκη 0.3 equiv BF₃·OEt₂. ^δ Ανεπιτυχής απομόνωση. ^ε Καταβύθιση της **53μ** σε AcOEt. Η απόδοση αναφέρεται στο στερεό προϊόν ενώ υπήρχαν σημαντικές απώλειες στα διηθήματα.

Σχήμα 47: Σύνθεση και δομές των διπεπτιδίων **53β**, **ε-ν**.

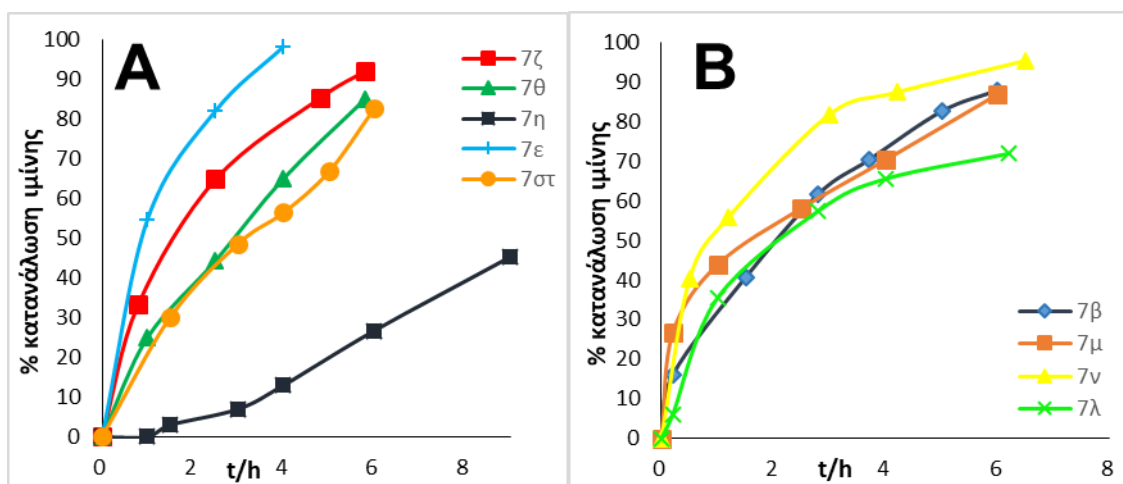
Οι αντιδράσεις με τις ιμίνες **7β**, **ε-ν** πραγματοποιήθηκαν σε σωληνάκι NMR και η πορεία της κάθε αντίδρασης μελετήθηκε με φασματοσκοπία ³¹P-NMR. Οι αντιδράσεις διακόπηκαν με κορ. NH₄Cl όταν η αύξηση των κορυφών των παραπροϊόντων ήταν πιο γρήγορη από το σχηματισμό του επιθυμητού προϊόντος τύπου **8**, όπως υπολογίστηκε από την ολοκλήρωση των κορυφών στο φάσμα ³¹P-NMR. Οι χρόνοι αντίδρασης των αντιδράσεων *P*-Mannich αναφέρονται στο Σχήμα 47. Οι διαστερεοϊσομερικοί λόγοι των παραγόμενων προϊόντων υπολογίστηκαν μέσω ολοκλήρωσης του φάσματος ³¹P-NMR (Εικόνα 21) και ήταν πολύ καλοί έως εξαιρετικοί. Παρά τον αυξημένο χρόνο αντίδρασης, το προϊόν **8η** σχηματίστηκε σε ποσοστό μόλις 16% λόγω της μεγάλης στερεοχημικής παρεμπόδισης της *tert*-βουτυλο ομάδας και η απομόνωσή του **53η** δεν κατέστη εφικτή. Η αντίδραση με την ιμίνη **7ι** δεν προχώρησε, γεγονός που πιθανώς οφείλεται στη σταθεροποίηση του ιμινιακού κατιόντος που σχηματίζεται στην αντίδραση από τον τριπλό δεσμό. Επειδή η αντίδραση με την αντίστοιχη Boc-αμινάλη είχε προχωρήσει με αργό ρυθμό, αφήσαμε για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα την αντίδραση με την ιμίνη **7ι**, και όπως διαπιστώθηκε από τη φασματοσκοπία NMR στις 28 ώρες είχαν σχηματιστεί μόνο άγνωστα παραπροϊόντα. Η ιμίνη **7κ** καταναλώθηκε στις 3.5 ώρες, όμως η κατανάλωση της δεν αντιστοιχεί στο σχηματισμό μόνο του προϊόντος. Όπως φάνηκε από το φάσμα ³¹P-NMR, μετά τη κατεργασία του μίγματος της αντίδρασης *P*-Mannich, το επιθυμητό προϊόν **8κ** είχε παραχθεί σε πολύ μικρή αναλογία. Η μικρή μετατροπή σε προϊόν μπορεί να οφείλεται στο σχηματισμό της αντίστοιχης εναμίνης από την ιμίνη **7κ**, με αποτέλεσμα να μειώνονται τα ισοδύναμα του αντιδρώντος άρα και του προϊόντος. Με σύγκριση των λόγων d.r. των **8ε**, **στ**, **ζ** και **η**, φαίνεται ότι ο όγκος της αλκυλομάδας της αρχικής ιμίνης παίζει καθοριστικό ρόλο στην παρατηρούμενη τιμή του d.r. η οποία αυξάνεται σταθερά οδεύοντας από τις μικρότερες προς τις ογκωδέστερες αλυσίδες. Αξιοσημείωτη είναι και η πολύ υψηλή διαστερεοεκλεκτικότητα στην περίπτωση της ένωσης **8μ** η οποία έδωσε d.r. >99:1

όταν ιμίνες με άλλες γραμμικές αλυσίδες (π.χ. **8β**, **8λ**) έφτασαν έως την τιμή 93:7. Υποθέτουμε ότι αυτό μπορεί να σχετίζεται με κάποια αλληλεπίδραση μεταξύ του ιμινιακού ιόντος και του ατόμου S η οποία είναι ευνοϊκότερη στη μεταβατική κατάσταση που οδηγεί στο κύριο ισομερές.



Εικόνα 21: Υπολογισμός του d.r. της 8ζ από την ολοκλήρωση του φάσματος ^{31}P -NMR (DMSO) του μίγματος αντίδρασης.

Έπειτα ακολούθησε αντικατάσταση της *N-tert*-βουτυλοσουλφίνυλομάδας με την Fmoc-ομάδα και τα πεπτίδια **53β**, **53ε-ζ**, **53θ** και **53λ-ν** παραλήφθηκαν με συνολικές αποδόσεις που φαίνονται στο Σχήμα 47 μετά από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης και καταβύθιση σε κρύο PE. Δεν πραγματοποιήθηκε καθαρισμός των μιγμάτων των ενώσεων **53η** και **53κ**, καθώς είχαμε πολύ μικρή ποσότητα. Για την απομόνωση του **53μ** έγινε καταβύθιση σε κρύο AcOEt, διότι δεν κατέστη εφικτός ο καθαρισμός με χρωματογραφία στήλης λόγω της υψηλής πολικότητάς του. Η χαμηλή απόδοση με την οποία παραλήφθηκε η **53μ** οφείλεται στο γεγονός πως διαλύεται στον AcOE επομένως υπάρχουν σημαντικές απώλειες κατά την απομόνωση με διήθηση. Για αναλυτικούς λόγους, μικρές ποσότητες των τελικών ενώσεων τύπου **53** καθαρίστηκαν με ημιπαρασκευαστική RP-HPLC.



Εικόνα 22: Κινητική παρακολούθηση των αντιδράσεων *P*-Mannich του 2 με τις ιμίνες 7β, ε-θ, λ-ν.

Όπως φαίνεται και από το Διάγραμμα A της Εικόνας 22, η ταχύτητα μετατροπής των ιμινών εξαρτάται από το βαθμό υποκατάστασης και τη στεreoχημική παρεμπόδιση της κάθε ιμίνης. Όσον αφορά τις αλειφατικές ιμίνες, η ιμίνη **7ε** καταναλώθηκε πλήρως με πολύ γρηγορό ρυθμό μέσα σε 4 h. Οι δύο δευτεροταγείς ιμίνες **7στ** και **7θ** αντέδρασαν με παρόμοιες ταχύτητες, ενώ η **7η**, λόγω της ογκώδους *tert*-βουτυλομάδας, εμφάνισε πολύ αργή μετατροπή και η ιμίνη άρχισε να καταναλώνεται μετά την πρώτη ώρα της αντίδρασης. Επομένως, η σειρά δραστηριότητας φαίνεται να είναι $Me > 1^{τη} > 2^{τη} \gg 3^{τη}$ αλκυλο υποκαταστάτη. Στο Διάγραμμα B παρουσιάζεται η κατανάλωση των ιμινών **7μ-λ** που φέρουν ένα ετεροάτομο και συγκρίνονται με την ιμίνη **7β**. Όλες οι αντιδράσεις εμφάνισαν παρόμοιο ρυθμό κατανάλωσης της ιμίνης εκτός από την αντίδραση με την **7ν**. Η αυξημένη ταχύτητα μετατροπής της συγκεκριμένης ιμίνης ενδέχεται να οφείλεται σε καλύτερη σταθεροποίηση της μεταβατικής κατάστασης μέσω κάποιας αλληλεπίδρασης του BF_3 με το οξυγόνο της πλευρικής αλυσίδας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ – ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΙ ΕΝΩΣΕΩΝ

4.1 Γενικό πειραματικό μέρος

4.1.1 Αντιδραστήρια

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των ενώσεων που περιγράφονται σ' αυτήν την εργασία ήταν εμπορικά προϊόντα των εταιρειών Aldrich, Fluka, Merck, Acros και Alfa Aesar. Η καθαρότητα των αντιδραστηρίων ήταν 99% και άνω και χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω καθαρισμό. Οι διαλύτες ήταν υψηλής καθαρότητας (99%) των εταιρειών LabScan και Merck. Στις περιπτώσεις που απαιτήθηκε η χρήση ξηρών διαλυτών, οι εμπορικοί διαλύτες υπέστησαν περαιτέρω επεξεργασία (THF: απόσταξη υπεράνω μεταλλικού νατρίου, CH_2Cl_2 : ανάδευση με ενεργοποιημένα μοριακά κόσκινα MS 4Å). Οι χλωριωμένοι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν στις αντιδράσεις είχαν ως σταθεροποιητή αμυλένιο.

4.1.2 Χρωματογραφική ανάλυση και χρωματογραφικός καθαρισμός

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

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

- α) Υπεριώδης ακτινοβολία (254nm)
- β) Έκθεση σε ατμούς ιωδίου
- γ) Ψεκασμός με υδατικό διάλυμα 1% θειικού δημητρίου $[\text{Ce}(\text{SO}_4)_2]$, 5% μολυβδαινικού αμμωνίου $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ και 10% π. H_2SO_4 και θέρμανση
- δ) Εμβάπτιση σε KMnO_4 και θέρμανση
- ε) Ψεκασμός με νινυδρίνη και θέρμανση

Η εμφάνιση κοντινών αλλά διακριτών κηλίδων στην χρωματογραφία λεπτής στιβάδος (TLC) ορισμένων εκ των ενώσεων αυτής της εργασίας οφείλεται στη συνύπαρξη

διαστερεοϊσομερών. Οι τιμές R_f που αναφέρονται στις πειραματικές μεθόδους αντιστοιχούν στο μέσο όρο των R_f των διαστερεοϊσομερών.

Για τον καθαρισμό των ενώσεων με χρωματογραφία στήλης (όπου κρίθηκε απαραίτητο) χρησιμοποιήθηκε ως υλικό πλήρωσης Silica gel 60 (0.063-0.200mm) της εταιρείας Merck. Τα συστήματα έκλουσης που χρησιμοποιήθηκαν αναφέρονται στις πειραματικές μεθόδους για κάθε ένωση ξεχωριστά.

Ο καθαρισμός τελικών ενώσεων για χαρακτηρισμούς, πραγματοποιήθηκε με ημιπαρασκευαστική RP-HPLC. Οι χρωματογραφικές RP-HPLC αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε σύστημα χρωματογραφίας Hewlett Packard 1100 (C18-Cromasil-RP, 5 μ m με ροή 0.5mL/min). Ο ανιχνευτής που χρησιμοποιήθηκε ήταν υπεριώδους-ορατού σε μήκη κύματος 280 και 254 nm. Τα συστήματα διαλυτών καθώς και οι μέθοδοι με μίγματα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκαν παρατίθενται παρακάτω:

Σύστημα διαλυτών A: 10% CH_3CN , 90% H_2O , 0.1% TFA

Σύστημα διαλυτών B: 90% CH_3CN , 10% H_2O , 0.09% TFA

Αναλυτική HPLC

Μέθοδοι:

1. t = 0 - 11.5 min (50% B)
2. t = 0 - 15 min (65% B)
3. t = 0 - 15 min (75% B)
4. t = 0 - 15 min (80% B)
5. t = 0 - 15 min (85% B)
6. t = 0 min (40% B)

4.1.1 Χαρακτηρισμοί ενώσεων

Σημείο τήξεως: Τα σημεία τήξεως των ενώσεων που περιγράφονται στην παρούσα εργασία μετρήθηκαν σε συσκευή Electrothermal. Πριν τη μέτρηση, τα δείγματα ξηράνθηκαν σε υψηλό κενό υπεράνω P_2O_5 .

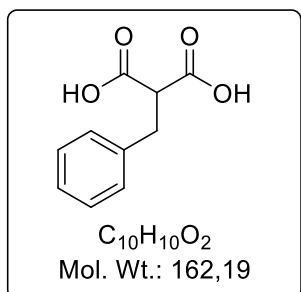
Φασματομετρία μάζας: Τα φάσματα μάζας ελήφθησαν σε όργανο φασματομετρίας μαζών ThermoFinnigan Surveyor MSQ που διαθέτει το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας, είτε με τη μέθοδο APCI (χημικός ιονισμός σε ατμοσφαιρική πίεση) είτε με τη μέθοδο ESI (ιονισμός μέσω ηλεκτροψεκασμού). Τα φάσματα μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (HRMS) ελήφθησαν σε φασματογράφο μαζών QTOF Maxis Impact (Bruker) που διαθέτει το Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας του Τμήματος Χημείας του ΕΚΠΑ.

Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR): Όλες οι ενώσεις που συντέθηκαν στην παρούσα εργασία χαρακτηρίστηκαν και ταυτοποιήθηκαν με ^1H , ^{13}C και ^{31}P φασματοσκοπία NMR. Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε όργανο 200 MHz Varian τύπου Mercury ή σε όργανο Bruker τύπου Avance NEO. Τα φάσματα ^{13}C και ^{31}P είναι πλήρως αποσυζευγμένα. Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των δειγμάτων ήταν CDCl_3 , D_2O , CD_3OD και $d_6\text{-DMSO}$ της εταιρείας Eurotop. Η κλίμακα των χημικών μετατοπίσεων στα φάσματα $^1\text{H-NMR}$ είναι βαθμονομημένη σύμφωνα με τη χημική μετατόπιση του πρωτονιωμένου συστατικού που βρίσκεται ως πρόσμιξη στους δευτεριωμένους διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν. Οι τιμές αυτές ορίστηκαν βάσει βιβλιογραφικών δεδομένων και είναι: α) CDCl_3 (7.26 ppm, χημική μετατόπιση πρόσμιξης CHCl_3), β) CD_3OD : 3.31 ppm – χημική μετατόπιση πρόσμιξης CHD_2OD γ) D_2O (4.79 ppm, χημική μετατόπιση πρόσμιξης HDO) και δ) $d_6\text{-DMSO}$ (2.50, χημική μετατόπιση πρόσμιξης $(\text{CD}_3)(\text{CHD}_2)\text{SO}$) [138]. Η βαθμονόμηση της κλίμακας στα φάσματα ^{31}P έγινε βάσει εξωτερικού προτύπου που περιέχει διάλυμα H_3PO_4 85% όπου η χημική μετατόπιση του H_3PO_4 ορίζεται κατά σύμβαση να βρίσκεται στην αρχή της κλίμακας ($\delta = 0$ ppm). Στα φάσματα $^{31}\text{P-NMR}$, οι τιμές που συνοδεύονται από (*) αποδίδονται στο στροφομερές που βρίσκεται σε μικρότερη αναλογία και είναι χαρακτηριστικό αυτών των ενώσεων. Η αποτίμηση που έχει επιχειρηθεί στα φάσματα $^1\text{H NMR}$ και $^{13}\text{C NMR}$ άγνωστων ενώσεων βασίζεται σε συσχετισμούς με αποτιμήσεις παρόμοιων ενώσεων που αναφέρονται στη βιβλιογραφία, με εκτιμήσεις λογισμικών πρόβλεψης φασμάτων (ChemBioDraw Ultra) και, όπου ήταν διαθέσιμα, με φάσματα 2D-NMR (COSY, HSQC, HMBC) και DEPT-135.

4.2 Συνθετικές μέθοδοι – Χαρακτηρισμοί

4.2.1 Σύνθεση και χαρακτηρισμός του *H*-φωσφινικού διοξέος 2

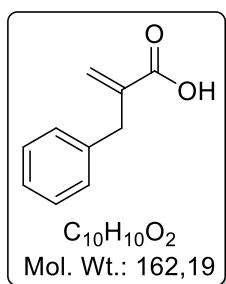
2-Βενζυλο μηλονικό οξύ (24) [112]



Σε διάλυμα Na (1.42 g, 61.7 mmol) σε απ. EtOH (75 mL), προστίθεται μηλονικός διαιθυλεστέρας (10 g, 9.5 ml, 62.5 mmol) στάγδην. Το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 45 min και στη συνέχεια προστίθεται διάλυμα του βένζυλοβρωμιδίου (10.7 g, 7.47 ml, 62.5 mmol) σε ποσότητα EtOH (5 mL), στάγδην και υπό ψύξη. Το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 24 h. Ακολουθεί συμπύκνωση και το υπόλειμμα που προκύπτει αραιώνεται με H₂O και εκχυλίζεται με Et₂O (× 3). Οι οργανικές στιβάδες εκπλένονται με κορεσμένο διάλυμα NaCl, ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Το άχρωμο υγρό που παραλαμβάνεται διαλύεται σε μέρος της EtOH (15 mL) και προστίθεται διάλυμα KOH (10.4 g, 185.0 mmol) σε EtOH (108 mL) στάγδην και υπό ψύξη στους 0 °C. Το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 24 h. Ακολουθεί συμπύκνωση, διάλυση του υπολείμματος σε H₂O, NaHCO₃ 5% και εκπλύσεις με Et₂O (× 3). Η υδατική φάση οξινίζεται υπό ψύξη με HCl 6M έως pH~1 και ακολουθούν εκχυλίσεις με AcOEt (× 3). Η οργανική φάση συλλέγεται, ξηραίνεται με Na₂SO₄, και συμπυκνώνεται. Παραλαμβάνονται 10.34 g της ένωσης **24** ως λευκό στερεό και χρησιμοποιούνται απευθείας στο επόμενο βήμα. (Θεωρείται ότι όλη η ποσότητα η οποία ζυγίζεται αποτελεί το υποκατεστημένο μηλονικό οξύ.)

TLC R_f [PE(40-60 °C)/AcOEt/AcOH 3.0/3.0/0.2] = 0.8

2-Βενζυλο ακρυλικό οξύ (22) [112]



Το υποκατεστημένο μηλονικό οξύ **24** (10.3 g, 53.1 mmol) διαλύεται σε AcOEt (96 mL) και προστίθεται στάγδην και υπό ψύξη Et₂NH (4.5 g, 6.3 mL, 61.1 mmol). Προστίθεται (HCHO)_n (2.23 g, 74.4 mmol) και το προκύπτον μίγμα βράζεται με αναρροή για 4 h. Οι διαλύτες απομακρύνονται υπό κενό, το στερεό υπόλειμμα που προκύπτει διαλύεται σε H₂O και NaHCO₃ 5% μέχρι pH ~9 και

εκπλένεται με Et₂O (× 3). Η υδατική φάση οξινίζεται υπό ψύξη με 2M HCl έως pH ~1 και εκχυλίζεται με AcOEt (× 3). Οι οργανικές φάσεις συλλέγονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄, και συμπυκνώνονται. Παραλαμβάνονται 5.2 g (61%, 3 στάδια) του ακρυλικού οξέος **22** ως λευκό στερεό.

Σ.Τ. 64 - 68 °C

TLC R_f (CHCl₃/MeOH/AcOH 7/0.3/0.3) = 0.6

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 3.89 (s, 2H, CH₂Ph), 5.78 (s, 1H, =CHH), 6.66 (s, 1H, =CHH), 7.36 – 7.59 (m, 5H, Ar)

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 37.5, 126.5, 128.5, 128.8, 129.1, 138.4, 139.6, 172.9

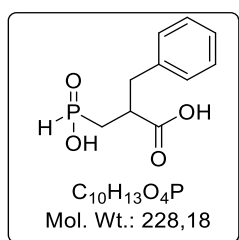
HRMS (m/z): [M - H]⁻ υπολογίστηκε για C₁₀H₉O₂⁻ 161.0608, βρέθηκε 161.0605

Υποφωσφορώδες αμμώνιο [113]

Υδατικό διάλυμα H₃PO₂ 50% wt (47.7 ml, 361.4 mmol) ψύχεται στους 0 °C και ακολούθως προστίθεται υπό ανάδευση υδατικό διάλυμα NH₃ 25% wt (31.2 ml, 361.4 mmol). Αφού ολοκληρωθεί η προσθήκη, το παγόλουτρο αφαιρείται και το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 1h σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια, το μίγμα συμπυκνώνεται. Στο υπόλειμμα της συμπύκνωσης προστίθεται μικρή ποσότητα παγωμένης ακετόνης, το μίγμα διηθείται και συλλέγεται το λευκό στερεό. Το παραχθέν άλας H₂PO₂⁻NH₄⁺ ξηραίνεται υπεράνω P₂O₅. Παραλαμβάνονται 24 g (80%) του υποφωσφορώδους αμμωνίου ως λευκό στερεό.

Σ.Τ. 155-164 °C

2-Βενζυλο-3-(υδροξυφωσφινυλο) προπιονικό οξύ (2) [139]



Σε ξηρό αμμωνιακό άλας του υποφωσφορώδους οξέος (15.4 g, 184.8 mmol) προστίθεται εξαμεθυλοδισιλαζάνιο (HMDS) (29.8 g, 38.8 mL, 184.8 mmol) και το μίγμα θερμαίνεται στους 105 °C, υπό ατμόσφαιρα αργού, για 1 h. Ακολούθως το μίγμα ψύχεται στους 0 °C και αραιώνεται με CH₂Cl₂ (27.7 mL). Ακολουθεί στάγδην προσθήκη του ακρυλικού παραγώγου **22** (5 g, 30.8 mmol) σε CH₂Cl₂ (18.5 mL) σε διάστημα 1 h και έπειτα το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία

περιβάλλοντος και υπό αδρανείς συνθήκες για 24 h. Στη συνέχεια, το μίγμα ψύχεται σε παγόλουτρο, προστίθεται αργά EtOH (40 mL) και το μίγμα συμπυκνώνεται υπό κενό. Ακολουθεί αραίωση με H₂O, προσθήκη στερεού Na₂CO₃ 10% μέχρι pH ~9 και η υδατική φάση εκπλένεται με Et₂O (× 2) και AcOEt (× 1). Στη συνέχεια γίνεται οξίνιση της υδατικής φάσης με 6M HCl υπό ψύξη μέχρι pH~1, και πραγματοποιούνται εκχυλίσεις της υδατικής φάσης με AcOEt (× 5). Έπειτα πραγματοποιείται κορεσμός της υδατικής φάσης με κορεσμένο διάλυμα NaCl και εκ νέου εκχυλίσεις με AcOEt (× 3). Τέλος, οι οργανικές φάσεις συλλέγονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται υπό κενό. Παραλαμβάνονται 6.4 g (90%) του διοξέος **2** ως υποκίτρινο έλαιο.

TLC R_f (CHCl₃/MeOH/AcOH 7/2/1) = 0.3

¹H NMR (200 MHz, D₂O + 3 equiv NaOD) δ 1.27 - 1.97 (m, 2H, PCH₂), 2.50 - 3.09 (m, 3H, CHCO, CH₂Ph), 6.83 (d, $J = 509$ Hz, 1H, PH), 7.24 (m, 5H, Ar)

¹³C NMR (50 MHz, D₂O + 3 equiv NaOD) δ 34.5 (d, $^1J_{PC} = 89.8$ Hz), 39.9 (d, $^2J_{PC} = 10.9$ Hz), 45.2, 126.5, 128.6, 129.2, 139.9, 183.0 (d, $^3J_{PC} = 8.3$ Hz)

³¹P NMR (81 MHz, D₂O + 3 equiv NaOD) δ 28.8

ES-MS m/z : [M - H]⁻ υπολογίστηκε για C₁₀H₁₂O₄P⁻ 227, βρέθηκε 227

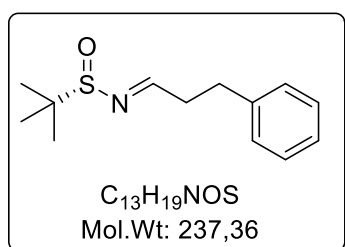
4.2.2 Σύνθεση και χαρακτηρισμοί των *N-tert*-βουτυλοσουλφινυλο ιμινών τύπου 7

Γενική μέθοδος A: Σε διάλυμα της αλδεΐδης (1.2 mmol) σε ξηρό THF (0.5 mL/mmol) προστίθεται το (*S*)-*N-tert*-βουτυλοσουλφιναμίδιο (1.0 mmol) και Ti(O^{*i*}Pr)₄ (2.0 mmol). Το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 24 h. Η αντίδραση διακόπτεται με τη προσθήκη H₂O (0.1 mL). Αφήνεται υπό ισχυρή ανάδευση για 15 min και σχηματίζεται ένα κολλώδες στερεό. Ακολουθεί αραίωση με AcOEt και το μίγμα διηθείται από celite. Το διήθημα συλλέγεται, ξηραίνεται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται. Το ελαιώδες μίγμα που προκύπτει καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης όπως αναφέρεται για κάθε περίπτωση ξεχωριστά.

Γενική μέθοδος B: Σε διάλυμα της αλδεΐδης (1.2 mmol) σε ξηρό CH₂Cl₂ (1.5 mL/mmol) προστίθεται το (*S*)-*N-tert*-βουτυλοσουλφιναμίδιο (1.0 mmol) και άνυδρου CuSO₄ (2.0 mmol). Το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος

για 24 h και στη συνέχεια διηθείται από celite και πλένεται με Et₂O. Το διήθημα συλλέγεται, συμπυκνώνεται, και το ελαιώδες μίγμα που προκύπτει καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης όπως αναφέρεται για κάθε περίπτωση ξεχωριστά.

(*S,E*)-2-μεθυλο-*N*-(3-φαινυλοπροπυλιδανο)προπανο-2-σουλφιναμίδιο (**7β**) [118]



Η ένωση **7β** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο A σε κλίμακα (500 mg, 4.12 mmol) (*S*)-*N*-*tert*-βουτυλοσουλφιναμιδίου (**14**). Δεν χρειάστηκε καθαρισμός με χρωματογραφία στήλης. Παραλαμβάνονται 861 mg (88%) της ιμίνης **7β** ως ελαιώδες υγρό.

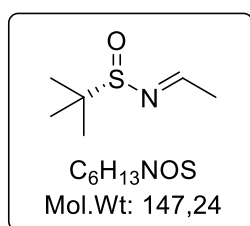
TLC R_f (CHCl₃/MeOH 9.0/1.0) = 0.8

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.12 [s, 9H, C(CH₃)₃], 2.82 - 2.89 (m, 2H, CHHCH₂Ph, CH₂CHHPh), 2.93 - 3.00 (m, 2H, CHHCH₂Ph, CH₂CHHPh), 7.16 - 7.23 & 7.24 - 7.30 (m, 5H, Ar), 8.10 (d, J = 4.2 Hz, 1H, N=CH)

¹³C NMR (100 MHz, d₆-DMSO) δ 22.3, 31.5, 37.5, 56.7, 126.4, 128.4, 128.7, 140.4, 168.6

HRMS (m/z): [M + Na]⁺ υπολογίστηκε για C₁₃H₁₉NNaOS⁺ 260.1079, βρέθηκε 260.1078

(*S,E*)-*N*-Αιθυλιδανο-2-μεθυλοπροπανο-2-σουλφιναμίδιο (**7ε**) [137]



Σε αιώρημα του (*S*)-*N*-*tert*-βουτυλοσουλφιναμιδίου (150 mg, 1.24 mmol) σε ξηρό CH₂Cl₂ προστίθενται θρυμματισμένα μοριακά κόσκινα 4Å (5.34 g) και ακεταδεϋδη (545 mg, 12.4 mmol). Το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 24 h.

Ακολουθεί διήθηση του μίγματος από celite, συμπύκνωση του διηθήματος και καθαρισμός του υπολείμματος με χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης PE(40-60°C)/Et₂O 1/1. Παραλαμβάνονται 103 mg (56%) της ιμίνης **7ε**, ως ελαιώδες υγρό.

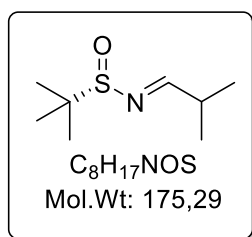
TLC R_f (CHCl₃/MeOH 9.5/0.5) = 0.7

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.17 [s, 9H, C(CH₃)₃], 2.19 - 2.24(m, 3H, N=CHCH₃), 8.04 - 8.10 (m, 1H, N=CH)

^{13}C NMR (100 MHz, d_6 -DMSO) δ 22.45, 22.53, 56.1, 166.1

HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ υπολογίστηκε για $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NNaOS}^+$ 170.0610, βρέθηκε 170.0609

(S,E)-2-Μεθυλο-N-(2-μεθυλοπροπυλιδενο)προπανο-2-σουλφιναμίδιο (7στ) [129]



Η ένωση **7στ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο A σε κλίμακα (150 mg, 1.24 mmol) (*S*)-*N*-tert-βουτυλοσουλφιναμιδίου (**14**). Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60°C)/Et₂O 90/10. Παραλαμβάνονται 130 mg (60%) της ιμίνης **7στ** ως υποκίτρινο ελαιώδες υγρό.

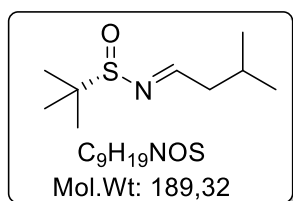
TLC R_f [PE (40-60 °C)/Et₂O 5/2] = 0.5

^1H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.13 & 1.14 [2 × d, J = 1.8, 6H, CH(CH₃)₂], 1.16 [s, 9H, C(CH₃)₃], 2.61 - 2.75 [m, 1H, CH(CH₃)₂], 7.96 (d, J = 4.3 Hz, 1H, N=CH)

^{13}C NMR (100 MHz, d_6 -DMSO) δ 18.99, 19.00, 22.4, 34.9, 56.5, 173.7

HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ υπολογίστηκε για $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{NNaOS}^+$ 198.0923, βρέθηκε 198.0926

(S,E)-2-Μεθυλο-N-(3-μεθυλοβουτυλιδενο)προπανο-2-σουλφιναμίδιο (7ζ) [129]



Η ένωση **7ζ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο A σε κλίμακα (400 mg, 3.3 mmol) (*S*)-*N*-tert-βουτυλοσουλφιναμιδίου (**14**). Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60°C)/Et₂O 90/10.

Παραλαμβάνονται 169 mg (28%) της ιμίνης **7ζ** ως υποκίτρινο ελαιώδες υγρό.

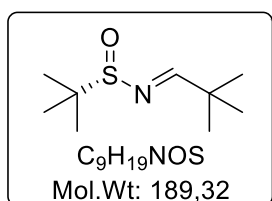
TLC R_f [PE (40-60 °C)/Et₂O 5/2] = 0.5

^1H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 0.96 [d, J = 6.6 Hz, 6H, CH(CH₃)₂], 1.17 [s, 9H, C(CH₃)₃], 2.03 [sept, J = 6.6 Hz, 1H, CH(CH₃)₂], 2.30 - 2.43 [m, 2H, CH₂CH(CH₃)₂], 8.03 (t, J = 5.1 Hz, 1H, N=CH)

^{13}C NMR (50 MHz, d_6 -DMSO) δ 21.9, 22.0, 22.1, 25.7, 44.4, 56.0, 168.9

HRMS (m/z): [M + Na]⁺ υπολογίστηκε για C₉H₁₉NNaOS⁺ 212.1079, βρέθηκε 212.1083

(S,E)-N-(2,2-Διμεθυλοπροπυλιδενο)-2-μεθυλοπροpano-2-σουλφιναμίδιο (7η) [130]



Η ένωση **7η** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο A σε κλίμακα (150 mg, 1.24 mmol) (*S*)-*N*-*tert*-βουτυλοσουλφιναμιδίου (**14**). Δεν χρειάστηκε καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης. Παραλαμβάνονται 218 mg (93%) της ιμίνης **7η** ως υποκίτρινο ελαιώδες υγρό.

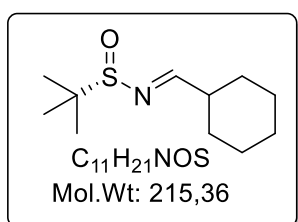
TLC *R_f* (CHCl₃/MeOH 9.0/1.0) = 0.7

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.15 [s, 9H, CHC(CH₃)₃], 1.18 [s, 9H, C(CH₃)₃], 7.91 [s, 1H, N=CH]

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 22.4, 26.8, 37.7, 60.2, 177.8

HRMS (m/z): [M + Na]⁺ υπολογίστηκε για C₉H₁₉NNaOS⁺ 212.1079, βρέθηκε 212.1085

(S,E)-N-(Κυκλοεξυλομεθυλενο)-2-μεθυλοπροpano-2-σουλφιναμίδιο (7θ) [128]



Η ένωση **7θ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο A με τις παρακάτω διαφοροποιήσεις: Χρησιμοποιήθηκαν (150 mg, 1.24 mmol) (*S*)-*N*-*tert*-βουτυλοσουλφιναμιδίου (**14**), κυκλοεξυλοκαρβοξυ αλδεΐδης **30θ** (126 mg, 1.12 mmol) και 2.2 mL ξηρού THF. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60°C)/Et₂O 90/10. Παραλαμβάνονται 200 mg (83%) της ιμίνης **7θ** ως υποκίτρινο στερεό.

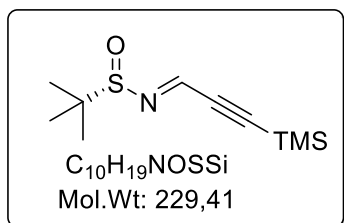
TLC *R_f* (CHCl₃/MeOH 9.0/1.0) = 0.5

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.16 [s, 9H, C(CH₃)₃], 1.16 - 1.28 [m, 1H, CH(CH₂CH₂)₂CHH], 1.28 - 1.39 [m, 4H, CH(CH₂CH₂)₂CH₂], 1.62 - 1.70 [m, 1H, CH(CH₂CH₂)₂CHH], 1.71 - 1.81 [m, 2H, CH(CH₂CH₂)₂CH₂], 1.81 - 1.93 [m, 2H, CH(CH₂CH₂)₂CH₂], 2.37 - 2.49 [m, 1H, CH^HHex], 7.94 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H, N=CH)

¹³C NMR (100 MHz, d₆-DMSO) δ 22.4, 25.45, 25.48, 26.0, 29.4, 44.1, 57.0, 172.8

HRMS (m/z): [M + Na]⁺ υπολογίστηκε για C₁₁H₂₁NNaOS⁺ 238.1236, βρέθηκε 238.1237

(S,E)-2-Μεθυλο-N-[3-(τριμεθυλοσιλυλο)προπ-2-υν-1-υλιδενο]προπανο-2-σουλφιναμίδιο (7i) [131]



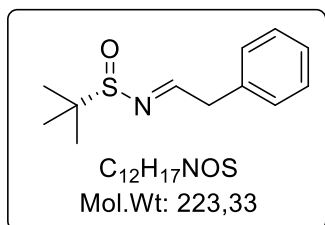
Η ένωση **7i** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο A σε κλίμακα (150 mg, 1.24 mmol) (*S*)-*N*-*tert*-βουτυλοσουλφιναμιδίου (**14**). Χρησιμοποιήθηκε Ti(O^{*i*}Pr)₄ (1.40 g, 1.46 mL, 4.9 mmol) και 2.5 mL ξηρού THF. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60°C)/Et₂O 95/5. Παραλαμβάνονται 234 mg (83%) της ιμίνης **7i** ως ελαιώδες υγρό.

TLC *R_f* (CHCl₃/MeOH 9.5/0.5) = 0.8

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 0.24 [s, 9H, Si(CH₃)₃], 1.21 [s, 9H, C(CH₃)₃], 7.77 (s, 1H, N=CH)

HRMS (m/z): [M + Na]⁺ υπολογίστηκε για C₁₀H₁₉NNaOSSi⁺ 252.0849, βρέθηκε 252.0854

(S,E)-2-Μεθυλο-N-(2-εθυλοφαινυλιδενο)προπανο-2-σουλφιναμίδιο (7k) [119]



Η ένωση **7k** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο A με τις παρακάτω διαφοροποιήσεις. Χρησιμοποιήθηκαν (160 mg, 1.32 mmol) (*S*)-*N*-*tert*-βουτυλοσουλφιναμιδίου (**14**) και η αλδεΐδη **30k** (144.2 mg 1.2 mmol). Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60°C)/Et₂O 90/10. Παραλαμβάνονται 94 mg (35%) της ιμίνης **7k** ως υποκίτρινο ελαιώδες υγρό.

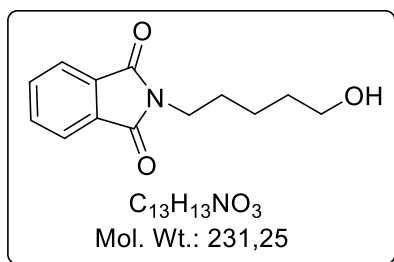
TLC *R_f* [PE (40-60 °C)/Et₂O 5/2] = 0.6

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.20 [s, 9H, C(CH₃)₃], 3.82 & 3.87 (2 × dd, *J* = 15.2, 5.2 Hz, 2H, CH₂Ph), 7.20 - 7.39 (m, 5H, Ar), 8.15 (t, *J* = 5.2 Hz, N=CH)

¹³C NMR (100 MHz, d₆-DMSO) δ 22.5, 42.7, 57.0, 127.2, 128.9, 129.3, 134.9, 167.6

HRMS (m/z): [M + Na]⁺ υπολογίστηκε για C₁₂H₁₇NNaOS⁺ 246.0923, βρέθηκε 246.0923

2-(5-Υδροξυ-πεντυλο)-ισοϊνδολο-1,3-διόνης (54) [127]



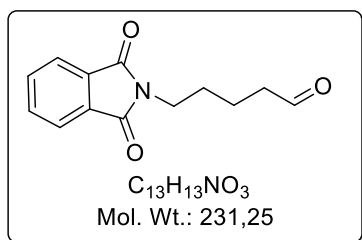
Σε σφαιρική φιάλη αναμιγνύονται φθαλικός ανυδρίτης (757 mg, 5.11 mmol) και 5-αμινο-πεντανόλη (505 mg, 4.89 mmol) και το μίγμα θερμαίνεται στους 140 °C για 30 min. Ακολουθεί αραίωση με AcOEt και H₂O, και εκχυλίσεις της οργανικής φάσης με H₂O (× 1), 1M HCl (× 1), NaHCO₃ 5% (× 1) και H₂O (× 1). Η οργανική φάση συλλέγεται, ξηραίνεται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται. Παραλαμβάνονται 818 mg (72%) της ένωσης **54** ως υποκίτρινο έλαιο.

TLC R_f (CHCl₃:MeOH 9.5:0.5) = 0.4

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.31 - 1.51 (m, 2H, CH₂CH₂CH₂OH), 1.52 - 1.81 (m, 4H, CH₂CH₂CH₂OH, NCH₂CH₂), 3.63 (t, J = 6.3 Hz, 2H, CH₂OH), 3.69 (t, J = 7.0 Hz, 2H, NCH₂), 7.62 – 7.75 & 7.77 - 7.88 (m, 4H, Ar)

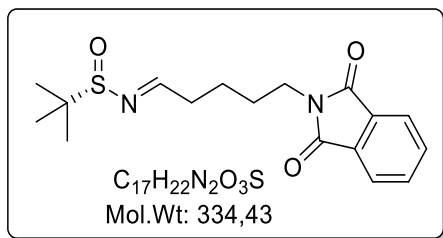
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 23.0, 28.3, 32.1, 37.9, 62.4, 122.2, 132.0, 133.9, 168.5

5-(1,3-Διοξοϊσοϊνδολινο-2-υλο)πεντανάλη (30λ) [127]



Σε διάλυμα DMSO (0.256 mL, 3.76 mmol) σε άνυδρο CH₂Cl₂ (2.4 mL) προστίθεται αργά και υπο ψύξη στους -75 °C διάλυμα (COCl)₂ (2M σε CH₂Cl₂, 2.5 mL, 4 mmol). Έπειτα από 5 min ανάδευσης του μίγματος στην ίδια θερμοκρασία προστίθεται στάδην διάλυμα της 2-(5-υδροξυ-πεντυλο)-ισοϊνδολο-1,3-διόνης **54** (400 mg, 1.76 mmol) σε άνυδρο CH₂Cl₂ (2 mL). Μετά την πάροδο 15 min προστίθεται DIPEA (1.6 mL, 5.2 mmol). Σε αυτό το σημείο η θερμοκρασία αφήνεται να ανέλθει στους -30 °C και το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 30 min ακόμα. Ακολουθεί συμπύκνωση, διάλυση του υπολείμματος σε AcOEt και εκπλύσεις με H₂O (× 3) με κορεσμένο διάλυμα NaCl, ξήρανση με Na₂SO₄ και συμπύκνωση υπό κενό. Παραλαμβάνονται 410 mg (99%) της ένωσης **30λ** ως λευκό στερεό. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα είναι πανομοιότυπα με αυτά που αναφέρονται στη βιβλιογραφία [127].

(S,E)-N-[5-(1,3-Διοξοϊσοϊνδολινο-2-υλ)πεντυλιδενο]-2-μεθυλοπροπανο-2-σουλφιναμίδιο (7λ) [69]



Η ένωση **7λ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο A με τις παρακάτω διαφοροποιήσεις. Χρησιμοποιήθηκαν (160 mg, 1.32 mmol) (*S*)-*N*-*tert*-βουτυλοσουλφιναμιδίου (**14**) και η αλδεΰδη **30λ** (278 mg 1.2 mmol). Καθαρίζεται με χρωματογραφία

στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60°C)/Et₂O 80/20 → 70/30. Παραλαμβάνονται 222 mg (55%) της ιμίνης **7λ** ως υποκίτρινο ελαιώδες υγρό.

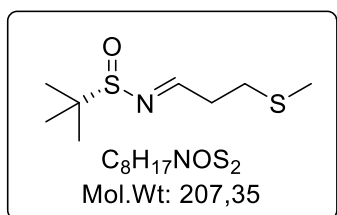
TLC *R_f* [PE (40-60 °C)/Et₂O 1/1] = 0.4

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.15 [s, 9H, C(CH₃)₃], 1.59 - 1.78 (m, 4H, CH₂CH₂CH₂N), 2.55 (td, *J* = 7.1, 4.3 Hz, 2H, N=CHCH₂), 3.69 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂CH₂CH₂N), 7.66 - 7.72 & 7.78 - 7.84 (m, 4H, Ar), 8.03 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H, N=CH)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 22.4, 22.7, 28.3, 35.6, 37.6, 56.7, 123.3, 132.2, 134.0, 168.4, 168.9

HRMS (*m/z*): [M + Na]⁺ υπολογίστηκε για C₁₇H₂₂N₂NaO₃S⁺ 357.1243, βρέθηκε 357.1248

(S,E)-2-Μεθυλο-N-[3-(θειομεθυλο)προπυλιδενο]προπανο-2-σουλφιναμίδιο (7μ) [133]



Η ένωση **7μ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο B σε κλίμακα (150 mg, 1.24 mmol) (*S*)-*N*-*tert*-βουτυλοσουλφιναμιδίου (**14**). Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60°C)/Et₂O 90/10 → 85/15 Παραλαμβάνονται 156 mg

(61%) της ιμίνης **7μ** ως κίτρινο ελαιώδες υγρό.

TLC *R_f* (CHCl₃/MeOH 9.5/0.5) = 0.8

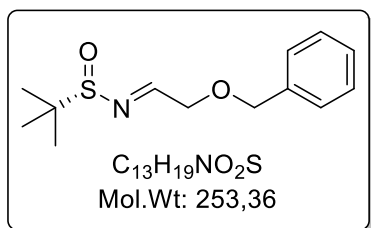
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.20 [s, 9H, C(CH₃)₃], 2.12 (s, 3H, SCH₃), 2.75 - 2.84 (m, 4H, CH₂CH₂SCH₃, CH₂CH₂SCH₃), 8.08 (t, *J* = 3.6 Hz, 1H, N=CH)

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 15.5, 23.3, 29.5, 35.6, 56.7, 166.7

HRMS (m/z): $[M + Na]^+$ υπολογίστηκε για $C_8H_{17}NNaOS_2^+$ 230.0644, βρέθηκε 230.0643

(S,E)-N-[2-(Βενζυλοξυ)αιθυλιδενο]-2-μεθυλοπροπανο-2-σουλφιναμίδιο (7v)

[132]



Η ένωση **7v** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο B σε κλίμακα 150 mg, 1.24 mmol (*S*)-*N*-*tert*-βουτυλοσουλφιναμιδίου (**14**). Χρησιμοποιήθηκαν 493.8 mg, 1.48 mmol άνυδρου $CuSO_4$ και 1.2 mL ξηρού CH_2Cl_2 . Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60°C)/Et₂O 99/1. Παραλαμβάνονται 53 mg (17%) της ιμίνης **7v** ως ελαιώδες υγρό.

TLC R_f ($CHCl_3/MeOH$ 9.5/0.5) = 0.7

¹H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 1.20 [s, 9H, C(CH_3)₃], 4.38 - 4.40 (m, 2H, NCHCH₂), 4.62 (s, 2H, OCH₂Ph), 7.27 - 7.38 (m, 5H, Ar), 8.12 [t, J = 3.2 Hz, 1H, N=CH]

¹³C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 22.5, 57.0, 71.4, 73.8, 128.0, 128.1, 128.6, 137.3, 166.8

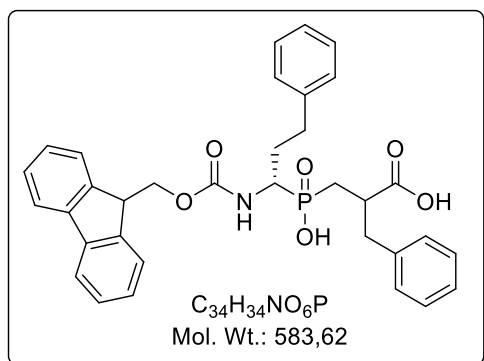
HRMS (m/z): $[M + Na]^+$ υπολογίστηκε για $C_{13}H_{19}NNaO_2S^+$ 276.1028, βρέθηκε 276.1027

4.2.3 Σύνθεση και χαρακτηρισμοί των φωσφινικών διπεπτιδίων τύπου 53

Γενική μέθοδος: Σε αιώρημα του φωσφινικού διοξέος **2** (2.0 mmol) και της κατάλληλης *N*-*tert*-βουτυλοσουλφινυλο ιμίνης τύπου **7** (1.0 mmol) σε ξηρό CH_2Cl_2 (7.0 mL/mmol ιμίνης) προστίθεται υπό ατμόσφαιρα αργού στους 0 °C το καρβοδιϊμίδιο DIC (316 mg, 387 μ L, 2.5 mmol) και η αντίδραση αφήνεται υπό ισχυρή αναδευση για 15 min όπου και σχηματίζεται ένα λευκό αιώρημα. Στη συνέχεια προστίθεται στάγδην το οξύ Lewis $BF_3 \cdot OEt_2$ (42 mg, 37 μ L, 0.30 mmol) σε ξηρό CH_2Cl_2 (0.5 mL) στους 0 °C. Μετά από ανάδευση του μίγματος της αντίδρασης για 3 h σε θερμοκρασία δωματίου προστίθεται επιπλέον οξύ Lewis $BF_3 \cdot OEt_2$ (28 mg, 25 μ L, 0.20 mmol) σε ξηρό CH_2Cl_2 (0.5 mL) στάγδην, στους 0 °C και η αντίδραση αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για άλλες 3 - 5 h. Ακολουθεί διακοπή της αντίδρασης υπό ψύξη, με προσθήκη κορεσμένου διαλύματος NH_4Cl (1.5

mL/mmol) και ακόλουθη ανάδευση για ~10 min. Το μίγμα αραιώνεται με H₂O και NaHCO₃ 5% μέχρι pH ~9 και η υδατική φάση εκπλένεται με Et₂O (× 3). Στη συνέχεια γίνεται οξίνιση της υδατικής φάσης με κρύο 1M HCl υπό ψύξη μέχρι pH ~1, προσθήκη στερεού NaCl και εκχυλίσεις της υδατικής φάσης με AcOEt (× 4). Οι οργανικές φάσεις συλλέγονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Το υπόλειμμα καλύπτεται με υδατικό 0.5M HCl, αφήνεται για 24 h και στη συνέχεια το μίγμα συμπυκνώνεται υπό κενό. Το υπόλειμμα που προκύπτει, αραιώνεται με Na₂CO₃ 10% μέχρι pH ~9 και προστίθεται Fmoc-Cl (3 - 5 mmol μέχρι πλήρους κατανάλωσης της αρχικής ύλης) σε διοξάνιο (0.8 mL/mmol) στους 0 °C. Η αντίδραση αφήνεται υπό ανάδευση στους 0 °C για 2 h και στη συνέχεια σε θερμοκρασία περιβάλλοντος μέχρι να καταναλωθεί πλήρως το αρχικό υπόστρωμα. Σε όλη τη διάρκεια της αντίδρασης πρέπει το pH να διατηρείται στο 8 - 9. Έπειτα το μίγμα της αντίδρασης αραιώνεται με H₂O, 5% NaHCO₃ και Et₂O και η υδατική φάση εκπλένεται με Et₂O (× 5). Η υδατική φάση οξινίζεται 2M HCl υπό ψύξη μέχρι pH ~1 και εκχυλίζεται με AcOEt (× 3). Οι οργανικές φάσεις συλλέγονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Το προϊόν καθαρίζεται χρωματογραφικά με σύστημα έκλουσης CHCl₃/MeOH/AcOH 7/0.2/0.2 → 7/0.4/0.4. Ακολουθεί διάλυση του υπολείμματος σε AcOEt και εκπλύσεις της οργανικής φάσης με 1M HCl (× 3). Οι οργανικές φάσεις συλλέγονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Τέλος το στερεό προϊόν παραλαμβάνεται μετά από καταβύθιση σε κρύο PE.

3-({(S)-1-[(9H-Φλουορεν-9-υλομεθοξυ)καρβονυλαμινο]-3-προπυλοφαινυλο}(υδροξυ)φωσφορυλο)-2-βενζυλοπροπανοϊκό οξύ (**53β**)



Η ένωση **53β** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σε κλίμακα 85.5 mg, 0.36 mmol (S)-*N-tert*-βουτυλοσουλφινυλο ιμίνης **7β**. Η αντίδραση *P*-Mannich αφέθηκε υπό ανάδευση για 7 h Παραλαμβάνονται 110 mg (52%, 3 στάδια) της ένωσης **53β** ως λευκό στερεό.

HPLC t_R(4) 7.7 min

¹H NMR (400 MHz, d⁶-DMSO + 4% TFA) δ 1.61 - 1.77 (m, 1H, PCHH), 1.77 - 1.89 (m, 1H, CHHCH₂Ph), 1.90 - 2.07 (m, 2H, PCHH, CHHCH₂Ph), 2.43 - 2.5 (m, 1H,

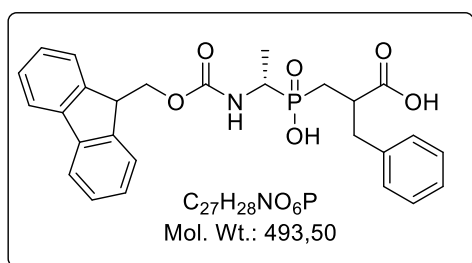
CH₂CHHPh, overlap with solvent), 2.63 - 2.76 (m, 1H, CH₂CHHPh), 2.77 - 3.00 (m, 3H, CHCH₂Ph, CHCH₂Ph), 3.59 - 3.79 (m, 1H, CHP), 4.17 - 4.29 (m, 1H, CHCH₂O), 4.29 - 4.42 (m, 2H, CHCH₂O), 7.07 - 7.45 (m, 14H, Ar), 7.71 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, NH), 7.73 - 7.94 (m, 4H, Ar)

¹³C NMR (100 MHz, d⁶-DMSO) δ 27.6 (d, ¹*J*_{PC} = 88.5 Hz), 28.0 (d, ¹*J*_{PC} = 88.3 Hz), 29.3, 31.7 (d, ³*J*_{PC} = 11.5 Hz), 31.7 (d, ³*J*_{PC} = 11.4 Hz), 38.2 (d, ³*J*_{PC} = 7.5 Hz), 40.3 (d, ²*J*_{PC} = 3.2 Hz), 40.6 (d, ²*J*_{PC} = 2.7 Hz), 46.8, 50.0 (d, ¹*J*_{PC} = 106 Hz), 50.3 (d, ¹*J*_{PC} = 106 Hz), 65.8, 125.1, 125.29, 125.33, 125.8, 126.2, 127.0, 127.1, 127.6, 128.1, 128.3, 128.39, 128.41, 128.9, 129.0, 138.85, 138.88, 147.7, 141.3, 141.4, 143.7, 143.9, 156.25, 156.29, 156.33, 175.19 (d, ³*J*_{PC} = 7.5 Hz), 175.22 (d, ³*J*_{PC} = 9.5 Hz)

³¹P NMR (162 MHz, d⁶-DMSO + 4% TFA) δ 44.72*, 44.83*, 45.65, 45.70

HRMS (m/z): [M + Na]⁺ υπολογίστηκε για C₃₄H₃₄NNaO₆P⁺ 606.2016, βρέθηκε 606.2010

3-({(S)-1-[(9H-Φλουορεν-9-υλομεθοξυ)καρβονυλαμινο]αιθυλο} (υδροξυφωσφορυλο)-2-βενζυλοπροπανοϊκό οξύ (53ε)



Η ένωση **53ε** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σε κλίμακα (38 mg, 0.25 mmol) (S)-*N*-*tert*-βουτυλοσουλφινυλο ιμίνης **7ε**. Πραγματοποιήθηκε μία μόνο προσθήκη οξέος Lewis BF₃·OEt₂ (0.3 equiv) και η αντίδραση *P*-Mannich αφέθηκε υπό ανάδευση για 4 h.

Παραλαμβάνονται 77 mg (61%, 3 στάδια) της ένωσης **53ε** ως λευκό στερεό.

HPLC *t*_R(2) 8.0 min

¹H NMR (400 MHz, d⁶-DMSO) δ 1.12 - 1.28 (m, 3H, CHCH₃), 1.62 - 1.78 (m, 1H, PCHH), 1.84 - 1.78 (m, 1H, PCHH), 2.79 - 3.02 (m, 3H, CHCH₂Ph), 3.66 - 3.82 (m, 1H, CHP), 4.15 - 4.35 (m, 3H, CHCH₂O), 7.10 - 7.45 (m, 9H, Ar), 7.59 (2 × d, *J* = 9.7 Hz, 1H, NH), 7.68 - 7.91 (m, 4H, Ar)

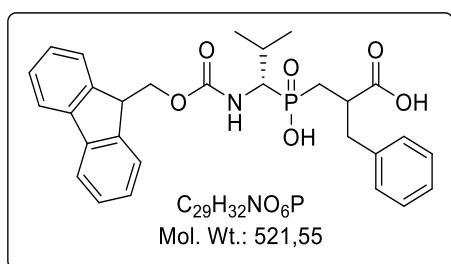
¹³C NMR (100 MHz, d⁶-DMSO) δ 13.9, 27.6 (d, ¹*J*_{PC} = 88.1 Hz), 27.9 (d, ¹*J*_{PC} = 88.6 Hz), 38.2 (d, ³*J*_{PC} = 7.4 Hz), 40.4 (d, ²*J*_{PC} = 3.1 Hz), 40.7 (d, ²*J*_{PC} = 2.1 Hz), 45.59, 45.62 (d, ¹*J*_{PC} = 105.5 Hz), 46.7, 65.9, 120.1, 125.3, 125.4, 126.1, 127.06, 127.09,

127.6, 128.1, 128.95, 129.00, 138.97, 138.99, 140.68, 140.70, 143.8, 143.9, 155.79, 155.84, 175.25 (d, $^3J_{PC} = 7.4$ Hz), 175.30 (d, $^3J_{PC} = 9.1$ Hz)

^{31}P NMR (162 MHz, d^6 -DMSO + 4% TFA) δ 45.09* (br), 45.87, 45.95

HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ υπολογίστηκε για $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{NNaO}_6\text{P}^+$ 516.1546, βρέθηκε 516.1542

3-((S)-1-[(9H-Φλουορεν-9-υλομεθοξυ)καρβονυλαμινο]-2-μεθυλοπροπυλο)(υδροξυφωσφορυλο)-2-βενζυλοπροπανοϊκό οξύ (53στ)



Η ένωση **53στ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σε κλίμακα 51 mg, 0.29 mmol (S)-*N*-*tert*-βουτυλοσουλφινυλο ιμίνης **7στ**. Η αντίδραση *P*-Mannich αφέθηκε υπό ανάδευση για 7 h. Παραλαμβάνονται 69 mg (46% τρία στάδια) της ένωσης **53στ** ως λευκό στερεό.

HPLC $t_R(3)$ 8.0 min

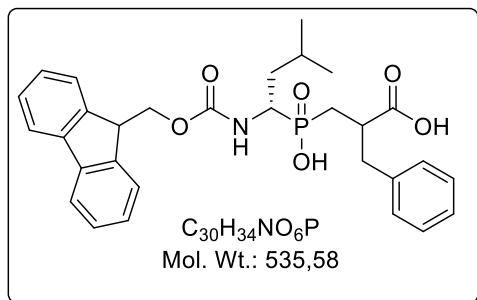
^1H NMR (400 MHz, d^6 -DMSO + 4% TFA) δ 0.91 – 0.99 [m, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$], 1.61 - 1.75 (m, 1H, PCHH), 1.86 - 2.05 (m, 1H, PCHH), 2.05 - 2.22 [m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$], 2.75 - 3.01 (m, 3H, CHCH_2Ph), 3.54 - 3.68 (m, 1H, CHP), 4.17 - 4.24 (m, 1H, CHCH_2O), 4.17 - 4.36 (m, 2H, CHCH_2O), 7.08 - 7.46 (m, 9H, Ar), 7.50 & 7.52 (2 × d, $J = 10.2$ Hz, 1H, NH), 7.69 - 7.91 (m, 4H, Ar)

^{13}C NMR (100 MHz, d^6 -DMSO) δ 18.67 (d, $^3J_{PC} = 8.5$ Hz), 18.73 (d, $^3J_{PC} = 8.7$ Hz), 20.85 (d, $^3J_{PC} = 8.0$ Hz), 20.88 (d, $^3J_{PC} = 8.3$ Hz), 27.58 (d, $^2J_{PC} = 5.8$ Hz), 27.61 (d, $^2J_{PC} = 5.9$ Hz), 28.6 (d, $^1J_{PC} = 88.6$ Hz), 29.0 (d, $^1J_{PC} = 89.6$ Hz), 38.3 (d, $^3J_{PC} = 7.4$ Hz), 40.3 (d, $^2J_{PC} = 3.4$ Hz), 40.6 (d, $^2J_{PC} = 2.7$ Hz), 46.7, 55.3 (d, $^1J_{PC} = 103.6$ Hz), 55.8 (d, $^1J_{PC} = 104.0$ Hz), 65.98, 66.00, 120.1, 125.39, 125.43, 125.5, 127.07, 127.11, 127.7, 128.2, 128.95, 129.03, 138.8, 140.72, 140.73, 143.7, 143.8, 143.88, 143.92, 156.70 (d, $^3J_{PC} = 5.7$ Hz), 156.72 (d, $^3J_{PC} = 5.8$ Hz), 175.2 (d, $^3J_{PC} = 7.6$ Hz), 175.3 (d, $^3J_{PC} = 9.6$ Hz)

^{31}P NMR (162 MHz, d^6 -DMSO + 4% TFA) δ 44.88*, 45.06*, 45.71, 45.74

HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ υπολογίστηκε για $\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{NNaO}_6\text{P}^+$ 544.1859, βρέθηκε 544.1857

3-({(S)-1-[(9H-Φλουορεν-9-υλομεθοξυ)καρβονυλαμινο]-3-βουτυλομεθυλο}(υδροξυφωσφορυλο)-2-βενζυλοπροπανοϊκό οξύ (53ζ)



Η ένωση **53ζ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σε κλίμακα (64 mg, 0.34 mmol) (*S*)-*N-tert*-βουτυλοσουλφινυλο ιμίνης **7ζ**. Η αντίδραση *P*-Mannich αφήθηκε υπό ανάδευση για 6.5 h. Παραλαμβάνονται 97 mg (54%, 3 στάδια) της ένωσης **53ζ** ως λευκό στερεό.

HPLC $t_R(5)$ 7.0 min

1H NMR (400 MHz, d^6 -DMSO + 4% TFA) δ 0.80 & 0.89 [2 × d, $J = 6.3$ Hz, 6H, $CH(CH_3)_2$], 1.34 - 1.47 [m, 1H $CHHCH(CH_3)_2$], 1.48 - 1.77 [m, 3H, $CHHCH(CH_3)_2$, $PCHH$], 1.88 - 2.05 (m, 1H, $PCHH$), 2.77 - 3.01 (m, 3H, $CHCH_2Ph$), 3.67 - 3.83 (m, 1H, CHP), 4.16 - 4.23 (m, 1H, $CHCH_2O$), 4.23 - 4.36 (m, 2H, $CHCH_2O$), 7.09 - 7.46 (m, 9H, Ar), 7.53 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H, NH), 7.68 - 7.95 (m, 4H, Ar)

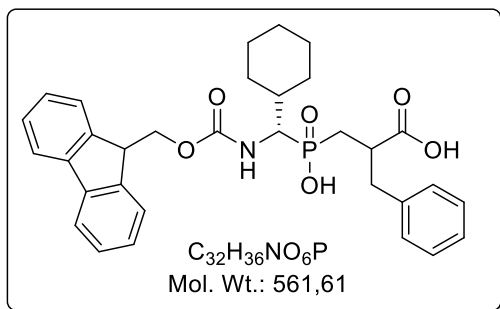
^{13}C NMR (100 MHz, d^6 -DMSO) δ 20.7, 23.13, 23.15, 23.77 (d, $^3J_{PC} = 11.5$ Hz), 23.78 (d, $^3J_{PC} = 11.5$ Hz), 27.1 (d, $^1J_{PC} = 88.5$ Hz), 27.6 (d, $^1J_{PC} = 88.6$ Hz), 35.5, 38.0 (d, $^3J_{PC} = 7.4$ Hz), 40.1 (d, $^2J_{PC} = 3.4$ Hz), 40.4 (d, $^2J_{PC} = 3.0$ Hz), 46.6, 48.3 (d, $^1J_{PC} = 105.8$ Hz), 48.7 (d, $^1J_{PC} = 106.1$ Hz), 46.5, 119.9, 125.06, 125.10, 126.8, 126.9, 127.4, 127.9, 128.7, 128.8, 138.60, 138.64, 140.5, 143.5, 143.6, 143.7, 155.98 (d, $^3J_{PC} = 4.0$ Hz), 155.99 (d, $^3J_{PC} = 4.1$ Hz), 174.97 (d, $^3J_{PC} = 7.7$ Hz), 175.02 (d, $^3J_{PC} = 9.4$ Hz)

^{31}P NMR (162 MHz, d^6 -DMSO + 4% TFA) δ 45.31*, 45.42*, 46.13, 46.15

HRMS (m/z): $[M + Na]^+$ υπολογίστηκε για $C_{30}H_{34}NNaO_6P^+$ 558.2016, βρέθηκε 558.2019

3-({(S)-1-[(9H-Φλουορεν-9-υλομεθοξυ)καρβονυλαμινο](κυκλοεξυλο)μεθυλο}(υδροξυφωσφορυλο)-2-βενζυλοπροπανοϊκό οξύ (53θ)

Η ένωση **53θ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σε κλίμακα (87 mg, 0.40 mmol) (*S*)-*N-tert*-βουτυλοσουλφινυλο ιμίνης **7θ**. Η αντίδραση *P*-Mannich



αφέθηκε υπό ανάδευση για 6 h. Παραλαμβάνονται 120 mg (53%, 3 στάδια) της ένωσης **530** ως λευκό στερεό.

HPLC $t_R(5)$ 7.1 min

¹H NMR (400 MHz, d⁶-DMSO) δ 0.94 - 1.28 (m, 5H, CH(CH₂CH₂)₂CH₂), 1.46 - 1.70 (m, 4H, CH(CH₂CH₂)₂CH₂, PCH₂), 1.70 - 1.96 (m, 4H, CH(CH₂CH₂)₂CH₂, PCH₂, CH^cHex)

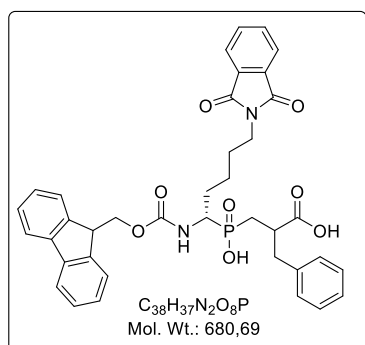
2.75 - 3.01 (m, 3H, CHCH₂Ph, CHCH₂Ph), 3.48 - 3.64 (m, 1H, CHP), 4.15 - 4.23 (m, 1H, CHCH₂O), 4.23 - 4.32 (m, 2H, CHCH₂O), 7.06 - 7.35 & 7.35 - 7.46 & 7.69 - 7.92 (m, 14H, Ar, NH)

¹³C NMR (100 MHz, d⁶-DMSO) δ 25.61, 25.63, 25.7, 25.8, 28.1 (d, ¹J_{PC} = 89.2Hz), 28.18, 28.24, 28.3, 29.0 (d, ¹J_{PC} = 89.5 Hz), 30.59, 30.62, 30.66, 30.69, 37.1 (d, ²J_{PC} = 4.2 Hz), 37.2 (d, ²J_{PC} = 4.3 Hz), 38.2 (d, ³J_{PC} = 7.0 Hz), 40.3 (d, ²J_{PC} = 3.2 Hz), 40.6 (d, ²J_{PC} = 2.8 Hz), 46.7, 54.8 (d, ¹J_{PC} = 103.6 Hz), 55.3 (d, ¹J_{PC} = 103.8 Hz), 65.9, 120.1, 125.38, 125.42, 125.5, 126.2, 127.0, 127.1, 127.6, 128.1, 128.9, 129.0, 138.8, 140.8, 143.68, 143.70, 143.91, 143.94, 156.6 (d, ³J_{PC} = 5.9 Hz), 175.2 (d, ³J_{PC} = 7.6 Hz), 175.3 (d, ³J_{PC} = 9.3 Hz)

³¹P NMR (162 MHz, d⁶-DMSO + 4% TFA) δ 44.96*, 45.18*, 45.76, 45.78

HRMS (m/z): [M + Na]⁺ υπολογίστηκε για C₃₂H₃₆NNaO₆P⁺ 584.2172, βρέθηκε 584.2170

3-((S)-1-[(9H-Φλουορεν-9-υλομεθοξυ)καρβονυλαμινο]-5-(1,3-διοξοϊσοϊνδολιν-2-υλο)πεντυλο)(υδροξυφωσφορυλο)-2-βενζυλοπροπανοϊκό οξύ (**53λ**)



Η ένωση **53λ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σε κλίμακα (115 mg, 0.34 mmol) (S)-N-tert-βουτυλοσουλφινυλο ιμίνης **7λ**. Η αντίδραση P-Mannich αφέθηκε υπό ανάδευση για 7.5 h. Παραλαμβάνονται 107 mg (46%, 3 στάδια) της ένωσης **53λ** ως λευκό στερεό.

HPLC $t_R(4)$ 7.7 min

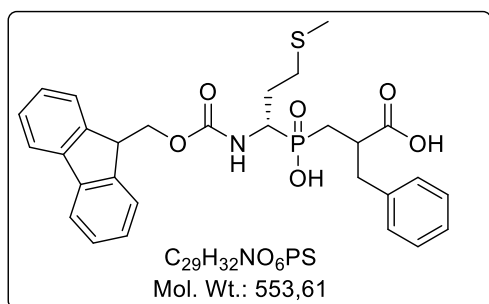
¹H NMR (400 MHz, d⁶-DMSO + 8% TFA) δ 1.16 - 1.32 (m, 1H, CH₂CHH(CH₂)₂N), 1.32 - 1.46 (m, 1H, CH₂CHH(CH₂)₂N), 1.46 - 1.65 (m, 3H, CH₂(CH₂)₃N, (CH₂)₂CHHCH₂N), 1.65 - 1.82 (m, 2H, (CH₂)₂CHHCH₂N, PCHH), 1.87 - 2.07 (m, 1H, PCHH), 2.76 - 3.00 (m, 3H, CHCH₂Ph), 3.53 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, (CH₂)₃CH₂N), 3.59 - 3.74 (m, 1H, CHP), 4.08 - 4.24 (m, 3H, CHCH₂O, CHCH₂O), 7.07 - 7.42 (m, 9H, Ar), 7.50 & 7.51 (2 x d, *J* = 9.5 Hz, 1H, NH), 7.59 - 7.89 (m, 8H, Ar)

¹³C NMR (100 MHz, d⁶-DMSO) δ 23.0 (d, ³*J*_{PC} = 11.5 Hz), 26.7 (d, ²*J*_{PC} = 6.4 Hz), 27.56 (d, ¹*J*_{PC} = 88.5 Hz), 27.58, 27.9 (d, ¹*J*_{PC} = 88.2 Hz), 37.3, 38.2 (d, ³*J*_{PC} = 7.3 Hz), 40.3 (d, ²*J*_{PC} = 3.5 Hz), 40.6 (d, ²*J*_{PC} = 3.1 Hz), 46.7, 50.0 (d, ¹*J*_{PC} = 105.7 Hz), 50.4 (d, ¹*J*_{PC} = 105.8 Hz), 65.7, 120.0, 122.8, 126.2, 127.0, 127.59, 127.61, 128.1, 128.95, 129.00, 131.5, 134.2, 138.88, 138.90, 140.68, 140.70, 143.72, 143.74, 143.80, 143.82, 156.26 (d, ³*J*_{PC} = 4.5 Hz), 156.28 (d, ³*J*_{PC} = 4.4 Hz), 167.9, 175.2 (d, ³*J*_{PC} = 7.7 Hz), 175.3 (d, ³*J*_{PC} = 9.2 Hz)

³¹P NMR (162 MHz, d⁶-DMSO) δ 43.69*, 44.51

HRMS (*m/z*): [M + Na]⁺ υπολογίστηκε για C₃₈H₃₇N₂NaO₈P⁺ 703.2180, βρέθηκε 703.2182

3-({(S)-1-[(9H-Φλουορεν-9-υλομεθοξυ)καρβονυλαμινο]-3-(θειομεθυλο)προπυλο}(υδροξυφωσφορυλο)-2-βενζυλοπροπανοϊκό οξύ (53μ)



Η ένωση **53μ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σε κλίμακα (80 mg, 0.35 mmol) (*S*)-*N*-*tert*-βουτυλοσουλφινυλο ιμίνης **7μ**. Η αντίδραση *P*-Mannich αφέθηκε υπό ανάδευση για 8 h. Δεν πραγματοποιήθηκε καθαρισμός με χρωματογραφία στήλης. Ο καθαρισμός έγινε με

καταβύθιση σε κρύο AcOEt. Παραλαμβάνονται 29 mg (15%, 3 στάδια) της ένωσης **53μ** ως λευκό στερεό.

HPLC *t*_R(1) 9.6 min

¹H NMR (400 MHz, d⁶-DMSO + 4% TFA) δ 1.64 - 1.79 (m, 1H, PCHH), 1.79 - 2.06 (m, 2H, PCHH, CHCHHCH₂SCH₃), 2.06 - 2.20 (m, 1H, CHCHHCH₂SCH₃), 2.52 (s, 3H, SCH₃), 2.60 - 2.72 (m, 1H, CHCH₂CHH₂SCH₃), 2.72 - 3.01 (m, 4H,

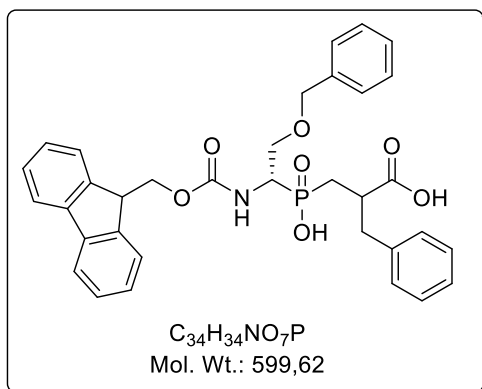
CHCH₂CHHSCH₃, CHCH₂Ph), 3.71 - 3.86 (m, 1H, CHP), 4.17 - 4.25 (m, 1H, CHCH₂O), 4.25 - 4.36 (m, 2H, CHCH₂O), 7.07 - 7.44 (m, 9H, Ar), 7.62 - 7.76 (m, 3H, Ar, NH), 7.85 (s, 1H, Ar), 7.87 (s, 1H, Ar), 9.86 (br, s, 1H, OH)

¹³C NMR (100 MHz, d⁶-DMSO) δ 20.8, 21.2, 27.8 (d, ¹J_{PC} = 88.4 Hz), 28.1 (d, ¹J_{PC} = 89.0 Hz), 37.9, 38.1, 38.2 (d, ³J_{PC} = 7.3 Hz), 40.3 (d, ²J_{PC} = 3.1 Hz), 40.6 (d, ²J_{PC} = 3.0 Hz), 46.7, 49.9 (d, ¹J_{PC} = 104.6 Hz), 50.2, 50.25 (d, ¹J_{PC} = 104.8 Hz), 50.30, 65.8, 65.9, 120.1, 125.3, 125.4, 126.2, 127.09, 127.1, 127.66, 127.67, 128.1, 128.97, 129.01, 138.87, 138.88, 140.72, 140.74, 143.68, 143.70, 143.71, 143.87, 143.89, 143.91, 156.22 (d, ³J_{PC} = 4.0 Hz), 156.24 (d, ³J_{PC} = 4.2 Hz), 175.17 (d, ³J_{PC} = 7.5 Hz), 175.22 (d, ³J_{PC} = 9.4 Hz)

³¹P NMR (162 MHz, d⁶-DMSO + 4% TFA) δ 43.91 (br), 44.72, 44.78

HRMS (m/z): [M + Na]⁺ υπολογίστηκε για C₂₉H₃₂NNaO₆PS⁺ 576.1580, βρέθηκε 576.1580

3-((S)-1-[(9H-φλουορεν-υλομεθοξυ)καρβονυλαμινο]-2-(βενζυλοξυ)εθυλο}(υδροξυφωσφορουλο)-2-βενζυλοπροπανοϊκό οξύ 53v



Η ένωση **53v** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σε κλίμακα 98 mg, 0.39 mmol (S)-*N-tert*-βουτυλοσουλφινυλο ιμίνης **7v**. Η αντίδραση *P*-Mannich αφέθηκε υπό ανάδευση για 7.5 h. Παραλαμβάνονται 97 mg (42% τρία στάδια) της ένωσης **53v** ως λευκό στερεό.

¹H NMR (400 MHz, d⁶-DMSO) δ 1.67 - 1.87 (m, 1H, PCHH), 1.95 - 2.15 (m, 1H, PCHH), 2.78 - 2.90 (m, 1H, CHCHHPh), 2.90 - 3.04 (m, 2H, CHCHHPh, CHCH₂Ph), 3.62 - 3.72 (m, 1H, CHCHHOCH₂Ph), 3.73 - 3.83 (m, 1H, CHCHHOCH₂Ph), 4.07 (m, 1H, CHP), 4.18 - 4.26 (m, 1H, CHCH₂O), 4.26 - 4.36 (m, 2H, CHCH₂O), 4.48 (q, *J* = 12.4, 17.2, OCH₂Ph), 7.08 - 7.47 (m, 14H, Ar), 7.69 - 7.81 (m, 3H NH, Ar), 7.84 - 7.94 (m, 2H, Ar)

¹³C NMR (100 MHz, d⁶-DMSO) δ 28.3 (d, ¹J_{PC} = 88.5 Hz), 28.7 (d, ¹J_{PC} = 89.9 Hz), 38.3 (d, ³J_{PC} = 8.1 Hz), 40.3 (d, ²J_{PC} = 3.1 Hz), 40.5 (d, ²J_{PC} = 2.1 Hz), 46.7, 51.3 (d, ¹J_{PC} = 101.9 Hz), 51.7 (d, ¹J_{PC} = 102.0 Hz), 66.0, 67.36, 67.43, 67.5, 71.9, 72.0,

125.4, 126.3, 127.1, 127.4, 127.5, 127.7, 128.17, 128.20, 128.99, 129.02, 138.17, 138.19, 138.78, 138.81, 143.79, 143.81, 143.83, 143.9, 156.3, 156.36, 156.38, 156.40, 175,18 (d, $^3J_{PC} = 8.2$ Hz), 175,20 (d, $^3J_{PC} = 9.5$ Hz)

^{31}P NMR (162 MHz, $\text{d}^6\text{-DMSO} + 4\% \text{TFA}$) δ 43.36, 43.45

HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ υπολογίστηκε για $\text{C}_{34}\text{H}_{34}\text{NNaO}_7\text{P}^+$ 622.1965, βρέθηκε 622.1961

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

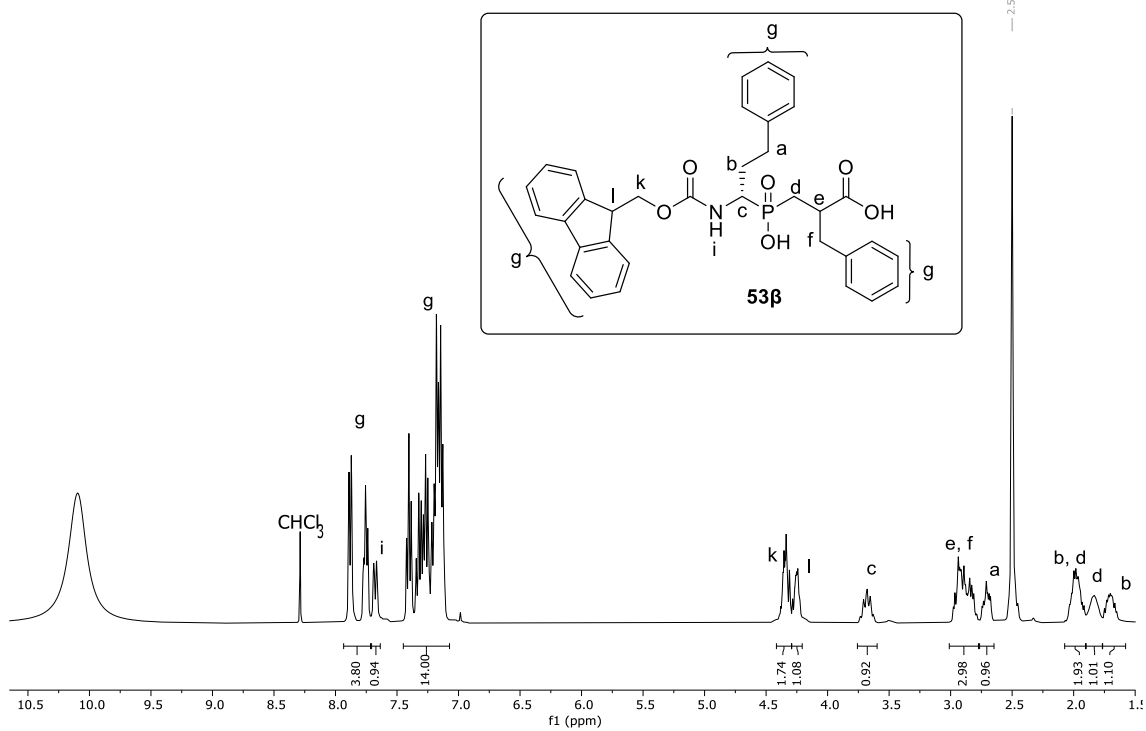
Ακρωνύμια και ανάπτυξή τους

1,3 DCR	1,3 διπολική κυκλοπροσθήκη
Ac	ακέτυλο
ACE	μετατρεπτικό ένζυμο αγγειοτενσίνης-I
Ala	αλανίνη
Ang	αγγειοτενσίνη
APN	Αμινοπεπτιδάση N
Ar	αρυλο
Arg	αργινίνη
Bn	βένζυλο
Boc	<i>tert</i> -Βουτυλοξυκαρβόνυλο
BSA	<i>N, O</i> -δι(τριμεθυλοσιλυλ)ακεταμίδιο
BTSP	δισ(τριμεθυλοσιλυλο)φωσφονίτης
Bu	βουτυλο
Cbz, Z	βενζυλοξυκαρβόνυλο
Cy	κυκλοεξυλο
DCC	<i>N, N'</i> -δικυκλοεξυλοκαρβοδιϊμίδιο
DIC	δισοπρόπυλο καρβοδιϊμίδιο
DIPEA	διϊσοπροπυλοαιθυλαμίνη
DIU	δισοπροπυλουρία
DMAP	4-(διμεθυλαμινο)πυριδίνη
DMF	<i>N, N'</i> -διμεθυλοφορμαμίδιο
DMSO	διμεθυλοσουλφοξείδιο
ECE-1	μετατρεπτικό ένζυμο της ενδοθελίνης-1
ER	ενδοπλασματικό δίκτυο
ERAP	αμινοπεπτιδάση ενδοπλασματικού δικτύου
Et	αιθυλο
Fmoc	9-φλουορενυλομεθυλοξυκαρβονυλο
Glu	γλουταμικό οξύ
His	ιστιδίνη
HMDS	εξαμεθυλοδισιλαζάνιο
HPLC	υγροχρωματογραφία υψηλής απόδοσης
HRMS	Φασματοσκοπία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας
<i>i</i> Pr	ισοπροπυλο
IRAP	αμινοπεπτιδάση ρυθμιζόμενη από ινσουλίνη
LAP	αμινοπεπτιδάση λευκίνης
LG	αποχωρούσα ομάδα
LHMDS	δι(τριμεθυλοσιλυλ)αμιδικό λίθιο
LTA4H	υδρολάση A4 λευκοτριενίου
Me	μέθυλο
MeCN	ακετονιτρίλιο

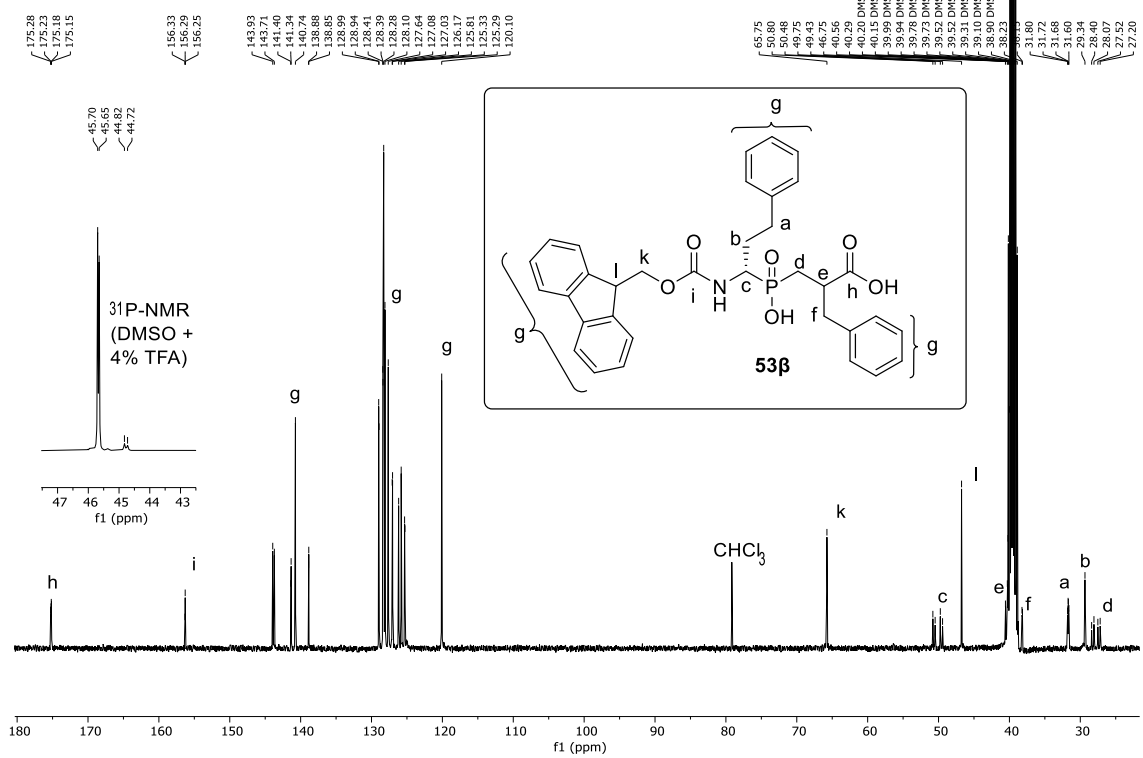
MMPs	ματριξίνες
MS	φασματοσκοπία μάζας
NEP	νεπριλυσίνη ή εγκεφαλινάση
NMR	πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός
Nu	πυρηνόφιλο
PcAm	αμιδάση πενικιλίνης
PE	πετρελαϊκός αιθέρας
Ph	φαινυλο
Phe	φαινυλαλανίνη
Phth	φθαλόυλο
r.t.	θερμοκρασία δωματίου
^t Bu	τριτοταγές βούτυλο
Tf	τριφλικό
TFA	τριφθοροξικό οξύ
THF	τετραϋδροφουράνιο
TLC	χρωματογραφία λεπτής στιβάδας
TMS	τριμεθυλοσιλυλο
TS	μεταβατική κατάσταση
Ts	τολουολοσουλφονυλο
TSA	ανάλογο μεταβατικής κατάστασης
Tyr	τυροσίνη
ZBG	ομάδα δέσμευσης ψευδαργύρου

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι: Φάσματα NMR χαρακτηριστικών ενώσεων

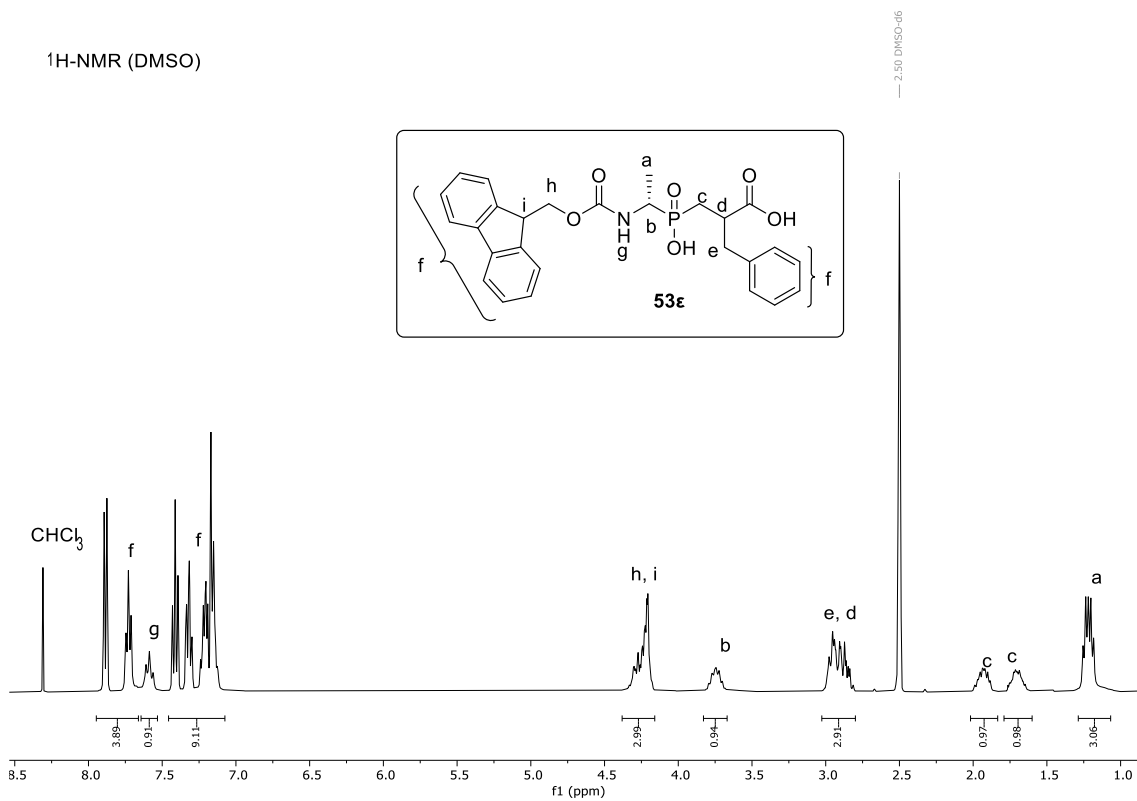
¹H-NMR (DMSO + 4% TFA)



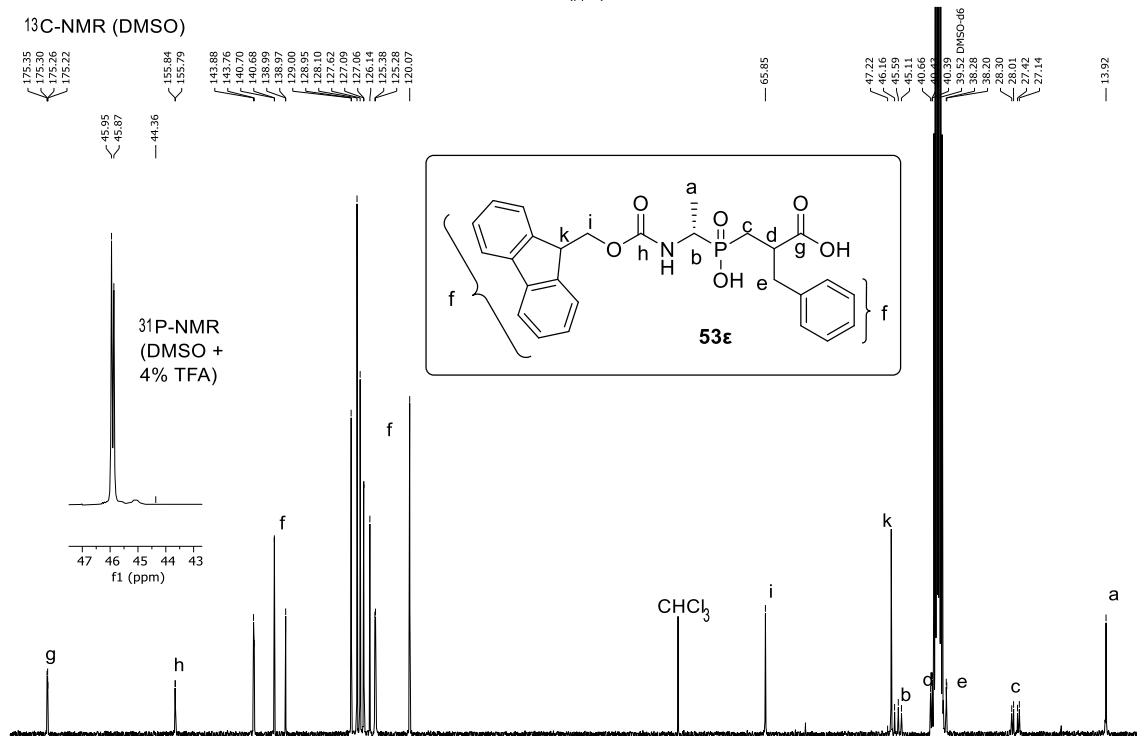
¹³C-NMR (DMSO)



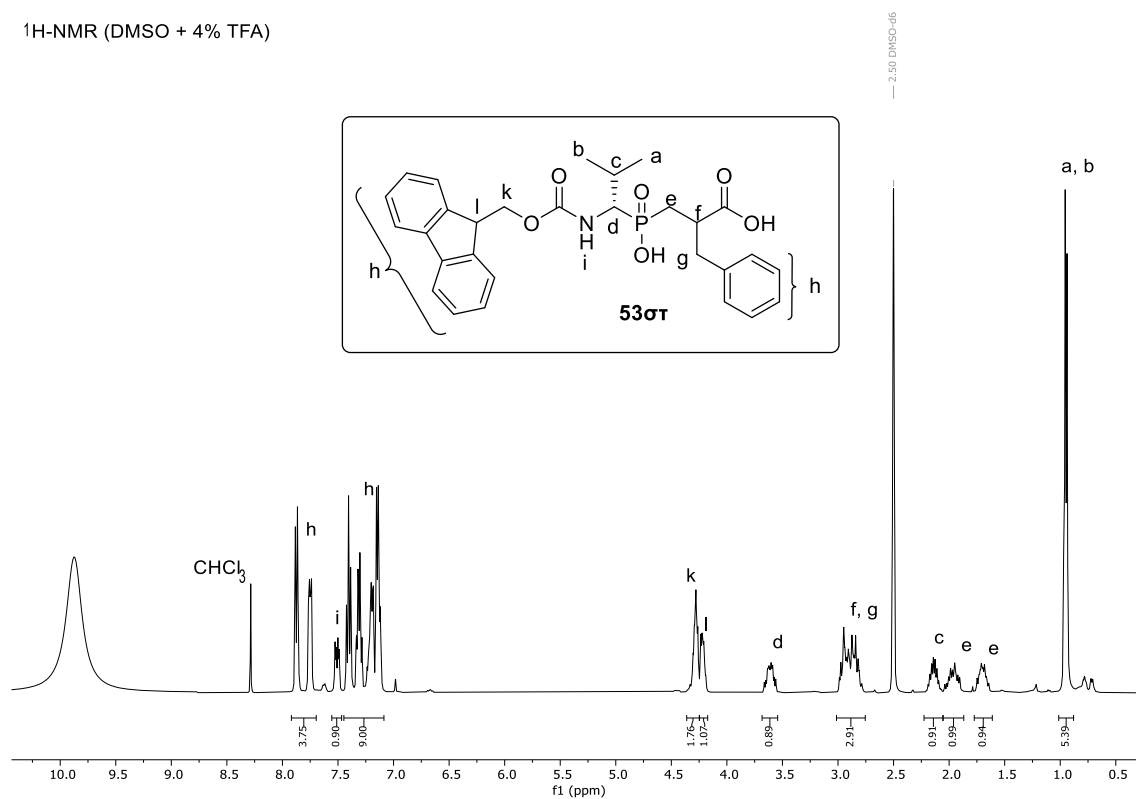
¹H-NMR (DMSO)



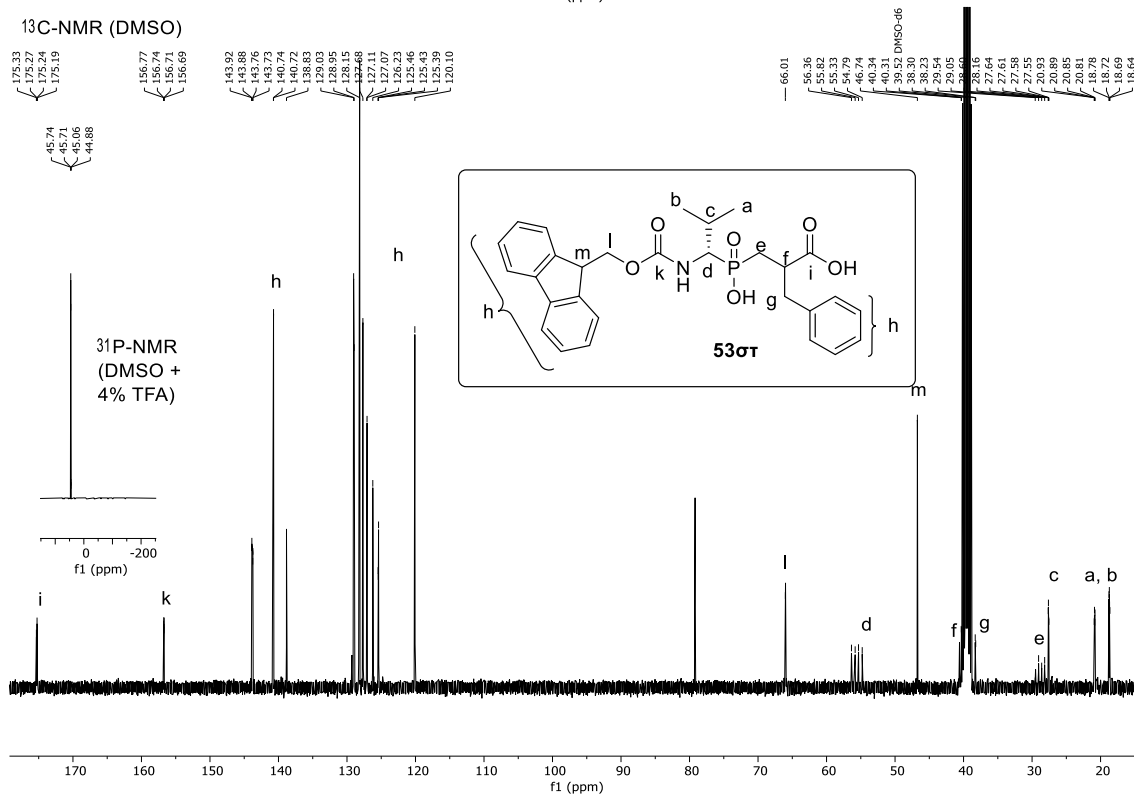
¹³C-NMR (DMSO)



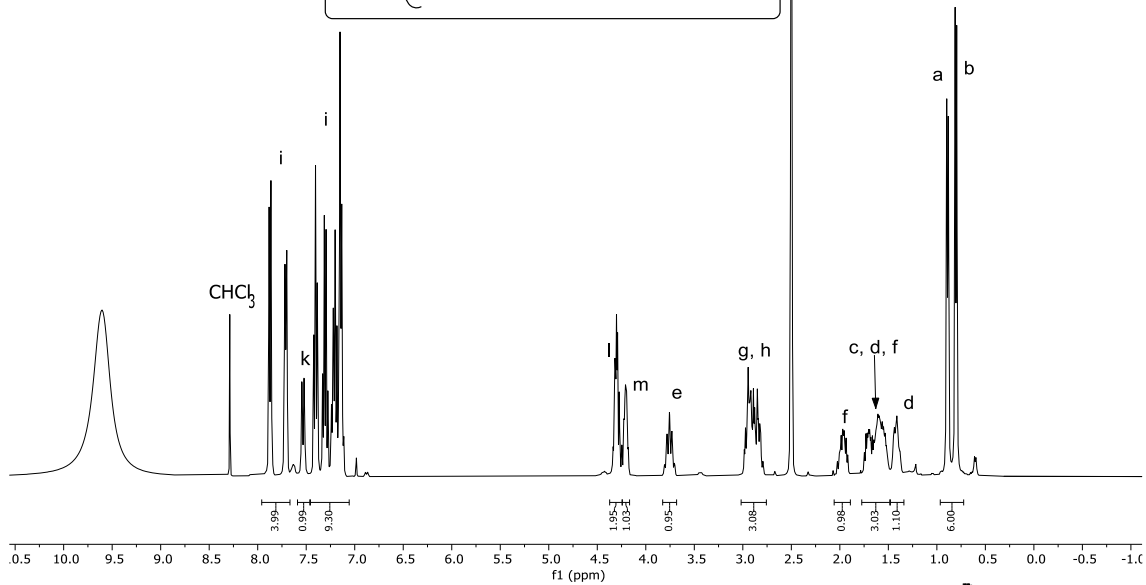
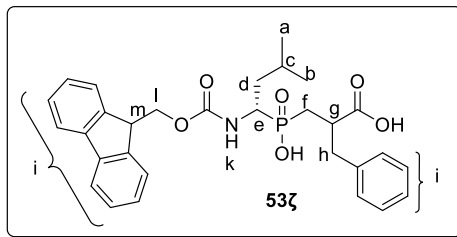
¹H-NMR (DMSO + 4% TFA)



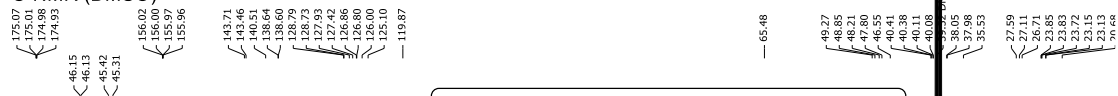
¹³C-NMR (DMSO)



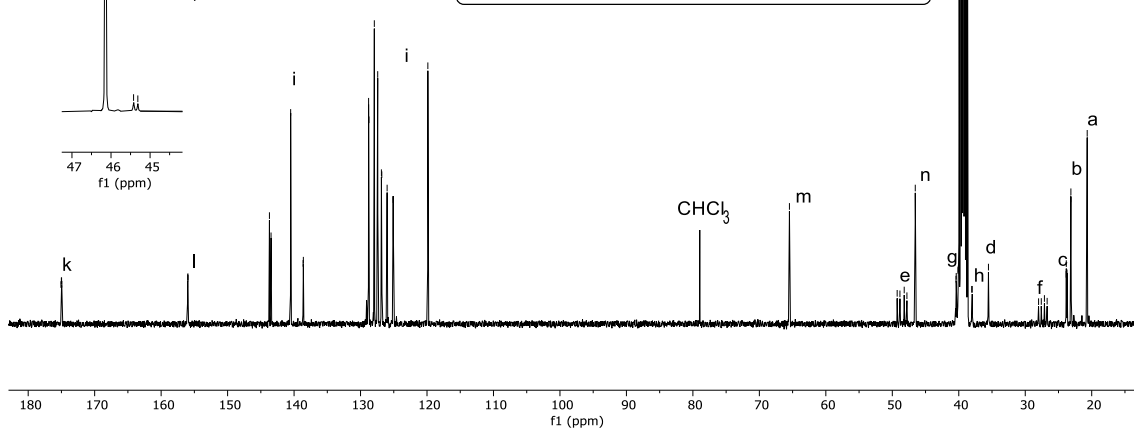
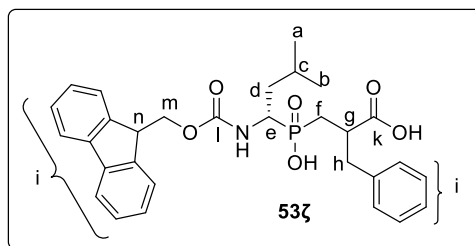
¹H-NMR (DMSO + 4% TFA)



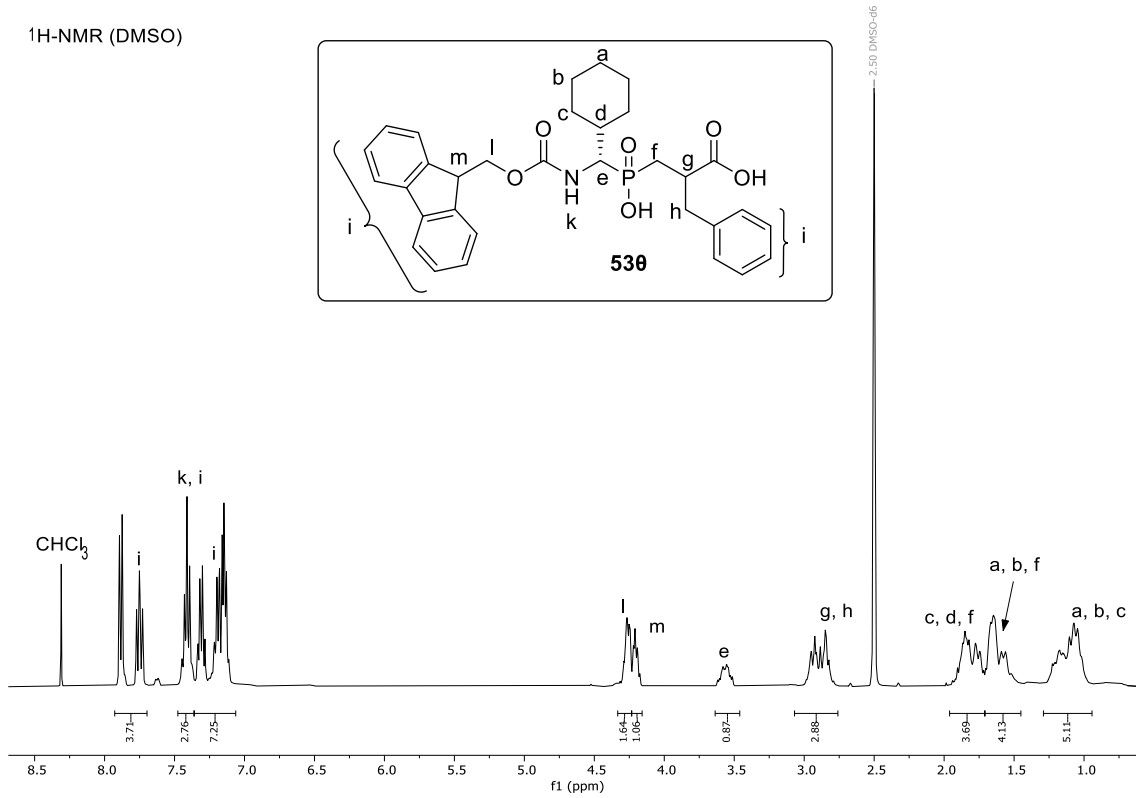
¹³C-NMR (DMSO)



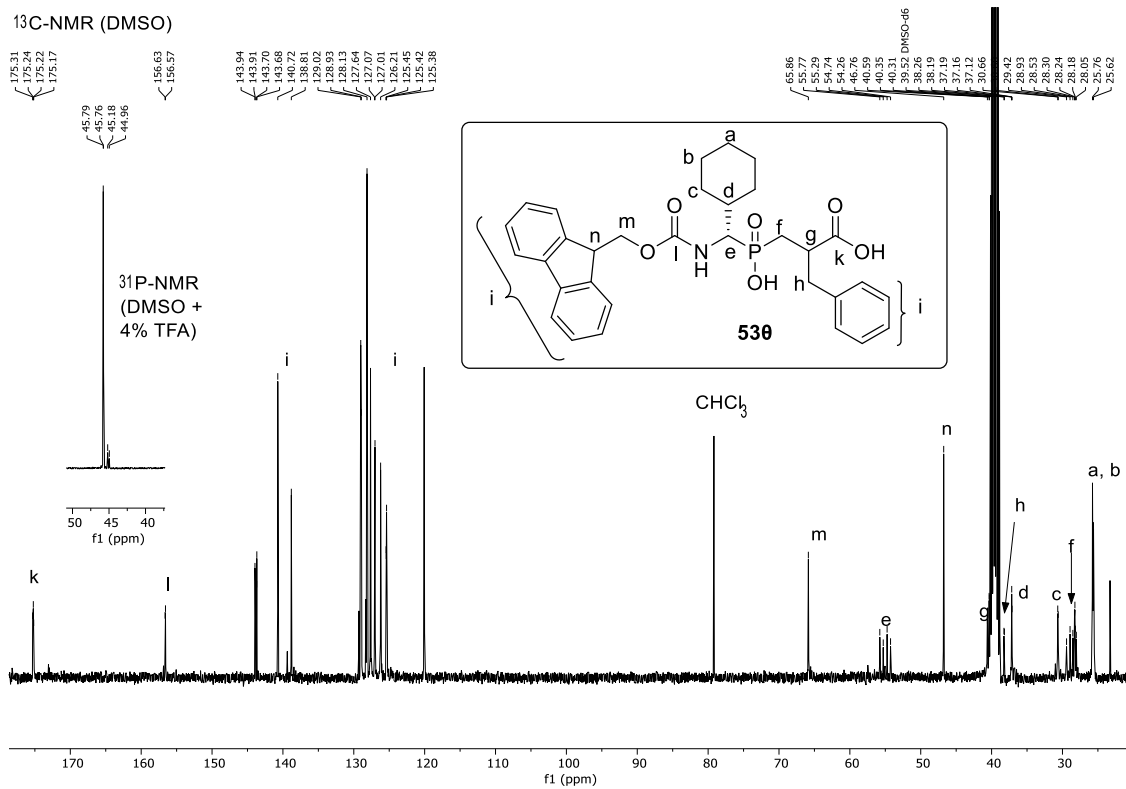
³¹P-NMR (DMSO + 4% TFA)



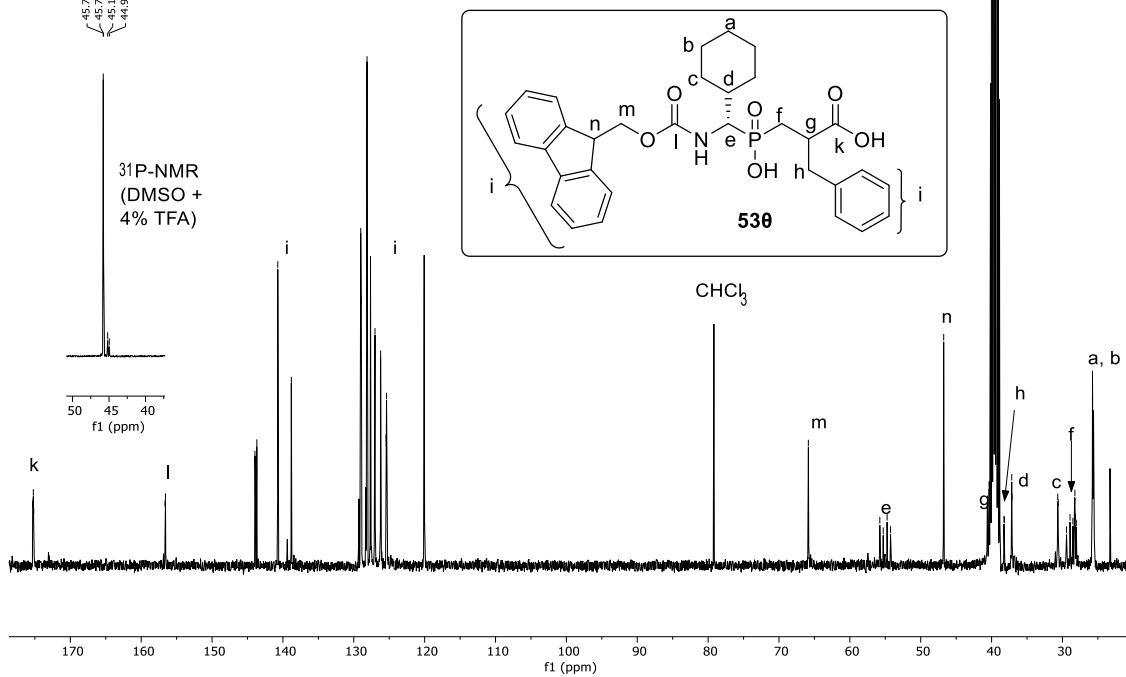
¹H-NMR (DMSO)



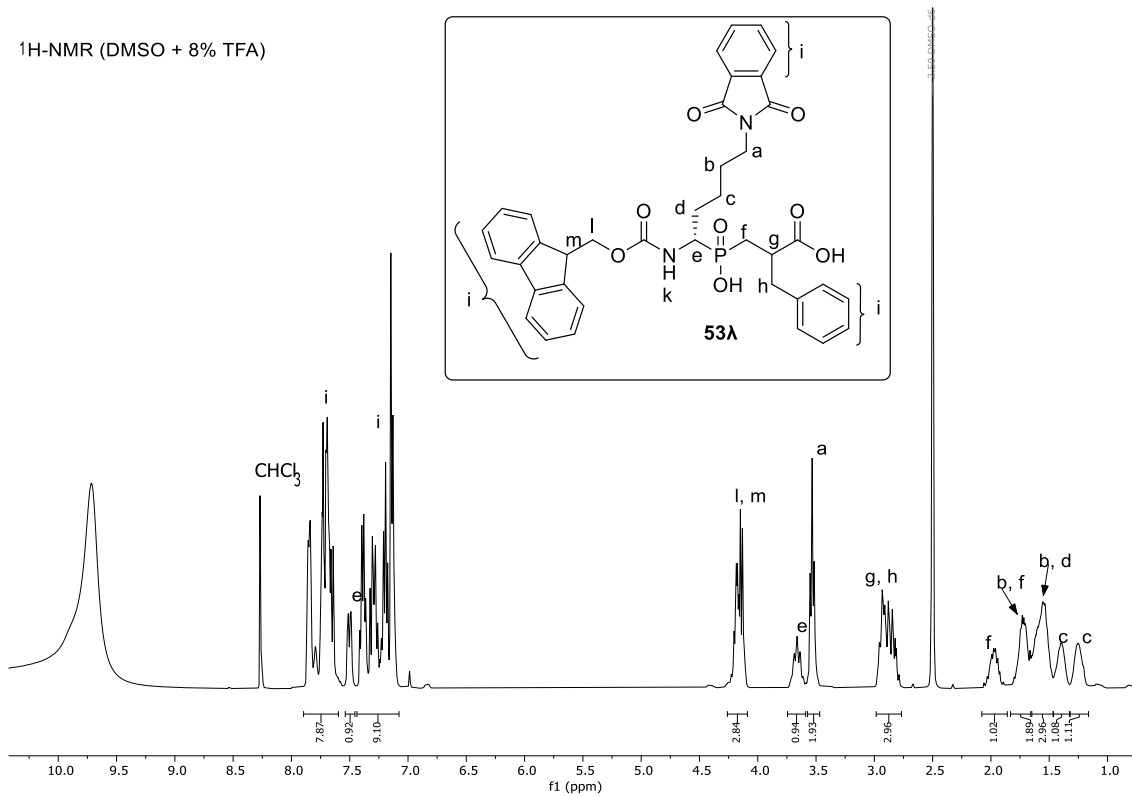
¹³C-NMR (DMSO)



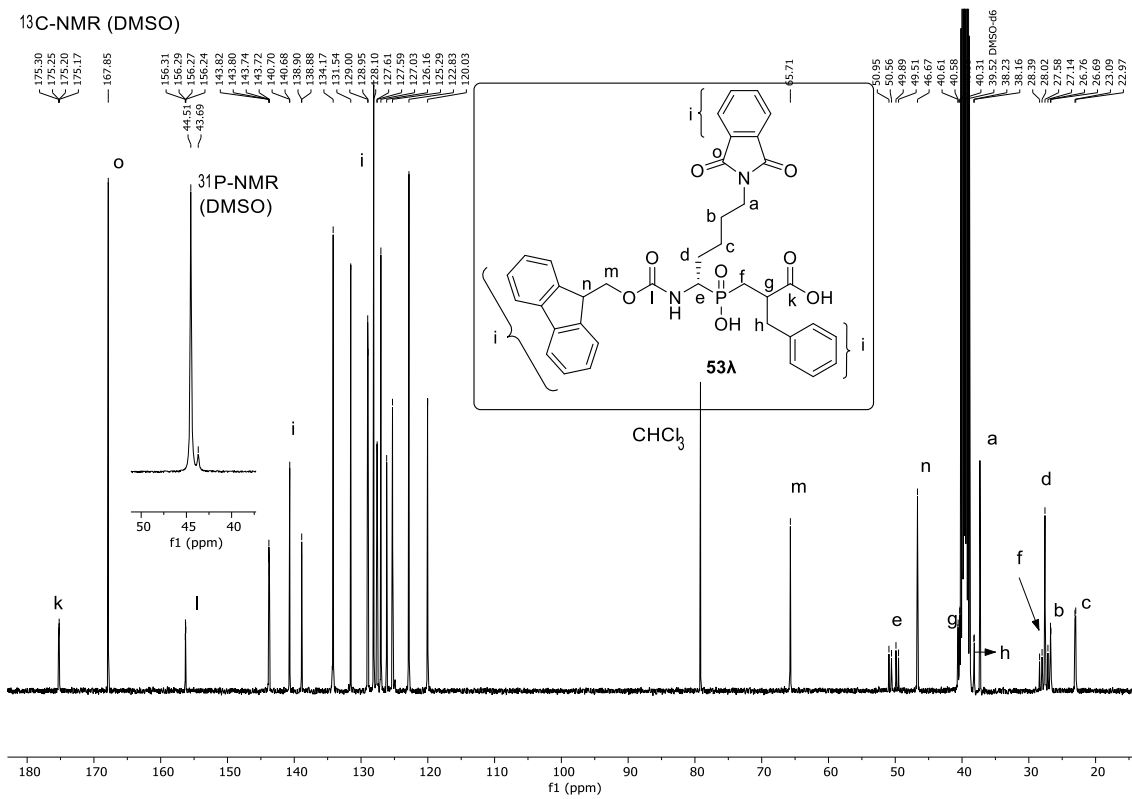
³¹P-NMR (DMSO + 4% TFA)



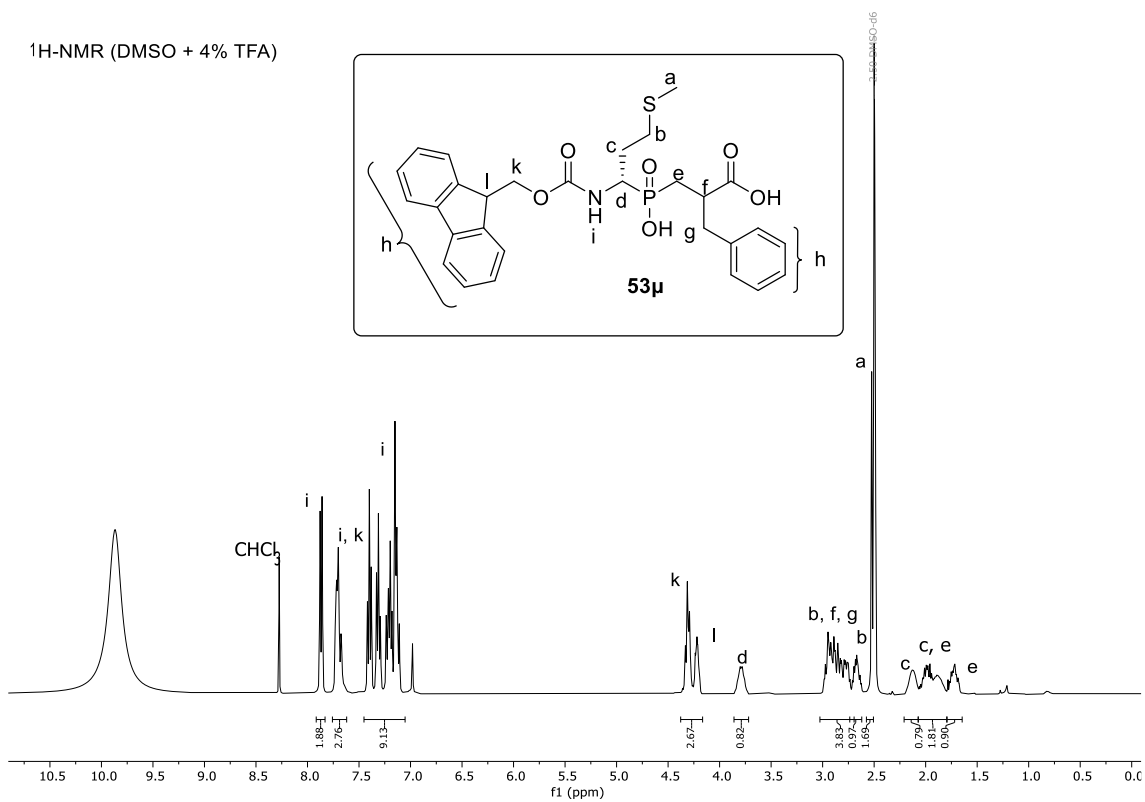
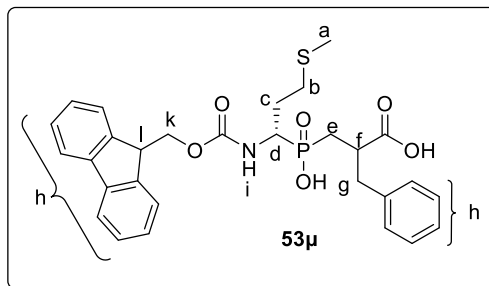
¹H-NMR (DMSO + 8% TFA)



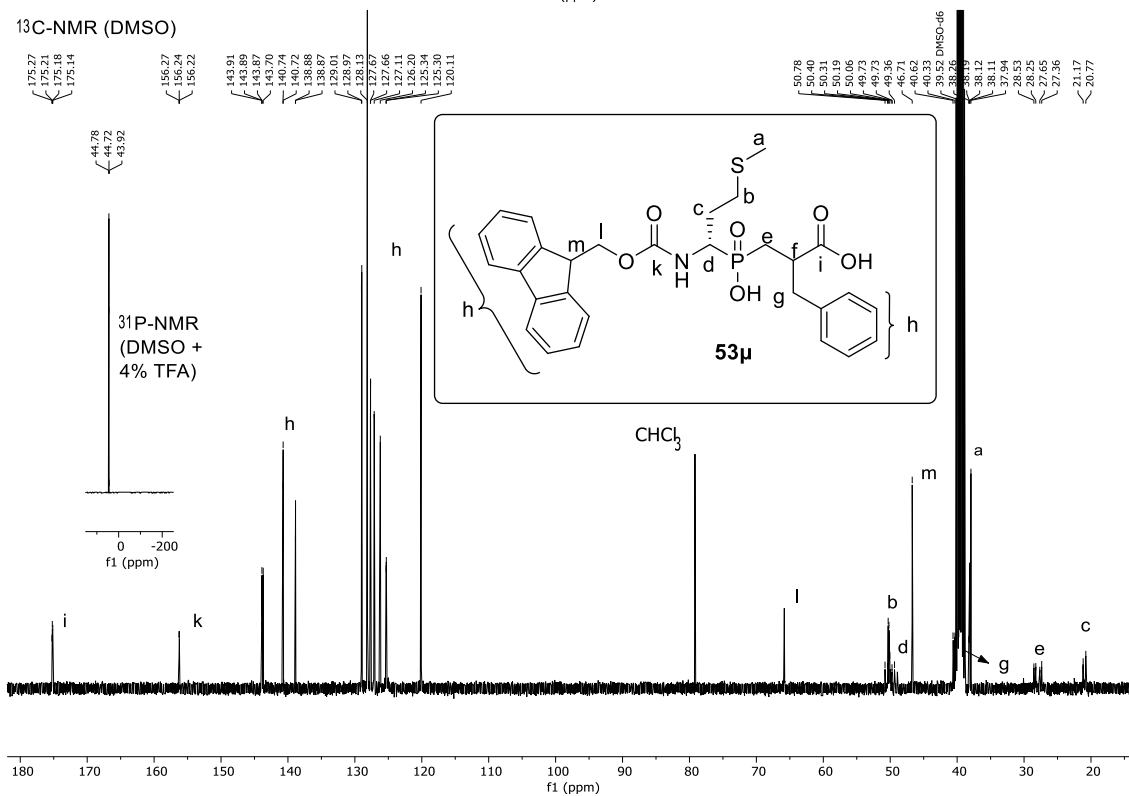
¹³C-NMR (DMSO)



¹H-NMR (DMSO + 4% TFA)

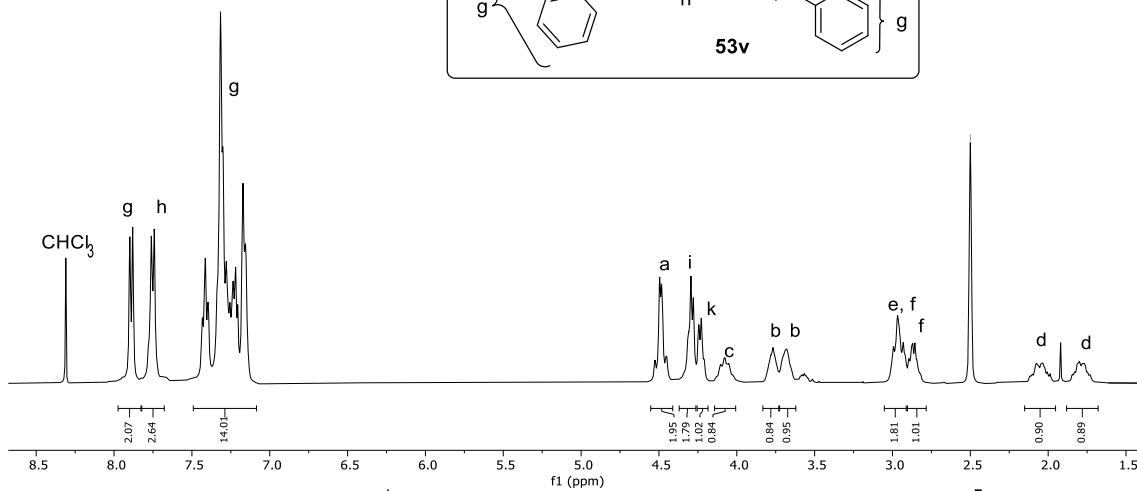
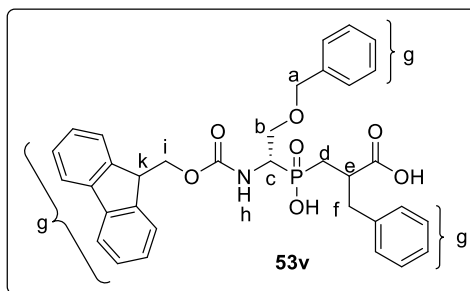


¹³C-NMR (DMSO)

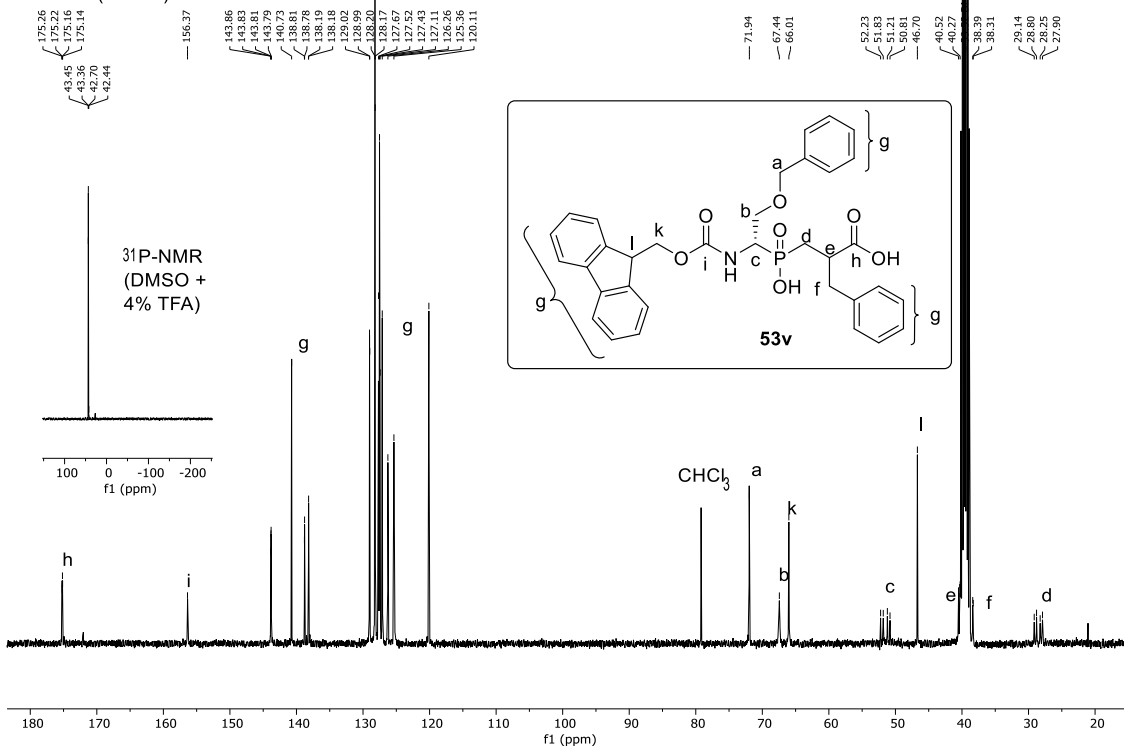


¹H-NMR (DMSO)

— 2.50 DMSO-d6



¹³C-NMR (DMSO)



ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- [1] Puente, X. S., Sanchez, L. M., Overall, C. M., and Lopez-Otin, C. Human and Mouse Proteases: A Comparative Genomic Approach, *Nat. Rev. Genet.*, **2003**, *4*, 544-558.
- [2] Stocker, W., Grams, F., Baumann, U., Reinemer, P., Gomis-Ruth, F. X., McKay, D. B., and Bode, W. The Metzincins--Topological and Sequential Relations between the Astacins, Adamalysins, Serralysins, and Matrixins (Collagenases) Define a Superfamily of Zinc-Peptidases, *Protein Sci.*, **1995**, *4*, 823-840.
- [3] Rawlings, N. D., and Barrett, A. J. Evolutionary Families of Metallopeptidases, *Methods Enzymol.*, **1995**, *248*, 183-228.
- [4] Wolfenden, R. Transition State Analogues for Enzyme Catalysis, *Nature*, **1969**, *223*, 704-705.
- [5] Lienhard, G. E. Enzymatic Catalysis and Transition-State Theory, *Science*, **1973**, *180*, 149-154.
- [6] Grams, F., Dive, V., Yiotakis, A., Yiallourous, I., Vassiliou, S., Zwilling, R., Bode, W., and Stocker, W. Structure of Astacin with a Transition-State Analogue Inhibitor, *Nat. Struct. Biol.*, **1996**, *3*, 671-675.
- [7] Georgiadis, D., and Dive, V. Phosphinic Peptides as Potent Inhibitors of Zinc-Metalloproteases, *Top. Curr. Chem.*, **2015**, *360*, 1-38.
- [8] Mucha, A., Kafarski, P., and Berlicki, L. Remarkable Potential of the Alpha-Aminophosphonate/Phosphinate Structural Motif in Medicinal Chemistry, *J. Med. Chem.*, **2011**, *54*, 5955-5980.
- [9] Dive, V., Georgiadis, D., Matziari, M., Makaritis, A., Beau, F., Cuniasse, P., and Yiotakis, A. Phosphinic Peptides as Zinc Metalloproteinase Inhibitors, *Cell. Mol. Life Sci.*, **2004**, *61*, 2010-2019.
- [10] Dive, V., Lucet-Levannier, K., Georgiadis, D., Cotton, J., Vassiliou, S., Cuniasse, P., and Yiotakis, A. Phosphinic Peptide Inhibitors as Tools in the Study of the Function of Zinc Metallopeptidases, *Biochem. Soc. Trans.*, **2000**, *28*, 455-460.
- [11] Collinsova, M., and Jiracek, J. Phosphinic Acid Compounds in Biochemistry, Biology and Medicine, *Curr. Med. Chem.*, **2000**, *7*, 629-647.
- [12] Dive, V., Yiotakis, A., Nicolaou, A., and Toma, F. Inhibition of Clostridium Histolyticum Collagenases by Phosphoramidate Peptide Inhibitors, *Eur. J. Biochem.*, **1990**, *191*, 685-689.
- [13] Hanson, J. E., Kaplan, A. P., and Bartlett, P. A. Phosphonate Analogs of Carboxypeptidase a Substrates Are Potent Transition-State Analog Inhibitors, *Biochemistry*, **1989**, *28*, 6294-6305.
- [14] Mookhtiar, K. A., Marlowe, C. K., Bartlett, P. A., and Van Wart, H. E. Phosphoramidate Inhibitors of Human Neutrophil Collagenase, *Biochemistry*, **1987**, *26*, 1962-1965.
- [15] Yiotakis, A., Georgiadis, D., Matziari, M., Makaritis, A., and Dive, V. Phosphinic Peptides: Synthetic Approaches and Biochemical Evaluation as Zn-Metalloprotease Inhibitors, *Curr. Org. Chem.*, **2004**, *8*, 1135-1158.
- [16] Visse, R., and Nagase, H. Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases, *Circ. Res.*, **2003**, *92*, 827-839.
- [17] Overall, C. M., and Lopez-Otin, C. Strategies for Mmp Inhibition in Cancer: Innovations for the Post-Trial Era, *Nat. Rev. Cancer*, **2002**, *2*, 657-672.
- [18] Kessenbrock, K., Plaks, V., and Werb, Z. Matrix Metalloproteinases: Regulators of the Tumor Microenvironment, *Cell*, **2010**, *141*, 52-67.
- [19] Nian-Guang, L., Zhi-Hao, S., Yu-Ping, T., and Jin-Ao, D. Selective Matrix Metalloproteinase Inhibitors for Cancer, *Curr. Med. Chem.*, **2009**, *16*, 3805-3827.

- [20] Konstantinopoulos, P. A., Karamouzis, M. V., Papatsoris, A. G., and Papavassiliou, A. G. Matrix Metalloproteinase Inhibitors as Anticancer Agents, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **2008**, *40*, 1156-1168.
- [21] Malemud, C. J. Matrix Metalloproteinases (Mmps) in Health and Disease: An Overview, *Front. Biosci.*, **2006**, *11*, 1696-1701.
- [22] Coussens, L. M., Fingleton, B., and Matrisian, L. M. Matrix Metalloproteinase Inhibitors and Cancer: Trials and Tribulations, *Science*, **2002**, *295*, 2387-2392.
- [23] Cuniasse, P., Devel, L., Makaritis, A., Beau, F., Georgiadis, D., Matziari, M., Yiotakis, A., and Dive, V. Future Challenges Facing the Development of Specific Active-Site-Directed Synthetic Inhibitors of Mmps, *Biochimie*, **2005**, *87*, 393-402.
- [24] Makaritis, A., Georgiadis, D., Dive, V., and Yiotakis, A. Diastereoselective Solution and Multipin-Based Combinatorial Array Synthesis of a Novel Class of Potent Phosphinic Metalloprotease Inhibitors, *Chem. Eur. J.*, **2003**, *9*, 2079-2094.
- [25] Czarny, B., Stura, E. A., Devel, L., Vera, L., Cassar-Lajeunesse, E., Beau, F., Calderone, V., Fragai, M., Luchinat, C., and Dive, V. Molecular Determinants of a Selective Matrix Metalloprotease-12 Inhibitor: Insights from Crystallography and Thermodynamic Studies, *J. Med. Chem.*, **2013**, *56*, 1149-1159.
- [26] Vera, L., Czarny, B., Georgiadis, D., Dive, V., and Stura, E. A. Practical Use of Glycerol in Protein Crystallization Published as Part of the Crystal Growth & Design Virtual Special Issue on the 13th International Conference on the Crystallization of Biological Macromolecules (Iccbm13), *Cryst. Growth Des.*, **2011**, *11*, 2755-2762.
- [27] Tochowicz, A., Maskos, K., Huber, R., Oltenfreiter, R., Dive, V., Yiotakis, A., Zanda, M., Bode, W., and Goettig, P. Crystal Structures of Mmp-9 Complexes with Five Inhibitors: Contribution of the Flexible Arg424 Side-Chain to Selectivity, *J. Mol. Biol.*, **2007**, *371*, 989-1006.
- [28] Soffer, R. L. Angiotensin Converting Enzyme and the Regulation of Vasoactive Peptides, *Annu. Rev. Biochem.*, **1976**, *Vol. 45*, 73-94.
- [29] Turner, A. J., and Hooper, N. M. The Angiotensin-Converting Enzyme Gene Family: Genomics and Pharmacology, *Trends Pharmacol. Sci.*, **2002**, *23*, 177-183.
- [30] Dive, V., Cotton, J., Yiotakis, A., Michaud, A., Vassiliou, S., Jiracek, J., Vazeux, G., Chauvet, M. T., Cuniasse, P., and Corvol, P. Rxp 407, a Phosphinic Peptide, Is a Potent Inhibitor of Angiotensin I Converting Enzyme Able to Differentiate between Its Two Active Sites, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1999**, *96*, 4330-4335.
- [31] Georgiadis, D., Cuniasse, P., Cotton, J., Yiotakis, A., and Dive, V. Structural Determinants of Rxpa380, a Potent and Highly Selective Inhibitor of the Angiotensin-Converting Enzyme C-Domain, *Biochemistry*, **2004**, *43*, 8048-8054.
- [32] Anthony, C. S., Corradi, H. R., Schwager, S. L. U., Redelinghuys, P., Georgiadis, D., Dive, V., Acharya, K. R., and Sturrock, E. D. The N Domain of Human Angiotensin-I-Converting Enzyme: The Role of N-Glycosylation and the Crystal Structure in Complex with an N Domain-Specific Phosphinic Inhibitor, Rxp407, *J. Biol. Chem.*, **2010**, *285*, 35685-35693.
- [33] Kröger, W. L., Douglas, R. G., O'Neill, H. G., Dive, V., and Sturrock, E. D. Investigating the Domain Specificity of Phosphinic Inhibitors Rxpa380 and Rxp407 in Angiotensin-Converting Enzyme, *Biochemistry*, **2009**, *48*, 8405-8412.
- [34] Corradi, H. R., Chitapi, I., Sewell, B. T., Georgiadis, D., Dive, V., Sturrock, E. D., and Acharya, K. R. The Structure of Testis Angiotensin-Converting Enzyme in Complex with the C Domain-Specific Inhibitor Rxpa380, *Biochemistry*, **2007**, *46*, 5473-5478.
- [35] Doherty, A. M. Endothelin: A New Challenge, *J. Med. Chem.*, **1992**, *35*, 1493-1508.
- [36] Jullien, N., Makritis, A., Georgiadis, D., Beau, F., Yiotakis, A., and Dive, V. Phosphinic Tripeptides as Dual Angiotensin-Converting Enzyme C-Domain and Endothelin-Converting Enzyme-1 Inhibitors, *J. Med. Chem.*, **2010**, *53*, 208-220.

- [37] Mucha, A., Drag, M., Dalton, J. P., and Kafarski, P. Metallo-Aminopeptidase Inhibitors, *Biochimie*, **2010**, 92, 1509-1529.
- [38] Zhang, X., and Xu, W. Aminopeptidase N (Apn/Cd13) as a Target for Anti-Cancer Agent Design, *Curr. Med. Chem.*, **2008**, 15, 2850-2865.
- [39] Luan, Y., and Xu, W. The Structure and Main Functions of Aminopeptidase N, *Curr. Med. Chem.*, **2007**, 14, 639-647.
- [40] Matsui, M., Fowler, J. H., and Walling, L. L. Leucine Aminopeptidases: Diversity in Structure and Function, *Biol. Chem.*, **2006**, 387, 1535-1544.
- [41] Mucha, A., Lämmerhofer, M., Lindner, W., Pawelczak, M., and Kafarski, P. Individual Stereoisomers of Phosphinic Dipeptide Inhibitor of Leucine Aminopeptidase, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, 18, 1550-1554.
- [42] Grembecka, J., Mucha, A., Cierpicki, T., and Kafarski, P. The Most Potent Organophosphorus Inhibitors of Leucine Aminopeptidase. Structure-Based Design, Chemistry, and Activity, *J. Med. Chem.*, **2003**, 46, 2641-2655.
- [43] Stack, C., Lowther, J., Cunningham, E., Donnelly, S., Trenholme, K., Skinner-Adams, T., Teuscher, F., Grembecka, J., Mucha, A., Kafarski, P., Lua, L., Bell, A., and Dalton, J. Characterization of the Plasmodium Falciparum M17 Leucyl Aminopeptidase - a Protease Involved in Amino Acid Regulation with Potential for Antimalarial Drug Development, *J. Biol. Chem.*, **2007**, 282, 2069-2080.
- [44] Skinner-Adams, T. S., Stack, C. M., Trenholme, K. R., Brown, C. L., Grembecka, J., Lowther, J., Mucha, A., Drag, M., Kafarski, P., McGowan, S., Whisstock, J. C., Gardiner, D. L., and Dalton, J. P. Plasmodium Falciparum Neutral Aminopeptidases: New Targets for Anti-Malarials, *Trends Biochem. Sci.*, **2010**, 35, 53-61.
- [45] Skinner-Adams, T. S., Lowther, J., Teuscher, F., Stack, C. M., Grembecka, J., Mucha, A., Kafarski, P., Trenholme, K. R., Dalton, J. P., and Gardiner, D. L. Identification of Phosphinate Dipeptide Analog Inhibitors Directed against the Plasmodium Falciparum M17 Leucine Aminopeptidase as Lead Antimalarial Compounds, *J. Med. Chem.*, **2007**, 50, 6024-6031.
- [46] Samuelsson, B., Dahlen, S. E., Lindgren, J. A., Rouzer, C. A., and Serhan, C. N. Leukotrienes and Lipoxins: Structures, Biosynthesis, and Biological Effects, *Science*, **1987**, 237, 1171-1176.
- [47] Thunnissen, M. M., Nordlund, P., and Haeggstrom, J. Z. Crystal Structure of Human Leukotriene a(4) Hydrolase, a Bifunctional Enzyme in Inflammation, *Nat. Struct. Biol.*, **2001**, 8, 131-135.
- [48] Tholander, F., Muroya, A., Roques, B. P., Fournie-Zaluski, M. C., Thunnissen, M. M., and Haeggstrom, J. Z. Structure-Based Dissection of the Active Site Chemistry of Leukotriene A4 Hydrolase: Implications for M1 Aminopeptidases and Inhibitor Design, *Chem. Biol.*, **2008**, 15, 920-929.
- [49] Stratikos, E. Regulating Adaptive Immune Responses Using Small Molecule Modulators of Aminopeptidases That Process Antigenic Peptides, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2014**, 23C, 1-7.
- [50] Stratikos, E. Modulating Antigen Processing for Cancer Immunotherapy, *Oncoimmunology*, **2014**, 3, e27568-e27568.
- [51] Zervoudi, E., Saridakis, E., Birtley, J. R., Seregin, S. S., Reeves, E., Kokkala, P., Aldhamen, Y. A., Amalfitano, A., Mavridis, I. M., James, E., Georgiadis, D., and Stratikos, E. Rationally Designed Inhibitor Targeting Antigentrimming Aminopeptidases Enhances Antigen Presentation and Cytotoxic T-Cell Responses, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2013**, 110, 19890-19895.
- [52] Kokkala, P., Mpakali, A., Mauvais, F. X., Papakyriakou, A., Daskalaki, I., Petropoulou, I., Kavvalou, S., Papathanasopoulou, M., Agrotis, S., Fonsou, T. M., van Endert, P., Stratikos, E., and Georgiadis, D. Optimization and Structure-Activity Relationships of

- Phosphinic Pseudotriptide Inhibitors of Aminopeptidases That Generate Antigenic Peptides, *J. Med. Chem.*, **2016**, *59*, 9107-9123.
- [53] Mucha, A. Synthesis and Modifications of Phosphinic Dipeptide Analogues, *Molecules*, **2012**, *17*, 13530-13568.
- [54] Thottathil, J. K., Ryono, D. E., Przybyla, C. A., Moniot, J. L., and Neubeck, R. Preparation of Phosphinic Acids: Michael Additions of Phosphonous Acids/Esters to Conjugated Systems, *Tetrahedron Lett.*, **1984**, *25*, 4741-4744.
- [55] McKittrick, B. A., Stamford, A. W., Weng, X., Ma, K., Chackalamannil, S., Czarniecki, M., Cleven, R. M., and Fawzi, A. B. Design and Synthesis of Phosphinic Acids That Triply Inhibit Endothelin Converting Enzyme, Angiotensin Converting Enzyme and Neutral Endopeptidase 24.11, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1996**, *6*, 1629-1634.
- [56] Miller, D. J., Hammond, S. M., Anderluzzi, D., and Bugg, T. D. H. Aminoalkylphosphinate Inhibitors of D-Ala-D-Ala Adding Enzyme, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1998**, 131-142.
- [57] Chen, S., and Coward, J. K. A General Method for the Synthesis of N-Protected A-Aminoalkylphosphinic Acids, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 4335-4338.
- [58] Matziari, M., and Yiotakis, A. Shortcut to Fmoc-Protected Phosphinic Pseudodipeptidic Blocks, *Org. Lett.*, **2005**, *7*, 4049-4052.
- [59] Rozhko, L. F., and Ragulin, V. V. Method for the Synthesis of Phosphinic Acids from Hypophosphites V. The Synthesis of Pseudo-A,A-Dipeptides, *Amino Acids*, **2005**, *29*, 139-143.
- [60] Dmitriev, M. E., and Ragulin, V. V. New Opinions on the Amidoalkylation of Hydrophosphorylic Compounds, *Tetrahedron Lett.*, **2010**, *51*, 2613-2616.
- [61] Dmitriev, M. E., and Ragulin, V. V. Arbuzov-Type Reaction of Acylphosponites and N-Alkoxy carbonylimine Cations Generated in Situ with Trifluoroacetic Anhydride, *Tetrahedron Lett.*, **2012**, *53*, 1634-1636.
- [62] Pudovik, A., in *Dokl. Akad. Nauk SSSR, Vol. 83*, **1952**, pp. 865-869.
- [63] Pudovik, A., and Konovalova, I. Addition Reactions of Esters of Phosphorus (Iii) Acids with Unsaturated Systems, *Synthesis*, **1979**, *1979*, 81-96.
- [64] Kobayashi, S., and Ishitani, H. Catalytic Enantioselective Addition to Imines, *Chem. Rev.*, **1999**, *99*, 1069-1094.
- [65] Szabó, A., Jászay, Z. M., Hegedűs, L., Tőke, L., and Petneházy, I. The First Enantioselective Synthesis of A-Aminophosphinates, *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 4603-4606.
- [66] Lewkowski, J., Karpowicz, R., and Rybarczyk, M. Diastereoselective Addition of Hypophosphorous Acid to N-(R)-A-Methylbenzyl-Substituted Schiff Bases, *Heteroat. Chem.*, **2008**, *19*, 35-37.
- [67] Goldeman, W., and Boduszek, B., *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.*, **2009**, *184*, 1413.
- [68] Zhang, D., and Yuan, C. A Concise and First Synthesis of A-Aminophosphinates with Two Stereogenic Atoms Leading to Optically Pure A-Amino-H-Phosphinic Acids, *Chem. Eur. J.*, **2008**, *14*, 6049-6052.
- [69] Yao, Q., and Yuan, C. Enantioselective Synthesis of H-Phosphinic Acids Bearing Natural Amino Acid Residues, *J. Org. Chem.*, **2013**, *78*, 6962-6974.
- [70] Fu, X., Loh, W.-T., Zhang, Y., Chen, T., Ma, T., Liu, H., Wang, J., and Tan, C.-H. Chiral Guanidinium Salt Catalyzed Enantioselective Phospha-Mannich Reactions, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, *48*, 7387-7390.
- [71] Meng, F., and Xu, J. Direct Synthesis of Phosphinopeptides Containing C-Terminal A-Aminoalkylphosphinic Acids, *Amino Acids*, **2010**, *39*, 533-538.

- [72] Meng, F., and Xu, J. Synthesis of Phosphinodipeptides Via the Pseudo-Four-Component Condensation Reaction, *Tetrahedron*, **2013**, 69, 4944-4952.
- [73] Brovarets, V. S., Zyuz, K. V., Budnik, L. V., Solodenko, V. A., and Drach, B. S. New Approach to the Synthesis of 1-Acylaminoalkenylphosphonic Acids, Their Analogs and Derivatives. , *Zh. Obs. Khim.*, **1993**, 63, 1259-1265.
- [74] Dwars, T., Schmidt, U., Fischer, C., Grassert, I., Kempe, R., Fröhlich, R., Drauz, K., and Oehme, G. Synthesis of Optically Active α -Amino- Phosphinic Acids by Catalytic Asymmetric Hydrogenation in Organic Solvents and Aqueous Micellar Media, *Angew. Chem. Int. Ed*, **1998**, 37, 2851-2853.
- [75] Zoń, J. A Simple Preparation of Diethyl 1-Acylamino-1-Ethenephosphonates, *Synthesis*, **1981**, 1981, 324-324.
- [76] Lefevre, N., Brayer, J.-L., Folléas, B., and Darses, S. Chiral α -Amino Phosphonates Via Rhodium-Catalyzed Asymmetric 1,4-Addition Reactions, *Org. Lett.*, **2013**, 15, 4274-4276.
- [77] Yamagishi, T., Mori, J. I., Haruki, T., and Yokomatsu, T. A Chemo-Enzymatic Synthesis of Optically Active 1,1- Diethoxyethyl(Aminomethyl)Phosphinates: Useful Chiral Building Blocks for Phosphinyl Dipeptide Isosteres, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2011**, 22, 1358-1363.
- [78] Baylis, E. K., Campbell, C. D., and Dingwall, J. G. 1-Aminoalkylphosphonous Acids. Part 1. Isosteres of the Protein Amino Acids, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1984**, 2845-2853.
- [79] Khomutov, R. M., Osipova, T. I., Khurs, E. N., and Dzhavakhiya, V. G. Synthesis of Alafosfalin and Its Phosphinic Analogue and Their Fungicidal Activity, *Mendeleev Commun.*, **2008**, 18, 295-296.
- [80] Matziari, M., Dellis, D., Dive, V., Yiotakis, A., and Samios, J. Conformational and Solvation Studies Via Computer Simulation of the Novel Large Scale Diastereoselectively Synthesized Phosphinic Mmp Inhibitor Rxp03 Diluted in Selected Solvents, *J. Phys. Chem. B*, **2010**, 114, 421-428.
- [81] Chen, H., Noble, F., Roques, B. P., and Fournié-Zaluski, M. C. Long Lasting Antinociceptive Properties of Enkephalin Degrading Enzyme (Nep and Apn) Inhibitor Prodrugs, *J. Med. Chem.*, **2001**, 44, 3523-3530.
- [82] Lämmerhofer, M., Hebenstreit, D., Gavioli, E., Lindner, W., Mucha, A., Kafarski, P., and Wiczorek, P. High-Performance Liquid Chromatographic Enantiomer Separation and Determination of Absolute Configurations of Phosphinic Acid Analogues of Dipeptides and Their α -Aminophosphinic Acid Precursors, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2003**, 14, 2557-2565.
- [83] Preinerstorfer, B., Lubda, D., Mucha, A., Kafarski, P., Lindner, W., and Lämmerhofer, M. Stereoselective Separations of Chiral Phosphinic Acid Pseudodipeptides by Cec Using Silica Monoliths Modified with an Anion-Exchange-Type Chiral Selector, *Electrophoresis*, **2006**, 27, 4312-4320.
- [84] Rozhko, L. F., and Ragulun, V. V. α -Hydroxy- α -Aminophosphinic Acids: I. Synthesis of a New Analog of Phenylglycine and Its Enantiomers, *Russ. J. Gen. Chem.*, **2005**, 75, 533-536.
- [85] V. Alferov, K., G. Faleev, N., N. Khurs, E., N. Zhukov, Y., and M. Khomutov, R. A Phosphinic Analogue of Methionine Is a Substrate of L-Methionine- Γ -Lyase and Induces the Synthesis of the Enzyme Incitrobacter Intermediuscells, *Mendeleev Commun.*, **2002**, 12, 2-3.
- [86] Ordonez, M., Viveros-Ceballos, J. L., Cativiela, C., and Arizpe, A. Stereoselective Synthesis of α -Aminophosphonic Acids Analogs of the 20 Proteinogenic α -Amino Acids, *Curr. Org. Synth.*, **2012**, 9, 310-341.

- [87] Pyun, H.-J., Clarke, M. O., Cho, A., Casarez, A., Ji, M., Fardis, M., Pastor, R., Sheng, X. C., and Kim, C. U. Synthesis of 1-Amino-2-Vinylcyclopropane-1-Phosphinates. Conversion of a Phosphonate to Phosphinates, *Tetrahedron Lett.*, **2012**, 53, 2360-2363.
- [88] Clarke, M. O., Chen, X., Cho, A., Delaney, W. E., Doerffler, E., Fardis, M., Ji, M., Mertzman, M., Pakdaman, R., Pyun, H.-J., Rowe, T., Yang, C. Y., Sheng, X. C., and Kim, C. U. Novel, Potent, and Orally Bioavailable Phosphinic Acid Inhibitors of the Hepatitis C Virus Ns3 Protease, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2011**, 21, 3568-3572.
- [89] Tibhe, G. D., Lagunas-Rivera, S., Vargas-Diaz, E., Garcia-Barradas, O., and Ordoñez, M. Uncatalyzed One-Pot Diastereoselective Synthesis of α -Amino Phosphonates under Solvent-Free Conditions, *Eur. J. Org. Chem.*, **2010**, 2010, 6573-6581.
- [90] Skoreński, M., Oleksyszyn, J., and Sieńczyk, M. A Convenient Method for the One-Step Synthesis of Phosphonic Peptides, *Tetrahedron Lett.*, **2013**, 54, 4975-4977.
- [91] Ohara, M., Nakamura, S., and Shibata, N. Direct Enantioselective Three-Component Kabachnik–Fields Reaction Catalyzed by Chiral Bis(Imidazoline)-Zinc(II) Catalysts, *Adv. Synth. Catal.*, **2011**, 353, 3285-3289.
- [92] Zhou, X., Shang, D., Zhang, Q., Lin, L., Liu, X., and Feng, X. Enantioselective Three-Component Kabachnik–Fields Reaction Catalyzed by Chiral Scandium (III)–N, N'-Dioxide Complexes, *Org. Lett.*, **2009**, 11, 1401-1404.
- [93] Cheng, X., Goddard, R., Buth, G., and List, B. Direct Catalytic Asymmetric Three-Component Kabachnik–Fields Reaction, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, 47, 5079-5081.
- [94] Κοκκάλα, Π., Διδακτορική Διατριβή thesis, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (Αθήνα), **2019**.
- [95] Oppolzer, W., Chapuis, C., and Bernardinelli, G. Asymmetric Diels-Alder Reactions: Facile Preparation and Structure of Sulfonamido-Isobornyl Acrylates, *Tetrahedron Lett.*, **1984**, 25, 5885-5888.
- [96] Curran, D. P., Kim, B. H., Piyasena, H., Loncharich, R., and Houk, K. Asymmetric Induction in Nitrile Oxide Cycloadditions to Optically Active Acrylates. Comparisons of Acrylate Conformations in Thermal and Acid-Catalyzed 1, 3-Dipolar and Diels-Alder Cycloaddition Transition States, *J. Org. Chem.*, **1987**, 52, 2137-2141.
- [97] Oppolzer, W., Dudfield, P., Stevenson, T., and Godel, T. Camphorsulfonamide-Shielded, Asymmetric 1,4-Additions and Enolate Alkylations; Synthesis of a Southern Corn Rootworm Pheromone. Preliminary Communication, *Helv. Chim. Acta*, **1985**, 68, 212-215.
- [98] Oppolzer, W., and Marco-Contelles, J. Asymmetric and 'Anti'-Selective Aldolisations of Acetates and Propionates. Preliminary Communication, *Helv. Chim. Acta*, **1986**, 69, 1699-1703.
- [99] Chung, S.-K., and Kang, D.-H. Asymmetric Synthesis of α -Aminophosphonates Via Diastereoselective Addition of Phosphite to Chiral Imine Derivatives, *Tetrahedron: Asymmetry*, **1996**, 7, 21-24.
- [100] Cogan, D. A., Liu, G., Kim, K., Backes, B. J., and Ellman, J. A. Catalytic Asymmetric Oxidation of Tert-Butyl Disulfide. Synthesis of Tert-Butanesulfinamides, Tert-Butyl Sulfoxides, and Tert-Butanesulfinimines, *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, 120, 8011-8019.
- [101] Liu, G., Cogan, D. A., and Ellman, J. A. Catalytic Asymmetric Synthesis of Tert-Butanesulfinamide. Application to the Asymmetric Synthesis of Amines, *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, 119, 9913-9914.
- [102] Tang, T. P., and Ellman, J. A. The Tert-Butanesulfinyl Group: An Ideal Chiral Directing Group and Boc-Surrogate for the Asymmetric Synthesis and Applications of β -Amino Acids, *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 12-13.
- [103] Cogan, D. A., Liu, G., and Ellman, J. Asymmetric Synthesis of Chiral Amines by Highly Diastereoselective 1, 2-Additions of Organometallic Reagents to N-Tert-Butanesulfinyl Imines, *Tetrahedron*, **1999**, 55, 8883-8904.

- [104] Robak, M. T., Herbage, M. A., and Ellman, J. A. Synthesis and Applications of Tert-Butanesulfinamide, *Chem. Rev.*, **2010**, *110*, 3600-3740.
- [105] Liu, G., Cogan, D. A., Owens, T. D., Tang, T. P., and Ellman, J. A. Synthesis of Enantiomerically Pure N-Tert-Butanesulfinyl Imines (Tert-Butanesulfinimines) by the Direct Condensation of Tert-Butanesulfinamide with Aldehydes and Ketones, *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 1278-1284.
- [106] Chen, Q., and Yuan, C. A New and Convenient Asymmetric Synthesis of α -Amino- and α -Alkyl- α -Aminophosphonic Acids Using N-Tert-Butylsulfinyl Imines as Chiral Auxiliaries, *Synthesis*, **2007**, *2007*, 3779-3786.
- [107] Chen, Z., Li, J., and Yuan, C. A Versatile and Highly Stereoselective Synthesis of Diethyl (1-Aminoalkyl) Thiophosphonates, *Synthesis*, **2009**, *2009*, 3930-3940.
- [108] Khan, H. A., and Ellman, J. A. Asymmetric Synthesis of α -Aminophosphonate Esters by the Addition of Dialkyl Phosphites to Tert-Butanesulfinyl Imines, *Synthesis*, **2013**, *45*, 3147-3150.
- [109] Andreassen, T., Lorentzen, M., Hansen, L.-K., and Gautun, O. R. The Use of Two Optically Active N-Sulfinyl α -Imino Esters in the Stereoselective Aza-Diels–Alder Reaction, *Tetrahedron*, **2009**, *65*, 2806-2817.
- [110] Andreassen, T., Håland, T., Hansen, L. K., and Gautun, O. R. Asymmetric Aza-Diels–Alder Reactions of an N-Tert-Butanesulfinyl α -Imino Ester, *Tetrahedron Lett.*, **2007**, *48*, 8413-8415.
- [111] Jacobsen, M. F., and Skrydstrup, T. Asymmetric Mannich-Type Reactions for the Synthesis of Aspartic Acid Derivatives from Chiral N-Tert-Butanesulfinylimino Esters, *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 7112-7114.
- [112] Kummer, D. A., Chain, W. J., Morales, M. R., Quiroga, O., and Myers, A. G. Stereocontrolled Alkylative Construction of Quaternary Carbon Centers, *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 13231-13233.
- [113] Andrew Boyd, E., Corless, M., James, K., and Regan, A. C. A Versatile Route to Substituted Phosphinic Acids, *Tetrahedron Lett.*, **1990**, *31*, 2933-2936.
- [114] Lewis, F. W., Egron, G., and Grayson, D. H. Unexpected Formation of 10-Iodo- and 10-Chlorocamphor under Halosulfonylation Conditions, and Convenient Routes to 10-Chloro- and 10-Bromocamphor, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2009**, *20*, 1531-1535.
- [115] Loev, B., Kormendy, M. F., and Goodman, M. M. T-Butyl Carbamate, *Org. Synth*, **1968**, *48*.
- [116] Robinson, P. D., Hua, D. H., Chen, J. S., and Saha, S. Structure of (+)-[S-(E)]-N-([α]-Methylbenzylidene)-P-Toluenesulfinamide, *Acta Cryst. C*, **1991**, *47*, 594-596.
- [117] Davis, F. A., Reddy, R. E., Szewczyk, J. M., Reddy, G. V., Portonovo, P. S., Zhang, H., Fanelli, D., Zhou, P., and Carroll, P. J. Asymmetric Synthesis and Properties of Sulfinimines (Thiooxime S-Oxides), *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 2555-2563.
- [118] Schenkel, L. B., and Ellman, J. A. Self-Condensation of N-Tert-Butanesulfinyl Aldimines: Application to the Rapid Asymmetric Synthesis of Biologically Important Amine-Containing Compounds, *Org. Lett.*, **2004**, *6*, 3621-3624.
- [119] García-Muñoz, M. J., Zacconi, F., Foubelo, F., and Yus, M. Iridium-Promoted Diastereo- and Regioselective Propargylation of Chiral Sulfinylimines, *Eur. J. Org. Chem.*, **2013**, *2013*, 1287-1295.
- [120] Wenzel, A. G., and Jacobsen, E. N. Asymmetric Catalytic Mannich Reactions Catalyzed by Urea Derivatives: Enantioselective Synthesis of β -Aryl- β -Amino Acids, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 12964-12965.
- [121] Kano, T., Yurino, T., Asakawa, D., and Maruoka, K. Acid-Catalyzed in Situ Generation of Less Accessible or Unprecedented N-Boc Imines from N-Boc Aminals, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2013**, *52*, 5532-5534.

- [122] Petrini, M., and Torregiani, E. $TiCl_4$ -Promoted Addition of Nucleophiles to Open Chain A-Amidoalkylphenyl Sulfones, *Tetrahedron Lett.*, **2005**, *46*, 5999-6003.
- [123] Xue, F., Wang, F., Liu, J., Di, J., Liao, Q., Lu, H., Zhu, M., He, L., He, H., Zhang, D., Song, H., Liu, X.-Y., and Qin, Y. A Desulfurative Strategy for the Generation of Alkyl Radicals Enabled by Visible-Light Photoredox Catalysis, *Angew. Chem. Int. Ed*, **2018**, *57*, 6667-6671.
- [124] Xie, C., Zhang, L., Mei, H., Pajkert, R., Ponomarenko, M., Pan, Y., Röschenthaler, G.-V., Soloshonok, V. A., and Han, J. New Chiral Reagent for Installation of Pharmacophoric (S)- or (R)-2-(Alkoxyphosphono)-1-Amino-2,2-Difluoroethyl Groups, *Chem. Eur. J.*, **2016**, *22*, 7036-7040.
- [125] Sugiyama, S., Imai, S., and Ishii, K. Diastereoselective Amidoallylation of Glyoxylic Acid with Chiral Tert-Butanesulfinamide and Allylboronic Acid Pinacol Esters: Efficient Synthesis of Optically Active Γ,Δ -Unsaturated A-Amino Acids, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2013**, *24*, 1069-1074.
- [126] Brinner, K., Doughan, B., and Poon, D. J. Scalable Synthesis of B-Amino Esters Via Reformatsky Reaction with N-Tert-Butanesulfinyl Imines, *Synlett*, **2009**, *2009*, 991-993.
- [127] Xiao, X., Antony, S., Kohlhagen, G., Pommier, Y., and Cushman, M. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Cytotoxic 11-Aminoalkenylindenoisoquinoline and 11-Diaminoalkenylindenoisoquinoline Topoisomerase I Inhibitors, *Bioorg. Med. Chem.*, **2004**, *12*, 5147-5160.
- [128] Chen, P., Su, X., Zhou, W., Xiao, Y., and Zhang, J. Novel Chiral Sulfinamide Phosphines: Valuable Precursors to Chiral B-Aminophosphines, *Tetrahedron*, **2016**, *72*, 2700-2706.
- [129] Chogii, I., and Njardarson, J. T. Asymmetric [3+2] Annulation Approach to 3-Pyrrolines: Concise Total Syntheses of (-)-Supinidine, (-)-Isoretronecanol, and (+)-Elacomine, *Angew. Chem. Int. Ed*, **2015**, *54*, 13706-13710.
- [130] Reeves, J. T., Tan, Z., Herbage, M. A., Han, Z. S., Marsini, M. A., Li, Z., Li, G., Xu, Y., Fandrick, K. R., Gonnella, N. C., Campbell, S., Ma, S., Grinberg, N., Lee, H., Lu, B. Z., and Senanayake, C. H. Carbamoyl Anion Addition to N-Sulfinyl Imines: Highly Diastereoselective Synthesis of A-Amino Amides, *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, *135*, 5565-5568.
- [131] Fernández-Sánchez, L., Fernández-Salas, J. A., Maestro, M. C., and García Ruano, J. L. Reformatsky Reaction to Alkynyl N-Tert-Butanesulfinyl Imines: Lewis Acid Controlled Stereodivergent Synthesis of B-Alkynyl-B-Amino Acids, *J. Org. Chem.*, **2018**, *83*, 12903-12910.
- [132] Tang, T. P., Volkman, S. K., and Ellman, J. A. Asymmetric Synthesis of Protected 1,2-Amino Alcohols Using Tert-Butanesulfinyl Aldimines and Ketimines, *J. Org. Chem.*, **2001**, *66*, 8772-8778.
- [133] Wünsch, M., Schröder, D., Fröhr, T., Teichmann, L., Hedwig, S., Janson, N., Belu, C., Simon, J., Heidemeyer, S., Holtkamp, P., Rudlof, J., Klemme, L., Hinzmann, A., Neumann, B., Stammler, H.-G., and Sewald, N. Asymmetric Synthesis of Propargylamines as Amino Acid Surrogates in Peptidomimetics, *Beilstein J. Org. Chem.*, **2017**, *13*, 2428-2441.
- [134] Ferreira, F., Audouin, M., and Chemla, F. Influence of Hmpa on the Stereochemical Outcome of the Addition of a Racemic Allenylzinc onto Enantiopure N-Tert-Butanesulfinimines: Stereoselective Access to Enantiopure Cis-Ethynylaziridines, *Chem. Eur. J.*, **2005**, *11*, 5269-5278.
- [135] Ruan, S.-T., Luo, J.-M., Du, Y., and Huang, P.-Q. Asymmetric Vinylogous Mannich Reactions: A Versatile Approach to Functionalized Heterocycles, *Org. Lett.*, **2011**, *13*, 4938-4941.
- [136] Kells, K. W., and Chong, J. M. Addition of Bu_3SnLi to Tert-Butanesulfinimines as an Efficient Route to Chiral, Nonracemic A-Aminoorganostannanes, *Org. Lett.*, **2003**, *5*, 4215-4218.

- [137] Toop, H. D., Brusnahan, J. S., and Morris, J. C. Concise Total Synthesis of Dioncophylline E through an Ortho-Arylation Strategy, *Angew. Chem. Int. Ed*, **2017**, *56*, 8536-8538.
- [138] Gottlieb, H. E., Kotlyar, V., and Nudelman, A. Nmr Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities, *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 7512-7515.
- [139] Nasopoulou, M., Georgiadis, D., Matziari, M., Dive, V., and Yiotakis, A. A Versatile Annulation Protocol toward Novel Constrained Phosphinic Peptidomimetics, *J. Org. Chem.*, **2007**, *72*, 7222-7228.