

**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 Διαστερεοεκλεκτικής Σύνθεσης α,β -
Διϋποκατεστημένων β -Φωσφίνυλο Προπιονικών
Παραγώγων, Δυνάμει Αναστολέων Μεταλλο- β -Λακταμασών.**

**ΖΗΣΗΣ ΣΚΑΡΠΕΤΗΣ
ΧΗΜΙΚΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ
ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2021**

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

Διερεύνηση Διαστεροεκλεκτικής Σύνθεσης α,β -Διϋποκατεστημένων β -Φωσφίνυλο Προπιονικών Παραγώγων, Δυνάμει Αναστολέων Μεταλλο- β -Λακταμασών.

ΖΗΣΗΣ ΣΚΑΡΠΕΤΗΣ

A.M.: 171514

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:

Δημήτριος Γεωργιάδης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΕΚΠΑ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Δημήτριος Γεωργιάδης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΕΚΠΑ

Γεώργιος Κόκοτος, Καθηγητής ΕΚΠΑ

Βικτωρία Μαγκριώτη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΕΚΠΑ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ 19/02/2021

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η εισαγωγή στοιχείων περιορισμού διαμορφωτικής ελευθερίας αποτελεί μια πολύ σημαντική παράμετρο κατά τον σχεδιασμό και την ανάπτυξη φαρμακολογικά χρήσιμων βιοδραστικών ενώσεων. Οι διαμορφωτικοί περιορισμοί θα πρέπει να αυξάνουν τον πληθυσμό των βιοδραστικών διαμορφώσεων αλλά παράλληλα θα πρέπει να δίνουν έναν βαθμό ευκινησίας ώστε οι ενώσεις να προσαρμόζονται στο ενεργό κέντρο ενός ενζύμου ή ενός υποδοχέα χωρίς υψηλό ενεργειακό κόστος. Η εισαγωγή τέτοιων στοιχείων στην περίπτωση των βιοδραστικών φωσφινικών ενώσεων είναι πολύ περιορισμένη στη βιβλιογραφία ενώ γενικές μέθοδοι προσέγγισης τέτοιων δομών απουσιάζουν πλήρως. Τέτοιες ενώσεις θα αποτελούσαν ιδανικούς υποψήφιους αναστολείς για μεταλλοένζυμα που έχουν ρηχά ενεργά κέντρα και υψηλή διαμορφωτική ευκινησία, όπως είναι οι μεταλλο-β-λακταμάσες.

Στην εργασία αυτή, παρουσιάζεται η ανάπτυξη μιας γενικής μεθόδου σύνθεσης α,β -διϋποκατεστημένων β -φωσφινυλοπροπιονικών παραγώγων που χαρακτηρίζεται από πρακτικότητα, υψηλή στερεοεκλεκτικότητα και δυνατότητα διαφοροποίησης του α -υποκαταστάτη του προπιονικού σκελετού σε τελικό στάδιο της σύνθεσης. Η μεθοδολογία βασίζεται στην αντίδραση ριζικής προσθήκης τύπου Giese. Από τη μελέτη προέκυψε ότι υψηλές διαστεροεκλεκτικότητες (d.r. έως 99%) μπορούν να ληφθούν με διαφορετικές συνθήκες ανάλογα με το εάν το αρχικό υπόστρωμα φέρει αλειφατικό ή αρωματικό υποκαταστάτη στη β -θέση του προπιονικού τους σκελετού. Αυτή η συμπληρωματικότητα των συνθηκών που αναπτύχθηκαν διερύνει την εφαρμογή της μεθοδολογίας σε μια μεγάλη ποικιλία υποκαταστατών και αυξάνει τη χρησιμότητά της. Στερεοχημική αποτίμηση των προϊόντων πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπική ανάλυση NMR. Επίσης, προτείνεται ένας πιθανός μηχανισμός που να ερμηνεύει την παρατηρούμενη διαστεροεκλεκτικότητα.

ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: ΟΡΓΑΝΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Οργανική Σύνθεση, Διαφοροποίηση τελικού σταδίου, Φωσφινικό οξύ, Ρίζες, Στερεοεκλεκτικότητα

ABSTRACT

The inclusion of conformational restrictions to bioactive structures constitutes a very important parameter of drug design and discovery of pharmacologically useful compounds. Conformational restrictions must aim to the increase of population of bioactive conformations while offering at the same time a certain degree of conformational freedom that can allow adjustment in the active site of an enzyme or in a receptor without high energetic cost. In the field of bioactive phosphinic compounds, this technique is very limited whereas general methods to approach such structures have never been reported in the literature. Such compounds could render ideal candidate inhibitors of metalloenzymes with shallow active sites and high conformational mobility, such as metallo- β -lactamases.

In this report, the development of a general methodology towards the synthesis of α,β -disubstituted β -phosphinyl propionic derivatives is presented, which is characterized by practicality, high diastereoselectivity and possibility to be applied as a late-stage diversification protocol of α -substitution of propionic scaffold. This methodology is based on the Giese-type addition of radicals to electron-deficient olefins. As it is demonstrated by our study, high diastereoselectivities can be achieved (d.r. up to 99%) using different set of conditions for substrates with an aliphatic substituent at the β -position of the propionic scaffold, as compared to those bearing an aromatic substituent. This complementarity of applied conditions expands furthermore the applicability of the method to a large variety of substituents and enhances its usefulness. Stereochemical identification of the products was performed by using NMR-spectroscopy. Finally, a possible mechanistic scenario is proposed to explain the observed diastereoselectivity.

SUBJECT AREA: Organic Chemistry

KEYWORDS: Organic Synthesis, Late-stage diversification, Radicals, Stereoselectivity, Phosphinic Acid

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία είναι το αποτέλεσμα μιας σειράς αλληλεπιδράσεων με διάφορα άτομα, καθένα από τα οποία έπαιξε ένα σημαντικό ρόλο στην εξέλιξή της. Αξίζει λοιπόν, να αφιερώσω την παρούσα σελίδα για να ευχαριστήσω ειλικρινά τα άτομα αυτά για τη βοήθεια που μου προσέφεραν.

Πρώτα απ' όλα, στον επιβλέποντα της διπλωματικής μου εργασίας, Καθηγητή Δημήτρη Γεωργιάδη, για τη συνεχή καθοδήγηση, την αμέριστη υποστήριξη, τις παραγωγικές υποδείξεις του και το πολύ καλό κλίμα συνεργασίας που διαμόρφωσε συμβάλλοντας τα μέγιστα για την κατάρτιση της διπλωματικής μου εργασίας.

Επίσης, θέλω να εκφράσω τις ευχαριστίες μου προς τα μέλη της τριμελούς επιτροπής αξιολόγησης της μεταπτυχιακής μου εργασίας, την Καθηγήτρια Βικτωρία Μαγκριώτη και τον Καθηγητή Γεώργιο Κόκοτο, για τις χρήσιμες υποδείξεις τους, ώστε να ολοκληρώσω με επιτυχία την διατριβή μου.

Στη συνέχεια θα ήθελα να ευχαριστήσω τον δρ. Μιχάλη Τσάκο, τον δρ. Κώστα Βορεάκο, την δρ. Εύη Κοκκάλα και τον υποψήφιο δρ. Άγγελο Λέλη καθώς και τους μεταπτυχιακούς φοιτητές Κωνσταντίνο Πατηνιώτη, Ινώ Παπακότση, Κέλλυ Ζιωτοπούλου και Λένα Καλουμένου για τη συνεργασία, το ευχάριστο κλίμα στο εργαστήριο, για τις ανταλλαγές απόψεων, το ειλικρινές ενδιαφέρον τους και τη σημαντική βοήθειά τους σε όλα τα στάδια των σπουδών μου.

Τέλος, το μεγαλύτερο ευχαριστώ σε όλους και όλα, όσους και όσα ανεξαρτήτως χρόνου, φορτίου, θέσης και ενέργειας συμβάλλουν στην αέναη μεταβολή.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	19
1. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΜΕΤΑΛΛΟ β-ΛΑΚΤΑΜΑΣΕΣ ΚΑΙ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΟΥΣ	1
1.1 Αντιβιοτικά τύπου β -λακτάμης και μικροβιακή ανθεκτικότητα	1
1.2 β -Λακταμάσες.....	4
1.2.1 Ταξινόμηση β -λακταμασών	5
1.2.2 Μηχανισμοί υδρόλυσης β -λακταμασών σερίνης.....	6
1.3 β -Λακταμάσες κατηγορίας B ή μεταλλο- β -λακταμάσες (MBLs)	8
1.3.1 Μηχανισμοί υδρόλυσης μεταλλο- β -λακταμασών	12
1.4 Αναστολείς μεταλλο- β -λακταμασών	14
1.4.1 Χηλικές ενώσεις	15
1.4.2 α -Αμιδο τριφλουορομεθυλο αλκοόλες και κετόνες.....	15
1.4.3 Διφαινυλοτετραζόλια	16
1.4.4 Δικαρβοξυλικά οξέα.....	16
1.4.5 Θειόλες και θειολικοί καρβοξυλικοί εστέρες.....	17
1.4.6 Captopril και παράγωγα	19
1.4.7 Ροδανίνες.....	22
1.4.8 Παράγωγα του φωσφορικού οξέος	22
1.4.9 Πυρόλιο και Παράγωγα	23
1.4.10 Κυκλικά παράγωγα βορονικού οξέος	23
2. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΦΩΣΦΙΝΙΚΑ ΠΕΠΤΙΔΙΑ: ΔΟΜΕΣ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΕΝΗΣ ΔΙΑΜΟΡΦΩΤΙΚΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΔΟΜΙΚΗΣ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ...	25
2.1 Φωσφινικά πεπτιδία ως ενζυμικοί αναστολείς.	25
2.2 Διαμορφωτικά περιορισμένα φωσφινικά πεπτιδία	30
2.3 Μέθοδοι διαφοροποίησης τελικού σταδίου (late-stage diversification)	33

3. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ GIESE ΚΑΙ ΔΙΑΣΤΕΡΕΟΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ.....	38
3.1 Εισαγωγή.	38
3.2 Ανάπτυξη της αντίδρασης Giese.	39
3.3 Διαστερεοεκλεκτικότητα ριζικών αντιδράσεων σε μη κυκλικά συστήματα.....	42
4. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ.....	50
4.1 Στόχος της εργασίας.....	50
4.2 Σύνθεση υποστρωμάτων για αρχική βελτιστοποίηση.....	53
4.2.1 Σύνθεση του οξικού αλλυλεστέρα 4α.....	55
4.2.2 Σύνθεση των εστέρων 2α και 3α	57
4.3 Βελτιστοποίηση αντίδρασης ριζικής προσθήκης	59
4.4 Σύνθεση υποστρωμάτων	68
4.4.1 Σύνθεση των οξικών αλλυλεστέρων τύπου 4	69
4.4.2 Σύνθεση των φωσφινικών οξέων 1α-θ και χαρακτηριστικά φάσματα NMR 72	
4.4.3 Σύνθεση των φωσφινικών αδαμαντυλεστέρων 3α-θ, χαρακτηριστικά φάσματα NMR και πιθανές διαμορφώσεις.....	76
4.5 Αντίδραση ριζικής προσθήκης τύπου Giese στους τελικούς αδαμαντυλεστέρες 16α-η. 81	
4.6 Πιθανή μηχανιστική ερμηνεία της διαστερεοεκλεκτικότητας.	87
5. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ – ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΙ ΕΝΩΣΕΩΝ.....	89
5.1 Γενικό πειραματικό μέρος.....	89
5.1.1 Αντιδραστήρια	89
5.1.2 Χρωματογραφική ανάλυση και χρωματογραφικός καθαρισμός.....	89
5.1.3 Χαρακτηρισμοί ενώσεων	90
5.2 Συνθετικές μέθοδοι – Χαρακτηρισμοί	91
5.2.1 Γενική μέθοδος σύνθεσης ενώσεων τύπου 8 με την αντίδραση Baylis- Hillman 91	

5.2.2	Γενική μέθοδος σύνθεσης ενώσεων τύπου 7 μέσω αλλυλικής βρωμίωσης	94
5.2.3	Γενική μέθοδος υδροξυλίωσης των αλλυλικών βρωμιδίων τύπου 7.....	98
5.2.4	Γενική μέθοδος ακετυλίωσης των αλλυλικών αλκοολών τύπου 6	100
5.2.5	Γενική μέθοδος σύνθεσης των ακετυλιωμένων παραγώγων 4 από τα αντίστοιχα βρωμίδια 7	103
5.2.6	Γενική μέθοδος αλλυλικής υποκατάστασης των ακετυλιωμένων παραγώγων 4 από τον φωσφονίτη 5'	105
5.2.7	Γενική μέθοδος αδαμαντυλίωσης φωσφινικών οξέων τύπου 1	110
5.2.8	Γενική μέθοδος ριζικής αλκυλίωσης τύπου Giese με το σύστημα Et ₃ B/O ₂ /TBTH.....	119
5.2.9	Γενική μέθοδος ριζικής αλκυλίωσης τύπου Giese με το σύστημα AIBN/NaBH ₃ CN.....	125
6.	130
7.	ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ	131
ΑΝΑΦΟΡΕΣ	133

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1: Σύνθεση διαμορφωτικά περιορισμένων φωσφινικών δομών στην P ₁ θέση απο (α) την Nasoroulou et al και (β) Matziari et al.....	31
Σχήμα 2: Στερεοεκλεκτικός έλεγχος της P ₁ θέσης σε ανάλογα Pro από τους Yamagishi et al.....	31
Σχήμα 3: Σύνθεση φωσφινικού ψευδοδιπεπτιδίου Pro στην P ₁ ' θέση από: (α) Georgiadis et al και (β) Yamagishi et al.....	32
Σχήμα 4: Σύνθεση αναλόγων φωσφινικών διπεπτιδίων μετά από τροποποίηση τελικού σταδίου των θέσεων (α) P ₁ και (β) P ₁ '.....	33
Σχήμα 5: Χρήση των (α) δεϋδροδιπεπτιδίων και (β) μηλονικών παραγώγων στην στρατηγική τελικής τροποποίησης, (γ) σύνθεση δεϋδροψευδοδιπεπτιδίων από Matziari et al.....	34
Σχήμα 6: Σύνθεση δεϋδροψευδοδιπεπτιδίων κάνοντας χρήση παραλλαγών της στρατηγικής NP+C από (α) Gurulingappa et al. και (β) Kalyva et al.....	35
Σχήμα 7: Μέθοδος τροποποίησης με βάση την διπολική κυκλοπροσθήκη.....	35
Σχήμα 8: Τροποποίηση τελικού σταδίου πρόδρομων φωσφινικών διπεπτιδίων τα οποία φέρουν αμινομάδα στην P ₁ ' θέση.....	36
Σχήμα 9: Τροποποίηση τελικού σταδίου φωσφινικών δομών βασισμένη σε μια μετάθεση Ireland-Claisen.....	36
Σχήμα 10: Τροποποίηση τελικού σταδίου μέσω ριζικής προσθήκης τύπου Giese.....	37
Σχήμα 11: Μηχανισμοί αλυσιδωτής αντίδρασης Giese με χρήση Α) TBTH και Β) R₂HgX/NaBH₄ ως φορείς υδριδίου.....	40
Σχήμα 12: Αντιδράσεις Giese με χρήση EPHP ως φορέα υδρογόνου [153-154].....	41
Σχήμα 13: Αντίδραση Giese με χρήση NaBH ₃ CN ή ⁿ Bu ₄ NBH ₃ CN ως H-φορέα [155-156].	41
Σχήμα 14: Παραδείγματα αντιδράσεων όπου σχηματίζονται ενδιάμεσες ρίζες υποκατεστημένες με τριτοταγή ομάδα.....	45

Σχήμα 15: Ευνοϊκότερες διαμορφώσεις δευτεροταγών ριζών και σύγκριση διαστεροεκλεκτικότητας μεταξύ δευτεροταγών και τριτοταγών ριζών.....	46
Σχήμα 16: Επίδραση πολικών υποκαταστατών στη διαστεροεκλεκτικότητα αναγωγής ριζών.	46
Σχήμα 17: Επίδραση δεσμών υδρογόνου και οξέων Lewis στη διαστεροεκλεκτικότητα αναγωγής ριζών.	47
Σχήμα 18: Επίδραση αλκυλο υποκαταστάτη R στη διαστεροεκλεκτικότητα αναγωγής ριζών.	48
Σχήμα 19: Παραδείγματα διαστεροεκλεκτικών αντιδράσεων Giese υποβοηθούμενων από οξέα Lewis, από τις ερευνητικές ομάδες των (A) Sibi [173] και (B) Nagano [174].	49
Σχήμα 20: Εναντιοεκλεκτική ριζική αλκυλίωση με χρήση οξέων Lewis/χειρόμορφων δις(οξαζολινίων) [175-177].	49
Σχήμα 21: Βιβλιογραφική στοιχειοθέτηση της προτεινόμενης συνθετικής προσέγγισης.	52
Σχήμα 22: Ρετροσυνθετικό σχήμα για τη σύνθεση των υποστρωμάτων 1α, 2α και 3α. .	54
Σχήμα 23: Σύνθεση της αλλυλικής αλκοόλης 8α και μηχανισμός της αντίδρασης Baylis-Hillman.....	55
Σχήμα 24: Σύνθεση του αλλυλικού βρωμιδίου 7α και μηχανισμός αλλυλικής βρωμίωσης	56
Σχήμα 25: Πορεία δύο σταδίων για την υδροξυλίωση του αλλυλικού βρωμιδίου 7α.....	56
Σχήμα 26: Αντίδραση ακετυλίωσης της αλκοόλης 6α προς τον οξικό αλλυλεστέρα 4α .	57
Σχήμα 27: Σύνθεση του φωσφινικού οξέος 1α και μηχανισμός αλλυλικής υποκατάστασης του οξικού εστέρα 4α από τον φωσφονίτη 5'	57
Σχήμα 28: Μεθυλίωση του φωσφινικού οξέος 1α προς τον μεθυλεστέρα 2α.....	58
Σχήμα 29: Σύνθεση του εστέρα 3α και μηχανισμός αδαμαντυλίωσης	58
Σχήμα 30: Μηχανισμός αντίδρασης Giese (μονοπάτι α) και ανταγωνιστικής αντίδρασης αναγωγής (μονοπάτι β) με χρήση AIBN και TBTH	60

Σχήμα 31: Μηχανισμός αντίδρασης Giese (μονοπάτι α) και ανταγωνιστικής αντίδρασης αναγωγής (μονοπάτι β) με χρήση AIBN και TBTH	66
Σχήμα 32: Μηχανισμός αντίδρασης Giese (μονοπάτι α) και ανταγωνιστικής αντίδρασης αναγωγής (μονοπάτι β) με χρήση AIBN και TBTH	67
Σχήμα 33: Ρετροσυνθετικό σχήμα για τη σύνθεση των υποστρωμάτων τύπου 3.	69
Σχήμα 34: Σύνθεση αλλυλικών αλκοολών τύπου 8 μέσω της αντίδρασης Baylis-Hillman.	70
Σχήμα 35: Σύνθεση αλλυλικών βρωμιδίων τύπου 7 μέσω αλλυλικής βρωμίωσης.	70
Σχήμα 36: Σύνθεση των οξικών αλλυλεστέρων 4β, 4δ, 4ε και 4η.	71
Σχήμα 37: Ρετροσυνθετικό σχήμα για τη σύνθεση των οξικών αλλυλεστέρων 4γ και 4ζ.	72
Σχήμα 38: Σύνθεση των φωσφινικών οξέων τύπου 1	73
Σχήμα 39: Μηχανισμός αλλυλικής υποκατάστασης και ερμηνεία σχηματισμού παραπροϊόντος τύπου 15.....	73
Σχήμα 40: Σύνθεση των αδαμαντυλεστέρων τύπου 3	76
Σχήμα 41: Σύνθεση των τελικών προϊόντων τύπου 16 και παρατηρούμενα d.r.....	82
Σχήμα 42: Πιθανή μηχανιστική ερμηνεία της παρατηρούμενης διαστερεοεκλεκτικότητας.	88

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Συνταγογραφούμενα αντιβιοτικά στις Η.Π.Α. τη δεκαετία 2004-2014.....	1
Εικόνα 2: Κατηγορίες αντιβιοτικών β-λακτάμης	2
Εικόνα 3: Μηχανισμός δράσης αντιβιοτικών β-λακτάμης (GT: γλυκοζυλοτρανσφεράσες, NAG: N-ακετυλογλυκοζαμίνη; NAM: N-ακετυλομουραμικό οξύ)	2
Εικόνα 4: Διαφορές μηχανισμού δράσης των PBPs, SBLs και MBLs επί της πενικιλίνης	4
Εικόνα 5: Δομή αντιπροσωπευτικών β-λακταμασών κάθε κατηγορίας. Τα καταλυτικά σημεία των SBLs επισημαίνονται με πορτοκαλί χρώμα και τα ιόντα Zn των MBLs με γκρι σφαίρες (α) Κλάση A, KPC-2 (b) Κλάση B, NDM-1 (c) Κλάση C, AmpC (d) Κλάση D, OXA-48	5
Εικόνα 6: Γενικό σχήμα μηχανισμού υδρόλυσης των SBLs.....	7
Εικόνα 7: Αριστερά: Εναλλακτικοί μηχανισμοί ακυλίωσης των β-λακταμασών κατηγορίας A. Δεξιά: Προτεινόμενοι μηχανισμοί αποακυλίωσης για τις β-λακταμάσες κατηγορίας C σε ακυλοένζυμο κεφαλοσπορίνης.....	8
Εικόνα 8: (α) Δομή των MBLs. Τα αμινοξέα του ενεργού κέντρου φαίνονται με τη μορφή αναπαράστασης ράβδου. (β) Το ενεργό κέντρο της MBL NDM-1 από <i>Klebsiella Pneumoniae</i> [30].	9
Εικόνα 9: Σχηματική απεικόνιση των MBLs. Αριστερά: η B1 τύπου BclI λακταμάση από το βακτήριο <i>B. Cereus</i> , Κέντρο: η B2 τύπου CphA από το βακτήριο <i>Aeromonas Hydrophila</i> , Δεξιά: η B3 τύπου L1 από το βακτήριο <i>Stenotrophomonas Maltophilia</i> . Με γκρι σφαίρες αναπαριστούνται τα ιόντα ψευδαργύρου, με κόκκινο τα μόρια του νερού [31].	9
Εικόνα 10: Γενικός μηχανισμός υδρόλυσης από MBLs.	12
Εικόνα 11: Μηχανισμός υδρόλυσης καρβαπενεμών από (α) μονομεταλλικές MBLs και (β) διμεταλλικές MBLs.	12
Εικόνα 12: Παραδείγματα χηλικών ενώσεων ως αναστολείς MBLs [46-50]......	15
Εικόνα 13: Παραδείγματα α-αμιδο τριφλουορομεθυλο αλκοολών και κετονών ως αναστολείς MBLs.....	16

Εικόνα 14: Παραδείγματα διφαινυλοτετραζολών ως αναστολείς MBLs.	16
Εικόνα 15: Παραδείγματα δικαρβοξυλικών οξέων ως αναστολείς MBLs [54-56, 58-59].	17
Εικόνα 16: Παραδείγματα θειολο-εστέρων του μερκαπτοοξικού οξέος (9-11), θειολών χαμηλού μοριακού βάρους (12-14), θειομαντελικού οξέος και παραγώγων (15) ως αναστολείς MBLs [60, 63, 65-66].	18
Εικόνα 17: Δομές και ανασταλτική δράση ενώσεων με ομάδες θειόλης που αναπτύχθηκαν από τον Schofield και τους συνεργάτες του [67].	19
Εικόνα 18: Δομές αναστολέων 21 – 24 [67-70].	19
Εικόνα 19: Ανασταλτική δράση όλων των διαστερομερών του captopril [72-73].	20
Εικόνα 20: Δομές και ανασταλτική δράση των αναλόγων του captopril 25-27 έναντι της IMP-1 [74].	20
Εικόνα 21: Δομές και ανασταλτική δράση των θειοκαρβονυλο ενώσεων 28-32 και των παραγώγων κυστεΐνης 33-35 έναντι της NDM-1 [75-76].	21
Εικόνα 22: Δομές και ανασταλτική δράση των παραγώγων πενικιλίνης (36), δις-θειαζολιδίνης (37-40) και θειοαιθερικών καρβοξυλικών οξέων (41,42) έναντι MBLs [46, 77-78].	21
Εικόνα 23: Δομή ροδανίνης 43 και του προϊόντος της υδρόλυσής της 44 και ανασταλτική δράση τους και μίγματος 1:1 έναντι διαφόρων MBLs [79].	22
Εικόνα 24: Δομές αναστολέων παραγώγων του φωσφορικού οξέος 45-54 και ανασταλτική δράση έναντι των VIM-4, CphA και L1 [80].	22
Εικόνα 25: Δομές αναστολέων παραγώγων του πυρολίου (55-59) και ανασταλτική δράση έναντι της IMP-1 [81-82].	23
Εικόνα 26: Δομές κυκλικών παραγώγων του βορονικού οξέος και ανασταλτική δράση τους έναντι των VIM-2 και NDM-1 [72].	24
Εικόνα 27: Φωσφονικοί (I), φωσφοναμιδικοί (II) και φωσφινικοί (III) αναστολείς που προκύπτουν με αντικαταστροφή του πεπτιδικού δεσμού.	26
Εικόνα 28: Παραδείγματα αναστολέων φωσφινικού τύπου	28
Εικόνα 29: Σχηματισμός, αντιδράσεις ριζών και δομές εκκινητών	38

Εικόνα 30: Μηχανισμός αλυσιδωτής αντίδρασης Giese.	39
Εικόνα 31: Αποκαρβοξυλιωτική αντίδραση Giese [157].	42
Εικόνα 32: Αποκαρβοξυλιωτική αντίδραση Giese από την ομάδα του Baran [158]......	42
Εικόνα 33: Ενέργειες θεμελιώδους και μεταβατικής κατάστασης ριζών υποκατεστημένων με εστέρες.....	43
Εικόνα 34: Επίδραση της αλλυλικής τάσης στην στερεοεκλεκτικότητα ριζών υποκατεστημένων με εστέρες και β-στερεογονικό κέντρο.	44
Εικόνα 35: Γενική δομή αντιβιοτικών τύπου λακτάμης και σημεία αναγνώρισης με τα ιόντα Zn^{2+} του ενεργού κέντρου μεταλλο-β-λακταμασών.....	50
Εικόνα 36: Αλληλεπιδράσεις IMP-1/δικαρβοξυλικού αναστολέα μέσω κρυσταλλογραφίας ακτίνων X [55]......	51
Εικόνα 37: Ορθολογικός σχεδιασμός πιθανών αναστολέων μεταλλο-β-λακταμασών. ..	51
Εικόνα 38: Υποστρώματα 1α, 2α και 3α για την αρχική βελτιστοποίηση της ριζικής προσθήκης	54
Εικόνα 39: Φάσμα ^{31}P του μίγματος αντίδρασης έπειτα από κατεργασία της αντίδρασης της καταχώρησης 4, Πίνακας 5.....	62
Εικόνα 40: Δομές υποστρωμάτων 3α-3θ για τη μελέτη της ευρύτητας υποστρώματος της ριζικής προσθήκης	68
Εικόνα 41: Φάσμα 1H -NMR της ένωσης 1η	74
Εικόνα 42: Φάσμα ^{13}C -NMR της ένωσης 1η.....	75
Εικόνα 43: Συγκριτική παράθεση των φασμάτων ^{13}C -NMR των δύο διαστερεοϊσομερών I και II της ένωσης 3ε. Στο ένθετο φαίνονται οι αρωματικές περιοχές των δύο φασμάτων.	77
Εικόνα 44: Συγκριτική παράθεση των φασμάτων 1H -NMR των δύο διαστερεοϊσομερών I και II της ένωσης 3ε. Στο ένθετο φαίνονται οι αρωματικές περιοχές των δύο φασμάτων	79
Εικόνα 45: Πιθανές διαμορφώσεις των ισομερών 3ε-I και 3ε-II με βάση τα φάσματα NMR	80

Εικόνα 46: Φάσματα ^{31}P -NMR για τα μίγματα αντίδρασης Giese του 3β προς το 16β με τις συνθήκες A και B.	81
Εικόνα 47: Συγκριτική παράθεση των φασμάτων ^{13}C -NMR των δύο διαστεροϊσομερών I και II της ένωσης 16ε	84
Εικόνα 48: Συγκριτική παράθεση των φασμάτων ^1H -NMR των δύο διαστεροϊσομερών I και II της ένωσης 16ε	85
Εικόνα 49: Πιθανές διαμορφώσεις των ισομερών της ένωσης 16ε με βάση τα φάσματα NMR	86
Εικόνα 50: Πιθανές διαμορφώσεις των ισομερών 16ε-I και 16ε-II με βάση τα φάσματα NMR	87

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Οι κυριότερες χρωμοσωμικά κωδικοποιημένες MBLs.....	10
Πίνακας 2: Κινητικές παράμετροι σταθερής κατάστασης των IMP-1, VIM-1 και SPM-1 έναντι αντιβιοτικών β-λακτάμης.	11
Πίνακας 3: Ανασταλτική δράση ρακεμικού μίγματος 15 (R=H) και τιμές <i>K_i</i> ενάντι διαφόρων MBLs [66].....	18
Πίνακας 4: Διερεύνηση αντίδρασης Giese με χρήση TBTH ως H-δότη και AIBN ως εκκινητή στο υπόστρωμα 1α. ^α	59
Πίνακας 5: Διερεύνηση αντίδρασης Giese με χρήση TTMSS ως H-δότη και AIBN ως εκκινητή στα υποστρώματα 1α, 2α και 3α. ^α	61
Πίνακας 6: Διερεύνηση αντίδρασης Giese με χρήση Et ₃ B ως εκκινητή και TBTH ως H-δότη στα υποστρώματα 1α, 2α και 3α. ^α	63
Πίνακας 7: Διερεύνηση αντίδρασης Giese με χρήση NaBH ₃ CN ως H-δότη και AIBN ως εκκινητή στα υποστρώματα 2α, 3α και 3β. ^α	65
Πίνακας 8: Διερεύνηση ακετοξυλίωσης αλλυλικού βρωμιδίου 7γ.....	71

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 2018 – 2019.

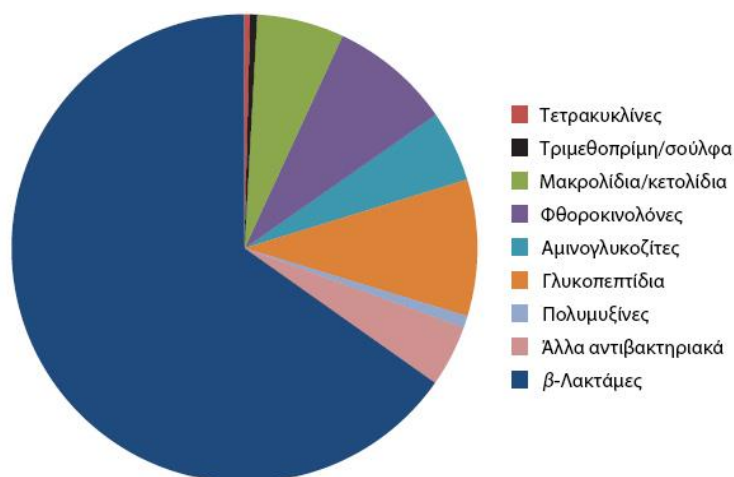
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΜΕΤΑΛΛΟ β -ΛΑΚΤΑΜΑΣΕΣ ΚΑΙ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΟΥΣ

1.1 Αντιβιοτικά τύπου β -λακτάμης και μικροβιακή ανθεκτικότητα

Εδώ και πολλά χρόνια η θεραπεία διαφόρων τύπων ασθενειών αποτελεί τη σημαντικότερη πρόκληση του κλάδου της Ιατρικής Χημείας. Από τα αρχαία χρόνια οι Κινέζοι, οι Αιγύπτιοι και οι Έλληνες χρησιμοποιούσαν βότανα και εκχυλίσματά τους για ιατρικούς σκοπούς, θεωρώντας ότι πλήθος αντιβιοτικών ουσιών περιέχονται σε αυτά. Σήμερα τα αντιβιοτικά είναι ευρέως διαδεδομένα στη θεραπεία λοιμώξεων που προκαλούνται από βακτήρια, εξαιτίας της αναστολής ή του περιορισμού του ρυθμού αύξησης των τελευταίων. Ωστόσο, εξαιτίας της αλόγιστης και μακρόχρονης χρήσης των αντιβιοτικών, τα βακτήρια άρχισαν να αναπτύσσουν μηχανισμούς αντίστασης απέναντι στα αντιβιοτικά.

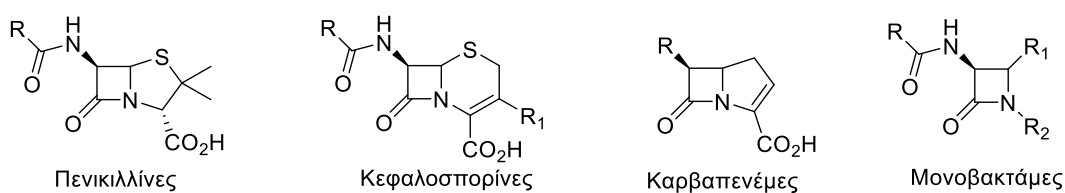
Τα **αντιβιοτικά τύπου β -λακτάμης** αποτελούν τα πιο συχνά συνταγογραφούμενα αντιβακτηριακά φάρμακα για την αντιμετώπιση λοιμωδών ασθενειών. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 1, είναι χαρακτηριστικό ότι τη δεκαετία 2004-2014 το 65% όλων των ενέσιμων αντιβιοτικών που συνταγογραφήθηκαν στις Η.Π.Α. αφορούσαν αντιβιοτικά τύπου β -λακτάμης [1].



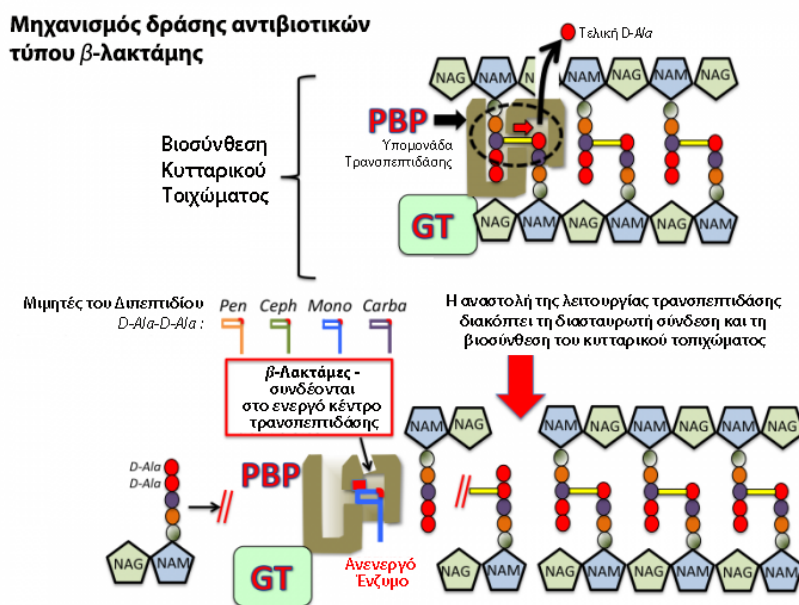
Εικόνα 1: Συνταγογραφούμενα αντιβιοτικά στις Η.Π.Α. τη δεκαετία 2004-2014.

Τα αντιβιοτικά τύπου β -λακτάμης πήραν το όνομά τους από το γεγονός ότι στη δομή τους περιέχεται β -λακταμικός δακτύλιος όπου το άτομο αζώτου του δακτυλίου ενώνεται με ένα άτομο β -άνθρακα ως προς τον καρβονυλικό άνθρακα. Διακρίνονται σε 4 κατηγορίες: στις τρεις κατηγορίες ο δακτύλιος της β -λακτάμης εμφανίζεται

συμπυκνωμένος με άλλο δακτύλιο σε ένα δικυκλικό σύστημα ενώ η 4^η κατηγορία αφορά μονοκυκλικές δομές. Έτσι, όπως φαίνεται και στην Εικόνα 2, την πρώτη κατηγορία αποτελούν οι **πενικιλίνες**, όπου ο τετραμελής δακτύλιος της β-λακτάμης είναι συμπυκνωμένος με θειαζολινικό δακτύλιο. Η επόμενη κατηγορία είναι οι **κεφαλοσπορίνες**, στις οποίες ο β-λακταμικός δακτύλιος είναι συμπυκνωμένος με έναν εξαμελή δακτύλιο διυδροθειαζίνης, ενώ η τρίτη κατηγορία αποτελείται από τις **καρβαπενέμες**, όπου ο β-λακταμικός δακτύλιος είναι συμπυκνωμένος με έναν πενταμελή δακτύλιο πυρολίνης. Τέλος, στην 4^η κατηγορία ανήκουν τα αντιβιοτικά με μονοκυκλική δομή, οι **μονοβακτάμες**.



Εικόνα 2: Κατηγορίες αντιβιοτικών β-λακτάμης



Εικόνα 3: Μηχανισμός δράσης αντιβιοτικών β-λακτάμης (GT: γλυκοζυλοτρανσφεράσες, NAG: N-ακετυλογλυκοζαμίνη; NAM: N-ακετυλομουραμικό οξύ)

Η αντιβακτηριδιακή δράση των β-λακταμών παρατηρήθηκε για πρώτη φορά από τους Tipper και Strominger [2], και αποδόθηκε στην ομοιότητά τους με το τελικό μέρος D-Ala-D-Ala στελέχους πεπτιδογλυκάνης ενός πενταπεπτιδίου. Συγκεκριμένα, η πεπτιδογλυκάνη αποτελεί σημαντικό συστατικό του βακτηριακού τοιχώματος που προσδίδει μηχανική αντοχή, προστατεύει το βακτήριο από οσμωτικές μεταβολές,

καθορίζει το κυτταρικό σχήμα και διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στην κυτταρική ανάπτυξη [3]. Τα αντιβιοτικά β-λακτάμης παρεμβαίνουν στο τελικό στάδιο της βιοσύνθεσης των κυτταρικών τοιχωμάτων (διασταυρωτή σύνδεση πεπτιδογλυκάνης) αναστέλλοντας τις DD-τρανσπεπτιδάσες και DD-καρβοξυπεπτιδάσες (Εικόνα 3). Αυτά τα βακτηριακά ένζυμα αναφέρονται συχνά ως πρωτεΐνες δέσμησης πενικιλίνης (Penicillin-Binding Proteins PBP-I, PBP-II) και καταλύουν την σύνθεση της πεπτιδογλυκάνης [4]. Οι β-λακτάμες αποτελούν αναστολείς των PBPs καθώς ο δακτύλιός τους και η γειτονική καρβοξυλομάδα μιμούνται την τελική διπεπτιδική αλληλουχία D-Ala-D-Ala και το λακταμικό καρβοξαμίδιο υφίσταται πυρηνόφιλη προσβολή από την καταλυτική σερίνη των PBPs με αποτέλεσμα την ακυλίωσή του έπειτα από διάνοιξη [5].

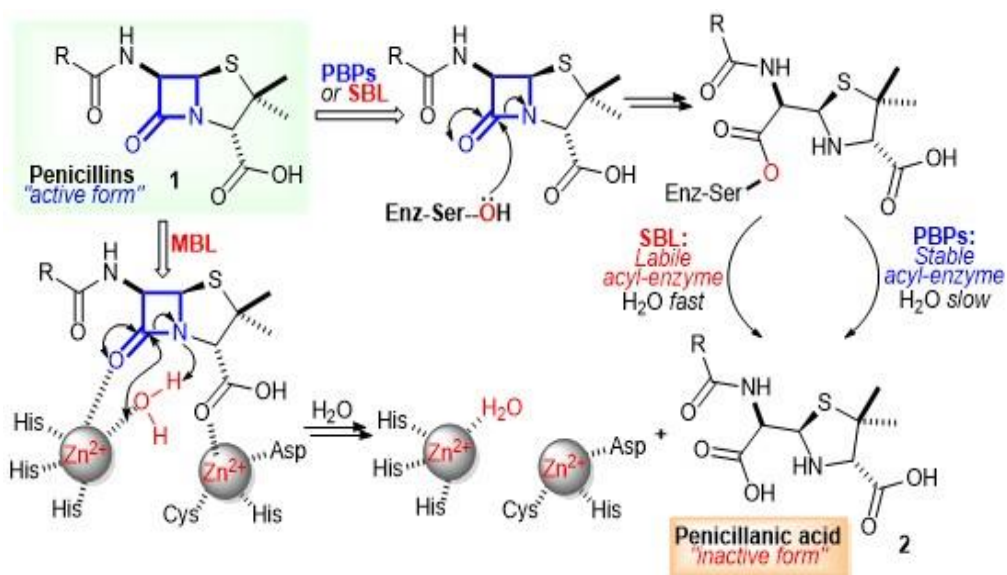
Τα τελευταία 50 χρόνια, η αλόγιστη χρήση αντιβιοτικών στην ιατρική και κτηνιατρική προκάλεσε τεράστια πίεση στο βακτηριακό οικοσύστημα και πυροδότησε την **μικροβιακή ανθεκτικότητα** (antimicrobial resistance, AMR). Πρόκειται για ένα πολύπλοκο και πολυπαραγοντικό φαινόμενο που απειλεί τα δημόσια συστήματα υγείας, την παγκόσμια οικονομία και την εθνική και παγκόσμια ασφάλεια, λόγω της εμφάνισης, εξάπλωσης και αδυναμίας αντιμετώπισης βακτηρίων που αντιστέκονται σε όλες τις θεραπείες (multidrug-resistance, MDR) και καλούνται **“υπερ-βακτήρια”** (superbugs) [6]. Παραδείγματα MDR αποτελούν τα ανθεκτικά στη μεθικιλίνη *S. aureus* (MRSA) και τα ανθεκτικά στη βανκομυκίνη *enterococci* (VRE). Το 2017, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας ανακοίνωσε τα παθογόνα βακτήρια με τη μεγαλύτερη προτεραιότητα παγκοσμίως, με 3 από αυτά να κατατάσσονται στην κατηγορία «κρίσιμα» (*A. baumannii*, *P. aeruginosa* και *Enterobacteriaceae*, που περιλαμβάνουν μεταξύ άλλων τα *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, και *Enterobacter spp.*), εκ των οποίων όλα ανθίστανται στο τελευταίο καταφύγιο για MDR, στις καρβαπενέμες [7-8].

Το AMR είναι ένα φυσικό φαινόμενο που αποτελεί συνέπεια της εξέλιξης και της φυσικής επιλογής και η κατανόηση των μηχανισμών AMR αποτελεί το κλειδί για την αντιμετώπισή του. Η ανθεκτικότητα έναντι των αντιβιοτικών β-λακτάμης πραγματοποιείται μέσω πολλών μηχανισμών, όπως η τροποποίηση του στόχου (μετάλλαξη ή έκφραση εναλλακτικών PBPs, ειδικά σε Gram-αρνητικά βακτήρια), η μειωμένη πρόσληψη λόγω τροποποίησης ή καθοδική ρύθμιση των πορινών της

εξωτερικής μεμβράνης, η υπερέκφραση αντλιών εκροής και, τέλος, η παραγωγή β-λακταμασών [9].

1.2 β-Λακταμάσες

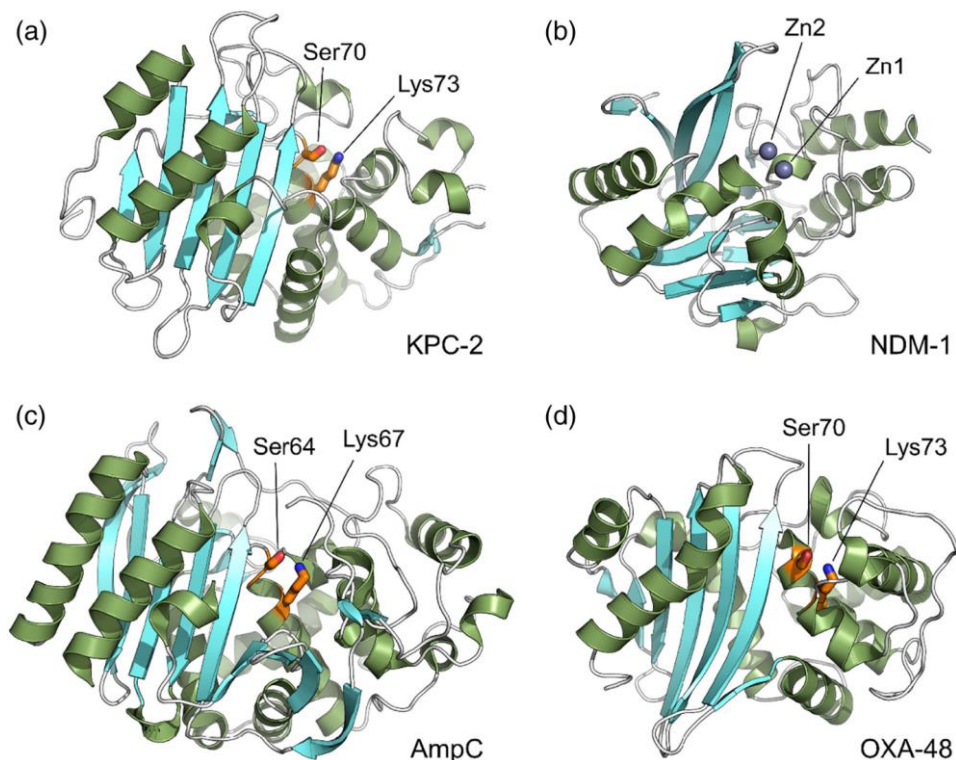
Η δράση των **β-λακταμασών** αποτελεί τον κυριότερο μηχανισμό AMR τόσο από Gram-θετικά όσο και Gram-αρνητικά βακτήρια και αφορά στην υδρόλυση του β-λακταμικού δακτυλίου των αντιβιοτικών προς ανενεργά παράγωγα [10]. Με βάση τον μηχανισμό δράσης τους, διακρίνονται σε **β-λακταμάσες σερίνης** (Serine β-Lactamases, **SBLs**) και **μεταλλο-β-λακταμάσες** (Metallo β-Lactamases, **MBLs**). Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 4 για την περίπτωση της πενικιλίνης, σε αντίθεση με τις PBPs που σχηματίζουν ένα σταθερό σύμπλοκο έπειτα από την προσβολή μιας καταλυτικής Ser στον λακταμικό δακτύλιο, τόσο οι SBLs όσο και οι MBLs μετά τη διάνοιξη του δακτυλίου των β-λακταμών απελευθερώνουν τάχιστα τα προϊόντα, επιτρέποντας έτσι την ανακύκλωση (turnover) του ενζύμου [11]. Τα τελευταία χρόνια, τα ένζυμα αυτά καθώς και οι αναστολείς τους αποτελούν έντονο πεδίο ερευνητικής δραστηριότητας και έχουν μελετηθεί εκτενώς σε πολλά άρθρα ανασκόπησης [1, 12-17].



Εικόνα 4: Διαφορές μηχανισμού δράσης των PBPs, SBLs και MBLs επί της πενικιλίνης

1.2.1 Ταξινόμηση β -λακταμασών

Δύο συστήματα κατηγοριοποίησης των β -λακταμασών έχουν προταθεί. Το πρώτο εισήχθη από τους Bush-Jacoby-Medeiros και βασίζεται στην εξειδίκευση υποστρώματος και την απόκριση έναντι των διαφόρων αντιβιοτικών [18] και το δεύτερο και το επικρατέστερο προτάθηκε από τον Ambler και βασίζεται στην ομολογία της πεπτιδικής αλληλουχίας των ενζύμων [19]. Σύμφωνα με τη δεύτερη κατηγοριοποίηση, οι β -λακταμάσες διακρίνονται σε τέσσερις κατηγορίες A, B, C και D, που εκτός των δομικών διαφοροποιήσεων τους διακρίνονται επίσης από θεμελιώδεις διαφορές στους μηχανισμούς υδρόλυσης. Οι κατηγορίες A, C και D είναι ένζυμα που βασίζονται στη σερίνη ως δραστικό κέντρο (SBLs), ενώ την κατηγορία B αποτελούν μεταλλοένζυμα, που βασίζονται στον Zn (MBLs) (Εικόνα 5). Οι SBLs σχετίζονται κατά κάποιον τρόπο με τις PBPs, αφού χρησιμοποιούν τη σερίνη ως πυρηνόφιλο και υδρολύουν ομοιοπολικά τις β -λακτάμες μέσω ενός ενδιάμεσου ακυλένζιμου. Αντίθετα, οι MBLs χρησιμοποιούν ένα ενεργοποιημένο από το μέταλλο μόριο νερού ως πυρηνόφιλο, ώστε να πραγματοποιηθεί η αντίδραση υδρόλυσης.



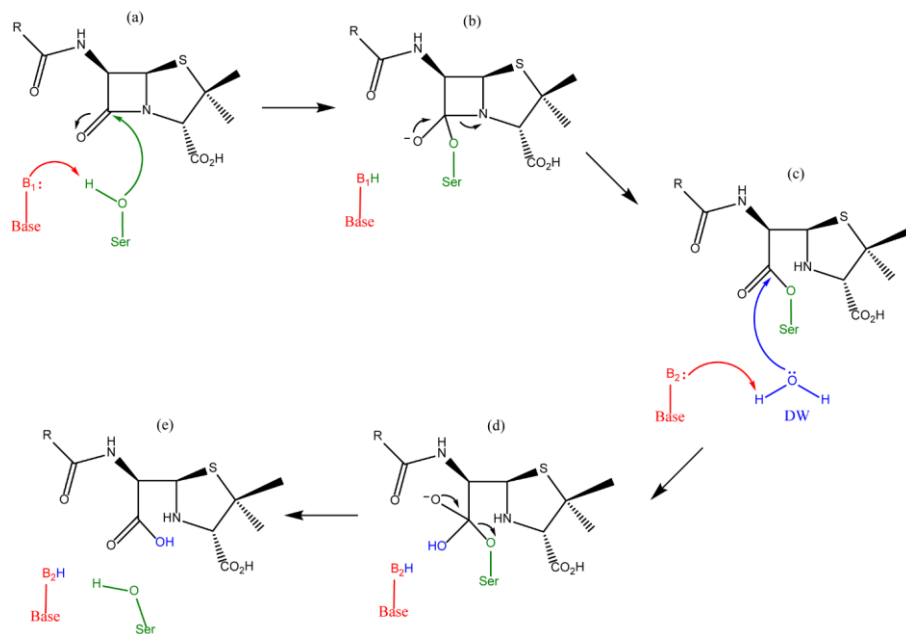
Εικόνα 5: Δομή αντιπροσωπευτικών β -λακταμασών κάθε κατηγορίας. Τα καταλυτικά σημεία των SBLs επισημαίνονται με πορτοκαλί χρώμα και τα ιόντα Zn των MBLs με γκρι σφαίρες (α) Κλάση A, KPC-2 (b) Κλάση B, NDM-1 (c) Κλάση C, AmpC (d) Κλάση D, OXA-48 .

Σχετικά με τις SBLs, τα είναι τα πιο γνωστά και τα περισσότερο μελετημένα ένζυμα ανήκουν στην κατηγορία Α των β-λακταμασών. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν το PC1 που είναι υπεύθυνο για την απενεργοποίηση της πενικιλίνης στα βακτήρια *S. Aureus*, το TEM, που ανιχνεύτηκε σε Gram-αρνητικά βακτήρια, είναι δραστικό έναντι αμινοπενικιλίνων και κεφαλοσπορίνων και έχει πάρει το όνομά του από έναν Έλληνα ασθενή με όνομα Τεμονείρα (Temoneira) [20], το SHV που φέρει σουλφουδρυλομάδα και ανιχνεύτηκε σε βακτήρια *K. Pneumoniae* [21], το KPC (*K. Pneumoniae carbapenemase*) [22], κ.α.. Σημειακές μεταλλάξεις στα TEM και SHV με στόχο την υδρόλυση οξυϊμινοκεφαλοσπορινών, όπως η κεφοταξίμη και η κεφταζιδίμη, έχουν δημιουργήσει έναν φαινότυπο SBLs “διευρυμένου φάσματος” (Extended Spectrum β-Lactamases, ESBLs) που απειλούν σημαντικά την αποτελεσματικότητα των κεφαλοσπορίνων [23]. Στην κατηγορία C ανήκουν SBLs που είναι ευρέως διαδεδομένες σε πολλά Gram-αρνητικά βακτηρίδια και σε αυτήν την κατηγορία ανήκει η πρώτη SBL που ανακαλύφθηκε σε *E.Coli*. Οι περισσότεροι από τους Gram-αρνητικούς παθογόνους οργανισμούς φέρουν γονίδια που κωδικοποιούν SBLs κατηγορίας C, τα οποία χαρακτηρίζονται ως AmpC και υπό κανονικές συνθήκες δεν εκφράζονται [24]. Μέλη της κατηγορίας C, όπως τα CMY, FOX και DHA, έχουν μεγαλύτερη κλινική σημασία διότι εξαπλώνονται μέσω του γενετικού υλικού *Enterobacteriaceae* και βακτηρίων *P. Aeruginosa*. Τέλος από την κατηγορία D, η οικογένεια των OXA ενζύμων είναι η πιο πολυπληθής και λιγότερο κατανοητή οικογένεια λακταμασών. Ενώ τα πρώτα OXA ένζυμα περιοριζόνταν στις πενικιλίνες, αργότερα αποδείχθηκαν ενεργά και ως προς τις κεφαλοσπορίνες και καρβαπενέμες. Πρόσφατα, βρέθηκαν OXA ένζυμα σε μια σειρά Gram-θετικών βακτηρίων, γεγονός που υποδηλώνει την εξαιρετικά ευρεία κατανομή και ποικιλότητα αυτών των ενζύμων [25]. Εκετενή αναφορά στις MBLs (κατηγορία Β) θα γίνει παρακάτω.

1.2.2 Μηχανισμοί υδρόλυσης β-λακταμασών σερίνης

Παρά τις διαφορές των τριών κατηγοριών SBLs, όλες χρησιμοποιούν έναν μηχανισμό ακυλίωσης – απακυλίωσης που θυμίζει τον μηχανισμό των πρωτεασών σερίνης. Σύμφωνα με τον μηχανισμό αυτό, το πυρηνόφιλο υδροξύλιο της σερίνης ενεργοποιείται από μια βασική ομάδα προσβάλλοντας τον καρβονυλικό άνθρακα του αμιδικού δεσμού της β-λακτάμης παράγοντας ένα ενδιάμεσο προϊόν ακυλοενζύμου,

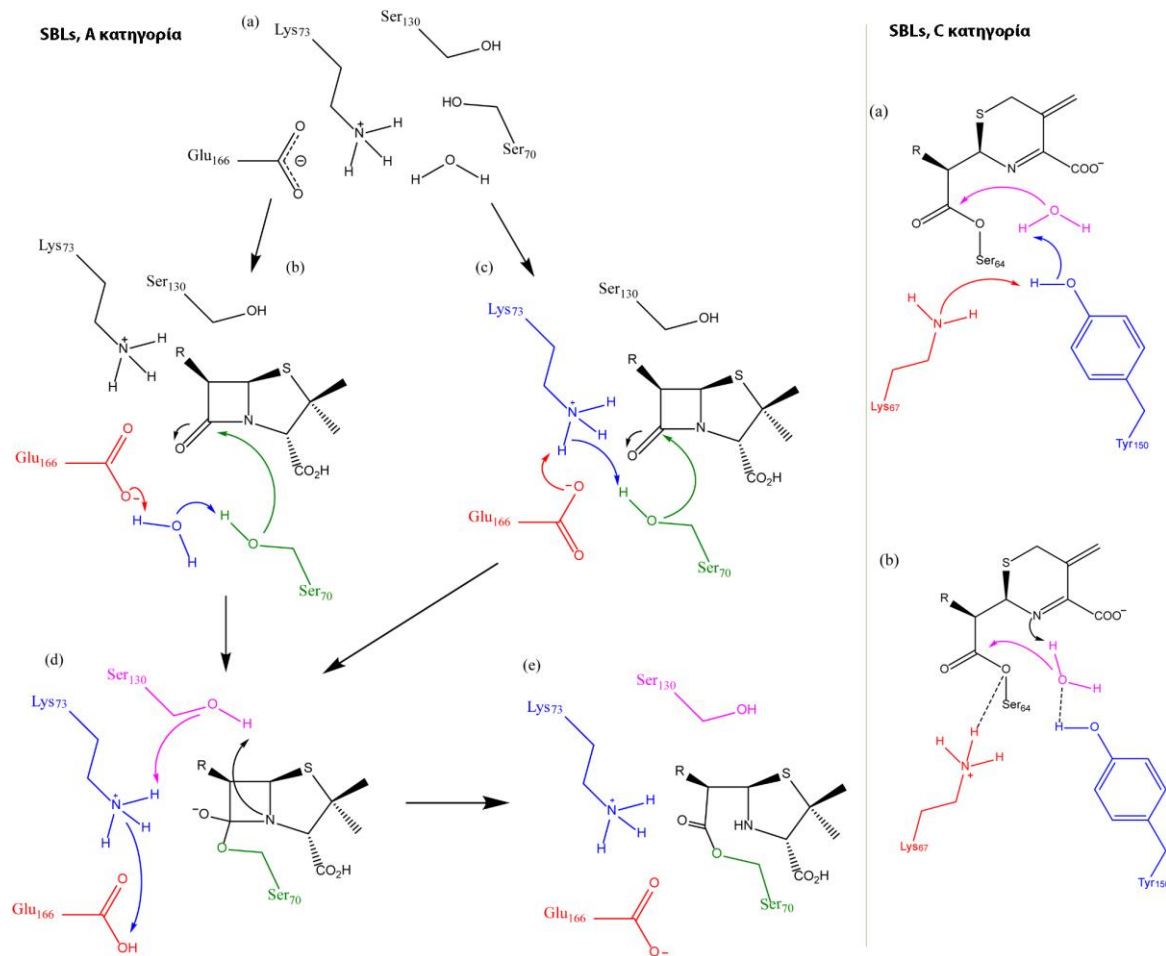
μέσω μιας μεταβατικής κατάστασης ενός τετραεδρικού οξυανιόντος (Εικόνα 6). Έπειτα, ένα μόριο νερού το οποίο ενεργοποιείται από μια βασική ομάδα και αποκαλείται νερό αποακυλίωσης, υδρολύει το ακυλοένζυμο απελευθερώνοντας με τον τρόπο αυτό τα προϊόντα αποικοδόμησης.



Εικόνα 6: Γενικό σχήμα μηχανισμού υδρόλυσης των SBLs

Οι διαφορές μεταξύ των τριών κατά Ambler κατηγοριών SBLs εντοπίζονται στον μηχανισμό και τις διαφορετικές αλληλεπιδράσεις που πραγματοποιούνται κατά την αποπρωτονίωση της καταλυτικής σερίνης. Για την κατηγορία A, έχουν προταθεί δύο διαφορετικοί μηχανισμοί που περιλαμβάνουν τα αμινοξέα Lys73 και Glu166 (Εικόνα 7): Στον πρώτο μηχανισμό το Glu166 αποτελεί το συστατικό που προάγει την αποπρωτονίωση με τη μεσολάβηση ενός μορίου νερού, ενώ η Lys73 βρίσκεται στην πρωτονιωμένη της μορφή και δεν συμμετέχει στην ενεργοποίηση της Ser70 [26]. Αντίθετα, στον δεύτερο μηχανισμό η Lys73 δημιουργεί το απαιτούμενο βασικό περιβάλλον για την αποπρωτονίωση της Ser70, χωρίς την παρουσία μορίου νερού, μέσω αποπρωτονίωσης από το Glu166. Και στις δύο περιπτώσεις, το λακταμικό άζωτο τελικά πρωτονιώνεται από τη Ser130 [27]. Για τις SBLs της κατηγορίας C, ο μηχανισμός υδρόλυσης δεν είναι αποσαφηνισμένος, πιστεύεται όμως ότι συμμετέχει η Tyr150 η οποία είτε πολώνει ένα μόριο νερού εφόσον έχει πρώτα ενεργοποιηθεί από τη γειτονική Lys67 είτε υποβοηθάει την αποπρωτονίωση του νερού από το N του υποστρώματος (Εικόνα 7) [24]. Τέλος για τις SBLs της κατηγορίας D, σημαντικό ρόλο φαίνεται να διαδραματίζει μια λυσίνη (αντίστοιχη της Lys73 στα ένζυμα της

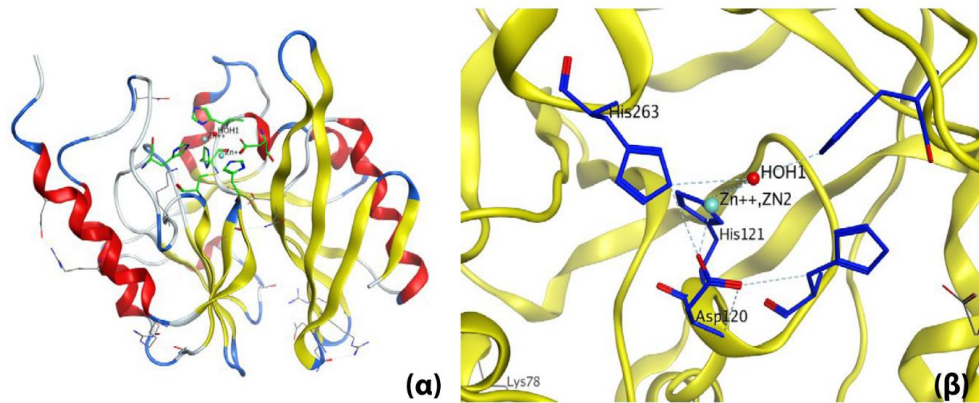
κατηγορίας A) η οποία συμμετέχει σε αντιστρεπτή αντίδρασή με το ατμοσφαιρικό CO₂ και το καρβοξυλιωμένο παράγωγο παίζει τον ρόλο της βάσης τόσο στην αντίδραση ακυλίωσης όσο και αποακυλίωσης [28].



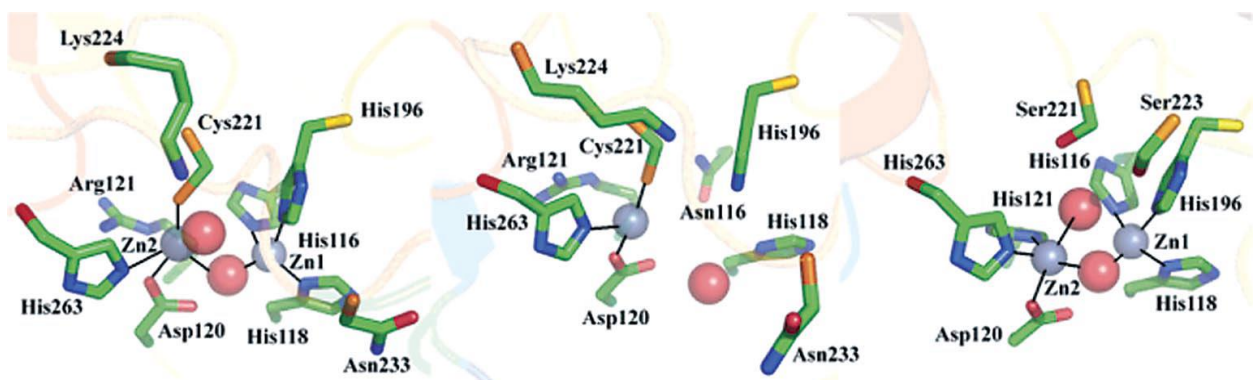
Εικόνα 7: Αριστερά: Εναλλακτικοί μηχανισμοί ακυλίωσης των β -λακταμασών κατηγορίας A. Δεξιά: Προτεινόμενοι μηχανισμοί αποακυλίωσης για τις β -λακταμάσες κατηγορίας C σε ακυλοένζυμο κεφαλοσπορίνης.

1.3 β -Λακταμάσες κατηγορίας B ή μεταλλο- β -λακταμάσες (MBLs)

Οι β -λακταμάσες κατηγορίας B ή μεταλλο- β -λακταμάσες (MBLs) διακρίνονται σε τρεις υποκατηγορίες, B1, B2 και B3, ανάλογα με την αμινοξική αλληλουχία, την εξειδίκευση υποστρώματος και τον αριθμό των ιόντων Zn στο ενεργό τους κέντρο. Παρά τις διαφορές στην ακολουθία των αμινοξέων, τα MBLs μοιράζονται ένα κοινό δομικό τμήμα τύπου sandwich $\alpha\beta/\beta\alpha$ και ένα μοτίβο πρόσδεσης μετάλλου που βρίσκεται στη διεπιφάνεια των δύο τμημάτων $\alpha\beta$ (Εικόνα 8) [29].



Εικόνα 8: (α) Δομή των MBLs. Τα αμινοξέα του ενεργού κέντρου φαίνονται με τη μορφή αναπαράστασης ράβδου. (β) Το ενεργό κέντρο της MBL NDM-1 από *Klebsiella Pneumoniae* [30].



Εικόνα 9: Σχηματική απεικόνιση των MBLs. Αριστερά: η B1 τύπου BclI λακταμάση από το βακτήριο *B. Cereus*, Κέντρο: η B2 τύπου CphA από το βακτήριο *Aeromonas Hydrophila*, Δεξιά: η B3 τύπου L1 από το βακτήριο *Stenotrophomonas Maltophilia*. Με γκρι σφαίρες αναπαριστούνται τα ιόντα ψευδαργύρου, με κόκκινο τα μόρια του νερού [31].

Η υποκατηγορία B1 των MBLs περιλαμβάνει διμεταλλικά ένζυμα με ένα ιόν Zn^{2+} να εμφανίζει τετραεδρική γεωμετρία αλληλεπιδρώντας με τρεις υποκαταστάτες ιστιδίνης ενώ ένας υποκαταστάτης νερού (υδρόξο) να σχηματίζει γέφυρα με το δεύτερο ιόν Zn^{2+} (Εικόνα 9). Το δεύτερο μεταλλικό ιόν λαμβάνει γεωμετρία τριγωνικής πυραμίδας προσδένοντας ένα ασπαρτικό οξύ, μια κυστεΐνη, μια ιστιδίνη και δύο μόρια νερού (υδρόξο), όπου το ένα είναι η κοινή γέφυρα με το πρώτο ιόν Zn^{2+} και το δεύτερο σχηματίζει γέφυρα μεταξύ του μεταλλικού κέντρου και της ιστιδίνης [32-33]. Η υποκατηγορία B2 έχει μόνο ένα μεταλλικό κέντρο Zn^{2+} , συναρμόζεται με τα αμινοξέα

ασπαρτικό οξύ, κυστεΐνη και ιστιδίνη και υδρολύει κυρίως καρβαπενέμες [34]. Τέλος, η υποκατηγορία B3 εμφανίζει πολλές ομοιότητες με την B1 αλλά διαφέρει στο ότι η κυστεΐνη έχει αντικατασταθεί από σερίνη και ότι στο δεύτερο μεταλλικό κέντρο του Zn^{2+} εμφανίζονται ασπαρτικό οξύ και δύο υποκαταστάτες ιστιδίνης, ενώ τα δύο μεταλλικά κέντρα ενώνονται με γέφυρα νερού [35]. Τα ενεργά κέντρα των τριών υποκατηγοριών MBLs παρουσιάζονται και στην Εικόνα 9.

Στον Πίνακα 1, παρουσιάζονται οι κυριότερες MBLs τα βακτήρια στα οποία έχουν εντοπιστεί και η υποκατηγορία που ανήκουν [36].

Πίνακας 1: Οι κυριότερες χρωμοσωμικά κωδικοποιημένες MBLs

Όνομα	Οργανισμός	Υποκατηγορία
Bce 170	Alkalophilic <i>Bacillus</i> spp.	B1
Bla2	<i>Bacillus anthracis</i>	B1
BcII-5/B/6	<i>Bacillus cereus</i>	B1
CGB-1	<i>Chryseobacterium gleum</i>	B1
IND-1,2,2a,3,4	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	B1
BlaB, BlaB2-8	<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>	B1
JOHN-1	<i>Flavobacterium johnsoniae</i>	B1
MUS-1	<i>Myroides odoratimimus</i>	B1
TUS-1	<i>Myroides odoratus</i>	B1
NDM-1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B1
VIM-2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	B1
SPM-1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	B1
IMP-1	<i>Serratia marcescens</i>	B1
CphA	<i>Aeromonas hydrophilia</i>	B2
ImiS	<i>Aeromonas veronii</i>	B2
AsbM1	<i>Aeromonas veronii</i>	B2
SFH-1	<i>Serratia fonticola</i>	B2
Mb11B	<i>Caulobacter crescentus</i>	B3
CAU-1	<i>Caulobacter crescentus</i>	B3
GOB-1-7	<i>Cryseobacterium meningosepticum</i>	B3
THIN-B	<i>Janthinobacterium lividium</i>	B3
FEZ-1	<i>Legionella gormanii</i>	B3
L1a, L1-BlaS, L1c-e	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	B3

Οι πρώτες δύο MBLs που εντοπίστηκαν ήταν η CcrA από το βακτήριο *Bacteroids fragilis* και η IMP1 από το *Pseudomonas aeruginosa*. Αργότερα πάνω από 20 διαφορετικές MBLs ταυτοποιήθηκαν σε διαφορετικούς οργανισμούς, με τις σημαντικότερες να είναι η MBL B1 υποκατηγορίας NDM (New Delhi MBL) που παρατηρείται σε βακτήρια *Enterobacteriaceae* [37] και η VIM (Verona MBL) που παρατηρείται σε αζύμωτους οργανισμούς, όπως *P. Aeruginosa* και εξαπλώνεται πολύ εύκολα μέσω ευκίνητων γενετικών στοιχείων [38]. Η NDM συγκεκριμένα χαρακτηρίζεται ως “γονίδιο επιδημίας” εξαιτίας της διασποράς της σε διαφορετικά

γενετικά υποστρώματα ενώ αποτελεί τον κυριότερο λόγο για την αποτυχία των καρβαπενεμών σε ανθεκτικά βακτήρια *Enterobacteriaceae*. Αντίθετα, μέλη των υποκατηγοριών B2 και B3 έχουν βρεθεί αποκλειστικά σε Gram-αρνητικά βακτήρια, με ελάχιστες εξαιρέσεις των B3 MBLs. Ίσως το ένζυμο με τη μεγαλύτερη κλινική σημασία είναι η L1 από τον εξαιρετικά ανθεκτικό οργανισμό *Stenotrophomonas maltophilia* που μολύνει σοβαρά ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς [39].

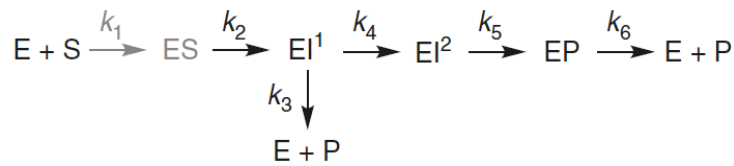
Οι μεταλλο-β-λακταμάσες και κυρίως αυτές που υπάγονται στην υποκατηγορία B1, αναγνωρίζουν και αναστέλλουν μεγάλο εύρος αντιβιοτικών τύπου β-λακτάμη, όπως πενικιλίνη, αμπικιλίνη, καρβενικιλίνη, ζαλοκιλίνη, πιπερακιλίνη και τικαρκιλίνη. Παρακάτω, στον Πίνακα 2, παρατίθενται ορισμένες κινητικές παράμετροι για τις MBLs IMP-1, VIM-1 και SPM-1, έναντι ορισμένων αντιβιοτικών τύπου β-λακτάμης [36]. Τα δεδομένα του Πίνακα 1 θέτουν το ερώτημα γιατί να υπάρχουν τόσες διαφορές στη συγγένεια και την υδρόλυση των β-λακταμών από παρόμοια ένζυμα. Η απάντηση βρίσκεται στη μεγάλη ποικιλία διαμορφώσεων που μπορεί να συνδεθεί το υπόστρωμα στις MBLs ώστε να βελτιστοποιούνται οι παραγωγικές αλληλεπιδράσεις, όπως έχουν αποκαλύψει πλήθος δομικών μελετών [36].

Πίνακας 2: Κινητικές παράμετροι σταθερής κατάστασης των IMP-1, VIM-1 και SPM-1 έναντι αντιβιοτικών β-λακτάμης.

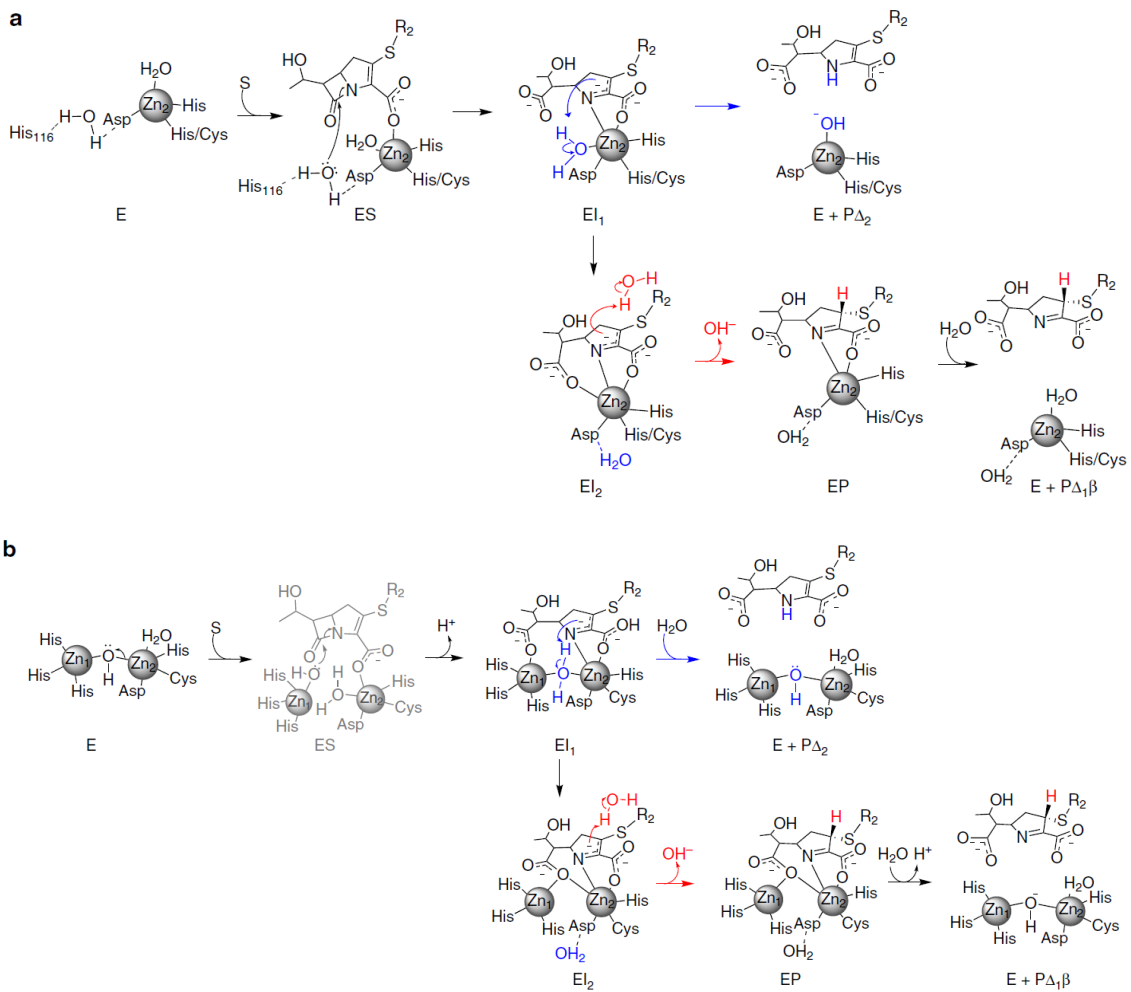
β-λακτάμες	IMP-1			VIM-1			SPM-1		
	K_{cat}	K_m	K_{cat}/K_m	K_{cat}	K_m	K_{cat}/K_m	K_{cat}	K_m	K_{cat}/K_m
	(s^{-1})	(μM)	($\mu M^{-1} s^{-1}$)	(s^{-1})	(μM)	($\mu M^{-1} s^{-1}$)	(s^{-1})	(μM)	($\mu M^{-1} s^{-1}$)
Ampicillin	950	200	4.8	37	917	0.04	117	72	1.6
Cefepime	7	11	0.66	549	145	3.8	18	18	1
Cefotaxime	1.3	4	0.35	169	247	0.68	16	9	1.9
Cefoxitin	16	8	2	26	131	0.2	8	2	4
Ceftazidime	8	44	0.18	60	794	0.076	28	46	0.6
Cefuroxime	8	37	0.22	324	42	7.7	37	4	8.8
Cephalothin	48	21	2.4	281	53	5.3	43	4	11.7
Imipenem	46	38	1.2	2.0	1.5	1.3	33	37	1
Meropenem	50	10	0.12	13	48	0.27	63	281	0.22
Nitrocefin	63	27	2.3	95	17	5.6	0.53	4	0.12
Penicillin	320	520	0.62	29	841	0.034	108	38	2.8
Tazobactam	> 1.0	> 3.98	0.0039	5.3	337	0.016	0.6	3	0.2
Ticarcillin	1.1	740	0.0015	452	1.117	0.41	-	< 0.35	-

1.3.1 Μηχανισμοί υδρόλυσης μεταλλο-β-λακταμασών

Η εξακρίβωση των μηχανιστικών λεπτομερειών που διέπουν τη δράση των β-λακταμών αποτελεί ένα πεδίο έντονης ερευνητικής δραστηριότητας καθώς συνεχώς αναθεωρείται. Με βάση την πιο πρόσφατη, επικρατέστερη θεώρηση από την ερευνητική ομάδα του Villa, προτείνεται ένας κοινός μηχανισμός για την υδρόλυση των καρβαπενεμών από όλες τις υποκατηγορίες των MBLs που βασίζεται στη συμμετοχή δύο ενδιάμεσων EI^1 και EI^2 , τα οποία καλούνται παραγωγικά ενδιάμεσα (Εικόνες 10 και 11) [35].



Εικόνα 10: Γενικός μηχανισμός υδρόλυσης από MBLs.



Εικόνα 11: Μηχανισμός υδρόλυσης καρβαπενεμών από (α) μονομεταλλικές MBLs και (β) διμεταλλικές MBLs.

Αρχικά, ο μηχανισμός περιλαμβάνει πρόσδεση της β -λακτάμης στο ενεργό κέντρο του ενζύμου ώστε να σχηματιστεί το αρχικό σύμπλοκο Michaelis (ES). Όσον αφορά τις B2 MBLs που διαθέτουν ένα ιόν Zn στη δομή τους, η πρόσδεση συνοδεύεται από την απομάκρυνση ενός μορίου νερού χωρίς τελικά να μεταβάλλεται η τετραεδρική γεωμετρία. Αντίθετα, στις μονομεταλλικές λακταμάσες που ανήκουν στην υποκατηγορία B3, η σφαίρα ένταξης του Zn₂ διευρύνεται ώστε με τη σύνδεση του υποστρώματος να παραχθεί το ES (Εικόνα 11a). Η περίπτωση των διμεταλλικών B1 και B3 MBLs ομοιάζει περισσότερο με τις μονομεταλλικές B2 όπου διατηρείται η τετραεδρική γεωμετρία μετά την απομάκρυνση του υδροξο υποκαταστάτη-γέφυρα από το Zn₂ (Εικόνα 11b). Και στις τρεις υποκατηγορίες, ο σχηματισμός του συμπλόκου ES περιλαμβάνει σύνδεση της καρβοξυλομάδας του υποστρώματος με το ιόν Zn₂ όμως διαφοροποιείται ο ρυθμός κατανάλωσής του καθώς στις B1 MBLs το πυρηνόφιλο υδροξύλιο χαρακτηρίζεται από υψηλή δραστηριότητα και οδηγεί τάχιστα το ES στα προϊόντα υδρόλυσης.

Μετά το σχηματισμό του συμπλόκου ES, ο β -λακταμικός δεσμός υφίσταται διάνοιξη έπειτα από πυρηνόφιλη προσβολή και παράγονται τα ενδιάμεσα προϊόντα, αρχικά το EI¹ και στην συνέχεια το EI². Η προσβολή αυτή πραγματοποιείται στη μεν περίπτωση των μονομεταλλικών MBLs από ένα ενεργοποιημένο μόριο νερού μέσω της πόλωσης από γειτονικά αμινοξέα, στις δε διμεταλλικές MBLs από το ανιόν υδροξυλίου που συνδέεται με το ιόν Zn₁. Μια σημαντική διαφορά μεταξύ των ενδιάμεσων EI¹ και EI² στην περίπτωση των μονομεταλλικών MBLs είναι ότι στο EI¹ το ιόν Zn₂ συνδέεται μόνο με την C₃-καρβοξυλομάδα της καρβαπενέμης ενώ στο EI² έχει προσδεθεί ταυτόχρονα και η C₇-καρβοξυλομάδα. Στην περίπτωση των διμεταλλικών MBLs, το EI¹ ενδιάμεσο προϊόν περιλαμβάνει αλληλεπίδραση της C₇-καρβοξυλομάδας με το ιόν Zn₁ και της C₃-καρβοξυλομάδας με το ιόν Zn₂, το οποίο ταυτόχρονα συνδέεται με το ετεροκυκλικό άζωτο, ενώ το EI² ενδιάμεσο προϊόν περιλαμβάνει την γεφύρωση των δύο ιόντων Zn μέσω της C₇-καρβοξυλομάδας (Εικόνα 11).

Στα δύο ενδιάμεσα EI¹ και EI², το αρνητικό φορτίο απεντοπίζεται εντός του δακτυλίου και η σχετική τους συγκέντρωση διαφέρει ανάλογα με την υπό μελέτη MBL. Η εξουδετέρωση αυτών των αρνητικά φορτισμένων ενδιάμεσων πραγματοποιείται έπειτα από πρωτονίωσή τους με διαφορετικό τρόπο για κάθε ενδιάμεσο. Έτσι, στο ενδιάμεσο EI¹ το τελικό προϊόν υδρόλυσης απομακρύνεται έπειτα από πρωτονίωση του ατόμου N και ταυτόχρονα το ενεργό κέντρο του ενζύμου επανέρχεται στην αρχική

του διαμόρφωση, όπου στις διμεταλλικές MBLs περιλαμβάνει το πυρηνόφιλο υδροξύλιο. Για το σύμπλοκο EI^2 , προτείνεται ότι ένα μόριο H_2O που δεν αλληλεπιδρά με το ιόν Zn είναι υπεύθυνο για την πρωτονίωση του C_2 , μια διεργασία που πραγματοποιείται με στερεοεκλεκτικό τρόπο. Μετά τον σχηματισμό του αρχικού συμπλόκου EP που έχει απωλέσει ένα μόριο νερού, το τελικό προϊόν υδρόλυσης αποσπάται ενώ ταυτόχρονα αποκαθίσταται η διαμόρφωση του ενεργού κέντρου [33, 35, 40].

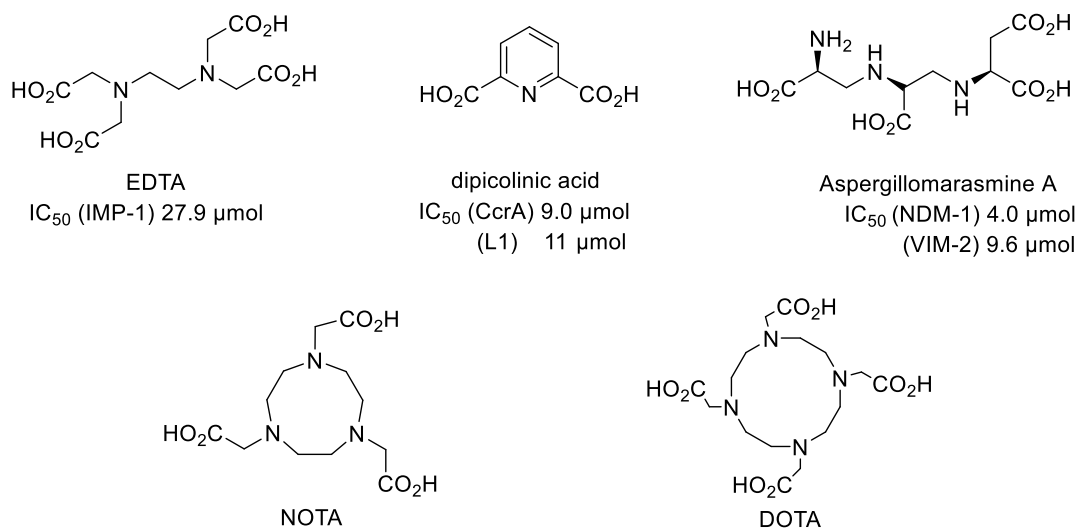
1.4 Αναστολείς μεταλλο-β-λακταμασών

Παρά τις έντονες ερευνητικές προσπάθειες, μόνο αναστολείς των SBLs έχουν βρει κλινική χρήση έως σήμερα. Ένας από τους βασικούς λόγους που κανένας αναστολέας των MBLs δεν έχει φτάσει στην κλινική είναι η έως πρόσφατα επικρατούσα άποψη ότι οι MBLs δεν αποτελούν σημαντική απειλή για τη δημόσια υγεία και ότι η εμφάνισή τους είναι περιορισμένη σε ορισμένες γεωγραφικές περιοχές. Όμως, σήμερα παρατηρείται ραγδαία αλλαγή των επιδημιολογικών δεδομένων με την παγκόσμια εξάπλωση στελεχών βακτηρίων που εκφράζουν την MBL NDM (*New Delhi Metallo-lactamase*), όπως *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Escherichia Coli* και *Klebsiella Pneumoniae*. Το μεγάλο πρόβλημα προκύπτει από την ανθεκτικότητα αυτών των βακτηρίων έναντι όλων των γνωστών αντιβιοτικών, συμπεριλαμβανομένων και των καρβαπενεμών που αποτελούν την τελευταία γραμμή άμυνας έναντι MDR βακτηρίων [41-43]. Η ανεξέλεγκτη εξάπλωση της βακτηριακής ανθεκτικότητας ενιχύεται από την πιθανή μετακίνηση ασθενών που έχουν μολυνθεί καθώς και από την αλόγιστη χρήση αντιβιοτικών στην κτηνοτροφία, με αποτέλεσμα να διαμορφώνεται ένα εξαιρετικά δυσοίωνο μέλλον για τη δημόσια υγεία. Έτσι, γίνεται σαφές ότι η αναστολή των MBLs ως μέσο καταπολέμησης της αναδυόμενης μικροβιακής ανθεκτικότητας και της παράτασης χρήσης των υπάρχοντων αντιβιοτικών αποτελεί επιτακτική ανάγκη. Ωστόσο, οι μεγάλες διαφορές αλληλουχίας μεταξύ των MBLs, το επιφανειακό ενεργό τους κέντρο, η έλλειψη σταθερών καταλυτικών καταλοίπων, οι δομικές ομοιότητες με ένζυμα των θηλαστικών και η αδυναμία ομοιοπολικής απενεργοποίησής τους καθιστά την ανάπτυξη αναστολέων MBLs πραγματική πρόκληση [17].

Δυο βασικές στρατηγικές έχουν ακολουθηθεί για την ανάπτυξη αναστολέων των MBLs: η στρατηγική που βασίζεται στην απόσπαση ή την ισχυρή σύμπλεξη των ιόντων Zn^{2+} από το ενεργό τους κέντρο και εκείνη που δεν εξαρτάται από τα ιόντα Zn^{2+} αλλά σε άλλες τεχνικές σχεδιασμού αναστολέων όπως η τεχνική των αναλόγων μεταβατικής κατάστασης (TSA). Οι βασικότερες κατηγορίες αναστολέων MBLs περιγράφονται παρακάτω:

1.4.1 Χηλικές ενώσεις

Μία από τις προσεγγίσεις για την ανάπτυξη αναστολέων των MBLs είναι η απόσπαση των ιόντων Zn^{2+} από το ενεργό τους κέντρο. Στο πλαίσιο αυτό, αξιολογήθηκε μια ποικιλία χηλικών ενώσεων ικανών να απομακρύνουν τα ιόντα Zn^{2+} από το ενεργό κέντρο των MBLs για την ανασταλτική τους δράση (Εικόνα 12) [44-45]. Όμως, η προοπτική αυτής της εναλλακτικής είναι περιορισμένη λόγω της χαμηλής εγγενούς εκλεκτικότητας που την χαρακτηρίζει σε σχέση με την παράλληλη αναστολή ανθρώπινων μεταλλοενζύμων, όπως των καρβονικών ανυδρασών, των καρβοξυπεπτιδασών και άλλων πρωτεασών αλλά και λόγω της διατάραξης της ισορροπίας των ιχνοστοιχείων στον ανθρώπινο οργανισμό [17].

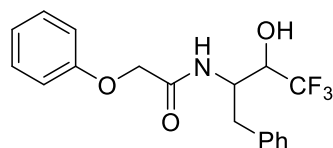


Εικόνα 12: Παραδείγματα χηλικών ενώσεων ως αναστολείς MBLs [46-50].

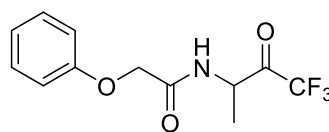
1.4.2 α -Αμιδο τριφλουρομεθύλο αλκοόλες και κετόνες

Το 1996, ο Schofield και οι συνεργάτες του παρουσίασαν μια σειρά α -άμιδο τριφλουρομεθύλο αλκοολών και κετονών ως πιθανοί αναστολείς των MBLs, χωρίς

όμως να βρεθούν ενώσεις που να είναι αποτελεσματικές έναντι όλων των κατηγοριών MBLs (Εικόνα 13) [51]. Μηχανιστικά, η δράση τους μπορεί να σχετίζεται με ισχυρή σύμπλεξη με τα μεταλλικά ιόντα στο ενεργό κέντρο των MBLs.



(2*R*,2*S*): Ki (CPhA) 19 ± 1 μmol
 (2*R*,3*R*): Ki (CphA) 20 ± 1 μmol

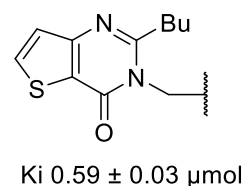
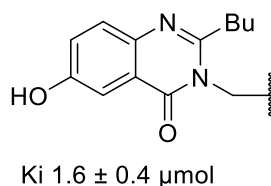
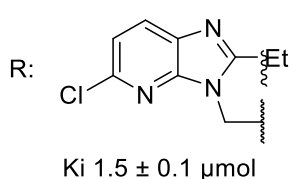
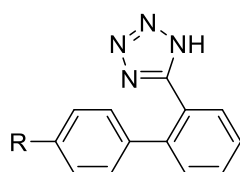


(3*S*): Ki (L1) 1.5 ± 0.01 μmol
 (3*R*): Ki (L1) 3.0 ± 0.4 μmol

Εικόνα 13: Παραδείγματα α -άμιδο τριφλουορομέθυλο αλκοολών και κετονών ως αναστολείς MBLs.

1.4.3 Διφαινυλοτετραζόλια

Ορισμένες διφαινυλοτετραζολικές ενώσεις έδειξαν ανασταλτική δράση έναντι των CcrA (Εικόνα 14), ενώ *in vivo* πειράματα σε στελέχη *Bacteroides fragilis* ανθεκτικά σε CcrA έδειξαν ότι είναι αποτελεσματικές σε συνδυασμό με ιμιπενέμη [52].

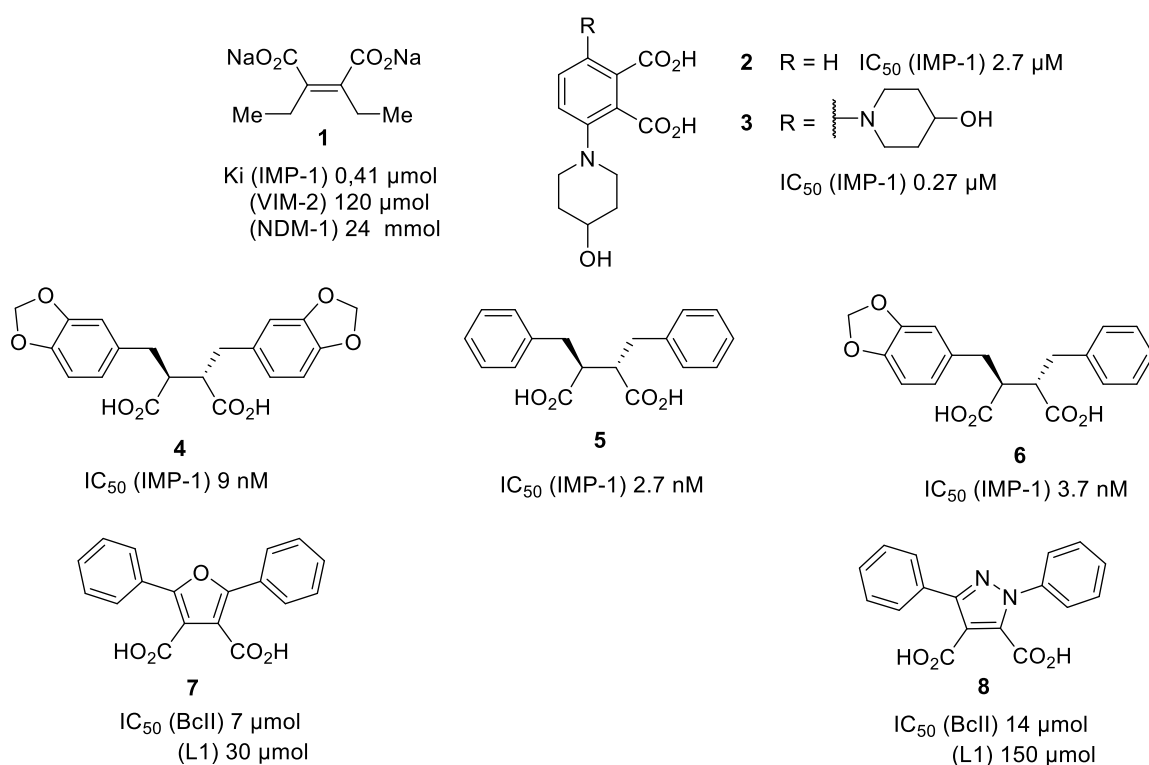


Εικόνα 14: Παραδείγματα διφαινυλοτετραζολών ως αναστολείς MBLs.

1.4.4 Δικαρβοξυλικά οξέα

Μια ποικιλία δικαρβοξυλικών οξέων, όπως παράγωγα του φθαλικού [53], μηλεϊνικού οξέος [54] και σουκινικού οξέος [55], μπορούν να αναστείλουν τις MBLs (Εικόνα 15). Χαρακτηριστικά, το διάλυμα νατρίου του 2,3-δισυλομηλεϊνικού οξέος (**1**) αποτελεί αναστολέα των IMP-1, VIM-2 και NDM-1, ενώ σε συνδυασμό με την βιαπενέμη μπορεί να αποτελέσει τρόπο θεραπείας της μόλυνσης από *Pseudomonas aeruginosa* όπως έδειξαν πειράματα *in vivo* [56]. Επιπλέον, όπως αναφέρθηκε από τον Hiraiwa και τους συνεργάτες του, τριυποκατεστημένα φθαλικά οξέα κυρίως με αμινο ή αλκοξυ υποκαταστάτες στη θέση 3 είναι ικανά να αναστείλουν το ένζυμο IMP-1, με πιο αποτελεσματική την ένωση (**3**) [53, 57-58]. Επίσης, ερευνητές της Merck δημοσίευσαν μια σειρά από 2,3-(*S,S*)-δισυποκατεστημένα σουκινικά οξέα τα οποία αναστέλλουν την IMP-1 με τιμές IC_{50} της τάξης των nM [55]. Στις ενώσεις αυτές βρέθηκε ότι η σχετική και η απόλυτη στερεοχημεία κάθε στερεογονικού κέντρου είναι

απαραίτητη για την ανασταλτική δράση. Μερικά χρόνια αργότερα, η ερευνητική ομάδα του Olsen ανέφερε ότι το φουρανικό παράγωγο **7** και το παράγωγο πυραζόλης **8** αποτελούν αποτελεσματικούς αναστολείς των BclI (B1 υποκατηγορία) και L1 (B3 υποκατηγορία) [59].

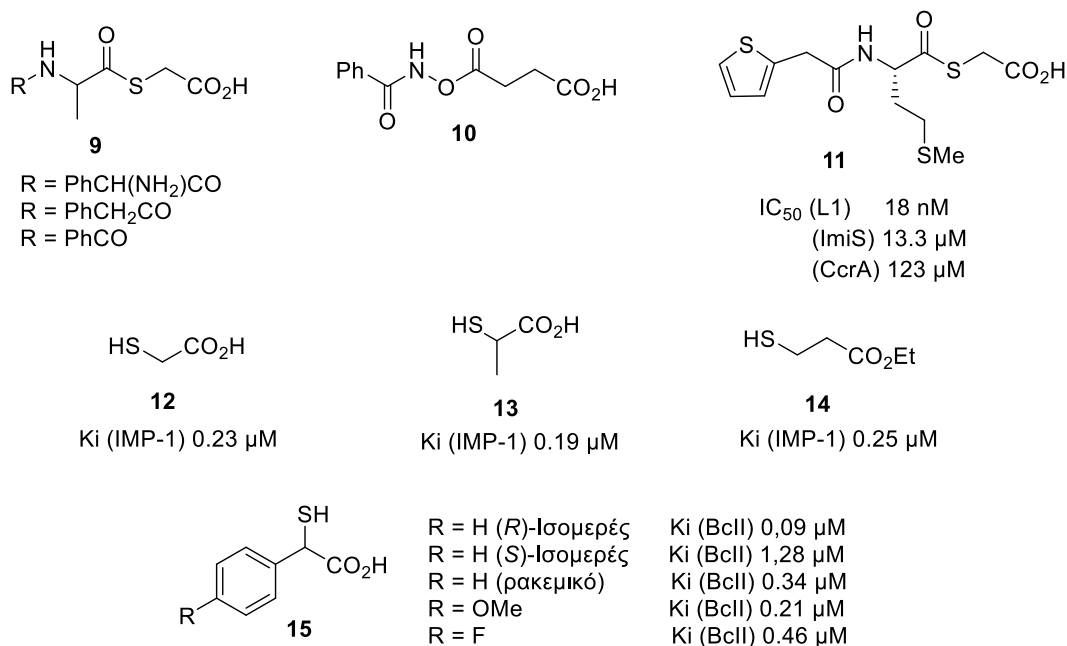


Εικόνα 15: Παραδείγματα δικαρβοξυλικών οξέων ως αναστολείς MBLs [54-56, 58-59].

1.4.5 Θειόλες και θειολικοί καρβοξυλικοί εστέρες

Στην κατηγορία αυτή ανήκει η πλειονότητα των αναστολέων των MBLs που έχει αναφερθεί έως σήμερα (Εικόνα 16). Σε αρχικές μελέτες από τον Payne και τους συνεργάτες του, παρατηρήθηκε ότι θειολικοί εστέρες του μερκαπτοοξικού οξέους (**9-10**) μπορούν να αναστείλουν τις BclI, L1 και CphA [60]. Η δράση τους έναντι των MBLs αποδίδεται στο μερκαπτοοξικό οξύ το οποίο αποτελεί προϊόν της ενζυμικής υδρόλυσης των εστέρων και σχηματίζει δισουλφιδικούς δεσμούς με την κυστεΐνη του ενεργού κέντρου αυτών των MBLs [61-62]. Αργότερα, αναφέρθηκε από τους Liu et al ότι η ένωση **11** μπορεί να αναστείλει εκλεκτικά την L1, μέτρια την ImiS και ασθενώς την CcrA [63-64]. Η ομάδα του Goto διερεύνησε την ικανότητα μιας σειράς θειολών χαμηλού μοριακού βάρους (**12-14**) να αναστείλουν τις MBLs με πιο αποτελεσματική ένωση το 2-μερκαπτοπροπιονικό οξύ [65]. Επίσης, όπως αναφέρθηκε από τον Roberts και τους συνεργάτες του, το θειομαντελικό οξύ και τα παράγωγά του τύπου

15 αναστέλλουν τις MBLs των B1 και B3 κατηγοριών ενώ δεν είναι αποτελεσματικά για την υποκατηγορία B2 [66]. Στον Πίνακα 3 φαίνεται η ανασταλτική δράση του ρακεμικού μίγματος της ένωσης **15** (R=H) ενάντι διαφόρων MBLs.



Εικόνα 16: Παραδείγματα θειολο-εστέρων του μερκαπτοοξικού οξέος (**9-11**), θειολών χαμηλού μοριακού βάρους (**12-14**), θειομαντελικού οξέος και παραγώγων (**15**) ως αναστολείς MBLs [60, 63, 65-66].

Πίνακας 3: Ανασταλτική δράση ρακεμικού μίγματος **15** (R=H) και τιμές *Ki* ενάντι διαφόρων MBLs [66].

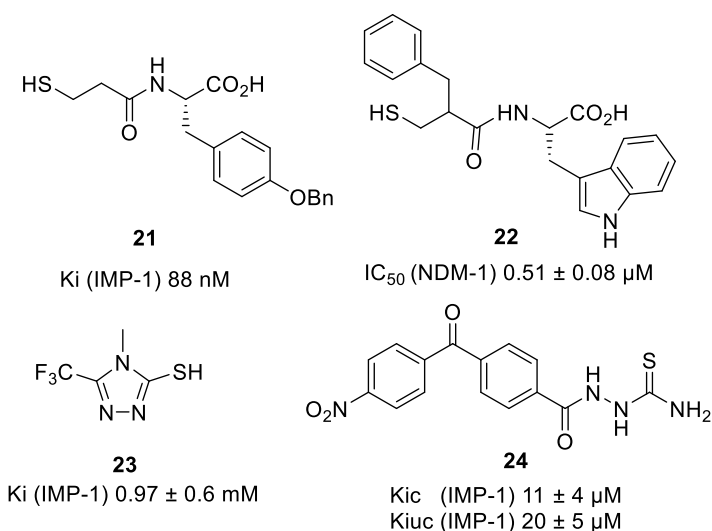
MBL	BclI	IMP-1	IMP-2	VIM-1	CcrA	BlaB	L1	FEZ-1	CphA
Ki (μmol)	0.34	0.029	0.059	0.23	0.80	0.56	0.081	0.27	144

Αναστολείς των MBLs (**16-20**) με ομάδες θειόλης πρότεινε και η ερευνητική ομάδα του Schofield η οποίοι ανέστειλλαν επιτυχώς τις MBLs όλων των κατηγοριών (Εικόνα 17). Παράγωγα θειόλης βασισμένα σε αμινοξέα έχουν αναφερθεί από τις ερευνητικές ομάδες του McGeary, όπως το παράγωγο τυροσίνης **21** που αναστέλλει ισχυρά την IMP-1 και του Ma που βασίστηκε στη δομή της τρυπτοφάνης για να αναπτύξει ενώσεις όπως η **22** που αποτελεί ισχυρό αναστολέα της NDM-1 (Εικόνα 18) [67-68]. Τέλος, μέσω της αξιολόγησης ενώσεων όπως η **23** για την ανασταλτική του δράση

έναντι της IMP-1, προέκυψε μια νέα τάξη αναστολέων με ισχυρή ανασταλτική δράση έναντι αυτών των ενζύμων, τα *N*-βενζοϋλιωμένα θειοσεμικαρβαζίδια, όπως η ένωση **24** [69-70].

Ki (μM)			
IMP	BclI	CphA	L1
16 : 0.36 ± 0.01	0.97 ± 0.2	0.09 ± 0.04	0.21 ± 0.01
17 : 0.67 ± 0.09	2.7 ± 0.2	0.5 ± 0.02	0.24 ± 0.01
18 : 0.019 ± 0.002	7.7 ± 0.7	5.7 ± 2.0	1.8 ± 0.4
19 : 0.088 ± 0.010	0.85 ± 0.08	15.0 ± 5.0	0.96 ± 0.08
20 : 0.63 ± 0.09	0.32 ± 0.01	3.6 ± 0.3	0.082 ± 0.02

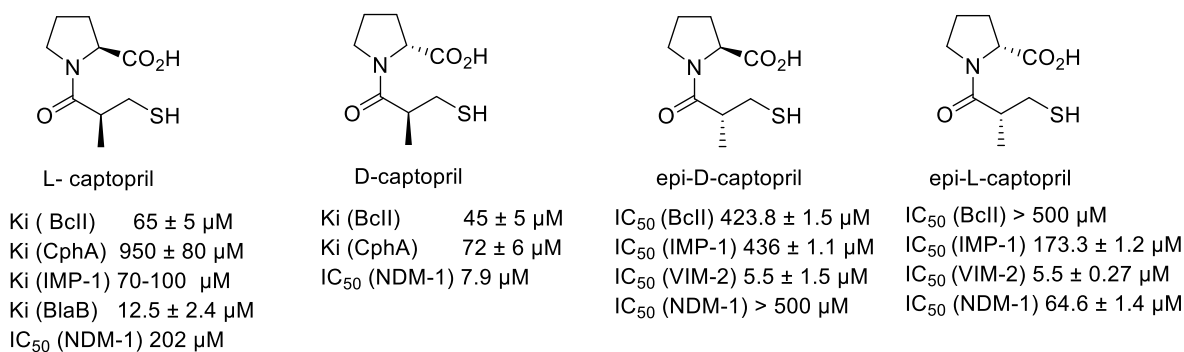
Εικόνα 17: Δομές και ανασταλτική δράση ενώσεων με ομάδες θειόλης που αναπτύχθηκαν από τον Schofield και τους συνεργάτες του [67].



Εικόνα 18: Δομές αναστολέων **21** – **24** [67-70].

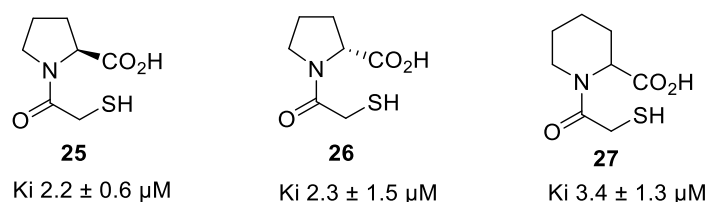
1.4.6 Captopril και παράγωγα

Το L-captopril αποτελεί έναν γνωστό αναστολέα του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης, μιας πεπτιδάσης Zn²⁺ η οποία διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στην ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης και διατίθεται εμπορικά για φαρμακευτική χρήση [71]. Σε ανεξάρτητες μελέτες, οι Heinz et al και Brem et al ανέφεραν ότι τα L- και D-captopril καθώς και τα επιμερή τους epi-L- και epi-D-captopril παρουσιάζουν σημαντική ανασταλτική δράση έναντι των MBLs, με πιο αποτελεσματικό να αποδεικνύεται το D-captopril (Εικόνα 19) [72-73].



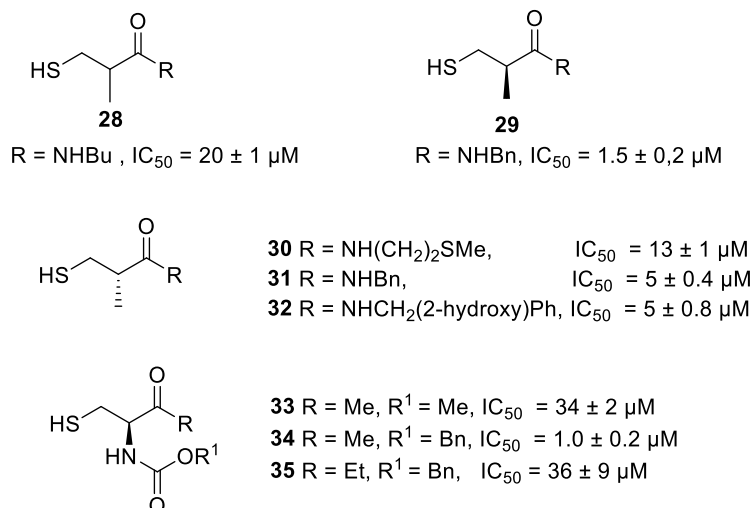
Εικόνα 19: Ανασταλτική δράση όλων των διαστερομερών του captopril [72-73].

Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα, ο McGeary και οι συνεργάτες του ανέπτυξαν μια σειρά αναλόγων των διαστερομερών του captopril (Εικόνα 20, **25-27**) και παρατήρησαν ότι σημαντικά στοιχεία για την ανασταλτική δράση έναντι της IMP-1 αποτελούν η ύπαρξη της σουλφυδρυλικής ομάδας, η απουσία μεθυλομάδας από την πλευρική αλυσίδα και το μήκος της θειοαλκυλικής πλευρικής αλυσίδας ενώ κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η δραστηριότητα δεν επηρεάζεται από την αύξηση του μεγέθους του δακτυλίου από πενταμελή δακτύλιο πυρολιδίνης σε εξαμελή δακτύλιο πιπεριδίνης [74].



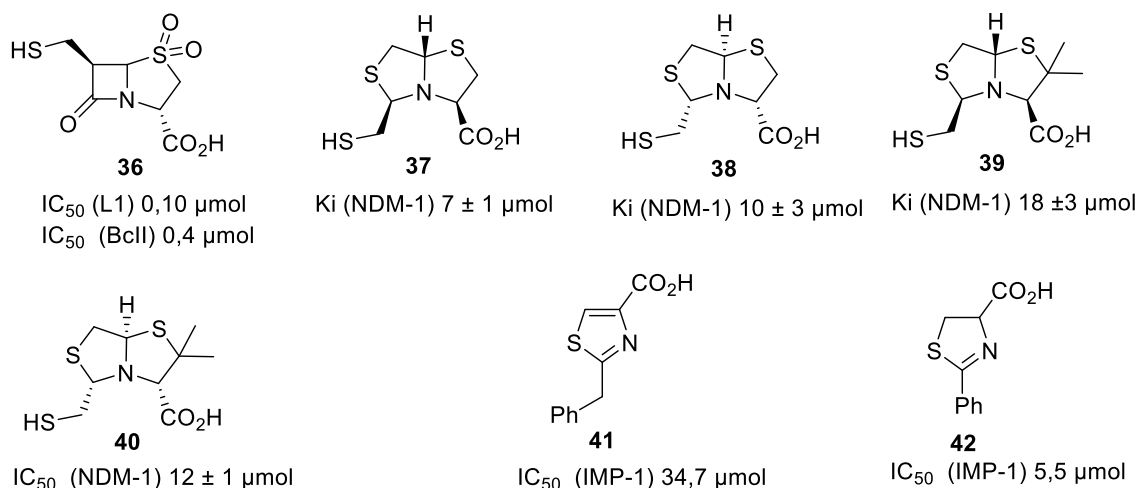
Εικόνα 20: Δομές και ανασταλτική δράση των αναλόγων του captopril 25-27 έναντι της IMP-1 [74].

Με βάση την πλευρική αλυσίδα του captopril, ο Li και οι συνεργάτες του ανέπτυξαν μια σειρά θειοκαρβόνυλο ενώσεων (**28-32**) και μελέτησαν την ανασταλτική τους δράση ως προς την NDM-1, καταλήγοντας στο *N*-βενζυλαμίδιο **29** ως τον ισχυρότερο αναστολέα αυτής της σειράς (Εικόνα 21) [75]. Οι Bai et al συνέθεσαν μια σειρά από παράγωγα L- και D-κυστεΐνης (**33-35**) και εξέτασε τη δραστηριότητά τους έναντι των NDM-1, με πιο ικανό αναστολέα τον Cbz-προστατευμένο μεθυλεστέρα της L-κυστεΐνης (**34**) [76].



Εικόνα 21: Δομές και ανασταλτική δράση των θειοκαρβόνυλο ενώσεων 28-32 και των παραγώγων κυστεΐνης 33-35 έναντι της NDM-1 [75-76].

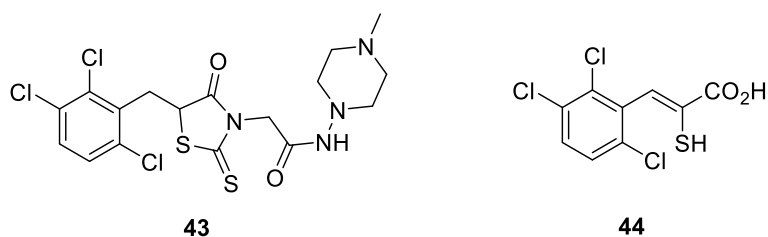
Το 2004, αναφέρθηκε από την ερευνητική ομάδα του Buynak ότι θειολικά παράγωγα πενικιλίνης όπως το 6-μερκαπτομέθυλο παράγωγο **36** είναι ικανά να αναστείλλουν τις ομάδες A και C των SBLs αλλά και τις L1 και BclI των MBLs (Εικόνα 22) [77]. Αρκετές δις-θειαζολιδίνες (**37-40**) που περιέχουν και καρβοξυλομάδα και ομάδα θειόλης βρέθηκαν να έχουν ανασταλτική δράση έναντι της NDM-1 [78], ενώ θειοαιθερικά καρβοξυλικά οξέα, όπου το άτομο του θείου είναι ενσωματωμένο σε αρωματικό ή αλειφατικό δακτύλιο είναι δραστικά έναντι των IMP-1 (**41,42**) [46].



Εικόνα 22: Δομές και ανασταλτική δράση των παραγώγων πενικιλίνης (36), δις-θειαζολιδίνης (37-40) και θειοαιθερικών καρβοξυλικών οξέων (41,42) έναντι MBLs [46, 77-78].

1.4.7 Ροδανίνες

Το 2014, ο Schofield και οι συνεργάτες του ανέφεραν ότι η ροδανίνη **43** υδρόλύεται *in situ* από την VIM-2 παράγοντας την ένωση **44** η οποία έχει την ικανότητα να αναστείλλει ισχυρά έναν μεγάλο αριθμό B1 MBLs (Εικόνα 23) [79]. Επίσης, αξιοσημείωτο ήταν το γεγονός ότι σε αρκετές περιπτώσεις η δραστηκότητα ενισχύονταν με χρήση μίγματος των **43** και **44**.

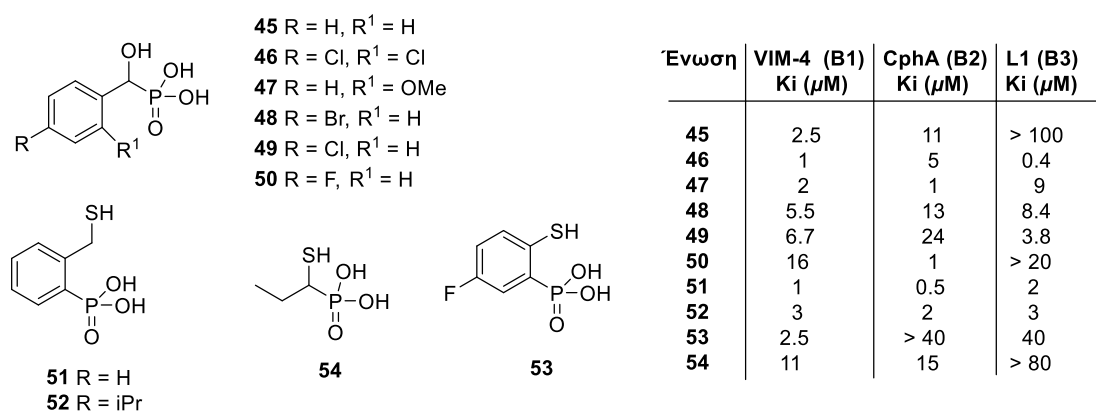


MBL	IC50 (μM) 43	IC50 (μM) 44	IC50 (μM) 1:1 43:44
NDM-1	9.44 ± 1.44	1.05 ± 0.3	0.52 ± 0.18
VIM-1	0.66 ± 0.25	0.44 ± 0.19	0.26 ± 0.13
VIM-2	0.49 ± 0.18	0.30 ± 0.09	0.016 ± 0.004
SPM-1	1.32 ± 0.62	1.76 ± 0.51	0.14 ± 0.04
IMP-1	0.1749 ± 0.060	0.00288 ± 0.50	0.061 ± 0.017
BcII	0.50 ± 0,15	0.02 ± 0.07	0.56 ± 0.19

Εικόνα 23: Δομή ροδανίνης 43 και του προϊόντος της υδρόλυσής της 44 και ανασταλτική δράση τους και μίγματος 1:1 έναντι διαφόρων MBLs [79].

1.4.8 Παράγωγα του φωσφορικού οξέος

Ο Bebrone και οι συνεργάτες του συνέθεσαν μια σειρά από θειολοφωσφονικά οξέα εκ των οποίων οι ενώσεις με υποκατεστημένο αρωματικό δακτύλιο αναστέλλουν MBL όλων των κατηγοριών (Εικόνα 24) [80].

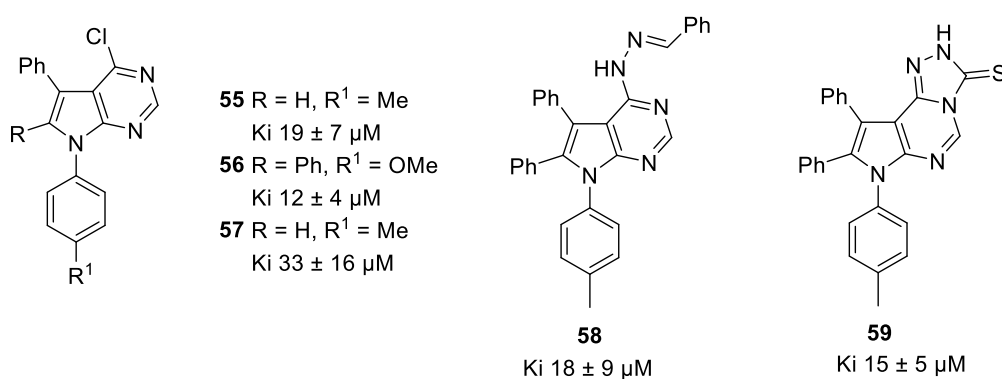


Εικόνα 24: Δομές αναστολέων παραγώγων του φωσφορικού οξέος 45-54 και ανασταλτική δράση έναντι των VIM-4, CphA και L1 [80].

Αξιοσημείωτη λεπτομέρεια είναι ότι σύμφωνα με την κρυσταλλική δομή του συμπλόκου της CrhA με το διχλωροαρυλοφωσφονικό οξύ **46**, η λειτουργική ομάδα που συνδέεται με το ιόν Zn^{2+} δεν είναι η ομάδα θειόλης αλλά η φωσφονική.

1.4.9 Πυρόλιο και Παράγωγα

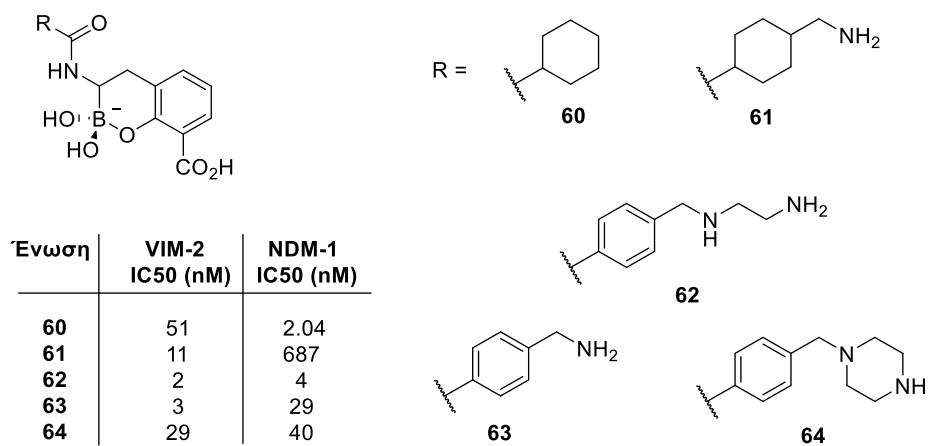
Ορισμένες από τις δομές με βάση τον δακτύλιο πυρολίου που έχει αποδειχθεί ότι εμφανίζουν ανασταλτική δράση έναντι της IMP-1 παρατίθενται στην Εικόνα 25 [81-82]. Αν και δεν είναι σαφές με ποιο τρόπο αλληλεπιδρούν με το ενεργό κέντρο, υπολογιστικές μελέτες δείχνουν ότι το αρωματικό σύστημα πρέπει να αλληλεπιδρά με την Trp64 σε έναν εύκαμπτο βρόχο κοντά στο ενεργό κέντρο.



Εικόνα 25: Δομές αναστολέων παραγώγων του πυρολίου (55-59) και ανασταλτική δράση έναντι της IMP-1 [81-82].

1.4.10 Κυκλικά παράγωγα βορονικού οξέος

Τα κυκλικά βορονικά παράγωγα είναι αναστολείς των SBLs δρώντας ως ανάλογα μεταβατικής κατάστασης, καθώς μιμούνται το τετραεδρικό ενδιάμεσο που προκύπτει από την πυρηνόφιλη προσβολή του κατάλοιπου σερίνης αυτών των ενζύμων [83]. Έχει βρεθεί, όμως, ότι αυτές οι ενώσεις αναστέλλουν και τις MBLs (Εικόνα 20) [72]. Πιο συγκεκριμένα, αναστέλλουν τις B1 MBLs, όπως τις VIM-2 και NDM-1, με τιμές IC₅₀ της τάξης των nM, καθώς και λιγότερο ισχυρά τις B2 MBLs, όπως την CrhA. Σύμφωνα με κρυσταλλογραφικές μελέτες της δομής συμπλόκου της ένωσης **61** με την VIM-2, η δραστηρότητά τους οφείλεται στην τετραεδρική τους διαμόρφωση που μιμείται το τετραεδρικό ενδιάμεσο το οποίο προκύπτει από την υδρόλυση του β-λακταμικού δακτυλίου από τις MBLs.



Εικόνα 26: Δομές κυκλικών παραγώγων του βορονικού οξέος και ανασταλτική δράση τους έναντι των VIM-2 και NDM-1 [72].

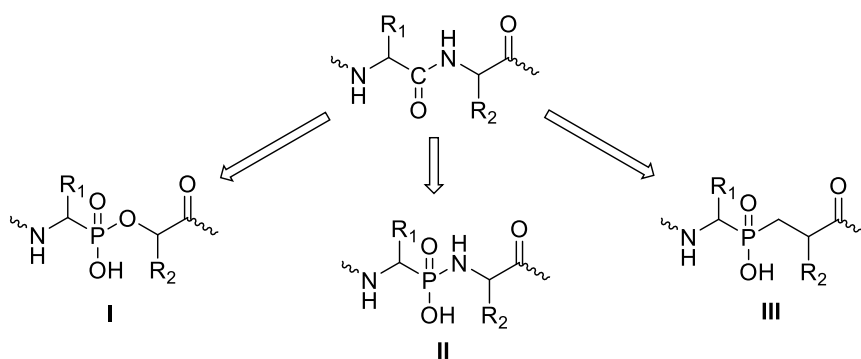
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΦΩΣΦΙΝΙΚΑ ΠΕΠΤΙΔΙΑ: ΔΟΜΕΣ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΕΝΗΣ ΔΙΑΜΟΡΦΩΤΙΚΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΔΟΜΙΚΗΣ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗΣ

2.1 Φωσφινικά πεπτίδια ως ενζυμικοί αναστολείς.

Μια εδραιωμένη στρατηγική για την ανάπτυξη ισχυρών ενζυμικών αναστολέων αποτελούν τα **ανάλογα μεταβατικής κατάστασης** (transition-state analogues, TSA) [84]. Η δράση τους βασίζεται στην αρχή ότι οι αλληλεπιδράσεις ενζύμου – υποστρώματος κατά την ενζυμική διεργασία μεγιστοποιούνται στην μεταβατική κατάσταση της αντίδρασης [85]. Έτσι, η προσπάθεια πιστής μεταφοράς όλων των διαμορφωτικών και ηλεκτρονιακών χαρακτηριστικών που έχει το υπόστρωμα στην μεταβατική κατάσταση σε μια σταθερή δομή που δεν θα επηρεάζεται από την ενζυμική λειτουργία, μπορεί να αποτελέσει εξαιρετικά αποτελεσματική τεχνική για τον εντοπισμό ενζυμικών αναστολέων. Στην πράξη, η πλήρης αναπαραγωγή των δομικών χαρακτηριστικών της μεταβατικής κατάστασης (γωνίες, σθένη και διαχωρισμός φορτίων, μήκη σχηματιζόμενων ή διασπώμενων δεσμών) σε ένα σταθερό μόριο δεν είναι ποτέ εφικτή, εν τούτοις η τεχνική αυτή έχει αποδειχθεί επιτυχής σε ένα μεγάλο αριθμό ενζύμων, γεγονός που υποδηλώνει ότι έστω και μερική διαφοροποίηση από το σύμπλοκο Michaelis μπορεί να είναι εξίσου αποτελεσματική σε πολλές περιπτώσεις.

Μια σημαντική κατηγορία αναστολέων που ανήκουν στην κατηγορία των παραγώγων TSA αποτελούν και τα οργανοφωσφορικά ανάλογα των φυσικών πεπτιδίων [86]. Πρόκειται για αναστολείς πρωτεασών ή πεπτιδασών με σημαντικότερη εφαρμογή στις περιπτώσεις των μεταλλοπρωτεασών Zn και, σε μικρότερο βαθμό, των πρωτεασών ασπαρτικού οξέος [87]. Σε αυτήν την κατηγορία των ενώσεων ανήκουν παράγωγα όπου ο πεπτιδικός δεσμός του προς υδρόλυση πεπτιδίου έχει αντικατασταθεί είτε από τη **φωσφοναμιδική** είτε τη **φωσφονική** είτε την **φωσφινική** ομάδα (Εικόνα 27). Πράγματι, ένας μεγάλος αριθμός κρυσταλλογραφικών μελετών έχει καταδείξει την υψηλού βαθμού ομοιότητα των ομάδων αυτών με την τετραεδρική δομή *gem*-διόλης που αποκτά ο πεπτιδικός δεσμός στη μεταβατική κατάσταση της υδρόλυσής του από μια πρωτεάση.



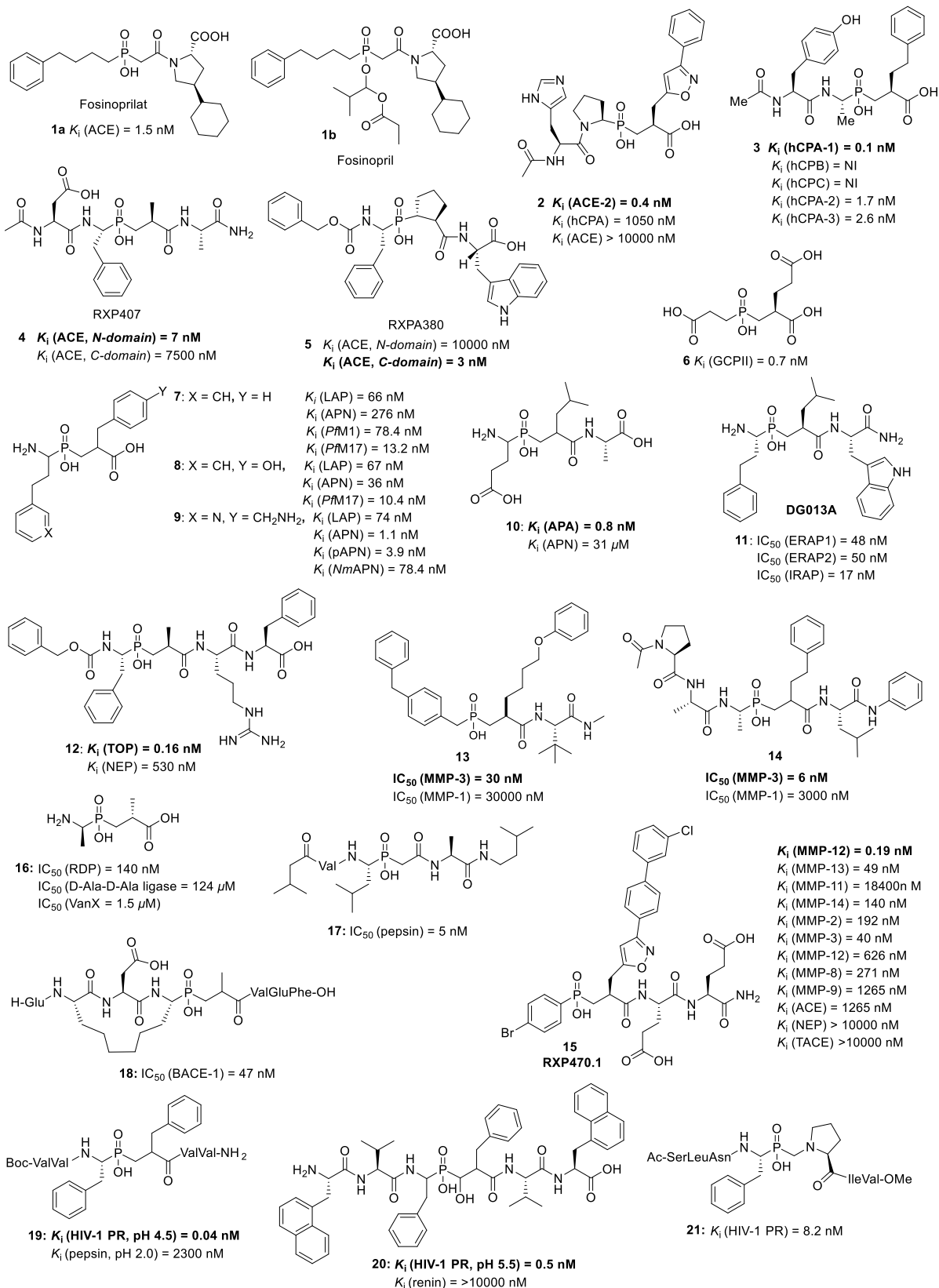
Εικόνα 27: Φωσφονικοί (I), φωσφοναμιδικοί (II) και φωσφινικοί (III) αναστολείς που προκύπτουν με αντικατάσταση του πεπτιδικού δεσμού.

Αρχικά, το μεγαλύτερο μέρος των σχετικών εργασιών είχε εστιαστεί στη μελέτη των φωσφοναμιδικών και φωσφονικών ψευδοπεπτιδίων. Οι ενώσεις αυτές χρησιμοποιήθηκαν ως πολύτιμα εργαλεία σε δομικές και μηχανιστικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε πρωτότυπα μέλη ομάδων μεταλλοπρωτεασών Zn, όπως η θερμολυσίνη και η καρβοξυπεπτιδάση A [88-91]. Μειονέκτημα, ωστόσο, των παραπάνω κατηγοριών οργανοφωσφορικών ενώσεων αποτελεί η αστάθεια του φωσφοναμιδικού δεσμού (P–N) στην υδρόλυση, καθώς και η μειωμένη δραστηριότητα των φωσφονικών (P–O) παραγώγων που περιορίζαν τις πρακτικές εφαρμογές. Τα παραπάνω μειονεκτήματα αποφεύγονται με τη χρήση ψευδοπεπτιδίων φωσφινικού οξέος. Τα φωσφινικά ψευδοπεπτιδία εμφανίζουν σταθερότητα σε όλο το εύρος των τιμών του pH, ενώ παρουσιάζουν παρόμοια ισχύ με τα αντίστοιχα φωσφοναμιδικά παράγωγα [92].

Η ομάδα του φωσφινικού οξέος εμφανίζει τετραεδρική γεωμετρία και τιμή $pK_a \sim 1.0$, συνεπώς παρουσιάζουν πιο όξινο χαρακτήρα σε σχέση με αντίστοιχα καρβοξυλικά οξέα ($pK_a \sim 2.0 - 3.0$) [93]. Οι φωσφινικοί αναστολείς συγκεντρώνουν μια σειρά από χαρακτηριστικά που τους καθιστούν ιδιαίτερα σημαντικούς. Μεταξύ αυτών συγκαταλέγονται η σταθερότητά τους σε θερμοκρασία δωματίου, η ικανότητα του φωσφορικού οξοανιόντος να συμπλέκεται με το κατιόν ψευδαργύρου των ενζύμων, οι αλληλεπιδράσεις του ψευδοπεπτιδικού σκελετού με τις αντίστοιχες περιοχές του ενεργού κέντρου, καθώς και η *in vivo* σταθερότητα και η χαμηλή τοξικότητα που τα διακρίνουν [87, 94-97].

Αν και συμπλέκονται με το ιόν Zn, αποτελούν ασθενέστερη χηλική ομάδα σε σχέση με ομάδες άλλων κατηγοριών αναστολέων μεταλλοπρωτεασών Zn (π.χ. υδροξαμικά

οξέα, βορονικά οξέα, ένυδρες αλδεΐδες, θειόλες κ.α.) [95]. 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, καλή συμπληρωματικότητα του αναστολέα με το ένζυμο είναι απαραίτητη για την ύπαρξη ισχυρής αναστολής. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα μεγαλύτερη εκλεκτικότητα, αφού η συμπληρωματικότητα εξαρτάται από τη δομή του κάθε ενζύμου. Συμπερασματικά, ένας από τους βασικούς λόγους που καθιστούν το σχεδιασμό και τη σύνθεση φωσφινικών ψευδοπεπτιδίων επιθυμητό στόχο για την αναστολή των μεταλλοπρωτεασών ψευδαργύρου είναι ο υψηλός βαθμός εξειδίκευσης ως προς το ένζυμο-στόχο [95, 98]. Επίσης, η χημεία άλλων κατηγοριών αναστολέων, όπως τα υδροξαμικά οξέα και οι θειόλες, δίνει πρόσβαση είτε μόνο αριστερής είτε μόνο δεξιάς σύμπλεξης, επιτρέποντας έτσι τη διερεύνηση μόνο μιας από τις περιοχές του ενεργού κέντρου (της S ή της S', αντίστοιχα), ενώ η χημεία των φωσφινικών πεπτιδίων καθιστά δυνατή τη σύνθεση αναστολέων **αμφίπλευρης σύμπλεξης**, οι οποίοι μπορούν να αλληλεπιδράσουν ταυτόχρονα με την S και την S' περιοχή του ενεργού κέντρου (Εικόνα 12), επιτρέποντας έτσι βελτιστοποίηση της εκλεκτικότητας μέσω κατάλληλης τροποποίησης των P και P' θέσεων (αντίστοιχες θέσεις υποστρώματος) [95, 98]. 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 [95, 97]. Ορισμένα παραδείγματα ενζυμικών αναστολέων φωσφινικού τύπου φαίνονται στην Εικόνα 28.



Εικόνα 28: Παραδείγματα αναστολέων φωσφινικού τύπου

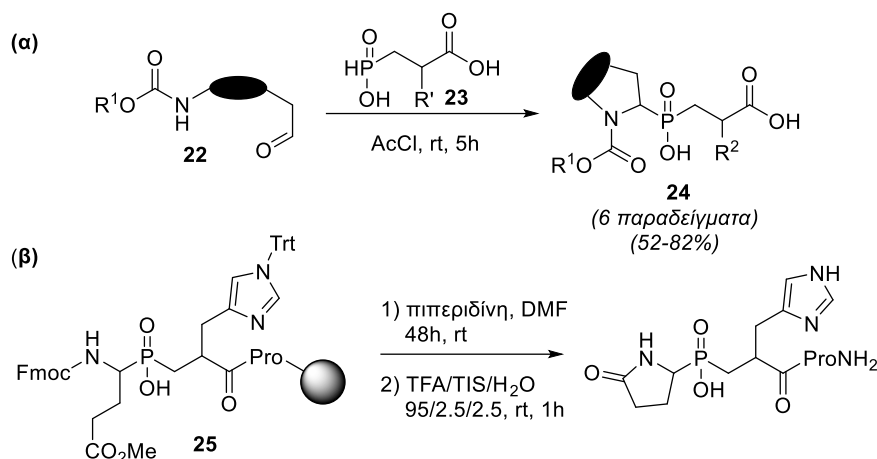
Το πιο επιτυχημένο παραδείγμα αναστολέα φωσφινικού τύπου που έχει βρει ευρεία φαρμακευτική χρήση είναι το fosinopril (**1b**) που αποτελεί ισχυρό αναστολέας του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης (ACE) και εισήχθη στην αγορά το 1991 από την εταιρία Bristol-Myers-Squibb με την εμπορική ονομασία Monopril [99]. Αποτελεί προφάρμακο του οξέος fosinoprilat με αυξημένη λιποφιλικότητα και δια στόματος βιοδιαθεσιμότητα [100]. Αργότερα, αναπτύχθηκαν οι εκλεκτικοί αναστολείς RXP407 (**4**) και RXPA380 (**5**), δύο φωσφινικά πεπτιδία που αποτελούν έως σήμερα τους εκλεκτικότερους αναστολείς του *N*- και *C*-ενεργού κέντρου του διλειτουργικού ενζύμου ACE, αντίστοιχα [101-102]. Ενδιαφέρον παρουσιάζει και η περίπτωση της καρβοξυπεπτιδάσης ACE2 η οποία αναστέλλεται εκλεκτικά από την ένωση **2** καθώς αποτελεί σημείο εισόδου κορονοϊών στα κύτταρα, όπως του COVID-19 που πρόσφατα προκάλεσε τη παγκόσμια κινητοποίηση για την αποφυγή πανδημίας [103]. Άλλες καρβοξυπεπτιδάσες για τις οποίες έχουν αναπτυχθεί εκλεκτικοί φωσφινικοί αναστολείς είναι η ανθρώπινης CPA, ενός ενζύμου που έχει συσχετιστεί με το σύνδρομο Duane και την επιληψία (ένωση **3**) [104] και η γλουτάμυλο καρβοξυπεπτιδάσης II (GPCII) που συμμετέχει σε πλήθος νευρολογικών παθήσεων και υπερεκφράζεται στον καρκίνο του προστάτη (ένωση **6**) [105]. Όσον αφορά αναστολείς αμινοπεπτιδασών, οι αναστολείς **7** και **8** επέδειξαν ανάλογη ισχύ έναντι της αμινοπεπτιδάσης της λευκίνης (LAP), ενώ αποδείχθηκαν και εξαιρετικά αποτελεσματικοί αναστολείς της APN, ενός ενζύμου που υπερεκφράζεται σε σχεδόν όλους τους κακοήθεις όγκους [106-107], και των M1 και M17 αμινοπεπτιδασών *P. falcifarum* που αποτελούν στόχο για την αντιμετώπιση της ελονοσίας [108]. Πρόσφατα, εντοπίστηκε η ένωση **9**, που αναστέλλει ισχυρά τις APN ανθρώπου και χοίρου και επιδεικνύει εκλεκτικότητα έναντι των LAP και NmAPN [109]. Η ένωση **10** αποτελεί ισχυρό αναστολέα της APA και εκλεκτικό έναντι άλλων ενζύμων που συμμετέχουν στο σύστημα ρενίνης-αγγειοτενσίνης, όπως τα APN, NEP και ACE [110] ενώ η ένωση **11 (DG013A)** αποτελεί τον πρώτο ισχυρό αναστολέα των ERAP1, ERAP2 και IRAP, 3 αμινοπεπτιδασών που εμπλέκονται στη διαδικασία της αντιγονοπαρουσίασης και αναπτύχθηκε το 2013 από την ερευνητική μας ομάδα [111-112]. Φωσφινικοί αναστολείς έχουν αναπτυχθεί και για ενδοπεπτιδάσες, όπως οι ενώσεις **12-15**. Έτσι, η ένωση **12** αποτελεί ισχυρό και εκλεκτικό αναστολέα της ενδοπεπτιδάσης TOP (EC: 3.4.24.16) έναντι της ομόλογης NEP (EC: 3.4.24.15) και αποτελεί την πρώτη ανακάλυψη αναστολέων έπειτα από εφαρμογή πεπτιδικής σύνθεσης σε στερεά φάση [113]. Σημαντικές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί στον

τομέα των ματριξινών MMPs, μιας οικογένειας ενδοπεπτιδασών που εμπλέκονται σε παθήσεις σχετιζόμενες με την αποικοδόμηση συστατικών της εξωκυττάριας μήτρας. Έτσι, η ένωση **13** αναστέλλει εκλεκτικά την MMP-3 (στρομελυσίνη 1) έναντι της MMP-1 (κολλαγονάση 1) και αναπτύχθηκε από την Merck [114], η ένωση **14** που αναπτύχθηκε από την φαρμακευτική εταιρία Syntex (νυν Roche) [115] και του αναστολέα **15 (RXP470.1)** που αναπτύχθηκε από το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας σε συνεργασία με το ερευνητικό ινστιτούτο CEA (Saclay, Γαλλία) και στοχεύει εκλεκτικά την MMP-12 (ελαστάση μακροφάγων) έναντι όλων των MMPs και άλλων ενδοπεπτιδασών [116]. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αναστολέα διπεπτιδάσης είναι ο αναστολέας **16** που προέκυψε από μελέτες της Merck ως αναστολέας της VanX, μιας Zn-διπεπτιδάσης που έχει υψηλή συγγένεια με το διπεπτίδιο D-Ala-D-Ala και υδρολύει το αντιβιοτικό βανκομυκίνη [117]. Τέλος, οι ενώσεις **17-21** αποτελούν ορισμένα παραδείγματα αναστολέων πρωτεασών ασπαρτικού οξέος. Η ένωση **17**, αναστέλλει την πεψίνη με $IC_{50} = 5 \text{ nM}$ [118] και η ένωση **18** στοχεύει το ένζυμο β-σεκρετάση (BACE-1), μια πρωτεάση που είναι υπεύθυνη για την υδρόλυση της πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς (APP) και αποτελεί φαρμακευτικό στόχο για την αντιμετώπιση της νόσου Alzheimer [119]. Τέλος, σημαντικές είναι οι προσπάθειες εύρεσης αναστολέων της HIV πρωτεάσης, ενός δημοφιλή αντι-HIV στόχου, με τους αναστολείς **19** [120] και **20** [121] να εμφανίζουν εξαιρετική ισχύ και εκλεκτικότητα για το ένζυμο-στόχο και το ανάλογο «εκρηγνυόμενης» μεταβατικής κατάστασης **21**, το οποίο αποτέλεσε τον πρώτο αναστολέα αυτής της κατηγορίας και ανακαλύφθηκε από την ερευνητική ομάδα του Janda [122].

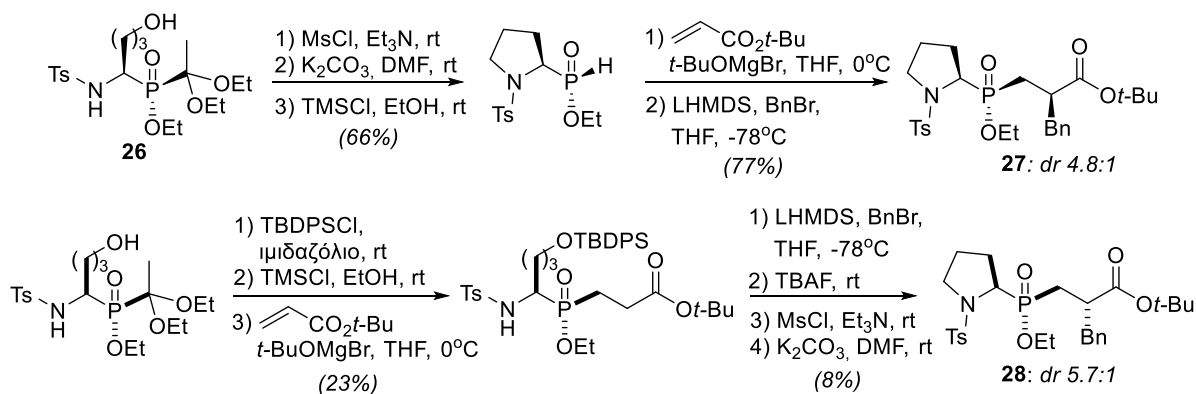
2.2 Διαμορφωτικά περιορισμένα φωσφινικά πεπτίδια

Η εισαγωγή στοιχείων δομικής ακαμψίας σε φωσφινικά πεπτίδια που να περιορίζουν τη διαμορφωτική τους ελευθερία, μπορεί να αποτελέσει μια πολλά υποσχόμενη τεχνική για τον εντοπισμό αναστολέων με βελτιστοποιημένα χαρακτηριστικά αναστολής. Σε πολλές περιπτώσεις, η σύνθεση τέτοιων ενώσεων δεν επιτυγχάνεται με τα κλασικά πρωτόκολλα κι ως εκ τούτου πολλές αναφορές εστιάζουν στη σύνθεση τέτοιων δομών με εναλλακτικές πορείες. Σε μία τέτοια εργασία, το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας ανέφερε μια αντίδραση αμιδοακυλίωσης «τριών κέντρων» και δύο συστατικών μεταξύ α,ω -καρβαμούλοαλδεΐδων (**22**) και φωσφινικών διοξέων **23**

για τη δημιουργία δακτυλίων (Σχήμα 1α) [123]. Με τη μεθοδολογία αυτή, μπορεί να συντεθεί μια ευρεία ποικιλία κυκλικών, διαμορφωτικά περιορισμένων συστημάτων (**24**) σε ένα συνθετικό βήμα και σε υψηλές αποδόσεις. Σε μια άλλη αναφορά, ένας πυρογλουταμινικός δακτύλιος στη θέση P₁ σχηματίστηκε μέσω σύνθεσης σε στερεή φάση από κυκλοποίηση του γλουταμινικού αναλόγου **25**, καταλυόμενο από βάση (Σχήμα 1β) [124].



Σχήμα 1: Σύνθεση διαμορφωτικά περιορισμένων φωσφινικών δομών στην P₁ θέση από (α) την Nasoroulou et al και (β) Matziari et al.

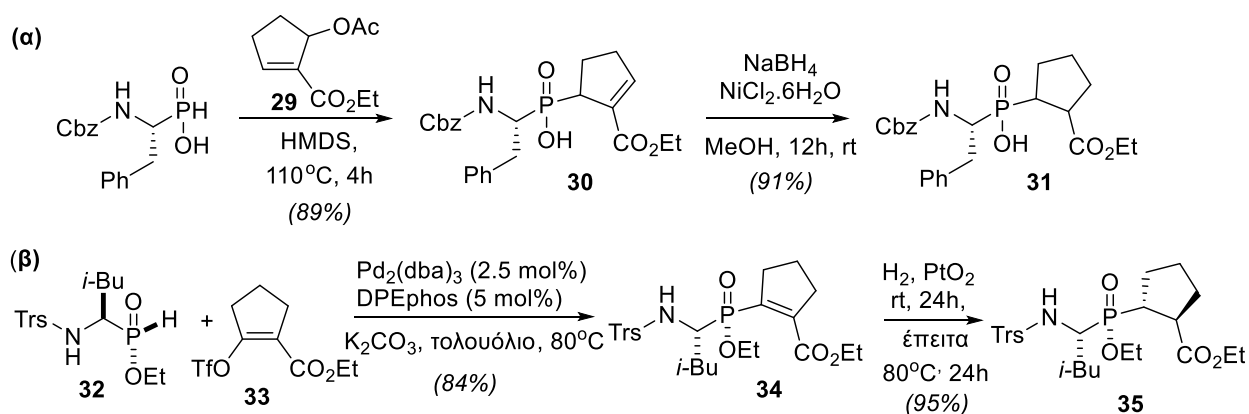


Σχήμα 2: Στερεοεκλεκτικός έλεγχος της P₁ θέσης σε ανάλογα Pro από τους Yamagishi et al.

Πρόσφατα, ο Yamagishi και οι συνεργάτες του κατάφεραν να παράγουν το στερεοχημικά καθορισμένο παράγωγο **26** και να το χρησιμοποιήσουν ως αρχικό υπόστρωμα στη σύνθεση ψευδοδιπεπτιδίων τύπου Phe-Pro (**27** και **28**, Σχήμα 2) [125]. Οι συγγραφείς παρατήρησαν ότι ο δακτύλιος της προλίνης μπορεί εύκολα να παραχθεί με μία ενδομοριακή αντίδραση υποκατάστασης και ότι η στερεοεκλεκτικότητα κατά την εισαγωγή της βενζυλομάδας μπορεί να αντιστραφεί

ανάλογα με το αν αυτό το γεγονός ακολουθεί ή προηγείται του σταδίου κυκλοποίησης.

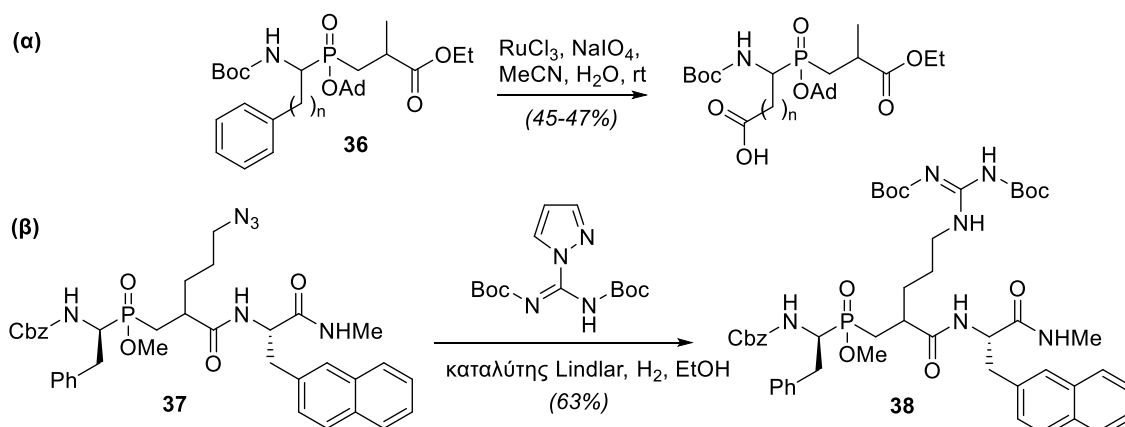
Όπως αναφέρθηκε και στην Παράγραφο 2.1, η εισαγωγή ενός δακτυλίου ψευδοπρολίνης στην P₁' θέση φωσφινικών πεπτιδίων αποδείχτηκε κλειδί για την ανάπτυξη του **RXPA 380**, του εκλεκτικότερου C-αναστολέα της ACE που έχει αναφερθεί έως σήμερα [102, 126]. Μετά τις ανεπιτυχείς προσπάθειες εισαγωγής δακτυλίου ψευδοπρολίνης στην P₁ θέση, μέσω μιας κλασικής αντίδρασης Michael, διερευνήθηκε η αντίδραση αλλυλικής υποκατάστασης του αιθυλεστέρα **29** από το Cbz προστατευμένο αμινοφωσφινικό ανάλογο της φαινυλαλανίνης (Σχήμα 3α) [126]. Η αντίδραση αυτή οδήγησε στο παράγωγο **30** σε υψηλή απόδοση και ακολούθως στο ανάλογο ψευδοπρολίνης **31** μετά από χημειοεκλεκτική αναγωγή του διπλού δεσμού παρουσία NaBH₄ και NiCl₂. Το 2011, ο Yamagishi και οι συνεργάτες του παρουσίασαν μια στερεοεκλεκτική σύνθεση του φωσφινικού διπεπτιδίου Leu-Pro (**35**) μέσω μιας Pd-καταλυόμενης διασταυρωτής σύζευξης του οπτικώς καθαρού Η-αμινοφωσφινικού εστέρα **32** με τον τριφλικό εστέρα **33** ακολουθούμενη από μία στερεοεκλεκτική υδρογόνωση της ολεφίνης **34** με καταλύτη PtO₂ και θέρμανση (Σχήμα 3β) [127]. Αξίζει να σημειωθεί ότι κατά το στάδιο της υδρογόνωσης παράγεται αρχικά κυρίως το *cis*-ισομερές της ένωσης **35** (*cis* **35**: *trans* **35** 11.1:1) το οποίο επιμεριώνεται με θέρμανση στους 80°C στην ένωση **35**.



Σχήμα 3: Σύνθεση φωσφινικού ψευδοδιπεπτιδίου Pro στην P₁' θέση από: (α) Georgiadis et al και (β) Yamagishi et al.

2.3 Μέθοδοι διαφοροποίησης τελικού σταδίου (late-stage diversification)

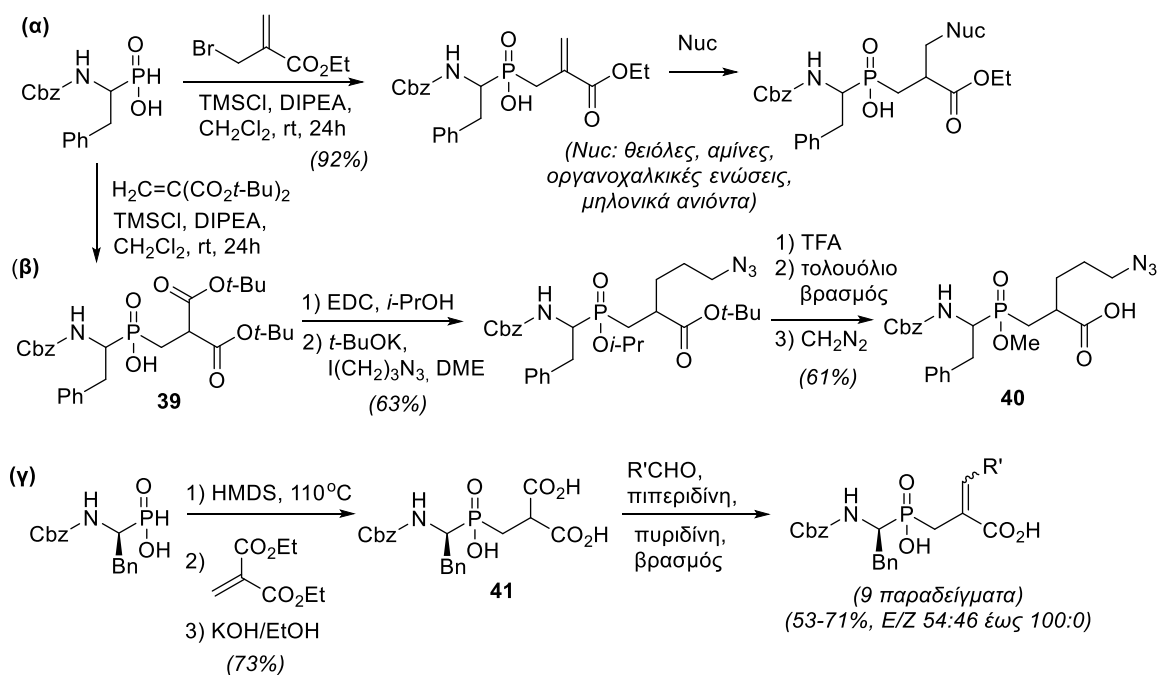
Η ανάγκη διαφοροποίησης τελικού σταδίου των πλευρικών αλυσίδων φωσφινικών ψευδοδιπεπτιδίων απορρέει από δύο βασικούς λόγους. Ο πρώτος αφορά στην ανάγκη σύνθεσης φωσφινικών δομών με πλευρικές αλυσίδες οι οποίες δεν μπορούν να είναι εξ'αρχής παρούσες στα αντιδρώντα. Για το λόγο αυτό, το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας ανέπτυξε μια στρατηγική τροποποίησης τελικού σταδίου για την παρασκευή ψευδοδιπεπτιδίων με όξινες πλευρικές αλυσίδες στη θέση P₁, δεδομένου ότι η κλασική μεθοδολογία με χρήση ασπαρτυλο-αμινοφωσφινικών οξέων απέτυχε [128]. Η μέθοδος βασίζεται στη σύνθεση παραγώγων φαινυλαλανίνης και ομοφαινυλαλανίνης (**36**), ακολουθούμενη από την οξειδωτική αποικοδόμηση των φαινυλομάδων (Σχήμα 4). Στο ίδιο πνεύμα, ο Kende και η ομάδα του παρασκεύασαν ψευδοδιπεπτιδικά ανάλογα Arg (**38**), εισάγοντας ομάδες γουανιδίνης στις κατάλληλες αλκυλοάζιδο P₁' πλευρικές αλυσίδες **37** [129].



Σχήμα 4: Σύνθεση αναλόγων φωσφινικών διπεπτιδίων μετά από τροποποίηση τελικού σταδίου των θέσεων (α) P₁ και (β) P₁'

Ο δεύτερος και πιο σημαντικός λόγος αφορά στη δυνατότητα ευρείας διαφοροποίησης των ψευδοδιπεπτιδικών πλευρικών αλυσίδων σε μεταγενέστερο στάδιο της σύνθεσης, με αποτέλεσμα την ταχύτερη ανακάλυψη βιοδραστικών ενώσεων με πιθανή φαρμακολογική δράση. Στο πνεύμα αυτό, αναφέρθηκε από το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας η παρασκευή μιας σειράς ψευδοδιπεπτιδίων δεϋδροαλανίνης μέσω αντίδρασης αλλυλικής υποκατάστασης του 2-βρωμομέθυλο ακρυλικού αιθυλεστέρα με αμινοφωσφινικά οξέα και η δυνατότητα συζυγούς προσθήκης ποικίλων πυρηνόφιλων θείου, αζώτου και άνθρακα (Σχήμα 5α) [130-131]. Επιπλέον, σε δύο ξεχωριστές εργασίες διερευνήθηκε η σύνθεση μηλονικών

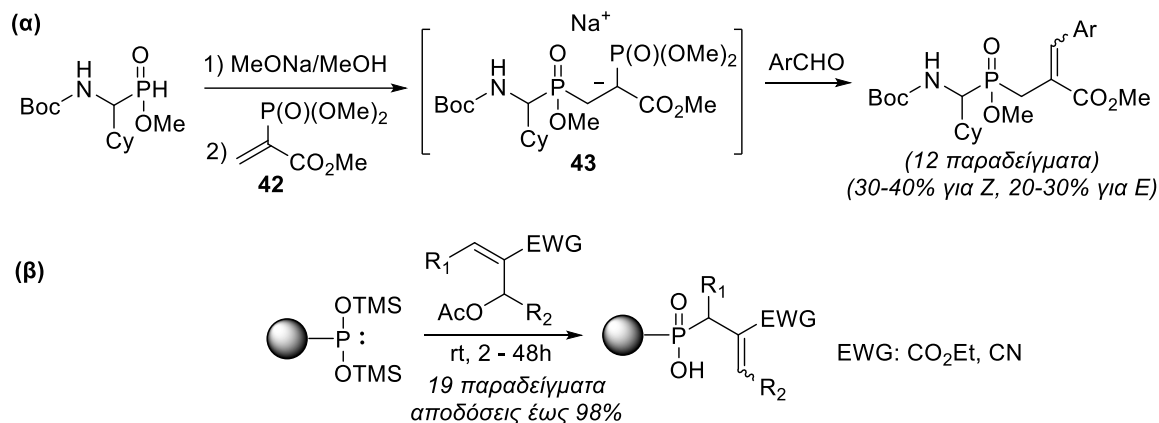
παραγώγων τύπου **39** ή **41** και η συμμετοχή τους είτε σε αντιδράσεις αλκυλίωσης / αποκαρβοξυλίωσης (Σχήμα 5β) είτε σε αντιδράσεις Knoevenagel (Σχήμα 5γ) [129, 132].



Σχήμα 5: Χρήση των (α) δεϋδροδιπεπτιδίων και (β) μηλονικών παραγώγων στην στρατηγική τελικής τροποποίησης, (γ) σύνθεση δεϋδροψευδοδιπεπτιδίων από Matziari et al.

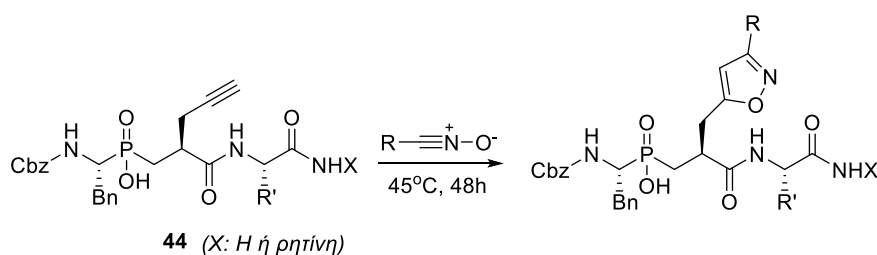
Με χρήση κατάλληλων ηλεκτρονιόφιλων είναι δυνατή η πρόσβαση σε ένα ευρύ φάσμα δεϋδροψευδοπεπτιδίων, μια τάξη ενώσεων που έχουν μελετηθεί ως ενζυμικοί αναστολείς αλλά και ως υποστρώματα για την εφαρμογή πρωτοκόλλων διαφοροποίησης. Συγκεκριμένα, μια σειρά δεϋδροπεπτιδικών φωσφινικών αναλόγων αναφέρθηκε από τον Khan και τους συνεργάτες του κατά την προσπάθεια εντοπισμού αναστολέων της νεφρικής διπεπτιδάσης (Σχήμα 6α) [133-134]. Η σύνθεση αυτών των ενώσεων βασίστηκε σε παλαιότερη εργασία των Schoen και Parsons και περιλαμβάνει μια αντίδραση P-Michael με χρήση του 2-τριμεθυλοφωσφονοακρυλικού μεθυλεστέρα **42** και ακόλουθη Horner-Wadsworth-Emmons ολεφινοποίηση των **43** με ποικιλία αλδεϋδών [135]. Το 2015, αναφέρθηκε από την η ερευνητική μας ομάδα μια λεπτομερής διερεύνηση υποστρωμάτων και σε συνδυασμό με μηχανιστικές μελέτες οδήγησε στην χρήση άμεσα διαθέσιμων παραγώγων Baylis-Hillman σε στρατηγικές ευρείας διαφοροποίησης φωσφινικών πεπτιδίων. Ο σχηματισμός του δεσμού P-C πραγματοποιείται σε εξαιρετικά ήπιες

συνθήκες και μπορεί να οδηγήσει εύκολα σε στερεοχημικά παρεμποδισμένες δομές, αντίθετα από την κλασική αντίδραση *P*-Michael (Σχήμα 6β) [136].



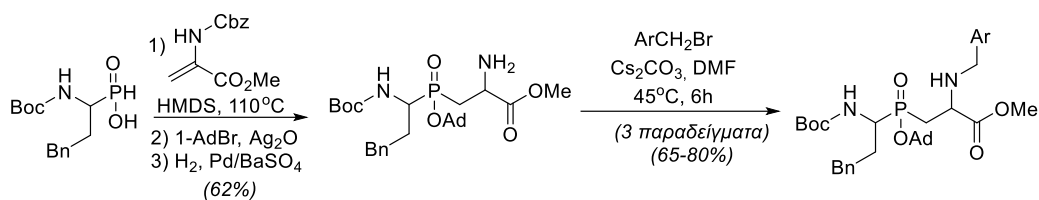
Σχήμα 6: Σύνθεση δεϋδροψευδοδιπεπτιδίων κάνοντας χρήση παραλλαγών της στρατηγικής NP+C από (α) Gurulingappa et al. και (β) Kalyva et al.

Μία από τις πιο εύχρηστες τεχνικές παραγοντοποίησης της P1' θέσης παρουσιάστηκε το 2003 από το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας και αφορά στην αντίδραση 1,3 διπολικής κυκλοπροσθήκης φωσφινικών ψευδοδιπεπτιδίων με την προπάργυλο ομάδα στην P1' πλευρική αλυσίδα (**44**) και *in situ* παρασκευασμένων οξειδίων του νιτριλίου (Σχήμα 7) [137]. Αυτή η προσέγγιση εφαρμόζεται εύκολα σε σύνθεση τόσο σε στερεά φάση όσο και σε διάλυμα και έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχώς στην ανακάλυψη αναστολέων μεταλλοπρωτεασών Zn [103, 116, 138-140].



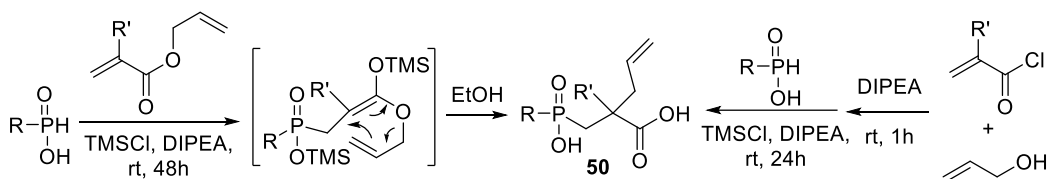
Σχήμα 7: Μέθοδος τροποποίησης με βάση την διπολική κυκλοπροσθήκη

Ενδιαφέρον παρουσιάζει μια εργασία που αναφέρθηκε αρχικά σε πατέντα και αφορά στη χρήση της δεϋδροαλανίνης ως ηλεκτρονιόφιλο σε μία αντίδραση προσθήκης Michael αμινοφωσφινικών οξέων και στην ακόλουθη διαφοροποίηση της αμινομάδας στην P1' θέση μέσω αντιδράσεων σύζευξης [141]. Η ιδέα αυτή επεκτάθηκε αργότερα και σε άλλες αντιδράσεις διαφοροποίησης, π.χ. βενζυλίωσης (Σχήμα 8) [142].



Σχήμα 8: Τροποποίηση τελικού σταδίου πρόδρομων φωσφινικών διπεπτιδίων τα οποία φέρουν αμινομάδα στην P₁' θέση

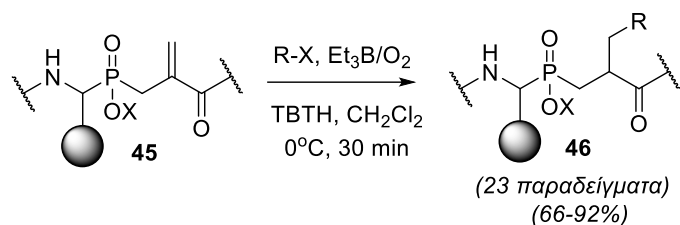
Στην ίδια κατεύθυνση, αναφέρθηκε μία ενδιαφέρουσα προσέγγιση που βασίζεται σε μια μετάθεση Ireland-Claisen που πραγματοποιείται κατά την *P*-Michael προσθήκη σιλολοφωσφονιτών σε ακρυλικούς αλλυλεστέρες (Σχήμα 9) [143]. Εξέλιξη της αρχικής πορείας οδήγησε σε μια αντίδραση one-pot μεταξύ φωσφινικών οξέων, ακρυλοϋλοχλωριδίων και αλλυλικών αλκοολών, επιτρέποντας έτσι την ταχεία σύνθεση ποικίλων φωσφινικών δομών χρησιμοποιώντας απλά υλικά σε ένα μόνο στάδιο (Σχήμα 9). Η μέθοδος μπορεί επίσης να οδηγήσει σε ανάλογα φωσφινικών δομών με τεταρτοταγή άνθρακα στην P₁' θέση, τα οποία αποτελούν μια ενδιαφέρουσα τάξη διαμορφωτικά περιορισμένων φωσφινικών πεπτιδίων.



Σχήμα 9: Τροποποίηση τελικού σταδίου φωσφινικών δομών βασισμένη σε μια μετάθεση Ireland-Claisen

Τέλος, πολύ πρόσφατα παρουσιάστηκε από την ερευνητική μας ομάδα μια εναλλακτική μέθοδος διαφοροποίησης της P₁' θέσης φωσφινικών ψευδοδιπεπτιδικών δομών που βασίζεται στην αντίδραση Giese άλκυλο ριζών προερχόμενες από αλκυλαλογονίδια σε ψευδοπεπτιδικά φωσφινικά παράγωγα δεϋδροαλανίνης (**45**) (Σχήμα 10) [144]. Η μέθοδος είναι συμβατή με μη προστατευμένες όξινες λειτουργικές ομάδες και χαρακτηρίζεται από εξαιρετική ευκολία αφού επιτρέπει τη δημιουργία δεσμού C-C σε 0°C, χωρίς την απαίτηση δημιουργίας αδρανούς ατμόσφαιρας (η αντίδραση πραγματοποιείται σε ανοιχτή φιάλη), σε σύντομους χρόνους αντίδρασης και σε υψηλές αποδόσεις. Οι συνθήκες της αντίδρασης μπορούν να τροποποιηθούν έτσι ώστε να μην απαιτείται η χρήση παραγώγων του κασσιτέρου ("tin free" μέθοδος) επεκτείνοντας ταυτόχρονα το εύρος υποστρωμάτων

της αντίδρασης καθώς αποδείχτηκε ότι τα πρωτόκολλα με διαφορετικούς *H*-δότες είναι συμπληρωματικά. Η μέθοδος χρησιμοποιήθηκε επιτυχώς σε απλά φωσφινικά διπεπτίδια, κατάλληλα προστατευμένα διπεπτίδια με στόχο την άμεση χρήση τους σε πεπτιδική σύνθεση σε στερεά φάση με το Fmoc-πρωτόκολλο και σε δεϋδροπεπτίδια μεγαλύτερου μήκους, οδηγώντας σε όλες τις περιπτώσεις σε υψηλές αποδόσεις.



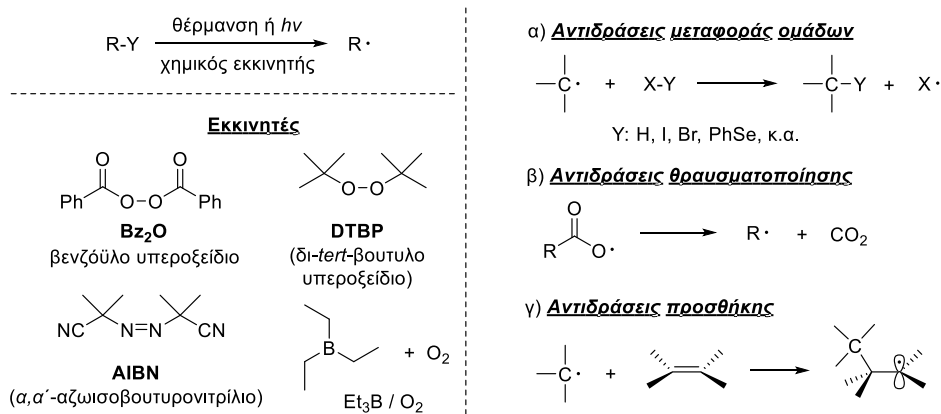
Σχήμα 10: Τροποποίηση τελικού σταδίου μέσω ριζικής προσθήκης τύπου Giese

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ GIESE ΚΑΙ ΔΙΑΣΤΕΡΕΟΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

3.1 Εισαγωγή.

Ένα άτομο ή μόριο που περιέχει ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο χαρακτηρίζεται ως ελεύθερη ρίζα. Πρόκειται για ιδιαίτερα δραστικά ενδιάμεσα που προέρχονται από την ομολυτική διάσπαση ενός ομοιοπολικού δεσμού έπειτα από επίδραση θέρμανσης ή ακτινοβολίας ή χημικών ενώσεων που καλούνται **ΕΚΚΙΝΗΤΕΣ** αντιδράσεων μέσω ριζών. Ορισμένα κλασικά παραδείγματα εκκινητών είναι τα υπεροξειδία, οι διαζω ενώσεις και τα οργανοβοράνια (Εικόνα 29). Οι τρεις τύποι αντιδράσεων στις οποίες συμμετέχουν οι ρίζες άνθρακα είναι: α) οι αντιδράσεις μεταφοράς ομάδων, όπου μια ομάδα μεταφέρεται στη ρίζα με πιο χαρακτηριστικό παράδειγμα τη μεταφορά υδρογόνου (hydrogen atom transfer, HAT), β) οι αντιδράσεις θραυσματοποίησης, όπου μια ρίζα παράγει μια άλλη με την απομάκρυνση ενός ουδέτερου μορίου, π.χ. CO₂, και γ) οι αντιδράσεις προσθήκης σε πολλαπλούς δεσμούς που οδηγούν σε νέους δεσμούς C-C και αύξηση της ανθρακικής αλυσίδας [145].

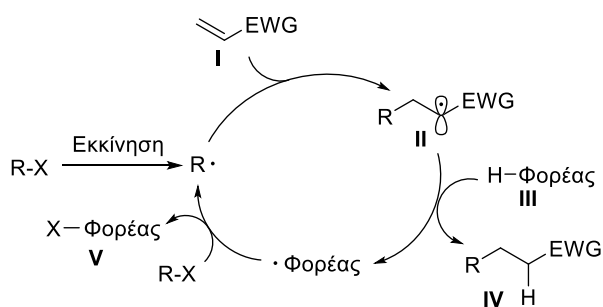


Εικόνα 29: Σχηματισμός, αντιδράσεις ριζών και δομές εκκινητών

Αν και οι ρίζες είναι ουδέτερα χημικά είδη, μπορεί να έχουν πυρηνόφιλο ή ηλεκτρονιόφιλο χαρακτήρα [146]. Οι πυρηνόφιλες ρίζες έχουν την τάση να αποβάλλουν ένα e⁻ οδηγώντας σε σταθερά κατιόντα ενώ οι ηλεκτρονιόφιλες ρίζες να προσλαμβάνουν ένα e⁻ οδηγώντας σε σταθερά ανιόντα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα πυρηνόφιλων ριζών είναι οι άλκυλο ρίζες οι οποίες έχουν την τάση να αντιδρούν με ηλεκτρονιακά φτωχά αλκένια. Ο Bernd Giese χρησιμοποίησε τη θεωρία μετωπικών

μοριακών τροχιακών (FMO) ώστε να μελετήσει τις πολικές επιδράσεις σε αντιδράσεις προσθήκης ριζών άνθρακα σε ολεφίνες [147]. Συγκεκριμένα, όσο πιο πυρηνόφιλες είναι οι ρίζες τόσο υψηλότερα ενεργειακά θα βρίσκονται τα κατηλειμμένα από ένα ηλεκτρόνο μοριακά τροχιακά (SOMO), πλησιάζοντας τα μη κατηλειμμένα μοριακά τροχιακά LUMO του αλκενίου και αναδεικνύοντας τη σημασία των SOMO-LUMO αλληλεπιδράσεων.

Το 1977, ο Giese και οι συνεργάτες του παρατήρησαν ότι έπειτα από την προσθήκη άλκυλο ριζών σε ηλεκτρονιακά φτωχά αλκένια, οι ενδιάμεσες ρίζες (II, Εικόνα 30) μπορούν να αναχθούν από φορείς υδριδίου (III) μέσω ενός μηχανισμού αλυσιδωτής αντίδρασης [148]. Το κυριότερο χαρακτηριστικό αυτής της αντίδρασης είναι η χημειοεκλεκτικότητά της, καθώς η ρίζα R[•] εμφανίζει εκλεκτικότητα για το αλκένιο I και όχι για την απόσπαση υδριδίου, ενώ η ενδιάμεση ρίζα II αντιδρά με τον φορέα υδριδίου και όχι με το αλκένιο.



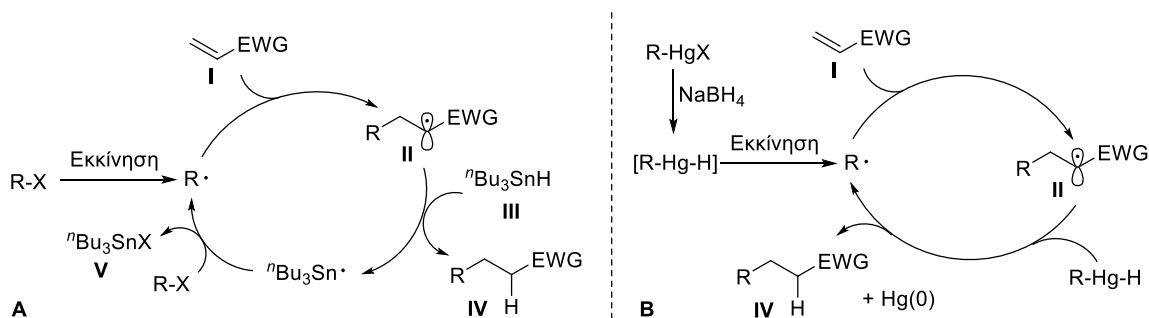
Εικόνα 30: Μηχανισμός αλυσιδωτής αντίδρασης Giese.

3.2 Ανάπτυξη της αντίδρασης Giese.

Μετά την πρώτη αναφορά της αναγωγικής συζυγούς προσθήκης ριζών σε ηλεκτρονιακά φτωχά αλκένια από τον Bernd Giese, οι εφαρμογές που βρήκε τα επόμενα χρόνια στη σύνθεση απλών ή πολύπλοκων ενώσεων (φυσικά προϊόντα ή βιομόρια) ήταν πολυάριθμες [149]. Ένας μεγάλος αριθμός μελετών έχει δημοσιευτεί με στόχο την αποσαφήνιση όλων των παραμέτρων της αντίδρασης Giese, όπως η φύση του δότη υδριδίου και των πυρηνόφιλων ριζών, η επίδραση οξέων Lewis και η ανάπτυξη στερεοεκλεκτικών και εναντιοεκλεκτικών εκδοχών της αντίδρασης.

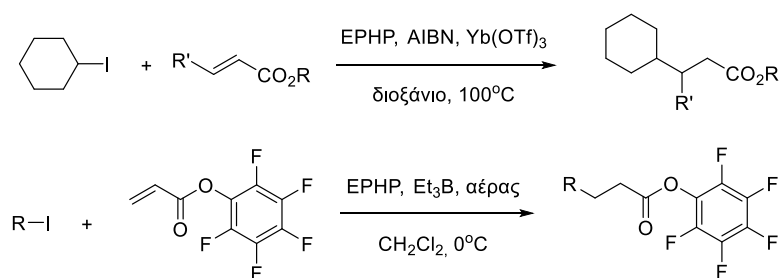
Ίσως ο φορέας υδριδίου που έχει βρει την ευρύτερη χρήση είναι το τριβούτυλο κασσιτερικό υδρίδιο (ⁿBu₃SnH ή TBTH) (Σχήμα 11A). Η εξαιρετική αναγωγική ικανότητα του TBTH οφείλεται στη μικρή ενέργεια διάσπασης (bond dissociation energy, BDE) του δεσμού Sn-H (~74 kcal/mol). Επιπροσθέτως, η ρίζα ⁿBu₃Sn[•]

αποτελεί ισχυρό παράγοντα απόσπασης ομάδων από ένα μεγάλο εύρος ριζών επιτρέποντας την αποτελεσματική διάδοση αλυσιδωτών αντιδράσεων. Μεταξύ των συνηθέστερων πρόδρομων πηγών ριζών συγκαταλέγονται τα ιωδίδια, τα βρωμίδια, τα φαινυλοσεληνίδια, οι ξανθογονικοί εστέρες, οι νιτροενώσεις, οι θειοκετάλες κ.α. Στην πρώτη αναφορά της αντίδρασης, πριν ο Giese προτείνει τη χρήση του TBTH το 1983 [150-151], χρησιμοποιήθηκαν οργανοϋδραργυρικά αντιδραστήρια για να παράχθουν άλκυλο ρίζες που ανάγονται παρουσία NaBH_4 στα οργανοϋδραργυρικά υδρίδια (Σχήμα 11B). Τα τελευταία διασπώνται αυθόρμητα προς άλκυλο ρίζες εκκινώντας τη διάδοση μιας αλυσιδωτής αντίδρασης με ηλεκτρονιακά φτωχά αλκένια. Τα επόμενα χρόνια, το TBTH επικράτησε ως αναγωγικό της αντίδρασης Giese, όμως πολύ γρήγορα αναζητήθηκαν υποκατάστατά του λόγω της δυσκολίας απομάκρυνσης των οργανοκασιτερικών παραπροϊόντων και της τοξικότητας που έχει συνδεθεί με την υπολειμματική παρουσία του σε τρόφιμα [77].



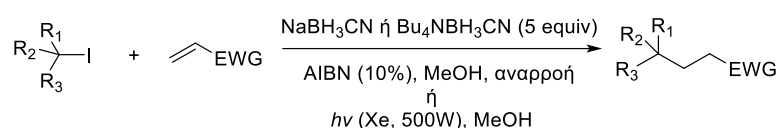
Σχήμα 11: Μηχανισμοί αλυσιδωτής αντίδρασης Giese με χρήση A) TBTH και B) $\text{RHgX}/\text{NaBH}_4$ ως φορείς υδριδίου.

Μια ευρέως χρησιμοποιούμενη εναλλακτική του TBTH, ως φορέα υδρογόνου, είναι το $(\text{Me}_3\text{Si})_3\text{SiH}$ ή TTMSS [152]. Η ενέργεια διάσπασης του δεσμού Si-H είναι 79 kcal/mol, πολύ κοντά στην τιμή διάσπασης του Sn-H. Επίσης, ως μια ακόμα εναλλακτική του TBTH έχει προταθεί το υποφωσφορώδες άλας της *N*-αιθυλοπιπεριδίνης (EHP), όμως απαιτείται η χρήση οξέων Lewis και θέρμανσης [153] ή ενεργοποιημένων πενταφθορο (PFP) φαινυλεστέρων ώστε η αντίδραση να είναι αποτελεσματική (Σχήμα 12) [154].



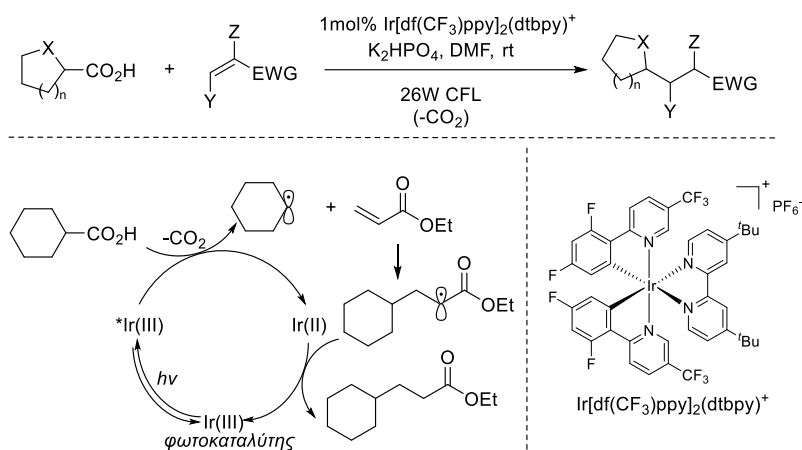
Σχήμα 12: Αντιδράσεις Giese με χρήση EPHP ως φορέα υδρογόνου [153-154].

Μια άλλη εκδοχή της διαμοριακής αντίδρασης Giese που παρουσίασε ο Ryu και οι συνεργάτες του, χαρακτηρίζεται ως “ελευθέρα κασσιτέρου” και βασίστηκε στη διαπίστωση ότι άλατα του κυανοβοροϋδριδίου του νατρίου (NaBH_3CN ή ${}^n\text{Bu}_4\text{NBH}_3\text{CN}$) μπορούν να λειτουργήσουν ως φορείς υδριδίου και να διατηρήσουν αποτελεσματικά τον καταλυτικό κύκλο (Σχήμα 13) [155-156]. Η εκκίνηση της αντίδρασης μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε με ακτινοβόληση είτε με χρήση AIBN. Τέλος, οι συγγραφείς χρησιμοποίησαν αλκυλοϊωδίδια για την παραγωγή ριζών.



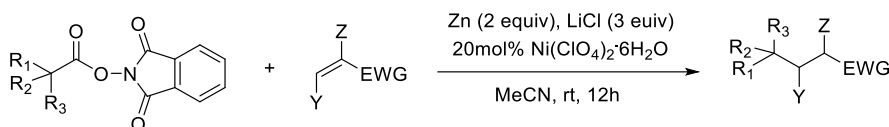
Σχήμα 13: Αντίδραση Giese με χρήση NaBH_3CN ή ${}^n\text{Bu}_4\text{NBH}_3\text{CN}$ ως H-φορέα [155-156].

Η ανάπτυξη αντιδράσεων Giese μπορεί να πραγματοποιηθεί και οξειδοαναγωγικά, μέσω φωτοκαλυτικών μεθόδων, η οποία διευκολύνει την παραγωγή ριζών, διευρύνοντας παράλληλα το είδος των πρόδρομων ενώσεων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην παραγωγή ριζών ενώ μπορεί να συνδυαστεί καταλυτικά από στοιχεία μετάπτωσης. Συγκεκριμένα η ερευνητική ομάδα του MacMillan χρησιμοποίησε καρβοξυλικά οξέα ή μονοπροστατευμένα αμινοξέα ως πηγή άλκυλο ριζών που δεν αφήνουν “ίχνος” στο τέλος της αντίδρασης, για να πραγματοποιήσει αποκαρβοξυλιωτική αντίδραση Giese με ενεργοποιημένες ολεφίνες παρουσία φωτοκαταλύτη Ir (Εικόνα 31) [157]. Η ενδιάμεση ρίζα ανάγεται από το Ir(II) οδηγώντας στο τελικό προϊόν έπειτα από πρωτονίωση, ενώ παράλληλα ο φωτοκαταλύτης αναγεννάται.



Εικόνα 31: Αποκαρβοξυλιωτική αντίδραση Giese [157].

Ο Baran και οι συνεργάτες του παρουσίασαν τη χρήση ενεργοποιημένων καρβοξυλικών εστέρων του *N*-υδροξυ φθαλιμιδίου που καταλύεται από άλατα Ni(II) (NHPI εστέρες) (Εικόνα 32). Οι εστέρες υφίστανται SET αναγωγή από τον καταλύτη Ni(II) παράγοντας τις επιθυμητές ρίζες, ενώ ο Zn είναι απαραίτητος στην αναγέννηση του καταλύτη [158].



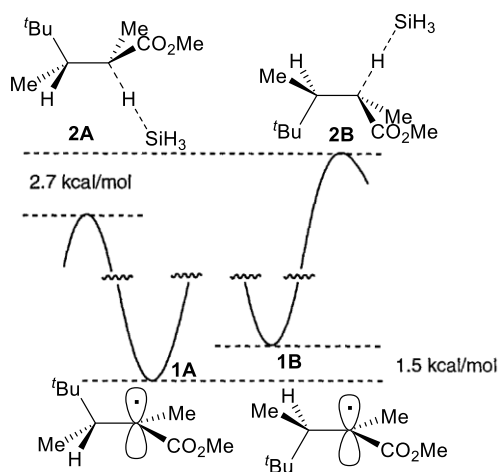
Εικόνα 32: Αποκαρβοξυλιωτική αντίδραση Giese από την ομάδα του Baran [158].

3.3 Διαστεreoεκλεκτικότητα ριζικών αντιδράσεων σε μη κυκλικά συστήματα.

Αν και οι στερεοεκλεκτικές αντιδράσεις ριζών σε κυκλικά συστήματα είναι γνωστές από την δεκαετία του 1980 [159], οι αντίστοιχες αντιδράσεις σε μη κυκλικά συστήματα αρχικά θεωρήθηκαν μη εκλεκτικές. Αργότερα, στη δεκαετία του 1990, έγινε σαφές ότι και τα μη κυκλικά συστήματα μπορούν να αντιδράσουν στερεοεκλεκτικά και έκτοτε πραγματοποιήθηκαν εκτενείς μελέτες για την κατανόηση αυτών των μετασχηματισμών [160].

Προϋπόθεση για τις στερεοεκλεκτικές αντιδράσεις μη κυκλικών ριζών είναι η παρουσία μιας προτιμώμενης διαμόρφωσης όπου οι υποκαταστάτες προστατεύουν σε διαφορετικό βαθμό τις δύο πλευρές της προχειρικής ρίζας. Καθώς οι ενέργειες ενεργοποίησης των συνθετικά χρήσιμων αντιδράσεων ριζικής προσθήκης και απόσπασης είναι γενικά μικρές και οι μεταβατικές καταστάσεις πρότερες (early TS)

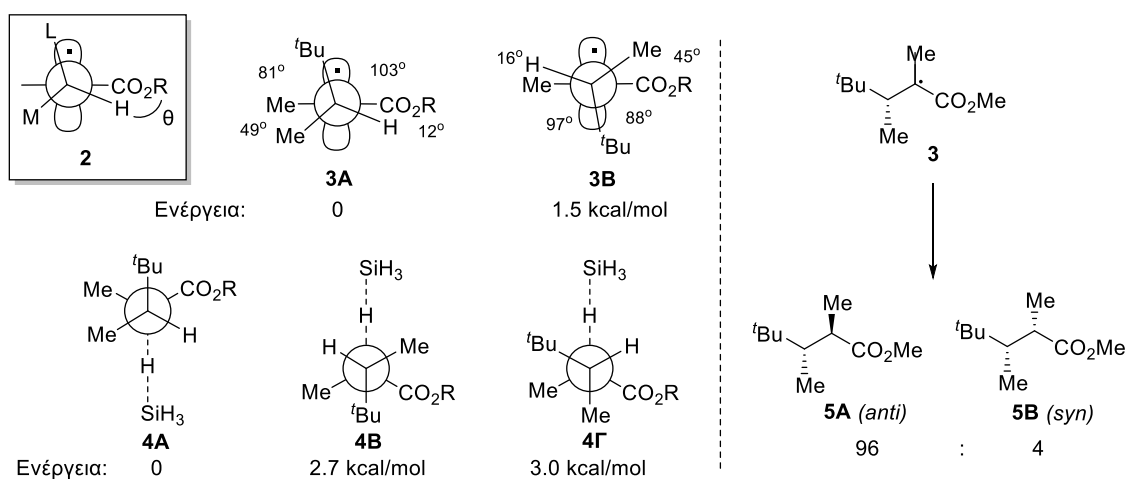
[161], οι αντιδράσεις των προτιμώμενων διαμορφωμένων στη θεμελιώδη κατάσταση οδηγούν συνήθως στα κύρια προϊόντα. Στην Εικόνα 31 φαίνονται οι δύο διαμορφώσεις ελάχιστης ενέργειας μιας ρίζας **1A** και **1B** που διαφέρουν κατά 1.5 Kcal/mol, με βάση *ab initio* θεωρητικούς υπολογισμούς [162]. *anti*-Προσβολή του SiH₄ ως προς την ^tBu ομάδα στο **1A** οδηγεί στη μεταβατική κατάσταση (TS) **2A** που είναι κατά 2.7 Kcal/mol σταθερότερη από την αντίστοιχη TS **2B**. Συνεπώς, η σταθερότερη διαμόρφωση της ρίζας οδηγεί στη σταθερότερη διαμόρφωση της TS. Αντιδράσεις διαμοριακής παγίδευσης όπου το κύριο ισομερές προκύπτει από τη λιγότερο σταθερή διαμόρφωση της ρίζας δεν έχουν ακόμα εντοπιστεί. Παρ'όλα αυτά, τέτοιες αντιδράσεις είναι εφικτές και έχει βρεθεί ότι μια χειρόμορφη ολεφίνη μπορεί να οδηγήσει σε κύριο προϊόν που προκύπτει από τη λιγότερη ευνοϊκή διαμόρφωση καθώς η ευνοϊκότερη διαμόρφωση δεν είναι δραστική.



Εικόνα 33: Ενέργειες θεμελιώδους και μεταβατικής κατάστασης ριζών υποκατεστημένων με εστέρες.

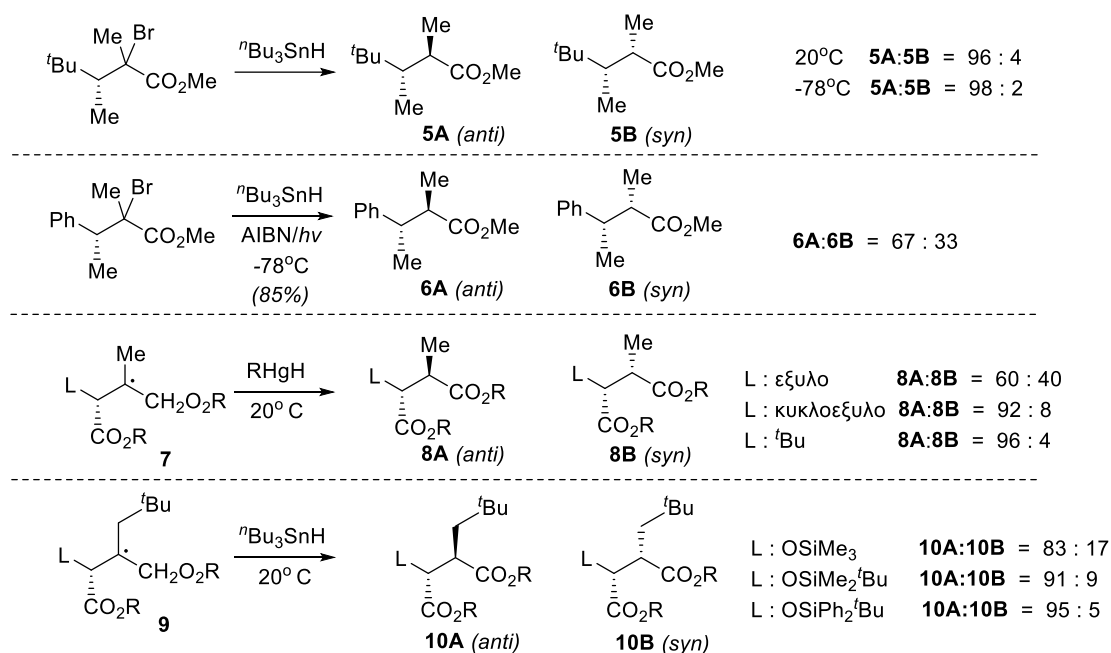
Η μεγαλύτερη σταθερότητα του διαμορφωμένου **1A** σε σχέση με το **1B** (Εικόνα 31) οφείλεται στο φαινόμενο της **αλλυλικής τάσης** [163]. Θεωρητικές μελέτες και πειράματα ESR έχουν δείξει ότι ρίζες υποκατεστημένες με εστέρες και ένα χειρόμορφο κέντρο σε β -θέση υιοθετούν την ευνοϊκή διαμόρφωση **2** όπου οι υποκαταστάτες L και M έχουν μεγάλο και μεσαίο μέγεθος, αντίστοιχα (Εικόνα 32) [162]. Η διέδρη γωνία μεταξύ του SOMO τροχιακού και του δεσμού C-H του στερεογενονικού κέντρου είναι $\sim 90^\circ$, με αποτέλεσμα οι δεσμοί C-H και C-CO₂R να είναι σχεδόν παράλληλοι. Για την ρίζα **3**, όπου η ομάδα ^tBu τοποθετείται ανάμεσα από τους δύο υποκαταστάτες του ριζικού κέντρου, η διαμόρφωση **3A** είναι κατά 1.5 Kcal/mol σταθερότερη από την αντίστοιχη **3B**. Εν τούτοις, μόνο στη διαμόρφωση **3A**

το μικρό άτομο H κατευθύνεται προς το οξυγόνο της γειτονικής καρβοξυλομάδας. Συνεπώς, η επίδραση της αλλυλικής τάσης (A-τάση) μεταξύ της καρβονυλομάδας και των υποκαταστατών του στερεογονικού κέντρου ευνοούν τη διαμόρφωση **3A**. Οι δύο πλευρές της ρίζας **3** καλύπτονται είτε από την ομάδα Me είτε από την ^tBu και η *anti*-προσβολή ως προς την ομάδα ^tBu της ευνοϊκότερης διαμόρφωσης **3A** θα οδηγήσει στην χαμηλότερης ενέργειας TS **4A**. Είναι ενδιαφέρον ότι η *anti*-προσβολή στην λιγότερο ευνοϊκή διαμόρφωση της ρίζας **3B** οδηγεί σε μια υψηλότερης ενέργειας TS (**4B**), όσο περίπου και η μεταβατική κατάσταση (**4Γ**) που προκύπτει από την *syn*-προσβολή στην πιο ευνοϊκή διαμόρφωση **3A** (Εικόνα 32). Οι δύο τελευταίες περιπτώσεις TS οδηγούν στο τελικό δευτερεύον *syn*-ισομερές, ενώ η μεταβατική κατάσταση **4A** οδηγεί στο κύριο ισομερές, με αναλογία *anti:syn* 96:4.



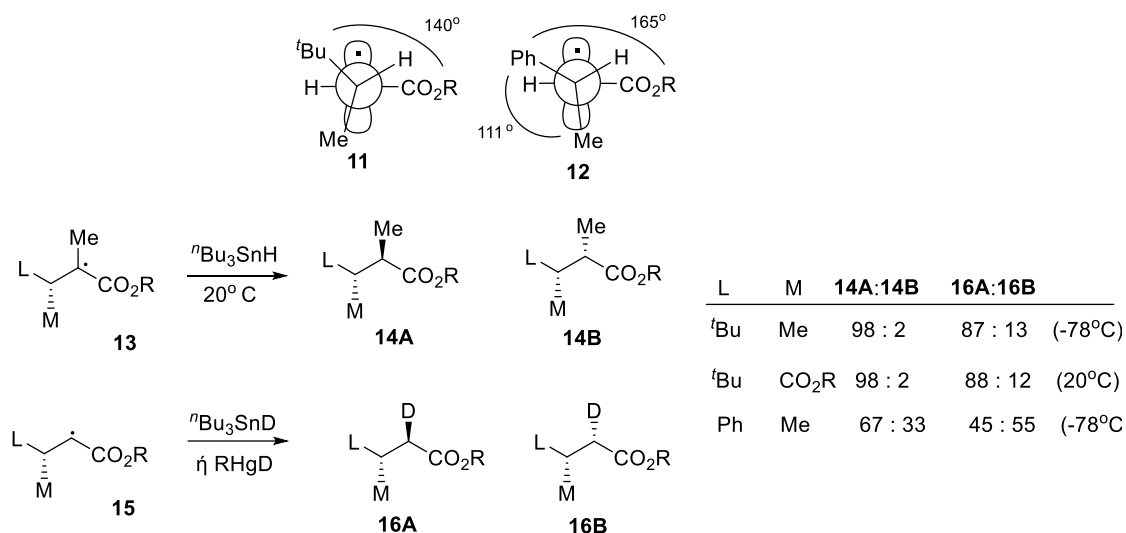
Εικόνα 34: Επίδραση της αλλυλικής τάσης στην στερεοεκλεκτικότητα ριζών υποκατεστημένων με εστέρες και β-στερεογονικό κέντρο.

Στο Σχήμα 14, φαίνονται οι αποδόσεις και διαστεροεκλεκτικότητες αντιδράσεων όπου σχηματίζονται ενδιάμεσες ρίζες υποκατεστημένες με τριτοταγή ομάδα [162, 164]. Σε όλες τις περιπτώσεις, η απόσπαση υδριδίου από τον *H*-φορέα θα οδηγήσει στην ευνοϊκότερη *anti*-διαμόρφωση. Η αύξηση του όγκου του υποκαταστάτη L στις ρίζες **7** και **9** δείχνει ότι η στερεοεκλεκτικότητα αυξάνεται, όπως συμβαίνει και κατά την πρωτονίωση ενολικών ιόντων που προκύπτουν από αντίστοιχους εστέρες [165-166].



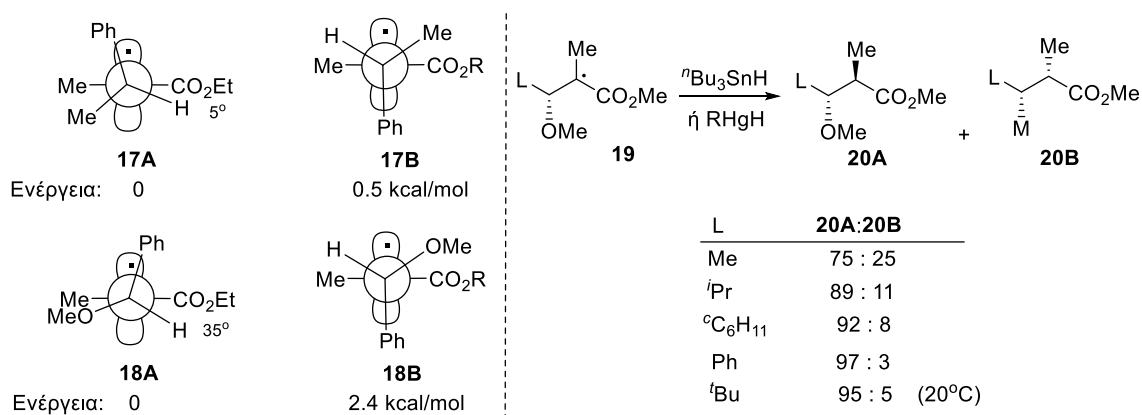
Σχήμα 14: Παραδείγματα αντιδράσεων όπου σχηματίζονται ενδιάμεσες ρίζες υποκατεστημένες με τριτοταγή ομάδα.

Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, στην περίπτωση τριτοταγών ριζών, ο ογκωδέστερος υποκαταστάτης του γειτονικού στερεογονικού κέντρου τοποθετείται ανάμεσα στους δύο υποκαταστάτες του ριζικού κέντρου. Όμως στις δευτεροταγείς ρίζες, ο ογκώδης υποκαταστάτης τοποθετείται πλησιέστερα στον γειτονικό δεσμό C-H καθώς η αλληλική τάση μειώνεται. Επομένως, οι δευτεροταγείς ρίζες **11** και **12** που φαίνονται στο Σχήμα 15 υιοθετούν ευνοϊκές διαμορφώσεις όπου η δίεδρη γωνία μεταξύ της εστερομάδας και των ομάδας ^tBu και Ph είναι 140° και 165°, αντίστοιχα. Αυτό καθιστά την *syn*-προσβολή ως προς αυτούς τους υποκαταστάτες λιγότερο παρεμποδισμένη απ'ότι στην περίπτωση ανάλογων τριτοταγών ριζών. Συνεπώς, οι δευτεροταγείς ρίζες με υποκαταστάτη εστερομάδα αντιδρούν με χαμηλότερη στερεοεκλεκτικότητα απ'ότι οι τριτοταγείς [162, 164, 167]. Όταν ο ογκώδης υποκαταστάτης (L) είναι η φαινυλομάδα, η στερεοεκλεκτικότητα η οποία είναι ήδη αρκετά χαμηλή στις τριτοταγείς ρίζες, στην περίπτωση των δευτεροταγών ριζών μπορεί να παρατηρηθεί και ανεστραμμένη (Σχήμα 15) [164, 167].



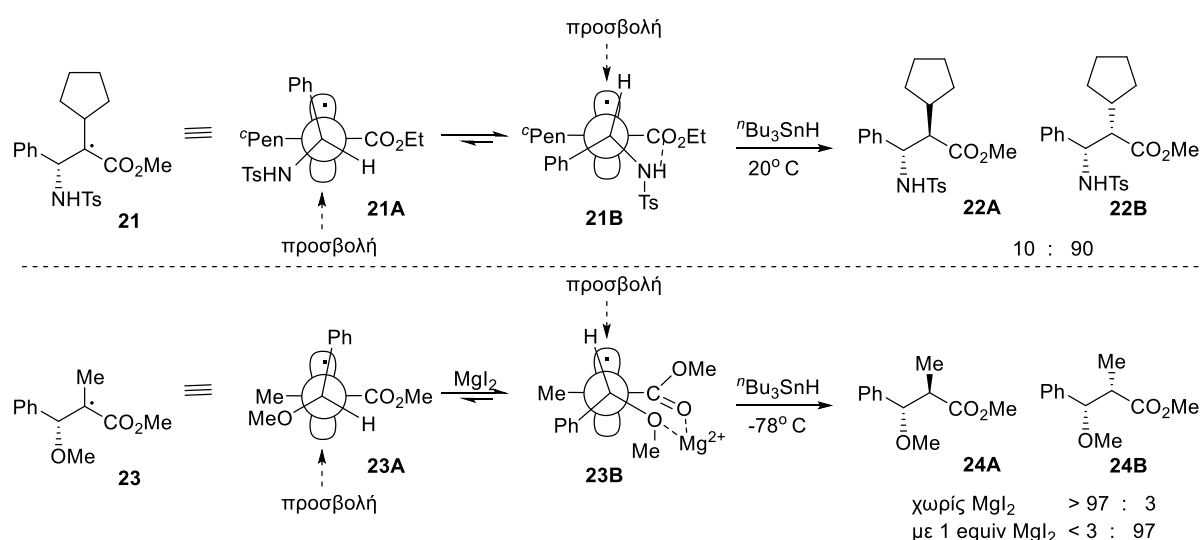
Σχήμα 15: Ευνοϊκότερες διαμορφώσεις δευτεροταγών ριζών και σύγκριση διαστεροεκλεκτικότητας μεταξύ δευτεροταγών και τριτοταγών ριζών.

Πολικοί υποκαταστάτες στο στερεογονικό κέντρο οδηγούν σε απώσεις διπλόου-διπλόου με την εστερική ομάδα της ρίζας [168]. Αυτή η αλληλεπίδραση διπλόου-διπλόου: (α) αυξάνει τη δίεδρη γωνία μεταξύ της εστερικής ομάδας και του πολικού υποκαταστάτη, και (β) αυξάνει την ενεργειακή διαφορά μεταξύ των δύο διαμορφώσεων ελάχιστης ενέργειας. Έτσι, η δίεδρη γωνία της διαμόρφωσης **A** (Σχήμα 16) αυξάνει από τις 5° στις 35° όταν η ομάδα Me (**16A**) αντικαθίσταται από μια ομάδα OMe (**17A**) [169]. Η ομάδα Ph καλύπτει την *syn* πλευρά στο **16A** πιο αποτελεσματικά από το **17A**. Επιπροσθέτως, η ενεργειακή διαφορά μεταξύ των διαμορφώσεων αυξάνει από 0.5 kcal/mol για το ζεύγος **16A/16B** αυξάνεται σε 2.4 kcal/mol στην περίπτωση των **17A/17B**. Κατά συνέπεια, η στερεοεκλεκτικότητα αυξάνεται από 67:33 σε 97:3. Στο Σχήμα 16 φαίνονται ορισμένα παραδείγματα αντιδράσεων απόσπασης υδριδίου β-μεθοξυ υποκατεστημένων ριζών [168, 170].



Σχήμα 16: Επίδραση πολικών υποκαταστατών στη διαστεροεκλεκτικότητα αναγωγής ριζών.

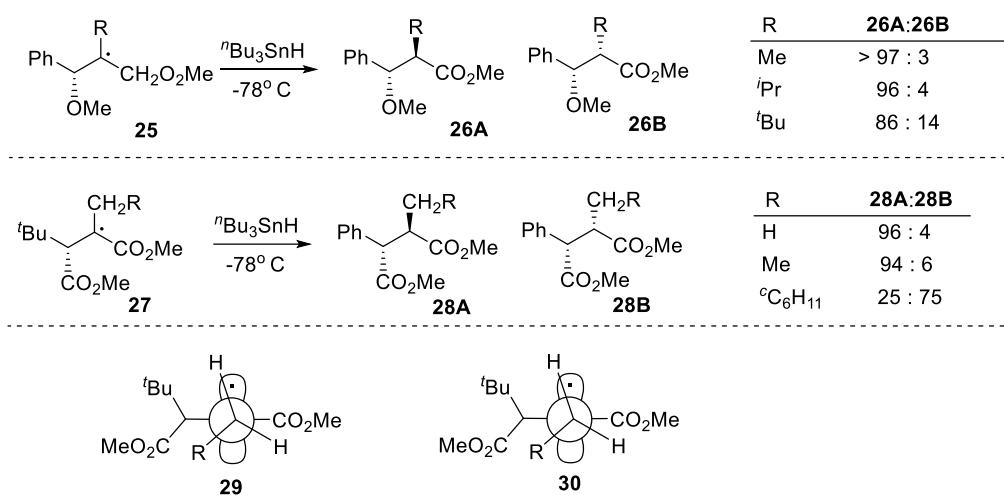
Στο παράδειγμα του Σχήματος 17 παρατηρείται αναστροφή της παρατηρούμενης στερεοχημείας κατά την αναγωγή της ρίζας **21**, η οποία αποδίδεται σε H-δεσμό μεταξύ των δεσμών N-H και C=O [171]. Η αλληλεπίδραση αυτή σταθεροποιεί τη διαμόρφωση **21B** η οποία δεν προβλέπεται από τον κανόνα της αλλυλικής τάσης και τελικά οδηγεί στο ισομερές **22B** ως κυριο προϊόν. Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι η στερεοεκλεκτικότητα επηρεάζεται και από την παρουσία οξέων Lewis. Και σε αυτήν την περίπτωση μπορεί να παρατηρηθεί αναστροφή της στερεοεκλεκτικότητας, όπως φαίνεται στο Σχήμα 17 για την αναγωγή της ρίζας **23** παρουσία ή απουσία MgI_2 [172]. Το φαινόμενο αυτό οφείλεται σε χηλίωση της ενδιάμεσης ρίζας. Συγκεκριμένα, ενώ το μη χηλιωμένο διαμορφωμερές που προβλέπεται από τον κανόνα της αλλυλικής τάσης (**23A**) προσβάλλεται από την κάτω πλευρά, στο χηλιωμένο διαμορφωμερές **23B** η κάτω πλευρά προστατεύεται από την ομάδα Ph, συνεπώς η στερεοεκλεκτικότητα αναστρέφεται.



Σχήμα 17: Επίδραση δεσμών υδρογόνου και οξέων Lewis στη διαστεροεκλεκτικότητα αναγωγής ριζών.

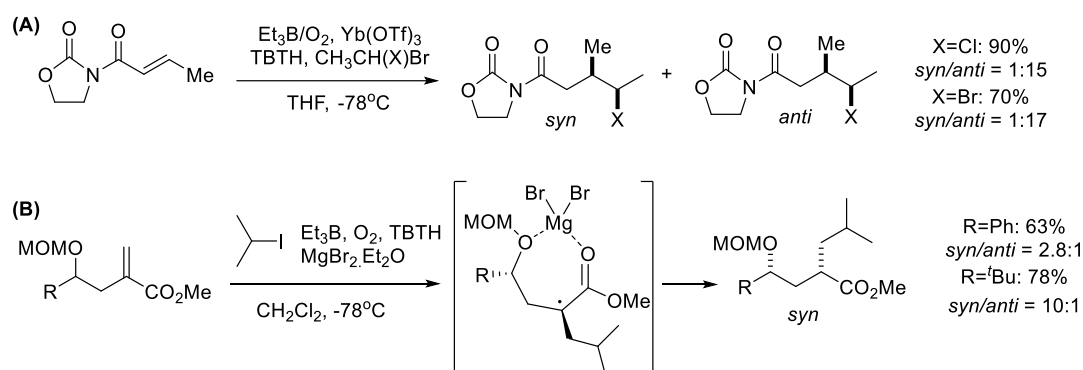
Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, οι δευτεροταγείς β-υποκατεστημένες με εστερομάδα ρίζες αντιδρούν γενικά με χαμηλότερη εκλεκτικότητα από τις αντίστοιχες τριτοταγείς. Όμως, όπως φαίνεται στο Σχήμα 18, η αύξηση του όγκου του υποκαταστάτη R της ρίζας δεν οδηγεί απαραίτητα και σε αύξηση της στερεοεκλεκτικότητας [164, 168]. Με ογκώδεις υποκαταστάτες R, η $A^{1,2}$ -τάση αρχίζει να ανταγωνίζεται με την $A^{1,3}$ -τάση ως προς την ευνοικότερη τοποθέτηση του δεσμού C-H του στερεογονικού κέντρου. Στην περίπτωση της ρίζας **27**, μεταβολή του όγκου του υποκαταστάτη στο προχειρόμορφο

κέντρο της ρίζας μπορεί να οδηγήσει σε αναστροφή της στερεοχημείας [165-166]. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να ερμηνευτεί μέσω του ευνοϊκότερου διαμορφωμερούς **29**. Λόγω της A^{1,3}-τάσης, ένα από τα άτομα H του προχειρόμορφου κέντρου κατευθύνεται προς την εστερομάδα. Με έναν ογκώδη υποκαταστάτη στο χειρόμορφο κέντρο όπως η ομάδα ^tBu, η διαμόρφωση που τοποθετεί τον υποκαταστάτη R του προχειρόμορφου κέντρου *anti* ως προς την ομάδα ^tBu θα πρέπει να ευνοηθεί. Επομένως, οι R και ^tBu ομάδες καλύπτουν διαφορετικές πλευρές και η εκλεκτικότητα μειώνεται ή και αναστρέφεται. Η υπόθεση αυτή υποστηρίζεται και από το γεγονός ότι η ρίζα **30** που είναι υποκατεστημένη με την ομάδα ⁱPr αντιδρά με υψηλότερη εκλεκτικότητα (95:5) καθώς οι δύο μεθυλομάδες βρίσκονται σε αντίθετες πλευρές.



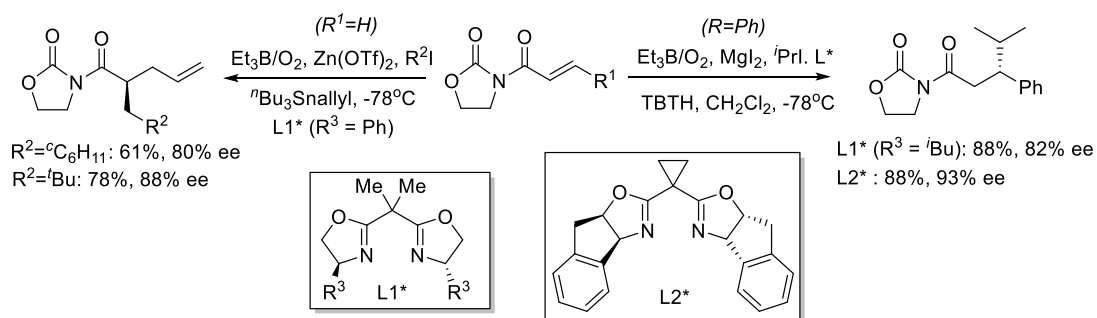
Σχήμα 18: Επίδραση άλκυλο υποκαταστάτη R στη διαστεροεκλεκτικότητα αναγωγής ριζών.

Σε σχέση με τη διαστεροεκλεκτικότητα της αντίδρασης Giese, ο Sibi και οι συνεργάτες του παρέλαβαν υψηλές τιμές d.r. κατά την προσθήκη αλογονωμένων ριζών στα χειρόμορφα υποστρώματα [173] (Σχήμα 19A), ενώ ο Nagano και οι συνεργάτες του παρατήρησαν ότι η προσθήκη ισοπρότυλο ρίζας σε γ-αλκοξυ-α-μεθυλένο εστέρες οδηγεί επίσης σε υψηλά d.r. όταν χρησιμοποιείται MgBr₂ ως οξύ [174], μέσω του σχηματισμού ενδιάμεσων κυκλικών χηλικών συμπλόκων (Σχήμα 19B).



Σχήμα 19: Παραδείγματα διαστερεοεκλεκτικών αντιδράσεων Giese υποβοηθούμενων από οξέα Lewis, από τις ερευνητικές ομάδες των (A) Sibi [173] και (B) Nagano [174].

Αρκετές προσπάθειες πραγματοποιήθηκαν για την ανάπτυξη εναντιοεκλεκτικών μεθοδολογιών με τη χρήση οξέων Lewis και χειρόμορφων υποκαταστατών. Ο Porter [175] και οι συνεργάτες του παρατήρησαν ότι ένας υποκαταστάτης δις(οξαζολινίου) σε συνδυασμό με $\text{Zn}(\text{OTf})_2$ μπορεί να λειτουργήσει ως χειρόμορφο οξύ Lewis και να προάγει προσθήκη τύπου Giese α,β -ακόρεστων ιμιδίων με ταυτόχρονη αλλυλίωση της ενδιάμεσης ρίζας (Σχήμα 20). Έναν χρόνο αργότερα, οι Sibi και Porter παρουσίασαν μια παραλλαγή της μεθόδου που επέτρεψε τον εναντιοεκλεκτικό σχηματισμό χειρόμορφου κέντρου στη β -θέση του ακόρεστου συστήματος (Σχήμα 20) [176-177].



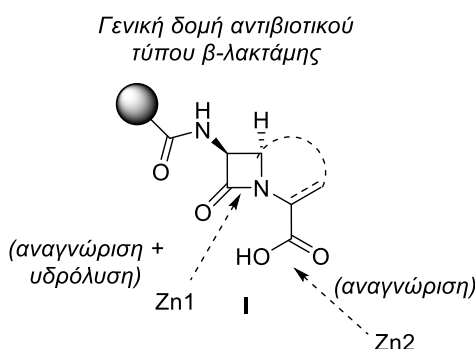
Σχήμα 20: Εναντιοεκλεκτική ριζική αλκυλίωση με χρήση οξέων Lewis/χειρόμορφων δις(οξαζολινίων) [175-177].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ

4.1 Στόχος της εργασίας

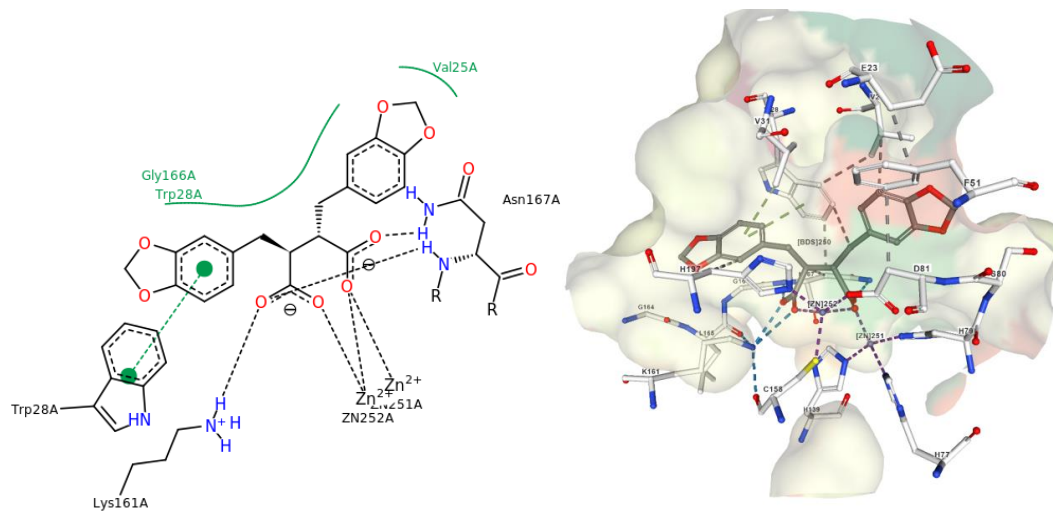
Ένα κοινό δομικό χαρακτηριστικό των περισσότερων αναστολέων μεταλλο-β-λακταμασών που περιγράφηκαν στο Κεφάλαιο 1 είναι η παρουσία δομικών στοιχείων που περιορίζουν την διαμορφωτική τους ελευθερία, είτε αυτό επιτυγχάνεται με εισαγωγή δακτυλίων είτε με τη χρήση ογκωδών υποκαταστατών. Το γεγονός αυτό σχετίζεται άμεσα με τη δομή των υποστρωμάτων των β-λακταμασών η οποία χαρακτηρίζεται από διαμορφωτική ακαμψία αλλά και του μηχανισμού δράσης τους που απαιτεί την ταυτόχρονη αναγνώριση του λακταμικού δεσμού και του ελεύθερου καρβοξυλικού άκρου από τα δύο ιόντα Zn^{2+} που βρίσκονται στο ενεργό κέντρο αυτών των ενζύμων (Εικόνα 35).



Εικόνα 35: Γενική δομή αντιβιοτικών τύπου λακτάμης και σημεία αναγνώρισης με τα ιόντα Zn^{2+} του ενεργού κέντρου μεταλλο-β-λακταμασών

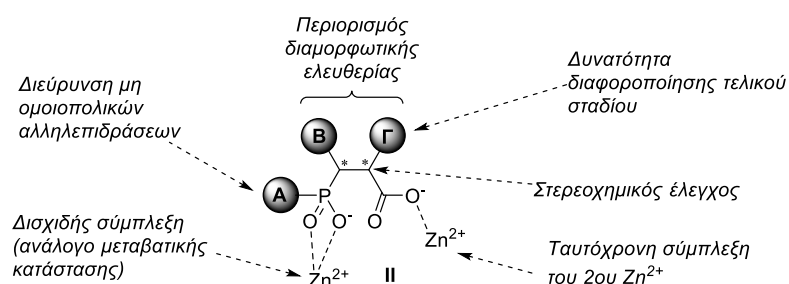
Ο σχεδιασμός των ενώσεων που στοχεύει η μεθοδολογία η οποία διερευνάται στην παρούσα εργασία βασίζεται σε ορισμένες παρατηρήσεις από παλαιότερη εργασία των Toney et.al. σχετικά με την ανάπτυξη αναστολέων σουκινικού τύπου της μεταλλο-β-λακταμάσης IMP-1 [55]. Οι συγγραφείς, εντόπισαν έπειτα από σάρωση χημικής βιβλιοθήκης της Merck ότι διϋποκατεστημένα σουκινικά παράγωγα (Εικόνα 15, δομές 4-6) αποτελούν εξαιρετικούς αναστολείς της IMP-1. Οι ενώσεις αυτές, αν και μη κυκλικές, παρουσιάζουν μεγαλύτερη ανασταλτική ισχύ από αντίστοιχα κυκλικά δικαρβοξυλικά οξέα. Το γεγονός αυτό θεωρούμε ότι σχετίζεται με τη μεγαλύτερη δυνατότητα διαμορφωτικής προσαρμογής που έχουν οι μη κυκλικές δικαρβοξυλικές ενώσεις ώστε να μπορούν ταυτόχρονα να αλληλεπιδρούν με τα δύο ιόντα Zn του

ενζύμου, όπως έδειξαν κρυσταλλογραφικές μελέτες από τους συγγραφείς (Εικόνα 36) [55].



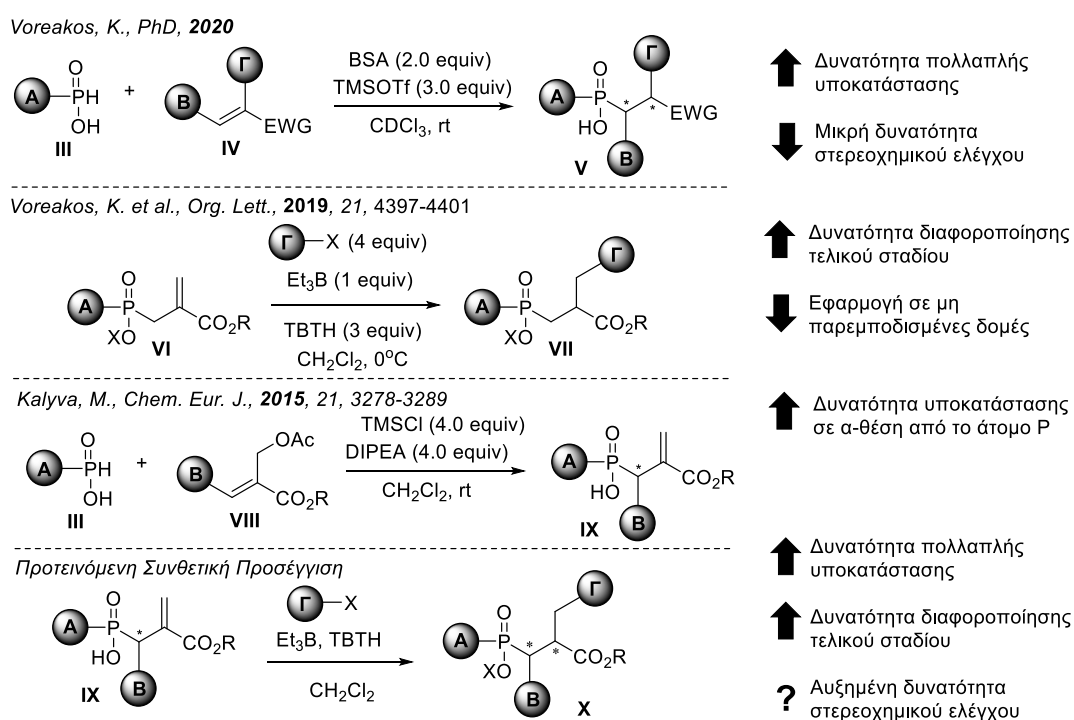
Εικόνα 36: Αλληλεπιδράσεις IMP-1/δικαρβοξυλικού αναστολέα μέσω κρυσταλλογραφίας ακτίνων X [55].

Οι παραπάνω παρατηρήσεις αποτέλεσαν και το έναυσμα του σχεδιασμού ενώσεων φωσφινικού τύπου της γενικής μορφής II ως πιθανοί αναστολείς των μεταλλο-β-λακταμασών (Εικόνα 37). Στις ενώσεις αυτές, η φωσφινική ομάδα αναμένεται να δρα ως ισοστερής του αμιδικού δεσμού κατά την μεταβατική κατάσταση της υδρόλυσης, καθιστώντας τον πιθανό αναστολέα *ανάλογο μεταβατικής κατάστασης* (transition-state analogue). Η ιδιότητα αυτή αναμένεται να οδηγήσει σε αυξημένη ανασταλτική ισχύ, σε σχέση με τα προαναφερθέντα παράγωγα σουκινικού οξέος που μιμούνται το προϊόν της υδρόλυσης. Επίσης, αύξηση της ανασταλτικής ισχύος αναμένεται και από την καλύτερη συμπλεκτική ικανότητα για το ιόν Zn^{2+} των φωσφινικών οξέων σε σχέση με τα αντίστοιχα καρβοξυλικά καθώς και από την δυνατότητα της φωσφινικής ομάδας να φέρει έναν ακόμα υποκαταστάτη που να δημιουργεί επιπλέον ευνοϊκές αλληλεπιδράσεις και αύξηση της ενζυμικής συγγένειας.



Εικόνα 37: Ορθολογικός σχεδιασμός πιθανών αναστολέων μεταλλο-β-λακταμασών.

Το βασικό ερώτημα που έπρεπε να απαντήσουμε κατά την έναρξη της ερευνητικής μας εργασίας σχετίζονταν με τη συνθετική προσέγγιση των ενώσεων στόχων. Συγκεκριμένα, ο σκελετός των ενώσεων τύπου II που περιγράφεται στην Εικόνα 37 και περιλαμβάνει δύο υποκαταστάτες (B & Γ) στους γειτονικούς sp^3 άνθρακες ενός β -φωσφινυλοπροπιονικού οξέος δεν έχει περιγραφεί στη βιβλιογραφία, αυξάνοντας τις συνθετικές απαιτήσεις της εργασίας. Πρόσφατα, από την ερευνητική μας ομάδα, αναφέρθηκε μια γενική μέθοδος για τη σύνθεση παρόμοιων ενώσεων, η οποία βασίζεται στην επιταχυνόμενη από οξέα Lewis αντίδραση *P*-Michael υποκατεστημένων δεκτών Michael με φωσφινικά οξέα (Σχήμα 21) [178]. Η μέθοδος αυτή, αν και αντιμετωπίζει αποτελεσματικά το πρόβλημα της σύνθεσης ενώσεων τύπου II, δεν επιτρέπει υψηλό στερεοχημικό έλεγχο και επιπλέον δεν δίνει τη δυνατότητα διαφοροποίησης τελικού σταδίου καθώς οι υποκαταστάτες θα πρέπει να έχουν ήδη ενσωματωθεί στον δέκτη Michael. Το θέμα της δυνατότητας διαφοροποίησης τελικού σταδίου έχει αντιμετωπιστεί πρόσφατα από την ερευνητική μας ομάδα, μέσω μιας μεθοδολογίας που περιλαμβάνει αντίδραση Giese αναλόγων τύπου δεϋδροαλανίνης με άλκυλο ρίζες (Σχήμα 21) [144].



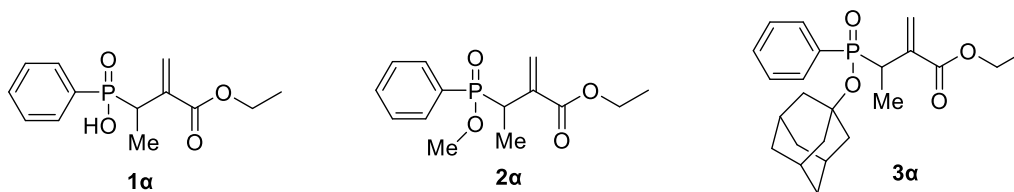
Σχήμα 21: Βιβλιογραφική στοιχειοθέτηση της προτεινόμενης συνθετικής προσέγγισης.

Το 2015 παρουσιάστηκε από την ερευνητική μας ομάδα η πρώτη γενική μεθοδολογία που επιτρέπει τη σύνθεση β -φωσφινυλοπροπιονικών παραγώγων με υποκατάσταση σε α -θέση ως προς το άτομο P (Σχήμα 21) [136]. Η σύνθεση των παρεμποδισμένων

δομών τύπου **IX** έγινε με βάση μια αντίδραση αλλυλικής υποκατάστασης, η οποία δίνει τη δυνατότητα ταχύτερων και αποτελεσματικότερων μετατροπών από την αντίδραση *P*-Michael που είναι αντιστρεπτή. Λόγω της δομής των αρχικών αλλυλικών εστέρων τύπου **VIII**, το άτομο άνθρακα σε α -θέση ως προς την καρβοξυλική ομάδα των ενώσεων τύπου **IX** φέρει μια μεθυλενομάδα η οποία αποτελεί μέρος ενός 1,4-συζυγιακού συστήματος κατάλληλο για αντιδράσεις ριζικής προσθήκης τύπου Giese. Η διερεύνηση της δυνατότητας αυτής αποτέλεσε και το στόχο της παρούσας εργασίας. Η πραγματοποίηση αντιδράσεων τύπου Giese στις ενώσεις τύπου **IX** μπορεί να προσφέρει τα εξής πλεονεκτήματα α) δυνατότητα υποκατάστασης στα 2 άτομα C του προπιονικού ανθρακικού σκελετού, β) δυνατότητα διαφοροποίησης τελικού σταδίου της α -θέσης από τον καρβοξυλικό άνθρακα και γρήγορη πρόσβαση σε ποικιλία δομών τύπου **X**, και γ) δυνατότητα αυξημένου στερεοχημικού ελέγχου, με βάση τις μελέτες του Giese και άλλων σε μη κυκλικά συστήματα, όπως περιγράφηκαν στην Παράγραφο 3.3. Όλα τα παραπάνω στοιχεία, καθιστούν την προτεινόμενη μεθοδολογία ένα ιδανικό συνθετικό εργαλείο για την ανάπτυξη υποψήφιων αναστολέων των μεταλλο- β -λακταμασών.

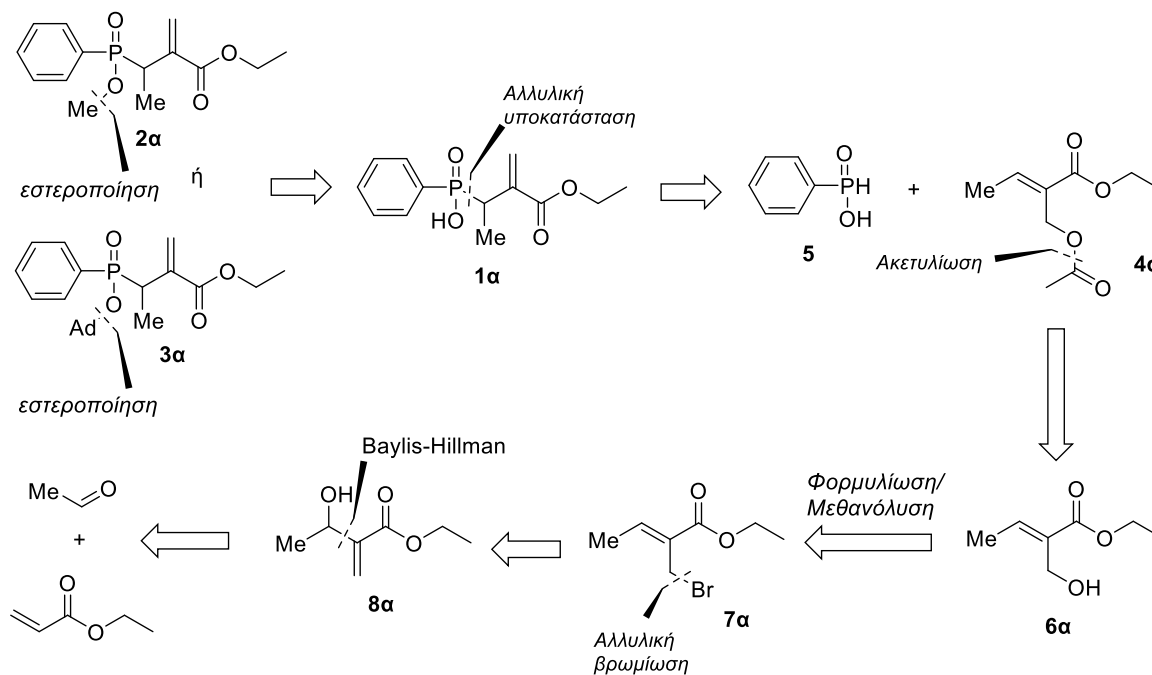
4.2 Σύνθεση υποστρωμάτων για αρχική βελτιστοποίηση

Προκειμένου να πραγματοποιηθεί η αρχική βελτιστοποίηση, συντέθηκαν οι ενώσεις **1a**, **2a** και **3a** (Εικόνα 38). Εκτός από την εύρεση των βέλτιστων συνθηκών για την διεξαγωγή της ριζικής προσθήκης με τη μέγιστη δυνατή αποτελεσματικότητα αλλά και στερεοεκλεκτικότητα, η επιλογή των 3 υποστρωμάτων είχε ως στόχο και τη μελέτη της επίδρασης της προστασίας στην φωσφινική ομάδα καθώς και του όγκου της προστατευτικής ομάδας. Με βάση προηγούμενη εργασία του εργαστηρίου μας, η αντίδραση ριζικής προσθήκης είναι συμβατή με ελεύθερα φωσφινικά οξέα [144], στη συγκεκριμένη περίπτωση όμως θα πρέπει επίσης να ληφθεί υπόψη το θέμα της στερεοεκλεκτικότητας. Τέλος, επιλέχθηκε η παρουσία μεθυλομάδας σε α -θέση από το άτομο P, με τη λογική ότι εάν η διαστεροεκλεκτικότητα της ριζικής προσθήκης καθορίζεται από το μέγεθος του υποκαταστάτη στην α -θέση, η βελτιστοποίηση με έναν μικρό υποκαταστάτη, όπως η ομάδα Me, θα καθιστούσε πιθανή την επίτευξη υψηλής διαστεροεκλεκτικότητας επίσης και για την περίπτωση ογκωδέστερων υποκαταστατών.



Εικόνα 38: Υποστρώματα 1α, 2α και 3α για την αρχική βελτιστοποίηση της ριζικής προσθήκης

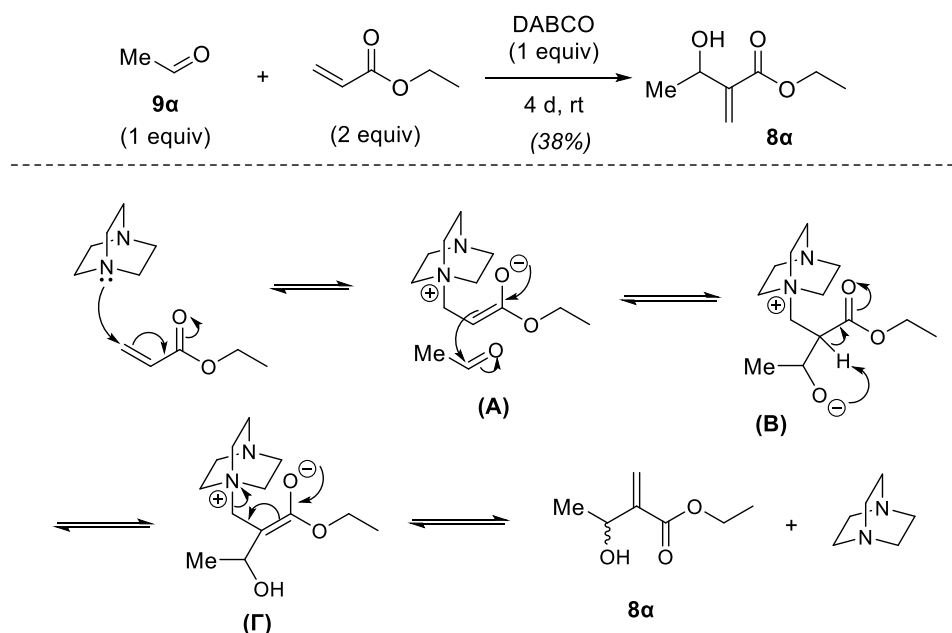
Η γενική ρετροσυνθετική ανάλυση των ενώσεων-στόχων **1α**, **2α** και **3α** παρουσιάζεται στο Σχήμα 22. Έτσι, οι εστέρες **2α** και **3α** θα μπορούσαν να προκύψουν από προστασία του φωσφινικού οξέος **1α**, το οποίο με τη σειρά του μπορεί να αποτελέσει προϊόν της αντίδρασης αλλυλικής υποκατάστασης του οξικού αλληλεστέρα **4α** από τον φωσφονίτη του φαινυλοφωσφινικού οξέος **5**, με βάση τη μεθοδολογία που έχει αναπτυχθεί από το εργαστήριό μας [136]. Ο εστέρας **4α** θα μπορούσε να προέλθει από την ακετυλίωση της αλκοόλης **6α** η οποία μπορεί να συντεθεί από μια δημοσιευμένη πορεία δύο σταδίων που περιλαμβάνει εστεροποίηση του βρωμιδίου **7α** στον αντίστοιχο φορμυλεστέρα και ακόλουθη μεθανόλυση. Τέλος, το βρωμίδιο **7α** μπορεί να είναι το προϊόν της αλλυλικής βρωμίωσης της αλκοόλης **8α**, η οποία αποτελεί προϊόν της αντίδρασης Baylis-Hillman μεταξύ της ακεταλδεΐδης και του ακρυλικού αιθυλεστέρα.



Σχήμα 22: Ρετροσυνθετικό σχήμα για τη σύνθεση των υποστρωμάτων 1α, 2α και 3α.

4.2.1 Σύνθεση του οξικού αλλυλεστέρα 4α

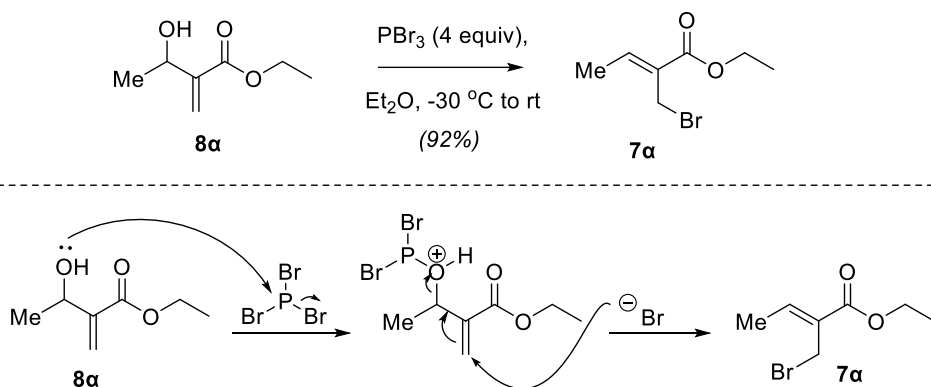
Σύμφωνα με το πρώτο στάδιο της ρετροσυνθετικής μας ανάλυσης, η σύνθεση της αλλυλικής αλκοόλης **8α** απαιτεί την πραγματοποίηση μιας αντίδρασης Baylis-Hillman μεταξύ του ακρυλικού αιθυλεστέρα και της ακεταλδεΐδης, όπως φαίνεται στο Σχήμα 23 [179]. Η αλλυλική αλκοόλη **8α** απομονώθηκε σε απόδοση 38% έπειτα από απλή υδατική κατεργασία, χωρίς χρωματογραφικό καθαρισμό.



Σχήμα 23: Σύνθεση της αλλυλικής αλκοόλης **8α** και μηχανισμός της αντίδρασης Baylis-Hillman

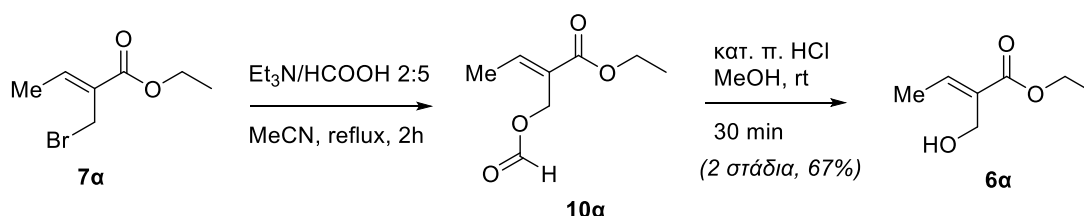
Με βάση τον γενικό μηχανισμό της αντίδρασης Baylis-Hillman, αρχικά πραγματοποιείται μια τύπου Michael πυρηνόφιλη προσθήκη της τριτοταγούς αμίνης DABCO στον ακρυλικό αιθυλεστέρα για το σχηματισμό του διπολικού ενολικού ιόντος **A** (Σχήμα 23) [180]. Ακολουθεί μια πυρηνόφιλη προσβολή αλδολικού τύπου της ακεταλδεΐδης από το ενολικό ιόν **A** προς σχηματισμό του διπολικού ιόντος **B**. Ενδομοριακή μεταφορά πρωτονίου οδηγεί στην τελική αλλυλική αλκοόλη και το DABCO αναγεννάται.

Στο επόμενο στάδιο, πραγματοποιείται αλλυλική βρωμίωση της αλκοόλης **8α** με χρήση PBr_3 (Σχήμα 24). Το βρωμίδιο **7α** παρελήφθη σε απόδοση 92% σε καθαρή μορφή χωρίς χρωματογραφικό καθαρισμό. Ο μηχανισμός της αντίδρασης περιλαμβάνει μια ενεργοποίηση με μετατροπή του $-OH$ σε καλή αποχωρούσα ομάδα και στη συνέχεια υποκατάσταση τύπου S_N2' από το ανιόν βρωμίου.



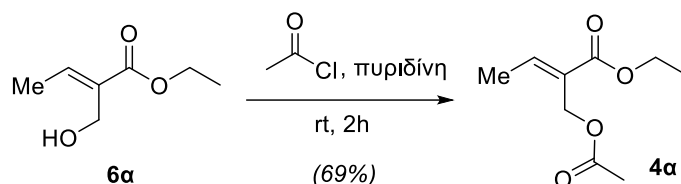
Σχήμα 24: Σύνθεση του αλλυλικού βρωμιδίου **7α** και μηχανισμός αλλυλικής βρωμίωσης

Ακολουθεί μια αλληλουχία τριών βημάτων για την μετατροπή του βρωμιδίου **7α** στον οξικό αλλυλεστέρα **4α**. Η αλληλουχία αυτή έχει περιγραφεί από τον Villieras και τους συνεργάτες του και περιλαμβάνει αρχικά φορμυλίωση με χρήση TEAF το οποίο είναι μίγμα 2 equiv Et_3N και 5 equiv HCOOH , σε διαλύτη MeCN (Σχήμα 25) [181]. Έπειτα από 2 h βρασμό και υδατική κατεργασία, ο ενδιάμεσος φορμυλεστέρας **10α** που προκύπτει υφίσταται μεθάνολυση με διάλυση σε MeOH , προσθήκη καταλυτικής ποσότητας π. HCl και ανάδευση για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου. Η αλκοόλη **6α** παραλαμβάνεται σε καθαρή μορφή έπειτα από χρωματογραφία στήλης σε απόδοση δύο σταδίων 67%.



Σχήμα 25: Πορεία δύο σταδίων για την υδροξυλίωση του αλλυλικού βρωμιδίου **7α**

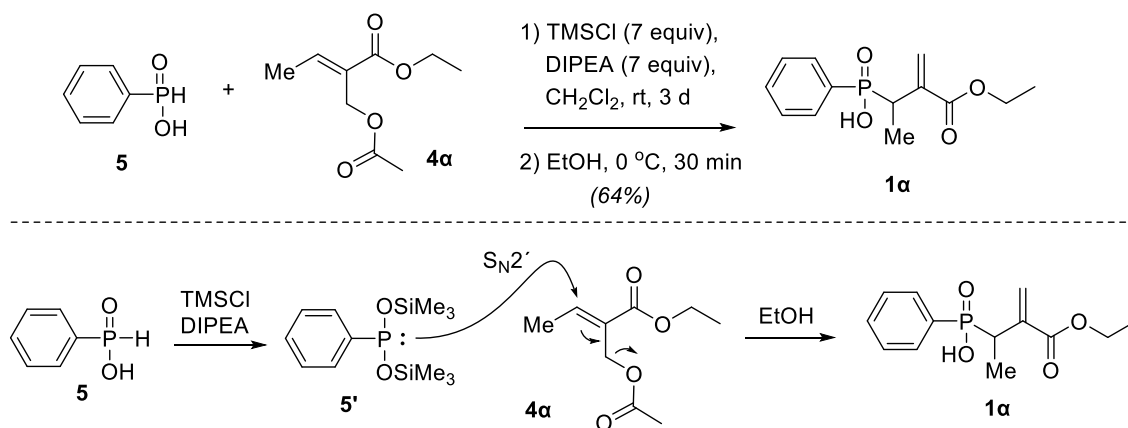
Στο τελευταίο στάδιο της σύνθεσης του οξικού αλλυλεστέρα **4α**, η αλκοόλη **6α** υφίσταται ακετυλίωση με χρήση AcCl και πυριδίνης ως βάση (Σχήμα 26) [136]. Η αντίδραση διήρκησε συνολικά 3 h και η τελική ένωση παρελήφθη σε απόδοση 69% έπειτα από χρωματογραφικό καθαρισμό.



Σχήμα 26: Αντίδραση ακετυλίωσης της αλκοόλης 6α προς τον οξικό αλλυλεστέρα 4α

4.2.2 Σύνθεση των εστέρων 2α και 3α

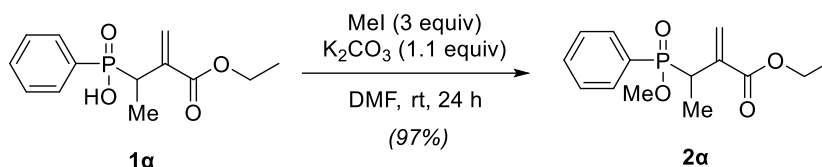
Στο επόμενο βήμα της συνθετικής μας πορείας προχωρήσαμε στη σύνθεση της ένωσης **1α** μέσω ενός πρωτοκόλλου που αναπτύχθηκε από την ερευνητική μας ομάδα και περιλαμβάνει μια αλλυλική υποκατάσταση τύπου S_N2' οξικών αλλυλεστέρων από σιλολοφωσφονίτες που παράγονται *in situ* από φωσφινικά οξέα σε σιλυλιωτικές συνθήκες (Σχήμα 27) [136].



Σχήμα 27: Σύνθεση του φωσφινικού οξέος **1α** και μηχανισμός αλλυλικής υποκατάστασης του οξικού εστέρα **4α** από τον φωσφονίτη **5'**

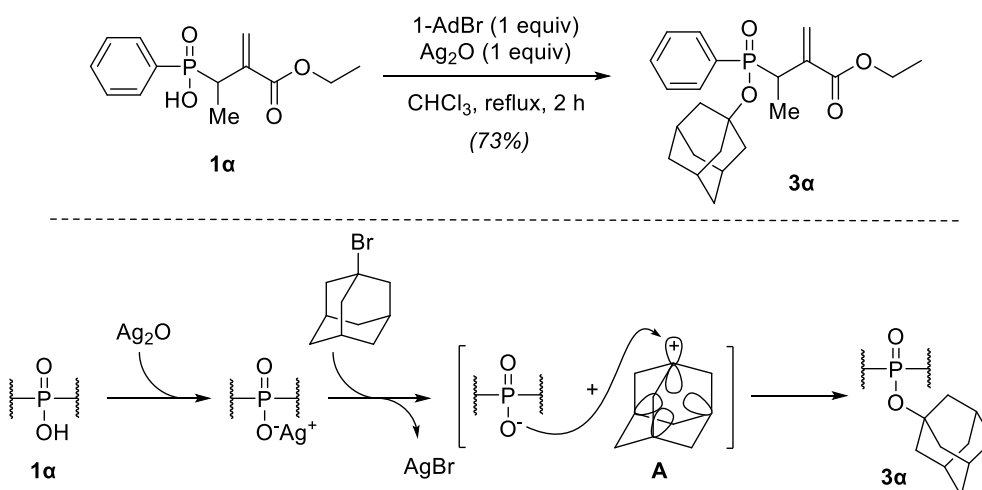
Κατά την αντίδραση, το φωσφινικό οξύ **5** μετατρέπεται στον αντίστοιχο σιλολοφωσφονίτη **5'** με χρήση περίσσειας TMSCl και DIPEA, σε θερμοκρασία δωματίου και υπό αδρανή ατμόσφαιρα ώστε να αποφευχθεί η οξειδωση του φωσφονίτη **5'**. Ο φωσφονίτης **5'** προσβάλλει τον αλλυλεστέρα **4α** μέσω ενός μηχανισμού S_N2' (αλλυλική υποκατάσταση), οδηγώντας στο επιθυμητό προϊόν **1α** έπειτα από διάσπαση των σιλυλεστέρων με χρήση EtOH. Η απομόνωση του τελικού προϊόντος έγινε έπειτα από χρωματογραφικό καθαρισμό σε απόδοση 64%.

Για την τελική μετατροπή του φωσφινικού οξέος **1α** στον μεθυλεστέρα **2α** πραγματοποιήθηκε αντίδραση με MeI και K₂CO₃ σε διαλύτη DMF και ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 24 h (Σχήμα 28). Το τελικό προϊόν **2α** παρελήφθη σε καθαρή μορφή χωρίς χρωματογραφικό καθαρισμό σε απόδοση 97%.



Σχήμα 28: Μεθυλίωση του φωσφινικού οξέος **1α** προς τον μεθυλεστέρα **2α**.

Για τη σύνθεση του αδαμαντυλεστέρα **3α** ακολουθήθηκε γνωστό βιβλιογραφικό πρωτόκολλο που κάνει χρήση Ag₂O και 1-AdBr σε συνθήκες βρασμού σε CHCl₃ (Σχήμα 29) [182]. Το τελικό προϊόν απομονώνεται έπειτα από χρωματογραφικό καθαρισμό σε απόδοση 73%. Η αντίδραση ακολουθεί μηχανισμό S_N1 μέσω ενός μη επίπεδου καρβοκατιόντος το οποίο σταθεροποιείται λόγω της αλληλεπίδρασης του κενού p τροχιακού που εκτείνεται στο κέντρο του αδαμαντανίου με τους πίσω λοβούς των sp³ τροχιακών των δεσμών C-H, όπως έχει προταθεί από τους Fort και Schleyer [183].

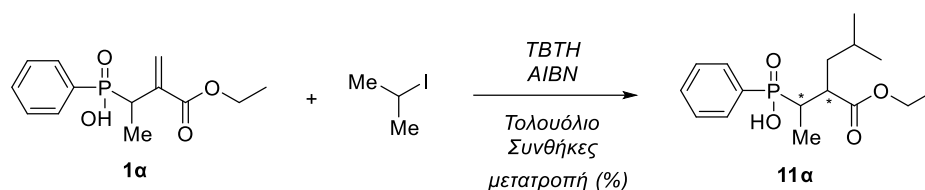


Σχήμα 29: Σύνθεση του εστέρα **3α** και μηχανισμός αδαμαντυλίωσης

4.3 Βελτιστοποίηση αντίδρασης ριζικής προσθήκης

Μετά τη σύνθεση των υποστρωμάτων **1a**, **2a** και **3a** προχωρήσαμε στη βελτιστοποίηση της αντίδρασης ριζικής προσθήκης τύπου Giese. Αρχικά, χρησιμοποιήθηκε το σύστημα *H*-δότη/εκκινητή TBTH/AIBN και το φωσφινικό οξύ **1a** ως υπόστρωμα και τα αποτελέσματα παρατίθενται συνοπτικά στον Πίνακα 4.

Πίνακας 4: Διερεύνηση αντίδρασης Giese με χρήση TBTH ως *H*-δότη και AIBN ως εκκινητή στο υπόστρωμα **1a**.^a

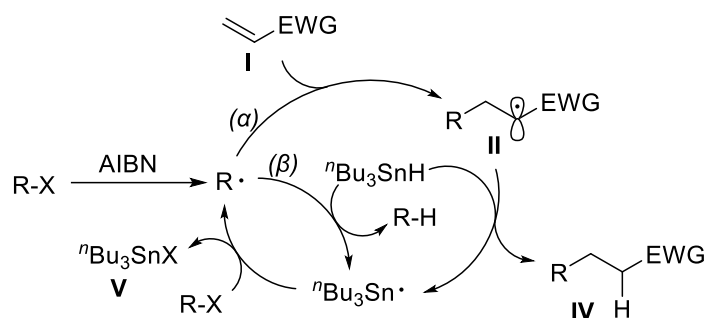


	^t PrI (equiv)	TBTH (equiv)	AIBN (equiv)	Συνθήκες	d.r.	Μετατροπή % (Προϊόν %) ^β	Παρατηρήσεις
1	6	5	0.15	110°C, 2.5h	-	45 (45)	-
2	4	3	0.1	MgBr ₂ (1.2 equiv) ^γ , 75°C, 2h	-	60 (21)	Παραπροϊόντα αναγωγής (18%)
3	2 + 2 + 2	1.7 + 1.7 + 2	0.1+0.1+ 0.1	110°C, 28h	73:27	100 (<80)	Δυσκολία απομόνωσης, άγνωστα παραπροϊόντα

^a Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε κλίμακα 0.05 – 0.1 mmol και συγκέντρωση 0.05M του αρχικού υποστρώματος **1a**. Η σειρά προσθήκης ήταν (1) πρόσθετο, (2) ^tPrI, (3) TBTH, (4) AIBN. ^β Η μετατροπή του αρχικού υποστρώματος, η απόδοση του προϊόντος ριζικής προσθήκης και η διαστερεοεκλεκτικότητα υπολογίζονται με βάση την ολοκλήρωση των φασμάτων ³¹P-NMR των μιγμάτων μετά από υδατική κατεργασία. ^γ Χρησιμοποιήθηκε ως σύμπλοκο MgBr₂·OEt₂.

Αρχικά, η χρήση TBTH (5 equiv), 15% AIBN και ^tPrI (6 equiv) στους 110°C οδήγησε σε 45% μετατροπή σε προϊόν χωρίς την εμφάνιση παραπροϊόντων (Πίνακας 4, καταχώρηση 1). Διεξαγωγή της αντίδρασης παρουσία MgBr₂·Et₂O (1.2 equiv) δεν αύξησε την μετατροπή ενώ παρατηρήθηκε σχηματισμός του επιθυμητού προϊόντος **11a** σε ποσοστό μόλις 21% λόγω παραπροϊόντων που αποδίδονται σε αναγωγή του διπλού δεσμού (Πίνακας 4, καταχώρηση 2). Σταδιακή προσθήκη των αντιδραστηρίων με στόχο την αύξηση της μετατροπής ήταν επιτυχής (Πίνακας 4, καταχώρηση 3), όμως μετά από προσπάθειες ανάκτησης του προϊόντος **11a** διαπιστώθηκε ότι η διαστερεοεκλεκτικότητα ήταν μόλις 73:27 ενώ παρατηρήθηκαν και παραπροϊόντα σε ποσοστό 22%.

Η αδυναμία ολοκλήρωσης της αντίδρασης με χρήση TBTH ως *H*-δότη πιστεύεται ότι σχετίζεται με την ανταγωνιστική αναγωγή του αλκυλοϊωδιδίου από το TBTH (μονοπάτι β), η οποία φαίνεται να συμβαίνει με ταχύτητα συγκρίσιμη αυτής του πιο αργού βήματος της αλυσίδας Giese (μονοπάτι α, Σχήμα 30). Με βάση προηγούμενες παρατηρήσεις από την ερευνητική μας ομάδα, θεωρήσαμε ότι η χρήση TTMSS ως *H*-δότη πιθανώς να αντιμετωπίζει το πρόβλημα καθώς αυτό χαρακτηρίζεται από μικρότερη αναγωγική ικανότητα σε σχέση με το TBTH [184], η οποία όμως δεν συνοδεύεται και από αναστολή της ριζικής διάδοσης της αντίδρασης Giese [144].

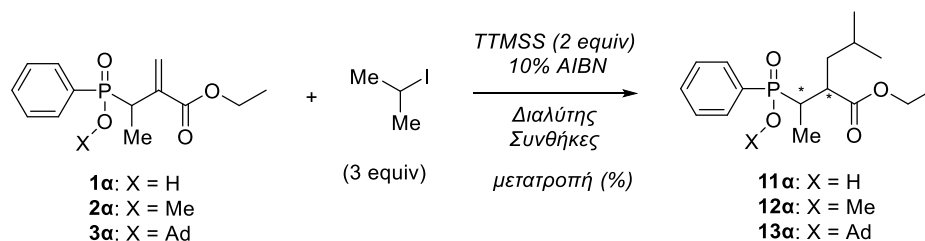


Σχήμα 30: Μηχανισμός αντίδρασης Giese (μονοπάτι α) και ανταγωνιστικής αντίδρασης αναγωγής (μονοπάτι β) με χρήση AIBN και TBTH

Στον Πίνακα 5 παρουσιάζονται τα πειράματα βελτιστοποίησης που πραγματοποιήθηκαν με χρήση TTMSS ως *H*-δότη και AIBN ως εκκινητή της αντίδρασης Giese. Αρχικά, χρησιμοποιήθηκαν *i*PrI (3 equiv), TTMSS (2 equiv) και 10% AIBN (2 equiv) όπου παρατηρήθηκε πλήρης μετατροπή του οξέος **1a**, ενώ το ποσοστό του προϊόντος στο τελικό μίγμα ήταν 68%, με βάση το φάσμα ³¹P-NMR (Πίνακας 5, καταχώρηση 1). Προσπάθεια αύξησης της αποδοτικότητας της αντίδρασης με χρήση MgBr₂·Et₂O είτε σε διαλύτη CH₂Cl₂ είτε σε τολουόλιο οδήγησε σε πλήρη ανάκτηση της αρχικής ύλης (Πίνακας 5, καταχωρήσεις 2 και 3). Επανάληψη της αντίδρασης της καταχώρησης 1 οδήγησε σε απομόνωση του τελικού προϊόντος σε απόδοση 54%, όπου διαπιστώθηκε ότι η διαστερεοεκλεκτικότητα της αντίδρασης ανήλθε σε d.r. 80:20, βελτιωμένη δηλαδή σε σχέση με τη χρήση TBTH (βλ. Πίνακας 4). Στην Εικόνα 39 παρουσιάζεται το φάσμα ³¹P-NMR του προϊόντος **11a**, όπου φαίνονται τα δύο ισομερή σε αναλογία 80:20. Τέλος, η χρήση είτε του μεθυλεστέρα **2a** είτε του αδαμαντυλεστέρα **3a** στην ίδια αντίδραση έδωσε και στις δύο περιπτώσεις πλήρη διάσπαση του φωσφινικού εστέρα. Η συμπεριφορά αυτή

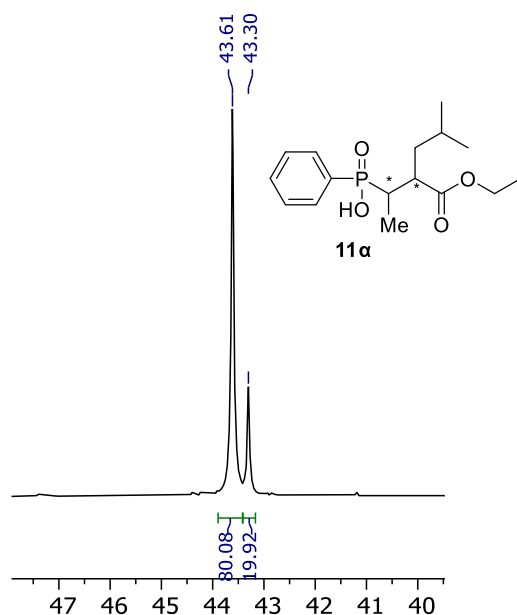
αποδίδεται στα *in situ* σχηματιζόμενα ιωδοσιλάνια (και όχι στο ίδιο το TTMSS) τα οποία είναι γνωστά αντιδραστήρια διάσπασης φωσφινικών εστέρων [185-186].

Πίνακας 5: Διερεύνηση αντίδρασης Giese με χρήση TTMSS ως *H*-δότη και AIBN ως εκκινητή στα υποστρώματα 1α, 2α και 3α.^α



	X	Διαλύτης	Συνθήκες	d.r.	Μετατροπή % (Προϊόν %) ^β	Παρατηρήσεις
1	H	τολουόλιο	110 °C, 2h	-	100 (68)	Άγνωστα παραπροϊόντα
2	H	τολουόλιο	MgBr ₂ ^γ (2 equiv), 75 °C, 24h	-	0 (0)	-
3	H	CH ₂ Cl ₂	MgBr ₂ ^γ (2 equiv), 75°C, 24h	-	0 (0)	Προανάμειξη 1α και MgBr ₂ για 20 min
4	H	τολουόλιο	110 °C, 24h	80:20	96 (67) ^δ	Άγνωστα παραπροϊόντα
6	OMe	τολουόλιο	110 °C, 40min	-	100 (0)	Πλήρης διάσπαση του φωσφινικού εστέρα
7	OAd	τολουόλιο	70-75 °C, 2h	-	100 (0)	Πλήρης διάσπαση του φωσφινικού εστέρα

^α Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε κλίμακα 0.05 – 0.1 mmol και συγκέντρωση 0.05M του αρχικού υποστρώματος **1α**, **2α** ή **3α**. Η σειρά προσθήκης ήταν (1) πρόσθετο, (2) ^γPrI, (3) TTMSS, (4) AIBN. ^β Η μετατροπή του αρχικού υποστρώματος, η απόδοση του προϊόντος ριζικής προσθήκης και η διαστεreoεκλεκτικότητα υπολογίζονται με βάση την ολοκλήρωση των φασμάτων ³¹P-NMR των μιγμάτων μετά από υδατική κατεργασία. ^γ Χρησιμοποιήθηκε ως σύμπλοκο MgBr₂·OEt₂. ^δ Έπειτα από χρωματογραφικό καθαρισμό.

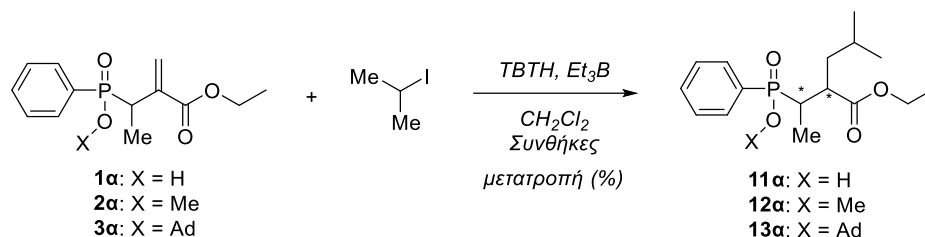


Εικόνα 39: Φάσμα ^{31}P του μίγματος αντίδρασης έπειτα από κατεργασία της αντίδρασης της καταχώρησης 4, Πίνακας 5

Στη συνέχεια, με στόχο τη βελτίωση της διαστερεοεκλεκτικότητας, θελήσαμε να χρησιμοποιήσουμε ηπιότερες συνθήκες, δηλαδή Et_3B ως εκκινητή, ο οποίος μπορεί να λειτουργήσει σε πολύ χαμηλότερες θερμοκρασίες (π.χ. $0\text{ }^\circ\text{C}$). Τα αποτελέσματα της διερεύνησης χρήσης του Et_3B ως εκκινητή στη ριζική προσθήκη Giese με τα υποστρώματα **1a**, **2a** και **3a** φαίνονται στον Πίνακα 6. Αρχικά, επιχειρήθηκε η χρήση TBTH (2 equiv) ως *H*-δότη και Et_3B (2 equiv) ως εκκινητή με 3 equiv ^iPrI (Πίνακας 6, καταχώρηση 1). Η αντίδραση δεν ολοκληρώθηκε έπειτα από 24 h σε 0°C και απαιτήθηκε η προσθήκη επιπλέον ποσοτήτων *n*- Bu_3SnH (1.5 equiv) και Et_3B (1.5 equiv) για την πλήρη κατανάλωση της αρχικής ύλης. Με χρήση ^{31}P -NMR και ES-MS διαπιστώθηκε ο σχηματισμός του επιθυμητού προϊόντος σε ποσοστό 69% ενώ μεταξύ των παραπροϊόντων ανιχνεύθηκε το προϊόν προσθήκης της Et^\cdot ρίζας (~13%). Στη συνέχεια, οι ποσότητες όλων των αντιδραστηρίων πραγματοποιήθηκε με 3 διαδοχικές προσθήκες σε διάστημα 2 h, όπως φαίνεται στην καταχώρηση 2 του Πίνακα 6. Και εδώ, επετεύχθη πλήρης μετατροπή του αρχικού οξέος **1a**, σχηματισμός του προϊόντος **11a** σε ποσοστό 70% και παραπροϊόντα που οφείλονται μεταξύ άλλων και σε προσθήκη της Et^\cdot ρίζας (~7%). Αν και δεν έγινε εφικτή η απομόνωση του προϊόντος, εντοπίστηκαν οι κορυφές στο φάσμα ^{31}P -NMR που αντιστοιχούν στα δύο ισομερή του προϊόντος **11a** με προσθήκη μικρών ποσοτήτων της καθαρής ένωσης **11a** που είχε απομονωθεί από την αντίδραση με TTMSS

(καταχώρηση 4, Πίνακας 5, d.r. 80:20) και διαπιστώθηκε ότι στην περίπτωση αυτή ο διαστερεοϊσομερικός λόγος βελτιώθηκε σημαντικά στην τιμή 91:9. Συμπεραίνεται λοιπόν ότι η διεξαγωγή της αντίδρασης σε χαμηλότερες θερμοκρασίες έχει θετική επίδραση στον στερεοχημικό έλεγχο της αντίδρασης.

Πίνακας 6: Διερεύνηση αντίδρασης Giese με χρήση Et₃B ως εκκινητή και TBTH ως H-δότη στα υποστρώματα 1α, 2α και 3α.^α



	X	ⁱ PrI (equiv)	TBTH (equiv)	Et ₃ B (equiv)	Συνθήκες	d.r.	Μετατροπή % (Προϊόν %) ^β	Παρατηρήσεις
1	H	3 + 2	2 + 1.5	2 + 1.5	0°C, 26h	-	100 (69)	Προσθήκη Et· (13%), άγνωστα παραπροϊόντα (18%)
2	H	3 + 3 + 3	2 + 2 + 1	2 + 2 + 1	0°C, 2h	91:9	100 (70)	Προσθήκη Et· (7%)
3	H	3 + 1.5 + 1.5	2 + 1	2 + 1 + 1	-40°C, 3h	89:11	96 (~55%)	-
4	H	3 + 1	3	Et ₃ B (0.5 + 0.5)	MgBr ₂ ^γ (1.2 equiv), 0°C, 3h	87:13	73 (41)	-
5	H	4	3	0.5 + 0.2 + 0.3	MgBr ₂ ^γ (1.0 equiv), 0°C, 3h	85:15	82 (50)	-
6	OMe	3	2	2.0	0°C, 2h	85:15	96 (78)	-
7	OAd	3 + 3	2 + 2	2.0	0°C, 2h	95:5	88 (45)	-

^α Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε κλίμακα 0.05 – 0.1 mmol και συγκέντρωση 0.05M του αρχικού υποστρώματος **1α**, **2α** ή **3α**. Η σειρά προσθήκης ήταν (1) πρόσθετο, (2) αλογονίδιο, (3) H-δότης, (4) Et₃B. ^β Η μετατροπή του αρχικού υποστρώματος, η απόδοση του προϊόντος ριζικής προσθήκης και η διαστερεοεκλεκτικότητα υπολογίζονται με βάση την ολοκλήρωση των φασμάτων ³¹P-NMR των μιγμάτων μετά από υδατική κατεργασία. ^γ Χρησιμοποιήθηκε ως σύμπλοκο MgBr₂·OEt₂.

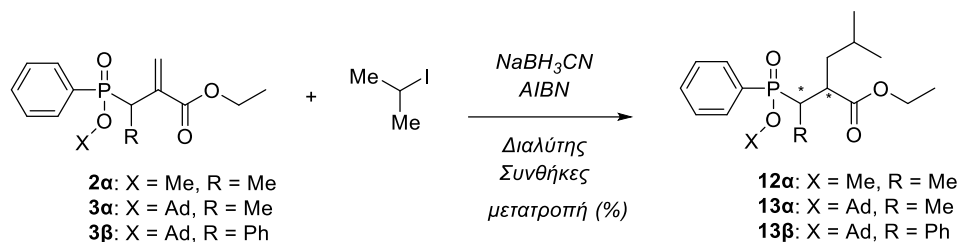
Προσπάθεια περαιτέρω μείωσης της θερμοκρασίας (-40 °C) ώστε να βελτιωθεί η διαστερεοεκλεκτικότητα δεν ήταν επιτυχής (Πίνακας 4, κατάχώρηση 3). Αν και η αρχική ένωση **1α** οδηγήθηκε σε πλήρη κατανάλωση με διαδοχικές προσθήκες αντιδραστηρίων, αυξήθηκαν τα παραπροϊόντα ενώ το d.r. δεν βελτιώθηκε (89:11). Μικρή μείωση της διαστερεοεκλεκτικότητας παρατηρήθηκε και με χρήση MgBr₂·Et₂O, είτε με 1.2 equiv (87:13) είτε με 1.0 equiv (85:15), όπως φαίνεται στις καταχωρήσεις 4

και 5 του Πίνακα 6, αντίστοιχα. Επιπλέον, η χρήση $MgBr_2 \cdot Et_2O$ δεν φάνηκε να ευνοεί την κατανάλωση του αρχικού, αφού και στις δύο περιπτώσεις η αντίδραση δεν ολοκληρώθηκε ενώ παρήχθησαν και παραπροϊόντα.

Αν και η διαστερεοεκλεκτικότητα 91:9 που επετεύχθη είναι σημαντικά βελτιωμένη, η υψηλή πολικότητα των προϊόντων καθιστά τον χρωματογραφικό τους καθαρισμό ιδιαίτερα απαιτητικό. Επομένως, θελήσαμε να εξετάσουμε και την συμπεριφορά των εστέρων **2a** και **3a** ώστε να έχουμε την δυνατότητα εύκολότερης απομόνωσης των προϊόντων και, επιπλέον, να δούμε πώς επηρεάζεται η διαστερεοεκλεκτικότητα από τον όγκο της εστερικής ομάδας. Όπως φαίνεται στις καταχωρήσεις 6 και 7 του Πίνακα 6, η χρήση του μεθυλεστέρα **2a** οδήγησε σε καλή μετατροπή σε προϊόν ριζικής προσθήκης όμως δεν βελτίωσε την διαστερεοεκλεκτικότητα (85:15), όμως ο αδαμαντυλεστέρας **3a** έδωσε πολύ καλύτερα αποτελέσματα από άποψη στερεοεκλεκτικότητας (95:5), αν και με σχετικά χαμηλότερη απόδοση (45%). Καθίσταται λοιπόν σαφές ότι η χρήση της ογκώδους αδαμαντυλομάδας μπορεί να βελτιώσει τον στερεοχημικό έλεγχο κατά τη διάρκεια της ριζικής προσθήκης.

Στο τελευταίο στάδιο της διερεύνησής μας, θελήσαμε να εξετάσουμε την δυνατότητα χρήσης του $NaBH_3CN$ ως *H*-δότη, καθώς σε προηγούμενη εργασία του εργαστηρίου μας οι συνθήκες αυτές αποδείχτηκαν αποτελεσματικές [144]. Τα αποτελέσματα της διερεύνησης με χρήση των εστέρων **2a** και **3a** συνοψίζονται στον Πίνακα 7. Πρέπει να σημειωθεί ότι στη συγκεκριμένη διερεύνηση δεν χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό οξύ **1a**, λόγω ασυμβατότητας του ελεύθερου φωσφινικού υδροξυλίου με τις συνθήκες αντίδρασης, όπως έχει διαπιστωθεί και στο παρελθόν [144].

Πίνακας 7: Διερεύνηση αντίδρασης Giese με χρήση NaBH₃CN ως H-δότη και AIBN ως εκκινητή στα υποστρώματα 2α, 3α και 3β.^α

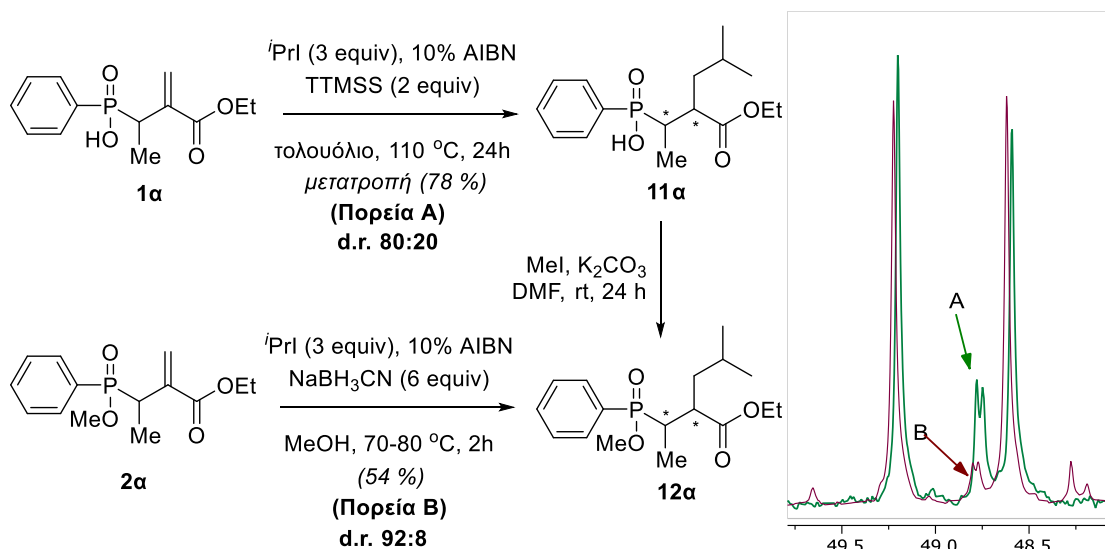


	X	R	^t PrI (equiv)	H-δότης (equiv)	Εκκινητής (equiv)	Διαλύτης	Συνθήκες	d.r.	Μετατροπή % (Προϊόν %) ^β
1	OMe	Me	3	NaBH ₃ CN (6)	AIBN (0.1)	MeOH	70-80°C, 2h	92:8	100 (78) ^δ
2	OMe	Me	3	NaBH ₃ CN (6)	AIBN (0.1)	MeOH	50-55°C, 2.5h	-	66 (38) ^δ
3	OMe	Me	3	NaBH ₄ (6)	AIBN (0.1)	τολουόλιο	75°C, 2h	-	0 (0) ^δ
4	OMe	Me	3	NaBH ₃ CN (6)	Et ₃ B (2.2)	MeOH	0°C, 2h	-	0 (0) ^δ
5	OAd	Me	3	NaBH ₃ CN (6)	AIBN (0.1)	MeOH	70-75°C, 2h	95:5	100 (83) ^δ
6	OAd	Ph	3	NaBH ₃ CN (6)	AIBN (0.1)	MeOH	70-75°C, 2h	-	84 (32) ^δ
7	OAd	Ph	6	NaBH ₃ CN (6)	AIBN (0.25)	MeOH	70-75°C, 2h	-	57 (24) ^δ
8	OAd	Ph	20	NaBH ₃ CN (6)	AIBN (0.25)	MeOH	70-75°C, 2h	-	60 (23) ^δ

^α Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε κλίμακα 0.05 – 0.1 mmol και συγκέντρωση 0.05M του αρχικού υποστρώματος **2α**, **3α** και **3β**. Η σειρά προσθήκης ήταν (1) ^tPrI, (2) NaBH₃CN, (3) AIBN. ^β Η μετατροπή του αρχικού υποστρώματος, η απόδοση του προϊόντος ριζικής προσθήκης και η διαστεροεκλεκτικότητα υπολογίζονται με βάση την ολοκλήρωση των φασμάτων ³¹P-NMR των μιγμάτων μετά από υδατική κατεργασία.

Εφαρμογή των συνθηκών που φαίνονται στην καταχώρηση 1 του Πίνακα 7 (3 equiv ^tPrI, 6 equiv NaBH₃CN και 10% AIBN, 70-80°C, 2h) έδωσε 78% μετατροπή σε προϊόν ενώ ο αρχικός μεθυλεστέρας **2α** καταναλώθηκε πλήρως. Καθώς στο φάσμα ³¹P-NMR εμφανίστηκαν πολλές μικρές κορυφές που αντιστοιχούσαν σε διάφορα παραπροϊόντα, ήταν αδύνατο να εντοπιστούν οι κορυφές που αντιστοιχούσαν στα δευτερεύοντα διαστεροϊσομερή ώστε να διερευνηθεί η διαστεροεκλεκτικότητα. Για

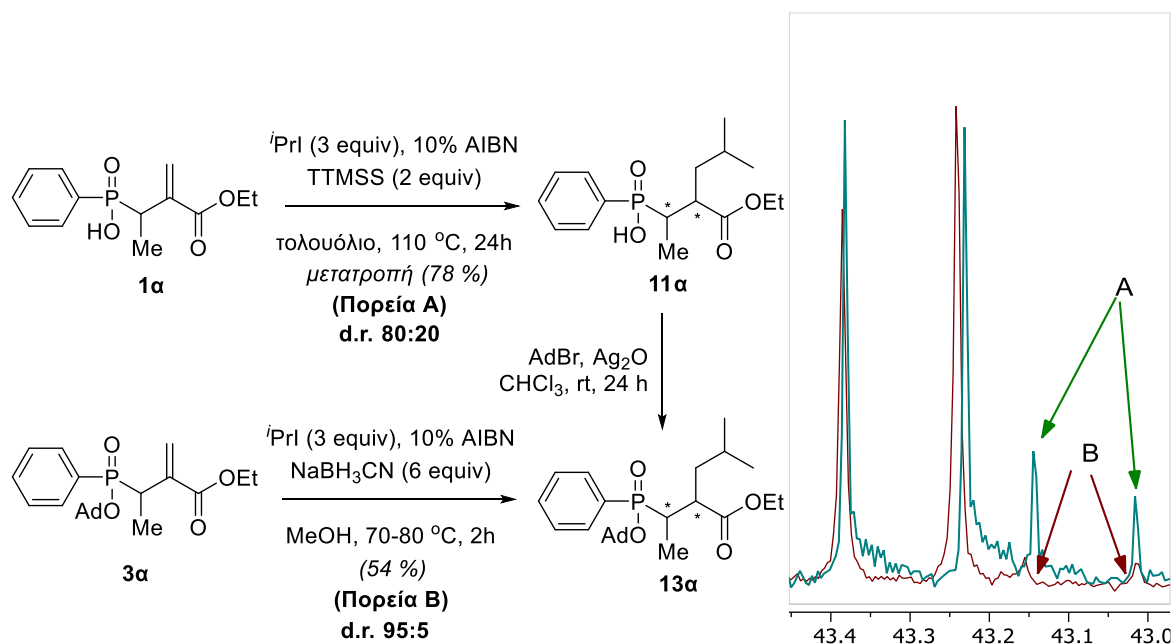
τον λόγο αυτό, το προϊόν **11α** με d.r. 80:20 που προέκυψε και απομονώθηκε από την ριζική προσθήκη στο οξύ **1α** με τη χρήση TTMSS (καταχώρηση 4, Πίνακας 5 και Εικόνα 39), υπέστη μεθυλίωση και χαρακτηρίστηκε με φασματοσκοπία ^{31}P -NMR όπου εντοπίστηκαν οι κορυφές των δύο δευτερευόντων διαστερεοϊσομερών ανάμεσα από τις κορυφές των κυρίων (Σχήμα 31). Πρέπει να σημειωθεί ότι ο διπλασιασμός των σημάτων στο φάσμα ^{31}P -NMR οφείλεται στην εστεροποίηση του φωσφινικού υδροξυλίου που καθιστά το άτομο P στερεογονικό. Σύγκριση με το φάσμα του μίγματος αντίδρασης με το NaBH_3CN οδήγησε στο συμπέρασμα ότι η διαστερεοεκλεκτικότητα βελτιώθηκε σε d.r. 92:8. Η σύγκριση με τα αποτελέσματα που ελήφθησαν με χρήση χαμηλών θερμοκρασιών και Et_3B ως εκκινητή (καταχώρηση 2, Πίνακας 6, d.r. 91:9) αλλά και την χαμηλή στερεοεκλεκτικότητα με χρήση υψηλών θερμοκρασιών και TTMSS ως *H*-δότη (d.r. 80:20) αναδεικνύει τον ρόλο των εφαρμοζόμενων συνθηκών στη στερεοεκλεκτικότητα της αντίδρασης. Επίσης, με δεδομένο ότι στη διερεύνηση με TTMSS/AIBN (Πίνακας 5) και TBTH/ Et_3B (Πίνακας 6) χρησιμοποιήθηκε το φωσφινικό οξύ **1α**, η βελτίωση που παρατηρείται στην περίπτωση του **2α** μπορεί να οφείλεται εν μέρει και στον αυξημένο όγκο του μεθυλεστέρα σε σχέση με την υδροξυλομάδα.



Σχήμα 31: Σύνθεση **12α** μέσω των πορειών A και B και σύγκριση των φασμάτων ^{31}P -NMR των μιγμάτων αντίδρασης

Μετά την επιτυχή έκβαση της αντίδρασης της καταχώρησης 1 του Πίνακα 7, επιχειρήσαμε τη βελτίωση της διαστερεοεκλεκτικότητας με μείωση της θερμοκρασίας

στους 50-55 °C, όμως η μετατροπή ήταν ατελής και το προϊόν σχηματίστηκε σε ποσοστό 38% (καταχώρηση 2, Πίνακας 7). Πλήρης ανάκτηση του αρχικού μεθυλεστέρα παρατηρήθηκε όταν χρησιμοποιήθηκε NaBH₄ αντί του NaBH₃CN ή όταν η αντίδραση πραγματοποιήθηκε στους 0°C με χρήση Et₃B ως εκκινητή (καταχωρήσεις 3 και 4, Πίνακας 7). Έπειτα, θελήσαμε να εξετάσουμε το ρόλο του όγκου του φωσφινικού εστέρα στη διαστερεοεκλεκτικότητα της αντίδρασης, και χρησιμοποιήθηκε ο αδαμαντυλεστέρας **3α**. Όπως φαίνεται στην καταχώρηση 5 του Πίνακα 7, το προϊόν σχηματίστηκε σε υψηλό ποσοστό (83%) και με βελτιωμένη διαστερεοεκλεκτικότητα d.r. 95:5. Και σε αυτήν την περίπτωση, προκειμένου να εντοπιστούν τα δύο δευτερεύοντα ισομερή, συντέθηκε ο αδαμαντυλεστέρας από το προϊόν **11α** με d.r. 80:20 που προέκυψε και απομονώθηκε από την ριζική προσθήκη στο οξύ **1α** με τη χρήση TTMSS (καταχώρηση 4, Πίνακας 5) και χαρακτηρίστηκε με φασματοσκοπία ³¹P-NMR (Εικόνα 39). Η σύγκριση των δύο φασμάτων ³¹P-NMR και η βελτιωμένη διαστερεοεκλεκτικότητα της αντίδρασης φαίνεται στο Σχήμα 32.



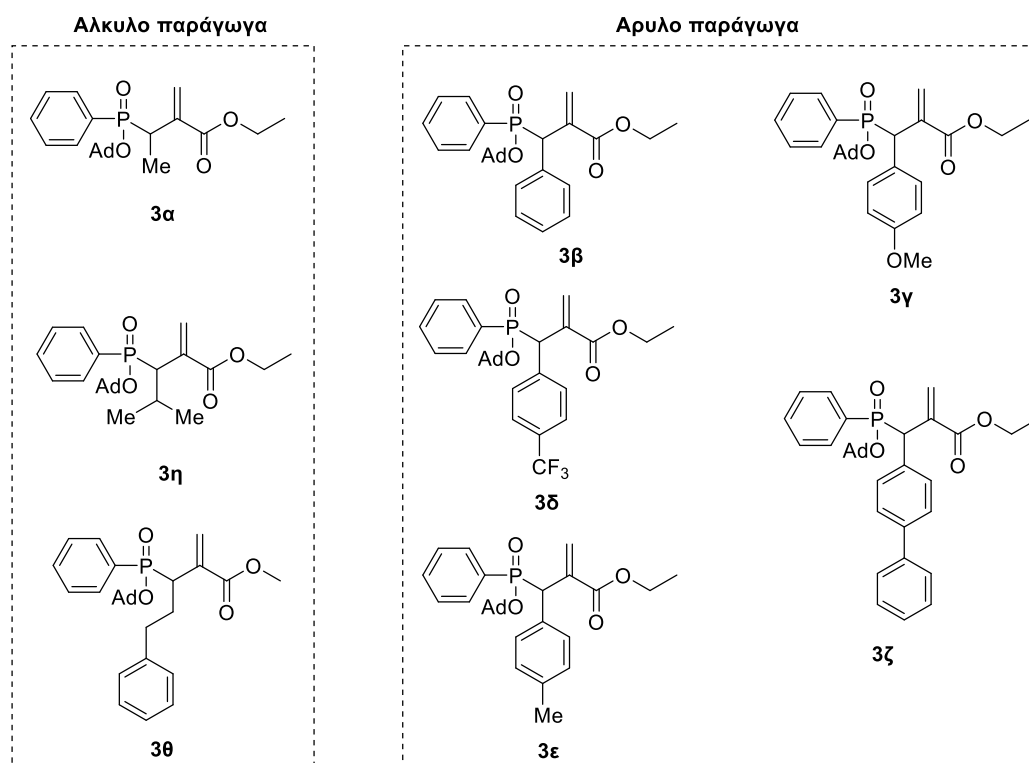
Σχήμα 32: Σύνθεση **13α** μέσω των πορειών **A** και **B** και σύγκριση των φασμάτων ³¹P-NMR των μιγμάτων αντίδρασης

Παρά την επιτυχή έκβαση της αντίδρασης ριζικής προσθήκης με χρήση του συστήματος NaBH₃CN/AIBN και τον αδαμαντυλεστέρα **3α**, τα αποτελέσματα δεν ήταν το ίδιο θετικά για την περίπτωση του αδαμαντυλεστέρα **3β** που φέρει Ph σε α-θέση από το άτομο P, αντί του Me (καταχωρήσεις 6-8, Πίνακας 7). Παρατηρήθηκε σε

όλες τις περιπτώσεις πολύπλοκο μίγμα προϊόντων και χαμηλή διαστερεοεκλεκτικότητα ενώ σε καμία αντίδραση δεν είχαμε πλήρη κατανάλωση της αρχικής ένωσης **3β**, παρά την αύξηση των ισοδυνάμων των αντιδραστηρίων. Η διαφοροποίηση στη συμπεριφορά μεταξύ των αλειφατικών και αρωματικών υποκαταστατών ήταν ιδιαίτερα εντυπωσιακή και πιθανώς να οφείλεται σε διαφορετικές διαμορφώσεις που λαμβάνουν οι ενώσεις **3α** και **3β** οι οποίες να μεταβάλλουν τη δραστικότητα του ακόρεστου συζυγιακού συστήματος. Όπως θα αναφερθεί παρακάτω, το πρόβλημα αυτό αντιμετωπίστηκε με τη χρήση των συνθηκών TBTH/Et₃B/O₂ σε 0°C, οδηγώντας στο γενικό συμπέρασμα ότι οι καλύτερες διαστερεοεκλεκτικότητες (95:5 και στις δύο περιπτώσεις) παραλαμβάνονται με χρήση αδαμαντυλεστέρων και συνθήκες NaBH₃CN/AIBN για το μέθυλο παράγωγο **3α** και TBTH/Et₃B/O₂ για το φαίνυλο παράγωγο **3β**.

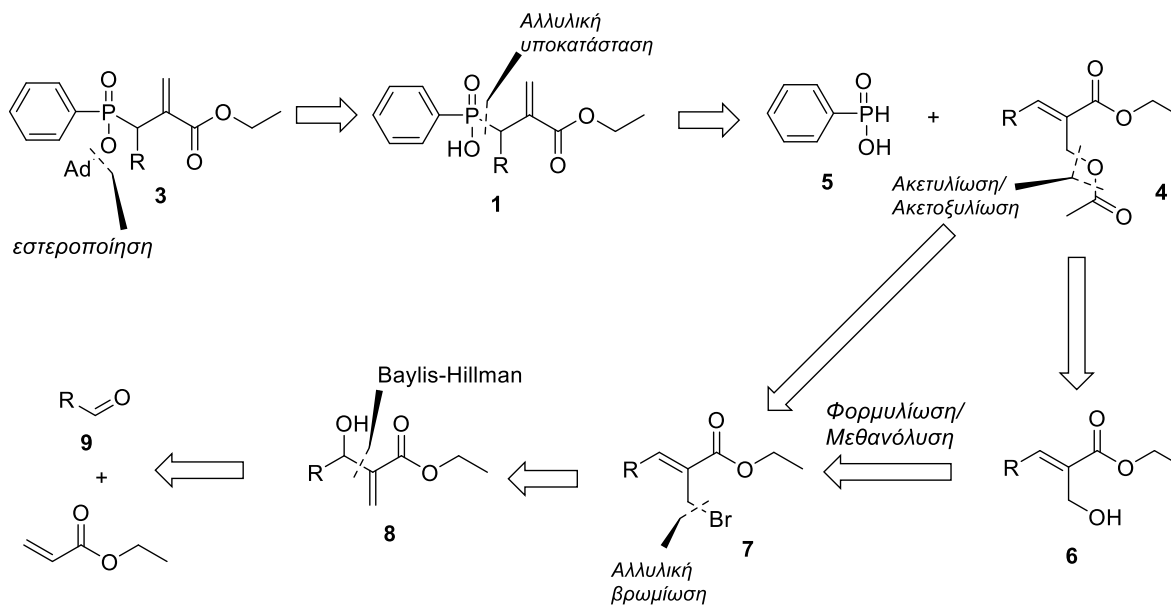
4.4 Σύνθεση υποστρωμάτων

Προκειμένου να διερευνηθεί η ευρύτητα υποστρώματος της στερεοεκλεκτικής ριζικής προσθήκης συντέθηκαν τα υποστρώματα που φαίνονται στην Εικόνα 40.



Εικόνα 40: Δομές υποστρωμάτων 3α-3θ για τη μελέτη της ευρύτητας υποστρώματος της ριζικής προσθήκης

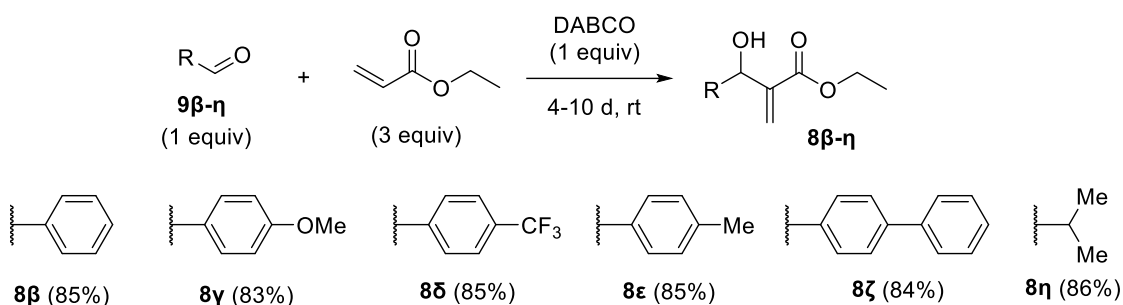
Για τη σύνθεση των υποστρωμάτων, ακολουθήθηκε η ίδια ρετροσυνθετική πορεία με αυτή που χρησιμοποιήσαμε για τη σύνθεση της ένωσης **3a**, όπως περιγράφεται στο Σχήμα 22, εκτός από την μετατροπή του βρωμιδίου τύπου **7** στο αέτιλο παράγωγο τύπου **4**, όπου σε ορισμένα υποστρώματα διερευνήθηκε και χρησιμοποιήθηκε ένας εναλλακτικός τρόπος μέσω άμεσης ακετοξυλίωσης (Σχήμα 33). Πρέπει να σημειωθεί ότι η ένωση **4b** ήταν ήδη διαθέσιμη στο εργαστήριο (ως μεθυλεστέρας) και η σύνθεσή της δεν περιγράφεται εδώ.



Σχήμα 33: Ρετροσυνθετικό σχήμα για τη σύνθεση των υποστρωμάτων τύπου **3**.

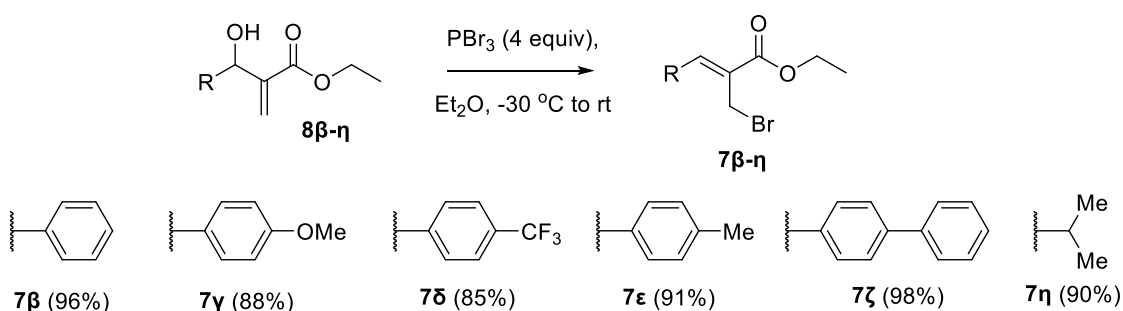
4.4.1 Σύνθεση των οξικών αλλυλεστέρων τύπου **4**

Όπως είδαμε ήδη για την ένωση **8a** στην Παράγραφο 4.2, το πρώτο βήμα της συνθετικής μας πορείας ήταν μια αντίδραση Baylis-Hillman μεταξύ του ακρυλικού εστέρα και των αντίστοιχων αλδευδών **9β-η**. Στο Σχήμα 34 περιγράφεται η σύνθεση των αλλυλικών αλκοολών **8β-η** και οι αποδόσεις των αντιδράσεων σε κάθε περίπτωση. Γενικά, απαιτήθηκαν 4-10 d για την ολοκλήρωση των αντιδράσεων (πλήρης κατανάλωση αλδεϋδης) και τα τελικά προϊόντα παρελήφθησαν έπειτα από χρωματογραφία στήλης στις περιπτώσεις **8γ**, **8δ** και **8ζ**, ενώ τα παράγωγα **8β**, **8ε** και **8η** απομονώθηκαν σε καθαρή μορφή έπειτα από απλή υδατική κατεργασία.



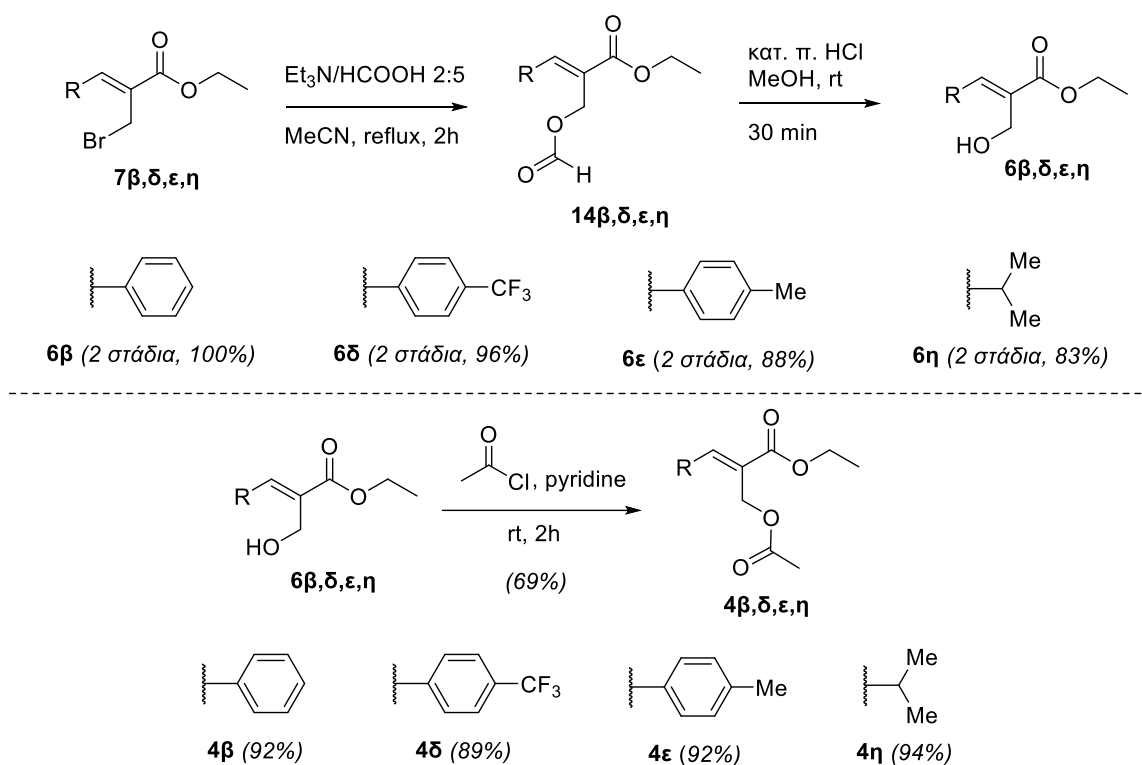
Σχήμα 34: Σύνθεση αλλυλικών αλκοολών τύπου **8** μέσω της αντίδρασης Baylis-Hillman.

Στο επόμενο στάδιο, οι αλλυλικές αλκοόλες **8β-η** μετατράπηκαν στα βρωμίδια **7β-η** με αντίδραση αλλυλικής βρωμίωσης (Σχήμα 35), όπως περιγράφηκε και στην Παράγραφο 4.2.1 για την περίπτωση της ένωσης **7α**. Τα τελικά προϊόντα παρελήφθησαν εξαιρετικές υψηλές αποδόσεις (85-98%) και σε καθαρή μορφή χωρίς να απαιτηθεί σε καμία περίπτωση χρωματογραφικός καθαρισμός.



Σχήμα 35: Σύνθεση αλλυλικών βρωμιδίων τύπου **7** μέσω αλλυλικής βρωμίωσης.

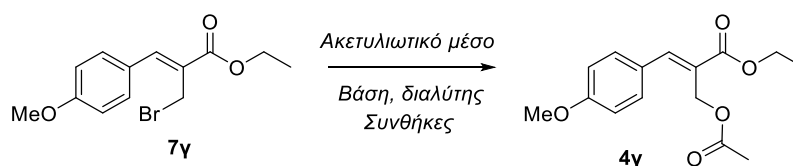
Ακολούθησε η σύνθεση των οξικών αλλυλεστέρων **4β-η** με χρήση των βρωμιδίων **7β-η**. Για τις περιπτώσεις των βρωμιδίων **7β**, **7δ**, **7ε** και **7η**, χρησιμοποιήθηκε η δημοσιευμένη μέθοδος τριών σταδίων που εφαρμόστηκε και στην περίπτωση του **7α**, και περιλαμβάνει μετατροπή του βρωμιδίου σε αλκοόλη μέσω φορμυλίωσης και αντίστοιχης μεθανόλυσης και τέλος ακετυλίωση. Οι ενδιάμεσες αλκοόλες τύπου **6** και οι τελικοί οξικοί αλλυλεστέρες τύπου **4** απομονώθηκαν σε υψηλές αποδόσεις και σε καθαρή μορφή έπειτα από χρωματογραφικό καθαρισμό, όπως φαίνεται στο Σχήμα 36.



Σχήμα 36: Σύνθεση των οξικών αλλυλεστέρων 4β, 4δ, 4ε και 4η.

Για τους οξικούς αλλυλεστέρες **4γ** και **4ζ** επιχειρήθηκε η τροποποίηση των συνθηκών του Villieras [181] ώστε να προκύψει η τελική ένωση σε ένα στάδιο από το αντίστοιχο βρωμίδιο. Αρχικά, χρησιμοποιήθηκε CH_3COONa ως μέσο ακετοξυλίωσης, όμως οι πρωτικοί διαλύτες MeOH και THF δεν έδωσαν καθόλου μετατροπή στο προϊόν **4γ** ενώ με διαλύτη THF παρατηρήθηκε 13% μετατροπή από $^1\text{H-NMR}$ (καταχωρήσεις 1-3, Πίνακας 8). Επιστρέφοντας στις συνθήκες του Villieras, αντικαταστήσαμε το σύστημα $\text{HCOOH}/\text{Et}_3\text{N}$ από AcOH/DIPEA και διαπιστώσαμε πλήρη μετατροπή σε προϊόν έπειτα από ανάδευση του μίγματος σε θερμοκρασία δωματίου για 2.5 h (καταχώρηση 4, Πίνακας 8).

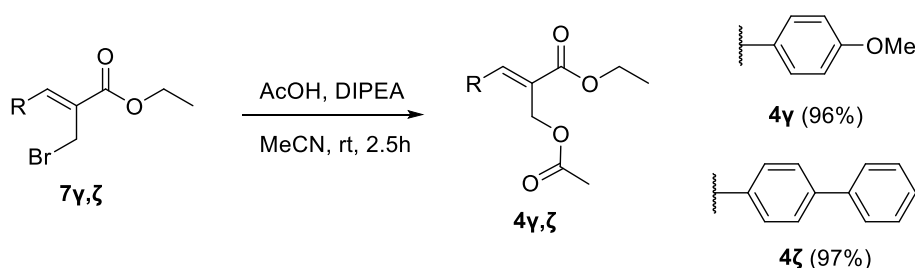
Πίνακας 8: Διερεύνηση ακετοξυλίωσης αλλυλικού βρωμιδίου 7γ.



	Ακετυλιωτικό μέσο (equiv)	Βάση (equiv)	Διαλύτης	Συνθήκες	Μετατροπή	Παρατηρήσεις
1	AcONa (3)	-	THF	reflux, 3 d	13 %	-
2	AcONa (3)	-	EtOH	reflux, 24 h	-	-
3	AcONa (3)	-	MeOH	reflux, 24 h	-	-
4	AcOH (3)	DIPEA (3)	MeCN	rt, 2.5 h	96 ^α	Δεν παρατηρήθηκε S _N 2'

^α Απομόνωση έπειτα από χρωματογραφικό καθαρισμό.

Ακολουθώντας την παραπάνω μέθοδο, συντέθηκαν οι εστέρες **4γ** και **4ζ** σε απόδοση 96% και 97%, αντίστοιχα, έπειτα από χρωματογραφικό καθαρισμό (Σχήμα 37).

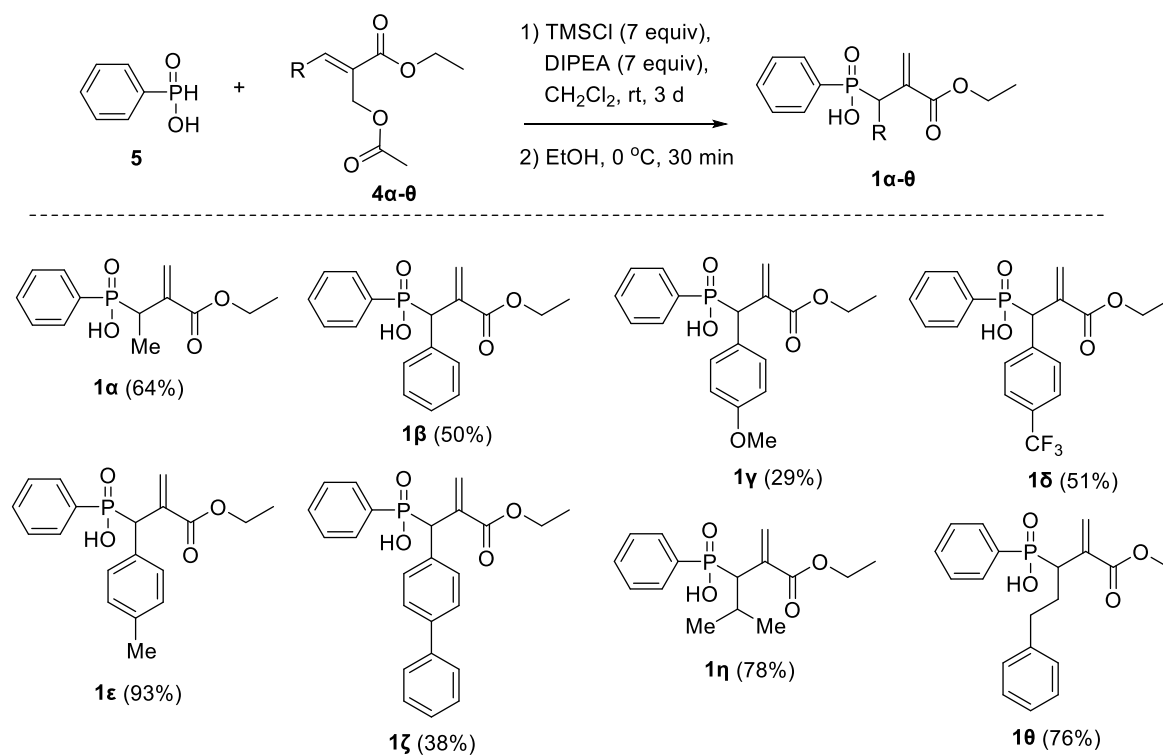


Σχήμα 37: Ρετροσυνθετικό σχήμα για τη σύνθεση των οξικών αλλυλεστέρων **4γ** και **4ζ**.

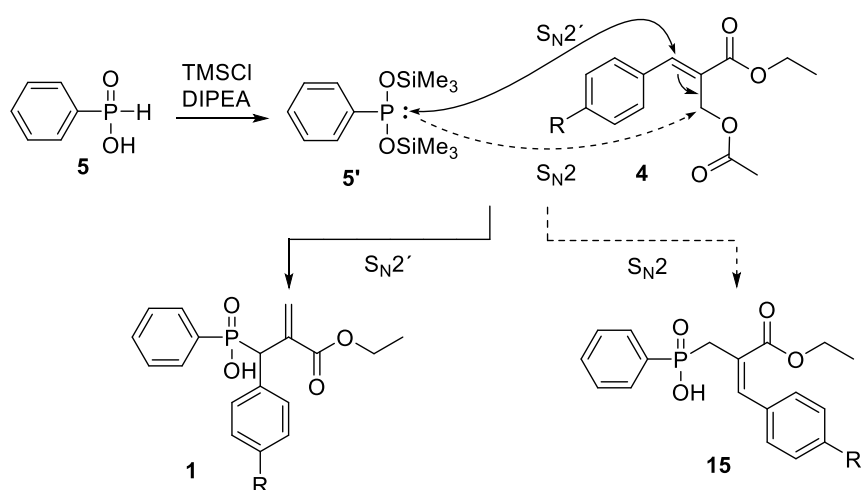
4.4.2 Σύνθεση των φωσφινικών οξέων **1α-θ** και χαρακτηριστικά φάσματα NMR

Για τη σύνθεση των φωσφινικών οξέων **1α-θ** εφαρμόστηκε η μέθοδος αλλυλικής υποκατάστασης που χρησιμοποιήθηκε και για την ένωση **1α**, όπως περιγράφηκε στην Παράγραφο 4.2.2. Η γενική αντίδραση και οι δομές των τελικών προϊόντων φαίνονται στο Σχήμα 38. Από τις αποδόσεις, γίνεται σαφές ότι υψηλότερες αποδόσεις λαμβάνονται για τα άλκυλο παράγωγα **1α**, **1η** και **1θ** παρά για τα υπόλοιπα άρυλο παράγωγα (με εξαίρεση το **1ε**). Το γεγονός αυτό είναι αναμενόμενο καθώς στις ενώσεις **1β-ζ** ο διπλός δεσμός είναι συζυγιακός με την αρυλομάδα και επομένως η αντίδραση προσθήκης είναι ενεργειακά πιο απαιτητική καθώς πρέπει να διακοπεί η συζυγία για να οδηγηθεί η αντίδραση στα προϊόντα (Σχήμα 39) [136]. Η δυσκολία αυτή γίνεται πολύ πιο έντονη στην περίπτωση του υποστρώματος **1γ**, όπου η μετατροπή του αρχικού φωσφινικού οξέος δεν ξεπέρασε το 50%, λόγω της ηλεκτρονιοδοτικής φύσης της μεθόξυ ομάδας που μειώνει την ηλεκτρονιοφιλία του **4γ**. Επίσης, η επιβράδυνση της αντίδρασης αλλυλικής υποκατάστασης αυξάνει την πιθανότητα να συμβεί απευθείας υποκατάσταση τύπου S_N2. Πράγματι, στην

περίπτωση του **1γ** το ποσοστό του παραπροϊόντος τύπου **15** έφτασε το 13% ενώ για το **1δ** το αντίστοιχο ποσοστό ήταν 20%. Σε όλες τις περιπτώσεις, οι ενώσεις τύπου **1** παρελήφθησαν σε καθαρή μορφή έπειτα από χρωματογραφικό καθαρισμό.

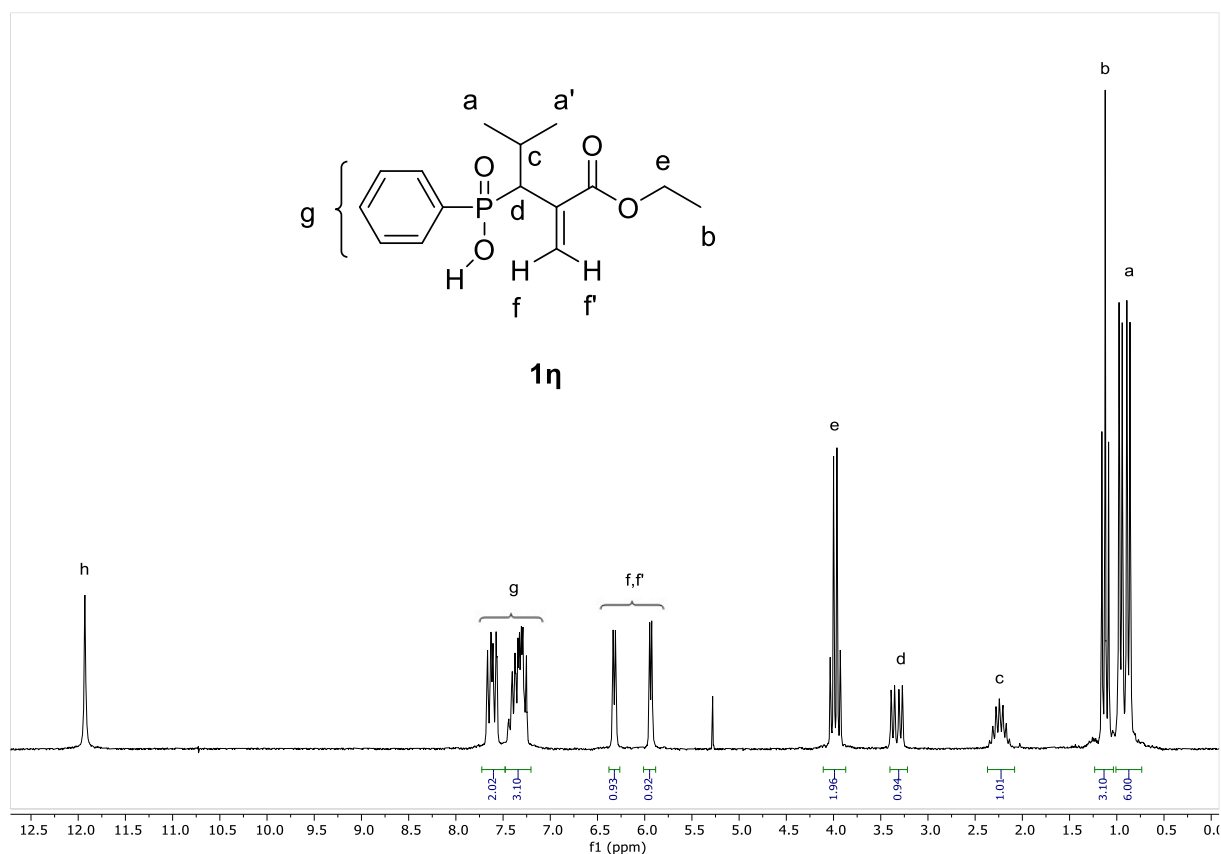


Σχήμα 38: Σύνθεση των φωσφινικών οξέων τύπου **1**



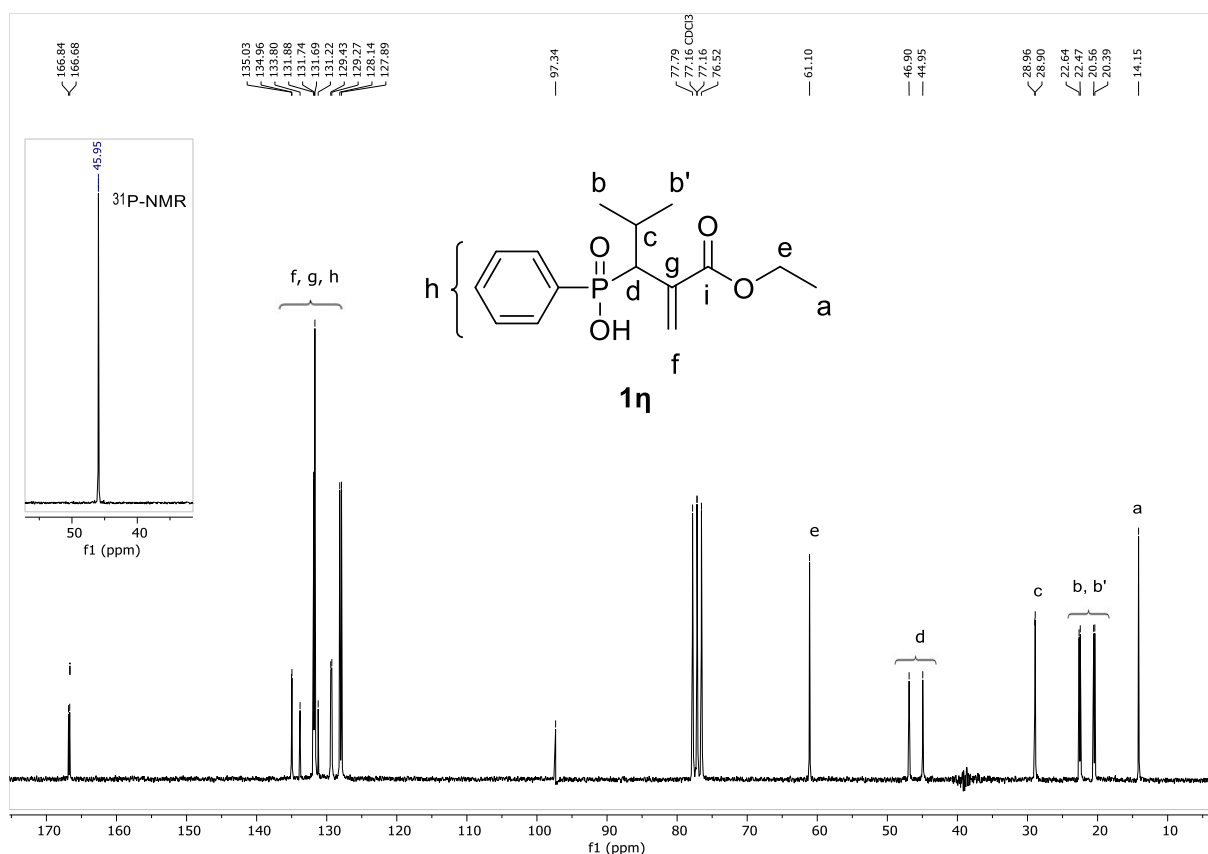
Σχήμα 39: Μηχανισμός αλληλικής υποκατάστασης και ερμηνεία σχηματισμού παραπροϊόντος τύπου **15**

Στην Εικόνα 41 παρατίθεται το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **1η** και η αποτίμησή του. Αρχικά, παρατηρούνται τα 2 χαρακτηριστικά βινυλικά πρωτόνια (f και f') σε χημικές μετατοπίσεις 5.94 και 6.33 ppm. Τα σήματα εμφανίζονται ως διπλές με $^2J_{\text{HH}} = 4.5$ ppm λόγω της δίδυμης σχάσης. Το πρωτόνιο που βρίσκεται στον $\alpha\text{-C}$ από το άτομο P (d) εμφανίζεται ως μια διπλή διπλών σε 3.34 ppm. Η συγκεκριμένη πολλαπλότητα οφείλεται στη σύζευξη με το άτομο P, με $^2J_{\text{HP}} = 16.4$ Hz και στη σύζευξη με το γειτονικό πρωτόνιο της ισοπροπυλομάδας, με $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz όπως επιβεβαιώνεται από την ίδια σταθερά σύζευξης που παρατηρείται στην επταπλή κορυφή σε 2.25 ppm, η οποία αντιστοιχεί στο πρωτόνιο της ισοπροπυλομάδας c. Τα διαστερεοτοπικά μεθύλια της ισοπροπυλομάδας a εμφανίζονται ως διπλές κορυφές σε χημικές μετατοπίσεις 0.88 και 0.97 ppm ενώ το μεθύλιο του αιθυλεστέρα b εμφανίζεται ως τριπλή σε 1.13 ppm λόγω της σχάσης από τα πρωτόνια της μεθυλενομάδας e τα οποία εμφανίζονται σε 3.99 ppm. Τέλος, στην περιοχή 7.25 – 7.49 εμφανίζονται τα αρωματικά πρωτόνια και σε ~12 ppm εμφανίζεται το όξινο πρωτόνιο h.



Εικόνα 41: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **1η**

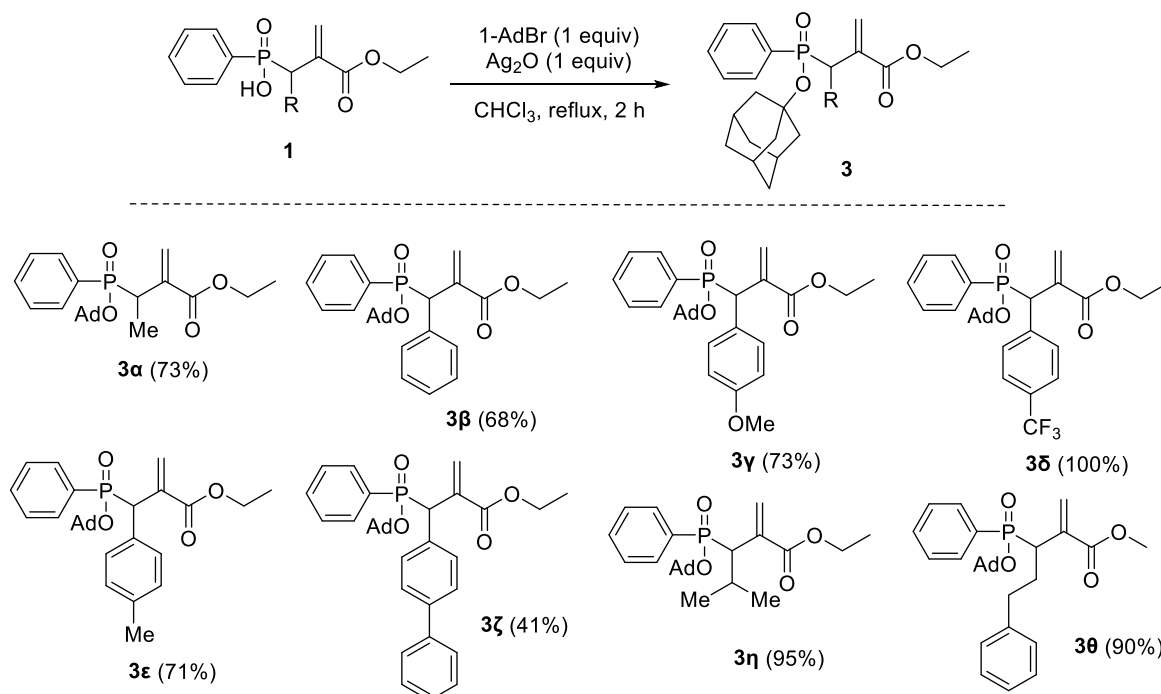
Στο φάσμα ^{13}C NMR (Εικόνα 42) της ένωσης **1η**, βλέπουμε αρχικά τα σήματα που αντιστοιχούν στα άτομα C του αιθυλεστέρα (a,b) να συντονίζονται σε 14.2 και 61.1 ppm, αντίστοιχα. Στην περιοχή 127 – 135 ppm εμφανίζονται οι αρωματικοί (g) και οι βινυλικοί άνθρακες (f και g), με χαρακτηριστικό σήμα να παράγεται από το α-C δίπλα στο άτομο P που σχάζεται με $^1J_{\text{CP}} = 130$ Hz. Αντίστοιχα μεγάλη είναι και οι σταθερά σύζευξης του σήματος που αντιστοιχεί στο άτομο C d ($^1J_{\text{CP}} = 98$ Hz) που συντονίζεται στα 45.9 ppm. Τα σήματα που αντιστοιχούν στα διαστερεοτοπικά μεθύλια της ισοπροπυλομάδας b και b' εμφανίζονται σε 20.5 και 22.5 ppm ως διπλές, λόγω της επίδρασης του ατόμου P, όμως με πολύ μικρότερη σταθερά σύζευξης (8.5 Hz) καθώς πρόκειται για $^3J_{\text{CP}}$. Τέλος, αντίστοιχα μικρές συζεύξεις παρατηρούνται και για τα σήματα του c ($^2J_{\text{CP}} = 2.9$ Hz) και του καρβονυλικού άνθρακα i ($^3J_{\text{CP}} = 8.2$ Hz), που συντονίζονται σε 28.9 και 166.8 ppm, αντίστοιχα.



Εικόνα 42: Φάσμα ^{13}C -NMR της ένωσης **1η**

4.4.3 Σύνθεση των φωσφινικών αδαμαντυλεστέρων 3α-θ, χαρακτηριστικά φάσματα NMR και πιθανές διαμορφώσεις.

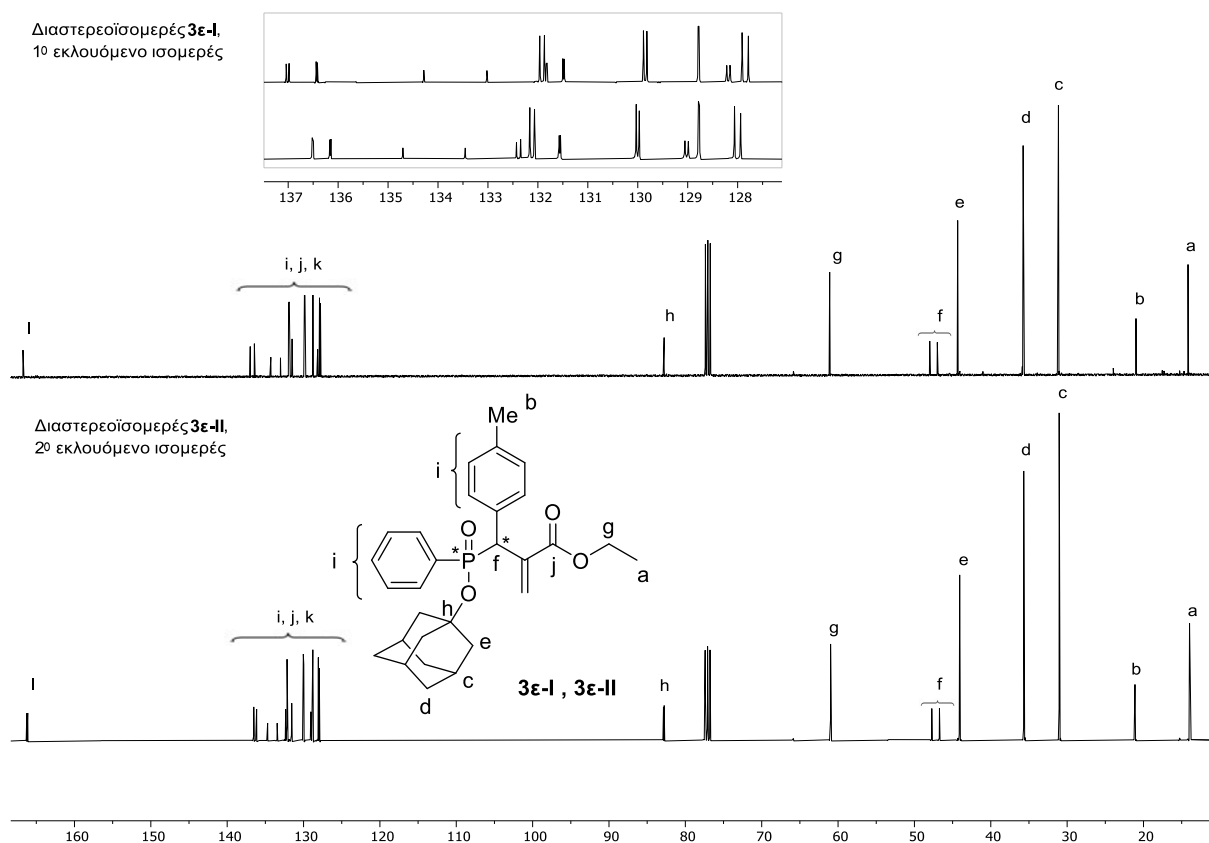
Στο τελικό στάδιο σύνθεσης των υποστρωμάτων **3β-θ**, τα αντίστοιχα οξέα υπέστησαν αντίδραση αδαμαντυλίωσης, όπως περιγράφηκε και για την περίπτωση του **3α** στην Παράγραφο 4.2.2. Στο Σχήμα 40 φαίνεται η γενική αντίδραση αδαμαντυλίωσης και οι δομές των τελικών προϊόντων **3α-θ**. Τα τελικά προϊόντα ελήφθησαν σε αποδόσεις 41-100% έπειτα από χρωματογραφικό καθαρισμό. Στις περιπτώσεις των **3δ**, **3ε** και **3ζ** κατέστη εφικτός και ο διαχωρισμός των δύο διαστερεοϊσομερών τα οποία χαρακτηρίστηκαν και δοκιμάστηκαν στις αντιδράσεις ριζικής προσθήκης που θα ακολουθήσουν, ξεχωριστά.



Σχήμα 40: Σύνθεση των αδαμαντυλεστέρων τύπου 3

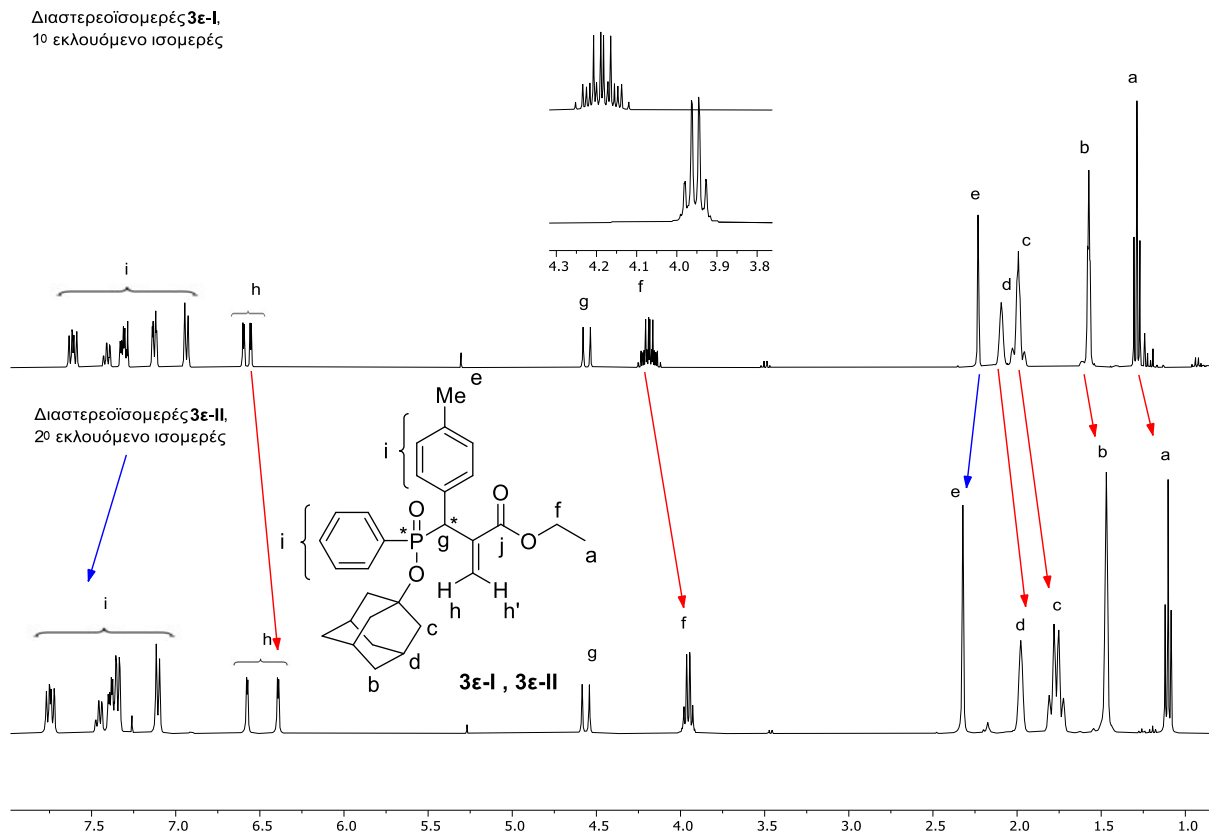
Στην Εικόνα 43, βλέπουμε συγκριτικά τα φάσματα ¹³C NMR του 1^{ου} και του 2^{ου} εκλουόμενου διαστερεοϊσομερούς του αδαμαντυλεστέρα **3ε**. Αρχικά, πρέπει να παρατηρήσουμε την μεγάλη ομοιότητα των δύο φασμάτων στην περιοχή των αλειφατικών ανθράκων αλλά και του καρβονυλικού άνθρακα I, σε αντίθεση με την περιοχή των αρωματικών ανθράκων η οποία διαφοροποιείται σημαντικά μεταξύ των δύο ισομερών. Αυτό είναι αναμενόμενο, καθώς οι δύο άκαμπτοι αρωματικοί δακτύλιοι βρίσκονται στα στερεογονικά κέντρα των δύο ισομερών, με αποτέλεσμα να δέχονται και να ασκούν διαφορετικές επιδράσεις στο περιβάλλον τους στην επικρατέστερη διαμόρφωση κάθε ισομερούς μέσω του κώνου προστασίας που χαρακτηρίζει τη

μαγνητική συμπεριφορά των αρωματικών δακτυλίων. Αναφερόμενοι μόνο στο 1^ο εκλουόμενο ισομερές, παρατηρούμε τα σήματα που αντιστοιχούν στα άτομα C του αιθυλεστέρα (a,b) να συντονίζονται σε 14.3 και 61.2 ppm, αντίστοιχα. Οι άνθρακες του αδαμαντυλεστέρα συντονίζονται σε 31.2 (c), 35.9 (d), 44.4 (e) και 82.9 (h) ppm, με τα δύο τελευταία σήματα να σχάζονται λόγω σύζευξης με το άτομο P. Σχάσεις παρατηρούνται και για τα σήματα του καρβονυλικού άνθρακα l σε 166.8 ppm και του α-C (f) σε 47.6 ppm. Η σχάση στο σήμα f αφορά σύζευξη τύπου $^1J_{CP}$ η οποία δίνει χαρακτηριστικά μεγάλες τιμές, 100 Hz στη συγκεκριμένη περίπτωση. Το ίδιο παρατηρείται και για τον αρωματικό α-C που συντονίζεται σε 133.8 ppm και εμφανίζει σχάση λόγω σύζευξης $^1J_{CP} = 127$ Hz. Τέλος, το σήμα του μεθυλίου b εμφανίζεται σε 21.1 ppm ως μια διπλή, λόγω μακρινής σύζευξης με το άτομο P ($^6J_{CP} = 0.8$ Hz). Η σύζευξη αυτή γίνεται εφικτή καθώς παρεμβάλεται ο αρωματικός δακτύλιος μεταξύ των συζευγνόμενων πυρήνων.



Εικόνα 43: Συγκριτική παράθεση των φασμάτων ^{13}C -NMR των δύο διαστεροϊσομερών I και II της ένωσης 3ε. Στο ένθετο φαίνονται οι αρωματικές περιοχές των δύο φασμάτων.

Στην Εικόνα 44 παρατίθενται συγκριτικά τα φάσματα ^1H NMR του 1^{ου} και του 2^{ου} εκλουόμενου διαστερεοϊσομερούς του αδαμαντυλεστέρα **3ε**. Η πρώτη παρατήρηση που μπορεί γίνει είναι ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές στις χημικές μετατοπίσεις των πρωτονίων των ισομερών **I** και **II** με ορισμένα σήματα να προασπίζονται και άλλα να αποπροασπίζονται. Διαφορές παρατηρούνται και στη μορφή ορισμένων κορυφών όπως στην περίπτωση του μεθυλενίου f του αιθυλεστέρα (ένθετη εικόνα, Εικόνα 44). Το πολύπλοκο προφίλ της πρώτης περίπτωσης παραπέμπει σε διαφορετική μαγνητική συμπεριφορά μεταξύ των δύο πρωτονίων του μεθυλενίου, δηλαδή τα δύο αυτά πρωτόνια συμπεριφέρονται ως διαστερεοτοπικά, λόγω περιορισμένης δυνατότητας περιστροφής. Αυτό δεν παρατηρείται, τουλάχιστον σε σημαντικό βαθμό στο 2^ο εκλουόμενο ισομερές. Αναφερόμενοι μόνο στο 1^ο εκλουόμενο ισομερές, τα σήματα του αιθυλεστέρα a και f εμφανίζονται σε 1.26 και 4.08 – 4.25 ppm, αντίστοιχα ενώ τα πρωτόνια του μεθυλίου e εμφανίζονται ως μια απλή σε 2.20 ppm. Τα πρωτόνια της αδαμαντυλομάδας b, c και d εμφανίζονται στην περιοχή 1.52 – 1.60 & 1.91 – 2.15 ppm και τα αρωματικά πρωτόνια i συντονίζονται στην περιοχή των 6.91– 7.63 ppm. Τα βινυλικά πρωτόνια (g και g') εμφανίζονται ως δύο διπλές σε χημικές μετατοπίσεις 6.53 και 6.57 ppm, που σχάζονται λόγω δίδυμης σύζευξης με $^2J_{\text{HH}} = 2.8$ ppm. Τέλος, χαρακτηριστικό είναι το σήμα που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο που βρίσκεται στον α-C από το άτομο P (g) που εμφανίζεται σε 4.59 ppm ως μια διπλή λόγω σύζευξης με το άτομο P με $^2J_{\text{HP}} = 17.5$ Hz.

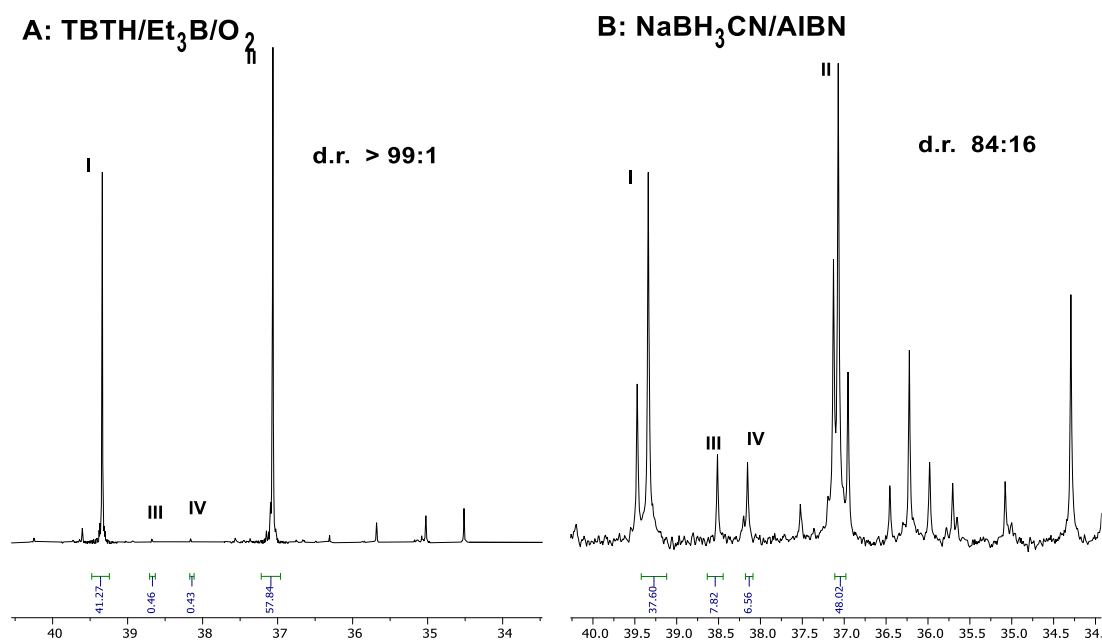
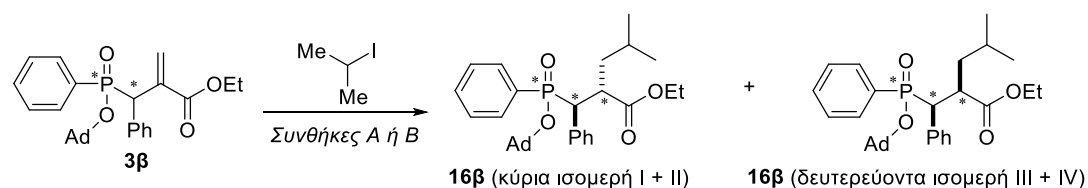


Εικόνα 44: Συγκριτική παράθεση των φασμάτων $^1\text{H-NMR}$ των δύο διαστερεοϊσομερών I και II της ένωσης 3ε. Στο ένθετο φαίνονται οι αρωματικές περιοχές των δύο φασμάτων

Οι διαφορές που παρατηρούνται στις χημικές μετατοπίσεις των πρωτονίων των δύο ισομερών **3ε-I** και **3ε-II** μπορούν να μας οδηγήσουν σε μια υπόθεση για τη σχετική στερεοχημεία των δύο στερεογονικών τους κέντρων. Μάλιστα, παρόμοιες διαφορές παρατηρούνται σε όλα τα παράγωγα με αρωματικό υποκαταστάτη στην α-θέση, όμως η ίδια γενίκευση δεν θα μπορούσε να γίνει και για τα αντιστοιχα παράγωγα με αλειφατικό υποκαταστάτη καθώς στην περίπτωση τους δεν κατέστη εφικτός ο διαχωρισμός και φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός των δύο ισομερών σε καμία περίπτωση. Η υπόθεση για τη στερεοχημεία των **3ε-I** και **3ε-II** αναλύεται στην Εικόνα 45.

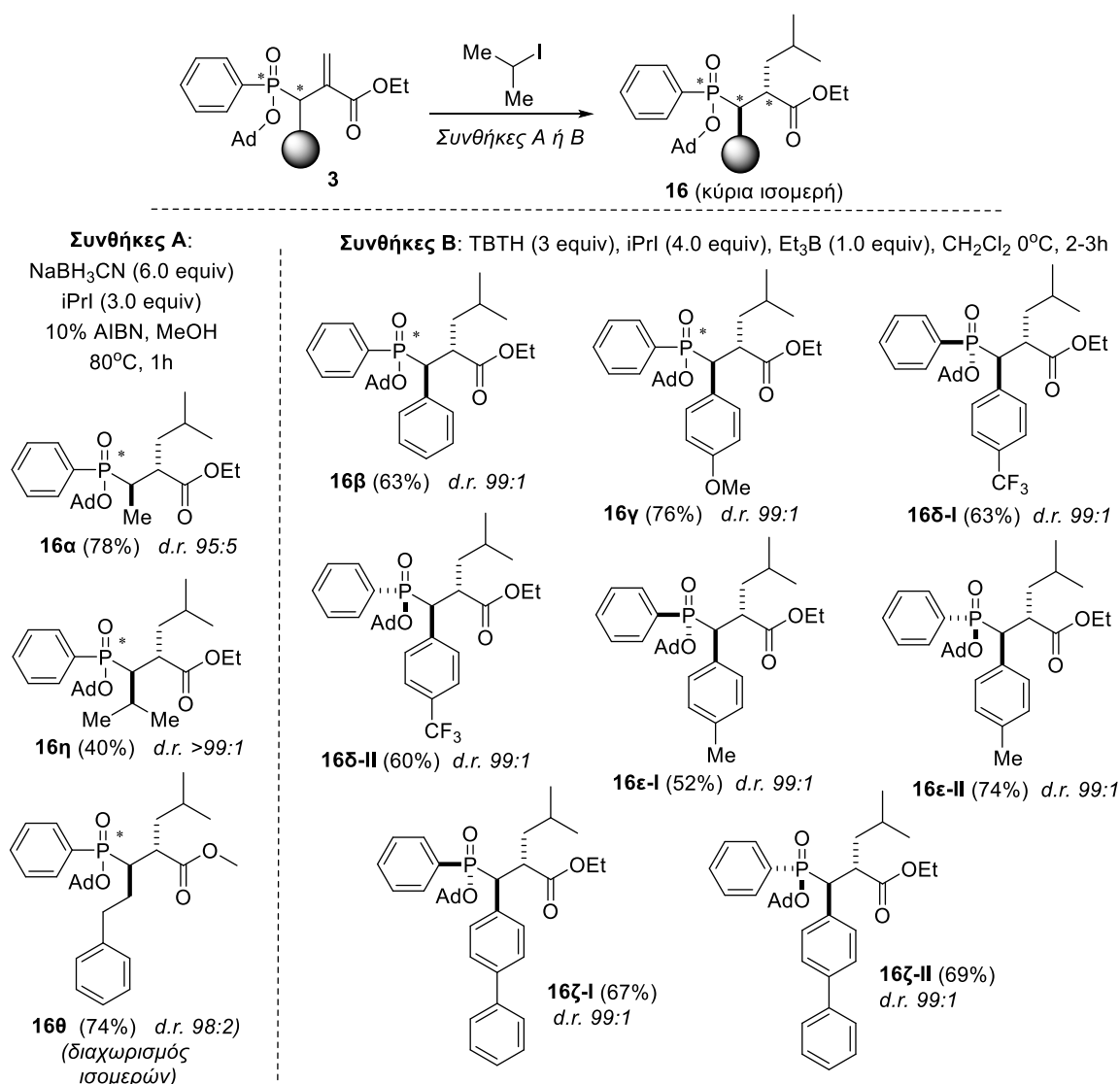
4.5 Αντίδραση ριζικής προσθήκης τύπου Giese στους τελικούς αδαμαντυλεστέρες 16α-η.

Μετά τη βελτιστοποίηση της αντίδρασης Giese και της σύνθεση των κατάλληλων υποστρωμάτων για τη διερεύνηση της ευρύτητας της μεθόδου, προχωρήσαμε στην πραγματοποίηση των τελικών αντιδράσεων. Όπως αναφέρθηκε και στην παράγραφο 4.3, οι αντιδράσεις βελτιστοποίησης που πραγματοποιήθηκαν με το υπόστρωμα **3α**, το οποίο φέρει έναν άλκυλο υποκαταστάτη (-Me) στην α -θέση, έδειξαν ότι τα βέλτιστα αποτελέσματα λαμβάνονται με χρήση του συστήματος NaBH₃CN/AIBN (καταχώρηση 5, Πίνακας 7) καθώς η διαστερεοεκλεκτικότητα φτάνει το 95:5 (όσο και για το TBTH/Et₃B/O₂), όμως η μετατροπή σε προϊόν ανέρχεται σε 85% έναντι του 45% που παρατηρείται με το TBTH. Μάλιστα, στην περίπτωση του TBTH, καταγράφεται και ένα ποσοστό 43% παραπροϊόντων, γεγονός που καθιστά την αντίδραση μη πρακτική. Η κατάσταση όμως αντιστράφηκε όταν ως υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε το **3β** που φέρει ως υποκαταστάτη σε α -θέση μια ομάδα -Ph, όπως φαίνεται στην Εικόνα 46.



Εικόνα 46: Φάσματα 31P-NMR για τα μίγματα αντίδρασης Giese του **3β** προς το **16β** με τις συνθήκες A και B.

Αρχικά να σημειωθεί ότι η στερεοχημική αποτίμηση των κύριων ισομερών της ένωσης **16β** θα συζητηθεί παρακάτω. Γίνεται λοιπόν σαφές ότι για την περίπτωση του **3β** η χρήση NaBH₃CN/AIBN οδηγεί όχι μόνο σε ένα πολύπλοκο μίγμα προϊόντων αλλά και σε πολύ χαμηλή διαστερεοεκλεκτικότητα (84:16). Αντίθετα, με χρήση του συστήματος TBTH/Et₃B/O₂ σε 0°C, το μίγμα που προκύπτει χαρακτηρίζεται από υψηλή μετατροπή σε προϊόν και η διαστερεοεκλεκτικότητα είναι εξαιρετική (>99:1). Η ίδια παρατήρηση έγινε για όλες τις περιπτώσεις ενώσεων τύπου 3 με αρωματικούς υποκαταστάτες οι οποίοι οδηγούσαν συστηματικά σε χαμηλά d.r. και μίγμα προϊόντων με χρήση NaBH₃CN/AIBN. Στο Σχήμα 41 φαίνεται συνοπτικά η σύνθεση των προϊόντων **16β** και οι παρατηρούμενες διαστερεοεκλεκτικότητες.

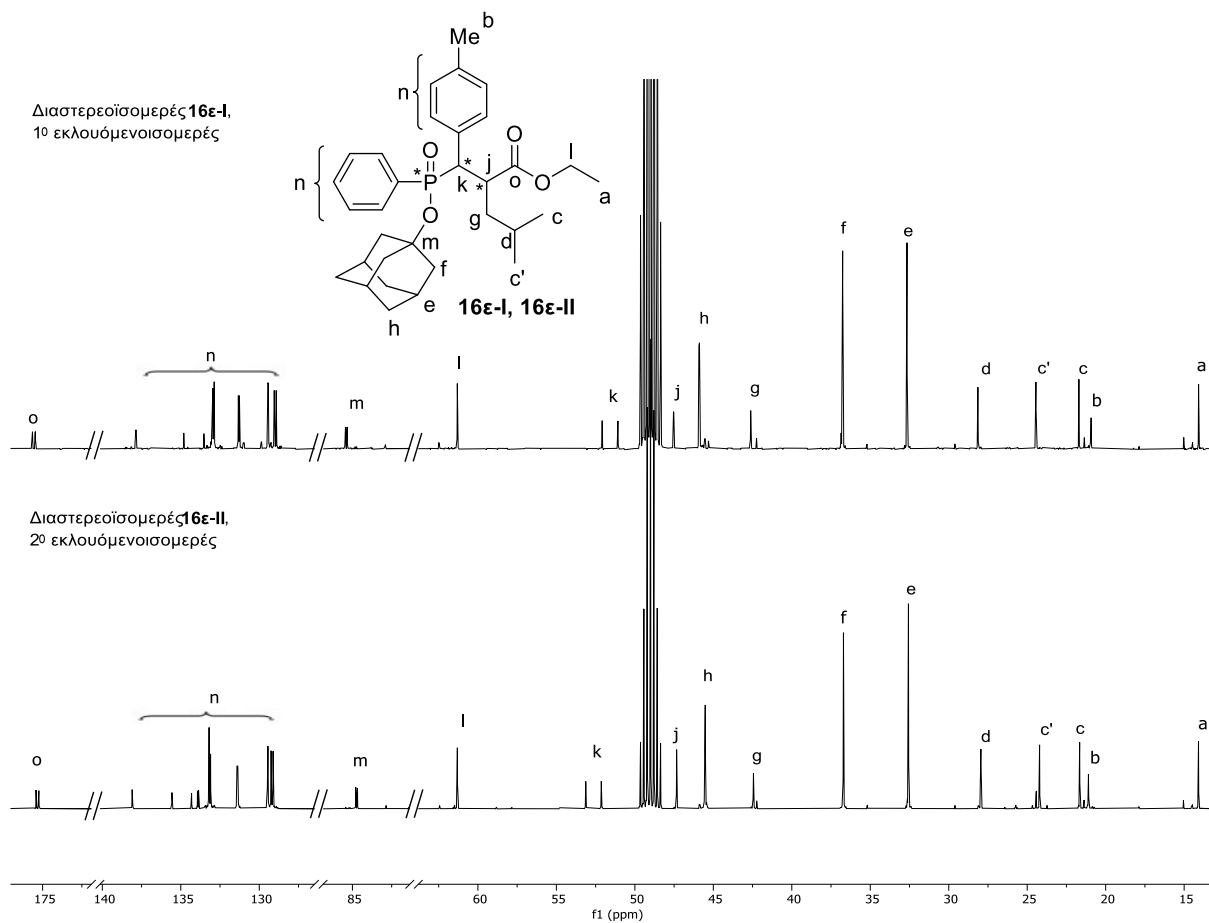


Σχήμα 41: Σύνθεση των τελικών προϊόντων τύπου **16** και παρατηρούμενα d.r.

Όσον αφορά τα παράγωγα με αλειφατικό υποκαταστάτη στην α-θέση από το άτομο P **16α**, **16η** και **16θ**, χρησιμοποιήθηκαν οι συνθήκες NaBH₃CN/AIBN και τα προϊόντα παρελήφθησαν έπειτα από χρωματογραφικό καθαρισμό με αποδόσεις 78, 40 και 74%. Οι διαστερεοεκλεκτικότητες ήταν εξαιρετικές και στις 3 περιπτώσεις (έως >99:1) και τα προϊόντα ελήφθησαν έως μίγματα δύο διαστερεοϊσομερών (λόγω του ατόμου P), εκτός από την περίπτωση του **16θ** όπου κατέστη δυνατός ο διαχωρισμός των δύο ισομερών. Για τα παράγωγα με αρωματικό υποκαταστάτη στην α-θέση από το άτομο P **16β-ζ**, χρησιμοποιήθηκαν οι συνθήκες TBTH/Et₃B/O₂ σε 0°C και τα προϊόντα παρελήφθησαν έπειτα από χρωματογραφικό καθαρισμό με αποδόσεις 52-76%. Επίσης, σε όλες τις περιπτώσεις η διαστερεοεκλεκτικότητα ήταν εντυπωσιακές (~99:1), γεγονός που δείχνει τη σημασία του αρωματικού υποκαταστάτη για την επίτευξη υψηλής στερεοεκλεκτικότητας. Στην περίπτωση των **16δ**, **16ε** και **16ζ**, η αντίδραση πραγματοποιήθηκε χωριστά στα δύο ισομερή I και II των αντίστοιχων ενώσεων τύπου **3** τα οποία είχαν διαχωριστεί χρωματογραφικά στο προηγούμενο στάδιο. Σε καμία από τις περιπτώσεις δεν παρατηρήθηκε επιμερείωση του ατόμου P. Οι αντιδράσεις προχώρησαν με παρόμοια συμπεριφορά, ανεξάρτητα του ισομερούς I ή II που χρησιμοποιήθηκε. Τα διαφορετικά ισομερή I και II αναλύθηκαν με φασματοσκοπία NMR μιας και δύο διαστάσεων ώστε να ληφθούν στερεοχημικές πληροφορίες, όπως θα συζητηθεί παρακάτω.

Στην Εικόνα **47**, βλέπουμε συγκριτικά τα φάσματα ¹³C NMR των ενώσεων **16ε-I** και **16ε-II**, που προέκυψαν από τη ριζική αλκυλίωση των αντίστοιχων ακόρεστων παραγώγων **3ε-I** και **3ε-II**. Αναφερόμενοι μόνο στο 1° εκλουόμενο ισομερές, παρατηρούμε τα σήματα που αντιστοιχούν στα άτομα C του αιθυλεστέρα (a,l) να συντονίζονται σε 14.1 και 61.3 ppm, αντίστοιχα. Οι άνθρακες του αδαμαντυλεστέρα συντονίζονται σε 32.7 (e), 36.8 (h), 45.9 (f) και 85.4 (m) ppm, με τα δύο τελευταία σήματα να σχάζονται λόγω σύζευξης με το άτομο P. Σχάσεις παρατηρούνται και για τα σήματα του καρβονυλικού άνθρακα (o) σε 175.8 ppm, του άνθρακα δίπλα στην καρβοξυλομάδα (j) και του α-C (k) σε 51.6 ppm, με τη σταθερά σύζευξης για το τελευταίο να έχει χαρακτηριστικά μεγάλη τιμή (101 Hz) καθώς πρόκειται για ¹J_{CP}. Το ίδιο παρατηρείται και για τον αρωματικό α-C που συντονίζεται σε 134.2 ppm και εμφανίζει σχάση λόγω σύζευξης ¹J_{CP} = 129 Hz. Επίσης, το σήμα του μεθυλίου b εμφανίζεται σε 20.9 ppm. Τέλος, τα σήματα της ισοβουτυλομάδας εμφανίζονται σε

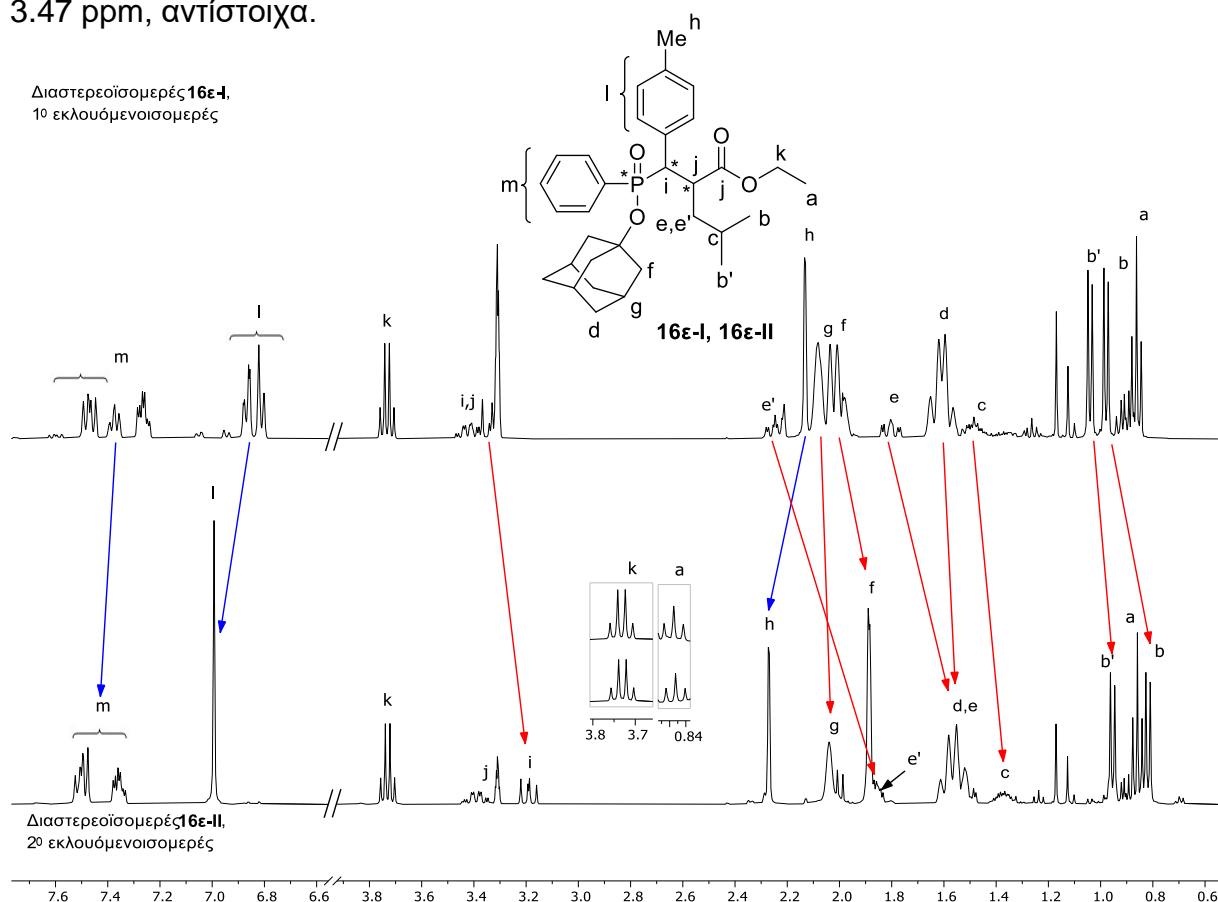
42.6 για την μεθυλενομάδα g (d), 28.1 για την ομάδα μεθινίου d και 21.7 & 24.4 για τα δύο διαστερεοτοπικά μεθύλια c και c'.



Εικόνα 47: Συγκριτική παράθεση των φασμάτων ¹³C-NMR των δύο διαστερεοϊσομερών I και II της ένωσης 16ε

Στην Εικόνα 48 παρατίθενται συγκριτικά τα φάσματα ¹H NMR των ενώσεων **16ε-I** και **16ε-II**, που προέκυψαν από τη ριζική αλκυλίωση των αντίστοιχων ακόρεστων παραγώγων **16ε-I** και **16ε-II**. Και σε αυτήν την περίπτωση παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στις χημικές μετατοπίσεις των πρωτονίων των ισομερών **I** και **II** με ορισμένα σήματα να προασπίζονται και άλλα να αποπροασπίζονται, ενώ αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι οι χημικές μετατοπίσεις των πρωτονίων για την αιθυλομάδα του εστέρα (a και k) εμφανίζονται ακριβώς στις ίδιες χημικές μετατοπίσεις (0.88 και 3.75 ppm), αντίστοιχα. Μάλιστα, η μορφή τους είναι πανομοιότυπη, σε αντίθεση με την περίπτωση των ισομερών **16ε-I** και **16ε-II** πριν το βήμα της αλκυλίωσης, όπως αναλύθηκε στην Εικόνα 48. Αναφερόμενοι μόνο στο 1^ο εκλουόμενο ισομερές, τα πρωτόνια της αδαμαντυλομάδας d, f και g εμφανίζονται

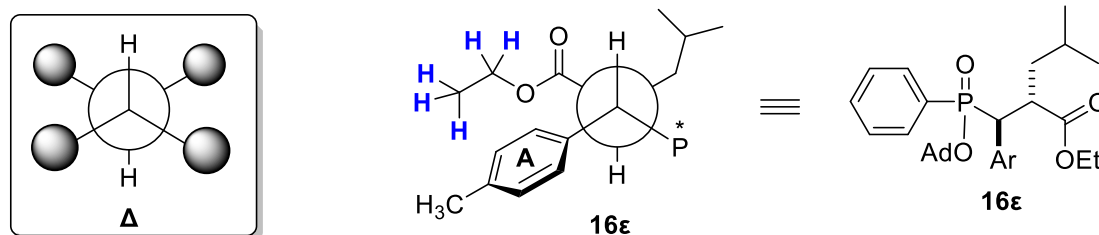
στην περιοχή 1.54 – 1.67 & 1.95 – 2.11 ppm, τα αρωματικά πρωτόνια του φαινυλίου m συντονίζονται στην περιοχή των 7.23– 7.51 ppm ενώ τα αρωματικά πρωτόνια της *p*-τολουολομάδας συντονίζονται σε 6.78– 6.90 ppm με το χαρακτηριστικό προφίλ της *p*-υποκατάστασης. Τα πρωτόνια του μεθυλίου h εμφανίζονται ως μια απλή σε 2.13 ppm ενώ τα δύο διαστερεοτοπικά μεθύλια b και b' της ισοβουτυλομάδας εμφανίζονται ως διπλές σε 0.98 και 1.04 ppm. Χαρακτηριστική είναι και η μεγάλη διαφορά στη χημική μετατόπιση των δύο διαστερεοτοπικών πρωτονίων της μεθυλενομάδας e, 1.76 – 1.85 & 2.25 (ddd), αντίστοιχα. Τελος τα πρωτόνια μεθινικού τύπου c συντονίζονται σε 1.42 – 1.54 ppm ενώ τα πρωτόνια i και j συντονίζονται σε 3.32 – 3.47 ppm, αντίστοιχα.



Εικόνα 48: Συγκριτική παράθεση των φασμάτων ¹H-NMR των δύο διαστερεοϊσομερών I και II της ένωσης 16ε

Έχοντας στα χέρια μας τα δύο ισομερή της ένωσης **16ε** επιχειρήσαμε να λάβουμε πληροφορίες για την στερεοχημική ταυτότητα των ενώσεων με χρήση φασματοσκοπίας 2D NOESY, όμως ανεπιτυχώς. Εν τούτοις, προσεκτική ανάλυση και σύγκριση των φασμάτων ¹H-NMR των δύο ισομερών της ένωσης **16ε** μας

οδήγησε στην προέκταση της υπόθεσης που είχε διατυπωθεί στην Εικόνα 45 για τα ισομερή των πρόδρομων ενώσεων **3ε-I** και **3ε-II**, και περιγράφεται στην Εικόνα 49.

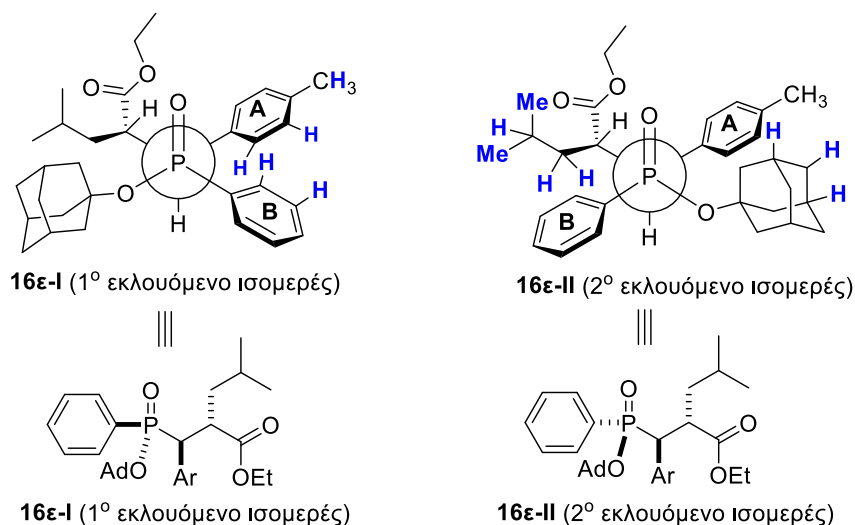


Εικόνα 49: Πιθανές διαμορφώσεις των ισομερών της ένωσης **16ε με βάση τα φάσματα NMR**

Το πρώτο δεδομένο που θα πρέπει να ληφθεί υπόψη είναι ότι η σχετική στερεοχημεία των δύο στερεογονικών κέντρων άνθρακα θα ταυτίζεται στα δύο ισομερή και αυτά θα διαφέρουν μόνο στη στερεοχημεία του ατόμου P. Αυτό προκύπτει από το γεγονός ότι η διάσπαση της αδαμαντυλομάδας στο μίγμα διαστεροϊσομερών **16ε** δίνει το ίδιο προϊόν (ένα σήμα στο φάσμα $^{31}\text{P-NMR}$). Επίσης, εξετάζοντας το φάσμα $^{13}\text{C-NMR}$, παρατηρούνται παρόμοιες τιμές σταθερών σύζευξης για τα δύο ισομερή, μεταξύ του P και του καρβονυλικού C ($^3J_{\text{PC}} = 17.7 \text{ Hz}$ για το **16ε-I**, $^3J_{\text{PC}} = 18.2 \text{ Hz}$ για το **16ε-II**) και μεταξύ του P και του CH_2 της ισοβουτυλομάδας ($^3J_{\text{PC}} = 1.4 \text{ Hz}$ και για τα δύο ισομερή). Με βάση τις σχέσεις Karplus, το γεγονός αυτό υποδεικνύει παρόμοιες διέδρες γωνίες στα **16ε-I** και **16ε-II**, επομένως κοινή διαμόρφωση η οποία αποδίδεται με την προβολή Newman της Εικόνα 49. Σημειώνεται ότι και στην περίπτωση αυτή, θεωρείται ότι μια διαμόρφωση τύπου Δ θα επικρατεί καθώς οι ογκώδεις υποκαταστάτες τοποθετούνται με τέτοιο τρόπο ώστε να ελαχιστοποιούνται οι στερεοχημικές παρεμποδίσεις.

Από τη σύγκριση των χημικών μετατοπίσεων των πρωτονίων της ισοβουτυλομάδας παρατηρούνται ισχυρές προασπίσεις στο ισομερές **16ε-II** σε σχέση με το **16ε-I** ενώ, αντίθετα, οι χημικές μετατοπίσεις για τα πρωτόνια της αιθυλομάδας είναι ακριβώς οι ίδιες στα δύο ισομερή. Εφόσον τα δύο ισομερή διαφοροποιούνται μόνο στη στερεοχημική διάταξη του ατόμου P, είναι προφανές ότι η ισοβουτυλομάδα θα βρίσκεται πλησιέστερα στο άτομο P ενώ ο αιθυλεστέρας στα δύο ισομερή θα βρίσκεται σε κοινό περιβάλλον, πλησίον της ομάδας Ar, από την οποία θα προασπίζεται (Εικόνα 49). Η προάσπιση των πρωτονίων της αιθυλομάδας από την τολουολομάδα γίνεται εμφανής από τις τιμές των χημικών μετατοπίσεων (0.86 & 3.73

ppm) που είναι σημαντικά χαμηλότερες από τις συνήθεις τιμές που αναμένονται για έναν αιθυλεστέρα (~1.2 & ~4.0 ppm).

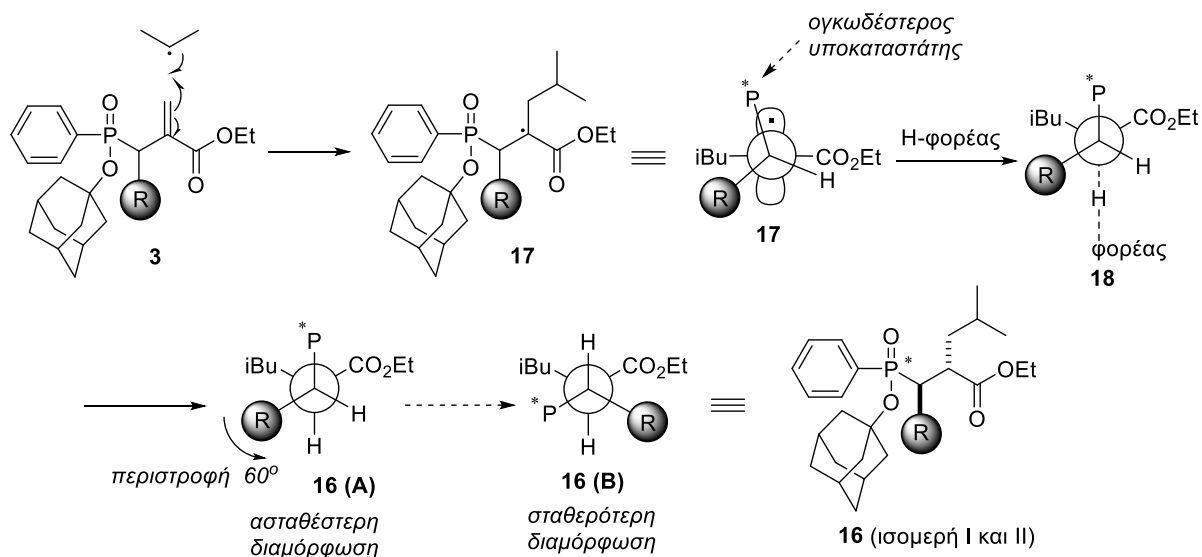


Εικόνα 50: Πιθανές διαμορφώσεις των ισομερών 16e-I και 16e-II με βάση τα φάσματα NMR

Στην Εικόνα 50 φαίνονται οι διαμορφώσεις των δύο ισομερών **16e-I** και **16e-II** με χρήση αντίστοιχων προβολών Newman με αυτές της Εικόνας 49, όπου εξετάζεται η σχετική στερεοχημεία μεταξύ του ατόμου P και του α-C. Όπως αναμένεται, στο ισομερές **16e-I** όλα τα αρωματικά πρωτόνια και εκείνα του Me υποκαταστάτη του δακτυλίου A εμφανίζονται πιο προασπισμένα σε σχέση με το ισομερές **16e-II**, λόγω της αμοιβαίας προάσπισής τους (Εικόνα 48). Επίσης, στο ισομερές **16e-II** τα πρωτόνια της αδαμαντυλομάδας προασπίζονται από τον κώνο προστασίας του δακτυλίου A, σε σχέση με το ισομερές **16e-I**. Τέλος, στο ισομερές **16e-II** παρατηρείται υψηλή προάσπιση στα σήματα της ισοβουτυλομάδας που οφείλεται στην γεινίαση αυτής με το φαινύλιο. Τέλος, πρέπει να σημειωθεί ότι παρόμοιες διαφορές παρατηρούνται σε όλα τα παράγωγα με αρωματικό υποκαταστάτη στην α-θέση, ενώ και στην περίπτωση των δύο ισομερών της ένωσης **16θ** όπου φέρουν αλειφατικό υποκαταστάτη, οι συσχετίσεις από τα φασματοσκοπικά δεδομένα οδηγούν σε παρόμοια συμπεράσματα.

4.6 Πιθανή μηχανιστική ερμηνεία της διαστερεοεκλεκτικότητας.

Στο Σχήμα 42 παρουσιάζεται μια πιθανή μηχανιστική ερμηνεία της παρατηρούμενης διαστερεοεκλεκτικότητας.



Σχήμα 42: Πιθανή μηχανιστική ερμηνεία της παρατηρούμενης διαστερεοεκλεκτικότητας.

Με βάση την παραπάνω ερμηνεία, η αρχική προσβολή της ισοπρότυλο ρίζας στην ένωση **3** οδηγεί στην ενδιάμεση ρίζα **17** η οποία, με βάση το μοντέλο που έχει προταθεί από τον Giese, λαμβάνει διαμόρφωση με το SOMO τροχιακό και το δεσμό C-H του στερεογενονικού κέντρου να σχηματίζουν διέδρη γωνία $\sim 90^\circ$, με αποτέλεσμα οι δεσμοί C-H και C-CO₂Et να είναι σχεδόν παράλληλοι [162]. Ο όγκος της αδαμαντυλομάδας στο κέντρο του P φαίνεται να συμβάλλει στο να είναι η φωσφινική ομάδα σαφώς ογκωδέστερη από την R ομάδα και να τοποθετείται σε όλες τις περιπτώσεις ανάμεσα από τους δύο υποκαταστάτες του ριζικού κέντρου, όπως φαίνεται από τη διαμόρφωση **17**. Η διαφορά μεταξύ των αρωματικών και των αλειφατικών υποκαταστατών πιθανώς να οφείλεται σε διαφορές στους σχετικούς πληθυσμούς των διαμορφώσεων της ενδιάμεσης ρίζας, όπως έχει παρατηρηθεί στο παρελθόν, οι οποίοι να καθορίζονται από τη θερμοκρασία που πραγματοποιούνται οι αντιδράσεις. Με βάση το μοντέλο του Giese, η προσέγγιση του H-φορέα θα γίνει από την κάτω πλευρά (μεταβατική κατάσταση **18**). Στην περίπτωση αυτή οδηγούμαστε στη διαμόρφωση **A** της ένωσης **16** η οποία με περιστροφή του μπροστινού άνθρακα θα οδηγήσει στη σταθερότερη διαμόρφωση **B**. Η διαμόρφωση αυτή προβλέπεται και από την ανάλυση των φασμάτων NMR, όπως περιγράφεται στην Εικόνα 49.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ – ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΙ ΕΝΩΣΕΩΝ

5.1 Γενικό πειραματικό μέρος

5.1.1 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, CH₂Cl₂: ανάδευση με ενεργοποιημένα μοριακά κόσκινα MS 4Å). Οι χλωριωμένοι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν στις αντιδράσεις είχαν ως σταθεροποιητή αμυλένιο.

5.1.2 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% θειϊκού δημητρίου [Ce(SO₄)₂], 5% μολυβδαινικού αμμωνίου [(NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O] και 10% π. H₂SO₄ και θέρμανση
- δ) Εμβάπτιση σε KMnO₄ και θέρμανση
- ε) Ψεκασμός με νινυδρίνη και θέρμανση

Η εμφάνιση κοντινών αλλά διακριτών κηλίδων στην χρωματογραφία λεπτής στιβάδος (TLC) κάποιων 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.

5.1.3 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 400 MHz 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 -DMSO της εταιρείας Eurotop. Η κλίμακα των χημικών μετατόπισεων στα φάσματα 1H -NMR είναι βαθμονομημένη σύμφωνα με τη χημική μετατόπιση του πρωτονιωμένου συστατικού που βρίσκεται ως πρόσμιξη στους δευτεριωμένους διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν. Οι τιμές αυτές ορίστηκαν βάσει βιβλιογραφικών δεδομένων και είναι: 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 -DMSO (2.50, χημική μετατόπιση πρόσμιξης $(CD_3)(CHD_2)SO$) [187]. 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). Η αποτίμηση που έχει επιχειρηθεί στα φάσματα 1H NMR και ^{13}C

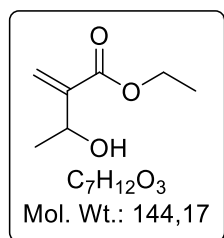
NMR άγνωστων ενώσεων βασίζεται σε συσχετισμούς με αποτιμήσεις παρόμοιων ενώσεων που αναφέρονται στη βιβλιογραφία, με εκτιμήσεις λογισμικών πρόβλεψης φασμάτων (ChemBioDraw Ultra) και, όπου ήταν διαθέσιμα, με φάσματα 2D-NMR (COSY, HSQC, HMBC) και DEPT-135. Οι τιμές χημικής μετατόπισης που σημειώνονται με αστερίσκο (*) αντιστοιχούν σε ισομερές μικρότερης ή ίσης αναλογίας προς το κύριο. Οι τιμές που σημειώνονται με δύο αστερίσκους (**) αντιστοιχούν σε στροφομερή.

5.2 Συνθετικές μέθοδοι – Χαρακτηρισμοί

5.2.1 Γενική μέθοδος σύνθεσης ενώσεων τύπου 8 με την αντίδραση Baylis-Hillman

Σε φιαλίδιο προστίθενται ακρυλικός αιθυλεστέρας (3 equiv), η κατάλληλη αλδεΐδη (1 equiv) και DABCO (1 equiv). Το μίγμα ανακατεύεται καλά και έπειτα αφήνεται σε ηρεμία για διάστημα τουλάχιστον 10 ημερών. Έπειτα, διαλύεται σε Et₂O και η οργανική φάση εκπλένεται με H₂O (×3) και 1M HCl (×1). Οι οργανικές στιβάδες ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται μέχρι ξηρού, μέχρι απομακρύνσεως της περισσειας του ακρυλικού αιθυλεστέρα.

3-Υδροξυ-2-μεθυλενο-βουτανοϊκός αιθυλεστέρας (8α) [188]



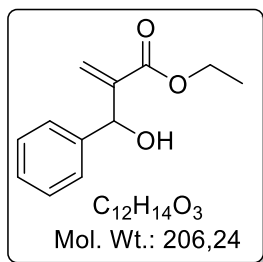
Η ένωση **8α** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο παρασκευής ενώσεων τύπου **8** με την αντίδραση Baylis-Hillman σε κλίμακα (4.9 g, 87 mmol) ακεταλδεΐδης. Χρησιμοποιήθηκαν 2 equiv ακρυλικού αιθυλεστέρα. Παραλαμβάνονται 4.77 g (38%) της αλκοόλης **8α** ως υποκίτρινο ελαιώδες υγρό.

TLC *R_f* (PE:AcOEt 3:1): 0.63

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.32 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, OCH₂CH₃), 1.38 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H, CHCH₃), 2.68 (br s, 1H, OH), 4.24 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 4.61 (q, *J* = 6.8 Hz, 1H, CHOH), 5.80 (s, 1H, HHC=C), 6.19 (s, 1H, HHC=C) [188].

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 14.1, 22.0, 60.8, 67.1, 123.8, 143.7, 166.6 [189].

2-(Υδροξυ)(φαινυλο)μεθυλο ακρυλικός αιθυλεστέρας (8β) [136]



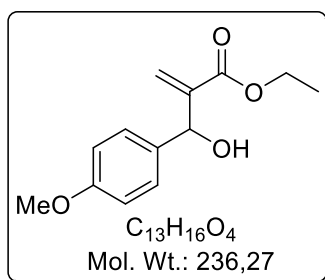
Η ένωση **8β** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο παρασκευής ενώσεων τύπου **8** με την αντίδραση Baylis-Hillman σε κλίμακα (845 mg, 8.0 mmol) βενζαλδεΐδης. Παραλαμβάνονται 1.40 g (85%) της αλκοόλης **8β** ως υποκίτρινο παχύρευστο υγρό.

TLC R_f (PE:AcOEt 4:1): 0.50

1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 1.23 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 3.10 (s, 1H, OH), 4.16 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, OCH_2CH_3), 5.56 (s, 1H, PhCH), 5.83 (s, 1H, $HHC=C$), 6.33 (s, 1H, $HHC=C$), 7.23 – 7.41 (m, 5H, Ar) [190].

^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 25.5, 31.6, 33.4, 62.1, 125.8, 128.9, 129.0, 136.6 [190].

2-[Υδροξυ(4-μεθοξυφαινυλο)μεθυλο]ακρυλικός αιθυλεστέρας (**8γ**) [191]



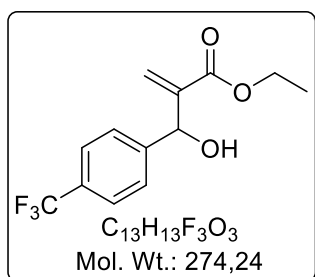
Η ένωση **8γ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο παρασκευής ενώσεων τύπου **8** με την αντίδραση Baylis-Hillman σε κλίμακα (2.72 g, 20 mmol) ανισαλδεΐδης. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60°C)/Et₂O/*i*PrOH 95/5/1 → 75/25/1. Παραλαμβάνονται 3.92 g (83%) της αλκοόλης **8γ** ως υποκίτρινο παχύρευστο υγρό.

TLC R_f (PE:AcOEt:*i*PrOH 3:1:0.4): 0.37

1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 1.25 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 3.80 (s, 3H, OCH_3), 4.17 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, OCH_2CH_3), 5.53 (s, 1H, CHOH), 5.82 (s, 1H, $HHC=C$), 6.32 (s, 1H, $HHC=C$), 6.82 – 6.92 & 7.23 – 7.34 (m, 4H, Ar) [191].

^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 13.7, 54.8, 60.5, 71.8, 113.3, 124.3, 127.9, 133.6, 142.6, 158.8, 166.9 [191].

2-[Υδροξυ(4-(τριφθορομεθυλο)φαινυλο)μεθυλο]ακρυλικός αιθυλεστέρας (**8δ**) [191]



Η ένωση **8δ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο παρασκευής ενώσεων τύπου **8** με την αντίδραση Baylis-Hillman σε κλίμακα (1.39 g, 8.0 mmol) 4-(τριφθορομεθυλο)βενζαλδεΐδης. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60°C)/Et₂O/*i*PrOH 80:10:0.9 → 70:10:0.8.

Παραλαμβάνονται 1.86 g (85%) της αλκοόλης **8δ** ως άχρωμο ελαιώδες υγρό.

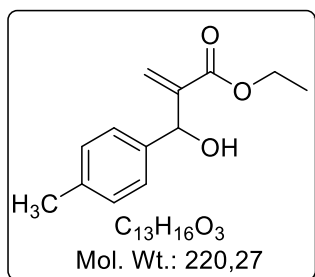
TLC R_f (PE:AcOEt:PrOH 3:1:0.4): 0.67

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 1.25 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 4.18 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, OCH_2CH_3), 5.59 (s, 1H, CHOH), 5.82 (s, 1H, $\text{HHC}=\text{C}$), 6.37 (s, 1H, $\text{HHC}=\text{C}$), 7.50 & 7.61 ($2 \times$ d, $J = 8.5$ Hz, 4H, Ar) [191].

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 14.0, 61.2, 72.7, 125.2 (q, $^1J_{\text{CF}} = 272$ Hz), 125.4 (q, $^3J_{\text{CF}} = 3.8$ Hz), 126.5, 127.0, 129.9 (q, $^2J_{\text{CF}} = 32.4$ Hz), 141.7, 145.5, 166.2 [191].

$^{19}\text{F NMR}$ (188 MHz, CDCl_3) δ -62.9.

2-[Υδροξυ(*p*-τολυλο)μεθυλο]ακρυλικός αιθυλεστέρας (**8ε**) [191]



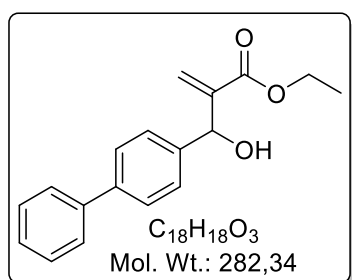
Η ένωση **8ε** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο παρασκευής ενώσεων τύπου **8** με την αντίδραση Baylis-Hillman σε κλίμακα (1.92 g, 16.0 mmol) 4-μεθυλοβενζαλδεΐδης. Παραλαμβάνονται 3.23 g (92%) της αλκοόλης **8ε** ως υποκίτρινο ελαιώδες υγρό.

TLC R_f (PE:AcOEt 4:1): 0.39

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 1.25 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 2.34 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$), 4.17 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, OCH_2), 5.53 (s, 1H, CHOH), 5.82 (t, $J = 1.2$ Hz, 1H, $\text{HHC}=\text{C}$), 6.33 (dd, $J = 0.7, 1.2$ Hz, 1H, $\text{HHC}=\text{C}$), 7.09 – 7.30 (m, 4H, Ar) [191].

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 13.9, 21.0, 60.6, 72.5, 125.0, 126.6, 128.9, 137.1, 138.6, 142.4, 166.1 [191].

2-[[1,1'-Διφαινυλο]-4-υλο(υδροξυ)μεθυλο}ακρυλικός αιθυλεστέρας (**8ζ**) [188]



Η ένωση **8ζ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο παρασκευής ενώσεων τύπου **8** με την αντίδραση Baylis-Hillman σε κλίμακα (2.0 g, 11.0 mmol) [1,1'-διφαινυλο]-4-καρβαλδεΐδης. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60°C)/Et₂O/PrOH 95:5:1 → 90:10:1. Παραλαμβάνονται 2.60 g (84%) της αλκοόλης **8ζ** ως

λευκό στερεό.

Σ.Τ.: 64–66 °C

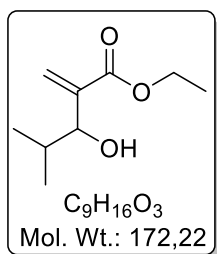
TLC R_f (PE:AcOEt:PrOH 3:1:0.4): 0.49

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 1.27 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 3.02 (br s, 1H, OH), 4.20 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, OCH_2CH_3), 5.61 (s, 1H, CHOH), 5.88 (s, 1H, $\text{HHC}=\text{C}$), 6.38 (s, 1H, $\text{HHC}=\text{C}$), 7.27 – 7.50 & 7.52 – 7.66 (m, 9H, Ar).

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 14.2, 61.2, 73.4, 126.2, 127.1, 127.2, 127.3, 127.5, 128.9, 140.5, 140.8, 140.9, 142.2, 166.5.

HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ υπολογίστηκε για $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{NaO}_3^+$ 305.1152, βρέθηκε 305.1152.

3-Υδροξυ-4-μεθυλο-2-μεθυλενο-πεντανοϊκός αιθυλεστέρας (8η) [192]



Η ένωση **8η** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο παρασκευής ενώσεων τύπου **8** με την αντίδραση Baylis-Hillman σε κλίμακα (577 mg, 8.0 mmol) ισοβουτυραλδεΐδης. Παραλαμβάνονται 1.18 g (86%) της αλκοόλης **8η** ως υποκίτρινο ελαιώδες υγρό.

TLC R_f (PE:AcOEt:PrOH 3:1:0.4): 0.6

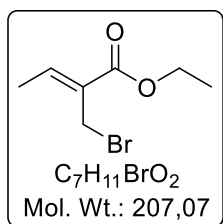
$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 0.86 & 0.96 [2 × d, $J = 6.8$ Hz, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$], 1.31 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 1.78 – 2.05 (m, 1H, Me_2CH), 2.50 (s, 1H, CHOH), 4.05 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H, CHOH), 4.22 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, OCH_2CH_3), 5.73 (t, $J = 1.2$ Hz, 1H, $\text{HHC}=\text{C}$), 6.24 (s, $J = 1.4$ Hz, 1H, $\text{HHC}=\text{C}$) [192].

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 13.6, 16.4, 19.0, 32.2, 60.1, 75.1, 124.6, 142.2, 166.2 [192].

5.2.2 Γενική μέθοδος σύνθεσης ενώσεων τύπου 7 μέσω αλλυλικής βρωμίωσης

Η αλλυλική αλκοόλη τύπου **8** (1.0 equiv) διαλύεται σε άνυδρο Et_2O (4 mL/mmol) και προστίθεται τριβρωμιούχος φώσφορος (4.0 equiv) στους -30°C . Το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 1 h. Στη συνέχεια, γίνεται στάγδην προσθήκη H_2O (1 mL/mmol) στους -10°C . Το μίγμα εκχυλίζεται με Et_2O (×3) και η οργανική φάση εκπλένεται με κορ. NaCl. Ακολουθεί ξήρανση της οργανικής φάσης με Na_2SO_4 και συμπύκνωση μέχρι ξηρού.

(Z)-2-(Βρωμομεθυλο)-βουτ-2-ενοϊκός αιθυλεστέρας (7α) [136]



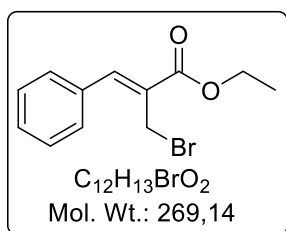
Η ένωση **7α** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο αλλυλικής βρωμίωσης σε κλίμακα (4.77 g, 33.1 mmol) της αλλυλικής αλκοόλης **8α**. Παραλαμβάνονται 6.30 g (92%) του βρωμιδίου **7α** ως υποκίτρινο ελαιώδες υγρό.

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.7.

1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 1.33 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 1.93 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, $CHCH_3$), 4.26 (s, 2H, CH_2Br), 4.26 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H, OCH_2CH_3), 7.09 (q, $J = 7.1$ Hz, 1H, $C=CH$) [193].

^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 13.8, 14.1, 23.7, 60.5, 130.1, 142.5, 164.9 [193].

(Z)-2-Βρωμομεθυλο-3-φαινυλο ακρυλικός αιθυλεστέρας (7β) [194]

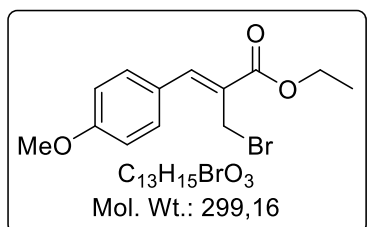


Η ένωση **7β** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο αλλυλικής βρωμίωσης σε κλίμακα (1.40 g, 6.8 mmol) της αλλυλικής αλκοόλης **8β**. Παραλαμβάνονται 1.75 g (96%) του βρωμιδίου **7β** ως υποκίτρινο ελαιώδες υγρό.

TLC R_f (PE:AcOEt 4:1): 0.6.

1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 1.39 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 4.35 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H, OCH_2CH_3), 4.40 (s, 2H, CH_2Br), 7.34 – 7.63 (m, 5H, Ar), 7.83 (s, 1H, $C=CH$) [194].

(Z)-2-(Βρωμομεθυλο)-3-(4-μεθοξυφαινυλο) ακρυλικός αιθυλεστέρας (7γ)



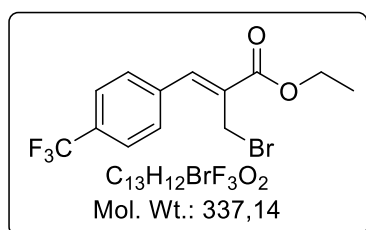
Η ένωση **7γ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο αλλυλικής βρωμίωσης σε κλίμακα (593 mg, 2.5 mmol) της αλλυλικής αλκοόλης **8γ**. Παραλαμβάνονται 662 mg (88%) του βρωμιδίου **7γ** ως υποκίτρινο ελαιώδες υγρό.

TLC R_f (PE:AcOEt 4:1): 0.55.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.37 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, OCH₂CH₃), 3.86 (s, 3H, CH₃OPh), 4.33 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 4.45 (s, 2H, CH₂Br), 6.94 – 7.03 & 7.53 – 7.62 (m, 4H, Ar), 7.78 (s, 1H, C=CH) [195].

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 14.1, 27.5, 55.1, 61.0, 114.1, 126.0, 126.4, 131.7, 142.3, 160.5, 166.0.

(Z)-2-(Βρωμομεθυλο)-3-[(4-τριφθορομεθυλο)φαινυλο]ακρυλικός αιθυλεστέρας (7δ) [196]



Η ένωση **7δ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο αλλυλικής βρωμίωσης σε κλίμακα (2.53 g, 9.23 mmol) της αλλυλικής αλκοόλης **8δ**. Παραλαμβάνονται 2.64 g (85%) του βρωμιδίου **7δ** ως υποκίτρινο ελαιώδες υγρό.

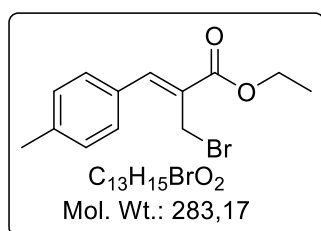
TLC *R_f* (PE:AcOEt 3:1): 0.75.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.38 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, OCH₂CH₃), 4.32 (s, 2H, CH₂Br), 4.34 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 7.46– 7.75 (m, 4H, Ar), 7.81 (s, 1H, C=CH).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 14.3, 25.9, 61.8, 123.9 (q, ¹*J*_{CF} = 272 Hz), 125.9 (q, ³*J*_{CF} = 3.8 Hz), 129.7, 131.0 (q, ²*J*_{CF} = 32.9 Hz), 131.2, 137.9, 140.7, 166.7.

¹⁹F NMR (188 MHz, CDCl₃) δ -63.3.

(Z)-2-(Βρωμομεθυλο)-3-(p-τολυλο)ακρυλικός αιθυλεστέρας (7ε)



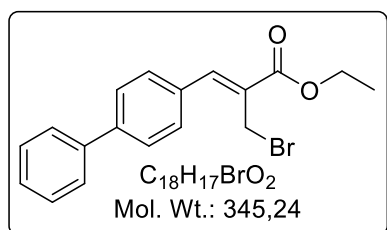
Η ένωση **7ε** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο αλλυλικής βρωμίωσης σε κλίμακα (2.84 g, 12.9 mmol) της αλλυλικής αλκοόλης **8ε**. Παραλαμβάνονται 3.30 g (91%) του βρωμιδίου **7ε** ως υποκίτρινο ελαιώδες υγρό.

TLC *R_f* (PE:AcOEt 4:1): 0.65.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.38 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, OCH₂CH₃), 2.40 (s, 3H, CH₃C₆H₄), 4.34 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH₂), 4.42 (s, 2H, CH₂Br), 7.27 & 7.49 (2×d, *J* = 8.0 Hz, 4H, Ar), 7.80 (s, 1H, C=CH).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 14.1, 21.2, 27.0, 61.1, 127.7, 129.4, 129.7, 131.2, 139.7, 142.5, 165.9.

(Z)-([1,1'-διφαινυλο]-4-υλο)-2-(βρωμομεθυλο)ακρυλικός αιθυλεστέρας (7ζ)



Η ένωση **7ζ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο αλλυλικής βρωμίωσης σε κλίμακα (1.90 g, 6.73 mmol) της αλλυλικής αλκοόλης **8ζ**. Παραλαμβάνονται 2.27 g (98%) του βρωμιδίου **7ζ** ως λευκό κρυσταλλικό στερεό.

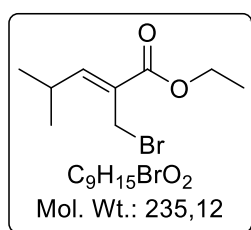
Σ.τ.: 78–80 °C

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.63.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.40 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH₂CH₃), 4.36 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, OCH₂CH₃), 4.46 (s, 2H, CH₂Br), 7.34 – 7.53 & 7.58 – 7.75 (m, 9H, Ar), 7.86 (s, 1H, C=CH)

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 14.3, 27.1, 61.5, 127.1, 127.5, 127.9, 128.7, 129.0, 130.4, 133.2, 139.9, 142.3, 166.1.

(Z)-2-(βρωμομεθυλο)-4-μεθυλο-πεντ-2-ενοϊκός αιθυλεστέρας (7η)



Η ένωση **7η** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο αλλυλικής βρωμίωσης σε κλίμακα (1.18 g, 6.85 mmol) της αλλυλικής αλκοόλης **8η**. Παραλαμβάνονται 1.45 g (90%) του βρωμιδίου **7η** ως υποκίτρινο ελαιώδες υγρό.

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.75

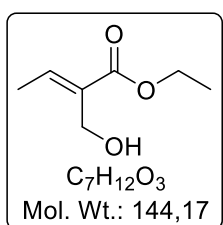
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.09 [d, $J = 6.6$ Hz, 6H, CH(CH₃)₂], 1.32 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, OCH₂CH₃), 2.76 (m, 1H, H₃CCH), 4.24 (s, 2H, CH₂Br), 4.25 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H, OCH₂CH₃), 6.76 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H, HC=C).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 14.0, 21.4, 24.1, 28.2, 60.7, 127.0, 153.5, 166.4.

5.2.3 Γενική μέθοδος υδροξυλίωσης των αλλυλικών βρωμιδίων τύπου 7

Το αλλυλικό βρωμίδιο τύπου **7** (1.0 equiv) διαλύεται σε MeCN (0.5 mL/mmol) και προστίθεται μίγμα Et₃N (2 equiv)/HCOOH (5 equiv). Ακολουθεί βρασμός με αναρροή για 2 h και εν συνεχεία προσθήκη H₂O (1.3 mL/mmol). Το μίγμα εκχυλίζεται με Et₂O (x3), η οργανική φάση ξηραίνεται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται μέχρι ξηρού. Λαμβάνεται παχύρευστο υγρό το οποίο διαλύεται σε MeOH (2 mL/mmol) και προστίθεται καταλυτική ποσότητα π. HCl. Το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 2 h. Έπειτα, ξηραίνεται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται μέχρι ξηρού.

(E)-2-(Υδροξυμεθυλο)-βουτ-2-ενοϊκός αιθυλεστέρας (**6α**) [136]



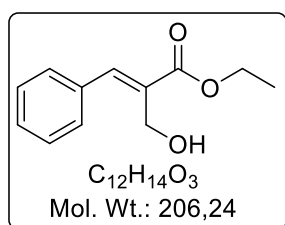
Η ένωση **6α** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο υδροξυλίωσης σε κλίμακα (6.3 g, 30.4 mmol) του αλλυλικού βρωμιδίου **7α**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60°C)/Et₂O/*i*PrOH 95/5/1 → 75/25/1. Παραλαμβάνονται 2.96 g (67%) της αλκοόλης **6α** ως υποκίτρινο ελαιώδες υγρό.

TLC *R_f* (PE:AcOEt 3:1): 0.26.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.32 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, OCH₂CH₃), 1.90 (d, *J* = 7.6 Hz, 3H, CHCH₃), 2.26 (br s, 1H, OH), 4.24 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 4.36 (s, 2H, CH₂OH), 6.98 (q, *J* = 7.6 Hz, 1H, C=CH) [197].

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 14.2, 56.8, 60.7, 131.8, 140.4, 167.5 [197].

(E)-2-(Υδροξυμεθυλο)-3-φαινυλοακρυλικός αιθυλεστέρας (**6β**) [196]



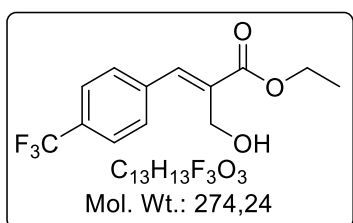
Η ένωση **6β** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο υδροξυλίωσης σε κλίμακα (1.75 g, 6.5 mmol) του αλλυλικού βρωμιδίου **6β**. Παραλαμβάνονται 1.34 g (100%) της αλκοόλης **7β** ως υποκίτρινο παχύρευστο υγρό.

TLC *R_f* (PE:AcOEt 3:1): 0.26.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.39 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, OCH₂CH₃), 4.32 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 4.49 (s, 2H, CH₂OH), 7.32 – 7.50 (m, 5H, Ar), 7.83 (s, 1H, C=CH) [196].

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 14.1, 57.3, 60.9, 128.1, 129.0, 129.5, 131.1, 134.4, 142.3, 167.8 [196].

(E)-2-(Υδροξυμεθυλο)-3-[4-(τριφθορομεθυλο)φαινυλο]ακρυλικός αιθυλεστέρας (6δ) [196]



Η ένωση **6δ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο υδροξυλίωσης σε κλίμακα (225 g, 0.67 mmol) του αλλυλικού βρωμιδίου **7δ**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60°C)/Et₂O/PrOH 80/10/0.9 → 50/10/0.6. Παραλαμβάνονται 173 mg (96%) της αλκοόλης **6δ**

ως υποκίτρινο παχύρευστο υγρό.

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.33.

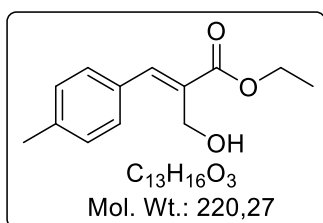
^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.38 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 2.49 (s, 1H, OH), 4.33 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, OCH_2CH_3), 4.42 (s, 2H, CH_2OH), 7.56 & 7.66 (2×d, $J = 8.4$ Hz, 4H, Ar), 7.81 (s, 1H, $\text{C}=\text{CH}$) [196].

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 14.3, 57.7, 61.6, 124.0 (q, $^1J_{\text{CF}} = 272$ Hz), 125.6 (q, $^3J_{\text{CF}} = 3.8$ Hz), 129.8, 130.9 (q, $^2J_{\text{CF}} = 32.6$ Hz), 133.2, 138.2 (d, $^4J_{\text{CF}} = 1.3$ Hz), 140.7, 167.6 [196].

^{19}F NMR (188 MHz, CDCl_3) δ -63.3.

HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ υπολογίστηκε για $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{F}_3\text{O}_3\text{Na}^+$ 297.0709, βρέθηκε 297.0711.

(E)-2-(Υδροξυμεθυλο)-3-φαινυλοακρυλικός αιθυλεστέρας (6ε) [196]



Η ένωση **6ε** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο υδροξυλίωσης σε κλίμακα (3.03 g, 10.7 mmol) του αλλυλικού βρωμιδίου **7ε**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60°C)/Et₂O/PrOH 95/5/1 → 75/25/1. Παραλαμβάνονται 2.08 g (88%) της αλκοόλης **6ε** ως λευκό

στερεό.

Σ.τ.: 49–51 °C

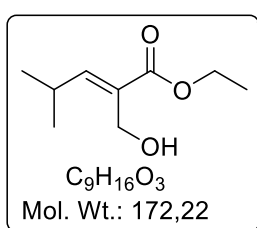
TLC R_f (PE:AcOEt 4:1): 0.26.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.37 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₂CH₃), 2.38 (s, 3H, CH₃C₆H₄), 4.31 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 4.50 (s, 2H, CH₂OH), 7.22 & 7.37 (2×d, *J* = 8.1 Hz, 4H, Ar), 7.80 (s, 1H, C=CH).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 14.3, 21.3, 57.7, 61.0, 129.3, 129.7, 130.3, 131.7, 139.4, 142.6, 168.2.

HRMS (*m/z*): [M + Na]⁺ υπολογίστηκε για C₁₃H₁₆NaO₃⁺ 243.0991, βρέθηκε 243.0999.

(*E*)-2-(Υδροξυμεθυλο)-4-μεθυλο-πεντ-2-ενοϊκός αιθυλεστέρας (**6η**) [196]



Η ένωση **6η** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο υδροξυλίωσης σε κλίμακα (1.45 g, 6.2 mmol) του αλλυλικού βρωμιδίου **7η**. Παραλαμβάνονται 0.89 g (83%) της αλκοόλης **6η** ως υποκίτρινο ελαιώδες υγρό.

TLC *R_f* (PE:AcOEt:PrOH 3:1:0.4): 0.3.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.05 [d, *J* = 6.6 Hz, 6H, CH(CH₃)₂], 1.32 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, OCH₂CH₃), 2.59 (s, 1H, OH), 2.77 (dsept, 1H, Me₂CH), 4.23 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 4.33 (br s, 2H, CH₂OH), 6.67 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H, C=CH).

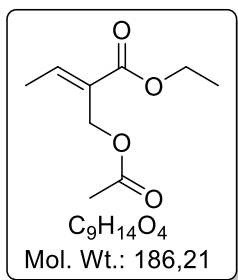
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 14.3, 22.5, 27.8, 57.5, 60.9, 129.0, 152.0, 168.0.

HRMS (*m/z*): [M + Na]⁺ υπολογίστηκε για C₉H₁₆NaO₄⁺ 195.0992, βρέθηκε 195.0995.

5.2.4 Γενική μέθοδος ακετυλίωσης των αλλυλικών αλκοολών τύπου **6**

Η αλλυλική αλκοόλη τύπου **6** (1 equiv) διαλύεται σε άνυδρο CH₂Cl₂ (2.4 mL/mmol) και προστίθεται πυριδίνη (2 equiv). Έπειτα, το διάλυμα ψύχεται στους 0 °C και προστίθεται ακετυλοχλωρίδιο (1.5 equiv) στάγδην. Το μίγμα αφήνεται στους 0 °C για 1 h και εν συνεχεία σε θερμοκρασία δωματίου για 2 h. Έπειτα, προστίθενται λίγες σταγόνες H₂O, γίνεται αραίωση με Et₂O και ακολουθούν εκπλύσεις με 1M HCl (×2), NaHCO₃ 5% και H₂O. Εν συνεχεία, η οργανική στιβάδα ξηραίνεται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται μέχρι ξηρού.

(*E*)-2-(Ακετοξυμεθυλο)-βουτ-2-ενοϊκός αιθυλεστέρας (**4α**) [136]



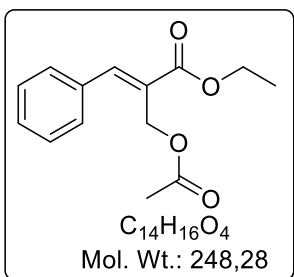
Η ένωση **4a** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο ακετυλίωσης των αλλυλικών αλκοολών τύπου **6** σε κλίμακα (2.10 g, 14.6 mmol) της αλκοόλης **6a**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60°C)/AcOEt 95/5 → 89/11. Παραλαμβάνονται 1.88 g (69%) του ακετυλιωμένου παραγώγου **4a** ως υποκίτρινο ελαιώδες υγρό.

TLC R_f (PE:AcOEt 5:1): 0.36.

1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 1.30 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 1.93 (d, $J = 7.6$ Hz, 3H, $CHCH_3$), 2.05 (s, 3H, $COCH_3$), 4.23 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H, OCH_2CH_3), 4.88 (s, 2H, CH_2OCO), 7.15 (q, $J = 7.6$ Hz, 1H, $C=CH$) [136].

^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 14.1, 14.4, 20.7, 57.6, 60.6, 128.1, 144.1, 166.2, 170.7 [136].

(E)-2-(Ακετοξυμεθυλο)-3-φαινυλο-ακρυλικός αιθυλεστέρας (**4β**)



Η ένωση **4β** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο ακετυλίωσης των αλλυλικών αλκοολών τύπου **6** σε κλίμακα (1.36 g, 6.6 mmol) της αλκοόλης **6β**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60°C)/AcOEt 95/5 → 80/20. Παραλαμβάνονται 1.51 g (92%) του ακετυλιωμένου παραγώγου **4β** ως υποκίτρινο παχύρευστο υγρό.

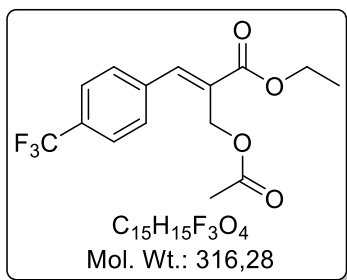
TLC R_f (PE:AcOEt 1:1): 0.52.

1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 1.36 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 2.11 (s, 3H, $COCH_3$), 4.32 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H, OCH_2CH_3), 4.97 (s, 2H, CH_2OCO), 7.25 – 7.55 (m, 5H, Ar), 7.97 (s, 1H, $C=CH$) [198].

^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 14.2, 20.9, 59.3, 61.1, 128.4, 128.6, 129.3, 129.4, 134.2, 145.0, 166.8, 170.6 [198].

HRMS (m/z): $[M + Na]^+$ υπολογίστηκε για $C_{14}H_{16}NaO_4^+$ 271.0941, βρέθηκε 271.0951.

(E)-2-(Ακετοξυμεθυλο)-3-[4-(τριφθορομεθυλο)φαινυλο]ακρυλικός αιθυλεστέρας (**4δ**)



Η ένωση **4δ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο ακετυλίωσης των αλλυλικών αλκοολών τύπου **6** σε κλίμακα (1.78 g, 6.5 mmol) της αλκοόλης **6δ**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60°C)/AcOEt 95/5 → 85/15. Παραλαμβάνονται 1.82 g (89%) του ακετυλιωμένου παραγώγου **4δ** ως υποκίτρινο παχύρευστο

υγρό.

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.43.

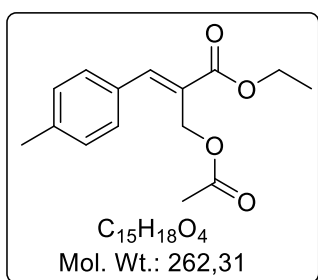
1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 1.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 2.09 (s, 3H, $COCH_3$) 4.32 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, OCH_2CH_3), 4.91 (s, 2H, CH_2OAc), 7.48 & 7.68 (2×d, $J = 8.2$ Hz, 4H, Ar), 7.96 (s, 1H, $C=CH$).

^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 14.3, 20.9, 59.0, 61.5, 123.9 (q, $^1J_{CF} = 272$ Hz), 125.7 (q, $^3J_{CF} = 3.7$ Hz), 129.6, 131.2 (q, $^2J_{CF} = 32.7$ Hz), 133.2, 137.9 (d, $^4J_{CF} = 1.4$ Hz), 143.1, 166.3, 170.5.

^{19}F NMR (188 MHz, $CDCl_3$) δ -63.3.

HRMS (m/z): $[M + Na]^+$ υπολογίστηκε για $C_{15}H_{15}F_3NaO_4^+$ 339.0815, βρέθηκε 339.0822.

(E)-2-(Ακετοξυμεθυλο)-3-(p-τολυλο)ακρυλικός αιθυλεστέρας (**4ε**)



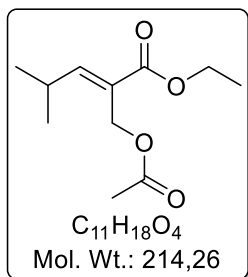
Η ένωση **4ε** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο ακετυλίωσης των αλλυλικών αλκοολών τύπου **6** σε κλίμακα (2.08 g, 9.44 mmol) της αλκοόλης **6ε**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60°C)/AcOEt 95/5 → 80/20. Παραλαμβάνονται 2.27 g (92%) του ακετυλιωμένου παραγώγου **4ε** ως υποκίτρινο παχύρευστο υγρό.

TLC R_f (PE:AcOEt 4:1): 0.36.

1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 1.34 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 2.11 (s, 3H, CH_3CO), 2.38 (s, 3H, $CH_3C_6H_4$), 4.29 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, OCH_2CH_3), 4.50 (s, 2H, CH_2OAc), 7.21 & 7.29 (2×d, $J = 8.1$ Hz, 4H, Ar), 7.95 (s, 1H, $C=CH$) [198].

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 13.8, 20.3, 20.8, 58.9, 60.5, 125.6, 129.0, 129.2, 131.0, 139.4, 144.6, 166.3, 169.9 [198].

HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ υπολογίστηκε για $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{NaO}_4^+$ 285.1097, βρέθηκε 285.1101.



(E)-2-(Ακετοξυμεθυλο)-4-μεθυλο-πεντ-2-ενοϊκός αιθυλεστέρας (4η)

Η ένωση **4η** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο ακετυλίωσης των αλλυλικών αλκοολών τύπου **6** σε κλίμακα (1.11 g, 6.45 mmol) της αλκοόλης **6η**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60°C)/AcOEt 95/5 → 90/10. Παραλαμβάνονται 1.30 g (94%) του ακετυλιωμένου παραγώγου **4η** ως υποκίτρινο παχύρευστο υγρό.

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.46.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.03 [d, $J = 6.6$ Hz, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$], 1.28 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 2.02 (s, 3H, CH_3CO), 2.77 (dsept, $J = 10.5, 6.6$ Hz, 1H, Me_2CH), 4.20 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, OCH_2CH_3), 4.82 (s, 2H, CH_2OAc), 6.82 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H, $\text{C}=\text{CH}$).

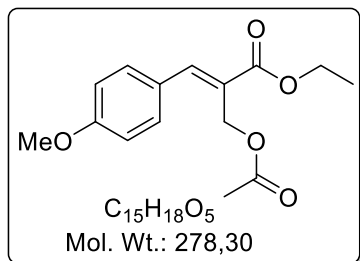
^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 14.3, 21.1, 22.3, 28.3, 58.3, 60.9, 125.1, 155.5, 166.8, 170.9.

HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ υπολογίστηκε για $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{NaO}_4^+$ 237.1113, βρέθηκε 237.1113.

5.2.5 Γενική μέθοδος σύνθεσης των ακετυλιωμένων παραγώγων **4** από τα αντίστοιχα βρωμίδια **7**

Το αλλυλικό βρωμίδιο τύπου **7** (1 equiv) διαλύεται σε MeCN (2.2 mL/mmol) και προστίθεται υπό ψύξη στους 0 °C μίγμα AcOH (2.9 equiv) και DIPEA (3.1 equiv) σε MeCN (2.2 mL/mmol). Το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 2.5 h. Εν συνεχεία, το μίγμα συμπυκνώνεται και το υπόλειμμα διαλύεται σε Et₂O, εκχυλίζεται με 1M κιτρικό οξύ ((2), H₂O και 5% NaHCO₃). Ακολουθεί ξήρανση της οργανικής φάσης με Na₂SO₄ και συμπύκνωση μέχρι ξηρού. Έπειτα, το διάλυμα ψύχεται στους 0 °C και προστίθεται ακετυλοχλωρίδιο (1.5 equiv) στάγδην. Το μίγμα αφήνεται στους 0 °C για 1 h και εν συνεχεία σε θερμοκρασία δωματίου για 2 h. Έπειτα, προστίθενται λίγες σταγόνες H₂O, γίνεται αραίωση με Et₂O και ακολουθούν εκπλύσεις με 1M HCl ((2), NaHCO₃ 5%

και H₂O. Εν συνεχεία, η οργανική στιβάδα ξηραίνεται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται μέχρι ξηρού.



(E)-2-(Ακετοξυμεθυλο)-3-(4-μεθοξυφαινυλο)ακρυλικός αιθυλεστέρας (4γ)

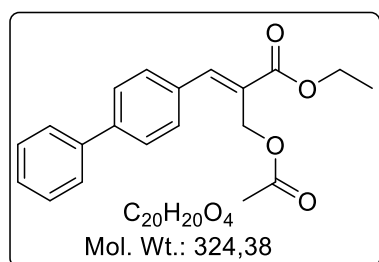
Η ένωση **4γ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο σύνθεσης ακετυλιωμένων παραγώγων από τα αντίστοιχα βρωμίδια σε κλίμακα (1.96 g, 6.5 mmol) του βρωμιδίου **7γ**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60°C)/AcOEt 95/5 → 85/15. Παραλαμβάνονται 1.75 g (96%) του ακετυλιωμένου παραγώγου **4γ** ως υποκίτρινο παχύρευστο υγρό.

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.44.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.37 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH₂CH₃), 2.11 (s, 3H, CH₃CO), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 4.29 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, OCH₂CH₃), 4.99 (s, 2H, CH₂OAc), 6.90 – 6.95 & 7.34 – 7.39 (m, 2H, Ar), 7.92 (s, 1H, C=CH) [199].

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 14.2, 20.8, 55.2, 59.4, 60.9, 114.1, 124.4, 126.6, 131.4, 144.9, 160.7, 167.0, 170.6 [199].

(E)-3-([1,1'-Διφαινυλο]-4-υλο)-2-(ακετοξυμεθυλο)ακρυλικός αιθυλεστέρας (4ζ)



Η ένωση **4ζ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο σύνθεσης ακετυλιωμένων παραγώγων από τα αντίστοιχα βρωμίδια σε κλίμακα (2.22 g, 6.42 mmol) του βρωμιδίου **7ζ**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE(40-60°C)/AcOEt 95/5 → 85/15.

Παραλαμβάνονται 2.07 g (97%) του ακετυλιωμένου παραγώγου **4ζ** ως υποκίτρινο παχύρευστο υγρό.

Σ.τ.: 38–40 °C

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.52.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.36 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, OCH₂CH₃), 2.12 (s, 3H, CH₃CO), 4.32 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 5.02 (s, 2H, CH₂OAc), 7.35 – 7.40 & 7.43 – 7.50 & 7.59 – 7.67 (m, 9H, Ar), 8.01 (s, 1H, C=CH).

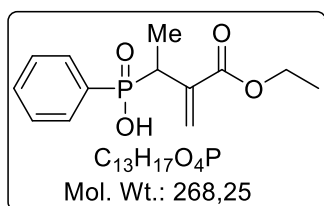
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 14.1, 20.6, 59.1, 60.9, 126.7, 126.6, 127.0, 127.6, 128.1, 128.7, 129.9, 132.9, 139.7, 142.0, 144.4, 166.5, 170.3.

HRMS (m/z): [M + Na]⁺ υπολογίστηκε για C₂₀H₂₀NaO₄⁺ 347.1254, βρέθηκε 347.1254.

5.2.6 Γενική μέθοδος αλλυλικής υποκατάστασης των ακετυλιωμένων παραγώγων 4 από τον φωσφονίτη 5'

Σε διάλυμα του ακετυλιωμένου παραγώγου τύπου **4** (1.5 equiv) σε άνυδρο CH₂Cl₂ (3 mL/mmol) προστίθεται το φωσφινικό οξύ **5** (1 equiv). Στο μίγμα διαβιβάζεται Ar και ακολουθεί ψύξη στους -78 °C και προσθήκη DIPEA (7 equiv) και τριμεθυλοσιλοχλωρίδιο (7 equiv). Το διάλυμα αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου τουλάχιστον για 72h. Στη συνέχεια, το μίγμα της αντίδρασης ψύχεται στους 0°C, προστίθεται απόλυτη EtOH (1.5 mL/mmol) και αναδεύεται για 30 min. Κατόπιν, οι διαλύτες απομακρύνονται με συμπύκνωση του μίγματος και το υπόλειμμα διαλύεται σε AcOEt και εκχυλίζεται με 1M HCl (×3). Ακολουθεί ξήρανση της οργανικής στιβάδας με Na₂SO₄ και συμπύκνωση μέχρι ξηρού.

[3-(Αιθοξυκαρβονυλο)βουτ-3-εν-2-υλο](φαινυλο)φωσφινικό οξύ (**1α**) [136]



Η ένωση **1α** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο αλλυλικής υποκατάστασης των ακετυλιωμένων παραγώγων **4** σε κλίμακα (240 mg, 1.67 mmol) του φωσφινικού οξέος **5**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης CHCl₃:MeOH:AcOH 7:0.05:0.05 → 7:0.35:0.35. Παραλαμβάνονται 286 mg (64%) του φωσφινικού οξέος **1α** ως κολλώδες στερεό.

TLC *R_f* (CHCl₃:MeOH:AcOH : 7/0.5/0.5): 0.39.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.14 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, OCH₂CH₃), 1.27 (dd, *J* = 7.4, 16.5 Hz, 3H, PCHCH₃), 3.47 (dq, *J* = 7.4, 17.6 Hz, 1H, PCH), 3.96 (dq, *J* = 2.1, 7.1 Hz, 2H,

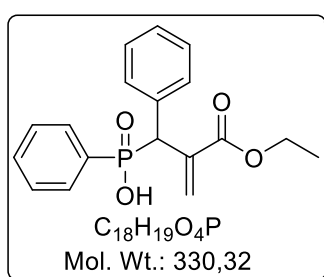
OCH₂CH₃), 5.71 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H, C=CHH), 6.28 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H, C=CHH), 7.24 – 7.75 ppm (m, 5H, Ar) [136].

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 13.5, 13.6, 13.9, 34.8 (d, ¹*J*_{PC} = 96 Hz), 60.9, 127.0, 127.2, 127.8, 128.0, 129.3, 131.8, 131.8, 131.9, 132.0, 137.8, 137.9, 166.1, 166.2 [136].

³¹P NMR (81 MHz, CDCl₃) δ 44.6 [136].

HRMS (m/z): [M + H]⁺ υπολογίστηκε για C₁₃H₁₈O₄P⁺ 291.0756, βρέθηκε 291.0757.

[3-(Αιθοξυκαρβονυλο)βουτ-3-εν-2-υλο](φαινυλο)φωσφινικό οξύ (1β) [136]



Η ένωση **1β** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο αλλυλικής υποκατάστασης των ακετυλιωμένων παραγώγων **4** σε κλίμακα (185 mg, 1.30 mmol) του φωσφινικού οξέος **5**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης CHCl₃:MeOH:AcOH 7:0.05:0.05 → 7:0.3:0.3. Παραλαμβάνονται 215 mg (50%) του φωσφινικού οξέος **1β** ως κολλώδες στερεό.

TLC *R_f* (CHCl₃:MeOH:AcOH : 7/0.5/0.5): 0.48.

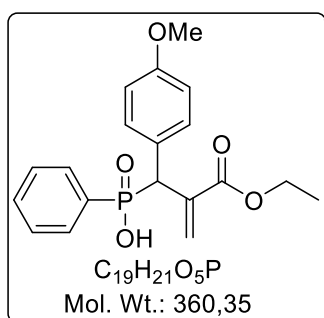
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.17 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, OCH₂CH₃), 4.05 (dq, *J* = 2.2, 7.2 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 4.58 (d, *J* = 17.0 Hz, 1H, PCH), 6.36 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H, C=CHH), 6.37 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H, C=CHH), 7.05 – 7.74 ppm (m, 10H, Ar) [136].

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 14.0, 47.4 (d, ¹*J*_{PC} = 96 Hz), 61.2, 127.1, 127.2, 127.8, 128.0, 128.1, 128.2, 128.4, 128.9, 129.0, 129.2, 129.8, 129.9, 129.9, 131.5, 131.7, 131.9, 132.0, 132.3, 134.2, 134.3, 135.6, 135.7, 141.8, 142.0, 165.9, 166.2 [136].

³¹P NMR (81 MHz, CDCl₃) δ 42.4 [136].

HRMS (m/z): [M + H]⁺ υπολογίστηκε για C₁₈H₂₀O₄P⁺ 331.1091, βρέθηκε 331.1094.

[2-(Αιθοξυκαρβονυλο)-1-(4-μεθοξυφαινυλο)αλλυλο](φαινυλο)φωσφινικό οξύ (1γ)



Η ένωση **1γ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο αλλυλικής υποκατάστασης των ακετυλιωμένων παραγώγων **4** σε κλίμακα (256 mg, 1.80 mmol) του φωσφινικού οξέος **5**. Χρησιμοποιήθηκαν 2 eq_{iv} του ακετυλιωμένου παραγώγου **4γ**.

Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{AcOH}$ 7:0.025:0.025 \rightarrow 7:0.2:0.2. Παραλαμβάνονται 188 mg (29%) του φωσφινικού οξέος **1y** ως κολλώδες στερεό.

TLC R_f ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{AcOH}$: 7/0.5/0.5): 0.35.

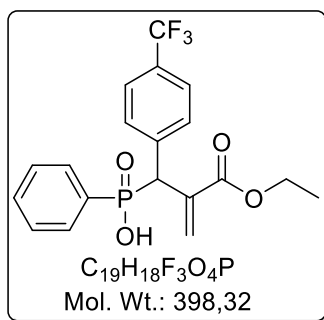
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.15 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 3.67 (s, 3H, CH_3OPh), 3.97 - 4.10 (m, 2H, OCH_2CH_3), 4.53 (d, $J = 17.0$ Hz, 1H, CHP), 6.35 (d, $J = 6.3$ Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHH}$), 6.36 (d, $J = 6.3$ Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHH}$), 6.65 – 6.73 & 7.11 – 7.19 & 7.23 – 7.56 (m, 9H, αρωματικά), 11.41 (br s, 1H, POH)

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 14.0, 46.6 (d, $^1J_{\text{PC}} = 98.0$ Hz), 55.0, 61.1, 113.61, 113.63, 126.3, 126.4, 127.8, 128.0, 128.5, 128.6, 130.6, 130.9, 131.0, 131.6, 131.7, 131.82, 131.84, 131.8, 132.0, 136.15, 136.17, 158.71, 158.74, 166.1, 166.2.

^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 40.2.

HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ υπολογίστηκε για $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NaO}_5\text{P}^+$ 383.1019, βρέθηκε 383.1011.

{2-(Αιθοξυκαρβονυλο)-1-(4-τριφθορομεθυλο)φαινυλο]αλλυλο}(φαινυλο)φωσφινικό οξύ (**1δ**)



Η ένωση **1δ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο αλλυλικής υποκατάστασης των ακετυλιωμένων παραγώγων **4** σε κλίμακα (195 mg, 1.37 mmol) του φωσφινικού οξέος **5**. Χρησιμοποιήθηκαν 2 eqivn του ακετυλιωμένου παραγώγου **4δ**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{AcOH}$ 7:0.025:0.025 \rightarrow 7:0.2:0.2. Παραλαμβάνονται 280 mg (51%) του φωσφινικού οξέος **1δ** ως

κολλώδες στερεό.

TLC R_f ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{AcOH}$: 7/0.5/0.5): 0.45.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.16 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 3.92 – 4.10 (m, 2H, OCH_2CH_3), 4.63 (d, $J = 16.9$ Hz, 1H, CHP), 6.35 (d, $J = 2.2$ Hz, 2H, $\text{C}=\text{CH}_2$), 7.20 – 7.70 (m, 9H, Ar).

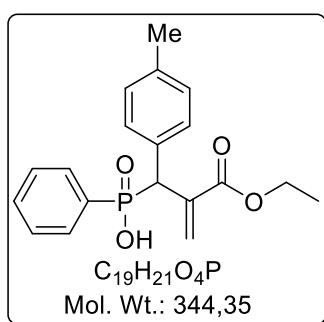
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 14.0, 47.6 (d, $J_{CP} = 97$ Hz), 61.4, 124.2 (q, $^1J_{CF} = 272$ Hz), 125.1 (q, $^1J_{CF} = 1.6$ Hz), 128.1, 128.3, 129.4, 130.2, 130.3, 131.6, 131.8, 132.35, 132.41, 135.36, 135.41, 138.9, 139.0, 166.8, 167.0.

³¹P NMR (81 MHz, CDCl₃) δ 41.6.

¹⁹F NMR (188 MHz, CDCl₃) δ -63.0.

HRMS (m/z): [M + H]⁺ υπολογίστηκε για C₁₉H₁₉F₃O₄P⁺ 399.0968, βρέθηκε 399.0965.

[2-(Αιθοξυκαρβονυλο)-1-(p-τολυλο)αλλυλο](φαινυλο)φωσφινικό οξύ (1ε)



Η ένωση **1ε** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο αλλυλικής υποκατάστασης των ακετυλιωμένων παραγώγων **4** σε κλίμακα (586 mg, 4.13 mmol) του φωσφινικού οξέος **5**. Χρησιμοποιήθηκαν 2 eq_{iv} του ακετυλιωμένου παραγώγου **4ε**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης CHCl₃:MeOH:AcOH 7:0.05:0.05 → 7:0.4:0.4. Παραλαμβάνονται 1.32 g (93%) του φωσφινικού οξέος **1ε** ως κρυσταλλικό στερεό.

Σ.Τ.: 152–157 °C

TLC *R_f* (CHCl₃:MeOH:AcOH : 7/0.5/0.5): 0.06.

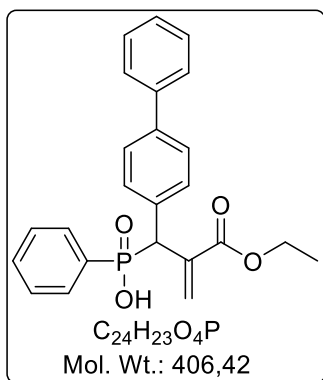
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.16 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH₂CH₃), 2.20 (s, 3H, CH₃C₆H₄), 4.04 (qd, $J = 1.7, 7.1$ Hz, 2H, OCH₂), 4.54 (d, $J = 16.9$ Hz, 1H, PCH), 6.32 & 6.34 (2×d, $J = 5.0$ Hz, 2H, C=CH₂), 6.87 – 7.59 (m, 9H, Ar), 9.86 (br s, 1H, OH).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 14.0, 21.0, 47.3 (d, $^1J_{PC} = 97.5$ Hz, PCH₂), 61.1, 127.8, 128.0, 128.9, 128.9, 129.7, 129.8, 129.9, 131.3, 131.4, 131.6, 131.7, 131.8, 131.9, 132.5, 135.9, 136.0, 136.66, 136.72, 166.0, 166.2.

³¹P NMR (81 MHz, CDCl₃) δ 42.3.

HRMS (m/z): [M + Na]⁺ υπολογίστηκε για C₁₉H₂₁NaO₄P⁺ 367.1070, βρέθηκε 367.1070.

[1-([1,1'-διφαινυλο]-4-υλο)-2-(αιθοξυκαρβονυλο)αλλυλο](φαινυλο)φωσφινικό οξύ (1ζ)



Η ένωση **1z** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο αλλυλικής υποκατάστασης των ακετυλιωμένων παραγώγων **4** σε κλίμακα (256 mg, 1.80 mmol) του φωσφινικού οξέος **5**. Χρησιμοποιήθηκαν 2 eqivn του ακετυλιωμένου παραγώγου **4z**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης $CHCl_3:MeOH:AcOH$ 7:0.025:0.025 → 7:0.2:0.2. Παραλαμβάνονται 280 mg (38%) του φωσφινικού οξέος **1z** ως κρυσταλλικό στερεό.

Σ.τ.: 70–73 °C

TLC R_f ($CHCl_3:MeOH:AcOH$: 7/0.5/0.5): 0.38.

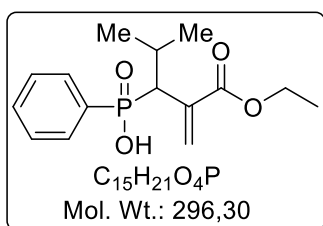
1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 1.18 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 3.98 – 4.13 (m, 2H, OCH_2CH_3), 4.67 (d, $J = 16.9$ Hz, 1H, PCH), 6.39 & 6.44 (2×d, $J = 2.8$ Hz, 2H, $C=CH_2$), 7.20 – 7.61 (m, 14H, Ar), 11.71 (br s, 1H, POH).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 14.1, 47.3 (d, $^1J_{PC} = 96.7$ Hz), 61.3, 126.92, 126.94, 127.1, 127.3, 128.0, 128.1, 128.8, 129.0, 129.1, 130.3, 130.4, 130.5, 131.7, 131.76, 131.83, 132.0, 132.1, 133.6, 133.7, 135.88, 135.90, 139.9, 140.0, 140.68, 140.70, 166.1, 166.2.

^{31}P NMR (162 MHz, $CDCl_3$) δ 40.7.

HRMS (m/z): $[M + Na]^+$ υπολογίστηκε για $C_{24}H_{23}NaO_4P^+$ 429.1226, βρέθηκε 429.1224.

[2-(Αιθοξυκαρβονυλο)-4-μεθυλοπεντ-1-εν-3-υλο](φαινυλο)φωσφινικό οξύ (**1η**)



Η ένωση **1η** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο αλλυλικής υποκατάστασης των ακετυλιωμένων παραγώγων **4** σε κλίμακα (250 mg, 1.76 mmol) του φωσφινικού οξέος **5**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης $CHCl_3:MeOH:AcOH$ 7:0.025:0.025 → 7:0.2:0.2.

Παραλαμβάνονται 392 mg (76%) του φωσφινικού οξέος **1η** ως κρυσταλλικό στερεό.

Σ.τ.: 101–103 °C

TLC R_f ($CHCl_3:MeOH:AcOH$: 7/0.5/0.5): 0.60.

1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 0.88 & 0.97 [2×d, $J = 6.7$ Hz, 6H, $CH(CH_3)_2$], 1.13 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 2.25 (sept, $J = 7.0$ Hz, 1H, Me_2CH), 3.34 (dd, $J = 7.0, 16.4$ Hz, 1H,

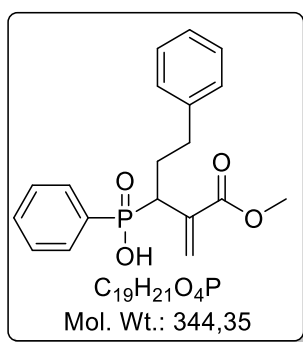
CHP), 3.99 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, OCH₂CH₃), 5.94 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H, HHC=C), 6.33 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H, HHC=C), 7.25 – 7.47 & 7.55 – 7.49 (m, 5H, Ar), 11.94 (s, 1H, POH).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 14.2, 20.4, 20.6, 22.5, 22.6, 28.9, 29.0, 45.9 (d, ¹J_{CP} = 98 Hz), 61.1, 127.9, 128.1, 129.3, 129.4, 131.69, 131.74, 131.9, 132.5 (d, ¹J_{CP} = 130 Hz), 134.96, 135.03, 166.7, 166.8.

³¹P NMR (81 MHz, CDCl₃) δ 46.0.

HRMS (m/z): [M + H]⁺ υπολογίστηκε για C₁₅H₂₂O₄P⁺ 297.1250, βρέθηκε 297.1249.

[2-(Μεθοξυκαρβονυλο)-5-φαινυλοπεντ-1-εν-3-υλο](φαινυλο)φωσφινικό οξύ (**10**)



Η ένωση **10** παρασκευάστηκε σύμφωνα με την γενική μέθοδο αλλυλικής υποκατάστασης των ακετυλιωμένων παραγώγων **4** σε κλίμακα (155 mg, 1.09 mmol) του φωσφινικού οξέος **5**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης CHCl₃:MeOH:AcOH 7:0.025:0.025 → 7:0.2:0.2. Παραλαμβάνονται 294 mg (78%) του φωσφινικού οξέος **10** ως κολλώδες στερεό.

TLC R_f (CHCl₃:MeOH:AcOH : 7/0.5/0.5): 0.55.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.70 - 2.01 (m, 1H, PCHCHH), 2.04 - 2.31 (m, 1H, PCHCHH), 2.33 – 2.68 (m, 2H, CH₂Ph), 3.40 (ddd, $J = 3.7, 11.2, 17.5$ Hz, 1H, PCH), 3.51 (s, 3H, OCH₃), 5.76 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H, C=CHH), 6.35 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H, C=CHH), 6.95 – 7.05 & 7.09 – 7.48 & 7.51 – 7.70 (m, 10H, Ar).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 29.8, 33.2, 33.5, 40.3 (d, ¹J_{PC} = 96 Hz), 52.0, 125.9, 127.8, 128.0, 128.3, 128.4, 129.2, 131.8, 131.89, 131.94, 132.0, 135.5, 135.6, 141.1, 166.7, 166.8.

³¹P NMR (81 MHz, CDCl₃) δ 42.8.

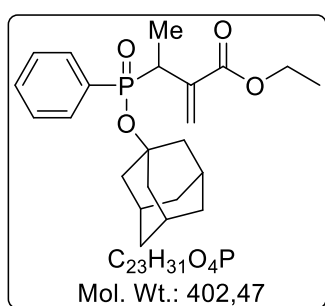
HRMS (m/z): [M + Na]⁺ υπολογίστηκε για C₁₉H₂₁NaO₄P⁺ 367.1070, βρέθηκε 367.1063.

5.2.7 Γενική μέθοδος αδαμαντυλίωσης φωσφινικών οξέων τύπου **1**

Το φωσφινικό οξύ τύπου **3** διαλύεται σε CHCl₃ (12 mL/mmol), το μίγμα βράζεται υπό αναρροή και προστίθεται Ag₂O (1.0 equiv) και AdBr (1.0 equiv) σε 5 δόσεις για διάστημα

1 h. Η αντίδραση παρακολουθείται με χρωματογραφία TLC έως ότου διαπιστωθεί η πλήρης κατανάλωση της αρχικής ύλης (~2-3 h). Εάν απαιτηθεί, προστίθεται επιπλέον ποσότητα Ag_2O (0.1 equiv) και AdBr (0.1 equiv). Ακολουθεί συμπύκνωση του μίγματος και προσθήκη AcOEt . Το μίγμα διηθείται από celite και στη συνέχεια το διήθημα συμπυκνώνεται. Το προϊόν τύπου **3** παραλαμβάνεται έπειτα από χρωματογραφικό καθαρισμό.

3-[(Αδαμαντυλ-1-υλοξυ)(φαινυλο)φωσφορυλο]-2-μεθυλενοβουτανοϊκός αιθυλεστέρας (**3a**)



Η ένωση **3a** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο αδαμαντυλίωσης φωσφινικών οξέων τύπου **1** σε κλίμακα (76 mg, 0.28 mmol) του φωσφινικού οξέος **1a**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE (40-60°C)/ AcOEt 80:20 \rightarrow 70:30. Παραλαμβάνονται 84 mg (73%) του φωσφινικού εστέρα **3a** ως κολλώδες στερεό.

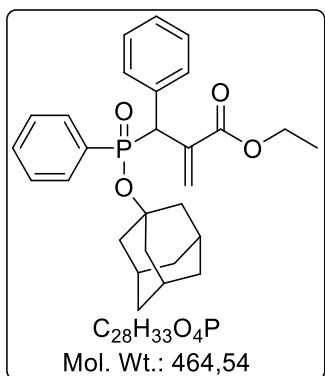
TLC R_f (PE: AcOEt 3:1): 0.52.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.12 & 1.22 (2 \times t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 1.19 & 1.32 (2 \times d, $J = 7.1$ Hz, 3H, CHCH_3), 1.43 – 1.54 & 1.83 – 2.08 (m, 15H, Ad), 3.30 – 3.59 (m, 1H, PCH), {[3.95 (q, $J = 7.1$ Hz)] & [3.98 – 4.16 (m)]}, 2H, OCH_2CH_3 }, {[5.56 (d, $J = 5.2$ Hz)] & [5.76 (d, $J = 5.0$ Hz)]}, 1H, $\text{C}=\text{CHH}$ }, {[6.19 (d, $J = 5.4$ Hz)] & [6.36 (d, $J = 5.3$ Hz)]}, 1H, $\text{C}=\text{CHH}$ }, 7.24 – 7.51 & 7.57 & 7.83 (m, 5H, Ar).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 13.3* (d, $J_{\text{PC}} = 1.1$ Hz), 13.7 (d, $J_{\text{PC}} = 3.7$ Hz), 14.1, 14.2*, 31.0*, 31.1, 35.6, 35.70*, 35.71, 35.5* (d, $J_{\text{PC}} = 98.3$ Hz), 35.7 (d, $J_{\text{PC}} = 99.5$ Hz), 44.2 (d, $J_{\text{PC}} = 3.9$ Hz), 44.4* (d, $J = 3.8$ Hz), 60.85, 60.91*, 82.5* (d, $J = 9.8$ Hz), 82.7 (d, $J = 9.7$ Hz), 126.1* (d, $J_{\text{PC}} = 8.2$ Hz), 126.5 (d, $J_{\text{PC}} = 8.6$ Hz), 127.8 (d, $J_{\text{PC}} = 12.3$ Hz), 128.2* (d, $J_{\text{PC}} = 12.4$ Hz), 131.7 (d, $J_{\text{PC}} = 2.8$ Hz), 131.8* (d, $J_{\text{PC}} = 2.9$ Hz), 132.1* (d, $J_{\text{PC}} = 9.5$ Hz), 132.2 (d, $^1J_{\text{PC}} = 123.1$ Hz), 132.6 (d, $J_{\text{PC}} = 9.3$ Hz), 133.4* (d, $^1J_{\text{PC}} = 122.2$ Hz), 138.48 (d, $J_{\text{PC}} = 4.0$ Hz), 138.48* (d, $J_{\text{PC}} = 8.9$ Hz), 166.6 (d, $^3J_{\text{PC}} = 5.0$ Hz), 166.8* (d, $^3J_{\text{PC}} = 4.0$ Hz).

^{31}P NMR (81 MHz, CDCl_3) δ 38.2, 39.4.

2-[[[(Αδαμανταν-1-υλοξυ)(φαινυλο)φωσφορυλο](φαινυλο)μεθυλο}ακρυλικός αιθυλεστέρας (3β).



Η ένωση **3β** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο αδαμαντυλίωσης φωσφινικών οξέων τύπου **1** σε κλίμακα (173 mg, 0.52 mmol) του φωσφινικού οξέος **1β**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE (40-60°C)/AcOEt 80:20 → 75:25. Παραλαμβάνονται 165 mg (68%) του φωσφινικού εστέρα **3β** ως κολλώδες στερεό.

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.30.

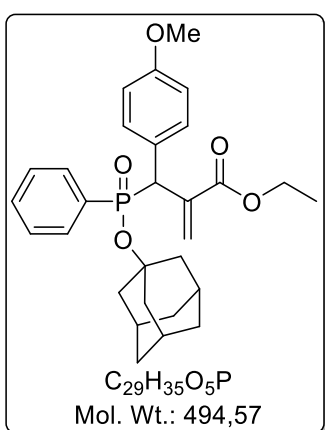
1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 1.09 & 1.24 (2 × t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 1.36 – 1.61 & 1.65 – 1.82 & 1.88 – 2.15 (m, 15H, Ad), {[3.95 (q, $J = 7.1$ Hz)] & [4.05 – 4.23 (m)]}, 2H, OCH_2CH_3 }, 4.55 & 4.59 (2 × d, $J = 17.1$ Hz, 1H, PCH), {[6.61 (d, $J = 3.1$ Hz)] & [6.55 (d, $J = 2.9$ Hz)] & [6.59 – 6.63 (m)]}, 2H, $C=CH_2$ }, 7.03 – 7.82 (m, 10H, Ar).

^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 13.9, 14.1*, 31.0, 31.1*, 35.6, 35.7*, 44.0 (d, $J_{PC} = 3.8$ Hz), 44.3* (d, $J_{PC} = 3.8$ Hz), 47.6 (d, $^1J_{PC} = 100.3$ Hz), 47.9* (d, $^1J_{PC} = 99.7$ Hz), 61.0, 61.1*, 83.0 (d, $J = 9.6$ Hz), 126.8 (d, $J_{PC} = 2.6$ Hz), 127.0 (d, $J_{PC} = 2.3$ Hz), 127.9* (d, $J_{PC} = 12.3$ Hz), 128.0 (d, $J_{PC} = 12.6$ Hz), 128.4* (d, $J_{PC} = 6.8$ Hz), 129.2 (d, $J_{PC} = 6.8$ Hz), 130.0* (d, $J_{PC} = 6.7$ Hz), 130.2 (d, $J_{PC} = 5.9$ Hz), 131.6* (d, $J_{PC} = 2.8$ Hz), 131.7 (d, $J_{PC} = 2.8$ Hz), 131.8* (d, $J_{PC} = 9.6$ Hz), 132.0 (d, $J_{PC} = 9.6$ Hz), 133.4* (d, $^1J_{PC} = 127.7$ Hz), 133.8 (d, $^1J_{PC} = 126.3$ Hz), 134.8* (d, $J_{PC} = 1.9$ Hz), 135.3 (d, $J_{PC} = 8.2$ Hz), 135.8 (d, $J_{PC} = 2.3$ Hz), 136.7* (d, $J_{PC} = 5.7$ Hz), 166.1 (d, $^3J_{PC} = 12.7$ Hz), 166.6 (d, $^3J_{PC} = 9.7$ Hz).

^{31}P NMR (81 MHz, $CDCl_3$) δ 34.2, 36.3.

HRMS (m/z): $[M + Na]^+$ υπολογίστηκε για $C_{28}H_{33}NaO_4P^+$ 487.2009, βρέθηκε 487.2008.

2-[[[(Αδαμανταν-1-υλοξυ)(φαινυλο)φωσφορυλο](4-μεθοξυφαινυλο)μεθυλο}ακρυλικός αιθυλεστέρας (3γ)



Η ένωση **3γ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο αδαμαντυλίωσης φωσφινικών οξέων τύπου **1** σε κλίμακα (175 mg, 0.49 mmol) του φωσφινικού οξέος **1γ**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE (40-

60°C)/AcOEt 85:15 → 60:40. Παραλαμβάνονται 176 mg (73%) του φωσφινικού εστέρα **3γ** ως κολλώδες στερεό.

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.25.

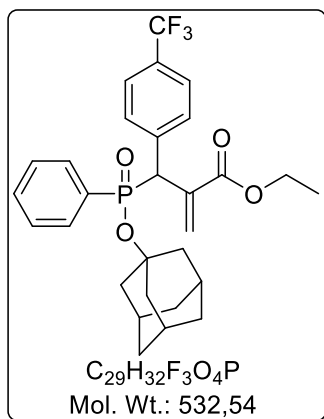
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.08 & 1.23 (2 × t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH₂CH₃), 1.43 – 1.47 & 1.50 – 1.55 & 1.69 – 1.80 & 1.90 - 2.07 (m, 15H, Ad), 3.66 & 3.76 (2 × s, 3H, OCH₃), {[3.87 – 4.00 (m)] & [4.06 – 4.21 (m)]}, 2H, OCH₂CH₃}, 4.48 & 4.52 (2 × d, $J = 16.8$ Hz, 1H, PCH), {[6.36 (d, $J = 3.1$ Hz)] & [6.50 (d, $J = 2.1$ Hz)]} 1H, C=CHH}, [6.53 – 6.56 (m)], 1H, C=CHH}, 6.59 – 6.64 & 6.80 – 6.85 & 7.07 & 7.76 (m, 9H, Ar).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 14.0, 14.2*, 31.0, 31.1*, 35.7, 35.8*, 44.1 (d, $J_{PC} = 3.9$ Hz), 44.3* (d, $J_{PC} = 3.7$ Hz), 46.8 (d, $^1J_{PC} = 101.1$ Hz), 47.1* (d, $^1J_{PC} = 100.5$ Hz), 55.1, 55.2*, 61.0, 61.1*, 82.8* (d, $J_{PC} = 9.8$ Hz), 82.9 (d, $J_{PC} = 9.8$ Hz), 113.50* (d, $J_{PC} = 2.0$ Hz), 113.52 (d, $J_{PC} = 2.0$ Hz), 126.8* (d, $J_{PC} = 1.8$ Hz), 127.4 (d, $J_{PC} = 8.3$ Hz), 127.9* (d, $J_{PC} = 12.6$ Hz), 128.0 (d, $J_{PC} = 12.7$ Hz), 128.03*, 128.8 (d, $J_{PC} = 6.6$ Hz), 131.1* (d, $J_{PC} = 6.9$ Hz), 131.2 (d, $J_{PC} = 5.8$ Hz), 131.5* (d, $J_{PC} = 2.9$ Hz), 131.6 (d, $J_{PC} = 2.7$ Hz), 131.9* (d, $J_{PC} = 9.4$ Hz), 132.1 (d, $J_{PC} = 9.6$ Hz), 133.7* (d, $^1J_{PC} = 127.2$ Hz), 134.0 (d, $^1J_{PC} = 125.1$ Hz), 136.3 (d, $J_{PC} = 2.6$ Hz), 137.1* (d, $J_{PC} = 5.4$ Hz), 158.5 (d, $J_{PC} = 2.3$ Hz), 158.7* (d, $J_{PC} = 2.7$ Hz), 166.2 (d, $^3J_{PC} = 12.7$ Hz), 166.7* (d, $^3J_{PC} = 9.5$ Hz).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 33.2, 35.3.

HRMS (m/z): [M + Na]⁺ υπολογίστηκε για C₂₉H₃₅NaO₅P⁺ 517.2114, βρέθηκε 517.2114.

2-[[[(Αδαμανταν-1-υλοξυ)(φαινυλο)φωσφορυλο][4-(τριφθορομεθυλο)φαινυλο]μεθυλο}ακρυλικός αιθυλεστέρας (**3δ**)



Η ένωση **3δ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο αδαμαντυλίωσης φωσφινικών οξέων τύπου **1** σε κλίμακα (230 mg, 0.58 mmol) του φωσφινικού οξέος **1δ**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE (40-60°C)/AcOEt 80:20 → 75:25. Παραλαμβάνονται συνολικά 307 mg (100%) από τα δύο ισομερή του φωσφινικού εστέρα **3δ** τα οποία διαχωρίστηκαν πλήρως κατά τον χρωματογραφικό καθαρισμό.

Το πρώτο εκλούόμενο ισομερές παρελήφθη ως κολλώδες στερεό:

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.32.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 1.25 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 1.52 – 1.58 & 1.69 – 1.80 & 1.91 - 2.13 (m, 15H, Ad), 4.08 – 4.22 (m, 2H, OCH_2CH_3), 4.59 (d, $J = 17.1$ Hz, 1H, PCH), 6.59 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H, C=CHH), 6.66 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H, C=CHH), 7.25 – 7.43 & 7.52 – 7.59 (m, 9H, Ar).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 14.2, 31.3, 35.8, 44.4 (d, $J_{\text{PC}} = 3.8$ Hz), 48.1 (d, $^1J_{\text{PC}} = 99.2$ Hz), 61.4, 83.6 (d, $J_{\text{PC}} = 9.6$ Hz), 124.2 (qd, $^1J_{\text{CF}} = 273.2$, $J_{\text{PC}} = 1.1$ Hz), 125.0 (qd, $^3J_{\text{CF}} = 3.8$, $J_{\text{PC}} = 1.9$ Hz), 128.2 (d, $J_{\text{PC}} = 12.7$ Hz), 128.9 (d, $J_{\text{PC}} = 6.7$ Hz), 129.2 (qd, $^2J_{\text{CF}} = 32.3$, $J_{\text{PC}} = 2.6$ Hz), 130.4 (d, $J_{\text{PC}} = 6.6$ Hz), 131.9 (d, $J_{\text{PC}} = 9.4$ Hz), 132.0 (d, $J_{\text{PC}} = 2.6$ Hz), 133.2 (d, $^1J_{\text{PC}} = 128.4$ Hz), 136.4 (d, $J_{\text{PC}} = 5.6$ Hz), 139.4 (p, $J = 1.5$ Hz), 166.5 (d, $^3J_{\text{PC}} = 9.5$ Hz).

$^{31}\text{P NMR}$ (162 MHz, CDCl_3) δ 33.7.

Το δεύτερο εκλούόμενο ισομερές παρελήφθη ως κρυσταλλικό στερεό:

Σ.Τ.: 139–141 °C

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.25.

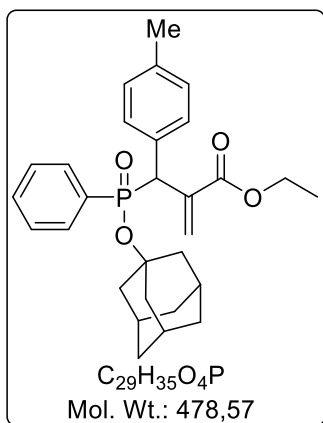
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 1.11 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 1.42 – 1.52 & 1.66 – 1.79 & 1.95 - 2.00 (m, 15H, Ad), 3.93 – 4.01 (m, 2H, OCH_2CH_3), 4.66 (d, $J = 17.1$ Hz, 1H, PCH), 6.44 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H, C=CHH), 6.65 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H, C=CHH), 7.37 – 7.63 & 7.73 – 7.81 (m, 9H, Ar).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 14.0, 31.2, 35.7, 44.2 (d, $J_{\text{PC}} = 3.9$ Hz), 47.6 (d, $^1J_{\text{PC}} = 99.5$ Hz), 61.3, 83.6 (d, $J_{\text{PC}} = 9.5$ Hz), 124.4 (qd, $^1J_{\text{CF}} = 271.9$, $J_{\text{PC}} = 0.8$ Hz), 125.1 (qd, $^3J_{\text{CF}} = 3.7$, $J_{\text{PC}} = 1.8$ Hz), 128.3 (d, $J_{\text{PC}} = 12.7$ Hz), 129.9 (d, $J_{\text{PC}} = 6.7$ Hz), 129.4 (qd, $^2J_{\text{CF}} = 32.3$, $J_{\text{PC}} = 2.5$ Hz), 130.6 (d, $J_{\text{PC}} = 6.7$ Hz), 132.2 (d, $J_{\text{PC}} = 9.5$ Hz), 132.0 (d, $J_{\text{PC}} = 2.9$ Hz), 133.5 (d, $^1J_{\text{PC}} = 127.5$ Hz), 135.5 (d, $J_{\text{PC}} = 2.1$ Hz), 140.0 (dq, $^5J_{\text{CF}} = 1.4$, $J_{\text{PC}} = 8.1$ Hz), 166.0 (d, $^3J_{\text{PC}} = 12.7$ Hz).

$^{31}\text{P NMR}$ (162 MHz, CDCl_3) δ 32.5.

HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ υπολογίστηκε για $\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{F}_3\text{NaO}_4\text{P}^+$ 533.2063, βρέθηκε 533.2068.

**2-[(Αδαμανταν-1-υλοξυ)(φαινυλο)φωσφορυλο](*p*-τολουολο)μεθυλο}ακρυλικός
αιθυλεστέρας (3ε)**



Η ένωση **3ε** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο αδαμαντυλίωσης φωσφινικών οξέων τύπου **1** σε κλίμακα (172 mg, 0.50 mmol) του φωσφινικού οξέος **1ε**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE (40-60°C)/AcOEt 85:15 → 75:25. Παραλαμβάνονται συνολικά 171 mg (71%) από τα δύο ισομερή του φωσφινικού εστέρα **3ε** τα οποία διαχωρίστηκαν μερικώς κατά τον χρωματογραφικό καθαρισμό (47 mg του 1^{ου} εκλουόμενου ισομερούς, 80 mg του 2^{ου} εκλουόμενου ισομερούς, 44 mg μίγματος).

Το πρώτο εκλουόμενο ισομερές παρελήφθη ως κολλώδες στερεό:

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.26.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.26 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH₂CH₃), 1.52 – 1.60 & 1.91 – 2.15 (m, 15H, Ad), 2.20 (s, 3H, ArCH₃), 4.08 – 4.25 (m, 2H, OCH₂CH₃), 4.59 (d, $J = 17.5$ Hz, 1H, PCH), 6.53 & 6.57 (2 × d, $J = 2.8$ Hz, 1H, C=CH₂), 6.91 & 7.10 (2 × d, $J = 7.7$ Hz, 1H, Ar), 7.24 – 7.41 & 7.54 – 7.63 (m, 9H, Ar).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 14.3, 21.1 (d, $J_{PC} = 0.8$ Hz), 31.2, 35.9, 44.4 (d, $J_{PC} = 3.8$ Hz), 47.6 (d, $^1J_{PC} = 100$ Hz), 61.2, 82.9 (d, $J_{PC} = 9.8$ Hz), 128.0 (d, $J_{PC} = 12.7$ Hz), 128.3 (d, $J_{PC} = 6.7$ Hz), 128.9 (d, $J_{PC} = 1.8$ Hz), 130.0 (d, $J_{PC} = 6.9$ Hz), 131.6 (d, $J_{PC} = 2.9$ Hz), 131.9 (d, $J_{PC} = 1.8$ Hz), 132.0 (d, $J_{PC} = 9.4$ Hz), 133.8 (d, $^1J_{PC} = 127.2$ Hz), 136.5 (d, $J_{PC} = 2.6$ Hz), 137.1 (d, $J_{PC} = 5.8$ Hz), 166.8 (d, $^3J_{PC} = 9.4$ Hz).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 35.2.

Το δεύτερο εκλουόμενο ισομερές παρελήφθη ως κρυσταλλικό στερεό:

Σ.Τ.: 148–150 °C

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.20.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.10 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH₂CH₃), 1.43 – 1.51 & 1.71 – 1.83 & 1.95 – 2.02 (m, 15H, Ad), 2.32 (s, 3H, ArCH₃), 3.89 – 4.02 (m, 2H, OCH₂CH₃), 4.56 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H, PCH), 6.39 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H, C=CHH), 6.58 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H, C=CHH), 7.07 – 7.13 & 7.31 – 7.49 & 7.70 – 7.78 (m, 9H, Ar).

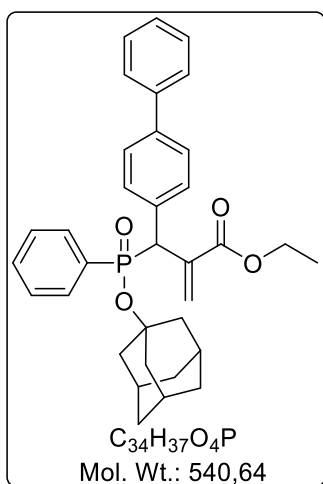
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 14.1, 21.2, 31.1, 35.8, 44.2 (d, $J_{PC} = 3.7$ Hz), 47.3 (d, $^1J_{PC} = 100.8$ Hz), 61.1, 82.9 (d, $J_{PC} = 9.5$ Hz), 128.1 (d, $J_{PC} = 12.4$ Hz), 128.9 (d, $J_{PC} = 2.0$ Hz), 129.1 (d, $J_{PC} = 6.8$ Hz), 130.1 (d, $J_{PC} = 6.0$ Hz), 131.6 (d, $J_{PC} = 2.7$ Hz), 132.2 (d, J_{PC}

= 9.4 Hz), 132.5 (d, $J_{PC} = 8.3$ Hz), 134.5 (d, $^1J_{PC} = 125.6$ Hz), 136.2 (d, $J_{PC} = 2.2$ Hz), 136.6 (d, $J_{PC} = 2.5$ Hz), 166.3 (d, $^3J_{PC} = 12.7$ Hz).

^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 33.1.

HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ υπολογίστηκε για $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{NaO}_4\text{P}^+$ 479.2346, βρέθηκε 479.2352.

2- $\{[1,1'$ -Διφαινυλο]-4-υλο[(αδαμανταν-1-υλοξυ)(φαινυλο)φωσφορυλο]μεθυλο}ακρυλικός αιθυλεστέρας (3ζ)



Η ένωση **3ζ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο αδαμαντυλίωσης φωσφινικών οξέων τύπου **1** σε κλίμακα (252 mg, 0.62 mmol) του φωσφινικού οξέος **1ζ**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE (40-60°C)/AcOEt 85:15 \rightarrow 70:30. Παραλαμβάνονται συνολικά 137 mg (41%) από τα δύο ισομερή του φωσφινικού εστέρα **3ζ** τα οποία διαχωρίστηκαν μερικώς κατά τον χρωματογραφικό καθαρισμό (56 mg του 1^{ου} εκλουόμενου ισομερούς, 66 mg του 2^{ου} εκλουόμενου ισομερούς, 15 mg μίγματος).

Το πρώτο εκλουόμενο ισομερές παρελήφθη ως κολλώδες στερεό:

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.28.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.28 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 1.51 – 1.62 & 1.94 – 2.13 (m, 15H, Ad), 4.11 – 4.26 (m, 2H, OCH_2CH_3), 4.61 (d, $J = 17.4$ Hz, 1H, PCH), 6.60 & 6.67 (2 \times d, $J = 2.9$ Hz, 1H, $\text{C}=\text{CH}_2$), 7.24 - 7.43 & 7.47 – 7.53 & 7.58 – 7.65 (m, 14H, Ar).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 14.3, 31.3, 35.9, 44.5 (d, $J_{PC} = 3.9$ Hz), 47.8 (d, $^1J_{PC} = 99.6$ Hz), 61.3, 83.2 (d, $J_{PC} = 9.6$ Hz), 126.8 (d, $J_{PC} = 1.9$ Hz), 127.0 (d, $J_{PC} = 0.7$ Hz), 127.3, 128.0 (d, $J_{PC} = 12.6$ Hz), 128.6 (d, $J_{PC} = 6.7$ Hz), 128.8, 130.5 (d, $J_{PC} = 6.7$ Hz), 131.7 (d, $J_{PC} = 2.9$ Hz), 132.0 (d, $J_{PC} = 9.3$ Hz), 133.6 (d, $^1J_{PC} = 127.8$ Hz), 134.1 (d, $J_{PC} = 2.0$ Hz), 136.9 (d, $J_{PC} = 5.5$ Hz), 139.7 (d, $J_{PC} = 2.9$ Hz), 140.8 (d, $J_{PC} = 1.1$ Hz), 166.8 (d, $^3J_{PC} = 9.5$ Hz).

^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 35.0.

Το δεύτερο εκλουόμενο ισομερές παρελήφθη ως κολλώδες στερεό:

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.19.

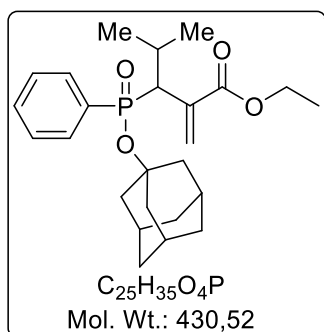
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.13 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 1.43 – 1.52 & 1.72 – 1.86 & 1.94 – 2.02 (m, 15H, Ad), 3.93 – 4.05 (m, 2H, OCH_2CH_3), 4.67 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H, PCH), 6.46 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHH}$), 6.67 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHH}$), 7.30 – 7.64 & 7.76 – 7.84 (m, 14H, Ar).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 14.1, 31.1, 36.7, 44.2 (d, $J_{\text{PC}} = 3.7$ Hz), 47.4 (d, $^1J_{\text{PC}} = 100.4$ Hz), 61.2, 83.2 (d, $J_{\text{PC}} = 9.5$ Hz), 127.1, 127.3, 128.2 (d, $J_{\text{PC}} = 12.5$ Hz), 128.8, 129.5 (d, $J_{\text{PC}} = 6.7$ Hz), 130.7 (d, $J_{\text{PC}} = 5.8$ Hz), 131.8 (d, $J_{\text{PC}} = 2.8$ Hz), 132.2 (d, $J_{\text{PC}} = 9.6$ Hz), 133.9 (d, $^1J_{\text{PC}} = 127.8$ Hz), 134.6 (d, $J_{\text{PC}} = 8.4$ Hz), 135.9 (d, $J_{\text{PC}} = 2.2$ Hz), 139.9 (d, $J_{\text{PC}} = 2.5$ Hz), 141.0 (d, $J_{\text{PC}} = 1.0$ Hz), 166.3 (d, $^3J_{\text{PC}} = 12.7$ Hz).

^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 33.1.

HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ υπολογίστηκε για $\text{C}_{34}\text{H}_{38}\text{O}_4\text{P}^+$ 541.2502, βρέθηκε 541.2503.

3-[(Αδαμαντυλ-1-υλοξυ)(φαινυλο)φωσφορυλο]-4-μεθυλο-2-μεθυλενοπεντανοϊκός αιθυλεστέρας (3η)



Η ένωση **3η** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο αδαμαντυλίωσης φωσφινικών οξέων τύπου **1** σε κλίμακα (342 mg, 1.16 mmol) του φωσφινικού οξέος **1η**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE (40-60°C)/AcOEt 80:20 → 60:40. Παραλαμβάνονται 497 mg (95%) του φωσφινικού εστέρα **3η** ως κολλώδες στερεό.

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.38.

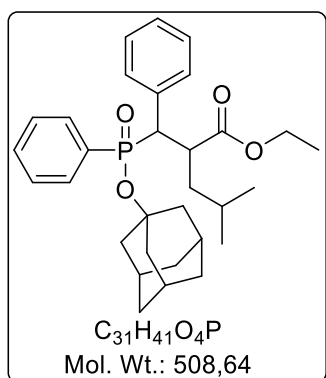
^1H NMR (200 MHz, CD_3OD) δ 0.84 & 0.91 & 1.00 & 1.19 [4×d, $J = 6.7$ Hz, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$], 1.10 & 1.28 (2 × t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 1.47 – 1.67 & 1.81 – 2.10 (m, 15H, Ad), 2.14 & 2.38 (2 × sept, $J = 6.9$ Hz, 1H, Me_2CH), 3.30 – 3.41 (m, 1H, CHP), 3.96 & 4.17 (2 × q, $J = 7.1$ Hz, 2H, OCH_2CH_3), {[5.93 (d, $J = 4.7$ Hz)] & [6.02 (d, $J = 4.4$ Hz)]}, 1H, $\text{C}=\text{CHH}$ }, {[6.28 (d, $J = 5.3$ Hz)] & [6.54 (d, $J = 4.8$ Hz)]}, 1H, $\text{C}=\text{CHH}$ }, 7.38 – 7.70 & 7.77 – 7.85 (m, 5H, Ar).

^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 14.4, 14.6, 21.2 (d, $J_{\text{PC}} = 2.5$ Hz), 21.4 (d, $J_{\text{PC}} = 3.4$ Hz), 22.9 (d, $J_{\text{PC}} = 7.9$ Hz), 23.1 (d, $J_{\text{PC}} = 6.9$ Hz), 29.8, 30.9 (d, $J_{\text{PC}} = 3.9$ Hz), 32.45, 32.53, 36.7, 45.4 (d, $J_{\text{PC}} = 3.8$ Hz), 45.6 (d, $J_{\text{PC}} = 3.9$ Hz), 47.8 (d, $^1J_{\text{PC}} = 89.2$ Hz), 62.1, 62.2,

5.2.8 Γενική μέθοδος ριζικής αλκυλίωσης τύπου Giese με το σύστημα Et₃B/O₂/TBTH

Διάλυμα του παραγώγου τύπου **3** (1.0 equiv) σε CH₂Cl₂ (5mL/mmol) ψύχεται σε θερμοκρασία 0 °C. Στη συνέχεια, προστίθεται ⁱPrI (2.0 equiv), ⁿBu₃SnH (1.5 equiv) και Et₃B 1M (0.5 equiv). Ακολουθεί η προσθήκη επιπλέον ποσότητας Et₃B 1M (0.5 equiv) έπειτα από 1 h. Έπειτα από 30 min, νέες ποσότητες αντιδραστηρίων προστίθενται ακολουθώντας την προαναφερθείσα διαδικασία. Οι αντιδράσεις παρακολουθούνται με TLC [PE (40-60°C)/AcOEt 3:1] και στις περιπτώσεις που δεν έχουν ολοκληρωθεί προστίθενται νέες ποσότητες αντιδραστηρίων με την ίδια ακριβώς διαδικασία που περιγράφεται παραπάνω, έως ότου διαπιστωθεί η πλήρης κατανάλωση της αρχικής ύλης (~2-3 h). Στη συνέχεια, προστίθεται AcOEt (20 mL/mmol) και 2M HCl (10 mL/mmol) και η οργανική φάση διαχωρίζεται, εκπλένεται με 2M HCl, κορ. διάλυμα NaCl, ξηραίνεται υπεράνω Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται. Τα τελικά προϊόντα τύπου **16** απομονώνονται από το ελαιώδες μίγμα που προκύπτει όπως περιγράφεται για κάθε περίπτωση ξεχωριστά.

2-[[[(Αδαμαντυλ-1-υλοξυ)(φαινυλο)φωσφορυλο](φαινυλο)μεθυλο]-4-μεθυλοπεντανοϊκός αιθυλεστέρας (**16β**).



Η ένωση **16β** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο ριζικής αλκυλίωσης Giese φωσφινικών παραγώγων τύπου **3** με το σύστημα Et₃B/O₂/TBTH σε κλίμακα (97 mg, 0.21 mmol) του φωσφινικού εστέρα **3β**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE (40-60°C)/AcOEt/ⁱPrOH 95:5:1 → 85:15:1. Παραλαμβάνονται 67 mg (63%) του φωσφινικού εστέρα **16β** (μίγμα 2 ισομερών) ως κολλώδες στερεό.

TLC *R_f* (PE:AcOEt 3:1): 0.26.

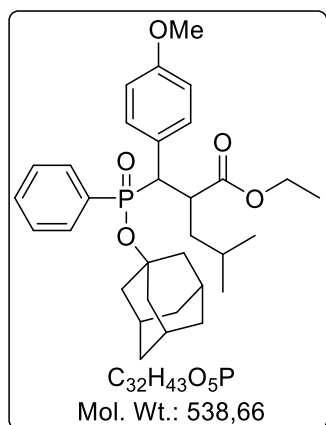
¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ {[0.81 & 0.95 (2 × d, *J* = 6.5 Hz)], [0.98* & 1.05* (d, *J* = 6.6 Hz)], 6H, [(CH₃)₂CH]}, 0.85 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, OCH₂CH₃), 1.28 – 1.68 [m, 7H, (CH₃)₂CH, Ad], 1.46 – 1.56 & 1.77 – 1.89 & 1.96 – 2.12 & 2.21 – 2.31 (m, 11H, CH₂CHCO, Ad), 3.20 – 3.51 (m, 2H, PCHCHCO), 3.72 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 7.10 – 7.20 & 7.22 – 7.28 & 7.33 & 7.56 (m, 10H, Ar).

¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ 14.07, 14.08*, 24.2, 24.5*, 28.0, 28.1*, 32.6, 32.7*, 36.7, 36.8*, 42.5 (d, *J*_{PC} = 1.4 Hz), 42.6* (d, *J*_{PC} = 1.4 Hz), 45.5 (d, *J*_{PC} = 3.7 Hz), 45.9* (d, *J*_{PC} = 3.8 Hz), 47.3, 47.5* (d, *J*_{PC} = 1.8 Hz), 52.1* (d, *J* = 100.6 Hz), 53.0 (d, *J* = 99.2 Hz), 61.31*, 61.34, 84.8 (d, *J*_{PC} = 10.3 Hz), 85.5* (d, *J*_{PC} = 10.3 Hz), 128.0 (d, *J*_{PC} = 3.0 Hz), 128.2 (d, *J*_{PC} = 2.9 Hz), 128.8* (d, *J*_{PC} = 2.2 Hz), 128.9 (d, *J*_{PC} = 2.6 Hz), 129.0* (d, *J*_{PC} = 13.0 Hz), 129.3 (d, *J*_{PC} = 12.7 Hz), 131.4 (d, *J*_{PC} = 6.6 Hz), 131.5* (d, *J*_{PC} = 5.5 Hz), 132.90* (d, *J*_{PC} = 9.4 Hz), 132.92* (d, *J*_{PC} = 2.9 Hz), 133.1* (d, *J*_{PC} = 9.7 Hz), 133.3 (d, *J*_{PC} = 2.9 Hz), 134.1* (d, ¹*J*_{PC} = 129.0 Hz), 135.0 (d, ¹*J*_{PC} = 126.5 Hz), 136.3* (d, *J*_{PC} = 1.8 Hz), 137.2 (d, *J*_{PC} = 6.7 Hz), 175.3 (d, ³*J*_{PC} = 18.2 Hz), 175.5* (d, ³*J*_{PC} = 17.8 Hz).

³¹P NMR (162 MHz, CD₃OD) δ 37.1, 39.3.

HRMS (m/z): [M + Na]⁺ υπολογίστηκε για C₃₁H₄₁NaO₄P⁺ 531.2634, βρέθηκε 531.2647.

2-[[[(Αδαμαντυλ-1-υλοξυ)(φαινυλο)φωσφορυλο](4-μεθοξυφαινυλο)μεθυλο]-4-μεθυλοπεντανοϊκός αιθυλεστέρας (16γ).



Η ένωση **16γ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο ριζικής αλκυλίωσης Giese φωσφινικών παραγώγων τύπου **3** με το σύστημα Et₃B/O₂/TBTH σε κλίμακα (98 mg, 0.20 mmol) του φωσφινικού εστέρα **3γ**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE (40-60°C)/AcOEt/iPrOH 95:5:1 → 85:15:1. Παραλαμβάνονται 81 mg (76%) του φωσφινικού εστέρα **16γ** (μίγμα 2 ισομερών) ως κολλώδες στερεό.

TLC *R_f* (PE:AcOEt 3:1): 0.28.

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ {[0.82 & 0.95 (2 × d, *J* = 6.5 Hz)], [0.98* & 1.04* (d, *J* = 6.6 Hz)], 6H, [(CH₃)₂CH]}, 0.88 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, OCH₂CH₃), 1.31 – 1.42 & 1.45 – 1.67 [m, 7H, (CH₃)₂CH, Ad], 1.47 – 1.59 & 1.77 – 1.89 & 1.76 – 2.12 & 2.19 – 2.29 (m, 11H, CH₂CHCO, Ad), [3.17 (dd, *J* = 10.8, 13.3 Hz)], [3.38 – 3.46 (m)], 2H, PCHCHCO}, 3.63* & 3.74 (2 × s, 3H, OCH₃), 3.75 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH₂CH₃), {[6.56* (d, *J* = 8.4 Hz)], [6.74 (d, *J* = 8.4 Hz)], [6.90* (dd, *J* = 2.4, 8.8 Hz)], [7.03 (dd, *J* = 1.8, 8.4 Hz)], [7.24 – 7.31 & 7.33 – 7.41 & 7.44 & 7.54 (m, 9H, Ar)]}.

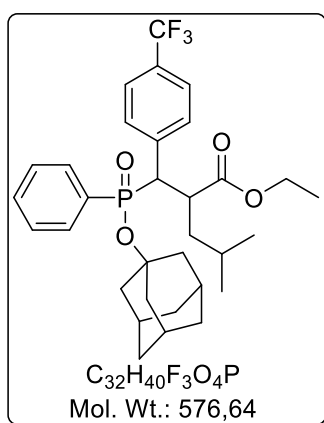
¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ 14.1, 21.65, 21.73*, 24.2, 24.4*, 28.0, 28.2*, 36.7, 36.8*, 32.6, 32.7*, 42.4, 42.6*, 45.6 (d, *J*_{PC} = 3.9 Hz), 45.9* (d, *J*_{PC} = 3.8 Hz), 47.4, 47.5* (d, *J*_{PC}

= 1.5 Hz), 51.0* (d, $J = 101.5$ Hz), 52.1 (d, $J = 100.2$ Hz), 55.5*, 55.7, 61.3*, 61.4, 84.8 (d, $J_{PC} = 10.3$ Hz), 85.4* (d, $J_{PC} = 10.5$ Hz), 114.26* (d, $J_{PC} = 2.4$ Hz), 114.32 (d, $J_{PC} = 2.3$ Hz), 127.8* (d, $J_{PC} = 2.0$ Hz), 128.7 (d, $J_{PC} = 6.7$ Hz), 129.0* (d, $J_{PC} = 12.7$ Hz), 129.2 (d, $J_{PC} = 12.6$ Hz), 132.46* (d, $J_{PC} = 6.5$ Hz), 132.53 (d, $J_{PC} = 5.7$ Hz), 132.86* (d, $J_{PC} = 9.3$ Hz), 132.89* (d, $J_{PC} = 3.2$ Hz), 133.15 (d, $J_{PC} = 9.5$ Hz), 133.21* (d, $J_{PC} = 2.9$ Hz), 134.3* (d, $^1J_{PC} = 129.3$ Hz), 135.0 (d, $^1J_{PC} = 126.4$ Hz), 160.2* (d, $J_{PC} = 2.9$ Hz), 160.5 (d, $J_{PC} = 2.7$ Hz), 175.4 (d, $^3J_{PC} = 18.3$ Hz), 175.6* (d, $^3J_{PC} = 17.6$ Hz).

^{31}P NMR (162 MHz, CD_3OD) δ 37.5, 39.6.

HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ υπολογίστηκε για $\text{C}_{32}\text{H}_{43}\text{NaO}_5\text{P}^+$ 561.2740, βρέθηκε 561.2751.

2-[[[(Αδαμαντυλ-1-υλοξυ)(φαινυλο)φωσφορυλο][4-(τριφθορομεθυλο)φαινυλο]μεθυλο]-4-μεθυλοπεντανοϊκός αιθυλεστέρας (16δ).



Η ένωση **16δ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο ριζικής αλκυλίωσης Giese φωσφινικών παραγώγων τύπου **3** με το σύστημα $\text{Et}_3\text{B}/\text{O}_2/\text{TBTH}$ με χρήση και των δύο ισομερών του φωσφινικού εστέρα **3δ**, ξεχωριστά:

α) με χρήση του ισομερούς **I** σε κλίμακα (57 mg, 0.11 mmol) του φωσφινικού εστέρα **3δ**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE (40-60°C)/AcOEt 95:5 → 85:15. Παραλαμβάνονται 39 mg (63%) του φωσφινικού εστέρα **16δ-I**

ως κρυσταλλικό στερεό.

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.37.

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 0.88 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 0.99 & 1.05 [2 × d, $J = 6.5$ Hz, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$], 1.43 – 1.55 [m, 1H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$], 1.55 – 1.69 [m, 6H, Ad], 1.83 (ddd, $J = 3.6, 11.3, 13.5$ Hz, 1H, CHHCHCO), 1.97 – 2.14 (m, 9H, Ad), 2.25 (ddd, $J = 3.4, 10.4, 13.5$ Hz, 1H, CHHCHCO), 3.42 – 3.58 (m, 2H, PCHCHCO), 3.75 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, OCH_2CH_3), 7.17 – 7.23 & 7.25 – 7.33 & 7.37 – 7.43 & 7.45 – 7.52 (m, 9H, Ar).

^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 14.0, 21.7, 24.4, 28.1, 32.7, 36.7, 42.6 (d, $J_{PC} = 1.5$ Hz), 45.9 (d, $J_{PC} = 3.9$ Hz), 47.3 (d, $J_{PC} = 2.4$ Hz), 52.0 (d, $^1J_{PC} = 100.0$ Hz), 61.5, 86.1 (d, $J_{PC} = 10.2$ Hz), 125.5 (qd, $^1J_{CF} = 271.2$, $J_{PC} = 1.3$ Hz), 125.6 (qd, $^3J_{CF} = 4.0$, $J_{PC} = 2.5$ Hz), 129.2 (d, $J_{PC} = 13.0$ Hz), 130.2 (qd, $^2J_{CF} = 32.2$, $J_{PC} = 3.1$ Hz), 132.0 (d, $J_{PC} = 6.3$ Hz),

132.9 (d, $J_{PC} = 9.6$ Hz), 133.3 (d, $J_{PC} = 3.0$ Hz), 133.7 (d, $^1J_{PC} = 129.7$ Hz), 141.2 (p, $J = 1.4$ Hz), 175.1 (d, $^3J_{PC} = 17.1$ Hz).

^{31}P NMR (162 MHz, CD_3OD) δ 38.2 (q, $J_{PF} = 2.4$ Hz).

^{19}F NMR (188 MHz, CD_3OD) δ -64.2.

β) με χρήση του ισομερούς **II** σε κλίμακα (68 mg, 0.13 mmol) του φωσφινικού οξέος **3δ**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE (40-60°C)/AcOEt 95:5 \rightarrow 85:15. Παραλαμβάνονται 44 mg (60%) του φωσφινικού εστέρα **16δ-II** ως κολλώδες στερεό.

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.30.

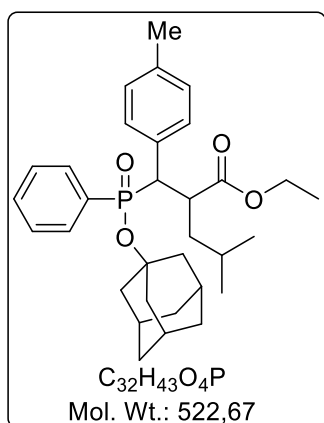
^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 0.88 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 0.99 & 1.05 [2 \times d, $J = 6.5$ Hz, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$], 1.43 – 1.55 [m, 1H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$], 1.55 – 1.69 [m, 6H, Ad], 1.83 (ddd, $J = 3.6, 11.3, 13.5$ Hz, 1H, CHHCHCO), 1.97 – 2.14 (m, 9H, Ad), 2.25 (ddd, $J = 3.4, 10.4, 13.5$ Hz, 1H, CHHCHCO), 3.42 – 3.58 (m, 2H, PCHCHCO), 3.75 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, OCH_2CH_3), 7.17 – 7.23 & 7.25 – 7.33 & 7.37 – 7.43 & 7.45 – 7.52 (m, 9H, Ar).

^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 14.0, 21.7, 24.4, 28.1, 32.7, 36.7, 42.6 (d, $J_{PC} = 1.5$ Hz), 45.9 (d, $J_{PC} = 3.9$ Hz), 47.3 (d, $J_{PC} = 2.4$ Hz), 52.0 (d, $^1J_{PC} = 100.0$ Hz), 61.5, 86.1 (d, $J_{PC} = 10.2$ Hz), 125.5 (qd, $^1J_{CF} = 271.2$, $J_{PC} = 1.3$ Hz), 125.6 (qd, $^3J_{CF} = 4.0$, $J_{PC} = 2.5$ Hz), 129.2 (d, $J_{PC} = 13.0$ Hz), 130.2 (qd, $^2J_{CF} = 32.2$, $J_{PC} = 3.1$ Hz), 132.0 (d, $J_{PC} = 6.3$ Hz), 132.9 (d, $J_{PC} = 9.6$ Hz), 133.3 (d, $J_{PC} = 3.0$ Hz), 133.7 (d, $^1J_{PC} = 129.7$ Hz), 141.2 (p, $J = 1.4$ Hz), 175.1 (d, $^3J_{PC} = 17.1$ Hz).

^{31}P NMR (162 MHz, CD_3OD) δ 38.2 (q, $J_{PF} = 2.4$ Hz).

HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ υπολογίστηκε για $\text{C}_{32}\text{H}_{40}\text{F}_3\text{NaO}_4\text{P}^+$ 599.2508, βρέθηκε 599.2523.

2-[[**(Αδαμαντυλ-1-υλοξυ)(φαινυλο)φωσφορυλο**](**p**-τολουολο)μεθυλο]-4-μεθυλοπεντανοϊκός αιθυλεστέρας (**16ε**).



Η ένωση **16ε** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο ριζικής αλκυλίωσης Giese φωσφινικών παραγώγων τύπου **3** με το σύστημα $\text{Et}_3\text{B}/\text{O}_2/\text{TBTH}$ με χρήση και των δύο ισομερών του φωσφινικού εστέρα **3ε**, ξεχωριστά:

α) με χρήση του ισομερούς **I** σε κλίμακα (44 mg, 0.092 mmol) του φωσφινικού εστέρα **3ε**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE (40-60°C)/AcOEt/iPrOH 95:5:1 → 85:15:1. Παραλαμβάνονται 25 mg (52%) του φωσφινικού οξέος **16ε-I** ως κρυσταλλικό στερεό.

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.37.

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 0.86 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH₂CH₃), 0.98 & 1.04 [2 × d, $J = 6.5$ Hz, 6H, (CH₃)₂CH], 1.42 – 1.54 [m, 1H, (CH₃)₂CH], 1.54 – 1.67 [m, 6H, Ad], 1.76 – 1.85 (m, 1H, CHHCHCO), 1.95 – 2.11 (m, 9H, Ad), 2.13 (s, 3H, ArCH₃), 2.25 (ddd, $J = 3.6, 10.5, 13.7$ Hz, 1H, CHHCHCO), 3.32 – 3.47 (m, 2H, PCHCHCO), 3.73 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, OCH₂CH₃), {[6.81 (d, $J = 8.0$ Hz)], [6.87 (dd, $J = 2.2, 8.2$ Hz)], [7.23 – 7.30 & 7.34 – 7.41 & 7.43 & 7.51 (m, 9H, Ar)]}.

¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ 14.1, 20.9, 21.7, 24.4, 28.1, 32.7, 36.8, 42.6 (d, $J_{PC} = 1.4$ Hz), 45.9 (d, $J_{PC} = 3.8$ Hz), 47.5 (d, $J_{PC} = 1.7$ Hz), 51.6 (d, $^1J_{PC} = 101.0$ Hz), 61.3, 85.4 (d, $J_{PC} = 10.5$ Hz), 129.0 (d, $J_{PC} = 12.8$ Hz), 129.5 (d, $J_{PC} = 2.5$ Hz), 131.3 (d, $J_{PC} = 6.6$ Hz), 132.90 (d, $J_{PC} = 3.0$ Hz), 132.91 (d, $J_{PC} = 9.4$ Hz), 133.0 (d, $J_{PC} = 1.8$ Hz), 134.2 (d, $^1J_{PC} = 129.0$ Hz), 137.9 (d, $J_{PC} = 3.3$ Hz), 175.6 (d, $^3J_{PC} = 17.7$ Hz).

³¹P NMR (162 MHz, CD₃OD) δ 39.5.

β) με χρήση του ισομερούς **II** σε κλίμακα (68 mg, 0.14 mmol) του φωσφινικού εστέρα **3ε**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE (40-60°C)/AcOEt/iPrOH 95:5:1 → 85:15:1. Παραλαμβάνονται 55 mg (74%) του φωσφινικού οξέος **16ε-II** ως κολλώδες στερεό.

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.29.

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 0.82 & 0.95 [2 × d, $J = 6.5$ Hz, 6H, (CH₃)₂CH], 0.86 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH₂CH₃), 1.31 – 1.42 [m, 1H, (CH₃)₂CH], 1.48 – 1.63 [m, 7H, CHHCHCO, Ad], 1.82 – 1.91 (m, 7H, CHHCHCO, Ad), 1.99 – 2.07 (m, 3H, Ad), 2.27 (d, $J = 1.9$ Hz, 3H, ArCH₃), 3.19 (dd, $J = 10.8, 13.3$ Hz, 1H, PCH), 3.40 (ddd, $J = 3.7, 10.8, 14.4$ Hz, 1H, CHCO), 3.73 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, OCH₂CH₃), 6.99 (s) & 7.32 – 7.38 & 7.46 – 7.53 (m, 9H, Ar).

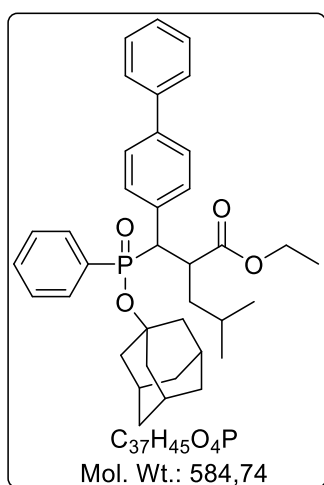
¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ 14.1, 21.1, 21.7, 24.2, 28.0, 32.6, 36.7, 42.5 (d, $J_{PC} = 1.4$ Hz), 45.5 (d, $J_{PC} = 3.7$ Hz), 47.3, 52.6 (d, $^1J_{PC} = 99.6$ Hz), 61.3, 84.7 (d, $J_{PC} = 10.3$ Hz), 129.2 (d, $J_{PC} = 12.6$ Hz), 129.5 (d, $J_{PC} = 2.5$ Hz), 131.4 (d, $J_{PC} = 5.6$ Hz), 133.15 (d, $J_{PC} =$

9.4 Hz), 133.21 (d, $J_{PC} = 2.7$ Hz), 133.9 (d, $J_{PC} = 6.7$ Hz), 134.9 (d, $^1J_{PC} = 126.3$ Hz), 138.1 (d, $J_{PC} = 3.0$ Hz), 175.3 (d, $^3J_{PC} = 18.2$ Hz).

^{31}P NMR (162 MHz, CD_3OD) δ 37.3.

HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ υπολογίστηκε για $\text{C}_{32}\text{H}_{43}\text{NaO}_4\text{P}^+$ 545.2791, βρέθηκε 545.2807.

2- $\{[1,1'$ -Διφαινυλο]-4-υλο[(αδαμαντυλ-1-υλοξυ)(φαινυλο)φωσφορυλο]μεθυλο}-4-μεθυλοπεντανοϊκός αιθυλεστέρας (16ζ).



Η ένωση **16ζ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο ριζικής αλκυλίωσης Giese φωσφινικών παραγώγων τύπου **3** με το σύστημα $\text{Et}_3\text{B}/\text{O}_2/\text{TBTH}$ με χρήση και των δύο ισομερών του φωσφινικού εστέρα **3ζ**, ξεχωριστά:

α) με χρήση του ισομερούς **I** σε κλίμακα (51 mg, 0.095 mmol) του φωσφινικού εστέρα **3ζ**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE (40-60°C)/AcOEt/ PrOH 95:5:1 \rightarrow 85:15:1. Παραλαμβάνονται 37 mg (67%) του φωσφινικού εστέρα **16ζ-I** ως κρυσταλλικό στερεό.

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.36.

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 0.86 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 1.00 & 1.06 [2 \times d, $J = 6.5$ Hz, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$], 1.46 – 1.55 [m, 1H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$], 1.56 – 1.70 [m, 6H, Ad], 1.79 – 1.89 (m, 1H, CHHCHCO), 1.95 – 2.15 (m, 9H, Ad), 2.23 – 2.35 (m, 1H, CHHCHCO), 3.39 – 3.54 (m, 2H, PCHCHCO), 3.73 – 3.80 (m, 2H, OCH_2CH_3), 7.04 – 7.09 & 7.24 – 7.55 (m, 14H, Ar).

128.6 (d, $J_{PC} = 6.7$ Hz), 128.8, 130.5 (d, $J_{PC} = 6.7$ Hz), 131.7 (d, $J_{PC} = 2.9$ Hz), 132.0 (d, $J_{PC} = 9.3$ Hz), 166.8 (d, $^3J_{PC} = 9.5$ Hz).

^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 14.1, 21.7, 24.5, 28.1, 32.7, 36.7, 42.6 (d, $J_{PC} = 1.5$ Hz), 45.9 (d, $J_{PC} = 4.0$ Hz), 47.4 (d, $J_{PC} = 1.8$ Hz), 51.8 (d, $^1J_{PC} = 100.5$ Hz), 61.4, 85.6 (d, $J_{PC} = 10.3$ Hz), 127.3 (d, $J_{PC} = 2.5$ Hz), 127.7, 128.3, 129.1 (d, $J_{PC} = 12.8$ Hz), 129.8, 131.9 (d, $J_{PC} = 6.7$ Hz), 132.95 (d, $J_{PC} = 9.5$ Hz), 133.01 (d, $J_{PC} = 3.0$ Hz), 134.1 (d, $^1J_{PC} = 129.4$ Hz), 135.3 (d, $J_{PC} = 1.9$ Hz), 141.1 (d, $J_{PC} = 3.3$ Hz), 141.7 (d, $J_{PC} = 1.2$ Hz), 175.5 (d, $^3J_{PC} = 17.8$ Hz).

³¹P NMR (162 MHz, CD₃OD) δ 39.2.

β) με χρήση του ισομερούς **II** σε κλίμακα (52 mg, 0.097 mmol) του φωσφινικού εστέρα **3ζ**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE (40-60°C)/AcOEt/iPrOH 95:5:1 → 85:15:1. Παραλαμβάνονται 39 mg (69%) του φωσφινικού εστέρα **16ζ-II** ως κολλώδεις στερεό.

TLC *R_f* (PE:AcOEt 3:1): 0.29.

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 0.83 & 0.97 [2 × d, *J* = 6.5 Hz, 6H, (CH₃)₂CH], 0.86 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, OCH₂CH₃), 1.32 – 1.45 [m, 1H, (CH₃)₂CH], 1.47 – 1.63 [m, 7H, CHHCHCO, Ad], 1.79 – 1.93 (m, 7H, CHHCHCO, Ad), 1.97 – 2.06 (m, 3H, Ad), 3.26 – 3.35 (m, overlap with CD₃OD, PCH), 3.40 (qd, *J* = 3.7, 11.1 Hz, 1H, CHCO), 3.77 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 7.18 – 7.24 & 7.28 – 7.61 (m, 14H, Ar).

¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ 14.1, 21.7, 24.2, 28.0, 32.6, 36.7, 42.56 (d, *J_{PC}* = 1.4 Hz), 45.6 (d, *J_{PC}* = 3.7 Hz), 47.3, 52.8 (d, ¹*J_{PC}* = 99.2 Hz), 61.4, 84.5 (d, *J_{PC}* = 10.2 Hz), 127.3 (d, *J_{PC}* = 2.5 Hz), 127.8, 128.4, 129.3 (d, *J_{PC}* = 12.7 Hz), 129.9, 132.0 (d, *J_{PC}* = 5.7 Hz), 133.2 (d, *J_{PC}* = 9.7 Hz), 133.3 (d, *J_{PC}* = 2.9 Hz), 134.9 (d, ¹*J_{PC}* = 126.8 Hz), 136.2 (d, *J_{PC}* = 6.9 Hz), 141.5 (d, *J_{PC}* = 3.0 Hz), 141.8 (d, *J_{PC}* = 1.1 Hz), 175.3 (d, ³*J_{PC}* = 18.1 Hz).

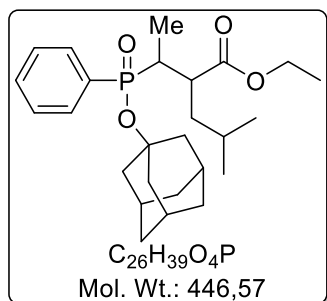
³¹P NMR (162 MHz, CD₃OD) δ 37.1.

HRMS (m/z): [M + Na]⁺ υπολογίστηκε για C₃₂H₄₃NaO₅P⁺ 607.2947, βρέθηκε 607.2956.

5.2.9 Γενική μέθοδος ριζικής αλκυλίωσης τύπου Giese με το σύστημα AIBN/NaBH₃CN

Σε σωλήνα υψηλής πίεσης που περιέχει διάλυμα NaBH₃CN (6.0 equiv) σε μεθανόλη (5 mL/mmol), προστίθεται το φωσφινικό παράγωγο τύπου **3** (1.0 equiv) και το τελικό μίγμα ψύχεται στους 0 °C και αναδεύεται. Ακολουθεί προσθήκη iPrI (3.0 equiv) και AIBN (0.1 equiv) υπό ατμόσφαιρα Ar. Ο σωλήνας υψηλής πίεσης σφραγίζεται και θερμαίνεται στους 80 °C (θερμοκρασία ελαιόλουτρου) για 1 h. Ακολουθεί ψύξη σε θερμοκρασία δωματίου και προσθήκη AcOEt (20 mL/mmol) και 2M HCl (10 mL/mmol). Η οργανική φάση διαχωρίζεται, εκπλένεται με 2M HCl (2 × 10 mL/mmol), κορ. διάλυμα NaCl (5 mL/mmol), ξηραίνεται υπεράνω Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται. Τα τελικά προϊόντα τύπου **16** απομονώνονται από το ελαιώδες μίγμα που προκύπτει όπως περιγράφεται για κάθε περίπτωση ξεχωριστά.

2-[1-[(Αδαμαντυλ-1-υλοξυ)(φαινυλο)φωσφορυλο]αιθυλο]-4-μεθυλοπεντανοϊκός αιθυλεστέρας (16α).



Η ένωση **16α** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο ριζικής αλκυλίωσης Giese φωσφινικών παραγώγων τύπου **16α** με το σύστημα AIBN/NaBH₃CN σε κλίμακα (69 mg, 0.17 mmol) του φωσφινικού εστέρα **3α**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE (40-60°C)/AcOEt/iPrOH 80:20:1 → 75:25:1. Παραλαμβάνονται 60 mg (78%) του φωσφινικού εστέρα **16α** (μίγμα 2 ισομερών) ως κολλώδες στερεό.

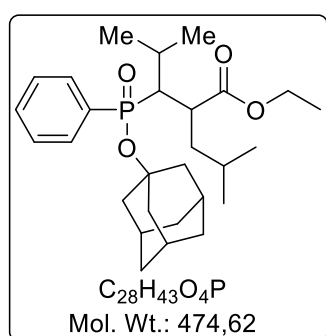
TLC *R_f* (PE:AcOEt 3:1): 0.30.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ {[0.75 & 0.79 (2 × d, *J* = 6.4 Hz)], [0.86* (d, *J* = 6.5 Hz)], 6H, [(CH₃)₂CH]}, {[0.99* (dd, *J* = 7.3, 17.9 Hz)], [1.17 (dd, *J* = 7.2, 16.7 Hz)], 3H, CHCH₃}, 1.22 & 1.23* (2 × t, *J* = 7.1 Hz, 3H, OCH₂CH₃), 1.28 – 1.49 [m, 1H, (CH₃)₂CH], 1.39 – 1.47 & 1.49 – 1.61 & 1.62 – 1.79 (m, 9H, CH₂CHCO, Ad), 1.92 – 2.16 [m, 11H, PCH, Ad], 2.56 & 2.76* (2 × tdd, *J* = 11.5, 6.6, 4.7 Hz, 1H, CHCO), 3.99 – 4.16 (m, 2H, OCH₂CH₃), 7.40 – 7.54 & 7.75 & 7.82 (m, 5H, Ar).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 11.0 (d, *J_{PC}* = 3.9 Hz), 11.3* (d, *J_{PC}* = 1.0 Hz), 14.30, 14.33*, 21.69*, 21.71, 23.2, 23.5*, 26.4, 26.6*, 31.3, 35.86*, 35.87, 37.5* (d, *J_{PC}* = 103.2 Hz), 37.8 (d, *J_{PC}* = 103.2 Hz), 40.3* (d, *J_{PC}* = 6.2 Hz), 40.6 (d, *J_{PC}* = 7.0 Hz), 43.3, 43.6 (d, *J_{PC}* = 1.3 Hz), 44.57* (d, *J_{PC}* = 4.0 Hz), 44.59 (d, *J_{PC}* = 3.9 Hz), 60.2*, 60.3, 83.0 (d, *J_{PC}* = 9.5 Hz), 83.2 (d, *J_{PC}* = 9.8 Hz), 128.26 (d, *J_{PC}* = 12.3 Hz), 128.32 (d, *J_{PC}* = 12.1 Hz), 131.84* (d, *J_{PC}* = 2.8 Hz), 131.86 (d, *J_{PC}* = 2.8 Hz), 132.2* (d, *J_{PC}* = 9.4 Hz), 132.3 (d, *J_{PC}* = 9.4 Hz), 133.5* (d, ¹*J_{PC}* = 121.6 Hz), 133.8 (d, ¹*J_{PC}* = 121.6 Hz), 174.3 (d, ³*J_{PC}* = 10.6 Hz), 174.5* (d, ³*J_{PC}* = 10.9 Hz).

³¹P NMR (81 MHz, CDCl₃) δ 40.7, 40.8*.

HRMS (m/z): [M + H]⁺ υπολογίστηκε για C₁₃H₁₈O₄P⁺ 447.2659, βρέθηκε 447.2659.



3-[(Αδαμαντυλ-1-υλοξυ)(φαινυλο)φωσφορυλο]-2-ισοβουτυλο-4-μεθυλοπεντανοϊκός αιθυλεστέρας (16η).

Η ένωση **16η** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο ριζικής αλκυλίωσης Giese φωσφινικών παραγώγων τύπου **3** με το σύστημα AIBN/NaBH₃CN σε κλίμακα (100 mg, 0.23 mmol) του φωσφινικού εστέρα **3η**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE (40-60°C)/AcOEt/iPrOH 95:5:0.5 → 80:20:1. Παραλαμβάνονται 44 mg (40%) του φωσφινικού εστέρα **16η** (μίγμα 2 ισομερών) ως κολλώδες στερεό.

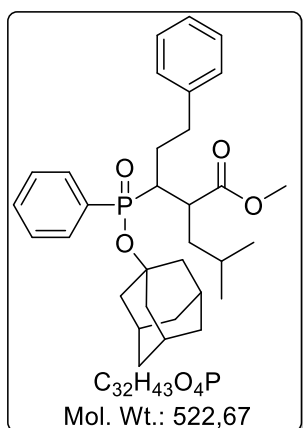
TLC *R_f* (PE:AcOEt 3:1): 0.46.

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ {[0.68 & 0.78 (2 × d, *J* = 6.3 Hz)], [0.94* & 0.98 (2 × d, *J* = 6.4 Hz)], 6H, CH₂CH(CH₃)₂}, {[0.85* & 0.99* (2 × d, *J* = 6.5 Hz)], [1.19 & 1.24 (2 × d, *J* = 6.9 Hz)], 6H, PCHCH(CH₃)₂}, 1.22 & 1.36* (2 × t, *J* = 7.1 Hz, 3H, OCH₂CH₃), {[1.26 – 1.32 (m, CH₂CHCO)], [1.38 – 1.44 (m, CHCH₂CHCO)], [1.64 – 1.80* (m, CHCHHCHCO)], [2.19* (ddd, *J* = 14.8, 10.8, 3.7 Hz, CHHCHCO)], 1.50 – 1.65 (m, 6H, Ad), 1.83 – 2.10 & 2.29 – 2.39 [m, 10H, PCHCH(CH₃)₂, Ad], {[2.28 (ddd, *J* = 2.8, 6.1, 13.3 Hz)], [2.52* (ddd, *J* = 3.6, 6.0, 14.8 Hz)], 1H, PCH}, {[2.73 (dddd, *J* = 15.4, 10.5, 6.1, 5.0 Hz)], [2.84* (dddd, *J* = 22.8, 10.8, 3.6, 2.5 Hz)], 1H, CHCO}, 3.96 – 4.05 & 4.14 – 4.28* (m, 2H, OCH₂CH₃), 7.39 – 7.69 & 7.74 & 7.86 (m, 5H, Ar).

¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ 14.4, 14.6*, 21.2* (d, *J_{PC}* = 7.2 Hz), 21.3 (d, *J_{PC}* = 9.4 Hz), 21.5, 21.9*, 22.6 (d, *J_{PC}* = 2.3 Hz), 23.0* (d, *J_{PC}* = 10.3 Hz), 23.8, 24.2*, 27.9, 28.6, 32.60*, 32.64, 36.8, 38.8* (d, *J_{PC}* = 5.3 Hz), 41.5 (d, *J_{PC}* = 6.5 Hz), 42.3* (d, *J_{PC}* = 4.2 Hz), 43.0 (d, *J_{PC}* = 2.7 Hz), 45.6* (d, *J_{PC}* = 3.7 Hz), 45.9 (d, *J_{PC}* = 3.7 Hz), 49.4* (d, *J_{PC}* = 101.8 Hz), 49.8 (d, *J_{PC}* = 99.9 Hz), 61.7, 61.8*, 85.2 (d, *J_{PC}* = 10.2 Hz), 85.3* (d, *J_{PC}* = 10.2 Hz), 129.6 (d, *J_{PC}* = 12.4 Hz), 129.7* (d, *J_{PC}* = 12.3 Hz), 132.8* (d, *J_{PC}* = 9.8 Hz), 133.1 (d, *J_{PC}* = 9.8 Hz), 133.2 (d, *J_{PC}* = 2.8 Hz), 136.9 (d, ¹*J_{PC}* = 120.6 Hz), 137.0 (d, ¹*J_{PC}* = 121.0 Hz), 176.2 (d, ³*J_{PC}* = 10.6 Hz), 176.3* (d, ³*J_{PC}* = 4.3 Hz).

³¹P NMR (81 MHz, CD₃OD) δ 40.4, 40.8*.

HRMS (m/z): [M + Na]⁺ υπολογίστηκε για C₂₈H₄₃NaO₄P⁺ 497.2791, βρέθηκε 497.2799.



3-[(Αδαμαντυλ-1-υλοξυ)(φαινυλο)φωσφορουλο]-2-ισοβουτυλο-5-φαινυλοπεντανοϊκός μεθυλεστέρας (**16θ**).

Η ένωση **16θ** παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενική μέθοδο ριζικής αλκυλίωσης Giese φωσφινικών παραγώγων τύπου **3** με το σύστημα AIBN/NaBH₃CN σε κλίμακα (80 mg, 0.17 mmol) του

φωσφινικού εστέρα **30**. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE (40-60°C)/AcOEt/PrOH 95:5:0.5 → 80:20:1. Παραλαμβάνονται 65 mg (74%) του φωσφινικού εστέρα **160**. Κατά τον χρωματογραφικό καθαρισμό κατέστη εφικτός ο διαχωρισμός των δύο ισομερών τα οποία χαρακτηρίστηκαν φασματοσκοπικά, όπως αναφέρεται παρακάτω:

Το πρώτο εκλουόμενο ισομερές παρελήφθη ως κολλώδες στερεό:

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.67.

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 0.86 & 0.88 [d, $J = 6.3$ Hz, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$], 1.40 – 1.47 [m, 2H, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCHH}$], 1.53 – 1.64 (m, 6H, Ad), 1.75 – 2.03 [m, 9H, Ad, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCHH}$, PCHCH_2], 2.03 – 2.10 (m, 3H, Ad), 2.28 (dtd, $J = 15.5, 5.8, 3.9$ Hz, 1H, PCH), 2.54 (2 × dt, $J = 13.6, 7.6$ Hz, 2H, PhCH_2), 2.89 (ddt, $J = 18.7, 9.6, 3.9$ Hz, 1H, CHCO), 3.68 (s, 3H, OCH_3), 6.84 – 6.90 & 7.07 – 7.18 & 7.48 – 7.64 & 7.70 – 7.78 (m, 10H, Ar).

^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 22.1 (d, $J_{\text{PC}} = 1.8$ Hz), 23.6 (d, $J_{\text{PC}} = 2.0$ Hz), 27.8, 28.6, 32.6, 35.1 (d, $J_{\text{PC}} = 8.4$ Hz), 36.7, 39.7 (d, $J_{\text{PC}} = 7.0$ Hz), 41.8 (d, $J_{\text{PC}} = 102.7$ Hz), 43.0 (d, $J_{\text{PC}} = 3.3$ Hz), 45.6 (d, $J_{\text{PC}} = 4.0$ Hz), 52.1, 85.0 (d, $J_{\text{PC}} = 10.0$ Hz), 127.0, 129.39, 129.44, 129.7 (d, $J_{\text{PC}} = 12.4$ Hz), 133.1 (d, $J_{\text{PC}} = 9.5$ Hz), 133.5 (d, $J_{\text{PC}} = 2.9$ Hz), 134.7 (d, $^1J_{\text{PC}} = 122.4$ Hz), 142.2, 176.0 (d, $^3J_{\text{PC}} = 4.7$ Hz).

^{31}P NMR (81 MHz, CD_3OD) δ 41.3.

Το δεύτερο εκλουόμενο ισομερές παρελήφθη ως κολλώδες στερεό:

TLC R_f (PE:AcOEt 3:1): 0.58.

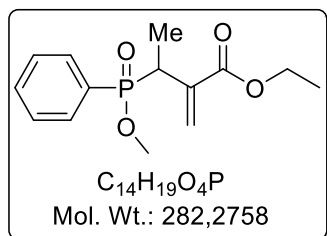
^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 0.62 & 0.66 [d, $J = 6.3$ Hz, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$], 1.07 – 1.17 [m, 2H, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCHH}$], 1.39 – 1.51 [m, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCHH}$], 1.54 – 1.69 (m, 6H, Ad), 1.96 – 2.23 (m, 12H, Ad, PCHCH_2), 2.56 (ddt, $J = 14.6, 9.1, 4.5$ Hz, 1H, CHCO), 2.78 – 2.84 (m, 2H, PhCH_2), 3.57 (s, 3H, OCH_3), 6.84 – 6.90 & 7.14 – 7.21 & 7.25 – 7.31 & 7.51 – 7.65 & 7.76 – 7.84 (m, 10H, Ar).

^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 22.1 (d, $J_{\text{PC}} = 2.8$ Hz), 22.9 (d, $J_{\text{PC}} = 2.5$ Hz), 27.1, 28.5 (d, $J_{\text{PC}} = 3.4$ Hz), 32.7, 36.0 (d, $J_{\text{PC}} = 5.0$ Hz), 36.8, 41.0 (d, $J_{\text{PC}} = 9.7$ Hz), 42.1 (d, $J_{\text{PC}} = 102.7$ Hz), 42.7 (d, $J_{\text{PC}} = 1.7$ Hz), 45.8 (d, $J_{\text{PC}} = 3.9$ Hz), 52.0, 84.9 (d, $J_{\text{PC}} = 9.9$ Hz), 127.2, 129.5, 129.69 (d, $J_{\text{PC}} = 12.4$ Hz), 129.70, 133.2 (d, $J_{\text{PC}} = 9.8$ Hz), 133.6 (d, $J_{\text{PC}} = 2.8$ Hz), 134.6 (d, $^1J_{\text{PC}} = 121.8$ Hz), 142.9, 175.8 (d, $^3J_{\text{PC}} = 6.2$ Hz).

³¹P NMR (81 MHz, CD₃OD) δ 42.2.

HRMS (m/z): [M + Na]⁺ υπολογίστηκε για C₃₂H₄₃NaO₄P⁺ 545.2791, βρέθηκε 545.2805.

3-[Μεθοξυ(φαινυλο)φωσφορυλο]-2-μεθυλενοβουτανοϊκός αιθυλεστέρας (12α).



Στην ένωση **3α** (200 mg, 0.75 mmol) προστίθεται DMF (2.8 mL) και ακολουθεί προσθήκη K₂CO₃ (113 mg, 0.82 mmol) και CH₃I (387 mg, 170 μL, 2.73 mmol) και το μίγμα αναδεύεται για 2 d. Έπειτα γίνεται προσθήκη H₂O και AcOEt και ακολουθεί απομάκρυνση της υδατικής φάσης, εκπλύσεις με υδατικό διάλυμα 5% NaHCO₃, υδατικό διάλυμα 1M HCl και κορεσμένο διάλυμα NaCl. Η οργανική φάση ξηραίνεται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται. Το προϊόν **12α** παραλαμβάνεται σε καθαρή μορφή χωρίς χρωματογραφικό καθαρισμό. Παραλαμβάνονται 204 mg (97%) του φωσφινικού εστέρα **12α** ως κολλώδες στερεό.

TLC *R_f* (PE:AcOEt 3:1): 0.2.

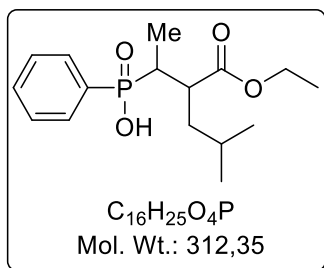
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.16 & 1.25 (2 × t, *J* = 7.1 Hz, 3H, OCH₂CH₃), 1.19 & 1.40 (2 × dd, *J* = 7.4, 16.5 Hz, 3H, CHCH₃), 3.47 – 3.71 (m, 1H, PCH), 3.59 & 3.66 (2 × d, *J* = 10.8 Hz, 3H, OCH₃), 3.93 – 4.24 (m, 2H, OCH₂CH₃), {[5.71 (d, *J* = 5.1 Hz)] & [5.88 (d, *J* = 4.9 Hz)] & [6.29 (d, *J* = 5.3 Hz)] & [6.45 (d, *J* = 5.1 Hz)], 1H, C=CH₂}, 7.36 – 7.86 (m, 5H, Ar).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 13.9, 13.97, 14.02, 14.1, 14.2, 34.2 (d, ¹*J*_{PC} = 96.9 Hz), 34.3 (d, ¹*J*_{PC} = 97.4 Hz), 51.71 (d, *J*_{PC} = 6.8 Hz), 51.73 (d, *J*_{PC} = 6.9 Hz), 61.1, 61.2, 127.2 (d, *J*_{PC} = 8.2 Hz), 127.5 (d, *J*_{PC} = 8.8 Hz), 128.1 (d, *J*_{PC} = 123.3 Hz), 128.3 (d, *J*_{PC} = 12.4 Hz), 128.6 (d, *J*_{PC} = 12.3 Hz), 129.0 (d, *J*_{PC} = 122.0 Hz), 132.4 (d, *J*_{PC} = 2.8 Hz), 132.49 (d, *J*_{PC} = 9.5 Hz), 132.53 (d, *J*_{PC} = 2.8 Hz), 132.8 (d, *J*_{PC} = 9.3 Hz), 137.7 (d, *J*_{PC} = 8.1 Hz), 138.0 (d, *J*_{PC} = 3.9 Hz), 166.3 (d, ³*J*_{PC} = 8.0 Hz), 166.4 (d, ³*J*_{PC} = 7.1 Hz).

³¹P NMR (81 MHz, CDCl₃) δ 45.7, 46.4.

HRMS (m/z): [M + Na]⁺ υπολογίστηκε για C₁₄H₁₉NaO₄P⁺ 305.0913, βρέθηκε 305.0917.

[3-(Αιθοξυκαρβονυλο)-5-μεθυλοεξαν-2-υλο](φαινυλο)φωσφινικό οξύ (11α).



Σε σωλήνα υψηλής πίεσης που περιέχει διάλυμα της ένωσης **3a** (96 mg, 0.36 mmol) σε τολουόλιο (2.5 mL), προστίθεται *i*PrI (197 mg, 116 μ l, 1.16 mmol) και TTMSS (190 mg, 235 μ l, 0.76 mmol). Ακολουθεί προσθήκη AIBN (5.9 mg, 0.1 equiv) υπό ατμόσφαιρα Ar. Ο σωλήνας υψηλής πίεσης σφραγίζεται και θερμαίνεται στους 110 °C (θερμοκρασία ελαιόλουτρου) για 1 h.

Ακολουθεί ψύξη σε θερμοκρασία δωματίου και προσθήκη AcOEt και 2M HCl. Η οργανική φάση διαχωρίζεται, εκπλένεται με 2M HCl, κορ. διάλυμα NaCl, ξηραίνεται υπεράνω Na_2SO_4 και συμπυκνώνεται. Καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης $CHCl_3:MeOH:AcOH$ 7:0.05:0.05 \rightarrow 7:0.25:0.25. Παραλαμβάνονται 75 mg (67%) του φωσφινικού οξέος **11a** ως κολλώδες στερεό.

TLC R_f [$CHCl_3:MeOH:AcOH$ 7:0.5:0.5] = 0.4

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ {[0.71* + 0.79* (2 x d, J = 6.3 Hz)] + [0.76 (d, J = 6.5 Hz)], 6H}, {[1.03* (dd, J = 17.6, 7.4 Hz)] + [1.04 (dd, J = 17.3, 7.4 Hz,)], 3H}, 1.17 + 1.17* (t, J = 7.1 Hz, 3H), {[1.26 – 1.40 (m)] + [1.40 – 1.50 (m)] + [1.52 – 1.66 (m)]}, 3H}, {[2.04 (dp, J = 16.3, 7.4 Hz)] + [2.20 – 2.34* (m)], 1H}, {[2.55 – 2.68 (m)] + [2.63 – 2.75* (m)], 1H}, 3.92 – 4.09 (m, 2H), 7.32 - 7.40 (m, 2H), 7.42 - 7.49 (m, 1H), 7.64 - 7.73 (m, 2H), 11.07 (br s, 1H)

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 8.8* (d, $^2J_{PC}$ = 2.8 Hz), 11.0 (d, $^2J_{PC}$ = 2.2 Hz), 14.2, 21.3*, 21.6, 23.2, 23.8*, 26.4, 26.6*, 36.2* (d, $^1J_{PC}$ = 100 Hz), 36.3*, 36.8 (d, $^1J_{PC}$ = 104 Hz), 40.4 (d, 3J = 6.5 Hz), 41.8*, 43.3, 60.3, 60.4*, 128.3 (d, J_{PC} = 12.5 Hz), 128.3* (d, J_{PC} = 12.5 Hz), 130.65*, 130.74, 131.8 (d, J_{PC} = 9.8 Hz), 131.9 (d, J_{PC} = 9.8 Hz), 132.0 (d, J_{PC} = 2.8 Hz), 132.1 (d, J_{PC} = 2.8 Hz), 174.2 (d, J_{PC} = 11.2 Hz), 174.8* (d, J_{PC} = 15.3 Hz);

^{31}P NMR (162 MHz, $CDCl_3$) δ 47.2*, 47.3

HRMS (m/z): $[M + H]^+$ υπολογίζεται για $C_{16}H_{26}O_4P^+$, 313.1563 βρέθηκε, 313.1564.

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

Ακρωνύμια και ανάπτυξή τους

Ac	ακέτυλο
ACE	μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτενσίνης
Ad	αδαμάντυλο
AIBN	αζω-δισ(ισοβουτυρονιτριλιο)
Ala	αλανίνη
APA	αμινοπεπτιδάση Α
APB	αμινοπεπτιδάση Β
APN	αμινοπεπτιδάση Ν ή ουδέτερη αμινοπεπτιδάση
Asp	ασπαραγινικό οξύ
Bn	βενζύλο
Boc	tert-βουτυλοξυκαρβόνυλο
BSA	δισ(τριμεθυλοσιλυλο)ακεταμίδιο
Bu	βουτυλο
Cbz	βενζυλοξυκαρβόνυλο
COPD	χρόνια αναπνευστική πνευμονοπάθεια
DABCO	1,4-διάζαδίκυκλο[2.2.2]οκτάνιο
DCR	διπολική κυκλοπροσθήκη
DIPEA	διίσοπροπυλοαιθυλαμίνη
DMAP	4-Διμεθυλο-αμινο-πυριδίνη
DMF	N,N'-διμεθυλοφορμαμίδιο
DMSO	διμεθυλοσουλφοξειδίο
EDC·HCl	υδροχλωρικό N-αιθυλο-N'-διμεθυλαμινο-προπυλο-καρβοδιϊμίδιο
ERAP	αμινοπεπτιδάση του ενδοπλασματικού δικτύου
Et	αιθυλο
EWG	ηλεκτρονιοελκτική
Fmoc	9-φλουορενυλομεθυλοξυκαρβονυλο
Glu	γλουταμικό οξύ
His	ιστιδίνη
HMDS	δισ(τριμεθυλοσιλυλο)αμίνη
HOBt	1-υδροξυβενζοτριαζόλιο
IRAP	αμινοπεπτιδάση που ρυθμίζεται από την ινσουλίνη
LAP	αμινοπεπτιδάση της λευκίνης
Leu	λευκίνη
Lys	λυσίνη
Me	μεθυλο
MBL	μεταλλο-β-λακταμάση
MMP	ματριξίνη
NMR	πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός
PE	πετρελαϊκός αιθέρας
Ph	φαινυλο
Phe	φαινυλαλανίνη
Pr	προπυλο
Pro	προλίνη

r.t.	θερμοκρασία δωματίου
Ser	σερίνη
TBDMS	tert βούτυλο διμέθλο σίλυλο
TBTH	τριβούτυλο κασσιτερικό υδρίδιο
TFA	τριφθοροξικό οξύ
THF	τετραϋδροφουράνιο
TMS	τριμεθυλοσίλυλο
TTMSS	τρι(τριμεθυλοσίλυλο) σιλάνιο
TLC	χρωματογραφία λεπτής στιβάδας
Val	βαλίνη

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- [1] Bush, K., and Bradford, P. A. beta-Lactams and beta-Lactamase Inhibitors: An Overview, *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, **2016**, 6.
- [2] Tipper, D. J., and Strominger, J. L. Mechanism of action of penicillins: a proposal based on their structural similarity to acyl-D-alanyl-D-alanine, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1965**, 54, 1133-1141.
- [3] Typas, A., Banzhaf, M., Gross, C. A., and Vollmer, W. From the regulation of peptidoglycan synthesis to bacterial growth and morphology, *Nat. Rev. Microbiol.*, **2012**, 10, 123-136.
- [4] Sauvage, E., Kerff, F., Terrak, M., Ayala, J. A., and Charlier, P. The penicillin-binding proteins: structure and role in peptidoglycan biosynthesis, *FEMS Microbiol. Rev.*, **2008**, 32, 234-258.
- [5] Pratt, R. F. Substrate specificity of bacterial DD-peptidases (penicillin-binding proteins), *Cell. Mol. Life Sci.*, **2008**, 65, 2138-2155.
- [6] van Duin, D., and Paterson, D. L. Multidrug-Resistant Bacteria in the Community: Trends and Lessons Learned, *Infect. Dis. Clin. North Am.*, **2016**, 30, 377-390.
- [7] **World Health Organization**, Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics, **2017**, <http://www.who.int/medicines/publications/global-priority-list-antibiotic-resistant-bacteria/>.
- [8] Jalde, S. S., and Choi, H. K. Recent advances in the development of β -lactamase inhibitors, *J. Microbiol. (Seoul)*, **2020**, 58, 633-647.
- [9] Dever, L. A., and Dermody, T. S. Mechanisms of Bacterial Resistance to Antibiotics, *Arch. Intern. Med.*, **1991**, 151, 886-895.
- [10] Fisher, J. F., Meroueh, S. O., and Mobashery, S. Bacterial resistance to beta-lactam antibiotics: compelling opportunism, compelling opportunity, *Chem. Rev.*, **2005**, 105, 395-424.
- [11] Bush, K. Past and Present Perspectives on β -Lactamases, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2018**, 62, e01076-01018.
- [12] Papp-Wallace, K. M., and Bonomo, R. A. New β -Lactamase Inhibitors in the Clinic, *Infect. Dis. Clin. North Am.*, **2016**, 30, 441-464.
- [13] Tehrani, K., and Martin, N. I. beta-lactam/beta-lactamase inhibitor combinations: an update, *Medchemcomm*, **2018**, 9, 1439-1456.
- [14] Qin, W., Panunzio, M., and Biondi, S. β -Lactam Antibiotics Renaissance, *Antibiotics*, **2014**, 3, 193-215.
- [15] Bush, K., and Bradford, P. A. Interplay between β -lactamases and new β -lactamase inhibitors, *Nat. Rev. Microbiol.*, **2019**, 17, 295-306.
- [16] Papp-Wallace, K. M. The latest advances in β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations for the treatment of Gram-negative bacterial infections, *Expert Opin. Pharmacother.*, **2019**, 20, 2169-2184.
- [17] Palzkill, T. Metallo- β -lactamase structure and function, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **2013**, 1277, 91-104.
- [18] Bush, K., Jacoby, G. A., and Medeiros, A. A. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1995**, 39, 1211-1233.
- [19] Ambler, R. P. The structure of β -lactamases, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **1980**, 289, 321.
- [20] Datta, N., and Kontomichalou, P. Penicillinase Synthesis Controlled By Infectious R Factors In Enterobacteriaceae, *Nature*, **1965**, 208, 239-241.
- [21] Chaves, J., Ladona, M. G., Segura, C., Coira, A., Reig, R., and Ampurdanés, C. SHV-1 beta-lactamase is mainly a chromosomally encoded species-specific enzyme in *Klebsiella pneumoniae*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2001**, 45, 2856-2861.
- [22] Rapp, R. P., and Urban, C. *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases in Enterobacteriaceae: history, evolution, and microbiology concerns, *Pharmacotherapy*, **2012**, 32, 399-407.

- [23] Chong, Y., Shimoda, S., and Shimono, N. Current epidemiology, genetic evolution and clinical impact of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, *Infect. Genet. Evol.*, **2018**, *61*, 185-188.
- [24] Tooke, C. L., Hinchliffe, P., Bragginton, E. C., Colenso, C. K., Hirvonen, V. H. A., Takebayashi, Y., and Spencer, J. β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century, *J. Mol. Biol.*, **2019**, *431*, 3472-3500.
- [25] Evans, B. A., and Amyes, S. G. B. OXA β -Lactamases, *Clin. Microbiol. Rev.*, **2014**, *27*, 241.
- [26] Chen, Y., Bonnet, R., and Shoichet, B. K. The acylation mechanism of CTX-M beta-lactamase at 0.88 Å resolution, *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 5378-5380.
- [27] Strynadka, N. C., Adachi, H., Jensen, S. E., Johns, K., Sielecki, A., Betzel, C., Sutoh, K., and James, M. N. Molecular structure of the acyl-enzyme intermediate in beta-lactam hydrolysis at 1.7 Å resolution, *Nature*, **1992**, *359*, 700-705.
- [28] Golemi, D., Maveyraud, L., Vakulenko, S., Samama, J.-P., and Mobashery, S. Critical involvement of a carbamylated lysine in catalytic function of class D β -lactamases, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2001**, *98*, 14280.
- [29] Garau, G., García-Sáez, I., Bebrone, C., Anne, C., Mercuri, P., Galleni, M., Frère, J.-M., and Dideberg, O. Update of the Standard Numbering Scheme for Class B β -Lactamases, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2004**, *48*, 2347-2349.
- [30] Shi, C., Chen, J., Kang, X., Shen, X., Lao, X., and Zheng, H. Approaches for the discovery of metallo- β -lactamase inhibitors: A review, *Chem. Biol. Drug Des.*, **2019**, *94*, 1427-1440.
- [31] Oefner, C., D'Arcy, A., Daly, J. J., Gubernator, K., Charnas, R. L., Heinze, I., Hubschwerlen, C., and Winkler, F. K. Refined crystal structure of β -lactamase from *Citrobacter freundii* indicates a mechanism for β -lactam hydrolysis, *Nature*, **1990**, *343*, 284-288.
- [32] Garcia-Saez, I., Docquier, J. D., Rossolini, G. M., and Dideberg, O. The three-dimensional structure of VIM-2, a Zn-beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* in its reduced and oxidised form, *J. Mol. Biol.*, **2008**, *375*, 604-611.
- [33] King, D. T., Worrall, L. J., Gruninger, R., and Strynadka, N. C. New Delhi metallo- β -lactamase: structural insights into β -lactam recognition and inhibition, *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, *134*, 11362-11365.
- [34] Bebrone, C., Delbrück, H., Kupper, M. B., Schlömer, P., Willmann, C., Frère, J.-M., Fischer, R., Galleni, M., and Hoffmann, K. M. V. The structure of the dizinc subclass B2 metallo-beta-lactamase CphA reveals that the second inhibitory zinc ion binds in the histidine site, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2009**, *53*, 4464-4471.
- [35] Lisa, M.-N., Palacios, A. R., Aitha, M., González, M. M., Moreno, D. M., Crowder, M. W., Bonomo, R. A., Spencer, J., Tierney, D. L., Llarrull, L. I., and Vila, A. J. A general reaction mechanism for carbapenem hydrolysis by mononuclear and binuclear metallo- β -lactamases, *Nat. Commun.*, **2017**, *8*, 538.
- [36] Wang, J.-F., and Chou, K.-C. Metallo- β -lactamases: structural features, antibiotic recognition, inhibition, and inhibitor design, *Curr. Top. Med. Chem.*, **2013**, *13*, 1242-1253.
- [37] Kumarasamy, K. K., Toleman, M. A., Walsh, T. R., Bagaria, J., Butt, F., Balakrishnan, R., Chaudhary, U., Doumith, M., Giske, C. G., Irfan, S., Krishnan, P., Kumar, A. V., Maharjan, S., Mushtaq, S., Noorie, T., Paterson, D. L., Pearson, A., Perry, C., Pike, R., Rao, B., Ray, U., Sarma, J. B., Sharma, M., Sheridan, E., Thirunarayan, M. A., Turton, J., Upadhyay, S., Warner, M., Welfare, W., Livermore, D. M., and Woodford, N. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study, *The Lancet Infectious diseases*, **2010**, *10*, 597-602.
- [38] Edelstein, M. V., Skleenova, E. N., Shevchenko, O. V., D'Souza J, W., Tapalski, D. V., Azizov, I. S., Sukhorukova, M. V., Pavlukov, R. A., Kozlov, R. S., Toleman, M. A., and Walsh, T. R. Spread of extensively resistant VIM-2-positive ST235 *Pseudomonas aeruginosa* in Belarus, Kazakhstan, and Russia: a longitudinal epidemiological and clinical study, *Lancet Infect. Dis.*, **2013**, *13*, 867-876.

- [39] Brooke, J. S. *Stenotrophomonas maltophilia*: an Emerging Global Opportunistic Pathogen, *Clin. Microbiol. Rev.*, **2012**, *25*, 2.
- [40] Kim, Y., Cunningham, M. A., Mire, J., Tesar, C., Sacchetti, J., and Joachimiak, A. NDM-1, the ultimate promiscuous enzyme: substrate recognition and catalytic mechanism, *FASEB J.*, **2013**, *27*, 1917-1927.
- [41] Berrazeg, M., Diene, S., Medjahed, L., Parola, P., Drissi, M., Raoult, D., and Rolain, J. New Delhi Metallo-beta-lactamase around the world: an eReview using Google Maps, *Euro Surveill.*, **2014**, *19*.
- [42] Mojica, M. F., Bonomo, R. A., and Fast, W. B1-Metallo-beta-Lactamases: Where do we stand?, *Curr. Drug Targets*, **2016**, *17*, 1029-1050.
- [43] Yong, D., Toleman, M. A., Giske, C. G., Cho, H. S., Sundman, K., Lee, K., and Walsh, T. R. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2009**, *53*, 5046-5054.
- [44] Laraki, N., Franceschini, N., Rossolini, G. M., Santucci, P., Meunier, C., de Pauw, E., Amicosante, G., Frère, J. M., and Galleni, M. Biochemical characterization of the *Pseudomonas aeruginosa* 101/1477 metallo-beta-lactamase IMP-1 produced by *Escherichia coli*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1999**, *43*, 902-906.
- [45] Siemann, S., Brewer, D., Clarke, A. J., Dmitrienko, G. I., Lajoie, G., and Viswanatha, T. IMP-1 metallo-beta-lactamase: effect of chelators and assessment of metal requirement by electrospray mass spectrometry, *Biochim. Biophys. Acta*, **2002**, *1571*, 190-200.
- [46] Chen, P., Horton, L. B., Mikulski, R. L., Deng, L., Sundriyal, S., Palzkill, T., and Song, Y. 2-Substituted 4,5-dihydrothiazole-4-carboxylic acids are novel inhibitors of metallo-beta-lactamases, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2012**, *22*, 6229-6232.
- [47] King, A. M., Reid-Yu, S. A., Wang, W., King, D. T., De Pascale, G., Strynadka, N. C., Walsh, T. R., Coombes, B. K., and Wright, G. D. Aspergillomarasmine A overcomes metallo-β-lactamase antibiotic resistance, *Nature*, **2014**, *510*, 503.
- [48] Liao, D., Yang, S., Wang, J., Zhang, J., Hong, B., Wu, F., and Lei, X. Total Synthesis and Structural Reassignment of Aspergillomarasmine A, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **2016**, *55*, 4291-4295.
- [49] Roll, D. M., Yang, Y., Wildey, M. J., Bush, K., and Lee, M. D. Inhibition of metallo-beta-lactamases by pyridine monothiocarboxylic acid analogs, *J. Antibiot. (Tokyo)*, **2010**, *63*, 255-257.
- [50] Somboro, A. M., Tiwari, D., Bester, L. A., Parboosing, R., Chonco, L., Kruger, H. G., Arvidsson, P. I., Govender, T., Naicker, T., and Essack, S. Y. NOTA: a potent metallo-beta-lactamase inhibitor, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2015**, *70*, 1594-1596.
- [51] Walter, M. W., Felici, A., Galleni, M., Soto, R. P., Adlington, R. M., Baldwin, J. E., Frère, J.-M., Gololobov, M., and Schofield, C. J. Trifluoromethyl alcohol and ketone inhibitors of metallo-β-lactamases, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1996**, *6*, 2455-2458.
- [52] Toney, J. H., Fitzgerald, P. M., Grover-Sharma, N., Olson, S. H., May, W. J., Sundelof, J. G., Vanderwall, D. E., Cleary, K. A., Grant, S. K., Wu, J. K., Kozarich, J. W., Pompliano, D. L., and Hammond, G. G. Antibiotic sensitization using biphenyl tetrazoles as potent inhibitors of *Bacteroides fragilis* metallo-beta-lactamase, *Chem. Biol.*, **1998**, *5*, 185-196.
- [53] Hiraiwa, Y., Morinaka, A., Fukushima, T., and Kudo, T. Metallo-beta-lactamase inhibitory activity of phthalic acid derivatives, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, *19*, 5162-5165.
- [54] Livermore, D. M., Mushtaq, S., Morinaka, A., Ida, T., Maebashi, K., and Hope, R. Activity of carbapenems with ME1071 (disodium 2,3-diethylmaleate) against Enterobacteriaceae and *Acinetobacter* spp. with carbapenemases, including NDM enzymes, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2013**, *68*, 153-158.
- [55] Toney, J. H., Hammond, G. G., Fitzgerald, P. M. D., Sharma, N., Balkovec, J. M., Rouen, G. P., Olson, S. H., Hammond, M. L., Greenlee, M. L., and Gao, Y.-D. Succinic Acids as Potent Inhibitors of Plasmid-borne IMP-1 Metallo-β-lactamase, *J. Biol. Chem.*, **2001**, *276*, 31913-31918.

- [56] Ishii, Y., Eto, M., Mano, Y., Tateda, K., and Yamaguchi, K. In vitro potentiation of carbapenems with ME1071, a novel metallo-beta-lactamase inhibitor, against metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2010**, *54*, 3625-3629.
- [57] Hiraiwa, Y., Morinaka, A., Fukushima, T., and Kudo, T. Metallo-beta-lactamase inhibitory activity of 3-alkoxy and 3-amino phthalic acid derivatives and their combination effect with carbapenem, *Bioorg. Med. Chem.*, **2013**, *21*, 5841-5850.
- [58] Hiraiwa, Y., Saito, J., Watanabe, T., Yamada, M., Morinaka, A., Fukushima, T., and Kudo, T. X-ray crystallographic analysis of IMP-1 metallo-beta-lactamase complexed with a 3-aminophthalic acid derivative, structure-based drug design, and synthesis of 3,6-disubstituted phthalic acid derivative inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2014**, *24*, 4891-4894.
- [59] Olsen, L., Jost, S., Adolph, H. W., Pettersson, I., Hemmingsen, L., and Jorgensen, F. S. New leads of metallo-beta-lactamase inhibitors from structure-based pharmacophore design, *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, *14*, 2627-2635.
- [60] Payne, D. J., Bateson, J. H., Gasson, B. C., Proctor, D., Khushi, T., Farmer, T. H., Tolson, D. A., Bell, D., Skett, P. W., Marshall, A. C., Reid, R., Ghosez, L., Combret, Y., and Marchand-Brynaert, J. Inhibition of metallo-beta-lactamases by a series of mercaptoacetic acid thiol ester derivatives, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1997**, *41*, 135-140.
- [61] Greenlee, M. L., Laub, J. B., Balkovec, J. M., Hammond, M. L., Hammond, G. G., Pompliano, D. L., and Epstein-Toney, J. H. Synthesis and SAR of thioester and thiol inhibitors of IMP-1 metallo-beta-lactamase, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1999**, *9*, 2549-2554.
- [62] Hammond, G. G., Huber, J. L., Greenlee, M. L., Laub, J. B., Young, K., Silver, L. L., Balkovec, J. M., Pryor, K. D., Wu, J. K., Leiting, B., Pompliano, D. L., and Toney, J. H. Inhibition of IMP-1 metallo-beta-lactamase and sensitization of IMP-1-producing bacteria by thioester derivatives, *FEMS Microbiol. Lett.*, **1999**, *179*, 289-296.
- [63] Liu, X. L., Shi, Y., Kang, J. S., Oelschlaeger, P., and Yang, K. W. Amino Acid Thioester Derivatives: A Highly Promising Scaffold for the Development of Metallo-beta-lactamase L1 Inhibitors, *ACS Med Chem Lett*, **2015**, *6*, 660-664.
- [64] Liu, X. L., Yang, K. W., Zhang, Y. J., Ge, Y., Xiang, Y., Chang, Y. N., and Oelschlaeger, P. Optimization of amino acid thioesters as inhibitors of metallo-beta-lactamase L1, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2016**, *26*, 4698-4701.
- [65] Goto, M., Takahashi, T., Yamashita, F., Koreeda, A., Mori, H., Ohta, M., and Arakawa, Y. Inhibition of the metallo-beta-lactamase produced from *Serratia marcescens* by thiol compounds, *Biol. Pharm. Bull.*, **1997**, *20*, 1136-1140.
- [66] Mollard, C., Moali, C., Papamicael, C., Damblon, C., Vessilier, S., Amicosante, G., Schofield, C. J., Galleni, M., Frere, J. M., and Roberts, G. C. Thiomandelic acid, a broad spectrum inhibitor of zinc beta-lactamases: kinetic and spectroscopic studies, *J. Biol. Chem.*, **2001**, *276*, 45015-45023.
- [67] Lienard, B. M., Garau, G., Horsfall, L., Karsisiotis, A. I., Damblon, C., Lassaux, P., Papamicael, C., Roberts, G. C., Galleni, M., Dideberg, O., Frere, J. M., and Schofield, C. J. Structural basis for the broad-spectrum inhibition of metallo-beta-lactamases by thiols, *Org. Biomol. Chem.*, **2008**, *6*, 2282-2294.
- [68] Ma, J., Cao, Q., McLeod, S. M., Ferguson, K., Gao, N., Breeze, A. L., and Hu, J. Target-based whole-cell screening by (1)H NMR spectroscopy, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2015**, *54*, 4764-4767.
- [69] Faridoun, Hussein, W. M., Vella, P., Islam, N. U., Ollis, D. L., Schenk, G., and McGeary, R. P. 3-mercapto-1,2,4-triazoles and N-acylated thiosemicarbazides as metallo-beta-lactamase inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2012**, *22*, 380-386.
- [70] Vella, P., Hussein, W. M., Leung, E. W., Clayton, D., Ollis, D. L., Mitic, N., Schenk, G., and McGeary, R. P. The identification of new metallo-beta-lactamase inhibitor leads from fragment-based screening, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2011**, *21*, 3282-3285.
- [71] Cushman, D. W., and Ondetti, M. A. Design of angiotensin converting enzyme inhibitors, *Nat. Med.*, **1999**, *5*, 1110-1113.

- [72] Brem, J., van Berkel, S. S., Zollman, D., Lee, S. Y., Gileadi, O., McHugh, P. J., Walsh, T. R., McDonough, M. A., and Schofield, C. J. Structural Basis of Metallo-beta-Lactamase Inhibition by Captopril Stereoisomers, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2016**, *60*, 142-150.
- [73] Heinz, U., Bauer, R., Wommer, S., Meyer-Klaucke, W., Papamichaels, C., Bateson, J., and Adolph, H. W. Coordination geometries of metal ions in d- or l-captopril-inhibited metallo-beta-lactamases, *J. Biol. Chem.*, **2003**, *278*, 20659-20666.
- [74] Yusof, Y., Tan, D. T. C., Arjomandi, O. K., Schenk, G., and McGeary, R. P. Captopril analogues as metallo-beta-lactamase inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2016**, *26*, 1589-1593.
- [75] Li, N., Xu, Y., Xia, Q., Bai, C., Wang, T., Wang, L., He, D., Xie, N., Li, L., Wang, J., Zhou, H. G., Xu, F., Yang, C., Zhang, Q., Yin, Z., Guo, Y., and Chen, Y. Simplified captopril analogues as NDM-1 inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2014**, *24*, 386-389.
- [76] Cui-Gai, B., Yin-Tong, X., Ning-Ning, L., Jing-Han, W., Cheng, Y., Yue, C., and Hong-Gang, Z. Cysteine and Its Derivatives as New Delhi Metallo-beta-lactamase-1 Inhibitors, *Curr. Enzyme Inhib.*, **2015**, *11*, 46-57.
- [77] Buynak, J. D., Chen, H., Vogeti, L., Gadhachanda, V. R., Buchanan, C. A., Palzkill, T., Shaw, R. W., Spencer, J., and Walsh, T. R. Penicillin-derived inhibitors that simultaneously target both metallo- and serine-beta-lactamases, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, *14*, 1299-1304.
- [78] González, M. M., Kosmopoulou, M., Mojica, M. F., Castillo, V., Hinchliffe, P., Pettinati, I., Brem, J., Schofield, C. J., Mahler, G., Bonomo, R. A., Llarrull, L. I., Spencer, J., and Vila, A. J. Bisthiazolidines: A Substrate-Mimicking Scaffold as an Inhibitor of the NDM-1 Carbapenemase, *ACS infectious diseases*, **2015**, *1*, 544-554.
- [79] Brem, J., van Berkel, S. S., Aik, W., Rydzik, A. M., Avison, M. B., Pettinati, I., Umland, K.-D., Kawamura, A., Spencer, J., Claridge, T. D. W., McDonough, M. A., and Schofield, C. J. Rhodanine hydrolysis leads to potent thioenolate mediated metallo- β -lactamase inhibition, *Nat. Chem.*, **2014**, *6*, 1084.
- [80] Lassaux, P., Hamel, M., Gulea, M., Delbruck, H., Mercuri, P. S., Horsfall, L., Dehareng, D., Kupper, M., Frere, J. M., Hoffmann, K., Galleni, M., and Bebrone, C. Mercaptophosphonate compounds as broad-spectrum inhibitors of the metallo-beta-lactamases, *J. Med. Chem.*, **2010**, *53*, 4862-4876.
- [81] Hussein, W. M., Fatahala, S. S., Mohamed, Z. M., McGeary, R. P., Schenk, G., Ollis, D. L., and Mohamed, M. S. Synthesis and kinetic testing of tetrahydropyrimidine-2-thione and pyrrole derivatives as inhibitors of the metallo-beta-lactamase from *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*, *Chem. Biol. Drug Des.*, **2012**, *80*, 500-515.
- [82] Mohamed, M. S., Hussein, W. M., McGeary, R. P., Vella, P., Schenk, G., and Abd El-Hameed, R. H. Synthesis and kinetic testing of new inhibitors for a metallo-beta-lactamase from *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*, *Eur. J. Med. Chem.*, **2011**, *46*, 6075-6082.
- [83] Hecker, S. J., Reddy, K. R., Totrov, M., Hirst, G. C., Lomovskaya, O., Griffith, D. C., King, P., Tsivkovski, R., Sun, D., Sabet, M., Tarazi, Z., Clifton, M. C., Atkins, K., Raymond, A., Potts, K. T., Abendroth, J., Boyer, S. H., Loutit, J. S., Morgan, E. E., Durso, S., and Dudley, M. N. Discovery of a Cyclic Boronic Acid beta-Lactamase Inhibitor (RPX7009) with Utility vs Class A Serine Carbapenemases, *J. Med. Chem.*, **2015**, *58*, 3682-3692.
- [84] Lienhard, G. E. Enzymatic catalysis and transition-state theory, *Science*, **1973**, *180*, 149-154.
- [85] Wolfenden, R. Transition state analogues for enzyme catalysis, *Nature*, **1969**, *223*, 704-705.
- [86] 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.
- [87] Georgiadis, D., and Dive, V. Phosphinic Peptides as Potent Inhibitors of Zinc-Metalloproteases, *Top. Curr. Chem.*, **2015**, *360*, 1-38.
- [88] Christianson, D. W., and Lipscomb, W. N. Comparison of carboxypeptidase A and thermolysin: Inhibition by phosphoramidates, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, *110*, 5560-5565.
- [89] Hanson, J. E., Kaplan, A. P., and Bartlett, P. A. Phosphonate analogues of carboxypeptidase A substrates are potent transition-state analogue inhibitors, *Biochemistry*, **1989**, *28*, 6294-6305.

- [90] Jacobsen, N. E., and Bartlett, P. A. A phosphoramidate dipeptide analogue as an inhibitor of Carboxypeptidase A, *J. Am. Chem. Soc.*, **1981**, *103*, 654-657.
- [91] Matthews, B. W. Structural basis of the action of thermolysin and related zinc peptidases, *Acc. Chem. Res.*, **1988**, *21*, 341-347.
- [92] Morgan, B. P., Scholtz, J. M., Ballinger, M. D., Zipkin, I. D., and Bartlett, P. A. Differential binding energy: A detailed evaluation of the influence of hydrogen-bonding and hydrophobic groups on the inhibition of thermolysin by phosphorus-containing inhibitors, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, 297-307.
- [93] Finkbeiner, P., Hehn, J. P., and Gnam, C. Phosphine Oxides from a Medicinal Chemist's Perspective: Physicochemical and in Vitro Parameters Relevant for Drug Discovery, *J. Med. Chem.*, **2020**, *63*, 7081-7107.
- [94] Collinsova, M., and Jiracek, J. Phosphinic Acid Compounds in Biochemistry, Biology and Medicine, *Curr. Med. Chem.*, **2000**, *7*, 629-647.
- [95] 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.
- [96] 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.
- [97] 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.
- [98] 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.
- [99] Wagstaff, A. J., Davis, R., and McTavish, D. Fosinopril. A reappraisal of its pharmacology and therapeutic efficacy in essential hypertension, *Drugs*, **1996**, *51*, 777-791.
- [100] Krapcho, J., Turk, C., Cushman, D. W., Powell, J. R., DeForrest, J. M., Spitzmiller, E. R., Karanewsky, D. S., Duggan, M., Rovnyak, G., Schwartz, J., Natarajan, S., Godfrey, J. D., Ryono, D. E., Neubeck, R., Atwal, K. S., and Petrillo Jr, E. W. Angiotensin-converting enzyme inhibitors. Mercaptan, carboxyalkyl dipeptide, and phosphinic acid inhibitors incorporating 4-substituted prolines, *J. Med. Chem.*, **1988**, *31*, 1148-1160.
- [101] 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.
- [102] Georgiadis, D., Beau, F., Czarny, B., Cotton, J., Yiotakis, A., and Dive, V. Roles of the two active sites of somatic angiotensin-converting enzyme in the cleavage of angiotensin I and bradykinin insights from selective inhibitors, *Circ. Res.*, **2003**, *93*, 148-154.
- [103] Mores, A., Matziari, M., Beau, F., Cuniasse, P., Yiotakis, A., and Dive, V. Development of potent and selective phosphinic peptide inhibitors of angiotensin-converting enzyme 2, *J. Med. Chem.*, **2008**, *51*, 2216-2226.
- [104] Covalada, G., Gallego, P., Vendrell, J., Georgiadis, D., Lorenzo, J., Dive, V., Aviles, F. X., Reverter, D., and Devel, L. Synthesis and Structural/Functional Characterization of Selective M14 Metalloprotease Inhibitors Based on Phosphinic Pseudopeptide Scaffold: Implications on the Design of Specific Optical Probes, *J. Med. Chem.*, **2019**, *62*, 1917-1931.
- [105] Jackson, P. F., Tays, K. L., Maclin, K. M., Ko, Y. S., Li, W., Vitharana, D., Tsukamoto, T., Stoermer, D., Lu, X. C. M., Wozniak, K., and Slusher, B. S. Design and pharmacological activity of phosphinic acid based NAALADase inhibitors, *J. Med. Chem.*, **2001**, *44*, 4170-4175.
- [106] Amin, S. A., Adhikari, N., and Jha, T. Design of Aminopeptidase N Inhibitors as Anti-cancer Agents, *J. Med. Chem.*, **2018**, *61*, 6468-6490.

- [107] 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.
- [108] 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.
- [109] Vassiliou, S., Weglarz-Tomczak, E., Berlicki, L., Pawelczak, M., Nocek, B., Mulligan, R., Joachimiak, A., and Mucha, A. Structure-guided, single-point modifications in the phosphinic dipeptide structure yield highly potent and selective inhibitors of neutral aminopeptidases, *J. Med. Chem.*, **2014**.
- [110] Georgiadis, D., Vazeux, G., Llorens-Cortes, C., Yiotakis, A., and Dive, V. Potent and selective inhibition of zinc aminopeptidase A (EC 3.4.11.7, APA) by glutamyl aminophosphinic peptides: Importance of glutamyl aminophosphinic residue in the P1 position, *Biochemistry*, **2000**, *39*, 1152-1155.
- [111] 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.
- [112] 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 antigen-trimming aminopeptidases enhances antigen presentation and cytotoxic T-cell responses, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2013**, *110*, 19890-19895.
- [113] Jiracek, J., Yiotakis, A., Vincent, B., Lecoq, A., Nicolaou, A., Checler, F., and Dive, V. Development of highly potent and selective phosphinic peptide inhibitors of zinc endopeptidase 24-15 using combinatorial chemistry, *J. Biol. Chem.*, **1995**, *270*, 21701-21706.
- [114] Goulet, J. L., Kinneary, J. F., Durette, P. L., Stein, R. L., Harrison, R. K., Izquierdo-Martin, M., Kuo, D. W., Lin, T. Y., and Hagmann, W. K. Inhibition of stromelysin-1 (MMP-3) by peptidyl phosphinic acids, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1994**, *4*, 1221-1224.
- [115] Castelhana, A. L., Billedeau, R., Dewdney, N., Donnelly, S., Horne, S., Kurz, L. J., Liak, T. J., Martin, R., Uppington, R., Zhengyu, Y., and Krantz, A. Novel indolactam-based inhibitors of matrix metalloproteinases, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1995**, *5*, 1415-1420.
- [116] Devel, L., Rogakos, V., David, A., Makaritis, A., Beau, F., Cuniasse, P., Yiotakis, A., and Dive, V. Development of selective inhibitors and substrate of matrix metalloproteinase-12, *J. Biol. Chem.*, **2006**, *281*, 11152-11160.
- [117] Wu, Z., and Walsh, C. T. Phosphinate analogs of D-, D-dipeptides: Slow-binding inhibition and proteolysis protection of VanX, a D-, D-dipeptidase required for vancomycin resistance in *Enterococcus faecium*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1995**, *92*, 11603-11607.
- [118] Bartlett, P. A., Hanson, J. E., and Giannousis, P. P. Potent inhibition of pepsin and penicillopepsin by phosphorus-containing peptide analogues, *J. Org. Chem.*, **1990**, *55*, 6268-6274.
- [119] Huber, T., Manzenrieder, F., Kuttruff, C. A., Dorner-Ciossek, C., and Kessler, H. Prolonged stability by cyclization: Macrocyclic phosphino dipeptide isostere inhibitors of β -secretase (BACE1), *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, *19*, 4427-4431.
- [120] Grobelny, D., Wondrak, E. M., Galardy, R. E., and Oroszlan, S. Selective phosphinate transition-state analogue inhibitors of the protease of human immunodeficiency virus, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1990**, *169*, 1111-1116.
- [121] Stowasser, B., Budt, K. H., Jian-Qi, L., Peyman, A., and Ruppert, D. New hybrid transition state analog inhibitors of HIV protease with peripheral C2-symmetry, *Tetrahedron Lett.*, **1992**, *33*, 6625-6628.
- [122] Ikeda, S., Ashley, J. A., Wirsching, P., and Janda, K. D. ψ [PO2 -CH2N+] a new amide bond replacement: potent, slow-binding inhibition of the HIV protease, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 7604-7606.

- [123] 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.
- [124] Matziari, M., Bauer, K., Dive, V., and Yiotakis, A. Synthesis of the phosphinic analogue of thyrotropin releasing hormone, *J. Org. Chem.*, **2008**, *73*, 8591-8593.
- [125] Yamagishi, T., Kinbara, A., Okubo, N., Sato, S., and Fukaya, H. Diastereoselective synthesis of Pro-Phe phosphinyl dipeptide isosteres, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2012**, *23*, 1633 - 1639.
- [126] 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.
- [127] Yamagishi, T., Tashiro, N., and Yokomatsu, T. Diastereoselective synthesis of the Leu-Pro type phosphinyl dipeptide isostere, *J. Org. Chem.*, **2011**, *76*, 5472-5476.
- [128] Georgiadis, D., Matziari, M., Vassiliou, S., Dive, V., and Yiotakis, A. A convenient method to synthesize phosphinic peptides containing an aspartyl or glutamyl aminophosphinic acid. Use of the phenyl group as the carboxyl synthon, *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 14635-14648.
- [129] Kende, A. S., Dong, H. Q., Liu, X., and Ebetino, F. H. A useful synthesis of the Phe-Arg phosphinic acid dipeptide isostere, *Tetrahedron Lett.*, **2002**, *43*, 4973-4976.
- [130] Matziari, M., Beau, F., Cuniasse, P., Dive, V., and Yiotakis, A. Evaluation of P1'-Diversified Phosphinic Peptides Leads to the Development of Highly Selective Inhibitors of MMP-11, *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 325-336.
- [131] Matziari, M., Georgiadis, D., Dive, V., and Yiotakis, A. Convenient synthesis and diversification of dehydroalaninyl phosphinic peptide analogues, *Org. Lett.*, **2001**, *3*, 659-660.
- [132] Matziari, M., Nasopoulou, M., and Yiotakis, A. Active methylene phosphinic peptides: A new diversification approach, *Org. Lett.*, **2006**, *8*, 2317-2319.
- [133] Gurulingappa, H., Buckhalts, P., Kinzler, K. W., Vogelstein, B., and Khan, S. R. Synthesis and evaluation of aminophosphinic acid derivatives as inhibitors of renal dipeptidase, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, *14*, 3531-3533.
- [134] Gurulingappa, H., Buckhaults, P., Kumar, S. K., Kinzler, K. W., Vogelstein, B., and Khan, S. R. Design, synthesis and evaluation of new RDP inhibitors, *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 1871-1873.
- [135] Schoen, W. R., and Parsons, W. H. Synthesis and reactions of 3-substituted-2-phosphomethyl acrylates, *Tetrahedron Lett.*, **1988**, *29*, 5201-5204.
- [136] Kalyva, M., Zografos, A. L., Kapourani, E., Giambazolias, E., Devel, L., Papakyriakou, A., Dive, V., Lazarou, Y. G., and Georgiadis, D. Probing the Mechanism of Allylic Substitution of Morita-Baylis-Hillman Acetates (MBHAs) by using the Silyl Phosphonite Paradigm: Scope and Applications of a Versatile Transformation, *Chem. Eur. J.*, **2015**, *21*, 3278-3289.
- [137] 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.
- [138] Bregant, S., Huillet, C., Devel, L., Dabert-Gay, A. S., Beau, F., Thai, R., Czarny, B., Yiotakis, A., and Dive, V. Detection of matrix metalloproteinase active forms in complex proteomes: Evaluation of affinity versus photoaffinity capture, *J. Proteome Res.*, **2009**, *8*, 2484-2494.
- [139] David, A., Steer, D., Bregant, S., Devel, L., Makaritis, A., Beau, F., Yiotakis, A., and Dive, V. Cross-linking yield variation of a potent matrix metalloproteinase photoaffinity probe and consequences for functional proteomics, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2007**, *46*, 3275-3277.
- [140] Jullien, N., Makaritis, 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.
- [141] (Ed.: L. Mitsubishi Chemical Industries), **1988**.
- [142] Vassiliou, S., Xeilari, M., Yiotakis, A., Grembecka, J., PaweE, czak, M., Kafarski, P., and Mucha, A. A synthetic method for diversification of the P1β€² substituent in phosphinic dipeptides as a tool for

- exploration of the specificity of the S1β€² binding pockets of leucine aminopeptidases, *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, *15*, 3187-3200.
- [143] Rogakos, V., Georgiadis, D., Dive, V., and Yiotakis, A. A modular rearrangement approach toward medicinally relevant phosphinic structures, *Org. Lett.*, **2009**, *11*, 4696-4699.
- [144] Voreakos, K., Devel, L., and Georgiadis, D. Late-Stage Diversification of Phosphinic Dehydroalanine Pseudopeptides Based on a Giese-Type Radical C-Alkylation Strategy, *Org. Lett.*, **2019**, *21*, 4397-4401.
- [145] Subramanian, H., Landais, Y., and Sibi, M. P., "4.12 Radical Addition Reactions A2 - Knochel, Paul", *Comprehensive Organic Synthesis II (Second Edition)*, Elsevier, 2014, pp. 699-741.
- [146] De Vleeschouwer, F., Van Speybroeck, V., Waroquier, M., Geerlings, P., and De Proft, F. Electrophilicity and Nucleophilicity Index for Radicals, *Org. Lett.*, **2007**, *9*, 2721-2724.
- [147] Giese, B. Formation of CC Bonds by Addition of Free Radicals to Alkenes, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1983**, *22*, 753-764.
- [148] Giese, B., and Meister, J. Die Addition von Kohlenwasserstoffen an Olefine Eine neue synthetische Methode, *Chem. Ber.*, **1977**, *110*, 2588-2600.
- [149] Srikanth, G. S. C., and Castle, S. L. Advances in radical conjugate additions, *Tetrahedron*, **2005**, *61*, 10377-10441.
- [150] Giese, B., and Dupuis, J. Diastereoselective Syntheses of C-Glycopyranosides, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1983**, *22*, 622-623.
- [151] Giese, B., González-Gómez, J. A., and Witzel, T. The Scope of Radical CC-Coupling by the "Tin Method", *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1984**, *23*, 69-70.
- [152] Giese, B., Kopping, B., and Chatgililoglu, C. Tris(trimethylsilyl)silane as mediator in organic synthesis via radicals, *Tetrahedron Lett.*, **1989**, *30*, 681-684.
- [153] Jang, D. O. Lewis Acid-Promoted Radical Carbon-Carbon Bond Forming Reactions with N-Ethylpiperidine Hypophosphite, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **2003**, *24*, 15-16.
- [154] Caddick, S., Hamza, D., Judd, D. B., Reich, M. T., Wadman, S. N., and Wilden, J. D. A novel route to functionalized PFP esters via rapid intermolecular radical addition to PFP acrylate mediated by ethylpiperidinium hypophosphite (EHP), *Tetrahedron Lett.*, **2004**, *45*, 2363-2366.
- [155] Kawamoto, T., and Ryu, I. Radical reactions of borohydrides, *Org. Biomol. Chem.*, **2014**, *12*, 9733-9742.
- [156] Ryu, I., Uehara, S., Hirao, H., and Fukuyama, T. Tin-Free Giese Reaction and the Related Radical Carbonylation Using Alkyl Iodides and Cyanoborohydrides, *Org. Lett.*, **2008**, *10*, 1005-1008.
- [157] Chu, L., Ohta, C., Zuo, Z., and MacMillan, D. W. Carboxylic acids as a traceless activation group for conjugate additions: a three-step synthesis of (+/-)-pregabalin, *J. Am. Chem. Soc.*, **2014**, *136*, 10886-10889.
- [158] Qin, T., Malins, L. R., Edwards, J. T., Merchant, R. R., Novak, A. J. E., Zhong, J. Z., Mills, R. B., Yan, M., Yuan, C., Eastgate, M. D., and Baran, P. S. Nickel-Catalyzed Barton Decarboxylation and Giese Reactions: A Practical Take on Classic Transforms, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **2017**, *56*, 260-265.
- [159] Giese, B. The Stereoselectivity of Intermolecular Free Radical Reactions [New Synthetic Methods (78)], *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1989**, *28*, 969-980.
- [160] Porter, N. A., Giese, B., and Curran, D. P. Acyclic stereochemical control in free-radical reactions, *Acc. Chem. Res.*, **1991**, *24*, 296-304.
- [161] Curran, D. P., "4.1 - Radical Addition Reactions", *Comprehensive Organic Synthesis*, B. M. Trost, I. Fleming, eds., Pergamon, 1991, pp. 715-777.
- [162] Giese, B., Damm, W., Wetterich, F., and Zeitz, H.-G. 1,2-Stereoiduction in acyclic radicals: allylic strain effects, *Tetrahedron Lett.*, **1992**, *33*, 1863-1866.

- [163] Hart, D. J., Huang, H. C., Krishnamurthy, R., and Schwartz, T. Free-radical cyclizations: application to the total synthesis of dl-pleurotin and dl-dihydropleurotin acid, *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, *111*, 7507-7519.
- [164] Durkin, K., Liotta, D., Rancourt, J., Lavalley, J., Boisvert, L., and Guindon, Y. Stereoselective hydrogen-transfer reactions involving acyclic radicals. A study of radical conformations using semiempirical calculations, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 4912-4914.
- [165] Erdmann, P., Schäfer, J., Springer, R., Zeitz, H.-G., and Giese, B. 1,2-Stereoiduction in Radicals and Anions: A comparison between hydrogen abstraction and protonation, *Helv. Chim. Acta*, **1992**, *75*, 638-644.
- [166] Giese, B., Bulliard, M., and Zeitz, H.-G. Acyclic 1,2-Induction in Radical Reactions: The Importance of Allylic Strain Effects, *Synlett*, **1991**, *1991*, 425-427.
- [167] Hart, D. J., and Krishnamurthy, R. Investigation of a model for 1,2-asymmetric induction in reactions of α -carbalkoxy radicals: a stereochemical comparison of reactions of α -carbalkoxy radicals and ester enolates, *J. Org. Chem.*, **1992**, *57*, 4457-4470.
- [168] Guindon, Y., Yoakim, C., Lemieux, R., Boisvert, L., Delorme, D., and Lavallée, J. F. Stereoselective reduction of acyclic α -bromo esters, *Tetrahedron Lett.*, **1990**, *31*, 2845-2848.
- [169] Giese, B., Damm, W., Wetterich, F., Zeitz, H. G., Rancourt, J., and Guindon, Y. The effect of polar substituents on the conformation and stereochemistry of enolate radicals, *Tetrahedron Lett.*, **1993**, *34*, 5885-5888.
- [170] Gouzoules, F. H., and Whitney, R. A. Factors affecting diastereoselectivity in the protiodemercuration of α -mercurio carbonyl compounds, *J. Org. Chem.*, **1986**, *51*, 2024-2030.
- [171] Kündig, P. E., Xu, L.-H., and Romanens, P. 1,2-Asymmetric induction in radical reactions of β -amino acid derivatives, *Tetrahedron Lett.*, **1995**, *36*, 4047-4050.
- [172] Guindon, Y., Lavalley, J. F., Llinas-Brunet, M., Horner, G., and Rancourt, J. Stereoselective chelation-controlled reduction of α -iodo- β -alkoxy esters under radical conditions, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, 9701-9702.
- [173] Sibi, M. P., Rheault, T. R., Chandramouli, S. V., and Jasperse, C. P. Acyclic Diastereoselection in Prochiral Radical Addition to Prochiral Olefins, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 2924-2930.
- [174] Nagano, H., Nagano, H., Toi, S., and Yajima, T. Chelation-Controlled 1,3-Asymmetric Induction in Radical Addition to γ -Hydroxy- and γ -Alkoxy- α -methylene-carboxylic Esters, *Synlett*, **1999**, *1999*, 53-54.
- [175] Wu, J. H., Radinov, R., and Porter, N. A. Enantioselective Free Radical Carbon-Carbon Bond Forming Reactions: Chiral Lewis Acid Promoted Acyclic Additions, *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 11029-11030.
- [176] Sibi, M. P., and Ji, J. Practical and Efficient Enantioselective Conjugate Radical Additions, *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 3800-3801.
- [177] Sibi, M. P., Ji, J., Wu, J. H., Gürtler, S., and Porter, N. A. Chiral Lewis Acid Catalysis in Radical Reactions: Enantioselective Conjugate Radical Additions, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, 9200-9201.
- [178] Βορέακος, Κ., Διδακτορική Διατριβή thesis, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (Αθήνα), **2020**.
- [179] Baylis, A. B., and Hillman, M. E. D., *Chem. Abstr.*, **1972**, *77*.
- [180] Basavaiah, D., Rao, A. J., and Satyanarayana, T. Recent advances in the Baylis - Hillman reaction and applications, *Chem. Rev.*, **2003**, *103*, 811-891.
- [181] Beltaïef, I., Besbes, R., Amri, H., and Villiéras, J. TEAF mediated hydroxylation of allylic bromide: A facile synthesis of 4-methoxycarbonyl-2(5H)-furanone, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, *38*, 813-814.
- [182] Yiotakis, A., Vassiliou, S., Jiráček, J., and Dive, V. Protection of the hydroxyphosphinyl function of phosphinic dipeptides by adamantyl. Application to the solid-phase synthesis of phosphinic peptides, *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 6601-6605.

- [183] Fort, R. C., and Schleyer, P. v. R. Adamantane: Consequences of the Diamondoid Structure, *Chem. Rev.*, **1964**, *64*, 277-300.
- [184] Chatgililoglu, C. (Me₃Si)₃SiH: Twenty Years After Its Discovery as a Radical-Based Reducing Agent, *Chem. Eur. J.*, **2008**, *14*, 2310-2320.
- [185] Markoulides, M. S., and Regan, A. C. Synthesis of a phosphinate analogue of the anti-tumour phosphate di-ester perifosine via sequential radical processes, *Org. Biomol. Chem.*, **2013**, *11*, 119-129.
- [186] Zygmunt, J., Kafarski, P., and Mastalerz, P. Preparation of Oxoalkanephosphonic Acids, *Synthesis*, **1978**, *1978*, 609-612.
- [187] 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.
- [188] Trost, B. M., Machacek, M. R., and Tsui, H. C. Development of Aliphatic Alcohols as Nucleophiles for Palladium-Catalyzed DYKAT Reactions: Total Synthesis of (+)-Hippospongiic Acid A, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 7014-7024.
- [189] Cocco, M., Garella, D., Di Stilo, A., Borretto, E., Stevanato, L., Giorgis, M., Marini, E., Fantozzi, R., Miglio, G., and Bertinaria, M. Electrophilic Warhead-Based Design of Compounds Preventing NLRP3 Inflammasome-Dependent Pyroptosis, *J. Med. Chem.*, **2014**, *57*, 10366-10382.
- [190] Ferreira, B. R. V., Pirovani, R. V., Souza-Filho, L. G., and Coelho, F. Nájera oxime-derived palladacycles catalyze intermolecular Heck reaction with Morita–Baylis–Hillman adducts. An improved and highly efficient synthesis of α -benzyl- β -ketoesters, *Tetrahedron*, **2009**, *65*, 7712-7717.
- [191] Kayal, S., and Mukherjee, S. Catalytic Enantioselective Vinylogous Allylic Alkylation of Coumarins, *Org. Lett.*, **2017**, *19*, 4944-4947.
- [192] Sridhar, C., Vijaykumar, B. V. D., Radhika, L., Shin, D.-S., and Chandrasekhar, S. Asymmetric Formal Synthesis of (+)-Lactacystin, *Eur. J. Org. Chem.*, **2014**, *2014*, 6707-6712.
- [193] Wang, Z., Jiang, L., Sarró, P., and Suero, M. G. Catalytic Cleavage of C(sp²)–C(sp²) Bonds with Rh-Carbynoids, *J. Am. Chem. Soc.*, **2019**, *141*, 15509-15514.
- [194] Yang, W., Chen, C., and Chan, K. S. Hydrodebromination of allylic and benzylic bromides with water catalyzed by a rhodium porphyrin complex, *Dalton Trans.*, **2018**, *47*, 12879-12883.
- [195] Das, B., Banerjee, J., and Ravindranath, N. A simple and facile stereoselective synthesis of (Z)- and (E)-allyl halides catalyzed by silica supported sodium hydrogen sulfate: factors influencing the yields and stereochemistry of allyl halides, *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 8357-8361.
- [196] Beltaïef, I., Hbaïeb, S., Besbes, R., Amri, H., Villiéras, M., and Villiéras, J. A New and Efficient Method for the Isomerization of Secondary Functional Allylic Alcohols into their Primary Isomers, *Synthesis*, **1998**, *1998*, 1765-1768.
- [197] Ramachandran, P. V., Burghardt, T. E., and Reddy, M. V. R. Preparation of N-protected allylic amines and α -methylene- β -amino acids from vinylaluminum/Baylis–Hillman products via tandem SN2' substitution–Overman rearrangement, *Tetrahedron Lett.*, **2005**, *46*, 2121-2124.
- [198] Pereira, A. A., Pereira, A. S., de Mello, A. C., Carpanez, A. G., Horta, B. A. C., and Amarante, G. W. Methylsulfenylation of Electrophilic Carbon Atoms: Reaction Development, Scope, and Mechanism, *Eur. J. Org. Chem.*, **2017**, *2017*, 1578-1582.
- [199] Shanmugam, P., and Rajasingh, P. Studies on montmorillonite K10-microwave assisted isomerisation of Baylis–Hillman adduct. Synthesis of E-trisubstituted alkenes and synthetic application to lignan core structures by vinyl radical cyclization, *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 9283-9295.