



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**Σχεδιασμός, σύνθεση και βιολογικές μελέτες
πολυφαινολικών παραγώγων**

**ΠΑΓΩΝΗ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ
ΧΗΜΙΚΟΣ**

ΑΘΗΝΑ

ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ 2021

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Σχεδιασμός, σύνθεση και βιολογικές μελέτες πολυφαινολικών παραγώγων

ΠΑΓΩΝΗ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ

A.M.: 001615

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ:

Βασιλείου Σταματία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΕΚΠΑ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ:

Βασιλείου Σταματία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΕΚΠΑ

Βουγιουκαλάκης Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής ΕΚΠΑ

Μαγκριώτη Βικτώρια, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΕΚΠΑ

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Βασιλείου Σταματία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΕΚΠΑ

Βουγιουκαλάκης Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής ΕΚΠΑ

Γεωργιάδης Δημήτρης, Καθηγητής ΕΚΠΑ

Γκιμήσης Αθανάσιος, Καθηγητής ΕΚΠΑ

Μαγκριώτη Βικτώρια, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΕΚΠΑ

Μαυρομούστακος Θωμάς, Καθηγητής ΕΚΠΑ

Στρατικός Ευστράτιος, Αναπληρωτής Καθηγητής ΕΚΠΑ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ 07/10/2021

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα διατριβή έχει δύο θέματα ως αντικείμενα έρευνας. Το πρώτο αντικείμενο αφορά τη σύνθεση ενώσεων κατά της νόσου του Αλτσχάιμερ, μιας πολυσχιδούς ασθένειας, μέσω της στρατηγικής σύνθεσης φαρμάκων πολλαπλών στόχων. Χρησιμοποιώντας ως μητρικές ενώσεις πολυφαινολικά οξέα και λιποϊκό οξύ, και ως συνδετικά μόρια αμινοαλκοόλες ή διαμίνες, έγινε σύνθεση υβριδικών μορίων, τα οποία μελετήθηκαν ως προς τις φυσικοχημικές και βιολογικές τους ιδιότητες. Το υβριδικό παράγωγο του φερουλικού οξέος επέδειξε τη βέλτιστη αντιοξειδωτική και νευροπροστατευτική δράση, που σε συνδυασμό με την σταθερότητα της ένωσης, το καθιστά ως ένα αρκετά ελπιδοφόρο υβριδικό μόριο.

Το δεύτερο αντικείμενο της εργασίας, αφορά τη σύνθεση νέων αναστολέων κατά του ενζύμου της ουρεάσης. Σε αυτό το πλαίσιο, έγινε σύνθεση διλειτουργικών μορίων, τα οποία αλληλεπιδρούν ταυτόχρονα με τα ιόντα Ni^{2+} (μέσω ενός φωσφονικού/καρβοξυλικού συστήματος) και με τη σουλφυδρυλομάδα της Cys322 του ενεργού κέντρου του ενζύμου (μέσω ενός κατεχολικού δακτυλίου). Οι αναστολείς μελετήθηκαν ως προς την ανασταλτική τους δράση έναντι του ενζύμου, ενώ πραγματοποιήθηκαν και πειράματα μοριακής μοντελοποίησης για να εξακριβωθεί ο τρόπος σύνδεσης τους με το ένζυμο. Το 3-((1-(3,4-διυδροξυφαινυλο)-3-μεθοξυ-3-οξοπροπυλ)(υδροξυ)φωσφορυλο)προπανοϊκό οξύ επέδειξε την ισχυρότερη, μη αντιστρεπτή ανασταλτική δράση με τιμή $k_{inact}/K_i = 10420 \text{ s}^{-1} \text{ M}^{-1}$.

Τέλος, στο ίδιο πλαίσιο, έγινε σύνθεση διλειτουργικών αναστολέων της ουρεάσης, οι οποίοι βασίζονται στη δομή της ουρίας. Έτσι, παρασκευάστηκαν κατεχολικά παράγωγα ουρίας, θειουρίας και καρβαμικά παράγωγα, τα οποία μελετήθηκαν ως προς την ανασταλτική τους ισχύ. Η 1-κυκλοεξυλο-3-(3,4-διυδροξυβενζυλ)ουρία παρουσίασε την ισχυρότερη ανασταλτική δράση έναντι του ενζύμου της ουρεάσης με $IC_{50} = 571.7 \text{ mM}$.

ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: Φαρμακευτική Χημεία

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: νόσος Αλτσχάιμερ, πολυφαινολικά οξέα, λιποϊκό οξύ, υβριδικές ενώσεις, ουρεάση, οργανοφωσφορικές ενώσεις, ουρία, κατεχόλη

ABSTRACT

The present thesis has two topics as research subjects. The first includes the synthesis of compounds against Alzheimer's disease, through the strategy of multi-target-directed ligand design. Using polyphenolic acids and lipoic acid as the parent compounds, as well as amino alcohols or diamines as linkers, hybrid molecules were synthesized and were studied for their physicochemical and biological properties. Ferulic acid derivative exhibited the highest antioxidant and neuroprotective activity, which, in combination with the stability of the compound, makes it a potent hybrid molecule.

The second subject of the thesis includes the synthesis of novel inhibitors against the enzyme urease. In this context, bifunctional molecules were synthesized, which interact simultaneously with both the Ni^{2+} ions (via a phosphonate/carboxylate system) and the sulfhydryl group of Cys322 (via a cation ring), in the active site of the enzyme. The inhibitors were studied for their inhibitory action on the enzyme, and molecular modeling experiments were performed to determine how they bind to the enzyme. 3-((1-(3,4-dihydroxyphenyl)-3-methoxy-3-oxopropyl)(hydroxy)phosphoryl)propanoic acid exhibited the strongest, irreversible inhibitory activity with $k_{\text{inact}}/K_{\text{i}} = 10420 \text{ s}^{-1} \text{ M}^{-1}$.

Finally, in the same context, bifunctional urease inhibitors, based on the structure of urea, were also synthesized. Thus, urea, thiourea and carbamate catechol derivatives were prepared and studied for their inhibitory activity. 1-Cyclohexyl-3-(3,4-dihydroxybenzyl)urea exhibited the best inhibitory effect against the urease enzyme with $\text{IC}_{50} = 571.7 \text{ mM}$.

SUBJECT AREA: Medicinal Chemistry

KEYWORDS: Alzheimer's disease, polyphenolic acids, lipoic acid, hybrid compounds, urease, organophosphate compounds, urea, catechol

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για τη διεκπεραίωση της παρούσας ερευνητικής εργασίας, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα μου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βασιλείου Σταματία, για τη συνεργασία και την πολύτιμη συμβολή της στην ολοκλήρωσή της, καθώς και για την ανάθεση του θέματος, την καθοδήγηση, την υποστήριξη και τις πολύτιμες συμβουλές καθ' όλη τη διάρκεια.

Θα ήθελα, επιπλέον, να ευχαριστήσω τα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς μου επιτροπής για τις εύστοχες υποδείξεις και παρατηρήσεις τους που συντέλεσαν στην τελική διαμόρφωση της παρούσας εργασίας, καθώς και τα υπόλοιπα μέλη της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής για τα σχόλια και τις διορθώσεις τους, με σκοπό την ολοκλήρωση και αρτιότερη παρουσίαση της εργασίας αυτής.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα, επίσης, τον Καθηγητή Antonio Di Stefano από το Τμήμα Φαρμακευτικής Χημείας του Πανεπιστημίου «G. d'Annunzio» στην Ιταλία για τα βιολογικά πειράματα, που πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριό του. Επίσης, ένα θερμό ευχαριστώ στον Αναπληρωτή Καθηγητή Łukasz Berlicki από το Τμήμα Βιοοργανικής Χημείας του Πανεπιστημίου Wrocław στην Πολωνία για τα βιολογικά πειράματα και τα πειράματα μοριακής μοντελοποίησης, που πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριό του.

Θα ήταν παράληψη να μην ευχαριστήσω τα μέλη του Εργαστηρίου, Δρ. Σακκή Εσθήρ και Δρ. Πασχαλίδου Κατερίνα για την αμέριστη βοήθειά τους κατά τη λήψη των φασμάτων μάζας.

Ένα εξίσου μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω σε όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας, με τα οποία συνεργάστηκα και ιδιαίτερα τους συναδέλφους μου, Διδάκτορα Ντασόπουλο Βασίλη και τη μεταπτυχιακό Γουλένη Νίκη για την άψογη συνεργασία και το ευχάριστο κλίμα που μου πρόσφεραν στο εργαστήριο.

Τέλος, ευχαριστώ ολόψυχα τους γονείς μου για την ηθική και συναισθηματική υποστήριξη που πρόσφεραν καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου, καθώς και τους φίλους μου για την ενθάρρυνση τους.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	31
1. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	33
1.1 Εισαγωγή	33
1.2 Παθογένεση της AD.....	34
1.3 Στρατηγική πολλαπλών στόχων (Multi-target directed ligand, MTDL) στην AD.....	37
1.4 Προνομιακές δομές για την ανάπτυξη της στρατηγικής MTDL	39
1.4.1 Φλαβονοειδή.....	40
1.4.2 Κουμαρίνες.	40
1.4.3 Τακρίνη	40
1.4.4 Ντονεπεζίλη	40
1.4.5 Κλιοκινόλη.....	41
1.4.6 Ρασαγιλίνη και σελεγιλίνη	41
1.4.7 Σεροτονίνη και ντοπαμίνη	42
1.4.8 Λιποϊκό οξύ	42
1.4.9 Ρεσβερατρόλη.....	42
1.4.10 Φερουλικό οξύ και καφεϊκό οξύ.....	43
1.5 Υβριδικές ενώσεις και AD	43
2. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	47
2.1 Ουρεάση.....	47
2.1.1 Ιστορία και μοριακά χαρακτηριστικά των ουρεασών	47
2.1.2 Ενεργοποίηση και καταλυτικές ιδιότητες των ουρεασών.....	49
2.1.3 Βιολογικοί ρόλοι ουρεασών που απαιτούν ουρεολυτική δράση	51
2.1.4 Βιολογικές ιδιότητες των ουρεασών που δεν απαιτούν ουρεολυτική δράση.....	53
2.1.5 Νευροτοξικότητα ουρεασών.....	54

2.1.6	Συνεισφορά ουρεασών στην άμυνα των φυτών κατά των αρπακτικών και των παθογόνων.....	55
2.1.7	Αλληλεπίδραση ουρεασών και πεπτιδίων (προερχόμενων από ουρεάσες) με λιπίδια και μεμβράνες	56
2.2	Αναστολείς των ουρεασών	56
2.2.1	Παράγωγα (θει)ουρίας	57
2.2.2	Πενταμελείς ετεροκυκλικές ενώσεις	59
2.2.3	Εξαμελείς ετεροκυκλικές ενώσεις.....	61
2.2.4	Παράγωγα βαρβιτουρικού οξέος.....	63
2.2.5	Οργανοφωσφορικές ενώσεις	64
2.2.6	Διάφορες ενώσεις	66
3.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3	69
4.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4	73
4.1	Συνθετική πορεία υβριδικών ενώσεων λιπιοϊκού οξέος και φαινολικών οξέων..	73
4.1.1	Συνθετική πορεία υβριδικών ενώσεων λιπιοϊκού οξέος και 3,4-διυδροξυφαινυλοξικού οξέος	73
4.1.2	Συνθετική πορεία υβριδικών ενώσεων λιπιοϊκού οξέος και καφεϊκού οξέος	93
4.1.3	Συνθετική πορεία υβριδικών ενώσεων λιπιοϊκού οξέος και φερουλικού οξέος.....	101
4.1.4	Παρατηρήσεις	105
4.1.5	Φυσικοχημικές/Κυτταροπροστατευτικές/Αντιοξειδωτικές μελέτες	105
4.1.6	Συμπεράσματα	110
4.2	Συνθετική πορεία κατεχολικών οργανοφωσφορικών ενώσεων	112
4.2.1	Συνθετική πορεία κατεχολικών οργανοφωσφορικών παραγώγων όπου το άτομο του φωσφόρου απέχει δύο δεσμούς από τον κατεχολικό δακτύλιο	112
4.2.2	Συνθετική πορεία κατεχολικών οργανοφωσφορικών παραγώγων όπου το άτομο του φωσφόρου απέχει τέσσερις δεσμούς από τον κατεχολικό δακτύλιο με έναν διπλό δεσμό να παρεμβάλλεται.....	130

4.2.3	Συνθετική πορεία κατεχολικών οργανοφωσφορικών παραγώγων όπου το άτομο του φωσφόρου απέχει τέσσερις απλούς δεσμούς από τον κατεχολικό δακτύλιο	141
4.2.4	Ενζυμικά αποτελέσματα.....	153
4.2.5	Μοριακή μοντελοποίηση.....	161
4.2.6	Συμπεράσματα	164
4.3	Συνθετική πορεία ουριών, θειουριών και καρβαμικών παραγώγων που φέρουν έναν κατεχολικό δακτύλιο.....	166
4.3.1	Συνθετική πορεία πολυφαινολικών παραγώγων ουρίας.....	166
4.3.2	Συνθετική πορεία πολυφαινολικών καρβαμικών παραγώγων	176
4.3.3	Συνθετική πορεία πολυφαινολικών παραγώγων θειουρίας.....	182
4.3.4	Συνθετική πορεία κυκλοεξυλοθειοκαρβαμικού S-φαινυλίου	191
4.3.5	Ενζυμικά αποτελέσματα.....	193
4.3.6	Συμπεράσματα	194
5.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5	195
5.1	Γενικό πειραματικό μέρος.....	195
5.1.1	Αντιδραστήρια, διαλύτες	195
5.1.2	Χρωματογραφική ανάλυση	195
5.1.3	Ταυτοποίηση και χαρακτηρισμός ενώσεων	196
5.2	Συνθετικές μέθοδοι/Χαρακτηρισμοί ενώσεων.....	197
5.2.1	Μέθοδος προστασίας φαινολικών υδροξυλίων καφεϊκού οξέος με μεθόξυ ομάδες.....	197
5.2.2	Γενική μέθοδος προστασίας της αμινομάδας αμινοαλκοολών με Boc-προστατευτική ομάδα	198
5.2.3	Γενική μέθοδος μονοπροστασίας διαμινών με Boc-προστατευτική ομάδα.....	200
5.2.4	Γενική μέθοδος παρασκευής διαμιδίων από Boc μονοπροστατευμένες διαμίνες και οξέα	202

5.2.5	Γενική μέθοδος εστεροποίησης <i>N</i> -προστατευμένων αμινοαλκοολών και οξέων.....	207
5.2.6	Γενική μέθοδος παρασκευής αμιδικών εστέρων και διαμιδίων του λιποϊκού οξέος.....	211
5.2.7	Γενική μέθοδος αποπροστασίας φαινολικών υδροξυλίων αμιδικών εστέρων και διαμιδίων	220
5.2.8	Μέθοδος παρασκευής του μεθυλεστέρα του διμεθόξυ προστατευμένου καφεϊκού οξέος.....	225
5.2.9	Μέθοδος παρασκευής της αλλυλικής αλκοόλης 76	226
5.2.10	Μέθοδος παρασκευής της ακετυλιωμένης αλλυλικής αλκοόλης 77	227
5.2.11	Μέθοδος παρασκευής του βρωμιδίου της (3,4-διμεθοξυφαινυλο)μεθανόλης	228
5.2.12	Μέθοδος παρασκευής του αλκυλιωμένου διαιθυλεστέρα του μηλονικού οξέος.....	228
5.2.13	Μέθοδος παρασκευής του ακρυλικού εστέρα 91	229
5.2.14	Γενική μέθοδος σύνθεσης φωσφινικών οξέων.....	230
5.2.15	Γενική μέθοδος σύνθεσης φωσφονικών οξέων	233
5.2.16	Γενική μέθοδος σαπωνοποίησης φωσφονικών οξέων	235
5.2.17	Γενική μέθοδος σύνθεσης διυποκατεστημένων φωσφινικών οξέων	236
5.2.18	Γενική μέθοδος αποπροστασίας υδροξυλίων πολυφαινολικών παραγώγων χωρίς τη ταυτόχρονη αποπροστασία των εστερικών ομάδων που φέρουν.....	239
5.2.19	Γενική μέθοδος αποπροστασίας υδροξυλίων πολυφαινολικών παραγώγων και ταυτόχρονης αποπροστασίας των εστερικών ομάδων που φέρουν	242
5.2.20	Μέθοδος παρασκευής τους θειοκαρβαμικού παραγώγου 185	248
5.2.21	Γενική μέθοδος παρασκευής ουριών	249
5.2.22	Μέθοδος παρασκευής αντιδραστηρίου Lawesson.....	258
5.2.23	Γενική μέθοδος παρασκευής θειουριών.....	258

5.2.24	Γενική μέθοδος παρασκευής καρβαμικών παραγώγων.....	262
5.2.25	Γενική μέθοδος αποπροστασίας κατεχολικών δακτυλίων ενώσεων ουρίας, καρβαμικών παραγώγων και θειουρίας	266
6.	ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ	280
7.	ΑΝΑΦΟΡΕΣ.....	283

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1: Φάρμακα εγκεκριμένα από τον FDA για τη θεραπεία της νόσου του Αλτσχάιμερ.....	33
Σχήμα 2: Προνομιακές δομές για την ανάπτυξη φαρμάκων MTDL.....	39
Σχήμα 3: Ιδαλοπιρδίνη	44
Σχήμα 4: Λαδοστιγίλη.....	44
Σχήμα 5: ASS234.....	45
Σχήμα 6: Λιποκρίνη.....	45
Σχήμα 7: Μεμοκίνη.....	46
Σχήμα 8: Αντίδραση υδρόλυσης ουρίας καταλυόμενη από ουρεάσες.	47
Σχήμα 9: Χημικές δομές αναστολέων της ουρεάσης του <i>C. ensiformis</i> (IC_{50} : συγκέντρωση αναστολέα που απαιτείται για το 50% αναστολής του ενζύμου, K_i : σταθερά αναστολής της πρόσδεσης του αναστολέα στο ένζυμο).....	59
Σχήμα 10: Χημικές δομές αναστολέων της ουρεάσης του <i>C. ensiformis</i> (ενώσεις I, II, IV) και του <i>H. pylori</i> (ενώσεις III, VI).....	60
Σχήμα 11: Χημικές δομές αναστολέων της ουρεάσης του <i>C. ensiformis</i> (ενώσεις I-V) και του <i>Bacillus pasteurii</i> (ενώσεις III, VI).....	61
Σχήμα 12: Χημικές δομές αναστολέων της ουρεάσης του <i>C. ensiformis</i>	62
Σχήμα 13: Χημικές δομές αναστολέων της ουρεάσης του <i>B. pasteurii</i> (ενώσεις I, II, VIII) και <i>C. ensiformis</i> (ενώσεις III, IV, V, VI, VII).....	64
Σχήμα 14: Χημικές δομές αναστολέων της ουρεάσης του <i>C. ensiformis</i> (ενώσεις I, II) και <i>B. pasteurii</i> (ενώσεις III, IV).	65
Σχήμα 15: Χημική δομή αναστολέα της ουρεάσης του <i>S. Pasteurii</i>	66
Σχήμα 16: Χημικές δομές αναστολέων της ουρεάσης του <i>H. pylori</i> (ενώσεις I, V, VI, VII) και <i>C. ensiformis</i> (ενώσεις II, III, IV).....	68
Σχήμα 17: Χημική δομή αναστολέα της ουρεάσης του <i>S. pasteurii</i>	68
Σχήμα 18: Υβριδικά μόρια πολυφαινολικών οξέων και λιποϊκού οξέος που συντέθηκαν στην παρούσα εργασία.....	69

Σχήμα 19: Κατεχολικά οργανοφωσφορικά παράγωγα που συντέθηκαν με στόχο την αναστολή του ενζύμου της ουρεάσης.	70
Σχήμα 20: Κατεχολικά παράγωγα ουρίας, θειουρίας και καρβαμικά παράγωγα που συντέθηκαν ως πιθανοί αναστολείς της ουρεάσης.	71
Σχήμα 21: Μη κατεχολικά παράγωγα που συντέθηκαν ως πιθανοί αναστολείς της ουρεάσης.....	71
Σχήμα 22: Συνθετική πορεία παρασκευής αμιδικών εστέρων λιποϊκού οξέος και 3,4-διυδροξυφαινυλοξικού οξέος.	73
Σχήμα 23: Γενική αντίδραση προστασίας της αμινομάδας των αμινοαλκοολών με τον Boc ανυδρίτη.	74
Σχήμα 24: Προτεινόμενος μηχανισμός αντίδρασης προστασίας της αμινομάδας των αμινοαλκοολών με την Boc προστατευτική ομάδα.	74
Σχήμα 25: Γενική αντίδραση εστεροποίησης των <i>N</i> -προστατευμένων αμινοαλκοολών και του 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικού οξέος.....	75
Σχήμα 26: Προτεινόμενος μηχανισμός εστεροποίησης των <i>N</i> -προστατευμένων αμινοαλκοολών και του 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικού οξέος.	77
Σχήμα 27: Γενική αντίδραση αποπροστασίας των αμιδικών εστέρων 10 , 11 , 12 , 13 και σύζευξης με το λιποϊκό οξύ.....	79
Σχήμα 28: Προτεινόμενος μηχανισμός προστασίας της Boc προστατευτικής ομάδας με TFA.....	80
Σχήμα 29: Προτεινόμενος μηχανισμός αντίδρασης σύζευξης του λιποϊκού οξέος με τους αμιδικούς εστέρες 14 , 15 , 16 και 17	82
Σχήμα 30: Γενική αντίδραση αποπροστασίας των φαινολικών υδροξυλίων.	83
Σχήμα 31: Προτεινόμενος μηχανισμός αποπροστασίας φαινολικών υδροξυλίων.	84
Σχήμα 32: Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 22 σε διαλύτη CD ₃ OD (200 MHz).	86
Σχήμα 33: Φάσμα ¹³ C NMR της ένωσης 22 σε διαλύτη CD ₃ OD (50 MHz).	87
Σχήμα 34: Συνθετική πορεία παρασκευής διαμιδίων λιποϊκού οξέος και 3,4-διυδροξυφαινυλοξικού οξέος.	87
Σχήμα 35: Γενική αντίδραση μονοπροστασίας των διαμινών με την Boc προστατευτική ομάδα.	88

Σχήμα 36: Γενική αντίδραση σύζευξης Boc μονοπροστατευμένων διαμινών και 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικού οξέος.....	89
Σχήμα 37: Γενική αντίδραση απομάκρυνσης της Boc προστατευτικής ομάδας και απευθείας σύζευξη των ενδιάμεσων μορίων 35 , 36 , 37 με το λιποϊκό οξύ.	90
Σχήμα 38: Γενική αντίδραση αποπροστασίας του κατεχολικού δακτυλίου των διαμιδίων.	90
Σχήμα 39: Φάσμα ¹ H NMR της τελικής ένωσης 42 σε διαλύτη CD ₃ OD (200 MHz).	92
Σχήμα 40: Φάσμα ¹³ C NMR της τελικής ένωσης 42 σε διαλύτη CD ₃ OD (50 MHz).	93
Σχήμα 41: Συνθετική πορεία παρασκευής αμιδικών εστέρων λιποϊκού οξέος και καφεϊκού οξέος.	93
Σχήμα 42: Αντίδραση προστασίας των υδροξυλίων του καφεϊκού οξέος.	94
Σχήμα 43: Προτεινόμενος μηχανισμός μεθυλίωσης του καφεϊκού οξέος.	95
Σχήμα 44: Γενική αντίδραση εστεροποίησης του διμεθόξυ προστατευμένου καφεϊκού οξέος και των N-προστατευμένων αμινοαλκοολών.	96
Σχήμα 45: Γενική αντίδραση αποπροστασίας των αμιδικών εστέρων 46 , 47 και σύζευξής τους με το λιποϊκό οξύ.....	96
Σχήμα 46: Συνθετική πορεία παρασκευής διαμιδίων λιποϊκού οξέος και καφεϊκού οξέος.	97
Σχήμα 47: Γενική αντίδραση σύζευξης των Boc μονοπροστατευμένων διαμινών και του διμεθόξυ προστατευμένου καφεϊκού οξέος.....	98
Σχήμα 48: Γενική αντίδραση αποπροστασίας των διαμιδίων 52 , 53 και σύζευξής τους με το λιποϊκό οξύ.....	99
Σχήμα 49: Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 57 σε CDCl ₃ (200 MHz).....	100
Σχήμα 50: Φάσμα ¹³ C NMR της ένωσης 57 σε CDCl ₃ (50 MHz).	101
Σχήμα 51: Συνθετική πορεία παρασκευής διαμιδίων λιποϊκού οξέος και φερουλικού οξέος.	101
Σχήμα 52: Γενική αντίδραση σύζευξης του φερουλικού οξέος και των Boc μονοπροστατευμένων διαμινών.	102
Σχήμα 53: Γενική αντίδραση αποπροστασίας των διαμιδίων 59 , 60 και σύζευξής τους με το λιποϊκό οξύ.....	103

Σχήμα 54: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 63 σε διαλύτη CD_3COCD_3 (200 MHz).	104
Σχήμα 55: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 63 σε διαλύτη CD_3COCD_3 (50 MHz).	105
Σχήμα 56: Υβριδική ένωση φερουλικού οξέος και λιποϊκού οξέος 63 με τη βέλτιστη δράση.	111
Σχήμα 57: Συνθετική πορεία κατεχολικών οργανοφωσφορικών παραγώγων όπου το άτομο του φωσφόρου απέχει δύο δεσμούς από τον κατεχολικό δακτύλιο.	112
Σχήμα 58: Αντίδραση εστεροποίησης του παραγώγου 45 προς σύνθεση του αντίστοιχου μεθυλεστέρα.	113
Σχήμα 59: Προτεινόμενος μηχανισμός αντίδρασης εστεροποίησης του διμεθόξυ προστατευμένου καφεϊκού οξέος και του ιωδομεθανίου.	114
Σχήμα 60: Αντίδραση σύνθεσης του φωσφινικού οξέος 68	114
Σχήμα 61: Προτεινόμενος μηχανισμός αντίδρασης <i>P</i> -Michael για τον σχηματισμό του φωσφινικού οξέος 68	115
Σχήμα 62: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 68 σε διαλύτη CD_3OD (200 MHz).	117
Σχήμα 63: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 68 σε διαλύτη CD_3OD (50 MHz).	118
Σχήμα 64: Φάσμα ^{31}P NMR της ένωσης 68 σε διαλύτη δευτεριωμένη CD_3OD (81 MHz).	119
Σχήμα 65: Αντίδραση σχηματισμού φωσφινικού οξέος 68 με χρήση του TMSCl , ως αντιδραστήριο σιλυλίωσης.	119
Σχήμα 66: Αντίδραση οξείδωσης του φωσφινικού οξέος 68 προς σχηματισμό του φωσφονικού οξέος 69	120
Σχήμα 67: Προτεινόμενος μηχανισμός αντίδρασης οξείδωσης φωσφινικών οξέων.	120
Σχήμα 68: Φάσμα ^{31}P NMR της ένωσης 69 σε διαλύτη CD_3OD (81 MHz).	121
Σχήμα 69: Αντίδραση σύνθεσης του διυποκατεστημένου φωσφινικού οξέος 70	122
Σχήμα 70: Προτεινόμενος μηχανισμός διυποκατάστασης των φωσφινικών οξέων.	122
Σχήμα 71: Αντίδραση σύνθεσης του διυποκατεστημένου φωσφινικού οξέος 70 με χρήση BSA.	123
Σχήμα 72: Γενική αντίδραση αποπροστασίας των φαινολικών υδροξυλίων με χρήση BCl_3	123

Σχήμα 73: Προτεινόμενος μηχανισμός αποπροστασίας του κατεχολικού δακτυλίου με χρήση του BCl_3	125
Σχήμα 74: Γενική αντίδραση αποπροστασίας των φαινολικών υδροξυλίων και των καρβοξυλικών οξέων με χρήση του BBr_3	126
Σχήμα 75: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 74 σε διαλύτη D_2O (200 MHz).....	128
Σχήμα 76: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 74 σε διαλύτη D_2O (50 MHz).	129
Σχήμα 77: Φάσμα ^{31}P NMR της ένωσης 74 σε διαλύτη D_2O (81 MHz).....	129
Σχήμα 78: Συνθετική πορεία κατεχολικών οργανοφωσφορικών παραγώγων όπου το άτομο του φωσφόρου απέχει τέσσερις δεσμούς από τον κατεχολικό δακτύλιο με έναν διπλό δεσμό να παρεμβάλλεται.	130
Σχήμα 79: Αντίδραση Morita-Baylis-Hillman της αλδεΐδης 75 προς παρασκευή της αλλυλικής αλκοόλης 76	131
Σχήμα 80: Προτεινόμενος μηχανισμός αντίδρασης MBH.	132
Σχήμα 81: Αντίδραση ακετυλίωσης της αλλυλικής αλκοόλης 76	133
Σχήμα 82: Προτεινόμενος μηχανισμός αντίδρασης ακετυλίωσης της αλλυλικής αλκοόλης 76	134
Σχήμα 83: Αντίδραση σύνθεσης φωσφινικού οξέος 78	134
Σχήμα 84: Προτεινόμενος μηχανισμός αντίδρασης για τον σχηματισμό του φωσφινικού οξέος 78	135
Σχήμα 85: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 78 σε διαλύτη CDCl_3 (200 MHz).....	136
Σχήμα 86: Αντίδραση οξείδωσης του φωσφινικού οξέος 78	136
Σχήμα 87: Αντίδραση σαπωνοποίησης του οξέος 79 με χρήση NaOH	136
Σχήμα 88: Αντίδραση σύνθεσης διυποκατεστημένου φωσφινικού οξέος 81	137
Σχήμα 89: Αντίδραση αποπροστασίας των φαινολικών υδροξυλίων της ένωσης 79 με χρήση BCl_3	137
Σχήμα 90: Γενική αντίδραση αποπροστασίας των φαινολικών υδροξυλίων και των καρβοξυλικών οξέων με χρήση του BBr_3	138
Σχήμα 91: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 83 σε διαλύτη D_2O (200 MHz).....	139
Σχήμα 92: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 83 σε διαλύτη D_2O (50 MHz).	140

Σχήμα 93: Φάσμα ^{31}P NMR της ένωσης 83 σε διαλύτη D_2O (81 MHz).....	140
Σχήμα 94: Συνθετική πορεία κατεχολικών οργανοφωσφορικών παραγώγων όπου το άτομο του φωσφόρου απέχει τέσσερις απλούς δεσμούς από τον κατεχολικό δακτύλιο.	141
Σχήμα 95: Αντίδραση βρωμίωσης της (3,4-διμεθοξυφαινυλο)μεθανόλης.....	142
Σχήμα 96: Προτεινόμενος μηχανισμός βρωμίωσης της αλκοόλης 86	142
Σχήμα 97: Αντίδραση αλκυλίωσης τους μηλονικού εστέρα 88 με το βρωμίδιο 87	143
Σχήμα 98: Προτεινόμενος μηχανισμός αλκυλίωσης του διαιθυλεστέρα του μηλονικού οξέος με το βρωμίδιο 87	143
Σχήμα 99: Αντίδραση μονο-σαπωνοποίησης του παραγώγου 89 και άμεση μετατροπή του ενδιάμεσου 90 προς τον ακρυλικό εστέρα 91	144
Σχήμα 100: Προτεινόμενος μηχανισμός σχηματισμού του ακρυλικού εστέρα 91	144
Σχήμα 101: Αντίδραση σύνθεσης φωσφινικού οξέος 92	145
Σχήμα 102: Αντίδραση οξείδωσης του φωσφινικού οξέος 92 προς το φωσφονικό οξύ 93	145
Σχήμα 103: Αντίδραση σαπωνοποίησης του οξέος 93 με χρήση NaOH	146
Σχήμα 104: Αντίδραση σύνθεσης διυποκατεστημένου φωσφινικού οξέος 95	146
Σχήμα 105: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 95 σε διαλύτη CDCl_3 (200 MHz).....	147
Σχήμα 106: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 95 σε διαλύτη CDCl_3 (50 MHz).....	148
Σχήμα 107: Φάσμα ^{31}P NMR της ένωσης 95 σε διαλύτη CDCl_3 (81 MHz).	149
Σχήμα 108: Αντίδραση αποπροστασίας των φαινολικών υδροξυλίων της ένωσης 93 με χρήση BCl_3	149
Σχήμα 109: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 96 σε διαλύτη D_2O (200 MHz).....	150
Σχήμα 110: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 96 σε διαλύτη D_2O (50 MHz).	151
Σχήμα 111: Φάσμα ^{31}P NMR της ένωσης 96 σε διαλύτη D_2O (81 MHz).....	151
Σχήμα 112: Γενική αντίδραση αποπροστασίας των φαινολικών υδροξυλίων και των καρβοξυλικών οξέων με χρήση του BBr_3	152

Σχήμα 113: Προτεινόμενοι μηχανισμοί οξειδωσης των αναστολέων κατεχόλης στις ο-βενζοκινόνες, ακολουθούμενοι από προσθήκης της ομάδας της θειόλης, είτε ριζικά, είτε με πυρηνόφιλη προσθήκη τύπου Michael, στα οξειδωμένα παράγωγα.	162
Σχήμα 114: Ο πιο ισχυρός μη αντιστρεπτός αναστολέας 73	165
Σχήμα 115: Οι πιο ισχυροί αντιστρεπτοί αναστολείς 71 και 97	165
Σχήμα 116: Συνθετική πορεία παρασκευής πολυφαινολικών παραγώγων ουρίας.	166
Σχήμα 117: Γενική αντίδραση παρασκευής ουριών από το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ και τις αμίνες 103-116	167
Σχήμα 118: Προτεινόμενος μηχανισμός σχηματισμού ουριών από το καρβοξυλικό οξύ 9 με χρήση του DPPA.	169
Σχήμα 119: Αντίδραση αποπροστασίας της διμεθόξυ προστατευμένης ουρίας 124 . ..	170
Σχήμα 120: Γενική αντίδραση απομεθυλίωσης των διμεθόξυ προστατευμένων ουριών 117-130	171
Σχήμα 121: Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 135 σε διαλύτη CD ₃ OD (400 MHz).	174
Σχήμα 122: Φάσμα ¹³ C NMR της ένωσης 135 σε διαλύτη CD ₃ OD (101 MHz).	175
Σχήμα 123: Αντίδραση παρασκευής της ουρίας 148 , η οποία δεν φέρει κατεχολικό δακτύλιο στο μόριο της.	175
Σχήμα 124: Συνθετική πορεία παρασκευής πολυφαινολικών καρβαμικών παραγώγων.	176
Σχήμα 125: Γενική αντίδραση παρασκευής καρβαμικών παραγώγων από το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ και τις αλκοόλες 149-154	176
Σχήμα 126: Προτεινόμενος μηχανισμός σχηματισμού καρβαμικών παραγώγων από το καρβοξυλικό οξύ 9 με χρήση του DPPA.	177
Σχήμα 127: Αντίδραση παρασκευής των καρβαμικών παραγώγων 163 και 164	178
Σχήμα 128: Γενική αντίδραση απομεθυλίωσης των διμεθόξυ προστατευμένων καρβαμικών παραγώγων 155-160	178
Σχήμα 129: Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 168 σε διαλύτη CD ₃ OD (400 MHz).	180
Σχήμα 130: Φάσμα ¹³ C NMR της ένωσης 168 σε διαλύτη CD ₃ OD (101 MHz).	181
Σχήμα 131: Αντίδραση παρασκευής του καρβαμικού παραγώγου 171 από το φαινυλοξικό οξύ και την αλκοόλη 149	181

Σχήμα 132: Συνθετική πορεία πολυφαινολικών παραγώγων θειουρίας.	182
Σχήμα 133: Αντίδραση παρασκευής του αντιδραστήριου LR από την ανισόλη και το P_4S_{10}	182
Σχήμα 134: Γενική αντίδραση παρασκευής θειουριών με χρήση του αντιδραστήριου LR.	185
Σχήμα 135: Προτεινόμενος μηχανισμός αντίδρασης θείωσης με το αντιδραστήριο LR.	186
Σχήμα 136: Γενική αντίδραση αποπροστασίας των θειουριών 172-176	188
Σχήμα 137: Φάσμα 1H NMR της ένωσης 177 σε διαλύτη CD_3OD (400 MHz).....	190
Σχήμα 138: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 177 σε διαλύτη CD_3OD (101 MHz).	191
Σχήμα 139: Αντίδραση παρασκευής της θειουρίας 182 από την ουρία 148	191
Σχήμα 140: Αντίδραση παρασκευής του θειοκαρβαμικού παραγώγου 185	192
Σχήμα 141: Προτεινόμενος μηχανισμός αντίδρασης του βενζοσουλφινικού νατρίου, του κυκλοεξυλοϊσοκυανιδίου και του νερού για την παρασκευή του θειοκαρβαμικού παραγώγου 185	193
Σχήμα 142: Η ένωση 133 , η οποία παρουσίασε την καλύτερη δράση κατά του ενζύμου της ουρεάσης.....	194

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Παθογένεση της AD. ²⁵	35
Εικόνα 2: Σχηματική αναπαράσταση τριών διαφορετικών πιθανών τρόπων αλληλεπίδρασης υβριδικών μορίων. ²⁵	38
Εικόνα 3: Δομικά χαρακτηριστικά ουρεασών. Μια λειτουργική μονάδα μπορεί να σχηματιστεί από ένα ετεροτριμερές (όπως στο <i>Sporosarcina pasteurii</i> , PDB ID 2UBP), ένα ετεροδιμερές (όπως στο <i>Helicobacter pylori</i> , PDB ID 1E9Z) ή από μία απλή μονάδα (όπως στην <i>Canavalia ensiformis</i> , PDB ID 3LA4). Αυτές οι λειτουργικές μονάδες (ή μονομερή) σχηματίζουν μεγαλύτερα σύμπλοκα, όπως τριμερή, εξαμερή ή δωδεκαμερή. ¹¹¹	49
Εικόνα 4: Καταλυτικός μηχανισμός των ουρεασών. Χρησιμοποιείται η αρίθμηση των αμινοξέων της ουρεάσης του <i>Sporosarcina pasteurii</i> . Τα Ni(1) και Ni(2) φέρουν την ένδειξη Ni1 και Ni2 σε αυτή την εικόνα. ⁶¹	50
Εικόνα 5: Μοντελοποιημένες δομές της ουρεάσης του <i>S. pasturii</i> με τα (S) εναντιομερή των αναστολέων 71 (A) και 73 (B) συνδεδεμένα στην Cys322 του ενζύμου. Τα ιόντα νικελίου εμφανίζονται ως μπλε σφαίρες, ενώ τα αμινοξέα του ενζύμου και του αναστολέα εμφανίζονται ως ραβδιά. Τα άτομα άνθρακα του αναστολέα είναι χρωματισμένα με πράσινο χρώμα, ενώ είναι γκρι για το υπόλοιπο σύμπλοκο.....	164

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Οι <i>N</i> -προστατευμένες αμινοαλκοόλες που συντέθηκαν και οι αποδόσεις τους.	75
Πίνακας 2: Οι αμιδικοί εστέρες που συντέθηκαν και οι αποδόσεις τους.	78
Πίνακας 3: Οι αποδόσεις των προστατευμένων αμιδικών εστέρων που παρασκευάστηκαν.	82
Πίνακας 4: Οι αποδόσεις των τελικών προϊόντων που παρασκευάστηκαν.	85
Πίνακας 5: Οι αποδόσεις των Boc μονοπροστατευμένων διαμινών που παρασκευάστηκαν.	88
Πίνακας 6: Οι αποδόσεις των αμιδίων που παρασκευάστηκαν με την παραπάνω αντίδραση σύζευξης.	89
Πίνακας 7: Οι αποδόσεις των διαμιδίων που παρασκευάστηκαν.	90
Πίνακας 8: Οι αποδόσεις των τελικών διαμιδίων που παρασκευάστηκαν.	91
Πίνακας 9: Οι αποδόσεις των προϊόντων σύζευξης του προστατευμένου καφεϊκού οξέος και των <i>N</i> -προστατευμένων αμινοαλκοολών.	96
Πίνακας 10: Οι αποδόσεις των τελικών υβριδικών προϊόντων του λιποϊκού και του καφεϊκού οξέος.	97
Πίνακας 11: Οι αποδόσεις των αντιδράσεων των παραγώγων 52 και 53	98
Πίνακας 12: Οι αποδόσεις των αντιδράσεων για τα τελικά προϊόντα 56 και 57	99
Πίνακας 13: Οι αποδόσεις των αντιδράσεων σύζευξης του φερουλικού οξέος με τις μονοπροστατευμένες διαμίνες.	102
Πίνακας 14: Οι αποδόσεις των αντιδράσεων σύνθεσης των τελικών μορίων 63 και 64	103
Πίνακας 15: Φυσικοχημικές ιδιότητες των υβριδικών μορίων που μελετήθηκαν.	106
Πίνακας 16: Χρόνος ημιζωής στο ανθρώπινο πλάσμα των υβριδικών ενώσεων που μελετήθηκαν.	108
Πίνακας 17: Οι αποδόσεις των αντιδράσεων απομεθυλίωσης για τα τελικά προϊόντα 71 και 72	125

Πίνακας 18: Οι αποδόσεις των αντιδράσεων απομεθυλίωσης και αποπροστασίας για τα τελικά προϊόντα 73 και 74	127
Πίνακας 19: Οι αποδόσεις των αντιδράσεων απομεθυλίωσης και αποπροστασίας για τα τελικά προϊόντα 83 , 84 και 85	138
Πίνακας 20: Οι αποδόσεις των αντιδράσεων απομεθυλίωσης και αποπροστασίας για τα τελικά προϊόντα 97 , 98 και 99	152
Πίνακας 21: Οι τιμές IC ₅₀ που λήφθηκαν για τους αναστολείς που συντέθηκαν έναντι της ουρεάσης του <i>S. pasturii</i> μετά από 60 λεπτά προεπώασης.	154
Πίνακας 22: Αντιστρεψιμότητα της αναστολής της ουρεάσης του <i>S. pasteurii</i> από τους αναστολείς που συντέθηκαν και η φύση του κάθε αναστολέα.	155
Πίνακας 23: Η ανασταλτική δράση και ο χρόνος παραμονής των αντιστρεπτικών αναστολέων βραδείας δέσμευσης έναντι της ουρεάσης του <i>S. pasteurii</i>	156
Πίνακας 24: Ανασταλτική δράση των μη αντιστρεπτικών αναστολέων έναντι της ουρεάσης του <i>S. Pasteurii</i>	157
Πίνακας 25: Ανάκτηση της δράσης της ουρεάσης με χρήση DTT από τους αναστολείς.	159
Πίνακας 26: Η δράση των αναστολέων της ουρεάσης έναντι της αποσύνθεσης της ουρίας από το <i>P. Mirabilis</i> PCM 543.....	160
Πίνακας 27: Οι ουρίες που παρασκευάστηκαν και οι αντίστοιχες αποδόσεις τους.	169
Πίνακας 28: Οι συνθήκες των αντιδράσεων αποπροστασίας για την ουρία 124 , με χρήση των αντιδραστηρίων BF ₃ .SMe ₂ ή BBr ₃ και οι αντίστοιχες αποδόσεις τους.	170
Πίνακας 29: Οι αποδόσεις των τελικών προϊόντων μετά τις αντιδράσεις αποπροστασίας.	172
Πίνακας 30: Οι αποδόσεις των καρβαμικών παραγώγων που συντέθηκαν.....	177
Πίνακας 31: Οι συνθήκες που δοκιμάστηκαν στην αντίδραση αποπροστασίας του μορίου 161 και οι αποδόσεις της κάθε αντίδρασης.....	178
Πίνακας 32: Τα τελικά καρβαμικά παράγωγα που συντέθηκαν και οι αποδόσεις των αντιδράσεών τους.....	179
Πίνακας 33: Οι συνθήκες, τα υποστρώματα και οι αποδόσεις των δοκιμαστικών αντιδράσεων θείωσης που πραγματοποιήθηκαν (T: θερμοκρασία).....	183

Πίνακας 34: Οι θειουρίες που παρασκευάστηκαν και οι αποδόσεις τους. 187

Πίνακας 35: Οι τελικές θειουρίες που παρασκευάστηκαν και οι αποδόσεις τους..... 188

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε από τον Απρίλιο του 2017 έως τον Ιούλιο του 2020 στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Τμήματος Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, υπό την επίβλεψη της Αναπληρώτριας Καθηγήτριας κ. Σταματίας Βασιλείου.

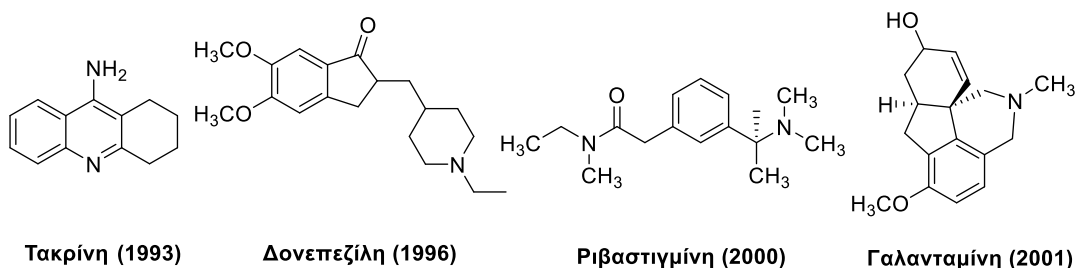
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΥΒΡΙΔΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΚΑΙ ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ ΑΛΤΣΧΑΙΜΕΡ

1.1 Εισαγωγή

Η νόσος του Αλτσχάιμερ (Alzheimer's disease, AD), μια διαταραχή της νοητικής λειτουργίας, προσβάλλει κυρίως τους ηλικιωμένους. Πρόκειται για μια νευροεκφυλιστική διαταραχή, η οποία χαρακτηρίζεται από προοδευτική μείωση της μνήμης και των διανοητικών λειτουργιών, που οδηγεί σε πλήρη υποβάθμιση των ψυχικών και πνευματικών δραστηριοτήτων.^{1,2} Σε παθολογικό επίπεδο, διακρίνεται από την παρουσία πλακών και νευροϊνιδιακών συμπλεγμάτων (neurofibrillary tangles, NFTs) που σχετίζονται με νευρωνική δυσλειτουργία. Τα κοινωνικοοικονομικά αποτελέσματα που συσχετίζονται με την AD είναι σημαντικά λόγω της αξιοσημείωτης αύξησης του προσδόκιμου ζωής και της σημαντικής πτώσης της βρεφικής θνησιμότητας, κυρίως στις ανεπτυγμένες χώρες.³

Ποικίλες προσπάθειες έχουν γίνει για την ανάπτυξη φαρμάκων για τη διαχείριση της AD. Υπό το πρίσμα αυτό, το 1993, ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA) ενέκρινε το πρώτο φάρμακο, την τακρίνη για την AD ως αναστολέα της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE). Μετά την τακρίνη, ορισμένοι άλλοι αναστολείς της AChE, συμπεριλαμβανομένης της δονεπεζίλης, της ριβαστιγμίνης και της γαλανταμίνης, εγκρίθηκαν από τον FDA (Σχήμα 1):



Τακρίνη (1993)

Δονεπεζίλη (1996)

Ριβαστιγμίνη (2000)

Γαλανταμίνη (2001)

Σχήμα 1: Φάρμακα εγκεκριμένα από τον FDA για τη θεραπεία της νόσου του Αλτσχάιμερ.

Αυτά τα εγκεκριμένα φάρμακα αποδείχθηκαν καταπραϋντικά και όχι θεραπευτικά, καθώς βελτίωσαν μόνο την μνήμη και τη γνωστική λειτουργία. Επιπλέον, αποδείχθηκε ότι διαδραματίζουν μικρό ρόλο στην πρόληψη ή

την επιβράδυνση του προοδευτικού νευροεκφυλισμού, λόγω εμπλοκής διαφορετικών παραγόντων στην παθογένεση της AD, όπως η απόθεση μη φυσιολογικών πρωτεϊνών, συγκεκριμένα της β-αμυλοειδούς (Aβ) και της πρωτεΐνης ταυ, η απώλεια συνάψεων, το οξειδωτικό στρες, ο θάνατος νευρικών κυττάρων κ.λ.π.^{4,5}

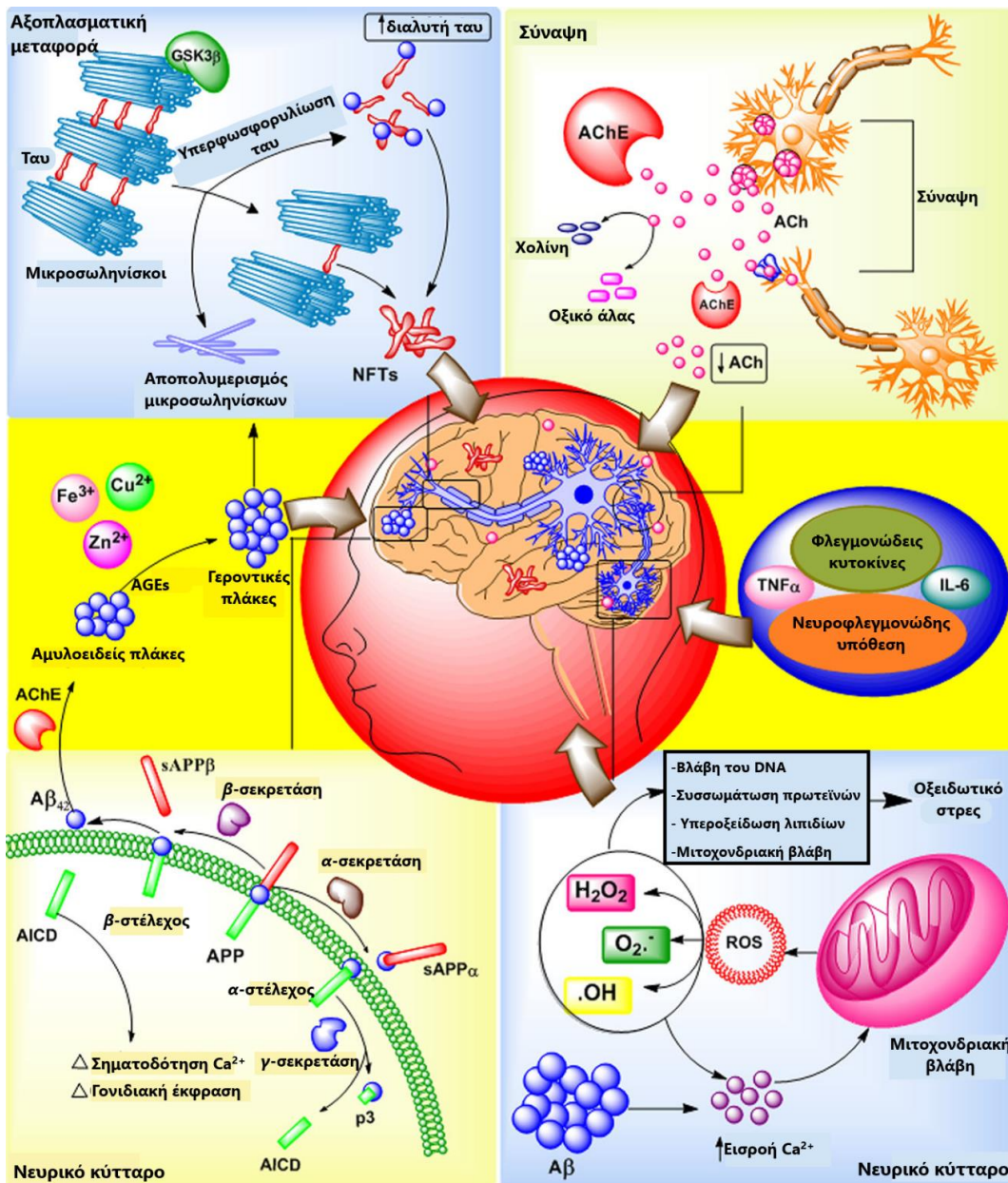
Λόγω της παθολογικής πολυπλοκότητας της νόσου, μέχρι σήμερα κανένας παράγοντας δεν έχει αποδειχθεί αποτελεσματικός. Έτσι, η εύρεση λύσης για την AD αποτελεί μία από τις σημαντικότερες ανάγκες της ιατρικής.⁶

1.2 Παθογένεση της AD

Ο Αλοΐσιος Άλτσαϊμερ, το 1907, περιέγραψε την εμφάνιση νευρωνικών πλακών (neuritic plaques) και NFTs κατά την αυτοψία στον εγκεφαλικό φλοιό μιας γυναίκας ηλικίας 56 ετών που είχε άνοια.⁷ Στα τέλη της δεκαετίας του 1970, καθορίστηκε ο ρόλος της ακετυλοχολίνης (ACh), ενός σημαντικού νευροδιαβιβαστή, στην AD. Η AChE, που υδρολύει την ακετυλοχολίνη, και η συγγενική βουτυρυλοχολινεστεράση (BuChE) είναι δύο ένζυμα που συμμετέχουν στη «χολινεργική υπόθεση».⁸

Μία αμυλοειδής αλληλουχία είναι ένα άλλο χαρακτηριστικό της AD, σύμφωνα με την οποία η πρόδρομη πρωτεΐνη του αμυλοειδούς (APP) διασπάται, είτε από τη β-, είτε από την α-σεκρετάση. Τα προκύπτοντα θραύσματα που είναι συνδεδεμένα σε μεμβράνη, τεμαχίζονται περαιτέρω από τη γ-σεκρετάση (Εικόνα 1). Το προϊόν της α-διάσπασης, που ακολουθείται από αυτό της γ-διάσπασης, είναι πολύ διαλυτό και μη αμυλοειδές,⁹ ενώ το αμυλοειδές βήτα (Aβ), που σχηματίζεται από τη β-διάσπαση, ακολουθούμενο από τη γ- διάσπαση, είναι βιοχημικά αδιάλυτο, πολυμερίζεται σε παθολογικά ινίδια και συσσωρεύεται ως συσσωματωμένες πλάκες Aβ.¹⁰ Οι πλάκες Aβ και τα ολιγομερή είναι ισχυρές συναπτοτοξίνες που παρεμποδίζουν τη λειτουργία των πρωτεασωμάτων, αλλάζουν τα επίπεδα ενδοκυτταρικού Ca²⁺, περιορίζουν τη μιτοχονδριακή δράση και ενεργοποιούν τις φλεγμονώδεις διεργασίες. Επιπλέον, η AChE προάγει την Aβ μέσω ενός υδρόφοβου περιβάλλοντος, το οποίο βρίσκεται κοντά στην περιφερειακή ανιονική θέση της AChE, επιταχύνοντας έτσι τα αμυλοειδή ινίδια μέσω σχηματισμού σταθερών

συμπλοκών των AChE-Aβ, τα οποία αυξάνουν περαιτέρω τη νευροτοξικότητα των β-αμυλοειδών ινιδίων.¹¹



Εικόνα 1: Παθογένεση της AD.²⁵

Ένα άλλο χαρακτηριστικό της νόσου είναι η πρωτεΐνη ταυ (Εικόνα 1), μια βασική πρωτεΐνη που σχετίζεται με μικροσωληνίσκους και τους σταθεροποιεί. Οι πρωτεΐνες ταυ συνδέονται με την αποτελεσματική αξοπλάσματική μεταφορά, η οποία απορυθμίζεται στην AD.¹² Το β-αμυλοειδές αλληλεπιδρά με τις οδούς σηματοδότησης που ρυθμίζουν τη φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης ταυ. Η υπερφωσφορυλιωμένη ταυ (δηλαδή, η παραμορφωμένη πρωτεΐνη) επηρεάζει περαιτέρω τα νήματα της ταυ και

οδηγεί στον σχηματισμό των νευροϊνιδιακών συμπλεγμάτων (NFTs) στα νευρικά κύτταρα. Τα NFTs προάγουν τη διάσπαση των μικροσωληνίσκων, αποτέλεσμα του οποίου είναι η κατάρρευση του νευρωνικού συστήματος μεταφοράς και η ελαττωματική βιοχημική επικοινωνία μεταξύ των νευρώνων, που τελικά οδηγεί σε νευρωνικό κυτταρικό θάνατο.¹³

Το οξειδωτικό στρες θεωρείται ως μια άλλη σημαντική αιτία που επηρεάζει το θάνατο των νευρωνικών κυττάρων σε διαταραχές που σχετίζονται με την ηλικία, όπως η AD (Εικόνα 1). Στα μιτοχόνδρια, η μονοαμινοξυγονάση (MAO) ενισχύει την ενζυματική οξειδωση και φωσφορυλίωση των βιογενών αμινών και οδηγεί στον σχηματισμό διαφόρων δραστικών μορφών οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS) και δραστικών μορφών αζώτου (reactive nitrogen species, RNS) που παράγουν λειτουργικές αλλοιώσεις στα λιπίδια, τις πρωτεΐνες και το DNA. Ο εγκέφαλος περιέχει υψηλή περιεκτικότητα σε ιόντα Cu^{2+} και Fe^{2+} που ενισχύουν την ποσότητα ROS στον εγκέφαλο και οδηγούν σε $\text{A}\beta$ νευροτοξικότητα. Η $\text{A}\beta$ επιταχύνει επίσης τη δημιουργία δραστικών μορφών οξυγόνου και προκαλεί οξειδωτικό στρες στα μιτοχόνδρια.^{14,15}

Τα ιόντα Ca^{2+} είναι σημαντικοί ενδοκυτταρικοί αγγελιοφόροι στον εγκέφαλο, σημαντικοί για τη συναπτική μετάδοση, την ανάπτυξη και την πλαστικότητα των νευρώνων, μέσω του κυτταροσκελετού και των σχετικών με αυτόν πρωτεϊνών. Αυξημένα επίπεδα κυτταρικού Ca^{2+} και διαταραχές στην ομοίωση Ca^{2+} , σχετίζονται με νευρωνική καταστροφή και προάγουν την ανάπτυξη ελεύθερων ριζών και ROS (Εικόνα 1).¹⁶ Η μονοαμινοξυγονάση τύπου B (MAO-B) εμπλέκεται επίσης στην παθογένεση της AD και είναι ιδιαίτερα υψηλή στις γεροντικές πλάκες. Η καταλυτική δράση της MAO παράγει H_2O_2 εντός των δραστικών μικρογλοιακών ιστών ενός εγκεφάλου που πάσχει από AD, γεγονός που συμβάλλει στην έναρξη του οξειδωτικού στρες και των επακόλουθων επιβλαβών επιδράσεων στο κύτταρο.¹⁷

Οι ανταγωνιστές των υποδοχέων των κανναβινοειδών CB_1 αποτελούν επίσης πιθανή θεραπευτική αγωγή για γνωστικές διαταραχές, όπως η AD.¹⁸ Οι ανταγωνιστές του υποδοχέα CB_1 αυξάνουν την απελευθέρωση της ACh σε συγκεκριμένες περιοχές του εγκεφάλου. Επιπλέον, οι μουσκαρινικοί υποδοχείς εμπλέκονται στην παθογένεση της AD. Επίσης,

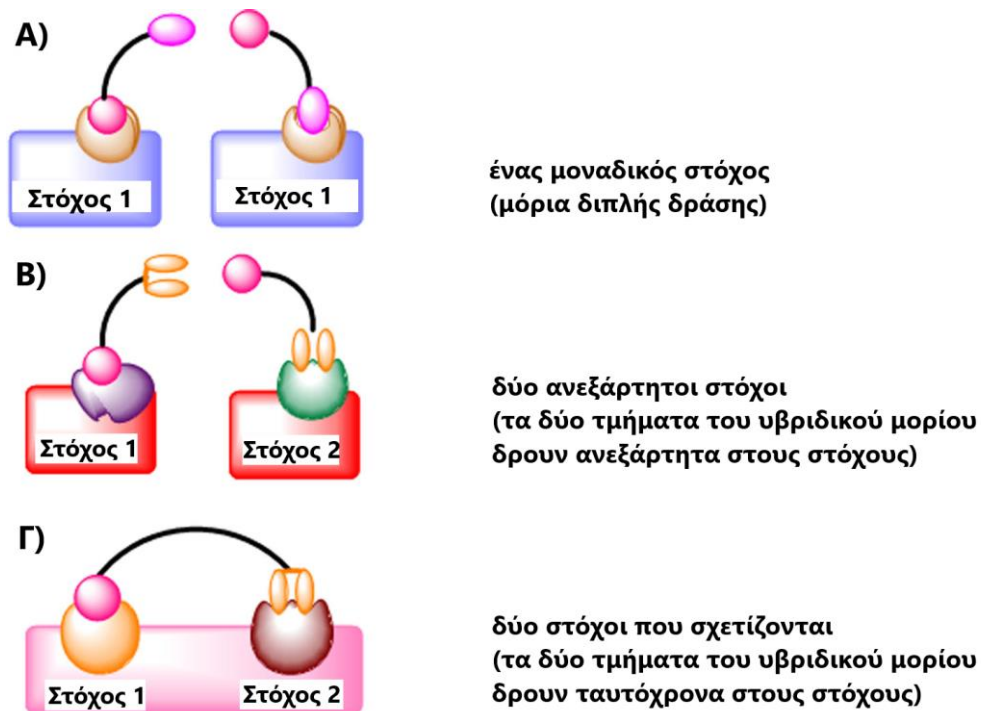
σύμφωνα με τη «νευροφλεγμονώδη υπόθεση» οι φλεγμονώδεις διεργασίες είναι σημαντικές για την προαγωγή του εκφυλισμού στην AD.¹⁹ Προϊόντα γλυκοζυλίωσης (AGEs) εμπλέκονται επίσης στην εκτεταμένη διασύνδεση των πρωτεϊνών, την πρόκληση οξειδωτικού στρες και το θάνατο των νευρωνικών κυττάρων στην AD.²⁰

1.3 Στρατηγική πολλαπλών στόχων (Multi-target directed ligand, MTDL) στην AD

Εξαιτίας των διαφόρων σύνθετων μηχανισμών που εμπλέκονται, η AD είναι γνωστή ως μια πολυσχιδής ασθένεια με πολύπλοκη παθογένεση. Για τον λόγο αυτό, η ανάπτυξη φαρμάκων για τη θεραπεία της AD βάση του μοτίβου «ένα μόριο-ένας στόχος», αποδείχθηκε καταπραϋντική και όχι θεραπευτική. Έτσι, οι συνδυασμοί φαρμάκων, που δρουν σε διαφορετικά στάδια της νευροτοξικής αλληλουχίας, προσφέρουν νέους ορίζοντες για τη θεραπεία της AD και άλλων νευροεκφυλιστικών ασθενειών.²¹ Σε αυτό το πλαίσιο, αναδύεται μια νέα προσέγγιση σχεδιασμού φαρμάκων, που αφορά στην ανάπτυξη απλών χημικών ουσιών, που στοχεύουν ταυτόχρονα πολλούς στόχους. Η προσέγγιση «πολλαπλών στόχων» (MTDL) εφαρμόζεται ευρύτατα στον τομέα της AD και άλλων πολύπλοκων ασθενειών.^{6,22} Στη στρατηγική σχεδιασμού MTDL, ένα μόνο μόριο φαρμάκου μπορεί να αναγνωρίσει διάφορους στόχους που εμπλέκονται στην παθολογία της νόσου. Έτσι, τέτοια φάρμακα θα ήταν πολύ αποτελεσματικά για τη θεραπεία πολυπαραγοντικών ασθενειών. Ταυτόχρονα όμως, το μόριο αυτό θα μπορούσε να είναι υπεύθυνο για παρενέργειες, καθώς θα μπορούσε επίσης να συνδεθεί με στόχους που δεν εμπλέκονται στην ασθένεια.

Τα **υβριδικά μόρια** είναι χημικές ενώσεις με δύο ή περισσότερα δομικά τμήματα συνδεδεμένα ομοιοπολικά σε ένα μόριο με διακριτές φαρμακολογικές (και χημικές) ομάδες.²³ Αυτά τα πολυλειτουργικά μόρια μπορούν να σχεδιαστούν στοχεύοντας κάποιες από τις οδούς που εμπλέκονται στην παθογένεση της AD.²⁴ Οι υβριδικές ενώσεις ταξινομούνται σε τρεις διαφορετικές κατηγορίες με βάση τον τρόπο δράσης τους (Εικόνα 2):

- **Κατηγορία Α:** στοχεύουν σε έναν μοναδικό στόχο, στον οποίο και οι δύο χημικές οντότητες του υβριδικού μορίου αλληλεπιδρούν με αυτόν τον έναν μοναδικό στόχο. Δηλαδή, αυτά τα υβριδικά μόρια παρουσιάζουν διπλή δράση στον ίδιο στόχο.
- **Κατηγορία Β:** αποτελείται από δύο χημικές οντότητες στο υβριδικό μόριο που δρουν ξεχωριστά σε δύο διαφορετικούς και μη σχετικούς στόχους.
- **Κατηγορία Γ:** και οι δύο μονάδες του υβριδικού μορίου δρουν ταυτόχρονα σε δύο στόχους που σχετίζονται μεταξύ τους.²⁵



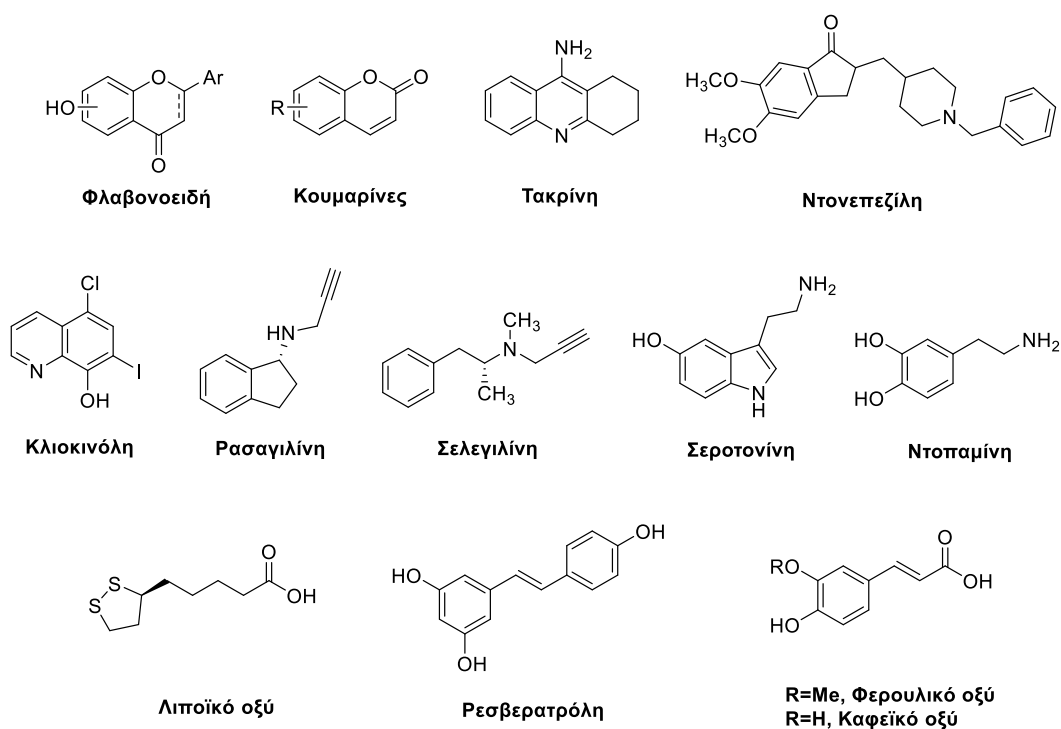
Εικόνα 2: Σχηματική αναπαράσταση τριών διαφορετικών πιθανών τρόπων αλληλεπίδρασης υβριδικών μορίων.²⁵

Τα υβριδικά μόρια αποτελούν ένα μοριακό συγκρότημα στο οποίο υπάρχουν ξεχωριστά φαρμακοφόρα τμήματα. Το κάθε φαρμακοφόρο τμήμα έχει διατηρήσει τη δυνατότητα αλληλεπίδρασης με τους στόχους. Δημιουργούνται, έτσι, διαφορετικές ειδικές φαρμακολογικές αποκρίσεις, οι οποίες διευκολύνουν τη διαχείριση πολυπαραγοντικών ασθενειών. Αυτές οι ενώσεις μπορεί να είναι ευεργετικές, καθώς αναμένεται να μειώσουν τον κίνδυνο αλληλεπιδράσεων μεταξύ φαρμάκων και να απλοποιήσουν τις φαρμακοδυναμικές και φαρμακοκινητικές τους μελέτες.²¹

Οι πολυλειτουργικοί παράγοντες για νευροπροστασία, ρύθμιση των επιπέδων ACh, ρύθμιση της ομοιόστασης ασβεστίου, αντι-αποπτωτική δράση, συνδυάζοντας διαφορετικές ιδιότητες σε ένα μόριο, καθίστανται μια νέα στρατηγική για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων για τη θεραπεία διαφόρων πολυσχιδών νευροεκφυλιστικών ασθενειών, όπως η AD.²⁵

1.4 Προνομιακές δομές για την ανάπτυξη της στρατηγικής MTDL

Ως προνομιακή δομή (privileged structure) μπορεί να οριστεί κάποια μοριακή δομή με χαρακτηριστικά που της επιτρέπουν να έχει συγγένεια με πολλούς διαφορετικούς βιολογικούς στόχους. Επιπλέον, μια προνομιακή δομή πρέπει να έχει επιθυμητές φαρμακολογικές ιδιότητες.²⁶ Αυτές οι δομές αποτελούν πολύτιμο εργαλείο για τον σχεδιασμό και την ανακάλυψη νέων φαρμάκων. Αυτά τα μόρια είναι, κατά συνέπεια, ένα ιδανικό αρχικό υλικό για γρήγορη πρόσβαση σε νέα φάρμακα MTDL. Μία μικρή συλλογή αυτών των μορίων έχει χρησιμοποιηθεί για τον σχεδιασμό και τη σύνθεση υβριδικών θεραπευτικών ενώσεων για την AD. Στη συνέχεια, παρατίθενται κάποιες ενώσεις που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως προνομιακές δομές για τη σύνθεση νέων MTDL φαρμάκων για την AD (Σχήμα 2).²⁷



Σχήμα 2: Προνομιακές δομές για την ανάπτυξη φαρμάκων MTDL.

1.4.1 Φλαβονοειδή

Τα φλαβονοειδή (Σχήμα 2) είναι πολυφαινολικοί δευτερογενείς μεταβολίτες φυτών. Έχουν δείξει ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δράσεων, όπως αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη, αναστολή της AChE, αντι-συσσωμάτωση, αναστολή της MAO και μέταλλο-χηλίωση. Έχουν περιγραφεί ως δραστικά έναντι ορισμένων νευροεκφυλιστικών ασθενειών, συμπεριλαμβανομένης της AD.^{28,29} Επιπλέον, οι πολυφαινολικές δομές είναι γνωστές για την αντιοξειδωτική τους δράση, γεγονός που μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στη νευροπροστατευτική δράση ενάντι στο οξειδωτικό στρες και στην ικανότητά τους να δεσμεύουν δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS).²⁷

1.4.2 Κουμαρίνες.

Η ετεροκυκλική δομή της κουμαρίνης (Σχήμα 2) υπάρχει σε ορισμένα φάρμακα που εμφανίζουν ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δράσεων, όπως την αναστολή των AChE και MAO. Επιπλέον, διάφορες μελέτες έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα ότι η έκθεση σε ενώσεις κουμαρινών είναι ασφαλής για τον άνθρωπο. Σε αυτό το πλαίσιο, διαφορετικές μοριακές υβριδικές ενώσεις, που έχουν μόριο κουμαρίνης, εμφανίζουν δράση έναντι πολλών στόχων θεραπευτικού ενδιαφέροντος στην AD.³⁰

1.4.3 Τακρίνη

Η τακρίνη (Σχήμα 2) που περιγράφηκε αρχικά το 1961 ως αναστολέας της AChE και της BuChE,³¹ ήταν το πρώτο εγκεκριμένο φάρμακο του FDA κατά της AD, το 1993. Ωστόσο, αποσύρθηκε από την αγορά το 2013, λόγω των ηπατοτοξικών παρενεργειών του. Προκειμένου να εξαλειφθεί η τοξικότητα της τακρίνης και να βελτιωθεί η δραστηριότητα της στην AChE, έχουν εισαχθεί αρκετές τροποποιήσεις στο τμήμα της τακρίνης.²⁷

1.4.4 Ντονεπεζίλη

Το φάρμακο ντονεπεζίλη (Σχήμα 2) κατά της AD είναι ένας πολύ γνωστός, διαπερατός στον εγκέφαλο, αναστολέας δεύτερης γενιάς της AChE, που εμφανίζει μεγαλύτερη και πιο επιλεκτική δράση.³² Εγκρίθηκε από τον FDA για χρήση κατά της AD και κυκλοφόρησε στην αγορά με την εμπορική

ονομασία «Aricept®» το 1996. Επιπλέον, η ντονεπεζίλη έχει παρουσιάσει δράση σε άλλα βασικά χαρακτηριστικά της AD, όπως τη μείωση της νευροτοξικότητας του πεπτιδίου Αβ, τη νευροπροστατευτική δράση κατά του οξειδωτικού στρες και την παγίδευση των ελεύθερων ριζών. Επιπλέον, άλλα επιπρόσθετα οφέλη της ντονεπεζίλης έχουν περιγραφεί όταν χρησιμοποιείται σε συνδυαστική θεραπεία με άλλες δραστικές ενώσεις. Ωστόσο, η δράση της είναι πολύ περιορισμένη στη θεραπεία της προχωρημένης AD και οι θεραπευτικές της δράσεις δεν είναι μόνιμες.^{33,34,35}

1.4.5 Κλιοκινόλη

Η κλιοκινόλη (Σχήμα 2) είναι ένα παλαιό φάρμακο με αντιμυκητιακές ιδιότητες, το οποίο αποσύρθηκε το 1983 λόγω της νευροτοξικότητάς του σε υψηλές δόσεις. Η κλιοκινόλη διερευνήθηκε ως φάρμακο κατά της AD επειδή είναι μια γνωστή ένωση εξασθένησης δεσμού μετάλλου-πρωτεΐνης (metal protein attenuating compound, MPAC).³⁶ Το 2005, η εταιρεία Prana σταμάτησε την ανάπτυξη μελετών κλιοκινόλης, επειδή η συνθετική διεργασία του φαρμάκου δημιουργούσε τοξικές μολυσματικές ουσίες. Παρ' όλα αυτά, αρκετά παράγωγα της κλιοκινόλης διερευνήθηκαν για τη νευροπροστατευτική τους δράση έναντι διαφόρων νευροεκφυλιστικών παθολογιών.³⁷

1.4.6 Ρασαγιλίνη και σελεγιλίνη

Η ρασαγιλίνη και η σελεγιλίνη (Σχήμα 2) είναι φάρμακα εγκεκριμένα από τον FDA για τη νόσο του Πάρκινσον. Πρόκειται για προπαργουλαμίνες που δρουν ως μη αντιστρεπτοί αναστολείς της MAO, ειδικά εκλεκτικοί για την MAO-B. Επιπλέον, αυτές οι ενώσεις υποβάλλονται σε δοκιμές φάσης 2 για πιθανή χρήση τους στη θεραπεία της AD. Μελέτες δομής-δραστικότητας των αναλόγων ρασαγιλίνης και σελεγιλίνης αποδεικνύουν ότι το τμήμα της προπαργουλαμίνης, που υπάρχει στη δομή και των δύο ενώσεων, είναι απαραίτητο για τη νευροπροστασία, καθιστώντας έτσι αυτό το χημικό τμήμα δυνητικά χρήσιμο για την ανάπτυξη φαρμάκων MTDL.³⁸

1.4.7 Σεροτονίνη και ντοπαμίνη

Η σεροτονίνη και η ντοπαμίνη (Σχήμα 2) είναι μονοάμινο νευροδιαβιβαστές, ενώ τα τελευταία χρόνια έχει αποδειχθεί ο σημαντικός ρόλος τους στην αμυλοειδή υπόθεση. Μια εναλλακτική λύση στην αμυλοειδή υπόθεση είναι η διέγερση των υποτύπων του σεροτονινεργικού υποδοχέα 5-HT₆, που προάγει τη μη αμυλοειδή διάσπαση της APP ενεργοποιώντας την α-σεκρετάση. Ένας αυξανόμενος αριθμός μελετών παρείχε αποδεικτικά στοιχεία για την ενεργοποίηση της σεροτονινεργικής νευροδιαβίβασης και τους υποδοχείς αυτούς, ως στόχο για τη βελτίωση της γνωστικής δυσλειτουργίας στην AD και τη μείωση της αμυλοειδούς τοξικότητας.³⁹ Έτσι, υπάρχει ένα αναδυόμενο ενδιαφέρον για την ανάπτυξη νέων υβριδικών ενώσεων που περιέχουν φαρμακοφόρα τμήματα φαιναιθυλαμίνης ή ινδολαμίνης και προκαλούν τον αποκλεισμό των υποδοχέων σεροτονίνης 5-HT₆.⁴⁰

1.4.8 Λιποϊκό οξύ

Το α-λιποϊκό οξύ (Σχήμα 2) είναι ένα γνωστό φυσικό αντιοξειδωτικό που χρησιμοποιείται στα συμπληρώματα διατροφής και κατέχει την ικανότητα να παγιδεύει ελεύθερες ρίζες, ενώ ο ρόλος του στην κυτταρική πρόσληψη γλυκόζης μπορεί να είναι χρήσιμος για την ανάπτυξη θεραπευτικών φαρμάκων κατά της AD. Επιπλέον, το λιποϊκό οξύ έχει δείξει μια ποικιλία άλλων ιδιοτήτων που μπορεί να είναι χρήσιμες για το σύνολο των παραγόντων της AD. Για παράδειγμα, έχει αναφερθεί ότι αυξάνει τα επίπεδα ACh και μπορεί επίσης να συμπλεγθεί με οξειδωτικά μέταλλα, τα οποία παράγουν δραστικές μορφές οξυγόνου.^{41,42} Επίσης, εμφανίζει αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Επομένως, είναι σαφές ότι το λιποϊκό οξύ μπορεί να θεωρείται προνομιακή δομή προκειμένου να αναπτυχθούν νέα φάρμακα πολλαπλών στόχων στην AD.⁴³

1.4.9 Ρεσβερατρόλη

Η ρεσβερατρόλη (Σχήμα 2) είναι μια πολυφαινολική φυτοαλεξίνη, που σχηματίζεται στα φυτά από το ένζυμο συνθετάση στιλβενίου και έχει εγκριθεί από τον FDA ως συμπλήρωμα διατροφής. Προκλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι η ρεσβερατρόλη μπορεί να είναι ένα θεραπευτικό εργαλείο

για πολλές χρόνιες ασθένειες, όπως ο καρκίνος, οι νευρολογικές διαταραχές, οι καρδιαγγειακές παθήσεις και ο διαβήτης. Με βάση τα αντιφλεγμονώδη και αντιοξειδωτικά αποτελέσματα της ρεσβερατρόλης, και τις δράσεις της που εμπλέκονται σε νευρολογικές ασθένειες, πολλοί ερευνητές έχουν υποθέσει ότι η ρεσβερατρόλη θα μπορούσε να είναι μία σημαντική ένωση για τον σχεδιασμό υβριδικών μορίων για τη θεραπεία της AD.²⁷

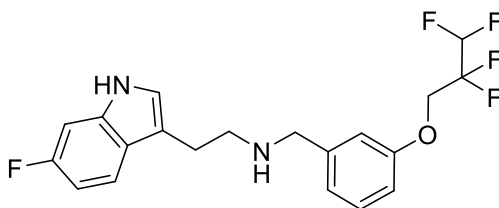
1.4.10 Φερουλικό οξύ και καφεϊκό οξύ

Το φερουλικό και το καφεϊκό οξύ (Σχήμα 2) είναι υδροξυκιναμωμικά οξέα που υπάρχουν σε φυτά, ενώ το δεύτερο βιοσυντίθεται από το πρώτο. Όπως πολλές άλλες φυσικές φαινόλες, έχουν δείξει αντιοξειδωτική ικανότητα και προστατευτική δράση έναντι δραστικών μορφών οξυγόνου, λόγω της ικανότητάς τους να παγιδεύουν τις ελεύθερες ρίζες. Αρκετές μελέτες έχουν αξιολογήσει τις θεραπευτικές ιδιότητες των φυσικών πολυφαινολικών ενώσεων, συμπεριλαμβανομένων των καφεϊκού και φερουλικού οξέος, στην πρόληψη ασθενειών που σχετίζονται με τις ελεύθερες ρίζες, επιβεβαιώνοντας ότι και τα δύο οξέα παρουσιάζουν αντικαρκινικές, αντιφλεγμονώδεις και καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες. Έτσι, και τα δύο οξέα, λόγω των αντιοξειδωτικών και αντιφλεγμονωδών ιδιοτήτων τους, έχουν προταθεί για τη θεραπευτική αγωγή της AD.^{44,45} Το **ορθο-διυδρόξυ** αρωματικό τμήμα έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς ως δομικό στοιχείο για τον σχεδιασμό MTDL φαρμάκων στη AD.²⁷

1.5 Υβριδικές ενώσεις και AD

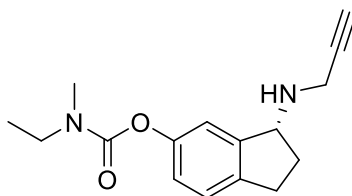
Ο υποδοχέας 5-HT₆ είναι ένας πολλά υποσχόμενος στόχος για την AD, οπότε ο συνδυασμός αυτού του στόχου με αναστολή της AChE θα μπορούσε να είναι μια έξυπνη μεθοδολογία για τον σχεδιασμό ενός θεραπευτικού υβριδικού φαρμάκου κατά της AD. Σε αυτό το πλαίσιο, η εταιρεία Lundbeck σχεδίασε την **Ιδαλοπιρδίνη** (LuAE58054) συνδυάζοντας ένα φαρμακοφόρο τμήμα τρυπταμίνης, ως ανταγωνιστή του υποδοχέα σεροτονίνης 5-HT₆ και ένα τμήμα βενζυλαμίνης ως αναστολέα AChE (Σχήμα 3). Οι κλινικές μελέτες φάσης 3 ολοκληρώθηκαν το 2017 σε ασθενείς με ήπια έως μέτρια νόσο του Αλτσχάιμερ που έλαβαν

συνδυαστική θεραπεία με ντονεπεζίλη/ιδαλοπιρδίνη (NCT02006641),⁴⁶ τα αποτελέσματα όμως δεν ήταν θετικά ως προς την καταστολή της γνωστική μείωσης.²⁷



Σχήμα 3: Ιδαλοπιρδίνη

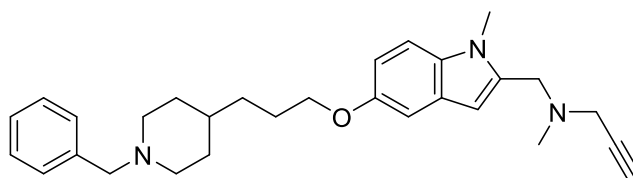
Η MAO έχει προταθεί ως θεραπευτικός στόχος στις νευροεκφυλιστικές ασθένειες. Η **Λαδοστιγίλη** (Σχήμα 4) είναι μια υβριδική ένωση που συνδυάζει τις νευροπροστατευτικές δράσεις της ρασαγιλίνης, ενός αναστολέα της MAO, με το καρβαμικό τμήμα της ριβαστιγμίνης, ενός αναστολέα της AChE. Η λαδοστιγίλη διατηρεί τις νευροπροστατευτικές δράσεις της αρχικής ρασαγιλίνης και επιπλέον η εισαγωγή του καρβαμικού τμήματος οδήγησε σε επιλεκτική αναστολή στον εγκέφαλο των μονοαμινοξειδασών τύπου A και B και αύξηση των επιπέδων σεροτονίνης. Έτσι, ο συνδυασμός αναστολής των AChE/BuChE και MAO και νευροπροστασίας έναντι του οξειδωτικού στρες, καθιστά τη λαδοστιγίλη ένα πολλά υποσχόμενο φάρμακο για τη θεραπευτική αγωγή της AD. Η λαδοστιγίλη βρίσκεται σε δοκιμές φάσης 2 (NCT01354691) από την εταιρεία Anraham Pharmaceuticals για την αξιολόγηση της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητάς της έναντι του εικονικού φαρμάκου (παρασκεύασμα από το οποίο απουσιάζει η δραστική ουσία) σε ασθενείς με ήπια έως μέτρια AD.⁴⁷



Σχήμα 4: Λαδοστιγίλη

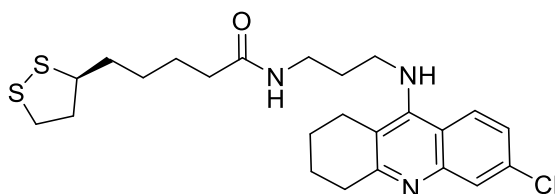
Με τον ίδιο στόχο, ο Marco-Contelles και οι συνεργάτες του έχουν αναπτύξει την υβριδική ένωση **ASS234** (Σχήμα 5), που προκύπτει από τον ορθολογικό συνδυασμό τριών τμημάτων. Έτσι, η βενζυλοπιπεριδίνη (από

την ντονεπεζίλη, με στόχο τη βελτίωση της ανασταλτικής δράσης για τις AChE/BuChE) και ένα τμήμα προπαργουλαμίνης (με στόχο την αναστολή της MAO), συνδέθηκαν σε ένα μόριο υδροξυϊνδόλης, προκειμένου να προωθήσουν την αντιοξειδωτική δράση και την ικανότητα διαπερατότητας στο φράγμα αίματος-εγκεφάλου. Το ASS234 έχει αποδειχθεί ότι αναστέλλει αποτελεσματικά, όχι μόνο τις AChE και MAO, αλλά και τη συσσωμάτωση του Αβ, εξασκώντας αντιοξειδωτικές και νευροπροστατευτικές ιδιότητες. Λόγω όλων αυτών των θετικών προκαταρκτικών βιολογικών μελετών, η υβριδική ένωση ASS234 έχει αναδειχθεί ως μια πολλά υποσχόμενη επιλογή για περαιτέρω κλινική βελτίωση.⁴⁸



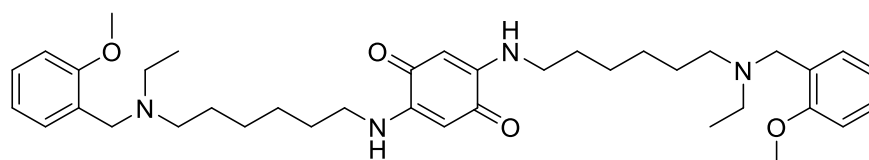
Σχήμα 5: ASS234

Μια άλλη ενδιαφέρουσα υβριδική ένωση που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της AD, που σχεδιάστηκε και αναπτύχθηκε σε ακαδημαϊκό περιβάλλον, είναι η **Λιποκρίνη** (Σχήμα 6). Αυτό το μόριο αναφέρθηκε από τον Melchiorre και τους συναδέλφους του το 2005.⁴⁹ Η λιποκρίνη ενσωματώνει, στο ίδιο μόριο, τη δομή του φυσικού αντιοξειδωτικού λιποϊκού οξέος με ένα ανάλογο τακρίνης. Είναι ένας ισχυρός αναστολέας της AChE, έχοντας επίσης την ικανότητα να μειώνει τη συσσώρευση AChE και αμυλοειδούς-β και να προστατεύει από τις δραστικές μορφές οξυγόνου. Με βάση τις πολλαπλές δράσεις του και τα προκαταρκτικά αποτελέσματα των μελετών που πραγματοποιήθηκαν, η λιποκρίνη επιλέχθηκε ως υποψήφια για *in vivo* έρευνα. Ωστόσο, οι κλινικές δοκιμές δεν έχουν ολοκληρωθεί μέχρι σήμερα.²⁷



Σχήμα 6: Λιποκρίνη

Τέλος, η **Μεμοκίνη**, ένα πολλά υποσχόμενο υβριδικό μόριο για τη θεραπευτική αγωγή της AD, αναπτύχθηκε επίσης από την ομάδα του Melchiorre το 2007. Αυτή η ένωση (Σχήμα 7) ελήφθη με συνδιασμό μιας βενζοκινόνης με δύο πλευρικές αλυσίδες πολυαμίνης, που ενεργεί ως ριζικός παγιδευτής, και οι οποίες πολυαμίνες συνδέονται η κάθε μια με ένα μόριο βενζυλαμίνης, με σκοπό την παροχή του υβριδικού μορίου με την ικανότητα να αναστέλλει την AChE. Η βιολογική εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της μεμοκίνης έχει διερευνηθεί πλήρως, τόσο *in vitro*, όσο και *in vivo*, επιβεβαιώνοντας τη διπλή αναστολή της β-σεκρετάσης και της AChE σε νανομοριακό επίπεδο. Επιπλέον, *in vitro* μοντέλα έδειξαν ότι η μεμοκίνη ήταν ικανή να αναστέλλει τον σχηματισμό του αμυλοειδούς ινιδίου και επίσης, εμφάνισε νευροπροστατευτικές ιδιότητες, μειώνοντας τον σχηματισμό δραστικών μορφών οξυγόνου.²⁷



Σχήμα 7: Μεμοκίνη

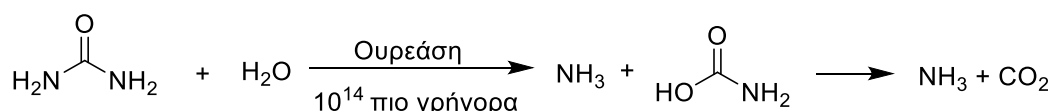
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΟΥΡΕΑΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΗΣ

2.1 Ουρεάση

2.1.1 Ιστορία και μοριακά χαρακτηριστικά των ουρεασών

Οι ουρεάσες (αμιδοϋδρολάση της ουρίας, EC 3.5.1.5) είναι μεταλλοένζυμα που βρίσκονται παντού και παράγονται από φυτά, μύκητες, βακτήρια, αλλά όχι από ζώα. Οι ουρεάσες καταλύουν την υδρόλυση της ουρίας σε αμμωνία και καρβαμικό άλας (το οποίο στη συνέχεια αποσυντίθεται σε άλλο ένα μόριο αμμωνίας και διοξειδίο του άνθρακα). Τα ένζυμα αυτά επιταχύνουν το ρυθμό αυτής της αντίδρασης κατά έναν παράγοντα τουλάχιστον 10^{14} μεγαλύτερο σε σύγκριση με την αποσύνθεση της ουρίας με αντίδραση απόσπασης (Σχήμα 8).^{50,51,52,53}

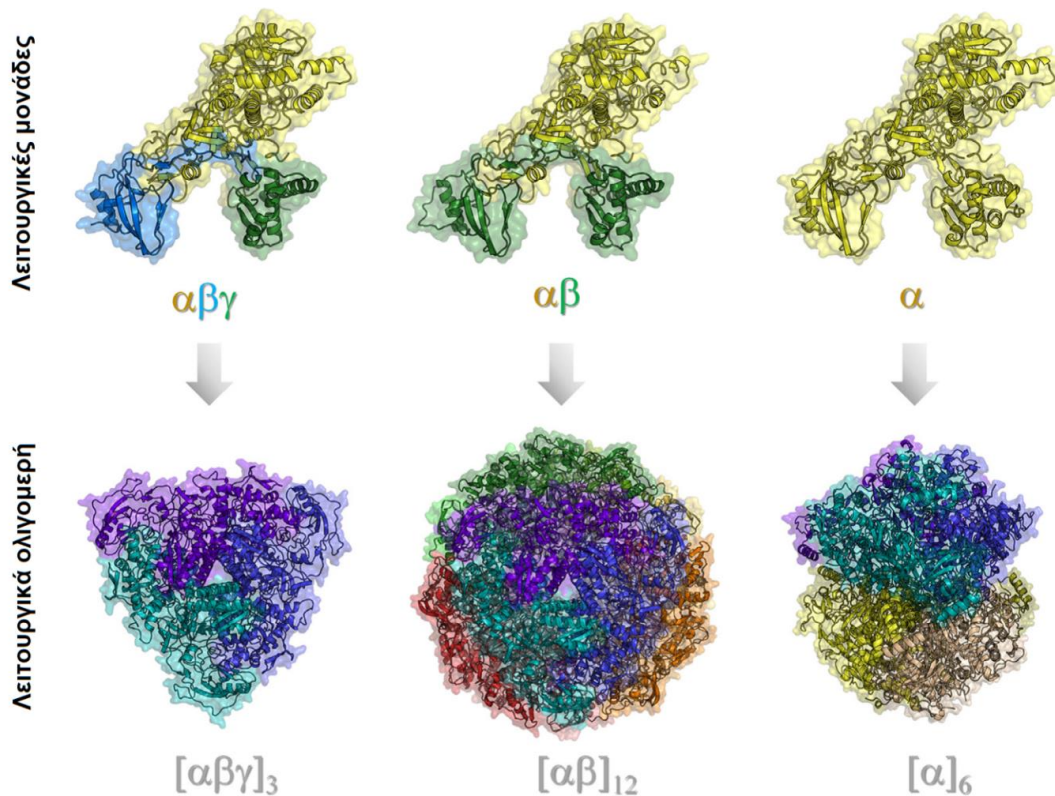


Σχήμα 8: Αντίδραση υδρόλυσης ουρίας καταλυόμενη από ουρεάσες.⁵⁴

Η ουρία, το φυσικό υπόστρωμα των ουρεασών, απομονώθηκε για πρώτη φορά από ανθρώπινα ούρα το 1773 από τον Rouelle και περίπου μισό αιώνα αργότερα, ο Wöhler πέτυχε τη σύνθεση της ουρίας, του πρώτου οργανικού μορίου που συντέθηκε από ανόργανες ουσίες.⁵⁵ Ο πρώτος ουρεολυτικός μικροοργανισμός, *Micrococcus ureae*, απομονώθηκε από τον van Tiehem το 1864, ενώ το πρώτο ένζυμο με ουρεολυτική δράση απομονώθηκε από αποστειρωμένα ούρα το 1874 από τον Musculus. Το όνομα «ουρεάση» προτάθηκε το 1890 από τον Miquel.⁵³ Η ουρεάση συνέβαλε σε δύο ιστορικά ορόσημα της βιοχημείας. Πρώτον, η κρυστάλλωση της ουρεάσης που απομονώθηκε από σπόρους φασολιών (*Canavalia ensiformis*) από τον James B. Sumner, το 1926, απέδειξε την πρωτεϊνική φύση των ενζύμων,⁵⁶ μια ανακάλυψη που βραβεύτηκε με το Βραβείο Νόμπελ Χημείας το 1946. Δεύτερον, η βιολογική σημασία του νικελίου αναγνωρίστηκε το 1975, μετά από μελέτες της ομάδας του Zerner που ανακάλυψε ότι η παρουσία ιόντων νικελίου στην ενεργό περιοχή της

ουρεάσης φασολιών (jack bean urease, JBU) είναι απαραίτητη, για την καταλυτική της δράση.⁵⁷

Οι ουρεάσες είναι μέλη της υπεροικογένειας των αμιδοϋδρολασών και των φωσφοτριεστερασών, οι οποίες εμφανίζουν ένα ή περισσότερα καταλυτικώς ενεργά μέταλλα στις ενεργές περιοχές τους. Με μερικές εξαιρέσεις,^{58,59} οι ουρεάσες φέρουν δύο ιόντα Ni^{2+} στις ενεργές περιοχές τους.^{53,60} Οι ουρεάσες που προέρχονται από διαφορετικές πηγές παρουσιάζουν περίπου 55% ομοιότητα στις πρωτοταγείς αλληλουχίες τους. Οι μελέτες κρυσταλλογραφίας με ακτίνες Χ αποκάλυψαν ότι οι φυτικές και βακτηριακές ουρεάσες αποτελούνται από μια κοινή βασική τριμερή δομή.^{53,61} Ο αριθμός των πολυπεπτιδικών αλυσίδων που σχηματίζουν το μονομερές ή τη λειτουργική μονάδα, ποικίλει ανάλογα με την πηγή της ουρεάσης. Για φυτικές και μυκητιακές ουρεάσες αυτή η λειτουργική μονάδα είναι μία απλή πολυπεπτιδική αλυσίδα (α). Η λειτουργική μονάδα των βακτηριακών ουρεασών σχηματίζεται από δύο υπομονάδες (α και β , που μέχρι τώρα έχουν βρεθεί μόνο στο γένος *Helicobacter*) ή τρεις (α , β και γ) τύπους πολυπεπτιδικών αλυσίδων. Η πιο συχνή δομή των ουρεασών των φυτών είναι ένα διμερές από τριμερή (α_3)₂, αν και έχουν περιγραφεί λίγα διμερή/τριμερή/τετραμερή σε φυτά και επίσης, σε κάποιες ουρεάσες μυκήτων. Οι βακτηριακές ουρεάσες είναι τριμερή ($[\alpha\beta\gamma]_3$), ενώ η ουρεάση του *Helicobacter pylori* (HPU) έχει κρυσταλλωθεί ως ένα τετραμερές από τριμερή διμερών ($[\alpha\beta]_3$)₄.^{61,62} Οι αλληλουχίες αμινοξέων των μικρότερων υπομονάδων των προκαρυωτικών ουρεασών είναι συγγενικές προς την αντίστοιχη περιοχή στην απλή αλυσίδα των ευκαρυωτικών ουρεασών.⁵³ Στην Εικόνα 3 απεικονίζονται τα δομικά χαρακτηριστικά των ουρεασών:

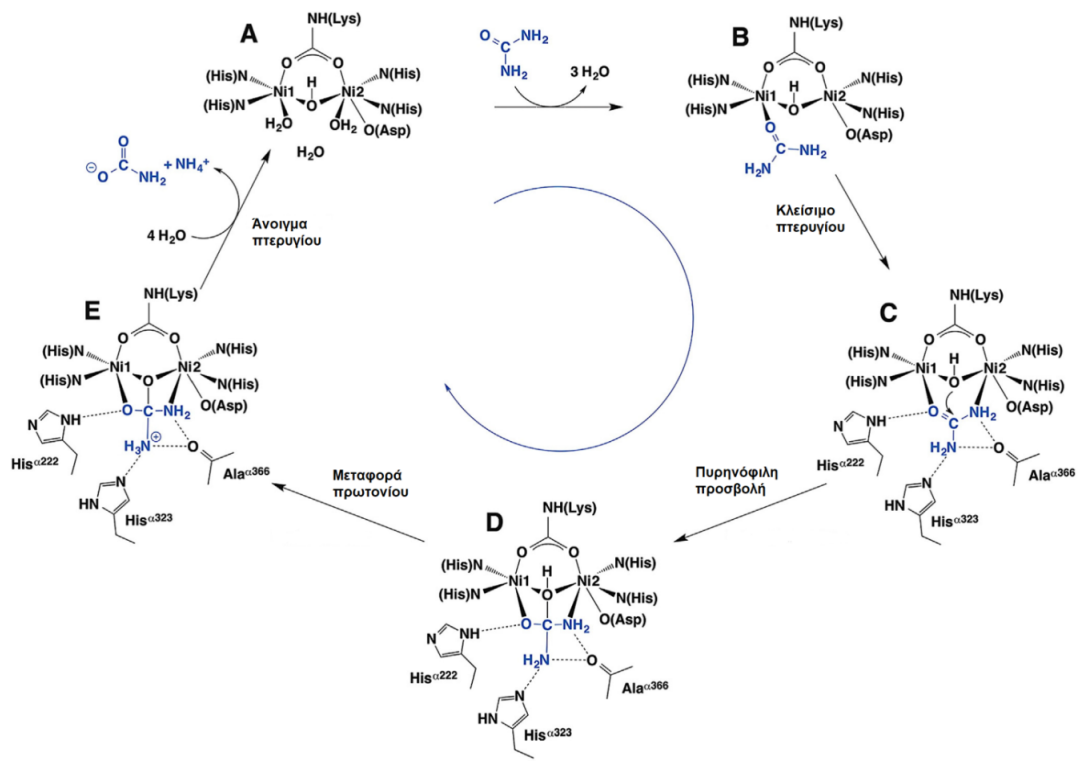


Εικόνα 3: Δομικά χαρακτηριστικά ουρεασών. Μια λειτουργική μονάδα μπορεί να σχηματιστεί από ένα ετεροτριμερές (όπως στο *Sporosarcina pasteurii*, PDB ID 2UBP), ένα ετεροδιμερές (όπως στο *Helicobacter pylori*, PDB ID 1E9Z) ή από μία απλή μονάδα (όπως στην *Canavalia ensiformis*, PDB ID 3LA4). Αυτές οι λειτουργικές μονάδες (ή μονομερή) σχηματίζουν μεγαλύτερα σύμπλοκα, όπως τριμερή, εξαμερή ή δωδεκαμερή.¹¹¹

2.1.2 Ενεργοποίηση και καταλυτικές ιδιότητες των ουρεασών

Η ενεργός περιοχή των ουρεασών αποτελείται, εκτός από τα δύο άτομα νικελίου, από μία καρβαμυλιωμένη λυσίνη, τέσσερις ιστιδίνες και ένα ασπαρτικό οξύ. Οι κρυσταλλικές δομές των βακτηριακών ουρεασών από *Klebsiella aerogenes*⁶³ και *Sporosarcina* (πρώην *Bacillus*) *pasteurii*⁶⁴ αποκάλυψαν την αρχιτεκτονική του ενεργού κέντρου των ενζύμων. Αυτές οι δύο ουρεάσες έχουν σχεδόν πανομοιότυπες ενεργές περιοχές, και μάλιστα πολύ παρόμοιες με αυτές άλλων ουρεασών που χαρακτηρίστηκαν αργότερα, γεγονός που υποδηλώνει ότι αυτή η αρχιτεκτονική είναι αντιπροσωπευτική για όλες τις ουρεάσες. Στην ενεργό περιοχή, η καρβαμυλιωμένη λυσίνη γεφυρώνει τα δύο άτομα νικελίου, ενώ το Ni(1) συντονίζεται περαιτέρω από δύο ιστιδίνες και το Ni(2) από τις άλλες δύο ιστιδίνες και από ένα ασπαρτικό οξύ. Επιπλέον, ένα ιόν υδροξειδίου

γεφυρώνει τα δύο άτομα Ni, τα οποία μαζί με άλλα τρία μόρια νερού (W1, W2, W3) σχηματίζουν στην ενεργή περιοχή ένα τετραεδρικό σύμπλεγμα, το οποίο είναι ενωμένο με δεσμούς υδρογόνου (Εικόνα 4).^{51,53,61}



Εικόνα 4: Καταλυτικός μηχανισμός των ουρεασών. Χρησιμοποιείται η αρίθμηση των αμινοξέων της ουρεάσης του *Sporosarcina pasteurii*. Τα Ni(1) και Ni(2) φέρουν την ένδειξη Ni1 και Ni2 σε αυτή την εικόνα.⁶¹

Εκτός από τα αμινοξέα που συνθέτουν την ίδια την ενεργό περιοχή, άλλα αμινοξέα, συμπεριλαμβανομένης μιας κυστεΐνης, σχηματίζουν ένα «ευκίνητο πτερύγιο», το οποίο λειτουργεί ως πύλη για το υπόστρωμα. Αυτό το πτερύγιο αποτελείται από ένα μοτίβο έλικας-στροφής-έλικας και είναι υπεύθυνο για την εισροή του υποστρώματος και την εκροή του προϊόντος στις ουρεάσες, με τη βοήθεια μιας ιστιδίνης για τον έλεγχο της κίνησης.⁵¹ Στην κατάλυση, τα αμινοξέα του ευκίνητου πτερυγίου συμμετέχουν στη δέσμευση του υποστρώματος, κυρίως μέσω δεσμών υδρογόνου, σταθεροποιώντας έτσι την μεταβατική κατάσταση και επιταχύνοντας την καταλυτική αντίδραση.^{51,53,61}

Ο μηχανισμός της υδρόλυσης της ουρίας που καταλύεται από την ουρεάση (Εικόνα 4) είναι ένα σημαντικό πεδίο μελέτης.^{65,66} Αφού πάρει τη θέση των μορίων του νερού W1-W3 (Εικόνα 4A) στο ενεργό κέντρο της ουρεάσης, η

ουρία συνδέεται με το ιόν Ni(1) μέσω του οξυγόνου του καρβονυλίου της, καθιστώντας έτσι τον άνθρακα της ουρίας πιο ηλεκτρονιόφιλο και επομένως πιο προσιτό στην πυρηνόφιλη προσβολή (Εικόνα 4B). Στη συνέχεια, η ουρία συνδέεται με το Ni(2), μέσω ενός από τα άτομα αζώτου της, δημιουργώντας ένα δισχιδή δεσμό με την ουρεάση (Εικόνα 4C). Αυτός ο δεσμός πιστεύεται ότι διευκολύνει την πυρηνόφιλη προσβολή του νερού στον άνθρακα του καρβονυλίου της ουρίας, με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός τετραεδρικού ενδιάμεσου (Εικόνα 4D), από το οποίο απελευθερώνεται NH₃ και καρβαμικό άλας (Εικόνα 4E).

2.1.3 Βιολογικοί ρόλοι ουρεασών που απαιτούν ουρεολυτική δράση

Η δράση της ουρεάσης επιτρέπει στους μικροοργανισμούς να χρησιμοποιούν την ουρία ως τη μοναδική πηγή αζώτου. Η υδρόλυση της ουρίας από την ουρεάση μπορεί να είναι μια ανεξάρτητη συνεχής κατάσταση ή μπορεί και να είναι αποτέλεσμα αντίδρασης που σχετίζεται με το στρες των βακτηριδίων να αντισταθμίζουν τα χαμηλά επίπεδα pH του περιβάλλοντος.⁶⁷ Η ουρεολυτική δράση της μικροχλωρίδας του ανθρώπινου εντέρου υδρολύει πάνω από το 30% της συνολικής ουρίας που παράγεται στο σώμα μας.⁶⁸ Οι μικροβιακές ουρεάσες είναι σημαντικές και στην οδοντική υγεία.⁶⁹ Η παραγωγή αλκαλίων μετά τη διάσπαση της σιελογόνου ουρίας από την ουρεάση της μικροχλωρίδας του στόματος αποδείχθηκε ότι εμποδίζει τον σχηματισμό των οδοντικών κοιλοτήτων και τον σχηματισμό πλάκας.⁷⁰ Στα μηρυκαστικά, η ουρία των ζώων διασπάται από τις βακτηριακές ουρεάσες στο προστόμαχο, απελευθερώνοντας την αμμωνία ως πηγή αζώτου για την μικροχλωρίδα της μεγάλης κοιλίας του στομάχου τους, η οποία με τη σειρά της χρησιμεύει ως βιομάζα για τη διατροφή των ζώων.^{71,72}

Η παθογένεση πολλών κλινικών καταστάσεων σε ανθρώπους, και ζώα, σχετίζεται άμεσα με την ουρεολυτική δράση βακτηριακών ή μυκητιακών ενζύμων.^{73,74} Το *Proteus mirabilis* είναι ο πιο συνηθισμένος οργανισμός που προκαλεί πέτρες στα ούρα των ανθρώπων, λόγω της αλκαλοποίησης των ούρων που προάγεται από την ουρεάση του, συμβάλλοντας στην παθογένεση της. Η καθίζηση αλάτων στα ούρα έχει ως αποτέλεσμα την

κρυστάλλωση του στρουβίτη (εναμμώνιο φωσφορικό μαγνήσιο) και του ανθρακικού απατίτη.⁷⁵ Το βακτήριο *H. pylori* αποικίζει την βλεννογόνο του στομάχου στο μισό του παγκόσμιου πληθυσμού, αυξάνοντας σημαντικά τον κίνδυνο γαστρικού έλκους και καρκίνου.^{74,76,77} Η ΗΡU, η οποία αποτελεί περίπου το 10% της συνολικής κυτταρικής πρωτεΐνης, επιτρέπει την βακτηριακή επιβίωση στο στομάχι με εξουδετέρωση του όξινου μέσου.⁷⁸ Οι ουρεολυτικοί οργανισμοί στο πεπτικό ή στο ουροποιητικό σύστημα συμβάλλουν ενδεχομένως στην ηπατική εγκεφαλοπάθεια και το κώμα με αποτέλεσμα την υπεραμμωναιμία και τη δηλητηρίαση του εγκεφάλου.⁷⁹ Η μείωση του φορτίου των ουρεολυτικών βακτηρίων και η χρήση του ακετοϋδροξαμικού οξέος (AHA) ως αναστολέα της ουρεάσης θεωρούνται θεραπευτικές προσεγγίσεις υπό αυτές τις συνθήκες.^{80,81,82} Άλλοι παθογόνοι παράγοντες παράγουν επίσης ουρεάση για να αποκτήσουν αντοχή στο οξύ και να επιτρέψουν τον αποικισμό, μεταξύ των οποίων είναι η τοξίνη Shiga που παράγεται από το *Escherichia coli*,⁸³ *Yersinia enterocolitica*,⁸⁴ *K. Pneumoniae*,⁸⁵ *Brucella abortus*⁸⁶ και *Haemophilus influenza*.⁸⁷ Οι μυκητιακές ουρεάσες εμπλέκονται στην παθογένεση της ανθρώπινης κρυπτοκόκκωσης από το *Cryptococcus neoformans*^{88,89} και το *Cryptococcus gattii*,⁹⁰ και της κοκκιδιοειδομυκητίασης (πυρετός της κοιλάδας San Joaquin) από το *Coccidioides immitis* και *C. Posadasii*.⁹¹

Η ουρεάση είναι άφθονη στα φυτά και μπορεί να βρεθεί σε όλους τους φυτικούς ιστούς.^{92,93} Το άζωτο είναι ένα σημαντικό στοιχείο για την ανάπτυξη των φυτών. Σε παγκόσμια κλίμακα η ουρία χρησιμοποιείται ως λίπασμα του εδάφους, καθώς είναι μια σχετική πηγή N για τα φυτά και οι ειδικοί μεταφορείς ουρίας εισάγουν ενεργά αυτή την ένωση από το έδαφος.⁹⁴ Η υδρόλυση της ουρίας για την απελευθέρωση αμμωνίας και διοξειδίου του άνθρακα είναι ο κύριος φυσιολογικός ρόλος που αποδίδεται στις ουρεάσες στα φυτά.^{93,95} Η ουρεάση είναι άφθονη στο έδαφος, τόσο στα ζωντανά βακτήρια όσο και ως εξωκυτταρική ουρεάση, δεσμευμένη σε αργιλικές και χουμικές ουσίες.^{96,97} Η ουρεόλυση από ουρεάσες αλκαλοποιεί το έδαφος, προκαλώντας καθίζηση ανθρακικού ασβεστίου και επηρεάζοντας τη διαθεσιμότητα των ορυκτών.^{98,99} Επιπλέον, υψηλά επίπεδα ουρεάσης του εδάφους μειώνουν την αποτελεσματικότητα της

γονιμοποίησης με ουρία, προκαλώντας απώλεια αμμωνίας στην ατμόσφαιρα, καθώς και φυτοτοξικότητα λόγω της αμμωνίας.^{100,101}

2.1.4 Βιολογικές ιδιότητες των ουρεασών που δεν απαιτούν ουρεολυτική δράση

Έχει βρεθεί ότι υπάρχουν κάποιες βιολογικές ιδιότητες των ουρεασών που δεν απαιτούν ουρεόλυση, είτε επειδή η ουρία δεν είναι διαθέσιμη, είτε επειδή η συγκέντρωσή της είναι αμελητέα.

Οι ουρεάσες παίζουν ρόλο στην επικοινωνία κυττάρου-κυττάρου ή οργανισμού-οργανισμού. Οι αργινάσες με ιδιότητες λεκτίνης από τους λειχήνες *Evernia prunastri* και *Xanthoria parietina* αποδείχθηκε ότι δεσμεύονται με μια γλυκοζυλιωμένη ουρεάση στο κυτταρικό τοίχωμα των ομόλογων φυκών. Η πολυγαλακτοζυλιωμένη ουρεάση παράγεται μόνο την εποχή που τα κύτταρα των φυκών διασπώνται, εξασφαλίζοντας την αναγνώριση του κυττάρου του φύκου από τον μυκητιακό εταίρο του στην αμοιβαία συσχέτιση αυτών των λειχηνών.^{102,103}

Οι ουρεάσες αξιολογήθηκαν για τον ρόλο τους στη νόσο της σόγιας από το διαζωτρόφο βακτήριο *Bradyrhizobium japonicum*.¹⁰⁴ Οι ουρεάσες της σόγιας και των φασολιών χαρακτηρίστηκαν ως χημειοτακτικοί παράγοντες που αναγνωρίζονται από τα βακτηριακά κύτταρα *in vitro*. Μετά από μελέτες παρατηρήθηκε ότι η ουρεάση σόγιας, αλλά όχι το βακτηριακό ένζυμο, συμμετέχει κατά κάποιο τρόπο στη συμβίωση φυτών-διαζωοτροφικών βακτηρίων. Αυτός ο ρόλος της ουρεάσης της σόγιας δεν απαιτεί ουρεόλυση και είναι σχετικός με τη βιολογική δέσμευση αζώτου από το φυτό.¹⁰⁴

Μεταξύ των μικροβιακών ουρεασών που παίζουν ρόλο ως λοιμογόνοι παράγοντες, ιδιαίτερη προσοχή δίνεται στην HPU λόγω του κρίσιμου ρόλου της στην παθογένεση των γαστρικών ασθενειών. Η παραγωγή ουρεάσης αποδείχθηκε απαραίτητη για να επιτρέψει τον αποικισμό του στομάχου από το *H. pylori*, ωστόσο οι μελέτες που διεξήχθησαν στις αρχές της δεκαετίας του 1990, έδειξαν ότι η εξουδετέρωση της γαστρικής οξύτητας δεν είναι η μόνη λειτουργία της πρωτεΐνης.^{105,106} Άλλες λειτουργίες είναι: η επαγωγή της ενεργοποίησης της εξαρτώμενης λιποξυγενάσης και της συσσωμάτωσης των αιμοπεταλίων του κουνελιού¹⁰⁷ και των ανθρώπων,¹⁰⁸

η επαγωγή χημειοταξίας της εξαρτώμενης λιποξυγενάσης και παραγωγής ROS σε ανθρώπινα ουδετερόφιλα,¹⁰⁹ η καθυστέρηση της απόπτωσης σε ανθρώπινα ουδετερόφιλα¹⁰⁹ και σε γαστρικά επιθηλιακά κύτταρα,¹¹⁰ η αύξηση της περιεκτικότητας λιποξυγενάσης στα ουδετερόφιλα,¹⁰⁹ η επαγωγή σε αιμοπετάλια της παραγωγής εικοσανοειδών που προέρχονται από την λιποξυγενάση,¹⁰⁷ η προαγωγή της αγγειογένεσης σε ανθρώπινα ομφάλια ενδοθηλιακά κύτταρα και στο μοντέλο χοριοαλλαντοϊκής μεμβράνης εμβρύου κοτόπουλου¹¹⁰ και η επαγωγή της επεξεργασίας του προ-*mRNA* που κωδικοποιεί προφλεγμονώδεις κυτοκίνες σε ανθρώπινα αιμοπετάλια.¹⁰⁸ Τα περισσότερα από αυτά τα αποτελέσματα λαμβάνουν χώρα και από μία HPU, η οποία έχει ανασταλεί από ένα ένζυμο, ενώ μερικά προκαλούνται μόνο από μία από τις απομονωμένες υπομονάδες της,¹⁰⁸ υποδεικνύοντας ότι αυτές οι βιολογικές δράσεις δεν απαιτούν υδρόλυση της ουρίας.

Συνολικά αυτές οι μη ενζυματικές βιολογικές δράσεις της HPU αποδεικνύουν μια σχετική συμβολή αυτής της πρωτεΐνης στη φλεγμονώδη διαδικασία που υποκρύπτει τις γαστρικές παθήσεις που προκαλούνται από το *H. pylori*. Επειδή η HPU ενεργοποιεί μη γαστρικά κύτταρα, όπως τα αιμοπετάλια, τα ουδετερόφιλα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα, μπορεί να συνεισφέρει επίσης στην παθογένεση εξωγαστρικών ασθενειών, ιδιαίτερα δε καρδιαγγειακών παθήσεων.¹¹¹

2.1.5 Νευροτοξικότητα ουρεασών

Σε μελέτες, έχει αναφερθεί ότι η ουρεάση των φασολιών είναι θανατηφόρα και προκαλεί επιληπτικές κρίσεις σε ποντικούς και κουνέλια μετά από ενδοφλέβια χορήγηση της.¹¹² Ομοίως, καθαρή HPU φαίνεται να σκοτώνει ποντίκια μετά από ενδοπεριτοναϊκή ένεση, προκαλώντας υποθερμία, σπασμούς και θάνατο.¹¹³ Σε αυτές τις μελέτες, η νευροτοξικότητα των ουρεασών αποδόθηκε στα υψηλά επίπεδα αμμωνίας που βρέθηκαν στο αίμα των ζώων. Τέλος, η υπεραμμωναιμία πιθανώς συμβάλλει στις νευροτοξικές επιδράσεις που προκαλούνται σε ποντίκια και αρουραίους και από την κανατοξίνη (CNTX), μία ισομορφή της ουρεάσης του *C. ensiformis* η οποία απομονώθηκε από σπόρους φυτών ως νευροτοξίνη.¹¹¹

2.1.6 Συνεισφορά ουρεασών στην άμυνα των φυτών κατά των αρπακτικών και των παθογόνων

Η πρώτη περιγραφή του εντομοκτόνου αποτελέσματος μιας ουρεάσης δημοσιεύθηκε το 1997, δείχνοντας ότι η κατάποση της κανατοξίνης (CNTX) σκότωσε έντομα.¹¹⁴ Στα επόμενα χρόνια περιγράφηκε ότι η JBU, η CNTX και η εμβρυϊκή ουρεάση σόγιας (embryo specific soybean urease) ήταν εντομοκτόνες κατά των εντόμων hemipterans *Nezara viridula*,¹¹⁵ *Dysdercus peruvianus*,^{116,117} *Oncopeltus fasciatus*.¹¹⁸ Επίσης, η ομάδα του K. Ponnuraj στην Ινδία ανέφερε το εντομοκτόνο αποτέλεσμα της ουρεάσης των μπιζελιών (*Cajanus cajan*) κατά των *Callosobruchus chinensis*.¹¹⁹ Τέλος, η JBU βρέθηκε ότι είναι νευροτοξική για τα έντομα.¹¹¹

Επιπλέον, οι ουρεάσες είναι τοξικές κατά των νηματωδών μυκήτων και των ζυμών.¹²⁰ Η μυκητοτοξική δράση της CNTX ήταν η πρώτη που έδειξε ότι η πρωτεΐνη σε συγκέντρωση 2% προκάλεσε την αναστολή της ανάπτυξης των φυτοπαθογόνων νηματοειδών μυκήτων *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum gloeosporioides* και *Sclerotium rolfsii*.¹²¹ Ο Becker-Ritt και η ομάδα του το 2007 ανέφεραν ότι η JBU και οι εμβρυϊκές ουρεάσες σόγιας παρεμπόδιζαν την ανάπτυξη και/ή την βλάστηση των σπόρων επτά άλλων ειδών νηματοειδών μυκήτων σε υπομικρομοριακές συγκεντρώσεις και προκάλεσαν βλάβη στο κυτταρικό τοίχωμα, ακόμη και μετά από αποκλεισμό των ουρεολυτικών δραστικών τους περιοχών. Στην ίδια αυτή μελέτη, η HPU ανέστειλε επίσης την ανάπτυξη των μυκήτων, αν και με μικρότερη αποτελεσματικότητα.¹²² Οι φυσικές ουρεάσες σπόρων βαμβακιού (*G. hirsutum*)¹²³ και του μπιζελιού¹¹⁹ αποδείχθηκε επίσης ότι είναι επιβλαβείς για τους νηματώδεις μύκητες.

Οι ουρεάσες μπορούν γενικά να θεωρηθούν βιοασφαλείς πρωτεΐνες, οι οποίες βρίσκονται σε σχετικά μεγάλες ποσότητες στα περισσότερα βρώσιμα φυτά, και είναι ιδιαίτερα άφθονες σε σπόρους οσπρίων και σε φρούτα, όπως ντομάτες, πεπόνι και καρπούζι, που καταναλώνονται σε ακατέργαστη μορφή.^{92,95} Αν και χρειάζονται περισσότερες μελέτες για να διαπιστωθεί η βιοασφάλεια των πεπτιδίων που προέρχονται από την ουρεάση, δεν ανιχνεύθηκε έντονη τοξικότητα για το jaburetox (JBTX), ένα ανασυνδυασμένο πεπτίδιο που ελήφθη μετά από ετερόλογη έκφραση της

ουρεάσης του *E. coli*, το οποίο χορηγήθηκε σε υψηλές δόσεις σε ποντίκια και νεογνά αρουραίων.¹²⁴

2.1.7 Αλληλεπίδραση ουρεασών και πεπτιδίων (προερχόμενων από ουρεάσες) με λιπίδια και μεμβράνες

Η αλληλεπίδραση του jaburetox (JBTX) με λιπιδικές μεμβράνες ήταν η πρώτη που αναφέρθηκε από τον Barros και την ομάδα του το 2009.¹²⁵ Η μοριακή δυναμική, που εφαρμόστηκε στο JBTX, έδειξε ότι το β -hairpin μοτίβο του θα μπορούσε να προσκολληθεί σε πολικές/μη πολικές μεσεπιφάνειες.¹²⁵

Σε άλλη μελέτη, η JBU, το JBTX και τα μεταλλαγμένα πεπτίδια του, ελέγχθηκαν για μία λειτουργία σχηματισμού διαύλου ιόντων σε επίπεδες λιπιδικές διπλοστιβάδες.¹²⁶ Τα μοριακά μοντέλα της JBU έδειξαν ότι το τμήμα που αντιστοιχεί στο JBTX είναι καλά εκτεθειμένο στην επιφάνεια της πρωτεΐνης, από όπου μπορεί πιθανώς να «επιβάλλει» την αλληλεπίδραση ολόκληρης της ουρεάσης με λιπιδικές διπλοστιβάδες.¹²⁶

Παραπάνω μελέτες έδειξαν ότι επαφές του *N*-τερματικού τμήματος του JBTX με μεμβρανικά φωσφολιπίδια οδηγούν στην προσκόλλησή του στις κυτταρικές μεμβράνες και προάγουν την αλλαγή διαμόρφωσης του σε μια πιο οργανωμένη δομή. Η δομή αυτή θα μπορούσε να διευκολύνει την αλληλεπίδρασή του με πρωτεΐνες στόχους, που είναι συνδεδεμένες με την μεμβράνη.¹²⁷

Τέλος, κάποιες άλλες μελέτες υπέδειξαν ότι και η JBU και το JBTX είναι ικανά να εισαχθούν μέσα στις λιπιδικές διπλοστιβάδες, μειώνοντας την υδροδυναμική ακτίνα των κυστιδίων, τον αριθμό των ελασμάτων και τη ρευστότητα της μεμβράνης.¹¹¹ Επίσης, η JBU μπορεί να αλληλεπιδράσει με πολυστρωματικά λιποσώματα, πιθανώς εισάγοντας το «τμήμα» του JBTX της στην εξωτερική μεμβράνη του κυστιδίου.¹²⁸

2.2 Αναστολείς των ουρεασών

Λόγω της ιατρικής σημασίας της ουρεάσης, οι αναστολείς της με βελτιωμένη σταθερότητα και χαμηλή τοξικότητα, μπορεί να αποτελέσουν αποτελεσματική θεραπεία κατά ασθενειών που προκαλούνται από

παθογόνους μικροοργανισμούς, οι οποίοι εξαρτώνται από την ουρεάση. Οι αναστολές της ουρεάσης που παρουσιάζονται είναι οργανωμένοι σε πέντε κατηγορίες σύμφωνα με τις χημικές τους δομές.⁵⁴ Επίσης, να σημειωθεί ότι από κάθε κατηγορία αναφέρονται οι ενώσεις με την καλύτερη ανασταλτική δράση, καθώς το φάσμα των πιθανών αναστολέων έναντι της ουρεάσης είναι τεράστιο.

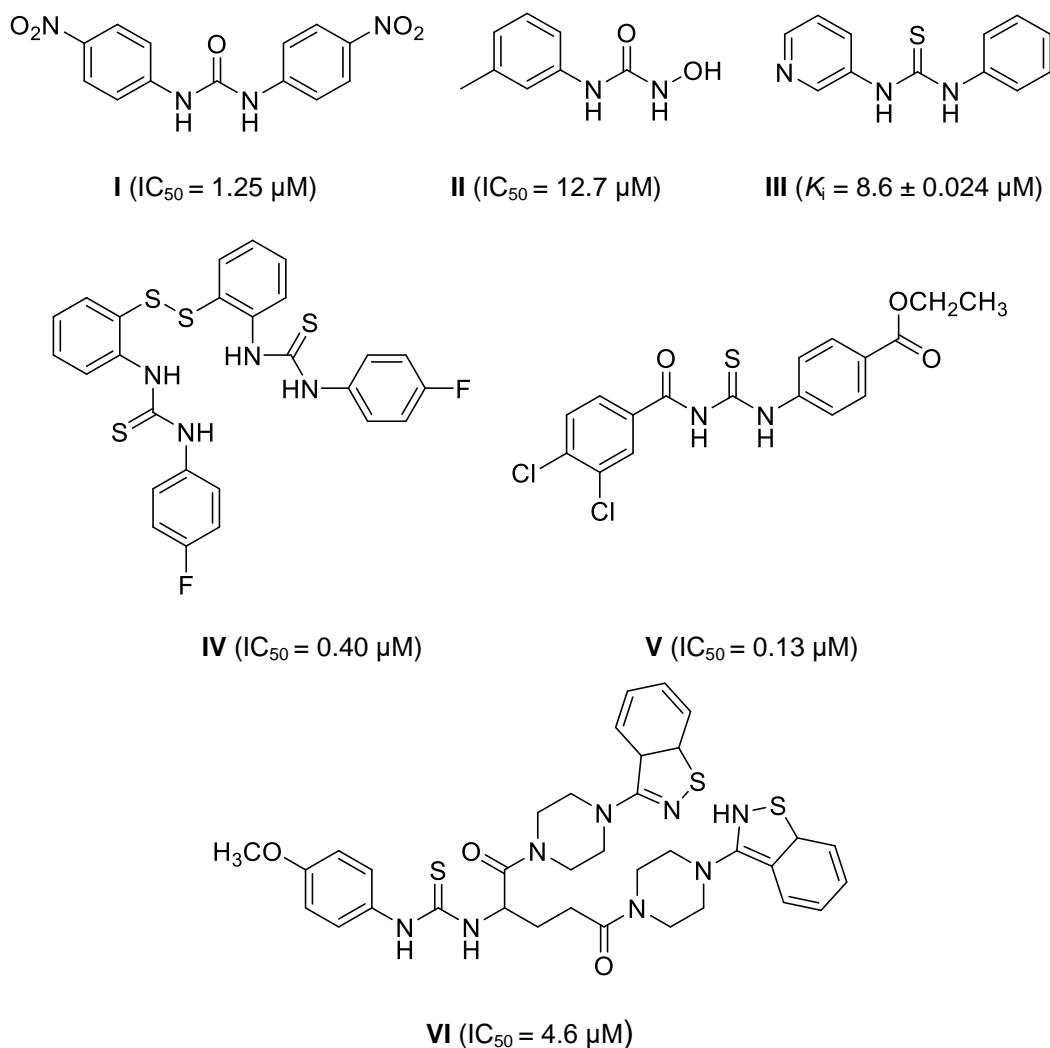
2.2.1 Παράγωγα (θει)ουρίας

Η ανάπτυξη αναστολέων ενζύμων βασισμένη στη μοριακή δομή του φυσικού υποστρώματος είναι μια προσέγγιση που χρησιμοποιείται συνήθως στον ορθολογικό σχεδιασμό φαρμάκων. Έχουν σχεδιαστεί αρκετές δομές αναστολέων ουρεάσης με βάση τη δομή της ουρίας, ιδιαίτερα τα τελευταία 10 χρόνια.⁵⁴

Σε μία από τις πρώτες από αυτές τις μελέτες, συντέθηκαν μια σειρά παραγώγων N^1 , N^2 -δι- και τρι-υποκατεστημένης ουρίας και δοκιμάστηκαν οι ανασταλτικές τους δράσεις έναντι της ουρεάσης του *Canavalia ensiformis*.¹²⁹ Παράγωγα N^1 , N^2 -διαρυλο- που περιέχουν νιτροομάδες και στους δύο αρωματικούς δακτυλίους (όπως η ένωση **I**, Σχήμα 9) εμφανίζουν χαμηλή αναστολή της ουρεάσης του *C. ensiformis*. Το 2002, ο Uesato και οι συνεργάτες του, με βάση την ικανότητα της ουρεάσης να αναστέλει την υδροξουρία, συνέθεσαν N -υδροξυ- N^2 -υποκατεστημένα παράγωγα και αξιολόγησαν την ανασταλτική τους δράση έναντι της ουρεάσης, χρησιμοποιώντας υδροξουρία ως υπόστρωμα (ένωση **II**, Σχήμα 9).¹³⁰ Λίγα χρόνια αργότερα, χρησιμοποιώντας το ίδιο μοτίβο, ο Rajic και οι συνάδελφοί του συνέθεσαν παράγωγα υδροξαμικού οξέος, δοκίμασαν την δράση τους κατά της ουρεάσης και διαπίστωσαν ότι μόνο τα παράγωγα που φέρουν ομάδα υδροξυλίου ανέστειλαν την δράση της ουρεάσης.¹³¹

Πιο πρόσφατα, έχουν αναπτυχθεί παράγωγα θειουρίας που παρουσιάζουν υψηλότερη ανασταλτική ισχύ από τα αντίστοιχα της ουρίας. Ο Khan και οι συνάδελφοί του έχουν συνθέσει μια ποικιλία τέτοιων ενώσεων,¹³² με ισχυρότερη ανασταλτική δράση να δίνει το παράγωγο **III** στο Σχήμα 9. Έπειτα, ο Taha και οι συνεργάτες του εξέτασαν μια σειρά συμμετρικών παραγώγων δι-θειουρίας που φέρουν ένα τμήμα δισουλφιδίου (ένωση **IV**,

Σχήμα 9).¹³³ Επιπλέον, αυτές οι ενώσεις θεωρήθηκαν μη τοξικές. Στη συνέχεια, έγινε εισαγωγή του τμήματος βενζολίου στο άτομο του αζώτου της θειουρίας.^{134,135,136,137,138} Κινητικά πειράματα για την ανίχνευση του μηχανισμού αναστολής της ουρεάσης, έδειξαν ότι τα παράγωγα βενζυλοθειουρίας δρούσαν ως αναστολείς μικτού τύπου που δεσμεύονταν, είτε σε καταλυτικές, είτε σε αλλοστερικές θέσεις του ενζύμου.¹³⁴ Η επίδραση ενός δακτυλίου που φέρει είτε *p*-αίθυλο-,¹³⁸ είτε *p*-σουλφανιλο-αμίδιο¹³⁷ στο N^2 άζωτο των βενζοϋλοθειουριών, αξιολογήθηκε στις μελέτες που ανέπτυξαν ο Saeed και οι συνεργάτες του (ένωση **V**, Σχήμα 9). Τέλος, ο Sharma και οι συνάδελφοί του¹³⁹ διερεύνησαν το τμήμα της ιστατίνης σε μια μελέτη για την ανασταλτική δράση της ουρεάσης ενώσεων *N*-φαινυλοουρίας/θειουρίας (ένωση **VI**, Σχήμα 9).

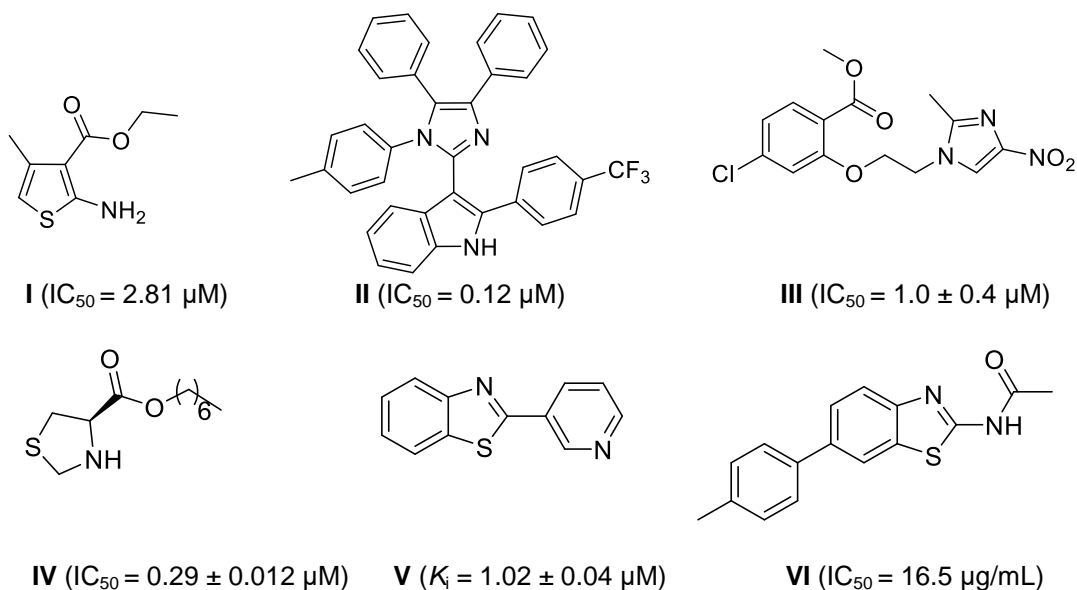


Σχήμα 9: Χημικές δομές αναστολέων της ουρεάσης του *C. ensiformis* (IC_{50} : συγκέντρωση αναστολέα που απαιτείται για το 50% αναστολής του ενζύμου, K_i : σταθερά αναστολής της πρόσδεσης του αναστολέα στο ένζυμο).

2.2.2 Πενταμελείς ετεροκυκλικές ενώσεις

Το 2010, ο Khan ανέφερε μια σειρά ισχυρών αναστολέων βασισμένων σε παράγωγα 2-αμινοθειοφαινών (ένωση I, Σχήμα 10). Σύμφωνα με τη μελέτη σύνδεσης, οι ενώσεις με ένα μόνο δακτύλιο θειοφαινίου συνδέονται δίπλα στα ιόντα νικελίου και εμφανίζουν καλή ανασταλτική δράση.¹⁴⁰ Επίσης, το ιμιδαζολικό μοτίβο έχει διερευνηθεί εκτενώς. Ο Naugreen και οι συνεργάτες του¹⁴¹ εξέτασαν σειρές ενώσεων τετρα-αρυλο-ιμιδαζόλης, οι οποίες εμφάνισαν συγκρίσιμη ή καλύτερη ανασταλτική δράση από τη θεωρία. Ο πιο ισχυρός αναστολέας ήταν η ένωση II στο Σχήμα 10. Ορισμένα αντιμικροβιακά φάρμακα νιτροϊμιδαζόλης, συγκεκριμένα η μετρονιδαζόλη και η σεντιδαζόλη, παρουσιάζουν επίσης δράση κατά της ουρεάσης. Ο

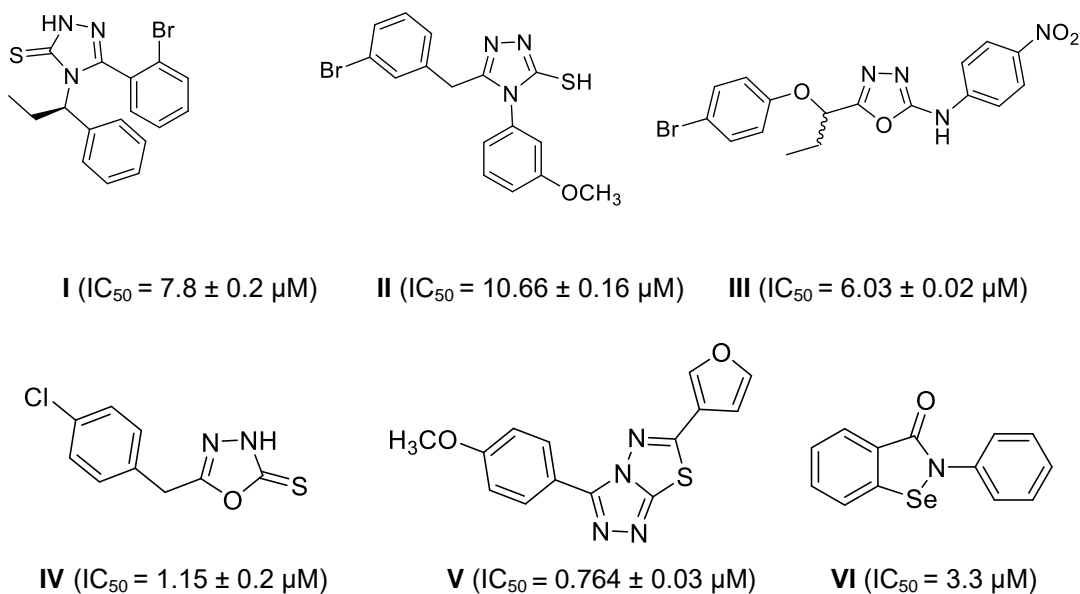
Μαο και οι συνεργάτες του συνέθεσαν μια σειρά υβριδικών ενώσεων σαλικυλικού και μετρονιδαζόλης¹⁴² ή σεντιδαζόλης,¹⁴³ με τις δεύτερες να είναι πιο δραστικές κατά της ουρέασης του *H. pylori* (ένωση III, Σχήμα 10). Αλειφατικοί εστέρες θειαζολιδίνης περιγράφηκαν επίσης ως πιθανοί αναστολείς κατά της ουρέασης από τον Lodhi και την ομάδα του.¹⁴⁴ Ο επτυλο-εστέρας IV (Σχήμα 10) ήταν ο πιο δραστικός αναστολέας. Επιπλέον, μερικοί ερευνητές έχουν διερευνήσει την χρήση ετεροκυκλικών ενώσεων θείου, κυρίως βενζοθειαζολών. Ο Araujo και οι συνεργάτες του¹⁴⁵ συνέθεσαν έναν αριθμό 2-αρυλοβενζοθειαζολών (ένωση V, Σχήμα 10). Ο Gull και οι συνεργάτες του εκμεταλλεύτηκαν, επίσης, τη σύζευξη πυρήνων βενζοθειαζολίου και ακυλοθειουρίας¹⁴⁶ για να ληφθούν υβριδικά 6-αρυλο-2-ακεταμιδοβενζοθειαζόλια (ένωση VI, Σχήμα 10) με σκοπό την αναστολή της ουρέασης του *H. pylori*.



Σχήμα 10: Χημικές δομές αναστολέων της ουρέασης του *C. ensiformis* (ενώσεις I, II, IV) και του *H. pylori* (ενώσεις III, VI).

Ο Akhtar και οι συνεργάτες του συνέθεσαν¹⁴⁷ 5-αρυλο-1,2,4-τριαζολο-3-θειόνες με διαφορετικά αλογόνα στο τμήμα του 5-αρυλίου (ένωση I, Σχήμα 11). Επίσης, ο Abid και η ομάδα του¹⁴⁸ εξέτασαν μια σειρά παραγώγων τριαζόλης. Η ένωση με ένα άτομο βρωμίου στη *m*-θέση στο τμήμα βενζολίου (ένωση II, Σχήμα 11) ήταν το πιο δραστικό παράγωγο. Οι οξαδιαζόλες και τα παράγωγά τους έχουν επίσης αναφερθεί ως αναστολείς της ουρέασης. Ο Akhtar και οι συνεργάτες του εξέτασαν 2-αρυλαμινο-5-

αρυλοξυαλκυλ-1,3,4-οξαδιαζόλες για την δράση τους έναντι της ουρεάσης.¹⁴⁹ Οι οξαδιαζόλες με νιτρο- ομάδα ήταν οι πιο δραστικοί αναστολείς (ένωση **III**, Σχήμα 11). Ανάλογα οξαδιαζολης-2-θειόνης με υποκατεστημένες αρωματικές ομάδες έδειξαν επίσης υψηλή δράση.¹⁵⁰ Το *p*-χλωροβενζυλο- ανάλογο **IV** (Σχήμα 11) ήταν ο πιο δραστικός αναστολέας αυτής της σειράς ενώσεων. Το ίδιο περίπου χρονικό διάστημα, συμπυκνωμένοι ετεροκυκλικοί δακτύλιοι, όπως τα παράγωγα 1,2,4-τριαζολο[3,4-*b*]1,3,4-θειαδιαζόλια που αναπτύχθηκαν από τον Rafiq και τους συνεργάτες του, συντέθηκαν για αντιουρεολυτικούς σκοπούς, με πιο ισχυρό το παράγωγο **V** (Σχήμα 11).¹⁵¹ Τέλος, οι ενώσεις σεληνίου αναφέρονται επίσης ότι έχουν αντιουρεολυτική δράση, όπως η ένωση **VI** (Σχήμα 11) και τα παράγωγά της που περιγράφονται από την Macegoniuk και τους συνεργάτες της. Η ένωση **VI** αναφέρθηκε ότι παρουσιάζει ιδιότητες κατά του έλκους και αναστέλλει τη γαστρική έκκριση.^{152,153}

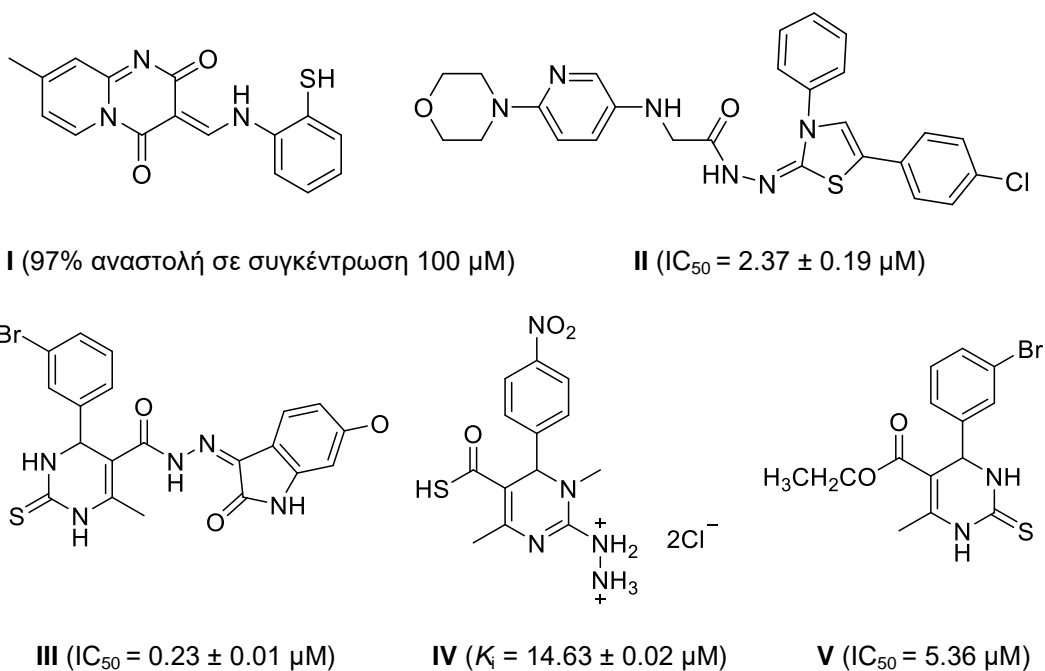


Σχήμα 11: Χημικές δομές αναστολέων της ουρεάσης του *C. ensiformis* (ενώσεις I-V) και του *Bacillus pasteurii* (ενώσεις III, VI).

2.2.3 Εξαμελείς ετεροκυκλικές ενώσεις

Λόγω του ευρέος φάσματος των βιολογικών δράσεων των εξαμελών ετεροκυκλικών ενώσεων, όπως οι πυριδινόνες, η πυριδοπυριμιδίνη και άλλες ενώσεις, έχουν αναφερθεί αρκετές μελέτες που στοχεύουν στην ανάπτυξη αναστολέων ουρεάσης με βάση αυτά τα δομικά μοτίβα.⁵⁴

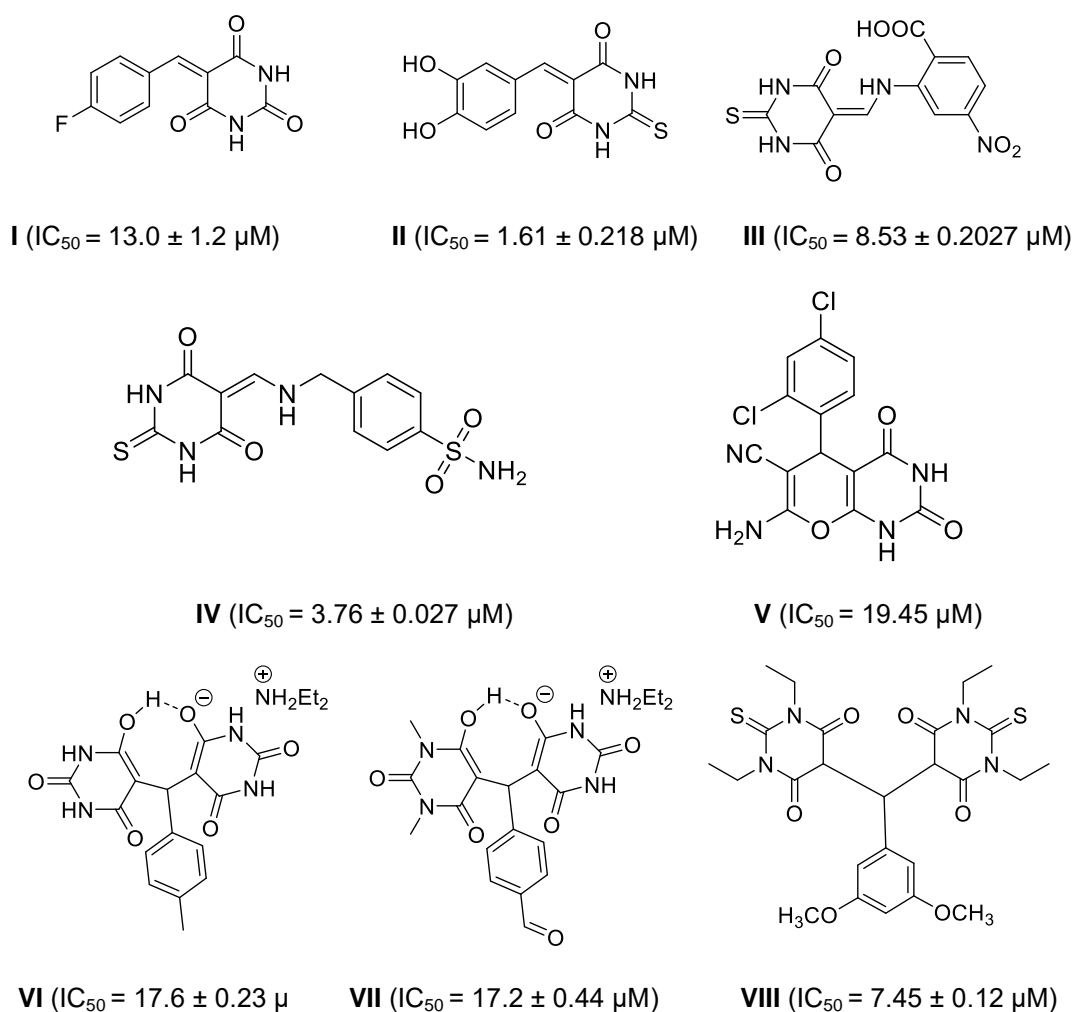
Αρχικά, ο Rauf και οι συνεργάτες του¹⁵⁴ αξιολόγησαν την ανασταλτική δράση έναντι της ουρεάσης των παραγώγων πυριδοπυριμιδίνης. Σύμφωνα με τους ερευνητές, η παρουσία μιας ομάδας χηλικού μετάλλου, όπως –SH ή του τμήματος 4-νιτροβενζοϋδραζιδίου καθορίζει την δραστηριότητα αυτών των ενώσεων, όπως είναι η ένωση **I** (Σχήμα 12). Έπειτα, ο Bektas και η ομάδα του σχεδίασαν μια στρατηγική για τη σύνδεση τμημάτων γνωστών βιοδραστικών 1,2,4-τριαζολών και οξαζολιδινονών με τη δομή της λινεζολίδης, οπότε ανέπτυξαν ανάλογα και εξέτασαν την δράση τους κατά της ουρεάσης (ένωση **II**, Σχήμα 12).¹⁵⁵ Πρόσφατα, ο Iftikhar και οι συνεργάτες του ανέφεραν πρόοδο στην έρευνα σχετικά με τη διυδροπυριμιδίνη (DHPM), εξετάζοντας ανάλογα 5-C-υποκατεστημένα για τη δυνατότητα αναστολής της ουρεάσης.¹⁵⁶ Οι μελέτες έδειξαν ότι τα θειοσεμικαρβαζιδικά και τα παράγωγα της ισατίνης ήταν πιο ισχυροί αναστολείς, με ισχυρότερη την ένωση **III** (Σχήμα 12).¹⁵⁶ Ο Khan και η ομάδα του ανέφεραν, επίσης, μελέτες των αναλόγων DHPM, αλλά οι πιο δραστικές ενώσεις αυτής της μελέτης ήταν τα παράγωγα υδραζίνης (ένωση **IV**, Σχήμα 12).¹⁵⁷ Από την άλλη πλευρά, η έρευνα που διενήργησαν ο Rashid και η ομάδα του έδειξε ότι οι 3,4-διυδροπυριμιδινο-2-όνες, και ιδιαίτερα οι 3,4-διυδροπυριμιδινο-2-θειόνες (ένωση **V**, Σχήμα 12), ήταν μια δραστική σειρά αναστολέων ουρεάσης.¹⁵⁸



Σχήμα 12: Χημικές δομές αναστολέων της ουρεάσης του *C. ensiformis*.

2.2.4 Παράγωγα βαρβιτουρικού οξέος

Ο Khan και η ομάδα του συνέθεσαν και έλεγξαν την δράση έναντι της ουρεάσης παραγώγων βαρβιτουρικού οξέος (ένωση **I**, Σχήμα 13).^{159,160} Στη συνέχεια, έγινε αντικατάσταση με θειοβαρβιτουρικό οξύ,¹⁶¹ με αποτέλεσμα να αυξηθεί η ανασταλτική δράση (ένωση **II**, Σχήμα 13). Ακολούθως, μελετήθηκαν οι δράσεις κατά της ουρεάσης, τόσο των βαρβιτουρικών, όσο και των παραγώγων θειοβαρβιτουρικού οξέος υποκατεστημένων με ανιλίνη¹⁶² και σουλφοναμίδια (ενώσεις **III** και **IV**, Σχήμα 13),¹⁶³ από τον Rauf και τους συνεργάτες του. Επιπλέον, παράγωγα πυρανο-πυριμιδινο-διόνης (ένωση **V**, Σχήμα 13) από την ερευνητική ομάδα του Ziarani, έδειξαν υψηλές ανασταλτικές τιμές.¹⁶⁴ Στη συνέχεια, ο Barakat και η ομάδα του εξέτασαν διάφορα παράγωγα δις-βαρβιτουρικού οξέος για αναστολή της ουρεάσης. Οι καλύτερες ενώσεις **VI** και **VII** (Σχήμα 13) είχαν παρόμοιες τιμές IC₅₀ με τη θεωρία.^{165,166} Τέλος, η ομάδα του Rahim ανέφερε τη σύνθεση και τα αποτελέσματα των αναλύσεων αναστολής κατά της ουρεάσης για παράγωγα δις-θειοβαρβιτουρικού οξέος (ένωση **VIII**, Σχήμα 13).¹⁶⁷



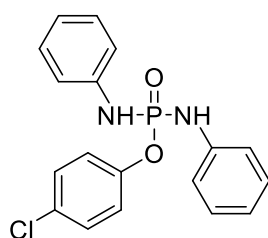
Σχήμα 13: Χημικές δομές αναστολέων της ουρεάσης του *B. pasteurii* (ενώσεις I, II, VIII) και *C. ensiformis* (ενώσεις III, IV, V, VI, VII).

2.2.5 Οργανοφωσφορικές ενώσεις

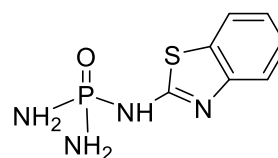
Τα φωσφοραμιδικά παράγωγα αντιπροσωπεύουν μία από τις πιο δραστικές κατηγορίες ενώσεων που λειτουργούν ως αναστολείς της ουρεάσης.¹⁶⁸ Ο Oliveira και οι συνεργάτες του¹⁶⁹ συνέθεσαν τέτοια παράγωγα και εξέτασαν την ανασταλτική τους δράση (ένωση I, Σχήμα 14). Επίσης, ο Domínguez και οι συνάδελφοί του πραγματοποίησαν μελέτες για τον σχεδιασμό και τη σύνθεση παραγώγων φωσφορο(δι)αμιδίων, τα οποία παρουσίασαν ισχυρότερη ανασταλτική δράση από τα φωσφοραμιδία (ένωση II, Σχήμα 14).^{170,171}

Η χρήση φωσφοροδιαμιδίων ως αναστολέων της ουρεάσης περιορίζεται, λόγω της ευαισθησίας τους στην υδρόλυση. Για αυτόν τον λόγο, το εργαστήριο Οργανικής Χημείας του ΕΚΠΑ σε συνεργασία με το

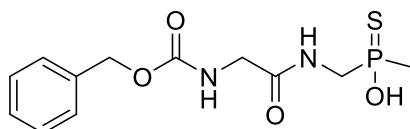
Πανεπιστήμιο του Wrocław^{172,173,174,175} υιοθέτησαν ένα μόριο δομικά ανάλογο με το φωσφοροδιαμιδικό οξύ για τον σχεδιασμό και τη σύνθεση παραγώγων φωσφονικού και φωσφινικού οξέος. Αυτές οι κατηγορίες ενώσεων είναι ισχυροί αναστολείς της ενζυματικής υδρόλυσης του αμιδικού δεσμού,^{176,177} επειδή δεν περιέχουν τους ασταθείς δεσμούς P-N. Επιπλέον, αυτή η κατηγορία ενώσεων εμφανίζει παρόμοιες ανασταλτικές ιδιότητες με τα φωσφοραμίδια.^{178,179} Υψηλότερη ανασταλτική δράση παρατηρήθηκε για τα P-μεθυλο-θειοφωσφινικά οξέα (ένωση **III**, Σχήμα 14) από ότι για τα P-μεθυλο-φωσφινικά οξέα (ένωση **IV**, Σχήμα 14), που πιθανότατα οφείλεται στην ισχυρότερη αλληλεπίδραση ενός ατόμου θείου με τα ιόντα νικελίου στην ενεργή περιοχή του ενζύμου.⁶⁴



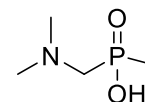
I (αναστολή $29.00 \pm 7.30\%$)



II ($IC_{50} = 2 \text{ nM}$)



III ($IC_{50} = 3.1 \pm 0.3 \mu\text{M}$)

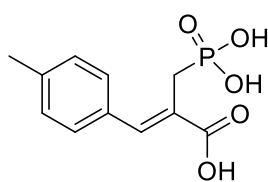


IV ($IC_{50} = 3.8 \pm 0.4 \mu\text{M}$)

Σχήμα 14: Χημικές δομές αναστολέων της ουρεάσης του *C. ensiformis* (ενώσεις **I**, **II**) και *B. pasteurii* (ενώσεις **III**, **IV**).

Με βάση τη δομή του συμπλόκου μεταξύ της ουρεάσης του *Sporosarcina pasteurii* και του κιτρικού άλατος,¹⁸⁰ στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του ΕΚΠΑ, συντέθηκαν μια σειρά οργανοφωσφορικών παραγώγων που περιείχαν ένα φωσφονικό/καρβοξυλικό σύστημα και αξιολογήθηκε η ανασταλτική τους δράση έναντι της ουρεάσης του *S. pasteurii*.¹⁸¹ Σύμφωνα με υπολογιστικές μελέτες, η ομάδα *p*-μεθυλίου του αρωματικού δακτυλίου του πιο δραστικού αναστολέα **V** (Σχήμα 15) της ουρεάσης προσαρμόζεται εύκολα στην υδρόφοβη σχισμή της ενεργού περιοχής της ουρεάσης. Η πολική περιοχή της ένωσης εμπλέκεται με ισχυρές αλληλεπιδράσεις στην δραστική περιοχή του ενζύμου, αφού η καρβοξυλική ομάδα σχηματίζει δύο

δεσμούς υδρογόνου που μεσολαβούνται από μια γέφυρα άλατος σε μια περιοχή απέναντι από το τμήμα γουανιδίνης της Arg339. Επιπλέον, το άτομο οξυγόνου της φωσφορικής ομάδας σχηματίζει μια γέφυρα μεταξύ των δύο μεταλλικών κέντρων και αλληλεπιδρά με ένα άτομο αζώτου της ομάδας ιμιδαζολίου (His222) μέσω δεσμού υδρογόνου. Το α,β -ακόρεστο σύστημα μεταξύ της ελεύθερης καρβοξυλικής ομάδας και του αρωματικού δακτυλίου που υπάρχει στην ένωση, παρουσιάζει το μέγεθος και την ακαμψία που απαιτούνται με βάση τις στερεοχημικές και ηλεκτρονικές απαιτήσεις της ενεργής περιοχής του ενζύμου.



V ($K_i = 0.594 \pm 0.028 \mu\text{M}$)

Σχήμα 15: Χημική δομή αναστολέα της ουρεάσης του *S. Pasteurii*.

2.2.6 Διάφορες ενώσεις

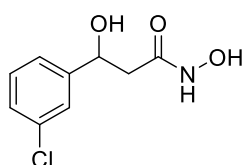
Λόγω των γνωστών χηλικών ιδιοτήτων και της δράσης κατά της ουρεάσης των υδροξαμικών οξέων, το 2013 και το 2016, ο Χίαιο και η ομάδα του και ο Shi και οι συναδέλφοι του, αντίστοιχα, συνέθεσαν μια σειρά παραγώγων με διαφορετικές ομάδες στις θέσεις 2, 3 και 4 του βενζολικού δακτυλίου, με πιο ισχυρή ανασταλτική δράση να παρουσιάζει η ένωση I (Σχήμα 16).^{182,183}

Επίσης, ο Onar και οι συνεργάτες του αξιολόγησαν την επίδραση της θέσης της ομάδας υδροξυλίου σε μια σειρά λιπαρών οξέων αλυσίδας 20C στην ανασταλτική δράση της ουρεάσης (ένωση II, Σχήμα 16).^{184,185}

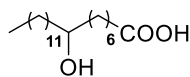
Οι α,β -ακόρεστες κετόνες αναφέρθηκαν ότι αναστέλλουν την δράση της ουρεάσης του *C. ensiformis*,¹⁸⁶ ενώ το αιθακρυνικό οξύ εμφανίζει άλλες φαρμακολογικές ιδιότητες.^{187,188} Έτσι, ο Janser και οι συνεργάτες του συνέθεσαν υβριδικά ανάλογα (ένωση III, Σχήμα 16) και εξέτασαν τις ικανότητές τους.¹⁸⁹ Επιπλέον, λόγω της δομικής σχέσης μεταξύ των α -υδροξυκετονών, του ακετοϋδροξαμικού οξέος και της υδροξουρίας, το 2004, ο Tanaka και οι συνεργάτες του συνέθεσαν αρκετούς δυνητικά νέους

αναστολείς της ουρεάσης με βάση τις α -υδροξυκετόνες (ένωση **IV**, Σχήμα 16).¹⁹⁰

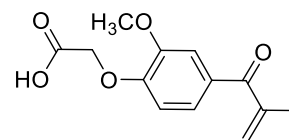
Κάποια χρόνια αργότερα, οι Li και Xiao και η ομάδα τους ανέφεραν αποτελέσματα για τις μελέτες τους σχετικά με την ανασταλτική δράση των 1,2-αρυλαιθανίων κατά της ουρεάσης. Τα πρώτα αποτελέσματα, που δημοσιεύθηκαν το 2009,¹⁹¹ έδειξαν ότι η ένωση **V** ήταν ο πιο ισχυρός αναστολέας (Σχήμα 16). Οι συγγραφείς πρότειναν ότι οι υποκαταστάτες υδροξυλίου στον βενζολικό δακτύλιο αύξησαν την ανασταλτική δράση, λόγω άμεσης αλληλεπίδρασης με τα κέντρα νικελίου της ουρεάσης του *H. Pylori*. Σε επόμενη έρευνα της ίδιας ομάδας (2010),¹⁹² η ένωση **VI** ανέστειλε την ουρεάση πιο αποτελεσματικά (Σχήμα 16). Η υψηλή δράση της ένωσης αποδόθηκε στην παρουσία των υδροξυλομάδων στους βενζολικούς δακτυλίους, η οποία παρέχει επιπλέον δεσμούς υδρογόνου με τα αμινοξέα Asn168 και Glu222 στην ενεργή περιοχή του ενζύμου. Η πιο πρόσφατη μελέτη τους σε αυτήν την κατηγορία μορίων εξέτασε τις βενζυλανιλίνες, εκ των οποίων η πιο ισχυρή ένωση ήταν η **VII** (Σχήμα 16). Μελέτες απέδειξαν ότι ο 3,4-διυδρόξυ υποκαταστάτης είναι ο μοναδικός υπεύθυνος για τους δεσμούς υδρογόνου, οι οποίοι δημιουργούνται με το ένζυμο.¹⁹³



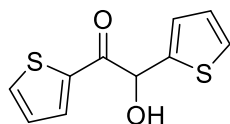
I ($K_i = 0.014 \pm 0.003 \mu\text{M}$)



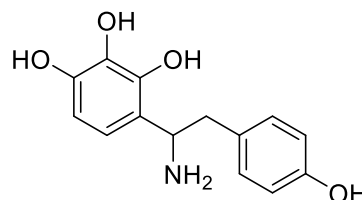
II ($\text{IC}_{50} = 0.012 \pm 0.0092 \mu\text{M}$)



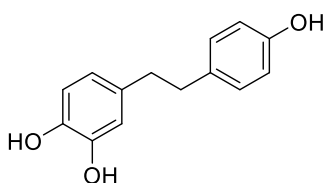
III ($\text{IC}_{50} = 0.05 \mu\text{M}$)



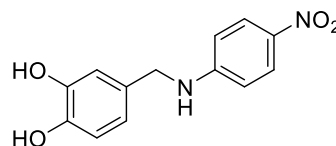
IV ($\text{IC}_{50} = 0.18 \mu\text{M}$)



V ($\text{IC}_{50} = 0.011 \pm 0.0012 \text{ mM}$)



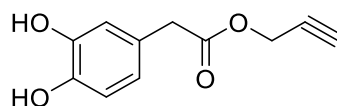
VI ($\text{IC}_{50} = 1.5 \pm 0.2 \mu\text{M}$)



VII ($\text{IC}_{50} = 0.62 \pm 0.04 \mu\text{M}$)

Σχήμα 16: Χημικές δομές αναστολέων της ουρεάσης του *H. pylori* (ενώσεις I, V, VI, VII) και *C. ensiformis* (ενώσεις II, III, IV).

Τέλος, με αφορμή μια δημοσίευση από τον Mazzei και τους συνεργάτες του το 2017, η οποία αποδεικνύει τη μη αναστρέψιμη απενεργοποίηση της ουρεάσης των *S. pasteurii* και *C. ensiformis* από το μόριο της κατεχόλης,¹⁹⁴ στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του ΕΚΠΑ συντέθηκαν μία σειρά αμιδικών και εστερικών παραγώγων πολυφαινολικών οξέων.¹⁹⁵ Ισχυρότερη ανασταλτική δράση έναντι της ουρεάσης του *S. pasteurii* έδειξε η ένωση **VIII** του Σχήματος 17:



VIII ($\text{IC}_{50} = 0.518 \pm 0.004 \mu\text{M}$)

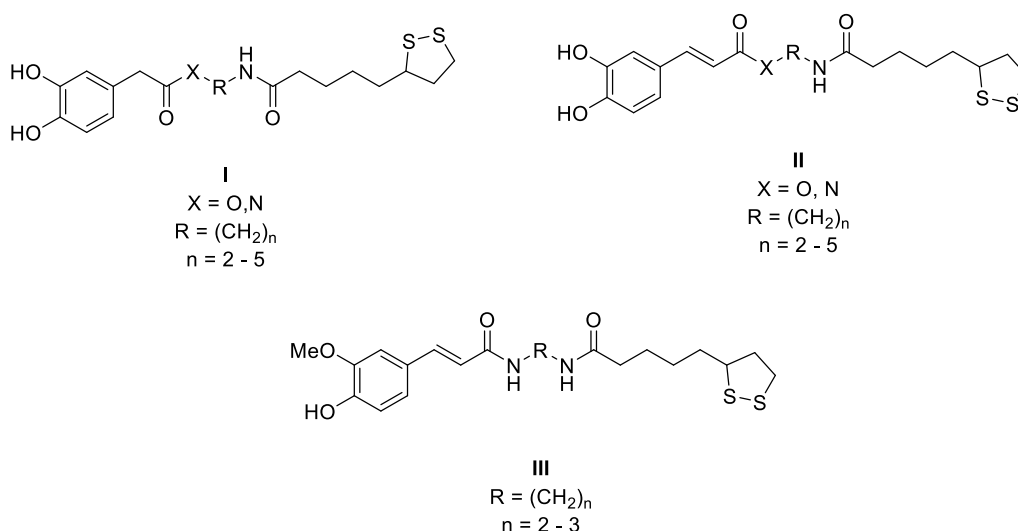
Σχήμα 17: Χημική δομή αναστολέα της ουρεάσης του *S. pasteurii*.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

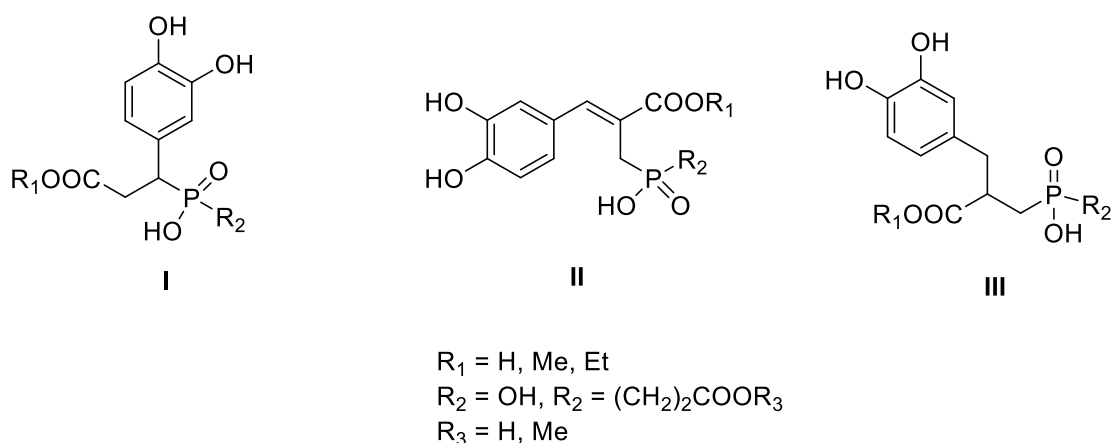
Η νόσος του Αλτσχάιμερ είναι μια πολυσχιδής ασθένεια, λόγω της πολύπλοκης παθογένεσής της, οπότε η αντιμετώπισή της απαιτεί τη στρατηγική σχεδιασμού MTDL φαρμάκων. Πρώτος σκοπός της εργασίας ήταν η σύνθεση υβριδικών μορίων πολυφαινολικών οξέων και λιποϊκού οξέος, με στόχο οι νέες ενώσεις να συνδυάζουν τις ιδιότητες των μητρικών ενώσεων σε ένα μόριο, αλλά και να παρουσιάζουν βελτιωμένη λιποφιλία, σταθερότητα, και δράση. Έτσι, τα πολυφαινολικά οξέα και το λιποϊκό οξύ αναμένεται να προσδίδουν στα νέα μόρια αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Το λιποϊκό οξύ, επιπλέον, θα παρέχει στα μόρια τη δυνατότητα της αύξησης των επιπέδων ακετυλοχολίνης (ACh) και της σύμπλεξής τους με οξειδωτικά μέταλλα, τα οποία παράγουν δραστικές μορφές οξυγόνου. Με αυτόν τον τρόπο, τα νέα υβριδικά μόρια θα είναι αποτελεσματικά ως προς δύο μηχανισμούς που εμπλέκονται στη νόσο.

Τα πολυφαινολικά οξέα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν το 3,4-διυδροξυφαινολοξικό οξύ, το καφεϊκό οξύ και το φερουλικό οξύ. Ως συνδετικά μόρια μεταξύ των οξέων, χρησιμοποιήθηκαν αμινοαλκοόλες ή διαμίνες (δομές I, II, III) (Σχήμα 18):



Σχήμα 18: Υβριδικά μόρια πολυφαινολικών οξέων και λιποϊκού οξέος που συντέθηκαν στην παρούσα εργασία.

Δεύτερος σκοπός της διατριβής, ήταν η σύνθεση πιθανών διλειτουργικών αναστολέων της ουρεάσης, οι οποίοι θα μπορούν να αλληλεπιδράσουν ταυτόχρονα, τόσο με τα ιόντα Ni^{2+} του ενζύμου, όσο και με τη σουλφυδρυλομάδα της Cys322. Επίσης, σκοπός ήταν η απόδειξη της επίδρασης της κατεχόλης στη μη αντιστρεπτή ομοιοπολική αναστολή που προκαλείται στο ένζυμο από τις κατεχολικές οργανοφωσφορικές ενώσεις, καθώς και του τρόπου σύνδεσης των πιθανών αναστολέων με την ουρεάση. Οι πιθανοί αναστολείς που συντέθηκαν διαιρούνται σε τρεις ομάδες ενώσεων (δομές I, II, III), ανάλογα με την απόσταση του κατεχολικού δακτυλίου από το άτομο του φωσφόρου και από το είδος των δεσμών που παρεμβάλλονται (Σχήμα 19):



Σχήμα 19: Κατεχολικά οργανοφωσφορικά παράγωγα που συντέθηκαν με στόχο την αναστολή του ενζύμου της ουρεάσης.

Τελευταίος σκοπός της διατριβής, ήταν η σύνθεση αναστολέων της ουρεάσης, η δομή των οποίων βασίζεται στη μοριακή δομή του φυσικού υποστρώματος. Έτσι, σχεδιάστηκαν ενώσεις με βάση τη δομή της ουρίας. Εκτός από ουρίες, συντέθηκαν θειουρίες, έτσι ώστε να διαπιστωθεί η επίδραση της αλλαγής του ατόμου του O με το άτομο του S στην ανασταλτική δράση των ενώσεων. Τέλος, συντέθηκαν καρβαμικά παράγωγα με δομές ανάλογες των ουριών και των θειουριών. Όλες οι ενώσεις που συντέθηκαν περιέχουν στο μόριο τους έναν κατεχολικό δακτύλιο, με σκοπό την αλληλεπίδραση του με τη σουλφυδρυλομάδα της Cys322 του ενζύμου.

Γενικός στόχος, λοιπόν, ήταν η σύνθεση διλειτουργικών αναστολέων του ενζύμου της ουρεάσης, που έχουν έναν κατεχολικό δακτύλιο και

χαρακτηρίζονται από δομή, η οποία μοιάζει με αυτήν την ουρίας. Τέλος, μέσω των βιολογικών μελετών που θα πραγματοποιηθούν, θα διαπιστωθεί η επίδραση των δομών $-\text{NH}(\text{C}=\text{O})\text{NH}-$, $-\text{NH}(\text{C}=\text{S})\text{NH}-$ και $-\text{NH}(\text{C}=\text{O})\text{C}-$ στην ανασταλτική ισχύ των ενώσεων. Τα πολυφαινολικά παράγωγα τα οποία συντέθηκαν ήταν (δομές I, II) (Σχήμα 20):



$X_1 = \text{O}, \text{S}, R_1 = \text{C}_6\text{H}_4\text{X}_2, X_2 = \text{H}, \text{Cl}, \text{Me}, \text{NO}_2$
 $X_1 = \text{O}, \text{S}, R_1 = (\text{CH}_2)_n\text{R}_2, \text{C}_6\text{H}_{11}, R_2 = \text{C}_6\text{H}_4\text{X}_2, X_2 = \text{H}, \text{F}$
 $n = 1, 2$

$X_1 = \text{O}, \text{S}$
 $R = \text{C}_6\text{H}_4\text{X}_2, \text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5, \text{C}_6\text{H}_{11}$
 $X_2 = \text{H}, \text{Cl}, \text{Br}, \text{Me}$

Σχήμα 20: Κατεχολικά παράγωγα ουρίας, θειουρίας και καρβαμικά παράγωγα που συντέθηκαν ως πιθανοί αναστολείς της ουρεάσης.

Τέλος, συντέθηκαν τέσσερα μη διλειτουργικά μόρια, τα οποία δεν φέρουν κατεχολικό δακτύλιο, με σκοπό να διαπιστωθεί κατά πόσο επηρεάζεται η ισχύς των αναστολέων από την απουσία του κατεχολικού δακτυλίου, καθώς και η συμβολή των δομών $-\text{NH}(\text{C}=\text{O})\text{NH}-$, $-\text{NH}(\text{C}=\text{S})\text{NH}-$, $-\text{NH}(\text{C}=\text{O})\text{C}-$ και $-\text{S}(\text{C}=\text{O})\text{NH}-$ στην αναστολή της ουρεάσης (δομές I, II) (Σχήμα 21):



$X_1 = \text{O}, \text{S}, X_2 = \text{NH}, R = \text{C}_6\text{H}_5$
 $X_1 = \text{O}, X_2 = \text{O}, R = \text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$

Σχήμα 21: Μη κατεχολικά παράγωγα που συντέθηκαν ως πιθανοί αναστολείς της ουρεάσης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

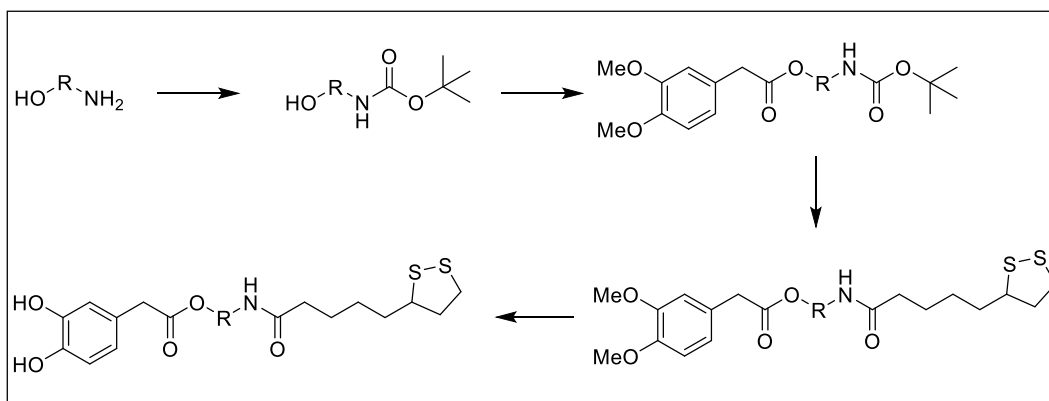
ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

4.1 Συνθετική πορεία υβριδικών ενώσεων λιποϊκού οξέος και φαινολικών οξέων

Στο πρώτο μέρος της παρούσας διατριβής συντέθηκαν υβριδικές ενώσεις λιποϊκού οξέος με τρία φαινολικά οξέα: το 3,4-διυδροξυφαινυλοξικό, το καφεϊκό και το φερουλικό. Ως συνδετικά μόρια μεταξύ των δύο οξέων, χρησιμοποιήθηκαν αμινοαλκοόλες και διαμίνες.

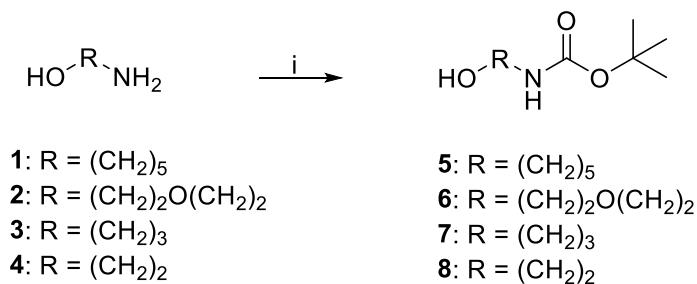
4.1.1 Συνθετική πορεία υβριδικών ενώσεων λιποϊκού οξέος και 3,4-διυδροξυφαινυλοξικού οξέος

4.1.1.1 Συνθετική πορεία αμιδικών εστέρων λιποϊκού οξέος και 3,4-διυδροξυφαινυλοξικού οξέος



Σχήμα 22: Συνθετική πορεία παρασκευής αμιδικών εστέρων λιποϊκού οξέος και 3,4-διυδροξυφαινυλοξικού οξέος.

Στο Σχήμα 22, παρουσιάζεται η γενική πορεία σύνθεσης των αμιδικών εστέρων του 3,4-διυδροξυφαινυλοξικού οξέος και του λιποϊκού οξέος. Στο αρχικό στάδιο για τη σύνθεση των αμιδικών εστέρων, πραγματοποιήθηκε η προστασία των αμινομάδων των αμινοαλκοολών **1**, **2**, **3**, **4** με χρήση του Boc ανυδρίτη [di-*tert*-butyl dicarbonate, (Boc)₂O] σε διαλύτη 1,4-διοξάνιο (Σχήμα 23), οπότε προέκυψαν οι *N*-προστατευμένες αμινοαλκοόλες **5**, **6**, **7**, **8**:

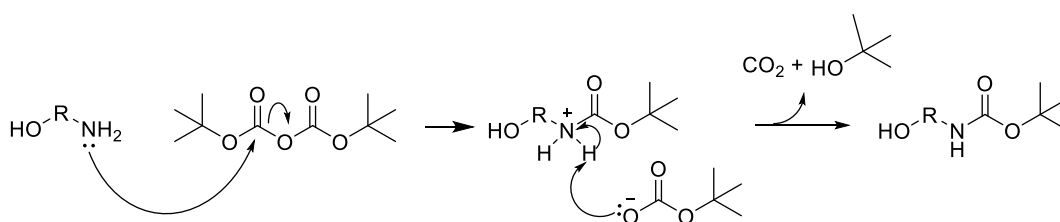


i) (Boc)₂O, 1,4-διοξάνιο, r.t., 3 h.

Σχήμα 23: Γενική αντίδραση προστασίας της αμινομάδας των αμινοαλκοολών με τον Boc ανυδρίτη.

Ο λόγος που επιλέχθηκε η Boc προστατευτική ομάδα είναι ότι πρόκειται για ένα φθινό αντιδραστήριο, το οποίο χρησιμοποιείται ευρέως στη συνθετική οργανική χημεία, καθώς, τόσο η εισαγωγή του, όσο και η απομάκρυνσή του, είναι πολύ απλή διεργασία.¹⁹⁶

Στον πιθανό μηχανισμό της αντίδρασης, η αμινομάδα της αμινοαλκοόλης προσβάλλει τον ένα από τους δύο καρβονυλικούς άνθρακες του ανυδρίτη, οπότε το εναπομείναν μέρος του αντιδραστήριου αποχωρεί ως εύκολα αποχωρούσα ομάδα. Έπειτα, το ανιόν του *tert*-βουτυλοκαρβονυλικού εστέρα αποσπά το πρωτόνιο της πρωτονιομένης αμινομάδας και προκύπτει η επιθυμητή *N*-προστατευμένη αμινοαλκοόλη. Τέλος, η πρωτονιωμένη αποχωρούσα ομάδα αποσυντίθεται σε CO₂ και *tert*-βουτανόλη (Σχήμα 24):



Σχήμα 24: Προτεινόμενος μηχανισμός αντίδρασης προστασίας της αμινομάδας των αμινοαλκοολών με την Boc προστατευτική ομάδα.

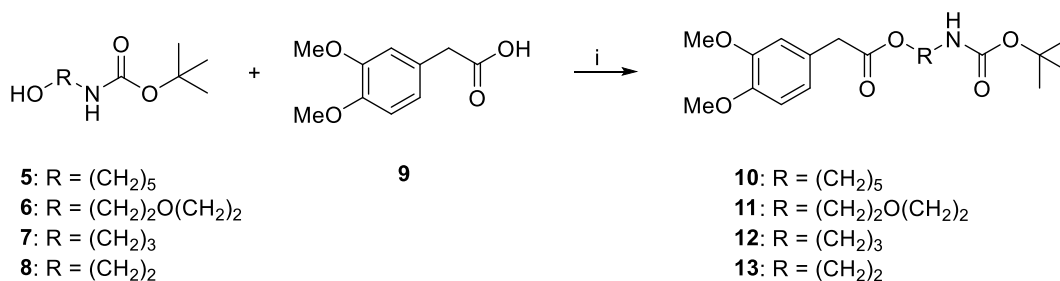
Μετά το πέρας της αντίδρασης ακολουθεί εκχύλιση με H₂O προς απομάκρυνση της αρχικής αμινοαλκοόλης που δεν αντέδρασε, ενώ το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται καθαρό έπειτα από χρωματογραφία στήλης με κατάλληλο σύστημα έκλουσης. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 1)

παρουσιάζονται τα προκύπτοντα προϊόντα και οι αντίστοιχες αποδόσεις τους:

Πίνακας 1: Οι *N*-προστατευμένες αμινοαλκοόλες που συντέθηκαν και οι αποδόσεις τους.

Ένωση	R	Απόδοση
5	(CH ₂) ₅	92%
6	(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂	99%
7	(CH ₂) ₃	90%
8	(CH ₂) ₂	94%

Στη συνέχεια της σύνθεσης, οι *N*-προστατευμένες αμινοαλκοόλες **5**, **6**, **7** και **8** υπόκεινται σε αντίδραση εστεροποίησης με το εμπορικά διαθέσιμο 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ **9** (Σχήμα 25). Η αντίδραση πραγματοποιείται σύμφωνα με τη μέθοδο σύζευξης με υδροχλωρικό *N*-(3-διμεθυλαμινοπροπυλο)-*N'*-αιθυλοκαρβοδιιμίδιο (ethylcarbodiimide hydrochloride, EDC.HCl)¹⁹⁷ και χρήση του καταλύτη 4-(*N,N*-διμεθυλαμινο)πυριδίνη [4-(dimethylamino)pyridine, DMAP] 10%,¹⁹⁸ οπότε προκύπτουν οι εστέρες **10**, **11**, **12** και **13**:



i) EDC.HCl, 10% DMAP, ξηρό CH₂Cl₂, 0°C → r.t., 24 h.

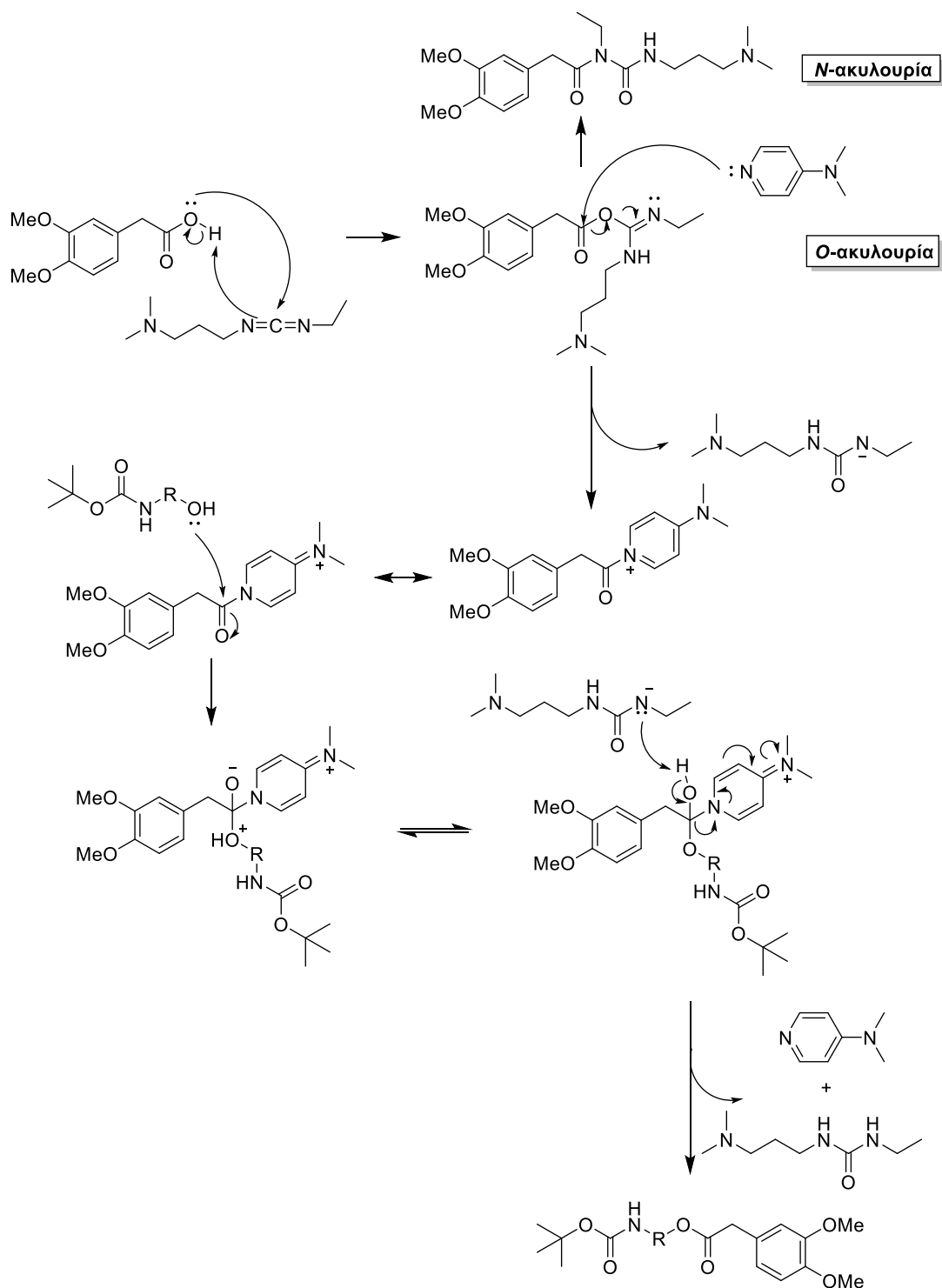
Σχήμα 25: Γενική αντίδραση εστεροποίησης των *N*-προστατευμένων αμινοαλκοολών και του 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικού οξέος.

Στις αντιδράσεις σύζευξης προτιμάται ως αντιδραστήριο σύζευξης το EDC.HCl, έναντι του *N,N*-δικυκλοεξυλοκαρβοδιιμιδίου (*N,N*-dicyclohexylcarbodiimide, DCC). Αυτό οφείλεται στο ότι κατά την πορεία της αντίδρασης με χρήση του DCC, σχηματίζεται *N*-δικυκλοεξουρία ως παραπροϊόν,¹⁹⁹ η οποία απομακρύνεται δύσκολα κατά την κατεργασία της αντίδρασης, οπότε δυσχεραίνει τον χρωματογραφικό καθαρισμό του τελικού προϊόντος.²⁰⁰ Για αυτόν τον λόγο, χρησιμοποιείται EDC.HCl, καθώς το αντίστοιχο παράγωγο *N*-ακυλουρίας που σχηματίζεται κατά την

αντίδραση (Σχήμα 26) είναι υδατοδιαλυτό, οπότε μπορεί να απομακρυνθεί εύκολα μετά από εκχύλιση με H_2O .²⁰¹ Πρέπει να σημειωθεί ότι η προσθήκη του αντιδραστήριου γίνεται στους $0^\circ C$.

Το DMAP είναι ένας εξαιρετικός καταλύτης για τις αντιδράσεις εστεροποίησης, ο οποίος δύναται επίσης να απομακρυνθεί πολύ εύκολα από το μίγμα της αντίδρασης με εκχύλιση με όξινο αντιδραστήριο (π.χ. κιτρικό οξύ). Οι αλκοόλες είναι ασθενή πυρηνόφιλα, οπότε κατά την αντίδραση εστεροποίησης αδυνατούν να προσβάλλουν γρήγορα την σχηματιζόμενη Ο-ακυλουρία (Σχήμα 26), με αποτέλεσμα μεγάλο ποσοστό του ενδιάμεσου να μετατρέπεται ενδομοριακά σε Ν-ακυλουρία. Με καταλυτική προσθήκη DMAP πραγματοποιείται μια γρήγορη αντίδραση μεταξύ του DMAP και της Ο-ακυλουρίας, οπότε σχηματίζεται ένα ενδιάμεσο το οποίο δεν αναδιατάσσεται ενδομοριακά, οπότε η αλκοόλη μπορεί πλέον να αντιδράσει πιο αποτελεσματικά.²⁰²

Στο αρχικό στάδιο του πιθανού μηχανισμού (Σχήμα 26), το οξύ αντιδρά με το καρβοδιιμίδιο, οπότε σχηματίζεται η Ο-ακυλουρία.²⁰³ Στη συνέχεια, για την αποφυγή μεγάλου ποσοστού σχηματισμού της Ν-ακυλουρίας, θεωρείται ότι ο καταλύτης DMAP λειτουργεί ως αντιδραστήριο μεταφοράς ακυλίου.¹⁹⁸ Η πορεία της αντίδρασης συνεχίζεται με τον τρόπο που περιγράφηκε στην παραπάνω παράγραφο:



Σχήμα 26: Προτεινόμενος μηχανισμός εστεροποίησης των *N*-προστατευμένων αμινοαλκοολών και του 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικού οξέος.

Κατά την κατεργασία του μίγματος της αντίδρασης, πραγματοποιείται εκχύλιση με διάλυμα κιτρικού οξέος για την απομάκρυνση του καταλύτη. Η χρήση ασθενούς όξινου διαλύματος γίνεται για την αποφυγή της αποπροστασίας της *Boc* προστατευμένης αμινομάδας. Επίσης, όπως

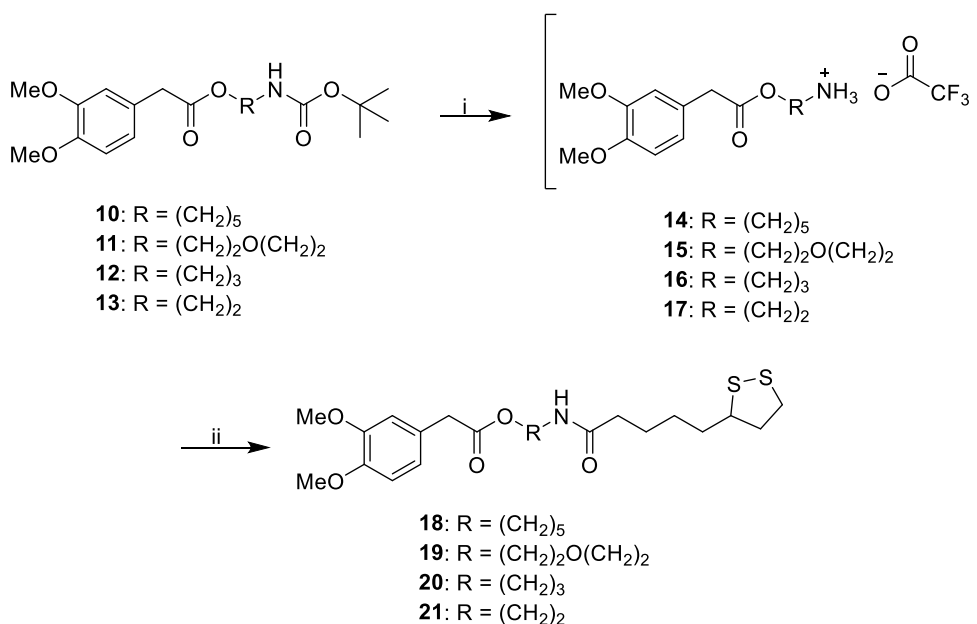
αναφέρθηκε παραπάνω, πραγματοποιούνται και εκχυλίσεις με H₂O, καθώς και με διάλυμα NaHCO₃ 5% για τη δέσμευση του οξέος που δεν αντέδρασε.

Τα τελικά προϊόντα που συντέθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 2:

Πίνακας 2: Οι αμιδικοί εστέρες που συντέθηκαν και οι αποδόσεις τους.

Ένωση	R	Απόδοση
10	(CH ₂) ₅	83%
11	(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂	74%
12	(CH ₂) ₃	75%
13	(CH ₂) ₂	77%

Ακολούθως, οι ενώσεις **10**, **11**, **12**, **13** αποπροστατεύτηκαν με χρήση διαλύματος τριφθοροξικού οξέος 10% (trifluoro acetic acid, TFA) σε CH₂Cl₂, σχηματίζοντας τα ενδιάμεσα μόρια **14**, **15**, **16**, **17** (Σχήμα 27). Έπειτα από απομάκρυνση του διαλύματος τριφθοροξικού οξέος, τα ενδιάμεσα μόρια υπέστησαν απευθείας σύζευξη με το λιποϊκό οξύ με χρήση του συζευκτικού αντιδραστηρίου EDC.HCl παρουσία 1-υδροξυβενζοτρίαζολίου (1-hydroxybenzotriazole hydrate, HOBt.H₂O)²⁰⁴ και τριαιθυλαμίνης (triethylamine, Et₃N) ως βάση, οπότε παραλήφθηκαν τα υβριδικά παράγωγα **18**, **19**, **20** και **21** (Σχήμα 27):

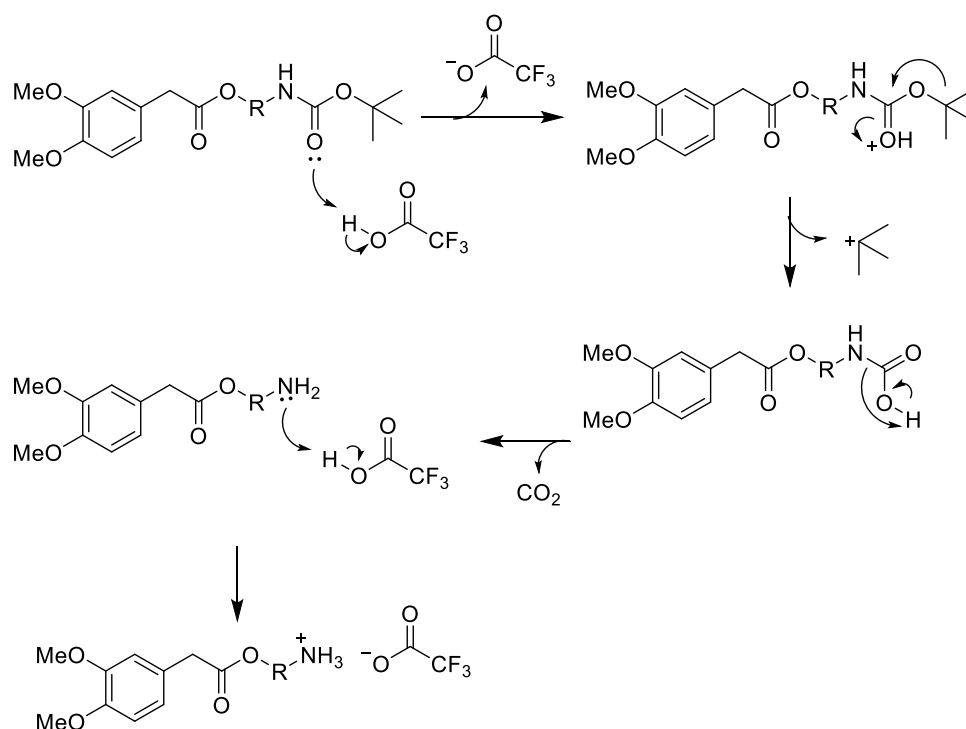


i) 10% TFA/CH₂Cl₂, 0°C → r.t., 1.5 h., ii) Et₃N, ξηρό CH₂Cl₂, HOBT.H₂O, EDC.HCl, λιποϊκό οξύ, κυστεΐνη, 0°C → r.t., 24 h.

Σχήμα 27: Γενική αντίδραση αποπροστασίας των αμιδικών εστέρων **10, 11, 12, 13** και σύζευξης με το λιποϊκό οξύ.

Ως αντιδραστήριο αποπροστασίας χρησιμοποιείται το TFA, καθώς πρόκειται για ένα από τα πιο συνηθισμένα αντιδραστήρια για την απομάκρυνση της Boc ομάδας. Αν και είναι πιο ασθενές οξύ σε σύγκριση με το HCl, που χρησιμοποιείται επίσης για αυτές τις αντιδράσεις, εντούτοις λειτουργεί εξαιρετικά.

Στον προτεινόμενο μηχανισμό της αποπροστασίας, αρχικά, γίνεται πρωτονίωση του καρβονυλίου της Boc ομάδας από το TFA. Το *tert*-βουτυλοκατιόν ελευθερώνεται, οπότε σχηματίζεται καρβαμικό οξύ. Στη συνέχεια, το ανιόν τριφθοροξικού οξέος αποσπά το πρωτόνιο του καρβαμικού οξέος, προκαλώντας την αποκαρβοξυλίωσή του και απελευθερώνοντας CO₂ και τριφθοροξικό οξύ. Τέλος, υπό τις όξινες συνθήκες που επικρατούν, η σχηματιζόμενη αμίνη πρωτονιώνεται και υπάρχει στο μίγμα υπό τη μορφή άλατος με το TFA (Σχήμα 28).



Σχήμα 28: Προτεινόμενος μηχανισμός προστασίας της Boc προστατευτικής ομάδας με TFA.

Καθώς, οι αποπροστατευμένοι αμιδικοί εστέρες που συντέθηκαν είναι υπό τη μορφή άλατος με το TFA, χρησιμοποιείται Et₃N ως βάση για την αποπρωτονίωση της αμινομάδας, έτσι ώστε να αντιδράσει με το λιποϊκό οξύ.

Το λιποϊκό οξύ είναι ένα μόριο που παρουσιάζει γενικά αστάθεια. Αν και σε στερεή μορφή είναι σταθερό, αστάθεια παρατηρείται όταν είναι είτε διαλυμένο, είτε σε υγρή μορφή. Φαίνεται ότι όταν το κρυσταλλικό πλέγμα του λιποϊκού οξέος διαλύεται, τα μόρια τείνουν να πολυμερίζονται υπό συγκεκριμένες συνθήκες. Η δραστηριότητα και αστάθεια του λιποϊκού οξέος οφείλεται στη 1,2-διθειολάνη που περιέχει στο μόριο του και παρατηρήθηκε αρχικά, όταν καθαρά διαλύματα λιποϊκού οξέος παρέμειναν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για λίγες μέρες. Τα αρχικά διαλυτά λάδια μετατράπηκαν σε κολλώδεις αδιάλυτες ρητίνες.²⁰⁵ Επίσης, η αστάθεια του λιποϊκού οξέος στο φως περιγράφηκε από τον Barltrop και τους συνεργάτες του το 1954²⁰⁶ και τον Wagner και τους συναδέλφους του το 1956.²⁰⁵ Η έκθεση του στο φως χαρακτηρίζεται από μια φυσική αλλαγή στη δομή του, λόγω του πολυμερισμού του, έπειτα από το άνοιγμα της αλυσίδας της διθειολάνης του μορίου του, την οποία ακολουθεί ο σχηματισμός

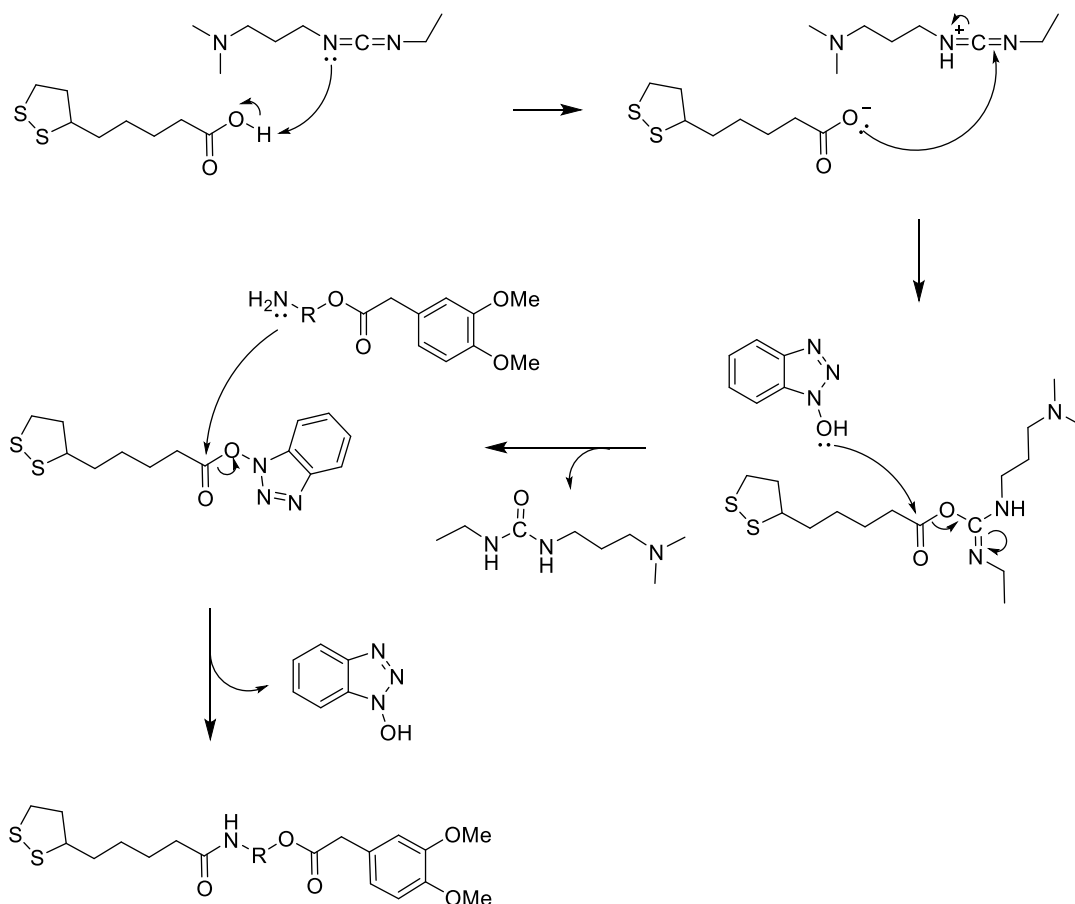
διαμοριακών δισουλφιδικών δεσμών.²⁰⁷ Επιπλέον, έχει μελετηθεί και η επίδραση του διαλύτη στον πολυμερισμό του λιποϊκού οξέος, καθώς οι Brown και Edwards βρήκαν ότι διαλύτες με εύκολα διαθέσιμα πρωτόνια εμποδίζουν τον πολυμερισμό που προκαλείται από το φως.²⁰⁸

Επίσης, έχει παρατηρηθεί²⁰⁹ ότι σχηματίζονται παραπροϊόντα τα οποία είναι άχρωμα και κολλώδη, ακόμα και κατά τον σχηματισμό παραγώγων του λιποϊκού οξέος.²⁰⁷ Τα παράγωγα αυτά περιέχουν στο μόριο τους, όπως και το λιποϊκό οξύ, τη μονάδα της 1,2-διθειολάνης, οπότε η τάση τους να πολυμερίζονται οφείλεται στην αστάθεια αυτής της μονάδας.²⁰⁶

Για να αποφευχθεί ο πολυμερισμός, λοιπόν, κατά την αντίδραση προστίθεται μικρή ποσότητα κυστεΐνης, η οποία φαίνεται να τον αποτρέπει. Επίσης, οι αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν σε σκοτεινό περιβάλλον, ενώ τα προϊόντα φυλλάγονται μετά τον χρωματογραφικό τους καθαρισμό σε σκοτεινό περιβάλλον στην κατάψυξη. Αξίζει να σημειωθεί ότι πολυμερισμός του λιποϊκού οξέος (σχηματισμός κολλώδους ρητίνης) δεν παρατηρήθηκε όσο το διυδρόξυ τμήμα των υβριδικών ενώσεων ήταν προστατευμένο, οπότε σε αυτή τη χημική δομή, τα προϊόντα φαίνεται να είναι σταθερά.

Το HOBt είναι ένα αντιδραστήριο σύζευξης που χρησιμοποιείται κατά κύριο λόγο στην πεπτιδική σύνθεση με σκοπό τον σχηματισμό αμιδικού δεσμού. Πρόκειται για ένα αντιδραστήριο που προσφέρει στις αντιδράσεις μεγάλη ταχύτητα και υψηλές αποδόσεις, λόγω των ενεργών εστέρων που σχηματίζει κατά τον μηχανισμό της αντίδρασης (Σχήμα 29). Συνήθως συναντάται σε ένυδρη κατάσταση, καθώς ως άνυδρο είναι ιδιαίτερα εκρηκτικό. Η απομάκρυνση του από το μίγμα της αντίδρασης είναι εξαιρετικά εύκολη, διότι πραγματοποιείται με υδατική εκχύλιση.

Στον προτεινόμενο μηχανισμό της αντίδρασης, το λιποϊκό οξύ αντιδρά αρχικά με το καρβοδιιμίδιο, οπότε σχηματίζεται O-ακυλουρία. Αυτό το στάδιο είναι και το καθοριστικό για την αντίδραση, καθώς στη συνέχεια, το HOBt αντιδρά με την O-ακυλουρία, σχηματίζοντας έτσι ένα ενεργό ενδιάμεσο, με το οποίο μπορεί εύκολα πλέον να αντιδράσει η αμίνη. Το HOBt αναγεννάται και σχηματίζεται το επιθυμητό αμίδιο (Σχήμα 29):²⁰⁴



Σχήμα 29: Προτεινόμενος μηχανισμός αντίδρασης σύζευξης του λιποϊκού οξέος με τους αμιδικούς εστέρες 14, 15, 16 και 17.

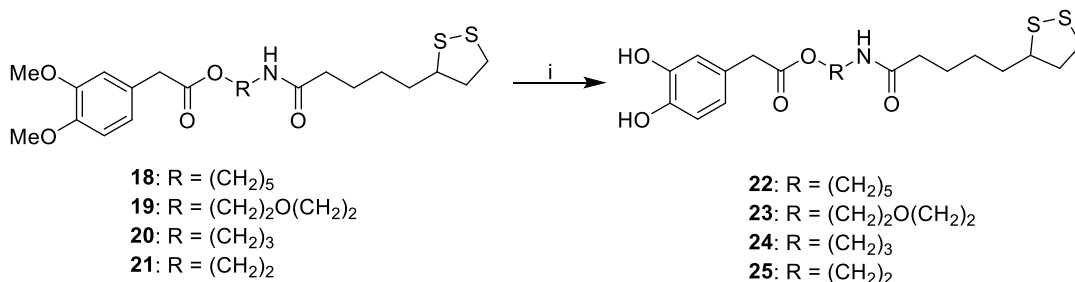
Στο μίγμα της αντίδρασης πραγματοποιείται εκχύλιση με διάλυμα 5% NaHCO_3 για την απομάκρυνση του λιποϊκού οξέος που δεν αντέδρασε και με διάλυμα HCl 0.6 N για την απομάκρυνση της βάσης και της αμίνης. Η βασική εκχύλιση είναι εξαιρετικά σημαντική, γιατί το λιποϊκό οξύ δεν μπορεί να απομακρυνθεί πλήρως με χρωματογραφικό καθαρισμό. Επίσης, με εκχύλιση με H_2O περνάει στην υδατική φάση η παραγόμενη ουρία. Τέλος, με χρωματογραφία σήλης παραλαμβάνονται τα επιθυμητά προϊόντα στις αποδόσεις που αναγράφονται στον Πίνακα 3. Οι αναγραφόμενες αποδόσεις αφορούν και τις δύο αντιδράσεις (αποπροστασία Boc ομάδας και σύζευξη με το λιποϊκό οξύ).

Πίνακας 3: Οι αποδόσεις των προστατευμένων αμιδικών εστέρων που παρασκευάστηκαν.

Ένωση	R	Απόδοση
18	$(\text{CH}_2)_5$	70%
19	$(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2$	72%

20	(CH ₂) ₃	61%
21	(CH ₂) ₂	59%

Οι μεθόξυ ομάδες των αμιδικών εστέρων **18**, **19**, **20** και **21**, στη συνέχεια αποπροστατεύτηκαν με χρήση του αντιδραστηρίου BF₃.SMe₂ (σύμπλοκο τριφθοριδίου του βορίου με διμεθυλοθειοαιθέρα, boron trifluoride methyl sulfide complex) σε διαλύτη CH₂Cl₂ και μικρής ποσότητας κυστεΐνης, οπότε και προκύπτουν οι διυδροξυ αμιδικοί εστέρες **22**, **23**, **24** και **25** (Σχήμα 30):



i) BF₃.SMe₂, ξηρό CH₂Cl₂, κυστεΐνη, 0°C → r.t., 24 h.

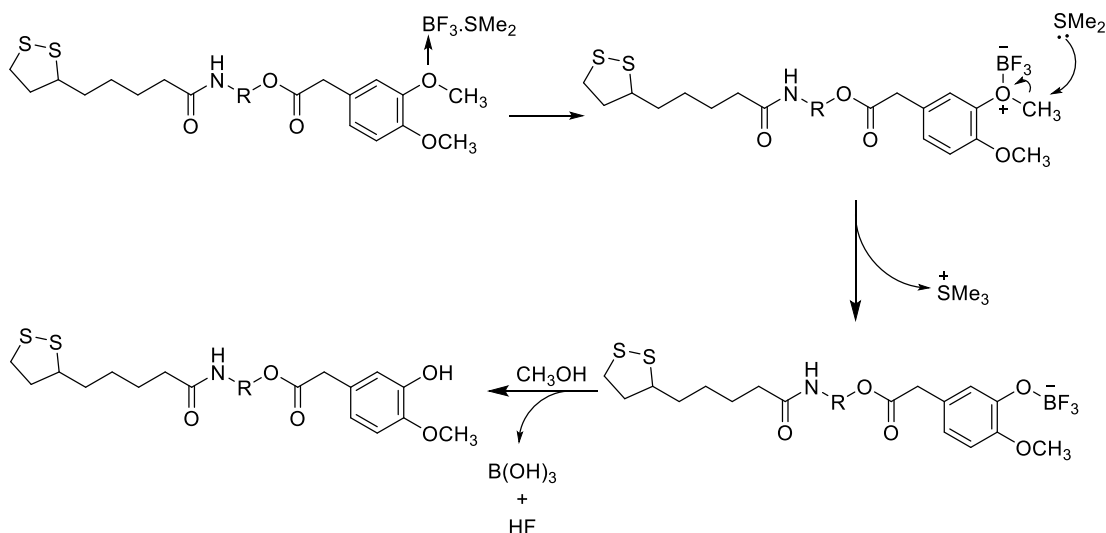
Σχήμα 30: Γενική αντίδραση αποπροστασίας των φαινολικών υδροξυλίων.

Το BF₃.SMe₂ είναι ένα οξύ κατά Lewis, το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τις αντιδράσεις αποπροστασίας των φαινολικών υδροξυλίων. Σε αυτού του είδους τις αντιδράσεις δεν χρησιμοποιείται συχνά το συγκεκριμένο αντιδραστήριο, καθώς θεωρείται πιο ήπιο σε σχέση με τα συγγενικά του οξέα κατά Lewis (μικρότερη οξύτητα), τριβρωμιούχο βόριο (boron tribromide, BBr₃) και τριχλωριούχο βόριο (boron trichloride, BCl₃). Αυτό, βέβαια, δε σημαίνει ότι η δράση του είναι μειωμένη σε σχέση με τα άλλα δύο αντιδραστήρια. Το BBr₃ και το BCl₃ είναι εξαιρετικά δραστικά, οπότε χρησιμοποιούνται κυρίως, όταν δεν υπάρχουν ευαίσθητες ομάδες στα μόρια. Για αυτόν τον λόγο, οι αναφορές που υπάρχουν ως προς την χρήση του αντιδραστηρίου BF₃.SMe₂ είναι λίγες.^{210,211,212}

Το αντιδραστήριο χρησιμοποιείται σε μεγάλη περίσσεια στις αντιδράσεις αποπροστασίας, καθώς για κάθε μεθόξυ ομάδα απαιτούται 10 ισοδύναμα αντιδραστηρίου. Επίσης, η προσθήκη του γίνεται στους 0°C. Επιπλέον, η περίσσεια του αντιδραστηρίου καταστρέφεται μετά το πέρας της αντίδρασης, με την προσθήκη CH₃OH ή H₂O στο μίγμα της αντίδρασης υπό ψύξη.

Είναι, επίσης, σημαντικό η αντίδραση να πραγματοποιηθεί στο σκοτάδι για την αποφυγή του πολυμερισμού της μονάδας του λιποϊκού οξέος, καθώς και γιατί ο προκύπτων κατεχολικός δακτύλιος είναι ευαίσθητος στο φως. Για την αποφυγή του πολυμερισμού του λιποϊκού οξέος, στο μίγμα της αντίδρασης προστίθεται, επιπλέον, και μικρή ποσότητα κυστεΐνης.

Το σύμπλοκο του $\text{BF}_3 \cdot \text{SMe}_2$ αποτελείται από ένα σκληρό οξύ (BF_3) και ένα μαλακό πυρηνόφιλο (SMe_2). Σε αυτό το σύστημα βασίζεται η δράση του αντιδραστήριου. Στον πιθανό μηχανισμό της αντίδρασης, το BF_3 δρα ως οξύ κατά Lewis προσβάλλοντας το οξυγόνο της μεθόξυ ομάδας. Έτσι, ενεργοποιείται ο αιθέρας και καθίσταται εύκολη η πυρηνόφιλη προσβολή του μεθυλίου από το διμεθυλοσουλφίδιο, οπότε και ελευθερώνονται τα φαινολικά υδροξύλια των ενώσεων (Σχήμα 31):²¹³



Σχήμα 31: Προτεινόμενος μηχανισμός αποπροστασίας φαινολικών υδροξυλίων.

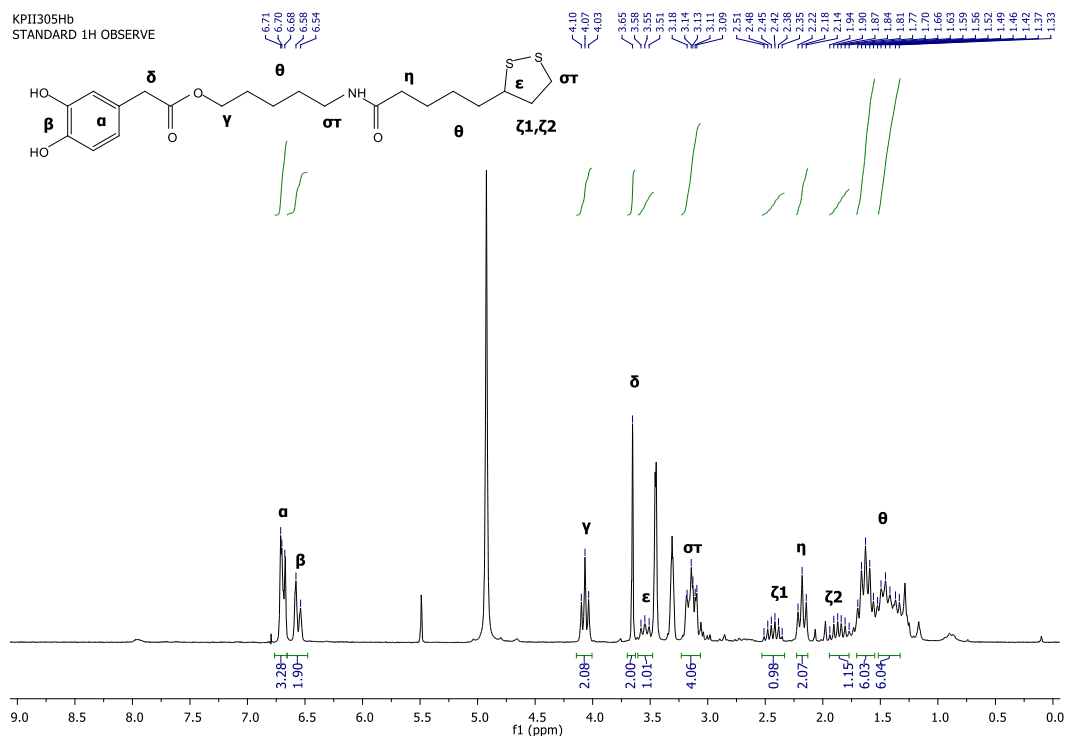
Μετά το πέρας της αντίδρασης προστίθεται μεθανόλη υπό ψύξη για την ολοκλήρωση της αντίδρασης και την εξουδετέρωση της περίσσειας του αντιδραστήριου και έπειτα πραγματοποιείται χρωματογραφικός καθαρισμός του τελικού προϊόντος.

Τα τελικά προϊόντα που παραλήφθηκαν φυλλάγονται διαλυμένα σε μεθανόλη στην κατάψυξη και σε σκουρόχρωμο φιαλίδιο, καθώς φαίνεται ότι σε αυτή την κατάσταση αποφεύγεται ο πολυμερισμός των ενώσεων. Οι αποδόσεις των τελικών ενώσεων φαίνονται στον Πίνακα 4:

Πίνακας 4: Οι αποδόσεις των τελικών προϊόντων που παρασκευάστηκαν.

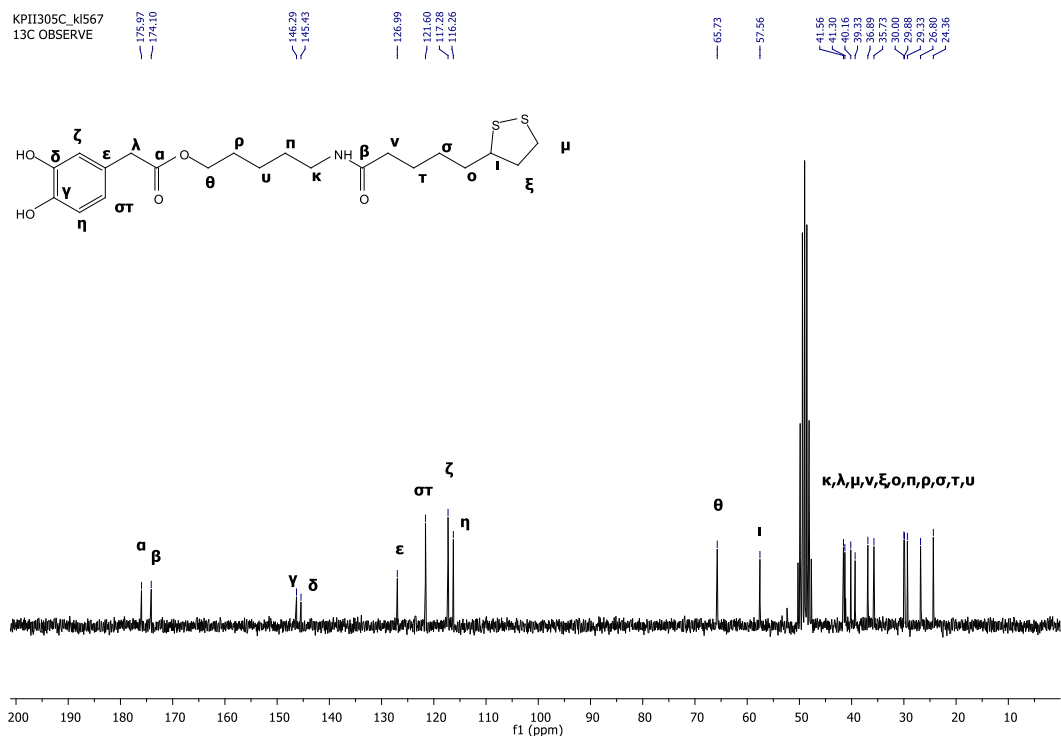
Ένωση	R	Απόδοση
22	(CH ₂) ₅	42%
23	(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂	32%
24	(CH ₂) ₃	49%
25	(CH ₂) ₂	23%

Στα παρακάτω σχήματα παρουσιάζονται τα φάσματα ¹H και ¹³C πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (nuclear magnetic resonance, NMR) του τελικού προϊόντος **22**. Σύμφωνα με το φάσμα ¹H NMR (Σχήμα 32), στην περιοχή των 6.71-6.68 ppm συντονίζονται τα (α) αρωματικά πρωτόνια του μορίου, ενώ στα 6.58 και 6.54 ppm εμφανίζονται ως δυο απλές κορυφές τα (β) πρωτόνια των φαινολικών υδροξυλίων. Στα 4.07 ppm παρατηρούνται τα (γ) πρωτόνια του εστερικού μεθυλενίου με μία τριπλή κορυφή και στα 3.65 ppm συντονίζονται τα (δ) α-καρβονυλικά πρωτόνια της ένωσης ως μια απλή κορυφή. Το (ε) πρωτόνιο εντοπίζεται ως μια πολλαπλή κορυφή στα 3.58-3.51 ppm, ενώ στα 3.18-3.09 ppm παρατηρούνται τα (στ) πρωτόνια των μεθυλενίων που βρίσκονται δίπλα στον αμιδικό δεσμό και τα (στ) πρωτόνια του πενταμελούς δακτυλίου. Τα διαστερεοτοπικά πρωτόνια (ζ1, ζ2) συντονίζονται ως δύο πολλαπλές κορυφές στα 2.51-2.35 και 1.94-1.77 ppm, ενώ ως μια τριπλή κορυφή παρατηρούνται στα 2.18 ppm τα (η) α-καρβονυλικά πρωτόνια του αμιδικού δεσμού. Τέλος, στα 1.70-1.56 και 1.52-1.33 ppm εντοπίζονται οι μετατοπίσεις των μεθυλενίων (θ) των ενδιάμεσων αλειφατικών αλυσίδων της ένωσης.



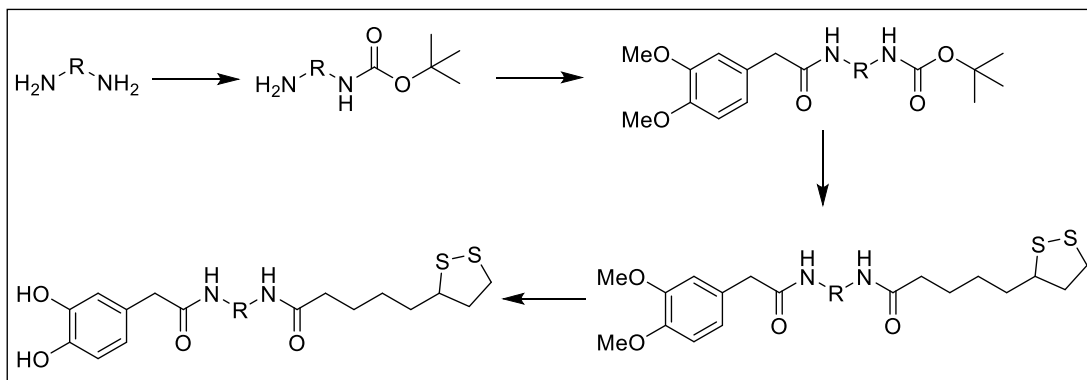
Σχήμα 32: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 22 σε διαλύτη CD_3OD (200 MHz).

Στο φάσμα ^{13}C NMR της ίδιας ένωσης (Σχήμα 33), παρατηρούνται στα 176.0 και 174.1 ppm δυο κορυφές που οφείλονται στους (α , β) καρβονυλικούς άνθρακες. Στην περιοχή από τα 146.3 έως τα 116.3 ppm συντονίζονται οι (γ - η) αρωματικοί άνθρακες της ένωσης 22. Ο (θ) εστερικός άνθρακας συντονίζεται στα 65.7 ppm, ενώ ο (ι) τριτοταγής άνθρακας στα 57.6 ppm. Στα 41.6 ppm εμφανίζεται το σήμα της χημικής μετατόπισης του (κ) αμιδικού άνθρακα, ενώ στα 41.3 ppm αυτό του (λ) α -καρβονυλικού άνθρακα του εστερικού δεσμού. Η κορυφή στα 40.2 ppm οφείλεται στον (μ) άνθρακα της μονάδας του λιποϊκού οξέος και η κορυφή στα 39.3 ppm στον (ν) α -άνθρακα του αμιδικού δεσμού. Ο (ξ) άνθρακας του πενταμελούς δακτυλίου παρουσιάζει μετατόπιση στα 36.9 ppm, ενώ ο (\omicron) άνθρακας που βρίσκεται δίπλα στον δακτύλιο στα 35.7 ppm. Τέλος, οι (π - υ) αλειφατικοί άνθρακες των ενδιάμεσων αλειφατικών αλυσίδων εμφανίζουν χημικές μετατοπίσεις από τα 30.0 έως τα 24.4 ppm.



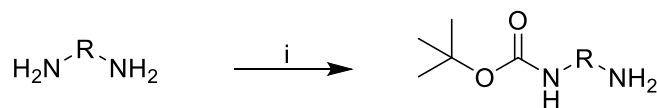
Σχήμα 33: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 22 σε διαλύτη CD_3OD (50 MHz).

4.1.1.2 Συνθετική πορεία διαμιδίων λιποϊκού οξέος και 3,4-διυδροξυφαινυλοξικού οξέος



Σχήμα 34: Συνθετική πορεία παρασκευής διαμιδίων λιποϊκού οξέος και 3,4-διυδροξυφαινυλοξικού οξέος.

Στο Σχήμα 34, παρουσιάζεται η γενική πορεία σύνθεσης των διαμιδίων του 3,4-διυδροξυφαινυλοξικού οξέος και του λιποϊκού οξέος. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε η μονοπροστασία των διαμινών **26**, **27** και **28** με την Boc προστατευτική ομάδα σε διαλύτη 1,4-διοξάνιο, οπότε παραλήφθηκαν οι Boc μονοπροστατευμένες διαμίνες **29**, **30** και **31** (Σχήμα 35):



26: R = (CH₂)₃

27: R = (CH₂)₄

28: R = (CH₂)₂

29: R = (CH₂)₃

30: R = (CH₂)₄

31: R = (CH₂)₂

i) (Boc)₂O, 1,4-διοξάνιο, r.t., 22 h.

Σχήμα 35: Γενική αντίδραση μονοπροστασίας των διαμινών με την Boc προστατευτική ομάδα.

Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τη μέθοδο που δημοσίευσαν οι Krapcho και Kuell,²¹⁴ στην οποία χρησιμοποιείται μεγάλη περίσσεια της διαμίνης ως προς τον ανυδρίτη (8:1), έτσι ώστε να επιτευχθεί μονοπροστασία. Επιπλέον, για την αποφυγή σχηματισμού της διπροστατευμένης διαμίνης, η προσθήκη του ανυδρίτη στο διάλυμα της διαμίνης, γίνεται στάγδην και σε μεγάλο χρονικό διάστημα. Με αυτόν τον τρόπο, το συγκεκριμένο παραπροϊόν σχηματίζεται σε πολλή μικρή ποσότητα.

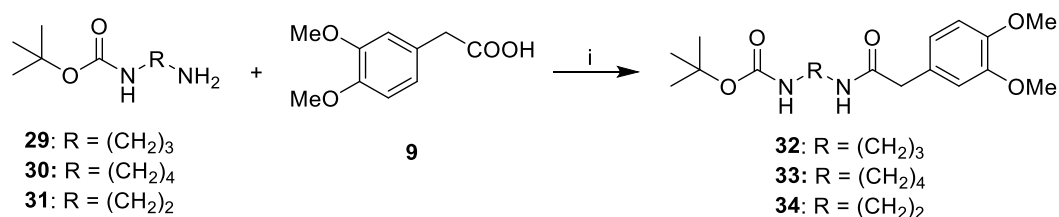
Μετά το πέρας της αντίδρασης και την απομάκρυνση του διοξάνιου με συμπύκνωση, ακολουθεί διάλυση του μίγματος της αντίδρασης σε νερό. Αν και το μονοπροστατευμένο προϊόν είναι διαλυτό στο νερό, κάτι τέτοιο δεν ισχύει και για το διπροστατευμένο παράγωγο. Οπότε, το στερεό που καθιζάνει απομακρύνεται εύκολα με διήθηση και από το διήθημα με εκχυλίσες παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν. Έτσι, οι μονοπροστατευμένες διαμίνες παρασκευάστηκαν στις αποδόσεις που παρουσιάζονται στον Πίνακα 5:

Πίνακας 5: Οι αποδόσεις των Boc μονοπροστατευμένων διαμινών που παρασκευάστηκαν.

Ένωση	R	Απόδοση
29	(CH ₂) ₃	92%
30	(CH ₂) ₄	81%
31	(CH ₂) ₂	82%

Οι μονοπροστατευμένες διαμίνες **29**, **30**, **31** στη συνέχεια συζευγνύονται με το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ **9** με χρήση του αντιδραστήριου σύζευξης

EDC.HCl παρουσία HOBT σε διαλύτη ξηρό CH₂Cl₂, οπότε προκύπτουν τα αμίδια **32**, **33** και **34** (Σχήμα 36):



i) EDC.HCl, HOBT.H₂O, ξηρό CH₂Cl₂, 0°C → r.t., 24 h.

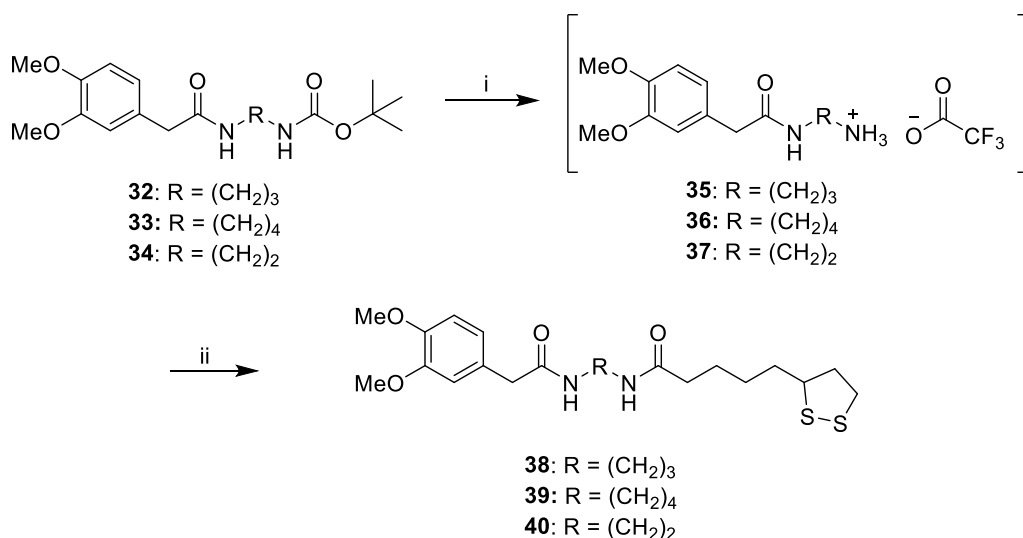
Σχήμα 36: Γενική αντίδραση σύζευξης Boc μονοπροστατευμένων διαμινών και 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικού οξέος.

Από την αντίδραση αυτή παραλήφθηκαν τα εξής αμίδια με τις αντίστοιχες αποδόσεις (Πίνακας 6):

Πίνακας 6: Οι αποδόσεις των αμιδίων που παρασκευάστηκαν με την παραπάνω αντίδραση σύζευξης.

Ένωση	R	Απόδοση
32	(CH ₂) ₃	85%
33	(CH ₂) ₄	89%
34	(CH ₂) ₂	83%

Στη συνέχεια, οι ενώσεις **32**, **33**, **34** αποπροστατεύτηκαν από την Boc ομάδα με χρήση διαλύματος 10% TFA/CH₂Cl₂, οπότε προέκυψαν τα άλατα **35**, **36** και **37** (Σχήμα 37). Τα ενδιάμεσα αυτά μόρια, έπειτα, υπέστησαν απευθείας σύζευξη με το λιποϊκό οξύ με χρήση των EDC.HCl, HOBT, κυστεΐνης και Et₃N, οπότε προέκυψαν τα υβριδικά παράγωγα **38**, **39** και **40** (Σχήμα 37). Η παραπάνω διεργασία ήταν ίδια, όπως και για τη σύνθεση των αμιδικών εστέρων.



i) 10% TFA/CH₂Cl₂, 0°C → r.t., 1.5 h., ii) Et₃N, ξηρό CH₂Cl₂, HOBT.H₂O, EDC.HCl, λιποϊκό οξύ, κυστεΐνη, 0°C → r.t., 24 h.

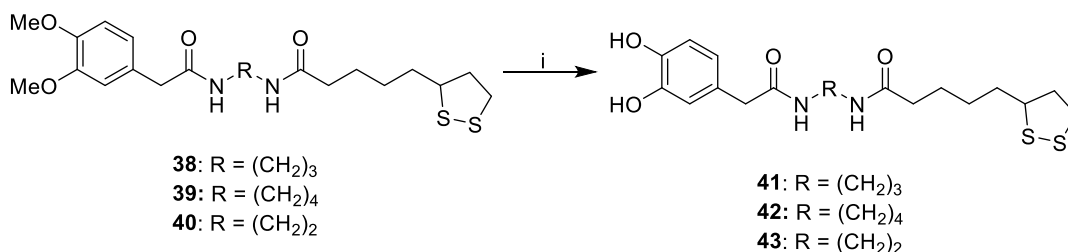
Σχήμα 37: Γενική αντίδραση απομάκρυνσης της Boc προστατευτικής ομάδας και απευθείας σύζευξη των ενδιαμέσων μορίων **35**, **36**, **37** με το λιποϊκό οξύ.

Οι αποδόσεις των προϊόντων **38**, **39** και **40**, παρατίθενται στον Πίνακα 7:

Πίνακας 7: Οι αποδόσεις των διαμιδίων που παρασκευάστηκαν.

Ένωση	R	Απόδοση
38	(CH ₂) ₃	42%
39	(CH ₂) ₄	39%
40	(CH ₂) ₂	45%

Τα διαμίδια **38**, **39**, **40** που παρασκευάστηκαν, στη συνέχεια αποπροστατεύτηκαν με το αντιδραστήριο BF₃.SMe₂ παρουσία μικρής ποσότητας κυστεΐνης, παρόμοια με τη μέθοδο αποπροστασίας των αμιδικών εστέρων στην παράγραφο 4.1.1.1. Έτσι, προέκυψαν τα ελεύθερα διαμίδια **41**, **42** και **43** (Σχήμα 38):



i) BF₃.SMe₂, ξηρό CH₂Cl₂, κυστεΐνη, 0°C → r.t., 24 h.

Σχήμα 38: Γενική αντίδραση αποπροστασίας του κατεχολικού δακτυλίου των διαμιδίων.

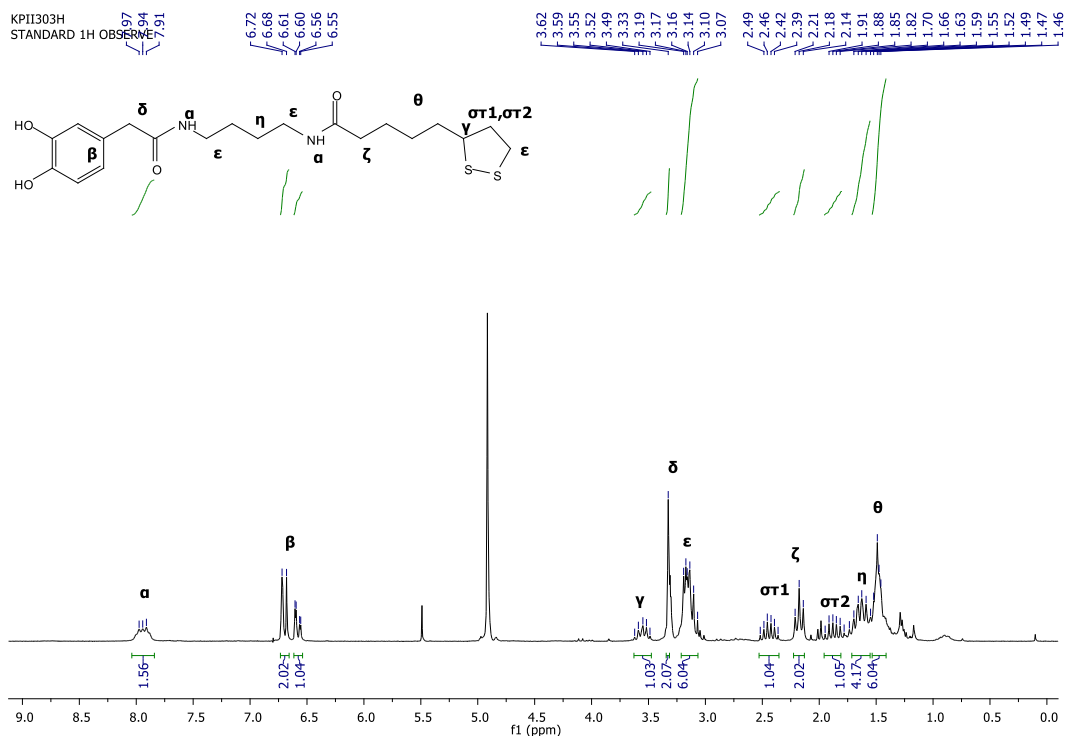
Τα τελικά προϊόντα που συντέθηκαν, φυλλάσσονται επίσης σε σκουρόχρωμα φιαλίδια διαλυμένα σε μεθανόλη στην κατάψυξη, με σκοπό να παραμείνουν σταθερά και να μην υποστούν πολυμερισμό ή οξείδωση. Οι αποδόσεις τους παρουσιάζονται στον επόμενο Πίνακα 8:

Πίνακας 8: Οι αποδόσεις των τελικών διαμιδίων που παρασκευάστηκαν.

Ένωση	R	Απόδοση
41	(CH ₂) ₃	62%
42	(CH ₂) ₄	50%
43	(CH ₂) ₂	22%

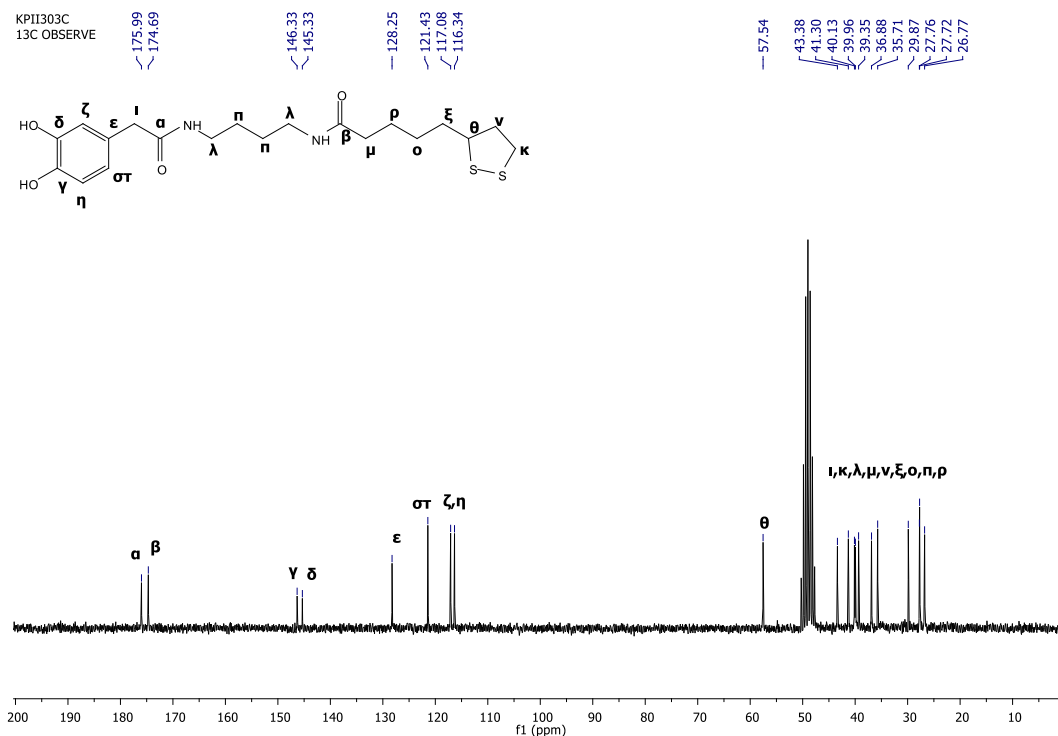
Συγκριτική μελέτη σταθερότητας με NMR, έδειξε ότι τα υβριδικά διαμίδια **41**, **42**, **43**, είναι σταθερότερα των υβριδικών αμιδικών εστέρων **22-25**. Παρακάτω παρατίθενται τα φάσματα ¹H και ¹³C NMR της τελικής ένωσης **42**.

Στο φάσμα ¹H NMR της ένωσης **42** (Σχήμα 39), παρατηρείται μία κορυφή στα 7.97-7.91 ppm που οφείλεται στα (α) αμιδικά πρωτόνια, ενώ στα 6.70 - 6.58 ppm συντονίζονται τα τρία (β) αρωματικά πρωτόνια της ένωσης. Η πολλαπλή κορυφή στα 3.55 ppm οφείλεται στο (γ) πρωτόνιο του τριτοταγή άνθρακα, ενώ η απλή κορυφή στα 3.33 ppm στα (δ) α-καρβονυλικά πρωτόνια του πρώτου αμιδικού δεσμού. Τα σήματα των χημικών μετατοπίσεων των (ε) πρωτονίων των μεθυλενίων δίπλα στους αμιδικούς δεσμούς, καθώς και αυτών του μεθυλενίου (ε) στον πενταμελή δακτύλιο, εμφανίζονται ως μια κορυφή στα 3.19-3.07 ppm. Τα (στ1, στ2) ενδιάμεσα διαστερεοτοπικά πρωτόνια του πενταμελή δακτυλίου συντονίζονται ως δυο πολλαπλές κορυφές στα 2.52-2.36 και 1.95-1.78 ppm, ενώ ως μία τριπλή κορυφή, εμφανίζονται τα (ζ) α-πρωτόνια του δεύτερου αμιδικού δεσμού στα 2.18 ppm. Τέλος, τα (η) ενδιάμεσα πρωτόνια της αλειφατικής αλυσίδας της διαμίνης συντονίζονται ως μια πολλαπλή κορυφή στα 1.74-1.55 ppm και τα (θ) εναπομείναντα πρωτόνια της ευθύγραμμης αλυσίδας του λιποϊκού οξέος συντονίζονται στα 1.52-1.46 ppm.



Σχήμα 39: Φάσμα ^1H NMR της τελικής ένωσης 42 σε διαλύτη CD_3OD (200 MHz).

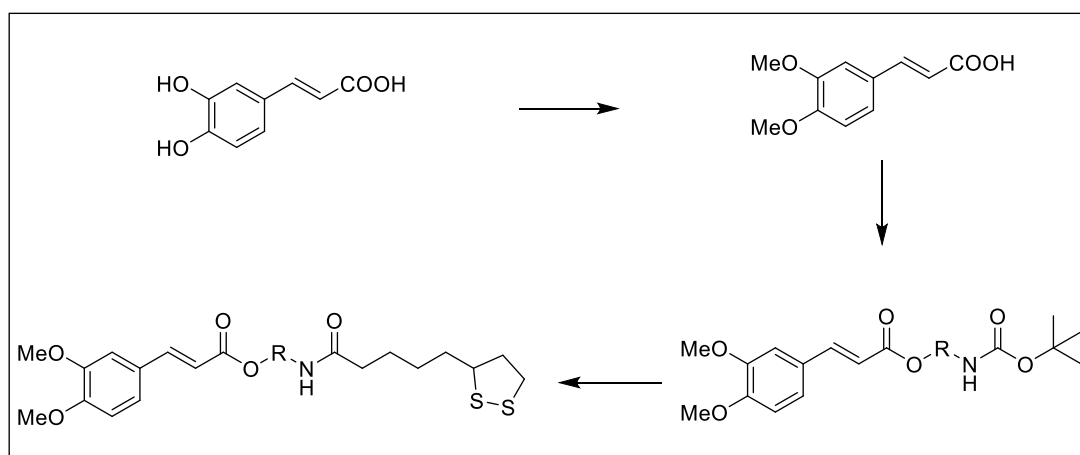
Στο Σχήμα 40, παρουσιάζεται το φάσμα ^{13}C NMR της ίδιας ένωσης. Οι (α, β) καρβονυλικοί άνθρακες συντονίζονται σε χημικές μετατοπίσεις 176.0 και 174.7 ppm, ενώ στα 146.3 έως 116.3 ppm οι (γ-η) αρωματικοί άνθρακες. Ο (θ) τριτοταγής άνθρακας συντονίζεται σε χημική μετατόπιση 57.5 ppm, ενώ ο (ι) α-καρβονυλικός άνθρακας σε 43.4 ppm. Στα 41.3 ppm συντονίζεται (κ) ο άνθρακας της μονάδας του λιπώϊκού οξέος και στα 40.1 ppm οι (λ) άνθρακες που βρίσκονται δίπλα στους αμιδικούς δεσμούς. Η κορυφή στα 39.4 ppm οφείλεται στον (μ) α-άνθρακα του δεύτερου αμιδικού δεσμού, ενώ αυτή στα 36.9 ppm στον (ν) ενδιάμεσο άνθρακα του πενταμελούς δακτυλίου. Ο (ξ) άνθρακας που βρίσκεται δίπλα στον πενταμελή δακτύλιο παρουσιάζει χημική μετατόπιση στα 35.7 ppm και τέλος, οι (ο-ρ) υπόλοιποι άνθρακες των ενδιάμεσων αλειφατικών αλυσίδων παρουσιάζουν χημικές μετατοπίσεις στα 29.9-26.8 ppm.



Σχήμα 40: Φάσμα ^{13}C NMR της τελικής ένωσης 42 σε διαλύτη CD_3OD (50 MHz).

4.1.2 Συνθετική πορεία υβριδικών ενώσεων λιποϊκού οξέος και καφεϊκού οξέος

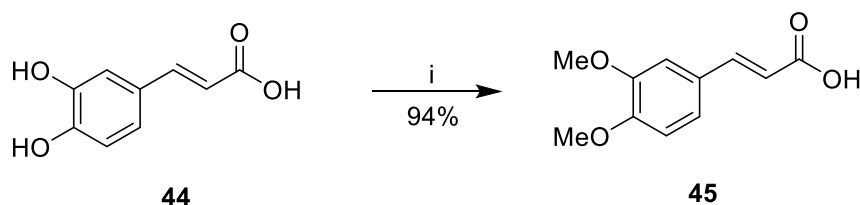
4.1.2.1 Συνθετική πορεία αμιδικών εστέρων λιποϊκού οξέος και καφεϊκού οξέος



Σχήμα 41: Συνθετική πορεία παρασκευής αμιδικών εστέρων λιποϊκού οξέος και καφεϊκού οξέος.

Η γενική πορεία σύνθεσης των αμιδικών εστέρων του καφεϊκού οξέος και του λιποϊκού οξέος παρουσιάζεται στο Σχήμα 41. Για την παρασκευή των υβριδικών ενώσεων με το καφεϊκό οξύ, ήταν απαραίτητη αρχικά, η

προστασία των φαινολικών υδροξυλίων του οξέος. Έτσι, από το εμπορικά διαθέσιμο καφεϊκό οξύ [3-(3,4-διυδροξυφαινυλο)-2-προπενοϊκό οξύ, 3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-propenoic acid] **44** συντέθηκε το διμεθόξυ προστατευμένο οξύ **45**, με χρήση του αντιδραστηρίου θειικού διμεθυλίου (dimethyl sulfate, DMS) σε διαλύτη νερό, παρουσία υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) (Σχήμα 42):



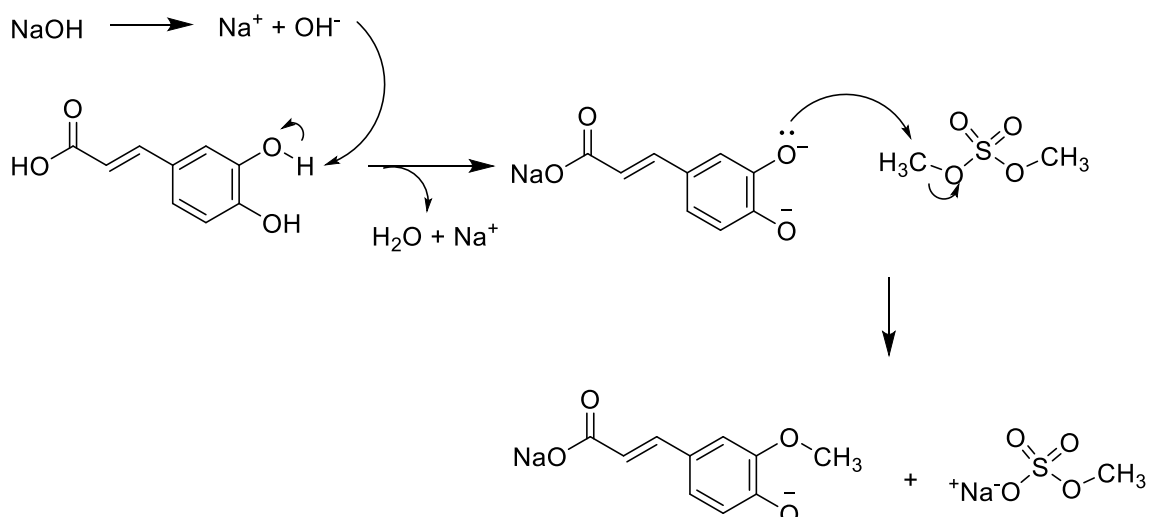
i) DMS, 30% NaOH, H₂O, pH > 10, r.t., 10 h.

Σχήμα 42: Αντίδραση προστασίας των υδροξυλίων του καφεϊκού οξέος.

Ως αντιδραστήριο μεθυλίωσης χρησιμοποιήθηκε το θειικό διμεθύλιο, καθώς είναι ένα αντιδραστήριο χαμηλού κόστους και υψηλής δραστηριότητας, που χρησιμοποιείται ευρέως. Ο χειρισμός του, βέβαια, απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή καθώς είναι τοξικό. Επίσης, η προσθήκη του πρέπει να γίνει σε αλκαλικό περιβάλλον και με ρυθμό που δεν ανεβάζει τη θερμοκρασία της αντίδρασης.

Ο προτεινόμενος μηχανισμός της αντίδρασης (Σχήμα 43) είναι μια πυρηνόφιλη υποκατάσταση S_N2. Αρχικά, στο διάλυμα του καφεϊκού οξέος σε H₂O, γίνεται προσθήκη διαλύματος NaOH, έτσι ώστε το διάλυμα να γίνει αλκαλικό. Σε αλκαλικό διάλυμα, ο πολυφαινολικός δακτύλιος αποπρωτονιώνεται από το καυστικό νάτριο, οπότε σχηματίζονται ανιόντα πολυφαινόλης, τα οποία είναι καλά πυρηνόφιλα. Επίσης, τα μεθύλια του αντιδραστηρίου είναι ηλεκτρονιόφιλα, εξαιτίας του επαγωγικού φαινομένου, που προκαλείται από τα γειτονικά του άτομα, τα οποία είναι πιο ηλεκτραρνητικά και έτσι τα μεθύλια είναι προσιτά στην πυρηνόφιλη προσβολή.²¹⁵

Στη συνέχεια, περιγράφεται ο προτεινόμενος μηχανισμός της αντίδρασης (Σχήμα 43). Η δεύτερη μεθυλίωση πραγματοποιείται με παρόμοιο τρόπο:

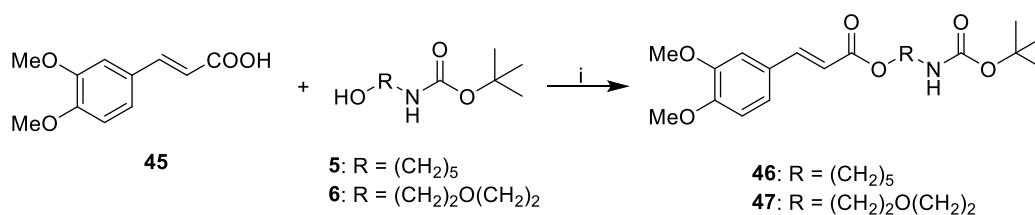


Σχήμα 43: Προτεινόμενος μηχανισμός μεθυλίωσης του καφεϊκού οξέος.

Μετά το πέρας της αντίδρασης, το προϊόν παραλαμβάνεται ως μετά νατρίου άλας, οπότε το μίγμα οξινίζεται έως $\text{pH} = 2$ και με διήθηση παραλαμβάνεται το επιθυμητό οξύ.

Αξίζει να αναφερθεί ότι, αρχικά είχε γίνει προστασία των υδροξυλίων του καφεϊκού οξέος με την ακέτυλο ομάδα, όμως έπειτα η στρατηγική αυτή απορρίφθηκε, καθώς κατά τις μετέπειτα αντιδράσεις σύζευξης, σχηματίζονταν πολλά παραπροϊόντα, καθιστώντας δύσκολο τον χρωματογραφικό καθαρισμό των προϊόντων, ενώ και οι αποδόσεις ήταν εξαιρετικά χαμηλές. Οπότε, πραγματοποιήθηκε τελικά μεθόξυ προστασία των υδροξυλίων, όπου οι αντιδράσεις σύζευξης ήταν πιο καθαρές και με πολύ μεγαλύτερες αποδόσεις.

Στη συνέχεια, το διμεθόξυ προστατευμένο καφεϊκό οξύ **45**, υπόκειται σε μια αντίδραση εστεροποίησης με τις *N*-Boc-προστατευμένες αμινοαλκοόλες **5** και **6** (παράγραφος 4.1.1.1), σύμφωνα με τη μέθοδο που ακολουθήθηκε στην προηγούμενη παράγραφο, δηλαδή με χρήση EDC.HCl, 10% DMAP σε διαλύτη ξηρό CH_2Cl_2 . Οπότε, προκύπτουν τα παράγωγα **46** και **47** (Σχήμα 44):



i) EDC.HCl, 10% DMAP, ξηρό CH₂Cl₂, 0°C → r.t., 24 h.

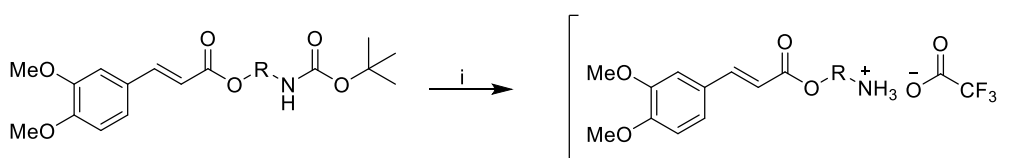
Σχήμα 44: Γενική αντίδραση εστεροποίησης του διμεθόξυ προστατευμένου καφεϊκού οξέος και των *N*-προστατευμένων αμινοαλκοολών.

Στον Πίνακα 9 παρουσιάζονται οι αποδόσεις που προέκυψαν από τη σύνθεση των ενώσεων **46** και **47**:

Πίνακας 9: Οι αποδόσεις των προϊόντων σύζευξης του προστατευμένου καφεϊκού οξέος και των *N*-προστατευμένων αμινοαλκοολών.

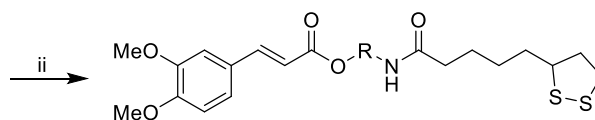
Ένωση	R	Απόδοση
46	(CH ₂) ₅	48%
47	(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂	57%

Οι ενώσεις **46** και **47**, έπειτα, υπέστησαν αποπροστασία της Boc ομάδας με διάλυμα 5% TFA/CH₂Cl₂ σχηματίζοντας τα ενδιάμεσα παράγωγα **48** και **49**, τα οποία έπειτα συζεύχθηκαν με το λιποϊκό οξύ (Σχήμα 45), σύμφωνα με τη μέθοδο η οποία έχει ήδη περιγραφεί στις προηγούμενες παραγράφους. Έτσι, παρασκευάστηκαν τα υβριδικά μόρια **50** και **51**:



46: R = (CH₂)₅
47: R = (CH₂)₂O(CH₂)₂

48: R = (CH₂)₅
49: R = (CH₂)₂O(CH₂)₂



50: R = (CH₂)₅
51: R = (CH₂)₂O(CH₂)₂

i) 5% TFA/CH₂Cl₂, 0°C → r.t., 1.5 h., ii) Et₃N, ξηρό CH₂Cl₂, HOBT.H₂O, EDC.HCl, λιποϊκό οξύ, κυστεΐνη, 0°C → r.t., 24 h.

Σχήμα 45: Γενική αντίδραση αποπροστασίας των αμιδικών εστέρων 46, 47 και σύζευξής τους με το λιποϊκό οξύ.

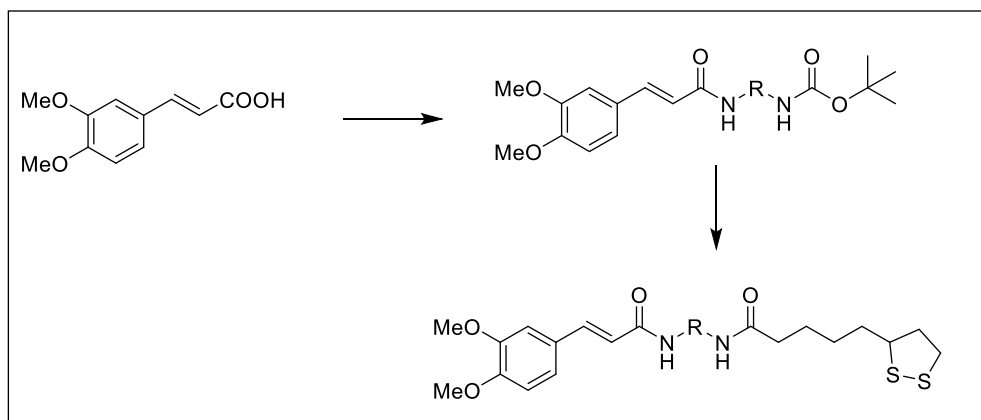
Σε αυτή την περίπτωση, χρησιμοποιήθηκε πιο ασθενές όξινο διάλυμα για την αποπροστασία της Boc προστατευτικής ομάδας, διότι τα παράγωγα του καφεϊκού οξέος ήταν πιο ευαίσθητα σε παράπλευρες αντιδράσεις σε σχέση με τα ανάλογά τους του 3,4-διυδροξυφαινυλοξικού οξέος. Τα δύο παράγωγα συντέθηκαν στις παρακάτω αποδόσεις (Πίνακας 10):

Πίνακας 10: Οι αποδόσεις των τελικών υβριδικών προϊόντων του λιποϊκού και του καφεϊκού οξέος.

Ένωση	R	Απόδοση
50	(CH ₂) ₅	74%
51	(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂	70%

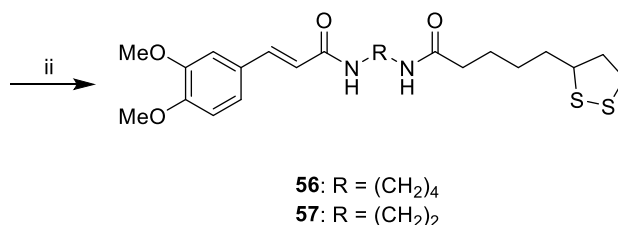
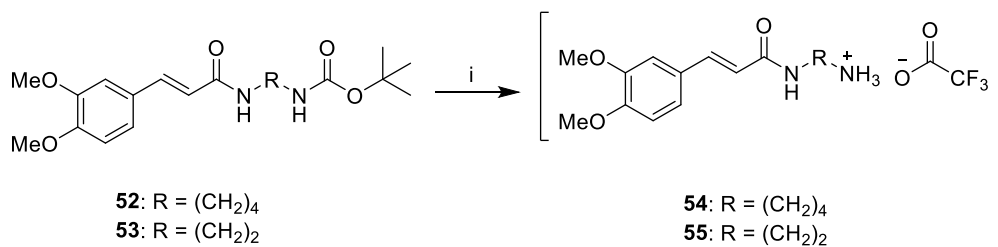
Μετά τη σύζευξη με το λιποϊκό οξύ, έγινε προσπάθεια αποπροστασίας των φαινολικών υδροξυλίων της μονάδας του καφεϊκού οξέος. Στη διεργασία αυτή, δεν απομονώθηκαν τα επιθυμητά προϊόντα, καθώς τα μίγματα αντίδρασης που παραλήφθηκαν ήταν εξαιρετικά πολύπλοκα και ο καθαρισμός τους ήταν αδύνατος. Επιπλέον, από τον έλεγχο τους με φασματοσκοπία ¹H και ¹³C NMR διαπιστώθηκε ότι τα μόρια, πιθανότατα εξαιτίας του διπλού δεσμού που έχουν, ήταν εξαιρετικά ασταθή.

4.1.2.2 Συνθετική πορεία διαμιδίων λιποϊκού οξέος και καφεϊκού οξέος



Σχήμα 46: Συνθετική πορεία παρασκευής διαμιδίων λιποϊκού οξέος και καφεϊκού οξέος.

Στο Σχήμα 46 παρουσιάζεται το γενικό πλάνο σύνθεσης των διαμιδίων του καφεϊκού οξέος και του λιποϊκού οξέος. Αρχικά, οι Boc μονοπροστατευμένες διαμίνες **30**, **31** υπόκεινται σε αντίδραση σύζευξης με το προστατευμένο καφεϊκό οξύ **45**, σύμφωνα με τη μέθοδο που



i) 5% TFA/CH₂Cl₂, 0°C → r.t., 1.5 h., ii) Et₃N, ξηρό CH₂Cl₂, HOBT.H₂O, EDC.HCl, λιποϊκό οξύ, κυστεΐνη, 0°C → r.t., 24 h.

Σχήμα 48: Γενική αντίδραση αποπροστασίας των διαμιδίων 52, 53 και σύζευξης τους με το λιποϊκό οξύ.

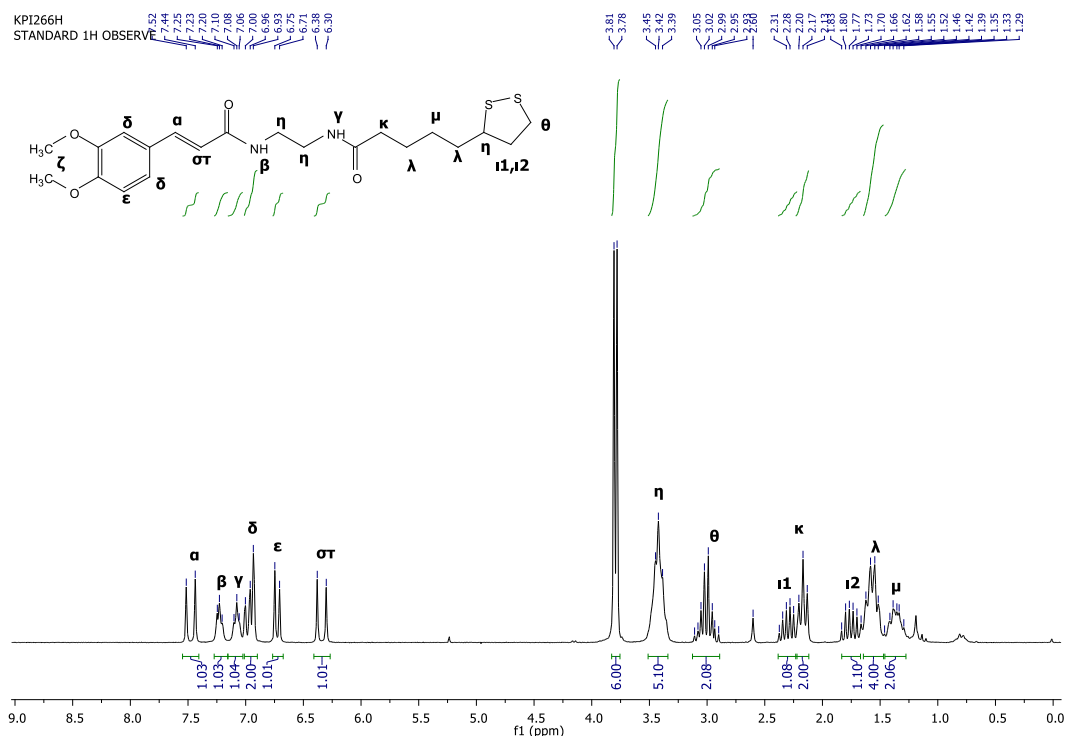
Τα διμεθόξυ προστατευμένα υβριδικά παράγωγα του καφεϊκού και του λιποϊκού οξέος φαίνεται να είναι σταθερά μόρια. Τα τελικά προϊόντα παραλήφθηκαν στις αποδόσεις που καταγράφονται στον Πίνακα 12:

Πίνακας 12: Οι αποδόσεις των αντιδράσεων για τα τελικά προϊόντα 56 και 57.

Ένωση	R	Απόδοση
56	(CH ₂) ₄	65%
57	(CH ₂) ₂	65%

Παρακάτω παρουσιάζονται τα φάσματα ¹H και ¹³C NMR της τελικής ένωσης **57** (Σχήμα 49). Στο φάσμα ¹H NMR παρατηρείται μία διπλή κορυφή στα 7.48 ppm που οφείλεται στα (α) πρωτόνια του διπλού δεσμού, ενώ τα (β, γ) αμιδικά πρωτόνια συντονίζονται στα 7.23 και 7.08 ppm. Τα (δ, ε) αρωματικά πρωτόνια εμφανίζονται σε χημική μετατόπιση 7.00-6.93 ppm και 6.73 ppm, αντίστοιχα. Το δεύτερο πρωτόνιο του διπλού δεσμού (στ) συντονίζεται ως μια διπλή κορυφή στα 6.34 ppm, ενώ τα (ζ) αιθερικά πρωτόνια ως δυο απλές κορυφές στα 3.81 και 3.78 ppm. Ως μία κορυφή στα 3.45-3.39 ppm συντονίζονται τα (η) πρωτόνια που βρίσκονται δίπλα από τους αμιδικούς δεσμούς και το (η) πρωτόνιο του μεθινίου. Τα (θ) πρωτόνια του ενός μεθυλενίου του πενταμελούς δακτυλίου εμφανίζονται ως μια πολλαπλή κορυφή στα 3.11-2.90 ppm, ενώ τα (ι1, ι2)

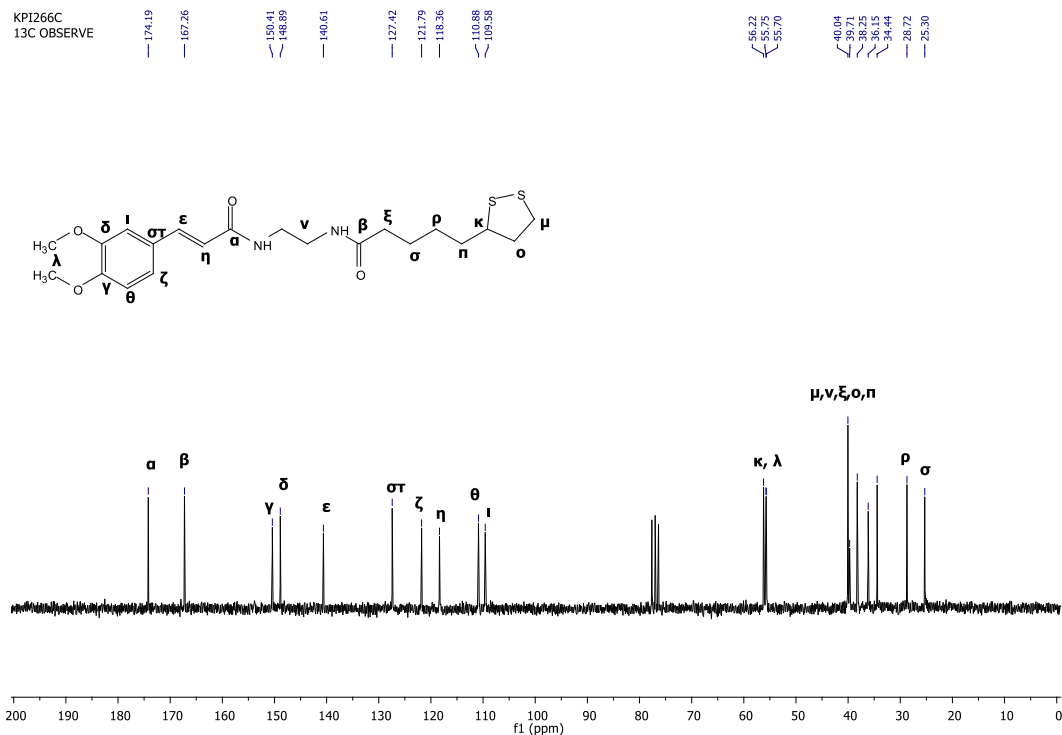
διαστεροτοπικά πρωτόνια ως δυο πολλαπλές κορυφές στα 2.37-2.25 και στα 1.83-1.70 ppm. Η τριπλή κορυφή στα 2.17 ppm οφείλεται στα (κ) α-καρβονυλικά πρωτόνια. Τέλος, στα 1.66-1.29 ppm συντονίζονται ως δύο κορυφές τα υπόλοιπα (λ, μ) πρωτόνια της ένωσης **57**.



Σχήμα 49: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης **57** σε CDCl_3 (200 MHz).

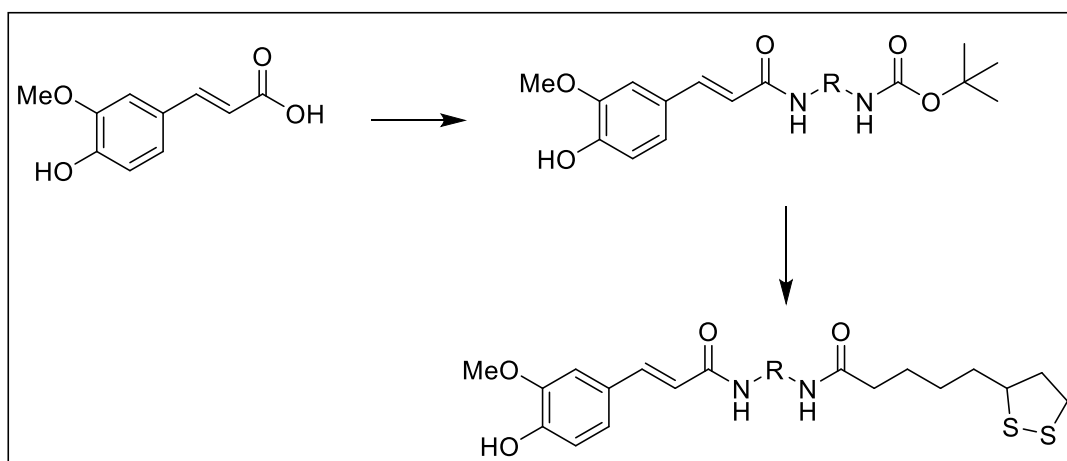
Στο φάσμα ^{13}C NMR της ίδιας ένωσης (Σχήμα 50), στα 174.2 και 167.3 ppm παρατηρούνται οι χημικές μετατοπίσεις των (α, β) καρβονυλικών ανθράκων της ένωσης. Οι κορυφές που εντοπίζονται στα 140.6 και 118.4 ppm αντιστοιχούν στους (ε, η) δύο άνθρακες του διπλού δεσμού. Οι υπόλοιπες κορυφές της περιοχής από 150.4 έως 109.6 ppm οφείλονται στους (γ, δ, στ, ζ, θ, ι) αρωματικούς άνθρακες της ένωσης **57**. Το σήμα της χημικής μετατόπισης του (κ) τριτοταγούς άνθρακα συντονίζεται στα 56.2 ppm, ενώ αυτό της χημικής μετατόπισης των (λ) μεθόξυ ανθράκων στα 55.7 ppm. Ο (μ) άνθρακας του μεθυλενίου του πενταμελούς δακτυλίου παρουσιάζει κορυφή στα 40.0 ppm και οι δύο (ν) άνθρακες που βρίσκονται δίπλα από τους αμιδικούς δεσμούς στα 39.7 ppm. Ο (ξ) αμιδικός άνθρακας συντονίζεται στα 38.2 ppm και ο (ο) άνθρακας του ενδιάμεσου μεθυλενίου του δακτυλίου στα 36.1 ppm. Οι υπόλοιπες κορυφές αντιστοιχούν στους

(π-σ) εναπομείναντες άνθρακες της ευθύγραμμης αλυσίδας της μονάδας του λιποϊκού οξέος.



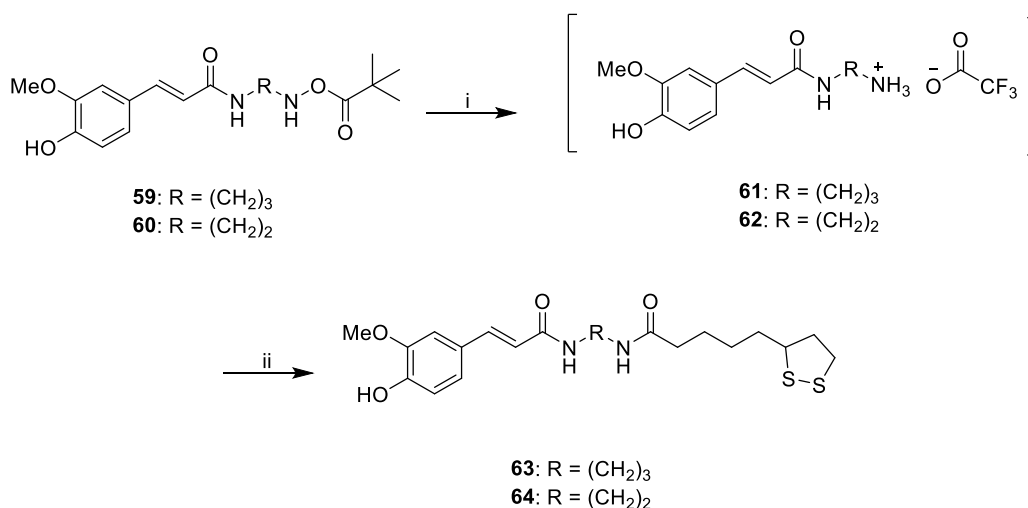
Σχήμα 50: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 57 σε CDCl_3 (50 MHz).

4.1.3 Συνθετική πορεία υβριδικών ενώσεων λιποϊκού οξέος και φερουλικού οξέος



Σχήμα 51: Συνθετική πορεία παρασκευής διαμιδίων λιποϊκού οξέος και φερουλικού οξέος.

Το γενικό πλάνο σύνθεσης των υβριδικών ενώσεων του φερουλικού οξέος και του λιποϊκού οξέος παρουσιάζεται στο Σχήμα 51. Αρχικά, πραγματοποιείται η σύζευξη του εμπορικά διαθέσιμου φερουλικού οξέος 58



i) 5% TFA/CH₂Cl₂, 0°C → r.t., 1.5 h., ii) Et₃N, ξηρό CH₂Cl₂, HOBT.H₂O, EDC.HCl, λιπιοϊκό οξύ, κυστεΐνη, 0°C → r.t., 24 h.

Σχήμα 53: Γενική αντίδραση αποπροστασίας των διαμιδίων 59, 60 και σύζευξης τους με το λιπιοϊκό οξύ.

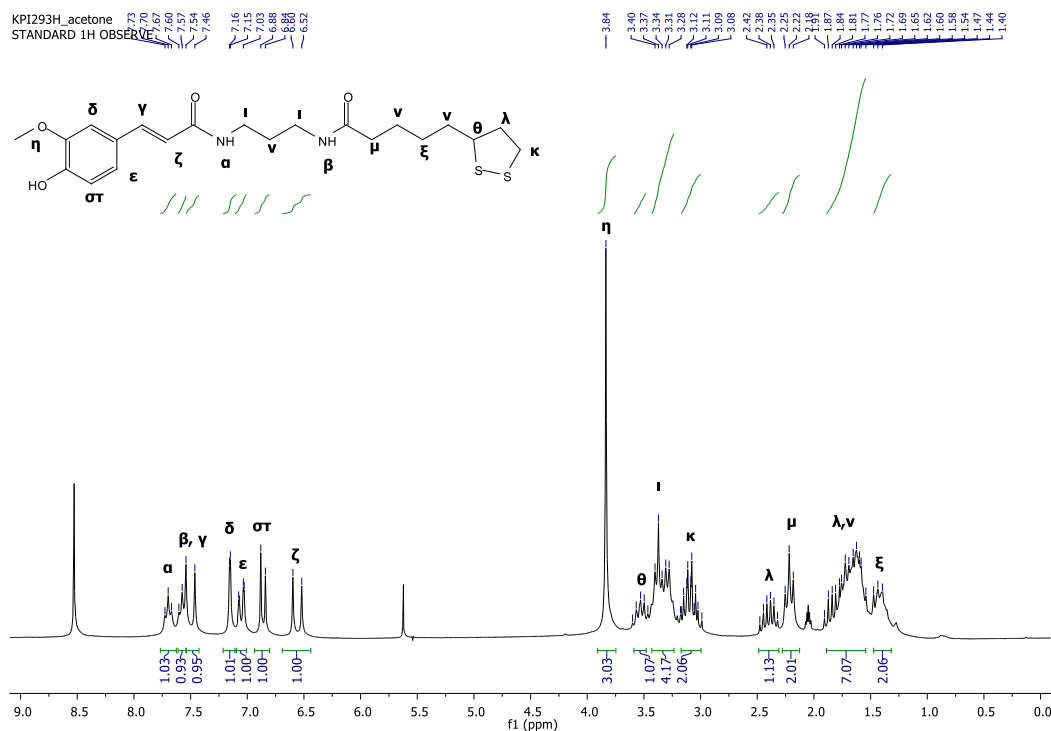
Τελικά, προκύπτουν τα προϊόντα **63** και **64** σε αποδόσεις που καταγράφονται στον Πίνακα 14. Τα τελικά προϊόντα αυτά, φάνηκε από μελέτη με NMR να είναι σταθερά.

Πίνακας 14: Οι αποδόσεις των αντιδράσεων σύνθεσης των τελικών μορίων 63 και 64.

Ένωση	R	Απόδοση
63	(CH ₂) ₃	66%
64	(CH ₂) ₂	66%

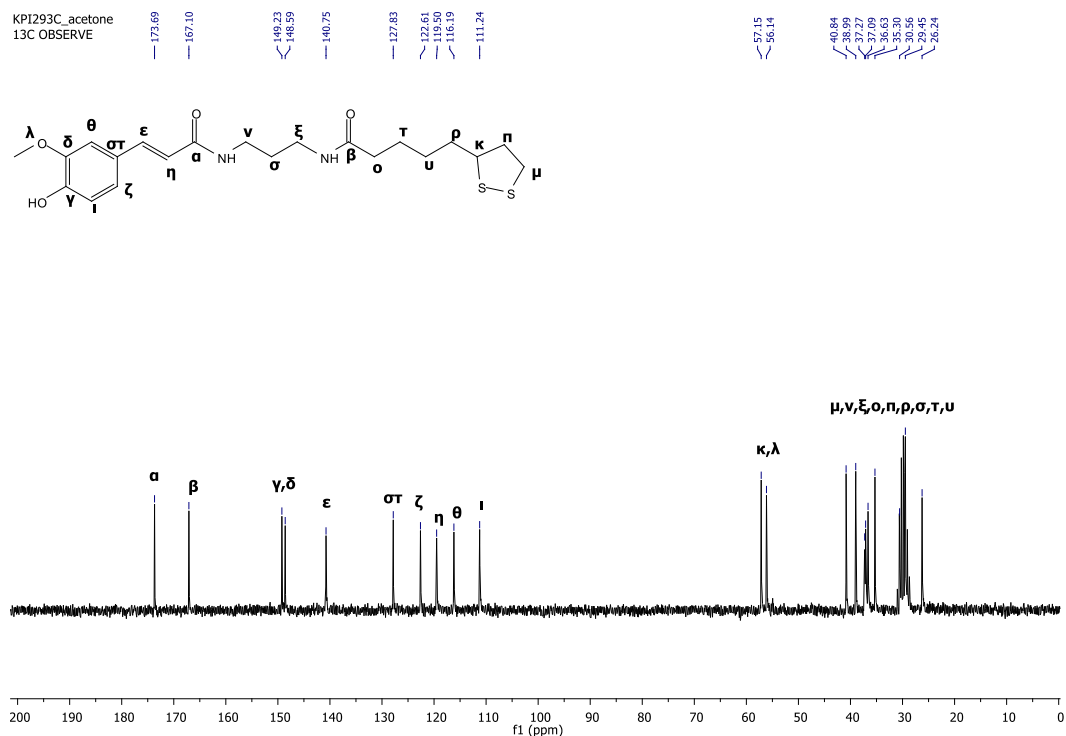
Στη συνέχεια, παρουσιάζονται τα φάσματα ¹H και ¹³C NMR της τελικής ένωσης **63**. Στο φάσμα ¹H NMR (Σχήμα 54), στα 7.70 και 7.57 ppm καταγράφονται οι μετατοπίσεις των (**α**, **β**) αμιδικών πρωτονίων ως δύο τριπλές κορυφές. Το (**γ**) πρωτόνιο του διπλού δεσμού συντονίζεται ως μια διπλή κορυφή στα 7.50 ppm και το (**ζ**) στα 6.86 ppm. Στην περιοχή από 7.36-7.03 ppm εμφανίζονται οι χημικές μετατοπίσεις των (**δ-στ**) αρωματικών πρωτονίων της ένωσης. Ως μία απλή κορυφή συντονίζονται τα (**η**) πρωτόνια του μεθυλίου της μεθόξυ ομάδας στα 3.84 ppm, ενώ ως μια πολλαπλή κορυφή στα 3.60-3.47 ppm το (**θ**) πρωτόνιο του μεθινίου του πενταμελούς δακτυλίου. Στα 3.43-3.24 ppm παρουσιάζονται ως μια κορυφή οι χημικές μετατοπίσεις των (**ι**) μεθυλενίων που βρίσκονται δίπλα στους αμιδικούς δεσμούς και στα 3.18-2.99 ppm η μετατόπιση των (**κ**)

πρωτονίων του πενταμελούς δακτυλίου. Τα (μ) α-καρβονυλικά πρωτόνια συντονίζονται ως μια τριπλή κορυφή στα 2.22 ppm. Τα διαστερεοτοπικά πρωτόνια (λ) του ενδιαμέσου μεθυλενίου του δακτυλίου συντονίζονται ως δύο πολλαπλές κορυφές στα 2.48-2.32 ppm και 1.91-1.54 ppm. Στην ίδια περιοχή εμφανίζονται τα σήματα των χημικών μετατοπίσεων των (ν) πρωτονίων, ενώ αυτά των (ξ) πρωτονίων της ευθύγραμμης αλυσίδας του λιπτοϊκού οξέος εμφανίζονται ως επίσης μια κορυφή στα 1.47-1.34 ppm.



Σχήμα 54: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 63 σε διαλύτη CD_3COCD_3 (200 MHz).

Στο Σχήμα 55 φαίνεται το φάσμα ^{13}C NMR της ίδιας ένωσης. Οι κορυφές στα 173.6 και 167.0 ppm οφείλονται στους δύο (α , β) καρβονυλικούς άνθρακες. Οι (ϵ , η) άνθρακες του διπλού δεσμού συντονίζονται στα 140.6 και 119.4 ppm, αντίστοιχα. Οι υπόλοιπες κορυφές στην περιοχή από 149.1 έως 111.1 ppm οφείλονται στους (γ , δ , $\sigma\tau$, ζ , θ , ι) αρωματικούς άνθρακες της ένωσης. Ο (κ) τριτοταγής άνθρακας εμφανίζει κορυφή στα 57.0 ppm, ενώ ο (λ) άνθρακας της μεθόξυ ομάδας στα 56.0 ppm. Οι υπόλοιποι (μ - ν) άνθρακες της ένωσης εμφανίζουν κορυφές στην περιοχή 40.7-26.10 ppm.



Σχήμα 55: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 63 σε διαλύτη CD_3COCD_3 (50 MHz).

4.1.4 Παρατηρήσεις

Σε όλες τις ενώσεις που συντέθηκαν, το λιποϊκό οξύ συνδέθηκε αποκλειστικά με αμιδικούς και όχι με εστερικούς δεσμούς. Αν και αρχικά είχε συντεθεί σειρά ενώσεων του 3,4-διυδροξυφαινυλοξικού οξέος, όπου το λιποϊκό οξύ σχημάτιζε εστερικούς δεσμούς με τα ενδιάμεσα συνδετικά μόρια (διαλκοόλες ή αμινοαλκοόλες), οι ενώσεις που προέκυψαν ήταν εξαιρετικά ασταθείς. Αυτό παρατηρήθηκε και από φάσματα NMR, αλλά και από απλή παρατήρηση με TLC. Πιθανότατα, λοιπόν, ο εστερικός δεσμός, παρείχε τη δυνατότητα στο λιποϊκό τμήμα να πολυμερίζεται.

4.1.5 Φυσικοχημικές/Κυτταροπροστατευτικές/Αντιοξειδωτικές μελέτες

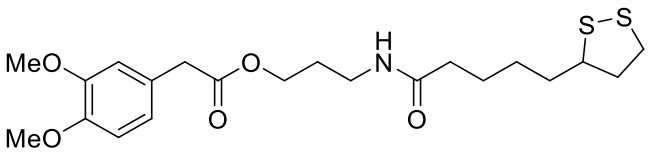
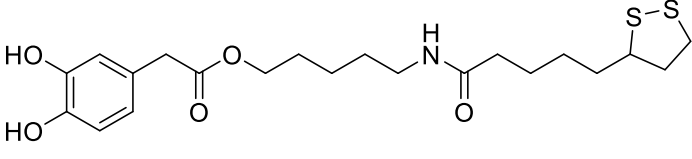
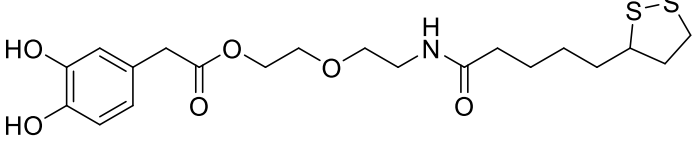
Οι ενώσεις **20**, **22 – 25**, **38**, **41 – 43**, **51**, **56**, **63** και **64** υποβλήθηκαν σε φυσικοχημικές μελέτες και σε μελέτες σταθερότητας σε προσομοιωμένα γαστρικά και εντερικά υγρά, καθώς και σε υγρά πλάσματος. Επίσης, πραγματοποιήθηκαν κυτταροπροστατευτικές μελέτες με σκοπό να διαπιστωθεί η επίδραση των ενώσεων στη νευροτοξικότητα και στην απόπτωση που προκαλείται στα SH-SY5Y κύτταρα (κύτταρα μυελού των

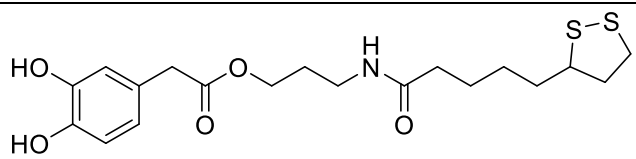
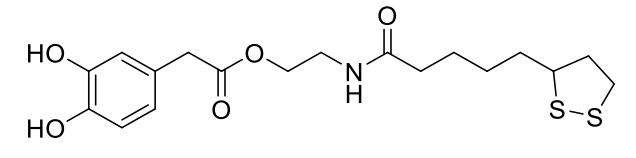
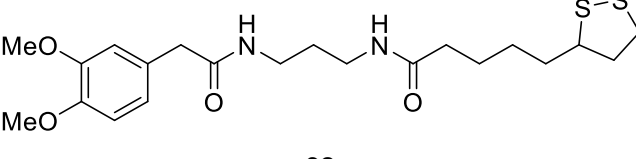
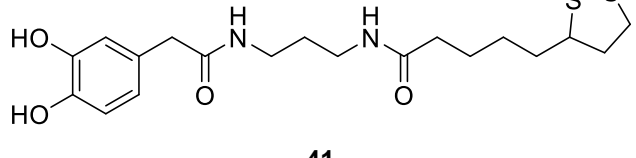
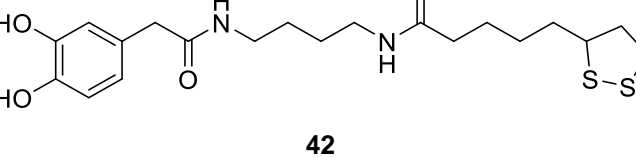
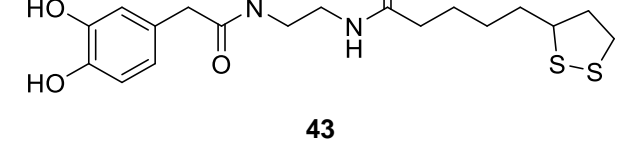
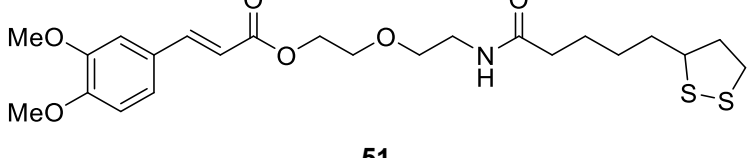
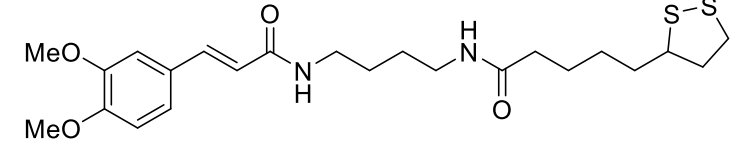
οστών ασθενών με νευροβλάστωμα) από τον παθογόνο επαγωγέα της AD, Αβ₁₋₄₂. Επιπλέον, έγινε μελέτη των κυτταροτοξικών επιδράσεων τους σε ανθρώπινα αιμοσφαίρια. Τέλος, μελετήθηκαν οι αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες. Οι μελέτες πραγματοποιήθηκαν στο τμήμα Φαρμακευτικής Χημείας του Πανεπιστημίου «G. D'Annunzio» Chieti-Pescara στην Ιταλία από την ερευνητική ομάδα του Καθηγητή Antonio Di Stefano.

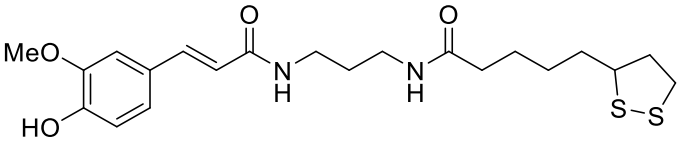
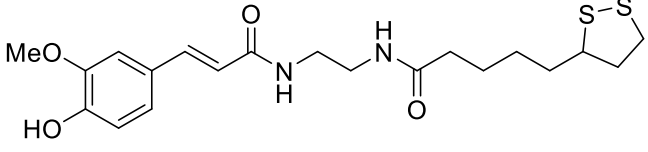
4.1.5.1 Φυσικοχημικές μελέτες

Οι φυσικοχημικές μελέτες έδειξαν ότι όλα τα υβριδικά μόρια παρουσίασαν μικρή διαλυτότητα στο νερό, αν και οι ενώσεις με ελεύθερα υδροξύλια ήταν πιο υδατοδιαλυτές (Πίνακας 15). Επιπλέον, οι ενώσεις **20**, **51**, **56** και **63** εμφάνισαν τιμές cLogP > 3, υποδεικνύοντας ότι πρόκειται για αρκετά λιπόφιλες ενώσεις, ενώ οι **41** – **43**, με τιμές cLogP < 2 θα μπορούσαν να απορροφηθούν καλύτερα από τον γαστρεντερικό σωλήνα (Πίνακας 15).

Πίνακας 15: Φυσικοχημικές ιδιότητες των υβριδικών μορίων που μελετήθηκαν.

Ένωση	Διαλυτότητα στο H ₂ O (mg/mL)	cLogP
 <p style="text-align: center;">20</p>	0.110 (± 0.001)	3.63
 <p style="text-align: center;">22</p>	-	2.95
 <p style="text-align: center;">23</p>	2.484 (± 0.017)	2.49

 <p style="text-align: center;">24</p>	<p style="text-align: center;">0.933 (± 0.087)</p>	<p style="text-align: center;">2.71</p>
 <p style="text-align: center;">25</p>	<p style="text-align: center;">0.736 (± 0.002)</p>	<p style="text-align: center;">2.43</p>
 <p style="text-align: center;">38</p>	<p style="text-align: center;">0.042 (± 0.002)</p>	<p style="text-align: center;">2.73</p>
 <p style="text-align: center;">41</p>	<p style="text-align: center;">0.235 (± 0.010)</p>	<p style="text-align: center;">1.81</p>
 <p style="text-align: center;">42</p>	<p style="text-align: center;">0.081 (± 0.001)</p>	<p style="text-align: center;">1.29</p>
 <p style="text-align: center;">43</p>	<p style="text-align: center;">2.688 (± 0.026)</p>	<p style="text-align: center;">1.59</p>
 <p style="text-align: center;">51</p>	<p style="text-align: center;">0.010 (± 0.003)</p>	<p style="text-align: center;">3.95</p>
 <p style="text-align: center;">56</p>	<p style="text-align: center;">-</p>	<p style="text-align: center;">3.33</p>

 <p style="text-align: center;">63</p>	0.049 (± 0.002)	3.19
 <p style="text-align: center;">64</p>	0.023 (± 0.001)	2.92

Οι μελέτες σταθερότητας έδειξαν ότι οι ενώσεις **38**, **43**, **63**, **64** ήταν οι πιο σταθερές, ενώ συγκεκριμένα η μελέτη σε προσομοιωμένα εντερικά υγρά, έδειξε ότι οι **63**, **64** μπορούν δύσκολα να προσβληθούν από πρωτεολυτικά ένζυμα. Αντιθέτως, τα μόρια **20**, **22** – **25** δεν παρουσίασαν ιδιαίτερη σταθερότητα στα προσομοιωμένα γαστρικά υγρά, ενώ στα εντερικά υγρά υδρολύονται άμεσα. Στα πλασματικά υγρά οι ίδιες ενώσεις, παρουσίασαν διάρκεια ημιζωής μικρότερη της μιας ώρας, αποδεικνύοντας ότι δεν διαθέτουν φυσικοχημικές ιδιότητες που να αξίζουν περαιτέρω μελέτης (Πίνακας 16).

Πίνακας 16: Χρόνος ημιζωής στο ανθρώπινο πλάσμα των υβριδικών ενώσεων που μελετήθηκαν.

Ένωση	Χρόνος ημιζωής, $t_{1/2}$ (h)
20	0.62 (± 0.12)
22	0.03 (± 0.01)
23	2.16 (± 0.02)
24	0.75 (± 0.01)
25	1.13 (± 0.05)
38	12 (± 0.15)
41	9.21 (± 0.05)
42	1.49 (± 0.36)
43	23.14 (± 7.21)
51	17.23 (± 4.84)
56	36.44 (± 2.88)
63	72.37 (± 1.46)
64	57.44 (± 1.82)

Προκύπτει λοιπόν το συμπέρασμα, ότι πιθανώς η εισαγωγή ενός εστερικού δεσμού μεταξύ της μονάδας κατεχόλης και του συνδέτη είναι επιζήμια για

την σταθερότητα των ενώσεων. Με άλλα λόγια, η παρουσία του αμιδικού δεσμού είναι εξαιρετικά σημαντική στη σταθερότητα των υβριδικών μορίων, ενώ ο εστερικός δεσμός δεν ενδείκνυται.

4.1.5.2 Κυτταροπροστατευτικές και αντιοξειδωτικές μελέτες

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε μια πρώτη μελέτη για να εκτιμηθεί η επίδραση των υβριδικών μορίων στην κυτταροτοξικότητα που μπορεί να προκληθεί στα κύτταρα SH-SY5Y από τον παθογόνο επαγωγέα $A\beta_{1-42}$. Οι ενώσεις δεν φάνηκε να προκαλούν σημαντική κυτταροτοξικότητα, ενώ μάλιστα αποδείχτηκε ότι τη μειώνουν. Με βάση αυτά τα δεδομένα, οι ενώσεις **22**, **38**, **41**, **51** και **63** επιλέχθηκαν για περαιτέρω βιολογικά πειράματα λόγω της υψηλότερης προστατευτικής τους δράσης.

Οι επιλεγμένες ενώσεις, στη συνέχεια, ελέγχθηκαν για την επίδρασή τους στην απόπτωση που προκαλείται σε κύτταρα SH-SY5Y από τον ίδιο επαγωγέα. Εφαρμόζοντας τη μέθοδο «Hoechst 33258 staining», όπου εισάγοντας τον επαγωγέα $A\beta_{1-42}$ προκαλείται κατακερματισμός του DNA και συμπύκνωση της χρωματίνης, διαπιστώθηκε αν τα υβριδικά μόρια μπορούν να μειώσουν την ενέργεια αυτή. Μετά από εφαρμογή επίσης των ελέγχων «Annexin V-FITC» και «Propidium iodide (PI) double staining», οι ερευνητές κατέληξαν στο ίδιο συμπέρασμα.

Ακολούθησε μελέτη για την επίδραση των ενώσεων στη γονιδιακή έκφραση κυττάρων SH-SY5Y προσβεβλημένων από τον ίδιο επαγωγέα. Χρησιμοποιήθηκαν, έτσι, κύτταρα με τμήματα mRNA διαφορετικών περιπτώσεων AD και εκτέθηκαν στον $A\beta_{1-42}$. Η εισαγωγή των υβριδικών μορίων βελτίωσε τη γονιδιακή έκφραση των κυττάρων και μάλιστα οι ενώσεις **22** και **63**, έδειξαν την ισχυρότερη προστατευτική δράση.

Επίσης, μελετήθηκαν οι κυτταροτοξικές επιδράσεις των υβριδίων σε ανθρώπινα αιμοσφαίρια εφαρμόζοντας τις μελέτες «MTT» (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) και «LDH» (lactate dehydrogenase). Τελικά, η ανάλυση κυτταροτοξικότητας έδειξε ότι τα υβρίδια **22**, **38**, **41**, **51** και **63**, δεν έχουν κυτταροτοξική φύση.

Τέλος, έγινε μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης των μορίων **22**, **38**, **41**, **51** και **63**, σύμφωνα με τους ελέγχους «TAC» (Total antioxidant capacity),

«LDH» και «MTT». Σύμφωνα με τη μέθοδο «TAC», οι υβριδικές ενώσεις παρουσίασαν την εξής σειρά ισχυρότερης αντιοξειδωτικής δράσης: **22 > 41 > 63 > 38 > 51**.

Για τις επόμενες μεθόδους έγινε επώαση κυττάρων αίματος με H₂O₂ για την πρόκληση οξειδωτικού στρες. Τα προσβεβλημένα κύτταρα παρουσίασαν μειωμένη βιωσιμότητα κατά 56.9% (μέθοδος «MTT») και 52.2% (μέθοδος «LDH»).

Για τη μέθοδο «MTT», με την εισαγωγή των υβριδικών μορίων **22, 38, 41, 51** και **63**, η βιωσιμότητα των κυττάρων βελτιώθηκε, και μάλιστα κατά ποσοστό μεταξύ 41.6 έως 86.8%, ανάλογα με το μόριο. Αυτό το αποτέλεσμα υποδηλώνει την ανάκτηση από 0.5% έως και 42.0% του κυτταρικού θανάτου που προκλήθηκε από τα H₂O₂. Παρομοίως, στη μέθοδο «LDH», η βιωσιμότητα των κυττάρων αυξήθηκε μεταξύ των περιοχών 48.2 και 89.3% με την εισαγωγή των υβριδίων στα κύτταρα, υποδεικνύοντας ανάκτηση από 0.4% έως 41.5% από τον κυτταρικό θάνατο που προκλήθηκε.

Σε συνέχεια της μεθόδου «TAC», έγινε επώαση κυττάρων σε καλλιέργειες με επιλεγμένα υβρίδια και H₂O₂, ταυτόχρονα. Παρατηρήθηκε ότι τα επίπεδα «TAC» μειώθηκαν σημαντικά όταν τα κύτταρα του αίματος υποβλήθηκαν σε αγωγή με H₂O₂. Συγκεκριμένα, η έκθεση στα H₂O₂ προκάλεσε μείωση κατά 83.3% σε σύγκριση με τις καλλιέργειες που δεν είχαν υποστεί αγωγή. Τα υβρίδια φάνηκε να παρέχουν αντιοξειδωτική δράση και να ελαχιστοποιούν αυτές τις μειώσεις σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις τους. Μάλιστα, η ένωση **51** (σε συγκεντρώσεις 50 mM και 100 mM) παρουσίασε τις πιο αδύναμες δράσεις (12.5% και 29.2%, αντίστοιχα), ενώ οι **22** και **41** παρείχαν την ισχυρότερη προστασία (φτάνοντας στο 79.2%).

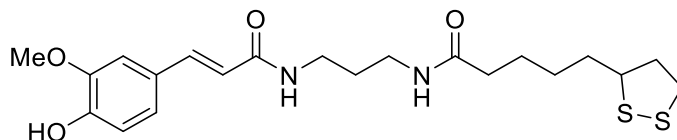
4.1.6 Συμπεράσματα

Λαμβάνοντας υπόψη όλα τα παραπάνω αποτελέσματα, η παρούσα μελέτη έδειξε ότι τα παράγωγα **22, 38, 41, 51** και **63** παρουσίασαν μη κυτταροτοξικές και κυτταροπροστατευτικές δράσεις. Οι *in vitro* μελέτες έδειξαν ότι τα περισσότερα υβριδικά μόρια είχαν σημαντική νευροπροστατευτική δράση έναντι του επαγόμενου από H₂O₂ οξειδωτικού

στρες. Συγκεκριμένα, οι ενώσεις **22** και **41** αν και παρουσίασαν την ισχυρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα, παρουσιάζουν αστάθεια, ειδικά η **22**. Οι μελέτες σταθερότητας σε προσομοιωμένα γαστρικά και εντερικά υγρά, καθώς και στο ανθρώπινο πλάσμα, επιβεβαίωσαν ότι η εισαγωγή εστερικού δεσμού μεταξύ του φαινολικού τμήματος και του συνδέτη (όπως για την ένωση **22**), σε σύγκριση με την εισαγωγή αμιδικού δεσμού είναι επιζήμια για τη σταθερότητα των υβριδίων.

Η ισχυρότερη δράση κατά της νευροτοξικότητας που προκλήθηκε από τον επαγωγέα $A\beta_{1-42}$ σε διαφοροποιημένα κύτταρα SHSY-5Y, παρουσιάστηκε από τα μόρια **22** και **63**. Η παρουσία του φερουλικού και του 3,4-διυδροξυφαινυλοξικού οξέους ως φαινολικών τμημάτων των υβριδίων, αντίστοιχα στις ενώσεις **63** και **22**, αντιπροσωπεύουν σημαντικές δομές για έναν ισχυρό αντιοξειδωτικό χαρακτήρα και για αντι-αμυλοειδογενείς ιδιότητες. Οι υδροξυλομάδες των υβριδίων θα μπορούσαν να σχηματίσουν μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις με τις δομές β -φύλλου που υπάρχουν στα κύτταρα.

Συμπερασματικά, οι μέτριες αντιοξειδωτικές ιδιότητες του μορίου **63** (Σχήμα 56) (σε σύγκριση με αυτές των **22** και **41**), αλλά η ελπιδοφόρα προοπτική του ως νευροπροστατευτική ένωση έναντι του επαγωγέα $A\beta_{1-42}$ και η υψηλή σταθερότητά του σε προσομοιωμένα υγρά και στο ανθρώπινο πλάσμα (χρόνος ημιζωής > 72 ώρες), καθιστούν αυτό το υβρίδιο πιθανό πολυλειτουργικό υποψήφιο μόριο για περαιτέρω μελέτες για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων κατά της AD.

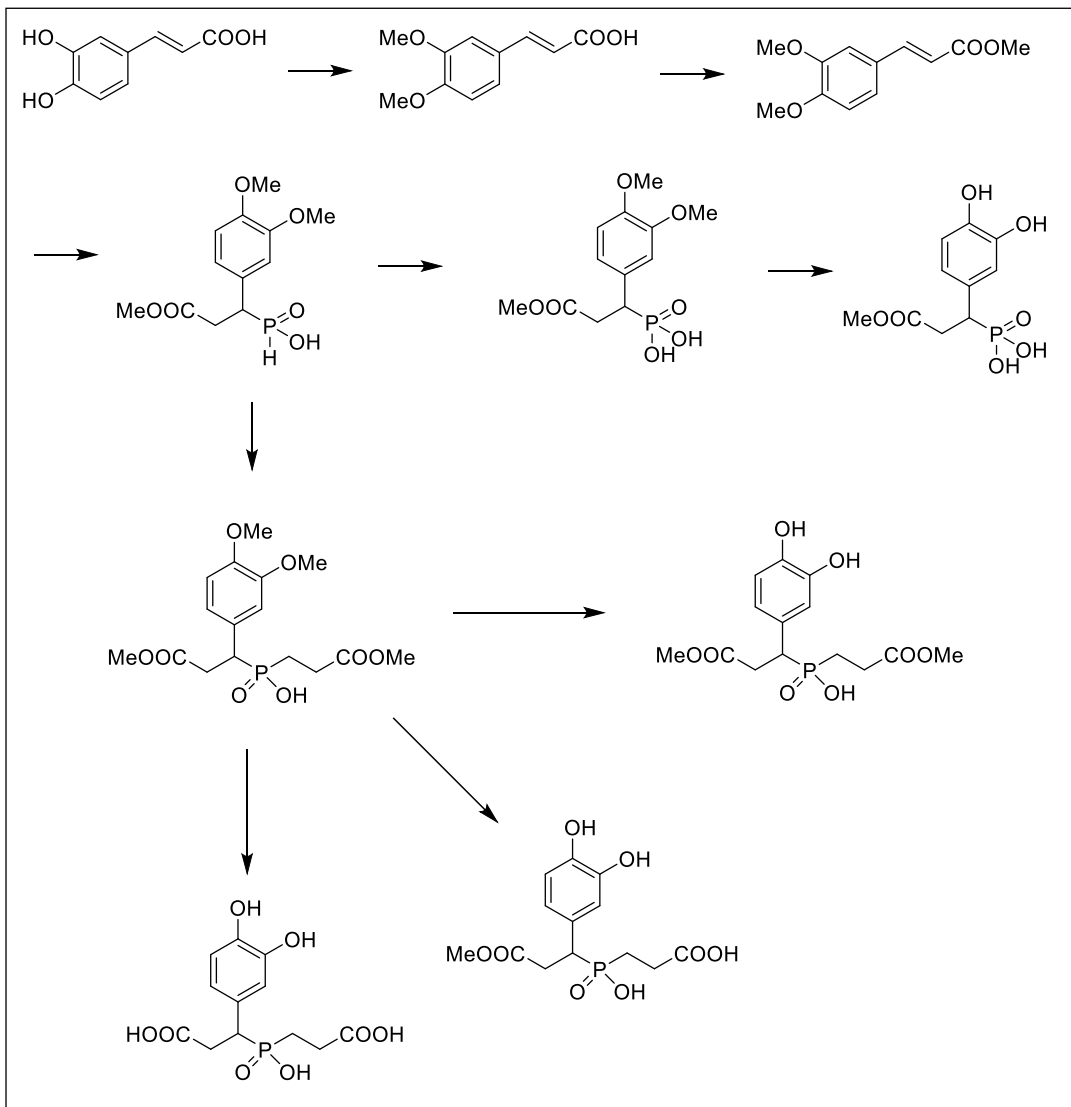


Σχήμα 56: Υβριδική ένωση φερουλικού οξέος και λιποϊκού οξέος **63** με τη βέλτιστη δράση.

4.2 Συνθετική πορεία κατεχολικών οργανοφωσφορικών ενώσεων

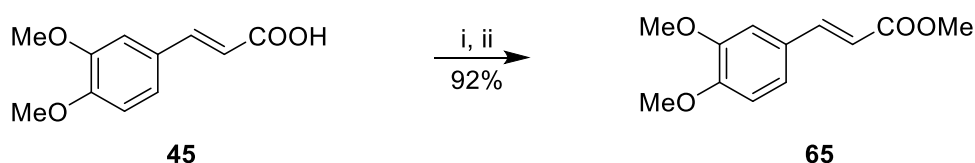
Στο δεύτερο μέρος της διατριβής συντέθηκαν κατεχολικά, φωσφονικά και φωσφινικά οξέα. Παρασκευάστηκαν τρεις ομάδες ενώσεων, στις οποίες ο κατεχολικός δακτύλιος απέχει από το άτομο του φωσφόρου: α) δύο δεσμούς, β) τέσσερις δεσμούς, με ένα διπλό δεσμό να παρεμβάλλεται και γ) τέσσερις απλούς δεσμούς.

4.2.1 Συνθετική πορεία κατεχολικών οργανοφωσφορικών παραγώγων όπου το άτομο του φωσφόρου απέχει δύο δεσμούς από τον κατεχολικό δακτύλιο



Σχήμα 57: Συνθετική πορεία κατεχολικών οργανοφωσφορικών παραγώγων όπου το άτομο του φωσφόρου απέχει δύο δεσμούς από τον κατεχολικό δακτύλιο.

Η γενική πορεία σύνθεσης της πρώτης ομάδας οργανοφωσφορικών ενώσεων παρουσιάζεται στο Σχήμα 57. Για τη σύνθεση αυτής της ομάδας ενώσεων, πραγματοποιήθηκε αρχικά η σύνθεση του μεθυλεστέρα του διμεθόξυ προστατευμένου καφεϊκού οξέος **65**, από τον οποίο θα προκύψει το επιθυμητό φωσφινικό οξύ. Έχοντας ως πρώτη ύλη, το παράγωγο του καφεϊκού οξέος **45**, ακολουθείται η μέθοδος εστεροποίησης, όπου χρησιμοποιείται ανθρακικό νάτριο (Na_2CO_3) ως βάση, καταλυτική ποσότητα ιωδιούχου καλίου (KI), ιωδομεθάνιο (CH_3I) ως πηγή αλκυλίου και εξαμεθυλοφωσφοραμίδιο (HMPA) ως διαλύτης (Σχήμα 58):



i) Na_2CO_3 , ξηρό HMPA , r.t., 30 λεπτά., ii) CH_3I , KI , r.t., 72 h.

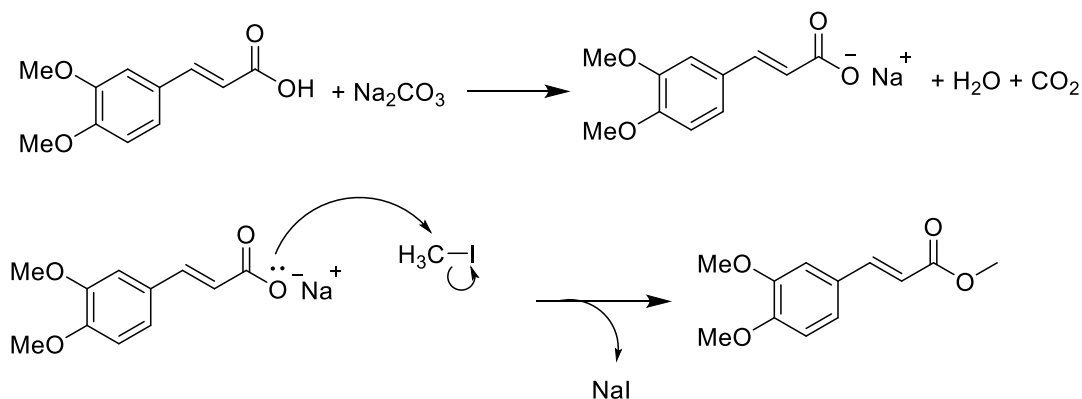
Σχήμα 58: Αντίδραση εστεροποίησης του παραγώγου **45 προς σύνθεση του αντίστοιχου μεθυλεστέρα.**

Η μέθοδος αυτή βασίζεται σε μια αντίδραση $\text{S}_{\text{N}}2$. Το HMPA είναι ένας πολικός απρωτικός διαλύτης κατάλληλος για τις αντιδράσεις $\text{S}_{\text{N}}2$ (Σχήμα 59), καθώς αυξάνει τη ταχύτητα των εν λόγω αντιδράσεων, αφού αυξάνει την ενέργεια του πυρηνόφιλου. Λόγω της μεγάλης πολικότητάς του, το HMPA είναι ικανό να διαλύει άλατα, αλλά και να προκαλεί την επιδιαλύτωση κατιόντων μετάλλων, αλλά όχι πυρηνόφιλων ανιόντων. Οπότε, τα μη επιδιαλυτωμένα ανιόντα της αντίδρασης αποκτούν ισχυρότερο πυρηνόφιλο χαρακτήρα και η αντίδραση πραγματοποιείται ταχύτερα.

Επιπλέον, γίνεται χρήση του ιωδομεθανίου και όχι κάποιου άλλου αλογονάνθρακα (π.χ. CH_3Cl ή CH_3Br), καθώς το I^- είναι ευκολότερα αποχωρούσα ομάδα, οπότε η αντίδραση μπορεί να πραγματοποιηθεί πιο εύκολα.

Στον προτεινόμενο μηχανισμό της αντίδρασης (Σχήμα 59), αρχικά το ανθρακικό νάτριο που δρα ως βάση, αποσπά το πρωτόνιο του καρβοξυλικού οξέος, οπότε σχηματίζεται το ανιόν του προστατευμένου καφεϊκού οξέος. Στη συνέχεια, λαμβάνει χώρα μια αντίδραση, ενός σταδίου,

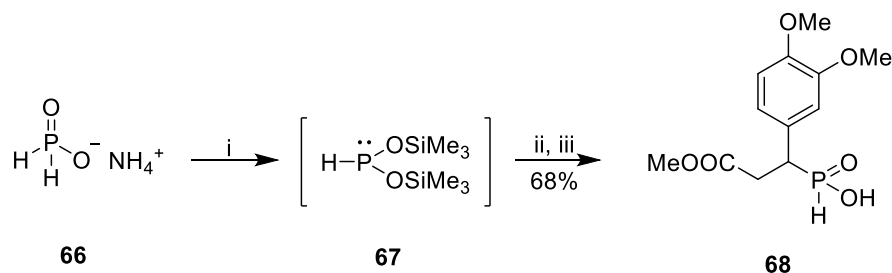
S_N2 , όπου το ανιόν του οξέος δρα ως πυρηνόφιλο και το αλκυλαλογονίδιο ως το προσβαλλόμενο υπόστρωμα. Έτσι, το ανιόν ιωδίου αποχωρεί ως μια εξαιρετικά εύκολη αποχωρούσα ομάδα, με αποτέλεσμα να σχηματίζεται ο επιθυμητός εστέρας.



Σχήμα 59: Προτεινόμενος μηχανισμός αντίδρασης εστεροποίησης του διμεθόξυ προστατευμένου καφεϊκού οξέος και του ιωδομεθανίου.

Μετά το πέρας της αντίδρασης πραγματοποιούνται εκχυλίσεις με όξινο διάλυμα HCl 0.6 N και H_2O , προς απομάκρυνση των αντιδραστηρίων και των παραπροϊόντων που προκύπτουν κατά την αντίδραση.

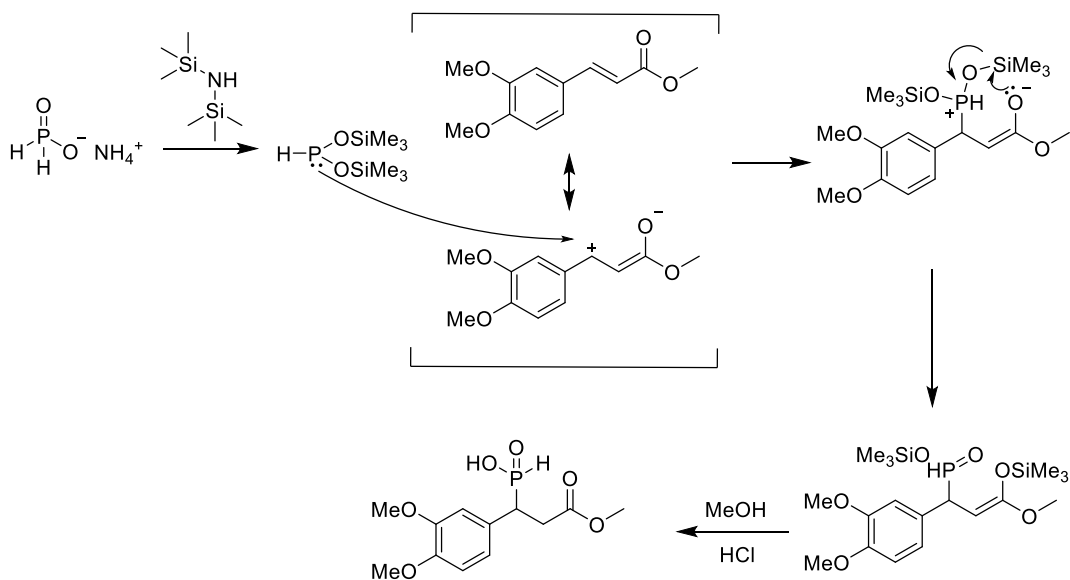
Η ένωση **65**, στη συνέχεια, μετατράπηκε στο αντίστοιχο φωσφινικό οξύ **68**. Για τη σύνθεση του οξέος, έγινε αρχικά σύνθεση *in situ* του σιλυλεστέρα του υποφωσφορώδους οξέος **67** με χρήση ξηρού υποφωσφορώδους αμμωνίου **66** ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_2$) και δις(τριμεθυλοσιλυλ)αμίνης [bis(trimethylsilyl)amine, HMDS] υπό ατμόσφαιρα Ar στους 110°C . Έπειτα, με προσθήκη του αλκενίου **65** σε διαλύτη ξηρό CH_2Cl_2 σε θερμοκρασία δωματίου, σχηματίστηκε το επιθυμητό φωσφινικό οξύ (Σχήμα 60):¹⁸¹



i) HDMS, Ar, 110°C , 2 h., ii) **65**, ξηρό CH_2Cl_2 , r.t., 24 h., iii) MeOH , HCl 6 N.

Σχήμα 60: Αντίδραση σύνθεσης του φωσφινικού οξέος 68.

Για τη σύνθεση του φωσφινικού οξέος πραγματοποιείται μια αντίδραση Phospha-Michael (*P*-Michael), η οποία είναι μια αντίδραση σχηματισμού δεσμού P-C. Στην αντίδραση αυτή, γίνεται συζυγής προσθήκη μίας πυρηνόφιλης οργανοφωσφορικής ένωσης στον β-ανθρακα ενός αλκενίου ή αλκυνίου, το οποίο έχει στο μόριό του έναν υποκαταστάτη δέκτη ηλεκτρονίων. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η αντίδραση πραγματοποιείται σε δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο γίνεται ο σχηματισμός του πυρηνόφιλου, μέσω σιλυλίωσης του υποφωσφορώδες αμμωνίου. Στο ενδιάμεσο **67** που σχηματίζεται, ο P είναι «κλειδωμένος» στην τρισθενή του μορφή. Έτσι, στο επόμενο στάδιο της αντίδρασης, ο P, με το μονήρες ζεύγος ηλεκτρονίων του, προσβάλλει την ακόρεστη ένωση (δέκτης Michael), σχηματίζοντας έναν ενδιάμεσο φωσφινικό σιλυλεστέρα. Είναι πιθανόν, κατά την αντίδραση να πραγματοποιείται κάποια ενδομοριακή μετάθεση Arbuzon ενός SiMe₃ στο μόριο.²¹⁶ Τέλος, με προσθήκη MeOH και διαλύματος HCl, γίνεται η υδρόλυση των σιλυλεστέρων, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό φωσφινικό οξύ. Στη συνέχεια, παρουσιάζεται ο πιθανός μηχανισμός σχηματισμού της ένωσης **68** (Σχήμα 61).



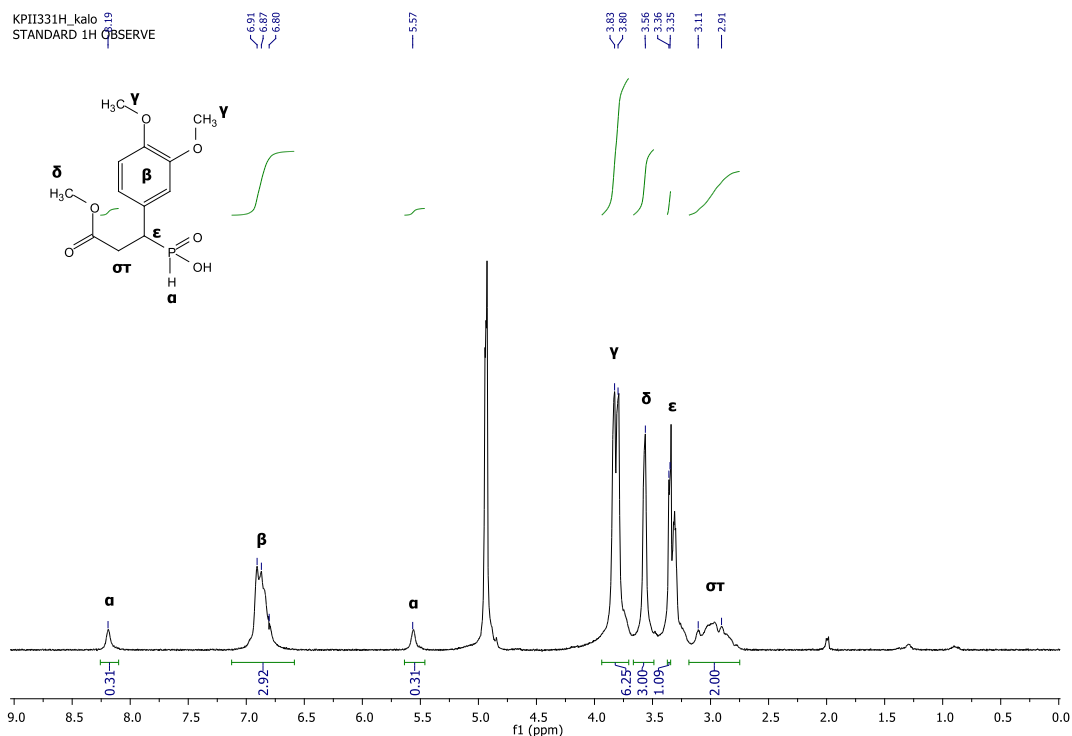
Σχήμα 61: Προτεινόμενος μηχανισμός αντίδρασης *P*-Michael για τον σχηματισμό του φωσφινικού οξέος **68.**

Από την αντίδραση είναι δυνατόν να προκύψει και το διυποκατεστημένο φωσφινικό οξύ, όπως θα εξεταστεί και σε παρακάτω βήματα. Γι' αυτόν τον

λόγο, στην αντίδραση χρησιμοποιείται περίσσεια σιλυλιωτικού αντιδραστηρίου και υποφωσφορώδους αμμωνίου, έτσι ώστε να υπερισχύσει ο σχηματισμός του μονοϋποκατεστημένου φωσφινικού οξέος. Για την επίτευξη της μονοϋποκατάστασης, επίσης, γίνεται μικρή αραίωση του αλκενίου στο διχλωρομεθάνιο, καθώς σε μεγάλη αραίωση σχηματίζονται παραπροϊόντα.

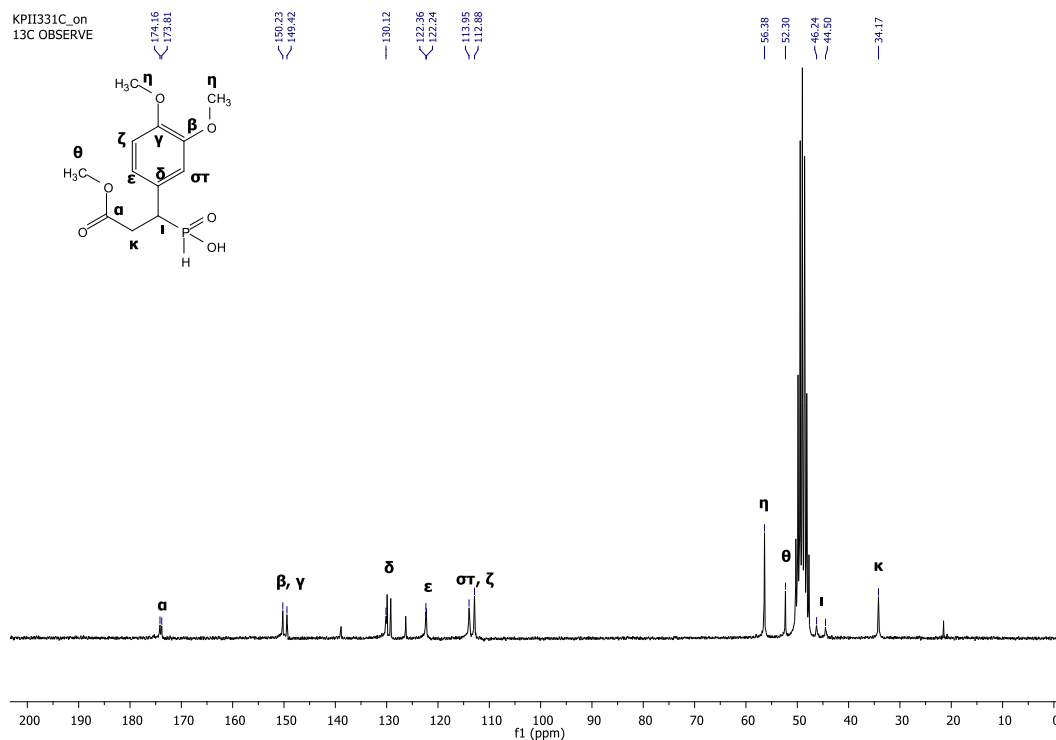
Ο σχηματισμός του δεσμού P-H ελέγχθηκε αρχικά με φασματομετρία μάζας και έπειτα με λήψη φάσματος ^{31}P NMR. Στη συνέχεια παρατίθενται τα φάσματα ^1H , ^{13}C και ^{31}P NMR της ένωσης **68**.

Στο φάσμα ^1H NMR (Σχήμα 62), παρατηρείται ως μια διπλή κορυφή στα 8.19 και 5.57 ppm, το σήμα της χημικής μετατόπισης του (α) πρωτονίου, το οποίο βρίσκεται σε απόσταση ενός δεσμού από το άτομο του φωσφόρου και για αυτό παρουσιάζει και σχάση. Η κορυφή στα 6.91-6.80 ppm οφείλεται στα (β) αρωματικά πρωτόνια της ένωσης, ενώ οι δύο απλές κορυφές στα 3.83 και 3.80 ppm στα (γ) πρωτόνια των δύο μεθόξυ ομάδων. Τα (δ) πρωτόνια του μεθυλίου συντονίζονται στα 3.56 ppm ως μια απλή κορυφή, ενώ το (ϵ) πρωτόνιο του τριτοταγούς άνθρακα στα 3.35 ppm ως μια διπλή κορυφή, λόγω της σχάσης που οφείλεται στον γειτονικό πυρήνα του ατόμου του φωσφόρου. Τέλος, τα δύο πρωτόνια ($\sigma\tau$) του α -άνθρακα της ένωσης εμφανίζουν μια κορυφή στα 3.01 ppm.



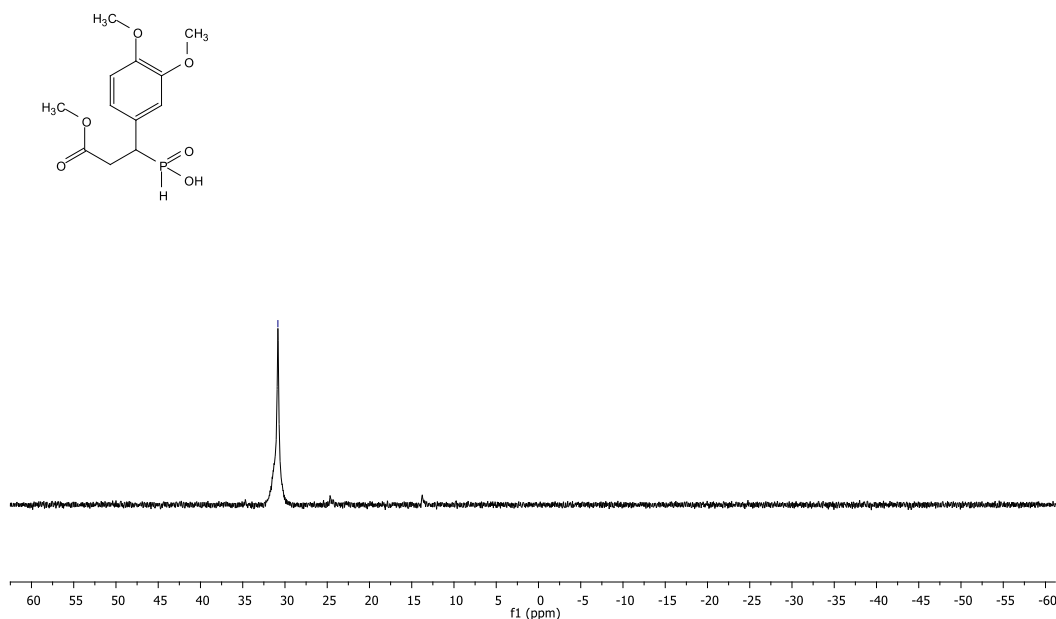
Σχήμα 62: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 68 σε διαλύτη CD_3OD (200 MHz).

Στο φάσμα ^{13}C NMR της ίδια ένωσης (Σχήμα 63), παρατηρείται μια διπλή κορυφή στα 174.0 ppm, που οφείλεται στο σήμα της χημικής μετατόπισης του (α) καρβονυλικού άνθρακα λόγω σχάσης του από το άτομο του φωσφόρου. Από τα 150.2-112.9 ppm εμφανίζονται οι κορυφές των (β - ζ) αρωματικών ανθράκων. Στα 56.4 ppm συντονίζονται οι (η) άνθρακες των μεθόξυ ομάδων και στα 52.3 ppm το σήμα του (θ) άνθρακα του μεθυλίου της ένωσης. Η διπλή κορυφή στα 45.4 ppm οφείλεται στην σχάση που προκαλεί ο φώσφορος στον (ι) τριτοταγή άνθρακα, ενώ στα 34.2 ppm εμφανίζεται η κορυφή που οφείλεται στον (κ) άνθρακα του μεθυλενίου της ένωσης.



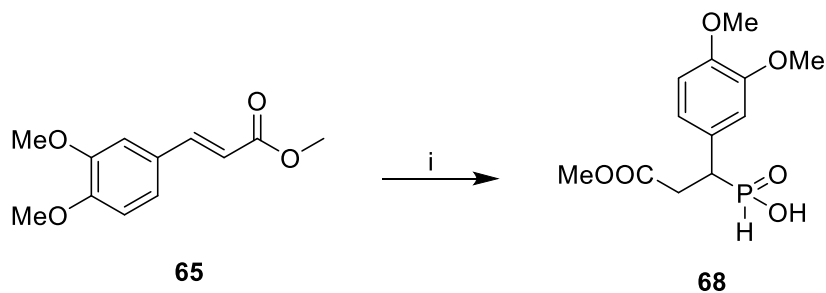
Σχήμα 63: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης **68** σε διαλύτη CD_3OD (50 MHz).

Τέλος, στο φάσμα ^{31}P NMR της ένωσης **68** (Σχήμα 64), παρατηρείται μια απλή κορυφή στα 30.84 ppm που οφείλεται στο άτομο φωσφόρου της ένωσης και υποδηλώνει και την ύπαρξη δεσμού P-C.



Σχήμα 64: Φάσμα ^{31}P NMR της ένωσης **68** σε διαλύτη δευτεριωμένη CD_3OD (81 MHz).

Για τον σχηματισμό του φωσφινικού οξέος **68**, πραγματοποιήθηκε και μια αντίδραση με χρήση ξηρού $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_2$, Et_3N , τριμεθυλοσιλυλοχλωριδίου (trimethylsilyl chloride, TMSCl) σε διαλύτη ξηρό CH_2Cl_2 (Σχήμα 65):

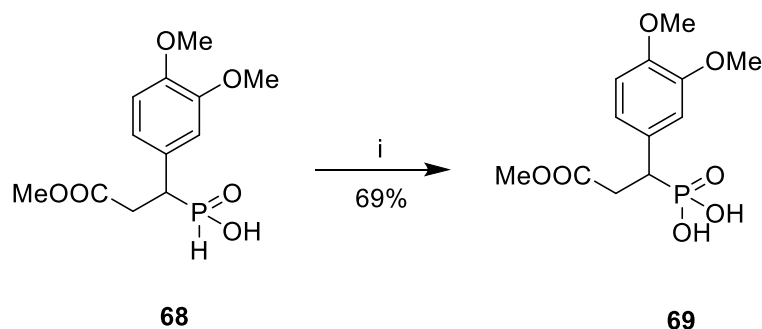


i) $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_2$, Et_3N , TMSCl, ξηρό CH_2Cl_2 , Ar, 0°C (1/2 h) \rightarrow r.t. (48 h).

Σχήμα 65: Αντίδραση σχηματισμού φωσφινικού οξέος **68** με χρήση του TMSCl, ως αντιδραστήριο σιλυλίωσης.

Η μέθοδος αυτή απορρίφθηκε, καθώς, αν και η απόδοση της αντίδρασης φάνηκε να είναι καλύτερη, η αντίδραση δεν ήταν καθαρή και το προϊόν παραλήφθηκε βρώμικο, ακόμα και μετά τον χρωματογραφικό καθαρισμό του, όπως φάνηκε και από το φάσμα ^{31}P NMR.

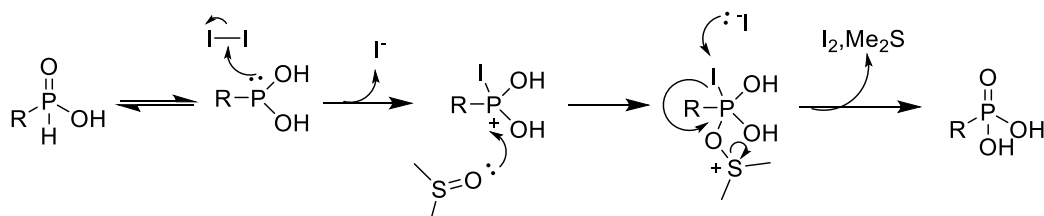
Για τη συνέχεια της σύνθεσης, πραγματοποιήθηκε η οξείδωση του φωσφινικού οξέος **68** προς το φωσφονικό οξύ **69**. Για την παρασκευή του προϊόντος, έγινε αρχικά διάλυση του φωσφινικού οξέος **68** σε ξηρό τετραϋδροφουράνιο (tetrahydrofuran, THF) και με χρήση ως οξειδωτικού μέσου του διμεθυλοσουλφοξειδίου (dimethylsulfoxide, DMSO) και καταλύτη ιώδιο I_2 στους $60^\circ C$ και υπό αναρροή για 48 ώρες,^{181,217,218} παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν (Σχήμα 66):



i) DMSO, I_2 , ξηρό THF, $60^\circ C$, αναρροή, 48 h.

Σχήμα 66: Αντίδραση οξείδωσης του φωσφινικού οξέος **68** προς σχηματισμό του φωσφονικού οξέος **69**.

Στον προτεινόμενο μηχανισμό της αντίδρασης (Σχήμα 67), ο φωσφονικός εστέρας (πεντασθενής P) βρίσκεται σε ταυτομερή ισορροπία με τον φωσφίτη (τρισθενής P).²¹⁹ Με την πυρηνόφιλη προσβολή του ιωδίου στον τρισθενή φώσφορο, σχηματίζεται ένα ενδιάμεσο άλας ιωδιούχου φωσφονίου. Έπειτα, πραγματοποιείται προσθήκη του οξυγόνου του DMSO στο ενδιάμεσο άλας, οπότε προκύπτει ένα ενδιάμεσο φωσφοράνιο. Τέλος, με πυρηνόφιλη προσβολή του ανιόντος ιωδίου στο φωσφοράνιο και με απελευθέρωση μεθυλοσουλφιδίου και I_2 , προκύπτει το επιθυμητό φωσφονικό οξύ.²²⁰

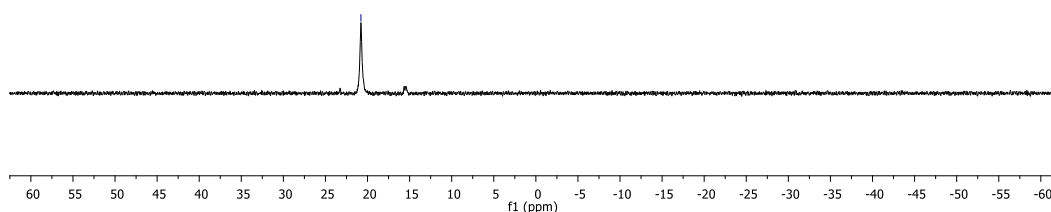
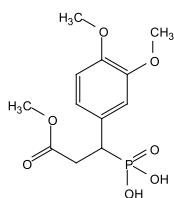


Σχήμα 67: Προτεινόμενος μηχανισμός αντίδρασης οξείδωσης φωσφινικών οξέων.

Η οξειδωση του φωσφινικού οξέος επιβεβαιώθηκε με φασματομετρία μάζας και με λήψη φασμάτων ^1H , ^{13}C και ^{31}P . Χαρακτηριστικό είναι το φάσμα ^{31}P NMR του φωσφονικού οξέος (Σχήμα 68), όπου παρατηρείται ότι η χημική μετατόπιση του ατόμου του φωσφόρου της ένωσης **69** είναι 20.79 ppm. Ανατρέχοντας στο αντίστοιχο φάσμα του πρόδρομου φωσφινικού οξέος **68** (Σχήμα 64), διαπιστώνεται αλλαγή στο σήμα της μετατόπισης, καθώς συντονίζεται πλέον σε υψηλότερα επίπεδα, λόγω της αυξημένης προόσπισης του πυρήνα του φωσφόρου.

KPI1334bP
SURVEY PHOSPHORUS PARAMETERS

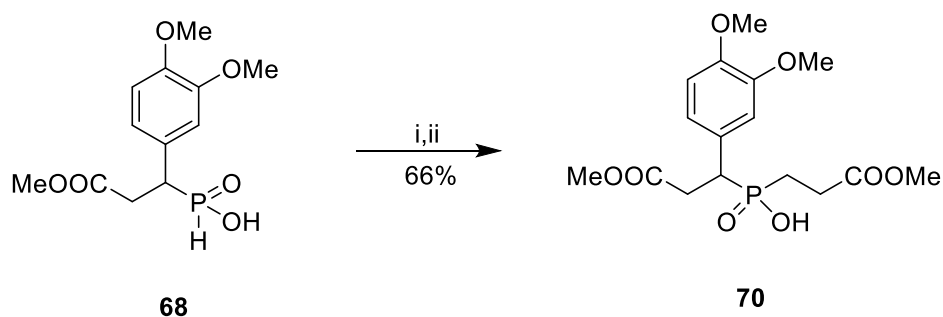
20.79



Σχήμα 68: Φάσμα ^{31}P NMR της ένωσης **69** σε διαλύτη CD_3OD (81 MHz).

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση του διυποκατεστημένου φωσφινικού οξέος **70**. Το φωσφινικό οξύ **68** που συντέθηκε σε προηγούμενο βήμα, δύναται να υποστεί και δεύτερη υποκατάσταση, καθώς αν μετατραπεί σε έναν ενδιάμεσο σιλυλιωμένο εστέρα, μπορεί να υποστεί και δεύτερη προσθήκη *P*-Michael. Η προσθήκη αυτή γίνεται, αρχικά, με τη χρήση ενός σιλυλιωτικού μέσου, οπότε το φωσφινικό οξύ μετατρέπεται σε έναν ενεργό δι(τριμεθυλοσιλυλο)φωσφίτη και μπορεί εύκολα να προσβάλλει ένα ενεργοποιημένο α,β -ακόρεστο σύστημα, με αποτέλεσμα να σχηματιστεί ένας καινούργιος δεσμός P-C.^{221,222,223}

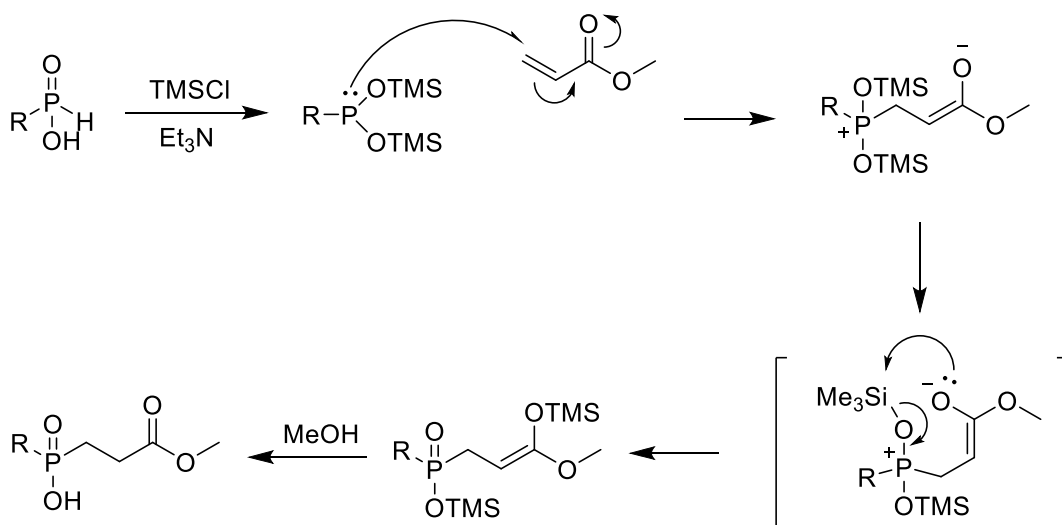
Η διεργασία αυτή μπορεί να επιτευχθεί με χρήση Et_3N ως βάση, TMSCl ως σιλυλιωτικού μέσου, ακρυλικού μεθυλεστέρα ως το ενεργοποιημένο αλκένιο και διαλύτη ξηρό CH_2Cl_2 (Σχήμα 69). Οπότε προκύπτει το διυποκατεστημένο φωσφινικό οξύ **70**:



i) Et_3N , TMSCl , ακρυλικός μεθυλεστέρας, ξηρό CH_2Cl_2 , Ar, $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{r.t.}$, 24 h., ii) MeOH , HCl 6 N.

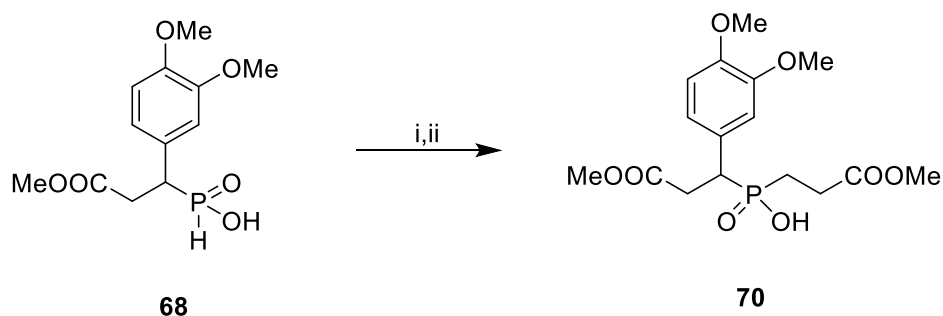
Σχήμα 69: Αντίδραση σύνθεσης του διυποκατεστημένου φωσφινικού οξέος 70.

Στον προτεινόμενο μηχανισμό της αντίδρασης (Σχήμα 70), το άτομο του φωσφόρου μετατρέπεται σε έναν σιλυλιωμένο εστέρα, καθώς αντιδρά με τη βάση και το TMSCl , οπότε «κλειδώνεται» στην τρισθενή του μορφή. Ο τρισθενής P, πλέον, με το ελεύθερο ζεύγος ηλεκτρονίων που διαθέτει, μπορεί εύκολα να προσβάλλει τον ακρυλικό μεθυλεστέρα, εκτελώντας μια αντίδραση προσθήκης *P*-Michael. Είναι πιθανόν, κατά την αντίδραση να πραγματοποιείται κάποια ενδομοριακή μετάθεση *Arbuzon* ενός TMS στο μόριο.²¹⁶ Τέλος, οι ενδιάμεσοι φωσφονικοί σιλυλεστέρες που προκύπτουν, διασπώνται με προσθήκη MeOH και υδατικού διαλύματος HCl 6 N.



Σχήμα 70: Προτεινόμενος μηχανισμός διυποκατάστασης των φωσφινικών οξέων.

Η σύνθεση του διυποκατεστημένου φωσφινικού οξέος, δοκιμάστηκε και με χρήση δις(τριμεθυλοσιλυλο)ακεταμιδίου [bis(trimethylsilyl)acetamide, BSA] ως σιλυλιωτικού αντιδραστήριου σε διαλύτη ξηρό CH_2Cl_2 (Σχήμα 71):

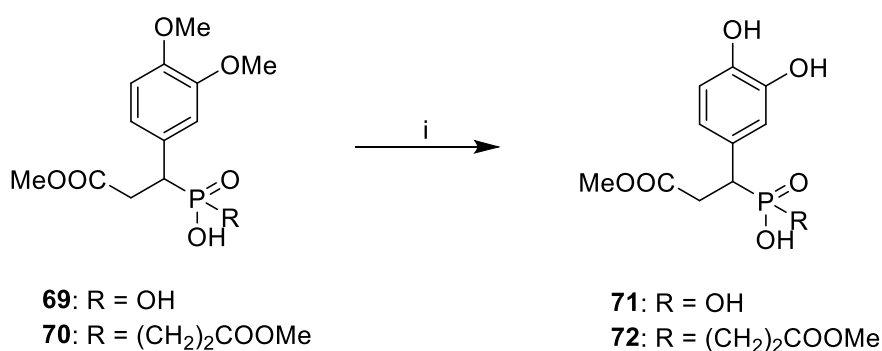


i) ακρυλικός μεθυλεστέρας, BSA, ξηρό CH_2Cl_2 , Ar, $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{r.t.}$, 72 h., ii) HCl 3 N.

Σχήμα 71: Αντίδραση σύνθεσης του διυποκατεστημένου φωσφινικού οξέος 70 με χρήση BSA.

Μετά από έλεγχο του μίγματος της αντίδρασης με ^{31}P NMR, αποδείχτηκε η ύπαρξη πολλών παραπροϊόντων, οπότε η μέθοδος απορρίφθηκε και προτιμήθηκε η πρώτη αντίδραση, η οποία ήταν πιο καθαρή.

Για τη σύνθεση των τελικών προϊόντων, πραγματοποιήθηκε αρχικά αποπροστασία **μόνο** του κατεχολικού δακτυλίου των ενώσεων. Με χρήση του αντιδραστήριου απομεθυλίωσης BCl_3 σε διαλύτη ξηρό CH_2Cl_2 , προέκυψαν από τα πρόδρομα μόρια **69** και **70**, τα αποπροστατευμένα τελικά προϊόντα **71** και **72** (Σχήμα 72):



i) BCl_3 1 M σε CH_2Cl_2 , ξηρό CH_2Cl_2 , Ar, $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{r.t.}$, 72 h.

Σχήμα 72: Γενική αντίδραση αποπροστασίας των φαινολικών υδροξυλίων με χρήση BCl_3 .

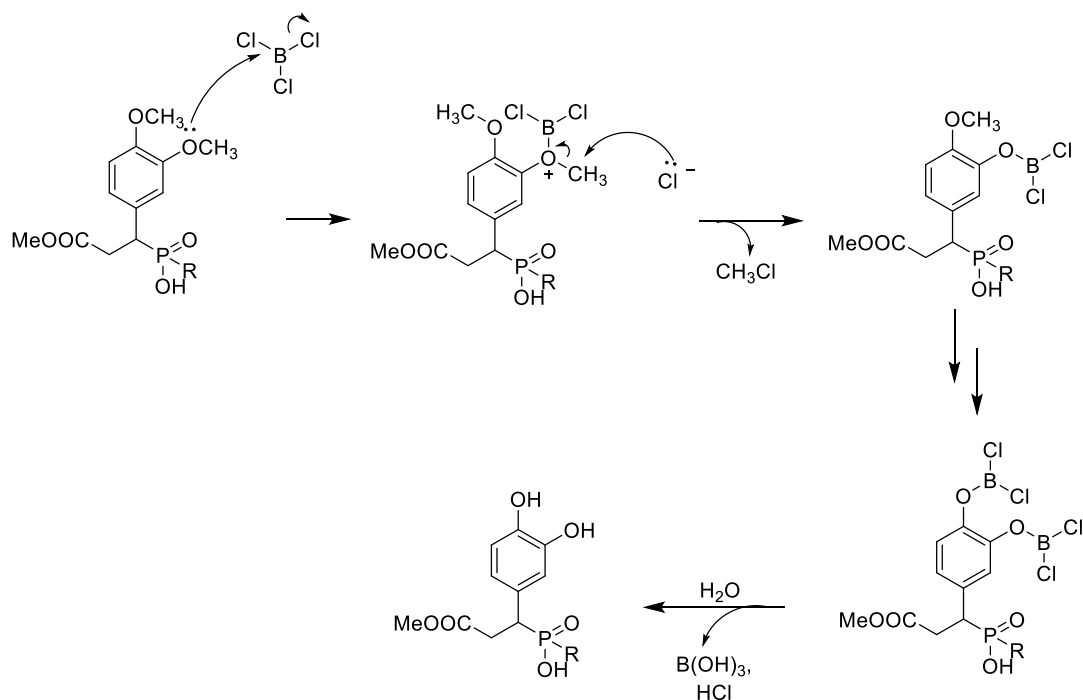
Το αντιδραστήριο BCl_3 είναι ένα αντιδραστήριο απομεθυλίωσης, παρόμοιο με το αντιδραστήριο $\text{BF}_3 \cdot \text{SMe}_2$, το οποίο χρησιμοποιήθηκε στην

προηγούμενη ενότητα για την αποπροστασία των φαινολικών υδροξυλίων των τελικών προϊόντων. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε και εδώ χρήση του $\text{BF}_3 \cdot \text{SMe}_2$, όμως τα τελικά προϊόντα που παραλαμβάνουμε δεν καθάριζαν πλήρως ακόμα και μετά από πολλές χρωματογραφίες στήλης. Γι' αυτόν τον λόγο, έγινε χρήση του αμέσως επόμενου πιο ισχυρού, συγγενικού αντιδραστηρίου απομεθυλίωσης, BCl_3 . Πρόκειται για ένα οξύ κατά Lewis το οποίο χρησιμοποιείται για την απομεθυλίωση υδροξυλίων.²²⁴ Το BCl_3 , αν και αρκετά ισχυρό, εντούτοις, δεν είναι ικανό να αποπροστατεύσει και τα καρβοξυλικά οξέα των ενώσεων.

Όπως και στην περίπτωση του $\text{BF}_3 \cdot \text{SMe}_2$, μετά το πέρας της αντίδρασης απαιτείται η εξουδετέρωση του αντιδραστηρίου, η οποία γίνεται με προσθήκη H_2O υπό ψύξη. Μετά από απομάκρυνση του CH_2Cl_2 της αντίδρασης με συμπύκνωση, τα προϊόντα περνάνε από χρωματογραφία στήλης ανάστροφης φάσης, λόγω της αυξημένης πολικότητάς τους.

Επίσης, πρέπει να τονισθεί ότι λόγω της ευαισθησίας των κατεχολικών ενώσεων στο φως, η αντίδραση αποπροστασίας πραγματοποιείται στο σκοτάδι. Επιπλέον, λόγω της ευαισθησίας τους στο οξυγόνο και στη θερμοκρασία, μετά τον καθαρισμό τους, τα τελικά προϊόντα φυλάσσονται στην κατάψυξη σε σκουρόχρωμα φιαλίδια, διαλυμένα σε νερό.

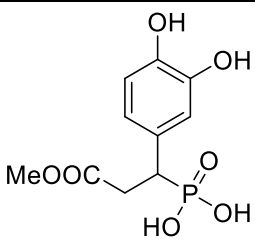
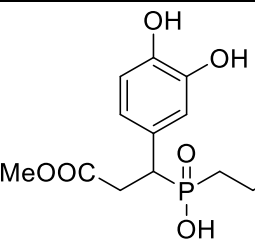
Στον προτεινόμενο μηχανισμό της αντίδρασης (Σχήμα 73), το οξυγόνο της μεθόξυ ομάδας προσβάλλει το βόριο του BCl_3 , με αποτέλεσμα την απομάκρυνση ενός ανιόντος χλωρίου. Το ανιόν Cl^- έπειτα, θα αποσπάσει το μεθύλιο του κατιόντος της ένωσης που σχηματίστηκε, οπότε θα ελευθερωθεί στο μίγμα της αντίδρασης χλωρομεθάνιο. Μετά από αντίδραση και της δεύτερης μεθόξυ ομάδας με το BCl_3 και με προσθήκη νερού, παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν.



Σχήμα 73: Προτεινόμενος μηχανισμός αποπροστασίας του κατεχολικού δακτυλίου με χρήση του BCl_3 .

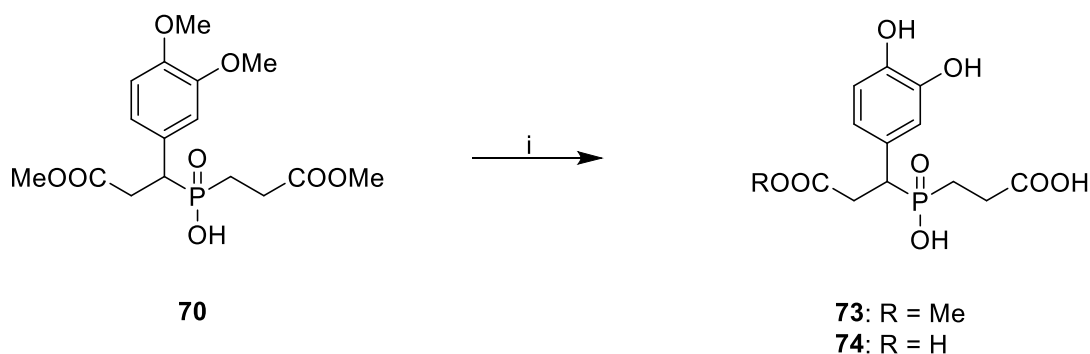
Οι αποδόσεις των αντιδράσεων απομεθυλίωσης για τα παραπάνω τελικά προϊόντα παρουσιάζονται στον Πίνακα 17:

Πίνακας 17: Οι αποδόσεις των αντιδράσεων απομεθυλίωσης για τα τελικά προϊόντα 71 και 72.

Ένωση	Απόδοση	Ένωση	Απόδοση
 71	65%	 72	51%

Επόμενος στόχος της σύνθεσης ήταν η αποπροστασία, τόσο του κατεχολικού δακτυλίου, αλλά και των καρβοξυλικών οξέων των ενώσεων. Για τη σύνθεση των τελικών προϊόντων αυτής της ομάδας ενώσεων, χρησιμοποιήθηκε το αντιδραστήριο τριβρωμιούχο βόριο (BBr_3) για την αποπροστασία των μεθόξυ ομάδων του αρωματικού δακτυλίου, αλλά και την ταυτόχρονη αποπροστασία των καρβοξυλικών τους οξέων. Έτσι, από την προστατευμένη ένωση **70** με χρήση του BBr_3 και διαλύτη ξηρού

CH_2Cl_2 ,²²⁵ παρασκευάστηκαν τα τελικά φωσφινικά οξέα **73** και **74** (Σχήμα 74):



i) BBr_3 1 M σε CH_2Cl_2 , ξηρό CH_2Cl_2 , Ar, 0°C (4 h) \rightarrow r.t. (24 h).

Σχήμα 74: Γενική αντίδραση αποπροστασίας των φαινολικών υδροξυλίων και των καρβοξυλικών οξέων με χρήση του BBr_3 .

Το αντιδραστήριο BBr_3 ανήκει και αυτό στην κατηγορία των αλογονιδίων του βορίου (III).²²⁶ Πρόκειται για ένα οξύ κατά Lewis, που χρησιμοποιείται για αντιδράσεις απομεθυλίωσης. Είναι το πιο ισχυρό οξύ της οικογένειας των ενώσεων BX_3 ($\text{X} = \text{F}, \text{Cl}, \text{Br}$), καθώς όσο αυξάνεται η ηλεκτραρνητικότητα των αλογόνων, τόσο αυξάνεται και η οξύτητα των BX_3 . Το BBr_3 είναι ένα αρκετά ισχυρό αντιδραστήριο, το οποίο απαιτεί ιδιαίτερη μεταχείριση. Επίσης, είναι ικανό να προκαλέσει εκτός από απομεθυλίωση, και αποπροστασία καρβοξυλικών οξέων.

Όπως και στις προηγούμενες περιπτώσεις χρήσης των αντιδραστηρίων BX_3 , και εδώ απαιτείται η καταστροφή του BBr_3 μετά το πέρας της αντίδρασης, με προσθήκη παγωμένου H_2O και ανάδευση υπό ψύξη. Στη συνέχεια, τα προϊόντα περνάνε από χρωματογραφία στήλης αντίστροφης φάσης για τον καθαρισμό τους.

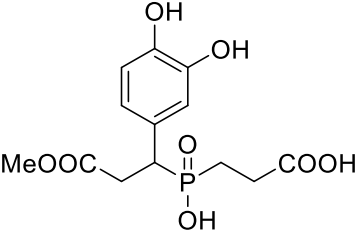
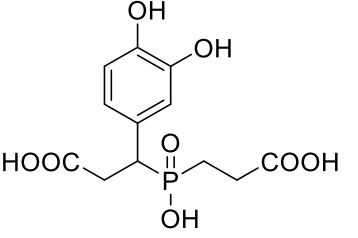
Στον προτεινόμενο μηχανισμό της αντίδρασης, το BBr_3 δρα ως οξύ κατά Lewis, όπως και το BCl_3 (Σχήμα 73), και προσβάλλει τις μεθόξυ ομάδες του αρωματικού δακτυλίου.

Από την αντίδραση του φωσφινικού οξέος **70**, προέκυψαν δύο προϊόντα (**73** και **74**), κάτι το οποίο δεν ήταν ανεμενόμενο. Κατά τη χρωματογραφία στήλης, παρατηρήθηκε να εμφανίζεται κι άλλη κηλίδα στις πλάκες πέρα από την αναμενόμενη του τελικού προϊόντος **74**, οπότε αποφασίστηκε να συλλεχθεί και αυτό το προϊόν. Μετά από φασματομετρία μάζας και λήψη

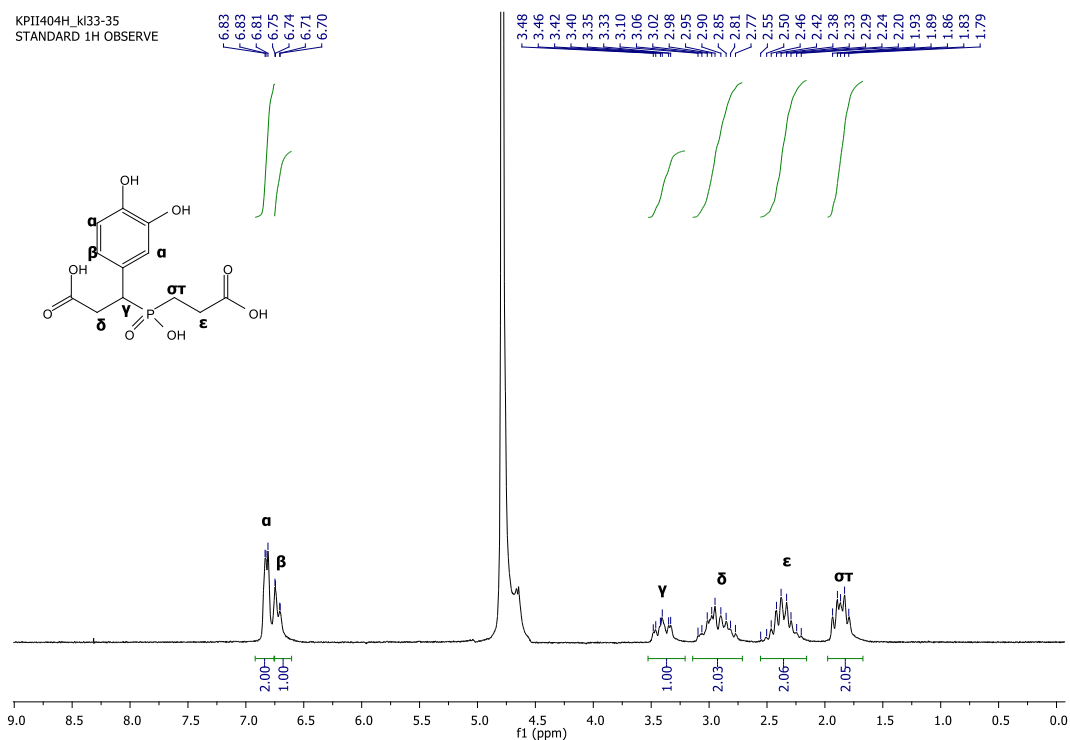
φασμάτων ^1H και ^{13}C NMR, διαπιστώθηκε ο σχηματισμός του μερικώς αποπροστατευμένου προϊόντος **73**. Δηλαδή, αν και το κύριο προϊόν της αντίδρασης είναι το πλήρως αποπροστατευμένο φωσφινικό οξύ **74** ($\alpha = 64\%$), εντούτοις σχηματίζεται και το προϊόν **73** ($\alpha = 20\%$). Αποφασίσθηκε, λοιπόν, να συλλεχθεί και αυτή η οργανοφωσφορική ένωση για να διαπιστωθεί, πόσο σημαντικός είναι ο ρόλος των ελεύθερων καρβοξυλικών οξέων στην ανασταλτική δράση τέτοιων ενώσεων.

Τα τελικά προϊόντα που συντέθηκαν με αυτή τη μέθοδο παρουσιάζονται στον Πίνακα 18 με τις αντίστοιχες αποδόσεις τους:

Πίνακας 18: Οι αποδόσεις των αντιδράσεων απομεθυλίωσης και αποπροστασίας για τα τελικά προϊόντα **73 και **74**.**

Ένωση	Απόδοση	Ένωση	Απόδοση
 <p style="text-align: center;">73</p>	20%	 <p style="text-align: center;">74</p>	64%

Στα επόμενα σχήματα παρατίθενται τα φάσματα ^1H , ^{13}C και ^{31}P NMR της τελικής ένωσης **74**. Στο φάσμα ^1H NMR (Σχήμα 75), στα 6.83-6.70 ppm, παρατηρούνται ως δύο κορυφές να συντονίζονται τα (α , β) αρωματικά πρωτόνια της ένωσης. Η πολλαπλή κορυφή στα 3.48-3.33 ppm οφείλεται στο (γ) πρωτόνιο του τριτοταγούς άνθρακα της ένωσης, ενώ η πολλαπλή κορυφή στα 3.10-2.77 ppm σε αυτό των (δ) α -καρβονυλικών πρωτονίων του ενός καρβοξυλικού οξέος. Τα (ϵ) α -καρβονυλικά πρωτόνια του άλλου καρβοξυλικού οξέος συντονίζονται ως μια πολλαπλή κορυφή στα 2.55-2.20 ppm, ενώ τα ($\sigma\tau$) πρωτόνια του μεθυλενίου δίπλα από το άτομο του φωσφόρου συντονίζονται ως μια πολλαπλή κορυφή στα 1.93-1.79 ppm.



Σχήμα 75: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 74 σε διαλύτη D_2O (200 MHz).

Στο φάσμα ^{13}C NMR (Σχήμα 76) της ίδιας ένωσης, ως δύο διπλές κορυφές, λόγω σχάσης από το άτομο του φωσφόρου, συντονίζονται οι (α , β) καρβονυλικοί άνθρακες στα 176.5 και 175.6 ppm. Από τα 144.2-116.4 ppm εμφανίζονται κορυφές που οφείλονται στους (γ - η) αρωματικούς άνθρακες της ένωσης. Ο (θ) τριτοταγής άνθρακας συντονίζεται ως μια διπλή κορυφή λόγω σχάσης στα 42.0 ppm, ενώ ο (ι) α-καρβονυλικός άνθρακας ως μια απλή κορυφή στα 33.0 ppm. Η διπλή κορυφή στα 26.3 ppm εμφανίζεται λόγω του έτερου (κ) α-καρβονυλικού άνθρακα, ενώ η διπλή κορυφή στα 21.9 ppm λόγω του (λ) άνθρακα του μεθυλενίου που βρίσκεται σε α-θέση ως προς τον φώσφορο.

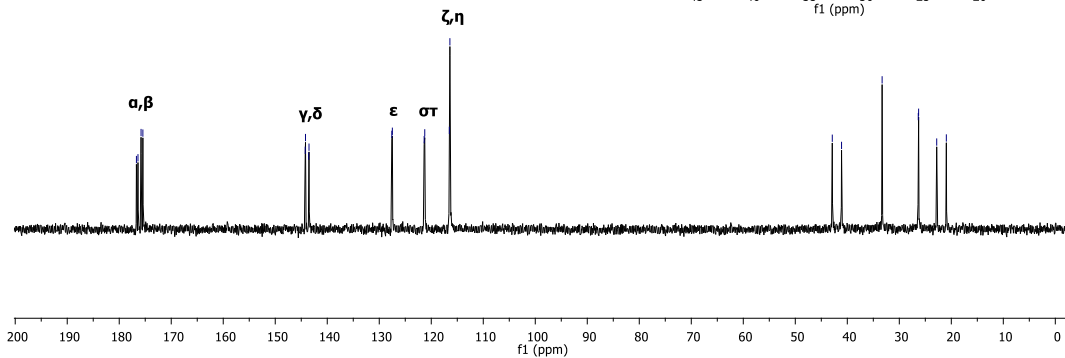
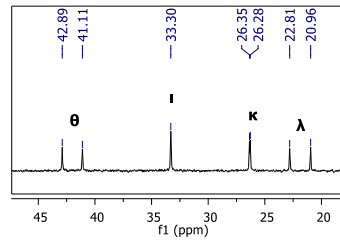
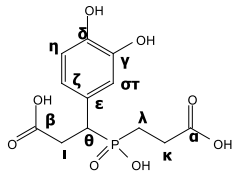
KPII404_k1.33_36
13C OBSERVE

176.39
175.80
175.45

144.23
144.16
143.57

127.58
127.48
121.37
121.25
116.53
116.42

42.89
41.11
33.30
26.35
26.28
22.81
20.96

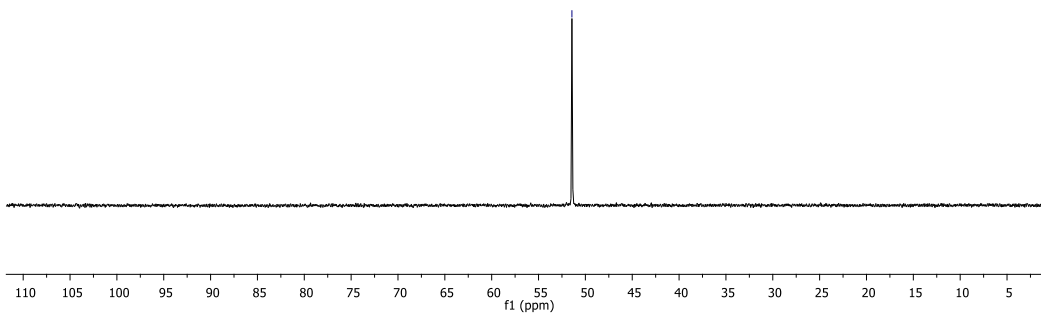
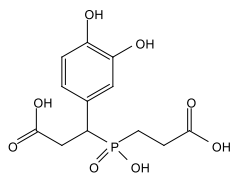


Σχήμα 76: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 74 σε διαλύτη D_2O (50 MHz).

Τέλος, στο Σχήμα 77 φαίνεται το φάσμα ^{31}P NMR της ένωσης 74, όπου παρατηρείται μια απλή κορυφή στα 51.44 ppm λόγω του ατόμου του φωσφόρου της ένωσης.

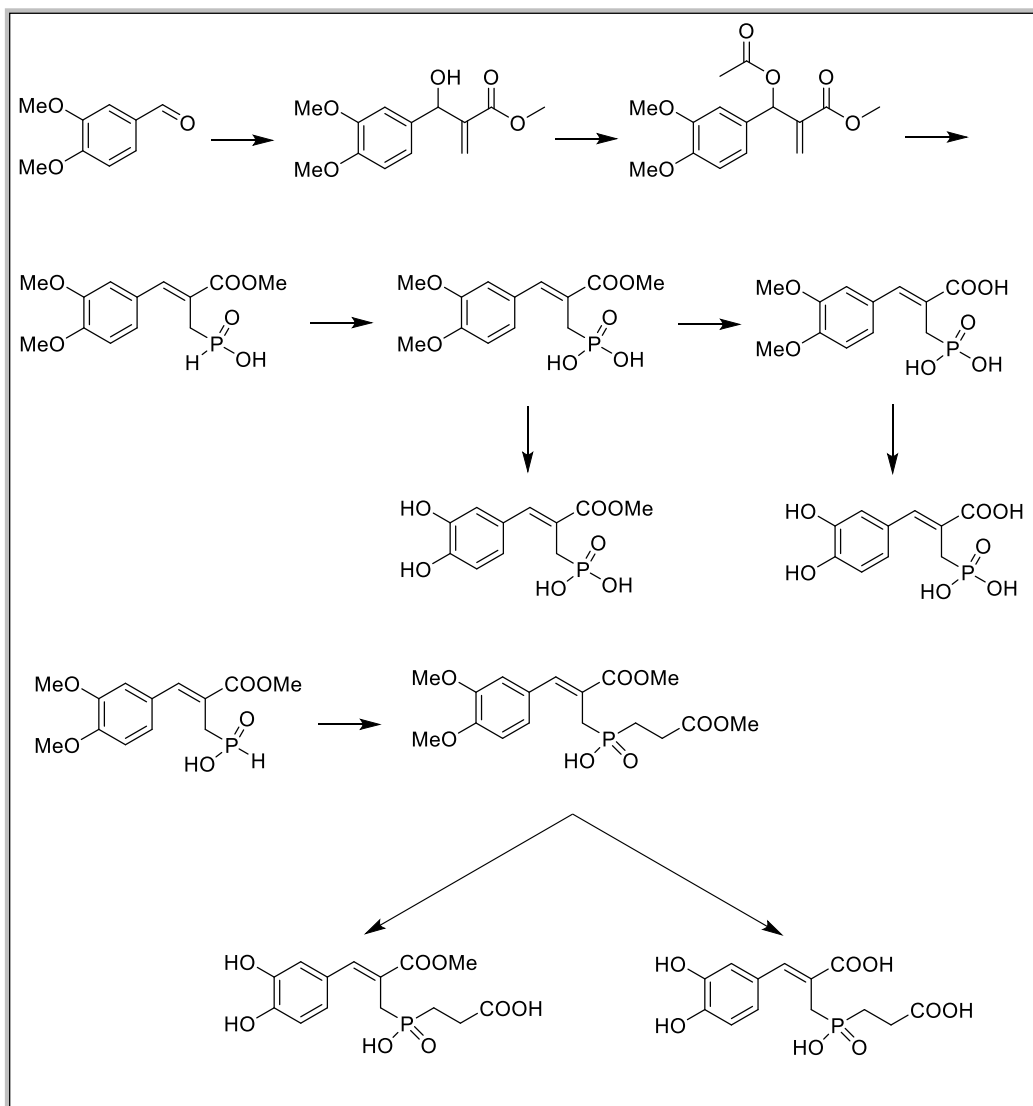
KPII404P_k133-35
SURVEY PHOSPHORUS PARAMETERS

51.44



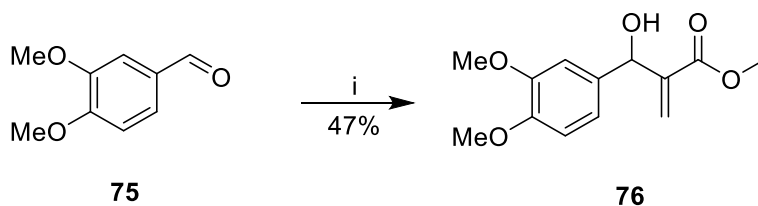
Σχήμα 77: Φάσμα ^{31}P NMR της ένωσης 74 σε διαλύτη D_2O (81 MHz).

4.2.2 Συνθετική πορεία κατεχολικών οργανοφωσφορικών παραγώγων όπου το άτομο του φωσφόρου απέχει τέσσερις δεσμούς από τον κατεχολικό δακτύλιο με έναν διπλό δεσμό να παρεμβάλλεται



Σχήμα 78: Συνθετική πορεία κατεχολικών οργανοφωσφορικών παραγώγων όπου το άτομο του φωσφόρου απέχει τέσσερις δεσμούς από τον κατεχολικό δακτύλιο με έναν διπλό δεσμό να παρεμβάλλεται.

Η γενική πορεία σύνθεσης της δεύτερης ομάδας οργανοφωσφορικών ενώσεων παρουσιάζεται στο Σχήμα 78. Αρχικά, χρησιμοποιήθηκε ως πρώτη ύλη η 3,4-διμεθοξυβενζαλδεΐδη **75**, ο ακρυλικός μεθυλεστέρας και ο καταλύτης 1,4-διαζαδικυκλο[2.2.2]οκτάνιο (1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane, DABCO), πραγματοποιώντας μία αντίδραση Morita-Baylis-Hillman, οπότε προέκυψε η αλλυλική αλοκοόλη **76** (Σχήμα 79):¹⁸¹



i) ακρυλικός μεθυλεστέρας, DABCO, r.t., 30 μέρες.

Σχήμα 79: Αντίδραση Morita-Baylis-Hillman της αλδεΐδης 75 προς παρασκευή της αλλυλικής αλκοόλης 76.

Η αντίδραση Morita-Baylis-Hillman (MBH) είναι μια αντίδραση σχηματισμού δεσμού άνθρακα-άνθρακα. Περιλαμβάνει τη σύζευξη ενεργοποιημένων αλκενίων με ηλεκτρονιόφιλα μόρια με την επίδραση μιας τριτοταγούς αμίνης. Παρουσιάζει όλες τις βασικές ιδιότητες που πρέπει να έχει μια αποτελεσματική συνθετική μέθοδος, δηλαδή είναι εκλεκτική (χημειο-, τοπο-, διαστεreo- και εναντιο-),²²⁷ οικονομική σε άτομα,²²⁸ απαιτεί ήπιες συνθήκες και παρέχει συνθετικά χρήσιμα πολυλειτουργικά μόρια.²²⁹

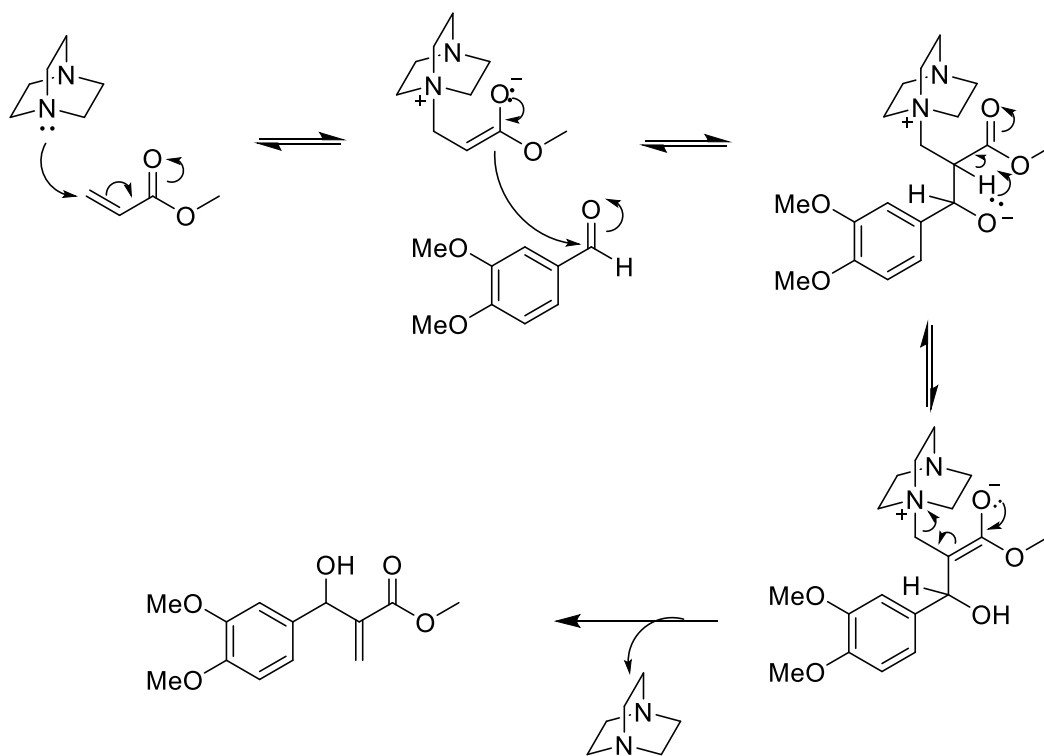
Η αντίδραση αυτή περιλαμβάνει τρία αντιδραστήρια: μια τριτοταγή αμίνη, ένα ενεργοποιημένο αλκένιο και ένα ηλεκτρονιόφιλο. Οι τριτοταγείς αμίνες είναι γενικά πιο φθηνές, λιγότερο τοξικές και μπορούν να απομακρυνθούν πιο εύκολα σε σύγκριση με τις φωσφίνες που μπορούν επίσης να καταλύουν την αντίδραση MBH. Το DABCO είναι ο πιο συχνά χρησιμοποιημένος καταλύτης σε αυτές τις αντιδράσεις. Οι αντιδράσεις με χρήση του DABCO είναι παρ' όλα αυτά αργές και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος απαιτούν μέρες ή ακόμα και βδομάδες, ανάλογα με τη φύση των αντιδραστηρίων.²³⁰

Ως ενεργοποιημένο αλκένιο χρησιμοποιείται ο ακρυλικός μεθυλεστέρας. Οι ακρυλικοί εστέρες αποτελούν τη μεγαλύτερη ομάδα ενεργοποιημένων ολεφινών που χρησιμοποιούνται στην αντίδραση MBH, πιθανότατα λόγω της ευκολίας της εστερικής ομάδας να συμμετέχει σε περαιτέρω αντιδράσεις. Ο ακρυλικός μεθυλεστέρας, όντας μη στερεοχημικά ογκώδης, καθιστά την αντίδραση πιο εύκολη και γρήγορη, σε σχέση με άλλους ακρυλικούς εστέρες.²³⁰

Οι αλδεΐδες είναι τα πιο κοινά ηλεκτρονιόφιλα που χρησιμοποιούνται σε αυτές τις αντιδράσεις, καθώς είναι πιο δραστικές σε σύγκριση με άλλες

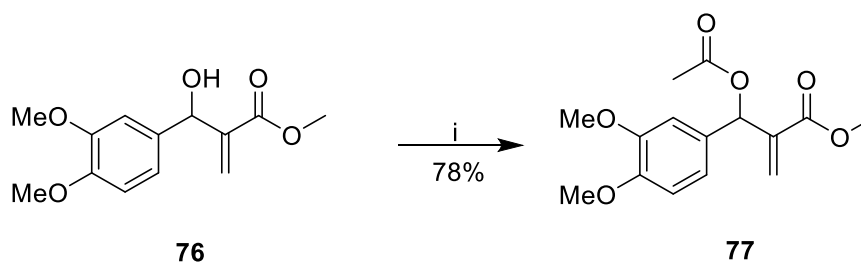
ενώσεις (όπως οι κετόνες), λόγω των στερικών και των ηλεκτρονιακών τους ιδιοτήτων. Λόγω της χρήσης σε αυτή την περίπτωση μια αρωματικής αλδεΐδης, με δύο ομάδες δότες ηλεκτρονίων (-OCH₃), καθυστερεί η ταχύτητα της αντίδρασης και είναι ένας από τους λόγους που πραγματοποιείται σε 30 μέρες. Μάλιστα, για να προχωρήσει πιο γρήγορα η αντίδραση, ανά 10 μέρες πραγματοποιείται εκ νέου προσθήκη DABCO και ακρυλικού μεθυλεστέρα.

Στον προτεινόμενο μηχανισμό (Σχήμα 80), η αντίδραση ξεκινάει από μία πυρηνόφιλη προσθήκη Michael της τριτοταγούς αμίνης στο ενεργοποιημένο αλκένιο, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό ενός ενδιάμεσου ενολικού διπολικού ιόντος. Το διπολικό ιόν, στη συνέχεια, εκτελεί μια πυρηνόφιλη προσβολή στην ηλεκτρονιόφιλη αλδεΐδη, οπότε σχηματίζεται ένα δεύτερο διπολικό ιόν. Το διπολικό παράγωγο, μετά από αναδιάταξη των πρωτονίων του και απόσπαση E2 της τριτοταγούς αμίνης, παράγει το τελικό επιθυμητό προϊόν.²²⁹ Οι Bode and Kaye²³¹ μετά από κινητικές μελέτες απέδειξαν ότι ο σχηματισμός του δεύτερου διπολικού ιόντος είναι το καθοριστικό στάδιο της αντίδρασης.



Σχήμα 80: Προτεινόμενος μηχανισμός αντίδρασης MBH.

Η αλλυλική αλκοόλη **76**, στη συνέχεια, υπόκειται σε αντίδραση ακετυλίωσης με ακέτυλο χλωρίδιο και πυριδίνη σε διαλύτη ξηρό CH_2Cl_2 , οπότε συντίθεται το ακετυλιωμένο παράγωγο **77** (Σχήμα 81):¹⁸¹

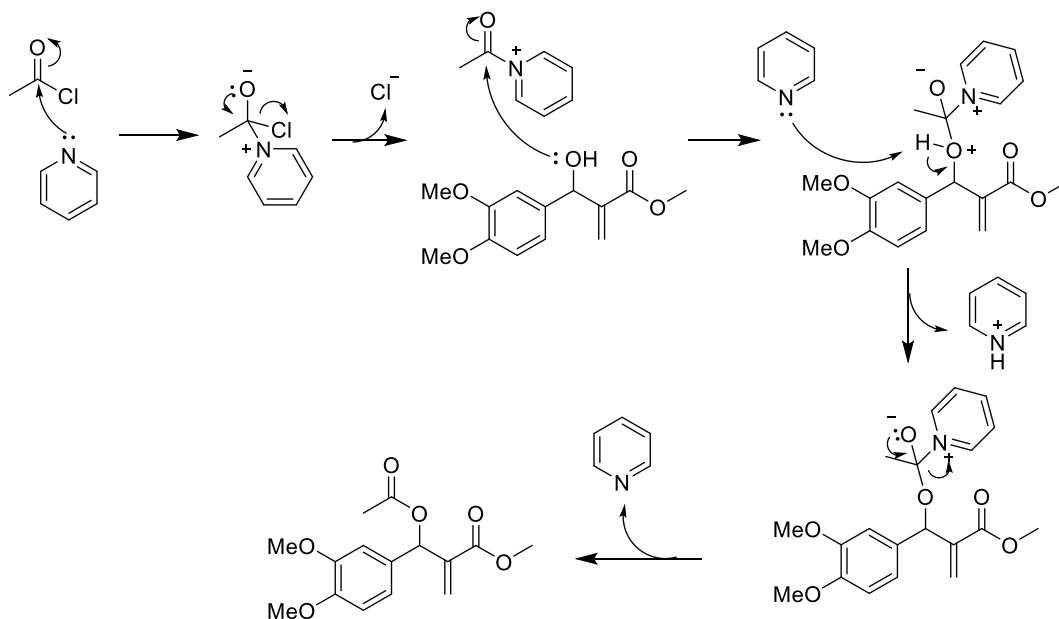


i) ακέτυλο χλωρίδιο, πυριδίνη, ξηρό CH_2Cl_2 , 0°C (1 h) → r.t. (24 h).

Σχήμα 81: Αντίδραση ακετυλίωσης της αλλυλικής αλκοόλης 76.

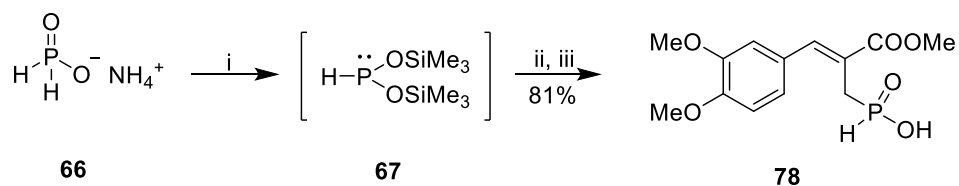
Το ακέτυλο χλωρίδιο είναι ένα αντιδραστήριο που χρησιμοποιείται πολύ συχνά για την ακυλίωση αλκοολών και αμινών. Στις αντιδράσεις όπου συμμετέχει, σχηματίζεται HCl , γι' αυτό τον λόγο η προσθήκη του πρέπει να γίνει αργά και υπό ψύξη.

Η χρήση της πυριδίνης ευνοεί την αντίδραση για δύο λόγους. Πρώτον, δρα ως βάση και εξουδετερώνει το HCl , που σχηματίζεται κατά τη διάρκεια της αντίδρασης. Δεύτερον, δρα ως καταλύτης, αυξάνοντας τη ταχύτητα της αντίδρασης με δύο τρόπους. Η πυριδίνη είναι ένα ισχυρό πυρηνόφιλο, το οποίο μπορεί να προσβάλλει καρβονυλικούς δεσμούς (ακετυλοχλωρίδιο) και να τους ενεργοποιεί, έτσι ώστε να μπορούν να προσβληθούν πιο εύκολα από άλλα ασθενέστερα πυρηνόφιλα (αλκοόλη). Επίσης, υποκινεί την αποπρωτονίωση του ενδιαμέσου μορίου που σχηματίζεται, για να μείνει, τελικά, ελεύθερο το επιθυμητό προϊόν (Σχήμα 82).



Σχήμα 82: Προτεινόμενος μηχανισμός αντίδρασης ακετυλίωσης της αλλυλικής αλκοόλης **76**.

Το αλλυλικό παράγωγο MBH **77**, στη συνέχεια, μετατράπηκε στο αντίστοιχο φωσφινικό οξύ **78** μέσω μιας αντίδρασης αλλυλικής υποκατάστασης. Η σύνθεση πραγματοποιήθηκε σε δύο στάδια. Αρχικά, έγινε σύνθεση *in situ* του σιλυλεστέρα του υποφωσφορώδους οξέος **67** με χρήση ξηρού $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_2$ και HMDS υπό ατμόσφαιρα Ar στους 110°C . Έπειτα, με προσθήκη (υπό ψύξη) του ενεργοποιημένου αλκενίου **77** σε διαλύτη ξηρό CH_2Cl_2 , η αντίδραση αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου και σχηματίζεται το επιθυμητό φωσφινικό οξύ (Σχήμα 83).¹⁸¹

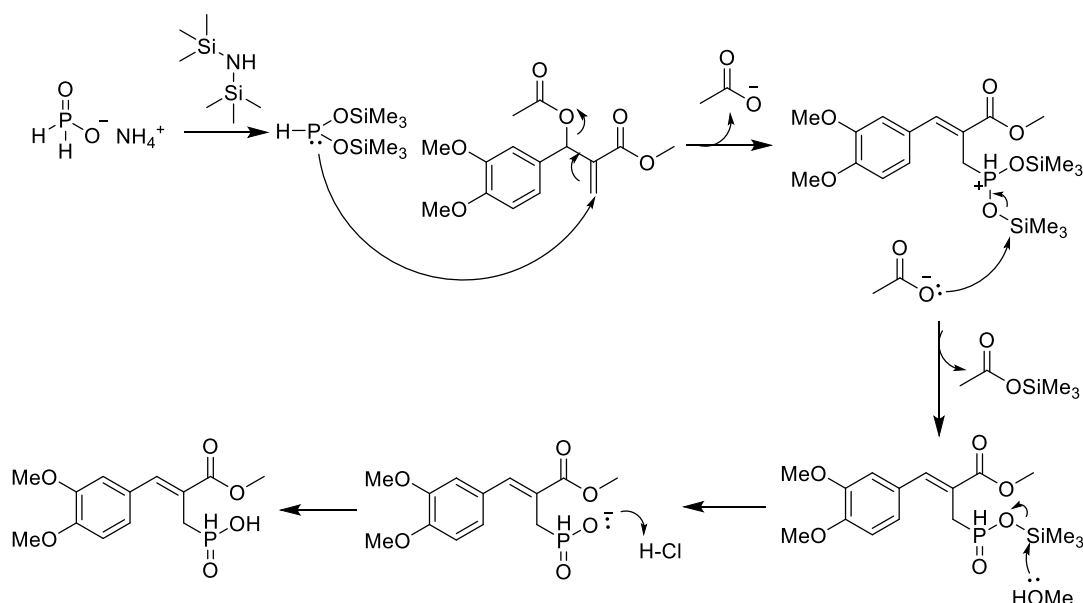


i) HMDS, Ar, 110°C , 2 h., ii) **77**, ξηρό CH_2Cl_2 , $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{r.t.}$, 24 h., iii) MeOH, HCl 6 N.

Σχήμα 83: Αντίδραση σύνθεσης φωσφινικού οξέος **78**.

Ο προτεινόμενος μηχανισμός της αντίδρασης σχηματισμού του φωσφινικού οξέος **78** φαίνεται στο Σχήμα 84. Έτσι, στο πρώτο στάδιο γίνεται ο σχηματισμός του ενδιάμεσου **67** που προσβάλλει το αλλυλικό παράγωγο, σχηματίζοντας έναν ενδιάμεσο φωσφινικό σιλυλεστέρα. Το ανιόν της ακυλομάδας που έχει ελευθερωθεί στο μίγμα της αντίδρασης, προσβάλλει

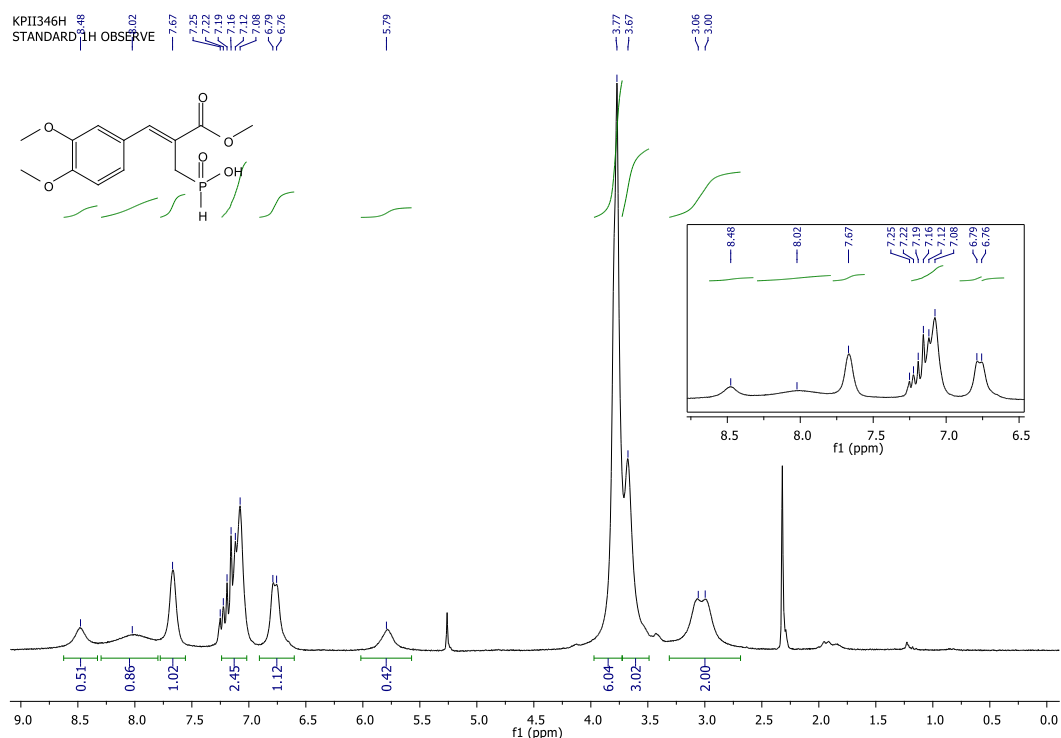
τον έναν σιλυλεστέρα, οπότε ελευθερώνεται το ένα οξυγόνο του φωσφινικού οξέος. Τέλος, με προσθήκη MeOH και διαλύματος HCl, γίνεται το σχάσιμο του εναπομείναντα σιλυλεστέρα, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό φωσφινικό οξύ (Σχήμα 84).



Σχήμα 84: Προτεινόμενος μηχανισμός αντίδρασης για τον σχηματισμό του φωσφινικού οξέος 78.

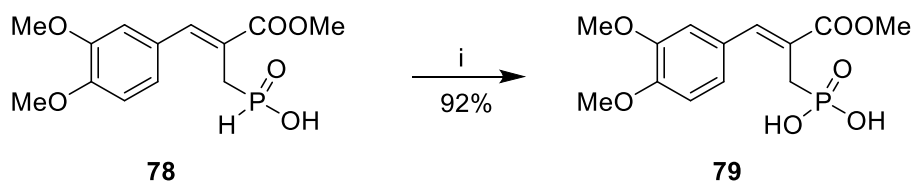
Πρέπει να σημειωθεί ότι, σε αυτή την περίπτωση του ενεργοποιημένου αλκενίου **77**, είναι απαραίτητο η προσθήκη του να γίνει υπό ψύξη για να αποφευχθεί ο σχηματισμός παραπροϊόντων.

Επίσης, πρέπει να τονισθεί ότι σε αυτή την αντίδραση σχηματίζεται μόνο το (*Z*) στερεοϊσομερές παράγωγο, κάτι το οποίο μπορεί εύκολα να αποδειχθεί από το φάσμα $^1\text{H NMR}$ της ένωσης (Σχήμα 85). Όπως φαίνεται στο φάσμα, στα 7.67 ppm εμφανίζεται μία απλή κορυφή, η οποία είναι χαρακτηριστική της ύπαρξης του (*Z*) ισομερούς μιας ένωσης. Αντιθέτως, η απουσία κορυφής σε υψηλότερα πεδία (7.00-6.90 ppm) δηλώνει τον μη σχηματισμό του (*E*) ισομερούς.²³²



Σχήμα 85: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης **78** σε διαλύτη CDCl_3 (200 MHz).

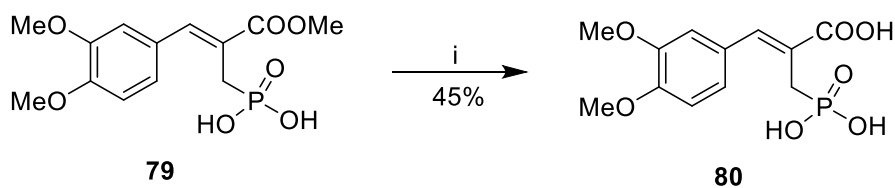
Ακολούθησε η σύνθεση του φωσφονικού οξέος της ένωσης **78**. Αρχικά, έγινε διάλυση της πρόδρομης ένωσης **78** σε ξηρό THF και με χρήση DMSO και καταλύτη I_2 και υπό αναρροή για 48 ώρες, παραλάβανεται το προϊόν **79** (Σχήμα 86):



i) DMSO, I_2 , ξηρό THF, 60°C , αναρροή, 48 h.

Σχήμα 86: Αντίδραση οξείδωσης του φωσφονικού οξέος **78**.

Στη συνέχεια το φωσφονικό οξύ **79** σαπωνοποιείται, οπότε σχηματίζεται το οξύ **80** (Σχήμα 87) με χρήση διαλύματος NaOH 4 N και διαλύτη MeOH:

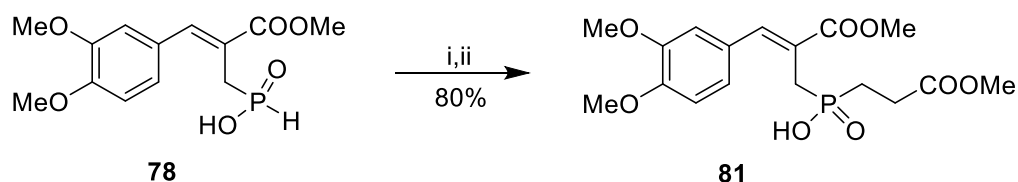


i) α) NaOH 4 N, MeOH, r.t., 7 μέρες., β) HCl 6 N.

Σχήμα 87: Αντίδραση σαπωνοποίησης του οξέος **79** με χρήση NaOH.

Η αντίδραση παρακολουθείται με φασματομετρία μάζας και TLC, όπου διαπιστώνεται ότι έχει καταναλωθεί όλη η ποσότητα του αρχικού οξέος **79**. Μετά το πέρας της αντίδρασης, το προϊόν παραλαμβάνεται ως το μετά νατρίου άλας του, οπότε μετά από οξίνιση με διάλυμα HCl 6 N έως pH = 1, εξαλάτωση και χρωματογραφικό καθαρισμό, παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν.

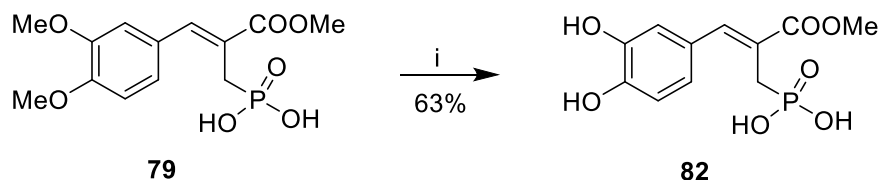
Για τη σύνθεση της σειράς ενώσεων των διυποκατεστημένων τελικών φωσφινικών οξέων, το φωσφινικό οξύ **78** υποβάλλεται σε δεύτερη υποκατάσταση, με χρήση Et₃N, TMSCl, ακρυλικού μεθυλεστέρα και διαλύτη ξηρό CH₂Cl₂ (Σχήμα 88). Οπότε προκύπτει το διυποκατεστημένο φωσφινικό οξύ **81**:



i) Et₃N, TMSCl, ακρυλικός μεθυλεστέρας, ξηρό CH₂Cl₂, Ar, 0°C → r.t., 24 h., ii) MeOH, HCl 6 N.

Σχήμα 88: Αντίδραση σύνθεσης διυποκατεστημένου φωσφινικού οξέος 81.

Για τη σύνθεση των τελικών μορίων αυτής της ομάδας ενώσεων, ακολούθησε, αρχικά, η αποπροστασία μόνο του κατεχολικού δακτυλίου τους, με χρήση του αντιδραστήριου BCl₃. Έτσι, από το προστατευμένο φωσφονικό οξύ **79** σε διαλύτη ξηρό CH₂Cl₂ υπό ατμόσφαιρα Ar, προέκυψε το τελικό μόριο **82** (Σχήμα 90):

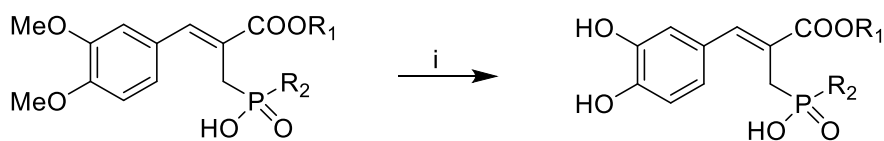


i) BCl₃ 1 M σε CH₂Cl₂, ξηρό CH₂Cl₂, Ar, 0°C → r.t., 72 h.

Σχήμα 89: Αντίδραση αποπροστασίας των φαινολικών υδροξυλίων της ένωσης 79 με χρήση BCl₃.

Τέλος, πραγματοποιήθηκε η αποπροστασία, τόσο των φαινολικών υδροξυλίων, όσο και των καρβοξυλικών οξέων των ενώσεων, με χρήση του

αντιδραστηρίου BBr_3 . Από τις ενώσεις **80** και **81**, σχηματίστηκαν τα τελικά **πλήρως** αποπροστατευμένα προϊόντα **83** και **84** και το **μερικώς** αποπροστατευμένο μόριο **85**, σύμφωνα με την αντίδραση (Σχήμα 90):



80: $R_1 = H, R_2 = OH$

81: $R_1 = Me, R_2 = (CH_2)_2COOMe$

83: $R_1 = H, R_2 = OH$

84: $R_1 = H, R_2 = (CH_2)_2COOH$

85: $R_1 = Me, R_2 = (CH_2)_2COOH$

i) BBr_3 1 M σε CH_2Cl_2 , ξηρό CH_2Cl_2 , Ar, $0^\circ C$ (4 h) \rightarrow r.t. (24 h).

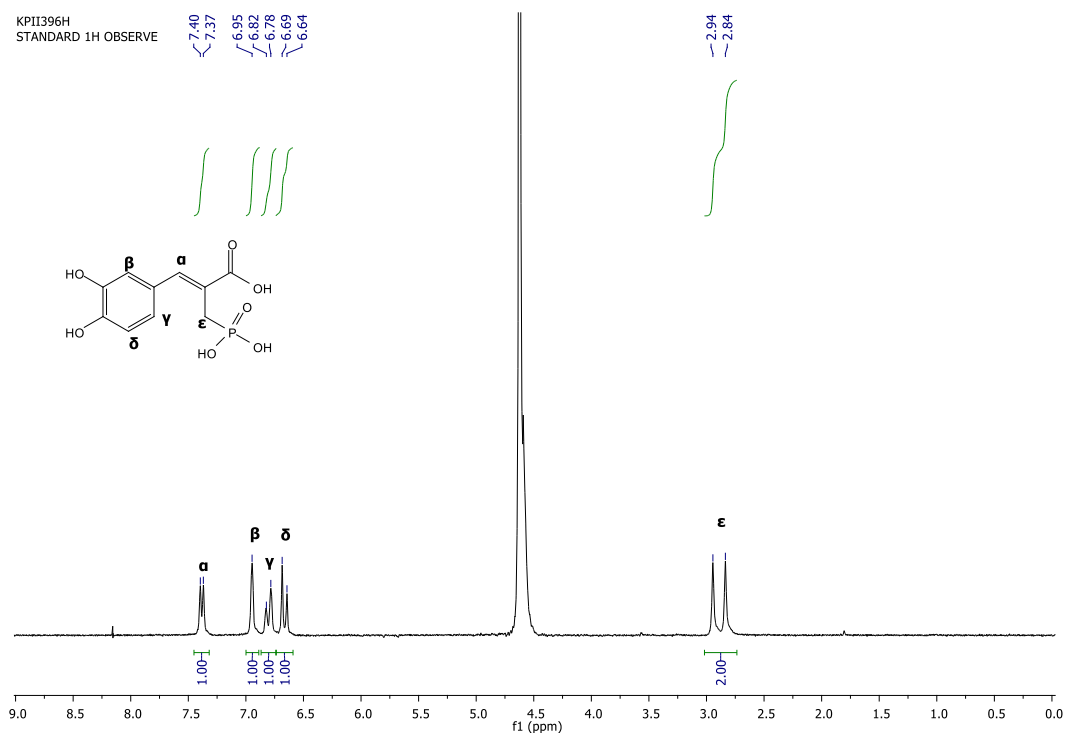
Σχήμα 90: Γενική αντίδραση αποπροστασίας των φαινολικών υδροξυλίων και των καρβοξυλικών οξέων με χρήση του BBr_3 .

Στην περίπτωση της πρόδρομης ένωσης **81**, προέκυψαν δύο προϊόντα, όπως ακριβώς είχε παρατηρηθεί και στην προηγούμενη ενότητα. Το προϊόν **84** ήταν το πλήρως αποπροστατευμένο παράγωγο (και το κύριο προϊόν της αντίδρασης), ενώ το μόριο **85** ήταν το μερικώς αποπροστατευμένο προϊόν. Στον Πίνακα 19 παρατίθενται τα τρία τελικά προϊόντα, καθώς και οι αποδόσεις τους:

Πίνακας 19: Οι αποδόσεις των αντιδράσεων απομεθυλίωσης και αποπροστασίας για τα τελικά προϊόντα **83**, **84** και **85**.

Ένωση	Απόδοση
<p>83</p>	36%
<p>84</p>	63%
<p>85</p>	17%

Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα φάσματα ^1H , ^{13}C και ^{31}P NMR της ένωσης **83**. Στο φάσμα ^1H NMR της ένωσης (Σχήμα 91), παρατηρείται μία διπλή κορυφή λόγω σχάσης στα 7.55 ppm, που οφείλεται στο σήμα του (**α**) πρωτονίου του διπλού δεσμού. Οι κορυφές στα 6.95-6.64 ppm οφείλονται στα (**β-δ**) αρωματικά πρωτόνια της ένωσης. Τέλος, τα (**ε**) δύο πρωτόνια που βρίσκονται σε α-θέση ως προς το άτομο του φωσφόρου συντονίζονται ως μια διπλή κορυφή στα 3.06 ppm.



Σχήμα 91: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης **83** σε διαλύτη D_2O (200 MHz).

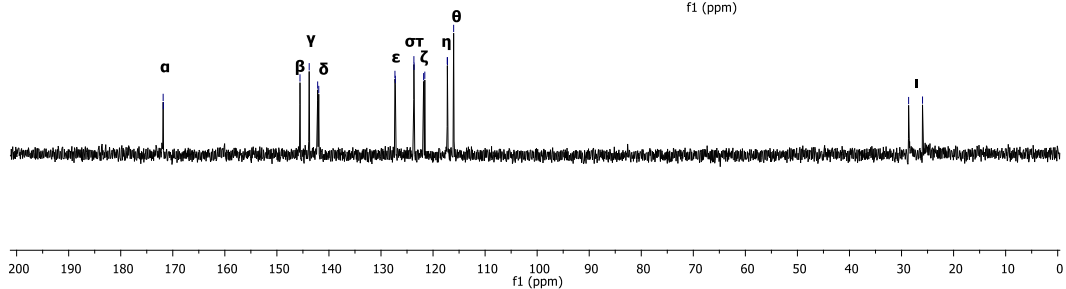
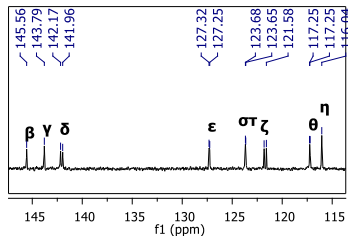
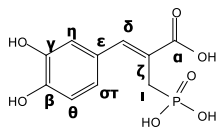
Στο φάσμα ^{13}C NMR (Σχήμα 92) για την ίδια ένωση, ο (**α**) καρβονυλικός άνθρακας συντονίζεται ως μια διπλή κορυφή στα 171.8 ppm. Ως δυο διπλές κορυφές στα 142.1 και 121.7 ppm εμφανίζονται οι (**δ, ζ**) άνθρακες του διπλού δεσμού. Οι υπόλοιπες κορυφές στην περιοχή 145.6-116.0 ppm οφείλονται στους (**β, γ, ε, στ, η και θ**) άνθρακες του κατεχολικού δακτυλίου της ένωσης. Τέλος, ο (**ι**) άνθρακας του μεθυλενίου της ένωσης εμφανίζει μια διπλή κορυφή στα 27.5 ppm.

KPII396_C13
13C OBSERVE

171.85
171.80

145.56
143.79
142.17
141.96
127.32
127.25
123.68
123.65
121.81
121.58
117.25
117.23
116.04

28.64
25.97

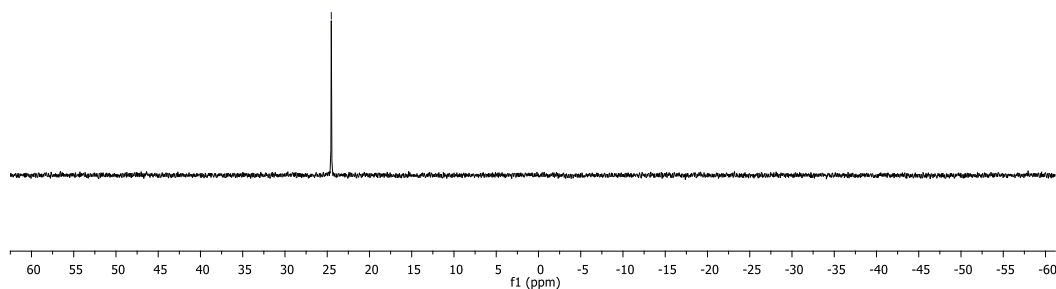
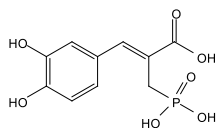


Σχήμα 92: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 83 σε διαλύτη D_2O (50 MHz).

Τέλος, το φάσμα ^{31}P NMR της ένωσης 83 (Σχήμα 93), εμφανίζει μία κορυφή σε χημική μετατόπιση 24.52 ppm λόγω του ατόμου του φωσφόρου της ένωσης.

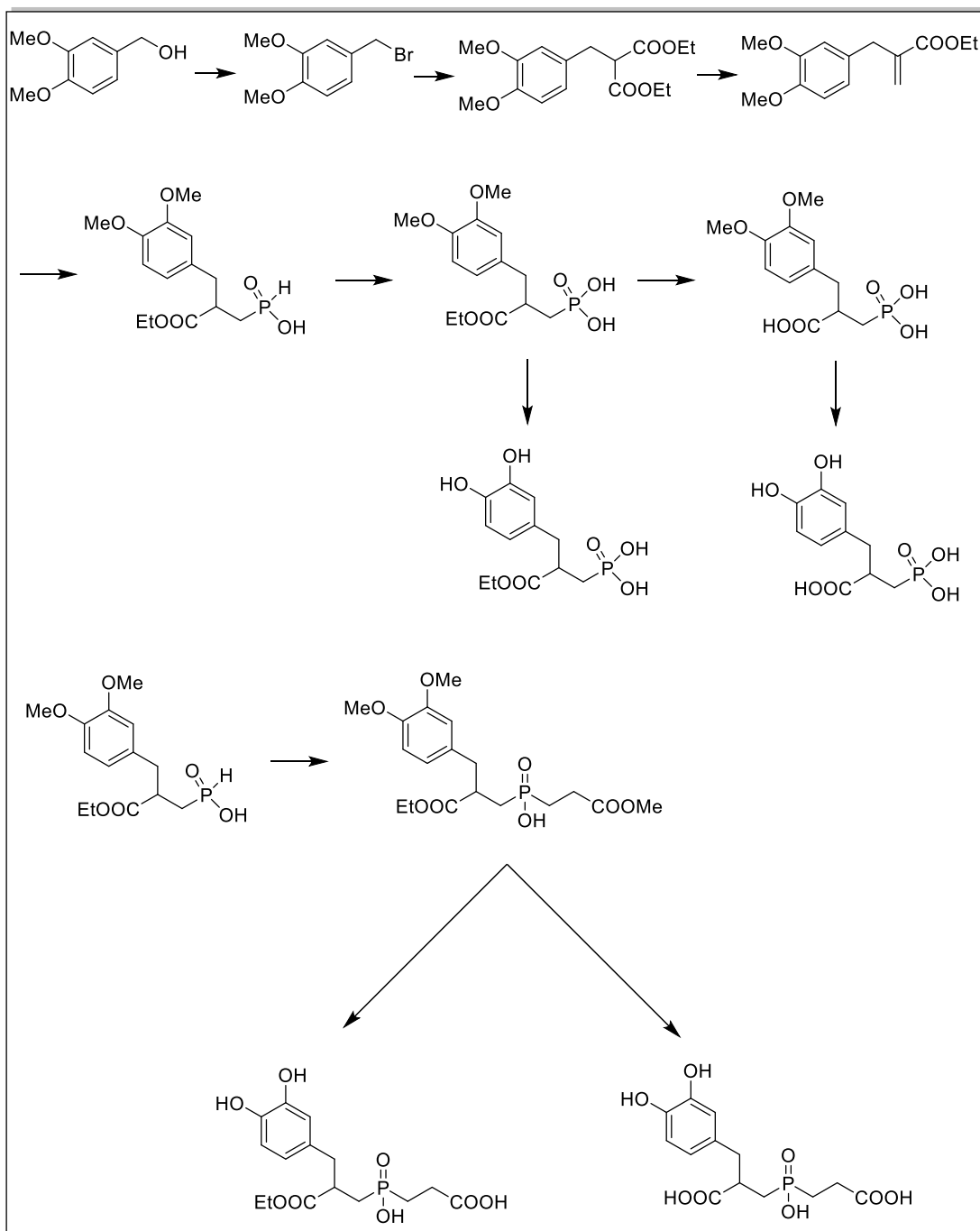
KPII396P
SURVEY PHOSPHORUS PARAMETERS

24.52



Σχήμα 93: Φάσμα ^{31}P NMR της ένωσης 83 σε διαλύτη D_2O (81 MHz).

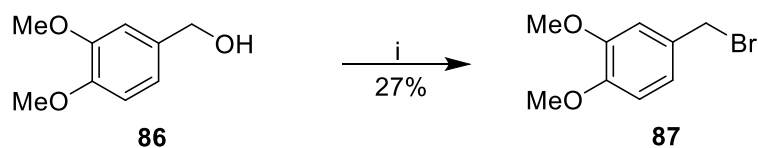
4.2.3 Συνθετική πορεία κατεχολικών οργανοφωσφορικών παραγώγων όπου το άτομο του φωσφόρου απέχει τέσσερις απλούς δεσμούς από τον κατεχολικό δακτύλιο



Σχήμα 94: Συνθετική πορεία κατεχολικών οργανοφωσφορικών παραγώγων όπου το άτομο του φωσφόρου απέχει τέσσερις απλούς δεσμούς από τον κατεχολικό δακτύλιο.

Η γενική πορεία σύνθεσης της τρίτης ομάδας οργανοφωσφορικών ενώσεων παρουσιάζεται στο Σχήμα 94. Αρχικά, σχηματίστηκε με πρώτη ύλη την (3,4-διμεθοξυφαινυλο)μεθανόλη **86** και με χρήση του

αντιδραστηρίου τριβρωμιδίου του φωσφόρου (phosphorus tribromide, PBr_3) σε διαλύτη ξηρό διαιθυλαιθέρα, το βρωμίδιο **87** (Σχήμα 95).²³³

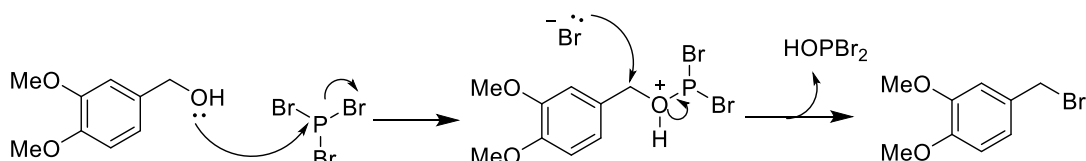


i) PBr_3 , ξηρός Et_2O , 0°C (1 h) \rightarrow r.t. (4 h).

Σχήμα 95: Αντίδραση βρωμίωσης της (3,4-διμεθοξυφαινυλο)μεθανόλης.

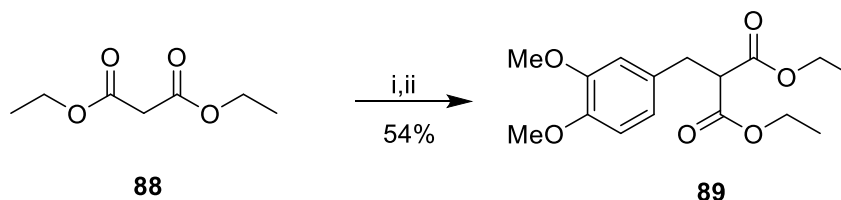
Μία από τις πιο συχνές μεθόδους μετατροπής αλκοολών σε αλκυλοβρωμίδια, είναι αυτή όπου χρησιμοποιείται PBr_3 . Κατά τη χρήση του, δύναται να σχηματιστεί HBr , που είναι διαβρωτικό, οπότε απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή και γι' αυτό η αντίδραση αρχικά γίνεται υπό ψύξη. Επίσης, το PBr_3 προτιμάται από το HBr σε αυτές τις αντιδράσεις, καθώς οδηγεί σε υψηλότερες αποδόσεις βρωμίωσης. Επιπλέον, η χρήση του HBr αποφεύγεται, διότι παρουσιάζει ισχυρή οξύτητα και προκαλεί αναδιατάξεις στους άνθρακες των μορίων.

Η βρωμίωση των αλκοολών πραγματοποιείται σε δύο στάδια (Σχήμα 96). Στο πρώτο στάδιο γίνεται ενεργοποίηση του οξυγόνου της αλκοόλης, καθώς προσβάλλει τον φώσφορο του PBr_3 , αντικαθιστώντας το ένα βρώμιο του και έτσι μετατρέπεται σε εύκολα αποχωρούσα ομάδα. Στη συνέχεια, ο φωσφορικός εστέρας που σχηματίστηκε, υπόκεινται σε αντίδραση $\text{S}_{\text{N}}2$, όπου πραγματοποιείται υποκατάσταση στον άνθρακα. Δηλαδή, το ανιόν βρωμίου που αποσπάστηκε από το PBr_3 δρα ως πυρηνόφιλο και προσβάλλει τον άνθρακα του ανόργανου εστέρα, σχηματίζοντας έναν δεσμό C-Br , οπότε σχάζεται ταυτόχρονα ο δεσμός C-O . Έτσι, συντίθεται το αλκυλοβρωμίδιο και στο διάλυμα ελευθερώνεται HOPBr_2 . Το HOPBr_2 που σχηματίστηκε, μπορεί έπειτα να αντιδράσει με δύο μόρια αλκοόλης και να σχηματίσει το επιθυμητό βρωμίδιο, ελευθερώνοντας H_3PO_3 . Δηλαδή, και τα τρία βρώμια του αντιδραστηρίου δύνανται να αντιδράσουν με την αλκοόλη.



Σχήμα 96: Προτεινόμενος μηχανισμός βρωμίωσης της αλκοόλης 86.

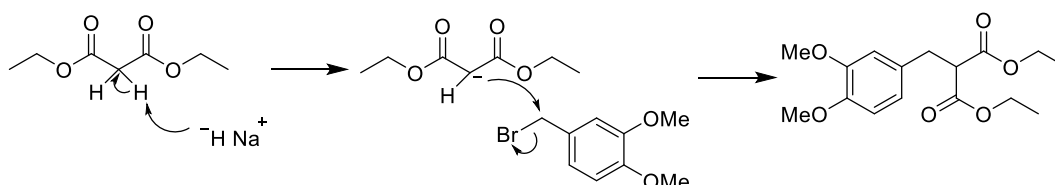
Το βρωμίδιο **87**, στη συνέχεια, αντιδρά με τον διαιθυλεστέρα του μηλονικού οξέος (diethyl malonate) **88** παρουσία βάσης υδριδίου του νατρίου (NaH) και διαλύτη ξηρό διμεθυλοφορμαμίδιο (dimethylformamide, DMF), οπότε προκύπτει ο αλκυλιωμένος διαιθυλεστέρας του μηλονικού οξέος **89** (Σχήμα 97):²³⁴



i) NaH 60%, ξηρό DMF, r.t., 20 λεπτά., ii) **87**, ξηρό DMF, 60°C, 19 h.

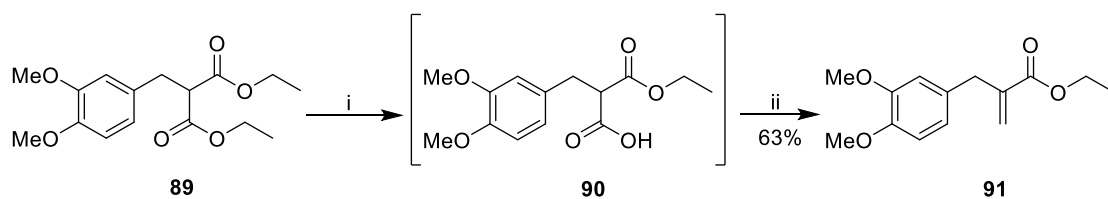
Σχήμα 97: Αντίδραση αλκυλίωσης τους μηλονικού εστέρα **88** με το βρωμίδιο **87**.

Στον προτεινόμενο μηχανισμό της αντίδρασης, το NaH ως ισχυρή βάση, αποπρωτονιώνει τον α-άνθρακα που βρίσκεται ανάμεσα από τα δύο καρβονύλια του εστέρα. Το ανιόν του μηλονικού εστέρα που σχηματίζεται δρα ως πυρηνόφιλο και προσβάλλει το βρωμίδιο, οπότε με αντίδραση υποκατάστασης συντίθεται ο αλκυλιωμένος εστέρας και ελευθερώνεται Br⁻ (Σχήμα 98):



Σχήμα 98: Προτεινόμενος μηχανισμός αλκυλίωσης του διαιθυλεστέρα του μηλονικού οξέος με το βρωμίδιο **87**.

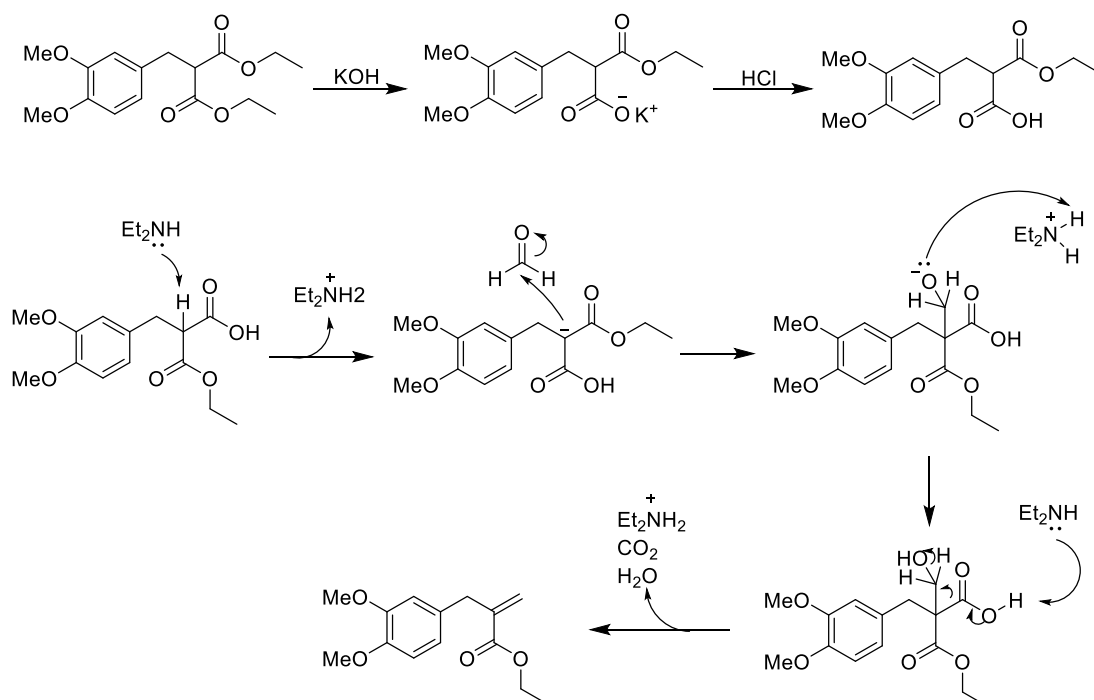
Στη συνέχεια της σύνθεσης, ο μηλονικός εστέρας **89** υπόκειται σε μερική σαπωνοποίηση με χρήση βάσης υδροξειδίου του καλίου (KOH) σε διαλύτη απόλυτη αιθανόλη (EtOH), σχηματίζοντας, έτσι, το ενδιάμεσο **90**, που παραλαμβάνεται έπειτα από οξίνιση με διάλυμα HCl 6 N (Σχήμα 100). Το παράγωγο **90**, ακολούθως, διαλύεται σε διάλυμα 37% φορμαλδεΐδης σε νερό, σε CH₂Cl₂ και σε H₂O. Με προσθήκη διαιθυλαμίνης (diethylamine, Et₂NH), το μονοξύ **90** μετατρέπεται στον ακρυλικό εστέρα **91** (Σχήμα 99):²³⁴



i) KOH, απόλυτη EtOH, 0°C → r.t., 24 h., ii) Et₂NH, HCHO/H₂O 37%, H₂O, CH₂Cl₂, 0°C → r.t., 24 h.

Σχήμα 99: Αντίδραση μονο-σαπωνοποίησης του παραγώγου 89 και άμεση μετατροπή του ενδιάμεσου 90 προς τον ακρυλικό εστέρα 91.

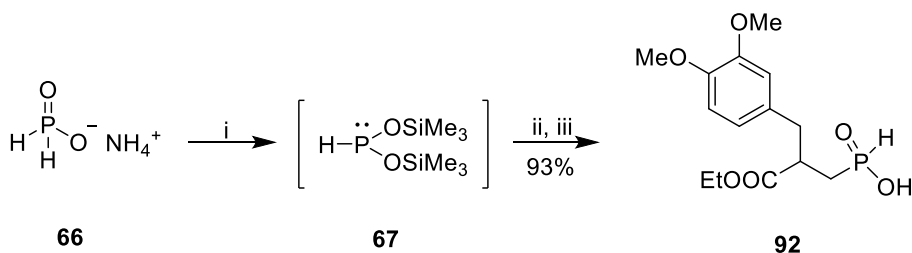
Στον προτεινόμενο μηχανισμό της αντίδρασης (Σχήμα 100), ο μηλονικός εστέρας **89** σαπωνοποιείται μερικώς από τη βάση και το προϊόν παραλαμβάνεται υπό την μορφή μετά καλίου άλατος. Έτσι, κατά την κατεργασία της αντίδρασης γίνεται οξίνιση της υδατικής φάσης με διάλυμα HCl 6 N. Στη συνέχεια, η Et₂NH αποσπά το πρωτόνιο του άνθρακα που βρίσκεται μεταξύ των δύο καρβονυλικών δεσμών, οπότε το προκύπτον πυρηνόφιλο προσβάλλει τον άνθρακα της φορμαλδεΐδης. Στο ενδιάμεσο που σχηματίζεται, το οξυγόνο της φορμαλδεΐδης αποσπά το πρωτόνιο του κατιόντος της διαιθυλαμίνης. Έπειτα, η βάση αποσπά το πρωτόνιο του οξέος και με εσωτερική αναδιάταξη, απευλευθερώνεται CO₂ και H₂O, οπότε σχηματίζεται το επιθυμητό προϊόν.



Σχήμα 100: Προτεινόμενος μηχανισμός σχηματισμού του ακρυλικού εστέρα 91.

Κατά τη δεύτερη αντίδραση η ανάδευση πρέπει να είναι πολύ ισχυρή, καθώς το νερό και το διχλωρομεθάνιο δεν αναμειγνύονται, οπότε μόνο με έντονη ανάδευση θα πραγματοποιηθεί η αντίδραση. Η αναγραφόμενη απόδοση αφορά και τα δύο στάδια της αντίδρασης και δεν αντιστοιχεί μόνο στη δεύτερη.

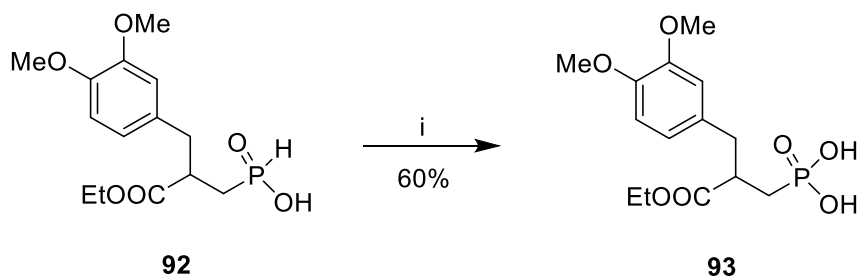
Η ένωση **91**, στη συνέχεια, υποβλήθηκε σε αντίδραση *P*-Michael, έτσι ώστε να σχηματιστεί το αντίστοιχο φωσφινικό οξύ **92**. Όπως και στις προηγούμενες ενότητες, αρχικά, έγινε σύνθεση *in situ* του σιλυλεστέρα **67** με χρήση ξηρού $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_2$ **66** και HMDS υπό ατμόσφαιρα Ar στους 110°C . Το επιθυμητό φωσφινικό οξύ **92**, έπειτα, σχηματίστηκε με προσθήκη της ακόρεστης ένωσης **91** διαλυμένη σε ξηρό CH_2Cl_2 (Σχήμα 101):



i) HMDS, Ar, 110°C , 2 h., ii) **91**, ξηρό CH_2Cl_2 , r.t., 24 h., iii) MeOH, HCl 6 N.

Σχήμα 101: Αντίδραση σύνθεσης φωσφινικού οξέος 92.

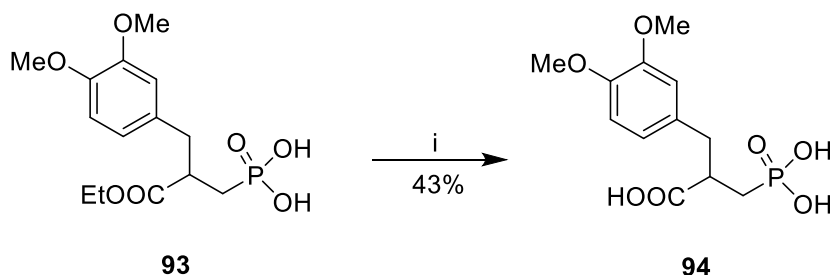
Ακολούθως, πραγματοποιήθηκε η οξειδωση του φωσφινικού οξέος **92** στο αντίστοιχο φωσφονικό οξύ **93**. Το φωσφονικό οξύ **93** προέκυψε μετά από διάλυση του παραγώγου **92** σε ξηρό THF και με προσθήκη DMSO και I_2 , πραγματοποιήθηκε η αντίδραση οξειδωσης του στους 60°C και υπό αναρροή για 48 ώρες (Σχήμα 102):



i) DMSO, I_2 , ξηρό THF, 60°C , αναρροή, 48 h.

Σχήμα 102: Αντίδραση οξειδωσης του φωσφινικού οξέος 92 προς το φωσφονικό οξύ 93.

Έπειτα, το φωσφονικό οξύ **93** μέσω μέσω αλκαλικής υδρόλυσης, μετατράπηκε στο καρβοξυλικό οξύ **94** με χρήση διαλύματος NaOH 4 N και διαλύτη MeOH (Σχήμα 103):

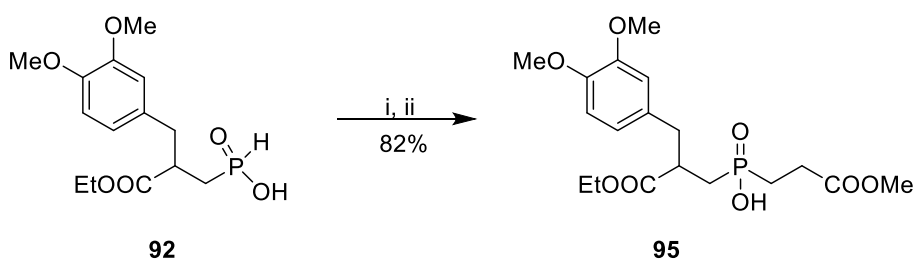


i) α) NaOH 4 N, MeOH, r.t., 7 μέρες., β) HCl 6 N.

Σχήμα 103: Αντίδραση σαπωνοποίησης του οξέος 93 με χρήση NaOH.

Μετά το πέρας της αντίδρασης, το προϊόν παραλαμβάνεται ως το μετά νατρίου άλας του, οπότε μετά από οξίνιση με διάλυμα HCl 6 N έως pH = 1, εξαλάτωση και χρωματογραφικό καθαρισμό, παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν.

Στη συνέχεια της σύνθεσης, το φωσφονικό οξύ **92** υπεβλήθει σε δεύτερη υποκατάσταση με μια αντίδραση προσθήκης *P*-Michael. Η διαδικασία αυτή επιτεύχθηκε με χρήση Et₃N, TMSCl, ακρυλικού μεθυλεστέρα και διαλύτη ξηρό CH₂Cl₂ (Σχήμα 104), οπότε και προέκυψε το παράγωγο **95**:

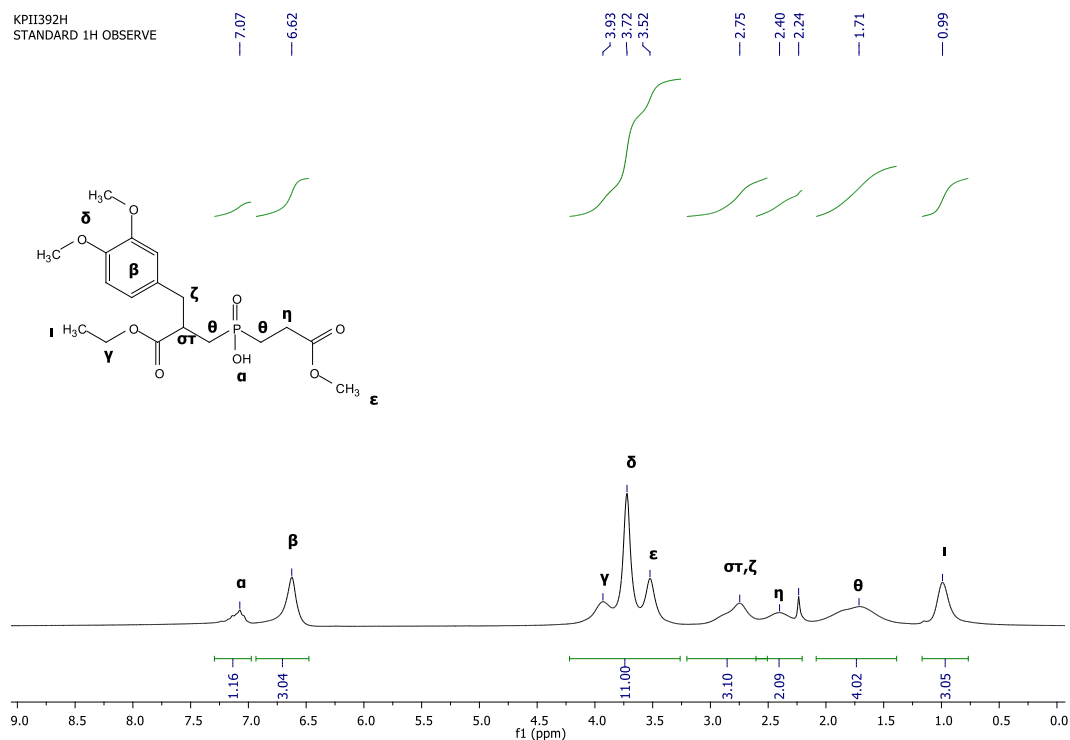


i) Et₃N, TMSCl, ακρυλικός μεθυλεστέρας, ξηρό CH₂Cl₂, Ar, 0°C → r.t., 24 h., ii) MeOH, HCl 6 N.

Σχήμα 104: Αντίδραση σύνθεσης διυποκατεστημένου φωσφονικού οξέος 95.

Στα επόμενα σχήματα φαίνονται τα φάσματα ¹H, ¹³C και ³¹P NMR της ένωσης **95**. Στο φάσμα ¹H NMR της ένωσης (Σχήμα 105), στα 7.07 ppm παρατηρείται μία απλή κορυφή, η οποία οφείλεται στο (α) πρωτόνιο του υδροξυλίου που ενώνεται με τον φώσφορο, ενώ η κορυφή στα 6.62 ppm οφείλεται στα (β) αρωματικά πρωτόνια της ένωσης. Οι κορυφές στα 3.93,

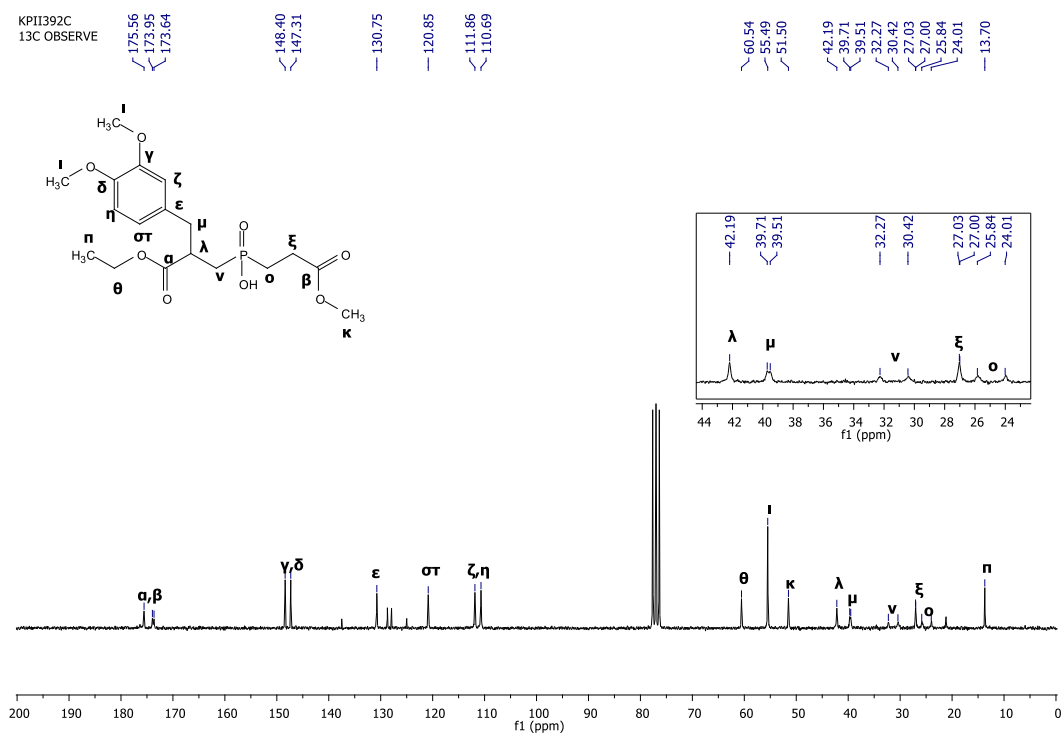
3.72 και 3.52 ppm οφείλονται στα (γ) εστερικά πρωτόνια του μεθυλενίου, των (δ) πρωτονίων των μεθόξυ ομάδων και των εστερικών πρωτονίων (ε) του μεθυλίου, αντίστοιχα. Το (στ) πρωτόνιο του τριτοταγή άνθρακα και τα (ζ) πρωτόνια συντονίζονται μαζί στα 2.75 ppm και τα (η) α-καρβονυλικά πρωτόνια στα 2.24 ppm. Τα (θ) πρωτόνια που βρίσκονται δίπλα στον φώσφορο εμφανίζουν μια κορυφή στα 1.71 ppm, ενώ τέλος τα (ι) πρωτόνια του μεθυλίου εμφανίζουν κορυφή στα 0.99 ppm.



Σχήμα 105: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 95 σε διαλύτη CDCl_3 (200 MHz).

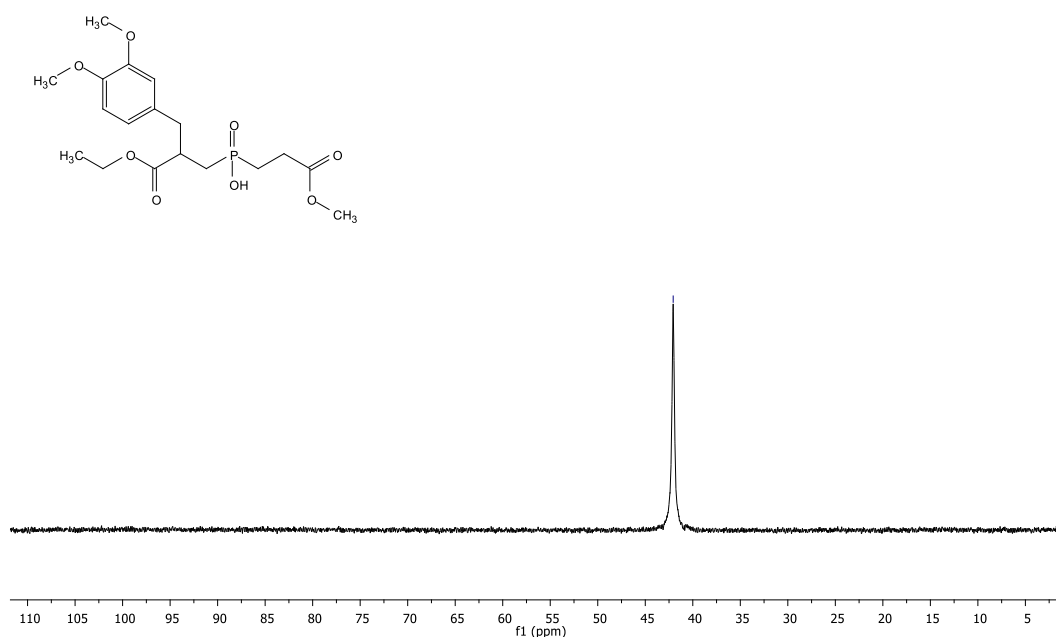
Στο φάσμα ^{13}C NMR της ίδιας ένωσης (Σχήμα 106), στα 175.6 ppm συντονίζεται ο (α) καρβονυλικός άνθρακας και στα 173.8 ppm ως μια διπλή κορυφή λόγω σχάσης από το άτομο του φωσφόρου, συντονίζεται ο (β) καρβονυλικός άνθρακας. Οι κορυφές από 148.4 έως 110.7 ppm αντιστοιχούν στους (γ-η) αρωματικούς άνθρακες της ένωσης. Ο (θ) εστερικός άνθρακας εμφανίζει κορυφή στα 60.4 ppm, ενώ οι (ι) άνθρακες των μεθόξυ ομάδων στα 55.5 ppm. Η κορυφή στα 51.0 ppm οφείλεται στον (κ) εστερικό άνθρακα του μεθυλίου της ένωσης και η κορυφή στα 42.2 ppm στον (λ) τριτοταγή α-καρβονυλικό άνθρακα. Ως μία διπλή κορυφή λόγω σχάσης από τον φώσφορο, συντονίζεται ο (μ) άνθρακας του μεθυλενίου δίπλα από τον αρωματικό δακτύλιο, ενώ ως μια, επίσης, διπλή κορυφή

συντονίζεται και ο (ν) άνθρακας στα 31.4 ppm. Στα 27.0 ppm η διπλή κορυφή αντιστοιχεί στον (ξ) α-καρβονυλικό άνθρακα και η διπλή κορυφή στα 24.9 ppm στον (ο) άνθρακα που βρίσκεται σε α-θέση ως προς τον φώσφορο. Τέλος, ο (π) άνθρακας του μεθυλίου εμφανίζει κορυφή στα 13.7 ppm.



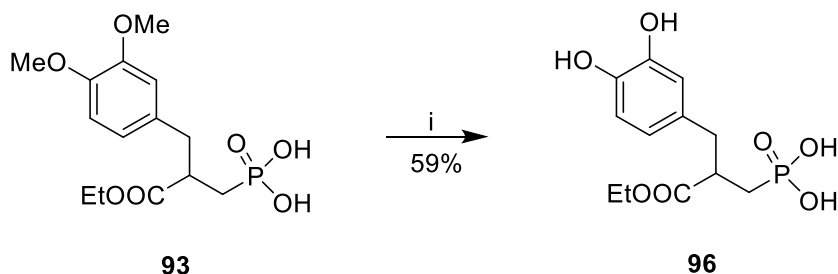
Σχήμα 106: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης **95** σε διαλύτη CDCl_3 (50 MHz).

Τέλος, στο φάσμα ^{31}P NMR της ένωσης **95** (Σχήμα 107), στα 42.06 ppm εμφανίζεται η κορυφή που οφείλεται στο άτομο του φωσφόρου της ένωσης.



Σχήμα 107: Φάσμα ^{31}P NMR της ένωσης 95 σε διαλύτη CDCl_3 (81 MHz).

Ακολούθησε η αποπροστασία του κατεχολικού δακτυλίου της ένωσης 93 με χρήση BCl_3 σε διαλύτη ξηρό CH_2Cl_2 , με αποτέλεσμα τον σχηματισμό του τελικού παραγώγου 96 (Σχήμα 108):

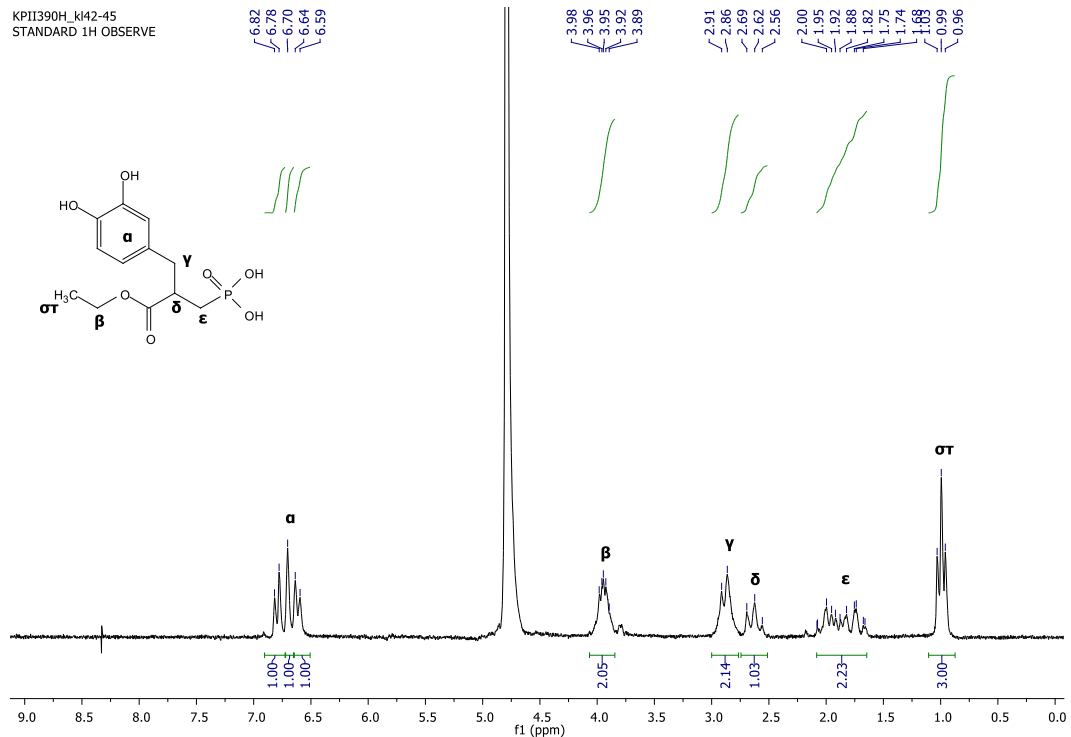


i) BCl_3 1 M σε CH_2Cl_2 , ξηρό CH_2Cl_2 , Ar, $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{r.t.}$, 72 h.

Σχήμα 108: Αντίδραση αποπροστασίας των φαινολικών υδροξυλίων της ένωσης 93 με χρήση BCl_3 .

Ακολουθούν τα φάσματα ^1H , ^{13}C και ^{31}P NMR της ένωσης 96. Στο φάσμα ^1H NMR (Σχήμα 109), παρατηρείται μια κορυφή στα 6.82-6.59 ppm που οφείλεται στα (α) αρωματικά πρωτόνια της ένωσης. Τα (β) εστερικά πρωτόνια συντονίζονται ως μια πολλαπλή κορυφή στα 3.98-3.89 ppm, ενώ τα δυο (γ) πρωτόνια του μεθυλενίου δίπλα από τον κατεχολικό δακτύλιο ως μια διπλή κορυφή στα 2.88 ppm. Η τριπλή κορυφή στα 2.62 ppm

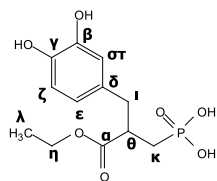
εμφανίζεται λόγω του (δ) πρωτονίου του μεθινίου της ένωσης και η πολλαπλή κορυφή στα 2.00-1.68 ppm λόγω των (ε) πρωτονίων του άνθρακα που βρίσκεται σε α-θέση ως προς το άτομο του φωσφόρου. Τέλος, το σήμα της χημικής μετατόπισης των (στ) πρωτονίων του μεθυλίου συντονίζεται ως μια τριπλή κορυφή στα 0.99 ppm.



Σχήμα 109: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 96 σε διαλύτη D_2O (200 MHz).

Στο φάσμα ^{13}C NMR (Σχήμα 110) για την ίδια ένωση, η διπλή κορυφή στα 177.9 ppm αντιστοιχεί στον (α) καρβονυλικό άνθρακα της ένωσης. Στα 143.8-116.2 ppm εμφανίζονται οι κορυφές των (β-ζ) αρωματικών ανθράκων της ένωσης και στα 61.8 ppm η κορυφή του (η) εστερικού άνθρακα. Η διπλή κορυφή στα 43.9 ppm οφείλεται στον (θ) α-καρβονυλικό άνθρακα της ένωσης, ενώ η διπλή κορυφή στα 39.3 ppm στον (ι) άνθρακα του μεθυλενίου. Ο (κ) άνθρακας που βρίσκεται δίπλα στον φώσφορο συντονίζεται ως μια διπλή κορυφή στα 30.4 ppm, ενώ ο (λ) άνθρακας του μεθυλίου στα 13.2 ppm.

KPII390_k142-45
13C OBSERVE



143.79
142.53

131.43

121.34

116.72
116.17

61.77

43.98

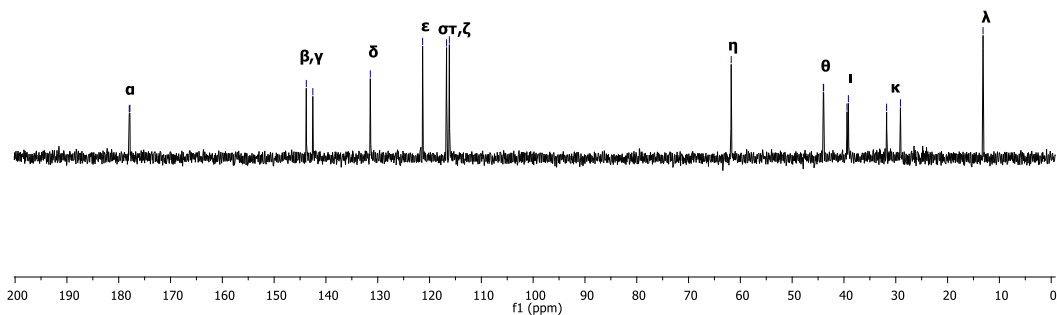
39.41

39.15

31.77

29.10

13.15

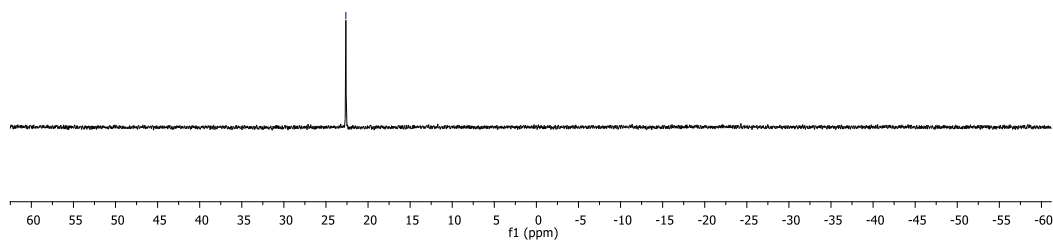
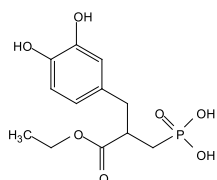


Σχήμα 110: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 96 σε διαλύτη D_2O (50 MHz).

Τέλος, στο φάσμα ^{31}P NMR (Σχήμα 111) της τελικής ένωσης 96, παρατηρείται μια κορυφή στα 22.63 ppm, η οποία οφείλεται στο άτομο του φωσφόρου της ένωσης.

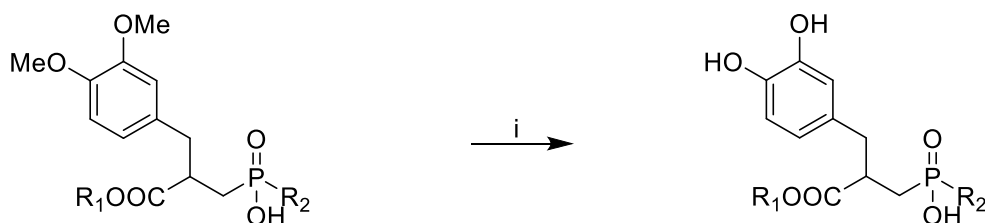
KPII390P_k142-45
SURVEY PHOSPHORUS PARAMETERS

22.63



Σχήμα 111: Φάσμα ^{31}P NMR της ένωσης 96 σε διαλύτη D_2O (81 MHz).

Στο τελευταίο στάδιο της σύνθεσης αυτής, με χρήση BBr_3 σε ξηρό CH_2Cl_2 , οι πρόδρομες ενώσεις **94** και **95** υπέστησαν αποπροστασία των φαινολικών υδροξυλίων τους, καθώς και αποπροστασία των οξέων, οπότε προέκυψαν τα τελικά μόρια **97**, **98** και **99** (Σχήμα 112):



94: $R_1 = H, R_2 = OH$

95: $R_1 = Et, R_2 = (CH_2)_2COOMe$

97: $R_1 = H, R_2 = OH$

98: $R_1 = Et, R_2 = (CH_2)_2COOH$

99: $R_1 = H, R_2 = (CH_2)_2COOH$

i) BBr_3 1 M σε CH_2Cl_2 , ξηρό CH_2Cl_2 , Ar, $0^\circ C$ (4 h) \rightarrow r.t. (24 h).

Σχήμα 112: Γενική αντίδραση αποπροστασίας των φαινολικών υδροξυλίων και των καρβοξυλικών οξέων με χρήση του BBr_3 .

Και σε αυτή την περίπτωση της αντίδρασης του διυποκατεστημένου φωσφινικού οξέος **95**, παραλάβαμε δύο προϊόντα. Το κύριο προϊόν ήταν το πλήρως αποπροστατευμένο μόριο **99**, ενώ σε πολύ μικρότερη ποσότητα σχηματίστηκε και το μερικώς αποπροστατευμένο παράγωγο **98**. Παρακάτω παρουσιάζονται οι αποδόσεις των αντιδράσεων αποπροστασίας με χρήση του αντιδραστήριου BBr_3 (Πίνακας 20):

Πίνακας 20: Οι αποδόσεις των αντιδράσεων απομεθυλίωσης και αποπροστασίας για τα τελικά προϊόντα **97**, **98** και **99**.

Ένωση	Απόδοση
<p style="text-align: center;">97</p>	35%

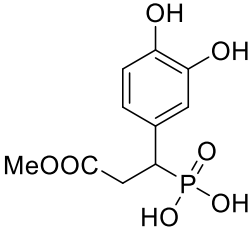
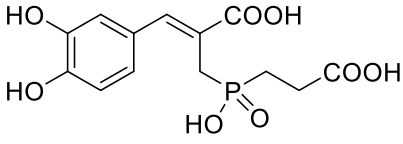
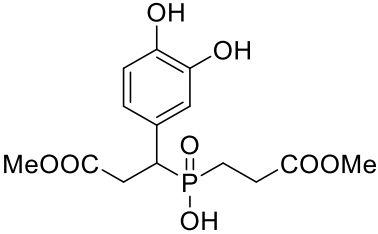
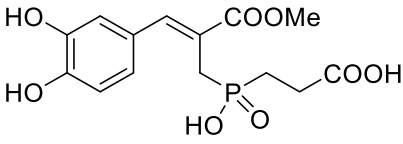
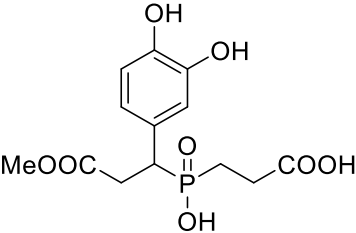
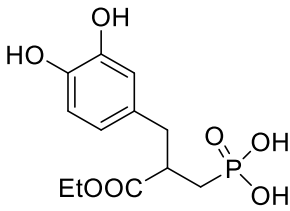
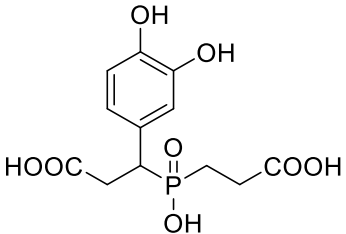
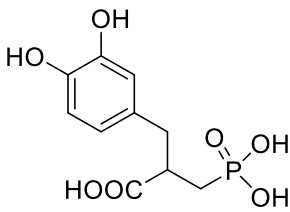
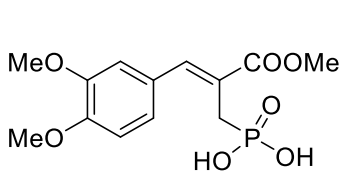
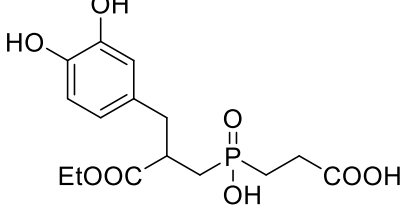
<p style="text-align: center;">98</p>	23%
<p style="text-align: center;">99</p>	71%

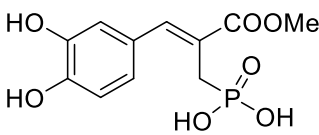
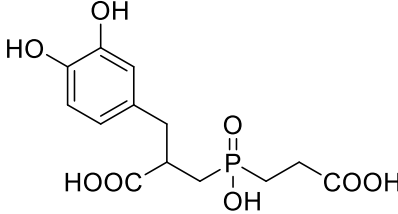
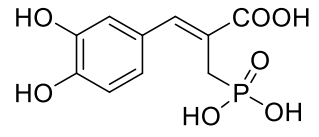
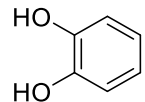
4.2.4 Ενζυμικά αποτελέσματα

Οι τελικές οργανοφωσφορικές ενώσεις **71-74**, **79**, **82-85** και **96-99**, η σύνθεση των οποίων περιγράφεται στις προηγούμενες ενότητες, ελέγχθηκαν ως προς τις ανασταλτικές τους ιδιότητες κατά του ενζύμου της ουρεάσης του βακτηρίου *S. pasteurii*. Τα *in vitro* βιολογικά πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο Τμήμα Βιοοργανικής Χημείας του Πανεπιστημίου Wrocław στην Πολωνία από την ερευνητική ομάδα του Αναπληρωτή Καθηγητή Łukasz Berlicki .

Αρχικά, υπολογίστηκαν οι τιμές IC₅₀ για την αναστολή της ουρεάσης του *S. Pasteurii*, οι οποίες ελήφθησαν αφού προηγήθηκε προεπώαση της ουρεάσης για 60 λεπτά. Ως ένωση αναφοράς χρησιμοποιήθηκε το μόριο της κατεχόλης **100**, η τιμή IC₅₀ της οποίας ήταν υψηλότερη σε σχέση με τις τιμές των αναστολέων που μελετήθηκαν (Πίνακας 21).

Πίνακας 21: Οι τιμές IC₅₀ που λήφθηκαν για τους αναστολείς που συντέθηκαν έναντι της ουρεάσης του *S. pasturii* μετά από 60 λεπτά προεπώασης.

Ένωση	IC ₅₀ [μM]	Ένωση	IC ₅₀ [μM]
 <p>71</p>	16.1 ± 1.2	 <p>84</p>	264.3 ± 16.9
 <p>72</p>	93.4 ± 7.4	 <p>85</p>	156.7 ± 14.6
 <p>73</p>	7.6 ± 0.4	 <p>96</p>	25.3 ± 3.1
 <p>74</p>	205.6 ± 15.2	 <p>97</p>	384.6 ± 22.6
 <p>79</p>	151.8 ± 19.2	 <p>98</p>	206 ± 16.5

 <p style="text-align: center;">82</p>	31.1 ± 2.6	 <p style="text-align: center;">99</p>	532.7 ± 59.2
 <p style="text-align: center;">83</p>	24.4 ± 3.6	 <p style="text-align: center;">100</p>	486.3 ± 38.2

Στη συνέχεια, ελέγχθηκε αν οι αναστολείς που συντέθηκαν, συνδέονταν αντιστρεπτά ή μη αντιστρεπτά με το ένζυμο. Έτσι, μελετήθηκαν τα ποσοστά ανάκτησης της αρχικής δράσης του ενζύμου, όταν αυτό συμπλέχθηκε με τους αναστολείς. Αν το αποτέλεσμα του ρυθμού ανάκτησης ενός αναστολέα ήταν χαμηλό, επρόκειτο για έναν ομοιοπολικό και μη αντιστρεπτό τρόπο σύνδεσης. Σε αντίθετη περίπτωση, οι αναστολείς ήταν αντιστρεπτοί. Τα ποσοστά ανάκτησης της δράσης της ουρεάσης, καθώς και η φύση των αναστολέων καταγράφονται στον Πίνακα 22:

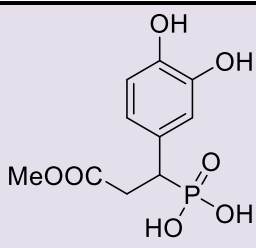
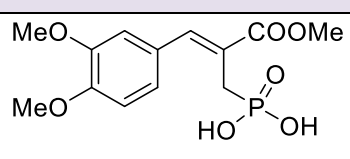
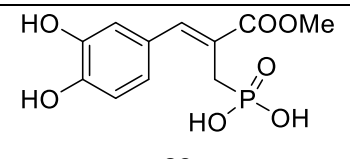
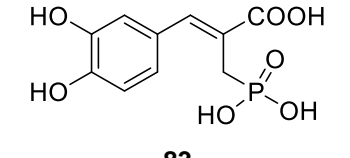
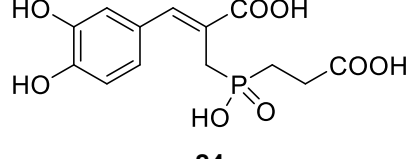
Πίνακας 22: Αντιστρεψιμότητα της αναστολής της ουρεάσης του *S. pasteurii* από τους αναστολείς που συντέθηκαν και η φύση του κάθε αναστολέα.

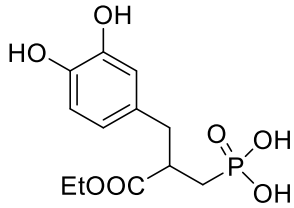
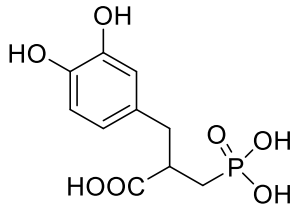
Ένωση	Ανάκτηση αρχικής δραστηριότητας [%]	Φύση αναστολέα
71	41 ± 6	Αντιστρεπτός
73	5 ± 2	Μη αντιστρεπτός
79	65 ± 4	Αντιστρεπτός
82	51 ± 11	Αντιστρεπτός
83	47 ± 8	Αντιστρεπτός
84	61 ± 5	Αντιστρεπτός
85	22 ± 7	Μη αντιστρεπτός
96	56 ± 5	Αντιστρεπτός
97	38 ± 12	Αντιστρεπτός
98	16 ± 3	Μη αντιστρεπτός
99	25 ± 6	Μη αντιστρεπτός

Ακολούθως, μελετήθηκε η ανασταλτική ισχύς των αντιστρεπτών αναστολέων **71**, **79**, **82**, **83**, **84**, **96** και **97** (Πίνακας 23), η οποία περιγράφηκε από την σταθερά αναστολής K_i (σταθερά διάστασης του

αρχικού συμπλόκου ενζύμου-αναστολέα) και την τιμή K_i^* (συνολική σταθερά διάστασης).^{235,236} Η πιο δραστική ένωση **71** παρουσίασε τιμή σταθεράς διάστασης $K_i^* = 0.13 \mu\text{M}$. Επιπλέον, αυτά τα πειράματα επέτρεψαν την αξιολόγηση της σταθερότητας δέσμευσης των αναστολέων, υπολογίζοντας τον ρυθμό διάστασης του αναστολέα (Πίνακας 23). Η σταθερά ρυθμού διάστασης (χρόνος παραμονής, residence time, τ) των ενώσεων κυμάνθηκε μεταξύ των 66-499 λεπτών, επιβεβαιώνοντας, έτσι, την ανθεκτικότητα των συμπλόκων αναστολέα-ενζύμου.

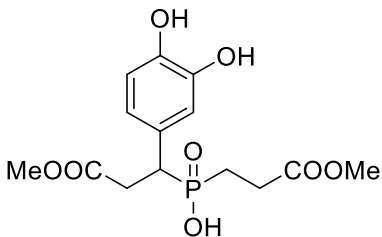
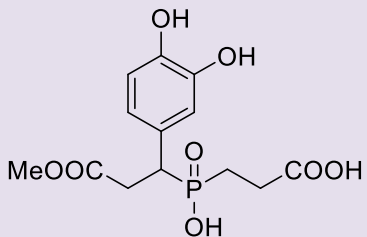
Πίνακας 23: Η ανασταλτική δράση και ο χρόνος παραμονής των αντιστρεπτών αναστολέων βραδείας δέσμευσης έναντι της ουρεάσης του *S. pasteurii*.

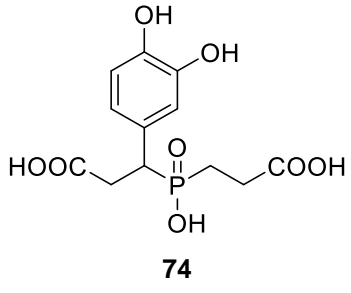
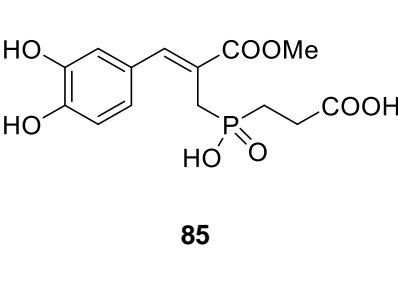
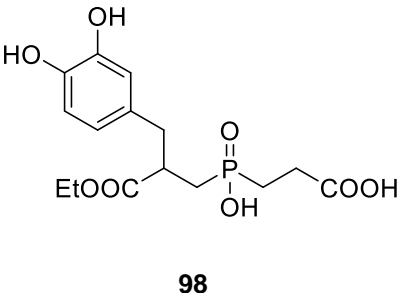
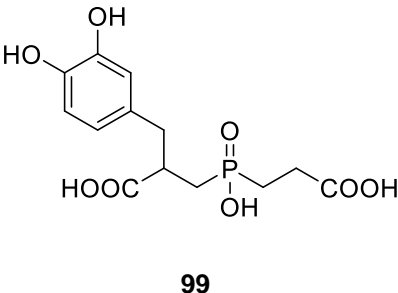
Ένωση	K_i [μM]	K_i^* [μM]	τ [λεπτά]
 <p>71</p>	0.32 ± 0.07	0.13 ± 0.01	205 ± 18
 <p>79</p>	1.72 ± 0.14	0.6 ± 0.08	323 ± 39
 <p>82</p>	2.15 ± 0.11	0.92 ± 0.08	348 ± 36
 <p>83</p>	2.15 ± 0.08	1.04 ± 0.07	65.7 ± 6.1
 <p>84</p>	2.9 ± 0.34	1.49 ± 0.18	344 ± 28

 <p style="text-align: center;">96</p>	4.24 ± 0.5	0.36 ± 0.01	75.8 ± 8.6
 <p style="text-align: center;">97</p>	22.5 ± 1.9	6.75 ± 0.45	499 ± 37

Οι αναστολείς που χαρακτηρίστηκαν ως χρονοεξαρτώμενοι και μη αντιστρεπτοί, δηλαδή οι αναστολείς **72**, **73**, **74**, **85**, **98** και **99**, μελετήθηκαν για την αποτελεσματικότητά τους ως προς τον σχηματισμό ομοιοπολικού δεσμού, μέσω της σταθεράς k_{inact}/K_i (Πίνακας 24).²³⁷ Οι ενώσεις με την υψηλότερη τιμή k_{inact}/K_i θεωρούνται ως τα πιο πολλά υποσχόμενα φάρμακα. Με ένωση αναφοράς την κατεχόλη **100** ($k_{inact}/K_i = 4.0 \pm 0.3 \text{ s}^{-1} \text{ M}^{-1}$), παρατηρήθηκε ότι μόνο η ένωση **99** είχε παρόμοια τιμή σταθεράς. Οι υπόλοιποι αναστολείς χαρακτηρίστηκαν ως πιο αποτελεσματικοί, με εξαίρεση τον αναστολέα **73**. Η ένωση **73**, με τιμή $k_{inact}/K_i = 10420 \text{ s}^{-1} \text{ M}^{-1}$, καθίσταται ως **ο πιο αποτελεσματικός αναστολέας της ουρεάσης με δομή κατεχόλης, που έχει περιγραφεί μέχρι σήμερα.**

Πίνακας 24: Ανασταλτική δράση των μη αντιστρεπτών αναστολέων έναντι της ουρεάσης του *S. Pasteurii*.

Ένωση	k_{inact}/K_i [$\text{s}^{-1} \text{ M}^{-1}$]	Ένωση	k_{inact}/K_i [$\text{s}^{-1} \text{ M}^{-1}$]
 <p style="text-align: center;">72</p>	12 ± 1	 <p style="text-align: center;">73</p>	10420 ± 920

 <p style="text-align: center;">74</p>	<p>77 ± 15</p>	 <p style="text-align: center;">85</p>	<p>147 ± 10</p>
 <p style="text-align: center;">98</p>	<p>1570 ± 120</p>	 <p style="text-align: center;">99</p>	<p>5.1 ± 0.7</p>

Οι ερευνητές στο Πανεπιστήμιο του Wrocław υπέθεσαν ότι η ανασταλτική δράση των πολυσχιδών αναστολέων έναντι της ουρεάσης του *S. pasteurii* καθορίζεται ταυτόχρονα από το δομικό τμήμα της κατεχόλης που επιβάλλεται μη αντιστρεπτός μέσω ομοιοπολικού δεσμού στην κυστεΐνη του ενεργού κέντρου του ενζύμου και του φωσφινικού/φωσφονικού μέρους που παρέχει αντιστρεπτή ανταγωνιστική δράση. Έπειτα από μια μελέτη, λοιπόν, όπου πρόσθεσαν διθειοθρεϊτόλη (dithiothreitol, DTT), έναν θειολοπροστατευτικό παράγοντα, στις μελέτες για την ανασταλτική δράση έναντι της ουρεάσης, απέδειξαν την επίδραση του μέρους της κατεχόλης στη διαδικασία της αναστολής. Οι αναστολείς, εκτός της ένωσης **79** που δεν περιέχει κατεχολικό δακτύλιο, αντέδρασαν με τη DTT, με αποτέλεσμα να μην αναστείλουν τη δράση της ουρεάσης.

Στη συνέχεια, οι ερευνητές θέλησαν να διαπιστώσουν αν με τη μείωση της συγκέντρωσης του αναστολέα, ήταν δυνατή η επανενεργοποίηση της δράσης του ενζύμου. Σε αυτή τη μελέτη, λοιπόν, έγινε αρχικά έκθεση της ουρεάσης στους αναστολείς για μια περίοδο προεπώασης και αφού ξεκίνησε η αντίδραση ενζύμου-αναστολέα, προστέθηκε και DTT. Οι αναστολείς μείωσαν τη δράση της ουρεάσης κατά 10% περίπου και έπειτα, η DTT προστέθηκε στη διπλάσια συγκέντρωση. Η DTT μπόρεσε να επαναφέρει μόνο μερικώς τη δράση του ενζύμου, και μάλιστα όχι περισσότερο από το 55% της αρχικής του δράσης (Πίνακας 25). Επιπλέον, η επαναφορά της δράσης ήταν πιο αισθητή για τους μη αντιστρεπτούς

αναστολείς, γεγονός το οποίο τονίζει τη σημασία του δεσμού που σχηματίζουν με τη θειόλη του ενζύμου, για την κατανόηση της ανασταλτικής τους δράσης.

Πίνακας 25: Ανάκτηση της δράσης της ουρεάσης με χρήση DTT από τους αναστολείς.

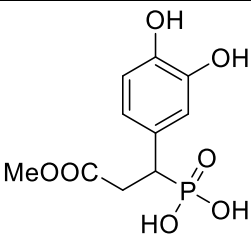
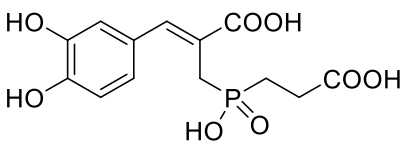
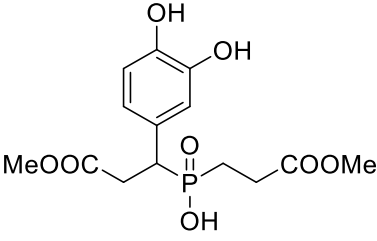
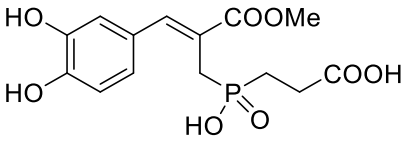
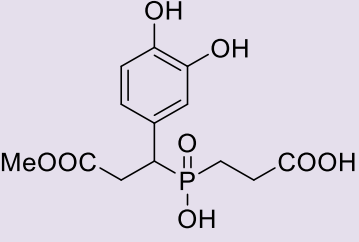
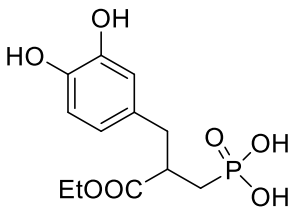
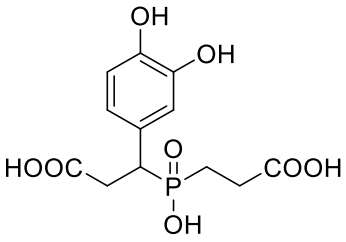
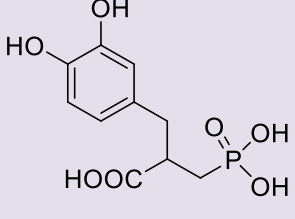
Αντιστρεπτός αναστολέας	Ανάκτηση [%]	Μη αντιστρεπτός αναστολέας	Ανάκτηση [%]
71	36 ± 4	72	43 ± 7
79	16 ± 1	73	37 ± 3
82	26 ± 5	74	42 ± 2
83	17 ± 3	85	47 ± 4
84	38 ± 2	98	55 ± 3
96	20 ± 2	99	51 ± 6
97	34 ± 2	100	55 ± 6

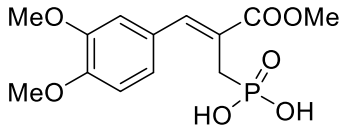
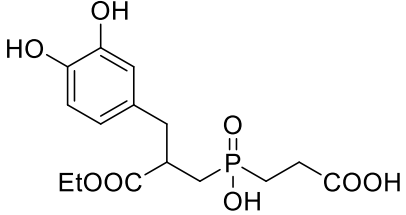
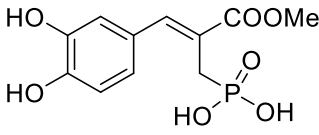
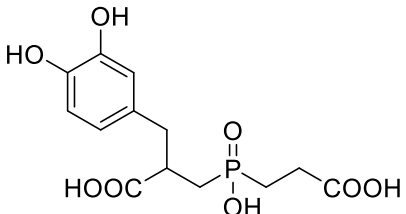
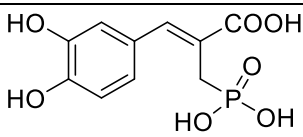
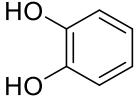
Τέλος, η αποτελεσματικότητα των ενώσεων αξιολογήθηκε περαιτέρω με τη μελέτη της αποσύνθεσης της ουρίας από κύτταρα PCM 543 του βακτηρίου *P. mirabilis* που υποβλήθηκαν σε ουρεόλυση. Όλοι οι αναστολείς ήταν ενεργοί ως προς την αναστολή της ουρεάσης σε ζωντανά κύτταρα (Πίνακας 26). Η μικρότερη επίδραση παρατηρήθηκε από την κατεχόλη **100**, τον αντιστρεπτό ακόρεστο φωσφινικό αναστολέα **84** και τη συγγενική του ένωση **85**. Τα δομικά παρόμοια φωσφινικά οξέα **79**, **82** και **83** εμφάνισαν μια ικανοποιητική και παρόμοια δράση. Την ισχυρότερη δράση μεταξύ των χρονοεξαρτώμενων αντιστρεπτών αναστολέων αυτής της μελέτης, παρουσίασε το φωσφονικό οξύ **97** ($IC_{50} = 40.5 \mu M$). Η ένωση αυτή έδειξε, επίσης, επιθυμητές κινητικές ιδιότητες ($K_i^* = 6.75 \mu M$ και $\tau = 499$ λεπτά, Πίνακας 23). Τα χαρακτηριστικά αυτά υποδεικνύουν τον αναστολέα **97** ως έναν πολλά υποσχόμενο αντιουρεολυτικό παράγοντα. Επιπλέον, άλλοι δύο αντιστρεπτοί αναστολείς που αποδείχτηκαν δραστικοί, είναι τα φωσφονικά οξέα **71** και **96**, τα οποία παρουσιάζουν επιθυμητές κινητικές ιδιότητες και έδειξαν και μέτρια ανασταλτική δράση στα κύτταρα.

Το βιοχημικό μέρος της μελέτης κατέστησε το φωσφινικό οξύ **73** ως έναν ισχυρό μη αντιστρεπτό αναστολέα της ουρεάσης. Η ένωση έδειξε την υψηλότερη δραστικότητα με τιμή $k_{inact}/K_i = 10420 \pm 920 s^{-1} M^{-1}$, ενώ ήταν και η πιο αποτελεσματική στην *in vitro* μείωση της αποσύνθεσης της ουρίας

από το *P. Mirabilis* PCM 543 ($IC_{50} = 12.8 \mu M$). Οι υπόλοιποι μη αντιστρεπτοί αναστολείς **72**, **74**, **98** και **99**, έδειξαν ικανοποιητική δράση, αν και λιγότερο αποτελεσματική σε σχέση με τον **73**. Οι ασθενείς δράσεις ορισμένων αναστολέων, πιθανότατα να οφείλονται σε δυσκολία τους να διεισδύσουν στα κύτταρα, λόγω πολικότητας των ενώσεων.

Πίνακας 26: Η δράση των αναστολέων της ουρεάσης έναντι της αποσύνθεσης της ουρίας από το *P. Mirabilis* PCM 543.

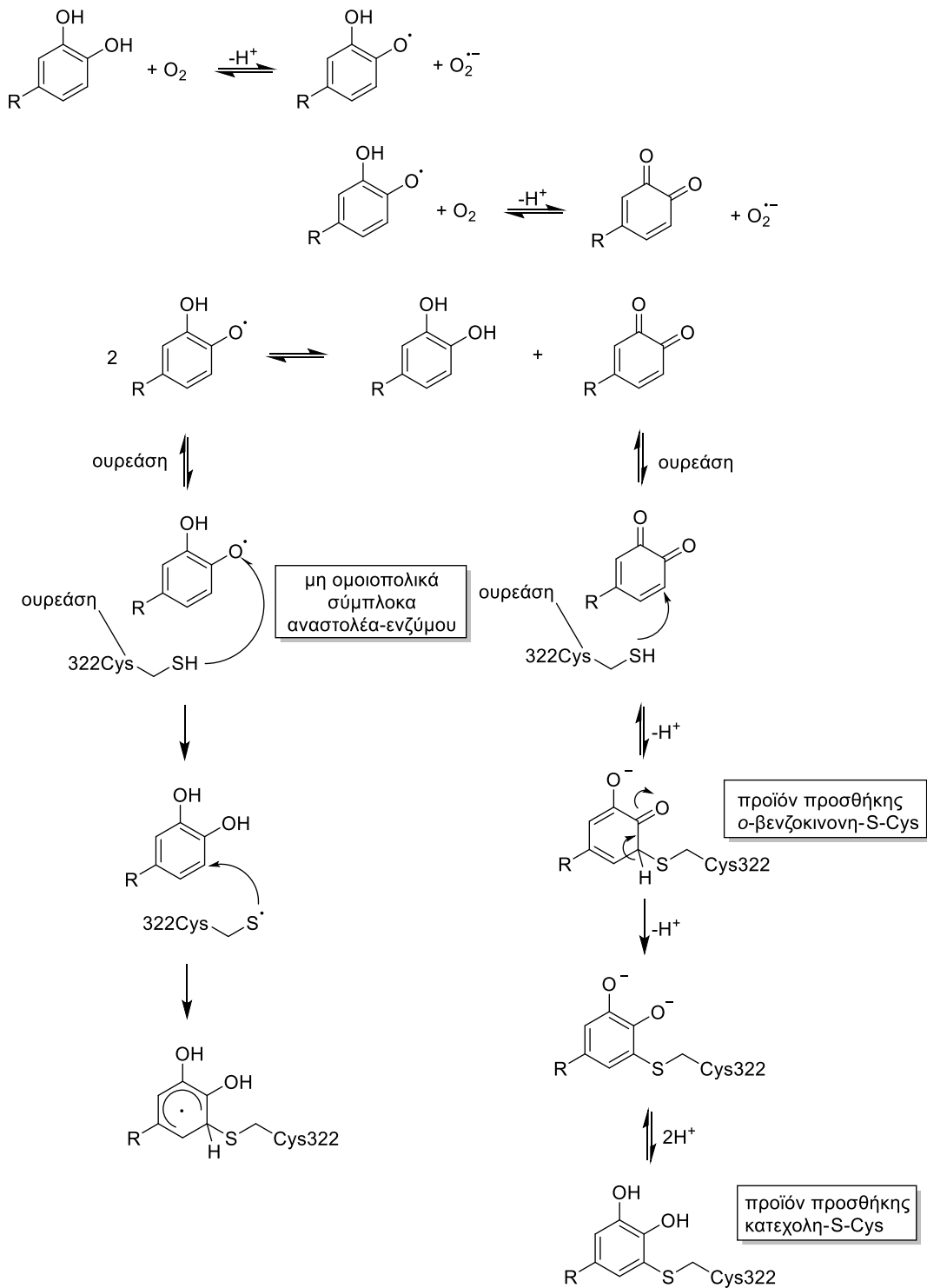
Ένωση	IC_{50} [μM]	Ένωση	IC_{50} [μM]
 <p>71</p>	117 ± 9.7	 <p>84</p>	431 ± 24
 <p>72</p>	97.6 ± 3.9	 <p>85</p>	374 ± 19
 <p>73</p>	12.8 ± 5.1	 <p>96</p>	186 ± 7.9
 <p>74</p>	274 ± 16	 <p>97</p>	40.5 ± 2.8

 <p style="text-align: center;">79</p>	<p>70.8 ± 1.9</p>	 <p style="text-align: center;">98</p>	<p>203 ± 14</p>
 <p style="text-align: center;">82</p>	<p>80.5 ± 5.1</p>	 <p style="text-align: center;">99</p>	<p>260 ± 17</p>
 <p style="text-align: center;">83</p>	<p>67.2 ± 4.3</p>	 <p style="text-align: center;">100</p>	<p>860 ± 54</p>

4.2.5 Μοριακή μοντελοποίηση

Ο προτεινόμενος μοριακός μηχανισμός για την αντίδραση των κατεχολών με θειόλες αφορά μια πολύπλοκη διεργασία πολλαπλών σταδίων οξειδωσης, η οποία πιθανώς προκαλείται από υπεροξειδία.^{194,238,239} Η ρίζα ημικινόνης που σχηματίζεται στο πρώτο στάδιο της οξειδωσης αντιδρά περαιτέρω με O₂ ή μία ρίζα O₂⁻ για να παράγει την αντίστοιχη βενζοκινόνη (Σχήμα 113). Εναλλακτικά, δύο μόρια της ενδιάμεσης ρίζας ημικινόνης μπορούν να αντιδράσουν και να δώσουν την αρχική κατεχόλη και την τελική βενζοκινόνη. Η ομάδα θειόλης του ενζύμου μπορεί, στη συνέχεια, να αντιδράσει με τα οξειδωμένα παράγωγα, είτε μέσω ριζικής προσθήκης της ομάδας -SH στην ο-ημικινόνη,¹⁹⁴ είτε μέσω πυρηνόφιλης προσθήκης Michael στην ο-βενζοκινόνη.^{240,241} Και οι δύο περιπτώσεις οδηγούν στον σχηματισμό του κατεχολικού προϊόντος με τη θειόλη συνδεδεμένη στη λιγότερο παρεμποδισμένη θέση C3. Ωστόσο, η δεύτερη περίπτωση περιλαμβάνει τον προσωρινό σχηματισμό του προϊόντος προσθήκης Michael ο-βενζοκινόνη-S-Cys. Αυτό το βήμα είναι ανιστρεπτό και δικαιολογεί την παρατηρούμενη ανιστρεψιμότητα της δράσης ορισμένων αναστολέων. Αυτή η πορεία, μπορεί να περιπλέκεται περαιτέρω με τον

πολυμερισμό της μη δεσμευμένης ο-βενζοκινόνης και την οξείδωση του κατεχολικού προϊόντος προσθήκης Michael.



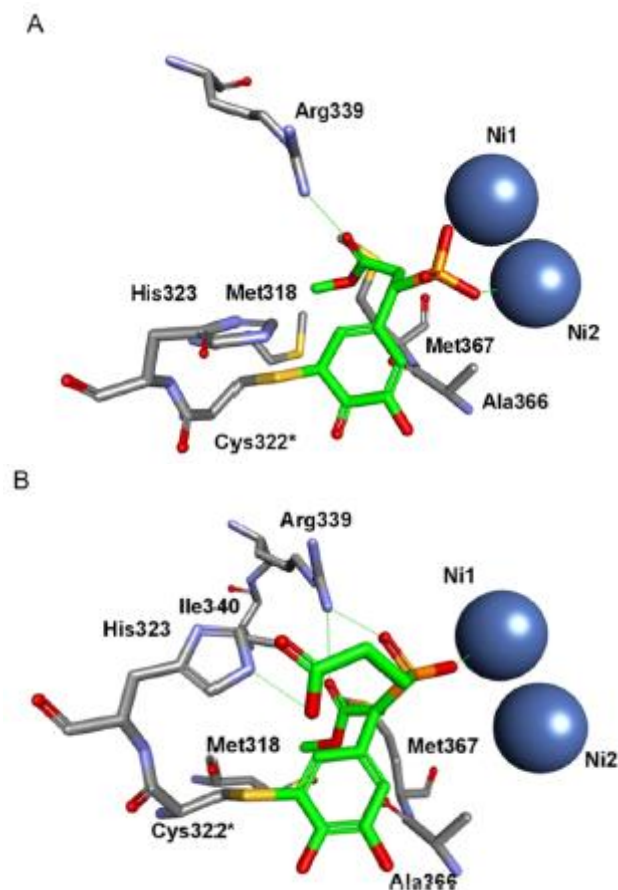
Σχήμα 113: Προτεινόμενοι μηχανισμοί οξείδωσης των αναστολέων κατεχόλης στις ο-βενζοκινόνες, ακολουθούμενοι από προσθήκες της ομάδας της θειόλης, είτε ριζικά, είτε με πυρηνόφιλη προσθήκη τύπου Michael, στα οξειδωμένα παράγωγα.

Στη συνέχεια της μελέτης, έγινε μοντελοποίηση των τρόπων σύνδεσης των πιο δραστικών αντιστρεπτών και μη αντιστρεπτών αναστολέων (**71** και **73**,

αντίστοιχα) με το ένζυμο της ουρεάσης του βακτηρίου *S. pasteurii* από το Τμήμα Βιοοργανικής Χημείας του Πανεπιστημίου Wrocław στην Πολωνία από την ερευνητική ομάδα του Αναπληρωτή Καθηγητή Łukasz Berlicki. Στην περίπτωση του αντιστρεπτού αναστολέα **71**, θεωρήθηκε ότι σχηματίστηκε το προϊόν προσθήκης Michael με την Cys322, ενώ το προϊόν της κατεχόλης με το υποκατεστημένο τμήμα από την Cys322 σχηματίστηκε για τον μη αντιστρεπτό αναστολέα **73**. Η κρυσταλλική δομή ενός προϊόντος προσθήκης κατεχόλης-ουρεάσης χρησιμοποιήθηκε ως σημείο εκκίνησης για αυτούς τους υπολογισμούς (PDB id 5G4H).¹⁹⁴ Αν και το ενεργό κέντρο της ουρεάσης έχει πολύ περιορισμένο χώρο, οι ενώσεις **71** και **73** ταιριάζουν στο σχήμα της. Καθώς οι αναστολείς αυτοί δοκιμάστηκαν πειραματικά ως ρακεμικά μίγματα, μοντελοποιήθηκαν σύμπλοκα και των δύο εναντιομερών και μάλιστα, τα δίκτυα των αλληλεπιδράσεων που σχηματίζονται από τα εναντιομερή είναι κυρίως τα ίδια.

Το φωσφονικό τμήμα του αναστολέα **71** αλληλεπιδρά και με τα δύο ιόντα νικελίου (Εικόνα 5). Η ομάδα του καρβοξυλικού μεθυλεστέρα αυτού του αναστολέα προσαρμόζεται στη σχισμή που σχηματίζεται από τα Met318 και Met367 και σχηματίζει δεσμό υδρογόνου με τη γουανιδίνη της Arg339.

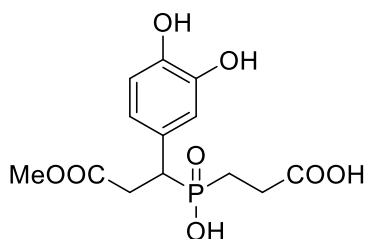
Η διαμόρφωση του φωσφονικού αναστολέα **73** είναι ελαφρώς διαφορετική (Εικόνα 5). Το φωσφονικό τμήμα του **73** συντονίζεται μόνο με το ένα ιόν νικελίου (Ni1) και σχηματίζει δεσμό υδρογόνου με την ομάδα της γουανιδίνης της Arg339. Επιπλέον, το τελικό καρβοξυλικό τμήμα του αλληλεπιδρά με την His323 για τη δημιουργία δεσμού υδρογόνου. Ο τρόπος σύνδεσης του μονοεστέρα **73** είναι σύμφωνος με τη σχέση δομής-δραστικότητας, που παρατηρείται για αυτήν την ένωση, σε σχέση με το διοξύ **74** και τον διεστέρα **72**. Ο καρβοξυλικός μεθυλεστέρας του **73** τοποθετείται στο υδρόφοβο περιβάλλον των Met367, Met318 και Ile340, γεγονός το οποίο εξηγεί την υψηλότερη δράση του σε σύγκριση με το διοξύ **74**, που στερείται τέτοιας δομής. Η όξινη ομάδα του **73** σχηματίζει δεσμό υδρογόνου με την His323, ο οποίος δεν είναι δυνατός για τον διμεθυλεστέρα **72**.



Εικόνα 5: Μοντελοποιημένες δομές της ουρεάσης του *S. pasturii* με τα (S) εναντιομερή των αναστολέων 71 (A) και 73 (B) συνδεδεμένα στην Cys322 του ενζύμου. Τα ιόντα νικελίου εμφανίζονται ως μπλε σφαίρες, ενώ τα αμινοξέα του ενζύμου και του αναστολέα εμφανίζονται ως ραβδιά. Τα άτομα άνθρακα του αναστολέα είναι χρωματισμένα με πράσινο χρώμα, ενώ είναι γκρι για το υπόλοιπο σύμπλοκο.

4.2.6 Συμπεράσματα

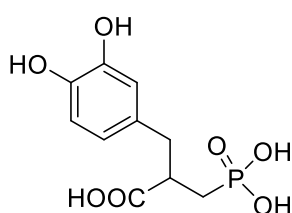
Ο πιο ισχυρός αναστολέας **73** (Σχήμα 114) μεταξύ των ενώσεων, παρουσίασε μη αντιστρεπτή σύνδεση με το ένζυμο με τιμή σταθεράς $k_{inact}/K_i = 10420 \text{ s}^{-1} \text{ M}^{-1}$ και $IC_{50} = 12.8 \text{ }\mu\text{M}$, υπερβαίνοντας κατά πολύ τη δράση της κατεχόλης **100**. Τα αποτελέσματα της μελέτης μοριακής μοντελοποίησης συμφωνούν με τα πειραματικά δεδομένα και υποδεικνύουν πιθανή ομοιοπολική σύνδεση με τη Cys322, τη σύνδεση μετάλλων και αρκετούς δεσμούς υδρογόνου. Αυτή η ένωση είναι ο πιο ισχυρός μη αντιστρεπτός ομοιοπολικός αναστολέας της βακτηριακής ουρεάσης.



$$k_{\text{inact}}/K_i = 10420 \pm 920 \text{ s}^{-1} \text{ M}^{-1}, \text{ IC}_{50} = 12.8 \text{ }\mu\text{M}$$

Σχήμα 114: Ο πιο ισχυρός μη αντιστρεπτός αναστολέας 73.

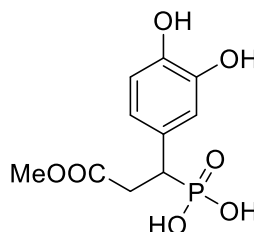
Οι ενώσεις **71** και **97** αποδείχθηκε ότι είναι αντιστρεπτοί αναστολείς βραδείας δέσμευσης της ουρεάσης με χαμηλές τιμές K_i και κατατάσσονται μεταξύ των πιο δραστικών αντιστρεπτών αναστολέων της ουρεάσης. Επιπλέον, σχηματίζουν πολύ σταθερά σύμπλοκα αναστολέα-ενζύμου με τιμές χρόνου παραμονής μεγαλύτερες από ώρες (Σχήμα 115).



97

$$\text{IC}_{50} = 40 \text{ }\mu\text{M}, K_i^* = 6.75 \text{ }\mu\text{M},$$

$$\text{tau} = 499 \text{ λεπτά}$$



71

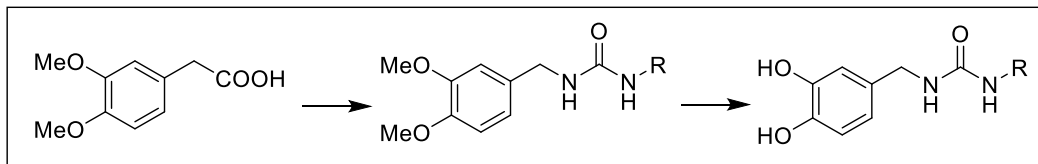
$$\text{IC}_{50} = 117 \text{ }\mu\text{M}, K_i^* = 0.13 \text{ }\mu\text{M},$$

$$\text{tau} = 205 \text{ λεπτά}$$

Σχήμα 115: Οι πιο ισχυροί αντιστρεπτοί αναστολείς 71 και 97.

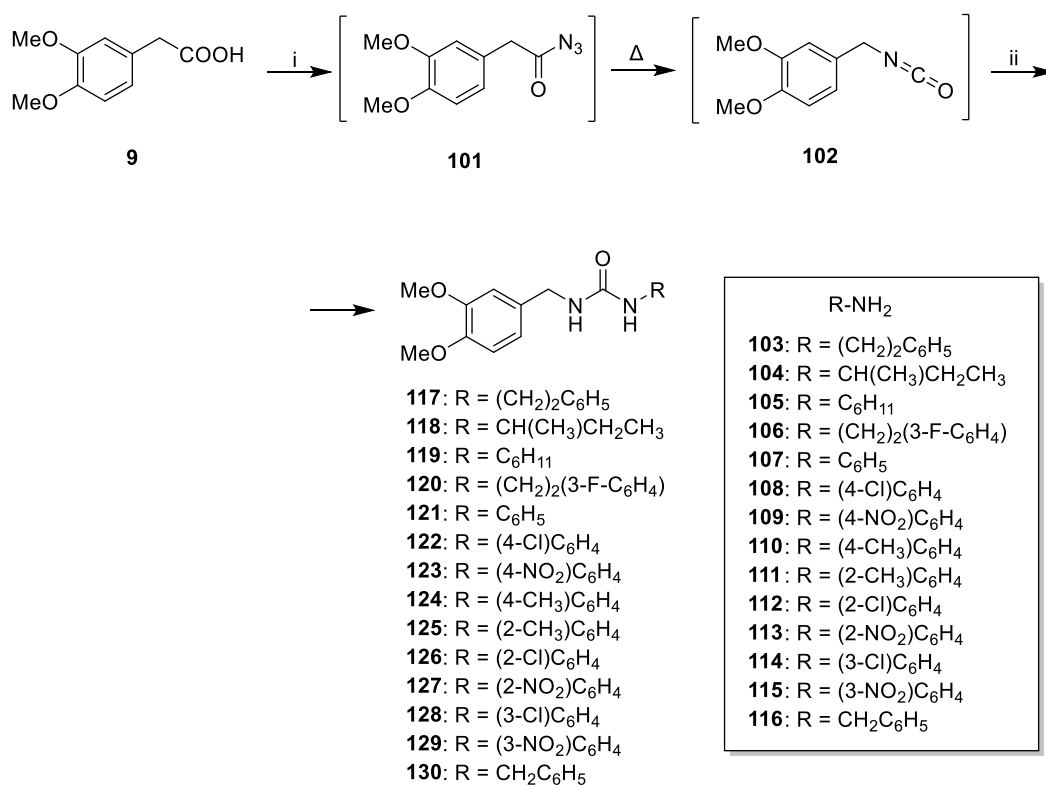
4.3 Συνθετική πορεία ουριών, θειουριών και καρβαμικών παραγώγων που φέρουν έναν κατεχολικό δακτύλιο

4.3.1 Συνθετική πορεία πολυφαινολικών παραγώγων ουρίας



Σχήμα 116: Συνθετική πορεία παρασκευής πολυφαινολικών παραγώγων ουρίας.

Η γενική πορεία σύνθεσης των κατεχολικών παραγώγων ουρίας παρουσιάζεται στο Σχήμα 116. Στο αρχικό στάδιο της σύνθεσης, το εμπορικά διαθέσιμο 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ **9** με χρήση του αντιδραστηρίου διφαινυλοφωσφορυλαζιδίου (diphenylphosphoryl azide, DPPA) και βάσης Et_3N σε διαλύτη ξηρό τολουόλιο, μετατρέπεται στο αντίστοιχο αζίδιο **101**. Στη συνέχεια, το ενδιάμεσο αζίδιο υπόκειται σε αντίδραση αναδιάταξης Curtius, οπότε σχηματίζεται το αντίστοιχο ισοκυανικό παράγωγο **102**. Το ενδιάμεσο **102**, έπειτα, αντιδρά με τις αμίνες **103-116**, οπότε σχηματίζονται οι αντίστοιχες ουρίες **117-130** (Σχήμα 117):²⁴²



i) Et₃N, DPPA, ξηρό τολουόλιο, 1 h, 100°C, αναρροή., ii) **103-116**, 18 h, 100°C, αναρροή.

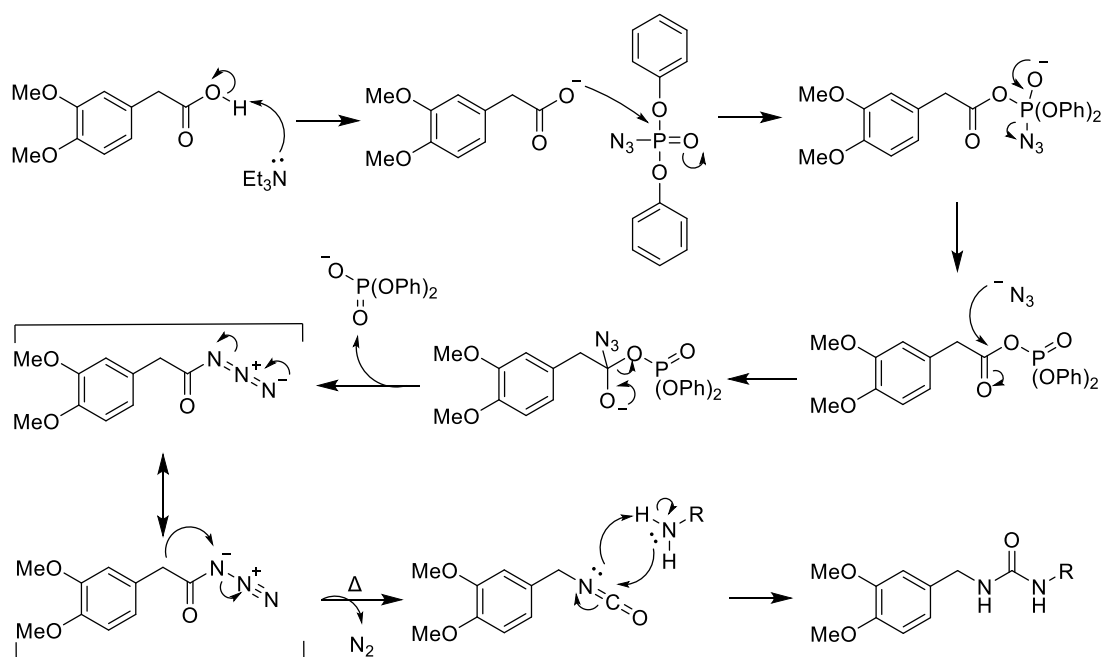
Σχήμα 117: Γενική αντίδραση παρασκευής ουριών από το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ και τις αμίνες 103-116.

Η αναδιάταξη Curtius είναι μια αντίδραση, στην οποία ένα καρβοξυλικό οξύ μπορεί να μετατραπεί σε ισοκυανικό παράγωγο μέσω ενός ενδιάμεσου ακυλαζιδίου υπό ήπιες συνθήκες. Το προκύπτον σταθερό ισοκυανικό παράγωγο μπορεί, στη συνέχεια, να μετατραπεί εύκολα σε αμίνες και παράγωγα αμινών.²⁴³ Το 1885, στο Πανεπιστήμιο της Χαϊδελβέργης, ο Julius Wilhelm Theodor Curtius ανακάλυψε ότι τα ακυλαζίδια που προέρχονται από καρβοξυλικά οξέα υφίστανται θερμική αποσύνθεση και σχηματίζουν ισοκυανικά παράγωγα, ελευθερώνοντας άζωτο.^{244,245} Από τότε, αυτή η αντίδραση, γνωστή ως αναδιάταξη Curtius ή αντίδραση Curtius, έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στην οργανική σύνθεση λόγω της χρησιμότητας των ισοκυανικών ενδιάμεσων. Τα ισοκυανικά παράγωγα μπορούν εύκολα να μετατραπούν σε μια σειρά μορίων, συμπεριλαμβανομένων των αμινών, των καρβαμικών παραγώγων και των ουριών, όταν αντιδράσουν με κατάλληλα πυρηνόφιλα, όπως νερό, αλκοόλες και αμίνες, αντίστοιχα.²⁴⁶

Μία από τις πιο συχνές μεθόδους σχηματισμού αζιδίου είναι η άμεση μετατροπή ενός καρβοξυλικού οξέος σε αζίδιο, χρησιμοποιώντας DPPA^{247,248,249} ως πηγή της ομάδας αζιδίου σε υψηλές θερμοκρασίες. Πρόκειται για μία εύκολη αντίδραση, η οποία εμφανίζει το πλεονέκτημα της αποφυγής απομόνωσης των γενικά εκρηκτικών ακυλαζιδίων.²⁵⁰ Επιπλέον, οι δύο ομάδες φαινυλίου του DPPA, καθώς έλκουν ηλεκτρονιακό φορτίο, καθιστούν εύκολη την προσβολή του ατόμου του φωσφόρου.²⁴⁷

Τα αζίδια μπορούν να αναδιαταχθούν σε αδρανείς διαλύτες, όπως το βενζόλιο και το χλωροφόρμιο. Η πλειονότητα των αζιδίων αναδιατάσσεται με επιθυμητό ρυθμό σε θερμοκρασίες εύρους 20-150°C, και η αναδιάταξη τους προκαλείται συνήθως με αναρροή σε διαλύτη με σημείο βρασμού περίπου στους 80°C. Πολλά αρωματικά αζίδια αναδιατάσσονται πιο εύκολα στη θερμοκρασία βρασμού του τολουολίου. Τα ισοκυανικά παράγωγα παρασκευάζονται από την αναδιάταξη αζιδίων, επίσης, σε αδρανείς διαλύτες, ενώ οι ουρίες συντίθενται ευκολότερα με θέρμανση του αζιδίου σε αδρανή διαλύτη και επεξεργασία του προκύπτοντος ισοκυανικού εστέρα με την επιθυμητή αμίνη.²⁵¹

Στον προτεινόμενο μηχανισμό της αντίδρασης (Σχήμα 118), η Et₃N αποσπά το όξινο πρωτόνιο του οξέος, μετατρέποντας το έτσι στο πυρηνόφιλο που θα προσβάλλει τον φώσφορο του DPPA. Σχηματίζεται, έτσι, ένας μικτός ανυδρίτης καρβοξυλικού/φωσφορικού οξέος και το αζίδιο απομακρύνεται. Ο ανυδρίτης, στη συνέχεια, ακυλιώνει το αζιδικό ανιόν παρέχοντας ένα ακυλαζίδιο. Το ακυλαζίδιο μετατρέπεται με θέρμανση στο αντίστοιχο ισοκυανικό παράγωγο. Κατά τη διάρκεια της θερμόλυσης, απομακρύνεται μοριακό άζωτο N₂ και ταυτόχρονα λαμβάνει χώρα μια [1,2]-μετάθεση του υποκαταστάτη που συνδέεται με την ομάδα του καρβονυλίου.²⁵⁰ Έπειτα, αντιδρά η αμίνη με το ισοκυανικό παράγωγο, οπότε προκύπτει η επιθυμητή ουρία.



Σχήμα 118: Προτεινόμενος μηχανισμός σχηματισμού ουριών από το καρβοξυλικό οξύ **9** με χρήση του DPPA.

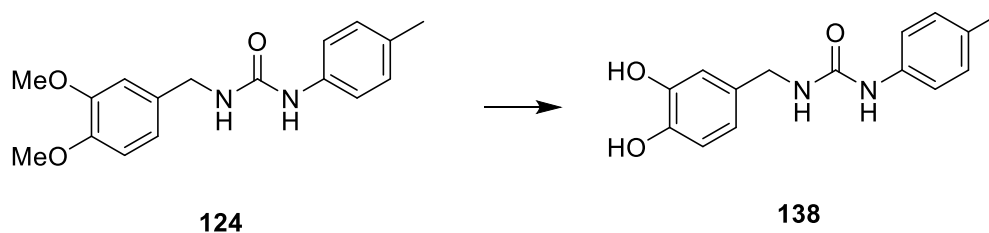
Κατά την κατεργασία της αντίδρασης, πραγματοποιούνται εκχυλίσεις με H_2O και διάλυμα NaHCO_3 5% προς απομάκρυνση της περίσσειας του DPPA και του καρβοξυλικού οξέος. Το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται καθαρό, έπειτα, από χρωματογραφία στήλης με κατάλληλο σύστημα PE/AcOEt. Οι ουρίες που συντέθηκαν, παραλήφθηκαν με αποδόσεις που καταγράφονται στον Πίνακα 27:

Πίνακας 27: Οι ουρίες που παρασκευάστηκαν και οι αντίστοιχες αποδόσεις τους.

Ένωση	R	Απόδοση	Ένωση	R	Απόδοση
117	$(\text{CH}_2)_2\text{C}_6\text{H}_5$	90%	124	$(4\text{-CH}_3)\text{C}_6\text{H}_4$	85%
118	$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$	77%	125	$(2\text{-CH}_3)\text{C}_6\text{H}_4$	40%
119	C_6H_{11}	51%	126	$(2\text{-Cl})\text{C}_6\text{H}_4$	40%
120	$(\text{CH}_2)_2(3\text{-F-C}_6\text{H}_4)$	47%	127	$(2\text{-NO}_2)\text{C}_6\text{H}_4$	33%
121	C_6H_5	95%	128	$(3\text{-Cl})\text{C}_6\text{H}_4$	75%
122	$(4\text{-Cl})\text{C}_6\text{H}_4$	71%	129	$(3\text{-NO}_2)\text{C}_6\text{H}_4$	63%
123	$(4\text{-NO}_2)\text{C}_6\text{H}_4$	36%	130	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	60%

Στη συνέχεια της σύνθεσης, οι διμεθόξυ προστατευμένες ουρίες **117-130**, υποβλήθηκαν σε αντίδραση αποπροστασίας για να εμφανιστεί ο κατεχολικός δακτύλιος. Για να καθοριστεί ο τρόπος αποπροστασίας, πραγματοποιήθηκε μια σειρά δοκιμαστικών αντιδράσεων με χρήση, είτε του αντιδραστήριου απομεθυλίωσης $\text{BF}_3 \cdot \text{SMe}_2$, είτε του BBr_3 σε διάφορες

συνθήκες αντίδρασης. Η ουρία που χρησιμοποιήθηκε στις αντιδράσεις ήταν η ουρία **124**, ενώ η γενική αντίδραση απομεθυλίωσης παριστάνεται στο Σχήμα 119:



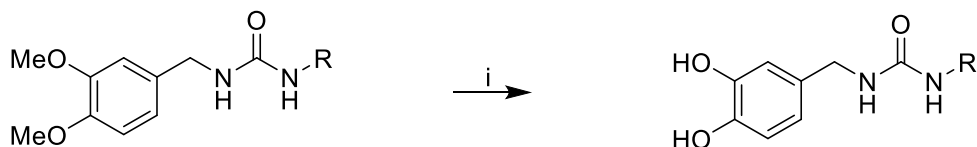
Σχήμα 119: Αντίδραση αποπροστασίας της διμεθόξυ προστατευμένης ουρίας **124**.

Στον Πίνακα 28, παρουσιάζονται οι συνθήκες που δοκιμάστηκαν, έτσι ώστε να βρεθούν οι βέλτιστες, που θα απέδιδαν, όχι μόνο ως προς τη βελτιωμένη απόδοση, αλλά και ως προς το καθαρότερο τελικό προϊόν. Όλες οι αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν σε διαλύτη ξηρό CH_2Cl_2 . Στις περισσότερες περιπτώσεις απομονώθηκε το επιθυμητό προϊόν και παραλήφθησαν και τα αντίστοιχα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR.

Πίνακας 28: Οι συνθήκες των αντιδράσεων αποπροστασίας για την ουρία **124**, με χρήση των αντιδραστηρίων $\text{BF}_3 \cdot \text{SMe}_2$ ή BBr_3 και οι αντίστοιχες αποδόσεις τους.

Δοκιμαστική αντίδραση	Αντιδραστήριο απομεθυλίωσης	Ισοδύναμα (eq)	Θερμοκρασία	Διάρκεια αντίδρασης	Απόδοση
1	BBr_3	6	0°C	4 h	-
2	$\text{BF}_3 \cdot \text{SMe}_2$	20	$0^\circ\text{C} \rightarrow \text{r.t.}$	24 h	2%
3	$\text{BF}_3 \cdot \text{SMe}_2$	20	$0^\circ\text{C} \rightarrow \text{r.t.}$	1 h	12%
4	$\text{BF}_3 \cdot \text{SMe}_2$	10	0°C	1 h	< 1%
5	$\text{BF}_3 \cdot \text{SMe}_2$	10	$0^\circ\text{C} \rightarrow \text{r.t.}$	1 h	6%
6	$\text{BF}_3 \cdot \text{SMe}_2$	20	0°C	1 h	5%
7	$\text{BF}_3 \cdot \text{SMe}_2$	20	$0^\circ\text{C} \rightarrow \text{r.t.}$	1 h	9%
8	BBr_3	6	0°C	$\frac{1}{2}$ h	40%

Σύμφωνα, λοιπόν, με τα παραπάνω αποτελέσματα, αποφασίστηκε να εφαρμοστούν οι συνθήκες της **αντίδρασης 8**, καθώς κατέληγε στη μεγαλύτερη απόδοση και στο καθαρότερο προϊόν. Έτσι, από τις προστατευμένες ουρίες **117-130** με χρήση του αντιδραστηρίου BBr_3 σε διαλύτη ξηρό CH_2Cl_2 , προέκυψαν οι τελικές ενώσεις **131-144** (Σχήμα 120):



- 117:** R = (CH₂)₂C₆H₅
118: R = CH(CH₃)CH₂CH₃
119: R = C₆H₁₁
120: R = (CH₂)₂(3-F-C₆H₄)
121: R = C₆H₅
122: R = (4-Cl)C₆H₄
123: R = (4-NO₂)C₆H₄
124: R = (4-CH₃)C₆H₄
125: R = (2-CH₃)C₆H₄
126: R = (2-Cl)C₆H₄
127: R = (2-NO₂)C₆H₄
128: R = (3-Cl)C₆H₄
129: R = (3-NO₂)C₆H₄
130: R = CH₂C₆H₅

- 131:** R = (CH₂)₂C₆H₅
132: R = CH(CH₃)CH₂CH₃
133: R = C₆H₁₁
134: R = (CH₂)₂(3-F-C₆H₄)
135: R = C₆H₅
136: R = (4-Cl)C₆H₄
137: R = (4-NO₂)C₆H₄
138: R = (4-CH₃)C₆H₄
139: R = (2-CH₃)C₆H₄
140: R = (2-Cl)C₆H₄
141: R = (2-NO₂)C₆H₄
142: R = (3-Cl)C₆H₄
143: R = (3-NO₂)C₆H₄
144: R = CH₂C₆H₅

i) BBr₃ 1 M σε CH₂Cl₂, ξηρό CH₂Cl₂, Ar, 0°C, 30 λεπτά.

Σχήμα 120: Γενική αντίδραση απομεθυλίωσης των διμεθόξυ προστατευμένων ουριών 117-130.

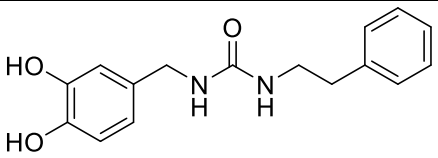
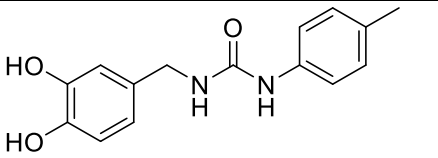
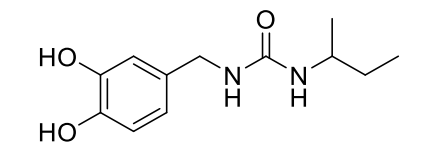
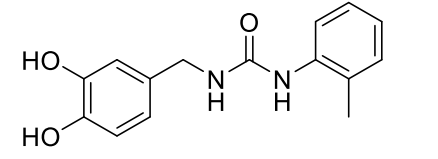
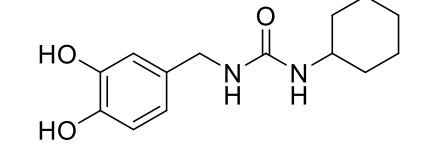
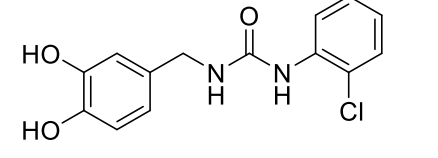
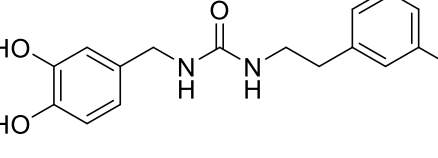
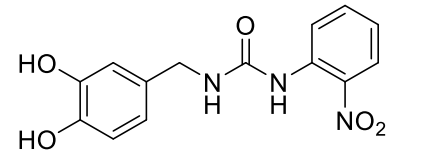
Όλες οι αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν στο σκοτάδι, λόγω της ευαισθησίας του κατεχολικού δακτυλίου στο φως. Στο τέλος της αντίδρασης, προστίθεται παγωμένο H₂O και η αντίδραση αφήνεται για 15 λεπτά υπό ψύξη, με σκοπό την εξουδετέρωση του αντιδραστήριου.

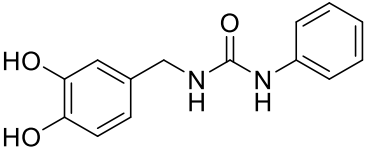
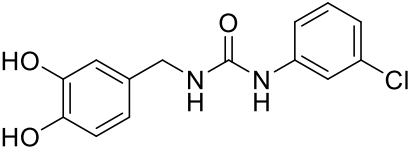
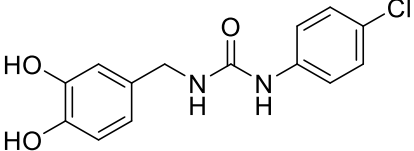
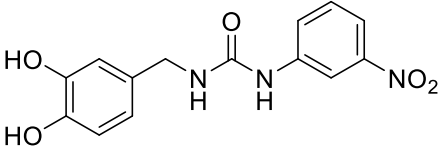
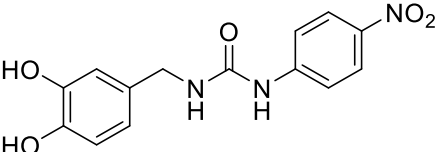
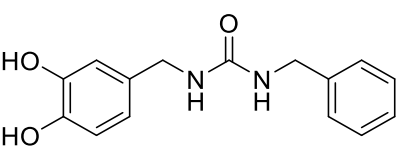
Για τον καθαρισμό του τελικού προϊόντος, αρχικά, το μίγμα της αντίδρασης πέρασε από χρωματογραφία στήλης με σύστημα ανάπτυξης CH₂Cl₂/MeOH 9.5:0.5. Από τον καθαρισμό παρατηρήθηκε ο σχηματισμός τριών ομάδων ενώσεων, οι οποίες ελέγχθηκαν με λήψη φάσματος ¹H NMR για να εξακριβωθεί ποιο ήταν το προϊόν. Η πρώτη ουσία που παραλήφθηκε από τη στήλη αντιστοιχούσε σ' ένα μόριο, παράγωγο της αρχικής αμίνης, ενώ η δεύτερη σε παράγωγο που αφορούσε το υπόλοιπο τμήμα της αρχικής ουρίας. Το συμπέρασμα που προέκυψε λοιπόν, ήταν ότι προφανώς ένα μέρος της ουρίας σχάζεται κατά την αντίδραση. Η τρίτη ουσία, η οποία παραλήφθηκε, αντιστοιχούσε στο επιθυμητό προϊόν της αντίδρασης. Πρέπει να σημειωθεί, ότι το R_f του τελικού προϊόντος και του παραγώγου της αρχικής αμίνης ήταν ακριβώς το ίδιο, πράγμα που σε ορισμένες περιπτώσεις καθιστούσε τον διαχωρισμό της τελικής ουρίας από το

παραπροϊόν αδύνατο, καθώς οι δυο διαφορετικές κηλίδες δεν ήταν εμφανείς.

Για αυτόν τον λόγο, δοκιμάστηκε να καθαριστεί το τελικό προϊόν με χρωματογραφία στήλης αντίστροφης φάσης. Αν και τα μόρια αυτά δεν είναι τόσο πολικά και ενώ κανονικά θα αποφευγόταν αυτός ο καθαρισμός, εντούτοις τα αποτελέσματα ήταν εξαιρετικά. Τα τελικά προϊόντα καθαρίστηκαν πλήρως με χρήση αυτού του τρόπου χρωματογραφικού καθαρισμού και ο διαχωρισμός των κηλίδων με το ίδιο R_f ήταν εμφανής. Έτσι, παραλήφθηκαν τα τελικά προϊόντα στις αποδόσεις που περιγράφονται στον Πίνακα 29:

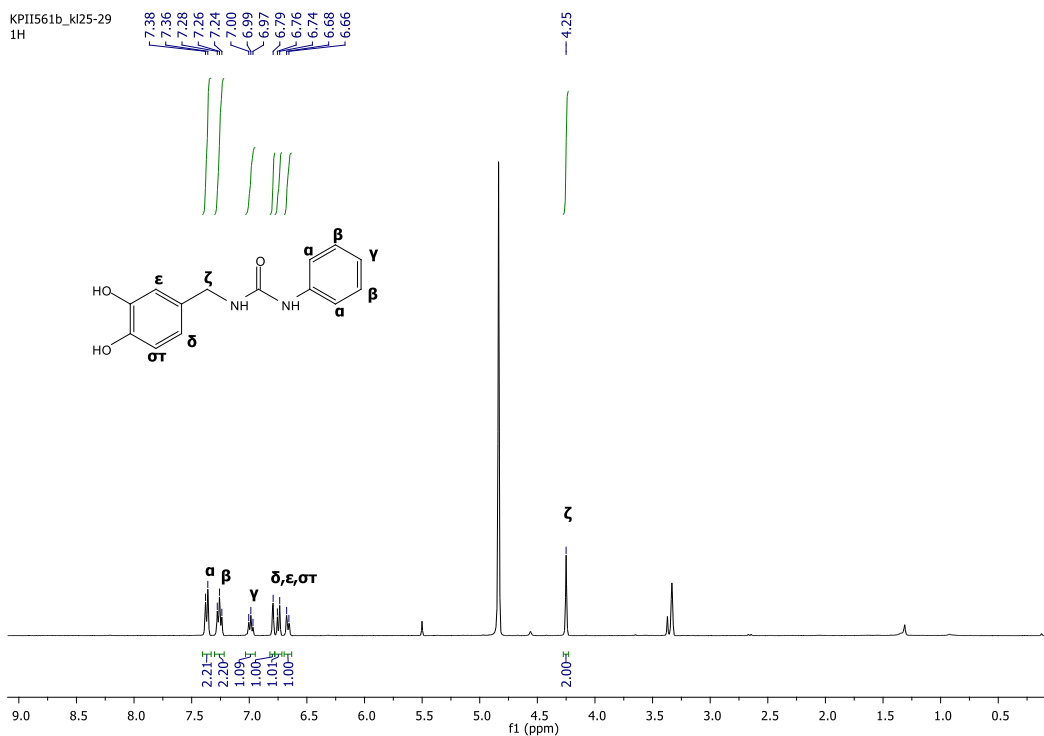
Πίνακας 29: Οι αποδόσεις των τελικών προϊόντων μετά τις αντιδράσεις αποπροστασίας.

Ένωση	α	Ένωση	α
 131	16 %	 138	40 %
 132	18 %	 139	59 %
 133	22 %	 140	69 %
 134	27 %	 141	31 %

 <p style="text-align: center;">135</p>	44 %	 <p style="text-align: center;">142</p>	39 %
 <p style="text-align: center;">136</p>	49 %	 <p style="text-align: center;">143</p>	38 %
 <p style="text-align: center;">137</p>	11 %	 <p style="text-align: center;">144</p>	50 %

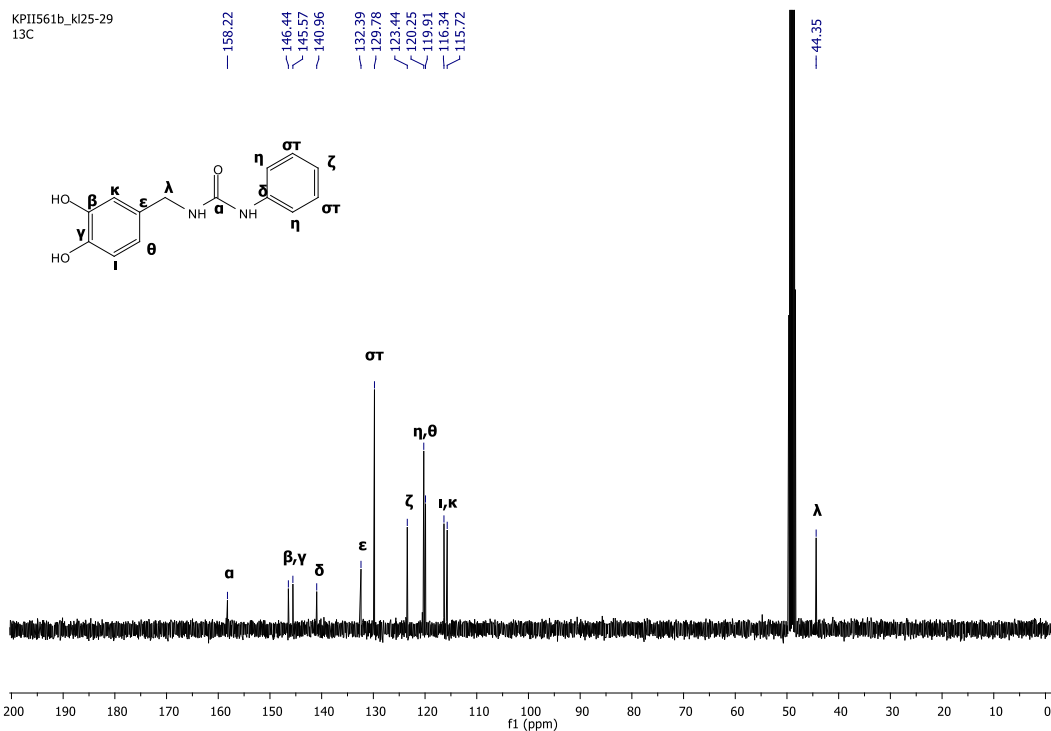
Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, λόγω της ευαισθησίας του κατεχολικού δακτυλίου στην έκθεση στο φως, στην θερμοκρασία και στο οξυγόνο, τα τελικά προϊόντα φυλλάγονται διαλυμένα σε μεθανόλη στην κατάψυξη, μέσα σε σκουρόχρωμα φιαλίδια.

Στη συνέχεια, παρατίθενται τα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR της ένωσης **135**. Στο φάσμα ^1H NMR (Σχήμα 121), παρατηρούνται στα 7.38-6.97 ppm τρεις κορυφές, που οφείλονται στα (α - γ) αρωματικά πρωτόνια. Τα (δ - σ) αρωματικά πρωτόνια του κατεχολικού δακτυλίου συντονίζονται στα 6.79-6.66 ppm. Τέλος, η απλή κορυφή στα 4.25 ppm οφείλεται στο σήμα της χημικής μετατόπισης των (ζ) πρωτονίων του μεθυλενίου της ένωσης.



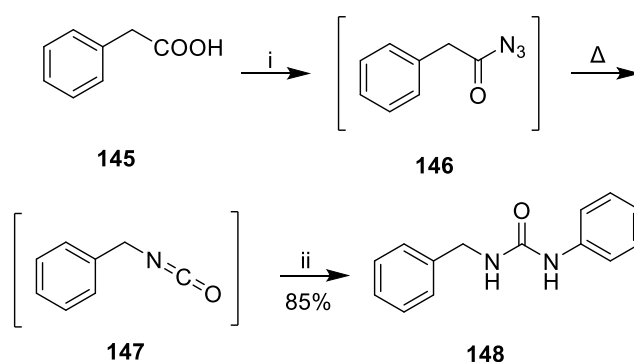
Σχήμα 121: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 135 σε διαλύτη CD_3OD (400 MHz).

Στο Σχήμα 122, φαίνεται το φάσμα ^{13}C NMR της ίδιας ένωσης. Η κορυφή στα 158.2 ppm αντιστοιχεί στον (α) καρβονυλικό άνθρακα. Από τα 146.4 έως τα 115.7 ppm εμφανίζονται κορυφές που οφείλονται στους (β-κ) άνθρακες των δύο αρωματικών δακτυλίων της ένωσης. Τέλος, το σήμα της χημικής μετατόπισης του (λ) άνθρακα του μεθυλενίου της ένωσης εμφανίζεται ως μια κορυφή στα 44.4 ppm.



Σχήμα 122: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 135 σε διαλύτη CD_3OD (101 MHz).

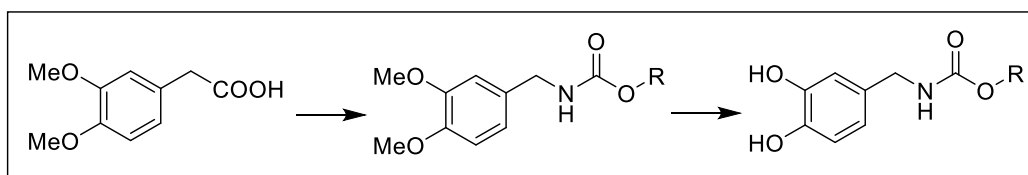
Τέλος, παρασκευάστηκε άλλο ένα παράγωγο ουρίας, το οποίο δεν φέρει κατεχολικό δακτύλιο για λόγους σύγκρισης στα βιολογικά πειράματα, που θα πραγματοποιηθούν. Έτσι, από το φαινυλοξικό οξύ **145** και την ανιλίνη **107**, παρασκευάστηκε η ουρία **148**, εφαρμόζοντας τη μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε για τον σχηματισμό των προηγούμενων ουριών (Σχήμα 123):



i) Et_3N , DPPA, ξηρό τολουόλιο, 1 h, 100°C , αναρροή., ii) **109**, 18 h, 100°C , αναρροή.

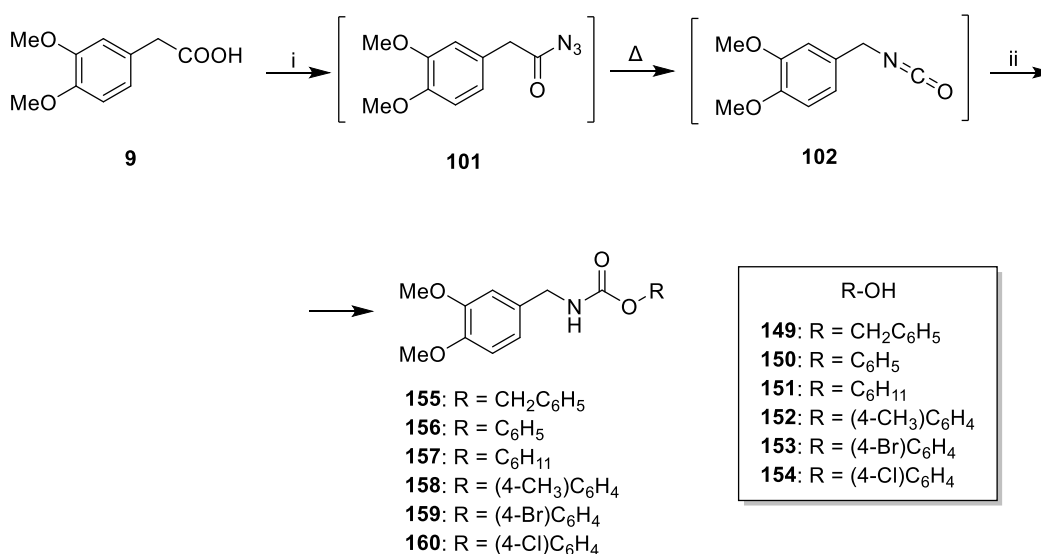
Σχήμα 123: Αντίδραση παρασκευής της ουρίας 148, η οποία δεν φέρει κατεχολικό δακτύλιο στο μόριο της.

4.3.2 Συνθετική πορεία πολυφαινολικών καρβαμικών παραγώγων



Σχήμα 124: Συνθετική πορεία παρασκευής πολυφαινολικών καρβαμικών παραγώγων.

Η γενική πορεία σύνθεσης των κατεχολικών καρβαμικών παραγώγων παρουσιάζεται στο Σχήμα 124. Αρχικά, από το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ **9** με χρήση του αντιδραστηρίου DPPA και βάσης Et_3N σε διαλύτη ξηρό βενζόλιο, σχηματίζεται το αζίδιο **101**. Στη συνέχεια, από το ενδιάμεσο αζίδιο σχηματίζεται το αντίστοιχο ισοκυανικό παράγωγο **102**, το οποίο έπειτα αντιδρά με τις αλκοόλες **149-154**, οπότε σχηματίζονται τα καρβαμικά παράγωγα **155-160** (Σχήμα 125).²⁴²



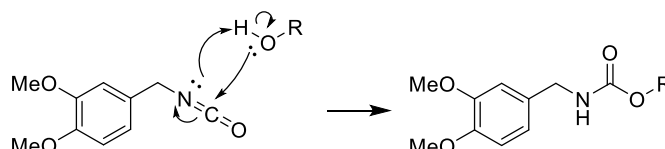
i) Et_3N , DPPA, ξηρό βενζόλιο, 1 h, 85°C , αναρροή., ii) **149-154**, 24 h, 85°C , αναρροή.

Σχήμα 125: Γενική αντίδραση παρασκευής καρβαμικών παραγώγων από το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ και τις αλκοόλες **149-154**.

Όπως αναφέρθηκε στην προηγούμενη ενότητα, μέσω της αναδιάταξης Curtius ένα καρβοξυλικό οξύ μπορεί εύκολα να μετατραπεί σε ισοκυανικό παράγωγο και αυτό με τη σειρά του σε ένα καρβαμικό παράγωγο, εφόσον αντιδράσει με μία αλκοόλη. Για την παρασκευή των καρβαμικών παραγώγων χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης το βενζόλιο, ένας διαλύτης

κατάλληλος για την αντίδραση, καθώς απαιτεί θέρμανση στους 85°C, θερμοκρασία κατάλληλη για την αναδιάταξη του προκύπτοντος αζιδίου.

Στον προτεινόμενο μηχανισμό της αντίδρασης (Σχήμα 126), ο σχηματισμός του ισοκυανικού ενδιάμεσου πραγματοποιείται, όπως και στο Σχήμα 118, και στη συνέχεια, γίνεται η αντίδραση της αλκοόλης με το ισοκυανικό παράγωγο, οπότε προκύπτει το επιθυμητό προϊόν.



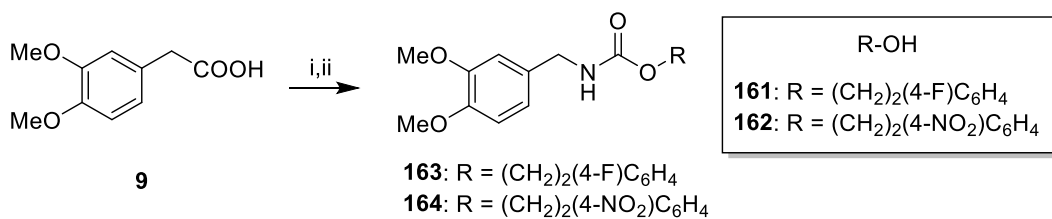
Σχήμα 126: Προτεινόμενος μηχανισμός σχηματισμού καρβαμικών παραγώγων από το καρβοξυλικό οξύ 9 με χρήση του DPPA.

Στην κατεργασία της αντίδρασης, εκτός από τις εκχυλίσεις με H₂O και διάλυμα NaHCO₃ 5%, πραγματοποιείται και μια εκχύλιση με διάλυμα HCl 0.6 N για την απομάκρυνση της περίσσειας της αλκοόλης. Το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται καθαρό, έπειτα, από χρωματογραφία στήλης με κατάλληλο σύστημα PE/AcOEt. Τα καρβαμικά παράγωγα που συντέθηκαν, παραλήφθηκαν στις εξής αποδόσεις (Πίνακας 30):

Πίνακας 30: Οι αποδόσεις των καρβαμικών παραγώγων που συντέθηκαν.

Ένωση	R	Απόδοση	Ένωση	R	Απόδοση
155	CH ₂ C ₆ H ₅	68%	158	(4-CH ₃)C ₆ H ₄	74%
156	C ₆ H ₅	77%	159	(4-Br)C ₆ H ₄	67%
157	C ₆ H ₁₁	46%	160	(4-Cl)C ₆ H ₄	67%

Με την ίδια μέθοδο, έγινε προσπάθεια παρασκευής και άλλων δύο παραγώγων, όπου χρησιμοποιήθηκαν οι αλκοόλες **161** και **162** (Σχήμα 127). Όμως, δεν στάθηκε δυνατή η απομόνωση των προϊόντων **163** και **164**, καθώς τα κλάσματα που παρελήφθησαν μετά από τις χρωματογραφίες στήλης, περιείχαν και την αρχική αλκοόλη και το επιθυμητό προϊόν, σε όποιο σύστημα και αν έγινε προσπάθεια διαχωρισμού.



i) Et₃N, DPPA, ξηρό βενζόλιο, 1 h, 85°C, αναρροή., ii) **161** ή **162**, 24 h, 85°C, αναρροή.

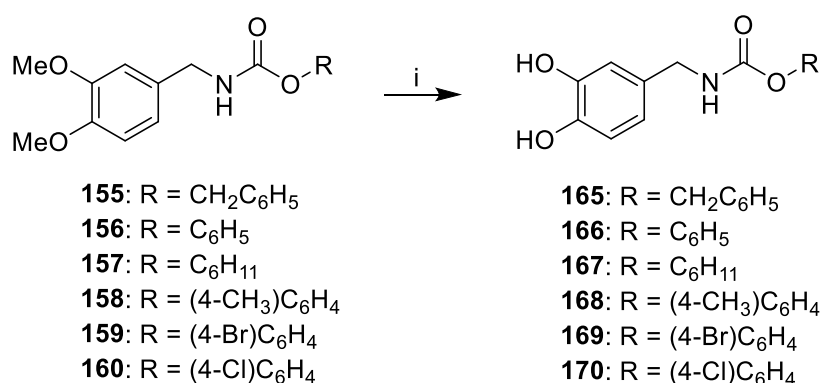
Σχήμα 127: Αντίδραση παρασκευής των καρβαμικών παραγώγων **163** και **164**.

Για την παρασκευή των τελικών προϊόντων **165-170**, που έχουν ελεύθερο τον κατεχολικό τους δακτύλιο, εφαρμόστηκε αντίδραση αποπροστασίας με χρήση του αντιδραστήριου BBr₃. Πραγματοποιήθηκαν δύο δοκιμαστικές αντιδράσεις για να διαπιστωθούν οι κατάλληλες συνθήκες αποπροστασίας, χρησιμοποιώντας το καρβαμικό παράγωγο **159**. Τα αποτελέσματα των αντιδράσεων παρουσιάζονται στον Πίνακα 31:

Πίνακας 31: Οι συνθήκες που δοκιμάστηκαν στην αντίδραση αποπροστασίας του μορίου **161** και οι αποδόσεις της κάθε αντίδρασης.

Αρ. αντίδρασης	Θερμοκρασία	Διάρκεια αντίδρασης	Απόδοση
1	0°C	15 λεπτά	45%
2	-10°C	10 λεπτά	4%

Μετά από τα αποτελέσματα αυτά, αποφασίστηκε να εφαρμοστούν οι συνθήκες της δοκιμαστικής **αντίδρασης 1** για την αποπροστασία των υπόλοιπων καρβαμικών παραγώγων. Έτσι, από τα αρχικά μόρια **155-160**, προέκυψαν οι αποπροστατευμένες ενώσεις που καταγράφονται στο Σχήμα 128:

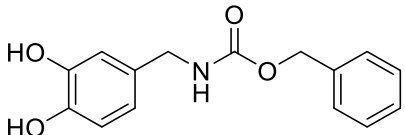
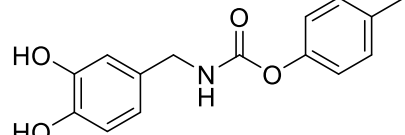
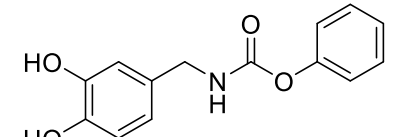
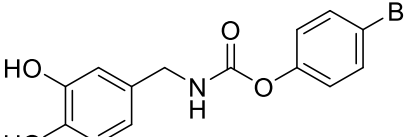
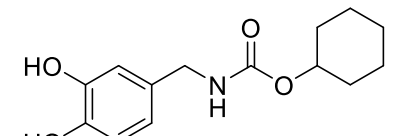
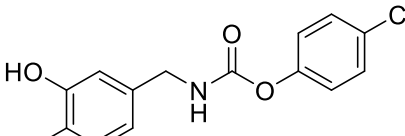


i) BBr₃ 1 M σε CH₂Cl₂, ξηρό CH₂Cl₂, Ar, 0°C, 15 λεπτά.

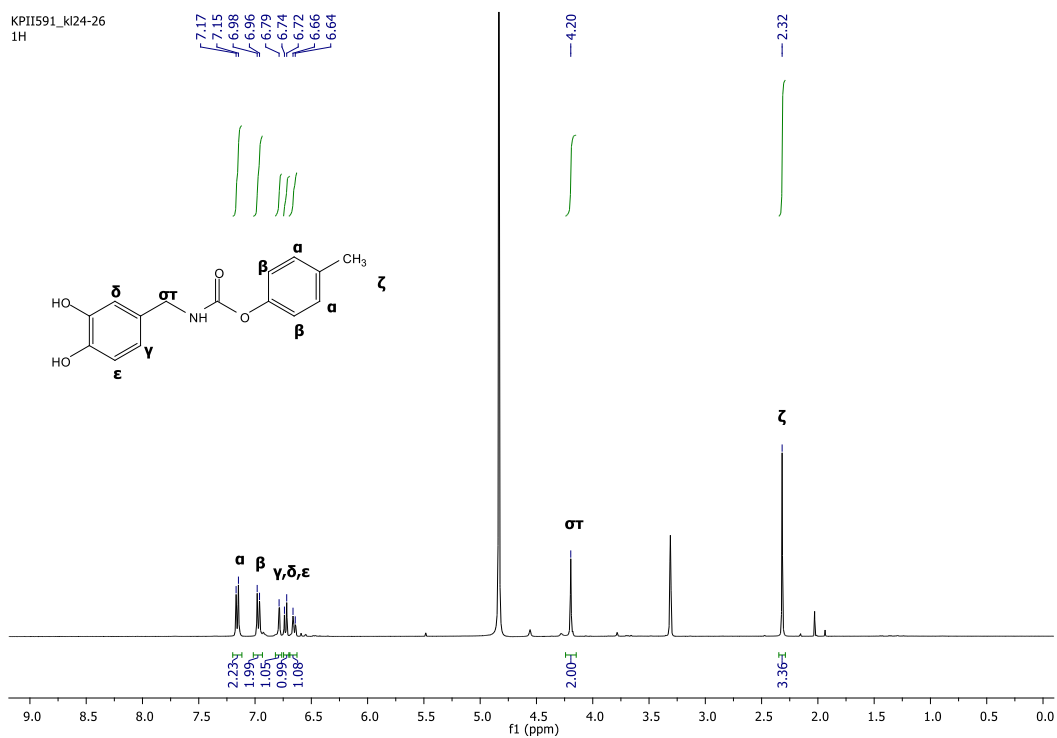
Σχήμα 128: Γενική αντίδραση απομεθυλίωσης των διμεθόξυ προστατευμένων καρβαμικών παραγώγων **155-160**.

Οι αποδόσεις των τελικών αποπροστατευμένων καρβαμικών παραγώγων καταγράφονται στον Πίνακα 32 που ακολουθεί:

Πίνακας 32: Τα τελικά καρβαμικά παράγωγα που συντέθηκαν και οι αποδόσεις των αντιδράσεών τους.

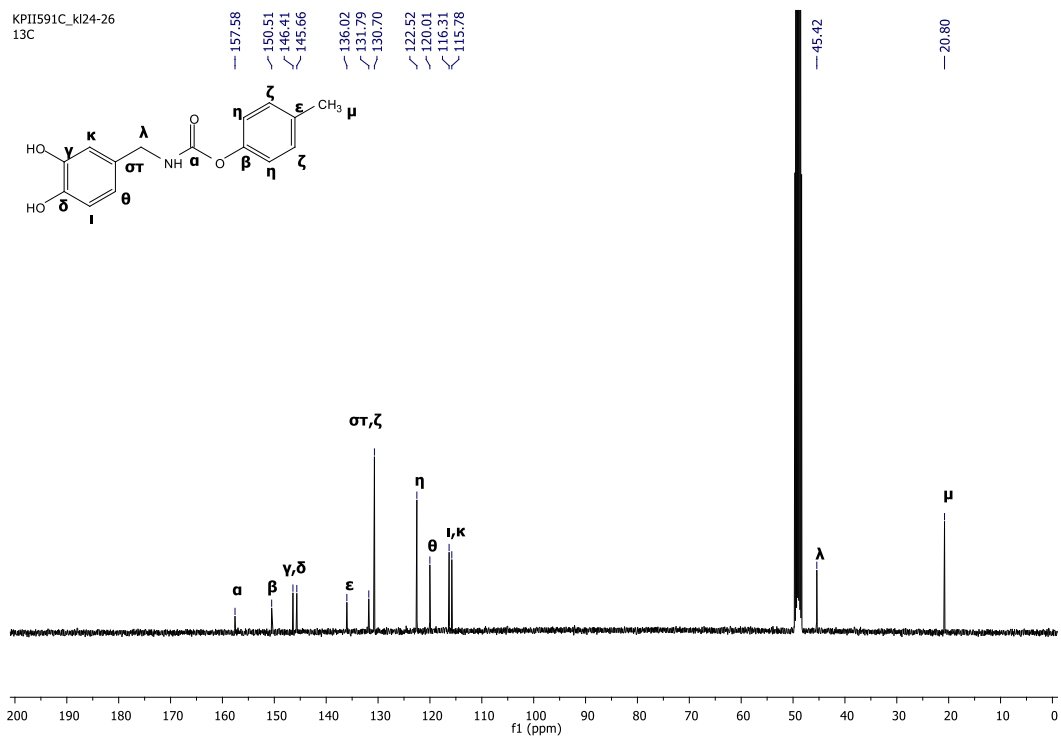
Ένωση	α	Ένωση	α
 <p>165</p>	8%	 <p>168</p>	15%
 <p>166</p>	43%	 <p>169</p>	45%
 <p>167</p>	27%	 <p>170</p>	17%

Στα επόμενα σχήματα παρουσιάζονται τα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR της τελικής ένωσης **168**. Στο φάσμα ^1H NMR (Σχήμα 129), οι δύο διπλές κορυφές στα 7.16 και 6.97 ppm αντιστοιχούν στα (α , β) αρωματικά πρωτόνια, ενώ οι άλλες τρεις κορυφές στα 6.79, 6.73 και 6.65 ppm, στα (γ - ϵ) αρωματικά πρωτόνια του κατεχολικού δακτυλίου. Το σήμα της χημικής μετατόπισης των ($\sigma\tau$) πρωτονίων του μεθυλενίου στα 4.20 ppm, εμφανίζεται ως μια απλή κορυφή, ενώ αυτό των (ζ) πρωτονίων του μεθυλίου στα 2.32 ppm, ως μια επίσης απλή κορυφή.



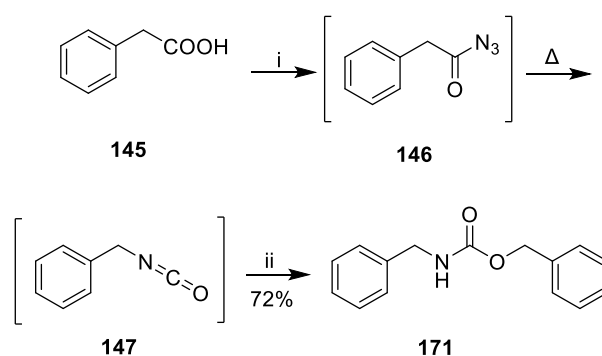
Σχήμα 129: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 168 σε διαλύτη CD_3OD (400 MHz).

Στο φάσμα ^{13}C NMR της ίδιας ένωσης (Σχήμα 130), παρατηρείται μια κορυφή στα 157.6 ppm που οφείλεται στον (α) καρβονυλικό άνθρακα της ένωσης, ενώ οι κορυφές στην περιοχή από τα 150.5 έως τα 115.8 ppm αντιστοιχούν στις χημικές μετατοπίσεις των (β - κ) αρωματικών ανθράκων της ένωσης. Ο (λ) άνθρακας του μεθυλενίου συντονίζεται στα 45.4 ppm και τέλος, ο (μ) άνθρακας του μεθυλίου στα 20.8 ppm.



Σχήμα 130: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 168 σε διαλύτη CD_3OD (101 MHz).

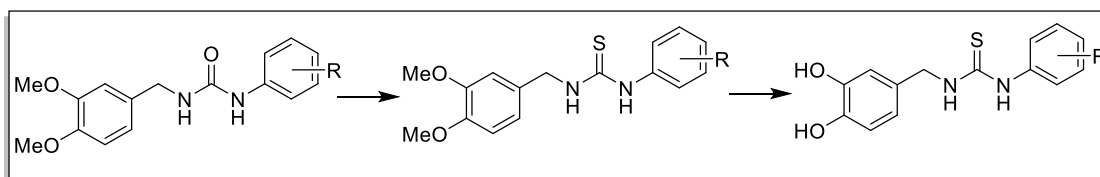
Όπως και στην περίπτωση των ουριών, για λόγους σύγκρισης στα βιολογικά πειράματα που ακολούθησαν, συντέθηκε και ένα καρβαμικό παράγωγο που δεν φέρει κατεχολικό δακτύλιο. Έτσι, από το φαινυλοξικό οξύ **145** και μετά από τον σχηματισμό του ενδιάμεσου **147**, με προσθήκη της βενζυλικής αλκοόλης **149**, παραλήφθηκε το καρβαμικό παράγωγο **171** (Σχήμα 131):



i) Et_3N , DPPA, ξηρό βενζόλιο, 1 h, 85°C , αναρροή., ii) **149**, 24 h, 85°C , αναρροή.

Σχήμα 131: Αντίδραση παρασκευής του καρβαμικού παραγώγου **171** από το φαινυλοξικό οξύ και την αλκοόλη **149**.

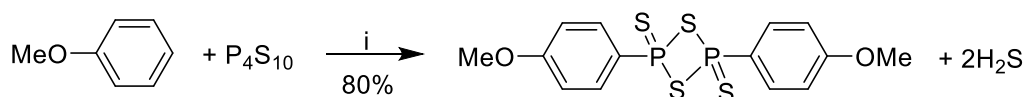
4.3.3 Συνθετική πορεία πολυφαινολικών παραγώγων θειουρίας



Σχήμα 132: Συνθετική πορεία πολυφαινολικών παραγώγων θειουρίας.

Η γενική συνθετική πορεία των κατεχολικών παραγώγων θειουρίας παρουσιάζεται στο Σχήμα 132. Σε αυτή την ενότητα, σκοπός ήταν οι διμεθόξυ προστατευμένες ουρίες, καθώς και τα προστατευμένα διμεθόξυ καρβαμικά παράγωγα (η σύνθεση των οποίων περιγράφεται στις παραγράφους 4.3.1 και 4.3.2, αντίστοιχα), να υποστούν αντίδραση θείωσης. Για τις αντιδράσεις αυτές, χρησιμοποιήθηκε ως αντιδραστήριο θείωσης, το 2,4-δισ(4-μεθοξυφαινυλο)-1,3,2,4-διθειαδιφωσφετανο-2,4-δισουλφίδιο ή αντιδραστήριο Lawesson [2,4-bis(4-methoxyphenyl)-1,3,2,4-dithiadiphosphetane-2,4-disulfide, LR].

Το αντιδραστήριο παρασκευάστηκε στο εργαστήριο σύμφωνα με γνωστή μέθοδο,²⁵² χρησιμοποιώντας ως πρώτες ύλες το πεντασουλφίδιο του φωσφόρου (phosphorus pentasulfide, P_4S_{10}) και την ανισόλη (Σχήμα 133):

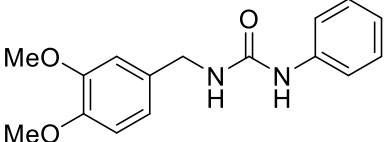
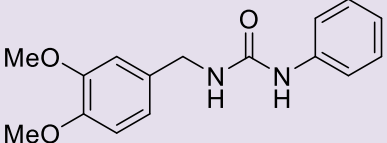
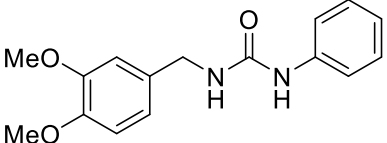
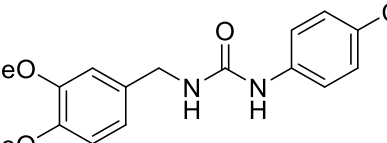
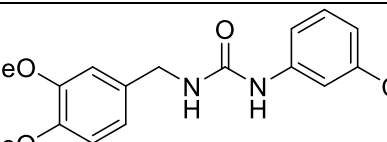
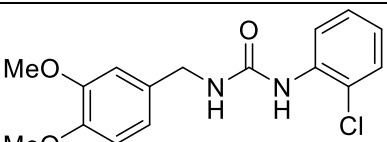
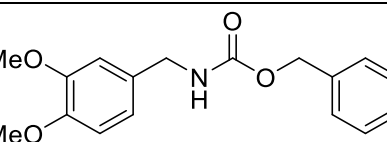
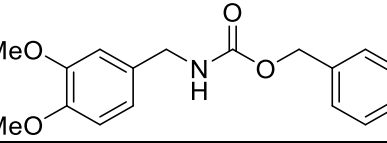
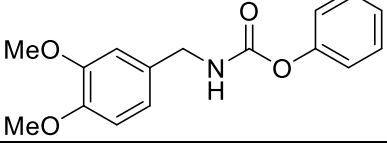
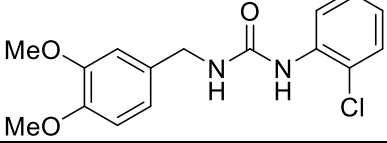


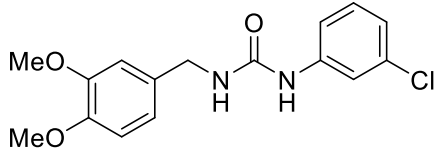
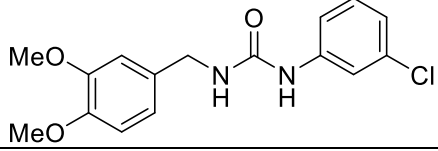
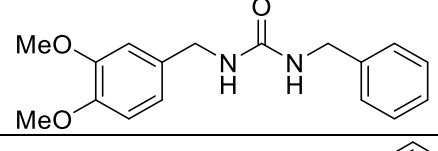
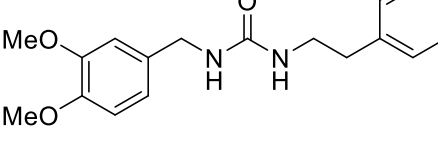
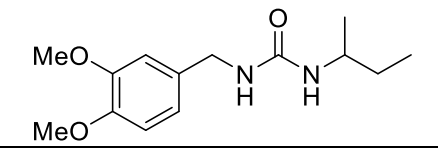
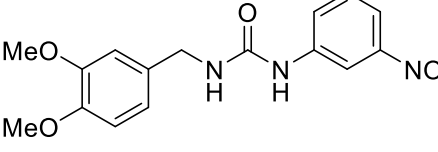
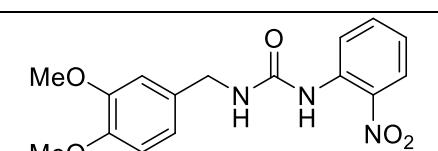
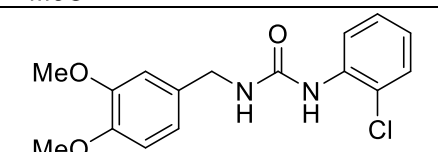
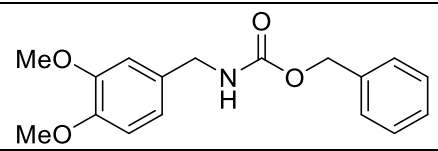
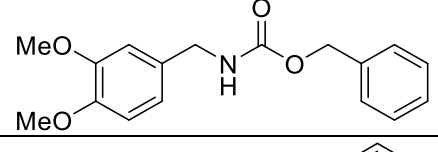
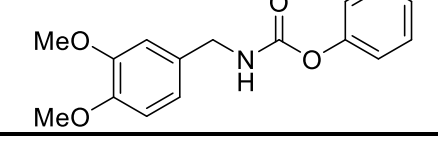
i) 150°C, αναρροή, 4 h.

Σχήμα 133: Αντίδραση παρασκευής του αντιδραστηρίου LR από την ανισόλη και το P_4S_{10} .

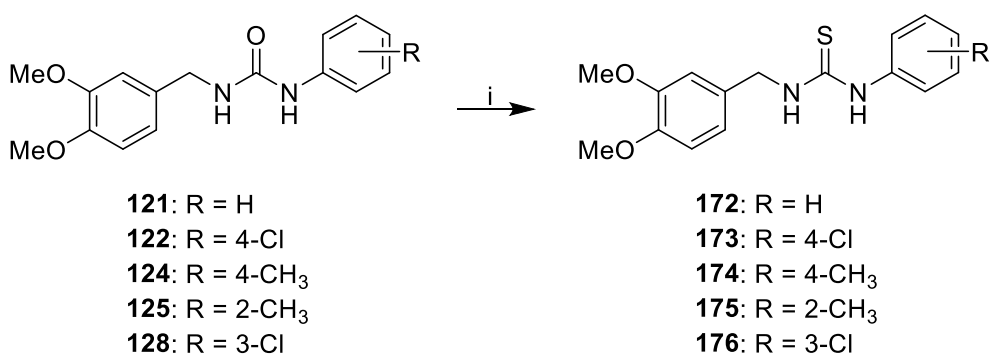
Για να βρεθούν οι κατάλληλες συνθήκες θείωσης, πραγματοποιήθηκε μια σειρά από δοκιμαστικές αντιδράσεις. Στις αντιδράσεις αυτές, δοκιμάστηκαν τρεις διαφορετικοί διαλύτες, διαφορετικά ισοδύναμα του αντιδραστηρίου LR, διαφορετική διάρκεια αντίδρασης, καθώς και διαφορετικές θερμοκρασίες. Επίσης, δοκιμάστηκαν και διαφορετικά υποστρώματα. Όλες οι δοκιμαστικές αντιδράσεις που έλαβαν χώρα φαίνονται στον Πίνακα 33:

Πίνακας 33: Οι συνθήκες, τα υποστρώματα και οι αποδόσεις των δοκιμαστικών αντιδράσεων θείωσης που πραγματοποιήθηκαν (T: θερμοκρασία).

Αρ	εφ	Διαλύτης	T	Διάρκεια	Υπόστρωμα	α
1	2	τολουόλιο	100°C	5 h		30 %
2	1	τολουόλιο	100°C	5 h		32 %
3	½	τολουόλιο	100°C	5 h		21 %
4	1	τολουόλιο	100°C	48 h		-
5	1	τολουόλιο	100°C	48 h		-
6	1	ξυλόλιο	140°C αναρροή	48 h		-
7	1	ξυλόλιο	140°C αναρροή	24 h		-
8	1	τολουόλιο	100°C	5 h		-
9	1	τολουόλιο	100°C	5 h		-
10	1	τολουόλιο	100°C	5 h		-

11	1	THF	r.t.	7 ημέρες		-
12	1	τολουόλιο	r.t.	7 ημέρες		-
13	2	τολουόλιο	100°C	5 h		-
14	1	τολουόλιο	100°C	5 h		-
15	1	τολουόλιο	100°C	5 h		-
16	1	τολουόλιο	100°C	5 h		-
17	1	τολουόλιο	100°C	5 h		-
18	1	τολουόλιο	100°C	5 h		-
19	1	ξυλόλιο	140°C αναρροή	24 h		-
20	1	τολουόλιο	100°C	5 h		-
21	1	τολουόλιο	100°C	5 h		-

Από τις δοκιμαστικές αντιδράσεις του παραπάνω πίνακα, προέκυψε το συμπέρασμα ότι μόνο οι ουρίες που προέρχονται από ανιλίνες δύνανται να αντιδράσουν με το αντιδραστήριο LR, και μάλιστα συγκεκριμένες μόνο από αυτές. Επίσης, αποφασίστηκε να εφαρμοστούν οι συνθήκες της **αντίδρασης 2**, καθώς έδωσαν τις βέλτιστες συνθήκες αντίδρασης. Έτσι, από τις προστατευμένες ουρίες **121**, **122**, **124**, **125** και **128** μετά από αντίδρασή τους με το αντιδραστήριο LR, σε διαλύτη ξηρό τολουόλιο και σε θερμοκρασία 100°C, προέκυψαν οι θειουρίες **172-176** (Σχήμα 134):



i) αντιδραστήριο LR, ξηρό τολουόλιο, 100°C, 5 h.

Σχήμα 134: Γενική αντίδραση παρασκευής θειουριών με χρήση του αντιδραστηρίου LR.

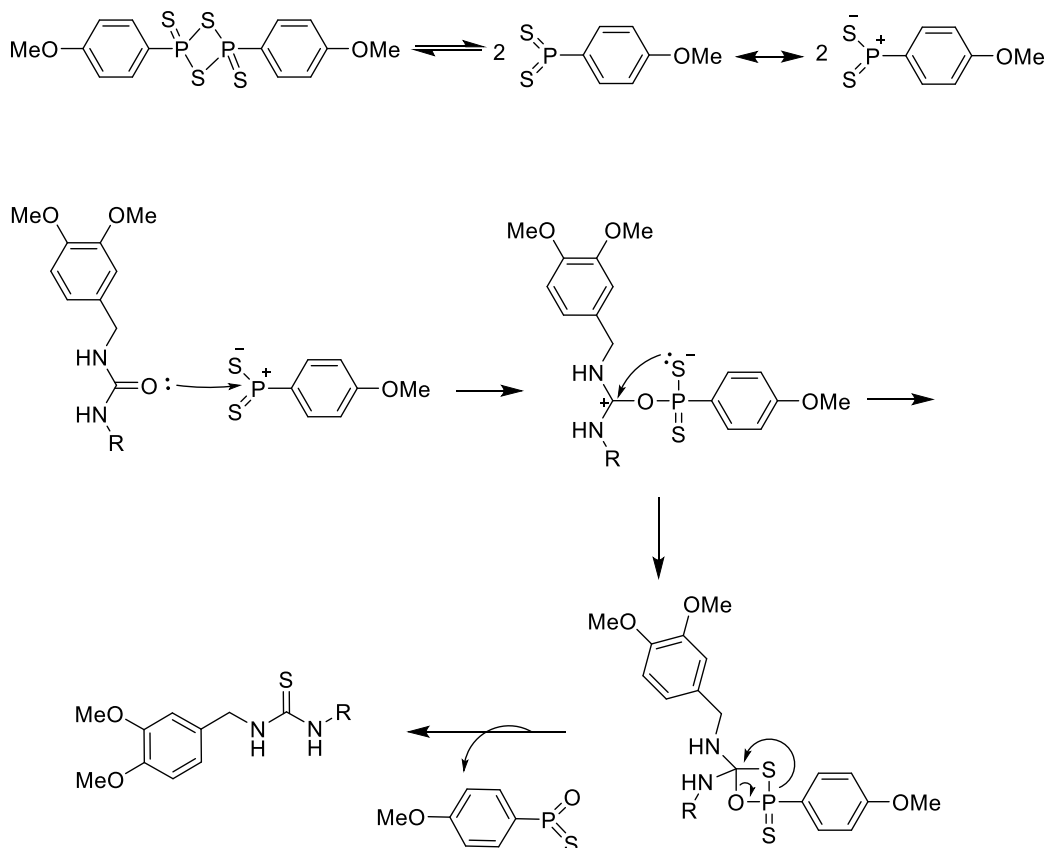
Η θείωση είναι η πιο συχνή διεργασία για την παρασκευή θειοοργανικών ενώσεων.²⁵³ Ως αντιδραστήριο θείωσης χρησιμοποιείται συχνά το P₄S₁₀, όμως οι αντιδράσεις αυτές απαιτούν συνήθως περίσσεια του αντιδραστηρίου και αρκετά μεγάλο χρόνο αντίδρασης.²⁵⁴

Το αντιδραστήριο LR περιγράφηκε από τον Lecher και τους συνεργάτες του το 1956,²⁵⁵ όμως η χρήση του ως αντιδραστήριο ανταλλαγής O/S αναφέρθηκε το 1967.²⁵⁶ Η πλήρης δυναμική του διαπιστώθηκε το 1978 από τον Lawesson και την ομάδα του. Από το 1978, διάφορες δημοσιεύσεις απέδειξαν ότι το LR προτιμάται ως αντιδραστήριο θείωσης.²⁵⁴

Το πρώτο πλεονέκτημα του LR είναι η εύκολη παρασκευή του και το δεύτερο, ότι αντιδρά σε ισομοριακές ποσότητες με πληθώρα καρβονυλικών ενώσεων.²⁵⁷ Φυλάσσεται υπό ατμόσφαιρα Ar,²⁵⁵ ενώ είναι ασταθές σε θερμοκρασίες υψηλότερες από 110°C,²⁵⁸ καθώς υπόκεινται σε αργό πολυμερισμό ή άλλες μετατροπές.²⁵⁷ Η μεγαλύτερη δυσκολία που

προκύπτει με την εφαρμογή του LR, είναι τα παραπροϊόντα που προκύπτουν από το ίδιο το αντιδραστήριο, τα οποία δεν μπορούν να απομακρυνθούν με εκχυλίσεις και πρέπει να απομακρυνθούν με χρονοβόρες χρωματογραφικές μεθόδους.²⁵³

Στον προτεινόμενο μηχανισμό της αντίδρασης (Σχήμα 135), το LR δίσταται προς το μονομερές ArPS₂ με το οποίο βρίσκεται σε ισορροπία. Και οι δύο μεσομερείς δομές, μπορούν να αντιδράσουν με ενώσεις που διαθέτουν καρβονύλια,²⁵⁴ καθώς λαμβάνει χώρα μια πυρηνόφιλη προσβολή από το οξυγόνο του καρβονυλίου προς τον ηλεκτρονιόφιλο φώσφορο.^{259,260} Έτσι, σχηματίζεται ένα ενδιάμεσο μόριο, το οποίο αποσυντίθεται με μία αντίδραση ανάλογη της Wittig, προς το επιθυμητό θειωμένο προϊόν.²⁵⁷ Ένας σημαντικός παράγοντας, ο οποίος οδηγεί τον μηχανισμό, είναι η θερμοδυναμική σταθερότητα που προσδίδει το προκύπτον προϊόν. Οι δεσμοί P-O είναι πολύ ισχυρότεροι σε σχέση με τους δεσμούς P-S και ο σχηματισμός των θειωμένων προϊόντων ενισχύεται με την ανταλλαγή θείου με οξυγόνο.²⁶¹



Σχήμα 135: Προτεινόμενος μηχανισμός αντίδρασης θείωσης με το αντιδραστήριο LR.

Μετά το πέρας της αντίδρασης, πραγματοποιείται εκχύλιση με H₂O και έπειτα, χρωματογραφία στήλης προς απομάκρυνση των παραπροϊόντων. Ο καθαρισμός είναι αρκετά δύσκολος, καθώς σχηματίζονται αρκετά παραπροϊόντα, τα οποία έχουν κοντινό R_f με το προϊόν.

Γενικά, έχει παρατηρηθεί ότι οι θειώσεις που γίνονται με χρήση του LR, είναι αντιδράσεις που πραγματοποιούνται χωρίς προβλήματα και μάλιστα, σε πολύ ικανοποιητικές αποδόσεις. Αυτό, βέβαια, συμβαίνει στην περίπτωση κυρίως των αμιδίων και όχι των ουριών και των καρβαμικών παραγώγων.

Στην περίπτωση της παρούσας διατριβής, παρατηρήθηκε ότι οι μόνες ενώσεις που αντέδρασαν με το αντιδραστήριο LR, ήταν οι ουρίες που προέρχονταν από πέντε συγκεκριμένες ανιλίνες, την *p*-Me, *o*-Me, *p*-Cl, *m*-Cl και τη μη υποκατεστημένη ανιλίνη. Δηλαδή, τα καρβαμικά παράγωγα και οι ουρίες που δεν προέρχονται από ανιλίνες, αδυνατούν να αντιδράσουν με το αντιδραστήριο LR.

Προέκυψε, λοιπόν, το συμπέρασμα ότι όταν ο υποκαταστάτης της ανιλίνης είναι δότης ηλεκτρονίων (όπως είναι η Me-ομάδα), η θείωση πραγματοποιείται και μάλιστα με σχετικά καλή απόδοση. Στην περίπτωση που ο υποκαταστάτης είναι δέκτης ηλεκτρονίων (όπως η NO₂ ομάδα) η αντίδραση δεν προχωράει καθόλου.

Η περίπτωση όπου ο υποκαταστάτης είναι Cl, είναι λίγο πιο ιδιαίτερη. Ακόμα κι αν οι αποδόσεις των αντιδράσεων θείωσης ήταν μικρές, παρατηρήθηκε ότι όταν το Cl ήταν σε *p*- και *m*-θέση, η ουρία αντέδρασε, ενώ δεν συνέβη κάτι αντίστοιχο με την ουρία όπου το Cl ήταν σε *o*-θέση. Η αδυναμία αντίδρασης της ουρίας με το Cl σε *o*-θέση, πιθανόν να οφείλεται στη χωρική παρεμπόδιση που προκαλεί το άτομο του Cl.

Οι θειουρίες που παρασκευάστηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 34, μαζί με τις αποδόσεις τους:

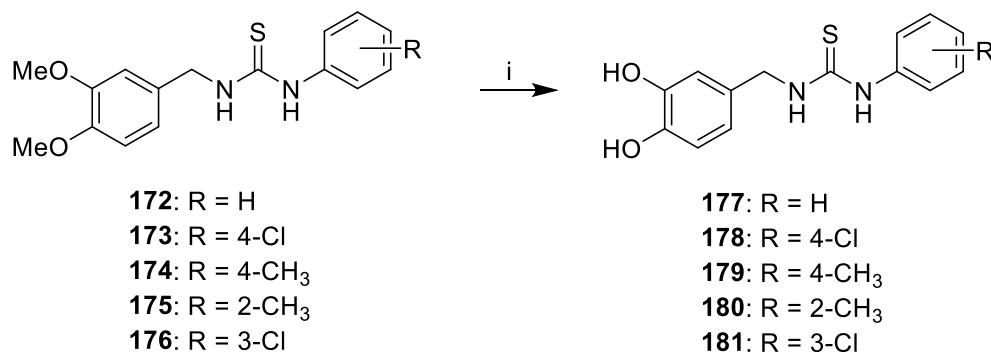
Πίνακας 34: Οι θειουρίες που παρασκευάστηκαν και οι αποδόσεις τους.

Ένωση	R	Απόδοση
172	H	32%
173	4-Cl	14%

174	4-CH ₃	33%
175	2-CH ₃	33%
176	3-Cl	13%

Η ανταλλαγή O/S επιβεβαιώνεται με τη λήψη φασμάτων ¹H και ¹³C NMR, καθώς παρατηρούνται μεταβολές στις μετατοπίσεις τους. Πιο συγκεκριμένα, στο φάσμα ¹H NMR τα πρωτόνια των δύο αμινομάδων που περικλύουν το καρβονύλιο μετατοπίζονται σε χαμηλότερη μετατόπιση κατά ~ 0.13 και ~ 0.22 ppm. Επιπλέον, η μετατόπιση των πρωτονίων του μεθυλενίου αυξάνεται κατά ~0.55 ppm. Στο φάσμα ¹³C NMR, η μετατόπιση του καρβονυλικού άνθρακα αυξάνεται κατά ~25.0 ppm, ενώ η μετατόπιση του άνθρακα του μεθυλενίου κατά ~ 6.5 ppm.

Στη συνέχεια, οι προστατευμένες θειουρίες **172-176** υπέστησαν αντίδραση αποπροστασίας με χρήση του αντιδραστήριου απομεθυλίωσης BBr₃ σε διαλύτη ξηρό CH₂Cl₂, οπότε σχηματίστηκαν οι τελικές θειουρίες **177-181** (Σχήμα 136):



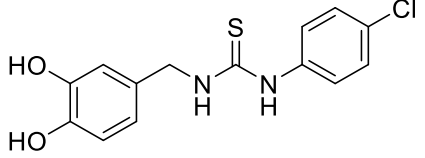
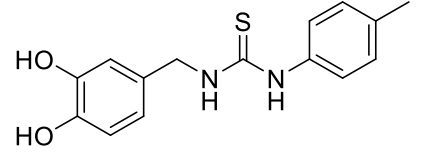
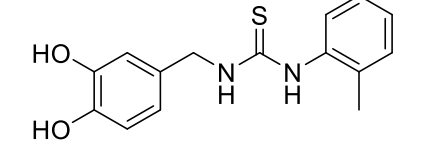
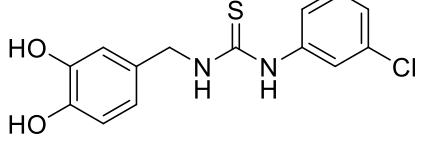
i) BBr₃ 1 M σε CH₂Cl₂, ξηρό CH₂Cl₂, Ar, 0°C, 15 λεπτά.

Σχήμα 136: Γενική αντίδραση αποπροστασίας των θειουριών **172-176**.

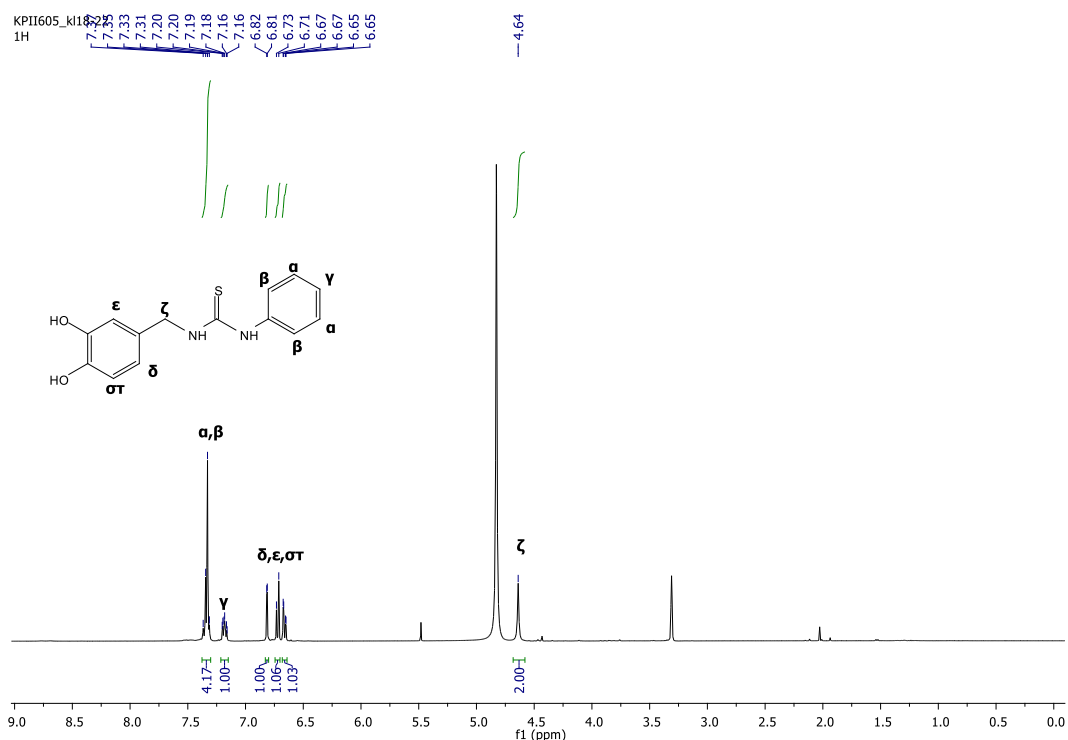
Τα τελικά προϊόντα που παρασκευάστηκαν φαίνονται στον επόμενο πίνακα (Πίνακας 35) με τις εξής αποδόσεις:

Πίνακας 35: Οι τελικές θειουρίες που παρασκευάστηκαν και οι αποδόσεις τους.

Ένωση	Απόδοση
<p>177</p>	27%

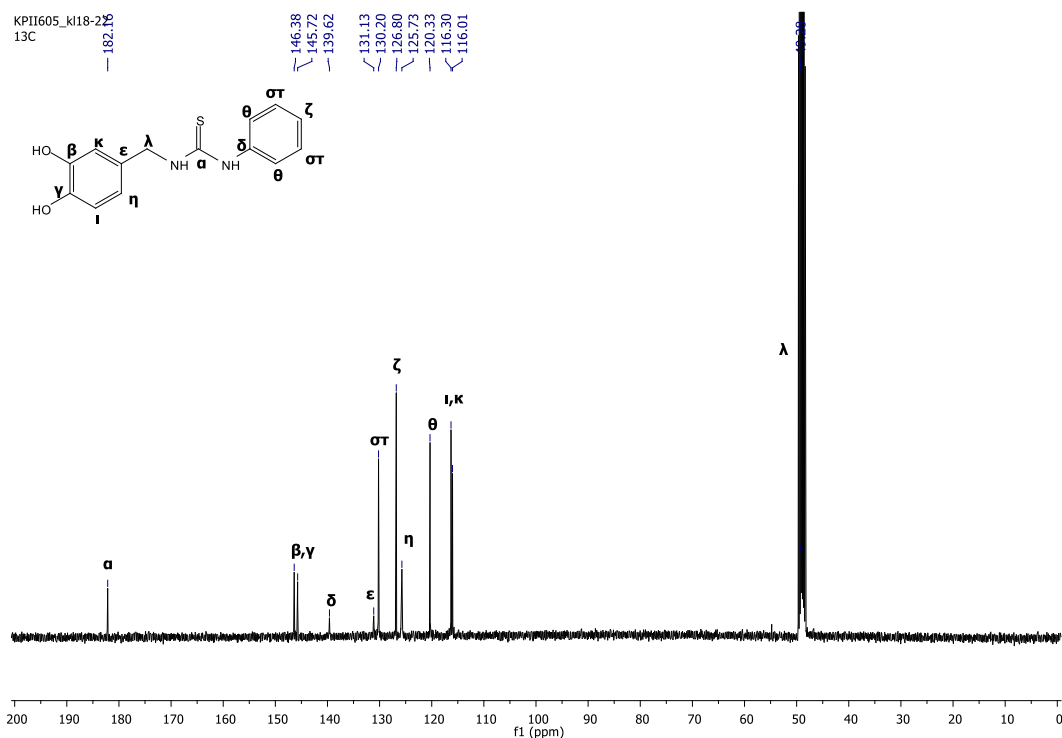
 <p style="text-align: center;">178</p>	41%
 <p style="text-align: center;">179</p>	21%
 <p style="text-align: center;">180</p>	39%
 <p style="text-align: center;">181</p>	31%

Στη συνέχεια, παρατίθενται τα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR της τελικής ένωσης **177**. Στο φάσμα ^1H NMR (Σχήμα 137), παρατηρείται μία κορυφή στα 7.38-7.30 ppm, η οποία αντιστοιχεί στο σήμα της χημικής μετατόπισης των (α - β) αρωματικών πρωτονίων, ενώ αυτή στα 7.20-7.16 ppm στο σήμα του (γ) αρωματικού πρωτονίου. Από τα 6.82-6.65 ppm συντονίζονται τα (δ - $\sigma\tau$) αρωματικά πρωτόνια του κατεχολικού δακτυλίου, ενώ τέλος στα 4.64 ppm συντονίζονται ως μια απλή κορυφή τα (ζ) πρωτόνια του μεθυλενίου της ένωσης.



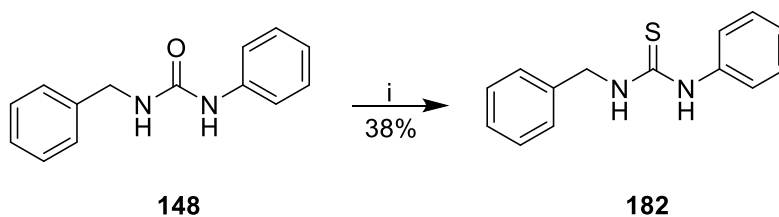
Σχήμα 137: Φάσμα ¹H NMR της ένωσης 177 σε διαλύτη CD₃OD (400 MHz).

Στο φάσμα ¹³C NMR της ίδιας ένωσης (Σχήμα 138), η κορυφή στα 182.2 ppm αντιστοιχεί στον (α) άνθρακα του θειοκαρβονυλίου, ενώ οι (β-κ) αρωματικοί άνθρακες συντονίζονται στην περιοχή 146.4-116.0 ppm. Τέλος, η κορυφή του άνθρακα του μεθυλενίου της ένωσης συντονίζεται στα 49.3 ppm και πέφτει μέσα στην περιοχή όπου συντονίζονται οι κορυφές του διαλύτη, οπότε δεν είναι ιδιαίτερα διακριτή.



Σχήμα 138: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 177 σε διαλύτη CD_3OD (101 MHz).

Τέλος, παρασκευάστηκε και η θειουρία της απλής ουρίας **148**, με σκοπό να μελετηθεί μια θειουρία που δεν φέρει κατεχολικό δακτύλιο. Οπότε, από την ουρία **148**, ακολουθώντας την ίδια μέθοδο παρασκευής θειουριών, συντέθηκε η θειουρία **182** με χρήση του αντιδραστηρίου LR σε διαλύτη ξηρό τολουόλιο (Σχήμα 139):



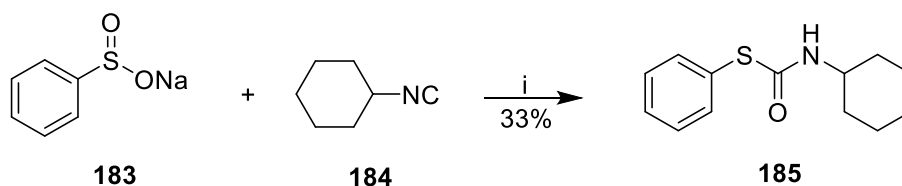
i) αντιδραστήριο LR, ξηρό τολουόλιο, 100°C , 5 h.

Σχήμα 139: Αντίδραση παρασκευής της θειουρίας **182** από την ουρία **148**.

4.3.4 Συνθετική πορεία κυκλοεξυλοθειοκαρβαμικού S-φαινυλίου

Για λόγους σύγκρισης στις βιολογικές μελέτες οι οποίες ακολούθησαν, παρασκευάστηκε και ένα θειοκαρβαμικό παράγωγο. Έτσι, εφαρμόζοντας γνωστή μέθοδο, όπου από το βενζοσουλφινικό νάτριο **183** (sodium benzenesulfinate) ως αντιδραστήριο θείωσης, το κυκλοεξυλοϊσοκυανίδιο **184** (cyclohexyl isocyanide), τον φωσφονικό διμεθυλεστέρα $\text{HP}(\text{O})(\text{OMe})_2$

(dimethyl phosphonate) ως αντιδραστήριο αναγωγής, το νερό, το I₂ ως καταλύτη και διαλύτη AcOEt σε θερμοκρασία 100°C συντέθηκε το θειοκαρβαμικό παράγωγο **185** (Σχήμα 140):²⁶²



i) H₂O, I₂, HP(O)(OMe)₂, AcOEt, 100°C, 6 h.

Σχήμα 140: Αντίδραση παρασκευής του θειοκαρβαμικού παραγώγου 185.

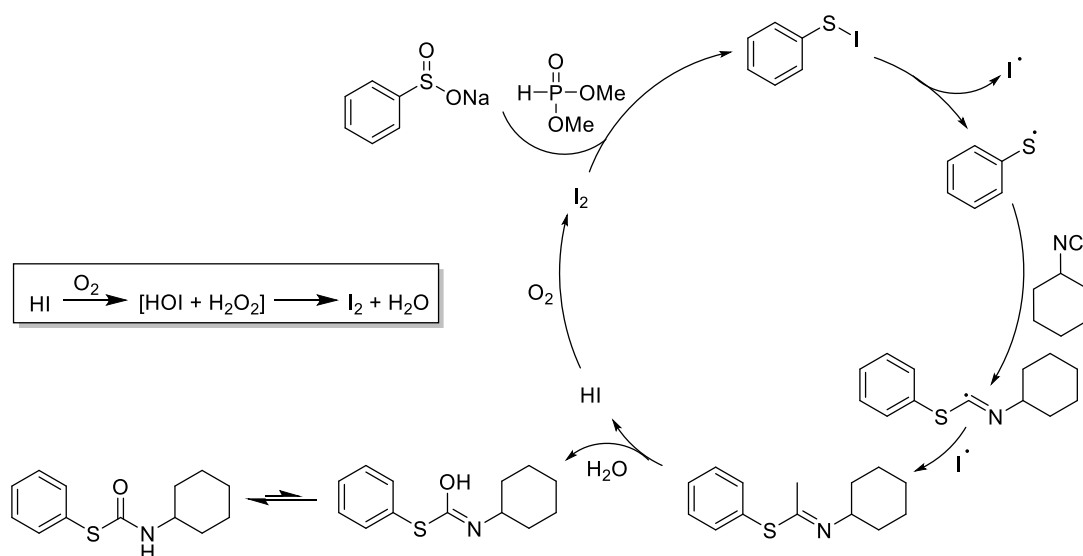
Τις τελευταίες δεκαετίες, έχουν γίνει σημαντικές προσπάθειες για την παρασκευή θειοκαρβαμικών παραγώγων. Έχουν βρεθεί διάφορες στρατηγικές σύνθεσης των παραγώγων αυτών, οι οποίες περιλαμβάνουν την εφαρμογή πολλών σταδίων ή επικίνδυνων αντιδραστηρίων.²⁶²

Τα θειικά άλατα νατρίου είναι σταθερά, άοσμα και ευκολοπρόσιτα αντιδραστήρια, τα οποία πρόσφατα εμφανίστηκαν ως τα αντιδραστήρια πηγής θείου για τον σχηματισμό του δεσμού C-S μέσω αναγωγικών αντιδράσεων σουλφονιλίωσης.^{263,264} Ο Bao και η ομάδα του ανέφεραν ένα νέο και αποτελεσματικό μοριακό ιωδιοκαταλυόμενο πρωτόκολλο για την άμεση σύνθεση θειοκαρβαμικών παραγώγων από θειικά άλατα νατρίου, νερό και ισοκυανίδια. Αυτή η μέθοδος δεν χρησιμοποιεί μέταλλα, αλλά άμεσα διαθέσιμα θειικά άλατα νατρίου ως πηγή θείου και το HP(O)(OMe)₂ ως αναγωγικό αντιδραστήριο.²⁶²

Η παρουσία του I₂ είναι απαραίτητη για την αντίδραση, καθώς δρα ως καταλύτης, όπως επίσης, απαραίτητη είναι και η παρουσία του αναγωγικού αντιδραστηρίου. Επιπλέον, το νερό αποτελεί την πηγή του οξυγόνου για τα θειοκαρβαμικά παράγωγα. Τέλος, η θερμοκρασία των 100°C, καθώς και ο αέρας (O₂) είναι απαραίτητα για την πορεία της αντίδρασης, όπως φαίνεται και στον πιθανό μηχανισμό.

Οι συγγραφείς της μεθόδου πρότειναν ότι η αντίδραση προχωράει μέσω ενός ριζικού μηχανισμού (Σχήμα 141). Αρχικά, το βενζοσουλφινικό νάτριο μετατρέπεται σε βενζοσουλφόνυλο ιωδίδιο με συνδυασμό του μοριακού I₂ και του HP(O)(OMe)₂.^{263,264} Στη συνέχεια, το βενζοσουλφόνυλο ιωδίδιο

ενδέχεται να υποστεί ομολυτική διάσπαση για να σχηματίσει μια ρίζα βενζοσουλφονυλίου και μια ρίζα ιωδίου.^{264,265} Έπειτα, η προσθήκη της ρίζας βενζοσουλφονυλίου στο κυκλοεξυλοϊσοκυανίδιο, σχηματίζει ένα ριζικό ενδιάμεσο άνθρακα.^{266,267,268} Η αλληλεπίδραση του ριζικού ενδιάμεσου με τη ρίζα ιωδίου, δίνει ένα ενδιάμεσο, το οποίο μετά από αντίδραση με το νερό, οδηγεί στον σχηματισμό του επιθυμητού προϊόντος με ταυτόχρονη απελευθέρωση HI.^{267,269} Τέλος, το παραγόμενο HI θα οξειδωθεί από το O₂ του αέρα σε I₂, για να ολοκληρωθεί έτσι ο καταλυτικός κύκλος.²⁷⁰



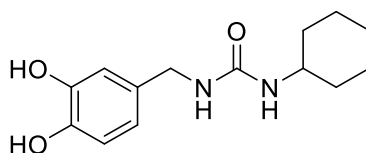
Σχήμα 141: Προτεινόμενος μηχανισμός αντίδρασης του βενζοσουλφινικού νατρίου, του κυκλοεξυλοϊσοκυανιδίου και του νερού για την παρασκευή του θειοκαρβαμικού παραγώγου 185.

Μετά το πέρας της αντίδρασης, προστέθηκε στο μίγμα νερό και οι δυο σπιβάδες εκχυλίστηκαν, και στη συνέχεια με χρωματογραφία στήλης παραλάβαμε το θειοκαρβαμικό παράγωγο.

4.3.5 Ενζυμικά αποτελέσματα

Οι ενώσεις **131-144**, **148**, **165-171**, **177-182** και **185** που συντέθηκαν στο εργαστήριο, μελετήθηκαν ως προς την ανασταλτική τους δράση έναντι του ενζύμου της ουρεάσης στο Τμήμα Βιοοργανικής Χημείας του Πανεπιστημίου Wrocław στην Πολωνία από την ερευνητική ομάδα του Αναπληρωτή Καθηγητή Łukasz Berlicki.

Οι ερευνητές εφαρμόζοντας τις μεθόδους, «Cresol red method» και «Fluorescence method», κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η μόνη ένωση που παρουσίασε σχετική δράση, ήταν η ένωση **133** με $IC_{50} = 571.7 \mu M$ (Σχήμα 142). Ως ένωση αναφοράς στις μεθόδους, χρησιμοποιήθηκε το ακετούδροξαμικό οξύ (acetoxyhydroxamic acid, AHA), το οποίο παρουσίασε $IC_{50} = 7.644 \mu M$.



133

$IC_{50} = 571.7 \mu M$

Σχήμα 142: Η ένωση **133**, η οποία παρουσίασε την καλύτερη δράση κατά του ενζύμου της ουρεάσης.

4.3.6 Συμπεράσματα

Λαμβάνοντας υπόψη όλα τα παραπάνω αποτελέσματα, προκύπτει το συμπέρασμα ότι μόνο οι ουρίες που προέρχονται από ανιλίνες μπορούν να πραγματοποιήσουν αντίδραση θείωσης με το αντιδραστήριο Lawesson και μάλιστα σε μικρές αποδόσεις. Εξαίρεση αποτελούν οι ουρίες, οι οποίες προέρχονται από νιτρανιλίνες.

Επιπλέον, αποδείχτηκε ότι τα νέα κατεχολικά παράγωγα, η σύνθεση των οποίων περιγράφεται στο παρόν υποκεφάλαιο, δεν επέδειξαν ισχυρότερη ανασταλτική δράση σε σχέση με την ένωση αναφοράς, που ήταν το ακετούδροξαμικό οξύ ($IC_{50} = 7.644 \mu M$). Τέλος, η ουρία **133** (Σχήμα 142) παρουσίασε την ισχυρότερη ανασταλτική δράση έναντι του ενζύμου της ουρεάσης με $IC_{50} = 571.7 \mu M$.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ - ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΙ ΕΝΩΣΕΩΝ

5.1 Γενικό πειραματικό μέρος

5.1.1 Αντιδραστήρια, διαλύτες

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των ενώσεων που περιγράφονται στην παρούσα εργασία ήταν εμπορικά διαθέσιμα προϊόντα των εταιριών Aldrich, Merck, Fluka και Alfa-Aesar. Η καθαρότητα των αντιδραστηρίων ήταν 99% και άνω και χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω καθαρισμό. Οι διαλύτες ήταν υψηλής καθαρότητας (99%) των εταιριών Labscan και Merck. Το CH_2Cl_2 που χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης στις αντιδράσεις είχε ως σταθεροποιητή αμυλένιο. Στις περιπτώσεις που απαιτήθηκε η χρήση ξηρών διαλυτών, οι εμπορικά διαθέσιμοι διαλύτες υπέστησαν περαιτέρω επεξεργασία: το THF αποστάχθηκε υπεράνω μεταλλικού Na με δείκτη βενζοφαινόνη, ενώ το CH_2Cl_2 , ο Et_2O , το τολουόλιο, το ξυλένιο, το DMF, το βενζόλιο και το HMPA φυλάχθηκαν πάνω από μοριακά κόσκινα. Πραγματοποιήθηκε, επίσης, απόσταξη Et_3N υπεράνω υδροξειδίου του καλίου και παρασκευάστηκε το αντιδραστήριο Lawesson. Τέλος, το αντιδραστήριο $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_2$ που χρησιμοποιήθηκε, είχε παρασκευαστεί από προηγούμενο μέλος του εργαστηρίου.

5.1.2 Χρωματογραφική ανάλυση

Για τον έλεγχο της πορείας των αντιδράσεων χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (Thin Layer Chromatography, TLC). Χρησιμοποιήθηκαν πλάκες αλουμινίου, πάχους 0.25 mm, επιστρωμένες με silica gel και φθορίζον υλικό που απορροφά στα 254 nm (Silica gel 60 F₂₅₄) της εταιρίας Merck. Ο χρωματογραφικός χαρακτηρισμός των ενώσεων πραγματοποιήθηκε με τη μέτρηση του συντελεστή ανάσχεσης (R_f) σε διάφορα συστήματα ανάπτυξης. Για την εμφάνιση των χρωματογραφιών χρησιμοποιήθηκε λάμπα υπεριώδους ακτινοβολίας (254 nm) και ψεκασμός με διάλυμα νινυδρίνης για ενώσεις που περιέχουν άζωτο. Οι ενώσεις που

συντέθηκαν καθαρίστηκαν με χρωματογραφία στήλης. Η έκλουση πραγματοποιήθηκε είτε με τη δύναμη της βαρύτητας (στήλη gravity), είτε με εφαρμογή πίεσης (στήλη flash). Στις στήλες gravity χρησιμοποιήθηκε ως υλικό πλήρωσης Silica gel 60 (0.063-0.200 mm) της εταιρίας Merck, ενώ η πλήρωση των στηλών flash πραγματοποιήθηκε με Silica gel RP-18 (0.040-0.063 mm) της ίδιας εταιρίας. Η πλήρωση των στηλών αντίστροφης φάσης πραγματοποιήθηκε με LiChroprep RP-18 (40-63 μm) της εταιρίας Merck. Τα συστήματα έκλουσης που χρησιμοποιήθηκαν είναι διαφορετικά για κάθε ένωση και αναφέρονται στις πειραματικές μεθόδους.

5.1.3 Ταυτοποίηση και χαρακτηρισμός ενώσεων

Φασματομετρία Μάζας: Τα φάσματα μάζας ελήφθησαν σε φασματόμετρο ThermoFinnigan Surveyor MSQ, που διαθέτει το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας, με τη τεχνική ESI (ιοντισμός με ηλεκτροψεκασμό, ElectroSpray Ionization) για την παραγωγή των ιόντων. Τα φάσματα μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (HRMS) των τελικών προϊόντων καταγράφηκαν χρησιμοποιώντας ένα φασματόμετρο μάζας 4800 MALDI-TOF (Applied Biosystems, Foster City).

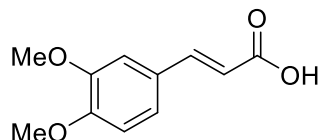
Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR): Οι ενώσεις που παρασκευάστηκαν στην παρούσα εργασία ταυτοποιήθηκαν και χαρακτηρίστηκαν με ^1H , ^{13}C (^{19}F και ^{31}P για συγκεκριμένες ενώσεις) φασματοσκοπία NMR. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε όργανο 200 MHz Varian Mercury και 400 MHz Avance Bruker, που διαθέτει το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας. Η συχνότητα συντονισμού NMR για τα φάσματα ^1H ήταν στα 200 MHz, για τα φάσματα ^{13}C στα 50 MHz και για τα φάσματα ^{31}P στα 81 MHz, στο Mercury. Στο Bruker, η συχνότητα συντονισμού NMR για τα φάσματα ^1H ήταν στα 400 MHz, για τα φάσματα ^{13}C στα 101 MHz και για τα φάσματα ^{19}F στα 376 MHz. Τα φάσματα ^{13}C και ^{31}P NMR είναι πλήρως αποσυνζευγμένα από πρωτόνιο (proton decoupled). Οι δευτεριωμένοι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των δειγμάτων ήταν CDCl_3 , CD_3OD , $d_6\text{-DMSO}$, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, D_2O και CD_3COOD των εταιριών Aldrich και Acros Organics. Οι χημικές μετατοπίσεις (δ) εκφράζονται σε ppm, ενώ οι σταθερές σύζευξης (J) σε Hz.

Η κλίμακα δ (ppm) 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 μέσω βιβλιογραφικών δεδομένων και είναι: α) CDCl_3 : 7.27 ppm (χημική μετατόπιση πρόσμιξης CHCl_3), β) CD_3OD : 3.31 ppm (ο μέσος όρος των χημικών μετατοπίσεων όλων των πιθανών πρωτονιωμένων μορφών της CD_3OD), γ) d_6 -DMSO: 2.50 ppm (ο μέσος όρος των χημικών μετατοπίσεων όλων των πιθανών πρωτονιωμένων μορφών του $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, δ) $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ (2.05 ppm), ε) D_2O (4.79 ppm) και στ) CD_3COOD : 2.04 ppm και 11.65 ppm. Η κλίμακα δ (ppm) στα φάσματα ^{13}C NMR είναι βαθμονομημένη σύμφωνα με τη χημική μετατόπιση των δευτεριωμένων διαλυτών. Οι τιμές αυτές ορίστηκαν μέσω βιβλιογραφικών δεδομένων και είναι: α) CDCl_3 : 77.0 ppm, β) CD_3OD : 49.0 ppm, γ) d_6 -DMSO: 39.5 ppm, δ) $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$: 29.8 και 206.3 ppm και ε) CD_3COOD : 20.0 ppm και 178.4 ppm. Η βαθμονόμηση της κλίμακας δ (ppm) στα φάσματα ^{31}P NMR 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 βαθμονόμηση της κλίμακας στα φάσματα ^{19}F έγινε βάσει εξωτερικού προτύπου που περιέχει CHF_3 σε διαλύτη CDCl_3 , όπου η χημική μετατόπιση του CHF_3 ορίζεται, κατά σύμβαση, να βρίσκεται στην αρχή της κλίμακας ($\delta = 0$ ppm). Η απόδοση των κορυφών των φασμάτων πραγματοποιήθηκε σε σύγκριση με τη βιβλιογραφία.

5.2 Συνθετικές μέθοδοι/Χαρακτηρισμοί ενώσεων

5.2.1 Μέθοδος προστασίας φαινολικών υδροξυλίων καφεϊκού οξέος με μεθόξυ ομάδες

(E)-3-(3,4-Διμεθοξυφαινυλο)ακρυλικό οξύ²⁷¹ (45)



$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_4$
Mol. Wt.: 208.21

Σε σφαιρική φιάλη προστίθεται καφεϊκό οξύ (0.90 g, 5.00 mmol) και H₂O (7.5 mL) και το διάλυμα ψύχεται στους 0°C. Ακολουθεί προσθήκη στάγδην διαλύματος NaOH 4 N μέχρι pH = 13 και πλήρης διάλυση του οξέος. Έπειτα, προστίθεται το θειικό διμεθύλιο (2.25 mL, 25.00 mmol) και η αντίδραση αφήνεται υπό συνεχή ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 24 h. Κατά τις πρώτες 8 h, η αντίδραση ελέγχεται ανά τακτά χρονικά διαστήματα για pH > 10. Αν pH < 10, τότε προστίθεται διάλυμα NaOH 4 N. Το διάλυμα της αντίδρασης οξινίζεται με διάλυμα HCl 6 N μέχρι pH = 2 και το στερεό που καθιζάνει διηθείται με πορώδες χωνί υπό κενό. Ακολουθεί έκπλυση του στερεού με H₂O και έπειτα παραμονή του σε ξηραντήρα με πεντοξειδίο του φωσφόρου. Το προϊόν παραλήφθηκε ως ανοιχτό καφέ στερεό.

α = 94% (0.98 g, 4.70 mmol), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9.5:0.5) = 0.42

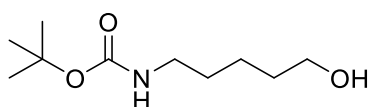
¹H NMR (200 MHz, d₆-DMSO) δ 7.53 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 7.34 – 7.12 (m, 2H), 6.96 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 6.45 (d, J = 16.2 Hz, 1H), 3.79 (s, 6H).

¹³C NMR (50 MHz, d₆-DMSO) δ 168.0, 150.8, 149.0, 144.3, 127.1, 122.7, 116.8, 111.5, 110.3, 55.6.

5.2.2 Γενική μέθοδος προστασίας της αμινομάδας αμινοαλκοολών με Boc-προστατευτική ομάδα

Σε σφαιρική φιάλη διαλύεται ο Boc-ανυδρίτης (0.22 g, 1.00 mmol) σε 1,4-διοξάνιο (2.2 mL) και προστίθεται η αμινοαλκοόλη (1.00 mmol). Η αντίδραση αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου υπό συνεχή ανάδευση για 3 h. Στη συνέχεια, το μίγμα της αντίδρασης μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη και αραιώνεται με Et₂O (20 mL). Ακολουθεί μία εκχύλιση με H₂O (5 mL) και η οργανική στιβάδα ξηραίνεται με Na₂SO₄. Έπειτα, ελέγχεται με TLC και νινυδρίνη, συμπυκνώνεται και περνάει από χρωματογραφία στήλης για τον καθαρισμό του τελικού προϊόντος.

(5-Υδροξυπεντυλο)καρβαμικό *tert*-βουτύλιο²⁷² (5)



C₁₀H₂₁NO₃
Mol. Wt.: 203.28

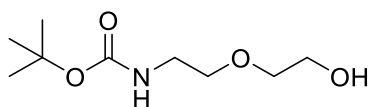
Το τελικό προϊόν συντέθηκε με πρώτη ύλη την 5-αμινο-1-πεντανόλη (0.47 g, 4.58 mmol) και παραλήφθηκε καθαρό μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης AcOEt/PE 1:1, ως άχρωμο λάδι.

$\alpha = 92\%$ (0.86 g, 4.23 mmol), $R_f(\text{AcOEt/PE } 1:1) = 0.37$

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 4.93 (br s, 1H), 3.48 (d, $J = 5.5$ Hz, 2H), 3.28 (br s, 1H), 2.99 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H), 1.64 – 1.37 (m, 6H), 1.33 (s, 9H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 156.0, 78.8, 61.9, 40.2, 31.9, 29.5, 28.2, 22.7.

(2-(2-Υδροξυαιθοξυ)αιθυλο)καρβαμικό *tert*-βουτύλιο²⁷³ (6)



C₉H₁₉NO₄
Mol. Wt.: 205.25

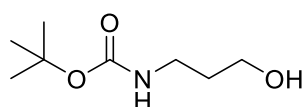
Το τελικό προϊόν παρασκευάστηκε από την 2-(2-αμινοαιθοξυ)αιθαν-1-όλη (1.00 g, 4.58 mmol) και παραλήφθηκε καθαρό μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης AcOEt/PE 7:3, ως άχρωμο λάδι.

$\alpha = 99\%$ (0.94 g, 4.58 mmol), $R_f(\text{AcOEt/PE } 7:3) = 0.30$

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 5.63 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 3.97 (br s, 1H), 3.23 (d, $J = 4.4$ Hz, 2H), 3.08 (dd, $J = 9.1, 4.6$ Hz, 4H), 2.83 (d, $J = 5.0$ Hz, 2H), 0.97 (s, 9H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 155.5, 77.8, 71.4, 69.2, 60.2, 39.4, 27.4.

(3-Υδροξυπροπυλο)καρβαμικό *tert*-βουτύλιο²⁷⁴ (7)



C₈H₁₇NO₃
Mol. Wt.: 175.23

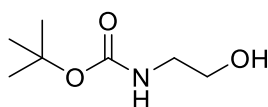
Το προϊόν συντέθηκε από την 3-αμινο-1-προπανόλη (1.00 g, 4.58 mmol) και παραλήφθηκε καθαρό μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης AcOEt/PE 6:4, ως άχρωμο λάδι.

$\alpha = 90\%$ (0.72 g, 4.11 mmol), $R_f(\text{AcOEt/PE } 6:4) = 0.38$

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 5.54 (br s, 1H), 4.15 (br s, 1H), 3.36 (s, 2H), 2.94 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H), 1.50 – 1.32 (m, 2H), 1.15 (s, 9H).

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 156.4, 78.4, 58.7, 36.6, 31.9, 27.8.

(2-Υδροξυαιθυλο)καρβαμικό *tert*-βουτύλιο²⁷⁵ (8)



$\text{C}_7\text{H}_{15}\text{NO}_3$
Mol. Wt.: 161.20

Η ουσία παρασκευάστηκε με πρώτη ύλη την αιθανολαμίνη (1.00 g, 4.58 mmol) και παραλήφθηκε καθαρή μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης AcOEt/PE 1:1, ως άχρωμο λάδι.

$\alpha = 94\%$ (0.70 g, 4.34 mmol), $R_f(\text{AcOEt/PE } 1:1) = 0.26$

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 5.54 (br s, 1H), 4.23 (br s, 1H), 3.39 (d, $J = 4.5$ Hz, 2H), 3.06 – 2.90 (m, 2H), 1.19 (s, 9H).

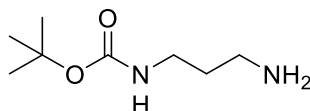
$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 156.3, 78.8, 61.0, 42.4, 27.9.

5.2.3 Γενική μέθοδος μονοπροστασίας διαμινών με Boc-προστατευτική ομάδα

Σε σφαιρική φιάλη προστίθεται διαμίνη (8.02 mmol) και διοξάνιο (2.7 mL). Στη συνέχεια, προστίθεται με σταγανομετρικό χωνί ο Boc-ανυδρίτης (0.22 g, 1.00 mmol) διαλυμένος σε 1,4-διοξάνιο (2.7 mmol), στάγδην και πολύ αργά. Μετά την προσθήκη, η αντίδραση αφήνεται υπό συνεχή ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 22 h. Έπειτα, το μίγμα της αντίδρασης συμπυκνώνεται προς απομάκρυνση του διοξάνιου και προστίθεται H_2O (4.5 mL). Ακολουθεί διήθηση προς συγκράτηση του στερεού που σχηματίστηκε και έκπλυση του με H_2O . Το διήθημα μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη και η υδατική στιβάδα εκχυλίζεται 3 φορές με CH_2Cl_2

(4.5 mL). Οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται μαζί, ακολουθεί ξήρανση με Na_2SO_4 και έλεγχος με TLC σε σύστημα ανάπτυξης $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 1:1 και κάψιμο με νινυδρίνη. Η οργανική στιβάδα συμπυκνώνεται και παραλαμβάνεται καθαρό το προϊόν.

(3-Αμινοπροπυλο)καρβαμικό *tert*-βουτύλιο²⁷⁶ (29)



$\text{C}_8\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$
Mol. Wt.: 174.24

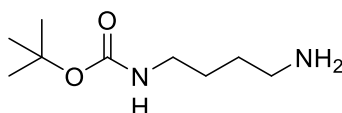
Η ένωση παρασκευάστηκε από το 1,3-διαμινοπροπάνιο (1.33 g, 17.97 mmol) ως λευκό κρυσταλλικό στερεό.

$\alpha = 92\%$ (0.36 g, 2.10 mmol), $R_f(\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 1:1) = 0.14

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 5.29 (br s, 1H), 3.03 (dd, $J = 12.5, 6.3$ Hz, 2H), 2.59 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 1.45 (p, $J = 6.6$ Hz, 2H), 1.33 (s, 2H), 1.28 (s, 9H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 155.7, 77.9, 38.8, 37.4, 32.8, 27.8.

(4-Αμινοβουτυλο)καρβαμικό *tert*-βουτύλιο²⁷⁶ (30)



$\text{C}_9\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$
Mol. Wt.: 188.27

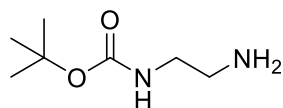
Το προϊόν συντέθηκε από το 1,4-διαμινοβουτάνιο (1.31 g, 14.93 mmol) ως άχρωμο λάδι.

$\alpha = 81\%$ (0.28 g, 1.19 mmol), $R_f(\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 1:1) = 0.14

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 5.28 (br s, 1H), 2.81 (d, $J = 3.4$ Hz, 2H), 2.46 – 2.35 (m, 2H), 1.28 – 1.17 (m, 4H), 1.14 (s, 9H), 1.04 (s, 2H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 155.9, 78.7, 41.6, 40.2, 30.7, 28.2, 27.3.

(2-Αμινοαιθυλο)καρβαμικό *tert*-βουτύλιο²⁷⁶ (31)



C₇H₁₆N₂O₂
Mol. Wt.: 160.21

Το προϊόν παραλήφθηκε από την αιθυλενοδιαμίνη (1.34 g, 22.40 mmol) ως πορτοκαλί λάδι.

α = 82% (0.37 g, 2.31 mmol), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 1:1) = 0.22

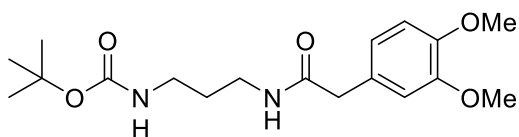
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 5.55 (br s, 1H), 2.88 (q, J = 5.8 Hz, 2H), 2.51 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 1.17 (s, 9H), 1.06 (s, 2H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 155.9, 78.2, 43.0, 41.4, 27.9.

5.2.4 Γενική μέθοδος παρασκευής διαμιδίων από Boc μονοπροστατευμένες διαμίνες και οξέα

Σε σφαιρική φιάλη προστίθενται η μονοπροστατευμένη διαμίνη (1.00 mmol), ξηρό CH₂Cl₂ (5 mL), HOBT·H₂O (0.15 g, 1.00 mmol) και οξύ (1.00 mmol). Το μίγμα της αντίδρασης ψύχεται και προστίθεται EDC·HCl (0.19 g, 1.00 mmol). Η αντίδραση μένει για λίγα λεπτά υπό ψύξη και στη συνέχεια, αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου υπό ανάδευση για 24 h. Το περιεχόμενο της φιάλης αραιώνεται με CH₂Cl₂ (15 mL) και εκχυλίζεται κατά σειρά με: διάλυμα κιτρικού οξέος 5% (5 mL), H₂O (5 mL), διάλυμα NaHCO₃ 5% (5 mL), H₂O (5 mL) και κορεσμένο διάλυμα NaCl (5 mL). Στην περίπτωση του καφεϊκού και του φερουλικού οξέος, δεν πραγματοποιείται εκχύλιση με διάλυμα κιτρικού οξέος 5%. Η οργανική στιβάδα ξηραίνεται με Na₂SO₄, ελέγχεται με TLC και συμπυκνώνεται. Η ουσία καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης.

(3-(2-(3,4-Διμεθοξυφαινυλ)ακεταμιδο)προπυλο)καρβαμικό *tert*-βουτύλιο (32)



C₁₈H₂₈N₂O₅
Mol.r Wt.: 352.43

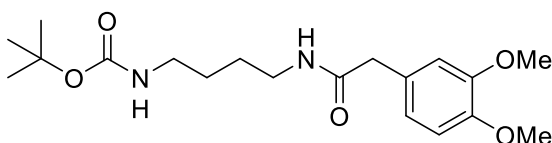
Η ουσία συντέθηκε από την αντίστοιχη μονοπροστατευμένη διαμίνη (0.36 g, 2.06 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ (0.40 g, 2.06 mmol) και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/MeOH 9.7:0.3. Το προϊόν παραλήφθηκε ως άχρωμο παχύρευστο λάδι.

α = 85% (0.62 g, 1.76 mmol), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9.5:0.5) = 0.46

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 6.67 – 6.62 (m, 4H), 5.30 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.68 (s, 3H), 3.31 (s, 2H), 3.10 - 3.04 (m, 2H), 2.91 (d, J = 5.4 Hz, 2H), 1.39 (d, J = 5.3 Hz, 2H), 1.24 (s, 9H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 171.5, 156.1, 148.5, 147.5, 127.3, 120.9, 111.9, 110.9, 78.4, 55.3, 42.7, 36.5, 35.6, 29.5, 27.9.

(4-(2-(3,4-Διμεθοξυφαινυλ)ακεταμιδο)βουτυλο)καρβαμικό *tert*-βουτύλιο (33)



C₁₉H₃₀N₂O₅
Mol. Wt.: 366.46

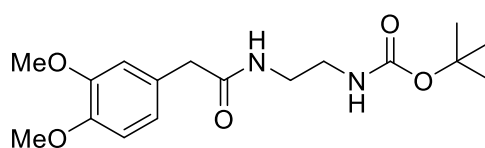
Η ουσία συντέθηκε από την αντίστοιχη μονοπροστατευμένη διαμίνη (0.15 g, 0.80 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ (0.16 g, 0.80 mmol) και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/MeOH 9.7:0.3. Το προϊόν παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

α = 89% (0.26 g, 0.71 mmol), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9.5:0.5) = 0.43

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 6.69 (s, 3H), 6.17 (br s, 1H), 4.87 (br s, 1H), 3.73 (s, 6H), 3.36 (s, 2H), 3.09 (d, $J = 5.4$ Hz, 2H), 2.95 (d, $J = 5.2$ Hz, 2H), 1.31 (s, 13H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 171.1, 155.8, 148.7, 147.7, 127.3, 121.1, 112.0, 111.1, 78.6, 55.5, 55.5, 42.8, 39.7, 38.9, 28.0, 27.1, 26.2.

(2-(2-(3,4-Διμεθοξυφαινυλ)ακεταμιδο)αιθυλο)καρβαμικό *tert*-βουτύλιο (34)



$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5$
Mol. Wt.: 338.40

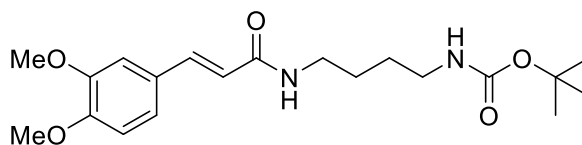
Η ουσία συντέθηκε από την αντίστοιχη μονοπροστατευμένη διαμίνη (0.74 g, 0.46 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ (0.90 g, 0.46 mmol) και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.7:0.3. Το προϊόν παραλήφθηκε ως ανοιχτό καφέ στερεό.

$\alpha = 83\%$ (0.13 g, 0.38 mmol), $R_f(\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5) = 0.61

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 6.76 (s, 3H), 6.36 (br s, 1H), 5.12 (br s, 1H), 3.82 (s, 6H), 3.44 (s, 2H), 3.26 (s, 2H), 3.17 (s, 2H), 1.38 (s, 9H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 172.0, 156.5, 148.9, 148.0, 127.1, 121.3, 112.2, 111.2, 79.3, 55.7, 43.1, 40.4, 40.1, 28.2.

(*E*)-(4-(3-(3,4-Διμεθοξυφαινυλ)ακρυλαμιδο)βουτυλο)καρβαμικό *tert*-βουτύλιο (52)



$\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5$
Mol. Wt.: 378.47

Η ουσία συντέθηκε από την αντίστοιχη μονοπροστατευμένη διαμίνη (0.27 g, 1.44 mmol) και το (*E*)-3-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)ακρυλικό οξύ (0.27 g, 1.44

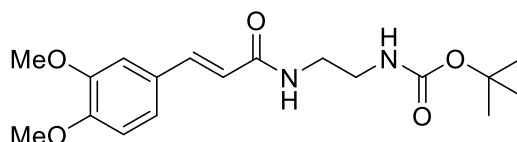
mmol) και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/MeOH 9.7:0.3. Το προϊόν παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

$\alpha = 82\%$ (0.45 g, 1.19 mmol), $R_f(\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH } 9.5:0.5) = 0.41$

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.44 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.01 (br s, 1H), 6.95 – 6.83 (m, 2H), 6.66 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.36 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 5.01 (br s, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 3.28 (d, $J = 5.4$ Hz, 2H), 3.02 (d, $J = 5.7$ Hz, 2H), 1.46 (s, 4H), 1.32 (s, 9H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 166.2, 156.0, 150.0, 148.6, 139.8, 127.6, 121.4, 118.9, 110.7, 109.4, 78.7, 55.5, 55.4, 39.8, 39.0, 28.1, 27.3, 26.4.

(E)-(2-(3-(3,4-Διμεθοξυφαινυλ)ακρυλαμιδο)αιθυλο)καρβαμικό tert-βουτύλιο (53)



C₁₈H₂₆N₂O₅
Mol. Wt.: 350.41

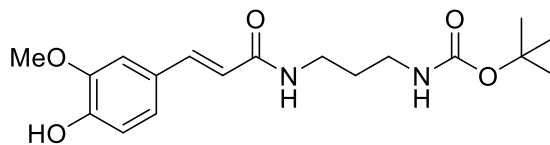
Η ουσία συντέθηκε από την αντίστοιχη μονοπροστατευμένη διαμίνη (0.11 g, 0.72 mmol) και το (E)-3-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)ακρυλικό οξύ (0.15 g, 0.72 mmol) και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/MeOH 9.7:0.3. Το προϊόν παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

$\alpha = 70\%$ (0.18 g, 0.51 mmol), $R_f(\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH } 9.5:0.5) = 0.55$

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.46 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.19 (s, 1H), 6.95 – 6.87 (m, 2H), 6.68 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.32 (d, $J = 15.6$, 1H), 5.60 (br s, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.43 (s, 2H), 3.27 (d, $J = 3.7$ Hz, 2H), 1.35 (s, 9H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 166.8, 156.7, 150.3, 148.7, 140.3, 127.5, 121.5, 118.6, 110.8, 109.5, 79.2, 55.6, 55.5, 40.3, 40.2, 28.1.

**(E)-(3-(3-(4-Υδροξυ-3-μεθοξυφαινυλ)ακρυλαμιδο)προπυλο)καρβαμικό
tert-βουτύλιο (59)**



$C_{18}H_{26}N_2O_5$
Mol. Wt.: 350.41

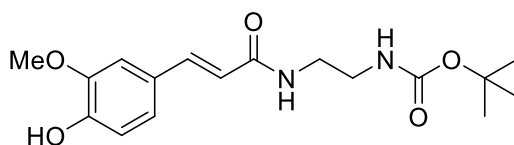
Η ουσία συντέθηκε από την αντίστοιχη μονοπροστατευμένη διαμίνη (0.24 g, 1.36 mmol) και το φερούλικό οξύ (0.22 g, 1.13 mmol) και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης $CH_2Cl_2/MeOH$ 9.5:0.5. Το προϊόν παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

$\alpha = 69\%$ (0.27 g, 0.77 mmol), $R_f(CH_2Cl_2/MeOH$ 9.5:0.5) = 0.39

1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 7.48 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 7.02 (br s, 1H), 6.95 – 6.79 (m, 3H), 6.31 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 5.33 (br s, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.37 (d, $J = 5.2$ Hz, 2H), 3.14 (d, $J = 5.2$ Hz, 2H), 1.63 (s, 2H), 1.40 (s, 9H).

^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 166.9, 156.7, 147.6, 147.0, 140.7, 126.9, 121.9, 118.0, 114.9, 109.7, 79.2, 55.6, 36.9, 36.0, 29.9, 28.2.

**(E)-(2-(3-(4-Υδροξυ-3-μεθοξυφαινυλ)ακρυλαμιδο)αιθυλο)καρβαμικό
tert-βουτύλιο (60)**



$C_{17}H_{24}N_2O_5$
Mol. Wt.: 336.39

Η ουσία συντέθηκε από την αντίστοιχη μονοπροστατευμένη διαμίνη (0.39 g, 2.45 mmol) και το φερούλικό οξύ (0.40 g, 2.04 mmol) και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης $CH_2Cl_2/MeOH$ 9.5:0.5. Το προϊόν παραλήφθηκε ως λευκό αφρώδες στερεό.

$\alpha = 76\%$ (0.52 g, 1.55 mmol), $R_f(CH_2Cl_2/MeOH$ 9.5:0.5) = 0.33

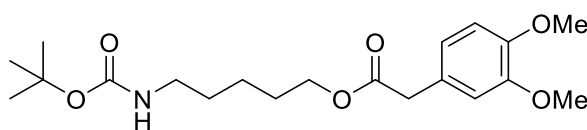
^1H NMR (200 MHz, CD_3OD) δ 7.42 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H), 7.00 - 6.93 (m, 2H), 6.76 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.39 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H), 4.94 (br s, 3H), 3.80 - 3.71 (m, 3H), 3.41 - 3.33 (m, 1H), 3.26 - 3.14 (m, 3H), 1.37 (s, 9H).

^{13}C NMR (50 MHz, CD_3OD) δ 169.2, 158.3, 149.6, 149.0, 142.0, 127.9, 123.0, 118.5, 116.3, 111.3, 80.0, 56.2, 40.9, 40.5, 28.7.

5.2.5 Γενική μέθοδος εστεροποίησης *N*-προστατευμένων αμινοαλκοολών και οξέων

Σε σφαιρική φιάλη προστίθεται *N*-προστατευμένη αμινοαλκοόλη (1.00 mmol), ξηρό CH_2Cl_2 (10 mL), 10% DMAP (0.01 g, 0.1 mmol) και οξύ (1.00 mmol). Το μίγμα ψύχεται στους 0°C και προστίθεται EDC.HCl (0.19 g, 1.00 mmol). Η αντίδραση αφήνεται υπό ψύξη για λίγα λεπτά και έπειτα, παραμένει σε θερμοκρασία δωματίου υπό συνεχή ανάδευση για 24 h. Το μίγμα της αντίδρασης αραιώνεται με CH_2Cl_2 (20 mL) και εκχυλίζεται με διάλυμα κιτρικού οξέος 5% (5 mL), H_2O (5 mL), διάλυμα NaHCO_3 5% (5 mL), H_2O (5 mL) και κορεσμένο διάλυμα NaCl (5 mL). Στην περίπτωση του καφεϊκού οξέος, δεν πραγματοποιείται η εκχύλιση με διάλυμα κιτρικού οξέος 5%. Η οργανική στιβάδα ξηραίνεται με Na_2SO_4 , ελέγχεται με TLC και συμπυκνώνεται. Η ουσία καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης.

2-(3,4-Διμεθοξυφαινυλ)οξικό 5-((*tert*-βουτοξυκαρβονυλ)αμινο)πεντύλιο (10)



$\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{NO}_6$
Mol. Wt.: 381.47

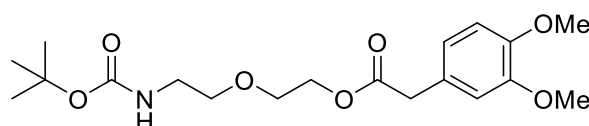
Το προϊόν συντέθηκε από την αντίστοιχη *N*-προστατευμένη αμινοαλκοόλη (0.18 g, 0.90 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ (0.18 g, 0.90 mmol) και παραλήφθηκε ως κίτρινο λάδι. Το σύστημα έκλουσης για την χρωματογραφία στήλης ήταν $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5.

$\alpha = 83\%$ (0.29 g, 0.76 mmol), $R_f(\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.8:0.2) = 0.45

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 6.69 – 6.67 (m, 3H), 4.80 (br s, 1H), 3.98 – 3.89 (m, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 3.42 (s, 2H), 2.95 (d, J = 5.9 Hz, 2H), 1.54 - 1.41 (m, 2H), 1.36 – 1.11 (m, 13H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 171.4, 155.6, 148.3, 147.6, 126.1, 120.9, 111.9, 110.7, 78.3, 64.2, 55.3, 40.4, 39.9, 29.2, 27.9, 27.8, 22.7.

2-(3,4-Διμεθοξυφαινυλ)οξικό 2-(2-((*tert*-βουτοξυκαρβονυλ)αμινο)αιθοξυ)αιθύλιο (11)



$\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{NO}_7$
Mol. Wt.: 383.44

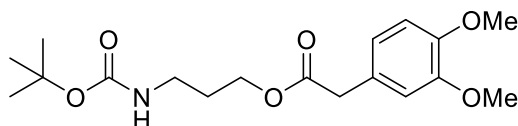
Το προϊόν παραλήφθηκε από την αντίστοιχη *N*-προστατευμένη αμινοαλκοόλη (0.19 g, 0.92 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ (0.18 g, 0.92 mmol) ως κίτρινο λάδι. Το σύστημα έκλουσης για την χρωματογραφία στήλης ήταν $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5.

α = 74% (0.26 g, 0.68 mmol), R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.8:0.2) = 0.35

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 6.71 – 6.68 (m, 3H), 4.98 (br s, J = 2.7 Hz, 1H), 4.15 – 4.04 (m, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.54 – 3.45 (m, 4H), 3.40 – 3.32 (m, 2H), 3.21 – 3.07 (m, 2H), 1.32 (s, 9H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 171.2, 155.5, 148.5, 147.7, 125.9, 121.0, 112.1, 110.8, 78.7, 69.6, 68.3, 63.3, 55.4, 40.2, 39.8, 27.9.

2-(3,4-Διμεθοξυφαινυλ)οξικό 3-((*tert*-βουτοξυκαρβονυλ)αμινο)προπύλιο (12)



$\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{NO}_6$
Mol. Wt.: 353.41

Το προϊόν παραλήφθηκε από την αντίστοιχη *N*-προστατευμένη αμινοαλκοόλη (0.17 g, 0.97 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ

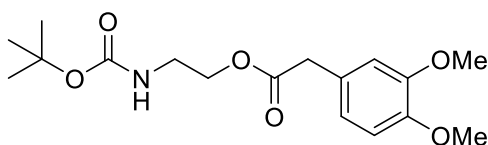
(0.19 g, 0.97 mmol) ως κίτρινο λάδι. Το σύστημα έκλουσης για την χρωματογραφία στήλης ήταν CH₂Cl₂/MeOH 9.5:0.5.

$\alpha = 75\%$ (0.26 g, 0.74 mmol), $R_f(\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH } 9.8:0.2) = 0.38$

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 6.69 (s, 3H), 4.93 (br s, 1H), 4.02 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 3.43 (s, 2H), 3.02 (q, $J = 6.4$ Hz, 2H), 1.67 (p, $J = 6.4$ Hz, 2H), 1.31 (s, 9H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 171.4, 155.5, 148.5, 147.7, 126.0, 120.9, 112.01, 110.8, 78.5, 61.8, 55.3, 40.3, 36.8, 28.6, 27.9.

**2-(3,4-Διμεθοξυφαινυλ)οξικό 2-((*tert*-βουτοξυκαρβονυλ)αμινο)αιθύλιο
(13)**



C₁₇H₂₅NO₆
Mol. Wt.: 339.39

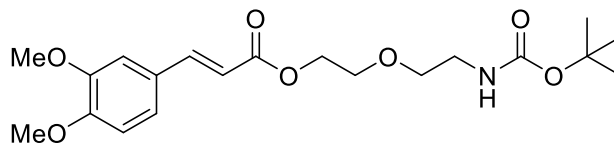
Το προϊόν παραλήφθηκε από την αντίστοιχη *N*-προστατευμένη αμινοαλκοόλη (0.16 g, 1.00 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ (0.20 g, 1.00 mmol) ως άχρωμο λάδι. Το σύστημα έκλουσης για την χρωματογραφία στήλης ήταν CH₂Cl₂/MeOH 9.8:0.2.

$\alpha = 77\%$ (0.26 g, 0.77 mmol), $R_f(\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH } 9.8:0.2) = 0.29$

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 6.77 (s, 3H), 4.80 (br s, 1H), 4.10 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.53 (s, 2H), 3.32 (d, $J = 5.4$ Hz, 2H), 1.40 (s, 9H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 171.5, 155.6, 148.7, 148.0, 126.1, 121.2, 112.2, 111.05, 79.3, 63.7, 55.6, 40.5, 39.4, 28.1.

(E)-3-(3,4-Διμεθοξυφαινυλ)ακρυλικό 2-(2-((tert-βουτοξυκαρβονυλ)αμινο)αιθοξυ)αιθύλιο (47)



C₂₀H₂₉NO₇
Mol. Wt.: 395.45

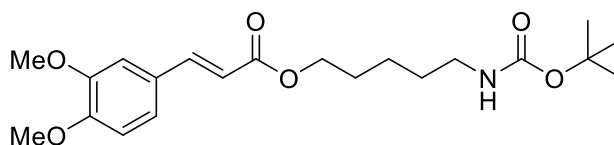
Το προϊόν παραλήφθηκε καθαρό από την αντίστοιχη *N*-προστατευμένη αμινοαλκοόλη (0.30 g, 1.44 mmol) και το (*E*)-3-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)ακρυλικό οξύ (0.30 g, 1.44 mmol) ως άχρωμο λάδι. Το σύστημα έκλουσης για την χρωματογραφία στήλης ήταν AcOEt/PE 1:1.

$\alpha = 57\%$ (0.32 g, 0.81 mmol), $R_f(\text{AcOEt/PE } 1:1) = 0.60$

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.43 (d, $J = 15.9$, 1H), 6.93 – 6.79 (m, 2H), 6.64 (d, $J = 8.0$, 1H), 6.15 (d, $J = 15.9$, 1H), 5.02 (br s, 1H), 4.13 (s, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.67 (s, 3H), 3.53 (d, $J = 2.7$ Hz, 2H), 3.37 – 3.35 (m, 2H), 3.12 (d, $J = 3.6$ Hz, 2H), 1.22 (s, 9H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 166.5, 155.5, 150.7, 148.7, 144.6, 126.8, 122.3, 114.9, 110.5, 109.2, 78.5, 69.7, 68.5, 62.9, 55.4, 55.3, 39.8, 27.9.

(E)-3-(3,4-Διμεθοξυφαινυλ)ακρυλικό 5-((tert-βουτοξυκαρβονυλ)αμινο)πεντύλιο (46)



C₂₁H₃₁NO₆
Mol. Wt.: 393.48

Το προϊόν παραλήφθηκε καθαρό από την αντίστοιχη *N*-προστατευμένη αμινοαλκοόλη (0.15 g, 0.72 mmol) και το (*E*)-3-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)ακρυλικό οξύ (0.15 g, 0.72 mmol) ως άχρωμο λάδι, μετά από χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης AcOEt/PE 4:6.

$\alpha = 48\%$ (0.14 g, 0.36 mmol), $R_f(\text{AcOEt/PE } 4:6) = 0.50$

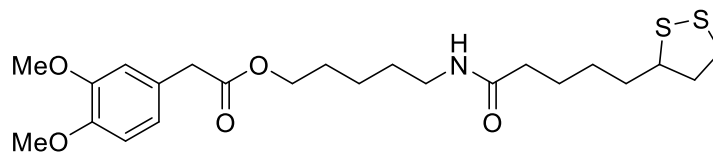
^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.56 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 7.08 – 6.97 (m, 2H), 6.80 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.25 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 4.66 (br s, 1H), 4.13 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.07 (q, $J = 6.4$ Hz, 2H), 1.74 – 1.58 (m, 2H), 1.58 – 1.40 (m, 4H), 1.38 (s, 9H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 167.0, 155.8, 150.9, 149.0, 144.4, 127.2, 122.4, 115.6, 110.8, 109.4, 78.8, 64.0, 55.7, 55.6, 40.2, 29.6, 28.3, 28.2, 23.1.

5.2.6 Γενική μέθοδος παρασκευής αμιδικών εστέρων και διαμιδίων του λιποϊκού οξέος

Σε σφαιρική φιάλη προστίθενται *N*-προστατευμένος αμιδικός εστέρας ή μονοπροστατευμένο διαμίδιο (1.00 mmol) και 10% TFA (για τις ενώσεις του 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικού οξέος) ή 5% (για τις ενώσεις του καφεϊκού και φερουλικού οξέος) σε CH_2Cl_2 (5 και 10 mL, αντίστοιχα) και η αντίδραση αφήνεται για 1.5 h υπό συνεχή ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου. Το περιεχόμενο της φιάλης συμπυκνώνεται και με εκ νέου προσθήκη CH_2Cl_2 , ακολουθεί και πάλι συμπύκνωση προς απομάκρυνση του TFA. Το μίγμα αφήνεται σε ξηραντήρα με NaOH για 1 h. Στη συνέχεια, γίνεται προσθήκη ξηρού CH_2Cl_2 (7.5 mL) και απεσταγμένης Et_3N (0.15 mL, 1.10 mmol) υπό ψύξη. Στην περίπτωση των παραγώγων του φερουλικού οξέος, προστίθενται 2.20 mmol Et_3N . Προστίθενται HOBt. H_2O (0.15 g, 1.00 mmol), λίγη κυστεΐνη, λιποϊκό οξύ (0.21 g, 1.00 mmol) και EDC.HCl (0.19 g, 1.00 mmol). Η φιάλη καλύπτεται με αλουμινόχαρτο και η αντίδραση μένει για λίγα λεπτά υπό ψύξη και έπειτα, αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου υπό ανάδευση για 24 h. Το μίγμα της αντίδρασης αραιώνεται με CH_2Cl_2 (20 mL) και εκχυλίζεται διαδοχικά με διάλυμα HCl 0.6 N (5 mL), H_2O (5 mL), διάλυμα NaHCO_3 5% (5 mL), H_2O (5 mL) και κορεσμένο διάλυμα NaCl (5 mL). Η οργανική στιβάδα ξηραίνεται με Na_2SO_4 , ελέγχεται με TLC, συμπυκνώνεται και καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης.

2-(3,4-Διμεθοξυφαινυλ)οξικό 5-(5-(1,2-διθειολαν-3-υλο)πενταναμιδο)πεντύλιο (18)



C₂₃H₃₅NO₅S₂
Mol. Wt.: 469.65

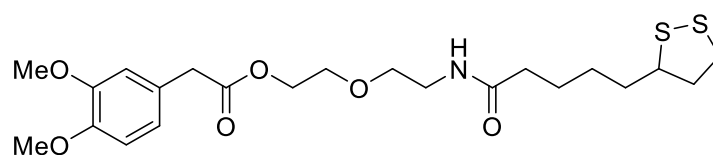
Το μόριο παραλήφθηκε από τον αντίστοιχο πρόδρομο *N*-προστατευμένο αμιδικό εστέρα (0.32 g, 0.85 mmol) και το λιποϊκό οξύ (0.17 g, 0.85 mmol) ως λευκό στερεό και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/MeOH 9.7:0.3.

α = 70% (0.28 g, 0.60 mmol), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9.5:0.5) = 0.71

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 6.78 – 6.76 (m, 3H), 5.76 (br s, 1H), 4.04 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.60 – 3.45 (m, 3H), 3.24 – 3.00 (m, 4H), 2.49 – 2.33 (m, 1H), 2.12 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 1.94 - 1.77 (m, 1H), 1.66 - 1.53 (m, 6H), 1.49 – 1.20 (m, 6H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 172.6, 171.7, 148.6, 147.8, 126.3, 121.2, 112.2, 110.9, 64.4, 56.2, 55.7, 55.7, 40.7, 40.0, 39.1, 38.3, 36.2, 34.4, 29.0, 28.7, 28.0, 25.2, 23.0.

2-(3,4-Διμεθοξυφαινυλ)οξικό 2-(2-(5-(1,2-διθειολαν-3-υλο)πενταναμιδο)αιθοξυ)αιθύλιο (19)



C₂₂H₃₃NO₆S₂
Mol. Wt.: 471.63

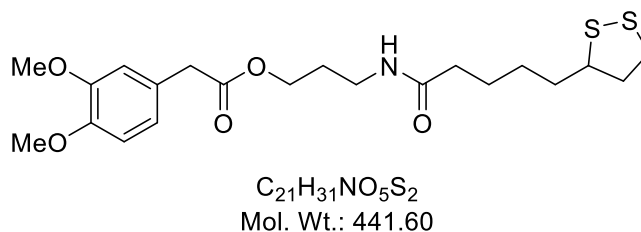
Το μόριο παραλήφθηκε από τον αντίστοιχο πρόδρομο *N*-προστατευμένο αμιδικό εστέρα (0.26 g, 0.68 mmol) και το λιποϊκό οξύ (0.14 g, 0.68 mmol) ως άχρωμο λάδι και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/MeOH 9.7:0.3.

α = 72% (0.23 g, 0.49 mmol), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9.5:0.5) = 0.62

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 6.79 (s, 3H), 5.92 (br s, 1H), 4.26 – 4.21 (m, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.66 – 3.60 (m, 2H), 3.57 (s, 2H), 3.52 – 3.47 (m, 3H), 3.43 – 3.32 (m, 2H), 3.20 – 2.99 (m, 2H), 2.50 – 2.34 (m, 1H), 2.13 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.96 – 1.77 (m, 1H), 1.73 – 1.53 (m, 4H), 1.49 – 1.32 (m, 2H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 172.6, 171.7, 148.7, 148.0, 126.1, 121.2, 112.2, 111.0, 69.6, 68.7, 63.5, 56.3, 55.7, 40.6, 40.1, 38.9, 38.3, 36.1, 34.5, 28.7, 25.2.

2-(3,4-Διμεθοξυφαινυλ)οξικό 3-(5-(1,2-διθειολαν-3-υλο)πενταναμιδο)προπύλιο (20)



Το μόριο παραλήφθηκε από τον αντίστοιχο πρόδρομο *N*-προστατευμένο αμιδικό εστέρα (0.36 g, 0.73 mmol) και το λιποϊκό οξύ (0.15 g, 0.73 mmol) ως λευκό στερεό και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.7:0.3.

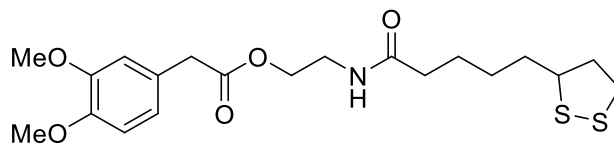
$\alpha = 61\%$ (0.19 g, 0.43 mmol), $R_f(\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5) = 0.67

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 6.74 (s, 3H), 6.09 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 4.07 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.55 – 3.39 (m, 3H), 3.18 (q, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.09 – 2.98 (m, 2H), 2.44 – 2.28 (m, 1H), 2.06 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 1.89 – 1.68 (m, 3H), 1.67 – 1.48 (m, 4H), 1.46 – 1.35 (m, 2H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 172.6, 171.7, 148.5, 147.7, 126.0, 121.0, 112.0, 110.9, 62.0, 56.1, 55.5, 40.5, 39.9, 38.1, 36.0, 35.7, 34.3, 28.5, 28.4, 25.1.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{NO}_5\text{S}_2^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 440.1, βρέθηκε 440.0.

2-(3,4-Διμεθοξυφαινυλ)οξικό 2-(5-(1,2-διθειολαν-3-υλο)πενταναμιδο)αιθύλιο (21)



$C_{20}H_{29}NO_5S_2$
Mol. Wt.: 427.57

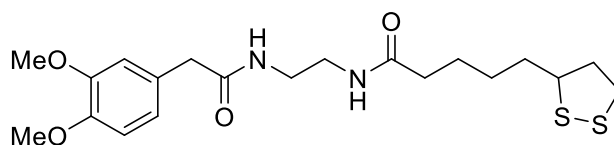
Το μόριο παραλήφθηκε από τον αντίστοιχο πρόδρομο *N*-προστατευμένο αμιδικό εστέρα (0.26 g, 0.77 mmol) και το λιποϊκό οξύ (0.16 g, 0.77 mmol) ως άχρωμο λάδι και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης $CH_2Cl_2/MeOH$ 9.7:0.3.

$\alpha = 59\%$ (0.19 g, 0.44 mmol), $R_f(CH_2Cl_2/MeOH$ 9.5:0.5) = 0.56

1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 6.76 (s, 3H), 5.92 (br s, 1H), 4.12 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.55 – 3.37 (m, 5H), 3.18 – 2.96 (m, 2H), 2.44 – 2.32 (m, 1H), 2.07 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 1.93 – 1.74 (m, 1H), 1.68 – 1.53 (m, 4H), 1.44 – 1.34 (m, 2H).

^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 172.7, 171.6, 148.6, 147.9, 126.0, 121.1, 112.1, 110.9, 63.2, 56.2, 55.6, 40.5, 40.0, 38.3, 38.2, 36.0, 34.3, 28.6, 25.0.

***N*-(2-(2-(3,4-Διμεθοξυφαινυλ)ακεταμιδο)αιθυλο)-5-(1,2-διθειολαν-3-υλο)πενταναμίδιο (40)**



$C_{20}H_{30}N_2O_4S_2$
Mol. Wt.: 426.59

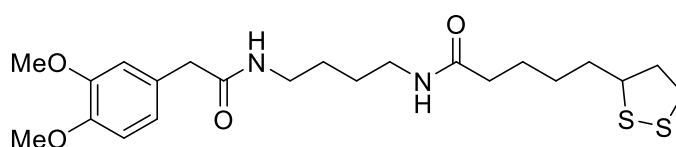
Το διαμίδιο συντέθηκε από το αντίστοιχο Βοc-μονοπροστατευμένο διαμίδιο (0.34 g, 1.00 mmol) και το λιποϊκό οξύ (0.21 g, 1.00 mmol) και παραλήφθηκε καθαρό μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης $CH_2Cl_2/MeOH$ 9.5:0.5 ως λευκό στερεό.

$\alpha = 45\%$ (0.19 g, 0.44 mmol), $R_f(CH_2Cl_2/MeOH$ 9:1) = 0.55

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 6.83 (br s, 1H), 6.79 – 6.66 (m, 4H), 3.79 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.54 – 3.42 (m, 1H), 3.39 (s, 2H), 3.24 (s, 4H), 3.16 – 2.94 (m, 2H), 2.46 – 2.28 (m, 1H), 2.06 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.90 – 1.73 (m, 1H), 1.65 – 1.44 (m, 4H), 1.43 – 1.25 (m, 2H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 173.6, 172.4, 148.7, 147.8, 127.1, 121.1, 112.2, 111.1, 56.2, 55.6, 55.6, 42.8, 40.0, 39.6, 39.5, 38.2, 35.9, 34.3, 28.6, 25.1.

***N*-(4-(2-(3,4-Διμεθοξυφαινυλ)ακεταμιδο)βουτυλο)-5-(1,2-διθειολαν-3-υλο)πενταναμίδιο (39)**



$\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2$
Mol. Wt.: 454.64

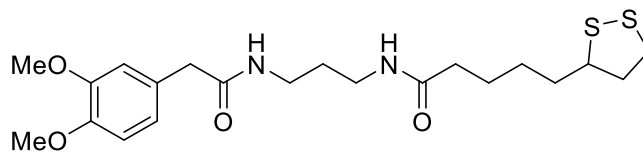
Το διαμίδιο συντέθηκε από το αντίστοιχο Boc-μονοπροστατευμένο διαμίδιο (0.26 g, 0.72 mmol) και το λιποϊκό οξύ (0.15 g, 0.72 mmol) και παραλήφθηκε καθαρό μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5 ως πράσινο στερεό.

$\alpha = 39\%$ (0.12 g, 0.26 mmol), $R_f(\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5) = 0.45

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 6.82 – 6.69 (m, 3H), 6.29 (br s, 1H), 6.11 (br s, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.57 – 3.46 (m, 1H), 3.43 (s, 2H), 3.21 – 2.97 (m, 6H), 2.47 – 2.31 (m, 1H), 2.11 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 1.92 – 1.75 (m, 1H), 1.69 – 1.50 (m, 4H), 1.41 (t, $J = 6.4$ Hz, 6H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 172.9, 171.4, 148.9, 147.9, 127.3, 121.3, 112.2, 111.2, 56.3, 55.7, 43.0, 40.0, 39.0, 38.8, 38.3, 36.1, 34.4, 28.7, 26.7, 26.5, 25.2.

***N*-(3-(2-(3,4-Διμεθοξυφαινυλ)ακεταμιδο)προπυλο)-5-(1,2-διθειολαν-3-υλο)πενταναμίδιο (38)**



C₂₁H₃₂N₂O₄S₂
Mol. Wt.: 440.62

Το διαμίδιο συντέθηκε από το αντίστοιχο Βοc-μονοπροστατευμένο διαμίδιο (0.37 g, 1.05 mmol) και το λιποϊκό οξύ (0.22 g, 1.05 mmol) και παραλήφθηκε καθαρό μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/MeOH 9.5:0.5 ως υποκίτρινο στερεό.

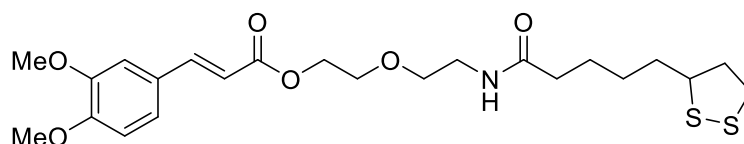
α = 42% (0.19 g, 0.43 mmol), R_f(CH₂Cl₂/MeOH 9.5:0.5) = 0.43

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 6.81 – 6.57 (m, 5H), 3.76 – 3.70 (m, 6H), 3.51 – 3.32 (m, 3H), 3.20 – 2.90 (m, 6H), 2.42 – 2.26 (m, 1H), 2.08 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.87 – 1.70 (m, 1H), 1.65 – 1.23 (m, 8H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 173.1, 171.8, 148.6, 147.7, 127.2, 121.0, 112.0, 111.1, 56.1, 55.5, 55.5, 42.9, 39.9, 38.1, 36.0, 35.7, 35.3, 34.2, 29.2, 28.5, 25.1.

MS (ESI) *m/z* υπολογίζεται για C₂₁H₃₃N₂O₄S₂⁺ [M+H]⁺ 441.2, βρέθηκε 441.2.

***(E)*-3-(3,4-Διμεθοξυφαινυλ)ακρυλικό 2-(2-(5-(1,2-διθειολαν-3-υλο)πενταναμίδο)αιθοξυ)αιθύλιο (51)**



C₂₃H₃₃NO₆S₂
Mol. Wt.: 483.64

Η ένωση συντέθηκε από τον αντίστοιχο *N*-προστατευμένο αμιδικό εστέρα (0.32 g, 0.82 mmol) και το λιποϊκό οξύ (0.16 g, 0.82 mmol) και παραλήφθηκε καθαρό μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/MeOH 9.7:0.3 ως υποκίτρινο στερεό.

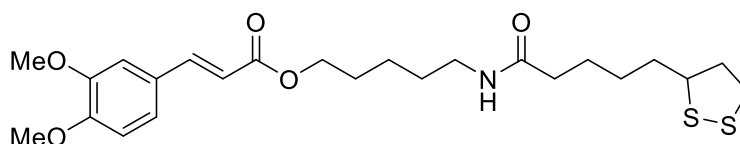
$\alpha = 70\%$ (0.28 g, 0.58 mmol), $R_f(\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH } 9.5:0.5) = 0.63$

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 7.46 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 6.97 – 6.81 (m, 2H), 6.69 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.27 – 6.06 (m, 2H), 4.23 – 4.09 (m, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.60 – 3.51 (m, 2H), 3.45 – 3.37 (m, 2H), 3.29 – 3.24 (m, 3H), 3.02 – 2.82 (m, 2H), 2.31 – 2.15 (m, 1H), 2.02 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 1.76 – 1.59 (m, 1H), 1.48 – 1.40 (m, 4H), 1.34 – 1.23 (m, 2H).

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 172.4, 166.6, 150.7, 148.6, 144.7, 126.6, 122.3, 114.7, 110.6, 109.1, 769.2, 68.5, 62.8, 55.9, 55.4, 55.4, 39.7, 38.6, 37.9, 35.7, 34.1, 28.4, 24.9.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{NO}_6\text{S}_2^+ [\text{M}+\text{H}]^+$ 484.2, βρέθηκε 484.2.

(E)-3-(3,4-Διμεθοξυφαινυλο)ακρυλικό 5-(5-(1,2-διθειολαν-3-υλο)πενταναμιδο)πεντύλιο (50)



$\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{NO}_5\text{S}_2$
Mol. Wt.: 481.67

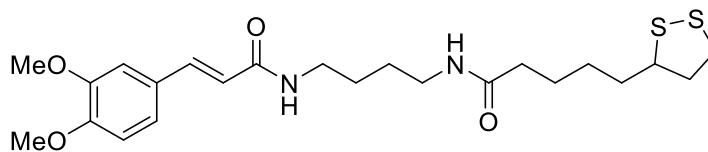
Η ένωση συντέθηκε από τον αντίστοιχο *N*-προστατευμένο αμιδικό εστέρα (0.14 g, 0.34 mmol) και το λιποϊκό οξύ (0.07 g, 0.34 mmol) και παραλήφθηκε καθαρό μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH } 9.5:0.5$ ως λευκό στερεό

$\alpha = 74\%$ (0.12 g, 0.25 mmol), $R_f(\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH } 9.5:0.5) = 0.60$

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 7.57 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 7.11 – 6.96 (m, 2H), 6.82 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.26 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 5.81 (br s, 1H), 4.15 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.58 – 3.41 (m, 1H), 3.27 – 3.17 (m, 2H), 3.14 – 2.96 (m, 2H), 2.47 – 2.31 (m, 1H), 2.13 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 1.92 – 1.75 (m, Hz, 1H), 1.72 – 1.57 (m, 6H), 1.55 – 1.30 (m, 6H).

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 172.6, 167.1, 150.9, 149.0, 144.5, 127.1, 122.5, 115.6, 110.9, 109.4, 63.9, 56.3, 55.8, 55.7, 40.0, 39.1, 38.3, 36.3, 34.4, 29.1, 28.7, 28.3, 25.3, 23.2.

(E)-N-(4-(3-(3,4-Διμεθοξυφαινυλ)ακρυλαμιδο)βουτυλο)-5-(1,2-διθειολαν-3-υλο)πενταναμίδιο (56)



C₂₃H₃₄N₂O₄S₂
Mol. Wt.: 466.65

Το τελικό μόριο παραλήφθηκε από το αντίστοιχο Boc-μονοπροστατευμένο διαμίδιο (0.45 g, 1.19 mmol) και το λιποϊκό οξύ (0.25 g, 1.19 mmol) ως υποκίτρινο στερεό, μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/MeOH 9.5:0.5.

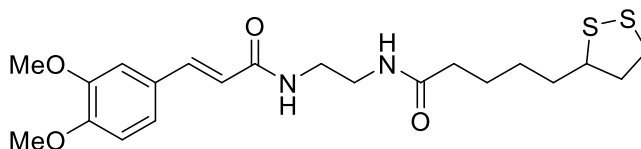
α = 65% (0.36 g, 0.77 mmol), R_f(CH₂Cl₂/MeOH 9.5:0.5) = 0.29

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.56 (d, J = 15.5 Hz, 1H), 7.14 – 6.98 (m, 2H), 6.84 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.43 – 6.29 (m, 2H), 6.21 (br s, 1H), 3.89 (s, 6H), 3.62 – 3.48 (m, 1H), 3.41 (d, J = 5.4 Hz, 2H), 3.30 (d, J = 5.7 Hz, 2H), 3.17 – 3.08 (m, 2H), 2.54 – 2.31 (m, 1H), 2.21 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 1.96 – 1.80 (m, 1H), 1.74 – 1.57 (m, 7H), 1.52 – 1.41 (m, 3H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 173.2, 166.5, 150.5, 149.0, 140.7, 127.7, 121.9, 118.5, 111.0, 109.6, 56.4, 55.9, 55.8, 40.2, 39.2, 39.1, 38.4, 36.3, 34.6, 28.9, 26.9, 26.8, 25.4.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για C₂₃H₃₅N₂O₄S₂⁺ [M+H]⁺ 467.2, βρέθηκε 467.2.

(E)-N-(2-(3-(3,4-Διμεθοξυφαινυλ)ακρυλαμιδο)αιθυλο)-5-(1,2-διθειολαν-3-υλο)πενταναμίδιο (57)



C₂₁H₃₀N₂O₄S₂
Mol. Wt.: 438.60

Το τελικό μόριο παραλήφθηκε από το αντίστοιχο Boc-μονοπροστατευμένο διαμίδιο (0.18 g, 0.51 mmol) και το λιποϊκό οξύ (0.10 g, 0.51 mmol) ως

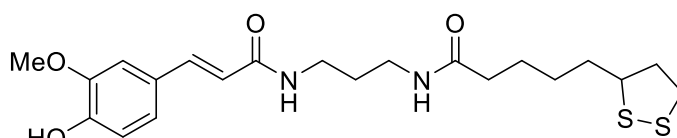
λευκό στερεό, μετά από χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.7:0.3.

$\alpha = 65\%$ (0.15 g, 0.34 mmol), $R_f(\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5) = 0.30

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.48 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.23 (t, $J = 4.3$ Hz, 1H), 7.08 (t, $J = 4.5$ Hz, 1H), 7.03 – 6.89 (m, 2H), 6.73 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.34 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.45 – 3.39 (m, 5H), 3.13 – 2.88 (m, 2H), 2.37 – 2.25 (m, 1H), 2.17 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 1.83 – 1.66 (m, 1H), 1.66 – 1.52 (m, 4H), 1.44 – 1.26 (m, 2H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 174.2, 167.3, 150.4, 148.9, 140.6, 127.4, 121.8, 118.4, 110.9, 109.6, 56.2, 55.7, 55.7, 40.0, 39.7, 38.2, 36.1, 34.4, 28.7, 25.3.

(E)-5-(1,2-Διθειολαν-3-υλο)-N-(3-(3-(4-υδροξυ-3-μεθοξυφαινυλ)ακρυλαμιδο)προπυλο)πενταναμίδιο (63)



$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2$
Mol. Wt.: 438.60

Το τελικό μόριο παραλήφθηκε από το αντίστοιχο Boc-μονοπροστατευμένο διαμίδιο (0.28 g, 0.78 mmol) και το λιποϊκό οξύ (0.16 g, 0.78 mmol) καθαρό ως λευκό αφρώδες στερεό, μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5.

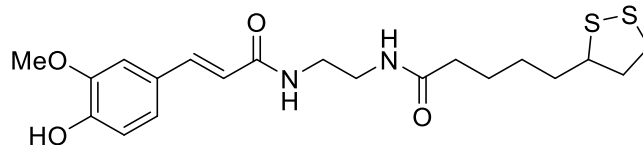
$\alpha = 66\%$ (0.23 g, 0.52 mmol), $R_f(\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5) = 0.34

^1H NMR (200 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ 7.75 – 7.42 (m, 3H), 7.19 – 6.96 (m, 2H), 6.86 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.56 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.60 3.46 (m, 1H), 3.42 – 3.23 (m, 4H), 3.20 – 2.98 (m, 2H), 2.42 – 2.35 (m, 1H), 2.22 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.94 – 1.50 (m, 8H), 1.48 – 1.30 (m, 2H).

^{13}C NMR (50 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ 173.7, 167.1, 149.2, 148.6, 140.7, 127.8, 122.6, 119.5, 116.2, 111.2, 57.1, 56.1, 40.8, 39.0, 37.3, 37.1, 36.6, 35.3, 30.6, 29.6, 26.2.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 437.2, βρέθηκε 437.2.

(E)-5-(1,2-Διθειολαν-3-yl)-N-(2-(3-(4-υδροξυ-3-μεθοξυφαινυλ)ακρυλαμιδο)αιθυλο)πενταναμίδιο (64)



$C_{20}H_{28}N_2O_4S_2$
Mol. Wt.: 424.57

Το τελικό μόριο παραλήφθηκε από το αντίστοιχο Boc-μονοπροστατευμένο διαμίδιο (0.31 g, 0.91 mmol) και το λιποϊκό οξύ (0.19 g, 0.91 mmol) καθαρό ως λευκό στερεό, μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης $CH_2Cl_2/MeOH$ 9.5:0.5.

$\alpha = 66\%$ (0.25 g, 0.59 mmol), $R_f(CH_2Cl_2/MeOH$ 9.5:0.5) = 0.27

1H NMR (200 MHz, d_6 -DMSO) δ 9.48 (s, 1H), 7.95 (d, $J = 25.1$ Hz, 2H), 7.32 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H), 7.16 – 6.93 (m, 2H), 6.78 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 6.41 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.17 – 3.07 (m, 6H), 2.42 – 2.29 (m, 1H), 2.06 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H), 1.91 – 1.74 (m, 1H), 1.50 (s, 5H), 1.35 (s, 2H).

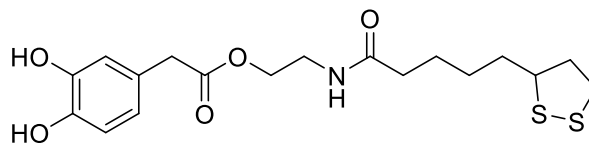
^{13}C NMR (50 MHz, d_6 -DMSO) δ 172.4, 165.7, 148.3, 147.9, 139.2, 126.4, 121.6, 118.9, 115.7, 110.8, 56.2, 55.6, 40.0, 38.5, 38.2, 36.2, 35.4, 34.2, 28.4, 25.1.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{20}H_{27}N_2O_4S_2^-$ $[M-H]^-$ 423.1, βρέθηκε 423.2.

5.2.7 Γενική μέθοδος αποπροστασίας φαινολικών υδροξυλίων αμιδικών εστέρων και διαμιδίων

Σε σφαιρική φιάλη διαλύεται η προστατευμένη ένωση (1.00 mmol) σε ξηρό CH_2Cl_2 (10 mL) και προστίθεται λίγο κυστεΐνη. Το μίγμα ψύχεται στους $0^\circ C$ και γίνεται προσθήκη του $BF_3 \cdot SMe_2$ (2.10 mL, 20 mmol). Το μίγμα αφήνεται υπό ψύξη για λίγα λεπτά και στη συνέχεια, σε θερμοκρασία δωματίου για 24 h υπό συνεχή ανάδευση, ενώ η φιάλη καλύπτεται με αλουμινόχαρτο. Η αντίδραση τερματίζεται με την προσθήκη $MeOH$ (4 mL) υπό ψύξη, αφήνεται 15 λεπτά υπό ανάδευση και ελέγχεται με TLC. Ακολουθεί συμπύκνωση και καθαρισμός της ουσίας με χρωματογραφία στήλης.

2-(3,4-Διυδροξυφαινυλ)οξικό 2-(5-(1,2-διθειολαν-3-υλο)πενταναμιδο)αιθύλιο (25)



$C_{18}H_{25}NO_5S_2$
Mol. Wt.: 399.52

Το τελικό προϊόν συντέθηκε μετά από αποπροστασία του αντίστοιχου πρόδρομου μορίου (0.19 g, 0.45 mmol) και παραλήφθηκε καθαρό μετά από χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης $CH_2Cl_2/MeOH$ 9:1 ως άχρωμο λάδι.

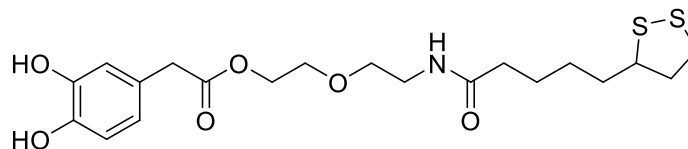
$\alpha = 23\%$ (37.7 mg, 0.10 mmol), $R_f(CH_2Cl_2/MeOH$ 9:1) = 0.34

1H NMR (200 MHz, CD_3OD) δ 6.72 – 6.66 (m, 4H), 6.60 – 6.51 (m, 2H), 4.13 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H), 3.66 (s, 3H), 3.41 (d, $J = 5.4$ Hz, 2H), 3.19 – 3.07 (m, 2H), 2.51 – 2.36 (m, 1H), 2.15 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 1.95 – 1.78 (m, 1H), 1.66 – 1.53 (m, 4H), 1.45 – 1.37 (m, 2H).

^{13}C NMR (50 MHz, CD_3OD) δ 174.5, 173.9, 146.3, 145.4, 126.9, 121.6, 117.3, 116.3, 64.2, 57.6, 41.3, 41.2, 39.4, 39.3, 36.8, 35.7, 29.8, 26.7.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{18}H_{24}NO_5S_2^- [M-H]^-$ 398.1, βρέθηκε 398.0.

2-(3,4-Διυδροξυφαινυλ)οξικό 2-(2-(5-(1,2-διθειολαν-3-υλο)πενταναμιδο)αιθοξυ)αιθύλιο (23)



$C_{20}H_{29}NO_6S_2$
Mol. Wt.: 443.57

Το τελικό προϊόν συντέθηκε μετά από αποπροστασία του αντίστοιχου πρόδρομου μορίου (0.14 g, 0.30 mmol) και παραλήφθηκε καθαρό μετά από χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης $CH_2Cl_2/MeOH$ 9:1 ως άχρωμο λάδι.

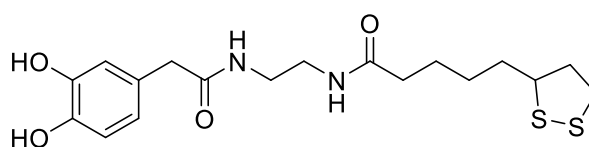
$\alpha = 32\%$ (44.0 mg, 0.10 mmol), $R_f(CH_2Cl_2/MeOH$ 9:1) = 0.35

^1H NMR (200 MHz, CD_3OD) δ 6.73 – 6.66 (m, 4H), 6.60 – 6.52 (m, 2H), 4.28 – 4.13 (m, 2H), 3.68 – 3.61 (m, 5H), 3.50 – 3.44 (m, 4H), 3.16 – 3.06 (m, 2H), 2.47 – 2.38 (m, 1H), 2.18 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.96 – 1.77 (m, 1H), 1.74 – 1.50 (m, 4H), 1.49 – 1.37 (s, 2H).

^{13}C NMR (50 MHz, CD_3OD) δ 176.2, 173.9, 146.3, 145.4, 126.9, 121.6, 117.3, 116.3, 70.5, 69.9, 65.0, 57.5, 41.4, 41.2, 40.3, 39.3, 36.8, 35.7, 29.8, 26.7.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{NO}_6\text{S}_2^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 442.1, βρέθηκε 442.1.

***N*-(2-(2-(3,4-Διυδροξυφαινυλ)ακεταμιδο)αιθυλο)-5-(1,2-διθειολαν-3-υλο)πενταναμίδιο (43)**



$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2$
Mol. Wt.: 398.54

Το τελικό προϊόν συντέθηκε μετά από αποπροστασία του αντίστοιχου πρόδρομου μορίου (0.23 g, 0.55 mmol) και παραλήφθηκε καθαρό μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1 ως λευκό κρυσταλλικό στερεό.

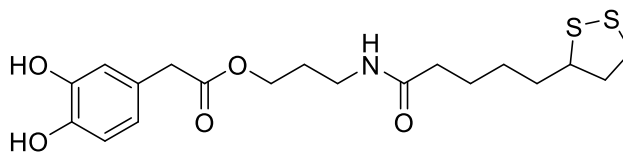
$\alpha = 22\%$ (48.2 mg, 0.12 mmol), $R_f(\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1) = 0.41

^1H NMR (200 MHz, CD_3OD) δ 6.84 – 6.82 (m, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.72 – 6.67 (m, 1H), 3.74 – 3.60 (m, 1H), 3.48 – 3.45 (m, 2H), 3.44 – 3.41 (m, 2H), 3.39 (s, 2H), 3.31 – 3.12 (m, 2H), 2.64 – 2.48 (m, 1H), 2.26 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.08 – 1.91 (m, 1H), 1.80 – 1.63 (m, 4H), 1.60 – 1.50 (m, 2H).

^{13}C NMR (50 MHz, CD_3OD) δ 176.4, 175.1, 146.4, 145.4, 128.0, 121.5, 117.2, 116.4, 57.5, 43.4, 41.3, 40.1, 39.9, 39.3, 36.9, 35.7, 29.9, 26.6.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 397.1, βρέθηκε 396.7.

2-(3,4-Διυδροξυφαινυλ)οξικό 3-(5-(1,2-διθειολαν-3-υλο)πενταναμιδο)προπύλιο (24)



$C_{19}H_{27}NO_5S_2$
Mol. Wt.: 413.54

Το τελικό προϊόν συντέθηκε μετά από αποπροστασία του αντίστοιχου πρόδρομου μορίου (0.14 g, 0.31 mmol) και παραλήφθηκε μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης $CH_2Cl_2/MeOH$ 9:1 ως άχρωμο λάδι.

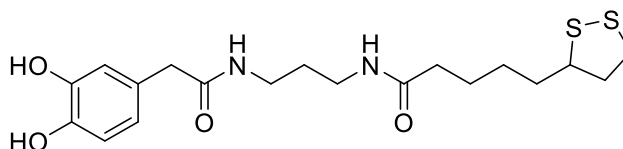
$\alpha = 49\%$ (62.8 mg, 0.15 mmol), $R_f(CH_2Cl_2/MeOH 9:1) = 0.34$

1H NMR (200 MHz, CD_3OD) δ 6.74 – 6.65 (m, 3H), 6.61 – 6.50 (m, 2H), 4.10 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 3.61 – 3.50 (m, 1H), 3.47 (s, 2H), 3.29 – 3.07 (m, 4H), 2.48 – 2.39 (m, 1H), 2.18 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.91 – 1.74 (m, 4H), 1.72 – 1.45 (m, 6H).

^{13}C NMR (50 MHz, CD_3OD) δ 176.1, 174.0, 146.3, 145.4, 126.9, 121.6, 117.3, 116.2, 63.4, 57.5, 41.4, 41.2, 39.3, 37.0, 36.9, 35.7, 29.8, 29.5, 26.7.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{19}H_{31}N_2O_5S_2^+$ $[M+NH_4]^+$ 431.2, βρέθηκε 431.2.

N-(3-(2-(3,4-Διυδροξυφαινυλ)ακεταμιδο)προπυλο)-5-(1,2-διθειολαν-3-υλο)πενταναμίδιο (41)



$C_{19}H_{28}N_2O_4S_2$
Mol. Wt.: 412.56

Το τελικό προϊόν συντέθηκε μετά από αποπροστασία του αντίστοιχου πρόδρομου μορίου (0.14 g, 0.31 mmol) και παραλήφθηκε καθαρό μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης $CH_2Cl_2/MeOH$ 9:1 ως άχρωμο λάδι.

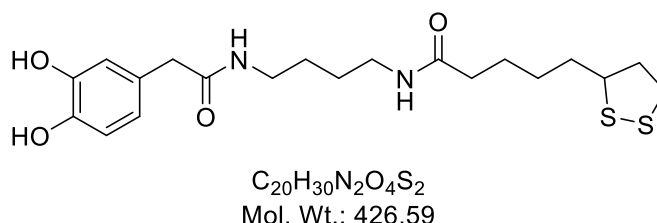
$\alpha = 62\%$ (78.8 mg, 0.19 mmol), $R_f(\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH } 8:2) = 0.42$

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CD_3OD) δ 7.90 (br s, 1H), 6.71 – 6.61 (m, 2H), 6.60 – 6.50 (m, 1H), 4.84 (s, 3H), 3.56 – 3.48 (m, 1H), 3.26 (s, 2H), 3.19 – 3.00 (m, 6H), 2.50 – 2.30 (m, 1H), 2.14 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.91 – 1.73 (m, 1H), 1.70 – 1.50 (m, 6H), 1.49 – 1.33 (m, 2H).

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CD_3OD) δ 176.1, 174.9, 146.4, 145.4, 128.2, 121.4, 117.1, 116.4, 57.5, 43.4, 41.3, 39.4, 37.9, 37.7, 36.9, 35.7, 30.2, 29.9, 26.7.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 411.1, βρέθηκε 411.1.

***N*-(4-(2-(3,4-Διυδροξυφαινόλη)ακεταμιδο)βουτυλο)-5-(1,2-διθειολαν-3-υλο)πενταναμίδιο (42)**



Το τελικό προϊόν συντέθηκε μετά από αποπροστασία του αντίστοιχου πρόδρομου μορίου (0.13 g, 0.28 mmol) και παραλήθηκε καθαρό μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH } 9:1$ ως λευκό στερεό.

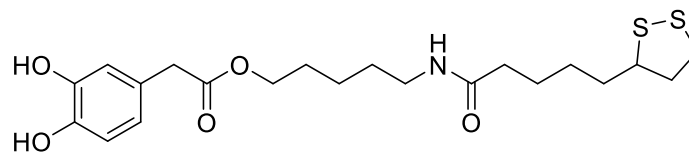
$\alpha = 50\%$ (59.5 mg, 0.14 mmol), $R_f(\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH } 8:2) = 0.54$

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CD_3OD) δ 8.05 – 7.82 (m, 1H), 6.72 – 6.68 (m, 2H), 6.61 – 6.58 (m, 1H), 3.62 – 3.49 (m, 1H), 3.33 (s, 2H), 3.21 – 3.06 (m, 6H), 2.52 – 2.36 (m, 1H), 2.18 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.95 – 1.78 (m, 1H), 1.70 – 1.55 (m, 4H), 1.49 (s, 6H).

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CD_3OD) δ 176.0, 174.7, 146.3, 145.3, 128.2, 121.4, 117.1, 116.3, 57.5, 43.4, 41.3, 40.1, 40.0, 39.3, 36.9, 35.7, 29.9, 27.8, 27.7, 26.8.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 427.1, βρέθηκε 426.9.

2-(3,4-Διυδροξυφαινυλ)οξικό 5-(5-(1,2-διθειολαν-3-υλο)πενταναμιδο)πεντύλιο (22)



$C_{21}H_{31}NO_5S_2$
Mol. Wt.: 441.60

Το τελικό προϊόν συντέθηκε μετά από αποπροστασία του αντίστοιχου πρόδρομου μορίου (0.16 g, 0.34 mmol) μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης $CH_2Cl_2/MeOH$ 9:1 ως άχρωμο λάδι.

$\alpha = 42\%$ (63.0 mg, 0.14 mmol), $R_f(CH_2Cl_2/MeOH$ 9:1) = 0.34

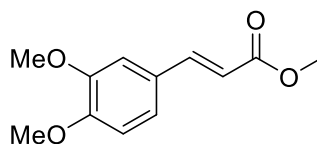
1H NMR (200 MHz, CD_3OD) δ 6.73 – 6.66 (m, 3H), 6.58 – 6.54 (m, 2H), 4.07 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.65 (s, 2H), 3.58 – 3.51 (m, 1H), 3.18 – 3.09 (m, 4H), 2.51 - 2.35 (m, 1H), 2.18 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 1.94 – 1.77 (m, 1H), 1.70 – 1.53 (m, 6H), 1.52 – 1.31 (m, 6H).

^{13}C NMR (50 MHz, CD_3OD) δ 176.0, 174.1, 146.3, 145.4, 127.0, 121.6, 117.3, 116.3, 65.7, 57.6, 41.6, 41.3, 40.2, 39.3, 36.9, 35.7, 30.0, 29.9, 29.3, 26.8, 24.4.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{21}H_{30}NO_5S_2^- [M-H]^-$ 440.1, βρέθηκε 440.1.

5.2.8 Μέθοδος παρασκευής του μεθυλεστέρα του διμεθόξυ προστατευμένου καφεϊκού οξέος

(E)-3-(3,4-Διμεθοξυφαινυλ)ακρυλικό μεθύλιο²⁷⁷ (65)



$C_{12}H_{14}O_4$
Mol. Wt.: 222.24

Σε σφαιρική φιάλη προστίθεται το διμεθόξυ προστατευμένο καφεϊκό οξύ (0.50 g, 2.40 mmol), ξηρό HMPA (13 mL), Na_2CO_3 (0.30 g, 2.86 mmol) και το μίγμα αναδεύεται για $\frac{1}{2}$ h σε θερμοκρασία δωματίου. Έπειτα, προστίθεται CH_3I (0.17 mL, 2.71 mmol) και μικρή ποσότητα KI και η

αντίδραση αφήνεται υπό ανάδευση για 72 h. Στη συνέχεια, το μίγμα αραιώνεται με AcOEt (25 mL) και εκπλένεται 2 φορές με διάλυμα HCl 0.6 N (10 mL) και H₂O (10 mL). Η οργανική στιβάδα ξηραίνεται με Na₂SO₄, ελέγχεται με TLC σε σύστημα ανάπτυξης PE/AcOEt 7:3, συμπυκνώνεται και καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης. Το προϊόν παραλαμβάνεται ως λευκό στερεό.

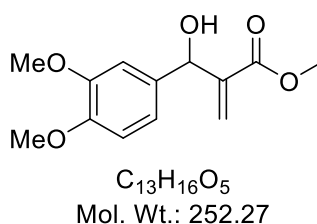
$\alpha = 92\%$ (0.49 g, 2.20 mmol), $R_f(\text{PE/AcOEt } 8:2) = 0.46$

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.64 – 7.45 (m, 1H), 7.07 – 6.91 (m, 2H), 6.79 – 6.74 (m, 1H), 6.32 – 6.15 (m, 1H), 3.81 (s, 6H), 3.74 – 3.66 (s, 3H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 167.3, 150.8, 148.8, 144.5, 127.0, 122.3, 115.1, 110.6, 109.2, 55.6, 55.5, 51.3.

5.2.9 Μέθοδος παρασκευής της αλλυλικής αλκοόλης 76

2-((3,4-Διμεθοξυφαινυλο)(υδροξυ)μεθυλ)ακρυλικό μεθύλιο²⁷⁸ (76)



Σε σφαιρική φιάλη προστίθεται 3,4-διμεθοξυβενζαλδεύδη (2.0 g, 12.03 mmol), ακρυλικός μεθυλεστέρας (2.18 mL, 24.07 mmol) και DABCO (1.42 g, 12.64 mmol) και η αντίδραση αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 30 μέρες. Ανά 10 μέρες γίνεται εκ νέου προσθήκη ίδιας ποσότητας ακρυλικού μεθυλεστέρα και DABCO. Ακολουθεί αραιώση με AcOEt (25 mL) και εκχύλιση του μίγματος κατά σειρά με διάλυμα NaHCO₃ 5% (10 mL), H₂O (10 mL), διάλυμα HCl 0.6 N (10 mL) και H₂O (10 mL). Η οργανική στιβάδα ξηραίνεται με Na₂SO₄, ελέγχεται με TLC σε σύστημα PE/AcOEt 6:4, συμπυκνώνεται και καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης. Το προϊόν παραλήφθηκε ως λευκό κρυσταλλικό στερεό.

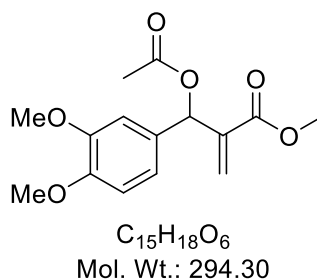
$\alpha = 47\%$ (1.42 g, 5.63 mmol), $R_f(\text{PE/AcOEt } 6:4) = 0.40$

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 6.95 – 6.68 (m, 3H), 6.28 (s, 1H), 5.83 (s, 1H), 5.47 (s, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.67 (s, 3H), 1.99 (s, 1H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 166.6, 148.6, 148.3, 141.9, 133.7, 125.5, 118.8, 110.6, 109.5, 72.6, 55.6, 55.6, 51.8.

5.2.10 Μέθοδος παρασκευής της ακετυλιωμένης αλλυλικής αλκοόλης 77

2-(Ακετοξυ(3,4-διμεθοξυφαινυλο)μεθυλο)ακρυλικό μεθύλιο (77)



Σε σφαιρική φιάλη, πραγματοποιείται διάλυση του 2-((3,4-διμεθοξυφαινυλ)(υδροξυ)μεθυλο)ακρυλικού μεθυλίου (1.42 g, 5.62 mmol) σε ξηρό CH_2Cl_2 (2.80 mL), προστίθεται πυριδίνη (0.52 mL, 6.47 mmol) και υπό ψύξη στους 0°C γίνεται προσθήκη στάγδην του ακετυλοχλωριδίου (0.46 mL, 6.47 mmol). Η αντίδραση αναδεύεται υπό ψύξη για 1 h και έπειτα αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 24 h. Στη συνέχεια, το μίγμα της αντίδρασης αραιώνεται με CH_2Cl_2 (30 mL) και ακολουθούν κατά σειρά οι εκχυλίσεις: διάλυμα Na_2CO_3 5% (10 mL), H_2O (10 mL), διάλυμα HCl 2 N (10 mL) και H_2O (10 mL). Η οργανική στιβάδα ξηραίνεται με Na_2SO_4 , ελέγχεται με TLC σε σύστημα ανάπτυξης PE/AcOEt 7:3 και συμπυκνώνεται. Το προϊόν υπόκειται σε χρωματογραφικό καθαρισμό με σύστημα έκλουσης PE/AcOEt 8:2 και παραλαμβάνεται ως άχρωμο λάδι.

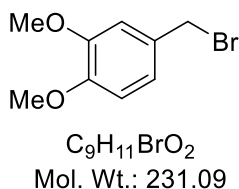
$\alpha = 78\%$ (1.29 g, 4.38 mmol), R_f (PE/AcOEt 8:2) = 0.27

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 6.90 – 6.73 (m, 3H), 6.57 (s, 1H), 6.32 (d, $J = 0.9$ Hz, 1H), 5.84 – 5.77 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.60 (s, 3H), 2.03 (s, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 169.1, 165.1, 148.7, 148.5, 139.3, 129.7, 124.9, 120.0, 110.5, 110.5, 72.6, 55.5, 55.5, 51.6, 20.8.

5.2.11 Μέθοδος παρασκευής του βρωμιδίου της (3,4-διμεθοξυφαινυλο)μεθανόλης

4-(Βρωμομεθυλο)-1,2-διμεθοξυβενζόλιο²⁷⁹ (87)



Σε σφαιρική φιάλη διαλύεται η 3,4-διμεθοξυφαινυλομεθανόλη (2.00 g, 11.90 mmol) σε ξηρό Et₂O (20 mL), το διάλυμα ψύχεται στους 0°C και προστίθεται στάγδην τριβρωμίδιο του φωσφόρου (0.45 mL, 4.80 mmol). Η αντίδραση αφήνεται υπό ανάδευση στους 0°C για 1 h και έπειτα για 4 h σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί απόχυση του μίγματος της αντίδρασης σε 20 g πάγου και διαχωρισμός των δύο στιβάδων. Η υδατική στιβάδα εκχυλίζεται άλλες 2 φορές με Et₂O (20 mL) και στη συνέχεια, οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται μαζί και εκπλένονται με παγωμένο H₂O (30 mL). Ακολουθεί ξήρανση με Na₂SO₄, έλεγχος με TLC σε σύστημα ανάπτυξης PE/AcOEt 7:1, συμπύκνωση και καθαρισμός του επιθυμητού προϊόντος με χρωματογραφία στήλης. Το προϊόν παραλαμβάνεται ως λευκό στερεό.

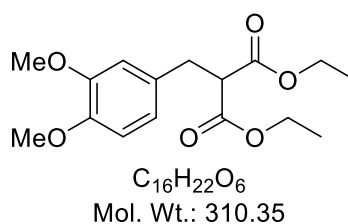
$\alpha = 27\%$ (0.74 g, 3.20 mmol), R_f (PE/AcOEt 7:1) = 0.36

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.01 – 6.77 (m, 3H), 4.51 (s, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.89 (s, 3H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 149.1, 148.9, 130.1, 121.5, 111.9, 110.9, 55.8, 55.8, 34.4.

5.2.12 Μέθοδος παρασκευής του αλκυλιωμένου διαιθυλεστέρα του μηλονικού οξέος

2-(3,4-Διμεθοξυβενζυλο)μηλονικό διαιθύλιο²⁷⁹ (89)



Σε σφαιρική φιάλη προστίθεται διαιθυλεστέρας του μηλονικού οξέος (0.49 mL, 3.20 mmol) σε διάλυμα NaH 60% (0.13 g, 3.20 mmol) σε ξηρό DMF (3.8 mL). Το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 20 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και προστίθεται το βρωμίδιο της 3,4-διμεθοξυφαινυλομεθανόλης (0.74 g, 3.20 mmol) διαλυμένο σε ξηρό DMF (4.5 mL). Η αντίδραση αφήνεται για 19 h στους 60°C. Στο μίγμα προστίθεται Et₂O (20 mL) και ακολουθούν δύο εκχυλίσεις με H₂O (5 mL) και με κορεσμένο διάλυμα NaCl (5 mL). Στη συνέχεια, γίνεται ξήρανση της οργανικής στιβάδας με Na₂SO₄, έλεγχος με TLC και συμπύκνωση. Το επιθυμητό προϊόν παραλαμβάνεται έπειτα από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης PE/AcOEt 7:2 ως άχρωμο λάδι.

α = 54% (0.53 g, 1.71 mmol), R_f (PE/AcOEt 7:2) = 0.46

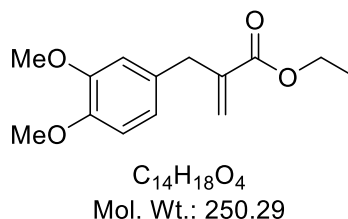
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 6.73 – 6.61 (m, 3H), 4.16 – 3.97 (m, 4H), 3.72 (s, 3H), 3.71 (m, 3H), 3.54 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 3.07 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 1.12 (t, J = 7.1 Hz, 6H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 168.5, 148.4, 147.4, 130.0, 120.5, 111.7, 110.8, 61.0, 55.4, 55.4, 53.7, 34.0, 13.7.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για C₁₆H₂₆NO₆⁺ [M+NH₄]⁺ 328.2, βρέθηκε 328.1.

5.2.13 Μέθοδος παρασκευής του ακρυλικού εστέρα 91

2-(3,4-Διμεθοξυβενζυλο)ακρυλικό αιθύλιο²⁸⁰ (91)



Σε σφαιρική φιάλη διαλύεται 2-(3,4-διμεθοξυβενζυλο)μηλονικό διαιθύλιο (0.26 g, 0.84 mmol) σε απόλυτη EtOH (1.6 mL) και υπό ψύξη στους 0°C γίνεται προσθήκη διαλύματος KOH (0.05 g, 0.89 mmol) σε απόλυτη EtOH (1.6 mL). Η αντίδραση αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 24 h. Ακολουθεί συμπύκνωση, προσθήκη 1.5 mL H₂O, εκχύλιση με Et₂O (20 mL), διαχωρισμός των φάσεων και οξίνιση της υδατικής φάσης με διάλυμα

HCl 6 N μέχρι pH = 3. Έπειτα, η υδατική στιβάδα εκπλένεται με AcOEt και η οργανική φάση ξηραίνεται με Na₂SO₄ και ελέγχεται με TLC σε σύστημα ανάπτυξης CH₂Cl₂/MeOH 9:1. Μετά από συμπύκνωση, το ενδιάμεσο προϊόν διαλύεται σε διάλυμα φορμαλδεΐδης 37% (0.13 mL, 1.70 mmol) σε H₂O, H₂O (0.8 mL) και CH₂Cl₂ (0.8 mL). Το μίγμα ψύχεται στους 0°C και προστίθεται διαιθυλαμίνη (0.16 mL, 1.57 mmol). Η αντίδραση αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 24 h υπό έντονη ανάδευση. Στο μίγμα προστίθεται H₂O και CH₂Cl₂ και πραγματοποιείται διαχωρισμός των δύο φάσεων. Έπειτα, η οργανική φάση εκχυλίζεται με διάλυμα HCl 3N, ξηραίνεται με Na₂SO₄ και ελέγχεται με TLC σε σύστημα ανάπτυξης PE/Et₂O 6:4. Τέλος, με χρωματογραφία στήλης παραλαμβάνεται καθαρό το προϊόν ως άχρωμο λάδι.

α = 63% (0.13 g, 0.52 mmol), R_f (PE/AcOEt 6:4) = 0.54

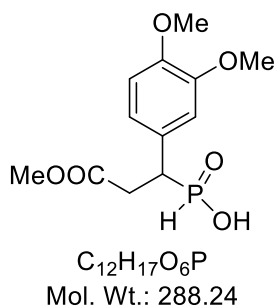
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 6.84 – 6.63 (m, 3H), 6.18 (s, 1H), 5.42 (s, 1H), 4.15 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.82 (s, 6H), 3.54 (s, 2H), 1.23 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 166.7, 148.6, 147.3, 140.4, 131.1, 125.5, 120.8, 112.0, 110.9, 60.5, 55.6, 55.5, 37.5, 14.0.

5.2.14 Γενική μέθοδος σύνθεσης φωσφινικών οξέων

Σε ξηρή σφαιρική φιάλη προστίθεται ξηρό υποφωσφορώδες αμμώνιο (0.41 g, 5.00 mmol) και HMDS (1.04 mL, 5.00 mmol), γίνεται απαέρωση με ταυτόχρονη διαβίβαση Ar και το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση στους 110°C για 2 h. Στη συνέχεια, προστίθεται το αλκένιο (1.00 mmol) διαλυμένο σε ξηρό CH₂Cl₂ (3.80 mL). Αν το αλκένιο είναι ενεργοποιημένο, η φιάλη ψύχεται στους 0°C και η προσθήκη γίνεται στάγδην. Η αντίδραση αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 24 h. Προστίθεται MeOH (1.00 mL) και το μίγμα αναδεύεται για 15 λεπτά. Έπειτα από συμπύκνωση της MeOH και προσθήκη διαλύματος HCl 6 N προς pH = 1, ακολουθεί αραίωση με CH₂Cl₂, διαχωρισμός των στιβάδων και ξήρανση της οργανικής με Na₂SO₄. Η οργανική στιβάδα ελέγχεται με TLC, συμπυκνώνεται και περνάει από χρωματογραφία στήλης.

(1-(3,4-Διμεθοξυφαινυλο)-3-μεθοξυ-3-οξοπροπυλο)φωσφινικό οξύ (68)



Το τελικό προϊόν συντέθηκε από τον μεθυλεστέρα του διμεθόξυ προστατευμένου καφεϊκού οξέος (101.3 mg, 0.46 mmol) και παραλήφθηκε καθαρό μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης $CH_2Cl_2/MeOH/AcOH$ 7:1:0.5, ως λευκό στερεό.

$\alpha = 68\%$ (89.8 mg, 0.31 mmol), $R_f(CH_2Cl_2/MeOH/AcOH$ 7:1:0.5) = 0.30

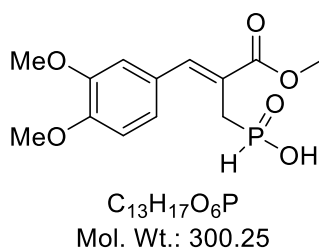
1H NMR (200 MHz, CD_3OD) δ 6.88 (d, $^1J_{P-H} = 524.9$ Hz, 1H), 7.15 – 6.59 (m, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.56 (s, 3H), 3.35 (d, $^1J_{P-H} = 1.9$ Hz, 1H), 3.01 (d, $^2J_{P-H} = 40.2$ Hz, 2H).

^{13}C NMR (50 MHz, CD_3OD) δ 174.0 (d, $^3J_{C-P} = 17.3$ Hz), 150.2, 149.4, 130.1, 122.3 (d, $^3J_{C-P} = 6.0$ Hz), 114.0, 112.9, 56.4, 52.3, 45.4 (d, $^1J_{C-P} = 87.3$ Hz), 34.2.

^{31}P NMR (81 MHz, CD_3OD) δ 30.84.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{12}H_{16}O_6P^-$ $[M-H]^-$ 287.1, βρέθηκε 287.1.

(Z)-(3-(3,4-Διμεθοξυφαινυλο)-2-(μεθοξυκαρβονυλ)αλλυλο)φωσφινικό οξύ (78)



Το προϊόν παραλαμβάνεται καθαρό από το αντίστοιχο ενεργοποιημένο αλκένιο (0.45 g, 1.52 mmol), μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης $CH_2Cl_2/MeOH/AcOH$ 7:1:0.5 ως λευκό στερεό.

$\alpha = 81\%$ (0.37 g, 1.23 mmol), R_f (CH₂Cl₂/MeOH/AcOH 7:1:0.5) = 0.32

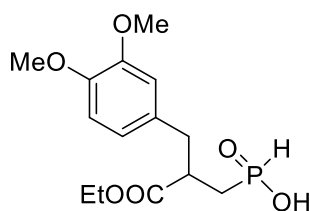
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.02 (br s, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.29 – 7.00 (m, 2H), 7.13 (d, ¹J_{P-H} = 536.7 Hz, 1H), 6.77 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 3.77 (s, 6H), 3.67 (s, 3H), 3.03 (d, ¹J_{P-H} = 12.1 Hz, 2H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 168.9, 149.7, 148.5, δ 141.6 (d, ³J_{C-P} = 7.0 Hz), 127.4, 127.4, 122.9, 121.6 (d, ²J_{C-P} = 8.9 Hz), 112.6, 110.8, 56.0, 55.7, 52.3, 31.8 (d, ¹J_{C-P} = 85.9 Hz).

³¹P NMR (81 MHz, CDCl₃) δ 27.68.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για C₁₃H₁₆O₆P⁻ [M-H]⁻ 299.1, βρέθηκε 299.0.

(2-(3,4-Διμεθοξυβενζυλο)-3-αιθοξυ-3-οξοπροπυλο)φωσφινικό οξύ (92)



C₁₄H₂₁O₆P
Mol. Wt.: 316.29

Το φωσφινικό οξύ συντέθηκε από το αντίστοιχο αλκένιο (0.74 g, 2.94 mmol) και παραλήφθηκε καθαρό, έπειτα απο χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/MeOH/AcOH 7:0.5:0.5 ως άχρωμο λάδι.

$\alpha = 93\%$ (0.86 g, 2.72 mmol), R_f (CH₂Cl₂/MeOH/AcOH 7:0.5:0.5) = 0.36

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 6.99 (d, ¹J_{P-H} = 546.3 Hz, 1H), 6.64 (s, 3H), 4.00 (s, 2H), 3.77 (s, 6H), 3.00 - 2.83 (m, 3H), 1.86 (d, ¹J_{P-H} = 47.3 Hz, 2H), 1.09 (s, 3H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 174.1, 148.7, 147.6, 130.3, 121.1, 112.1, 111.0, 60.7, 55.7, 41.0, 38.8 (d, ³J_{C-P} = 7.9 Hz), 31.5 (d, ¹J_{C-P} = 88.4 Hz), 13.9.

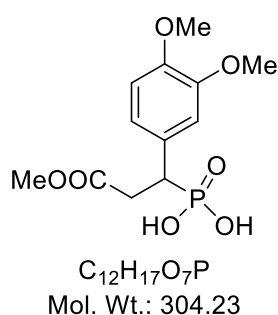
³¹P NMR (81 MHz, CDCl₃) δ 31.55.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για C₁₄H₂₀O₆P⁻ [M-H]⁻ 315.1, βρέθηκε 315.1.

5.2.15 Γενική μέθοδος σύνθεσης φωσφονικών οξέων

Σε σφαιρική φιάλη διαλύεται το φωσφονικό οξύ (1.00 mmol) σε THF (6 mL), προστίθεται DMSO (0.07 mL, 1.00 mmol) και μικρή ποσότητα I₂ και η αντίδραση αφήνεται υπό αναρροή στους 60°C για 48 h. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με TLC και φασματομετρία μάζας. Ακολουθεί συμπύκνωση και καθαρισμός του τελικού προϊόντος με χρωματογραφία στήλης.

(1-(3,4-Διμεθοξυφαινυλο)-3-μεθοξυ-3-οξοπροπυλο)φωσφονικό οξύ (69)



Το προϊόν συντέθηκε από το αντίστοιχο φωσφονικό οξύ (0.36 g, 1.24 mmol) και παραλήφθηκε καθαρό μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης CH₂Cl₂/MeOH/AcOH 7:0.5:0.5 ως υποκίτρινο στερεό.

α = 69% (0.26 g, 0.85 mmol), R_f (CH₂Cl₂/MeOH/AcOH 7:1.5:0.5) = 0.20

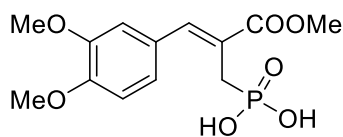
¹H NMR (200 MHz, CD₃OD) δ 6.92 (d, J = 13.5 Hz, 3H), 3.82 (s, 6H), 3.57 (s, 3H), 2.97 (d, ² J_{P-H} = 11.7 Hz, 2H), 1.99 (d, ¹ J_{P-H} = 3.0 Hz, 1H), 1.30 (s, 2H).

¹³C NMR (50 MHz, CD₃OD) δ 175.0 (d, ³ J_{C-P} = 20.1 Hz), 149.7, 148.7, 133.6, 122.6, 114.3, 112.5, 56.4, 52.1, 43.8 (d, ¹ J_{C-P} = 138.4 Hz), 37.7.

³¹P NMR (81 MHz, CD₃OD) δ 20.79.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για C₁₂H₁₆O₇P⁻ [M-H]⁻ 303.1, βρέθηκε 303.1.

(Z)-(3-(3,4-Διμεθοξυφαινυλο)-2-(μεθοξυκαρβονυλ)αλλυλο)φωσφονικό οξύ (79)



$C_{13}H_{17}O_7P$
Mol. Wt.: 316.25

Το προϊόν παραλαμβάνεται καθαρό από το αντίστοιχο φωσφινικό οξύ (96.1 mg, 0.32 mmol), μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης $CH_2Cl_2/MeOH/AcOH$ 7:1:0.5 ως υποκίτρινο στερεό.

$\alpha = 92\%$ (92.8 mg, 0.29 mmol), $R_f(CH_2Cl_2/MeOH/AcOH$ 7:1:0.5) = 0.20

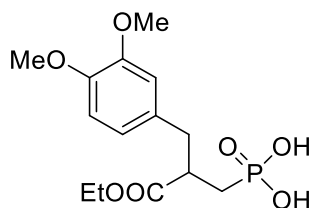
1H NMR (200 MHz, CD_3OD) δ 7.80 – 6.76 (m, 4H), 3.86 (s, 9H), 3.05 (d, $^1J_{P-H} = 22.2$ Hz, 2H).

^{13}C NMR (50 MHz, CD_3OD) δ 171.5, 150.9, 150.0, 140.6 (d, $^3J_{C-P} = 9.2$ Hz), 129.8, 127.1 (d, $^2J_{C-P} = 11.9$ Hz), 124.9, 114.6, 112.3, 56.9, 56.3, 29.8 (d, $^1J_{C-P} = 87.5$ Hz).

^{31}P NMR (81 MHz, CD_3OD) δ 19.40.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{13}H_{16}O_7P^-$ $[M-H]^-$ 315.1, βρέθηκε 315.1.

(2-(3,4-Διμεθοξυβενζυλ)-3-αιθοξυ-3-οξοπροπυλο)φωσφονικό οξύ (93)



$C_{14}H_{21}O_7P$
Mol. Wt.: 332.29

Το φωσφονικό οξύ συντέθηκε από το αντίστοιχο φωσφινικό οξύ (0.36 g, 1.14 mmol) και παραλήφθηκε καθαρό, έπειτα απο χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης $CH_2Cl_2/MeOH/AcOH$ 7:0.5:0.5, ως υποκίτρινο στερεό.

$\alpha = 60\%$ (0.23 g, 0.69 mmol), $R_f(CH_2Cl_2/MeOH/AcOH$ 7:1:0.5) = 0.38

^1H NMR (200 MHz, CD_3COOD) δ 6.76 (s, 3H), 4.06 – 3.77 (m, 8H), 3.09 – 2.85 (m, 3H), 1.10 (s, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, CD_3COOD) δ 177.1, 149.8, 148.7, 132.2, 122.3, 113.7, 112.5, 62.0, 56.1, 43.9, 40.0, 31.1 (d, $^1J_{\text{C-P}} = 104.8$ Hz), 14.1.

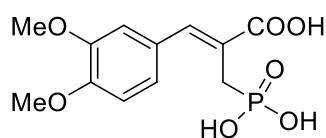
^{31}P NMR (81 MHz, CD_3COOD) δ 34.95.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_7\text{P}^-$ $[\text{M-H}]^-$ 331.1, βρέθηκε 331.1.

5.2.16 Γενική μέθοδος σαπωνοποίησης φωσφονικών οξέων

Σε σφαιρική φιάλη διαλύεται ο εστέρας (1.00 mmol) σε MeOH (8.9 mL) και προστίθεται στάγδην διάλυμα NaOH 4 N (1.25 mL, 5.00 mmol). Η αντίδραση αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 7 μέρες και ελέγχεται με TLC και φασματομετρία μάζας. Ακολουθεί συμπύκνωση προς απομάκρυνση της MeOH, οξίνιση με διάλυμα HCl 6 N μέχρι pH = 1 και εξαλάτωση με AcOEt για 24 h. Η οργανική στιβάδα, έπειτα, συμπυκνώνεται και περνάει από χρωματογραφία στήλης για τον καθαρισμό του προϊόντος με σύστημα έκλουσης $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{AcOH}$ 7:2:1.

(Z)-3-(3,4-Διμεθοξυφαινυλο)-2-(φωσφονομεθυλ)ακρυλικό οξύ (80)



$\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{O}_7\text{P}$
Mol. Wt.: 302.22

Το προϊόν συντέθηκε από τον αντίστοιχο μεθυλεστέρα φωσφονικού οξέος (102.5 mg, 0.32 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

$\alpha = 45\%$ (43.4 mg, 0.14 mmol), R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{AcOH}$ 7:2:1) = 0.30

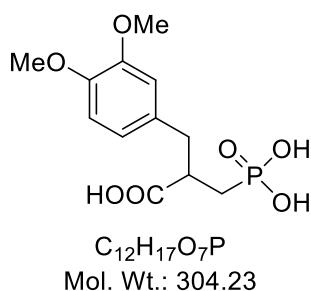
^1H NMR (200 MHz, D_2O) δ 7.58 – 6.89 (m, 4H), 3.87 (s, 6H), 2.95 (d, $^1J_{\text{P-H}} = 22.5$ Hz, 2H).

^{13}C NMR (50 MHz, D_2O) δ 177.6, 148.1, 147.8, 136.2 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 7.9$ Hz), 130.9 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 10.4$ Hz), 129.4, 123.0, 113.1, 111.7, 56.0, 55.8, 29.6 (d, $^1J_{\text{C-P}} = 129.3$ Hz).

^{31}P NMR (81 MHz, D_2O) δ 20.95.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{12}H_{14}O_7P^-$ $[M-H]^-$ 301.0, βρέθηκε 301.0.

2-(3,4-Διμεθοξυβενζυλο)-3-φωσφονοπροπανοϊκό οξύ (94)



Το προϊόν συντέθηκε από τον αντίστοιχο αιθυλεστέρα φωσφονικού οξέος (149.8 mg, 0.45 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

$\alpha = 43\%$ (58.8 mg, 0.19 mmol), R_f ($CH_2Cl_2/MeOH/AcOH$ 7:2:1) = 0.24

1H NMR (200 MHz, CD_3COOD) δ 6.83 - 6.71 (m, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.17 – 2.71 (m, 3H), 2.05 (dd, $^1J_{P-H} = 111.6$, 18.0 Hz, 2H).

^{13}C NMR (50 MHz, CD_3COOD) δ 176.7, 149.8, 148.7, 132.2, 122.3, 113.6, 112.5, 56.0, 43.8, 40.0, 30.5 (d, $^1J_{C-P} = 137.3$ Hz).

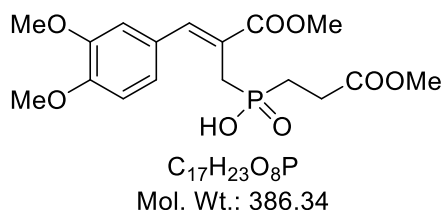
^{31}P NMR (81 MHz, CD_3COOD) δ 35.84.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{12}H_{16}O_7P^-$ $[M-H]^-$ 303.1, βρέθηκε 303.2.

5.2.17 Γενική μέθοδος σύνθεσης διυποκατεστημένων φωσφινικών οξέων

Σε σφαιρική φιάλη διαλύεται το φωσφινικό οξύ (1.00 mmol) σε ξηρό CH_2Cl_2 (2.90 mL), προστίθεται ακρυλικός μεθυλεστέρας (0.45 mL, 5.00 mmol), Et_3N (0.70 mL, 5.00 mmol) και η φιάλη απαερώνεται με ταυτόχρονη διαβίβαση ατμόσφαιρας Ar. Το μίγμα ψύχεται στους $0^\circ C$ και προστίθεται $TMSCl$ (0.63 mL, 5.00 mmol). Η αντίδραση αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 24 h και έπειτα τερματίζεται με προσθήκη 1.00 mL $MeOH$ και ανάδευση για $\frac{1}{2}$ h. Ακολουθεί συμπύκνωση προς απομάκρυνση της $MeOH$, οξίνιση με διάλυμα HCl 6 N μέχρι $pH = 1$ και εκχύλιση της υδατικής φάσης με CH_2Cl_2 (20 mL). Η οργανική σιβάδα ξηραίνεται με Na_2SO_4 , ελέγχεται με TLC και συμπυκνώνεται. Το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται καθαρό, έπειτα από χρωματογραφία στήλης.

(Z)-(3-(3,4-Διμεθοξυφαινυλο)-2-(μεθοξυκαρβονυλ)αλλυλο)(3-μεθοξυ-3-οξοπροπυλο)φωσφινικό οξύ (81)



Η ουσία συντέθηκε από το αντίστοιχο πρόδρομο φωσφινικό οξύ (0.19 g, 1.21 mmol). Το προϊόν καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης $CH_2Cl_2/MeOH/AcOH$ 7:1:0.5 και παραλήφθηκε ως κίτρινο λάδι.

$\alpha = 80\%$ (0.37 g, 0.96 mmol), $R_f(CH_2Cl_2/MeOH/AcOH$ 7:1:0.5) = 0.44

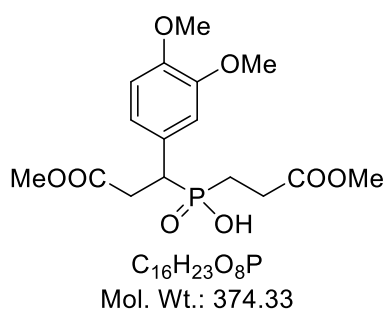
1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 7.68 (s, 1H), 7.24 – 7.14 (m, 3H), 6.82 (s, 1H), 3.85 (s, 6H), 3.55 (s, 6H), 3.02 (s, 2H), 2.50 (s, 2H), 1.87 (s, 2H).

^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 173.7 (d, $^3J_{C-P} = 10.3$ Hz), 169.5, 149.5, 148.6, 141.2 (d, $^3J_{C-P} = 7.9$ Hz), 127.7, 123.3 (d, $^2J_{C-P} = 10.3$ Hz), 122.7 (d, $^4J_{C-P} = 2.8$ Hz), 112.5, 110.7, 56.0, 55.7, 51.6, 30.1 (d, $^1J_{C-P} = 84.1$ Hz), 27.3, 25.6 (d, $^1J_{C-P} = 93.5$ Hz).

^{31}P NMR (81 MHz, $CDCl_3$) δ 41.79.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{17}H_{22}O_8P^-$ [M-H] $^-$ 385.1, βρέθηκε 385.0.

(1-(3,4-Διμεθοξυφαινυλο)-3-μεθοξυ-3-οξοπροπυλο)(3-μεθοξυ-3-οξοπροπυλο)φωσφινικό οξύ (70)



Το προϊόν συντέθηκε από το αντίστοιχο πρόδρομο φωσφινικό οξύ (0.34 g, 1.18 mmol) και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης $CH_2Cl_2/MeOH/AcOH$ 7:0.5:0.5. Παραλήφθηκε ως κίτρινο λάδι.

$\alpha = 66\%$ (0.29 g, 0.77 mmol), $R_f(CH_2Cl_2/MeOH/AcOH$ 7:0.5:0.5) = 0.36

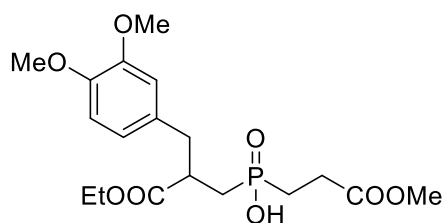
^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.25 – 6.67 (m, 3H), 3.79 (s, 6H), 3.53 (s, 6H), 3.20 – 2.86 (m, Hz, 3H), 2.36 (s, 2H), 1.69 (s, 2H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 174.0 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 10.5$ Hz), 173.0 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 13.7$ Hz), 148.6, 147.8, 129.8 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 2.8$ Hz), 120.7 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 3.2$ Hz), 112.1 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 3.7$ Hz), 111.0, 55.7, 55.6, 51.8, 43.0 (d, $^1J_{\text{C-P}} = 91.0$ Hz), 34.2, 26.9, 22.8 (d, $^1J_{\text{C-P}} = 93.2$ Hz).

^{31}P NMR (81 MHz, CDCl_3) δ 45.32.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_8\text{P}^-$ $[\text{M-H}]^-$ 373.1, βρέθηκε 372.9.

(2-(3,4-Διμεθοξυβενζυλο)-3-αιθοξυ-3-οξοπροπυλο)(3-μεθοξυ-3-οξοπροπυλο)φωσφινικό οξύ (95)



Το προϊόν συντέθηκε από το αντίστοιχο πρόδρομο φωσφινικό οξύ (0.25 g, 0.80 mmol) και παραλήφθηκε καθαρό μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{AcOH}$ 7:0.5:0.5 ως άχρωμο λάδι.

$\alpha = 82\%$ (0.26 g, 0.65 mmol), R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{AcOH}$ 7:0.5:0.5) = 0.44

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.07 (s, 1H), 6.62 (s, 3H), 4.24 – 3.28 (m, 11H), 2.75 (s, 3H), 2.40 (s, 2H), 1.71 (s, 4H), 0.99 (s, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 175.6, 173.8 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 15.7$ Hz), 148.4, 147.3, 130.8, 120.9, 111.9, 110.7, 60.5, 55.5, 51.5, 42.2, 39.6 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 10.0$ Hz), 31.4 (d, $^1J_{\text{C-P}} = 92.7$ Hz), 27.0 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 1.6$ Hz), 24.9 (d, $^1J_{\text{C-P}} = 92.2$ Hz), 13.7.

^{31}P NMR (81 MHz, CDCl_3) δ 42.06.

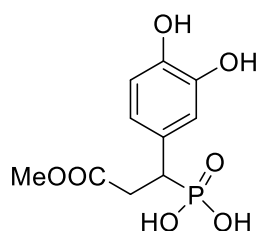
MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_8\text{P}^-$ $[\text{M-H}]^-$ 401.1, βρέθηκε 401.0.

5.2.18 Γενική μέθοδος αποπροστασίας υδροξυλίων πολυφαινολικών παραγώγων χωρίς τη ταυτόχρονη αποπροστασία των εστερικών ομάδων που φέρουν

Σε σφαιρική φιάλη διαλύεται το προστατευμένο φαινολικό παράγωγο (1.00 mmol) σε ξηρό CH₂Cl₂ (6 mL) και η φιάλη απαερώνεται με ταυτόχρονη διαβίβαση ατμόσφαιρας Ar. Η φιάλη ψύχεται στους 0°C και γίνεται στάγδην προσθήκη διαλύματος BCl₃ 1 M σε CH₂Cl₂ (10.00 mL, 10.00 mmol). Η αντίδραση αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 72 h υπό ατμόσφαιρα Ar. Για τον τερματισμό της αντίδρασης, η φιάλη ψύχεται, προστίθεται H₂O (1 mL), το μίγμα μένει υπό ανάδευση για 10 λεπτά και συμπυκνώνεται προς απομάκρυνση του CH₂Cl₂. Ακολουθεί καθαρισμός των τελικών προϊόντων με χρωματογραφία στήλης αντίστροφης φάσης και με σύστημα έκλουσης διαλύματος CH₃CN από 0% έως 90%.

(1-(3,4-Διυδροξυφαινυλο)-3-μεθοξυ-3-οξοπροπυλο)φωσφονικό οξύ

(71)



C₁₀H₁₃O₇P
Mol. Wt.: 276.18

Το τελικό προϊόν συντέθηκε από το αντίστοιχο διμεθόξυ προστατευμένο φωσφονικό οξύ (50.0 mg, 0.16 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

α = 65% (29.3 mg, 0.11 mmol), R_f (CH₂Cl₂/MeOH/AcOH 7:2:1) = 0.37

¹H NMR (200 MHz, D₂O) δ 6.81 – 6.68 (m, 3H), 3.52 (dd, ¹J_{P-H} = 81.5, 15.5 Hz, 1H), 3.50 (s, 3H), 3.06 – 2.74 (m, 2H).

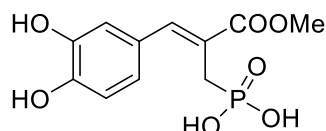
¹³C NMR (50 MHz, D₂O) δ 174.6 (d, ³J_{C-P} = 20.4 Hz), 143.9 (d, ⁴J_{C-P} = 2.8 Hz), 143.2 (d, ⁵J_{C-P} = 3.2 Hz), 128.7 (d, ²J_{C-P} = 5.8 Hz), 121.1 (d, ³J = 6.5 Hz), 116.4 (d, ³J = 5.5 Hz), 116.2 (d, ⁴J = 2.6 Hz), 52.4, 40.7 (d, ¹J = 136.2 Hz), 34.9.

³¹P NMR (81 MHz, D₂O) δ 25.37.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{10}H_{12}O_7P^-$ $[M-H]^-$ 275.0, βρέθηκε 274.8.

HRMS m/z υπολογίζεται για $C_{10}H_{12}O_7P^-$ $[M-H]^-$ 275.0326, βρέθηκε 275.0327.

(Z)-(3-(3,4-Διυδροξυφαινυλο)-2-(μεθοξυκαρβονυλ)αλλυλο)φωσφονικό οξύ (82)



$C_{11}H_{13}O_7P$
Mol. Wt.: 288.19

Το τελικό προϊόν συντέθηκε από το αντίστοιχο διμεθόξυ προστατευμένο φωσφονικό οξύ (93.0 mg, 0.29 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

α = 63% (52.7 mg, 0.18 mmol), R_f ($CH_2Cl_2/MeOH/AcOH$ 7:2:1) = 0.40

1H NMR (200 MHz, D_2O) δ 7.48 (d, $^3J_{P-H}$ = 4.4 Hz, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.01 - 6.84 (m, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.04 (d, $^1J_{P-H}$ = 21.2 Hz, 2H).

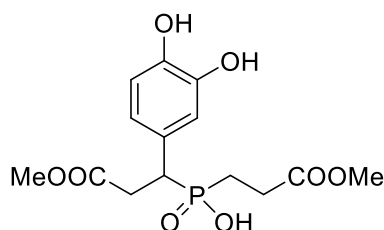
^{13}C NMR (50 MHz, D_2O) δ 170.9, 145.5, 143.8, 141.2 (d, $^3J_{C-P}$ = 10.2 Hz), 127.5, 123.8, 122.6 (d, $^2J_{C-P}$ = 11.5 Hz), 117.3, 116.1, 52.8, 27.9 (d, $^1J_{C-P}$ = 133.5 Hz).

^{31}P NMR (81 MHz, D_2O) δ 22.61.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{11}H_{12}O_7P^-$ $[M-H]^-$ 287.0, βρέθηκε 287.0.

HRMS m/z υπολογίζεται για $C_{11}H_{12}O_7P^-$ $[M-H]^-$ 287.0326, βρέθηκε 287.0326.

(1-(3,4-Διυδροξυφαινυλο)-3-μεθοξυ-3-οξοπροπυλο)(3-μεθοξυ-3-οξοπροπυλο)φωσφινικό οξύ (72)



$C_{14}H_{19}O_8P$
Mol. Wt.: 346.27

Το τελικό προϊόν συντέθηκε από το αντίστοιχο διυποκατεστημένο διμεθόξυ φωσφινικό οξύ (70.0 mg, 0.19 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

$\alpha = 51\%$ (33.6 mg, 0.10 mmol), R_f (CH₂Cl₂/MeOH/AcOH 7:2:1) = 0.33

¹H NMR (200 MHz, D₂O) δ 6.96 – 6.85 (m, 2H), 6.79 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.59 (s, 3H), 3.42 (dd, $^1J_{P-H} = 15.3$, 4.4 Hz, 1H), 2.89 – 3.16 (m, 2H), 2.57 – 2.32 (m, 2H), 2.00 – 1.80 (m, 2H).

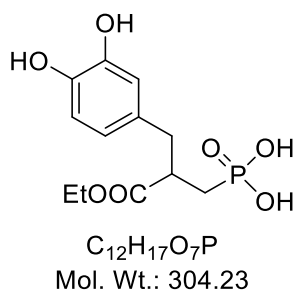
¹³C NMR (50 MHz, D₂O) δ 175.4 (d, $^3J_{C-P} = 15.3$ Hz), 174.6 (d, $^3J_{C-P} = 17.8$ Hz), 144.2 (d, $^4J_{C-P} = 2.4$ Hz), 143.4 (d, $^5J_{C-P} = 2.9$ Hz), 128.0 (d, $^2J_{C-P} = 4.9$ Hz), 121.2 (d, $^3J_{C-P} = 5.9$ Hz), 116.4, 116.3, 52.5, 52.4, 42.2 (d, $^1J_{C-P} = 89.5$ Hz), 33.5, 26.5 (d, $^2J_{C-P} = 3.2$ Hz), 22.1 (d, $^1J_{C-P} = 93.5$ Hz).

³¹P NMR (81 MHz, D₂O) δ 49.16.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για C₁₄H₁₈O₈P⁻ [M-H]⁻ 345.1, βρέθηκε 345.0.

HRMS m/z υπολογίζεται για C₁₄H₁₈O₈P⁻ [M-H]⁻ 345.0745, βρέθηκε 345.0744.

**(2-(3,4-Διυδροξυβενζυλο)-3-αιθοξυ-3-οξοπροπυλο)φωσφινικό οξύ
(96)**



Το τελικό προϊόν προέκυψε από το αντίστοιχο διμεθόξυ προστατευμένο φωσφινικό οξύ (68.1 mg, 0.20 mmol) ως λευκό στερεό.

$\alpha = 59\%$ (35.9 mg, 0.12 mmol), R_f (CH₂Cl₂/MeOH/AcOH 7:2:1) = 0.48

¹H NMR (200 MHz, D₂O) δ 6.95 – 6.50 (m, 3H), 4.06 – 3.80 (m, 2H), 2.88 (d, $^3J_{P-H} = 9.9$ Hz, 2H), 2.62 (t, $^2J_{P-H} = 13.6$ Hz, 1H), 2.10 – 1.64 (m, 2H), 0.99 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, D_2O) δ 177.9 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 6.4$ Hz), 143.8, 142.5, 131.4, 121.34, 116.7, 116.2, 61.8, 43.9 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 2.8$ Hz), 39.3 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 13.4$ Hz), 30.4 (d, $^1J_{\text{C-P}} = 134.2$ Hz), 13.2.

^{31}P NMR (81 MHz, D_2O) δ 22.63.

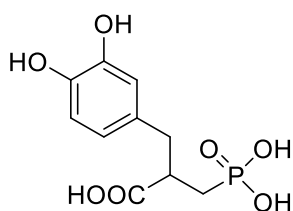
MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_7\text{P}^-$ $[\text{M-H}]^-$ 303.1, βρέθηκε 303.1.

HRMS m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_7\text{P}^-$ $[\text{M-H}]^-$ 303.0639, βρέθηκε 303.0639.

5.2.19 Γενική μέθοδος αποπροστασίας υδροξυλίων πολυφαινολικών παραγώγων και ταυτόχρονης αποπροστασίας των εστερικών ομάδων που φέρουν

Σε σφαιρική φιάλη διαλύεται το προστατευμένο φαινολικό παράγωγο (1.00 mmol) σε ξηρό CH_2Cl_2 (12.1 mL) και η φιάλη απαερώνεται με ταυτόχρονη διαβίβαση ατμόσφαιρας Ar. Η φιάλη ψύχεται στους 0°C και γίνεται στάγδην προσθήκη διαλύματος BBr_3 1 M σε CH_2Cl_2 (6.00 mL, 6.00 mmol). Η αντίδραση αφήνεται για 4 h στους 0°C και σε θερμοκρασία δωματίου για 24 h υπό ατμόσφαιρα Ar. Για τον τερματισμό της αντίδρασης, η φιάλη ψύχεται και προστίθεται πάγος, το μίγμα μένει υπό ανάδευση για 30 λεπτά και συμπυκνώνεται προς απομάκρυνση του CH_2Cl_2 . Ακολουθεί καθαρισμός των τελικών προϊόντων με χρωματογραφία στήλης αντίστροφης φάσης και με σύστημα έκλουσης διαλύματος CH_3CN από 0% έως 90%.

2-(3,4-Διυδροξυβενζυλο)-3-φωσφονοπροπανοϊκό οξύ (97)



$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{O}_7\text{P}$
Mol. Wt.: 276.18

Το προϊόν συντέθηκε από το αντίστοιχο σαπωνοποιημένο φωσφονικό οξύ (58.8 mg, 0.19 mmol) και παραλήφθηκε ως άχρωμο κρυσταλλικό στερεό.

$\alpha = 35\%$ (18.4 mg, 0.07 mmol), R_f ($n\text{-BuOH}/\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}$ 4:4:1) = 0.26

^1H NMR (200 MHz, D_2O) δ 6.88 – 6.54 (m, 3H), 2.89 – 2.71 (m, 3H), 2.01 – 1.73 (m, 2H).

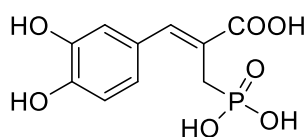
^{13}C NMR δ 179.5 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 6.9$ Hz), 143.8, 142.6, 131.4, 121.4, 116.8, 116.2, 43.5 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 3.3$ Hz), 38.7 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 12.9$ Hz), 29.9 (d, $^1J_{\text{C-P}} = 134.4$ Hz).

^{31}P NMR (81 MHz, D_2O) δ 27.37.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_7\text{P}^-$ $[\text{M-H}]^-$ 275.0, βρέθηκε 275.1.

HRMS m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_7\text{P}^-$ $[\text{M-H}]^-$ 275.0326, βρέθηκε 275.0327.

(Z)-3-(3,4-Διυδροξυφαινυλο)-2-(φωσφονομεθυλ)ακρυλικό οξύ (83)



$\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{O}_7\text{P}$
Mol. Wt.: 274.16

Το προϊόν συντέθηκε από το αντίστοιχο σαπωνοποιημένο φωσφονικό οξύ (40.7 mg, 0.13 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

$\alpha = 36\%$ (12.8 mg, 0.05 mmol), R_f ($n\text{-BuOH}/\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}$ 4:1:1) = 0.40

^1H NMR (200 MHz, D_2O) δ 7.55 (d, $^3J_{\text{P-H}} = 5.3$ Hz, 1H), 7.18 – 6.73 (m, 3H), 3.06 (d, $^1J_{\text{P-H}} = 21.7$ Hz, 2H).

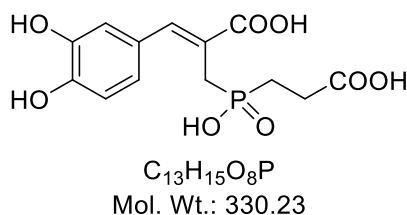
^{13}C NMR (50 MHz, D_2O) δ 171.8 (d, $^3J = 2.4$ Hz), 145.6, 143.8, 142.1 (d, $^3J = 10.6$ Hz), 127.3 (d, $^4J = 3.6$ Hz), 123.7 (d, $^5J = 1.6$ Hz), 121.7 (d, $^2J = 11.5$ Hz), 117.2 (d, $^5J_{\text{C-P}} = 1.2$ Hz), 116.0, 27.3 (d, $^1J_{\text{C-P}} = 134.4$ Hz).

^{31}P NMR (81 MHz, D_2O) δ 24.52.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_7\text{P}^-$ $[\text{M-H}]^-$ 273.0, βρέθηκε 273.0.

HRMS m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_7\text{P}^-$ $[\text{M-H}]^-$ 273.0170, βρέθηκε 273.0171.

**(Z)-2-(((2-Καρβοξυαιθυλ)(υδροξυ)φωσφορυλο)μεθυλο)-3-(3,4-
διυδροξυφαινυλ)ακρυλικό οξύ (84)**



Το προϊόν προέκυψε από το αντίστοιχο πλήρως προστατευμένο διυποκατεστημένο φωσφινικό οξύ (63.1 mg, 0.16 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

$\alpha = 63\%$ (33.3 mg, 0.10 mmol), R_f (*n*-BuOH/AcOH/H₂O 4:1:1) = 0.42

¹H NMR (200 MHz, D₂O) δ 7.59 (d, ³J_{P-H} = 4.3 Hz, 1H), 7.24 – 6.80 (m, 3H), 3.00 (d, ¹J_{P-H} = 17.2 Hz, 2H), 2.29 (dd, ²J_{P-H} = 16.6, 8.1 Hz, 2H), 1.82 – 1.52 (m, 2H).

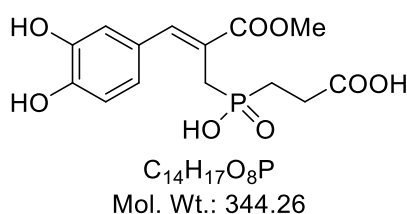
¹³C NMR (50 MHz, D₂O) δ 177.7 (d, ³J_{C-P} = 17.7 Hz), 172.6, 145.1, 144.0, 140.9 (d, ³J_{C-P} = 8.8 Hz), 127.8 (d, ⁴J_{C-P} = 3.0 Hz), 124.4 (d, ²J_{C-P} = 13.3 Hz), 122.9, 116.7, 116.3, 29.2 (d, ¹J_{C-P} = 85.5 Hz), 27.6, 25.1 (d, ¹J_{C-P} = 92.6 Hz).

³¹P NMR (81 MHz, D₂O) δ 42.11.

MS (ESI) *m/z* υπολογίζεται για C₁₃H₁₄O₈P⁻ [M-H]⁻ 329.0, βρέθηκε 329.1.

HRMS *m/z* υπολογίζεται για C₁₃H₁₄O₈P⁻ [M-H]⁻ 329.0432, βρέθηκε 329.0431.

**(Z)-3-((3-(3,4-Διυδροξυφαινυλο)-2-
(μεθοξυκαρβονυλ)αλλυλ)(υδροξυ)φωσφορυλο)προπανοϊκό οξύ (85)**



Το προϊόν προκύπτει από το αντίστοιχο πλήρως προστατευμένο διυποκατεστημένο φωσφινικό οξύ (63.1 mg, 0.16 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

$\alpha = 17\%$ (11.6 mg, 0.03 mmol), R_f (*n*-BuOH/AcOH/H₂O 4:1:1) = 0.47

¹H NMR (200 MHz, D₂O) δ 7.56 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H), 7.06 (s, 1H), 6.88 (q, $J = 8.6$ Hz, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.00 (d, $^1J_{P-H} = 17.1$ Hz, 2H), 2.29 (dd, $^2J_{P-H} = 16.6, 8.9$ Hz, 2H), 1.83 – 1.57 (m, 2H).

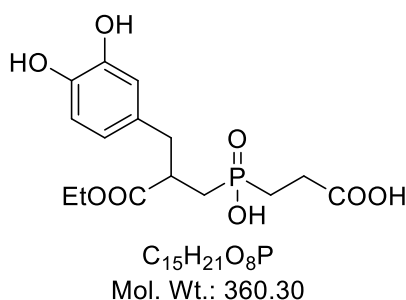
¹³C NMR (50 MHz, D₂O) δ 177.2 (d, $^3J_{C-P} = 17.6$ Hz), 170.5, 145.3, 144.0, 141.4 (d, $^3J_{C-P} = 9.3$ Hz), 127.6, 127.5, 123.0, 116.7, 116.2, 52.7, 28.8 (d, $^1J_{C-P} = 87.1$ Hz), 27.2, 24.9 (d, $^1J_{C-P} = 92.6$ Hz).

³¹P NMR (81 MHz, D₂O) δ 44.79.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για C₁₄H₁₆O₈P⁻ [M-H]⁻ 343.1, βρέθηκε 343.0.

HRMS m/z υπολογίζεται για C₁₄H₁₆O₈P⁻ [M-H]⁻ 357.0745, βρέθηκε 357.0747.

3-((2-(3,4-Διυδροξυβενζυλο)-3-αιθοξυ-3-οξοπροπυλ)(υδροξυ)φωσφορυλο)προπανοϊκό οξύ (98)



Το προϊόν προέκυψε από το αντίστοιχο πλήρως προστατευμένο διυποκατεστημένο φωσφινικό οξύ (56.1 mg, 0.14 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

$\alpha = 23\%$ (11.6 mg, 0.03 mmol), R_f (*n*-BuOH/AcOH/H₂O 4:1:1) = 0.47

¹H NMR (200 MHz, D₂O) δ 6.89 – 6.57 (m, 3H), 4.12 – 3.90 (m, 2H), 3.07 – 2.65 (m, 3H), 2.56 – 2.43 (m, 2H), 2.33 – 1.76 (m, 4H), 1.06 (t, $J = 6.4$ Hz, 3H).

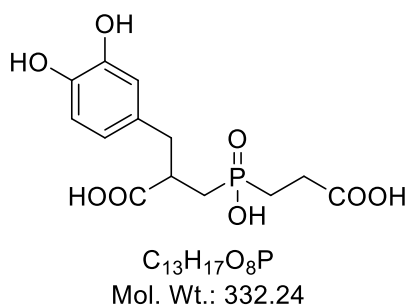
¹³C NMR (50 MHz, D₂O) δ 177.0, 176.7, 143.9, 142.7, 130.9, 121.4, 116.7, 116.2, 62.1, 42.3 (d, $^2J_{C-P} = 2.6$ Hz), 39.2 (d, $^3J_{C-P} = 13.6$ Hz), 30.3 (d, $^1J_{C-P} = 91.0$ Hz), 26.7 (d, $^2J_{C-P} = 1.5$ Hz), 24.1 (d, $^1J_{C-P} = 92.5$ Hz), 13.2.

³¹P NMR (81 MHz, D₂O) δ 49.86.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{15}H_{20}O_8P^-$ $[M-H]^-$ 359.1, βρέθηκε 359.0.

HRMS m/z υπολογίζεται για $C_{15}H_{20}O_8P^-$ $[M-H]^-$ 359.0901, βρέθηκε 359.0901.

**3-((2-Καρβοξυαιθυλ)(υδροξυ)φωσφορυλο)-2-(3,4-
διυδροξυβενζυλο)προπανοϊκό οξύ (99)**



Το προϊόν προέκυψε από το αντίστοιχο πλήρως προστατευμένο διυποκατεστημένο φωσφινικό οξύ (56.1 mg, 0.14 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

α = 71% (33.0 mg, 0.10 mmol), R_f (*n*-BuOH/AcOH/H₂O 4:1:1) = 0.37

¹H NMR (200 MHz, D₂O) δ 6.89 – 6.59 (m, 3H), 2.96 – 2.61 (m, 3H), 2.57 – 2.08 (m, 2H), 2.07 – 1.80 (m, 1H), 1.77 – 1.63 (m, 3H).

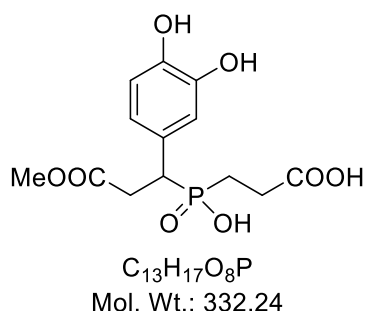
¹³C NMR (50 MHz, D₂O) δ 180.3 (d, ³ J_{C-P} = 5.0 Hz), 178.6 (d, ³ J_{C-P} = 16.4 Hz), 143.9, 142.6, 131.7, 121.6, 116.9, 116.2, 43.2 (d, ² J_{C-P} = 1.6 Hz), 38.9 (d, ³ J_{C-P} = 10.8 Hz), 30.9 (d, ¹ J_{C-P} = 90.0 Hz), 28.0 (d, ² J_{C-P} = 2.1 Hz), 25.2 (d, ¹ J_{C-P} = 92.4 Hz).

³¹P NMR (81 MHz, D₂O) δ 42.87.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{13}H_{16}O_8P^-$ $[M-H]^-$ 331.1, βρέθηκε 330.8.

HRMS m/z υπολογίζεται για $C_{13}H_{16}O_8P^-$ $[M-H]^-$ 331.0588, βρέθηκε 331.0587.

3-((1-(3,4-Διυδροξυφαινυλο)-3-μεθοξυ-3-οξοπροπυλ)(υδροξυ)φωσφορυλο)προπανοϊκό οξύ (73)



Το προϊόν προέκυψε από το αντίστοιχο πλήρως προστατευμένο διυποκατεστημένο φωσφινικό οξύ (60.7 mg, 0.16 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

$\alpha = 20\%$ (10.5 mg, 0.03 mmol), R_f (*n*-BuOH/AcOH/H₂O 4:1:1) = 0.38

¹H NMR (200 MHz, D₂O) δ 6.91 – 6.65 (m, 3H), 3.53 (s, 3H), 3.37 – 3.07 (m, 1H), 2.94 – 2.85 (m, 2H), 2.56 – 2.09 (m, 2H), 1.74 – 1.60 (m, 2H).

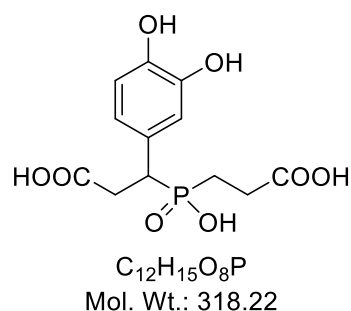
¹³C NMR (50 MHz, D₂O) δ 177.8 (d, ³J_{C-P} = 16.7 Hz), 175.4 (d, ³J_{C-P} = 18.0 Hz), 144.0 (d, ⁴J_{C-P} = 2.4 Hz), 142.9 (d, ⁵J_{C-P} = 2.7 Hz), 129.8 (d, ²J_{C-P} = 4.6 Hz), 121.2 (d, ³J_{C-P} = 5.5 Hz), 116.4, 116.3, 52.4, 43.1 (d, ¹J_{C-P} = 87.5 Hz), 33.9, 27.3, 23.1 (d, ¹J_{C-P} = 94.7 Hz).

³¹P NMR (81 MHz, D₂O) δ 42.03.

MS (ESI) *m/z* υπολογίζεται για C₁₃H₁₆O₈P⁻ [M-H]⁻ 331.1, βρέθηκε 331.1.

HRMS *m/z* υπολογίζεται για C₁₃H₁₆O₈P⁻ [M-H]⁻ 331.0588, βρέθηκε 331.0589.

3-((2-Καρβοξυαιθυλ)(υδροξυ)φωσφορυλο)-3-(3,4-διυδροξυφαινυλο)προπανοϊκό οξύ (74)



Το προϊόν προέκυψε από το αντίστοιχο πλήρως προστατευμένο διυποκατεστημένο φωσφινικό οξύ (60.7 mg, 0.16 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

$\alpha = 64\%$ (32.8 mg, 0.10 mmol), R_f (*n*-BuOH/AcOH/H₂O 4:1:1) = 0.24

¹H NMR (200 MHz, D₂O) δ 6.91 – 6.57 (m, 3H), 3.54 – 3.21 (m, 1H), 3.15 – 2.70 (m, 2H), 2.57 – 2.16 (m, 2H), 1.99 – 1.67 (m, 2H).

¹³C NMR (50 MHz, D₂O) δ 176.5 (d, ³J_{C-P} = 15.0 Hz), 175.6 (d, ³J_{C-P} = 17.7 Hz), 144.2 (d, ⁴J_{C-P} = 2.5 Hz), 143.5 (d, ⁵J_{C-P} = 3.0 Hz), 127.5 (d, ²J_{C-P} = 5.2 Hz), 121.3 (d, ³J_{C-P} = 5.9 Hz), 116.5, 116.4, 42.0 (d, ¹J_{C-P} = 89.6 Hz), 33.3, 26.3 (d, ²J_{C-P} = 3.3 Hz), 21.9 (d, ¹J_{C-P} = 93.1 Hz).

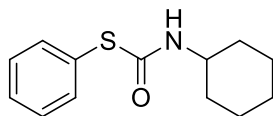
³¹P NMR (81 MHz, D₂O) δ 51.44.

MS (ESI) *m/z* υπολογίζεται για C₁₂H₁₄O₈P⁻ [M-H]⁻ 317.0, βρέθηκε 316.9.

HRMS *m/z* υπολογίζεται για C₁₂H₁₄O₈P⁻ [M-H]⁻ 317.0432, βρέθηκε 317.0431.

5.2.20 Μέθοδος παρασκευής τους θειοκαρβαμικού παραγώγου 185

Κυκλοεξυλοκαρβαμοθειοϊκό S-φαινύλιο²⁶² (185)



C₁₃H₁₇NOS
Mol. Wt.: 235.34

Σε φιαλίδιο αντίδρασης προστίθενται βενζολοσουλφινικό νάτριο (0.21 g, 1.30 mmol), κυκλοεξυλο ισοκυανίδιο (0.32 mL, 2.60 mmol), H₂O (0.07 mL, 3.90 mmol), I₂ (0.03 g, 0.13 mmol), φωσφονικός διμεθυλεστέρας (0.24 mL, 2.60 mmol), AcOEt (9.8 mL) και η αντίδραση αφήνεται για 6 h υπό ανάδευση στους 100°C. Στη συνέχεια, προστίθεται H₂O (19.5 mL) και AcOEt, πραγματοποιείται εκχύλιση και διαχωρισμός των δύο φάσεων, ενώ η οργανική στιβάδα ξηραίνεται με Na₂SO₄. Ακολουθεί TLC σε σύστημα ανάπτυξης PE/AcOEt 8:1. Το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται καθαρό, έπειτα από χρωματογραφία στήλης ως λευκό στερεό.

$\alpha = 33\%$ (0.10 g, 0.43 mmol), R_f (PE/AcOEt 8:1) = 0.62

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.63 – 7.45 (m, 2H), 7.46 – 7.30 (m, 3H), 5.38 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 3.88 – 3.54 (m, 1H), 1.87 (d, $J = 11.8$ Hz, 2H), 1.54 (d, $J = 18.1$ Hz, 3H), 1.42 – 0.96 (m, 5H).

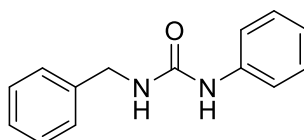
^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 164.8, 135.2, 129.3, 129.2, 128.8, 50.4, 32.7, 25.2, 24.5.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{NOS}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 236.1, βρέθηκε 236.0.

5.2.21 Γενική μέθοδος παρασκευής ουριών

Σε σφαιρική φιάλη προστίθενται οξύ (1.00 mmol), άνυδρο τολουόλιο (2.4 mL), Et_3N (0.25 mL, 1.80 mmol) και DPPA (0.35 mL, 1.60 mmol). Η αντίδραση αναδεύεται για 1 h στους 100°C υπό αναρροή. Στη συνέχεια, προστίθεται η αμίνη (0.76 mmol) και η αντίδραση αφήνεται υπό αναρροή στους 100°C για 18 h. Μετά το πέρας της αντίδρασης, ο διαλύτης συμπυκνώνεται και το υπόλειμμα της φιάλης διαλύεται σε AcOEt (20 mL). Έπειτα, πραγματοποιούνται οι εξής εκχυλίσσεις: H_2O (5 mL), διάλυμα NaHCO_3 5% (5 mL), H_2O (5 mL) και κορεσμένο διάλυμα NaCl (5 mL). Η οργανική στιβάδα ξηραίνεται με Na_2SO_4 και ελέγχεται με TLC. Ακολουθεί συμπύκνωση της οργανικής φάσης και καθαρισμός της με χρωματογραφία στήλης στα αντίστοιχα συστήματα έκλουσης.

1-Βενζυλο-3-φαινυλουρία²⁸¹ (148)



$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}$
Mol. Wt.: 226.27

Η ουρία παρασκευάστηκε από το φαινυλοξικό οξύ (0.30 g, 2.20 mmol) και την ανιλίνη (0.15 mL, 1.68 mmol) και παραλήφθηκε καθαρό μετά από χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE/AcOEt 8:2, ως λευκό στερεό.

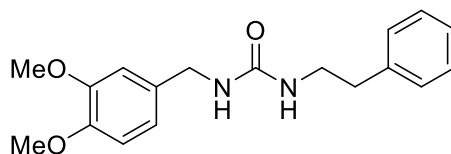
$\alpha = 85\%$ (0.16 g, 0.71 mmol), $R_f(\text{PE/AcOEt } 8:2) = 0.25$

^1H NMR (200 MHz, d_6 -DMSO) δ 8.55 (s, 1H), 7.43 – 7.18 (m, 9H), 6.89 (t, $J = 6.9$ Hz, 1H), 6.60 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 4.30 (d, $J = 5.8$ Hz, 2H).

^{13}C NMR (50 MHz, d_6 -DMSO) δ 155.2, 140.5, 140.4, 128.7, 128.3, 127.1, 126.7, 121.1, 117.7, 42.7.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 225.1, βρέθηκε 225.2.

1-(3,4-Διμεθοξυ)-3-φαιραιθυλουρία (103)



$\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$
Mol. Wt.: 314.38

Η ένωση παρασκευάστηκε από την φαιραιθυλαμίνη (0.02 mL, 0.19 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαινουλοξικό οξύ (50.0 mg, 0.25 mmol) και καθαρίστηκε με σύστημα έκλουσης PE/AcOEt 1:2. Τελικά το προϊόν παραλήφθηκε με τη μορφή λευκού στερεού.

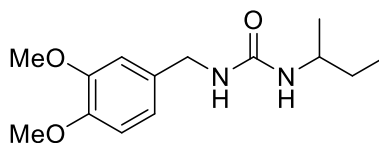
$\alpha = 90\%$ (70.6 mg, 0.22 mmol), R_f (PE/AcOEt 1:2) = 0.29

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.25 – 7.05 (m, 5H), 6.68 (s, 3H), 5.26 (br s, 2H), 4.11 (s, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.29 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.66 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 158.7, 148.7, 147.7, 139.0, 131.9, 128.5, 128.2, 126.0, 119.1, 110.8, 110.3, 55.6, 55.5, 43.6, 41.3, 36.3.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_3^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 315.2, βρέθηκε 315.2.

1-(*sec*-Βουτυλο)-3-(3,4-διμεθοξυβενζυλ)ουρία (104)



$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$
Mol. Wt.: 266.34

Η ουσία συντέθηκε από τη *sec*-βουτυλαμίνη (0.14 mL, 1.36 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαινουλοξικό οξύ (0.35 g, 1.78 mmol) και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE/AcOEt 3:8). Τα προϊόν παραλήφθηκε ως ανοιχτό πορτοκαλί στερεό.

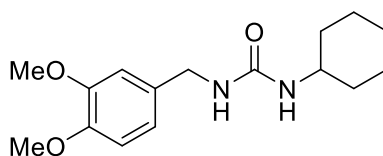
$\alpha = 77\%$ (0.36 g, 1.37 mmol), R_f (PE/AcOEt 3:8) = 0.28

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 6.67 – 6.65 (m, 3H), 5.92 (br s, 1H), 5.38 (br s, 1H), 4.07 (s, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.51 (br s, 1H), 1.36 – 1.17 (m, 2H), 0.94 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 0.76 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 158.5, 148.6, 147.6, 132.3, 119.1, 110.8, 110.3, 55.6, 55.4, 46.9, 43.5, 29.9, 20.9, 10.2.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_3^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 267.2, βρέθηκε 267.1.

1-Κυκλοεξυλο-3-(3,4-διμεθοξυβενζυλ)ουρία (105)



$\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$
Mol. Wt.: 292.37

Η ένωση προήλθε από την κυκλοεξυλαμίνη (0.16 mL, 1.36 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαιτυλοξικό οξύ (0.35 g, 1.78 mmol) και παραλήφθηκε έπειτα από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης PE/AcOEt 3:8. Το προϊόν παραλήφθηκε ως ανοιχτό πορτοκαλί στερεό.

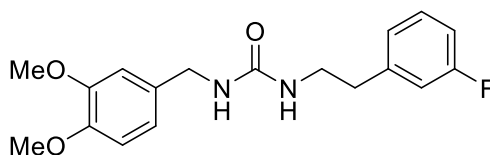
$\alpha = 51\%$ (0.26 g, 0.90 mmol), R_f (PE/AcOEt 3:8) = 0.34

^1H NMR (200 MHz, d_6 -DMSO) δ 7.01 – 6.61 (m, 3H), 6.07 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 5.79 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 4.11 (d, $J = 5.4$ Hz, 2H), 3.72 (s, 6H), 3.34 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H), 1.86 – 1.42 (m, 5H), 1.40 – 0.87 (m, 5H).

^{13}C NMR (50 MHz, d_6 -DMSO) δ 157.3, 148.6, 147.6, 133.4, 119.1, 111.7, 111.1, 55.6, 55.4, 47.8, 42.7, 33.3, 25.3, 24.5.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_3^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 293.2, βρέθηκε 293.3.

1-(3,4-Διμεθοξυβενζυλο)-3-(3-φθοροφαιτυλο)ουρία (106)



$\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{FN}_2\text{O}_3$
Mol. Wt.: 332.37

Η ένωση συντέθηκε από την 2-(3-φθορο-φαιτυλο)-αιθυλαμίνη (0.18 mL, 1.36 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαιτυλοξικό οξύ (0.35 g, 1.78 mmol), ενώ το

σύστημα έκλουσης για την χρωματογραφία στήλης ήταν PE/AcOEt 3:8. Τελικά, το προϊόν παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

$\alpha = 47\%$ (0.28 g, 0.84 mmol), R_f (PE/AcOEt 3:8) = 0.24

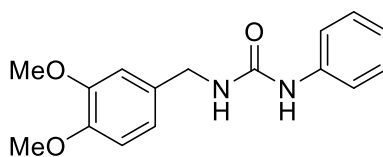
^1H NMR (200 MHz, d_6 -DMSO) δ 7.45 – 7.22 (m, 1H), 7.13 – 6.94 (m, 3H), 6.95 – 6.68 (m, 3H), 6.28 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 5.91 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 4.12 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H), 3.72 (s, 6H), 3.34 – 3.18 (m, 2H), 2.71 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H).

^{13}C NMR (50 MHz, d_6 -DMSO) δ 162.2 (d, $J = 243.0$ Hz), 157.9, 148.6, 147.6, 142.8 (d, $J = 7.4$ Hz), 133.3, 130.1 (d, $J = 8.5$ Hz), 124.9 (d, $J = 2.5$ Hz), 119.0, 115.4 (d, $J = 20.8$ Hz), 112.8 (d, $J = 20.8$ Hz), 111.7, 111.1, 55.6, 55.4, 42.7, 40.6, 35.8 (d, $J = 1.2$ Hz).

^{19}F NMR (376 MHz, d_6 -DMSO) δ -113.81.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{FN}_2\text{O}_3^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 333.2, βρέθηκε 333.2.

1-(3,4-Διμεθοξυβενζυλο)-3-φαινυλουρία²⁸² (107)



$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$
Mol. Wt.: 286.33

Η ένωση προήλθε από την ανιλίνη (0.18 mL, 1.95 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ (0.50 g, 2.55 mmol) και καθαρίστηκε με σύστημα έκλουσης PE/AcOEt 5:5. Το προϊόν παραλήφθηκε με την μορφή ανοιχτού μπεζ στερεού.

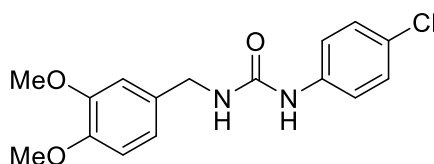
$\alpha = 95\%$ (0.69 g, 2.42 mmol), R_f (PE/AcOEt 1:2) = 0.47

^1H NMR (200 MHz, d_6 -DMSO) δ 8.50 (s, 1H), 7.42 – 7.37 (m, 2H), 7.31 – 7.11 (m, 2H), 6.97 – 6.72 (m, 4H), 6.50 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 4.22 (d, $J = 5.8$ Hz, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.72 (s, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, d_6 -DMSO) δ 155.2, 148.7, 147.8, 140.5, 132.7, 128.7, 121.1, 119.3, 117.7, 111.8, 111.3, 55.6, 55.4, 42.6.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_3^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 285.1, βρέθηκε 285.2.

1-(4-Χλωροφαινυλο)-3-(3,4-διμεθοξυβενζυλο)ουρία²⁸³ (108)



$C_{16}H_{17}ClN_2O_3$
Mol. Wt.: 320.77

Η ουσία παρασκευάστηκε από την 4-χλωροανιλίνη (0.17 g, 1.36 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ (0.35 g, 1.78 mmol) και καθαρίστηκε με σύστημα έκλουσης PE/AcOEt 4:6. Το προϊόν παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

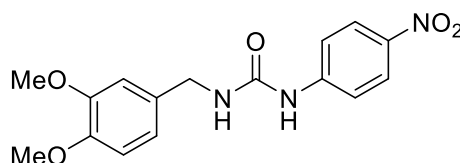
$\alpha = 71\%$ (0.41 g, 1.27 mmol), R_f (PE/AcOEt 5:5) = 0.30

1H NMR (200 MHz, d_6 -DMSO) δ 8.66 (s, 1H), 7.50 – 7.35 (m, 2H), 7.32 – 7.18 (m, 2H), 6.97 – 6.76 (m, 3H), 6.56 (t, $J = 5.8$ Hz, 1H), 4.21 (d, $J = 5.7$ Hz, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.72 (s, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, d_6 -DMSO) δ 155.0, 148.6, 147.8, 139.5, 132.5, 128.5, 124.5, 119.3, 119.1, 111.7, 111.3, 55.6, 55.4, 42.6.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{16}H_{16}ClN_2O_3^-$ [M-H]⁻ 319.1, βρέθηκε 319.0.

1-(3,4-Διμεθοξυβενζυλο)-3-(4-νιτροφαινυλο)ουρία (109)



$C_{16}H_{17}N_3O_5$
Mol. Wt.: 331.32

Το προϊόν παραλήφθηκε από την 4-νιτροανιλίνη (0.27 g, 1.95 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ (0.50 g, 2.55 mmol) και καθαρίστηκε με σύστημα έκλουσης PE/AcOEt 4:6. Τελικά, η ένωση παραλήφθηκε ως υποκίτρινο στερεό.

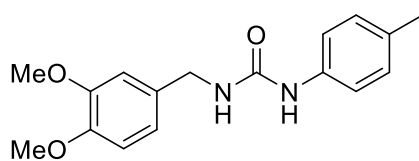
$\alpha = 36\%$ (0.31 g, 0.93 mmol), R_f (PE/AcOEt 5:5) = 0.26

^1H NMR (200 MHz, d_6 -DMSO) δ 9.33 (s, 1H), 8.24 – 8.12 (m, 2H), 7.74 – 7.61 (m, 2H), 6.93 – 6.82 (m, 4H), 4.25 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.72 (m, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, d_6 -DMSO) δ 154.4, 148.7, 147.8, 147.2, 140.4, 132.1, 125.2, 119.4, 116.9, 111.7, 111.4, 55.6, 55.5, 42.7.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_5^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 332.1, βρέθηκε 332.0.

1-(3,4-Διμεθοξυβενζυλο)-3-(*p*-τολυλο)ουρία (110)



$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$
Mol. Wt.: 300.35

Η ουσία παρασκευάστηκε από την 4-μεθυλοανιλίνη (0.15 g, 1.95 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαιτυλοξικό οξύ (0.50 g, 2.55 mmol), ενώ για την χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιήθηκε σύστημα έκλουσης PE/AcOEt 4:6. Το προϊόν παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

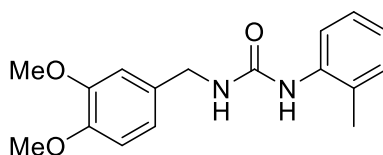
α = 85% (0.61 g, 2.01 mmol), R_f (PE/AcOEt 5:5) = 0.32

^1H NMR (200 MHz, d_6 -DMSO) δ 8.38 (s, 1H), 7.30 (s, J = 8.4 Hz, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.04 (s, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.94 – 6.81 (m, 3H), 6.45 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 4.21 (d, J = 5.8 Hz, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 2.21 (s, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, d_6 -DMSO) δ 155.2, 148.7, 147.7, 137.9, 132.7, 129.8, 129.1, 119.3, 117.8, 111.7, 111.3, 55.6, 55.4, 42.6, 20.3.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_3^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 299.1, βρέθηκε 299.0.

1-(3,4-Διμεθοξυβενζυλο)-3-(*o*-τολυλο)ουρία (111)



$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$
Mol. Wt.: 300.35

Η ένωση συντέθηκε από την 2-μεθυλοανιλίνη (0.14 mL, 1.36 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαιτυλοξικό οξύ (0.35 g, 1.78 mmol) και καθαρίστηκε με

χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE/AcOEt 4:6. Η ουσία παραλήφθηκε τελικά ως λευκό στερεό.

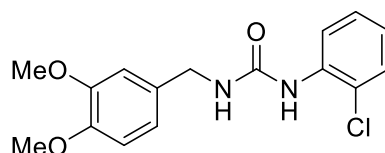
$\alpha = 40\%$ (0.18 g, 0.61 mmol), R_f (PE/AcOEt 3:6) = 0.44

^1H NMR (200 MHz, d_6 -DMSO) δ 7.83 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.14 – 7.06 (m, 2H), 6.96 – 6.81 (m, 5H), 4.23 (d, $J = 5.5$ Hz, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 2.17 (s, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, d_6 -DMSO) δ 155.3, 148.7, 147.8, 138.2, 132.6, 130.1, 126.7, 126.1, 121.9, 120.5, 119.4, 111.8, 111.4, 55.6, 55.4, 42.7, 17.9.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_3^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 299.1, βρέθηκε 299.1.

1-(2-Χλωροφαινυλο)-3-(3,4-διμεθοξυβενζιλ)ουρία (112)



$\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{ClN}_2\text{O}_3$
Mol. Wt.: 320.77

Η ένωση παρασκευάστηκε από την 2-χλωροανιλίνη (0.14 mL, 1.36 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ (0.35 g, 1.78 mmol) και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης PE/AcOEt 4:6. Το προϊόν παραλήφθηκε με την μορφή υποκίτρινου στερεού.

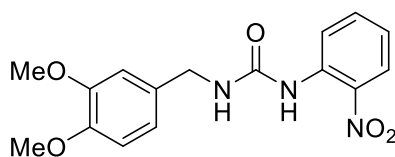
$\alpha = 40\%$ (0.24 g, 0.74 mmol), R_f (PE/AcOEt 5:5) = 0.49

^1H NMR (200 MHz, d_6 -DMSO) δ 8.19 8.14 (m, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.43 – 7.17 (m, 3H), 7.01 – 6.78 (m, 4H), 4.24 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.73 (s, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, d_6 -DMSO) δ 154.7, 148.7, 147.9, 136.7, 132.1, 129.1, 127.5, 122.5, 121.2, 120.8, 119.5, 111.8, 111.4, 55.6, 55.5, 42.7.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{ClN}_2\text{O}_3^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 319.1, βρέθηκε 319.0.

1-(3,4-Διμεθοξυβενζιλο)-3-(2-νιτροφαινυλ)ουρία (113)



$C_{16}H_{17}N_3O_5$
Mol. Wt.: 331.32

Η ένωση προήλθε από την 2-νιτροανιλίνη (187.9 mg, 1.36 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ (0.35 g, 1.78 mmol) και καθαρίστηκε με σύστημα έκλουσης PE/AcOEt 4:6. Το προϊόν παραλήφθηκε τελικά ως λευκό στερεό.

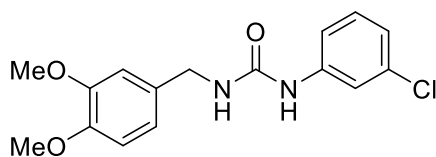
$\alpha = 33\%$ (0.16 g, 0.48 mmol), R_f (PE/AcOEt 7:3) = 0.30

1H NMR (200 MHz, d_6 -DMSO) δ 9.40 (s, 1H), 8.30 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 8.05 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.65 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.13 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.93 – 6.82 (m, 3H), 4.24 (d, $J = 5.7$ Hz, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.73 (s, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, d_6 -DMSO) δ 154.2, 148.7, 147.9, 137.1, 135.8, 134.9, 131.9, 125.3, 122.1, 121.5, 119.5, 111.8, 111.4, 55.6, 55.5, 42.8.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{16}H_{16}N_3O_5^-$ $[M-H]^-$ 330.1, βρέθηκε 329.9.

1-(3-Χλωροφαινυλο)-3-(3,4-διμεθοξυβενζιλο)ουρία (114)



$C_{16}H_{17}ClN_2O_3$
Mol. Wt.: 320.77

Το προϊόν προήλθε από την 3-χλωροανιλίνη (0.14 mL, 1.36 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ (0.35 g, 1.78 mmol) και καθαρίστηκε με σύστημα έκλουσης PE/AcOEt 4:6. Η ένωση παραλήφθηκε τελικά ως υποκίτρινο στερεό.

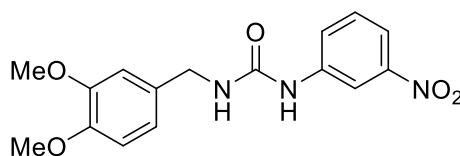
$\alpha = 75\%$ (0.43 g, 1.33 mmol), R_f (PE/AcOEt 3:6) = 0.54

^1H NMR (200 MHz, d_6 -DMSO) δ 8.74 (s, 1H), 7.68 (t, J = 1.8 Hz, 1H), 7.31 – 7.13 (m, 2H), 7.04 – 6.72 (m, 4H), 6.62 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 4.22 (d, J = 5.8 Hz, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.73 (s, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, d_6 -DMSO) δ 154.9, 148.7, 147.8, 142.1, 133.1, 132.4, 130.3, 120.7, 119.3, 117.0, 116.0, 111.7, 111.3, 55.6, 55.5, 42.6.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{ClN}_2\text{O}_3^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 319.1, βρέθηκε 319.2.

1-(3,4-Διμεθοξυβενζυλο)-3-(3-νιτροφαινυλ)ουρία (115)



$\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_5$
Mol. Wt.: 331.32

Η ένωση συντέθηκε από την 3-νιτροανιλίνη (187.9 mg, 1.36 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ (0.35 g, 1.78 mmol) και ως σύστημα έκλουσης για την χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιήθηκε PE/AcOEt 4:6. Η ουσία παραλήφθηκε με την μορφή λευκού στερεού.

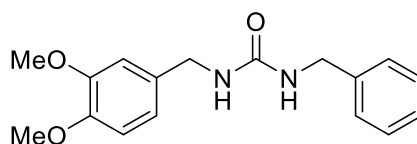
α = 63% (0.37 g, 1.12 mmol), R_f (PE/AcOEt 1:2) = 0.51

^1H NMR (200 MHz, d_6 -DMSO) δ 9.09 (s, 1H), 8.52 (t, J = 2.2 Hz, 1H), 7.82 – 7.41 (m, 3H), 6.98 – 6.65 (m, 4H), 4.24 (d, J = 5.8 Hz, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.73 (s, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, d_6 -DMSO) δ 154.9, 148.7, 148.1, 147.8, 141.8, 132.4, 129.9, 123.7, 119.3, 115.5, 111.8, 111.6, 111.3, 55.6, 55.5, 42.6.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_5^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 330.1, βρέθηκε 330.0.

1-Βενζυλο-3-(3,4-διμεθοξυβενζυλ)ουρία (116)



$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$
Mol. Wt.: 300.35

Η ένωση προήλθε από την βενζυλαμίνη (0.17 mL, 1.56 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ (0.40 g, 2.04 mmol) και καθαρίστηκε με σύστημα έκλουσης PE/AcOEt 3:7. Το προϊόν παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

$\alpha = 60\%$ (0.37 g, 1.22 mmol), R_f (PE/AcOEt 3:7) = 0.37

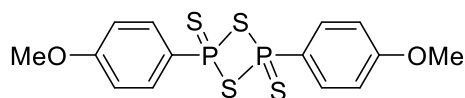
^1H NMR (200 MHz, CD_3OD) δ 7.39 – 7.11 (m, 5H), 6.98 – 6.70 (m, 3H), 4.32 (s, 2H), 4.25 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.77 (s, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, CD_3OD) δ 161.0, 150.5, 149.5, 141.3, 134.1, 129.4, 128.1, 128.0, 120.7, 112.9, 112.2, 56.5, 56.3, 44.7, 44.5.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_3^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 299.1, βρέθηκε 299.0.

5.2.22 Μέθοδος παρασκευής αντιδραστήριου Lawesson

2,4-δισ(4-μεθοξυφαινυλο)-1,3,2,4-διθειαδιφωσφετανο-2,4-δισουλφίδιο²⁸⁴



$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_2\text{P}_2\text{S}_4$
Mol. Wt.: 404.45

Σε σφαιρική φιάλη προστίθενται P_4S_{10} (5.5 g, 12.50 mmol) και ανισόλη (13.5 g, 125.00 mmol) και η αντίδραση αναδεύεται με έντονη ανάδευση στους 150°C υπό αναρροή (χωρίς πωματισμό του ψυκτήρα). Το μίγμα της αντίδρασης διαυγάζεται στις 2-2.5 h και έπειτα, καταβυθίζεται ξανά ίζημα. Η αντίδραση ολοκληρώνεται στις 3.5-4 h και αφού η φιάλη αφηθεί σε θερμοκρασία δωματίου, ακολουθεί διήθηση του ιζήματος υπό κενό σε χωνί Buchner. Έπειτα, πραγματοποιούνται δυο εκπλύσεις με Et_2O (25 mL) και μία με CHCl_3 (2.5 mL) άνευ αλκοολών. Το προϊόν αφήνεται να ξηραθεί και παραλαμβάνεται ως υποκίτρινο στερεό. Φυλλάσσεται σε φιαλίδιο υπό ατμόσφαιρα Ar.

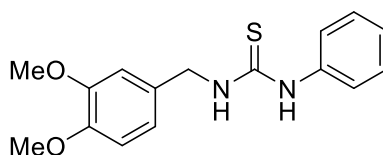
$\alpha = 80\%$ (4.12 g, 10.19 mmol)

5.2.23 Γενική μέθοδος παρασκευής θειουρίων

Σε σφαιρική φιάλη διαλύεται όσο γίνεται η ουρία (1.00 mmol) σε άνυδρο τολουόλιο (20.6 mL) και προστίθεται το αντιδραστήριο Lawesson (0.40 g,

1.00 mmol). Η αντίδραση αφήνεται υπό ανάδευση στους 100°C για 5 h. Στη συνέχεια, συμπυκνώνεται ο διαλύτης και το υπόλειμμα διαλύεται σε AcOEt (15 mL). Ακολουθεί εκχύλιση με H₂O (5 mL) και ξήρανση της οργανικής σπιβάδας με Na₂SO₄. Γίνεται έλεγχος με TLC και στη συνέχεια, πραγματοποιείται χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης PE/AcOEt από 8:2 μέχρι 6:4.

1-(3,4-Διμεθοξυβενζυλο)-3-φαινυλοθειουρία (172)



C₁₆H₁₈N₂O₂S
Mol. Wt.: 302.39

Η θειουρία προήλθε από την αντίστοιχη ουρία (250.0 mg, 0.87 mmol) και παραλήφθηκε υπό την μορφή λευκού στερεού.

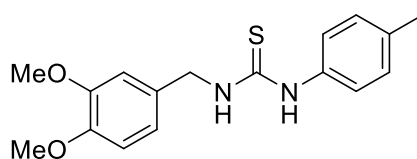
α = 32% (84.4 mg, 0.28 mmol), R_f (PE/AcOEt 5:5) = 0.56

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.35 (br s, 1H), 7.44 – 7.08 (m, 5H), 6.83 – 6.73 (m, 3H), 6.30 (br s, 1H), 4.76 (s, 2H), 3.81 (s, 6H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 180.2, 148.9, 148.4, 136.0, 130.0, 129.6, 127.1, 125.0, 119.9, 111.0, 110.8, 55.8, 49.1.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για C₁₆H₁₇N₂O₂S⁻ [M-H]⁻ 301.1, βρέθηκε 301.0.

1-(3,4-Διμεθοξυβενζυλο)-3-(p-τολυλο)θειουρία (174)



C₁₇H₂₀N₂O₂S
Mol. Wt.: 316.42

Το προϊόν παρασκευάστηκε από την αντίστοιχη ουρία (251.3 mg, 0.84 mmol) και παραλήφθηκε με την μορφή λευκού στερεού.

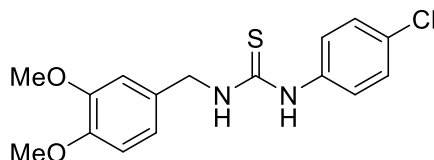
α = 33% (87.7 mg, 0.28 mmol), R_f (PE/AcOEt 6:4) = 0.52

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.28 (br s, 1H), 7.17 – 7.04 (m, 4H), 6.83 – 6.73 (m, 3H), 6.22 (br s, 1H), 4.75 (s, 2H), 3.81 (s, 6H), 2.29 (s, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 180.4, 148.9, 148.3, 137.3, 133.2, 130.5, 129.7, 125.2, 119.8, 110.9, 110.8, 55.7, 49.0, 20.9.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 317.1, βρέθηκε 317.1.

1-(4-Χλωροφαινυλο)-3-(3,4-διμεθοξυβενζυλο)θειουρία (173)



$\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{ClN}_2\text{O}_2\text{S}$
Mol. Wt.: 336.83

Η ένωση προήλθε από την αντίστοιχη ουρία (300.0 mg, 0.93 mmol), ενώ παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

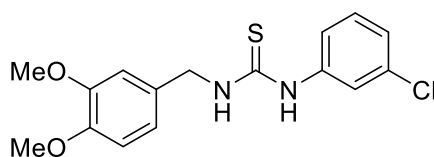
α = 14% (44.1 mg, 0.13 mmol), R_f (PE/AcOEt 6:4) = 0.50

^1H NMR (200 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ 8.99 (br s, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.55 – 7.45 (m, 2H), 7.41 – 7.26 (m, 2H), 7.05 (s, 1H), 6.89 (s, 2H), 4.77 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 3.78 (s, 6H).

^{13}C NMR (50 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ 182.4, 150.3, 149.6, 139.0, 132.1, 130.2, 129.5, 126.2, 120.9, 112.8, 112.6, 56.1, 56.0, 48.7.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{ClN}_2\text{O}_2\text{S}^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 335.1, βρέθηκε 335.2.

1-(3-Χλωροφαινυλο)-3-(3,4-διμεθοξυβενζυλο)θειουρία (176)



$\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{ClN}_2\text{O}_2\text{S}$
Mol. Wt.: 336.84

Το προϊόν προήλθε από την αντίστοιχη ουρία (300.0 mg, 0.93 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

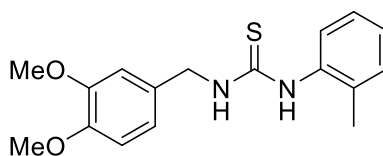
α = 13% (39.5 mg, 0.12 mmol), R_f (PE/AcOEt 6:4) = 0.46

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 8.20 (br s, 1H), 7.38 – 7.00 (m, 4H), 6.85 – 6.76 (m, 3H), 6.34 (br s, 1H), 4.76 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.83 (s, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 180.4, 149.1, 148.6, 137.5, 135.5, 131.0, 129.3, 127.1, 124.9, 122.8, 120.1, 111.1, 111.0, 55.9, 49.3.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{ClN}_2\text{O}_2\text{S}^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 335.1, βρέθηκε 335.1.

1-(3,4-Διμεθοξυβενζυλο)-3-(ο-τολυλο)θειουρία (175)



$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$
Mol. Wt.: 316.42

Η θειουρία προήλθε από την αντίστοιχη ουρία (70.0 mg, 0.23 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

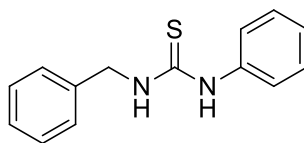
α = 33% (24.3 mg, 0.08 mmol), R_f (PE/AcOEt 5:5) = 0.60

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.74 (br s, 1H), 7.24 – 7.18 (m, 4H), 6.82 (s, 1H), 6.75 (s, 2H), 5.85 (br s, 1H), 4.76 (s, 2H), 3.82 (s, 6H), 2.25 (s, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 180.9, 149.0, 148.5, 135.7, 134.1, 131.7, 129.8, 128.6, 127.5, 119.8, 111.0, 110.8, 55.8, 55.8, 49.1, 17.7.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 315.1, βρέθηκε 315.0.

1-Βενζυλο-3-φαινυλοθειουρία²⁸⁵ (182)



$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{S}$
Mol. Wt.: 242.34

Η ουσία παρασκευάστηκε από την αντίστοιχη ουρία (260.0 mg, 1.15 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

α = 38% (60.1 mg, 0.25 mmol), R_f (PE/AcOEt 8:2) = 0.33

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 8.32 (br s, 1H), 7.53 – 7.02 (m, 10H), 6.32 (br s, 1H), 4.86 (s, 2H).

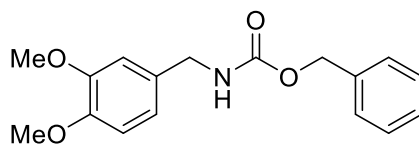
^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 180.6, 137.1, 135.9, 130.2, 128.7, 127.7, 127.5, 127.3, 125.2, 49.3.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{S}^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 241.1, βρέθηκε 241.2.

5.2.24 Γενική μέθοδος παρασκευής καρβαμικών παραγώγων

Σε σφαιρική φιάλη προστίθενται οξύ (1.00 mmol), άνυδρο βενζόλιο (0.64 mL), Et_3N (0.21 mL, 1.50 mmol) και DPPA (0.30 mL, 1.40 mmol). Η αντίδραση αναδεύεται για 1 h στους 85°C υπό αναρροή. Στη συνέχεια, προστίθεται η αλκοόλη (2.50 mmol) και η αντίδραση αφήνεται υπό αναρροή στους 85°C για 24 h. Μετά το πέρας της αντίδρασης, ο διαλύτης συμπυκνώνεται και το υπόλειμμα της φιάλης διαλύεται σε AcOEt (20 mL). Έπειτα, πραγματοποιούνται οι εκχυλίσεις: διάλυμα HCl 0.6 N (5 mL), H_2O (5 mL), διάλυμα NaHCO_3 5% (5 mL), H_2O (5 mL) και κορεσμένο διάλυμα NaCl (5 mL). Η οργανική στιβάδα ξηραίνεται με Na_2SO_4 και ελέγχεται με TLC. Ακολουθεί συμπύκνωση της οργανικής φάσης και καθαρισμός της με χρωματογραφία στήλης.

3,4-Διμεθοξυβενζυλοκαρβαμικό βενζόλιο²⁸⁶ (155)



$\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_4$
Mol. Wt.: 301.34

Το καρβαμικό παράγωγο παρασκευάστηκε από τη βενζυλική αλκοόλη (0.52 mL, 5.00 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ (0.40 g, 2.04 mmol) και καθαρίστηκε με σύστημα έκλουσης PE/AcOEt 7:3. Παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

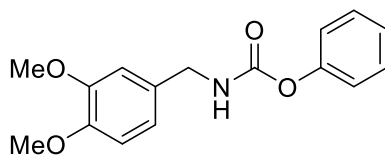
α = 68% (0.47 g, 1.56 mmol), R_f (PE/AcOEt 7:3) = 0.36

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.22 (s, 5H), 6.67 (s, 3H), 5.67 (s, 1H), 5.00 (s, 2H), 4.15 (s, 2H), 3.69 (s, 3H), 3.67 (s, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 156.1, 148.4, 147.7, 136.1, 130.8, 127.9, 127.5, 119.1, 110.6, 110.3, 66.1, 55.3, 55.1, 44.3.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{17}H_{23}N_2O_4^+$ $[M+NH_4]^+$ 319.2, βρέθηκε 319.1.

3,4-Διμεθοξυβενζυλοκαρβαμικό φαινύλιο (156)



$C_{16}H_{17}NO_4$
Mol. Wt.: 287.31

Η ένωση προήλθε από τη φαινόλη (0.47 g, 5.00 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ (0.40 g, 2.04 mmol). Το προϊόν παραλήφθηκε ως άχρωμο λάδι, έπειτα από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης PE/AcOEt 7:3.

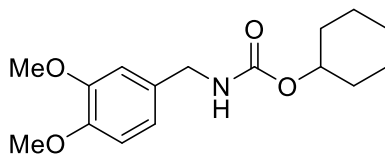
$\alpha = 77\%$ (0.45 g, 1.56 mmol), R_f (PE/AcOEt 7:3) = 0.30

1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 7.24 – 7.17 (m, 2H), 7.12 – 6.94 (m, 3H), 6.75 – 6.57 (m, 3H), 6.11 (t, $J = 5.8$ Hz, 1H), 4.16 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.65 (s, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 154.4, 150.5, 148.3, 147.7, 130.4, 128.6, 124.6, 121.0, 119.3, 110.6, 110.4, 55.2, 55.1, 44.2.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{16}H_{21}N_2O_4^+$ $[M+NH_4]^+$ 305.1, βρέθηκε 305.2.

3,4-Διμεθοξυβενζυλοκαρβαμικό κυκλοεξύλιο (157)



$C_{16}H_{23}NO_4$
Mol. Wt.: 293.36

Η ουσία συντέθηκε από την κυκλοεξανόλη (0.26 mL, 2.50 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ (0.20 g, 1.02 mmol) και καθαρίστηκε με σύστημα έκλουσης PE/AcOEt 7:3, ενώ παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

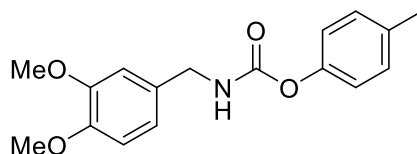
$\alpha = 46\%$ (0.14 g, 0.47 mmol), R_f (PE/AcOEt 7:3) = 0.43

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 6.77 (s, 3H), 5.07 (br s, 1H), 4.62 (br s, 1H), 4.22 (s, 2H), 3.81 (s, 6H), 1.73 (d, $J = 32.5$ Hz, 4H), 1.53 – 0.96 (m, 6H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 156.1, 148.8, 148.0, 131.2, 119.5, 110.9, 110.6, 72.9, 55.7, 55.6, 44.6, 31.8, 25.2, 23.6.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_4^+$ $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ 311.2, βρέθηκε 311.1.

3,4-Διμεθοξυβενζυλοκαρβαμικό *p*-τολουόλιο (158)



$\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_4$
Mol. Wt.: 301.34

Η ένωση προέκυψε από την *p*-μεθυλοφαινόλη (0.26 mL, 2.50 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ (0.20 g, 1.02 mmol) και παραλήφθηκε μετά από χρωματογραφικό καθαρισμό σε σύστημα έκλουσης PE/AcOEt 6:4 ως άχρωμο λάδι.

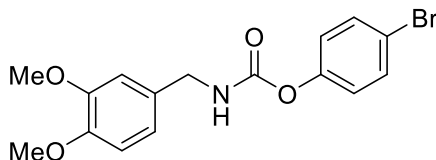
$\alpha = 74\%$ (0.23 g, 0.76 mmol), R_f (PE/AcOEt 6:4) = 0.45

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.09 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 6.95 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 6.84 – 6.68 (m, 3H), 5.71 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 4.27 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H), 3.80 – 3.76 (m, 6H), 2.27 (s, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 154.8, 148.7, 148.5, 148.1, 134.5, 130.5, 129.4, 121.0, 119.7, 110.8, 110.7, 55.5, 55.5, 44.7, 20.5.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_4^+$ $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ 319.2, βρέθηκε 319.2.

3,4-Διμεθοξυβενζυλοκαρβαμικό 4-βρωμοφαινόλιο (159)



$\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{BrNO}_4$
Mol. Wt.: 366.21

Το προϊόν προήλθε από την *p*-βρωμοφαινόλη (0.43 g, 2.50 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ (0.20 g, 1.02 mmol) και παραλήφθηκε ως άχρωμο λάδι. Η ουσία παραλήφθηκε καθαρή μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης PE/AcOEt 6:4.

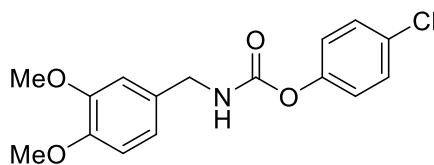
$\alpha = 67\%$ (0.25 g, 0.68 mmol), R_f (PE/AcOEt 6:4) = 0.47

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 7.46 – 6.84 (m, 4H), 6.78 – 6.72 (m, 3H), 5.69 (br s, 1H), 4.28 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H), 3.80 (s, 6H).

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 154.0, 149.8, 148.8, 148.2, 132.0, 130.2, 129.0, 123.1, 119.8, 110.9, 110.8, 55.7, 55.6, 44.8.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{BrNO}_4^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 366.0, βρέθηκε 366.3.

3,4-Διμεθοξυβενζυλοκαρβαμικό 4-χλωροφαινύλιο (160)



$\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{ClNO}_4$
Mol. Wt.: 321.75

Η ουσία προήλθε από την *p*-χλωροφαινόλη (0.32 g, 2.50 mmol) και το 3,4-διμεθοξυφαινυλοξικό οξύ (0.20 g, 1.02 mmol) και συλλέχθηκε καθαρό μετά από χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης PE/AcOEt 6:4 ως άχρωμο λάδι.

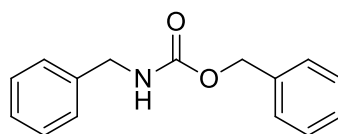
$\alpha = 67\%$ (0.22 g, 0.68 mmol), R_f (PE/AcOEt 6:4) = 0.49

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 7.24 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.00 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.78 (s, 2H), 6.72 (s, 1H), 5.69 (br s, 1H), 4.28 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H), 3.80 (s, 6H).

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 154.1, 149.3, 148.8, 148.3, 130.3, 129.0, 122.7, 121.3, 119.8, 110.9, 110.8, 55.7, 55.6, 44.8.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{ClN}_2\text{O}_4^+$ $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ 339.1, βρέθηκε 338.9.

Βενζυλοκαρβαμικό βενζόλιο²⁸⁷ (171)



C₁₅H₁₅NO₂
Mol. Wt.: 241.28

Η ουσία συντέθηκε από το φαινυλοξικό οξύ (0.10 g, 0.73 mmol) και τη βενζυλική αλκοόλη (0.19 mL, 1.79 mmol) ως λευκό στερεό. Παραλήφθηκε καθαρή μετά από χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης PE/AcOEt 9:1.

α = 72% (0.13 g, 0.54 mmol), R_f (PE/AcOEt 9:1) = 0.39

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.57 – 6.97 (m, 10H), 5.34 (br s, 1H), 5.15 (s, 2H), 4.37 (d, J = 5.8 Hz, 2H).

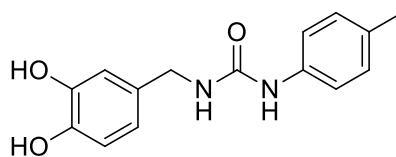
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 156.3, 138.3, 136.4, 128.6, 128.5, 128.3, 127.9, 127.3, 127.3, 66.7, 44.9.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για C₁₅H₁₉N₂O₂⁺ [M+NH₄]⁺ 259.1, βρέθηκε 259.1.

5.2.25 Γενική μέθοδος αποπροστασίας κατεχολικών δακτυλίων ενώσεων ουρίας, καρβαμικών παραγώγων και θειουρίας

Σε σφαιρική φιάλη διαλύεται το προστατευμένο κατεχολικό παράγωγο (1.00 mmol) σε άνυδρο CH₂Cl₂ (14 mL) και η φιάλη απαερώνεται με ταυτόχρονη εισαγωγή ατμόσφαιρας Ar. Ακολουθεί ψύξη της φιάλης στους 0°C, οπότε γίνεται αργή προσθήκη BBr₃ 1 M σε CH₂Cl₂. Η αντίδραση παραμένει υπό συνεχή ανάδευση στους 0°C σε ατμόσφαιρα Ar για: α) 30 λεπτά για τις ουρίες, και β) 15 λεπτά για τα καρβαμικά παράγωγα και τις θειουρίες. Στη συνέχεια, προστίθενται δύο σταγόνες παγωμένου H₂O και το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση στους 0°C για 15 λεπτά. Ακολουθεί συμπύκνωση του διαλύτη και χρωματογραφία στήλης ανάστροφης φάσης για τον καθαρισμό των τελικών προϊόντων με σύστημα ανάπτυξης CH₃CN:H₂O από 1:9 μέχρι και 9:1.

1-(3,4-Διυδροξυβενζυλο)-3-(*p*-τολυλο)ουρία (138)



$C_{15}H_{16}N_2O_3$
Mol. Wt.: 272.30

Το τελικό προϊόν προήλθε από την αντίστοιχη προστατευμένη ουρία (50.0 mg, 0.17 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

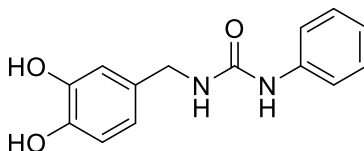
$\alpha = 40\%$ (18.5 mg, 0.07 mmol), R_f ($CH_2Cl_2/MeOH$ 9.5:0.5) = 0.23

1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.22 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.06 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.79 – 6.68 (m, 2H), 6.63 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 4.22 (s, 2H), 2.26 (s, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 158.4, 146.4, 145.6, 138.3, 133.1, 132.5, 130.2, 120.6, 119.9, 116.3, 115.7, 44.4, 20.7.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{15}H_{15}N_2O_3^-$ $[M-H]^-$ 271.1, βρέθηκε 270.9.

1-(3,4-Διυδροξυβενζυλο)-3-φαινυλουρία (135)



$C_{14}H_{14}N_2O_3$
Mol. Wt.: 258.27

Η ένωση προέκυψε από την αντίστοιχη προστατευμένη ουρία (52.0 mg, 0.18 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

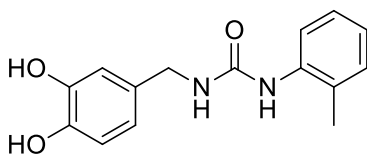
$\alpha = 44\%$ (20.7 mg, 0.08 mmol), R_f ($CH_2Cl_2/MeOH$ 9.5:0.5) = 0.18

1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.35 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.24 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H), 6.96 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 6.77 (s, 1H), 6.72 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.64 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.23 (s, 2H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 158.2, 146.4, 145.6, 141.0, 132.4, 129.8, 123.4, 120.2, 119.9, 116.3, 115.7, 44.3.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{14}H_{13}N_2O_3^-$ $[M-H]^-$ 257.1, βρέθηκε 257.1.

1-(3,4-Διυδροξυβενζυλο)-3-(ο-τολυλο)ουρία (139)



$C_{15}H_{16}N_2O_3$
Mol. Wt.: 272.30

Το τελικό προϊόν παραλήφθηκε ως λευκό στερεό από την αντίστοιχη προστατευμένη ουρία (40.0 mg, 0.13 mmol).

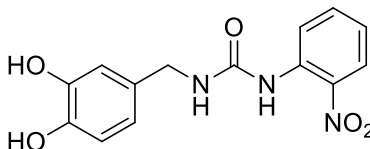
$\alpha = 59\%$ (18.5 mg, 0.07 mmol), R_f ($CH_2Cl_2/MeOH$ 9.5:0.5) = 0.25

1H NMR (200 MHz, CD_3OD) δ 7.54 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.16 – 7.09 (m, 2H), 6.98 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 6.78 – 6.61 (m, 3H), 4.22 (s, 2H), 2.22 (s, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, CD_3OD) δ 158.8, 146.4, 145.5, 138.2, 132.4, 131.5, 131.4, 127.4, 125.3, 124.7, 119.9, 116.3, 115.7, 44.5, 18.0.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{15}H_{15}N_2O_3^-$ $[M-H]^-$ 271.1, βρέθηκε 271.1.

1-(3,4-Διυδροξυβενζυλο)-3-(2-νιτροφαινυλ)ουρία (141)



$C_{14}H_{13}N_3O_5$
Mol. Wt.: 303.27

Η ουσία παραλήφθηκε από την αντίστοιχη προστατευμένη ουρία (40.0 mg, 0.12 mmol) ως λευκό στερεό.

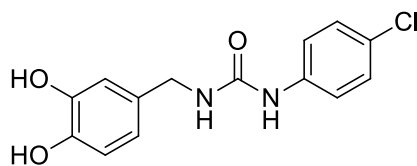
$\alpha = 31\%$ (11.3 mg, 0.04 mmol), R_f ($CH_2Cl_2/MeOH$ 9.5:0.5) = 0.28

1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.39 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 8.13 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.61 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.11 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 6.73 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.66 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.25 (s, 2H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 156.8, 146.4, 145.6, 138.4, 137.3, 136.0, 131.9, 126.5, 123.5, 122.8, 120.1, 116.3, 115.8, 44.5.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{14}H_{12}N_3O_5^-$ $[M-H]^-$ 302.1, βρέθηκε 302.0.

1-(4-Χλωροφαινυλο)-3-(3,4-διυδροξυβενζυλο)ουρία (136)



$C_{14}H_{13}ClN_2O_3$
Mol. Wt.: 292.72

Το τελικό προϊόν παραλήφθηκε ως λευκό στερεό μετά από αντίδραση αποπροστασίας της πρόδρομης ουρίας (40.0 mg, 0.12 mmol).

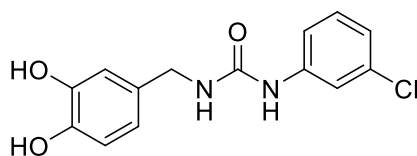
$\alpha = 49\%$ (17.2 mg, 0.06 mmol), R_f ($CH_2Cl_2/MeOH$ 9.5:0.5) = 0.31

1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.35 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.22 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.76 (s, 1H), 6.72 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.64 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 4.22 (s, 2H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 157.9, 146.4, 145.6, 139.9, 132.3, 129.7, 128.1, 121.3, 119.9, 116.3, 115.7, 44.3.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{14}H_{12}ClN_2O_3^-$ $[M-H]^-$ 291.0, βρέθηκε 290.8.

1-(3-Χλωροφαινυλο)-3-(3,4-διυδροξυβενζυλο)ουρία (142)



$C_{14}H_{13}ClN_2O_3$
Mol. Wt.: 292.72

Η ουσία προήλθε από την αντίστοιχη προστατευμένη ουρία (40.0 mg, 0.12 mmol) ως λευκό στερεό.

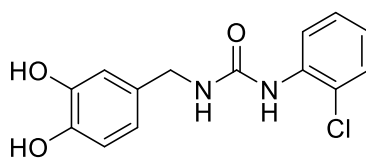
$\alpha = 39\%$ (13.8 mg, 0.05 mmol), R_f ($CH_2Cl_2/MeOH$ 9.5:0.5) = 0.20

1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.56 (s, 1H), 7.20 – 7.15 (m, 2H), 6.97 – 6.90 (m, 1H), 6.77 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 6.72 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.64 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.22 (s, 2H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 157.7, 146.4, 145.6, 142.6, 135.4, 132.2, 131.0, 122.9, 119.9, 119.6, 117.9, 116.3, 115.7, 44.3.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{14}H_{12}ClN_2O_3^-$ $[M-H]^-$ 291.0, βρέθηκε 291.0.

1-(2-Χλωροφαινυλο)-3-(3,4-διυδροξυβενζυλο)ουρία (140)



$C_{14}H_{13}ClN_2O_3$
Mol. Wt.: 292.72

Η ένωση συντέθηκε από την αντίστοιχη προστατευμένη ουρία (40.0 mg, 0.12 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

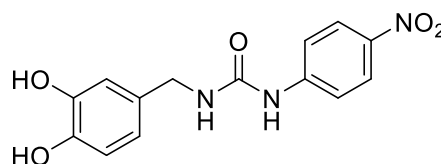
$\alpha = 69\%$ (24.4 mg, 0.08 mmol), R_f ($CH_2Cl_2/MeOH$ 9.5:0.5) = 0.21

1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.03 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 7.35 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H), 7.22 (t, $J = 8.5$ Hz, 1H), 6.97 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 6.78 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 6.73 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.65 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 4.24 (s, 2H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 157.7, 146.5, 145.6, 137.5, 132.1, 130.2, 128.4, 124.4, 124.29, 123.1, 120.0, 116.3, 115.8, 44.4.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{14}H_{12}ClN_2O_3^-$ $[M-H]^-$ 291.0, βρέθηκε 291.2.

1-(3,4-Διυδροξυβενζυλο)-3-(4-νιτροφαινυλο)ουρία (137)



$C_{14}H_{13}N_3O_5$
Mol. Wt.: 303.27

Το τελικό προϊόν παραλήφθηκε από την αντίστοιχη προστατευμένη ουρία (40.0 mg, 0.12 mmol) ως λευκό στερεό.

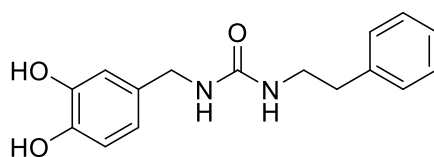
$\alpha = 11\%$ (4.1 mg, 0.01 mmol), R_f ($CH_2Cl_2/MeOH$ 9.5:0.5) = 0.25

1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.15 (d, $J = 9.3$ Hz, 2H), 7.60 (d, $J = 9.3$ Hz, 2H), 6.77 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 6.72 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.65 (dd, $J = 8.1, 2.0$ Hz, 1H), 4.25 (s, 2H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 157.0, 147.8, 146.5, 145.7, 143.1, 132.0, 126.0, 120.0, 118.6, 116.4, 115.8, 44.4.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{14}H_{12}N_2O_5^-$ $[M-H]^-$ 302.1 βρέθηκε 302.2.

1-(3,4-Διυδροξυβενζυλο)-3-φαιναιθυλουρία (131)



$C_{16}H_{18}N_2O_3$
Mol. Wt.: 286.33

Η τελική ουρία προήλθε από την πρόδρομη προστατευμένη ουρία (40.0 mg, 0.13 mmol) ως λευκό στερεό.

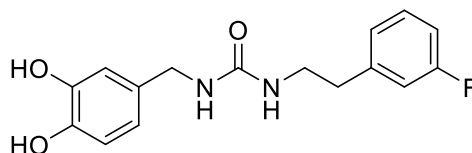
$\alpha = 16\%$ (5.9 mg, 0.02 mmol), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9.5:0.5) = 0.28

¹H NMR (200 MHz, CD₃OD) δ 7.34 – 7.14 (m, 5H), 6.68 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 6.56 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 4.12 (s, 2H), 3.37 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H), 2.75 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H).

¹³C NMR (101 MHz, CD₃OD) δ 161.1, 146.4, 145.4, 140.8, 132.7, 129.9, 129.5, 127.2, 119.7, 116.2, 115.6, 44.5, 42.7, 37.5.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $C_{16}H_{17}N_2O_3^-$ [M-H]⁻ 285.1 βρέθηκε 285.2.

1-(3,4-Διυδροξυβενζυλο)-3-(3-φθοροφαιναιθυλ)ουρία (134)



$C_{16}H_{17}FN_2O_3$
Mol. Wt.: 304.32

Η ουσία συντέθηκε από την αντίστοιχη προστατευμένη ουρία (40.0 mg, 0.12 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

$\alpha = 27\%$ (9.7 mg, 0.03 mmol), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9.5:0.5) = 0.26

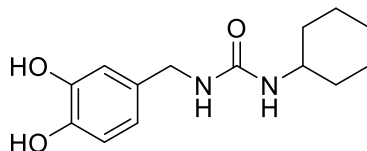
¹H NMR (200 MHz, CD₃OD) δ 7.33 – 7.22 (m, 1H), 7.07 – 6.83 (m, 3H), 6.70 (dd, $J = 5.0, 2.9$ Hz, 2H), 6.57 (dd, $J = 8.1, 2.0$ Hz, 1H), 4.13 (s, 2H), 3.39 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H), 2.78 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H).

¹³C NMR (101 MHz, CD₃OD) δ 164.4 (d, $J = 244.0$ Hz), 161.0, 146.4, 145.4, 143.7 (d, $J = 7.3$ Hz), 132.7, 131.1 (d, $J = 8.3$ Hz), 125.8 (d, $J = 2.8$ Hz), 119.7, 116.5 (d, $J = 21.1$ Hz), 116.3, 115.6, 113.9 (d, $J = 21.3$ Hz), 44.5, 42.3, 37.3 (d, $J = 1.3$ Hz).

^{19}F NMR (376 MHz, CD_3OD) δ -115.90.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{FN}_2\text{O}_3^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 303.1 βρέθηκε 303.1.

1-Κυκλοεξυλο-3-(3,4-διυδροξυβενζυλ)ουρία (133)



$\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$
Mol. Wt.: 264.32

Η ένωση παρασκευάστηκε από την πρόδρομη προστατευμένη ουρία της (40.0 mg, 0.14 mmol) ως λευκό στερεό.

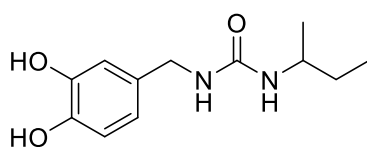
α = 22% (8.2 mg, 0.03 mmol), R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5) = 0.29

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 6.71 (d, J = 2.4 Hz, 2H), 6.59 (dd, J = 8.1, 1.9 Hz, 1H), 4.14 (s, 2H), 3.52 – 3.45 (m, 1H), 1.87 (dd, J = 12.5, 3.3 Hz, 2H), 1.79 – 1.66 (m, 2H), 1.65 – 1.55 (m, 1H), 1.41 – 1.30 (m, 2H), 1.27 – 1.09 (m, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 160.4, 146.4, 145.4, 132.8, 119.7, 116.2, 115.6, 49.9, 44.5, 34.7, 26.7, 26.0.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_3^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 263.1 βρέθηκε 263.2.

1-(sec-Βουτυλο)-3-(3,4-διυδροξυβενζυλ)ουρία (132)



$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$
Mol. Wt.: 238.29

Η ουρία παραλήφθηκε από την αντίστοιχη προστευμένη ουρία (40.0 mg, 0.15 mmol) ως λευκό στερεό.

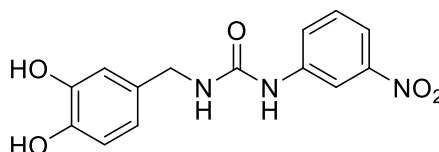
α = 18% (6.4 mg, 0.03 mmol), R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5) = 0.21

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 6.71 (dd, J = 7.5, 5.0 Hz, 2H), 6.59 (dd, J = 8.1, 1.9 Hz, 1H), 4.15 (s, 2H), 3.69 – 3.57 (m, 1H), 1.52 – 1.37 (m, 2H), 1.09 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 0.90 (t, J = 7.4 Hz, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 160.7, 146.4, 145.4, 132.8, 119.8, 116.3, 115.6, 48.4, 44.5, 31.1, 21.3, 10.7.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_3^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 237.1 βρέθηκε 237.2.

1-(3,4-Διυδροξυβενζυλο)-3-(3-νιτροφαινυλ)ουρία (143)



$\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_5$
Mol. Wt.: 303.27

Η ένωση προέκυψε από την αντίστοιχη προστατευμένη ουρία (40.0 mg, 0.12 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

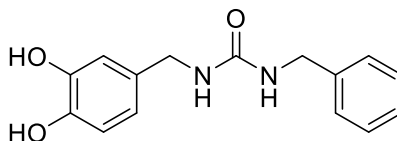
α = 38% (13.7 mg, 0.04 mmol), R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5) = 0.17

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.44 (t, J = 2.2 Hz, 1H), 7.80 (dd, J = 8.1, 2.1 Hz, 1H), 7.65 (dd, J = 8.1, 1.5 Hz, 1H), 7.45 (t, J = 8.2 Hz, 1H), 6.78 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.65 (dd, J = 8.1, 2.0 Hz, 1H), 4.25 (s, 2H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 157.5, 150.1, 146.4, 145.6, 142.7, 132.1, 130.7, 125.2, 120.0, 117.4, 116.3, 115.8, 113.9, 44.3.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_5^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 302.1 βρέθηκε 302.2.

1-Βενζυλο-3-(3,4-διυδροξυβενζυλ)ουρία (144)



$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$
Mol. Wt.: 272.30

Η ουσία προήλθε από την αντίστοιχη προστατευμένη ουρία (40.0 mg, 0.13 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

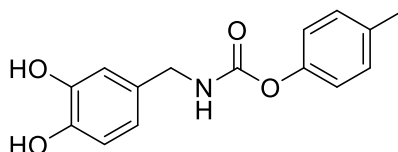
α = 50% (17.8 mg, 0.06 mmol), R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5) = 0.33

^1H NMR (200 MHz, CD_3OD) δ 7.41 – 7.16 (m, 5H), 6.74 – 6.68 (m, 2H), 6.60 (dd, J = 8.0, 2.0 Hz, 1H), 4.33 (s, 2H), 4.18 (s, 2H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 161.0, 146.4, 145.4, 141.3, 132.7, 129.5, 128.2, 128.0, 119.8, 116.3, 115.6, 44.8, 44.6.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_3^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 271.1 βρέθηκε 271.2.

(3,4-Διυδροξυβενζυλο)καρβαμικό *p*-τολουόλιο (168)



$\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{NO}_4$
Mol. Wt.: 273.29

Το τελικό καρβαμικό παράγωγο προήλθε από το αντίστοιχο προστατευμένο παράγωγο (40.0 mg, 0.13 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

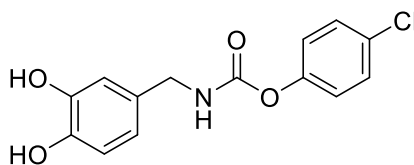
α = 15% (5.3 mg, 0.02 mmol), R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5) = 0.38

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.16 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 6.97 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.78 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 6.73 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.65 (dd, J = 8.0, 1.5 Hz, 1H), 4.20 (s, 2H), 2.32 (s, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 157.6, 150.5, 146.4, 145.7, 136.0, 131.8, 130.7, 122.5, 120.0, 116.3, 115.8, 45.4, 20.8.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{NO}_4^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 272.1 βρέθηκε 272.1.

(3,4-Διυδροξυβενζυλο)καρβαμικό 4-χλωροφαινύλιο (170)



$\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{ClNO}_4$
Mol. Wt.: 293.70

Η ένωση συντέθηκε από το αντίστοιχο προστατευμένο καρβαμικό παράγωγο (40.0 mg, 0.12 mmol) ως λευκό στερεό.

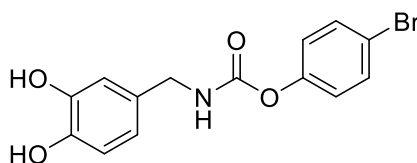
α = 17% (6.0 mg, 0.02 mmol), R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5) = 0.37

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.35 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.11 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.78 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 6.73 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.65 (dd, $J = 8.0, 1.7$ Hz, 1H), 4.20 (s, 2H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 156.9, 151.4, 146.4, 145.7, 131.6, 131.5, 130.3, 124.4, 120.1, 116.3, 115.8, 45.5.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{ClNO}_4^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 292.0 βρέθηκε 292.1.

(3,4-Διυδροξυβενζυλο)καρβαμικό 4-βρωμοφαινύλιο (169)



$\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{BrNO}_4$
Mol. Wt.: 338.16

Η ουσία προήλθε από την αντίστοιχη προστατευμένη πρόδρομη ένωση (40.0 mg, 0.11 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

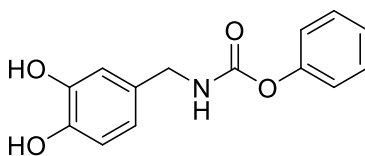
$\alpha = 45\%$ (16.7 mg, 0.05 mmol), R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5) = 0.40

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.50 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.05 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.78 (s, 1H), 6.73 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.65 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.20 (s, 9H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 156.8, 151.9, 146.4, 145.7, 133.3, 131.6, 124.8, 120.1, 119.0, 116.3, 115.8, 45.5.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{BrNO}_4^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 336.0 βρέθηκε 335.9.

(3,4-Διυδροξυβενζυλο)καρβαμικό φαινύλιο (166)



$\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{NO}_4$
Mol. Wt.: 259.26

Η τελική ένωση παρασκευάστηκε από το αντίστοιχο προστατευμένο καρβαμικό παράγωγο (40.0 mg, 0.14 mmol) ως λευκό στερεό.

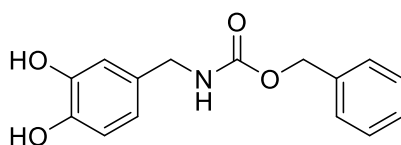
$\alpha = 43\%$ (15.6 mg, 0.06 mmol), R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5) = 0.41

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.37 – 7.33 (m, 2H), 7.19 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.11 (s, 1H), 7.09 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.74 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.66 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.21 (s, 2H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 157.3, 152.7, 146.4, 145.7, 131.7, 130.3, 126.3, 122.8, 120.0, 116.3, 115.8, 45.4.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{NO}_4^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 258.1 βρέθηκε 258.0.

(3,4-Διυδροξυβενζυλο)καρβαμικό βενζόλιο (165)



$\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{NO}_4$
Mol. Wt.: 273.29

Το κατεχολικό καρβαμικό παράγωγο προήλθε από την αντίστοιχη πρόδρομη ένωση (40.0 mg, 0.13 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

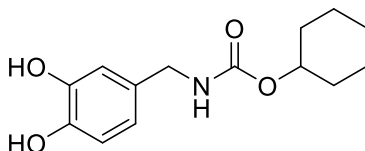
$\alpha = 8\%$ (2.9 mg, 0.01 mmol), R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5) = 0.61

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.41 – 7.22 (m, 5H), 6.73 (s, 1H), 6.70 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.60 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 5.09 (s, 2H), 4.14 (s, 2H).

^1H NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 159.0, 146.3, 145.5, 138.4, 132.1, 129.4, 128.9, 128.7, 119.9, 116.3, 115.7, 67.4, 45.3.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{NO}_4^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 272.1 βρέθηκε 272.2.

(3,4-Διυδροξυβενζυλο)καρβαμικό κυκλοεξύλιο (167)



$\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_4$
Mol. Wt.: 265.31

Η ένωση προέκυψε από το αντίστοιχο προστατευμένο καρβαμικό παράγωγο (45.0 mg, 0.15 mmol) και παραλήφθηκε με τη μορφή του λευκού στερεού.

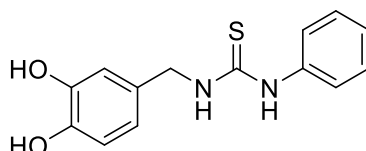
$\alpha = 27\%$ (10.6 mg, 0.04 mmol), R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5) = 0.48

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 6.72 – 6.69 (m, 2H), 6.59 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.59 – 4.55 (m, 1H), 4.11 (s, 2H), 1.92 – 1.63 (m, 4H), 1.61 – 1.25 (m, 6H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 158.8, 146.3, 145.4, 132.3, 119.8, 116.2, 115.6, 74.2, 45.0, 33.1, 26.5, 24.8.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{NO}_4^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 264.1 βρέθηκε 264.1.

1-(3,4-Διυδροξυβενζυλο)-3-φαινυλοθειουρία (177)



$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$
Mol. Wt.: 274.34

Η τελική θειουρία παρασκευάστηκε από την αντίστοιχη προστατευμένη ένωση (42.3 mg, 0.14 mmol) ως λευκό στερεό.

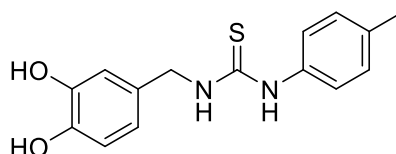
$\alpha = 27\%$ (10.4 mg, 0.04 mmol), R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5) = 0.29

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.39 – 7.28 (m, 4H), 7.22 – 7.13 (m, 1H), 6.81 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.72 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.66 (dd, $J = 8.1, 1.8$ Hz, 1H), 4.64 (s, 2H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 182.2, 146.4, 145.7, 139.6, 131.1, 130.2, 126.8, 125.7, 120.3, 116.3, 116.0, 49.3.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 273.1 βρέθηκε 273.2.

1-(3,4-Διυδροξυβενζυλο)-3-(*p*-τολυλο)θειουρία (179)



$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$
Mol. Wt.: 288.36

Η ένωση προέκυψε από την αντίστοιχη προστατευμένη θειουρία (042.7 mg, 0.13 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

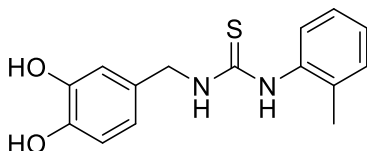
$\alpha = 21\%$ (7.9 mg, 0.03 mmol), R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5) = 0.38

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.17 (s, 4H), 6.80 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.71 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.65 (dd, $J = 8.1, 1.7$ Hz, 1H), 4.62 (s, 2H), 2.31 (s, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 182.1, 146.4, 145.7, 137.1, 136.7, 131.2, 130.8, 126.1, 120.3, 116.3, 116.0, 49.3, 21.0.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 287.1 βρέθηκε 287.0.

1-(3,4-Διυδροξυβενζυλο)-3-(ο-τολυλο)θειουρία (180)



$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$
Mol. Wt.: 288.36

Η ουσία συντέθηκε από την αντίστοιχη προστατευμένη θειουρία (41.2 mg, 0.13 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

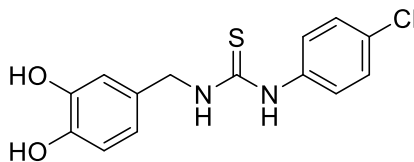
$\alpha = 39\%$ (14.6 mg, 0.05 mmol), R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5) = 0.36

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.26 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 7.24 – 7.15 (m, 3H), 6.79 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 6.70 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.63 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.61 (s, 2H), 2.21 (s, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 182.4, 146.3, 145.7, 137.1, 132.1, 131.3, 129.2, 128.9, 127.9, 120.3, 116.2, 116.0, 49.3, 17.9.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 287.1 βρέθηκε 287.0.

1-(4-Χλωροφαινυλο)-3-(3,4-διυδροξυβενζυλο)θειουρία (178)



$\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}_2\text{S}$
Mol. Wt.: 308.78

Η ουσία προέκυψε μετά από αποπροστασία της προστατευμένης πρόδρομης θειουρίας (42.6 mg, 0.13 mmol), υπό τη μορφή του λευκού στερεού.

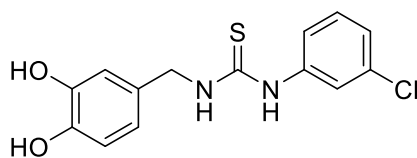
$\alpha = 41\%$ (16.6 mg, 0.05 mmol), R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5) = 0.35

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.37 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.31 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.82 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 6.73 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.67 (dd, $J = 8.1, 1.7$ Hz, 1H), 4.63 (s, 2H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 182.4, 146.4, 145.7, 138.9, 131.5, 131.0, 129.9, 126.9, 120.4, 116.3, 116.1, 49.3.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{ClN}_2\text{O}_2\text{S}^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 307.0 βρέθηκε 307.2.

1-(3-Χλωροφαινυλο)-3-(3,4-διυδροξυβενζυλο)θειουρία (181)



$\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}_2\text{S}$
Mol. Wt.: 308.78

Η τελική θειουρία συντέθηκε από την αντίστοιχη πρόδρομη ένωση (41.7 mg, 0.12 mmol) και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

$\alpha = 31\%$ (11.4 mg, 0.04 mmol), R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9.5:0.5) = 0.39

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.56 (s, 1H), 7.28 (d, $J = 4.9$ Hz, 2H), 7.19 – 7.09 (m, 1H), 6.82 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 6.73 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.68 (dd, $J = 8.0, 1.7$ Hz, 1H), 4.63 (s, 2H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 182.4, 146.4, 145.8, 141.8, 137.6, 135.2, 131.0, 125.9, 124.8, 120.4, 119.0, 116.3, 116.1, 49.3.

MS (ESI) m/z υπολογίζεται για $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{ClN}_2\text{O}_2\text{S}^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 307.0 βρέθηκε 307.1.

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

Σύντμηση	Ελληνικός όρος	Αγγλικός όρος
ACh	Ακετυλοχολίνη	Acetylcholine
AChE	Ακετυλοχολινεστεράση	Acetylcholinesterase
AcOEt	Οξικός αιθυλεστέρας	Ethyl acetate
AD	Νόσος του Αλτσχάιμερ	Alzheimer's disease
AGEs	Προϊόντα γλυκοζυλίωσης	Advanced glycation end products
AHA	Ακετοϋδροξαμικό οξύ	Acetohydroxamic acid
APP	Πρόδρομη πρωτεΐνη του αμυλοειδούς	Amyloid precursor protein
Arg	Αργινίνη	Arginine
Asn	Ασπαριγίνη	Asparagine
Aβ	β-Αμυλοειδές	Amyloid β protein
Boc	<i>tert</i> -Βουτοξυκαρβόνυλο ομάδα	<i>tert</i> -Butoxycarbonyl group
BSA	Δις(τριμεθυλοσιλυλο)ακεταμίδιο	Bis(trimethylsilyl)acetamide
BuChE	Βουτυρυλοχολινεστεράση	Butyrylcholinesterase
CNTX	Κανατοξίνη	Canatoxin
Cys	Κυστεΐνη	Cysteine
DABCO	1,4-Διαζαδικυκλο[2.2.2]οκτάνιο	1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane
DCC	<i>N,N'</i> -Δικυκλοεξυλοκαρβοδιιμίδιο	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimide
DHPM	Διυδροπυριμιδίνη	Dihydropyrimidine
DMAP	4-(<i>N,N</i> -Διμεθυλαμινο)πυριδίνη	4-(<i>N,N</i> -Dimethylamino)pyridine
DMF	Διμεθυλοφορμαμίδιο	Dimethylformamide
DMS	Θειικό διμεθύλιο	Dimethylsulphide
DMSO	Διμεθυλοσουλφοξειδίο	Dimethylsulfoxide
DPPA	Διφαινυλοφωσφοραζίδιο	Diphenylphosphoryl azide
DTT	Διθειοθρεϊτόλη	Dithiothreitol
EDC	<i>N</i> -(3-διμεθυλαμινοπροπυλο)- <i>N'</i> -αιθυλοκαρβοδιιμίδιο	<i>N</i> -(3-dimethylaminopropyl)- <i>N'</i> -ethylcarbodiimide
ESI	Ιοντισμός με ηλεκτροψεκασμό	Electrospray ionization
FDA	Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων	Food and Drug Administration

Glu	Γλουταμινικό οξύ	Glutamic acid
His	Ιστιδίνη	Histidine
HMDS	Δις(τριμεθυλοσιλυλ)αμίνη	Bis(trimethylsilyl)amine
HMPA	Εξαμεθυλοφωσφοραμίδιο	Hexamethylphosphoramide
HOBt	1-Υδροξυβενζοτρίαζόλιο	1-Hydroxybenzotriazole
HPU	Ουρεάση του <i>Helicobacter pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i> urease
HRMS	Φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας	High-resolution mass spectrometry
JBTX	-	Jaburetox
JBU	Ουρεάση φασολιών	Jack Bean Urease
LR	Αντιδραστήριο Lawesson	Lawesson's reagent
MAO	Μονοαμινοξυγονάση	Monoamine oxidase
MAO-B	Μονοαμινοξυγονάση τύπου B	Monoamine oxidase B
MBH	-	Morita-Baylis-Hillman
MPAC	Ένωση εξασθένησης δεσμού μετάλλου-πρωτεΐνης	Metal protein attenuating compound
MS	Φασματομετρία μάζας	Mass spectrometry
MTDL	Στρατηγική πολλαπλών στόχων	Multi-target directed ligand
NFTs	Νευροϊνιδιακά συμπλέγματα	Neurofibrillary tangles
NMR	Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός	Nuclear magnetic resonance
PE	Πετρελαϊκός αιθέρας	Petroleum ether
P-Michael	-	Phospha-Michael
RNS	Δραστικές μορφές αζώτου	Reactive nitrogen species
ROS	Δραστικές μορφές οξυγόνου	Reactive oxygen species
TFA	Τριφθοροξικό οξύ	Trifluoro acetic acid
THF	Τετραϋδροφουράνιο	Tetrahydrofuran
TLC	Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας	Thin layer chromatography
TMSCl	Τριμεθυλοσιλυλοχλωρίδιο	Trimethylsilyl chloride
α	Απόδοση	Yield
Αρ.	Αριθμός	Number
ΕΚΠΑ	Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών	National and Kapodistrian University of Athens
T	Θερμοκρασία	Temperature
τ	Χρόνος παραμονής (tau)	Residence time

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Y. Huang, L. Mucke, Alzheimer mechanisms and therapeutic Strategies, *Cell*, **2012**, *148*, 1204-1222.
2. S. Gandy, S. T. DeKosky, Toward the treatment and prevention of Alzheimer's disease: rational strategies and recent progress, *Annu. Rev. Med.*, **2013**, *64*, 367-383.
3. R. T. Bartus, R. L. Dean, M. J. Pontecorvo, C. Flicker, The cholinergic hypothesis: a historical overview, current perspective, and future directions, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1985**, *444*, 332-358.
4. M. Weinstock, Selectivity of cholinesterase inhibition: clinical implications for the treatment of Alzheimer's disease, *CNS Drugs*, **1999**, *12*, 307-323.
5. H. W. Querfurth, F. M. LaFerla, Alzheimer's disease, *N. Engl. J. Med.*, **2010**, *362*, 329-344.
6. A. Cavalli, M. L. Bolognesi, A. Minarini, M. Rosini, V. Tumiatti, M. Recanatini, C. Melchiorre, Multi-target-directed ligands to combat neurodegenerative diseases, *J. Med. Chem.*, **2008**, *51*, 347-372.
7. R. A. Stelzmann, H. N. Schnitzlein, F. R. Murtagh, An English translation of Alzheimer's 1907 paper, *Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde*, *Clin. Anat.*, **1995**, *8*, 429-431.
8. G. Benzi, A. Moretti, Is there a rationale for the use of acetylcholinesterase inhibitors in the therapy of Alzheimer's disease?, *Eur. J. Pharmacol.*, **1998**, *346*, 1-13.
9. J. Naslund, A. Schierhorn, U. Hellman, L. Lannfelt, A. D. Roses, L. O. Tjernberg, J. Silberring, S. E. Gandy, B. Winblad, P. Greengard, Relative abundance of Alzheimer A β -amyloid peptide variants in Alzheimer disease and normal aging, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1994**, *91*, 8378-8382.
10. H. F. Kung, The β -amyloid Hypothesis in Alzheimer's disease: seeing is believing, *ACS Med. Chem. Lett.*, **2012**, *3*, 265-267.

-
11. N. C. Inestrosa, A. Alvarez, C. A. Perez, R. D. Moreno, M. Vicente, C. Linker, O. I. Casanueva, C. G. Soto, Acetylcholinesterase accelerates assembly of amyloid- β -peptides into Alzheimer's fibrils: possible role of the peripheral site of the enzyme, *J. Neuron.*, **1996**, *16*, 881-891.
 12. L. Buee, T. Bussiere, V. Buee-Scherrer, A. Delacourte, P. R. Hof, Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders, *Brain Res. Rev.*, **2000**, *33*, 95-130.
 13. M. Singh, M. Kaur, H. Kukreja, R. Chugh, O. Silakari, D. Singh, Acetylcholinesterase inhibitors as Alzheimer therapy: from nerve toxins to neuroprotection, *Eur. J. Med. Chem.*, **2013**, *70*, 165-188.
 14. N. A. Simonian, J. T. Coyle, Oxidative stress in neurodegenerative diseases, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **1996**, *36*, 83-106.
 15. D. A. Butterfield, Amyloid- β -peptide [1-42]-associated free radical-induced oxidative stress and neurodegeneration in Alzheimer's disease brain: mechanisms and consequences, *Curr. Med. Chem.*, **2003**, *10*, 2651-2659.
 16. D. H. Small, Dysregulation of calcium homeostasis in Alzheimer's disease, *Neurochem. Res.*, **2009**, *34*, 1824-1829.
 17. M. B. H. Youdim, D. Edmondson, K. F. Tipton, The therapeutic potential of monoamine oxidase inhibitors, *Nat. Rev. Neurosci.*, **2006**, *7*, 230-295.
 18. A. Degroot, A. Kofalvi, M. R. Wade, R. J. Davis, R. J. Rodrigues, N. Rebola, R. A. Cunha, G. G. Nomikos, CB₁ receptor antagonism increases hippocampal acetylcholine release: site and mechanism of action, *Mol. Pharmacol.*, **2006**, *70*, 1236-1245.
 19. N. H. Greig, E. Giacobini, D. K. Lahiri, Advances in Alzheimer therapy and development of innovative new strategies, *Curr. Alzheimer Res.*, **2007**, *4*, 336-339.
 20. G. Munch, J. Thome, P. Foley, R. Schinzel, P. Riederer, Advanced glycation end products in ageing and Alzheimer's disease, *Brain Res. Rev.*, **1997**, *23*, 134-143.

-
21. B. Schmitt, T. Bernhardt, H. J. Moeller, I. Heuser, L. Frolich, Combination therapy in Alzheimer's disease: a review of current evidence, *CNS Drugs*, **2004**, *18*, 827-844.
22. H. Y. Zhang, One-compound-multiple-targets strategy to combat Alzheimer's disease, *FEBS Lett.*, **2005**, *579*, 5260-5264.
23. R. Morphy, Z. Rankovic, Designed multiple ligands: An emerging drug discovery paradigm, *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 6523-6543.
24. M. B. Youdim, J. J. Buccafusco, Multi-functional drugs for various CNS target in the treatment of neurodegenerative disorders, *Trends Pharmacol. Sci.*, **2005**, *26*, 27-35.
25. S. Manjinder, K. Maninder, C. Navriti, S. Om, Hybrids: a new paradigm to treat Alzheimer's disease, *Mol. Divers.*, **2016**, *20*, 271-297.
26. P. Schneider, G. Schneider, Privileged structures revisited, *Angew. Chem.*, **2017**, *56*, 7971-7974.
27. J. González, A. Alcántara, A. Doadrio, J. M. Sánchez-Montero, Developments with multi-target drugs for Alzheimer's disease: an overview of the current discovery approaches, *Expert. Opin. Drug Discov.*, **2019**, *14*, 879-891.
28. A. Cristina, L. F. Barbara, D. O. Giuseppe, Flavonoids in the treatment of Alzheimer's and other neurodegenerative diseases, *Curr. Med. Chem.*, **2018**, *25*, 3228-3246.
29. R. B. de Andrade Teles, T. C. Diniz, T. C. Costa Pinto, Flavonoids as therapeutic agents in Alzheimer's and Parkinson's diseases: a systematic review of preclinical evidences, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2018**, *2018*. (doi:10.1155/2018/7043213)
30. A. Stefanachi, F. Leonetti, L. Pisani, Coumarin: a natural, privileged and versatile scaffold for bioactive compounds, *Molecules*, **2018**, *23*, 250.
31. N. Qizilbash, A. Whitehead, J. Higgins, Cholinesterase inhibition for Alzheimer disease - A meta-analysis of the tacrine trials, *JAMA*, **1998**, *280*, 1777-1782.

-
32. C. Holmes, D. Wilkinson, C. Dean, The efficacy of donepezil in the treatment of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer disease, *Neurology*, **2004**, 63, 214-219.
33. Q. Li, S. Y. He, Y. Chen, Donepezil-based multi-functional cholinesterase inhibitors for treatment of Alzheimer's disease, *Eur. J. Med. Chem.*, **2018**, 158, 463-477.
34. L. Piemontese, D. Tomás, A. Hiremathad, Donepezil structure-based hybrids as potential multifunctional anti-Alzheimer's drug candidates, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **2018**, 33, 1212-1224.
35. M. Unzeta, G. Esteban, I. Bolea, Multi-target directed donepezil-like ligands for Alzheimer's disease, *Front. Neurosci.*, **2016**, 10. (doi: 10.3389/fnins.2016.00205)
36. E. L. Sampson, L. Jenagaratnam, R. McShane, Metal protein attenuating compounds for the treatment of Alzheimer's dementia, *Cochrane Database Syst. Rev.*, **2014**. (doi: 10.1002/14651858.CD005380.pub5)
37. A. Sharma, V. Pachauri, S. J. S. Flora, Advances in multi-functional ligands and the need for metal-related pharmacology for the management of Alzheimer disease, *Front. Pharmacol.*, **2018**, 9. (doi: 10.3389/fphar.2018.01247)
38. O. Weinreb, S. Mandel, O. Bar-Am, Multifunctional neuroprotective derivatives of rasagiline as anti-Alzheimer's disease drugs, *Neurotherapeutics*, **2009**, 6, 163-174.
39. H. Ferrero, M. Solas, P. T. Francis, Serotonin 5-HT₆ receptor antagonists in Alzheimer's disease: therapeutic rationale and current development status, *CNS Drugs*, **2017**, 31, 19-32.
40. A. Jankowska, A. Wesółowska, M. Pawłowski, Multi-target-directed ligands affecting serotonergic neurotransmission for Alzheimer's disease therapy: advances in chemical and biological research, *Curr. Med. Chem.*, **2017**, 25, 2045-2067.

-
41. A. Maczurek, K. Hager, M. Kenklies, Lipoic acid as an anti-inflammatory and neuroprotective treatment for Alzheimer's disease, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2008**, *60*, 1463-1470.
42. P. Molz, N. Schröder, Potential therapeutic effects of lipoic acid on memory deficits related to aging and neurodegeneration, *Front. Pharmacol.*, **2017**, *8*. (doi: 10.3389/fphar.2017.00849)
43. M. L. Bolognesi, A. Minarini, V. Tumiatti, Lipoic acid, a lead structure for multi-target-directed drugs for neurodegeneration, *Mini Rev. Med. Chem.*, **2006**, *6*, 1269-1274.
44. E. Barone, V. Calabrese, C. Mancuso, Ferulic acid and its therapeutic potential as a hormetin for age-related diseases, *Biogerontology*, **2009**, *10*, 97-108.
45. S. Habtemariam, Protective effects of caffeic acid and the Alzheimer's brain: an update, *Mini Rev. Med. Chem.*, **2017**, *17*, 667-674.
46. A. Atri, L. Frolich, C. Ballard, Effect of Idalopirdine as adjunct to cholinesterase inhibitors on change in cognition in patients with Alzheimer disease: three randomized clinical trials, *JAMA*, **2018**, *319*, 130-142.
47. M. Weinstock, C. Bejar, R. H. Wang, *TV3326, a novel neuroprotective drug with cholinesterase and monoamine oxidase inhibitory activities for the treatment of Alzheimer's disease*, Advances in research on neurodegeneration, Springer Vienna, **2000**, 157-169.
48. J. Marco-Contelles, M. Unzeta, I. Bolea, ASS234, as a new multi-target directed propargylamine for Alzheimer's disease therapy, *Front. Neurosci.*, **2016**, *10*. (doi: 10.3389/fnins.2016.00294)
49. M. Rosini, V. Andrisano, M. Bartolini, Rational approach to discover multipotent anti-Alzheimer drugs, *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 360-363.
50. R. Real-Guerra, F. Staniscuaski, C. R. Carlini, *A comprehensive survey of international soybean research-genetics, physiology, agronomy and nitrogen relationships*, Intech, Rijeka, **2013**, 317-339.

-
51. M. J. Maroney, S. Ciurli, Nonredox nickel enzymes, *Chem. Rev.*, **2014**, *114*, 4206-4228.
52. H. L. T. Mobley, R. P. Hausinger, Microbial ureases – significance, regulation and molecular characterization, *Microbiol. Rev.*, **1989**, *53*, 85-108.
53. B. Krajewska, Ureases I. Functional, catalytic and kinetic properties: a review, *J. Mol. Catal. B-Enzym.*, **2009**, *59*, 9-21.
54. Y. Rego, M. Queiroz, T. Brito, P. Carvalho, V. de Queiroz, A. de Fátima, F. Macedo Jr., A review on the development of urease inhibitors as antimicrobial agents against pathogenic bacteria, *J. Adv. Res.*, **2018**, *13*, 69-100.
55. F. Wöhler, Ueber künstliche Bildung des Harnstoffs, *Ann. Phys-Berlin*, **1828**, *12*, 253-256.
56. J. B. Sumner, The isolation and crystallization of the enzyme urease, *J. Biol. Chem.*, **1926**, *69*, 435-441.
57. N. E. Dixon, T. C. Gazzola, R. L. Blakeley, B. Zerner, Letter: Jack bean urease (EC 3.5.1.5). A metalloenzyme. A simple biological role for nickel?, *J. Am. Chem. Soc.*, **1975**, *97*, 4131-4133.
58. E. L. Carter, D. E. Tronrud, S. R. Taber, P. A. Karplus, R. P. Hausinger, Iron-containing urease in a pathogenic bacterium, *P. Natl. Acad. Sci. USA*, **2011**, *108*, 13095-13099.
59. C. Follmer, C. R. Carlini, M. L. Yoneama, J. F. Dias, PIXE analysis of urease isoenzymes isolated from *Canavalia ensiformis* (jack bean) seeds, *Nucl. Instrum. Meth. B.*, **2002**, *189*, 482-486.
60. B. Zambelli, F. Musiani, S. Benini, S. Ciurli, Chemistry of Ni²⁺ in urease: sensing, trafficking, and catalysis, *Acc. Chem. Res.*, **2011**, *44*, 520-530.
61. L. Mazzei, F. Musiani, S. Ciurli, *The Biological Chemistry of Nickel*, Royal society of chemistry, **2017**, 60-97.
62. C. R. Carlini, R. Ligabue-Braun, Ureases as multifunctional toxic proteins: a review, *Toxicon*, **2016**, *110*, 90-109.

-
63. E. Jabri, M. B. Carr, R. P. Hausinger, P. A. Karplus, The crystal structure of urease from *Klebsiella aerogenes*, *Science*, **1995**, 268, 998-1004.
64. S. Benini, W. R. Rypniewski, K. S. Wilson, S. Ciurli, S. Mangani, The complex of *Bacillus pasteurii* urease with beta-mercaptoethanol from X-ray data at 1.65-Å resolution, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **1998**, 3, 268-273.
65. P. A. Karplus, M. A. Pearson, R. P. Hausinger, 70 years of crystalline urease: what have we learned?, *Acc. Chem. Res.*, **1997**, 30, 330-337.
66. S. Benini, W. R. Rypniewski, K. S. Wilson, S. Miletti, S. Ciurli, S. Mangani, A new proposal for urease mechanism based on the crystal structures of the native and inhibited enzyme from *Bacillus pasteurii*: why urea hydrolysis costs two nickels, *Structure*, **1999**, 7, 205-216.
67. P. D. Cotter, C. Hill, Surviving the acid test: responses of gram-positive bacteria to low pH, *Microbiol. Mol. Biol. R.*, **2003**, 67, 429-453.
68. D. Mora, S. Arioli, Microbial urease in health and disease, *PLOS Pathog.*, **2014**, 10. (doi: 10.1371/journal.ppat.1004472)
69. R. A. Burne, L. Zeng, S. J. Ahn, S.R. Palmer, Y. Liu, T. Lefebure, Progress dissecting the oral microbiome in caries and health, *Adv. Dent. Res.*, **2012**, 24, 77-80.
70. Y. L. Liu, M. Nascimento, R. A. Burne, Progress toward understanding the contribution of alkali generation in dental biofilms to inhibition of dental caries, *Int. J. Oral Sci.*, **2012**, 4, 135-140.
71. P. Javorsky, E. Rybosova, I. Havassy, K. Horsky, V. Kmet, Urease activity of adherent bacteria and rumen fluid bacteria, *Physiol. Bohemoslov.*, **1987**, 36, 75-81.
72. A. Laukova, I. Koniarova, Survey of urease activity in ruminal bacteria isolated from domestic and wild ruminants, *Microbios.*, **1995**, 84, 7-11.
73. I. Konieczna, P. Zarnowiec, M. Kwinkowski, B. Kolesinska, J. Fraczyk, Z. Kaminski, Bacterial urease and its role in long-lasting human diseases, *Curr. Protein Pept. Sc.*, **2012**, 13, 789-806.

-
74. J. C. Rutherford, The emerging role of urease as a general microbial virulence factor, *PLOS Pathog.*, **2014**, *10*, 1-3.
75. H. L. T. Mobley, M. D. Island, R. P. Hausinger, Molecular biology of microbial ureases, *Microbiol. Rev.*, **1995**, *59*, 451-480.
76. W. Fischbach, *Helicobacter pylori*, *Internist.*, **2009**, *50*, 979-986.
77. S. Diaconu, A. Predescu, A. Moldoveanu, C. S. Pop, C. Fierbinteanu-Braticевичi, *Helicobacter pylori* infection: old and new, *J. Med. Life*, **2017**, *10*, 112-117.
78. H. L. Mobley, L. T. Hu, P. A. Foxall, *Helicobacter pylori* urease: properties and role in pathogenesis, *Scand. J. Gastroentero.*, **1991**, *187*, 39-46.
79. A. Auron, P. D. Brophy, Hyperammonemia in review: pathophysiology, diagnosis, and treatment, *Pediatr. Nephrol.*, **2012**, *27*, 207-222.
80. W. N. Fishbein, P. P. Carbone, H. D. Hochstein, Acetohydroxamate: bacterial urease inhibitor with therapeutic potential in hyperammonaemic states, *Nature*, **1965**, *208*, 46-48.
81. W. H. Summerskill, F. Thorsell, J. H. Feinberg, J. S. Aldrete, Effects of urease inhibition in hyperammonemia: clinical and experimental studies with acetohydroxamic acid, *Gastroenterology*, **1968**, *54*, 20-26.
82. J. Haberle, Clinical practice: the management of hyperammonemia, *Eur. J. Pediatr.*, **2011**, *170*, 21-34.
83. S. R. Steyert, J. B. Kaper, Contribution of urease to colonization by Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, *Infect. Immun.*, **2012**, *80*, 2589-2600.
84. T. F. de Koning-Ward, A. C. Ward, E. L. Hartland, R. M. Robins-Browne, The urease complex gene of *Yersinia enterocolitica* and its role in virulence, *Contrib. Microbiol. Immunol.*, **1995**, *13*, 262-263.
85. N. Maroncle, C. Rich, C. Forestier, The role of *Klebsiella pneumoniae* urease in intestinal colonization and resistance to gastrointestinal stress, *Res. Microbiol.*, **2006**, *157*, 184-193.

-
86. F. J. Sangari, A. Seoane, M. C. Rodriguez, J. Agüero, J. M. Garcia Lobo, Characterization of the urease operon of *Brucella abortus* and assessment of its role in virulence of the bacterium, *Infect. Immun.*, **2007**, *75*, 774-780.
87. T. F. Murphy, A. L. Brauer, Expression of urease by *Haemophilus influenzae* during human respiratory tract infection and role in survival in an acid environment, *BMC Microbiol.*, **2011**, *11*. (doi: 10.1186/1471-2180-11-183)
88. M. A. Olszewski, M. C. Noverr, G. H. Chen, G. B. Toews, G. M. Cox, J. R. Perfect, Urease expression by *Cryptococcus neoformans* promotes microvascular sequestration, thereby enhancing central nervous system invasion, *Am. J. Pathol.*, **2004**, *164*, 1761-1771.
89. M. Shi, S. S. Li, C. Zheng, G. J. Jones, K. S. Kim, H. Zhou, Real-time imaging of trapping and urease-dependent transmigration of *Cryptococcus neoformans* in mouse brain, *J. Clin. Invest.*, **2010**, *120*, 1683-1693.
90. V. Feder, L. Kmetzsch, C. C. Staats, N. Vidal-Figueiredo, R. Ligabue-Braun, C. R. Carlini, *Cryptococcus gattii* urease as a virulence factor and the relevance of enzymatic activity in cryptococcosis pathogenesis, *FEBS J.*, **2015**, *282*, 1406-1418.
91. F. Mirbod-Donovan, R. Schaller, C. Y. Hung, J. M. Xue, U. Reichard, G. T. Cole, Urease produced by *Coccidioides posadasii* contributes to the virulence of this respiratory pathogen, *Infect. Immun.*, **2006**, *74*, 504-515.
92. A. Sirko, R. Brodzik, Plant ureases: roles and regulation, *Acta. Biochim. Pol.*, **2000**, *47*, 1189-1195.
93. C. P. Witte, Urea metabolism in plants, *Plant Sci.*, **2011**, *180*, 431-438.
94. L. H. Liu, U. Ludewig, W. B. Frommer, N. von Wiren, AtDUR3 encodes a new type of high-affinity urea/H⁺ symporter in Arabidopsis, *Plant Cell*, **2003**, *15*, 790-800.
95. C. Follmer, Insights into the role and structure of plant ureases, *Phytochemistry*, **2008**, *69*, 18-28.

-
96. V. Kumar, R. J. Wagenet, Urease activity and kinetics of urea transformation in soils, *Soil Sci.*, **1984**, *137*, 263-269.
97. S. Ciurli, C. Marzadori, S. Benini, S. Deiana, C. Gessa, Urease from the soil bacterium *Bacillus pasteurii*: immobilization on Ca-polygalacturonate, *Soil Biol. Biochem.*, **1996**, *28*, 811-817.
98. K. L. Bachmeier, A. E. Williams, J. R. Warmington, S. S. Bang, Urease activity in microbiologically-induced calcite precipitation, *J. Biotechnol.*, **2002**, *93*, 171-181.
99. I. Sondi, B. Salopek-Sondi, Influence of the primary structure of enzymes on the formation of CaCO₂ polymorphs: a comparison of plant (*Canavalia ensiformis*) and bacterial (*Bacillus pasteurii*) ureases, *Langmuir*, **2005**, *21*, 8876-8882.
100. J. M. Bremner, M. J. Krogmeier, Evidence that the adverse effect of urea fertilizer on seed-germination in soil is due to ammonia formed through hydrolysis of urea by soil urease, *P. Natl. Acad. Sci. USA*, **1989**, *86*, 8185-8188.
101. M. J. Krogmeier, G. W. McCarty, J. M. Bremner, Phytotoxicity of foliar-applied urea, *P. Natl. Acad. Sci. USA*, **1989**, *86*, 8189-8191.
102. M. Sacristan, A. M. Millanes, M. E. Legaz, C. Vicente, A lichen lectin specifically binds to the alpha-1,4-polygalactoside moiety of urease located in the cell wall of homologous algae, *Plant Signal Behav.*, **2006**, *1*, 23-27.
103. A. M. Millanes, B. Fontaniella, M. L. Garcia, M. T. Solas, C. Vicente, M. E. Legaz, Cytochemical location of urease in the cell wall of two different lichen phycobionts, *Tissue Cell*, **2004**, *36*, 373-377.
104. M. Medeiros-Silva, W. L. Franck, M. P. Borba, S. B. Pizzato, K. N. Strodtman, D. W. Emerich, Soybean ureases, but not that of *Bradyrhizobium japonicum*, are involved in the process of soybean root nodulation, *J. Agr. Food Chem.*, **2014**, *62*, 3517-3524.

-
105. K. A. Eaton, C. L. Brooks, D. R. Morgan, S. Krakowka, Essential role of urease in pathogenesis of gastritis induced by *Helicobacter pylori* in gnotobiotic piglets, *Infect. Immun.*, **1991**, *59*, 2470-2475.
106. M. Tsuda, M. Karita, T. Mizote, M. G. Morshed, K. Okita, T. Nakazawa, Essential role of *Helicobacter pylori* urease in gastric colonization: definite proof using a urease-negative mutant constructed by gene replacement, *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, **1994**, *6*, S49–52.
107. G. E. Wassermann, D. Olivera-Severo, A. F. Uberti, C. R. Carlini, *Helicobacter pylori* urease activates blood platelets through a lipoxygenase-mediated pathway, *J. Cell Mol. Med.*, **2010**, *14*, 2025-2034.
108. A. Scopel-Guerra, D. Olivera-Severo, F. Staniscuaski, A. F. Uberti, N. Callai-Silva, N. Jaeger, The impact of *Helicobacter pylori* urease upon platelets and consequent contributions to inflammation, *Front. Microbiol.*, **2017**, *8*. (doi: 10.3389/fmicb.2017.02447)
109. A. F. Uberti, D. Olivera-Severo, G. E. Wassermann, A. Scopel-Guerra, J. A. Moraes, P. Barcellos-de-Souza, Pro-inflammatory properties and neutrophil activation by *Helicobacter pylori* urease., *Toxicon*, **2013**, *69*, 240-249.
110. D. Olivera-Severo, A. F. Uberti, M. S. Marques, M. T. Pinto, M. Gomez-Lazaro, C. Figueiredo, A new role for *Helicobacter pylori* urease: contributions to angiogenesis, *Front. Microbiol.*, **2017**, *8*. (doi: 10.3389/fmicb.2017.01883)
111. K. Kappaun, A. R. Piovesan, C. R. Carlini, R. Ligabue-Braun, Ureases: Historical aspects, catalytic, and non-catalytic properties – A review, *J. Adv. Res.*, **2018**, *13*, 3-17.
112. H. Tauber, I. S. Kleiner, Studies on crystalline urease. III. The toxicity of crystalline urease, *J. Biol. Chem.*, **1931**, *92*, 177-185.
113. S. C. Baik, H. L. Kang, J. H. Seo, E. S. Park, K. H. Rhee, M. J. Cho, *Helicobacter pylori* urease induces mouse death, *J. Bacteriol. Virol.*, **2005**, *35*, 175-181.

-
114. C. R. Carlini, A. E. Oliveira, P. Azambuja, J. Xavier-Filho, M. A. Wells, Biological effects of canatoxin in different insect models: evidence for a proteolytic activation of the toxin by insect cathepsinlike enzymes, *J. Econ. Entomol.*, **1997**, *90*, 340-348.
115. C. R. Carlini, M. F. Grossi-de-Sa, Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides, *Toxicon*, **2002**, *40*, 1515-1539.
116. C. Follmer, R. Real-Guerra, G. E. Wasserman, D. Olivera-Severo, C. R. Carlini, Jackbean, soybean and *Bacillus pasteurii* ureases – biological effects unrelated to ureolytic activity, *Eur. J. Biochem.*, **2004**, *271*, 1357-1363.
117. F. Staniscuaski, C. T. Ferreira-Dasilva, F. Mulinari, M. Pires-Alves, C. R. Carlini, Insecticidal effects of canatoxin on the cotton stainer bug *Dysdercus peruvianus* (Hemiptera: Pyrrhocoridae), *Toxicon*, **2005**, *45*, 753-760.
118. M. Defferrari, D. Demartini, T. Marcelino, P. Pinto, C. Carlini, Insecticidal effect of *Canavalia ensiformis* major urease on nymphs of the milkweed bug *Oncopeltus fasciatus* and characterization of digestive peptidases, *Insect Biochem. Molec.*, **2011**, *41*, 388-399.
119. A. Balasubramanian, V. Durairajpandian, S. Elumalai, N. Mathivanan, A. K. Munirajan, K. Ponnuraj, Structural and functional studies on urease from pigeon pea (*Cajanus cajan*), *Int. J. Biol. Macromol.*, **2013**, *58*, 301-309.
120. A. B. Becker-Ritt, C. R. Carlini, Fungitoxic and insecticidal plant polypeptides, *Biopolymers*, **2012**, *98*, 367-384.
121. A. E. A. Oliveira, V. M. Gomes, M. P. Sales, K. V. S. Fernandes, C. R. Carlini, J. Xavier-Filho, The toxicity of jack bean [*Canavalia ensiformis* (L.) DC.] canatoxin to plant pathogenic fungi, *Rev. Bras. Biol.*, **1999**, *59*, 59-62.
122. A. B. Becker-Ritt, A. H. Martinelli, S. Mitidieri, V. Feder, G. E. Wassermann, L. Santi, Antifungal activity of plant and bacterial ureases, *Toxicon*, **2007**, *50*, 971-983.

-
123. A. Menegassi, G. E. Wassermann, D. Olivera-Severo, A. B. Becker-Ritt, A. H. Martinelli, V. Feder, Urease from cotton (*Gossypium hirsutum*) seeds: isolation, physicochemical characterization, and antifungal properties of the protein, *J. Agr. Food Chem.*, **2008**, *56*, 4399-4405.
124. F. Mulinari, F. Staniscuaski, L. R. Berthodo-Vargas, M. Postal, O. B. Oliveira Neto, D. J. Ridgen, Jaburetox-2Ec: an insecticidal peptide derived from an isoform of urease form the *Canavalia ensiformis* plant, *Peptides*, **2007**, *28*, 2042-2050.
125. P. R. Barros, H. Stassen, M. S. Freitas, C. R. Carlini, M. A. C. Nascimento, C. Follmer, Membrane-disruptive properties of the bioinsecticide Jaburetox-2Ec: implications to the mechanism of the action of insecticidal peptides derived from ureases, *BBA-Proteins Proteom.*, **2009**, *1794*, 1848-1854.
126. A. R. Piovesan, A. H. S. Martinelli, R. Ligabue-Braun, J. L. Schwartz, C. R. Carlini, *Canavalia ensiformis* urease, Jaburetox and derived peptides form ion channels in planar lipid bilayers, *Arch. Biochem. Biophys.*, **2014**, *547*, 6-17.
127. V. Broll, A. H. S. Martinelli, F. C. Lopes, L. L. Fruttero, B. Zambelli, E. Salladini, Structural analysis of the interaction between Jaburetox, an intrinsically disordered protein, and membrane models, *Colloid. Surface B*, **2017**, *159*, 849-860.
128. Y. M. S. Michelleto, C. F. Moro, F. C. Lopes, R. Ligabue-Braun, A. H. S. Martinelli, C. M. Marques, Interaction of jack bean (*Canavalia ensiformis*) urease and a derived peptide with lipid vesicles, *Colloid. Surface B*, **2016**, *145*, 576-585.
129. S. Perveen, K. M. Khan, M. A. Lodhi, M. I. Choudhary, W. Voelter, Urease and α -chymotrypsin inhibitory effects of selected urea derivatives, *Lett. Drug Des. Discov.*, **2008**, *5*, 401-405.
130. S. Uesato, Y. Hashimoto, M. Nishino, Y. Nagaoka, H. Kuwajima *N*-substituted hydroxyureas as urease inhibitors, *Chem. Pharm. Bull.*, **2002**, *50*, 1280-1282.

-
131. Z. Rajic, I. Perkovic, I. Butula, B. Zorc, D. Hadjipavlou-Litina, E. Pontiki, Synthesis and biological evaluation of O-methyl and O-ethyl NSAID hydroxamic acids, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **2009**, *24*, 1179-1187.
132. K. M. Khan, F. Naz, M. Taha, A. Khan, S. Perveen, M. I. Choudhary, Synthesis and *in vitro* urease inhibitory activity of *N,N*-disubstituted thioureas, *Eur. J. Med. Chem.*, **2014**, *74*, 314-323.
133. M. Taha, N. H. Ismail, S. Imran, A. Wadood, F. Rahim, M. Riaz, Synthesis of potent urease inhibitors based on disulfide scaffold and their molecular docking studies, *Bioorg. Med. Chem.*, **2015**, *23*, 7211-7218.
134. T. O. Brito, A. X. Souza, Y. C. C. Mota, V. S. S. Morais, L. T. Souza, A. ri de Fátima, Design, syntheses and evaluation of benzoylthioureas as urease inhibitors of agricultural interest, *RSC Adv.*, **2015**, *5*, 44507-44515.
135. M. K. Rauf, A. Talib, A. Badshah, S. Zaib, K. Shoaib, M. Shahid, Solution-phase microwave assisted parallel synthesis of *N, N*-disubstituted thioureas derived from benzoic acid: Biological evaluation and molecular docking studies, *Eur. J. Med. Chem.*, **2013**, *70*, 487-496.
136. M. K. Rauf, S. Zaib, A. Talib, M. Ebihara, A. Badshah, M. Bolte, Solution-phase microwave assisted parallel synthesis, biological evaluation and *in silico* docking studies of *N, N*-disubstituted thioureas derived from 3-chlorobenzoic acid, *Bioorg. Med. Chem.*, **2016**, *24*, 4452-4463.
137. A. Saeed, S. Zaib, A. Pervez, A. Mumtaz, M. Shahid, J. Iqbal, Synthesis, molecular docking studies, and *in vitro* screening of sulfanilamide-thiourea hybrids as antimicrobial and urease inhibitors, *Med. Chem. Res.*, **2013**, *22*, 3653-3662.
138. A. Saeed, M. S. Khan, H. Rafique, M. Shahid, J. Iqbal, Design, synthesis, molecular docking studies and *in vitro* screening of ethyl 4-(3-benzoylthioureido) benzoates as urease inhibitors, *Bioorg. Chem.*, **2014**, *52*, 1-7.
139. A. Sharma, R. Suhas, D. C. Gowda, Ureas/thioureas of benzo[d]isothiazole analog conjugated glutamic acid: synthesis and biological evaluation, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, **2013**, *346*, 359-366.

-
140. K. M. Khan, A. Wadood, M. Ali, Zia-Ullah, Z. Ul-Haq, M. A. Lodhi, Identification of potent urease inhibitors via ligand- and structure-based virtual screening and *in vitro* assays, *J. Mol. Graph. Model.*, **2010**, *28*, 792-798.
141. S. Naureen, F. Chaudhry, N. Asif, M. A. Munawar, M. Ashraf, F. H. Nasim, Discovery of indole-based tetraarylimidazoles as potent inhibitors of urease with low antilipoxygenase activity, *Eur. J. Med. Chem.*, **2015**, *102*, 464-470.
142. W. J. Mao, P. C. Lv, L. Shi, H. Q. Li, H. L. Zhu, Synthesis, molecular docking and biological evaluation of metronidazole derivatives as potent *Helicobacter pylori* urease inhibitors, *Bioorg. Med. Chem.*, **2009**, *17*, 7531-7536.
143. X. S. Huang, K. Liu, Y. Yin, W. M. Li, W. Ran, M. Duan, The synthesis, structure and activity evaluation of secnidazole derivatives as *Helicobacter pylori* urease inhibitors, *Curr. Bioact. Compd.*, **2011**, *7*, 268-280.
144. M. A. Lodhi, S. Shams, K. M. Khan, Thiazolidine esters: new potent urease inhibitors, *J. Chem. Soc. Pak.*, **2014**, *36*, 858-864.
145. D. P. Araujo, V. S. S. Morais, A. de Fátima, L. V. Modolo Efficient sodium bisulfitecatalyzed synthesis of benzothiazoles and their potential as ureases inhibitors, *RSC Adv.*, **2015**, *5*, 28814-28821.
146. Y. Gull, N. Rasool, M. Noreen, A. A. Altaf, S. G. Musharraf, M. Zubair, Synthesis of *N*-(6-Arylbenzo[d]thiazole-2-acetamide derivatives and their biological activities: an experimental and computational approach, *Molecules*, **2016**, *21*. (doi:10.3390/molecules21030266)
147. M. Serwar, T. Akhtar, S. Hameed, K. M. Khan, Synthesis, urease inhibition and antimicrobial activities of some chiral 5-aryl-4-(1-phenylpropyl)-2H-1,2,4- triazole-3-(4H)-thiones, *Arkivoc.*, **2009**, *7*, 210-221.
148. O. U. R. Abid, T. M. Babar, F. I. Ali, S. Ahmed, A. Wadood, N. H. Rama, Identification of novel urease inhibitors by high-throughput virtual and *in vitro* screening, *ASC Med. Chem. Lett.*, **2010**, *1*, 145-149.

-
149. T. Akhtar, M. A. Khan, J. Iqbal, P. G. Jones, S. Hameed, A facile one-pot synthesis of 2-arylamino-5-aryloxylalkyl-1,3,4-oxadiazoles and their urease inhibition studies, *Chem. Biol. Drug Des.*, **2014**, *84*, 92-98.
150. M. Hanif, K. Shoaib, M. Saleem, N. H. Rama, S. Zaib, J. Iqbal, Synthesis, urease inhibition, antioxidant, antibacterial, and molecular docking studies of 1,3,4-oxadiazole derivatives, *ISRN Pharm.*, **2012**, *2012*, 1-9.
151. M. Rafiq, M. Saleem, M. Hanif, M. R. Maqsood, N. H. Rama, K. H. Lee, Synthesis and biological activities of some new 3,6-disubstituted 1,2,4-triazolo[3,4-*b*]1,3,4-thiadiazole derivatives, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **2012**, *33*, 3943-3949.
152. K. Macegoniuk, E. Grela, J. Palus, E. Rudzinska-Szostak, A. Grabowiecka, M. Biernat, 1,2-Benzisoselenazol-3-(2H)-one derivatives as a new class of bacterial urease inhibitors, *J. Med. Chem.*, **2016**, *59*, 8125-8133.
153. Y. Tabuchi, Y. Kurebayashi, Antisecretory and antiulcer effects of ebselen, a seleno-organic compound, in rats, *Jpn. J. Pharmacol.*, **1993**, *61*, 255-257.
154. A. Rauf, S. Liaqat, A. M. Qureshi, M. Yaqub, A. U. Rehman, M. U. Hassan, Synthesis, characterization, and urease inhibition of 5-substituted-9-methyl-2H-pyrido[1,2-*a*]pyrimidine-2,4(3H)-diones, *Med. Chem. Res.*, **2012**, *21*, 60-74.
155. H. Bektas, S. Ceylan, N. Demirbas, S. Alpay-Karaoglu, B. B. Sökmen, Antimicrobial and antiurease activities of newly synthesized morpholine derivatives containing an azole nucleus, *Med. Chem. Res.*, **2013**, *22*, 3629-3639.
156. F. Iftikhar, Y. Ali, F. A. Kiani, S. F. Hassan, T. Fatima, A. Khan, Design, synthesis, *in vitro* evaluation and docking studies on dihydropyrimidine-based urease inhibitors, *Bioorg. Chem.*, **2017**, *74*, 53-65.

-
157. A. Khan, J. Hashim, N. Arshad, I. Khan, N. Siddiqui, A. Wadood, Dihydropyrimidine based hydrazine dihydrochloride derivatives as potent urease inhibitors, *Bioorg. Chem.*, **2016**, *64*, 85-96.
158. U. Rashid, I. Batool, A. Wadood, A. Khan, Z. ul-Haq, M. I. Chaudhary, Structure based virtual screening-driven identification of monastrol as a potent urease inhibitor, *J. Mol. Graph. Model.*, **2013**, *43*, 47-57.
159. K. M. Khan, M. Khan, A. Khan, S. Perveen, F. Naz, M. I. Choudhary, 5-Arylidene *N, N*-dimethylbarbiturates as urease inhibitors, *J. Chem. Soc. Pak.*, **2014**, *36*, 524-527.
160. K. M. Khan, M. Ali, A. Wadood, Z. ul-Haq, M. Khan, M. A. Lodhi, Molecular modeling-based antioxidant arylidene barbiturates as urease inhibitors, *J. Mol. Graph. Model.*, **2011**, *30*, 153-156.
161. K. M. Khan, F. Rahim, A. Khan, M. Shabeer, S. Hussain, W. Rehman, Synthesis and structure-activity relationship of thiobarbituric acid derivatives as potent inhibitors of urease, *Bioorg. Med. Chem.*, **2014**, *22*, 4119- 4123.
162. A. Rauf, S. Shahzad, M. Bajda, M. Yar, F. Ahmed, N. Hussain, Design and synthesis of new barbituric- and thiobarbituric acid derivatives as potent urease inhibitors: Structure activity relationship and molecular modeling studies, *Bioorg. Med. Chem.*, **2015**, *23*, 6049-6058.
163. A. Rauf, F. Ahmed, A. M. Qureshi, Aziz-ur-Rehman, A. Khan, M. I. Qadir, Synthesis and urease inhibition studies of barbituric and thiobarbituric acid derived sulphonamides, *J. Chin. Chem. Soc.*, **2011**, *58*, 528-537.
164. G. M. Ziarani, S. Faramarzi, S. Asadi, A. Badiei, R. Balz, M. Amanlou, Three-component synthesis of pyrano[2,3-d]-pyrimidine dione derivatives facilitated by sulfonic acid nanoporous silica (SBA-Pr-SO₃H) and their docking and urease inhibitory activity, *J. Pharm. Sci.*, **2013**, *21*, 1-13.
165. A. Barakat, A. M. Al-Majid, G. Lotfy, F. Arshad, S. Yousuf, M. I. Choudhary, Synthesis and dynamics studies of barbituric acid derivatives

as urease inhibitors, *Chem. Cent. J.*, **2015**, *9*. (doi: 10.1186/s13065-015-0140-1)

166. A. Barakat, A. M. Al-Majid, H. J. Al-Najjar, Y. N. Mabkhot, S. Javaid, S. Yousuf, Zwitterionic pyrimidinium adducts as antioxidants with therapeutic potential as nitric oxide scavenger, *Eur. J. Med. Chem.*, **2014**, *84*, 146-154.

167. F. Rahim, M. Ali, S. Ullah, U. Rashid, H. Ullah, M. Taha, Development of bithiobarbiturates as successful urease inhibitors and their molecular modeling studies, *Chin. Chem. Lett.*, **2016**, *27*, 693-697.

168. S. Vassiliou, A. Grabowiecka, P. Kosikowska, A. Yiotakis, P. Kafarski, L. Berlicki, Design, synthesis, and evaluation of novel organophosphorus inhibitors of bacterial ureases, *J. Med. Chem.*, **2008**, *51*, 5736-5744.

169. F. M. Oliveira, L. C. A. Barbosa, A. J. Demuner, C. R. A. Maltha, S. R. Pereira, L. P. Horta, Synthesis, molecular properties and DFT studies of new phosphoramidates as potential urease inhibitors, *Med. Chem. Res.*, **2014**, *23*, 5174-5187.

170. M. J. Domínguez, C. Sanmartín, M. Font, J. A. Palop, S. S. Francisco, O. Urrutia, Design, synthesis, and biological evaluation of phosphoramidate derivatives as urease inhibitors, *J. Agric. Food Chem.*, **2008**, *56*, 3721-3731.

171. M. Font, M. J. Domínguez, C. Sanmartín, J. A. Palop, S. S. Francisco, O. Urrutia, Structural characteristics of phosphoramidate derivatives as urease inhibitors. Requirements for activity, *J. Agric. Food Chem.*, **2008**, *56*, 8451-8460.

172. S. Vassiliou, A. Grabowiecka, P. Kosikowska, A. Yiotakis, P. Kafarski, L. Berlicki, Design, synthesis, and evaluation of novel organophosphorus inhibitors of bacterial ureases, *J. Med. Chem.*, **2008**, *51*, 5736-5744.

173. Ł. Berlicki, M. Bochno, A. Grabowiecka, A. Białas, P. Kosikowska, P. Kafarski, *N*-substituted aminomethanephosphonic and aminomethane-*P*-methylphosphinic acids as inhibitors of ureases, *Amino Acids*, **2012**, *42*, 1937-1945.

-
174. S. Vassiliou, A. Grabowiecka, P. Kosikowska, Ł. Berlicki, Three component Kabachnik-Fields condensation leading to substituted aminomethane-P-hydroxymethylphosphonic acids as a tool for screening of bacterial urease inhibitors, *Arkivoc*, **2012**, 4, 33-43.
175. K. Macegoniuk, A. Dzielak, A. Mucha, Ł. Berlicki, Bis(aminomethyl)phosphinic acid, a highly promising scaffold for the development of bacterial urease inhibitors, *ACS Med. Chem. Lett.*, **2015**, 6, 146-150.
176. M. Collinsova, J. Jiracek, Phosphinic acid compounds in biochemistry, biology and medicine, *Curr. Med. Chem.*, **2000**, 7, 629-647.
177. L. Berlicki, P. Kafarski, Computer-aided analysis and design of phosphonic and phosphinic enzyme inhibitors as potential drugs and agrochemicals, *Curr. Org. Chem.*, **2005**, 9, 1829-1850.
178. K. M. Merz, P. A. Kollman, Free energy perturbation simulations of the inhibition of thermolysin: prediction of the free energy of binding of a new inhibitor, *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 5649-5658.
179. D. Grobelny, U. B. Goli, R. E. Galard, Binding energetics of phosphorus-containing inhibitors of thermolysin, *Biochemistry*, **1989**, 28, 4948-4951.
180. S. Benini, P. Kosikowska, M. Cianci, L. Mazzei, A. G. Vara, L. Berlicki, The crystal structure of *Sporosarcina pasteurii* urease in a complex with citrate provides new hints for inhibitor design, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **2013**, 18, 391-399.
181. V. Ntatsopoulos, S. Vassiliou, K. Macegoniuk, Ł. Berlicki, A. Mucha, Novel organophosphorus scaffolds of urease inhibitors obtained by substitution of Morita-Baylis-Hillman adducts with phosphorus nucleophiles, *Eur. J. Med. Chem.*, **2017**, 133, 107-120.
182. Z. P. Xiao, Z. Y. Peng, J. J. Dong, R. C. Deng, X. D. Wang, H. Ouyang, Synthesis, molecular docking and kinetic properties of β -hydroxy- β -phenylpropionylhydroxamic acids as *Helicobacter pylori* urease inhibitors, *Eur. J. Med. Chem.*, **2013**, 68, 212-221.

-
183. W. K. Shi, R. C. Deng, P. F. Wang, Q. Q. Yue, Q. Liu, K. L. Ding, 3-Arylpropionylhydroxamic acid derivatives as *Helicobacter pylori* urease inhibitors: Synthesis, molecular docking and biological evaluation, *Bioorg. Med. Chem.*, **2016**, *24*, 4519-4527.
184. B. B. Sokmen, H. C. Onar, A. Yusufoglu, R. Yanardag, Antielastase, antiurease and antioxidante activities of (3-13)-monohydroxyeicosanoic acid isomers, *J. Serb. Chem. Soc.*, **2012**, *77*, 1353-1361.
185. B. B. Sokmen, B. Hasdemir, A. Yusufoglu, R. Yanardag, Some monohydroxy tetradecanoic acid isomers as novel urease and elastase inhibitors and as new antioxidants, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **2014**, *172*, 1358-1364.
186. T. Tanaka, M. Kawase, S. Tani, Urease inhibitory activity of simple α,β -unsaturated ketones, *Life Sci.*, **2005**, *73*, 2985-2990.
187. G. Zhao, T. Yu, R. Wang, X. Wang, Y. Jing, Synthesis and structure-activity relationship of ethacrynic acid analogues on glutathione-s-transferase P1-1 activity inhibition, *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, *13*, 4056-4062.
188. G. Zhao, C. Liu, R. Wang, D. Song, X. Wang, H. Lou, The synthesis of α,β -unsaturated carbonyl derivatives with the ability to inhibit both glutathione S-transferase P1-1 activity and the proliferation of leukemia cells, *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, *15*, 2701-2707.
189. I. Janser, C. M. Vortolomei, R. K. Meka, C. A. Walsh, R. F. J. Janser, Ethacrynic acid as a lead structure for the development of potent urease inhibitors, *C. R. Chim.*, **2013**, *16*, 660-664.
190. T. Tanaka, M. Kawase, S. Tani, α -Hydroxyketones as inhibitors of urease, *Bioorg. Med. Chem.*, **2004**, *12*, 501-505.
191. H. Q. Li, Z. P. Xiao, Yin-Luo, T. Yan, P. C. Lv, H. L. Zhu, Amines and oximes derived from deoxybenzoins as *Helicobacter pylori* urease inhibitors, *Eur. J. Med. Chem.*, **2009**, *44*, 2246-2251.

-
192. Z. P. Xiao, T. W. Ma, W. C. Fu, X. C. Peng, A. H. Zhang, H. L. Zhu, The synthesis, structure and activity evaluation of pyrogallol and catechol derivatives as *Helicobacter pylori* urease inhibitors, *Eur. J. Med. Chem.*, **2010**, *45*, 5064-5070.
193. Z. P. Xiao, W. K. Shi, P. F. Wang, W. Wei, X. T. Zeng, J. R. Zhang, Synthesis and evaluation of *N*-analogs of 1,2-diarylethane as *Helicobacter pylori* urease inhibitors, *J. Med. Chem.*, **2015**, *23*, 4508-4513.
194. L. Mazzei, M. Cianci, F. Musian, G. Lente, M. Palombo, S. Ciurli, Inactivation of urease by catechol: Kinetics and structure, *J. Inorg. Biochem.*, **2017**, *166*, 182-189.
195. A. Pagoni, T. Daliani, K. Macegoniuk, S. Vassiliou, Ł. Berlickib, Catechol-based inhibitors of bacterial urease, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2019**, *29*, 1085-1089.
196. C. Agami, F. Couty, The reactivity of the *N*-Boc protecting group: an underrated feature, *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 2701-2724.
197. M. Bodanszky, A. Bodanszky, *The Practice of Peptide Synthesis*, **1994**, Springer, Berlin.
198. Z. Wang, *Steglich Catalyst, Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*, **2009**, John Wiley & Sons, Inc., New Jersey.
199. B. Neises, W. Steglich, Simple Method for the Esterification of Carboxylic Acids, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1978**, *17*, 522-524.
200. A. El-Faham, F. Albericio, Peptide Coupling Reagents, More than a Letter Soup, *Chem. Rev.*, **2011**, *111*, 6557-6602.
201. J. C. Sheehan, P. A. Cruickshank, G. L. Boshart, Notes- A Convenient Synthesis of Water-Soluble Carbodiimides , *J. Org. Chem.*, **1961**, *26*, 2525-2528.
202. M. Tsakos, E. S. Schaffert, L. L. Clement, N. L. Villadsen, Thomas. B. Poulsen, Ester Coupling Reactions— an Enduring Challenge in the Chemical Synthesis of Bioactive Natural Products, *Nat. Prod. Rep.*, **2015**, *32*, 605-632.

-
203. D. F. DeTar, R. Silverstein, Reactions of Carbodiimides. II. The Reactions of Dicyclohexylcarbodiimide with Carboxylic Acids in the Presence of Amines and Phenols, *J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, *88*, 1020-1023.
204. L. C. Chan, B. G. Cox, Kinetics of Amide Formation through Carbodiimide/*N*-Hydroxybenzotriazole (HOBt) Couplings, *J. Org. Chem.*, **2007**, *72*, 8863-8869.
205. A. F. Wagner, E. Walton, G. E. Boxer, M. P. Pruss, F. W. Holly, K. Folkers, Properties and Derivatives of α -Lipoic Acid, *J. Am. Chem. Soc.*, **1956**, *78*, 5079-5081.
206. J. A. Barltrop, P. M. Hayes, M. Calvin, The Chemistry of 1,2-Dithiolane (Trimethylene Disulfide) as a Model for the Primary Quantum Conversion Act in Photosynthesis, *J. Am. Chem. Soc.*, **1954**, *76*, 4348-4367.
207. R. C. Thomas, L. J. Reed, Disulfide Polymers of DL- α -Lipoic Acid, *J. Am. Chem. Soc.*, **1956**, *78*, 6148-6149.
208. P. R. Brown, J. O. Edwards, Effect of solvent on the photolysis of alpha-lipoic acid, *J. Org. Chem.*, **1969**, *34*, 3131-3135.
209. L. J. Reed, C. I. Niu, Syntheses of DL- α -Lipoic Acid, *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, *77*, 416-419.
210. M. Koufaki, C. Kiziridi, F. Nikoloudaki, M. N. Alexis, Design and synthesis of 1,2-dithiolane derivatives and evaluation of their neuroprotective activity, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, *17*, 4223-4227.
211. M. T. Konieczny, G. Maciejewski, W. Konieczny, Selectivity Adjustment in the Cleavage of Allyl Phenyl and Methyl Phenyl Ethers with Boron Trifluoride-Methyl Sulfide Complex, *Synthesis*, **2005**, *10*, 1575-1577.
212. D. R. Compton, S. Sheng, K. E. Carlson, N. A. Rebacz, I. Y. Lee, B. S. Katzenellenbogen, J. A. Katzenellenbogen, Pyrazolo[1,5- α]pyrimidines: Estrogen Receptor Ligands Possessing Estrogen Receptor β Antagonist Activity, *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 5872-5893.

-
213. K. Fugi, T. Kawabata, E. Fujita, Hard acid and soft nucleophile system. IV. Removal of benzyl protecting group with boron trifluoride etherate and dimethyl sulfide, *Chem. Pharm. Bull.*, **1980**, *28*, 3662-3664.
214. A. Krapcho, C. Kuell, Mono-protected diamines. *N-tert*-butoxycarbonyl- α,ω -alkanediamines from α,ω -alkanediamines, *Synth. Commun.*, **1990**, *20*, 2559-2564.
215. H. F. Lewis, S. Shaffer, W. Trieschmann, H. Cogan, Methylation of Phenol by Dimethyl Sulfate, *J. Ind. Eng. Chem.*, **1930**, *22*, 34-36.
216. V. Rogakos, D. Georgiadis, V. Dive, A. Yiotakis, A Modular Rearrangement Approach toward Medicinally Relevant Phosphinic Structures, *Org. Lett.*, **2009**, *11*, 4696-4699.
217. C. M. Sevrain, M. Berchel, H. Couthon, P. A. Jaffrès, Phosphonic acid: preparation and applications, *Beilstein J. Org. Chem.*, **2017**, *13*, 2186-2213.
218. F. Al-Ali, A. Brun, F. Rodrigues, G. Etemad-Moghadam, I. Rico-Lattes, New Catanionic Amphiphiles Derived from the Associative Systems (α -Hydroxyalkyl)-phosphinic or (α -Hydroxyalkyl)-phosphonic Acid/Cetyltrimethylammonium Hydroxide. Preparation, Characterization, and Self-Organization Properties, *Langmuir*, **2003**, *19*, 6678-6684.
219. G. O. Doak, L. D. Freedman, The Structure And Properties Of The Dialkyl Phosponates, *Chem. Rev.*, **1961**, *61*, 31-44.
220. D. Albouy, A. Brun, A. Munoz, G. Etemad-Moghadam, New (α -Hydroxyalkyl)phosphorus Amphiphiles: Synthesis and Dissociation Constants, *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, 7223-7230.
221. E. A. Boyd, M. E. K. Boyd, V. M. Loh Jr., Facile synthesis of functionalised phenylphosphinic acid derivatives, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 1651-1654.
222. J. K. Thottathil, D. E. Ryono, C. A. Przybyla, J. L. Moniot, R. Neubeck, Preparation of phosphinic acids: Michael additions of phosphonous

acids/esters to conjugated systems, *Tetrahedron Lett.*, **1984**, 25, 4741-4744.

223. E. A. Boyda, M. Corless, K. James, A. C. Regan, A versatile route to substituted phosphinic acids, *Tetrahedron Lett.*, **1990**, 31, 2933-2936.

224. E. Land, A. Perona, C. A. Ramsden, P. A. Riley, Dopamine quinone chemistry: a study of the influence of amide, amidine and guanidine substituents [-NH-CX-Y] on the mode of reaction, *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, 7, 944-950.

225. G. Allegretta, E. Weidel, M. Empting, R. W. Hartmann, Catechol-based substrates of chalcone synthase as a scaffold for novel inhibitors of PqsD, *Eur. J. Med. Chem.*, **2015**, 90, 351-359.

226. J. Burt, J. W. Emsley, W. Levason, G. Reid, I. S. Tinkler, Systematics of BX_3 and BX_2^+ Complexes (X = F, Cl, Br, I) with Neutral Diphosphine and Diarsine Ligands, *Inorg. Chem.*, **2016**, 55, 8852-8864.

227. B. M. Trost, Selectivity: a key to synthetic efficiency, *Science*, **1983**, 219, 245-250.

228. B. M. Trost, The Atom Economy-A Search for Synthetic Efficiency, *Science*, **1991**, 254, 1471-1477.

229. D. Basavaiah, P. D. Rao, R. S. Hyma, The Baylis-Hillman Reaction: A Novel Carbon-Carbon Bond Forming Reaction, *Tetrahedron*, **1996**, 52, 8001-8062.

230. E. Giganek, The catalyzed α -hydroxyalkylation and α -aminoalkylation of activated olefins (the Morita-Baylis-Hillman reaction), *Org. React.*, **1997**, 51, 201-277.

231. M. L. Bode, P. T. Kaye, A kinetic and mechanistic study of the Baylis-Hillman reaction, *Tetrahedron Lett.*, **1991**, 32, 5611-5614.

232. M. Kalyva, A. L. Zografos, E. Kapourani, E. Giambazolias, L. Devel, A. Papakyriakou, V. Dive, Y. G. Lazarou, D. Georgiadis, 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.

233. B. Lipp, A. Lipp, H. Detert, T. Opatz, Light-Induced Alkylation of (Hetero)aromatic Nitriles in a Transition-Metal-Free C-C-Bond Metathesis, *Org. Lett.*, **2017**, *19*, 2054-2057.

234. S. Vassiliou, E. Węglarz-Tomczak, L. Berlicki, M. Pawełczak, B. Nocek, R. Mulligan, A. Joachimiak, A. Mucha, Structure-Guided, Single-Point Modifications in the Phosphinic Dipeptide Structure Yield Highly Potent and Selective Inhibitors of Neutral Aminopeptidases, *J. Med. Chem.*, **2014**, *57*, 8140-8151.

235. J. F. Morrison, C. T. Walsh, The behavior and significance of slow-binding enzyme inhibitors, *Adv. Enzymol.*, **1988**, *61*, 201-301.

236. R. A. Copeland, *Evaluation of Enzyme Inhibitors in Drug Discovery: A Guide for Medicinal Chemists and Pharmacologists*, **2013**, John Wiley & Sons, New Jersey.

237. J. M. Strelow, A perspective on the kinetics of covalent and irreversible inhibition, *SLAS Discov.*, **2017**, *22*, 3-20.

238. N. Schweigert, A. J. Zehnder, R. I. Eggen, Chemical properties of catechols and their molecular modes of toxic action in cells, from microorganisms to mammals, *Environ. Microbiol.*, **2001**, *3*, 81-91.

239. J. Kroll, M. R. Harshadrai, S. Rohn, Reactions of plant phenolics with food proteins and enzymes under special consideration of covalent bonds, *Food Sci. Technol. Res.*, **2003**, *9*, 205-218.

240. G. N. L. Jameson, J. Zhang, R. F. Jameson, W. Linert, Kinetic evidence that cysteine reacts with dopaminoquinone via reversible adduct formation to yield 5-cysteinyl-dopamine: an important precursor of neuromelanin, *Org. Biomol. Chem.*, **2004**, *2*, 777-782.

241. Y. Li, S. Jongberg, M. L. Andersen, M. J. Davies, M. N. Lund, Quinone-induced protein modifications: Kinetic preference for reaction of

1,2-benzoquinones with thiol groups in proteins, *Free Radical Biol. Med.*, **2016**, *97*, 148-157.

242. T. Suzuki, Y. Nagano, A. Kouketsu, A. Matsuura, S. Maruyama, M. Kurotaki, H. Nakagawa, N. Miyata, Novel Inhibitors of Human Histone Deacetylases: Design, Synthesis, Enzyme Inhibition, and Cancer Cell Growth Inhibition of SAHA-Based Non-hydroxamates, *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 1019-1032.

243. A. K. Ghosh, A. Sarkar, M. Brindisi, The Curtius rearrangement: mechanistic insight and recent applications in natural product syntheses, *Org. Biomol. Chem.*, **2018**, *16*, 2006-2027.

244. T. Curtius, Ueber Stickstoffwasserstoffsäure (Azoimid) N₃H, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1890**, *23*, 3023-3033.

245. T. Curtius, 20: Hydrazide und Azide organischer Säuren I. Abhandlung, *J. Prakt. Chem.*, **1894**, *50*, 275-294.

246. J. H. Saunders, R. J. Slocombe, The Chemistry of the Organic Isocyanates, *Chem. Rev.*, **1948**, *43*, 203-218.

247. K. Ninomiya, T. Shioiri, S. Yamada, Phosphorus in organic synthesis-VII: Diphenyl phosphorazidate (DPPA): A new convenient reagent for a modified curtius reaction, *Tetrahedron*, **1974**, *30*, 2151-2157.

248. T. Shioiri, S. Yamada, K. Ninomiya, Diphenylphosphoryl azide: New convenient reagent for a modified Curtius reaction and for peptide synthesis, *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, *94*, 6203-6205.

249. O. Wolff, S. R. Waldvogel, Reliable Protocol for the Large Scale Synthesis of Diphenylphosphoryl Azide (DPPA), *Synthesis*, **2004**, 1303-1305.

250. A. K. Ghosh, M. Brindisi, A. Sarkar, The Curtius Rearrangement: Applications in Modern Drug Discovery and Medicinal Chemistry, *ChemMedChem*, **2018**, *13*, 2351-2373.

251. R. Adams, *Organic Reactions, Volume 3*, **1946**, John Wiley & Sons, Inc., New York.

-
252. K. Clausen, I. Thomsen, S. Scheibye, S. O. Lawesson, Thiation with 2,4-bis(4-methoxyphenyl)-1,3,2,4-dithiadiphosphetane 2,4-disulfide: *N*-methylthiopyrrolidone, *Org. Synth.*, **1990**, *7*, 372.
253. E. Zaorska, T. Hutsch, M. Gawryś-Kopczyńska, R. Ostaszewski, M. Ufnal, D. Koszelewski, Evaluation of thioamides, thiolactams and thioureas as hydrogen sulfide (H₂S) donors for lowering blood pressure, *Bioorg. Chem.*, **2019**, *88*. (doi: 10.1016/j.bioorg.2019.102941)
254. M. Jesberger, T. P. Davis, L. Barner, Applications of Lawesson's Reagent in Organic and Organometallic Syntheses, *Synthesis*, **2003**, *13*, 1929-1958.
255. H. Z. Lecher, R. A. Greenwood, K. C. Whitehouse, T. H. Chao, The Phosphonation of Aromatic Compounds with Phosphorus Pentasulfide, *J. Am. Chem. Soc.*, **1956**, *78*, 5018-5022.
256. H. Hoffmann, G. Schumacher, Umsetzungen mit *p*-methoxyphenyl-dithio-phosphonsäure-anhydrid, *Tetrahedron Lett.*, **1967**, *31*, 2963-2966.
257. M. P. Cava, M. I. Levinson, Thionation Reactions of Lawesson's Reagents, *Tetrahedron*, **1985**, *41*, 5061-5087.
258. T. Ozturk, E. Ertas, O. Mert, Use of Lawesson's Reagent in Organic Syntheses, *Chem. Rev.*, **2007**, *107*, 5210-5278.
259. M. Yoshifuji, D. L. An, K. Toyota, M. Yasunami, 2,4-Di-*t*-butyl-6-methoxyphenyldithioxophosphorane as a probe for the mechanistic studies of Lawesson's reagent, *Tetrahedron Lett.*, **1994**, *35*, 4379-4382.
260. T. Rauchfuss, G. Zank, Mechanistic studies on the thiation of carbonyls by Lawesson's reagent: The role of a 3-coordinate phosphorus (V) species, *Tetrahedron Lett.*, **1986**, *27*, 3445-3448.
261. D. E. C. Corbridge, *Phosphorus An Outline of its Chemistry Biochemistry and Technology*, **1980**, Elsevier, Amsterdam.
262. P. Bao, L. Wang, H. Yue, Y. Shao, J. Wen, D. Yang, X. Zhao, H. Wang, W. Wei, Metal-Free Catalytic Synthesis of Thiocarbamates Using

Sodium Sulfinates as the Sulfur Source, *J. Org. Chem.*, **2019**, *84*, 2976-2983.

263. (α) F. Xiao, H. Xie, S. Liu, G. Deng, Iodine Catalyzed Regioselective Sulfonylation of Indoles with Sodium Sulfinates, *Adv. Synth. Catal.*, **2014**, *356*, 364-368. (β) Y. Chen, F. Xiao, H. Chen, S. Liu, G. Deng, Iodine-promoted 2-arylsulfanylphenol formation using cyclohexanones as phenol source, *RSC Adv.*, **2014**, *4*, 44621-44628. (γ) F. Xiao, S. Chen, J. Tian, H. Huang, Y. Liu, G. J. Deng, Chemoselective cross-coupling reaction of sodium sulfinates with phenols under aqueous conditions, *Green Chem.*, **2016**, *18*, 1538-1546.

264. (α) Y. M. Lin, G. P. Lu, C. Cai, W. B. Yi, Odorless, One-Pot Regio- and Stereoselective Iodothiolation of Alkynes with Sodium Arenesulfinates under Metal-Free Conditions in Water, *Org. Lett.*, **2015**, *17*, 3310-3313. (β) Y. M. Lin, G. P. Lu, G. X. Wang, W. B. Yi, Odorless, Regioselective Synthesis of Diaryl Sulfides and α -Thioaryl Carbonyls from Sodium Arylsulfinates via a Metal-Free Radical Strategy in Water, *Adv. Synth. Catal.*, **2016**, *358*, 4100-4105. (γ) Y. M. Lin, G. P. Lu, G. X. Wang, W. B. Yi, Acid/Phosphide-Induced Radical Route to Alkyl and Alkenyl Sulfides and Phosphonothioates from Sodium Arylsulfinates in Water, *J. Org. Chem.*, **2017**, *82*, 382-389.

265. (α) P. Katrun, C. Mueangkaew, M. Pohmakotr, V. Reutrakul, T. Jaipetch, D. Soorukram, C. Kuhakarn, Regioselective C2 Sulfonylation of Indoles Mediated by Molecular Iodine, *J. Org. Chem.*, **2014**, *79*, 1778-1785. (β) A. G. Larsen, A. H. Holm, M. Roberson, K. Daasbjerg, Substituent effects on the oxidation and reduction potentials of phenylthiyl radicals in acetonitrile, *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 1723-1729. (γ) C. Ji, M. Ahmida, M. Chahma, A. Houmam, Radical/ion pair formation in the electrochemical reduction of arene sulfonyl chlorides, *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 15423-15431.

266. P. Mampuys, Y. Zhu, S. Sergeev, E. Ruijter, R. V. A. Orru, S. Van Doorslaer, B. U. W. Maes, Iodide-Catalyzed Synthesis of Secondary

Thiocarbamates from Isocyanides and Thiosulfonates, *Org. Lett.*, **2016**, *18*, 2808-2811.

267. R. S. Pathare, V. Patil, H. Kaur, A. K. Maurya, V. K. Agnihotri, S. Khan, N. Devunuri, A. Sharon, D. M. Sawant, Iodine-catalyzed cross-coupling of isocyanides and thiols for the synthesis of S-thiocarbamates, *Org. Biomol. Chem.*, **2018**, *16*, 8263-8266.

268. W. Wei, P. Bao, H. Yue, S. Liu, L. Wang, Y. Li, D. Yang, Visible-Light-Enabled Construction of Thiocarbamates from Isocyanides, Thiols, and Water at Room Temperature, *Org. Lett.*, **2018**, *20*, 5291-5295.

269. Y. He, Y. C. Wang, K. Hu, X. L. Xu, H. S. Wang, Y. M. Pan, Palladium-Catalyzed Synthesis of 5-Iminopyrrolones through Isocyanide Double Insertion Reaction with Terminal Alkynes and Water, *J. Org. Chem.*, **2016**, *81*, 11813-11818.

270. X. Liu, H. Cui, D. Yang, S. Dai, G. Zhang, W. Wei, H. Wang, Iodine-catalyzed Direct Thiolation of Indoles with Thiols Leading to 3-Thioindoles Using Air as the Oxidant, *Catal. Lett.*, **2016**, *146*, 1743-1748.

271. P. Franzmann, S. Trosien, M. Schubert, S. R. Waldvogel, Modular Approach to 9-Monosubstituted Fluorene Derivatives Using Mo^V Reagents, *Org. Lett.*, **2016**, *18*, 1182-1185.

272. O. Demmer, A. O. Frank, F. Hagn, M. Schottelius, L. Marinelli, S. Cosconati, R. Brack-Werner, S. Kremb, H. J. Wester, H. Kessler, A Conformationally Frozen Peptoid Boosts CXCR4 Affinity and Anti-HIV Activity, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2012**, *51*, 8110-8113.

273. V. Singh, S. Wang, E. T. Kool, Correction to "Genetically Encoded Multispectral Labeling of Proteins with Polyfluorophores on a DNA Backbone, *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, *139*, 2118-2118.

274. M. Kitajima, Y. Murakami, N. Takahashi, Y. Wu, N. Kogure, R.-P. Zhang, H. Takayama, Asymmetric Total Synthesis of Novel Pentacyclic Indole Alkaloid, Kopsiyunnanine E, Isolated from *Kopsia arborea*, *Org. Lett.*, **2014**, *16*, 5000-5003.

-
275. J. Hoffmann, U. Kazmaier, A Straightforward Approach towards Cyclic Photoactivatable Tubulysin Derivatives, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, *53*, 11356-11360.
276. D. Muller, I. Zeltser, G. Bitan, C. Gilon, Building Units for N-Backbone Cyclic Peptides. 3. Synthesis of Protected N^{α} -(ω -Aminoalkyl)amino Acids and N^{α} -(ω -Carboxyalkyl)amino Acids, *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 411-416.
277. T. Yanagimoto, S. Kishimoto, Y. Kasai, N. Matsui, M. Kubo, H. Yamamoto, Y. Fukuyama, H. Imagawa, Design and synthesis of dual active neovibsanin derivatives based on a chemical structure merging method, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2020**, *30*. (doi: 10.1016/j.bmcl.2020.127497)
278. M. Santos, D. Fernandes, M. Rodrigues, T. Regiani, A. Andricopulo, A. L. Ruiz, D. Vendramini-Costa, J. de Carvalho, M. Eberlin, F. Coelho, Diastereoselective Synthesis of Biologically Active Cyclopenta[*b*]indoles, *J. Org. Chem.*, **2016**, *81*, 6626-6639.
279. L. M. Yang, S. J. Lin, T. H. Yang, K. H. Lee, Synthesis and anti-HIV activity of dibenzylbutyrolactone lignans, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1996**, *6*, 941-944.
280. S. S. Jew, H. A. Kim, J. H. Kim, H. G. Park, Enantioselective Synthesis of Eucomols Using Sharpless Catalytic Asymmetric Dihydroxylation, *Heterocycles*, **1997**, *46*, 65-70.
281. M. Figlus, A. C. Tarruella, A. Messer, S. L. Sollis, R. C. Hartley, Low molecular weight MPEG-assisted organic synthesis, *Chem. Commun.*, **2010**, *46*, 4405-4407.
282. G. Goroba Pawar, F. Robert, E. Grau, H. Cramail, Y. Landais, Visible-light photocatalyzed oxidative decarboxylation of oxamic acids: a green route to urethanes and ureas, *Chem. Commun.*, **2018**, *54*, 9337-9340.
283. T. M. Chapman, K. J. Gillen, C. Wallace, M. T. Lee, P. Bakrania, P. Khurana, P. J. Coombs, L. Stennett, S. Fox, E. A. Bureau, J. Brownlees, D. W. Melton, B. Saxty, Catechols and 3-hydroxypyridones as inhibitors of the DNA repair complex ERCC1-XPF, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2015**, *25*, 4097-4103.

-
284. W. Van Zyl, J. Fackler, A General and Convenient Route to Dithiophosphonate Salt Derivatives, *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.*, **2000**, *167*, 117-132.
285. K. H. Kong, C. K. Tan, X. Lin, Y. Lam, A Versatile Thiouronium-Based Solid-Phase Synthesis of 1,3,5-Triazines, *Chem. Eur. J.*, **2012**, *18*, 1476-1486.
286. A. Leslie, T. S. Moody, M. Smyth, S. Wharry, M. Baumann, Coupling biocatalysis with high-energy flow reactions for the synthesis of carbamates and β -amino acid derivatives, *Beilstein J. Org. Chem.*, **2021**, *17*, 379-384.
287. Z. Aouf, R. Mansouri, S. Lakrout, M. Berredjem, N. E. Aouf, A Simple, Efficient, Catalyst-Free and Solvent-Less Microwave-Assisted Process for *N*-Cbz Protection of Several Amines, *J. Korean Chem. Soc.*, **2017**, *61*, 151-156.