



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ,
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ, ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

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

**ΔΙΑΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΟΡΓΑΝΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗ ΧΗΜΙΚΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ»**

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

Σύνθεση νιτροαλκενίων που βασίζονται σε α-αμινοξέα

**ΒΕΛΙΣΑΡΙΑ- ΕΛΕΝΗ ΓΕΡΟΓΙΑΝΝΗ
ΧΗΜΙΚΟΣ**

ΑΘΗΝΑ

ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ 2021

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

Σύνθεση νιτροαλκενίων που βασίζονται σε α-αμινοξέα

Βελισαρία- Ελένη Γερογιάννη

A.M.: 191504

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: **Γεώργιος Κόκοτος, Καθηγητής**

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Γεώργιος Κόκοτος, Καθηγητής

Σταματία Βασιλείου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια

Εμμανουήλ Μικρός, Καθηγητής

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ 25/10/2021

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα πεπτιδικά νιτροαλκένια μπορούν να δράσουν ως αναστολείς ενζύμων κυστεΐνης και σερίνης με αντιστρεπτό ή μη αντιστρεπτό τρόπο. Συνεπώς, οι ενώσεις αυτές παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον όσον αφορά στη σύνθεσή τους, στη μελέτη της βιολογική τους δράσης και στη δυνατότητα τους να αναπτυχθούν σε φάρμακα.

Το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών έχει μακρόχρονη παράδοση στην ανάπτυξη αναστολέων με φαρμακολογική δράση. Στα πλαίσια αυτά, τα δύο τελευταία έτη έχει δραστηριοποιηθεί στον τομέα λιπιδικών και πεπτιδικών νιτροαλκενίων.

Στην παρούσα εργασία, διεξήχθη λεπτομερειακή μελέτη της σύνθεσης νιτροαλκενίων που βασίζονται σε α-αμινοξέα. Μια μεγάλη ποικιλία *N*-προστατευμένων φυσικών α-αμινοξέων μετατράπηκε στις αντίστοιχες αμινοαλκοόλες και οι *N*-προστατευμένες αμινοαλδεΐδες που προέκυψαν αντέδρασαν με σειρά νιτροαλκανίων μέσω μιας αντίδρασης Henry. Οι ενδιάμεσες υδρόξυ-νίτρο ενώσεις που προέκυψαν μέσω απόσπασης οδήγησαν στα επιθυμητά νιτροαλκένια.

Στην προσπάθεια σύνθεσης νιτροαλκενίου, βασισμένου σε α-αμινοξύ, που να περιέχει ελεύθερη καρβοξυλομάδα κατάλληλη προς σύζευξη, μελετήθηκε η ενζυμική αποπροστασία μεθυλεστέρα. Η ακινητοποιημένη λιπάση CAL-B οδήγησε στο προϊόν σε υψηλή απόδοση, σε εξαιρετικά ήπιες συνθήκες, αποφεύγοντας τον κίνδυνο παράπλευρων αντιδράσεων.

Συμπερασματικά, στην παρούσα εργασία, μελετήθηκαν πρωτόκολλα για την αποτελεσματική σύνθεση νιτροαλκενίων ξεκινώντας από πρώτες ύλες φυσικά αμινοξέα.

ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: Οργανική Σύνθεση, Αμινοξέα

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: αμινοξέα, αναστολείς, βιοκατάλυση, ένζυμα, νιτροαλκένια

ABSTRACT

Peptide nitroalkenes may act as inhibitors of the cysteine and serine proteases in a reversible or irreversible manner. Therefore, these compounds are of particular interest in terms of their synthesis, the study of their biological activity and their ability to be developed into drugs.

The Laboratory of Organic Chemistry of the University of Athens has a long tradition in the development of inhibitors with pharmacological action. In this context, the last two years our group has been active in the field of lipid and peptide nitroalkenes.

In the present thesis, a detailed study of the synthesis of nitroalkenes based on α -amino acids was performed. A large variety of *N*-protected natural α -amino acids were converted to the corresponding amino alcohols and the resulting *N*-protected amino aldehydes reacted with a series of nitroalkanes via a Henry reaction. The resulting hydroxy-nitro intermediates led to the desired nitroalkenes via elimination reaction.

In the attempt to synthesize a nitroalkene, based on α -amino acid, containing a carboxyl group suitable for coupling, the enzymatic deprotection of methyl ester was studied. Immobilized CAL-B lipase led the product in high yield, under extremely mild conditions, avoiding the risk of side reactions.

In conclusion, in the present work, protocols for the efficient synthesis of nitroalkenes starting from natural amino acid precursors were studied.

SUBJECT AREA: Organic Synthesis, Amino Acids

KEYWORDS: amino acids, biocatalysis, enzymes, inhibitors, nitroalkenes

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Γεώργιο Κόκοτο που μου εμπιστεύτηκε το θέμα της παρούσας εργασίας, για την καθοδήγησή του και τις συμβουλές του σε όλη τη διάρκεια της εκπόνησής και της συγγραφής αυτής της διατριβής και για την ευκαιρία που μου έδωσε να συμμετέχω στην ερευνητική του ομάδα. Η παρούσα εργασία εντάσσεται στα ερευνητικά προγράμματα του Καθηγητή Γ. Κόκοτου που αφορούν στην ανάπτυξη καινοτόμων ενώσεων με φαρμακολογική δράση.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς επιτροπής, την Ανπληρώτρια Καθηγήτρια Σταματία Βασιλείου και τον Καθηγητή Εμμανουήλ Μικρό, για το χρόνο που διέθεσαν και τις πολύτιμες παρατηρήσεις τους.

Θα ήθελα, ακόμη, να ευχαριστήσω τον Δρ. Δημήτριο-Τριαντάφυλλο Γεροκωνσταντή για τις γνώσεις που μου μετέδωσε και τη βοήθεια που μου προσέφερε στο Εργαστήριο, τον υποψήφιο διδάκτορα Γιώργο Κουτουλογένη για τη βοήθεια που μου έδωσε στην αρχή της Διπλωματικής Εργασίας μου, και τις υποψήφιες διδάκτορες Χριστιάνα Μαντζουράνη και Μαρία Θεοδωροπούλου για την άψογη συνεργασία μας, τη βοήθεια που μου προσέφεραν εντός και εκτός του εργαστηρίου και το ευχάριστο κλίμα.

Ακόμη θα ήθελα να ευχαριστήσω την Δρ. Εσθήρ Σακκή για τη λήψη Φασμάτων Μάζας. Επίσης, ευχαριστώ τη Χριστιάνα Μαντζουράνη, καθώς και τη Δρ. Μαρούλα Κόκοτου, για τη λήψη των Φασμάτων Μάζας Υψηλής Διακριτικής Ικανότητας.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω και όλα τα υπόλοιπα μέλη του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας για το όμορφο και συνεργατικό κλίμα που υπήρχε μεταξύ μας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια και τους φίλους μου που στάθηκαν δίπλα μου και με στήριξαν σε κάθε μου βήμα.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα το Ίδρυμα Ευγενίδου για τη χορήγηση υποτροφίας.



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
ABSTRACT	6
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΠΕΠΤΙΔΙΚΑ ΝΙΤΡΟΑΛΚΕΝΙΑ ΩΣ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΠΡΩΤΕΑΣΩΝ	20
1.1 Γενικά για τις πρωτεάσες κυστεΐνης παρασίτων	20
1.2 Νιτροαλκένια και δράση τους ως αντιστρεπτοί αναστολείς πρωτεασών κυστεΐνης	22
1.3 Νιτροαλκένια και δράση τους ως μη αντιστρεπτοί αναστολείς πρωτεασών σερίνης	25
1.4 Συνθέσεις νιτροαλκοολών ως προϊόντα της αντίδρασης Henry	27
1.5 Συνθέσεις των νιτροαλκενίων από νιτροαλκοόλες	34
1.6 Συνθέσεις διπεπτιδύλο νιτροαλκενίων	35
1.6.1 1 ^η Ολική μέθοδος σύνθεσης διπεπτιδύλο νιτροαλκενίων από αλδεΐδη <i>N</i> - προστατευμένου αμινοξέος	35
1.6.2 2 ^η Ολική μέθοδος σύνθεσης διπεπτιδύλο νιτροαλκενίων από αλδεΐδη <i>N</i> - προστατευμένου αμινοξέος	36
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΧΡΗΣΗ ΕΝΖΥΜΩΝ ΣΤΗΝ ΟΡΓΑΝΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ-ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗΝ ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗ ΚΑΡΒΟΞΥΛΟ ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΟΜΑΔΩΝ	37
2.1 Ένζυμα ως καταλύτες χημικών μετατροπών	37
2.2 Πλεονεκτήματα χρήσης ενζύμων	37
2.3 Ενζυμικές αντιδράσεις απομάκρυνσης προστατευτικής ομάδας από καρβοξύλιο	38
2.3.1 Αποπροστασία <i>tert</i> -βουτυλεστέρα	39
2.3.2 Αποπροστασία μεθυλεστέρα και βενζυλεστέρα	39
2.3.3 Αποπροστασία αλλυλεστέρα, χλωροαιθυλεστέρα και απλών εστέρων	44
2.4 Ενζυμικές αντιδράσεις στην παραλαβή φαρμάκων	45
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	52
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ΣΥΝΘΕΣΗ ΝΙΤΡΟΑΛΚΕΝΙΩΝ	53

4.1 Σχεδιασμός ενώσεων.....	53
4.2 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης	54
4.3 Σύνθεση του νιτροαλκενίου (S,E)- <i>tert</i> -βουτυλο-4-νιτρο-1-φαινυλεξ-3-εν-2-υλο) καρβαμίδιο (97)	56
4.4 Φάσματα νιτροαλκενίου (S,E)- <i>tert</i> -βουτυλο-4-νιτρο-1-φαινυλεξ-3-εν-2-υλο) καρβαμίδιο (97)	60
4.5 Σύνθεση του νιτροαλκενίου (S,E)-βενζυλο(4-νιτρο-1-φαινυλοβουτ-3-εν-2-υλο) καρβαμίδιο (98)	62
4.6 Φάσματα νιτροαλκενίου (S,E)-βενζυλο(4-νιτρο-1-φαινυλοβουτ-3-εν-2-υλο) καρβαμίδιο (98)	64
4.7 Σύνθεση του νιτροαλκενίου (S,E)-βενζυλο(4-νιτρο-1-φαινυλοπεντ-3-εν-2-υλο) καρβαμίδιο (99)	66
4.8 Φάσματα νιτροαλκενίου (S,E)-βενζυλο(4-νιτρο-1-φαινυλοπεντ-3-εν-2-υλο) καρβαμίδιο (99)	67
4.9 Σύνθεση του νιτροαλκενίου (S,E)-βενζυλο(4-νιτρο-1-φαινυλεξ-3-εν-2-υλο) καρβαμίδιο (100)	69
4.10 Φάσματα νιτροαλκενίου (S,E)-βενζυλο(4-νιτρο-1-φαινυλεξ-3-εν-2-υλο) καρβαμίδιο (100)	70
4.11 Σύνθεση του νιτροαλκενίου (S,E)- <i>tert</i> -βουτυλο(2-μεθυλο-6-νιτροοκτ-5-εν-4-υλ) καρβαμίδιο (101)	72
4.12 Σύνθεση του νιτροαλκενίου (S,E)-βενζυλο-(2-μεθυλο-6-νιτροοκτ-5-εν-4-υλ) καρβαμίδιο (102)	73
4.13 Σύνθεση του νιτροαλκενίου (S,E)-βενζυλο-2-(2-νιτροπροπ-1-εν-1-υλ)πυρρολιδινο-1-καρβοξυλαμίδιο (103).....	74
4.14 Φάσματα του νιτροαλκενίου (S,E)-βενζυλο-2-(2-νιτροπροπ-1-εν-1-υλ)πυρρολιδινο-1-καρβοξυλαμίδιο (103).....	75
4.15 Σύνθεση νιτροαλκενίων που βασίζονται στην Boc-L-νορλευκίνη (104, 105, 106)	77
4.16 Σύνθεση του νιτροαλκενίου (S,E)- <i>tert</i> -βουτυλο(1-(βενζυλοξυ)-4-νιτρονεξ-3-εν-2-υλ) καρβαμίδιο (107)	78

4.17 Σύνθεση του νιτροαλκενίου (<i>S,E</i>)- <i>tert</i> -βουτυλο(7-νιτρονον-6-εν-1,5-υλ)δικαρβαμίδιο (108).....	80
4.18 Φάσματα νιτροαλκενίου (<i>S,E</i>)- <i>tert</i> -βουτυλο(7-νιτρονον-6-εν-1,5-υλ)δικαρβαμίδιο (108).....	81
4.19 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης του νιτροαλκενίου (<i>S,E</i>)-6-((4-νιτρο-1-φαινυλπεντ-3-εν-2-υλ)αμινο)-6-οξοεξανοϊκό οξύ (109).....	83
4.20 Σύνθεση του νιτροαλκενίου (<i>S,E</i>)-6-((4-νιτρο-1-φαινυλπεντ-3-εν-2-υλ)αμινο)-6-οξοεξανοϊκό οξύ (109)	84
4.21 Φάσματα νιτροαλκενίου (<i>S,E</i>)-6-((4-νιτρο-1-φαινυλπεντ-3-εν-2-υλ)αμινο)-6-οξοεξανοϊκό οξύ (109).....	86
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ – ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΙ ΕΝΩΣΕΩΝ	88
5.1. Γενικό πειραματικό μέρος	88
5.1.1. Αντιδραστήρια	88
5.1.2. Χρωματογραφικός έλεγχος αντιδράσεων	88
5.1.3. Χρωματογραφικός καθαρισμός ενώσεων	89
5.1.4. Χαρακτηρισμός ενώσεων	89
5.2. Συνθετικές μέθοδοι – Χαρακτηρισμοί ενώσεων	91
ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ	121
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	122

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1.1 Δομές των προφαρμάκων nifurtimox και benznidazole	22
Σχήμα 1.2 Γενική δομή διπεπτίδυλο νιτροαλκενίων με την καρβοβενζυλόξυ ομάδα ως προστατευτική της ακραίας αμινομάδας και διπεπτίδυλο ενώσεις που έχουν συντεθεί.	22
Σχήμα 1.3 Ο προτεινόμενος γενικός μηχανισμός της αντιστρεπτής αναστολής των πρωτεασών κυστεΐνης από πεπτίδυλο νιτροαλκένια.	24
Σχήμα 1.4 Μηχανισμός πρωτεόλυσης που διεξάγεται στο ενεργό κέντρο του ενζύμου από πρωτεάσες κυστεΐνης	25
Σχήμα 1.5 Ο προτεινόμενος γενικός μηχανισμός της μη αντιστρεπτής αναστολής των πρωτεασών σερίνης από διπεπτίδυλο νιτροαλκένια.....	26
Σχήμα 1.6 Μη αντιστρεπτοί αναστολείς σερίνης 2 και 3.	26
Σχήμα 1.7 Γενική αντίδραση Henry	27
Σχήμα 1.8 Γενική σύνθεση Boc-νιτροαλκοόλης ως προϊόν της αντίδρασης Henry σε Boc-αμινοαλδεΐδη.	28
Σχήμα 1.9 Σύνθεση πεπτίδυλο νιτροαλκενίου με βάση την προλίνη όπου PG η προστατευτική ομάδα του αμινοξέος (Boc, Cbz ή COOEt).	28
Σχήμα 1.10 Πυρρολίδινο και πιπερίδινο αλκαλοειδή που έχουν συντεθεί με χρήση της αντίδρασης Henry.	29
Σχήμα 1.11 Σύνθεση νιτροαλκοόλης της N-Boc προστατευμένης φαινυλαλανίνης και αναγωγή της κετόνης με βοροϋδρίδιο του νατρίου.	29
Σχήμα 1.12 Σύμπλοκα 17, 18, 19, 20 και υποκαταστάτες 21, 22, 23 και 24 συμπλόκου με κεντρικό μέταλλο το χαλκό ως Cu(II) (OAc) ₂ ως καταλύτες σε αντίδραση α-καρβονυλίωσης Henry.	30
Σχήμα 1.13 Αντίδραση Henry α-καρβονυλίωσης σε N-προστατευμένη αμινοαλδεΐδη με καταλύτη το La-Li-(R)-BINOL όπου PG η προστατευτική ομάδα του αζώτου και είναι Boc ή Cbz, R ₁ η πλευρική αλυσίδα του αρχικού αμινοξέος και R ₂ η άλκυλο ομάδα του νιτροαλκανίου, η οποία μπορεί να είναι CH ₃ , CH ₂ OH ή (OCH ₃)CH.	31
Σχήμα 1.14 Γενική δομή παραγώγων γουανιδίνης που έχουν δοκιμαστεί ως καταλύτες στην αντίδραση Henry. Τα R ₁ , R ₂ , R ₃ , R ₄ μπορεί να ταυτίζονται ή να περιέχουν ασύμμετρο κέντρο.	32
Σχήμα 1.15 Διλειτουργικός οργανοκαταλύτης με βάση τη γουανιδίνη και τη θειουρία που καταλύει την αντίδραση Henry.	32

Σχήμα 1.16 Αλκαλοειδή τα οποία λειτουργούν ως καταλύτες σε αντίδραση Henry. .	33
Σχήμα 1.17 Αντίδραση Henry με χρήση αλκαλοειδών ως οργανοκαταλύτες και προϊόντα αντίδρασης.	33
Σχήμα 1.18 Χρήση ενζύμου ως βιοκαταλύτης για την αντίδραση Henry.	33
Σχήμα 1.19 Χρήση βάσης για την πραγματοποίηση της αντίδρασης Henry και μετέπειτα χρήση ενζύμου για το σταθερότερο κινητικά εναντιομερές.....	34
Σχήμα 1.20 Γενική σύνθεση προστατευμένου νιτροαλκενίου από την αντίστοιχη νιτροαλκοόλη με MsCl σε CH_2Cl_2 και βάση τριαιθυλαμίνη ή N,N -διισοπροπυλαιθυλαμίνη, όπου PG η προστατευτική ομάδα Boc- ή Cbz-.	35
Σχήμα 1.21 Σύνθεση πεπτιδυλο νιτροαλκενίου όπου R_1 και R_2 οι πλευρικές αλυσίδες των αμινοξέων.	36
Σχήμα 1.22 Σύνθεση πεπτιδυλο νιτροαλκενίου όπου R_1 και R_3 οι πλευρικές αλυσίδες των αμινοξέων και R_2 είτε H είτε CH_3 με βάση το νιτροαλκάνιο που θα χρησιμοποιηθεί.	36
Σχήμα 2.1 Εκλεκτική ενζυμική αποπροστασία ομάδας <i>tert</i> -βουτυλεστέρα για τη σύνθεση καρβοξυλικού οξέος σε παράγωγα γ-αμινοβουτυρικού οξέος χωρίς να επηρεαστεί η προστατευτική ομάδα του αζώτου της αμινομάδας.....	39
Σχήμα 2.2 Εκλεκτική ενζυμική αποπροστασία μεθυλεστέρα και βενζυλεστέρα για τη σύνθεση καρβοξυλικού οξέος σε παράγωγα γ-αμινοβουτυρικού οξέος, διπεπτιδία και άλλες ευαίσθητες ενώσεις χωρίς να επηρεαστούν άλλες προστατευτικές ομάδες της ένωσης ή τμήματά της.....	40
Σχήμα 2.3 Ενζυμική υδρόλυση του εστέρα για την παραλαβή του φαρμάκου Cetraxate.	41
Σχήμα 2.4 Εκλεκτική ενζυμική υδρόλυση της ακετόξυ ομάδας κεφαλοσπορίνης.	41
Σχήμα 2.5 Τοποεκλεκτική ενζυμική αποακετυλίωση.....	42
Σχήμα 2.6 Διάνοιξη δακτυλίου A με κλασσικές τεχνικές χημείας ως ενδιάμεσο στάδιο για τη σύνθεση του φαρμάκου Oxandrolone	42
Σχήμα 2.7 Σύνθεση οπτικά ενεργών στατινών με χρήση ενζύμων.	43
Σχήμα 2.8 Παραλαβή του βασικού χειρόμορφου ενδιαμέσου για τη σύνθεση στατινών με βιοκατάλυση.	43
Σχήμα 2.9 Γενική ενζυμική αντίδραση και δομές των εστέρων.	44
Σχήμα 2.10 Εναντιοεκλεκτικότητα της τροποποιημένης λιπάσης.	45
Σχήμα 2.11 Σύνθεση του sitagliptin με τις κλασσικές τεχνικές χημείας.	46

Σχήμα 2.12 Περιγραφή για το σταδίο-κλειδί της σύνθεσης του Montelukast.	47
Σχήμα 2.13 Χρήση της ρεδοκτάσης για ενζυμική ασύμμετρη υδρογόνωση διπλού δεσμού σε ενδιάμεσο στάδιο της σύνθεσης του Tamsulosin.	47
Σχήμα 2.14 Δομές των φαρμάκων atazanavir, boceprevir και telaprevir	48
Σχήμα 2.15 Ενζυμική μετατροπή του 3,3-διμεθυλ-2-οξοβουτανοϊκού οξέος στην την (S)-tert-λευκίνη.....	49
Σχήμα 2.16 Ενζυμική οξείδωση Baeyer-Villiger σε ενδιάμεσο στάδιο της σύνθεσης του αντιικού φαρμάκου Showdomycin.	49
Σχήμα 2.17 Απεικόνιση συνθετικών σταδίων όπου χρησιμοποιούνται ένζυμα στη σύνθεση του indinavir.	50
Σχήμα 2.18 Απεικόνιση του ενζυμικού σταδίου όπου παραλαμβάνεται η χειρόμορφη διόλη ως ενδιάμεσο της σύνθεσης του αντιικού φαρμάκου Tamiflu.	50
Σχήμα 2.19 Γενική δομή των Kurasoins A 92 και Kurasoins B 93.	50
Σχήμα 2.20 Γενικός τύπος αντίδρασης με χρήση του ενζύμου αποκαρβοξυλάση του πυροσταφυλικού και το R καθορίζει την αλδεΐδη και αν είναι αλειφατική η διακλαδισμένη και από πόσα ανθρακοάτομα αποτελείται.	51
Σχήμα 3.1 Γενική δομή των νιτροαλκενίων που συντέθηκαν όπου PG η προστατευτική ομάδα (Boc-, Cbz-) της αμινομάδας του αμινοξέος, R ₁ η πλευρική αλυσίδα του αμινοξέος και R ₂ η αλυσίδα που προκύπτει από την εισαγωγή του νιτροαλκανίου στο στάδιο της αντίδρασης Henry.....	52
Σχήμα 4.1 Γενική δομή νιτροαλκενίων που βασίζονται σε α-αμινοξέα.....	53
Σχήμα 4.2 Παράγωγα νιτροαλκενίων που συντέθηκαν	54
Σχήμα 4.3 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης νιτροαλκενίων 97, 100, 101, 106, 107 και 108	55
Σχήμα 4.4 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης νιτροαλκενίων 98, 99, 102, 103, 104, 105, 107 και 109	56
Σχήμα 4.5 Αντίδραση προστασίας Boc της αμινομάδας της L-φαινυλαλανίνης.	56
Σχήμα 4.6 Μηχανισμός προστασίας Boc της αμινομάδας αμινοξέος	57
Σχήμα 4.7 Αντίδραση αναγωγής οξέος σε αλκοόλη με τη μέθοδο μικτών ανυδριτών/ NaBH ₄	57
Σχήμα 4.8 Μηχανισμός αναγωγής οξέος σε αλκοόλη μέσω μικτών ανυδριτών.	58
Σχήμα 4.9 Αντίδραση οξείδωσης αλκοόλης σε αλδεΐδη με AcNH-TEMPO και υδατικό διάλυμα NaOCl με NaBr.....	58

Σχήμα 4.10 Καταλυτικός μηχανισμός οξειδωσης της αλκοόλης σε αλδεΐδη με χρήση του αντιδραστηρίου AcNH-TEMPO και υδατικό διάλυμα NaOCl με NaBr.	59
Σχήμα 4.11 Αντίδραση α-καρβονυλίωσης Henry.	59
Σχήμα 4.12 Μηχανισμός α-καρβονυλίωσης Henry.	59
Σχήμα 4.13 Αντίδραση απόσπασης για την παραλαβή του νιτροαλκενίου 97.	60
Σχήμα 4.14 Μηχανισμός αντίδρασης απόσπασης για την παραλαβή του νιτροαλκενίου 97.	60
Σχήμα 4.15 Φάσμα ^1H -NMR της ένωσης 97 (CDCl_3 , 200 MHz).	61
Σχήμα 4.16 Φάσμα ^{13}C -NMR της ένωσης 97 (CDCl_3 , 50 MHz).	62
Σχήμα 4.17 Αντίδραση προστασίας Cbz της αμινομάδας της L-φαινυλαλανίνης.	62
Σχήμα 4.18 Μηχανισμός προστασίας Cbz της αμινομάδας αμινοξέος.	63
Σχήμα 4.19 Ολική πορεία σύνθεσης του νιτροαλκενίου 98.	64
Σχήμα 4.20 Μηχανισμός απόσπασης για την παραλαβή του νιτροαλκενίου 98.	64
Σχήμα 4.21 Φάσμα ^1H -NMR της ένωσης 98 (CDCl_3 , 400 MHz).	65
Σχήμα 4.22 Φάσμα ^{13}C -NMR της ένωσης 98 (CDCl_3 , 100 MHz).	66
Σχήμα 4.23 Ολική πορεία σύνθεσης του νιτροαλκενίου 99.	67
Σχήμα 4.24 Φάσμα ^1H -NMR της ένωσης 99 (CDCl_3 , 400 MHz).	68
Σχήμα 4.25 Φάσμα ^{13}C -NMR της ένωσης 99 (CDCl_3 , 100 MHz).	69
Σχήμα 4.26 Ολική πορεία σύνθεσης του νιτροαλκενίου 100.	70
Σχήμα 4.27 Φάσμα ^1H -NMR της ένωσης 100 (CDCl_3 , 200 MHz).	71
Σχήμα 4.28 Φάσμα ^{13}C -NMR της ένωσης 100 (CDCl_3 , 50 MHz).	72
Σχήμα 4.29 Ολική πορεία σύνθεσης του νιτροαλκενίου 101.	73
Σχήμα 4.30 Ολική πορεία σύνθεσης του νιτροαλκενίου 102.	74
Σχήμα 4.31 Ολική πορεία σύνθεσης του νιτροαλκενίου 7.	75
Σχήμα 4.32 Φάσμα ^1H -NMR της ένωσης 103 (CDCl_3 , 400 MHz).	76
Σχήμα 4.33 Φάσμα ^{13}C -NMR της ένωσης 103 (CDCl_3 , 100 MHz).	77
Σχήμα 4.34 Ολική πορεία σύνθεσης των νιτροαλκενίων 104, 105 και 106.	78
Σχήμα 4. 35 Ολική πορεία σύνθεσης του νιτροαλκενίου 107.	79
Σχήμα 4.36 Εναλλακτική πορεία σύνθεσης του νιτροαλκενίου 107 στα στάδια της αντίδρασης Henry και της απόσπασης.	80
Σχήμα 4.37 Ολική πορεία σύνθεσης του νιτροαλκενίου 108.	81
Σχήμα 4.38 Φάσμα ^1H -NMR της ένωσης 108 (CDCl_3 , 400 MHz).	82
Σχήμα 4.39 Φάσμα ^{13}C -NMR της ένωσης 108 (CDCl_3 , 100 MHz).	83
Σχήμα 4. 40 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης νιτροαλκενίου 109.	84

Σχήμα 4.41 Ολική πορεία σύνθεσης του νιτροαλκενίου 109.	85
Σχήμα 4.42 Φάσμα ^1H -NMR της ένωσης 109 (CDCl_3 , 400 MHz).	86
Σχήμα 4.43 Φάσμα ^{13}C -NMR της ένωσης 109 (CDCl_3 , 100 MHz).	87

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.1 Αποτελέσματα αναστολής της ένωσης 1 με βάση το K_i για πρωτεάσες κυστεΐνης (όσο μικρότερο το K_i τόσο πιο ισχυρά επιτυγχάνεται η αναστολή του ενζύμου).	23
Πίνακας 1.2 Αποτελέσματα καταλυτικής αντίδρασης α-καρβονυλίωσης Henry από καταλύτες του Σχήματος 1.11 που συμπλέκονται στο $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ σε αμινοαλδεΐδες με νιτρομεθάνιο.	31

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών κατά την περίοδο Οκτωβρίου 2019- Ιουλίου 2021, υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Γεωργίου Κόκοτου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΠΕΠΤΙΔΙΚΑ ΝΙΤΡΟΑΛΚΕΝΙΑ ΩΣ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΠΡΩΤΕΑΣΩΝ

1.1 Γενικά για τις πρωτεάσες κυστεΐνης παρασίτων

Τα ένζυμα είναι σημαντικά πρωτεϊνικά μόρια τα οποία προσδιορίζουν την ταχύτητα των χημικών μετασχηματισμών αλλά και τον τρόπο με τον οποίο πραγματοποιούνται οι μετασχηματισμοί αυτοί. Λειτουργούν ως καταλύτες των βιολογικών συστημάτων και χαρακτηρίζονται από υψηλό βαθμό εξειδίκευσης στις αντιδράσεις που καταλύουν, αλλά και στην επιλογή των υποστρωμάτων που θα προσδεθούν στο ενεργό τους κέντρο. Ωστόσο, η δραστηριότητα ενός ενζύμου μπορεί να ανασταλεί αν προσδεθεί στο ενεργό του κέντρο μία άλλη ένωση εκτός του φυσικού υποστρώματος. Αυτός ο τύπος αναστολής ενζύμου βρίσκει εφαρμογή στον κλάδο της Φαρμακευτικής Χημείας για την ανακάλυψη ανασταλτικών μορίων με μεγάλη εκλεκτικότητα για συγκεκριμένο ένζυμο-στόχο, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως χρήσιμα φάρμακα.

Η ενζυμική αναστολή μπορεί να είναι μη αντιστρεπτή ή αντιστρεπτή. Στην περίπτωση των μη αντιστρεπτών αναστολέων, αυτοί συνδέονται με το ένζυμο με ισχυρά ομοιοπολικούς δεσμούς συνήθως και αργούν να αποδεσμευθούν από αυτό και να του επιτρέψουν να λειτουργήσει με φυσιολογικούς ρυθμούς. Στη δεύτερη περίπτωση, οι αντιστρεπτοί αναστολείς συνδέονται με το ένζυμο με ασθενείς δεσμούς όπως ηλεκτροστατικούς, δεσμούς υδρογόνου ή δεσμούς Van der Waals. Λόγω του ότι ο αναστολέας ανταγωνίζεται το φυσικό υπόστρωμα για τη σύνδεση στο ενεργό κέντρο του ενζύμου, ο αναστολέας έχει παρεμφερή δομή με το υπόστρωμα.^{1,2}

Στο παρόν κεφάλαιο, θα μας απασχολήσουν ιδιαίτερα οι πρωτεάσες κυστεΐνης και σερίνης, ένζυμα που διασπούν τις πρωτεΐνες. Οι πρωτεάσες κυστεΐνης παρασίτων ανιχνεύθηκαν στα πρωτόζωα της οικογένειας *Trypanosoma* στη δεκαετία του 1980 όπου και χαρακτηρίστηκαν ως σημαντικά ένζυμα σε πολλές πτυχές του κύκλου ζωής του παρασίτου. Παράλληλα έχουν καθοριστικό ρόλο στην ικανότητα του παρασίτου να μολύνει τον ξενιστή.³

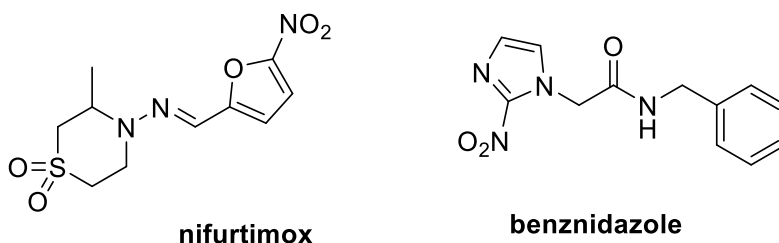
Για παράδειγμα, η ροδεσαΐνη και η κρουζαΐνη είναι πρωτεάσες κυστεΐνης και εκφράζονται σε παθογόνους μικροοργανισμούς. Η ροδεσαΐνη εκφράζεται στο

πρωτόζωο *Trypanosoma brucei rhodesiense*, το οποίο προκαλεί την αφρικανική τρυπανοσωμίαση, δηλαδή την αφρικανική ασθένεια του ύπνου. Σε αυτή την περίπτωση, τα πρωτόζωα μεταφέρονται μέσω της μύγας τσε-τσε και προσβάλλουν ανθρώπους, οικόσιτα και άγρια ζώα. Η λοίμωξη προκαλεί συνήθως μυοκαρδιοπάθειες, επηρεάζει το κεντρικό νευρικό σύστημα και συχνά εμφανίζει χρόνια γενικευμένη λεμφαδενοπάθεια και θανατηφόρα μηνιγγοεγκεφαλίτιδα. Πλέον εντοπίζονται λιγότερο από 1000 περιστατικά σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας.⁴

Όσον αφορά την κρουζαΐνη, αυτή εκφράζεται στο παράσιτο *Trypanosoma cruzi* το οποίο προκαλεί την αμερικανική τρυπανοσωμίαση και εντοπίζεται στην Κεντρική και Νότια Αμερική.^{4,5} Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας αναφέρει πως η ασθένεια πλήττει 6-7 εκατομμύρια ανθρώπους παγκοσμίως. 75 εκατομμύρια άνθρωποι παγκοσμίως κινδυνεύουν να προσβληθούν λόγω του ότι δεν υπόκεινται σε διάγνωση και δεν είναι δυνατόν να λάβουν θεραπεία. Η κρουζαΐνη φαίνεται να συμμετέχει σε όλα τα στάδια του κύκλου ζωής του τρυπανοσώματος με μεγαλύτερο βαθμό έκφρασης στο στάδιο που το μικρόβιο βρίσκεται στη μορφή με μαστίγιο. Αναστολή της κρουζαΐνης εμποδίζει το πρωτόζωο να εισβάλλει στον ξενιστή και εμποδίζει την αντιγραφή της μορφής χωρίς μαστίγιο και τη διαφοροποίηση της από αυτή με μαστίγιο.^{4,6}

Οι συγκεκριμένες πρωτεάσες έχουν μεγάλη συνάφεια με τις ανθρώπινες καθεψίνες κυστεΐνης, όπως είναι οι B, L και S. Οι καθεψίνες εμπλέκονται στην επεξεργασία και παραγωγή αντιγόνου όταν ο οργανισμός προσβληθεί από το πρωτόζωο. Συνεπώς, η αναστολή τους είναι απαραίτητη προκειμένου να θεραπευτούν οι ασθένειες που προκαλούν στον άνθρωπο.³

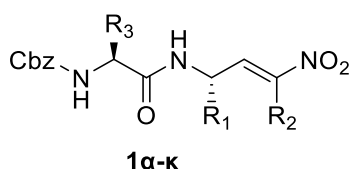
Έχουν εγκριθεί ως προφάρμακα, ενώσεις, όπως τα nifurtimox και benznidazole (Σχήμα 1.1) οι οποίες φαίνεται να μπορούν να δράσουν ανασταλτικά απέναντι σε αυτά τα ένζυμα χωρίς να είναι σαφής ο τρόπος δράσης τους.^{3,6,7} Ωστόσο, ανασταλτική δράση φαίνεται να έχουν επίσης τα ακόρεστα πεπτιδυλο νιτροαλκένια.⁸



Σχήμα 1.1 Δομές των προφαρμάκων nifurtimox και benznidazole

1.2 Νιτροαλκένια και δράση τους ως αντιστρεπτοί αναστολείς πρωτεασών κυστεΐνης

Σύμφωνα με μία πρόσφατη δημοσίευση, τα διπεπτιδυλο νιτροαλκένια έχουν αναφερθεί να είναι καλοί αντιστρεπτοί αναστολείς των πρωτεασών κυστεΐνης και να δείχνουν εκλεκτικότητα για τη ροδεσαΐνη και την κρουζαΐνη.⁸ Αυτό οφείλεται στη δομή τους η οποία απεικονίζεται στο Σχήμα 1.2.

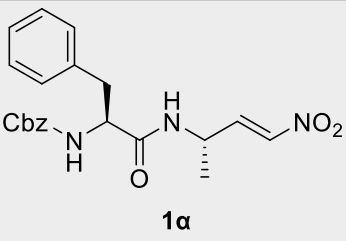


1	R ₁	R ₂	R ₃
α	CH ₃	H	Bn
β	<i>i</i> -Bu	H	Bn
γ	Bn	H	Bn
δ	CH ₂ CH ₂ Ph	H	Bn
ε	CH ₃	CH ₃	Bn
ζ	CH ₃	H	<i>i</i> -Bu
η	<i>i</i> -Bu	H	<i>i</i> -Bu
θ	Bn	H	<i>i</i> -Bu
ι	CH ₂ CH ₂ Ph	H	<i>i</i> -Bu
κ	CH ₃	CH ₃	<i>i</i> -Bu

Σχήμα 1.2 Γενική δομή διπεπτιδυλο νιτροαλκενίων με την καρβοβενζυλόξυ ομάδα ως προστατευτική της ακραίας αμινομάδας και διπεπτιδυλο ενώσεις που έχουν συντεθεί.

Το νιτροαλκένιο Cbz-Phe-Ala-CH=CH-NO₂ (ένωση **1α** του Σχήματος 1.2) έχει δείξει καλά αποτελέσματα αναστολής, με βάση τις τιμές της σταθεράς διάσπασης του συμπλόκου ενζύμου-αναστολέα K_i, για την κρουζαΐνη, τη ροδεσαΐνη και τις

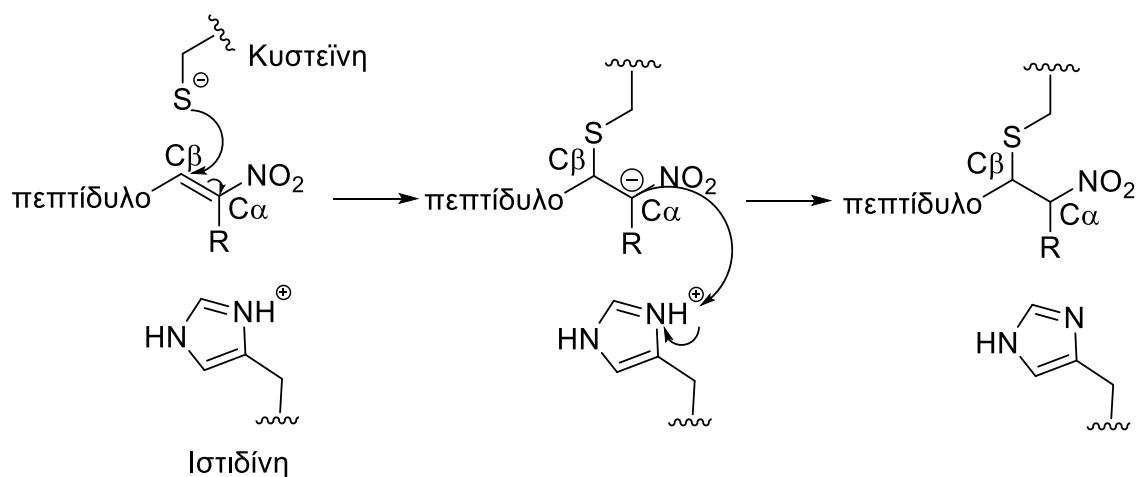
ανθρώπινες καθεψίνες B και L. Ωστόσο καλύτερα αποτελέσματα εντοπίζονται στην περίπτωση της κρουζαΐνης. Αυτό οφείλεται στο ότι η ηλεκτρονιοελκτική ομάδα -NO₂ πάνω στο διπλό δεσμό συμμετέχει καθοριστικά στο μηχανισμό μέσω μιας αντίδρασης Michael. Λόγω δομής καθίσταται δέκτης Michael στον άνθρακα του διπλού δεσμού γειτονικά του άνθρακα της νίτρο ομάδας.^{8,9}

Αναστολέας	Κρουζαΐνη	Ροδεσαΐνη	Καθεψίνη B	Καθεψίνη L
 1α	0.44 nM	0.49 nM	8 nM	11 nM

Πίνακας 1.1 Αποτελέσματα αναστολής της ένωσης 1 με βάση το K_i για πρωτεάσες κυστεΐνης (όσο μικρότερο το K_i τόσο πιο ισχυρά επιτυγχάνεται η αναστολή του ενζύμου).

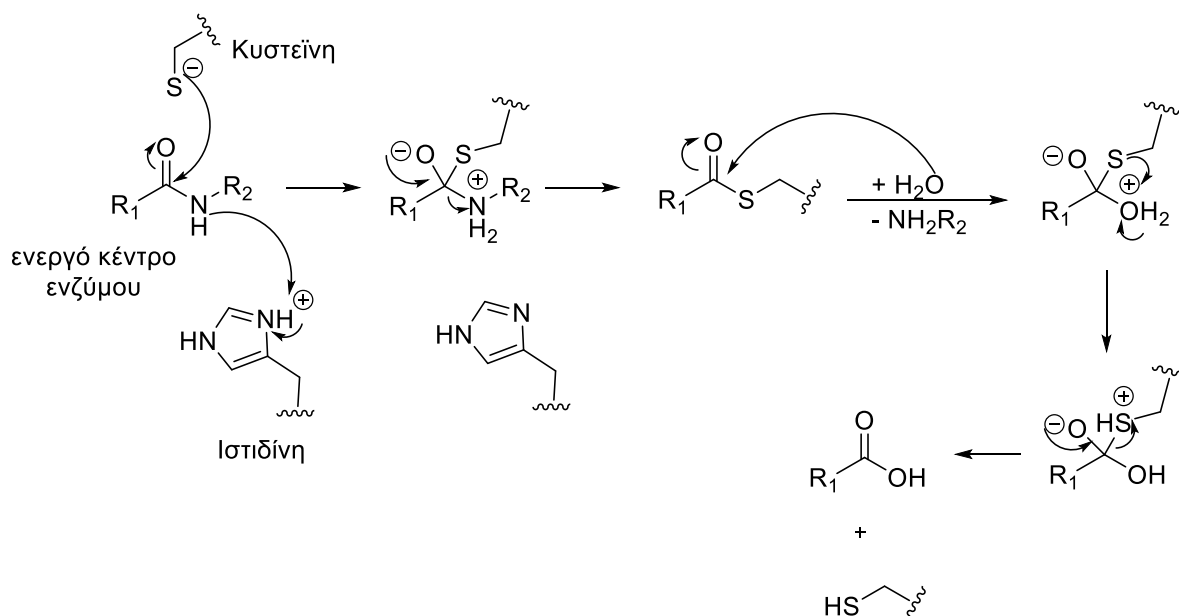
Μια πρωτεάση κυστεΐνης έχει στο ενεργό της κέντρο ένα κατάλοιπο κυστεΐνης καθώς και ένα ιστιδίνης και ασπαραγίνης που συμμετέχουν ενεργά στο μηχανισμό. Η κυστεΐνη στη θέση 25 Cys25 στο ενεργό κέντρο του ενζύμου προσβάλλει τον άνθρακα β ως προς τη νίτρο ομάδα του αλκενίου. Στη συνέχεια, ακολουθεί η μεταφορά πρωτονίου από τη θετικά φορτισμένη ιστιδίνη (His159 στην περίπτωση της ροδεσαΐνης και της κρουζαΐνης και His163 στην περίπτωση της ανθρώπινης καθεψίνης L) στον άνθρακα α του αναστολέα, όπως φαίνεται στο Σχήμα 1.3. Τέλος, η ασπαραγίνη (Asn175 για τη ροδεσαΐνη και την κρουζαΐνη και Asn187 στην ανθρώπινη καθεψίνη L) φαίνεται να σταθεροποιεί ισχυρά την ιστιδίνη. Μελέτες μοριακής πρόσδεσης και υπολογιστικές μελέτες υπέδειξαν πως ο τρόπος δράσης του αναστολέα με το ένζυμο είναι αντιστρεπτός. Αυτό οφείλεται στον ασθενέστερο εξωθερμικά χαρακτήρα της ομοιοπολικής αντίδρασης, αλλά και σε παράπλευρες ασθενείς σταθεροποιητικές δυνάμεις. Στην καθεψίνη L, η ιστιδίνη και η ασπαραγίνη είναι πιο μακριά με αποτέλεσμα η σταθεροποίηση αυτή να μην επιτυγχάνεται τόσο ικανοποιητικά όσο στα ένζυμα των 2 παθογόνων μικροοργανισμών. Έτσι, καθίσταται σαφές ότι ανασταλτική δράση του διπεπτιδυλο νιτροαλκενίου θα είναι μικρότερη σε αυτό το ένζυμο. Το νιτροαλκένιο **1α** δεν αναμένεται να δράσει εκλεκτικά στις καθεψίνες

B και L. Επίσης, στην κρουζαΐνη στη θέση 205 εντοπίζεται το γλουταμινικό οξύ Glu205,⁴ ενώ στη ροδεσαΐνη σε αυτή τη θέση υπάρχει ένα κατάλοιπο αλανίνης. Το γλουταμινικό οξύ σε αυτή τη θέση συμβάλλει στην επιπλέον σταθεροποίηση των ηλεκτροστατικών δυνάμεων. Αυτό σε συνδυασμό με τους δεσμούς υδρογόνου που σχηματίζονται από άλλα αμινοξέα στην κρουζαΐνη κάνουν το νιτροαλκένιο **1a** να παρουσιάζει μια αυξημένη εκλεκτικότητα στην κρουζαΐνη έναντι της ροδεσαΐνης.⁹



Σχήμα 1.3 Ο προτεινόμενος γενικός μηχανισμός της αντιστρεπτής αναστολής των πρωτεασών κυστεΐνης από πεπτιδύλο νιτροαλκένια.

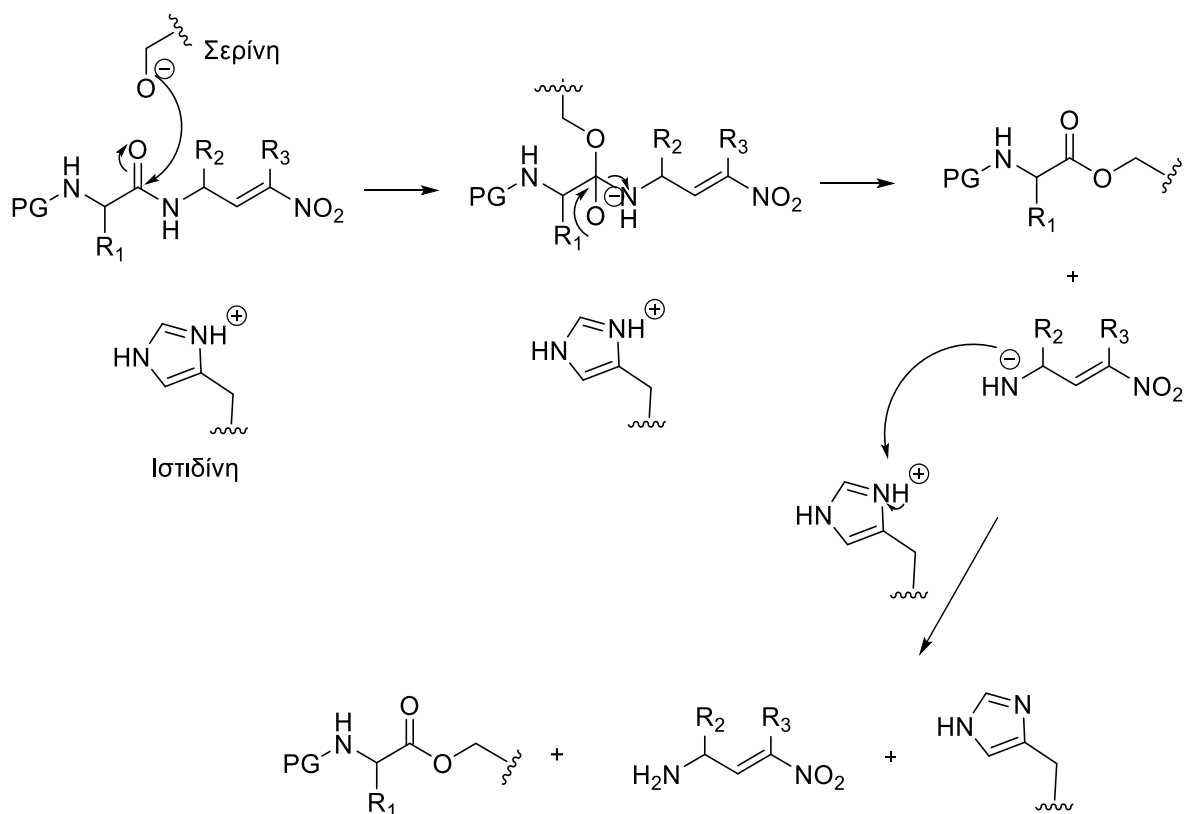
Αξίζει να σημειωθεί πως οι πρωτεάσες κυστεΐνης καταλύουν την υδρόλυση πεπτιδικού δεσμού σε κατάλοιπα στο ενεργό κέντρο ενός ενζύμου. Η πρωτεόλυση υποβοηθείται από τα αμινοξέα ιστιδίνη και ασπαραγίνη τα οποία εντοπίζονται σε παρακάτω αλληλουχία στο ενεργό κέντρο του ενζύμου. Η θετικά φορτισμένη ιστιδίνη His159 σταθεροποιείται μέσω δεσμού υδρογόνου από την ασπαραγίνη Asp175. Με την ολοκλήρωση του μηχανισμού πρωτεόλυσης, απελευθερώνεται το υδρολυμένο υπόστρωμα και ανακτάται το ελεύθερο ένζυμο, όπως απεικονίζεται στο Σχήμα 1.4.¹⁰



Σχήμα 1.4 Μηχανισμός πρωτεόλυσης που διεξάγεται στο ενεργό κέντρο του ενζύμου από πρωτεάσες κυστεΐνης

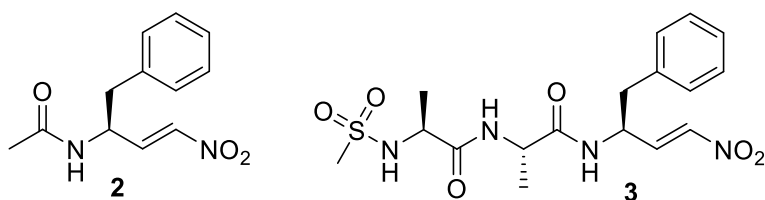
1.3 Νιτροαλκένια και δράση τους ως μη αντιστρεπτοί αναστολείς πρωτεασών σερίνης

Τα α,β -ακόρεστα νιτροαλκένια παρουσιάζουν ανασταλτική δράση έναντι πρωτεασών σερίνης και κυρίως έναντι της α -χυμοθρυψίνης.¹¹ Μελέτες υποδεικνύουν ότι σε αυτή την περίπτωση οι ενώσεις δρουν με μη αντιστρεπτό τρόπο, σε αντίθεση με την προηγούμενη περίπτωση των αναστολέων κυστεΐνης που δρούσαν με αντιστρεπτό. Η αναστολή επιτυγχάνεται με ισχυρούς μη ομοιοπολικούς δεσμούς και ο αναστολέας κατευθύνεται στο ενεργό κέντρο του ενζύμου. Πιο συγκεκριμένα, ένα κατάλοιπο σερίνης στο ενεργό κέντρο της πρωτεάσης φαίνεται να προσβάλλει με πυρηνόφιλο τρόπο τον άνθρακα του καρβονυλίου του αμιδικού δεσμού, όπως φαίνεται στο Σχήμα 1.5. Παρά το ότι η ομάδα του ακόρεστου νιτροαλκενίου ανήκει στην κατηγορία των ισχυρών δεκτών Michael, ο άνθρακας β δεν είναι τόσο ηλεκτρονιόφιλος για να αντιδράσει με το συγκεκριμένο πυρηνόφιλο της σερίνης, το οποίο προτιμά το καρβονύλιο.¹²



Σχήμα 1.5 Ο προτεινόμενος γενικός μηχανισμός της μη αντιστρεπτής αναστολής των πρωτεασών σερίνης από διπεπτιδυλο νιτροαλκένια.

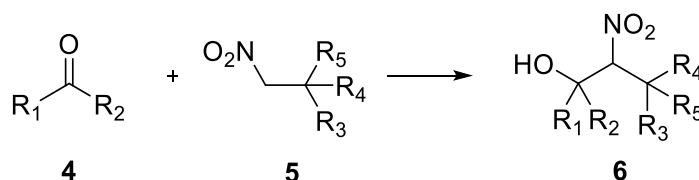
Οι αναστολείς **2** και **3** (Σχήμα 1.6) είναι μη αντιστρεπτοί. Επιπροσθέτως, ο αναστολέας **3** δείχνει εκλεκτικότητα έναντι της α-χυμοθρυψίνης και όχι έναντι άλλων πρωτεασών σερίνης.¹²



Σχήμα 1.6 Μη αντιστρεπτοί αναστολείς σερίνης **2** και **3**.

1.4 Συνθέσεις νιτροαλκοολών ως προϊόντα της αντίδρασης Henry

Η αντίδραση Henry ή αλλιώς νιτροαλδολική αντίδραση αποτελεί μία από τις βασικές αντιδράσεις στην οργανική χημεία. Πραγματοποιείται μία σύζευξη ανάμεσα σε ένα υπόστρωμα που φέρει ένα καρβονύλιο (Ένωση **4**, Σχήμα 1.6) και σε ένα νιτροαλκάνιο (Ένωση **5**, Σχήμα 1.6), το οποίο πρέπει να φέρει ένα πρωτόνιο σε α θέση ως προς τη νίτρο ομάδα. Με αυτό τον τρόπο, σχηματίζεται ένας δεσμός C-C και παραλαμβάνεται η νέα ένωση **6** (Σχήμα 1.6) η οποία χαρακτηρίζεται ως διλειτουργική αφού έχει ένα υδροξύλιο και μία νίτρο ομάδα και ονομάζεται β-νιτροαλκοόλη. Η αντίδραση Henry είναι ιδιαιτέρως χρήσιμη στην ασύμμετρη σύνθεση. Αναπτύσσονται χειρόμορφοι καταλύτες οι οποίοι βρίσκουν εφαρμογή στη φαρμακευτική και στη σύνθεση φυσικών μορίων όπου απαιτείται προσοχή στη χειρομορφία των ενώσεων. Η γενική αντίδραση απεικονίζεται στο Σχήμα 1.7.¹³



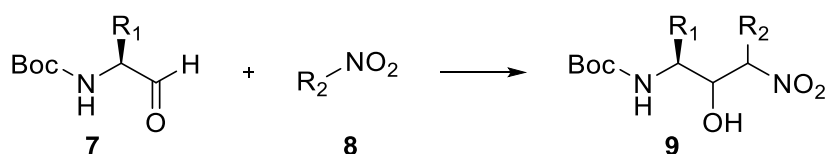
Σχήμα 1.7 Γενική αντίδραση Henry

Η β-νιτροαλκοόλη στη συνέχεια, μπορεί να δώσει άλλες αντιδράσεις, όπως απόσπασης για σχηματισμό νιτροαλκενίων, οξείδωσης, αναγωγής της νίτρο ομάδας σε αμινομάδα για σχηματισμό β-αμινοαλκοόλης ή αντίδραση Nef κλπ.^{13,14,15}

Η καρβονυλική ένωση που χρησιμοποιείται είναι συνήθως μια αλδεΐδη, η οποία μπορεί να είναι είτε αλειφατική με λίγα έως πολλά ανθρακοάτομα ως προϊόν λιπαρού οξέος¹⁶ είτε παράγωγο αμινοξέος ή σε οποιαδήποτε άλλη ένωση. Το νιτροαλκάνιο που χρησιμοποιείται είναι συνήθως το νιτρομεθάνιο ή το νιτροαιθάνιο ενώ έχουν χρησιμοποιηθεί και πιο παρεμποδισμένα, όπως το 1,1-διμεθοξυ-2-νιτροαιθάνιο, αλλά σε αντίστοιχες καταλυτικές αντιδράσεις. Για την πραγματοποίηση των αντιδράσεων χρησιμοποιείται μία βάση η οποία θα συμβάλλει στην αποπρωτονίωση του άνθρακα της νίτρο ομάδας του νιτροαλκανίου, το οποίο στη συνέχεια προσβάλλει τον άνθρακα της αλδεϋδομάδας. Οι βάσεις που χρησιμοποιήθηκαν αρχικά ήταν αλκοξείδια ή υδροξείδια σε αλκοολικά ή ακόμα και σε υδατικά διαλύματα. Επισημαίνεται ότι τα

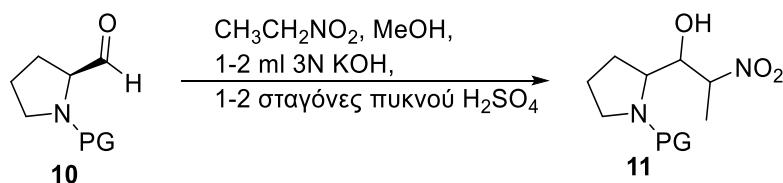
υποστρώματα στα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί αυτές οι βάσεις είναι απλά και εάν έφεραν λειτουργικές ομάδες ήταν και αυτές απλές.¹³

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η σύνθεση των νιτροαλκοολών αμινοξέων, ως ενδιάμεσα προϊόντα που προκύπτουν από την αντίδραση α-καρβονυλίωσης Henry, η οποία απεικονίζεται στο Σχήμα 1.8. Οι μέθοδοι που θα αναφερθούν σε αυτό το σημείο έχουν κοινά σημεία, αλλά και κάποιες αλλαγές στα αντιδραστήρια. Οι βάσεις που χρησιμοποιούνται είναι οι εξής: NaH, υδ. ΚΟΗ, ΚF και τριαιθυλαμίνη,^{8,12,14,15,17} ενώ σε αντίστοιχα υποστρώματα π.χ. Boc-προστατευμένη αμινοαλδεΐδη έχει χρησιμοποιηθεί φθοριούχο τετραβουτυλαμμώνιο.¹⁸ Τέλος, οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται είναι η μεθανόλη, το τετραϋδροφουράνιο, ισοπροπανόλη ή το διχλωρομεθάνιο.



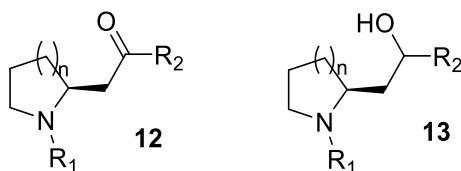
Σχήμα 1.8 Γενική σύνθεση Boc-νιτροαλκοόλης ως προϊόν της αντίδρασης Henry σε Boc-αμινοαλδεΐδη.

Για τη συνθετική πορεία στο παράδειγμα της προλίνης έχει χρησιμοποιηθεί το νιτροαιθάνιο και ως βάση 3N ΚΟΗ σε διαλύτη μεθανόλη.^{14,15}



Σχήμα 1.9 Σύνθεση πεπτιδύλο νιτροαλκενίου με βάση την προλίνη όπου PG η προστατευτική ομάδα του αμινοξέος (Boc, Cbz ή COOEt).^{14,15}

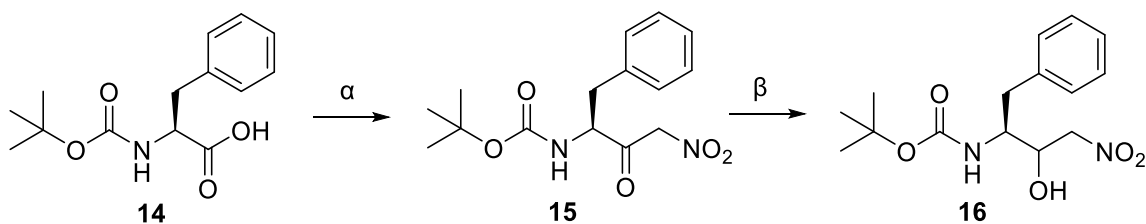
Η πορεία που πραγματοποιείται στην περίπτωση της προλίνης (Σχήμα 1.9) έχει βρει εφαρμογή στη σύνθεση πυρρολίδινο και πιπερίδινο αλκαλοειδών με γενική δομή που περιγράφεται στο Σχήμα 1.10.^{14,15}



όπου n : 1, 2
 R_1 : -H, -CH₃
 R_2 : -CH₃, -CH₂CH₃

Σχήμα 1.10 Πυρρολίδινο και πιπερίδινο αλκαλοειδή που έχουν συντεθεί με χρήση της αντίδρασης Henry.

Στο αμινοξύ φαινυλαλανίνη έχει χρησιμοποιηθεί μια άλλη πορεία για τη σύνθεση της ενδιάμεσης νιτροαλκοόλης. Το *N*-Boc προστατευμένο αμινοξύ υπόκειται σε διαδικασία νίτρωσης με χρήση του 1,1-καρβοδιιμιδαζολίου σε τετραϋδροφουράνιο και χρήση της βάσης *t*-βουτοξείδιο του καλίου και έπειτα ακολουθεί αναγωγή της σχηματιζόμενης κετόνης **15** με βοροϋδρίδιο του νατρίου σε μείγμα διαλυτών μεθανόλης και τετραϋδροφουρανίου όπως φαίνεται στο Σχήμα 1.11.¹⁹ Ωστόσο, στο παράδειγμα της φαινυλαλανίνης μπορούν να χρησιμοποιηθούν και οι συνθέσεις που έχουν ήδη αναφερθεί ήδη παραπάνω.

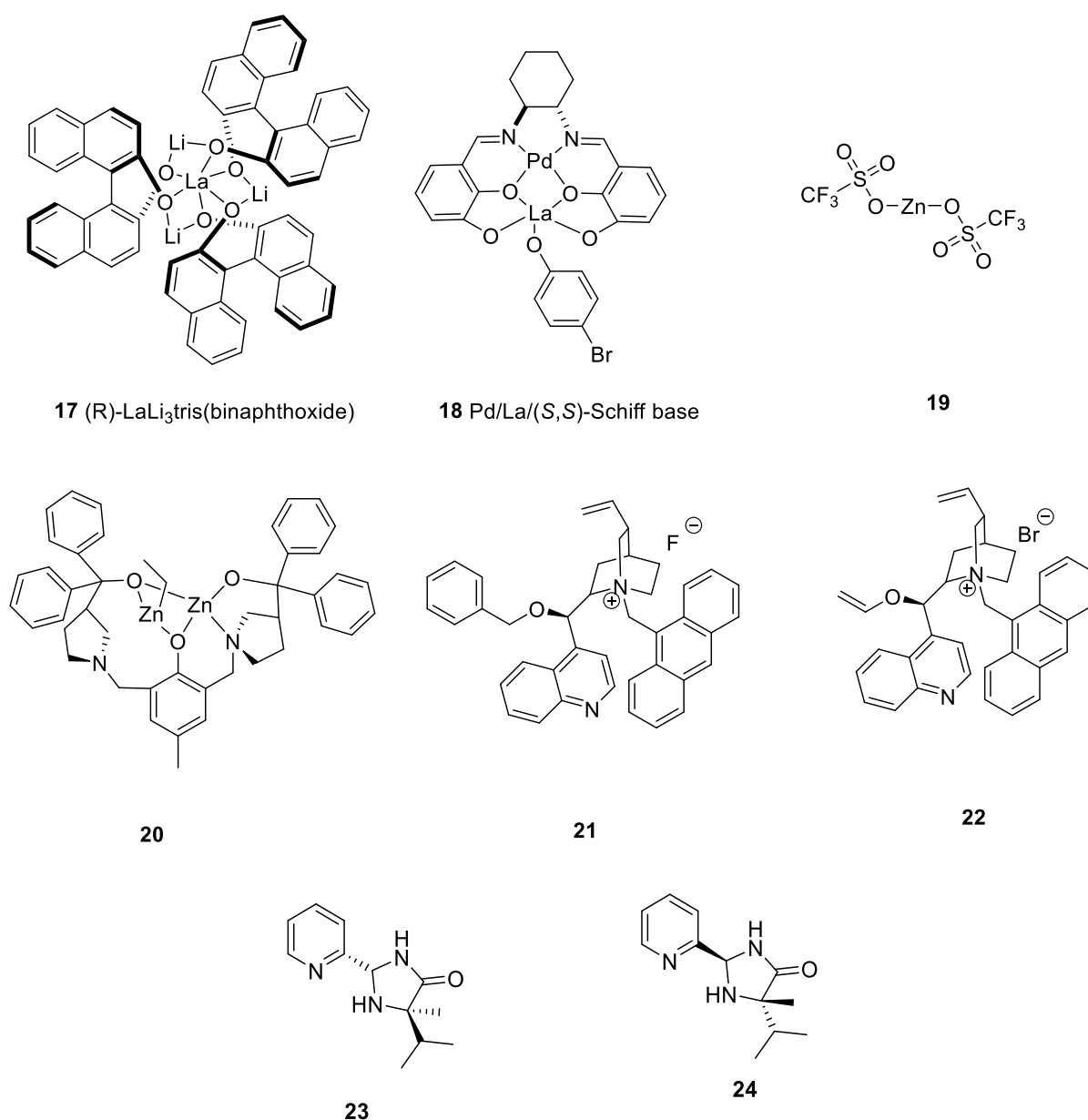


α) CH₃NO₂, CDI, *t*-BuOK, THF, 10-25 °C, β) NaBH₄, MeOH, THF, 0 °C, 1 h

Σχήμα 1.11 Σύνθεση νιτροαλκοόλης της *N*-Boc προστατευμένης φαινυλαλανίνης και αναγωγή της κετόνης με βοροϋδρίδιο του νατρίου.

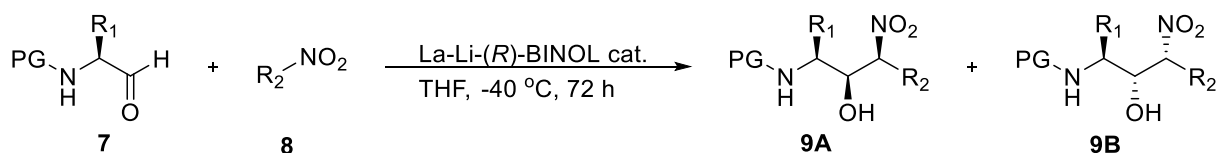
Επίσης, έχουν καταγραφεί κάποιες συνθέσεις με χρήση καταλυτών. Πρόκειται για σύμπλοκες ενώσεις όπου στο κεντρικό μέταλλο προσδένονται οι υποκαταστάτες. Ένα τέτοιο σύμπλοκο συμβάλλει όχι μόνο στην καλή απόδοση της αντίδρασης αλλά και στην καλή εναντιομερική περίσσεια *syn-anti* στα προϊόντα της αντίδρασης Henry, καθώς υπό διαφορετικές συνθήκες θα μπορούσε να παραληφθεί πληθώρα προϊόντων. Τα σύμπλοκα που έχουν χρησιμοποιηθεί έχουν ως κεντρικό μέταλλο το λανθάνιο La (π.χ. (R)-LaLi₃tris(binaphthoxide)),^{20,21,22} το χαλκό Cu,^{22,23,24} ή τον

ψευδάργυρο Zn.^{22,25} Η περίπτωση του ψευδαργύρου είναι ιδιαίτερη καθώς ο ψευδάργυρος μπορεί να είναι είτε το κεντρικό μέταλλο στο σύμπλοκο είτε να σχηματίζει σύμπλοκο με έναν ακόμα πυρήνα ψευδαργύρου. Ανεξάρτητα όμως από το αν το σύμπλοκο θα αποτελείται από ένα άτομο ψευδαργύρου ή παραπάνω, το προϊόν της αντίδρασης Henry παραλαμβάνεται σε καλή απόδοση και με εναντιομερική περίσσεια που φτάνει 93%.^{22,25} Το νιτροαλκάνιο που χρησιμοποιείται συνήθως είναι το νιτρομεθάνιο ωστόσο μπορούν να χρησιμοποιηθούν και άλλα, όπως η 2-νιτροαιθαν-1-όλη ή το 1,1-διμεθοξυ-2-νιτροαιθάνιο.¹³ Τα σύμπλοκα που χρησιμοποιούνται παρουσιάζονται στο Σχήμα 1.12.



Σχήμα 1.12 Σύμπλοκα 17, 18, 19, 20 και υποκαταστάτες 21, 22, 23 και 24 συμπλόκου με κεντρικό μέταλλο το χαλκό ως Cu(II) (OAc)₂ ως καταλύτες σε αντίδραση α-καρβονυλίωσης Henry.

Η αντίδραση που πραγματοποιείται με καταλύτη το La-Li-(*R*)-BINOL είναι η εξής:



Σχήμα 1.13 Αντίδραση Henry α-καρβονυλίωσης σε *N*-προστατευμένη αμινοαλδεΐδη με καταλύτη το La-Li-(*R*)-BINOL όπου PG η προστατευτική ομάδα του αζώτου και είναι Boc ή Cbz, *R*₁ η πλευρική αλυσίδα του αρχικού αμινοξέος και *R*₂ η άλκυλο ομάδα του νιτροαλκανίου, η οποία μπορεί να είναι CH₃, CH₂OH ή (OCH₃)CH.^{20,21}

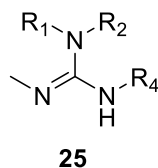
Η αντίδραση που απεικονίζεται στο Σχήμα 1.13 έχει πραγματοποιηθεί σε υποστρώματα Boc- και Cbz-φαινυλαλανινάλης, Boc-αλανινάλης και Boc-βαλινάλης. Στην αντίδραση αυτή το La-Li-(*R*)-BINOL παρουσιάζει διαστερεοεκλεκτικότητα στο προϊόν anti,syn, ενώ η βάση Pd/La/Schiff στο syn,syn. Στο υπόστρωμα της Cbz-φαινυλαλανινάλης δοκιμάστηκαν οι υποκαταστάτες **21-24** του Σχήματος 1.12 με το μέταλλο του χαλκού όπου οι υποκαταστάτες προσδένονται στο σύμπλοκο Cu(OAc)₂ δίνοντας διαφορετικές, αλλά υψηλές αναλογίες παραγώγων της αντίδρασης^{23,24} όπως φαίνεται στον Πίνακα 1.2.

ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΗΣ ΣΤΟ ΜΕΤΑΛΛΟ ΧΑΛΚΟΥ	ΑΠΟΔΟΣΗ (%)	ΔΙΑΣΤΕΡΕΟΜΕΡΙΚΗ ΠΕΡΙΣΣΕΙΑ dr A/B
3	88	90:10
4	86	6:94
5	94	99:1
6	89	10:90

Πίνακας 1.2 Αποτελέσματα καταλυτικής αντίδρασης α-καρβονυλίωσης Henry από καταλύτες του Σχήματος 1.11 που συμπλέκονται στο Cu(OAc)₂ σε αμινοαλδεΐδες με νιτρομεθάνιο.

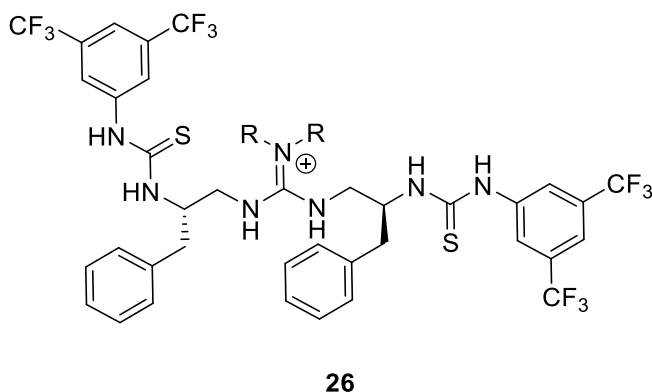
Εκτός των κλασσικών καταλυτών, ως σύμπλοκες ενώσεις μετάλλων, έχουν χρησιμοποιηθεί και κάποιοι οργανοκαταλύτες σε αντιδράσεις Henry. Τέτοιοι οργανοκαταλύτες είναι τα παράγωγα γουανιδίνης (Σχήμα 1.14) τα οποία μπορεί να

έχουν και ασύμμετρα κέντρα. Ωστόσο, τα αποτελέσματα σχετικά με την εναντιομερική περίσσεια δεν ήταν ικανοποιητικά.²⁵



Σχήμα 1.14 Γενική δομή παραγώγων γουανιδίνης που έχουν δοκιμαστεί ως καταλύτες στην αντίδραση Henry. Τα R₁, R₂, R₃, R₄ μπορεί να ταυτίζονται ή να περιέχουν ασύμμετρο κέντρο.

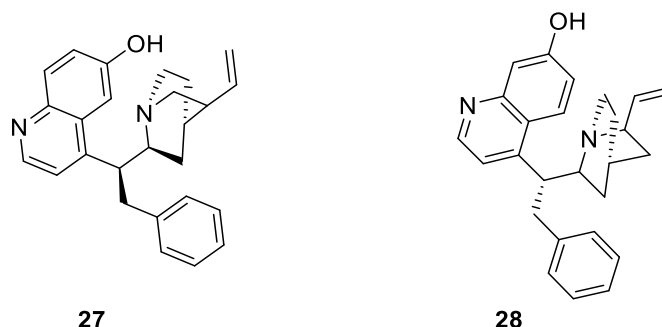
Αν με βάση τη γουανιδίνη παραληφθεί ένας καταλύτης γουανιδίνης-θειουρίας ο οποίος είναι συνδεδεμένος με ένα ασύμμετρο κέντρο π.χ. αμινοξέος, τότε ο καταλύτης γίνεται διλειτουργικός και με διακλαδισμένες αλειφατικές αλδεΐδες σε α-θέση δίνει ικανοποιητικά αποτελέσματα απόδοσης, αλλά και εναντιομερικής περίσσειας. Ένας τέτοιος καταλύτης απεικονίζεται στο Σχήμα 1.15. Ωστόσο, σε απλές αλειφατικές αλδεΐδες το ποσοστό εναντιομερικής περίσσειας μειώνεται δραματικά.²⁵



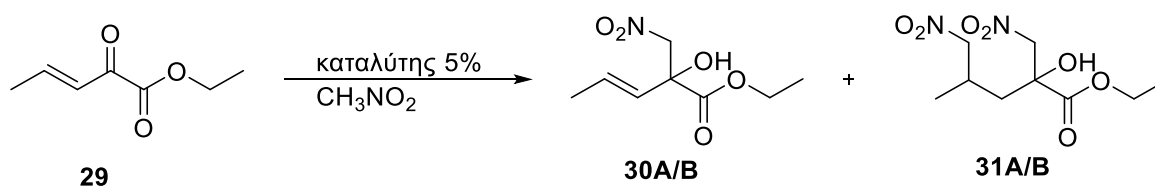
Σχήμα 1.15 Διλειτουργικός οργανοκαταλύτης με βάση τη γουανιδίνη και τη θειουρία που καταλύει την αντίδραση Henry.

Επιπλέον κάποια αλκαλοειδή μπορούν να δράσουν ως οργανοκαταλύτες των νιτροαλδολικών αντιδράσεων δίνοντας καλές αποδόσεις, αλλά μέτρια αποτελέσματα εναντιομερικής περίσσειας. Κάποια από αυτά όμως, όπως οι ενώσεις **27** και **28** (Σχήμα 1.16), μπορούν να δράσουν με αλκενυλ-α-κετοστέρες **29** με πολύ μικρό καταλυτικό φορτίο δίνοντας προϊόν αντίδρασης Henry **30A/B** και παράλληλα προϊόν προσθήκης στο διπλό δεσμό **31A/B** (Σχήμα 1.17). Οι αντιδράσεις αυτές χαρακτηρίζονται από υψηλές αποδόσεις, τα προϊόντα της Henry **30A/B** έχουν από καλή έως υψηλή εναντιομερική περίσσεια ενώ φαίνεται πως προτιμάται το προϊόν της νιτροαλδολικής

αντίδρασης από αυτό της προσθήκης στο δεσμό του αλκενίου σε αναλογία μεγαλύτερη από 95/5.²⁵

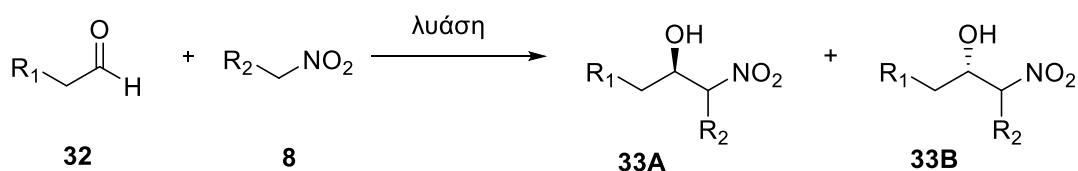


Σχήμα 1.16 Αλκαλοειδή τα οποία λειτουργούν ως καταλύτες σε αντίδραση Henry.



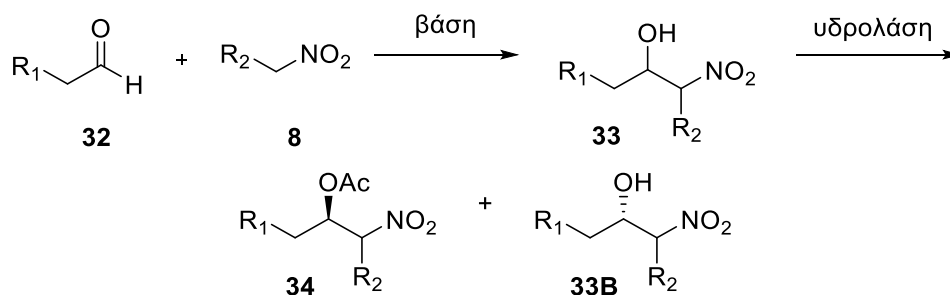
Σχήμα 1.17 Αντίδραση Henry με χρήση αλκαλοειδών ως οργανοκαταλύτες και προϊόντα αντίδρασης.

Αξίζει να σημειωθεί πως η βιοκατάλυση βρίσκει εφαρμογή στις νιτροαλδολικές αντιδράσεις. Πιο συγκεκριμένα, έχουν αναπτυχθεί δύο διαφορετικές προσεγγίσεις οι οποίες περιλαμβάνουν τη χρήση ενζύμων στην αντίδραση Henry. Η πρώτη προσέγγιση βασίζεται στην ύπαρξη ενός ενζύμου το οποίο καταλύει απευθείας την αντίδραση Henry σχηματίζοντας το δεσμό C-C (Σχήμα 1.18).^{26,27}



Σχήμα 1.18 Χρήση ενζύμου ως βιοκαταλύτης για την αντίδραση Henry.

Η δεύτερη προσέγγιση βασίζεται στο ότι η βάση θα συμβάλλει στην κατάλυση της αντίδρασης Henry και το ένζυμο θα εισαχθεί αργότερα προκειμένου να παραληφθεί το επιθυμητό διαστεreoμερές (Σχήμα 1.19).^{26,27}



Σχήμα 1.19 Χρήση βάσης για την πραγματοποίηση της αντίδρασης Henry και μετέπειτα χρήση ενζύμου για το σταθερότερο κινητικά εναντιομερές.

Στην πραγματικότητα, μόνο λίγες κατηγορίες ενζύμων μπορούν να καταλύσουν αντιδράσεις σχηματισμού C-C. Αυτές είναι οι λυάσες και στη συγκεκριμένη περίπτωση της αντίδρασης Henry, οι υδροξύ νίτριλο λυάσες. Αυτά τα ένζυμα απομονώνονται κυρίως από φυτά. Παραδείγματα τέτοιων ενζύμων αποτελούν τα *Prunus sp.*, *Hevea Brasiliensis*, *Arabidopsis thaliana*, *Linum usitatissimum*²⁶ και *M. Esculenta*.²⁸ Η *Hevea Brasiliensis* και η *Arabidopsis thaliana* καταλύουν την αντίδραση Henry δίνοντας καλή εναντιομερική περίσσεια για διαφορετικά εναντιομερή το καθένα.²⁶

Όσον αφορά τη δεύτερη προσέγγιση, για το σταθερότερο εναντιομερές έχουν ελεγχθεί διάφορες υδρολάσες, όπως οι *Candida antractica A* και *B*, *Rhizopus Meihei*, *C.rugosa*, *C. lipolytica* και *Burkholderia cepacian* σε διαφορετικά υποστρώματα δίνοντας καλές αποδόσεις και καλή εναντιομερική περίσσεια.²⁶

Οι ενζυμικές αντιδράσεις αυτού του τύπου διευκολύνουν αρκετά τη σύνθεση ποικίλων υποστρωμάτων και καθίσταται πιο εύκολο να επιτευχθεί στα προϊόντα τόσο καλή απόδοση όσο και καλή εναντιομερική περίσσεια. Ωστόσο, τα ένζυμα που καταλύουν απευθείας τη νιτροαλδολική αντίδραση είναι περιορισμένα, ενώ πολλές φορές οι αντιδράσεις χρειάζονται αρκετό χρόνο που φτάνει μέχρι και στις 4 ημέρες να ολοκληρωθούν.²⁷

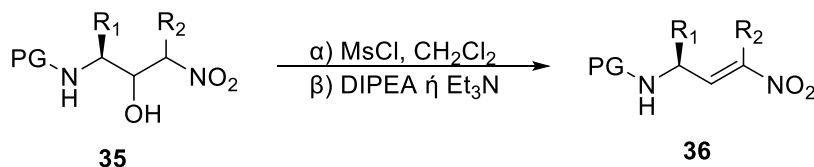
1.5 Συνθέσεις των νιτροαλκενίων από νιτροαλκοόλες

Για την παραλαβή των τελικών νιτροαλκενίων απαιτούνται τα δύο εξής στάδια:

- Το στάδιο της μετατροπής του υδροξυλίου της νιτροαλκοόλης σε καλή αποχωρούσα ομάδα και

- Η απόσπαση του, έτσι ώστε να σχηματιστεί ο διπλός δεσμός του αλκενίου

Πιο συγκεκριμένα, χρησιμοποιείται το μεθανοσουλφόνυλο χλωρίδιο (MsCl) έτσι ώστε το υδροξύλιο του σχηματισμένου νιτροαλκανίου να μετατραπεί σε καλή αποχωρούσα ομάδα.^{29,30} Έπειτα, η Et₃N ή η DIPEA χρησιμοποιείται ως βάση για την απόσπαση και το σχηματισμό του επιθυμητού νιτροαλκενίου, όπως φαίνεται στο Σχήμα 1.20.³⁰



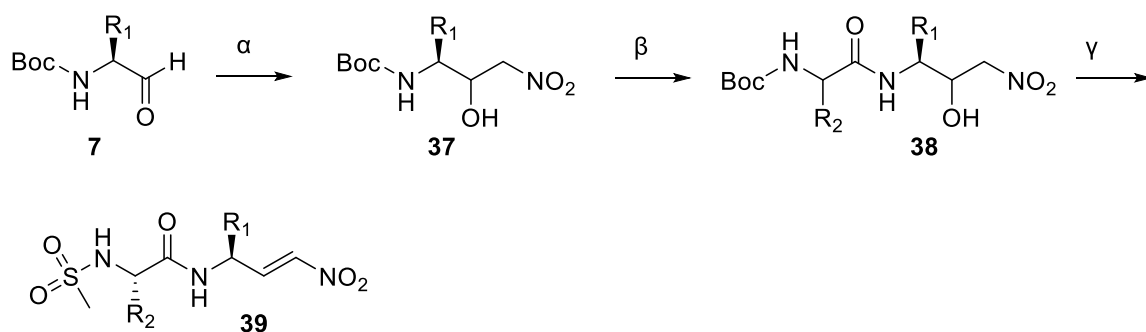
Σχήμα 1.20 Γενική σύνθεση προστατευμένου νιτροαλκενίου από την αντίστοιχη νιτροαλκοόλη με MsCl σε CH₂Cl₂ και βάση τριαιθυλαμίνη ή *N,N*-διισοπροπυλαιθυλαμίνη, όπου PG η προστατευτική ομάδα Boc- ή Cbz-.

1.6 Συνθέσεις διπεπτίδυλο νιτροαλκενίων

Για τη σύνθεση των διπεπτίδυλο αμινοαλκενίων ισχύουν όσα έχουν αναφερθεί ήδη παραπάνω. Η *N*-προστατευμένη αμινοαλδεΐδη υπόκειται σε αντίδραση Henry για να δώσει την αντίστοιχη νιτροαλκοόλη. Έπειτα, το *N*-προστατευμένο νιτροαλκάνιο αποπροστατεύεται. Στη συνέχεια συζευγνύεται με ένα άλλο προστατευμένο αμινοξύ ή πεπτίδιο με χρήση των ήδη γνωστών τεχνικών. Τα συζευκτικά μέσα είναι το υδροχλωρικό *N*-(3-διμεθυλαμινοπρόπυλ)-*N'*-αιθυλκαρβοδιιμίδιο (EDC·HCl) παρουσία του υδροξυβενζοτριάζολιου (HOBT). Τέλος, πραγματοποιείται η ενεργοποίηση του OH με μεθανοσουλφόνυλο χλωρίδιο και τελικά χρησιμοποιείται η βάση για την απόσπαση και το σχηματισμό του επιθυμητού νιτροαλκενίου. Παρατίθενται ολικές μέθοδοι σύνθεσης των διπεπτίδυλο νιτροαλκενίων από προστατευμένες αμινοαλδεΐδες.

1.6.1 1^η Ολική μέθοδος σύνθεσης διπεπτίδυλο νιτροαλκενίων από αλδεΐδη *N*-προστατευμένου αμινοξέος

Η αντίδραση α-καρβονυλίωσης επιτυγχάνεται με χρήση νιτρομεθανίου και βάση NaH σε διαλύτη τετραϋδροφουράνιο. Ακολουθεί η αποπροστασία της Boc-προστατευτικής ομάδας του αζώτου με 4M υδροχλωρικό οξύ σε διοξάνη και στη συνέχεια γίνεται σύζευξη με *N*-Boc-προστατευμένο αμινοξύ ή πεπτίδιο. Στο τελευταίο στάδιο της σύνθεσης παραλαμβάνεται το επιθυμητό νιτροαλκένιο **38**.¹²

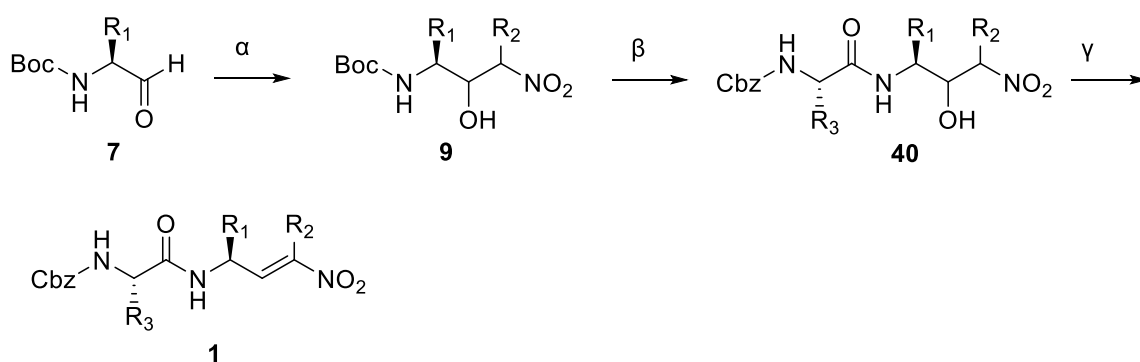


α) CH_3NO_2 , NaH, THF, 0 °C, β) 1) 4M HCl-διοξάνη, 2) Boc-αμινοξύ-OH, EDC·HCl, HOBt, Et₃N, CH_2Cl_2 , γ) 1) 4M HCl-διοξάνη, 2) MsCl, Et₃N, CH_2Cl_2

Σχήμα 1.21 Σύνθεση πεπτιδύλο νιτροαλκενίου όπου R₁ και R₂ οι πλευρικές αλυσίδες των αμινοξέων.¹²

1.6.2 2^η Ολική μέθοδος σύνθεσης διπεπτιδύλο νιτροαλκενίων από αλδεΐδη *N*-προστατευμένου αμινοξέος

Στη συγκεκριμένη πορεία (Σχήμα 1.22), έχει χρησιμοποιηθεί το νιτρομεθάνιο και το νιτροαιθάνιο στην αντίδραση Henry με βάση την τριαιθυλαμίνη για την παραλαβή του αντίστοιχου υδρόξυ-νίτρο ενδιαμέσου. Έπειτα, χρησιμοποιείται τριφθοροξικό οξύ για την απομάκρυνση της *N*-Boc προστατευτικής ομάδας. Ακολουθεί η σύζευξη με το *N*-προστατευμένο αμινοξύ ή πεπτιδίο και τέλος με χρήση του μεθανοσουλφόνυλο χλωριδίου και της *N,N*-δισοπροπυλαιθυλαμίνης γίνεται η απόσπαση και η παραλαβή του επιθυμητού νιτροαλκενίου.⁸



α) R₂NO₂, Et₃N, CH_2Cl_2 , 0 °C έως rt overnight, β) 1) CF₃COOH, CH_2Cl_2 , 0 °C, 30 min
 2) Cbz-αμινοξύ-OH, EDC·HCl, HOBt, DIPEA, γ) MsCl, DIPEA, CH_2Cl_2 , 0 °C έως rt overnight

Σχήμα 1.22 Σύνθεση πεπτιδύλο νιτροαλκενίου όπου R₁ και R₃ οι πλευρικές αλυσίδες των αμινοξέων και R₂ είτε H είτε CH₃ με βάση το νιτροαλκάνιο που θα χρησιμοποιηθεί.⁸

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΧΡΗΣΗ ΕΝΖΥΜΩΝ ΣΤΗΝ ΟΡΓΑΝΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗΝ ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗ ΚΑΡΒΟΞΥΛΟ ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΟΜΑΔΩΝ

2.1 Ένζυμα ως καταλύτες χημικών μετατροπών

Τα τελευταία χρόνια, η βιοκατάλυση χρησιμοποιείται σε όλο και μεγαλύτερο βαθμό στον τομέα της οργανικής χημείας αφού αποτελεί ένα από τα πιο «πράσινα» εργαλεία για τη σύνθεση ενώσεων. Η χρήση των ενζύμων δεν περιορίζεται μόνο στα εργαστήρια σε συνθέσεις μικρής κλίμακας, αλλά βρίσκει σημαντικές εφαρμογές για την πραγματοποίηση ποικίλων χημικών διεργασιών. Οι διεργασίες αυτές περιλαμβάνουν υδρόλυση και σύνθεση αμιδίων, εστέρων, ανυδριτών, αιθέρων κλπ, αντιδράσεις οξείδωσης και αναγωγής, προσθήκης και απόσπασης, αλογονοποίησης κλπ.^{31,32}

2.2 Πλεονεκτήματα χρήσης ενζύμων

Τα ένζυμα αποτελούν χρήσιμους βιοκαταλύτες κυρίως λόγω των υψηλών αποδόσεων που δίνουν οι αντιδράσεις τους. Ωστόσο, πλέον, σημαντικό κριτήριο για την επιλογή των ενζύμων και την εδραίωση της βιοκατάλυσης αποτελεί το γεγονός ότι οι αντιδράσεις αυτές είναι φιλικές ως προς το περιβάλλον. Τα ένζυμα αποτελούν φυσικούς καταλύτες που είναι φιλικόι ως προς το περιβάλλον διότι αποδομούνται άμεσα και προέρχονται από ανανεώσιμες πηγές. Τα ένζυμα δεν είναι τοξικά και επικίνδυνα οπότε μπορούν να χρησιμοποιηθούν χωρίς επιπλέον μέτρα ασφάλειας. Παράλληλα, δρουν σε ήπιες συνθήκες θερμοκρασίας και pH. Επίσης, χάρη στη δράση τους μειώνονται τα κόστη παραγωγής, οι όγκοι διαλυτών που θα χρησιμοποιούνταν διαφορετικά και παράγονται λιγότερα απόβλητα.^{31,32,33,34}

Τα ένζυμα χαρακτηρίζονται από εξαιρετική χημειοεκλεκτικότητα, τοπιοεκλεκτικότητα και εναντιοεκλεκτικότητα. Μπορούν όχι μόνο να καταλύσουν αντιδράσεις και να παραληφθεί ένωση με την επιθυμητή εκλεκτικότητα απευθείας αλλά και να ισομερειώσουν ένα ρακεμικό μείγμα στη σταθερότερη ένωση όπως αναφέρθηκε και

στο παράδειγμα της νιτροαλδολικής αντίδρασης στην ενότητα 1.5.^{33,35} Αν αντί αυτών χρησιμοποιηθούν άλλα χημικά αντιδραστήρια, όπως οργανομεταλλικοί καταλύτες, ή ακραίες συνθήκες pH και θερμοκρασίας, τότε θα αυξηθεί το κόστος παραγωγής, η αντίδραση μπορεί να μην είναι τόσο «καθαρή» με την έννοια του ότι θα παραληφθούν παραπροϊόντα και θα είναι δύσκολο να καθαρισθεί, ενώ ακόμα και οι αποδόσεις μπορεί να είναι χαμηλότερες. Επιπλέον, η προσέγγιση αυτή δε θα είναι τόσο φιλική ως προς το περιβάλλον. Τα ένζυμα συχνά χρησιμοποιούνται για τη σύνθεση εναντιομερικά καθαρών ενώσεων.^{30,32}

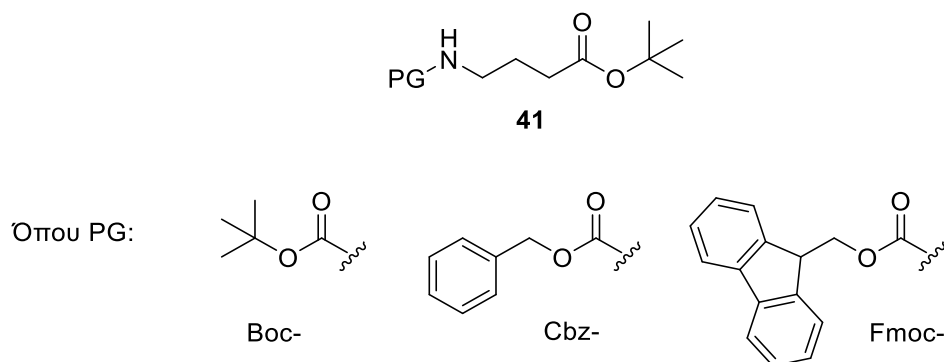
Τέλος, κατά τη σύνθεση, ένας χημικός καλείται να συνθέσει πολύπλοκες ενώσεις πολλών σταδίων όπου θα χρειαστεί να προσθέσει και να αφαιρέσει διάφορες προστατευτικές ομάδες. Αν χρησιμοποιηθεί η κλασσική χημεία, θα είναι δύσκολο να αποφευχθούν παράπλευρες αντιδράσεις. Η εκλεκτικότητα των ενζύμων όχι μόνο επιλύει αυτό το ζήτημα, αλλά μπορεί να μειώσει και τα στάδια σύνθεσης μέχρι να παραληφθεί το τελικό προϊόν. Αυτή είναι μια δυνατότητα που χρησιμοποιείται κυρίως κατά τη σύνθεση φυσικών προϊόντων και βιοδραστικών ενώσεων και πρόδρομων ενώσεων στη φαρμακευτική βιομηχανία.³⁰

2.3 Ενζυμικές αντιδράσεις απομάκρυνσης προστατευτικής ομάδας από καρβοξύλιο

Τα ένζυμα μπορούν να καταλύσουν πληθώρα αντιδράσεων, ωστόσο μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει η εισαγωγή και η υδρόλυση προστατευτικών ομάδων του καρβοξυλίου. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η υδρόλυση εστέρων με χρήση της βιοκατάλυσης. Όπως έχει αναφερθεί παραπάνω, η προσθήκη και η αφαίρεση προστατευτικών ομάδων του καρβοξυλίου με χρήση ενζύμων είναι σημαντικές λόγω εκλεκτικότητας και κέρδους από άποψη συνθετικών βημάτων. Η απομάκρυνση των προστατευτικών ομάδων εστέρων είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για το σχεδιασμό ενώσεων βιολογικού ενδιαφέροντος. Σε αυτό το σημείο θα αναφερθούν παραδείγματα υδρόλυσης εστέρων βιοκαταλυτικά, όπως έχουν πραγματοποιηθεί στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας στην ομάδα του καθηγητή Γ. Κόκοτου, καθώς επίσης και στάδια σύνθεσης φαρμάκων όπου χρησιμοποιείται η ενζυμική αντίδραση υδρόλυσης εστέρων.

2.3.1 Αποπροστασία *tert*-βουτυλεστέρα

Τα ένζυμα εστεράση BsubpNBE9 από το *Bacillus subtilis*, εστεράση από το ήπαρ χοίρου PLE και λιπάσες CAL-A και CAL-B από την *Candida antarctica*, που περιέχουν την αλληλουχία GGG(A)X μπορούν να υδρολύσουν εκλεκτικά την ομάδα του *tert*-βουτυλεστέρα παράγοντας καρβοξυλικό οξύ, χωρίς να επηρεάσουν άλλες υπάρχουσες ομάδες στην ένωση. Στην αλληλουχία αμινοξέων GGG(A)X το G συμβολίζει ένα κατάλοιπο γλυκίνης, το X οποιοδήποτε άλλο κατάλοιπο ενώ το A, σε κάποια ένζυμα, την αλανίνη που αντικαθιστά ένα κατάλοιπο γλυκίνης. Η αλληλουχία αυτή εμπεριέχεται σε κάποιες εστεράσες και λιπάσες και καθορίζει τη δραστηριότητα έναντι σε τριτοταγείς αλκοόλες. Δοκιμές σε προστατευμένα Boc- αμινοξέα και σε παράγωγα του γ-αμινοβουτυρικού οξέος αποπροστάτευσαν εκλεκτικά την ομάδα του *tert*-βουτυλεστέρα αφήνοντας άθικτες προστατευτικές ομάδες του αζώτου όπως Boc, Cbz ή Fmoc, όπως φαίνεται στο Σχήμα 2.1.^{37,38}

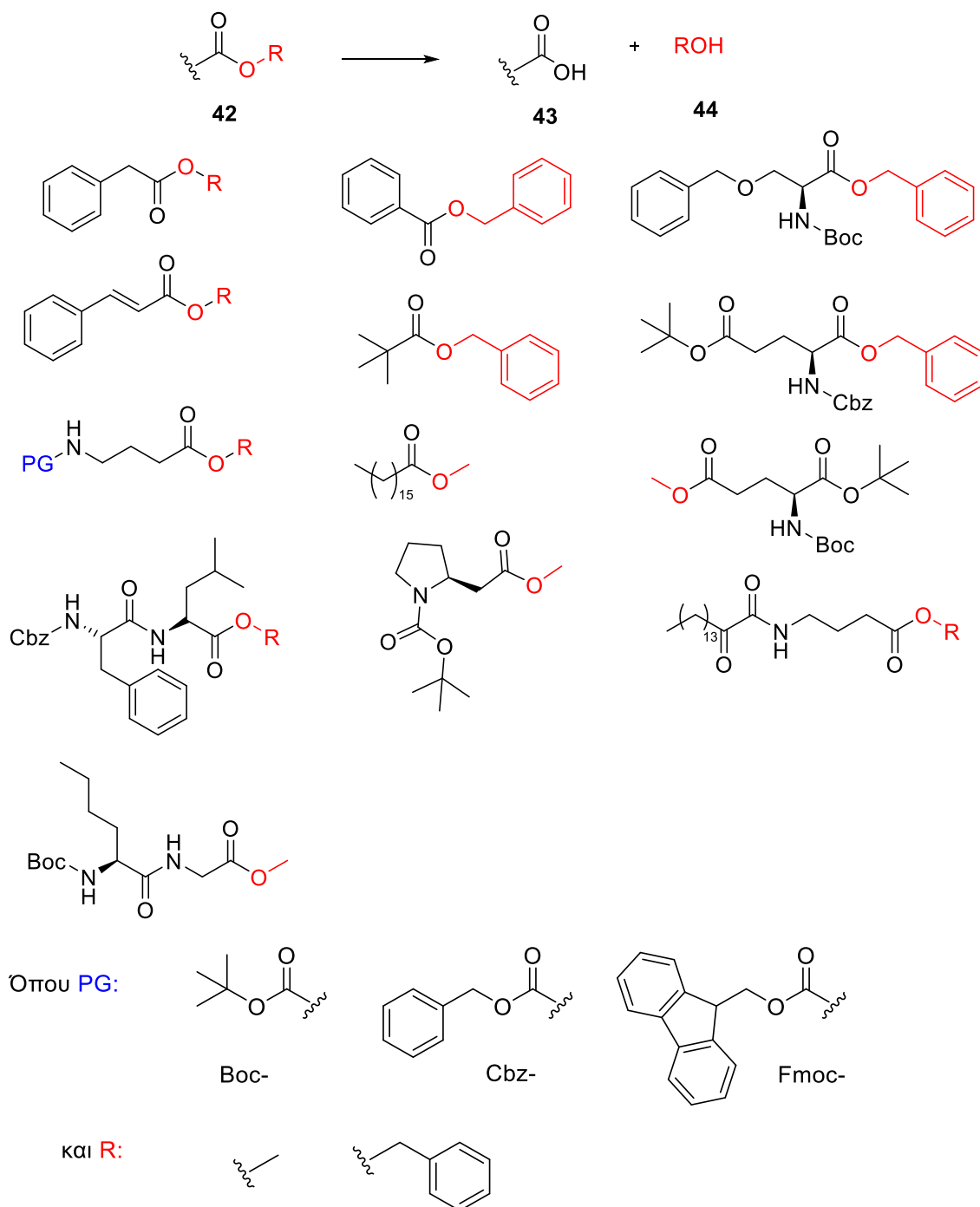


Σχήμα 2.1 Εκλεκτική ενζυμική αποπροστασία ομάδας *tert*-βουτυλεστέρα για τη σύνθεση καρβοξυλικού οξέος σε παράγωγα γ-αμινοβουτυρικού οξέος χωρίς να επηρεαστεί η προστατευτική ομάδα του αζώτου της αμινομάδας.

2.3.2 Αποπροστασία μεθυλεστέρα και βενζυλεστέρα

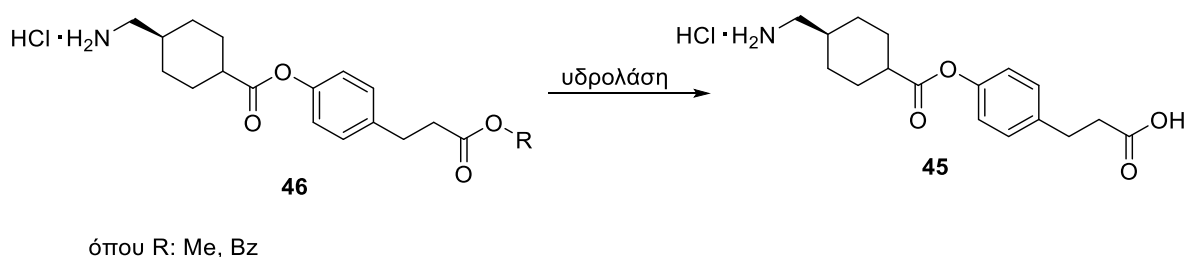
Ο μεθυλεστέρας και ο βενζυλεστέρας αποτελούν από τις πιο κοινές επιλογές ως προϊόντα εστεροποίησης στην οργανική σύνθεση λόγω της ευκολίας της εστεροποίησης. Σε πολύπλοκες δομές η αποπροστασία τους μπορεί να είναι δύσκολη. Τα ένζυμα μπορούν να επιλύσουν αυτό το πρόβλημα. Οι υδρολάσες BS2, PLE, CAL-A και CAL-B, οι οποίες αναφέρθηκαν και στην ενότητα 2.3.1, είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν για την αποπροστασία αυτή σε ήπιες συνθήκες δίνοντας καλές έως υψηλές αποδόσεις και αποφεύγοντας διάφορες παράπλευρες αντιδράσεις για την

παραλαβή του αντίστοιχου καρβοξυλικού οξέος. Στο Σχήμα 2.2 απεικονίζονται υποστρώματα τα οποία δοκιμάστηκαν, στα οποία περιλαμβάνονται και πεπτίδια και ευαίσθητα μόρια.^{38,39}



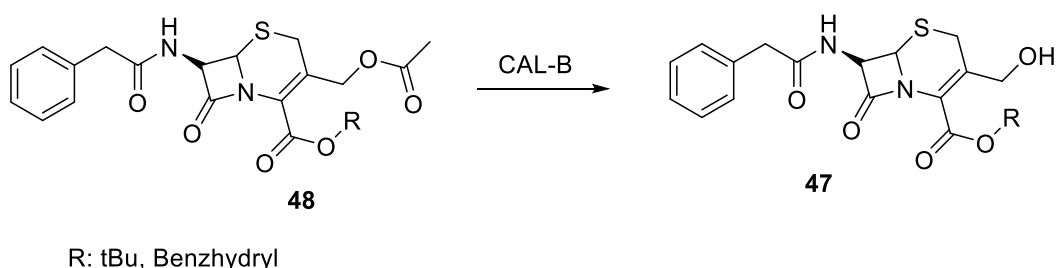
Σχήμα 2.2 Εκλεκτική ενζυμική αποπροστασία μεθυλεστέρα και βενζυλεστέρα για τη σύνθεση καρβοξυλικού οξέος σε παράγωγα γ-αμινοβουτυρικού οξέος, διπεπτίδια και άλλες ευαίσθητες ενώσεις χωρίς να επηρεαστούν άλλες προστατευτικές ομάδες της ένωσης ή τμήματά της.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα εφαρμογής της παραπάνω αναφοράς αποτελεί το φάρμακο Cetraxate **45**, το οποίο χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση της γαστρίτιδας αλλά και ασθενειών σχετικές με γαστρικό έλκος. Η υδρόλυση της ομάδας του εστέρα στην περίπτωση του βενζυλεστέρα **46** δεν μπορούσε να πραγματοποιηθεί με τις κλασσικές τεχνικές οργανικής χημείας λόγω του εστερικού δεσμού που υπάρχει ήδη στην ένωση (Σχήμα 2.3). Έτσι, η υδρόλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της εστεράσης από *Aspergillus niger*.^{40,41} Αντίστοιχα, στην περίπτωση του μεθυλεστέρα, τα ένζυμα που χρησιμοποιούνται για τη χημειοεκλεκτική υδρόλυση είναι η εστεράση από κύτταρα *Microbacterium* sp. 7-1W,^{40,41} και η υδρολάση από *Acinetobacter calcoaceticus*.⁴²



Σχήμα 2.3 Ενζυμική υδρόλυση του εστέρα για την παραλαβή του φαρμάκου Cetraxate.

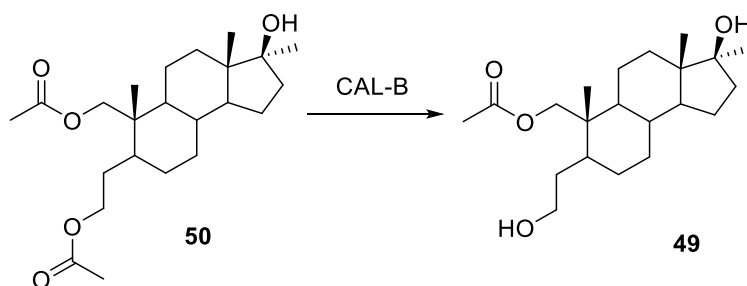
Επίσης, οι κεφαλοσπορίνες ανήκουν σε μία τάξη αντιβιοτικών ενώσεων που χρησιμοποιούνται ευρέως. Στο Σχήμα 2.4, περιγράφεται η εκλεκτική ενζυμική υδρόλυση της ακετόξυ ομάδας με χρήση της λιπάσης CAL-B από την *Candida antarctica*. Με τις κλασσικές τεχνικές χημείας δεν θα μπορούσε να παραληφθεί αυτό το προϊόν **47** χωρίς παράλληλα να πραγματοποιηθεί ανεπιθύμητη λακτονοποίηση.⁴³



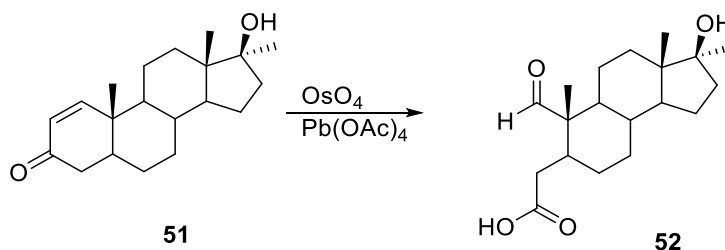
Σχήμα 2.4 Εκλεκτική ενζυμική υδρόλυση της ακετόξυ ομάδας κεφαλοσπορίνης.

Για τη σύνθεση της αναβολικής ορμόνης Oxandrolone **49**, η οποία χορηγείται σε ασθενείς που νοσούν από HIV, σε ένα από τα στάδια, απαιτείται η εκλεκτική

αποακετυλίωση της μίας από τις δύο ακετυλομάδες που υπάρχουν στην ένωση **50**. Έτσι, χρησιμοποιείται η λιπάση CAL-B από την *Candida antarctica*, όπως απεικονίζεται στο Σχήμα 2.5. Αν αντί της βιοκατάλυσης, αποφασίσει κάποιος να χρησιμοποιήσει τις κλασσικές τεχνικές χημείας, δε θα μπορέσει να αποφύγει τα ακριβά και τοξικά οξειδωτικά αντιδραστήρια που απαιτούνται για τη διάνοιξη του δακτυλίου A στην ένωση **51** για την παραλαβή της ένωσης **52** ως ενδιάμεσο στάδιο στη σύνθεση του Oxandrolone (Σχήμα 2.6).⁴⁴

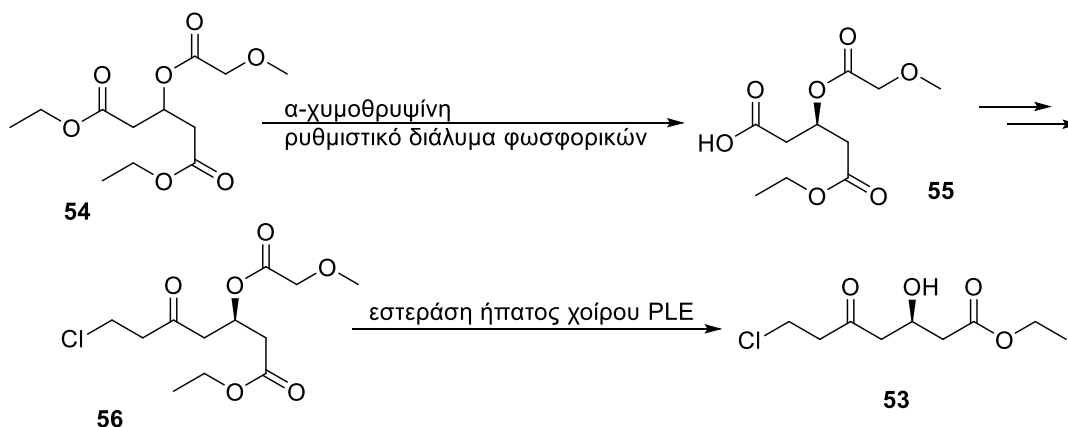


Σχήμα 2.5 Τοποεκλεκτική ενζυμική αποακετυλίωση.



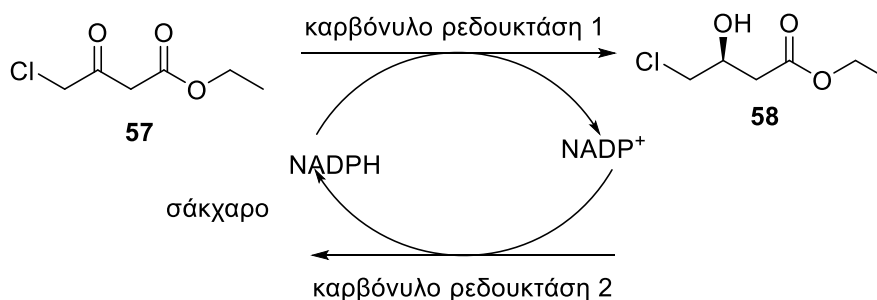
Σχήμα 2.6 Διάνοιξη δακτυλίου A με κλασσικές τεχνικές χημείας ως ενδιάμεσο στάδιο για τη σύνθεση του φαρμάκου Oxandrolone

Ένα ακόμα παράδειγμα σχετικά με τη χρήση των ενζύμων στη σύνθεση ενώσεων με φαρμακολογικό ενδιαφέρον αποτελούν οι στατίνες. Η σύνθεσή τους είναι δύσκολη από άποψη χειρομορφίας, αλλά και λόγω των υδροξυλίων και των προστατευτικών ομάδων του καρβοξυλίου. Η χρήση των ενζύμων, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 2.7, επιλύει κάποια από αυτά τα προβλήματα δίνοντας το οπτικά καθαρό προϊόν **53** το οποίο είναι η βάση για τη σύνθεση πολλών στατινών.⁴⁵



Σχήμα 2.7 Σύνθεση οπτικά ενεργών στατινών με χρήση ενζύμων.

Στη σύνθεση στατινών, όπως το Atorvastatin,^{34,45,46} μπορεί να χρησιμοποιηθεί εναλλακτική προσέγγιση βιοκαταλυτικής πορείας, η οποία απεικονίζεται στο Σχήμα 2.8. Με αρχική ένωση τον αιθυλεστέρα του 4-χλωρο-3-οξοβουτανικού οξέος **57** και χρήση αναγωγικών καρβόνυλο ρεδοκτασών, οι οποίες εξαρτώνται από το NADPH, παραλαμβάνεται το βασικό χειρόμορφο ενδιάμεσο για την παραλαβή του φαρμάκου.^{32,34,47,48}

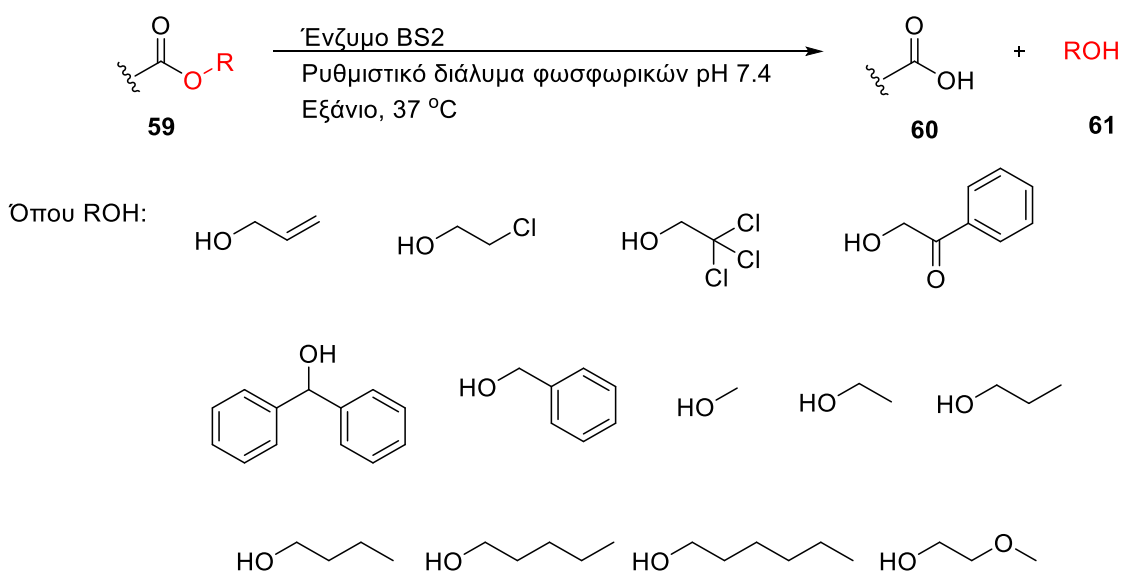


Σχήμα 2.8 Παραλαβή του βασικού χειρόμορφου ενδιαμέσου για τη σύνθεση στατινών με βιοκατάλυση.

Όπως γίνεται σαφές, η εκλεκτικότητα των ενζύμων παίζει σημαντικό ρόλο ως προς την επιλογή τους για τις χημικές μετατροπές στα υποστρώματα. Η χρήση των ενζύμων και οι ιδιότητες που παρέχουν στην οργανική χημεία μπορούν να επιλύσουν συνθετικά προβλήματα και να βρουν εφαρμογή τόσο στο εργαστήριο όσο και στη βιομηχανία για τη σύνθεση φυσικών προϊόντων, πολύπλοκων δομών, χειρόμορφων ενώσεων και ενώσεων με πολυλειτουργικές ομάδες κλπ. Η λίστα με τα παραδείγματα της χρήσης τους είναι αξιοσημείωτη στη σύνθεση φαρμάκων και όχι μόνο.

2.3.3 Αποπροστασία αλλυλεστέρα, χλωροαιθυλεστέρα και απλών εστέρων

Οι υδρολάσες BS2 και CAL-A, οι οποίες αναφέρθηκαν και παραπάνω, καθώς και οι CAL-B και PLE είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν για την γρήγορα και εκλεκτική αποπροστασία αλλυλεστέρων και χλωροαιθυλεστέρων σε ήπιες συνθήκες και με υψηλές αποδόσεις. Η δομή των εστέρων αυτών απεικονίζεται στο Σχήμα 2.9. Οι εστέρες που μελετήθηκαν ήταν παράγωγα του *N*-προστατευμένου γ-αμινοβουτυρικού οξέος, *N*-προστατευμένων αμινοξέων (π.χ. γλουταμικό οξύ), καθώς και υποστρωμάτων με ποικίλες λειτουργικές ομάδες ελέγχοντας έτσι και την εκλεκτικότητα της αντίδρασης. Μελετήθηκαν επίσης οι αλλυλεστέρες του βενζοϊκού και του κινναμωμικού οξέος δίνοντας καλές αποδόσεις και απλών αλειφατικών οξέων δίνοντας μέτριες αποδόσεις υδρόλυσης.^{38,49,50}

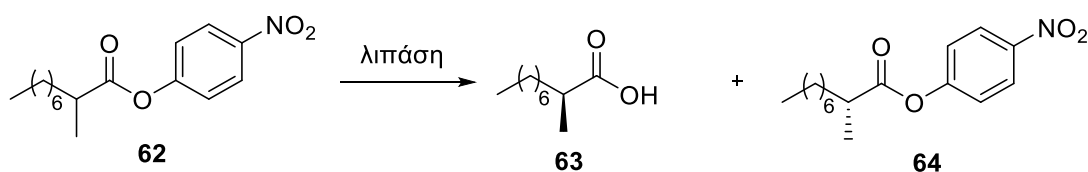


Σχήμα 2.9 Γενική ενζυμική αντίδραση και δομές των εστέρων.

Η εύρεση ενός ενζύμου το οποίο να καταλύει μία συγκεκριμένη αντίδραση είναι πολλές φορές ιδιαίτερα δύσκολο και χρονοβόρο έργο. Έτσι, σύμφωνα με μια στρατηγική, το ένζυμο το οποίο δίνει τα καλύτερα δυνατά αποτελέσματα υπόκειται σε κάποια μετάλλαξη έτσι ώστε να βελτιωθεί η δράση του για κάποια συγκεκριμένη αντίδραση.³⁵ Χαρακτηριστικό παράδειγμα το κατασκευασμένο ένζυμο E188W/M193C, το οποίο έχει δοκιμαστεί σε κάποια από τα παραπάνω υποστρώματα. Πρόκειται για ένα ένζυμο μηχανικά κατασκευασμένο και παρεμφερές με το BS2 αλλά έχει μια διπλή αλλαγή στην

αλληλουχία των αμινοξέων του. Με βάση τα πειραματικά αποτελέσματα, φαίνεται πως το ένζυμο αυτό παρουσιάζει μια αξιοσημείωτη τοποεκλεκτικότητα κατά την υδρόλυση εστέρων στην α- θέση παραγώγων γλουταμικού οξέος. Το BS2, από την άλλη μεριά, παρουσιάζει καλύτερη χημειοεκλεκτικότητα κατά την αντίδραση υδρόλυσης των ίδιων παραγώγων γλουταμικού οξέος.⁵⁰

Επίσης, η λιπάση από *Pseudomonas aeruginosa* καταλύει την υδρόλυση του παρανιτροφαινυλεστέρα του 2-μεθυλοδεκανοϊκού οξέος **62** χωρίς καμία στερεοεκλεκτικότητα. Αν το ένζυμο τροποποιηθεί, το αποτέλεσμα θα είναι η απόδοση να κυμαίνεται μεταξύ του 20-30%, ενώ η εναντιοεκλεκτικότητα στο 80% (Σχήμα 2.10).^{51,52}

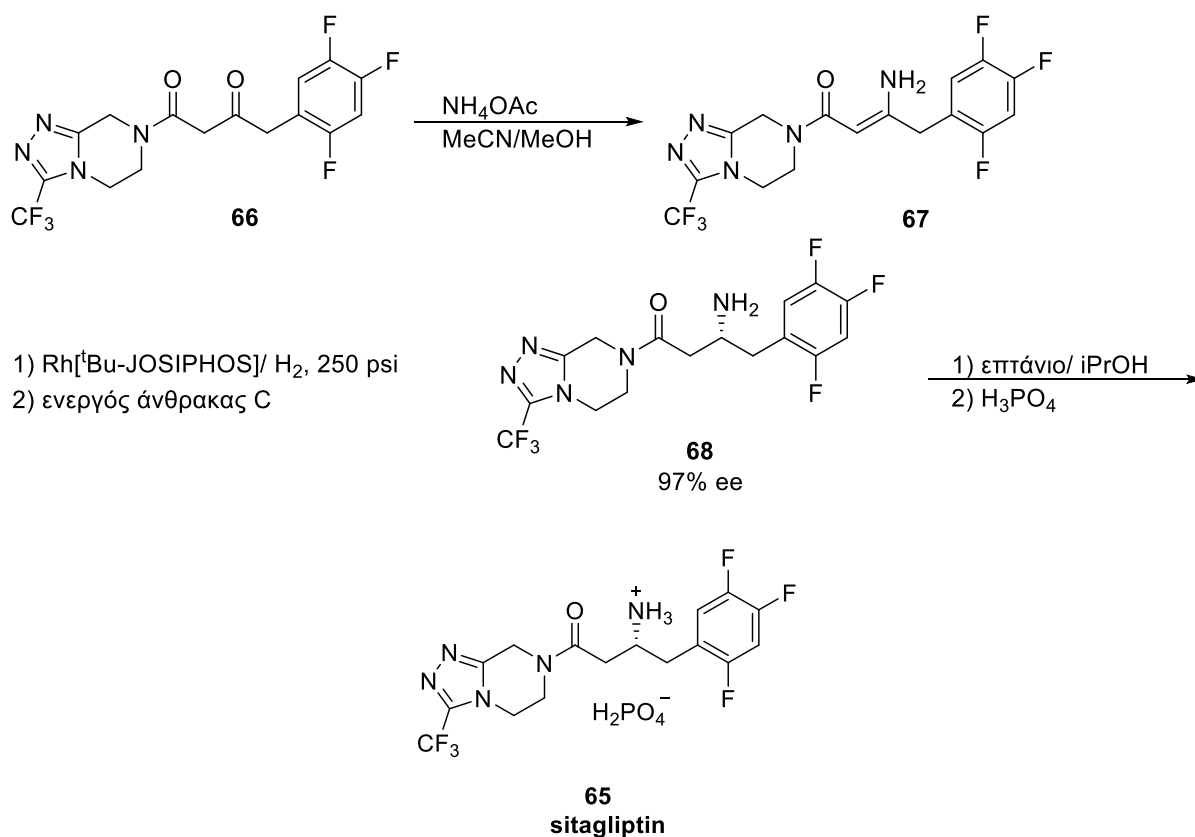


Σχήμα 2.10 Εναντιοεκλεκτικότητα της τροποποιημένης λιπάσης.

2.4 Ενζυμικές αντιδράσεις στην παραλαβή φαρμάκων

Τα ένζυμα, όπως έχει ήδη αναφερθεί, βρίσκουν εφαρμογή στη σύνθεση φαρμακευτικών ενώσεων. Ωστόσο, δε χρησιμοποιούνται μόνο για προστασία και αποπροστασία των διαφόρων ομάδων ή για τον καθορισμό της χειρομορφίας. Καταλύουν και άλλες αντιδράσεις, όπως οξείδωσης, αναγωγής ή λακτονοποίησης.

Το sitagliptin **65** είναι ένα ευρέως διαδεδομένο αντιδιαβητικό φάρμακο, το οποίο δρα ως αναστολέας της διπεπτιδύλο πεπτιδάσης DPP-4. Η αρχική σύνθεση του φαρμάκου (Σχήμα 2.11) περιελάμβανε την ασύμμετρη υδρογόνωση της ένωσης **67** με χειρόμορφο καταλύτη ροδίου Rh σε υψηλή πίεση. Το αποτέλεσμα ήταν ότι το προϊόν **68** παραλαμβανόταν σε εναντιομερική περίσσεια ποσοστού 97%. Σημαντικό πρόβλημα αποτελούσε το γεγονός ότι το φάρμακο είχε επιμολύνσεις από το το Rh ως καταλύτη και απαιτούσε επιπλέον καθαρισμό.⁵³

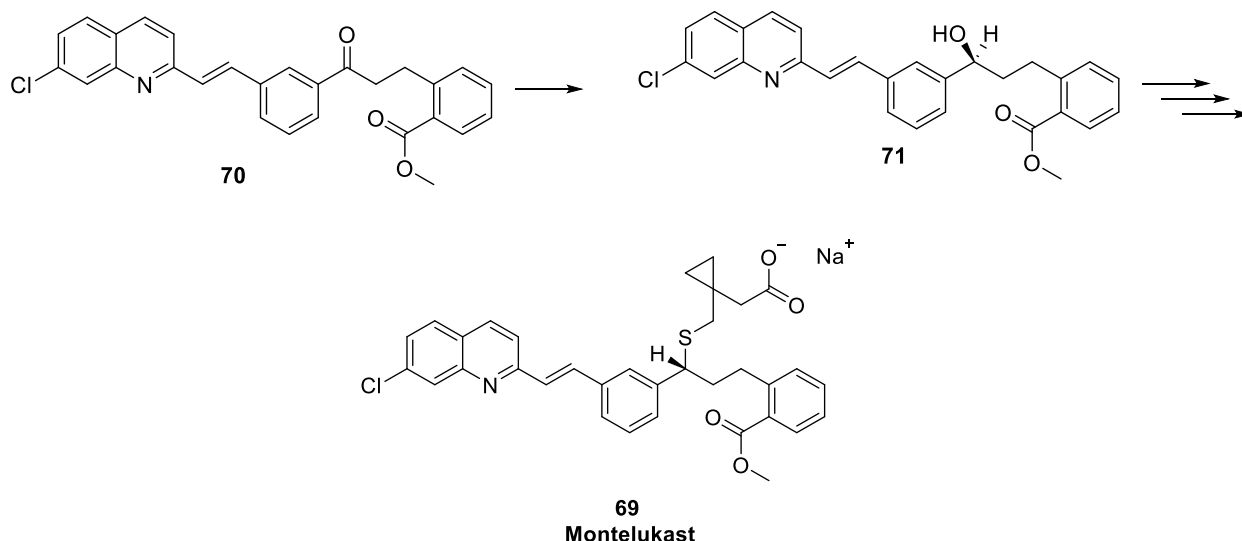


Σχήμα 2.11 Σύνθεση του sitagliptin με τις κλασσικές τεχνικές χημείας.

Η χρήση της βιοκατάλυσης έχει συμβάλλει στη βελτίωση σύνθεσης του sitagliptin. Αρχικά, στην ένωση **66** χρησιμοποιείται μία εκλεκτική τρανσαμινάση, η ATA-117 η οποία είναι ομόλογο του *Arthrobacter sp* και δίνει απευθείας την ένωση **68** σε απόδοση 92% και εναντιομερική περίσσεια μεγαλύτερη του 99%. Αξίζει να αναφερθεί πως το ένζυμο χρησιμοποιείται σε ποσότητα 6g/L. Συμπερασματικά, η χρήση των ενζύμων, σε αυτή τη συνθετική πορεία, μείωσε το κόστος και τα στάδια της αντίδρασης. Παράλληλα έδωσε καλύτερη απόδοση και εναντιομερική περίσσεια.⁵⁴

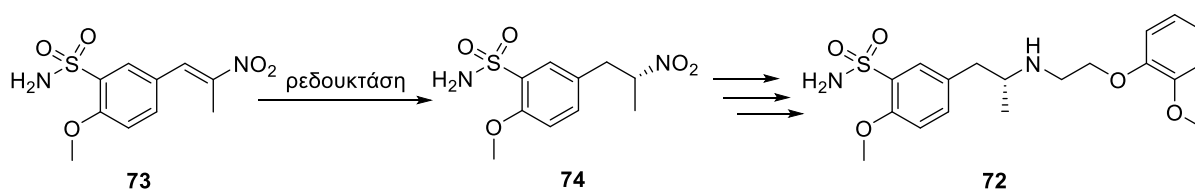
Αντίστοιχα, στάδιο της κλασσικής χημικής μεθόδου για την παραλαβή του Montelukast **69**, εκλεκτικός ανταγωνιστής στον υποδοχέα λευκοτριενίου ο οποίος χορηγείται για την αντιμετώπιση του άσθματος, έχει αντικατασταθεί από την ενζυμική. Αυτό συμβαίνει γιατί κατά την μετατροπή της ένωσης **70** στην **71** (Σχήμα 2.12), χρησιμοποιείται ένα χειρόμορφο αναγωγικό αντιδραστήριο το οποίο είναι τοξικό και επικίνδυνο. Για να επιτευχθεί η καλύτερη δυνατή στερεοεκλεκτικότητα χρησιμοποιούνται μεγάλες ποσότητες από αυτό.^{55,56} Η α-κετορεδουκτάση είναι ένα ένζυμο το οποίο έλυσε το παραπάνω πρόβλημα. Μικρή ποσότητα του ενζύμου

καταλύει την εκλεκτική αντίδραση αναγωγής με υψηλή απόδοση και εναντιομερική περίσσεια.^{34,48,57}



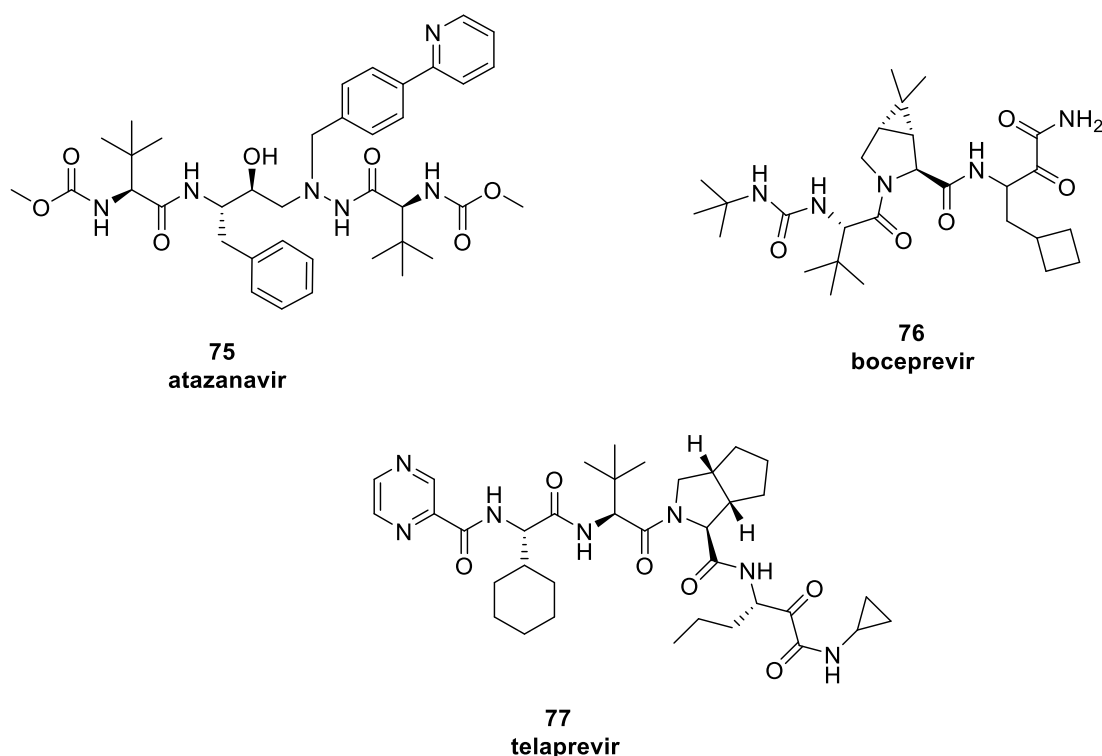
Σχήμα 2.12 Περιγραφή για το σταδίο-κλειδί της σύνθεσης του Montelukast.

Οι ρεδουκτάσες μπορούν να ανάγουν και διπλούς δεσμούς αλκενίων και όχι μόνο καρβονυλικών ενώσεων. Τα ένζυμα που καταλύουν την ασύμμετρη υδρογόνωση διπλού δεσμού χαρακτηρίζονται από υψηλή χημειοεκλεκτικότητα και στερεοεκλεκτικότητα. Η ενζυμική αναγωγή των α- ή β-υποκατεστημένων ακόρεστων νιτροαλκενίων δίνει το αντίστοιχο νιτροαλκάνιο σε υψηλή εναντιομερική περίσσεια. Το νιτροαλκάνιο στη συνέχεια μπορεί να δώσει όλες τις κλασσικές χημικές αντιδράσεις και μετατροπές της νίτρο ομάδας.⁵⁸ Το Tamsulosin **72** χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση της προστατικής υπερπλασίας και προβλημάτων σχετικά με πέτρες στα νεφρά. Στο Σχήμα 2.13 φαίνεται η μετατροπή που υπόκειται το νιτροαλκάνιο **73** με χρήση της ρεδουκτάσης του διπλού δεσμού από το *Gluconobacter Oxydans* για το επιθυμητό νιτροαλκάνιο **74**, ως βασικό ενδιάμεσο της σύνθεσης του Tamsulosin.^{48,59}



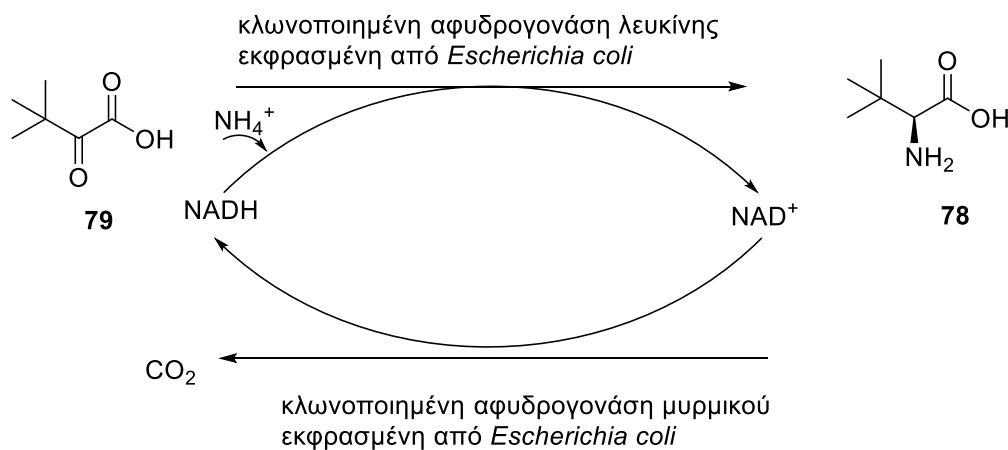
Σχήμα 2.13 Χρήση της ρεδουκτάσης για ενζυμική ασύμμετρη υδρογόνωση διπλού δεσμού σε ενδιάμεσο στάδιο της σύνθεσης του Tamsulosin.

Το Atazanavir **75** είναι ένας μη κυκλικός αζα-πεπτιδομιμητικός αναστολέας της HIV πρωτεάσης. Το Boceprevir **76** είναι ένας αναστολέας πρωτεάσης που χορηγείται στην αντιμετώπιση της ηπατίτιδας.⁶⁰ Τέλος, το Telaprevir **77** αναστέλλει πρωτεάση σερίνης με αποτέλεσμα να θεραπεύει την ηπατίτιδα C.^{48,61}



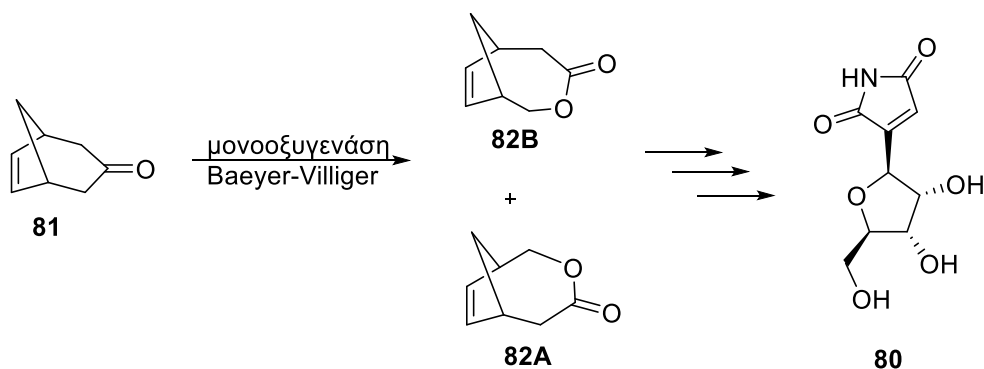
Σχήμα 2.14 Δομές των φαρμάκων atazanavir, boceprevir και telaprevir

Το κοινό στοιχείο των τριών αυτών φαρμάκων είναι ότι έχουν στη σύνθεση τους ως βασικό στοιχείο την (*S*)-*tert*-λευκίνη **78**. Για την παραλαβή της (*S*)-*tert*-λευκίνης, επιλέγεται το αντίστοιχο α-κετοοξύ **79** και χρησιμοποιείται η αφυδρογονάση της λευκίνης, η αφυδρογονάση του μυρμηκικού οξέος, αμμωνία και ως συμπαραγόντας το NADH, όπως απεικονίζεται στο Σχήμα 2.15. Αυτή η αναγωγική αμίνωση βρίσκει εφαρμογή στην ενζυμική σύνθεση των αμινοξέων.^{62,63}



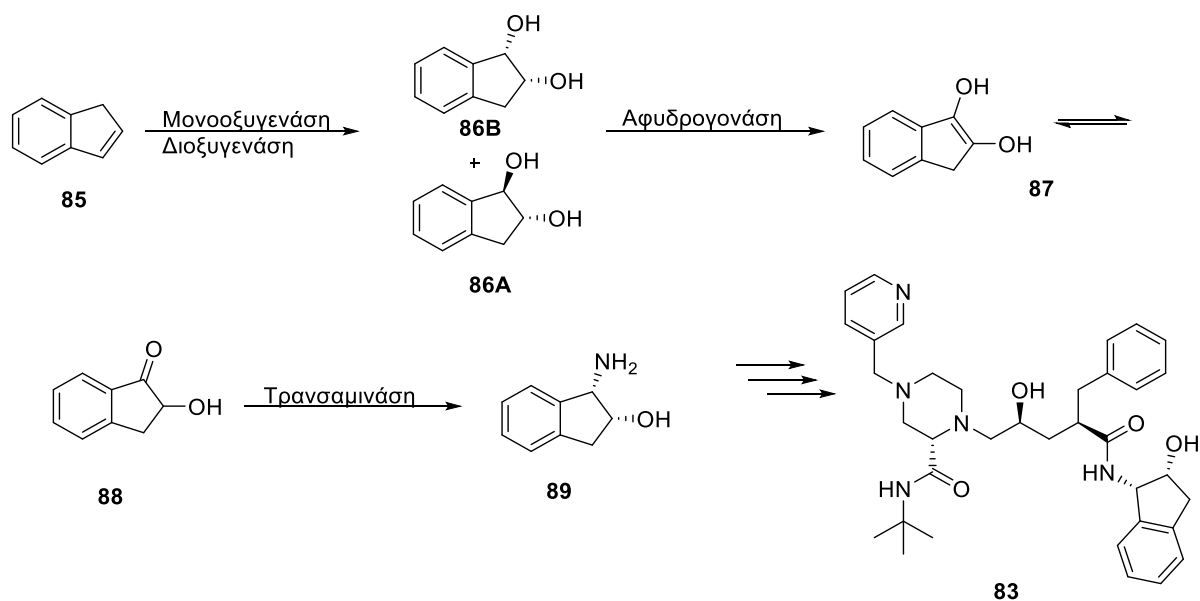
Σχήμα 2.15 Ενζυμική μετατροπή του 3,3-διμεθυλ-2-οξοβουτανοϊκού οξέος στην την (S)-tert-λευκίνη.

Ενζυμικά είναι δυνατόν να παραληφθούν λακτόνες μέσω οξείδωσης Baeyer-Villiger. Τα ένζυμα αυτά λέγονται οξυγονάσες και βρίσκουν εφαρμογή στη σύνθεση του αντιικού φαρμάκου Showdomycin **80**. Χαρακτηρίζονται από εξαιρετική τοπο-, χημειο- και στερεοκλεκτικότητα.^{64,65} Η ένωση **81** ενζυμικά δίνει τα εναντιομερικά προϊόντα ενζυμικής λακτονοποίησης **82**. Και τα δυο προϊόντα ωστόσο, είναι πρόδρομες ενώσεις για το **80**.^{66,67}

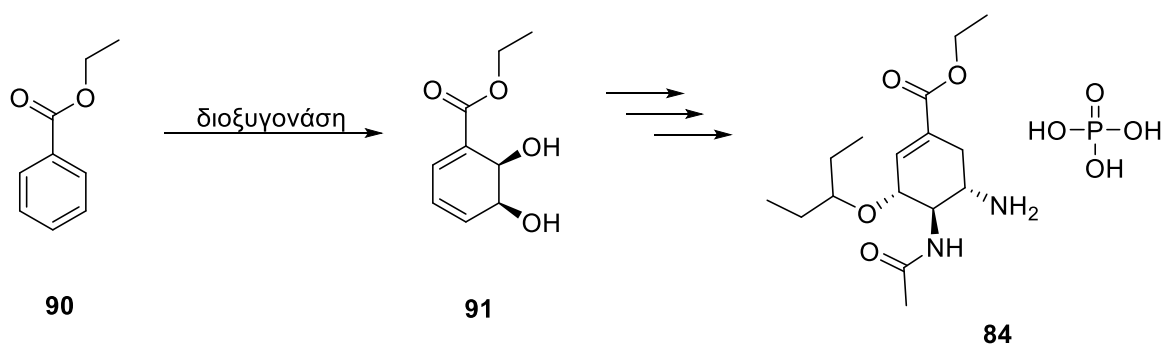


Σχήμα 2.16 Ενζυμική οξείδωση Baeyer-Villiger σε ενδιάμεσο στάδιο της σύνθεσης του αντιικού φαρμάκου Showdomycin.

Επιπροσθέτως, τα ένζυμα χρησιμοποιούνται συχνά στη βιομηχανία φαρμάκων για αντιδράσεις υδροξυλίωσης.⁶⁸ Χαρακτηριστικά παραδείγματα σε αυτό αποτελούν τα αντιικά φάρμακα Indinavir **83** και Tamiflu **84**, όπου χρησιμοποιούνται υδροξυγονάσες για την παρασκευή χειρόμορφων αλκοολών, πως περιγράφεται στα Σχήματα 2.17 και 2.18.^{69,70}

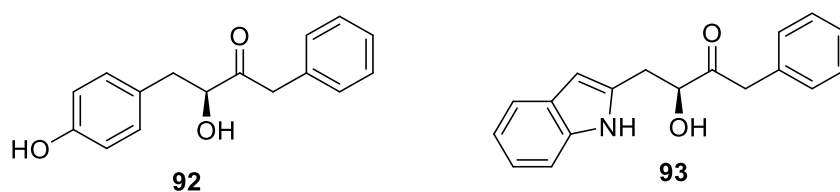


Σχήμα 2.17 Απεικόνιση συνθετικών σταδίων όπου χρησιμοποιούνται ένζυμα στη σύνθεση του indinavir.



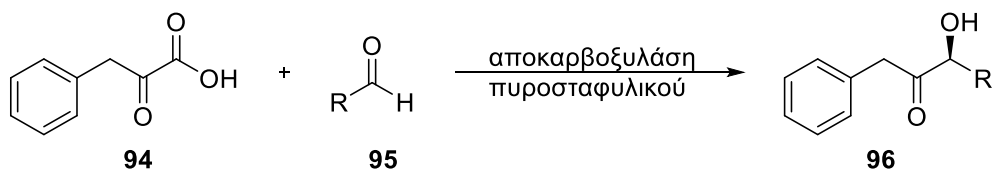
Σχήμα 2.18 Απεικόνιση του ενζυμικού σταδίου όπου παραλαμβάνεται η χειρόμορφη διόλη ως ενδιάμεσο της σύνθεσης του αντιικού φαρμάκου Tamiflu.

Οι ενώσεις Kurasoins A **92** και Kurasoins B **93** (Σχήμα 2.19) δρουν ως αναστολείς της πρωτεϊνικής φαρνεσυλτρανσφεράσης. Έχουν απομονωθεί από το μύκητα *Paecilomyces* sp. FO-3684 και φαίνεται να έχουν αντικαρκινική δράση.^{48,71}



Σχήμα 2.19 Γενική δομή των Kurasoins A **92** και Kurasoins B **93**.

Η σύνθεση, η οποία απεικονίζεται στο Σχήμα 2.20, επιτυγχάνεται με ασύμμετρη ακυλονική συμπύκνωση του φαινυλοπυροσταφυλικού οξέος με την αλδεΐδη. Το ένζυμο που καταλύει την αντίδραση είναι η αποκαρβοξυλάση του πυροσταφυλικού από το *Achromobacter eurydice* SC 16386. Με βάση τα αντιδρώντα οι αποδόσεις και το ποσοστό εναντιομερικής περίσσειας διαφέρει. Μέγιστη απόδοση παρατηρείται με αλειφατικές ευθύγραμμες αλυσίδες σε αλδεΐδες ενώ η εναντιομερική περίσσεια κυμαίνεται στο 87-98%.^{72,73}



Σχήμα 2.20 Γενικός τύπος αντίδρασης με χρήση του ενζύμου αποκαρβοξυλάση του πυροσταφυλικού και το R καθορίζει την αλδεΐδη και αν είναι αλειφατική η διακλαδισμένη και από πόσα ανθρακόατομα αποτελείται.

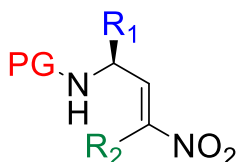
Συμπερασματικά, τα ένζυμα είναι ιδιαίτερα χρήσιμα στη βιομηχανία φαρμάκων. Διεξάγουν πληθώρα αντιδράσεων και, όπως φαίνεται από τα παραπάνω παραδείγματα, το αποτέλεσμα της χρήσης τους είναι η μείωση κόστους, η εξοικονόμηση χρόνου και πόρων και φυσικά, το ότι δεν απαιτούνται επιπλέον μέτρα ασφάλειας κατά το χειρισμό τους.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η αναστολή ενζύμων με αντιστρεπτό ή μη αντιστρεπτό τρόπο είναι ιδιαίτερα σημαντική για την ανακάλυψη νέων φαρμάκων. Τα πεπτιδικά νιτροαλκένια είναι ενώσεις, οι οποίες μπορούν να δράσουν ανασταλτικά έναντι των πρωτεασών κυστεΐνης αλλά και των πρωτεασών σερίνης. Συνεπώς, πρόκειται για ενώσεις με πιθανή φαρμακολογική δράση.

Στην παρούσα εργασία, σκοπός ήταν η μελέτη μεθοδολογίας για τη σύνθεση παραγώγων νιτροαλκενίων που βασίζονται σε φυσικά αμινοξέα. Οι ενώσεις που σχεδιάστηκαν και συντέθησαν στα πλαίσια αυτής της εργασίας έχουν τη γενική δομή που φαίνεται στο Σχήμα 3.1. Για την προστασία της α-αμινομάδας επιλέχθηκαν η βενζυλοξυκαρβόνυλο- και η *tert*-βουτυλοκαρβόνυλο ομάδα, ενώ λειτουργικές ομάδες στην πλευρική αλυσίδα προστατεύτηκαν με κατάλληλες ομάδες ανάλογα με τη φύση τους.



Σχήμα 3.1 Γενική δομή των νιτροαλκενίων που συντέθησαν όπου **PG** η προστατευτική ομάδα (Boc-, Cbz-) της αμινομάδας του αμινοξέος, **R₁** η πλευρική αλυσίδα του αμινοξέος και **R₂** η αλυσίδα που προκύπτει από την εισαγωγή του νιτροαλκανίου στο στάδιο της αντίδρασης Henry

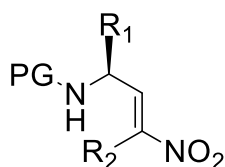
Επίσης, μελετήθηκε η υδρόλυση του μεθυλεστέρα σε ένα από τα παράγωγα νιτροαλκενίων. Όμως, η υδρόλυση με χρήση των κλασσικών χημικών αντιδράσεων (π.χ. σαπωνοποίηση σε αλκαλικές συνθήκες) δε θα ήταν εφικτή χωρίς ταυτόχρονες παράπλευρες αντιδράσεις. Έτσι, κρίθηκε σκόπιμο να πραγματοποιηθεί εκτενής βιβλιογραφική μελέτη για την εύρεση κατάλληλης αντίδρασης, η οποία είναι εφικτή με τη χρήση κατάλληλων ενζύμων. Πιο συγκεκριμένα, εστιάσαμε στο ακινητοποιημένο ένζυμο *Candida Antarctica* CAL-B για τη συγκεκριμένη αντίδραση υδρόλυσης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΣΥΝΘΕΣΗ ΝΙΤΡΟΑΛΚΕΝΙΩΝ

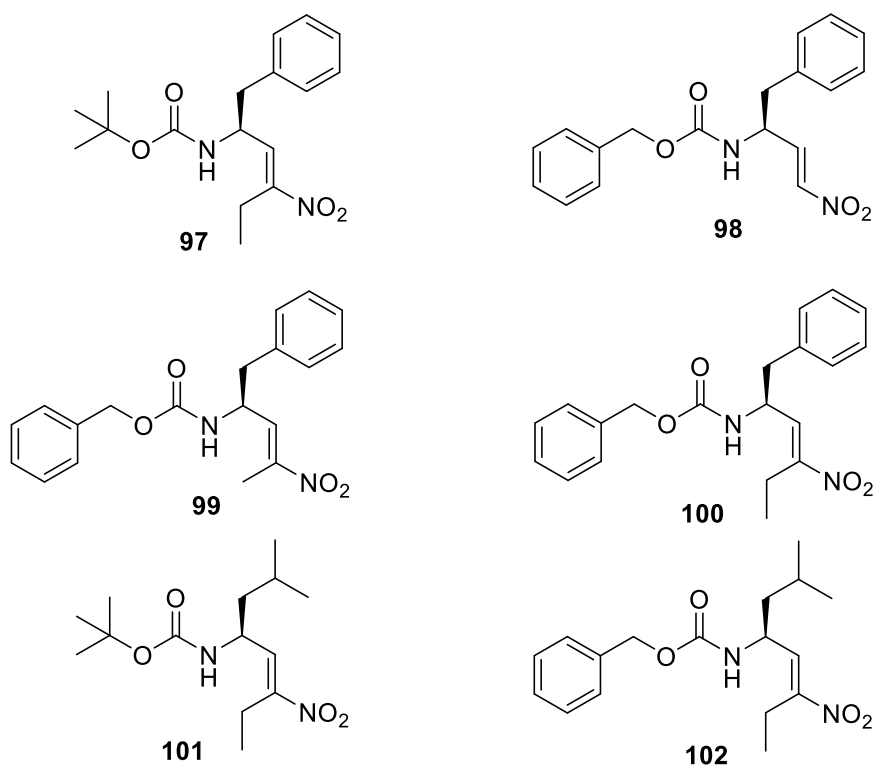
4.1 Σχεδιασμός ενώσεων

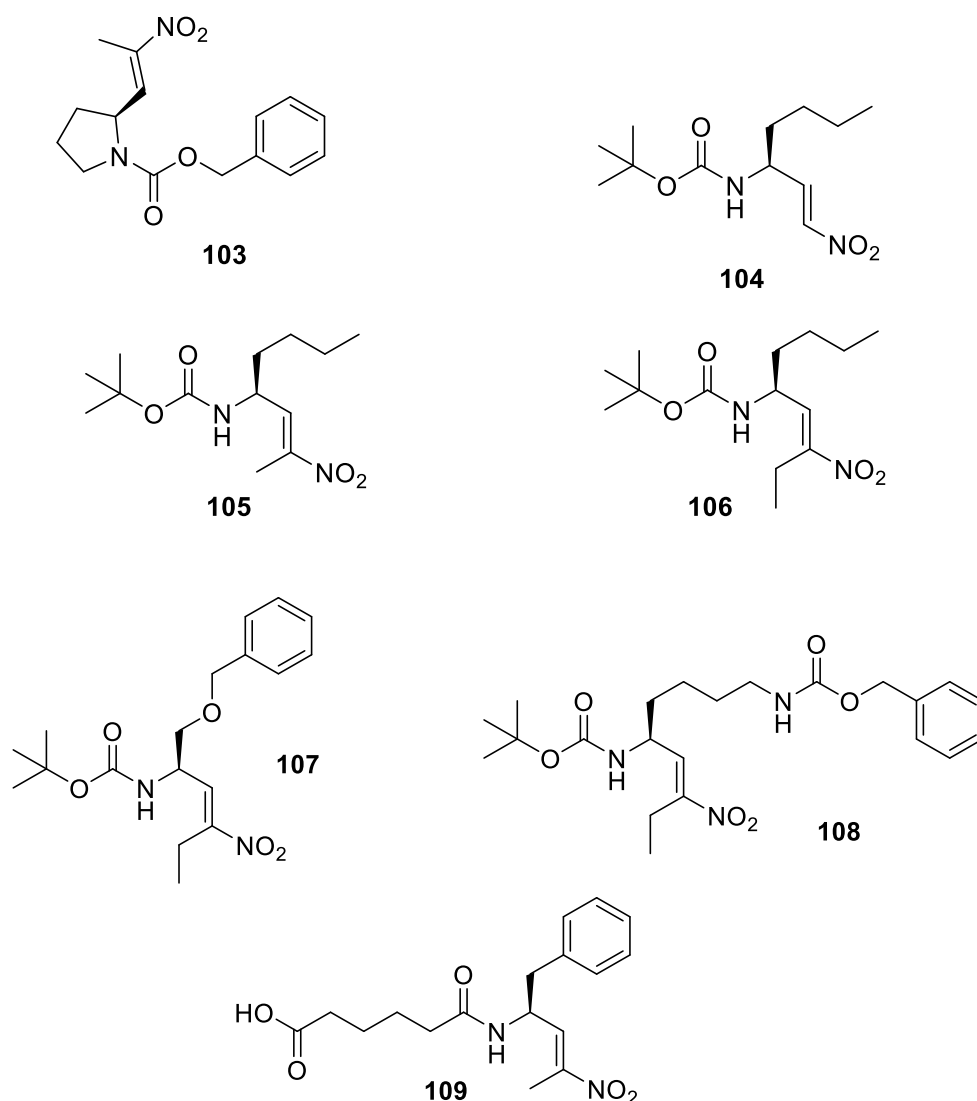
Νιτροαλκένια που βασίζονται σε φυσικά α-αμινοξέα μπορούν να αποτελέσουν δομικούς λίθους για αναστολείς πρωτεασών. Για το λόγο αυτό, ο στόχος μας ήταν η λεπτομερειακή μελέτη σύνθεσης παραγώγων που η γενική δομή φαίνεται στο Σχήμα 4.1.



Σχήμα 4.1 Γενική δομή νιτροαλκενίων που βασίζονται σε α-αμινοξέα

Πιο συγκεκριμένα, στην παρούσα εργασία συντέθηκαν οι ενώσεις που παρουσιάζονται στο Σχήμα 4.2.



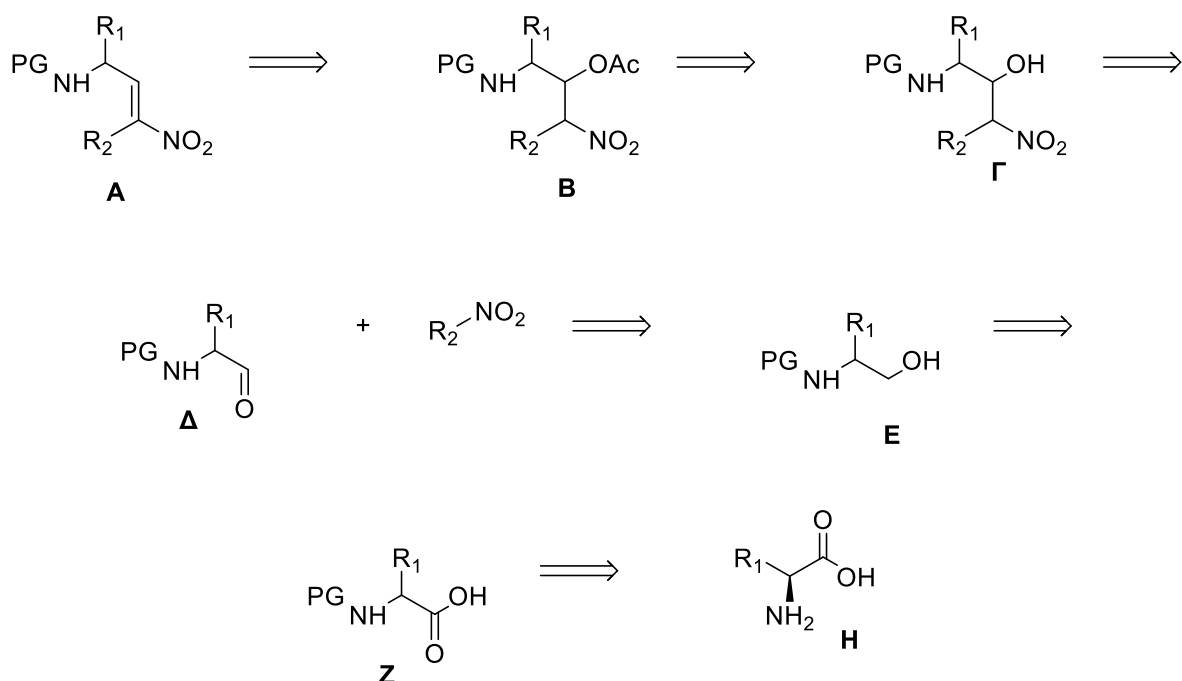


Σχήμα 4.2 Παράγωγα νιτροαλκενίων που συντέθηκαν

4.2 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης

Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης νιτροαλκενίων 97, 100, 101, 106, 107 και 108

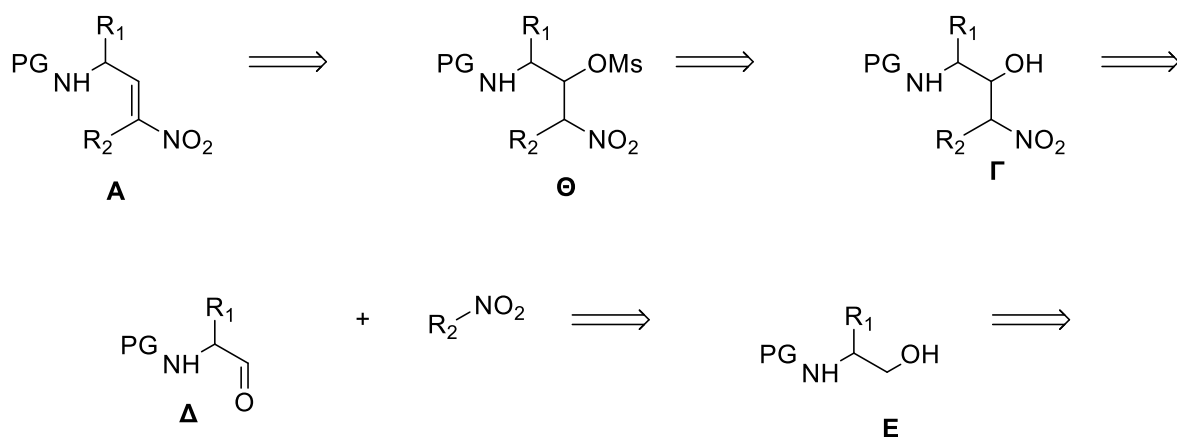
Όπως φαίνεται από την αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης (Σχήμα 4.3), οι ενώσεις **97**, **100**, **101**, **106**, **107** και **108** (νιτροαλκενία **A**) μπορούν να προκύψουν από αντίδραση απόσπασσης του ενδιαμέσου ακετυλιωμένου υδρόξυ-νίτρο προϊόντος **B**. Το υδρόξυ-νίτρο **Γ** ενδιάμεσο μπορεί να συντεθεί μέσω της αντίδρασης Henry ανάμεσα σε ένα νιτροαλκάνιο και την αντίστοιχη αλδεΐδη **Δ**. Η αλδεΐδη αυτή είναι προϊόν οξείδωσης της αντίστοιχης αλκοόλης **Ε**. Η αλκοόλη αυτή μπορεί να προέλθει από την αναγωγή του οξέος **Ζ**. Τέλος, αν δεν υπάρχει εμπορικά διαθέσιμο το προστατευμένο αμινοξύ **Ζ** πραγματοποιείται η αντίδραση προστασίας από το εμπορικά διαθέσιμο αμινοξύ **Η**.

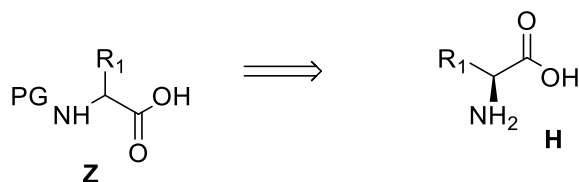


Σχήμα 4.3 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης νιτροαλκενίων 97, 100, 101, 106, 107 και 108

Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης νιτροαλκενίων 98, 99, 102, 103, 104, 105, 107 και 109

Οι ενώσεις **98, 99, 102, 103, 104, 105, 107** και **109** θα μπορούσαν να προκύψουν μέσω απόσπασης από το OMs προστατευμένο ενδιάμεσο **Θ**. Αυτό το ενδιάμεσο συντίθεται από το αντίστοιχο υδρόξυ- νίτρο προϊόν **Γ** ενώ στη συνέχεια η ανάλυση ακολουθεί το ίδιο σκεπτικό με το παραπάνω (Σχήμα 4.3). Η ρετροσυνθετική ανάλυση των ενώσεων αυτών περιγράφεται στο Σχήμα 4.4.

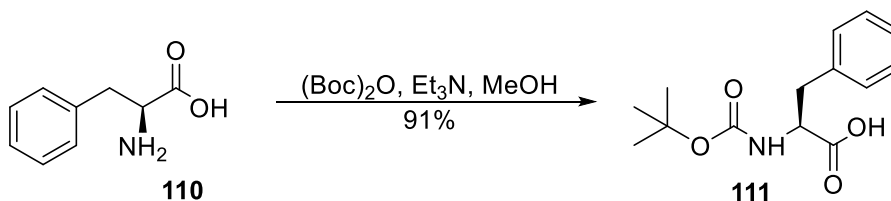




Σχήμα 4.4 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης νιτροαλκενίων 98, 99, 102, 103, 104, 105, 107 και 109

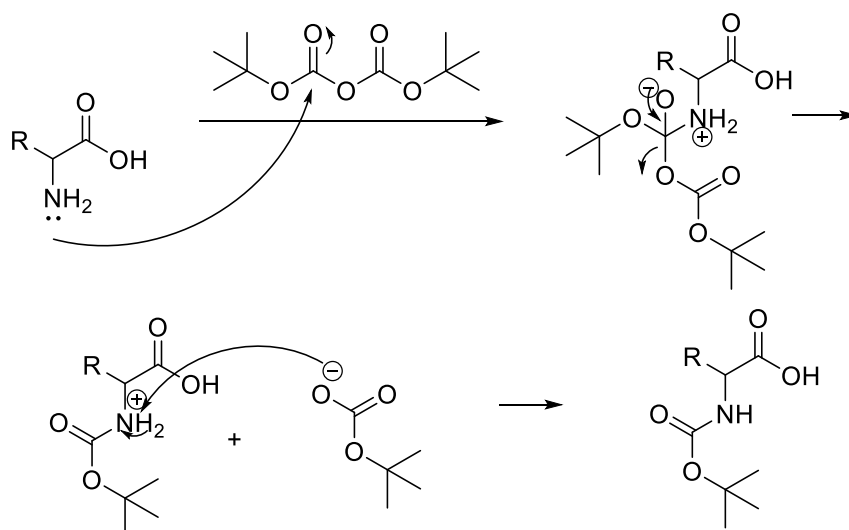
4.3 Σύνθεση του νιτροαλκενίου (*S,E*)-*tert*-βουτυλο-4-νιτρο-1-φαινυλεξ-3-εν-2-υλο) καρβαμίδιο (97)

Ξεκινώντας με πρώτη ύλη τη L-φαινυλαλανίνη **110**, μετά από κατεργασία με δικαρβονικό δι-*tert*-βουτυλεστέρα και Et₃N σε διαλύτη MeOH, παρασκευάζεται η *tert*-βουτυλοξυκαρβόνυλ-L-φαινυλαλανίνη **111**.



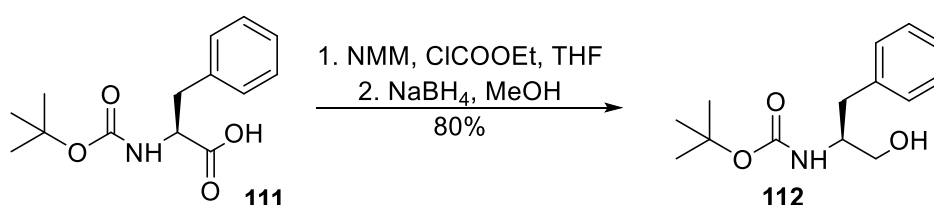
Σχήμα 4.5 Αντίδραση προστασίας Boc της αμινομάδας της L-φαινυλαλανίνης.

Ο προτεινόμενος μηχανισμός εισαγωγής της προστατευτικής ομάδας περιλαμβάνει την πυρηνόφιλη προσβολή της αμινομάδας στο καρβονύλιο του δικαρβονικού δι-*tert*-βουτυλεστέρα, την απομάκρυνση της αποχωρούσας ομάδας του εστέρα και στη συνέχεια την αποπρωτονίωση του ιόντος δίνοντας το προστατευμένο αμινοξύ και παρουσιάζεται στο Σχήμα 4.6:



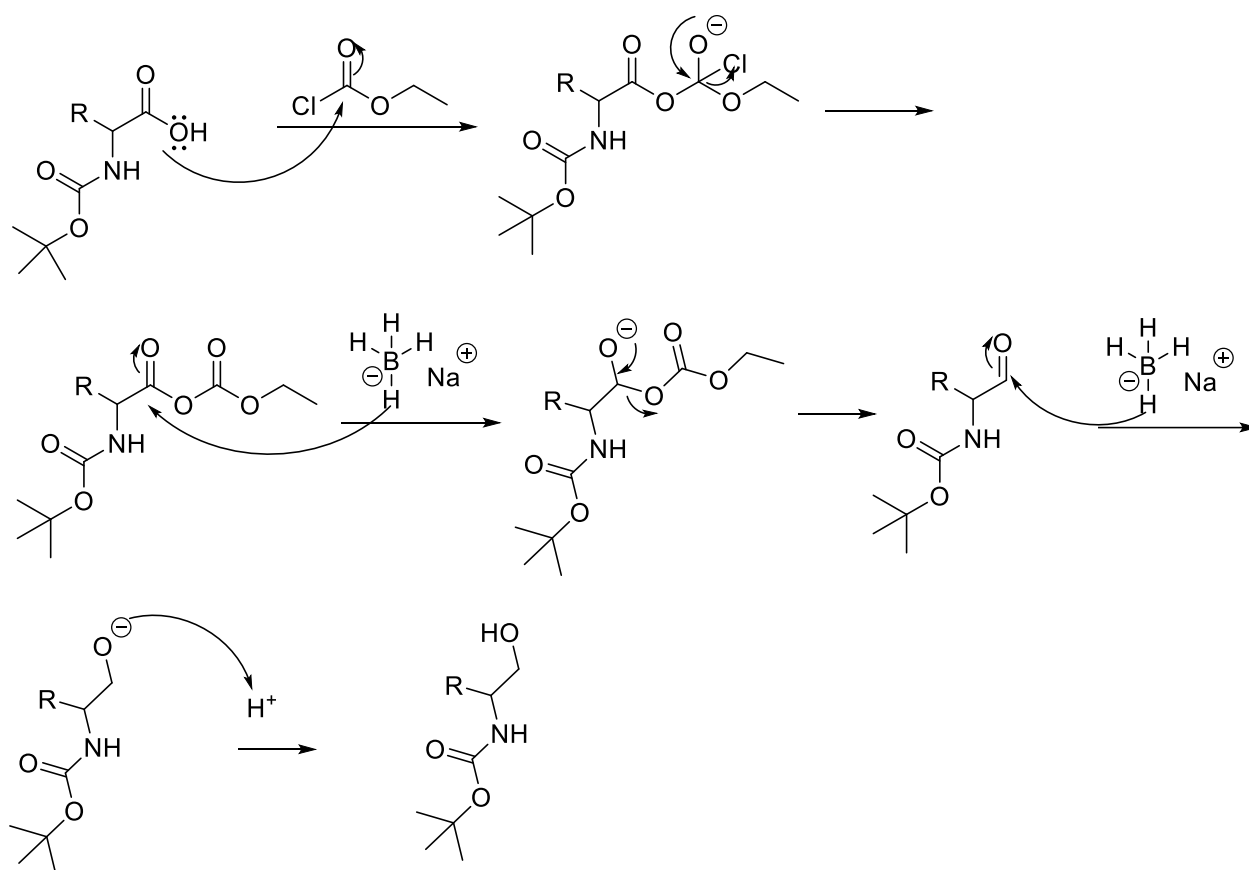
Σχήμα 4.6 Μηχανισμός προστασίας Boc της αμινομάδας αμινοξέος.

Στη συνέχεια, η **111** ανάγεται προς την αλκοόλη **112** σε μία αντίδραση δύο σταδίων. Πρώτα, παρασκευάζεται ο μικτός ανυδρίτης και στη συνέχεια πραγματοποιείται η αναγωγή με NaBH_4 .⁷⁴



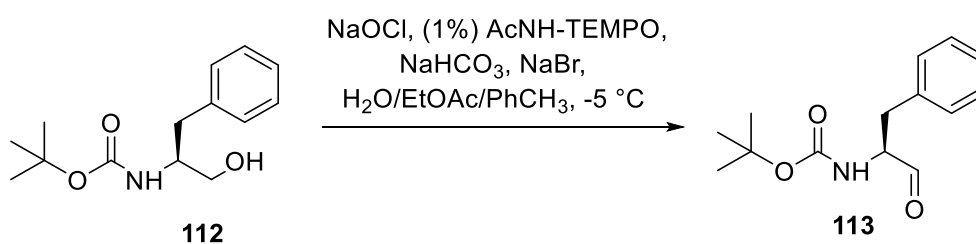
Σχήμα 4.7 Αντίδραση αναγωγής οξέος σε αλκοόλη με τη μέθοδο μικτών ανυδριτών/ NaBH_4 .

Ο προτεινόμενος μηχανισμός σχηματισμού της αλκοόλης **112** από το οξύ **111** περιλαμβάνει αρχικά το σχηματισμό του μεικτού ανυδρίτη. Έπειτα, σχηματίζεται το αμίδιο με ταυτόχρονη απελευθέρωση διοξειδίου του άνθρακα και σχηματισμό της αλκοόλης του χλωροφορμικού αιθυλεστέρα ενώ τέλος, πραγματοποιείται υδρόλυση του αμιδίου και αναγωγή στην επιθυμητή αλκοόλη **112**. Τα πρώτα στάδια του μηχανισμού παρουσιάζονται στο Σχήμα 4.9:



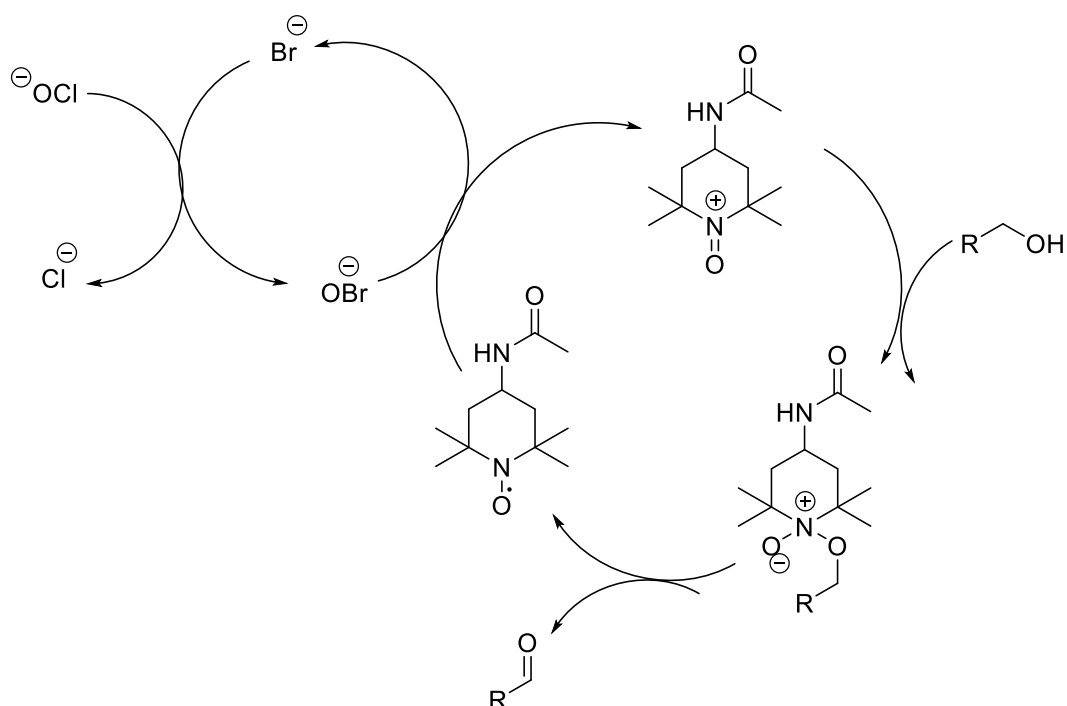
Σχήμα 4.8 Μηχανισμός αναγωγής οξέος σε αλκοόλη μέσω μικτών ανυδριτών.

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε οξείδωση της αλκοόλης **112** στην αλδεΐδη **113** με χρήση του υδατικού διαλύματος NaOCl παρουσία του AcNH-TEMPO.⁷⁵



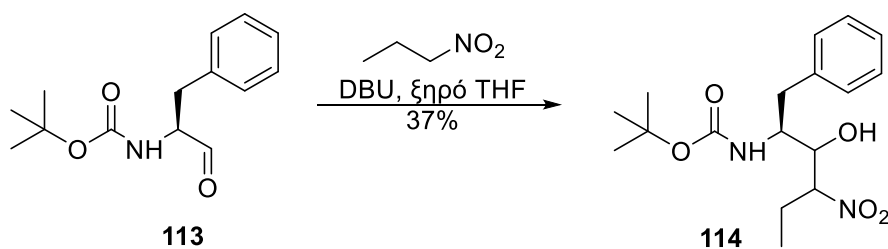
Σχήμα 4.9 Αντίδραση οξείδωσης αλκοόλης σε αλδεΐδη με AcNH-TEMPO και υδατικό διάλυμα NaOCl με NaBr.

Ο μηχανισμός οξείδωσης της αλκοόλης σε αλδεΐδη με χρήση του αντιδραστήριου AcNH-TEMPO συνοψίζεται στο Σχήμα 4.10:



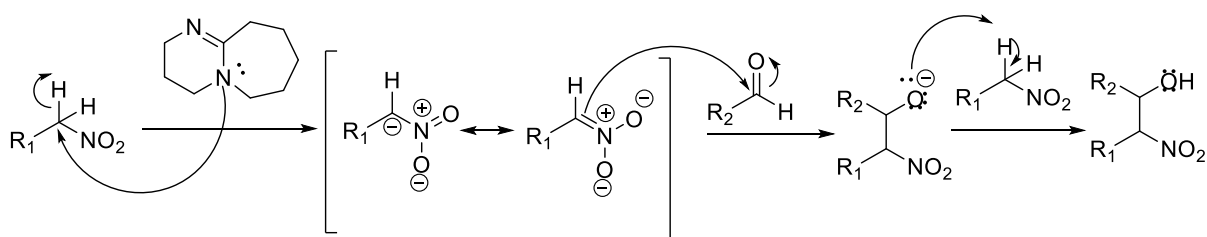
Σχήμα 4.10 Καταλυτικός μηχανισμός οξείδωσης της αλκοόλης σε αλδεΐδη με χρήση του αντιδραστήριου AcNH-TEMPO και υδατικό διάλυμα NaOCl με NaBr.^{76,77,78}

Έπειτα, η αλδεΐδη **113** υπόκειται σε αντίδραση Henry, όπου πραγματοποιείται πυρηνόφιλη προσβολή του 1-νιτροπροπανίου στον α-άνθρακα της αλδεΐδης για να οδηγηθούμε στο υδρόξυ-νίτρο προϊόν **114**.



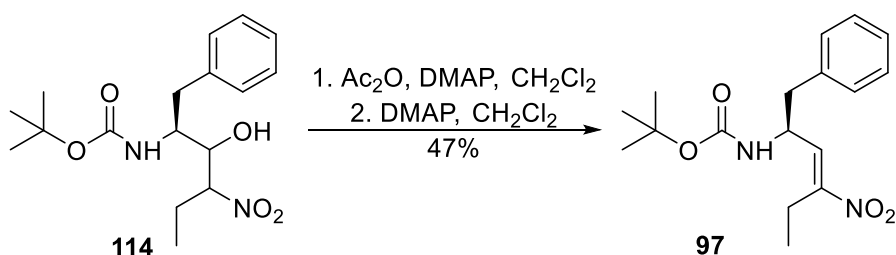
Σχήμα 4.11 Αντίδραση α-καρβονυλίωσης Henry.

Ο προτεινόμενος μηχανισμός της αντίδρασης Henry απεικονίζεται στο Σχήμα 4.12:



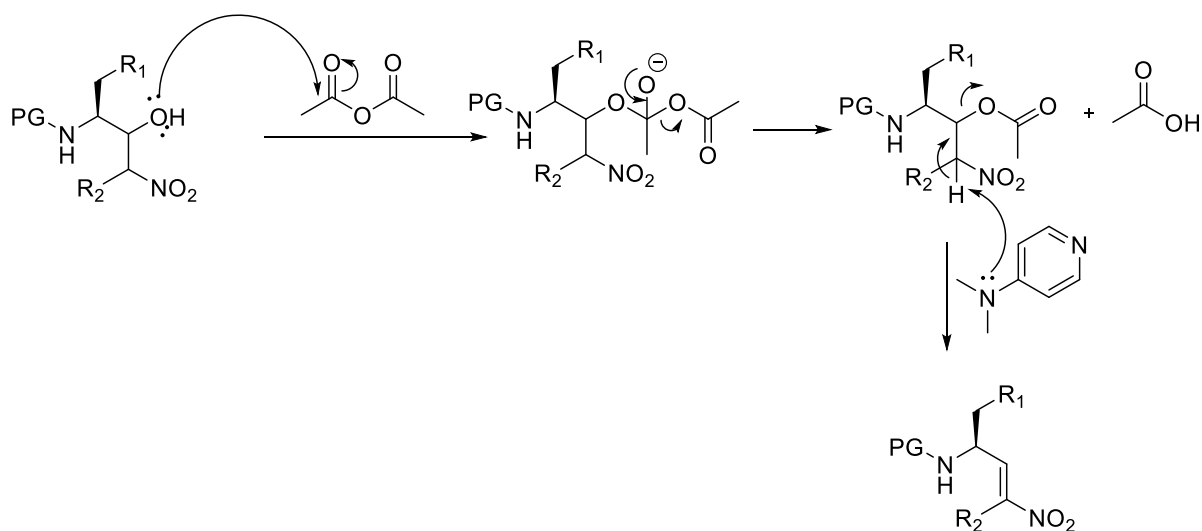
Σχήμα 4.12 Μηχανισμός α-καρβονυλίωσης Henry.^{29,30}

Τέλος, για την παραλαβή του επιθυμητού προϊόντος **97**, το υδρόξυ-νίτρο ενδιάμεσο **114**, ακετυλιώνεται έτσι ώστε να μετατραπεί η υδροξυλομάδα σε καλή αποχωρούσα ομάδα και έπειτα πραγματοποιείται η απόσπαση και η δημιουργία του διπλού δεσμού με κατεργασία με DMAP.



Σχήμα 4.13 Αντίδραση απόσπασης για την παραλαβή του νιτροαλκενίου 97.

Ο προτεινόμενος μηχανισμός του τελευταίου σταδίου περιγράφεται στο Σχήμα 4.14:

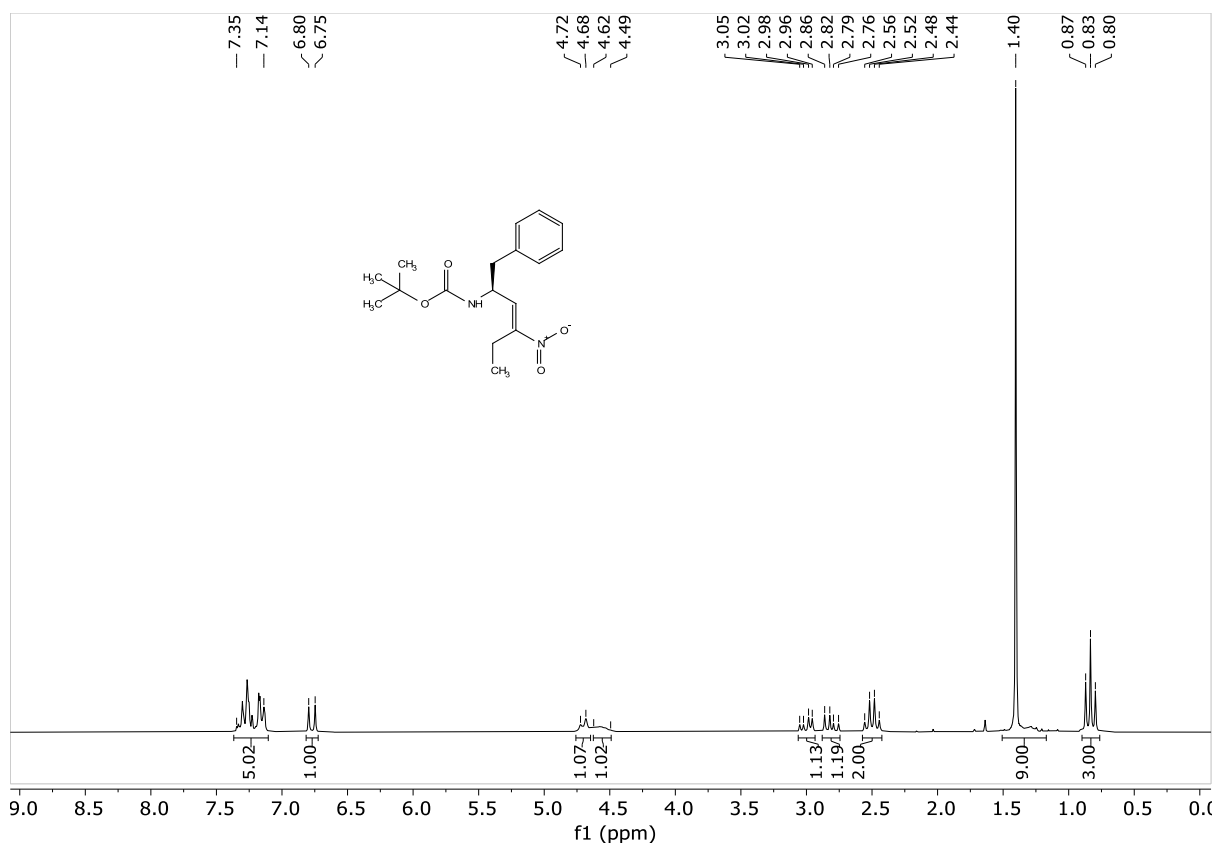


Σχήμα 4.14 Μηχανισμός αντίδρασης απόσπασης για την παραλαβή του νιτροαλκενίου 97. ^{29,30}

4.4 Φάσματα νιτροαλκενίου (*S,E*)-*tert*-βουτυλο-4-νιτρο-1-φαινυλεξ-3-εν-2-υλο) καρβαμίδιο (**97**)

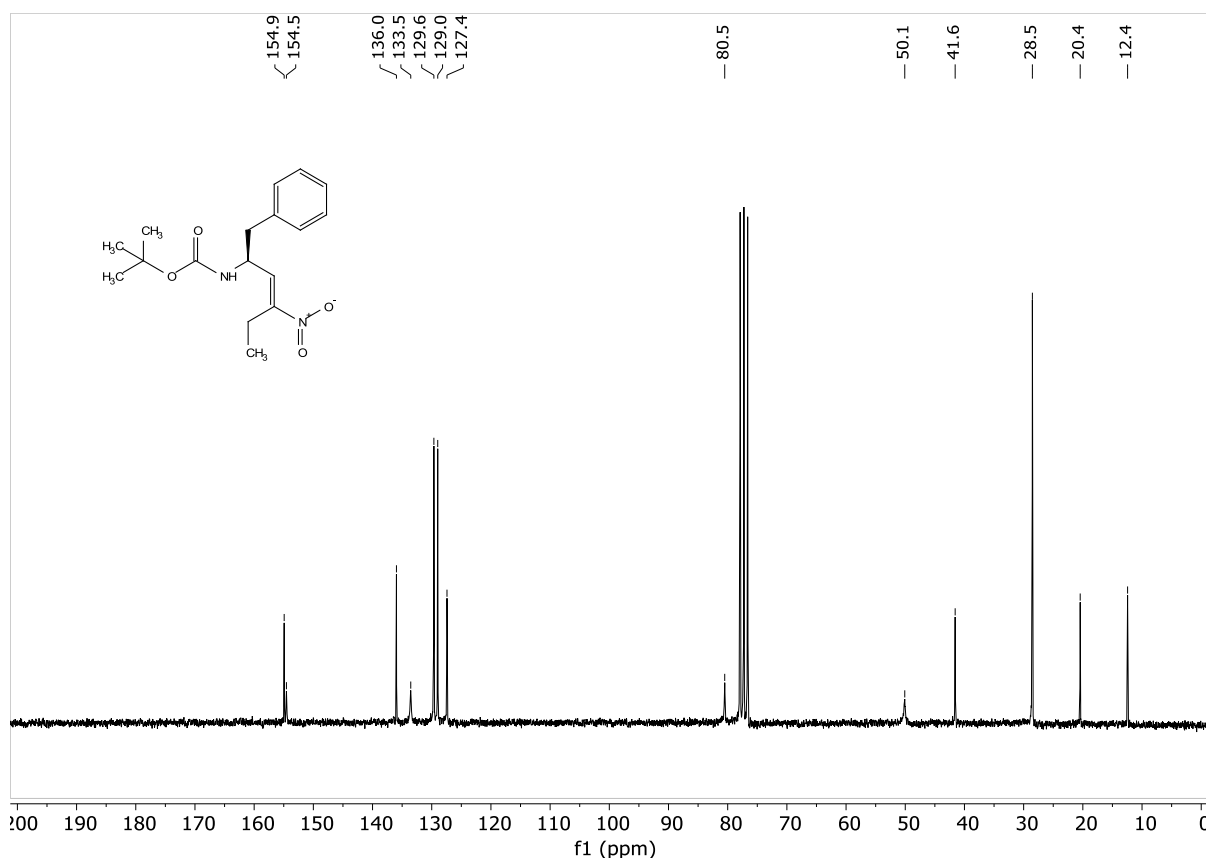
Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **97** (Σχήμα 4.15) σε χημικές μετατοπίσεις 7.36 – 7.10 ppm συντονίζονται τα πέντε αρωματικά πρωτόνια ως πολλαπλές κορυφές, ενώ η διπλή κορυφή στα 6.77 ppm αντιστοιχεί στο πρωτόνιο του διπλού δεσμού. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία,⁷⁹ η χημική μετατόπιση αυτή υποδεικνύει την *E*-γεωμετρία του διπλού δεσμού. Στα 4.70 ppm η διπλή κορυφή αντιστοιχεί στο καρβαμιδικό πρωτόνιο,

ενώ η πολλαπλή στα 4.65 – 4.44 ppm αντιστοιχεί στο μεθινικό πρωτόνιο. Οι κορυφές στα 3.00 και 2.81 ppm αναφέρονται στα διαστερεοτοπικά πρωτόνια του μεθυλενίου της πλευρικής αλυσίδας του αμινοξέος. Στα 2.50 ppm συντονίζονται τα πρωτόνια του μεθυλενίου της αίθυλο ομάδας. Τέλος, στα 1.40 ppm παρατηρούνται τα τρία μεθύλια της προστατευτικής *tert*-βουτοξυκαρβόνυλο ομάδας και στα 0.83 ppm το μεθύλιο της αίθυλο ομάδας.



Σχήμα 4.15 Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **97** (CDCl_3 , 200 MHz).

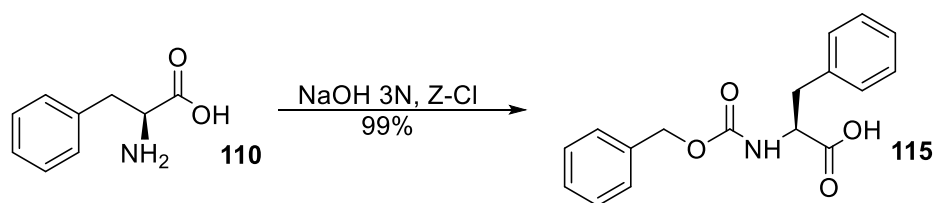
Στο Σχήμα 4.16, παρατίθεται το φάσμα $^{13}\text{C-NMR}$ της ένωσης **97**. Στις χημικές μετατοπίσεις 154.9 ppm και 154.5 ppm συντονίζονται ο άνθρακας του καρβονυλίου και ο άνθρακας του διπλού δεσμού που φέρει τη νίτρο ομάδα. Σε χημικές μετατοπίσεις 136.0 – 127.4 ppm συντονίζονται οι αρωματικοί άνθρακες και ο άλλος άνθρακας του διπλού δεσμού. Στα 80.5 ppm συντονίζεται ο τεταρτοταγής άνθρακας της προστατευτικής *tert*-βουτοξυκαρβονυλομάδας. Τέλος, στα 50.1 – 12.4 ppm συντονίζονται οι αλειφατικοί άνθρακες της ένωσης.



Σχήμα 4.16 Φάσμα ^{13}C -NMR της ένωσης 97 (CDCl_3 , 50 MHz).

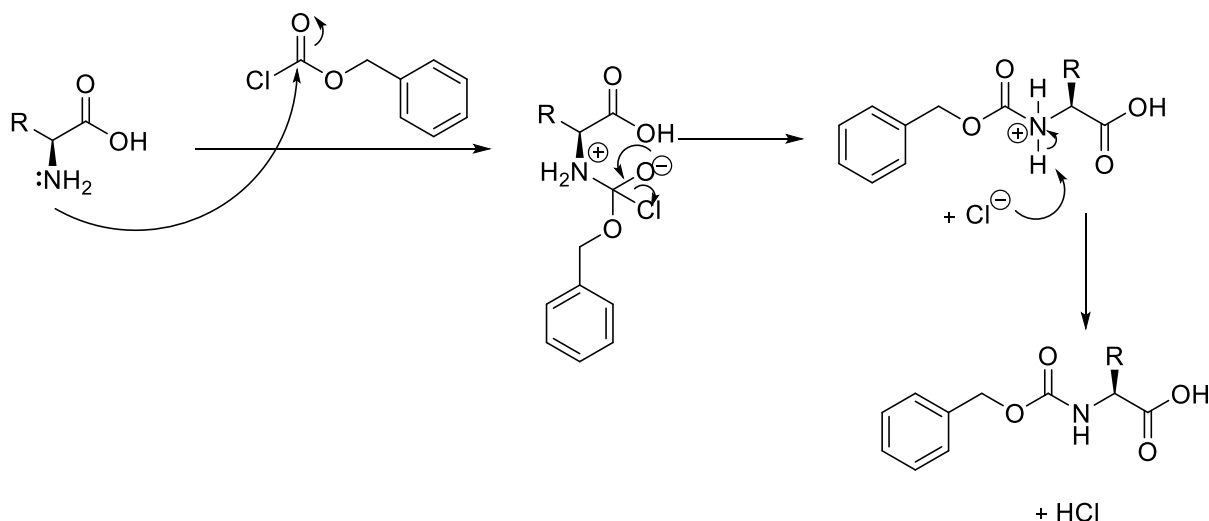
4.5 Σύνθεση του νιτροαλκενίου (*S,E*)-βενζυλο(4-νιτρο-1-φαινυλοβουτ-3-εν-2-υλο) καρβαμίδιο (98)

Με αρχική ύλη τη L-φαινυλαλανίνη, σε διάλυμα NaOH 3N και με προσθήκη Z-χλωριδίου, σχηματίζεται το N-βενζυλοξυκαρβόνυλο προστατευμένο αμινοξύ.



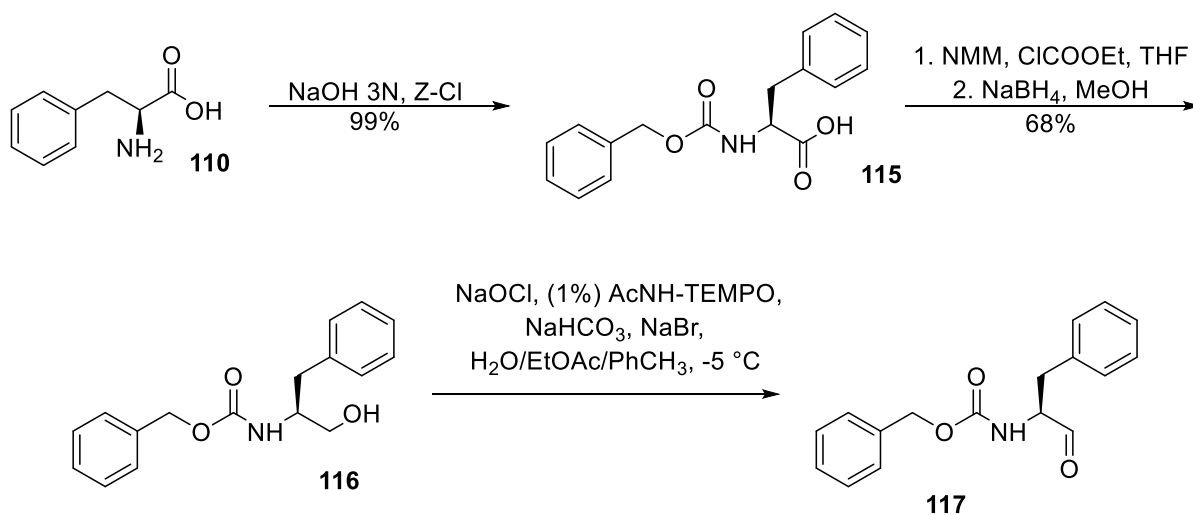
Σχήμα 4.17 Αντίδραση προστασίας Cbz της αμινομάδας της L-φαινυλαλανίνης.

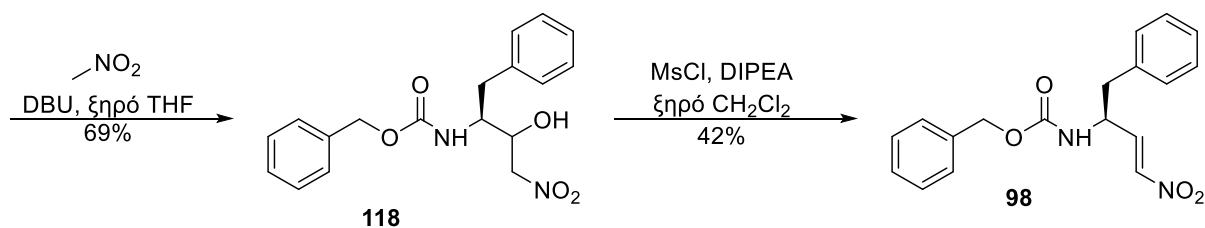
Ο προτεινόμενος μηχανισμός του σταδίου αυτού περιλαμβάνει αρχικά την πυρηνόφιλη προσβολή του αζώτου της αμινομάδας στον άνθρακα του καρβονυλίου του Z-χλωριδίου και στη συνέχεια την απομάκρυνση της αποχωρούσας ομάδας και το σχηματισμό του προστατευμένου αμινοξέος.



Σχήμα 4.18 Μηχανισμός προστασίας Cbz της αμινομάδας αμινοξέος.

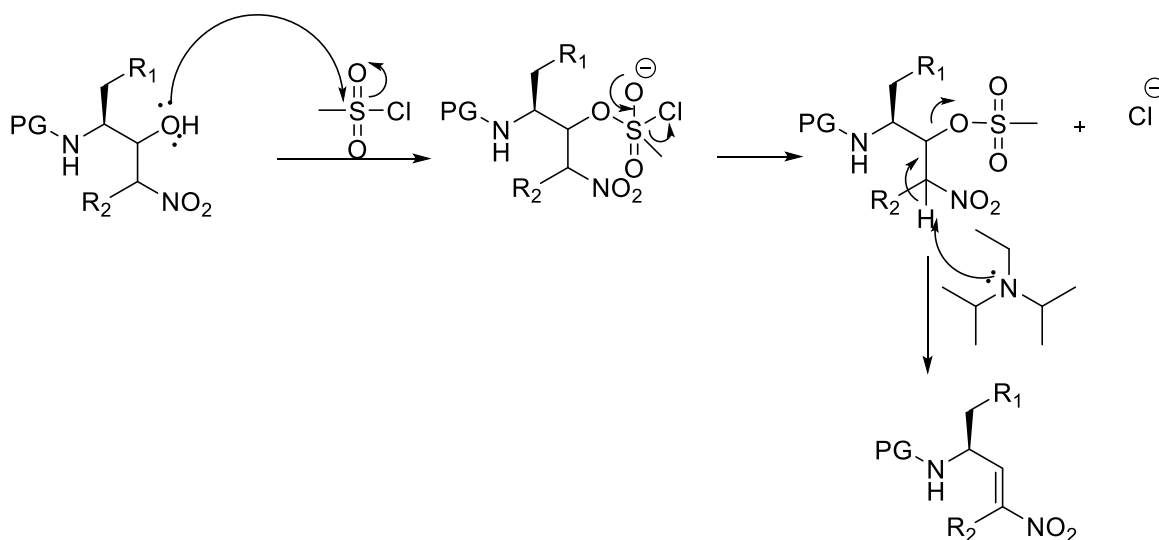
Έπειτα, το προστατευμένο αμινοξύ **115** ανάγεται στην αντίστοιχη αλκοόλη **116** με τρόπο όμοιο με αυτό που έχει αναφερθεί ήδη παραπάνω. Ομοίως με την πορεία για την παραλαβή του υποστρώματος **97**, η αλκοόλη **116** οξειδώνεται στην αλδεΐδη **117** με οξειδωτικά το AcNH-TEMPO και τα υδατικά διαλύματα NaOCl και NaBr. Η αλδεΐδη **117** υπόκειται σε αντίδραση α-καρβονυλίωσης με το νιτρομεθάνιο για την παραλαβή του ενδιαμέσου υδρόξυ-νίτρο. Τέλος, η υδροξυλομάδα της ένωσης **118** προστατεύεται μέσω αντίδρασης μεθυλίωσης με το αντιδραστήριο MsCl και όχι ακετυλίωσης ενώ η απόσπαση έγινε με βάση DIPEA και όχι DMAP σε αντίθεση με την προηγούμενη πορεία που ακολουθήθηκε. Έτσι παραλαμβάνεται η ένωση **98**. Στο Σχήμα 4.19 απεικονίζονται οι αντιδράσεις που πραγματοποιούνται:





Σχήμα 4.19 Ολική πορεία σύνθεσης του νιτροαλκενίου 98.

Ο μηχανισμός του τελευταίου σταδίου που προτείνεται περιλαμβάνει αρχικά την πυρηνόφιλη προβολή του υδροξυλίου στο θείο της ένωσης MsCl, έπειτα απομάκρυνση της αποχωρούσας ομάδας και τέλος, την απόσπαση του πρωτονίου και τη δημιουργία του διπλού δεσμού με χρήση της βάσης DIPEA και παρουσιάζεται στο Σχήμα 4.20:

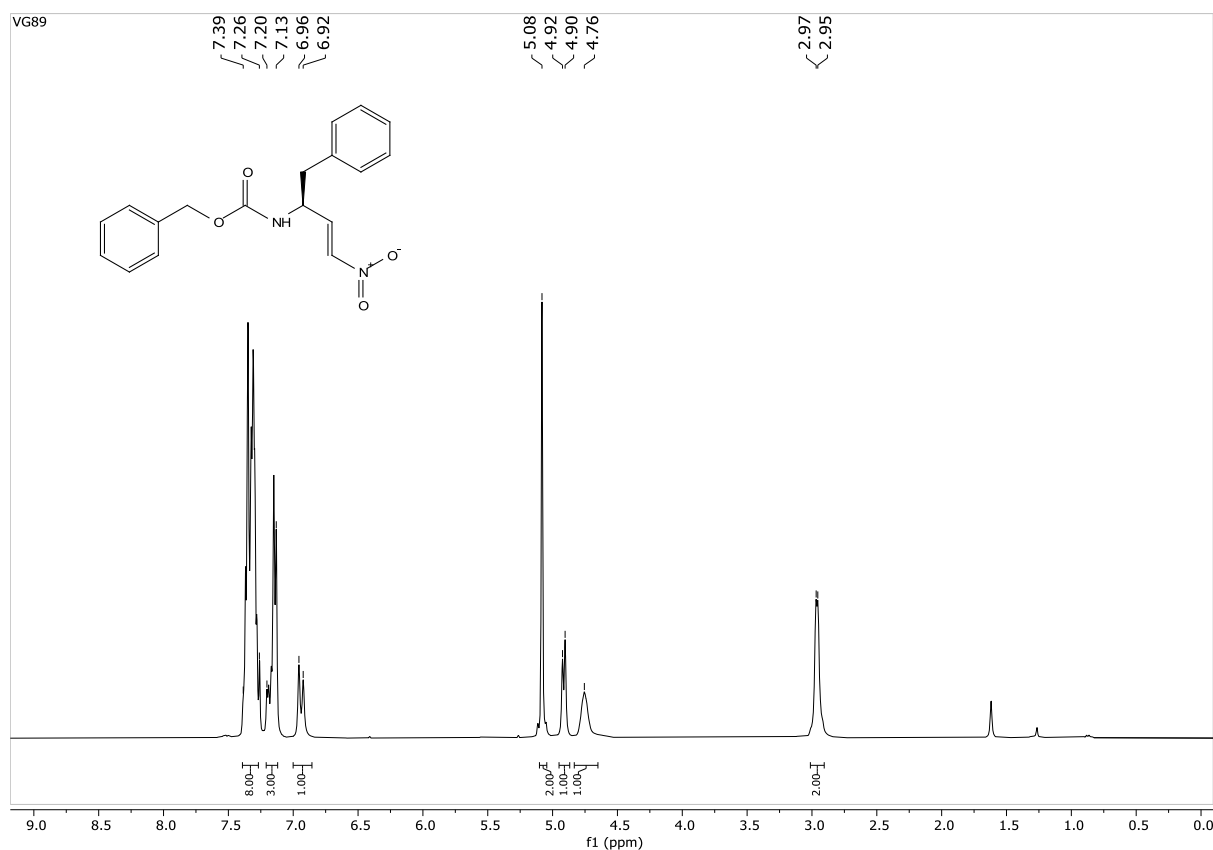


Σχήμα 4.20 Μηχανισμός απόσπασης για την παραλαβή του νιτροαλκενίου 98.

4.6 Φάσματα νιτροαλκενίου (*S,E*)-βενζυλο(4-νιτρο-1-φαινυλοβουτ-3-εν-2-υλο) καρβαμίδιο (98)

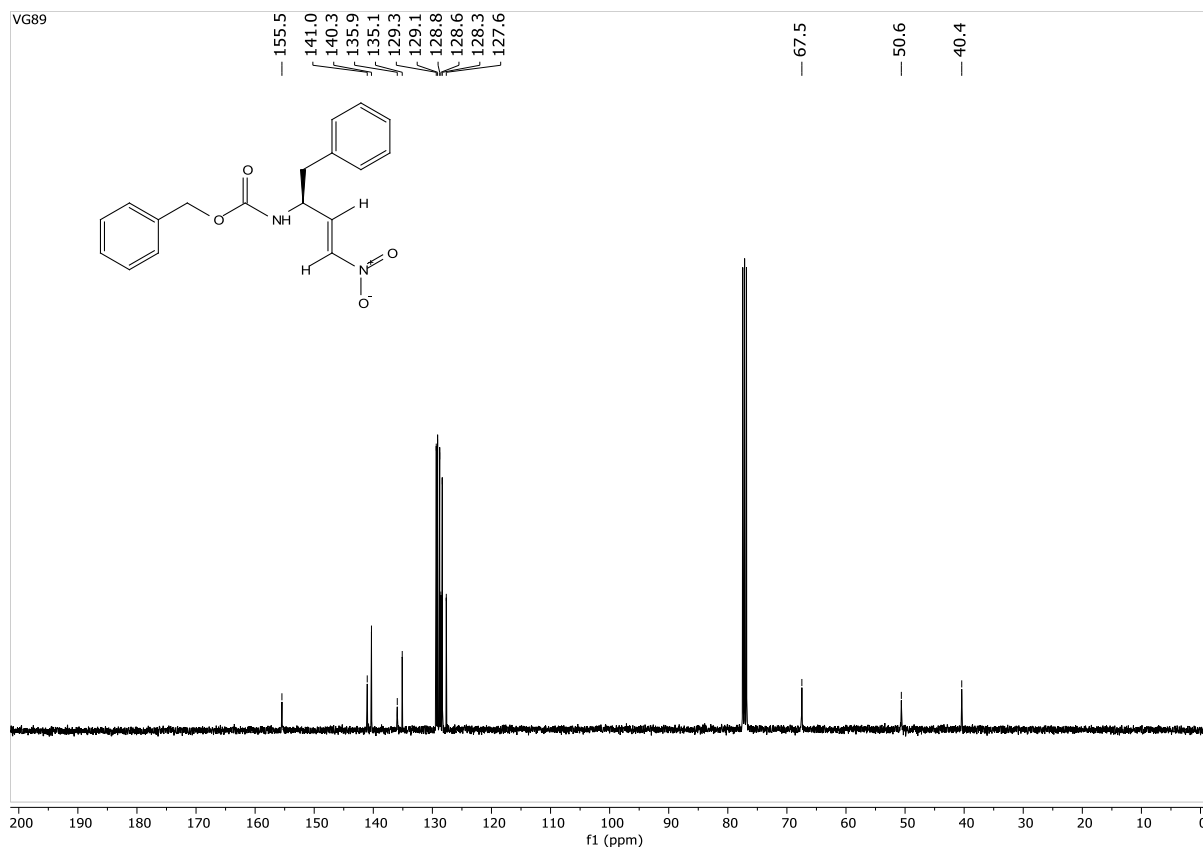
Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης 98 (Σχήμα 4.21) σε χημικές μετατοπίσεις 7.39 – 7.12 ppm συντονίζονται τα δέκα αρωματικά πρωτόνια ως πολλαπλές κορυφές και το ένα πρωτόνιο του διπλού δεσμού. Η διπλή κορυφή στα 6.94 ppm αντιστοιχεί στο άλλο πρωτόνιο του διπλού δεσμού. Στα 5.08 ppm η απλή κορυφή αντιστοιχεί στο μεθυλένιο της προστατευτικής Z-ομάδας και η διπλή κορυφή στα 4.91 ppm αντιστοιχεί στο καρβαμιδικό πρωτόνιο. Στα 4.76 ppm αντιστοιχεί το πρωτόνιο του στερεογονικού

κέντρου. Η διπλή κορυφή στα 2.96 ppm αναφέρεται στα διαστερεοτοπικά πρωτόνια του μεθυλενίου της πλευρικής αλυσίδας του αμινοξέος.



Σχήμα 4.21 Φάσμα ^1H -NMR της ένωσης **98** (CDCl_3 , 400 MHz).

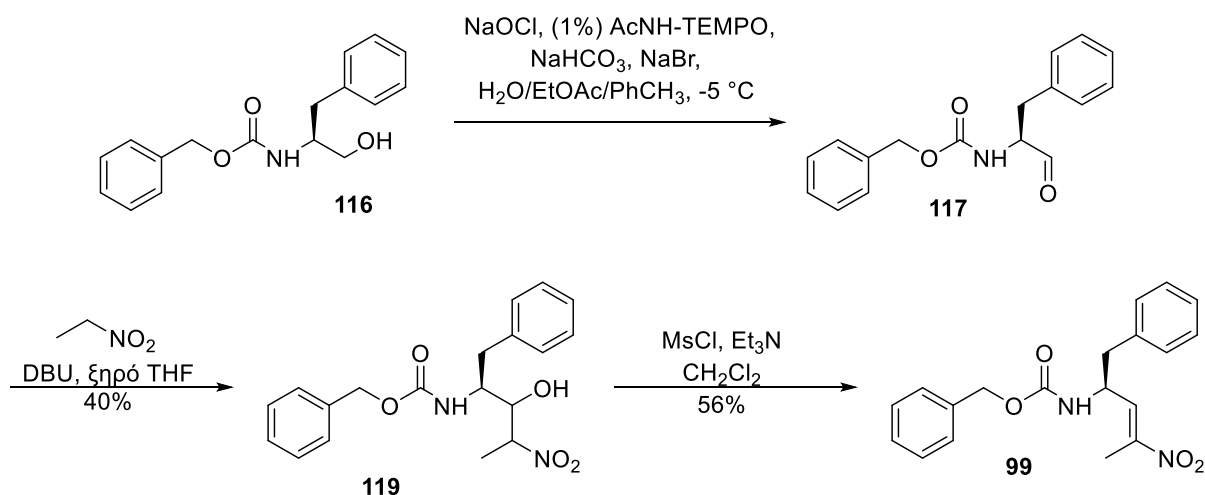
Στο Σχήμα 4.22, παρατίθεται το φάσμα ^{13}C -NMR της ένωσης **98**. Σε χημική μετατόπιση 155.5 ppm συντονίζεται ο άνθρακας του καρβονυλίου. Σε χημικές μετατοπίσεις 141 – 135 ppm συντονίζονται οι τεταρτοταγείς αρωματικοί άνθρακες και οι άνθρακες του διπλού δεσμού. Στα 129.3 – 127.6 συντονίζονται οι υπόλοιποι αρωματικοί άνθρακες. Τέλος, στα 68 – 40 ppm συντονίζονται οι αλειφατικοί άνθρακες της ένωσης.



Σχήμα 4.22 Φάσμα ¹³C-NMR της ένωσης 98 (CDCl₃, 100 MHz).

4.7 Σύνθεση του νιτροαλκενίου (S,E)-βενζυλο(4-νιτρο-1-φαινυλοπεντ-3-εν-2-υλο) καρβαμίδιο (99)

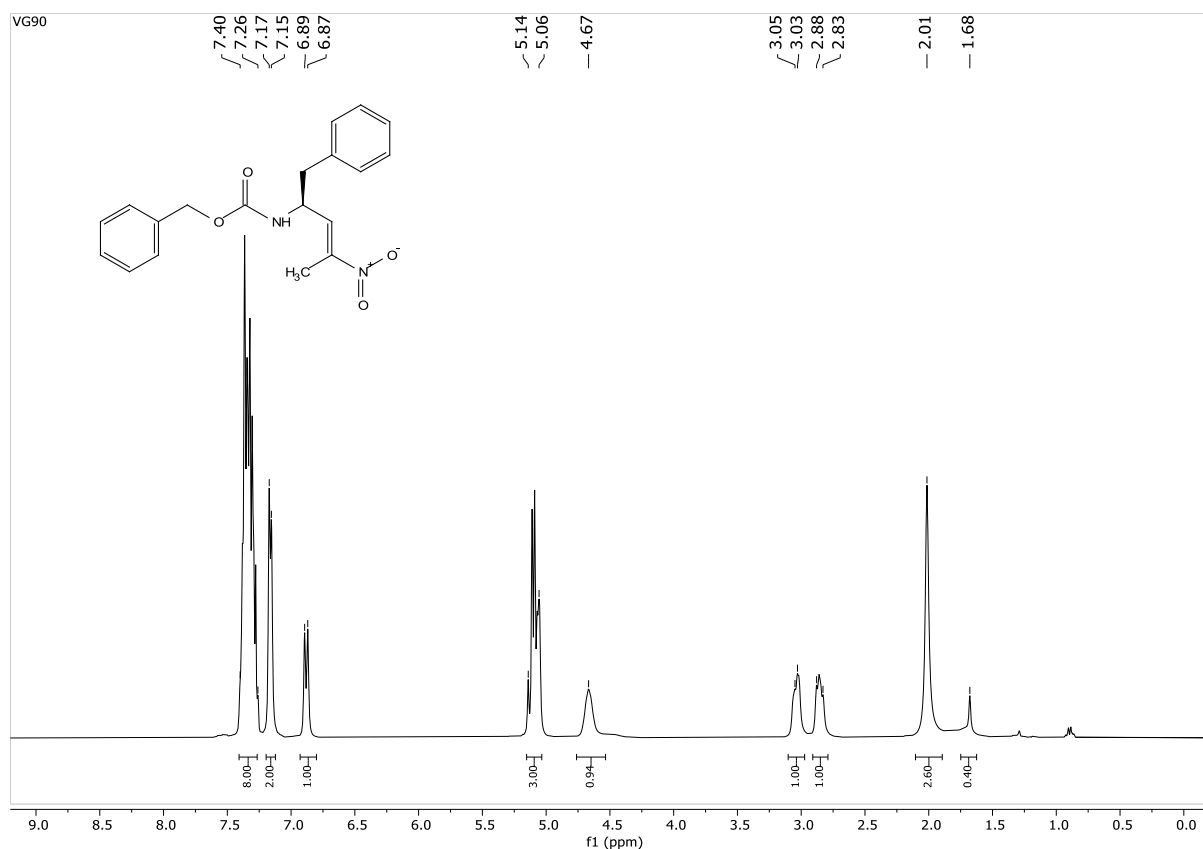
Με αρχική ύλη τη Z-L-φαινυλαλανινόλη **116** με υδατικό διάλυμα NaOCl, υδατικό διάλυμα NaBr και AcNH-TEMPO παραλαμβάνεται μέσω οξειδωσης η αλδεΐδη **117**. Η αλδεΐδη αυτή υπόκειται σε αντίδραση α-καρβονυλίωσης με το νιτροαιθάνιο για την παραλαβή του ενδιαμέσου υδρόξυ-νίτρο. Τέλος, η υδροξυλομάδα της ένωσης **119** προστατεύεται μέσω αντίδρασης μεζυλίωσης με το αντιδραστήριο MsCl. Η απόσπαση γίνεται με βάση Et₃N. Ο μηχανισμός είναι ίδιος με την προηγούμενη εναλλακτική πορεία που ως βάση χρησιμοποιήθηκε η DIPEA. Έτσι παραλαμβάνεται η ένωση **99**. Το Σχήμα 4.23 απεικονίζει τις αντιδράσεις που πραγματοποιούνται:



Σχήμα 4.23 Ολική πορεία σύνθεσης του νιτροαλκενίου 99.

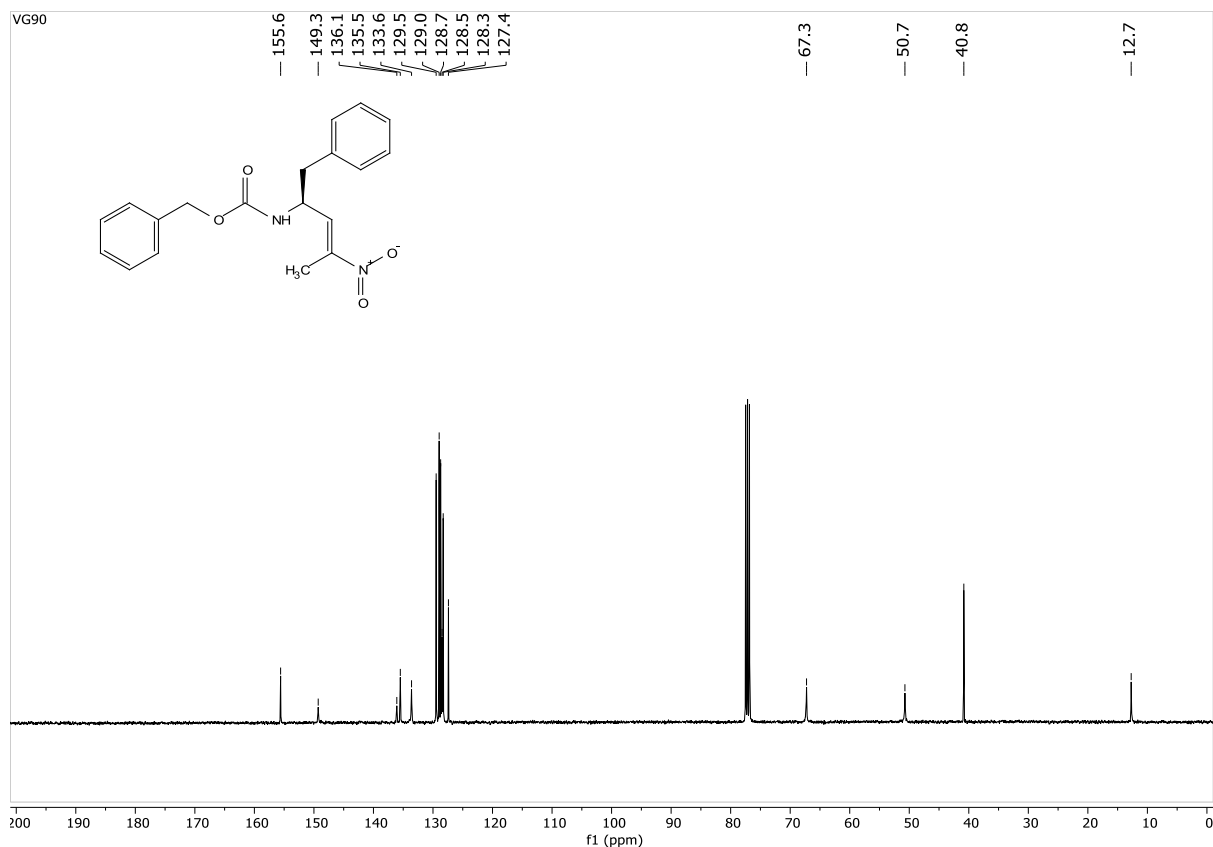
4.8 Φάσματα νιτροαλκενίου (*S,E*)-βενζυλο(4-νιτρο-1-φαινυλοπεντ-3-εν-2-υλο) καρβαμίδιο (99)

Στο φάσμα ¹H-NMR της ένωσης **99** (Σχήμα 4.24), σε χημικές μετατοπίσεις 7.40 – 7.15 ppm συντονίζονται τα δέκα αρωματικά πρωτόνια ως πολλαπλές κορυφές. Η διπλή κορυφή στα 6.88 ppm αντιστοιχεί στο πρωτόνιο του διπλού δεσμού. Στα 5.14 – 5.06 ppm η πολλαπλή κορυφή αντιστοιχεί στο μεθυλένιο της προστατευτικής Z-ομάδας και στο καρβαμидικό πρωτόνιο. Στα 4.67 ppm συντονίζεται το πρωτόνιο του στερεογονικού κέντρου. Στα 3.10 – 2.79 ppm εντοπίζονται δύο πολλαπλές κορυφές, οι οποίες αντιστοιχούν στα διαστερεοτοπικά πρωτόνια του μεθυλενίου της πλευρικής αλυσίδας του αμινοξέος. Τέλος, στα 2.01 και 1.68 ppm εντοπίζονται τα τρία πρωτόνια του μεθυλίου της ένωσης.



Σχήμα 4.24 Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **99** (CDCl_3 , 400 MHz).

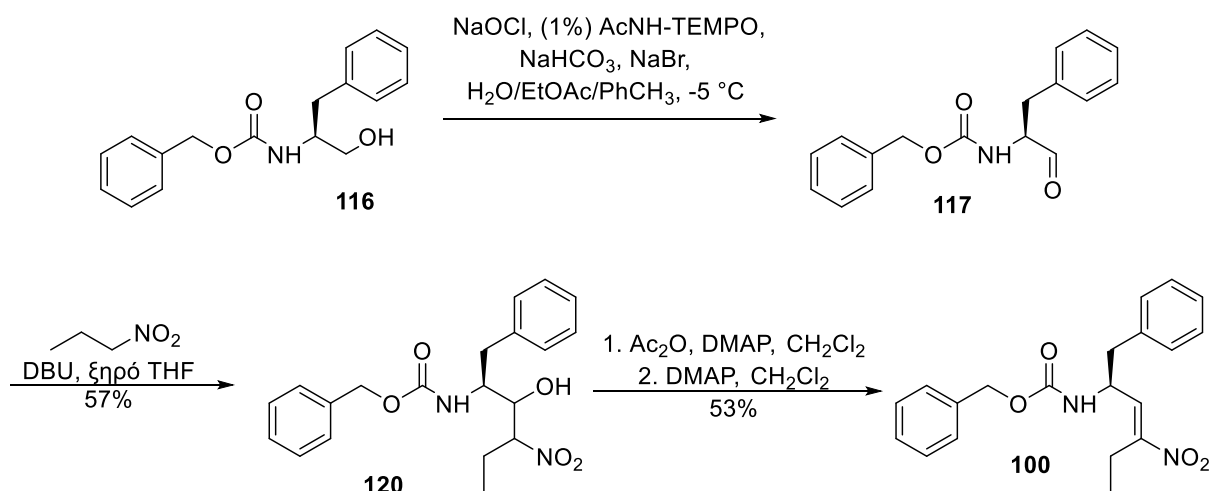
Στο Σχήμα 4.25, παρουσιάζεται το φάσμα $^{13}\text{C-NMR}$ της ένωσης **99**. Σε χημική μετατόπιση 155.6 ppm συντονίζεται ο άνθρακας του καρβονυλίου. Στα 149.3 ppm συντονίζεται ο άνθρακας που φέρει τη νίτρο ομάδα. Σε χημικές μετατοπίσεις 136 – 127 ppm συντονίζονται οι αρωματικοί άνθρακες και ο άλλος άνθρακας του διπλού δεσμού. Τέλος, στα 68 – 12 ppm συντονίζονται οι αλειφατικοί άνθρακες της ένωσης.



Σχήμα 4.25 Φάσμα ¹³C-NMR της ένωσης 99 (CDCl₃, 100 MHz).

4.9 Σύνθεση του νιτροαλκενίου (*S,E*)-βενζυλο(4-νιτρο-1-φαινυλεξ-3-εν-2-υλο) καρβαμίδιο (**100**)

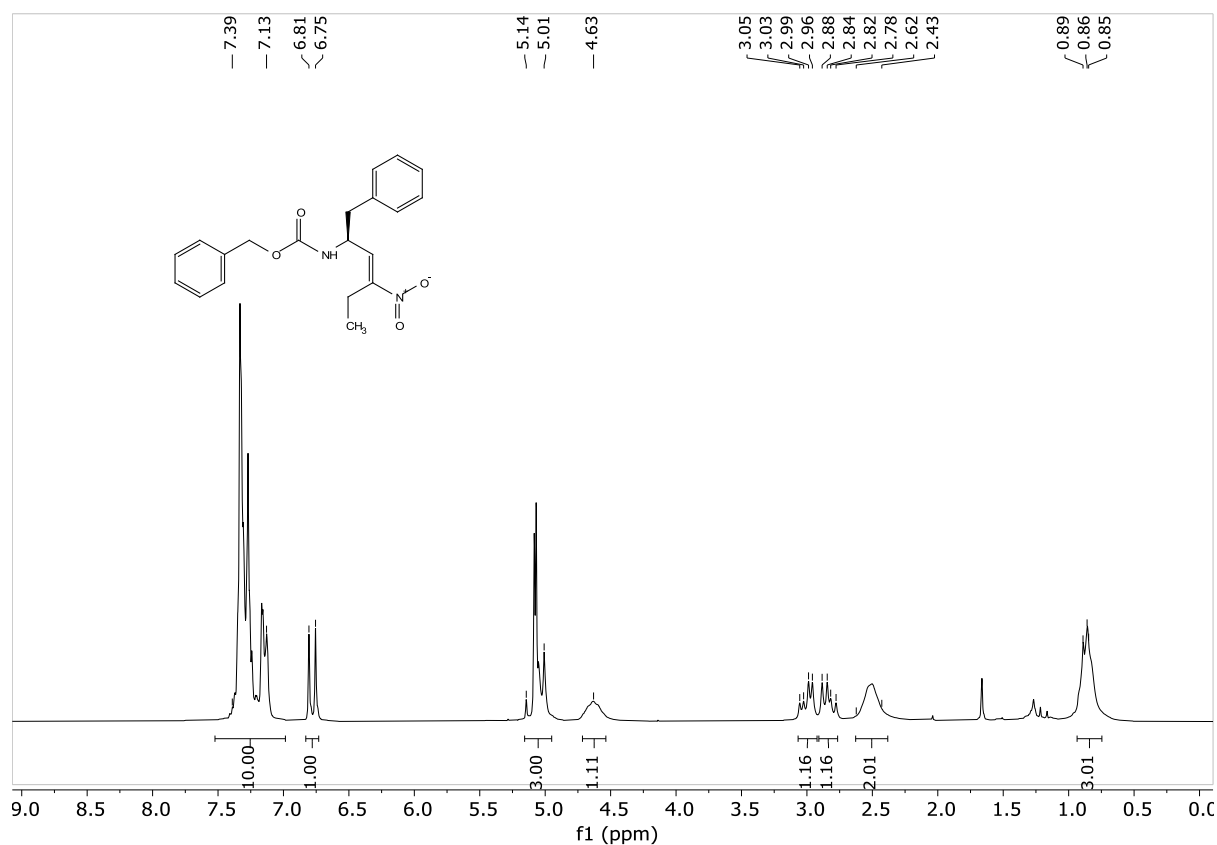
Η Z-L-φαινυλαλανινόλη **116** μέσω της οξείδωσης με AcNH-TEMPO και τα υδατικά διαλύματα NaOCl και NaBr που έχουν ήδη αναφερθεί δίνει την αλδεΐδη **117**. Ακολουθεί η αντίδραση α-καρβονυλίωσης με το 1-νιτροπροπάνιο για την παραλαβή του ενδιάμεσου υδρόξυ-νίτρο **120**. Η υδροξυλομάδα της ένωσης **120** προστατεύεται μέσω αντίδρασης ακετυλίωσης και πραγματοποιείται η απόσπαση και η δημιουργία του διπλού δεσμού για την παραλαβή της ένωσης **100**. Στο Σχήμα 4.26 απεικονίζονται οι αντιδράσεις που πραγματοποιούνται:



Σχήμα 4.26 Ολική πορεία σύνθεσης του νιτροαλκενίου 100.

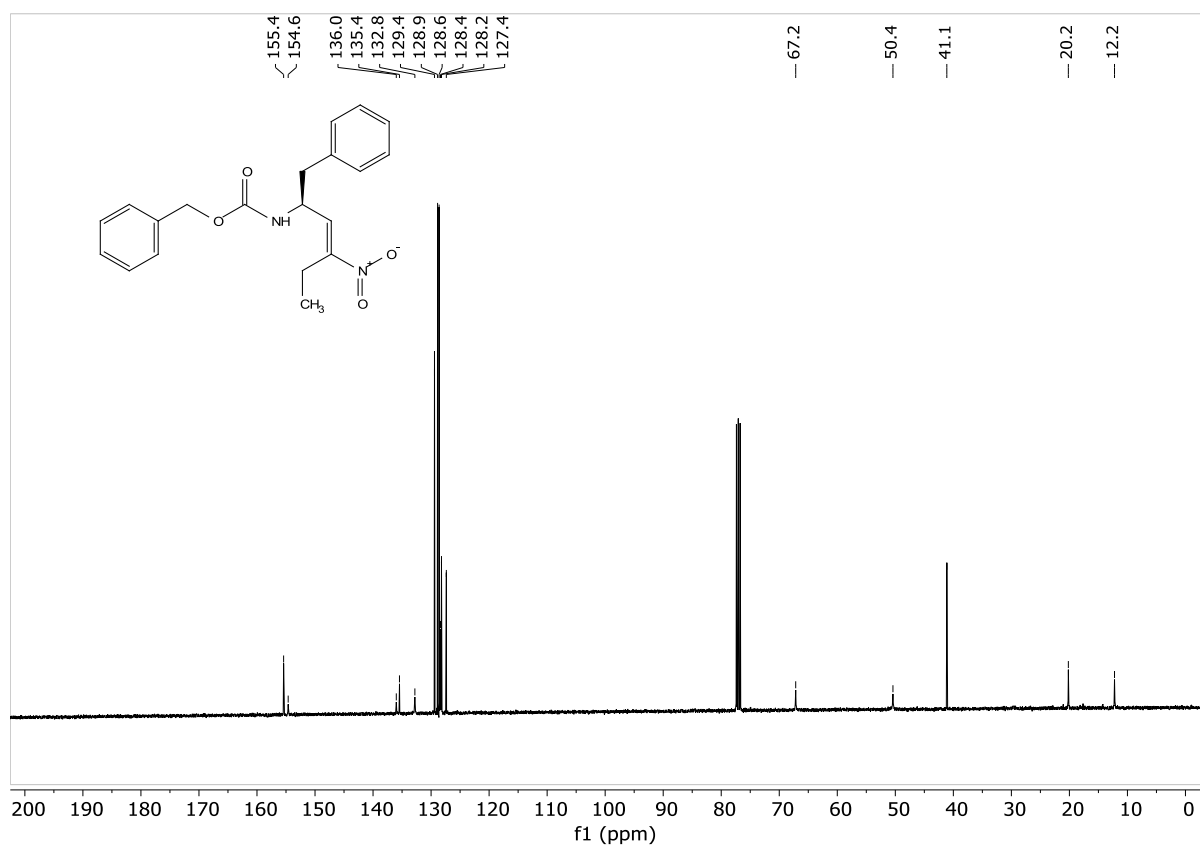
4.10 Φάσματα νιτροαλκενίου (S,E)-βενζυλο(4-νιτρο-1-φαινυλεξ-3-εν-2-υλο) καρβαμίδιο (100)

Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **100** (Σχήμα 4.27), σε χημικές μετατοπίσεις 7.45 – 7.03 ppm συντονίζονται τα δέκα αρωματικά πρωτόνια ως πολλαπλές κορυφές, ενώ η διπλή κορυφή στα 6.78 ppm αντιστοιχεί στο πρωτόνιο του διπλού δεσμού. Στα 5.14 – 5.01 ppm η κορυφή αντιστοιχεί στο μεθυλένιο της προστατευτικής Z-ομάδας και στο καρβαμιδικό πρωτόνιο, ενώ η πολλαπλή στα 4.73 – 4.52 ppm αντιστοιχεί στο πρωτόνιο του στερεογονικού κέντρου. Οι κορυφές στα 3.01 και 2.83 ppm αναφέρονται στα διαστερεοτοπικά πρωτόνια του μεθυλενίου της πλευρικής αλυσίδας του αμινοξέος. Στα 2.62 – 2.43 ppm συντονίζονται τα πρωτόνια του μεθυλενίου της αίθυλο ομάδας. Τέλος, στα 0.86 ppm παρατηρούνται τα πρωτόνια που αντιστοιχούν στο μεθύλιο.



Σχήμα 4.27 Φάσμα ¹H-NMR της ένωσης 100 (CDCl₃, 200 MHz).

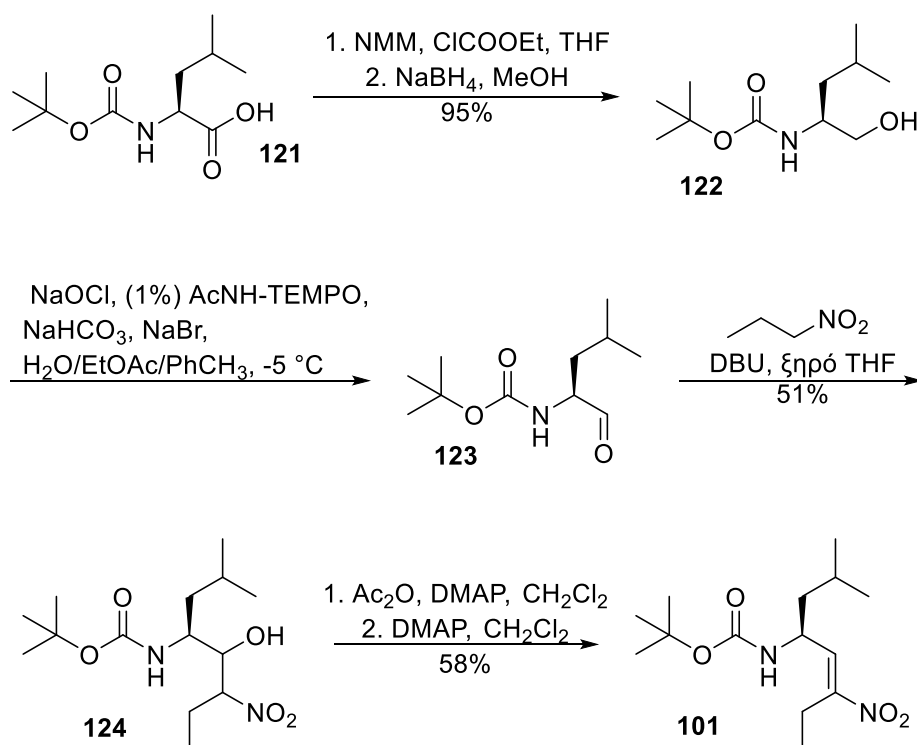
Στο Σχήμα 4.28, παρατίθεται το φάσμα ¹³C-NMR της ένωσης **100**. Στις χημικές μετατοπίσεις 155.4 ppm και 154.6 ppm συντονίζονται ο άνθρακας του καρβονυλίου και ο άνθρακας του διπλού δεσμού που φέρει τη νίτρο ομάδα. Σε χημικές μετατοπίσεις 136 – 127 ppm συντονίζονται οι αρωματικού άνθρακες και ο άλλος άνθρακας του διπλού δεσμού. Τέλος, στα 67.2 – 12.2 ppm συντονίζονται οι αλειφατικοί άνθρακες της ένωσης.



Σχήμα 4.28 Φάσμα ¹³C-NMR της ένωσης 100 (CDCl₃, 50 MHz).

4.11 Σύνθεση του νιτροαλκενίου (*S,E*)-*tert*-βουτυλο(2-μεθυλο-6-νιτροοκτ-5-εν-4-υλ) καρβαμίδιο (101)

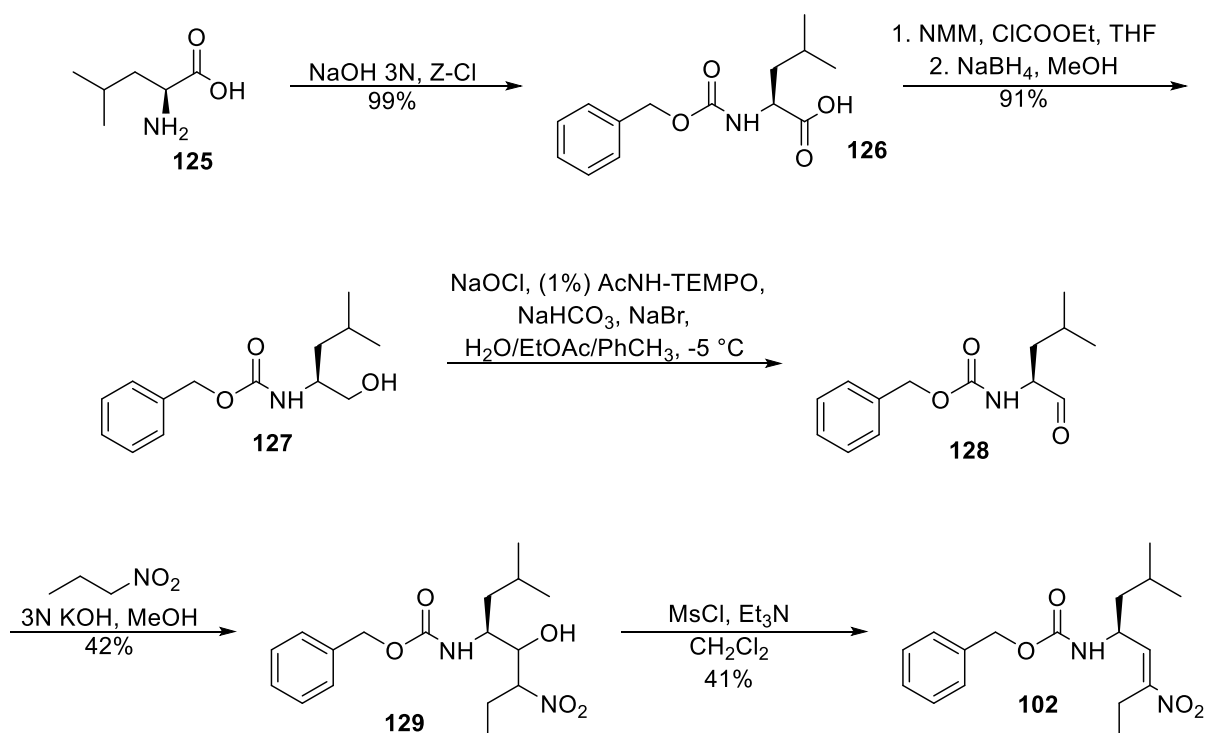
Με αρχική ύλη την Boc-L-λευκίνη **121** παραλαμβάνεται η αλκοόλη **122** που προκύπτει μέσω της αντίδρασης αναγωγής με μεικτούς ανυδρίτες/NaBH₄. Η αλκοόλη **122** οξειδώνεται στην αλδεΐδη **123** με οξειδωτικά το AcNH-TEMPO και τα υδατικά διαλύματα NaOCl και NaBr ενώ στη συνέχεια πραγματοποιείται η νίτρο-αλδολική αντίδραση με το 1-νιτροπροπάνιο για την παραλαβή του ενδιαμέσου υδρόξυ-νίτρο **124**. Τέλος, η υδροξυλομάδα της ένωσης **124** προστατεύεται μέσω αντίδρασης ακετυλίωσης και πραγματοποιείται η απόσπαση και η δημιουργία του διπλού δεσμού για την παραλαβή της ένωσης **101**. Στο Σχήμα 4.29 απεικονίζονται οι αντιδράσεις που πραγματοποιούνται.



Σχήμα 4.29 Ολική πορεία σύνθεσης του νιτροαλκενίου 101.

4.12 Σύνθεση του νιτροαλκενίου (*S,E*)-βενζυλο-(2-μεθυλο-6-νιτροοκτ-5-εν-4-υλ) καρβαμίδιο (102)

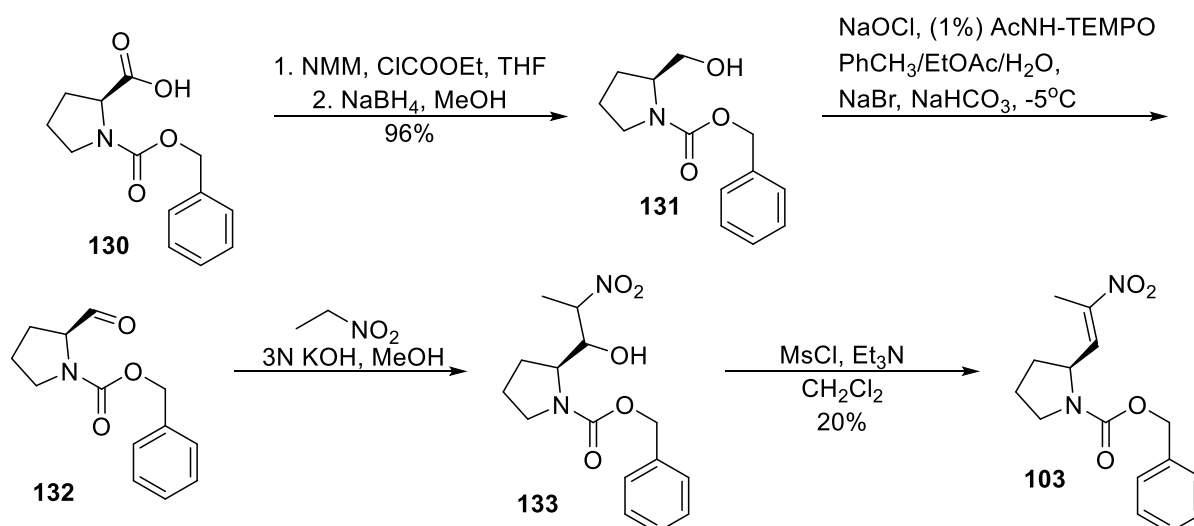
Η L-λευκίνη **125** αντιδρά με το Z-χλωρίδιο οδηγώντας στον προστατευμένο αμινοξύ **126** το οποίο στη συνέχεια ανάγεται στην αλκοόλη **127**. Αυτή με τη σειρά της υπόκειται σε αντίδραση οξείδωσης για να δώσει την αλδεΐδη **128**, ενώ στη συνέχεια πραγματοποιείται η αντίδραση α-καρβονυλίωσης Henry με το 1-νιτροπροπάνιο για την παραλαβή του ενδιάμεσου υδρόξυ-νίτρο **129**. Τέλος, η υδροξυλομάδα της ένωσης **129** προστατεύεται μέσω αντίδρασης μεζυλίωσης, μετατρέπεται σε καλή αποχωρούσα ομάδα και πραγματοποιείται η απόσπαση και η δημιουργία του διπλού δεσμού για την παραλαβή της ένωσης **102**. Στο Σχήμα 4.30 απεικονίζονται τις αντιδράσεις που αναφέρθηκαν.



Σχήμα 4.30 Ολική πορεία σύνθεσης του νιτροαλκενίου 102.

4.13 Σύνθεση του νιτροαλκενίου (S,E)-βενζυλο-2-(2-νιτροπροπ-1-εν-1-υλ)πυρρολιδινο-1-καρβοξυλαμίδιο (103)

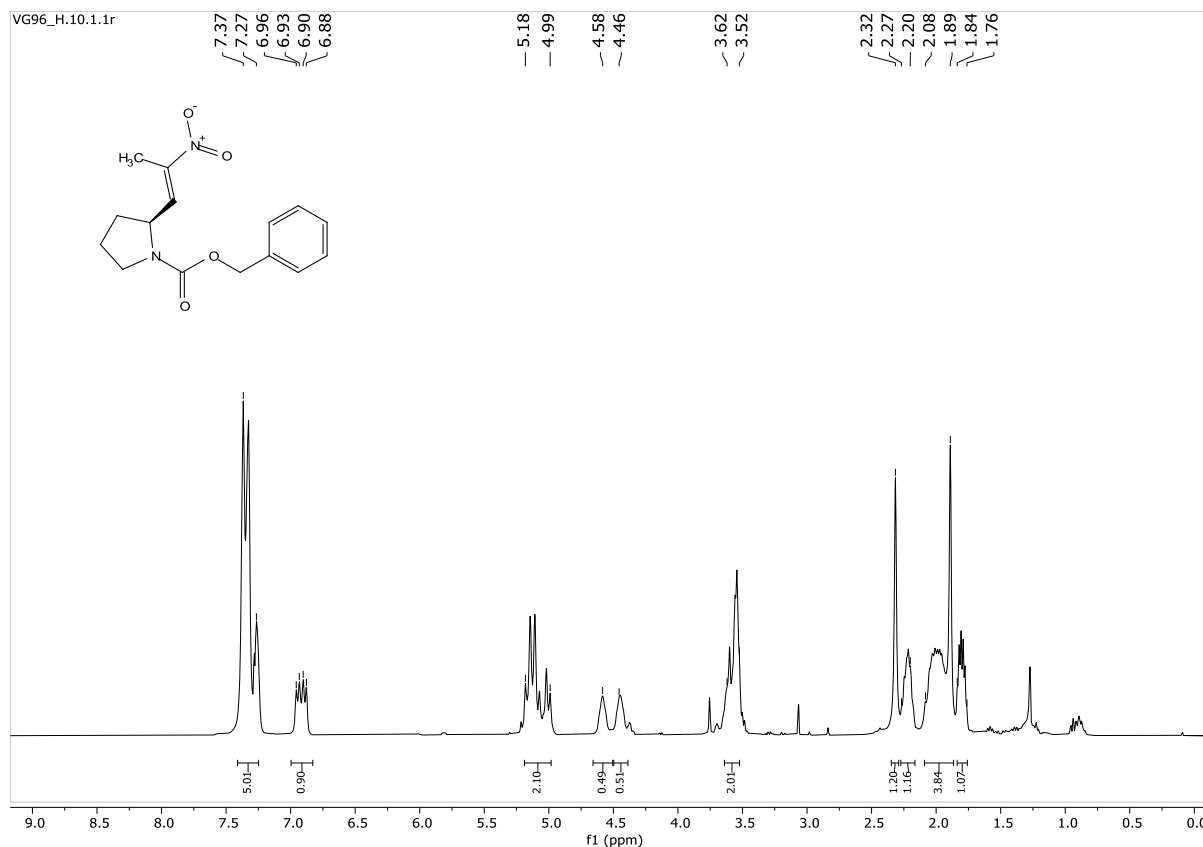
Με αρχική ύλη την προστατευμένη Z-L-προλίνη **130** παραλαμβάνεται η αλκοόλη **131** που προκύπτει μέσω της αντίδρασης αναγωγής με μεικτούς ανυδρίτες/NaBH₄. Αυτή με τη σειρά της υπόκειται σε αντίδραση οξείδωσης για να δώσει την αλδεΐδη **132** και στη συνέχεια πραγματοποιείται η αντίδραση α-καρβονυλίωσης Henry με νιτροαιθάνιο για την παραλαβή του ενδιαμέσου υδρόξυ-νίτρο **133**. Τέλος, η υδροξυλομάδα της ένωσης **133** προστατεύεται μέσω αντίδρασης μεζυλίωσης και πραγματοποιείται η απόσπαση και η δημιουργία του διπλού δεσμού για την παραλαβή της ένωσης **103** όπως φαίνεται στο Σχήμα 4.31.



Σχήμα 4.31 Ολική πορεία σύνθεσης του νιτροαλκενίου 7.

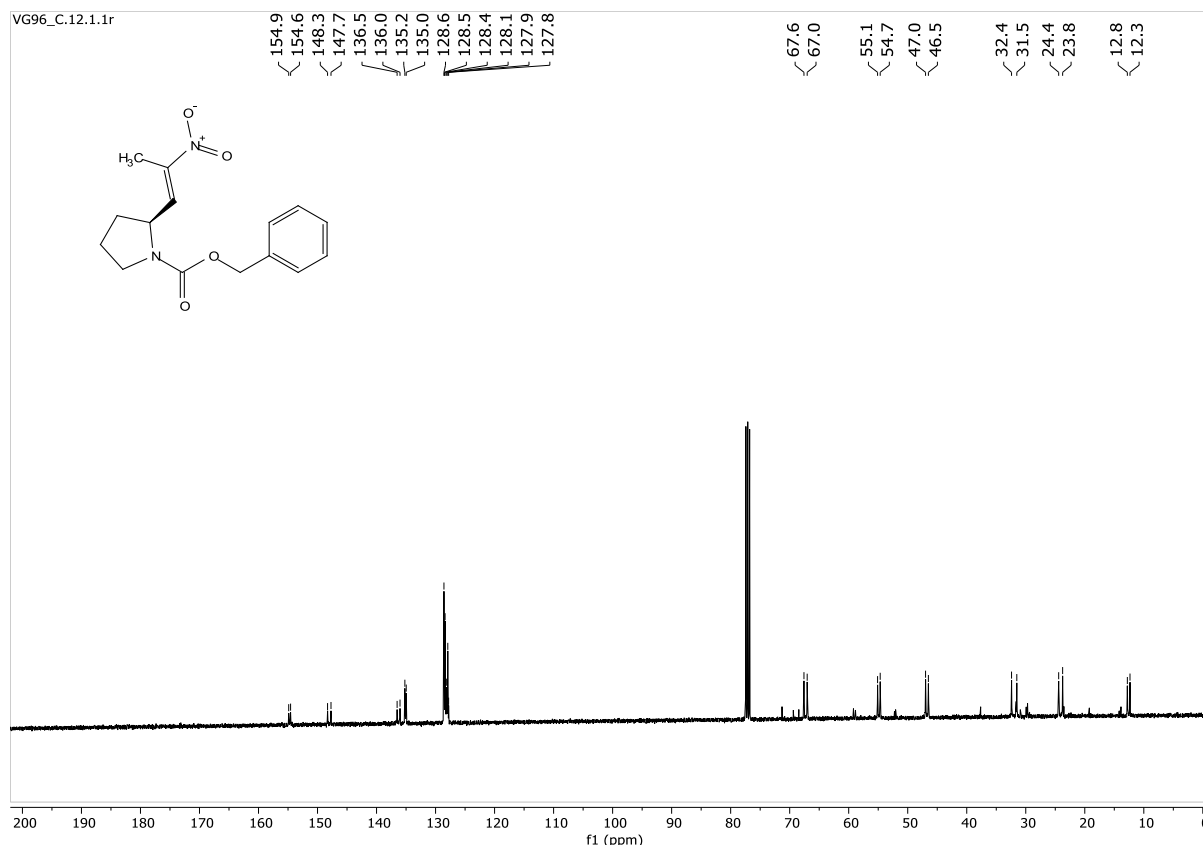
4.14 Φάσματα του νιτροαλκενίου (*S,E*)-βενζυλο-2-(2-νιτροπροπ-1-εν-1-υλ)πυρρολιδινο-1-καρβοξυλαμίδιο (**103**)

Στο φάσμα ¹H-NMR της ένωσης **103** (Σχήμα 4.32) στα 7.44 – 7.27 ppm συντονίζονται τα 5 αρωματικά πρωτόνια. Στα 6.92 ppm οι δύο διπλές κορυφές με ολοκλήρωση 1 πρωτόνιο αντιστοιχούν στο πρωτόνιο του διπλού δεσμού. Η πολλαπλή κορυφή στα 5.19 – 4.97 ppm αντιστοιχεί στα δύο πρωτόνια του μεθυλενίου της Z-ομάδας. Στα 4.58 – 4.46 ppm συντονίζεται το μεθινικό πρωτόνιο της προλίνης υποδεικνύοντας την παρουσία στροφομερών. Στα 3.64 – 3.52 ppm συντονίζονται τα NCH₂ πρωτόνια της προλίνης. Τέλος, οι κορυφές στα 2.32 – 1.74 ppm οφείλονται στα άλλα δύο μεθυλένια της Z-προλίνης και στα τρία πρωτόνια της μέθυλο ομάδας.



Σχήμα 4.32 Φάσμα ^1H -NMR της ένωσης **103 (CDCl_3 , 400 MHz).**

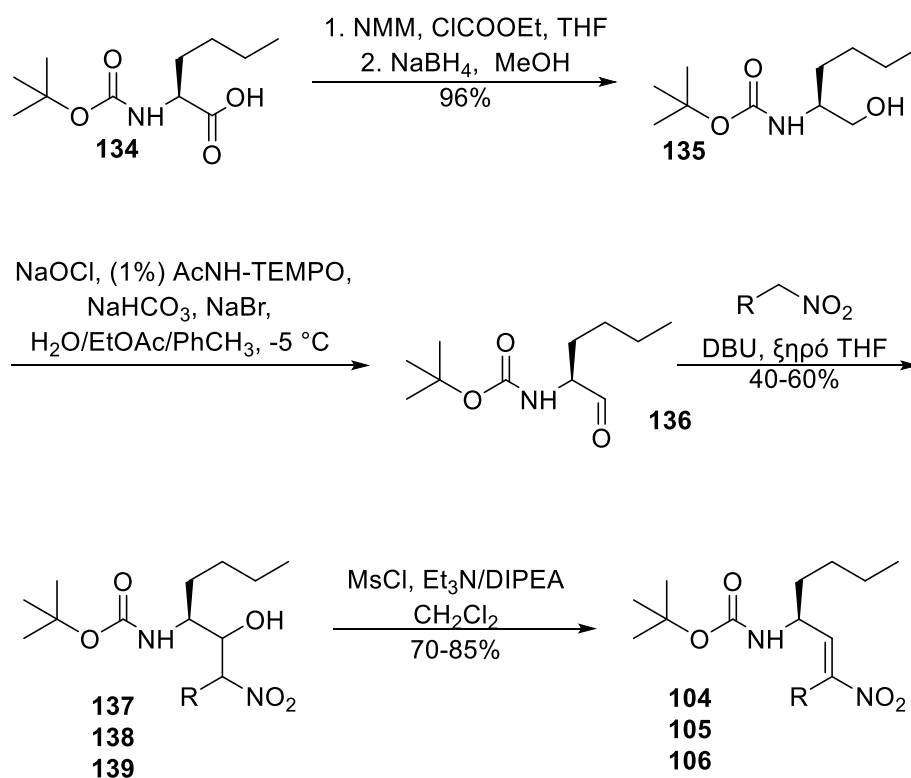
Στο Σχήμα 4.33, παρατίθεται το φάσμα ^{13}C -NMR της ένωσης **103**. Στα 154.9 και 154.6 ppm συντονίζονται οι άνθρακες του καρβονυλίου. Στα 148.3 και 147.7 ppm συντονίζεται ο άνθρακας του διπλού δεσμού που φέρει τη νίτρο ομάδα. Στα 136.5 – 127.8 ppm συντονίζονται οι αρωματικοί άνθρακες και άλλος άνθρακας του διπλού δεσμού. Στα 67.6 – 12.3 ppm συντονίζονται οι αλειφατικοί άνθρακες της ένωσης. Επιβεβαιώνεται η ύπαρξη στροφομερών.



Σχήμα 4.33 Φάσμα ¹³C-NMR της ένωσης 103 (CDCl₃, 100 MHz).

4.15 Σύνθεση νιτροαλκενίων που βασίζονται στην Boc-L-νορλευκίνη (104, 105, 106)

Με αρχική ύλη την εμπορικά διαθέσιμη Boc-L-Nορλευκίνη **134** παραλαμβάνεται η αλκοόλη **135** που προκύπτει μέσω της αντίδρασης αναγωγής. Αυτή με τη σειρά της υπόκειται σε αντίδραση οξειδωσης για να δώσει την αλδεΐδη **136** με οξειδωτικά το AcNH-TEMPO και τα υδατικά διαλύματα NaOCl και NaBr ενώ στη συνέχεια πραγματοποιείται η νίτρο-αλδολική αντίδραση Henry με νιτρομεθάνιο, νιτροαιθάνιο και νιτροπροπάνιο για την παραλαβή των νιτροαλκοολών **137**, **138** και **139** αντίστοιχα. Τέλος, η υδροξυλομάδα των υδρόξυ-νίτρο ενδιάμεσων, προστατεύεται μέσω αντίδρασης μεθυλίωσης, πραγματοποιείται η αντίδραση απόσπασσης και η δημιουργία του διπλού δεσμού για την παραλαβή των αντίστοιχων νιτροαλκενίων. Στο Σχήμα 4.34 απεικονίζονται οι αντιδράσεις που πραγματοποιούνται.

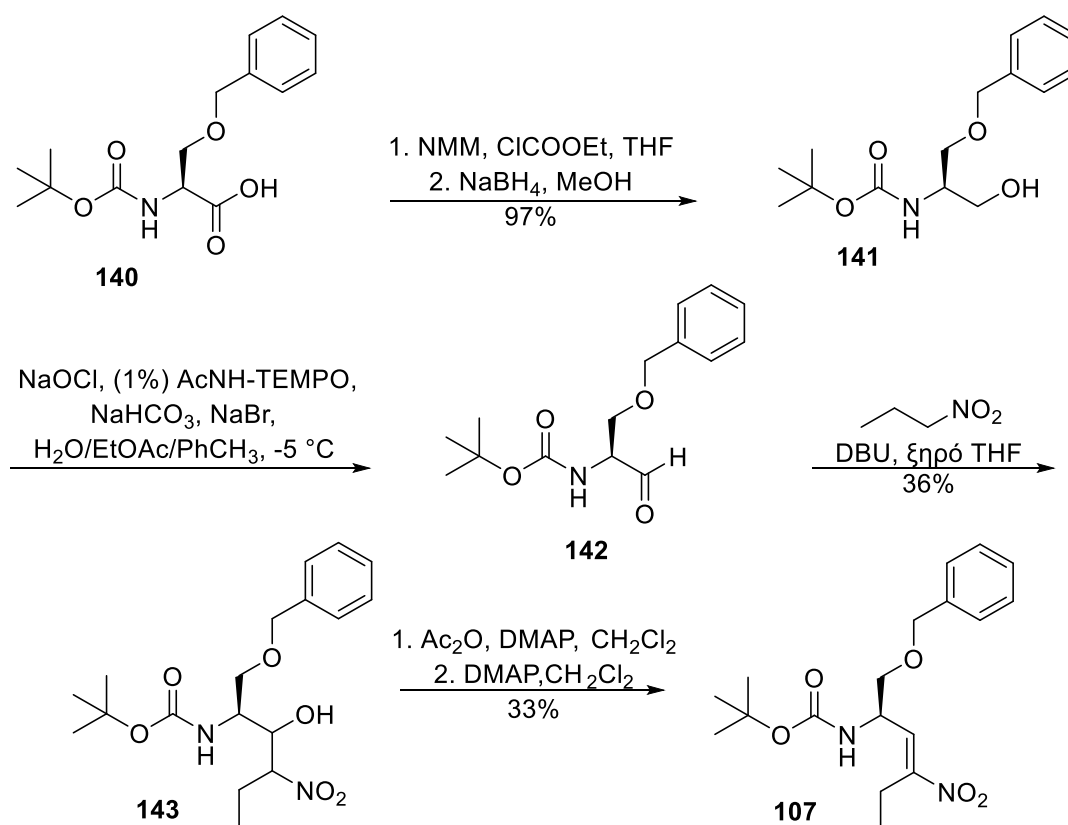


νίτρο- αλκοόλη	νίτρο- αλκένιο	R
137	104	H
138	105	CH ₂
139	106	CH ₂ CH ₃

Σχήμα 4.34 Ολική πορεία σύνθεσης των νιτροαλκενίων 104, 105 και 106.

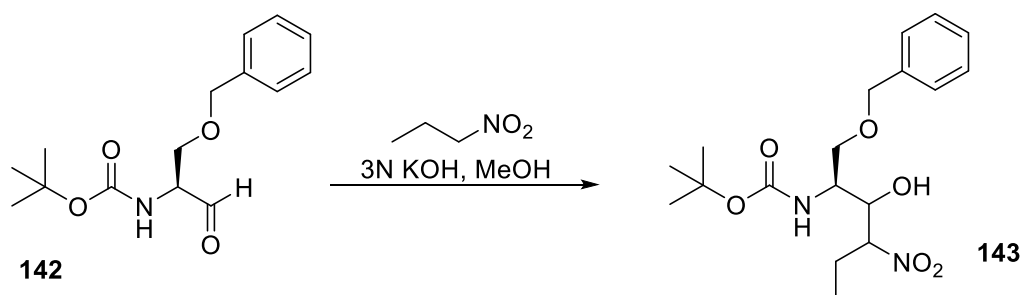
4.16 Σύνθεση του νιτροαλκενίου (*S,E*)-*tert*-βουτυλο(1-(βενζυλοξυ)-4-νιτρονεξ-3-εν-2-υλ) καρβαμίδιο (107)

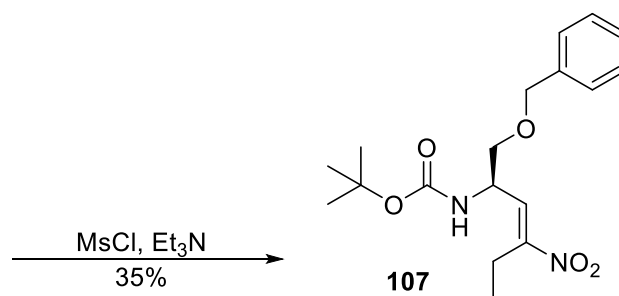
Με αρχική ύλη την εμπορικά διαθέσιμη Ο-βένζυλο *N*-Boc-*L*-σερίνη **140** παραλαμβάνεται η αλκοόλη **141** μέσω της αντίδρασης αναγωγής. Η αλκοόλη έπειτα υφίσταται αντίδραση οξειδωσης για να δώσει την αλδεΐδη **142** και στη συνέχεια, πραγματοποιείται η νίτρο-αλδολική αντίδραση Henry με το 1-νιτροπροπάνιο για την παραλαβή του ενδιαμέσου υδρόξυ-νίτρο **143**. Τέλος, η υδροξυλομάδα της ένωσης **143** προστατεύεται μέσω αντίδρασης ακετυλίωσης, και πραγματοποιείται η απόσπαση και η δημιουργία του διπλού δεσμού για την παραλαβή της ένωσης **107** (Σχήμα 4.35).



Σχήμα 4. 35 Ολική πορεία σύνθεσης του νιτροαλκενίου **107**.

Ωστόσο, στα τελευταία στάδια δοκιμάστηκε και εναλλακτική πορεία. Πιο συγκεκριμένα, για την παραλαβή της ένωσης **143** έγινε αλλαγή συνθηκών τόσο στη βάση που χρησιμοποιήθηκε όσο και στο διαλύτη. Στη συνέχεια, στην ένωση **143**, το υδροξύλιο προστατεύτηκε μέσω διαδικασίας μεθυλίωσης και η απόσπαση έγινε με βάση Et₃N (Σχήμα 4.36) βελτιστοποιώντας τη συνολική απόδοση κατά 8%.

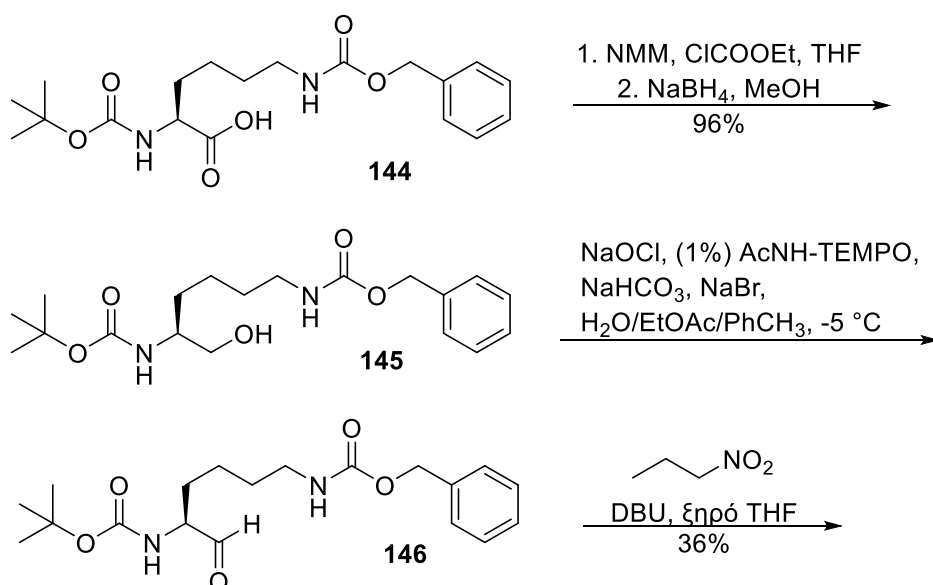


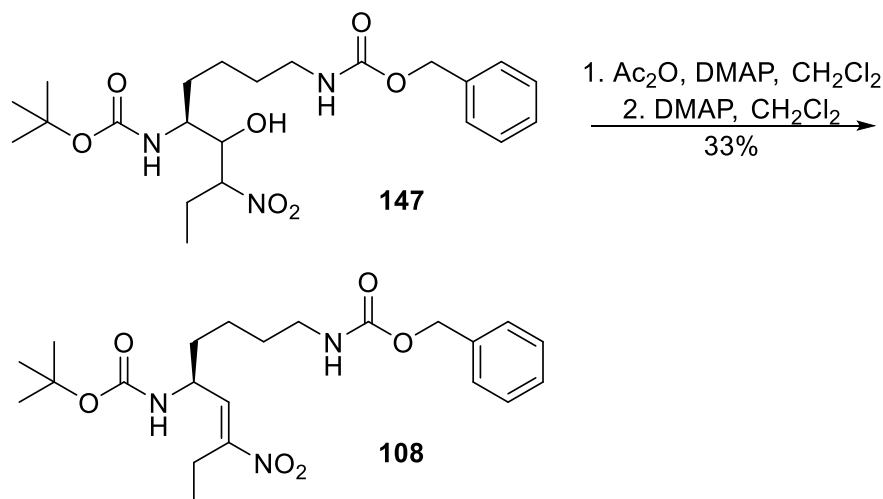


Σχήμα 4.36 Εναλλακτική πορεία σύνθεσης του νιτροαλκενίου **107** στα στάδια της αντίδρασης Henry και της απόσπασης.

4.17 Σύνθεση του νιτροαλκενίου (*S,E*)-*tert*-βουτυλο(7-νιτρονον-6-εν-1,5-υλ)δικαρβαμίδιο (**108**)

Με αρχική ύλη την εμπορικά διαθέσιμη *N*_α-Boc-*N*_ε-Z-L-Λυσίνη **144** παραλαμβάνεται η αλκοόλη **145** που προκύπτει μέσω της αντίδρασης αναγωγής με μεικτούς ανυδρίτες/NaBH₄. Αυτή με τη σειρά της υπόκειται σε αντίδραση οξειδωσης για να δώσει την αλδεΐδη **146** και στη συνέχεια πραγματοποιείται η αντίδραση α-καρβονυλίωσης Henry με το 1-νιτροπροπάνιο για την παραλαβή του ενδιαμέσου υδρόξυ-νίτρο **147**. Τέλος, η υδροξυλομάδα της ένωσης **147** προστατεύεται μέσω αντίδρασης ακετυλίωσης, και πραγματοποιείται η αντίδραση απόσπασης και η δημιουργία του διπλού δεσμού για την παραλαβή της ένωσης **108**, όπως φαίνεται στο Σχήμα 4.37.

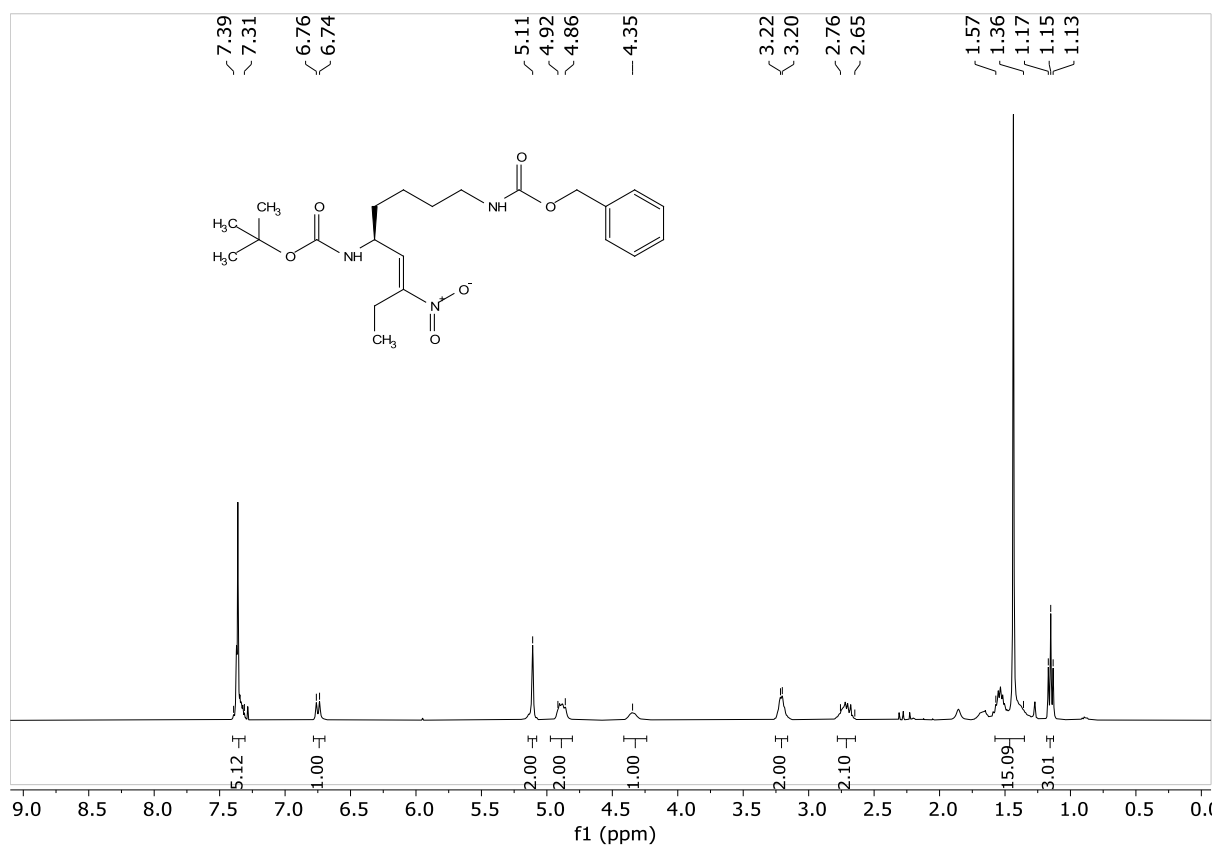




Σχήμα 4.37 Ολική πορεία σύνθεσης του νιτροαλκενίου **108**.

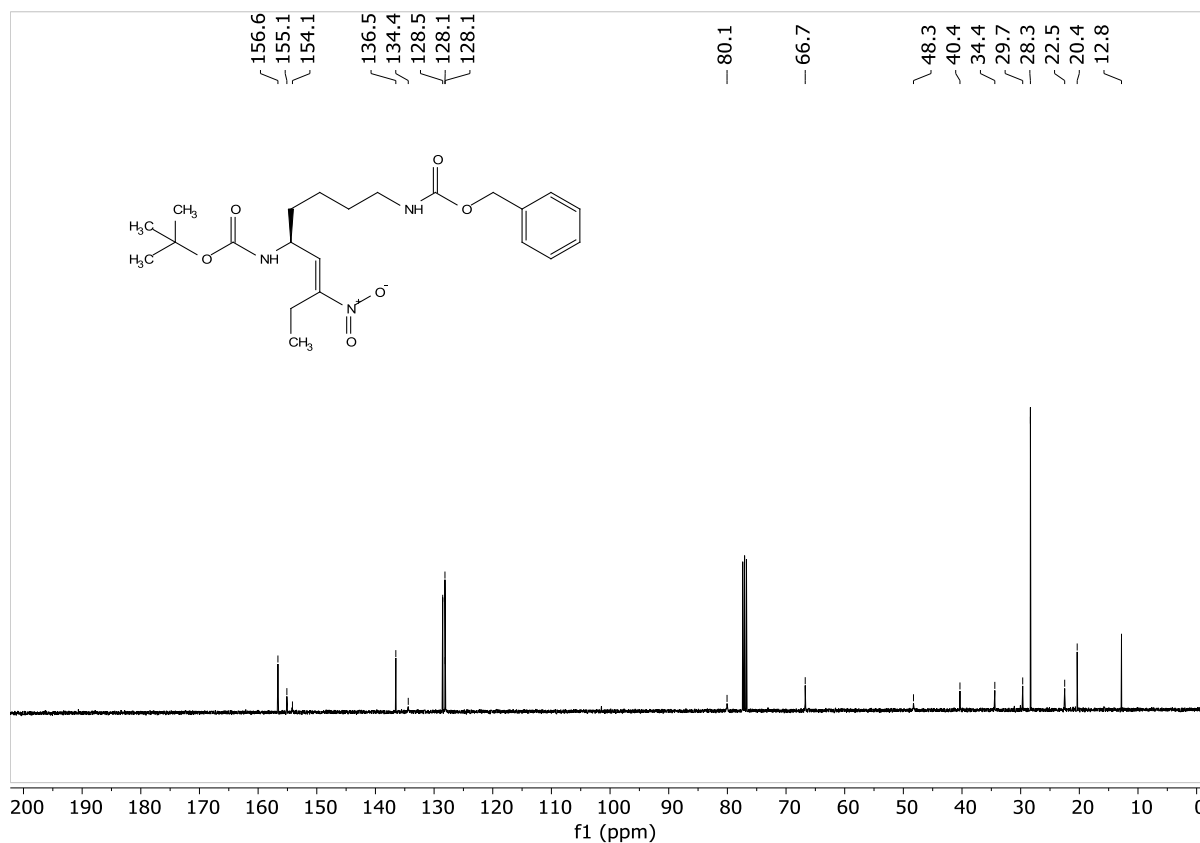
4.18 Φάσματα νιτροαλκενίου (*S,E*)-*tert*-βουτυλο(7-νιτρονον-6-εν-1,5-υλ) δикаρβαμίδιο (**108**)

Στο φάσμα ^1H -NMR της ένωσης **108** (Σχήμα 4.38), στην περιοχή 7.40 – 7.30 συντονίζονται τα 5 αρωματικά πρωτόνια της προστατευτικής Z-ομάδας και σε χημική μετατόπιση 6.75 ppm η διπλή κορυφή αντιστοιχεί στο πρωτόνιο του διπλού δεσμού. Στα 5.11 ppm συντονίζονται τα δύο πρωτόνια του μεθυλενίου της προστατευτικής Z-ομάδας. Στην περιοχή 4.97 – 4.79 ppm συντονίζονται τα δύο καρβαμидικά πρωτόνια. Η κορυφή στα 4.35 ppm αντιστοιχεί στο πρωτόνιο του στερεογονικού κέντρου και η κορυφή στην περιοχή 3.28 – 3.12 στο NCH_2 μεθυλένιο. Η πολλαπλή κορυφή στα 2.84 – 2.62 ppm αναφέρεται στα πρωτόνια του μεθυλενίου της αίθυλο ομάδας. Στην περιοχή 1.58 – 1.34 ppm συντονίζονται τα πρωτόνια των μεθυλενίου της πλευρικής αλυσίδας του αμινοξέος καθώς επίσης και τα πρωτόνια της προστατευτικής *tert*-βουτοξυκαρβόνυλο ομάδας. Τέλος, στα 1.15 ppm παρατηρούνται τα πρωτόνια που αντιστοιχούν στο μεθύλιο της αίθυλο ομάδας.



Σχήμα 4.38 Φάσμα ^1H -NMR της ένωσης **108** (CDCl_3 , 400 MHz).

Στο Σχήμα 4.39, παρατίθεται το φάσμα ^{13}C -NMR της ένωσης **108**. Στις χημικές μετατοπίσεις 156.6 ppm, 155.1 ppm και 154.1 ppm συντονίζονται οι άνθρακες των καρβονυλίων και ο άνθρακας του διπλού δεσμού που φέρει τη νίτρο ομάδα ενώ στην περιοχή 136.5 – 128.1 συντονίζονται οι αρωματικοί άνθρακες και ο άλλος άνθρακας του διπλού δεσμού. Σε χημική μετατόπιση 80.1 ppm συντονίζεται ο τεταρτοταγής άνθρακας της προστατευτικής *tert*-βουτοξυκαρβόνυλο ομάδας. Τέλος, στα 66.7 – 12.8 ppm συντονίζονται οι αλειφατικοί άνθρακες της ένωσης.

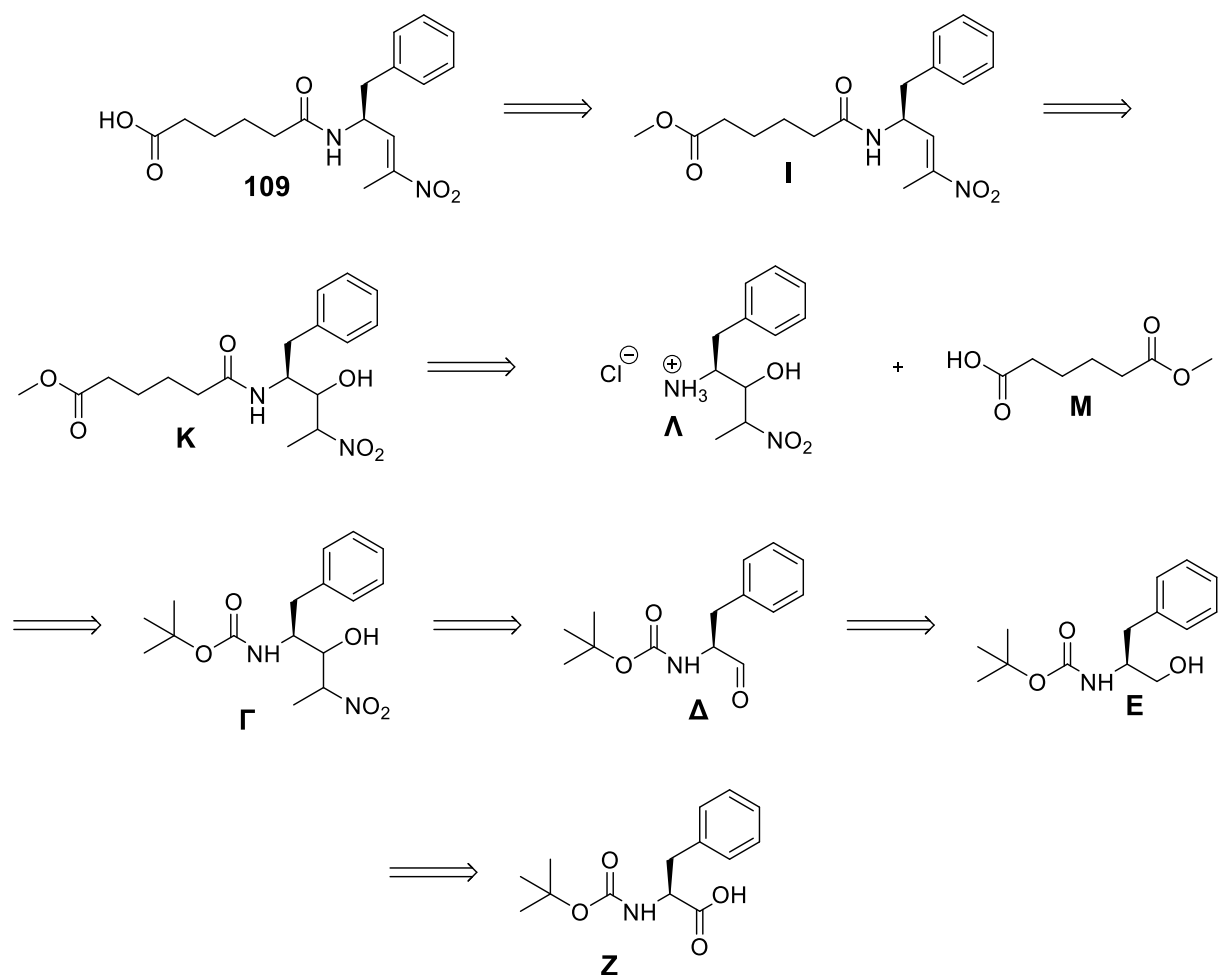


Σχήμα 4.39 Φάσμα ¹³C-NMR της ένωσης 108 (CDCl₃, 100 MHz).

4.19 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης του νιτροαλκενίου (S,E)-6-((4-νιτρο-1-φαινυλπεντ-3-εν-2-υλ)αμινο)-6-οξοεξανοϊκό οξύ (109)

Τελικός στόχος ήταν η σύνθεση ενός παραγώγου νιτροαλκενίου, το οποίο θα φέρει μια ελεύθερη ομάδα καρβοξυλίου, ώστε να μπορεί να συζευχθεί από αυτή σε κάποια υπάρχουσα ελεύθερη αμινομάδα πεπτιδικής αλυσίδας. Για τη σύνθεση της ένωσης **109**, η αντίστροφη ανάλυση (Σχήμα 4,40) πρέπει να λάβει μερίμνα για την απομάκρυνση του μεθυλεστέρα στο τελικό στάδιο.

Η ένωση **109** θα μπορούσε να προέλθει κατά προτίμηση από μια ενζυμική αντίδραση υδρόλυσης του εστέρα **I**, ο οποίος είναι προϊόν απόσπασης μέσω μεζυλίωσης της ένωσης **K**. Η ένωση **K** είναι προϊόν αντίδρασης σύζευξης του υδροχλωρικού άλατος **L** με το μονομεθυλυστέρα του αδιπτικού οξέος **M**. Το άλας **L** προέρχεται από την απομάκρυνση της προστατευτικής ομάδας Boc του υποστρώματος τύπου **Γ**, το οποίο μπορεί να προκύψει σύμφωνα όσα προαναφέραμε.



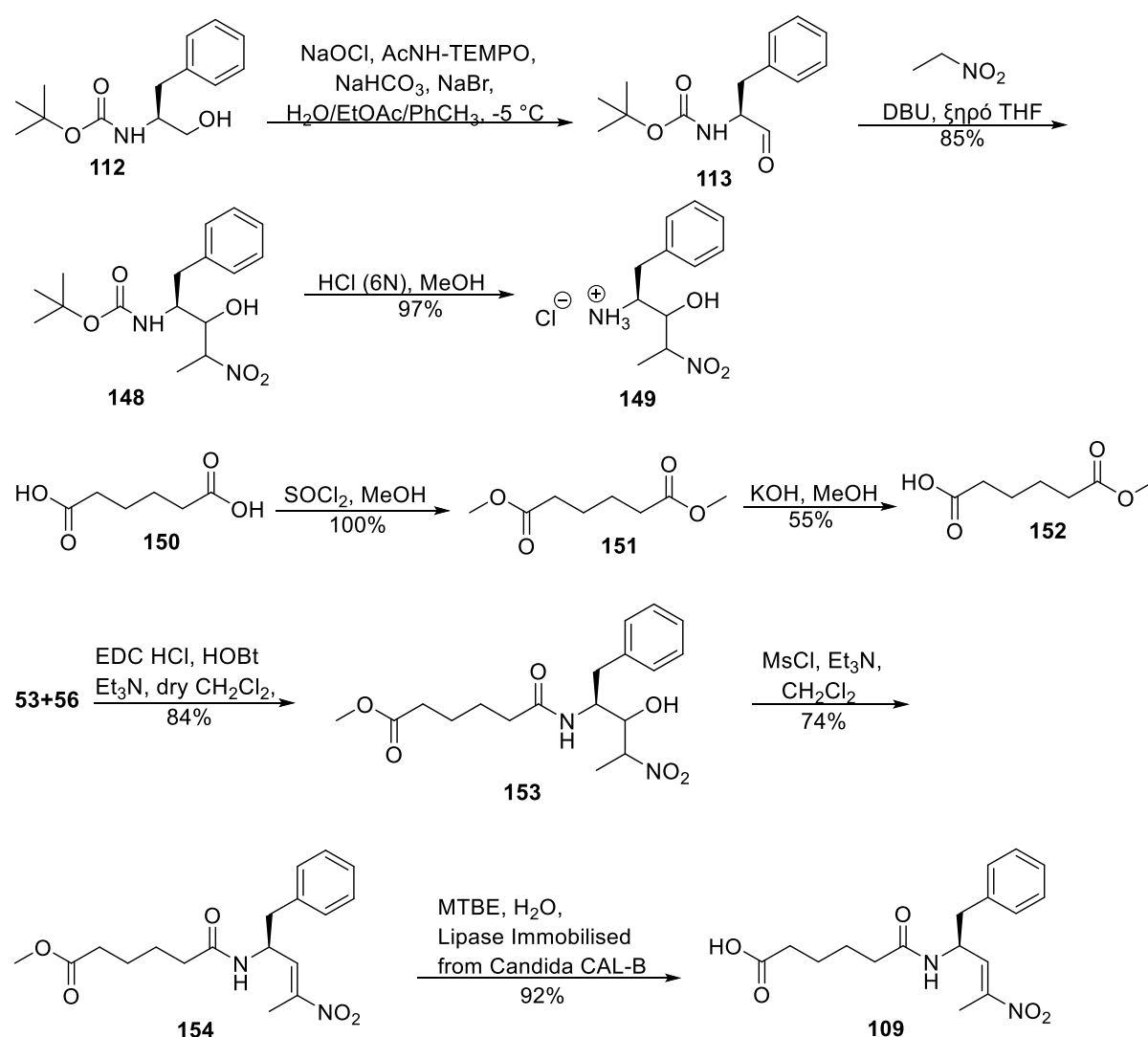
Σχήμα 4. 40 Αντίστροφη ανάλυση σύνθεσης νιτροαλκενίου **109**.

4.20 Σύνθεση του νιτροαλκενίου (S,E)-6-((4-νιτρο-1-φαινυλπεντ-3-εν-2-υλ)αμινο)-6-οξοεξανοϊκό οξύ (**109**)

Με αρχική ύλη την Boc-L-φαινυλαλανινόλη **112** πραγματοποιείται οξείδωση στην αλδεϋδη **113** η οποία υπόκειται σε αντίδραση α-καρβονυλίωσης με το νιτροαιθάνιο για την παραλαβή του ενδιαμέσου υδρόξυ-νίτρο **148** (Σχήμα 4.41). Ακολουθώντας, η προστατευτική Boc ομάδα απομακρύνεται από την ένωση με χρήση HCl σε μεθανόλη για το σχηματισμό του άλατος **149**. Παράλληλα, από το αδιπτικό οξύ **150** καταλήγουμε στο διμεθυλεστέρα του αδιπτικού οξέος **151**. Έπειτα, ο διμεθυλεστέρας **151** μετατρέπεται στο μονομεθυλεστέρα **152** και αυτός με τη σειρά του συζευγνύεται με το άλας **149** για το σχηματισμό της ένωσης **153** χρησιμοποιώντας ως αντιδραστήριο σύζευξης το υδροχλωρικό N-(3-διμεθυλαμινοπροπυλ)-N'-αιθυλοκαρβοδιιμίδιο (EDC HCl) παρουσία υδροξυβενζοτριαζολίου (HOBt). Στη συνέχεια, ακολουθεί η αντίδραση

απόσπασης όπου αρχικά η υδροξυλομάδα της ένωσης **153** ενεργοποιείται μέσω αντίδρασης μεθυλίωσης με MsCl και έπειτα η απόσπαση πραγματοποιείται με τριαιθυλαμίνη για την παραλαβή της ένωσης **154**.

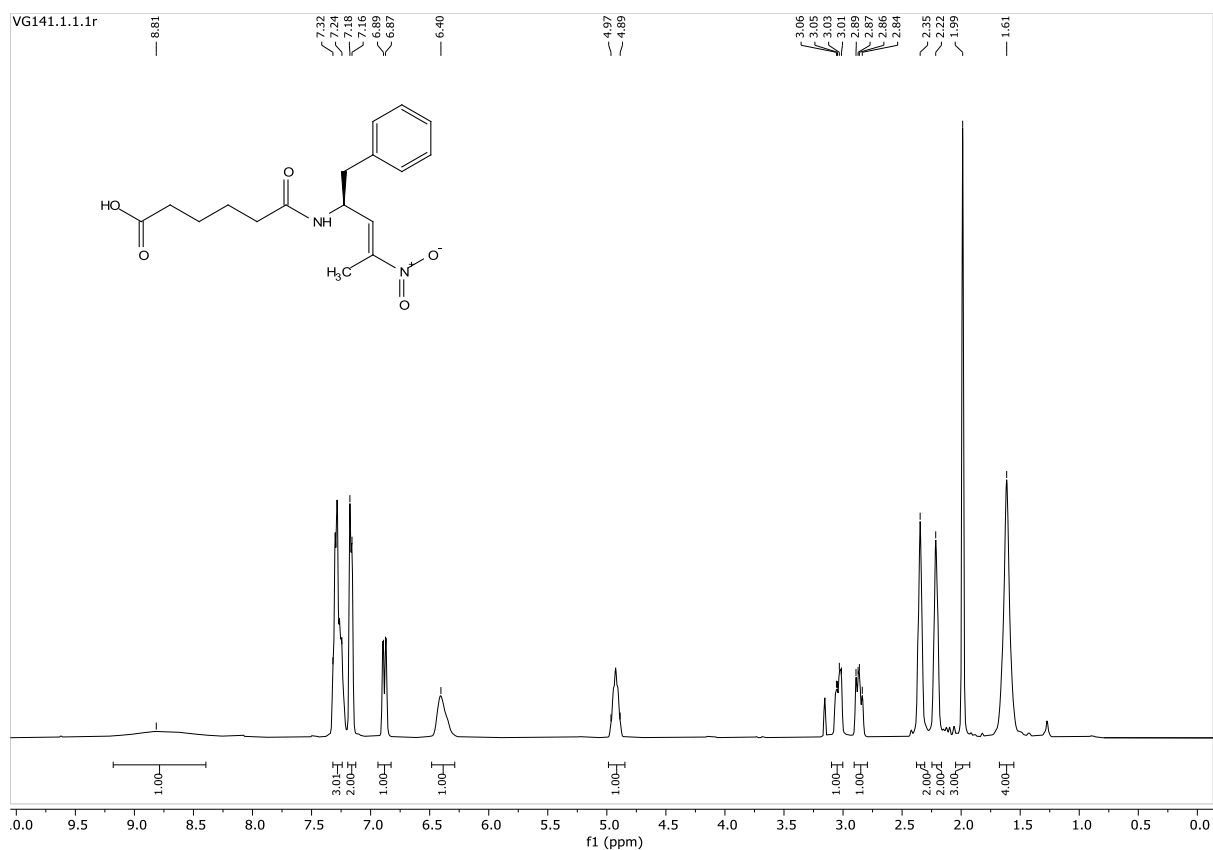
Το τελικό στάδιο πραγματοποιείται με την απομάκρυνση του μεθυλεστέρα με τη χρήση ενός ενζύμου. Η ενζυμική υδρόλυση εξασφαλίζει ιδιαίτερα ήπιες και εκλεκτικές συνθήκες συμβάλλοντας στην αποφυγή παράπλευρων αντιδράσεων. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία το ένζυμο λιπάση από *Candida Antarctica* CAL-B, προκειμένου να μετατραπεί ο εστέρας σε οξύ. Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε με μίγμα $\text{MTBE}/\text{H}_2\text{O}$ και το ένζυμο ήταν ακινητοποιημένο, με αποτέλεσμα να μπορεί να ανακτηθεί και να επαναχρησιμοποιηθεί. Το προϊόν παραλήφθηκε σε υψηλότερη απόδοση 92%.



Σχήμα 4.41 Ολική πορεία σύνθεσης του νιτροαλκενίου **109**.

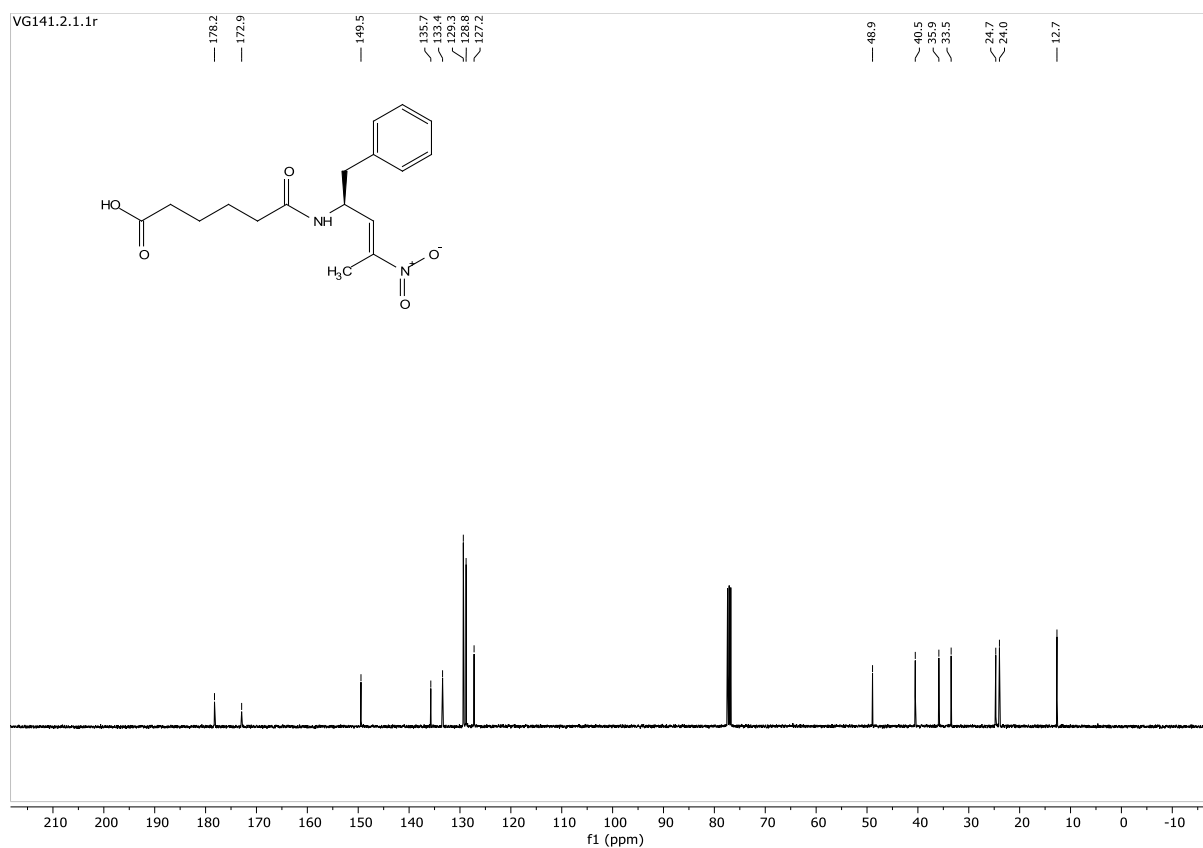
4.21 Φάσματα νιτροαλκενίου (*S,E*)-6-((4-νιτρο-1-φαινυλπεντ-3-εν-2-υλ)αμινο)-6-οξοεξανοϊκό οξύ (**109**)

Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **109** (Σχήμα 4.42) σε χημική μετατόπιση 8.81 ppm συντονίζεται το πρωτόνιο της καρβοξυλομάδας. Στην περιοχή 7.35 – 7.10 συντονίζονται τα 5 αρωματικά πρωτόνια του αρωματικού δακτυλίου και σε χημική μετατόπιση 6.88 ppm η διπλή κορυφή αντιστοιχεί στο πρωτόνιο του διπλού δεσμού. Στα 6.40 ppm συντονίζεται το αμιδικό πρωτόνιο ενώ στα 4.87 ppm, η κορυφή αντιστοιχεί στο πρωτόνιο του στερεογονικού κέντρου. Οι 2 διπλές διπλών κορυφές στα 3.04 και 2.87 ppm αναφέρονται στα διαστερεοτοπικά πρωτόνια του μεθυλενίου της φαινυλαλανίνης. Στα 2.35 και 2.22 ppm απεικονίζονται τα 2 α -πρωτόνια ως προς το ελεύθερο καρβοξύλιο και τα 2 α -πρωτόνια ως προς την αμιδική ομάδα. Στα 1.99 ppm συντονίζεται τα 3 πρωτόνια του μεθυλίου. Τέλος, στα 1.61 ppm παρατηρούνται τα τέσσερα πρωτόνια που αντιστοιχούν στα μεθυλένια από το αδιπτικό οξύ.



Σχήμα 4.42 Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **109** (CDCl_3 , 400 MHz).

Στο Σχήμα 4.43, παρατίθεται το φάσμα ^{13}C -NMR της ένωσης **109**. Στις χημικές μετατοπίσεις 178.2 ppm, 172.9 ppm συντονίζονται οι άνθρακες του οξέος και του αμιδίου αντίστοιχα. Στα 149.5 ppm συντονίζεται ο άνθρακας του διπλού δεσμού που φέρει τη νίτρο ομάδα ενώ στην περιοχή 135.7 – 127.2 ppm συντονίζονται οι αρωματικοί άνθρακες και ο άλλος άνθρακας του διπλού δεσμού. Τέλος, στα 48.9 – 12.7 ppm συντονίζονται οι αλειφατικοί άνθρακες της ένωσης.



Σχήμα 4.43 Φάσμα ^{13}C -NMR της ένωσης **109** (CDCl_3 , 100 MHz).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ – ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΙ ΕΝΩΣΕΩΝ

5.1. Γενικό πειραματικό μέρος

5.1.1. Αντιδραστήρια

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των ενώσεων που περιγράφονται σε αυτήν την εργασία ήταν εμπορικά διαθέσιμα προϊόντα των εταιριών Sigma-Aldrich, Fluka, Merck, Alfa. Η καθαρότητα των αντιδραστηρίων ήταν 99% και άνω (εκτός και αν δηλώνεται διαφορετικά) και χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

5.1.2. Χρωματογραφικός έλεγχος αντιδράσεων

Για τον έλεγχο της πορείας των αντιδράσεων χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (Thin Layer Chromatography, TLC). Οι χρωματογραφικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε πλάκες αλουμινίου πάχους 0.25 mm, επιστρωμένες με silica gel και φθορίζον υλικό που απορροφά στα 254 nm της εταιρίας Merck (silica gel 60 F₂₅₄).

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

1.	Πετρελαϊκός αιθέρας / Οξικός αιθυλεστέρας	(PE/EtOAc)	9/1
2.	Πετρελαϊκός αιθέρας / Οξικός αιθυλεστέρας	(PE/EtOAc)	85/15
3.	Πετρελαϊκός αιθέρας / Οξικός αιθυλεστέρας	(PE/ EtOAc)	8/2
4.	Πετρελαϊκός αιθέρας / Οξικός αιθυλεστέρας	(PE/ EtOAc)	7/3
5.	Πετρελαϊκός αιθέρας / Οξικός αιθυλεστέρας	(PE/EtOAc)	6/4
6.	Πετρελαϊκός αιθέρας / Οξικός αιθυλεστέρας	(PE/EtOAc)	1/1
7.	Οξικός αιθυλεστέρας	(EtOAc)	
8.	Χλωροφόρμιο	(CHCl ₃)	
9.	Χλωροφόρμιο / Μεθανόλη	(CHCl ₃ /MeOH)	95/5

10. Χλωροφόρμιο / Μεθανόλη	(CHCl ₃ /MeOH)	9/1
11. Διχλωρομεθάνιο	(CH ₂ Cl ₂)	
12. Διχλωρομεθάνιο / Μεθανόλη	(CH ₂ Cl ₂ /MeOH)	95/5
13. Διχλωρομεθάνιο / Μεθανόλη	(CH ₂ Cl ₂ /MeOH)	9/1

Για την εμφάνιση των χρωματογραφιών χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω μέθοδοι:

A. Υπεριώδης ακτινοβολία (254 nm)

B. Ψεκασμός με διάλυμα φωσφομολυβδαινικού οξέος 7.5% σε αιθανόλη και θέρμανση

Γ. Ψεκασμός με διάλυμα νινυδρίνης 5% σε αιθανόλη και θέρμανση

Δ. Διάλυμα KMnO₄ και θέρμανση

E. Ιώδιο

ΣΤ. Blue stain και θέρμανση

5.1.3. Χρωματογραφικός καθαρισμός ενώσεων

Οι ενώσεις που περιγράφονται στην παρούσα εργασία καθαρίστηκαν με χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιώντας ως υλικό πληρώσεως Silica gel 60 (230-400 mesh). Τα συστήματα έκλουσης αναφέρονται στις πειραματικές μεθόδους για κάθε ένωση ξεχωριστά.

5.1.4. Χαρακτηρισμός ενώσεων

Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR): Οι ενώσεις που συνετέθησαν χαρακτηρίστηκαν και ταυτοποιήθηκαν με ¹H και ¹³C φασματοσκοπία NMR. Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε όργανο 200 MHz Varian τύπου Mercury και σε 400 MHz Bruker. Τα φάσματα ¹³C είναι αποσυνζευγμένα (proton decoupled).

Ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή των δειγμάτων ήταν CDCl₃. Η κλίμακα των χημικών μετατοπίσεων στα φάσματα ¹H NMR είναι βαθμονομημένη σύμφωνα με τη χημική μετατόπιση του πρωτονιωμένου συστατικού, που βρίσκεται ως πρόσμιξη στους δευτεριωμένους διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν. Οι τιμές αυτές ορίστηκαν βάσει βιβλιογραφικών δεδομένων και είναι: CDCl₃ (7.26 ppm, χημική μετατόπιση πρόσμιξης CHCl₃).⁸⁰

Φασματομετρία μάζας: Τα φάσματα μάζας ελήφθησαν σε όργανο φασματομετρίας μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας Bruker Maxis Impact με την τεχνική του ιονισμού μέσω ηλεκτροψεκασμού, στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

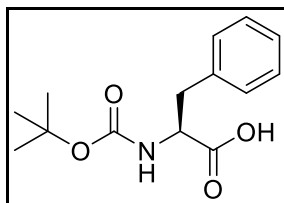
Σημείο τήξης: Τα σημεία τήξης των ενώσεων μετρήθηκαν σε συσκευή Buchi 530 και δεν δίνονται διορθωμένα.

5.2. Συνθετικές μέθοδοι – Χαρακτηρισμοί ενώσεων

Γενική μέθοδος Boc προστασίας αμινοξέος

Σε διάλυμα αμινοξέος (1.0 mmol) σε MeOH (10 mL) προστίθεται Et₃N (7.0 mmol, 1 mL) στάγδην και (Boc)₂O (1.5 mmol, 0.34 g). Το μείγμα της αντίδρασης αναδεύεται υπό θέρμανση στους 45 °C για 15 min και ακολούθως αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 30 min. Με το τέλος της αντίδρασης, το μείγμα συμπυκνώνεται, αραιώνεται με νερό και οξινίζεται με κιτρικό οξύ 5% έως pH= 6. Ακολουθεί εκχύλιση με EtOAc. Η οργανική στιβάδα εκπλένεται με NaHCO₃ 5% (10 mL). Η υδατική στιβάδα οξινίζεται με κιτρικό οξύ 5% έως pH= 6 και εκχυλίζεται με EtOAc. Η οργανική στιβάδα συλλέγεται, ξηραίνεται με άνυδρο Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται. Το προϊόν παραλήφθηκε χωρίς επιπλέον καθαρισμό.

(*tert*-Βουτοξυκαρβονυλο)-L-φαινυλαλανίνη (111)



Λευκό στερεό. 91%. $R_f(9) = 0.41$, Σ.τ. = 86-87 °C, (βιβλ.:⁸¹ 85-87 °C). $[\alpha]_D^{25} = +37$ (c=1.0, EtOH), (βιβλ.:⁸¹ +25 (c=1.0, EtOH)).

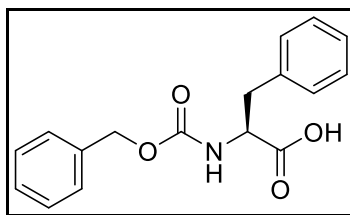
¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 7.23-7.06 (5H, m, ArH), 5.41 (1H, s, NH), 4.35 (1H, s, NCH), 3.16 (1H, dd, $J = 14.1$ και 4.6 Hz, CHHPh), 2.87 (1H, dd, $J = 14.1$ και 4.3 Hz, CHHPh), 1.35 [9H, s, C(CH₃)₃].

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 177.3, 156.2, 138.0, 129.6, 128.5, 126.7, 80.5, 53.4, 37.3, 28.5.

Γενική μέθοδος Cbz προστασίας αμινοξέος

Σε διάλυμα αμινοξέος (1.0 mmol) σε NaOH 3N (6.0 mmol, 3 mL) στους 0 °C γίνεται προσθήκη Z-χλωριδίου (1.0 mmol, 0.15 mL). Ακολουθεί ανάδευση για 2 ώρες και στη συνέχεια οξίνιση με HCl 6N μέχρι pH=2 και έπειτα εκχύλιση με EtOAc: Et₂O 1:1. Η οργανική στιβάδα συλλέγεται, ξηραίνεται με άνυδρο Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται.

(Βενζυλοξυκαρβονυλο)-L-φαινυλαλανίνη (115)

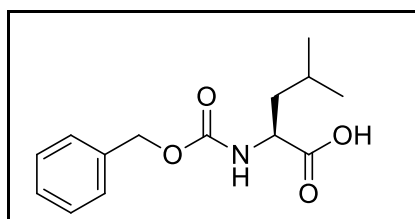


Λευκό στερεό. 99%. $R_f(9) = 0.35$. $\Sigma.T. = 84-86\text{ }^{\circ}\text{C}$, ($\beta\text{ιβλ.}^{81} 85-87\text{ }^{\circ}\text{C}$). $[\alpha]_D^{25} = -50$ ($c=1.0$, CHCl_3), ($\beta\text{ιβλ.}^{81} +5$ ($c=5.0$, acetic acid)).

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 7.45-6.94 (10H, m, ArH), 5.34 (1H, d, $J = 8.1\text{ Hz}$, NH), 5.08 (2H, s, OCH_2Ph), 4.73-4.44 (1H, m, NCH), 3.31-2.90 (2H, m, CH_2Ph).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): δ 172.4, 157.0, 138.1, 137.6, 129.9, 129.7, 129.3, 128.9, 128.6, 128.2, 67.0, 58.6, 37.8.

(Βενζυλοξυκαρβονυλο)-L-λευκίνη (126)



Άχρωμο λάδι. 99%. $R_f(9) = 0.29$. $[\alpha]_D^{25} = -10$ ($c=1.0$, CHCl_3), ($\beta\text{ιβλ.}^{81} -17$ ($c=2.0$, EtOH)).

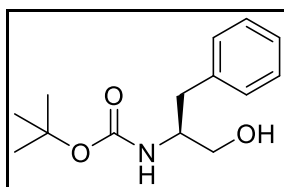
$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 7.44-7.17 (5H, m, ArH), 5.67 (1H, d, $J = 8.1\text{ Hz}$, NH), 5.12 (2H, s, OCH_2Ph), 4.53-4.37 (1H, m, NCH), 1.85-1.45 (3H, m, CH_2 και CH), 0.96 (6H, d, $J = 6.6\text{ Hz}$, 3 x CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): δ 172.0, 156.9, 136.7, 128.7, 128.4, 128.3, 67.2, 51.5, 40.6, 24.9, 23.5, 22.6.

Γενική μέθοδος αναγωγής *N*-προστατευμένου καρβοξυλικού οξέος σε αλκοόλη

Σε τρίλαιμη φιάλη προστίθεται το *N*-προστατευμένο αμινοξύ (1.0 mmol) και ξηρό THF (5.0 mL) σε θερμοκρασία -10 °C. Προστίθεται η *N*-μεθυλομορφολίνη (1.0 mmol, 101 mg) και ο χλωρομυρμηκικός αιθυλεστέρας (1.0 mmol, 108 mg). Αφήνεται υπό ανάδευση στους -10 °C για 10 min και ακολούθως προστίθεται NaBH₄ (3.0 mmol, 113 mg) και MeOH (10.0 mL) στάγδην με σταγονομετρικό χωνί μέχρι τους 0 °C. Το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση στους 0 °C για 10 min και σε θερμοκρασία δωματίου για επιπλέον 10 min. Η αντίδραση σταματά με προσθήκη νερού μέχρι διαύγασης. Ακολουθεί εξουδετέρωση με κιτρικό οξύ 5% και έπειτα συμπύκνωση των οργανικών διαλυτών. Ακολουθεί εκχύλιση με EtOAc (3 x 7 mL) και έκπλυση της οργανικής στιβάδας διαδοχικά με κορεσμένο διάλυμα NaCl (10 mL), 5% NaHCO₃ (5 mL) και κορεσμένο διάλυμα NaCl (10 mL). Η οργανική στιβάδα ξηραίνεται με άνυδρο Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται. Ο καθαρισμός επιτυγχάνεται είτε με ανακρυστάλλωση είτε με χρωματογραφία στήλης βαθμιδωτής από CHCl₃ σε CHCl₃: MeOH 9:1.⁷⁴

tert-Βούτυλο (*S*)-(1-υδροξυ-3-φαινυλοπροπαν-2-υλο) καρβαμίδιο (112)



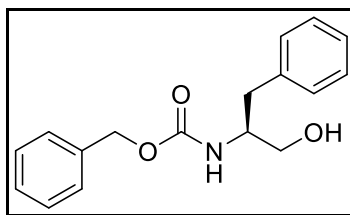
Ο καθαρισμός επιτυγχάνεται με ανακρυστάλλωση με Et₂O: PtEt 1:7.⁷⁴

Λευκό στερεό. Απόδοση 80%. R_f(9) = 0.52. Σ.τ.: 87-89°C, (βιβλ.:⁷⁴ 90-91°C). [α]_D²⁵ = -35 (c=1.0, CHCl₃), (βιβλ.:⁷⁴ -21.6 (c=1.0, CHCl₃)).

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 7.34-7.08 (5H, m, ArH), 5.03 (1H, s, NH), 3.84 (1H, s, NCH), 3.66-3.30 (3H, m, OCH₂ και OH), 2.81 (2H, d, J = 6.9 Hz, CH₂Ph), 1.39 [9H, s, C(CH₃)₃].

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 156.4, 138.2, 129.6, 128.7, 126.6, 79.9, 64.0, 53.9, 37.7, 28.6.

(S)-Βενζυλο(1-υδροξυ-3-φαινυλοπροπαν-2-υλο) καρβαμίδιο (116)



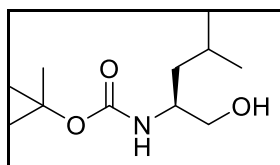
Ο καθαρισμός γίνεται με ανακρυστάλλωση με EtOAc: PtEt 2:8.⁷⁴

Λευκό στερεό. 68%. $R_f(9) = 0.63$. Σ.Τ. = 91-93 °C, (βιβλ.:⁷⁴ 90-91 °C). $[\alpha]_D^{25} = -35$ (c=1.0, MeOH), (βιβλ.:⁷⁴ -41.0 (c=1.0, MeOH)).

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 7.40-7.08 (10H, m, ArH), 5.22 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, NH), 5.06 (2H, d, $J = 3.6$ Hz, OCH_2Ph), 4.02-3.82 (1H, m, NCH), 3.73-3.42 (2H, m, CH_2OH), 2.83 (2H, d, $J = 7.3$ Hz, CH_2Ph).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): δ 156.8, 137.9, 136.6, 129.5, 128.8, 128.8, 128.4, 128.3, 126.8, 67.1, 64.0, 54.4, 37.6.

(S)-tert-Βουτυλο(1-υδροξυ-4-μεθυλοπενταν-2-υλο) καρβαμίδιο (122)



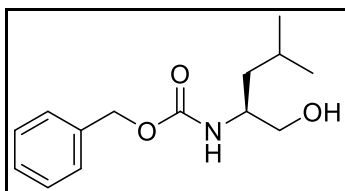
Ο καθαρισμός επιτυγχάνεται με χρωματογραφία στήλης βαθμιδωτής από CHCl_3 σε CHCl_3 : MeOH 9:1.

Άχρωμο λάδι. 95%. $R_f(9) = 0.60$. $[\alpha]_D^{25} = -33$ (c=1.0, CHCl_3), (βιβλ.:⁸² -25.8 (c=1.0, CHCl_3)).

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 4.94 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, NH), 3.75-3.31 (4H, m, NCH, CH_2OH και OH), 1.68-1.45 (1H, m, CH), 1.33 [9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1.26-1.16 (2H, m, CH_2), 0.82 (6H, d, $J = 6.6$ Hz, 2 x CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): δ 156.6, 79.4, 65.8, 50.9, 40.7, 28.5, 24.9, 23.2, 22.3.

(S)-Βενζυλο(1-υδροξυ-4-μεθυλοπενταν-2-υλ) καρβαμίδιο (127)



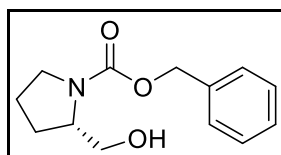
Ο καθαρισμός επιτυγχάνεται με χρωματογραφία στήλης βαθμιδωτής από CHCl_3 σε CHCl_3 : MeOH 9:1.

Λευκό στερεό. 91%. $R_f(9) = 0.61$. Σ.Τ. = 36-38 °C, (βιβλ.:⁸³ 36.5-37.5 °C). $[\alpha]_D^{25} = -25$ (c=1.0, MeOH), (βιβλ.:⁸⁴ = -21 (c=1.0, MeOH)).

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 7.38-7.19 (5H, m, ArH), 5.22 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, NH), 5.05 (2H, s, OCH_2Ph), 3.84-3.36 (4H, m, NCH, CH_2OH και OH), 1.73-1.49 (1H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.35-1.18 (2H, m, CH_2), 0.90 (6H, d, $J = 6.6$ Hz, 2 x CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): δ 157.1, 136.7, 128.7, 128.3, 128.3, 67.0, 65.7, 51.5, 40.6, 24.9, 23.3, 22.4.

(S)-Βενζυλο-2-(υδροξυμεθυλο)-πυρρολιδινο-1-καρβοξυλαμίδιο (131)



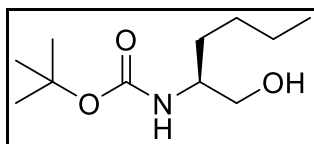
Ο καθαρισμός επιτυγχάνεται με χρωματογραφία στήλης βαθμιδωτής από CHCl_3 σε CHCl_3 : MeOH 9:1.

Άχρωμο λάδι. 96%. $R_f(9) = 0.72$. $[\alpha]_D^{25} = -40$ (c=1.0, CHCl_3), (βιβλ.:⁸⁵ -40.2 (c=1.0, CHCl_3)).

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 7.40-7.14 (5H, m, ArH), 5.09 (2H, s, OCH_2Ph), 4.47 (1H, br s, OH), 4.03-3.72 (1H, m, NCH), 3.68-3.24 (4H, m, NCH_2 και CH_2OH), 2.00-1.53 (4H, m, 2 x CH_2).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): δ 157.1, 136.8, 128.7, 128.2, 128.1, 67.3, 66.4, 60.7, 47.5, 28.6, 24.2.

(S)-tert-Bουτυλο(1-υδροξυεξαν-2-υλ) καρβαμίδιο (135)



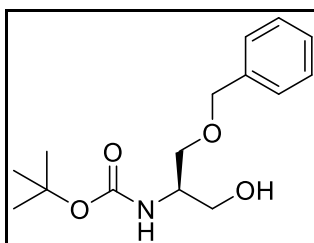
Ο καθαρισμός επιτυγχάνεται με χρωματογραφία στήλης βαθμιδωτής από CHCl_3 σε CHCl_3 : MeOH 9:1.

Λευκό στερεό. 96%. $R_f(9) = 0.55$. Σ.Τ. = 39-41 °C, (βιβλ.:⁸⁶ 42-44 °C). $[\alpha]_D^{25} = -21$ ($c=1.0$, CHCl_3).

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 4.91 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, NH), 3.63-3.32 (4H, m, NCH, CH_2OH και OH), 1.60-0.95 [15H, m, 3 x CH_2 και $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 0.81 (3H, t, $J = 5.5$ Hz, CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): δ 156.7, 79.5, 65.5, 52.8, 31.4, 28.5, 28.3, 22.7, 14.1.

(S)-tert-Bουτυλο(1-(βενζυλοξυ)-3-υδροξυπροπαν-2-υλ) καρβαμίδιο (141)



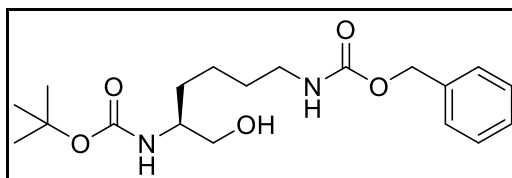
Ο καθαρισμός επιτυγχάνεται με χρωματογραφία στήλης βαθμιδωτής από CHCl_3 σε CHCl_3 : MeOH 9:1.

Λευκό στερεό. 97%. $R_f(9) = 0.64$. Σ.Τ. = 58- 60 °C, (βιβλ.:⁷⁴ 56-58 °C). $[\alpha]_D^{25} = +11$ ($c=1.0$, CHCl_3), (βιβλ.:⁷⁴ +12.1 ($c=1.0$, CHCl_3)⁷⁴).

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 7.39-7.16 (5H, m, ArH), 5.24 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, NH), 4.48 (2H, s, OCH_2Ph), 3.81-3.47 (5H, m, 2 x CH_2 και NCH), 3.32 (1H, br s, OH), 1.41 [9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$].

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): δ 156.3, 138.0, 128.7, 128.0, 127.9, 79.8, 73.5, 70.2, 63.2, 51.8, 28.6.

(S)-Βενζυλο-*tert*-βούτυλο(6-υδροξεξαν-1,5-διυλ) δикаρβαμίδιο (145)



Ο καθαρισμός επιτυγχάνεται με χρωματογραφία στήλης βαθμιδωτής από CHCl₃ σε CHCl₃: MeOH 9:1.

Λευκό στερεό. 96%. $R_f(9) = 0.44$. Σ.τ.=65-67 °C, (βιβλ.:⁸⁷ 67- 68 °C). $[\alpha]_D^{25} = -8$ (c=1.0, CHCl₃), (βιβλ.:⁸⁷ -10.3 (c=0.6, CHCl₃)).

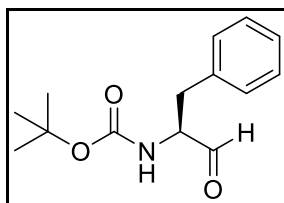
¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 7.35-7.18 (5H, m, ArH), 5.20 (1H, s, NH), 5.09-4.91 (3H, m, NH και OCH₂Ph), 3.63-3.24 (4H, m, CH₂OH, NCH, και OH), 3.20-3.02 (2H, m, NCH₂), 1.65-1.11 [15H, m, 3 x CH₂, C(CH₃)₃].

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 156.8, 156.5, 136.6, 128.5, 128.1, 128.0, 79.4, 66.6, 65.0, 52.3, 40.5, 30.9, 29.6, 28.4, 22.8.

Γενική μέθοδος οξείδωσης *N*-προστατευμένης 2- αμινοαλκοόλης σε αλδεΐδη

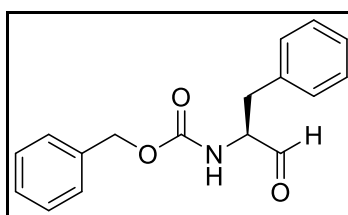
Σε διάλυμα *N*-προστατευμένης 2-αμινοαλκοόλης (1.0 mmol) σε μείγμα PhCH₃/ EtOAc 6 mL προστίθεται διάλυμα NaBr (1.1 mmol, 108 mg,) σε H₂O (0.5 mL) και AcNH-TEMPO (0.01 mmol, 2 mg). Το προκύπτον διαφασικό σύστημα ψύχεται στους -5 °C και στάγδην σε διάστημα μίας ώρας υπό έντονη ανάδευση προστίθεται ένα υδατικό διάλυμα 0.35 M NaOCl (1.1 mmol, 3.1 mL) που περιέχει NaHCO₃ (3.0 mmol, 2.52 mg). Η θερμοκρασία διατηρείται σταθερή στους -5 °C. Με το τέλος της προσθήκης το μείγμα αφήνεται για 15 λεπτά στους 0 °C. Προστίθεται μείγμα EtOAc (6 mL) και νερό (2 mL) και ακολουθεί εκχύλιση. Η υδατική στιβάδα διαχωρίζεται και εκπλένεται με EtOAc (3 mL). Η οργανική στιβάδα συλλέγεται και εκπλένεται διαδοχικά με 5% υδατικό κιτρικό οξύ (6 mL) που περιέχει KI (0,04 g), 10% υδατικό Na₂S₂O₃ (6 mL) και κορεσμένο διάλυμα NaCl (5 mL). Τέλος, η οργανική στιβάδα συλλέγεται, ξηραίνεται με άνυδρο Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται. Η ένωση χρησιμοποιείται στο επόμενο στάδιο χωρίς επιπλέον καθαρισμό⁷⁵.

***tert*-Βούτυλο (S)-(1-οξο-3-φαινυλοπροπαν-2-υλο) καρβαμίδιο (113)**



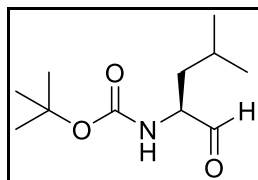
$R_f(9) = 0.58$

(S)-Βενζυλο(1-οξο-3-φαινυλοπροπαν-2-υλο) καρβαμίδιο (117)



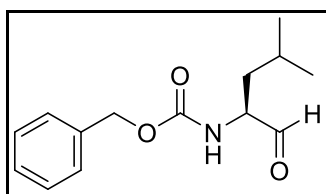
$R_f(9) = 0.58$

(S)-*tert*-Βουτυλο(4-μεθυλ-1-οξοπενταν-2-υλο) καρβαμίδιο (123)



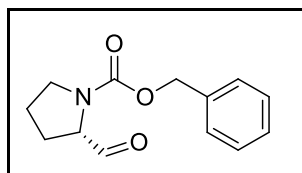
$R_f(9) = 0.64$

(S)-Βενζυλο(4-μεθυλ-1-οξοπενταν-2-υλ) καρβαμίδιο (128)



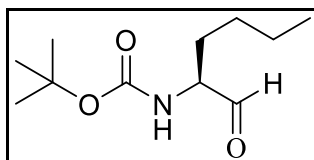
$R_f(9) = 0.58$

(S)-Βενζυλο-2-φορμυλοπυρρολιδινο-1-καρβοξυλαμίδιο (132)



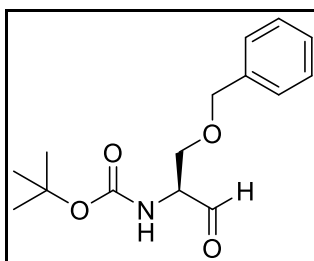
R_f(9) = 0.81

(S)-*tert*-Βούτυλο (1-οξοεξαν-2-υλ) καρβαμίδιο (136)



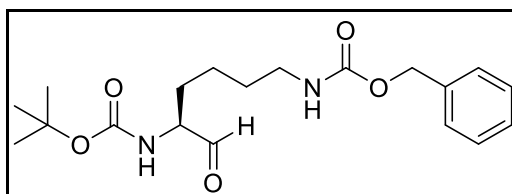
R_f(9) = 0.62

(S)-*tert*-Βουτυλο(1-(βενζυλοξυ)-3-οξοπροπαν-2-υλ) καρβαμίδιο (142)



R_f(9) = 0.71

(S)-Βενζυλο-*tert*-βουτυλο(6-οξοεξαν-1,5-διυλ) δикаρβαμίδιο (146)



R_f(9) = 0.65

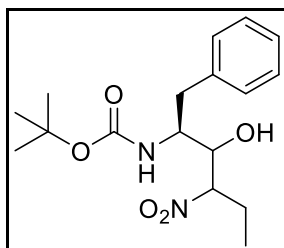
Γενική μέθοδος (A) αντίδρασης Henry μεταξύ αλδεΐδης και νιτροαλκανίου

Σε σφαιρική φιάλη που έχει ξηρανθεί από φλόγα προστίθεται νιτροαλκάνιο (3.0 mmol) και διαλύεται σε εξαιρετικά ξηρό THF (5.0 mL). Το διάλυμα ψύχεται στους 0 °C και προστίθεται στάγδην DBU (1.0 mmol, 151 mg). Το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 15 λεπτά στους 0 °C. Στη συνέχεια προστίθεται στάγδην η αλδεΐδη (1.0 mmol) διαλυτοποιημένη σε εξαιρετικά ξηρό THF (5.0 mL). Το μείγμα αφήνεται για 30 λεπτά στους 0 °C και έπειτα σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση, προστίθεται CH₂Cl₂ (5 mL) και ακολουθεί εκχύλιση δύο φορές με διάλυμα 5% κιτρικό οξύ (3 mL) και κορεσμένο διάλυμα NaCl (3 mL). Η οργανική στιβάδα συλλέγεται, ξηραίνεται με άνυδρο Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται. Ακολουθεί καθαρισμός με χρωματογραφία στήλης με σύστημα ανάπτυξης PtEt: EtOAc 8:2.

Γενική μέθοδος (B) αντίδρασης Henry μεταξύ αλδεΐδης και νιτροαλκανίου

Σε διάλυμα νιτροαλκανίου (11.0 mmol) σε MeOH (5.0 mL) προστίθεται υδ. διάλυμα 3N KOH (3.0 mL) και το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 10 min. Στη συνέχεια, προστίθεται η αλδεΐδη (1.0 mmol) διαλυτοποιημένη σε MeOH (5.0 mL) και το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 5 ώρες. Η αντίδραση τελειώνει με οξίνιση με π. H₂SO₄ μέχρι pH= 3. Ακολούθως, συμπυκνώνεται, προστίθεται νερό και πραγματοποιούνται εκχυλίσσεις με EtOAc (3 x 25 mL). Οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται, ενώνονται και εκπλένονται από κορεσμένο διάλυμα NaCl (2 x 25 mL). Η οργανική στιβάδα συλλέγεται, ξηραίνεται με άνυδρο Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται. Ακολουθεί καθαρισμός με χρωματογραφία στήλης με σύστημα ανάπτυξης PtEt: EtOAc 8:2^{14,15}.

tert-Βούτυλο ((2*S*)-3-υδροξυ-4-νιτρο-1-φαινυλεξαν-2-υλο) καρβαμίδιο (114)



Μέθοδος A

Μείγμα διαστερομερών

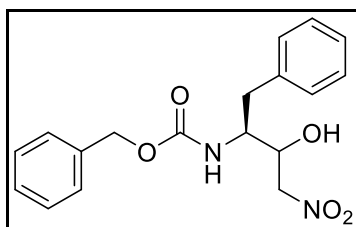
Υποκίτρινο στερεό. 37%. $R_f(3) = 0.46$. Σ.Τ.= 102-104 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 7.36-7.07 (5H, m, ArH), 5.02 (1H, d, $J = 9.9$ Hz, NH), 4.74-4.37 (1H, m, NO_2CH), 4.02-3.82 (2H, m, NCH και OCH), 3.53-3.40 (1H, m, OH), 3.03-2.74 (2H, m, CH_2Ph), 1.98-1.66 (2H, m, CH_2), 1.39 [9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 0.85 (3H, t, $J = 7.3$ Hz, CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): δ 156.1, 137.5, 129.4, 128.9, 127.0, 93.6, 80.4, 72.0, 52.6, 38.9, 28.5, 23.6, 10.0.

HRMS (ESI) m/z (%): 361.1734 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (θεωρητικό: 361.1734 $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}^+$)

Βενζυλο((2S)-3-υδροξυ-4-νιτρο-1-φαινυλβουταν-2-υλο) καρβαμίδιο (118)



Μέθοδος A

Μείγμα διαστερομερών.

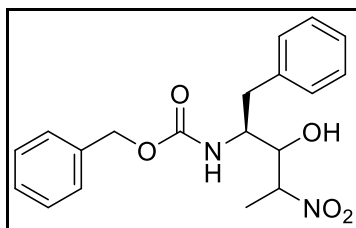
Άχρωμο λάδι. 69%. $R_f(3) = 0.27$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7.41-7.16 (10H, m, ArH), 5.23 (0.6H, d, $J = 9.5$ Hz, NH), 5.13-5.02 (2H, m, OCH_2Ph), 4.90 (0.4H, d, $J = 8.5$ Hz, NH), 4.52-4.41 (2H, m, NO_2CH_2), 4.40-4.29 (1H, m, OCH), 4.02-3.89 (1H, m, NCH), 3.61 (0.4H, s, OH), 3.37 (0.6H, s, OH), 3.05-2.88 (2H, m, CH_2Ph).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 156.4, 136.9, 136.3, 136.0, 129.3, 129.2, 128.9, 128.6, 128.4, 128.1, 127.1, 127.0, 79.0, 78.4, 70.8, 68.2, 67.3, 67.2, 54.5, 54.4, 38.2, 36.0.

HRMS (ESI) m/z (%): 367.1261 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (θεωρητικό: 367.1264 $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}^+$)

Βενζυλο((2S)-3-υδροξυ-4-νιτρο-1-φαινυλπενταν-2-υλο) καρβαμίδιο (119)



Μέθοδος A

Μείγμα διαστερεομερών.

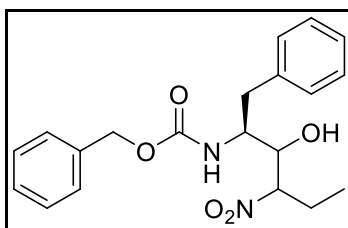
Λευκό στερεό. 40%. Σ.τ.= 133-135 °C. $R_f(3) = 0.29$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7.41-7.17 (10H, m, ArH), 5.34 (1H, d, $J = 9.7$ Hz, NH), 5.16-5.02 (2H, m, OCH_2Ph), 4.65-4.58 (1H, m, NO_2CH), 4.10-3.99 (1H, m, OCH), 3.97-3.90 (1H, m, NCH), 3.37 (1H, s, OH), 3.03-2.86 (2H, m, CH_2Ph), 2.73 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 156.4, 137.0, 136.1, 129.2, 128.8, 128.6, 128.3, 128.0, 127.0, 86.7, 72.7, 67.2, 52.7, 38.8, 16.1.

HRMS (ESI) m/z (%): 381.1424 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (θεωρητικό: 381.1421 $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}^+$)

Βενζυλο((2S)-3-υδροξυ-4-νιτρο-1-φαινυλεξαν-2-υλο) καρβαμίδιο (120)



Μέθοδος A

Μείγμα διαστερεομερών.

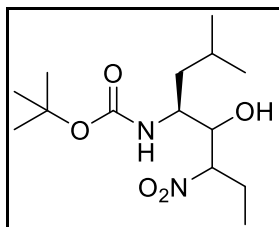
Άχρωμο λάδι. 57%. $R_f(3) = 0.31$.

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 7.45-7.07 (10H, m, ArH), 5.38 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, NH), 5.06 (2H, s, OCH_2Ph), 4.50-4.37 (1H, m, NO_2CH), 4.08-3.86 (2H, m, NCH και OCH), 3.50-3.37 (1H, m, OH), 1.94-1.65 (2H, m, CH_2Ph), 1.99-1.57 (2H, m, CH_2), 0.83 (3H, t, $J = 7.3$ Hz, CH_3).

^{13}C -NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 156.4, 137.3, 136.3, 129.4, 129.0, 128.8, 128.5, 128.2, 127.2, 93.3, 71.9, 67.4, 53.1, 38.9, 23.6, 9.9.

HRMS (ESI) m/z (%): 395.1577 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (θεωρητικό: 395.1577 $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}^+$)

***tert*-Βουτυλο((4*S*)-5-υδροξυ-2-μεθυλ-6-νιτροοκταν-4-υλο) καρβαμίδιο (124)**



Μέθοδος A

Μείγμα διαστερεομερών.

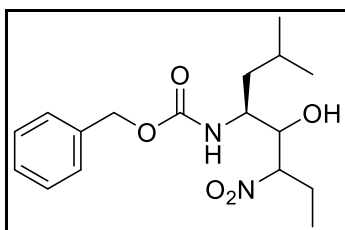
Υποκίτρινο λάδι. 51%. $R_f(3) = 0.55$.

^1H -NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 4.81 (1H, d, $J = 9.9$ Hz, NH), 4.48-4.29 (1H, m, CHNO_2), 3.99-3.85 (1H, m, NCH), 3.82-3.64 (1H, m, OCH), 3.25 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, OH), 2.18-1.71 (3H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ και CH_2), 1.67-1.51 (2H, m, CH_2), 1.41 [9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 0.91 (9H, d, $J = 6.0$ Hz, 3 x CH_3).

^{13}C -NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 156.1, 93.4, 80.0, 74.2, 49.1, 42.0, 28.5, 24.9, 23.7, 23.0, 22.4, 10.3.

HRMS (ESI) m/z (%): 327.1892 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (θεωρητικό: 327.1890 $\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}^+$)

Βενζυλο((4*S*)-5-υδροξυ-2-μεθυλο-6-νιτροοκταν-4-υλο) καρβαμίδιο (129)



Μέθοδος B

Μείγμα διαστερεομερών.

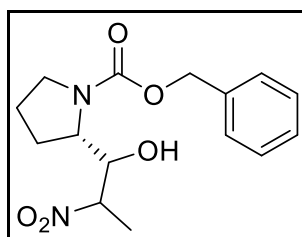
Υποκίτρινο λάδι. 42%. $R_f(3) = 0.34$.

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 7.42-7.16 (5H, m, ArH), 5.24 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, NH), 5.07 (2H, s, OCH_2Ph), 4.46-4.29 (1H, m, CHNO_2), 3.99-3.74 (2H, m, NCH και CHOH), 3.59-3.47 (1H, br s, OH), 2.08-1.75 (2H, m, CH_2CH_3), 1.60-1.46 [1H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$], 1.38-1.12 (2H, m, CH_2CH), 0.97-0.64 (9H, m, 3 x CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): δ 156.7, 136.4, 128.8, 128.5, 128.1, 93.6, 74.1, 67.3, 49.7, 42.0, 24.8, 23.7, 23.1, 22.5, 10.2.

HRMS (ESI) m/z (%): 361.1724 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (θεωρητικό: 361.1734 $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}^+$)

**(2S)-Βενζυλο-2-((1R)-1-υδροξυ-2-νιτροπροπυλ)πυρρολιδινο-1-καρβοξυλαμίδιο
(133)**



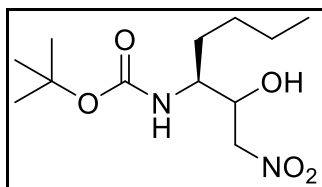
Μέθοδος B

Μείγμα διαστερεομερών.

$R_f(5) = 0.67$

Δεν καθαρίστηκε. Παραλήφθηκε ως μείγμα και χρησιμοποιήθηκε απευθείας στο επόμενο στάδιο.

***tert*-Βουτυλο(2-υδροξυ-1-νιτροεπταν-5-υλ) καρβαμίδιο (137)**



Μέθοδος A

Μείγμα διαστερεομερών.

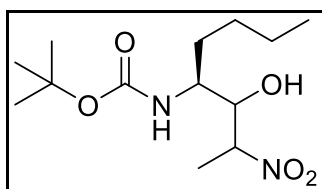
Λευκό στερεό. 58%, $R_f(3) = 0.33$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 4.95 (0.7H, d, $J = 9.7$ Hz, NH), 4.76 (0.3H, s, NH), 4.54-4.33 (2H, m, NO_2CH_2), 4.26 (0.4H, s, OH), 4.16 (0.2H, s, OH), 3.99 (0.4H, s, OH), 3.65-3.49 (1H, m, NCH), 1.69-1.22 [15H, m, 3 x CH_2 και $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 0.89 (3H, m, CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 156.7, 156.3, 80.4, 80.0, 79.4, 78.7, 72.1, 70.2, 53.6, 52.5, 31.9, 30.0, 28.3, 28.1, 27.9, 22.4, 13.9.

HRMS (ESI) m/z (%): 299.1577 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (θεωρητικό: 299.1577 $\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}^+$)

***tert*-Βουτυλο(3-υδροξυ-2-νιτροοκταν-4-υλο) καρβαμίδιο (138)**



Μέθοδος A

Λευκό στερεό. 46%, $R_f(3) = 0.43$.

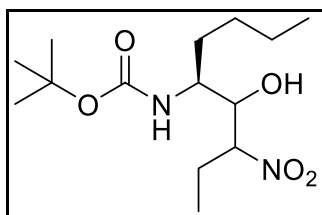
Μείγμα διαστερομερών.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 4.97 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, NH), 4.65-4.50 (1H, m, NO_2CH), 4.12-4.01 (1H, m, CHOH), 3.95-3.86 (1H, s br, OH), 3.71-3.37 (1H, m, NCH), 1.63-1.48 (5H, m, CH_3 και CH_2), 1.41 [9H, m, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1.36-1.20 (4H, m, CH_2), 0.88 (3H, m, CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 156.7, 156.3, 156.1, 156.0, 87.0, 85.8, 84.9, 84.3, 81.1, 80.2, 79.9, 79.8, 75.3, 75.1, 74.5, 73.7, 52.9, 51.6, 50.6, 32.6, 31.7, 31.1, 28.3, 28.2, 28.1, 28.0, 27.9, 27.5, 22.4, 22.3, 16.1, 16.0, 14.5, 14.1, 13.9.

HRMS (ESI) m/z (%): 313.1734 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (θεωρητικό: 313.1736 $\text{C}_{13}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}^+$)

***tert*-Βουτυλο((5*S*)-υδροξυ-3-νιτροοναν-5-υλο) καρβαμίδιο (139)**



Μέθοδος A

Μείγμα διαστερεομερών.

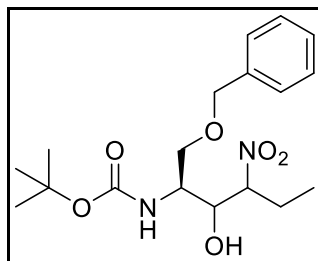
Άχρωμο λάδι. 40%, $R_f(3) = 0.62$.

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 4.88 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, NH), 4.46-4.29 (1H, m, NO_2CH), 4.05-3.87 (1H, m, CHOH), 3.72-3.53 (1H, m, NCH), 3.46-3.34 (1H, s, OH), 2.10-1.70 (2H, m, CH_2), 1.64-1.09 [15H, m, 3 x CH_2 και $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1.00-0.77 (6H, m, 2 x CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): δ 156.3, 93.8, 80.1, 73.7, 51.0, 32.7, 28.5, 28.3, 23.7, 22.7, 14.2, 10.2.

HRMS (ESI) m/z (%): 327.1871 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (θεωρητικό: 327.1880 $\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}^+$)

***tert*-Βουτυλο((2*S*)-1-(βενζυλοξυ)-3-υδροξυ-4-νιτροεξαν-2-υλο) καρβαμίδιο (143)**



Μέθοδος A (36%) και B (42%)

Μείγμα διαστερεομερών.

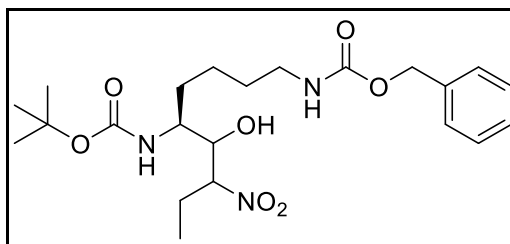
Κίτρινο λάδι. $R_f(3) = 0.36$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7.41-7.27 (5H, m, ArH), 5.25 (1H, d, $J = 9.7$ Hz, NH), 4.54 (2H, s, OCH_2), 4.48-4.35 (1H, m, NO_2CH), 4.35-3.24 (1H, m, OCH), 3.98-3.87 (1H, m, NCH), 3.73-3.55 (2H, m, OCH_2Ph), 2.02-1.82 (2H, m, CH_2), 1.47 [9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1.01-0.86 (3H, m, CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 155.8, 141.0, 137.1, 128.7, 128.6, 128.5, 128.2, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8, 127.6, 127.0, 92.8, 80.3, 73.8, 73.7, 73.5, 72.9, 71.6, 65.2, 49.6, 28.3, 28.3, 28.3, 28.2, 23.3, 22.4, 10.1, 10.1, 10.0.

HRMS (ESI) m/z (%): 391.1840 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (θεωρητικό: 391.1840 $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}^+$)

Βενζυλο-*tert*-βουτυλο((5*S*)-6-υδροξυ-7-νιτροοξαν-1,5-διυλο) δикаρβαμίδιο (147)



Μέθοδος A

Μείγμα διαστερεομερών.

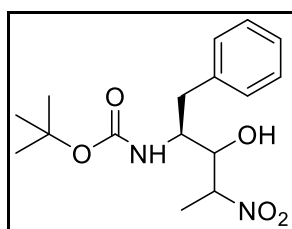
Κιτρινωπό λάδι. 36%. $R_f(5) = 0.46$.

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 7.39-7.16 (5H, m, ArH), 5.13-4.98 (4H, m, OCH_2Ph και 2 x NH), 4.50-4.28 (1H, m, OCH), 4.14-3.81 (2H, m, 2 x CH), 3.73-3.52 (1H, m, OH), 3.30-2.94 (2H, m, NCH_2), 2.05-1.73 (2H, m, CH_2), 1.67-1.03 [15H, m, 3 x CH_2 και $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 0.96-0.78 (3H, m, CH_3].

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): δ 157.3, 156.3, 136.5, 128.7, 128.4, 93.8, 80.0, 73.0, 67.1, 50.8, 40.2, 32.0, 29.8, 28.5, 23.6, 22.5, 10.3.

HRMS (ESI) m/z (%): 498.2464 [$\text{M}+\text{FA}-\text{H}$] $^-$ (θεωρητικό: 498.2457 $\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_9^-$)

***tert*-Βουτυλο((2*S*)-3-υδρόξυ-4-νίτρο-1-φαινυλπενταν-2-υλ)καρβαμίδιο (148)**



Μέθοδος A

Λευκό στερεό. 84%. $R_f(3) = 0.32$.

Μείγμα διαστερεομερών.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7.34 - 7.25 (5H, m, ArH), 5.19 (0.2H, s NH), 5.08 (0.8H, d, $J = 9.8$ Hz, NH), 4.71 (0.2H, s, CHNO_2), 4.66-4.58 (0.8H, m, CHNO_2), 4.18-4.10 (0.2H, m, CHOH και OH), 4.00-3.89 (1.8H, m, CHOH και OH), 3.80 (1H, br s, NCH),

3.01-2.85 (2H, m, CH₂Ph), 1.50 (3H, d, *J* = 5.8 Hz, CH₃), 1.41 [6.4H, s, C(CH₃)], 1.37 [1.3H, s, C(CH₃)], 1.31 [1.3H, s, C(CH₃)].

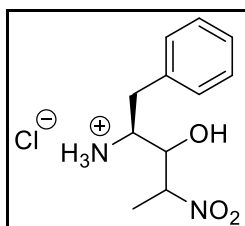
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 155.9, 155.5, 137.7, 137.4, 136.9, 129.6, 129.4, 129.3, 128.7, 128.6, 126.8, 86.9, 86.6, 84.3, 80.9, 80.4, 80.1, 73.8, 73.6, 73.1, 54.1, 53.3, 52.2, 39.8, 38.8, 36.9, 28.3, 28.2, 28.1, 16.1, 15.8.

HRMS (ESI) *m/z* (%): 347.1577 [M+Na]⁺ (θεωρητικό: 347.1577 C₁₆H₂₄N₂O₅Na⁺)

Γενική μέθοδος αποπροστασίας Boc αμινοξέος

Σε διάλυμα του Boc αμινοξέος (1.0 mmol) σε MeOH (0.5 mL) προστίθεται στάγδην το HCl σε MeOH 6N (7.0 mmol, 0.1 mL) και το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση έως ότου έρθει σε θερμοκρασία δωματίου. Με το τέλος της αντίδρασης, το μείγμα συμπυκνώνεται επαναδιαλυτοποιείται σε MeOH και συμπυκνώνεται και η διαδικασία επαναλαμβάνεται με Et₂O. Τέλος, ακολουθεί καταβύθιση με ξηρό Et₂O.

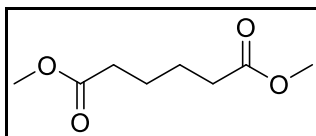
Υδροχλωρικό άλας της (2S)-3-υδροξυ-4-νιτρο-1-φαινυλοπενταν-2-αμίνη (149)



Ροζ στερεό. 97%. R_f(6) = 0.00

HRMS (ESI) *m/z* (%): 225.1238 [M+H]⁺ (θεωρητικό: 225.1234 C₁₁H₁₇N₂O₃)

Διμεθυλεστέρας αδιπικού οξέος (151)



Σε διάλυμα αδιπικού οξέος (1.0 mmol, 146 mg) σε MeOH (1.3 mL) στους 0°C προστίθεται στάγδην SOCl₂ (5.0 mmol, 0.4 mL) και η αντίδραση αφήνεται υπό

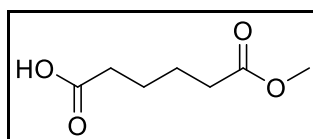
ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για μία νύχτα. Το μείγμα συμπυκνώνεται και επαναδιαλυτοποιείται σε MeOH και συμπυκνώνεται ξανά.

Άχρωμο υγρό. 100%. $R_f(6) = 0.63$

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 3.52 (6H, s, OCH_3), 2.19 [4H, s, 2 x $\text{CO}(\text{CH}_2)$], 1.52 (4H, s, 2 x CH_2).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 173.5, 51.2, 33.4, 24.2.

Μονομεθυλεστέρας αδιπικού οξέος (152)



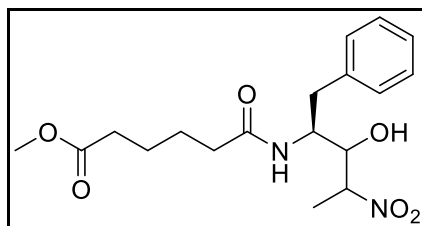
Ο διμεθυλεστέρας του αδιπικού οξέος (1.0 mmol, 174 mg) διαλυτοποιείται σε MeOH (1.0 mL) και το διάλυμα τίθεται στους 0 °C. Ακολούθως προστίθεται στάγδην υδατικό διάλυμα KOH 4N (1.0 mmol, 0.25 mL) και η αντίδραση αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου. Όταν η αντίδραση ολοκληρωθεί, το μείγμα συμπυκνώνεται. Προστίθεται κορεσμένο NaHCO_3 (10 mL) και CH_2Cl_2 (15 mL) και ακολουθεί εκχύλιση. Η υδατική στιβάδα οξινίζεται με HCl 6N pH περίπου 1-2 και ακολουθεί εκχύλιση με 2 x CH_2Cl_2 (15 mL). Οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται, ξηραίνονται με άνυδρο Na_2SO_4 και συμπυκνώνονται.

Άχρωμο υγρό. 55%. $R_f(6) = 0.47$

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 11.02 (1H, s, COOH), 3.62 (3H, s, OCH_3), 2.37-2.26 [4H, m, 2 x $\text{CO}(\text{CH}_2)$], 1.62 (4H, s, 2 x CH_2).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 179.3, 173.9, 51.5, 33.6, 24.2, 24.0.

**6-(((2S)-3-Υδροξυ-4-νιτρο-1-φαινυλπενταν-2-υλ)αμινο)-6-οξοεξανοϊκός
μεθυλεστέρας (153)**



Σε σφαιρική φιάλη προστίθεται το άλας της αμίνης **149** (1.0 mmol, 260 mg), οξύ **152** (1.1 mmol, 146 mg), EDC·HCl (1.2 mmol, 230 mg), HOBT (1.1 mmol, 149 mg) και ξηρό CH₂Cl₂ (10 mL). Το μείγμα τίθεται υπό αργό στους 0 °C, αφήνεται να έρθει σε θερμοκρασία δωματίου και παραμένει υπό ανάδευση μία νύχτα. Ακολουθεί συμπύκνωση. Προστίθεται EtOAc (10 mL) και ακολουθεί εκχύλιση διαδοχικά με H₂O (7 mL) και 5% NaHCO₃ (7 mL). Η οργανική στιβάδα συλλέγεται, ξηραίνεται με άνυδρο Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται. Ο καθαρισμός πραγματοποιείται με χρωματογραφία στήλης με σύστημα ανάπτυξης PtEt: EtOAc 2:8.

Υποκίτρινο λάδι. 84%. R_f(6) = 0.70

Μείγμα διαστερεομερών.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.31-7.14 (5H, m, ArH), 6.32 (0.8H, s, NH), 6.12 (0.2H, s, NH), 4.57-4.45 (1H, m, CHNO₂), 4.36-4.27 (0.8H, m, CHOH), 4.16 (0.2H, s, CHOH), 3.94 (1H, s, NCH), 3.66 (3H, br s, OCH₃), 3.01-2.88 (2H, m, CH₂Ph), 2.29 (2H, s, COCH₂), 2.16 (2H, s, COCH₂), 1.61-1.49 (4H, m, 2 x CH₂), 1.49-1.37 (3H, m, CH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 174.3, 174.2, 173.7, 173.3, 137.4, 137.3, 129.4, 129.2, 128.7, 128.6, 126.8, 87.0, 84.9, 84.4, 73.1, 73.0, 72.5, 51.7, 50.7, 38.4, 37.5, 36.4, 36.0, 33.6, 33.5, 24.9, 24.8, 24.2, 24.1, 16.2, 15.4.

HRMS (ESI) m/z (%): 389.1683 [M+Na]⁺ (θεωρητικό: 389.1683 C₁₈H₂₆N₂O₆Na⁺)

Γενική μέθοδος (Α) σύνθεσης νιτροαλκενίων

Σε διάλυμα του υδρόξυ-νίτρο ενδιαμέσου (1 mmol) σε Et₂O (10 mL) προστίθεται Ac₂O (1.3 mmol, 126 mg) και DMAP (0.1 mmol, 2 mg) και το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για πέντε ώρες. Ακολουθεί συμπύκνωση και το υπόλειμμα διαλύεται σε CH₂Cl₂ (10 mL). Προστίθεται DMAP (3 mmol, 367 mg) και το διάλυμα αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 48 ώρες. Στη συνέχεια, το μείγμα αραιώνεται με CH₂Cl₂ (8 mL) και εκχυλίζεται διαδοχικά με υδ. 0.1 N HCl (8 mL), νερό (8 mL) και κορεσμένο διάλυμα NaCl (8 mL). Οι υδατικές στιβάδες συλλέγονται και επλένονται με CH₂Cl₂ (2 x 15 mL). Η οργανική στιβάδα συλλέγεται, ξηραίνεται με άνυδρο Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται. Ο καθαρισμός πραγματοποιείται με χρωματογραφία στήλης με σύστημα ανάπτυξης PtEt: EtOAc 8:2.¹⁶

Γενική μέθοδος (Β) σύνθεσης νιτροαλκενίων

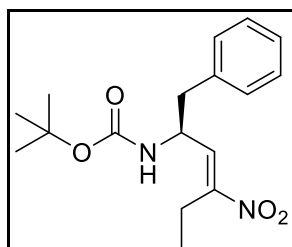
Σε διάλυμα του υδρόξυ-νίτρο ενδιαμέσου (1.0 mmol) σε CH₂Cl₂ (10.0 mL) προστίθεται στάγδην CH₃SO₂Cl (2.0 mmol, 155 μL) στους 0 °C και το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 20 min. Στη συνέχεια προστίθεται DIPEA (4.0 mmol, 687 μL) και αφήνεται υπό ανάδευση στους 0 °C για 2 ώρες. Η αντίδραση σταματά με προσθήκη διαλύματος κορεσμένου χλωριούχου αμμωνίου (25 mL). Η οργανική στιβάδα διαχωρίζεται από την υδατική και ακολουθεί εκχύλιση της υδατικής με CH₂Cl₂ (3 x 15 mL). Οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται, ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με 1N HCl (15 mL), κορεσμένου διαλύματος NaHCO₃ (15 mL) και κορεσμένο διάλυμα NaCl (15 mL). Η οργανική στιβάδα συλλέγεται, ξηραίνεται με άνυδρο Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται. Ο καθαρισμός πραγματοποιείται με χρωματογραφία στήλης με σύστημα ανάπτυξης PtEt: EtOAc 8:2.⁸

Γενική μέθοδος (Γ) σύνθεσης νιτροαλκενίων

Σε διάλυμα του υδρόξυ-νίτρο ενδιαμέσου (1.0 mmol) σε CH₂Cl₂ (20.0 mL) προστίθεται στάγδην CH₃SO₂Cl (2.0 mmol, 155 mg) στους 0 °C και το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 20 min. Στη συνέχεια προστίθεται Et₃N (7.0 mmol, 708 mg) και αφήνεται υπό ανάδευση στους 0 °C για 20 min και σε θερμοκρασία δωματίου για πέντε ώρες. Η αντίδραση σταματά με 2N HCl (15 mL). Η οργανική στιβάδα διαχωρίζεται από την υδατική και ακολουθεί εκχύλιση της υδατικής με CH₂Cl₂ (2 x 25 mL). Οι οργανικές

στιβάδες συλλέγονται, ενώνονται και εκπλένονται με κορεσμένο διάλυμα NaCl (2 x 25 mL). Η οργανική στιβάδα συλλέγεται, ξηραίνεται με άνυδρο Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται. Ο καθαρισμός πραγματοποιείται με χρωματογραφία στήλης με σύστημα ανάπτυξης PtEt: EtOAc 8:2.^{14,15}

(*S,E*)-tert-Βουτυλο-4-νίτρο-1-φαινυλεξ-3-εν-2-υλο) καρβαμίδιο (97)



Μέθοδος Α

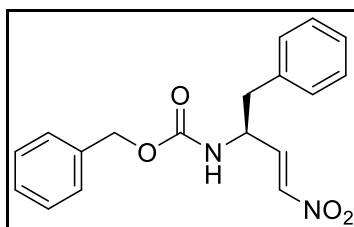
Κίτρινο στερεό; 47%. $R_f(3) = 0.44$. Σ.Τ.= 76-78 °C. $[\alpha]_D^{25} = +3$ (c=1.0, CHCl₃).

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 7.36-7.10 (5H, m, ArH), 6.77 (1H, d, $J = 9.7$ Hz, =CH), 4.70 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, NH), 4.65-4.44 (1H, m, NCH), 3.00 (1H, dd, $J = 13.5$ και 5.8 Hz, CHHPh), 2.81 (1H, dd, $J = 13.4$ και 7.8 Hz, CHHPh), 2.50 (2H, q, $J = 7.4$ Hz, CH₂), 1.40 [9H, s, C(CH₃)₃], 0.83 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, CH₃).

¹³C- NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 155.9, 154.5, 136.0, 133.5, 129.6, 129.0, 127.4, 80.5, 50.1, 41.6, 28.5, 20.4, 12.4.

HRMS (ESI) m/z (%): 343.1624 [M+Na]⁺ (θεωρητικό: 343.1628 C₁₇H₂₄N₂O₄Na⁺)

(*S,E*)-Βενζυλο(4-νίτρο-1-φαινυλοβουτ-3-εν-2-υλο) καρβαμίδιο (98)



Μέθοδος Β

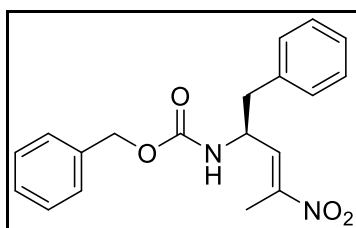
Λευκό στερεό. 42%. $R_f(3) = 0.38$. Σ.Τ.= 92-94 °C. $[\alpha]_D^{25} = +4$ (c=1.0, CHCl₃).

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7.39-7.12 (11H, m, 10 x ArH και =CH), 6.94 (1H, d, J = 13.1 Hz, =CH), 5.08 (2H, s, OCH_2Ph), 4.91 (1H, d, J = 8.0, NH), 4.81-4.67 (1H, m, NCH), 2.96 (1H, d, J = 5.1, CH_2Ph).

^{13}C - NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 155.5, 141.0, 140.3, 135.9, 135.1, 129.3, 129.1, 128.8, 128.6, 128.3, 127.6, 67.5, 50.6, 40.4.

HRMS (ESI) m/z (%): 349.1158 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (θεωρητικό: 349.1159 $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}^+$)

(*S,E*)-Βενζυλο(4-νιτρο-1-φαινυλοπεντ-3-εν-2-υλο) καρβαμίδιο (99)



Μέθοδος Γ

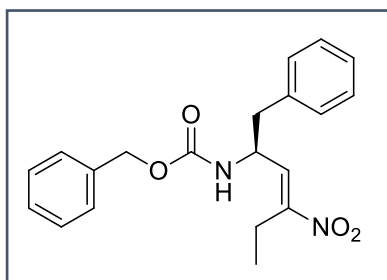
Λευκό στερεό. 42%. $R_f(3)$ = 0.38. Σ.Τ. = 76-78 °C. $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ = +12 (c =1.0, CHCl_3).

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7.40-7.12 (10H, m, ArH), 6.88 (1H, d, J = 9.6 Hz, =CH), 5.14-5.05 (3H, m, OCH_2Ph και NH), 4.74-4.55 (1H, m, NCH), 3.10-2.97 (1H, m, CHHPh), 2.90-2.79 (1H, m, CHHPh), 2.01 (2.6H, s, CH_3), 1.68 (0.4H, s, CH_3).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 155.6, 149.3, 136.1, 135.5, 133.6, 129.5, 129.0, 128.7, 128.5, 128.3, 127.4, 67.3, 50.7, 40.8, 12.7.

HRMS (ESI) m/z (%): 363.1315 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (θεωρητικό: 363.1315 $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}^+$)

(*S,E*)-Βενζυλο(4-νιτρο-1-φαινυλεξ-3-εν-2-υλο) καρβαμίδιο (100)



Μέθοδος Α

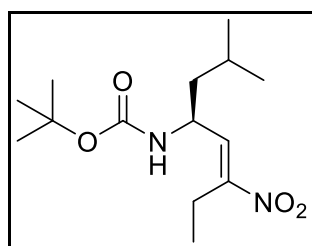
Κίτρινο λάδι. 53%. $R_f(3) = 0.51$. $\Sigma.τ. = 72-74\text{ }^{\circ}\text{C}$. $[\alpha]_D^{25} = +10$ ($c=1.0$, CHCl_3).

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 7.45-7.03 (10H, m, ArH), 6.78 (1H, d, $J = 10.1$ Hz, =CH), 5.14-4.98 (3H, m, OCH_2Ph και NH), 4.71-4.54 (1H, m, NCH), 3.01 (1H, dd, $J = 13.5$ και 6.0 Hz, CHHPh), 2.83 (1H, dd, $J = 13.5$ και 7.9 Hz, CHHPh), 2.62-2.44 (2H, m, CH_2CH_3), 0.86 (3H, t, $J = 7.8$ Hz, CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): δ 155.4, 154.6, 136.0, 135.4, 132.8, 129.4, 128.9, 128.6, 128.4, 128.2, 127.4, 67.2, 50.4, 41.1, 20.2, 12.2.

HRMS (ESI) m/z (%): 377.1471 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (θεωρητικό: 377.1472 $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}^+$)

(*S,E*)-*tert*-Βουτυλο(2-μεθυλο-6-νιτροοκτ-5-εν-4-υλο) καρβαμίδιο (101)



Μέθοδος A

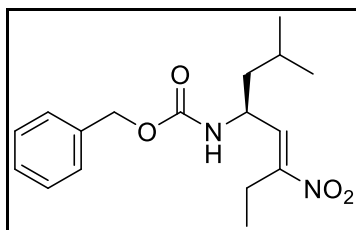
Κίτρινο λάδι. 58%. $R_f(3) = 0.71$. $\Sigma.τ. = 53-55\text{ }^{\circ}\text{C}$. $[\alpha]_D^{25} = -5$ ($c=1.0$, CHCl_3).

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 6.70 (1H, d, $J = 9.7$ Hz, =CH), 4.61 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, NH), 4.50-4.27 (1H, m, NCH), 2.83-2.57 (2H, m, CH_2) 1.75-1.51 [3H, m, CH_2 και $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$], 1.40 [9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1.12 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, CH_3), 0.92 (6H, dd, $J = 6.4$ και 3.2 Hz, 2 x CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): δ 155.1, 154.1, 135.1, 80.2, 46.9, 44.4, 28.5, 24.8, 22.9, 22.4, 20.5, 12.9.

HRMS (ESI) m/z (%): 309.17850 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (θεωρητικό: 309.1785 $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}^+$)

(S,E)-Βενζυλο-(2-μεθυλο-6-νιτροοκτ-5-εν-4-υλ) καρβαμίδιο (102)



Μέθοδος Γ

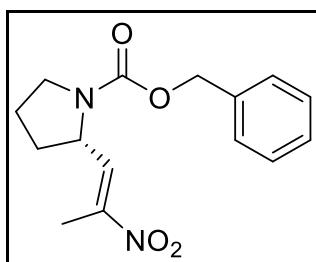
Υποκίτρινο στερεό. 41%. $R_f(3) = 0.51$. Σ.τ.= 58-60 °C. $[\alpha]_D^{25} = -5$ (c=0.25, CHCl₃).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.40-7.31 (5H, m, ArH), 6.74 (1H, d, $J = 9.7$ Hz, =CH), 5.15-5.05 (2H, m, OCH₂Ph), 4.96 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, NH), 4.56-4.45 (1H, m, NCH), 2.87-2.67 (2H, m, CH₂) 1.72-1.52 (2H, m, CH₂), 1.42-1.31 [1H, m, CH(CH₃)₂], 1.18 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, CH₃), 0.99 (6H, t, $J = 6.9$ Hz, 2 x CH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 155.6, 154.2, 136.1, 134.3, 128.6, 128.3, 128.2, 67.1, 47.4, 44.0, 24.6, 22.7, 22.2, 20.2, 12.7.

HRMS (ESI) m/z (%): 343.1624 [M+Na]⁺ (θεωρητικό: 343.1628 C₁₇H₂₄N₂O₄Na⁺)

(S,E)-Βενζυλο-2-(2-νιτροπροπ-1-εν-1-υλ)πυρρολιδινο-1-καρβοξυλαμίδιο (103)



Μέθοδος Β

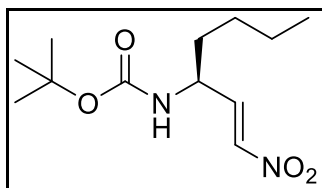
Κίτρινωπό λάδι. 20%. $R_f(4) = 0.35$. $[\alpha]_D^{25} = -5$ (c=0.25, CHCl₃).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.46-7.27 (5H, m, ArH), 6.94 (d, $J = 9.4$ Hz, 0.5H, =CH), 6.89 (d, $J = 10.1$ Hz, 0.5H, =CH), 5.18-4.98 (2H, m, OCH₂Ph), 4.58 (0.5H, s, CH), 4.46 (0.5H, s, CH), 3.64-3.52 (2H, m, CH₂N), 2.33-1.76 (7H, m, 2 x CH₂ και CH₃).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃): δ 154.9, 154.6, 148.3, 147.7, 136.5, 136.0, 135.2, 135.0, 128.6, 128.5, 128.4, 128.1, 127.9, 127.8, 67.6, 67.0, 55.1, 54.7, 47.0, 46.5, 32.4, 31.5, 24.4, 23.8, 12.8, 12.3.

HRMS (ESI) m/z (%): 313.1152 $[M+Na]^+$ (θεωρητικό: 313.1159 $C_{15}H_{18}N_2O_4Na^+$)

(S,E)-tert-Βουτυλο(1-νιπροεπτ-1-εν-3-υλο) καρβαμίδιο (104)



Μέθοδος Β

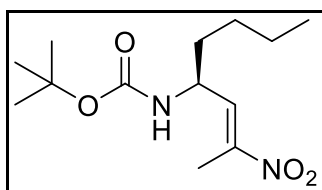
Λευκό στερεό. 82%. Σ.Τ.= 62-64°C. $R_f(3) = 0.53$. $[\alpha]_D^{25} = -17$ ($c=1.0$, CH_3OH).

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.12 (1H, dd, $J = 13.7, 5.6$ Hz, =CH), 7.03 (1H, d, $J = 13.4$ Hz, =CH), 4.84 (1H, s, NH), 4.41-4.13 (1H, m, NCH), 1.65-1.55 (2H, m, CH_2), 1.46-1.39 [9H, s, $C(CH_3)_3$], 1.35-1.26 (4H, m, 2 x CH_2), 0.88 (3H, t, $J = 6.9$ Hz, CH_3).

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 155.1, 142.6, 139.7, 80.2, 49.1, 33.9, 28.2, 27.7, 22.2, 13.8.

HRMS (ESI) m/z (%): 281.1473 $[M+Na]^+$ (θεωρητικό: 281.1472 $C_{12}H_{22}N_2O_4Na^+$)

(S,E)-tert-Βουτυλο(2-νιπροοκτ-2-εν-4-υλο) καρβαμίδιο (105)



Μέθοδος Γ

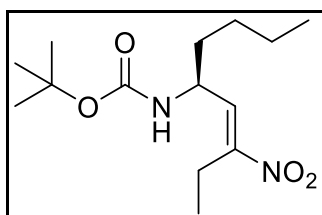
Λευκό στερεό. 85%. Σ.Τ.= 61-63°C. $R_f(3) = 0.61$. $[\alpha]_D^{25} = -4$ ($c=1.0$, CH_3OH).

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 6.82 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, =CH), 4.75 (1H, s, NH), 4.35-4.12 (1H, m, NCH), 2.29 (3H, s, CH_3), 1.69-1.58 (1H, m, $CHHNCH$), 1.55-1.48 (1H, m, $CHHNCH$), 1.42 [9H, s, $C(CH_3)_3$], 1.35-1.24 (4H, m, 2 x CH_2), 0.89 (3H, t, $J = 6.9$ Hz, CH_3).

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 155.1, 148.5, 135.5, 79.9, 48.8, 34.4, 28.3, 27.6, 22.3, 13.8, 12.9.

HRMS (ESI) m/z (%): 295.1625 $[M+Na]^+$ (θεωρητικό: 295.1628 $C_{13}H_{24}N_2O_4Na^+$)

(*S,E*)-tert-Βουτυλο(3-νιτρον-3-εν-5-υλο) καρβαμίδιο (106)



Μέθοδος A

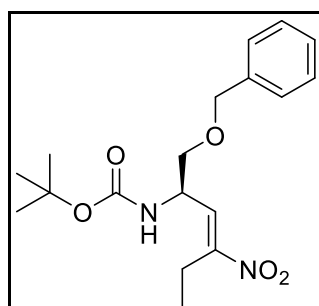
Κίτρινο λάδι. 72%. $R_f(3) = 0.79$. $[\alpha]_D^{25} = -5$ ($c=1.0$, $CHCl_3$).

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 6.71 (1H, d, $J = 9.9$ Hz, =CH), 4.61 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, NH), 4.40-4.21 (1H, m, NCH), 2.84-2.53 (2H, m, CH_2), 1.75-0.98 [18H, m, 3 x CH_2 , $C(CH_3)_3$ και CH_3], 0.88 (3H, t, $J = 6.6$ Hz, CH_3).

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 155.0, 154.2, 134.6, 80.0, 48.4, 34.8, 28.3, 27.7, 22.3, 20.3, 13.8, 12.7.

HRMS (ESI) m/z (%): 309.1785 $[M+Na]^+$ (θεωρητικό: 309.1785 $C_{14}H_{26}N_2O_4Na^+$)

(*S,E*)-tert-Βουτυλο(1-(βενζυλοξυ)-4-νιτροεξ-3-εν-2-υλο) καρβαμίδιο (107)



Μέθοδος A και B

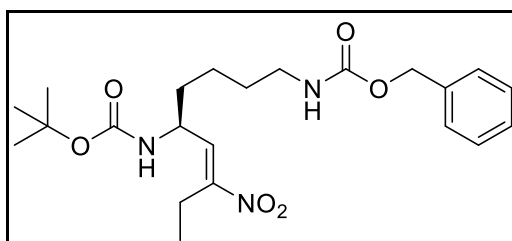
Κίτρινο λάδι. 35%. $R_f(3) = 0.53$. $[\alpha]_D^{25} = -3$ ($c=1.0$, $CHCl_3$).

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.41-7.27 (5H, m, ArH), 6.98 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, =CH), 5.18 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, NH), 4.62-4.51 (3H, m, OCH_2 και NCH), 3.62 (1H, dd, $J = 9.4$, 4.3 Hz, $OCHHCH$), 3.53 (1H, dd, $J = 9.5$, 4.1 Hz, $OCHHCH$), 2.79-2.66 (2H, m, CH_2), 1.45 [9H, s, $C(CH_3)_3$], 1.13 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, CH_3).

^{13}C -NMR (101 MHz, CDCl_3): δ 154.9, 154.8, 137.2, 131.8, 128.6, 128.1, 127.8, 80.3, 73.6, 71.3, 48.4, 31.9, 30.3, 29.7, 28.3, 28.0, 27.9, 20.9, 20.4, 19.5, 12.9.

HRMS (ESI) m/z (%): 373.1735 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (θεωρητικό: 373.1734 $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}^+$)

(*S,E*)-Βενζυλο-*tert*-βουτυλο(7-νιτροεν-6-εν-1,5-διυλο) δикаρβαμίδιο (108)



Μέθοδος Α

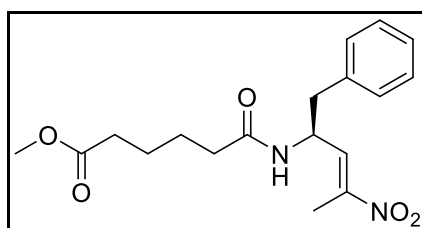
Άχρωμο λάδι. 51% $R_f(3) = 0.74$. $[\alpha]_D^{25} = -4$ ($c=1.0$, CHCl_3).

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7.40-7.30 (5H, m, ArH), 6.75 (1H, d, $J = 9.9$ Hz, =CH), 5.11 (2H, s, OCH_2Ph), 4.97-4.79 (2H, m, NH), 4.41-4.24 (1H, m, NCH), 3.28-3.12 (2H, m, CH_2NH), 2.84-2.64 (2H, m, CH_2), 1.58-1.34 [15H, m, 3 x CH_2 και $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1.15 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, CH_3).

^{13}C -NMR (101 MHz, CDCl_3): δ 156.6, 155.1, 154.1, 136.5, 134.4, 128.5, 128.1, 128.1, 80.1, 66.7, 48.3, 40.4, 34.4, 29.7, 28.3, 22.5, 20.4, 12.8.

HRMS (ESI) m/z (%): 480.2364 $[\text{M}+\text{FA}-\text{H}]^-$ (θεωρητικό: 480.2351 $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_8^-$)

(*S,E*)-6-((4-νιτρο-1-φαινυλοπεντ-3-εν-2-υλ)αμινο)-6-οξοεξανοϊκός μεθυλεστέρας (154)



Μέθοδος Γ

Υποκίτρινο λάδι. 74%. $R_f(7) = 0.64$. $[\alpha]_D^{25} = +12$ ($c=1.0$, CHCl_3).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7.32-7.14 (5H, d, J = 7.3 Hz, ArH), 6.88 (1H, d, J = 9.6 Hz, =CH), 6.22 (1H, s, NH), 4.97-4.87 (1H, m, NCH), 3.67 (3H, s, OCH_3), 3.04 (1H, dd, J = 15.0, 6.0 Hz, CHHPh), 2.86 (1H, dd, J = 13.9, 7.9 Hz, CHHPh), 2.31 (2H, s, COCH_2), 2.20 (2H, s, COCH_2), 2.00 (3H, s, CH_3), 1.61-1.49 (4H, m, 2 x CH_2).

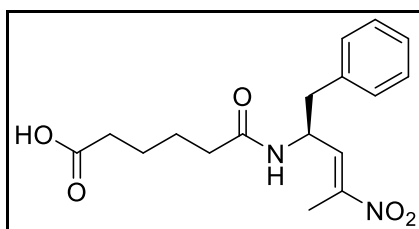
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 174.1, 172.2, 149.3, 135.8, 133.5, 129.3, 128.8, 127.2, 51.6, 48.7, 40.6, 35.9, 33.5, 24.7, 24.2, 12.7.

HRMS (ESI) m/z (%): 371.1577 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (θεωρητικό: 371.1577 $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}^+$)

Γενική μέθοδος αποπροστασίας της εστερικής ομάδας του οξέος ενζυμικά με χρήση της *Candida Antarctica* CAL-B

Ο εστέρας (1.0 mmol) διαλυτοποιείται σε MTBE καθαρότητας HPLC (59 mL) και H_2O καθαρότητας HPLC (50.0 mmol, 0.9 mL) και προστίθεται ακινητοποιημένη λιπάση CAL-B (65 mg). Το μείγμα της αντίδρασης τίθεται στους 36 °C και η αντίδραση παραμένει υπό ανάδευση για μία νύχτα. Στη συνέχεια, το μείγμα διηθείται και το ένζυμο ανακτάται πλήρως. Το διήθημα συμπυκνώνεται και το υπόλειμμα αραιώνεται με EtOAc και εκχυλίζεται με 5% NaHCO_3 . Η υδατική στιβάδα οξινίζεται με HCl 1N έως ότου pH 4-5 και εκχυλίζεται με EtOAc. Η οργανική στιβάδα συλλέγεται, ξηραίνεται με άνυδρο Na_2SO_4 και συμπυκνώνεται.

(*S,E*)-6-((4-νιτρο-1-φαινυλοπεντ-3-εν-2-υλ)αμινο)-6-οξοεξανοϊκό οξύ (109)



Υποκίτρινο λάδι. 92%. $R_f(7)$ = 0.12. $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ = +7 ($c=1.0$, CHCl_3).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 8.81 (1H, br s, COOH), 7.32-7.13 (5H, m, ArH), 6.88 (1H, d, J = 9.7 Hz, =CH), 6.40 (1H, s, NH), 4.97-4.87 (1H, m, NCH), 3.04 (1H, dd, J = 11.6, 5.4 Hz, CHHPh), 2.87 (1H, dd, J = 12.8, 8.5 Hz, CHHPh), 2.35 (2H, s, COCH_2), 2.22 (2H, s, COCH_2), 1.99 (3H, s, CH_3), 1.67-1.55 (4H, m, 2 x CH_2).

^{13}C -NMR (101 MHz, CDCl_3): δ 178.2, 172.9, 149.5, 135.7, 133.4, 129.3, 128.8, 127.2, 48.9, 40.5, 35.9, 33.5, 24.7, 24.0, 12.7.

HRMS (ESI) m/z (%): 357.1421 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (θεωρητικό: 357.1421 $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}^+$)

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

AcNH	Ακετάμιδο
AcOEt	Οξικός Αιθυλεστέρας
Ala	Αλανίνη
Asn	Ασπαραγίνη
CAL-A/CAL-B	Λιπάση από <i>Candida Antarctica</i>
Cys	Κυστεΐνη
DMAP	Διμεθυλαμινοπυριδίνη
DIPEA	<i>N,N</i> - Δισοπροπυλαιθυλαμίνη
EDC	(3-Διμεθυλαμινοπυρρολο)- <i>N'</i> -αιθυλοκαρβοδιιμίδιο
Glu	Γλουταμινικό Οξύ
His	Ιστιδίνη
HOBt	Υδροξυβενζοτρίαζόλιο
MsCl	Μεθανεσουλφόνυλο Χλωρίδιο
MTBE	Μέθυλο <i>tert</i> -βουτυλαιθέρας
NADPH	Νικοτινάμιδο Φωσφορικό Δινουκλεοτίδιο Αδενίνης
NMM	<i>N</i> -Μεθυλομορφολίνη
PE	Πετρελαϊκός Αιθέρας
Phe	Φαινυλαλανίνη
PLE	Εστεράση από το ήπαρ χοίρου
TEMPO	(2,2,6,6-Τετραμεθυλοπυπεριδυνο-1-υλο) όξυλο ρίζα
TFA	Τριφθοροξικό οξύ
THF	Τετραϋδροφουράνιο
Z-Cl	Καρβοβενζόξυ Χλωρίδιο

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- (1) Singh, J.; Petter, R. C.; Baillie, T. A.; Whitty, A. The Resurgence of Covalent Drugs. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2011**, *10* (4), 307–317. <https://doi.org/10.1038/nrd3410>.
- (2) Baillie, T. A. Targeted Covalent Inhibitors for Drug Design. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2016**, *55* (43), 13408–13421. <https://doi.org/10.1002/anie.201601091>.
- (3) Nicoll-Griffith, D. A. Use of Cysteine-Reactive Small Molecules in Drug Discovery for Trypanosomal Disease. *Expert Opin. Drug Discov.* **2012**, *7* (4), 353–366. <https://doi.org/10.1517/17460441.2012.668520>.
- (4) Lecaille, F.; Kaleta, J.; Brömme, D. Human and Parasitic Papain-like Cysteine Proteases: Their Role in Physiology and Pathology and Recent Developments in Inhibitor Design. *Chem. Rev.* **2002**, *102* (12), 4459–4488. <https://doi.org/10.1021/cr0101656>.
- (5) Otto, H. H.; Schirmeister, T. Cysteine Proteases and Their Inhibitors. *Chem. Rev.* **1997**, *97* (1), 133–171. <https://doi.org/10.1021/cr950025u>.
- (6) McKerrow, J. H.; Engel, J. C.; Caffrey, C. R. Cysteine Protease Inhibitors as hemotherapy for Parasitic Infections. *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7* (4), 639–644. [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(99\)00008-5](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(99)00008-5).
- (7) Sokolova, A. Y.; Wyllie, S.; Patterson, S.; Oza, S. L.; Read, K. D.; Fairlamb, A. H. Cross-Resistance to Nitro Drugs and Implications for Treatment of Human African Trypanosomiasis. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2010**, *54* (7), 2893–2900. <https://doi.org/10.1128/AAC.00332-10>.
- (8) Latorre, A.; Schirmeister, T.; Kesselring, J.; Jung, S.; Johé, P.; Hellmich, U. A.; Heilos, A.; Engels, B.; Krauth-Siegel, R. L.; Dirdjaja, N.; Bou-Iserte, L.; Rodríguez, S.; González, F. V. Dipeptidyl Nitroalkenes as Potent Reversible Inhibitors of Cysteine Proteases Rhodesain and Cruzain. *ACS Med. Chem. Lett.* **2016**, *7* (12), 1073–1076. <https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.6b00276>.

- (9) Arafet, K.; González, F. V.; Moliner, V. Quantum Mechanics/Molecular Mechanics Studies of the Mechanism of Cysteine Proteases Inhibition by Dipeptidyl Nitroalkenes. *Chem. - A Eur. J.* **2020**, *26* (9), 2002–2012. <https://doi.org/10.1002/chem.201904513>.
- (10) Lalmanach, G.; Saidi, A.; Bigot, P.; Chazeirat, T.; Lecaille, F.; Wartenberg, M. Regulation of the Proteolytic Activity of Cysteine Cathepsins by Oxidants. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21* (6), 1–20. <https://doi.org/10.3390/ijms21061944>.
- (11) Thompson, S. A.; Hanzlik, R. P.; Andrews, P. R. Carboxyl-Modified Amino Acids and Peptides as Protease Inhibitors. *J. Med. Chem.* **1986**, *29* (1), 104–111. <https://doi.org/10.1021/jm00151a018>.
- (12) Ohba, T.; Takei, H. Irreversible Inactivation of Serine Proteases by Peptidyl α,β Unsaturated Nitro Compounds. *Chem. Lett.* **1996**, *25* (9), 789–790. <https://doi.org/10.1246/cl.1996.789>.
- (13) Luzzio, F. A. The Henry Reaction: Recent Examples. *Tetrahedron* **2001**, *57* (6), 915–945. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(00\)00965-0](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(00)00965-0).
- (14) Bhat, C.; Tilve, S. G. Synthesis of (-)-Hygrine, (-)-Norhygrine, (-)-Pseudohygroline and (-)-Hygroline via Nef Reaction. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52* (49), 6566–6568. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2011.09.118>.
- (15) Bhat, C.; Tilve, S. G. Henry-Nef Reaction: A Practical and Versatile Chiral Pool Route to 2-Substituted Pyrrolidine and Piperidine Alkaloids. *Tetrahedron* **2013**, *69* (30), 6129–6143. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2013.05.055>.
- (16) Gorczynski, M. J.; Smitherman, P. K.; Akiyama, T. E.; Wood, H. B.; Berger, J. P.; King, S. B.; Morrow, C. S. Activation of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ (PPAR γ) by Nitroalkene Fatty Acids: Importance of Nitration Position and Degree of Unsaturation. *J. Med. Chem.* **2009**, *52* (15), 4631–4639. <https://doi.org/10.1021/jm900326c>.
- (17) Sleebs, B. E.; Nguyen, N. H.; Hughes, A. B. A Mild Multistep Conversion of N-Protected α -Amino Acids into N-Protected β -Amino Acids Utilizing the Nef Reaction. *Synlett* **2013**, *24* (6), 747–751. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1318344>.

- (18) Hanessian, S.; Devasthale, P. V. Design and Synthesis of Novel Pseudo C2 Symmetric Inhibitors of HIV Protease. *Biorg. Med. Chem.* **1996**, 6 (18), 2201–2206. [https://doi.org/10.1016/0960-894x\(96\)00392-7](https://doi.org/10.1016/0960-894x(96)00392-7).
- (19) Yuasa, Y.; Yuasa, Y.; Tsuruta, H. A Facile Synthesis of (2R,3S)-1-Amino-3-Tert-Butoxycarbonylamino-2-Hydroxy-4-Phenylbutane; A Useful Component Block of HIV Protease Inhibitor. *Synth. Commun.* **1998**, 28 (3), 395–401. <https://doi.org/10.1080/00397919808005092>.
- (20) Sasai, H.; Kim, W. S.; Suzuki, T.; Shibasaki, M.; Mitsuda, M.; Hasegawa, J.; Ohashi, T. Diastereoselective Catalytic Asymmetric Nitroaldol Reaction Utilizing Rare Earth-Li(R)-BINOL Complex. A Highly Efficient Synthesis of Norstatine. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35 (33), 6123–6126. [https://doi.org/10.1016/0040-4039\(94\)88093-X](https://doi.org/10.1016/0040-4039(94)88093-X).
- (21) Sohtome, Y.; Kato, Y.; Handa, S.; Aoyama, N.; Nagawa, K.; Matsunaga, S.; Shibasaki, M. Stereodivergent Catalytic Doubly Diastereoselective Nitroaldol Reactions Using Heterobimetallic Complexes. *Org. Lett.* **2008**, 10 (11), 2231–2234. <https://doi.org/10.1021/ol800653d>.
- (22) Palomo, C.; Oiarbide, M.; Mielgo, A. Unveiling Reliable Catalysts for the Asymmetric Nitroaldol (Henry) Reaction. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2004**, 43 (41), 5442–5444. <https://doi.org/10.1002/anie.200460506>.
- (23) Corey, E. J.; Zhang, F. Y. Re- and Si-Face-Selective Nitroaldol Reactions Catalyzed by a Rigid Chiral Quaternary Ammonium Salt: A Highly Stereoselective Synthesis of the HIV Protease Inhibitor Amprenavir (Vertex 478). *Angew. Chemie - Int. Ed.* **1999**, 38 (13–14), 1931–1934. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3773\(19990712\)38:13/14<1931::AID-ANIE1931>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3773(19990712)38:13/14<1931::AID-ANIE1931>3.0.CO;2-4).
- (24) Panov, I.; Drabina, P.; Hanusek, J.; Sedlák, M. Stereoselective Synthesis of the Key Intermediates of the HIV Protease Inhibitor Fosamprenavir and Its Diastereomer. *Synlett* **2013**, 24 (10), 1280–1282. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1338803>.
- (25) Boruwa, J.; Gogoi, N.; Saikia, P. P.; Barua, N. C. Catalytic Asymmetric Henry Reaction. *Tetrahedron Asymmetry* **2006**, 17 (24), 3315–3326.

<https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2006.12.005>.

- (26) Milner, S. E.; Moody, T. S.; Maguire, A. R. Biocatalytic Approaches to the Henry (Nitroaldol) Reaction. *European J. Org. Chem.* **2012**, No. 16, 3059–3067. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201101840>.
- (27) Rao, D. H. S.; Chatterjee, A.; Padhi, S. K. Biocatalytic Approaches for Enantio and Diastereoselective Synthesis of Chiral β -Nitroalcohols. *Org. Biomol. Chem.* **2021**, 19 (2), 322–337. <https://doi.org/10.1039/d0ob02019b>.
- (28) Brovotto, M.; Gamenara, D.; Saenz Méndez, P.; Seoane, G. A. C-C Bond-Forming Lyases in Organic Synthesis. *Chem. Rev.* **2011**, 111 (7), 4346–4403. <https://doi.org/10.1021/cr100299p>.
- (29) Greene, T. W. Greene's Protective Groups Organic Synthesis. Wiley-VCH, **2007**, 16–366. <https://doi.org/10.1002/9780470053485.ch2>
- (30) Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S. Organic Chemistry (2nd ed.), Oxford University Press, **2012**, 441–468.
- (31) Pollard, D. J.; Woodley, J. M. Biocatalysis for Pharmaceutical Intermediates: The Future Is Now. *Trends Biotechnol.* **2007**, 25 (2), 66–73. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2006.12.005>.
- (32) Tao, J.; Xu, J. H. Biocatalysis in Development of Green Pharmaceutical Processes. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2009**, 13 (1), 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2009.01.018>.
- (33) Pathak, T.; Waldmann, H. Enzymes and Protecting Group Chemistry. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1998**, 2 (1), 112–120. [https://doi.org/10.1016/S1367-5931\(98\)80042-2](https://doi.org/10.1016/S1367-5931(98)80042-2).
- (34) Alcantara, A. R. Biotransformations in Drug Synthesis: A Green and Powerful Tool for Medicinal Chemistry. *J. Med. Chem. Drug Des.* **2018**, 1 (1), 1–7. <https://doi.org/10.16966/2578-9589.102>.
- (35) Rasor, J. P.; Voss, E. Enzyme-Catalyzed Processes in Pharmaceutical Industry. *Appl. Catal. A Gen.* **2001**, 221 (1–2), 145–158. [https://doi.org/10.1016/S0926-860X\(01\)00804-3](https://doi.org/10.1016/S0926-860X(01)00804-3).

- (36) Barbayianni, E.; Kokotos, G. Biocatalyzed Regio- and Chemoselective Ester Cleavage: Synthesis of Bioactive Molecules. *ChemCatChem* **2012**, 4 (5), 592–608. <https://doi.org/10.1002/cctc.201200035>.
- (37) Schmidt, M.; Barbayianni, E.; Fotakopoulou, I.; Höhne, M.; Constantinou-Kokotou, V.; Bornscheuer, U. T.; Kokotos, G. Enzymatic Removal of Carboxyl Protecting Groups. 1. Cleavage of the Tert-Butyl Moiety. *J. Org. Chem.* **2005**, 70 (9), 3737–3740. <https://doi.org/10.1021/jo050114z>.
- (38) Thodi, K.; Barbayianni, E.; Fotakopoulou, I.; Bornscheuer, U. T.; Constantinou-Kokotou, V.; Moutevelis-Minakakis, P.; Kokotos, G. Study of the Removal of Allyl Esters by *Candida Antarctica* Lipase B (CAL-B) and Pig Liver Esterase (PLE). *J. Mol. Catal. B Enzym.* **2009**, 61 (3–4), 241–246. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2009.07.012>.
- (39) Barbayianni, E.; Fotakopoulou, I.; Schmidt, M.; Constantinou-Kokotou, V.; Bornscheuer, U. T.; Kokotos, G. Enzymatic Removal of Carboxyl Protecting Groups. 2. Cleavage of the Benzyl and Methyl Moieties. *J. Org. Chem.* **2005**, 70 (22), 8730–8733. <https://doi.org/10.1021/jo051004v>.
- (40) Honda, K.; Sakamoto, K.; Kita, S.; Kataoka, M.; Shimizu, S. Biocatalytic Deprotection of a Cetraxate Ester by *Microbacterium* Sp. Strain 7-1W Cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2003**, 67 (1), 192–194. <https://doi.org/10.1271/bbb.67.192>.
- (41) Honda, K.; Kataoka, M.; Ono, H.; Sakamoto, K.; Kita, S.; Shimizu, S. Purification and Characterization of a Novel Esterase Promising for the Production of Useful Compounds from *Microbacterium* Sp. 7-1W. *FEMS Microbiol. Lett.* **2002**, 206 (2), 221–227. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(01\)00530-4](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(01)00530-4).
- (42) Honda, K.; Kataoka, M.; Shimizu, S. Enzymatic Preparation of D- β -Acetylthioisobutyric Acid and Cetraxate Hydrochloride Using a Stereo- and/or Regioselective Hydrolase, 3,4-Dihydrocoumarin Hydrolase from *Acinetobacter Calcoaceticus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2002**, 60 (3), 288–292. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1116-3>.
- (43) Patterson, L. D.; Miller, M. J. Enzymatic Deprotection of the Cephalosporin 3'-Acetoxy Group Using *Candida Antarctica* Lipase B. *J. Org. Chem.* **2010**, 75 (4),

- 1289–1292. <https://doi.org/10.1021/jo902406b>.
- (44) Ferraboschi, P.; Colombo, D.; Prestileo, P. A Convenient Synthesis of Oxandrolone through a Regioselective Candida Antarctica Lipase-Catalyzed Transformation. *Tetrahedron Asymmetry* **2003**, *14* (18), 2781–2785. [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(03\)00593-7](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(03)00593-7).
- (45) Öhrlein, R.; Baisch, G. Chemo-Enzymatic Approach to Statin Side-Chain Building Blocks. *Adv. Synth. Catal.* **2003**, *345* (6–7), 713–715. <https://doi.org/10.1002/adsc.200303028>.
- (46) Patel, J. M. Biocatalytic Synthesis of Atorvastatin Intermediates. *J. Mol. Catal. B Enzym.* **2009**, *61* (3–4), 123–128. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2009.07.004>.
- (47) Sun, H.; Zhang, H.; Ang, E. L.; Zhao, H. Biocatalysis for the Synthesis of Pharmaceuticals and Pharmaceutical Intermediates. *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, *26* (7), 1275–1284. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.06.043>.
- (48) Patel, R. N. Biocatalysis for Synthesis of Pharmaceuticals. *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, *26* (7), 1252–1274. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.05.023>.
- (49) Fotakopoulou, I.; Barbayianni, E.; Constantinou-Kokotou, V.; Bornscheuer, U. T.; Kokotos, G. Enzymatic Removal of Carboxyl Protecting Groups. III. Fast Removal of Allyl and Chloroethyl Esters by Bacillus Subtilis Esterase (BS2). *J. Org. Chem.* **2007**, *72* (3), 782–786. <https://doi.org/10.1021/jo061871f>.
- (50) Barbayianni, E.; Kokotos, C. G.; Bartsch, S.; Drakou, C.; Bornscheuer, U. T.; Kokotos, G. Bacillus Subtilis Esterase (BS2) and Its Double Mutant Have Different Selectivity in the Removal of Carboxyl Protecting Groups. *Adv. Synth. Catal.* **2009**, *351* (14–15), 2325–2332. <https://doi.org/10.1002/adsc.200900325>.
- (51) Reetz, M. T.; Zonta, A.; Schimossek, K.; Liebeton, K.; Jaeger, K. E. Creation of Enantioselective Biocatalysts for Organic Chemistry by In Vitro Evolution. *Angew. Chemie (International Ed. English)* **1997**, *36* (24), 2830–2832. <https://doi.org/10.1002/anie.199728301>.
- (52) Jaeger, K. E.; Reetz, M. T. Microbial Lipases Form Versatile Tools for Biotechnology. *Trends Biotechnol.* **1998**, *16* (9), 396–403.

[https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(98\)01195-0](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(98)01195-0).

- (53) Hansen, K. B.; Hsiao, Y.; Xu, F.; Rivera, N.; Clausen, A.; Kubryk, M.; Krska, S.; Rosner, T.; Simmons, B.; Balsells, J.; Ikemoto, N.; Sun, Y.; Spindler, F.; Malan, C.; Grabowski, E. J. J.; Armstrong, J. D. Highly Efficient Asymmetric Synthesis of Sitagliptin. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (25), 8798–8804. <https://doi.org/10.1021/ja902462q>.
- (54) Savile, C. K.; Janey, J. M.; Mundorff, E. C.; Moore, J. C.; Tam, S.; Jarvis, W. R.; Colbeck, J. C.; Krebber, A.; Fleitz, F. J.; Brands, J.; Devine, P. N.; Huisman, G. W.; Hughes, G. J. Biocatalytic Asymmetric Synthesis of Chiral Amines from Ketones Applied to Sitagliptin Manufacture. *Science* (80-.). **2010**, *329* (5989), 305–309. <https://doi.org/10.1126/science.1188934>.
- (55) Zhao, M.; King, A. O.; Robert, D.; Verhoeven, T. R.; Reider, P. J. A Convenient and Economical Method for the Preparation of D I P - C h l o r i d E. **2000**, *38* (15), 2641–2644.
- (56) Zhu, G. L.; Zhang, X. D.; Yang, L. J.; Xie, J. H.; Che, D. Q.; Zhou, Q. L.; Yan, P. C.; Li, Y. Q. Ir/SpiroPAP Catalyzed Asymmetric Hydrogenation of a Key Intermediate of Montelukast: Process Development and Potential Impurities Study. *Org. Process Res. Dev.* **2016**, *20* (1), 81–85. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.5b00339>.
- (57) Liang, J.; Lalonde, J.; Borup, B.; Mitchell, V.; Mundorff, E.; Trinh, N.; Kochrekar, D. A. Development of a Biocatalytic Process as an Alternative to the (-) -DIP-Cl-Mediated Asymmetric Reduction of a Key Intermediate of Montelukast Abstract : A KetoREDuctase (KRED) Engineered via Directed Evolution. *Org. Process Res. Dev.* **2010**, 193–198.
- (58) Winkler, C. K.; Tasnádi, G.; Clay, D.; Hall, M.; Faber, K. Asymmetric Bioreduction of Activated Alkenes to Industrially Relevant Optically Active Compounds. *J. Biotechnol.* **2012**, *162* (4), 381–389. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2012.03.023>.
- (59) Burda, E.; Reiß, T.; Winkler, T.; Giese, C.; Kostrov, X.; Huber, T.; Hummel, W.; Gröger, H. Highly Enantioselective Reduction of α -Methylated Nitroalkenes. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2013**, *52* (35), 9323–9326.

<https://doi.org/10.1002/anie.201301814>.

- (60) Njoroge, F. G.; Chen, K. X.; Shih, N. Y.; Piwinski, J. J. Challenges in Modern Drug Discovery: A Case Study of Boceprevir, an HCV Protease Inhibitor for the Treatment of Hepatitis C Virus Infection. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41* (1), 50–59. <https://doi.org/10.1021/ar700109k>.
- (61) Lin, C.; Kwong, A.; Perni, R. Discovery and Development of VX-950, a Novel, Covalent, and Reversible Inhibitor of Hepatitis C Virus NS3.4A Serine Protease. *Infect. Disord. - Drug Targets* **2008**, *6* (1), 3–16. <https://doi.org/10.2174/187152606776056706>.
- (62) Kragl, U.; Vasic-Racki, D.; Wandrey, C. Continuous Production of L-Tert-Leucine in Series of Two Enzyme Membrane Reactors: Modelling and Computer Simulation. *Bioprocess Eng.* **1996**, *14* (6), 291–297. <https://doi.org/10.1007/bf00369472>.
- (63) Menzel, A.; Werner, H.; Altenbuchner, J.; Gröger, H. From Enzymes to “Designer Bugs” in Reductive Amination: A New Process for the Synthesis of L-Tert-Leucine Using a Whole Cell-Catalyst. *Eng. Life Sci.* **2004**, *4* (6), 573–576. <https://doi.org/10.1002/elsc.200402162>.
- (64) Alphand, V.; Carrea, G.; Wohlgemuth, R.; Furstoss, R.; Woodley, J. M. Towards Large-Scale Synthetic Applications of Baeyer-Villiger Monooxygenases. *Trends Biotechnol.* **2003**, *21* (7), 318–323. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(03\)00144-6](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(03)00144-6).
- (65) De Gonzalo, G.; Mihovilovic, M. D.; Fraaije, M. W. Recent Developments in the Application of Baeyer-Villiger Monooxygenases as Biocatalysts. *ChemBioChem* **2010**, *11* (16), 2208–2231. <https://doi.org/10.1002/cbic.201000395>.
- (66) Bianchi, D. A.; Moran-Ramallal, R.; Iqbal, N.; Rudroff, F.; Mihovilovic, M. D. Enantiocomplementary Access to Carba-Analogs of C-Nucleoside Derivatives by Recombinant Baeyer-Villiger Monooxygenases. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23* (9), 2718–2720. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.02.085>.
- (67) Leisch, H.; Morley, K.; Lau, P. C. K. Baeyer-Villiger Monooxygenases: More than Just Green Chemistry. *Chem. Rev.* **2011**, *111* (7), 4165–4222.

<https://doi.org/10.1021/cr1003437>.

- (68) Boyd, D. R.; Sharma, N. D.; Bowers, N. I.; Brannigan, I. N.; Groocock, M. R.; Malone, J. F.; McConville, G.; Allen, C. C. R. Biocatalytic Asymmetric Dihydroxylation of Conjugated Mono- and Poly-Alkenes to Yield Enantiopure Cyclic Cis-Diols. *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347* (7–8), 1081–1089. <https://doi.org/10.1002/adsc.200505033>.
- (69) Gibson, D. T.; Parales, R. E. Aromatic Hydrocarbon Dioxygenases in Environmental Biotechnology. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2000**, *11* (3), 236–243. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(00\)00090-2](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(00)00090-2).
- (70) Sullivan, B.; Carrera, I.; Drouin, M.; Hudlicky, T. Symmetry-Based Design for the Chemoenzymatic Synthesis of Oseltamivir (Tamiflu) from Ethyl Benzoate. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2009**, *48* (23), 4229–4231. <https://doi.org/10.1002/anie.200901345>.
- (71) Uchida, R.; Shiomi, K.; Sunazuka, T.; Inokoshi, J.; Nishizawa, A. I.; Hirose, T.; Tanaka, H.; Iwai, Y.; Omura, S. Kurasoins a and b, New Protein Farnesyltransferase Inhibitors Produced by *Paecilomyces* Sp. FO-3684. II. Structure Elucidation and Total Synthesis. *J. Antibiot. (Tokyo)*. **1996**, *49* (9), 886–889. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.49.886>.
- (72) Guo, Z.; Goswami, A.; Mirfakhrae, K. D.; Patel, R. N. Asymmetric Acyloin Condensation Catalyzed by Phenylpyruvate Decarboxylase. *Tetrahedron Asymmetry* **1999**, *10* (24), 4667–4675. [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(99\)00548-0](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(99)00548-0).
- (73) Guo, Z.; Goswami, A.; Nanduri, V. B.; Patel, R. N. Asymmetric Acyloin Condensation Catalysed by Phenylpyruvate Decarboxylase. Part 2: Substrate Specificity and Purification of the Enzyme. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *21*, 571–577.
- (74) Kokotos G., A Convenient One- Pot Conversion of N- Protected Amino Acids and Peptides into Alcohols, *Synthesis*, **1990**, 299–301. <https://doi.org/10.1055/s-1990-26857>.
- (75) Loukas, V.; Noulas, C.; Kokotos, G. Efficient Protocols for the Synthesis of

- Enantiopure γ -Amino Acids with Proteinogenic Side Chains. *J. Pept. Sci.* **2003**, 9 (5), 312–319. <https://doi.org/10.1002/psc.458>.
- (76) Merbouh, N.; Bobbitt, J. M.; Brückner, C. 4-AcNH-Tempo-Catalyzed Oxidation of Aldoses to Aldaric Acids Using Chlorine or Bromine as Terminal Oxidants. *J. Carbohydr. Chem.* **2002**, 21 (1–2), 65–77. <https://doi.org/10.1081/CAR-120003738>.
- (77) Robert Leanna, M.; Sowin, T. J.; Morton, H. E. Synthesis of α -Amino and α -Alkoxy Aldehydes via Oxoammonium Oxidation. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33 (35), 5029–5032. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)61180-2](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)61180-2).
- (78) Ma, Z.; Bobbitt, J. M. Organic Oxoammonium Salts. 3. A New Convenient Method for the Oxidation of Alcohols to Aldehydes and Ketones. *J. Org. Chem.* **1991**, 56 (21), 6110–6114. <https://doi.org/10.1021/jo00021a027>.
- (79) Fioravanti, S.; Pellacani, L.; Tardella, P. A.; Vergari, M. C. Facile and Highly Stereoselective One-Pot Synthesis of Either (E)- or (Z)-Nitro Alkenes. *Org. Lett.* **2008**, 10 (7), 1449–1451. <https://doi.org/10.1021/ol800224k>.
- (80) Fulmer, G. R.; Miller, A. J. M.; Sherden, N. H.; Gottlieb, H. E.; Nudelman, A.; Stoltz, B. M.; Bercaw, J. E.; Goldberg, K. I. NMR Chemical Shifts of Trace Impurities: Common Laboratory Solvents, Organics, and Gases in Deuterated Solvents Relevant to the Organometallic Chemist. *Organometallics* **2010**, 29 (9), 2176–2179. <https://doi.org/10.1021/om100106e>.
- (81) Hosoya, M.; Matsuyama, S.; Baba, M.; Suzuki, H.; Shigeta, S. Effects of Protease Inhibitors on Replication of Various Myxoviruses. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1992**, 36 (7), 1432–1436. <https://doi.org/10.1128/AAC.36.7.1432>.
- (82) Blomberg, D.; Brickmann, K.; Kihlberg, J. Synthesis of a β -Strand Mimetic Based on a Pyridine Scaffold. *Tetrahedron* **2006**, 62 (47), 10937–10944. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2006.08.080>.
- (83) Correa, A.; Denis, J. N.; Greene, A. E. A Safe, Simple, One-Pot Preparation of n -Derivatized β -Amino Alcohols and Oxazolidinones from Amino Acids. *Synth. Commun.* **1991**, 21 (1), 1–9. <https://doi.org/10.1080/00397919108020783>.
- (84) Kishore Kumar, G. D.; Baskaran, S. A Facile, Catalytic, and Environmentally

- Benign Method for Selective Deprotection of Teri-Butyldimethylsilyl Ether Mediated by Phosphomolybdic Acid Supported on Silica Gel. *J. Org. Chem.* **2005**, 70 (11), 4520–4523. <https://doi.org/10.1021/jo0502697>.
- (85) Dei, S.; Bellucci, C.; Buccioni, M.; Ferraroni, M.; Gualtieri, F.; Guandalini, L.; Manetti, D.; Matucci, R.; Romanelli, M. N.; Scapecchi, S.; Teodori, E. Synthesis and Cholinergic Affinity of Diastereomeric and Enantiomeric Isomers of 1-Methyl-2-(2-Methyl-1,3-Dioxolan-4-Yl)- Pyrrolidine, 1-Methyl-2-(2-Methyl-1,3-Oxathiolan-5-Yl)Pyrrolidine and of Their Iodomethylates. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11 (14), 3153–3164. [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(03\)00236-0](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(03)00236-0).
- (86) Shinozuka, T.; Shimada, K.; Matsui, S.; Yamane, T.; Ama, M.; Fukuda, T.; Taki, M.; Takeda, Y.; Otsuka, E.; Yamato, M.; Mochizuki, S. ichi; Ohhata, K.; Naito, S. Potent and Selective Cathepsin K Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14 (20), 6789–6806. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2006.06.032>.
- (87) Kokotos G., Markidis T, Constantinou- Kokotou V., Synthesis of Chiral Triamines and Diamines from Amino Acids, *Synthesis*, **1996**, 10, 1223-1226. <https://doi.org/10.1055/s-1996-4358>.